

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2015.02.040

急性肺损伤的生物标记物*

杜虹^{1#} 朱江勃^{2#} 李璟¹ 于海涛¹ 白雪帆^{1△} 于代华^{2△}

(1 第四军医大学唐都医院传染病诊疗中心 陕西 西安 710038; 2 第四军医大学唐都医院重症监护中心 陕西 西安 710038)

摘要:急性呼吸窘迫综合征(ARDS)和急性肺损伤(ALI)多由低氧性呼吸衰竭引起,导致高通透性肺水肿,临床上较高的发病率与死亡率。近十年来,针对血浆和支气管肺泡灌洗液中相关生物标记物的研究为探索急性肺损伤的病理生理机制指明了新的方向。个别生物标记物已在一些大型、多中心 ARDS 试验中得到证实。但迄今仍没有一个或一组生物标记物常规应用于临床。随着人类对 ALI 发病机制理解的进一步深入,或许不久的将来,生物标记物会真正应用于评估疾病的严重程度和预后。本文将概述近年来 ALI 相关生物标记物的研究进展。

关键词:急性肺损伤;急性呼吸窘迫综合征;生物标记物

中图分类号:R563.8 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2015)02-359-03

Biomarkers in Acute Lung Injury*

DU Hong^{1#}, ZHU Jiang-bo^{2#}, LI Jing¹, YU Hai-tao¹, BAI Xue-fan^{1△}, YU Dai-hua^{2△}

(1 Center for Infectious Diseases, Tangdu Hospital, Fourth Military Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710038, China;

2 Intensive Care Unit, Tangdu Hospital, Fourth Military Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710038, China)

ABSTRACT: Acute respiratory distress syndrome (ARDS) and acute lung injury (ALI) result in high permeability pulmonary edema causing hypoxic respiratory failure with high morbidity and mortality. Over the last decade, several studies have identified biomarkers in plasma and bronchoalveolar lavage fluid (BALF) providing important insights into the mechanisms involved in the pathophysiology of ALI. Several biomarkers have been validated in subjects from the large, multicenter ARDS clinical trials network. Until now, no single or group of biomarkers has made it into routine clinical practice. As the improvement of understanding the pathogenesis in ALI and ARDS, possibly new biomarkers that predict disease severity and outcomes can be identified in the future. In this article, we review the current knowledge on biomarkers in ALI.

Key words: Acute respiratory distress syndrome (ARDS); Acute lung injury (ALI); Biomarker

Chinese Library Classification(CLC): R563.8 **Document code:** A

Article ID:1673-6273(2015)02-359-03

生物标记物是反映机体生物学进程及状态的标记。换句话说,生物标记物是指目标性地测量机体生物学进程、致病进程或药物干预后药理学反应的指示剂^[1]。生物标记物可以是临床中的生命体征参数,也可以是影响疾病进程和预后的生化或分子生物标记。理想的 ALI 生物标记物可准确反映疾病的病理生理进程。此外,该标记物需具备可靠性、可重复性、价格便宜、变异性小、敏感性高、特异性强、留取标本方便等特点。目前,吸入气溶胶^[2]、尿液^[3]、未稀释的肺水肿液^[4,5]、BALF 及血浆/血清已广泛应用于 ALI 生物标记物的发现及研究。

ARDS 的病理状态包括三个阶段:渗出阶段、增殖阶段、恢复/进展性纤维化阶段。它们可单独存在或互相叠加^[6]。早期渗出阶段的主要特征是弥漫性肺泡损伤。肺上皮、内皮细胞可释

放针对炎症的细胞因子。细胞膜完整性的破坏可导致肺间质蛋白渗出,进而引起肺换气功能障碍。肺表面活性物质的稀释可导致肺泡塌陷及肺顺应性的下降。在随后的几天里,肺水肿液逐渐吸收并进入增殖阶段。增殖阶段以Ⅱ型肺泡上皮细胞和成纤维细胞增殖及表型的改变为主要特征。在病程的恢复期,部分患者肺组织炎症吸收,换气功能逐渐恢复;部分患者则可出现肺组织的纤维变性加重和弥漫性肺间质纤维化。针对病程的不同阶段,并结合 ALI 不同的病理状态,我们可将 ALI 生物标记物划分为渗出阶段和增殖阶段两大类。

1 渗出阶段

1.1 炎症

* 基金项目:国家重大基础理论研究发展(973)计划项目(2012CB518905);唐都医院科技创新发展基金重大临床研究项目(2013-4241370U2)

作者简介:杜虹(1981-),男,医学博士,主治医师,讲师,主要研究方向:重症肾综合征出血热的诊治,E-mail:DuHong811118@163.com;

朱江勃(1983-),男,本科,医师,E-mail:zjb2232003@163.com

为共同第一作者

△通讯作者:白雪帆,男,博士研究生导师,主任医师,教授,主要研究方向:肾综合征出血热的发病机制与诊治,
E-mail:xfbai2011@163.com;

于代华,男,副主任医师,副教授,主要研究方向:麻醉与神经功能, E-mail:Yudaihua@hotmail.com

(收稿日期:2014-04-26 接受日期:2014-05-20)

目前研究认为,ALI患者血浆或BALF中促炎因子(IL-1 β 、TNF- α 、IL-6和IL-8)和抗炎因子(IL-1Ra、IL-10和IL-13)的表达均有升高。两类因子的平衡紊乱在一定程度影响着ALI的病理变化^[7]。

1.2 肺泡Ⅱ型上皮细胞

肺泡Ⅱ型上皮细胞的重要功能是产生肺表面活性物质(surfactant proteins,SP)。这些SP可降低肺泡表面张力,使肺泡开放并增加肺的顺应性。目前认为,BALF中的SP可作为生物标记物评估疾病的严重程度。血清SP-A可作为ARDS高危患者,ARDS合并脓毒症患者病情进展理想的预测因子^[8]。除了SP-A,有研究^[9]发现,血浆SP-B水平也可作为ARDS病情进展的预测因子。肺泡Ⅱ型上皮细胞的另一个标记物是膜糖蛋白KL-6,它属于粘蛋白家族成员。Ishizaka等^[10]研究发现,ALI/ARDS患者肺上皮细胞衬液(epithelial lining fluid,ELF)和血浆KL-6的表达水平增高,反映了内皮细胞损伤的程度,并与高病死率密切相关。

1.3 肺泡Ⅰ型上皮细胞

覆盖于肺泡的大部分表面,具有薄、易碎,对损伤高敏感性的特点。Ⅰ型上皮细胞的基底面主要表达糖基化终产物受体(receptor for advanced glycation end products,RAGE)。RAGE属于免疫球蛋白超家族成员,作为一种多配基受体,通过NF- κ B增强疾病的炎症应答^[11]。研究发现,在ALI和ARDS患者小潮气量通气治疗过程中,RAGE的表达水平增高,血浆RAGE的高基线水平与病死率增高密切相关^[12]。

1.4 细支气管细胞损伤

虽然肺泡上皮细胞在ARDS的病理生理过程中扮演着重要角色,肺损伤也可涉及到远端气道。在小气道存在的主要是支气管上皮细胞,它可产生细支气管细胞分泌蛋白(clara cell secretory protein,CCSP)。到目前为止,尚未明确CCSP是否影响病死率,CCSP作为ALI/ARDS生物标记物的具体作用仍未阐明。

1.5 肺基质损伤

肺细胞外基质的主要功能是维持上皮组织和血管结构的完整性。它包括胶原、糖蛋白和蛋白多糖。层粘连蛋白是一种沉积在基底膜上的细胞外蛋白,在细胞间粘附、生长、分化和上皮细胞的修复中起到重要作用。一项小型、单中心研究观察到,与对照组相比,ALI/ARDS患者血浆和肺水肿液中层粘连蛋白Y2片段的表达水平明显上升^[13];肺损伤第5天层粘连蛋白Y2片段的水平升高与病死率增加密切相关,可反映肺损伤的程度。弹力蛋白是细胞外基质中另一种重要的蛋白质。在肺损伤时,弹力蛋白释放出包含赖氨酸和异赖氨酸成分的片段,这些片段可在血清、BALF和尿液中检测到^[13]。

1.6 内皮细胞损伤

目前认为,内皮细胞活性和/或损伤是ALI/ARDS的表现。内皮细胞特异性蛋白,诸如可溶性细胞间粘附分子-1(soluble intercellular adhesion molecule-1,sICAM-1)、血管形成素-1(angiopoietin-1,Ang-1)、Ang-2及内皮细胞选择素(E-selectin)的释放可能与预后密切相关,但迄今仍未证实。

2 增殖阶段

2.1 上皮细胞增生

某些特定的生长因子,如角质化细胞生长因子(keratinocyte growth factor,KGF)和肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor,HGF)是公认的肺泡Ⅱ型上皮细胞有效的促有丝分裂剂。KGF是成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor,FGF)家族中的一员,可被间充质细胞表达,然而,KGF的受体仅存在于肺上皮细胞中。目前关于ALI/ARDS患者KGF作用的临床研究尚少。HGF是一种非特异性促细胞分裂素,可由中性粒细胞、巨噬细胞、内皮细胞和成纤维细胞产生。HGF可保护细胞DNA免于破坏并诱导细胞活性。Verghese等^[14]研究发现,ALI患者水肿液HGF水平升高,且与预后不良相关。由于该研究样本量少,尚需要更大的、多中心研究进一步证实。

2.2 内皮细胞增生

血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor,VEGF)在肺中起到双重作用。VEGF不仅具有促细胞分裂的活性,也是诱导血管通透性改变的重要因子。目前认为,肺泡Ⅱ型上皮细胞、肺泡巨噬细胞和中性粒细胞均可释放VEGF。动物模型中发现,VEGF的急性过度表达可加重肺水肿。但VEGF作为ALI生物标记物的病理生理作用仍需进一步明确。

2.3 成纤维细胞增生

一般认为,ALI的纤维增殖阶段常出现较晚。实际上,在ALI诊断后的24小时之内就已经出现纤维增殖。有研究^[15]观察到,胶原循环的标记氮末端溶胶原肽Ⅲ(N-terminal procollagen peptide-III,N-PCP-III)在诊断ARDS的24小时之内即出现上升,提示纤维增殖阶段的早期上调。Marshall等^[16]监测了ARDS患者血清N-PCP-III的水平变化。他们发现,与对照组相比,ARDS患者血清N-PCP-III水平上升;与存活者相比,病死者N-PCP-III水平更是显著升高。这与BALF中分裂素活性上升相符。ARDS患者第7病日分裂素活性仍然升高,在病死者中升高更明显。这意味着纤维增殖可在ARDS早期发生,并可能提示预后不良。

3 生物标记物的联合监测

虽然有证据显示单个生物标记物在早期识别ALI,判断患者预后方面起到一定作用,但目前仍没有一个生物标记物可精确诊断或评估ALI的预后。为验证联合多种生物标记物比单个标记物评估效果更好的推测,Freemont等^[17]在外伤ICU中开展了一项回顾性研究。研究发现,在21个生物标记物中,联合检测RAGE、Ang-2、PCPⅢ、BNP、IL-10、TNF- α 和IL-8这7个标记物可较早发现外伤后ALI/ARDS的高危患者,其ROC曲线下面积(area under the ROC curve,AUC)等于0.86(95%的可信区间[CI]:0.82~0.92)。在另一项研究中,Gajic^[18]调查了预测患者死亡和ALI机械通气时间延长的临床和人口统计学参数。研究发现,联合年龄、氧合指数和第3天出现心力衰竭等因素可更好地预测患者的预后。肺损伤预测评分(lung injury prediction score,LIPS)最近也已应用于临床。在一项多中心研究中已证实其预测ALI进展的准确性(AUC=0.80,95%CI:0.78~0.82)^[19]。此外,在一项ARDS患者高PEEP与低PEEP通气疗效比较的临床研究中,联合应用6个临床参数和8个生物标记物来预测患者60天时的病死率^[20]。其中临床参数包括:APACHE

II, 器官衰竭, 年龄, 潜在病因, 肺泡 - 动脉氧梯度和平台压; 生物标记物包括: vWF, SP-D, TNFR- I , IL-6, IL-8, ICAM-1, 蛋白 C 和 PAI-1。该研究发现, 两者联合后其预测效力明显提升 (AUC=0.85)。其中 IL-8 和 SP-D 被认为在 ALI/ARDS 炎症和肺泡上皮损伤中起到重要作用。

4 小结与展望

由于机体多器官系统的相互影响, 使 ARDS/ALI 患者的临床表现存在明显差异。联合实验室和系统分子水平检测方法可在一定程度上提升我们对 ARDS/ALI 患者异常病理状态的理解。应用基因组学, 可以筛选候选基因^[20], 并行全基因序列分析; 应用大型光谱测定法在蛋白质组水平检测基因的表达^[22]; 应用血浆代谢组学研究 ALI 患者代谢途径的变化。

综上所述, 生物标记物为人类研究 ALI 的发病机制提供了广阔空间。伴随着全新生物信息学技术的应用与推广, 人类有希望识别和发现新的基因标记和蛋白分子, 并作为诊断 ALI、评估预后的生物标记物。这些发现能让我们更早洞察 ALI 患者的病情变化, 为识别药物治疗的全新靶点指明方向。

参考文献(References)

- [1] De Gruttola VG, Clax P, DeMets DL, et al. Considerations in the evaluation of surrogate endpoints in clinical trials. Summary of a National Institutes of Health workshop [J]. *Control Clin Trials*, 2001, 22: 485-502
- [2] Roca O, Gomez-Olles S, Cruz MJ, et al. Effects of salbutamol on exhaled breath condensate biomarkers in acute lung injury: prospective analysis[J]. *Crit Care*, 2008, 12: 72
- [3] McClintock DE, Starcher B, Eisner MD, et al. Higher urine desmosine levels are associated with mortality in patients with acute lung injury [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2006, 291: 566-571
- [4] Conner ER, Ware LB, Modin G, et al. Elevated pulmonary edema fluid concentrations of soluble intercellular adhesion molecule-1 in patients with acute lung injury: biological and clinical significance [J]. *Chest*, 1999, 116: 83-84
- [5] Kropski JA, Fremont RD, Calfee CS, et al. Clara cell protein (CC16), a marker of lung epithelial injury, is decreased in plasma and pulmonary edema fluid from patients with acute lung injury[J]. *Chest* 2009, 135: 1440-1447
- [6] Katzenstein A-LA. Katzenstein and Askin's surgical pathology of non-neoplastic lung disease[J]. Philadelphia, 2006, 2(4): 18
- [7] Cross LJ, Matthay MA. Biomarkers in acute lung injury: insights into the pathogenesis of acute lung injury [J]. *Crit Care Clin*, 2011, 27: 355-377
- [8] Greene KE, Ye S, Mason RJ, et al. Serum surfactant protein-A levels predict development of ARDS in at-risk patients[J]. *Chest*, 1999, 116 (1): 90-91
- [9] Bersten AD, Hunt T, Nicholas TE, et al. Elevated plasma surfactant protein-B predicts development of acute respiratory distress syndrome in patients with acute respiratory failure [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2001, 164: 648-652
- [10] Ishizaka A, Matsuda T, Albertine KH, et al. Elevation of KL-6, a lung epithelial cell marker, in plasma and epithelial lining fluid in acute respiratory distress syndrome [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2004, 286: 1088-1094
- [11] Bierhaus A, Humpert PM, Morcos M, et al. Understanding RAGE, the receptor for advanced glycation end products[J]. *J Mol Med (Berl)*, 2005, 83: 876-886
- [12] Calfee CS, Ware LB, Eisner MD, et al. Plasma receptor for advanced glycation end products and clinical outcomes in acute lung injury[J]. *Thorax*, 2008, 63: 1083-1089
- [13] Katayama M, Ishizaka A, Sakamoto M, et al. Laminin gamma2 fragments are increased in the circulation of patients with early phase acute lung injury[J]. *Intensive Care Med*, 2010, 36: 479-486
- [14] Verghese GM, McCormick-Shannon K, Mason RJ, et al. Hepatocyte growth factor and keratinocyte growth factor in the pulmonary edema fluid of patients with acute lung injury[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 1998, 158: 386-394
- [15] Chesnutt AN, Matthay MA, Tibayan FA, et al. Early detection of type III procollagen peptide in acute lung injury [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 1997, 156 (3): 840-845
- [16] Marshall RP, Bellingan G, Webb S, et al. Fibroproliferation occurs early in the acute respiratory distress syndrome and impacts on outcome[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2000, 162: 1783-1788
- [17] Fremont RD, Koyama T, Calfee CS, et al. Acute lung injury in patients with traumatic injuries: utility of a panel of biomarkers for diagnosis and pathogenesis[J]. *J Trauma*, 2010, 68: 1121-1127
- [18] Gajic O, Afessa B, Thompson BT, et al. Prediction of death and prolonged mechanical ventilation in acute lung injury [J]. *Crit Care*, 2007, 11: 53
- [19] Gajic O, Dabbagh O, Park PK, et al. Early identification of patients at risk of acute lung injury: evaluation of lung injury prediction score in a multicenter cohort study [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2011, 183: 462-470
- [20] Ware LB, Koyama T, Billheimer DD, et al. Prognostic and pathogenetic value of combining clinical and biochemical indices in patients with acute lung injury[J]. *Chest*, 2010, 137: 288-296
- [21] Wang Z, Beach D, Su L, et al. A genome-wide expression analysis in blood identifies pre-elafin as a biomarker in ARDS [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2008, 38: 724-732
- [22] Schnapp LM, Donohoe S, Chen J, et al. Mining the acute respiratory distress syndrome proteome: identification of the insulinlike growth factor (IGF)/IGF-binding protein-3 pathway in acute lung injury[J]. *Am J Pathol*, 2006, 169: 86-95