

# 脓毒症与内质网应激

陶永康 张国强

近年来,液体复苏、集束化治疗及生命支持技术广泛应用于临床,抗感染治疗和器官功能支持技术取得了长足的进步,但脓毒症的病死率仍高达 30%~70%。脓毒症治疗花费高,医疗资源消耗大,已严重威胁人类健康和生命安全<sup>[1]</sup>。深入研究脓毒症的病理生理过程及发病机制,是治疗脓毒症的基础。

## 1 内质网应激

内质网(endoplasmic reticulum, ER)是细胞内重要的细胞器,是调节蛋白质合成及合成后折叠、聚集的场所,也是胆固醇、类固醇及许多脂质合成的场所。多种生理或病理条件,例如蛋白质糖基化的抑制、钙离子的流失、蛋白质不能形成正常的二硫键结合、突变蛋白表达以及氧化还原状态的改变等会引起未折叠蛋白或错误折叠蛋白在内质网聚集,损伤内质网的正常生理功能,称为内质网应激(ER stress, ERS)<sup>[2-3]</sup>。内质网可通过激活未折叠蛋白反应(unfolded protein response, UPR)以保护由内质网所引起的细胞损伤,恢复细胞功能,包括暂停早期蛋白质合成、内质网分子伴侣和折叠酶的转录激活、内质网相关性降解的诱导<sup>[4-6]</sup>。内质网膜镶嵌有三种跨膜蛋白 IRE1 $\alpha$  (inositol-requiring 1 $\alpha$ )、PERK [double-stranded RNA-dependent protein kinase (PKR)-like ER kinase]、ATF6 (activating transcription factor 6),在正常生理状态下,这些蛋白位于内质网腔内的 N 末端与内质网分子伴侣 GRP78 (葡萄糖调节蛋白)结合,当内质网内聚集的未折叠蛋白与 GRP78 结合后,将激活这些跨膜蛋白,启动内质网应激下游信号转导过程,分别对应 IRE1 通路、PERK 通路、ATF6 通路(图 1)。内质网应激可以促进内质网对蓄积的错误折叠或未折叠蛋白质的处理,有利于维持细胞的正常功能并使之存活,这些作用既能为受损细

胞提供修复机会,又能最大限度清除过度损伤的细胞,为维护机体的生理平衡和内环境的稳定起到重要作用<sup>[7]</sup>。但是如果损伤太过严重,内环境稳定不能及时恢复,ERS 可以引起细胞凋亡,信号由促生存向促凋亡转换。

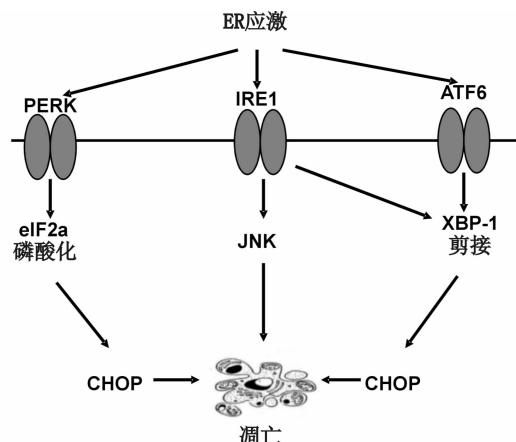


图 1 内质网应激信号传导通路

## 2 内质网应激与脓毒症细胞凋亡

在感染等因素刺激下,机体处于严重的应激状态,内环境失衡,蛋白合成/降解紊乱,可诱发内质网应激反应。轻度适当的内质网应激可清除未折叠蛋白/错误折叠蛋白,提高内质网处理未折叠蛋白/错误折叠蛋白能力,促进内环境稳定,有效抵抗感染危害;而在严重感染,刺激因素过强导致未折叠蛋白/错误折叠蛋白不能及时清除,细胞稳态不能及时回复,则内质网应激将激活相关途径诱导细胞凋亡,影响机体功能。近期研究提示内质网应激信号转导通路可能在脓毒症的病理生理过程中发挥重要作用。CLP 脓毒症模型中,内质网应激可以引起脓毒症小鼠淋巴细胞的异常凋亡, Ma 等<sup>[8]</sup>发现脓毒症小鼠中存在大量的淋巴细胞凋亡,且伴随 GRP78、CHOP 和 XBP1 mRNA 升高,说明脓毒症可激活未折叠蛋白反应及内质网应激,并引起淋巴细胞凋亡。Hiramatsu 等<sup>[9]</sup>发现静脉注射脂多糖引起内毒素血症的小鼠脾、肺、肾、肝、心脏等器官的 GRP78 明显升高,说明脓毒症可引起系统性的

内质网应激反应<sup>[10]</sup>。Schildberg 等<sup>[11]</sup>利用脂多糖处理人脐静脉内皮细胞,发现磷酸化 PERK 水平升高, caspase12、caspase9、caspase3 等激活,也说明脂多糖可触发内质网应激引起细胞凋亡。Ferlito 等<sup>[12]</sup>报道,在脓毒症小鼠模型中,多个器官的 CHOP 水平明显增高;CHOP 敲除可抑制脾脏 caspase3 的激活,减轻巨噬细胞凋亡,促进病原菌清除,增加脓毒症小鼠的存活率;而 H<sub>2</sub>S 可以降低 CHOP 水平,减轻脓毒症小鼠的炎症反应,减少巨噬细胞凋亡,增加脓毒症小鼠的存活率;故推测 H<sub>2</sub>S 可通过抑制内质网应激,对脓毒症起到保护作用。因此调控内质网应激介导的细胞凋亡可能是治疗脓毒症的新的切入点。

### 3 脓毒症激活内质网应激的机制

C/EBP-homologous protein (CHOP), 即 GADD153 (growth arrest and DNA damage inducible gene 153) 在内质网应激中扮演重要角色,被视为内质网应激介导细胞凋亡最重要的因子之一。CHOP 可作用于以下多个靶点,包括 GADD34, caspase 激活的细胞表面死亡受体和 Ero1 $\alpha$  (endoplasmic reticulum oxidoreductase 1), 超氧化内质网, 促进细胞凋亡<sup>[12]</sup>。Endo 等<sup>[13]</sup>研究表明,在脂多糖诱导的小鼠肺损伤中,转录激活因子(ATF) 4 及 XBP1 及 CHOP 的表达均有上调,而 CHOP 基因敲除则可以抑制脂多糖引起的细胞凋亡,说明脂多糖引起脓毒症可以激活内质网应激,上调 CHOP。Li 等<sup>[14]</sup>报道 Ero1 $\alpha$  可以激活 inositol triphosphate 受体 (IP3R) 诱导的钙运输(从内质网到线粒体),启动巨噬细胞的凋亡,而小干扰 RNA (siRNA) 敲低 ERO1 $\alpha$  则可以抑制细胞凋亡,揭示了 CHOP 可通过 ERO1 $\alpha$ -IP3R 通路触发钙依赖的细胞凋亡。Zinszner 等<sup>[15]</sup>发现,在 CHOP 敲除的小鼠,在药物诱发内质网应激时,其胚胎成纤维细胞程序性死亡明显减少,且 C/EBP beta (CHOP 的组成部分) 缺乏也可减少细胞的程序性死亡;通过腹腔注射衣霉素,引起肾脏灌注不足,可引起 CHOP +/+ 及 CHOP +/- 小鼠近段肾小管提前表达 CHOP,并产生类似于人类急性肾小管坏死的组织学表现;而在 CHOP -/- 的小鼠中,肾小管坏死显现明显减轻。

Gupta 等<sup>[16]</sup>研究发现 Hsp72 可增强 XBP1 mRNA 信号途径,减轻内质网应激引起的细胞凋

亡,提高细胞存活率;而抑制 XBP1 mRNA 或 IRE1 $\alpha$  则可阻滞 Hsp72 的保护作用。Kim 等<sup>[17]</sup>报道注射 LPS 可诱导内质网应激,上调 UPR 相关的标志物包括 ATF6, XBP1, 磷酸化 eIF2 $\alpha$ , ATF4, 及 Bip, CHOP, 并发现使用特异性内质网应激阻滞剂 4-phenylbutyrate (PBA) 可减轻 LPS 诱导的 NF- $\kappa$ B 和 HIF-1 $\alpha$  活性增加。Toltl 等<sup>[18]</sup>通过活化蛋白 C 抑制内质网应激,从而抑制人类血单核细胞的炎症和细胞凋亡,这可部分解释活化蛋白 C 对严重脓毒症的治疗作用。

脓毒症并发多器官功能障碍是危重症患者主要死亡原因之一,其病理生理机制较为复杂,目前尚缺乏针对性的预防及治疗措施。随着对内质网应激的深入研究,进一步证实内质网应激及其介导的细胞凋亡在脓毒症的发生发展中起到重要作用。探索内质网应激在脓毒症中的具体机制,尝试对内质网应激通路各环节进行干预,将有望为脓毒症的治疗带来新的途径。

### 参 考 文 献

- [1] Rhodes A, Evans LE, Alhazzani W, et al. Surviving Sepsis Campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock, 2016 [J]. Intensive Care Med, 2017, DOI: 10. 1007/s00134-017-4683-6. [Epub ahead of print].
- [2] Dicks N, Gutierrez K, Michalak M, et al. Endoplasmic reticulum stress, genome damage, and cancer [J]. Front Oncol, 2015, 5: 11. DOI: 10. 3389/fonc. 2015. 00011. eCollection 2015.
- [3] Brodsky JL. The protective and destructive roles played by molecular chaperones during ERAD (endoplasmic-reticulum-associated degradation) [J]. Biochem J, 2007, 404 (3): 353-363.
- [4] Zhu G, Lee AS. Role of the unfolded protein response, GRP78 and GRP94 in organ homeostasis [J]. J Cell Physiol, 2015, 230 (7): 1413-1420.
- [5] Thuerauf DJ, Marcinko M, Gude N, et al. Activation of the unfolded protein response in infarcted mouse heart and hypoxic cultured cardiac myocytes [J]. Circ Res, 2006, 99 (3): 275-278.
- [6] Belmont PJ, Chen WJ, Glembotski CC, et al. Roles for endoplasmic reticulum-associated degradation and the novel endoplasmic reticulum stress response gene Derlin-3 in the ischemic heart [J]. Circ Res, 2010, 106 (2): 307-316.
- [7] Glembotski CC. Endoplasmic reticulum stress in the heart [J]. Circ Res, 2007, 101 (10): 975-984.
- [8] Ma T, Han L, Gao Y, et al. The endoplasmic reticulum stress-mediated apoptosis signal pathway is involved in sepsis-induced abnormal lymphocyte apoptosis [J]. Eur Surg Res, 2008, 41 (2): 219-225.
- [9] Hiramatsu N, Kasai A, Hayakawa K, et al. Real-time detection and continuous monitoring of ER stress in vitro and in vivo by ES-TRAP: evidence for systemic, transient ER stress during endotoxemia [J]. Nucleic Acids Res, 2006, 34 (13): e93.
- [10] Sano R, Reed JC. ER stress-induced cell death mechanisms [J]. Biochim Biophys Acta, 2013, 1833 (12): 3460-3470.
- [11] Schildberg FA, Schulz S, Dombrowski F, et al. Cyclic AMP alleviates endoplasmic stress and programmed cell death induced by lipopolysaccharides in human endothelial cells [J]. Cell Tissue Res, 2005, 320 (1): 91-98.

- [12] Ferlito M, Wang Q, Fulton WB, et al. Hydrogen sulfide [corrected] increases survival during sepsis: protective effect of CHOP inhibition [J]. *J Immunol*, 2014, 192 (4): 1806-1814.
- [13] Endo M, Oyadomari S, Suga M, et al. The ER stress pathway involving CHOP is activated in the lungs of LPS-treated mice [J]. *J Biochem*, 2005, 138 (4): 501-507.
- [14] Li G, Mongillo M, Chin KT, et al. Role of ERO1- $\alpha$ -mediated stimulation of inositol 1, 4, 5-triphosphate receptor activity in endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis [J]. *J Cell Biol*, 2009, 186 (6): 783-792.
- [15] Zinsner H, Kuroda M, Wang X, et al. CHOP is implicated in programmed cell death in response to impaired function of the endoplasmic reticulum [J]. *Genes Dev*, 1998, 12 (7): 982-995.
- [16] Gupta S, Deepti A, Deegan S, et al. HSP72 protects cells from ER stress-induced apoptosis via enhancement of IRE1 $\alpha$ -XBPI

signaling through a physical interaction [J]. *PLoS Biol*, 2010, 8 (7): e1000410.

- [17] Kim HJ, Jeong JS, Kim SR, et al. Inhibition of endoplasmic reticulum stress alleviates lipopolysaccharide-induced lung inflammation through modulation of NF- $\kappa$ B/HIF-1 $\alpha$  signaling pathway [J]. *Sci Rep*, 2013, 3: 1142. DOI: 10.1038/srep01142
- [18] Toltl LJ, Austin RC, Liaw PC. Activated protein C modulates inflammation, apoptosis and tissue factor procoagulant activity by regulating endoplasmic reticulum calcium depletion in blood monocytes [J]. *J Thromb Haemost*, 2011, 9 (3): 582-592.

(收稿日期: 2017-02-12)

(本文编辑: 何小军)

## · 病例报告 ·

### 急性秋水仙碱中毒救治一例

张飞 韩国鑫 沈洪 黎檀实 朱海燕

患者女, 18 岁, 既往体健, 2017 年 1 月 17 日凌晨 3 点口服秋水仙碱 90 片 (0.5 mg/片), 晨 6 点左右同事发现患者剧烈呕吐, 呕吐 10 余次, 呕吐物未见胃内容物, 未见成型药片, 伴腹痛, 头晕等症状, 未予处置, 中午 11 点在同事陪同下步入急诊, 查体: 身高 160 cm, 体质量 55 kg, 神志清楚, 脉搏 130 次/min, 呼吸 20 次/min, 体温 36.5  $^{\circ}$ C, 血压 110/69 mmHg, 腹软, 上腹部压痛, 无反跳痛, 双下肢无水肿, 病理征阴性。查血常规: 血红蛋白: 159 g/L, 白细胞计数:  $10.53 \times 10^9 L^{-1}$ , 血小板计数  $266 \times 10^9 L^{-1}$ ; 血生化: ALT 15.5 U/L, AST: 126.4 U/L, LDH 1317.9 U/L, 肌酸激酶 199.3 U/L, 血钙 2 mmol/L, 血钾 3.19 mmol/L, 磷 0.22 mmol/L, BNP 335.5 pg/ml, 肌酐 62.7  $\mu$ mol/L; 凝血功能: 血浆活化部分凝血活酶时间测定 35.3 s, 血浆凝血酶原时间测定 17.1 s, 血浆 D-二聚体 6.94  $\mu$ g/mL; 毒物检查: 秋水仙碱血液浓度 140 ng/mL, 尿液浓度 950 ng/mL, 诊断急性秋水仙碱中毒。立即温水洗胃 10 000 mL, 大量补液。18 日给予收入急诊监护室, 患者出现发热, 体温 38.9  $^{\circ}$ C, 伴全身肌肉酸痛, 四肢麻木, 腹痛, 腹泻 10 余次, 入监护室后给予禁食水, 甲强龙 240 mg/d 减轻炎症反应, 大量补液, 注射用泮托拉唑钠 40 mg, 2 次/d 抑酸, 磷酸肌酸钠营养心肌, 静脉营养, 纠正电解质紊乱及补充白蛋白等支持治疗。20 日患者出现皮肤散在出血点, 肉眼血尿, 胃液呈血性, 复查血常规, 血红蛋白: 117 g/L, 白细胞计数:  $3.4 \times 10^9 L^{-1}$ , 血小板计数  $69 \times 10^9 L^{-1}$ ; 21 日白细胞计数:  $2.57 \times 10^9 L^{-1}$ ; 22 日血小板计数  $12 \times 10^9 L^{-1}$ , 给予输注血小板, 血浆治疗, 继续抑酸治疗, 给予重组人粒细胞刺激因子升白, 重组人促血小板生长因子提升血小板治疗。20 日至 1 月 23 日共输注血浆 9 U, 机采血小板 2 U。经治疗 1 月 24 日患者白细胞及血小

板计数恢复正常, 出血点及散在瘀斑消失, 仍有肌痛四肢感觉麻木, 给予停甲强龙 240 mg/d, 改为 120 mg/d, 给予经口进食。26 日甲强龙减量至 80 mg/d, 28 日减量至 40 mg/d, 31 日停激素。后患者白细胞及血小板持续增高, 28 日白细胞升至最高  $99.3 \times 10^9 L^{-1}$ , 后逐渐下降, 2 月 4 日复查白细胞计数  $12 \times 10^9 L^{-1}$ , 血小板计数  $390 \times 10^9 L^{-1}$ , 患者留有轻度肌肉酸痛, 无其他不适, 出院。

**讨论** 本例患者口服秋水仙碱量已达 0.818 mg/kg, 服药后 3 h 出现消化道症状, 24 h 后出现肌肉受损症状并有四肢麻木等神经系统受累表现, 3 d 出现血液系统受累, 白细胞及血小板明显减少, 并出现肉眼血尿, 胃液血性, 皮肤出血点瘀斑等出血情况, 症状达到最重, 经治疗 7 d 后明显缓解, 本例患者服药剂量大, 已达到文献报道的致死剂量, 但未出现多脏器功能衰竭, 最终康复。原因如下: ①患者就诊早, 发病后 8 h, 症状轻微时即来就诊, 并直接告诉所服用药物, 尽快就诊、明确毒物是所有中毒成功救治的先决因素。②尽早给予大剂量激素抗炎治疗, 在未有明显脏器功能损害即给予大剂量激素是救治成功的关键。糖皮质激素能对抗多种原因引起的炎症, 大剂量的糖皮质激素稳定溶酶体膜, 阻止或减少蛋白水解酶的释放, 减少心肌抑制因子的形成, 避免或减轻了由心肌抑制因子引起的心肌收缩力下降、内脏血管收缩和网状内皮细胞吞噬功能降低等病理变化, 此外, 水解酶释放的减少也可减轻组织细胞的损害; 糖皮质激素可增强心肌收缩力、增加心排出量、扩张痉挛血管、增加肾血流量; 糖皮质激素亦能刺激骨髓造血功能, 使红细胞和血红蛋白含量增加, 大剂量可使血小板增多, 并提高纤维蛋白原浓度, 本例应用效果明显。③在心肺功能耐受情况下大量补液利尿, 稀释了药物浓度加速了药物排泄, 亦起到重要作用。④患者剧烈呕吐, 不除外呕吐出部分药物, 清除了部分毒物。⑤患者年轻, 体健, 未有任何基础疾病, 充分耐受治疗。

(收稿日期: 2017-01-07)

(本文编辑: 何小军)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-0282.2017.04.002

基金项目: 北京市自然科学基金项目 (7152136); 国家自然科学基金 (81670467)

作者单位: 1000853 北京, 解放军总医院急诊科

通信作者: 朱海燕, Email: zhuhy301@aliyun.com