

DOI: 10.13376/j.cblls/2015073

文章编号: 1004-0374(2015)05-0554-04



蒋澄宇, 北京协和医学院生物化学与分子生物学系教授, 系主任; 中国医学科学院基础医学研究所研究员, 副所长, 北京协和医院双聘教授。先后获教育部长江学者特聘教授, 国家杰出青年基金获得者, 中国青年女科学家等荣誉称号。蒋澄宇教授长期致力于呼吸系统肺损伤相关疾病, 尤其是严重呼吸窘迫综合征分子致病机理的解析及防护药物的研发, 阐述了 SARS 冠状病毒, 禽流感等流感病毒, Ebola 及微纳米颗粒等的分子致病机理。研究成果以第一作者和通讯作者发表在 *Nature*、*Nature Medicine*、*Molecular Psychiatry*、*Cell Research*、*Nature Communications* 等杂志上, SCI 他引 3 000 余次, 并获得多国专利, 部分专利曾独家转让跨国制药公司和生物技术公司。

细胞因子风暴: 急性呼吸窘迫综合征中的主宰生命之手

张艳丽, 蒋澄宇*

(中国医学科学院基础医学研究所医学分子生物学国家重点实验室, 北京100005)

摘要: 细胞因子风暴是机体对于病毒、细菌、纳米材料等外界刺激所产生的一种过度免疫。急性呼吸窘迫综合征 (acute respiratory distress syndrome, ARDS) 的发病原因是由于细胞因子风暴造成的肺毛细血管内皮细胞以及肺泡上皮细胞的弥漫性损伤。多种病毒感染, 如 SARS 冠状病毒、2009 甲型 H1N1 流感病毒、禽流感病毒, 以及某些纳米材料, 均可导致细胞因子风暴, 进而引起 ARDS。目前临床上对于细胞因子风暴与 ARDS 尚无特异性治疗手段, 多采用给予抗感染药物、糖皮质激素等非特异性联合治疗措施。靶向治疗, 如应用单克隆抗体、核酸适配体或特异的重组蛋白等措施, 是未来的治疗方向。

关键词: 细胞因子风暴; 急性呼吸窘迫综合征; 禽流感病毒

中图分类号: R563 **文献标志码:** A

Cytokine storm in ARDS

ZHANG Yan-Li, JIANG Cheng-Yu*

(State Key Laboratory of Medical Molecular Biology, Institute of Basic Medical Sciences,
Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100005, China)

Abstract: Cytokine storm is an excessive immunity for the exposure to the viruses, bacteria, nano materials and *et al.* Acute respiratory distress syndrome (ARDS) is characterized by the diffuse damage of capillary endothelial cells and alveolar epithelial cells, due to the cytokine storm in the lung. A variety of viral infections, such as SARS coronavirus, 2009 H1N1 influenza virus, avian influenza virus, and some nanomaterials, can lead to cytokine storm, thereby causing ARDS. No specific treatment for cytokine storm and ARDS has been available. Targeted therapy, such as monoclonal antibodies, aptamers, or specific recombinant protein, is potential therapeutic method in the future.

Key words: cytokine storm; ARDS; avian influenza virus

收稿日期: 2015-03-03

*通信作者: E-mail: jiang@pumc.edu.cn

细胞因子风暴, 又称为细胞因子瀑布级联(cytokine cascade), 或高细胞因子血症(hypercytokinemia), 最早由 Ferrara 等^[1]于 1993 年在移植抗宿主病(graft-versus-host disease, GVHD)中提出, 是机体对于病毒、细菌、纳米材料等外界刺激所产生的一种过度免疫。细胞因子风暴中, 细胞因子与中性粒细胞、巨噬细胞之间通过特定的正反馈机制, 使多种细胞因子在组织、器官中异常升高, 最终导致单器官或多器官损伤、功能衰竭而死亡^[2]。急性呼吸窘迫综合征(acute respiratory distress syndrome, ARDS)是临床常见危重症, 其发病急、病情重、治疗手段有限, 病死率高达 40%~70%。ARDS 的根本发病原因即细胞因子风暴: 肺组织中炎症反应失控, 过度免疫反应使大量的免疫细胞在肺中激活、募集。异常升高的细胞因子与过度激活的免疫细胞, 造成肺毛细血管内皮细胞以及肺泡上皮细胞弥漫性损伤, 大量渗出液聚集使气道阻塞, 临床表现为急性非心源性肺水肿和顽固性低氧血症($\text{PaO}_2/\text{FIO}_2 \leq 300 \text{ mmHg}$)。目前临床公认的 ARDS 诊断标准是 2011 年柏林标准, 从起病时间、低氧血症、肺水肿来源、X 线胸片及其他生理学紊乱 5 个方面进行诊断^[3]。

细胞因子在病毒感染中具有重要作用。多数病毒感染所诱导的促炎细胞因子升高, 可促进机体细胞对这些入侵病毒的清除。病毒成功清除后, 促炎细胞因子在负向免疫调控网络, 如 Th2、Treg 等细胞及抗炎细胞因子的作用下, 回归正常, 疾病消退。然而, 在某些情况下, 病毒感染却导致机体免疫调控网络失衡, 引起的细胞因子风暴导致疾病恶化。如在感染巨细胞病毒的 IL10 基因敲除小鼠中, IL-6 等促炎细胞因子的显著升高, 虽然可以降低病毒载量, 细胞因子风暴却导致疾病更加严重^[4]。

多种病毒感染, 如 SARS 冠状病毒、2009 甲型 H1N1 流感病毒、禽流感病毒, 均可导致细胞因子风暴, 其重症感染患者的血清中 IL-17、IP-10、IL-6、KC、G-CSF、GM-CSF、MCP-1、MIG 等细胞因子的水平显著增高。细胞因子风暴在上述病毒导致的 ARDS 中具有重要作用^[5-9]。这些病毒感染后机体免疫系统的应答, 本意是要将病毒清除, 结果却被病毒诱发产生了失控的过激反应, 免疫调控网络失衡、负反馈的缺失和正反馈的不断自我放大, 使得多种细胞因子异常升高, 最终导致单或多器官损伤、功能衰竭而致死。其实, 最终的罪魁祸首并

非病毒本身, 而是病毒劫持的机体自身免疫系统。其过度应答酿成细胞因子风暴, 从而造成器官损伤, 扼住了生命的咽喉。离开了宿主, 病原体原本并不能如此兴风作浪^[10]。

2003 年的新发传染性疾病严重急性呼吸综合征(severe acute respiratory syndrome, SARS), 其病原体 SARS 冠状病毒属于冠状病毒科, 冠状病毒属。冠状病毒广泛存在于自然界, 是成人普通感冒的主要病原之一。然而为什么这种新发现的 SARS 冠状病毒, 导致了远远高于其他已知冠状病毒的病死率? 细胞因子风暴在其中就发挥了重要作用。Xu 等^[7]通过对 SARS 患者发病早、中(进展期)、晚(终末期)和恢复期的血及肺与淋巴组织中的细胞因子表达谱进行动态分析, 发现 SARS 冠状病毒感染诱导以 γ 干扰素诱导 10 kD 蛋白(Interferon-gamma inducible protein 10, IP-10)为主要代表的炎症趋化因子升高, 导致血管内皮细胞和呼吸道上皮细胞损伤, 引起急性肺损伤。而台湾 88 例 SARS 患者血清检测也证实, SARS 冠状病毒诱发了 γ 干扰素相关联的细胞因子风暴, 进而导致 SARS 患者的免疫病理损伤^[8]。而通过对广州部分 SARS 患者进行回顾性统计学分析发现, 在确诊的重症 SARS 患者中适当使用糖皮质激素, 可以降低病死率和缩短住院时间^[11]。

2009 年甲型 H1N1 流感病毒导致的 ARDS, 同样以失控的过度炎症为特征。细胞因子风暴, 而非病毒感染导致了肺部损伤^[12]。研究发现, 2009 年甲型 H1N1 流感通过上调 IL-17、IP-10 的表达而导致 ARDS。在患者血清中, IL-17、IP-10 均显著升高, 而抗 IL-17、IP-10 单克隆抗体对小鼠在感染甲型 H1N1 流感病毒导致的急性肺损伤模型中发挥了重要保护作用^[13-14]。IL-17、IP-10 单克隆抗体是美国针对风湿等疾病的临床 II 期和 III 期试验用药, 其中诺华公司的 IL-17 单克隆抗体 AIN457(secukinumab)已经在强直性脊柱炎的临床 III 期试验中获得良好疗效。有针对性地使用已在临床应用的细胞因子的特异性单克隆抗体, 靶向治疗急性肺损伤, 具有快速、安全的优势。

Imai 等^[15]发现 H5N1 禽流感病毒通过 TLR4-TRIF-TRAF6-I κ B-NF- κ B 通路引起过度免疫, 导致 ARDS, 从而揭示了激素治疗 ARDS 的分子病理机制。研究发现 H5N1 禽流感病毒导致宿主细胞产生氧化应激(ROS), 氧化应激产生了 TLR4 受体的配

体氧化磷脂 oxPAPC, 肺泡巨噬细胞膜表面的 TLR4 受体被激活, 通过 TRIF-TRAF6-I κ B 激酶释放大量的转录因子 NF- κ B, 从而引起细胞因子风暴而使肺泡损伤, 导致急性肺损伤。针对 2013 年爆发的 H7N9 高致病禽流感, 通过对 47 例 H7N9 肺炎患者的血浆检测, 研究者发现 H7N9 感染会使患者血浆中 Ang II 的水平显著上调^[16], 并引发细胞因子风暴, 其中 MIF、SCF、MCP-1、HGF、SCGF- β 水平与疾病严重程度相关, MIF、SCF、MCP-1、HGF、SCGF- β 、IP-10、IL-18、IFN- γ 可相对独立地预测疾病转归 (in press)。

不仅病原体可导致细胞因子风暴, 经酰胺化、羧基化等功能化基因修饰的可溶性碳纳米管纳米材料, 也可通过细胞因子风暴导致急性肺损伤, 而应用糖皮质激素则取得显著治疗作用^[17]。

目前临床上对于细胞因子风暴与 ARDS 尚无特异性治疗手段, 多采用给予抗感染药物、糖皮质激素、营养支持、人工通气辅助等非特异性联合治疗措施。近年来有靶向治疗措施, 针对于细胞因子风暴中某种特异细胞因子进行靶向治疗, 如靶向于特异细胞因子的单克隆抗体或核酸适配体 (aptamer), 或者特异的重组蛋白, 先后应用于临床。另外, 尚有新发展起来的血液净化治疗措施^[18-21]。

目前临床应用最多且最有效的辅助治疗药物仍为糖皮质激素。糖皮质激素非特异性地抑制 ARDS 的炎症反应。糖皮质激素入血液后, 大部分与皮质素结合蛋白及白蛋白相结合成为复合体, 少量游离的激素扩散通过细胞膜而进入胞浆, 与糖皮质激素受体结合后, 进入细胞核诱导或抑制炎症相关基因的表达, 发挥抗炎作用。使用激素的副作用较大, 长期使用副作用更加明显, 例如长期使用糖皮质激素容易引起二重感染、糖尿病、骨质疏松、高血压和骨坏死等副作用。糖皮质激素的临床应用目前处于摸索阶段, 存在较大的随意性和不确定性, 缺乏对给予患者激素治疗的起始时间点、激素个体化应用剂量以及何时终止激素应用等关键问题进行指导的治疗标准。

靶向治疗细胞因子风暴中的特异细胞因子, 应用其单克隆抗体以拮抗病理情况下的体液促炎因子来减轻细胞因子风暴, 或应用特异重组蛋白调节细胞因子风暴, 有望减轻 ARDS。例如, 应用 TNF- α 单抗治疗败血症的临床试验中, 其对死亡结局的影响减少 3.5% 左右^[21]。粒细胞集落刺激因子 G-CSF

可促进粒细胞的成熟, 调节炎症反应的进程与平衡, 在应用其重组蛋白治疗肺炎的临床试验中, 有结果显示减少了 ARDS 及弥漫性血管内凝血的发生^[22-24]。虽然目前已经进行的临床试验大多数结果并不理想, 但是随着更多单抗、重组蛋白的开发并被 FDA 批准, 以及在相关的自身免疫性疾病等临床治疗试验中取得良好疗效, 以单抗、重组蛋白靶向治疗 ARDS 的炎症反应仍然展现出光明前景^[21-24]。

应用指数富集的配体系统进化技术 (systematic evolution of ligands by exponential enrichment, SELEX) 进行人工进化筛选出的核酸适配体, 是一种特异、高亲和性地识别靶分子的单链寡核苷酸片段^[25]。目前已筛选出针对多种靶分子的核酸适配体, 有的已经在临床中应用并取得疗效, 如靶向于凝血酶的核酸适配体已经应用于急性冠脉综合征等疾病的 II 期临床试验^[26]。核酸适配体在分析、疾病诊断、治疗等方面均显示出重要的应用前景, 未来对于核酸适配体筛选手段的进一步更新与改进, 以发现更多特异性、亲和力都具优异性能的新的核酸适配体, 是拓展核酸适配体应用于 ARDS 治疗的关键所在。

近年来发展起来的体外血液净化, 以一种非特异、广谱的方法, 非靶向地去除掉血液中的细胞因子, 调节过度激活的免疫反应, 并促进免疫重建, 目前尚需更多的临床数据支持其推广^[18]。

细胞因子风暴在 ARDS 中扮演着重要的角色, 目前尚无特异性治疗手段。对于其发生、发展机制进行深入研究, 找到调控免疫平衡的节点, 从而控制细胞因子风暴的产生、进展, 减轻肺毛细血管内皮细胞以及肺泡上皮细胞的损伤, 是最终达到有效治疗 ARDS 的途径。

[参 考 文 献]

- [1] Ferrara JL, Abhyankar S, Gilliland DG. Cytokine storm of graft-versus-host disease: a critical effector role for interleukin-1. *Transplant Proc*, 1993, 25: 1216-7
- [2] Osterholm MT. Preparing for the next pandemic. *N Engl J Med*, 2005, 352: 1839-42
- [3] Force AD, Ranieri VM, Rubenfeld GD, et al. Acute respiratory distress syndrome: the Berlin Definition. *JAMA*, 2012, 307: 2526-33
- [4] Oakley OR, Garvy BA, Humphreys S, et al. Increased weight loss with reduced viral replication in interleukin-10 knock-out mice infected with murine cytomegalovirus. *Clin Exp Immunol*, 2008, 151: 155-64
- [5] Mauad T, Hajjar LA, Callegari GD, et al. Lung pathology in fatal novel human influenza A (H1N1) infection. *Am J*

- Respir Crit Care Med, 2010, 181: 72-9
- [6] Deng R, Lu M, Korteweg C, et al. Distinctly different expression of cytokines and chemokines in the lungs of two H5N1 avian influenza patients. *J Pathol*, 2008, 216: 328-36
- [7] Xu J, Zhong S, Liu J, et al. Detection of severe acute respiratory syndrome coronavirus in the brain: potential role of the chemokine mig in pathogenesis. *Clin Infect Dis*, 2005, 41: 1089-96
- [8] Huang KJ, Su IJ, Theron M, et al. An interferon- γ -related cytokine storm in SARS patients. *J Med Virol*, 2005, 75: 185-94
- [9] Writing Committee of the WHO CoCAoPI, Bautista E, Chotpitayasunondh T, et al. Clinical aspects of pandemic 2009 influenza A (H1N1) virus infection. *N Engl J Med*, 2010, 362: 1708-19
- [10] Casadevall A, Pirofski LA. Microbiology: ditch the term pathogen. *Nature*, 2014, 516: 165-6
- [11] Chen RC, Tang XP, Tan SY, et al. Treatment of severe acute respiratory syndrome with glucocorticoids: the Guangzhou experience. *Chest*, 2006, 129: 1441-52
- [12] Li C, Yang P, Zhang Y, et al. Corticosteroid treatment ameliorates acute lung injury induced by 2009 swine origin influenza A (H1N1) virus in mice. *PLoS One*, 2012, 7: e44110
- [13] Li C, Yang P, Sun Y, et al. IL-17 response mediates acute lung injury induced by the 2009 pandemic influenza A (H1N1) virus. *Cell Res*, 2012, 22: 528-38
- [14] Wang W, Yang P, Zhong Y, et al. Monoclonal antibody against CXCL-10/IP-10 ameliorates influenza A (H1N1) virus induced acute lung injury. *Cell Res*, 2013, 23: 577-80
- [15] Imai Y, Kuba K, Neely GG, et al. Identification of oxidative stress and Toll-like receptor 4 signaling as a key pathway of acute lung injury. *Cell*, 2008, 133: 235-49
- [16] Huang F, Guo J, Zou Z, et al. Angiotensin II plasma levels are linked to disease severity and predict fatal outcomes in H7N9-infected patients. *Nat Commun*, 2014, 5: 3595
- [17] Zhang Y, Deng J, Zhang Y, et al. Functionalized single-walled carbon nanotubes cause reversible acute lung injury and induce fibrosis in mice. *J Mol Med (Berl)*, 2013, 91: 117-28
- [18] Xu X, Dai H, Jia C, et al. Extracorporeal blood therapy in sepsis and acute respiratory distress syndrome: the "purifying dream". *Chin Med J (Engl)*, 2014, 127: 4263-70
- [19] Kang JH, Super M, Yung CW, et al. An extracorporeal blood-cleansing device for sepsis therapy. *Nat Med*, 2014, 20: 1211-6
- [20] Fanelli V, Vlachou A, Ghannadian S, et al. Acute respiratory distress syndrome: new definition, current and future therapeutic options. *J Thorac Dis*, 2013, 5: 326-34
- [21] Marshall JC. Such stuff as dreams are made on: mediator-directed therapy in sepsis. *Nat Rev Drug Discov*, 2003, 2: 391-405
- [22] Nelson S, Belknap SM, Carlson RW, et al. A randomized controlled trial of filgrastim as an adjunct to antibiotics for treatment of hospitalized patients with community-acquired pneumonia. CAP Study Group. *J Infect Dis*, 1998, 178: 1075-80
- [23] Nelson S, Heyder AM, Stone J, et al. A randomized controlled trial of filgrastim for the treatment of hospitalized patients with multilobar pneumonia. *J Infect Dis*, 2000, 182: 970-3
- [24] Root RK, Lodato RF, Patrick W, et al. Multicenter, double-blind, placebo-controlled study of the use of filgrastim in patients hospitalized with pneumonia and severe sepsis. *Crit Care Med*, 2003, 31: 367-73
- [25] Jayasena SD. Aptamers: an emerging class of molecules that rival antibodies in diagnostics. *Clin Chem*, 1999, 45: 1628-50
- [26] Sundaram P, Kurniawan H, Byrne ME, et al. Therapeutic RNA aptamers in clinical trials. *Eur J Pharm Sci*, 2013, 48: 259-71