

- problems in the application of focused ultrasound for blood-brain barrier disruption[J]. *Ultrasonics*, 2008, 48(4): 279-296.
- [17] Hynynen K. Macromolecular delivery across the blood-brain barrier[J]. *Methods Mol Biol*, 2009, 480: 175-185.
- [18] 汪峰, 梅杰, 王智彪, 等. 低功率聚焦超声联合微泡对兔血脑屏障通透性影响的实验研究[J]. *中华实验外科杂志*, 2010, 26(3): 277-280.
- [19] Mei J, Cheng Y, Song Y, et al. Experimental study on targeted methotrexate delivery to the rabbit brain via magnetic resonance imaging-guided focused ultrasound[J]. *J Ultrasound Med*, 2009, 28(7): 871-880.
- [20] Liu HL, Hua MY, Chen PY, et al. Blood-brain barrier disruption with focused ultrasound enhances delivery of chemotherapeutic drugs for glioblastoma treatment[J]. *Radiology*, 2010, 255(2): 415-425.
- [21] Hynynen K, McDannold N, Vykhodtseva N, et al. Focal disruption of the blood-brain barrier due to 260-kHz ultrasound bursts: a method for molecular imaging and targeted drug delivery [J]. *J Neurosurg*, 2006, 105(3): 445-454.
- [22] Chen WS, Matula TJ, Brayman AA, et al. A comparison of the fragmentation thresholds and inertial cavitation doses of different ultrasound contrast agents[J]. *J Acoust Soc Am*, 2003, 113(1): 643-651.
- [23] Choi JJ, Feshitan JA, Baseri B, et al. Microbubble-size dependence of focused ultrasound-induced blood-brain barrier opening in mice in vivo[J]. *IEEE Trans Biomed Eng*, 2010, 57(1): 145-154.
- [24] Martin E, Jeanmonod D, Morel A, et al. High-intensity focused ultrasound for noninvasive functional neurosurgery [J]. *Ann Neurol*, 2009, 66(6): 858-861.
- [25] McDannold N, Clement GT, Black P, et al. Transcranial magnetic resonance imaging-guided focused ultrasound surgery of brain tumors: initial findings in 3 patients[J]. *Neurosurgery*, 2010, 66(2): 323-332.

(收稿日期: 2011-02-15 修回日期: 2011-05-15)

· 综 述 ·

滤泡辅助 T 细胞的研究进展

杨学超^{1,2}综述, 石云¹, 邹全明^{1△}审校

(1. 第三军医大学临床微生物及免疫学教研室暨重庆市生物制药技术中心, 重庆 400038;

2. 第三军医大学学员旅 17 队, 重庆 400038)

关键词: 原癌基因蛋白质 c-bcl-2; 白细胞介素 21; 滤泡辅助 T 细胞; CXCR5; 自身免疫疾病

doi: 10.3969/j.issn.1671-8348.2011.23.037

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2011)23-2376-04

CD4⁺T 淋巴细胞亚群的分析和功能研究是近年免疫学研究的一个热点。由于表达的趋化因子、转录因子及分泌细胞因子的不同, CD4⁺T 细胞被分为 5 类亚群: Th1、Th2、Th17、调节性 T 细胞及滤泡辅助 T 细胞(T follicular helper cells, Tfh)。Tfh 是近年来新发现的真正意义上的辅助 B 细胞功能的 CD4⁺T 细胞亚群。现就 Tfh 细胞的分化最新研究进展及其在免疫疾病中发挥的作用进行综述。

Tfh 细胞的功能与其表达的各种趋化因子、细胞因子、转录因子以及相应因子受体是密不可分的: CXCR5(CXC receptor 5)与 CXCL13/BCA-1(B cell activating lymphoma receptor-1)相互作用, 使 Tfh 细胞被募集到淋巴滤泡, 参与 B 细胞的免疫应答; 表达于 Tfh 细胞表面的 CD40L 和诱导性协同刺激分子(inducible co-stimulator, ICOS)分别与 B 细胞表面的 CD40 和配体(ICOS ligand, ICOSL)相作用, 为 B 细胞活化提供条件; Tfh 细胞分泌的白细胞介素 21(IL-21), 可刺激 B 细胞的增殖、分化及类别转换。

1 Tfh 细胞的发现

体液免疫应答很多关键的过程都发生在生发中心(germinal center, GC), 例如: 体细胞突变、免疫球蛋白(immunoglobulin, Ig)类别转换、抗体的高亲和力成熟、浆细胞分化以及记忆 B 细胞的产生等。由于 Th2 辅助 T 细胞产生的白细胞介素 4(IL-4)细胞因子可以诱导 B 细胞的活化、增殖及抗体产生和类

别转换, 曾经一度被认为是辅助 B 细胞的主角。但是缺乏 IL-4 的小鼠仍然可以产生 T 细胞依赖的抗体^[1], 这使人们意识到 Th2 细胞并不是主要辅助 B 细胞产生抗体的物质。而近年研究发现, 位于淋巴滤泡、表型为 CXCR5⁺CD40L⁺ICOS⁺的 T 细胞亚群, 才被发现有辅助 B 细胞产生抗体、发挥体液免疫作用的真正的辅助细胞, 命名为滤泡辅助 T 细胞。

2 与 Tfh 细胞功能相关的分子

2.1 CXCR5 CXCR5 在初始 CD4⁺T 细胞和 CD8⁺T 细胞上无表达, 但高表达于成熟的 B 细胞^[2]。当初始 T 细胞进入外周淋巴器官的 T 细胞区时, CXCR5 可一过性地表达于活化的 CD4⁺T 细胞表面, 此时的细胞具有迁移到淋巴滤泡的能力, 但是大部分的活化 CD4⁺T 细胞不久便丧失了其表达, 只有一部分继续表达 CXCR5, 从而定位于淋巴滤泡, 同时表达 ICOS、CD40L 和分泌 IL-21 等, 发挥着辅助 B 细胞的功能, 该类细胞便是滤泡辅助 T 细胞^[3]。

初始的 T 细胞不表达 CXCR5, 而是表达 CCR7 和 CD62L, 在外周淋巴器官 T 细胞区高内皮微静脉产生的 CCL21 的引导下, 从外周循环进入 T 细胞区。当抗原递呈细胞(antigen presenting cell, APC)呈递的 MHC-Ag 复合物和 B7 分子分别作用于初始 T 细胞表面的 T 细胞受体 and CD28 后, 初始 T 细胞被活化, 高水平表达 CXCR5 和 ICOS 分子。

CXCR5 与其配体 CXCL13/BCA-1(B cell activating lym-

phoma receptor-1) 在淋巴细胞迁移到次级淋巴滤泡的过程中发挥重要的作用。Tfh 细胞在 CXCR5 配体 CXCL13 的趋化吸引下定位于 B 细胞滤泡,在那里它们直接辅助 B 细胞。CXCR5 是 Tfh 细胞迁移到外周淋巴器官 B 细胞区的关键的“运输分子”^[4]。缺乏 CXCR5 或者 CXCL13 的小鼠脾的滤泡结构发生破坏,这是由于淋巴细胞没有准确到达该部位造成的。

2.2 ICOS ICOS 属于 CD28 家族,并且表达于活化的 T 细胞表面。ICOS 的配体(ICOSL)为 B7h 分子,广泛地表达于包括 B 细胞在内的多种 APC 细胞表面。因此,ICOS-B7h 分子的相互作用是 T-B 淋巴细胞作用的基础,是 T 细胞发挥效应、抗体的产生和 GC 形成的关键^[5]。

此外,ICOS 与 ICOSL 的相互作用也对 Tfh 细胞的产生和维持以及 GC 的形成发挥重要作用。人和小鼠缺乏 ICOS 导致 Tfh 细胞大量减少,并且 B 细胞成熟及免疫球蛋白同型转换障碍^[6],这些结果说明 ICOS 对于 Tfh 细胞的分化是十分重要的。还有实验表明,ICOS 高表达于人类扁桃体 GC 区亮带中的 CXCR5⁺ T 细胞表面,并且有效地支持了免疫球蛋白的产生^[3]。

ICOS 局限于表达 IL-21 的 Th 细胞亚群^[6]。将小鼠 APC 细胞上的 B7h 去除,导致 T 细胞 IL-21 的表达下降;而 Tfh 细胞正是通过 IL-21 发挥生物学作用的,因此 ICOS 是 Tfh 细胞的重要共刺激分子。

2.3 Bcl-6 Bcl-6(B-cell CLL/lymphoma-6, zinc finger protein 5) 是 Tfh 细胞不可或缺的转录因子。转录因子决定 T 细胞的命运,比如 T-bet 决定 Th1 细胞分化和细胞因子产生;GATA3 和 c-Maf 决定 Th2 细胞因子产生。研究表明,Bcl-6 与 Tfh 的分化相关,并且 Bcl-6 的表达严格限制于生发中心 B 细胞^[7-8]。Bcl-6 缺乏的小鼠出现多器官炎症疾病,IgE 的生成增多并且出现了 GC 缺陷的反应^[9]。

Tfh 细胞表达 Bcl-6,Th1、Th2 和 Th17 细胞却不表达 Bcl-6,这是因为 Bcl-6 的表达抑制了诱导这些细胞因子的产生。Bcl-6 是通过与 DNA 结合发挥作用的。它结合到调节 T-bet 和 ROR γ t 的启动子上,从而分别抑制了 Th1 和 Th17 的表达^[10]。此外,Bcl-6 还能抑制小 RNA 的表达,从而解除了对 Tfh 细胞的抑制。

Bcl-6 通过抑制其他细胞系分化的途径促使 Tfh 细胞生成,因此 Bcl-6 缺陷的小鼠将会出现 Tfh 细胞的缺失,并且造成生发中心 T 细胞与 B 细胞反应的丧失。因此,Bcl-6 是 Tfh 细胞不可或缺的转录因子。

2.4 IL-21 IL-21 在免疫球蛋白的产生和生发中心 GC 的形成中发挥重要的作用^[11]。该类分子是一种能共刺激淋巴细胞增殖并可在体外诱导自然杀伤细胞(natural killer cell, NK cell)分化的细胞因子^[12]。IL-21 主要由 Tfh、Th17 和 NK T 细胞产生,Th1、Th2 虽然也可分泌 IL-21,但是水平较低。IL-21 的受体(IL-21R)分布广泛,表达于多种细胞,如 B 细胞,Tfh、Th17 和 NK T 细胞,但主要以 B 细胞作为其靶细胞。大量研究表明,Tfh 细胞与 Th1、Th2 细胞相比,表达的 IL-21 的数量更多。

IL-21 可诱导所有 B 细胞亚群分化为 Ig 分泌细胞,分泌大量的 IgM、IgG 和 IgA,还可以调节 Ig 的同型转换。这些功能是 IL-21 通过与 CD40 单克隆抗体共同完成的。当两者联合时,可刺激 B 细胞诱导其表达酶活化诱导的胞嘧啶脱氨酶(enzyme activation-induced cytidine deaminase, AID)和 B 细胞成熟蛋白 1(B-lymphocyte maturation protein-1, Blimp-1)。后两

者则分别在 Ig 类别转换和 B 细胞向浆细胞分化中起着关键的作用^[13]。IL-21 在 CD40 单克隆抗体的共同作用下,刺激人 B 细胞分化为浆细胞的效能是 IL-10 作用的 100 倍。

并且有多个实验证明,Tfh 细胞本身也表达 IL-21R,因此,Tfh 细胞的产生是由 IL-21 通过自分泌的形式介导的^[14-15]。通过自分泌的形式,促使 Tfh 细胞表达 CXCR5 和 ICOS,并且诱导了 Tfh 细胞的分化。

3 Tfh 细胞的功能

递呈有 MHC-Ag 复合物的 B 细胞与 CXCR5⁺ 的 Tfh 细胞相遇、接触后有利于 CD40-CD40L 依赖的 B 细胞激活,并且 Tfh 细胞上调 c-Maf,继而高表达 IL-21,后者通过自分泌形式作用于 Tfh 表面的 IL-21R,进一步上调转录因子 Bcl-6 的表达。同时,IL-21 作用于 B 细胞表面的 IL-21R,使得 B 细胞增殖分化、Ig 类别转换和抗体亲和力成熟^[13],进而发挥体液免疫作用。

在利士曼原虫感染的小鼠模型中,可以发现在 B 细胞滤泡和生发中心表达 IL-4 的 Th 细胞。这些 Th 细胞又以 CXCR5、ICOS、IL-21 和 Bcl-6 为特异性标记^[16]。同时,有相关研究表明 Tfh 细胞可以分泌 IFN- γ 、IL-4 和 IL-17^[17],这些细胞因子可以加快生发中心的形成和抗体的产生。另有研究表明,Tfh 细胞可以产生与 Th1、Th2 和 Th17 相关的分子,因此,Tfh 有可能对这些细胞分化有潜在的辅助。

4 Tfh 细胞与临床疾病

尽管 Tfh 近年才逐渐明确,但已经知道 Tfh 功能失调与多种疾病发生有关,包括自身免疫性疾病、免疫缺陷病、肿瘤以及移植排斥等。

4.1 Tfh 细胞与自身免疫性疾病 在正常情况下,Tfh 表达 CXCR5,并定位于淋巴组织中 B 细胞滤泡中。但在异常免疫反应中,如自身免疫性疾病患者非淋巴组织中存在 Tfh 细胞,可能与这些非淋巴组织中产生 CXCL13 有关。

非淋巴组织部位的 Tfh 细胞产生大量的 IL-21,参与和导致了 T 细胞介导的慢性自身免疫性疾病。在这些病损部位,常伴有大量活化的淋巴细胞的浸润,并伴有异位 GC 的形成。这些异位 GC 中的 B 细胞可能通过体细胞抗原受体 V 区高频突变,产生高亲和力抗体^[18]。

产生过多高亲和性的抗体在自身免疫疾病中发挥了关键的作用,因此在 GC 反应中出现的抗体型成熟细胞数量必须受到严格控制。绝大多数的 B 细胞反应依赖于 T 细胞的辅助。因此,T 细胞功能或诱导耐受异常对于抗体特异性的选择具有重要影响。

自身抗体产生期间有 GC 形成并且涉及 Tfh 细胞异常,包括重要 Tfh 细胞相关分子如 CD40L、ICOS 和 IL-21 过表达或低表达。

在系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)的患者和小鼠中,阻断 CD40-CD40L 相互作用可阻止 GC 形成、自身抗体产生和 GC 样 B 细胞和浆母细胞在外周血异常聚集。阻断 ICOS-ICOSL 相互作用或中和 IL-21 可以改善 SLE 和类风湿关节炎动物模型的病情;增强 ICOS 的表达能增加 IL-21 的产生,并促进 B 细胞激活,分泌病理性自身抗体^[18]。已有许多试验证明 IL-21 在自身免疫疾病中发挥重要的作用^[19-21]。在 SLE 临床的研究中发现,约有 1/3 受检的患者,Tfh 的标记物升高,这说明了 Tfh 细胞与 SLE 有着密切关系^[22]。

4.2 Tfh 细胞与 T 细胞淋巴瘤 血管免疫母细胞性 T 细胞

淋巴瘤(angioimmunoblastic T-cell lymphoma, AITL)是一种具有特殊表型和基因型的外周血 T 细胞淋巴瘤,最近有研究表明,Tfh 细胞是该疾病的始动和重要因素^[23]。

AITL 是 CD4⁺CD10⁺ T 淋巴细胞,并且在生发中心的亮带表达许多与 Tfh 类似的细胞标记物^[24],如: CXCR5、死亡受体-1(programmed death-1, PD-1)、CXCL13、ICOS 及 Bcl-6。因此,Tfh 细胞为 AITL 的发病提供了一个完美的模型,可用来解释 AITL 发病的病例和生理特征。

CXCL13 可以促使淋巴结内 B 细胞滤泡增生,进而诱发浆细胞增殖和高丙种球蛋白血症;IL-21 可以促使 B 细胞分化和抗体类别转换,在 AITL 的发病中可能也发挥一定的作用^[25]。

4.3 Tfh 细胞与免疫缺陷 T 细胞不能有效辅助 B 细胞可能是某些体液免疫缺陷病的基础。与 Tfh 细胞功能相关的某些分子如: CXCR5、CD40/CD40L 或者 ICOS/ICOSL 等基因缺陷的小鼠均可发生体液免疫缺陷。当人或小鼠缺乏功能性 CD40L、ICOS 或 CD28 时, CXCR5⁺CD4⁺ T 细胞也会发生缺陷。

因为 Tfh 细胞表达一系列涉及辅助 B 细胞的分子,如 ICOS、CD40L 和 IL-21 等,在免疫缺陷情况下,Tfh 细胞发育或功能异常可能导致 B 细胞分化障碍和体液免疫缺陷。

5 结 语

Tfh 细胞是 CD4⁺ 效应 T 细胞的一种新的亚群。因其表达 CXCR5、Bcl-6 和 IL-21 使得其存在于淋巴滤泡中,并且辅助 B 细胞的活化和分化。IL-21 不仅是刺激 B 细胞增殖的重要的辅助因子,同时还以自分泌的方式帮助 Tfh 细胞的生长和分化,初步的研究也表明其与某些人类疾病的发生和发展密切相关,这为这些疾病的诊断和治疗提供了新的方向。

但是,仍有许多问题没有解决,比如 Tfh 细胞长期表达 CXCR5 的原因;Tfh 与 Th17 同样可以诱发自身免疫疾病,它们之间的关系是什么;如何通过有效抑制 Tfh 的效应分子来治疗人类自身免疫疾病,这些都需要进一步研究和探讨。

参考文献:

- [1] Kopf M, Le Gros G, Coyle A J, et al. Immune responses of IL-4, IL-5, IL-6 deficient mice [J]. *Immunol Rev*, 1995, 148:45-69.
- [2] Moser B, Schaerli P, Loetscher P. CXCR5⁺ T cells: follicular homing takes center stage in T-helper-cell responses [J]. *Trends Immunol*, 2002, 23(5):250-254.
- [3] Schaerli P, Willmann K, Lang AB, et al. CXC chemokine receptor 5 expression defines follicular homing T cells with B cell helper function [J]. *J Exp Med*, 2000, 192(11):1553-1562.
- [4] Linterman MA, Vinuesa CG. Signals that influence T follicular helper cell differentiation and function [J]. *Semin Immunopathol*, 2010, 32(2):183-196.
- [5] Dong C, Juedes AE, Temann UA, et al. ICOS co-stimulatory receptor is essential for T-cell activation and function [J]. *Nature*, 2001, 409(6816):97-101.
- [6] Akiba H, Takeda K, Kojima Y, et al. The role of ICOS in the CXCR5⁺ follicular B helper T cell maintenance in vivo [J]. *J Immunol*, 2005, 175(4):2340-2348.
- [7] Crotty S, Johnston RJ, Schoenberger SP. Effectors and memories: Bcl-6 and Blimp-1 in T and B lymphocyte dif-

- ferentiation [J]. *Nat Immunol*, 2010, 11(2):114-120.
- [8] Yu D, Rao S, Tsai LM, et al. The transcriptional repressor Bcl-6 directs T follicular helper cell lineage commitment [J]. *Immunity*, 2009, 31(3):457-468
- [9] Ye BH, Cattoretti G, Shen Q, et al. The BCL-6 proto-oncogene controls germinal-centre formation and Th2-type inflammation [J]. *Nat Genet*, 1997, 16(2):161-170.
- [10] Nurieva RI, Chung Y, Martinez GJ, et al. Bcl-6 mediates the development of T follicular helper cells [J]. *Science*, 2009, 325(5943):1001-1005.
- [11] Spolski R, Leonard WJ. Interleukin-21: basic biology and implications for cancer and autoimmunity [J]. *Annu Rev Immunol*, 2008, 26:57-79.
- [12] Parrish Novak J, Dillon SR, Nelson A, et al. Interleukin-21 and its receptor are involved in NK cell expansion and regulation of lymphocyte function [J]. *Nature*, 2000, 408(6806):57-63.
- [13] Ettinger R, Sims GP, Fairhurst AM, et al. IL-21 induces differentiation of human naive and memory B cells into antibody-secreting plasma cells [J]. *J Immunol*, 2005, 175(12):7867-7879.
- [14] Nurieva RI, Chung Y. Understanding the development and function of T follicular helper cells [J]. *Cell Mol Immunol*, 2010, 7(3):190-197
- [15] Nurieva RI, Chung Y, Hwang D, et al. Generation of T follicular helper cells is mediated by interleukin-21 but independent of T helper 1, 2, or 17 cell lineages [J]. *Immunity*, 2008, 29(1):138-149.
- [16] Reinhardt RL, Liang HE, Locksley RM. Cytokine-secreting follicular T cells shape the antibody repertoire [J]. *Nat Immunol*, 2009, 10(4):385-393.
- [17] Bauquet AT, Jin H, Paterson AM, et al. The costimulatory molecule ICOS regulates the expression of c-Maf and IL-21 in the development of follicular T helper cells and TH-17 cells [J]. *Nat Immunol*, 2009, 10(2):167-175.
- [18] King C, Tangye SG, Mackay CR, et al. T follicular helper (TFH) Cells in normal and dysregulated immune responses [J]. *Annu Rev Immunol*, 2008, 26:741-766.
- [19] Sondergaard H, Skak K. IL-21: roles in immunopathology and cancer therapy [J]. *Tissue Antigens*, 2009, 74(6):467-479.
- [20] Yu D, Vinuesa CG. Multiple checkpoints keep follicular helper T cells under control to prevent autoimmunity [J]. *Cell Mol Immunol*, 2010, 7(3):198-203.
- [21] 兴华, 黄贺梅. 外周血单个核淋巴细胞表面 IL-21 受体表达与类风湿关节炎的相关性 [J]. *山东医药*, 2009, 49(43):52-53.
- [22] DiPlacido LD, Craft J. Emerging from the shadows: follicular helper T Cells in autoimmunity [J]. *Arthritis Rheum*, 2010, 62(1):6-8.
- [23] de Leval L, Gisselbrecht C, Gaulard P. Advances in the understanding and management of angioimmunoblastic T-cell lymphoma [J]. *Br J Haematol*, 2010, 148(5):673-689.

[24] Vinuesa CG, Tangye SG. Follicular B helper T cells in antibody responses and autoimmunity[J]. Nat Rev Immunol, 2005, 5(11):853-865.

[25] Fazilleau N, Mark L, McHeyzer-Williams LJ, et al. Follicular

ular helper T cells: lineage and location[J]. Immunity, 2009, 30(3):324-335.

(收稿日期:2010-12-16 修回日期:2011-03-22)

· 综 述 ·

活化蛋白 C 在防治重症脓毒症继发 DIC 中的作用*

林国强, 李楠楠 综述, 王伟金[△] 审校

(中国人民解放军第一七五医院、厦门大学附属东南医院血液科, 福建漳州 363000)

关键词: 活化蛋白 C; 脓毒症; 弥散性血管内凝血

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2011.23.038

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2011)23-2379-03

弥散性血管内凝血(disseminated intravascular coagulation, DIC)是一种在原发病基础上,由特定诱因引发的凝血活化并导致广泛微血栓形成,损害组织、器官血液供应,继而出现细胞和组织供氧紊乱,器官功能障碍直至急性功能衰竭;同时因大量凝血因子和血小板被消耗,微血栓形成继发纤维蛋白溶解亢进,导致广泛性出血,进一步加重器官损害,形成恶性循环。临床上以血栓形成、微循环障碍、出血及微血管病性溶血、多脏器功能障碍等为突出表现^[1-2]。常见的临床主要基础疾病有:感染、肿瘤、病理产科、手术及创伤等,其中感染,尤其是重症感染,是引发 DIC 的最常见原因。随着对其发病机制研究的不断深入,诊疗观念不断更新,新近研究发现活化蛋白 C 具有抗凝、促纤溶、抗炎、抗凋亡、保护细胞等功能,并被应用于治疗重症脓毒症继发的 DIC,收到了较好的效果,从此掀起了关于活化蛋白 C 治疗脓毒症及 DIC 的热潮。

1 感染性 DIC 的主要发病机制

在诸多原发病中,感染,特别是严重的感染是引起 DIC 最常见的原因。感染病原体包括细菌和病毒、真菌及其他病原体,其中细菌感染发生率最高,约 30%~50%的革兰阴性杆菌败血症合并 DIC,但也有不少的报道表明革兰阳性菌败血症并发 DIC 的病例几乎与革兰阴性杆菌败血症相同^[1]。关于感染性 DIC 的病理机制,研究得较多的是革兰阴性细菌感染,其中内毒素是关键因素,致病机理包括以下几个方面。

1.1 血管内皮细胞损害 血管内皮细胞在维持机体凝血功能平衡中起重要作用,严重感染时单核-巨噬细胞被激活,释放 TNF- α 、IL-6、IL-8 等炎症介质,通过各种信号通路如钙离子介导的信号通路、丝裂原激活的蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)介导的信号通路等导致内皮细胞受损害,表面受体发生改变,凋亡增加,并释放环氧合酶等炎性介质及组织因子(tissue factor, TF)^[3];此外内毒素能激活中性粒细胞,在还原型辅酶 II(nicotinamide-adenine dinucleotide 2'-phosphate reduced tetrasodium salt, NADPH)氧化酶催化下发生呼吸爆发,产生大量的氧自由基,氧自由基通过细胞膜、DNA 等多种途径损害血管内皮细胞。

1.2 凝血系统激活 脓毒症时脂多糖通过血管内皮细胞表面的模式识别受体结合促进 TF、TNF 表达,导致外源性凝血途径激活。同时研究发现,用抗体选择性阻断内源性凝血途径(抗 VIII 或抗 XI a),不能阻断 DIC 的发生,而阻断 VII a 可减少 DIC 发生,表明脓毒症时内毒素主要通过激活组织因子(TF)途径

而激活凝血过程^[4]。内毒素还能促使单核-巨噬细胞合成 TNF, TNF 是诱导 IL-1、IL-6、IL-8 及其自身的基因表达引起级联反应的始发因子,大量生成的 IL-6 和 IL-8 可诱导 TF 的表达,可进一步加速凝血过程的活化和炎症反应的程度^[5-7]。

1.3 血小板活化 病原体激活内皮细胞和单核细胞炎症系统后,导致血小板活化因子释放,同时导致 IL-6、IL-8 和 TNF- α 等细胞因子大量生成,这些细胞因子促进血小板活化、聚集并黏附在血管内皮细胞表面,从而激活凝血系统和炎症^[8]。

此外,内毒素等尚可导致蛋白 C(protein C, PC)等抗凝系统受损害,原因有:炎症激活凝血系统后导致继发性消耗增多,血管内皮细胞表面活化蛋白受体减少,导致其功能障碍。Tang 等^[9]研究认为内毒素还通过增加组织纤溶酶原激活物和纤溶酶,灭活组织因子途径抑制剂(tissue factor pathway inhibitor, TFPI),减弱其对 TF 介导的外源性凝血途径的抑制作用。

总之,在严重脓毒症及继发的 DIC 中存在多条炎症途径被激活,同时伴有凝血-纤溶系统的功能失调,并且炎症与凝血互为因果,形成恶性循环,促进了 DIC 的发生、发展。

2 活化蛋白 C(activated protein C, APC)的理化特征及作用机制

严重脓毒症及其继发的 DIC 是近年来危重病治疗领域的一大难题,虽然涌现出许多新的治疗方法,但是效果却不尽如人意。APC 的出现,给脓毒症及 DIC 的治疗带来了新的希望,开辟了新的途径。

APC 是 PC 的活性形式,PC 是一类维生素 K 依赖性糖蛋白酶类物质,由 155 个氨基酸的轻链和 304 个氨基酸的重链构成,正常情况下以无活性的酶原形式存在于血液中,当凝血系统活化后,凝血酶大量生成,其与内皮细胞表面的凝血酶调节蛋白结合形成凝血酶-凝血酶调节蛋白复合物,在此复合物作用下 PC 被裂解成为一个由 12 个氨基酸残基组成的活性多肽,即转化为其活性形式,并且此活化过程通过 PC 与内皮细胞、单核细胞、中性粒细胞等表面的内皮细胞蛋白 C 受体(endothelial cell protein C receptor, EPCR)结合后被进一步放大^[10-11]。在严重脓毒症患者中,PC 系统存在严重的功能障碍,诸多动物实验及临床观察发现,给予应用 APC 后能明显改善脓毒症的预后,降低病死率,随后的研究不断发现,APC 有抗炎、抗凝、抗凋亡等作用,其具体生物学作用机理涉及如下:

* 基金项目:福建省青年人才项目(2006F3149)。 [△] 通讯作者, Tel:13607574237; E-mail:wangwei22002@yahoo.com.cn。