

313(3):462-472.

[24] Vormittag L, Thurnher D, Geleff S, et al. Co-expression of Bmi-1 and podoplanin predicts overall survival in patients with squamous cell carcinoma of the head and neck treated with radio(chemo)therapy[J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2009, 73(3):913-918.

[25] Huber GF, Albinger-Hegy A, Soltermann A, et al. Ex-  
• 综 述 •

pression patterns of Bmi-1 and p16 significantly correlate with overall, disease-specific, and recurrence-free survival in oropharyngeal squamous cell carcinoma [J]. *Cancer*, 2011, 117(32):4659-4670.

(收稿日期:2012-11-08 修回日期:2013-01-18)

## 脓毒症中性粒细胞迁移障碍研究进展

程鹏雁<sup>1</sup>综述, 马 渝<sup>2△</sup>审校

(1. 重庆医科大学第一临床学院 400016; 2. 重庆市急救医疗中心 ICU 400014)

**关键词:** 中性粒细胞; 脓毒症; 迁移障碍

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2013.16.039

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2013)16-1890-03

中性粒细胞(polymorphonuclear neutrophil, PMN)是机体固有免疫应答的重要组成细胞之一,在感染性疾病中迁移至病变部位发挥一线抗病原作用。研究发现,在脓毒症中,由于PMN不能正常迁移至感染部位发挥作用,而致感染扩散;同时PMN在脏器微循环中过度聚集、阻塞,使脏器缺血受损,进而促进多器官功能障碍的发生。PMN迁移障碍与脓毒症的发展和预后密切相关,但其机制尚未阐明。本文就其研究进展作一综述。

### 1 PMN的正常迁移过程

PMN的正常迁移过程大致包括:PMN与血管内皮的相互作用,在趋化因子的指引作用下,PMN发生变形、穿过管壁到达感染部位发挥作用。该过程中任何环节出现异常都可能导致PMN迁移障碍。

**1.1 PMN与血管内皮的相互作用** PMN与血管内皮的相互作用一般发生在感染部位的毛细血管后微静脉处,包括PMN边集、沿内皮表面滚动、与内皮发生低亲和力及高亲和力黏附。PMN的边集与滚动有赖于PMN表面的L-选择素、活化内皮表面的E、P-选择素与相应选择素配体的相互作用,该过程保证了PMN与内皮发生低亲和力黏附,并为下一步的高亲和力黏附作准备。有报道,通过阻断L-选择素的作用可抑制PMN的滚动、黏附及迁移<sup>[1]</sup>,而抑制L-选择素脱落可明显促进PMN与内皮的黏附及迁移<sup>[2]</sup>,可见L-选择素是影响PMN黏附及迁移的关键因素之一。PMN与内皮的紧密黏附主要依赖于PMN表达的整合素与内皮表达的细胞间黏附分子-1(intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1)、血管细胞黏附分子-1(vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1)的相互作用。目前,研究较多的整合素为 $\beta 2$ 型,包括CD11a/CD18和CD11b/CD18。

**1.2 PMN的趋化反应及变形** 与内皮紧密黏附的PMN通过表面的趋化因子受体识别感染部位的趋化因子,包括病原成分甲酰甲硫氨酸-亮氨酸-苯丙氨酸(formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine, fMLP)及机体产生的补体成分(如:C5a)、脂质代谢产物(如:血小板活化因子、白三烯B4(leukotriene B4, LTB4))等,激活胞内的酪氨酸激酶,促使胞浆中的肌动蛋白微丝聚集,PMN发生变形、伸出伪足、以阿米巴运动形式跨血管内皮或经内皮旁途径穿过管壁,向高趋化因子浓度的感染部位

迁移<sup>[3]</sup>。

### 2 脓毒症中PMN迁移障碍的机制

目前,很多动物实验研究发现脓毒症时PMN不能定向迁移至感染部位发挥一线抗病原作用,从而导致血循环中细菌量增多,全身炎症反应加重,动物病死率增高<sup>[4]</sup>,可见PMN迁移障碍可严重影响脓毒症预后。但PMN迁移障碍的确切机制尚不清楚,近来研究结果提示PMN迁移障碍可能和脓毒症复杂的炎症环境条件下,PMN与血管内皮的相互作用改变、PMN的趋化反应性及变形能力下降相关。

**2.1 PMN与血管内皮的相互作用改变** 目前,对于脓毒症中PMN与内皮相互作用的改变存在2种观点:(1)PMN与内皮黏附减弱,从而发生PMN迁移障碍;(2)PMN与血管内皮过度黏附,从而影响PMN的正常迁移<sup>[5]</sup>。

**2.1.1 PMN与血管内皮黏附减弱** Ploppa等<sup>[6]</sup>发现LPS诱导活化的人离体PMN与活化人脐静脉内皮的黏附减弱。Benjamim等<sup>[4]</sup>借助活体显微镜对盲肠结扎穿孔(cecal ligation and puncture, CLP)法诱导的脓毒症动物模型肠系膜循环进行观察,也发现PMN与内皮黏附减弱。这种黏附减弱可能的因素为:(1)NO及其氧化产物:研究发现脓毒症中诱导型一氧化氮合酶(iNOS)催化合成的NO及NO与超氧化物作用形成的过氧亚硝基阴离子(ONOO<sup>-</sup>)很可能与PMN和内皮黏附减弱有关。NO供体及ONOO<sup>-</sup>可减弱CLP脓毒症动物肠系膜循环中PMN与内皮的黏附,而通过敲除编码iNOS的基因、使用iNOS抑制剂或特异性ONOO<sup>-</sup>清除剂则能够增强PMN与内皮的黏附,改善PMN向感染部位的迁移<sup>[7-9]</sup>。调节细胞黏附分子的表达可能是NO及ONOO<sup>-</sup>影响PMN与内皮黏附的机制之一。有文献报道,NO供体可使PMN表面L-选择素、 $\beta 2$ 整合素(CD11b/CD18)及内皮表面的黏附分子P-选择素、E-选择素、ICAM-1和VCAM-1表达下调,而iNOS抑制剂则上调其表达<sup>[10]</sup>。另外,Lefer等<sup>[8]</sup>发现ONOO<sup>-</sup>也能下调活化肠系膜血管内皮表面P-选择素的表达。(2)血红素加氧酶:(heme oxygenase, HO)血红素加氧酶是催化血红素分解代谢的关键酶,其可通过减少血红素在体内堆积、减少氧自由基生成而发挥保护机体的功能<sup>[11]</sup>。近来发现诱导型HO即HO-1及其催化血红素分解产生的CO、胆绿素也能减弱PMN与内皮的黏附。Freitas等<sup>[12]</sup>发现HO-1的底物血红素,CO供体及胆绿素

均能使腹膜炎小鼠肠系膜循环中 PMN 沿内皮滚动及黏附减弱,而 HO-1 抑制剂则能增强 PMN 沿血管内皮的滚动及黏附。HO-1 代谢通路对 PMN 与内皮黏附的影响机制尚不清楚,有研究显示其可通过灭活 p38 MAPK 而抑制 PMN 向脓毒症大鼠肝脏的浸润<sup>[33]</sup>。然而,由于脓毒症中存在广泛的组织细胞氧化应激损伤,而 HO-1 及其代谢产物能减少氧自由基的生成。因此,能否通过阻断 HO-1 通路而达到减轻脏器损伤、改善脓毒症预后的目的有待于进一步研究。(3)过氧化物酶体增殖体激活受体- $\gamma$ (peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$ , PPAR- $\gamma$ ): PPAR- $\gamma$  为核激素受体家族成员,主要调节细胞的活化、增殖及分化。近来发现其在脓毒症患者及小鼠 PMN 中表达增加,其激动剂可通过下调内皮细胞表面 ICAM-1 的表达而抑制 PMN 与内皮的黏附<sup>[14]</sup>。

**2.1.2 PMN 与血管内皮黏附增强** 相反地,也有研究者发现脓毒症患者的离体 PMN 与血管内皮的黏附性增强<sup>[15]</sup>。有学者认为 PMN 与血管内皮的过度黏附可能是 PMN 滞留于管腔中、不能正常迁移的可能机制之一。目前,大量研究发现脓毒症患者及动物体内 PMN 的 L-选择素表达下调,而 L-选择素又是 PMN 与内皮黏附的关键分子之一,这似乎与 PMN 和血管内皮黏附增强的说法有些矛盾。然而也有文献报道,PMN 与血管内皮的黏附可依赖于除选择素、整合素以外的分子。如 McDonald 等<sup>[16]</sup>发现内毒素血症小鼠 PMN 与肝血窦的黏附主要依赖于 PMN 表面的糖蛋白配体 CD44 与肝血窦透明质酸的相互作用。另外, Ploppa 等<sup>[6]</sup>通过体外实验证明,PMN 与内皮的黏附性除与黏附分子的表达情况有关外,还与血流切应力、血管内皮的完整性相关,他们指出 PMN 在管腔中滞留可能与局部微循环低灌注、血管受损等情况有关。这样看来,PMN 与内皮过度黏附而影响其正常迁移,这种情况也是可能发生的。

**2.2 PMN 的趋化反应性及变形能力下降** PMN 主要通过其膜表面的趋化因子受体 CXCR2 识别感染部位的高浓度趋化物质,研究发现脓毒症患者及动物模型离体 PMN 的 CXCR2 存在表达下调或敏感性降低,因而对多种趋化因子如 fMLP、LTB<sub>4</sub> 或 IL-8 的反应性降低<sup>[17]</sup>。PMN 的 CXCR2 表达下调或敏感性降低又会影响胞内酪氨酸残基磷酸化及肌动蛋白聚集,从而使 PMN 的变形能力下降。此外,脓毒症患者 PMN 膜的硬度增加也是导致其变形能力下降的原因之一。目前发现 PMN 的趋化性及变形能力下降可能与下列因素有关。

**2.2.1 Toll 样受体(toll-like receptors, TLRs)** TLRs 受体为 PMN 识别病原的重要受体。目前,研究较多的是 TLR2 和 TLR4。研究发现 TLRs 激动剂脂磷壁酸可下调离体 PMN 表面 CXCR2 的表达,而行 TLRs 基因敲除的脓毒症小鼠则不会出现 PMN 的 CXCR2 表达下调<sup>[17]</sup>。目前,认为 TLRs 对 CXCR2 的表达下调影响可能与 iNOS 催化合成的 NO 以及 G 蛋白偶联受体激酶(G protein-coupled receptor kinases, GRKs) 相关。通过敲除编码 iNOS 的基因或使用 iNOS 抑制剂均可阻断 TLRs 对 CXCR2 的下调作用,NO 供体则相反<sup>[7]</sup>。GRKs 为丝氨酸-苏氨酸蛋白激酶,通过使 CXCR2 磷酸化而使其表达下调或敏感性降低。TLRs 激动剂可增强野生型脓毒症小鼠 PMN 中 GRK2 的表达,而不能增强 TLR2 基因敲除脓毒症小鼠 PMN 中 GRK2 的表达<sup>[17]</sup>。另外,脓毒症患者的离体 PMN 或正常人的离体 PMN 经细胞因子或 LPS 处理后,胞内的 GRK2 和 GRK5 表达也会增加<sup>[18]</sup>。提示可能是脓毒症中的大量细胞因子及病原产物使 TLRs 过度活化、PMN 中 iNOS 及 GRKs 表达增加,从而使 CXCRs 表达下调或敏感性下降。最近发现

IL-33 可通过抑制 PMN 中 GRK2 的表达而上调人和小鼠 PMN 的 CXCR2 表达<sup>[19]</sup>。

**2.2.2 急性时相蛋白(acute phase proteins, APPs)** 脓毒症时体内升高的 APPs 如血红素结合蛋白、 $\alpha$ 1 酸性糖蛋白( $\alpha$ 1-acid glycoprotein, AGP) 也会下调 PMN 表面 CXCR2 的表达<sup>[20-21]</sup>。Spiller 等<sup>[20]</sup>发现使用丝氨酸蛋白酶抑制剂及 ATP 可消除血红素结合蛋白对 PMN 表面 CXCR2 表达下调的影响,该团队在另外一项研究中发现 AGP 可通过增加 PMN 内的 GRK2 而下调 CXCR2 的表达,而减少 AGP 的生成则不会出现 PMN 的 GRK2 及 CXCR2 表达异常<sup>[21]</sup>。

**2.2.3 PPAR- $\gamma$ 、温度及 ONOO<sup>-</sup>** PPAR- $\gamma$  也可影响 PMN 的趋化性,其激动剂呈剂量依赖性抑制 PMN 对 fMLP 和 IL-8 的反应性,而其拮抗剂则可明显改善 CLP 脓毒症小鼠 PMN 的趋化性。最近也有研究报道,PMN 暴露于高温条件中其趋化性也会降低。PPAR- $\gamma$  及温度对 PMN 趋化性的影响机制仍需进一步研究。此外,ONOO<sup>-</sup> 及其供体可硝化 PMN 中的酪氨酸残基,抑制肌动蛋白聚集,进而影响 PMN 的变形及迁移。

**2.2.4 PMN 膜的硬度增加** PMN 膜的硬度增加也可导致其变形能力下降,从而发生迁移障碍、滞留于微血管管腔中。Sk-outelis 等<sup>[22]</sup>发现脓毒症、脓毒症休克和并发 ARDS 脓毒症患者的 PMN 膜硬度增加,PMN 的主被动变形能力均明显低于正常人,且 PMN 膜硬度与病情严重程度相关。其机制尚未阐明,可能与脓毒症时机体释放的炎性介质及菌体成分如 LPS、fMLP 等有关<sup>[23]</sup>。此外,还可能与肌动蛋白丝(F-actin)在 PMN 膜下堆积有关,Yoshida 等<sup>[24]</sup>用肺炎链球菌及大肠杆菌诱导大鼠肺炎模型 4 h 后,发现滞留于肺部毛细血管内的 PMN 为胞膜边缘有 F-actin 聚集的 PMN,且该类 PMN 在血管内的滞留与其黏附分子的表达情况无关。深入研究 F-actin 在该种 PMN 膜边缘聚集的机制可能有助于指导改善 PMN 迁移的治疗。

### 3 展 望

脓毒症中 PMN 迁移障碍近年来深受关注,对其机制的研究也取得了一定进展。然而,PMN 迁移障碍各个环节的具体机制还有待于进一步探讨,阐明这些机制将可能为早期阻断由 PMN 迁移障碍所致的脏器损害、改善脓毒症预后提供新的临床治疗思路。

### 参考文献:

- [1] Mulligan MS, Miyasaka M, Ward PA, et al. Requirements for L-selectin in neutrophil-mediated lung injury in rats [J]. *J Immunol*, 1994, 152(2): 832-840.
- [2] Thomas KL, Prorock AJ, Hafezi-Moghadam A, et al. L-selectin shedding regulates leukocyte recruitment [J]. *JEM*, 2001, 193(7): 863-872.
- [3] Spiller F, Cunha FQ, Alves-Filho JC. Neutrophil paralysis in sepsis [J]. *Shock*, 2010, 34(1): 15-21.
- [4] Benjamim CF, Silva JS, Cunha FQ, et al. Inhibition of leukocyte rolling by nitric oxide during sepsis leads to reduced migration of active microbicidal neutrophils [J]. *Infect Immun*, 2002, 70(17): 3602-3610.
- [5] Brain SD, Pearson JD, Brown KA, et al. Neutrophils in development of multiple organ failure in sepsis [J]. *Lancet*, 2006, 368(2): 157-169.
- [6] Ploppa A, Schmidt V, Nohé B, et al. Mechanisms of leukocyte distribution during sepsis: an experimental study on

- the interdependence of cell activation, shear stress and endothelial injury[J]. *Critical Care*, 2010, 14(2):201-205.
- [7] Rios-Santos F, Alves-Filho JC, Cunha FQ, et al. Down-regulation of CXCR2 on neutrophils in severe sepsis is mediated by inducible nitric oxide synthase-derived nitric oxide[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2007, 175(3):490-497.
- [8] Lefer DJ, Scalia R, Lefer AM, et al. Peroxynitrite inhibits leukocyte-endothelial cell interactions and protects against ischemia-reperfusion injury in rats [J]. *J Clin Invest*, 1997, 99(4):684-691.
- [9] Clements MK, Siemsen DW, Quinn MT, et al. Inhibition of actin polymerization by peroxynitrite modulates neutrophil functional responses[J]. *J Leukoc Biol*, 2003, 73(3):344-355.
- [10] Ialenti A, Iannaro A, Di Rosa M, et al. Nitric oxide inhibits leucocyte migration in carrageenin-induced rat pleurisy [J]. *Inflamm Res*, 2000, 49(3):411-417.
- [11] Choi AM, Morse D. Heme oxygenase-1: from bench to bedside[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2005, 172(5):660-670.
- [12] Freitas A, Alves-Filho JC, Cunha FQ, et al. Heme oxygenase/carbon monoxide-biliverdin pathway down regulates neutrophil rolling, adhesion and migration in acute inflammation[J]. *Br J Pharmacol*, 2006, 149(3):345-354.
- [13] Lin YT, Chen YH, Hsu C, et al. Heme oxygenase-1 suppresses the infiltration of neutrophils in rat liver during sepsis through inactivation of p38 MAPK [J]. *Shock*, 2010, 34(6):615-621.
- [14] Narala VR, Keshamouni VG, Reddy RC, et al. Sepsis-induced inhibition of neutrophil chemotaxis is mediated by activation of peroxisome proliferator-activated receptor [J]. *Blood*, 2008, 112(28):4250-4258.
- [15] Lewis SM, Hill TA, Brown KA, et al. Leucodepletion and the interaction of polymorphonuclear cells with endothelium in the systemic inflammatory response syndrome[J]. *Perfusion*, 2001, 16(1):75-83.
- [16] McDonald B, McAvoy EF, Kubes P, et al. Interaction of CD44 and hyaluronan is the dominant mechanism for neutrophil sequestration in inflamed liver sinusoids[J]. *JEM*, 2008, 205(4):915-927.
- [17] Alves-Filho JC, Freitas A, Cunha FQ, et al. Regulation of chemokine receptor by Toll-like receptor 2 is critical to neutrophil migration and resistance to polymicrobial sepsis[J]. *PNAS*, 2009, 106(10):4018-4023.
- [18] Arraes SM, Freitas MS, Cunha FQ, et al. Impaired neutrophil chemotaxis in sepsis associates with GRK expression and inhibition of actin assembly and tyrosine phosphorylation[J]. *Blood*, 2006, 108(27):2906-2913.
- [19] Alves-Filho JC, Sonogo F, Liew FY, et al. Interleukin-33 attenuates sepsis by enhancing neutrophil influx to the site of infection[J]. *Nat Med*, 2010, 16(6):708-712.
- [20] Spiller F, Costa C, Cunha FQ, et al. Inhibition of neutrophil migration by hemopexin leads to increased mortality due to sepsis in mice[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2011, 183(7):922-931.
- [21] Spiller F, Carlos D, Cunha FQ, et al.  $\alpha$ 1-acid glycoprotein decreases neutrophil migration and increases susceptibility to sepsis in diabetic mice [J]. *Diabetes*, 2012, 61(6):1584-1591.
- [22] Skoutelis AT, Kaleridis V, Athanassiou GM, et al. Neutrophil deformability in patients with sepsis, septic shock, and adult respiratory distress syndrome [J]. *Crit Care Med*, 2000, 28(7):2355-2359.
- [23] Saito H, Lai J, Doerschuk CM, et al. Mechanical properties of rat bone marrow and circulating neutrophils and their responses to inflammatory mediators [J]. *Blood*, 2002, 99(18):2207-2213.
- [24] Yoshida K, Kondo R, Doerschuk CM, et al. Neutrophil cytoskeletal rearrangements during capillary sequestration in bacterial pneumonia in rats[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2006, 174(5):689-698.

(收稿日期:2012-11-08 修回日期:2013-01-26)

• 综 述 •

## 骨质疏松与慢性多发性疼痛

吴艳综述, 石英, 张铭<sup>△</sup>审校

(第三军医大学西南医院手术麻醉科, 重庆 400038)

关键词: 骨质疏松; 生物力学; 慢性疼痛

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2013.16.040

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2013)16-1892-03

严重骨质疏松必然伴随全身多发性、反复性疼痛。但是, 骨质疏松发展过程中, 是否与慢性疼痛之间的必然相关性, 以及是否加重或诱发其他慢性疼痛, 目前, 临床资料尚不够充分。本文综合相关文献及有关临床资料, 综述如下。

### 1 概 述

骨质疏松症(osteoporosis, OP)是一种以骨量低下、骨微结

构损坏, 导致脆性增加、易发生骨折为特征的全身性骨病。2001年美国国立卫生研究院(NIH)提出骨质疏松症是以骨强度下降、骨折风险性增加为特征的骨骼系统疾病<sup>[1]</sup>; 其发病原因中激素缺乏和钙摄入不足是2个最主要原因, 所以, 中老年人成为原发性骨质疏松的最主要人群, 尤其是对于绝经后雌激素显著减少的女性。据美国骨质疏松基金会统计资料: 经济与