· 综述 ·

内毒素性休克的分子机制与中药防治

王华东¹ 陆大祥¹ 黄启福²

尽管在过去 50 年中抗生素的应用和临床治疗措施取得了长足的进步,但感染性休克患者的病死率仍高达 40%~60%^[1]。内毒素或脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)在感染引起的全身炎症反应综合征中发挥重要作用。80 年代以来,内毒素性休克发生的分子机制研究已取得了许多新进展,特别是 LPS 信号通路的深入研究,致炎细胞因子和细胞粘附分子的分子克隆、内皮素(endothelin, ET)和一氧化氮(nitric oxide, NO)介导作用的发现,导致一系列对抗各种单一介质的治疗制剂的产生,如抗 LPS 抗体、抗肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)抗体、一氧化氮合酶(nitric oxide synthase, NOS)抑制剂等,这些制剂在动物实验中均显示出一定的疗效,但多中心临床研究发现,没有一种制剂在临床上能够显著降低感染性休克的死亡率^[1,2]。研究表明,多靶点药物可能对内毒素性休克的防治具有重要意义。中药具有多靶点作用,中药防治内毒素性休克的研究已积累了不少有价值的资料。因此,本文简要介绍内毒素性休克的分子机制和中药防治的研究进展。

1 内毒素性休克的分子机制

革兰氏阴性细菌释放的 LPS 一般呈集聚状态,在血浆 LPS 结合蛋白(LPS-binding protein, LBP)作用下,LPS 变成单体结构并形成 LPS-LBP 复合物。LPS-LBP 复合物可以被血浆中高密度脂蛋白中和,从而失去激活细胞的作用^[3]。Kumwenda 等发现^[4],富含甘油三酯的脂蛋白具有抗内毒素性休克的作用。在 LBP 的作用下,LPS 优先与单核巨噬细胞和中性粒细胞表面上的膜 CD₁₄ 分子(membrane-bound CD₁₄ molecule, mCD₁₄)结合,导致细胞活化。敲除小鼠 CD₁₄ 基因能预防内毒素性休克的发生^[3]。然而,mCD₁₄ 是通过磷酸甘油肌醇锚定在细胞膜上的糖蛋白,这种结合方式使 mCD₁₄ 不能直接传递跨膜信号^[3,5]。新近研究发现^[6],Toll 样受体 4(toll-like recep-

tor 4, TLR4)在 LPS 的跨膜信号转导中发挥重要作用。业已证明 mCD₁₄ 将其结合的 LPS 转移至 TLR4 上从而引起 LPS 信号的跨膜传递,这一过程需要一种分泌型蛋白 MD-2 的辅助^[5]。MD-2(-/-)转基因小鼠不能对 LPS 攻击产生反应,内毒素性休克时仍能继续存活。在 MD-2(-/-)转基因小鼠胚胎成纤维细胞中,TLR4 不能转移到细胞膜上,主要停留在 Golgi 体中^[7]。因此,TLR4-MD-2 复合体是细胞膜上传递 LPS 跨膜信号的信号受体。在 TLR4-MD-2 的介导下,LPS 激活细胞内信号通路,导致多种转录因子(如: NF-Kappa B, AP-1 等)的活化,从而诱导相应炎症介质的表达^[4]。

1.1 全身性炎症反应和代偿性抗炎反应调节紊乱 内毒素诱导大量致炎细胞因子释放,如 TNF α 、白细胞介素 1(interleukin-1, IL-1), IL-6 等。它们在内毒素性休克的发病机制中发挥重要作用。然而,抗致炎细胞因子的治疗在临床上并没有获得成功。近年来研究表明,机体的抗炎反应同样不可忽视。1996 年, Bone 将这种抗炎反应称为代偿性抗炎反应综合征(compensatory anti-inflammatory response syndrome, CARS)。目前确定的抗炎介质有:IL-4, IL-10、可溶性 TNF 受体、IL-1 受体拮抗剂(IL-1Ra)等。这些抗炎介质能抑制致炎细胞因子的合成和作用。如:重组 IL-10 能显著降低 LPS 攻击小鼠的死亡率和血浆致炎细胞因子水平,相反,IL-10 的单克隆抗体却明显增加 LPS 攻击小鼠的死亡率。然而,过度的抗炎反应又是感染性休克后期机体免疫功能抑制的机制之一。IL-10 能抑制单核细胞合成致炎细胞因子,也能抑制细胞的抗原呈递功能。感染性休克后期,血浆 IL-10、IL-1Ra 水平明显增高的患者,其死亡率也明显增加^[2,8]。因此,如何维持致炎介质和抗炎介质相互作用的平衡,将机体感染免疫反应控制在恰当的水平,是内毒素和感染性休克防治的重要策略。有研究表明,诱导热休克蛋白(heat shock protein, HSP)的表达可能是维持机体致炎和抗炎反应平衡的免疫学机制之一。用短暂高温处理单核细胞,能明显抑制 LPS 诱导的 TNF 和 IL-1 的生成。用过热诱导 HSP70 的表达,能显著降低感染性休克大鼠的死亡率。锌预处理诱导 HSP 的表达不

作者单位:1. 暨南大学医学院病理生理学教研室(广州 510632);

2. 北京中医药大学病理学教研室

通讯作者:王华东, Tel: 020-85220269

万方数据

仅减轻内毒素引起组织器官损伤和内皮细胞损伤、降低死亡率,而且显著抑制内毒素诱导的肝、肾等器官的细胞凋亡。这种处理不仅下调机体的致炎反应,而且下调抗炎细胞因子 IL-10 的表达^[8]。可见,诱导 HSP 的表达可能会成为内毒素性休克的防治策略之一。2002 年 Xie 等发现热休克因子 1(heat shock factor 1, HSF1)参与了机体抗内毒素性休克的保护机制,HSF1 可直接与 IL-6 核因子结合,从而拮抗 IL-6 核因子的活性,阻断 IL-1 β 的基因转录^[9]。

1.2 循环功能衰竭 内毒素性休克时各种介质的相互作用引起一系列病理生理变化,最终导致多器官功能衰竭。顽固性低血压、微循环障碍、微血栓形成和心肌功能障碍等循环功能衰竭是内毒素性休克继发多器官功能衰竭发生的重要机制。

1.2.1 顽固性低血压 顽固性低血压是脓毒症患者早期死亡的主要原因^[1,2]。现已公认,NO 在内毒素性低血压发病机制中发挥重要作用。内毒素血症时,诱导型一氧化氮合酶(inducible NOS, iNOS)合成大量的 NO,引起血管平滑肌松弛、对缩血管物质的反应性降低,从而导致顽固性低血压的发生^[2,10]。早期研究发现,静脉注射竞争性 NOS 抑制剂 N^G-单甲基-L-精氨酸(N^G-monomethyl-L-arginine, L-NMMA)能预防 LPS 诱导的低血压,而且能恢复 LPS 攻击小鼠对去甲肾上腺素的反应。然而,后期研究发现,这种非选择性的 NOS 抑制剂虽能阻止 LPS 性低血压的发生,却显著加重 LPS 诱导的器官损伤并提高内毒素性休克动物的死亡率。这可能与非选择性的 NOS 抑制剂抑制了内皮型一氧化氮合酶(endothelial NOS, eNOS)-NO 的有益效应(如:保持组织的有效血液灌注、保护内皮功能等)有关。因此,选择性 iNOS 抑制剂可能对内毒素性休克具有治疗作用。近年来的一些研究证实了这一推论,但也有研究发现,选择性 iNOS 抑制剂并不能减轻内毒素诱导的多器官功能损伤^[2,10]。显然,NO 在内毒素性休克的发病机制中具有多方面的作用,将其作为靶点寻找新的治疗药物,前景并不乐观。

近年来,肾上腺髓质素(adrenomedullin, AM)在内毒素性低血压发生机制中的作用引起了一些学者的关注。内毒素血症时,血液中 AM 的含量明显增加,肝脏、心脏等器官中 AM 的表达显著增加^[11]。Maz-zocchi 等^[12]观察到,AM 受体拮抗剂能明显逆转内毒素低血压,但不影响实验动物的基础血压,表明 AM 参与了内毒素性低血压的发生机制。然而,有学者认为,AM 在高动力型休克的发生机制中起重要作用,

AM 结合蛋白 1 的下调和 AM 受体反应性的降低是感染性休克从调动力型休克转向低动力型休克重要因素,而且,AM 还能抑制 IL-1 β 诱导的 TNF α 生成。因此,增强 AM 的作用、保护血管的反应性可能会延长高动力型休克期,减少多器官功能衰竭的发生。这一假说已被有关研究证实,LPS 攻击血管组织过度表达 AM 的转基因小鼠,其血压下降程度及死亡率与相应的野生型小鼠相比明显降低^[11]。

此外,Mailman^[13]发现,预先在膈下迷走神经周围应用利多卡因阻断迷走神经的活动,能显著阻断内毒素诱导的低血压反应,表明腹腔迷走传入神经在早期介导了内毒素性低血压的发生。

1.2.2 心肌功能障碍 感染性休克往往伴发心肌功能障碍,静脉注射内毒素也可引起严重的心肌功能障碍,但这一过程的发生机制尚未明了。研究发现,内毒素能诱导心脏、肺等重要器官表达 ET-1,ET-1 可引起冠状动脉收缩、心输出量减少和心律失常,但也有研究表明 ET-1 具有正性肌力作用。因此,ET-1 在内毒素性心肌功能障碍发病机制中的作用,目前尚无法定论^[14]。近年来研究表明,除内毒素本身可能作用于心肌细胞外,循环中和心肌局部产生的 NO, TNF α , IL-1 β 可能发挥重要作用。内毒素刺激心肌细胞合成的 TNF α 可抑制心肌的收缩性并诱导心肌细胞凋亡,心肌细胞过度表达 TNF α 的转基因小鼠会出现扩张性的心肌病和严重的心力衰竭。利用转基因技术证明心肌 NF- κ B-TNF α 通路参与了内毒素性心肌功能障碍的发生机制。此外,激活的白细胞、氧自由基、 β 肾上腺素能受体的下调和肺动脉高压也可能是内毒素性心肌障碍的重要因素^[15]。

1.3 致炎介质和白细胞直接引起组织损伤 循环障碍、组织缺血并不能从细胞水平完全解释内毒素性休克时组织器官的代谢异常,一些细胞因子和休克介质可能直接损伤组织器官。有研究发现, TNF 能直接诱导肝细胞凋亡,随即引起白细胞集聚和肝实质细胞坏死。NO 可以直接影响某些线粒体酶的活性,还能和超氧阴离子反应生成过氧亚硝基发挥细胞毒效应。自由基过量产生,不仅可直接引起组织损伤,还能通过正反馈放大过度增强的炎症反应,因此,抗氧化治疗可能是内毒素性休克时调节过度炎症反应的重要策略^[2,10]。另一方面,激活的白细胞和内皮细胞粘附,造成白细胞浸润并释放大量的蛋白酶和氧自由基,引起组织细胞损伤。IL-8、整合素和细胞间粘附分子 1 在白细胞趋化、粘附和活化过程中起关键作用^[2]。

2 中药对内毒素性休克的防治作用

根据内毒素性休克发病的分子机制,多靶点药物治疗是一个值得考虑的问题。中药具有多靶点作用,例如:由中药枳实制成的救心复脉注射液,既具有兴奋肾上腺能受体增加心输出量、冠脉和肾血流量,又能改善微循环状态,对大鼠内毒素性休克具有较好的防治作用^[16]。目前,中药对内毒素性休克的防治作用研究已积累了大量资料。一些研究利用鲎试剂观察中药及复方在体外对内毒素的直接作用,发现金银花、连翘、穿心莲、黄芩、赤芍、大黄、黄连、大青叶、丹参、双黄连粉针、清开灵注射液、板蓝根注射液、热毒平、鱼腥草注射液等在体外具有较好的拮抗内毒素作用^[17,18]。中药复方抗内毒素性休克作用的研究主要集中在清热解暑类、回阳救逆类。

2.1 清热解暑复方 由金银花、蒲公英、大青叶、鱼腥草组成的热毒清注射液能防止内毒素性发热和 DIC 的发生,其机制可能与直接拮抗内毒素、抑制 TNF α 、IL-1 β 、NO 等介质的生成,增强单核巨噬细胞系统功能和保护线粒体、溶酶体功能等有关。热毒平在临床上对多种感染性疾病有较好的治疗作用,实验研究发现,热毒平能显著降低内毒素性休克动物的死亡率。清瘟败毒饮能抑制内毒素引起的发热反应,改善内毒素性休克动物的血液流变性,减轻内毒素引起的器官功能损伤。此外,由金银花、大青叶、蚤休、赤芍等组成的抗病毒口服液;由蟾酥、冰片、麝香、牛黄组成的六神丸;由丁香、朱砂、蟾酥等组成的消炎解毒丸;大青叶、金银花、鱼腥草、蒲公英组成的金叶败毒冲剂;香薷、野菊花等组成的香菊感冒冲剂;芍药汤合白虎汤组成的止痢合剂;蟾酥和山莨菪碱合剂等,这些复方都有一定的抗内毒素性休克的作用,有的还能在一定程度上降低内毒素性休克动物的死亡率^[17,19]。张芝平等利用复合因素(湿热环境、内毒素和高脂饮食)复制温病湿热证模型,观察黄连解毒汤、黄连解毒汤加丹参、赤芍等对内毒素攻击家兔体温、血浆内毒素、TNF、血液流变学等指标变化的影响。认为清热解暑同时凉血化瘀对温病湿热证具有较好的治疗作用^[20]。

2.2 回阳救逆复方 由人参、附子、柴胡组成的复方对犬感染性休克具有一定的防治作用;参附注射液能明显减轻内毒素诱导的肺损伤;人参、附子、青皮组成的参附青注射液能对抗内毒素引起的低血压,纠正机体缺氧和酸碱平衡紊乱,保护血管内皮细胞的功能,改善肠系膜微循环,减轻内毒素性多器官功能损伤^[17]。四逆汤能显著改善内毒素性休克大鼠的微循环,抑制平均动脉压的降低^[21]。

此外,有文献报道,由琥珀、水牛角等组成的牛珀

至宝丹,大承气汤,水牛角、赤芍、生地等组成的地丹凉血针,参脉注射液等,这些复方都能在一定程度上改善内毒素性休克的某些症状或降低动物的死亡率。还有一些中药单体,如:白藜芦醇甙、丹参素、虎杖甙等均有一定的抗内毒素性休克作用^[17,22]。

内毒素性休克是一个发病环节十分复杂的病理过程,中药具有多靶点作用,在调节机体炎症反应、保护器官功能方面有重要的研究价值。目前,能显著降低内毒素性休克患者死亡率的疗效稳定的中药制剂还有待进一步开发,中药防治内毒素性休克的机制研究,主要集中在直接破坏内毒素、抗炎、抗自由基、改善微循环、防治弥散性血管内凝血、激活网状内皮系统、保护细胞器等方面^[21,23]。然而,根据现代医学研究的成果,拮抗内毒素治疗在临床上并没有产生显著的治疗效果。因此,利用中药进行直接拮抗内毒素的研究可能不是中药抗内毒素性休克研究的发展方面,从维持机体致炎和抗炎反应平衡、调动机体内源性细胞保护(如诱导 HSP 表达)和阻断 LPS 的信号转导等方面探讨中药防治内毒素性休克的作用机制,可能对中药研究和内毒素性休克的防治具有重要价值。

参 考 文 献

- 1 Astiz ME, Rackow EC. Septic shock. *Lancet* 1998 ;351 (9114):1501—1505.
- 2 Krizan R, Matsumoto S, Higashi H, et al. The molecular pathogenesis of endotoxic shock and organ failure. *Mol Med Today* 1999 ;3(3):123—132.
- 3 Heumann D, Glauser MP, Calandra T. Molecular basis of host-pathogen interaction in septic shock. *Curr Opin in Microbiol* 1998 ;1:49—55.
- 4 Kumwenda ZL, Wong CB, Johnson JA, et al. Chylomicron-bound endotoxin selectively inhibits NF-Kappa B activation in rat hepatocytes. *Shock* 2002 ;18(2):182—188.
- 5 Guha M, Mackman N. LPS induction of gene expression in human monocytes. *Cell Signal* 2001 ;13:85—94.
- 6 Poltorak A, He X, Smirnova I, et al. Defective LPS signaling in C3H/HeJ and C57BL/10ScCr mice: mutation in TLR4 gene. *Sci* 1998 ;282:2085—2088.
- 7 Nagai Y, Akashi S, Nagafuku M, et al. Essential role of MD-2 in LPS responsiveness and TLR4 distribution. *Nature Immunol* 2002 ;3(7):667—672.
- 8 Klosterhalfen B, Bhardway RS. Septic shock. *Gen Pharmac* 1998 ;31(1):25—32.
- 9 Xie Y, Chen C, Stevenson MA, et al. Heat shock factor represses transcription of the IL-1 gene through physical interaction with the nuclear factor of interleukin 6. *J Biol Chem*

- 2002 22(14):11802—11810.
- 10 Francois F, Bernard W, Lucas L. Is nitric oxide overproduction the target of choice for the management of septic shock? *Pharmacol Ther* 2001 91:179—213.
 - 11 Wang Ping. Adrenomedullin and cardiovascular responses in sepsis. *Peptides* 2001 22:1835—1840.
 - 12 Mazzocchi G, Albertin G, Nussdorfer GG. Adrenomedullin (ADM), acting through ADM(22-52)-sensitive receptors, is involved in the endotoxin-induced hypotension in rats. *Life Sci* 2000 66(15):1445—1450.
 - 13 Mailman D. A role for abdominal vagal afferents in lipopolysaccharide-induced hypotension. *Shock* 2002 18(2):177—181.
 - 14 Wanecek M, Weitzberg E, Rudehill A, et al. The endothelin system in septic and endotoxin shock. *Eur J Pharmacol* 2000 407:1—15.
 - 15 Hauder SB, Spencer E, Bryant DD, et al. Overexpression of cardiac I-kBa prevents endotoxin-induced myocardial dysfunction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001 280:H962—H968.
 - 16 李 灿, 黄道生, 杨剑钢, 等. 救心复脉注射液对内毒素性休克犬的影响. *中医研究* 1998 11(5):7—10.
Li C, Huang DS, Yang JG, et al. Effect of Jiuxin Fumai Injection on dogs with endotoxic shock. *TCM Research* 1998; 11(5):7—10.
 - 17 张芝平, 韩 鹏. 中药抗内毒素研究新进展. *中国中西医结合急救杂志* 2001 8(2):122—124.
Zhang YP, Han P. New progress on study of anti-endotoxin function of TCM. *Chin J Integr Tradit West Med in Prac of Crit Care* 2001 8(2):122—124.
 - 18 刘志峰, 李桂生, 傅风华, 等. 8 种中药注射剂体外拮抗内毒素作用的观察. *中草药* 2002 33(1):58—59.
Liu ZF, Li GS, Fu FH, et al. Observation on effect of 8 TCM injections in antagonizing endotoxin in vitro. *Chin Tradit and Herbal Drugs* 2002 33(1):58—59.
 - 19 张 霞, 崔乃杰, 王家泰. 清热解毒中药拮抗内毒素研究. *天津中医* 1999 16(1):43—45.
Zhang X, Cui NJ, Wang JT. Study of Heat-removing and detoxifying Chinese herbal medicines in antagonizing endotoxin. *Tianjin TCM* 1999 16(1):43—45.
 - 20 张芝平, 韩 鹏, 刘仕昌, 等. 清热解毒凉血化瘀治疗瘟病湿热证的实验研究. *中国中西医结合急救杂志* 2001 9(3):162—166.
Zhang YP, Han P, Liu SC, et al. Experimental study on treatment of febrile Damp-heat Syndrome with principles of Heat-removing, detoxifying, cooling blood and removing stasis. *Chin J Integr Tradit West Med in Prac of Crit Care* 2001 9(3):162—166.
 - 21 Hangjun Zhang, Yoshihiro Sugiura, Yoshifumi Wakiya, et al. Sinitang(Shigyaku-to), a traditional Chinese medicine improves microcirculatory disturbances induced by endotoxin in rats. *J Ethnopharmacol* 1999 68:243—249.
 - 22 邢 杰, 王淑芬, 翁福海. 中药抗炎作用与细胞因子. *中草药* 2001 32(5):471—473.
Xin J, Wang SF, Wen FH. The anti-inflammatory function of Chinese herbal medicines and cytokines. *Chin Tradit and Herb Drugs* 2001 32(5):471—473.
 - 23 魏育林, 李亚俊, 刘 轩, 等. 参麦注射液对内毒素所致小鼠全身炎症反应综合征和多器官功能失常综合征保护作用的实验研究. *中国中西医结合杂志* 2001 21(1):47—50.
Wei YL, Li YJ, Liu X, et al. Experimental study on the protection effect of Shenmai Injection on endotoxin induced systemic inflammatory reaction syndrome and multi-organ functional disorder in mice. *Chin J Integr Tradit and West Med* 2001 21(1):47—50.
 - 24 刘庆增, 王金兰. 中药抗内毒素生物活性的作用机理. *中草药* 1996 27(2):121—123.
Liu QZ, Wang JL. Mechanism of Chinese herbal medicine in antagonizing bioactivity of endotoxin. *Chin Tradit and Herbal Drugs* 1996 27(2):121—123.

(收稿 2003-06-25)

《肾功能衰竭中西医结合诊治》出版

本书由苏州大学附属第一医院卢君健教授主编。全书共 3 篇。第一篇为基础篇,包括肾脏及尿路解剖生理概要及其与临床的联系,急、慢性肾功能衰竭的病因和病理生理及其临床表现,肾功能不全、衰竭的检查方法与评价,肾功能衰竭的中、西医诊治,中、西医对急性肾功能不全、衰竭诊治的比较评价,肾功能衰竭时的药物应用以及肾病常用药。第二篇为临床篇,主要

介绍了不同疾病引起肾病及肾衰的病因病机、临床表现、中西医结合治疗及其治疗方法评价和用药的评价,为本书重点。第三篇附篇,为肾功能不全、衰竭的饮食营养及其他疗法,以及肾功能衰竭中西医结合五辨微调优化法。本书约 150 万字,主要供中、西医内科临床医生,特别是肾内科医生,以及医学院校师生和从事肾病研究的中、西医人员参考。由人民卫生出版社出版。