

· 病例报告 ·

DOI: 10.13498/j.cnki.chin.j.ecc.2020.04.12

体外膜氧合并发横纹肌溶解综合征救治 1 例报告

Treatment of rhabdomyolysis with extracorporeal membrane oxygenation: case report

张 威,唐 晓,孙 兵,李绪言,童朝晖

[关键词]: 体外膜氧合;下肢静脉回流障碍;横纹肌溶解综合征;并发症

[Key words]: Extracorporeal membrane oxygenation; Reflux disorder of lower extremity vein; Rhabdomyolysis; Complications

体外膜氧合(extracorporeal membrane oxygenation, ECMO)近年来在冠脉旁路移植术(coronary artery bypass grafting, CABG)后高危患者血流动力学支持领域有较多研究^[1]。ECMO 支持时间长,常会发生各种并发症,其中血管并发症是 ECMO 支持后常见的并发症之一,有作者^[2]指出 ECMO 股部插管的血管并发症动脉高于静脉。本文报道北京朝阳医院呼吸重症监护室 1 例 CABG 后使用静脉-动脉(veno-artery, V-A) ECMO 联合主动脉内球囊反搏(intra-aortic balloon pump, IABP)支持治疗心源性休克(cardiogenic shock, CS)的患者,在 V-A ECMO 建立后发生静脉引流导管同侧出现下肢静脉回流障碍,并发横纹肌溶解综合征(rhabdomyolysis, RM)。

1 临床资料

患者男性,64 岁,因“间断心前区疼痛 2 月,再发 5 h”收入院。患者 2 月前因冠状动脉粥样硬化性心脏病心绞痛,在本院内科行介入支架治疗好转后出院。既往高血压病、高脂血症。查体:体温 36.5℃,脉搏 96 次/min,呼吸 18 次/min,血压 107/57 mm Hg,脉搏氧饱和度 95%。神志清楚,高枕卧位,双肺呼吸音粗,双下肺可闻及少量湿啰音。心浊音界向双侧扩大,心率 100 次/min,律不齐,二尖瓣听诊区可闻及 3~4/6 级收缩期吹风样杂音,向左腋下传导。双下肢可凹性水肿(++)。心电图示房颤心律、ST-T 改变。血肌钙蛋白 T(troponin I, cTnI) 0.08 ng/ml、肌酸激酶(creatinine kinase, CK) 29 U/L、肌酸激酶同工酶(creatinine kinase isoenzyme, CKMB)

4.8 U/L。脑钠肽(brain natriuretic peptide, BNP) 440 pg/ml,急性生理与慢性健康评分(APACHE II) 5 分。入院诊断:冠状动脉粥样硬化性心脏病介入支架术后、急性冠脉综合征、心房颤动、心功能 Killip II 级。

入院后心脏彩超示二尖瓣重度关闭不全、后叶脱垂、三尖瓣关闭不全、室壁瘤,复查冠脉造影示支架置入处血流通畅,余血管狭窄处同前。于入院后第 19 天在全麻下行冠状动脉旁路移植术+二尖瓣成型术+三尖瓣成型术+室壁瘤切除术+左心耳缝扎术。术前于右股动脉置入 IABP。术中选用左侧大隐静脉为旁路移植血管。术后第 3 天停止呼吸机辅助通气并拔除气管插管,继续保留 IABP。术后第 5 天夜间发作胸闷、端坐呼吸,心电图示快室率房颤,血气分析示动脉氧分压(PaO₂) 52 mm Hg、动脉二氧化碳分压(PaCO₂) 23 mm Hg、给予面罩吸氧,氧流量 3 L/min,氧浓度(FiO₂) 33%,PaO₂/FiO₂为 157 mm Hg,脑钠肽(brain natriuretic peptide, BNP) 735 pg/ml,心脏彩超射血分数 23%,胸片示双肺渗出增多,提示急性心功能不全。使用无创呼吸机后仍不能维持氧合,再次给予有创呼吸机辅助通气,模式 P-A/C、频率(F) 20 次/min、压力支持(Pi) 15 cmH₂O、呼气末正压(positive end-expiratory pressure, PEEP) 6 cmH₂O、FiO₂ 1.0。术后第六天出现神志模糊、四肢湿冷、无尿,血压波动在 75~80/40~55 mm Hg、氧饱和度波动在 85%~90%,考虑患者为 CABG 术后出现 CS。上调血管活性药物去甲肾上腺素 13.3 μg/min、肾上腺素 6.7 μg/min;上调呼吸机参数效果不佳。监测 cTnI、CKMB 无升高,除外围术期心肌梗死,结合心脏彩超节段性室壁运动异常,左室射血分数 23%,考虑术后心肌顿抑。经血管活性药物、呼吸机、IABP 等治疗措施仍存在乳酸持续升高,

作者单位: 100071 北京,中国人民解放军第五医学中心急诊科(张 威);100020 北京,首都医科大学附属北京朝阳医院呼吸监护室(唐 晓、孙 兵、李绪言、童朝晖)

通讯作者: 孙 兵, Email: ricusunbing@126.com

有置入 V-A ECMO 指征。术后第七天凌晨在局麻下经皮穿刺置入 V-A ECMO, 选择左股静脉置入引流管(21 Fr, 48 cm)、左股动脉置入灌注管(17 Fr, 15 cm), 并同时在左股动脉穿刺点远端 3 cm 置入 7 Fr 动脉管改善远端灌注, 复查左侧股动脉超声, 远端血流良好。V-A ECMO 转速 3 875 r/min、ECMO 血流量 3.0 L/min、FiO₂1.0。

术后给予抗感染、补液、抗休克、控制快室率房颤等治疗。置入 ECMO 当日下午发现左下肢明显肿胀、阴囊水肿、皮肤呈暗紫色、散在水泡、左足甲床瘀血, 足背动脉搏动减弱(图 1)。毛细血管充盈实验阴性。监测左下肢组织经皮氧饱和度(SpO₂) 95%~98%。血管彩超示左下肢胫前动脉及足背动脉狭窄但有血流通过, 胫前静脉血栓, 提示静脉回流障碍, 考虑与 CABG 取了大隐静脉血管, ECMO 又在同侧置管后造成静脉回流障碍所致。故在 ECMO 第 3 天将左下肢 V-A ECMO 静脉引流管拔除改为右侧颈内静脉插管, 左下肢肿胀迅速改善(图 1)。患者病情逐渐平稳, 神志清楚逐拔除右侧股动脉 IABP。ECMO 在置入后第 8 天撤离。观察患者左下肢自更换 V-A ECMO 静脉引流导管后肿胀改善, 但出现皮肤表面张力性水泡破溃、局部皮温升高、触摸腓肠肌时无肌肉的弹性感、按压肌肉时患者有痛苦表情。彩超示左侧胫前动脉及足背动脉狭窄, 左小腿肌肉肿胀, 回声不均匀增强, 考虑肌肉坏死。监测肌红蛋白(myohemoglobin, MYO)(图 2)、CK(图 3)逐渐升高, 同时伴有小便量减少, 尿酸、尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)、肌酐(creatinine, Cr)升高。诊断左下肢皮肤感染、RM、急性肾功能不全(acute renal insufficiency, ARI), 不排除肌肉坏死。外科建议局部清创或截肢, 但家属拒绝要求保守治疗, 予连续性肾脏替代治疗(continuous renal replacement therapy, CRRT)。

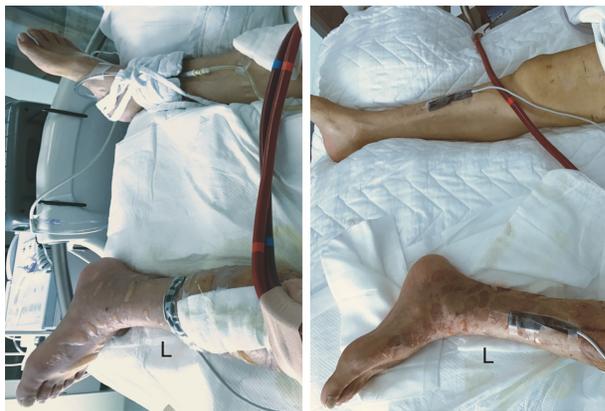


图 1 V-A ECMO 术后第 1 天和第 3 天

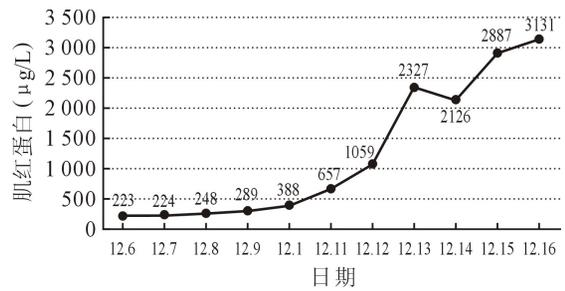
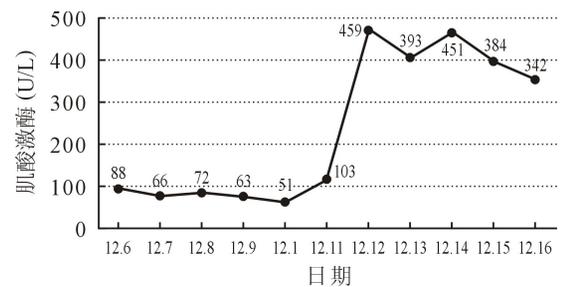


图 2 血肌红蛋白趋势图



注:日期 12.6~12.10 为 V-A ECMO 支持时期;
日期 12.11~12.16 为 V-A ECMO 撤离时期。

图 3 血肌酸激酶趋势图

2 结果

患者在 CABG+二尖瓣成型术+三尖瓣成型术+室壁瘤切除术+左心耳缝扎术后因 CS 于术后第 7 天建立 V-A ECMO, ECMO 第三天左下肢回流障碍, 将股静脉插管改为颈内静脉插管, ECMO 支持 8 天后撤离。但终因患者并发 RM, 肌肉坏死, 行 CRRT 治疗效果不佳。在 V-A ECMO 撤除的第 14 天出现难以纠正的休克、乳酸性酸中毒、急性肝功能不全, 患者死亡。

3 讨论

CABG 后血管并发症是影响 ECMO 辅助结果的独立危险因素之一^[3-4]。常见的血管并发症包括动脉缺血以及静脉回流障碍两种情况, 本例患者明确诊断为下肢静脉回流障碍。国内胡金晓等^[5]报道的 74 例应用 V-A ECMO 患者有 7 例发生下肢静脉回流障碍, 发生率为 9.4%。国外 Foley^[6]等报道的一项回顾性临床研究中, V-A ECMO 导致下肢缺血的发生率高达 20%, 严重者需要截肢。

该患者发生下肢静脉回流障碍的主要原因考虑为:①CABG 手术时已取左侧下肢的大隐静脉, 会使静脉回流通路减少, V-A ECMO 又在此侧肢体静脉插管, 造成静脉回流受阻, 表现为肢体的高度肿胀。

有作者提出 CABG 后置入 ECMO 时不建议在取大隐静脉的肢体侧进行静脉血管插管^[5]。②静脉回流障碍与静脉插管的管径选择、静脉插管位置偏低及抗凝不充分形成静脉血栓有关,粗的静脉插管会影响肢体远端静脉回流,但较细的静脉插管可能导致 ECMO 入血端负压过大,血液破坏以及辅助流量不足^[7]。管径的选择要根据患者的体重以及病情来决定,该患者体重 70 kg,置入 21 Fr 插管后流量可达到 3.0 L/min。静脉血栓也是影响静脉回流的因素,患者在 ECMO 建立的第一天即出现肢体肿胀,静脉回流障碍发生早、快,拔除静脉插管后肿胀立即消退,故认为静脉血栓不是引起患者下肢静脉回流障碍的主要原因。

正常情况下组织内压力小于 10 mm Hg,当下肢静脉回流受阻时,静脉压力升高促进组织液生成,由于筋膜无弹性,使得小腿筋膜室内压力不断升高。唐小斌^[8]等认为可以将桡动脉测压管路连接输液用的套管针,在下肢不同部位分别行骨筋膜室测压。压力升高 >30 mm Hg 可及时进行外科干预。压力升高可压迫股浅动脉时,导致小腿肌肉缺血。肌肉细胞膜的完整性受到破坏,细胞内容物漏出,包括 MYO、CK 等酶类以及离子和小分子毒性物质。当临床上有引起横纹肌溶解的病因,CK 大于正常值的 5 倍以上,血、尿 MYO 升高可诊断为 RM^[9],在 MYO 升高的同时 BUN、Cr 也逐渐升高,提示并发 ARI^[10]。该患者诊断 RM、ARI 明确(CK 872 U/L,血 MYO 7 880 μg/L、BUN 39.94 mmol/l、Cr 148.3 μmol/l)。从图 3、图 4 中也可以看出在置入 V-A ECMO 第 3 天在更换静脉管路后 MYO 及 CK 升高,这也说明骨骼肌的损伤不是发生在缺血期,而是发生在再灌注时相,原因主要是由于解除压迫后,氧和白细胞被送至缺血坏死的肌肉组织,导致氧自由基的产生有关。这也与尤开荣^[11]编写的《常见危重症救治》一书中提到的观点一致。由于患者组织内压力升高时间较长,造成肌肉坏死,其坏死病灶不断释放大量毒素进入体内,只有彻底清除才能解除其对全身情况的威胁。余斌^[12]等指出可疑肌肉组织坏死应及时予以清除。但因患者家属拒绝局部切开清创或截肢等手术干预,要求保守治疗,故给予持续血液净化治疗。由于坏死组织毒素持续释放,血液净

化治疗效果较差,最终患者死亡。

回顾本例患者治疗过程提示有三点:①CABG 后置入 ECMO 时应避免在取大隐静脉侧肢体进行血管插管;②在静脉回流障碍并发症发生时尽早更换静脉通路,使肢体局部肌张力升高时间缩短,发生肌肉坏死出现 RM 的机率减少;③在出现肢体局部肌张力升高时进行测压,为筋膜室压力升高提供可靠证据。总之,对于 V-A ECMO 的静脉并发症应早期识别,及时监测,早期治疗。

参考文献:

- [1] Madershahian N, Wippermann J, Liakopoulos O, *et al*. The acute effect of IABP-induced pulsatility on coronary vascular resistance and graft flow in critical ill patients during ECMO[J]. *J Cardiovasc Surg(Torino)*, 2011, 52(3): 411-418.
- [2] Bisdas T, Beutel G, Warnecke G, *et al*. Vascular complications in patients undergoing femoral cannulation for extracorporeal membrane oxygenation support[J]. *Ann Thorac surg*, 2011, 92(2): 626-631.
- [3] 丁晓晨,江春景,杨峰,等. 体外膜肺氧合在老年患者冠状动脉旁路移植术后的应用研究[J]. *中国体外循环杂志*, 2015, 13(3): 141-145.
- [4] 高国栋,龙村,黑飞龙,等. 体外膜肺氧合用于冠状动脉旁路移植术[J]. *中国体外循环杂志*, 2012, 10(3): 144-147.
- [5] 胡金晓,龙村,黑飞龙,等. 体外膜肺氧合支持肢体并发症 10 例分析[J]. *中国体外循环杂志*, 2011, 9(1): 6-8.
- [6] Foley PJ, Morris RJ, Woo EY, *et al*. Limb ischemia during femoral cannulation for cardiopulmonary support[J]. *J Vasc Surg*, 2010, 52(4): 850-853.
- [7] 何景梅,徐晓,陈琨,等. 体外膜肺氧合支持下肢并发症分析[J]. *浙江临床医学*, 2016, 18(10): 1864-1865.
- [8] 唐小斌,侯晓彤,陈忠,等. 冠状动脉旁路移植术后应用体外膜肺氧合下肢缺血并发症的防治[J]. *心肺血管病杂志*, 2016, 35(7): 547-550.
- [9] 文强,古正涛,童华生,等. 高分子截流持续静脉血液滤过技术治疗横纹肌溶解症的临床观察[J]. *广东医学*, 2013, 34(19): 2950-2952.
- [10] Khan FY. Rhabdomyolysis: a review of the literature[J]. *Neth J Med*, 2009, 67(9): 272-283.
- [11] 尤开荣,邵朝朝,杨德业,等. 常见危重症综合救治[M]. 北京: 人民军医出版社, 2011: 327-331.
- [12] 余斌. 开放性骨折治疗进展[J]. *国际骨科学杂志*, 2013, 34(1): 6-10.

(收稿日期:2019-05-10)

(修订日期:2019-07-16)

· 基础研究 ·

DOI: 10.13498/j.cnki.chin.j.ecc.2020.04.13

二甲双胍通过 mTOR 信号通路 调节自噬减轻心肌梗死小鼠心肌损伤

徐志成, 张久旭, 张景智, 孙腾飞, 姜晓华, 宋春霞

[摘要]:目的 通过在体实验探究二甲双胍(Met)通过 mTOR 信号通路调节自噬减轻小鼠心肌梗死(MI)损伤中的作用。方法 将 80 只 8 周龄 C57BL/6 小鼠随机分为假手术组(Sham 组)、单纯二甲双胍[300 mg/(kg·d)]处理组(Met 组)、MI 组和二甲双胍[300 mg/(kg·d)]干预 MI 组(MI+Met 组)。采用冠状动脉左前降支结扎术制备 MI 模型,计算模型各组死亡率差别,绘制生存分析曲线,HE 染色观察心肌组织形态学变化,试剂盒检测各组血清中肌酸激酶同工酶(CKMB)的含量,TUNEL 染色检测各组细胞凋亡情况,蛋白印迹法(Western-blot)检测自噬相关蛋白 p62、Beclin1 和 mTOR 磷酸化的表达,免疫荧光染色法检测 LC3B 的表达。结果 与 Sham 组相比, Met 组各项指标均无明显变化; MI 组心肌纤维断裂明显、排列紊乱,纤维化程度增加、血清中 CKMB 含量明显增加($P < 0.05$)、TUNEL 阳性细胞明显增多($P < 0.05$)、Beclin1 表达显著升高($P < 0.05$)、磷酸化 mTOR 的表达降低($P < 0.05$)、p62 表达显著降低($P < 0.05$)、免疫荧光结果显示 LC3B 表达增加($P < 0.05$); Met+MI 组可明显减轻心肌纤维的断裂及纤维化、降低血清中 CKMB 含量($P < 0.05$)、减少 TUNEL 阳性细胞数($P < 0.05$)、减少 Beclin1 的表达($P < 0.05$)、降低免疫荧光染色中 LC3B 的表达($P < 0.05$)。结论 二甲双胍通过调节 mTOR 信号介导的自噬可减轻小鼠心脏 MI 损伤。

[关键词]: 二甲双胍; 自噬; mTOR; 心肌梗死; 心肌损伤; 小鼠

Metformin alleviates myocardial injury in mice with myocardial infarction by regulating autophagy through mTOR signaling pathway

Xu Zhicheng, Zhang Jiuxu, Zhang Jingzhi, Sun Tengfei, Jiang Xiaohua, Song Chunxia

Department of Cardiothoracic Surgery, Haiyang People's Hospital, Haiyang Shandong 265100, China

[Abstract]: Objective To investigate the role of metformin (Met) in mitigating myocardial infarction injury in mice by regulating autophagy through mTOR signaling pathway in vivo. **Methods** A total of 80 eight-week-old C57BL/6 mice were randomly divided into sham group (Sham), metformin alone (300 mg/kg d) treatment group (Met), myocardial infarction group (MI) and metformin (300 mg/kg d) intervention group (MI+Met). Myocardial infarction model was established by ligation of left anterior descending branch of coronary artery. Mortality difference of each group was calculated. Survival analysis curve was drawn. Myocardial histomorphological changes were observed by HE staining. CKMB content in serum of each group was detected by kit. Apoptosis was detected by TUNEL staining and Western-blot. The phosphorylation of autophagy-related proteins p62, Beclin1 and mTOR was detected, and the expression of LC3B was detected by immunofluorescence staining. **Results** Compared with Sham group, there was no significant change in all indexes in Met group. Myocardial fibrosis in MI group was disordered with increased fibrosis degree, and serum CKMB content increased significantly ($P < 0.05$), TUNEL positive cells increased significantly ($P < 0.05$) and Beclin1 expression increased significantly ($P < 0.05$), while phosphorylated mTOR expression decreased ($P < 0.05$). The expression of p62 was significantly decreased ($P < 0.05$), and the expression of LC3B was increased ($P < 0.05$) by immunofluorescence. Met could significantly reduce the breakage and fibrosis of myocardial fibers, decrease the content of CKMB in serum ($P < 0.05$), the number of TUNEL-positive cells ($P < 0.05$), the expression of Beclin1 ($P < 0.05$), and the expression of LC3B in immunofluorescence staining ($P < 0.05$) during myocardial infarction injury. **Conclusion** Metformin can alleviate myocardial infarction injury in mice by regulating autophagy mediated by mTOR signal.

[Key words]: Metformin; Autophagy; mTOR; Myocardial infarction; Myocardial injury; Mice

作者单位: 265100 海阳, 山东省海阳市人民医院胸心外科(徐志成、张久旭、张久旭、张景智、孙腾飞、姜晓华), 药剂科(宋春霞)

通讯作者: 徐志成, Email: xuzhichengyiyuan@qq.com

缺血性心脏病严重威胁着人类健康,其中冠状动脉阻塞导致的心肌梗死(myocardial infarction, MI)造成心肌细胞不可逆转坏死。近年来,随着心血管介入技术的不断发展,大大增加了患者心梗后的存活率,而梗死后并发症导致的心功能下降却越来越普遍^[1]。如何进一步减轻心梗后心肌损伤、改善心功能成为心脏康复研究的重要领域。既往研究表明心梗损伤机制与炎症刺激、氧化应激反应、凋亡等相关,最新研究表明心肌细胞的 mTOR 信号通路介导的自噬在 MI 后心室重构中发挥重要作用^[2-6]。二甲双胍(metformin, Met)以往在临床上作为降糖药用于治疗 2 型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM),近年来不断有文献报道其多样性应用研究,研究发现缺血性心脏病、糖尿病伴心力衰竭的患者使用二甲双胍安全有效^[7-9]。Met 通过信号分子的调控改善心肌功能、发挥心脏保护作用的研究也越来越多^[10-12]。本实验在小鼠 MI 模型中发现, Met 可以通过调节 Akt/mTOR 信号通路来下调自噬水平减轻 MI 后心肌损伤,从而为 Met 用于 MI 的临床应用积累更多的实验依据。

1 材料和方法

1.1 仪器设备及材料 激光共聚焦显微镜、光学显微镜(奥林巴斯公司,日本), Western blot 电泳设备(Bio-Rad 公司,美国)。C57BL/6 小鼠(健康,雄性,8 周龄)80 只,购于斯贝福(北京)生物技术有限公司。Met(Sigma 公司,美国),辣根过氧化物酶标记山羊抗小鼠、辣根过氧化物酶标记山羊抗兔 IgG、mTOR、磷酸化 mTOR(mammalian target of rapamycin, 哺乳动物雷帕霉素靶蛋白)、p62、LC3B 和 Beclin1(Abcom 公司,美国), TUNEL 试剂盒购(Roche 公司),肌酸激酶同工酶(creatine kinase, CKMB)试剂盒(R&D 公司)。

1.2 方法

1.2.1 小鼠 MI 模型建立 异氟烷麻醉后,固定(仰卧位),连接心电图电极,记录心电图。开胸暴露后,在小鼠心脏左心耳下方 2~3 mm 处以 6-0 号线结扎。心电图 II 导联 ST 段抬高,结扎线下心肌缺血,模型建立成功。假手术组仅开胸暴露。所有小鼠随机分 4 组,即假手术组(Sham 组)、单纯二甲双胍[300 mg/(kg·d)]处理组(Met 组)、MI 组和 Met [300 mg/(kg·d)]干预 MI 组(Met+MI 组)。Met 组和 Met+MI 组小鼠手术后以灌胃方式给予 Met [300 mg/(kg·d)]至术后 1 月,Sham 组和 MI 组手术后不做任何干预,记录并计算各组小鼠死亡率,绘

制生存曲线。

1.2.1 HE 染色 MI 建立 1 月后,迅速剪下心脏,冷 PBS 缓冲液冲洗,40 g/L 多聚甲醛固定 72 h,石蜡包埋、切片及染色。

1.2.3 CKMB 检测 MI 建立后 3 d,异氟烷麻醉,快速取小鼠颈动脉血至 4 ml EP 管中,4℃低温静置 8 h 后,3 000 r/min 离心 15 min,取上清即为血清。严格按照 CKMB 试剂盒说明书检测各组血清中 CKMB 的含量,结果以 U/L 为单位表示。

1.2.4 TUNEL 染色 切取小鼠左室前壁组织,石蜡包埋、切片、脱蜡、复水,按 TUNEL 试剂盒说明书检测,采集图像。每张切片随机选取 10 个高倍镜视野计算细胞凋亡指数(apoptotic index, AI),凋亡细胞核为绿色,正常细胞核为蓝色。AI=(凋亡细胞核数/总细胞核数)×100%。

1.2.5 LC3B 免疫荧光染色 切取小鼠左室前壁组织,石蜡包埋、切片、脱蜡、复水,用 PBS 缓冲液洗 5 次(3 min/次),Triton-X100(2 g/L)处理 15 min, PBS 液冲洗 5 次(3 min/次),山羊血清室温封闭 1.5 h, PBS 液洗 5 次(3 min/次),每个切片加 LC3B 抗体(1:100)50 μl,4℃孵育 15 h, PBS 液洗 5 次(3 min/次),暗室内每张切片加荧光二抗(1:500)50 μl, PBS 液洗 5 次(3 min/次),避光条件下每张切片加 DAPI 溶液 50 μl, PBS 液洗 5 次(3 min/次),用荧光防淬灭液封片,采集图像。

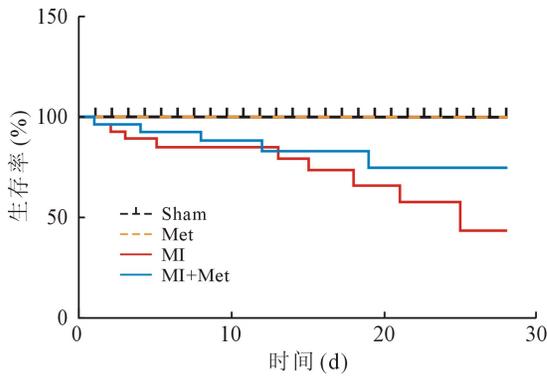
1.2.6 Western-blot 检测 切取小鼠左心室前壁组织 50 mg,加入裂解液后低温研磨裂解 30 min,离心 20 min(4℃,12 000 g),取上清,定量采用 BCA 比色法。分别配置 80 ml/L、100 ml/L 和 120 ml/L 的分离胶进行电泳,转膜至 PVDF 膜上,牛奶常温封闭 2 h,切下目的条带,放入相应的 mTOR(1:1 000)、p-mTOR(1:1 000)、Beclin1(1:1 000)、p62(1:1 000)和 GAPDH(1:5 000)一抗中,4℃孵育过夜,再用 TBST 溶液洗膜 5 次(3 min/次),二抗常温孵育 2 h, TBST 洗膜 5 次(3 min/次),以 GAPDH 为内参,发光液显色,采集图像。

1.3 统计学处理 GraphPad Prism 5.0 进行统计学分析并作图,数据以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA), $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 对小鼠生存分析曲线的影响 各组小鼠 4 周后的生存率 Kaplan-Meier 分析表明 MI+Met 组比 MI 组的死亡率明显降低($P < 0.05$),主要死亡原因

与心梗后心力衰竭有关,见图 1。

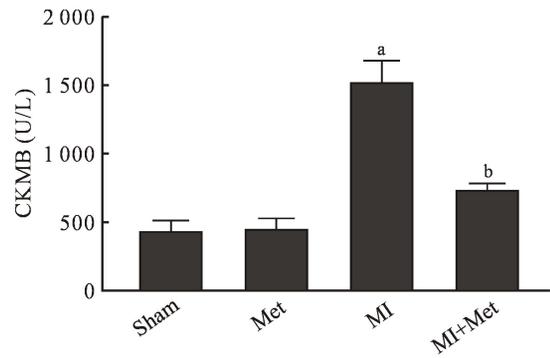


注:MI 组与 Sham 组比较, $P < 0.05$; MI+Met 与 MI 组比较, $P < 0.05$ 。

图 1 各组小鼠生存分析曲线

2.1 血清 CKMB 含量的变化 Sham 组与 Met 组血清 CKMB 水平比较没有明显差异 ($P > 0.05$); 与 Sham 组相比,MI 组血清 CKMB 水平明显升高 ($P < 0.05$); Met+MI 组血清中 CKMB 水平比 MI 组显著降低 ($P < 0.05$)。见图 2。

2.3 心肌组织 TUNEL 染色 Sham 组与 Met+Sham 组 TUNEL 阳性细胞核染色较少且无差异 ($P > 0.05$); MI 组比 Sham 组 TUNEL 阳性细胞核染色数量明显增多 ($P < 0.05$); 与 MI 组相比, Met+MI 组可明显减少 TUNEL 阳性细胞核染色数量 ($P < 0.05$)。见图 3。



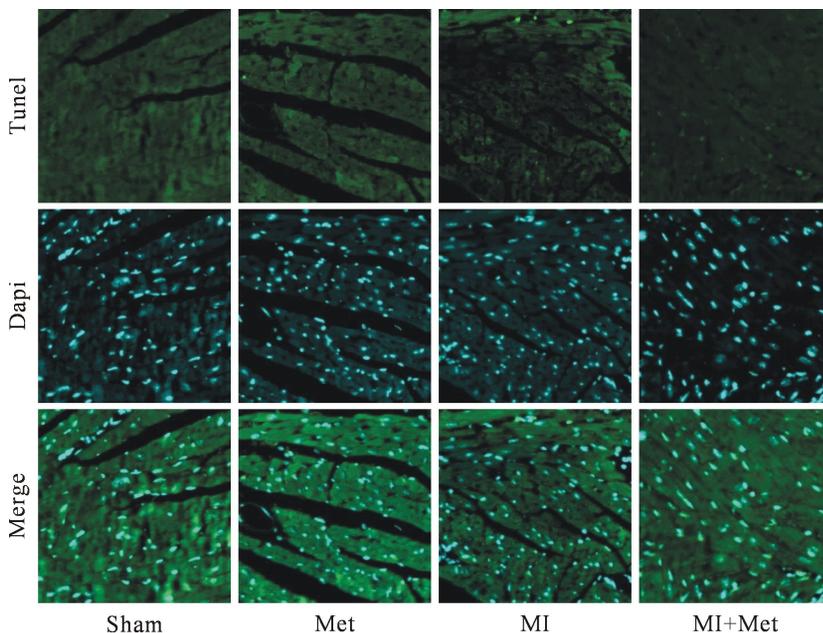
注:与 Sham 组比较, a 为 $P < 0.05$; 与 MI 组比较, b 为 $P < 0.05$ 。

图 2 血清中 CKMB 的含量

2.4 各组小鼠心肌自噬相关蛋白表达的变化

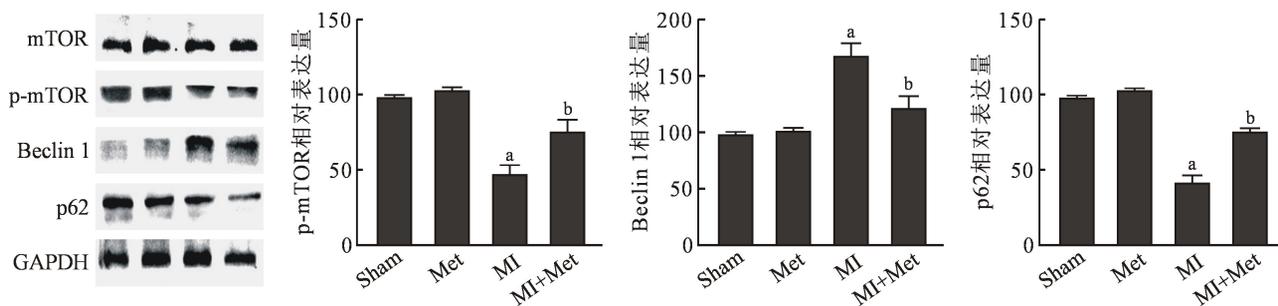
Sham 组与 Met 组自噬相关蛋白的含量无差异 ($P > 0.05$); MI 组比 Sham 组 p-mTOR 表达明显降低 ($P < 0.05$), Beclin1、p62 含量显著增高 ($P < 0.05$); MI+Met 组比 MI 组的 p-mTOR 的含量显著升高 ($P < 0.05$), Beclin1、p62 含量显著降低 ($P < 0.05$)。见图 4。

2.5 心肌 LC3B 表达的免疫荧光染色 与 Sham 组相比, Met 组 LC3B 蛋白免疫荧光染色无统计学差异; 与 Sham 组相比, MI 组 LC3B 蛋白免疫荧光染色数量明显增多 ($P < 0.05$); 与 MI 组相比, MI+Met 组 LC3B 蛋白染色的数量显著减少 ($P < 0.05$)。见图 5。



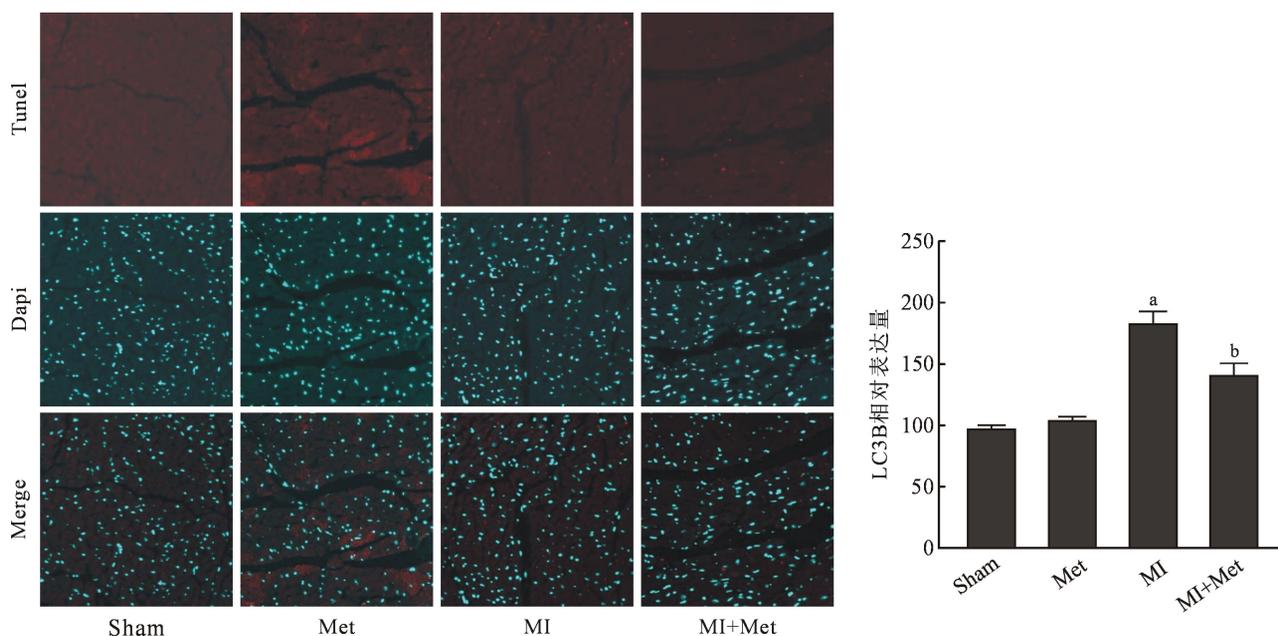
注:MI 组与 Sham 组比较, a 为 $P < 0.05$; Met+MI 组与 MI 组相比, b 为 $P < 0.05$ 。

图 3 各组小鼠心肌组织 TUNEL 染色和凋亡率



注:与 Sham 组比较, a 为 $P < 0.05$; 与 MI 组比较, b 为 $P < 0.05$ 。

图 4 各组自噬相关蛋白表达的变化



注:与 Sham 组比较, a 为 $P < 0.05$; 与 MI 组比较, b 为 $P < 0.05$ 。

图 4 小鼠心肌组织 LC3B 免疫荧光染色

3 讨论

急性 MI 是常见的心血管急危重症,起病较为隐袭,且具有高死亡率,目前多数入院患者行经皮冠状动脉支架植入术(percutaneous coronary stent implantation, PCI)后,症状能够明显缓解,术后心功能明显改善。然而,MI 后的心肌损伤造成心功能下降,限制 PCI 术后的效果^[13]。本研究建立小鼠 MI 模型,探究 MI 损伤相关指标和自噬相关指标变化,结果提示,MI 组心肌损伤加重、mTOR 的磷酸化表达被明显抑制,并伴有自噬增强。给予 Met 处理后,心肌损伤明显减轻、mTOR 的磷酸化表达增强,且伴有自噬降低。上述结果提示,MI 损伤中,由 mTOR 信号通路介导的自噬发挥重要作用。本实验中,Met 通过激活 mTOR 信号通路、降低自噬,从而减轻 MI

造成的心肌损伤。

正常生理状态下,自噬的作用是清除受损细胞器、错误折叠的蛋白质、维持细胞稳态,广泛存在于细胞内^[14]。mTOR 作为 PI3K 相关激酶家族成员及 PI3K/Akt 信号通路下游分子,参与多种生物学过程,是自噬的调控中的关键分子,且与自噬过程呈负相关,mTOR 根据与其结合的蛋白质复合体的不同主要分为 mTORC1 与 mTORC2,前者主要调节细胞能量代谢及蛋白合成。本实验结果提示,在小鼠 MI 模型中,p-mTOR 表达降低,自噬相关蛋白 Beclin1 和 LC3B 表达增加,p62 表达降低;而 mTOR 被激活即 p-mTOR 表达增高时,自噬相关蛋白 Beclin1 和 LC3B 表达减少,p62 表达增加,提示 mTOR 信号通路介导自噬与小鼠 MI 模型心肌损伤密切相关。

Met 是治疗 T2DM 的重要降糖药物,以往专家

共识中明确指出:可以将 Met 列入 T2DM 患者的第一步治疗中,即在单纯饮食控制和体育锻炼的同时接受 Met 治疗^[1]。近年来,关于 Met 的研究不断拓展到其他领域,研究发现能够抑制 T2DM 患者消化系统及泌尿系统肿瘤的进程并改善预后,同时对于肿瘤治疗,还可以增强化疗疗效,但其具体作用机制尚未完全阐明。Met 可以有效降低糖尿病相关心脏疾病风险,其心血管保护机制降糖、代谢改变以及细胞功能改善等相关^[15-18]。本实验发现 Met 在减轻心血管损伤中发挥保护作用,其机制可能与自噬过程密切相关。Met 可明显改善 MI 后心肌纤维化程度及心肌细胞凋亡,减少血清中梗死标志物 CKMB 的含量,结果证实了 Met 减轻 MI 损伤的作用;同时,笔者还发现, Met 组自噬相关蛋白的表达与 Sham 组均无明显变化;与 Sham 组相比, MI 组 p-mTOR 表达明显降低, LC3B 和 Beclin1 的表达显著升高, p62 表达降低; MI+Met 组 p-mTOR 的表达比 MI 组明显增高, 自噬相关蛋白 LC3B、Beclin1 的表达显著降低, p62 表达升高, 表明 Met 可以激活 mTOR 信号降低自噬改善 MI 损伤。初步认为 MI 心肌缺血抑制 mTOR 信号通路的激活; Met 通过激活 mTOR 信号通路下调自噬水平减轻 MI 损伤。

根据以上实验研究结果,本研究已经证实 Met 通过激活 mTOR 信号通路下调自噬减轻 MI 损伤,为 Met 在 MI 中发挥保护作用提供了新的实验依据。然而, Met 激活 mTOR 信号通路向下调 MI 自噬具体机制仍有待进一步研究证实。

参考文献:

- [1] Brignole M, Moya A, de Lange FJ, *et al.* 2018 ESC guidelines for the diagnosis and management of syncope[J]. *Eur Heart J*, 2018, 39(21): 1883-1948.
- [2] Bangalore S, Toklu B, Patel N, *et al.* Newer-generation ultrathin strut drug-eluting stents versus older second-generation thicker strut drug-eluting stents for coronary artery disease[J]. *Circulation*, 2018, 138(20): 2216-2226.
- [3] Hahalis GN, Leopoulou M, Tsigkas G, *et al.* Multicenter randomized evaluation of high versus standard heparin dose on incident radial arterial occlusion after transradial coronary angiography: the spirit of artemis study[J]. *JACC Cardiovasc Interv*, 2018, 11(22): 2241-2250.
- [4] Kaski J, Crea F, Gersh BJ, *et al.* Reappraisal of ischemic heart disease[J]. *Circulation*, 2018, 138(14): 1463-1480.
- [5] 徐臣年,尹文超,王建浩,等. 褪黑素通过 Akt/mTOR 信号通路对自噬和 H9C2 心肌细胞缺血再灌注损伤的影响[J]. *解放军医药杂志*, 2019, 31(3): 8-14.
- [6] 徐臣年,吕涛,李聪叶,等. mTOR 信号介导的自噬在褪黑素减轻心脏缺血/再灌注损伤中的作用[J]. *心脏杂志*, 2018, 30(3): 249-253.
- [7] Abdelsamia EM, Khaleel SA, Balah A, *et al.* Curcumin augments the cardioprotective effect of metformin in an experimental model of type I diabetes mellitus; impact of Nrf2/HO-1 and JAK/STAT pathways[J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 109: 2136-2144.
- [8] Bahrambeigi S, Yousefi B, Rahimi M, *et al.* Metformin; an old antidiabetic drug with new potentials in bone disorders[J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 109: 1593-1601.
- [9] Kanamori H, Naruse G, Yoshida A, *et al.* Metformin enhances autophagy and provides cardioprotection in δ -sarcoglycan deficiency-induced dilated cardiomyopathy[J]. *Circ Heart Fail*, 2019, 12(4): e005418.
- [10] Ghandi Y, Habibi D, Nasri K, *et al.* Effect of well-controlled gestational diabetes on left ventricular diastolic dysfunction in neonates[J]. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 2019, 32(13): 2101-2106.
- [11] Wang Y, Yang Z, Zheng G, *et al.* Metformin promotes autophagy in ischemia/reperfusion myocardium via cytoplasmic AMPK α 1 and nuclear AMPK α 2 pathways[J]. *Life Sci*, 2019, 225: 64-71.
- [12] Chen X, Li X, Zhang W, *et al.* Activation of AMPK inhibits inflammatory response during hypoxia and reoxygenation through modulating JNK-mediated NF- κ B pathway[J]. *Metabolism*, 2018, 83: 256-270.
- [13] Nishimura RA, Otto CM, Bonow RO, *et al.* 2017 AHA/ACC focused update of the 2014 AHA/ACC guideline for the management of patients with valvular heart disease: a report of the american college of cardiology/american heart association task force on clinical practice guidelines[J]. *Circulation*, 2017, 135(25): e1159-e1195.
- [14] Yang F, Qin Y, Wang Y, *et al.* Metformin inhibits the NLRP3 inflammasome via AMPK/mTOR-dependent effects in diabetic cardiomyopathy[J]. *Int J Biol Sci*, 2019, 15(5): 1010-1019.
- [15] Shang F, Zhang J, Li Z, *et al.* Cardiovascular protective effect of metformin and telmisartan; reduction of PARP1 activity via the AMPK-PARP1 cascade[J]. *PLoS One*, 2016, 11(3): e0151845.
- [16] Leung M, Wong VW, Hudson M, *et al.* Impact of improved glycemic control on cardiac function in type 2 diabetes mellitus[J]. *Circ Cardiovasc Imaging*, 2016, 9(3): e0036423.
- [17] Elmadhun NY, Sabe AA, Lassaletta AD, *et al.* Metformin mitigates apoptosis in ischemic myocardium[J]. *J Surg Res*, 2014, 192(1): 50-58.
- [18] Kim J, Kwak HJ, Cha JY, *et al.* Metformin suppresses lipopolysaccharide (LPS)-induced inflammatory response in murine macrophages via activating transcription factor-3 (ATF-3) induction[J]. *J Biol Chem*, 2014, 289(33): 23246-23255.

(收稿日期:2019-10-09)

(修订日期:2019-11-13)

· 综述 ·

DOI: 10.13498/j.cnki.chin.j.ecc.2020.04.14

铁死亡及其在器官缺血再灌注损伤中作用研究进展

国胜文, 童媛媛, 柏利婷, 靳雨, 张沛瑶, 李艺宣, 段欣, 刘晋萍

[摘要]: 铁死亡是近年来新发现的一种细胞死亡方式。本文概述铁死亡概念、形态生化特征、调控机制,以及铁死亡在心肌、脑、肾、肝、肠道缺血再灌注损伤中作用机制和铁死亡治疗策略,旨在为体外循环器官保护提供理论基础。

[关键词]: 铁死亡;铁;体外循环;缺血再灌注损伤;脏器保护

Advances of ferroptosis in organ ischemia-reperfusion injury

Guo Shengwen, Tong Yuanyuan, Bai Liting, Jin Yu, Zhang Peiyao, Li Yixuan, Duan Xin, Liu Jinping
Department of Cardiopulmonary Bypass, State Key Laboratory of Cardiovascular Diseases, Fuwai Hospital,
National Center for Cardiovascular Diseases, Chinese Academy of Medical Science and Peking Union Medical
College, Beijing 100037, China

Corresponding author: Liu Jinping, Email: liujinping@fuwai.com

[Abstract]: Ferroptosis is a new found pathway in cell death. This article demonstrates the concept, morphological and biochemical characteristics, regulatory mechanisms of ferroptosis, as well as the mechanism of ferroptosis in myocardial, brain, kidney, liver, and intestinal ischemia-reperfusion injury and the preventive strategies. The aim of this article is to provide new theoretical basis for organ protection associated with cardiopulmonary bypass surgery.

[Key words]: Ferroptosis; Iron; Extracorporeal circulation; Ischemia reperfusion injury; Organ protection

铁死亡 (ferroptosis) 是近年来提出的新型细胞死亡方式,铁死亡在包括缺血再灌注 (ischemia/reperfusion, I/R) 损伤的多种病理生理损伤进程中都扮演着重要作用。I/R 损伤是体外循环术后器官功能损伤的重要机制^[1],因此探究铁死亡在器官 I/R 损伤中的作用机制,可能为体外循环术后脏器保护提供新的思路。

1 铁死亡概述

1.1 铁死亡概念的提出 2003 年, Dolma 等人^[2]首次发现化合物爱拉斯汀 (erastin) 可以杀死癌细胞,且该种细胞死亡形式并不属于细胞凋亡。此后,2008 年, Yang 等人^[3]的研究进一步支持和延申了 Dolma 等人的研究结果,他们发现 ras 选择性致死化合物 (ras-selective-lethal compound, RSL) 3 和 RSL5 可以杀死含 ras 基因的癌细胞,并且该过程不

能被坏死、凋亡和自噬特异性抑制剂所抑制,反而可以被抗氧化剂和铁螯合剂抑制。2012 年, Dixon SJ 等人^[4]才正式提出铁死亡这一概念,并将其定义为细胞内异常铁代谢导致的脂质过氧化物和活性氧堆积引起的调节性的细胞死亡,且这种细胞死亡可以被脂质过氧化物抑制剂和铁螯合剂抑制。随着铁死亡概念的提出越来越多的病理生理过程被发现和铁死亡相关。

1.2 铁死亡形态特征和生化特征 2018 年,细胞死亡命名委员会建议将铁死亡定义为一种调节性细胞死亡 (regulated cell death, RCD)^[5]。铁死亡在形态学上表现为细胞膜不破裂但膜上起泡、线粒体变小、线粒体膜密度增加且外膜破裂、线粒体嵴减少或消失、细胞核大小正常但缺乏染色质凝聚^[6]。

铁死亡的中心环节是以铁超载为主的铁代谢紊乱和脂质过氧化^[7]。细胞内过量铁会导致氧化性胁迫,称为 Fenton 型 Haber-Weiss 反应 ($\text{Fe}^{2+} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{Fe}^{3+} + (\text{OH})^- + \text{OH} \cdot$ ①; $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe}^{3+} \rightarrow \text{Fe}^{2+} + \text{O}_2 + 2\text{H}^+$ ②; $\text{O}_2 + \text{Fe}^{2+} \rightarrow \text{Fe}^{3+} + \text{O}_2^-$ ③)^[8]。在此过程中 Fe^{2+} 活化 H_2O_2 , 形成羟自由基 ($\cdot\text{OH}$) 和过氧自由基 ($\text{O}_2 \cdot$), 活化的自由基通过损伤细胞膜系统造成

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81670375)

作者单位: 100037 北京, 中国医学科学院 北京协和医学院
国家心血管病中心 阜外医院 体外循环中心

通讯作者: 刘晋萍, Email: liujinping@fuwai.com

细胞死亡。

1.3 铁死亡的调控 目前的研究认为,铁死亡主要受到胱氨酸/谷氨酸逆转运体(the cystine/glutamate antiporter system, system X_c⁻)和谷胱甘肽过氧化物酶 4 (glutathione peroxidase 4, GPX₄) 的严格调控。system X_c⁻将细胞外胱氨酸转运到细胞,再转化为半胱氨酸用于谷胱甘肽 (glutathione, GSH) 的合成^[9]。细胞摄取半胱氨酸是 GSH 合成的关键步骤,GSH 的巯基具有还原性,可作为体内重要的还原剂。当选择性抑制 system X_c⁻时,会导致细胞内 GSH 的合成减少,氧自由基堆积,最终引起细胞死亡^[6]。

GPX₄是重要的含硒抗氧化蛋白,通过氧化 GSH 来降低细胞内 H₂O₂和过氧化物的含量,并且可以增加维生素 C 的抗氧化作用。GPX₄活性受到抑制引起细胞内 H₂O₂堆积,在铁的参与下产生氧自由基,引起细胞损伤^[7]。

除此之外,铁死亡还受到其他机制调控。目前谷氨酰胺代谢途径被证实在铁死亡中发挥重要作用^[10]。近期的一项研究还发现当细胞密度高时,细胞表现出了对铁死亡的抗性,相邻的细胞通过 ECAD-NF2-Hippo-YAP 信号通路轴对铁死亡过程进行调控^[11]。

2 铁死亡在器官 I/R 损伤中作用机制

2.1 心肌 I/R 损伤 冠状动脉粥样硬化血管斑块破裂可引起冠状动脉狭窄缺血,目前对于心肌缺血梗死最主要的治疗方式是对梗死狭窄动脉进行再灌注,这一治疗过程不可避免的引起心肌 I/R 损伤。Baba 等人^[12]在 I/R 心肌细胞研究报道过铁过载现象。Stamenkovic 等人^[13]的研究也发现 I/R 损伤可以引起成年大鼠心脏非凋亡的细胞死亡,且这种细胞死亡可以被铁死亡抑制剂 ferrostatin-1 抑制。Fang 等人^[14]也证实了在心肌 I/R 损伤在体模型中存在铁死亡,且 ferrostatin-1 和铁螯合剂可以显著改善 I/R 损伤造成的心功能衰竭。Gao 等人^[10]进一步提出转铁蛋白和谷氨酰胺是心肌 I/R 铁死亡的诱导剂,抑制谷氨酰胺分解可以降低 I/R 损伤导致的心肌损伤。

2.2 神经 I/R 损伤 缺血性脑卒中是一种常见的神经系统疾病,Guan 等人^[15]的一项研究发现卡伐罗尔可以通过增加缺血脑组织中 GPx4 的表达,抑制铁死亡从而对 I/R 损伤脑组织起到保护作用。Li 等人^[16]在脑出血小鼠模型中报道了铁死亡,此外他们还发现在体和离体模型中应用 ferrostatin-1 可以抑制神经元死亡和铁沉积,减轻脂质过氧化,并降低

环氧合酶-2 (cyclooxygenase-2) 的转录和表达的增加。并且提出环氧合酶-2 表达增加可能是铁死亡的一个生物标记。

2.3 肾 I/R 损伤 Linkermann 等人^[17]发现第三代 ferrostatins 可以抑制 I/R 造成的肾损伤。Huang 等人^[18]证实了在 I/R 肾上皮细胞模型中,通过 shRNA 抑制肾上皮细胞细胞肝再生增强因子 (augmenter of liver regeneration, ALR) 的表达可以显著增强铁死亡发生,此外该团队认为 ALR 抑制铁死亡的作用可能通过 system X_c⁻系统和 GPX₄进行调控。

2.4 消化系统 I/R 损伤 Friedmann 等人^[19]发现铁死亡的抑制剂 liproxtatin-1 可以抑制 I/R 引起的肝损伤。Li 等人^[20]研究证实肠道 I/R 损伤过程中发生铁死亡,ACYL-CoA 合成酶长链家族成员 4 (Acyl-CoA synthetase long-chain family member 4, ACSL4) 是脂质合成的关键酶,通过药物或 siRNA 抑制 ACSL4 的表达可以降低 I/R 损伤造成的铁死亡。其进一步研究还发现特殊蛋白 1 (special protein 1, Sp1) 是 ACSL4 关键转录因子,可以通过与 ACSL4 启动区结合提高其表达。

3 铁死亡的治疗

去铁胺 (desferrioxamine) 能清除铁蛋白和含铁血黄素中的铁离子,用于治疗急慢性铁过载引起的疾病,国内外研究都报道过其对于地中海贫血^[21-23],再生障碍性贫血、脑出血^[24-25]等疾病进程中铁过载的治疗作用。此外也研究报道葡萄籽花青素^[26]、N-乙酰-L-半胱氨酸^[27]、石杉碱甲^[28]等对铁过载引起的器官损伤具有保护作用。

4 结 语

铁死亡作为一种新发现的细胞程序性死亡方式,具有其独特的形态和生化特征,近年来一些研究也在不断探索和完善铁死亡的调控机制。铁死亡参与多种器官的 I/R 损伤过程,抑制细胞内铁死亡是预防和治疗 I/R 器官损伤的新靶点和新思路。然而,铁死亡在体外循环过程中的作用机制以及抑制体外循环过程中铁死亡对器官保护作用还未见研究报道,其是否也参与体外循环 I/R 损伤过程仍有待进一步的研究。

参考文献:

- [1] 刘晋萍. 浅谈婴幼儿围体外循环期重要脏器保护研究进展 [J]. 中国体外循环杂志, 2018, 16(6): 321-323.
- [2] Dolma S, Lessnick SL, Hahn WC, et al. Identification of geno-

- type-selective antitumor agents using synthetic lethal chemical screening in engineered human tumor cells [J]. *Cancer Cell*, 2003, 3(3): 285-296.
- [3] Yang WS, Stockwell BR. Synthetic lethal screening identifies compounds activating iron-dependent, nonapoptotic cell death in oncogenic-RAS-harboring cancer cells [J]. *Chem Biol*, 2008, 15(3): 234-245.
- [4] Dixon SJ, Lemberg KM, Lamprecht MR, *et al*. Ferroptosis: an iron-dependent form of nonapoptotic cell death [J]. *Cell*, 2012, 149(5): 1060-1072.
- [5] Galluzzi L, Vitale I, Aaronson SA, *et al*. Molecular mechanisms of cell death: recommendations of the nomenclature committee on cell death 2018 [J]. *Cell Death Differ*, 2018, 25(3): 486-541.
- [6] Xie Y, Hou W, Song X, *et al*. Ferroptosis: process and function [J]. *Cell Death Differ*, 2016, 23(3): 369-379.
- [7] Dixon SJ, Stockwell BR. The role of iron and reactive oxygen species in cell death [J]. *Nat Chem Biol*, 2014, 10(1): 9-17.
- [8] Scindia PY, Leeds Md J, Swaminathan Md S. Iron homeostasis in healthy kidney and its role in acute kidney injury [J]. *Semin Nephrol*, 2019, 39(1): 76-84.
- [9] Bridges RJ, Natale NR, Patel SA. System xc- cystine/glutamate antiporter: an update on molecular pharmacology and roles within the CNS [J]. *Br J Pharmacol*, 2012, 165(1): 20-34.
- [10] Gao M, Monian P, Quadri N, *et al*. Glutaminolysis and transferrin regulate ferroptosis [J]. *Mol Cell*, 2015, 59(2): 298-308.
- [11] Wu J, Minikes AM, Gao M, *et al*. Intercellular interaction dictates cancer cell ferroptosis via NF2-YAP signalling [J]. *Nature*, 2019, 572(7769): 402-406.
- [12] Baba Y, Higa JK, Shimada BK, *et al*. Protective effects of the mechanistic target of rapamycin against excess iron and ferroptosis in cardiomyocytes [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2018, 314(3): H659-H668.
- [13] Stamenkovic A, Pierce GN, Ravandi A. Phospholipid oxidation products in ferroptotic myocardial cell death [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2019, 317(1): H156-H163.
- [14] Fang X, Wang H, Han D, *et al*. Ferroptosis as a target for protection against cardiomyopathy [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2019, 116(7): 2672-2680.
- [15] Guan X, Li X, Yang X, *et al*. The neuroprotective effects of carvedrol on ischemia/reperfusion-induced hippocampal neuronal impairment by ferroptosis mitigation [J]. *Life Sci*, 2019, 235: 116795.
- [16] Li Q, Han X, Lan X, *et al*. Inhibition of neuronal ferroptosis protects hemorrhagic brain [J]. *JCI Insight*, 2017, 2(7): e90777.
- [17] Linkermann A, Skouta R, Himmerkus N, *et al*. Synchronized renal tubular cell death involves ferroptosis [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111(47): 16836-16841.
- [18] Huang LL, Liao XH, Sun H, *et al*. Augmenter of liver regeneration protects the kidney from ischaemia-reperfusion injury in ferroptosis [J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 23(6): 4153-4164.
- [19] Friedmann Angeli JP, Schneider M, Proneth B, *et al*. Inactivation of the ferroptosis regulator Gpx4 triggers acute renal failure in mice [J]. *Nat Cell Biol*, 2014, 16(12): 1180-1191.
- [20] Li Y, Feng D, Wang Z, *et al*. Ischemia-induced ACSL4 activation contributes to ferroptosis-mediated tissue injury in intestinal ischemia/reperfusion [J]. *Cell Death Differ*, 2019, 26(11): 2284-2299.
- [21] Kontoghiorghes CN, Kontoghiorghes GJ. Efficacy and safety of iron-chelation therapy with deferoxamine, deferiprone, and deferasirox for the treatment of iron-loaded patients with non-transfusion-dependent thalassemia syndromes [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2016, 10: 465-481.
- [22] Bollig C, Schell LK, Rucker G, *et al*. Deferasirox for managing iron overload in people with thalassaemia [J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2017, 8: CD007476.
- [23] 刘元军. 对进行输血治疗的地中海贫血患者使用去铁酮联合去铁胺治疗铁过载的效果 [J]. *当代医药论丛*, 2019, 17(5): 149-150.
- [24] 马志胜, 袁艳波. 用地黄饮子联合去铁胺治疗脑出血对患者血肿及周围水肿的影响 [J]. *当代医药论丛*, 2019, 17(13): 123-124.
- [25] 徐福林, 王建清, 虞剑, 等. 去铁胺对老年颅脑损伤病人颅内血肿和水肿的促吸收作用 [J]. *中国微侵袭神经外科杂志*, 2019, 24(1): 5-8.
- [26] Yun S, Chu D, He X, *et al*. Protective effects of grape seed proanthocyanidins against iron overload-induced renal oxidative damage in rats [J]. *J Trace Elem Med Biol*, 2020, 57: 83-91.
- [27] Shen JC, Zhang YC, Zhao MF. Protective effects of deferasirox and N-acetyl-L-cysteine on iron overload-injured bone marrow [J]. *Braz J Med Biol Res*, 2017, 50(12): e6087.
- [28] Tao LX, Huang XT, Chen YT, *et al*. Acetylcholinesterase-independent protective effects of huperzine A against iron overload-induced oxidative damage and aberrant iron metabolism signaling in rat cortical neurons [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2016, 37(11): 1391-1400.

(收稿日期:2019-11-20)

(修订日期:2019-12-27)

· 综 述 ·

DOI: 10.13498/j.cnki.chin.j.ecc.2020.04.15

缺氧诱导因子在肺缺血-再灌注损伤中的研究进展

袁嘉喆(综述),夏清平,邓 丽(审校)

[摘要]: 肺缺血-再灌注损伤(LIRI)是体外循环术后常见并发症,严重影响患者术后康复。目前对于其机制的探索还未完全认清。缺氧诱导因子(HIF)是一种在细胞缺氧状态下发挥调控功能的因子,随着近年来其研究的深入,HIF与缺血缺氧性疾病的关系也逐渐被证实。文献研究显示HIF在氧化应激、炎症、糖酵解以及细胞自噬等复杂机制中起着重要的调控作用,也有学者认为HIF是LIRI进程中的重要环节之一。因此,本文就HIF与LIRI的发生、发展关系研究进展作一综述。

[关键词]: 缺氧诱导因子;肺缺血-再灌注损伤;体外循环;心血管外科

Research advances in hypoxia-inducible factor in lung ischemia-reperfusion injury

Yuan Jiazhe, Xia Qingping, Deng Li

Department of Cardiac Surgery, The First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150001, China

Corresponding author: Deng Li, Email: dengli_198118@163.com

[Abstract]: Lung ischemia-reperfusion injury (LIRI) is a common complication after extracorporeal circulation, which seriously affects postoperative recovery of patients. At present, the exploration of its mechanism has not been fully completed. Hypoxia-inducible factor (HIF) plays a regulatory role in the hypoxia state of cells. In recent years, the relationship between HIF and hypoxic-ischemic diseases has been gradually confirmed. Literature studies have shown that HIF plays an important regulatory role in complex mechanisms such as oxidative stress, inflammation, glycolysis and autophagy, and some scholars believe that HIF is one of the important segments in the process of LIRI. This article reviews the research progress on the occurrence and development of HIF and LIRI.

[Key words]: Hypoxia-inducible factor; Lung ischemia-reperfusion injury; Cardiopulmonary bypass; Cardiovascular surgery

肺缺血-再灌注损伤(lung ischemia-reperfusion injury, LIRI)是肺组织经过一段时间缺血后,再恢复血液灌注时触发一系列复杂级联反应导致肺损伤进一步加重的病理生理过程。临床上常发生于肺移植、体外循环、创伤、心肺复苏等过程中。其特征是强烈的无菌性炎症,微血管通透性增加,肺泡细胞损伤,进而导致肺水肿形成,氧合功能受损和肺动脉高压。LIRI是影响手术成功率和患者生存率的重要因素,是医学领域亟待解决的问题。

缺氧的多数反应由缺氧诱导因子(hypoxia-inducible factor, HIF)的转录因子家族引起,该因子诱导多种基因的表达,这些基因帮助细胞适应低氧环境。近年来对HIF的研究越发深入,其与缺血缺氧性疾病的关系也逐渐被揭露,许多研究显示HIF在

氧化应激、炎症、糖酵解以及细胞自噬等复杂机制中起着重要作用。因此,本文就HIF与LIRI的关系作一综述。

1 HIF 概述

1.1 HIF 的结构 HIF是由 α 、 β 两个蛋白质亚基组成的异二聚体转录因子,目前为止已经发现的HIF家族成员包括HIF-1、HIF-2和HIF-3,其中HIF-1 α 和HIF-2 α 在结构上最相似,也最具特征性,HIF-3 α 以多重剪接变异体的形式存在,其中一些以显性负性方式抑制HIF-1 α 和HIF-2 α 的活性。HIF-1 α 、HIF-2 α 和HIF-3 α 是活性和功能亚基,为氧调节性蛋白,它们的结构具有相似性,都是碱性螺旋-环-螺旋(basic helix-loop-helix, bHLH)-PAS(Per-ARNT-Sim, PAS)转录因子超家族成员,含有bHLH-PAS结构域、氧依赖性降解结构域(oxygen-dependent degradation domain, ODDD)、抑制结构域和反式激活域。HIF-1 β 是结构性亚基,在细

基金项目:国家自然科学基金青年科学基金项目(81900369)

作者单位:150001 哈尔滨,哈尔滨医科大学附属第一医院心外科

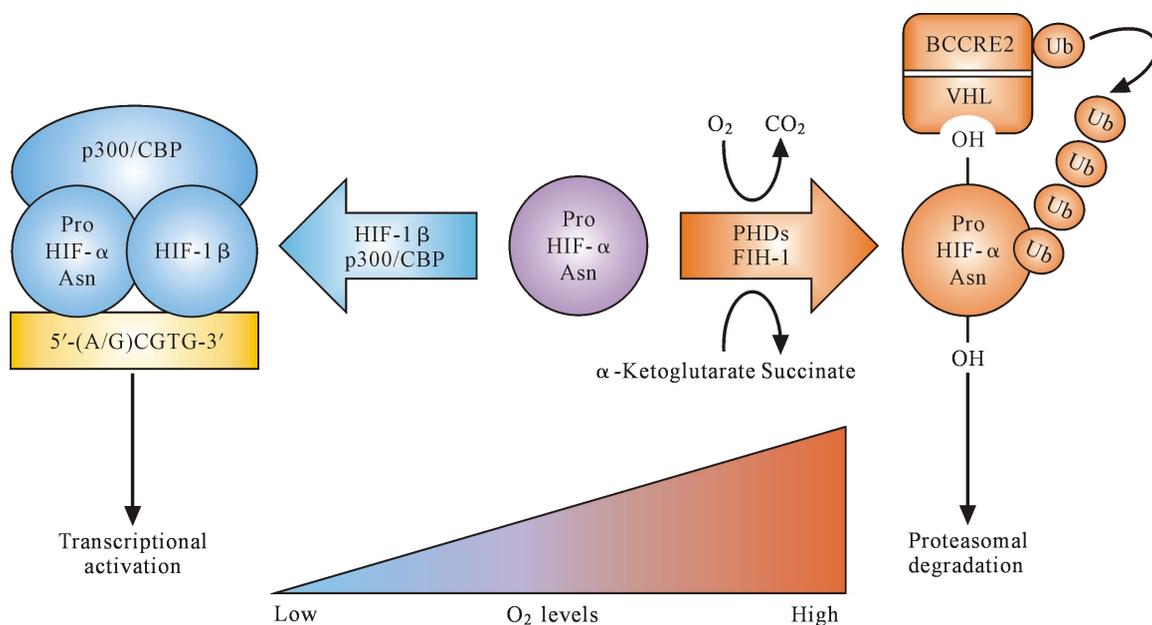
通讯作者:邓 丽,Email:dengli_198118@163.com

胞核中稳定表达,不受氧浓度影响,HIF- α 亚基与 HIF-1 β 结合形成相应的 HIF 家族成员。

1.2 HIF 的表达与调控 HIF-1 α 在所有细胞中普遍表达,而 HIF-2 α 和 HIF-3 α 在某些组织中选择性表达,包括血管内皮细胞,II 型肺泡上皮细胞,肾间质细胞,肝实质细胞和骨髓谱系细胞^[1]。HIF- α 水平受多因素调控。在转录水平上,多种细胞因子,磷脂酰肌醇-3-羟激酶(phosphatidylinositol-3-hydroxykinase,PI3K),miRNA^[2] 等可以调节 HIF- α 的水平。转录后降解阶段分为氧依赖性和非氧依赖性调控。常氧时,ODDD 中的脯氨酸残基(P402/P564)被脯氨酸羟化酶(prolyl hydroxylase,PHD)羟甲基化^[3],此外,ODDD 中的一个赖氨酸残基(K532)可以被乙酰转移酶(arrest defective 1,ARD1)乙酰化。因此,当 P402/P564 被羟甲基化、K532 被乙酰化后,HIF-1 α 亚基会优先被希佩尔-林道(Von Hippel-Lindau,VHL)肿瘤抑制基因表达蛋白识别,进而被泛素化并且经蛋白酶体途径降解。由于 PHD 和 ARD1 的作用都需要氧的存在,所以在缺氧条件下,HIF-1 α 脯氨酸和赖氨酸残基的羟甲基化和乙酰化都不发生,HIF-1 α 降解减少,导致 HIF-1 α 水平增高。与 PHD 相似,HIF-1 抑制因子(factor-inhibiting HIF-1,FIH-1)羟甲基化 HIF-1 中的天冬酰胺残基(A803)来负性调控 HIF 转录活性(见图 1^[4])。非氧依赖性调控中,去铁胺、氯化钴等可减少 HIF- α 亚基的降解,增加细胞内 HIF- α 亚基的累积。

在氧合良好的细胞中(红色箭头;右侧示意图),HIF- α 亚基分别通过 PHD 和 FIH-1 将特定的脯氨酸和天冬酰胺残基羟甲基化。羟甲基化反应以 O₂ 和 α -酮戊二酸为底物,生成 CO₂ 和琥珀酸为副产物。脯氨酸羟甲基化的 HIF- α 亚基被 VHL 识别,VHL 招募 BCCRE2 复合物,导致 HIF- α 亚基的赖氨酸残基多泛素化,继发 HIF- α 亚基的靶向蛋白酶体降解。HIF- α 亚基反式激活区天冬酰胺残基的羟甲基化阻止了协同激活子 p300 和 CREB 结合蛋白的募集。在低氧细胞(蓝箭头;示意图左侧),羟甲基化反应被抑制,导致 HIF- α 亚基的积累,其与 HIF-1 β 二聚,招募协同激活子,并与位于靶基因内或接近靶基因的低氧应答元件中的共有序列 5'-(A/G)CGTG-3' 结合,从而激活它们的转录。

1.3 HIF 的功能 已知 HIF 能调控下游超过 200 个靶基因的表达,其功能亦是涉及许多生物学方面。缺氧条件下,HIF 通过上调编码血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor,VEGF)A 的基因来促进血管生成,亦能动员和募集骨髓源性血管生成细胞(bone marrow-derived angiogenic cells,BM-DACs)以应对组织缺血^[5]。HIF 在维持氧稳态中占据重要地位^[6],其与活性氧(reactive oxygen,ROS)之间有密切而复杂的联系,帮助器官和组织抵抗氧化应激,减轻氧化损伤^[7]。此外,HIF 还与炎症和免疫系统关系紧密,当免疫细胞缺氧时,激活的 HIF 在调节免疫细胞的存活和分化,控制促炎因子的表



注:Ub:ubiquitin 泛素;HIF- α :缺氧诱导因子 α 。

图 1 HIF- α 的调控

达等方面发挥了重要作用^[8]。

2 LIRI 概述

近年来认为,LIRI 是一种快速而复杂的炎症反应,包括内皮细胞和上皮细胞损伤和功能障碍、细胞因子和损伤相关分子模式释放,以及强烈的固有免疫反应,其中包括激活肺泡巨噬细胞、恒定型自然杀伤 T 细胞和中性粒细胞。目前认为 LIRI 的发生可能与以下机制有关:①强烈的氧化应激损伤。血流停止时,血管内皮细胞膜去极化激活作为还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate,NADPH)氧化酶之一的非吞噬细胞氧化酶 2,产生大量 ROS,导致细胞和组织损伤、多种类型细胞的激活、细胞膜脂质过氧化反应,以及促炎细胞因子和损伤相关分子模式的分泌等^[9];②炎症途径。在肺缺血再灌注后,固有免疫细胞激活、浸润,特别是中性粒细胞,其作为组织损伤的末端效应器的事实已被充分证实^[10];③内皮细胞功能障碍和内皮屏障破坏;④细胞凋亡^[9];⑤基因突变^[11]。此外,转录因子核因子 κ B(nuclear factor kappa B,NF- κ B),信号传导及转录激活蛋白 3 信号通路,Toll 样受体 4(Toll-like receptors 4,TLR4)的激活^[9]等也参与了 LIRI。这些机制形成错综复杂的信号网络共同发挥作用,促进 LIRI 的发展。

3 HIF 与 LIRI

3.1 HIF 减轻氧化应激损伤 HIF 是维持机体氧化还原稳态的关键,在缺氧情况下 HIF 可将细胞从氧化代谢转换为糖酵解,从而减少线粒体超氧化物的产生,避免 LIRI 后 ROS 剧增导致的氧化应激损伤,另一方面 HIF 直接和间接地提高了抗氧化剂还原型谷胱甘肽(glutathione,GSH)的合成,最终在低氧条件下维持氧化还原稳态。2019 诺贝尔生理学或医学奖得主 Gregg.L.Semenza,同时也是 HIF-1 的发现者,在 2017 年综述了 HIF 是如何在低氧状态下维持氧化还原稳态的^[7]。①HIF-1 通过减少乙酰辅酶 A 的合成抑制 ROS 的产生。低氧条件下,HIF-1 激活丙酮酸脱氢酶激酶 1,导致丙酮酸脱氢酶磷酸化和失活,阻止了丙酮酸向乙酰辅酶 A 的转化。除葡萄糖氧化代谢外,脂肪酸氧化是乙酰辅酶 A 的另一产生途径,HIF-1 可以通过下调长链及中链酰基辅酶 A 脱氢酶的 C-MYC 依赖性表达来减少脂肪酸氧化,从而减少乙酰辅酶 A 的合成。②HIF 促进抗氧化剂的产生,从而调节缺氧细胞的抗氧化防御。

还原型 GSH 是人体细胞中的主要抗氧化剂,并且需要 NADPH 才能将 GSH 维持在正常状态。在缺氧条件下,HIF 激活磷酸甘油酸脱氢酶,磷酸丝氨酸转氨酶 1 和磷酸丝氨酸磷酸酶的转录,以增加葡萄糖向丝氨酸的转化,丝氨酸是 GSH 合成的必需氨基酸,其含量增加可以提高 GSH 水平;同时 HIF 会激活丝氨酸羟甲基转移酶 2,亚甲基四氢叶酸脱氢酶 2 和亚甲基四氢叶酸脱氢酶 1 样的转录以增加线粒体 NADPH 的生成。有趣的是,研究发现只有 HIF-1 激活可以通过减少乙酰辅酶 A 的合成来抑制 ROS 产生,而 HIF-1 和 HIF-2 的激活都可以促进 GSH 生成。③HIF-1 通过调节线粒体选择性自噬来抑制缺氧细胞中 ROS 的产生。线粒体是产生 ROS 的主要细胞器,BCL2/腺病毒 E1B 的 19 kDa 结合蛋白 3(BNIP3)和 BNIP3L 分别在小鼠胚胎成纤维细胞和癌细胞中的 HIF-1 依赖性表达,可以刺激线粒体选择性自噬,抑制葡萄糖和脂肪酸的氧化,从而降低了低氧条件下 ROS 的产生。

高浓度的 ROS 会导致蛋白质、脂质和 DNA 的不可逆氧化,导致细胞死亡,具有细胞毒性作用,HIF 通过以上多种机制减少缺氧时 ROS 的产生,从而保护细胞。Liang 等^[12]在大鼠肺缺血再灌注实验中证实,缺血再灌注后白介素(interleukin,IL)-6、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor,TNF)- α 、IL-10、IL-1 水平明显升高而右美托咪定可以降低上述分子的表达水平。另外,该实验还证实右美托咪定预处理后丙二醛和髓过氧化物酶活性明显降低,表明氧化应激损伤减轻。此外,该实验还显示右美托咪定可以上调 HIF-1 α 、蛋白激酶 B(protein kinase B,PKB/Akt)的表达并证实右美托咪定预处理可通过激活 PI3K/Akt/HIF-1 α 信号通路在转录水平上减轻氧化应激损伤,提高机体抗氧化能力,从而减轻 LIRI。此外,研究^[13]表明在脑缺血再灌注损伤诱导的肺损伤过程中,机体可以通过激活红系衍生的核因子 2 相关因子/血红素氧合酶 1 和 HIF-1 α /VEGF 信号通路提高抗氧化应激活性并促进血管生成,维护和修复肺泡-毛细血管上皮屏障,从而实现自我保护。

3.2 HIF 与炎症 HIF 在各种炎症条件下的作用并不相同,不同炎症疾病中 HIF 作用不一样,甚至是相反的,在某些炎症疾病中促炎,而在其他炎症疾病中发挥抗炎作用^[14]。虽然到目前为止已有许多关于 HIF 在 LIRI 发生发展过程中对炎症作用机制的研究,但在 HIF 总体上是发挥促炎作用还是抗炎作用的问题上仍存在一定的争论。Keränen 等^[15]为了研究 HIF-1 α 激活和失活对缺血再灌注损伤和急性

排斥反应的影响,建立了髓系细胞 HIF-1 α 或其负性调节因子 VHL 靶向缺失的转基因小鼠模型,并分别进行同种异体心脏移植手术。结果是,在体外, VHL^{-/-}髓系细胞中抗炎基因吡啶胺 2,3-双加氧酶、精氨酸酶 1 和血红素氧合酶 1 的 mRNA 表达增强,在体内,移植受体的 VHL^{-/-}髓系细胞中缺血再灌注损伤和急性排斥反应明显减轻,该实验结果提示,髓系细胞中 HIF 的基因或药理学激活可能是一种新的治疗策略,可以调节实体器官移植后的固有免疫反应,从而调节适应性免疫反应,最终减轻移植器官炎症反应和缺血再灌注损伤,保护移植器官。但是 Jin 等^[16]却得出了相反的结论,他们在大鼠肺缺血再灌注组中证实水飞蓟素可能通过抑制 HIF-1 α /诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)信号通路改善 LIRI 后的肺血管功能障碍。对于 HIF-2 α ,则有研究显示在原位气管移植模型中,激活 HIF-2 α 可以促进气道微血管完整性,从而减少中性粒细胞浸润,减轻同种免疫性炎症^[17]。见图 2,

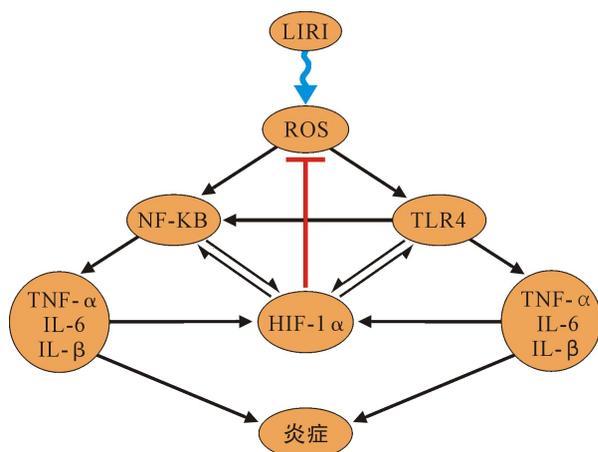


图 2 HIF-1 α /炎症/氧化应激网络

HIF-1 α 与炎症、氧化应激关系密切,三者形成了错综复杂的反馈网络^[9, 18]。举例来说, LIRI 过程中产生的氧化应激会加剧 TLR4 的激活, TLR4 是炎症通路的关键调节因子,同时 TLR4-HIF-1 α 之间的前馈环维持着炎症信号传导^[18]。ROS 和慢性炎症都可以激活转录因子 NF- κ B, 导致染色质重塑和促炎介质基因的表达^[9], 而 NF- κ B 已被证明与 HIF-1 α 有协同作用, 可以稳定并增强 HIF-1 α 的转录活性, 并协同激活 IL-6, 环加氧酶 2, iNOS2 等炎症介质基因启动子^[18]。此外, 目前已知 IL-1、IL-2、IL-1 β 、TNF- α 、前列腺素 E2 及脂多糖等致炎性细胞因子能激活 HIF-1 α 的转录活性, 更确切地提示了这三者间的密切关系。目前仍然有许多机制尚不明确,

针对 HIF- α /炎症/氧化应激网络治疗 LIRI 仍存在许多问题, 比如, HIF 稳定剂和 HIF 抑制剂, 哪种治疗效果更好, 不良反应更少? 如果靶向 HIF- α 是有益的, 那么应该靶向特定的 HIF- α 同工型还是两种同工型? 这些都是未来临床应用中需要解决的问题。

3.3 HIF 刺激血管生成和血管重塑 增加局部 O₂ 输送的主要手段是血管生成(新血管的形成)和血管重塑(增加现有血管的管腔直径)。为了响应缺血和缺氧, HIF 通过上调编码分泌性血管生成生长因子和细胞因子的多种基因的转录, 刺激内皮细胞的增殖和 BMDACs 的募集, 发挥主调节因子的作用^[6]。在一项试验^[4]中, 研究者向 8 个月大野生型小鼠的缺血肢体肌肉注射重组腺病毒 AdCA5, 纠正了小鼠的血流恢复障碍, 该重组腺病毒编码活化构型的 HIF-1 α , 对 O₂ 依赖性降解具有抗性。与 VEGF 基因疗法不同, HIF-1 α 的过度表达增加了血液灌注, 却没有增加血管通透性, 这意味着靶向 HIF-1 α 疗法不会增加中性粒细胞浸润和炎症损伤。在另一项相关研究^[19]中, 以 17 个月大患有重症肢端缺血小鼠为模型, 单纯注射 AdCA5 不能纠正其血管损伤, 肢体挽救即完全恢复而无组织损伤比例为 0%, 但若先注射 AdCA5, 24 小时后再静脉注射用 HIF-1 α 稳定剂二甲基草酸甘氨酸(dimethylallyl glycine, DMOG) 预处理的 BMDACs, 其肢体挽救比例为 40%。后续研究证实, HIF-1 α 稳定剂处理有两个益处: 第一是 HIF-1 α 诱导整合素 β 2, 介导 BMDACs 黏附到缺血组织血管内皮细胞上; 第二是 HIF-1 α 使 BMDACs 从氧化代谢转变为糖酵解代谢, 增加了其在缺血环境中的存活率^[20]。以上研究结果提示了自体骨髓疗法很可能对 LIRI 也具有治疗效果, 可以改善肺组织的缺血缺氧情况。最近, Jiang 等^[17]证明 HIF-2 α 通过激活血管生成素-1/酪氨酸激酶受体 2 信号通路和受体 Notch 活性维护气道微血管完整性, 在原位气管移植中, HIF-2 α 过表达延长了移植微血管的灌注, 减轻了缺血-再灌注损伤。

3.4 HIF 保护内皮细胞屏障功能 内皮细胞功能障碍和内皮屏障破坏是 LIRI 的标志, 对原发性移植功能障碍的发生有重要作用。Ge 等^[21]用 LIRI 小鼠为模型, 以野生型小鼠和水通道蛋白 1(aquaporin 1, AQP1) 缺失小鼠作对照, 发现在 LIRI 后的 7~14 天, 野生型小鼠肺微血管内皮细胞(pulmonary microvascular endothelial cells, PMVEC) 中 AQP1 表达显著增加, 而 AQP1 缺失小鼠相比于野生型小鼠, 白细胞浸润、胶原沉积和微血管通透性显著增强, 并且血管生成因子的表达也被明显抑制。同时 AQP1

缺失降低了 HIF-2 α 的稳定性,PMVEC 的活性和毛细血管的形成,提高了 PMVEC 的通透性,而 HIF-2 α 的过度表达则可部分降低 PMVEC 的通透性,表明 AQP1 通过稳定 HIF-2 α 表达起到保护内皮细胞屏障的功能,参与了长期 LIRI 的消退。此外,Zhao 等^[22]证明 HIF-1 α 参与肺缺血再灌注后肺血管功能障碍,HIF-1 α 稳定剂 DMOG 通过 iNOS/NO 途径减轻 LIRI 诱导的内皮细胞功能障碍,具有明显的保护作用。

3.5 HIF 通过细胞凋亡等其他途径参与 LIRI 在缺氧条件下,HIF-1 α 能协同激活 PI3K/Akt 信号通路,通过抑制胱冬肽酶家族活性来调节缺血-再灌注诱导的细胞凋亡。已有研究^[21]显示,用右美托咪定预处理 LIRI 大鼠可以使 HIF-1 α 表达水平升高,激活被抑制的 PI3K/Akt 信号通路,从而减少细胞凋亡,减轻长时间 LIRI。Wu 等^[23]已经研究发现,积雪草酸能通过调节 miR-1290/HIF-3 α /HIF-1 α 轴保护心肌细胞免受缺氧诱导的凋亡,HIF-3 α 是 HIF-1 α 的负性调节因子,其 mRNA 是 miR-1290 的潜在靶点,积雪草酸可上调 miR-1290 的表达,降低 HIF-3 α 对 HIF-1 α 的负性调节作用,提高 HIF-1 α 活性从而起到保护心肌细胞的作用。此外,腺苷的 HIF 依赖性生成^[24]也是参与 LIRI 的重要环节。胞外 ATP 通过外核苷酸酶 CD39 转化为一磷酸腺苷 (adenosine monophosphate, AMP),5'-AMP 核苷酸酶 CD73 催化 AMP 合成腺苷。缺氧诱导 CD39 和 CD73 以 HIF 依赖性的方式使细胞外腺苷水平升高,同时缺氧抑制腺苷激酶和腺苷脱氨酶的活性,导致细胞内腺苷水平升高。腺苷水平升高会激活 A2 腺苷受体,已有研究^[25]证明 A2 腺苷受体激动剂可以显著减轻 LIRI,其介导保护功能的主要机制是抑制恒定型自然杀伤 T 细胞中的非吞噬细胞氧化酶 2,减少 ROS 和 IL-17A 产生,减轻氧化应激损伤和中性粒细胞浸润导致的炎性损伤。

4 总结与展望

HIF 生物学功能复杂,与多种信号通路和细胞因子相联系,通过多种途径参与 LIRI 的发生发展,目前已经有许多以 HIF 为靶点治疗 LIRI 的实验,比如上文提及的 HIF-1 α 稳定剂 DMOG 在实验中显示了对肺明显的保护作用,以及右美托咪定和积雪草酸,都成功地通过调节 HIF 途径减轻了 LIRI,这些药物都有在未来成为临床防治 LIRI 常用药物的可能性。然而,HIF 参与 LIRI 的具体机制及其相互联系尚未完全明确,因此需要继续探索其相关性,同时

解决临床应用问题,比如说,治疗 LIRI 应该靶向特定的 HIF 同工型还是两种同工型,怎么样特异性靶向 PMVEC 和髓系细胞中的 HIF,这些都是未来将要面对的问题和挑战。

参考文献:

- [1] 刘铭月,吉冰洋. 缺氧诱导因子在深低温停循环肠保护机制中的研究进展[J]. 中国体外循环杂志,2016,14(3):182-184.
- [2] Liu Y, Nie H, Zhang K, *et al*. A feedback regulatory loop between HIF-1 α and miR-21 in response to hypoxia in cardiomyocytes[J]. FEBS Lett, 2014, 588(17): 3137-3146.
- [3] Landor SK, Lendahl U. The interplay between the cellular hypoxic response and notch signaling[J]. Exp Cell Res, 2017, 356(2): 146-151.
- [4] Semenza GL. Pharmacologic targeting of hypoxia-inducible factors[J]. Annu Rev Pharmacol Toxicol, 2019, 59: 379-403.
- [5] Semenza GL. Hypoxia-inducible factor 1 and cardiovascular disease[J]. Annu Rev Physiol, 2014, 76: 39-56.
- [6] Koh Nakayama, Naoyuki Kataoka. Regulation of gene expression under hypoxic conditions[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(13): 3278.
- [7] Samanta D, Semenza GL. Maintenance of redox homeostasis by hypoxia-inducible factors[J]. Redox Biol, 2017, 13: 331-335.
- [8] Scholz CC, Taylor CT. Targeting the HIF pathway in inflammation and immunity[J]. Curr Opin Pharmacol, 2013, 13(4): 646-653.
- [9] Ferrari RS, Andrade CF. Oxidative stress and lung ischemia-reperfusion injury[J]. Oxid Med Cell Longev, 2015, 2015: 590987.
- [10] Laubach VE, Sharma AK. Mechanisms of lung ischemia-reperfusion injury[J]. Curr Opin Organ Transplant, 2016, 21(3): 246-252.
- [11] Cantu E, Shah RJ, Lin W, *et al*. Oxidant stress regulatory genetic variation in recipients and donors contributes to risk of primary graft dysfunction after lung transplantation[J]. J Thorac Cardiovasc Surg, 2015, 149(2): 596-602.
- [12] Liang S, Wang Y, Liu Y. Dexmedetomidine alleviates lung ischemia-reperfusion injury in rats by activating PI3K/Akt pathway[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2019, 23(1): 370-377.
- [13] Fan J, Lv H, Li J, *et al*. Roles of Nrf2/HO-1 and HIF-1 α /VEGF in lung tissue injury and repair following cerebral ischemia/reperfusion injury[J]. J Cell Physiol, 2019, 234(6): 7695-7707.
- [14] Lin N, Simon MC. Hypoxia-inducible factors: key regulators of myeloid cells during inflammation[J]. J Clin Invest, 2016, 126(10): 3661-3671.
- [15] Keranen MAI, Raissadati A, Nykanen AI, *et al*. Hypoxia-inducible factor controls immunoregulatory properties of myeloid cells in mouse cardiac allografts -an experimental study[J]. Transpl Int, 2019, 32(1): 95-106.
- [16] Jin Y, Zhao X, Zhang H, *et al*. Modulatory effect of silymarin on

- pulmonary vascular dysfunction through HIF-1 α -iNOS following rat lung ischemia-reperfusion injury[J]. *Exp Ther Med*, 2016, 12(2): 1135-1140.
- [17] Jiang X, Tian W, Tu AB, *et al*. Endothelial hypoxia-inducible factor-2 α is required for the maintenance of airway microvasculature[J]. *Circulation*, 2019, 139(4): 502-517.
- [18] Balamurugan K. HIF-1 at the crossroads of hypoxia, inflammation, and cancer[J]. *Int J Cancer*, 2016, 138(5): 1058-1066.
- [19] Sadaghianloo N, Contenti J, Dardik A, *et al*. Role of hypoxia and metabolism in the development of neointimal hyperplasia in arteriovenous fistulas[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(21)pii: E5387.
- [20] Rey S, Luo W, Shimoda LA, *et al*. Metabolic reprogramming by HIF-1 promotes the survival of bone marrow-derived angiogenic cells in ischemic tissue[J]. *Blood*, 2011, 117(18): 4988-4998.
- [21] Ge H, Zhu H, Xu N, *et al*. Increased lung ischemia-reperfusion injury in aquaporin 1-null mice is mediated via decreased hypoxia-inducible factor 2 α stability[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2016, 54(6): 882-891.
- [22] Zhao X, Jin Y, Li H, *et al*. Hypoxia-inducible factor 1 alpha contributes to pulmonary vascular dysfunction in lung ischemia-reperfusion injury[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2014, 7(6): 3081-3088.
- [23] Wu K, Hu M, Chen Z, *et al*. Asiatic acid enhances survival of human AC16 cardiomyocytes under hypoxia by upregulating miR-1290[J]. *IUBMB Life*, 2017, 69(9): 660-667.
- [24] Samanta D, Semenza GL. Metabolic adaptation of cancer and immune cells mediated by hypoxia-inducible factors[J]. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*, 2018, 1870(1): 15-22.
- [25] Sharma AK, LaPar DJ, Stone ML, *et al*. NOX2 activation of natural killer T cells is blocked by the adenosine A2A receptor to inhibit lung ischemia-reperfusion injury[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2016, 193(9): 988-999.

(收稿日期:2019-12-02)

(修订日期:2019-12-27)

(上接 224 第页)

- [29] Akeju O, Pavone KJ, Westover MB, *et al*. A comparison of propofol- and dexmedetomidine-induced electroencephalogram dynamics using spectral and coherence analysis[J]. *Anesthesiology*, 2014, 121(5): 978-989.
- [30] Akeju O, Hobbs LE, Gao L, *et al*. Dexmedetomidine promotes biomimetic non-rapid eye movement stage 3 sleep in humans: A pilot study[J]. *Clin Neurophysiol*, 2018, 129(1): 69-78.
- [31] Akeju O, Kim SE, Vazquez R, *et al*. Spatiotemporal dynamics of dexmedetomidine-induced electroencephalogram oscillations[J]. *PLoS One*, 2016, 11(10): e0163431.
- [32] Hong KS, Kim NR, Song SH, *et al*. Cycling of dexmedetomidine may prevent delirium after liver transplantation[J]. *Transplant Proc*, 2018, 50(4): 1080-1082.
- [33] Li P, Han J, Zhang D, *et al*. Effects of dexmedetomidine on oxidative stress and inflammatory response in lungs during mechanical ventilation in COPD rats[J]. *Exp Ther Med*, 2020, 19(2): 1219-1224.
- [34] Sobbi SC, van den Boogaard M. Inflammation biomarkers and delirium in critically ill patients: new insights[J]? *Crit Care*, 2014, 18(3): 153.
- [35] Wang R, Xie Y, Qiu J, *et al*. The effects of dexmedetomidine in a rat model of sepsis-induced lung injury are mediated through the adenosine monophosphate-activated protein kinase (AMPK)/silent information regulator 1 (SIRT1) pathway[J]. *Med Sci Monit*, 2020, 26: e919213.
- [36] Wu L, Xi Y, Kong Q. Dexmedetomidine protects PC12 cells from oxidative damage through regulation of miR-199a/HIF-1 α [J]. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 2020, 48(1): 506-514.
- [37] Chai Y, Zhu K, Li C, *et al*. Dexmedetomidine alleviates cisplatin-induced acute kidney injury by attenuating endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis via the α 2AR/PI3K/AKT pathway[J]. *Mol Med Rep*, 2020, 21(3): 1597-1605.
- [38] Wang DS, Kaneshwaran K, Lei G, *et al*. Dexmedetomidine prevents excessive γ -aminobutyric acid type a receptor function after anesthesia[M]. *Anesthesiology*, 2018, 129(3): 477-489.

(收稿日期:2020-02-19)

(修订日期:2020-04-18)

(上接第 236 页)

- [12] Dalvi P, Sun B, Tang N, *et al*. Immune activated monocyte exosomes alter microRNAs in brain endothelial cells and initiate an inflammatory response through the TLR4/MyD88 pathway[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 9954.
- [13] Han AY, Zhang MH, Zuo XL, *et al*. Effect of acute heat stress on calcium concentration, proliferation, cell cycle, and interleukin-2 production in splenic lymphocytes from broiler chickens[J]. *Poult Sci*, 2010, 89(10): 2063-2070.
- [14] Litvinov IS, Mersyanova IV. The role of the reduction of extracellular calcium ion concentrations in activation of human peripheral blood T cells[J]. *Russ J Bioorgan Chem*, 2015, 41(4): 383-391.
- [15] Chakraborty T, Bose A, Barik S, *et al*. Neem leaf glycoprotein inhibits CD4+CD25+Foxp3+ Tregs to restrict murine tumor growth[J]. *Immunotherapy*, 2011, 3(8): 949-969.
- [16] Teisseyre A, Palko-Labuz A, Uryga A, *et al*. The influence of 6-prenylnaringenin and selected non-prenylated flavonoids on the activity of Kv1.3 channels in human jurkat T cells[J]. *J Membr Biol*. 2018 Dec;251(5-6):695-704.

(收稿日期:2019-05-29)

(修订日期:2019-07-01)