

• 综述 •

急性肺损伤时肺泡上皮 Na^+ 通道研究的进展

蔡添才(综述) 樊毫军 张健鹏(审校)

【关键词】肺损伤,急性; 肺水肿,急性; Na^+ 通道

急性肺水肿是急性肺损伤(ALI)的重要特征,肺泡上皮主动液体清除功能是影响 ALI 肺水肿的重要环节^[1]。研究表明肺泡上皮细胞钠离子通道(ENaC)是肺泡内液体主动转运的重要机制。肺泡 I 型上皮细胞(AT I)通过 ENaC 对肺泡腔的液体平衡进行调节^[2-3]。ALI 导致肺水肿时,肺泡中的液体成分主要通过 ENaC、 Na^+ - K^+ -ATP 酶(NKA)和肺血管内皮细胞的水通道蛋白(AQP)重吸收。现主要对 ALI 时肺泡上皮 ENaC 的研究进展进行回顾。

1 ENaC 的结构、功能和影响因素

1.1 ENaC 的结构:ENaC 是一种跨膜蛋白,在肺间质、小气道上皮及 AT I 均有表达,尤其在作为肺泡液体吸收主要区域的 AT I 上分布最多^[4]。ENaC 对 Na^+ 具有高度选择性,其功能主要是将 Na^+ 摄入细胞内,在 Na^+ 转运的同时伴有水和 Cl^- 重吸收。ENaC 由 α 、 β 、 γ 3 种同源亚单位构成,ENaC 呈聚体结构,共同发挥 Na^+ 转运功能,由 2 个 α 、1 个 β 、1 个 γ 亚单位组成。 α 亚单位是主要功能亚单位, β 和 γ 亚单位是附属亚单位。 α 亚单位具有 ENaC 的特性,对阿米诺利表现为高度亲和性,其主要作用为调节 ENaC 活性,从而调节 Na^+ 转运速率^[5]。

1.2 ENaC 的功能:ENaC 广泛存在于哺乳动物肺、肾、结肠等多个器官中,在人肺内 ENaC 主要存在于 AT I 细胞膜上。AT I 占肺泡上皮总面积的 5% 左右,以往认为 AT I 主要功能是合成分泌肺泡表面活性物质和参与肺损伤后的修复等,近年研究显示,AT I 细胞膜上存在的 ENaC 在维持肺泡正常液体清除功能过程中起重要作用。ENaC 存在以

及功能的正常与否,影响肺内液体分泌与重吸收的平衡。ENaC 的功能是将肺泡腔内的 Na^+ 摄入到细胞内,其对 Na^+ 具有高度选择性,它对 Na^+ 和 K^+ 的通透比例为 100~1 000:1,但有关 ENaC 的门控调节机制尚不清楚^[6]。

1.3 影响 ENaC 功能的因素:①氧分压:研究发现 ENaC 的功能与肺内氧分压密切相关。研究发现,增加胎儿肺内氧分压能明显增加肺泡上皮细胞顶膜 Na^+ 转运速率,能增加 AT I α 、 β 、 γ -ENaC 的 mRNA 表达,在围产期胎儿肺成熟过程中发挥重要作用^[7]。Matthay 等^[8]认为,高浓度氧激活 ENaC 与核转录因子- κB (NF- κB) 功能的激活相关。Mairbaurl 等^[9]观察了不同程度缺氧对 ENaC 的影响,在对体外培养的 AT I 和 A549 细胞给予低于 3% 含氧量的气体时,发现阿米诺利敏感性 ENaC 电流下调, α 、 β 、 γ -ENaC 的蛋白合成均减少,而给予氧含量 85% 的气体时,阿米诺利敏感性 ENaC 电流明显上调, α -ENaC mRNA 表达增高。② β -受体激动剂和细胞内 cAMP 水平:研究表明,儿茶酚胺尤其是 β -受体激动剂可明显增加肺泡上皮的 Na^+ 和水转运能力,其机制可能涉及儿茶酚胺对 ENaC 基因转录的调节以及转录后活性的调节;向气管内滴注 β -受体激动剂可增加 Na^+ 的重吸收,用 β_2 -受体拮抗剂可阻止 Na^+ 的重吸收, β_2 -受体活化后可通过腺苷酸环化酶增加细胞内 cAMP 水平^[10]。Dobbs 等^[11]研究发现, β -受体激动剂作用于肺泡上皮细胞的 β -受体,通过激活腺苷酸环化酶使细胞内 cAMP 增加、激活蛋白激酶 A(PKA)使蛋白磷酸化、增加细胞膜上 ENaC 的密度,从而提高 ENaC 的活性。

cAMP 增加 Na^+ 转运的机制主要包括:①cAMP 改变 AT I 细胞对 Cl^- 的通透性,cAMP 可不通过细胞顶膜 ENaC,而是通过肺囊性纤维化转膜传导调控体(CFTR)- Cl^- 通道重吸收 Cl^- ,同时实现对 Na^+ 的回吸收。②通过 PKA 介导提

高 ENaC 活性^[11],PKA 能磷酸化 ENaC 的通道蛋白,并增加通道的开放几率。PKA 可能通过以下途径增加 ENaC 的活性:一是直接磷酸化 ENaC 蛋白激活 ENaC;二是磷酸化和 ENaC 蛋白相互作用的骨架蛋白,加速 ENaC 蛋白从胞质池向胞膜转运^[12]。③肾上腺皮质激素:研究发现糖皮质激素和盐皮质激素能增加大鼠和人肺泡上皮细胞 α -ENaC 的 mRNA 表达^[13]。用地塞米松处理 A549 人肺泡上皮细胞系后, α 、 β 、 γ -ENaC 的 mRNA 表达水平均升高, β 、 γ -ENaC 的蛋白水平也升高, α -ENaC 蛋白水平无明显变化。宋志芳等^[14]应用甲泼尼龙治疗大肠杆菌腹腔注射致急性呼吸窘迫综合征(ARDS)模型猪,观察动物各项生理指标与生存时间,发现治疗组动物存活时间明显长于对照组,治疗组氧合指数($\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$)和平均动脉压(MAP)均较对照组改善明显。Suzuki 等^[15]发现,给大鼠注射甘珀酸(一种胃黏膜保护剂,可非特异取代醛固酮受体,增加激素效应)后,气管和远端肺泡上皮 ENaC 亚单位的 mRNA 表达增加(其中 α 、 γ 亚单位增加 2 倍,而 β 亚单位增加 4 倍),这可能与甘珀酸可通过减少内源性类固醇的破坏,从而增强内源性糖皮质激素含量有关。糖皮质激素的这种生理效应能够在胎儿和新生儿的肺发育过程中起一定作用,早产儿出生前应用糖皮质激素对呼吸衰竭的发生具有一定的预防作用。④其他因素:影响 ENaC 的因素还有很多,如肿瘤坏死因子- α (TNF- α)和一氧化氮(NO)等。研究表明,TNF- α 能明显降低 α -ENaC、 β -ENaC、 γ -ENaC 亚单位的 mRNA 表达水平,其中对 α 亚单位的影响最为明显,TNF- α 浓度与 α 亚单位表达呈负相关。Caldwell 等^[16]发现,低浓度中性粒细胞弹性蛋白酶能使人支气管上皮细胞 Na^+ 转运增加 2 倍,这种作用在使用蛋白酶抑制剂后消失,其可能通过蛋白水解途径激活 ENaC 的转运功能,随后加入抑肽酶未见 ENaC 功能有

基金项目:国家“十五”科技攻关计划(2003BA712A07-01);武警总部级重点课题(WZ2007009)

作者单位:100039 北京,武警总医院呼吸科

作者简介:蔡添才(1982-),男(汉族),福建省人,硕士研究生,Email:caitiancai99@sina.com。

变化,提示中性粒细胞弹性蛋白酶调控 ENaC 的机制可能与抑肽酶相似,二者均可使 ENaC 活性增强,促进其对 Na^+ 的转运,在肺的液体转运中发挥作用。

2 ALI 时肺水肿与 ENaC 的关系

近年来人们已在 ENaC 与肺水肿关系方面展开了深入研究。Matthay 等^[17]通过测定 ALI 患者肺泡灌洗液中蛋白浓度变化,发现其肺泡液体清除率明显下降,提示 ALI 时损伤因素可能通过降低肺泡液体清除率,从而促进 ALI 时肺水肿的发生,但具体机制仍在研究中。

2.1 ALI 对 ENaC 的直接破坏作用:各种原因引起的 ALI 均可造成肺泡上皮损伤,引起肺泡上皮钠-水转运功能明显下降,导致肺水肿。有研究认为,损伤因素可直接造成肺泡上皮细胞骨架的破坏(细胞骨架在维持细胞正常结构和功能方面具有重要作用),从而影响肺泡上皮转运 Na^+ 的功能。Benos 等^[18]发现,ALI 后肺泡上皮细胞骨架会发生改变,这种改变引起 ENaC 基因的转录水平下调、蛋白合成减少、ENaC 活性降低、 Na^+ 重吸收减少,最终导致肺泡上皮钠-水转运障碍,促进 ALI 时肺水肿的发生。

2.2 ALI 时炎症介质对 ENaC 的影响:有研究认为,致病因素通过 TNF- α 、转化生长因子- β (TGF- β)、白细胞介素-1(IL-1)、IL-6、IL-8 等的介导间接破坏肺泡上皮结构,影响钠-水转运功能,但机制尚不清楚。在 ALI 发生过程中,机体在多种因素刺激下释放的多种炎症介质通过抑制 ENaC 基因表达及蛋白水平,降低 ENaC 主动转运 Na^+ 的功能和肺泡液体清除功能,促使肺水肿形成。

TNF- α 为重要的炎症细胞因子,其主要来自粒细胞和巨噬细胞,但机体在多种病理状况下会大量释放 TNF- α 。研究发现,大鼠在内毒素致伤后肺泡上皮细胞大量释放 TNF- α ^[19],ARDS 患者的肺泡灌洗液中 TNF- α 浓度升高^[20],提示 TNF- α 在 ALI 发病过程中起一定作用。近年研究发现,TNF- α 可通过降低 ENaC 的基因和蛋白表达水平,使 ENaC 主动转运 Na^+ 的能力下调,肺泡液体清除率降低,促进肺水肿发生。研究发现,在加入 TNF- α 24 h 后,肺泡上皮细胞的 α 、 β 、 γ -ENaC 表达分别减少了 36%、43%和 16%,ENaC 蛋白合成减少了 50%, α -ENaC mRNA 和阿米诺利敏感性电流减少程度与 TNF- α 浓度呈线性

关联^[21]。TGF- β 1 能减少 AT I 细胞 ENaC 对 Na^+ 的摄取, α -ENaC mRNA 表达明显减少,抑制 ALI 时肺泡水肿重吸收^[22]。ALI 对 ENaC 的直接破坏及其引发的炎症反应对 ENaC 的间接作用在一定程度上解释了 ALI 时 ENaC 功能改变与肺水肿发生的关系。这两种机制相互协同,共同在 ALI 后肺水肿的发生中起作用。

2.3 感染因素:病毒和细菌感染后可下调 ENaC 的蛋白及基因表达,进而促发肺水肿,小鼠感染腺病毒后肺泡上皮细胞 α -ENaC mRNA 表达明显下降,并且与肺水肿程度呈平行关系^[23]。研究发现,假单胞菌感染后小鼠 ENaC 的 α 、 β 亚单位 mRNA 表达水平分别下降 43%和 54%,而 γ 亚单位的 mRNA 表达无明显变化,说明假单胞菌感染可通过调节 ENaC 亚单位的表达,进而抑制感染后肺水肿的形成和消散^[24]。临床研究也发现,慢性肺部感染可使肺内 ENaC 功能下降,引起肺泡液体增多,但这些感染很少继发严重的肺水肿^[25]。上述发现对临床治疗中如何减少和避免重症感染患者肺水肿的发生提供了新的思路。

3 问题及展望

尽管对 ENaC 钠-水转运机制尚未完全了解,但研究提示,外源性 β -受体激动剂、生长因子、儿茶酚胺类等可上调肺泡上皮钠-水转运功能,提高肺泡液体清除,减轻肺损伤后肺水肿严重程度^[18]。通过调节 ENaC 活性提高肺泡液体清除率,从而达到治疗或减轻 ALI 时发生肺水肿的目的。随着对 ENaC 研究的深入,有望通过药物改善其功能,缓解肺水肿,对 ALI 进行有效预防和治疗。

参考文献

- [1] 樊毫军,刘书盈,张健鹏,等. 静脉注射内毒素致大鼠急性肺损伤模型的病理生理学指标评价[J]. 中国危重病急救医学,2006,18(8):485-487.
- [2] Berthiaume Y, Folkesson H G, Matthay M A. Lung edema clearance: 20 years of progress; invited review; alveolar edema fluid clearance in the injured lung[J]. Am J Physiol, 2002, 93(6): 2207-2213.
- [3] Norlin A, Lu L N, Guggino S E, et al. Contribution of amiloride-insensitive pathways to alveolar fluid clearance in adult rats[J]. J Appl Physiol, 2001, 90(4): 1489-1496.
- [4] 张秋金,李银平,李檀实. 肺泡上皮细胞功能特性与内毒素急性肺损伤[J].

中国危重病急救医学, 2005, 17(6): 382-384.

- [5] Alvarez de la Rosa D, Canessa C M, Fyfe G K, et al. Structure and regulation of amiloride-sensitive sodium channel[J]. Annu Rev Physiol, 2000, 62: 573-594.
- [6] Kellenberger S, Hoffmann-Pochon N, Gautschi I, et al. On the molecular basis of ion permeation in the epithelial Na^+ channel[J]. J Gen Physiol, 1999, 114(1): 13-30.
- [7] Richard K, Ramminger S J, Inglis S K, et al. O_2 can raise fetal pneumocyte Na^+ conductance without affecting ENaC mRNA abundance[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2003, 305(3): 671-676.
- [8] Matthay M A, Folkesson H G, Clerici C. Lung epithelial fluid transport and the resolution of pulmonary edema[J]. Physiol Rev, 2002, 82(3): 569-600.
- [9] Mairbäurl H, Mayer K, Kim K J, et al. Hypoxia decreases active Na transport across primary rat alveolar epithelial cell monolayers[J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2002, 282(4): L659-665.
- [10] Chen X J, Eaton D C, Jain L. Beta-adrenergic regulation of amiloride-sensitive lung sodium channels[J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2002, 282(4): L609-L620.
- [11] Dobbs L G, Gonzalez R, Matthay M A, et al. Highly water-permeable type I alveolar epithelial cells confer high water permeability between the airspace and vasculature in rat lung[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1998, 95(6): 2991-2996.
- [12] Matalon S, Lazrak A, Jain L, et al. Invited review; biophysical properties of sodium channels in lung alveolar epithelial cells[J]. J Appl Physiol, 2002, 93(5): 1852-1859.
- [13] Mustafa S B, Di Geronimo R J, Petershack J A, et al. Postnatal glucocorticoids induce alpha-ENaC formation and regulate glucocorticoid receptors in the preterm rabbit lung[J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2004, 286(1): L73-80.
- [14] 宋志芳, 谢伟, 单敏, 等. 糖皮质激素治疗大肠杆菌致急性呼吸窘迫综合征的实验研究[J]. 中国危重病急救医学, 2006, 18(12): 716-720.
- [15] Suzuki S, Matsuda Y, Sugawara T, et al. Effects of carbenoxolone on alveolar fluid clearance and lung

- inflammation in the rat[J]. Crit Care Med, 2004, 32(9):1910-1915.
- [16] Caldwell R A, Boucher R C, Stutts M J. Neutrophil elastase activates near-silent epithelial Na^+ channels and increases airway epithelial Na^+ transport[J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2005, 288(5):813-819.
- [17] Matthay M A, Fukuda N, Frank J, et al. Alveolar epithelial barrier: role in lung fluid balance in clinical lung injury[J]. Clin Chest Med, 2000, 21(3):477-490.
- [18] Benos D J, Awayda M S, Ismailov I I, et al. Structure and function of amiloride-sensitive Na^+ channels[J]. J Membr Biol, 1995, 143(1):1-18.
- [19] McRitchie D I, Isowa N, Edelson J D, et al. Production of tumour necrosis factor by primary cultured rat alveolar epithelial cells [J]. Cytokine, 2000, 12(6):644-654.
- [20] Suter P M, Suter S, Girardin E, et al. High bronchoalveolar levels of tumor necrosis factor and its inhibitors, interleukin-1, interferon, and elastase, in patients with adult respiratory distress syndrome after trauma, shock, or sepsis [J]. Am Rev Respir Dis, 1992, 145(5):1016-1022.
- [21] Dagenais A, Frechette R, Yamagata Y, et al. Downregulation of EnaC activity and expression by TNF- α in alveolar epithelial cells [J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2004, 286(2):L301-311.
- [22] Frank J, Roux J, Kawakatsu H, et al. Transforming growth factor- β decreases expression of the epithelial sodium channel αENaC and alveolar epithelial vectorial sodium and fluid transport via ERK1/2-dependent mechanism [J]. J Biol Chem, 2003, 278(45):43939-43950.
- [23] Towne J E, Harrod K S, Krane C M, et al. Decreased expression of aquaporin (AQP) 1 and AQP5 in mouse lung after acute viral infection [J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2000, 22(1):34-44.
- [24] Dagenais A, Gosselin D, Guilbault C, et al. Modulation of epithelial sodium channel expression in mouse lung infected with *Pseudomonas aeruginosa* [J]. Respir Res, 2005, 6:2.

(收稿日期:2007-07-26)

(本文编辑:李银平)

• 病例报告 •

卡氏肺孢子虫肺炎并发重症肺炎 1 例报告

何新华 李春盛 沈露辉

【关键词】卡氏肺孢子虫; 肺炎, 重症; 感染

1 病历简介

患者男性, 79 岁。主因发热、咳嗽、咯痰 10 d 于 2007 年 1 月 9 日入院。既往体健, 否认输血史。查体: 体温 37.8°C , 脉搏 84 次/min, 呼吸频率 21 次/min, 血压 110/70 mm Hg (1 mm Hg = 0.133 kPa)。全身浅表淋巴结未触及肿大。口唇轻度发绀, 双肺呼吸音稍低, 左下肺闻及湿啰音; 心律齐, 未闻及杂音; 腹部、脊柱四肢及神经系统无异常发现。入院当日血常规: 白细胞计数 (WBC) $9.93 \times 10^9/\text{L}$, 中性粒细胞 0.85, 淋巴细胞 $0.65 \times 10^9/\text{L}$ 。血气分析: 动脉血二氧化碳分压 (PaCO_2) 31.1 mm Hg, 动脉血氧分压 (PaO_2) 59.3 mm Hg, HCO_3^- 23.9 mmol/L, pH 7.496。入院诊断为肺炎。给予左氧氟沙星、克林霉素等治疗, 病情反复, 高热 (39°C), 咳嗽、咯黄白黏痰。1 月 17 日 X 线胸片示右下肺及双中、上肺高密度片状阴影, 较入院前病变范围明显扩大、加重。抗生素改为泰能 (依米佩能亚胺培

南/西司他汀钠) 加万古霉素。1 月 28 日痰中发现真菌孢子, 尿中发现霉菌, 加用大扶康 (氟康唑)。1 月 31 日喘憋加重, 发热, 体温 38°C , X 线胸片示双肺见大片状高密度模糊影, 肺野透亮度减低, 双肺门影增大欠清晰, 心影显示欠佳, 两横膈面模糊, 肋膈角不清。转入重症监护室, 面罩吸氧 (浓度为 0.40) 时血气分析 pH 7.32, PaCO_2 33.5 mm Hg, PaO_2 54.5 mm Hg, HCO_3^- 22.7 mmol/L, 给予机械通气辅助治疗。由于较长时间使用强大广谱抗生素治疗无效, 多次痰及血培养均无致病菌生长, 两次人类免疫缺陷病毒 (HIV) 抗体检测均阴性。考虑为免疫功能低下合并非常见菌感染, 于 2 月 4 日加用复方新诺明 2 片 (0.96 g), 每日 2 次。2 月 8 日血淋巴细胞检查: $\text{CD}3^+$ 细胞 (T 淋巴细胞) 占 32.33% (61%~76%), $\text{CD}3^+$ 与 $\text{CD}4^+$ 细胞占 16.39% (27%~43%), $\text{CD}3^+$ 与 $\text{CD}8^+$ 细胞占 10.54% (23%~35%)。2 月 22 日支气管肺泡灌洗液 (BALF) 检查, 涂片中找到肺孢子虫孢囊阳性, 聚合酶链反应 (PCR) 检测肺孢子虫 (PC) 阳性。诊为“卡氏肺孢子虫肺炎 (PCP)”。继续给予

复方新诺明及其他对症支持治疗, 病情进行性加重, 2007 年 2 月 27 日抢救无效死亡。

2 讨论

PCP 是 HIV 感染患者中最常见的机会性感染。本例患者既往体健, 无自身免疫功能下降的诱因, 所以该患者从治疗开始较长一段时间内以常见细菌感染治疗而忽略了非常见菌感染的可能。根据患者的症状、体征和实验室检查, 高度怀疑非特异性感染而给予复方新诺明治疗, X 线胸片一度有好转, 但随后病情再度恶化, 最终通过 BALF 涂片和 PCR 检查 PC 双阳性而确诊, 但由于病情进行性加重, 最终死亡。分析其原因, 可能与患者年老、以常见感染性疾病反复使用广谱抗生素, 后期使用复方新诺明剂量不足, 病情已到晚期、疗效差等有关。可见, PCP 除常见易感人群外, 正常人群也可罹患。一旦怀疑 PCP, 即应采取标准治疗, 以期达到最佳疗效。这在临床治疗中证明是行之有效的。

作者单位: 100020 北京, 首都医科大学附属北京朝阳医院急诊科

作者简介: 何新华 (1967-), 男 (汉族), 湖南省人, 医学硕士, 副主任医师。

(收稿日期: 2008-01-17)

(本文编辑: 李银平)