

ARDS 生物标志物的研究进展

傅莹 林锦乐 张文武 王立军

518101 广东深圳,南方医科大学附属深圳宝安人民医院急诊医学科(傅莹、林锦乐、张文武),重症医学科(王立军);524001 广东湛江,广东医科大学研究生学院(傅莹)

通讯作者:张文武, Email: zww5@sina.com

DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2017.07.018

【摘要】 急性呼吸窘迫综合征(ARDS)是临床常见的急危重症,以急性发作的低氧血症和弥漫性双肺渗出为主要表现。病理生理学将其划分为以肺泡弥散功能障碍、肺水肿为特点的急性渗出期和随后发生的纤维增殖期。临床上对 ARDS 患者的早期预测及风险评估仍然有限。近年来研究者逐渐将关注点投向对生物标志物的探索,本文就 ARDS 生物标志物的最新研究进展进行综述。

【关键词】 呼吸窘迫综合征,急性; 生物标志物; 急性渗出期; 纤维增殖期

基金项目: 广东省科技计划项目(2014A020212705); 广东省深圳市医药卫生科研项目(201401087, 201506078); 广东省深圳市科技创新委员会科研项目(JCYJ20150402152005625, JCYJ20170307094345589)

Advances in biomarkers of ARDS Fu Xuan, Lin Jinle, Zhang Wenwu, Wang Lijun

Department of Emergency, Affiliated Baoan People's Hospital of Shenzhen, Southern Medical University, Shenzhen 518101, Guangdong, China (Fu X, Lin JL, Zhang WW); Department of Critical Care Medicine, Affiliated Baoan People's Hospital of Shenzhen, Southern Medical University, Shenzhen 518101, Guangdong, China (Wang LJ); Graduate School of Guangdong Medical University, Zhanjiang 524001, Guangdong, China (Fu X)

Corresponding author: Zhang Wenwu, Email: zww5@sina.com

【Abstract】 Acute respiratory distress syndrome (ARDS) is a common diseases in critical ill patients, which is an acute-onset hypoxic condition with radiographic bilateral lung infiltration. And it can be divided into two phases in pathophysiology: an acute exudative phase combining diffuse alveolar damage and lung edema followed by a later fibro proliferative phase. The early prediction and risk assessment of patients with ARDS is still very poor in the clinical. In recent years, researchers gradually focus their research on exploration of biomarkers of ARDS. The article mainly aims to sum up the development of biomarkers exploration.

【Key words】 Acute respiratory distress syndrome; Biomarker; Acute exudative phase; Fibro proliferative phase

Fund program: Science and Technology Planning Project of Guangdong Province (2014A020212705); Scientific Research Project of Medical Science of Shenzhen of Guangdong Province (201401087, 201506078); Research Project of Science and Technology Innovation Committee of Shenzhen of Guangdong Province (JCYJ20150402152005625, JCYJ20170307094345589)

急性呼吸窘迫综合征(ARDS)是临床常见急危重症,以急性发作的低氧血症和弥漫性双肺渗出为主要表现^[1]。随着病理生理学研究的深入,ARDS 被划分为以肺泡弥散功能障碍、肺水肿为特点的急性渗出期和随后发生的纤维增殖期;目前临床上对 ARDS 患者的早期预测及风险评估指标仍然有限。从病理生理学角度可以更好地理解多种 ARDS 相关生物标志物的作用机制,包括以肺损伤为核心的细胞损伤途径^[2]: 内皮损伤、上皮损伤、促炎损伤、凝血、纤维化及细胞凋亡。而随着对上述机制探索的逐步深入可以帮助我们更好地理解肺损伤的病理生理学,为后续制定治疗策略打下坚实基础。研究表明,某些生物标志物在评估 ARDS 高风险人群、临床疗效、疾病预后,甚至临床试验项目优化方面起到一定作用^[3]。现对近年来在 ARDS 生物标志物研究中具有代表性的指标进行综述。

1 ARDS 急性渗出期的生物标志物

急性渗出期为 ARDS 的早期病变,是指炎症诱发肺泡内

水肿,伴随弥漫性肺泡损伤,此时多种与肺损伤相关的特异性蛋白释放入血或肺泡间隙。此阶段的生物标志物多以肺部相关蛋白及炎症相关蛋白为主。

1.1 上皮损伤: 肺泡上皮由 I 型和 II 型肺泡上皮细胞(AEC I、AEC II)组成,在屏障功能、表面活性物质生成等方面有至关重要的作用。AEC I 细胞覆盖了 90%~95% 的肺泡上皮表面,有助于肺泡液体清除,保证屏障功能的完整性。AEC II 细胞则有很强的自我平衡功能,并介导了上皮修复的进程^[4]。肺上皮源性生物标志物主要为 AEC I、AEC II 和克拉拉细胞蛋白(CC),早期与细胞破损释放相关标志蛋白有关,后期则与参与细胞修复及纤维化的标志蛋白有关。

1.1.1 晚期糖基化终末产物受体(RAGE)/可溶性 RAGE(sRAGE): RAGE 是免疫球蛋白超家族的跨膜模式识别受体,相对分子质量为 42 800,在肺中高表达^[5],主要位于 AEC I 细胞基底面,是大量促炎配体的受体,在炎症病变中表达上调。sRAGE 是 RAGE 的可溶性形式,参与介导肺泡内炎症

反应。Jabaudon 等^[6]从 64 例重症患者的连续资料分析中发现: ARDS 组患者无论是否合并脓毒症,其血清 sRAGE 水平均显著高于单纯脓毒症或机械通气组。Calfee 等^[7]在比较直接肺损伤与间接肺损伤两种因素时发现, sRAGE 水平在前者 ARDS 患者中表达更高。Mrozek 等^[8]将影像学表现与生物标志物相结合,发现影像学表现为弥漫渗出组的血浆 sRAGE 水平高于局灶病变组。由此可见, sRAGE 主要表现为对肺源性 ARDS 的诊断特异性。

1.1.2 涎液化糖链抗原(KL-6): KL-6 属于高分子质量糖蛋白家族中的上皮黏性蛋白,相对分子质量为 200 000,表达于 AEC II 细胞表面,在退变的 AEC II 细胞中表达增强,若肺部基底膜损伤,可致血管通透性增加, AEC II 细胞释放 KL-6 进入血液。ARDS 相关研究显示,血浆 KL-6 可反映肺损伤的严重程度,其持续上升的趋势与病死率密切相关,血清水平过高往往提示损伤程度大,预后不良^[9];其转缓的上升趋势也已被证实与保护性通气策略相关^[10]。由此可见, KL-6 主要表现为对 ARDS 预后的判断价值。

1.1.3 CC16: 克拉拉细胞位于终末细支气管,参与气道毒物代谢和细胞再生, CC16 是其特异性蛋白,属于同型二聚体蛋白,因相对分子质量为 16 000 而被命名,在肺泡-血清可形成 1 000 倍浓度梯度,被视为监测肺屏障的途径之一。在诊断价值上,呼吸机相关性肺炎(VAP)、创伤后合并肺炎以及 ARDS 患者均可发生血清 CC16 水平升高^[11],但其预后价值有限^[12]。一项单中心临床研究表明,血清 CC16 水平在 ARDS 中呈上升趋势,并具有较高的敏感度及特异度,且其预后价值体现在血清水平升高后的回落程度,回落程度大提示修复速度快^[13]。有关 CC16 能否作为 ARDS 诊断及预后判断的生物标志物仍需更大规模研究进一步验证。

1.2 内皮损伤: 血管内皮损伤以细胞组分破坏为特点,由激活的炎症反应及凝血级联反应驱动,导致微血管通透性增加和肺水肿。上皮细胞循环介质激活导致表面分子表达增加,是白细胞黏附、积聚和移行的重要中介。激活的淋巴细胞同样可释放介质进入微血管,导致血管通透性增加。与这些白细胞的信号一起,炎性介质如肿瘤坏死因子(TNF)、凝血酶、血管内皮生长因子(VEGF)破坏上皮钙黏附素,导致血管泄漏及潜在水肿形成。血小板也可通过释放细胞因子和纤维蛋白凝块导致内皮损伤^[14]。内皮损伤主要生物标志物以反映微血管通透性及介导白细胞黏附的相关蛋白为主。

1.2.1 促血管生成素(Ang): Ang 是与血管新生密切相关的家族蛋白,参与促进血管发生、重塑、成熟和维持。自 1996 年 Davis 寻找 Tie-2 配体时在 cos 细胞中获取到了人和小鼠的 Ang-1 至今,已发现 4 个家族成员,即 Ang-1、Ang-2、Ang-3、Ang-4。Ang-1 能够促进胚胎血管发育成熟,维持血管稳定性,有助于改善 ARDS 的肺泡毛细血管屏障破坏。Ang-2 由血管重构组织中活化的内皮细胞分泌,相对分子质量为 75 000,在静止的成熟血管中表达很低,炎症反应时表达量显著增加,是 Ang-1 的天然拮抗剂。动物实验及临床研究均显示,在急性肺损伤(ALI)的发病过程中, Ang-2 使血管

通透性增加,故在 ALI、脓毒症患者中,血浆 Ang-2 水平升高与血管渗漏增加有关,而肺血管内皮细胞屏障完整性的破坏是形成间质性肺水肿的必要条件。

Agrawal 等^[15]在 230 例重症患者中首次发现 Ang-2 可改善临床评分的敏感性,且其水平越高, ARDS 的发生率越高。Wada 等^[16]在 159 例重症加强治疗病房(ICU)患者中发现:相较于未并发 ARDS 的患者,并发 ARDS 患者血清 Ang-2 水平更高。钟明媚等^[17]在对 53 例 ICU 患者研究中证明, ARDS 患者血清 Ang-2 水平显著升高,且相较于急性生理学及慢性健康状况评分系统 II (APACHE II)评分、序贯器官衰竭评分(SOFA)和白细胞介素-6(IL-6)水平,能更好地预测 ARDS 的发生。由此可见, Ang-2 的价值主要体现在对 ARDS 早期诊断和预测的价值。

1.2.2 细胞间黏附分子-1(ICAM-1): ICAM-1 属于黏附分子中免疫球蛋白超家族成员,相对分子质量为 75 000 ~ 114 000,是介导黏附反应的重要黏附分子。ICAM-1 在静息状态下的内皮细胞呈低水平表达,通过与血管内皮细胞表面特异性受体结合而发挥生物学活性;也表达于上皮细胞,在细胞损伤时释放^[18]。Calfee 等^[18]研究表明,相比压力性肺水肿患者, ARDS 患者的 ICAM-1 在血浆及肺水肿液中均升高;同时,高水平或呈升高趋势的可溶性 ICAM-1(sICAM-1)与 ARDS 患者的临床预后不良相关。由此可见,血浆/肺水肿液 ICAM-1 水平主要反映 ARDS 的预后。

1.2.3 VEGF: VEGF 是胎儿和成人血管发生及血管生成过程中的重要调控因子,属血小板源性生长因子家族,相对分子质量为 35 000 ~ 44 000,可特异性作用于内皮细胞,在增强血管通透性、诱导血管发生及内皮细胞生长、促进细胞迁移、抑制细胞凋亡等方面发挥作用^[19]。VEGF 作为内皮生物标志物被广泛研究,但其作为 ARDS 生物标志物的作用仍未确定。

Thickett 等^[20]一项单中心研究表明:相比 ARDS 高危组、机械通气组及健康对照组, ARDS 组患者血浆 VEGF 水平升高,且 4 d 血浆 VEGF 升高与病死率呈相关关系;但患者支气管肺泡灌洗液(BALF)中 VEGF 却呈低水平表达,且 4 d 水平回升提示转归良好。为了更好地理解这种差异形成的原因, Ware 等^[21]通过实验验证了 BALF 中 VEGF 水平改变是否对 ARDS 患者具有特异性,结果显示, VEGF 水平下降不仅发生在 ARDS 患者中,也发生在压力性肺水肿患者中,说明其水平下降与肺损伤的关系不大,而可能与肺水肿相关。因此, VEGF 作为内皮细胞生物标志物在诊断方面的特异性有限,但与凋亡相关,往往对预后有重要的提示作用。

1.2.4 血管性血友病因子(vWF): vWF 主要由血小板、少量由内皮细胞分泌,与胶原及血小板膜糖蛋白 GP I b 和 GP II b-III a 结合,在血小板的黏附和聚集中起重要作用。Rubin 等^[22]在 45 例非肺源性脓毒症患者中发现: vWF 升高与高风险 ARDS 及已确诊 ARDS 存在联系,其预测 ARDS 的敏感度为 87%,特异度达到 77%。随后,一项纳入 559 例 ARDS 患者首日及 3 d 血浆 vWF 的比较分析显示:相对于存活者,死亡患者 3 d 血浆 vWF 水平更高,且无器官功能衰竭

时间更短,提示 vWF 可反映 ARDS 患者内皮激活和损伤程度,与预后相关^[23]。由此可见,vWF 对 ARDS 发生后 3~4 d 的预后具有预测潜力。

1.3 炎症级联反应:ARDS 时炎症反应与单发感染刺激如肺炎、或者全身炎症如脓毒症、胰腺炎相关。炎症级联反应由复杂的细胞因子网络驱动^[24],包括炎性细胞及炎性介质的释放。对比血浆和肺泡液中的细胞因子,绝大多数炎性介质来源于肺部^[25]。由于损伤因素的作用,死亡的细胞及局部炎性细胞释放危险信号分子,通过与不同受体绑定积聚炎性细胞,启动并维持多种促炎通路。炎症反应的调节是一个复杂的过程,在此过程中多种炎性介质起着相互作用。但炎性介质作为生物标志物存在特异性差、临床依据不足、受多因素影响及代谢迅速等缺点。

1.3.1 IL-1 β :IL-1 β 是激活的巨噬细胞分泌的细胞因子,其通过 IL-1 受体激活 TNF- α 等下游炎性因子,其成熟形式的相对分子质量为 17 500。早期病程中 IL-1 β 在血浆、BALF 及肺水肿液中的水平升高,是非常重要的上游细胞因子,尤其是 BALF 中 IL-1 β ,但缺乏大型多中心研究证实,仅在小型研究中观察到血浆或 BALF 中 IL-1 β 持续升高提示预后不良^[26]。最近的一项动物实验表明,ARDS 模型小鼠 BALF 中 TNF- α 和 IL-1 β 水平明显升高^[27]。

1.3.2 TNF- α :TNF- α 主要由活化的单核/巨噬细胞产生,相对分子质量为 25 000,早期产生及代谢迅速,是参与炎症、肿瘤、脓毒症和 ARDS 的上游细胞信号。早期研究者认为,高风险 ARDS 及 ARDS 患者血浆和 BALF 中 TNF- α 水平升高;但 Parsons 等^[28]对比 ARDS 患者血清 TNF- α 和调节其炎症效应的细胞表面受体可溶性 TNF 受体 I、II (TNFR I、TNFR II) 水平发现:TNF- α 仅在 9% 的 ARDS 患者中被检出且无诊断及预后价值,但 TNFR I、TNFR II 与死亡风险呈正相关关系。因此,TNF- α 能否作为 ARDS 的高风险预测指标尚需验证,相关受体表达提示预后不良具有研究价值。

1.3.3 IL-6:IL-6 来源于单核/巨噬细胞、内皮细胞、成纤维细胞,以及对内毒素、IL-1 β 和 TNF- α 刺激产生反应的平滑肌细胞,相对分子质量为 26 000,是发热反应中重要的炎性介质之一^[29]。研究表明,IL-6 升高预示患者 48 h 内将发生 ARDS 的风险升高,且低 IL-6 水平是一个可靠的阴性预测值^[30];一项纳入 861 例 ARDS 患者的多中心研究表明,即使在控制机械通气、利用血管升压药物等干预后,死亡组 IL-6 及 IL-8 仍有更高的基线水平^[31]。因此,IL-6 可提示首次损伤程度及治疗后致病因素是否消除,协助高风险预测及判断预后。

1.3.4 IL-8:IL-8 是主要由单核/巨噬细胞产生的促炎细胞因子,相对分子质量约 8 000。在早期 ARDS 中,IL-8 在血浆和 BALF 中高表达,提示预后不良^[30]。一项纳入 100 例 ARDS 患者的单中心研究分析了 RAGE、CC16、IL-8、vWF、凝血酶-抗凝血酶 III 复合物(TAT)、纤溶酶原激活物抑制剂-1(PAI-1)等 6 种生物标志物后发现,只有 IL-8 基线水平与多器官功能衰竭(MOF)的发展相关^[32];更有研究显示

抗 IL-8 自身抗体/IL-8 免疫复合物是 ARDS 治疗新靶点^[25]。由此可见,IL-8 在提示 ARDS 预后及器官衰竭方面具有广泛研究前景。

1.3.5 IL-18:IL-18 是由活化的单核/巨噬细胞及树突细胞产生的细胞因子,相对分子质量为 18 000~19 000,参与诱导免疫细胞释放 γ -干扰素(IFN- γ)、TNF- α 等,在免疫调节、抗感染等疾病发生过程中起重要作用^[33]。Dolinay 等^[34]研究发现:IL-18 在肺损伤中起着重要作用,其水平在 ARDS 组升高,并可作为新型 ICU 生物标志物提示发病率与病死率。Makabe 等^[35]在 38 例急性呼吸衰竭患者中发现:并发 ARDS 的患者血清 IL-18 显著升高,且与氧合指数呈负相关关系,在死亡组中也显著升高。因此,IL-18 在 ARDS 预后判断方面有较高价值,但其具体病理生理机制有待探讨。

1.3.6 高迁移率族蛋白 B(HMGB):HMGB 是存在于真核生物细胞核内的非组蛋白染色体结合蛋白,有 3 个成员,其中 HMGB1 含量最为丰富,相对分子质量为 30 000。ALI 时细胞核内 HMGB1 可通过自分泌或旁分泌、单核/巨噬系统、细胞损伤或坏死后释放等 3 种分泌方式释放入血,被认为是晚期炎性因子^[36];接受抗 HMGB1 抗体治疗的 ARDS 小鼠,其中性粒细胞聚集减少,肺水肿程度减轻^[37]。近几年动物及临床研究结果均显示 HMGB1 是 ARDS 重要的生物标志物,ARDS 患者血浆 HMGB1 水平明显升高^[38],若对 ARDS 患者早期应用抗 HMGB1 抗体治疗,可以减轻肺内中性粒细胞聚集和肺水肿^[39]。由此可见,HMGB1 在诊断、预后和潜在治疗靶点方面具有较高探索价值。

1.4 肺血管通透性:ARDS 病理生理学机制包括物理屏障如内皮和上皮细胞层数、细胞外基质(ECM)的破坏,导致肺泡毛细血管通透性增加。肺水肿液/血浆蛋白比值(EF/PL)是一项安全、快捷、无创的肺泡毛细血管通透性测量指标,始见于急性肺水肿的病因研究。一项纳入 390 例危重患者的大型试验证明,EF/PL 比值对 ARDS 和压力性肺水肿有鉴别价值,且与预后有关^[40]。

1.5 凝血和纤溶:在 ARDS 的发生发展中,炎症级联反应诱导凝血系统激活,包括凝血酶生成^[41]、抑制纤维蛋白溶解和诱导血小板激活^[25]。在急性炎症肺疾病中已证实凝血与纤溶系统相互影响:纤维素的沉积密封了内皮和上皮细胞被破坏的屏障,可能有利于气体交换;凝血与纤溶系统也可造成较多负面效应,如内皮细胞损伤、激活中性粒细胞及成纤维细胞、肺泡液体清除率下降、表面活性物质丢失导致肺泡塌陷以及血栓阻塞微循环。来源于这个途径的生物标志物主要是 PAI-1、蛋白 C(PC)及血栓调节蛋白(TM)。

1.5.1 PAI-1:PAI-1 为内皮细胞型 PAI,属于丝氨酸蛋白酶抑制物,相对分子质量为 52 000,通过控制纤溶酶原向纤溶酶的转换过程起到纤溶调节作用,可被活化蛋白 C(APC)及凝血酶灭活。在 ARDS 病程中,AEC 及激活的巨噬细胞大量表达 PAI-1,有助于降低肺泡纤溶活性。有临床研究证实,PAI-1 在 ALI 患者血浆及 BALF 中的浓度高于压力性肺水肿患者,且 ALI 患者高浓度 PAI-1 与高病死率及长时间机

械通气呈相关关系^[31]。在一项纳入 94 例儿科重症患者的前瞻性多中心调查中也得出类似结论^[42]。然而 Agrawal 等^[43]对 2 项大型随机对照试验进行二次分析后发现: PAI-1 与肺损伤相关, 但与病死率无关。Mrozek 等^[8]研究也表明, 影像学表现为弥漫渗出组的血浆 PAI-1 高于局灶病变组。因此, PAI-1 与弥漫性肺部损伤相关, 但能否作为 ARDS 预后判断指标仍具有探讨价值。

1.5.2 PC: PC 是由肝脏合成的维生素 K 依赖因子, 由单链和双链分子混合构成, 单链相对分子质量为 21 000, 双链相对分子质量为 41 000, 可抑制单核细胞释放 IL-1、TNF- α 等炎性介质而发挥抗炎效应, 灭活 FVa、FVIIIa, 阻碍 FXa 与血小板上的磷脂结合, 削弱 FXa 对凝血酶原的激活作用, 进而抑制凝血系统; 刺激凝血酶原激活物释放, 增强纤溶酶活性, 促进纤维蛋白溶解。Ware 等^[44]发现: 与心源性肺水肿患者比较, ARDS 患者血浆和肺水肿液 PC 水平显著降低, 提示预后不良; 该结论在一项纳入 779 例 ALI/ARDS 患者的多中心临床研究中证实^[45]。提示 PC 作为预后生物标志物有重要参考价值。

1.5.3 TM: TM 是一种单链跨膜糖蛋白, 相对分子质量为 45 000, 是使凝血酶由促凝转向抗凝的重要血管内凝血抑制因子。ARDS 患者可溶性 TM (sTM) 在肺水肿液中浓度高于血浆, 提示其肺泡来源性; 但仅在 ARDS 高风险人群中可观察到高水平 sTM, 没有证据表明血浆 sTM 与 ARDS 的发展具有关联性。Ware 等^[44]在 ARDS 患者中发现高血浆和肺泡水平的 sTM 与疾病严重程度及 MOF 的发生相关。一项纳入 449 例患者的大型分析表明: 血清 sTM 升高与病死率升高有相关性^[46], 可能反映了炎症发展及内皮损伤的程度。由此可见, TM 在预后方面具有较高价值。

2 ARDS 纤维增殖期的生物标志物

在 ARDS 病程中, 肺泡间隙持续积累的巨噬细胞、纤维细胞、成纤维细胞导致胞外组分过度沉积, 促纤维化与抗纤维化介质不平衡可能导致纤维增殖反应^[47]。ALI 发生后 7~10 d 开始进入纤维增殖期。随着 ARDS 病程延长, 纤维增殖期占主导地位, 肺部逐渐重构。若肺泡和血管结构修复则可逐渐康复, 若修复不善或系统过度激活, 往往导致死亡。

2.1 内皮增生: VEGF 具有促进 ARDS 患者肺泡毛细血管屏障修复的潜力, 从而降低血管通透性, 因此, 探索 VEGF 在 ARDS 病程中的作用有助于发展新的治疗策略。2001 年, 一项关于血浆 VEGF 升高的 ARDS 患者的研究显示, 其 BALF 中 VEGF 呈下降趋势^[20]。2005 年 Ware 等^[21]重新验证了这一现象, 并将原因归结于 BALF 的稀释性。Varet 等^[48]对 ARDS 患者进行肺活检证实, VEGFb 家族在肺损伤修复中扮演重要角色, 且相比正常肺组织, ARDS 肺组织中 VEGFb 亚型表达降低。因此, VEGF 亚型检测对 ARDS 具有诊断潜力。

2.2 上皮增生和凋亡

2.2.1 角化细胞生长因子(KGF): KGF 又称 KGF-7, 相对分子质量为 28 000, 属于成纤维母细胞生长因子家族, 具有上皮特异性, 对多种上皮细胞包括 AEC II 细胞有潜在的有

丝分裂原活性。Panos 等^[49]首次在动物实验中报道了气管内给予重组 KGF 对高氧诱导的 ALI 大鼠有保护作用。Stern 等^[50]在一项前瞻性研究中证实, KGF 在 ARDS 患者 BALF 中明显升高, 而在非 ARDS 患者中则无明显变化; ARDS 组 KGF 升高与不良预后相关。由此可见, KGF 的 BALF 水平对 ARDS 诊断及预后具有判断价值。

2.2.2 肝细胞生长因子(HGF): HGF 由间质细胞产生, 是由相对分子质量为 75 000 的重链和相对分子质量为 30 000 的轻链形成的异二聚体糖蛋白, 是重要的抗纤维化因子及保护因子, 能修复受损的肺组织。HGF 是目前已知生物活性最广泛的生长因子之一, 作为肺上皮细胞最强的促有丝分裂剂, 能通过促进上皮细胞分化增生、抑制纤维化反应、保护内皮细胞、调节其他炎性因子的分泌来帮助修复受损组织器官, 在急性损伤、再生中具有较强的作用。动物研究表明, 在肺损伤的病理条件下, 血浆 HGF 水平明显升高^[51]。孙艳等^[52]发现: ARDS 患者血浆 HGF 水平升高, 是判断 ARDS 严重程度及预后的有效指标。由此可见, HGF 对 ARDS 的诊断及预后具有判断价值。

2.2.3 Fas/FasL: AEC 凋亡是肺损伤启动和延续过程中的主要现象, Fas 及其配体 FasL 是近年来研究最为深入的有关细胞凋亡的膜表面分子。Fas 是 I 型跨膜糖蛋白, 相对分子质量为 36 000, FasL 为 II 型跨膜糖蛋白, 相对分子质量为 36 000~43 000, Fas/FasL 系统启动细胞凋亡。有研究者在 1999 年就发现: 在 ARDS 患者中, 可溶性 FasL (sFasL) 在临床诊断确定前后均可在肺中被检测出, 但相对于存活患者, 死亡患者 BALF 中 sFasL 在 1 d 就显著升高^[53]。而 2013 年有研究指出: Fas/FasL 系统及细胞凋亡机制在 ARDS 患者气道上皮细胞死亡的过程中作用有限^[54]。因此, Fas/FasL 作为诊断或预后判断的特异性欠佳。

2.3 纤维原细胞增生: III 型前胶原肽 (PⅢP) 是 III 型前胶原转变为 III 型胶原时释放的多肽, PⅢP 增加提示组织炎症或纤维化的开始。健康者 BALF 中 PⅢP 水平高于血浆水平, 提示肺可能是产生 PⅢP 的器官。有研究表明早期升高的 PⅢP 提示 ARDS 患者预后不良^[55]。Forel 等^[56]研究显示, 在 ARDS 相关纤维增殖的病例中, 死亡患者血清及 BALF 中 III 型前胶原肽氨基端肽 (PⅢNP) 水平更高, 且肺泡 PⅢNP 水平超过 9 $\mu\text{g/L}$ 时, 60 d 病死率升高。因此, PⅢP 及 PⅢNP 在预后判断方面具有探索价值。

3 ARDS 生物标志物的联合检测

以上实验多为单独指标检测, 对早期诊断 ARDS 及判断预后缺乏高精准度。Fremont 等^[57]将 RAGE、PⅢP、脑钠肽 (BNP)、Ang-2、TNF- α 、IL-8、IL-10 这 7 种生物标志物组合检测得出结论: 组合检测方法可提高鉴别创伤所致 ALI 与非 ALI 的精确性。Ware 等^[58]在联合检测 vWF、肺表面活性蛋白物质 D (SP-D)、TNFR1、IL-6、IL-8、ICAM-1、PAI-1、PC 这 8 种生物标志物后也证实, 组合检测结果优于单独测定。Ware 等^[59]在 200 例单纯严重脓毒症与合并 ARDS 严重脓毒症的 ICU 患者中, 根据 ARDS 的病理生理学机制选择了

11 种生物标志物进行联合检测,发现联合检测其中 5 种标志物(SP-D、RAGE、IL-8、IL-6、CC16)可提高 ARDS 与 ICU 首日发生严重 ARDS 的诊断率。McClintock 等^[60]在 50 例低流量机械通气的 ARDS 患者中,从炎症、凝血及纤溶等角度选取并同时检测了 IL-6、IL-8、ICAM-1、PC、TM、PAI-1 等血浆生物标志物,比较存活组与死亡组的生物标志物水平,发现除 IL-6 外,其余生物标志物在两组间差异有统计学意义,且 IL-8 和 ICAM-1 水平是不良预后的独立预测因素,而低水平 PC 与上升的死亡风险相关。目前对于生物标志物的组合检测仍缺乏足够实验室证据,相关机制尚未明确。

4 展望

随着临床诊疗技术手段的不断进步,虽然 ARDS 的病死率较前已明显下降,但仍高达 27%~45%^[61],为了提高 ARDS 诊断的特异度,2012 年美国医学协会杂志出版了修订后的定义,但并没有采用新的生物标志物或参数。随着对 ARDS 病理生理学认识的进展,通过对有潜力的生物标志物进行识别和检测,可以进一步了解 ARDS 的发病机制。近年来研究者试图发现一项或者联合几项生物标志物指标可常规应用于临床,指标容易获取并且对 ARDS 具有预测及诊断价值,但这一目标尚未实现。随着生物信息学手段的不断进步,未来有可能发现新型的蛋白或者小分子物质用于 ARDS 的风险预测、早期诊断和预后评估。

参考文献

- [1] 刘军,邹桂娟,李维勤.急性呼吸窘迫综合征的诊断新进展[J].中华危重病急救医学,2014,26(2):70-73. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2014.02.003.
- [2] Liu J, Zou GJ, Li WQ. Advance of diagnosis of acute respiratory distress syndrome [J]. Chin Crit Care Med, 2014, 26 (2): 70-73. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2014.02.003.
- [3] Matthay MA, Ware LB, Zimmerman GA. The acute respiratory distress syndrome [J]. J Clin Invest, 2012, 122 (8): 2731-2740. DOI: 10.1172/JCI60331.
- [4] Ware LB, Koyama T, Zhao Z, et al. Biomarkers of lung epithelial injury and inflammation distinguish severe sepsis patients with acute respiratory distress syndrome [J]. Crit Care, 2013, 17 (5): R253. DOI: 10.1186/cc13080.
- [5] Bhattacharya J, Matthay MA. Regulation and repair of the alveolar-capillary barrier in acute lung injury [J]. Annu Rev Physiol, 2013, 75: 593-615. DOI: 10.1146/annurev-physiol-030212-183756.
- [6] Guo WA, Knight PR, Raghavendran K. The receptor for advanced glycation end products and acute lung injury/acute respiratory distress syndrome [J]. Intensive Care Med, 2012, 38 (10): 1588-1598. DOI: 10.1007/s00134-012-2624-y.
- [7] Jabaudon M, Futier E, Roszyk L, et al. Soluble form of the receptor for advanced glycation end products is a marker of acute lung injury but not of severe sepsis in critically ill patients [J]. Crit Care Med, 2011, 39 (3): 480-488. DOI: 10.1097/CCM.0b013e318206b3ca.
- [8] Calfee CS, Janz DR, Bernard GR, et al. Distinct molecular phenotypes of direct vs indirect ARDS in single-center and multicenter studies [J]. Chest, 2015, 147 (6): 1539-1548. DOI: 10.1378/chest.14-2454.
- [9] Mrozek S, Jabaudon M, Jaber S, et al. Elevated Plasma Levels of sRAGE Are Associated With Nonfocal CT-Based Lung Imaging in Patients With ARDS: A Prospective Multicenter Study [J]. Chest, 2016, 150 (5): 998-1007. DOI: 10.1016/j.chest.2016.03.016.
- [10] Kondo T, Hattori N, Ishikawa N, et al. KL-6 concentration in pulmonary epithelial lining fluid is a useful prognostic indicator in patients with acute respiratory distress syndrome [J]. Respir Res, 2011, 12: 32. DOI: 10.1186/1465-9921-12-32.
- [11] Determann RM, Royakkers AA, Haitsma JJ, et al. Plasma levels of surfactant protein D and KL-6 for evaluation of lung injury in critically ill mechanically ventilated patients [J]. BMC Pulm Med, 2010, 10: 6. DOI: 10.1186/1471-2466-10-6.
- [12] Determann RM, Mollo JL, Waddy S, et al. Plasma CC16 levels are associated with development of ALI/ARDS in patients with ventilator-associated pneumonia: a retrospective observational study [J]. BMC Pulm Med, 2009, 9: 49. DOI: 10.1186/1471-2466-9-49.
- [13] Kropski JA, Fremont RD, Calfee CS, et al. Clara cell protein (CC16), a marker of lung epithelial injury, is decreased in plasma and pulmonary edema fluid from patients with acute lung injury [J]. Chest, 2009, 135 (6): 1440-1447. DOI: 10.1378/chest.08-2465.
- [14] 林锦乐,田方,张文武,等.克拉拉细胞蛋白 16 早期诊断急性呼吸窘迫综合征的临床研究[J].中华急诊医学杂志,2014,23(7):786-790. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-0282.2014.07.015.
- [15] Lin JL, Tian F, Zhang WW, et al. The clinical investigation of clara cell protein 16 on the early diagnosis of acute respiratory distress syndrome [J]. Chin J Emerg Med, 2014, 23 (7): 786-790. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-0282.2014.07.015.
- [16] Walter JM, Wilson J, Ware LB. Biomarkers in acute respiratory distress syndrome: from pathobiology to improving patient care [J]. Expert Rev Respir Med, 2014, 8 (5): 573-586. DOI: 10.1586/17476348.2014.924073.
- [17] Agrawal A, Matthay MA, Kangelaris KN, et al. Plasma angiopoietin-2 predicts the onset of acute lung injury in critically ill patients [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2013, 187 (7): 736-742. DOI: 10.1164/rccm.201208-1460OC.
- [18] Wada T, Jesmin S, Gando S, et al. The role of angiogenic factors and their soluble receptors in acute lung injury (ALI)/ acute respiratory distress syndrome (ARDS) associated with critical illness [J]. J Inflamm (Lond), 2013, 10 (1): 6. DOI: 10.1186/1476-9255-10-6.
- [19] 钟明媚,张琳,王璠,等.急性呼吸窘迫综合征患者血浆血管生成素 2 水平及其对预后的诊断价值[J].中华危重病急救医学,2014,26(11):804-809. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2014.11.008.
- [20] Zhong MM, Zhang L, Wang F, et al. The levels of angiopoietin-2 in patients with acute respiratory distress syndrome and its value on prognosis [J]. Chin Crit Care Med, 2014, 26 (11): 804-809. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2014.11.008.
- [21] Calfee CS, Eisner MD, Parsons PE, et al. Soluble intercellular adhesion molecule-1 and clinical outcomes in patients with acute lung injury [J]. Intensive Care Med, 2009, 35 (2): 248-257. DOI: 10.1007/s00134-008-1235-0.
- [22] Shibuya M. Vascular endothelial growth factor and its receptor system: physiological functions in angiogenesis and pathological roles in various diseases [J]. J Biochem, 2013, 153 (1): 13-19. DOI: 10.1093/jb/mvs136.
- [23] Thickett DR, Armstrong L, Christie SJ, et al. Vascular endothelial growth factor may contribute to increased vascular permeability in acute respiratory distress syndrome [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2001, 164 (9): 1601-1605. DOI: 10.1164/ajrccm.164.9.2011071.
- [24] Ware LB, Kaner RJ, Crystal RG, et al. VEGF levels in the alveolar compartment do not distinguish between ARDS and hydrostatic pulmonary oedema [J]. Eur Respir J, 2005, 26 (1): 101-105. DOI: 10.1183/09031936.05.00106604.
- [25] Rubin DB, Wiener-Kronish JP, Murray JF, et al. Elevated von Willebrand factor antigen is an early plasma predictor of acute lung injury in nonpulmonary sepsis syndrome [J]. J Clin Invest, 1990, 86 (2): 474-480. DOI: 10.1172/JCI114733.
- [26] Ware LB, Eisner MD, Thompson BT, et al. Significance of von Willebrand factor in septic and nonseptic patients with acute lung injury [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2004, 170 (7): 766-772. DOI: 10.1164/rccm.200310-1434OC.
- [27] 包晓玮,孙宏,杨倩,等.共刺激分子程序性死亡配体-1 在急性肺损伤中的作用及机制初探[J].中华危重病急救医学,2016,28(6):498-503. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2016.06.005.
- [28] Bao XW, Sun H, Yang Q, et al. The potential role of co-inhibitory molecule programmed death ligand-1 in acute lung injury and its mechanism [J]. Chin Crit Care Med, 2016, 28 (6): 498-503. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2016.06.005.
- [29] Cross LJ, Matthay MA. Biomarkers in acute lung injury: insights into the pathogenesis of acute lung injury [J]. Crit Care Clin, 2011, 27 (2): 355-377. DOI: 10.1016/j.ccc.2010.12.005.
- [30] Meduri GU, Headley S, Kohler G, et al. Persistent elevation of inflammatory cytokines predicts a poor outcome in ARDS. Plasma IL-1 beta and IL-6 levels are consistent and efficient predictors of outcome over time [J]. Chest, 1995, 107 (4): 1062-1073.
- [31] 梁家宁,周倩倩,张天相,等. TNF- α 和 IL-1 β 在急性呼吸窘迫综合征小鼠肺组织表达的变化及评价[J].细胞与分子免

- 疫学杂志, 2017, 33 (2): 159-163.
- Liang JN, Zhou QQ, Zhang TX, et al. Changes and role evaluation of TNF- α and IL-1 β in lung tissues of ARDS mice [J]. Chin J Cell Mol Immunol, 2017, 33 (2): 159-163.
- [28] Parsons PE, Matthay MA, Ware LB, et al. Elevated plasma levels of soluble TNF receptors are associated with morbidity and mortality in patients with acute lung injury [J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2005, 288 (3): L426-431. DOI: 10.1152/ajplung.00302.2004.
- [29] 吴少英, 李玮, 李连蛟, 等. 脐血 PCT、IL-6 水平检测对早产儿感染的诊断价值 [J]. 实用检验医师杂志, 2015, 7 (2): 124-126. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2015.02.016.
- Wu SY, Li W, Li LJ, et al. Diagnostic value of PCT and IL-6 levels in umbilical cord blood in preterm with infection [J]. Chin J Clin Pathol, 2015, 7 (2): 124-126. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2015.02.016.
- [30] Bouros D, Alexandrakis MC, Antoniou KM, et al. The clinical significance of serum and bronchoalveolar lavage inflammatory cytokines in patients at risk for Acute Respiratory Distress Syndrome [J]. BMC Pulm Med, 2004, 4 : 6. DOI: 10.1186/1471-2466-4-6.
- [31] Parsons PE, Eisner MD, Thompson BT, et al. Lower tidal volume ventilation and plasma cytokine markers of inflammation in patients with acute lung injury [J]. Crit Care Med, 2005, 33 (1): 1-6; discussion 230-232.
- [32] Cartin-Ceba R, Hubmayr RD, Qin R, et al. Predictive value of plasma biomarkers for mortality and organ failure development in patients with acute respiratory distress syndrome [J]. J Crit Care, 2015, 30 (1): 219.e1-7. DOI: 10.1016/j.jccr.2014.09.001.
- [33] Strowig T, Henao-Mejia J, Elinav E, et al. Inflammasomes in health and disease [J]. Nature, 2012, 481 (7381): 278-286. DOI: 10.1038/nature10759.
- [34] Dolinay T, Kim YS, Howrylak J, et al. Inflammasome-regulated cytokines are critical mediators of acute lung injury [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2012, 185 (11): 1225-1234. DOI: 10.1164/rccm.201201-0003OC.
- [35] Makabe H, Kojika M, Takahashi G, et al. Interleukin-18 levels reflect the long-term prognosis of acute lung injury and acute respiratory distress syndrome [J]. J Anesth, 2012, 26 (5): 658-663. DOI: 10.1007/s00540-012-1409-3.
- [36] Weber DJ, Alletto YM, Wilkes DS, et al. The HMGB1-RAGE inflammatory pathway: implications for brain injury-induced pulmonary dysfunction [J]. Antioxid Redox Signal, 2015, 23 (17): 1316-1328. DOI: 10.1089/ars.2015.6299.
- [37] Kao RL, Xu X, Xenocostas A, et al. Induction of acute lung inflammation in mice with hemorrhagic shock and resuscitation: role of HMGB1 [J]. J Inflamm (Lond), 2014, 11 (1): 30. DOI: 10.1186/s12950-014-0030-7.
- [38] Ingels C, Derese I, Wouters PJ, et al. Soluble RAGE and the RAGE ligands HMGB1 and S100A12 in critical illness: impact of glycemic control with insulin and relation with clinical outcome [J]. Shock, 2015, 43 (2): 109-116. DOI: 10.1097/SHK.0000000000000278.
- [39] Luan ZG, Zhang XJ, Yin XH, et al. Downregulation of HMGB1 protects against the development of acute lung injury after severe acute pancreatitis [J]. Immunobiology, 2013, 218 (10): 1261-1270. DOI: 10.1016/j.imbio.2013.04.013.
- [40] Ware LB, Fremont RD, Bastarache JA, et al. Determining the aetiology of pulmonary oedema by the oedema fluid-to-plasma protein ratio [J]. Eur Respir J, 2010, 35 (2): 331-337. DOI: 10.1183/09031936.00098709.
- [41] 陈宁, 沈锋. 急性呼吸窘迫综合征兔输注不同类型液体对凝血/纤溶功能的影响 [J]. 中国中西医结合急救杂志, 2015, 22 (5): 486-491. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2015.05.009.
- Chen N, Shen F. Effects of infusion with different kinds of liquid on blood coagulation and fibrinolysis in rabbits with acute respiratory distress syndrome [J]. Chin J TCM WM Crit Care, 2015, 22 (5): 486-491. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2015.05.009.
- [42] Sapru A, Curley MA, Brady S, et al. Elevated PAI-1 is associated with poor clinical outcomes in pediatric patients with acute lung injury [J]. Intensive Care Med, 2010, 36 (1): 157-163. DOI: 10.1007/s00134-009-1690-2.
- [43] Agrawal A, Zhuo H, Brady S, et al. Pathogenetic and predictive value of biomarkers in patients with ALI and lower severity of illness: results from two clinical trials [J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2012, 303 (8): L634-639. DOI: 10.1152/ajplung.00195.2012.
- [44] Ware LB, Fang X, Matthay MA. Protein C and thrombomodulin in human acute lung injury [J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2003, 285 (3): L514-521. DOI: 10.1152/ajplung.00442.2002.
- [45] Ware LB, Matthay MA, Parsons PE, et al. Pathogenetic and prognostic significance of altered coagulation and fibrinolysis in acute lung injury/acute respiratory distress syndrome [J]. Crit Care Med, 2007, 35 (8): 1821-1828. DOI: 10.1097/01.CCM.0000221922.08878.49.
- [46] Sapru A, Calfee CS, Liu KD, et al. Plasma soluble thrombomodulin levels are associated with mortality in the acute respiratory distress syndrome [J]. Intensive Care Med, 2015, 41 (3): 470-478. DOI: 10.1007/s00134-015-3648-x.
- [47] Burnham EL, Janssen WJ, Riches DW, et al. The fibroproliferative response in acute respiratory distress syndrome: mechanisms and clinical significance [J]. Eur Respir J, 2014, 43 (1): 276-285. DOI: 10.1183/09031936.00196412.
- [48] Varet J, Douglas SK, Gilmartin L, et al. VEGF in the lung: a role for novel isoforms [J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2010, 298 (6): L768-774. DOI: 10.1152/ajplung.00353.2009.
- [49] Panos RJ, Bak PM, Simonet WS, et al. Intratracheal instillation of keratinocyte growth factor decreases hyperoxia-induced mortality in rats [J]. J Clin Invest, 1995, 96 (4): 2026-2033. DOI: 10.1172/JCI118250.
- [50] Stern JB, Fierobe L, Paugam C, et al. Keratinocyte growth factor and hepatocyte growth factor in bronchoalveolar lavage fluid in acute respiratory distress syndrome patients [J]. Crit Care Med, 2000, 28 (7): 2326-2333.
- [51] Nakamura T, Mizuno S. The discovery of hepatocyte growth factor (HGF) and its significance for cell biology, life sciences and clinical medicine [J]. Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci, 2010, 86 (6): 588-610.
- [52] 孙艳, 史东阳, 张丽, 等. 血浆肝细胞生长因子对急性呼吸窘迫综合征的严重程度及预后判断的价值 [J]. 内科急危重症杂志, 2013, 19 (6): 342-344. DOI: 10.11768/nkjwzzzz20130607.
- Sun Y, Shi DY, Zhang L, et al. Value of plasma hepatocyte growth factor in predicting the severity and prognosis for patient with acute respiratory distress syndrome [J]. J Intern Intensive Med, 2013, 19 (6): 342-344. DOI: 10.11768/nkjwzzzz20130607.
- [53] Matute-Bello G, Liles WC, Steinberg KP, et al. Soluble Fas ligand induces epithelial cell apoptosis in humans with acute lung injury (ARDS) [J]. J Immunol, 1999, 163 (4): 2217-2225.
- [54] Pires-Neto RC, Morales MM, Lencas T, et al. Expression of acute-phase cytokines, surfactant proteins, and epithelial apoptosis in small airways of human acute respiratory distress syndrome [J]. J Crit Care, 2013, 28 (1): 111.e9-111.e15. DOI: 10.1016/j.jccr.2012.05.013.
- [55] Marshall RP, Bellingan G, Webb S, et al. Fibroproliferation occurs early in the acute respiratory distress syndrome and impacts on outcome [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2000, 162 (5): 1783-1788. DOI: 10.1164/ajrcrm.162.5.2001061.
- [56] Forel JM, Guervilly C, Hraiech S, et al. Type III procollagen is a reliable marker of ARDS-associated lung fibroproliferation [J]. Intensive Care Med, 2015, 41 (1): 1-11. DOI: 10.1007/s00134-014-3524-0.
- [57] Fremont RD, Koyama T, Calfee CS, et al. Acute lung injury in patients with traumatic injuries: utility of a panel of biomarkers for diagnosis and pathogenesis [J]. J Trauma, 2010, 68 (5): 1121-1127. DOI: 10.1097/TA.0b013e3181c40728.
- [58] Ware LB, Koyama T, Billheimer DD, et al. Prognostic and pathogenetic value of combining clinical and biochemical indices in patients with acute lung injury [J]. Chest, 2010, 137 (2): 288-296. DOI: 10.1378/chest.09-1484.
- [59] Ware LB, Koyama T, Zhao Z, et al. Biomarkers of lung epithelial injury and inflammation distinguish severe sepsis patients with acute respiratory distress syndrome [J]. Crit Care, 2013, 17 (5): R253. DOI: 10.1186/cc13080.
- [60] McClintock D, Zhuo H, Wickersham N, et al. Biomarkers of inflammation, coagulation and fibrinolysis predict mortality in acute lung injury [J]. Crit Care, 2008, 12 (2): R41. DOI: 10.1186/cc6846.
- [61] 肖贞良, 周菁, 陈章, 等. 糖皮质激素治疗对急性呼吸窘迫综合征患者预后的影响 [J]. 中国中西医结合急救杂志, 2015, 22 (1): 83-85. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2015.01.38.
- Xiao ZL, Zhou J, Chen Z, et al. Effects of glucocorticoids on outcome of patients with acute respiratory distress syndrome [J]. Chin J TCM WM Crit Care, 2015, 22 (1): 83-85. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2015.01.38.

(收稿日期: 2017-04-25)