

关于脓毒症的发生机制与识别和干预 ——论进展与问题

栾樱译 祝筱梅 姚咏明

解放军总医院第四医学中心、医学创新研究部转化医学研究中心,北京 100048

通信作者:姚咏明, Email: c_ff@sina.com

【摘要】 脓毒症是由不同病原体及其毒性因子引起宿主对感染的反应失调,并导致多器官功能障碍。脓毒症发生机制复杂,涉及表观遗传重编程、代谢衰竭、免疫功能障碍、神经-内分泌紊乱、凝血异常、组织或器官衰竭等诸多科学问题。本文旨在了解脓毒症的宿主反应和发病机制,进而根据脓毒症异质性特点,探索精准诊疗的预警标志物和干预靶标,最终降低脓毒症的发病率和病死率。

【关键词】 脓毒症; 调控机制; 预警; 治疗

基金项目: 国家自然科学基金(81730057, 81873943)

DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20210326-00441

Pathogenesis, diagnosis, and management for sepsis: update progress and scientific problems

Luan Yingyi, Zhu Xiaomei, Yao Yongming

Translational Medicine Research Center, Medical Innovation Research Division and the Fourth Medical Center of PLA General Hospital, Beijing 100048, China

Corresponding author: Yao Yongming, Email: c_ff@sina.com

【Abstract】 Sepsis is caused by various pathogens and toxic factors, which can lead to multiple organ dysfunction. The underlying mechanism of sepsis appears to be complex, involving epigenetic reprogramming, metabolic failure, immune dysfunction, neuroendocrine system disorders, coagulation abnormalities, tissue or organ failure, and many other scientific issues. With our deep understanding of the host reaction and development of sepsis, it is of great significance to explore predicative markers and therapeutic targets according to the atypical characteristics of sepsis, thereby contributing to the reduction of morbidity and mortality of sepsis.

【Key words】 Sepsis; Regulatory mechanism; Prediction; Treatment

Fund program: National Natural Science Foundation of China (81730057, 81873943)

DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20210326-00441

尽管积极处理原发病、液体复苏、控制炎症和器官支持治疗已取得了显著进展,但脓毒症(sepsis)的发病率、病死率仍居高不下。脓毒症致病因素众多、发生机制复杂,除了炎症代谢损伤和微生物毒素作用外,还包括表观遗传和(或)转录调节障碍、神经-内分泌-免疫网络紊乱、凝血异常及组织器官损害等^[1-2];此外,宿主反应差异性亦影响脓毒症免疫稳态的调节。现简要分析脓毒症/脓毒性休克研究领域诸多科学问题,通过了解相关方向最新研究成果,不断深化与提高对其的认识水平,为脓毒症易感人群的早期预警、预后判断和精准治疗提供理论支持及解决方案。

1 脓毒症宿主反应本质及其病理生理机制

1.1 机体多器官、多系统功能改变: 脓毒症涉及机体多器官、多系统功能改变及其相互影响,然而对各系统和器官相互作用在脓毒症发病过程中的确切效应及其复杂调节关系迄今仍缺乏充分了解。例如,

脓毒性脑病时,神经炎症可造成活性氧的积累、脂质过氧化,引起膜通透性和流动性异常变化,进一步通过增加膜通透性,促进天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶激活,诱发细胞凋亡和坏死^[3-4]。严重感染初期,神经系统将炎症信息迅速传递到中枢神经,进而通过调节内分泌系统、免疫系统等影响脓毒症的病理过程^[5-6]。此外,肠道微环境的组成部分对维持宿主体内平衡至关重要,脓毒症时多种促炎细胞因子导致的炎症反应可损害胃肠黏膜屏障功能,进一步诱发多器官功能障碍综合征(multiple organ dysfunction syndrome, MODS)。肠道宏基因组学和代谢组学的应用将有助于评估脓毒症时肠道微生物组及代谢产物的分类与功能特征^[7]。而中枢神经系统与肠道通过交互作用,可能调控脓毒症时机体炎症和免疫应答。尽管脓毒症器官功能障碍可通过序贯器官衰竭评分(sequential organ failure assessment, SOFA)进行评估,但脓毒症状态下重要器官之间

相互作用与协调效应的调节途径及关键机制有待澄清。

1.2 免疫细胞应答及其调节过程:新近资料提示,除了炎症反应过度激活,免疫抑制特别是细胞免疫功能低下同样也是脓毒症的重要特征,包括中性粒细胞募集和迁移功能受损、树突状细胞和T淋巴细胞免疫应答障碍等^[8]。不同免疫细胞在静息期和反应期均具有不同的代谢特征,免疫细胞的代谢调控对维持免疫细胞功能、控制免疫反应具有积极而直接的作用^[9]。免疫细胞死亡方式是目前的研究热点,包括细胞凋亡、焦亡、铁死亡和坏死等。细胞焦亡是由于非选择性焦亡相关蛋白 gasdermin-D (GSDMD) 孔引起的质膜迅速破裂和损伤相关分子模式释放所致^[10];中性粒细胞和内皮细胞焦亡被认为是脓毒症的主要病理因素。细胞程序性坏死时膜通透性增加,释放特定的损伤相关分子模式,而脂质过氧化所致铁死亡可能与肾功能衰竭有关^[11]。随着单细胞测序技术的应用,脓毒症时免疫细胞亚群、起源、分布及功能不断被阐明,但表观遗传学如何改变免疫细胞功能,不同细胞死亡方式之间的关联性和信号调节机制如何,尚待进一步澄清。

1.3 亚细胞器间交互调控:细胞内线粒体、自噬体和内质网在空间结构及功能上紧密相联,共同维持细胞稳态,调控细胞凋亡。严重烧创伤和脓毒症时,线粒体形态与功能均发生明显变化,而维持线粒体网络的完整性和活性是免疫稳态的前提。线粒体选择性自噬可调节细胞存活能力,以应对损伤、创伤或感染打击,而受损线粒体不完全清除可引发炎症信号通路过度激活^[12]。同时,内质网应激(endoplasmic reticulum stress, ERS)诱导未折叠蛋白反应(unfolded protein response, UPR)能上调参与蛋白折叠加工的一些靶基因表达,增强内质网蛋白折叠能力,缓解ERS。研究表明,UPR上调的靶基因中包括自噬相关蛋白,以增强自噬,促进内质网腔中多余的、错误折叠蛋白的降解^[13]。此外,内质网与线粒体间联系紧密,两者可通过线粒体-内质网结构耦联实现物理结构性接触,共同诱导细胞凋亡过程。目前,有关脓毒症时线粒体和ERS功能障碍的发病机制研究取得了一定进展,但多细胞器相互作用、功能联系及其调控途径在脓毒症炎症反应、免疫紊乱和器官损伤中的意义等诸多重要科学问题亟待解决。

2 脓毒症相关生物标志物及其预警价值

脓毒症/脓毒性休克的最新定义并未明确其

诊断和监测的主要生物标志物,但脓毒症患者群体异质性表明,应使用多种生物标志分子来评估脓毒症的动态变化和治疗效果,并最终改善临床结局^[14]。目前临床实践中涉及的多种常用生物标志物并未特异性区分脓毒症与其他非传染性和炎症性疾病,例如降钙素原(procalcitonin, PCT)^[15]、C-反应蛋白(C-reactive protein, CRP)和白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)等,以下介绍目前关注较多并有望成为脓毒症预警的新生物标志物。

2.1 可溶性CD14亚型: Presepsin作为一种新的可溶性CD14亚型,是血浆中可溶性CD14被组织蛋白酶D等切割后的N端片段,分布于血浆中,是介导内皮细胞和上皮细胞等CD14阴性细胞对脂多糖刺激应答的重要途径。脓毒症/脓毒性休克诊断试验显示,Presepsin的曲线下面积明显大于PCT和CRP,在整个病程中更具诊断优势^[16]。随着脓毒症病程进展,Presepsin对脓毒症预后风险评估的准确性优于PCT,且是唯一与重症监护病房(intensive care unit, ICU)病死率、28 d和90 d病死率相关的独立危险因素;相对于PCT,Presepsin对脓毒症严重程度及预后风险评估的准确性更高^[17]。Presepsin检测方法方便快捷,在脓毒症的早期诊断、病情严重程度评价、指导抗菌药物治疗及预后评估方面显示出良好的临床价值,但现有试验结果未给出统一的临床诊断界值。

2.2 肾上腺髓质素(adrenomedullin, ADM)和中区肾上腺髓质素(mid-regional pro-adrenomedullin, MR-proADM)的中间片段:ADM在炎症反应和脓毒症病理过程中发挥重要作用。ADM在循环中可被迅速降解和清除,由于其结合蛋白的掩饰作用,很难用标准免疫分析法进行检测。MR-proADM的中间区片段由45~92个氨基酸组成,比ADM肽更稳定,MR-proADM水平可直接反映活性ADM肽水平。临床资料证实,发病前24 h MR-proADM水平可预测脓毒症相关器官功能障碍^[18],为作为预测脓毒症/脓毒性休克患者病死率的生物标志物^[19]。目前一种新的双抗夹心免疫分析法可以用于检测生物活性ADM,但应用于临床仍需进一步评估,该技术有望为ADM作为脓毒症预后判断标志分子提供新手段。

2.3 基于临床表型和内表型的生物标志物:一项回顾性研究显示,研究者从住院6 h内出现脓毒症的20 189例患者中获得4种与宿主反应模式和临床结局相关的临床表型(α 、 β 、 γ 和 δ),其中 α 表型

最为常见,其异常性反应少;存在慢性病和肾功能不全的老年患者 β 表型较多;炎症和肺功能不全的患者 γ 表型较多; δ 表型与宿主反应生物标志物的异常值密切相关,并且与心血管和肝功能障碍相关^[20]。脓毒症不同临床表型与宿主免疫反应的生物标志物模式和临床结局相关,可能有助于预测脓毒症预后。

McHugh等^[21]采用芯片针对74例脓毒症患者和31例非脓毒症患者全血进行RNA组学筛查,比较两组患者RNA表达差异,结果显示,联合PLA2G7、PLAC8、CEACAM4和LAMP1等4种RNA具有最佳诊断效能;该研究者将这4种RNA组合命名为SeptiCyte Lab,分析发现,无论是单独还是在各种Logistic组合中,在所有受试队列和队列组合中,SeptiCyte Lab诊断错误率均较PCT降低50%以上,具有较高的诊断效能。因此,基于脓毒症的表型特点,可以诊断或预测脓毒症,并对细菌或病毒感染加以区分,以针对不同临床表型的患者确定特定的免疫调理策略。

2.4 非编码RNA:微小RNA(microRNA, miRNA)是许多小的非编码RNA中的一种,由20~24个核苷酸组成。由于循环中高pH值和温度条件,大多数mRNA是不稳定的,但是miRNA可以通过脂蛋白和RNA结合蛋白复合物或者通过在胞外小体和微泡内运输以避免降解,被作为多种疾病的潜在生物标志物,包括脓毒症。有研究证实,miR-150、miR-193b、miR-223、miR-15a、miR-16、miR-122、miR-483-5p、miR-125a、miR-125b等可作为脓毒症预后生物标志物,其中miR-193b和miR-125b能预测脓毒症患者28d病死率^[22]。除了miRNA,还存在一种长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA),其参与机体天然免疫和获得性免疫反应过程。据报道,脓毒症患者外周血lncRNA NEAT1(lnc-NEAT1)水平与急性生理学与慢性健康状况评分II(acute physiology and chronic health evaluation II, APACHE II)和SOFA评分呈正相关,并与患者不良预后相关^[23]。尽管多种与炎症性疾病(包括脓毒症)相关的非编码RNA被发现,但其功能和机制尚不清楚,且颇有争议。由于非编码RNA研究样本量差异较大,应考虑患者年龄或感染严重程度等混杂因素,制定标准化非编码RNA分析策略,miRNA或lncRNA将有望指导脓毒症患者的诊断、预后和治疗。

3 脓毒症治疗新方向与新策略

3.1 靶向分子免疫调理:尽管积极处理原发病、早期抗感染和辅助支持治疗仍然是脓毒症早期救治的基础,但免疫调理为其干预开辟了新途径。例如,IL-7具有抗凋亡特性,可增强幼稚和记忆性T淋巴细胞增殖能力,有助于脓毒症期间耗竭外周T淋巴细胞池的补充。有关重组IL-7在脓毒症休克中恢复淋巴细胞数量的临床试验证实,IL-7能有效减轻CD4⁺和CD8⁺T效应细胞的下降;IL-7通过恢复获得性免疫应答,可能作为潜在的脓毒症治疗方法^[24],但其应用的安全性还需要III期临床试验进一步验证。

近期,抗细胞程序性死亡分子配体1(programmed death-ligand 1, PD-L1)抗体治疗脓毒症免疫低下患者的随机、对照、单次递增剂量临床试验证实,该抗体耐受性良好,高剂量治疗组人白细胞DR抗原表达显著上调并持续达4周以上^[25]。同样,另一项临床试验也初步证明了抗细胞程序性死亡分子1(programmed death 1, PD-1)抗体在脓毒症治疗中的安全性、耐受性、药代动力学和药效动力学^[26]。上述资料证实,抗PD-L1/PD-1抗体在脓毒症免疫抑制患者中治疗的安全性,但其确切疗效和临床价值有待II期和III期临床试验进一步验证。

3.2 人工智能(artificial intelligence, AI)系统:脓毒症患者常接受连续观察、诊疗和监护,产生实时监测的各种数据,而ICU许多干预措施的临床证据等级程度不高,实际操作中也存在诸多不确定性。面对脓毒症的复杂性和传统医学的不足,很有必要考虑精准诊治方案。例如,有学者根据美国重症监护医学信息数据库-III(American Intensive Care Medical Information Database, MIMIC-III)开发的AI临床医师可为脓毒症提供个体化临床最佳治疗决策^[27]。随着AI技术的快速发展与广泛应用,医护人员能及时发现临床问题,优化制定临床决策,对于提升对危重患者的处置能力具有重要意义。值得注意的是,大数据应用本身还存在解释性不足、准确率高但出错代价大等困惑,如何通过多学科深度融合、客观科学地运用AI辅助临床精准决策已成为亟待解决的重要科学问题。

4 问题与展望

总之,脓毒症病理生理过程极其复杂,涉及机体多器官、多系统异常改变,值得探讨的科学问题比较广泛。传统观念中分析单一因素或单一通路在脓

毒症发病学中的潜在作用,而忽视复杂因素之间的相互作用和网络效应,难以系统深刻揭示脓毒症的发病本质和优化其诊治策略。从目前我们的理解来看,亟待解决的重要科学问题有:①脓毒症状态下重要器官间相互作用与协调失衡的关键机制;②脓毒症介导细胞和亚细胞功能障碍的核心环节与网络效应;③基于脓症患者群体异质性特点,筛选出高特异性预警标志物及其最佳组合;④通过多种组学技术、系统生物学和多维度大数据等,并紧密结合AI整合研究策略,制定符合疾病特征的精准防治策略。虽然当前脓毒症的防治之路仍面临着许多困难和巨大挑战,但前沿组学、AI、大数据、5G技术等高科技手段也赋予了脓毒症研究领域更多的选择和机遇,相信经过不懈努力,在不久的将来定会取得革命性突破。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Cecconi M, Evans L, Levy M, et al. Sepsis and septic shock [J]. *Lancet*, 2018, 392 (10141): 75–87. DOI: 10.1016/S0140-6736(18)30696-2.
- [2] van der Poll T, van de Veerdonk FL, Scicluna BP, et al. The immunopathology of sepsis and potential therapeutic targets [J]. *Nat Rev Immunol*, 2017, 17 (7): 407–420. DOI: 10.1038/nri.2017.36.
- [3] Lelubre C, Vincent JL. Mechanisms and treatment of organ failure in sepsis [J]. *Nat Rev Nephrol*, 2018, 14 (7): 417–427. DOI: 10.1038/s41581-018-0005-7.
- [4] Pundlik J, Perna R, Arenivas A. Mild TBI in interdisciplinary neurorehabilitation: treatment challenges and insights [J]. *NeuroRehabilitation*, 2020, 46 (2): 227–241. DOI: 10.3233/NRE-192971.
- [5] 姚咏明, 盛志勇. 脓毒症研究若干重要科学问题的思考 [J]. *中华危重病急救医学*, 2016, 28 (2): 102–103. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2016.02.003.
Yao YM, Sheng ZY. Rethink of the major scientific issues in the pathogenesis of sepsis [J]. *Chin Crit Care Med*, 2016, 28 (2): 102–103. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2016.02.003.
- [6] 马帅, 郭树彬. 脓毒症免疫麻痹与细胞免疫治疗研究进展 [J]. *中华急诊医学杂志*, 2016, 25 (7): 969–973. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-0282.2016.07.027.
Ma S, Guo SB. Advances in cellular immunomodulatory therapy in patients with sepsis and immune compromised [J]. *Chin J Emerg Med*, 2016, 25 (7): 969–973. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-0282.2016.07.027.
- [7] Ding W, Liu J, Zhou X, et al. Clinical multi-omics study on the gut microbiota in critically ill patients after cardiovascular surgery combined with cardiopulmonary bypass with or without sepsis (MUL-GM-CSCP Study): a prospective study protocol [J]. *Front Med (Lausanne)*, 2020, 7: 269. DOI: 10.3389/fmed.2020.00269.
- [8] 高经华, 刘喆滢, 刘志锋. 共抑制分子在脓毒症免疫功能障碍中作用的研究进展 [J]. *中华危重病急救医学*, 2020, 32 (1): 121–125. DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20190916-00023.
Gao JH, Liu ZY, Liu ZF. Study progress of role of co-suppressor molecules in sepsis immune dysfunction [J]. *Chin Crit Care Med*, 2020, 32 (1): 121–125. DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20190916-00023.
- [9] Huang M, Cai S, Su J. The pathogenesis of sepsis and potential therapeutic targets [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20 (21): 5376. DOI: 10.3390/ijms20215376.
- [10] Sun YB, Zhao H, Mu DL, et al. Dexmedetomidine inhibits astrocyte pyroptosis and subsequently protects the brain in *in vitro* and *in vivo* models of sepsis [J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10 (3): 167. DOI: 10.1038/s41419-019-1416-5.
- [11] Yang C, Sun P, Deng M, et al. Gasdermin D protects against noninfectious liver injury by regulating apoptosis and necroptosis [J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10 (7): 481. DOI: 10.1038/s41419-019-1719-6.
- [12] Gkikas I, Palikaras K, Tavernarakis N. The role of mitophagy in innate immunity [J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 1283. DOI: 10.3389/fimmu.2018.01283.
- [13] Yorimitsu T, Klionsky DJ. Endoplasmic reticulum stress: a new pathway to induce autophagy [J]. *Autophagy*, 2007, 3 (2): 160–162. DOI: 10.4161/auto.3653.
- [14] Mierzczyńska-Pasierb M, Lipińska-Gediga M. Sepsis diagnosis and monitoring: procalcitonin as standard, but what next? [J]. *Anaesthesiol Intensive Ther*, 2019, 51 (4): 299–305. DOI: 10.5114/ait.2019.88104.
- [15] 杨军英, 赵建军, 雷罗春, 等. 降钙素原联合 APACHE II 评分预测老年脓症患者预后的价值 [J]. *中国中西医结合急救杂志*, 2019, 26 (1): 34–37. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2019.01.009.
Yang JY, Zhao JJ, Lei LC, et al. Significance of using procalcitonin combined with acute physiology and chronic health evaluation II score to estimate prognosis of elderly patients with sepsis [J]. *Chin J TCM WM Crit Care*, 2019, 26 (1): 34–37. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2019.01.009.
- [16] Ruan L, Chen GY, Liu Z, et al. The combination of procalcitonin and C-reactive protein or presepsin alone improves the accuracy of diagnosis of neonatal sepsis: a meta-analysis and systematic review [J]. *Crit Care*, 2018, 22 (1): 316. DOI: 10.1186/s13054-018-2236-1.
- [17] Yoon SH, Kim EH, Kim HY, et al. Presepsin as a diagnostic marker of sepsis in children and adolescents: a systemic review and meta-analysis [J]. *BMC Infect Dis*, 2019, 19 (1): 760. DOI: 10.1186/s12879-019-4397-1.
- [18] Önal U, Valenzuela-Sánchez F, Vandana KE, et al. Mid-regional pro-adrenomedullin (MR-proADM) as a biomarker for sepsis and septic shock: narrative review [J]. *Healthcare (Basel)*, 2018, 6 (3): 110. DOI: 10.3390/healthcare6030110.
- [19] Andaluz-Ojeda D, Nguyen HB, Meunier-Beillard N, et al. Superior accuracy of mid-regional proadrenomedullin for mortality prediction in sepsis with varying levels of illness severity [J]. *Ann Intensive Care*, 2017, 7 (1): 15. DOI: 10.1186/s13613-017-0238-9.
- [20] Seymour CW, Kennedy JN, Wang S, et al. Derivation, validation, and potential treatment implications of novel clinical phenotypes for sepsis [J]. *JAMA*, 2019, 321 (20): 2003–2017. DOI: 10.1001/jama.2019.5791.
- [21] McHugh L, Seldon TA, Brandon RA, et al. A molecular host response assay to discriminate between sepsis and infection-negative systemic inflammation in critically ill patients: discovery and validation in independent cohorts [J]. *PLoS Med*, 2015, 12 (12): e1001916. DOI: 10.1371/journal.pmed.1001916.
- [22] Wang H, Zhang P, Chen W, et al. Serum microRNA signatures identified by Solexa sequencing predict sepsis patients' mortality: a prospective observational study [J]. *PLoS One*, 2012, 7 (6): e38885. DOI: 10.1371/journal.pone.0038885.
- [23] He F, Zhang C, Huang Q. Long noncoding RNA nuclear enriched abundant transcript 1/miRNA-124 axis correlates with increased disease risk, elevated inflammation, deteriorative disease condition, and predicts decreased survival of sepsis [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2019, 98 (32): e16470. DOI: 10.1097/MD.00000000000016470.
- [24] Francois B, Jeannot R, Daix T, et al. Interleukin-7 restores lymphocytes in septic shock: the IRIS-7 randomized clinical trial [J]. *JCI Insight*, 2018, 3 (5): e98960. DOI: 10.1172/jci.insight.98960.
- [25] Hotchkiss RS, Colston E, Yende S, et al. Immune checkpoint inhibition in sepsis: a phase 1b randomized, placebo-controlled, single ascending dose study of antiprogrammed cell death-1 antibody (BMS-936559) [J]. *Crit Care Med*, 2019, 47 (5): 632–642. DOI: 10.1097/CCM.0000000000003685.
- [26] Hotchkiss RS, Colston E, Yende S, et al. Immune checkpoint inhibition in sepsis: a phase 1b randomized study to evaluate the safety, tolerability, pharmacokinetics, and pharmacodynamics of nivolumab [J]. *Intensive Care Med*, 2019, 45 (10): 1360–1371. DOI: 10.1007/s00134-019-05704-z.
- [27] Komorowski M, Celi LA, Badawi O, et al. The Artificial Intelligence Clinician learns optimal treatment strategies for sepsis in intensive care [J]. *Nat Med*, 2018, 24 (11): 1716–1720. DOI: 10.1038/s41591-018-0213-5.

(收稿日期: 2021-03-26)