

猪或牛肺磷脂在危重型新型冠状病毒感染肺损伤治疗中的潜在作用机制

沈浩¹, 朱玉莲², 张子雨¹, 路文柯¹, 周迷¹, 杨勇^{1,2,3*}

1. 电子科技大学 医学院, 成都 611731; 2. 四川省资阳市人民医院 药学部, 四川 资阳 641300; 3. 四川省医学科学院四川省人民医院 药学部, 成都 610072

【摘要】 控制病毒传播和降低病死率是防控新型冠状病毒感染(COVID-19)的重点。有效救治危重型患者是降低病死率的关键。危重型患者肺损伤明显, 其与炎性反应过度、细胞因子风暴、氧化损伤、CD₄⁺和CD₈⁺ T细胞的功能亢进等有关, 临床表现为呼吸困难或严重低氧血症, 重者快速发展成为急性呼吸窘迫综合征, 严重威胁患者生命。猪肺磷脂及牛肺磷脂可直接补充外源性表面活性物质, 降低肺泡表面张力, 减少肺内透明膜的形成, 改善严重低氧血症。其在抑制炎症反应、减轻肺损伤、促进损伤修复及局部防御病原体等方面具有潜在的作用机制, 有望成为治疗危重型COVID-19肺损伤的有效药物。

【关键词】 猪肺磷脂; 牛肺磷脂; 新型冠状病毒感染; 危重型; 机制

【中图分类号】 R978.7

【文献标识码】 B

【文章编号】 1672-3384(2021)07-0079-05

Doi: 10.3969/j.issn.1672-3384.2021.07.017

Potential mechanism of Curosurf or Calsurf in treatment of critical COVID-19 pneumonia lung injury

SHEN Hao¹, ZHU Yu-lian², ZHANG Zi-yu¹, LU Wen-ke¹, ZHOU Mi¹, YANG Yong^{1,2,3*}

1. School of Medicine, University of Electronic Science and Technology of China, Chengdu 611731, China; 2. Department of Pharmacy, Ziyang People's Hospital, Sichuan Province, Ziyang 641300, China; 3. Department of Pharmacy, Sichuan Academy of Medical Science, Sichuan Provincial People's Hospital, Chengdu 610072, China

新型冠状病毒感染(corona virus disease 2019, COVID-19)危重型患者肺损伤明显, 过度炎症反应导致肺部一系列病理性改变, 加重患者呼吸困难, 并极易出现急性呼吸窘迫综合征(acute respiratory distress syndrome, ARDS)。有效阻止肺损伤进程, 促进损伤修复是救治危重型患者的重要举措。猪肺磷脂和牛肺磷脂在减轻肺部炎症反应, 抑制过度免疫应答、避免炎症因子风暴等方面具有潜在作用, 可减轻COVID-19对肺脏的损伤; 同时其可通过中和机制、直接补充外源性表面活性物质等方式促进肺部损伤组织修复。多重的理论机制可为猪肺磷脂和牛肺磷脂在COVID-19治疗中的应用提供理论依据。

1 危重型COVID-19肺损伤表现

COVID-19肺损伤以肺脏深部小气道及肺泡上皮细胞受损为主。双侧肺部可见弥散性肺泡损伤, 广泛肺透明膜的形成^[1]。病变的肺泡腔内可见水肿, 纤维蛋白和透明膜, 这都是急性肺损伤的典型特征^[2]。肺泡细胞黏液样渗出物增多, 尸检结果显示, 死者肺部切面可见肺泡渗出大量灰白色黏性物质, 其可堵塞远端小气道, 造成患者的肺通气障碍^[3]。肺泡隔血管充血、水肿、增宽, 血管内可形成透明血栓, 影响肺部血流动力学和肺换气。炎症反应使肺结构功能受损, 尸检结果显示病变的肺泡组织呈灰白色, 其可以与CT影像学上肺部磨玻璃片样影相对应。死者

基金项目: 四川省科技厅重点研发计划(2019YFS0514); 四川省卫生健康科研课题普及项目(19PJ307); 四川省卫生健康委员会医学重大创新项目(20ZDCX002)

*通信作者: 杨勇, E-mail: yxypower@126.com

肺部可见纤维条索,系肺损伤修复形成的纤维组织,纤维条索进行性增多可能会导致肺纤维化^[1]。危重症患者极易发生ARDS,急性肺损伤是其主要发病机制^[4]。危重症患者肺部过度炎症反应、氧化损伤、肺透明膜形成共同导致气体交换受阻,出现严重低氧血症。

2 COVID-19肺损伤机制

2.1 病毒感染直接损伤和机械性肺损伤

病毒感染肺泡上皮细胞,在细胞内快速复制达到很高的滴度,对细胞的结构和功能造成损伤。炎症反应导致血管通透性增加,局部出现充血水肿等炎症损伤。随着病情加重,危重症患者极易出现低氧血症,呼吸加深加快,跨肺压增大,易出现机械性肺损伤^[5]。

2.2 氧暴发

病毒高复制使被感染的肺泡上皮细胞产生大量的炎性细胞因子和趋化因子,造成炎症细胞浸润。由于中性粒细胞浸润,患者在接受机械通气后可通过氧爆发的形式产生大量氧自由基,其可损伤肺泡毛细血管膜,导致血管通透性增加,加重炎症渗出并促进微血栓的形成^[6]。过量的氧自由基还可直接损伤肺部正常的组织和细胞,造成肺损伤。

2.3 细胞因子风暴和过度免疫应答

肺部单核-巨噬细胞、中性粒细胞浸润会导致肺部促炎细胞因子(白细胞介素类、肿瘤坏死因子、粒细胞集落刺激因子、干扰素类等)和趋化因子生成释放增加,肺部出现急性炎症反应。高水平炎性细胞因子和趋化因子会使肺部浸润进行性加重,易引发细胞因子风暴。炎症反应加剧,肺毛细血管通透性增加,渗漏增多,出现肺水肿等急性肺损伤表现,并极易出现难以控制的全身性炎症反应^[4-7]。

Wang等^[8]的研究表明CD₄⁺和CD₈⁺T细胞的功能亢进可能导致COVID-19患者病情加重。CD₄⁺T细胞具有极强的促炎作用,CD₈⁺T细胞有高度的细胞毒性^[9],两种免疫T细胞共同作用会导致危重症患者出现严重的免疫损伤。同时CD₄⁺和CD₈⁺T释放更多的IFN- γ 可过度活化巨噬细胞,导致其释放更多促炎细胞因子和趋化因子。高水平炎性细胞因子和趋化因子相互作用、炎性细胞因子与免疫细胞之间正反馈会

造成恶性循环,危重症患者极易引发细胞因子风暴,导致急性肺损伤加剧。细胞因子风暴还可导致多器官损伤(急性心肌损伤、心律失常、急性肾损伤等)、继发性感染、全身性败血症,最终导致患者死亡^[10]。

3 猪肺磷脂及牛肺磷脂治疗COVID-19肺损伤潜在机制分析

3.1 改善患者呼吸状况

3.1.1 直接补充表面活性物质,降低肺泡表面张力 新型冠状病毒(severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, SARS-CoV-2)的S蛋白可以血管紧张素转化酶2(angiotensin-converting enzyme 2, ACE2)作为受体,在TMPRSS2蛋白酶的作用下入侵II型肺泡上皮细胞^[11-12]。电镜下可见II型肺泡上皮细胞胞质内存在SARS-CoV-2病毒颗粒,抗原检测阳性,RT-PCR核酸检测阳性^[13]。这进一步证明II型肺泡上皮细胞是SARS-CoV-2的靶细胞。II型肺泡上皮细胞主要功能是分泌表面活性物质(pulmonary surfactant, PS)。PS能降低肺泡空气-水界面的表面张力,从而减少呼吸所需的功,同时防止肺泡塌陷^[14],维持肺泡结构稳定。病毒感染II型肺泡上皮细胞导致其功能受损,PS合成不足,肺泡表面张力过大容易造成肺泡塌陷,肺换气功能下降,患者出现严重低氧血症。猪肺磷脂及牛肺磷脂可直接补充外源性的表面活性物质,有效的降低肺泡表面张力,结合正压通气,可显著改善重症及危重症患者呼吸状况,同时避免呼吸代偿性加深加快,肺泡跨肺压增大导致的机械性肺泡损伤。此外,猪肺磷脂及牛肺磷脂中的脂类成分可补充内源性脂质不足,其可被功能正常的II型肺泡上皮细胞吸收,经分解代谢合成新的内源性表面活性物质^[15]。

3.1.2 减少肺内透明膜的形成 纤维蛋白沉积与肺泡纤维化的发生相关^[5],并可与坏死的上皮细胞残余混合后形成透明膜,阻碍正常的气体交换^[16]。猪肺磷脂和牛肺磷脂中的表面活性物质结合蛋白A(surfactant protein A, SP-A)可负反馈抑制活化巨噬细胞分泌TNF- α ,并抑制TNF- α 促进成纤维细胞的增殖作用,防止其合成大量的胶原纤维和细胞外基质,进而减少纤维蛋白原分泌物的渗出^[6]。SP-A对

TNF- α 的抑制作用可减少肺泡腔和肺实质内纤维蛋白沉积,避免肺内广泛透明膜的形成和肺纤维化,防止危重症患者气体交换功能进一步恶化。

3.2 中和机制促进肺损伤修复

肺泡上皮细胞可分为 I 型肺泡上皮细胞和 II 型肺泡上皮细胞^[17]。机械通气造成肺损伤时 II 型肺泡上皮细胞不仅能自身增殖,同时可加速转化为 I 型肺泡上皮细胞,共同促进肺损伤的修复^[18-19]。van Helden 等^[20]的研究表明猪肺磷脂(固尔苏)可能通过中和作用与有害的血清蛋白、脂多糖和蛋白水解酶结合,限制 ARDS 肺组织损伤的程度,使修复过程能够更顺利地进行。猪肺磷脂为外源性的表面活性物质,在人的肺脏中主要分布于肺泡表面,在 II 型肺泡上皮细胞周围浓度较高,可能通过中和机制首先促进受损的 II 型肺泡上皮细胞修复,从而更好的发挥 II 型肺泡上皮细胞促进肺损伤修复作用

3.3 预防及消除肺水肿

临床研究表明,肺泡内表面活性物质结合蛋白 B (surfactant protein B, SP-B) 水平的降低发生于 ARDS 早期,甚至可能早于 ARDS 完整临床图像的形成。支气管肺泡灌洗液中 SP-B 的水平与表面活性剂功能的损害有显著的相关性^[21]。SP-B 含量减少,肺泡表面张力升高可能导致肺水肿^[22],进而加重肺泡上皮损伤,出现进行性呼吸衰竭。危重症患者预防性的应用猪肺磷脂或牛肺磷脂能有效的补充由于 II 型肺泡上皮细胞功能受损导致的内源性 SP-B 不足,有效的预防肺水肿的发生。通过中和机制修复的 II 型肺泡上皮细胞可共同参与肺水转运,有利于机械性损伤肺水肿的消除。

此外,猪肺磷脂和牛肺磷脂中包含磷脂酰乙醇胺和磷脂酰肌醇。Spengler 等^[15]的研究表明表面活性剂中的肌醇衍生物(1,2,6-三磷酸肌醇、3,5-双磷酸磷脂酰肌醇)和磷脂酰甘油亚组分(二油酰磷脂酰甘油)可抑制炎症性肺疾病中的关键炎症途径,维持肺泡-毛细血管屏障功能,并减少肺泡上皮细胞凋亡,减少肺水肿的发生。

3.4 抑制炎症反应、避免细胞因子风暴

猪肺磷脂及牛肺磷脂中的磷脂类成分可通过保留其较大的聚集体的形式被肺泡上皮细胞吸收,并易于分泌到肺泡腔中,或通过分解代谢并重新利用,合

成全新的内源性表面活性剂包括 SP-A^[23]。SP-A 的主要功能是和 SP-B 共同促进管状髓鞘的形成,在肺组织中也起着防御病原体和调节免疫的作用^[24]。Minutti 等^[25]的研究首次表明 SP-A 能与 IFN- γ 结合,阻止 CD₄⁺和 CD₈⁺ T 细胞释放的 IFN- γ 与巨噬细胞表面的 IFN- γ 受体结合,消除了 IFN- γ 对巨噬细胞的激活作用,减少促炎细胞因子和趋化因子的生成和释放,避免其过度活化导致巨噬细胞活化综合征,从而减轻患者细胞因子风暴进展程度。ARDS 中 TNF- α 表达高水平还可促进内源性 SP-A 的合成与释放。SP-A 可负反馈抑制激活的巨噬细胞继续分泌 TNF- α ,以减轻患者炎性反应,同时抑制由 TNF- α 参与的肺透明膜的形成。Raquel 等^[26]的研究也表明由 II 型肺泡上皮细胞分泌的 SP-A 和前列腺素 E₂ 可使巨噬细胞失活,降低急性肺损伤程度。SP-A 还可抑制磷脂酶 A₂ 对磷脂的水解作用,保持肺泡表面较高的磷脂水平^[27]。SP-A 在体内外均可免受蛋白水解酶的灭活,能较长时间的保持其浓度,从而发挥持久抗炎,调节免疫应答减轻肺损伤、防御病原体等多种重要生理作用^[20]。

3.5 防治呼吸机相关性肺炎

危重症患者因严重低氧血症通常需要呼吸机支持以改善其呼吸状况。长期使用呼吸机会导致呼吸机相关性肺炎发生率增加。SP-B 具有调节免疫和局部防御病原体功能,其可与细菌脂多糖发生相互作用,促进机体识别和吞噬处理病原体,包括肺炎克雷伯菌、铜绿假单胞菌、嗜肺军团菌、大肠杆菌等^[28]。SP-A 也可以通过不同的机制与多种病原体(肺炎克雷伯菌、铜绿假单胞菌、嗜肺军团菌、金黄色葡萄球菌、肺炎支原体、H9N2 流感病毒等)相互作用,促进微生物的聚集、调理或渗透,并促进微生物的清除,对防治呼吸机相关性肺炎起到一定的作用^[28-29]。

4 在 COVID-19 危重症救治中的使用建议

猪肺磷脂注射液和牛肺磷脂注射液在药品说明书中的适应证是预防和治疗早产儿呼吸窘迫综合征。猪肺磷脂和牛肺磷脂应用于 COVID-19 危重症成年患者属于超说明书用药,其安全性和有效性缺乏相应临床数据支持。但 van Helden 等^[20]的研究表明猪肺

磷脂在治疗ARDS动物模型中确有疗效,其在ARDS早期可能是一种重要的治疗措施。COVID-19危重症患者过度免疫应答引起的炎症风暴,急性肺损伤快速发展成为ARDS。猪肺磷脂及牛肺磷脂确有指针应用于危重症患者的治疗。在临床应用的过程中应注意用药时机并密切监测患者生命体征。

考虑到危重症患者肺部大量炎性细胞浸润,广泛透明膜的形成,肺泡腔内大量液体存在。单独使用猪肺磷脂或牛肺磷脂的效果可能不理想。Mikolka等^[30]研究证实猪肺磷脂联合布地奈德可显著降低兔胎粪吸入综合征模型中性粒细胞向肺的迁移、促炎细胞因子的产生、蛋白和脂质的氧化修饰,以及肺水肿的形成。临床应用中可以考虑在猪肺磷脂和牛肺磷脂使用前和使用中应用糖皮质激素来控制肺部的炎症反应,改善肺部的渗出状况,可能效果更佳,同时也可预防ARDS的发生^[3]。

在给药途径方面,微创表面活性剂治疗较传统的表面活性剂替代治疗,气管导管雾化吸入的非侵入式操作较气管插管,机械通气操作对肺部的创伤更小,可减少患者因插管损伤暴露导致感染的风险,减少机械通气需求或缩短机械通气持续时间^[31]。

临床上猪肺磷脂推荐100~200 mg/kg的剂量用于预防和治疗早产儿呼吸窘迫综合征^[32]。尚没有推荐的成人剂量。COVID-19患者由于大量Ⅱ型肺泡上皮细胞损伤脱落,对表面活性物质的内吞分解作用减弱,但巨噬细胞浸润可能对表面活性剂的分解代谢加强。家兔的研究表明,与成年动物相比,新生动物的表面活性剂循环更活跃。成年家兔表观肺泡周转率较慢,半衰期增加^[33]。生理以及病理状态导致表面活性剂体内代谢发生变化,需要结合临床实际,患者用药后的表现综合考虑给药剂量。

【参考文献】

- [1] 刘茜,王荣帅,屈国强,等.新型冠状病毒肺炎死亡尸体系统解剖大体观察报告[J].法医学杂志,2020,36(1):21-23.
- [2] Gralinski L E, Baric R S. Molecular pathology of emerging coronavirus infections[J]. J Pathol, 2015,235(2):185-195.
- [3] Xu Z, Shi L, Wang Y, et al. Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome[J]. Lancet Respir Med, 2020,8(4):420-422.
- [4] Boretti A, Banik B K. Intravenous Vitamin C for reduction of cytokines storm in Acute Respiratory Distress Syndrome [J]. Pharma Nutrition, 2020;100190.
- [5] 张伟,潘纯,宋青.危重症新型冠状病毒肺炎损伤治疗过程中应关注的问题[J].解放军医学杂志,2020,45(3):236-240.
- [6] Whyte C S, Morrow G B, Mitchell J L, et al. Fibrinolytic abnormalities in acute respiratory distress syndrome (ARDS) and versatility of thrombolytic drugs to treat COVID-19 [J]. J Thromb Haemost, 2020,18(7):1548-1555.
- [7] Barnes B J, Adrover J M, Baxter-Stoltzfus A, et al. Targeting potential drivers of COVID-19: Neutrophil extracellular traps [J]. J Exp Med, 2020,217(6):e20200652.
- [8] Wang F, Hou H, Luo Y, et al. The laboratory tests and host immunity of COVID-19 patients with different severity of illness[J]. JCI Insight, 2020, 5(10):e137799.
- [9] 何黎黎,龚普阳,封玥,等.中药在抗新型冠状病毒肺炎(COVID-19)引起的细胞因子风暴中的应用分析[J].中草药,2020,51(6):1375-1385.
- [10] Sairam A, Manchikanti L, Hirsch J A. Expanded umbilical cord mesenchymal stem cells (UC-MSCs) as a therapeutic strategy in managing critically ill COVID-19 patients: the case for compassionate use. [J]. Pain physician, 2020, 23(2): E71-E83.
- [11] 杨勇,沈浩,赵山美子,等.溴己新治疗新型冠状病毒肺炎的潜在机制分析[J].中国药理学杂志,2020,55(9):679-684.
- [12] Bo Z H, Penninger J M, Min L Y, et al. Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) as a SARS-CoV-2 receptor: molecular mechanisms and potential therapeutic target [J]. Intensive care medicine, 2020,46(4):586-590.
- [13] 国家中医药管理局办公室国家卫生健康委办公厅.新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第八版)[J].中国医药,2020,10(15):1494-1499.
- [14] Liekkinen J, Enkavi G, Javanainen M, et al. Pulmonary surfactant lipid reorganization induced by the adsorption of the oligomeric surfactant protein B complex [J]. J Mol Biol, 2020, 432(10):3251-3268.
- [15] Spengler D, Winoto-Morbach S, Kupsch S, et al. Novel therapeutic roles for surfactant-inositols and -phosphatidylglycerols in a neonatal piglet ARDS model: a translational study[J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2018,314(1):L32-L53.
- [16] He L, Ding Y, Zhang Q, et al. Expression of elevated levels of pro-inflammatory cytokines in SARS-CoV-infected ACE2+ cells in SARS patients: relation to the acute lung injury and pathogenesis of SARS[J]. J Pathol, 2006,210(3):288-297.
- [17] Seddigh P, Bracht T, Molinier-Frenkel V, et al. Quantitative analysis of proteome modulations in alveolar epithelial type II cells in response to pulmonary aspergillus fumigatus infection [J]. Mol Cell Proteomics, 2017,16(12):2184-2198.
- [18] 杨航,张红.肺泡Ⅱ型上皮细胞与肺部疾病的研究进展[J].安徽医药,2021,25(2):217-221.
- [19] 花少栋,杜江,刘秀香,等.新生兔机械通气肺损伤肺超微结构的改变[J].中国新生儿科杂志,2007(1):20-23.
- [20] van Helden H P, Kuijpers W C, Langerwerf P E, et al. Efficacy of curosurf in a rat model of acute respiratory distress syndrome[J]. Eur Respir J, 1998,12(3):533-539.
- [21] Ruhl N, Lopez-Rodriguez E, Albert K, et al. Surfactant protein b deficiency induced high surface tension: relationship between alveolar micromechanics, alveolar fluid properties and alveolar epithelial cell injury [J]. Int J MolSci, 2019, 20(17):4243.
- [22] Nieman G F, Bredenberg C E. High surface tension pulmonary

- edema induced by detergent aerosol[J]. *J Appl Physiol*, 1985, 58(1):129-136.
- [23] Jing G X, Wei L S, Davide A, et al. In vitro characterization and in vivo comparison of the pulmonary outcomes of Poractant alfa and Calsurf in ventilated preterm rabbits [J]. *PLoS One*, 2020, 15(3):e0230229.
- [24] Zhu T, Li C, Zhang X, et al. GLP-1 analogue liraglutide enhances SP-A expression in LPS-induced acute lung injury through the TTF-1 signaling pathway [J]. *Mediators Inflamm*, 2018, 2018:3601454.
- [25] Minutti C M, Garcia-Fojeda B, Saenz A, et al. Surfactant protein A prevents IFN- γ /IFN- γ receptor interaction and attenuates classical activation of human alveolar macrophages [J]. *J Immunol*, 2016, 197(2):590-598.
- [26] Guillamat-Prats R, Puig F, Camprubi-Rimblas M, et al. Intratracheal instillation of alveolar type II cells enhances recovery from acute lung injury in rats [J]. *J Heart Lung Transplant*, 2018, 37(6):782-791.
- [27] Yao L J, Fraher L J, Veldhuizen R A, et al. Effects of alveolar surfactant aggregates on T-lymphocyte proliferation [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2001, 1535(3):266-274.
- [28] 卢冬梅, 李南方, 姚晓光. 肺表面活性物质气道分布及功能研究进展 [J]. *中国临床研究*, 2016, 29(10):1409-1413.
- [29] 姚灵, 李南方, 姚晓光, 等. 肺泡表面活性物质相关蛋白 A 的研究进展 [J]. *医学研究杂志*, 2019, 48(12):24-27.
- [30] Mikolka P, Kopincova J, Kosutova P, et al. Lung inflammatory and oxidative alterations after exogenous surfactant therapy fortified with budesonide in rabbit model of meconium aspiration syndrome [J]. *Physiol Res*, 2016, 65(Suppl):S653-S662.
- [31] Sehgal A, Bhatia R, Roberts C T. Cardiorespiratory Physiology following Minimally Invasive Surfactant Therapy in Preterm Infants [J]. *Neonatology*, 2019, 116(3):278-285.
- [32] 宋国维. 肺表面活性物质的代谢及临床应用 [J]. *实用儿科临床杂志*, 2003(2):84-87.
- [33] Jacobs H, Jobe A, Ikegami M, et al. Surfactant phosphatidylcholine source, fluxes, and turnover times in 3-day-old, 10-day-old, and adult rabbits [J]. *J Biol Chem*, 1982, 257(4):1805-1810.

收稿日期:2020-11-22 本文编辑:杨昕