

肺动脉高压致病机制与靶向药物的研究进展

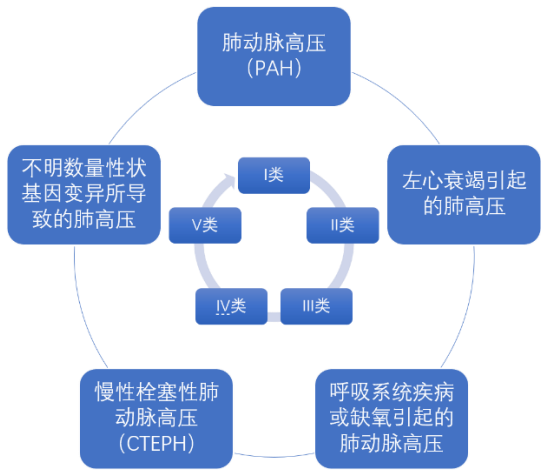
The Latest Progress on the Pathogenesis of Pulmonary Hypertension and Targeted drugs

[摘要]肺动脉高压是以肺血管持续收缩,肺血管重塑为主要病理特征的肺血管疾病。在临床诊断中,在海平面处,静息状态下,动脉导管测得平均肺动脉高压 $\geq 20\text{mmHg}$ 即可被确诊为肺动脉高压。全世界每年约有1%的患病率,在65岁人群中,发病率约为3%-5%,目前尚无特效药。肺血管的重塑是肺动脉高压的核心的病理变化,其包括内膜,中膜和外膜的重塑。肺动脉高压在很多方面表现出与肿瘤相似的表型包括炎症,增殖,抗凋亡,迁移以及细胞代谢途径的改变。本篇综述将从病理表现出发,着重阐述肺动脉高压的致病机制以及靶向肺血管的治疗药物。

[关键字]肺动脉高压, 炎症, BMPR2, 离子通道

1 定义与分类:

肺动脉高压是一组由异源性疾病和不同发病机制引起的以肺血管阻力持续增加为特征的临床-病理生理综合征。临床表现为右心室后负荷增加,活动耐力下降,严重者可以发生右心衰竭而死亡。因此该病被认为是最严重的具有潜在致命性的慢性肺循环疾病。患者在活动后产生呼吸困难乏力,胸痛,晕厥等症状。右心导管检查是临床诊断的金标准,在海平面处,静息状态下,动脉导管测得平均肺动脉高压 $\geq 20\text{mmHg}$ 即可被确诊为肺动脉高压。^{1,2}在临床上通常把肺动脉高压分为五大类。肺动脉高压(PAH)、左心衰竭引起的肺高压,呼吸系统疾病或缺氧引起的肺动脉高压,慢性栓塞性肺动脉高压和不明数量性状基因变异所导致的肺高压。如图表1所示。



图表 1

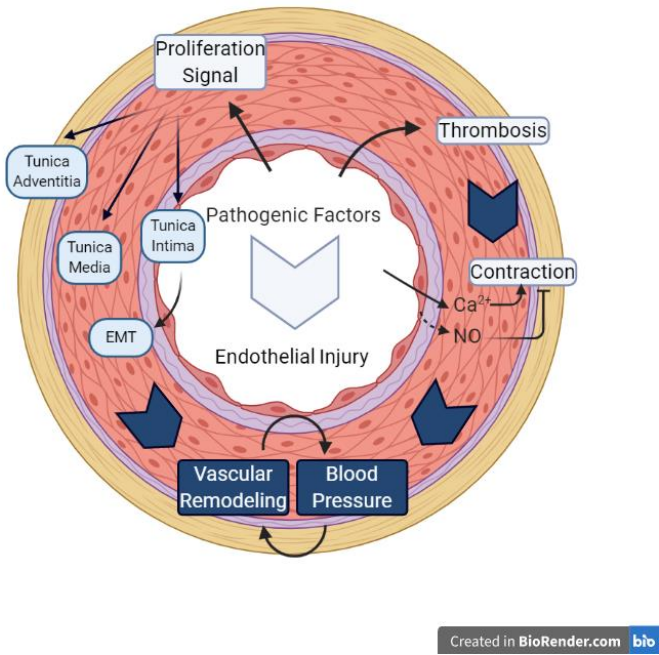
图表 1 展示了, 肺动脉高压的分类

2 病理变化

Romberg 在 1891 年描述了肺动脉高压患者肺血管出现中膜增厚和闭塞性血管病变的病理变化。但是,如今科学界仍不清楚何种细胞和分子是启动肺血管重塑的关键因素。其中包括不确定哪些细胞增殖在肺动脉高压中扮演重要角色(PASMC, 克隆性内皮细胞, 成纤维细胞, 炎性细胞或它们的某种组合)。然而,很多体外实验表明从患者肺部分离的原代细胞和从模型动物中分离的肺原代细胞(平滑肌细胞, 内皮细胞和成纤维细胞)都存在着增殖, 抗凋亡

等癌症样的表型，暗示了在肺动脉高压患者的肺动脉全层都参与了血管重塑。

当致病因素首先作用与肺血管时，启动了中膜中平滑肌中的增殖信号，平滑肌增殖，中膜增厚。或者由于缺氧等因素作用与肺血管，导致平滑肌钙离子内流，肌浆网中钙离子释放，细胞浆内的钙离子浓度升高，平滑肌持续收缩。血管管径进一步变小，弹性降低。右心室射血阻力增加，右心室后负荷增大，右心输出量减少。与此同时血液动力学发生变化，血管壁受到的切应力与压力增大，导致内皮损伤。内皮细胞启动代偿机制，开始增殖取代原有的内皮细胞。而损伤的内皮释放组织凝血因子，启动内源性凝血途径，引发凝血瀑布，形成血栓。微血栓随着动脉血液进入到微动脉中，造成血管的栓塞，进一步加剧了右心的射血阻力。内皮细胞损伤的同时会大量释放内皮素，作用于血管中膜平滑肌，导致平滑肌持续收缩。eNOS的合成也会随着内皮细胞的损伤而减少，NO合成量减少。内皮损伤之后启动代偿性的增殖，肺血管内皮会表现出内皮间充质转化的趋势。内皮细胞向间充质细胞分化和向血管中膜迁移进一步加剧了血管内膜的增厚程度。由此形成一个闭环，导致肺动脉高压的逐步恶化。^{3,4} 如图表 2 所示。



图表 2

3 分子机制

3.1 血管炎症

异常炎症的激活被视为肺动脉高压发生发展的因素之一。曾有实验证明寄生虫的感染也可导致肺动脉高压的发生，血吸虫感染小鼠通过 IL-4 和 IL-13 激活下游转录因子 STAT-6，在小鼠肺部，表现出右心室扩张和肺血管重塑等肺动脉高压所特有的病理变化。⁵ B 细胞与 IgG 也在肺血管重塑中扮演重要作用。在 B 细胞敲除的小鼠中，用卵清蛋白或者 PM2.5 颗粒致敏小鼠，小鼠的肺动脉产生明显的增厚，而且肺动脉重塑可以被再次给予 B 细胞或者特性抗体所缓解。⁶ 而且肺动脉高压患者的由单核细胞体外诱导分化的树突状细胞（MoDCs）在与 CD4⁺T 细胞的共培养体系中，有着更强的激活能力。⁷ 除此之外，系统性硬化症继发的肺动脉高压患者血清中抗内皮素 A 型（ETAR）和抗 Ang 受体 1 型（AT1R）的含量远高于其他类型

的肺动脉高压。在动物模型中,这两种特异性的抗体可以通过内皮素受体和 Ang 受体来刺激血管平滑肌的收缩。⁸

3.2 BMPR2 基因突变

BMPR2 基因突变是诱发肺动脉高压的最重要原因之一。^{9,10} 在体外细胞实验中, siRNA 敲低 BMPR2 会上调 Ras / Raf / ERK1 / 2 途径, 增加细胞增殖和迁移, 并破坏应力纤维 (stress fiber) 和局部细胞黏附。BMP2 可以增加 BMPR2 介导的 ERK 磷酸化, 然后使糖原合酶激酶 3- β (GSK3- β) 降解, 使 β -连环蛋白降解。激活 Wnt 信号传导途径, 并增加了内皮细胞的增殖。BMPR2 的丢失直接影响内皮细胞分泌血管舒张性和炎性细胞因子。在受到 TNF 刺激的 PAEC 中, 降低的 BMPR2 (通过 siRNA) 导致 p38-MAPK2 的活化延长, 同时粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子 (GM-CSF) mRNA 翻译增加。血管扩张剂一氧化氮 (NO) 在内皮中通过磷酸化的内皮一氧化氮合酶 (eNOS) 产生, 是重要的血管扩张因子。BMPR2 缺陷时, 不仅会影响 BMPR2 与 eNOS 免疫沉淀, 用 BMP2 / 7 处理后, 也会降低磷酸化 eNOS 的表达。¹¹ 目前已经鉴定出有 14 个基因参与到 BMPR2 信号通路中包括 ALK1, BMPR1B, BMPR2, BMP9, CAV1, EIF2AK4, ENG, KCNK3, *KCNK45*, KLF2, SMAD1, SMAD4, SMAD9 和 TBX4。¹¹

3.3 离子通道的作用

K⁺和 Ca²⁺通道在肺动脉高压中扮演着重要的作用。¹² 到目前为止, 我们发现肺动脉平滑肌表达 Kv1.2, Kv1.5, Kv2.1, Kv3.1 和 Kv9.3 这五种 K⁺通道。一般情况下, 抑制 K⁺通道活性导致带 K⁺离子在细胞内积累。细胞膜内电势升高, 导致膜去极化和电压依赖的 Ca²⁺通道激活, 导致 Ca²⁺的增加和血管收缩。此外抑制 K⁺外流可减弱 PASMC 凋亡, 细胞内大量的 Ca²⁺可以通过激活对 Ca²⁺敏感的信号转导蛋白 (例如 CaMK, MAPK) 和转录因子 (例如 NFAT, CREB, c-Fos / c-Jun 和 NF- κ B) 来刺激细胞增殖。其中有大量实验证明, 大鼠的肺动脉高压可以通过表达 Kv1.5 来减缓肺动脉高压的严重性。一系列肺血管中促增殖因子 (血清素, 内皮素-1 和血栓素 A2 (TXA2)) 水平升高以及抗增殖因子 (如 NO 和前列环素) 水平降低在大量的患者以及动物模型中被证实。大量实验表明血清素信号通路, 通过降低 Kv1.5 的表达, 限制 K⁺外流, 从而导致肺动脉的高压的发生。在病理状态下, 通过旁分泌途径起作用的血清素会与五羟色胺 2A 受体结合, 激活磷脂酶 C, 催化磷脂酰肌醇二磷酸 (PIP2) 分解为三磷酸肌醇。三磷酸肌醇会启动 Ca²⁺内流, 导致平滑肌的收缩。其二就是血栓素 A2 和前列环素的平衡失调, 血栓素 A2 通过激活 PKC ζ , 限制 K⁺外流。同样 BMPR2 也参与到细胞内离子平衡的调控中, 有实验证明敲除 BMPR2 的平滑肌, Kv1.5 的表达量也会下降。但是骨塑型的调控 K⁺通道表达的机制仍然未知。缺氧诱导因子 1 α (HIF-1 α), 也参与 K⁺通道的调控。在肺动脉高压患者的肺动脉平滑肌中普遍可以观察到 HIF-1 α 的激活和 Kv1.5 的低表达。而在高氧状态下培养可以恢复 Kv1.5 的表达。

4 靶向肺血管的药物

肺血管重塑是肺动脉高压的核心病理变化, 目前针对肺血管一共开发出 14 款药物, 分别靶向一氧化氮途径, 内皮素受体途径和前列环素途径。¹³

4.1 靶向一氧化氮途径的药物

一氧化氮与可溶性鸟苷酸环化酶 (sGC) 结合, 导致环磷酸鸟苷 (cGMP) 的产生, 从而导致小动脉血管舒张, 抑制细胞增殖并促进血管重塑。磷酸二酯酶 5 (PDE5) 抑制剂可以阻止 PDE5 降解 cGMP。经典的磷酸二酯酶 5 (PDE5) 抑制剂有西地那非 (Sildenafil) 和他达拉非 (Tadalafil)。

4.2 内皮素受体拮抗剂

内皮素与内皮素受体 A 和 B 结合。内皮素 A 激活导致肺血管收缩和平滑肌细胞增殖，而内皮素 B 起到清除 ET1 并介导内皮细胞血管舒张和一氧化氮和前列环素释放。PAH 中的 ET1 水平升高，并且内皮素受体拮抗剂在治疗 PAH 中显示出明显的有效性。目前用于治疗肺动脉高压的内皮素受体拮抗剂有波森坦(Bosentan)，安倍生坦(Ambisentan)和马西替尼(Macitentan)。

4.3 靶向前列环素途径的药物

前列环素由内皮细胞释放并促进肺血管舒张，并具有抗血栓形成和抗增殖特性。前列环素可以口服，吸入，皮下和静脉内给药。尽管有明显的副作用，但前列环素可能是肺动脉的最积极疗法。

5 总结

在过去 100 里，我们对于肺动脉高压发病机制的理解取得了显著的进步。如鉴定 BMPR2，SOX17 基因突变是诱导肺动脉高压发生的因素，环境氧分压不足而导致的缺氧可诱导的肺血管收缩，引发缺氧性肺动脉高压。不同种类动物模型也被用于肺动脉高压的研究中，如利用野百合碱(MCT)腹腔注射可以引发严重的肺动脉压。也有利用手术将主动脉与肺动脉搭桥，造成特发性肺动脉高压，研究血液动力学对于血管重塑的影响。过去十年是测序技术突飞猛进的十年，基于第二代测序技术的成本下降，有大量的珍贵临床样本的测序信息可以共享利用，这对肺动脉高压的合作研究有着极大的推动作用。基于一般线性模型的差异基因分析，已经在转录组下游分析中广泛应用。¹⁴而且随着对生物学过程的理解各种富集分析也在帮助人们理解细胞的状态与行为。¹⁵除了一般聚类算法外，也有将拓扑学应用到下游分析中，如加权基因共表达网络分析。¹⁶利用珍贵的临床转录组数据，发掘调控肺动脉高压的核心分子，再利用动物模型验证。如今在生命科学中有很多关键分子都是以这样形式被发现的。未来将会有越来越多的交叉学科投入到医学研究中，开发新型靶向药物，生物材料又或者理解微观下对细胞活动的调控，为治愈疾病提供新的解决思路。

1. Simonneau, G. *et al.* Haemodynamic definitions and updated clinical classification of pulmonary hypertension. *Eur. Respir. J.* **53**, (2019).
2. Simonneau, G. & Hoeper, M. M. The revised definition of pulmonary hypertension: exploring the impact on patient management. *Eur. Hear. J. Suppl.* **21**, K4–K8 (2019).
3. Tang, H. *et al.* Endothelial HIF-2 α contributes to severe pulmonary hypertension due to endothelial-to-mesenchymal transition. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* **314**, L256–L275 (2018).
4. Thenappan, T., Ormiston, M. L., Ryan, J. J. & Archer, S. L. Pulmonary arterial hypertension: pathogenesis and clinical management. *BMJ* **360**, j5492 (2018).
5. Kumar, R. *et al.* The Causal Role of IL-4 and IL-13 in *Schistosoma mansoni* Pulmonary Hypertension. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **192**, 998–1008 (2015).
6. Park, S.-H. *et al.* The effects of antigen-specific IgG1 antibody for the pulmonary-hypertension-phenotype and B cells for inflammation in mice exposed to antigen and fine particles from air pollution. *PLoS One* **10**, e0129910 (2015).
7. Hautefort, A. *et al.* T-Helper 17 Cell Polarization in Pulmonary Arterial Hypertension. *Chest* **147**, 1610–1620 (2015).
8. Becker, M. O. *et al.* Vascular Receptor Autoantibodies in Pulmonary Arterial Hypertension Associated with Systemic Sclerosis. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **190**, 808–817 (2014).
9. Hong, K.-H. *et al.* Genetic ablation of the BMPR2 gene in pulmonary endothelium is sufficient to predispose to pulmonary arterial hypertension. *Circulation* **118**, 722–730 (2008).
10. Amin, E. K. *et al.* BMPR2 Mutation Carriers: Novel Documentation of Onset and Rapid Advancement of Pulmonary Arterial Hypertension Without Symptoms: Cautionary Tales? *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* (2020) doi:10.1164/rccm.202005-1611LE.
11. Andruska, A. & Spiekerkoetter, E. Consequences of BMPR2 Deficiency in the Pulmonary Vasculature and Beyond: Contributions to Pulmonary Arterial Hypertension. *Int. J. Mol. Sci.* **19**, 2499 (2018).
12. Boucherat, O. *et al.* Potassium channels in pulmonary arterial hypertension. *Eur. Respir. J.* **46**, 1167–1177 (2015).
13. Makino, A., Firth, A. L. & Yuan, J. X.-J. Endothelial and smooth muscle cell ion channels in pulmonary vasoconstriction and vascular remodeling. *Compr. Physiol.* **1**, 1555–1602 (2011).
14. Ritchie, M. E. *et al.* limma powers differential expression analyses for RNA-sequencing and microarray studies. *Nucleic Acids Res.* **43**, e47 (2015).
15. Foroutan, M. *et al.* Single sample scoring of molecular phenotypes. *BMC Bioinformatics* **19**, 404 (2018).
16. Langfelder, P. & Horvath, S. WGCNA: an R package for weighted correlation network analysis. *BMC Bioinformatics* **9**, 559 (2008).