

杨泽,王可洲,于杨. 脂多糖结合蛋白和杀菌/通透性增加蛋白:脓毒症的潜在治疗靶点 [J]. 中国比较医学杂志, 2022, 32 (11): 86-94.

Yang Z, Wang KZ, Yu Y. Lipopolysaccharide-binding protein and bactericidal/permeability-increasing protein: potential therapeutic targets in sepsis [J]. Chin J Comp Med, 2022, 32(11): 86-94.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2022.11.011

脂多糖结合蛋白和杀菌/通透性增加蛋白:脓毒症的潜在治疗靶点

杨 泽^{1,2},王可洲^{1*},于 杨^{1*}

(1.山东第一医科大学(山东省医学科学院)实验动物学院(山东省实验动物中心),济南 250117;
2.山东第一医科大学第二附属医院输血科,山东 泰安 271000)

【摘要】 脓毒症是严重感染、创伤、烧伤和休克等损伤的常见并发症和主要死因。革兰氏阴性菌细胞壁成分脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)导致的内毒素血症是导致脓毒症的主要原因之一。包括脂多糖结合蛋白(lipopolysaccharide-binding protein, LBP)和杀菌/通透性增加蛋白(bactericidal permeability increasing protein, BPI)在内的多种血浆蛋白参与调控LPS激活的信号通路。两种蛋白属于同类蛋白家族,结构相似但生物学效应差异很大;LBP能协助LPS与靶细胞CD14受体结合增加宿主对LPS的敏感性,而BPI可中和LPS致炎作用并加速LPS从循环内清除。本文就LBP与BPI的结构、功能、治疗脓毒症的潜力及基因多态性与脓毒症的相关性等方面的研究进展进行综述。

【关键词】 脓毒症;脂多糖;脂多糖结合蛋白;杀菌/通透性增加蛋白

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2022) 11-0086-09

Lipopolysaccharide-binding protein and bactericidal/permeability-increasing protein: potential therapeutic targets in sepsis

YANG Ze^{1,2}, WANG Kezhou^{1*}, YU Yang^{1*}

(1. School of Laboratory Animal & Shandong Laboratory Animal Center, Shandong First Medical University & Shandong Academy of Medical Sciences, Jinan 250117, China. 2. Blood Transfusion Department, the Second Affiliated Hospital of Shandong First Medical University, Taian 271000)

【Abstract】 Sepsis is a common complication of severe injuries, such as severe infection, trauma, burn, and shock, and it is the main cause of death of critically ill patients. Endotoxemia caused by lipopolysaccharides (LPS), cell wall components of gram-negative bacteria, is one of the main causes of sepsis. Multiple plasma proteins, including lipopolysaccharide binding proteins (LBP) and bactericidal permeability increase proteins (BPI), are involved in regulating the signaling pathways of LPS activation. The two proteins belong to the same family of proteins with similar structures but different biological functions: LBP facilitates LPS in binding to the CD14 receptor of target cells to increase host sensitivity to LPS, while BPI neutralizes the inflammatory effects of LPS and accelerates the clearance of LPS from the

【基金项目】 国家自然科学基金面上项目(81970385);山东省自然科学基金面上项目(ZR2019MH021)。

【作者简介】 杨泽(1986—),男,学士,研究方向:脂类代谢与炎症性疾病研究。E-mail: xipangtsmu@163.com

【通信作者】 王可洲(1974—),男,研究员,博士,研究方向:脂质转运蛋白与基因修饰动物药理研究。E-mail: wangkezhou_cn@163.com

于杨(1977—),男,教授,博士,研究方向:脂类代谢与炎症性疾病研究。E-mail: yu@sdfmu.edu.cn * 共同通信作者

circulation. In this review, we summarized the research progress of LBP and BPI in terms of structure, function, potential for treatment of sepsis, and the correlation between gene polymorphisms and sepsis.

【Keywords】 sepsis; lipopolysaccharide; lipopolysaccharide-binding protein; bactericidal permeability increasing protein

脓毒症是一种危及生命的多器官功能障碍综合征,由于宿主对感染反应失调所致^[1]。脓毒症仍是导致人类死亡最常见的原因,仅 2017 年,全球估计有 4890 万例脓毒症病例,其中 1100 万例死亡,占全球死亡总人数的 19.7%^[2]。细菌、真菌、病毒等微生物感染都可以导致脓毒症,其中细菌内毒素脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)被认为是脓毒症发病机制中最重要的激活剂^[3-5]。

脂多糖是革兰氏阴性细菌(gram negative bacteria, GNB)细胞壁的主要糖脂成分,是引发脓毒症的强效毒素之一^[6]。LPS 能够通过细胞内和细胞外途径引发炎症。LPS 进入血液后,被 Toll 样受体(toll-like receptors, TLR)识别,启动信号级联反应,释放大量炎症因子,如肿瘤坏死因子 α (TNF- α)和白细胞介素-1 β (IL-1 β)、白细胞介素-6(IL-6)和白细胞介素-8(IL-8)^[5-6]。大量炎症因子释放会进一步扩大炎症反应,破坏宿主促炎和抗炎机制之间的平衡,导致炎症反应失控,引起发热、内皮损伤、外周血管扩张、毛细血管渗漏、凝血障碍、微血栓和心肌抑制等变化,最终造成多器官功能障碍,甚至休克和个体死亡^[7]。

LPS 是研究脓毒症发病机制最常见的微生物介质。因为 LPS 具有高重复性,并且能够模拟临床上有意义的情况,故经常被用于构建实验性脓毒症模型^[8]。另外, LPS 激活的宿主防御网络,与革兰氏阳性细菌、病毒和真菌中的其他微生物介质激活的宿主防御网络有很多相似之处^[7]。大量实验证实,阻断 LPS 介导炎症反应的信号通路,可预防 LPS 诱导的脓毒症,是治疗脓毒症的重要靶点。

脓毒症中循环内的 LPS 与多种血浆蛋白相互作用,产生不同的生物学效应。其中脂多糖结合蛋白(lipopolysaccharide-binding protein, LBP)和杀菌/通透性增加蛋白(bactericidal permeability increasing protein, BPI)是最主要的两种血浆蛋白^[9]。

1 LBP 和 BPI 的基因位点及结构

LBP 和 BPI 同属于 BPI 样家族^[10],两者基因位点均位于 20 号染色体 q11.23,其中 LBP 含 15 个外显子, BPI 含 16 个外显子(如表 1 所示)。

LBP 和 BPI 的蛋白结构均已解析成功^[11],两者是由双结构域组成的“回旋镖”结构,即在 N-末端结构域和 C-末端结构域各有一个疏水桶状结构(如图 1 所示)^[12],可以用来结合配体分子。

LBP 是分子量约 60×10^3 的脂质结合和转移蛋白^[13],人 LBP 主要由肝合成。LBP 的 C-末端结构域含有一个带负电荷的凹槽和一个疏水的“苯丙氨酸核心”,它可以与 LPS 结合,该位点发生突变时,会减弱与 LPS 的结合能力^[14]。

BPI 是分子量约为 55×10^3 的单链阳离子蛋白。人 BPI 的 N 端结构域(氨基酸 1~230)通过富含脯氨酸的铰链区(氨基酸 230~250)与 C 端结构域(氨基酸 250~456)相连,该铰链区还包含一个弹性蛋白酶切割位点(氨基酸 240~245),构成了 BPI 的“回旋镖”形状^[15]。N-末端结构域与杀菌及中和 LPS 有关, C-末端结构域与调理吞噬有关^[16]。

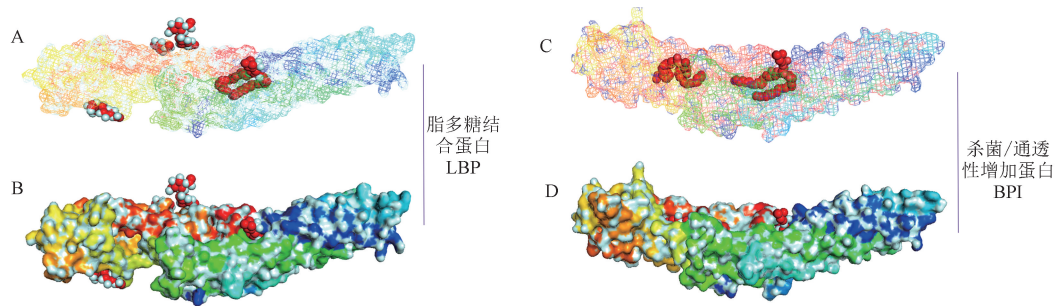
2 LBP 的功能及研究进展

2.1 LBP 的促炎作用

LBP 是急性期反应蛋白,主要由肝细胞合成。

表 1 LBP 和 BPI 的基因位点信息
Table 1 The loci information of LBP and BPI

名称 Name	脂多糖结合蛋白 LBP	杀菌/通透性增加蛋白 BPI
基因位点 Location	20 号染色体 q11.23 Chromosome 20 q11.23 38346482~38377013	38304156~38337505
长度(nt) Length	30532	33350
NC_000020.11 位置 NC_000020.11 position	38,367,310	38,323,987
基因位置 Gene position	20829	19832



注:A:LBP 的 licorice 格式及其配体位置;B:LBP 结构的 surface 格式;C:BPI 的 licorice 格式及其配体位置;D:BPI 结构的 surface 格式。所有信息均从蛋白质数据库下载(LBP PDB ID:4M4D;BPI PDB ID:1EWF)。

图 1 脂多糖结合蛋白和杀菌/增透蛋白的结构

Note. A, The licorice style of LBP and its ligands in spacefilled style. B, The surface style of LBP structure. C, The licorice style of BPI and its ligands in spacefilled style. D, The surface style of BPI structure. All information was downloaded from Protein data bank (LBP PDB ID, 4M4D; BPI PDB ID, 1EWF).

Figure 1 The structures of Lipopolysaccharide binding protein (LBP) and Bactericidal/permeability-increasing protein (BPI)

正常人血清中 LBP 的浓度为 5~10 mg/mL,当受到 LPS 刺激后,LBP 会迅速升高。在脓毒症期间,血浆 LBP 可达到正常浓度的 7 倍以上^[17],人群研究证明 LBP 可以作为诊断脓毒症的标志物,其诊断准确性与 C 反应蛋白相似^[18]。

LBP 从 GNB 细胞壁或 LPS 聚集体中将 LPS 提取出来,随后将其运送至膜 CD14 或可溶性 CD14 分子,形成 LPS-CD14 复合物,该复合物激活 Toll 样受体 4-MD2 (TLR4-MD2) 和依赖 TLR4 的炎症细胞,导致信号转导通路的激活及细胞因子和其他炎性介质的生成^[10,19](如图 2 所示)。除了上述激活作用,LBP 还可以将 LPS 转运至脂蛋白颗粒,经肝从胆管排入肠道,清除到体外^[10]。

LBP 和 CD14 的结合能显著提高宿主对 LPS 的敏感性,LBP 的这种增敏作用易引发宿主炎症反应失调,与脓毒症的发生发展密切相关,是诱发脓毒症的危险因素^[3],因此通过抑制 LBP 与 LPS 的结合,阻止宿主反应失调,可以避免脓毒症发生。动物实验证实抑制 LBP 的增敏作用能提高个体在内毒素血症时的生存率:在小鼠内毒素血症模型中,利用 LBP 抗体阻断 LBP 和 LPS 的结合或 LPS/LBP 复合体与 CD14 的结合,可以显著降低血浆 TNF 水平,提高致死性内毒素血症(LPS 剂量每只小鼠 50 ng)时小鼠生存率;而用高剂量 LPS(每只小鼠 250 ng)攻击小鼠时,抗 LBP 抗体虽阻断了 LBP 的活性,但未发挥上述保护作用^[20],可见高剂量 LPS 可通过除 LBP 以外的途径诱导死亡,表明抗 LBP 的治疗作用的局限性。临床上可应用连续性血浆过滤吸附清除体内 LBP^[21]。早期清除体内 LBP 可以预防脓

毒症诱导的急性肾损伤,改善危重患者的愈后^[22]。另外,超重肥胖患者服用石榴提取物后能显著降低血浆中 LBP,从而降低该类患者内毒素血症的发生率^[23]。综上所述,以 LBP 为治疗靶点,通过单克隆 LBP 抗体,服用石榴提取物或物理清除 LBP 等方式抑制 LBP 结合 LPS 的活性,为下一步治疗 LPS 介导的脓毒症提供了多种方向。

也有研究证明在某些类型 GNB 感染时,LBP 结合 LPS 介导的炎症反应起到了保护作用。利用 LBP 基因缺陷小鼠证实 LBP 可以快速诱导针对低剂量 LPS 或 GNB 的炎症反应,保护腹腔注射沙门氏菌的小鼠^[24]。此外,LBP 还被证实在针对毒性强的肺炎克雷伯菌时具有重要的先天免疫作用^[25]。这些现象说明在 GNB 感染初期,LBP 的激活作用是启动宿主免疫防御的关键点。

在宿主感染时,LBP 结合 LPS 介导的炎症反应所表现出的正反两种作用,可能与细菌种类、感染途径及 LPS 的浓度有关,提示 LBP 治疗脓毒症的具体条件和适应症还有待深入研究。

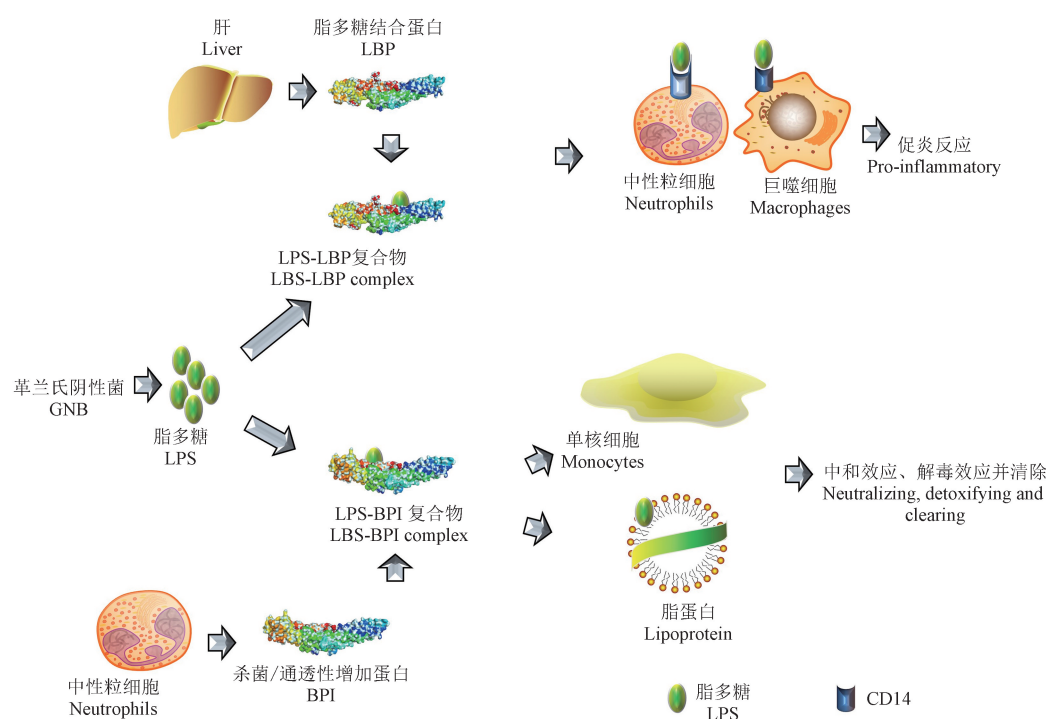
2.2 高浓度 LBP 对 LPS 活性的抑制作用

LBP 是急性期反应蛋白,在脓毒症阶段时,血浆中 LBP 会升高数倍,有研究表明,高浓度的 LBP 对 LPS 的活性具有抑制作用,这种作用可以抑制 LPS 介导的促炎反应,避免宿主炎症反应的失调,从而阻止脓毒症的发生发展。

研究证明高浓度的 LBP 在体外可以抑制 LPS 诱导的鼠巨噬细胞激活。小鼠通过注射高浓度重组鼠 LBP 可以抑制 LPS 介导的细胞因子释放、阻止肝功能衰竭、降低 D-半乳糖胺致敏内毒素小鼠和脓

毒症小鼠的死亡率^[26]。在临床研究中,也发现了类似现象:研究者通过分析严重脓毒症或感染性休克患者的血清 LBP 浓度,发现血清 LBP 较高时,LPS 活性明显降低。随着 LBP 的减少,LPS 活性又会慢慢恢复^[27]。另外,在脓症患者血清中加入重组人 LBP,也可以抑制 LPS 的活性^[27]。有学者认为,高浓度 LBP 的上述抑制作用与 LBP 通过脂蛋白代谢途径清除 LPS 有关^[26]。随着体外实验发现高浓度的 LBP 在无血清(无脂蛋白)存在时也可以阻断 LPS 诱导的鼠巨噬细胞激活,表明 LBP 对 LPS 的抑制还存在另一种机制。这种机制可能与高浓度 LBP 可以抑制 LPS-CD14 复合物的形成有关系,高浓度

LBP 可以快速将 LPS 从 mCD14 上解离下来,抑制 LPS 从 CD14 转移到 TLR4-MD2 受体来,从而抑制炎性细胞对 LPS 的反应^[28]。高浓度 LBP 通过不同机制阻断粗糙(R)型和光滑(S)型 LPS 与 CD14 的结合,抑制 LPS 诱导 NF- κ B 核转位^[29]。这种机制似乎与氯胺酮的抗炎机制相似:研究发现氯胺酮可以抑制 LPS 诱导的 TLR4 表达和 NF- κ B 活化,通过抑制 TLR4/NF κ B 通路减弱 LPS 介导的过度炎症反应^[30-31],由此可推测,利用高浓度的 LBP 抑制 TLR4/NF- κ B 通路,可产生与氯胺酮相似的作用来减弱 LPS 介导的炎症反应,进而阻止脓毒症的发生发展。



注:脂多糖结合蛋白(LBP)主要由肝细胞合成,LBP 可以从革兰氏阴性菌(GNB)的外膜中提取 LPS 单体,从而将 LPS 分子递送至膜形式和可溶性形式的 CD14 受体,从而触发中性粒细胞、单核细胞和巨噬细胞介导的促炎反应。除了上述激活作用外,LBP 还可将内毒素传递给脂蛋白,从而促进 LPS 在肝的清除。杀菌/通透性增加蛋白(BPI)主要存在于中性粒细胞和嗜酸性粒细胞的颗粒中。此外,在单核细胞和结肠上皮细胞表面也检测到 BPI,这可能是中性粒细胞活化后二次分泌所致。BPI 对 LPS 和细菌具有更高的亲和力,具有杀菌作用、抗炎作用。BPI-内毒素聚集体的主要靶细胞是单核细胞,BPI 促进纯化的 LPS 聚集体在不依赖 CD14 的情况下向宿主细胞递送,并且没有明显的细胞活化。

图 2 LBP 和 BPI 在革兰氏阴性菌感染时的作用

Note. Lipopolysaccharide binding protein (LBP) synthesized principally by hepatocytes and secreted into the bloodstream, can extract LPS monomers from the out membrane of Gram negative bacteria (GNB), thereby deliver the LPS molecules to membrane and soluble forms of CD14 receptors, which trigger the pro-inflammatory response mediated neutrophils, monocytes, and macrophages. Besides the activation described previously, LBP delivers LPS to lipoproteins leads to hepatic clearance. Bactericidal/permeability-increasing protein (BPI) is found mainly in the granules of neutrophils and eosinophils. Additionally, BPI has been detected on the surface of monocytes and colon epithelium, which possibly due to the secondary secretion from activated neutrophils. BPI has higher affinity for LPS and bacteria, is bactericidal and represses inflammation by preventing LBP from delivering LPS to CD14. The major target cell of BPI-endotoxin aggregates are monocytes, while BPI promotes the CD14-independent delivery of purified LPS aggregates to host cells without apparent cell activation.

Figure 2 Role of LBP and BPI in host responses to Gram negative bacteria

2.3 LBP 基因单核苷酸多态性与脓毒症及其并发症的关系

单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphisms, SNP) 是最常见的遗传变异类型。免疫反应相关的关键基因 SNP, 可能与多种疾病的易感性和临床结果有关, 有助于预测疾病预后和治疗效果^[19]。越来越多的证据表明, LBP 基因中的特定

SNP 与脓毒症及其并发症有关^[14,19,32-38] (见表 2)。

综上所述, 通过分析 LBP 基因中 SNP 与脓毒症及其并发症的关系, 识别出高危人群, 及时调整治疗策略可能会改善脓毒症患者预后。此外, 为脓毒症患者提供了新的治疗策略, 例如基因编辑技术。但是由于患者队列数量及结果可重复性的限制, 仍需更多的临床研究来验证 SNP 与脓毒症的关系。

表 2 LBP 基因中 SNP 与脓毒症和脓毒症并发症的关系
Table 2 Impact of SNPs in LBP gene on sepsis and septic complications

dpSNP 编码 dpSNP ID	疾病 Disease	SNP 携带形式 SNP carrier	对脓毒症的主要影响 Major effects on sepsis	参考文献 Reference
-(Cys98→Gly)	脓毒症 Sepsis	/	可能增加男性患者脓毒症的易感性。 Gly98 allele may contribute to an increased predisposition to sepsis in male patients.	[27]
rs2232582	造血干细胞移植后并发脓毒症 Septic complications after hematopoietic cell transplantation (HCT)	杂合子 Heterozygous	C 等位基因可增加造血干细胞移植后发生革兰阴性菌脓毒症的风险。 C allele associated with a 2-fold higher risk for GN bacteremia after HCT.	[26]
4-SNP 单倍体 4-SNP haplotype (rs1780616-C、 rs5741812-A、 rs2232571-T、 rs1780617-A)	脓毒症 Sepsis	纯合子 Homozygous	可增加脓毒症发生风险和血液中 LBP 的平均水平。 The haplotype associated with increased risk for sepsis and higher mean levels of serum LBP.	[28]
rs2232571	造血干细胞移植后并发脓毒症 Septic complications after HCT	杂合子 Heterozygous	C 等位基因与较高的血清 LBP 水平有关, 增加患者死亡风险。 C allele is associated with higher serum LBP level, which increases the risk of death.	[26]
rs2232613	造血干细胞移植 HCT	杂合子 Heterozygous	可增加内毒素提取和转移至 MD-2 的效率。 Showed association with higher efficiency in endotoxin extraction and transfer to MD-2.	[29]
rs2232618	肺炎和脓毒症 Pneumonia and sepsis	杂合子 Heterozygous	体外实验发现携带 T 等位基因会损害细菌配体结合能力和细胞因子诱导功能, 并在脓毒症并发症和肺炎过程中表现出更高的死亡风险。 Carriage of T allele impaired bacterial ligands binding capacity and cytokines-induction function and exhibited a higher risk for mortality in the course of septic complications and pneumonia.	[9]
	创伤 Trauma	/	生成的突变蛋白与 CD14 的结合能力增强。C 等位基因增加创伤后脓毒症的发生率。 Generated mutant protein had an enhanced binding capacity with CD14. C allele contributed to higher incidence and development of sepsis.	[25,30]
	脓毒症 Sepsis	纯合子 Homozygous	与另外四个 SNP 的组合和儿童脓毒症有关。 A combination with additional four SNPs was associated with sepsis in children.	[31]

3 BPI 的功能及研究进展

BPI 主要存在于中性粒细胞的颗粒中,在单核细胞和结肠上皮细胞表面也可检测到 BPI,这可能是由于激活的中性粒细胞二次分泌所致^[10]。BPI 在 LPS 的清除过程中发挥着十分重要的作用,具有杀菌、消炎、调理吞噬等作用^[9](如图 2 所示)。

3.1 BPI 的杀菌活性

在早期研究中发现新生儿中性粒细胞由于缺乏 BPI,削弱了新生儿中性粒细胞对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的吞噬和杀菌活性。人血清 BPI 抗体可抑制 BPI 对大肠杆菌的杀菌活性^[39],进一步证实了 BPI 具有独立杀菌活性。

BPI 的杀菌活性与 N 端结构域有关,BPI 带阳离子的 N 末端结构域结合带负电的 LPS 磷酸基团后,扰乱 LPS 分子的排列和细菌膜电位,导致膜破裂,引发细菌死亡^[40]。GNB 细胞壁损伤后不仅严重影响细菌生长,还导致多种协同抗微生物肽更易进入菌体^[41],进一步加速细菌死亡。当 BPI 和 LPS 紧密结合时,能发挥直接杀菌作用^[42]。BPI 还能与补体系统协同起到杀菌作用,当血清中 C7 耗尽后,BPI 对大肠杆菌的杀菌活性会受到抑制,而加入正常血清,这种活性会再次恢复^[43]。

3.2 BPI 的调理吞噬活性

相比杀菌活性,BPI 调理吞噬功能的相关研究较少,已证实 BPI 的 C 末端结构域参与细菌的调理吞噬作用^[15]。BPI C 末端结构域帮助树突状细胞摄取 LPS 和呈递抗原^[44],发挥调理吞噬作用。重组(全长)BPI 可以促进细菌表面补体激活,加速大肠杆菌的吞噬,证实 BPI 间接影响吞噬作用^[45]。近期

一项研究证实了 BPI 在调理吞噬过程中的重要作用,在急性感染时,BPI 基因缺陷小鼠中性粒细胞会抑制对铜绿假单胞菌的吞噬和清除作用,而从人类中性粒细胞纯化的 BPI 能够恢复 BPI 基因缺陷小鼠对铜绿假单胞菌的吞噬清除能力。同时还观察到外源性 BPI 通过 CD18 增加中性粒细胞对铜绿假单胞菌的摄取,加快基因敲除小鼠体内铜绿假单胞菌的清除,阻断 CD18 可以抑制以上作用,进一步证实 BPI 可以介导细菌吞噬^[46]。BPI 不仅促进白细胞对 GNB 的清除,还促进抗原的摄取和呈递,说明 BPI 在天然抗菌免疫过程中扮演着重要角色。

3.3 BPI 的抗炎作用

除了促进 GNB 的清除,BPI 还可以调节 LPS 触发的细胞因子反应,发挥抗炎作用^[15]。与 LBP 相比,BPI 的 N-末端结构域对 LPS 具有更强的亲和力,这种高亲和力不仅增加了 LPS 聚集体的大小,还竞争性阻断了 LPS 与 LBP 的相互作用,减弱炎症细胞的炎症活动(即炎症细胞因子的产生和释放)^[47-48]。BPI 基因缺陷小鼠中性粒细胞的募集活性加强,导致炎症因子增多。注射外源性人 BPI 后,BPI 基因缺陷小鼠感染部位炎症减弱,炎症因子减少^[46]。

综上所述,BPI 的杀菌、调理吞噬作用会加速 LPS 清除,从而减少血液中 LPS 含量,其抗炎作用又可以抑制 LPS 介导的炎症因子释放,从而降低了 LPS 导致宿主炎症反应失控的可能,阻止 LPS 介导的脓毒症的发生发展,因此 BPI 很可能成为脓毒症治疗的重要靶点。

3.4 BPI 治疗脓毒症的潜力

BPI N 末端片段 rBPI21 和 rBPI23 是目前在治

表 3 rBPI 的治疗潜力
Table 3 Therapeutic potential of rBPI

rBPI 类型 Stype of rBPI	疾病 Disease	对疾病的作用 Effect on disease	参考文献 Reference
rBPI21	脑膜炎球菌病 Meningococcal disease	减少脑膜炎球菌病的并发症。 Reduce the complications of meningococcal disease.	[43]
	脑膜炎球菌脓毒症 Meningococcal sepsis	rBPI21 可有效抑制脑膜炎球菌和清除细菌内毒素,从而降低发病率并改善患儿的功能结果。 rBPI21 can effectively inhibit meningococci and clear bacterial endotoxin, thus reducing clinically significant morbidities and improving the functional outcome of children with severe meningococemia.	[46]
rBPI23	接受内毒素注射的人体试验 A clinical trial study involving endotoxin challenge of human volunteers	rBPI23 可以中和 LPS,并且显著减少炎症因子的释放,降低小剂量内毒素输注后纤溶系统和凝血系统的激活。 rBPI23 neutralized endotoxin and reduced the activation of the fibrinolytic and coagulation cascades after low-dose endotoxin infusion in human volunteers.	[44-45]

疗方面较为有效的两种重组蛋白。两者的区别在于氨基酸的数量(rBPI21: 1-193, rBPI23: 1-199), 以及 132 位氨基酸的突变(rBPI21 的半胱氨酸 132 变成丙氨酸)减少了二聚体的形成^[15]。

由于 BPI 在 GNB 感染时发挥的重要作用, 重组 BPI 应可以作为治疗内毒素血症及脓毒症的潜在方案。在脓毒症和内毒素血症的动物模型中, 发现重组 rBPI21 有助于降低血清中的 LPS, 显著降低动物的死亡率^[49]。重组 BPI 可以增加 BPI 基因缺失小鼠中性粒细胞对铜绿假单胞菌的摄取, 通过促进腹腔中致病菌的清除, 减轻急性腹膜感染引起的炎症反应^[46]。

临床研究表明重组 BPI 片段也发现有治疗潜力, 如脑膜炎球菌病, 儿童脑膜炎球菌脓毒症等^[50-53](详见表 3)。相比于动物实验, 目前仍未有全长重组 BPI 应用于临床的报道。由于全长重组 BPI 不仅具有 N 末端结构域的杀菌活性, 还具有 C 末端结构域的调理吞噬作用, 因此其治疗效果可能比简单 BPI 重组片段更有效, 这有待深入研究。

BPI 体内较短的半衰期(终末消除半衰期为 42 min)限制了重组 BPI 在临床上的应用^[15]。而一种由 LBP N 端结构域和 BPI C 端结构域组成的嵌合蛋白克服了半衰期短的缺点, 还能有效提高脓毒症大鼠的生存率^[54], 这很可能有利于增加 BPI 治疗脓毒症的便利。

BPI 基因的一种 SNP 与脓症患者死亡率有关, 这种 SNP 发生在 BPI 基因的第 645 位(rs4358188), 携带等位基因 645A(腺嘌呤)的患者谷氨酸(BPI216E)被氨基酸 216 位的赖氨酸(BPI216K)取代。Ederer 等^[55]发现该位置基因突变影响了 BPI 与 LPS 的结合, BPI216K 表现出更强的 LPS 中和能力, 还能抑制 LPS 诱导的炎症因子分泌, 降低脓毒症致死率。BPI216K 和 BPI216E 变异体在脓毒症时存在的不同表现, 为将来利用重组 BPI 治疗 GNB 脓毒症提供新的选择。

除了前述问题, 利用重组 BPI 片段治疗脓毒症, BPI 自身抗体也是影响治疗效果的因素之一。目前抗 BPI 自身抗体产生机制仍不明确, 但在革兰氏阳性菌和 GNB 脓症患者中时有发现, 如金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌, 尤其在 GNB 脓毒症中发生率较高^[56]。另外, 应用重组 BPI 治疗也有可能产生抗 BPI 抗体, 影响治疗效果。抗 BPI 自身抗体可以抗调理吞噬, 抑制 BPI 杀菌, 削弱 BPI 抗炎活性, 从而

增加脓毒症的发病率和死亡率^[56], 并且导致重组 BPI 治疗效果不佳。这需要更多研究阐明 BPI 自身抗体产生的机制及与上述疾病的关系, 减少其对治疗效果的不良影响。

4 总结与展望

LBP 和 BPI 均是参与脓毒症过程的重要血浆蛋白。根据它们在脓毒症时的具体机制, 可采取针对性的治疗策略。BPI 由于其杀灭细菌、中和 LPS、调理吞噬活性、抗炎作用等, 已被证明是很有前景的脓毒症治疗靶点, 其生物学特性值得深入研究: 如 BPI 的 C 端结构域与调理吞噬功能的关系、全长重组 BPI 的临床应用、完美重组 BPI, BPI 基因 SNP 与脓毒症易感性以及 BPI 自身抗体与疾病的关系等。LBP 在治疗方面的应用仍有待深入研究, 脓毒症个体既需要感染初期 LBP 的激活作用来加速低浓度 LPS 清除, 又需要避免过度激活炎症反应。另外, 鉴于高浓度的 LBP 有利于清除 LPS 和抑制 LPS 介导的炎症细胞活化, 重组 LBP 将来有可能成为治疗脓毒症的工具之一。LBP 基因 SNP 与脓毒症易感性的关系为防治脓毒症提供了新思路, 有待更多的基础和临床研究为 LBP 作为靶点治疗脓毒症提供证据。

参考文献:

- [1] Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, et al. The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (sepsis-3) [J]. JAMA, 2016, 315(8): 801-810.
- [2] Rudd KE, Johnson SC, Agesa KM, et al. Global, regional, and national sepsis incidence and mortality, 1990-2017: analysis for the global burden of disease study [J]. Lancet, 2020, 395(10219): 200-211.
- [3] He Z, Song Z, Meng L, et al. Lipopolysaccharide-induced transcriptional changes in LBP-deficient rat and its possible implications for liver dysregulation during sepsis [J]. J Immunol Res, 2021, 2021: 1-14.
- [4] Peng X, Luo Z, He S, et al. Blood-brain barrier disruption by lipopolysaccharide and sepsis-associated encephalopathy [J]. Front Cell Infect Microbiol, 2021, 11: 1-18.
- [5] Gabarin RS, Li M, Zimmel PA, et al. Intracellular and extracellular lipopolysaccharide signaling in sepsis: Avenues for novel therapeutic strategies [J]. J Innate Immun, 2021, 13(6): 323-332.
- [6] Levels JH, Abraham PR, van den Ende A, et al. Distribution and kinetics of lipoprotein-bound endotoxin [J]. Infect Immun, 2001, 69(5): 2821-2828.
- [7] Opal SM. Endotoxins and other sepsis triggers [J]. Contrib

- Nephrol, 2010, 167: 14–24.
- [8] Durasevic S, Ruzicic A, Lakic I, et al. The effects of a meldonium pre-treatment on the course of the LPS-induced sepsis in rats [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(4) : 1–28.
 - [9] Balakrishnan A, Marathe SA, Joglekar M, et al. Bactericidal/permeability increasing protein: A multifaceted protein with functions beyond LPS neutralization [J]. *Innate Immun*, 2013, 19(4) : 339–347.
 - [10] Yu Y, Song G. Lipopolysaccharide-binding protein and bactericidal/permeability-increasing protein in lipid metabolism and cardiovascular diseases [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2020, 1276: 27–35.
 - [11] Alva V, Lupas AN. The tulip superfamily of eukaryotic lipid-binding proteins as a mediator of lipid sensing and transport [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2016, 1861(8) : 913–923.
 - [12] Krasity BC, Troll JV, Weiss JP, et al. LBP/BPI proteins and their relatives: conservation over evolution and roles in mutualism [J]. *Biochem Soc Trans*, 2011, 39(4) : 1039–1044.
 - [13] Weiss J. Bactericidal/permeability-increasing protein (BPI) and lipopolysaccharide-binding protein (LBP): Structure, function and regulation in host defence against gram-negative bacteria [J]. *Biochem Soc Trans*, 2003, 31(4) : 785–790.
 - [14] Eckert JK, Kim YJ, Kim JI, et al. The crystal structure of lipopolysaccharide binding protein reveals the location of a frequent mutation that impairs innate immunity [J]. *Immunity*, 2013, 39(4) : 647–660.
 - [15] Theprungsirikul J, Skopelja-Gardner S, Rigby WFC. Killing three birds with one BPI: bactericidal, opsonic, and anti-inflammatory functions [J]. *J Transl Autoimmun*, 2021, 4: 1–10.
 - [16] Schultz H, Weiss JP. The bactericidal/permeability-increasing protein (BPI) in infection and inflammatory disease [J]. *Clin Chim Acta*, 2007, 384(1–2) : 12–23.
 - [17] Chen KF, Chaou CH, Jiang JY, et al. Diagnostic accuracy of lipopolysaccharide-binding protein as biomarker for sepsis in adult patients: A systematic review and meta-analysis [J]. *PLoS One*, 2016, 11(4) : 1–13.
 - [18] Garcia de Guadiana Romualdo L, Albaladejo Oton MD, Rebollo Acebes S, et al. Diagnostic accuracy of lipopolysaccharide-binding protein for sepsis in patients with suspected infection in the emergency department [J]. *Ann Clin Biochem*, 2018, 55(1) : 143–148.
 - [19] Meng L, Song Z, Liu A, et al. Effects of lipopolysaccharide-binding protein (LBP) single nucleotide polymorphism (SNP) in infections, inflammatory diseases, metabolic disorders and cancers [J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 1–12.
 - [20] Le Roy D, Di Padova F, Tees R, et al. Monoclonal antibodies to murine lipopolysaccharide (LPS)-binding protein (LBP) protect mice from lethal endotoxemia by blocking either the binding of LPS to LBP or the presentation of LPS/LBP complexes to cd14 [J]. *J Immunol*, 1999, 162(12) : 7454–7460.
 - [21] Castellano G, Stasi A, Intini A, et al. Endothelial dysfunction and renal fibrosis in endotoxemia-induced oliguric kidney injury: possible role of LPS-binding protein [J]. *Crit Care*, 2014, 18(5) : 520.
 - [22] Stasi A, Intini A, Divella C, et al. Emerging role of lipopolysaccharide binding protein in sepsis-induced acute kidney injury [J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2017, 32(1) : 24–31.
 - [23] Gonzalez-Sarrias A, Romo-Vaquero M, Garcia-Villalba R, et al. The endotoxemia marker lipopolysaccharide-binding protein is reduced in overweight-obese subjects consuming pomegranate extract by modulating the gut microbiota: A randomized clinical trial [J]. *Mol Nutr Food Res*, 2018, 62(11) : 1–32.
 - [24] Jack RS, Fan X, Bernheiden M, et al. Lipopolysaccharide-binding protein is required to combat a murine gram-negative bacterial infection [J]. *Nature*, 1997, 389(6652) : 742–745.
 - [25] Le Roy D, Di Padova F, Adachi Y, et al. Critical role of lipopolysaccharide-binding protein and CD14 in immune responses against gram-negative bacteria [J]. *J Immunol*, 2001, 167(5) : 2759–2765.
 - [26] Lamping N, Dettmer R, Schroder NW, et al. LPS-binding protein protects mice from septic shock caused by LPS or gram-negative bacteria [J]. *J Clin Invest*, 1998, 101(10) : 2065–2071.
 - [27] Zweigner J, Gramm HJ, Singer OC, et al. High concentrations of lipopolysaccharide-binding protein in serum of patients with severe sepsis or septic shock inhibit the lipopolysaccharide response in human monocytes [J]. *Blood*, 2001, 98(13) : 3800–3808.
 - [28] Thompson PA, Tobias PS, Viriyakosol S, et al. Lipopolysaccharide (LPS)-binding protein inhibits responses to cell-bound LPS [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(31) : 28367–28371.
 - [29] Hamann L, Alexander C, Stamme C, et al. Acute-phase concentrations of lipopolysaccharide (LPS)-binding protein inhibit innate immune cell activation by different LPS chemotypes via different mechanisms [J]. *Infect Immun*, 2005, 73(1) : 193–200.
 - [30] Yang C, Shen J, Hong T, et al. Effects of ketamine on lipopolysaccharide-induced depressive-like behavior and the expression of inflammatory cytokines in the rat prefrontal cortex [J]. *Mol Med Rep*, 2013, 8(3) : 887–890.
 - [31] Wu Y, Li W, Zhou C, et al. Ketamine inhibits lipopolysaccharide-induced astrocytes activation by suppressing TLR4/NF- κ B pathway [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2012, 30(3) : 609–617.
 - [32] Lu HX, Sun JH, Wen DL, et al. LBP rs2232618 polymorphism contributes to risk of sepsis after trauma [J]. *World J Emerg Surg*, 2018, 13: 52.
 - [33] Chien JW, Boeckh MJ, Hansen JA, et al. Lipopolysaccharide binding protein promoter variants influence the risk for gram-negative bacteremia and mortality after allogeneic hematopoietic cell transplantation [J]. *Blood*, 2008, 111(4) : 2462–2469.
 - [34] Hubacek JA, Stuber F, Frohlich D, et al. Gene variants of the

- bactericidal/permeability increasing protein and lipopolysaccharide binding protein in sepsis patients: gender-specific genetic predisposition to sepsis [J]. *Crit Care Med*, 2001, 29(3): 557-561.
- [35] Flores C, Perez-Mendez L, Maca-Meyer N, et al. A common haplotype of the LBP gene predisposes to severe sepsis [J]. *Crit Care Med*, 2009, 37(10): 2759-2766.
- [36] Guinan EC, Palmer CD, Mancuso CJ, et al. Identification of single nucleotide polymorphisms in hematopoietic cell transplant patients affecting early recognition of, and response to, endotoxin [J]. *Innate Immun*, 2014, 20(7): 697-711.
- [37] Zeng L, Gu W, Zhang AQ, et al. A functional variant of lipopolysaccharide binding protein predisposes to sepsis and organ dysfunction in patients with major trauma [J]. *Ann Surg*, 2012, 255(1): 147-157.
- [38] Jabandziev P, Smerek M, Michalek J, et al. Multiple gene-to-gene interactions in children with sepsis: A combination of five gene variants predicts outcome of life-threatening sepsis [J]. *Crit Care*, 2014, 18(1): R1.
- [39] Elsbach P, Weiss J. Role of the bactericidal/permeability-increasing protein in host defence [J]. *Curr Opin Immunol*, 1998, 10(1): 45-49.
- [40] Wiese A, Brandenburg K, Carroll SF, et al. Mechanisms of action of bactericidal/permeability-increasing protein BPI on reconstituted outer membranes of gram-negative bacteria [J]. *Biochemistry*, 1997, 36(33): 10311-10319.
- [41] Levy O. A neutrophil-derived anti-infective molecule: bactericidal/permeability-increasing protein [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2000, 44(11): 2925-2931.
- [42] Capodici C, Chen S, Sidorezyk Z, et al. Effect of lipopolysaccharide (LPS) chain length on interactions of bactericidal/permeability-increasing protein and its bioactive 23-kilodalton nh2-terminal fragment with isolated LPS and intact proteus mirabilis and escherichia coli [J]. *Infect Immun*, 1994, 62(1): 259-265.
- [43] Madsen LM, Inada M, Weiss J. Determinants of activation by complement of group ii phospholipase a2 acting against escherichia coli [J]. *Infect Immun*, 1996, 64(7): 2425-2430.
- [44] Schultz H, Hume J, Zhang DS, et al. A novel role for the bactericidal/permeability increasing protein in interactions of gram-negative bacterial outer membrane blebs with dendritic cells [J]. *J Immunol*, 2007, 179(4): 2477-2484.
- [45] Nishimura H, Gogami A, Miyagawa Y, et al. Bactericidal/permeability-increasing protein promotes complement activation for neutrophil-mediated phagocytosis on bacterial surface [J]. *Immunology*, 2001, 103(4): 519-525.
- [46] Theprungsirikul J, Skopelja-Gardner S, Burns AS, et al. Bactericidal/permeability-increasing protein preeminently mediates clearance of pseudomonas aeruginosa in vivo via cd18-dependent phagocytosis [J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 1-12.
- [47] Tobias PS, Soldau K, Iovine NM, et al. Lipopolysaccharide (LPS)-binding proteins BPI and LBP form different types of complexes with LPS [J]. *J Biol Chem*, 1997, 272(30): 18682-18685.
- [48] Iovine N, Eastvold J, Elsbach P, et al. The carboxyl-terminal domain of closely related endotoxin-binding proteins determines the target of protein-lipopolysaccharide complexes [J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(10): 7970-7978.
- [49] Evans TJ, Carpenter A, Moyes D, et al. Protective effects of a recombinant amino-terminal fragment of human bactericidal/permeability-increasing protein in an animal model of gram-negative sepsis [J]. *J Infect Dis*, 1995, 171(1): 153-160.
- [50] Levin M, Quint PA, Goldstein B, et al. Recombinant bactericidal/permeability-increasing protein (rBPI21) as adjunctive treatment for children with severe meningococcal sepsis: a randomised trial. RBPI21 meningococcal sepsis study group [J]. *Lancet*, 2000, 356(9234): 961-967.
- [51] von der Mohlen MA, Kimmings AN, Wedel NI, et al. Inhibition of endotoxin-induced cytokine release and neutrophil activation in humans by use of recombinant bactericidal/permeability-increasing protein [J]. *J Infect Dis*, 1995, 172(1): 144-151.
- [52] von der Mohlen MA, van Deventer SJ, Levi M, et al. Inhibition of endotoxin-induced activation of the coagulation and fibrinolytic pathways using a recombinant endotoxin-binding protein (rBPI23) [J]. *Blood*, 1995, 85(12): 3437-3443.
- [53] Giroir BP, Scannon PJ, Levin M. Bactericidal/permeability-increasing protein-lessons learned from the phase iii, randomized, clinical trial of rBPI21 for adjunctive treatment of children with severe meningococemia [J]. *Crit Care Med*, 2001, 29(7 Suppl): S130-135.
- [54] Opal SM, Palardy JE, Jhung JW, et al. Activity of lipopolysaccharide-binding protein-bactericidal/permeability-increasing protein fusion peptide in an experimental model of pseudomonas sepsis [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 1995, 39(12): 2813-2815.
- [55] Ederer KU, Holzinger JM, Maier KT, et al. A polymorphism of bactericidal/permeability-increasing protein affects its neutralization efficiency towards lipopolysaccharide [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(3): 1-10.
- [56] Theprungsirikul J, Thaden JT, Wierzbicki RM, et al. Low-avidity autoantibodies against bactericidal/permeability-increasing protein occur in gram-negative and gram-positive bacteremia [J]. *Infect Immun*, 2020, 88(10): 1-10.

[收稿日期]2022-04-18