

• 综述 •

靶向血管生成素/酪氨酸蛋白激酶-2 (Ang/Tie2) 通路的脓毒症治疗药物的研究进展

姜萌¹, 薛立超², 郝淑兰¹, 仲启明¹, 冯玛莉¹, 王晞星^{1*}, 吉海杰^{1*}

1. 山西省中医院 山西省中医药研究院, 山西 太原 030012

2. 山西白求恩医院 山西医学科学院, 山西 太原 030032

摘要: 脓毒症是一种由细菌等病原微生物侵入机体引起的全身炎症反应综合征, 常伴有器官功能障碍、组织灌注不良、低血压甚至脓毒性休克。血管功能障碍与脓毒症之间存在明确的关系。血管生成素/酪氨酸蛋白激酶-2 (Ang/Tie2) 通路可以作为控制炎症、防止血管渗漏药物研发的重要靶点, 为脓毒症治疗提供新的可能性。靶向 Ang/Tie2 通路的脓毒症治疗药物有重组人 Ang1 腺病毒、Ang1 类似物、Ang2 抑制剂、重组人 Ang2 和 Tie2 激动剂。总结了靶向 Ang/Tie2 通路的脓毒症治疗药物的研究进展, 以为脓毒症治疗药物的开发提供思路。

关键词: 重组人 Ang1 腺病毒; Ang1 类似物; Ang2 抑制剂; 重组人 Ang2; Tie2 激动剂; 血管生成素/酪氨酸蛋白激酶-2 通路; 脓毒症; 内皮功能障碍

中图分类号: R976

文献标志码: A

文章编号: 1674-5515(2024)04-1053-08

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2024.04.042

Advances in drug for sepsis targeting Angs/Tie2 pathway

JIANG Meng¹, XUE Lichao², HAO Shulan¹, ZHONG Qiming¹, FENG Mali¹, WANG Xixing¹, JI Haijie¹

1. Shanxi Traditional Chinese Medical Hospital, Shanxi Province Academy of Traditional Chinese Medicine, Taiyuan 030012, China

2. Shanxi Bethune Hospital, Shanxi Academy of Medical Sciences. Taiyuan 030032, China

Abstract: Sepsis is a systemic inflammatory response syndrome caused by the invasion of pathogenic microorganisms such as bacteria into the body, often accompanied by organ dysfunction, poor tissue perfusion, hypotension, and even septic shock. There is a clear relationship between vascular dysfunction and sepsis. The angiopoietin/tyrosine protein kinase-2 (Ang/Tie2) pathway can serve as an important target for the development of drugs to control inflammation and prevent vascular leakage, providing new possibilities for the treatment of sepsis. The therapeutic drugs targeting the Ang/Tie2 pathway for sepsis include recombinant human Ang1 adenovirus, Ang1 analogues, Ang2 inhibitors, recombinant human Ang2, and Tie2 agonists. This article summarizes the research progress of drugs for sepsis targeting the Ang/Tie2 pathway, aiming to provide ideas for the development of sepsis treatment drugs.

Key words: recombinant human Ang1 adenovirus; Ang1 analogues; Ang2 inhibitor; recombinant human Ang2; Tie2 agonist; Angs/Tie2 pathway; sepsis; endothelial dysfunction

脓毒症是一种由细菌等病原微生物侵入机体引起的全身炎症反应综合征, 常伴有器官功能障碍、组织灌注不良、低血压甚至脓毒性休克, 全球每年约

530 万人因此死亡^[1-2]。脓毒症的发病机制涉及全身炎症网络效应、免疫功能障碍、凝血功能异常和宿主对病原微生物及其毒素的异常反应多个方面^[3]。

收稿日期: 2023-12-03

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (81973672); 山西省“四个一批”科技兴医创新计划 (2020SYS06); 山西省基础研究计划 (202203021221291); 山西省科技创新人才团队 (202204051001032)

作者简介: 姜萌, 女, 硕士研究生。E-mail: 876240961@qq.com

***通信作者:** 王晞星, 男, 国医大师, 主任医师, 从事中医药防治肿瘤病临床与基础研究。E-mail: wangxx315@163.com

吉海杰, 男, 主任药师, 医学博士, 主要从事中药药效物质基础和机制研究。E-mail: jihaijie82@hotmail.com

现有治疗手段主要依赖抗生素、血管活性药物、糖皮质激素、机械辅助通气等对症治疗^[4]。血管功能障碍与脓毒症之间存在明确的关系^[5-6]，血管功能和通透性受内皮特异性受体酪氨酸激酶及其配体调节，包括血管内皮生长因子（VEGF）/血管内皮生长因子受体（VEGFR）、血管生成素（Ang）/酪氨酸蛋白激酶（Tie）受体^[7]。VEGF 信号通路介导血管发生和病理血管生成，但抗药性的产生限制了 VEGF 信号通路抑制剂的使用^[8]。

血管生成素 1（Ang1）是强效的血管稳定因子，当与 Ang 家族受体 Tie2 结合时，可使酪氨酸蛋白激酶-2（Tie2）磷酸化，可激活磷脂酰肌醇 3-激酶（PI3K）/丝氨酸激酶（Akt）信号通路，同时抑制 Rho A，降低血管通透性，维持血管内皮动态屏障功能，并通过核因子（NF）- κ B 调节细胞间黏附分子（ICAM-1）、血管细胞黏附分子-1（VCAM-1）表达，减少白细胞的黏附和组织浸润，发挥抗炎功效^[9-11]。血管生成素 2（Ang2）与 Ang1 的蛋白结构基本相同，但其生物学功能完全不同，在受到炎症、缺氧等触发后，Ang2 快速释放，与 Ang1 竞争性结合 Tie2，引发血管通透性的增加，导致血管稳态失衡^[12]。Tie2 的磷酸化在很大程度上取决于激动剂配体 Ang1 和抑制剂配体 Ang2 两者存在的比例，同时 Tie2 磷酸化可激活 Akt，导致叉头盒蛋白 O1（FOXO1）转录因子的磷酸化，抑制 Ang2 的产出，避免形成恶性循环^[13]。在感染引发的脓毒症中，炎症因子、内毒素等释放到血液中，引起 Ang/Tie2 轴动态调控失衡，导致血管内皮紧密连接受损，血管通透性增加，进一步引发微循环灌注不足，从而导致局部组织缺氧和组织器官损伤。白蛋白、病原微生物等随血浆外渗至血管外，引起水肿、低蛋白血症、全身感染甚至休克^[14-15]。临床研究表明，脓症患者血液 Ang1 水平下降，Ang2 水平升高，提示 Ang1 和 Ang2 可作为脓毒症的标志物，辅助诊断、预后评估和对患者风险分层^[16]，具有替代序贯器官衰竭评估的潜在临床应用价值^[17]。表明 Ang/Tie2 信号通路可以作为控制炎症、防止血管渗漏药物研发的重要靶点，为脓毒症治疗提供新的可能性^[18-22]。

当前，研发靶向 Ang/Tie2 信号通路的药物成为补充 VEGF 抑制疗法的主流策略，该通路在控制血管稳定性、治疗脓毒症方面具有独特作用^[23]，目前多处于临床前和临床试验阶段，基本策略主要包括补充外源或促进内源 Ang1 表达、抑制内源性 Ang2

表达和激活 Tie2 以及它们的联合作用。靶向 Ang/Tie2 通路的脓毒症治疗药物有重组人 Ang1 腺病毒、Ang1 类似物、Ang2 抑制剂、重组人 Ang2 和 Tie2 激动剂。本文总结了靶向 Ang/Tie2 通路的脓毒症治疗药物的研究进展，以期为脓毒症治疗药物的开发提供思路。

1 重组人 Ang1 腺病毒

2005 年 Witzenbichler 等^[24]证实静脉注射 1×10^9 空斑形成单位（PFU）的重组人 Ang1 腺病毒（AdhAng1）可显著增加脂多糖诱导脓毒性休克模型小鼠存活率，并认为这与其改善模型小鼠血液动力学、缓解肺损伤、降低肺组织炎性黏附分子表达有关，提示重组人 Ang1 腺病毒有益于脓毒症的治疗。随后 Ziegler 等^[25]发现 iv 5×10^{12} 病毒粒子的重组 Ang1 腺相关病毒（AAVAng1）可逆转内皮细胞特异性 Ang2 高表达小鼠的血液动力学障碍和毛细血管周细胞数量减少，进一步还观察到 Ang2 抗体治疗可缓解脂多糖诱导脓毒症小鼠的血液动力学障碍，并将模型小鼠 36 h 死亡率从 95%降低到 61%。除此之外，iv 1×10^9 PFU 编码人类 Ang1 的腺病毒载体（AdAng1）有效维持了实验性脑疟疾（ECM）中 Ang1 缺陷小鼠血脑屏障的完整性，与生理盐水组相比，14 d 存活率由 3.7%提高至 61%^[26]。这些发现证实了构建 Ang1 过表达带来的益处，然而腺病毒作为递送载体用于人类治疗时可能产生免疫反应，甚至肿瘤的风险，因此如何降低风险、发挥保护性作用成为进一步开发研究的重点。

2 Ang1 类似物

2.1 vasculotide

Tournaire 等^[27]发现一种短合成肽（HHHRHSF），该肽与 Tie2 受体的细胞外部分具有高亲和力，将其与四聚体聚乙二醇支架以物质的量比 12:1 进行合成，得到一种新型聚乙二醇簇状 Tie2 激动剂 vasculotide^[28]。与操纵 Ang1 或 Ang2 表达的干预措施不同，vasculotide 是一种 Ang1 模拟物^[29]，对 Tie2 受体具有高度特异性，可直接激活受体及其下游途径，诱导体内持久的 Tie2 活化，并且不会取代 Ang1 或 Ang2。vasculotide 治疗已被证明可以防止 70%~80%致死率浓度的脂多糖诱导的 C57 小鼠肺血管内皮屏障功能障碍，逆转钙黏蛋白的衰减，并提高生存率（造模前 7 h ip 500 ng vasculotide 提高 41.4%，造模后 2 h ip 500 ng vasculotide，14 h 时再 ip 250 ng 提高 33.3%）^[30]。Kumpers 等^[31]在盲肠结扎穿孔前

16、1 h ip 200 ng vasculotide, 并于造模后 18 h 进行组织学分析, 结果 vasculotide 通过减少内皮黏附分子表达减少肾脏中的白细胞浸润, 此外还降低了盲肠结扎穿孔诱导的脓毒症小鼠血清和腹腔灌洗液中炎症因子 (TNF- α 、IL-6)、中性粒细胞 (KC/CXCL1、MIP-2/CXCL2) 和巨噬细胞 (MCP-1/CCL2) 的循环细胞因子水平, 改善终末器官功能, 并降低死亡率 (造模前 16、1 h 以及造模后 24、48 h ip 200 ng vasculotide 风险比为 0.39; 造模后 2、24、48 h ip 同等剂量风险比为 0.22)。同课题组另在体外研究中表明, vasculotide 对腹膜巨噬细胞的释放或中性粒细胞的迁移没有影响, 证实了其内皮特异性作用。此外, 在类似于典型脓症患者表现的严重流感小鼠模型中观察到, 每日 ip 500 ng vasculotide 减少了肺水肿、动脉低氧血症和肺内皮细胞凋亡, 从而提高存活率, 即使延迟至感染后 72 h 予以治疗, 也实现了 70% 存活率的显著保护作用^[32]。重要的是, vasculotide 的生产成本低廉, 化学结构稳定, 且与任何 Tie2 配体无关, 因此 vasculotide 可能是治疗脓毒血症的一种新颖实用的药物。

2.2 重组人 Ang1 (rh-Ang1)

rh-Ang1 是 R&D 公司生产的重组人血管生成素 1, Mammoto 等^[33]在内毒素信号传导细胞实验中发现, 30 min 时 Rac1 活性提高 250%, 且 RhoA 活性抑制 50%, 继而增强 E-钙黏蛋白连接, 阻止细胞骨架重排和通透性过高, 从而阻断内毒素介导的间质水肿和白细胞浸润以及血管渗漏, 并在脂多糖诱导的小鼠模型中证明, ip 10 μ g $\times$ 2 剂 rh-Ang1 预处理可以阻断内毒素诱导白细胞浸润到肺实质。当注射给接受盲肠结扎穿孔的小鼠时, 其稳定了血管内皮屏障功能, 防止肺毛细血管渗漏, 并通过抑制细胞间黏附分子-1 (ICAM-1) 表达减少白细胞浸润到肺实质和肾脏^[34], 尽管 rh-Ang1 具有重组蛋白药物普遍半衰期短的特点, 但治疗仍能显著改善各种脓毒症相关器官功能障碍, 并增加盲肠结扎穿孔后的生存时间^[35-36]。然而 rh-Ang1 治疗可能存在包括肺动脉高压、淋巴管发芽和增生以及急性肾损伤后的纤维化和炎症的不良反应^[37-39], 使用时需衡量利弊。

2.3 BowAng1

BowAng1 (REGN108) 是 Davis 等^[40]将 Ang1 蛋白的 C 端纤维蛋白原样结构域与人 IgG Fc 片段融合, 经过工程改造为四聚体以实现最佳的 Tie2 磷酸化, 临床前实验发现, ip 25 mg/kg BowAng1 联合

7.5 mg/kg 青蒿琥酯治疗, 即使是在感染后第 5 天给药, 仍显著降低伯氏疟原虫 ANKA (PbA) 感染的实验性脑疟疾小鼠的血管通透性, 保持血脑屏障的完整性, 与单独使用青蒿琥酯相比提高 25% 的存活率, 100% 的小鼠存活至 14 d 实验结束^[26], 并且这种设计形式在肾肿瘤模型中也被证明可以增强血管稳定性^[41]。肾脏肿瘤发病机制中的血管通透性增大与脓毒症具有高度的相似性, 为 BowAng1 进一步在脓毒症模型中试验奠定基础。

2.4 MAT-Ang1/COMP-Ang1

由于重组 Ang1 蛋白的大规模生产受到蛋白质聚集和不溶性的阻碍, 且纯化后蛋白质的活性有所减弱, 因此 Dames 等通过用软骨基质蛋白 [CMP, 亦称 matrilin-1 (MAT)]^[42]、软骨寡聚基质蛋白 (COMP)^[43] 的短螺旋卷曲结构域替换 Ang1 的 N-端部分开发出溶解性佳、更稳定有效的 Ang1 变体 MAT-Ang1 (三聚体)、COMP-Ang1 (五聚体)^[44]。其中 MAT-Ang1 在脓毒症发作后 20 h iv 33 μ g 可改善脂多糖诱导的小鼠血管渗漏、炎症和组织灌注不足^[45]。COMP-Ang1 在原代培养内皮细胞中对细胞活性影响最强, 其诱导的 Tie2/Akt 磷酸化持续时间可达 3~5 h, 而自然分泌的 Ang1 仅维持 1~2 h^[46]。并且在小鼠角膜血管生成实验中, 300 ng COMP-Ang1 植入 6 d 后观察发现, 其可以抵消 VEGF 诱导的血管渗漏, 在体内形成内皮完整、状态稳定的功能性血管, 表现出较 600 ng 天然 Ang1 更强的治疗潜力^[44]。当在内毒素血症期间注射 COMP-Ang1 时, 可以防止脂多糖诱导的小鼠肾脏血流动力学功能减弱和黏附分子表达, 从而预防由内毒素血症引起的急性肾损伤^[47]。然而, COMP-Ang1 是一种大蛋白 (约 1.75×10^5), 生产、纯化和储存期间仍不够稳定, 因此 Oh 等通过定点修饰链间二硫半胱氨酸键创建 CMP-Ang1 的二聚体形式 (CA1-3), 其以 N-糖相关性方式激活 Tie2, 并刺激血管生成, 体外实验表明, CA1-3 是一种更易构建、相对分子质量更小 (约 7×10^4) 且有效 (与 COMP-Ang1 有相似水平) 的 Ang1 类似物, 已被证明在小鼠耳损伤模型中可以诱导血管管径增大, 并阻止体内血管通透性增大^[48]。

2.5 MSC-AngPT1

MSC-AngPT1 是 Mei 等用来源于骨髓的间充质干细胞 (MSC) 转染人 Ang1 基因质粒从而塑造 Ang1 过表达的一种 Ang1 类似物^[49]。在气管内滴注 800 μ g 脂多糖可诱导急性肺损伤模型, 30 min 后通过小

鼠右颈静脉缓慢输注 100 μ L MSC-pAngPT1 (含 2.5×10^5 细胞数), 并于 3 d 后取出组织分析发现, AngPT1 有效阻止了炎症细胞浸润到肺部, 维持败血症期间肺内皮的完整性, 并几乎完全逆转脂多糖诱导的肺通透性增加, 其中支气管肺泡灌洗液中 IgM 和白蛋白水平的降低分别为 96%、74%, 显著改善了急性肺损伤和更严重的急性呼吸窘迫综合征^[49-50]。并在注射 MSC 后, 小鼠肺中可持续 2 周检测到 MSC 来源的细胞, 其对 Ang1 起着协同增效作用^[50]。

3 Ang2 抑制剂

3.1 Angpt2-siRNA

Angpt2-siRNA 是 Stiehl 等^[51]以脂质体为载体 DACC 将其特异性递送至肺血管内皮的一种 Ang2 小干扰 RNA。研究发现, 脓毒症发生时, 肺内皮细胞是 Ang2 分泌的主要来源部位, 造模前 48 h 或造模后 10 min 通过尾静脉注射 300 μ L Angpt2-siRNA (3.8 mg/kg), 并于造模后 16 h 进行评估, 发现其可以使盲肠结扎穿孔诱导的脓毒症小鼠肺中 Ang2 表达降低 73.8%, 同时增强 Tie2 的磷酸化, 降低肺部炎性细胞因子 IL-6 水平和 ICAM-1 表达, 同时减轻中性粒细胞器官浸润、血管渗漏, 并改善肾功能, 降低整体疾病严重程度, 提高生存率, 脂多糖模型也同样证实了上述现象。其功能抑制了 Ang2 与 Tie2 的结合, 减轻了败血症和急性呼吸窘迫综合征模型中的血流动力学功能减弱, 减少休克的发生, 并降低死亡率^[52]。

3.2 LC10 (RO5485202)、LC06 (RO5314193)

Thomas 等^[53, 25]从人抗体库中获得抗 Ang2 抗体 LC10 (RO5485202)、LC06 (RO5314193) 的结合结构域, 并将获得的 VH 和 VL 区域成熟化, 融合到人 IgG1 抗体的恒定部分, 之后通过基因合成生成所需的基因, PCR 扩增并克隆到 HEK293-F 系统中, 用于瞬时表达的质粒变体中, 从而构造新型 Ang2 抗体。尽管 LC10 预处理并不能阻止炎症细胞因子 TNF- α 、IL-6 水平的增加, 但其阻断了脂多糖诱导的全身炎症小鼠微循环系统通透性增加, 减缓了内毒素血症发展早期 (0~12 h) 在心脏和周围肌肉中观察到的周细胞丢失, 但不会对中性粒细胞迁移造成显著影响。全身性低血压、微血管功能受损是脓毒性休克的标志, 这种血流动力学改变造成的高死亡率在 36 h 即可进展到 95%, 而 ip 20 mg/kg LC06、LC10 在造模前 24 h 预处理均可显

著降低这一速率, 并在 10 h 内增加平均血压和存活率, LC10 在盲肠结扎穿孔模型中也同样被证明降低了死亡率。

4 重组人 Ang2 (rh-Ang2)

与 rh-Ang1 类似, rh-Ang2 也是 R&D 公司生产的重组人血管生成素 2 蛋白。看似矛盾的是, Tzepi 等^[54]在多重耐药铜绿假单胞菌 (MDR-PA) 诱导的败血症小鼠中发现了 Ang2 的保护作用, 无论是在接种细菌前 2 h 预处理还是接种后 30 min 使用, 生存率均显著提高, 与对照组相比, 25 μ g/kg rh-Ang2 组中性粒细胞对肝脏的浸润升高。同样, rh-Ang2 预处理可防止大肠杆菌引起的脓毒症相关死亡。然而, 其未能在脂多糖诱导的小鼠中提供保护。当 MDR-PA 接种于 U937 细胞时可诱导炎症因子 IL-6、TNF- α 的分泌, 而 Ang2 的加入降低了血清 TNF- α 水平, 消除了 TNF- α 与 MDR-PA 的协同作用。实验发现, 当脓毒症诱因为多微生物时, rh-Ang2 通过调节 TNF- α 的产生和中性粒细胞的迁移从而展现出保护作用。Safioleas 等^[55]在 25 例急性肾盂肾炎和脓毒症临床患者以及 40 只急性肾盂肾炎兔子模型中同样证实了这一存活机制。尽管 rh-Ang2 可以通过与循环脂多糖的反向动力学从而逆转 MDR-PA 和大肠杆菌引起的脓毒症所致死亡, 但 Ang2 的出现仍会介导血管完整性丧失, 甚至进展为休克, 由此表明 rh-Ang2 具有双刃剑特征, 且对于脓毒症诱因具有特异性, 因此明确 rh-Ang2 的应用范围, 并进一步发挥其保护作用成为开发的重点。

5 Tie2 激动剂

5.1 ABTAA

Han 等^[56-58]发现了一种新型 Ang2 靶向抗体 (ABTAA), 不同于标准抗体对其活性的单纯阻断, ABTAA 与 Ang2 结合时, 会促使 Ang2 及其受体 Tie2 在该部位聚集, 通过将抗体-抗原簇转化为 Tie2 激活配体的机制, 从而允许 Ang2 抑制和 Tie2 活化同时发生。其通过对内皮糖萼的保护来增强血管内皮屏障功能, 并减轻血管渗漏和器官损伤, 对于炎症带来的损害具有显著改善, 生存提高率与传统的 Ang2 阻断抗体 ABA 相比显著提高, 在盲肠结扎穿孔诱导的败血症中由 13% 提高至 40%, 在内毒素血症中由 33% 提高至 63%, 在金黄色葡萄球菌血症中由 9% 提高至 55%。3 种小鼠模型均证明 ABTAA 在对脉管系统、微血管功能障碍、终末器官损伤和死亡率的保护方面更有效。这些研究同时强调了

Tie2 激活的重要性, 仅阻断 Ang2 不足以在严重脓毒症期间保持血管内皮的完整性, 联合型抗体具有更显著的疗效。

5.2 Razuprotafib (AKB-9778)

Razuprotafib 是一种皮下给药的血管内皮蛋白酪氨酸磷酸酶 (VE-PTP) 的高度特异性抑制剂, 同时也是一种新型的 Tie2 激活剂, 2010 年由 Akebia Therapeutics 公司在专利中首次提出用于治疗炎症性疾病如败血症等引起的血管渗漏综合征^[59]。Razuprotafib 可以激活 Tie2, 继而激活 Rac1, 并使 RhoA 失活, 同时触发 Rap1 蛋白的激活, 并降低肌球蛋白轻链 2 (MLC2, 也称为 MYL2) 的磷酸化, 从而稳定内皮肌动蛋白细胞骨架, 增强 EC 连接, 阻止炎症介质诱导的通透性增大和白细胞外渗。Miles 测定显示, 在测定开始前 5、0 h 各静脉注射 1 次 16 mg/kg Razuprotafib 显著抑制了 10 min 后皮内注射 225 ng 组胺或 100 ng VEGF 诱导的 C57 小鼠皮肤中的血管渗漏。10 mmol/L Razuprotafib 同样阻断了 200 ng/mL VEGF 诱导的单层人脐静脉内皮细胞 (HUVEC) 通透性增大^[60]。另外, 24 mg/kg Razuprotafib 被证明可以明显抵消吸入 40 min 雾化脂多糖诱导的小鼠 4 h 后肺部血管渗漏和 60% 的中性粒细胞外渗, 其对内皮连接的稳定作用取决于 Tie2 的表达, 而 Tie2/Rap1 介导的影响在 *Cdh5* 基因敲除小鼠中被发现甚至能够脱离血管内皮钙黏蛋白 (VE-cadherin) 直接加强内皮连接, 改善小鼠的血管内皮屏障功能^[61]。研究表明, 脂多糖注射使大鼠产生全身炎症、可溶性血管内皮钙黏蛋白 (sVE-cadherin) 水平升高, 继而诱发微血管内皮屏障功能丧失, 微循环灌流量减少, 并且 sVE-cadherin 会干扰 VE-cadherin 介导的 EC 间连接, 并扰乱 VE-PTP/VE-cadherin 的相互作用, 使 RhoA 激活, 而 Razuprotafib 减轻了这一系列反应^[62]。除此之外, 其在肿瘤、眼病和新型冠状病毒感染等领域中也有广泛应用, 已在临床 II 期中进行测试^[63-67]。Razuprotafib 的出现表明可以通过激发 Tie2 活性来稳定 EC 连接, 而不需要在 EC 连接处增加或积累 Tie2 分子, 为调节 Tie2 治疗脓毒症提供了另一种潜在机制。

6 结语和展望

及时识别和诊治对于脓毒症患者的预后至关重要^[68]。Ang/Tie2 轴在维持内皮屏障稳定性方面起着至关重要的作用, 其在全身感染期间的失调会导致病理级联反应, 最终导致终末器官衰竭和死亡。

除了在脓毒症病理生物学中的机制作用外, Ang/Tie2 系统的组成部分还可以作为疾病严重程度和结局的预后生物标志物, 并可能作为脓毒症管理的重要治疗靶点。

得益于生物医学手段的发展和各种基因蛋白结构数据库的大规模扩展, 通过重组蛋白、腺病毒载体、蛋白工程改造、细胞转染、基因编辑等手段已实现对 Ang/Tie2 系统表达、激活的有效干预, 为脓毒症治疗药物的开发创造了便利条件。

这些药物在临床前各类脓毒症模型中表现出良好效果, 但在临床试验中的证据较缺乏。腺病毒载体、重组蛋白等方式在带来益处的同时也存在不良反应, 对于应用于人体的可靠性仍存在争议。因此, 进一步设计并筛选适用于临床的快速、安全、有效的治疗药物成为首要任务。同时还需要努力寻找和开发新兴的治疗脓毒症方法。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Salomão R, Ferreira B L, Salomão M C, *et al.* Sepsis: Evolving concepts and challenges [J]. *Braz J Med Biol Res*, 2019, 52(4): e8595.
- [2] Chiu C, Legrand M. Epidemiology of sepsis and septic shock [J]. *Curr Opin Anaesthesiol*, 2021, 34(2): 71-76.
- [3] Pierrakos C, Velissaris D, Bisdorff M, *et al.* Biomarkers of sepsis: Time for a reappraisal [J]. *Crit Care*, 2020, 24(1): 287.
- [4] Evans L, Rhodes A, Alhazzani W, *et al.* Surviving sepsis campaign: International Guidelines for Management of Sepsis and Septic Shock 2021 [J]. *Crit Care Med*, 2021, 49(11): e1063-e1143.
- [5] Lupu F, Kinasevitz G, Dormer K. The role of endothelial shear stress on haemodynamics, inflammation, coagulation and glycocalyx during sepsis [J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24(21): 12258-12271.
- [6] Dolmatova E V, Wang K, Mandavilli R, *et al.* The effects of sepsis on endothelium and clinical implications [J]. *Cardiovasc Res*, 2021, 117(1): 60-73.
- [7] Melincovici C S, Boşca A B, Şuşman S, *et al.* Vascular endothelial growth factor (VEGF) - key factor in normal and pathological angiogenesis [J]. *Rom J Morphol Embryol*, 2018, 59(2): 455-467.
- [8] Ferrara N, Adamis A P. Ten years of anti-vascular endothelial growth factor therapy [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2016, 15(6): 385-403.
- [9] 孙力超, 张国强. 促血管生成素(Ang)—一种新的脓毒症血清标志物 [J]. *中华急诊医学杂志*, 2015, 24(2):

- 128-132.
- [10] Zhang Y, Kontos C D, Annex B H, *et al.* A systems biology model of junctional localization and downstream signaling of the Ang-Tie signaling pathway [J]. *NPJ Syst Biol Appl*, 2021, 7(1): 34.
- [11] Jousseaume A M, Ricci F, Paris L P, *et al.* Angiopoietin/Tie2 signalling and its role in retinal and choroidal vascular diseases: A review of preclinical data [J]. *Eye (Lond)*, 2021, 35(5): 1305-1316.
- [12] Akwii R G, Sajib M S, Zahra F T, *et al.* Role of angiopoietin-2 in vascular physiology and pathophysiology [J]. *Cells*, 2019, 8(5): 471.
- [13] Daly C, Wong V, Burova E, *et al.* Angiopoietin-1 modulates endothelial cell function and gene expression via the transcription factor FKHR (FOXO1) [J]. *Genes Dev*, 2004, 18(9): 1060-1071.
- [14] 陈艳瑛. 血管生成素-Tie2 信号通路与脓毒症关系的研究进展 [J]. 国际儿科学杂志, 2015, 42(3): 316-319.
- [15] 李钰莹, 俞斌妹, 高友光, 等. 脓毒症中毛细血管高通透性的研究进展 [J]. 国际麻醉学与复苏杂志, 2022, 43(9): 993-997.
- [16] Liles W C. Microvascular endothelial activation/dysfunction and dysregulation of the angiopoietin-tie2 system in the pathogenesis of life-threatening infections [J]. *Trans Am Clin Climatol Assoc*, 2023, 133: 234-246.
- [17] Cecconi M, Evans L, Levy M, *et al.* Sepsis and septic shock [J]. *Lancet*, 2018, 392(10141): 75-87.
- [18] Ricciuto D R, dos Santos C C, Hawkes M, *et al.* Angiopoietin-1 and angiopoietin-2 as clinically informative prognostic biomarkers of morbidity and mortality in severe sepsis [J]. *Crit Care Med*, 2011, 39(4): 702-710.
- [19] Conroy A L, Glover S J, Hawkes M, *et al.* Angiopoietin-2 levels are associated with retinopathy and predict mortality in Malawian children with cerebral malaria: A retrospective case-control study [J]. *Crit Care Med*, 2012, 40(3): 952-959.
- [20] Rosenberger C M, Wick K D, Zhuo H, *et al.* Early plasma angiopoietin-2 is prognostic for ARDS and mortality among critically ill patients with sepsis [J]. *Crit Care*, 2023, 13, 27(1): 234.
- [21] Chen X S, Cui J R, Meng X L, *et al.* Angiotensin-(1-7) ameliorates sepsis-induced cardiomyopathy by alleviating inflammatory response and mitochondrial damage through the NF- κ B and MAPK pathways [J]. *J Transl Med*, 2023, 21(1): 2.
- [22] Feng J, Wang L, Feng Y, *et al.* Serum levels of angiopoietin 2 mRNA in the mortality outcome prediction of septic shock [J]. *Exp Ther Med*, 2022, 23(5): 362.
- [23] Leliggowicz A, Richard-Greenblatt M, Wright J, *et al.* Endothelial activation: The Ang/Tie axis in sepsis [J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 838.
- [24] Witzembichler B, Westermann D, Kneuppel S, *et al.* Protective role of angiopoietin-1 in endotoxic shock [J]. *Circulation*, 2005, 111(1): 97-105.
- [25] Ziegler T, Horstkotte J, Schwab C, *et al.* Angiopoietin 2 mediates microvascular and hemodynamic alterations in sepsis [J]. *J Clin Invest*, 2013, 123(8): 3436-3445.
- [26] Higgins S J, Purcell L A, Silver K L, *et al.* Dysregulation of angiopoietin-1 plays a mechanistic role in the pathogenesis of cerebral malaria [J]. *Sci Transl Med*, 2016, 8(358): 358ra128.
- [27] Tournaire R, Simon M P, le Noble F, *et al.* A short synthetic peptide inhibits signal transduction, migration and angiogenesis mediated by Tie2 receptor [J]. *EMBO Rep*, 2004, 5(3): 262-267.
- [28] Van Slyke P, Alami J, Martin D, *et al.* Acceleration of diabetic wound healing by an angiopoietin peptide mimetic [J]. *Tissue Eng Part A*, 2009, 15(6): 1269-1280.
- [29] Dekker N A M, van Meurs M, van Leeuwen A L I, *et al.* Vasculotide, an angiopoietin-1 mimetic, reduces pulmonary vascular leakage and preserves microcirculatory perfusion during cardiopulmonary bypass in rats [J]. *Br J Anaesth*, 2018, 121(5): 1041-1051.
- [30] David S, Ghosh C C, Kumpers P, *et al.* Effects of a synthetic PEG-ylated Tie-2 agonist peptide on endotoxemic lung injury and mortality [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2011, 300(6): L851-L862.
- [31] Kumpers P, Gueler F, David S, *et al.* The synthetic tie2 agonist peptide vasculotide protects against vascular leakage and reduces mortality in murine abdominal sepsis [J]. *Crit Care*, 2011, 15(5): R261.
- [32] Sugiyama M G, Armstrong S M, Wang C, *et al.* The Tie2-agonist vasculotide rescues mice from influenza virus infection [J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 11030.
- [33] Mammoto T, Parikh S M, Mammoto A, *et al.* Angiopoietin-1 requires p190 RhoGAP to protect against vascular leakage *in vivo* [J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(33): 23910-23918.
- [34] Zhu Y G, Qu J M, Zhang J, *et al.* Novel interventional approaches for ALI/ARDS: Cell-based gene therapy [J]. *Mediators Inflamm*, 2011, 2011: 560194.
- [35] 王珊珊, 牛晓霞, 王颖, 等. 重组蛋白长效化策略 [J]. 药物生物技术, 2022, 29(3): 291-299.
- [36] David S, Park J K, Meurs M V, *et al.* Acute administration of recombinant Angiopoietin-1 ameliorates multiple-organ dysfunction syndrome and improves survival in murine

- sepsis [J]. *Cytokine*, 2011, 55(2): 251-259.
- [37] Long D A, Price K L, Ioffe E, *et al.* Angiotensin-1 therapy enhances fibrosis and inflammation following folic acid-induced acute renal injury [J]. *Kidney Int*, 2008, 74(3): 300-309.
- [38] Sullivan C C, Du L, Chu D, *et al.* Induction of pulmonary hypertension by an angiotensin 1/TIE2/serotonin pathway [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2003, 100(21): 12331-12336.
- [39] Tammela T, Saaristo A, Lohela M, *et al.* Angiotensin-1 promotes lymphatic sprouting and hyperplasia [J]. *Blood*, 2005, 105(12): 4642-4648.
- [40] Davis S, Papadopoulos N, Aldrich T H, *et al.* Angiotensins have distinct modular domains essential for receptor binding, dimerization and superclustering [J]. *Nat Struct Biol*, 2003, 10(1): 38-44.
- [41] Huang J, Bae J O, Tsai J P, *et al.* Angiotensin-1/Tie-2 activation contributes to vascular survival and tumor growth during VEGF blockade [J]. *Int J Oncol*, 2009, 34(1): 79-87.
- [42] Dames S A, Kammerer R A, Wiltsccheck R, *et al.* NMR structure of a parallel homotrimeric coiled coil [J]. *Nat Struct Biol*, 1998, 5(8): 687-691.
- [43] Malashkevich V N, Kammerer R A, Efimov V P, *et al.* The crystal structure of a five-stranded coiled coil in COMP: A prototype ion channel? [J]. *Science*, 1996, 274(5288): 761-765.
- [44] Cho C H, Kammerer R A, Lee H J, *et al.* COMP-Ang1: A designed angiotensin-1 variant with nonleaky angiogenic activity [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2004, 101(15): 5547-5552.
- [45] Alfieri A, Watson J J, Kammerer R A, *et al.* Angiotensin-1 variant reduces LPS-induced microvascular dysfunction in a murine model of sepsis [J]. *Crit Care*, 2012, 16(5): R182.
- [46] Wallace R G, Rochfort K D, Barabas P, *et al.* COMP-Ang1: Therapeutic potential of an engineered angiotensin-1 variant [J]. *Vascul Pharmacol*, 2021, 141: 106919.
- [47] Kim D H, Jung Y J, Lee A S, *et al.* COMP-angiotensin-1 decreases lipopolysaccharide-induced acute kidney injury [J]. *Kidney Int*, 2009, 76(11): 1180-1191.
- [48] Oh N, Kim K, Kim S J, *et al.* A designed angiotensin-1 variant, dimeric CMP-Ang1 activates Tie2 and stimulates angiogenesis and vascular stabilization in N-glycan dependent manner [J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 15291.
- [49] Mei S H, McCarter S D, Deng Y, *et al.* Prevention of LPS-induced acute lung injury in mice by mesenchymal stem cells overexpressing angiotensin 1 [J]. *PLoS Med*, 2007, 4(9): e269.
- [50] Xu J, Qu J, Cao L, *et al.* Mesenchymal stem cell-based angiotensin-1 gene therapy for acute lung injury induced by lipopolysaccharide in mice [J]. *J Pathol*, 2008, 214(4): 472-481.
- [51] Stiehl T, Thamm K, Kaufmann J, *et al.* Lung-targeted RNA interference against angiotensin-2 ameliorates multiple organ dysfunction and death in sepsis [J]. *Crit Care Med*, 2014, 42(10): e654-e662.
- [52] Zeng H, He X, Tuo Q H, *et al.* LPS causes pericyte loss and microvascular dysfunction via disruption of Sirt3/angiotensins/Tie-2 and HIF-2 α /Notch3 pathways [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 20931.
- [53] Thomas M, Kienast Y, Scheuer W, *et al.* A novel angiotensin-2 selective fully human antibody with potent anti-tumoral and anti-angiogenic efficacy and superior side effect profile compared to Pan-Angiotensin-1/-2 inhibitors [J]. *PLoS One*, 2013, 8(2): e54923.
- [54] Tzepe I M, Giamarellos-Bourboulis E J, Carrer D P, *et al.* Angiotensin-2 enhances survival in experimental sepsis induced by multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2012, 343(2): 278-287.
- [55] Safioleas K, Giamarellos-Bourboulis E J, Carrer D P, *et al.* Reverse kinetics of angiotensin-2 and endotoxins in acute pyelonephritis: Implications for anti-inflammatory treatment? [J]. *Cytokine*, 2016, 81: 28-34.
- [56] Han S, Lee S J, Kim K E, *et al.* Amelioration of sepsis by TIE2 activation-induced vascular protection [J]. *Sci Transl Med*, 2016, 8(335): 335ra55.
- [57] Salmon A H, Neal C R, Sage L M, *et al.* Angiotensin-1 alters microvascular permeability coefficients *in vivo* via modification of endothelial glycocalyx [J]. *Cardiovasc Res*, 2009, 83(1): 24-33.
- [58] Park J S, Kim I K, Han S, *et al.* Normalization of tumor vessels by Tie2 activation and Ang2 inhibition enhances drug delivery and produces a favorable tumor microenvironment [J]. *Cancer Cell*, 2017, 31(1): 157-158.
- [59] Shalwitz R, Peters K G. Methods for treating vascular leak syndrome: America, WO2010081172 [P]. 2010-07-15.
- [60] Shen J, Frye M, Lee B L, *et al.* Targeting VE-PTP activates TIE2 and stabilizes the ocular vasculature [J]. *J Clin Invest*, 2014, 124(10): 4564-4576.
- [61] Frye M, Dierkes M, Küppers V, *et al.* Interfering with VE-PTP stabilizes endothelial junctions *in vivo* via Tie-2 in the absence of VE-cadherin [J]. *J Exp Med*, 2015, 212(13): 2267-2287.
- [62] Knop J L, Burkard N, Danesh M, *et al.* Endothelial barrier dysfunction in systemic inflammation is mediated by soluble VE-cadherin interfering VE-PTP signaling [J].

- iScience*, 2023, 26(10): 108049.
- [63] I-SPY COVID Consortium. Report of the first seven agents in the I-SPY COVID trial: A phase 2, open label, adaptive platform randomised controlled trial [J]. *EClinicalMedicine*, 2023, 58: 101889.
- [64] Kaplan T M, Sit A J. Emerging drugs for the treatment of glaucoma: A review of phase II & III trials [J]. *Expert Opin Emerg Drugs*, 2022, 27(3): 321-331.
- [65] Brigell M, Withers B, Buch A, *et al.* Tie2 activation via VE-PTP inhibition with razuprotafib as an adjunct to latanoprost in patients with open angle glaucoma or ocular hypertension [J]. *Transl Vis Sci Technol*, 2022, 11(1): 7.
- [66] Schmaier A A, Hurtado G M P, Manickas-Hill Z J, *et al.* Tie2 activation protects against prothrombotic endothelial dysfunction in COVID-19 [J]. *JCI Insight*, 2021, 6(20): e151527.
- [67] Li G, Sachdev U, Peters K, *et al.* The VE-PTP inhibitor AKB-9778 improves antitumor activity and diminishes the toxicity of interleukin 2 (IL-2) administration [J]. *J Immunother*, 2019, 42(7): 237-243.
- [68] Srzić I, Adam V N, Pejak D T. Sepsis definition: What's new in the treatment guidelines [J]. *Acta Clin Croat*, 2022, 61(Suppl 1): 67-72.

[责任编辑 解学星]