

综述 ·

红细胞生成素在新生儿应用的研究近况

黄玫 综述,方亦兵 审校

(湖南省儿童医院新生儿科,湖南 长沙 410007)

[关键词] 红细胞生成素;神经发育;新生儿

[中图分类号] R722 [文献标识码] A [文章编号] 1008-8830(2001)01-0127-03

红细胞生成素(EPO)是调节红系晚期祖细胞的存活、增殖和分化的主要生长因子,是决定组织氧合状态的主要决定因素之一,EPO通过结合细胞表面特异的红细胞受体(EPO-R)而发挥功能^[1]。EPO及其受体功能异常即产生疾病,如红细胞增多症或早产儿贫血,并可导致70%怀孕母鼠胎仔死亡。开始认为EPO专一在造血细胞上,现已发现功能性EPO-R存在于多种非造血细胞上。早产儿使用重组EPO(rEPO)可减少其住院期间需要输血的次数和输血的总量。此种治疗可视为生理性的。然而在使用剂量、间隔及治疗期限上还有争议,本文就EPO的结构、作用机制、研究进展及在新生儿的使用进行综述。

1 rEPO在新生儿的使用

早产儿,特别是出生体重低于1500g的,常出现早产儿贫血,表现为心动过速、气促、呼吸暂停、体重不增等。均存在至少需要输血1次的风险。需要输血理由如下:首先,由于临床状况不稳定,需要频繁的抽血化验;第二,随着早产儿的生长,他们的血容量也成比例的增加,仅仅为了维持每公斤体重稳定的细胞数量群,也必须有积极的红细胞生成;第三,新生儿的红细胞寿命较成人短;第四,早产儿铁贮量相对较少,而且他们经肠道喂养获得铁的能力相对有限;最后,血浆EPO浓度在贫血的早产儿较同样贫血的儿童和成人为低。输血的危险包括:输血有关感染、体液平衡紊乱、移植宿主疾病、溶血和铁超载。研究显示,贫血的早产儿以rEPO治疗,在补充铁剂同时给予rEPO每周300~400U/kg,增进了RBC的产生、降低了输血次数和输血总

量^[2,3,10,11]。在使用剂量上的研究显示^[2,3,8,9,12]:每周<300U/kg不能减少输血的需要,每周500~750U/kg即可明显增加红细胞生成,每周>750U/kg未能使网织红细胞更明显上升。同等剂量的rEPO每天给予比每周两次给予更有效。红细胞生成与铁消耗增加一致,一般认为每周500U/kg的EPO,每天补充铁元素6mg/kg足以支持红细胞生成。血清铁水平在治疗开始的3周明显下降,与网织红细胞上升一致。若未达到预期效果,可增加补充铁的剂量至每日8~12mg/kg。血清游离铁的增高可能会增加氧自由基损伤的危险,建议增补铁的指征为^[3]:血清铁蛋白水平低于正常值的2个标准差且低染色性红细胞>20%。

在尽量减少医源性失血量后,体重<800g或1000g、又及早开始rEPO治疗的早产儿将是最大的受益者。这一组的早产儿中的95%需要输血。由于治疗开始1周后才见到网织红细胞上升,2周后才见到红细胞压积的上升,EPO治疗可早至生后第2天开始,Shannon等^[2]的治疗组半数在机械通气支持下即开始治疗,rEPO对较大的早产儿同样有效,但价值-效益比率使这组婴儿不可能常规使用rEPO。为了降低每例rEPO治疗的费用,不少单位已开始对需要肠外营养支持的患儿将rEPO加入高营养液中^[4,5],这样可以数位患儿共用一瓶rEPO,使费用显著下降,且可避免皮下注射带来的痛苦。

2 分子结构及生理作用

2.1 红细胞生成素(EPO)

人类EPO基因含5个外显子和4个内显子定位于7号染色体长臂(7q11~12)^[1,13],基因序列在

[收稿日期] 1999-02-23; [修回日期] 2000-08-12

[作者简介] 黄玫(1940-),女,大学,主任医师。

哺乳动物种族(人、猪、鼠、绵羊)中有80%~82%同源性。EPO以一个193-氨基酸序合成,经过转化其活性蛋白为165氨基酸肽,这种肽随后高度糖基化。糖基化状态对EPO的水溶性、细胞处理、分泌和代谢是重要的。EPO属于一组有类似 α -螺旋节段的细胞因子,合成释放受多种因素调控,组织缺氧是刺激EPO合成释放的主要因素。受到缺氧刺激时,产生EPO最多的是肾脏和肝脏,脑和睾丸亦可产生少量。EPO不在细胞内贮存,靠增加信使RNA(mRNA)的合成来增加EPO的合成。

2.2 红细胞生成素受体(EPO-R)

人EPO-R是含508个氨基酸的单链穿膜糖蛋白,属细胞因子受体超家族中造血生长因子受体家族,亦具家族的保守序列:胞外域的4个半胱氨酸残基和一个色-丝-X-色-丝结构域单元(WSXWS motif),X可以是任一种氨基酸。这个单元似乎在以受体为媒介的信号转导上起着关键的作用,因为更换这些关键的氨基酸可取消或削弱受体功能。EPO-R表达部分由GATA-1(一种锌蛋白)调节,它在血细胞发育的早期表达上出现,缺乏这种调节蛋白时,红系祖细胞成熟受阻,然后进入程序细胞死亡。SCL与GATA-1共同表达,已认为是EPO-R表达的另一种重要的转录因子^[1,14]。

3 作用机制

EPO靠影响红细胞的产生来调节氧在组织中的释放,当组织缺氧时EPO的mRNA转录增加,循环中EPO浓度一过性增加,红细胞生成增加。反之,循环中红细胞量足够时,EPO表达下降。EPO维持红细胞产生靠抑制红系祖细胞程序性细胞死亡,及刺激红系祖细胞的增殖、分化,以进入成红细胞。EPO的产生地由胎儿时在肝脏到出生后在肾脏。转变过程失调是贫血的早产儿不能产生足够的EPO浓度的原因。缺氧调控EPO表达,部分靠一种称为缺氧诱导因素1(HIF-1)的增强成分,这种蛋白联结到EPO基因内DNA序列,刺激EPO mRNA表达。EPO产生的其他增强剂亦已阐明,这些增强剂协同作用产生的内源性EPO为缺氧刺激后的50~100倍。

正常红系祖细胞先形成红细胞系集落群形成单元(BFU-E),分化成红细胞系集落形成单元(CFU-E),再进一步分化为原红细胞直至成熟的红细胞。EPO产生之后随血循环至骨髓并联结至红系祖细胞的特殊细胞表面受体,红系细胞对EPO的敏感度

随他们的分化阶段而变化。最早期的红系祖细胞对EPO刺激并无反应,CFU-E和原红细胞均高度依赖EPO,并拥有数量最多的EPO-R,成熟的有核红细胞上EPO-R数量减少,对EPO刺激的敏感度亦降低。网织红血球没有EPO-R,对EPO无反应。

EPO信息传导:EPO-R缺乏催化酶的活性,然而在与EPO联结之后,EPO-R的近膜区胞浆联结并激活一种胞浆蛋白-酪氨酸激酶,JAK2。在JAK2激活之后,引起许多细胞蛋白的酪氨酸磷酸化作用,包括GTP酶激活蛋白和信号传导因子和转录激活因子1、5(STAT1、5)。一旦磷酸化作用完成,这些激活了的分子又依次激活其他细胞反应,引起瀑布样效应,最终刺激红细胞生成。EPO诱导的酪氨酸酶在调节生长上的作用被酪氨酸磷酸酶的激活所平衡。推测造血细胞磷酸酶有造血生长的负面调节作用,JAK2及可能还有的其他基质,对磷酸化作用的激活提供一种平衡。EPO的清除受粘附至EPO-R的影响,并与受体配位体复合物的退行性变有关。清除发生的准确场所还不清楚,因为除去肝脏和肾脏对EPO的清除无影响。

4 EPO的非造血作用

4.1 躯体组织

EPO已用于多种临床状况,包括肾衰、药物和慢性炎症所致贫血的治疗,也用于预防外科病人贫血。甚至在兽医文献上有用EPO治疗动物贫血的报导。以前认为EPO仅作用于造血系统,然而EPO-R广泛分布在各种非红细胞的组织细胞中,包括肠道、肝脏基质、内皮、肾小球、平滑肌、胎盘和中枢神经系统的特殊细胞。EPO在这些非造血细胞中的作用类似造血细胞,如EPO在体外对以上数种细胞有丝裂原的作用,恰似在体内对红系祖细胞的作用。刺激EPO后的起始效应不在同系统可引起不同的继发反应,如内皮细胞与rEPO一起培育激活钙信息,继而增加内皮素1的合成和释放,这种反应可能是rEPO治疗透析病人产生高血压的原因。

推测EPO在个体发育早期有总的形态形成和引导神经发育的功能。有研究证实EPO及EPO-R广泛分布在鼠胚胎体内^[1]。类似的结果也已在人类胎儿中发现。已证实人类胎盘可合成EPO,因此EPO在妊娠早期的存在及其功能与许多躯体生长因子一致,影响有EPO-R的胎儿器官的生长和发育。在脑和睾丸中已发现EPO表达,由于血脑屏障和血睾丸屏障的存在,正常它们并不出现在血液循

环中^[7],因而推测 EPO 在这些地点的合成是有着一种特殊的非造血的目的。人乳中有相当高浓度的 EPO。由母鼠哺育的贫血的幼鼠有红细胞生成反应,提示母体内高浓度的 EPO 可以通过哺乳传给子代。

4.2 神经组织

EPO 发挥功能必须有 EPO-R 群、受体必须是功能性的、配位体必须是可以联结的。现已在多种神经细胞系中检出 EPO-R,并有充分的资料支持 EPO 在 CNS 中的作用。以下实验支持 EPO 可能有保护神经元的作用:(1)当培育的神经元和神经祖系细胞遭受缺氧时,加入超生理浓度的 EPO(5 U/ml)可以保护神经元免受损伤;(2)对培育的海马及大脑皮层神经元预先给予生理浓度的 rEPO(3 pmol)处理 8 小时或更久能预防 N-甲基-D-天冬氨酸为中介的谷氨酸导致的神经坏死;(3)对人神经元前体细胞系,以生理浓度的 rEPO(50 mU/ml)预先治疗能降低紫外线照射导致的细胞凋亡。缺氧时脑内合成 EPO 增加,提示 EPO 可能保护神经元免受缺氧缺血性细胞死亡。最近在缺血性神经元损伤的田鼠模型上若予先脑室内注入 rEPO(2.5~5 U/d),能预防对缺氧敏感的海马 CA1 区神经元死亡并能维护轴突联结,而脑室内注入 EPO-R,可加剧损伤。已经证实 EPO 及其受体存在于发育中的人脑中,EPO mRNA 和 EPO-R 早在孕 5 周时即可检出,并在整个发育过程持续存在。脉络丛是 EPO 及其受体免疫组化染色强表达处,此处正是脑脊液的产生地。研究发现正常早产儿和足月儿脑脊液中存在 EPO,且脑脊液-EPO 浓度随着孕龄的增高而下降,成人 EPO 浓度很低,血液中和脑脊液中 EPO 浓度无相关,脑脊液-EPO 浓度在 rEPO 治疗组和非治疗组中亦无差异^[1,5,6]。创伤性脑损伤患者脑脊液亦检出 EPO,衰弱病人脑脊液中 EPO 浓度略高于健康对照组,意义尚不明了。

5 结论

EPO 是一种自 1985 年以来在临床研究和实践中很有意义的细胞因子,希望它作为药物能取代新生儿输血。随机对照研究已有 800 多例新生儿,在所有病例均显示能促进红细胞生成并降低了输血的需要。及早接受治疗的极低出生体重儿将从使用 rEPO 受益最大。既往认为 EPO 仅只是有造血功能,现已明确 EPO 及其受体广泛地分布在人类胎儿,推测 rEPO 与其他生长因子有协同作用,在胎儿

脑中的分布占优势预示在神经发育上起重要作用。有资料认为:在诸如缺氧等状况下,rEPO 可能作为一种神经保护因子。

[参 考 文 献]

[1] Juul SE. Erythropoietin in the Neonate [J]. Curr Probl Pediatr, 1999, 29(5): 133 - 144.

[2] Shannon KM, Keith JF III, Mentzer WC, et al. Recombinant human erythropoietin stimulates erythropoiesis and reduces erythrocyte transfusions in very low birth weight preterm infants [J]. Pediatrics, 1995, 95(1): 1 - 8.

[3] Meyer MP, Meyer JH, Commerford A, et al. Recombinant human erythropoietin in the treatment of the anemia of prematurity: results of a double-blind, placebo-controlled study [J]. Pediatrics, 1994, 93(6 Pt 1): 918 - 923.

[4] Meyer MP, Haworth C, Meyer JH, et al. A comparison of oral and intravenous iron supplementation in preterm infants receiving recombinant erythropoietin [J]. J Pediatr, 1996, 129(2): 258 - 263.

[5] Ohls RK, Veerwan MW, Christensen RD. Pharmacokinetics and effectiveness of recombinant erythropoietin administered to preterm infants by continuous infusion in total parenteral nutrition solution [J]. J Pediatr, 1996, 128(4): 518 - 523.

[6] Juul SE, Harcum J, Li Y, et al. Erythropoietin is present in the cerebrospinal fluid of neonates [J]. J Pediatr, 1997, 130(3): 428 - 430.

[7] Juul SE. Erythropoietin is present in the cerebrospinal fluid of neonates who sustained CNS injury [J]. Pediatr Res, 1999, 46(5): 543 - 547.

[8] Soubasi V, Kremenopoulos G, Diamanti E, et al. Follow-up of very low birth weight infants after erythropoietin treatment to prevent anemia of prematurity [J]. J Pediatr, 1995, 127(2): 291 - 297.

[9] Shannon KM, Mentzer WC, Abels RI, et al. Enhancement of erythropoiesis by recombinant human erythropoietin in low birth weight infants: a pilot study [J]. J Pediatr, 1992, 120(4): 586 - 592.

[10] Brown MS, Jones MA, Ohls RK, et al. Single-dose pharmacokinetics of recombinant human erythropoietin in preterm infants after intravenous and subcutaneous administration [J]. J Pediatr, 1993, 122(4): 655 - 657.

[11] Mizuno S, Sasaki J, Suzuki C, et al. Effect of recombinant human erythropoietin administration on peripheral blood neutrophil counts of premature infants [J]. J Pediatr, 1994, 124(3): 467 - 470.

[12] 廖财绪. 红细胞生成素与早产儿贫血 [J]. 国外医学儿科学分册, 1998, 25(1): 29 - 32.

[13] 刘永学. 促红细胞生成素及其基因治疗的研究进展 [J]. 国外医学分子生物学分册, 1998, 20(4): 173 - 176.

[14] 林筱洁. 红细胞生成素受体介导的细胞信息通路 [J]. 国外医学分子生物学分册, 1998, 20(6): 259 - 263.

(本文编辑:吉耕中)