

· 综述 ·

血管紧张素转化酶2在冠状病毒感染所致肺损伤及其他肺部疾病中研究进展

孙芬芬 贺斌峰 何勇

【摘要】血管紧张素转化酶2 (ACE2) 为拮抗血管紧张素转化酶-血管紧张素 (ACE-Ang II) 的关键调控分子。本文总结ACE2通过与新型冠状病毒 (SARS-CoV-2) 以及非典型性肺炎 (SARS) 病毒所携带的S蛋白结合, 介导上述病毒进入宿主细胞进行复制并发挥细胞毒性作用, 并探讨使用二甲双胍以及血管紧张素转化酶抑制剂/血管紧张素受体拮抗剂 (ACEI/ARB) 缓解SARS-CoV-2感染所致肺组织损伤的可能性。此外, 就ACE2以及介导的Ang II 水解产物Ang (1~7) 在急性肺损伤 (ALI)、肺纤维化和肺动脉高压中的研究进展进行综述。ACE2在新型冠状病毒肺炎 (COVID-19) 的发病机制中发挥着重要作用, 可成为设计、研发 (COVID-19) 相关治疗药物的重要靶点。

【关键词】血管紧张素转化酶2; 新型冠状病毒; 非典型性肺炎病毒; 炎症

Advances on the effects of angiotensin converting enzyme 2 in coronavirus induced lung injury and other lung diseases Sun Fenfen, He Bin Feng, He Yong. Department of Respiratory Disease and Critical Care Medicine, Daping Hospital, Army Medical University, Chongqing 400042, China
Corresponding author: He Yong, Email: heyong8998@126.com

【Abstract】Angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) is considered as an critical regulator of angiotensin converting enzyme-angiotensin II (ACE-Ang II). The process that ACE2 bound the spike protein (S protein) on the surface of severe acute respiratory syndrome-coronavirus 2 (SARS-CoV-2) or severe acute respiratory syndrome (SARS) virus, which mediated these virus entrance to target cell for replication and cytotoxic effect were summarized. Furthermore, the possibility of metformin and angiotension converting enzyme inhibitors/angiotensin receptor blockers (ACEI/ARB) to the improvement of the lung tissue damage induced by SARS-CoV-2 were investigated. Additionally, the research progress of ACE2 and Ang II hydrolysates-- Ang (1-7) on acute lung injury (ALI), pulmonary fibrosis and pulmonary artery hypertension (PAH) were reviewed. ACE2 played an important role in the pathogenesis of new coronavirus pneumonia and could be an important target for the design and development of drugs for coronavirus disease 2019.

【Key words】Angiotensin converting enzyme 2; Severe acute respiratory syndrome-coronavirus 2; Severe acute respiratory syndrome; Inflammation

血管紧张素转换酶2 (angiotensin converting enzyme 2, ACE2) 为肾素-血管紧张素系统 (renin-angiotensin system, RAS) 的关键调控分子。随着新型冠状病毒 (severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, SARS-CoV-2) 暴发, ACE2再次走入医务及科研人员的视线。基于目前对冠状病毒家族 β 属中SARS-CoV-2以及非典型性肺炎病毒 (severe acute respiratory syndrome, SARS) 研究, 认为ACE2是介导SARS-CoV-2感染宿主细胞并导致组织病

理改变的关键分子。本文拟对ACE2在肺部疾病, 尤其在新型冠状病毒肺炎 (coronavirus disease 2019, COVID-19) 中的作用及机制进行综述。

一、ACE2简述及在肺组织中的分布

ACE2是由805个氨基酸残基组成的I型跨膜糖蛋白。该蛋白结构仅有1个催化结构域, 使ACE2活性不会被血管紧张素转化酶抑制剂 (angiotension converting enzyme inhibitors, ACEI) 所抑制。ACE2可与RAS的重要代谢产物血管紧张素II (angiotensin II, Ang II) 紧密集合, 并将Ang II水解为Ang (1~7), 使其与Mas受体结合, 拮抗ACE-Ang II轴, 进而发挥舒张血管、抗炎功能。研究发现ACE2/Ang (1~7)/Mas受体通路与ACE/Ang II/AT1R通路间的平衡被打破将导致全身多系统炎症, 并且ACE和Ang

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2021.01.002

基金项目: 国家自然科学基金青年基金 (No. 81800086)

作者单位: 400042 重庆, 陆军军医大学大坪医院呼吸与危重症医学科

通信作者: 何勇, Email: heyong8998@126.com

II水平升高提示重症感染预后不良^[1]。

既往研究表明,ACE2在体内的分布具有器官特异性,且其表达依赖于所在组织的RAS活性^[1]。ACE2在肺部组织多种细胞中有表达:如II型肺泡上皮细胞呈高表达,在气道平滑肌细胞、气道上皮细胞、成纤维细胞、内皮细胞和巨噬细胞均可检测到ACE2的表达^[2-3],故这些细胞可成为SARS-CoV-2攻击的重要靶点。

二、ACE2在COVID-19中的作用

SARS-CoV-2是冠状病毒家族 β 属的新成员,该家族已知成员还包括SARS、中东呼吸综合征冠状病毒(Middle East respiratory syndrome, MERS)、人冠状病毒(human coronavirus, HCoV)、HCoV-HKU1、HCoV-4408、蝙蝠冠状病毒(bat coronavirus, BCoV)、小鼠肝炎病毒(mouse hepatitis virus, MHV)等。冠状病毒的感染性和致病性与其结构特异性密不可分:SARS、MERS和SARS-CoV-2均含有I型病毒融合糖基化蛋白Spike(S糖蛋白,约200 kDa)。S蛋白主要位于病毒体的外壳,通过识别宿主受体ACE2,进而介导病毒和细胞膜融合,发挥感染宿主细胞和损伤组织的作用^[4]。我国研究人员对SARS-CoV-2基因序列的和蛋白结构分析,预测出其更易于结合人源ACE2。同时,在HeLa细胞(不表达ACE2)上转染不同种属的ACE2后,用SARS的核衣壳蛋白(nucleocapsid protein, NP)抗体进行免疫染色,发现ACE2与NP存在共定位,提示SARS-CoV-2和SARS一样,通过与ACE2结合进入宿主细胞^[5]。Michal等^[6]研究进一步证实了人ACE2为SARS-CoV-2的受体。He等^[7]研究发现SARS-CoV-2感染上皮细胞后,通过调节ACE2引起宿主基因转录组改变,促进病毒进入宿主细胞;同时SARS-CoV-2还能诱导T细胞激活、产生T细胞因子,介导炎症反应。Zhou等^[4]研究证实SARS-CoV-2进入细胞的路径与SARS冠状病毒一样,即通过绑定ACE2受体进入宿主细胞。但SARS-CoV-2中S蛋白对宿主ACE2亲和力是SARS-CoV中S蛋白的10~20倍^[8]。基于此,可明确SARS-CoV-2是通过绑定ACE2受体,继而感染宿主细胞并造成组织和细胞损伤。

目前COVID-19尚无有效的治疗措施。既往研究发现二甲双胍可通过降低整合素金属蛋白酶17(recombinant A disintegrin and metalloprotease 17, ADAM17)的表达,阻止ACE2从细胞膜内化到细胞浆,从而维持ACE2持续激活下游信号转导通路^[9]。因此,推测二甲双胍可能用于SARS-CoV-2的治疗。Markus等^[10]研究表明SARS-CoV-2感染宿主细胞也依赖于跨膜丝氨酸蛋白酶2(transmembrane serine protease, TMPRSS2)。应用其抑制剂卡莫他特甲磺酸盐可抑制SARS-CoV-2对宿主的感染;同时还发现恢复期SARS-CoV-2感染者血浆中抗体与病毒特异性结合可阻止SARS-CoV-2进入细胞,表明针对SARS-S的抗体或疫苗可能为治疗或预防

SARS-CoV-2感染提供线索^[10]。此外,由于SARS-CoV-2感染可导致ACE2表达降低,ACE/Ang II升高,抑制ACE2/Ang(1~7)/Mas受体通路,引起RAS系统失衡,进而加重肺水肿或引发心脑血管意外,导致SARS-CoV-2患者病死率升高。补充外源性ACE2及其下游产物或者使用ACEI/血管紧张素受体拮抗剂(angiotensin receptor antagonist, ARB)类降压药物能否缓解SARS-CoV-2所致急性呼吸窘迫综合征(acute respiratory distress syndrome, ARDS)症状亟待探究。既往对SARS的相关研究表明,增加外源性ACE2并不能改善ARDS症状,而增加外源性Ang(1~7)或者激活Mas受体、或者ACE/Ang II/AT1R通路的抑制剂如ACEI制剂以及ARB(如氯沙坦、缬沙坦)等可缓解ARDS症状^[11]。因此,推测外源性Ang(1~7)或者ACEI/ARB可用于治疗COVID-19。此外,对于COVID-19伴有高血压患者,严密监测血压的同时可考虑应用ACEI和ARB,这很有可能是降低SARS-CoV-2感染者机体损害的有效方式;在控制血压的情况下,对轻症SARS-CoV-2感染者应用ACEI和ARB,有可能减轻患者肺部炎症反应,降低患者病死率,而对于重症患者,在呼吸支持、维持血流动力学稳定的基础上,根据患者血压及病情而定是否继续给予ACEI/ARB。

三、ACE2在SARS中的作用

目前对ACE2在SARS中的作用已有较深入研究。Li等^[12]首次在非洲绿猴肾细胞株Vero E6和293T上证实ACE2是SARS的功能性受体,其可介导SARS病毒与细胞膜的融合及病毒的复制。Kuba等^[13]应用ACE2敲除小鼠阐明SRAS对肺组织的感染、宿主细胞内的复制均依赖于肺组织中ACE2受体。进一步研究指出S蛋白与ACE2受体结合后会导致肺组织中ACE2表达显著降低,上调Ang II水平,使血管渗透性增强,继而导致肺水肿及炎症反应。

研究发现在发育成熟的肺组织中,ACE2主要来源于静息状态下的II型肺泡上皮细胞(alveolar type II epithelial cell, AT II)^[14],而Ding等^[15]应用电子显微镜在SARS患者遗体的肺泡上皮细胞内发现了SARS病毒及病毒包涵体,并且在小鼠模型上验证了SARS病毒仅感染AT II,而非I型细胞^[16]。上述结果表明,富含ACE2受体的AT II是SARS主要的感染宿主。进一步研究发现SARS病毒感染AT II后可显著降低ACE2及维持气液交换关键分子表面活性蛋白(surfactant protein, SP)SPB和SPC的表达,导致AT II细胞死亡,并产生大量炎症因子^[17]。这可能是SARS患者出现炎症风暴和低氧血症的主要机制之一。

尽管气道上皮ACE2的表达处于较低水平,但依然是SARS的感染靶点之一。Jia等^[18]研究表明ACE2主要在气道上皮顶端表达,且其表达水平与上皮细胞的分化程度呈正相关,以上提示SARS可通过气道上皮顶部侵入^[19],并在气道上皮细胞中大量繁殖。

此外,肺组织中含有丰富的微血管,用于气液交换。Li等^[3]及其他研究表明肺血管内皮细胞中同样表达ACE2。Ye等^[20]在SARS患者遗体的肺组织证实肺微血管亦是SARS感染靶点,但机制尚未明确。

四、ACE2在ALI/ARDS中的作用

研究表明,脓毒血症及强酸吸入致ARDS小鼠肺组织中ACE2表达极低或检测不到,且敲除ACE2可加重脓毒血症及强酸吸入致ARDS小鼠的肺部损伤及炎症浸润。当应用无催化活性ACE2干预野生型及ACE2敲除的模型鼠后,可明显缓解肺损伤的症状^[21]。同样,给ALI猪模型静脉注射有催化活性的ACE2后,可明显提升血氧饱和度进而改善猪的预后^[22]。

五、ACE2在肺纤维化中的作用

肺纤维化是肺间质疾病的常见并发症,患者预后差且生存期较短。其主要病理生理改变涉及肺泡上皮细胞的死亡和成纤维细胞的异常增殖、合成胶原等。既往研究表明应用丹参酮II A2可激活ACE2-Ang(1~7)轴,有效改善博来霉素诱导的大鼠肺纤维化和炎症反应^[23]。孟莹等^[24]也同样证实了ACE2-Ang(1~7)轴可有效缓解大鼠肺纤维化。上述研究表明ACE2可抑制肺纤维化的发生及进展。

研究表明在发育成熟的肺组织中ACE2主要来源于静息状态下的AT II,而在凋亡/死亡的AT II中ACE2表达显著下降甚至缺失^[25]。敲低AT II中ACE2的表达或抑制其活性,则可增加AT II中Ang II自分泌,诱导细胞凋亡。目前认为肺泡上皮细胞的凋亡是肺纤维化发生的关键。研究表明以ACE2水解Ang II产物Ang(1~7)预处理AECs细胞,激活MAS受体, c-Jun氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK)的磷酸化,进而缓解Ang II以及其他促凋亡因素介导的II型肺泡上皮细胞的凋亡^[25]。此外,Ang(1~7)还可抑制TGF- β 诱导AT II的上皮-间皮转化,进而阻止肺纤维化的发生^[26]。上述研究表明ACE2在维持AT II细胞存活、稳定功能上发挥关键作用。

此外,肺成纤维细胞功能异常在肺纤维化发生、进展中起到关键作用。Meng等^[27]研究则表明Ang II可显著增加肺成纤维细胞中NADPH氧化酶(NADPH oxidase 4, NOX4)和ROS水平,促进 α -胶原I的合成和细胞迁移。而过表达ACE2或用Ang(1~7)干预可显著抑制Ang II介导NOX4-ROS-RhoA/ROCK以及MAPK/NF- κ B信号转导通路,抑制 α -胶原I的合成和细胞迁移,降低肺纤维化的发生。

六、ACE2在肺动脉高压中的作用

肾素-血管紧张素系统异常被认为是肺动脉高压发生、进展的主要病理机制之一。目前研究焦点主要集中在Ang II。研究发现其可通过引起血管异常收缩,促进内皮细胞异常增殖及诱导内皮炎症反应,导致肺动脉高压的发生及进展^[28-29]。因此, Ferreira等^[30]应用ACE2激动剂1-[(2-二

甲氨基)乙基氨基]-4-(羟甲基)-7-[(4-甲基苯基)磺酰氧]-9H-黄酮-9-酮(1-[(2-dimethylamino)ethylamino]-4-(hydroxymethyl)-7-[(4-methylphenyl)sulfonyl oxy]-9H-xanthene-9-on, XNT)皮下注射野百合碱诱导的肺动脉高压模型鼠,发现其可显著降低肺动脉压,减少血管厚度,抑制肺组织炎症反应。同样, HampI等^[31]发现过表达ACE2可减缓慢性低氧诱导肺动脉高压的发生。上述研究表明ACE2可抑制肺动脉高压的发生及进展,有望成为治疗肺动脉高压的靶点。

七、结论和展望

目前认为ACE2通过与SARS-CoV-2和SARS中的S蛋白绑定,促进病毒进入呼吸道靶细胞,发挥功能性受体作用。既往大量研究证实ACE2参与包括肺部炎症反应发生、进展及修复等多个过程,在肺损伤及肺部炎症中发挥着重要的保护作用,其功能的发挥主要依赖于对Ang II的水解,Ang(1~7)-Mas轴和对ACE的抑制作用。此外,对于罹患COVID-19的高血压患者,在严密监测血压的情况下可以考虑应用ACEI及ARB。

综上,ACE2是治疗肺部疾病的重要靶点。尽管ACE2在肺部疾病中的作用日渐明晰,但其作用机制并未明确。首先,目前ACE2在SARS-CoV-2的作用尚需直接证据验证,其作用机制仍需进一步挖掘;其次,ACE2不仅可定位于细胞膜,还被发现存在于细胞核中^[32-33],具体发挥何种功能尚不得而知。第三,ACE2与TLR4受体相互影响,进而影响炎症反应^[34],是否存在其他受体/蛋白对细胞表面ACE2的功能有影响?基于此,一方面需要研发ACE2相关的药物制剂用于肺部疾病的治疗,另一方面需要进一步深入探索ACE2的分子机制,为肺部疾病的治疗提供理论基础。

参 考 文 献

- [1] Patel S, Rauf A, Khan H, et al. Renin-angiotensin-aldosterone (RAAS): The ubiquitous system for homeostasis and pathologies[J]. *Biochem Pharmacol*, 2017, 94: 317-325.
- [2] Gheblawi M, Wang K, Viveiros A, et al. Angiotensin-converting enzyme 2: SARS-CoV-2 receptor and regulator of the renin-angiotensin system[J]. *Circ Res*, 2020, 126(10): 1457-1475.
- [3] Li Y, Zhou W, Yang L, et al. Physiological and pathological regulation of ACE2, the SARS-CoV-2 receptor[J]. *Pharmacol Res*, 2020, 157: 104833.
- [4] Zhou P, Yang XL, Wang XG, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin[J]. *Nature*, 2020, 579(7798): 270-273.
- [5] Wan Y, Shang J, Graham R, et al. Receptor recognition by novel coronavirus from Wuhan: An analysis based on decade-long structural studies of SARS[J]. *J Virol*, 2020, 94(7): e00127-20.
- [6] Michael L, Andrea M, Vincent M. Functional assessment of cell entry and receptor usage of SARS-CoV-2 and other lineage B betacoronaviruses[J]. *Nat Microbiol*, 2020, 5(4): 562-569.
- [7] He X, Zhang L, Ran Q, et al. Integrative bioinformatics analysis

- provides insight into the molecular mechanisms of 2019-nCoV[J]. Med Rxiv,2020. [Online ahead of print].
- [8] Wrapp D, Wang N, Corbett KS, et al. Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation[J]. Science, 2020,367(6483):1260-1263.
 - [9] Sominen HK, Boivin GP, Elased KM. Daily exercise training protects against albuminuria and angiotensin converting enzyme 2 shedding in db/db diabetic mice[J]. J Endocrinol,2014,221(2):235-251.
 - [10] Markus H, Hannah KW, Simon S, et al. SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by clinically-proven protease inhibitor[J]. Cell,2020,181(2):271-280.
 - [11] Yumiko Imai, Keiji Kuba, Shuan Rao, et al. Angiotensin-converting enzyme 2 protects from severe acute lung failure[J]. Nature,2005, 436(7047):112-116.
 - [12] Li W, Moore MJ, Vasilieva N, et al. Angiotensin-converting enzyme 2 is a functional receptor for the SARS coronavirus[J]. Nature,2003,426(6965):450-454.
 - [13] Kuba K, Imai Y, Rao S, et al. A crucial role of angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) in SARS coronavirus-induced lung injury[J]. Nat Med,2005,11(8):875-879.
 - [14] Wang D, Chai XQ, Magnusson CG, et al. Renin-angiotensin-system, a potential pharmacological candidate, in acute respiratory distress syndrome during mechanical ventilation[J]. Pulm Pharmacol Ther,2019,58:101833.
 - [15] Ding Y, Wang H, Shen H, et al. The clinical pathology of severe acute respiratory syndrome (SARS): a report from China[J]. J Pathol,2003,200(3):282-289.
 - [16] Miura TA. Respiratory epithelial cells as master communicators during viral infections [J]. Curr Clin Microbiol Rep,2019,6(1):10-17.
 - [17] Qian Z, Travanty EA, Oko L, et al. Innate immune response of human alveolar type II cells infected with severe acute respiratory syndrome-coronavirus[J]. Am J Respir Cell Mol Biol,2013,48(6):742-748.
 - [18] Jia H. Pulmonary angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) and inflammatory lung disease[J]. Shock,2016,46(3):239-248.
 - [19] Blanco-Melo D, Nilsson-Payant BE, Liu WC, et al. Imbalanced Host Response to SARS-CoV-2 Drives Development of COVID-19[J]. Cell,2020,181(5):1036-1045.
 - [20] Ye J, Zhang B, Xu J, et al. Molecular pathology in the lungs of severe acute respiratory syndrome patients[J]. Am J Pathol,2007,170(2):538-545.
 - [21] Imai Y, Kuba K, Rao S, et al. Angiotensin-converting enzyme 2 protects from severe acute lung failure[J]. Nature,2005,436(7047):112-116.
 - [22] Trembl B, Neu N, Kleinsasser A, et al. Recombinant angiotensin-converting enzyme 2 improves pulmonary blood flow and oxygenation in lipopolysaccharide-induced lung injury in piglets[J]. Crit Care Med,2010,38(2):596-601.
 - [23] Wu H, Li Y, Wang Y, et al. Tanshinone II A attenuates bleomycin-induced pulmonary fibrosis via modulating angiotensin-converting enzyme 2/angiotensin-(1-7) axis in rats[J]. Int J Med Sci,2014,11(6):578-586.
 - [24] 孟莹, 余常辉, 蔡绍曦, 等. 血管紧张素1-7对博来霉素诱导大鼠肺纤维化的抑制作用[J]. 中华医学杂志,2013,93(20):1585-1589.
 - [25] Uhal BD, Li X, Xue A, et al. Regulation of alveolar epithelial cell survival by the ACE-2/angiotensin 1-7/Mas axis[J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol,2011,301(3):L269-274.
 - [26] Shao M, Wen ZB, Yang HH, et al. Exogenous angiotensin (1-7) directly inhibits epithelial-mesenchymal transformation induced by transforming growth factor- β 1 in alveolar epithelial cells[J]. Biomed Pharmacother,2019,117:109193.
 - [27] Meng Y, Yu CH, Li W, et al. Angiotensin-converting enzyme 2/ angiotensin-(1-7)/Mas axis protects against lung fibrosis by inhibiting the MAPK/NF- κ B pathway[J]. Am J Respir Cell Mol Biol,2014,50(4):723-736.
 - [28] Morrell NW, Stenmark KR. The renin-angiotensin system in pulmonary hypertension[J]. Am J Respir Crit Care Med,2013,187(10):1138-1139.
 - [29] Ishikane S, Hosoda H, Nojiri T, et al. Angiotensin II promotes pulmonary metastasis of melanoma through the activation of adhesion molecules in vascular endothelial cells[J]. Biochem Pharmacol,2018,154:136-147.
 - [30] Ferreira AJ, Shenoy V, Yamazato Y, et al. Evidence for angiotensin-converting enzyme 2 as a therapeutic target for the prevention of pulmonary hypertension[J]. Am J Respir Crit Care Med,2009,179(11):1048-1054.
 - [31] Hampl V, Herget J, Bibová J, et al. Intrapulmonary activation of the angiotensin-converting enzyme type 2/angiotensin 1-7/G-protein-coupled Mas receptor axis attenuates pulmonary hypertension in Ren-2 transgenic rats exposed to chronic hypoxia[J]. Physiol Res,2015,64(1):25-38.
 - [32] Gwathmey TM, Alzayadneh EM, Pendergrass KD, et al. Novel roles of nuclear angiotensin receptors and signaling mechanisms[J]. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol,2012,302(5):R518-530.
 - [33] Gwathmey TM, Pendergrass KD, Reid SD, et al. Angiotensin-(1-7)-angiotensin-converting enzyme 2 attenuates reactive oxygen species formation to angiotensin II within the cell nucleus[J]. Hypertension, 2010,55(1):166-171.
 - [34] Ye R, Liu Z. ACE2 exhibits protective effects against LPS-induced acute lung injury in mice by inhibiting the LPS-TLR4 pathway[J]. Exp Mol Pathol,2019,113:104350.

(收稿日期: 2020-03-03)

(本文编辑: 孙荣华)

孙芬芬, 贺斌峰, 何勇. 血管紧张素转化酶2在冠状病毒感染所致肺损伤及其他肺部疾病中研究进展[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志 (电子版), 2021,15(1):7-10.