

· 综 述 ·

肝硬化患者肠源性内毒素血症发生的机制及干预方法

陶 林¹综述,陈东风²审校(1. 第三军医大学学员旅 17 队,重庆 400038;2. 第三军医大学
大坪医院消化内科,重庆 400042)**关键词:**肝硬化;内毒素血症;肠道细菌过度生长;肠黏膜屏障

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2011.14.024

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2011)14-1409-03

肝硬化是一种由不同病因引起的慢性、进行性、弥散性肝病,其主要组织学表现是肝脏的纤维组织弥散性增生。肝硬化患者随着肝功能的减退和门静脉高压的不断进展,发生内毒素血症的概率逐渐增大,也加速肝硬化进展。内毒素水平与 Child-Pugh 分级存在正相关关系,分级越高,血清内毒素水平越高^[1]。内毒素在促进肝脏纤维化的多个环节中起到了重要作用,同时与肝硬化患者的感染、腹水、上消化道出血、肝肾综合征、肝性脑病等并发症也存在密切关系^[2]。内毒素血症的发生主要与肝硬化肠道菌群失调、肠道细菌过度生长、肠黏膜屏障功能障碍以及机体免疫力下降有关。因此,近年来关于内毒素血症的发生机制以及干预方面的研究也越来越多。

1 肝硬化患者内毒素血症发生的机制

1.1 肠道菌群失调 菌群失调是指机体某部位正常菌群中各菌种间的比例发生较大幅度变化而超出正常幅度的状态。在正常机体中,肠道专性厌氧菌占 99% 以上,其数量远远超过革兰阴性菌,这种以肠道厌氧菌作为绝对优势形成的微生物屏障在很大程度上限制了有致病作用的肠道微生物及其产物与黏膜上皮接触,并通过产生细菌素、抗菌肽类物质发生强大的生物拮抗作用。其生物学功能包括维持肠道正常生理结构和功能以及刺激机体免疫功能的建立^[3]。肝硬化发生后,肝脏正常功能减退,肠蠕动减慢,肠道自主清除能力下降,使过路菌接触、黏附黏膜的概率增大;肠黏膜内 pH 下降,肠腔内 pH 升高,使细菌生长受到影响;门静脉高压时肠道淤血、水肿、缺血、缺氧使肠壁局部抵抗力下降;肠腔内胆盐缺乏、机体免疫力下降等因素均导致肠腔内微生态环境遭到破坏,引起菌群紊乱,细菌比例失调^[4]。有研究表明,肝硬化患者双歧杆菌、拟杆菌、真杆菌量明显低于正常组,而大肠杆菌、产气荚膜杆菌明显高于正常组,且内毒素水平与大肠杆菌量存在正相关性^[5]。Norman 和 Pirlich^[6] 发现,肝硬化患者发生肠道菌群紊乱与肠黏膜损伤也有密切的关系。因此,肝硬化患者菌群失调、大肠杆菌比例升高是内毒素血症发生的一个重要因素。

1.2 肠道细菌过度生长 有研究证明,肝硬化患者肠道细菌的过度生长与血清内毒素水平有密切相关性^[7]。内毒素是革兰阴性菌细胞壁的重要组成成分,细菌的过度生长使肠道内毒素含量升高,因而增加了内毒素血症发生的危险性。肝硬化患者肠道细菌过度生长的机制包括胆汁酸缺乏、肠道运动障碍、胃酸缺乏、机体应激反应以及抗生素的应用^[8]。肝硬化发生后,肝脏胆汁酸排泄障碍,胆汁酸对于细菌的抑制及 pH 的调节作用减弱,进而引起细菌的过度繁殖;同时,人体的肠道蠕动是机体清除细菌的一种重要机制,肝硬化合并门静脉高压时,肠

黏膜充血、水肿影响小肠的消化间期收缩运动。有研究表明,门静脉高压患者的胃、小肠排空时间比健康者明显延长^[9],肠内容物的滞留也将导致细菌的过度繁殖;此外,门静脉高压性患者胃肠道淤血、黏膜水肿,使得胃肠道分泌吸收功能障碍,因此,胃酸缺乏也是肝硬化患者引起细菌过度繁殖的重要因素。

1.3 肠黏膜屏障功能障碍 肠黏膜屏障由微生物屏障、机械屏障、化学屏障、免疫屏障构成。正常情况下,肠黏膜屏障能阻止肠道内细菌及其分解产物经肠壁扩散至机体内。肝硬化对肠黏膜的损害机制主要包括肠黏膜上皮屏障受损、肠道免疫屏障受损以及肠道生态失调^[10]。在肝硬化发生后,肠道的菌群失调直接导致肠道微生物屏障的破坏。肠道机械屏障由肠道黏液层、肠黏膜上皮细胞、细胞间紧密连接、上皮基底膜、黏液下固有层等构成,肠黏膜细胞间的紧密连接是肠黏膜功能的重要因素之一。舒建昌等^[11]发现肝硬化患者存在十二指肠肠黏膜超微结构的改变,表现为肠黏膜上皮细胞微绒毛减少、变短,肠黏膜上皮细胞紧密连接间隙增宽以及线粒体肿胀,其紧密连接间隙的增宽直接导致肠道机械屏障降低。大量实验表明,大多数肝硬化患者可引起肠道通透性增加,使得细菌更易通过肠壁进入血液循环。除此之外,肝硬化患者往往伴有营养不良,使机体缺乏蛋白质和微量元素。Alverdy 等^[12]在大鼠实验中证实,蛋白质缺乏干扰肠黏膜中淋巴组织的质量以及细胞数量显著下降。肝硬化患者的低蛋白血症,使分泌型免疫球蛋白(sectelory immunoglobulin, SIgA)减少,降低了肠黏膜抗感染的免疫功能。

1.4 肝硬化患者机体免疫力下降 肝硬化患者自身机体免疫力下降是发生内毒素血症的一个重要因素。在肝硬化发生后,肝脏的生物合成能力下降,补体生成不足,补体介导的免疫调节作用减弱,吞噬细胞吞噬及灭活功能下降,从而使机体全身及局部免疫功能下降。肠黏膜 B 淋巴细胞能够产生 SIgA 在肠内可选择性包绕细菌和内毒素,形成抗原抗体复合物,防止细菌黏附于肠黏膜,进而对避免发生内毒素血症产生一定的作用。Spaeth^[13]发现肝硬化大鼠体内 SIgA 分泌减少,说明肝硬化的发生影响了 SIgA 的分泌。机体免疫力的下降使得机体清除内毒素的能力减弱,进而促进了内毒素血症的发生。

2 内毒素血症的病理生理意义

Markel 等^[14]研究表明,细菌内毒素主要通过抑制新生肠上皮的迁移和减弱细胞因子的修复作用从而导致局部肠黏膜损害,进而加重内毒素的入侵。在内毒素诱导的肝损伤中, Kupffer 细胞活化及其释放 TNF- α 是介导肝损伤的主要媒介^[15]。发生肝硬化的肝脏对内毒素的损伤更为敏感,内毒素

可激活 Kupffer 细胞释放 TNF- α , 引起肝脏的炎症反应。TNF- α 能够促进 TGF-B 刺激细胞外基质合成, 同时促进肝星状细胞 (hepatic stellate cell, HSC) 增殖并向成纤维细胞转化, 使纤维连接蛋白、蛋白多糖等细胞外基质增多; 另一方面, TNF- α 能够激活中性粒细胞并黏附于肝窦内皮细胞产生和释放氧自由基, 可直接刺激 HSC, 引起胶原生成增多^[16]。有实验证明, 在肝硬化大鼠模型复制过程中, 加入内毒素组大鼠肝组织匀浆胶原蛋白含量明显高于未加入内毒素组, 说明内毒素可促进肝纤维增生并发展为肝硬化^[17]。此外, 内毒素在诱发非酒精性脂肪性肝炎 (non-alcoholic steatohepatitis, NASH) 中也起到了重要作用, 其机制为内毒素激活肝脏 Kupffer 细胞和脂肪组织中巨噬细胞后, TNF- α 和游离脂肪酸 (free fatty acids, FFA) 生成增多, TNF- α 促进胰岛素受体底物 (IRS-1, IRS-2) 的丝氨酸磷酸化引起胰岛素抵抗 (insulin resistance, IR), TNF- α 也促进了脂肪的分解, FFA 形成增多, FFA 水平增高抑制胰岛素受体酪氨酸激酶的活性, 加重 IR^[18]。Frances 等^[19] 发现 TNF- α 抗体可明显减少内毒素血症的发生率。内毒素血症可导致肝硬化患者出、凝血功能障碍, 诱发和加重肝性脑病, 促进腹水形成, 直接或间接参与门静脉高压时侧支循环的开放以及胃底食管静脉曲张的形成^[20]。预防和减少肝硬化患者内毒素血症的发生对于肝硬化患者并发症的减少有重要意义。

3 肝硬化患者发生内毒素血症的干预

3.1 合理使用抗生素以及微生态制剂 合理使用抗生素, 根据药敏试验尽量选取窄谱抗生素并控制好药物使用时间, 减少对肠道微生态的破坏。肝硬化发生肠道菌群紊乱后, 乳酸杆菌、双歧杆菌等细菌比例减少, 可通过选用微生态制剂来调节肠道菌群紊乱。韩宇^[21] 通过对肝硬化患者使用微生态制剂进行辅助治疗, 证明微生态制剂对于改善肝硬化患者临床症状有肯定作用, 并可降低血氨及血浆内毒素水平, 有利于肝功能的改善。同时, 微生态制剂还能够通过生物拮抗作用抑制有害细菌的过度生长, 维持肠内微生态屏障; 其代谢过程中产生的酸性物质降低肠道 pH, 也能达到抑制细菌过度生长的作用。微生态制剂益生元中的乳果糖在临床应用中已取得肯定的疗效, 有研究表明, 对门静脉高压的大鼠使用乳果糖后, 能明显增加细胞间紧密连接蛋白的表达, 维持肠上皮的紧密连接, 降低肠道通透性, 进而改善肠黏膜屏障功能, 降低细菌移位和血清内毒素的水平^[22]。

3.2 促进胃肠动力药物和抗氧化剂的使用 使用促肠动力药物可以改善和恢复肠道动力, 加强肠道蠕动力, 减少细菌在肠道的滞留时间, 加快内毒素清除速度^[23], 减轻肠道淤血状态。抗氧化剂的使用能够减少氧自由基对肠黏膜的损伤, 对肠黏膜屏障起到保护作用, 进而加强机体对内毒素的防御功能。

3.3 营养支持、增强黏膜抗损伤能力和修复能力 肝硬化患者存在营养不良和肝功能损害, 存在不同程度的能量代谢异常。表皮生长因子和胰岛素样生长因子-1 能够促进肠黏膜营养, 防止肠黏膜损伤和促进肠黏膜的修复。谷氨酰胺是小肠黏膜和免疫细胞的主要能源物质, 赵平等^[24] 通过给肝硬化大鼠口服谷氨酰胺观察到实验组比对照组肠黏膜厚度、肠绒毛高度明显增加, 证实谷氨酰胺对肠黏膜的修复有很重要的促进作用。

3.4 血液净化和中和内毒素试剂的使用 对于发生内毒素血

症的肝硬化患者, 内毒素对机体的损害可引起严重的全身反应。降低体内毒素的含量是减轻患者中毒症状的重要手段。目前采用将多黏菌素 B 或活性炭或抗脂多糖抗体连接到血浆滤过柱微球表面, 降解和吸附内毒素, 从而降低血浆内毒素的含量^[25]。中和内毒素试剂通过与内毒素的结合形成复合物, 通过机体的免疫机制排除体外, 进而减少内毒素对机体的直接损害作用。随着分子和细胞生物学技术的发展, 通过阻断内毒素信号转导成为治疗内毒素血症的新型手段。

参考文献:

- [1] 钟转华, 陈渝萍. 内毒素在肝硬化病情演变中的重要性及干预价值[J]. 河北医学, 2010, 16(1): 25-27.
- [2] 钟转华, 陈渝萍. 内毒素与肝硬化并发症的关系及其治疗进展[J]. 临床荟萃, 2010, 25(4): 366-368.
- [3] 管远志. 肠道菌群及其生物学意义[J]. 临床儿科杂志, 2009, 27(11): 1095-1097.
- [4] 朱戎, 李菊兰, 万苹, 等. 肠道菌群调整对肝硬化患者临床症状及实验室指标的观察[J]. 中国微生态学杂志, 1999, 11(1): 43-44.
- [5] 华静, 李继强, 曾民德, 等. 肝硬化患者肠道菌群的研究[J]. 中华肝脏病杂志, 1998, 6(2): 79-81.
- [6] Norman K, Pirlich M. Gastrointestinal tract in liver disease; which organ is sick[J]. Curr Opin Clin Nutr Metab Care, 2008, 11(5): 613-619.
- [7] Bauer TM, Schwacha H, Steinbruckner B, et al. Small intestinal bacterial overgrowth in human cirrhosis is associated with systemic endotoxemia[J]. Am J Gastroenterol, 2002, 97(9): 2364-2370.
- [8] 费中明, 郑临. 肝硬化与小肠细菌过度生长[J]. 浙江临床医学, 2008, 10(9): 1272-1273.
- [9] Sadik R, Abrahamsson H, Bjornsson E, et al. Etiology of portal hypertension may influence gastrointestinal transit[J]. Scand J Gastroenterol, 2003, 38(10): 1039-1044.
- [10] 殷璩, 陈维雄. 肝硬化对肠黏膜屏障的损害[J]. 国际消化病杂志, 2008, 28(4): 287-291.
- [11] 舒建昌, 李琪毅, 杨绮红, 等. 肝硬化患者十二指肠肠黏膜超微结构的改变及其意义[J]. 中华肝脏病杂志, 2007, 15(4): 254-257.
- [12] Alverdy J, Zaborina O, Wu L. The impact of stress and nutrition on bacterial host interactions at the intestinal epithelial surface[J]. Curr Opin Clin Nutr Metab Care, 2005, 8(2): 205-257.
- [13] Spaeth G. Secretory immunoglobulin A, intestinal mucin, and mucosal permeability in nutritionally induced bacterial translocation in rats[J]. Ann Surg, 1994, 220(6): 798-808.
- [14] Markel TA, Crisostomo PR, Wairiuko GM, et al. Cytokines in necrotizing enterocolitis[J]. Shock, 2006, 25(4): 329-337.
- [15] Higuchi Y, Kawakami S, Yamashita F, et al. The potential role of fucosylated cationic liposome/NF kappaB decoy

- complexes in the treatment of cytokine-related liver disease [J]. *Biomaterials*, 2007, 28(3): 532-539.
- [16] 赵龙凤, 李红, 韩德五. 肠源性内毒素血症在肝硬化发生发展中的作用[J]. *中华肝脏病杂志*, 2001, 9(增刊): 21-23.
- [17] 刘欣, 韩德五, 郭建红, 等. 内毒素在 NASA 发展为肝纤维化中的作用[J]. *山西医科大学学报*, 2010, 41(6): 488-490.
- [18] 刘欣, 韩德五, 郭建红, 等. 内毒素诱发非酒精性脂肪性肝炎的机制[J]. *山西医科大学学报*, 2010, 41(5): 400-403.
- [19] Frances R, Chiva M, Sanchez E, et al. Bacterial translocation is down regulated by anti-TNF-alpha monoclonal antibody administration in rats with cirrhosis and ascites [J]. *J Hepatol*, 2007, 46(5): 797-801.
- [20] 王吉耀. 重视肝硬化内毒素血症的研究[J]. *胃肠病学*, 1999, 4(2): 67-68.
- [21] 韩宇. 微生态制剂治疗肝硬化肠功能紊乱患者的临床观察[J]. *中华微生物学杂志*, 2007, 19(1): 74-77.
- [22] 王超, 杨镇, 肖亮, 等. 乳糖对门静脉高压鼠肠道屏障功能的影响[J]. *外科理论与实践*, 2010, 15(1): 34-37.
- [23] 史洪涛, 冷恩仁, 陈东风. 胃肠动力与肠源性内毒素血症关系的动物实验研究[J]. *第三军医大学学报*, 2001, 23(10): 1249-1250.
- [24] 赵平, 董蕾, 罗金燕. 谷氨酰胺对肝硬化大鼠肠黏膜的保护作用[J]. *西安医科大学学报*, 1999, 20(3): 332-333.
- [25] 刘肄辉. 肝硬化内毒素血症的发生机制及治疗进展[J]. *浙江中西医结合杂志*, 2007, 17(8): 528-529.

(收稿日期: 2011-01-08)

凝血栓蛋白 1 在肿瘤发生和转移中的作用

于妍妍¹综述, 陈东风²审校

(1. 第三军医大学学员旅 17 队, 重庆 400038; 2. 第三军医大学大坪医院消化内科, 重庆 400042)

关键词: 转化生长因子 β ; 肿瘤; 凝血栓蛋白 1 基因; 血管发生

doi: 10.3969/j.issn.1671-8348.2011.14.025

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2011)14-1411-03

凝血栓蛋白 1(thrombospondin-1, TSP-1)于 20 世纪 70 年代首次被发现, 主要储存在血小板的 α 颗粒内, 在血小板被激活时释放^[1]. TSP-1 与同家族成员 TSP-2 都具有 I 型重复单位, 在肿瘤微环境中具有抗血管生成的作用, 而家族成员 TSP-3, -4 和 -5 不具有此种结构和功能^[2].

研究发现, TSP-1 在不同肿瘤的发展中起到的作用不一致, 在同一种肿瘤的不同发展时期, TSP-1 的抑癌和促癌作用也不一致. 这种现象的出现可能与 TSP-1 蛋白结构和功能的复杂性有关, 也可能与机体细胞对 TSP-1 基因产物 TSP-1 蛋白的耐受性有关. 另外 TSP-1 激活的各类下游信号转导通路, 作用的稳定性和持续性也会影响到 TSP-1 在肿瘤发展中的调节机制, 尤其是转化生长因子 β (transforming growth factor-beta, TGF- β)通路.

1 TSP-1 的表达受多种因素的调节

基于 TSP-1 基因在肿瘤生长调节中作用的复杂性, 目前对于 TSP-1 属于抑癌基因还是癌基因仍存在一定的争议和困惑. 而且, TSP-1 的表达同时受到其他多种抑癌基因和癌基因的调节.

1.1 抑癌基因对 TSP-1 表达的调节 p53 基因是目前研究较多的调节 TSP-1 基因表达的抑癌基因之一. p53 基因可以诱导细胞生长停滞和细胞凋亡, 在进展性卵巢上皮癌以及胶质瘤等多种肿瘤组织中已经检测到 p53 基因的表达与 TSP-1 表达呈正相关. Volpert 等^[3]发现, 在野生型 p53 功能丢失的同时有 TSP-1 表达减弱且有明显的肿瘤血管生成增多. 在黑色素瘤内, 若出现 p53 基因的变异和 TSP-1 基因的表达缺失, 可以在肿瘤及其周围组织发现明显的肿瘤血管生长, 同时会影响肿

瘤的转移情况. 但是, 在结肠癌病例以及前列腺癌组织中却发现了 p53 基因与 TSP-1 基因表达呈负相关性^[4]. 更有其他研究显示在对血管生成要求不高的胆管癌病例中, 发现 p53 基因表达与 TSP-1 基因并没有明显的关系. 此类研究结果表明, TSP-1 基因表达受 p53 基因表达控制, 可能是基于肿瘤血管生成的调节, 并且具有细胞和组织的特异性.

现阶段发现可以调节 TSP-1 基因表达的其他抑癌基因包括人第 10 号染色体缺失的磷酸酶及张力蛋白同源基因 PTEN, Smad4, WT1 基因等. 前两者与 TSP-1 的表达呈正相关, 它们可以直接上调 TSP-1 基因或者通过上调 p53 基因间接对 TSP-1 起到上调作用. 而 WT1 基因则通过与 TSP-1 基因上游启动子结合, 下调 TSP-1 基因的表达.

1.2 癌基因对 TSP-1 表达的调节 癌基因对 TSP-1 表达的调节大多数是负向的, 现检测到的此类癌基因包括 C-myc, ras, C-jun, v-src, 分化抑制因子 Id1 等^[5]. 其中 C-myc 可以促进 TSP-1 基因 mRNA 的转化和降解以下调 TSP-1, ras 对 TSP-1 的下调是通过磷酸化活化 C-myc 基因来实现的^[6-7].

1.3 其他 TSP-1 基因的表达除了受到抑癌基因和癌基因表达的调控外, 还受到多种细胞因子的调节, 如成纤维生长因子(Fibroblast growth factor, FGF). Mattila 等^[8]对乳腺癌细胞的检测发现 FGF8 表达的增多导致 TSP-1 表达降低, 使得癌组织和肿瘤血管的生长增多. 但此种调节作用的具体机制仍不清楚. 另有研究发现, 在血管平滑肌细胞中, FGF2 可以通过激活 p53 上调 TSP-1 的表达^[9].

2 TSP-1 对肿瘤的生长和转移的调节

TSP-1 对肿瘤发展具有多方面的调节作用, 抑癌作用和促