

脓毒症诱导的肠损伤及其防治措施的研究进展

李香琴,马晓媛,田李星 综述,梁华平 审校

(第三军医大学大坪医院野战外科研究所/创伤烧伤与复合伤国家重点实验室,重庆 400042)

〔关键词〕 脓毒症;肠损伤;预防;治疗

〔中图分类号〕 R3 〔文献标识码〕 A 〔文章编号〕 1671-8348(2016)11-1571-03

脓毒症是一种由感染引起的全身炎症反应综合征,是目前住院患者最大的威胁之一。而肠道在脓毒症的发病机制中起着至关重要的作用,肠道既是脓毒症受累的重要器官之一,又是加重脓毒症反应的器官。正常情况下,肠道细菌及其产物与肠道黏膜屏障存在动态平衡,肠道黏膜屏障可以防止水分和电解质的丢失,阻止抗原和微生物进入体内,同时又可以使人体和环境实现分子交换,从而摄取食物中的营养物质^[1]。因此,完整的肠黏膜屏障是防止肠源性疾病和保障身体营养供应必不可少的。脓毒症时,肠道内环境平衡失调,炎性因子产物增加,细胞凋亡增多,肠道黏膜屏障受到破坏,肠黏膜通透性发生改变,致使肠道菌群失调,进而引发菌血症和多器官功能衰竭。因此,肠道在脓毒症的发生、发展过程中起着重要的作用。

1 脓毒症诱发的肠损伤

1.1 通透性改变 肠上皮细胞和细胞间的紧密连接共同构成肠的选择性屏障,使肠内容物选择性通过而阻止抗原、微生物及其毒素进入机体。脓毒症时,各种炎性因子及内毒素等可通过影响紧密连接蛋白的表达和分布,使紧密连接遭到破坏,肠黏膜屏障受损,通透性增加,肠道细菌及毒素透过肠黏膜上皮引起肠源性感染,进而导致多器官功能衰竭。研究表明,肌球蛋白轻链激酶(mlck)活性增加将导致肌球蛋白轻链磷酸化和肌球蛋白依赖的 Mg^{2+} -ATPase 通道开放,肠通透性增加^[2]。

1.2 肠动力改变 正常生理条件下,肠道节律性收缩、舒张,通过蠕动吸收营养物质,排出废物。脓毒症时,肠道组织损伤,生理环境被破坏,肠动力学功能发生改变。Eskandari 等^[3]发现脂多糖(LPS)活化肠道定居的巨噬细胞,使其诱导型一氧化氮合酶(iNOS)表达升高,一氧化氮(NO)产生增多,减弱肠的收缩反应,提示 NO 在脓毒症诱导的肠损伤中起着重要作用。Gonzalo 等^[4]发现 LPS 通过丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)途径影响小肠平滑肌的收缩性,LPS 与 TLR4 结合启动下游的 MAPK 信号通路,进而上调细胞外信号调节激酶(ERK)、p38、C-Jun 氨基末端激酶(JNK)的表达,使炎性因子和自由基生成增多,损伤肠黏膜平滑肌。

1.3 菌群失调及移位 正常机体内寄居着多种微生物菌群,它们以微生态平衡的方式共生于人体肠道内,其中 99% 由厌氧菌构成。脓毒症导致肠道微生态失衡,厌氧菌数量下降,病原菌的黏附及定植能力大大增强,病原微生物可透过肠黏膜屏障进入血液及淋巴液,通过血液循环到达全身各个部位,引起肠源性感染。在严重打击下,肠道致病菌增加的同时,益生菌则明显减少,而肠道益生菌数量的下降,可能更加促进了致病菌对肠上皮的黏附和细菌移位。

2 脓毒症诱导的肠损伤机制

2.1 细胞因子及黏附分子增多 脓毒症的发病本质是过度的

炎性反应,机体的免疫系统被激活,产生大量炎性因子,并且肠道也被认为是产生炎性因子的器官。

2.1.1 TNF- α 有学者研究发现 TNF- α 可以通过核转录因子- κ B(NF- κ B) p50/p65 途径来上调 MLCK 基因的活性和转录,从而提高肌球蛋白轻链激酶(MLCK)蛋白水平来增加肠道通透性^[5]。Al-Sadi 等^[6]发现 TNF- α 可以通过 MAPK 途径来改变肠通透性,TNF- α 使 ERK1/2 快速活化,进而活化 Elk-1,活化的 Elk-1 结合到 MLCK 启动子上,使 MLCK 高度表达。

2.1.2 IL-6 研究表明 IL-6 在肠道和全身性炎症反应中都起着重要作用。有学者发现 IL-6 可以活化 JNK 及其亚基转录因子 AP-1,活化的 AP-1 进一步活化 claudin-2 基因,使 claudin-2 转录和表达增加,增加肠通透性^[7]。

2.1.3 IL-1 β IL-1 β 作为重要的促炎因子,在肠道的炎症应答中也起着重要作用。有学者发现 IL-1 β 增加肠通透性与 p38 激酶信号通路相关,IL-1 β 活化 p38 激酶下游的转录因子 ATF-2,使其转录入核并与 MLCK 启动子区域的 cAMP 反应元件结合,提高 MLCK 的表达^[8]。也有学者认为 IL-1 β 通过活化 MEKK-1 来活化经典的 NF- κ B 信号通路,使 p65/p50 入核启动 MLCK 的转录和翻译^[9]。

2.1.4 细胞间黏附分子(ICAM)与血管间黏附分子(VCAM) ICAM-1 是炎性反应早期白细胞募集的重要因素,VCAM-1 则在晚期白细胞浸润过程中起着关键作用。当肠黏膜屏障损伤时,细菌及其代谢产物进入机体活化免疫细胞,产生更多的促炎因子和趋化蛋白,后者使 ICAM-1 和 VCAM-1 水平升高,白细胞募集增多,组织炎症损伤加重。

2.2 上皮细胞凋亡增多 Piguet 等^[10]给小鼠注射一定剂量 TNF- α 后发现,肠绒毛的上皮细胞出现凋亡和脱落,肠黏膜 caspase 1、2、3、6 及 cathepsin D 的表达都升高,caspase 抑制剂(ZVAD-fmk)能明显逆转肠上皮细胞的凋亡和脱落,改善肠绒毛的萎缩,提示 TNF- α 诱导的凋亡蛋白酶 caspase 过度活化在肠黏膜损伤中起着重要作用。Coopersmith 等^[11]发现,抗凋亡蛋白 Bcl2 过度表达的转基因小鼠更能耐受因 caspase3 过度活化而引起的肠细胞的凋亡,提高实验动物的生存率。脓毒症时上皮细胞凋亡程度与肠道氧化应激水平相关,并认为这种过度凋亡可能是凋亡控制蛋白 Bcl-2/Bax 比例失调导致的,说明 caspase 调控的凋亡控制蛋白的异常表达对肠上皮细胞的凋亡发挥重要作用。

3 干预措施

目前对于丧失肠道屏障功能的患者,传统的治疗方法是使用抗菌药物来直接抵抗革兰阴性菌的侵袭,或是使用儿茶酚胺来改善肠的灌流功能。肠道黏膜屏障和菌群分布有着重要的意义,如何改善屏障功能和菌群分布也开始受到关注。此外,

一些药物在脓毒症诱发的肠损伤模型中对肠道屏障功能和通透性有一定的改善,这些药物在其他的人群或疾病中的疗效仍需要更多的干预试验去证实。

3.1 临床干预措施 目前临床上主要是通过肠内外营养支持和益生菌治疗来改善脓毒症诱发的肠损伤。肠内营养克服了肠外营养的不足,改善了营养物质不能与肠道黏膜接触的弊端,防止黏膜萎缩,增强胃肠道运动,降低肠道内菌群移位。研究证实,益生菌对脓毒症患者疾病的发展有着积极的作用,可以调理机体免疫力和维持胃肠道功能^[12]。益生菌已经越来越多地被应用到临床来预防感染和脓毒症的发生,但存在一定的安全性问题,在应用中受到一定的局限。

3.2 探索中的干预措施

3.2.1 干预炎性介质 脓毒症的发病本质是过度的炎性反应,大量的研究表明炎性因子高的患者更易死亡,并且阻断细胞因子可以改善实验动物的预后。炎性介质抑制剂或中和剂能有效改善实验动物的生命体征,降低死亡率。Dominguez 等^[13]用抗 TNF- α 的抗体治疗脓毒症小鼠后,发现其能逆转脓毒症诱发的肠损伤并提高实验动物的存活率。Zhao 等^[14]发现 Hsp90 抑制剂根赤壳菌素可以减轻脓毒症小鼠肠道炎性反应,改善肠道的通透性。然而,也有学者发现单一调控一种或几种特定的细胞因子并没有达到预期的治疗效果。

3.2.2 受体阻断剂或激动剂 张璐瑶等^[15]发现 β 受体阻断剂艾司洛尔能减少脓毒症大鼠细菌移位,降低肠黏膜损伤。其对肠黏膜的保护作用可能是通过改善肠的微循环、加强肠蠕动来实现。艾司洛尔还能抑制交感神经的过度活化,减轻炎性反应。Sharawy 等^[16]发现雌二醇受体激动剂能减少白细胞募集,改善肠道微循环。提示甾体类激素雌二醇对脓毒症诱导的肠损伤的保护潜能。Lehmann 等^[17]发现大麻素受体 2(CB2R)激动剂 HU308 能减少肠道白细胞的黏附和炎性介质的释放,提示靶向 CB2R 途径的药物可以作为治疗脓毒症的潜在药物。

3.2.3 干预信号通路

3.2.3.1 Nrf2-ARE 通路 Nrf2 是重要的抗氧化应激通路,正常情况下,Nrf2 以 Keap1-Nrf2 异二聚体的形式存在细胞质中,在受到自由基或化学因子刺激时,Nrf2 与 Keap1 解离并活化,活化的 Nrf2 进入细胞核,与抗氧化反应元件(ARE)结合,启动 ARE 下游的基因转录和表达以抵抗内外界的有害刺激。Li 等^[18]发现活化 Nrf2 抗氧化反应元件相关的信号通路能减少促炎因子 HMGB1,从而保护脓毒症诱导的肠损伤,提高大鼠的生存率。

3.2.3.2 I κ B/NF- κ B 通路 I κ B/NF- κ B 信号通路参与机体的免疫应答和炎性反应,NF- κ B 活化后启动下游的靶基因,使炎性因子和黏附分子表达增加。Yang 等^[19]发现重组人脑利钠肽(rhBNP)可以抑制 I κ B 的磷酸化和 NF- κ B 的活化,减少炎性介质 TNF- α 和 IL-6 的释放。Song 等^[20]证实茶黄素可以抑制 I κ B 磷酸化和降解,阻止 NF- κ B P65 入核,从而在转录水平降低 ICAM-1 和 VCAM-1 的表达,进而减少肠黏膜上皮细胞的损伤。

3.2.3.3 MAPK 通路 MAPK 是细胞内的一类丝氨酸、苏氨酸蛋白激酶,MAPK 信号途径主要包括 ERK1/2、JNK、p38 MAPK。Song 等^[20]证实茶黄素不仅可以抑制 NF- κ B 信号通路,还可以减少 JNK 的活化,减少炎性介质的生成。De Filipis 等^[21]发现褪黑激素可以抑制 p38 MAPK 的活化,从而减轻肠组织的氧化应激反应。

3.2.3.4 SCF/c-kit 通路 SCF/c-kit 信号通路对 Cajal 间质

细胞(ICCs)的生长和分化及维持其节律性有着重要的作用。Miao 等^[22]发现厚朴酚可以阻止脓毒症诱导的 c-kit 磷酸化及其天然配体干细胞因子(SCF)表达的降低,维持 ICCs 的功能,从而阻止脓毒症诱导的肠动力障碍。

3.2.3.5 TLRs 通路 TLRs 能够识别多种病原体相关分子模式(PAMPs),其中 TLR2、TLR4、TLR9 被认为与脓毒症的发病过程密切相关。Li 等^[23]发现黄连素能降低 TLR2、TLR4 及升高 TLR9 的表达,减少细胞因子 TNF- α 和 IL-6 的产生,从而维持紧密连接蛋白 ZO-1、occludin、claudin-4 的表达,减少肠黏膜细胞的死亡,改善脓毒症引起的肠通透性的增加。

3.2.4 氢气治疗 自 2007 年有学者报道低浓度的氢气(<4%)对局灶性脑缺血在灌注损伤有保护作用以来,越来越多的研究证实氢气对其他疾病也有保护作用。Li 等^[18]发现氢气能活化内源性抗氧化系统 Nrf2-ARE 通路,降低 HMGB1 的水平来发挥肠组织的保护作用,并能提高脓毒症小鼠的生存率。

3.2.5 大黄 研究表明,大黄可以抑制 NF- κ B 活性,减少炎性细胞因子释放而达到抑制炎性反应的作用;减少胃肠道细菌和真菌数量及种类,保护肠道正常菌群,减少肠源性感染的发生;降低血清中 HMGB-1 的水平,对脓毒症大鼠具有治疗作用^[24-25]。

3.2.6 谷氨酰胺 有学者发现在肠外营养中添加谷氨酰胺能调节肠上皮淋巴细胞分泌细胞因子,维持肠屏障功能^[26]。Tung 等^[27]发现谷氨酰胺通过增加肠黏膜免疫系统的 CD8 $\alpha\alpha$ +T 细胞受体(TCR) $\alpha\beta$ +肠上皮淋巴细胞(IELs)的比例来减轻肠道炎性反应,进而缓解肠上皮损伤。

3.2.7 其他药物 Ozturk 等^[28]发现来氟米特可以减少蛋白质和脂质的过氧化来减轻肠道的氧化损伤。有学者发现,一些内源性的物质如胰高血糖素样肽-2、褪黑激素、血红素加氧酶-1、脱氢异雄酮等都可以逆转脓毒症诱导的肠损伤,其保护机制有些还尚未明确。本团队前期研究发现,胍丁胺可能通过抑制 LPS 诱导的 NF- κ B 入核,减少炎性因子的合成和释放,对脓毒症小鼠的器官有保护作用,其对肠道的保护作用机制还有待证实。总之,胍丁胺具有强大的抗炎作用,在脓毒症等炎症相关疾病的治疗领域具有良好的应用前景。

4 展 望

尽管对脓毒症的研究取得了不少的成就,但脓毒症的防治仍是世界难题,全球脓毒症联盟及其创办成员发起了创办世界脓毒症日的号召,并将 2012 年 9 月 13 日定为首个世界脓毒症日。肠道在脓毒症的发生、发展过程中扮演者重要角色,脓毒症诱发肠损伤,而肠损伤又加重肠源性感染,促进脓毒症的发展。临床对肠黏膜损伤的诊断主要以肠功能障碍和衰竭的临床表现为依据,再辅以其他功能指标的检测。目前对脓毒症诱导的肠损伤研究中存在不足:(1)影响肠道屏障功能的因素是多方面的,其作用机制还不十分明了,缺乏一套成熟的反映肠道屏障受损的理论基础;(2)目前虽然发现某些分子或药物具有肠黏膜保护作用,但都缺乏肠道特异性,近年来的药物研究主要集中在开发特异性的炎性介质抑制剂、阻断剂或中和剂,尽管有些药物在动物模型上取得较好疗效,但其临床疗效还有待证实;(3)缺乏新的治疗手段,如干细胞治疗在辐射诱导的肠损伤中取得了一定进展,但在脓毒症诱导的肠损伤中的研究未见报道。未来的研究应加强对肠损伤发病机制的研究,寻找新的更有效的干预靶点和干预手段。

参考文献

[1] Brandtzaeg P. The gut as communicator between environ-

- ment and host; immunological consequences[J]. *Euro J Pharmacol*, 2011, 668 Suppl 1:16-32.
- [2] Ma TY, Boivin MA, Ye D, et al. Mechanism of TNF- α modulation of Caco-2 intestinal epithelial tight junction barrier: role of myosin light-chain kinase protein expression[J]. *Am J Physiol Gastroint Liver Physiol*, 2005, 288(3):422-430.
- [3] Eskandari MK, Kalff JC, Billiar TR, et al. LPS-induced muscularis macrophage nitric oxide suppresses rat jejunal circular muscle activity[J]. *Am J Physiol*, 1999, 277(2 Pt1):478-486.
- [4] Gonzalo S, Grasa L, Arruebo MP, et al. Lipopolysaccharide-induced intestinal motility disturbances are mediated by c-Jun NH2-terminal kinases[J]. *Dig Liver Dis*, 2011, 43(4):277-285.
- [5] Ye D, Ma I, Ma TY. Molecular mechanism of tumor necrosis factor- α modulation of intestinal epithelial tight junction barrier[J]. *Am J Physiol Gastroint Liver Physiol*, 2006, 290(3):496-504.
- [6] Al-Sadi R, Guo S, Ye D, et al. TNF- α modulation of intestinal epithelial tight junction barrier is regulated by ERK1/2 activation of Elk-1[J]. *Am J Pathol*, 2013, 183(6):1871-1884.
- [7] Al-Sadi R, Ye D, Boivin M, et al. Interleukin-6 modulation of intestinal epithelial tight junction permeability is mediated by JNK pathway activity of claudin-2 gene[J]. *PLoS One*, 2014, 9(3):e86345.
- [8] Al-Sadi R, Guo S, Ye D, et al. Mechanism of IL-1 β modulation of intestinal epithelial barrier involves p38 kinase and activating transcription factor-2 activation[J]. *J Immunol*, 2013, 190(12):6596-6606.
- [9] Al-Sadi R, Ye D, Said HM, et al. IL-1 β -induced increase in intestinal epithelial tight junction permeability is mediated by MEKK-1 activation of canonical NF- κ B pathway[J]. *Am J Pathol*, 2010, 177(5):2310-2322.
- [10] Piguet PF, Vesin C, Donati Y, et al. TNF-induced enterocyte apoptosis and detachment in mice: induction of caspases and prevention by a caspase inhibitor, ZVAD-fmk. Laboratory investigation[J]. *J Tech Meth Pathol*, 1999, 79(4):495-500.
- [11] Coopersmith CM, Stromberg PE, Dunne WM, et al. Inhibition of intestinal epithelial apoptosis and survival in a murine model of pneumonia-induced sepsis[J]. *Jama*, 2002, 287(13):1716-1721.
- [12] Khailova L, Frank DN, Dominguez JA, et al. Probiotic administration reduces mortality and improves intestinal epithelial homeostasis in experimental sepsis[J]. *Anesthesiology*, 2013, 119(1):166-177.
- [13] Dominguez JA, Samocha AJ, Liang Z, et al. Inhibition of IKK β in enterocytes exacerbates sepsis-induced intestinal injury and worsens mortality[J]. *Crit Care Med*, 2013, 41(10):275-285.
- [14] Zhao Y, Huang ZJ, Rahman M, et al. Radicol, an Hsp90 inhibitor, inhibits intestinal inflammation and leakage in abdominal sepsis[J]. *J Surg Res*, 2013, 182(2):312-318.
- [15] 张璐瑶, 聂垚, 柯路, 等. 艾司洛尔对脓毒症大鼠肠黏膜屏障的影响[J]. *肠外与肠内营养*, 2014, 21(5):305-308.
- [16] Sharawy N, Ribback S, Al-Banna N, et al. Estradiol receptors agonists induced effects in rat intestinal microcirculation during sepsis[J]. *Microv Res*, 2013, 85:118-127.
- [17] Lehmann C, Kianian M, Zhou J, et al. Cannabinoid receptor 2 activation reduces intestinal leukocyte recruitment and systemic inflammatory mediator release in acute experimental sepsis[J]. *Crit Care*, 2012, 16(2):R47.
- [18] Li Y, Xie K, Chen H, et al. The role of Nrf2 in the hydrogen treatment for intestinal injury caused by severe sepsis[J]. *Zhonghua Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue*, 2014, 26(6):415-419.
- [19] Yang H, Song Z, Jin H, et al. Protective effect of rhBNP on intestinal injury in the canine model of sepsis[J]. *Int Immunopharmacol*, 2014, 19(2):262-266.
- [20] Song YA, Park YL, Yoon SH, et al. Black tea polyphenol theaflavin suppression LPS-induced ICAM-1 and VCAM-1 expression via blockage of NF- κ B and JNK activation in intestinal epithelial cells[J]. *Inflamm Res*, 2011, 60(5):493-500.
- [21] De Filippis D, Iuvone T, Esposito G, et al. Melatonin reverses lipopolysaccharide-induced gastro-intestinal motility disturbances through the inhibition of oxidative stress[J]. *J Pineal Res*, 2008, 44(1):45-51.
- [22] Miao B, Zhang S, Wang H, et al. Magnolol pretreatment prevents sepsis-induced intestinal dysmotility by maintaining functional interstitial cells of Cajal[J]. *Inflammation*, 2013, 36(4):897-906.
- [23] Li GX, Wang XM, Jiang T, et al. Berberine prevents intestinal mucosal barrier damage during early phase of sepsis in rat through the toll-like receptors signaling pathway[J]. *Korean J Physiol Pharmacol*, 2015, 19(1):1-7.
- [24] 马丽琼, 段金旗, 于明克. 大黄对脓毒症大鼠胃肠道菌群的影响[J]. *中华临床医师杂志*, 2012, 10(4):178-180.
- [25] 幸泽茂, 卢君强, 刘岩松, 等. 大黄对脓毒症大鼠血浆高迁移率族蛋白 B1 表达的影响[J]. *中国急救医学*, 2009, 29(4):338-340.
- [26] Nose K, Yang H, Sun X, et al. Glutamine prevent total parenteral nutrition-associated changes to intraepithelial lymphocyte phenotype and function: a potential mechanism for the preservation of epithelial barrier function[J]. *J Int Cyt Res*, 2010, 30(20):67-80.
- [27] Tung JN, Lee WY, Pai MH, et al. Glutamine modulates CD8 α α (+) TCR α β (+) intestinal intraepithelial lymphocyte expression in mice with polymicrobial sepsis[J]. *Nutrition*, 2013, 29(6):911-917.
- [28] Ozturk E, Surucu M, Karaman A, et al. Protective effect of leflunomide against oxidative intestinal injury in a rodent model of sepsis[J]. *J Surg Res*, 2014, 187(2):610-615.