



[DOI] 10.3969/j.issn.1001-9057.2023.10.021

http://www.lcnkzz.com/CN/10.3969/j.issn.1001-9057.2023.10.021

· 继续教育园地 ·

脓毒症急性胃肠损伤与肠道机械屏障

冯杰 钱亚男 王丽辉 曹玉净 陈乾

[摘要] 脓毒症急性胃肠损伤是脓毒症中严重的并发症,目前仍没有较好地治疗方法。肠道机械屏障作为肠道内第一道防线,能够屏障肠道潜在病原菌及允许有益物质通过,是肠道中最重要的屏障之一。肠道机械屏障参与脓毒症急性胃肠损伤发生发展,因此,更好地理解肠道机械屏障与脓毒症急性胃肠损伤的关系,将会为今后脓毒症急性胃肠损伤的治疗方向提供新的理论支持。本文主要讨论机械屏障来源、构成及与脓毒症急性胃肠损伤之间的关系。

[关键词] 脓毒症; 急性胃肠损伤; 机械屏障; 紧密连接蛋白

[中图分类号] R459;R573.9

[文献标识码] A

脓毒症是由机体对感染的反应失调所引起危及生命的多器官功能障碍综合征(MODS),是医学上最古老及最难捉摸的疾病之一。据一项针对全国 44 所医院 ICU 的统计结果显示,脓毒症发病率高达 20.6%、死亡率为 35.5%,其中严重脓毒症病死率高达 50% 及以上^[1]。即使脓毒症患者没有死亡,存活患者长期生活质量也会较一般人群严重下降^[2]。因而,脓毒症现已成为一个世界范围内亟需攻克的健康难题。胃肠道作为人体主要消化器官,含有大量“细菌库”,其功能不仅局限于消化吸收作用,还可调节免疫炎症反应,长期以来被认为是“MODS 的发动机”^[3-4],是受脓毒症影响最早和最严重的器官,仅次于肺脏。据研究显示,危重患者胃肠运动功能障碍(AGI)率高达

60%,28 天死亡率高达 62.5%;脓毒症所致 AGI 发生级别不同,死亡率也不同,患者一旦出现腹部不适、腹胀、呕吐、肠鸣音消失等属于肠源性毒素蓄积表现,继而会引发肠麻痹、出血,预后较差,死亡率高达 65%^[5]。然而,目前仍然缺乏对脓毒症急性胃肠损伤后发生的一系列病理生理反应的认识,因而,寻找有效的脓毒症所致 AGI 的治疗方案是当下研究的难点,有着极为重要的临床意义。肠道机械屏障作为肠道内第一道防线,能够屏障肠道潜在病原菌并允许有益物质通过,是肠道中最重要的屏障之一。此外,研究发现机械屏障参与脓毒症所致 AGI 的发生发展是后者的主要发病机制。故本文通过整理并总结相关文献,讨论机械屏障的来源、构成及与脓毒症急性胃肠损伤之间的关系,希望能够为今后的脓毒症所致 AGI 的治疗提供理论依据。

一、机械屏障的来源与组成

机械屏障位于细胞外间隙的最顶端,主要由肠黏膜上皮细胞和紧密连接两部分组成。肠黏膜上皮细胞通过紧密连接蛋白(TJ)、粘附连接和桥粒组成连接复合体,构成基础物理屏障,

基金项目:国家自然科学基金青年项目(82104833);河南省科技攻关项目(212102310339);河南省中医药科学研究专项课题(20-21ZT2114);河南中医药大学科技苗圃工程项目(MP2020-12)

作者单位:450046 郑州,河南中医药大学骨伤学院 河南省中医院中心实验室(冯杰、钱亚男);河南省中医院 河南中医药大学第二附属医院(王丽辉、陈乾、曹玉净)

通讯作者:陈乾,E-mail:15201889539@163.com

- [22] 郭倩倩,刘凯林,李利平. 妊娠期糖尿病对子代心脏影响的研究现状[J]. 临床内科杂志,2023,40(5):354-356.
- [23] Li G, Wei T, Ni W, et al. Incidence and Risk Factors of Gestational Diabetes Mellitus: A Prospective Cohort Study in Qingdao, China[J]. Front Endocrinol (Lausanne), 2020, 11:636.
- [24] Giannakou K, Evangelou E, Yiallouris P, et al. Risk factors for gestational diabetes: An umbrella review of meta-analyses of observational studies[J]. PLoS One, 2019, 14(4):e0215372.
- [25] 赵红梅,孙田歌,黄新梅,等. 妊娠前体重指数、妊娠年龄及妊娠早期甘油三酯水平对妊娠期糖尿病的预测价值[J]. 临床内科杂志, 2021, 38(3):166-168.
- [26] Wang YY, Liu Y, Li C, et al. Frequency and risk factors for recurrent gestational diabetes mellitus in primiparous women: a case control study[J]. BMC Endocr Disord, 2019, 19(1):22.
- [27] Liu X, Wang S, Wang G. Prevalence and Risk Factors of Postpartum Depression in Women: A Systematic Review and Meta-analysis[J]. J Clin Nurs, 2022, 31(19-20):2665-2677.
- [28] Larrabure-Torrealva GT, Martinez S, Luque-Fernandez MA, et al. Prevalence and risk factors of gestational diabetes mellitus: findings from a universal screening feasibility program in Lima, Peru[J]. BMC Pregnancy Childbirth, 2018, 18(1):303.
- [29] Yang H, Wei Y, Gao X, et al. Risk factors for gestational diabetes mellitus in Chinese women: a prospective study of 16,286 pregnant women in

China[J]. Diabet Med, 2009, 26(11):1099-1104.

- [30] Martínez-Hortelano JA, Cavero-Redondo I, Álvarez-Bueno C, et al. Interpregnancy Weight Change and Gestational Diabetes Mellitus: A Systematic Review and Meta-Analysis[J]. Obesity (Silver Spring, Md), 2021, 29(2):454-464.
- [31] Bianchi C, De Gennaro G, Romano M, et al. Pre-pregnancy obesity, gestational diabetes or gestational weight gain: Which is the strongest predictor of pregnancy outcomes? [J]. Diabetes Res Clin Pract, 2018, 144:286-293.
- [32] Villamor E, Cnattingius S. Interpregnancy weight change and risk of adverse pregnancy outcomes: a population-based study[J]. Lancet, 2006, 368(9542):1164-1170.
- [33] Koivusalo SB, Rönö K, Klemetti MM, et al. Gestational Diabetes Mellitus Can Be Prevented by Lifestyle Intervention: The Finnish Gestational Diabetes Prevention Study (RADIOL): A Randomized Controlled Trial[J]. Diabetes care, 2016, 39(1):24-30.
- [34] Dodd JM, Turnbull D, McPhee AJ, et al. Antenatal lifestyle advice for women who are overweight or obese: LIMIT randomised trial[J]. BMJ (Clinical research ed), 2014, 348:g1285.

(收稿日期:2023-02-25)

(本文编辑:李昊阳)

具有抵挡肠道内潜在病原体的作用。当感染或发生损伤时,可立即向黏膜内固有免疫细胞发出信号,赋予其识别“微生物非自身”的能力^[6]。TJ 可调节溶质和大分子物质的被动扩散,还可阻挡抗原、细菌毒素和病原体向肠腔内渗透,是重要的物理屏障蛋白结构。紧密连接完整与否是肠道上皮细胞受损后修复的重要先决条件。

1. 肠道上皮细胞:其具有高度动态性及再生性^[7]。肠道上皮单层细胞由不同类型的特化上皮细胞组成,各具有不同功能。其中吸收性肠道上皮细胞,占肠道上皮表面积的 85%,主要参与肠道内营养消化吸收及免疫保护作用^[8];杯状细胞可分泌黏液及三叶因子:黏液是构成肠道机械屏障的关键组成部分,除润滑肠道还可防止病原微生物在肠道黏膜粘附,而三叶因子具有肠黏膜组织损伤修复功能;潘氏细胞能够分泌磷脂、带负电荷的黏蛋白、防御素和抗菌肽;抗菌肽可杀灭病原微生物,防御素可调节肠内微生物^[9];微褶细胞分泌 IgA,除杯状细胞外,其还向树突状细胞提供细菌抗原。这些细胞共同形成极化层,通过细胞内紧密连接、粘附连接和桥粒结构构建成为机械屏障-基础物理屏障。肠黏膜屏障的完整性取决于肠上皮细胞增殖与凋亡的平衡,正常情况下,肠隐窝细胞和绒毛细胞会发生低水平凋亡,但在脓毒症患者和动物模型中,肠隐窝细胞、绒毛细胞凋亡水平明显上升,而增殖明显减少,向隐窝/绒毛轴的迁移也因此严重减慢,导致肠道绒毛长度明显缩短,固有层剥离、出血、溃疡,进而导致肠道上皮细胞死亡;TJ 结构改变,肠道通透性增加。与此同时,黏液层也会发生整体改变,如厚度减少,管腔覆盖范围缩小,粘附性差及小叶因子 3 表达减少,最终导致肠道机械屏障功能障碍^[10]。肠上皮细胞凋亡可导致 MODS 或者脓毒症所致 AGI,研究结果显示后者可通过嘌呤能受体、死亡受体、Toll 样受体、肿瘤坏死因子(TNF)- α 途径及线粒体途径激活肠上皮细胞凋亡。此外,当抗凋亡原癌基因 Bcl-2 特异性过表达时,脓毒症小鼠模型中肠上皮细胞凋亡水平明显下降^[11]。MicroRNA195 是 Bcl-2 基因表达的调节因子,有助于调节促凋亡/抗凋亡的平衡,在脓毒症小鼠体内可见其上调,从而达到抑制凋亡作用,甚至阻止脓毒症所致 AGI 的 MODS 发展^[12]。除与凋亡相关的转录因子外,其他分子也参与了与脓毒症相关的凋亡机制。发生脓毒症时,细胞因子 IL-15 能减少肠上皮细胞的凋亡率,增强 Bcl-2 与干扰素(IFN)- γ 表达水平及自然杀伤细胞数量^[13]。肺表面活性蛋白 A(SP-A)和肺表面活性蛋白 D(SP-D)可由小肠、大肠上皮细胞产生,而 SP-A 和 SP-D 的缺失能够使脂多糖(LPS)诱导的脓毒症所致 AGI 大鼠模型中肠上皮细胞凋亡水平增加^[14],但其相关机理还有待进一步研究。此外,脓毒症诱导的肠上皮细胞凋亡也可通过 CD4⁺ T 淋巴细胞介导^[15],虽然未处理的 Rag1 小鼠(缺乏淋巴细胞)和野生型小鼠有相似数量的肠细胞凋亡水平,但盲肠穿刺法(CLP)诱导 Rag1 小鼠肠细胞凋亡水平增加 5 倍,远远超过脓毒症诱导的肠细胞凋亡水平,同时亚组分析结果显示抗凋亡作用为 CD4⁺ T 淋巴细胞介导而非 CD8⁺、 $\gamma\delta$ 或 B 淋巴细胞。

2. TJ:TJ 是肠上皮细胞内连接最顶端的组成部分,协助肠上皮细胞起到基础物理屏障作用。TJ 由多种跨膜蛋白和衔接蛋白构成:包括跨膜蛋白由连接粘附分子(JAM)、三纤维素、

Occludin、Marvel D3 及 Claudin。除连接粘附分子外,跨膜蛋白质都是具有四个跨膜域的四链体,这些细胞质溶胶中的 C 端结构域与各种衔接蛋白(如 ZO1、ZO2、ZO3)共同构成紧密连接复合物^[16]。紧密连接中跨膜蛋白与衔接蛋白相互作用,并锚定在肌动蛋白细胞骨架上,TJ 和细胞骨架之间的相互作用对于 TJ 完整性的正常组装和维持至关重要;Occludin 参与 TJ 的组装和拆卸,其膜位置受 Ser、Thr 和 Tyr 残基磷酸化调控。TJ 中可见高度磷酸化的 Occludin,而胞质中可见去磷酸化的 Occludin,因此该蛋白磷酸化模式的改变可能使 TJ 不稳定,并增加细胞旁通透性^[17]。Claudins 是 TJ 屏障功能的主要决定因素——其是细胞旁空间离子通道的主要控制蛋白。Claudins 也受特异性 Ser 和 Thr 残基磷酸化的调控。Claudins 在不同肠段间存在差异,近端肠道 Claudins 含量显著高于含量较少的远端胃肠道部分^[18]。JAM 是由上皮细胞、内皮细胞以及 WBC 和 PLT 表达的一个免疫球蛋白亚家族。肠道上皮细胞 TJ 中的 JAM 蛋白包括 JAM-a、JAM-c、CAR、ESAM 和 JAM4,其均与细胞间接触的其他蛋白发生侧联,以促进功能极化 TJ 的组装和形成。JAM 对肠道通透性和炎症具有调节作用。三纤维素处于相邻细胞之间的细胞间接触处,三纤维素可促进肠道上皮屏障的稳定性和形成,并在不显著损害离子通透性的情况下,特异性地封住上皮细胞片,使其不受大分子的影响。TJ 的破坏和组装受多种信号通路调节,如蛋白激酶、蛋白磷酸酶和 G 蛋白。有研究显示,当出现脓毒症时,由于炎症介质被大量释放,通过蛋白激酶导致 TJ 的蛋白完整性受损,进而引起肠道机械屏障功能受损^[19]。姜永帅等^[20]的研究结果显示出现脓毒症时 Occludin、Claudin-1 和 ZO-1 的 mRNA 表达水平均降低,提示脓毒症的炎症介质会导致紧密连接损伤。Li 等^[21]的研究同样发现,通过体内体外研究发现 CLP 造模组与假手术组相比,大量炎症介质(TNF- α 、IL-6 和 IL-10)被释放,肠通透性增加、肠道组织损伤明显及肠道黏膜屏障中的紧密连接 ZO-1 蛋白和 Claudin-1 蛋白明显降低;Oshima 等^[22]也指出 Occludin、Claudin-1 等 TJ 的表达改变,将引起上皮细胞分化改变与上皮细胞紧密连接功能受损,肠道通透性改变,肠道疾病随之发生。

二、机械屏障与脓毒症致胃肠道功能损伤

自 1979 年 Berg 和 Garlington 首次提出细菌/内毒素易位学说,再到 1986 年 Meakins 和 Marshall 提出胃肠道是 MODS 原动力的说法,胃肠道长期被认为是“MODS 的发动机”^[3]。尽管“细菌/内毒素易位学说”这一构想的提出在当时具有重大意义,但其未能完全解释脓毒症所致 AGI 的原理。细菌易位的确可增加感染并发症的发生率,却并不直接适用于脓毒症患者。在 20 例外伤致细菌易位的重症患者中,MODS 发生率达 30%,仅 2% 的患者门静脉血培养阳性^[23],可见细菌/内毒素不会直接进入体循环,该研究结果在一定程度上推翻了细菌/内毒素易位学说的合理性,但因其所需条件苛刻难以进行重复实验进一步验证。临床上常见危重症患者病情进展发生急性呼吸窘迫综合征导致肺脏先行受损,研究者们根据肠系膜淋巴液经胸导管流入肺循环,进一步诱发多器官功能障碍综合征(MODS)假设性提出“肠道-淋巴假说”。一项动物实验结果发现,阻断

肠系膜淋巴液到肺部流通从而隔绝体循环后,可有效预防早期肺损伤及多脏器功能障碍综合征;体外研究结果则发现将阻断肠系膜淋巴液注射到健康动物体内能够有效诱发全身炎症反应,导致 ARDS 和 MODS 的发生^[24-27]。但在对所获取的肠系膜淋巴液进行分析发现,动物的淋巴液未含内毒素或细菌 DNA^[28],临床研究关于多器官衰竭患者胸导管淋巴液的分析也获得同样结论^[29]。因此,动物的淋巴液未含内毒素或细菌 DNA 而是含有非炎症和细菌因素的危险相关分子及模式识别受体。上述假说令研究者们逐渐认识到肠道黏膜屏障的重要性:肠道黏膜屏障是由机械屏障、微生物屏障、黏膜屏障及免疫屏障所构成的肠道内防御机制,相互依存,可有效维持肠道内环境稳态。其中,机械屏障作为肠道黏膜屏障的第一道防御线,承受着巨大的抗原负荷,其与外部环境关联十分紧密,且范围广泛,从而能够确保体内肠道消化作用——营养消化和吸收、水和电解质运输以及水和蛋白质分泌到肠道内腔。机械屏障还可发挥物理防御作用,防止病原体、抗原、促炎介质等潜在的有害物质从肠腔渗透到机体内环境中,同时允许有利于肠道免疫系统发育和免疫耐受的物质选择性通过^[30]。机械屏障还能通过黏液层中巨噬细胞、中性粒细胞、肥大细胞、内皮细胞等发挥免疫炎症调节作用,共同协调维护机体内环境平衡。然而,一旦机体内机械屏障持续性损伤,无法及时修复将会导致免疫炎症反应扩大,反而加重肠道黏膜屏障功能障碍,使炎症状态持续下去,从而加重肠道黏膜组织水肿,甚至于 MODS 及脓毒症所致 AGI 发生。因而,机械屏障现今已被公认为是肠道黏膜屏障中最关键的结构,也是脓毒症所致 AGI 治疗中密切关注的治疗点。

三、小结

由肠上皮细胞和 TJ 作为主要组成部分的肠道机械屏障受损,是诱导脓毒症所致 AGI 发生发展的重要原因。肠道机械屏障中 TJ 结构稳定与否是肠道机械屏障作为肠道内第一道防线的构成基础,即维持 TJ 结构稳定是防治脓毒症所致 AGI 的有效方式。目前关于脓毒症的研究虽较为深入,但尚未出现特效治疗方式,关于其发病机制仍有许多未明之处,有待继续深入研究。

参 考 文 献

- [1] 王仲,魏捷,朱华栋,等. 中国脓毒症早期预防与阻断急诊专家共识[J]. 中国急救医学,2020,40(7):577-588.
- [2] 陈城,崔静,纪小奇,等. 脓症患者预后危险因素分析[J]. 临床军医杂志,2021,49(1):61-63.
- [3] Carrico CJ, Meakins JL, Marshall JC, et al. Multiple-organ-failure syndrome[J]. Arch Surg,1986,121(2):196-208.
- [4] 章韵,郑霞. 脓症患者肠道的病理生理学改变[J]. 临床内科杂志,2021,38(9):584-587.
- [5] Reintam Blaser A, Malbrain ML, Starkopf J, et al. Gastrointestinal function in intensive care patients: terminology, definitions and management. Recommendations of the ESICM Working Group on Abdominal Problems[J]. Intensive Care Med,2012,38(3):384-394.
- [6] Vancamelbeke M, Vermeire S. The intestinal barrier: a fundamental role in health and disease[J]. Expert Rev Gastroenterol Hepatol,2017,11(9):821-834.
- [7] Helander HF, Fändriks L. Surface Area of the Digestive Tract-Revisited[J]. Scand J Gastroenterol,2014,49(6):681-689.
- [8] Chelakkot C, Ghim J, Ryu SH. Mechanisms regulating intestinal barrier integrity and its pathological implications[J]. Exp Mol Med,2018,50(8):103.
- [9] Gassler N. Paneth cells in intestinal physiology and pathophysiology[J]. World J Gastrointest Pathophysiol,2017,8(4):150-160.
- [10] Jiang LY, Zhang M, Zhou TE, et al. Changes of the immunological barrier of intestinal mucosa in rats with sepsis[J]. World J Emerg Med,2010,1(2):138-143.
- [11] Iwata A, Stevenson VM, Minard A, et al. Over-expression of Bel-2 provides protection in septic mice by a trans effect[J]. J Immunol,2003,171(6):3136-3141.
- [12] Zheng D, Yu Y, Li M, et al. MicroRNA 195 prevents apoptosis and multiple-organ injury in mouse models of sepsis[J]. J Infect Dis,2016,213(10):1661-1670.
- [13] Inoue S, Unsinger J, Davis CG, et al. IL-15 prevents apoptosis, reverses innate and adaptive immune dysfunction, and improves survival in sepsis[J]. J Immunol,2010,184(3):1401-1409.
- [14] Rubio S, Lacaze-Masmonteil T, Chailley-Heu B, et al. Pulmonary surfactant protein A (SP-A) is expressed by epithelial cells of small and large intestine[J]. J Biol Chem,1995,270(20):12162-12169.
- [15] Stromberg PE, Woolsey CA, Clark AT, et al. CD4+ lymphocytes control gut epithelial apoptosis and mediate survival in sepsis[J]. FASEB J,2009,23(6):1817-1825.
- [16] Citi S, Pulimeno P, Paschoud S. Cingulin, paracingulin and PLEKHA7: signaling and cytoskeletal adaptors at the apical junctional complex[J]. Ann N Y Acad Sci,2012,125(7):125-132.
- [17] Dörfel MJ, Huber O. Modulation of Tight Junction Structure and Function by Kinases and Phosphatases Targeting Occludin[J]. J Biomed Biotechnol,2012,2012:807356.
- [18] Salvo Romero E, Alonso Cotoner C, Pardo Camacho C, et al. The intestinal barrier function and its involvement in digestive disease[J]. Rev Esp Enferm Dig,2015,107(11):686-696.
- [19] Ivanov AI. Structure and regulation of intestinal epithelial tight junctions: current concepts and unanswered questions[J]. Adv Exp Med Biol,2012,76(3):132-148.
- [20] 姜永帅,姜树民,宋罔,等. 养胃解毒合剂对脓毒症模型大鼠肠屏障功能的影响与机制研究[J]. 辽宁中医杂志,2018,45(7):1504-1507.
- [21] Li Z, Gao M, Yang B, et al. Naringin attenuates MLC phosphorylation and NF-κB activation to protect sepsis-induced intestinal injury via RhoA/ROCK pathway[J]. Biomed Pharmacother,2018,10(3):50-58.
- [22] Oshima T, Miwa H, Joh T. Changes in the expression of claudin in active ulcerative colitis[J]. J Gastroenterol Hepatol,2008,23(Suppl 2S):146-150.
- [23] Moore FA, Moore EE, Poggetti R, et al. Gut bacterial translocation via the portal vein: a clinical perspective with major torso trauma[J]. J Trauma,1991,31(5):629-636.
- [24] Magnotti LJ, Upperman JS, Xu DZ, et al. Gut-derived mesenteric lymph but not portal blood increases endothelial cell permeability and promotes lung injury after hemorrhagic shock[J]. Ann Surg,1998,228(4):518-527.
- [25] Upperman JS, Deitch EA, Guo W, et al. Post-hemorrhagic shock mesenteric lymph is cytotoxic to endothelial cells and activates neutrophils[J]. Shock,1998,10(6):407-414.
- [26] Senthil M, Brown M, Xu DZ, et al. Gut-lymph hypothesis of systemic inflammatory response syndrome/multiple-organ dysfunction syndrome: validating studies in a porcine model[J]. J Trauma,2006,60(5):958-965. discussion 965-967.
- [27] Deitch EA, Xu D, Kaise VL. Role of the gut in the development of injury- and shock induced SIRS and MODS: the gut-lymph hypothesis, a review[J]. Front Biosci,2006,11:520-528.
- [28] Adams CA Jr, Xu DZ, Lu Q, et al. Factors larger than 100 kd in post-hemorrhagic shock mesenteric lymph are toxic for endothelial cells[J]. Surgery,2001,129(3):351-363.
- [29] Lemaire LC, van Lanschot JB, Stoutenbeek CP, et al. Thoracic duct in patients with multiple organ failure: no major route of bacterial translocation[J]. Ann Surg,1999,229(1):128-136.
- [30] Turner JR. Intestinal mucosal barrier function in health and disease[J]. Nat Rev Immunol,2019,9(11):799-809.

(收稿日期:2022-01-12)

(本文编辑:李昊阳)