

脓毒症致肠道菌群失调机制与治疗的研究

谢吐秀 吕菁君 魏 捷 叶 璐 张东梅

摘 要 肠道菌群失调是指一种因机体内外环境的改变而出现的肠内菌种比例失调、菌种数量改变及肠内细菌(或毒素)移位的病理状态。脓毒症作为急重症监护室极为常见的高致死性综合征,是肠道菌群失调的常见原因,而肠道菌群失调反过来会显著加速脓毒症的发展。肠道虽然是人体内最大的微生物库和内毒素库,但临床医生在救治脓毒症致多脏器功能损伤患者时,往往会忽略肠道菌群失调所带来的危害,最终可能会严重影响着患者的疗效和预后。本文简要地从脓毒症致肠道菌群失调的流行病学、可能的发病机制和相应的治疗策略等方面进行综述。

关键词 脓毒症 肠道菌群 菌群失调 作用机制 治疗

中图分类号 R4 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2018.08.043

脓毒症(Sepsis 3.0)是机体对感染的反应失调而导致危及生命的器官功能障碍^[1]。最近全欧洲国家卫生系统急救医院的一项大型观察性研究指出脓毒症的年发生率为212.7/10万,院内病死率高达21.6%^[2]。尽管目前急重症监护室的救治水平在不断的提高,但本病发生率和病死率仍居高不下,给家庭和社会带来了沉重的负担。严重脓毒症和(或)脓毒性休克时,肠道作为最先被牺牲、最迟得到恢复的脏器,可出现肠黏膜屏障功能障碍、肠道菌群失调等常见并发症,而脓毒症导致的肠道菌群失调可反过来加速脓毒症各器官衰竭的进程^[3,4]。临床上脓毒症的器官衰竭评估重点集中在呼吸、心血管、肝、肾、神经和血液系统,肠道因其症状是非特异性的,往往没被纳入评估。脓毒症致肠道菌群失调未能引起重视,可形成恶性循环,使得此类患者预后极差。为更好的防治脓毒症致肠道菌群失调,本文对国内外脓毒症致肠道菌群失调的流行病学、发病机制及相关治疗进行了归纳,以为读者提供参考。

一、脓毒症致肠道菌群失调的流行病学

1. 菌群比例和数量改变:人类肠道总共有1000~1150种细菌,其中每个个体肠道至少含有160种。它们按照一定的比例和数量分布在肠道的不同部位,组成肠道黏膜屏障,起防御和保护作用。脓毒症时,肠道微环境被破坏,肠道菌群比例和数量会发生明显改变。主要表现为肠内益生菌减少,而铜绿假单胞

菌、肺炎克雷伯杆菌、鲍曼不动杆菌、变形杆菌和真菌等肠内条件致病菌因失去定植力而大量增殖,成为优势菌群^[5]。

2. 菌群易位:脓毒症时,肠道通透性增加,原存在于肠腔内的细菌和(或)毒素穿过肠壁,经肠系膜淋巴结侵入远隔脏器并大量增殖,继而启动或加重炎症介质的“瀑布效应”,促进多脏器衰竭^[6]。虽然结肠的细菌含量在所有肠段中是最多的,但脓毒症致各段肠黏膜屏障损伤及各肠段的菌群易位程度并不与肠段内细菌含量呈正相关,以回肠黏膜屏障损伤最为严重,回肠的细菌易位程度最高,其次为空肠和结肠^[7]。

二、脓毒症致肠道菌群失调的可能发病机制

1. 肠上皮炎性反应:脓毒症时,外源的致病菌、毒素等在直接攻击肠黏膜上皮的同时,也会在肠黏膜上皮中引发一系列炎性反应,导致肠黏膜上皮坏死、脱落或凋亡。许多脓毒症动物模型均提示肠黏膜中大量炎性细胞浸润、持续高表达TNF- α 、IL-1 β 、IL-6等促炎因子,而促肠黏膜修复因子如TGF- β 1和TFF3(trefoil factor 3)表达逐渐降低^[8]。肠上皮呈持续的炎性反应不仅可上调肠黏膜中Fas、FasL的表达,启动细胞外源性凋亡途径,还可通过促凋亡蛋白Bid进一步激活内源性凋亡途径,细胞色素C从损伤的线粒体中释放出来,使得大批肠上皮细胞凋亡^[9]。此外,脓毒症还可导致肠黏膜上皮增殖细胞核抗原(PCNA)阳性指数降低,肠黏膜增殖或修复受到抑制,定植于肠黏膜上皮表面的专性厌氧菌数量减少,致病菌定植并大量繁殖,继而引起肠道菌群和(或)内毒素向肠外移位。因此,肠上皮炎性反应可导致肠

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81372020);武汉市中青年医学骨干人才培养项目(2014ZX0001)

作者单位:430060 武汉大学人民医院急诊科

通讯作者:吕菁君,电子信箱:925627488@qq.com

黏膜上皮细胞的坏死、凋亡和修复与增殖能力减弱,使得经脓毒症损伤的肠黏膜不易迅速得到重建,极易引起肠道菌群失调。

2. 肠道免疫功能异常:肠道免疫系统由弥散分布在肠黏膜上皮内和固有层的免疫细胞、免疫分子(IgA)以及肠集合淋巴结(Peyer's patches, PP 结)等肠相关淋巴组织等组成。PP 结含有各种必需的免疫活性细胞,是黏膜免疫反应的主要诱导部位。Fan 等^[10]通过研究脓毒症的动物模型发现脓毒症可导致 PP 结中淋巴细胞总数减少,T 细胞(尤其是 CD4⁺ 和 CD8⁺)和 B 细胞绝对数及所占比重、肠黏膜内 sIgA 含量均明显减少,T 细胞凋亡增加。脓毒症的本质是全身炎症反应综合征,会导致机体天然免疫功能抑制或麻痹,使机体不能清除现存的感染或宿主易感染机会致病菌,如金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌、大肠杆菌和念珠菌等^[11]。此外,还可导致肠道免疫功能异常,表现为对有害抗原和病原体产生免疫抑制或免疫耐受,而对大量无害的抗原进行免疫排斥或清除,导致大量肠道 T 细胞凋亡,肠道菌群失调,继而发生肠源性感染,是脓毒症进展极为重要的一环^[12]。

3. 肠上皮氧化应激反应:脓毒症诱导的炎症反应可累及肠道,大量吞噬细胞游走至肠上皮炎区域,在吞噬和消化病原体和细胞崩解碎片等异物的过程中会产生大量的活性氧(ROS),如超氧阴离子(O₂^{·-}),过氧化氢(H₂O₂)和羟自由基(·OH),而 ROS 可诱导机体发生氧化应激反应,氧化应激和抗氧化平衡机制被打破,抗氧化机制处于相对弱势,表现为抗氧化酶超氧化物歧化酶(SOD),过氧化氢酶(CAT)等活性减弱,氧化产物一氧化氮(NO),丙二醛(MDA)和蛋白质羰基(PC)等含量升高^[13]。内源性抗氧化酶逐渐耗尽,氧化产物大量堆积在肠组织内,可过氧化肠上皮细胞内微管蛋白和脂质,导致细胞骨架受损,细胞器功能障碍,继而肠道屏障功能障碍,使得外源性细菌易定植于肠道内或原寄生于肠道的菌群失去定植力,经通透性增高的肠黏膜向肠外移位^[14]。

4. 肠动力减退:脓毒症时,肠道过度激活的炎症反应、大量胃肠动力抑制性递质和氧自由基等的释放均可导致肠动力减退。Miao 等^[15]通过用脂多糖(LPS)模拟脓毒症模型来探讨了 LPS 诱导小肠动力异常的机制,研究发现脓毒症可损伤在肠道平滑肌运动中起重要作用的 Cajal 细胞,导致肠管扩张,小肠传输速率明显减慢、肌条自主收缩频率和波幅明显降

低。而另一项动物实验研究表明,LPS 通过激活 JNK1/2 MAPK,上调环氧合酶-2(COX-2)表达来抑制非受体(KCl)介导的收缩和受体激动剂(乙酰胆碱和前列腺素 E₂)诱发的收缩,使得十二指肠传输速率减慢,平滑肌肌条收缩力明显减弱^[16]。肠动力减退导致消化和吸收功能异常,有害物质不能被快速有效的排除体外,致病菌在肠道内大量增殖,肠道菌群失调,从而可加重肠道损伤和加速 MODS。

5. 肠道微循环障碍:为确保心、脑等重要器官的氧供和血供,脓症患者机体血液会发生重新分布,肠道血管痉挛性收缩,血管内皮细胞受损,激活凝血系统,不同程度的抑制纤溶系统和生理性抗凝系统,同时,富含蛋白质的液体向血管外渗出,血管内血液处于高凝状态,肠道微循环障碍。Schmidt 等^[17]用共聚焦激光内镜对严重脓毒症猪模型和患者胃肠黏膜床微循环进行成像,发现脓症患者和猪的十二指肠、回肠、胃和直肠黏膜中的功能毛细血管密度(FCD)和平均血管直径均显著降低,胃肠道最小毛细血管内血流瘀滞,而较大微循环血管血流无明显改变。肠道微循环障碍,肠黏膜出现溃疡、脱落,大量有害代谢产物、毒素等蓄积,继而导致肠道菌群失调。

6. 药物的使用:在临床上,有许多针对危重症患者的常规治疗和干预措施均可导致肠道菌群失调,如非甾体抗炎药和肠外营养可增加肠道通透性,抗生素、皮质类固醇和阿片类等可促进肠道菌群移位,镇静剂、鸦片制剂、儿茶酚胺等可增加细菌毒力。质子泵抑制剂虽然可有效杀死胃内细菌,但却增加了小肠细菌过度生长的发生率和细菌向肺部迁移的风险^[18]。抗生素虽然是脓症患者主要的有效治疗措施,但大剂量广谱抗生素的长期应用也可破坏肠道菌群,诱导肠道细菌向肠系膜淋巴结移位,并增强肠道炎症反应。

7. 基因多态性:脓毒症作为环境和遗传因素综合作用的疾病,近年来有许多研究探讨了天然免疫识别中模式识别受体(如 TLR 家族、甘露糖结合凝集素、CD14⁺、CD86)和细胞因子(如 ILs 家族、肿瘤坏死因子、巨噬细胞迁移抑制因子)等基因多态性与脓毒症易感性、严重程度和预后的相关性。然而,目前尚无关于脓毒症相关的全基因组研究,脓毒症出现肠道菌群的患者可能存在相关基因的一个或多个基因位点和编码区变异。这可以部分地从遗传角度解释临床上脓毒症患者病程中出现明显个体差异的原因。

三、脓毒症致肠道菌群失调的治疗策略

1. 早期复苏:脓毒症导致组织低灌注时,胃肠道通常是最易受损的脏器。早期液体复苏,尽快改善胃肠道血流动力学显得尤为关键。根据拯救脓毒症运动(surviving sepsis campaign,SSC)指南(2016年),对于脓毒症导致组织低灌注的患者,建议在开始的3h内给予至少30ml/kg的晶体液(强推荐,低证据质量)。

2. 控制感染源:根据2016SSC指南,对于所有脓毒症患者,均应尽快明确感染灶,并在符合医疗原则的情况下尽可能快的控制感染源,具体措施包括脓肿引流、感染坏死组织清创、去除潜在的感染植入物等。这是防止脓毒症致肠道菌群失调发生、发展的重要手段。

3. 抗微生物治疗:2016SSC指南指出,对脓毒症患者应早期行经验性抗菌治疗,治疗方案尽可能覆盖所有致病菌或是在感染灶达有效浓度。一旦明确病原及药敏,行抗生素降阶梯治疗。然而,抗生素本身是导致肠道菌群失调的诱因,临床医生在治疗脓毒症致肠道菌群失调患者时,应做到结合患者自身状况,权衡利弊,选择最佳抗微生物治疗方案。

4. 改善肠道菌群失调:(1)选择性肠道去污:选择性肠道去污(SDD)即使用不经肠道吸收的抗生素来清除定植于肠道的移位菌群,抑制肠道机会致病菌增殖,在一定程度上减少肠道菌群易位的发生^[4]。有研究指出SDD应用于重症监护室重症感染患者可降低病死率^[19,20],但也应警惕肠道多重耐药菌的出现。(2)益生菌:益生菌(又称微生态调节剂)是一种维护肠内菌群平衡的、具有活性的微生物。临床上最常见的益生菌制剂是双歧杆菌乳杆菌三联活菌片。伴有肠道菌群失调的危重患者早期行肠内营养联合益生菌可改善胃肠排空能力、促进肠道营养吸收,还可抑制病原菌生长,维持肠道免疫平衡,提高生存质量^[18]。(3)粪菌移植:粪菌移植(fecal microbiota transplant)是一种将健康人粪便中提取功能菌植入患者肠道,达到重建正常肠道菌群的新型方法。近年来有许多关于粪菌移植成功用于治疗脓毒症致多器官功能障碍、肠道菌群失调的报道,尤其是难治性艰难梭菌感染疗效确切,有效率可达80%~90%^[20]。

5. 营养:肠内营养有利于刺激肠蠕动和恢复肠道功能,一般提倡在入住ICU后48h内进行肠内营养。2016SSC指南指出,对脓毒症或感染性休克的患者,需启动早期肠内营养(强推荐,中等证据质量),但不

建议使用谷氨酰胺(强推荐,中等证据质量)、精氨酸(弱推荐,低证据质量)、 ω -3脂肪酸(强推荐,低证据质量)等。然而,有脓毒症动物实验指出早期肠外补充谷氨酰胺联合肠内营养可改善脓毒症大鼠肠道免疫功能^[10]。因此,使用肠外免疫添加剂联合肠内营养治疗脓毒症致肠道菌群失调的患者能否获益尚不清楚,有待于开展进一步研究证实。

6. 控制血糖:2016SSC指南指出,脓毒症患者若两次血糖 $>180\text{mg/dl}$,则启用胰岛素治疗,目标血糖上限应 $\leq 180\text{mg/dl}$ (强推荐,高证据质量)。Hu等^[21]研究指出早期快速有效控制脓毒症患者血糖,可明显减轻高血糖引起的血管内皮损伤,抑制炎症反应,改善患者凝血功能和血液循环。但这能否防治脓毒症致肠道菌群失调需待进一步研究。

7. 其他治疗:基因重组和基因敲除是目前基因治疗的常见技术。近年来,应用基因治疗技术治疗脓毒症动物模型的实验研究有很多,如壳聚糖纳米粒介导HMGB1的siRNA基因表达载体治疗脓毒症大鼠^[22]。目前这项技术已经在治疗脓毒症动物中取得了重大突破,基因芯片技术也开始用于脓毒症患者易感人群筛查,其下一步可能逐步过渡到从基因层面防治脓毒症易感人群及脓毒症致肠道菌群失调患者。

血必净具有改善脓毒症动物凝血功能和肠道微循环的作用,对脓毒症患者也具有较好的临床疗效。已有脓毒症动物实验研究表明中药材如小檗碱、大黄、厚朴酚等均具有减轻肠组织炎症反应、降低肠黏膜通透性和改善脓毒症所致的肠道屏障功能障碍的功效^[9,10,16]。此外,短效 β_1 受体阻滞剂(艾司洛尔)和2%氢气吸入也均具有抑制脓毒症动物肠道组织炎症反应、减轻其肠组织病理损伤的作用^[15]。然而,上述药物和氢气虽然在脓毒症动物实验中取得了较好的疗效,但其临床疗效尚不清楚。

综上所述,目前已有大量研究指出肠道是脓毒症患者病情形成恶性循环的动力器官。脓毒症致肠道菌群失调作为脓毒症常见的并发症,其作用机制仍不十分明了,其治疗也十分棘手。尽管近年来某些药物在动物实验或小样本临床试验取得了较好的疗效,但其仍需通过临床多中心、大样本、高质量的随机对照试验来证实。脓毒症致肠道菌群失调患者全基因组分析、各肠段损伤及菌群易位程度不一的分子机制和基因治疗的临床试验等将成为今后研究的重点。此外,临床上应多开展多学科共同探讨此类患者的最佳治疗方案。这些对于减缓或者抑制脓毒症致肠道菌

群失调发生、发展具有十分重要的意义。

参考文献

- Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, *et al.* The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (sepsis-3) [J]. *JAMA*, 2016,315(8):801-810
- Yebenes JC, Ruiz-Rodriguez JC, Ferrer R, *et al.* Epidemiology of sepsis in Catalonia: analysis of incidence and outcomes in a European setting[J]. *Ann Intensive Care*, 2017,7(1):19
- 刘杰, 费蕾, 柳梅. 糖皮质激素对脓毒症休克大鼠肠道功能的保护作用[J]. *内科急危重症杂志*, 2016,22(1):72-73
- Haak BW, Wiersinga WJ. The role of the gut microbiota in sepsis [J]. *Lancet Gastroenterol Hepatol*, 2017,2(2):135-143
- 刘绍泽. 广谱抗生素压力下脓毒症大鼠肠道菌群变化及耐药基因播散的实验研究[D]. 上海:第二军医大学, 2010
- Vaishnavi C. Translocation of gut flora and its role in sepsis[J]. *Indian J Med Microbiol*, 2013,31(4):334-342
- 马炳强. 脓毒症时肠道细菌易位发生部位的研究[J]. *肠外与肠内营养*, 2010,17(3):156-159
- Chang R, Wen L, Chang J, *et al.* Repair of damaged intestinal mucosa in a mouse model of sepsis[J]. *World J Emergency Med*, 2013,4(3):223-228
- 李红梅, 邢云, 唐翔翎, 等. 小檗碱抑制脓毒症诱导的肠上皮细胞凋亡[J]. *中国病理生理杂志*, 2016,32(9):1660-1665
- Fan J, Li G, Wu L, *et al.* Parenteral glutamine supplementation in combination with enteral nutrition improves intestinal immunity in septic rats[J]. *Nutrition*, 2015,31(5):766-774
- Leliefeld PHC, Wessels CM, Leenen LPH, *et al.* The role of neutrophils in immune dysfunction during severe inflammation[J]. *Crit Care*, 2016,20(1):1-9
- Cabrera-perez J, Badovinac VP, Griffith TS. Enteric immunity, the gut microbiome, and sepsis: rethinking the germ theory of disease [J]. *Exp Biol Med*, 2017,242(2):127
- 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
- 张红涛. 氢气对重度脓毒症小鼠肠道屏障功能障碍的保护作用及机制研究[D]. 天津:天津医科大学, 2016
- 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
- Gonzalo S, Grasa L, MP á, *et al.* Lipopolysaccharide-induced intestinal motility disturbances are mediated by c-Jun NH2-terminal kinases[J]. *Digestive & Liver Disease*, 2011,43(4):277
- Schmidt C, Lautenschläger C, Petzold B, *et al.* Confocal laser endomicroscopy reliably detects sepsis-related and treatment-associated changes in intestinal mucosal microcirculation[J]. *Br J Anaesth*, 2013,111(6):996
- Dickson RP. The microbiome and critical illness[J]. *Lancet Resp Med*, 2016,4(1):59-72
- Price R, MacLennan G, Glen J. Selective digestive or oropharyngeal decontamination and topical oropharyngeal chlorhexidine for prevention of death in general intensive care: systematic review and network meta-analysis[J]. *BMJ*, 2014,348:g2197
- Wei Y, Yang J, Wang J, *et al.* Successful treatment with fecal microbiota transplantation in patients with multiple organ dysfunction syndrome and diarrhea following severe sepsis[J]. *Crit Care*, 2016,20(1):332
- Hu D, Liu Y, Xu H. Effect of recovery and protection on the function of vascular endothelial cells of early intensive insulin therapy in sepsis patients[J]. *Chin J Pharmacoepidemiol*, 2017,26(1):7-9
- 周凯, 胡迎春. 壳聚糖介导 HMGB1 的 siRNA 对脓毒症大鼠肝肺中细胞因子的影响研究[J]. *中国生化药物杂志*, 2015,35(1):77-80

(收稿日期:2017-10-29)

(修回日期:2017-11-21)

基于 FBXW7 及其下游底物的恶性肿瘤相关机制研究

邵芳斐 杨 洋 包晓燕 袁 强

摘 要 FBXW7 是一种肿瘤抑制因子,控制细胞的增殖、分化、细胞周期进程、凋亡、癌变等多种细胞生物学过程。现已在广泛的人类癌症组织中发现了 FBXW7 的缺失和突变,这表明异常的 FBXW7 可能是多种人类癌症的重要特征。FBXW7 基因的改变可直接调控其下游底物,与肿瘤的发生、发展和转移密切相关。本文将重点讨论 FBXW7 基因的下游底物与恶性肿瘤之间关系的研究进展。

关键词 FBXW7 肿瘤 下游底物

中图分类号 R73

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2018.08.044

基金项目:浙江省新苗基金资助项目(2016R410004)

作者单位:310053 杭州,浙江中医药大学第二临床医学院(邵芳斐、杨洋、包晓燕);浙江中医药大学学生处(袁强)

通讯作者:袁强,教授,电子信箱:1659398630@qq.com