

# 肠源性内毒素损害防治策略思考

马思远 张雅萍

内毒素是革兰阴性菌细胞壁的组成成分之一,于 1892 年被发现并命名<sup>[1]</sup>。直至 1970 年,人们才认识到内毒素在脓毒症中的重要作用并尝试进行治疗<sup>[2-3]</sup>,但没有取得满意的临床效果<sup>[4-5]</sup>。肠道是人体最大的细菌及内毒素储存库,在病理状况及使用抗生素治疗过程中内毒素被大量释放,穿过通透性增高的肠黏膜移位入血,诱发严重全身性内毒素损害,导致休克和 MOF。因此防治重症感染的主要着力点,应放在能否早期有效控制或减少肠道内毒素移位入血,这也是防治全身性内毒素损害的一个关键环节。

## 1 肠源性内毒素损害的发生机制

内毒素是具有多种生物学活性的细菌溶解产物,其本质为脂多糖,在细菌的细胞壁裂解时释放或在活菌内以发泡形式释放。正常人肠道内聚集着大量革兰阴性菌,生长代谢中也会有少量内毒素释放,但由于肠道的屏障作用,内毒素很难通过肠壁进入血液循环,加上肝脏的清除作用,一般不会对人体造成损害。

在严重烧(创)伤、肝硬化、癌症、滥用抗生素等病理状态下,机体内毒素产生与清除能力失衡,肠道屏障被破坏,内毒素对肠道黏膜及全身其他部位造成严重损害。目前普遍认为肠源性内毒素损害的发生,与下列因素相关。

### 1.1 肠道细菌内毒素释放增加

在治疗感染性疾病时抗生素发挥了重要作用,但细菌死亡过程中尤其是滥用抗生素亦可导致肠道细菌内毒素的大量释放<sup>[6]</sup>;肠道微生态失衡,使得革兰阴性杆菌过度生长,由此内毒素释放量增加。

### 1.2 肠黏膜屏障功能受损,内毒素入血量增加

严重烧(创)伤、应激状态等可导致肠黏膜缺氧,进而其机械、化学、免疫等屏障功能损伤,通透性增加,内毒素穿过黏膜屏障移位入血,引起全身性

内毒素损害。实验也证实内毒素可以通过大鼠肠道上皮细胞移位入血<sup>[7]</sup>,5-羟色胺受体可能是潜在介导物质之一<sup>[8]</sup>。

### 1.3 肝功能受损,清除内毒素的能力下降

健康状况下进入血液循环的内毒素主要由肝脏的枯否细胞以“胞饮”方式捕获,经过一系列化学修饰后被传递给肝细胞彻底解毒。在严重肝硬化等疾病中,单核巨噬细胞摄取内毒素的能力下降,肝细胞解毒功能丧失,无法及时有效地清除循环血中的内毒素。

入血的内毒素可作用于单核巨噬细胞系统、血管内皮细胞系统及其他靶器官或组织,造成机体损伤如产生细胞因子、触发细胞因子网络反应、引起炎症级联反应的“瀑布效应”,损伤血管内皮造成血流动力学改变进而损伤组织器官,直接诱导细胞凋亡导致 MOF。

## 2 肠源性内毒素损害的防治现状

一般治疗。针对基础疾病及临床症状进行治疗,包括尽快复苏、纠正休克、保护肝脏等重要生命器官功能等,提高机体免疫功能。

抗生素治疗。早期合理地选用有效且使细菌释放内毒素量较少的抗生素治疗,是减轻内毒素损害的措施之一。研究提示,因抗生素作用机制的差异,不同抗生素诱导细菌释放内毒素的量也不尽相同。 $\beta$ 内酰胺类诱导内毒素释放的能力最强,喹诺酮类次之,氨基糖苷类较低<sup>[6]</sup>。目前认为多黏菌素 B 在所有抗生素中诱导内毒素释放量最少,但因严重的不良反应不适合大规模临床应用。

微生态制剂治疗。微生态制剂包括益生菌发酵液或冻干粉等,可以调节肠道菌群、扶持厌氧菌生长、减少有害菌比例及内毒素产生。临床研究证明,口服微生态制剂可以显著保护肠黏膜屏障功能,减少肠道内毒素移位入血,减轻肠源性内毒素对机体的损害<sup>[9]</sup>。

肠道免疫营养。早期进行该支持治疗可以促进肠道功能恢复,减轻肠道损伤,保护肠黏膜。新近研究表明,早期给予富含谷氨酰胺、纤维素、低聚糖的

DOI:10.3760/cma.j.issn.1009-2587.2011.02.014

作者单位:400038 重庆,第三军医大学西南医院全军烧伤研究所,创伤、烧伤与复合伤国家重点实验室

通信作者:张雅萍,Email:ypz\_tmmu@yahoo.cn,电话:023-68765322

肠内营养制剂,可保护肠黏膜屏障功能,预防和减少肠道内毒素移位,降低肠源性内毒素损害<sup>[10]</sup>;亦可调节机体免疫系统,干预并改善免疫功能。例如早期肠道应用谷氨酰胺等,可以显著改善肠道屏障功能,降低肠源性内毒素移位损害,提高动物生存率<sup>[11-13]</sup>。

传统中药治疗。在祖国医学中有许多药物具有拮抗内毒素损害的作用,常用的有大黄、丹参、芍药以及血必净、大承气汤、四君子汤等。血必净为复方中药制剂,由赤芍、川芎、丹参、红花和当归等组成,具有活血化瘀、清热凉血的功效,经临床证实可拮抗内毒素、调节机体免疫功能、防治弥漫性血管内凝血、保护机体组织器官,且有较好的安全性<sup>[14-15]</sup>。

其他疗法。如连续血液净化,应用于临床防治内毒素损害或脓毒症取得一定效果<sup>[16]</sup>。乌司他丁作为一种有效的抗炎制剂,被证实具有保护肠黏膜、改善凝血功能、保护内皮细胞等作用,在临床防治内毒素损害及脓毒症中发挥了重要功效<sup>[17]</sup>。还有诸如肠道缺血预处理<sup>[18]</sup>、抗内毒素抗体、抗炎症介质抗体及作用于内毒素致炎通路关键分子与环节的药物<sup>[19]</sup>等,也在进一步研究中。

### 3 肠源性内毒素损害防治的几点建议

内毒素致病特点是一旦与靶向组织相结合并启动级联反应,机体即可在无内毒素持续刺激的情况下进行后续的炎症反应,导致组织器官持续受损。因此,防治肠源性内毒素损害的最佳策略是以预防为主、防治结合,最好是在肠道内阻隔或者消灭内毒素,以阻止或减少其移位入血,抑制其与靶向组织相结合,遏制后续级联效应的启动与发展。

在目前防治肠源性内毒素损害方法的基础上,我们建议充分利用内毒素抗体的特异性拮抗作用并结合多种措施进行综合防治:(1)早期给予足量抗体,中和并清除肠道内产生的细菌内毒素,抑制其与靶细胞组织的有效结合;(2)喂养大量益生菌活菌,扶植或重建肠道微生态菌群,改善肠道微环境,促进肠黏膜的修复与保护;(3)及时给予肠道营养,使用富含谷氨酰胺、纤维素、低聚糖的营养制剂保护肠道屏障功能,预防或减少内毒素移位入血;(4)适当应用促胃肠动力药物促进胃肠蠕动,抑制细菌定植、加速脱落细菌排出,减少肠道内细菌存量。

在上述建议中,内毒素抗体可起到关键作用。该抗体能特异性地与内毒素结合,在内毒素未对组织器官造成损害前使其失去生物学功能。但是到目

前为止,针对内毒素的单克隆抗体尚不能明显降低内毒素血症患者的病死率<sup>[20-21]</sup>。我们推测,内毒素是结构复杂的大分子物质,有着众多可能完全不同的表位,而单克隆抗体却因为严格的专一性,限制其识别其他表位,从而降低了实际应用效果。多克隆抗体则由于可以识别不同表位,能覆盖更多的潜在结合点,更有利于发挥抗体的拮抗功能,提高临床治疗效果。

由于动物保护理念的日渐盛行和血液性疾病的传播,利用动物血浆制备多克隆抗体的做法逐渐受到质疑并被边缘化。特异性卵黄免疫球蛋白(IgY)是近年发现的来源于禽类的Ig,属于多克隆抗体。其免疫提纯过程简单,不会造成动物损伤,能有效避免日益严重的血液传染性疾病<sup>[22]</sup>,有利于大规模生产高纯度、高效价、低成本的特异性抗体。相对于用哺乳动物采血获得抗体的传统方案,制备IgY更符合动物保护理念。种属差异使得禽类对哺乳动物源性的细菌和病毒的免疫应答反应更加强烈,针对不同抗原决定簇产生的抗体也与哺乳动物有所不同。

研究结果显示,IgY具有良好的拮抗内毒素功能。严重烧伤后肠源性内毒素损伤小鼠给予口服IgY治疗,血中TNF- $\alpha$ 、IL-6及IL-1 $\beta$ 水平较未接受治疗的对照组显著下降,死亡率也显著降低;IgY对不同细菌来源的内毒素抗原具有显著的交叉反应能力和中和拮抗作用<sup>[23]</sup>。但作为蛋白制剂,IgY口服给药时同样会面临被胃蛋白酶等消化酶降解的问题,这是经口服途径给予IgY的最大挑战与局限。肠溶性制剂可能会帮助IgY避免被胃蛋白酶消化,而且进一步研究表明,当pH值大于或等于3.0时IgY不会被胃蛋白酶等消化酶破坏,但pH值小于3.0时IgY可被胃蛋白酶消化分解为Fab'片段。有趣的是,向胃内灌注Fab'依然可以有效拮抗内毒素损害,降低严重烧伤小鼠死亡率和血浆LPS、TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-1 $\beta$ 水平,保护肠黏膜<sup>[23-25]</sup>。目前该研究仅限于动物实验,尚缺乏临床应用资料。另外,IgY能否被哺乳动物肠道吸收的问题也引起了很多学者的关注与疑问。我们认为,目前提倡烧伤早期应用IgY的主要目的在于中和肠腔内尚未移位入血的内毒素,此时IgY的肠道吸收问题已不是影响其治疗效果的决定因素。美国食品和药品管理局认为口服IgY安全可靠,将其列入“一般公认安全(generally accepted as safe)物质”范畴<sup>[26]</sup>。作为多克隆抗体,特异性IgY具有替代传统哺乳动物抗体的潜在能力,且可以在综合防治肠源性内毒素损害新策略中

发挥重要作用。

第三军医大学西南医院全军烧伤研究所利用含双歧杆菌发酵菌液的微生态制剂“百霏露”,救治大面积严重烧伤后肠源性感染及内毒素损害患者,能明显提高患者生存率并改善其预后<sup>[27]</sup>,提示口服微生态制剂对临床防治肠源性内毒素损害有积极作用。如果能使用细菌状态良好、含有大量益生菌代谢分泌产物的发酵液制剂,实际效果将更好。

#### 4 小结

控制内毒素来源、预防和治疗肠源性内毒素移位,是严重烧(创)伤后肠源性内毒素血症防治的出发点。目前,国内外尚无疗效显著、不良反应小、价格低廉的治疗内毒素感染的理想药物,作为无毒且高亲和力的中和内毒素制剂,抗内毒素 IgY 及其酶解产物 Fab'具有重要的研发价值和广阔的市场前景。采用抗内毒素 IgY 及 Fab'进行基础治疗,再联合使用抗生素、微生态制剂、肠内营养,这一综合方案可能会成为解决临床肠源性内毒素损害的有效治疗策略。

#### 参考文献

- [1] Campbell M, Britt LD. Endotoxin has an indirect vasodilatory effect on isolated human skeletal muscle arterioles. *Arch Surg*, 2004, 139(6):652-654, discussion 655.
- [2] Levin J, Poore TE, Zauber NP, et al. Detection of endotoxin in the blood of patients with sepsis due to gram-negative bacteria. *N Engl J Med*, 1970, 283(24):1313-1316.
- [3] Ziegler EJ, McCutchan JA, Fierer J, et al. Treatment of gram-negative bacteremia and shock with human antiserum to a mutant *Escherichia coli*. *N Engl J Med*, 1982, 307(20):1225-1230.
- [4] Angus DC, Birmingham MC, Balk RA, et al. E5 murine monoclonal antiendotoxin antibody in gram-negative sepsis: a randomized controlled trial. *JAMA*, 2000, 283(13):1723-1730.
- [5] Ianaro A, Tersigni M, D'Acquisto F. New insight in LPS antagonist. *Mini Rev Med Chem*, 2009, 9(3):306-317.
- [6] 司文秀,杨继章,杨树民. 抗菌药物诱导内毒素的产生及抗内毒素药物的研究进展. *中国抗生素杂志*, 2007, 32(8):454-458, 480.
- [7] Tomita M, Ohkubo R, Hayashi M. Lipopolysaccharide transport system across colonic epithelial cells in normal and infective rat. *Drug Metab Pharmacokinet*, 2004, 19(1):33-40.
- [8] Yamada T, Inui A, Hayashi N, et al. Serotonin stimulates endotoxin translocation via 5-HT<sub>3</sub> receptors in the rat ileum. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2003, 284(5):G782-788.
- [9] 孙秀凤,单若冰. 梗阻性黄疸与细菌/内毒素移位的诊断及微生态制剂干预. *中国微生态学杂志*, 2008, 20(1):95-96.
- [10] Azuma H, Mishima S, Oda J, et al. Enteral supplementation enriched with glutamine, fiber, and oligosaccharide prevents gut translocation in a bacterial overgrowth model. *J Trauma*, 2009, 66(1):110-114.
- [11] Jiang ZY, Sun LH, Lin YC, et al. Effects of dietary glycyl-glutamine on growth performance, small intestinal integrity, and immune responses of weaning piglets challenged with lipopolysaccharide. *J Anim Sci*, 2009, 87(12):4050-4056.
- [12] Scheibe R, Schade M, Grundling M, et al. Glutamine and alanyl glutamine dipeptide reduce mesenteric plasma extravasation, leukocyte adhesion and tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) release during experimental endotoxemia. *J Physiol Pharmacol*, 2009, 60 Suppl 8:S19-24.
- [13] Ventura C, Moinard C, Segaud F, et al. Adaptive response of nitrogen metabolism in early endotoxemia: role of ornithine aminotransferase. *Amino Acids*, 2010, 39(5):1417-1426.
- [14] 刘伟,邹晓防,贾赤宇,等. 血必净注射液对大面积烧伤患者炎性介质和凝血功能的影响. *中华损伤与修复杂志(电子版)*, 2010, 5(1):66-70.
- [15] 赵志伟,雷晋,成剑,等. 血必净注射液对烧伤脓毒症患者脏器功能的影响. *中国药物与临床*, 2010, 10(2):202-203.
- [16] 向清,邓伟,尹友生,等. 连续性血液净化对严重创伤后并发 ARDS 患者细胞因子及内毒素的影响. *医学临床研究*, 2008, 25(3):423-425.
- [17] 蔡毅,林建东. 乌司他丁对脓毒症脏器的保护作用. *医学综述*, 2010, 16(2):286-288.
- [18] Tamion F, Richard V, Renet S, et al. Intestinal preconditioning prevents inflammatory response by modulating heme oxygenase-1 expression in endotoxic shock model. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2007, 293(6):G1308-1314.
- [19] 刘宏华,王惠珍,邹飞. 抗内毒素治疗研究进展. *广东医学*, 2007, 28(11):1867-1868.
- [20] Ma S, Zhang Y. Preparation of immunoglobulin Y (IgY) against lipopolysaccharide using gel chromatography from the yolks of eggs laid by immunized hens. *Protein J*, 2010, 29(7):475-480.
- [21] Hua-Dong Wang, Da-Xiang Lu, Ren-Bin Qi. Therapeutic strategies targeting the LPS signaling and cytokines. *Pathophysiology*, 2009, 16(4):291-296.
- [22] Amaral JA, De Franco MT, Zapata-Quintanilla L, et al. In vitro reactivity and growth inhibition of EPEC serotype O111 and STEC serotypes O111 and O157 by homologous and heterologous chicken egg yolk antibody. *Vet Res Commun*, 2008, 32(4):281-290.
- [23] 史政荣,张雅萍,马思远. 抗内毒素 Fab'体外对 LPS 的拮抗作用. *免疫学杂志*, 2009, 25(3):337-340.
- [24] 庄颖,张雅萍,马思远. 抗内毒素 Fab'对严重烧伤早期小鼠肠道损伤的保护作用. *世界华人消化杂志*, 2008, 16(13):1402-1406.
- [25] 庄颖,张雅萍,马思远. 抗内毒素 Fab'对严重烧伤早期肠源性内毒素血症小鼠 NO、MDA 与 iNOS 的影响及意义. *现代生物医学进展*, 2008, 8(5):822-824.
- [26] Coleman MA. Oral administration of chicken yolk immunoglobulins to lower somatic cell count in the milk of lactating ruminants: US, 5585098 [P/OL]. 1996-12-17 [2010-12-24]. <http://www.freepatentonline.com/5585098.html>.
- [27] 张雅萍. 生物制剂防治烧伤肠源性感染的实验研究. *武警医学*, 2005, 16(2):83-85.

(收稿日期:2010-12-24)

(本文编辑:王旭)