

## • 综述 •

## 早产儿肠道因素对新生儿坏死性小肠结肠炎发病机制的影响

牟廷刚 综述 金先庆 审校

新生儿坏死性小肠结肠炎(necrotizing Enterocolitis, NEC)是新生儿期一种肠道炎症性疾病,好发于早产儿、低出生体重儿。近年来由于肺表面活性物质的应用及医疗水平的提高,未成熟儿的存活率增加,NEC 的发病率不降反升。早产、肠道缺氧缺血、细菌感染以及肠道喂养是发生 NEC 的基本条件。早产儿肠道细菌定植模式改变、肠道屏障功能异常以及细胞因子表达异常等对 NEC 发生发展有重要影响,本文就上述方面研究进展做一综述。

## 一、肠道细菌定植模式改变

新生儿肠道正常菌群定植是营养、免疫和环境等多因素综合作用的结果。有研究表明早产儿特别是处于 NICU 的早产儿肠道内菌群定植延迟,细菌种类缺乏<sup>[1]</sup>。Wang Y 等<sup>[2]</sup>运用 16S rRNA 碱基序列分析技术分别对 NEC 组及空白对照组早产儿肠道菌群进行分析,结果 NEC 组早产儿肠道细菌多样性降低较对照组明显。肠道内正常菌群定植延迟和肠道内菌种多样性缺乏,使早产儿肠道细菌定植模式改变,出现抗药菌种或导致革兰阴性细菌过度生长、黏附及转移。近期研究<sup>[3]</sup>表明此种细菌定植模式改变不仅对肠道不成熟无改善作用,反而由于后者的存在而促进前者改变,最终导致优势细菌过渡生长、向肠壁移位,从而促发肠壁级连炎症反应,发生 NEC。

早产儿肠道细菌在 NEC 的相关危险因素中占据关键地位,目前尚未发现特异性细菌与此有关。变形杆菌在 NEC 早产儿组中较对照组明显上升,成为优势菌群,占整个肠道菌群的 50% 以上<sup>[2]</sup>。此外,近年来有关益生菌治疗 NEC 的研究更是表明益生菌能有效调节早产儿肠道菌群,降低 NEC 的发病率或病死率<sup>[4]</sup>。

## 二、肠道屏障功能异常

新生儿胃肠道屏障由非特异性和免疫性屏障构

成,成熟的肠道屏障作用可以有效防止肠道内病原菌入侵肠壁。由于早产儿胃酸分泌少、蛋白酶活性低,肠壁通透性高,分泌型 IgA 水平低以及胃肠动力障碍,使肠道内不完全分解产物增多,细菌易于停留繁殖,产生毒素,侵袭破坏肠壁组织,引发 NEC<sup>[5]</sup>。

1. 肠道上皮细胞间紧密连接与 iNO: 紧密连接由多簇蛋白质相互作用而形成,能有效阻止细菌和大分子物质入侵肠壁。McKenzie 等<sup>[6]</sup>报道内毒素或促炎介质会加强 MLC(肌球蛋白轻链)的磷酸化过程,导致紧密连接蛋白向心性回缩,减弱上皮细胞间相互作用,导致黏膜完整性破坏。早产儿肠道发育不成熟,紧密连接数目明显少于成熟儿,且易受细菌产物等损害,增加细菌和内毒素入侵肠壁的机会而促发 NEC。

近年来有关 iNO(诱导型 NO)与肠道屏障功能关系的研究倍受关注。iNO 的高氧化性不仅能使肠上皮细胞受损及其紧密连接蛋白表达下调,更能使其自我修复能力下降、肠上皮细胞凋亡,导致肠黏膜屏障受损<sup>[7]</sup>。此外,iNO 还可以通过影响肠上皮细胞内线粒体或膜脂质过氧化作用而导致细胞色素 C 释放、天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶活化,最终影响相应紧密连接蛋白合成,使紧密连接受损<sup>[8]</sup>。

2. 肠道黏液屏障: 肠道黏液屏障由被覆于肠道黏膜上皮细胞的黏液层构成,包括水、粘蛋白和脂质等成分构成。Sheth SU 等<sup>[9]</sup>研究发现黏液层对休克或出血引起的肠壁损伤具有明显保护作用。此外,动物实验还证实:黏膜上皮细胞表面的粘蛋白可通过固化酶的作用,降低细菌侵袭力,从而防止细菌入侵肠壁<sup>[10]</sup>。

## 三、肠道上皮细胞修复功能减弱与 LPS

良好的上皮细胞修复功能有助于防止细菌及内毒素入侵肠壁。肠道上皮细胞对损伤的反应包括细胞重建和细胞增生。Vieta D 等<sup>[11]</sup>研究发现 NEC 患儿细胞增生能力较对照组明显减弱。最近研究还发现内毒素可使结合素高表达从而引起肠上皮细胞重建功能减弱<sup>[12]</sup>。

LPS 在上皮细胞修复功能减弱过程中起重要作用, LPS 与 TLR4 结合, 启动相应信号肽通路, 最终导致多种促炎因子的释放, 增强肠道上皮细胞粘附能力, 损害肠道上皮细胞修复功能; 一方面, LPS 与 TLR4 结合, 导致 NF- $\kappa$ B 表达增多以及 NO、IFN 等促炎细胞因子的释放, 从而损伤上皮细胞修复功能<sup>[13]</sup>; 而 RhoA(一种信号肽分子)活性增高, 导致细胞粘附性增高, 从而抑制上皮细胞移位, 减弱肠道上皮细胞重建功能<sup>[5]</sup>。近来研究还提示 LPS 可通过增加结合素  $\alpha$ 3 和  $\beta$ 1 的表达, 从而增强细胞粘附能力, 抑制上皮细胞重建<sup>[12]</sup>。

#### 四、细胞因子

多种细胞因子参与 NEC 炎症反应, 炎症介质被认为是 NEC 发病机制的最后共同通路。血小板活化因子(PAF)、白细胞介素(IL)、表皮生长因子(EGF)、肿瘤坏死因子 $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )以及细胞核因子 $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)等细胞因子在 NEC 中的重要作用也逐渐被发现。

1. PAF: PAF 是炎症细胞、血小板、内皮细胞、细菌产生的内源性磷脂介质。新生儿特别是早产儿由于富含 PAF 乙酰转移酶, 能大量合成 PAF。有研究表明, PAF 可活化肠上皮细胞的 STAT, 使磷脂酶 A 及内皮素-1 合成增加, 并可通过上调 bax 的表达而诱导上皮细胞凋亡, 从而损伤肠上皮细胞、破坏细胞间的连接而引起细菌移位<sup>[14]</sup>。最近研究还表明 PAF 可诱导肠上皮细胞产生 TLR4 从而活化 IKK, 激活 NF- $\kappa$ B 而促发级连炎症反应<sup>[15]</sup>。

2. ILs: 多种 IL 参与 NEC 发生发展, 这些 IL 中有些促发或加重肠壁炎症反应, 称为促炎型 ILs; 有些对肠壁炎症有下调作用, 称为抗炎型 ILs。①促炎型 ILs: Schnabl KL 等<sup>[16]</sup>研究结果表明神经节苷脂类药物可抑制 IL-1、IL-6、IL-8 及其它促炎细胞因子的产生而对 NEC 损伤肠起保护作用。IL-1 $\beta$  以及 IL-8 的上调可加强白细胞向病灶趋化作用以及吞噬细胞的活化过程, 从而促进病灶处级连炎症反应, 促进肠壁坏死<sup>[17]</sup>。②抗炎型 ILs: 多种抗炎介质参与 NEC 的发生, Markel TA 等<sup>[17]</sup>发现 IL-4 作为免疫调节剂, 可以减少 IL-1 $\beta$  和 TNF 等的释放, 增强巨噬细胞免疫防御作用, 从而改善级连炎症反应和减轻组织损伤。Jia SH 等<sup>[18]</sup>研究提示姜黄素可通过增加 IL-10 表达而对 NEC 小鼠起保护作用。而局限性 IL-11 升高可能是机体限制 NEC 肠道组织损伤的适应性反应。

3. EGF: EGF 对胃肠道发育及损伤时的修复至

关重要。Warner BB<sup>[19]</sup>对 NEC 患儿唾液中 EGF 进行测定, 结果 NEC 患儿 EGF 水平明显低下, 而 Sullivan PB<sup>[20]</sup>等证实 EGF 组黏膜较对照组明显增厚, EGF 可促进肠上皮细胞增生。Maynard AA<sup>[21]</sup>等研究发现 EGF 可减少肠上皮细胞自噬作用, 减少 NEC 肠壁细胞凋亡; Khailova L 等<sup>[22]</sup>则发现 EGF 可通过增强肝细胞间紧密连接以及粘着连接, 阻止 TNF- $\alpha$  的释放, 减少其对肠壁的损伤。

4. TNF- $\alpha$ : TNF 在体内分布广泛, 已证实肠壁炎症时其表达明显升高。Halpern MD 等<sup>[23]</sup>发现 NEC 小鼠肠壁 TNF- $\alpha$  含量增高明显, 而使用抗 TNF- $\alpha$  组小鼠 NEC 发病率明显较对照组下降(由 80% 下降至 17%)。有研究发现 TNF- $\alpha$  可通过增加活性氧释放以及控制 c-JNK/p38 磷酸化过程等介导肠上皮细胞线粒体损伤, 最终导致上皮细胞凋亡<sup>[24]</sup>。Markel TA 等<sup>[25]</sup>发现 TNF- $\alpha$  受体可减少干细胞 EGF 产生, 减弱其对肠壁的保护作用。

5. NF- $\kappa$ B: De Plaen IG 等<sup>[26]</sup>研究发现: NF- $\kappa$ B 抑制物能明显改善 NEC 小鼠模型肠损伤。但目前关于 NF- $\kappa$ B 在 NEC 中的作用尚不完全清楚。研究提示 NF- $\kappa$ B 细胞核结合后会上调包括 iNOS 和 IL-8 在内的多种促炎介质的释放, 从而加重肠壁级连炎症反应<sup>[27]</sup>。

综上所述, 在 NEC 的发生过程中, 肠道细菌定植模式改变为其提供了病原学基础, 肠道黏膜屏障功能异常和肠道上皮细胞修复功能异常为其提供了病理学基础, 而多种细胞因子的参与是造成肠壁持续损伤的关键。了解它们在 NEC 发病中的作用, 将有助于在 NEC 的防治工作中采取新方法, 降低 NEC 的发病率、病死率。

#### 参考文献

- 1 De La Cochetiere MF, Piloquet H, Des Robert C, et al. Early intestinal bacterial colonization and necrotizing enterocolitis in premature infants: the putative role of Clostridium[J]. *Pediatr Res*, 2004, 56(3):366-370.
- 2 Wang Y, Hoenig JD, Malin KJ, et al. 16S rRNA gene - based analysis of fecal microbiota from preterm infants with and without necrotizing enterocolitis[J]. *ISME J*, 2009, 3(8):944-954.
- 3 Claud EC, Walker WA. Bacterial colonization, probiotics, and necrotizing enterocolitis[J]. *J Clin Gastroenterol*, 2008, 42 Suppl 2:46-52.
- 4 Braegger CP. Probiotics and the prevention of necrotizing en-

- terocolitis[J]. *Ann Nutr Metab*, 2010, 57 Suppl:14-15.
- 5 Anand RJ, Leaphart CL, Mollen KP, et al. The role of the intestinal barrier in the pathogenesis of necrotizing enterocolitis [J]. *Shock*, 2007, 27(2):124-133.
- 6 McKenzie JA, Ridley AJ. Roles of Rho/ROCK and MLCK in TNF - alpha - induced changes in endothelial morphology and permeability [J]. *J Cell Physiol*, 2007, 213(1):221-228.
- 7 Ford HR. Mechanism of nitric oxide - mediated intestinal barrier failure: insight into the pathogenesis of necrotizing enterocolitis [J]. *J Pediatr Surg*, 2006 Feb, 41(2):294-299.
- 8 Chokshi NK, Guner YS, Hunter CJ, et al. The role of nitric oxide in intestinal epithelial injury and restitution in neonatal necrotizing enterocolitis [J]. *Semin Perinatol* [J], 2008, 32(2):92-99.
- 9 Sheth SU, Lu Q, Twelker K, et al. Intestinal mucus layer preservation in female rats attenuates gut injury after trauma - hemorrhagic shock [J]. *J Trauma*, 2010, 68(2):279-288.
- 10 Montagne L, Piel C, Lalles JP. Effect of diet on mucin kinetics and composition: nutrition and health implications [J]. *Nutr Rev*, 2004, 62:105-114.
- 11 Vieten D, Corfield A, Ramani P, et al. Proliferative response in necrotizing enterocolitis is insufficient to prevent disease progression [J]. *Pediatr Surg Int*, 2006, 22(1):50-56.
- 12 Qureshi FG, Leaphart C, Cetin S, et al. Increased expression and function of integrins in enterocytes by endotoxin impairs epithelial restitution [J]. *Gastroenterology*, 2005, 128(4):1012-1022.
- 13 Sailai Y, Yu X, Baiheti P, et al. Influence of nuclear factor kappaB activation on inflammatory mediators of alveolar macrophages in rats with acute necrotizing pancreatitis [J]. *J Invest Med*, 2010, 58(1):38-42.
- 14 Claud EC. Neonatal Necrotizing Enterocolitis - Inflammation and Intestinal Immaturity [J]. *Antiinflamm Antiallergy Agents Med Chem*, 2009, 8(3):248-259.
- 15 Borthakur A, Bhattacharyya S, Alrefai WA, et al. Platelet - activating factor - induced NF - kappaB activation and IL - 8 production in intestinal epithelial cells are Bcl10 - dependent [J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2010, 16(4):593-603.
- 16 Schnabl KL, Larsen B, Van Aerde JE, et al. Gangliosides protect bowel in an infant model of necrotizing enterocolitis by suppressing proinflammatory signals [J]. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 2009, 49(4):382-392.
- 17 Markel TA, Crisostomo PR, Wairiuko GM, et al. Cytokines in necrotizing enterocolitis [J]. *Shock*, 2006, 25(4):329-337.
- 18 Jia SH, Wei H, Yu JL, et al. Protective effects of curcumin on neonatal rats with necrotizing enterocolitis [J]. *Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi*, 2010, 12(2):132-136.
- 19 Warner BB, Ryan AL, Seeger K, et al. Ontogeny of salivary epidermal growth factor and necrotizing enterocolitis [J]. *J Pediatr*, 2007, 150(4):358-363.
- 20 Sullivan PB, Lewindon PJ, Cheng C, et al. Intestinal mucosa remodeling by recombinant human epidermal growth factor(1-48) in neonates with severe necrotizing enterocolitis [J]. *J Pediatr Surg*, 2007, 42(3):462-469.
- 21 Maynard AA, Dvorak K, Khailova L, et al. Epidermal growth factor reduces autophagy in intestinal epithelium and in the rat model of necrotizing enterocolitis [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2010, 299(3):614-622.
- 22 Khailova L, Dvorak K, Arganbright KM, et al. Changes in hepatic cell junctions structure during experimental necrotizing enterocolitis: effect of EGF treatment [J]. *Pediatr Res*, 2009, 66(2):140-144.
- 23 Halpern MD, Clark JA, Saunders TA, et al. Reduction of experimental necrotizing enterocolitis with anti - TNF - alpha [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2006, 290(4):757-764.
- 24 Baregamian N, Song J, Bailey CE, et al. Tumor necrosis factor - alpha and apoptosis signal - regulating kinase 1 control reactive oxygen species release, mitochondrial autophagy, and c - Jun N - terminal kinase/p38 phosphorylation during necrotizing enterocolitis [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2009, 2(5):297-306.
- 25 Markel TA, Crisostomo PR, Wang M, et al. Activation of individual tumor necrosis factor receptors differentially affects stem cell growth factor and cytokine production [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2007, 293(4):657-662.
- 26 De Plaen IG, Liu SX, Tian R, et al. Inhibition of nuclear factor - kappaB ameliorates bowel injury and prolongs survival in a neonatal rat model of necrotizing enterocolitis [J]. *Pediatr Res*, 2007, 61(6):716-721.
- 27 Frost BL, Jilling T, Caplan MS. The importance of pro - inflammatory signaling in neonatal necrotizing enterocolitis [J]. *Semin Perinatol*, 2008, 32(2):100-106.