

神经递质异常在先天性巨结肠生理变化中的作用



黄发新^{1,2}综述 刘 磊¹审核

先天性巨结肠(Hirschsprung's disease, HD)又称先天性无神经节细胞症,是小儿外科常见的先天性消化道畸形之一,发病率约 20/100 000,男性稍高于女性,有一定的遗传易感性,病因复杂,其确切病因尚不十分清楚,目前有遗传易感性、肠壁内微环境及环境因素异常等学说^[1]。因很多研究认为肠神经系统(enteric nervous system, ENS)中神经化学递质异常可能是 HD 发病的根本原因,故 HD 相关神经递质研究一直是 HD 病因研究的热点之一。根据肠神经系统神经元存在不同的神经递质,从化学性质可分为六类:①胆碱能神经元:释放乙酰胆碱(Acetylcholine, ACh)。②肾上腺素能神经元:释放去甲肾上腺素(noradrenergic nerves, NA)。③5-羟色胺能神经元:释放 5-羟色胺(5-hydroxy tryptamine, 5-HT)。④γ-氨基丁酸能神经元:释放 γ-氨基丁酸(Gamma Aminobutyric Acid, GABA)。⑤肽能神经神经元:释放多种脑肠肽。⑥一氧化氮合成酶神经元:合成释放一氧化氮(nitric oxide, NO)。因神经递质数量及种类较多,功能较复杂。现就以上六类神经元中重要的神经递质在 HD 中的异常表达做一综述^[2]。

一、胆碱能神经递质异常

胆碱能神经元是种系个体发育中最早出现的神经元,也是 ENS 内数目最多的神经元,ENS 释放的 ACh 是胃肠道最主要的兴奋性神经递质,在体内与 M 受体结合,能使平滑肌膜去极化,刺激胃肠壁内胆碱能神经产生兴奋性接头电位(excitatory junction potentials, EJPs),使平台期电位幅值增加,时程延长。大量实验表明它能促使钙离子内流,抑制平滑肌细胞膜的钾电流,还能活化钙活化的氯离子通道和非选择性阳离子通道,对胃肠运动起主要调节作用,可刺激胃肠肌收缩和促进胃肠蠕动,还与胃肠腺体分泌有关,故经常用于研究生理或病理状态下胃

肠运动变化^[3]。早期国内外通过乙酰胆碱酯酶(Acetylcholine esterase, AchE)染色发现 HD 狭窄段黏膜下层大量增生、肥厚、排列紊乱的阳性神经丛。因副交感神经释放大量 Ach,促使平滑肌细胞钙离子内流。最终导致狭窄段平滑肌产生痉挛收缩。这是 HD 生理变化的一种解释。由于正常人肠壁黏膜固有膜内不能显示 AchE 阳性神经,而 AchE 染色不仅能清晰显示神经节细胞数目、分布,且能较好显示胆碱能神经^[4]。故 AchE 酶组织化学染色法也成为了诊断 HD 的经典方法之一。

二、肾上腺素能神经递质异常

国内樊翌明^[5]等研究表明,HD 患儿狭窄段肠肌的 NA 较少,其与壁内神经节细胞有密切的形态学联系。他们研究发现 NA 能够影响神经节细胞的功能活动而间接影响肠肌运动。他们认为无神经节细胞肠管痉挛狭窄的主要原因是狭窄段受交感和副交感神经双重调控,而 NA 减少导致交感神经的抑制性调控作用相对较弱,故副交感神经相对较多,释放大量 Ach,最终导致平滑肌产生痉挛收缩。但也有研究发现,HD 狭窄段 NA 能神经较正常肠管表达多,但不及乙酰胆碱增加得多,也就是说狭窄段交感、副交感神经都增强,但副交感神经更强,故部分学者认为副交感神经功能亢进是狭窄段平滑肌持续收缩的原因之一^[6]。2007 年 Tomita R 和 Howard ER^[7]体外实验研究均发现 NA 能引起结肠舒张,且在正常结肠中引起舒张频率最高。在肠神经系统发育不良、神经节细胞减少症及 HD 患儿肠神经中肾上腺素能神经减少,且减少量具有显著统计学差异。也就是说,狭窄段缺乏去甲肾上腺素能神经及递质,导致导致狭窄段平滑肌不能舒张而产生痉挛收缩。这也是 HD 生理变化的另一种解释。

三、5-羟色胺能神经递质异常

5-HT 是一种肠道兴奋性神经递质,其既可作用于肠道平滑肌细胞,亦能激活胆碱能神经元和其他非肾上腺非胆碱能神经(non-adrenal non-cholinergic nerve, NANC)抑制性神经元,调节正常肠管的收缩或舒张,总体效应主要是调节肠管处于舒张状态。在动物实验中,5-HT 能神经受体激动剂能增

强胃肠道蠕动,5-HT 受体基因敲除的大鼠肠道动力明显下降,结肠壁明显变薄,黏膜下和肌间神经丛神经元数量减少^[8]。研究表明 5-HT 必须通过受体才能发挥作用,在胃肠道起主要作用的是 5-HT₃ 受体和 5-HT₄ 受体。2008 年 Rachael R. Roberts、Joel C. Bornstein 等^[9]通过使用 5-HT₃ 受体阻止剂格拉司琼,发现 5-HT₃ 受体阻止剂可以增加巨结肠小鼠模型结肠迁移复合运动蠕动波波峰的距离,并减慢蠕动速度。但笔者目前未查及 5-HT₃ 受体在 HD 肠管中表达情况的文献。朱旭^[10]等研究发现 5-HT₄ 受体在 HD 组中阳性指数在黏膜层低于近端,而肌间神经丛无表达,与正常对照组比较,无论黏膜层还是肌间神经丛受体都表达下降。根据 HD 生理变化,笔者推测狭窄段可能缺乏 5-HT 相关受体,进而引起狭窄段蠕动障碍,持续痉挛不能舒张,最终导致 HD 的生理变化的发生。

四、一氧化氮合酶神经递质异常

一氧化氮合酶(nitric oxide synthase, NOS)神经的主要神经递质是一氧化氮(nitric oxide, NO),而 NO 是人类肠道 NANC 递质,能有力松弛平滑肌。NO 释放降低了慢电波的幅度和持续时间,并因此抑制了平滑肌收缩。早年 Hanani 等^[11]定量分析 30 例 HD 病人的 NOS 发现,在狭窄段,30 例病人的平均 NOS 活性明显低于扩张段。为了更直观的了解 NO 神经在 HD 狭窄段生长情况,胡晓丽等^[12]采用 NOS 免疫组织化学方法对 HD 患儿肠管进行了研究,他们发现扩张段阳性着色的神经节细胞明显多于移行段。在狭窄段,未见 NOS 阳性的神经节细胞。仅见少量弱阳性表达的神经纤维。他们认为引起肠道平滑肌松弛的 NANC 和引起平滑肌收缩的胆碱能神经同时失衡,狭窄段缺乏 NO 等舒张性神经递质。进而导致该段肠管持续痉挛,最终产生了 HD 的生理变化。

五、肽能神经递质异常

肽能神经为 NANC 神经系统,是肠道强有力的抑制性神经,与肠道舒张和下行抑制有关。但是肽能神经递质种类数量较多,下面选择 HD 中已研究过的两种重要肽能一些递质进行描述。①血管活性肠肽(vasoactive intestinal peptide, VIP)是一种重要的肽能神经递质,同样介导平滑肌舒张,2004 年韩杰等^[13]通过免疫组化方法发现 HD 患儿病变段 VIP 染色中,肌层中阳性神经纤维减少较明显,而黏膜下层仅部分病例的阳性纤维减少。②P 物质(substance P, SP)是一种发现较早的脑肠肽,分布于脑和

消化管壁内,是一种一级感觉传入神经元的兴奋性递质,直接或间接作用于胃肠道平滑肌。曹福元等^[14]用免疫细胞化学方法对 HD 结肠壁肌丛的含 SP 神经形态学改变进行观察发现,在狭窄肠段包括含 SP 在内的所有神经元缺失,SP-IR(SP 的免疫反应性)神经终末较扩张段少,而且 SP-IR 神经终末与其它神经终末之间失去了正常的突触联系,包括内在实质性缺陷和外源性支配紊乱。在其他一些肽能神经递质研究方面,夏谷良、王果等^[15]采用免疫组织化学方法发现神经肽 Y(neuropeptide, NPY)、生长抑素(somatostatin, SOM)和降钙素调节基因相关肽(calcitonin gene-related peptide, CGRP)能神经在 HD 患儿狭窄段内缺乏 NPY、SOM 和 CGRP 能神经元胞体,但三种纤维明显增生增粗,并出现小神经干,且 NPY、SOM 和 CGRP 能神经支配紊乱,他们认为以上三种肽类神经异常与 HD 狭窄段痉挛及蠕动不良有关。总之,部分肽能神经元及递质的异常可能也是导致 HD 狭窄段蠕动障碍及痉挛的原因之一。

六、Y-氨基丁酸能神经递质异常

Y-氨基丁酸(Gamma Aminobutyric Acid, GABA)是一种天然存在的非蛋白质氨基酸,是哺乳动物中枢神经系统中重要的抑制性神经递质。它能使神经元超极化。GABA 在人及动物体内分布广泛,除脑和神经中含量较高,肝、肾、胃肠等也含少量的 GABA。其作为一种重要的抑制性神经递质在调节人体生理机能中有重要作用。其抑制作用是通过 GABA 受体介导的。目前可将 GABA 受体分为 3 个药理学亚型 GABA_A、GABA_B 和 GABA_C^[17],其中 A 受体最为重要。虽然很多文献中已经指出 GABA 广泛存在于胃肠道中,但是针对性研究 GABA 在 HD 肠管中表达情况的文献较少。GABA 对胃肠道功能,包括分泌和运动功能的调节,其中有一些涉及了 GABA 对肠道活动的影响,但可能是所研究的种族和肠道部位的差异,结果不尽一致^[16]。田琴等人^[17]以小鼠离体回肠收缩张力的变化为指标,观察 GABA 对小鼠回肠作用,她们发现 GABA 对小鼠回肠自主收缩有抑制作用,这种作用可能需要 CGMP 和 NO 的参与。2014 年国内 Hongchao yang 等^[18]用 ELISA 检测 HD 患儿血清中 GABA 表达较正常患儿高,他们认为 HD 患儿血清中 GABA 高表达可能作为 HD 诊断的一种新方法。相对于 GABA 及受体研究方面国外则研究相对较多,Eleanor Dow^[19]等人通过研究 HD 基因位点分析认为 A 受体的其中一个亚

基 B1 与 c-kit 基因位点接近,它的缺失会导致斑驳病,但他们认为导致 HD 发病的基因突变位点应除外此位点。Atif Saeed 等^[20]认为 GABA 在人肠道中的作用还没有完全明确。2012 年他们通过基因芯片检测 HD 患儿病变段发现 GABRG2 等基因在巨结肠患儿病变段、正常段及对照段存在组间差异($P < 0.05$),GABRG2 为编码 GABAA 受体 $\gamma 2$ 亚基的基因,并检测出它在巨结肠病变段表达是下调的。2014 年 Michelangelo Auteri^[21]用小鼠结肠末端做了研究,其研究发现 GABA 在小鼠远端结肠低浓度(10 ~ 50 μM)可以促进结肠蠕动,并加强胆碱能神经释放;而在较高浓度(500 ~ mM)则有抑制效应。总之,他们认为,GABAA 受体对低浓度的 GABA 比较敏感,当 GABA 为低浓度的时候可以结合 A 受体促进胆碱能神经和结肠蠕动。而当 GABA 高浓度时 B 受体的效应则会超过 A 受体的效应,最终减少胆碱能神经释放和抑制结肠蠕动。结合 Atif Saeed、Michelangelo Auteri 等人及 HD 生理情况可以推测 GABA 在 HD 患儿病变段与正常段之间可能无明显差异,但是狭窄段 GABAA 相关受体下调,故不能发挥 A 受体的效应:不能促进狭窄段胆碱能神经释放和促进肠蠕动,这可能是狭窄段缺乏蠕动的的原因之一。但此推论需检测 GABA 在 HD 患儿结肠中浓度及 A 受体表达情况。HD 患儿病变段 GABA 及受体表达情况还需以后进一步详细实验以确定。

综上所述,ENS 是一个完整的相对独立而复杂的整合系统。HD 生理变化与肠神经化学递质异常有密切关系。ENS 中兴奋性神经与抑制性神经存在精细而复杂的平衡。HD 患儿抑制性神经元、神经递质及受体不足,而兴奋性神经及相关递质似乎表达更多,更占优势,这可能是 HD 及许多动力障碍性疾病肠蠕动功能障碍及 HD 生理变化的重要原因。但 HD 在神经化学递质方面的研究还存在不足,如三磷酸腺苷(ATP)、Y-氨基丁酸及其受体等其他他肠蠕动相关神经递质在巨结肠中的表达及作用,如此多的神经递质异常是基因突变引起等问题并不十分明确。目前肠神经及相关递质在肠道疾病中的研究正在深入进行,相信随着研究的进展,对于 HD 疾病的认识和治疗必将取得新的突破。

参 考 文 献

1 高芳. 先天性巨结肠的发病原因、诊断及治疗研究进展[J]. 山东医药,2014,54(3):101-103.

2 周吕. 肠神经系统及其研究进展(一)[J]. 生物学通报,1996,31(11):1-7.

3 朱金照,张志坚,许其增,等. 肝硬化大鼠胃肠道胆碱能神经分布的变化[J]. 解放军医学杂志,2005,30(5):391-393.

4 陈锐源,李建宏. 先天性巨结肠术中快速诊断研究进展[J]. 临床小儿外科杂志,2011,10(5):380-382.

5 樊翌明. 先天性巨结肠肠壁内去甲肾上腺素能神经支配的荧光组织化学观察[J]. 中华小儿外科杂志,1989,10(6):324.

6 钟麟,胡廷泽. 先天性巨结肠基础研究国内进展[J]. 大肠肛门外科杂志,1996,2(1):52-55.

7 Tomita R,Howard ER. Pathophysiological role of the cholinergic and adrenergic nerves in patients with allied disorders of Hirschsprung's disease (intestinal neuronal dysplasia and hypoganglionosis) - an in vitro experiment [J]. Hepatogastroenterology,2007,54(75):725-728.

8 Taniyama K,Makimoto N,Furuichi A,et al. Functions of peripheral 5-hydroxytryptamine receptors, especially 5-hydroxytryptamine₄ receptor, in gastrointestinal motility [J]. J Gastroenterol,2000,35(8):575-582.

9 Roberts RR,Bornstein JC,Bergner AJ. Disturbances of colonic motility in mouse models of Hirschsprung's disease [J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol,2008,294(4):0193-1857.

10 朱旭,魏明发,卞红强,等. 5-羟色胺₄受体在先天性巨结肠和同源病中的表达[J]. 实用儿科临床杂志,2012,27(11):823-825.

11 Hanani M,Louzon V,Udassin R,et al. Nitric oxide-containing nerves in bowel segments of patients with Hirschsprung's disease[J]. J Pediatr Surg,1995,30:818-822.

12 胡晓丽,詹江华,王学文. 先天性巨结肠患儿一氧化氮合酶的免疫组织化学观察[J]. 中华病理学杂志,2000,29(5):372-373.

13 韩杰,魏明发,朱珉,等. 肠神经畸形肠壁神经递质表达的对比研究[J]. 中华小儿外科杂志,2004,25(3):254-257.

14 曹福元,殷光甫,胡道松,等. 先天性巨结肠病结肠壁内 P 物质能神经的免疫电镜观察[J]. 中国组织化学与细胞化学杂志,1999,8(3):307-309.

15 夏谷良,王果,袁继炎,等. 先天性巨结肠症 NPY、SOM、CCTRIP 能神经改变的免疫组织化学观察[J]. Chinese Journal of Pediatric Surgery,1996,17(6):324-326.

16 徐项桂,李伟波,何旋. γ -氨基丁酸对大鼠离体结肠自发收缩活动的影响[J]. 江苏农业科学,2006,6:318-322.

17 田琴,胡还忠,马立群,等. GABA 对小鼠回肠平滑肌自主收缩活动的影响.[J]. 世界华人消化杂志,2005,13(16):1981-1984.