

• 综述 •

内毒素血症急性肝损伤的特点及致病机制

齐海宇, 肖红丽, 阴赓宏, 王宝恩

(首都医科大学附属北京友谊医院, 北京 100050)

内毒素即细菌脂多糖 (LPS), 广泛存在于革兰阴性 (G⁻) 菌、螺旋体、立克次体等微生物细胞壁中, 病原菌裂解后 LPS 释放入血, 超过了肝脏的清除和解毒能力, 形成内毒素血症。肝脏作为清除内毒素的场所, 同时也是内毒素血症、休克过程中易损器官之一。过去几十年的研究已经证实, 肠道内毒素是肝损伤中重要的因子, 而内毒素血症时急性肝损伤机制尚未完全阐明, 现就近年来相关研究进展综述如下。

1 内毒素的来源

内毒素血症分为内源性和外源性两大类, 其临床症状主要取决于宿主对内毒素的抵抗力。

1.1 内源性内毒素血症: 肠腔内含有大量细菌及内毒素, 正常情况下, 肠黏膜可允许少量内毒素进入门静脉, 而少量内毒素有助于维持肝脏网状内皮系统处于激活状态^[1]。在肠屏障功能下降情况下, 如创伤 (包括手术)、烧伤、感染、不合理使用广谱抗菌药物、放化疗、长期肠外营养时, 肠道病原菌和内毒素移位入血, 刺激单核/巨噬细胞、中性粒细胞 (PMN)、血管内皮细胞、补体、缓激肽、凝血、纤溶、交感-肾上腺髓质系统, 致使大量炎症细胞因子和炎症介质释放, 导致全身炎症反应综合征 (SIRS)、脓毒症、脓毒性休克甚至多器官功能障碍综合征 (MODS) 的发生。

1.2 外源性内毒素血症: 各种侵入性检查和治疗, 如输血、输液、血液透析、放置导管及引流管、膀胱镜检查、经皮胆管穿刺造影等, 均可因病原菌内毒素污染而发生外源性内毒素血症。

2 内毒素血症和脓毒症时肝损伤的特点

脓毒症肝损伤临床上尚无确定的诊断标准, 与病毒性肝炎肝损伤不同, 后者以转氨酶升高 (肝细胞功能障碍) 为首要表现, 而前者临床表现是碱性磷酸酶升高和高胆红素血症 (胆红素和胆汁代谢障碍)^[2]。在脓毒症大鼠模型中, 肝功能障碍是早期出现并且普遍存在的。内毒素血症和脓毒症时, 肝脏生物转化的各个方面均可被影响, 早期血浆胆汁酸的改变出现在传统标志物 (转氨酶、总胆红素) 之前^[3]。有研究者比较了内毒素血症 (腹腔注射 LPS 30 mg/kg) 和多重微生物感染脓毒症 (腹腔注射粪便悬浮液) 两种动物模型中肝损伤的特点, 制模后 15 h 各组血浆胆红素水平分别为假手术组 (1.0±0.6) μmol/L、内毒素血症组 (9.1±0.6) μmol/L、脓毒症组 (15.2±1.3) μmol/L, 提示多重微生物感染模型中胆汁淤积和肝细胞功能障碍更显著^[4]。

3 内毒素血症时肝损伤的机制

肠道来源的门脉内毒素血症为正常的生理状态, 肝血窦

内的细胞尤其是固定的巨噬细胞 [即库普弗细胞 (KC)] 对于正常内毒素解毒至关重要。肝损伤最初发生在肝血窦内的细胞中, 严重影响了细胞将肠源性 LPS 无害处理的能力。而此时机体对 LPS 的敏感性明显增加 10~1 000 倍, 进一步加剧了肝细胞损伤。内毒素入侵到体循环中, 导致肝损伤相关的肝外表现, 如发热、急性肾损伤、弥散性血管内凝血 (DIC)、血压下降甚至休克等^[5]。肝血窦由 KC、肝窦内皮细胞 (LSEC)、肝星状细胞和陷窝细胞组成。

3.1 内毒素对肝脏 KC 的影响: KC 大约占肝细胞总量的 15%, 它是肝内固定的巨噬细胞, 占整个人体巨噬细胞总量的 80%~90%, 在肝脏清除内毒素和内毒素肝损伤过程中发挥着关键作用。KC 的吞噬功能与其能量代谢、表面受体、细胞内外渗透压和体内调理性水平及其结构完整性等有关。大剂量 LPS 可引起 KC 过度活化和吞噬功能低下, 进而介导并加剧内毒素血症所致的肝损伤。

3.1.1 内毒素致肝脏 KC 活化, 防御作用减弱: 巨噬细胞表面的 CD14 受体和 Toll 样受体 4 (TLR4) 是内毒素活化巨噬细胞的主要受体, 而清道夫受体 (SR) 则是重要的防御性受体, 参与内毒素的清除和灭活作用。内毒素血症时, 肝内 KC 表面 CD14 表达上调、SR 表达下调, 是 KC 防御功能减弱、致炎作用增强的重要机制。

3.1.1.1 KC 表面 CD14 表达增高: 内毒素血症时, KC 表面的 CD14 受体表达上调, 肝细胞分泌的 LPS 结合蛋白 (LBP) 增加, 有利于 KC 活化。TLR4、CD14 受体、髓样细胞分化蛋白 2 (MD2) 共同组成 LPS 受体/信号复合物, 在 LPS 刺激下, KC 通过其细胞表面的 TLR4/CD14/MD2 摄取 LPS, 使丝裂素活化蛋白激酶 (MAPK) 信号通路活化, 核转录因子-κB (NF-κB) 移位到 KC 细胞核中, 急性期蛋白 (APPs) 如可溶性 CD14 和 LBP 生成和释放增加, 介导 KC 进一步激活, 释放大量促炎介质, 包括肿瘤坏死因子-α (TNF-α)、白细胞介素 (IL-1β、IL-8、IL-12)、脂质过氧化物、血小板活化因子、补体、组织因子及其他有害介质, 最终导致 SIRS^[6]。

3.1.1.2 KC 表面 SR 表达降低: 正常小鼠和清道夫受体缺乏 (SR-BI) 小鼠中和 LPS 的能力类似, 但后者的肝脏和肝细胞对血浆中 LPS 清除能力降低。SR-BI 小鼠由于高密度脂蛋白 (HDL) 携带的胆固醇缺乏, 造成原发肾上腺功能不全, 导致糖皮质激素不足。在 LPS 诱导内毒素休克过程中, 补充肾上腺皮质激素使 SR-BI 小鼠对 LPS 的敏感性降低, 发挥一定的抗炎作用^[7]。

3.1.2 LPS 致肝脏 KC 吞噬功能低下: LPS 刺激时, KC 骨架结构改变和凋亡增加是其吞噬能力下降的主要机制之一。体外实验表明, LPS 能增强 KC 的吞噬能力, 但 KC 吞噬能力随 LPS 剂量增加和作用时间延长并未继续增强, 反而呈

下降趋势。大剂量 LPS 可对 KC 骨架结构产生影响,引起 KC 吞噬功能下降。LPS 使 KC 微丝和微管表达增强,肌动蛋白含量和微管荧光灰度显著增加,但剂量过大表达反而减弱^[8]。此外,大剂量 LPS (500 mg/L) 作用 24 h 后, KC 凋亡率显著高于 LPS 250 mg/L 组,而低剂量 LPS 组 (100 mg/L 和 10 mg/L) 和对照组均未检出凋亡^[8]。由于 KC 的吞噬功能降低,对 LPS 的吞噬及清除作用减弱,进而使 LPS 对肝脏的损害加剧。

3.1.3 内毒素致活化的 KC 释放炎症介质:活化后的 KC 合成并释放大量炎症介质及细胞因子,如 TNF- α 、一氧化氮 (NO)、活性氧 (ROS)、转化生长因子- β (TGF- β)、IL-6、IL-1 等,共同参与机体免疫炎症反应,导致肝细胞的损伤。TNF- α 是 LPS 致肝损害最关键的促炎介质。肝脏内含有丰富的 TNF- α 受体, LPS 通过 TNF- α 诱导肝损害^[9]。NO 可以抑制肝细胞蛋白质合成,同时还可以引起线粒体呼吸功能障碍。脓毒症时线粒体中产生大量 ROS, 损害膜脂、膜蛋白、DNA 等大分子,引起线粒体功能障碍,导致肝细胞损伤和坏死^[10]。

3.2 内毒素对 LSEC 的影响:LSEC 大约占肝细胞总量的 15%~20%。LPS 可显著作用于 LSEC,使 LSEC 的多孔性 (窗孔) 缺失,进而对血循环中细菌抗原和毒素产生免疫耐受^[11]。活化的 KC 产生的 TNF- α 和 IL-1 还能诱导 LSEC 和肝细胞大量表达细胞间黏附分子-1 (ICAM-1),促进细胞毒性 T 细胞攻击和破坏肝细胞,导致肝细胞大量坏死。TNF- α 和 ICAM-1 可促进 PMN 向肝窦聚集,黏附的 PMN 所释放的自由基、蛋白分解酶可损伤 LSEC,影响血流并激活凝血,促进微血栓形成。

3.3 内毒素血症时对肝脏血流的影响:脓毒症可以引起肝脏大循环和微循环的重要改变。由于实验动物和脓毒症模型的差异,有关肝脏血流改变的观点也各不相同。

3.3.1 对肝胆大循环的影响:严重脓毒症以相对低血压、高心排量、外周血管舒张和器官功能障碍为主要特征。脓症患者中,心排量增加,肝脏血流重新分布^[12]。脓毒症和内毒素血症时全身肾素-血管紧张素系统 (RAS) 高度活化^[13-14],RAS 激活后首先引起血压升高,经促炎因子和 NO 介导,所有器官包括肝脏中的血管紧张素 II (Ang II) 1 型受体 (AT1) 下调,导致血压反应性降低^[15]。内毒素诱导的肝细胞炎症信号,无论是直接还是通过活化的促炎因子,均最终导致胆管血流急剧减少。促炎信号“瀑布样”释放,作为对炎症信号的应答,大量核转录调控因子的表达和活性受到抑制,关键的肝胆转运蛋白表达和功能也被抑制^[16]。

3.3.2 对肝脏微循环的影响:微循环血流障碍被认为在脓毒症诱导的多器官功能衰竭 (MOF) 中发挥重要作用,间接证据表明通过改善微循环可阻止和减弱脓毒症诱导的器官功能衰竭^[17]。肝血窦被认为是肝组织内的微血管系统,在肝脏微循环中发挥关键作用。脓毒症时,肝内血流的重新分布和 LSEC、KC 及途经的白细胞共同相互作用,最终导致肝血窦内血流灌注减少,血流速度减慢。随后,PMN 浸润和微血栓形成,内皮细胞屏障激活和失活,进一步加剧了肝组织缺血和损伤。

脓毒症时某些调控微血管紧张度的物质如 NO、内皮

素-1 (ET-1) 和一氧化碳 (CO) 均高度活化^[17]。LPS 刺激后的大鼠基础门脉压升高,LSEC 功能障碍,对乙酰胆碱的扩血管作用减弱,原因与内皮型一氧化氮合酶 (eNOS) 磷酸化减少和肝脏炎症有关^[18]。给予盲肠结扎穿孔 (CLP) 小鼠静脉注射 CO 释放因子-2 (8 mg/kg) 后,CO 释放增加,干预了肝脏 NF- κ B 活化,减少了 ROS 和 NO 释放,ICAM-1、诱导型 NOS (iNOS) 表达和 PMN 聚集减少^[19],发挥抗炎作用。已证实血 Ang II 水平亦与脓毒症微循环障碍和器官功能衰竭有关^[15]。RAS 拮抗剂可减轻内皮损伤,阻止器官功能衰竭和降低病死率^[20]。此外,LPS 刺激 KC 释放大量炎症介质,进一步作用于肝窦周围细胞,引起肝脏微循环紊乱。

3.4 其他机制:以 CLP 复制腹膜炎诱导的脓毒症模型发现,在脓毒症早期自噬现象即短暂出现,而在多重微生物感染脓毒症晚期肝细胞自噬现象减少,导致肝功能衰竭^[21]。对 CLP 小鼠模型的观察还发现,肝脏恒定的自然杀伤淋巴细胞 (NKT 细胞) 活化在调控固有免疫/全身炎症反应中发挥着重要的作用^[22]。脓毒症时,脾脏增大,肝脏减小,NKT 细胞数量减少,肝脏 T 淋巴细胞凋亡和坏死增加。载脂蛋白 E (ApoE) 可促进血清中辅助性 T 淋巴细胞 1 (Th1 细胞) 因子水平升高,而 NKT 细胞来源的辅助性 T 淋巴细胞 2 (Th2 细胞) 因子 IL-4 水平降低,加剧肝损伤,减少肝脏淋巴细胞的凋亡^[23]。

肝脏是参与炎症反应的核心器官,包括加工 APP。肝脏 APP 通过促进骨髓来源的抑制性细胞的功能进而调控感染过程中的固有免疫^[24],多重微生物感染的脓毒症小鼠模型显示,去除肝细胞特异性 gp130 后,APP 合成终止,此时尽管细菌清除正常,但动物死亡率却显著增加。肝细胞还可表达和分泌肝再生增强因子 (ALR),刺激肝脏再生,维持肝细胞生存和发育能力。ALR 能刺激炎症细胞因子 (如 TNF- α 、IL-6) 分泌,KC 释放 NO^[25]。

肝细胞水通道蛋白 8 (AQP8) 表达缺陷导致脓毒症时胆管分泌功能障碍^[26]。LPS 刺激的大鼠模型与腹腔脓毒症大鼠模型肝细胞 AQP8 表达均下调,微管的水渗透性降低,可能是 LPS 诱导胆汁淤积的原因。

4 小结

肝脏是参与炎症反应的核心器官,内毒素血症急性肝损伤是炎症反应、肝脏血流特别是微循环功能异常及胆汁代谢紊乱综合作用的结果。内毒素血症时存在明显的胆红素、胆汁代谢异常,了解此时肝损伤的特点及致病机制,对于脓毒症早期采取肝保护措施,防治肝损伤具有一定的指导价值。

参考文献

- [1] 张凌云. 肠-肝轴及其在肝损伤发病机制中的作用[J]. 实用肝脏病杂志, 2012, 15 (4): 364-365.
- [2] 马晓春. 应提高对脓毒症肝损伤的认识[J]. 中华危重病急救医学, 2013, 25 (4): 198-200.
- [3] Recknagel P, Gonnert FA, Westermann M, et al. Liver dysfunction and phosphatidylinositol-3-kinase signalling in early sepsis: experimental studies in rodent models of peritonitis [J]. PLoS Med, 2012, 9 (11): e1001338.
- [4] Recknagel P, Gonnert FA, Halilbasic E, et al. Mechanisms and functional consequences of liver failure substantially differ between endotoxaemia and faecal peritonitis in rats [J]. Liver Int, 2013, 33 (2): 283-293.

- [5] Nolan JP. The role of intestinal endotoxin in liver injury : a long and evolving history [J]. Hepatology, 2010, 52 (5) : 1829–1835.
- [6] Scott MJ, Billiar TR. Beta2-integrin-induced p38 MAPK activation is a key mediator in the CD14/TLR4/MD2-dependent uptake of lipopolysaccharide by hepatocytes [J]. J Biol Chem, 2008, 283 (43) : 29433–29446.
- [7] Cai L, Ji A, de Beer FC, et al. SR-BI protects against endotoxemia in mice through its roles in glucocorticoid production and hepatic clearance [J]. J Clin Invest, 2008, 118 (1) : 364–375.
- [8] 克明, 韩德五, 许瑞玲, 等. LPS 对外枯否细胞吞噬功能的影响[J]. 中国病理生理杂志, 2003, 19 (6) : 795–798.
- [9] 龚平, 李春盛. 脓毒症和线粒体功能障碍[J]. 中华危重病急救医学, 2013, 25 (4) : 254–256.
- [10] González-Terán B, Cortés JR, Manieri E, et al. Eukaryotic elongation factor 2 controls TNF- α translation in LPS-induced hepatitis [J]. J Clin Invest, 2013, 123 (1) : 164–178.
- [11] Cheluvappa R, Denning GM, Lau GW, et al. Pathogenesis of the hyperlipidemia of Gram-negative bacterial sepsis may involve pathomorphological changes in liver sinusoidal endothelial cells [J]. Int J Infect Dis, 2010, 14 (10) : e857–867.
- [12] Hosein S, Udy AA, Lipman J. Physiological changes in the critically ill patient with sepsis [J]. Curr Pharm Biotechnol, 2011, 12 (12) : 1991–1995.
- [13] Almeida WS, Maciel TT, Di Marco GS, et al. Escherichia coli lipopolysaccharide inhibits renin activity in human mesangial cells [J]. Kidney Int, 2006, 69 (6) : 974–980.
- [14] 李晶铃, 阴荫宏, 王超, 等. 内毒素血症时循环肾素-血管紧张素系统改变的实验研究[J]. 中国危重病急救医学, 2006, 18 (2) : 92–95.
- [15] Bucher M, Ittner KP, Hobbhahn J, et al. Downregulation of angiotensin II type 1 receptors during sepsis [J]. Hypertension, 2001, 38 (2) : 177–182.
- [16] Kusters A, Karpen SJ. The role of inflammation in cholestasis : clinical and basic aspects [J]. Semin Liver Dis, 2010, 30 (2) : 186–194.
- [17] Spapen H. Liver perfusion in sepsis, septic shock, and multiorgan failure [J]. Anat Rec (Hoboken), 2008, 291 (6) : 714–720.
- [18] La Mura V, Pasarin M, Meireles CZ, et al. Effects of simvastatin administration on rodents with lipopolysaccharide-induced liver microvascular dysfunction [J]. Hepatology, 2013, 57 (3) : 1172–1181.
- [19] Cepinskas G, Katada K, Bihari A, et al. Carbon monoxide liberated from carbon monoxide-releasing molecule CORM-2 attenuates inflammation in the liver of septic mice [J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2008, 294 (1) : G184–191.
- [20] Salgado DR, Rocco JR, Silva E, et al. Modulation of the renin-angiotensin-aldosterone system in sepsis : a new therapeutic approach? [J]. Expert Opin Ther Targets, 2010, 14 (1) : 11–20.
- [21] Chien WS, Chen YH, Chiang PC, et al. Suppression of autophagy in rat liver at late stage of polymicrobial sepsis [J]. Shock, 2011, 35 (5) : 506–511.
- [22] Hu CK, Venet F, Heffernan DS, et al. The role of hepatic invariant NKT cells in systemic/local inflammation and mortality during polymicrobial septic shock [J]. J Immunol, 2009, 182 (4) : 2467–2475.
- [23] Kattan OM, Kasravi FB, Elford EL, et al. Apolipoprotein E-mediated immune regulation in sepsis [J]. J Immunol, 2008, 181 (2) : 1399–1408.
- [24] Sander LE, Sackett SD, Dierssen U, et al. Hepatic acute-phase proteins control innate immune responses during infection by promoting myeloid-derived suppressor cell function [J]. J Exp Med, 2010, 207 (7) : 1453–1464.
- [25] Vodovotz Y, Prelich J, Lagoa C, et al. Augmenter of liver regeneration (ALR) is a novel biomarker of hepatocellular stress/inflammation : in vitro, in vivo and in silico studies [J]. Mol Med, 2013, 18 (1) : 1421–1429.
- [26] Lehmann GL, Marinelli RA. Peritoneal sepsis downregulates liver expression of Aquaporin-8 : a water channel involved in bile secretion [J]. Liver Int, 2009, 29 (2) : 317–318.

(收稿日期: 2013-10-24) (本文编辑: 李银平)

• 读者 • 作者 • 编者 •

本刊对运用统计学方法的有关要求

- 1 统计学符号:按 GB 3358.1-2009《统计学词汇及符号》的有关规定,统计学符号一律采用斜体。
- 2 研究设计:应告知研究设计的名称和主要方法。例如:调查设计分为前瞻性、回顾性还是横断面调查研究;实验设计应告知具体的设计类型,如自身配对设计、成组设计、交叉设计、析因设计、正交设计等;临床试验设计应告知属于第几期临床试验,采用了何种盲法措施、受试对象的纳入和剔除标准等,并提供临床试验注册机构的名称和注册号。主要做法应围绕重复、随机、对照、均衡 4 个基本原则概要说明,尤其要告知如何控制重要非试验因素的干扰和影响。
- 3 资料的表达与描述:用均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表达近似服从正态分布的定量资料,用中位数 (四分位数间距或四分位数) [$M(Q_R)$ 或 $M(Q_L, Q_U)$] 表达呈偏态分布的定量资料。用统计表时,要合理安排纵横标目,并将数据的含义表达清楚。用统计图时,所用统计图的类型应与资料性质相匹配,并使数轴上刻度值的标法符合数学原则。用相对数时,分母不宜小于 20,要注意区分百分率与百分比。
- 4 统计学分析方法的选择:对于定量资料,应根据所采用的设计类型、资料所具备的条件和分析目的,选用合适的统计学分析方法,不应盲目套用 t 检验和单因素方差分析。对于定性资料,应根据所采用的设计类型、定性变量的性质和频数所具备的条件及分析目的,选用合适的统计学分析方法,不应盲目套用 χ^2 检验。对于回归分析,应结合专业知识和散布图,选用合适的回归类型,不应盲目套用简单直线回归分析;对具有重复实验数据检验回归分析资料,不应简单化处理;对于多因素、多指标资料,要在一元分析的基础上,尽可能运用多元统计分析方法,以便对因素之间的交互作用和多指标之间的内在联系做出全面、合理的解释和评价。
- 5 统计结果的解释和表达:当 $P < 0.05$ (或 $P < 0.01$) 时,应说对比组之间的差异具有统计学意义,而不应说对比组之间具有显著性 (或非常显著性) 差异;应写明所用统计学方法的具体名称 (如:成组设计资料的 t 检验、两因素析因设计资料的方差分析、多个均数之间两两比较的 q 检验等),统计量的具体值 (如: $t=3.45$, $\chi^2=4.68$, $F=6.79$ 等);在用不等式表示 P 值的情况下,一般情况下选用 $P > 0.05$ 、 $P < 0.05$ 和 $P < 0.01$ 共 3 种表达方式,无须再细分为 $P < 0.001$ 或 $P < 0.000 1$ 。当涉及总体参数 (如总体均数、总体率等) 时,在给出显著性检验结果的同时,应再给出 95% 可信区间。