

益生菌对肠黏膜屏障损伤的保护及修复机制研究进展

马锋振 杨公利

胃肠道益生菌是定植于人体胃肠道内,通过保持微生态平衡,能产生确切对于胃肠道功能改善的有益非致病性特定活性的微生物的总称。益生菌能平衡肠道菌群比例、转化肠内有害物质、减轻炎症反应、保护肠道黏膜屏障等。手术、创伤、严重感染、重症胰腺炎等因素可导致肠黏膜屏障功能下降,如不能及时修复,极可能会发展至肠衰竭甚至危及生命。近年来的研究表明,益生菌对于肠黏膜屏障损伤的修复及保护具有重要的临床意义。

一、肠道微生态与益生菌

人的胃肠道有大约 550 多种细菌,大多由厌氧菌、兼性厌氧菌和需氧菌组成,其中拟杆菌及双歧杆菌占到细菌总数的 90% 以上^[1]。肠道微生态构成在不同部位分布不同,成人肠道菌群主要集中于结肠及末端小肠。对于具体部位而言,细菌分布亦有不同。肠道黏膜与管腔内相比,细菌的种类是不同的,细菌与上皮间的关联也是不同的^[2]。有些细菌是有害的,能产生毒素,刺激炎症反应,激活致癌原。有些则是有益于健康的肠道微生物,能抑制有害菌群。肠道内菌群存在共生或拮抗关系,微生态的平衡与宿主健康密切相关。柔嫩梭菌属、类杆菌、球形梭菌属、双歧杆菌是人粪便菌群中的优势菌群,而乳酸杆菌肠杆菌、孢菌属、脱硫弧菌、奇异菌属及梭菌属等细菌则为肠道中次要优势菌群^[3]。在定植于肠上皮的基础上,肠道菌群通过组建及维护肠道黏膜屏障,以维持肠道组织与肠腔内环境的平衡稳定。平衡一旦打破,则会导致相关疾病^[4]。

二、肠黏膜屏障的组成及作用

正常人体的肠黏膜屏障由机械屏障、生物膜屏障以及免疫屏障组成。正是由于肠黏膜防御体系的完善,有效阻止肠道内的有害物质进入体循环^[5]。

1. 机械屏障:肠上皮细胞、肠上皮分泌的黏液及其紧密连接形成肠黏膜的机械屏障。肠黏膜细胞主要为柱状上皮细胞、少量杯状细胞、内分泌细胞及 Paneth 细胞。在肠道上皮细胞顶端,通过由紧密连接、桥粒及黏附连接组成的复合体与相邻的细胞连接,此机构有效封闭了肠黏膜上皮细胞顶部的孔隙。肠道黏液形成黏弹性胶层,可阻挡致病菌的入侵及定植。

2. 生物膜屏障:乳酸杆菌、双歧杆菌等多种益生菌组成生物膜屏障,后者实质是肠道常驻菌群组成的一个相互依存和抑制的微生态系统。肠道细菌在肠腔组成多层次生物膜,深层次细菌紧贴肠腔黏膜,又称为膜菌群,相对稳定,主要为双歧杆菌。表层细菌则称为腔菌群,紧靠肠上皮的厌氧菌可拮抗肠腔有菌菌的植入。

3. 免疫屏障:免疫屏障则由消化道相关淋巴组织、吞噬细

胞、免疫球蛋白、防御素等因素协同完成。参与免疫反应的细胞有:上皮细胞、固有层的淋巴细胞、树突状细胞、巨噬细胞、M 细胞等。当肠道细菌侵入至肠黏膜内时,肠黏膜主要靠相关淋巴组织(GALT)发挥免疫性的杀伤作用。各种细胞间紧密联系,协同完成肠道的免疫屏障作用。防御素是一类由肠细胞分泌的肽类抗菌物质。其独特的结构及阳离子作用可与原核细胞膜磷脂中阴离子结合并插入细胞膜之中,形成膜孔,从而使原核细胞丧失能量及其他离子成分,细胞裂解。

三、肠黏膜屏障损伤的原因及机制

当致病菌大量繁殖,在缺血、缺氧以及细胞因子的作用协同作用下,肠道细菌和内毒素易位,肠黏膜屏障的完整性遭破坏,使寄生于肠道内的细菌和内毒素穿过肠道黏膜,引发内源性感染,甚至发生全身炎症反应综合征(SIRS)及多器官系统功能衰竭(MOSF)。在大量使用抗生素、出血、休克、持续全胃肠外营养、创伤、严重烧伤、急性重症胰腺炎、肝硬化、放化疗等情况下均有可能出现肠黏膜屏障损伤的临床表现。其损伤机制如下。

1. 肠黏膜通透性增高^[6]:黏膜通透性增高发生于肠黏膜形态学出现变化之前,故其可反映早期肠道黏膜屏障的损害。肿瘤坏死因子(TNF)、内毒素、IFN- γ 、白细胞介素、血小板激活因子(PAF)和一氧化氮(NO)等细胞因子可使黏膜通透性增高。

2. 生物屏障和免疫系统的防御能力下降:长期禁食状态,使肠道黏膜长期缺少食物和消化道激素的刺激,导致肠绒毛失用性萎缩,肠黏膜变薄,黏膜更新和修复能力降低。当各种因素导致的胃酸、胆汁、黏多糖、蛋白分解酶及溶菌酶分泌减少时,肠液杀菌能力减弱,致病菌繁殖增强,并可导致细菌易位^[7]。抗生素的过度使用会导致正常菌群主导的肠道生物屏障破坏。

3. 缺血、缺氧导致肠黏膜损伤:在创伤导致的失血、甚至休克情况下,机体为维持心脑血管等重要器官的血供,会自我调整全身血液的分布,内脏血管收缩,血流减少,肠黏膜长时间处于低灌注状态而受到损伤^[8]。脓毒症时肠道血管床横断面积增加,血流交换时间增加,导致肠黏膜表面缺氧,进而导致黏膜上皮坏死,修复能力下降。

4. 内毒素及其他炎症因子的损伤作用^[9]:内毒素通过脂多糖结合蛋白和脂多糖受体的增敏系统,开启细胞内信号传导通路,刺激肿瘤坏死因子(TNF)、IL-1 和 IL-6 等细胞因子的表达,介导单核-巨噬细胞的活化,导致促炎因子和抑炎因子之间的失衡,从而引发一系列病理生理改变甚至会导致 MOSF。

四、益生菌对肠黏膜屏障的保护及修复

益生菌的胃肠道保护作用机制,研究普遍有以下共识:益生菌可改变肠道菌群比例及转化某些肠内物质。拮抗结合位点,阻止致病菌定植。调节抗炎与促炎因子之间的平衡,促进损伤上皮修复以及增强上皮紧密连接,加强肠黏膜屏障保护作用,阻止细菌移位等。

1. 降低肠道黏膜通透性,修复物理屏障^[10]:研究发现,嗜热链球菌和嗜酸乳杆菌能维持或增强细胞骨架蛋白和紧密连接蛋白的磷酸化。因此增强了肠上皮细胞间的紧密连接,降低肠道

DOI:10.3877/cma.j.issn.1674-0785.2013.11.059

基金项目:滨州医学院校级科研项目(BY2009KJ21)

作者单位:256603 山东省,滨州医学院附属医院消化内科(马锋振);南方医科大学南方医院消化内科(杨公利)

通讯作者:马锋振,Email:mafengzhen@163.com

黏膜的通透性,从而阻止了肠侵袭性大肠杆菌对肠上皮细胞的侵袭。益生菌还能降低致病状态下肠黏膜分泌 TNF- α 和 IFN- γ 水平,恢复受损伤上皮细胞的完整性及屏障功能^[11]。

2. 肠黏膜屏障的强化和加固:益生菌可刺激肠道上皮细胞表达黏蛋白,促进黏液分泌,形成黏膜和微生物之间的保护层,进一步强化和加固了肠黏膜的屏障功能^[12]。通过分泌细菌素以及上调防御素等益生菌能有效抑制致病菌的生长,增强肠道黏膜屏障的固有防御功能。益生菌还能通过与致病菌竞争肠道黏液层内和上皮细胞上的物理生长空间、营养物质以及竞争细胞表面受体等方式,抑制致病菌的黏附和定植。乳酸菌能维持肠道菌群的动态平衡,竞争抑制致病菌,产生抗菌化合物,增强肠道防御及免疫调节功能^[13]。除了数量上的优势,乳酸菌还可通过分泌抗菌物质,如醋酸和乳酸,抑制病原菌的生长和繁殖。另外,肠道内益生菌可以产生抗菌肽类物质,发挥其抗菌功能。

3. 抑制肠道黏膜的炎症反应:乳酸杆菌和双歧杆菌可减轻沙门氏伤寒菌导致的肠上皮细胞的炎症反应^[14]。肠道的炎症反应可导致黏膜屏障的损伤,益生菌可通过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPAR- γ) 途径来调节肠道黏膜的炎症反应。还可通过抑制 NF- κ B 的活化、减少上皮组织内 T 淋巴细胞的数量等多种途径上调 IL-10、TGF- β 等抗炎细胞因子的表达,抑制 TNF- α 、INF- γ 、IL-1 β 等促炎细胞因子的表达以及诱导型一氧化氮合酶、基质金属蛋白酶的活力。通过以上方式,抑制炎症反应,强化修复肠道黏膜屏障。

4. 激发免疫保护机制^[15]:益生菌能促进机体免疫系统的发育和成熟,增强体液免疫和细胞免疫,提高巨噬细胞的吞噬活性及补体功能。还可促进 sIgA 的分泌及肠上皮细胞黏蛋白的合成等。益生菌能在肠黏膜表面与免疫细胞相互作用,调节其免疫活性和促炎细胞因子的分泌。当炎症反应时,肠黏膜屏障功能遭破坏,此时肠腔内致病性或潜在致病性的食物及外来抗原会进一步放大肠黏膜的异常免疫反应,从而导致结肠炎。益生菌能通过修饰有害抗原物质的结构而降低其免疫原性,下调肠道的炎症反应性^[16]。乳酸菌能产生如肽聚糖和脂磷壁酸等信号物质,这些物质被 TLR (Toll like receptor) 识别后,通过 TIR 结构域向胞质内传导信号,激活 NF- κ B 等转录因子及丝裂原活化蛋白激酶,释放 TNF- α 、一氧化氮合酶、IL-1、IL-6、IL-10、IL-8、IL-12、共刺激分子 B7 等,在自然免疫、获得性免疫及炎症反应中发挥作用。有关益生菌对艾滋病病感染儿童免疫激活作用的研究中发现,在摄入含嗜热链球菌、双歧杆菌的益生菌制剂后,受试者 CD4⁺ 细胞计数增加,改善了机体的免疫机能^[17]。发现服用含鼠李糖乳杆菌和罗伊乳杆菌的酸奶 15 d 的携带 HIV 病毒或艾滋病女性,体内被 HIV 病毒攻击的免疫系统 CD4⁺ T 淋巴细胞平均数超过 200 个,自然免疫和获得性免疫能力明显增强^[18]。研究发现,益生菌还能抑制气道嗜酸性粒细胞增多,所依赖的是 IFN- γ ,而非 TLR-4^[19];抑制 Th2 细胞因子如 IL-4 和 IL-5 的分泌则主要依赖抗原提呈细胞、INF- γ 、IL-12 等。调整 Th1-Th2 细胞因子平衡对于治疗自身免疫病非常重要,尤其对自身抗原尚不确定的自身免疫系统疾病,调节细胞因子平衡是有效控制自身免疫和炎症反应的手段。许多益生菌主要通过诱导 Th1 型免疫反应相关细胞因子的高效表达,进行调节宿主免疫功能。研究发现,经鼻饲给予鼠李糖乳杆菌制剂可促进 B 淋巴细胞免疫缺陷小鼠的免疫机能的恢复^[20]。

5. 抑制肠黏膜上皮细胞的凋亡^[21]:正常肠黏膜上皮细胞的凋亡与增殖保持一个动态的平衡,当炎症反应发生时会导致细

胞凋亡的增加,从而导致肠黏膜屏障的损伤。TNF- α 、INF- γ 等细胞因子表达增多时,均可导致肠黏膜上皮细胞凋亡增加。益生菌可通过 TLR2 信号途径调节免疫细胞的增殖和凋亡。研究发现,LGG 不仅能激活抗凋亡的 Akt/PKB,而且还能抑制 TNF- α 、INF- γ 和 IL-1 对促凋亡的 p38/MAPK 的活化,这种抑制呈浓度依赖性^[22]。故而益生菌能抑制凋亡,提高上皮细胞在炎症环境环境中的存活率,并维持细胞的稳态。

五、益生菌在应用中的局限及安全性问题

尽管在益生菌的临床应用中有诸多益处,但仍有很多令人不满意之处^[23]。首先是益生菌制剂作为外源菌投入胃肠道后定植困难,且该菌需要具备耐酸、耐碱等多种变化的肠道环境的特性。正因如此,应用时需要连续摄入。尽管目前采用在食物中加入益生菌生长所需底物,以直接刺激肠道中该菌生长,但最佳底物浓度及摄入的最佳益生菌浓度等问题仍有待进一步研究。此外,益生菌疗效也有争议^[24],携带有耐药质粒的益生菌,应用时可能会将抗药性传递给其他细菌,使原敏感菌变成耐药菌,从而增加感染控制的难度^[25]。最令人应该注意的是,研究发现部分益生菌的应用会导致侵袭性疾病。有研究报道^[26],1 例患有右心室双出口并肺动脉瓣狭窄的男婴和 1 例 6 岁的脑瘫女童,因抗生素相关性腹泻服用乳酸菌胶囊进行辅助治疗,引起乳酸菌菌血症和脓毒症。提示益生菌的应用并非绝对是安全的。

六、结语与前瞻

益生菌有很广阔的应用前景,但也面临很多挑战,目前仍存在很多待解决的问题^[27]。要注意宿主的个体化差异,其中包括宿主肠道黏膜细胞、遗传、饮食等因素不同,可能导致个体间对益生菌的反应不同,不同的生理状态下亦可能产生不同的效果^[28]。此外,不同的种属、甚至同一菌属的不同菌株的作用并非完全相同,在组合的益生菌中也并非每一菌株都发挥其最佳效能,组合治疗与单一菌株治疗哪个更佳亦尚存在争议。同一种益生菌可能并非适合所有的患者,甚至同一患者病程的不同阶段需要的益生菌株或同一益生菌株的剂量可能也是不同的。研究中也缺乏大样本、随机、双盲、对照的试验,益生菌投放的最佳剂量、疗程及安全性等还不明确。随着对益生菌基础及临床应用的深入研究,上述问题相信会逐步解决。

参 考 文 献

- [1] Biagi E, Nylund L, Candela M, et al. Through ageing, and beyond: gut microbiota and inflammatory status in seniors and centenarians. *PLoS One*, 2010, 5: e10667.
- [2] Mäkituokko H, Tiihonen K, Tynkynen S, et al. The effect of age and non-steroidal anti-inflammatory drugs on human intestinal microbiota composition. *Br J Nutr*, 2010, 103: 227-234.
- [3] Furet JP, Firmesse O, Gourmelon M, et al. Comparative assessment of human and farm animal faecal microbiota using real-time quantitative PCR. *FEMS Microbiol Ecol*, 2009, 68: 351-362.
- [4] Wells JM, Rossi O, Meijerink M, et al. Epithelial crosstalk at the microbiota-mucosal interface. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011, 108 Suppl 1: 4607-4614.
- [5] Lu YZ, Wu CC, Huang YC, et al. Neutrophil priming by hypoxic preconditioning protects against epithelial barrier damage and enteric bacterial translocation in intestinal ischemia/reperfusion. *Lab Invest*, 2012, 92: 783-796.
- [6] Lamprecht M, Frauwallner A. Exercise, intestinal barrier dysfunction and probiotic supplementation. *Med Sport Sci*, 2012, 59: 47-56.
- [7] Dickved J, Schreiber O, Willing B, et al. *Lactobacillus reuteri* main-

- tains a functional mucosal barrier during DSS treatment despite mucus layer dysfunction. *PLoS One*, 2012, 7; e46399.
- [8] Peng Z, Ban K, Sen A, et al. Syndecan 1 plays a novel role in enteral glutamine's gut-protective effects of the postischemic gut. *Shock*, 2012, 38; 57-62.
- [9] Wang Y, Liu Y, Sidhu A, et al. *Lactobacillus rhamnosus* GG culture supernatant ameliorates acute alcohol-induced intestinal permeability and liver injury. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2012, 303; G32-41.
- [10] Fontana L, Bermudez-Brito M, Plaza-Diaz J, et al. Sources, isolation, characterisation and evaluation of probiotics. *Br J Nutr*, 2013, 109 Suppl 2; S35-50.
- [11] Scaldaferrri F, Pizzoferrato M, Gerardi V, et al. The gut barrier; new acquisitions and therapeutic approaches. *J Clin Gastroenterol*, 2012, 46 Suppl; S12-17.
- [12] Fuccio L, Guido A. Probiotics supplementation for the prevention of gastrointestinal radiation-induced side effects; the time is now. *Am J Gastroenterol*, 2013, 108; 277.
- [13] Sheil B, Shanahan F, O'Mahony L. Probiotic effects on inflammatory bowel disease. *J Nutr*, 2007, 137(3 Suppl 2); 819S-824S.
- [14] Carey CM, Kostrzynska M. Lactic acid bacteria and bifidobacteria attenuate the proinflammatory response in intestinal epithelial cells induced by *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *Can J Microbiol*, 2013, 59; 9-17.
- [15] Jirillo E, Jirillo F, Magrone T. Healthy effects exerted by prebiotics, probiotics, and symbiotics with special reference to their impact on the immune system. *Int J Vitam Nutr Res*, 2012, 82; 200-208.
- [16] Calder P, Hall V. Understanding gut-immune interactions in management of acute infectious diarrhoea. *Nurs Older People*, 2012, 24; 29-37, quiz 38-39.
- [17] Trois L, Cardoso EM, Miura E. Use of probiotics in HIV-infected children; a randomized double-blind controlled study. *J Trop Pediatr*, 2008, 54; 19-24.
- [18] Anukam KC, Osazuwa EO, Osadolor HB, et al. Yogurt containing probiotic *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 and *L. reuteri* RC-14 helps resolve moderate diarrhea and increases CD4 count in HIV/AIDS patients. *J Clin Gastroenterol*, 2008, 42; 239-243.
- [19] Bickert T, Trujillo-Vargas CM, Duechs M, et al. Probiotic *Escherichia coli* Nissle 1917 suppresses allergen-induced Th2 responses in the airways. *Int Arch Allergy Immunol*, 2009, 149; 219-230.
- [20] Barbieri N, Villena J, Herrera M, et al. Nasally administered *Lactobacillus rhamnosus* accelerate the recovery of humoral immunity in B lymphocyte-deficient malnourished mice. *J Nutr*, 2013, 143; 227-235.
- [21] Zhou YK, Qin HL, Zhang M, et al. Effects of *Lactobacillus plantarum* on gut barrier function in experimental obstructive jaundice. *World J Gastroenterol*, 2012, 18; 3977-3991.
- [22] Yan F, Polk DB. Probiotic bacterium prevents cytokine-induced apoptosis in intestinal epithelial cells. *J Biol Chem*, 2002, 277; 50959-50965.
- [23] Champagne CP. Microencapsulation of probiotics in food; challenges and future prospects. *Ther Deliv*, 2012, 3; 1249-1251.
- [24] Gu WJ, Liu JC. Do probiotics decrease the incidence of ventilator-associated pneumonia in critically ill patients? *Crit Care Med*, 2013, 41; e28-29.
- [25] May T, Ito A, Okabe S. Induction of multidrug resistance mechanism in *Escherichia coli* biofilms by interplay between tetracycline and ampicillin resistance genes. *Antimicrob Agents Chemother*, 2009, 53; 4628-4639.
- [26] Land MH, Rouster-Stevens K, Woods CR, et al. *Lactobacillus sepsis* associated with probiotic therapy. *Pediatrics*, 2005, 115; 178-181.
- [27] Bermudez-Brito M, Plaza-Díaz J, Fontana L, et al. In vitro cell and tissue models for studying host-microbe interactions; a review. *Br J Nutr*, 2013, 109 Suppl 2; S27-34.
- [28] van Baarlen P, Troost F, van der Meer C, et al. Human mucosal in vivo transcriptome responses to three lactobacilli indicate how probiotics may modulate human cellular pathways. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011, 108 Suppl 1; 4562-4569.

(收稿日期:2013-04-25)

(本文编辑: 马超)

马锋振, 杨公利. 益生菌对肠黏膜屏障损伤的保护及修复机制研究进展[J/CD]. 中华临床医师杂志: 电子版, 2013, 7(11): 5014-5016.

中 華 醫 學 會