炎性反应与肠源性感染的关联性

马敬文 马 利 Edwin A. Deith* 黎 莹 肖光夏 (第三军医大学西南医院烧伤研究所) 630038

提 要 失控的炎性反应和补体活化参与多脏器功能衰竭的发病过程。而因肠粘膜屏障功能衰竭造成的大量肠道细菌和内毒素侵入体内协同作用形成的肠源性感染在多脏器功能衰竭发病中所起的作用又日益受到关注。本研究给动物注射一种补体活化和炎性反应的活化因子——酵母多糖,观察炎症和感染两者间的内在关联性。结果发现,亚致死量的酵母多糖(0.1mg/g)可损伤肠粘膜屏障而导致肠道细菌侵入体内。而蛋白质营养不良却显著强化了酵母多糖的上述病理效应,使动物形成致死性的全身性肠源性感染,感染的严重性和动物的病死率随营养不良的程度进行性增高。结果表明,在体内失控的炎性反应和肠源性感染有协同致病效应。

关键词 炎症;感染

研究表明,失控的炎性反应和全身补体活化是多脏器功能衰竭(MOF)和成人呼吸窘迫综合征发病的重要环节[1]。目前因肠粘膜屏障功能损伤造成的肠道中大量细菌和内毒素侵入体内形成的肠源性感染在多脏器功能衰竭发生中所起的重要作用又日益受到关注。那么在多脏器功能衰竭的诸多发病因素中,炎性反应和肠源性感染两者间的内在关联如何?是本研究旨在澄清的主要问题;同时观察蛋白质营养不良在炎性反应导致肠源性感染中所起的作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物和分组

本实验共采用无特殊致病菌(SPF)CD-1 小鼠 180 只,鼠龄 8 周,雌雄各半,随机分组。动物是在配有恒温、恒湿的半无菌隔离条件下饲养。食用含有 17% 蛋白质和 11%脂肪酸的标准 SPF 动物饲料(5001 Ralston Purina Co, St, Louis, MO)和酸化水(0.001 mol/L 盐酸)。蛋白质营养不良的实验组动物接受低蛋白质饲养 3 周,观察单纯蛋白质营养不良造成肠源性感染的情况。这种特殊的低蛋白质饲料(Tekland Test Diets, Madison, WI)仅含有 0.03%的蛋白质和 20%的脂肪及 67%的碳水化合物,蛋白质含量几乎是零。

因为酵母多糖(Zymosan)是补体激活剂,能够产生全身性炎性反应。所以我们给动物经腹腔注射酵母多糖 0.1mg/g 体重。24 h 后活杀动物观察肠源性感染的情况。对照动物腹腔注射生理盐水 1ml。然后再给蛋白质营养不良的动物腹腔注射酵母多糖 0.1mg/g 体重,观察在营养不良因素影响下,酵母多糖诱发肠源性感染的情况。同时还分别观察蛋白质营养不良和酵母多糖引起动物病死率的情况。

1.2 细菌学方法

动物行断颈活杀,无菌操作抽取心血 0.5ml 注入盛有 50ml 心脑浸液的培养瓶中,接着打开动物腹腔,剪取动物的肝脏、脾脏和肠系膜淋巴结,称重后分别注入盛有 0.5ml 和 5ml 心脑浸液的匀浆管中进行匀浆,取 0.2ml 匀浆液分别接种到血平板和 MacConkey 琼脂平板上,连同血培养瓶置 37℃孵育 24～72 h,分别观察动物血液及内脏中 G^+ 和 G^- 细菌的生长情况。取完动物内脏后,剪取完整的动物盲肠,称重后放入盛有 9ml 心脑浸液的匀浆管中,匀浆后用生理盐水行

---

* 美国路易斯安娜州州立大学 Shreveport 医学院外科

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

梯度稀释，取 0.1ml 不同稀释倍数的匀浆液分别接种到血琼脂平板和 MacConkey 琼脂平板上，37℃孵育 24 h，进行菌落计数，定量测定肠道内兼性需氧性细菌和 G^- 细菌的菌量变化情况。

1.3 形态学方法

动物肠粘膜形态学研究是采用半薄塑料切片在光学显微镜下进行观察的。动物活杀后取空肠段、回肠段和盲肠标本，置入磷酸福尔马林缓冲液中(Fish-co)，固定 6 h 以上，然后组织经梯度酒精系列脱水，包埋在乙二醇异丁烯酸中(glycol methacrylate，JB-4，polyscience Inc)。切片厚度为 2μm，用 1%甲苯胺蓝(Toludine blue)染色，Olympus 显微镜观察并照相。

1.4 统计学方法

分别用卡方(χ^2)检验和方差分析处理实验所得计数和计量资料。

2 结果

在注射酵母多糖后 16～24 h，动物出现懒动、厌食、眼结膜炎等系列全身应激性反应。80%的动物发生肠源性感染，肠道细菌主要侵入肠系膜淋巴结；肠道中 G^- 杆菌菌量增加 10 倍(表 1)。动物肠粘膜发生损伤，主要表现为肠粘膜间质水肿，肠绒毛出现上皮细胞下水肿间隙。间质中炎性细胞浸润增加。

表 1 酵母多糖诱导正常动物肠源性感染发病率

动物分组	动物数	肠系膜淋巴结(%)[2]	盲肠菌量(CFU/g)[1]	
			兼性需氧菌	G^- 杆菌
对照组	10	0	$6.7\pm8.7\times10^7$	$2.3\pm2.0\times10^5$
酵母多糖组	10	80	$1.9\pm3.2\times10^8$	$2.5\pm2.9\times10^6$
P 值		<0.01	<0.28	<0.23

注：1. 动物肠道菌量以每克盲肠中所含菌落(CFU)的均数±标准误表示。
2. 肠源性感染以每组动物中肠系膜淋巴结细菌菌培养阳性者所占的百分率表示。

低蛋白质饲养造成动物发生营养不良，主要表现为体重进行性下降。低蛋白饲养 1 周动物体重下降 10%；低蛋白饲养 2 周动物体重下降 25%，低蛋白饲养 3 周动物体重下降 38%。虽然单纯蛋白质营养不良造成动物肠道菌群发生显著紊乱(表 2)，却并未造成肠源性感染。但是蛋白质营养不良却显著提高了动物对肠源性感染的易感性。给蛋白质营养不良动物腹腔注射 0.1mg/g 体重酵母多糖，肠道细菌不仅侵入肠系膜淋巴结，还进而侵入肝、脾及血循环，形成肠源性细菌全身感染(表 3)。随着蛋白质营养不良时间的延长，从肠道侵入肠系膜淋巴结、肝、脾内脏中的菌量也呈进行性增加(表 4)。同时动物的病死率也从营养不良 2 周的 20%上升至营养不良 3 周的 80%。

表 2 蛋白质营养不良所致动物肠道菌群紊乱和肠源性感染

动物分组	动物数	肠系膜淋巴结(%)[2]	盲肠菌量(CFU/g)[1]	
			兼性需氧菌	G^- 杆菌
对照	10	0	$6.7\pm8.7\times10^7$	$2.3\pm2.0\times10^5$
营养不良 7 d	10	0	$7.8\pm12\times10^7$	$2.3\pm2.8\times10^6$
营养不良 14d	10	0	$2.0\pm2.1\times10^8$	$6.9\pm6.6\times10^7$ [3]
营养不良 21d	10	0	$5.3\pm6.4\times10^8$ [3]	$2.1\pm2.0\times10^8$ [3]

注：1. 动物肠道菌量以每克盲肠中所含菌落(CFU)的均数±标准误表示。
2. 肠源性感染以每组动物中肠系膜淋巴结培养阳性者所占的百分率表示。
3. 与其他各组动物肠道菌量相比 $P<0.05$)。

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

表 3 酵母多糖造成蛋白质营养不良动物发生肠源性感染

动物分组	动物数	肠源性感染(%)[1]			盲肠菌量(CFU/g)[2]	
		肠系膜淋巴结	肝脏/脾脏	血液	兼性需氧菌	G⁻杆菌
酵母多糖组	10	80	10	0	$1.9\pm3.2\times10^{8}$	$2.5\pm2.9\times10^{6}$
蛋白质营养不良 7 d 加酵母多糖组	10	100	70[3]	60[3]	$8.0\pm8.5\times10^{8}$	$1.1\pm2.8\times10^{8}$
蛋白质营养不良 14d 加酵母多糖组	10	100	80[3]	60[3]	$2.0\pm1.9\times10^{9}$[3]	$9.5\pm11.1\times10^{8}$[3]
蛋白质营养不良 21d 加酵母多糖组	10	100	90[3]	80[3]	$3.6\pm2.8\times10^{9}$[4],	$2.3\pm2.3\times10^{9}$[5]

注：1. 肠源性感染以每组动物中内脏细菌培养阳性者所占的百分率表示。

2. 动物肠道菌量以每克盲肠组织中所含菌落(CFU)的均数±标准误表示。

3. 与单纯酵母多糖组比较差异显著 $P<0.05$。

4. 与单纯酵母多糖和营养不良 7 d 组比较差异显著 $P<0.05$。

5. 与单纯酵母多糖和营养不良 7 d 组比较 $P<0.05$；与营养不良 14 d 比较 $P<0.001$。

表 4 酵母多糖造成肠源性感染时动物内脏中的菌量

动物分组	动物数	肠系膜淋巴结[1] (CFU/g)	肝 脏 (CFU/g)	脾 脏 (CFU/g)
对照组	10	0	0	0
酵母多糖组	10	209±256	0	0
营养不良 7 d 加酵母多糖组	10	3267±5108	13252±20010	4391±11285
营养不良 14d 加酵母多糖组	10	10465±11949[2]	44430±49328	29456±32616
营养不良 21d 加酵母多糖组	10	21275±20473[2]	102600±56688[3]	54478±49177[4]

注：1. 动物内脏菌量以每克动物组织中所含菌落(CFU)的均数±标准误表示。

2. 与酵母多糖组和营养不良 7 d 加酵母多糖组比较，$P<0.05$，<0.01。

3. 与营养不良 7 d 加酵母多糖和营养不良 14 d 加酵母多糖两组比较，$P<0.01$。

4. 与营养不良 7 d 加酵母多糖组比较，$P<0.01$。

与单纯蛋白质营养不良相比较，酵母多糖造成营养不良动物肠道中 G⁻杆菌分别增加 100 倍和 1000 倍(表 3)。形态学观察发现，单纯营养不良造成动物肠粘膜进行性萎缩(图 1)。虽然酵母多糖并未进一步加重营养不良动物肠粘膜萎缩的程度，但却明显损伤了肠粘膜物理性屏障。肠粘膜主要表现为间质水肿、炎性细胞浸润增加，上皮细胞有灶性坏死脱落(图 2)。

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

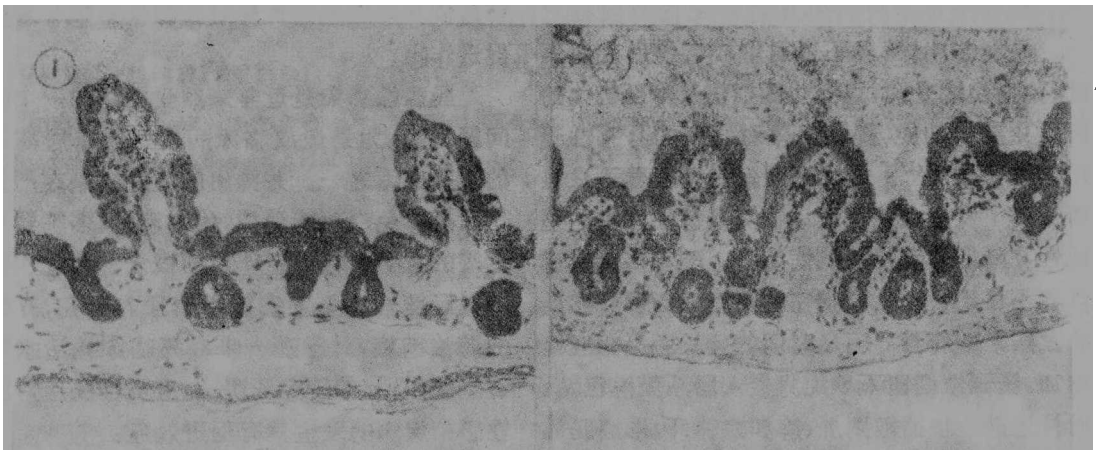


图 1 蛋白质营养不良 21 d，造成动物肠粘膜发生明显萎缩。肠绒毛高度变矮，绒毛数量减少；肠粘膜间质水肿，有炎性细胞浸润。但肠粘膜上皮细胞层尚完整。 ×200

图 2 酵母多糖使蛋白质营养不良 21 d 动物肠粘膜发生明显损伤。肠粘膜间质水肿，淋巴管扩张，炎性细胞大量浸润，绒毛顶部上皮细胞呈灶性坏死脱落。× 200

死亡率的观察结果发现，0.75mg/g 体重剂量的酵母多糖造成正常动物的死亡率是 50%，1mg/g 体重酵母多糖造成正常动物的死亡率 100%。但是造成蛋白质营养不良3周动物80%的死亡率，仅需酵母多糖0.1 mg/g 体重。蛋白质营养不良显著降低了动物的抗病能力及提高了酵母多糖的致病作用。

3 讨论

炎症和感染关系密切。研究表明两者在外科情况下多脏器功能衰竭的发生中均起重要作用[1]。本实验利用酵母多糖(酵母菌细胞壁的主要成分)通过旁路活化补体，激活中性粒细胞和吞噬细胞造成全身性炎症反应。藉此观察，在这种机体内环境严重失衡情况下，肠粘膜屏障功能是否受到影响及肠腔中的细菌能否侵入体内形成肠源性感染。结果发现，肠道是一个高度敏感而且十分重要的靶器官，肠粘膜发生典型的急性应激性损伤。肠粘膜受损的意义并不仅限于损伤的本身；更为重要的是因肠粘膜受损，使得肠腔中本来就存在的大量细菌和内毒素得以侵入体内形成肠源性感染。

近年来研究表明，肠道不单纯是一易受损伤的靶器官，在病理情况下肠道还能对疾病的发展和转归起着十分重要的作用[2]。生理情况下肠道中细菌的含量占机体全身细菌总量的80%以上，同时也是机体内部最大的内毒素储备库。健全的肠粘膜形成了一道行之有效的防御屏障。将大量的细菌和内毒素"隔离"在肠腔中而不能进入体内。各种原因造成肠粘膜损伤之后，势必破坏肠粘膜的屏障功能，肠腔中的细菌和内毒素藉以通过肠粘膜从门静脉和肠道淋巴循环系统侵入体内，在和机体单核吞噬细胞系统发生相互作用后，肠道来的细菌和内毒素则能够导致形成感染[3]。我们曾发现烧伤、休克、内毒素血症、不合理使用抗生素等外因可通过造成肠粘膜屏障损伤和肠道菌群紊乱而导致肠腔中的大量细菌、内毒素侵入体内，干扰机体的内环境稳定，形成肠源性感染。本研究结果表明，在机体内环境首先发生紊乱条件下，也可因肠粘膜屏障功能的削弱而造成肠腔中的细菌侵入体内形成肠源性感染。这充分说明机体是一个复杂的有机体，外因通过内因而起作用，而内因的过强应答，又可放大外因对机体的损伤效应。

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

营养不良是外科临床最常见的并发症之一。研究表明，营养不良对造成创伤后代谢紊乱、免疫功能受抑，脏器功能损伤及降低机体的抗感染防御功能，提高机体对感染的易感性等均起重要作用[4]。本文证明蛋白质营养不良显著提高了发生炎症反应动物对肠源性感染的易感性及降低了动物的抗病能力。酵母多糖造成营养不良动物肠粘膜损伤的程度及肠源性感染的发病率随着营养不良时间的延长而呈相应地增加。肠源性细菌不单纯只侵入肠系膜淋巴结，而且还进一步播散到肝、脾和血循环，形成肠源性细菌全身感染。营养不良 3 周的动物肠源性感染的病死率高达 80%。近来研究证明，积极开展和加强创伤后早期肠道营养，不仅能够及时补充机体对营养的需求，改善机体代谢紊乱，免疫受抑的状况，提高机体的抗病能力；同时还可以有效地维持、保护肠粘膜的有效屏障，防止和降低肠源性感染的发病率[5]。本研究结果也提示，积极开展肠道营养，加强对机体的保护作用是有其物质基础的。

促进肠源性感染有 3 个基本发病规律：(1)机体全身免疫功能受抑；(2)肠粘膜屏障受损；(3)肠道菌群紊乱。在各种原因造成肠源性感染的发病过程中，这 3 个基本发病要素都是交替重叠，互为因果的发挥协同效应。本文在观察肠粘膜屏障损伤的同时，也监测了动物肠道菌群的改变情况。肠道菌群紊乱的程度和肠源性感染发病率的上升趋势颇为一致。在酵母多糖的作用下，为期 3 周的营养不良造成动物发生致死性肠源性感染，这些动物肠腔中 G^- 杆菌的菌量竟然增加 1000 倍，肠腔中大量增长的 G^- 杆菌依其浓度差的优势对肠源性感染有着直接促进作用。

肠源性感染是近年来颇受关注的一个临床问题，被认为是造成临床病人感染率居高不下的主要原因之一。并提出肠源性感染在严重创伤后机体免疫功能受抑，代谢紊乱，多脏器功能衰竭的发生中起重要作用的概念。因此积极开展对肠源性感染发病机制的深入研究，开拓新的防治措施，对于进一步提高临床救治水平具有重要作用。本研究证明，全身炎性反应对肠源性感染疾病的发生具有促进效应。

参考文献

1. Nuytinck JKS, Govis RJA, Weerts JGE. Acute generalized microvascular injury by activated complement and hypoxia: the basis of the adult respiratory distress syndrome and multiple organ failure? Br J Exp Path, 1986; 67: 537～548
2. Deitch EA. Dose the gut protect us or injure us when ill in the ICU? In cerra F, ed. Perspectives in critical care. St. Louis, MO: Quality Medical, 1988: 1～32
3. Border JR, Hassett J, Laduca J. The gut origin of septic states in blunt multiple trauma (ISS＝40) in the ICU. Ann Surg, 1987; 206: 427
4. Alverdy JC, Aoys E, Moss GS. Total parenteral nutrition promotes bacterial translocation from the gut. Surgery, 1988; 104: 185～190
5. 马利 肖光夏 黎鳌。肠粘膜屏障功能衰竭与肠源性感染的关系。中华整形烧伤外科杂志，1991；7(3)：218

(收稿：1992-05-25；修回：1992-10-25)

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

The relationship between incontrollable inflammation and gut-originated infection in mice

Ma Jingwen, Ma Li, Edwin A. Deith, et al (Research Institute of Burn, Southwest Hospital, Third Military Medical College, Chongqing, 630038)

Abstract It is known that incontrollable inflammation and activated complement are implicated in the pathogenesis of multiple organ failure. Recently, the role of gut originated infection resulting from the combined action of bacterial translocation due to the functional failure of gut mucosal barrier and endotoxin in the pathogenesis of multiple organ failure receives increasing attention. In order to clarify the relationship between incontrollable inflammation and gut-originated infection, zymosan, an activation agent for complement and inflammatory response, was injected to normally nourished mice (NNM) and protein deficient malnourished mice (MNM). It was found that a sublethal dosage of zymosan (0.1mg/kg) could damage the gut mucosal barrier to result in bacterial invasion, which was limited to the mesenteric lymph nodes in MNM. Protein-deficient malnutrition enhanced the pathological effect of zymosan to result in a bacterial spreading to the liver, the spleen and blood stream and a potentially lethal gut originated infection. The severity of infection and the mortality rate of the animals increased with the severity of malnitrition. On the basis of the findings it is belived that there is a synergic pathological effect of incontrollable inflammation and gut-originated infection especially in protein-deficient conditions.

Key words inflammation; infection

右腋下软组织骨外骨瘤一例报告

卓光富 （第三军医大学大坪医院骨科）630042

软组织内骨瘤甚为罕见，我院收治 1 例，经近 10 年随访无复发，现报告如下：

患者 梁某，女，41 岁。1980 年 7 月 22 日入院。2 月前因发烧、咳嗽行胸部透视始发现右腋下有一鸡蛋形高密度钙化影，自觉无疼痛和其他不适，否认低热、盗汗及外伤史。

查体：一般情况良好，右腋部腋前线可扪及 4cm×3cm 的卵圆形包块，质硬、光滑、边界清楚，移动度较大，与周围组织无粘连，无波动，压迫包块稍觉胸部不适，腋窝淋巴结不肿大。右腋部 X 线片见胸廓外侧有一 4cm×3cm 卵圆形密度如皮质骨之块状影，其内可见数个点状透光区。ESR 7mm/h，初步诊断：纤维瘤钙化。局麻下手术摘除，术中见包块位于腋窝脂肪组织内，钝性分离即顺利完整摘除。病理检查（802767）：包块 5cm×4cm×3.5cm，表面有多量脂肪组织，包膜完整，硬如骨质。镜检：切片见肿瘤为成熟骨小梁，骨小梁间有骨髓样结构及脂肪组织，未见软骨及纤维瘤成份。病理诊断：右腋下软组织骨外骨瘤。

1990 年 2 月 6 日随访肩关节功能正常，查体及再摄 X 线无复发。患者未诉不适，自觉良好。

关键词 软组织肿瘤；骨瘤

（收稿：1992-05-06；修回：1992-06-17）

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net