

新生儿坏死性小肠结肠炎发病机制研究进展

王静

作者单位:天津医科大学总医院儿科,天津 300052

摘要:新生儿坏死性小肠结肠炎是新生儿常见的急性肠道炎症性坏死性疾病,其发病机制尚未完全明确,该研究从未成熟肠道生长因子水平、肠道介质对微循环的影响、多种因素所致肠道菌群异常定植、感染、喂养方式、遗传易感性及输血、脐静脉置管医疗行为等方面对 NEC 发病机制进展进行阐述,为临床诊疗提供依据。

关键词:小肠结肠炎; 坏死性; 婴儿; 新生

Research progress in the pathogenesis of neonatal necrotizing enterocolitis

WANG Jing

Author Affiliation: Department of Pediatrics, Tianjin Medical University General Hospital, Tianjin 300052, China

Abstract: Neonatal necrotizing enterocolitis (NEC) is a common acute intestinal inflammatory necrotizing neonatal disease, whose pathogenesis is still unknown. This review elaborates the research progress on the pathogenesis of NEC from the aspects including the level of immature intestinal growth factor, the effect of intestinal media on microcirculation, the abnormal colonization of intestinal flora caused by various factors, infection, feeding mode, genetic susceptibility, medical treatments such as transfusion and umbilical veins catheterization, thus providing basis for clinical diagnosis and treatment.

Key words: Enterocolitis; Necrosis; Infant; Neonate

新生儿坏死性小肠结肠炎(necrotizing enterocolitis, NEC)是一种威胁新生儿生命的急性肠道炎症性坏死性疾病,主要表现为腹胀、呕吐、血便,严重者可发展为感染性休克、DIC等,90%发生于早产儿,同时伴有肠壁积气和门静脉积气者病死率可高达86%。尽管近几十年来许多学者致力于 NEC 的发病机制的研究,但其确切机制仍不明确。大多认为本病与早产、喂养、细菌异常定植、感染、遗传易感性及医疗行为等多种因素有关。现于 2017 年 5—9 月对新生儿 NEC 发病机制进行研究,并将新进展的情况综述如下。

1 未成熟肠道与 NEC

新生儿肠道发育不成熟,尤其早产儿,其肠道黏膜通透性高且免疫功能低下,易受到外界不良环境及体内缺氧缺血、炎症等应激因素的影响。多种生长因子均可作用于生长发育中的肠道,可通过增强肠道屏障功能、减少肠道细胞凋亡等机制而防止 NEC 的发生。

1.1 生长因子 表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)是一种肠道发育过程中的营养因子,对

上皮细胞的增殖与存活具有十分重要的作用。在新生儿出生后初期肠道的 EGF 水平很低,EGF 主要来自于母亲初乳和乳汁,之后随着唾液腺发育才逐渐开始分泌 EGF^[1]。有研究证实在 NEC 实验模型中,EGF 可促进杯状细胞重塑、刺激黏液分泌,并可增加紧密连接蛋白的表达从而防止 NEC 的发生发展。

肝素结合表皮生长因子(heparin-binding epidermal-like growth factor, HBEGF)是 EGF 家族成员之一,其广泛分布于多种组织与器官,也存在于羊水和母乳中。当机体受到各种伤害时如组织损伤、缺氧缺血和炎症应激等,HBEGF 的表达会显著增加。体外及体内研究^[2]均显示当肠道发生缺血/再灌注损伤时,HBEGF 及其受体表达增加可促进损伤上皮的恢复,减少肠道细胞凋亡,增强肠黏膜细胞的迁移从而降低 NEC 发病率。研究还发现其他生长因子如胰岛素样生长因子-1(IGF-1)、生长激素(GH)、促红细胞生成素(EPO)等在新生儿肠道的生长发育中也起重要作用^[3],通过对这些生长因子的研究可以为将来治疗与预防 NEC 提供潜在的可能。

1.2 肠道微循环 新生儿肠道微循环血流主要是由血管阻力所决定,其中肠道局部介质及微血管系统的调节起主要作用,而自主神经系统及心血管反射仅起次要作用。

一氧化氮(NO)是一种可以调节多种生理过程的信号分子,肠道内的NO具有舒张胃肠平滑肌、调节胃肠黏膜血流、维持胃肠道黏膜完整屏障功能等作用。一些新生动物NEC模型研究^[4]证实NO可通过改善肠道微循环起到重要保护作用,从而防止NEC的发生,而静脉滴注一氧化氮合酶(NOS)抑制剂N-硝基精氨酸甲酯则会引起肠壁充血、出血,肠道黏膜屏障受损,类似NEC的病理表现。NO还可抑制血小板聚集和黏附于白细胞,具有抗菌性能,在宿主微生物防御中起着重要作用。然而还有研究显示诱导型一氧化氮合酶(iNOS)诱导产生的高水平NO是有毒性的,在炎性条件下NO持续的上调会对肠道上皮产生细胞病变效应^[5],从而诱发NEC的发生。

内皮素-1(endothelin-1, ET-1)是新生儿肠道微循环主要血管收缩剂之一。缺血介导的肠道黏膜损伤在NEC发病机制中起重要作用。Ito等^[6]在NEC小鼠模型检测到肠道ET-1水平增高,回肠肠道的血流减少且ET-1 mRNA表达增加,认为这些均与新生儿NEC的发生发展有关。

2 肠道菌群与 NEC

研究发现肠道细菌定植及细菌感染在NEC的发生发展中起着十分关键的作用。许多研究表明在NEC发病之前,新生儿肠道的正常菌群就已发生了改变。新生儿肠道定植菌的种类主要取决于出生后的环境。而生产方式的不同,定植菌的种类也会不同,经产道分娩婴儿肠道定植菌与母亲肠道菌相一致而剖宫产者则与母亲的皮肤菌株相似^[7]。早产儿与健康足月新生儿在肠道菌群定植模式上也差异有统计学意义,足月儿主要为双歧杆菌,而早产儿由于疾病原因所致肠道内喂养延迟或应用抗生素治疗等因素,故出现双歧杆菌优势定植延迟,肠道乳酸杆菌数量下降。另外喂养方式也影响着肠道细菌的定植,研究表明母乳喂养儿其肠道正常菌群中双歧杆菌占优势,而配方奶喂养者则以大肠杆菌、肠球菌等为主。研究发现新生鼠在补充双歧杆菌后可减少NEC的发生,其可能的机制为双歧杆菌可刺激肠道免疫功能并活化B细胞和T细胞改善机体免疫功能^[8]。此外,双歧杆菌发酵可产生

大量醋酸和乳酸,在酸性条件下,需氧和兼性厌氧菌的生长会受到抑制,而厌氧菌生长则显著增加,有利于正常菌群的定植^[9-10]。

3 感染与 NEC

尽管有些临床研究显示感染在NEC的发展中起一定作用,但其确切发病机制尚不明确。多项研究证实,NEC的发生与大肠杆菌、肠球菌、表皮葡萄球菌、克雷伯菌、梭状芽胞杆菌等致病菌感染流行有关,感染细菌的种类与NEC发病日龄与地区也相关;此外,星状病毒、巨细胞病毒、冠状病毒、埃可病毒等病毒感染与NEC的发生也有关^[11-12]。

多种促炎症介质可参与NEC发生发展。早产儿未成熟的肠道具有放大炎症反应的作用。与年龄较大的儿童的肠道相比,胎儿组织中Toll样受体(TLR)2, TLR4, 髓样分化因子(mMyD88), 肿瘤坏死因子受体相关蛋白因子-6 (TRAF-6), 核因子- κ B (NF- κ B), 白细胞介素-8 (IL-8) mRNA等的表达增加,而单免疫球蛋白白介素1受体相关蛋白(SI-GIRR)和Toll样蛋白相互作用蛋白(TOLLIP) mRNA表达减少^[13]。NEC病人的炎症细胞表达也有相类似变化。免疫细胞激活后可生成多种细胞因子,使肠道血管的通透性有所改变,造成组织损伤,促使微血管内的白细胞及血小板大量聚集,引起肠道血流瘀滞,肠道黏膜进一步损伤,从而引起NEC的发生。

3.1 TLR4 信号通路 TLR4作为LPS及脂磷壁酸(LTA)的感受器,可在白细胞表面表达,能够识别及感知病原菌,参与炎症、免疫反应,并维持肠道黏膜屏障完整。TLR4亦可通过激活NF- κ B转录因子启动炎症级联反应。尽管在自然环境中TLR4可能发挥对革兰阴性菌的防御作用,但目前的研究则提示TLR4在早产儿表现中过度表达,可引起破坏性的下游炎症效应从而导致NEC^[14]。

除了白细胞,TLR也在肠上皮表面表达并负调节损伤后肠道细胞的增殖与迁移。可通过增加整合素的基质结合分子的表达和黏着斑激酶而抑制肠道细胞迁移。TLR4还能抑制b-catenin信号,干扰小肠肠道细胞的增殖^[15]。研究发现^[16]缺氧和脂多糖(LPS)暴露均可增加TLR4的表达。在婴儿时期,TLR4水平在出生后很快就会下降,允许肠道黏膜适应共生的菌群。但在早产儿中,TLR4水平仍然高,过度TLR4介导的细胞因子应答可破坏肠道屏障引起NEC。

3.2 血小板活化因子 (platelet-activating factor, PAF)

PAF 是一种具有多种生物活性的内源性磷脂介质,在 NEC 的发病机制中起重要作用。其激活后可引起细胞凋亡,上皮细胞损伤,黏膜渗透性增加,紧密连接受损,白细胞和血小板聚合和血管收缩^[17]。在新生儿大鼠模型,应用 PAF 受体拮抗剂 web2170 可显著降低 NEC 的发病率。PAF 的降解是由 PAF 乙酰水解酶(PAF-AH)介导的。刚出生时 PAF-AH 水平很低,直到出生后 6 周才缓慢增加至成人水平,新生儿虽然最初 PAF-AH 缺乏,但母乳能作为一种外源性的来源,以补偿在生后最初几周内 PAF-AH 的相对不足从而起到保护肠道作用。

3.3 IL-8 IL-8 是一种炎性细胞因子,具有 Toll 样受体的细胞均可分泌,也被称为中性粒细胞趋化因子。IL-8 可吸引中性粒细胞至感染部位并诱导其吞噬作用。有研究发现将 LPS 分别加入人的胎儿和儿童小肠中培养发现 IL-8 在胎儿组织分泌中更多,从而支持早产儿肠道对炎症反应过度的假设^[18]。

3.4 环氧合酶-2 (cyclooxygenase-2, cox-2) cox-2 在肠道发生 NEC 中起关键作用,为催化前列腺素类物质合成的限速酶,是生物体内催化前列腺素合成的关键酶,可诱导表达炎性介质及多种生长因子产生。研究表明在 NEC 动物模型及 NEC 婴儿的组织样本中 cox-2 水平均显著升高^[19]。还有研究证实在炎性肠道疾病和 NEC 中 cox-2 的表达也明显增加,cox-2 通过增加肠道屏障通透性及细菌易位可引起肠道损伤^[20]。

4 喂养与 NEC

许多研究报道证实多数 NEC 病儿发生于肠道喂养后,且多为配方奶喂养。多项随机临床试验已经证实母乳喂养可显著降低 NEC 的发病率^[21-23]。母乳中含有一种有益的生物活性因子,如 L-精氨酸、硝酸盐、亚硝酸盐等抗氧化因子、乳铁蛋白、分泌型免疫球蛋白 A(IgA)、多种生长因子等均已被证明可以减少 NEC 的发生。虽然母乳预防 NEC 的确切机制尚未完全清楚,但有实验证据表明母乳可通过抑制糖原合成酶激酶 3 β 活性而抑制 TLR4 信号通路^[24]。TLR4 信号下调利于肠道干细胞增殖和黏膜愈合速度加快。此外,母乳亦可激活依赖于表皮生长因子受体信号通路而参与肠道修复过程。因此,多数学者认为母乳喂养可预防 NEC 的发生。

5 遗传易感性与 NEC

NEC 遗传易感性的相关研究涉及多个免疫系

统的信号通路。影响 TLR 信号通路的基因变异可使未成熟肠道炎症反应增强^[25]。SIGIRR 基因在抑制 LPS-诱导的炎症反应中起重要作用^[25],SIGIRR 基因突变所致丧失功能可使 TLR 信号通路上调从而诱发婴儿发生 NEC^[26]。还有研究发现在极低出生体重婴儿的血液中 NF- κ B1 可增加 NEC 的易感性,而 NF- κ BIA 则降低 NEC 易感性^[27]。另一项研究发现早产儿自噬基因:自噬相关 16 样蛋白 1(ATG16L1)低效等位基因变异也可防止 NEC 的发生^[28]。总之,多种遗传易感因子均可参与 NEC 的发生发展,进一步大规模的研究可能揭示出更多基因与疾病的关系和发展。

6 医疗行为与 NEC

有研究表明一些医疗行为如输血、脐静脉置管等在 NEC 的发生发展也起一定作用。以往的多项研究表明红细胞输血为新生儿坏死性小肠结肠炎的高危因素。然而近期一项前瞻性多中心观察性队列研究^[29]表明,在极低出生体重婴儿中严重贫血与 NEC 的风险增加有关,而不是与红细胞输注有关。Cunningham 等^[30]回顾性研究中也显示红细胞输注并不是 NEC 的独立危险因素,相反在早产婴儿中输血可能会改善 NEC 的预后。还有研究表明脐静脉置管在 NEC 中的发生中也具有潜在作用,Sulemanji 等^[31]进行一项早产儿前瞻性队列研究显示脐静脉导管的位置与 NEC 的发生有关,脐静脉导管尖端位置进入门静脉或静脉导管可致极低出生体重儿 NEC 发生率增加。

综上所述,NEC 与早产、肠道菌群、炎症级联反应、喂养、遗传易感性、医疗行为等多因素有关,将来还需要进一步的研究来揭示 NEC 的确切发病机制。

参考文献

- [1] GOOD M, SODHI CP, EGAN CE, et al. Breast milk protects against the development of necrotizing enterocolitis through inhibition of Toll-like receptor 4 in the intestinal epithelium via activation of the epidermal growth factor receptor[J]. Mucosal Immunol, 2015, 8(5): 1166-1179.
- [2] WEI J, ZHOU Y, BESNER GE. Heparin-binding EGF-like growth factor and enteric neural stem cell transplantation in the prevention of experimental necrotizing enterocolitis in mice[J]. Pediatr Res, 2015, 78(1): 29-37.
- [3] HODZIC Z, BOLOCK AM, GOOD M. The role of mucosal immunity in the pathogenesis of necrotizing enterocolitis[J]. Front Pediatr, 2017, 5: 40.

- [4] GRISHIN A, BOWLING J, BELL B, et al. Roles of nitric oxide and intestinal microbiota in the pathogenesis of necrotizing enterocolitis [J]. *J Pediatr Surg*, 2016, 51(1):13-17.
- [5] 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*, 2008, 32(2):92-99.
- [6] ITO Y, DOELLE SM, CLARK JA, et al. Intestinal microcirculatory dysfunction during the development of experimental necrotizing enterocolitis [J]. *Pediatr Res*, 2007, 61(2):180-184.
- [7] RUTAYISIRE E, HUANG K, LIU YH, et al. The mode of delivery affects the diversity and colonization pattern of the gut microbiota during the first year of infants' life; a systematic review [J]. *BMC Gastroenterol*, 2016, 16(1):86.
- [8] XIANG L, PENG LL, DU WX, et al. Protective effects of bifidobacterium on intestinal barrier function in LPS-induced enterocyte barrier injury of caco-2 monolayers and in a rat NEC model [J]. *PLoS One*, 2016, 11(8):e0161635. DOI: 10.1371/journal.pone.0161635.
- [9] NORMANN E, FAHLÉN A, ENGSTRAND L, et al. Intestinal microbial profiles in extremely preterm infants with and without necrotizing enterocolitis [J]. *Acta Paediatr*, 2013, 102(2):129-136.
- [10] PHAM VT, LACROIX C, BRAEGGER CP, et al. Lactate-utilizing community is associated with gut microbiota dysbiosis in colicky infants [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1):11176.
- [11] CASSIR N, BENAMAR S, KHALIL JB, et al. Clostridium butyricum strains and dysbiosis linked to necrotizing enterocolitis in preterm neonates [J]. *Clin Infect Dis*, 2015, 61(7):1107-1115.
- [12] COGGINS SA, WYNN JL, WEITKAMP JH. Infectious causes of necrotizing enterocolitis [J]. *Clin Perinatol*, 2015, 42(1):133-154, ix.
- [13] NANTHAKUMAR N, MENG D, GOLDSTEIN AM, et al. The mechanism of excessive intestinal inflammation in necrotizing enterocolitis; an immature innate immune response [J]. *PLoS One*, 2011, 6(3):e17776. DOI:10.1371/journal.pone.0017776.
- [14] HACKAM DJ, GOOD M, SODHI CP. Mechanisms of gut barrier failure in the pathogenesis of necrotizing enterocolitis: Toll-like receptors throw the switch [J]. *Semin Pediatr Surg*, 2013, 22(2):76-82.
- [15] SODHI CP, NEAL MD, SIGGERS R, et al. Intestinal epithelial Toll-like receptor 4 regulates goblet cell development and is required for necrotizing enterocolitis in mice [J]. *Gastroenterology*, 2012, 143(3):708-718.
- [16] FROST BL, CAPLAN MS. Necrotizing enterocolitis: Pathophysiology, platelet-activating factor, and probiotics [J]. *Seminars in Pediatric Surgery*, 2013, 22(2):88-93.
- [17] NANTHAKUMAR NN, FUSUNYAN RD, SANDERSON I, et al. Inflammation in the developing human intestine: a possible pathophysiologic contribution to necrotizing enterocolitis [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2000, 97(11):6043-6048.
- [18] SHORT SS, WANG J, CASTLE SL, et al. Low doses of celecoxib attenuate gut barrier failure during experimental peritonitis [J]. *Lab Invest*, 2013, 93(12):1265-1275.
- [19] BERGHOLZ R, ZSCHIEGNER M, ESCHENBURG G, et al. Mucosal loss with increased expression of IL-6, IL-8, and COX-2 in a formula-feeding only neonatal rat model of necrotizing enterocolitis [J]. *J Pediatr Surg*, 2013, 48(11):2301-2307.
- [20] REIS NA, SARAIVA MA, DUARTE EA, et al. Probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from human milk [J]. *J Appl Microbiol*, 2016, 121(3):811-820.
- [21] SECTION ON B. Breastfeeding and the use of human milk [J]. *PEDIATRICS*, 2012, 129(3):e827-e841. DOI: 10.1542/peds.2011-3552.
- [22] PAMMI M, ABRAMS SA. Oral lactoferrin for the prevention of sepsis and necrotizing enterocolitis in preterm infants [J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2015(2):CD007137. DOI: 10.1002/14651858.CD007137.pub4.
- [23] JOHNSON-HENRY KC, ABRAHAMSSON TR, WU RY, et al. Probiotics, prebiotics, and synbiotics for the prevention of necrotizing enterocolitis [J]. *Adv Nutr*, 2016, 7(5):928-937.
- [24] GOOD M, SODHI CP, EGAN CE, et al. Breast milk protects against the development of necrotizing enterocolitis through inhibition of Toll-like receptor 4 in the intestinal epithelium via activation of the epidermal growth factor receptor [J]. *Mucosal Immunol*, 2015, 8(5):1166-1179.
- [25] ZHOU W, LV H, LI MX, et al. Protective effects of bifidobacteria on intestines in newborn rats with necrotizing enterocolitis and its regulation on TLR2 and TLR4 [J]. *Genet Mol Res*, 2015, 14(3):11505-11514.
- [26] SAMPATH V, MENDEN H, HELBLING D, et al. SIGIRR genetic variants in premature infants with necrotizing enterocolitis [J]. *Pediatrics*, 2015, 135(6):e1530-e1534. DOI: 10.1542/peds.2014-3386.
- [27] CUNA A, SAMPATH V. Genetic alterations in necrotizing enterocolitis [J]. *Semin Perinatol*, 2017, 41(1):61-69.
- [28] SAMPATH V, BHANDARI V, BERGER J, et al. A functional ATG16L1 (T300A) variant is associated with necrotizing enterocolitis in premature infants [J]. *Pediatr Res*, 2017, 81(4):582-588.
- [29] PATEL RM, KNEZEVIC A, SHENVI N, et al. Association of red blood cell transfusion, anemia, and necrotizing enterocolitis in very low-birth-weight infants [J]. *JAMA*, 2016, 315(9):889-897.
- [30] CUNNINGHAM KE, OKOLO FC, BAKER R, et al. Red blood cell transfusion in premature infants leads to worse necrotizing enterocolitis outcomes [J]. *J Surg Res*, 2017, 213:158-165.
- [31] SULEMANJI M, VAKILI K, ZURAKOWSKI D, et al. Umbilical venous catheter malposition is associated with necrotizing enterocolitis in premature infants [J]. *Neonatology*, 2017, 111(4):337-343.

(收稿日期:2017-10-23,修回日期:2018-01-18)