

疾病中免疫反应研究

DOI: 10.11699/cyxb20130730

谷氨酰胺对肝移植大鼠肠黏膜形态与肠黏膜免疫功能的影响

彭磊¹, 李洋¹, 朱继芳²

(重庆医科大学附属第二医院 1. 胃肠外科; 2. 心内科, 重庆 400010)

【摘要】目的:探讨谷氨酰胺(glutamine, Gln)对原位肝移植后大鼠肠黏膜形态与肠黏膜免疫功能的影响。**方法:**健康雄性 Wistar 大鼠 70 只, 随机分为正常对照组($n=10$)、原位肝移植(orthotopic liver transplantation, OLT, $n=30$)组和 OLT+Gln 组(Gln 组, $n=30$); 正常对照组只分离肝十二指肠韧带, OLT 组和 Gln 组按改良的两袖套法进行 OLT。术前 3 d、术后 3 h 开始 Gln 组受体给予肠内营养混悬液能全力+谷氨酰胺灌胃, OLT 组及正常对照组受体仅给予肠内营养混悬液能全力。正常对照组于术后 12 h、OLT 组和 Gln 组于术后 12、24、72 h 分别取回肠肠壁组织行光镜和电镜观察肠黏膜形态及微绒毛长度测定、检测肠黏膜肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)含量、分泌型免疫球蛋白 A(secretory immunoglobulin A, sIgA)和肠黏膜上皮内淋巴细胞增殖活力。**结果:**OLT 组和 Gln 组肠黏膜损害较正常对照组明显加重, 而 Gln 组 24、72 h 肠黏膜损害较 OLT 组明显减轻($P<0.01$); OLT 组和 Gln 组肠黏膜 TNF- α 含量较正常对照组明显升高, 而 Gln 组较 OLT 组明显下降($P<0.01$); OLT 组 12、24、72 h 和 Gln 组 12、24 h 肠黏膜 sIgA 含量、肠黏膜上皮内淋巴细胞增殖活力较正常对照组明显降低, 而 Gln 组 24、72 h 较 OLT 组含量明显升高($P<0.01$)。**结论:**大鼠 OLT 可引起肠组织中 TNF- α 表达上调, sIgA 和肠黏膜上皮内淋巴细胞增殖活力下降导致肠黏膜机械屏障和免疫屏障损伤, 围手术期应用 Gln 能抑制肝移植大鼠肠黏膜 TNF- α 表达, 提高 sIgA 含量和肠黏膜上皮内淋巴细胞增殖活力而起到肠黏膜保护作用。

【关键词】谷氨酰胺; 肝移植; 肠屏障功能; 肠黏膜免疫功能**【中国图书分类法分类号】**R574.53**【文献标志码】**A**【收稿日期】**2012-12-05

Effects of glutamine on shape and immune function of intestinal mucosa in liver transplantation rats

PENG Lei¹, LI Yang¹, ZHU Jifang²

(1. Department of Gastrointestinal Surgery; 2. Department of Cardiology, the Second Affiliated Hospital, Chongqing Medical University)

【Abstract】Objective: To explore the effects of glutamine(Gln) on shape and immune function of intestinal mucosa in liver transplantation rats. **Methods:** Seventy healthy male Wistar rats were randomly divided into three groups: normal control group(control group, $n=10$), orthotopic liver transplantation group(OLT group, $n=30$) and OLT + Gln group(Gln group, $n=30$). Dissection of hepatoduodenal ligament was performed in control group and OLT by modified two-cuff method was performed in OLT group and Gln group. For Gln group, recipients were supplied with nutrison fiber(125 ml/(kg·d)) plus Gln(0.3 g/(kg·d)) by gastric perfusion at 3 d before surgery and at 3 h after surgery. For OLT group and control group, recipients were supplied with nutrison fiber(125 ml/(kg·d)) only. Ileal intestinal wall tissues were taken at 12 h after surgery in control group and at 12, 24, 72 h after surgery in OLT and Gln groups. Intestinal mucosa shape was observed by light microscopy and electron microscopy, length of the microvilli was measured and intestinal mucosa tumor necrosis factor- α (TNF- α) levels, secretory immunoglobulin A(sIgA) and proliferative activities of epithelial lymphocytes in intestinal mucosa were detected. **Results:** Intestinal mucosal damage was more severe in OLT group and Gln group than in control group, however it was lighter in Gln group at 24 h and 72 h than in OLT group($P<0.01$). TNF- α contents were significantly higher in OLT group and Gln group than in control group, but they were significantly lower in Gln group than in OLT group($P<0.01$). Intestinal mucosa sIgA contents and proliferative activities of epithelial lymphocytes in intestinal mucosa were obviously decreased in OLT group at 12, 24, 72 h and Gln group at 12 h and 24 h than in control group, but they were significantly increased in Gln group at 24 h and 72 h than in OLT group($P<0.01$). **Conclusions:** OLT can increase TNF- α expressions, decrease sIgA contents and decline proliferative activities of epithelial lymphocytes in intestinal mucosa, which will cause damages to intestinal mechanical barrier and immune barrier. Peri-operative application Gln can inhibit TNF-

作者介绍: 彭磊, Email: penglei0121@qq.com,

研究方向: 胃肠道疾病。

通信作者: 李洋, Email: liyang_68813@126.com。

ative activities of epithelial lymphocytes in intestinal mucosa, which will cause damages to intestinal mechanical barrier and immune barrier. Peri-operative application Gln can inhibit TNF-

α expressions in intestinal mucosa of rats with liver transplantation, increase sIgA contents and improve proliferative activities of epithelial lymphocytes in intestinal mucosa thus protect intestinal mucosa.

[Key words] glutamine; liver transplantation; gut barrier function; intestinal mucosal immune function

在施行肝移植手术中,当门静脉和下腔静脉被完全阻断进入无肝期,门静脉系统和胃肠道大约要经历 45~60 min 或更长时间的低灌注和严重淤血,使肠黏膜很容易充血和发生缺血/再灌注损伤(ischemia/reperfusion injury, I/RI)、肠黏膜屏障损害引起细菌和内毒素移位,导致全身炎症反应综合征甚至多器官功能障碍综合征(multiple organ dysfunction syndrome, MODS)^[1]。肠黏膜屏障主要包括机械屏障和免疫屏障。谷氨酰胺(glutamine, Gln)是应激状态下小肠黏膜细胞唯一能量来源和肠道修复最重要的营养物质,对恢复正常的肠通透性,防止肠源性感染,提高免疫力,避免肠功能衰竭的发生,提高危重病人的预后有着重要意义^[2]。本研究采用大鼠原位肝移植(orthotopic liver transplantation, OLT)模型,观察肝移植后肠黏膜机械屏障与肠黏膜免疫功能的变化及 Gln 的影响,探讨 Gln 肠保护作用机制,为保护肝移植肠黏膜屏障,防止细菌和内毒素移位,减少肝移植并发症提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 健康雄性 Wistar 大鼠, 10~12 周龄, 体重 220~250 g, 购自重庆医科大学实验动物中心。

1.1.2 实验设备 显微手术器械包(上海医疗器械集团有限公司), 双人双目手术显微镜(江苏镇江光学仪器厂), 9-0 无损伤缝合线(宁波医用缝针有限公司)。光学显微镜(olympus, Japan), BI-医学图像分析软件(成都泰盟科技有限公司), 透射电子显微镜 H-600 型(HITACH, 日本)。

1.1.3 主要试剂 羊抗鼠肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 单克隆抗体(美国 Santa Cruz 公司), 辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)标记的兔抗羊免疫球蛋白 G (immunoglobulin G, IgG) (二抗)(北京中山生物技术有限公司), 分泌型免疫球蛋白 A (secretory immunoglobulin A, sIgA) 放射免疫分析试剂盒(北京华英生物技术研究所), 硝酸纤维素(nitrocellulose filter membrane, NC)膜(美国 Roche 公司), SuperSignal West Pico Chemiluminescent Substrate Kit (pierce 公司)。

1.2 方法

1.2.1 实验动物分组及原位肝移植模型的建立 健康雄性

Wistar 大鼠, 受体随机分为正常对照组 10 只、OLT 组 30 只和 Gln 组 30 只。正常对照组只分离肝十二指肠韧带, OLT 组和 Gln 组按改良的两袖套法进行原位肝移植, 受体门静脉阻断时间为 (14.2 ± 2.1) min。术前 3 d、术后 3 h 开始 Gln 组受体给予肠内营养混悬液能全力[125 ml/(kg·d)]+Gln[0.3 g/(kg·d)]灌胃, OLT 组及正常对照组仅给予肠内营养混悬液能全力, 每日总热量按文献[3]报道的 731.5 kJ/kg 给予, 每天均匀分 6 次给予, 期间自由饮水, 直至动物处死为止。正常对照组分离肝十二指肠韧带 12 h 后, OLT 组和 Gln 组肝移植后 12、24、72 h 3 个时段[10 只/(时段·组)]处死动物, 距回盲部 5 cm 处取回肠组织用于指标测定。

1.2.2 小肠黏膜组织学及超微结构观察 各组于相应时间点, 距回盲部 5 cm 取回肠组织, 标本切成 1 cm × 1 cm 大小, 用 10% 甲醛固定, 经梯度酒精系列脱水, 常规石蜡包埋, 4 μ m 厚连续切片并进行 HE 染色, 作组织病理学观察, 利用 BI-2000 医学图像分析软件对所采集的图像进行肠黏膜绒毛长度的定量检测, 显微镜下每个切片取 3 个点进行绒毛的长度(μ m)测量, 取其均值表示。取下回肠组织立即用冰生理盐水冲洗肠黏膜后, 在 1 min 内用干净锐利的剪刀、双面刀片将所取样品组织块修切成约 1 mm × 1 mm 大小, 并放入装有 4% 的戊二醛固定液(预冷)的干净小瓶中固定 48 h, 再用 1% 的四氧化锇后固定 1.5 h, 梯度丙酮脱水, 环氧树脂 618 包埋, 超薄切片(10 nm), 醋酸铀-枸橼酸铅双重染色, H-600 型透射电子显微镜观察肠黏膜上皮细胞超微结构改变。

1.2.3 肠组织 TNF- α 蛋白的表达检测 采用 Western blot 方法。取液氮冻存的各组大鼠肠组织各 30 mg, 加入 0.5 ml 的组织蛋白裂解液, 用匀浆器将组织研碎, 4 $^{\circ}$ C 离心, 取上清, Bradford 法进行蛋白定量。取 40 μ g 样本上样进行在去污剂十二烷基硫酸钠存在下的聚丙烯酰胺凝胶电泳(sodium dodecyl sulphate-polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE), 电泳结束后用湿转法将蛋白条带转移至醋酸纤维素膜上, 封闭, 加入一抗羊抗鼠 TNF- α 单克隆抗体(0.2 ml/cm² 膜)置 4 $^{\circ}$ C 冰箱振荡孵育过夜, Tris-HCl 缓冲盐溶液(TBS)洗涤后, 加入二抗 HRP 标记的兔抗羊 IgG (0.2 ml/cm² 膜)室温反应 1 h, TBS 洗涤后, 按 SuperSignal West Pico Chemiluminescent Substrate Kit 操作说明, 0.125 ml/cm² 膜加入化学发光试剂反应 5 min, 应用 Syngene Bio Imaging 检测系统观察并照相。以 β -actin 作为内参。

1.2.4 肠黏膜 SIgA 检测 各组于相应时间点距回盲部 5 cm 取回肠组织约 0.5 g, 用生理盐水冲洗至无血迹, 滤纸吸干, 称重后, 组织剪剪碎, 移入微型玻璃匀浆器内, 按 1:10 的比例用冰生理盐水稀释, 以 3 000 r/min 离心 15 min, 提取上清

液, -25°C 保存。全部标本取完后, 采用北京华英生物技术研究所提供的 SIgA 放射免疫分析试剂盒, 双抗体夹心法检测。

1.2.5 肠黏膜上皮内淋巴细胞增殖活力检测 采用 Davies 和 Parrott(1981 年)的方法分离小肠黏膜上皮内淋巴细胞制作单细胞悬液, 采用噻唑蓝[3-(4,5-Dimethyliazol(-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide, MTT]法检测淋巴细胞(T、B 细胞)增殖活力。

1.3 统计学处理

应用 SPSS 10.0 统计软件分析系统进行统计学处理, 所得数据以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 进行统计学处理。多组间比较采用方差分析, 两两比较采用 LSD-*t* 法, $P \leq 0.05$ 表示有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组肠黏膜组织学及超微结构变化

HE 染色结果显示: 正常对照组回肠绒毛(图 1)结构完整, 绒毛排列整齐, 间质无水肿; 而 OLT 组 12、24 h 和 72 h 回肠黏膜(图 2~4)弥漫性重度糜烂、坏死脱落, 绒毛高度缩短, 宽度减小, 绒毛间隙增宽, 固有层水肿, 大量炎性细胞浸润, 黏膜变薄, 以 24 h 最重, 72 h 有所好转; 而 Gln 组 12、24 和 72 h 回肠黏膜(图 5~7)轻度糜烂, 绒毛长度变化较 OLT 组轻, 只有轻度水肿和少量炎性细胞浸润, 24 h 组只有灶性坏死脱落。绒毛长度测量结果(表 1)表明: OLT 组和 Gln 组 12、24 h 和 72 h 与正常对照组比较, 差异有统计学意义($P < 0.01$); Gln 组 12 h 与 OLT 组 12 h 相比差异无统计学意义($P > 0.05$), 而 24、72 h Gln 组与 OLT 组相比, 绒毛长度分别是后者的 1.50、1.45 倍, 差异有统计学意义($P < 0.01$)。

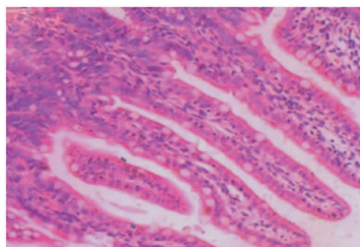


图 1 正常对照组肠黏膜的光镜图 (HE, 100 $\times$)

Fig.1 Light micrograph of normal control intestinal mucosa (HE, 100 $\times$)

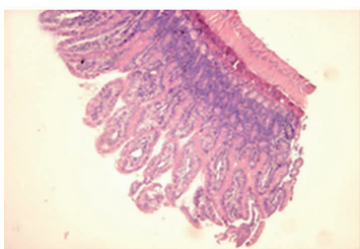


图 2 OLT 12 h 组肠黏膜的光镜图 (HE, 100 $\times$)

Fig.2 Light micrograph of OLT 12 h intestinal mucosa (HE, 100 $\times$)

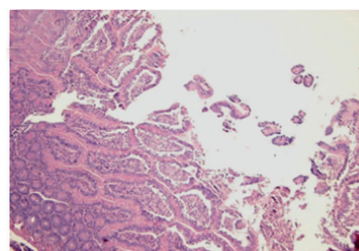


图 3 OLT 24 h 组肠黏膜的光镜图 (HE, 100 $\times$)

Fig.3 Light micrograph of OLT 24 h intestinal mucosa (HE, 100 $\times$)

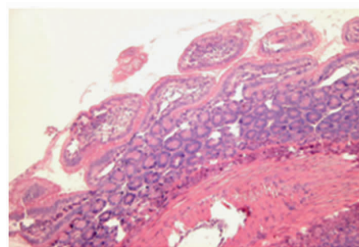


图 4 OLT 72 h 组肠黏膜的光镜图 (HE, 100 $\times$)

Fig.4 Light micrograph of OLT 72 h intestinal mucosa (HE, 100 $\times$)

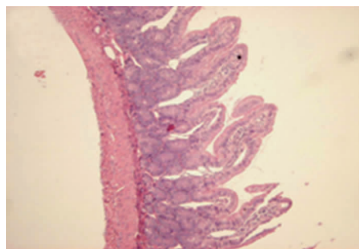


图 5 Gln 12 h 肠黏膜的光镜图 (HE, 100 $\times$)

Fig.5 Light micrograph of Gln 12 h intestinal mucosa (HE, 100 $\times$)

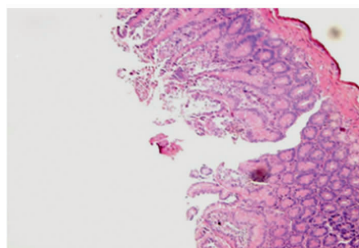


图 6 Gln 24 h 肠黏膜的光镜图 (HE, 100 $\times$)

Fig.6 Light micrograph of Gln 24 h intestinal mucosa (HE, 100 $\times$)

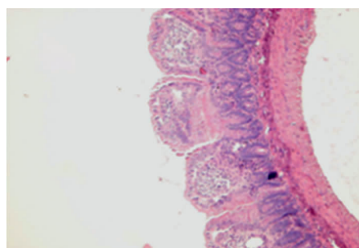


图 7 Gln 72 h 肠黏膜的光镜图 (HE, 100 $\times$)

Fig.7 Light micrograph of Gln 72 h intestinal mucosa (HE, 100 $\times$)

透射电镜结果表明:正常对照组回肠黏膜(图 8)上皮间隙正常,微绒毛排列整齐;OLT 12、24 h 和 72 h(图 9~11)上皮间隙扩大,上皮细胞线粒体肿胀,微绒毛肿胀、空泡化,以 OLT 24 h 最重,表现为上皮细胞肿胀、溶解,细胞质流出,微绒毛坏死、脱落。而 Gln 12、24 h 和 72 h 组(图 12~14)上皮细胞间隙基本正常,线粒体轻度肿胀,微绒毛仅轻度空泡化,局部坏死脱落,仍以 Gln 24 h 组最重。

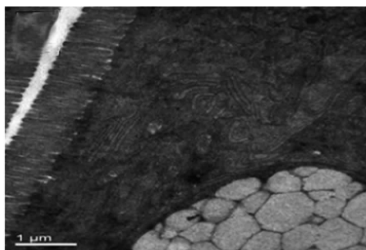


图 8 正常对照组回肠上皮超微结构的电镜图 (TEM, 12 000 ×)

Fig.8 Electron micrograph of control ileal epithelial ultrastructure (TEM, 12 000 ×)

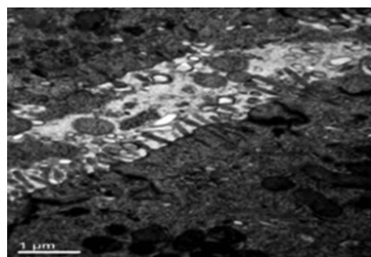


图 9 OLT 12 h 回肠上皮超微结构的电镜图 (TEM, 15 000 ×)

Fig.9 Electron micrograph of OLT 12 h ileal epithelial ultrastructure (TEM, 15 000 ×)

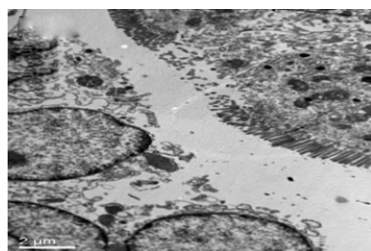


图 10 OLT 24 h 回肠上皮超微结构的电镜图 (TEM, 7 000 ×)

Fig.10 Electron micrograph of OLT 24 h ileal epithelial ultrastructure (TEM, 7 000 ×)

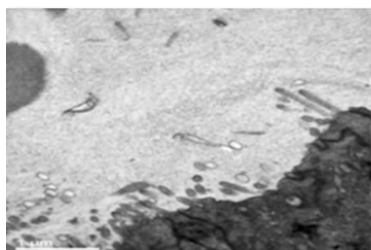


图 11 OLT 72 h 回肠上皮超微结构的电镜图 (TEM, 20 000 ×)

Fig.11 Electron micrograph of OLT 72 h ileal epithelial ultrastructure (TEM, 20 000 ×)



图 12 Gln 12 h 回肠上皮超微结构的电镜图 (TEM, 8 000 ×)

Fig.12 Electron micrograph of Gln 12 h ileal epithelial ultrastructure (TEM, 8 000 ×)

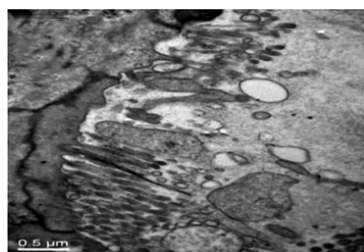


图 13 Gln 24 h 回肠上皮超微结构的电镜图 (TEM, 25 000 ×)

Fig.13 Electron micrograph of Gln 24 h ileal epithelial ultrastructure (TEM, 25 000 ×)

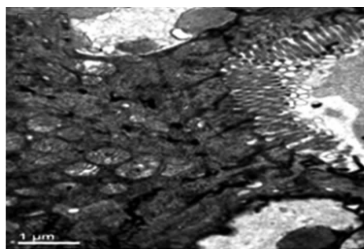
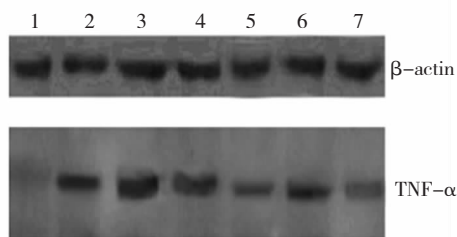


图 14 Gln 72 h 回肠上皮超微结构的电镜图 (TEM, 15 000 ×)

Fig.14 Electron micrograph of Gln 72 h ileal epithelial ultrastructure (TEM, 15 000 ×)

2.2 各组肠黏膜组织 TNF- α 蛋白的表达

Western blot 结果显示(图 15):OLT 组和 Gln 组 12、24 h 和 72 h 均可以检测到肠组织 TNF- α 蛋白的表达,24 h 时达高峰。Gln 组 12、24 h 和 72 h 肠组织 TNF- α 蛋白表达条带强度较 OLT 组明显减弱。半定量分析结果表明,Gln 组 12、24 h 和 72 h 与 OLT 组比较,肠组织 TNF- α 蛋白表达明显减弱,分别下降 24.6%、38.8%、51.3%。



1. 正常对照组;2. OLT 12 h;3. OLT 24 h;4. OLT 72 h;
5. Gln 12 h;6. Gln 24 h;7. Gln 72 h

图 15 Western blot 结果

Fig.15 Western blot results

表 1 Gln 对回肠绒毛长度和 SIgA 含量的影响 ($\bar{x} \pm s, \mu\text{m}, \mu\text{g/ml}$)
Tab.1 Effects of Gln on ileal villi length and on SIgA contents ($\bar{x} \pm s, \mu\text{m}, \mu\text{g/ml}$)

指标	正常对照组	OLT组			Gln组		
		12 h	24 h	72 h	12 h	24 h	72 h
绒毛长度	383.3 $\pm$ 14.1	276.5 $\pm$ 16.9 ^a	152.1 $\pm$ 11.3 ^a	199.3 $\pm$ 11.6 ^a	283.9 $\pm$ 15.7 ^{ab}	228.1 $\pm$ 14.9 ^{ac}	289.9 $\pm$ 10.8 ^{ac}
SIgA 含量	0.887 $\pm$ 0.045	0.733 $\pm$ 0.036 ^a	0.546 $\pm$ 0.042 ^a	0.580 $\pm$ 0.037 ^a	0.755 $\pm$ 0.039 ^{ab}	0.722 $\pm$ 0.029 ^{ac}	0.905 $\pm$ 0.030 ^c

注:a,与正常对照组比较, $P < 0.01$;b,与 OLT 组比较, $P > 0.05$,c,与 OLT 组比较, $P < 0.01$

2.3 各组肠黏膜 SIgA 含量变化

各组肠黏膜 SIgA 含量变化结果比较(表 1)显示:OLT 组 12、24 h 和 72 h, Gln 组 12、24 h 肠黏膜 SIgA 含量明显低于正常对照组,差异有统计学意义($P < 0.01$);Gln 组 72 h 与正常对照组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);肝移植后 24 h 肠黏膜 SIgA 含量最低,72 h 有所回升,Gln 组 72 h 回升幅度最大;Gln 组 12 h 与 OLT 组 12 h 比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);24、72 h Gln 组与 OLT 组比较,差异有统计学意义($P < 0.01$),分别是后者的 1.32、1.56 倍。

2.4 各组肠黏膜上皮内淋巴细胞增殖活性变化

各组肠黏膜上皮内淋巴细胞增殖活性变化比较结果(表 2)显示:OLT 组 12、24 h 和 72 h, Gln 组 12、24 h 肠黏膜上皮内淋巴细胞增殖活性明显低于正常对照组,差异有统计学意义($P < 0.01$);Gln 组 72 h 与正常对照组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);Gln 组 12 h 与 OLT 组 12 h 比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);24、72 h Gln 组与 OLT 组比较,差异有统计学意义($P < 0.01$)。

表 2 各组肠黏膜上皮内淋巴细胞增殖活性变化 ($\bar{x} \pm s, \text{SI}$)

Tab.2 Changes in proliferation activities of intraepithelial lymphocytes of intestinal mucosa ($\bar{x} \pm s, \text{SI}$)

组别	T 细胞	B 细胞
正常对照组	1.545 $\pm$ 0.020	1.532 $\pm$ 0.020
OLT 组		
12 h	1.328 $\pm$ 0.023 ^a	1.331 $\pm$ 0.026 ^a
24 h	1.295 $\pm$ 0.031 ^a	1.278 $\pm$ 0.016 ^a
72 h	1.353 $\pm$ 0.038 ^a	1.348 $\pm$ 0.027 ^a
Gln 组		
12 h	1.336 $\pm$ 0.027 ^{ab}	1.329 $\pm$ 0.027 ^{ab}
24 h	1.483 $\pm$ 0.037 ^{ac}	1.475 $\pm$ 0.032 ^{ac}
72 h	1.512 $\pm$ 0.026 ^c	1.517 $\pm$ 0.018 ^c

注:a,与正常对照组比较, $P < 0.01$;b,与 OLT 组比较, $P > 0.05$,c,与 OLT 组比较, $P < 0.01$

3 讨 论

肝移植术后早期(术后 30 d 内)感染仍为影响患者生存的重要因素,其发生率占肝移植受体总数的 50%~68%,其中脓毒症一直是术后死亡的重要

原因之一^[4],研究证实其发生可能与肝移植全肝血流阻断导致肠 I/IR、肠黏膜屏障损害引起的细菌移位和肠源性内毒素血症有关^[1]。TNF- α 是缺血-再灌注损伤细胞因子连锁反应中一个关键性介质,可激活巨噬细胞释放 IL-1、IL-6、IL-8、PGE2 以及 TNF- α 等炎症介质,从而加剧了肠道炎症反应及微循环障碍;还可激活补体系统,通过其细胞毒作用加剧组织损伤^[5-6]。胃肠道是体内最大的免疫器官^[7],肠道黏膜免疫反应主要依靠分泌至黏膜表面及肠腔中的免疫球蛋白(以 sIgA 为主)和肠道黏膜内以淋巴细胞为主体的免疫活性细胞,共同完成肠道的局部免疫功能^[8-9],其主要功能有^[10]:①阻断细菌对黏膜的吸附,使其不能形成集落,从而达到排菌的目的;②中和病毒的作用;③中和毒素的作用;④对异物摄入和空气吸入的某些抗原物质具有封闭作用,使这些抗原游离于黏膜表面,不致进入机体,从而避免全身的免疫反应;⑤激活补体的 C-3 旁路途径,并参与补体和溶菌酶协同抗菌作用;⑥阻止机体对肠腔内共栖的正常菌群产生免疫应答。因此,肠黏膜免疫屏障的损害可能与肠外细菌、内毒素移位及诱导全身过度、失控、自毁的炎症反应密切相关。

本研究结果显示,大鼠原位肝移植后肠道机械屏障和免疫屏障都明显受到损害。肠黏膜组织学和超微结构表明肝移植后肠微绒毛缩短、重度糜烂、坏死脱落,上皮细胞肿胀、细胞间隙扩大;肠道黏膜免疫功能呈双向性改变,一方面表现为肠黏膜内 TNF- α 等炎症介质大量激活的过度炎症反应,另一方面肠道细胞免疫和体液免疫功能下降,表现为肠黏膜 sIgA 分泌减少和肠黏膜上皮内 T、B 淋巴细胞增殖活性下降。关于肝移植术后肠道机械屏障和免疫屏障受损的机制仍不十分清楚,一方面可能由于全肝血流阻断导致肠黏膜发生 I/RI,肠黏膜缺血、缺氧及肠道内细菌内毒素等可对炎性细胞产生强烈的刺激作用,引起炎性细胞活化并分泌大量的炎性介质和炎性因子,包括 TNF- α 、IL-1、IL-8 等,另一

方面肠黏膜缺血缺氧可引起肠黏膜上皮内淋巴细胞 cAMP 含量升高,导致细胞内一些信号通路的变化,最终导致 T、B 淋巴细胞功能的全面抑制;同时肝移植手术创伤的应激造成的高分解代谢、负氮平衡可使肠道缺乏进行自身修复所必须的谷氨酰胺和短链脂肪酸,导致肠黏膜上皮细胞数量减少,免疫活性降低,更新修复速度减慢,肠黏膜屏障完整性损伤,黏膜屏障功能进一步受损。

Gln 作为肠黏膜细胞蛋白、核酸合成的底物,在应激状态下成为小肠黏膜细胞唯一能量来源和肠道修复最重要的营养物质。但当机体受到如烧伤、肝移植、缺血/再灌注等严重创伤时,血液和组织中的 Gln 浓度可显著减少,体内 Gln 池的耗竭会导致小肠上皮细胞的萎缩,并可能损害肠屏障功能,促进细菌移位^[1]。越来越多的研究表明,肠缺血/再灌注、危重病人及严重创伤等应激情况下,早期给与 Gln 强化的肠内营养(肠内营养混悬液中加入 Gln),不仅满足了机体对营养的需要,而且 Gln 为肠黏膜膜提供了营养底物,改善了肠黏膜血流供应,能维持肠道免疫活性和肠黏膜细胞的正常结构、细胞间连接和绒毛的高度,预防和减轻肠黏膜屏障损害的发生;有利于防止内毒素释放,大大减少肠源性感染的发生,从源头上控制全身炎症反应综合征的发生,进而降低 MODS 的发生^[2]。本研究结果显示,肝移植围手术期补充 Gln 能明显抑制 TNF- α 释放、提高肠黏膜 sIgA 分泌和肠黏膜上皮内 T、B 淋巴细胞增殖活性,减轻肝移植手术导致的肠黏膜机械屏障和免疫屏障损伤。这可能为对抗肝移植术后肠源性感染、减少 MODS 的发生提供新的治疗途径。

参 考 文 献

- [1] Li Y, Chen Y, Zhang J, et al. Protective effect of glutamine-enriched early enteral nutrition on intestinal mucosal barrier injury after liver transplantation in rats[J]. *Am J Surg*, 2010, 199(1): 35-42.
- [2] Mondello S, Galuppo M, Mazzon E, et al. Glutamine treatment attenuates the development of ischemia/reperfusion injury of the gut[J]. *Eur J pharmacol*, 2010, 643(2/3): 304-315.
- [3] Zhao D, Letterman J, Schreiber B M. Beta-Migrating very low density lipoprotein (beta VLDL) activates smooth muscle cell mitogen-activated protein (MAP) kinase via G protein-coupled receptor-mediated transactivation of the epidermal growth factor (EGF) receptor; effect of MAP kinase activation on beta VLDL plus EGF-induced cell proliferation[J]. *J Biol Chem*, 2001, 276(33): 30579-30588.
- [4] Gurusamy K S, Kumar Y, Davidson B R. Methods of preventing bacterial sepsis and wound complications for liver transplantation[J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2008(4): CD006660.
- [5] Takeshita M, Tani T, Harada S, et al. Role of transcription factors in small intestinal ischemia-reperfusion injury and tolerance induced by ischemic preconditioning[J]. *Transplant Proc*, 2010, 42(9): 3406-3413.
- [6] Crisafulli C, Mazzon E, Galuppo M, et al. Olprinone attenuates the development of ischemia/reperfusion injury of the gut[J]. *Intensive Care Med*, 2010, 36(7): 1235-1247.
- [7] Takahashi I, Kiyono H. Gut as the largest immunologic tissue[J]. *JPN J Parenter Enteral Nutr*, 1999, 23(5 S1): 7-12.
- [8] Johansson M, Lycke N Y. Immunology of the human genital tract[J]. *Curr Opin Infect Dis*, 2003, 16(1): 43-49.
- [9] Nagler A C. Man the barrier Strategic defences in the intestinal mucosa[J]. *Nature Rev Immunol*, 2001, 1(1): 59-67.
- [10] Ellen J M, Lammel C J, Shafer M A, et al. Cervical secretory immunoglobulin A in adolescent girls[J]. *J Adolesc Health*, 1999, 25(2): 150-154.

(责任编辑:关蕴良)