

doi:10.3969/j.issn.1671-038X.2016.11.21

肠黏膜通透性改变与炎症性肠病关系的研究进展

孙博云, 王师英, 胡鸿毅

(上海中医药大学附属龙华医院 脾胃病科, 上海 200032)

关键词: 黏膜通透性; 肠黏膜屏障功能; 炎症性肠病

中图分类号: R57

文献标志码: A

文章编号: 1671-038X(2016)11-0891-04

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是一种累及回肠、直肠、结肠的慢性复发性炎症性肠道疾病,包括溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)和克罗恩病(crohn's disease, CD)。目前认为其发病机制与免疫因素、遗传因素和环境因素等有关。持续 10 年以上和病变范围较大的 IBD 增加癌变的风险^[1]。近年来,肠黏膜屏障功能损伤被认为是炎症性肠病发病机制中的主要因素,成为被关注的焦点。黏膜屏障功能障碍主要表现为肠黏膜上皮通透性(epithelial permeability, EP)增加,可以导致肠道细菌和其它抗原物质跨过上皮进入黏膜,引起增强的免疫反应,触发或加重炎症。深入研究肠黏膜通透性改变机制对于明确 IBD 的发病机制,寻求有效的治疗方法具有重要意义。本文就肠上皮通透性改变与 IBD 关系研究的进展作简要综述。

1 肠上皮通透性与肠黏膜屏障功能

肠黏膜屏障主要由基底膜、上皮细胞层及其表面的黏液层构成,是将肠腔内细菌和毒素等致病性抗原物质与肠黏膜固有层免疫细胞隔离,避免固有层免疫细胞激活的肠黏膜结构,包括机械屏障、生物屏障、免疫屏障和化学屏障。其中,由肠黏膜上皮细胞与细胞间紧密连接等形成的完整机械屏障结构是肠黏膜屏障的结构基础,可阻止有害抗原物质透过肠黏膜而发生移位进入血液^[2]。肠上皮细胞间的连接从顶端到基膜依次为紧密连接(tight junction)、黏附连接(adhesion junction)、桥粒(desmosome)和缝隙连接(gap junction)等,其中以紧密连接最为重要。肠上皮细胞紧密连接由紧密连接蛋白所构成,包括闭锁蛋白(claudin)、咬合蛋白(occludin)、连接黏附分子(Junctional adhesion molecule, JAM)等跨膜蛋白和带状闭合蛋白(zonula occludens, ZO)家族、丝状肌动蛋白等 30 多种胞内蛋白。肠上皮细胞

间的紧密连接是维持肠黏膜屏障功能的基础,各种细胞因子、炎症细胞、药物或物理因素(如渗透压增高)可导致肠上皮通透性增高,肠屏障功能破坏。黏液凝胶层包括约 800 μm 厚的非流动液层和由杯状细胞分泌的黏液糖蛋白层(mucoprotein, MUC),主要由 MUC1、MUC2、MUC3、MUC4、MUC5AB、MUC5AC、MUC6 等组成。可保护上皮层免受各种机械性和化学性损伤,同时限制上皮层与肠道微生物直接接触。

肠上皮通透性定义为在肠黏膜屏障特定定位点上的功能性特征,可以通过测定跨上皮渗透性率来表示^[3]。临床上,肠黏膜通透性增加主要是指分子量大于 150 的物质通过肠上皮的渗透量增加,其中不包括离子(如 Na⁺、Cl⁻ 等)的渗透。肠上皮的通透性有两种途径:跨上皮途径和细胞旁途径(主要为亲水性物质)。跨上皮途径,又称“载体介导的穿细胞途径”,指细胞营养物质从肠腔经过肠黏膜上皮吸收进入循环,同时选择性限制内毒素和炎症因子等有害物质通过;细胞旁通路,即分子被动地经过上皮细胞间弥散,此通路由上皮细胞之间的紧密连接控制,对内毒素和细菌的其他产物等大分子物质是否通过起到关键性调控作用。肠黏膜通透性增加是肠黏膜屏障功能异常的重要表现。因此,研究中常用肠黏膜通透性来反映肠黏膜屏障功能,其发生往往早于组织形态学改变。

2 肠黏膜通透性与 IBD 的关系

溃疡性结肠炎和克罗恩病均伴随着肠黏膜炎症和肠上皮屏障功能紊乱,其主要病理表现是肠黏膜通透性增加。研究发现,与正常组织相比,IBD 肠组织中紧密连接结构和功能发生改变^[4],肠上皮凋亡率上调 2~3 倍^[5],肠黏膜通透性增加。当肠黏膜通透性增加到一定程度时,细菌、脂质多糖和内毒素等大分子物质能透过损伤的肠黏膜而进入组织而引发或加重炎症,诱发肠黏膜糜烂或溃疡性病变等^[6]。临床研究^[7]已经证实,克罗恩病患者的肠黏膜通透性显著高于正常人,并与疾病活动度呈正相关,可用于疾病复发和预后的预测。实验研究^[8]发现,克罗

收稿日期:2016-06-15

基金项目:国家自然科学基金项目(No:81373616)

作者简介:孙博云,男,硕士研究生,主要从事中医药防治炎症性肠病研究

通讯作者:胡鸿毅, E-mail: hongyihu2003@aliyun.com

恩病模型小鼠肠黏膜通透性增加,并伴紧密连接蛋白 Claudin-2 和 Occludin mRNA 表达改变,提示肠黏膜通透性改变与 IBD 密切相关。

3 影响肠屏障通透性改变的因素

3.1 紧密连接蛋白

紧密连接由跨膜蛋白(Claudins 家族、Occludins 家族、连接黏附分子 JAM),外周膜蛋白或闭合小环蛋白(ZO),和细胞调控分子(激酶、肌动蛋白等)组成。跨膜蛋白 Claudins 和 Occludins 与闭合小环蛋白(ZO-1,ZO-2,ZO-3 等)相互影响。Claudin 家族有 24 个成员组成,基于物质电荷和尺寸大小选择性调节细胞间通透性。JAM 家族属于免疫球蛋白超家族,不仅参与了肠上皮屏障功能,还参与了内皮细胞的细胞粘附功能,JAM-A 是第一个被鉴定的 JAM 家庭成员,已被报道在 IBD 患者的表达降低^[9]。Tricellulin 蛋白主要分布在三个上皮细胞之间的交界处,功能上与跨膜蛋白 Occludin 能形成互补作用,对上皮屏障的形成起着至关重要的作用。虽然上皮细胞间的 Tricellulin 蛋白很少,并不能明显的影响肠上皮通透性,但能增加大分子渗透作用。外周胞浆蛋白 ZO 通过肌动蛋白微丝(F-actin)参与细胞骨架的构成。ZO 蛋白是不同信号通路发挥效应的直接靶蛋白(如 MLCK 信号通路),可以改变紧密连接复合体的屏障保护功能。

3.2 细胞因子

临床研究表明,在 IBD 患者的肠黏膜上 TNF- α 、IFN- γ 和 IL-6 等炎性细胞因子表达增高,这些细胞因子可以通过不同机制改变肠上皮通透性,破坏肠上皮细胞屏障功能。其中肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor α ,TNF- α)是一种重要的促炎因子,可以通过诱导上皮细胞凋亡破坏上皮屏障,并促进炎症趋化因子从肠上皮细胞中释放,还可以通过招募和活化中性粒细胞和巨噬细胞激活肠道适应性免疫系统^[10]。研究证实,TNF- α 通过不同的机制破坏肠上皮紧密连接结构。在结肠上皮细胞(HT-29/B6)中,TNF- α 通过诱导 Claudin-2 表达升高,导致肠黏膜针对小分子物质的通透性升高,跨膜电阻降低^[11]。最近研究发现,TNF- α 通过激活细胞外调节蛋白激酶 ERK1/2,而增加 Caco-2 单层细胞通透性^[12]。在 IBD 发病早期,结肠黏膜 IFN- γ 的表达水平明显升高^[13],IFN- γ 通过上调 Rho 相关激酶(Rho associated kinase,ROCK)和肌球蛋白轻链激酶(myosin light chain kinase,MLCK)等调节蛋白的表达,将肠上皮紧密连接蛋白的表达重新分布,直接增加细胞旁路的通透性^[14,15]。IFN- γ 还可以破坏 Caco-2 肠上皮细胞的脂质筏,并且脂质筏的破坏早

于肠通透性增加的出现^[16]。研究发现 IFN- γ 使上皮细胞的半胱氨酸天冬氨酸酶-1(Caspase-1)表达升高,进而诱导肠上皮细胞凋亡,破坏肠道上皮屏障,增加致病菌侵袭肠道的机会,在 IBD 的发病机制中起重要作用。新近的研究表明,肌球蛋白轻链(MLCK)在肠屏障功能失调的机制中起了核心作用。上皮细胞紧密连接主要由肌球蛋白轻链(myosin light chain,MLC)所调节,磷酸化的 MLC(pMLC)经肌球蛋白 II(myosin II)由含有紧密连接蛋白的细胞膜被细胞内吞(endocytosis),并在细胞质中形成空泡,跨膜蛋白随之降解^[17],而且在活动性 UC 中 MLCK 蛋白表达明显升高^[18]。白细胞介素 18(Interleukin-18,IL-18)通过 MLCK 选择性的破坏紧密连接蛋白 Occludin,促进中性粒细胞跨膜迁移^[19-20]。Al-Sadi R^[21] 发现 IL-1 β 通过调节 NF- κ B 通路抑制咬合蛋白(Occludin)的表达,并使 MLCK 的表达增高,进而改变肠上皮通透性^[21]。IL-6 和 IL-17 均可以通过激活 MEK/ERK 信号通路,诱导 Claudin-2 的表达升高,破坏紧密连接结构。但是研究发现 IL-22 在介导信号转导和转录激活因子(signal transducers and activators of transcription,STAT3)活化,并维持肠上皮屏障正常稳态中发挥重要作用。IL-22/STAT3 信号通路激活或许可以恢复结肠炎或单纯结肠黏膜损伤后的肠屏障功能,而且还能发挥抗细菌感染的作用^[22-23]。组织蛋白酶 G(cathepsin G,Cat-G)是一种在 UC 患者结肠腔内发现的中性粒细胞丝氨酸蛋白酶。它可以通过激活位于肠细胞顶膜侧的蛋白酶激活的受体 4(protease-activated receptor-4,PAR4)引起上皮屏障破坏,改变肠屏障通透性^[24]。

3.3 环境因素

吸烟可以产生大量氧自由基(reactive oxygen species,ROS),通过调节超氧化物和过氧化氢增加上皮黏膜和微血管的通透性,增加抗原接触风险,加重 IBD。生活压力对机体内稳态有很大威胁,在实验大鼠结肠炎稳定期,外界压力可以诱导疾病复发。小鼠实验中发现,压力减少肠上皮粘液分泌,提高结肠黏膜通透性。在 IBD 患者中,使用非甾体抗炎药物(nonsteroidal antiinflammatory drugs,NSAIDs)可能会降低(Prostaglandin E2,PGE2)水平,促进炎症发生,而且非甾体抗炎药增加细胞膜的通透性,并破坏磷脂,增加肠腔抗原物质的暴露,干扰肠屏障对抗原物质的识别和处理^[6,25]。Jowett 等^[26] 研究认为,在结肠部位未经消化的食物中的硫蛋白,其最终代谢产物硫化氢可能与结肠厌氧菌产生氮氧化物结合,破坏结肠黏膜屏障功能,导致 UC 的免疫失调。

3.4 肠道微生物

肠道微生物是指寄居在人体肠道的各种菌群,包括与人体共生的生理性厌氧菌、与人体共栖的以兼性需氧菌为主的条件致病菌和异常情况下的病原菌。在正常状态下,肠道细菌在维持菌群稳定,营养摄取、维护肠黏膜屏障、调节肠道免疫等方面具有重要作用。各种因素引起的肠道菌群失调导致正常菌群不能有效的与致病菌竞争结合位点和营养物质,肠道内致病菌的数量增多。一些致病菌可直接侵袭损伤肠道上皮细胞,进而破坏肠黏膜屏障,致使异常肠道菌群等大量抗原可直接透过受损的肠黏膜屏障持续刺激肠黏膜下免疫细胞,引起肠上皮损伤,导致肠炎的发生、发展。研究报道,炎症性肠病肠黏膜组织中的黏附侵袭性大肠杆菌(adherent-invasive escherichia coli, AIEC)上调癌胚抗原相关细胞黏附分子-6(carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 6, CEACAM6)、IL-8 和 TNF- α 基因的蛋白的表达,损伤上皮屏障的完整性^[27]。IBD 患者肠道微生物的改变可能激活 Toll 样受体(toll-like receptors, TLRs)信号通路,降低肠道干细胞(intestinal stem cell, ISC)特异性分化,使肠道自我修复能力下降,促进 IBD 的发生^[28]。

3.5 血管通透性改变

关于肠上皮通透性在 IBD 病理机制中作用的研究多数集中在破坏上皮屏障完整性方面。近年来的研究发现,肠黏膜通透性不仅由上皮决定,还受微血管内皮屏障功能,即血管通透性(vascular permeability, VP)变化的影响。微血管内皮屏障在维持肠稳态和在炎症性肠病的发病机制中发挥重要作用^[29]。一方面它维持微血管的血流量,将氧和营养物质递送到上皮层,维护上皮的有效性和完整性;另一方面,它防护血液循环中的白细胞和其它炎症细胞或蛋白溢出血管进入黏膜。此外,它还合成和释放促炎细胞因子参与固有免疫反应。因此,血管的损伤和血流的减少会引起组织缺氧和上皮细胞损伤。研究发现,由于较强的氧化应激的关系,UC 患者慢性炎症黏膜血管舒张能力降低^[30]。血管造影研究提示在 UC 早期阶段,血管扭曲、扩张、分布异常,周围分支管腔不规则。随着 UC 病情的进一步发展,病变血管直径变小,血管密度降低,血流减少^[31]。共聚焦内镜研究发现 UC 患者结肠黏膜 VP 增加。最近的研究发现结肠炎患者和动物模型的血管密度和通透性增加,导致结肠黏膜免疫细胞外渗浸润^[31,32]。结肠炎患者的血管异常被证实可以加重慢性炎症损害^[33]。这说明血管改变在 UC 的发病机制中起着重要的作用。

4 总结与展望

肠上皮屏障是肠黏膜的重要防线之一,若受损则可引起肠上皮通透性增加,引起肠黏膜慢性持续损害,在 IBD 发病过程中起重要作用。深入了解肠黏膜屏障结构、功能及影响肠黏膜屏障功能导致其通透性增加的因素,对进一步阐明 IBD 的发病机制具有重要意义。此外,肠上皮血管功能障碍对肠黏膜屏障的影响成为关注的热点,血管通透性的改变对 IBD 的病理机制产生重大影响,针对微血管功能障碍在 IBD 的治疗是目前新兴的方法、这种方法可能包括微血管粘附分子和趋化因子的生物制剂,以及辅助策略,这将是针对肠上皮微血管功能障碍和血管生成的尝试,以改善黏膜愈合和恢复肠上皮结构。通过改善肠上皮微血管通透性维持和修复肠上皮屏障或许能成为治疗 IBD 的新策略。

参考文献

- [1] YASHIRO M. Ulcerative colitis-associated colorectal cancer[J]. World J Gastroenterol, 2014, 20:16389—16397.
- [2] EDELBLUM K L, TURNER J R. The tight junction in inflammatory disease: communication breakdown[J]. Curr Opin Pharmacol, 2009, 9:715—720.
- [3] BISCHOFF S C, BARBARA G, BUURMAN W, et al. Intestinal permeability—a new target for disease prevention and therapy[J]. BMC Gastroenterol, 2014, 14: 189—189.
- [4] ZEISSIG S, BURGEL N, GUNZEL D, et al. Changes in expression and distribution of claudin 2, 5 and 8 lead to discontinuous tight junctions and barrier dysfunction in active Crohn's disease[J]. Gut, 2007, 56:61—72.
- [5] SCHULZKE J D, BOJARSKI C, ZEISSIG S, et al. Disrupted barrier function through epithelial cell apoptosis[J]. Ann N Y Acad Sci, 2006, 1072:288—299.
- [6] MANKERTZ J, SCHULZKE J D. Altered permeability in inflammatory bowel disease: pathophysiology and clinical implications [J]. Curr Opin Gastroenterol, 2007, 23:379—383.
- [7] TAKEUCHI K, MAIDEN L, BJARNASON I. Genetic aspects of intestinal permeability in inflammatory bowel disease[J]. Novartis Found Symp, 2004, 263:151—158; discussion 159—163, 211—218.
- [8] OLSON T S, REUTER B K, SCOTT K G, et al. The primary defect in experimental ileitis originates from a nonhematopoietic source[J]. J Exp Med, 2006, 203: 541—552.
- [9] VETRANO S, DANESE S. The role of JAM-A in inflammatory bowel disease: unrevealing the ties that bind[J]. Ann N Y Acad Sci, 2009, 1165:308—313.
- [10] SHIH D Q, TARGAN S R. Insights into IBD Patho-

- genesis[J]. *Curr Gastroenterol Rep*, 2009, 11:473—480.
- [11] MANKERTZ J, AMASHEH M, KRUG S M, et al. TNF α up-regulates claudin-2 expression in epithelial HT-29/B6 cells via phosphatidylinositol-3-kinase signaling[J]. *Cell Tissue Res*, 2009, 336:67—77.
- [12] AL-SADI R, GUO S, YE D, et al. TNF- α modulation of intestinal epithelial tight junction barrier is regulated by ERK1/2 activation of Elk-1 [J]. *Am J Pathol*, 2013, 183:1871—1884.
- [13] BOUMA G, STROBER W. The immunological and genetic basis of inflammatory bowel disease[J]. *Nat Rev Immunol*, 2003, 3:521—533.
- [14] BRUEWER M, UTECH M, IVANOV A I, et al. Interferon- γ induces internalization of epithelial tight junction proteins via a macropinocytosis-like process[J]. *FASEB J*, 2005, 19:923—933.
- [15] UTECH M, IVANOV A I, SAMARIN S N, et al. Mechanism of IFN- γ -induced endocytosis of tight junction proteins; myosin II-dependent vacuolarization of the apical plasma membrane [J]. *Mol Biol Cell*, 2005, 16:5040—5052.
- [16] BOWIE R V, DONATELLO S, LYES C, et al. Lipid rafts are disrupted in mildly inflamed intestinal microenvironments without overt disruption of the epithelial barrier[J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2012, 302:G781—G793.
- [17] LAUKOETTER M G, BRUEWER M, NUSRAT A. Regulation of the intestinal epithelial barrier by the apical junctional complex [J]. *Curr Opin Gastroenterol*, 2006, 22:85—89.
- [18] LIU X, XU J, MEI Q, et al. Myosin light chain kinase inhibitor inhibits dextran sulfate sodium-induced colitis in mice[J]. *Dig Dis Sci*, 2013, 58:107—114.
- [19] LAPOINTE T K, BURET A G. Interleukin-18 facilitates neutrophil transmigration via myosin light chain kinase-dependent disruption of occludin, without altering epithelial permeability[J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2012, 302:G343—G351.
- [20] SUZUKI T, YOSHINAGA N, TANABE S. Interleukin-6 (IL-6) regulates claudin-2 expression and tight junction permeability in intestinal epithelium[J]. *J Biol Chem*, 2011, 286:31263—31271.
- [21] AL-SADI R, YE D, SAID H M, et al. IL-1 β -induced increase in intestinal epithelial tight junction permeability is mediated by MEKK-1 activation of canonical NF- κ B pathway[J]. *Am J Pathol*, 2010, 177:2310—2322.
- [22] PICKERT G, NEUFERT C, LEPPKES M, et al. STAT3 links IL-22 signaling in intestinal epithelial cells to mucosal wound healing[J]. *J Exp Med*, 2009, 206:1465—1472.
- [23] ZHENG Y, VALDEZ P A, DANILENKO D M, et al. Interleukin-22 mediates early host defense against attaching and effacing bacterial pathogens[J]. *Nat Med*, 2008, 14:282—289.
- [24] DABEK M, FERRIER L, ANNAHAZI A, et al. Intracolonic infusion of fecal supernatants from ulcerative colitis patients triggers altered permeability and inflammation in mice; role of cathepsin G and protease-activated receptor-4[J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2011, 17:1409—1414.
- [25] AL-SADI R, BOIVIN M, Ma T. Mechanism of cytokine modulation of epithelial tight junction barrier[J]. *Front Biosci(Landmark Ed)*, 2009, 14:2765—2778.
- [26] JOWETT S L, SEAL C J, PEARCE M S, et al. Influence of dietary factors on the clinical course of ulcerative colitis: a prospective cohort study[J]. *Gut*, 2004, 53:1479—1484.
- [27] NEGRONI A, COSTANZO M, VITALI R, et al. Characterization of adherent-invasive *Escherichia coli* isolated from pediatric patients with inflammatory bowel disease[J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2012, 18:913—924.
- [28] MOOSSAVI S, ZHANG H, SUN J, et al. Host-microbiota interaction and intestinal stem cells in chronic inflammation and colorectal cancer[J]. *Expert Rev Clin Immunol*, 2013, 9:409—422.
- [29] MONTROSE D C, SCHERL E J, BOSWORTH B P, et al. S1P(1) localizes to the colonic vasculature in ulcerative colitis and maintains blood vessel integrity[J]. *J Lipid Res*, 2013, 54:843—851.
- [30] HATOUM O A, MIURA H, BINION D G. The vascular contribution in the pathogenesis of inflammatory bowel disease[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2003, 285:H1791—H1796.
- [31] CHIDLOW J H, Jr., SHUKLA D, GRISHAM M B, et al. Pathogenic angiogenesis in IBD and experimental colitis: new ideas and therapeutic avenues [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2007, 293:G5—G18.
- [32] CHIDLOW J H, Jr., LANGSTON W, GREER J J, et al. Differential angiogenic regulation of experimental colitis[J]. *Am J Pathol*, 2006, 169:2014—2030.
- [33] DENG X, SZABO S, KHOMENKO T, et al. Novel pharmacologic approaches to the prevention and treatment of ulcerative colitis[J]. *Curr Pharm Des*, 2013, 19:17—28.