促肾上腺皮质激素释放因子在术后胃肠功能紊乱肠道通透性增高中的作用

杨 蕾 赵 庆 聂 源 康 巧 袁秀丽(通讯作者)

成都中医药大学附属绵阳医院医学美容科，四川 绵阳 621000

摘要：目的 阐明术后胃肠功能紊乱肠道通透性增高中促肾上腺皮质激素释放因子的作用。方法 将 SD 大鼠分为 2 组，空白组和模型组。空白组不进行手术，模型组大鼠麻醉成功后进行腹部手术造模。造模 24 小时后对大鼠结肠和下丘脑组织进行取材，HE 染色法观察大鼠结肠组织的形态学变化，实时荧光定量 PCR 法检测下丘脑和结肠中的 CRF mRNA 表达量和结肠中紧密连接蛋白 Occludin、Claudin-1 mRNA 的表达量。结果 HE 染色显示模型组大鼠上皮细胞损伤，紧密连接间隙增宽，与空白组相比，模型组大鼠结肠中 Claudin-1 mRNA 和 occludin mRNA 表达降低（P＜0.05），结肠和下丘脑中 CRF mRNA 表达均显著升高（P＜0.05）。结论 CRF 增高导致术后胃肠功能紊乱肠道通透性增高。

关键词：促肾上腺皮质激素释放因子；术后胃肠功能紊乱；肠道通透性；机制

中图分类号：R574.4

0 引言

腹部手术可能造成不同程度的胃肠运动功能紊乱，原因包括正常解剖关系改变、神经支配阻断或离断。术后胃肠功能障碍(postoperative gastrointestinal dysfunction，POGD）通常也称为肠梗阻，在腹部术后 24h 发生率高，在 10%到 50%之间，出现腹胀、食欲减退、排气排便延迟和术后感染等症状，康复时间延长，增加住院费用，损害身心健康，给患者造成严重经济负担，甚至增加术后病死率[1]。

目前尚无预防和治疗 POGD 的明确方法，改变手术方法以及咀嚼口香糖[2]等仅能有限地改善 POGD。为了提出有效的治疗方法，需要研究 POGD 的确切机制。促肾上腺皮质激素释放因子(corticotrophin releasing factor，CRF）在术后胃肠功能紊乱中的作用逐渐引起重视。

研究表明，肠道感染可诱发应激反应，使体内产生某些细胞因子及细菌内毒素，影响下丘脑 CRF 神经元，导致肠道运动功能障碍及分泌功能异常。

近年来，促肾上腺皮质激素释放因子（corticotrophin releasing factor，CRF）在 POGD 或肠梗阻中的作用逐渐受到关注。研究发现，肠道出现感染后会引发肠道及身体其它部位的应激反应，导致体内产生肿瘤坏死因子（tumor necrosis factor，TNF）-α、白细胞介素（Interleukin，IL）-1 等细胞因子以及内毒素等。这些物质会影响下丘脑中的 CRF 神经元，从而引发胃肠道在运动和分泌方面的功能紊乱，可能导致消化不良、便秘、腹泻等症状。POGD 常常出现肠道通透性的增高，而 CRF 与 POGD 肠道通透性增高密切相关。

研究发现 CRF 通过下丘脑-垂体神经分泌系统分泌，参与脑-肠轴互动，不仅通过改变自主神经反应与激活下丘脑-垂体-肾上腺（HPA）轴，将信号传导至胃肠，还广泛存在于肠组织中[3,4]。

我们假设手术通过影响 CRF 合成和释放增多，导致 POGD 的肠道通透性增高。因此，本项研究观察 POGD 模型大鼠 CRF 水平和肠道通透性的变化，阐释促肾上腺皮质激素释放因子在术后胃肠功能紊乱肠道通透性增高中具有重要作用，深入研究其机制对于预防和治疗术后胃肠功能紊乱具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 动物模型

我们从四川赛因斯特生测生物科技有限公司(许可证号:SYXK（川）2023-0275)获得了 SPF 等级的大鼠（体重:200-350 克，雌雄各半）。

研究结果经四川赛因斯特生测生物科技实验动物中心伦理委员会批准（伦理批号:SYST-2024-010）。

收稿日期：2024年10月31日

作者简介：杨蕾（1990—），女，汉族，硕士研究生，主治医师，研究方向为针灸治疗常见疾病。

动物饲养环境:室温 2～20℃，湿度 50～10%，正常日间/夜间循环，24 小时提供无菌饲料和饮用水。

1.2 分组与造模

20 只 SD 大鼠随机分为 2 组，空白组和模型组。将两组 SD 大鼠进行电子称重后，通过腹部注射水合氯醛（每只 0.33ml/100g）进行麻醉。

麻醉成功后，模型组大鼠在中下腹部切开约 2cm 的切口，对结肠进行切断后原位缝合，回复盲肠及结肠后，缝合腹膜、肌层和皮层，完成关腹手术。

将空白组大鼠麻醉后和模型组大鼠在手术后放置于台灯下保暖。

待大鼠清醒后，放回笼中饲养。

1.3 实验方法

所有大鼠造模后 24h 麻醉处死，在冰上对结肠和下丘脑组织进行取材。

结肠取材：开腹后定位结肠吻合口，以该点为中心取 2cm 结肠段。下丘脑取材：大鼠断头后剥离下丘脑。组织样本保存于-80℃冰箱。HE 染色法：每组随机选择 3 只大鼠，观察结肠组织形态。结肠组织经 PBS 溶液冲洗、梯度乙醇脱水、二甲苯透明、石蜡包埋、连续切片（厚度 5μm）。

采用苏木精-伊红染色，梯度乙醇（100%、95%、80%）脱水，流水冲洗，1%盐酸乙醇分化，流水冲洗，中性树胶封片，显微镜下观察结肠组织形态。

1.4 统计分析

使用 GraphPad Prism 8.3 软件进行统计分析。两组间比较若服从正态分布时采用独立 t 检验，若不符合正态分布则选用非参数两个独立样本 Mann-Whitney U 检验。在 $p< 0.05$ 时具有统计学意义。

2 实验结果

2.1 POGD 大鼠存在结肠肠道通透性增高

HE 染色显示模型组大鼠上皮细胞损伤，微绒毛排列较稀疏，分布不均，长短不一，紧密连接间隙增宽，见图 3、图 4。

空白组大鼠肠黏膜上皮细胞形态正常，微绒毛排列紧密整齐，长度一致，紧密连接完整且清晰可见，见图 1、图 2。



图 1　造模后即刻

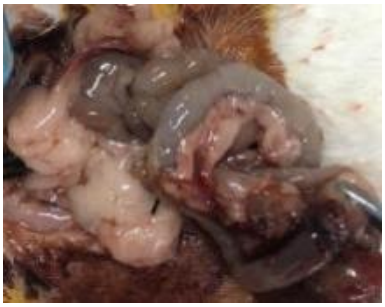


图 2　造模后 24h

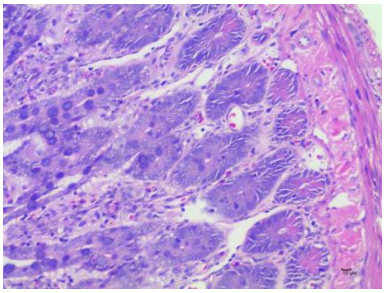


图 3　模型组结肠 HE 染色

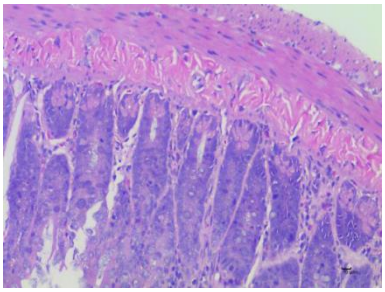


图 4　空白组结肠 HE 染色

典型的紧密连接蛋白（TJs）（包括 Occludin 和 Claudin-1 等）与肠屏障功能障碍有关。为了确定 POGD 是否出现肠道通透性增加，采用实时荧光定量 PCR 检测了结肠 Occludin 和 Claudin-1 的表达水平。与空白组相比，模型组大鼠结肠中 Claudin-1 mRNA（见表 1，图 5）和 occludin mRNA（见表 3，图 5）表达降低（$P<0.05$），具有统计学意义。

表 1　结肠 Claudin-1 mRNA 表达（ $\bar{X}\pm SD$）

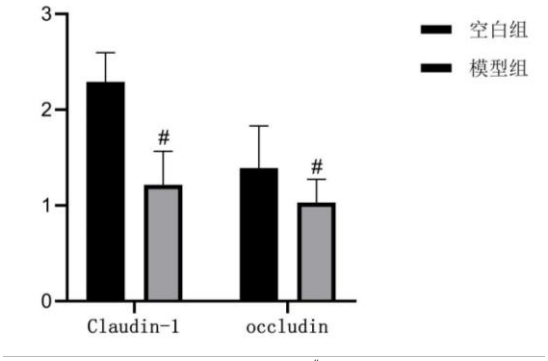
组别	样本量（例）	2 -△△CT（基因表达值）
空白组	10	2.290±0.305
模型组	10	1.215±0.350#

注：与空白组相比，#P＜0.05。

表 3　结肠 occludin mRNA 表达（ $\bar{X}\pm SD$）

组别	样本量（例）	2 -△△CT（基因表达值）
空白组	10	1.392±0.440
模型组	10	1.030±0.244#

注：与空白组相比，#P＜0.05。



与空白组相比，#P＜0.05

图 5　结肠 Claudin-1 和 occludin mRNA 表达

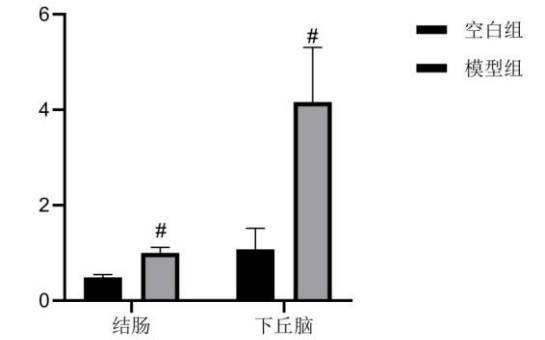
2.2 POGD 大鼠的外周和中枢 CRF 过表达

CRF 是一种能调控脑-肠轴的关键脑肠肽，在下丘脑和肠道中均有表达，可调节紧密连接蛋白的表达，引发通透性增加，为进一步探索 POGD 肠道通透性增高的机制，我们观察了 POGD 模型大鼠下丘脑和结肠中 CRF 的变化。与空白组相比，模型组大鼠结肠和下丘脑中 CRF mRNA 表达均显著升高（P＜0.05）（见表 4 和图 6）。

表 4　结肠和下丘脑 CRF 表达（ $\bar{X}\pm SD$）

组别	样本量（例）	2 -△△CT（基因表达值）	
		结肠	下丘脑
空白组	10	0.487±0.058	1.078±0.437
模型组	10	1.005±0.112#	4.161±1.144#

注：与空白组相比，#P＜0.05。



与空白组相比，#P＜0.05

图 6　结肠和下丘脑 CRF 表达

3 讨论

POGD 是手术后常见的并发症之一，常见症状多样。患者常出现恶心、呕吐、腹胀、术后排气时间延长，甚至出现肠胀气，部分患者还可能发展为肠梗阻，严重威胁患者生命健康。此外，肠粘连也是术后胃肠功能紊乱的常见表现，可导致腹部隐痛、牵拉感等不适，影响患者的生活质量。POGD 发生机制复杂，涉及多种因素。POGD 主要分为 3 个阶段，第一阶段为外科损伤阶段，又叫神经源性阶段，手术操作及麻醉等围术期刺激可以导致机体产生应激反应，包括下丘脑-垂体-肾上腺皮质轴（Hypothalamic-Pituitary-Adrenal，HPA）及交感神经活性增强，副交感神经作用相对减弱。这会导致过高水平的儿茶酚胺对胃肠动力具有抑制作用，并可能收缩胃肠道血管，导致胃肠黏膜缺血，影响胃肠功能。切皮及手术这种应激反应是由肾上腺素能神经元的激活引起的，这些神经元会对促肾上腺皮质激素（adreno cortico hormones，ACTH）的释放产生刺激作用。ACTH 的增加会进一步导致皮质醇的释放，这是一种主要的应激激素。皮质醇的升高会引起急性胃排空延迟，因为高浓度的皮质醇可以抑制胃肠道的正常蠕动。第二阶段为炎症反应阶段，炎症反应也是 POGD 发生的重要原因之一。炎症反应可以抑制胃肠功能，并且胃肠功能的抑制程度与炎症因子水平呈正相关。促炎因子和趋化因子会被大量释放，这些因子会引起内皮细胞黏附分子的上调。这种上调会激活肠道的吞噬细胞，导致一氧化氮和前列腺素的释放。这些物质具有直接抑制肠道平滑肌蠕动的作用，从而导致胃排空延迟[5]。此外，手术操作可能对胃肠道进行牵拉等操作，造成胃肠道屏障功能受损，细菌和内毒素移位，加剧炎症反应。在手术后的修复阶段，迷走神经的兴奋性会增强。迷走神经是副交感神经系统的一部分，它与胃肠道的功能密切相关。当迷走神经兴奋时，胆碱能神经元会释放更多的乙酰胆碱。乙酰胆碱的增加有助于减轻肠道的炎症反应，从而促进胃排空。术后咀嚼口香糖正是可以刺激迷走神经，增加乙酰胆碱的释放，从而帮助恢复胃肠道的正常功能[5]。

肠道通透性增高是指肠道的黏膜屏障受损，在正常情况下，肠道上皮细胞通过紧密连接来阻止有害物质通过，当肠道连接受损时，肠道内的大分子物质，如细菌等就很容易穿过上皮屏障进入血液循环，这是

一种病理状态。手术过程中的缺血再灌注损伤、炎症反应等可导致肠道黏膜屏障功能受损，引起肠道通透性增高。我们的研究发现 POGD 大鼠存在结肠上皮细胞损伤，微绒毛排列较稀疏，分布不均，长短不一，紧密连接间隙增宽，且实时荧光定量 PCR 的结果显示：与空白组相比，模型组大鼠结肠中 Claudin-1 和 occludin mRNA 表达降低（P＜0.05）。肠道屏障功能的损害是 POGD 的重要病理基础[6]。肠道上皮细胞之间的紧密连接蛋白在维持肠道的屏障完整和功能正常方面发挥着关键作用[7]。手术创伤引起的应激反应和炎症因子的释放会干扰这些紧密连接蛋白的正常表达和功能。具体来说，应激反应和炎症因子通过激活 MAPK、NF-κB 等信号通路，导致紧密连接蛋白的降解或重新分布，从而降低了肠道屏障的紧密程度，增加了肠道通透性[8]。

CRF 是一种重要的中枢神经系统调节因子，参与调控应激反应和多种生理功能。在机体应激反应中，CRF 起着关键作用。各种各样的应激，包括手术应激都可以导致 CRF 的分泌水平增加，CRF 可能作为应激反应的中枢调节因子。它在中枢和焦虑、情绪、觉醒、摄食、交感神经激活等方面都有关联。研究表明，手术创伤会激活 HPA，导致 CRF 的释放增加[9]，我们的研究发现 POGD 大鼠结肠和下丘脑中 CRF 表达均显著升高(P＜0.05）。肠神经紊乱参与感染后胃肠功能紊乱的发病机制，而 CRF 在其中发挥了重要作用。CRF 可影响 HPA 轴，进而影响内脏神经功能。此外，胃肠激素调节紊乱与术后胃肠功能紊乱密切相关，而 CRF 在其中起着重要的调节作用。当机体处于应激状态时，CRF 分泌和合成增加，能够促进垂体合成阿片促黑素促皮质素原，从而刺激垂体分泌 ACTH，导致糖皮质激素分泌增多，可影响胃肠道的分泌和运动功能。

CRF 不仅在神经系统内发挥作用，还通过血液循环作用于外周器官，包括肠道。同时肠道内还会释放 CRF，这些 CRF 主要由神经元、肠嗜铬细胞和肥大细胞等分泌和合成，随后炎症化学介质如丝氨酸蛋白酶和 TNF-α等增高，这些介质会修饰紧密连接蛋白，出现紧密连接的上皮被破坏[3]，随后肠道通透性增高。CRF 与肥大细胞、炎症介质等因素相互作用，影响肠道的屏障功能和通透性。当肠道发生感染时，胃肠黏膜内的肥大细胞数量会增加，活化程度也会提高，释放 5-HT 和一氧化氮等，影响肠道平滑肌的运动功能，进而导致肠道运动紊乱。同时，作为免疫反应的标志物，炎症介质也会影响胃肠分泌及运动功能。CRF 与肥大细胞、炎性介质等因素相互作用，共同增加肠道通透性，进而参与术后胃肠功能紊乱的发生发展。因此，CRF 在 POGD 中的增高可能是肠道通透性增加的一个重要因素。

CRF 在 POGD 肠道通透性增高的形成过程中扮演着多重角色。CRF 可以通过激活肠道上皮细胞内的应激反应信号通路，如 MAPK 和 NF-κB，促进紧密连接蛋白的降解和重新分布，从而降低肠道屏障的紧密程度[5,10,11]。其次，CRF 还可以刺激肠道神经末梢释放神经肽和儿茶酚胺等神经递质，这些物质可以进一步加剧肠道通透性的增加。此外，CRF 还可能影响肠道菌群的平衡，通过改变肠道微环境，破坏肠道屏障功能[12]。CRF 通过多种途径参与 POGD 肠道通透性增高的形成，是一个复杂的调控网络。

4 结论

研究结果表明，CRF 增高导致肠道通透性增高，促进 PODG 产生。基于上述研究结果，针对 CRF 及其相关信号通路的干预可能成为治疗 POGD 的新策略。例如，开发 CRF 受体拮抗剂或使用 CRF 抗体来阻断 CRF 的作用，可能有助于减轻 POGD 的症状。此外，通过调节紧密连接蛋白的表达和功能，保护肠道屏障的完整性，也可能为 POGD 的治疗提供新的思路。尽管目前关于 CRF 在 POGD 中的作用机制已取得一定进展，但仍存在许多问题需要解决。

首先，需要进一步探讨 CRF 如何精确调控紧密连接蛋白的表达和功能，以及其与其他信号通路之间的相互作用。其次，应关注 CRF 在不同类型手术和不同患者群体中的表达差异及其对 POGD 的影响。最后，未来的研究还应评估针对 CRF 及其相关信号通路的干预措施在临床实践中的安全性和有效性，为 POGD 的治疗提供更加精准和有效的解决方案。

参考文献

[1]Hedrick TL, McEvoy MD, Mythen MMG, et al, Perioperative Quality Initiative (POQI) 2 Workgroup. American Society for Enhanced Recovery and Perioperative Quality Initiative Joint Consensus Statement

on Postoperative Gastrointestinal Dysfunction Within an Enhanced Recovery Pathway for Elective Colorectal Surgery. Anesth Analg. 2018 Jun;126(6):1896-1907.
[2]Su'a BU, Pollock TT, Lemanu DP, MacCormick AD, Connolly AB, Hill AG. Chewing gum and postoperative ileus in adults: a systematic literature review and meta-analysis. Int J Surg. 2015 Feb;14:49-55.
[3]Hussain Z, Park H. Inflammation and Impaired Gut Physiology in Post-operative Ileus: Mechanisms and the Treatment Options. J Neurogastroenterol Motil. 2022 Oct 30;28(4):517-530.
[4]Lei H, Crawford MS, McCole DF. JAK-STAT Pathway Regulation of Intestinal Permeability: Pathogenic Roles and Therapeutic Opportunities in Inflammatory Bowel Disease. Pharmaceuticals (Basel). 2021 Aug 25;14(9):840.
[5]李偎，刘克玄，邓小明，等.术后胃肠功能障碍防治专家共识[J].国际麻醉学与复苏杂志,2021,42(11):1133-1142
[6]Butler R K，Oliver E M，Sharko A C，et al. Activation of corticotropin releasing factor-containing neurons in the rat central amygdala and bed nucleus of the stria terminalis following exposure to two different anxiogenic stressors[J]. Behavioural Brain Research, 2016,304:92-101.
[7]Kim YM, Hussain Z, Lee YJ, Park H. Altered Intestinal Permeability and Drug Repositioning in a Post-operative Ileus Guinea Pig Model. J Neurogastroenterol Motil. 2021 Oct 30;27(4):639-649.
[8]李玉才，王群，张维亮，等.针刺改善术后胃肠功能紊乱研究进展[J].辽宁中医药大学学报,2023,25(5):107-112.
[9]段君毅(Yi-DuanJun),王义鑫(Yi-XingWang),何怡慧(Yi-HuiHo).综述针刺抗手术应激的床研究进展[J].台湾中医科学杂志,2011,5(2):37-46.
[10]周旭,杨怡,张宇,等.中药排气汤对术后肠梗阻小鼠胃肠功能的作用及机制研究[J].中国医院药学杂志,2022(008):042.
[11]付蕾,冀建伟,郑鹏远,等.双歧杆菌对应激大鼠肠道菌群及促肾上腺皮质激素释放激素的影响[J].世界华人消化杂志,2010,18(015):1544-1549.
[12]Chen Y, Li J, Zhu KY, Xiao S, Wang YQ, Wu GC, Wang J. [Electroacupuncture Intervention Enhances Splenic Natural Killer Cell Activity via Inhibiting Phosphorylation of ERK 5 in the Hypothalamus of Surgically Traumatized Rats]. Zhen Ci Yan Jiu. 2015 Jun;40(3):173-9. Chinese.
基金项目：1.四川省自然科学基金项目（青年基金项目）“头针抑制CRF诱导ERK脑肠轴信号活化降低肠道通透性增高改善术后胃肠功能紊乱的分子机制”（编号 23NSFSC3491）；2.2023 年绵阳市中医医院院级课题 “针刺血管舒缩区配合传统取穴治疗脾胃湿热型雄激素性脱发的临床疗效观察” （课题编号:MYSZYYYKT202322 ）。