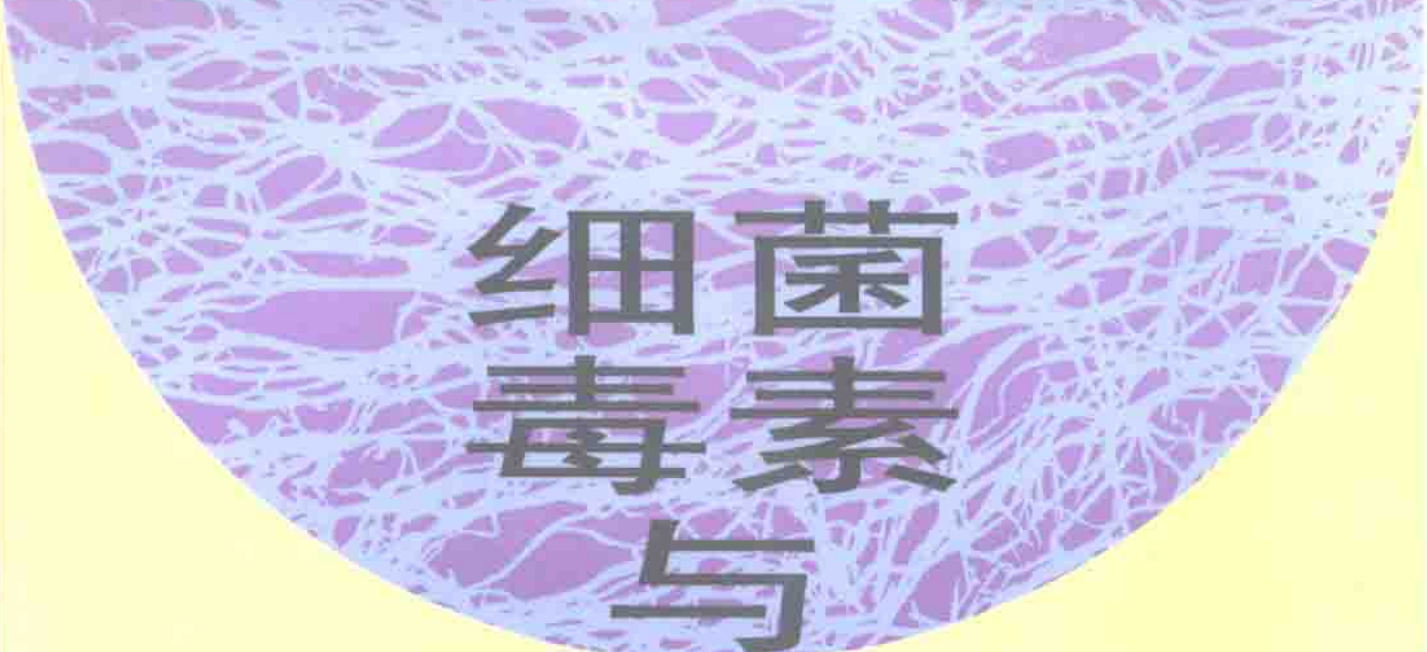




细菌毒素与 临床

罗海波
朱平
李兰娟
主编

人民卫生出版社

DE-14 / 14

细菌毒素与临床

主编 罗海波 朱 平 李兰娟

副主编 刘 晓明 陈太基

编 者

(按章节顺序排列)

俞晓峰	刘晓明	许崇波	冯书章
张满新	马丛林	吴春潮	罗海波
朱 平	赖心河	徐建国	陈太基
孟锐奇	姚湘燕	吴清明	刘 玗
王祖森	杨晓明	胡 野	单小云
郭学军	方平楚	李兰娟	俞树荣
彭双清	杨进生	章 红	丁彦怀
王书锦	薛寿征		

R37
LHB-1

人 民 卫 生 出 版 社

图书在版编目 (CIP) 数据

细菌毒素与临床/罗海波等主编. —北京: 人民卫生出版社, 1999

ISBN 7-117-03171-9

I. 细… II. 罗… III. 细菌毒素-研究 IV. R37

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (98) 第 33349 号

细菌毒素与临床

罗海波 等主编

人民卫生出版社出版发行
(100078 北京市丰台区方庄芳群园 3 区 3 号楼)

北京人卫印刷厂印刷

新华书店经销

787 × 1092 16 开本 16.5 印张 379 千字
1999 年 6 月第 1 版 1999 年 6 月第 1 版第 1 次印刷
印数: 00 001—3 000

ISBN 7-117-03171-9/R · 3172 定价: 21.50 元

(凡属质量问题请与本社发行部联系退换)

序

细菌毒素不但是某些动物疾病的主要致病因子，且与人类疾病密切相关。诸如肠凝聚性大肠杆菌毒素与小儿腹泻、志贺样毒素与出血性结肠炎及溶血性尿毒综合征、李斯特菌溶血素与脑膜脑炎、幽门螺杆菌细胞毒素与慢性胃炎及消化性溃疡、串珠镰刀菌素与克山病、腐马素与恶性肿瘤、蘑菇毒素对人与动物的致病作用以及藻类毒素对人的危害等等。

本书对内毒素的致病机制与致病作用作了较为深入的探讨。在内毒素与肝病一章中系统介绍了肝病发生内毒素血症的机制、内毒素对肝脏的损害、肝病并发内毒素血症的临床表现与肝病内毒素血症的治疗。

在全球范围内，由A群链球菌(GAS)引起的致死性感染日益增多，此种侵袭性GAS的感染，在短期内能使大量肌肉组织坏死，多器官衰竭，因而将该菌称为“食肉菌”(flesh eating bacter)，如不及时抢救，能迅速使人致死，危害极大。近年我国已发生类似病例，为了阐明GAS的致病物质和致病作用，特请中国预防医学院流行病微生物研究所张满新教授撰写有关内容，以期有助于临床的诊断与治疗。

目前，各国学者均在寻求利用细菌毒素制备导向药物。毒素与抗体交联物称为免疫毒素，第一代与第二代免疫毒素系采用常规的化学偶联方法制备，其不足之处为分子量大，渗透性及稳定性差。近年，随着基因工程的飞速发展，通过基因工程手段制备的由靶向成分(可能是细胞因子或单链抗原结合蛋白)和毒性成分(细菌毒素或植物毒素)组成的第三代免疫毒素，即重组毒素。本书详细叙述了重组毒素的制备及其在抗肿瘤、抗移植免疫排斥、自身免疫病、抗慢性病毒感染以及用于血管狭窄的防治。重组毒素既解决了化学交联制备的免疫毒素的缺点，且制法简单，易于大规模生产，以满足临床需要。

主 编

于 1998 年重阳节

目 录

●第一章 细菌内毒素的致病机制与致病作用	1
一、LPS 的分子结构及特征	1
二、LPS 诱导产生的细胞因子在致病过程中的作用	2
三、LPS 结合蛋白在介导机体对 LPS 反应过程中的作用	4
四、LPS 受体在介导 LPS 致病过程中的作用	4
五、LPS 引起的主要临床表现及症状	5
六、LPS 引起的内毒素血症在致病过程中的作用	6
七、LPS 引起机体的病理生理变化	6
●第二章 细菌毒素与其靶细胞膜的作用在临床上的意义	9
一、概述	9
二、作用于细胞胞浆膜的毒素	10
三、通过“越膜控制”作用于细胞的毒素	16
四、作用于细胞内靶点的毒素	19
●第三章 金黄色葡萄球菌肠毒素 B 与肠炎	28
一、概述	28
二、基因位点研究	28
三、基因的克隆、表达与调控	29
四、基因探针研究	33
五、肠毒素 B 的致病作用及其机制	34
●第四章 A 群链球菌的致病因子	36
一、概述	36
二、M 蛋白	37
三、受体	38
四、外毒素	39

五、其他	40
●第五章 产肠毒素大肠杆菌耐热性肠毒素Ⅱ与腹泻	42
一、STⅡ的理化性质与生物学活性	42
二、STⅡ的产生与纯化	43
三、STⅡ的作用机制研究	43
四、STⅡ的检测方法	45
五、产STⅡETEC的流行病学	46
●第六章 肠凝聚性大肠杆菌毒素与腹泻	48
一、概述	48
二、毒素的制备与纯化	49
三、毒素的活性测定	49
四、毒素的致病作用与致病机制	51
●第七章 大肠杆菌细胞致死肿胀毒素及其致病作用	53
一、概述	53
二、理化性质及生物学活性	53
三、CLDT的基因调控	54
四、CLDT的检测	55
五、CLDT的临床意义	56
●第八章 细菌蛋白毒素与疾病的关系	59
一、前言	59
二、基本性状	60
三、基本结构	61
四、特异受体	64
五、作用机制	65
六、基因调控	66
七、结语	68
●第九章 沙门菌肠毒素与食物中毒	71
一、概述	71
二、毒素的制备与纯化	71
三、肠毒素的生化免疫特性	74
四、毒素的致病作用及机制	75
五、毒素产生的基因调控	75
六、肠毒素的检测方法及其评价	77

●第十章 白喉毒素：杀细胞蛋白的结构和功能	82
一、概述	82
二、基本结构功能关系	83
三、ADP 核糖基化及活性位	85
●第十一章 绿脓杆菌外毒素 A 在生物导弹上的应用	91
一、绿脓杆菌外毒素 A 的结构与功能	91
二、作用机制	93
三、在免疫毒素上的应用	93
四、在重组毒素上的应用	94
五、结语	99
●第十二章 破伤风毒素及其致病作用	101
一、结晶体结构	101
二、破伤风毒素的生物合成及其活化	102
三、破伤风毒素的制备	102
四、破伤风毒素遗传学	103
五、破伤风毒素与肉毒毒素的同源性	105
六、破伤风毒素的致病作用与破伤风恢复的机制	106
七、类毒素疫苗及其临床效果评价	109
●第十三章 魏氏梭菌肠毒素及其致病作用	111
一、肠毒素的制备	111
二、肠毒素的纯化	112
三、检测方法	113
四、理化特性	114
五、表达	115
六、致病作用与机制	115
七、免疫	116
●第十四章 败血梭菌 α -毒素的临床意义	118
一、概述	118
二、纯化和理化性质	118
三、基因研究	119
四、败血梭菌 α -毒素的临床意义	123
●第十五章 百日咳毒素及其应用	126
一、概述	126
二、百日咳毒素的分子结构与功能	127

三、百日咳毒素的提纯	129
四、百日咳毒素的检测方法	130
五、百日咳毒素的应用	132
六、百日咳毒素单克隆抗体在抗百日咳感染中的应用	133
●第十六章 空肠弯曲菌细胞毒素与腹泻	136
一、概述	136
二、细胞毒素的产毒条件与制备	137
三、细胞毒素的种类	138
四、细胞毒素的理化性质	139
五、细胞毒素的生物学活性、致病性与免疫性	140
六、检测方法	143
●第十七章 肉毒 E 型毒素与食物中毒	145
一、流行病学与中毒症状	145
二、肉毒 E 型毒素双链分离纯化及结构功能	146
三、E 型毒素的作用机制	148
四、E 型毒素分子生物学研究	148
五、E 型毒素的检测	154
●第十八章 单核细胞增多症李斯特菌溶血素与脑膜炎	156
一、概述	156
二、制备和纯化	156
三、理化性质	157
四、基因研究和应用	158
五、作用方式和致病机制	164
六、检测方法	166
七、单核细胞增多症李斯特菌与临床	167
●第十九章 幽门螺杆菌细胞毒素与慢性胃炎及消化性溃疡	169
一、概述	169
二、毒素的制备与纯化	169
三、毒素活性的测定方法	170
四、毒素的氨基酸成分与氨基酸末端序列分析	171
五、毒素的理化性质	172
六、致病作用	172
七、细胞毒素的致病意义	174
八、抗 HP 抗体与抗细胞毒素抗体的产生及其临床意义	175

●第二十章 内毒素与肝病	178
一、概述	178
二、肝病发生内毒素血症的机制	179
三、内毒素血症对肝脏的损害	181
四、肝病并发内毒素血症的临床表现	187
五、肝病内毒素血症治疗	190
六、内毒素测定的方法	192
●第二十一章 Q 热立克次体内毒素及其中毒	202
一、概述	202
二、Q 热立克次体 LPS 的化学组成	203
三、LPS 结构与 Q 热立克次体相变异	204
四、LPS 的生物学活性及其中毒的病理生化学	206
五、株间 LPS 异质性及 Q 热性心内膜炎	209
●第二十二章 肺炎衣原体感染与冠心病	212
一、概述	212
二、肺炎衣原体特性	213
三、衣原体内毒素脂多糖	214
四、肺炎衣原体感染及其 LPS 中毒与冠心病	215
●第二十三章 串珠镰刀菌素与克山病	219
一、概述	219
二、产毒霉菌	219
三、自然存在	220
四、急性毒性	220
五、亚急性及特殊毒性	221
六、毒理机制	222
七、与克山病的关系	223
●第二十四章 腐马素及其可能的致癌作用	225
一、概述	225
二、与腐马素有关的疾病	226
三、腐马素的作用机制	229
四、腐马素的测定方法	230
五、腐马素的生物合成	230
六、今后的工作方向	231

●第二十五章 蘑菇毒素对人及动物的作用	233
一、概述	233
二、蘑菇毒素对人体及动物组织的毒害	238
三、蘑菇产生的抗癌及抗病毒物质	240
四、大型担子菌所产生的抗菌及抗病毒物质	243
五、毒蘑菇中毒的防治与鉴别	247
●第二十六章 藻类毒素对人与动物的致病作用	249
一、藻类肝毒素	249
二、藻类胃肠毒素	251
三、藻类神经毒素	252
四、藻类细胞毒素	254
五、藻类的其它健康危害	255

第一章

细菌内毒素的致病机制与致病作用

100年前, Pfeiffer 从革兰阴性菌 (GNB) 中发现了具有生物学活性的对热稳定的内毒素 (也称脂多糖, LPS) 以来, 人们对 LPS 对机体免疫系统影响的双重性, 以及其在 GNB 引起的败血症休克中的特殊作用的认识不断深入。人们发现, 随着抗生素在临床上的广泛应用, GNB 感染的发生率及特征均发生了明显变化, 而且由 GNB 感染引起死亡数的增加与抗生素的使用程度呈平行关系。据美国 CDC 统计资料表明, 1979 年至 1987 年间败血症病例由 164000 上升至 425000 例, 由 GNB 引起的医院感染约占 50%, 其中 10%~20% 可导致菌血症, 病死率在 20%~60% 之间。目前美国每年有 400000~500000 的败血症病例发生, 与 10 年前相比上升了 137%, 并且认为 GNB 感染的发生率上升直接与近年来临床上抗生素制剂的滥用, 侵入性外科技术的发展, 以及免疫抑制剂应用的增加等因素有关。

虽然, 目前在努力降低败血症病死率方面, 在动物的 GNB 菌血症和内毒素血症实验模型中已取得某些实质性进展或成功, 但临床试验的结果却并不理想。

过去对 LPS 引起的机体反应认识主要集中在其对细胞的病理生理及有关药效活性方面。近年的研究发现, LPS 具有诱导机体效应靶细胞产生并释放免疫活性因子和炎症反应介质的作用, 并通过 LPS 受体、细胞因子, 以及有关血浆成分之间的相互作用所形成的一系列连锁反应来发挥其各种生物学效应。

由于 LPS 在 GNB 感染性败血症休克中起着重要的作用, 因此, 近年来研究和探讨 LPS 的致病机制及其作用特点, 以利于指导临床上选择有效防治 GNB 感染败血症休克的方法已成为当前人们十分关注的研究领域。

一、LPS 的分子结构及特征

LPS 是暴露于 GNB 细胞壁外膜表面的由 O 特异链、核心多糖和类脂 A 三部分组成的分子。其分子量大小接近 200000kD。O 特异链由 LPS 最外层的 20~40 个重复单位组

成,每个重复单位由3~7个糖分子构成。通过对肠杆菌科O特异链中寡糖进行分析,发现此部分可含有15种以上的不同单糖,其中以己糖胺、己糖或6-脱氧己糖多见^[1~2]。

O特异链结构是LPS中最易发生变化的部分,它的多样性决定了不同GNB株的抗原特性。此结构也是GNB株的主要抗原决定簇部分,它具有GNB型的特异性,可引起型特异性免疫反应。

核心多糖由连接O特异链的外核部分和连接类脂A的内核部分组成。核心多糖的外核部分主要由己糖和庚糖组成,具有较高的糖异源性,某些GNB核心组分的不同多发生在该结构部分中的己糖分子上。内核部分则相对稳定,主要由庚糖和2-酮基-3-脱氧辛酸(KDO)构成,在LPS结构中起着连接多糖与类脂A的作用。

类脂A由葡萄糖、磷酸盐和脂肪酸组成,系LPS中最为保守的部分,也是GNB株LPS分子结构中固有的成分。研究发现,类脂A结构的完整性(如双磷酰基类脂A)与LPS的毒性相关,而单磷酰基类脂A或单磷酰基单糖类脂A前体(如类脂X和类脂Y)则不能引起发热、局部Shwartzman反应或者致死性休克。目前认为在LPS结构中,类脂A和KDO是最具有毒性的部分,而并不需要O特异链和核心多糖的大部分参与。类脂A和KDO结构部分也具有激活机体免疫系统,引起机体产生抗体的作用。

二、LPS 诱导产生的细胞因子在致病过程中的作用

细菌LPS所引起的多种生物学效应往往并非是由其直接作用于靶细胞的结果。LPS通常首先是通过作用于机体内的单核巨噬细胞,诱导该细胞分泌多种介质分子,并借助这些介质分子在局部或随血液播散至机体其它部分而发挥效应作用的(图1-1)^[3~10]。

在由LPS诱导产生的多种介质分子中,以细胞因子在LPS致病过程中的作用最为突出,其中又以TNF- α 、IL-1和IL-6与GNB感染败血症休克的关系更为密切。

TNF- α 是一种多肽细胞因子,可由LPS刺激单核巨噬细胞、淋巴细胞和肥大细胞产生。目前认为,TNF- α 是LPS引起的感染性休克病理生理反应过程中起着关键作用的细胞因子。许多研究结果证实,机体在受到GNB或LPS攻击后,体内的TNF- α 水平的升高和死亡数的增加相一致;并且发现给人和动物注射LPS或TNF- α 均可引起几乎类似的病理生理反应,如发热、低血压、乳酸酸中毒和不可逆休克等;而且加大TNF- α 的攻击量可导致动物的死亡。用抗TNF- α 单抗能降低由GNB或LPS引起的死亡数。另外,临床上也发现GNB引起的败血症休克病人血中TNF含量明显升高,且与病人的预后密切相关。

关于TNF在GNB感染中的作用,一般认为,TNF产量及其所在部位对感染病人的病情发展有较大的影响。在肝和脾部位产生适量的TNF,有利于病人的预后,如果在血循环中形成大量的TNF,并随血流播散至全身其他脏器,则只会加重病情。TNF还可作为IL-1的诱导剂,并且在许多方面与IL-1有协同作用。

IL-1根据其由不同的基因编码可分为IL-1 α 和IL-1 β 两种,但两种IL-1在体内外均表现相似的生物学活性。IL-1主要由LPS刺激巨噬细胞产生。研究表明,给动物直接注

射 IL-1 可引起与临床上 GNB 感染败血症病人体内 IL-1 水平升高相同的病理生理变化，如发热、厌食、低血压以及急性期血清蛋白等。用特异性抗 LPS 或抗 TNF 抗体可起到降低病人体内 IL-1 水平和病死率的作用。

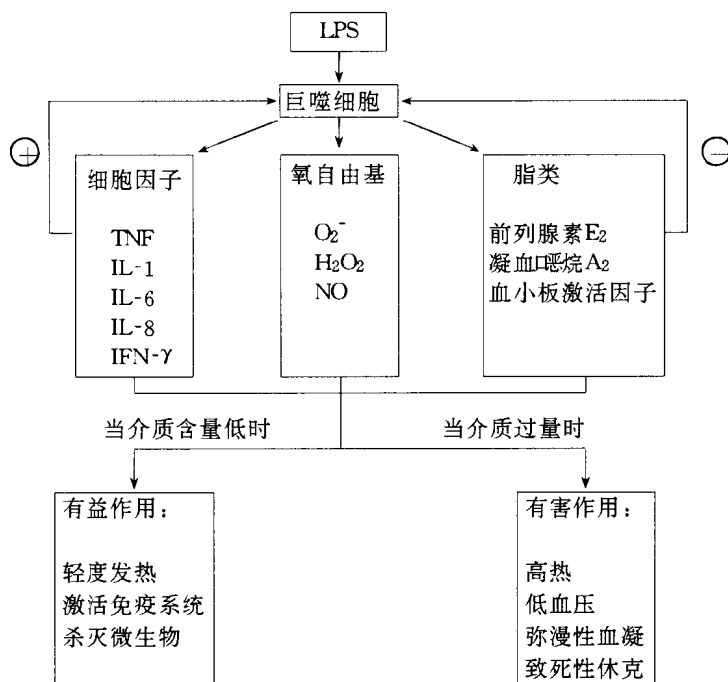


图 1-1 LPS 诱导产生的三类主要介质作用示意图

注：LPS 诱导产生的三类主要介质可相互独立、协同或先后发挥效应。

另外，TNF 还有促进介质合成的作用；而前列腺素 E₂ 却能抑制这种合成。

总之，IL-1 与 TNF 一样也是重要的 LPS 刺激单核巨噬细胞产生的细胞因子，它们均可以通过促进与机体炎症反应过程相关物质（如环氧化酶、一氧化氮和内皮细胞粘附因子等）基因的表达，以及影响某些酶（如乳酸脱氢酶和脂蛋白脂酶等）的活性，达到对几乎各种细胞类型的影响。IL-1 和 TNF 协同作用可引起血管扩张和白细胞介导的组织坏死，从而导致器官衰竭。而且此两种细胞因子还具有刺激其他炎性因子（如 IL-6、IL-8、血小板激活因子和前列腺素等）产生以及激活补体的作用。用抗 TNF 单抗或 IL-1 受体拮抗剂可有助于提高感染病人的存活率。

临床资料表明，败血症病人病死率的上升与 TNF-α、IL-1β 和 IL-6 水平的上升相关，其中 IL-6 在三种因子中上升最缓慢，且与病人的预后关系最为密切。由于 IL-6 本身并不引起人感染性休克综合征，故认为 IL-6 并非是引起败血症的原因之一，而只能作为一种炎症状态的标志。

虽然抗 IL-6 抗体有助于降低由 GNB 或 TNF-α 攻击小鼠引起的死亡数，但是 IL-6 与 TNF-α 和 IL-1 两种细胞因子明显不同的是，IL-6 本身除也可引起发热和急性期蛋白外，难以产生如 TNF-α 和 IL-1 所引起的广泛而明显的毒性效应。

研究也发现，GNB 败血症病人血清中 IL-8 水平升高，并且 LPS 和 IL-1 也可诱导动物产生 IL-8 增加。IL-8 可通过参与调节感染过程中多形核粒细胞的有关反应。而由 LPS

诱导产生的 γ -干扰素则可通过使巨噬细胞产生 TNF、 H_2O_2 和前列腺素 E_2 ，促使炎症反应及休克的发生。

因此，LPS 诱导巨噬细胞产生的介质分子，一方面可以激活机体局部和整体的免疫系统参与清除细菌感染；另一方面如果细菌感染严重，大量细菌在血中繁殖，使循环血中堆积大量的 LPS，并与机体各部位的巨噬细胞接触，引起介质分子的大量产生，则可能导致感染性休克。

三、LPS 结合蛋白在介导机体对 LPS 反应过程中的作用

机体对 GNB 感染的反应依赖于 GNB 和 LPS 的效应细胞识别。目前认为，这种识别为包括血清蛋白与膜受体、LPS 与效应细胞上相关受体等在内的复合过程。在探讨 LPS 诱导巨噬细胞释放细胞因子机制过程中发现，在人和许多动物血清中存在能与 LPS 结合的蛋白，称之为 LPS 结合蛋白 (LBP)。LBP 为肝脏合成的一种急性期血清蛋白，在正常情况下 LBP 含量较低，而在应激状态时，其含量可明显升高。血清中 LBP 为分子量 60kD 的糖蛋白，能与 LPS 中的类脂 A 结合，且对 R 型和 S 型细菌均有很高的亲和性。LBP 与 LPS 结合后，具有明显增加巨噬细胞对细菌吞噬以及促进 TNF- α 分泌的作用^[3]。

LBP 可能是作为一种携带蛋白而发挥其作用。LPS 与 LBP 结合后形成的 LPS-LBP 复合物更有助于 LPS 附着于巨噬细胞表面，使细胞对 LPS 的敏感性提高，从而能使其更迅速地释放细胞因子（如 TNF、IL-1 和 IL-6 等）。虽然高浓度的 LPS 也可直接作用于巨噬细胞，但 LBP 在促进 LPS 诱导巨噬细胞产生介质分子方面起着重要的作用^[11~13]。

了解 LBP 的存在及其在识别结合 LPS 过程中的作用，对于尽早采取对应措施控制细菌感染具有重要意义。由于 LBP 能增加机体的单核巨噬细胞在感染早期识别 LPS 的敏感性，以及其所具有的调理活性，这有助于提高机体的天然抵抗细菌感染的能力。如果 LPS-LBP 复合物对巨噬细胞过度刺激，使细胞产生大量的细胞因子，则又可能导致不利于机体的严重后果。因此，随着对 LPS-LBP 相互作用分子基础研究的深入，将可为今后防治 GNB 败血症休克提供新的途径和线索。

四、LPS 受体在介导 LPS 致病过程中的作用

关于 LPS 如何诱导单核-巨噬细胞产生介质分子，目前的观点认为 LPS 可通过三种可能的方式与巨噬细胞膜表面相应的受体发生结合，从而发挥其效应。在 LPS 受体的研究中，报道较多的是存在于单核-巨噬细胞表面的 LPS-LBP 复合物受体— CD_{14} 。 CD_{14} 是一种分子量为 55kD 的糖蛋白，借助磷酸酰肌醇聚糖锚形体吸附于细胞膜。用磷脂酶处理单核-巨噬细胞可除去 70% 细胞表面 CD_{14} ，同时伴有 80% 细胞结合 LPS-LBP 能力下降；并且发现用抗 CD_{14} 单抗可明显抑制 CD_{14} 与 LPS-LBP 复合物的结合，从而抑制巨噬细胞分

泌 TNF- α 。由此表明,单核-巨噬细胞对 LPS-LBP 复合物的识别需要借助其细胞表面 CD₁₄ 的存在^[3,14~17]。

目前对 LPS-LBP 复合物是否单独与 CD₁₄ 结合就足以诱导巨噬细胞产生介质? 有无其它 LPS 受体存在? 如果有,究系独立起作用抑或与 CD₁₄ 协同作用于巨噬细胞等问题尚未阐明。有人认为, LPS (特别是其中类脂 A 部分) 借助 LBP 与 CD₁₄ 接触后,又可能直接与巨噬细胞表面另外的 LPS 受体发生结合,并认为这可能是因为 LPS-LBP 复合物与 CD₁₄ 的接触刺激了复合受体中的其他亚单位所致。

也有研究发现,虽然在无 LBP 存在的情况下, LPS 也可与 CD₁₄ 受体呈弱结合,但 LPS-LBP 复合物的形成则可明显增加 LPS 与 CD₁₄ 的结合。且高浓度的 LPS 也可不需 LBP 或 CD₁₄ 的存在而直接诱导巨噬细胞产生 TNF- α 。在此情况下,用抗 CD₁₄ 单抗也不能完全抑制 LPS 与单核-巨噬细胞的结合,因而认为单核-巨噬细胞表面可能存在除 CD₁₄ 以外的其它受体(如 CD₁₈、CD₁₁/CD₁₈、Fc 或补体受体等)。但有研究表明, LPS 与这些受体结合后并不能诱导细胞产生 TNF。由此可见, LPS 诱导单核巨噬细胞产生 TNF 主要依赖于细胞表面有效 CD₁₄ 受体的存在,以及其与 LPS-LBP 复合物的相互作用。

近年来人们发现,除了以膜结合形式的 CD₁₄ 可作为 LPS 受体外,血清中可溶性的 CD₁₄ 也能与 LPS 形成共配体,从而增强了细胞对 LPS 的反应性,导致单核细胞释放 TNF- α 、IL-1 和 IL-6。

因此, LPS 在体内通过与 LBP 形成 LPS-LBP 复合物,并与单核-巨噬细胞表面或血清中可溶性的 CD₁₄ 相关受体结合,诱导效应细胞大量产生一系列继发的炎性介质,借助这些介质造成对多器官系统的破坏以及一系列连锁的炎性反应。

五、LPS 引起的主要临床表现及症状

GNB 感染的临床表现多种多样,如发热、寒冷、嗜睡、恶心、呕吐、腹泻、毛发竖立、皮肤损伤。有关病理生理异常有低血压、心跳过速、呼吸急促、心脏指数升高、血管抗性降低、多器官系统衰竭和死亡等^[18~19]。

实验室指标异常表现为:白细胞增多、血小板减少及凝集异常、补体因子耗竭和代谢性酸中毒等。

在以上的体征和症状中,发热和白细胞增加几乎在所有局部和全身 GNB 感染的病人中均可见到。因此认为,只要病人出现发热、低血压和血小板减少等临床表现,即可诊断为 GNB 菌血症的存在。如果从临床病人的血中 GNB 培养阳性或者有明确 GNB 感染病灶的存在,则可诊断为 GNB 感染败血症。在此基础上,败血症病人如果出现有神经精神状态的改变、尿少、缺氧和乳酸酸中毒等现象,则可诊断为败血症综合征。而败血症休克则为败血症综合征加上低血压的出现。

由于明显的血压改变常出现在败血症综合征的不可逆晚期,而获得血培养结果又需要一定的时间。为了尽早采取有效控制败血症的方法, Bone 等提出了基于观察到的生理状态改变,如发热,心跳过速,呼吸急促,以及氧分压降低,循环乳酸浓度增加或尿排

出量减少等表现作为早期诊断败血症综合征依据的标准。

六、LPS 引起的内毒素血症在致病过程中的作用

LPS 是多数 GNB 毒性紧密相关的因子。动物模型研究表明,给动物注射 LPS 可引起与 GNB 感染相似的病理生理改变,如发热、白细胞增多、血小板减少、低血压、代谢性酸中毒和器官衰竭,以及血流动力学和神经系统方面的变化。而用抗 LPS 抗体则可降低由 GNB 败血症引起的病死率。

关于 LPS 的来源,体内外的实验证据表明,体内血浆 LPS 水平的升高与细菌的增殖相关;体外细菌培养液中的 LPS 含量与细菌细胞数量的增加呈平行关系。并且发现用抗生素对细菌细胞壁的裂解破坏可引起 LPS 的释放。因此认为存在于血液中并不断繁殖的细菌可成为败血症病人形成内毒素血症的来源。由此可见,目前临床上主要针对清除细菌的疗法显然还不足以彻底改善 GNB 败血症病人的预后,应该同时考虑结合采用能特异性清除体内 LPS 或中和其毒性的疗法,以有助于提高防治败血症的效果。

虽然血液中的细菌为体内 LPS 的主要来源,但是在严重败血症病人中,LPS 同样也可由肠道的寄生菌提供。正常情况下肠道寄生着大量富含 LPS 的 GNB 兼性厌氧菌,而完整的肠道粘膜具有阻碍细菌及其 LPS 进入血流的屏障作用。当这一屏障受到破坏时,细菌和 LPS 则可通过肠道壁进入血流。而且动物模型实验发现,LPS 较细菌更易通过肠道粘膜屏障,引起局部或全身的内毒素血症,此时血流中的细菌培养却可呈阴性。因此,肠道中的寄生菌在一定的人群中可作为内毒素血症的潜在来源库^[4,18]。

七、LPS 引起机体的病理生理变化

在败血症的毒性现象中,LPS 是最终导致器官破坏的始动因素。有关 LPS 直接引起器官损伤的作用报道很少。LPS 进入血流后,即使是很低的剂量也可刺激机体内的单核-巨噬细胞、内皮细胞和中性粒细胞,释放引起败血症发生的内源性介质,如 TNF- α , IL-1, IL-6 和前列腺素 E₂ 等,这些介质作用于心脏和其他器官,造成心血管功能异常或进行性多器官系统的衰竭,如急性肾衰竭、呼吸抑制综合征、肝脏衰竭和弥漫性血管内凝血(DIC)等。如果其中某一器官或多个器官系统受到彻底损伤则可引起死亡。

由于不同种属的动物对 LPS 的敏感性存在着差异,如人、猴、狒狒和马对 LPS 的敏感性较高,而狗、小鼠和大鼠则对 LPS 相对耐受。因而 LPS 对不同种属动物的靶器官的作用也表现出明显的不同,如 LPS 对猪肺部损害(如肺高压)较明显,而对狗和啮齿动物的作用则主要表现在胃肠道系统,并伴有血浆容量的损失和心血管的衰竭,但却无明显的肺高压出现^[18~22]。

(一) 心血管系统对 LPS 的反应

研究表明,给健康自愿者体内注射 LPS 可产生与 GNB 败血症休克病人相似的心血管系统典型变化,如心脏输出指数升高、血管抗性及平均动脉压降低等。动物模型实验也能模拟出这类血流动力学的变化,例如给健康狗腹腔注射伴有纤维素凝块毒性促进剂的细菌,可引起与败血症休克病人相类似的心血管改变。体外脏器模型研究发现,LPS 本身无直接抑制受到电刺激的人动脉肌纤维收缩和松弛的作用,这一发现证实了以前的工作,即 LPS 可通过刺激新生小鼠胰腺腺泡细胞释放心肌抑制因子来影响其心肌收缩功能。另外,动物模型研究也表明,TNF 可诱导出与败血症休克病人相似的心脏变化现象;在体外 TNF 也具有抑制心肌因电刺激而引起的肌纤维缩短的作用。因而认为,TNF 和心肌抑制因子可能均参与了 LPS 引起的心肌功能障碍过程。

(二) 肺器官对 LPS 的反应

研究表明,给健康自愿者注射 LPS 可引起肺泡通透性增加、肺泡动脉氧梯度升高以及动脉低氧血症,从而导致血管通透性的增加。且在实验性内毒素血症的研究中也发现,给羊和狗注射 LPS 可引起与临床上见到的成人急性呼吸抑制综合征(ARDS)相似的病理生理反应,如出现平均肺动脉压升高、肺水肿和缺氧等,且大剂量的 LPS 还可导致暴发性肺水肿、严重低氧血症和呼吸衰竭。

TNF、血小板激活因子和凝血酶原 A₂ 被认为是 LPS 引起肺功能障碍的主要介质。如单独给羊注射重组人 TNF 可引起与 LPS 攻击相似的肺反应,以及相似的外周血白细胞减少和低血压等。研究表明,这些毒性介质能促进肺支气管收缩,增加血管和肺泡的通透性,诱发肺功能异常,引起 LPS 所致的肺损伤。此外,LPS 还可激活肺泡巨噬细胞释放蛋白裂解酶和毒性氧代谢产物(如氧自由基),以及其它继发性介质(如 IL-6 等),这些毒性介质的增加与严重迁延性肺损伤的出现有明显相关性。

因此,LPS 引起肺结构和功能的改变是以其内皮细胞损伤为主要病理改变,表现为肺微血管通透性增加及肺血流动力学的变化,从而导致肺水肿和进行性气体交换减少。

(三) 胃肠道系统对 LPS 的反应

动物实验表明,进入门静脉循环的 LPS 可造成肝脏的损伤。体外研究 LPS 对实质细胞(parenchymal cells)的破坏机制时发现,经 LPS 攻击的 Kuffer 细胞可释放蛋白裂解酶和有关细胞因子;而且暴露于 LPS 的肝细胞合成蛋白的能力也发生改变,表明 LPS 可通过间接或直接的方式作用于肝细胞,引起肝细胞的功能障碍。除此之外,目前有关胃肠道对 LPS 的其它特异反应却知道较少。胃肠道已被许多研究证实为细菌的贮主,肠道中的寄生菌也可成为 GNB 菌血症和内毒素的来源。在感染、内毒素血症、低氧血症、局部缺血和损伤时,肠道粘膜的完整性受到破坏,而易使肠道寄生细菌及 LPS 进入淋巴流和门静脉系统。人体研究已证明,在肠粘膜受到破坏的病人中,虽然 GNB 血培养呈阴性,但却可出现门静脉和全身性内毒素血症,导致整个肝血流量的降低。由于肝脏在糖代谢中的重要地位,以及作为单核-巨噬细胞系统的主要组成部分,因此,肝脏的局部缺血可引起非常严重的后果。

(四) 其他脏器对 LPS 的反应

肾是败血症的靶器官,随着低血压、肾血管痉挛和血管内凝血的出现,可导致少尿或多尿性肾衰。在狒狒内毒素性休克的模型研究中发现,肾和胰腺的血流量较对照组分别降低 20% 和 30%;结肠和胃则较对照组分别降低 50% 和 90%。胰腺的局部缺血可引