

肺部急慢性疾病的全球发病率、死亡率居高不下，肺功能不可逆的损害严重缩短了伤残调整寿命年<sup>[1]</sup>。呼吸支持治疗是一系列改善、维持、替代肺的自主呼吸功能的技术手段，包括氧疗、无创/有创通气以及体外膜肺氧合（extracorporeal membrane oxygenation；ECMO）等人工肺技术，是急慢性呼吸衰竭等呼吸重症疾病中治疗的重要环节。呼吸道和肠道是人体的两个自然体腔，呼吸道和肠道上皮在胚胎发育过程中共同由内胚层发育和分化，这提示他们可能共享相似的细胞构成、功能及黏膜屏障模式，均作为“哨兵”响应各种环境刺激，并将这种动态变化的环境信号传递给机体<sup>[2, 3]</sup>。直肠O<sub>3</sub>灌注（ozone rectal insufflation, O<sub>3</sub>-RI）疗法是指使用医用三氧发生器制备特定浓度的O<sub>3</sub>和O<sub>2</sub>混合气体，并注入直肠，以达到治疗和预防疾病目的的一种治疗方法<sup>[4]</sup>。新型冠状病毒大流行期间，在常规呼吸支持无法缓解低氧血症的情况下，O<sub>3</sub>-RI能迅速改善这类患者氧合指标、控制肺部炎症，为患者的肺康复及生存赢得时间<sup>[5]</sup>，同时，动物实验也已明确直肠O<sub>2</sub>灌注能提高血氧含量，增强机体耐受缺氧的能力<sup>[6]</sup>；预示着肠道可能是潜在的呼吸器官。笔者团队推测肠道气体灌注疗法可能兼具改善全身氧合和修复肺损伤两方面的作用。因此笔者团队提出“肠道可能是人体第二个肺”的科学假说，下面就结合已有文献和笔者团队的临床实践和思考进行综述。

### 第一节 肠道的呼吸潜力

呼吸是生命体生物学极限和生命史的决定性事件，肺的形成是陆生动物最重要的适应生存的进化结果<sup>[7]</sup>。然而近年来印度尼西亚婆罗洲出现的无肺青蛙，极为罕见地逆转了脊椎动物的进化史<sup>[8]</sup>。肺的退化很大程度上提示了其他器官作为呼吸器官进行气体交换的可塑性。自然界中，部分水生或两栖类脊索动物，如泥鳅、鲶鱼，以及某些节肢动物如海蜘蛛，依赖肠腔的充足空间及蠕动功能完成氧气的运输和交换，当水域氧气含量降低时，胃肠道的柱状上皮会变为扁平的鳞状上皮，以便更高效地与毛细血管进行氧气的交换，并耐受低氧环境<sup>[9, 10]</sup>。在仿生学的启发下，塔可贝（Takebe）

等设计了人为磨损肠道黏膜后经肛门灌注 $O_2$ 策略，成功提高致死性缺氧（ $FiO_2$ 为0.08）小鼠的存活率，并延长其存活时间高达5倍以上<sup>[6]</sup>。该团队也在大型哺乳动物猪的缺氧模型中成功复制了肠道通气介导的全身氧合效应，肠道通气在开始后2~4分钟内就能明显改善混合血氧饱和度和动脉血氧饱和度，改善程度与通气前氧合状态呈负相关，在直肠 $O_2$ 灌注的整个过程中，混合血氧饱和度的增加幅度总是高于动脉氧饱和度的增加幅度，提示肠内通气通过静脉系统输送氧气，进而促进全身动脉系统的氧合<sup>[11]</sup>。从解剖学角度推理直肠通气完全可行，尽管直肠吸收面积较小，仅200~400cm<sup>2</sup>，但具备丰富的静脉回流系统<sup>[12]</sup>，由直肠上、中、下静脉负责，直肠上静脉回流入门脉系统，而直肠中、下静脉回流入下腔静脉，然后共同进入肺循环至体循环<sup>[13]</sup>，因此具有吸收速度快的特点。这些研究成果提示，肠道可能具有肺外气体交换的潜力。

考虑到肠道复杂的微环境，肠道 $O_2$ 灌注可能存在以下机制：首先，该动物模型中直肠通气策略需要将肠道黏膜机械磨损，从而通过上调黏膜下血管形成和黏膜炎症相关的基因，增强肠道气体交换效率，并能激活机体黏膜免疫反应<sup>[6]</sup>；其次，肠道定植的肠道菌群以厌氧菌为主， $O_2$ 改变肠道局部微环境中的氧含量后，可能通过影响肠道菌群的结构或丰度，影响肠道菌群的物质代谢和免疫调控，从而参与远端肺部缺氧性损伤的组织修复<sup>[14]</sup>。

## 第二节 直肠三氧灌注的疗效

在体外膜肺氧合甚至是呼吸机机械通气成为紧缺医疗资源的新型冠状病毒大流行期间，2000ml、 $O_3$ 浓度为12.6ug/ml的单次大剂量 $O_3-O_2$ 冲击治疗可以在2小时内迅速提高新型冠状病毒感染伴急性低氧血症患者的脉氧饱和度，稳定患者因缺氧所致的血流动力学波动<sup>[15]</sup>；100~200ml、 $O_3$ 浓度为30~40ug/ml的常用剂量能在1~2周的疗程内改善患者的氧饱和度和氧合指数，提示 $O_3-RI$ 对需要接受辅助通气的COVID-19患者有益：此外， $O_3-RI$ 还降低血清C-反应蛋白、IL-6、降钙素原、D-二聚体、LDH等炎症相关因子<sup>[5, 16, 17]</sup>。一项小样本量病例对照研究发现，150ml/次，1次/天，持续8天的 $O_3-RI$ ，与标准护理组对比，改善了 $SpO_2$ ，减少了氧疗的需求，降低炎症指标的同时，改善了肺部X-Ray表现，死亡率和住院时长都有所降低<sup>[18]</sup>。意大利 $O_3-O_2$ 治疗学会2021年发布了直肠 $O_3-O_2$ 灌注用于不同严重程度COVID-19的治疗策略并通过了国家卫生部的批准，并在临床中推广应用<sup>[16]</sup>。为了明确 $O_3-RI$ 对其他类型的肺部疾病是否具有类似的疗效，本课题组分别建立小鼠急性肺损伤模型和慢性肺气肿模型， $O_3-RI$ 可以有效抑制 $TNF-\alpha$ 等促炎因子释放，减轻急性肺损伤后肺泡间隔增宽及炎性细胞浸润等病理学表现，逆转肺弹性组织破坏和气道阻力增高导致的肺动态顺应

性下降、功能残气量增加。除此之外，COPD相关睡眠障碍，包括睡眠呼吸障碍[阻塞性睡眠呼吸暂停(O SA)、睡眠相关换气不足、中枢型睡眠呼吸暂停、夜间低氧血症]、失眠和睡眠相关运动障碍(如不宁腿综合征，RLS)，是临床工作中的容易忽视但十分影响患者生活质量和疾病转归的问题。课题组开展了一项O<sub>3</sub>-RI治疗COPD相关睡眠障碍的单臂临床试验，发现O<sub>3</sub>-RI可以有效缓解降低夜间呼吸系统症状，提高患者主观睡眠评价，提高睡眠质量。上述国内外研究进展及课题组工作为O<sub>3</sub>-RI改善肺功能、修复肺组织损伤提供了较为扎实的临床前及临床证据。

O<sub>3</sub>-RI改善患者的肺功能可能与以下机制有关：①O<sub>3</sub>作为强氧化剂，可能与肠上皮细胞膜中多不饱和脂肪酸反应，影响细胞膜的稳定结构，从而模拟上述动物模型中轻度磨损的肠黏膜，生成的LOPs等脂质过氧化产物可以通过激活金属酶，特别是MMP-9的释放，激活肠黏膜下血管生成，黏膜暴露和血管密度增加能促进肠道氧气交换，同时激活黏膜相关的免疫反应并参与调控肺内的免疫调控<sup>[5, 19]</sup>；②O<sub>3</sub>与肠腔表面小分子量抗氧化剂反应，生成低剂量活性氧和脂质过氧化物等活性介质，可能调控线粒体动力学、调控细胞内代谢，入血后可能调控红细胞的糖酵解途径，增加2,3-二磷酸甘油酸的含量，导致氧解离曲线右移，促进氧合血红蛋白中O<sub>2</sub>释放和利用，从而减轻组织缺氧，逆转呼吸衰竭<sup>[20]</sup>；③O<sub>3</sub>产生的上述活性介质，随血流到达远端肺部和靶细胞，可能通过激活适应性的防御反应，包括激活转录因子Nrf2及下游抗氧化系统、抑制NLRP3炎症小体通路等方式，参与机体抗炎、抗氧化应激、调控免疫等作用<sup>[5, 21]</sup>；④本课题组前期研究发现反复O<sub>3</sub>-RI可以调控肠道菌群结构及肠道屏障功能，减轻远端器官的炎症反应。O<sub>3</sub>-RI可能通过抑制优势条件致病菌的生长、恢复肠道菌群多样性。并通过肠道菌群间接调控肺部炎症、免疫、代谢反应，促进组织修复。

综上，O<sub>3</sub>-RI用于呼吸衰竭、病毒或细菌感染性肺炎、急性肺损伤、哮喘、慢性阻塞性肺病等呼吸系统疾病，可能是一种良好前景的治疗方法。然而由于大部分临床研究样本量较少，而且多为自身前后对照或病例报道，确切的答案尚需深入研究。此外，诸如此类复杂的综合效应、还需要在建立临床前的急慢性肺部疾病模型下，在分子、动物组织离体、动物在体等多层面中，利用功能学实验、组织病理学分析、分子生物学、高通量测序等技术手段，全面深入地探索。

### • 第三节 肠道菌群与肺部疾病 •

流行病学研究发现60%的炎性肠病患者同时患有呼吸系统疾病。<sup>[22]</sup>罹患炎性肠病的患者支气管扩张的发病率增加46%，间质性肺炎发病率增加52%，肺部结节和哮喘发生率分别增加35%和5.5%<sup>[23]</sup>，这些数据提示了肠道与肺的远程通信现象的存在。

肠道菌群及其分泌的活性介质，如小分子代谢物及细胞外囊泡，是这种通信机制的重要介质<sup>[24]</sup>。肠道微生物生态系统的失调已被认为是慢性阻塞性肺疾病（chronic obstructive lung disease, COPD）、哮喘、细菌及病毒性肺炎等肺部疾病的重要病理生理表现之一<sup>[25]</sup>，其变化特点为微生物多样性显著低于健康人群，有益菌数量减少，其中链球菌科和毛螺菌科与肺功能下降有关；肠道菌群的改变同时伴随着特有的代谢变化，已鉴定出包括N-乙酰谷氨酸及其类似物N-氨基甲酰基谷氨酸在内的20%氨基酸类代谢物和46%脂质与COPD显著相关<sup>[26]</sup>。N-乙酰谷氨酸及其类似物N-氨基甲酰基谷氨酸可能通过促进精氨酸合成途径从而促进上皮细胞增殖，减轻细胞内氧化应激、增强肺部免疫防御<sup>[27, 28]</sup>。正常情况下乙酸盐的水平与第1秒用力呼气容积（forced expiratory volume in one second, FEV<sub>1</sub>）成正相关。与无症状吸烟者相比，出现肺气肿的吸烟人群粪便中乙酸盐、丙酸盐和短链脂肪酸产生菌更少，给予肺气肿模型小鼠补充乙酸盐和丙酸盐可以降低肺部CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>IL17<sup>+</sup>T细胞，降低促炎细胞因子的水平、改善肺泡的破坏<sup>[29]</sup>。

肠道菌群分泌的细胞外囊泡能穿过内皮到达循环系统，并运输到肺部，调控肺部疾病转归，细胞外囊泡携带一组被称为微生物相关分子模式（microbe-associated molecular pattern, MAMP）的分子，包括脂多糖（lipopolysaccharide, LPS）、脂蛋白、多糖，可以被肺上皮细胞和免疫细胞胞膜或胞浆的特定的模式识别受体（pattern recognition receptors, PRR）识别<sup>[30]</sup>。来源于肠道益生菌的BEVs通过诱导与M2巨噬细胞相关的细胞表面标记物和炎症因子的偏好性表达，促进巨噬细胞向M2b型极化，从而提高了抗炎能力<sup>[31]</sup>。靶向调控肠道菌群的治疗，比如饮食、抗生素、粪移植和单菌分离移植等干预方法，有可能成为治疗肺部疾病的重要手段，但仍然面临诸多问题和挑战，是未来需要攻克的重要理论及技术难关。

基于肠道O<sub>2</sub>灌注缓解哺乳动物急性呼吸衰竭、O<sub>3</sub>-RI改善重症肺炎缺氧及炎症，以及肠道菌群对呼吸系统疾病的远程调控等有力证据，肠道有可能成为人体“第二肺”。根据肠道的解剖学特征，探索及优化气体灌注技术和策略，明确其在肺部呼吸支持及肺损伤修复中的安全性及有效性，为临床急慢性肺损伤和疾病的治疗提供新理论和新手段。

（曹爽娇 安建雄）

## 参考文献

- [1] INSTITUTE FOR HEALTH METRICS AND EVALUATION.global, regional, and

- national deaths, prevalence, disability-adjusted life years, and years lived with disability for chronic obstructive pulmonary disease and asthma, 1990-2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015 [J]. *Lancet Respir Med*, 2017, 5(9): 691-706.
- [ 2 ] Li J, Wang Z, Chu Q, et al. The Strength of Mechanical Forces Determines the Differentiation of Alveolar Epithelial Cells [J]. *Dev Cell*, 2018, 44(3): 176-181.
- [ 3 ] ZHAO L, SONG W, CHEN Y-G. Mesenchymal-epithelial interaction regulates gastrointestinal tract development in mouse embryos [J]. *Cell Rep*, 2022, 40(2): 111053.
- [ 4 ] 张文浩, 钱晓焱. 直肠三氧灌注疗法专家共识 [J]. *转化医学杂志*, 2020, 9(01): 1-3, 33.
- [ 5 ] CENCI A, MACCHIA I, LA SORSA V, et al. Mechanisms of Action of Ozone Therapy in Emerging Viral Diseases: immunomodulatory Effects and Therapeutic Advantages With Reference to SARS-CoV-2 [J]. *Front Microbiol*, 2022, 13: 871645.
- [ 6 ] OKABE R, CHEN-YOSHIKAWA T F, YONEYAMA Y, et al. Mammalian enteral ventilation ameliorates respiratory failure [J]. *Med*, 2021, 2(6): 188-191
- [ 7 ] MIN M S, YANG S Y, BONETT R M, et al. Discovery of the first Asian plethodontid salamander [J]. *Nature*, 2005, 435(7038): 87-90.
- [ 8 ] BICKFORD D, ISKANDAR D, BARLIAN A. A lungless frog discovered on Borneo [J]. *Curr Biol*, 2008, 18(9): R374-R5.
- [ 9 ] PLAUL S E, BARBEITO C G, D AZ A O. Histochemical differences along the intestine of *Corydoras paleatus* (Siluriformes: Callichthyidae) [J]. *Rev Biol Trop*, 2016, 64(1): 327-340.
- [ 10 ] WOODS H A, LANE S J, SHISHIDO C, et al. Respiratory gut peristalsis by sea spiders [J]. *Curr Biol*, 2017, 27(13): R638-R9.
- [ 11 ] FUJII T, YONEYAMA Y, KINEBUCHI A, et al. Enteral liquid ventilation oxygenates a hypoxic pig model [J]. *iScience*, 2023, 26(3): 106142.
- [ 12 ] MACYGIN K M C, KULSTAD E, MOKSZYCKI R K, et al. Evaluation of the Macy Catheter®: a rectal catheter for rapid medication and fluid administration [J]. *Expert Rev Med Devices*, 2018, 15(6): 407-414.
- [ 13 ] HUA S. Physiological and Pharmaceutical Considerations for Rectal Drug Formulations [J]. *Front Pharmacol*, 2019, 10: 1196.
- [ 14 ] CHAKAROUN R M, OLSSON L M, B CKHED F. The potential of tailoring the gut microbiome to prevent and treat cardiometabolic disease [J]. *Nat Rev Cardiol*, 2023, 20(4): 217-235.
- [ 15 ] HENDAWY H A, MOSALLAM W, ABUELNAGA M E, et al. Old Treatment for a New Disease: Can Rectal Ozone Insufflation Be Used for COVID-19 Management? A Case Report [J]. *SN Compr Clin Med*, 2021, 3(6): 1424-1427.
- [ 16 ] IZADI M, CEGOLON L, JAVANBAKHT M, et al. Ozone therapy for the treatment of COVID-19 pneumonia: A scoping review [J]. *Int immunopharmacol*, 2021, 92: 107307.
- [ 17 ] FRANZINI M, VALDENASSI L, RICEVUTI G, et al. Oxygen-ozone (O<sub>2</sub>-O<sub>3</sub>) immunocutaneous therapy for patients with COVID-19. Preliminary evidence reported [J]. *Int immunopharmacol*, 2020, 88: 106879.
- [ 18 ] FERN NDEZ-CUADROS M E, ALBALADEJO-FLOR N M J, ÁLAVA-RABASA S, et al. Compassionate Use of Rectal Ozone (O<sub>3</sub>) in Severe COVID-19 Pneumonia: a Case-Control Study [J]. *SN Compr Clin Med*, 2021, 3(5): 1185-1199.

- [ 19 ] BOCCI V A. Scientific and medical aspects of ozone therapy. State of the art [J]. Arch Med Res, 2006, 37(4): 425-435.
- [ 20 ] YOUSEFI B, BANIHASHEMIAN S Z, FEYZABADI Z K, et al. Potential therapeutic effect of oxygen-ozone in controlling of COVID-19 disease [J]. Medical Gas Research, 2022, 12(2): 33-40.
- [ 21 ] BOCCI V A, ZANARDI I, TRAVAGLI V. Ozone acting on human blood yields a hormetic dose-response relationship [J]. Journal of Translational Medicine, 2011, 9: 66-69.
- [ 22 ] RAFTERY A L, TSANTIKOS E, HARRIS N L, et al. Links Between Inflammatory Bowel Disease and Chronic Obstructive Pulmonary Disease [J]. Front Immunol, 2020, 11: 2144-2148.
- [ 23 ] PEMMASANI G, LOFTUS E V, TREMAINE W J. Prevalence of Pulmonary Diseases in Association with Inflammatory Bowel Disease [J]. Dig Dis Sci, 2022, 67(11): 5187-5194.
- [ 24 ] TROPINI C, EARLE K A, HUANG K C, et al. The Gut Microbiome: Connecting Spatial Organization to Function [J]. Cell Host Microbe, 2017, 21(4): 433-442.
- [ 25 ] BARCIK W, BOUTIN R C T, SOKOLOWSKA M, et al. The Role of Lung and Gut Microbiota in the Pathology of Asthma [J]. Immunity, 2020, 52(2): 241-255.
- [ 26 ] BOWERMAN K L, REHMAN S F, VAUGHAN A, et al. Disease-associated gut microbiome and metabolome changes in patients with chronic obstructive pulmonary disease [J]. Nat Commun, 2020, 11(1): 588-596.
- [ 27 ] Kim Y J, LEE J-Y, LEE J J, et al. Arginine-mediated gut microbiome remodeling promotes host pulmonary immune defense against nontuberculous mycobacterial infection [J]. Gut Microbes, 2022, 14(1): 2073132.
- [ 28 ] SCOTT J A, MAARSINGH H, HOLGUIN F, et al. Arginine Therapy for Lung Diseases [J]. Front Pharmacol, 2021, 12: 627503.
- [ 29 ] LEE S H, Kim J, Kim N H, et al. Gut microbiota composition and metabolite profiling in smokers: a comparative study between emphysema and asymptomatic individuals with therapeutic implications [J]. Thorax, 2023, 78(11): 1080-1089.
- [ 30 ] DAZ-GARRIDO N, BADIA J, BALDOM L. Microbiota-derived extracellular vesicles in interkingdom communication in the gut [J]. J Extracell Vesicles, 2021, 10(13): e12161.
- [ 31 ] Kim W, LEE E J, BAE I-H, et al. Lactobacillus plantarum-derived extracellular vesicles induce anti-inflammatory M2 macrophage polarization in vitro [J]. J Extracell Vesicles, 2020, 9(1): 1793514.