

溃疡性结肠炎患者肠道菌群变化的临床研究

梁淑文 王晓英 屈昌民 曹艳菊 李连勇 罗治文 曾柏伦 谢明水

摘要 目的 探讨溃疡性结肠炎患者肠道菌群变化的临床意义。**方法** 病例来源于2011年3月~2014年2月笔者医院确诊为溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)患者106例,依据研究分组时的病情状况分为活动期UC组66例,缓解期UC组40例,同时筛选出54例身体健康者作为健康组,比较3组大便细菌种群的结构与数量,检查3组样本血液中IL-10、IL-6、IL-4、TNF- α 与内毒素水平等炎性指标。**结果** 与缓解期UC组及健康组相比,活动期UC组病患乳酸杆菌、双歧杆菌、拟杆菌、真杆菌、消化球菌的菌群数量显著减少,大肠杆菌、肠球菌和小梭菌菌群数量显著增加,差异有统计学意义($P < 0.05$);缓解期UC组与健康组相比较,拟杆菌菌群数量降低明显($P < 0.05$),其余菌群数量无明显改变,差异无统计学意义($P > 0.05$)。与缓解期UC组及健康组相比较,活动期UC组IL-6、TNF- α 与内毒素增高显著($P < 0.05$),IL-10与IL-4降低明显($P < 0.05$)。**结论** UC患者肠道正常菌群结构失衡,并导致机体肠道炎症,致使机体内部抑制炎症的因子分泌下降,促进炎症的因子分泌增多。

关键词 溃疡性结肠炎 肠道菌群 活动期 炎性因子

中图分类号 R57

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2015.09.016

Clinical Studies in Patients with Ulcerative Colitis Intestinal Flora Changes. Liang Shuwen, Wang Xiaoying, Qu Changmin, et al. Department of Gastroenterology of the 306th Hospital of PLA, Beijing 100101, China

Abstract Objective To investigate the changes of intestinal flora in patients with ulcerative colitis (UC) and the relationship between the intestinal flora and disease. **Methods** Using the gradient dilution method, fecal samples from 53 patients with UC in our hospital collected and 53 cases of healthy controls were analyzed and compared. Observe the number of intestinal flora (Enterobacter, Enterococcus, Clostridium and Lactobacillus) in two groups. **Results** Compared with healthy people, the number of Enterobacter, Enterococcus, Clostridium in UC patients were increased obviously, the number of Lactobacillus was significantly reduced. The difference has statistical significance. **Conclusion** In patients with UC, the reduced number of probiotics and the increased number of conditional pathogenic bacteria such as Enterobacter, Enterococcus lead to intestinal flora imbalance, immune disorders, which may lead to the onset of UC.

Key words Ulcerative colitis; Intestinal flora; Flora imbalance

溃疡性结肠炎是胃肠道疾病中较常见的慢性非特异性的炎性疾病,其临床表现与体征轻重缓急不一致,可交替变换,患者既可只出现结肠症状,也会出现全身症状。研究发现,UC患者的发病多与免疫、环境、肠道菌群及遗传等因素密切相关^[1-3]。众所周知,肠道优势菌群和机体免疫系统处于一种动态的平衡状态,一般情况下肠道免疫系统不会认为这些共生菌群为非己,故而对其免疫耐受,但当肠道发生慢性炎症时,这些细菌将大量增殖,破坏肠道免疫屏障,抑制肠黏膜免疫功能,进而引发机体肠道免疫反应,最后致使UC的溃疡性结肠,但是具体的发病机制阐述还不明确,而是否与炎性因子有关还有待分析。本研

究UC患者肠道菌群变化与疾病的发作与否及相关炎性因子的关系,具体报道如下。

资料与方法

1. 一般资料:病例来源于笔者医院2011年3月~2014年2月确诊为UC病患106例。纳入标准:①全部病患都符合2012年中华医学会消化病分会炎症性肠病治疗学组制定的《我国炎症性肠病诊断与治疗的共识意见》的诊断标准^[4];②本次实验获得笔者医院医学伦理委员会的批准,病患及家属知情同意,并签署知情同意书。排除标准:①治疗前1个月使用过激素、免疫抑制剂及抗生素者;②近期患肠结核、克罗恩病、菌痢与寄生虫感染等结肠感染性炎症者;③有严重心血管疾病、呼吸系统疾病、泌尿系统疾病者;④提取标本过少或提取过程中遭受污染者;⑤病患及其家属不愿配合,或病患依从性差或患有不能配合治疗的精神性疾病。依据研究分组时的病情状况分为活动期UC组66例,缓解期UC组40例,同时筛选出54例身体健康者作为健康组。活动期UC组:男性40例,女性26例,患者年龄19~50岁,平均年龄 28.9 ± 7.1 岁,患者病程0.5~19.0年,平均病程 9.8 ± 7.3 年;缓解期UC

基金项目:湖北省科技厅基金资助项目(2013CFB480)

作者单位:100101 北京,中国人民解放军第306医院消化内科(梁淑文、王晓英、屈昌民、曹艳菊、李连勇、罗治文、曾柏伦);441300 湖北省随州市中心医院(谢明水)

通讯作者:王晓英,电子信箱:wangxy7683@163.com

组:男性 26 例,女性 14 例,患者年龄 20 ~ 51 岁,平均年龄 30.1 ± 6.9 岁,患者病程 0.6 ~ 21.0 年,平均病程 10.1 ± 7.5 年;健康组:男性 34 例,女性 20 例,患者年龄 20 ~ 51 岁,平均年龄 31.3 ± 6.8 岁。比较 3 组的性别、年龄等一般资料,差异无统计学意义 ($P > 0.05$),具有可比性。

2. 实验试剂:内毒素检测使用鲎试剂三肽显色基质偶氮法检测[上海榕柏生物技术有限公司,(88)卫药准字 SJ-02 号];IL-6、IL-4、IL-10 及 TNF- α 使用酶联免疫吸附法检测[北京欧蒙生物技术有限公司,国食药监械(进)字 2004 第 3402172 号]。

3. 实验方法:菌群结构与数量分析:①取样:取每一位实验对象新鲜大便 1g,分别放于离心管中,每管加 5ml 蒸馏水稀释,于 300r/min 的斡旋混合器上斡旋大约 1min,将斡旋好的样本分置于 8 个小瓶中,所有小瓶中的细菌浓度均稀释至 10^{-8} 倍;②培养:每小瓶取 5 μ l 接种于相应的培养皿中,其中酵母菌、肠球菌、肠杆菌置于需氧培养基上培养,小梭菌、真杆菌、拟杆菌、消化球菌、乳酸杆菌、双歧杆菌置于厌氧培养基上培养。接种完成后所有培养基均存放于 37℃ 恒温箱内培养。培养 2 ~ 3 天即可观察培养基上菌群数量与分布情况;③相关性因子的检测:于清晨抽取每位实验对象空腹时的静脉血

10ml,严格依据试剂盒的说明书进行操作,检测血中 IL-10、IL-6、IL-4、TNF- α 与内毒素水平。

4. 观察指标:观察并记录各组样本的细菌种类与菌群数量,检测血中 IL-10、IL-6、IL-4、TNF- α 与内毒素水平。

5. 统计学方法:使用 SPSS 18.0 统计学软件对实验所得数据进行分析,计量资料以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,多组间比较使用方差分析;计数资料以百分比表示,使用 χ^2 检验,炎症因子指标与菌群数量之间实行双变量相关性分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 比较 3 组大便菌群数量培养结果:与缓解期 UC 组及健康组相比,活动期 UC 组病患乳酸杆菌、双歧杆菌、拟杆菌、真杆菌、消化球菌的菌群数量显著减少,大肠杆菌、肠球菌和小梭菌菌群数量显著增加,比较差异均有统计学意义 ($P < 0.05$);缓解期 UC 组与健康组相比较,拟杆菌菌群数量降低明显 ($P < 0.05$),其余菌群数量无明显改变,差异无统计学意义 ($P > 0.05$),详见表 1。

表 1 3 组大便菌群数量培养结果比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	拟杆菌	小梭菌	真杆菌	消化球菌	乳酸杆菌	双歧杆菌	酵母菌	肠球菌	肠杆菌
活动期 UC 组	6.2 ± 1.4	7.8 ± 1.1	6.4 ± 1.3	6.0 ± 0.8	5.3 ± 1.7	5.1 ± 1.4	5.4 ± 1.4	7.5 ± 2.0	7.6 ± 2.1
缓解期 UC 组	7.6 ± 1.5	6.1 ± 0.8	7.7 ± 1.2	7.1 ± 1.1	6.3 ± 2.1	7.1 ± 2.2	5.3 ± 1.3	6.6 ± 1.4	7.0 ± 1.8
健康组	7.7 ± 1.3	6.2 ± 0.9	7.7 ± 1.1	7.2 ± 1.3	6.6 ± 2.2	7.5 ± 2.6	5.4 ± 1.6	6.2 ± 1.2	7.0 ± 1.8
F	14.261	6.984	13.315	12.237	4.745	20.368	0.049	7.013	3.207
P	0.000	0.001	0.000	0.000	0.009	0.000	0.983	0.001	0.038

2. 比较 3 组受试对象血液中炎症因子水平:与缓解期 UC 组及健康组相比较,活动期 UC 组 IL-6、

TNF- α 与内毒素增高显著 ($P < 0.05$),IL-10 与 IL-4 降低明显 ($P < 0.05$),详见表 2。

表 2 3 组受试对象血液中炎症因子水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	IL-10 (ng/L)	IL-4 (ng/L)	IL-6 (ng/L)	TNF- α (ng/L)	内毒素 (EU/ml)
活动期 UC 组	153.12 ± 22.29	6.79 ± 2.21	284.54 ± 34.01	127.13 ± 10.97	0.128 ± 0.008
缓解期 UC 组	231.69 ± 30.79	19.23 ± 9.78	130.22 ± 17.57	46.98 ± 14.68	0.049 ± 0.007
健康组	217.53 ± 23.99	20.57 ± 8.57	136.11 ± 15.12	44.68 ± 13.14	0.044 ± 0.004
F	128.436	64.132	633.316	717.640	2254.102
P	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

讨 论

正常人体的肠道内停留着各种细菌,其数目庞大、种群数量可达 600 种,主要寄存于小肠末端和整个结肠^[5]。寄存于小肠末端或结肠的菌群可大体分为 3 类:第 1 类是致病菌,其不在肠道定居,多由食物、饮水等带入,但大多会被肠道及其肠管内稳定的菌群排斥出去;第 2 类是如乳酸杆菌、类杆菌、双歧杆菌等被称做是肠管内部优势菌群的细菌,与机体是共生的关系;第 3 类为寄居机体肠管内部的机会致病菌,如肠杆菌与肠球菌等,机体健康状态下保持沉默,当人

体抵抗力下降、肠管菌群结构失去平衡时,其将迅速繁殖,引发或增强肠道局部炎症,抑制人体免疫功能,甚至进入循环形成菌血症^[6,7]。一般情况下,3 类菌群肠道消化环境中相互抑制、相互依存,与整体肠道维持一种稳定且平衡的环境,对机体是有益的^[8,9]。

现代研究表明 IL-6 在机体多个免疫环节均发挥作用,能够促进炎症反应进展,是促炎细胞因子,于人体生理平衡的维持中起到了及其关键的作用^[10,11]。TNF- α 主要作用在于启动炎症的发生,是炎症启动因子。G⁻ 杆菌的细胞外膜上的脂质或其他

成分脱落形成内毒素,当这些细菌大量复制增殖及被机体免疫细胞灭杀时,肠管内部的内毒素浓度显著提升,过量的内毒素将借此进入循环系统,产生菌血症^[12]。IL-4 与 IL-10 都是抗炎性细胞因子,可抵抗炎症反应及调节免疫功能,可降低促炎因子基因的翻译及相应蛋白因子的分泌,在肠管免疫系统中处于相当关键的位置^[13]。而肠管内菌群失调致使机体产生或加剧炎症反应,增加肠管黏膜通透性,促使内毒素与相应的致炎因子分泌显著增加,而抗炎性细胞因子分泌减少,使机体不能有效的控制肠道炎症,结果使肠道炎症难以消除而长期持续。

本研究发现,UC 活跃期病患肠管内部菌群结构与数量已经失去平衡,乳酸杆菌、双歧杆菌、拟杆菌等优势细菌显著降低,大肠杆菌、肠球菌和小梭菌等机会致病菌显著增多,超出机体免疫系统所能控制的水平,引起机体免疫反应,致使肠管黏膜的免疫屏障作用下降,进而引发以结肠为主的肠管局部炎症反应。对相关炎症因子进行检测发现,与缓解期 UC 组及健康组相比较,活动期 UC 组 IL-6、TNF- α 与内毒素增高显著($P < 0.05$),IL-10 与 IL-4 降低明显($P < 0.05$),这与黄夺夏等^[14]及汪志军等^[15]的研究结果相似。

综上所述,UC 病患肠道菌群结构失衡可促进肠道炎症的发生、发展,并能影响机体内部相关免疫炎症因子的水平,对临床 UC 的治疗具有指导意义,可进一步研究维持肠道菌群平衡在临床治疗 UC 中的价值。

参考文献

- 1 常有. 益生菌制剂在溃疡性结肠炎中的应用及其可能机制[J]. 安徽医科大学学报, 2012, 47(2): 194-196
- 2 徐佰国, 王英凯, 王策, 等. 肠道菌群与溃疡性结肠炎[J]. 中国老年学杂志, 2012, 32(12): 2665-2667
- 3 Tursi A, Brandimarte G, Papa A, *et al.* Treatment of relapsing mild - to - moderate ulcerative colitis with the probiotic VSL#3 as adjunctive to a standard pharmaceutical treatment: a double blind, randomized, placebo - controlled study [J]. Am J Gastroenterol, 2010, 105(10): 2218-2227
- 4 中华医学会消化病分会炎症性肠病学组. 炎症性肠病诊断与治疗的共识意见(2012 年广州)[J]. 中华内科杂志, 2012, 51(10): 818-831
- 5 Miele E, Pascarella F, Giannetti E, *et al.* Effect of a probiotic preparation(VSL#3) on induction and maintenance of remission in children with ulcerative colitis[J]. Am J Gastro enterol, 2009, 104(2): 437-443
- 6 Tomasello G, Sciume C, Rappa F, *et al.* Hsp10, Hsp70, and Hsp90 immunohistochemical levels change; in ulcerative colitis after therapy [J]. Eur J Histochem, 2011, 55(4): e38
- 7 Conen A, Zimmerer S, Trampuz A, *et al.* A pain in the neck: probiotics for ulcerative colitis[J]. Ann Intern Med, 2009, 151(12): 895-897
- 8 王旭霞, 赵曙光, 刘震雄, 等. 双歧杆菌对溃疡性结肠炎大鼠肠黏膜屏障功能及细胞因子的影响[J]. 山西医科大学学报, 2011, 42(8): 621-623
- 9 Durbdn A, Abellan JJ, Jimenez - Hernandez N, *et al.* Assessing gut microbial diversity from feces and rectal mucosa[J]. Microb Ecol, 2011, 61(1): 123-133
- 10 刘勇, 谭瑞明. 益生菌联合美沙拉嗪治疗溃疡性结肠炎的临床疗效观察. [J] 吉林医学, 2010, 31(15): 2228-2230
- 11 李贞娟, 张彩凤, 夏永华, 等. 溃疡性结肠炎患者外周血单个核细胞 TLR4 的表达及其与 TNF- α 和 IL-6 的相关性[J]. 广东医学, 2011, 32(9): 1166-1168
- 12 Kumari R, Ahuja V, Paul J. Fluctuations in butyrate - producing bacteria in ulcerative colitis patients of North India[J]. World J Gastroenterol, 2013, 19(22): 3404-3414
- 13 钱家鸣, 沈冰冰. 肠道菌群与炎症性肠病. [J] 现代消化与介入诊疗, 2010, 15(3): 161-162
- 14 黄夺夏, 陆翠钦, 何张平, 等. 美沙拉嗪与康复新液联合治疗老年溃疡性结肠炎的疗效及对血清炎症细胞因子、凝血指标的影响[J]. 中国老年学杂志, 2013, 33(15): 3769-3770
- 15 汪志军, 汤永志, 燕飞, 等. 双歧杆菌四联活菌对肝硬化患者血浆内毒素及肠黏膜通透性的影响[J]. 实用医学杂志, 2012, 28(7): 1166-1168 (收稿日期: 2015-03-03) (修回日期: 2015-03-11)
- metastasis pathways[J]. Cancer Res, 2011, 71(2): 473-483
- 10 Dalziel M, Whitehouse C, McFarlane I, *et al.* The relative activities of the C2GnT1 and ST3Gal - I glycosyltransferases determine O - glycan structure and expression[J]. J Biol Chem, 2001, 276(14): 11007-11015
- 11 Picco G, Julien S, Brockhausen I, *et al.* Over - expression of ST3Gal - I promotes mammary tumorigenesis [J]. Glycobiology, 2010, 20(10): 1241-1250
- 12 Kang R, Loux T, Tang D, *et al.* The expression of the receptor for advanced glycation endproducts (RAGE) is permissive for early pancreatic neoplasia[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2012, 109(18): 7031-7036
- 13 Cui H, Lin Y, Yue L, *et al.* Differential expression of the alpha2, 3 - sialic acid residues in breast cancer is associated with metastatic potential[J]. Oncol Rep, 2011, 25(5): 1365-1371 (收稿日期: 2015-01-22) (修回日期: 2015-02-03)

(上接第 59 页)

- 4 Varki A. Glycan - based interaction involving vertebrate sialic acid recognizing proteins[J]. Nature, 2007, 446(7139): 1023-1029
- 5 Ochoa Alvarez JA, Krishnan H, Shen Y, Acharya NK, *et al.* Plant lectin can target receptors containing sialic acid, exemplified by podoplanin, to inhibit transformed cell growth and migration[J]. PLoS One, 2012, 7(7): e41845
- 6 Lu DY, Lu TR, Wu HY. Development of antimetastatic drugs by targeting tumor sialic acids[J]. Sci Pharm, 2012, 80(3): 497-508
- 7 Kuzmanov U, Kosanam H, Diamandis EP. The sweet and sour of serological glycoprotein tumor biomarker quantification[J]. BMC Medicine, 2013, 11(1): 31-51
- 8 Hsu CC, Lin TW, Chang WW, *et al.* Soyasaponin - I - modified invasive behavior of cancer by changing cell surface sialic acids[J]. Gynecol Oncol, 2005, 96(2): 415-422
- 9 Chen JY, Tang YA, Huang SM, *et al.* A novel sialyltransferase inhibitor suppresses FAK/paxillin signaling and cancer angiogenesis and