

溃疡性结肠炎患者肠道乳酸杆菌变化及其与临床分期、炎症指标的关系

楼丽霞 邢晓威 戴振华

[摘要] 目的 探讨溃疡性结肠炎(UC)患者肠道乳酸杆菌变化及其与临床分期、炎症指标的关系。方法 选取120例UC患者为UC组,其中活动期69例、缓解期51例;另按照年龄、性别适配原则选取同期在本院体检的60例健康志愿者为对照组,比较两组的肠道乳酸杆菌、炎症指标水平,并分析UC组患者各指标其与病情分期的关系,以及乳酸杆菌与炎症指标的关系。结果 UC组患者乳酸杆菌数量、血清白介素-4(IL-4)水平低于对照组,差异均有统计学意义(t 分别=8.17、25.42, P 均 <0.05),血清白介素-17(IL-17)、白介素-23(IL-23)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)水平明显高于对照组,差异均有统计学意义(t 分别=-16.70、-16.02、-15.67, P 均 <0.05)。UC活动期患者Mayo评分高于UC缓解期,乳酸杆菌数量明显低于UC缓解期,差异均有统计学意义($Z=-9.54$, $t=6.22$, P 均 <0.05)。UC活动期患者血清IL-4水平明显低于UC缓解期,血清IL-17、IL-23、TNF- α 水平明显高于UC缓解期,差异均有统计学意义(t 分别=10.08、-9.12、-9.62、-8.94, P 均 <0.05)。UC患者肠道乳酸杆菌数量与血清IL-4水平呈正相关($r=0.56$, $P<0.05$),与血清IL-17、IL-23、TNF- α 水平呈负相关(r 分别=-0.70、-0.77、-0.69, P 均 <0.05)。结论 UC患者肠道乳酸杆菌数量明显减少,UC活动期肠道乳酸杆菌数量低于缓解期,且可能与炎症指标的变化相关。

[关键词] 溃疡性结肠炎; 肠道乳酸杆菌; 临床分期; 炎症指标

Changes of intestinal lactobacillus and their relationship with clinical staging and inflammatory indexes in patients with ulcerative colitis LOU Lixia, XING Xiaowei, DAI Zhenhua. Department of Anorectal Medicine, Jinhua Fifth Hospital, Jinhua 321000, China.

[Abstract] **Objective** To explore the changes of intestinal lactobacillus and their relationship with clinical staging and inflammatory indexes in patients with ulcerative colitis (UC). **Methods** A total of 120 patients with UC were enrolled as UC group, including 69 cases in active stage and 51 cases in remission stage. According to the matching principle of age and gender, 60 healthy volunteers undergoing physical examination during the same period were enrolled as control group. The levels of intestinal lactobacillus and inflammatory indexes were compared between the two groups. The relationship between different indexes and disease staging, as well as the relationship between lactobacillus and inflammatory indexes were analyzed. **Results** The number of lactobacillus and level of serum IL-4 in UC group were lower than those in control group ($t=8.17, 25.42, P<0.05$), while levels of serum IL-17, IL-23 and TNF- α were significantly higher than those in control group ($t=-16.70, -16.02, -15.67, P<0.05$). Mayo score in active stage was higher than that in remission stage, while number of lactobacillus was significantly lower than that in remission stage ($Z=-9.54, t=6.22, P<0.05$). The level of serum IL-4 in active stage was significantly lower than that in remission stage, while levels of serum IL-17, IL-23 and TNF- α were significantly higher than those in remission period ($t=10.08, -9.12, -9.62, -8.94, P<0.05$). The number of intestinal lactobacillus was positively correlated with level of serum IL-4 ($r=0.56, P<0.05$), while negatively correlated with levels of serum IL-17, IL-23 and TNF- α ($r=-0.70, -0.77, -0.69, P<0.05$). **Conclusion** The number of intestinal lactobacillus is significantly reduced in patients with UC. The number of intestinal lactobacillus in active stage is less than that in remission stage, which may be related to changes of inflammatory indexes.

DOI: 10.13558/j.cnki.issn1672-3686.2023.001.009

作者单位: 321000 浙江金华, 金华市第五医院肛肠科

[Key words] ulcerative colitis; intestinal lactobacillus; clinical stage; inflammatory index

研究表明,溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)的发病与患者肠道内菌群异常变化有关^[1]。乳酸杆菌是人体肠道内的正常菌群之一,可抑制病原体生长、刺激免疫防御等机制来维持肠道微生态平衡,其紊乱可能会导致肠道相关疾病的发生^[2]。研究表明,糖尿病患者肠道乳酸杆菌数量与炎症细胞因子有一定的关联,肠道菌群失调是造成细胞炎症反应的关键因素^[3]。目前,临床多报道肠道乳酸杆菌失调与UC发生息息相关,但关于肠道乳酸杆菌失调导致炎症反应的机制尚未明确。本次研究通过探讨UC患者肠道乳酸杆菌变化及其与临床分期、炎症指标的关系,进一步了解UC的发病机制。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取2019年1月至2022年1月在金华市第五医院肛肠科确诊的120例UC患者为UC组,其中男性65例、女性55例;年龄20~77岁,平均年龄(48.38±13.74)岁;吸烟史35例,饮酒史82例。文化程度:高中以下72例、高中以上48例。纳入标准:符合UC相关诊断标准^[4],且均经结肠镜检查及病理活检确诊;本次研究通过医院伦理委员会审核批准,患者及其家属均知晓本次研究并签署知情同意书。排除标准:存在恶性肿瘤史者;存在其他消化道病变者,如感染性结肠炎;存在精神障碍、认知功能障碍者。另按照年龄、性别适配原则选取同期在本院体检的60例健康志愿者为对照组,其中男性32例、女性28例;年龄21~78岁,平均年龄(47.90±11.16)岁;吸烟史20例,饮酒史37例。文化程度:高中以下32例、高中以上28例。两组一般资料比较,差异均无统计学意义(P 均>0.05)。

1.2 方法 于入院后第1天检测,采集两组纳入对象有脓血、黏液部分的新鲜粪便约0.5 g,加入4.5 ml稀释液进行稀释,取10 μl液体接种于培养液中,置于37℃温箱内培养48 h后,进行革兰氏染色,使用MALDI Biotyper系统(由德国BRUKER公司生产)进行细菌质谱鉴定,并计算乳酸杆菌菌落平均数(每g粪便中含有的乳酸杆菌数目)。炎症指标检测分别抽取两组纳入对象清晨空腹外周静脉血5 ml,以3 000 r/min的转速,半径15 cm,离心15 min后,保留上清液血清部分,置于-70℃冰箱中待测。采用酶联免疫吸附试验检测血清白介素-4(interleukin-4, IL-4)、白介素-17(interleukin-17, IL-17)、白介素-23(interleukin-23, IL-23)以及肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)水平,所有检测操作严格按照试剂盒说明书(由上海酶联生物科技有限公司提供)执行。

1.3 临床分期 采用Mayo评分^[5]划分UC活动期与缓解期,Mayo评分由4个单项组成,分别是排便次数、便血情况、内镜情况和医生评价,其中每个评分0~3分,总分0~12分,分数越高表示疾病越严重。Mayo评分≤2分,且无单项评分>1分时,即为缓解期;3~5分为轻度活动期,6~10分为中度活动期,11~12分为重度活动期。

1.4 统计学方法 采用SPSS 22.0统计学软件进行分析。满足正态分布的计量资料以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,采用 t 检验;计数资料比较采用 χ^2 检验;乳酸杆菌数量与血清炎症指标的关系采用Pearson相关性分析。设 $P<0.05$ 差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组肠道乳酸杆菌及炎症指标比较见表1

表1 两组肠道乳酸杆菌及炎症指标比较

| 组别 | 乳酸杆菌/lgCFU/g | IL-4/ng/ml | IL-17/ng/ml | IL-23/ng/ml | TNF-α/ng/ml |
|-----|--------------|------------|--------------|-------------|--------------|
| UC组 | 6.24±0.87* | 8.03±1.59* | 61.70±14.26* | 38.27±9.39* | 84.78±14.17* |
| 对照组 | 7.39±0.93 | 21.53±5.38 | 29.34±6.56 | 17.85±4.28 | 53.69±8.36 |

注:*与对照组比较, $P<0.05$ 。

由表1可见,UC组患者乳酸杆菌数量、血清IL-4水平低于对照组,差异均有统计学意义(t 分别=8.17、25.42, P 均<0.05),血清IL-17、IL-23、TNF-α水平明显高于对照组,差异均有统计学意义(t 分别=-16.70、-16.02、-15.67, P 均<0.05)。

2.2 不同临床分期与肠道乳酸杆菌的关系 UC活动期患者乳酸杆菌数量(5.87±0.65)lgCFU/g明显低

于UC缓解期(6.75±0.90)lgCFU/g,差异有统计学意义($t=6.22$, $P<0.05$)。

2.3 不同临床分期与炎症指标的关系见表2

由表2可见,UC活动期患者血清IL-4水平明显低于UC缓解期,血清IL-17、IL-23、TNF-α水平明显高于UC缓解期,差异均有统计学意义(t 分别=10.08、-9.12、-9.62、-8.94, P 均<0.05)。

表2 不同临床分期与炎症指标的关系/ng/ml

| 临床分期 | n | IL-4 | IL-17 | IL-23 | TNF- α |
|--------|----|------------------|--------------------|-------------------|--------------------|
| UC 活动期 | 69 | 7.10 \pm 0.99* | 69.56 \pm 11.95* | 43.60 \pm 8.09* | 92.49 \pm 12.03* |
| UC 缓解期 | 51 | 9.28 \pm 1.38 | 51.08 \pm 9.47 | 31.06 \pm 5.35 | 74.35 \pm 9.36 |

注: *:与UC缓解期比较, $P < 0.05$ 。

2.4 肠道乳酸杆菌数量与血清炎症指标的相关性 Pearson相关性分析显示,UC患者肠道乳酸杆菌数量与血清IL-4水平呈正相关($r=0.56$, $P < 0.05$),与血清IL-17、IL-23、TNF- α 水平呈负相关(r 分别=-0.70、-0.77、-0.69, P 均 < 0.05)。

3 讨论

UC属于炎症性肠病的一种,炎症通常起始于直肠壁内层,并逐渐向整个结肠蔓延,最终形成溃疡,出现腹泻、黏液脓血便及腹痛等胃肠道症状。UC病因尚未明确,目前认为可能是多种因素相互作用导致,其中肠黏膜免疫系统异常免疫应答,导致肠黏膜炎症反应,长期炎症引发UC,是重要发病原因之一;肠道菌群构成了肠道微生物屏障,它通过与病原菌竞争宿主上的营养和黏附位点来抑制病原菌的生长和繁殖^[6]。相关研究报道,肠道乳酸杆菌的数量减少是炎症性肠炎患者肠道微生物的主要特征之一^[7]。本次研究结果显示,与健康人群比较,UC组患者乳酸杆菌数量明显减少,且UC活动期低于缓解期(P 均 < 0.05),提示UC患者的肠道乳酸杆菌数量明显减少,且与临床病情分期密切相关。与王深皓等^[8]研究报道相似,分析其原因可能是由于肠道菌群的失调引发肠道炎症,最终引发UC患者的局部肠损伤。TNF- α 主要是来自单核巨噬细胞,通过细胞膜上的特异性受体,向细胞核传递信息,从而产生促进细胞增殖分化、免疫调节、炎症介导、抗肿瘤等复杂的生物学活性^[9]。IL-4是一种多效性细胞因子,主要由活化T细胞产生,是II型辅助T细胞分泌的细胞因子,属于抗炎细胞因子,在调节体液免疫和适应性免疫中起关键作用,是肠道免疫的重要因子^[10]。IL-17是Th17细胞亚群的标志性促炎细胞因子,可直接促使肠黏膜的炎症性损伤^[11]。IL-23主要由活化的树突状细胞、巨噬细胞及单核细胞等产生,可激活Th17细胞分泌IL-17,加剧肠黏膜的炎症反应^[12]。本次研究结果显示,与健康人群比较,UC组血清IL-4水平明显降低,血清IL-17、IL-23、TNF- α 水平明显升高,且UC活动期血清IL-4水平明显低于UC缓解期,血清IL-17、IL-23、TNF- α 水

平明显高于UC缓解期(P 均 < 0.05),提示UC患者体内免疫与炎症失衡,血清抑炎因子水平明显降低,促炎因子水平明显升高,促使机体炎症损伤加重,肠黏膜炎症损伤进一步恶化,且与临床病情分期密切相关。

国内外研究报道,乳酸杆菌是肠道微生态重要组成部分,也是机体消化道共生系统组分^[13,14];乳酸杆菌细胞壁成分——肽聚糖,能够刺激机体,引起蛋白大量表达,引起保护性炎症反应,激活辅助T淋巴细胞,引起辅助T淋巴细胞免疫反应;乳酸杆菌具有维持肠道上皮细胞再生和稳态的作用,具有修复病理损伤后肠道损伤的作用。本次研究经Pearson相关性分析发现,UC患者血清IL-4水平与肠道乳酸杆菌数量呈正相关,血清IL-17、IL-23、TNF- α 水平与肠道乳酸杆菌数量呈负相关(P 均 < 0.05),表明UC患者的肠道菌群失衡,体内IL-4水平降低,其中肠道乳酸杆菌数量与IL-4水平呈正相关;提示肠道乳酸杆菌失调可能会导致炎症损伤,促进UC病情发展。与张永利等^[15]研究报道一致。IL-23/IL-17轴是UC发生发展的重要细胞因子,可能通过影响患者肠道菌群数量变化,导致肠道微生态失衡,促进UC病情发展^[16]。张焯杰等^[17]研究报道,多器官功能障碍综合征患者肠道菌群紊乱是导致全身炎症反应发生的重要原因之一,其中肠道乳酸杆菌数量与TNF- α 水平呈负相关。

综上所述,UC患者肠道乳酸杆菌数量明显减少,UC活动期肠道乳酸杆菌数量低于缓解期,且可能与炎症指标的变化相关。但本次研究仍存在部分不足,如样本数量较少、单中心研究可能存在部分数据偏倚,但仍为UC发病机制研究提供一定的参考依据,后期仍需进一步采用体外细胞试验或动物试验进行深入分析。

参考文献

- Shen ZH, Zhu CX, Quan YS, et al. Relationship between intestinal microbiota and ulcerative colitis: Mechanisms and clinical application of probiotics and fecal microbiota transplantation[J]. World J Gastroenterol, 2018, 24(1):

- 5-14.
- 2 邢爽,冯京海.乳酸杆菌对肠道上皮紧密连接蛋白的调控[J].动物营养学报,2019,31(4):1540-1546.
 - 3 江浪,李流连.乳酸杆菌水平与糖尿病患者糖脂及炎症指标相关性分析[J].检验医学与临床,2016,13(20):2916-2918.
 - 4 中华医学会消化病学分会炎症性肠病学组.炎症性肠病诊断与治疗的共识意见(2018年·北京)[J].中国实用内科杂志,2018,38(9):796-813.
 - 5 Bewtra M, Brensinger CM, Tomov VT, et al. An optimized patient-reported ulcerative colitis disease activity measure derived from the Mayo score and the simple clinical colitis activity index[J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2014, 20(6):1070-1078.
 - 6 Zhou B, Yuan Y, Zhang S, et al. Intestinal flora and disease mutually shape the regional immune system in the intestinal tract[J]. *Front Immunol*, 2020, 11(1):575.
 - 7 何启卓,郭彩霞.溃疡性结肠炎与克罗恩病患者肠道优势菌群的特征及与发病关系的研究[J].中国中西医结合消化杂志,2019,27(11):844-849.
 - 8 王深皓,钟文婷,鲁晓岚,等.溃疡性结肠炎患者肠黏膜相关菌群与临床表现的关系[J].中华消化杂志,2018,38(11):774-779.
 - 9 Jang DI, Lee AH, Shin HY, et al. The role of tumor necrosis factor alpha (TNF- α) in autoimmune disease and current TNF- α inhibitors in therapeutics[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(5):2719.
 - 10 Le Floch A, Allinne J, Nagashima K, et al. Dual blockade of IL-4 and IL-13 with dupilumab, an IL-4R α antibody, is required to broadly inhibit type 2 inflammation[J]. *Allergy*, 2020, 75(5):1188-1204.
 - 11 He S, Cui S, Song W, et al. Interleukin-17 weakens the naflD/nash process by facilitating intestinal barrier restoration depending on the gut microbiota[J]. *mBio*, 2022, 13(2):368821.
 - 12 王宁,张卫宁,陈雨婕,等.IL-23/IL-17炎症轴与炎症性肠病的关系研究进展[J].细胞与分子免疫学杂志,2021,37(3):271-277.
 - 13 尹明明.乳酸杆菌表面活性片段通过表观遗传学调控肠上皮炎性细胞因子表达的机制研究[D].安徽:安徽医科大学,2017.
 - 14 Wu H, Xie S, Miao J, et al. *Lactobacillus reuteri* maintains intestinal epithelial regeneration and repairs damaged intestinal mucosa[J]. *Gut Microbes*, 2020, 11(4):997-1014.
 - 15 张永利,申妮.溃疡性结肠炎患者肠道菌群的变化特征[J].河北医药,2018,40(7):1054-1057.
 - 16 马旭园,代志峰,王慧超,等.溃疡性结肠炎患者肠道菌群的变化及其与IL-23/IL-17轴的关系[J].中国病理生理杂志,2018,34(5):884-892.
 - 17 张昭杰.MODS患者肠道菌群紊乱与机体免疫应答、炎症反应的相关性分析[J].海南医学院学报,2017,23(13):1780-1782,1786.

(收稿日期 2022-07-14)

(本文编辑 高金莲)