

临床研究

DOI:10.13406/j.cnki.cyxb.003331

肠菌移植治疗炎症性肠病 14 例临床观察

顾家博^{1,3}, 刘建磊², 王俊², 王灿³, 张春霞², 张心怡², 叶晓瑞², 杨阳², 金黑鹰²

(1. 连云港市中医院肛肠科,连云港 222004;2. 江苏省第二中医院肛肠科,南京 210017;

3. 南京中医药大学研究生院,南京 210029)

【摘要】目的: 观察肠菌移植治疗炎症性肠病的安全性和有效性,评价对治疗后炎症指标、疾病评分及肠道菌群组成的影响。**方法:** 选取 2018 年 12 月至 2021 年 12 月于医院肛肠科行肠菌移植治疗炎症性肠病的 14 例患者,比较治疗前后患者炎症指标、疾病评分及治疗效果,16s rDNA 检测肠道菌群变化。**结果:** 经肠菌移植后,第 15 周临床有效率为 85.71% (13/15);患者炎症指标、Mayo 及疾病评分、肠道菌群多样性及相对丰度较前改善,差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。**结论:** 肠菌移植治疗炎症性肠病疗效显著,不良反应少,安全性高,值得临床推广应用。

【关键词】 肠菌移植; 炎症性肠病; 肠道菌群**【中图分类号】**R57**【文献标志码】**A**【收稿日期】**2022-07-28

Clinical observation on 14 cases of inflammatory bowel disease treated by fecal microbiota transplantation

Gu Jiabo^{1,3}, Liu Jianlei², Wang Jun², Wang Can³, Zhang Chunxia², Zhang Xinyi², Ye Xiaorui², Yang Yang², Jin Heiying²

(1. Anorectal Department, Lianyungang Hospital of Traditional Chinese Medicine; 2. Anorectal Department, Jiangsu Provincial Second Chinese Medicine Hospital; 3. Graduate School of Nanjing University of Chinese Medicine)

[Abstract] **Objective:** To observe the safety and efficacy of fecal microbiota transplantation in the treatment of inflammatory bowel disease, and to evaluate the effect on inflammatory indexes, disease scores, and composition of gut microbiota after treatment. **Methods:** A total of 14 patients with inflammatory bowel disease who underwent fecal microbiota transplantation in the Anorectal Department of our hospital from December 2018 to December 2021 were selected to compare the clinical efficacy, inflammatory indexes, Mayo and CDAI disease scores, and to compare the composition of gut microbiota by 16s rDNA detection before and after treatment. **Results:** After fecal microbiota transplantation, the clinical remission rate was 85.71% (13/15) in the 15th week; the inflammatory indexes, Mayo and CDAI disease scores, diversity and relative abundance of gut microbiota were improved, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion:** Fecal microbiota transplantation in the treatment of inflammatory bowel disease has a significant curative effect, few adverse reactions, and high safety, which is worthy of clinical application.

[Key words] fecal microbiota transplantation; inflammatory bowel disease; gut microbiota

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是由免疫介导的复杂性炎症性疾病,其典型特征包括肠上皮屏障功能障碍、肠道生态失调及肠黏膜免疫反应失调等^[1]。该病的发生发展与肠道微生物群

作者介绍: 顾家博, Email: gujibo@njucm.edu.cn,

研究方向: 炎症性肠病、单克隆抗体耐药。

通信作者: 金黑鹰, Email: jinheiying@hotmail.com。

基金项目: 江苏省中医药管理局面上资助项目(编号: MS2021030)。

优先出版: <https://link.cnki.net/urlid/50.1046.R.20230927.1733.028>

(2023-10-07)

失调密切相关^[2-3]。正常的肠道微生物群可以调节肠上皮屏障功能^[4-5]、恢复肠道微生态系统及黏膜反应^[6],改善肠道炎症。该病的治疗以诱导、维持临床缓解及黏膜愈合为目标,方案的选择建立在对病情全面评估的基础上,主要根据疾病的活动程度、病变累及范围、既往治疗方案及肠外表现等进行选择。肠菌移植(fecal microbiota transplantation, FMT)通过移植正常人群肠道微生物群,直接改变肠道微生态,是治疗 IBD 的有效方法^[7]。

为了进一步了解 FMT 治疗 IBD 的临床疗效,本研究旨在通过观察 FMT 治疗前后,患者的一般情况、实验室检查炎症指标、疾病评分及肠道菌群组成等,探讨该疗法的安全性、有效性及对肠道菌群的影响,为进一步开展肠菌移植疗法提供治疗经验和数据支撑。

1 资料与方法

1.1 研究对象

本研究为回顾性研究,收集 2018 年 12 月至 2021 年 12 月于江苏省第二中医院肛肠科行 FMT 治疗 IBD 的 14 例患者临床资料。本研究符合伦理要求,并通过江苏省第二中医院伦理委员会审核批准(批件号:20180801),所有患者均知情同意。

1.2 纳入标准和排除标准

纳入标准:①符合 IBD 西医诊断标准,诊断标准参照《炎症性肠病诊断与治疗的共识意见(2018 年·北京)》^[8];②年龄为 18~65 岁,性别不限;③患者自愿参加本临床试验,并签署知情同意书。

排除标准:①处于妊娠期或试验期间有妊娠计划的妇女;②患者移植前 3 个月参与其他临床试验;③入组前已参加其他任何菌群治疗;④任何传染性疾病急性期、严重的免疫缺陷;⑤严重心肺、肝、肾功能不全的患者;⑥严重贫血(血红蛋白<60 g/L)、粒细胞减少(中性粒细胞绝对值<1.5×10⁹/L)。

1.3 肠菌移植方法

菌群制剂由 8~14 岁健康男童提供,供体筛查标准参考 Owens C 等^[9]制定的标准,在中国科学技术大学生物安全Ⅱ

级实验室进行菌群制剂标准化制备,在-80 °C(6 个月以内)低温冻存,使用时经干冰保藏箱从中国科学技术大学快递至本院,置于-20 °C 保存,移植前需将菌群制剂复温至 37 °C 左右。通过肠镜灌注 120 mL 肠道菌群制剂至回盲部及升结肠,而后分别于第 3 天、第 5 天、第 14 天、第 21 天、第 28 天用 120 mL 肠道菌群制剂进行灌肠治疗。

1.4 观察指标及评价方法

观察指标:①一般情况:血压、体质指数、腰臀比等;②炎症指标:白细胞、超敏 C 反应蛋白、血沉;③症状评分:对患者进行克罗恩氏病活动指数(Crohn's Disease Activity Index, CDAI)评分、Mayo 评分。治疗前及治疗第 3 周、第 5 周、第 12 周分别观察以上指标,并在治疗后第 12 周行肠镜检查观察肠黏膜变化。在患者 FMT 前 1 天及第 1 次 FMT 后第 12 周分别收集当日粪便进行 16S rDNA 检测。

评价方法:疾病的临床治愈和临床缓解判断标准参考诊疗指南^[8]。

1.5 统计学处理

采用 Graph-Pad Prism v9 软件进行统计学处理及作图。计量资料符合正态分布采用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,使用配对样本 t 检验或重复数据测量检验。不符合正态分布采用 $M_d(P_{25}, P_{75})$ 表示,使用 Kruskal Wallis 检验或单因素方差分析。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结 果

2.1 临床资料

本研究共纳入 IBD 患者 14 例,其中男性 10 例,女性 4 例;平均年龄(36.29 ± 12.64)岁,病程(2.85 ± 2.96)年,患者基本信息详见表 1。

表 1 IBD 患者一般资料

编号	性别	年龄(岁)	分类	病程(年)	治疗方法
1	女性	28	CD	0.5	美沙拉嗪口服 1 g,2 次/d,持续半年
2	男性	24	CD	0.1	美沙拉嗪口服 1.5 g,3 次/d,持续 1 个月
3	男性	54	CD	4.0	美沙拉嗪口服 1 g,3 次/d,持续 2 年,现已停药
4	男性	37	CD	5.0	中药、益生菌类间断口服,具体用药及剂量不详 外院粪菌移植 1 次
5	女性	45	UC	0.1	未治疗
6	男性	26	UC	4.0	美沙拉嗪口服 1 g,3 次/d,持续 1 年,现已停药
7	男性	53	UC	8.0	中药制剂间断灌肠,具体用药及剂量不详 自行用家中儿童粪菌灌肠,具体操作不详
8	男性	50	UC	6.0	美沙拉嗪口服 1 g,2 次/d,现已停药,中药制剂间断灌肠,具体用药及剂量不详
9	男性	54	UC	8.0	间断美沙拉嗪口服,未系统治疗。
10	男性	30	UC	1.0	美沙拉嗪口服 1 g,2 次/d,持续 1 年
11	男性	18	UC	0.1	未治疗
12	女性	23	UC	0.1	未治疗
13	女性	35	CD	1.0	美沙拉嗪口服 1 g,3 次/d,持续 1 年
14	男性	31	UC	2.0	中药制剂间断灌肠,具体用药及剂量不详

2.2 临床疗效分析

有 3 例 IBD 患者从 FMT 第 3 周时起效并持续缓解, 有 9 例 IBD 患者从 FMT 第 5 周时起效并持续缓解, 有 2 例 IBD 患者直至第 15 周, 临床症状缓解不明显, 第 15 周临床有效率为 85.71% (13/15)。

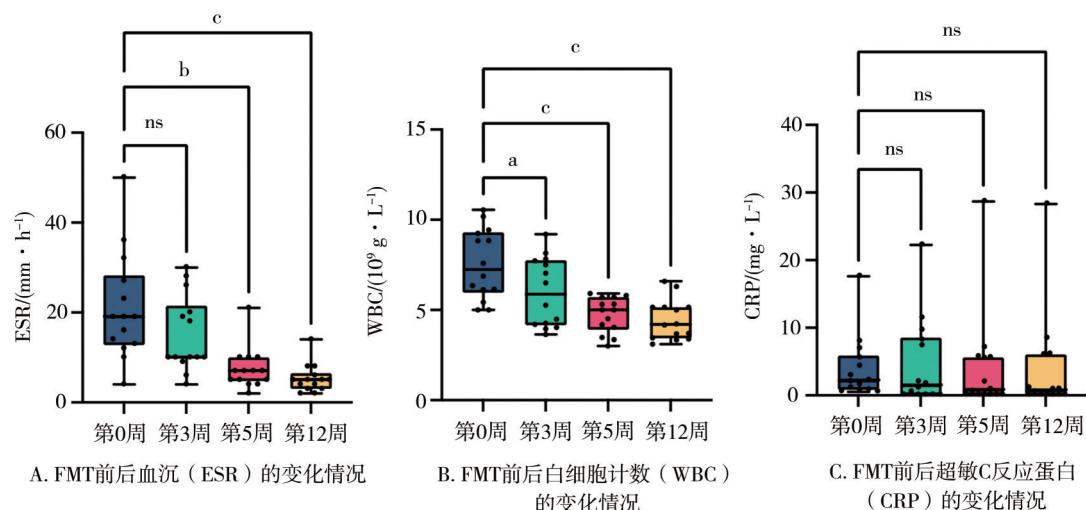
2.3 炎症指标变化

随着治疗进展, 血沉指标呈逐渐下降趋势, 在治疗第 5 周及第 12 周时, 差异均具有统计学意义 ($P<0.001$); 白细胞计数呈逐渐下降趋势, 在治疗第 3 周、第 5 周及第 12 周时, 差异分别具有统计学意义 ($P<0.05$ 、 $P<0.001$ 、 $P<0.001$); 超敏 C

反应蛋白指标各组间, 差异无统计学意义, 提示 FMT 可以改善患者部分炎症指标变化, 详细数据见图 1。

2.4 疾病评分变化

肠镜下见远端结肠、直肠黏膜充血、水肿、糜烂、出血和肠腔狭窄较前改善, 治疗前后对比见图 2; 患者的 Mayo 评分在治疗第 12 周时, 差异具有统计学意义 ($P=0.001$); 患者的 CDAI 评分呈逐渐下降趋势, 在治疗第 5 周及第 12 周时, 差异具有统计学意义 ($P=0.007$ 、 $P<0.001$), 提示 FMT 可以改善患者疾病评分, 详细数据见图 3。



注: a 为 $P<0.05$, b 为 $P<0.001$, c 为 $P<0.0001$

图 1 FMT 前后炎症指标的变化情况

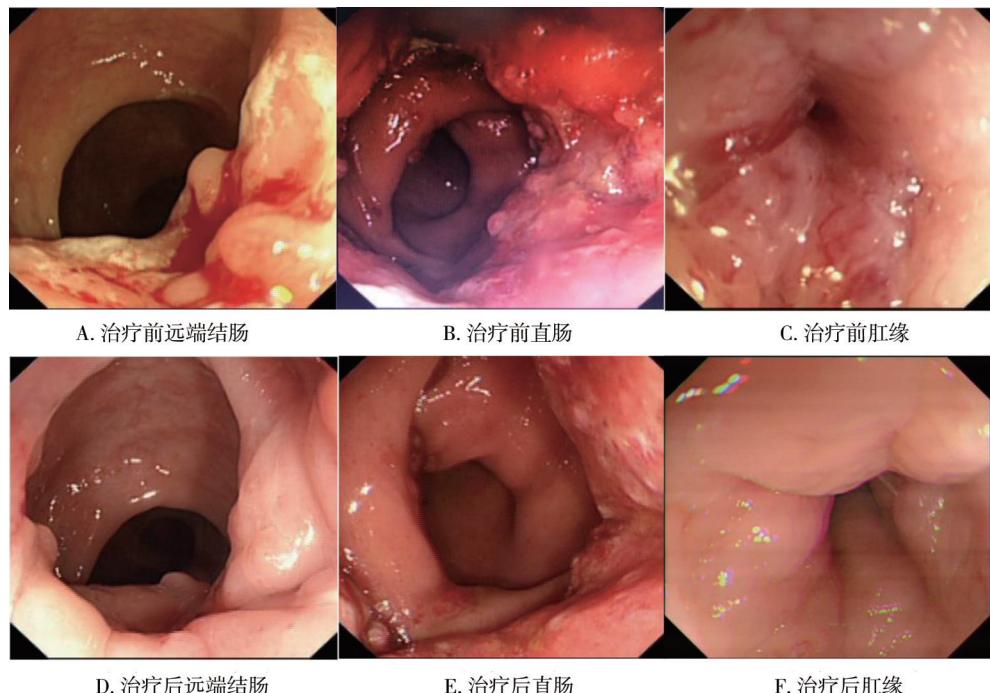
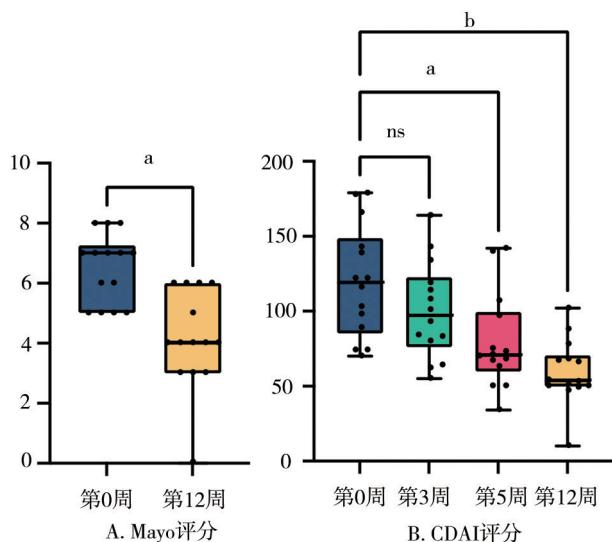


图 2 治疗前后内镜下黏膜对比图



注: 显著性由 ANOVA 的 Tukey 分析确定,a 为 $P<0.01$,b 为 $P<0.0001$

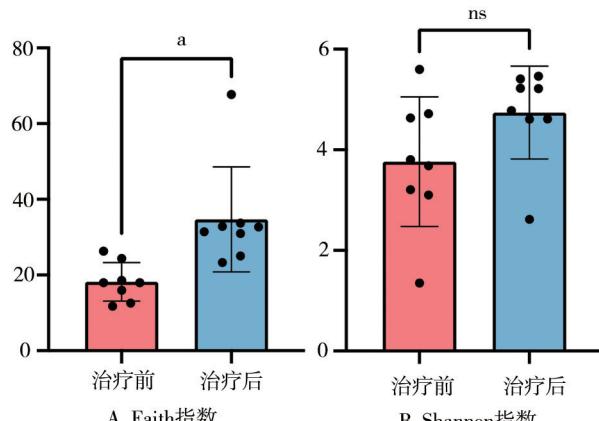
图 3 FMT 前后 Mayo 及 CDAI 评分

2.5 肠道菌群变化

共有 8 位患者完整地监测到 FMT 前后肠道菌群的变化,并对患者肠道菌群进行多样性分析、肠道菌群构成及差异性分析。

从评估肠道菌群 α 多样性的 Faith 指数和 Shannon 指数上看, FMT 第 3 个月后患者的 Faith 指数明显上升, 差异具有

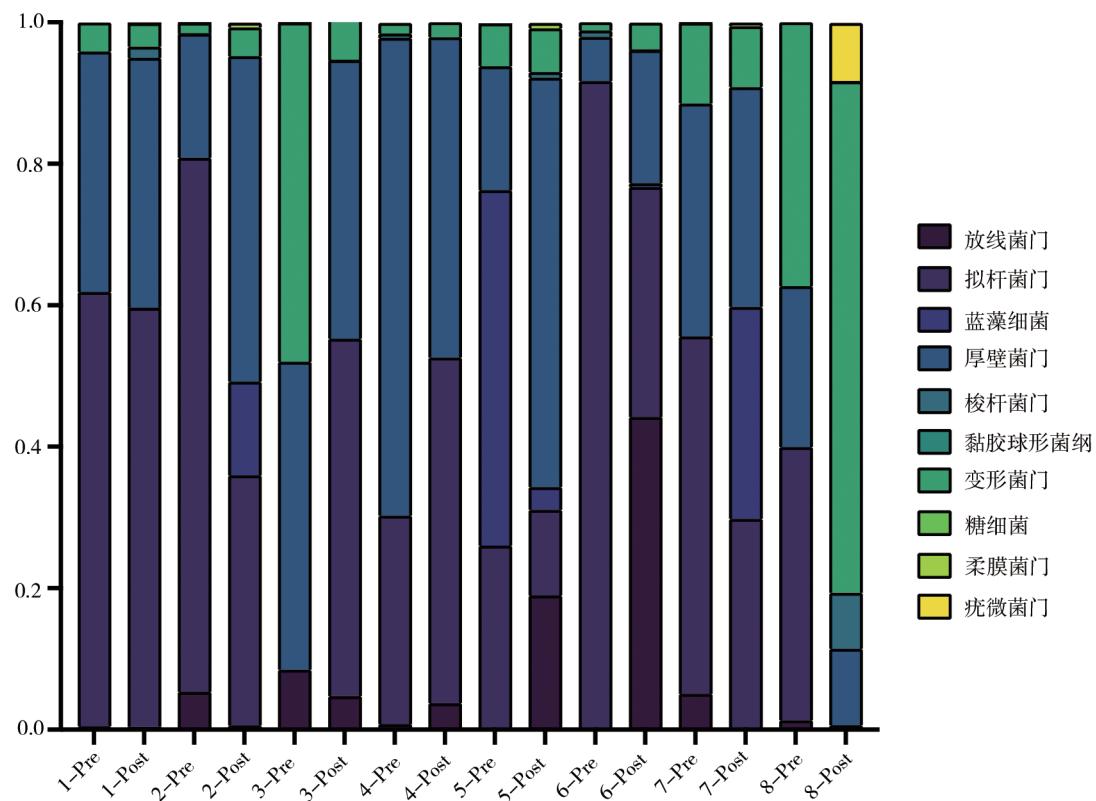
统计学意义 ($P=0.008$), 提示 FMT 可以改善患者肠道菌群 α 多样性, 详细数据见图 4。



注: 显著性由 ANOVA 的 Tukey 分析确定,a 为 $P<0.01$

图 4 FMT 前后 Faith 指数及 Shannon 指数

从肠道菌群构成及差异性分析中观察到, FMT 治疗前后, 细菌门分类的相对丰度比较见表 2, 其中拟杆菌门的相对丰度提高, 差异具有统计学意义 ($P=0.030$); 经 FMT 治疗后, 细菌门分类水平的肠道菌群结构呈现多样化, 肠道菌群种类较前增加, 详细对比情况如图 5。



注: Pre 表示治疗前, Post 表示治疗后, 1~8 为患者编号

图 5 治疗前后肠道菌群结构对比

表2 细菌门分类的相对丰度比较

分类	治疗前	治疗后	P	t
放线菌门	0.027 ± 0.032	0.092 ± 0.155	0.318	1.075
拟杆菌门	0.135 ± 0.199	0.466 ± 0.294	0.030	1.046
蓝藻细菌	0.063 ± 0.178	0.059 ± 0.107	0.959	0.054
厚壁菌门	0.303 ± 0.191	0.356 ± 0.153	0.493	0.723
梭杆菌门	0.002 ± 0.003	0.013 ± 0.027	0.311	1.091
变形菌门	0.139 ± 0.183	0.132 ± 0.240	0.930	0.091

注: 显著性由 ANOVA 的 Tukey 分析确定

2.6 安全性评价

有 1 例患者在第一次内镜下肠菌移植当天出现发热 (38.4 °C), 物理降温后第 2 天上述症状消失, 其余 13 例患者无明显不良反应。

3 讨 论

健康的肠道微生物群是一个多样、稳定且有张力的微生态系统, 由环境和宿主因素导致的微生物群功能和组成的紊乱是微生态失调的主要原因^[10]。肠道微生物群主要由拟杆菌门和厚壁菌门组成, 共同代表约九成的微生物群^[11]。拟杆菌在肠道内是与宿主保持复杂且普遍有益的关系, 可以提高多糖的分解利用率、加速肠道黏膜血管新生及提高宿主免疫力的作用^[12]。多项研究显示, FMT 治疗成功与否与肠道菌群失衡的改善及多样性恢复有关^[13], 供体的选择是肠道菌群改善的基础^[14]。结合本研究结果, FMT 改善了 IBD 患者肠道内拟杆菌门的相对丰度, 增加了肠道菌群 α 多样性, 纠正了菌群失衡, 与既往研究相符。

尽管 IBD 的机制尚不明确, 但与遗传因素^[15]、环境因素、肠道微生物群^[16]及免疫反应有关被广泛认可。肠道黏膜炎症部位发生由细胞应激引起的微环境变化, 影响黏膜屏障完整性、免疫调节及肠道微生物群的组成、多样性和代谢特征等改变^[2]。研究发现, 肠道微生物群充足的小鼠肠上皮细胞中, 组蛋白脱乙酰酶 3 (histone deacetylase 3, HDAC3) 活性增加, 包括大肠杆菌的共生菌通过植酸盐的代谢和肌醇三磷酸 (myo-inositol 1,4,5-trisphosphate, InsP₃) 的产生来刺激 HDAC 活性, 肠道暴露于 InsP₃ 可促进肠道损伤后的黏膜修复^[17]。同时, 树突状细胞衍生的铁调素从肠道微生物群中螯合铁, 限制肠道吞噬细胞的铁释放, 以防微生物群浸润黏膜组织, 从而促进肠道黏膜修复愈合^[18]。以上研究结果均提示, 维持肠道微生物群的稳态及多样性和丰

度, 可以促进肠道黏膜修复, 保障黏膜屏障完整性。

通过分析 FMT 治疗起效时间, 观察炎症指标及疾病评分变化发现, 在第 5 周时这些观察结果较治疗前, 差异明显具有意义。目前尚缺乏关于移植后的菌群在宿主体建立新的平衡所需时间的研究, 这可能与菌群在体内定植繁衍代谢相关。同时, 原有菌群通过抗菌物的分泌、营养的竞争、肠道屏障完整性的维持及噬菌体的部署等机制达到抵抗的作用, 所以这还与原有肠道微生物群具有抵抗外源性微生物定植的作用相关^[19]。崔伯塔^[20]对 CD 患者行单次 FMT, 临床有效率和缓解率在 FMT 治疗 1 个月后达到最高, 认为移植的肠道菌群与宿主菌群建立新的平衡需 1 个月左右, 方能达到 FMT 的最大疗效。同时, FMT 治疗后 1 个月左右的时间也可作为观察短期、长期不良反应的分界点。Wang HG 等^[21]发现不良反应均发生在 FMT 治疗 1 个月内, 1 个月后未观察到不良反应, 建议以 1 个月作为界定 FMT 的短期和长期不良反应。

FMT 移植方式有经上消化道和下消化道方式, 不论是针对复发性艰难梭菌感染还是 IBD, 移植方式对疗效没有影响^[22-23], 欧洲 FMT 共识^[24]推荐通过结肠镜的方式进行 FMT, 这不仅能达到治疗的作用, 还能准确定植菌群、观察肠道黏膜变化, 灌肠移植是一种价格低廉、操作方便、安全性高的移植方式, 故患者更容易接受经下消化道的方式。本研究采用肠镜联合灌肠方式, 取得了良好的疗效。

由于人种、生活习惯及饮食习惯等多种因素, 导致中国人肠道菌群组成及丰度与欧美国家不同, 所以不能照搬欧美治疗指南。本研究开始初期, 国内尚缺乏关于 FMT 的共识或指南, 对供体选择、肠菌制剂制备、移植方式、频率及剂量等尚无共识, 直至 2020 年下半年, 我国首个专家共识《菌群移植标准化方法学的建立与临床应用中国专家共识》^[25]发布, 该共识规范了供体筛选与管理标准、FMT 患者入选和排除标准、肠道准备标准和方法、FMT 治疗时机标准、FMT 治疗剂量标准、FMT 治疗疗程和重复治疗周期标准、联合用药标准、FMT 临床治愈或缓解标准及不良反应处理流程和标准, 为进一步规范指导临床治疗提供依据。

综上所述, FMT 能恢复肠道菌群失衡, 提高菌群多样性, 减轻肠道黏膜病变, 达到降低 IBD 患者炎症指标、缓解临床症状、提升生活质量的作用, 是被广泛接受、值得临床推广应用的治疗方法。

参 考 文 献

- [1] de Souza HSP, Fiocchi C. Immunopathogenesis of IBD: current state of the art[J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2016, 13(1):13–27.
- [2] Larabi A, Barnich N, Nguyen HTT. New insights into the interplay between autophagy, gut microbiota and inflammatory responses in IBD [J]. *Autophagy*, 2020, 16(1):38–51.
- [3] Ni J, Wu GD, Albenberg L, et al. Gut microbiota and IBD: causation or correlation? [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2017, 14(10): 573–584.
- [4] Wu ZH, Huang SM, Li TT, et al. Gut microbiota from green tea polyphenol-dosed mice improves intestinal epithelial homeostasis and ameliorates experimental colitis[J]. *Microbiome*, 2021, 9(1):184.
- [5] Foley SE, Tuohy C, Dunford M, et al. Gut microbiota regulation of P-glycoprotein in the intestinal epithelium in maintenance of homeostasis[J]. *Microbiome*, 2021, 9(1):183.
- [6] Pickard JM, Zeng MY, Caruso R, et al. Gut microbiota; role in pathogen colonization, immune responses, and inflammatory disease[J]. *Immunol Rev*, 2017, 279(1):70–89.
- [7] Costello SP, Hughes PA, Waters O, et al. Effect of fecal microbiota transplantation on 8-week remission in patients with ulcerative colitis: a randomized clinical trial[J]. *JAMA*, 2019, 321(2):156–164.
- [8] 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.
- Inflammatory Enterology Group, BranchGastroenterology, Chinese Medical Association. Consensus on diagnosis and treatment of inflammatory bowel disease (2018, Beijing)[J]. *Chin J Pract Intern Med*, 2018, 38(9): 796–813.
- [9] Owens C, Broussard E, Surawicz C. Fecal microbiota transplantation and donor standardization[J]. *Trends Microbiol*, 2013, 21(9): 443–445.
- [10] Lozupone CA, Stombaugh JI, Gordon JI, et al. Diversity, stability and resilience of the human gut microbiota[J]. *Nature*, 2012, 489(7415):220–230.
- [11] Budden KF, Shukla SD, Rehman SF, et al. Functional effects of the microbiota in chronic respiratory disease[J]. *Lancet Respir Med*, 2019, 7(10):907–920.
- [12] Zafar H, Jr Saier MH. Gut *Bacteroides* species in health and disease[J]. *Gut Microbes*, 2021, 13(1):1–20.
- [13] Ooijevaar RE, Terveer EM, Verspaget HW, et al. Clinical application and potential of fecal microbiota transplantation[J]. *Annu Rev Med*, 2019, 70:335–351.
- [14] Paramsothy S, Paramsothy R, Rubin DT, et al. Faecal microbiota transplantation for inflammatory bowel disease: a systematic review and meta-analysis[J]. *J Crohns Colitis*, 2017, 11(10):1180–1199.
- [15] Turpin W, Goethel A, Bedrani L, et al. Determinants of IBD heritability: genes, bugs, and more[J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2018, 24(6): 1133–1148.
- [16] Lee M, Chang EB. Inflammatory bowel diseases(IBD) and the microbiome: searching the crime scene for clues[J]. *Gastroenterology*, 2021, 160(2):524–537.
- [17] Wu SE, Hashimoto-Hill S, Woo V, et al. Microbiota-derived metabolite promotes HDAC3 activity in the gut[J]. *Nature*, 2020, 586(7827):108–112.
- [18] Bessman NJ, Mathieu JRR, Renassia C, et al. Dendritic cell-derived hepcidin sequesters iron from the microbiota to promote mucosal healing[J]. *Science*, 2020, 368(6487):186–189.
- [19] Ducarmon QR, Zwittink RD, Hornung BVH, et al. Gut microbiota and colonization resistance against bacterial enteric infection[J]. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2019, 83(3):e00007–e00019.
- [20] 崔伯塔. 粪菌移植治疗炎症性肠病的临床有效性及安全性研究[D]. 南京:南京医科大学, 2017.
- Cui B(B)D/T). Clinical efficacy and safety of fecal bacteria transplantation in the treatment of inflammatory bowel disease[D]. Nanjing: Nanjing Medical University, 2017.
- [21] Wang HG, Cui BT, Li QQ, et al. The safety of fecal microbiota transplantation for crohn's disease: findings from A long-term study[J]. *Adv Ther*, 2018, 35(11):1935–1944.
- [22] Kao DN, Roach B, Silva M, et al. Effect of oral capsule- vs colonoscopy-delivered fecal microbiota transplantation on recurrent *Clostridium difficile* infection: a randomized clinical trial[J]. *JAMA*, 2017, 318(20):1985–1993.
- [23] Fang HM, Fu L, Wang JJ. Protocol for fecal microbiota transplantation in inflammatory bowel disease: a systematic review and meta-analysis[J]. *Biomed Res Int*, 2018, 2018:8941340.
- [24] Cammarota G, Ianiro G, Tilg H, et al. European consensus conference on faecal microbiota transplantation in clinical practice[J]. *Gut*, 2017, 66(4):569–580.
- [25] 菌群移植标准化方法学的建立与临床应用中国专家共识[J]. 中华胃肠外科杂志, 2020, 23(Z1):5–13.
- Establishment of standardized methodology for bacterial transplantation and consensus of Chinese experts in clinical application[J]. *Chin J Gastrointest Gastrointestinal Surg*, 2020, 23(Z1):5–13.

(责任编辑:周一青)