

肠道微生物对慢性肝病影响的研究进展

王 蓉¹, 谢伶俐¹, 宋明宇²

(¹ 长江航运总医院 消化内科, 武汉 430014)

(² 华中科技大学同济医学院附属同济医院, 武汉 430030)

关键词: 肝疾病, 酒精性; 胆管炎; 肝硬化

doi: 10.3969/j.issn.1671-038X.2019.11.19

中图分类号: R575

文献标志码: A

人体是由数以万亿计的细胞组成,而与人体共生的、存在于胃肠道的微生物的数量也达到了同样的数量级^[1]。人类肠道微生物群的多样性与多种因素相关,例如:遗传背景、年龄、免疫系统形成、地理位置、短期与长期的膳食结构等^[2]。

肠道微生物群中大概有 150~200 种常见的细菌种类,而且古细菌、真菌、原虫、病毒等也在其中发挥作用。它们在机体食物处理过程中发挥重要作用,例如可以分解复杂多糖,合成多种维生素^[3]。它们分泌的大量物质在免疫过程中发挥重要作用^[4]。生物信息学的发展,引发了肠道菌群的核心种群的识别和宏基因组分析。人类微生物组计划是为了描绘存在于健康人群肠道、口腔、皮肤、阴道等部位的微生物群。在过去的几十年中,研究者逐渐认识到,肠道微生物群在人体健康保持及肠道/肠外疾病的发生、发展中发挥重要作用。而目前我们不仅仅要满足于观察现象,更要探究它们在什么方面存在相关性,什么方面存在因果关系。我们要更好的认识肠道微生物群如何与宿主的生理产生相互作用,最终我们希望将个体的微生物群整合到个性化医疗保健中,通过更加综合的理解这些疾病过程,并可以对疾病状态进行分类,并针对性调节肠道微生物群以期在治疗多种慢性肝脏疾病中发挥重要作用。

本综述主要研究肠道微生物群及其在慢性肝脏疾病——酒精性肝病、非酒精性脂肪肝病、原发性硬化性胆管炎、肝硬化中的作用。并且探讨在临床实践中利用益生菌、益生元、抗生素、粪便微生物移植等方式调节肠道微生态对慢性肝脏疾病的治疗效应。

1 肠道微生物

相较于皮肤、口腔、阴道等部位,胃肠道的微生物在取样方面更加复杂。近年来,大量的研究者关注于肠道微生物群,因为此处存在最大的微生物密

度及数量。而大多数的数据来源于粪便取样,少部分来源于黏膜活检取样。虽然粪便取样简便,但是其中的微生物群并不能代表完整肠道内微生物群的状态,因为,近年来有研究发现,小肠内存在大量的细菌组成,与结肠内细菌相比动态变化性更强^[5],而且由于肠道各段内食物分子大小不同,肠道菌群种类区别较大。并且大量的数据来源于北美和欧洲的研究,而亚洲、非洲及南美的数据较少,因此存在选择偏倚。

胃肠道的微生物主要由两大门类组成:厚壁菌门和拟杆菌门,除此之外还有 10 个不同门类的细菌在肠道微生物中占有重要组成部分,此外包括病毒及真菌等。研究发现厚壁菌和拟杆菌之间的比例在人群间存在较大差别,然而某种细菌的大量耗竭,可能会引起疾病的发生,例如柔嫩梭菌群与炎性肠病的发生间存在重要联系。我们知道肠道菌群与宿主间存在重要联系,但是我们不清楚哪个关键物种,或者说肠道菌群整体发挥重要作用。物种间的菌株差异决定了它们是致病菌或益生菌^[6]。

2 肠道微生物与酒精性肝病

酒精性脂肪肝是发病率及死亡率均比较高的疾病之一^[7]。由于并不是所有的酗酒者均存在肝脏损伤,慢性酒精滥用似乎并不是唯一的引起肝脏功能紊乱的原因。大量的动物模型及临床研究提示肠道菌群产物例如内毒素可能介导炎症反应,这在酒精引起的肝脏损伤过程中起到辅助作用。酒精会导致某些肠道菌群的过度繁殖,与健康人群相比,过度饮酒者自空肠内取样中细菌数量明显增多。类似的发现在酒精性肝硬化患者中也存在,并且细菌过度增殖的程度与肝硬化的程度相关^[8]。而且酒精性肝病患者的肠道通透性增加,这将导致更多的细菌及其代谢产物转移到肝脏^[9]。Kirpisch 等^[10]通过培养粪便菌群发现长期饮酒者双歧杆菌、大肠杆菌和乳酸杆菌属数量明显减少,并且通过口服含有双歧杆菌的益生菌可以改善这种情况。研究发现,相对于健康人群,酒精性肝硬化患者的肠道微生物群中拟

收稿日期:2019-07-01

作者简介:王 蓉,女,硕士,主治医师,研究方向:胃肠病及肝脏疾病
通讯作者:宋明宇, E-mail: langzhiwu126@126.com

杆菌属数量降低而梭菌属及变形菌属数量增加^[11]。类似的有研究发现酗酒者结肠黏膜菌群中,拟杆菌属数量较少而存在大量变形杆菌,并且相应的酗酒者存在较高的血清内毒素水平^[12]。

局部的肠道免疫包括防御及其他抗菌因素可能组成调控微生物群的主要参与者。长期大量酒精者减少肠道水平的抗微生物再生胰岛衍生凝集素(REG3)。肠道特异性缺乏 REG3B 或 REG3G 可造成肠道微生物数量增加,相应的转移到肠系膜淋巴结的细菌数量也增多,然后肝脏加剧酒精引起的脂肪性肝炎。相反地,肠道上皮过度表达 REG3G 可以保护实验动物的酒精引起的肝脏损伤^[13]。

利用益生菌减少酒精性脂肪肝患者小肠内肠道微生物的过度增殖治疗已有文献报道^[14]。在一项多中心研究中,117 位患有酒精性肝炎患者给予 7 d 益生菌(枯草杆菌/屎链球菌)治疗,并且入院戒酒,与安慰剂组比较,益生菌组粪便大肠杆菌培养数量明显降低,而且益生菌治疗组患者血清低密度脂蛋白、肿瘤坏死因子 α 水平降低,而白蛋白水平增高。通过利用益生元、益生菌及粪便微生物移植等方法调节肠道微生物群,可能成为治疗酒精性脂肪肝的新的治疗措施。

3 肠道微生物与非酒精性脂肪肝

非酒精性脂肪肝是肝脏代谢综合征的表现,在肥胖的人群中容易发病。它包含多种肝脏病理表现:单纯性脂肪变性、非酒精性脂肪性肝炎、终末期肝病或肝硬化。非酒精性脂肪肝中的肝纤维化或肝硬化与肝癌的发病中存在重要联系。

出生时肠道微生物群的形成可能影响非酒精性脂肪肝的发病,Nobili 等研究发现坚持母乳喂养的人群中非酒精性脂肪肝的发病率大大降低^[15]。而且人类基因组中缺乏一些代谢复杂碳水化合物分解为短链脂肪酸。拟杆菌门和壁厚菌门细菌都可以编码碳水化合物降解酶,然而与壁厚菌门相比,拟杆菌门编码碳水化合物降解酶的数量更多^[16]。研究发现与健康人群相比,非酒精性脂肪肝和肥胖症患者拟杆菌/壁厚菌的比值更高。而且与肥胖及健康人相比非酒精性脂肪肝患者中大肠杆菌的数量更多^[17]。Wong 等^[18]比较了 16 例活检证实的非酒精性脂肪肝患者与 22 例健康人的粪便菌群,在种属水平上,非酒精性脂肪肝患者的粪肠杆菌和厌氧杆菌含量较低,副杆菌属含量较高。目前存在多项研究提示,肠道微生物的代谢活动可能参与调解肝脏脂肪生成,并最终影响肝脏细胞脂肪变性过程^[19],但是目前没有明确某种细菌或哪些代谢产物

在其中发挥作用。

近年来较多研究者通过调节肠道菌群治疗非酒精性脂肪肝。Daubioul 等^[20]给予活检证实的非酒精性脂肪肝患者为期 8 周口服益生元(低聚果糖),与口服安慰剂的对照组相比,试验组的血清丙氨酸、天冬氨酸转移酶及胰岛素水平明显降低。另外也有研究表明,口服合生元(含有益生菌双歧杆菌,益生元菊粉型果聚糖)可以明显降低非酒精性脂肪肝患者的天冬氨酸转移酶、C 反应蛋白、胰岛素抵抗、血清内毒素、低密度脂蛋白及脂肪变性情况^[21]。目前关于益生元、益生菌、合生元及粪便微生物移植在非酒精性脂肪肝的治疗的大规模临床研究正在进行中。

4 肠道微生物与原发性硬化性胆管炎

原发性硬化性胆管炎是一种免疫相关的肝脏疾病,可以逐渐引起胆道系统损害,通常利用碱性磷酸酶来检测疾病的活动情况。原发性硬化性胆管炎患者有很大比例疾病进展到胆管癌或胆囊癌阶段^[22]。该疾病与炎症性肠病关系密切,大概 70% 的原发性硬化性胆管炎患者伴有炎症性肠病,约有 5% 的炎症性肠病患者患有原发性硬化性胆管炎。

近年来很多研究表明肠道菌群在该疾病的发生发展中起到重要作用。16S rRNA 基因测序分析显示,与健康人群相比原发性硬化性胆管炎患者的肠道菌群多样性明显降低^[23]。有研究比较了 27 例原发性硬化性胆管炎患儿、16 例溃疡性结肠炎患儿及年龄匹配的 23 例健康儿童的粪便菌群,与健康对照组相比,副杆菌属的菌群比例较低而肠球菌的比例较高^[24]。Sabino 等^[25]研究发现,与对照组健康人群相比,原发性硬化性胆管炎患者的粪便菌群多样性明显失衡,其粪便中肠球菌、梭杆菌、乳杆菌的量明显增加。

目前针对肠道微生物治疗原发性硬化性胆管炎的研究主要限于抗生素方面的研究。在一项 80 例患者的随机对照研究中,试验组患者给予熊去氧胆酸($15 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)结合甲硝唑治疗,对照组仅接受熊去氧胆酸治疗,36 个月后,试验组的血清碱性磷酸酶明显降低,而且组织学分级明显得到改善^[26]。Tabibian 等^[27]比较了万古霉素及甲硝唑在该病中的作用,发现治疗 3 个月后万古霉素可以更好地降低患者的血清碱性磷酸酶水平。

5 肠道微生物与肝硬化

肝硬化是酒精性脂肪肝、非酒精性脂肪肝、原发性硬化性胆管炎疾病进展后肝脏病变的终末阶段。在肝硬化患者中,感染明显增加患者死亡率,约有 30% 的患者在感染发生后 1 月内死亡,有约 30% 患

者在感染后 1 年内死亡。肝硬化患者肠道菌群异位明显增加,并且循环血中细菌 DNA 含量增加,胃肠道是病原体的主要来源。细菌异位在肝脏疾病患者全身感染发病中起到重要作用,而且肠道菌群在发生异位或绕过肠道屏障的能力存在区别。

在裸鼠实验中,肠道菌群中大肠杆菌、变形杆菌、肠杆菌与菌血症的发生密切相关。有研究者通过对 16S rRNA V3 区域的焦磷酸测序及后续的实时定量 PCR 分析比较了肝硬化患者与健康人群粪便微生物群。肝硬化患者组粪便菌群类杆菌明显减少而变形杆菌、梭状杆菌数量明显增加。而且潜在致病菌——肠杆菌、链球菌的出现及肠道益生菌的减少可能影响肝硬化患者的临床表现甚至预后^[28]。类似的研究也发现肠道微生物与肝硬化的严重程度存在明显相关性。肝硬化伴有或不伴有感染的患者肠道菌群存在明显区别^[29]。肠道微生物群的组成可以预测肝硬化患者的失代偿和住院率。Qin 等^[30]用宏基因组分析方法观察比较了 98 例肝硬化患者与 83 例健康人,他们发现肝硬化患者中存在明显的肠道菌群失调,而且 54% 的失调菌类来源于颊部,这提示当口腔菌群出现在消化道中时可能导致疾病的进展或恶化。

肠道菌群改变与肝硬化之间的密切关系,为肝硬化提供了一个治疗重要的靶点。目前的研究主要集中在益生菌、益生元、抗生素及粪便微生物移植等方面。益生元——乳果糖是治疗肝硬化和肝性脑病患者的一线用药。一项随机对照临床研究发现口服乳果糖可以明显降低肝硬化患者肝功能衰竭、肝肾综合征、静脉曲张出血的发病率^[31]。给予肝硬化和肝性脑病患者口服益生元可以明显增加肠道菌群中益生菌数量,降低大肠杆菌、葡萄球菌的量。在一项随机对照研究中,30 例肝硬化患者随机给予益生菌或安慰剂治疗,益生菌治疗组可明显降低肠道菌群失调和内毒素血症^[32]。抗生素在肝硬化患者的治疗中应用较多,可以有效地预防自发性腹膜炎的发病率,降低上消化道出血患者的感染率及死亡率。利福昔明是一种微量吸收的抗生素,可以减少复发性肝性脑病患者的住院时间^[33]。

6 总结展望

肠道微生物在肝脏疾病中作用已经成为近年来的研究热点。大量临床及基础研究已经证实肠道菌群在多种肝脏疾病及肝脏疾病的不同阶段均发挥重要作用。肠道菌群影响肝脏疾病的多种病理过程如:肝脏脂肪变性、肝脏炎症、肝脏纤维化等。然而,利用宏基因组学和代谢组学来研究肠道微生物及其代谢产物如何影响多种肝脏疾病的临床过程仍需进

一步研究。更进一步的研究应该着眼于具体哪一种肠道菌影响肝脏疾病表现,不管是有利方面还是有害方面。在临床方面要致力于通过恰当的手段调整肠道菌群,并且在肝脏疾病的不同阶段相应调整肠道菌群以获得最佳的治疗目的。总之,作为一个新的研究领域,肠道菌群与慢性肝脏疾病的研究将走入新的阶段。

参考文献

- [1] Sender R, Fuchs S, Milo R. Are We Really Vastly Out-numbered? Revisiting the Ratio of Bacterial to Host Cells in Humans[J]. *Cell*, 2016, 164(3):337—340.
- [2] Org E, Parks BW, Joo JW, et al. Genetic and environmental control of host-gut microbiota interactions[J]. *Genome Res*, 2015, 25(10):1558—1569.
- [3] Muegge BD, Kuczynski J, Knights D, et al. Diet drives convergence in gut microbiome functions across mammalian phylogeny and within humans [J]. *Science*, 2011, 332(6032):970—974.
- [4] Thaiss CA, Zmora N, Levy M, et al. The microbiome and innate immunity [J]. *Nature*, 2016, 535(7610):65—74.
- [5] Zoetendal EG, Raes J, van den Bogert B, et al. The human small intestinal microbiota is driven by rapid uptake and conversion of simple carbohydrates [J]. *ISME J*, 2012, 6(7):1415—1426.
- [6] Bonnet M, Buc E, Sauvanet P, et al. Colonization of the human gut by *E. coli* and colorectal cancer risk [J]. *Clin Cancer Res*, 2014, 20(4):859—867.
- [7] Roerecke M, Rehm J. Alcohol use disorders and mortality: a systematic review and meta-analysis [J]. *Addiction*, 2013, 108(9):1562—1578.
- [8] Pande C, Kumar A, Sarin S K. Small-intestinal bacterial overgrowth in cirrhosis is related to the severity of liver disease [J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2009, 29(12):1273—1281.
- [9] Starkel P, Schnabl B. Bidirectional Communication between Liver and Gut during Alcoholic Liver Disease [J]. *Semin Liver Dis*, 2016, 36(4):331—339.
- [10] Kirpich I A, Solovieva NV, Leikhter SN, et al. Probiotics restore bowel flora and improve liver enzymes in human alcohol-induced liver injury: a pilot study [J]. *Alcohol*, 2008, 42(8):675—682.
- [11] Mutlu EA, Gillevet PM, Rangwala H, et al. Colonic microbiome is altered in alcoholism [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2012, 302(9):G966—G978.
- [12] Leclercq S, Matamoros S, Cani PD, et al. Intestinal permeability, gut-bacterial dysbiosis, and behavioral markers of alcohol-dependence severity [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111(42):E4485—E4493.

- [13] Wang L, Fouts DE, Starkel P, et al. Intestinal REG3 Lectins Protect against Alcoholic Steatohepatitis by Reducing Mucosa-Associated Microbiota and Preventing Bacterial Translocation[J]. *Cell Host Microbe*, 2016, 19(2): 227–239.
- [14] Lúnia M K, Sharma B C, Sharma P, et al. Probiotics prevent hepatic encephalopathy in patients with cirrhosis; a randomized controlled trial[J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2014, 12(6): 1003–1008.
- [15] Nobili V, Bedogni G, Alisi A, et al. A protective effect of breastfeeding on the progression of non-alcoholic fatty liver disease[J]. *Arch Dis Child*, 2009, 94(10): 801–805.
- [16] El K A, Armougom F, Gordon JI, et al. The abundance and variety of carbohydrate-active enzymes in the human gut microbiota[J]. *Nat Rev Microbiol*, 2013, 11(7): 497–504.
- [17] Zhu L, Baker SS, Gill C, et al. Characterization of gut microbiomes in nonalcoholic steatohepatitis (NASH) patients; a connection between endogenous alcohol and NASH[J]. *Hepatology*, 2013, 57(2): 601–609.
- [18] Wong VW, Tse CH, Lam TT, et al. Molecular characterization of the fecal microbiota in patients with non-alcoholic steatohepatitis—a longitudinal study[J]. *PLoS One*, 2013, 8(4): e62885.
- [19] Malaguarnera M, Vacante M, Antic T, et al. *Bifidobacterium longum* with fructo-oligosaccharides in patients with non alcoholic steatohepatitis [J]. *Dig Dis Sci*, 2012, 57(2): 545–553.
- [20] Daubioul CA, Horsmans Y, Lambert P, et al. Effects of oligofructose on glucose and lipid metabolism in patients with nonalcoholic steatohepatitis; results of a pilot study[J]. *Eur J Clin Nutr*, 2005, 59(5): 723–726.
- [21] Malaguarnera M, Vacante M, Antic T, et al. *Bifidobacterium longum* with fructo-oligosaccharides in patients with non alcoholic steatohepatitis [J]. *Dig Dis Sci*, 2012, 57(2): 545–553.
- [22] Eaton JE, Talwalkar JA, Lazaridis KN, et al. Pathogenesis of primary sclerosing cholangitis and advances in diagnosis and management [J]. *Gastroenterology*, 2013, 145(3): 521–536.
- [23] Torres J, Bao X, Goel A, et al. The features of mucosa-associated microbiota in primary sclerosing cholangitis [J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2016, 43(7): 790–801.
- [24] Iwasawa K, Suda W, Tsunoda T, et al. Characterisation of the faecal microbiota in Japanese patients with paediatric-onset primary sclerosing cholangitis [J]. *Gut*, 2017, 66(7): 1344–1346.
- [25] Sabino J, Vieira-Silva S, Machiels K, et al. Primary sclerosing cholangitis is characterised by intestinal dysbiosis independent from IBD[J]. *Gut*, 2016, 65(10): 1681–1689.
- [26] Farkkila M, Karvonen AL, Nurmi H, et al. Metronidazole and ursodeoxycholic acid for primary sclerosing cholangitis; a randomized placebo-controlled trial[J]. *Hepatology*, 2004, 40(6): 1379–1386.
- [27] Tabibian JH, Weeding E, Jorgensen RA, et al. Randomised clinical trial: vancomycin or metronidazole in patients with primary sclerosing cholangitis—a pilot study[J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2013, 37(6): 604–612.
- [28] Chen Y, Yang F, Lu H, et al. Characterization of fecal microbial communities in patients with liver cirrhosis [J]. *Hepatology*, 2011, 54(2): 562–572.
- [29] Bajaj JS, Heuman DM, Hylemon PB, et al. Altered profile of human gut microbiome is associated with cirrhosis and its complications[J]. *J Hepatol*, 2014, 60(5): 940–947.
- [30] Qin N, Yang F, Li A, et al. Alterations of the human gut microbiome in liver cirrhosis[J]. *Nature*, 2014, 513(7516): 59–64.
- [31] Gluud LL, Vilstrup H, Morgan MY. Non-absorbable disaccharides versus placebo/no intervention and lactulose versus lactitol for the prevention and treatment of hepatic encephalopathy in people with cirrhosis[J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2016, 6(5): CD003044.
- [32] Bajaj JS, Heuman DM, Hylemon PB, et al. Randomised clinical trial: *Lactobacillus GG* modulates gut microbiome, metabolome and endotoxemia in patients with cirrhosis[J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2014, 39(10): 1113–1125.
- [33] Kaji K, Takaya H, Saikawa S, et al. Rifaximin ameliorates hepatic encephalopathy and endotoxemia without affecting the gut microbiome diversity [J]. *World J Gastroenterol*, 2017, 23(47): 8355–8366.