

综述

粪菌移植治疗炎症性肠病的研究进展

周 钺¹, 孙鹏飞², 尹继瑶³, 王阳阳¹, 肖海娟^{4,5}

1. 陕西中医药大学第一临床医学院, 咸阳 712000; 2. 南京中医药大学第一临床医学院, 南京 210000; 3. 南京中医药大学翰林学院, 泰州 225300; 4. 空军军医大学西京消化病医院肿瘤生物学国家重点实验室, 西安 710032; 5. 陕西中医药大学附属医院肿瘤四科, 咸阳 712000

[摘要] 炎症性肠病 (inflammatory bowel disease, IBD) 病因复杂, 病理机制尚未完全明确, 目前认为病情的进展与肠道菌群的变化有关。常规内科抗炎治疗容易出现较大的不良反应。近年肠道菌群研究的不断深入, 为该病提供了新型的治疗方法。粪菌移植 (fecal microbiota transplantation, FMT) 治疗 IBD 的多项随机对照临床试验均获得良好的治疗效果, 受到国际医学界的广泛关注。该文综述了近 5 年来 FMT 的方法学改进、肠功能调控作用机制研究进展, 并对 FMT 研究中的难点和发展方向进行了总结。

[关键词] 炎症性肠病; 粪菌移植; 肠道菌群; 免疫调节

[DOI] 10.3969/j.issn.1674-8115.2020.02.021 **[中图分类号]** R574.4 **[文献标志码]** A

Evolution of clinical treatment in inflammatory bowel diseases by fecal microbiota transplantation

ZHOU Cheng¹, SUN Peng-fei², YIN Ji-yao³, WANG Yang-yang¹, XIAO Hai-juan^{4,5}

1. The First Clinical Medical College, Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712000, China; 2. The First Clinical Medical College, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210000, China; 3. Nanjing University of Chinese Medicine Hanlin College, Taizhou 225300, China; 4. State Key Laboratory of Cancer Biology, Xijing Hospital of Digestive Diseases, Air Force Medical University, Xi'an 710032, China; 5. The Fourth Department of Oncology, Affiliated Hospital of Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712000, China

[Abstract] The etiology of inflammatory bowel disease (IBD) is complex, and the mechanism has not yet been fully clarified. It is currently believed that the progression of the disease is related to the alterations of intestinal flora. Conventional medical anti-inflammatory treatment has large side effects. In recent years, with the continuous study of intestinal flora, a new kind of therapy has been applied to the disease. Many randomized controlled trials (RCT) of fecal microbiota transplantation (FMT) have achieved good therapeutic effects on IBD, and this regimen has received extensive attention. This paper reviews the progression of FMT and its mechanisms of intestinal function regulation in the past five years. Meanwhile, the challenges and future directions in the research of FMT are also summarized.

[Key words] inflammatory bowel disease (IBD); fecal microbiota transplantation (FMT); intestinal flora; immunomodulation

炎症性肠病 (inflammatory bowel disease, IBD) 包括溃疡性结肠炎和克罗恩病, 是一种受肠道菌群、遗传、环境、饮食等多因素影响使自身出现免疫反应, 从而发生慢性、持续性肠道炎症反应的疾病^[1]。IBD 的病因学及病理学机制目前尚未明确, 迄今为止, 药物治疗一直是作为减缓病情进程的方法, 却不能完全阻断病情发展。应用内科抗炎及免疫抑制剂抑制患者肠道自身免疫反应是该病的基础治疗方案, 在大多数患者中该方案最初显示是有效的, 但后期会给患者带来严重的不良反应及较高的复发

率, 并且患者需要长期服药^[2]。粪菌移植 (fecal microbiota transplantation, FMT) 作为新型的治疗方法能重建肠道菌群, 及早改变引起自身免疫反应的因素, 因而备受关注。

1 IBD 的发病机制

IBD 在我国发病率正逐年升高, 目前认为其发病原因主要与遗传易感性、肠道菌群和免疫系统之间的相互作用有关^[3]。McGovern 等^[4]指出, 人类基因和菌群之间存

[基金项目] 国家自然科学基金 (81303135); 中国博士后科学基金面上项目 (2017M613351); 陕西中医药大学创新团队 (2019-YL06)。

[作者简介] 周 钺 (1995—), 男, 硕士生; 电子信箱: 412973805@qq.com。

[通信作者] 肖海娟, 电子信箱: daisytcn@hotmail.com。

[Funding Information] National Natural Science Foundation of China (81303135); General Program of China Post-doctoral Science Foundation (2017M613351); Subject Innovation Team of Shaanxi University of Chinese Medicine (2019-YL06)。

[Corresponding Author] XIAO Hai-juan, E-mail: daisytcn@hotmail.com。

在潜在的联系,免疫系统异常与IBD菌群的出现具有家族聚集现象。有研究^[5]显示患者肠内微生物总数增加,但多样性却减少,并伴有菌群的异位定植。人体正常黏膜免疫系统与正常微生物发生过度免疫反应,可使潘氏细胞出现原发性分泌缺陷, α -防御素合成减少,上皮屏障功能减退^[6]。Iida等^[7]认为,其黏膜屏障异常还与上皮细胞自噬有关。肠内细菌数量明显增加,黏膜免疫系统过度暴露,并在没有免疫系统缺陷的情况下导致炎症的发生^[8]。

2 正常肠道菌群的功能

人作为一种共生有机体,调控着菌群之间及其与宿主本身的不协调,将冲突降到最低。其中肠道菌群与疾病的发生关系最为密切,种类近30 000种,约占粪便干重的1/3^[9]。大多数肠道微生物对宿主无害或有益,可抵御肠道病原体,有助于增强宿主的免疫功能^[10]。不同个体的肠道菌群组成差异很大,但功能基因组却非常相似,大多可促进营养吸收,适当分泌抗菌肽和免疫球蛋白,减少病原体定植,提高肠道屏障功能,塑造和维持正常的黏膜免疫,消除肠道黏膜的易位细菌,降低对常见细菌的免疫反应,从而双向介导固有免疫和适应性免疫反应来维持肠道稳态^[11-14]。正常肠道菌群通过依赖与制约达到平衡共生状态,肠黏膜与肠道菌群之间的适当相互作用对维持肠黏膜稳态具有重要意义,破坏肠道菌群即可导致胃肠功能障碍。

3 FMT的概念

FMT又称粪便微生物移植,是将筛选的健康人群的粪便悬浊液导入患病人群的肠道中。当前主要有2种实施方法,即上部可经鼻胃管或鼻十二指肠管导入粪便悬浊液,下部可通过结肠镜给予粪便悬浊液,或将其保留灌肠^[15];当灌注量较小(25~50 mL)时可从上部移植,灌注量较大时(250~500 mL)应从下部移植^[16]。粪便悬浊液由筛选的捐献者的新鲜粪便样品(30 g以上)制备。首先,以无菌生理盐水及甘油作为稀释剂稀释粪便样品,并使用搅拌器搅拌15 min使粪便均匀化,达到液体浆液浓度^[17];接着,使用物理方法过滤粪便,清除较小的颗粒物^[18-19];最后,以4 000×g离心15 min,获得25%粪便、65%生理盐水和10%甘油组成的粪便悬浊液,在-80℃的密闭容器中冷冻保存^[20]。粪便样品应在24 h内使用,最佳时间为6 h之内^[21]。在我国,大多数医院采用“clean FMT方案”,应用智能粪菌分离系统(Gen FMTer)得到纯

化的菌群,从而降低出现不良反应的风险^[22-23]。如今,中华粪菌库和Openbiome已成为世界上最大的2个粪菌库。FMT研究正不断加速向临床应用发展^[24]。

4 FMT治疗IBD的作用机制

4.1 FMT调节肠道菌群多样性

IBD患者肠道菌群的生物多样性较健康人群减少30%~50%^[25]。目前,调控肠道菌群的方法主要有3种:①应用益生元(菊糖、低聚果糖、乳果糖及半乳寡糖等)来促进肠道有益菌的生长。②应用益生菌制剂(乳酸菌素片、双歧杆菌三联活菌胶囊等)直接补充益生菌。③健康人群的FMT。肠道菌群种类多、数量庞大,目前,仅对少量肠道菌类有较深入的研究,缺乏对绝大多数肠道菌的作用认识。然而,仅补充少量有益菌易导致菌群紊乱,即虽然益生菌增加但菌类的多样性并未改变;因此,益生元和益生菌的使用作用较为局限,并不能达到预期的治疗效果。目前,FMT是唯一的在恢复肠道功能的同时,又能保持肠道微生态平衡的疗法^[26]。Hamilton等^[27]应用多态性分析及基因测序技术,研究移植后患者肠道菌群的变化,在2周左右接受者粪便中的菌群已与供应者趋于一致,并且这种肠道内菌群的稳态可持续4个月,甚至更长时间。

4.2 FMT调节肠道菌群数量平衡

IBD的发生往往会导致肠内菌群数量的紊乱,变形杆菌数量增加,而潜在的有益菌属(例如拟杆菌)减少^[28]。肠内细菌总数增加,但参与维持肠道正常活动的微生物群明显减少。Battaglioli等^[29]认为健康肠道中低密度的微生物可能在疾病的进展中发挥作用,微生物密度低有可能降低了对有害菌群异位定植的抵抗力,从而使病原体在宿主中占据主导地位。并且在诊断IBD前,患者往往伴有抗生素的长期服用,这更加重了肠内菌群的不平衡,提高了病原微生物的“定植抗药性”,从而加重病情。另外,免疫抑制剂及糖皮质激素的使用减少了炎症介质的产生,并加重上皮屏障的功能障碍,最终导致继发效应而不能纠正导致IBD发展的因素。通过供体粪便移植重新导入正常菌群,可以纠正不平衡、中断恶性循环、增加正常肠道微生物数量,从肠道中竞争获取营养物质,从而抑制病原微生物的生长^[26]。FMT不仅中断了常规内科治疗所导致病情加重的情况,还能够在不加重肠道炎症的前提下,逐步恢复肠道内正常菌群数量。

4.3 FMT 恢复肠壁屏障功能

FMT 导入了大量有活力的肠道菌群, 它们通过竞争肠壁生长区, 抑制病原体附着, 恢复正常上皮屏障功能, 参与调节宿主免疫系统, 阻止 IBD 的进展^[30]。Belcheva 等^[31]认为, FMT 后富含纤维的正常肠道细菌代谢的短链脂肪酸, 特别是乙酸、丁酸和丙酸, 可以黏附于肠壁, 对肠道免疫反应和抗炎功能具有调节作用, 减少 IBD 的发生。Fareed 等^[32]发现, 在患者接受 FMT 3 个月后, 肠道中的拟杆菌由原来的 7% 上升至 41%, 变形杆菌由原来的 41% 下降至 5%。拟杆菌通过诱导潘氏细胞合成抗菌蛋白, 增强宿主溶菌酶的抗菌活性, 从而维持肠道屏障功能; 另外, 拟杆菌还参与诱导转录因子血管生成素-3, 促进肠黏膜的发育及肠道微血管的形成^[33]。

5 FMT 的其他应用研究

美国临床医学指南推荐 FMT 可用于治疗第 3 次复发的艰难梭菌感染 (*Clostridioides difficile* infection, CDI), 通过 FMT 治疗 CDI 的治愈率可达到 90%, 临床效果显著优于抗生素治疗。郭锐芳等^[34]应用 FMT 治疗腹泻型肠易激综合征, 也取得了良好的治疗效果。另外, 越来越多的研究^[35]表明, FMT 在治疗慢性便秘、伪膜性肠炎等肠道疾病中均有突出的效果。

6 FMT 的注意事项

Fang 等^[36]的 meta 分析纳入 7 562 篇关于 FMT 的原始文献, 得出不良反应的总发生率为 28.5%, 且经上消化道途径接受 FMT 治疗的患者比经下消化道途径接受 FMT 治疗的患者更容易发生不良事件。FMT 治疗后常见的并发症主要有发热、腹痛、腹胀、腹泻等消化道症状, 可能会出现鼻塞、呕吐、咽喉痛等肠外表现, 但症状大多具有自我限制性, 持续时间一般不超过 24 h, 即使有些并发症需要药物治疗, 也可以迅速缓解^[37]。Vaughn 等^[38]发现, IBD 患者在接受 1 次较大灌注量 (250 mL) 的 FMT 后, 第 4 周可达到最佳的临床效果, 而第 8 周及第 12 周出现复发。Moayyedi 等^[39]以每周 6 次的灌注频率治疗 IBD 患者, 连续观察 7 周后发现, 患者的临床应答率仅有 39.5%。Paramsothy 等^[40]以多供体粪便移植高频率灌注 (每周 5 次) 8 周后发现, IBD 患者的缓解率达到了

53.7%, 这表明多供体粪便移植的治疗效果较单供体具有明显优势。Rossen 等^[41]采用低频率的灌注方式, 在第 1 周和第 3 周各灌注 2 次, 共灌注 4 次, 连续观察 12 周后发现, 患者的临床应答率为 47.8%。Costello 等^[42]第 1 周灌注 2 次, 之后以每周 1 次的灌注频率治疗后发现, 患者在第 8 周的临床应答率为 53.7%。目前, 没有明确的证据表明频繁的灌注具有更好的临床效果, 需要进一步的临床试验探索 FMT 的最佳频次。

7 总结与展望

现代医学提出, FMT 其实是对中医运用粪清治疗疾病的一种继承和创新。早在 1 700 年前, 我国东晋医家葛洪已经开始用粪清治疗严重腹泻、濒临死亡的患者, 《肘后备急方》中记载“饮粪汁一升, 即活”^[43]。直至 1958 年, 美国外科医师 Eiseman 等^[44]用健康人体的粪水灌肠挽救了 4 例术后严重伪膜性肠病生命垂危的患者并发表了相关论文, 医学界才逐渐认识到 FMT 的重要性。FMT 的治疗效果逐渐被人们发现, 并不断发展、应用于治疗人类肠道疾病, 在治疗 IBD 中具有良好的潜力和安全性。但在 2019 年 6 月, 美国食品药品监督管理局 (Food and Drug Administration, FDA) 发布了一项新的安全警告, 指出 FMT 可能会导致严重或危及生命的感染, 原因是 2 例免疫受损的患者在接受同一供体的 FMT 治疗后, 感染了供体粪便中的多重耐药菌 (multiple drug resistant organism, MDRO), 并且 1 例患者最终死于感染。作为应对措施, 美国 FDA 将会在所有的 FMT 前采取特定的 MDRO 测试, 以减少不良事件的发生。目前, FMT 仍有许多问题需要讨论: ①鉴于供体微生物的多变性, 在 FMT 前严格筛选粪便供体尤为重要, 需要统一供体的筛选原则, 避免因传染病及 MDRO 而出现的不良事件。②鉴于最佳临床效果的不明确, FMT 的灌注频率及输送方式仍需大量临床观察。③鉴于儿童与成人肠道菌群的差异性, 儿童粪便供体的选择应更加严格, 移植可能带来更多的潜在风险。④鉴于长期安全性的考虑, 如影响免疫功能和存在潜在感染等, 其仍然需要更多的临床试验验证。⑤我国的智能粪菌分离系统 (Gen FMter) 在粪便细菌的提取工艺上是否成熟尚需探讨。⑥ FMT 在我国所遇到的伦理问题还需要继续探究。综上所述, FMT 大规模的临床应用, 还需要研究者们不断探索和完善。

参·考·文·献

- [1] Ananthakrishnan AN. Epidemiology and risk factors for IBD[J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2015, 12(4): 205-217.
- [2] Bordenstein SR, Theis KR. Host biology in light of the microbiome: ten principles of holobionts and hologenomes[J]. PLoS Biol, 2015, 13(8): e1002226.
- [3] Yi JM, Kim TO. Epigenetic alterations in inflammatory bowel disease and cancer[J]. Intest Res, 2015, 13(2): 112-121.
- [4] McGovern DP, Jones MR, Taylor KD, et al. Fucosyltransferase 2 (FUT2) non-secretor status is associated with Crohn's disease[J]. Hum Mol Genet, 2010, 19(17): 3468-3476.
- [5] Sartor RB. Microbial influences in inflammatory bowel diseases[J]. Gastroenterology, 2008, 134(2): 577-594.
- [6] Strober W, Fuss I, Mannon P. The fundamental basis of inflammatory bowel diseases[J]. J Clin Invest, 2007, 117(3): 514-521.
- [7] Iida T, Yokoyama Y, Wagatsuma K, et al. Impact of autophagy of innate immune cells on inflammatory bowel disease[J]. Cells, 2018, 8(1): E7.
- [8] Rietdijk ST, D'Haens GR. Recent developments in the treatment of inflammatory bowel disease[J]. J Dig Dis, 2013, 14(6): 282-287.
- [9] Human Microbiome Jumpstart Reference Strains Consortium, Nelson KE, Weinstock GM, et al. A catalog of reference genomes from the human microbiome[J]. Science, 2010, 328(5981): 994-999.
- [10] Candela M, Perna F, Carnevali P, et al. Interaction of probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains with human intestinal epithelial cells: adhesion properties, competition against enteropathogens and modulation of IL-8 production[J]. Int J Food Microbiol, 2008, 125(3): 286-292.
- [11] Ma N, Guo P, Zhang J, et al. Nutrients mediate intestinal bacteria-mucosal immune crosstalk[J]. Front Immunol, 2018, 9: 5.
- [12] Cheng S, Ma X, Geng S, et al. Fecal microbiota transplantation beneficially regulates intestinal mucosal autophagy and alleviates gut barrier injury[J]. mSystems, 2018, 3(5): E00137-E00118.
- [13] Sartor RB. Microbial influences in inflammatory bowel diseases[J]. Gastroenterology, 2008, 134(2): 577-594.
- [14] Clavel T, Haller D. Bacteria- and host-derived mechanisms to control intestinal epithelial cell homeostasis: implications for chronic inflammation[J]. Inflamm Bowel Dis, 2007, 13(9): 1153-1164.
- [15] Bakken JS, Borody T, Brandt LJ, et al. Treating *Clostridium difficile* infection with fecal microbiota transplantation[J]. Clin Gastroenterol Hepatol, 2011, 9(12): 1044-1049.
- [16] Bakken JS. Fecal bacteriotherapy for recurrent *Clostridium difficile* infection[J]. Anaerobe, 2009, 15(6): 285-289.
- [17] Hamilton MJ, Weingarden AR, Sadowsky MJ, et al. Standardized frozen preparation for transplantation of fecal microbiota for recurrent *Clostridium difficile* infection[J]. Am J Gastroenterol, 2012, 107(5): 761-767.
- [18] De Leon LM, Watson JB, Kelly CR. Transient flare of ulcerative colitis after fecal microbiota transplantation for recurrent *Clostridium difficile* infection[J]. Clin Gastroenterol Hepatol, 2013, 11(8): 1036-1038.
- [19] Cui B, Feng Q, Wang H, et al. Fecal microbiota transplantation through mid-gut for refractory Crohn's disease: safety, feasibility, and efficacy trial results[J]. J Gastroenterol Hepatol, 2015, 30(1): 51-58.
- [20] 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.
- [21] Schwartz M, Gluck M, Koon S. Norovirus gastroenteritis after fecal microbiota transplantation for treatment of *Clostridium difficile* infection despite asymptomatic donors and lack of sick contacts[J]. Am J Gastroenterol, 2013, 108(8): 1367.
- [22] 张发明. 粪菌移植体系[J]. 科技导报, 2016, 34(20): 86-92.
- [23] 何植, 张发明. 中华粪菌库的原则、方案和风险管理[J]. 胃肠病学, 2017, 22(4): 193-198.
- [24] Zhang F, Cui B, He X, et al. Microbiota transplantation: concept, methodology and strategy for its modernization[J]. Protein Cell, 2018, 9(5): 462-473.
- [25] Sekirov I, Russell SL, Antunes LC, et al. Gut microbiota in health and disease[J]. Physiol Rev, 2010, 90(3): 859-904.
- [26] Bäckhed F, Ley RE, Sonnenburg JL, et al. Host-bacterial mutualism in the human intestine[J]. Science, 2005, 307(5717): 1915-1920.
- [27] Hamilton MJ, Weingarden AR, Unno T, et al. High-throughput DNA sequence analysis reveals stable engraftment of gut microbiota following transplantation of previously frozen fecal bacteria[J]. Gut Microbes, 2013, 4(2): 125-135.
- [28] Fuentes S, Rossen NG, van der Spek MJ, et al. Microbial shifts and signatures of long-term remission in ulcerative colitis after faecal microbiota transplantation[J]. ISME J, 2017, 11(8): 1877-1889.
- [29] Battaglioli EJ, Hale VL, Chen J, et al. *Clostridioides difficile* uses amino acids associated with gut microbial dysbiosis in a subset of patients with diarrhea[J]. Sci Transl Med, 2018, 10(464): eaam7019.
- [30] Kamada N, Seo SU, Chen GY, et al. Role of the gut microbiota in immunity and inflammatory disease[J]. Nat Rev Immunol, 2013, 13(5): 321-335.
- [31] Belcheva A, Irrazabal T, Robertson SJ, et al. Gut microbial metabolism drives transformation of MSH2-deficient colon epithelial cells[J]. Cell, 2014, 158(2): 288-299.
- [32] Fareed S, Sarode N, Stewart FJ, et al. Applying fecal microbiota transplantation (FMT) to treat recurrent *Clostridium difficile* infections (rCDI) in children[J]. PeerJ, 2018, 6: e4663.
- [33] Jandhyala SM, Talukdar R, Subramanyam C, et al. Role of the normal gut microbiota[J]. World J Gastroenterol, 2015, 21(29): 8787-8803.
- [34] 郭锐芳, 董琳, 康东, 等. 粪菌移植对腹泻型肠易激综合征的疗效观察[J]. 临床消化病杂志, 2018, 30(6): 366-368.
- [35] Kelly CR, Kahn S, Kashyap P, et al. Update on fecal microbiota transplantation 2015: indications, methodologies, mechanisms, and outlook[J]. Gastroenterology, 2015, 149(1): 223-237.
- [36] Fang H, Fu L, Wang J. Protocol for fecal microbiota transplantation in inflammatory bowel disease: a systematic review and meta-analysis[J]. Biomed Res Int, 2018, 2018: 8941340.
- [37] Kunde S, Pham A, Bonczyk S, et al. Safety, tolerability, and clinical response after fecal transplantation in children and young adults with ulcerative colitis[J]. J Pediatr Gastroenterol Nutr, 2013, 56(6): 597-601.
- [38] Vaughn BP, Vatanen T, Allegretti JR, et al. Increased intestinal microbial diversity following fecal microbiota transplant for active Crohn's disease[J]. Inflamm Bowel Dis, 2016, 22(9): 2182-2190.
- [39] Moayyedi P, Surette MG, Kim PT, et al. Fecal microbiota transplantation induces remission in patients with active ulcerative colitis in a randomized controlled trial[J]. Gastroenterology, 2015, 149(1): 102-109.
- [40] Paramsothy S, Kamm MA, Kaakoush NO, et al. Multidonor intensive faecal microbiota transplantation for active ulcerative colitis: a randomised placebo-controlled trial[J]. Lancet, 2017, 389(10075): 1218-1228.
- [41] Rossen NG, Fuentes S, van der Spek MJ, et al. Findings from a randomized controlled trial of fecal transplantation for patients with ulcerative colitis[J]. Gastroenterology, 2015, 149(1): 110-118.
- [42] 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.
- [43] (晋)葛洪. 肘后备急方[M]. 王均宁点校. 天津: 天津科学技术出版社, 2000: 36.
- [44] Eiseman B, Silen W, Bascom GS, et al. Fecal enema as an adjunct in the treatment of pseudomembranous enterocolitis[J]. Surgery, 1958, 44(5): 854-859.

[收稿日期] 2019-05-28

[本文编辑] 吴洋

