

· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2019.23.008

溃疡性结肠炎患者的肠道菌群分布与血清 TNF- $\alpha$ 、IL-6 水平的相关性殷娟,唐西怀,贾晶晶<sup>△</sup>

陕西省第二人民医院检验科,陕西西安 710005

**摘要:**目的 研究溃疡性结肠炎患者体内肠道菌群变化,探讨其与血清肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素-6(IL-6)的相关性。方法 选取 2017 年 2 月至 2018 年 1 月在该院诊治的溃疡性结肠炎患者 130 例,根据病情的严重程度分为缓解期组和发作期组,同时选择同期在该院体检的健康人员 90 例作为对照组。检测所有入组对象血清 TNF- $\alpha$ 、IL-6 水平并分析与溃疡性结肠炎体内肠道菌种变化的相关性。结果 溃疡性结肠炎患者外周血 TNF- $\alpha$ 、IL-6 水平与对照组比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。溃疡性结肠炎不同病情患者, TNF- $\alpha$ 、IL-6 指标比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。结论 肠道菌群、TNF- $\alpha$ 、IL-6 可能在溃疡性结肠炎的发生、发展中起重要作用。临床可通过检测 TNF- $\alpha$ 、IL-6 水平来了解患者病情的严重程度。

**关键词:** 溃疡性结肠炎; 肠道菌群; 肿瘤坏死因子- $\alpha$ ; 白细胞介素-6

中图分类号:R446.1

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2019)23-3421-04

Correlation between distribution of intestinal flora and level of serum TNF- $\alpha$  and IL-6 in patients with ulcerative colitis

YIN Juan, TANG Xihuai, JIA Jingjing<sup>△</sup>

Department of Clinical Laboratory, Second People's Hospital of Shaanxi Provincial, Xi'an, Shaanxi 710005, China

**Abstract: Objective** To study the changes of intestinal flora in the patients with ulcerative colitis(UC), and to explore its correlation with serum tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) and interleukin-6 (IL-6). **Methods** One hundred and thirty cases of UC treated in the hospital from February 2017 to January 2018 were selected and divided into the remission stage group and attack stage group according to the disease severity. At the same time 90 persons undergoing the healthy physical examination in the hospital were selected as the control group. **Results** The levels of peripheral blood TNF- $\alpha$  and IL-6 had statistical difference between the patients with UC and the control group ( $P < 0.05$ ). The levels of TNF- $\alpha$  and IL-6 had statistical difference among the patients with different severities ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** The intestinal flora, TNF- $\alpha$  and IL-6 may play the important role in the occurrence and development of UC. In addition, the clinic can understand the disease severity of the patients by detecting the levels of TNF- $\alpha$  and IL-6.

**Key words:** ulcerative colitis; intestinal flora; tumor necrosis factor-alpha; interleukin-6

溃疡性结肠炎是一种由免疫调节异常、肠道微生物态改变等多种因素诱发的慢性肠道疾病,腹痛、腹泻及便血等是该病的主要临床症状<sup>[1]</sup>。溃疡性结肠炎容易反复发作,尚难以完全治愈,并随着病情的不断发展,容易发生肠穿孔与肠道出血等多种并发症,进而会对患者的生存质量带来较大影响<sup>[2-5]</sup>。有研究表明,一旦人体中的肠道菌群发生失衡,肠道细菌会出现移位,继而进入人体中的微循环,诱发全身炎症反应,恶化病情<sup>[6-7]</sup>。肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素-6(IL-6)是血清中较为常见且重要的致炎因子<sup>[8]</sup>。本研究主要分析体内肠道菌群变化与 TNF- $\alpha$ 、IL-6 之间的关系,为研究溃疡性结肠炎的发病机制及临床治疗提供重要参考。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选取 2017 年 2 月至 2018 年 1 月在本院诊治的溃疡性结肠炎患者 130 例,根据病情严重程度分为缓解期组和发作期组。缓解期组患者 65 例,男 40 例,女 25 例;年龄 38~80 岁,平均(58.5 $\pm$ 12.1)岁;病程 1~7 年,平均(4.7 $\pm$ 0.6)年;病变部位:直肠 20 例,乙状结肠 30 例,降结肠 15 例。发作期组患者 65 例,男 39 例,女 26 例;年龄 40~81 岁,平均(59.0 $\pm$ 13.4)岁;病程 1~6 年,平均(4.5 $\pm$ 0.9)年;病变部位:直肠 19 例,乙状结肠 31 例,降结肠 15 例。纳入标准:符合溃疡性结肠炎诊断标准(2018 年《炎症性肠病诊断与治疗共识意见》),且经结肠镜或者直肠镜确诊;无消化道慢性疾病史;留取标本前 1

个月内未使用对肠道菌群产生影响的药物。排除标准:肠道感染性疾病者;肠道器质性疾病者;肠道出血、穿孔者;并发肝、肾等重要器官疾病者;不接受本研究。同时选择同期来本院体检的健康人员 90 例作为对照组,其中男 48 例,女 42 例;年龄 37~66 岁,平均(58.1±2.8)岁。3 组研究对象性别及年龄比较,差异均无统计学意义( $P>0.05$ ),具有可比性。

## 1.2 方法

**1.2.1 肠道菌群检测** 收集发作期组、缓解期组及对照组受试对象大约 1.5 g 的新鲜粪便,将标本置入小瓶中,加 4.5 mL 稀释液稀释,在 300 r/min 转速下,采用混合器震荡 1 min。10 倍稀释处理后的标本,平均置于不同小瓶中,取 10  $\mu$ L 接种于培养基上,置于 37  $^{\circ}$ C 环境下保存。运用每克粪便湿质量中菌落形成单位对数值(lg CFU/g)对双歧杆菌与乳杆菌等肠道有益菌、肠杆菌与肠球菌等致病菌给予活菌计数;肠道定植抗力指标则用双歧杆菌与肠杆菌数量的比值(B/E 值)表示。

**1.2.2 外周血单个核细胞 TNF- $\alpha$  mRNA、IL-6 mRNA 表达检测** 采集 3 组受试对象的空腹静脉血 5 mL,采用 Fico II 分层液(南京三生生物技术有限公司)法分离出单个核细胞。采用实时荧光定量 PCR(RT-PCR)法检测外周血单个核细胞 TNF- $\alpha$  mRNA、IL-6 mRNA 的表达。主要步骤为采用 TrizoI 一步法总 RNA 提取试剂盒(上海索宝生物科技有限公司)对受试对象的外周血单个核细胞中的总 RNA 进行提取。每份标本选择等量的 RNA 反转录酶合成 cDNA。采用定量 PCR 仪(苏州合惠生物科技有限公司)检测外周血单个核细胞 TNF- $\alpha$  mRNA、IL-6 mRNA 表达,以  $\beta$ -actin 作为内参。

**1.2.3 血清 TNF- $\alpha$ 、IL-6 水平检测** 清晨 6:30 空腹抽取患者健侧上肢肘前静脉血 10 mL 作为标本,采集后立即送检,采用 ELISA 法检测受试对象血清中 TNF- $\alpha$ 、IL-6 水平,严格依据南京金益柏生物科技有限公司提供的人 TNF- $\alpha$ 、IL-6 ELISA 试剂盒说明书操作。

**1.3 观察指标** 观察 3 组受试对象的肠道菌群及 B/E 值比较情况(包括双歧杆菌、乳杆菌、肠杆菌、肠球菌 4 项指标)、3 组的 TNF- $\alpha$ mRNA 及 IL-6 mRNA 表达的比较情况、相关性分析结果,以及分析溃疡性结肠炎危险因素的多因素 Logistic 回归分析结果。

**1.4 统计学处理** 采用 SPSS22.0 统计软件进行分析,计量资料以  $\bar{x}\pm s$  表示,两组间比较采用  $t$  检验,多组间比较采用  $F$  检验;计数资料以率表示,两组间比较采用  $\chi^2$  检验;以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。采用 Pearson 相关分析,采用多因素 Logistic 回归分析对溃疡性结肠炎的危险因素进行分析, $OR<1$  为保护因素; $OR>1$  为独立危险因素。

## 2 结果

**2.1 3 组肠道菌群及 B/E 值比较** 发作期组双歧杆菌数量为(6.97±0.34)lg CFU/g 明显低于缓解期组与对照组,差异有统计学意义( $P<0.05$ );发作期组肠杆菌数量为(11.14±0.62)lg CFU/g、肠球菌数量为(8.53±0.21)lg CFU/g,均明显高于缓解期组与对照组,差异均有统计学意义( $P<0.05$ );发作期组 B/E 值明显低于缓解期组与对照组,差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。缓解期组双歧杆菌、乳杆菌数量明显低于对照组( $P<0.05$ ),肠杆菌、肠球菌数量明显高于对照组,差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。缓解期组 B/E 值低于对照组,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),见表 1。

表 1 3 组肠道菌群及 B/E 值比较( $\bar{x}\pm s$ )

组别	<i>n</i>	双歧杆菌(lg CFU/g)	乳杆菌(lg CFU/g)	肠杆菌(lg CFU/g)	肠球菌(lg CFU/g)	B/E 值
发作期组	65	6.97±0.34	8.78±0.25	11.14±0.62	8.53±0.21	0.81±0.05
缓解期组	65	8.45±0.20	7.43±0.17	9.48±0.19	8.00±0.24	0.94±0.02
对照组	90	9.65±0.52	9.84±0.31	8.21±0.43	7.17±0.26	1.06±0.03
<i>F</i>		7.137	8.004	5.792	6.813	7.262
<i>P</i>		<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

**2.2 3 组 TNF- $\alpha$  mRNA 及 IL-6 mRNA 表达比较** 发作期组 TNF- $\alpha$  mRNA 表达量明显高于缓解期组和对照组,缓解期组 TNF- $\alpha$  mRNA 表达量明显高于对照组,差异均有统计学意义( $P<0.05$ );发作期组 IL-6 mRNA 表达量明显高于缓解期组和对照组,缓解期组 IL-6 mRNA 表达量明显高于对照组,差异均有统计学意义( $P<0.05$ ),见表 2。

**2.3 3 组血清 TNF- $\alpha$  与 IL-6 水平比较** 发作期组血

清 TNF- $\alpha$  水平明显高于缓解期组和对照组( $P<0.05$ )。缓解期组明显低于对照组( $P<0.05$ );发作期组血清 IL-6 水平明显高于缓解期组和对照组,缓解期组明显高于对照组,差异均有统计学意义( $P<0.05$ ),见表 3。

**2.4 相关性分析** 经 Pearson 相关分析,发作期组、缓解期组、对照组代表肠道菌群变化的 B/E 值与血清 TNF- $\alpha$  和 IL-6 均呈负相关性( $r=-0.546$ 、 $-0.591$ ,  $P<0.05$ )。

**2.5 多因素 Logistic 回归分析溃疡性结肠炎的危险因素** 以溃疡性结肠炎为因变量,以肠道菌群(双歧杆菌、乳杆菌、肠杆菌、肠球菌)及炎症因子(TNF- $\alpha$ 、IL-6)为自变量,给予多元 Logistic 回归分析,结果显示,双歧杆菌、乳杆菌是溃疡性结肠炎的保护因素;肠杆菌、肠球菌、TNF- $\alpha$ 、IL-6 是溃疡性结肠炎的独立危险因素( $P < 0.05$ ),见表 4。

**表 2 3 组 TNF- $\alpha$  mRNA 与 IL-6 mRNA 表达比较( $\bar{x} \pm s$ )**

组别	n	TNF- $\alpha$ mRNA	IL-6 mRNA
发作期组	65	0.82 $\pm$ 0.25	0.78 $\pm$ 0.13
缓解期组	65	0.52 $\pm$ 0.10	0.43 $\pm$ 0.08
对照组	90	0.43 $\pm$ 0.12	0.37 $\pm$ 0.09
F		9.141	8.766
P		<0.05	<0.05

**表 3 3 组血清 TNF- $\alpha$  与 IL-6 水平比较( $\bar{x} \pm s$ , ng/mL)**

组别	n	TNF- $\alpha$	IL-6
发作期组	65	48.45 $\pm$ 5.21	241.58 $\pm$ 13.76
缓解期组	65	7.10 $\pm$ 2.10	169.62 $\pm$ 14.74
对照组	90	7.96 $\pm$ 1.03	145.14 $\pm$ 7.52
F		7.517	8.334
P		<0.05	<0.05

**表 4 溃疡性结肠炎危险因素的 Logistic 回归分析**

变量	$\beta$	SE	Wald $\chi^2$	OR(95%CI)	P
双歧杆菌	-0.471	0.314	5.475	0.451(0.073~2.675)	0.016
乳杆菌	-0.395	0.297	6.091	0.703(0.051~1.768)	0.019
肠杆菌	0.743	0.285	9.158	1.764(1.465~2.813)	0.006
肠球菌	1.164	0.306	10.594	2.746(1.592~5.146)	0.004
TNF- $\alpha$	0.142	0.019	8.711	1.049(1.011~1.097)	0.007
IL-6	0.368	0.144	6.126	1.737(0.513~0.946)	0.013

### 3 讨 论

肠道菌群失调能够诱发许多消化道疾病的发生、发展。有研究认为,肠道微生物群作为机体的一部分,在诊断和治疗疾病时应考虑机体和肠道微生物群之间的相互作用<sup>[9-10]</sup>。肠道菌群属于较为复杂的微生物生态系统,双歧杆菌及乳杆菌等有益菌可以产生一些细菌素及有机酸以对抗条件致病菌对人体肠黏膜的侵袭;肠杆菌、肠球菌等属于条件致病菌,若机体中的肠道菌群失衡,则条件致病菌的侵袭力会不断加强,进而对机体的肠黏膜产生一定的破坏作用<sup>[11]</sup>。溃疡性结肠炎致病机制目前尚不清楚,肠道菌群失调有可能为诱发及维持本病的一个主因<sup>[12]</sup>。本研究结果显示,发作期组双歧杆菌数量均明显低于缓解期组与对照

组,肠杆菌、肠球菌数量均明显高于缓解期组与对照组,B/E 值明显低于缓解期组与对照组,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。其结果与文献[13]研究报道一致。B/E 值一般在临床上作为肠道菌群变化的一种评估手段<sup>[14]</sup>。本研究发现,发作期组 B/E 值明显低于缓解期组与对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。说明溃疡性结肠炎患者存在肠道菌群失调,而肠道菌群失调又导致肠道定植抗力受损。

IL-6 属于机体中一种重要的细胞因子,溃疡性结肠炎患者的炎性病变可能是因为 IL-6 过度表达造成的<sup>[15]</sup>。TNF- $\alpha$  为一种重要的促炎细胞因子,能够与多种细胞因子产生协同作用,进一步诱导机体中炎症介质的释放<sup>[16]</sup>。本研究结果提示,TNF- $\alpha$  与 IL-6 水平上调与溃疡性结肠炎的发生、发展紧密相关,通过 TNF- $\alpha$  与 IL-6 表达水平的检测,可以在一定程度上反映出溃疡性结肠炎病变的严重程度。

鉴于肠道菌群变化、血清炎症因子与溃疡性结肠炎之间的密切联系,本研究以 B/E 值为反映肠道菌群变化的指标,对其与 TNF- $\alpha$ 、IL-6 进行相关性分析,以期对溃疡性结肠炎的发病机制提供重要参考。经 Pearson 相关分析,发作期组、缓解期组与对照组代表肠道菌群变化的 B/E 值与血清 TNF- $\alpha$  呈负相关( $r = -0.546, P < 0.05$ ),与血清 IL-6 也呈负相关( $r = -0.591, P < 0.05$ )。说明肠道菌群失调与肠道定植抗力受损程度和 TNF- $\alpha$ 、IL-6 炎症因子水平变化相关。推测在溃疡性结肠炎疾病中可能存在溃疡性结肠炎病变—肠道菌群失调—炎症因子释放的恶性循环,进而不断促进本病的发生、发展<sup>[17]</sup>。

进一步行多元 Logistic 回归分析发现,双歧杆菌、乳杆菌是溃疡性结肠炎的保护因素;肠杆菌、肠球菌、TNF- $\alpha$ 、IL-6 是溃疡性结肠炎的独立危险因素( $P < 0.05$ )。双歧杆菌、乳杆菌数量的增加有益于溃疡性结肠炎的防治;肠杆菌、肠球菌数量及 TNF- $\alpha$ 、IL-6 水平的升高则会进一步促进溃疡性结肠炎的发生、发展。崔路佳等<sup>[17]</sup>指出,除血清 TNF- $\alpha$ 、IL-6 水平外,溃疡性结肠炎患者的肠道菌群分布情况与内毒素、IL-4、IL-10 等指标同样显著相关。本研究未对上述指标进行观察,有待今后进一步深入研究,以便为明确病因、改善治疗效果奠定基础。

综上所述,与健康人群相比,溃疡性结肠炎患者外周血 TNF- $\alpha$ 、IL-6 存在高表达,体内更容易发生肠道菌群失调。肠道菌群、TNF- $\alpha$ 、IL-6 可能在溃疡性结肠炎的发生、发展中起重要作用。临床同样可通过检测 TNF- $\alpha$ 、IL-6 水平来了解患者病情的严重程度。

### 参考文献

[1] COLOMBEL J F, SANDS B E, RUTGEERTS P, et al. The safety of vedolizumab for ulcerative colitis(下转第 3426 页)

可成为 T2DM 肾病的早期诊断指标之一,这与 DOI 等<sup>[7]</sup>的研究成果相符,与本研究结果却有相悖之处。然而,纵观该蛋白在 DN 中的代谢变化,以及通过 ROC 曲线分析得出的较高灵敏度及特异度,本实验室认为,尿 Smad1 蛋白至少在 DN 的肾脏受损程度及预后的诊断上可发挥重要作用,即尿 Smad1 蛋白水平可有效提示临床患者肾脏损伤及诊疗恢复效果。李巧等<sup>[8]</sup>在研究中同样提供了充足的理论依据加以佐证。

综上所述,尿 Smad1 蛋白可较好反映肾脏受累情况,为 T2DM 肾病的发展进度提供理论依据。同时,据相关文献报道,尿 Smad1 蛋白可作为 DN 早期诊断的新型生物指标<sup>[9]</sup>。若联合血清 miRNA-21、Smad1 蛋白及尿液中性粒细胞明胶酶相关载脂蛋白(NGAL)检测,可更有效提高早期 DN 诊断质量<sup>[10]</sup>,然而该蛋白在 DN 病程诊断中的临床应用及临床临界值的设定,仍需研究人员进行多中心、大样本研究与探索。

## 参考文献

[1] MATSUBARA T, ABE H, MIMA A, et al. Expression of Smad1 is directly associated with Mesangial matrix expansion in rat diabetic nephropathy[J]. Lab Invest, 2006, 86:357-368.

[2] American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes-2018[J]. Diabetes Care, 2018, 41 (Suppl 1): S1-S155.

[3] 陈灏珠. 实用内科学[M]. 15 版. 北京:人民卫生出版社, 2017:22.

[4] 周颖,陈纤纤,冯烈,等. Smad1 与糖尿病肾病的研究进展[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2015, 31(5):468-470.

[5] 周淑红. 信号蛋白 Smad1 对 2 型糖尿病肾病诊断的初步研究[J]. 中国全科医学, 2012, 15(10):1127-1129.

[6] 师萍. 2 型糖尿病肾病患者血尿酸水平与微量白蛋白尿及 Smad1 蛋白表达的相关性研究[D]. 石家庄:河北医科大学, 2014.

[7] DOI T, MIMA A, MATSUBARA T, et al. The current clinical problems for early phase of diabetic nephropathy and approach for pathogenesis of diabetic nephropathy[J]. Diabetes Res Clin Pract, 2008, 82(Suppl 1):S21-S24.

[8] 李巧,李佳紫,冯烈,等. 尿 Smad1 与 2 型糖尿病肾病早期诊断及病情进展关系的探讨[J]. 中国现代医学杂志, 2016, 26(22):34-37.

[9] 李莉,万青松. 尿信号蛋白 Smad1 对 2 型糖尿病肾病诊断价值的评估[J]. 实用医药杂志, 2015, 32(9):800-802.

[10] 王钱虎,陈锂,彭亮. 血清 miRNA-21、Smad1 联合尿 NGAL 检测对早期糖尿病肾病的诊断价值[J]. 浙江实用医学, 2018, 23(5):321-323.

(收稿日期:2019-03-12 修回日期:2019-06-04)

(上接第 3423 页)

and Crohn's disease[J]. Gut, 2017, 66(5):839-851.

[2] LIGHTNER A L, MATHIS K L, DOZOIS E J, et al. Results at up to 30 years after ileal pouch-anal anastomosis for chronic ulcerative colitis[J]. Inflamm Bowel Dis, 2017, 23, 10(5):781-790.

[3] PARAMSOTHY S, KAMM M A, KAAKOUSH N O, et al. Multidonor intensive faecal microbiota transplantation for active ulcerative colitis: a randomised placebo-controlled trial[J]. Lancet, 2017, 38, 9(10075):1218-1221.

[4] 陈璐,周中银. 溃疡性结肠炎发病机制的研究进展[J]. 疑难病杂志, 2016, 15(6):650-654.

[5] 张静,吕毅. 肠道菌群失调诱发 2 型糖尿病的研究进展[J]. 中国微生态学杂志, 2016, 28(1):113-116.

[6] 赵娜,邓旻. 肠道菌群移位对多脏器功能障碍综合征发生发展的影响及其防治[J]. 浙江中西医结合杂志, 2017, 27(2):165-168.

[7] 张焯杰. 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.

[8] 李闯,郝同琴,刘建萍,等. 百草枯中毒患者血清肿瘤坏死因子- $\alpha$  白细胞介素-6 及百草枯浓度变化的分析[J]. 中国急救医学, 2010, 30(8):739-741.

[9] 瞿庆红,陈霞. 经腹彩色多普勒超声检查在溃疡性结肠炎早期诊断和活性评估中的应用价值[J]. 中国现代医

生, 2019, 57(8):122-125.

[10] 马晨,张和平. 粪便菌群移植的研究与应用[J]. 中国微生态学杂志, 2016, 28(3):364-368.

[11] 李贞贞,王影,唐立. 肠道菌群在炎症性肠病发病中的作用[J]. 中国微生态学杂志, 2015, 27(11):1350-1354.

[12] 杨泽冉,辛毅,侯洁,等. 肠道菌群失调及其相关疾病研究进展[J]. 山东医药, 2016, 56(1):99-101.

[13] 刘志威,王学群,李甜甜. 溃疡性结肠炎患者肠道菌群变化的临床意义[J]. 胃肠病学和肝病杂志, 2016, 25(5):554-556.

[14] 刘萍,郭珍红,董丽娜,等. 实时荧光定量 PCR 法研究不同年龄段健康人群肠道菌群特点[J]. 中国临床实用医学, 2016, 10(1):24-27.

[15] 辛群,孙擎,葛现才,等. IL-6 和 IL-23 在溃疡性结肠炎患者肠黏膜中的表达及意义[J]. 现代生物医学进展, 2015, 15(8):1471-1473.

[16] 毛靖伟,唐海英,王英德. MMP-1、TIMP-1 和 TNF- $\alpha$  在溃疡性结肠炎中表达的意义[J]. 胃肠病学和肝病杂志, 2009, 18(8):738-740.

[17] 崔路佳,王裕宣. 溃疡性结肠炎患者肠道菌群改变与炎症指标的相关性研究[J]. 海南医学, 2018, 25(20):3014-3016.

(收稿日期:2019-03-30 修回日期:2019-06-22)