

基因联合检测,或特异性较强的 microRNA 检测,提示肺癌发生概率的增高,便于早期防治,提高生存率。当然,对于肺癌特异性肿瘤基因的寻找仍是我们今后研究的重点。随着肿瘤分子生物学分子机制的不断研究和循环 DNA 检测方法的不断进步,有望早日将循环 DNA 的检测应用到临床,开创对肿瘤患者进行早期微创检测的新时代。

## 参考文献

- [1] Jemal A, Bray F, Center MM, et al. Global cancer statistics[J]. CA Cancer J Clin, 2011, 61(2):69-90.
- [2] Mulshine, James L, Sullivan, et al. Lung cancer screening[J]. N Engl J Med, 2005, 352(26):2714-2720.
- [3] 潘世扬,王俊宏.循环 DNA 的临床应用研究进展[J].齐鲁医学检验,2004,15(3):1-2.
- [4] Vlassov VV, Laktionov PP, Rykova EY. Circulating nucleic acids as a potential source for cancer biomarkers[J]. Curr Mol Med, 2010, 10(2):142-165.
- [5] Szpechcinski A, Dancewicz M, Kopinski P, et al. Real-time PCR quantification of plasma DNA in non-small cell lung cancer patients and healthy controls[J]. Eur J Med Res, 2009, 14 Suppl 4 (4):S237-240.
- [6] 蒋叶.中国人血浆 DNA 定量多中心合作研究进展报道[J].临床检验杂志,2008,26(3):240.
- [7] 王俊宏,潘世扬,黄珮琨,等.荧光定量聚合酶链反应检测肺癌患者血清循环 DNA 的临床应用[J].中华检验医学杂志,2003,26(12):791-792.
- [8] Lee JH, Hong YS, Ryu JS, et al. *p53* and FHIT mutations and microsatellite alterations in malignancy-associated pleural effusion[J]. Lung Cancer, 2004, 44(1):33-42.
- [9] 李琪,王以炳,陈建荣,等.非小细胞肺癌患者外周血细胞中 *p53* 基因突变的研究[J].临床肺科杂志,2009,14(3):337-339.
- [10] 何臣,刘明,周承志,等.非小细胞肺癌患者外周血表皮生长因子受体基因突变的检测及临床意义[J].中国呼吸与危重监护杂志,2011,10(3):273-277.
- [11] 惠福海,童向东,孙玉坤,等.23 例非小细胞肺癌患者肺癌组织和血浆中 EGFR 外显子 21 的基因突变检测[J].沈阳药科大学学报,2010,27(11):928-932.
- [12] Kimura H, Suminoe M, Kasahara K, et al. Evaluation of epidermal growth factor receptor mutation status in serum DNA as a predictor of response to gefitinib (IRESSA)[J]. Br J Cancer, 2007, 97 (6):778-784.
- [13] Pathak AK, Bhutani M, Kumar S, et al. Circulating cell-free DNA in plasma/serum of lung cancer patients as a potential screening and prognostic tool[J]. Clin Chem, 2006, 52(10):1833-1842.
- [14] Sasaki H, Endo K, Yukie H, et al. Mutation of epidermal growth factor receptor gene in adenosquamous carcinoma of the lung[J]. Lung Cancer, 2007, 55(1):129-130.
- [15] Bird A. DNA methylation patterns and epigenetic memory[J]. Genes Dev, 2002, 16(1):6-21.
- [16] Usadel H, Brabender J, Danenberg KD, et al. Quantitative adenomatous polyposis coli promoter methylation analysis in tumor tissue, serum, and plasma DNA of patients with lung cancer[J]. Cancer Res, 2002, 62(2):371-375.
- [17] Wang Y, Yu Z, Wang T, et al. Identification of epigenetic aberrant promoter methylation of RASSF1A in serum DNA and its clinicopathological significance in lung cancer[J]. Lung Cancer, 2007, 56(2):289-294.
- [18] Tan SH, Ida H, Lau QC, et al. Detection of promoter hypermethylation in serum samples of cancer patients by methylation-specific polymerase chain reaction for tumour suppressor genes including RUNX3[J]. Oncol Rep, 2007, 18(5):1225-1230.
- [19] 亢春彦,周慧聪,肖红,等.血浆中检测 FHIT、*p16*、MGMT 和 RASSF1A 基因甲基化在肺癌诊断中的价值[J].肿瘤,2011,31(8):729-734.
- [20] 易斌,杨和平,阮志华.肺癌患者血浆游离 DNA 微卫星检测的意义[J].第三军医大学学报,2003,25(5):434-436.
- [21] Wang M, Xu CM, Huang L, et al. Loss of heterozygosity on FHIT gene in plasma of patients with non-small cell lung cancer[J]. Acta Med Univ Sci Technol Huazhong, 2010, 39(2):249-253.
- [22] Mitchell PS, Parkin RK, Kroh EM, et al. Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2008, 105(30):10513-10518.
- [23] Burger JA, Kipps TJ. CXCR4: a key receptor in the crosstalk between tumor cells and their microenvironment[J]. Blood, 2006, 107(5):1761-1767.
- [24] Foss KM, Sima C, Ugolini D, et al. miR-1254 and miR-574-5p: serum-based microRNA biomarkers for early-stage non-small cell lung cancer[J]. J Thorac Oncol, 2011, 6(3):482-488.
- [25] Lebony D, Benjamin H, Gilad S, et al. Diagnostic assay based on hsa-miR-205 expression distinguishes squamous from nonsquamous non-small-cell lung carcinoma[J]. J Clin Oncol, 2009, 27(12):2030-2037.
- [26] Ulivi P, Foschi G, Mengozzi M, et al. Peripheral blood miR-328 expression as a potential biomarker for the early diagnosis of NSCLC[J]. Int J Mol Sci, 2013, 14(5):10332-10342.

(收稿日期:2013-09-16)

## • 综 述 •

# 免疫性病变与肠道菌群相关性研究进展

乔维洲 综述,孙福伯<sup>△</sup> 审校

(1. 大连市中心医院检验科,辽宁大连 116033;2. 大连医科大学医学影像学院,辽宁大连 116044)

**关键词:** 肠道菌群; 过敏性疾病; 特应性皮炎; 益生菌

**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2013.23.044

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1673-4130(2013)23-3199-03

肠道是机体与外界环境接触最为密切的部位,是部分肠免疫细胞发育分化的微环境,肠上皮细胞不仅主宰人体的消化及

吸收,而且在机体免疫防御、免疫耐受中起了重要作用。肠道有大量的淋巴组织,肠道内壁是机体最大的免疫器官,肠淋巴

组织总量占整个肠道的25%。人和动物体内存在着一套从最高级神经到免疫细胞的复杂网络系统——神经-内分泌-代谢-微生态-免疫交叉网络。机体的免疫功能受其整体状态的影响,机体内环境稳定及平衡与否与免疫功能的强弱有着必然的内在联系,而免疫功能的强弱又受到肠道微生态的直接影响。

## 1 肠道菌群与多种疾病的易感性

有关过敏性疾病的发生、发展,提出了几种假说,其中“卫生假说”获得最大重视,“卫生假说”是指儿童早期缺乏对传染性病原体、共生微生物(如肠道菌群或益生菌)和寄生虫的暴露从而通过抑制免疫系统的自然发育增加了过敏性疾病的易感性<sup>[1]</sup>。这一假说解释了儿童早期通过接触一些不卫生的物体引起感染能够防止过敏性疾病的产生。之后,引入Th1/Th2模式,由于缺乏幼期感染使Th1免疫应答降低,从而改变了Th1/Th2的平衡,导致过多的Th2应答,产生过敏性疾病。随后,这一假说被进一步修正,即在婴儿期,肠道定植模式的改变以及过度卫生的生活方式成为增加过敏普遍性的最重要原因,尤其是过度卫生,能引起调节性T细胞活性的降低,导致Th1过反应以及Th2应答,这是由过敏性疾病潜在机制造成的<sup>[2]</sup>。

由“卫生假说”可知,一个人的寿命很大程度上受肠道菌群分布的影响。“微生物组”一词由Joshua Lederberg提出的,他认为居住于人体的微生物应成为人体基因组的一部分,因为它们对人体生理上的影响,以及人体所含的微生物细胞是人体细胞的10倍<sup>[3-4]</sup>。为了解微生物组(全体微生物)以及影响微生物组分的分布和进化的因素,人类微生物组计划(HMP)开始启动。HMP旨在识别与人类健康和疾病相关的微生物<sup>[5-7]</sup>。通过调查40例乡村居民和40例城市居民的粪便标本,经宏基因组学分析,研究者发现这2个群体肠道菌群的分布存在明显差异。乡村居民肠道中嗜酸乳杆菌含量是城市居民的3~5倍。嗜酸乳杆菌代谢乳酸,获得维生素K,是血液凝固的辅助因子并对维持骨健康具有十分重要的意义。同时,嗜酸乳杆菌也有助于胆汁中氨基酸的再循环,并使体内胆固醇水平正常化。这一现象可能归因于压力水平以及非生物因素的影响,如空气、水、人们的寿命及健康水平。最重要的是有益的微生物分布主要基于所食用的食物类型。微生物组对其他疾病的潜在作用如下。

## 2 特应性皮炎

特应性皮炎是慢性、可复发的炎症性皮肤病,由遗传、环境因素和皮肤屏障功能障碍介导的复杂免疫性应答。相对于农村或发展中国家,工业化国家城市中特应性皮炎发生的增加尤为显著,这表明了存在于过敏性免疫疾病中的“卫生假说”。“卫生假说”已经引起科学界的广泛重视,同时也饱受争议。长期使用皮质醇治疗特应性皮炎会产生不良反应,如皮肤萎缩或生长抑制。许多研究集中于研发能代替皮质醇的药物以预防和治疗特应性皮炎。最近的研究也致力于肠道菌群的异常调节与包括特应性皮炎在内的多种疾病的联系<sup>[8]</sup>。人们利用益生菌来调节肠道菌群,继而影响由超敏反应引起的免疫应答。

研究表明,人体共生细菌中肠道菌群的组成在过敏性疾病的发展过程中发挥了重要作用。通过比较患有特应性疾病和非特应性疾病婴儿的肠道菌群,发现具有显著差别。非特应性疾病婴儿肠道中含有更多的双歧杆菌和乳酸杆菌,而特应性疾病婴儿肠道中却含有较多的梭状芽孢杆菌。然而,仍有一些研究表明二者无明显差异<sup>[9]</sup>。儿童期,肠道菌群在特应性疾病发展中的具体作用仍有待进一步研究<sup>[10]</sup>。除了观察双歧杆菌在量上的差异,在量上引起的差异也得到关注。存在于特应性疾病

病婴儿肠道中的双歧杆菌在体外能诱导高水平的前炎症因子分泌,而非特应性疾病婴儿肠道中的双歧杆菌却能诱导更多的抗炎症因子分泌。除了不同的分泌能力,与肠黏膜黏附力的差异通过肠道相关的淋巴样组织(GALT)使免疫系统的刺激发生改变<sup>[11]</sup>。

## 3 肥 胖

肥胖与两大优势菌门相对丰度的改变有关,即拟杆菌门和厚壁菌门。与瘦者相比,肥胖者肠道中拟杆菌门的相对比例下降而厚壁菌门增多。肥胖者肠道微生物组具有较强地从食物中获得能量的能力,且分别将肥胖小鼠和瘦小鼠肠道中的细菌移植到无菌小鼠体内,在相同饮食的情况下,移植肥胖小鼠细菌的小鼠体内脂肪含量显著升高<sup>[12-14]</sup>。

## 4 1型糖尿病

宏基因组学揭示儿童期肠道菌群与1型糖尿病(与自身免疫相关的密切联系)的密切联系。1型糖尿病患儿肠道中卵形拟杆菌的比例上升,而健康儿童肠道中厚壁菌门增加<sup>[15]</sup>,揭示了肠道菌群参与了肥胖、1型糖尿病和特异性皮炎的病理反应过程,同时提示细菌作为生物标记物可以对这些疾病进行早期诊断。另外,通过改变菌群结构,可能对这些疾病起到预防作用。

## 5 肠道菌群与免疫系统

**5.1 肠道菌群** 基于“卫生假说”,除了环境因素,肠道菌群主要是通过影响黏膜免疫而影响免疫性疾病。当免疫系统处于发育期,如只存在较少的微生物暴露,则过敏性应答上升<sup>[11]</sup>。胃肠道是连接宿主与环境的重要通道,且具有排除病原菌和促进营养吸收双重功效。人体肠道中居住有至少400种不同细菌,大肠中细菌密度最大,每克肠内容物中细菌数可达 $10^{11} \sim 10^{12}$ 。因为大部分肠道细菌在现有培养技术条件下还不能进行体外培养,据估测,肠道细菌可能超过1000种<sup>[11]</sup>。尽管一些肠道细菌是潜在致病菌,但在健康个体中,肠道细菌与人体宿主仍为共生关系。

**5.2 GALT** GALT是人体最大的淋巴组织,存在于胃肠道,包括集合淋巴小结和肠系膜淋巴结<sup>[16]</sup>。GALT与肠道细菌互作过程中,树突细胞俘获肠细菌,肠上皮细胞通过模式识别受体,如Toll样受体(TLR)和核苷酸结合寡聚化结构域(NOD)<sup>[17]</sup>。在集合淋巴小结中树突细胞通过肠细胞表面的M细胞可捕获肠抗原。黏膜固有层中的树突细胞可直接通过树突来捕获抗原<sup>[18]</sup>。肠道细菌可能也参与诱导口服免疫耐受,口服免疫耐受是通过口服抗原后引起机体对该抗原不产生或产生低免疫反应的一种特异性无应答状态。肠道菌群在调节性T淋巴细胞介导的外周耐受的产生和维持上也发挥了重要作用<sup>[19]</sup>。

## 6 益生菌的作用机制

**6.1 肠道菌群的普遍调节机制** 肠道细菌在调节营养代谢方面发挥多种功效,包括吸收不消化的碳水化合物和产生短链脂肪酸、氨基酸、维生素等。微生物通过消化内源性和外源性底物,如纤维和黏蛋白类,来提供额外能量,同时也形成防止外来菌入侵的保护屏障。这一保护作用受多种不同机制调节,包括竞争营养、竞争结合位点和产生抗菌物质<sup>[18]</sup>。

**6.2 免疫调节机制** 益生菌通过调节肠道细菌组成和(或)活性来刺激免疫系统<sup>[20]</sup>。益生菌的这种调节作用表现于多种炎症免疫疾病中,既包括胃肠道疾病,又包括非胃肠道疾病。益生菌的这些益处存在菌种特异性,其机制也呈现多样性。一些益生菌产生白细胞介素10(IL-10),引起1型和CD4<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>调节性T淋巴细胞的产生,而另一些益生菌通过产生大量IL-

1 $\beta$ 、IL-12 或肿瘤坏死因子  $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )来增强免疫<sup>[21]</sup>。如,罗伊乳酸杆菌诱导树突细胞产生 IL-12 和 TNF- $\alpha$ ;而干酪乳杆菌通过产生抗炎症因子,如 IL-10 而抑制前炎症因子的生成。因此,利用特异的益生菌或联合使用多种益生菌来靶向治疗特异性免疫疾病是至关重要的。大部分的免疫疾病都伴有 Th1/Th2 的失衡,引起 Th2 应答,从而产生 Th2 性细胞因子,如 IL-4、IL-5 和 IL-13,导致 IgE 的过表达。最近,研究表明 IRT5(5 种益生菌的混合)通过产生 CD4 $^{+}$  Foxp3 $^{+}$ 的调节性 T 淋巴细胞而抑制多种免疫疾病<sup>[22]</sup>。口服 IRT5 能产生肾固有树突状细胞,肾固有树突状细胞在黏膜免疫系统中能将 CD4 $^{+}$  Foxp3 $^{+}$ 调节性 T 淋巴细胞转变为 CD4 $^{+}$  Foxp3 $^{+}$ 调节性 T 淋巴细胞。另外,口服 IRT5 能抑制实验性特应性皮炎和关节炎的病程<sup>[22]</sup>。

## 7 展 望

肠道菌群作为一个环境因素影响着宿主的生理状况,尤其是肥胖及其相关代谢性疾病、过敏性疾病<sup>[22-23]</sup>。肠道菌群参与了人类健康与疾病,益生菌可作为一种新型治疗形式,通过调节共生微生物的组成来治疗多种疾病<sup>[8]</sup>。事实上,大量研究表明,足量应用益生菌来调节肠道菌群结构和免疫应答,能抑制特应性皮炎的进程。对于肠道菌群对免疫的影响,以及运用益生菌来调节肠道菌群结构和免疫活性来预防或治疗疾病仍有待进一步研究。

## 参考文献

- [1] Okada H, Kuhn C, Feillet H, et al. The 'hygiene hypothesis' for autoimmune and allergic diseases: an update[J]. Clin Exp Immunol, 2010, 160(1):1-9.
- [2] Noverr MC, Huffnagle GB. The 'microflora hypothesis' of allergic diseases[J]. Clin Exp Allergy, 2005, 35(12):1511-1520.
- [3] Turnbaugh PJ, Ley RE, Hamady M, et al. The human microbiome project[J]. Nature, 2007, 449(7164):804-810.
- [4] 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.
- [5] Tlaskalová-Hogenová H, Stěpánková R, Kozáková H, et al. The role of gut microbiota (commensal bacteria) and the mucosal barrier in the pathogenesis of inflammatory and autoimmune diseases and cancer: contribution of germ-free and gnotobiotic animal models of human diseases[J]. Cell Mol Immunol, 2011, 8(2):110-120.
- [6] Human Microbiome Project Consortium. A framework for human microbiome research[J]. Nature, 2012, 486(7402):215-221.
- [7] Cho I, Blaser MJ. The human microbiome: at the interface of health and disease[J]. Nat Rev Genet, 2012, 13(4):260-270.
- [8] Jia W, Li H, Zhao L, et al. Gut microbiota: a potential new territory for drug targeting[J]. Nat Rev Drug Discov, 2008, 7(2):123-129.
- [9] Penders J, Thijs C, van den Brandt PA, et al. Gut microbiota composition and development of atopic manifestations in infancy: the KOALA Birth Cohort Study[J]. Gut, 2007, 56(5):661-667.
- [10] Kandler M, Uter W, Rueffler A, et al. Comparison of fecal microflora in children with atopic eczema/dermatitis syndrome according to IgE sensitization to food[J]. Pediatr Allergy Immunol, 2006, 17(2):141-147.
- [11] Ouwehand AC. Antiallergic effects of probiotics[J]. J Nutr, 2007, 137(3 Suppl 2):S794-797.
- [12] Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA, et al. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest[J]. Nature, 2006, 444(7122):1027-1031.
- [13] Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S, et al. Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity[J]. Nature, 2006, 444(7122):1022-1023.
- [14] Million M, Maraninch M, Henry M, et al. Obesity-associated gut microbiota is enriched in *Lactobacillus reuteri* and depleted in *Bifidobacterium animalis* and *Methanobrevibacter smithii*[J]. Int J Obes (Lond), 2012, 36(6):817-825.
- [15] Giongio A, Gano KA, Crabb DB, et al. Toward defining the autoimmune microbiome for type 1 diabetes[J]. ISME J, 2011, 5(1):82-91.
- [16] Artis D. Epithelial-cell recognition of commensal bacteria and maintenance of immune homeostasis in the gut[J]. Nat Rev Immunol, 2008, 8(6):411-420.
- [17] Coombes JL, Powrie F. Dendritic cells in intestinal immune regulation[J]. Nat Rev Immunol, 2008, 8(6):435-446.
- [18] Ostman S, Rask C, Wold AE, et al. Impaired regulatory T cell function in germ-free mice[J]. Eur J Immunol, 2006, 36(9):2336-2346.
- [19] Fang H, Elina T, Heikki A, et al. Modulation of humoral immune response through probiotic intake[J]. FEMS Immunol Med Microbiol, 2000, 29(1):47-52.
- [20] Ueno N, Fujiya M, Segawa S, et al. Heat-killed body of *lactobacillus brevis* SBC8803 ameliorates intestinal injury in a murine model of colitis by enhancing the intestinal barrier function[J]. Inflamm Bowel Dis, 2011, 17(11):2235-2250.
- [21] Kwon HK, Lee CG, So JS, et al. Generation of regulatory dendritic cells and CD4 $^{+}$  Foxp3 $^{+}$  T cells by probiotics administration suppresses immune disorders[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2010, 107(5):2159-2164.
- [22] Khoruts A, Sadowsky MJ. Therapeutic transplantation of the distal gut microbiota[J]. Mucosal Immunol, 2011, 4(1):4-7.
- [23] Delzenne NM, Neyrinck AM, Bäckhed F, et al. Targeting gut microbiota in obesity: effects of prebiotics and probiotics[J]. Nat Rev Endocrinol, 2011, 7(11):639-646.

(收稿日期:2013-06-10)

## 误 差

误差指测量值与真值之差,也指样本指标与总体指标之差。包括系统误差、随机测量误差和抽样误差。系统误差指数据收集和测量过程中由于仪器不准确、标准不规范等原因,造成观察(检测)结果呈倾向性的偏大或偏小,是可避免或可通过研究设计解决的。随机测量误差指由于一些非人为的偶然因素使观察(检测)结果或大或小,是不可避免的。抽样误差指由于抽样原因造成样本指标与总体指标的差异,是不可避免但可减少的。