

prostate cancer[J]. Acta Oncol, 2017, 56(7): 1-8.

[9] MINCIACCHI V R, SPINELLI C, REISSOBREIRO M, et al. MYC mediates large oncosome-induced fibroblast reprogramming in prostate cancer[J]. Cancer Res, 2017, 77(9): 2306-2317.

[10] PRADHAN A K, TALUKDAR S, BHOOPATHI P, et al. mda-7/IL-24 mediates cancer cell-specific death via regulation of miR-1246 and the beclin-1 axis[J]. Cancer Res, 2017, 77(4): 949-959.

[11] WU F, CUI L. Resveratrol suppresses melanoma by inhibiting NF- κ B/miR-1246 and inducing TFG expression [J]. Arch Dermatol Res, 2017, 309(10): 1-9.

[12] DIETLEIN F, KOBE C, NEUBAUER S, et al. PSA-stratified performance of 18 F- and 68 Ga-PSMA PET in patients with biochemical recurrence of prostate cancer[J]. J Nucl Med, 2017, 58(6): 947-952.

[13] 许晖阳, 王道虎. 前列腺癌根治术后生化复发的危险因素研究进展[J]. 实用医学杂志, 2016, 32(16): 2767-2769.

[14] CHU J, LI N, GAI W. Identification of genes that predict the biochemical recurrence of prostate cancer[J]. Oncol Lett, 2018, 16(3): 3447-3452.

(收稿日期: 2020-12-30 修回日期: 2021-04-11)

• 短篇论著 •

腹泻型肠易激综合征外周血 Treg/Th17 细胞因子失衡与肠黏膜优势菌的相关性研究

张铭承¹, 林琳²

1. 东莞市妇幼保健院综合内科, 广东广州 523000; 2. 东莞东华医院/中山大学附属东华医院消化内科, 广东广州 523000

摘要:目的 探讨腹泻型肠易激综合征(D-IBS)外周血调节性 T 细胞(Treg)/辅助性 T 细胞 17(Th17)细胞因子失衡与肠黏膜优势菌的相关性。方法 选取 2016 年 1 月至 2020 年 2 月东莞市妇幼保健院收治的 90 例 D-IBS 患者作为 D-IBS 组; 选取健康志愿者 50 例作为对照组。抽取纳入研究者静脉血 2 mL, 采用酶联免疫吸附测定(ELISA)检测血浆中的白细胞介素(IL)-10、转化生长因子 β 1(TGF- β 1)、IL-17、IL-21; 通过实时荧光定量 PCR(qPCR)检测拟杆菌门、厚壁菌门、梭菌属、普氏杆菌等肠黏膜优势菌。比较两组间外周血 Treg/Th17 细胞因子及肠黏膜优势菌, 并进行 Spearman 相关性分析。结果 D-IBS 组外周血 IL-10、TGF- β 1 水平显著低于对照组($P < 0.05$), IL-17、IL-21 水平显著高于对照组($P < 0.05$)。D-IBS 组拟杆菌门、厚壁菌门、梭菌属、普氏杆菌水平均显著低于对照组($P < 0.05$)。经过 Spearman 相关性分析, IL-10、TGF- β 1 与 D-IBS 患者拟杆菌门、厚壁菌门、梭菌属、普氏杆菌水平均呈正相关($P < 0.05$), IL-17、IL-21 与 D-IBS 患者拟杆菌门、厚壁菌门、梭菌属、普氏杆菌水平均呈负相关($P < 0.05$)。结论 D-IBS 患者存在 Treg/Th17 细胞因子失衡, 且与肠黏膜优势菌水平的变化有关。

关键词: 肠易激综合征; Treg 细胞因子; Th17 细胞因子; 肠黏膜优势菌

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2021.17.026

中图法分类号: R446.5

文章编号: 1673-4130(2021)17-2161-03

文献标志码: A

腹泻型肠易激综合征(D-IBS)是一种常见的胃肠道疾病, 其病因和发病机制尚不明确。近年来研究表明, 肠道菌群失衡与 D-IBS 的发病关系十分密切, 肠道菌群能够一定程度地将肠道中的免疫系统激活, 引发 D-IBS, 另外, 肠道菌群可以利用自身结构的特殊性以及相应的代谢产物, 并通过调节脑-肠轴来引发肠道症状^[1]。多数 D-IBS 患者常常出现细菌移位。细菌、内毒素原存在于肠腔内, 经过某些方式穿过肠黏膜屏障, 侵入肠系膜淋巴结, 侵入体循环和肝、脏等远处脏器。在重症胰腺炎、重症监护患者等重症患者因自身损伤的肠屏障功能, 导致原来定植在肠腔中的各种细菌及其分泌的内毒素转移至门脉系统、肠淋巴和结外

周血, 进而激活黏膜下层免疫细胞, 释放大量的炎性介质, 引发炎症反应综合征^[2-3]。辅助性 T 细胞 17(Th17)及其细胞因子参与了调节慢性炎症及自身免疫性疾病, 而调节性 T 细胞(Treg)及其细胞因子可抑制炎症反应和维持免疫耐受^[4-5]。为了探讨 D-IBS 外周血 Treg/Th17 细胞因子失衡与肠黏膜优势菌的相关性, 本文选取东莞市妇幼保健院收治的 90 例 D-IBS 患者作为研究对象。现将其研究结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2016 年 1 月至 2020 年 2 月东莞市妇幼保健院收治的 90 例 D-IBS 患者作为 D-IBS 组, 所有患者均经过肠镜检查确诊, 男性 50 例、女性

40 例,年龄 31~56 岁、平均(38.42±9.85)岁。纳入标准:均符合 Rome III 诊断标准^[6]。本研究经过患者及家属知情同意,伦理委员会批准。排除标准:近 3 个月应用过抗菌药物;近 3 周内服用过胃肠动力药物;有腹部手术史;有其他肠道疾病如免疫性肠病、肛瘘等;有严重心、肝、肾等脏器疾病;恶性肿瘤患者、免疫系统疾病患者、精神疾病患者、妊娠者、甲状腺功能亢进患者。选取健康志愿者 50 例作为对照组,男性 27 例、女性 23 例,年龄 32~55 岁,平均(38.13±9.52)岁。两组一般资料比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。

1.2 方法 采集 2 mL 左右的静脉血放置于含 10% EDTA 和抑肽酶的特殊试管内,低速离心分离血浆,−20 ℃ 保存待检。采用酶联免疫吸附测定(ELISA)测定血浆中的细胞因子:白细胞介素(IL)-10、转化生长因子 β 1(TGF- β 1)、IL-17、IL-21,试剂盒来自上海西唐生物科技有限公司,检测设备为美国 Bio-Rad model 550 酶标仪;通过实时荧光定量 PCR(qPCR)检测肠黏膜优势菌:拟杆菌门、厚壁菌门、梭菌属、普氏杆菌。

1.3 统计学处理 数据结果采用 SPSS22.0 统计学软件分析,外周血 IL-10、TGF- β 1、IL-17、IL-21 水平为计量资料,用 $\bar{x}\pm s$ 表示,两组间比较采用 t 检验;细胞因子水平与肠黏膜优势菌水平的相关性采用 Spearman 相关性分析; $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 两组间外周血 Treg/Th17 细胞因子比较 D-IBS 组外周血 IL-10、TGF- β 1 水平显著低于对照组($P<0.05$),IL-17、IL-21 水平显著高于对照组($P<0.05$),见表 1。

2.2 两组间肠黏膜优势菌水平比较 D-IBS 组拟杆菌门、厚壁菌门、梭菌属、普氏杆菌水平均显著低于对照组($P<0.05$),见表 2。

2.3 D-IBS 患者 Treg/Th17 细胞因子与肠黏膜优势菌的相关性分析 经过 Spearman 相关性分析,IL-10、TGF- β 1 与 D-IBS 患者拟杆菌门、厚壁菌门、梭菌属、普氏杆菌水平均呈正相关($P<0.05$),IL-17、IL-21 与 D-IBS 患者拟杆菌门、厚壁菌门、梭菌属、普氏杆菌水平均呈负相关($P<0.05$)。见表 3。

表 1 两组间外周血 Treg/Th17 细胞因子比较($\bar{x}\pm s$,pg/mL)

组别	<i>n</i>	Treg 细胞因子		Th17 细胞因子	
		IL-10	TGF- β 1	IL-17	IL-21
D-IBS 组	90	3.49±0.36	6.21±0.55	36.29±4.37	30.26±4.68
对照组	50	5.73±0.52	9.01±0.63	14.48±2.16	15.03±1.27
<i>t</i>		29.967	27.385	33.079	22.522
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

表 2 两组肠黏膜优势菌比较($\bar{x}\pm s$,lgN/g)

组别	<i>n</i>	拟杆菌门	厚壁菌门	梭菌属	普氏杆菌
D-IBS 组	90	3.76±1.15	4.11±0.86	4.36±0.96	4.05±0.81
对照组	50	5.21±1.26	5.63±1.13	5.11±1.07	5.74±1.21
<i>t</i>		6.907	8.934	4.250	9.867
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:lgN/g 表示每克标本中的菌株数经对数处理后得到的值。

表 3 D-IBS 患者 Treg/Th17 细胞因子与肠黏膜优势菌的相关性分析

指标	拟杆菌门		厚壁菌门		梭菌属		普氏杆菌	
	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>
IL-10	0.601	<0.001	0.532	<0.001	−0.524	<0.001	−0.615	<0.001
TGF- β 1	0.612	<0.001	0.557	<0.001	−0.603	<0.001	−0.563	<0.001
IL-17	0.618	<0.001	0.574	<0.001	−0.611	<0.001	−0.552	<0.001
IL-21	0.609	<0.001	0.541	<0.001	−0.578	<0.001	−0.536	<0.001

3 讨 论

D-IBS 作为消化内科常见的功能性疾病病之一,大多数 D-IBS 患者容易受到腹痛的困扰,且临床并无特效治愈药,给患者的日常生活带来很大影响,给其

带来巨大的经济负担和心理压力^[7]。目前关于 D-IBS 致病原因和机制并不是特别明确,有研究认为与胃肠动力改变、异常增加的中枢神经系统感知、内脏敏感性、脑肠轴调节和炎症反应、情绪异常等因素相关^[8]。

随着肠道微生态研究的不断发展,越来越多的研究表明 D-IBS 发病是由于肠道微生物发生变化所致^[9]。无论 D-IBS 最早是源自外界化学刺激物或感染,其最终都会导致肠道菌群发生变化,当肠道内的正常菌群和其他有害菌的生态平衡发生紊乱时会导致疾病的发生^[10]。

本研究表明,D-IBS 组外周血 IL-10、TGF- β 1 显著低于对照组,IL-17、IL-21 显著高于对照组($P < 0.05$)。Treg 细胞能够分泌 IFN- γ 、IL-2 和 TNF- α 等炎症因子,可发挥抗细菌、寄生虫的作用。Th17 细胞可以分泌细胞因子 IL-17、IL-22,其中的 IL-17 作为机体的效应因子,能够诱导机体大量表达 IL-6、TNF- α 、IL-8 等发挥炎症反应,并调控中性粒细胞的增殖^[11]。而 IL-22 可促进角质细胞增殖,介导 IL-23 发挥表皮细胞增殖和促进炎症;Th17 细胞虽然不能直接分泌 IL-23,但它作为确保 Th17 细胞能否生存的重要因子,可以诱导 CD4⁺ T 细胞转变为 Th17 细胞,激活 Th17 分泌大量的细胞因子,从而产生 IL-23/IL-17,最终影响 D-IBS 的发生、发展^[12]。当它们维持一定平衡状态时,机体能够维持正常的生理防御、免疫监视等功能;当平衡状态被打破,会导致机体打破对肠道常驻细菌的耐受状态,使抗原微生物免疫和异物排斥反应增强。SCHMULSON 等^[13]报道,炎症反应会慢慢改变肠黏膜内的细胞结构,从而增加肠易激综合征患者肠内的炎症因子表达。T 淋巴细胞亚群是一种可以用来评估细胞免疫功能的指标,Treg/Th17 细胞因子失衡会造成患者免疫功能失调,对机体不利的免疫因子大量释放,造成持续性的炎症反应,进一步损伤细胞,最终影响人体的胃肠道的运动、感觉及分泌功能^[14-15]。

D-IBS 组拟杆菌门、厚壁菌门、梭菌属、普氏杆菌水平均显著低于对照组($P < 0.05$)。梭菌属作为厚壁菌门中的优势菌群,该菌属和肠黏膜完整性密切相关;拟杆菌门可以促进肠黏膜血管再生,加快肠道免疫系统发育,维持肠道菌群的平衡;这些菌群的数量直接反映患者的肠道微生态是否失衡、肠黏膜完整性有无破坏^[16-17]。本研究发现,IL-10、TGF- β 1 与 D-IBS 患者拟杆菌门、厚壁菌门、梭菌属、普氏杆菌均呈正相关($P < 0.05$),说明在一定程度上 IL-10、TGF- β 1 水平可反映肠道黏膜菌群的特点;而 IL-17、IL-21 与 D-IBS 患者拟杆菌门、厚壁菌门、梭菌属、普氏杆菌均呈负相关($P < 0.05$),提示 IL-17、IL-21 可能与肠道致病菌的清除作用相关。

综上所述,D-IBS 患者存在 Treg/Th17 细胞因子失衡,且与肠黏膜优势菌含量的变化有关。

参考文献

[1] HABBA S F. Diarrhea predominant irritable bowel syn-

drome (IBS-D): fact or fiction[J]. Med Hypotheses, 2011,76(1):97-99.

[2] CAMILLERI M, SHIN A, CARLSON P, et al. Mo2036 exome sequencing in patients with diarrhea-predominant irritable bowel syndrome (IBS-D) and relationship to colonic transit and bile acid (BA) Kinetics[J]. Gastroenterology, 2013,144(5):724-727.

[3] 何媛. 类风湿性关节炎患者 Th17/Treg 及其相关细胞因子的研究[J]. 实用临床医学, 2016,17(9):17-19.

[4] VARA E J, BROKSTAD K A, HAUSKEN T, et al. Altered levels of cytokines in patients with irritable bowel syndrome are not correlated with fatigue[J]. Int J Gen Med, 2018,11:285-291.

[5] 柴玉娜, 唐洪梅, 黄育生, 等. 腹泻型肠易激综合征大鼠 SCF/C-kit 信号的变化及其与免疫功能的关系[J]. 中国药理学通报, 2018,34(1):68-72.

[6] 项柏康. 功能性胃肠病罗马Ⅲ型诊断标准解读[J]. 浙江临床医学, 2008,10(3):289-290.

[7] 成媛媛, 张亮, 张文, 等. 认知行为治疗对腹泻型肠易激综合征患者生活质量的影响[J]. 潍坊医学院学报, 2017,39(5):384-386.

[8] 诸凡凡, 叶柏. 腹泻型肠易激综合征发病机制及治疗现状[J]. 西部中医药, 2013,26(10):139-142.

[9] 张杰, 李红, 王进海, 等. 肠道微生态对腹泻型肠易激综合征的影响及其作用机制探讨[J]. 世界临床药物, 2019,40(5):340-346.

[10] 林伟章, 李书超, 邓亮. 不同类型肠易激综合征患者肠道菌群分布差异及肠道微生态制剂干预效果观察[J]. 中国基层医药, 2017,24(22):3364-3368.

[11] 冯果, 陈继婷, 刘文, 等. 幼泻停敷脐散对 IBS-D 模型大鼠血清中 TNF- α 和 IL-10 含量的影响[J]. 微量元素与健康研究, 2014,31(2):6-8.

[12] 谭玲娣, 孙晓宁. 肠易激综合征的肠黏膜免疫细胞研究进展[J]. 海南医学院学报, 2014,20(10):1446-1448.

[13] SCHMULSON M, PULIDO-LONDON D, RODRIGUEZ O, et al. IL-10 and TNF-alpha polymorphisms in subjects with irritable bowel syndrome in Mexico[J]. Rev Esp Enferm Dig, 2013,105(7):392-399.

[14] 李金厚, 袁海鹏, 石焕玲. 腹泻型肠易激综合征 TH17 细胞的免疫激活与食物过敏原相关关系[J/CD]. 中华消化病与影像杂志(电子版), 2018,8(5):203-206.

[15] 赵佳钧, 李宏宇, 孙大为. 腹泻型肠易激综合征患者外周血 Th1/Th2 细胞因子失衡表达的分析[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2011,27(2):201-202.

[16] 王深皓, 钟文婷, 鲁晓岚, 等. 腹泻型肠易激综合征患者肠黏膜相关菌群及其与症状的关系研究[J]. 胃肠病学和肝病杂志, 2018,27(12):98-104.

[17] 王菲, 高斌. 腹泻型肠易激综合征患者的肠道微生态特征[J]. 临床合理用药杂志, 2021,14(8):157-158.

(收稿日期:2020-12-28 修回日期:2021-04-13)