

世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2017 年 12 月 28 日 第 25 卷 第 36 期 (Volume 25 Number 36)



36 / 2017

ISSN 1009-3079



《世界华人消化杂志》是一本高质量的同行评议, 开放获取和在线出版的学术刊物. 本刊被中国知网《中国期刊全文数据库》, 美国《化学文摘 (Chemical Abstracts, CA)》, 荷兰《医学文摘库/医学文摘 (EMBASE/Excerpta Medica, EM)》和俄罗斯《文摘杂志 (Abstract Journal, AJ)》数据库收录.



述评

3171 肝再生增强因子研究进展

张超, 安威

3180 消化系恶性肿瘤患者积极心理学领域研究进展

姜桐桐, 余一彤, 吴晗, 史铁英

基础研究

3184 中药靛玉红衍生物通过信号转导子和转录激活子3途径促进胃癌细胞自噬

聂国青, 王新强, 杨明英

3191 基于16S rRNA序列分析肠道菌群失调与溃疡性结肠炎的相关性

姜洋, 赵秋枫, 王实, 罗灵和, 徐平珍

临床研究

3203 美沙拉嗪不同给药方式治疗溃疡性结肠炎的疗效评估

胡俊, 谌黄威, 张敏, 梁春妙, 张媛琪, 鄧敏

文献综述

3211 舒兰教授治疗小儿腹泻证方用验

郭艳芳, 刘娅薇, 刘舫, 彭昕欣, 舒兰, 谭周进

3218 NSD2与肿瘤关系的研究进展

雷宏维, 陶凯雄

临床实践

3224 嗜酸性粒细胞性胃肠炎98例临床特点与诊治

许会丽, 张连峰, 周琳

3230 阴式全子宫切除修补联合术式对重度子宫脱垂伴慢性萎缩性胃炎患者手术相关指标及并发症的影响

万晓梅, 方红

3235 早期含膳食纤维肠内营养对脑出血术后患者免疫功能及预后的影响

刘一宁

3241 动态心电图在消化性溃疡患者中的临床应用与护理的作用

毕伟轩

3248 益生菌对白血病化疗后继发腹泻患者的影响

周雪峰, 何瑛, 王石健, 王金明, 洪伟勇

附 录

- 《世界华人消化杂志》投稿须知
- 2017年国内国际会议预告

志 谢

- 志谢《世界华人消化杂志》编委

消 息

- 3179 《世界华人消化杂志》参考文献要求
3210 《世界华人消化杂志》栏目设置
3217 《世界华人消化杂志》正文要求
3223 《世界华人消化杂志》外文字符标准
3229 《世界华人消化杂志》消化护理学领域征稿启事
3234 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费
3240 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标
3247 《世界华人消化杂志》修回稿须知

封面故事

《世界华人消化杂志》编委, 任刚, 主任医师, 硕士生导师, 200092, 上海市杨浦区控江路1665号, 上海交通大学医学院附属新华医院放射科. 主要从事成人胃肠道肿瘤及儿童腹部肿瘤的影像综合诊断和相关基础研究. 现任《世界华人消化杂志》和《实用医学影像杂志》编委, 《实用医学杂志》和《肿瘤学杂志》通讯编委; 担任中国研究型医院学会放射学专业委员会会员, 上海市科学技术专家库成员, 中国教育部科技评价与评审信息系统评审专家. 目前在研课题3项, 截止目前共发表学术论文约90篇.

本期责任人

编务 李香; 送审编辑 闫晋利, 李瑞芳; 组版编辑 杜冉冉; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 闫晋利; 形式规范审核编辑部主任 马亚娟; 最终清样审核总编辑 马连生

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名

(旬刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2017-12-28

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

主编

程英升, 教授, 200233, 上海市, 上海交通大学附属第六人民医院放射科

党双锁, 教授, 710004, 陕西省西安市, 西安交通大学医学院第二附属医院感染科

江学良, 教授, 250031, 山东省济南市, 中国人民解放军济南军区总医院消化科

刘连新, 教授, 150001, 黑龙江省哈尔滨市, 哈尔滨医科大学第一临床医学院普外科

刘占举, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院消化内科

吕宾, 教授, 310006, 浙江省杭州市, 浙江中医药大学附属医院(浙江省中医院)消化科

马大烈, 教授, 200433, 上海市, 中国人民解放军第二军医大学附属长海医院病理科
王俊平, 教授, 030001, 山西省太原市, 山西省人民医院消化科

王小众, 教授, 350001, 福建省福州市, 福建医科大学附属协和医院消化内科
姚登福, 教授, 226001, 江苏省南通市, 南通大学附属医院临床医学研究中心
张宗明, 教授, 100073, 北京市, 首都医科大学北京电力医院普外科

编辑委员会

编辑委员会成员在线名单, 详见:

[http://www.wjgnet.com/1009-3079/
editorialboard.htm](http://www.wjgnet.com/1009-3079/editorialboard.htm)

编辑部

马亚娟, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

Baishideng Publishing Group Inc
7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton,
CA 94588, USA

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

E-mail: wjgd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

出版

百世登出版集团有限公司

Baishideng Publishing Group Inc
7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton,
CA 94588, USA

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

制作

北京百世登生物医学科技有限公司
100025, 北京市朝阳区东四环中路
62号, 远洋国际中心D座903室

电话: 010-85381892

传真: 010-85381893

《世界华人消化杂志》是一本高质量的同行评议, 开放获取和在线出版的学术刊物. 本刊被中国知网《中国期刊全文数据库》, 美国《化学文摘(Chemical Abstracts, CA)》, 荷兰《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica, EM)》和俄罗斯《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》数据库收录.

《世界华人消化杂志》正式开通了在线办公系统(<https://www.baishideng.com>), 所有办公流程一律可以在线进行, 包括投稿、审稿、编辑、审读, 以及作者、读者和编者之间的信息反馈交流.

特别声明

本刊刊出的所有文章不代表本刊编辑部和本刊编委会的观点, 除非特别声明. 本刊如有印装质量问题, 请向本刊编辑部调换.

定价

每期90.67元 全年36期3264.00元

© 2017 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Contents

Volume 25 Number 36 December 28, 2017

EDITORIAL

3171 Progress in research of augmenter of liver regeneration

Zhang C, An W

3180 Positive psychology in patients with digestive system malignancies

Jiang TT, Yu YT, Wu H, Shi TY

BASIC RESEARCH

3184 E804, a derivative of indirubin, promotes autophagy of gastric cancer cells through Stat3 signaling pathway

Nie GQ, Wang XQ, Yang MY

3191 Analysis of relationship between intestinal flora imbalance and ulcerative colitis based on 16S rRNA sequences

Jiang Y, Zhao QF, Wang S, Luo LH, Xu PZ

CLINICAL RESEARCH

3203 Curative effect of different routes of mesalazine administration in treatment of patients with ulcerative colitis

Hu J, Chen HW, Zhang M, Liang CM, Zhang YQ, Zhi M

REVIEW

3211 Professor Lan Shu's experience of syndrome differentiation and prescription in treating infant diarrhea

Guo YF, Liu YW, Liu F, Peng XX, Shu L, Tan ZJ

3218 Relationship between NSD2 and tumors

Lei HW, Tao KX

CLINICAL PRACTICE

- 3224 Clinical characteristics, diagnosis, and treatment of 98 cases of eosinophilic gastroenteritis

Xu HL, Zhang LF, Zhou L

- 3230 Vaginal hysterectomy with repair for treatment of patients with severe uterine prolapse complicated with chronic atrophic gastritis: Impact on surgical indicators and complications

Wan XM, Fang H

- 3235 Effect of early dietary fiber-containing enteral nutrition on immune function and prognosis in patients with cerebral hemorrhage

Liu YN

- 3241 Clinical application of dynamic electrocardiogram in patients with peptic ulcer: Impact of systematic nursing intervention

Bi WX

- 3248 Effect of probiotics on diarrhea secondary to chemotherapy for leukemia

Zhou XF, He Y, Wang SJ, Wang JM, Hong WY

Contents

World Chinese Journal of Digestology
Volume 25 Number 36 December 28, 2017

APPENDIX

- Instructions to authors
Calendar of meetings and events in 2017

ACKNOWLEDGMENT

- Acknowledgments to reviewers for the *World Chinese Journal of Digestology*

COVER

Editorial Board Member of *World Chinese Journal of Digestology*, Gang Ren, Chief Physician, Department of Radiology, Xinhua Hospital Affiliated to Shanghai Jiaotong University School of Medicine, 1665 Kongjiang Road, Yangpu District, Shanghai 200092, China

Indexed/Abstracted by

Chinese Journal Full-text Database, Chemical Abstracts, EMBASE/Excerpta Medica, and Abstract Journals.

RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE

Assistant Editor: *Xiang Li* Review Editor: *Jin-Li Yan*, *Rui-Fang Li* Electronic Editor: *Ran-Ran Du*
English Language Editor: *Tian-Qi Wang* Editor-in-Charge: *Jin-Li Yan* Proof Editor: *Ya-Juan Ma*
Layout Reviewer: *Lian-Sheng Ma*

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993

Renamed on January 25, 1998

Publication date December 28, 2017

NAME OF JOURNAL

World Chinese Journal of Digestology

ISSN

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

EDITOR-IN-CHIEF

Ying-Sheng Cheng, Professor, Department of Radiology, Sixth People's Hospital of Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200233, China

Shuang-Suo Dang, Professor, Department of Infectious Diseases, the Second Affiliated Hospital of Medical School of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, Shaanxi Province, China

Xue-Liang Jiang, Professor, Department of Gastroenterology, General Hospital of Jinan Military Command of Chinese PLA, Jinan 250031, Shandong Province, China

Lian-Xin Liu, Professor, Department of General Surgery, the First Clinical Medical College of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China

Zhan-Ju Liu, Professor, Department of Gastroenterology, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China

Bin Lv, Professor, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310006, Zhejiang Province, China

Da-Lie Ma, Professor, Department of Pathology, Changhai Hospital, the Second Military Medical University of Chinese PLA, Shanghai 200433, China

Jun-Ping Wang, Professor, Department of Gastroenterology, People's Hospital of Shanxi, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China

Xiao-Zhong Wang, Professor, Department of Gastroenterology, Union Hospital, Fujian Medical University, Fuzhou 350001, Fujian Province, China

Deng-Fu Yao, Professor, Clinical Research Center, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China

Zong-Ming Zhang, Professor, Department of General Surgery, Beijing Electric Power Hospital, Capital Medical University, Beijing 100073, China

EDITORIAL BOARD MEMBERS

All editorial board members resources online at <http://www.wjgnet.com/1009-3079/editorialboard.htm>

EDITORIAL OFFICE

Ya-Juan Ma, Director
World Chinese Journal of Digestology
Baishideng Publishing Group Inc
7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton, CA 94588, USA
Fax: +1-925-223-8242
Telephone: +1-925-223-8243
E-mail: wjgd@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>

PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Inc
7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton, CA 94588, USA
Fax: +1-925-223-8242
Telephone: +1-925-223-8243

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>

PRODUCTION CENTER

Beijing Baishideng BioMed Scientific Co., Limited Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China
Telephone: +86-10-85381892
Fax: +86-10-85381893

PRINT SUBSCRIPTION

RMB 90.67 Yuan for each issue
RMB 3264 Yuan for one year

COPYRIGHT

© 2017 Baishideng Publishing Group Inc. Articles published by this open access journal are distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-commercial License, which permits use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited, the use is non commercial and is otherwise in compliance with the license.

SPECIAL STATEMENT

All articles published in journals owned by the Baishideng Publishing Group (BPG) represent the views and opinions of their authors, but not the views, opinions or policies of the BPG, except where otherwise explicitly indicated.

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

Full instructions are available online at <http://www.wjgnet.com/1009-3079/Nav/36>. If you do not have web access, please contact the editorial office.

基于16S rRNA序列分析肠道菌群失调与溃疡性结肠炎的相关性

姜 洋, 赵秋枫, 王 实, 罗灵和, 徐平珍

姜洋, 浙江省立同德医院科教部 浙江省杭州市 310012

赵秋枫, 罗灵和, 徐平珍, 浙江省立同德医院消化科 浙江省杭州市 310012

王实, 浙江省肿瘤医院消化内科 浙江省杭州市 310022

姜洋, 工程师, 主要从事生物信息学、药物重定位的研究.

基金项目: 浙江省科技计划基金资助项目, No. 2014C33209.

作者贡献分布: 课题设计由赵秋枫完成; 论文撰写及数据分析由姜洋完成; 临床采样由王实、罗灵和及徐平珍完成.

通讯作者: 姜洋, 研究员, 310012, 浙江省杭州市西湖区文一路310号, 浙江省立同德医院科教部. jybackup@163.com
电话: 0571-89975971

收稿日期: 2017-10-20

修回日期: 2017-11-24

接受日期: 2017-12-03

在线出版日期: 2017-12-28

Analysis of relationship between intestinal flora imbalance and ulcerative colitis based on 16S rRNA sequences

Yang Jiang, Qiu-Feng Zhao, Shi Wang, Ling-He Luo, Ping-Zhen Xu

Yang Jiang, Department of Science and Education, Litongde Hospital of Zhejiang Province, Hangzhou 310012, Zhejiang Province, China

Qiu-Feng Zhao, Ling-He Luo, Ping-Zhen Xu, Department of Gastroenterology, Litongde Hospital of Zhejiang Province, Hangzhou 310012, Zhejiang Province, China

Shi Wang, Department of Gastroenterology, Oncology Hospital of Zhejiang Province, Hangzhou 310012, Zhejiang Province, China

Supported by: Science and Technology Plan Project of Zhejiang

Province, No. 2014C33209.

Correspondence to: Yang Jiang, Researcher, Department of Science and Education, Litongde Hospital of Zhejiang Province, 310 Wenyi Road, Xihu District, Hangzhou 310012, Zhejiang Province, China. jybackup@163.com

Received: 2017-10-20

Revised: 2017-11-24

Accepted: 2017-12-03

Published online: 2017-12-28

Abstract

AIM

To detect the distribution of intestinal flora between ulcerative colitis (UC) patients and normal controls by high-throughput sequencing to discover the genus structures related to the formation and development of UC.

METHODS

Chromosomal DNA was extracted from each sample, and the length of DNA fragment was detected and quantified. Gene amplification and sequencing of the V3 region of 16S rRNA were then performed.

RESULTS

The structure of intestinal flora in UC patients exhibited a significant decrease in the numbers of Bacteroidetes, Proteobacteria, and Firmicute, compared with that of healthy controls. There were significant differences ($P < 0.05$) in the mean abundance of 11 metabolic pathways between the two groups.

CONCLUSION

There is a strong correlation between the abnormal changes of the intestinal flora structure and the occurrence and development of UC. Multiple metabolic pathways

are involved in the formation and development of UC. It is helpful to understand the molecular pathological basis of UC by analyzing the key structures of bacterial flora, which will provide a theoretical basis for the reasonable design of new drugs.

© The Author(s) 2017. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Ulcerative colitis; 16S rRNA; Sequencing; Intestinal flora

Jiang Y, Zhao QF, Wang S, Luo LH, Xu PZ. Analysis of relationship between intestinal flora imbalance and ulcerative colitis based on 16S rRNA sequences. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2017; 25(36): 3191-3202 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v25/i36/3191.htm> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v25.i36.3191>

摘要

目的

采用高通量测序技术检测溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)和正常人群的肠道菌群分布, 挖掘与UC形成和发展显著相关的菌属结构, 促进UC的研究和新药开发。

方法

提取各研究样本染色体DNA, 并进行DNA片段长度检测和定量。对提取的DNA样本进行16S rRNA V3区基因扩增及焦磷酸测序。

结果

UC患者的肠道菌群整体结构与健康对照人群具有显著的差异, 主要表现为拟杆菌门、变形菌门和厚壁菌门丰度降低。其中在11个代谢通路中二组平均丰度存在显著差异($P<0.05$)。

结论

肠道菌群结构的异常改变与UC的发生发展存在较强相关性。多个代谢通路参与了UC的形成发展。通过分析疾病相关的关键菌群结构, 有助于了解疾病的分子病理基础, 并为新药设计提供可借鉴的理论依据。

© The Author(s) 2017. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 溃疡性结肠炎; 16S rRNA; 测序; 肠道菌群

核心提要: 本文主要通过对正常人群和溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)患者肠道菌群的检测, 发现二者之间肠道菌群的菌群结构差异。并结合KEGG数据库挖掘和UC显著相关的信号通路, 为UC药物靶标的设计提供可借鉴的思路。

姜洋, 赵秋枫, 王实, 罗灵和, 徐平珍. 基于16S rRNA序列分析肠道菌群失调与溃疡性结肠炎的相关性. *世界华人消化杂志* 2017; 25(36): 3191-3202 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v25/i36/3191.htm> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v25.i36.3191>

0 引言

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是一种病因尚不清楚的结肠和直肠慢性非特异性炎症性疾病, 炎症反应及病理的改变主要累及结肠及直肠^[1]。近几年研究发现肠道微生物群落可能与UC的发生发展具有很大的相关性。目前, UC在我国的发病率呈现逐年升高的趋势, 虽然UC的病因尚不清楚, 但研究者普遍认为UC的发病与宿主共生的肠道菌群紊乱, 免疫功能失调, 氧化应激以及炎症介质的参与等有关^[2]。在本研究中, 我们共选取了16例样本, 其中包含8例患者和8例健康对照者的粪便样品作为研究对象, 采用Illumina公司的MiSeq测序仪检测16S rRNA 基因V3区的多样性, 从而研究UC患者肠道菌群的结构, 与健康人肠道菌群的结构进行比较以期发现肠道菌群的变化与UC的相关性。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 一般资料: 本研究共包括16名志愿者。其中8例UC患者为浙江省立同德医院2015-07/2015-12诊断为UC的患者, 随机选择同期健康查体8例作为对照组。病例组男性5例, 女性3例, 平均年龄 38.6 ± 5.4 岁, 对照组男性4例, 女性4例, 平均年龄 36.5 ± 4.2 岁。由于抗生素对肠道菌群影响较大, 要求所有病例在采样前均未接受过任何抗生素治疗, 正常对照者3 mo内未发生过消化系统疾病, 也未使用过抗生素, 根据纳入标准进行筛选。所有参与实验者均已签署实验知情同意书。且该项目通过浙江省立同德医院伦理委员会的批准。

1.1.2 入选标准: (1)入选病例均符合“炎症性肠病诊断和治疗共识意见(2012年, 广州)”制订的UC诊断标准; (2)年龄在16至70岁之间; (3)采集粪便标本前4 wk未使用微生态制剂或抗生素。

1.1.3 排除标准: (1)细菌性痢疾、阿米巴痢疾、慢性血吸虫病、肠结核、缺血性结肠炎、放射性结肠炎、结肠癌等; (2)未定型结肠炎者; (3)儿童炎症性肠病患者; (4)妊娠期或哺乳期妇女; (5)合并大肠肿瘤者; (6)合并全身其他部位肿瘤及恶性血液病者; (7)合并肝硬化、糖尿病、肾功能衰竭、重度脂肪肝、肥胖患者; (8)病理发现有结节病样肉芽肿者。

1.2 方法

1.2.1 粪便样本DNA提取、文库构建及测序: DNA提

表 1 在溃疡性结肠炎组和对照组中相对丰度存在显著差异的属

属水平上物种分类	UC组		对照组		P值
	平均丰度	标准差	平均丰度	标准差	
p__Actinobacteria; g__Collinsella(柯林斯氏菌)	0.011	0.031	0.111	0.182	0.038
p__Firmicutes; g__Clostridium(梭菌属)	0.287	0.303	2.323	2.449	0.009
p__Firmicutes; g__Coprococcus(粪球菌属)	0.104	0.161	1.133	1.633	0.046
p__Firmicutes; g__Lachnospira(毛螺菌属)	0.008	0.014	0.128	0.186	0.038
p__Firmicutes; g__Roseburia(罗斯氏菌属)	0.080	0.100	1.670	2.227	0.012
p__Proteobacteria; g__Flexispira(胃螺杆菌样细菌) ¹	0.062	0.053	0.018	0.014	0.038
p__Bacteroidetes; g__Alistipes(理研菌)	0	0	0.028	0.049	0.016
p__Firmicutes; g__Turicibacter(未定)	0.063	0.142	0.185	0.213	0.026
p__Firmicutes; g__Anaerostipes(丁酸弧菌)	0.0007	0.002	0.142	0.253	0.008
p__Firmicutes; g__Megasphaera(巨球型菌属)	0.0004	0.001	0.033	0.065	0.042

¹UC组别平均丰度高于对照组。UC: 溃疡性结肠炎。

取: 高通量测序对DNA的完整性有较高要求。采用天根粪便DNA提取试剂盒抽提粪便组织中DNA, 通过Qubit对DNA浓度进行定量, 并通过Agilent 2100对DNA完整性进行评价。DNA质量符合的样本进行文库构建。

文库构建: 采用独特的二步PCR方法进行样本文库构建。以不同样本DNA为模板, 通过PCR反应完成第一轮扩增。采用磁珠法对PCR产物进行纯化后, 分别用含有不同index的引物(该引物含有与测序flow cell上面接头配对的序列、区分不同样本之间的index序列及悬挂接头序列的一部分)进行第二轮PCR扩增, 再经磁珠纯化后, 分别用Qubit和Agilent2100对文库的质量进行检测。检测合格的文库将采用Illumina Miseq高通量测序平台对样品进行测序。

本项目采用Illumina公司的MiSeq测序仪进行高通量测序。该测序平台可以针对16S rRNA的一个或多个高变区域进行测序, 样本制备文库的DNA起始量可低至50 ng。文库制备完成后, 簇生成和测序都在MiSeq上完成。

对提取的DNA样本进行16S rRNA V3区基因扩增及测序, 扩增引物为5'-NNNNNNNNCCTACGGGAGG CAGCAG-3'和5'-NNNNNNNNATTACCGCGGCTGCT-3', 其中“NNNNNNNN”为对各样品进行扩增所设定的唯一性标签序列。进行对各样品的PCR扩增和总体测序分析。

1.2.2 测序结果的生物信息学分析: 对测序结果根据不同的标签序列区分不同的样品相关序列并建立相应文库, 用CD-HIT软件进行聚类分析, 并进一步完成各文库中可操作分类单位(operational taxonomic units, OTUs)分析。依托新一代DNA测序仪和计算平台, 经过

宏基因组分析技术得到肠道菌群分布。

2 结果

2.1 物种分类分析 研究共包含16个样本, 其中FB1、FB4、FB6、FB8、FB10、FB11、FB13和FB15为UC样本, 其余8个样本为正常对照组。在门的水平上, 中国人群肠道内一共含有属于19个门的细菌, 257个属。其中以厚壁菌门、拟杆菌门和变形菌门最为优势, 比例占肠道内总细菌的90%以上。各样本门水平上相对丰度分布如图1。样本主要包含19个门, 疣微菌门(*verrucomicrobi*)、软壁菌门(*tenericute*)、TM7门(*TM7*)、互养菌门(*Synergistetes*)、螺旋体门(*Spirochaetes*)、变形菌门(*Proteobacteria*)、浮霉菌门(*Planctomycetes*)、黏胶球形菌门(*lentisphaerae*)、黏胶球形菌门(*Gemmatimonadet*)、梭杆菌门(*Fusobacteria*)、厚壁菌门(*Firmicute*)、脱铁杆菌门(*Deferribacteres*)、蓝细菌门(*Cyanobacter*)、拟杆菌(*Bacteroidetes*)、放线菌(*Actinobacteria*)、酸杆菌门(*Acidobacteria*)等。

在种的水平, 所有序列根据97%的相似性水平划分为6489个分类操作单位OTUs。人群肠道菌群属水平上的多样性组成呈现显著的个体差异, 如表1和图2。

本研究通过宏基因组学16S rRNA测序技术分析UC患者和正常人群肠道的菌群构成, 证实UC患者的肠道菌群整体结构与健康对照人群具有显著的差异, 主要表现为拟杆菌门、厚壁菌门含量降低, 变形菌门升高。Yao等^[2]研究发现UC患者主要表现为拟杆菌门、变形菌门和厚壁菌门含量降低^[3]和本研究结果稍有差异, 可能是个体条件或饮食结构不同所带来的差异。Ott等^[4]对炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)急性期患者结肠各部位的活检标本菌群构成进行

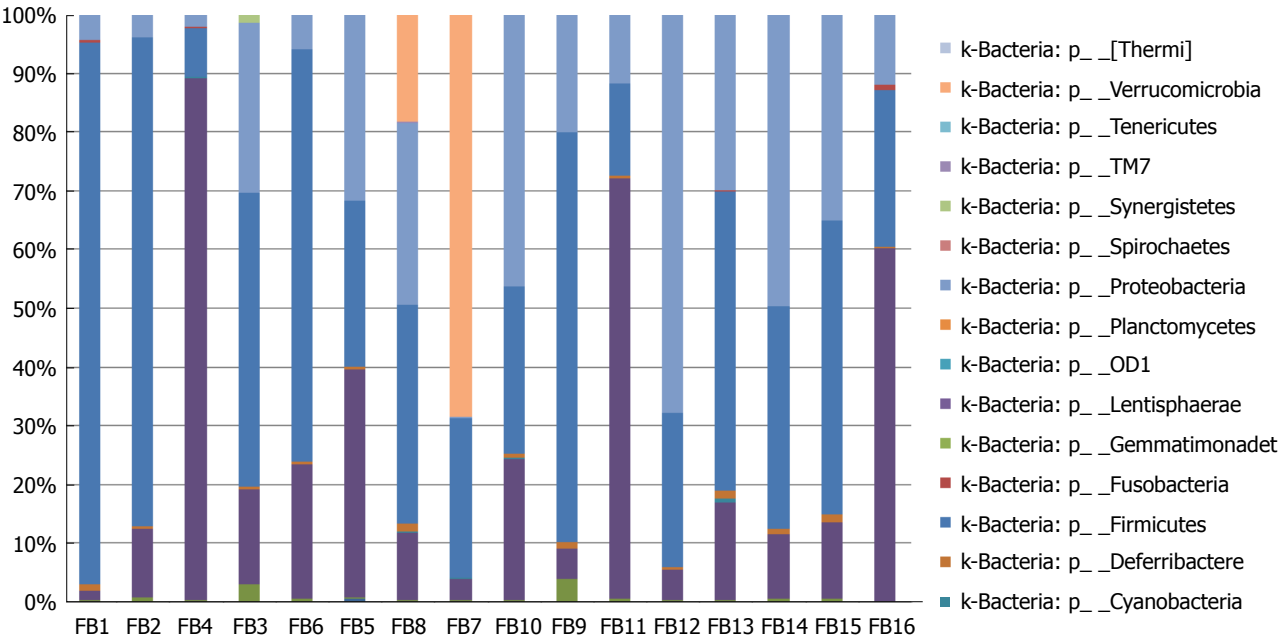


图 1 phylum水平各样品相对丰度分布图.

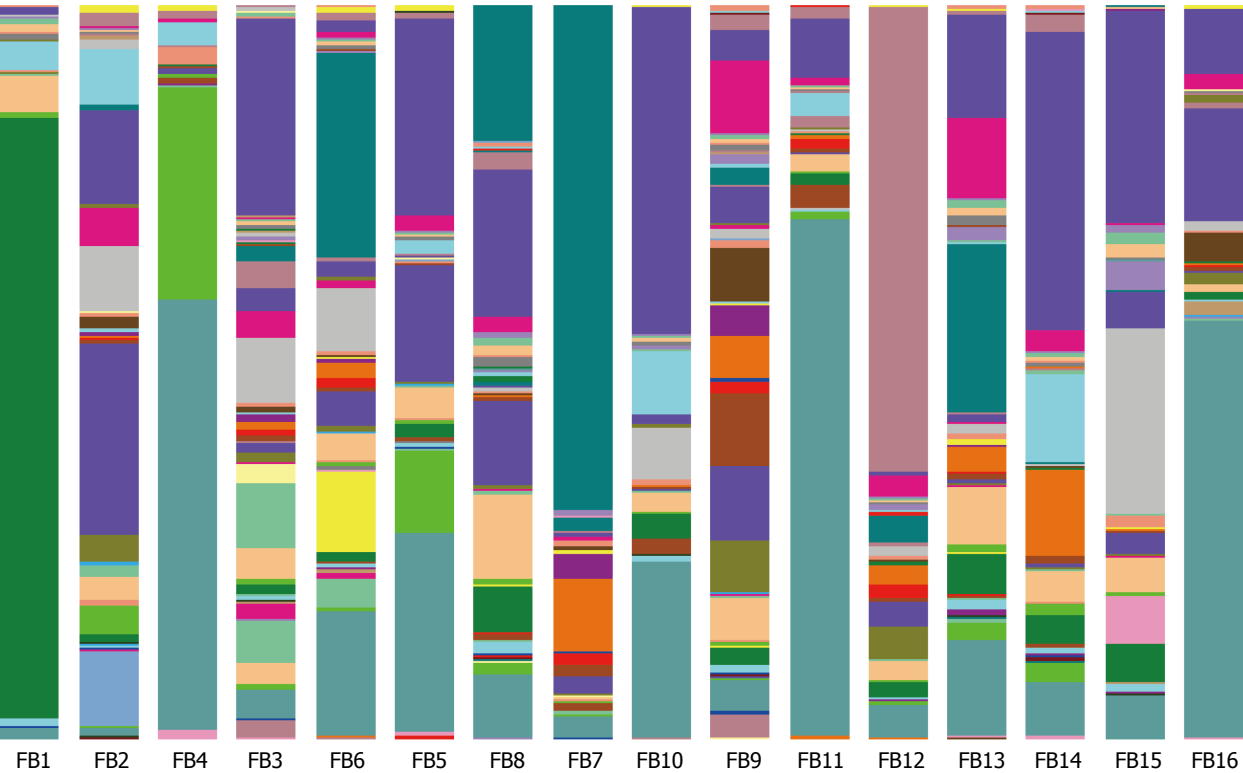


图 2 属水平各样品相对丰度分布图.

了基于16S rDNA的单链构型多态性检测, 发现克罗恩病(Crohn's disease, CD)患者肠道微生物多样性降低至50%, UC患者降低至30%, 肠道正常厌氧菌如拟杆菌属、真细菌属、乳杆菌属等减少. Manichanh等^[5]对恢复期CD患者粪便菌群构成进行了16S rDNA测序分析,

结果发现CD患者厚壁菌门多样性显著降低, 特别是柔内梭菌、球形梭菌丰度较低, 而拟杆菌门变化不大. 由我国华大基因研究院负责的对欧洲124个成人个体进行的肠道宏基因组测序工作已经完成, 该研究证实IBD患者与健康个体间的细菌丰度存在差异, 非冗余的细

表 2 溃疡性结肠炎组和健康对照组在不同代谢通路中肠道微生物丰度差异

代谢通路	UC组		对照组		P值
	平均丰度	标准差	平均丰度	标准差	
Signal Transduction					
Phosphatidylinositol signaling system	0.1022	0.0155	0.0845	0.0182	0.019
Biosynthesis of Other Secondary					
Metabolites; Isoflavonoid biosynthesis	8.97×10^{-6}	8.03×10^{-6}	9.75×10^{-7}	1.39×10^{-7}	0.003
Novobiocin biosynthesis ¹	0.1161	0.01	0.1277	0.0122	0.025
Lipid Metabolism					
Linoleic acid metabolism	0.0851	0.0505	0.0518	0.0197	0.025
Primary bile acid biosynthesis	0.0416	0.0186	0.0257	0.012	0.019
Secondary bile acid biosynthesis	0.0414	0.0187	0.0255	0.012	0.018
Nucleotide Metabolism					
Purine metabolism	2.2171	0.2176	2.0283	0.1561	0.018
Xenobiotics Biodegradation and Metabolism					
Ethylbenzene degradation	0.0769	0.0643	0.0429	0.00795	0.018
Naphthalene degradation	0.1827	0.0823	0.13	0.0261	0.018
Nitrotoluene degradation ¹	0.0651	0.0346	0.1022	0.0198	0.025
Styrene degradation ¹	0.0155	0.0131	0.0329	0.0231	0.025

¹UC组别在该通路平均丰度比对照组高($P < 0.05$). UC: 溃疡性结肠炎.

菌基因在IBD患者与健康个体中亦存在差异. 由于UC患者存在梭菌属丰度较低的现象, 故临床常采用美沙拉嗪与酪酸梭菌肠球菌三联活菌片联合对UC进行治疗^[6]. 上述研究说明UC的形成和发展同肠道菌群的分布存在较强的相关性.

2.2 微生物代谢通路分析 对测得的序列通过KEGG数据库进行注释, 共注释到328个通路中. 其中在11个代谢通路中二者平均丰度存在显著差异($P < 0.05$, 表2). UC组微生物在以下8个通路中的平均丰度显著高于对照组($P < 0.05$).

2.2.1 磷脂酰肌醇信号通路: 在UC炎症-肿瘤序列演进过程中, 抑癌基因PTEN蛋白表达的降低及原癌基因蛋白激酶B(protein kinase B, AKT)蛋白表达的增强, 可能是UC发生及癌变的重要原因之一^[7]. PTEN蛋白表达的明显降低和AKT蛋白表达的明显增强有可能成为早期监测UC癌变的一个辅助指标. 黄晓丽等^[8]通过对20例结肠癌旁正常组织标本, 采用体外组织培养法观察磷脂酰肌醇-3-激酶(phosphatidyl inositol 3-kinase, PI3K)/Akt信号传导通路抑制剂Wortmannin对UC患者肠黏膜活检组织肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor alpha, TNF- α)表达的影响, 结果表明PI3K/Akt信号传导通路参与了促炎性细胞因子TNF- α 的调控与释放. 促炎因子TNF- α 的表达失衡与UC的病情进展相关, 对UC的诊断和临床评估具有重要意义. 其次, 肠道菌群的结构的变化可能促使对PTEN蛋白具有调控作用的菌群增加从而进一步抑制PTEN蛋白表达进而导致UC的发生(图3).

2.2.2 异黄酮的生物合成: 黄酮类化合物具有广泛的生物学作用. 近年来, 大量的实验证据和流行病学证据表明, 黄酮类化合物能预防和治疗多种癌症^[9,10]. 黄酮类化合物的抗癌机制主要与其抑制癌细胞增殖并诱导凋亡、抑制癌细胞迁移、抑制新生血管形成、抗氧化、抗炎和提高机体免疫力这几个方面有关. 异黄酮能够选择性地抑制大肠杆菌的生长, 促进有益菌乳酸杆菌的生长, 调节肠道微生物的微生态平衡. UC组别和正常人群的肠道菌群在异黄酮的生物合成通路上丰度存在显著差别, 说明菌群结构可能同异黄酮生物合成存在某种关联, 而体内异黄酮具有抗炎作用, 其水平的高低同时对炎症产生影响(图4).

2.2.3 亚油酸代谢通路: 从代谢过程可知, 亚油酸(LA)在体内 Δ -6脱氢酶的作用下, 依次产生 γ -亚麻酸GLA和花生四烯酸AA等中间产物, 进而获得提供正常代谢机能的前列腺素等二十碳酸物质, 可以改善人体一些疾病状况如: 抗血栓、改善糖尿病、降低血压、改善皮肤炎、防止老化及抗癌等. 有研究^[11]显示, 饮食中的亚油酸, 是一种多不饱和脂肪酸, 代谢成为花生四烯酸, 后者是结肠细胞膜的成分. 花生四烯酸代谢物有前炎症特性, 在UC患者的黏膜中增加. 饮食中亚油酸在UC发病中起一定作用, 估计有30%的病例与饮食中亚油酸摄入量过高有关. 花生四烯酸代谢物有炎症特性在UC患者的黏膜中增加, 可见亚油酸代谢通路深度参与了UC的发展过程(图5).

2.2.4 原发性胆汁酸的生物合成: 胃肠道细胞暴露在反

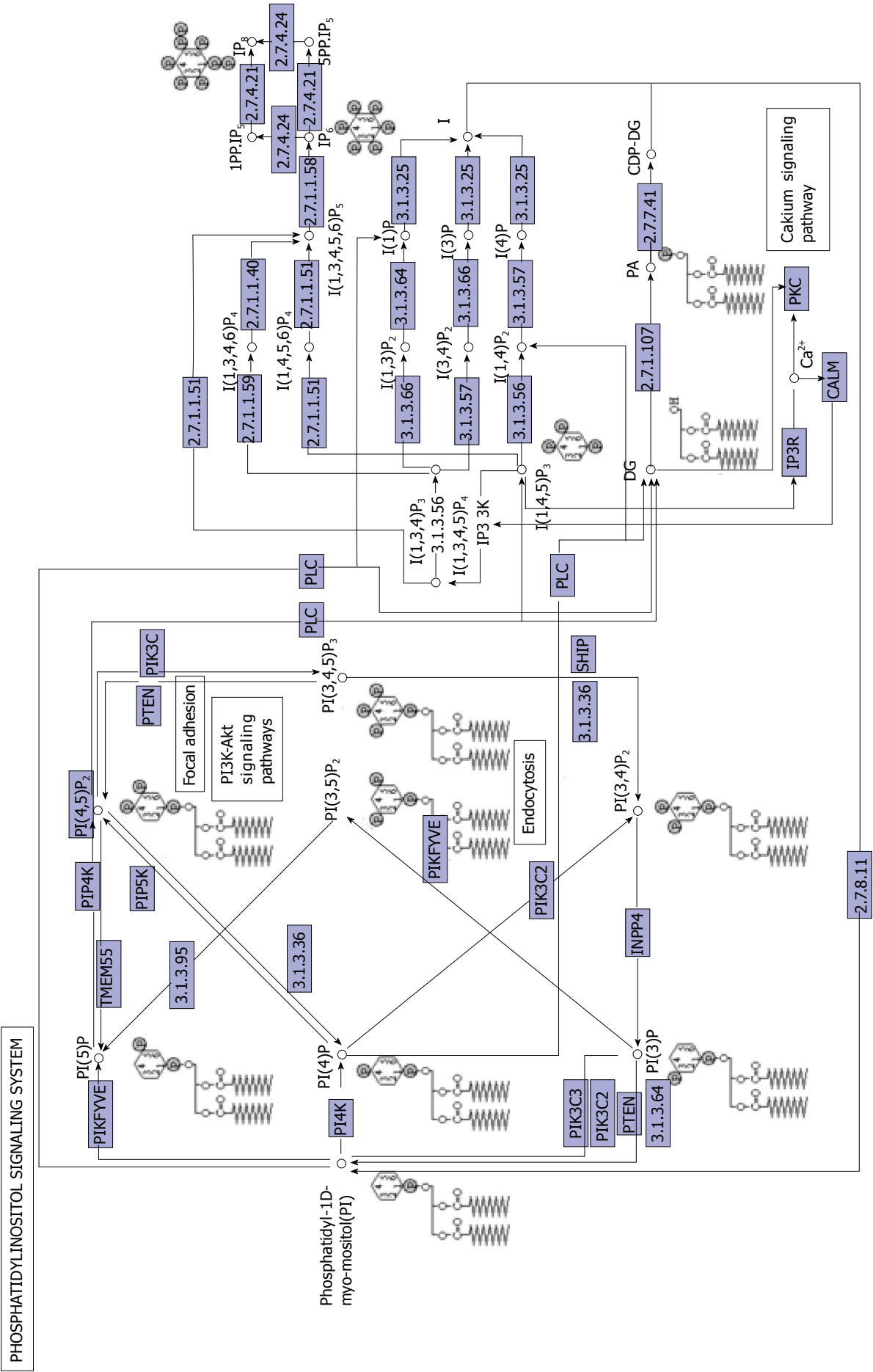


图 3 磷脂酰肌醇信号通路.

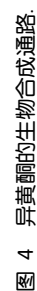


图 4 异黄酮的生物合成通路.

复高水平的胆汁酸中是IBD和胃肠道癌症的一个重要的危险因素. 一些实验动物模型和临床患者研究^[12]表明, 在炎症性肠病和结肠癌中胆汁酸水平升高. 因此, 有理由认为恢复胆汁酸的稳态有可能是治疗炎症性肠病及预防结肠癌的一种有用的方法. 然而, 目前对于胆汁酸在炎症性肠病中异常积聚的分子机制和信号通路还不是很清楚. 菌群丰度在原发性胆汁酸的生物合成及次级胆酸生物合成通路中的显著差异表明菌群结构可能对胆汁酸含量产生影响(图6).

2.2.5 次级胆酸生物合成: 肠道菌群通过肝肠循环影响胆汁酸池的大小和成分. 在肠道菌群的作用下, 初级胆汁酸7 α -羟基脱氧后生成次级胆汁酸, 即脱氧胆酸和石胆酸. 另外多种肠道细菌的胆汁酸盐水解酶共同催化水解N-乙酰氨基键, 完成结合型胆汁酸的解离. 肠道菌群通过法尼醇X受体(farnesoid X receptor, FXR)和G蛋白偶联胆汁酸受体(G protein-coupled bile acid receptor, TGR)5调节胆汁酸代谢, 并且参与有关胆汁酸合成、代谢和重吸收的基因表达. Sayin等发现肠道菌群不仅调节次级胆汁酸代谢, 而且通过对回肠中FXR的作用, 调节肝脏中胆汁酸的合成与代谢. 胆汁酸也是TGR5的配体, 可激活核受体FXR. FXR对于控制脂肪在肝脏中的从头合成和甘油一酯的输出和转运起关键作用, TGR5刺激胰高血糖素样肽分泌, 与次级胆汁酸结合, 促进糖代谢(图7).

其他代谢通路包括嘌呤代谢等通路. 硫代嘌呤: 包括6-硫嘌呤及硫唑嘌呤: 两者是嘌呤代谢的拮抗剂, 是目前临床上最广泛应用于IBD治疗的免疫抑制剂. 对于嘌呤代谢通路而言, 免疫抑制剂免疫系统的异常是引起UC发病的主要内在因素这一学说已经得到普遍认可, 而免疫抑制剂类药物正是通过主要抑制人体的免疫系统发挥作用而起到治疗UC的效果. 嘌呤信号主要包括3部分, 其中一部分为核苷酸及衍生物作用的特异性受体. 三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)不仅在细胞能量代谢过程中发挥着重要作用. 细胞外ATP作为一种新的危险信号, 通过作用于2型嘌呤受体激活细胞内的信号级联反应, 参与机体内诸多病理生理过程, 如细胞增殖、分化、凋亡、炎症反应和代谢等. 饮食中的亚油酸可能与UC有关^[11]. 上述通路参与了UC的形成和发展过程, 为研究UC的致病机制提供了可借鉴的意义.

3 讨论

UC在医学上是属于一种自身免疫性类别的疾病^[13], 一般来说, 结肠炎都是因为某些病原体感染、遗传基因及精神因素所引起的, 并且病程时间较长, 很容易迁延不愈, 尤其UC疾病, 常常会出现大便带黏液和脓血, 而这些症状却并不是单纯地依靠通过调理脾胃、健脾益

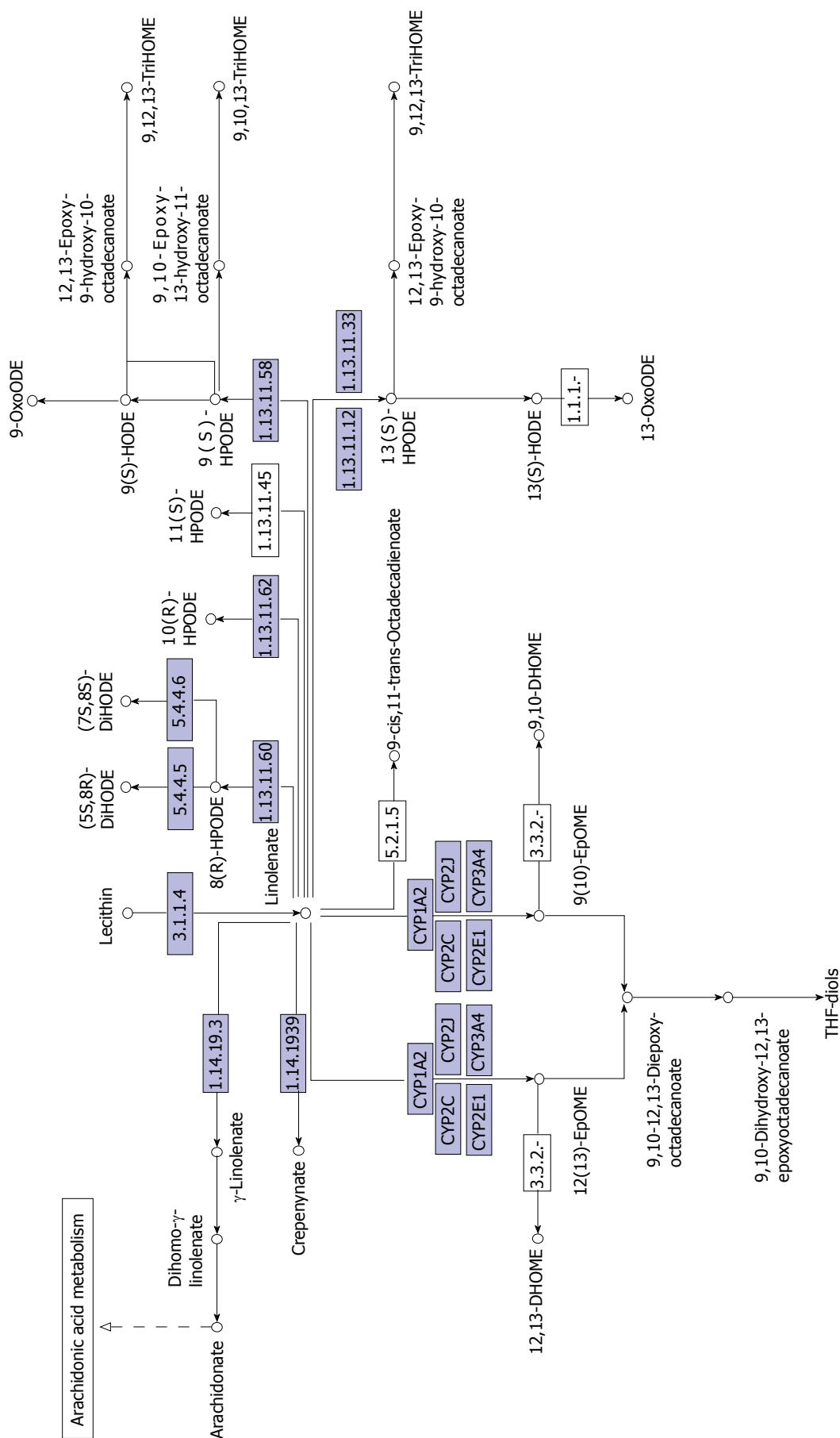
肠就可以彻底治愈的. 由于UC的病理机制尚不清楚, 所以导致对UC进行治疗后, 反复复发难以治愈. 单纯的药物治疗很难改变患者肠道既有的菌群分布, 而UC患者肠道微生态的改变可能是UC发病的关键诱因. 所以改善患者肠道微生态是UC治疗的基础.

人体肠道内共存在1000多种细菌, 每个人肠道中都有至少100多种优势细菌, 并被绝大多数个体所共有. 健康成年人肠道菌群中厚壁菌门(*Firmicutes*)和拟杆菌门(*Bacteroidetes*)占优势地位, 放线菌门(*Actinobacteria*)、梭杆菌门(*Fusobacteria*)和变形菌门(*Proteobacteria*)等次之. 这些细菌在肠道内形成一定的比例, 从而控制着肠道菌群的平衡. 这种关系可以直接反映宿主自身健康状况, 如果肠道菌群失衡, 某类细菌增多, 就会导致疾病.

本研究通过对浙江杭州地区16例样本肠道菌群进行测序, 对UC患者肠道菌群结构的特征进行了描述. 选取8例UC患者和8例健康对照志愿者的粪便样品作为研究对象, 以高通量测序技术结合统计学方法检测细菌16S rRNA基因V3区的多样性^[14]. 研究结果发现, UC患者的肠道菌群结构与健康对照组具有显著的差异, 其中主要表现为拟杆菌门、变形菌门和厚壁菌门细菌在UC患者肠道中的数量显著偏低, 而变形菌门(*Proteobacteria*)细菌则显著偏高. 经过统计学分析, 筛选出10个在两类人群肠道菌群结构的差异中最为关键的细菌种属. 这其中, 有7类细菌菌属均属于厚壁菌门, 其他3类分别属于梭杆菌门、放线菌门和变形菌门.

肠道菌群在UC的发生发展过程中起着重要的作用. 但是到目前为止, 针对UC肠道菌群进行的研究还不足以清楚完整地描述其组成结构. 长期的膳食结构与肠道菌群分型有着紧密的联系^[15]. 长期食用高蛋白和高脂肪的人群拟杆菌属含量偏高, 碳水化合物的长期摄入会有普雷沃氏菌属富集的现象. 双歧杆菌属对肠道具有保护作用, 长期高脂饮食, 会使得双歧杆菌对肠道的保护作用消失. 所以肠道疾病患者更应注意饮食结构的调整, 尤其是益生菌的补给. 酸奶中的菌种包含嗜热链球菌(厚壁菌门、链球菌属)、长双歧杆菌(放射菌门、双歧杆菌属、可以到达大肠)、保加利亚乳杆菌(厚壁菌门、乳杆菌属)、嗜酸乳杆菌(厚壁菌门、乳杆菌属)、乳双歧杆菌BB-12(双歧杆菌菌株, 通过胃肠道可以存活). 患者应多注意长双歧杆菌和乳双歧杆菌BB-12的特殊作用, 这两种菌可以深入肠道, 对肠道微生态的改善具有特殊的作用. 其他菌种可能由于温度和体内环境等其他原因很难存活到达肠道. 先通过食疗对UC患者肠道微生态进行有效改善的基础上进行后续药物治疗, 治疗效果可能会优于目前单存的药物治疗方式.

总之, 本研究通过基于两组人群的群组比较分析, 发



现了UC患者中普遍存在着肠道菌群失调的现象。宿主肠道菌群结构的变化可能不仅在UC发生的初期即已发生,而且可能伴随并影响后续疾病进展的整个发生过程。本课题研究结果提示,肠道菌群的结构改变可以作为一个优选指标,用于监测肠道疾病易感人群的健康状态,结合其他临床指标综合评价易感人群肠道疾病患病风险。而本研究揭示的与UC相关的菌群结构变化特征也将有助于更深入地研究宿主和肠道菌群之间在代谢和免疫等方面的相互作用,并揭示菌群在UC发生发展过程中的作用。

图 6 原发性胆汁酸的生物合成通路

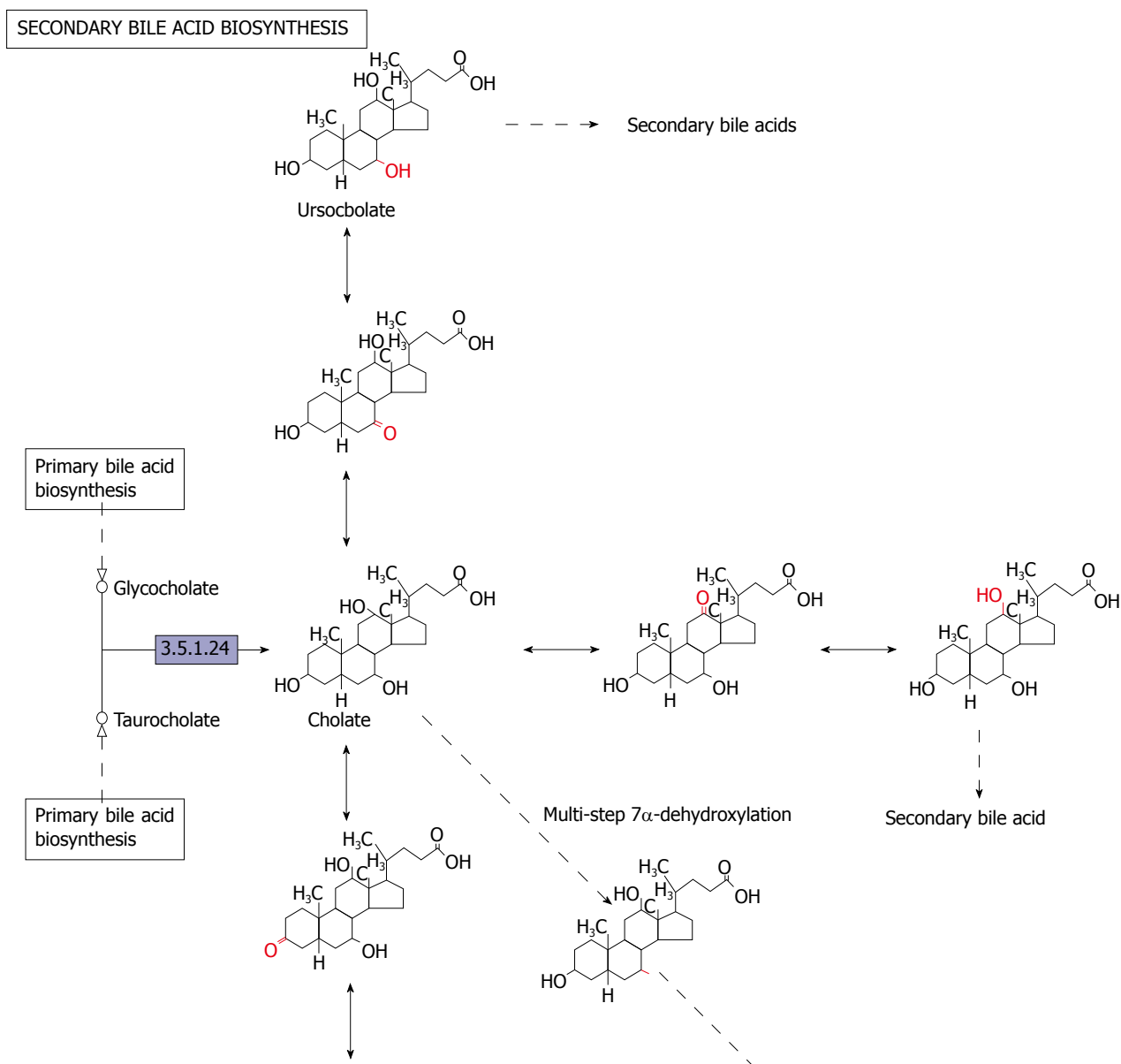


图 7 次级胆酸生物合成通路。

而UC患者肠道微生态的改变可能是UC发病的关键诱因, 所以改善患者肠道微生态是UC治疗的基础。

创新盘点

目前UC的治疗主要以抗炎药物为主, 但效果有限, 极易复发。因此挖掘UC新的宿主药物靶标, 开发创新新型药物是急需解决的问题。本研究主要采用高通量技术手段挖掘UC患者肠道菌群的特征结构以期菌群为靶点的药物开发提供可借鉴的思路。

应用要点

本研究通过采用高通量测序技术检测UC和正常人群的肠道菌群分布, 挖掘与UC形成和发展显著相关的菌属结构, 以促进菌群为靶点的创新型药物开发。

名词解释

肠道菌群: 健康人的胃肠道内寄居着种类繁多的微生物, 这些微生物称为肠道菌群。

同行评价

本文通过采用粪便中DNA样本, 进行16S rRNA V3区基因扩增及焦磷酸测序技术, 初步分析了UC患者粪便中菌群的变化, 有一定的临床价值。

同行评议者

霍丽娟, 山西医科大学第一医院消化内科; 刘杰民, 副主任医师, 贵州省人民医院消化内镜科; 刘占举, 教授, 主任医师, 上海第十人民医院消化内科; 张晓岚, 主任医师, 河北医科大学第二附属医院消化内科

4 参考文献

- Lopetuso L, Gasbarrini A. Ulcerative colitis. *Recenti Prog Med* 2016; 107: 297-308 [PMID: 27362722 DOI: 10.1701/2296.24690]
- Yao P, Cui M, Wang H, Gao H, Wang L, Yang T, Cheng Y. Quantitative Analysis of Intestinal Flora of Uyghur and Han Ethnic Chinese Patients with Ulcerative Colitis. *Gastroenterol Res Pract* 2016; 2016: 9186232 [PMID: 26839545 DOI: 10.1155/2016/9186232]
- 梁洁, 周林, 沙素梅, 雷少妮, 罗贯虹, 吴开春. 炎症性肠病诊断与治疗的共识意见(2012年.广州)溃疡性结肠炎诊断部分解读. *胃肠病学* 2012; 17: 712-720
- Ott SJ, Musfeldt M, Wenderoth DF, Hampe J, Brant O, Fölsch UR, Timmis KN, Schreiber S. Reduction in diversity of the colonic mucosa associated bacterial microflora in patients with active inflammatory bowel disease. *Gut* 2004; 53: 685-693 [PMID: 15082587 DOI: 10.1136/gut.2003.025403]
- Manichanh C, Rigottier-Gois L, Bonnaud E, Gloux K, Pelletier E, Frangeul L, Nalin R, Jarrin C, Chardon P, Marteau P, Roca J, Dore J. Reduced diversity of faecal microbiota in Crohn's disease revealed by a metagenomic approach. *Gut* 2006; 55: 205-211 [PMID: 16188921 DOI: 10.1136/gut.2005.073817]
- 刘玲, 钱睿, 周永. 美沙拉嗪灌肠液联合酪酸梭菌肠球菌三联活菌片治疗轻中度远端溃疡性结肠炎的疗效. *世界华人消化杂志* 2013; 21: 3908-3913 [DOI: 10.11569/wjcd.v21.i34.3908]
- Li Z, Liu GX, Liu YL, Chen X, Huang XL, Gan HT. Effect of adenovirus-mediated PTEN gene on ulcerative colitis-associated colorectal cancer. *Int J Colorectal Dis* 2013; 28: 1107-1115 [PMID: 23516074 DOI: 10.1007/s00384-013-1678-9]
- 黄晓丽, 郑玉霞, 廖再波, 尹静, 甘华田. 磷脂酰肌醇3激酶信号传导通路在溃疡性结肠炎发病中的作用. *四川大学学报(医学版)* 2008; 39: 364-367
- Yun BH, Lee YH, Park KT, Jung SJ, Lee YS. Synthesis of novel flavone derivatives possessing substituted benzamides and their biological evaluation against human cancer cells. *Bioorg Med Chem Lett* 2016; 26: 4170-4173 [PMID: 27503682 DOI: 10.1016/j.bmcl.2016.07.063]
- Kasala ER, Bodduluru LN, Barua CC, Gogoi R. Antioxidant and antitumor efficacy of Luteolin, a dietary flavone on benzo(a)pyrene-induced experimental lung carcinogenesis. *Biomed Pharmacother* 2016; 82: 568-577 [PMID: 27470398 DOI: 10.1016/j.biopha.2016.05.042]
- IBD in EPIC Study Investigators., Tjonneland A, Overvad K, Bergmann MM, Nagel G, Linseisen J, Hallmans G, Palmqvist R, Sjödin H, Hagglund G, Berglund G, Lindgren S, Grip O, Palli D, Day NE, Khaw KT, Bingham S, Riboli E, Kennedy H, Hart A. Linoleic acid, a dietary n-6 polyunsaturated fatty acid, and the aetiology of ulcerative colitis: a nested case-control study within a European prospective cohort study. *Gut* 2009; 58: 1606-1611 [PMID: 19628674 DOI: 10.1136/gut.2008.169078]
- Zhou X, Cao L, Jiang C, Xie Y, Cheng X, Krausz KW, Qi Y, Sun L, Shah YM, Gonzalez FJ, Wang G, Hao H. PPAR α -UGT axis activation represses intestinal FXR-FGF15 feedback signalling and exacerbates experimental colitis. *Nat Commun* 2014; 5: 4573 [PMID: 25183423 DOI: 10.1038/ncomms5573]
- Weigmann B, Neurath MF. Oxazolone-Induced Colitis as a Model of Th2 Immune Responses in the Intestinal Mucosa. *Methods Mol Biol* 2016; 1422: 253-261 [PMID: 27246039 DOI: 10.1007/978-1-4939-3603-8_23]
- Kevans D, Tyler AD, Holm K, Jørgensen KK, Vatn MH, Karlsen TH, Kaplan GG, Eksteen B, Gevers D, Hov JR, Silverberg MS. Characterization of Intestinal Microbiota in Ulcerative Colitis Patients with and without Primary Sclerosing Cholangitis. *J Crohns Colitis* 2016; 10: 330-337 [PMID: 26526357 DOI: 10.1093/ecco-jcc/jjv204]
- Heiman ML, Greenway FL. A healthy gastrointestinal microbiome is dependent on dietary diversity. *Mol Metab* 2016; 5: 317-320 [PMID: 27110483 DOI: 10.1016/j.molmet.2016.02.005]

编辑: 马亚娟 电编: 杜冉冉





Published by **Baishideng Publishing Group Inc**
7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton,
CA 94588, USA
Fax: +1-925-223-8242
Telephone: +1-925-223-8243
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079

