

e73425.

[24] Zhu HT, Ru L, Guo YF. Clinical significance of TGF- β 1 in children with primary IgA nephropathy[J]. Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi, 2014, 16(7):749-753.

[25] Kiryluk K, Novak J, Gharavi AG. Pathogenesis of immunoglobulin A nephropathy: recent insight from genetic studies[J]. Annu Rev Med, 2013, 64(1):339-356.

[26] Suzuki H, Kiryluk K, Novak J. The pathophysiology of

• 综 述 • doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2016.04.042

IgA nephropathy[J]. J Am Soc Nephrol, 2011, 22(10):1795-1830.

[27] Daha MR, Vankooten C. Deposition of IgA in primary IgA nephropathy: it takes at least four to tango [J]. Nephrol Dial Transplant, 2013, 28(4):794-797.

(收稿日期:2015-07-08 修回日期:2015-10-16)

轻微型肝性脑病肠道微生态失衡的研究进展*

左 赞综述, 范 红[△]审校

(昆明理工大学附属医院/云南省第一人民医院消化内科, 云南昆明 650032)

[关键词] 肝硬化; 轻微型肝性脑病; 肠道菌群; 益生菌

[中图分类号] R575.2

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2016)04-0551-03

轻微型肝性脑病(minimal hepatic encephalopathy, MHE)是一种神经认知功能紊乱性疾病,属于一种代谢性疾病,是肝性脑病(hepatic encephalopathy, HE)发病的起始阶段,无明显症状及体征,常规的神经及精神检查一般无异常,但通过精细的神经心理或神经生理学检查可发现存在认知功能障碍,是HE中的一种特殊类型。HE的发生是肝硬化患者死亡的主要原因之一,从HE发展历程(肝硬化→MHE→症状性肝性脑病)来看,MHE阶段的诊断和治疗对于缓解肝硬化患者的死亡率非常关键。约80%的肝硬化患者合并MHE^[1],其临床症状隐匿、难以发现及诊断,但MHE患者确实存在智力障碍、反应能力下降、生命质量低下等问题,MHE是影响肝硬化生存率的独立危险因素,对患者和社会造成严重的危害^[2]。随着各种细菌培养技术和基因测序技术的发展,近来很多研究发现MHE的发生与肠道微生态失衡有密切联系^[3]。本文从肠道微生态研究的一些基本概念开始,就肠道微生态失衡与MHE关系、MHE微生态制剂治疗方面的国内外研究进展进行综述。

1 肠道微生态

1.1 相关概念 肠道微生态系统是由肠道菌群及其所寄居的肠道环境所组成的。肠道菌群是肠道微生态系统的重要组成部分。人体肠道菌群是一个复杂的微生态系统,不同种类的细菌在数量上的此消彼长构成了微生态系统演化的基础。人体肠道菌群可以看作机体中的一个细菌器官;由不同的细胞系组成,并且细胞之间以及细胞与宿主之间可以相互沟通^[4]。“脑-肠轴”是肠道菌群与中枢神经系统间的双向通信系统,肠道菌群通过内分泌激素信号、细菌代谢产物(如神经肽)、黏膜免疫激活系统及迷走神经系统激活与大脑联系,而大脑通过黏膜分泌、神经递质、压力反应系统实现其与肠道菌群间的联系^[5]。

1.2 人体肠道菌群及生理功能 根据16S rRNA序列分类,发现人体肠道内寄住的微生物群的种类超过1 000种,数量超过 10^{14} 是人体细胞数的10倍,其质量约1.0 kg,绝大多数为厌氧菌,类杆菌、优杆菌、消化球菌以及双歧杆菌等专性厌氧菌,

约占肠道总菌量99%;肠杆菌、肠球菌、乳酸杆菌等兼性厌氧菌约占总菌数量1%,构成复杂的肠道微生态系统^[6]。人体肠道菌群与宿主处于共生的状态,是进化的结果。宿主为肠道菌群提供其生命活动的场所,在正常的情况下,肠道菌群保持一种动态的平衡状态并且与宿主相互作用,发挥着代谢、营养、增强定植抗力、防御感染与增强肠道屏障功能、促进免疫系统发育、维持正常免疫功能等多方面作用^[7]。

1.3 肠道菌群的检测技术方法 肠道菌群分析常用的检测技术方法包括:(1)组成分析,扩增子测序(16S/18S/ITS)与宏基因组;(2)功能机制,宏基因组;(3)差异关联,扩增子测序(16S/18S/ITS)与宏基因组^[8]。16S rDNA可以作为揭示生物物种的特征核酸序列,被认为是最适于细菌系统发育和分类鉴定的指标。宏基因组学是一种直接对微生物群体中包含的全部基因组信息进行研究的手段,它规避了对样本中微生物进行分离培养,提供了对无法分离、培养的微生物进行研究的途径^[9]。

2 肝硬化 MHE 肠道微生态改变

2.1 MHE 是一种神经认知功能紊乱的代谢性疾病 MHE是HE的一个特殊类型,属于HE的早期阶段,其机制与HE一致,只存在程度上的差别。MHE的发病是在多因素影响下发生的,其机制较复杂,目前多认为是毒物积聚和机体代谢严重紊乱协同作用所致。目前HE存在的学说主要有:经典的氨中毒、锰中毒、假性神经递质、 γ -氨基丁酸血浆氨基酸失衡学说,大量研究发现肠道微生物与HE的发病机制密切相关^[10]。其病理、生理基础一般认为是肝细胞衰竭,与门腔静脉之间有自然形成或手术造成的侧支分流,来自肠道的许多可影响神经活性的毒性产物,未被肝脏解毒和清除,经侧支进入体循环,透过通透性改变了的血脑屏障而至脑部,起大脑功能紊乱。

2.2 肝硬化 MHE 发病与肠道微生态失衡密切相关 研究表明,肝硬化MHE患者与肠道微生态失衡密切相关,特别是与因微生态失调引起的内毒素血症有关,其程度与肝病的严重性相关,表现为肠道双歧杆菌等显著减少,革兰阴性肠杆菌科细菌显著增加,肠道细菌过度生长,肠道微生态失衡与内毒素及

* 基金项目:2013年国家自然科学基金资助项目(81260077)。 作者简介:左赞(1980-),在读博士研究生,主要从事消化系统疾病方面研究。 [△] 通讯作者, Tel:13608840309; E-mail:yyfnn1018@126.com。

肠道细菌移位有密切的关系^[11]。MHE 患者肠道中有害细菌大量繁殖,可产生大量内毒素,这些内毒素可不经肝脏灭活直接进入血液循环;同时,菌群失调可引起尿素酶生成增多,从而使大量尿素分解形成血氨,这是 MHE 发病的主要原因^[12]。肠道微生态处在平衡状态时肠道菌群对人体宿主有较多的有利作用,但处在失衡情况下,则可引发一系列严重的后果。

2.3 MHE 患者存在一定程度的肠道菌群紊乱 MHE 患者肠道菌群紊乱与慢性肝病患者肠道菌群紊乱有差异,MHE 患者肠道微生物群的丰度和物种数较健康对照组和肝硬化组降低。Zhang 等^[13]对 MHE 相关的肠道微生物组深度测序分析。其研究结果显示,MHE 患者存在一定程度的肠道菌群紊乱,且这种紊乱与慢性肝病患者肠道菌群紊乱有差异;与健康对照组相比,在属的水平,MHE 组优杆菌科和苏特雷菌科缺失,而普雷沃菌科,肠杆菌科等革兰阴性菌增多,在门的水平,MHE 组的拟杆菌门微生物的水平明显降低,变性杆菌门和厚壁菌门却增多了。与肝硬化组和健康对照组比较,MHE 组的拟杆菌门微生物的水平明显降低。生物多样性比较:3 组人群间生物多样性趋势是 MHE 组和肝硬化组降低,正常人群较高。

2.4 肝硬化 MHE 患者肠道微生物群的丰度和物种数较健康人群和不合并 MHE 的肝硬化患者降低 最新研究结果显示,MHE 患者优杆菌属和苏特雷菌属缺失,而普雷沃菌属、肠杆菌属等革兰阴性菌增多。有或无 MHE 的肝硬化患者的肠道微生物共发生模式发生了明显的改变。文献^[13-14]对 MHE 患者的肠道微生物群的分析结果显示,与肝硬化非 MHE 患者相比较,MHE 组肠道微生物群的生物多样性发生了明显改变。与健康对照组比较,MHE 组与肝硬化组患者的肠道菌群多样性均降低。MHE 组患者肠道微生物群的丰度和物种数较健康对照组和肝硬化组降低。健康人群的肠道微生物生物多态性较为丰富,而 MHE 患者的肠道微生物群生物多态性较为集中。肝硬化组与健康对照组相比,有共同的肠道菌群组成成分,同时也具有其独特的肠道菌群成分。3 组人群肠道微生物在属水平的比较:各组人群粪便内最多的肠道菌群为优杆菌属、梭菌属、苏特雷菌属、普雷沃菌属、肠杆菌属,MHE 组优杆菌属和苏特雷菌属缺失,而普雷沃菌属、肠杆菌属等革兰阴性菌增多。

2.5 氨在 MHE 的发病中起核心作用 氨在 MHE 的发病中起着核心作用,但是血氨升高水平不一定与 HE 的严重程度相一致。氨中毒学说及假性神经递质,仍为目前公认的致病机制,血氨和假性神经递质很大程度上来源于肠道某些杆菌。研究显示,氨在 MHE 的发病中起着核心作用,但是血氨升高水平不一定与 HE 的严重程度相一致,脑内氨水平增高,使得大脑的血流量降低和干扰了大脑的能量代谢^[15]。Gupta 等^[16]研究发现 MHE 患者出现了小肠细菌的过度增长,这一发现为研究肠道微生物和 HE 的关系奠定了一定的基础。

2.6 肝硬化 MHE 的发生可能与肠道产氨表型细菌增加有关 人体代谢失调相关的肠道微生物组结构和功能的改变与 HE 的发生密切相关,肠道微生物组调节的人体氨代谢失调是 MHE 发生的潜在诱因之一。HE 是涉及肝、脑两大组织器官的重要代谢性疾病。HE 主要是严重肝病引起的、以代谢紊乱为基础的中枢神经系统功能失调的综合病征。肠道微生物组调节的人体氨代谢失调是 HE 发生的潜在诱因之一。前人已经提出不同的假说来解释 HE 的发生机制:(1)氨中毒;(2)锰中毒;(3)假性神经递质学说;(4)血浆胰岛素-氨基酸失衡^[17]。这些假设均和人体氨代谢失调有关,故氨中毒目前被认为是

HE 最为重要的诱发因子^[18]。例如 Riordan 等^[15]发现肠道产尿素酶(分解尿素产生氨气)类细菌(如克雷白杆菌和变形杆菌等)与人体氨代谢有关。

2.7 肠道微生物组是人体氨代谢的重要参与者 人体氨代谢不仅由人自身的基因型来决定,肠道微生物组也是极其重要的参与者。人类微生物组计划的实施以及新兴的宏基因组学(metaagenomics)、二代测序技术(特别是 Illumina-based Metagenomic Sequencing 和基于 454-Barcoded Pyrosequencing 技术平台的细菌 16S rRNA 基因分子分析)的应用,使得学者们可以在非培养的情况下,对肠道微生物组的代谢功能有了更加全面的理解和认识。Arumugam 等^[19]报道了人体肠道微生物组的最新研究成果,依据肠道微生物功能基因多样性,把人类肠道微生物组分为 3 种类型:Bacteroides 型(Enterotype 1)、Prevotella 型(Enterotype 2)及 Ruminococcus 型(Enterotype 3)。它们除了富含碳水化合物和蛋白质代谢相关基因外,也编码特异的代谢途径,例如生物素合成途径(biotin biosynthesis)(enterotype 1)、维生素 B1 合成途径(thiamine biosynthesis)(enterotype 2)、血红素合成途径(haem biosynthesis)(enterotype 3),这些都和人体氨代谢密切相关^[19]。

3 MHE 肠道微生态制剂的应用

目前,肠道微生态制剂治疗 MHE 是围绕“抑制肠道产尿素酶类细菌的生长、修复与 HE 相关的肠道微生态失调、从而防止氨和有毒物质的产生与吸收”进行的^[20]。微生态制剂包括:益生菌、益生元、合生元;益生菌是指一种活的微生物,在给予足够剂量时,对宿主的健康有益(如美常安,双歧杆菌等);益生元是指一种不被消化的物质,可以通过选择性刺激肠内有限数量的有益菌生长或活性对宿主产生有益的生理作用(如乳果糖);益生菌和益生元一起成为合生元。

微生态制剂可以改善 MHE 患者的心理测试结果和生活质量,该类制剂无不良反应,患者耐受性好,可长期临床应用。一些临床试验提示微生态制剂具有改善 MHE 的认知功能障碍、提高生活质量、降低血氨水平及防治进展至症状性 HE。Saji 等^[21]对 43 例 MHE 患者的研究表明益生菌可提高患者心理测试结果并降低血浆氨水平。通过益生菌、益生元或合生元调节肠道菌群与酸化肠道,可抑制产生尿素酶细菌的生长,对防止氨和有毒物质的产生与吸收有一定作用,同时也可以通过改善肠道上皮细胞的营养状态降低肠道黏膜通透性,减轻内毒素血症与炎症反应,同时可以促进肠上皮细胞对营养物质的吸收,降低肠黏膜通透性,从而减少细菌在体内的播散并降低内毒素血症的发生;还可改善肝细胞的炎症反应和氧化应激状态,从而增强肝脏对氨的代谢。乳果糖(β -半乳糖果糖)是合成的口服不吸收双糖,一直以来是临床治疗 HE 的“基石”,也是目前治疗指南中推荐治疗 HE 的一线药物。Sharma 等^[22]进行的研究显示虽然乳果糖与益生菌单独使用均能改善患者的认知功能以及降低症状性 HE 发病率,但是二者联用并未表现出协同作用。

口服不吸收抗生素利福昔明可有效抑制肠道产尿素酶的细菌,减少氨的生成。在 2010 年美国 FDA 批准利福昔明用作 HE 的治疗,推荐剂量一般为 1 100~1 200 mg/d,分 2 次口服;中国批准剂量为每次 400 mg,每 8 小时口服 1 次^[23]。近期研究证实,与安慰剂比较应用利福昔明能显著改善肝硬化 MHE 患者心理测试结果、提高健康相关生活质量^[24]。

4 展 望

HE 的发生是肝硬化患者死亡的主要原因之一。HE 一年

的生存率为 42%，3 年的生存率为 23%^[25]。从 HE 发展历程（肝硬化→MHE→症状性 HE）来看，MHE 阶段的诊断和治疗对于缓解肝硬化患者的死亡率是非常关键的。通过多层次、多角度揭示 HE 发生机制，特别是针对 MHE 阶段发病机制的系统研究，如何能开发出用于 MHE 诊治的生物标记(Biomarker)，对于控制肝硬化患者的死亡率将具有极其重要的理论意义和现实意义。肠道微生物组是人体代谢不可或缺的组成部分，对于维系人体自身健康具有举足轻重的生物学意义。如何破译 HE 患者肠道微生物组结构和功能，特别是如何揭示与氨代谢失调相关的肠道微生物功能基因和编码的代谢途径，对于探讨 HE 发生机制将具有重大意义。如何从肠道微生态的角度进行研究，开发新的微生态制剂用于预防、治疗 MHE 值得大家期待。

参考文献

- [1] Mina A, Moran S, Ortiz-Olvera N, et al. Prevalence of minimal hepatic encephalopathy and quality of life in patients with decompensated cirrhosis [J]. *Hepatol Res*, 2014, 44(10): E92-99.
- [2] Kircheis G, Knoche A, Hilger N, et al. Hepatic encephalopathy and fitness to drive [J]. *Gastroenterology*, 2009, 137(5): 1706-1715.
- [3] Bajaj JS. The role of microbiota in hepatic encephalopathy [J]. *Gut Microbes*, 2014, 5(3): 397-403.
- [4] Cebra JJ, Periwal SB, Lee G, et al. Development and maintenance of the gut associated lymphoid tissue(GALT); the roles of enteric bacteria and viruses [J]. *Dev Immunol*, 1998, 6(1/2): 13-18.
- [5] Al-Asmakh M, Anuar F, Zadjali F, et al. Gut microbial communities modulating brain development and function [J]. *Gut Microbes*, 2012, 3(4): 366-373.
- [6] 李兰娟. 肠道微生态改变对肝脏疾病的影响 [J]. *中华肝脏病杂志*, 2013, 21(1): 2-4.
- [7] Guarner F, Malagelada JR. Gut flora in health and disease [J]. *Lancet*, 2003, 361(9356): 512-519.
- [8] Caporaso JG, Lauber CL, Walters WA, et al. Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample [J]. *Proc Nat Acad Sci (Suppl)*, 2011, 108(1): 4516-4522.
- [9] Caporaso JG, Lauber CL, Walters WA, et al. Ultra-high-throughput microbial community analysis on the Illumina HiSeq and MiSeq platforms [J]. *ISME J*, 2012, 6(8): 1621-1624.
- [10] Wilkinson DJ, Smeeton NJ, Watt PW. Ammonia metabolism, the brain and fatigue; revisiting the link [J]. *Prog Neurobiol*, 2010, 91(3): 200-219.
- [11] Montgomery J, Bajaj J. Advances in the evaluation and management of minimal hepatic encephalopathy [J]. *Curr Gastroenterol Rep*, 2011, 13(1): 26-33.
- [12] Shukla S, Shukla A, Mehboob S, et al. Meta-analysis: the effects of gut flora modulation using prebiotics, probiotics and synbiotics on minimal hepatic encephalopathy [J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2011, 33(6): 662-671.
- [13] Zhang ZG, Zhai H, Geng J, et al. Large-scale survey of gut microbiota associated with MHE Via 16S rRNA-based pyrosequencing [J]. *Am J Gastroenterol*, 2013, 108(10): 1601-1611.
- [14] 翟慧勤, 范红, 耿嘉蔚, 等. 轻微型肝性脑病患者的肠道微生物群和血浆内毒素水平 [J]. *中华肝脏病杂志*, 2014, 22(2): 104-107.
- [15] Riordan SM, Williams R. gutflora and hepatic encephalopathy in patients with cirrhosis [J]. *N Engl J Med*, 2010, 362(12): 1140-1142.
- [16] Gupta A, Dhiman RK, Kumari S, et al. Role of small intestinal bacterial over growth and delayed gastrointestinal transit time in cirrhotic patients with minimal hepatic encephalopathy [J]. *J Hepatol*, 2010, 53(5): 849-855.
- [17] Bass NM, Mullen KD, Sanyal A, et al. Rifaximin Treatment in Hepatic Encephalopathy [J]. *New Engl J Med*, 2010, 362(12): 1071-1081.
- [18] Jain L, Sharma BC, Sharma P, et al. Serum endotoxin and inflammatory mediators in patients with cirrhosis and hepatic encephalopathy [J]. *Digest Liver Dis*, 2012, 44(12): 1027-1031.
- [19] Arumugam M, Raes J, Pelletier E, et al. Enterotypes of the human gut microbiome [J]. *Nature*, 2011, 473(7346): 174-180.
- [20] Chen Y, Yang F, Lu H, et al. Characterization of fecal microbial communities in patients with liver cirrhosis [J]. *Hepatology*, 2011, 54(2): 562-572.
- [21] Saji S, Kumar S, Thomas V. A randomized double blind placebo controlled trial of probiotics in minimal hepatic encephalopathy [J]. *Trop Gastroenterol*, 2011, 32(2): 128-132.
- [22] Sharma P, Sharma BC, Puri V, et al. An open-label randomized controlled trial of lactulose and probiotics in the treatment of minimal hepatic encephalopathy [J]. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 2008, 20(6): 506-511.
- [23] 中华医学会消化病学分会, 中华医学会肝病学会. 中国肝性脑病诊治共识意见(2013 年, 重庆) [J/CD]. *中国医学前沿杂志: 电子版*, 2014, 6(2): 81-92.
- [24] Sidhu SS, Goyal O, Mishra BP, et al. Rifaximin improves psychometric performance and health-related quality of life in patients with minimal hepatic encephalopathy (the RIME Trial) [J]. *Am J Gastroenterol*, 2011, 106(2): 307-316.
- [25] Zhan T, Stremmel W. The diagnosis and treatment of minimal hepatic encephalopathy [J]. *Dtsch Arztebl Int*, 2012, 109(10): 180-187.