

2016 年度重庆市出版专项资金资助项目

· 循证医学 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2017.25.033

## 益生菌对大鼠化疗所致小肠黏膜炎疗效的 Meta 分析\*

黄雨佳<sup>1</sup>, 曾梁楠<sup>2</sup>, 梁瑞晨<sup>2</sup>, 吴显和<sup>3</sup>, 刘珉甬<sup>4</sup>, 杨昌美<sup>2△</sup>

(1. 西南医科大学护理学院, 四川泸州 646000; 2. 西南医科大学附属医院, 四川泸州 646000;

3. 泸州鑫欣科技有限公司, 四川泸州 646000; 4. 西南医科大学护理器械研发实验室, 四川泸州 646000)

**[摘要]** 目的 评价益生菌对大鼠化疗所致小肠黏膜炎的疗效。方法 检索 PubMed、EMbase、Cochrane、CBM、CNKI、WanFang、VIP 数据库建库至 2016 年 4 月有关的对照实验研究, 按纳入排除标准筛选文献并评价质量, 提取数据后进行分析。结果 共纳入 6 篇文献, 与对照组比较, 益生菌组小肠分泌、吸收功能增强 [ $SMD=1.73, 95\%CI(0.79, 2.68), P<0.01$ ], 空肠抗氧化能力提高 [ $SMD=-2.12, 95\%CI(-3.56, -0.67), P<0.01$ ], 但低剂量益生菌 ( $<1 \times 10^9$  cfu/d) 对小肠黏膜无保护作用 [ $SMD_{空肠}=-0.06, 95\%CI(-0.51, 0.40), SMD_{回肠}=0.02, 95\%CI(-0.71, 0.75), P>0.05$ ], 而高剂量益生菌 ( $\geq 1 \times 10^9$  cfu/d) 可减轻小肠病理损伤 [ $SMD_{空肠}=-0.64, 95\%CI(-1.20, -0.09), SMD_{回肠}=-0.85, 95\%CI(-1.59, -0.12), P<0.05$ ]。结论 高剂量益生菌能减轻大鼠化疗所致小肠黏膜炎反应, 但由于纳入文献较少及发表偏倚等因素的影响, 益生菌对化疗所致小肠黏膜炎的疗效可能被高估。

**[关键词]** 益生菌; 大鼠; 化疗; 肠黏膜炎; Meta 分析

**[中图分类号]** R516.1

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1671-8348(2017)25-3560-05

### Efficacy of probiotics on chemotherapy-induced intestinal mucositis in rats: a meta-analysis\*

Huang Yujia<sup>1</sup>, Zeng Liangnan<sup>2</sup>, Liang Ruichen<sup>2</sup>, Wu Xianhe<sup>3</sup>, Liu Minyong<sup>4</sup>, Yang Changmei<sup>2△</sup>

(1. School of Nursing of Southwest University, Luzhou, Sichuan 646000, China; 2. Affiliated Hospital, Southwest

Medical University, Luzhou, Sichuan 646000, China; 3. Luzhou Xinxin Technology Ltd, Luzhou, Sichuan 646000, China;

4. Nursing Medical Research Laboratory of Southwest University, Luzhou, Sichuan 646000, China)

**[Abstract]** **Objective** To evaluate the efficacy of probiotics on chemotherapy-induced intestinal mucositis in rats. **Methods** The databases including PubMed, EMbase, Cochrane, CBM, CNKI, WanFang and VIP were retrieved from their establishment to April 2016. The related randomized controlled trials (RCT) on the effects of probiotics for treating chemotherapy-induced intestinal mucositis in rats were included. The relevant literatures were screened according to the inclusion and exclusion criteria, then the data were extracted and analyzed. **Results** Total 6 RCT were included. Compared with the control group, the intestinal secretion and absorption function in the probiotics group was strengthened [ $SMD=1.73, 95\%CI(0.79, 2.68), P<0.01$ ], jejunal anti-oxidant capacity was increased [ $SMD=-2.12, 95\%CI(-3.56, -0.67), P<0.01$ ], however low dose probiotics ( $<1 \times 10^9$  cfu/d) had no protective effect on small intestine [ $SMD_{jejunum}=-0.06, 95\%CI(-0.51, 0.40), SMD_{ileum}=0.02, 95\%CI(-0.71, 0.75); P>0.05$ ], while high dose probiotics ( $\geq 1 \times 10^9$  cfu/d) could reduce the intestinal pathological damage [ $SMD_{jejunum}=-0.64, 95\%CI(-1.20, -0.09), SMD_{ileum}=-0.85, 95\%CI(-1.59, -0.12); P<0.05$ ]. **Conclusion** High dose probiotics can reduce chemotherapy-induced intestinal mucositis in rats. Because of less included literatures and the influence of publication bias, the effect of probiotics on chemotherapy induced mucositis could be overestimated.

**[Key words]** probiotics; rat; chemotherapy; intestinal mucositis; meta-analysis

小肠黏膜炎是常见的化疗毒副反应, 发生率约 40%, 大剂量化疗者中发生率甚至可高达 100%<sup>[1]</sup>, 其主要表现有严重炎症反应、剧烈腹痛、腹泻等, 不仅影响患者生存质量及对治疗的依从性, 甚至可迫使化疗中断, 影响治疗效果, 是一种严重甚至致死性肿瘤治疗的并发症。随着微生物学的发展, 微生物制剂特别是益生菌为化疗所致小肠黏膜炎的非药物疗法提供了新的选择, 但由于其致病机制尚不明确, 益生菌作用效应复杂, 设计严密的随机对照临床试验极其有限, 绝大多数停留在基础实验阶段, 且普遍样本量小、指标不一, 效果存在较大争议。为更客观地探讨益生菌对化疗致小肠黏膜炎的疗效, 开展了本次研究。

### 1 资料与方法

**1.1 纳入与排除标准** 纳入标准, (1) 研究设计: 对照研究, 无

论是否采用随机分组和盲法; (2) 研究对象: 化疗所致小肠黏膜炎模型大鼠, 实验前经各研究中心动物伦理委员会批准; (3) 干预措施: 对照组大鼠常规喂养并灌胃生理盐水或脱脂牛奶; 实验组大鼠在对照组基础上加用益生菌活菌, 单一或多菌种混合不限; (4) 结局指标: 小肠蔗糖酶活性、小肠髓过氧化物酶 (MPO) 活性、小肠损伤组织学评分。排除标准: (1) 综述性文献; (2) 研究对象为小鼠、人或其他动物; (3) 干预措施为灭活益生菌、益生菌上清液及多个干预因素混杂; (4) 只有摘要无法获取全文以及数据不完整无法利用的文献; (5) 同一研究者 (团队) 重复发表的研究, 仅纳入数据最全面的文献。

**1.2 检索策略** 计算机检索 PubMed、Embase、Cochrane、CBM、CNKI、万方和 VIP 数据库从建库至 2016 年 4 月的有关研究, 语种限制为英文和中文。英文检索词包括 probiotics、

\* 基金项目: 四川省泸州市科技支撑计划项目 (2015-S-39)。 作者简介: 黄雨佳 (1988-), 硕士, 主要从事外科护理学方面的研究。

△ 通信作者, E-mail: 1839045574@qq.com。

chemotherapy, mucositis, 中文检索词包括益生菌、化疗、肠黏膜炎、肠粘膜炎, 检索采用主题词与自由词相结合的方式, 并对所获文献的相关参考文献进行机检或手检。

**1.3 资料提取** 由 2 名研究者独立进行文献筛查, 资料提取并交叉核对, 提取的资料包括, (1) 文献基本资料: 题名、作者、发表年限; (2) 实验资料: 大鼠品系、性别、体质量、造模方式、益生菌菌种等; (3) 结局指标: 小肠蔗糖酶活性、小肠 MPO 活性、小肠损伤组织学评分。原文未叙述清楚或结果没有报道, 尽量与作者联系补充信息; 对有分歧的文献通过讨论达成一致意见或交由第三方裁断。

**1.4 纳入研究的偏倚风险评价** 采用 SYRCL 动物实验风险评估工具<sup>[3]</sup> 进行偏倚风险评价。

**1.5 统计学处理** 采用 RevMan 5. 2 软件对数据进行分析。当纳入研究为多臂试验时, 根据《Cochrane 干预措施系统评价手册》<sup>[4]</sup> 将多臂试验转化为双臂试验后进行分析; 计量资料采用加权均数差 (weighted mean difference, WMD) 或标准均数差 (standardized mean difference, SMD) 和 95% CI 进行描述; 异质性分析采用  $\chi^2$  检验,  $P > 0. 10$ 、 $I^2 < 50\%$  认为无异质性, 采用固定效应模型; 反之, 采用随机效应模型, 并利用 Stata12. 0 软件逐一剔除文献进行敏感性分析, 检验结果稳定性; 纳入研究总数大于或等于 10 时, 使用倒漏斗图检验发表偏倚; 纳入研究总数小于 10, 则不检验发表偏倚。以  $P < 0. 05$  为差异有统

计学意义。

**2 结 果**

**2.1 检索结果** 最终纳入文献 6 篇<sup>[5-10]</sup>, 全部为英文文献, 累计样本量 229 例, 符合本研究纳入标准样本量 128 例, 其中用益生菌干预的化疗致小肠黏膜炎大鼠 80 例 (实验组), 以脱脂牛奶为干预对照的 48 例 (观察组)。其中 Tooley 研究团队的文献纳入了 2 篇, 分别为 2006 年和 2011 年发表, 样本量、大鼠模型及实验方法均不同, 符合预先设计标准, 故统一纳入。文献筛选流程及结果见图 1。

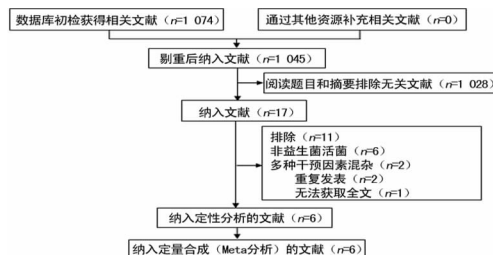


图 1 文献筛选流程及结果

**2.2 基本资料和偏倚风险评价** 纳入文献基本资料见表 1, 偏倚风险评价见图 2、图 3。

表 1 纳入文献基本资料

文献	样本量 T/C	大鼠特征	造模方式	干预措施		结局指标
				T	C	
Tooley 等 2006 <sup>[5]</sup>	12/8	DA, 雌性, 体质量(148±1)g	MTX 肌肉注射 1.5 mg/kg ×2 d	脱脂牛奶+嗜热链球菌 TH-4 10 <sup>9</sup> CFU/d×7 d 10 <sup>8</sup> CFU/d×7 d	脱脂牛奶×7 d	(1)(2)(3)
Whitford 等 2009 <sup>[6]</sup>	5/5	DA, 雌性, 体质量(173.5±5.5)g	5-FU 腹腔注射 150 mg/kg ×1 d	脱脂牛奶+嗜热链球菌 TH-4 2.7×10 <sup>9</sup> CFU/d×6 d	脱脂牛奶×6 d	(1)(3)
Wang 等 2013 <sup>[7]</sup>	8/8	DA, 雌性, 体质量(148.3±1.5)g	阿霉素腹腔注射 20 mg/kg ×1 d	脱脂牛奶+嗜热链球菌 TH-4 10 <sup>9</sup> CFU/d×9 d	脱脂牛奶×9 d	(3)
Smith 等 2008 <sup>[8]</sup>	16/8	DA, 雌性, 体质量 150 g	5-FU 腹腔注射 150 mg/kg ×1 d	脱脂牛奶+乳酸杆菌 BR11 2×10 <sup>6</sup> CFU/d×10 d 2×10 <sup>9</sup> CFU/d×10 d	脱脂牛奶×10 d	(1)(2)(3)
Mauger 等 2007 <sup>[9]</sup>	30/10	DA, 雌性, 体质量(146±1)g	5-FU 腹腔注射 150 mg/kg ×1 d	脱脂牛奶+乳酸杆菌 BR11 鼠李糖乳杆菌 GG 乳酸双歧杆菌 Bb12 10 <sup>6</sup> CFU/d×10 d	脱脂牛奶×10 d	(1)(2)(3)
Tooley 等 2011 <sup>[10]</sup>	9/9	DA 乳腺癌模型鼠, 雌性, 体质量(139±1)g	MTX 肌肉注射 1.5 mg/kg ×2 d	脱脂牛奶+嗜热链球菌 TH-4 10 <sup>6</sup> CFU/d×6 d	脱脂牛奶×6 d	(1)(2)(3)

T: 益生菌组, C: 化疗模型组; (1): 小肠蔗糖酶活性; (2): 小肠 MPO 活性; (3): 小肠损伤组织学评分; MTX: 甲氨蝶呤; 5-FU: 5-氟尿嘧啶

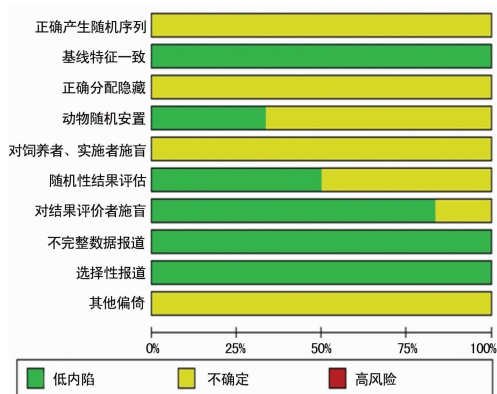
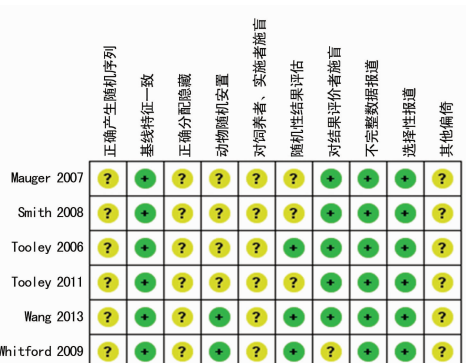


图 2 纳入研究总体偏倚风险评价



“+”: 低风险; “?”: 不确定; “-”: 高风险。

图 3 纳入研究各偏倚风险条目评价

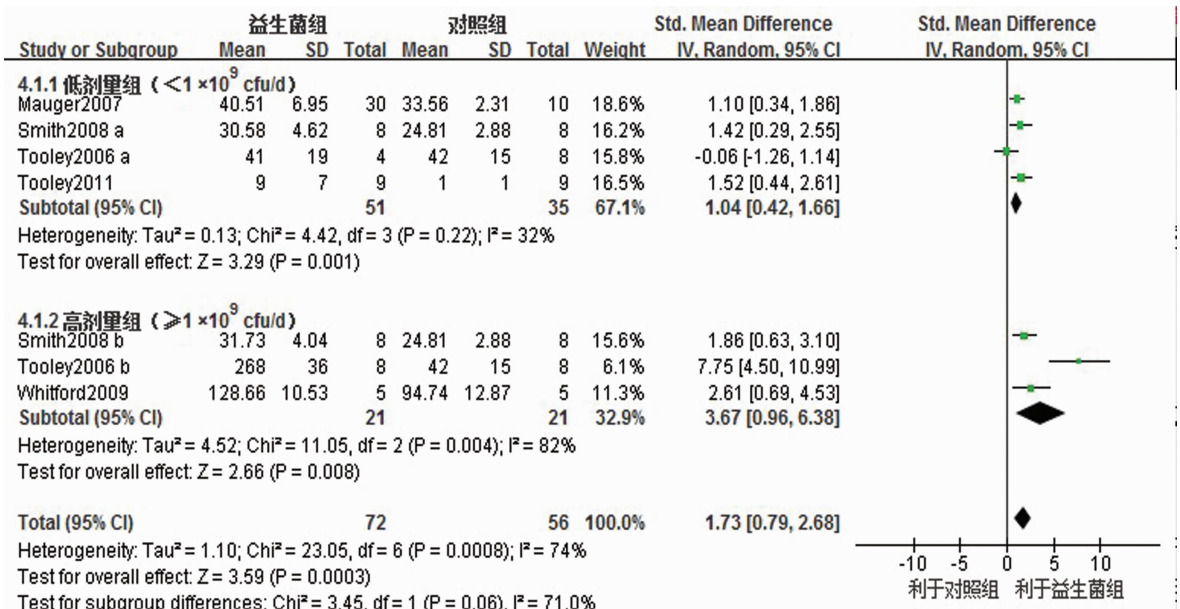


图 4 益生菌组和对照组小肠蔗糖酶活性的 Meta 分析

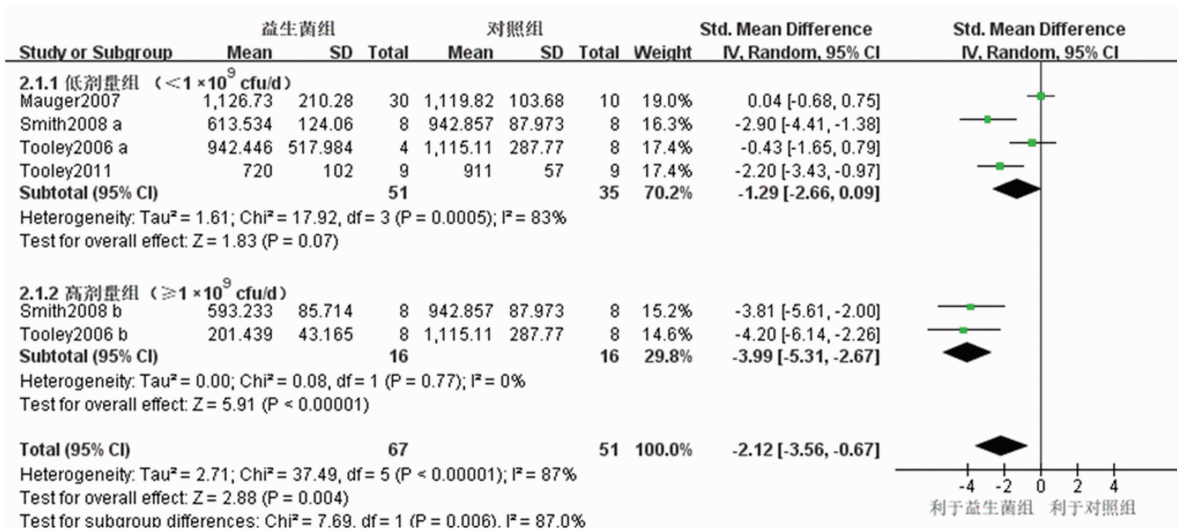


图 5 益生菌组和对照组空肠 MPO 活性的 Meta 分析

## 2.3 Meta 分析结果

**2.3.1 小肠蔗糖酶活性** 共有 5 篇文献报道了小肠蔗糖酶活性,均采用比色法对其进行检测。研究结果有明显异质性 ( $P = 0.0008$ ,  $I^2 = 74\%$ ),采用随机效应模型分析,与对照组比较,益生菌组小肠蔗糖酶活性增高,差异有统计学意义 [ $SMD = 1.73$ ,  $95\%CI(0.79, 2.68)$ ,  $P < 0.01$ ]。根据益生菌干预剂量不同,分为低剂量组 ( $<1 \times 10^9$  cfu/d) 和高剂量组 ( $\geq 1 \times 10^9$  cfu/d) 进行亚组分析。结果显示低、高剂量益生菌都能升高小肠蔗糖酶活性 ( $P < 0.01$ ),见图 4。

**2.3.2 空肠 MPO 活性** 共有 4 篇文献报道了小肠 MPO 活性,均采用比色法对其进行检测。与对照组比较,益生菌降低空肠 MPO 活性 [ $SMD = -2.12$ ,  $95\%CI(-3.56, -0.67)$ ,  $P < 0.01$ ]。亚组分析:低剂量益生菌对 MPO 活性无明显影响 [ $SMD = -1.29$ ,  $95\%CI(-2.66, 0.09)$ ,  $P > 0.05$ ],高剂量益生菌能显著降低 MPO 活性 [ $SMD = -3.99$ ,  $95\%CI(-5.31, -2.67)$ ,  $P < 0.01$ ],见图 5。

**2.3.3 回肠 MPO 活性** 益生菌组与对照组回肠 MPO 活性无显著差异 [ $SMD = -0.01$ ,  $95\%CI(-0.66, 0.65)$ ,  $P > 0.05$ ]。亚组分析低剂量组 MPO 活性与对照组差异无统计学

意义 [ $SMD = 0.39$ ,  $95\%CI(-0.18, 0.97)$ ,  $P > 0.05$ ],高剂量组 MPO 活性降低 [ $SMD = -0.99$ ,  $95\%CI(-1.74, -0.24)$ ,  $P < 0.05$ ],见图 6。

**2.3.4 空肠损伤组织学评分** 纳入的 6 篇文献均采用同一评分标准,该评分共 11 个维度,按损伤由轻到重评为 0~3 分,最低 0 分,最高 33 分<sup>[2]</sup>。固定效应模型分析结果显示:益生菌组与对照组空肠黏膜损伤差异无统计学意义 [ $SMD = -0.29$ ,  $95\%CI(-0.64, 0.06)$ ,  $P > 0.05$ ]。亚组分析:低剂量益生菌对空肠黏膜无保护作用 [ $SMD = -0.06$ ,  $95\%CI(-0.51, 0.40)$ ,  $P > 0.05$ ],高剂量益生菌能降低空肠黏膜损伤,差异有统计学意义 [ $SMD = -0.64$ ,  $95\%CI(-1.20, -0.09)$ ,  $P < 0.05$ ],见图 7。

**2.3.5 回肠损伤组织学评分** 益生菌组和对照组回肠黏膜损伤差异无统计学意义 [ $SMD = -0.41$ ,  $95\%CI(-0.93, 0.11)$ ,  $P > 0.10$ ]。亚组分析:低剂量益生菌对肠黏膜无明显保护作用 [ $SMD = 0.02$ ,  $95\%CI(-0.71, 0.75)$ ,  $P > 0.05$ ],高剂量益生菌能减轻黏膜损伤,差异有统计学意义 [ $SMD = -0.85$ ,  $95\%CI(-1.59, -0.12)$ ,  $P < 0.05$ ],见图 8。

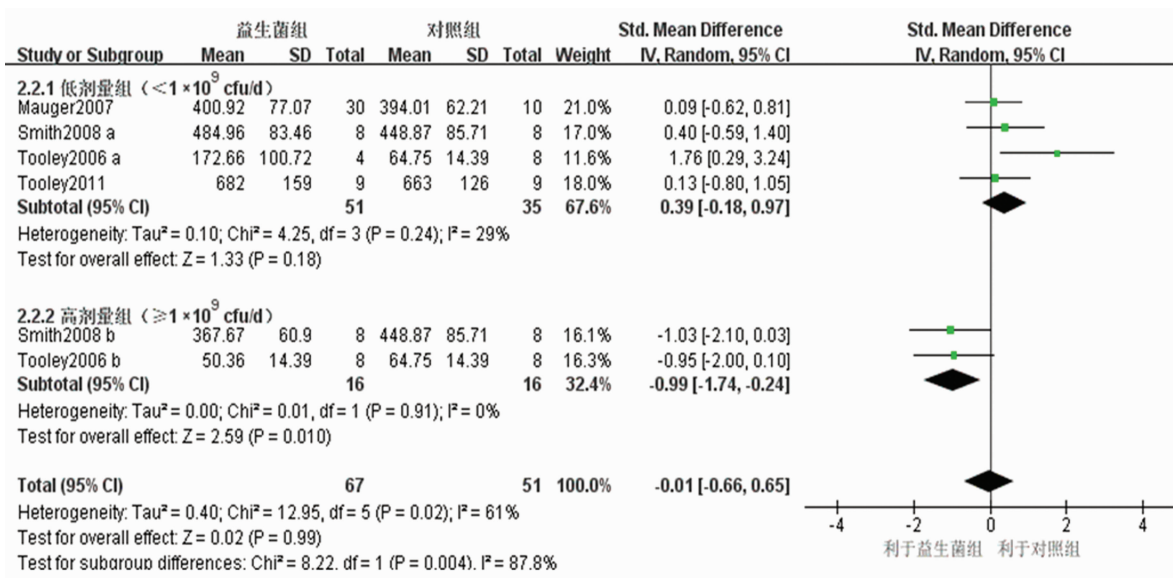


图 6 益生菌组和对照组回肠 MPO 活性的 Meta 分析

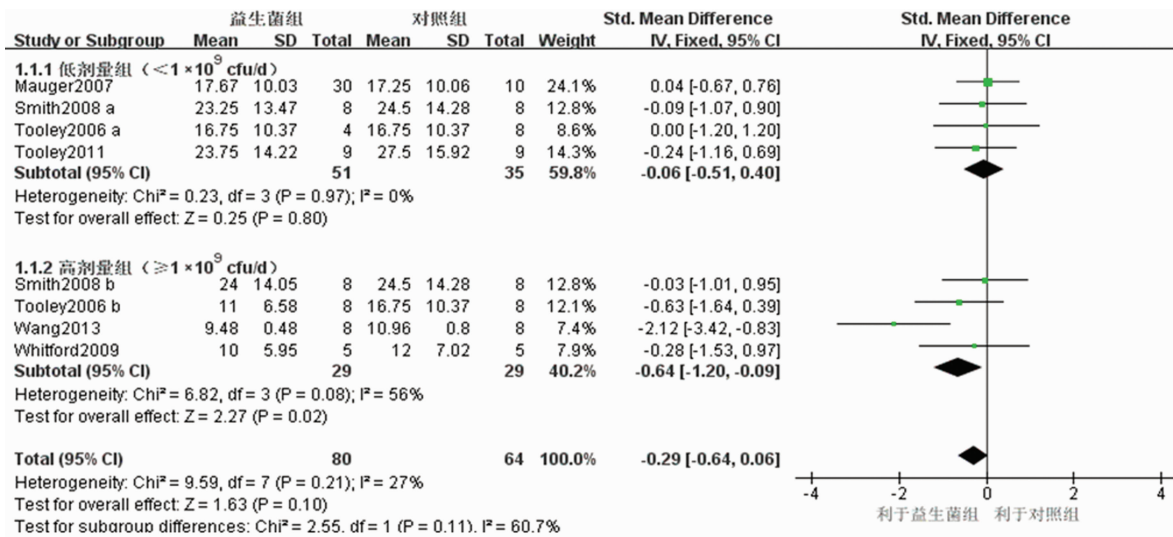


图 7 益生菌组和对照组空肠损伤组织学评分的 Meta 分析

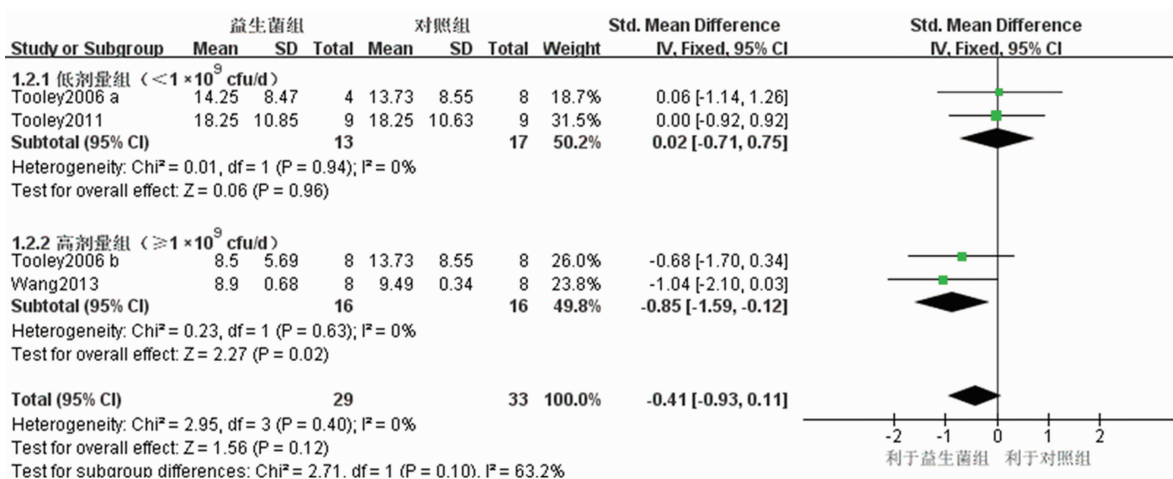


图 8 益生菌组和对照组回肠损伤组织学评分的 Meta 分析

**2.3.6 敏感性分析** 对蔗糖酶活性,空肠、回肠 MPO 活性合并结果进行敏感性分析,逐一剔除文献后,总结果变化不大,故认为结果较稳健。

**2.3.7 发表偏倚检验** 本研究最终纳入文献总数小于 10 篇,故未检验发表偏倚。

### 3 讨论

**3.1 效果评价** 目前研究认为化疗所致小肠黏膜炎的发生是一个受多因素影响的过程,化疗药物诱导机体产生的大量活性氧(ROS)和活性氮(RNS)引发系列炎性反应,使小肠黏膜层组织结构受损,发生绒毛融合、腺窝破坏、黏膜下层水肿等病理改

变;分泌吸收功能失衡,代表小肠功能的蔗糖酶活性下降;同时免疫调节受损,抗氧化能力降低,反映肠黏膜抗氧化能力的 MPO 上升。

联合国粮农组织和世界卫生组织将益生菌定义为“摄入量时对机体产生有益作用的活性微生物”,现有研究认为其生理功能主要有:黏附于肠腔上皮与致病菌竞争营养物质和结合位点;对其他微生物及细胞动力学进行调节等。对部分胃肠道疾病如:炎症性肠病、肠易激综合征、抗生素相关性腹泻等,益生菌的防治作用已逐渐明确,但其对化疗致小肠黏膜炎疗效的基础研究仍极其有限,且结果存在较大争议。有研究认为益生菌的摄入能减少肠道兼性厌氧菌增殖,减小肠组织学损伤,降低肠黏膜通透性,保护肠黏膜屏障,从而防治黏膜炎<sup>[11-12]</sup>;也有研究认为益生菌对肠黏膜炎无效<sup>[13]</sup>,其应用缺乏确切的理论依据,难以指导临床。本研究结果显示:与对照组相比,益生菌能提高化疗后大鼠小肠蔗糖酶活性,保护肠的分泌、吸收功能;降低空肠 MPO 活性,增强黏膜抗氧化能力,避免超氧化物和氧自由基对组织造成损害,虽然益生菌对回肠 MPO 活性影响差异无统计学意义,但亚组分析发现高剂量益生菌对回肠 MPO 活性仍有较明显的降低作用,然而因高剂量组纳入文献过少,须注意结果受到机遇影响的可能;同时高剂量益生菌表现出有减轻小肠组织学损伤的效果,但仍应注意,受纳入研究发表偏倚等因素的影响,益生菌对化疗所致小肠黏膜炎疗效可能被高估。

**3.2 本研究的局限性及对未来研究的启示** (1)本研究所检文献仅限于中文和英文,可能因漏检其他语种文献造成偏倚;纳入的研究均未提及随机序列产生、分配隐藏方式,不确定是否对实施者、动物饲养者施盲,可能存在选择性偏倚和实施偏倚;(2)部分结果异质性较大,可能与研究组间益生菌菌株不同、造模方式各异有关;(3)虽然有研究指出灭活益生菌、益生菌成分及其分泌的物质都具有一定生理功能,Prisciandaro 等<sup>[14]</sup>认为益生菌上清液对肠黏膜有保护作用,但由于目前国际对益生菌的定义及预先制订的纳入排除标准限制,未将以上成分纳入研究;吴英韬等<sup>[15]</sup>将小肠绒毛高度、腺窝深度作为评价组织损伤的结局指标,也未能纳入,故最终纳入文献较少,一定程度上限制了研究的适用性。(4)本研究纳入的益生菌种类较少,且益生菌菌株不同,其微生物学特点各异,不可避免存在疗效偏差,因此本 Meta 分析的结论未必适用于所有的益生菌。

由此提示,未来需进一步开展大样本设计严密的随机对照实验研究(包括随机化分组、盲法干预、盲法结局评估、设置多个益生菌剂量组等),以获得高质量证据,从而更加准确地分析益生菌对化疗所致小肠黏膜炎疗效,为临床提供参考。

## 参考文献

[1] Keefe DM, Cummins AG, Dale BM, et al. Effect of high-dose chemotherapy on intestinal permeability in humans [J]. *Clin Sci (Lond)*, 1997, 92(4): 385-389.

[2] Howarth GS, Francis GL, Cool JC, et al. Milk growth factors enriched from cheese whey ameliorate intestinal damage by methotrexate when administered orally to rats [J]. *J Nutr*, 1996, 126(10): 2519-2530.

[3] Krauth D, Woodruff TJ, Bero L. Instruments for assessing risk of bias and other methodological criteria of published animal studies: a systematic review [J]. *Environ Health*

*Perspect*, 2013, 121(9): 985-992.

- [4] 李静,张鸣明. Cochrane 干预措施系统评价手册·中文翻译版[M]. 兰州:兰州大学出版社, 2014.
- [5] Tooley KL, Howarth GS, Lynn KA, et al. Oral ingestion of streptococcus thermophilus diminishes severity of small intestinal mucositis in methotrexate treated rats [J]. *Cancer Biol Ther*, 2006, 5(6): 593-600.
- [6] Whitford E, Cummins A, Butler R, et al. Adelaide research and scholarship: effects of streptococcus thermophilus TH-4 on intestinal mucositis induced by the chemotherapeutic agent 5-Fluorouracil (5-FU) [J]. *Cancer Biol Ther*, 2009.
- [7] Wang H, Brook CL, Whittaker AL, et al. Effects of streptococcus thermophilus TH-4 in a rat model of doxorubicin-induced mucositis [J]. *Scand J Gastroenterol*, 2013, 48(8): 959-968.
- [8] Smith CL, Geier MS, Yazbeck R, et al. Lactobacillus fermentum BR11 and fructo-oligosaccharide partially reduce jejunal inflammation in a model of intestinal mucositis in rats [J]. *Nutr Cancer*, 2008, 60(6): 757-767.
- [9] Mauger CA, Butler RN, Geier MS, et al. Probiotic effects on 5-fluorouracil-induced mucositis assessed by the sucrose breath test in rats [J]. *Dig Dis Sci*, 2007, 52(3): 612-619.
- [10] Tooley KL, Howarth GS, Lynn KA, et al. Oral ingestion of streptococcus thermophilus does not affect mucositis severity or tumor progression in the tumor-bearing rat [J]. *Cancer Biol Ther*, 2011, 12(2): 131-138.
- [11] Von Bültzingslöwen I, Adlerberth I, Wold AE, et al. Oral and intestinal microflora in 5-fluorouracil treated rats, translocation to cervical and mesenteric lymph nodes and effects of probiotic bacteria [J]. *Oral Microbiol Immunol*, 2003, 18(5): 278-284.
- [12] Southcott E, Tooley KL, Howarth GS, et al. Yoghurts containing probiotics reduce disruption of the small intestinal barrier in methotrexate-treated rats [J]. *Dig Dis Sci*, 2008, 53(7): 1837-1841.
- [13] Maioli TU, Silva BM, Dias MN, et al. Pretreatment with *Saccharomyces boulardii*, does not prevent the experimental mucositis in Swiss mice [J]. *J Negat Results Biomed*, 2014, 13(1): 1-8.
- [14] Prisciandaro LD, Geier MS, Butler RN, et al. Probiotic factors partially improve parameters of 5-fluorouracil-induced intestinal mucositis in rats [J]. *Cancer Biol Ther*, 2011, 11(7): 671-677.
- [15] 吴英韬,解傲,袁杰利. 多联益生菌对 5-氟尿嘧啶诱发大鼠肠道菌群紊乱及肠黏膜损伤的保护作用 [J]. *中国微生态学杂志*, 2016, 28(4): 378-382.
- [16] Yuan KT, Yu HL, Feng WD, et al. *Bifidobacterium infantis* has a beneficial effect on 5-fluorouracil-induced intestinal mucositis in rats [J]. *Benef Microbes*, 2015, 6(1): 113-118.