

肠道菌群与脊柱关节炎相关性的研究进展

杨阳, 朱琦

(上海中医药大学附属光华中西医结合医院 关节内科, 上海 200052)

摘要: 肠道菌群与脊柱关节炎的关系一直是研究的热点, 对脊柱关节炎患者中菌群的研究有利于了解脊柱关节炎的发病机制, 以及制定疾病的早期诊断和治疗策略。体外细菌培养的方法严重制约了这方面的研究, 随着全基因组测序技术的发展, 对肠道菌群的研究变得方便。本文通过对以往关于脊柱关节炎可能机制、动物模型以及菌群调节治疗的回顾, 来探究脊柱关节炎与肠道菌群的相关性。

关键词: 脊柱关节炎; 肠道菌群; 作用机制; 动物模型; 治疗策略

中图分类号: R392

文献标志码: A

文章编号: 1001-2478(2018)04-0328-05

脊柱关节炎(spondyloarthritis, SpA)是一组相互关联的, 侵犯脊柱、外周关节和关节周围结构的多系统炎性疾病, 包括强直性脊柱炎(ankylosing spondylitis, AS)、反应性关节炎(reactive arthritis, ReA)、银屑病关节炎(psoriatic arthritis, PsA)、炎症性肠病关节炎等。遗传因素和环境刺激在 SpA 发病中起到重要作用, HLA-B27 的发现揭示了遗传在 SpA 发病中的地位, 成为过去 SpA 研究中的重大进展。随着测序技术的发展, 肠道菌群作为环境刺激因素被认为在 SpA 发病中起到重要作用。

1 肠道菌群与 SpA

对健康人群粪便标本的研究发现, 肠道微生物约 1 150 种, 每个个体至少含有 160 种不同的肠道微生物^[1]。基因测序技术研究发现, SpA 患者肠道的活泼瘤胃球菌(*R. gnavus*)丰度增加, 且活泼瘤胃球菌及小杆菌(*Dialister*)与 SpA 变化有关^[2-3]。实验动物研究发现, 无菌动物的肠道具有更小的派氏结, 更少的肠系膜淋巴结、CD4⁺ T 细胞及 DC。无菌动物脾脏含有较少的免疫细胞生发中心, 而使用分段丝状细菌定植后部分免疫系统可以恢复^[4]。

SpA 的大鼠模型在无菌条件下也无法发展出关节炎, 证明肠道菌群对机体免疫的影响。

研究发现肠道炎症可能是肠道菌群参与到 SpA 中的首要表现。一个关于中轴型 SpA 多因素预测模型的研究发现, 年龄小、男性性别、疾病高活动度以及脊柱活动受限均与肠道微环境炎症相关, 同时流行病学研究发现 46.2% 的患者显微镜下出现肠道炎症, 包括 16.9% 的急性炎症和 29.2% 的慢性炎症^[5]。另一方面, (10~30)% 的炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)患者出现与 SpA 相似的关节症状^[6], 即所谓的炎症性肠病关节炎。Card 等^[7]发现, 3.4% 的 IBD 患者同时患有葡萄膜炎(SpA 的临床特征之一)。Praet 等^[8]发现慢性肠道炎症与骶髂关节广泛的骨髓水肿有关。肠道菌群可能通过增加肠道通透性的机制引起局部炎症, 造成菌群与免疫系统的过度接触, 部分微生物可以通过分子模拟的机制引起自身免疫的紊乱, 甚至通过淋巴管迁移到肠道以外。而传统的抗生素治疗以及新兴的益生菌治疗和粪便微生物移植技术也为 SpA 的研究提供了新方向。

2 肠道菌群与 SpA 的发病机制

2.1 肠道通透性的增加 正常情况下肠道菌群与宿主保持共生关系并维持肠道稳态, 但肠道菌群的改变可能引起肠黏膜的损伤, 导致肠道通透性增加。研究发现 AS 患者及其一级亲属以及实验动物模型中肠道通透性增加^[9]。肠道通透性增加, 造成肠道菌群与肠黏膜免疫系统过度接触, 被认为是引起 Th17/Treg 免疫调节失衡的原因^[10]。Ciccia F

收稿日期: 2017-08-03

基金项目: 上海市科委中医引导类项目(16401930500); 上海市卫计委中医三年行动计划(ZY3-LCPT-1-1009); 上海市长宁区卫计委特色专科建设项目(20152002)

作者简介: 杨阳(1991—), 硕士生, 研究方向: 强直性脊柱炎与免疫相关性研究

通信作者: 朱琦(E-mail: Zhuqigh540@126.com)

等^[11]在 AS 患者中发现可以表达 IL-17 和 IL-22 的 3 型天然淋巴细胞在肠道、外周血、骨髓及关节的增多。所以肠道通透性增加可能是肠道菌群影响疾病发展的第一步。

2.2 HLA-B27 的分子模拟 早期研究发现被 HLA-B27 阳性的淋巴细胞免疫过的家兔表现出对被克雷伯菌多糖包被的绵羊红细胞的凝集活性增加,且这些差异具有统计学意义^[12]。抗 HLA-B27 单克隆抗体也可以结合克雷伯菌、志贺氏菌和耶尔森菌等,表明这些微生物中存在与 HLA-B27 相似的抗原^[13]。此外克雷伯菌支链淀粉酶与人体内 I 型胶原以及 IV 型胶原也存在分子模拟,这种分子模拟可以用来解释 SpA 中的中轴受累、肌腱端炎以及葡萄膜炎的情况^[14]。来自芬兰的一组研究显示,AS 患者抗克雷伯菌抗体水平升高与肠道炎症程度相关^[15]。然而 Stone 等^[16]通过多个病原微生物的对照研究发现没有证据支持克雷伯菌参与到 AS 的发病。所以需要更多的研究以发现特定的病原微生物来证明分子模拟机制的存在。

2.3 淋巴通道机制 在关于 SpA 病理改变的研究中,有种观点认为肠道病原菌通过淋巴管道被转运到骶髂和中轴关节。淋巴循环在炎症反应中有着重要的地位,且多数淋巴液是在人类肠道中形成的^[17]。正常情况下肠系膜淋巴结(mesenteric lymph node, MLN)中定植着一些人类的共生菌,可以阻止肠道病原微生物的扩张^[18]。但病理情况下一些非共生细菌可以存在于淋巴液中甚至繁殖^[19]。有研究者认为 SpA 患者中肠道菌群影响宿主的机制可能与 *Tropheryma Whipplei* (一种革兰阴性菌)引起的 Whipple 病的机制相似。在 Whipple 病中发现了淋巴管的阻塞、淋巴结的扩张以及骶髂关节炎^[20-21]。淋巴管的阻塞会造成淋巴液的逆行回流,这可能导致淋巴液中的细菌被转运到骶髂和中轴关节。有趣的是在 IBD 中发现肠道淋巴管的增加,以及在克罗恩病患者肠样本中发现了大量淋巴管的阻塞^[22]。国内一项研究对 25 例原发性乳糜尿患者的淋巴造影显示有 13 例患者出现造影剂向盆腔及骶髂部反流^[23]。携带病原微生物的淋巴液通过淋巴管从 MLN 到骶髂关节以及从胸导管到脊柱的逆向回流似乎可以解释 SpA 中骶髂和中轴的病变。

3 动物模型

3.1 HLA 动物模型 人类 HLA-B27 和 β_2 微球蛋

白转基因大鼠可以出现外周和中轴的关节炎、葡萄膜炎等在 SpA 中常见的表现。然而处在无菌条件下饲养的大鼠却不能发展出关节炎以及肠道炎症,需要给予细菌定植后才能发病^[24]。Lin 等^[25]对 B27 转基因大鼠肠道菌群的分析发现,大鼠肠道中普雷沃菌属(*Prevotella spp*)的丰度增加以及理研菌属(*Rikenellaceae*)丰度降低,表明 HLA 与肠道微生物的相关性。转基因大鼠的 DC 在抗原呈递以及刺激 T 细胞应答的过程中存在缺陷,同时存在着可能在免疫耐受中发挥作用的 CD103⁺CD4⁻DC 活力下降的情况^[26]。Utriainen 等^[27]发现大鼠淋巴液中 DC 可以刺激 CD4⁺T 细胞使其产生 IL-17 的能力增加。最近有研究在对比转基因大鼠不同时期的肠内容物的基因测序结果以及病理改变后,认为肠道菌群的紊乱可以用于疾病的早期诊断^[28]。

3.2 SKG 模型 自发性类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)小鼠模型(SKG 小鼠)是指小鼠 ZAP-70(一种蛋白酪氨酸激酶)受体信号分子存在缺陷,使小鼠易感自身免疫疾病,在特定环境下注射凝胶多糖(存在于真菌中的 β -葡聚糖)可使小鼠发展出肌腱端炎、骶髂关节炎、葡萄膜炎和回肠炎等 AS 中常见的症状^[29]。研究发现 SKG 小鼠炎症水平与体内 IL-23 有关,阻断 IL-23 下游的 2 个细胞因子具有不同效果,当阻断 IL-17 后可以减少关节炎和肠道炎症,当阻断 IL-22 后可以减少关节炎但会加重回肠炎,表明 IL-22 可能有减轻肠道炎症的作用^[30]。这些结果表明肠道菌群可以通过影响细胞因子来影响疾病发展。

3.3 ANKENT 模型 ANKENT 模型是人类 AS 的动物模型,小鼠模型和人类 AS 有很多相似的表现,包括(10~20)%的小鼠踝关节和跗关节进行性的强直以及肌腱端炎。在年轻雄性小鼠并且有 H-2 单倍体(与人的 HLA 基因相似)主导的遗传背景下更容易被发现。但在无菌条件下 ANKENT 小鼠不能发展出关节强直。有趣的发现是,细菌 LPS 的反复刺激可以降低关节强直的发病率,这可能与 LPS 的刺激激活了固有免疫中的炎症抑制信号通路以及刺激后分泌的 IL-10 具有缓解关节炎症的作用有关^[31]。

4 与菌群调节相关的治疗

4.1 抗生素 抗生素的长期使用会对肠道微生物的多样性造成影响。研究表明在使用莫西沙星治疗

12周后AS患者症状有所改善,红细胞沉降率(erythrocyte sedimentation rate, ESR)以及CRP显著下降,证明了莫西沙星对AS的疗效^[32]。柳氮磺吡啶(salazosulfapyridine, SASP)作为一种磺胺类抗菌药,在临床上被用于治疗AS并且取得一定疗效^[33]。在一项随机多中心试验中,SASP改善了外周关节疾病,但没有观察到中轴症状的改变^[34]。SASP的水解产物5-氨基水杨酸有抗菌消炎和免疫抑制的作用,但有学者认为SASP的治疗效果可能是因为它对肠道菌群的抑制作用。

4.2 益生菌 益生菌是指活的微生物,它定植于肠道,可以促进宿主的健康,具有加强肠黏膜屏障和免疫调节的作用。研究表明益生菌处理有利于降低HLA-B27大鼠模型中结肠炎和关节炎的发生率^[35]。口服干酪乳杆菌对胶原诱导性关节炎大鼠模型也具有显著的预防作用^[36]。但是使用益生菌作为疾病治疗的证据并不足,Jenks等^[37]将63例活动期SpA患者随机分为2组,32例进行益生菌治疗,31例接受安慰剂治疗,研究结束时两组未发现明显差异。

4.3 粪便微生物移植(fecal microbiota transplantation, FMT) FMT是利用健康个体的粪便转移,以恢复受体肠道菌群稳态的方法。尽管FMT在SpA中并没有太多研究,但FMT在治疗IBD、糖尿病以及艰难梭菌感染中取得很好效果^[38]。19例克罗恩病患者在接受FMT治疗12周后,多数患者症状得到改善,且肠道微生物多样性增加^[39]。41例IBD患者在接受FMT治疗后76%的患者症状好转或者完全消退^[40]。2003年的一项研究认为FMT治疗可以缓解甚至治愈溃疡性结肠炎^[41],但也有研究表明接受健康供体的粪便微生物与接受自身粪便微生物治疗的溃疡性结肠炎患者治疗效果无明显差异^[42]。FMT的治疗需要考虑到供体粪便中的未知成分、FMT对受体的其他影响以及考虑到患者对FMT治疗的耐受性。因此加快肠道有益菌的筛选和提取技术的研究是FMT的研究方向。

还有研究表明日常饮食可能也会影响SpA的发病。36例活动期AS接受低淀粉饮食后发现ESR和血清IgA的下降^[43],这可能与克雷伯菌在高淀粉环境下更活跃有关^[44]。影响肠道菌群的因素很多,所以对肠道菌群治疗策略的研究还需要更全面的考虑。

5 结语

通过对肠道菌群如何影响SpA、动物模型以及菌群调节治疗的回顾,可以发现肠道菌群作为环境刺激因素在SpA发病中起到重要作用。针对肠道菌群调节的治疗策略也有重大的前景特别是FMT以及益生菌的应用。未来对肠道菌群的研究可以侧重于探索在SpA的发病中是否有特定的病原菌,以及如何通过免疫系统影响宿主,特定病原体的发现可以用于SpA的早期诊断和预后判断。而对菌群的治疗策略可能用于缓解疾病症状、提高患者生存质量,做到精准治疗和达标治疗。

参考文献

- [1] Manichanh C, Borruel N, Casellas F, *et al.* The gut microbiota in IBD[J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2012, 9(10): 599-608.
- [2] Breban M, Tap J, Leboime A, *et al.* Faecal microbiota study reveals specific dysbiosis in spondyloarthritis[J]. *Ann Rheum Dis*, 2017, 76(9): 1614-1622.
- [3] Tito RY, Cypers H, Joossens M, *et al.* Brief report: Dialister as a microbial marker of disease activity in spondyloarthritis[J]. *Arthritis Rheumatol*, 2017, 69(1): 114-121.
- [4] Yun KL, Mazmanian SK. Has the microbiota played a critical role in the evolution of the adaptive immune system?[J]. *Science*, 2010, 330(6012): 1768-1773.
- [5] van PL, Vanf E, Jacques P, *et al.* Microscopic gut inflammation in axial spondyloarthritis: A multiparametric predictive model[J]. *Ann Rheum Dis*, 2013, 72(3): 414-417.
- [6] Levine JS, Burakoff R. Extraintestinal manifestations of inflammatory bowel disease[J]. *Curr Gastroenterol Rep*, 2001, 3(6): 295-296.
- [7] Card TR, Langan SM, Chu TP. Extra-gastrointestinal manifestations of inflammatory bowel disease may be less common than previously reported[J]. *Dig Dis Sci*, 2016, 61(9): 2619-2626.
- [8] Praet LV, Jans L, Carron P. Degree of bone marrow oedema in sacroiliac joints of patients with axial spondyloarthritis is linked to gut inflammation and male sex: results from the GI-ANT cohort[J]. *Ann Rheum Dis*, 2014, 73(6): 1186-1189.
- [9] Martínezgonzález O, Canterohinojosa J, Paulesastre P, *et al.* Intestinal permeability in patients with ankylosing spondylitis and their healthy relatives[J]. *Br J Rheumatol*, 1994, 33(7): 644-647.
- [10] Morris G, Berk M, Carvalho AF, *et al.* The role of microbiota and intestinal permeability in the pathophysiology of autoimmune and neuroimmune processes with an emphasis on inflammatory bowel disease type 1 diabetes and chronic fatigue syndrome[J]. *Curr Pharm Des*, 2016, 22(40): 6058-6075.

- [11] Ciccio F, Guggino G, Rizzo A, *et al.* Type 3 innate lymphoid cells producing IL-17 and IL-22 are expanded in the gut, in the peripheral blood, synovial fluid and bone marrow of patients with ankylosing spondylitis[J]. *Ann Rheum Dis*, 2015, 74(9): 1739.
- [12] Ebringer A, Ghuloom M. Ankylosing spondylitis, HLA-B27, and klebsiella: Cross reactivity and antibody studies[J]. *Ann Rheum Dis*, 1986, 45(8): 703-704.
- [13] van Bohemen CG, Grumet FC, Zanen HC. Identification of HLA-B27M1 and -M2 cross-reactive antigens in Klebsiella, Shigella and Yersinia[J]. *Immunology*, 1984, 52(4): 607-610.
- [14] Fielder M, Pirt SJ, Tarpey I, *et al.* Molecular mimicry and ankylosing spondylitis: Possible role of a novel sequence in pullulanase of Klebsiella pneumoniae[J]. *FEBS Lett*, 1995, 369(2-3): 243-248.
- [15] Maki-Ikola O, Leirisalo-Repo M, Turunen U, *et al.* Association of gut inflammation with increased serum IgA class Klebsiella antibody concentrations in patients with axial ankylosing spondylitis (AS): implication for different aetiopathogenetic mechanisms for axial and peripheral AS[J]. *Ann Rheum Dis*, 1997, 56(3): 180-183.
- [16] Stone MA, Payne U, Schentag C, *et al.* Comparative immune responses to candidate arthritogenic bacteria do not confirm a dominant role for Klebsiella pneumonia in the pathogenesis of familial ankylosing spondylitis[J]. *Rheumatology (Oxford)*, 2004, 43(2): 148-155.
- [17] Alexander JS, Ganta VC, Jordan PA, *et al.* Gastrointestinal lymphatics in health and disease[J]. *Pathophysiology*, 2010, 17(4): 315-335.
- [18] Obata T, Goto Y, Kunisawa J, *et al.* Indigenous opportunistic bacteria inhabit mammalian gut-associated lymphoid tissues and share a mucosal antibody-mediated symbiosis[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107(16): 7419-7424.
- [19] O'Brien CL, Pavli P, Gordon DM, *et al.* Detection of bacterial DNA in lymph nodes of Crohn's disease patients using high throughput sequencing[J]. *Gut*, 2014, 63(10): 1596-1606.
- [20] Bruggemann A, Burchardt H, Lepsien G. Sonographical findings in Whipple's disease. A case report with regard to the literature[J]. *Surg Endosc*, 1992, 6(3): 138-140.
- [21] Scheib JS, Quinet RJ. Whipple's disease with axial and peripheral joint destruction[J]. *South Med J*, 1990, 83(6): 684-687.
- [22] van Kruiningen HJ, Colombel JF. The forgotten role of lymphangitis in Crohn's disease[J]. *Gut*, 2008, 57(1): 1-4.
- [23] 信建峰, 孙宇光, 夏松, 等. 直接淋巴管造影术在原发性乳腺癌诊断中的应用[J]. *中华医学杂志*, 2013, 93(28): 2212-2214.
- [24] Taurog JD, Richardson JA, Croft JT, *et al.* The germfree state prevents development of gut and joint inflammatory disease in HLA-B27 transgenic rats[J]. *J Exp Med*, 1994, 180(6): 2359-2364.
- [25] Lin P, Bach M, Asquith M, *et al.* HLA-B27 and human beta 2-microglobulin affect the gut microbiota of transgenic rats[J]. *PLoS One*, 2014, 9(8): e105684.
- [26] Dhaenens M, Fert I, Glatigny S, *et al.* Dendritic cells from spondylarthritis-prone HLA-B27-transgenic rats display altered cytoskeletal dynamics, class II major histocompatibility complex expression and viability[J]. *Arthritis & Rheumatology*, 2009, 60(9): 2622-2632.
- [27] Utriainen L, Firmin D, Wright P, *et al.* Expression of HLA-B27 causes loss of migratory dendritic cells in a rat model of spondylarthritis[J]. *Arthritis Rheum*, 2012, 64(10): 3199-3209.
- [28] Asquith MJ, Stauffer P, Davin S, *et al.* Perturbed mucosal immunity and dysbiosis accompany clinical disease in a rat model of spondyloarthritis[J]. *Arthritis Rheum*, 2016, 68(9): 2151-2162.
- [29] Ruutu M, Thomas G, Steck R, *et al.* β -glucan triggers spondylarthritis and Crohn's disease-like ileitis in SKG mice[J]. *Arthritis Rheum*, 2012, 64(7): 2211-2222.
- [30] Benham H, Rehaume LM, Hasnain SZ, *et al.* Interleukin-23 mediates the intestinal response to microbial beta-1,3-glucan and the development of spondyloarthritis pathology in SKG mice[J]. *Arthritis Rheumatol*, 2014, 66(7): 1755-1767.
- [31] Capkova J, Hrnčir T, Kubatova A, *et al.* Lipopolysaccharide treatment suppresses spontaneously developing ankylosing enthesopathy in B10.BR male mice: The potential role of interleukin-10[J]. *BMC Musculoskelet Disord*, 2012, 13(1): 110.
- [32] Ogrendik M. Treatment of ankylosing spondylitis with moxifloxacin[J]. *South Med J*, 2007, 100(4): 366-370.
- [33] Moghimi J, Rezaei AA, Ghorbani R, *et al.* Efficacy of an acquainted drug in the treatment of inflammatory low back pain: Sulfasalazine under investigation[J]. *Drug Des Devel Ther*, 2016, 10: 3065-3069.
- [34] Clegg DO, Reda DJ, Abdellatif M. Comparison of sulfasalazine and placebo for the treatment of axial and peripheral articular manifestations of the seronegative spondylarthropathies: A Department of Veterans Affairs cooperative study[J]. *Arthritis Rheum*, 1999, 42(11): 2325.
- [35] Hoentjen F, Welling GW, Harmsen HJ, *et al.* Reduction of colitis by prebiotics in HLA-B27 transgenic rats is associated with microflora changes and immunomodulation[J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2005, 11(11): 977-985.
- [36] Amdekar S, Singh V, Singh R, *et al.* Lactobacillus casei reduces the inflammatory joint damage associated with collagen-induced arthritis (CIA) by reducing the pro-inflammatory cytokines: Lactobacillus casei: COX-2 inhibitor[J]. *J Clin Immunol*, 2011, 31(2): 147-154.
- [37] Jenks K, Stebbings S, Burton J, *et al.* Probiotic therapy for the treatment of spondyloarthritis: A randomized controlled trial[J]. *J Rheumatol*, 2010, 37(10): 2118-2125.
- [38] Xu M, Cao H, Wang W, *et al.* Fecal microbiota transplanta-

- tion broadening its application beyond intestinal disorders[J]. *World J Gastroenterol*, 2015(1): 117-126.
- [39] Vaughn BP, Vatanen T, Allegretti JR, *et al*. Increased intestinal microbial diversity following fecal microbiota transplant for active Crohn's disease[J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2016, 22(9): 2182-2190.
- [40] Wei Y, Zhu W, Gong J, *et al*. Fecal microbiota transplantation improves the quality of life in patients with inflammatory bowel disease[J]. *Gastroenterol Res Pract*, 2015, 2015: 517597.
- [41] Borody TJ, Warren EF, Leis S, *et al*. Treatment of ulcerative colitis using fecal bacteriotherapy[J]. *J Clin Gastroenterol*, 2003, 37(1): 42-47.
- [42] Rossen NG, Fuentes S, van MJ, *et al*. Findings from a randomized controlled trial of fecal transplantation for patients with ulcerative colitis[J]. *Gastroenterology*, 2015, 149(1): 110-118.
- [43] Ebringer A, Wilson C. The use of a low starch diet in the treatment of patients suffering from ankylosing spondylitis[J]. *Clin Rheumatol*, 1996, 15, 1(1): 62-66.
- [44] Rashid T, Wilson C, Ebringer A. Raised incidence of ankylosing spondylitis among Inuit populations could be due to high HLA-B27 association and starch consumption[J]. *Rheumatol Int*, 2015, 35(6): 945-951.