

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2020.11.008
网络首发 http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.r.20200422.1510.020.html(2020-04-23)

健康幼儿粪便微生物移植治疗难治性溃疡性结肠炎的疗效观察^{*}

王 兰 兰, 闵 敏[△], 刘 岩, 毕义亮, 徐 杨
(解放军总医院第五医学中心消化内科, 北京 100071)

[摘要] **目的** 探讨健康幼儿的粪便微生物移植(FMT)对难以控制或反复复发的难治性溃疡性结肠炎(UC)患者的治疗效果。**方法** 选用患者健康子女的粪便作为供体,参照文献的粪菌分离方法收集粪菌液,通过内镜下均匀喷洒粪菌液观察患者临床转归情况。**结果** 入组的 UC 患者 Mayo 评分均在 6 分以上,在接受激素治疗效果不乐观的状态下通过健康幼儿粪菌移植后临床症状得以控制,血白细胞(WBC)、中性粒细胞(N)、C 反应蛋白(CRP)、红细胞动态沉降率(ESR)呈下降趋势,治疗 3 个月后复查肠镜,结肠黏膜充血水肿及溃疡较治疗前好转,Mayo 评分明显下降。**结论** 应用健康幼儿粪菌移植法治疗难以控制或反复复发的 UC 患者是有效的。

[关键词] 结肠炎, 溃疡性; 难治病; 粪菌移植; 健康幼儿; 临床缓解; 结肠黏膜修复

[中图法分类号] R322.4+5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2020)11-1754-05

Clinical curative effect of fecal microbial transplantation from healthy infants on complicated ulcerative colitis^{*}

WANG Lanlan, MIN Min[△], LIU Yan, BI Yiliang, XU Yang
(Department of Gastroenterology, the Fifth Medical Center of PLA General Hospital, Beijing 100071, China)

[Abstract] **Objective** To explore the curative effect of fecal microbiota transplantation (FMT) from healthy infants on recurrent or uncontrollable ulcerative colitis (UC). **Methods** The patient's healthy infants was selected as a donor, bacterial liquid was collected by referencing to separation method of fecal bacteria. The bacterial solution was sprayed evenly under endoscopy. The clinical outcome was observed. **Results** UC patients with Mayo score above 6 were enrolled, who controlled poorly after hormone therapy, and their clinical symptoms were alleviated when accepted healthy infant's fetal transplantation, and the blood leukocytes (WBC), neutrophils (N), hypersensitive C-reactive protein (CRP), dynamic erythrocyte sedimentation rate (ESR) were declined. After 3 months of treatment, colonoscopy showed that the congestion, edema and ulcer of the colonic mucosa were improved, and Mayo score significantly decreased than before. **Conclusion** Fecal microbiota transplantation (FMT) from healthy infants is effective for recurrent or uncontrollable ulcerative colitis.

[Key words] colitis, ulcerative; refractory diseases; fecal microbiota transplantation; healthy infant; clinical remission; repair of colonic mucosa

溃疡性结肠炎(UC)是一种病因不明的慢性非特异性炎症性疾病,属于炎症性肠病(IBD),病变主要局限于结肠黏膜与黏膜下层,临床以腹泻、黏液脓血便、腹痛为主要表现,病情轻重不一,多以慢性、反复发作特点,近几年全球发病率呈明显递增趋势。目前治疗 UC 主要以免疫抑制剂、激素及生物制剂等为主,但仍有部分患者通过常规治疗后出现临床症状难以控制或反复发作,甚至产生激素抵抗与依赖,严重影响患者的身心健康与生活、工作,所以控制疾病发作和维持缓解至关重要。近年来,一种“古老而新颖”的治疗方法——粪便微生物移植(FMT),在治疗 UC 方面进行了探索性研究^[1-3],并在临床工作中获得了一

^{*} 基金项目:北京市自然科学基金面上项目(7182122)。 作者简介:王兰兰(1987—),主治医师,本科,主要从事溃疡性结肠炎的诊治研究。 [△] 通信作者, E-mail: minmin823@sina.com。

定成果。但目前进行 FMT 治疗选用的供体及移植方法尚无明确规定,基本是以健康成年人的粪菌液为供体,应用健康幼儿粪菌的尚未见相关报道。因此,本研究利用健康幼儿 FMT 治疗难治性 UC 患者,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

根据中华医学会《炎症性肠病诊断与治疗的共识意见》^[4],纳入确诊的难治性 UC 患者 5 例,年龄 30~35 岁,其中男 4 例,女 1 例,Mayo 评分均在 6 分以上,且均为经过前期激素治疗后临床无明显改善 1 例,反复发作 2 例,产生激素依赖 2 例。排除标准:近期有肠道其他感染及机体肿瘤等器质性疾病。本研究经过医院伦理委员会批准(ky-2015-7-30),患者及家属知情同意。

1.2 方法

1.2.1 供者要求

起初拟选用患者配偶作为粪菌供者,但由于 3 例患者的配偶在经详细询问病史后均考虑存在肠易激综合征,另外 2 例患者因个人原因要求其子女作为粪菌供者,故经筛查后最终选择入组患者的子女作为其粪菌供者,年龄均在 3~4 岁,且满足以下条件:(1)近 3 个月内无使用抗生素史,无胃肠道及免疫系统疾病,大便为每天 1~2 次或 1~2 d 1 次,黄色成形软便,血清学及粪便可传染性病原体检查均呈阴性,无疫区旅游史等;(2)血常规、便培养(轮状病毒、大肠 O157、志贺菌属、霍乱弧菌、寄生虫、包囊等)、便难辨梭菌、巨细胞病毒、EB 病毒检测及甲型肝炎、乙型肝炎、丙型肝炎、戊型肝炎、梅毒、人类免疫缺陷病毒(HIV)、结核血清学检查等均呈阴性;(3)供者提供粪便前 5 d 内,禁止食用任何刺激性、敏感性食物,留取当日晨起大便后立即保存至无菌袋内。

1.2.2 移植前准备

(1)患者移植前 1 周停用任何抗菌药物,避免进食任何刺激性、敏感性食物,且近 1 周内无皮疹及发热等症状;(2)拟治疗前 1 d 开始口服缓泻药物行肠道初步准备,当日完成肠道准备。

1.2.3 粪菌分离及移植

粪菌分离:参照文献^[1]粪菌分离方法,移植前肌肉注射硝旋山莨菪碱 10 mg 抑制肠蠕动。移植过程:将粪菌液 500 mL 经结肠镜活检孔道通过喷洒管从回盲部逐步退镜喷洒,尽可能喷匀,喷洒过程中及喷洒后 0.5~1.0 h 内嘱患者尽可能地克服排便、排气,喷洒完毕后卧床静息 1 h。

1.3 观察指标

FMT 治疗后 24 h、1 周、1 个月、3 个月内进行临床疗效评估、血生物化学指标检测,3 个月后行肠镜检

查,并记录不良反应。

2 结 果

4 例(其中男 3 例、女 1 例)难治性 UC 患者行粪菌移植治疗后无任何不良反应,1 周后 Mayo 评分降低,随访至 1 个月时 Mayo 评分小于或等于 2 分;红细胞动态沉降率(ESR)、C 反应蛋白(CRP)均有所降低,达到“临床缓解”,见表 1;继续随访 3 个月,4 例均无复发,肠镜检查示肠道黏膜充血水肿较治疗前明显减轻,深大凹陷性溃疡减少,主要为假性息肉形成(图 1~4)。入组患者中 1 例男性患者在接受 FMT 后 1 h 即出现发热,最高为 38.2 ℃,经物理降温后体温下降至正常,24 h 查血常规显示血白细胞(WBC)、中性粒细胞(N)、CRP 升高,ESR 无明显变化,第 2 天血常规、N 及 CRP 降至正常(WBC $9.9 \times 10^9/L$,N 69.6%,CRP 9.7 mg/L)。患者未诉其他不适,其治疗后 1 周 Mayo 评分降低,1 个月 Mayo 评分 4 分,每日排便 3~4 次,主要为黄褐色软便、偶不成形,3 个月后复查肠镜显示结肠溃疡较治疗前减轻,见图 5。

表 1 粪菌移植前后患者 WBC、N、ESR、CRP 的变化情况

病例	化验项目	治疗前	治疗后 24 h	治疗后 1 周	治疗后 1 个月	治疗后 3 个月
病例 1	WBC($\times 10^9/L$)	12.3	11.5	8.9	9.2	7.5
	N(%)	86.3	81.5	56.3	64.8	50.9
	ESR(mm/0.5 h)	23.0	16.0	3.0	3.0	4.0
	CRP(mg/L)	67.0	69.0	5.0	2.0	2.0
	GG+SG	正常	正常	正常	正常	正常
病例 2	WBC($\times 10^9/L$)	13.5	13.1	9.6	6.9	6.1
	N(%)	85.6	83.6	78.4	58.7	54.6
	ESR(mm/0.5 h)	24.0	12.0	5.0	4.0	3.0
	CRP(mg/L)	97.0	88.0	2.3	5.0	2.0
	GG+SG	正常	正常	正常	正常	正常
病例 3	WBC($\times 10^9/L$)	16.7	13.7	12.9	7.7	8.3
	N(%)	79.8	75.6	76.3	59.7	58.7
	ESR(mm/0.5 h)	18.0	16.0	6.0	2.0	2.0
	CRP(mg/L)	79.0	68.0	3.6	2.0	3.0
	GG+SG	正常	正常	正常	正常	正常
病例 4	WBC($\times 10^9/L$)	14.9	12.9	9.3	7.9	7.0
	N(%)	81.7	80.8	69.1	59.7	49.9
	ESR(mm/0.5 h)	27.0	20.0	15.0	1.0	2.0
	CRP(mg/L)	81.0	71.0	4.0	3.0	1.0
	GG+SG	正常	正常	正常	正常	正常
病例 5	WBC($\times 10^9/L$)	11.9	12.7	8.6	7.6	8.1
	N(%)	73.8	74.4	61.7	61.4	56.9
	ESR(mm/0.5 h)	19.0	19.0	10.0	2.0	5.0
	CRP(mg/L)	10.0	12.0	2.0	0.3	1.0
	GG+SG	正常	正常	正常	正常	正常

GG:肝功能;SG:肾功能。

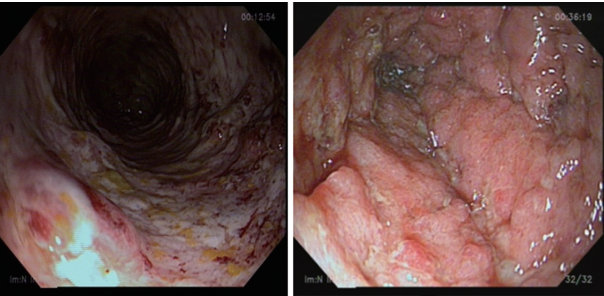


图 1 病例 1 FMT 前后肠镜检查

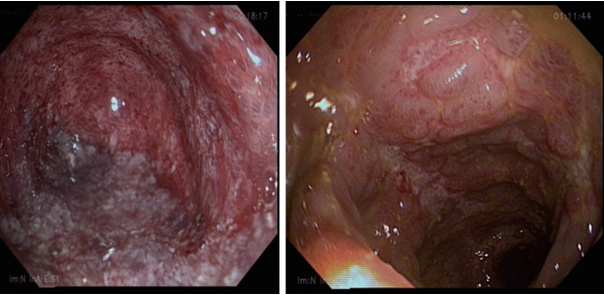


图 2 病例 2 FMT 前后肠镜检查

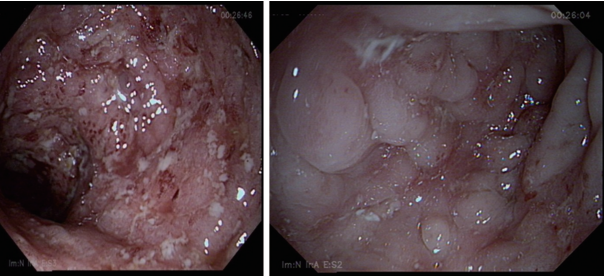


图 3 病例 3 FMT 前后肠镜检查

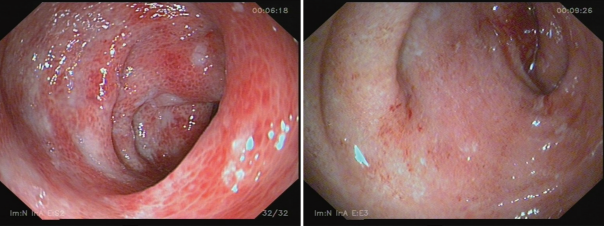


图 4 病例 4 FMT 前后肠镜检查

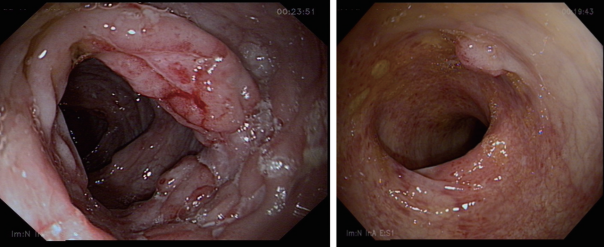


图 5 病例 5 FMT 前后肠镜检查

3 讨 论

UC 是一种原因不明的非特异性炎性疾病^[5],好发于 20~49 岁的青壮年,临床以反复排黏液脓血便、腹痛、发热等为主要表现,部分患者出现焦虑或更严重的精神疾病,而且中重度 UC 或反复发作的 UC 患者易合并毒性巨结肠、肠穿孔、下消化道出血、上皮内

瘤变或癌变^[6]。由此可见,控制 UC 患者临床症状,达到临床缓解或治愈是提高 UC 患者生活质量、避免或延缓其并发症出现的重要举措。但 UC 的治疗尚缺乏特别有效的方法,目前主要依赖于 5-ASA、糖皮质激素、免疫抑制剂,以及英夫利昔单抗等生物制剂类药物,主要靶点在于控制急性症状,但部分患者仍会出现症状控制不佳、反复频繁发作、激素抵抗或激素依赖等^[7]。近年来有研究证实,IBD 患者的肠道微生物群落多样性降低,主要以乳酸菌、硬壁菌门中的双歧杆菌和普拉梭菌减少和蛋白菌门、放线菌门等增多为主,与健康者的微生物群存在明显差异^[8],但尚未发现确切的致病菌种^[9-12]。还有研究证实,肠道微生态失衡与肠黏膜炎性反应、肠道上皮屏障改变^[13],以及肠道微生态失衡与 IBD 的发展或恶化有关^[14]。所以,越来越多的学者开始关注肠道细菌群落整体失衡在 IBD 中的作用,涉及粪便/黏膜、溃疡部位/非溃疡部位,以及缓解期/急性期等不同状态下的肠道细菌群落构成特点。

FMT 是将健康人粪便中的功能菌群通过一定方式移植到 UC 患者肠道内,通过调解肠道菌群失衡,重建具有正常功能的肠道微生态系统,实现疾病的治疗^[1,15-16]。在我国传统医学记载中,将健康人的粪便移植到患者肠道内的治疗方法已有 1 700 余年的历史^[17],受当时的医疗环境、医疗技术及医学伦理等多方面因素影响,FMT 逐步淡出了视界^[18]。近几年来,随着难辨梭菌感染性腹泻及 IBD 等肠道菌群失调相关性疾病的增多与治疗效果不佳,医务工作者开始重新重视 FMT。FMT 在治疗难辨梭菌感染性腹泻(CDI)中已得到认可,2013 年已被官方指南推荐为 CDI 的标准治疗方案^[19]。UC 的主要病理特点是病变局限在结肠和(或)直肠,正好是肠道细菌聚集分布的部位,所以应用 FMT 治疗 UC 成为一种可能。BORODY 等^[20]和 ANDERSON 等^[21]报道严重或复发型 UC 患者接受 FMT 治疗后临床症状得以控制,内镜和组织学逆转;ZHANG 等^[22]提出 FMT 可作为难治性肠病的挽救治疗,而且临床研究已证实其疗效。FMT 治疗肠道菌群失调相关性疾病已获得临床认可,但 FMT 在治疗 IBD 疗效方面的报道不一,可能与患者本身、供者来源、粪菌液制备、移植方式等因素密切相关,而并不是原理所致^[23]。目前,如何找到合适的供者及移植方式成了 FMT 的研究热点,张发明提出建立标准化 FMT 流程^[24],但至今仍无统一标准。

现有文献报道,供者可来源于健康的志愿者、家庭成员或者亲朋好友,但大多数研究认为使用与受者相关的供者可能会使受者对 FMT 产生更好的耐受性^[3,25-26]。但也有研究发现,IBD 患者的亲属自身可

能也存在肠道菌群失调,所以提倡采用与受者不相关的供者粪菌进行 FMT^[27-28]。FMT 在临床应用和技术方面受临床医师和患者主观意愿的直接影响,倾向于接受健康直系亲属作为供者。粪菌移植有多种途径,下消化道主要包括结肠镜、灌肠及结肠造瘘等,目前采用较多的为灌肠及结肠镜下喷洒^[29],最有效的输送方式尚无明确规定。对于 UC 患者,ISHIKAWA 等^[30]和 PARAMSOTHY 等^[31]经过临床试验证实,结肠镜下进行 FMT 优于灌肠,这考虑与结肠镜下喷洒可以直接将更多的粪菌液输送到病变肠道处有关。

本研究选用幼儿作为供者,一方面为患者主观意愿或其配偶临床诊断为肠易激综合征无法纳入,另一方面结合目前已有研究,考虑虽然供者为幼儿,但其饮食结构与成年人相似,且有研究报道其基本具备成人肠道菌群,同时幼儿一般早期未接触过抗生素等影响肠道菌群的药物及食物,考虑其存在耐药性或肠道菌群失调的可能性较小,更适合作为供者。本研究显示,4 例 UC 患者在治疗后 1 周时 Mayo 评分降低,随访至 1 个月时 Mayo 评分小于或等于 2 分,ESR、CRP 均明显降低,达到“临床缓解”,继续随访 3 个月,4 例均无复发。本组 1 例患者在移植治疗后当日出现发热,体温最高达 38.2℃,伴咽痛,当日查体提示咽部略充血,次日晨起咽痛充血明显,化验提示血 WBC 及 N、CRP 略升高,结合患者平素受凉后易出现急性咽炎伴发热和本次治疗前 1 d 极度焦虑、休息差的情况,分析患者本次发热可能与机体基础免疫力相对低下,移植过程中因患者过度紧张,导致操作时间延长,患者受凉,引发急性咽炎有关;另不排除粪菌液移植后作为外源性致热源导致患者出现发热的可能;患者肠道准备较差,有部分粪渣残留于肠腔内,与供者粪液接触是否会出现机体可耐受的类似于排斥性反应,有待进一步研究。

综上所述,FMT 在难治性 UC 治疗中虽尚处于初步试验性阶段,供者选择、菌液制备、移植方式与次数等仍需进一步研究,但从现有研究来看,FMT 的安全性及临床疗效是客观的。选择与患者密切生活的直系亲属作为粪菌供者是患者容易接受的,其中幼儿菌液可能效果更好。

参考文献

- [1] ZHANG F, LUO W, SHI Y, et al. Should we standardize the 1,700-year-old fecal microbiota transplantation[J]. *Am J Gastroenterol*, 2012, 107(11):1755-1756.
- [2] 文光旭,张宏宇,胡登华. 粪便移植在治疗炎症性肠病中的应用价值[J/CD]. *中华结直肠疾病电*
- [3] 杨云生,王子恺. 粪菌移植的研究进展[J]. *胃肠病学*, 2014, 19(1):1-5.
- [4] 中华医学会消化病学分会炎症性肠病学组. 炎症性肠病诊断与治疗的共识意见(2012 年,广州)[J]. *中华消化杂志*, 2012, 32(12):796-813.
- [5] JEON S R, CHAI J, KIM C, et al. Current evidence for the management of inflammatory bowel diseases using fecal microbiota transplantation[J]. *Curr Infect Dis Rep*, 2018, 20(8):21.
- [6] 高惠珍,夏爱芹,董淑贞. 云南白药灌肠液治疗溃疡性结肠炎的护理[J]. *实用护理杂志*, 2013, 9(5):46.
- [7] 康颖,郑萍. 糖皮质激素无效或依赖 UC 患者的临床特征和治疗分析[J]. *胃肠病学*, 2013, 18(6):363-367.
- [8] WALKER A W, SANDERSON J D, CHURCHER C, et al. High throughput clone library analysis of the mucosa-associated microbiota reveals dysbiosis and differences between inflamed and non-inflamed regions of the intestine in inflammatory bowel disease [J]. *BMC Microbiol*, 2011, 11:7.
- [9] MANICHANH C, BORRUEL N, CASELLAS F, et al. The gut microbiota in IBD[J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2012, 9(10):599-608.
- [10] 王子恺,杨云生,孙刚,等. 肠道微生物群落与炎症性肠病关系研究进展[J]. *中国微生态学杂志*, 2013, 25(11):1360-1363.
- [11] 王子恺,杨云生. 肠道微生物与人类疾病[J]. *解放军医学杂志*, 2012, 37(12):1168-1176.
- [12] 林乐,李为民,汤斌斌,等. 粪便移植治疗炎症性肠病疗效的系统评价及单个率的 Meta 分析[J]. *医学研究杂志*, 2016, 45(6):118-126.
- [13] PALM N W, DE ZOETE M R, CULLEN T W, et al. Immunoglobulin A coating identifies colitogenic bacteria in inflammatory bowel disease [J]. *Cell*, 2014, 158(5):1000-1010.
- [14] PETERSEN C, ROUND J L. Defining dysbiosis and its influence on host immunity and disease [J]. *Cell Microbiol*, 2014, 16(7):1024-1033.
- [15] 张发明,范志宁,季国忠. 粪菌移植的概念、历史、现状和未来[J]. *中国内镜杂志*, 2012, 18(9):930-934.
- [16] 邱新运,刘玉兰. 肠道微生态重建在炎症性肠病治疗中的意义[J]. *胃肠病学和肝病学杂志*, 2015, 24(4):378-380.

- [17] 葛俊辰,陈志彪. 现代医学中粪菌移植的历史溯源[J/CD]. 临床医药文献电子杂志, 2015, 2(12):2453.
- [18] 曾雪芹,陈悦,张湘卓,等. 粪菌移植治疗肠道微生态失调所致疾病的研究进展[J]. 湖南中医药大学学报, 2019, 39(1):127-131.
- [19] SURAWICZ C M, BRANDT L J, BINION D G, et al. Guidelines for diagnosis, treatment, and prevention of *Clostridium difficile* infections[J]. *Am J Gastroenterol*, 2013, 108(4): 478-498.
- [20] BORODY T J, WARREN E F, LEIS S, et al. Treatment of ulcerative colitis using fecal bacteriotherapy[J]. *J Clin Gastroenterol*, 2003, 37(1):42-47.
- [21] ANDERSON J L, EDNEY R J, WHELAN K. Systematic review: faecal microbiota transplantation in the management of inflammatory bowel disease[J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2012, 36(6):503-516.
- [22] ZHANG F M, WANG H G, WANG M, et al. Fecal microbiota transplantation for severe enterocolonic fistulizing Crohn's disease[J]. *World J Gastroenterol*, 2013, 19(41):7213-7216.
- [23] CUI B, XU F, ZHANG F. Methodology, not concept of fecal microbiota transplantation, affects clinical findings[J]. *Gastroenterology*, 2016, 150(1):285-286.
- [24] 张发明. 将标准化粪菌移植推向主流[J]. 中华消化内镜杂志, 2014, 31(2):61-63.
- [25] D'ODORICO I, DI BELLA S, MONTICELLI J, et al. Role of fecal microbiota transplantation in inflammatory bowel disease[J]. *J Dig Dis*, 2018, 19(6):322-334.
- [26] 曾雪芹,陈悦,张湘卓,等. 粪菌移植治疗肠道微生态失调所致疾病的研究进展[J]. 湖南中医药大学学报, 2019, 39(1):127-131.
- [27] HEDIN C R, STAGG A J, WHELAN K, et al. Family studies in crohn's disease; new horizons in understanding disease pathogenesis, risk and prevention[J]. *Gut*, 2012, 61(2):311-318.
- [28] 张维兰,罗和生. 粪菌移植治疗炎性肠病的研究进展[J]. 疑难病杂志, 2019, 18(1):101-106.
- [29] 郭悦承,黄春兰,陆颖影,等. 粪菌移植治疗现状及其在炎症性肠病中的应用[J]. 国际消化病杂志, 2018, 38(5):294-296.
- [30] ISHILAWA D, SASAKI T, OSADA T, et al. Changes in intestinal microbiota following combination therapy with fecal microbial transplantation and antibiotics for ulcerative colitis[J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2017, 23(1):116-125.
- [31] PARAMSOTHY S, KAMM M A, KAAKOUSH N O, et al. Multidonor intensive faecal microbiota transplantation for active ulcerative colitis: a randomized placebo-controlled trial[J]. *Lancet*, 2017, 389(10075):1218-1228.

(收稿日期:2019-10-28 修回日期:2020-02-22)

(上接第 1753 页)

- [8] MATSUKAWA T, ASHEUER M, TAKAHASHI Y, et al. Identification of novel SNPs of ABCD1, ABCD2, ABCD3, and ABCD4 genes in patients with X-linked adrenoleukodystrophy (ALD) based on comprehensive resequencing and association studies with ALD phenotypes[J]. *Neurogenetics*, 2011, 12(1):41-50.
- [9] OHKUMA Y, HAYASHI T, YOSHIMINE S, et al. Retinal ganglion cell loss in X-linked adrenoleukodystrophy with an ABCD1 mutation (Gly266Arg) [J]. *Neuroophthalmology*, 2014, 38(6):331-335.
- [10] MENG Q, ZHANG S P, SHI H R, et al. A novel missense mutation in the ABCD1 gene of a Chinese boy diagnosed with X-linked adrenoleukodystrophy: case report [J]. *Neurol Sci*, 2019, 40(5):1093-1096.
- [11] RICHARDS S, AZIZ N, BALE S, et al. ACMG laboratory quality assurance committee. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American college of medical genetics and genomics and the association for molecular pathology[J]. *Genet Med*, 2015, 17(5):405-424.
- [12] CHEN Y H, LEE Y C, TSAI Y S, et al. Unmasking adrenoleukodystrophy in a cohort of cerebellar ataxia[J]. *PLoS One*, 2017, 12(5): e0177296.

(收稿日期:2019-10-11 修回日期:2020-03-09)