

doi:10.3969/j.issn.1674-4616.2023.02.013

• 文献综述 •

粪菌移植治疗肝衰竭研究进展*

梁春妮¹ 赵晓芳² 廖银英¹ 方瑞超¹ 刘 容² 刘旭东^{2△}

¹广西中医药大学研究生院, 南宁 530001

²广西中医药大学附属瑞康医院肝病科, 南宁 530011

关键词 粪菌移植; 肝衰竭; 肠道菌群; 肠肝轴

中图分类号 R575.3 **文献标志码** A

肝功能衰竭(liver failure, LF)是由各种原因引起的肝脏合成、解毒和代谢功能的严重障碍,其并发症通常为严重黄疸、肝性脑病(hepatic encephalopathy, HE)、凝血障碍和腹水等^[1]。LF 进展迅速,容易导致多脏器衰竭,病死率高,因此治疗难度极大。有研究表明,LF 患者存在不同程度的肠道菌群失调,肠道菌群及其代谢产物可通过多种机制引发感染、免疫紊乱、全身炎症反应等,在 LF 的发生、发展中起到重要作用^[2]。目前多应用肠道微生态制剂来改善 LF 患者预后,但因其菌量少、菌株单一、活性较低导致治疗效果有限。近年来,粪菌移植(fecal microbiota transplantation, FMT)在 LF 研究中得到高度关注,它是指将健康者体内的菌群移植到患者肠道内,从而建立新的肠道菌群,实现肠道及肠外疾病治疗的一种新方法^[3]。FMT 可纠正 LF 患者肠道菌群紊乱,使肠道菌群失调引起的内毒素减少^[4],有望成为一种治疗 LF 的新手段。因此,本文就肠道菌群与 LF 的关系以及 FMT 治疗 LF 的研究进展进行综述,以期对 LF 的临床诊疗提供新的方向和理论依据。

1 肠道菌群与 LF 的关系

1.1 肠-肝轴

肠-肝轴是指肠道及其微生物群和肝脏之间的双向关系^[5],即肝脏的血液供应来自肝动脉和门静脉,门静脉系统血液主要接收于肠道,这使肠道与肝脏之

间的联系更为紧密,肠道、肝脏及免疫系统的相互作用是保证肝脏健康的重要因素之一。研究^[6-7]表明,肠道细菌易位、炎症和免疫紊乱在 LF 的发病过程中起到了重要作用。

1.2 肠道菌群影响 LF 的可能作用机制

人类肠道菌群种类非常丰富,大约有 10^{14} 个细菌,根据与宿主关系,可大致分为有益菌与致病菌。乳酸杆菌、双歧杆菌为人体肠道中的有益菌,变形杆菌、金黄色葡萄球菌等细菌为致病菌,肠杆菌、肠球菌属于条件致病菌^[8]。美国和中国的单中心研究^[9-10]表明,LF 患者的潜在有益菌毛螺菌科、瘤胃球菌科的丰度较低,但潜在致病菌肠杆菌科和肠球菌科的丰度显著升高。最近的宏基因组学研究^[11]也证实了 LF 与肠球菌丰度增加有关,并且与 Wang 的研究^[12]一致。毛螺菌科、瘤胃球菌科是公认的能够产生丁酸盐的一种肠道细菌,丁酸盐具有抗炎作用,而肠杆菌科和肠球菌科与疾病进展和内毒素血症有关^[13]。这表明了 LF 患者有益菌的减少,致病菌的增多,可导致肠道菌群的失调,使肠道某些菌群过度增长,进而引起肠道菌群多样性的减少,增加了内毒素的产生。

研究^[14]表明,肠道菌群失调所导致的全身炎症反应与 LF 密切相关。一方面,肠道细菌可通过病原体相关分子模式(pathogen-associated molecular patterns, PAMP)与肠道内的树突状细胞表面 Toll 样受体(Toll-like receptors, TLR)和 NOD 样受体(NOD like receptors, NLR)结合,激活核因子激活的 B 细胞的 κ -轻链增强(nuclear factor- κ -gene binding, NF- κ B),分泌炎症因子和趋化因子,破坏肠道紧密连接,受损的肠道屏障可促进 PAMP 进入门脉循环系统,导致肝细胞急性损伤^[15]。另一方面,肝脏疾病进展后,肠道通透性增加导致细菌和细菌产物易位,例如脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)向周围扩散,导致免疫

* 国家自然科学基金资助项目(No. 82160837);国家中医药管理局第五批全国中医临床优秀人才研修项目(No. 国中医药人教函[2022]1 号);国家中医药管理局 2019 年全国名老中医药专家传承工作室建设项目(No. 国中医药人教函[2019]41 号);广西中医药适宜技术开发与推广项目(No. GZSY21-29);广西中医药大学第二批“岐黄工程”高层次人才团队培育项目(No. 2021007)

△通信作者, Corresponding author, E-mail: lxdlxh@163.com

细胞激活、炎症和迁移到肝脏^[16]。因此,减少 LPS 和抑制细胞因子的合成以减轻肝脏炎症反应,阻止肠道细菌易位诱导的肝细胞凋亡是治疗 LF 的重要方法。

2 FMT 在 LF 中的应用

FMT 是通过一定的方式,如鼻胃管或鼻十二指肠管、胃镜或结肠镜、直肠导管灌肠等,将健康者的粪便上清液输入患者肠道,以恢复或补充正常肠道菌群,从而达到治疗疾病的目的。约 1700 年前,在中国,葛洪通过口服粪便治疗严重腹泻^[17]。2013 年,美国食品药品监督管理局(food and drug administration, FDA)制定了 FMT 应用于复发性艰难梭菌感染的治疗指南^[18],成为当年十大生物学突破之一,进而使 FMT 研究更受瞩目。2014 年,《Nature》中的 1 篇文章^[19]研究了肝病患者肠道微生物代谢的变化,发现肠道微生物代谢物可以通过抑制 p38 丝裂原激活的蛋白激酶(p38 mitogen activated protein kinases, p38 MAPK)通路,从而进一步抑制炎症因子如肿瘤坏死因子- α (tumour necrosis factor- α , TNF- α)与白介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)的表达,最终可有效抑制因肠道菌群失调所导致的肝脏疾病恶化。而在 2016 年,FMT 首次被报道成功治疗 HE,为肝病患者开启了“肝病肠治”的新篇章^[20]。近年的研究方向已转为研究 FMT 在急性肝病和慢性肝病中的潜在治疗作用。

2.1 FMT 治疗 LF 的临床研究

到目前为止,FMT 治疗 LF 的临床研究较少。Sharma A 等^[21]研究报道了 13 例经 FMT 治疗的酒精相关性慢加急性 LF 患者,结果显示 FMT 组的 28 d 和 90 d 存活率明显改善;经 FMT 治疗后的患者表现出更快速的肝功能障碍缓解、临床严重程度评分改善以及促炎细胞因子水平降低。该研究表明 FMT 是安全的,可提高 LF 患者短期和中期生存率。但研究样本量小,需要更大的研究规模来评估 FMT 治疗 LF 的效果;且缺乏肠道菌群变化与临床结果之间的相关性研究。

酒精性肝炎(alcoholic hepatitis, AH)是慢加急性 LF 的主要影响因素^[22],严重 AH 可迅速出现黄疸、凝血功能障碍、HE 进而出现 LF。在 1 项初步研究^[23]中,8 例不适合类固醇治疗的严重 AH 男性患者每天通过鼻十二指肠管接受 FMT,持续 7 d,结果证实 FMT 是安全的。在这些患者中,临床症状、生化指标和肝病严重程度评分在 FMT 后得到改善,FMT 组的 1 年生存率显著提高。在对严重 AH 患者进行 FMT

的另 1 项开放标签研究^[24]中,类固醇、营养、己酮可可碱和 FMT 治疗后 3 个月末的患者存活率分别为 38%、29%、30% 和 75%;可见与其他组相比,接受 FMT 的患者的 90 d 存活率显著提高,肠道微生物群具有持久的有益调节作用。基于这些数据,FMT 可能是治疗严重 AH 的一种潜在有效策略,这为 LF 的治疗和预后提供了希望。

另外,许多国内外的慢性肝病研究也证实了 FMT 治疗的安全性。我国是乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染高发区,据报道^[25],90% 的 LF 是由 HBV 感染引起的。有研究^[26]表明,FMT 在乙肝表面抗原阳性慢性乙型肝炎患者病毒抑制和乙肝表面抗原阳性清除方面是安全且潜在有效的。Bajaj JS 的一项开放标签、随机临床试验研究^[27]表明,FMT 降低了肝硬化复发性 HE 患者的住院率,改善了认知能力和生活障碍;证实来自合理选择的供体的 FMT 是安全的。除此之外,我们在 ClinicalTrial.gov 检索到 1 项正在进行的 FMT 治疗 LF 的临床随机对照试验(randomized controlled trial, RCT),临床试验号为 NCT05170971,从 2021 年 12 月 28 日开始招募 60 名 LF 患者进行单组分配研究,FMT 前 1 周采集血液样本,FMT 后 5 d、10 d、15 d、20 d、4 周、8 周分别进行随访,观察肝功能、凝血功能、终末期肝病评分、肠道菌群、促炎细胞因子的变化以及患者的临床表现、安全性及不良反应,以评估慢加急性 LF 患者 FMT 的临床疗效和安全性。目前,FMT 治疗 LF 的有效性与安全性研究尚无报道。未来,高质量、大样本的 RCT 将会为 FMT 治疗 LF 提供更可靠的临床证据。

2.2 FMT 治疗 LF 的动物实验

FMT 治疗 LF 的作用机制尚不明确。Wang 等^[28]通过四氯化碳(CCl_4)建立大鼠 HE 模型,表明 FMT 能够治疗慢性 LF 引起的 HE,可通过减少包括 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 在内的促炎细胞因子,降低 TLR 4/TLR 9 的肝脏表达,触发紧密连接蛋白(Claudin-1、Claudin-6 和 Occludin)的表达,减轻全身炎症和降低肠道通透性,从而延迟大鼠的 HE 进展。陆圣威^[29]等通过腹腔注射 D-氨基半乳糖构建小鼠急性 LF 模型,并应用 FMT 菌液预防及治疗急性 LF 小鼠,结果发现小鼠肠道内产丁酸的厚壁菌门及拟杆菌门均增多,小鼠的各项 LF 症状、肝功能均明显好转;这提示 FMT 可以缓解肝衰竭程度,并提高生存率。该研究者发现,FMT 可能主要通过调节小鼠肠道菌群结构、激活 IL-10 通路从而保护肠黏膜的完整,防止致病菌侵入,来抑制急性 LF 的发生发展。Treg 细胞及

Th17 细胞均来自于 CD4⁺ T 细胞,它们通过相互制约从而维持机体的稳态。该研究者推测乳酸杆菌及其代谢产物可通过调控 Th17/Treg 平衡来减轻肝细胞损伤,这跟 Liu 的^[16] 研究结果基本一致。说明 FMT 治疗 LF 的机制有可能是乳酸杆菌及其代谢产物通过作用于某些基因从而抑制 LF 的发展,但具体机制较为复杂,目前尚未能明确何种细菌或何种菌群的代谢物在发挥作用。

Schneider 等^[30] 研究发现 D-氨基半乳糖诱导的急性 LF 大鼠的粪便代谢组学特征为石胆酸显著增加,半乳糖、肌醇和麦芽糖水平降低。石胆酸是肠道菌群代谢产生的多种次级胆汁酸之一,是引起肝毒性的内源性代谢物,该研究进一步表明石胆酸有可能参与了 LF 的发展。短链脂肪酸(short chain fatty acids, SCFAs)是一种肠道菌群衍生的代谢物,可维持肠黏膜屏障完整性、参与肝脏能量供应。蒙丹丽的临床研究^[31] 发现,LF 患者肠道 SCFAs 水平降低,可能参与 HE 的发病;这提示肠道 SCFAs 的变化可能在 LF 患者的病情进展中发挥一定的作用。FMT 还可使乳酸杆菌等益生菌比例增加,这些益生菌可发酵产生丁酸盐等一些重要代谢产物,参与物质合成与分解,促进机体代谢平衡。已有研究^[32] 表明,丁酸盐菌移植入动物模型后,其肠内炎症反应明显改善,提示丁酸盐菌具有抗炎作用,是保持肠道屏障和免疫调节的基本条件。因此,我们可以推测 FMT 治疗 LF 的机制可能是通过重建肠道菌群结构,如减少肠杆菌、肠球菌等致病菌,增加毛螺菌科种群、乳酸杆菌种群等益生菌的产生,然后通过肠道细菌的代谢产物,如短链脂肪酸、丁酸盐等作用于某些基因,调节细胞因子及激活信号通路从而保护肠道黏膜完整,阻止致病菌侵入,来抑制 LF 的发生发展,但具体是何种代谢产物发挥主要作用目前尚不明确。

3 总结与展望

肠道菌群与 LF 的关系密切相关,调节肠道菌群是治疗 LF 的重要手段。许多临床研究和动物实验均表明 FMT 能有效恢复肠道微生态平衡,减轻肝损伤,是 LF 潜在有效治疗方法。但目前尚缺乏 FMT 治疗 LF 的大样本随机对照试验(randomized controlled trial, RCT)研究,其长期疗效及安全性还有待证实。另外,对供体筛选、患者准备、移植途径、粪菌液新鲜程度、频率、联合用药等问题,还需进一步标准化。

参 考 文 献

[1] 中华医学会感染病学分会肝衰竭与人工肝学组,中华医

学会肝病学会重型肝病与人工肝学组. 肝衰竭诊治指南(2018 年版)[J]. 实用肝脏病杂志, 2019, 22(2): 164-171.

- [2] Yao X, Yu H, Fan G, et al. Impact of the gut microbiome on the progression of hepatitis B virus related acute-on-chronic liver failure[J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2021, 11: 573923.
- [3] Wang JW, Kuo CH, Kuo FC, et al. Fecal microbiota transplantation: review and update[J]. *J Formos Med Assoc*, 2019, 118(Suppl 1): S23-S31.
- [4] Mullish BH, McDonald JAK, Thursz MR, et al. Antibiotic-associated disruption of microbiota composition and function in cirrhosis is restored by fecal transplant[J]. *Hepatology*, 2018, 68(3): 1205.
- [5] Albillos A, de Gottardi A, Rescigno M. The gut-liver axis in liver disease: Pathophysiological basis for therapy[J]. *J Hepatol*, 2020, 72(3): 558-577.
- [6] Kim SE, Park JW, Kim HS, et al. The role of gut dysbiosis in acute-on-chronic liver failure[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(21): 11680.
- [7] Trebicka J, Bork P, Krag A, et al. Utilizing the gut microbiome in decompensated cirrhosis and acute-on-chronic liver failure[J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2021, 18(3): 167-180.
- [8] 杜小东, 罗利飞. 溃疡性结肠炎患者肠道菌群和肠黏膜屏障的变化及益生菌的干预作用[J]. *中国微生态学杂志*, 2019, 31(2): 193-196.
- [9] Chen Y, Guo J, Qian G, et al. Gut dysbiosis in acute-on-chronic liver failure and its predictive value for mortality[J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2015, 30(9): 1429-1437.
- [10] Bajaj JS, Vargas HE, Reddy KR, et al. Association between intestinal microbiota collected at hospital admission and outcomes of patients with cirrhosis[J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2019, 17(4): 756-765. e3.
- [11] Solé C, Guilly S, Da Silva K, et al. Alterations in gut microbiome in cirrhosis as assessed by quantitative metagenomics: relationship with acute-on-chronic liver failure and prognosis[J]. *Gastroenterology*, 2021, 160(1): 206-218. e13.
- [12] Wang K, Zhang Z, Mo ZS, et al. Gut microbiota as prognosis markers for patients with HBV-related acute-on-chronic liver failure[J]. *Gut Microbes*, 2021, 13(1): 1-15.
- [13] Eguchi A, Iwasa M, Tamai Y, et al. Branched-chain amino acids protect the liver from cirrhotic injury via suppression of activation of lipopolysaccharide-binding protein, toll-like receptor 4, and signal transducer and activator of transcription 3, as well as *Enterococcus faecalis* translocation[J]. *Nutrition*, 2021, 86: 111194.

- [14] Chopyk DM, Grakoui A. Contribution of the intestinal microbiome and gut barrier to hepatic disorders[J]. *Gastroenterology*, 2020, 159(3):849-863.
- [15] Jia L, Chang X, Qian S, et al. Hepatocyte toll-like receptor 4 deficiency protects against alcohol-induced fatty liver disease[J]. *Mol Metab*, 2018, 14:121-129.
- [16] Liu Y, Fan L, Cheng Z, et al. Fecal transplantation alleviates acute liver injury in mice through regulating Treg/Th17 cytokines balance[J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1):1611.
- [17] 许建峰, 王英絮, 田彤, 等. 中药金汁与粪菌移植的异同[J]. *中华中医药杂志*, 2017, 32(8):3414-3416.
- [18] Surawicz CM, Brandt LJ, Binion DG, et al. Guidelines for diagnosis, treatment, and prevention of *Clostridium difficile* infections[J]. *Am J Gastroenterol*, 2013, 108(4):478-499.
- [19] Qin N, Yang F, Li A, et al. Alterations of the human gut microbiome in liver cirrhosis[J]. *Nature*, 2014, 513(7516):59-64.
- [20] Kao D, Roach B, Park H, et al. Fecal microbiota transplantation in the management of hepatic encephalopathy[J]. *Hepatology*, 2016, 63(1):339-340.
- [21] Sharma A, Roy A, Premkumar M, et al. Fecal microbiota transplantation in alcohol-associated acute-on-chronic liver failure: an open-label clinical trial[J]. *Hepatol Int*, 2022, 16(2):433-446.
- [22] Guo HY, Zhang ZG, Zhang YY, et al. Risks and predicting factors of bleeding complications in hepatitis B virus-related acute-on-chronic liver failure[J]. *Turk J Gastroenterol*, 2020, 31(9):620-625.
- [23] Philips CA, Pande A, Shasthry SM, et al. Healthy donor fecal microbiota transplantation in steroid-ineligible severe alcoholic hepatitis: A pilot study[J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2017, 15(4):600-602.
- [24] Philips CA, Phadke N, Ganesan K, et al. Corticosteroids, nutrition, pentoxifylline, or fecal microbiota transplantation for severe alcoholic hepatitis[J]. *Indian J Gastroenterol*, 2018, 37(3):215-225.
- [25] 李晨, 朱冰, 吕飒, 等. 乙型肝炎病毒相关慢加急性肝衰竭前期患者诊断标准的探讨. *中华肝脏病杂志*, 2018, 26(2):130-135.
- [26] Chauhan A, Kumar R, Sharma S, et al. Fecal microbiota transplantation in hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B patients: A pilot study[J]. *Dig Dis Sci*, 2021, 66(3):873-880.
- [27] Bajaj JS, Kassam Z, Fagan A, et al. Fecal microbiota transplant from a rational stool donor improves hepatic encephalopathy: A randomized clinical trial[J]. *Hepatology*, 2017, 66(6):1727-1738.
- [28] Wang WW, Zhang Y, Huang XB, et al. Fecal microbiota transplantation prevents hepatic encephalopathy in rats with carbon tetrachloride-induced acute hepatic dysfunction[J]. *World J Gastroenterol*, 2017, 23(38):6983-6994.
- [29] 陆圣威. 基于肠道菌群探究粪菌移植对 D-氨基半乳糖诱导的急性肝衰竭小鼠的保护作用[D]. 苏州: 苏州大学, 2020.
- [30] Schneider KM, Elfers C, Ghallab A, et al. Intestinal dysbiosis amplifies acetaminophen-induced acute liver injury[J]. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*, 2021, 11(4):909-933.
- [31] 蒙丹丽, 梁列新, 陈建红, 等. 乙肝相关慢加急性肝衰竭患者肠道短链脂肪酸的变化研究[J]. *世界华人消化杂志*, 2019, 27(6):408-414.
- [32] Juanola O, Ferrusquía-Acosta J, García-Villalba R, et al. Circulating levels of butyrate are inversely related to portal hypertension, endotoxemia, and systemic inflammation in patients with cirrhosis[J]. *FASEB J*, 2019, 33(10):11595-11605.

(收稿日期:2022-11-21)