

引用本文:王英豪,戴立英.新生儿坏死性小肠结肠炎与肠道微生物群落关系的研究进展[J].安徽医药,2021,25(12):2346-2350.DOI:10.3969/j.issn.1009-6469.2021.12.004.



◇综述◇

新生儿坏死性小肠结肠炎与肠道微生物群落关系的研究进展

王英豪,戴立英

作者单位:安徽医科大学附属省儿童医院新生儿科,安徽 合肥 230000

通信作者:戴立英,女,主任医师,硕士生导师,研究方向为新生儿坏死性小肠结肠炎,Email:dailiying200@sina.com

基金项目:西藏自治区卫生和计划生育委员会、财政厅、科技厅2017年第三批前50个组援医学项目(XZ2017ZR-ZYZ05)

摘要: 新生儿坏死性小肠结肠炎(NEC)是新生儿重症监护病房(NICU)最常见的胃肠道急症,病死率达30%,多见于早产儿,尤其是超低出生体质量儿,典型表现为回肠末端及结肠近端出现炎症及坏死,虽然目前NEC发病机制尚不完全清楚,但随着NEC研究的不断深入,越来越多的证据表明肠道微生物群落紊乱早于NEC发生,肠道的炎症及坏死也干扰肠道微生物群落的平衡。本研究对近年新生儿肠道微生物群落与NEC之间关系的研究进行综述。

关键词: 小肠结肠炎,坏死性; 婴儿,新生; 肠道微生物群落; 变形杆菌; 婴儿,早产; 免疫应答

Research progress between neonatal necrotizing enterocolitis and intestinal microbial community

WANG Yinghao, DAI Liying

Author Affiliation: Department of Neonatology, The Affiliated Children's Hospital of Anhui Medical University, Hefei, Anhui 230000, China

Abstract: Neonatal necrotizing enterocolitis (NEC) is the most common gastrointestinal emergency in neonatal intensive care unit (NICU), and the case fatality rate is as high as 30%. NEC is more common in premature infants, especially those with very low birth weight, and its typical manifestations are the distal ileum and proximal colon inflammation and necrosis. Although at present the pathogenesis of NEC is not entirely clear, as the research going, intensive evidence suggests that the disturbance of intestinal microbial community occurred earlier than NEC, and intestinal inflammation and necrosis also interfered with the balance of intestinal microbial community. The relationship between neonatal intestinal microbial community and NEC was reviewed in this study.

Key words: Enterocolitis, necrotizing; Infant, newborn; Intestinal microbial community; Gammaproteobacteria; Infant, premature; Immune response

坏死性小肠结肠炎(necrotizing enterocolitis, NEC)是NICU常见的消化道急症,死亡率高达30%。存活的NEC患儿往往会出现后遗症,包括慢性喂养不耐受、短肠综合征和生长发育迟缓等^[1-2],其病理特点是肠道黏膜损伤甚至全层坏死或穿孔^[3],1978年,Martin等^[4]首次提出了NEC的3个阶段和分期标准,I期为“可疑”期,X线片以胃潴留和轻度腹胀为特征。II期为“肠梗阻”期,主要表现肠梗阻、水肿、肠壁积气征等。III期为疾病的晚期,进展迅速恶化,易发生肠坏死,脓毒性休克,消化道出血,穿孔等严重并发症,此阶段常需要手术干预。近年来NEC受到了广泛的关注,但其具体发病机制仍未完全明确。剖宫产婴儿、胎龄较小的婴儿、出生后使用抗生素和人工喂养的新生儿NEC发生率较高^[5]。有研究发现NEC前期肠道微生物群落已经出现异常^[6-8],提示微生物学可能是防治NEC的一个很有前

途的治疗靶点。本研究就NEC与肠道微生物群落关系的研究文献进行综述,为NEC的预防及治疗提供参考依据。

1 新生儿肠道微生物群落变化的影响因素

近年来,随着高通量测序技术的发展,各种关于微生物组学的检测手段陆续出现大大扩展了我们对微生物群落的认识。肠道微生物群落拥有数千种细菌,它们在维持体内微生态平衡方面起着至关重要的作用。肠道菌群定植是一个程序化的过程,出生后婴儿的肠道最初被兼性厌氧菌定植,以杆菌为主,随着时间的推移出现专性厌氧菌,如拟杆菌、双歧杆菌和厚壁菌门^[9]。影响微生物早期定植的因素是多方面的,包括胎龄、分娩方式、喂养方式、环境因素、使用抗生素、抑酸药物等因素,潜在甚至可能是宫内传播^[10-11]。出生后新生儿肠道微生物定植经历两波发育,第一波菌群发育对于足月儿

和早产儿来说没有区别,主要取决于分娩方式,阴道出生的婴儿最容易被母亲的阴道微生物感染,几项研究报道经阴道分娩的婴儿拟杆菌丰富度较高^[9, 12],以乳酸杆菌、普氏菌和双歧杆菌为主;而剖宫产儿微生物群落差异较大,以葡萄球菌为主,而双歧杆菌和拟杆菌定植延迟,肠杆菌科定植率增加^[13]。第二波菌群发育因素在足月和早产儿之间有所不同,在足月儿中主要受喂养方式如母乳或配方奶喂养的影响,母乳喂养促进了更接近母亲的微生物群发展,其贡献来自母乳的含量和与乳晕皮肤的接触^[14],母乳中含有人乳低聚糖(HMO),可刺激双歧杆菌和拟杆菌生长,帮助选择有益的微生物,为其提供生长的基质,降低机会性致病菌对新生儿肠道的侵袭^[15-16],故母乳喂养婴儿的微生物群富含双歧杆菌和拟杆菌;相比之下,配方奶喂养的婴儿仍然以链球菌、葡萄球菌和乳酸杆菌为主。而早产儿受喂养方式影响较小,微生物群主要以梭菌和肠杆菌为主要特征,双歧杆菌和拟杆菌数量较少^[17]。因此母乳喂养婴儿体内存在一种以双歧杆菌为主的微生物群落,而配方奶喂养的婴儿体内微生物虽多样化,但潜在有益菌水平较低^[9, 12]。由于新生儿免疫系统不成熟,感染风险较大,临床医生经常会给予可疑或确诊感染的婴儿抗生素,抗生素的暴露对新生儿微生物群有很大的影响,延缓了有益细菌的定植,减少肠道微生物群的多样性,抗生素治疗可能导致新生儿(胎龄 ≤ 32 周和足月儿)第一个月肠道内细菌多样性降低,肠杆菌丰富度增加15%左右,双歧杆菌数量明显减少^[18]。Patricio-S等^[19]表明,在第一周接受5~7 d经验性抗生素的婴儿,在出生后第2周和第3周,变形杆菌相对丰度增加至54%左右(正常 $< 1\%$),细菌多样性降低。Zhou等^[20]发现围产期抗生素暴露也可导致母亲阴道和新生儿肠道微生物菌群失调,且乳酸杆菌丰度显著下降40%左右。抑酸疗法对早产微生物群也有明显的影响,通过抑制胃酸分泌加剧胃肠道殖民化,导致胃肠菌群失调^[21]。Gupta等^[22]证明在早产儿中应用H2受体阻滞剂限制了粪便微生物群的多样性,以变形杆菌为主。这些因素综合起来,对新生儿肠道菌群的定植、微生物多样性的发展、菌群稳定性的增加、医院获得的潜在致病菌和双歧杆菌的定植等产生深远而有害的影响^[23]。

2 NEC与肠道微生物群落变化关系

尽管对NEC病理生理学研究进行了几十年研究,目前仍未发现单一的致病因素,与肠道微生物的研究发现侧重于肠道微生物失调,而不是一种特定的病原体^[15]。正常菌群在上皮细胞表面的生长

繁殖形成了生物屏障,优先占领生存空间,妨碍或抑制外来致病菌的定植。当肠道菌群正常的定植过程遭到破坏或延迟,将导致肠道菌群结构发生改变,使正常菌群与宿主间的生态平衡失调,一些正常菌群成为机会致病菌,触发炎症反应,严重者甚至引起NEC。

对早产儿粪便微生物组进行测序的首批研究之一表明,微生物多样性降低,同时属于变形杆菌门的一个属的优势伴双歧杆菌丰富度减少是导致NEC发病的关键^[7]。近年来,多项研究表明,早于NEC发病前数天至数周,NEC患儿已经发生肠道菌群失调且革兰阴性杆菌丰富度增多,即生态失调早于NEC发病。几项对变形杆菌门的病例对照研究表明,在出生后3周以上出现NEC的早产儿,往往会在发病前数天至数周出现这种生态失调^[6]。Pammi等^[8]Meta分析指出变形杆菌的丰度的增加在胎龄 < 27 周婴儿中最为明显,他们还发现这些NEC患儿Alpha多样性和Shannon指数降低(Alpha指一个特定区域或生态系统内的多样性,是反映丰富度和均匀度的综合指标;Shannon指数即种群之间物种多样性,其值越大表明菌群多样性越高),同时通过针对16S rRNA细菌基因的高变区V3-V5的研究发现,与针对V1-V3区域研究相比,变形杆菌的相对丰富度更高,厚壁菌门的丰富度更低。Ho等^[24]对45例出生体质量 $< 1\,500\text{ g}$ 早产儿的4周内粪便进行连续分析发现,粪便 γ -变形杆菌的总体比例随着出生年龄的增加而增加,且变形杆菌定植和NEC发病率似乎在月经后同一时期 $[(31\pm 3)\text{周}]$ 达到高峰,在出生后 ≤ 2 周时变形杆菌相对丰度42.5%左右,第三周变形杆菌相对丰度69.7%,第四周高达75.5%。为了进一步了解NEC发生时的肠道菌群变化,Joann等^[25]采用16s rRNA基因测序及定量聚合酶链反应技术,分析了12例NEC手术肠段和14例非NEC手术肠段样本,发现NEC组中变形杆菌门占主要地位,且葡萄球菌和梭状芽孢杆菌过表达。Warner等^[26]对122例婴儿的2 492个粪便样本研究发现,与健康婴儿相比,样本中28例NEC患儿 γ -变形杆菌比例更高,1个月后最高峰可达80%左右,梭状芽孢杆菌和Negativicutes纲比例更低,仅为10%左右。为排除外界环境和遗传因素影响,Suchitra等^[27]对25⁺周双胞胎(双胞胎A无NEC,双胞胎B最终发展为NEC)粪便样本进行16s rRNA基因测序研究发现,在诊断为NEC 2周前双胞胎的微生物菌群差异明显,双胞胎B在诊断为NEC前1周肠道菌群多样性大幅下降,且变形杆菌丰富度增加,约70%,而双胞胎A肠道菌群主要以梭菌和杆菌为主。除了以粪便为基础的

研究外,最近一项对疾病部位的甲醛固定石蜡包埋组织的分析也发现,与自然隔离穿孔对照组相比, NEC 患儿中 γ -变形杆菌的相对丰度较高,平均升高 50%,厚壁菌门和拟杆菌的相对丰度较低,平均降低了 15%,微生物多样性更低^[28]。

由于早产儿不成熟的免疫系统和经常留置生命支持装置,故早产儿的肠道菌群与足月儿相比主要以肠杆菌科、弧菌科和假单胞菌科的革兰阴性杆菌居多,故更易感染 NEC^[8]。此外,早产儿肠道菌群还含有更多的潜在致病菌,如大肠杆菌、葡萄球菌和克雷白杆菌。研究表明,长期接触抗生素,特别是氨基糖苷类抗生素,可以使早产儿肠道微生物群落的 Alpha 多样性降低,并增加 γ -变形杆菌的丰富度。董琳^[29]研究发现早期经验性使用抗生素的早产儿,肠道内双歧杆菌数量明显减少, NEC 发生率增高。另一方面,肠道内微生物多样性高、双歧杆菌丰度高的早产儿可能不容易发生 NEC^[30]。

如果微生物失调是导致 NEC 发展的原因之一,那么改变早产儿的胃肠微生物群落,将早产儿胃肠微生物群落转移到更具有保护性的微生物群落,可能会阻止 NEC 的发展。总之,建立一个含有多种共生菌的健康胃肠微生物群落对宿主是极其重要的。

3 肠道微生物群落平衡对肠道的保护机制

NEC 的发生几乎总是在产后 1 周后,从不发生在妊娠期,并且 NEC 手术病人发现肠壁内存在细菌侵袭,以及无菌动物难以诱导 NEC 病变,都凸显了细菌在 NEC 发病中的作用^[31]。肠道的健康取决于免疫细胞、宿主细胞和肠道菌群之间的良好平衡,肠道菌群不仅参与机体的代谢和能量储存,并在建立免疫系统、抵抗病原菌过程中发挥重要作用,种类繁多的肠道微生物群组成机体肠黏膜系统,可以阻止致病菌对上皮细胞的黏附和定植,有助于预防肠道被感致病菌侵袭感染。人类肠道拥有模式识别受体(pattern recognition receptor, PRRs),其能够特异性识别微生物相关分子模式(microbe-associated-molecular patterns, MAMPs),并通过支持细胞生长和增殖、细胞保护、调节屏障功能和抗菌肽的分泌来维持小肠稳态,有助于减少病原菌对肠黏膜的黏附、预防肠道感染、调节免疫反应^[32]。关于 PRRs 如何识别细菌产物,其中研究最多的是 Toll 样受体(TLRs),TLRs 可识别 MAMPs,此外,机体对 G-菌脂多糖可产生固有免疫反应,其中包括脂多糖配体 Toll 样受体 4 的激活(TLR-4),Toll 样受体 4(TLR-4)在 NEC 的发生发展中起着重要作用,TLR 4 的表达水平通常在妊娠期间逐渐下降,因此早产儿 TLR 4 水平较高^[33],早产儿肠道菌群定植不成熟,肠道菌

群往往以变形杆菌门为优势菌,变形杆菌脂多糖成分诱导 TLR-4 激活后,可通过诱导 MAMPs 激活特定的 TLRs,开启特异性免疫反应,通过激活转录因子 NF- κ B 启动炎症级联反应,反过来引起肠上皮细胞凋亡和炎症因子(IL-1、IL-6、IL-8、TNF- α 、INF-1)的释放,更容易引起细胞因子介导的肠系膜血管炎症,破坏肠道免疫功能,造成肠组织局部缺血坏死,其中促炎细胞因子 IL-8,可增加中性粒细胞的趋化性,进一步加重炎症、组织损伤和 NEC^[34]。Hui 等^[35]发现在孕周在 28~29 周的 NEC 患儿肠切除标本中促炎细胞因子增加及 TLR 4 表达增强。肠道共生菌可通过阻止 TLRs 对肠道的识别或通过阻断 NF- κ B 抑制剂的降解而下调 NF- κ B 通路,诱导抑菌肽分泌,限制炎症反应,促进肠黏膜修复^[36]。除了 TLR 4 通路,其他的途径和细胞类型被认为在 NEC 的发展中很重要,包括血小板活化因子和 Smad7 抑制蛋白途径^[37-38]。其中血小板活化因子是一种潜在存在于各种组织中磷脂炎症介质,其激活可导致胃肠上皮细胞损伤、凋亡、黏膜通透性增加、紧密连接受损以及血管收缩,破坏胃肠道屏障功能;脂多糖通过诱导 Smad7 抑制蛋白中断转化生长因子(TGF- β)信号表达和增强巨噬细胞 NF- κ B 介导的炎症反应,并且在 NEC 标本中发现 Smad7 表达增强。

试验报告表明,益生菌干预可增强肠道屏障,减轻肠道损伤,抑制肠道菌群失调,显著降低 NEC 的发病率^[39-40]。唐佳等^[41]通过罗伊氏乳杆菌(*L.reuteri*)DSM17938 菌株对 NEC 小鼠模型研究得出,实验组通过罗伊氏乳杆菌干预可降低 NEC 中炎症因子 TNF- α 、IL1- β 表达,提高肠道 GSH 含量、SOD 抑制率和活力,从而减少肠道氧化应激反应,增强抗氧化能力,减少肠道炎症反应,降低 NEC 发病率。除此之外,肠道内细菌可通过其代谢产物调节宿主肠道免疫力。乙酸、丙酸、丁酸等细菌经结肠内厌氧菌酵解产生短链脂肪酸(short-chain fatty acids, SCFAs),一方面可以为宿主提供能量,通过激活 G 蛋白偶联受体(G protein-coupled receptors, GPCRs)途径,促进中性粒细胞向炎症部位趋附,诱导分泌白细胞介素-10(IL-10),从而发挥抑制炎症的作用。还可以抑制组蛋白脱乙酰基酶(histone deacetylases, HDACs)途径,减少脂多糖配体 TLR-4 的激活,从而抑制中性粒细胞激活,减少 TNF- α 释放,起到抗炎作用,降低 NEC 风险^[42]。

因此肠道共生菌的减少、菌群多样性的下降可以导致新生儿胃肠屏障功能下降^[43],将降低肠道上皮细胞对潜在致病菌的防御能力^[44],增加 NEC 发生风险;反之某些益生菌和细菌产物的干预可以减少

肠道炎症反应,降低 NEC 的发病率。

4 小结和展望

尽管肠道微生物的作用还没有被清楚地了解,但是紊乱的肠道微生物群,似乎会使新生儿有更高的发生 NEC 的风险,肠道微生物群变化在预防或促进 NEC 的过程中具有保护性或致病性作用。新生儿健康的肠道环境可以帮助他们减少肠道炎症和损伤,尽量避免 NEC 发生。肠道微生物组的监测及干预是诊断及预防 NEC 的一种很有希望的策略。

参考文献

- [1] HAYS S, JACQUOT A, GAUTHIER H, et al. Probiotics and growth in preterm infants: a randomized controlled trial, PREMAPRO study[J]. Clin Nutr, 2016, 35(4): 802-811.
- [2] NIÑO DF, SODHI CP, HACKAM DJ. Necrotizing enterocolitis: new insights into pathogenesis and mechanisms[J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2016, 13(10): 590-600.
- [3] ZANI A, PIERRO A. Necrotizing enterocolitis: controversies and challenges [J]. F1000Res, 2015, 4: 6888.1. DOI: 10.12688/f1000research.6888.1.
- [4] BELL MJ, TERNBERG JL, FEIGIN RD, et al. Neonatal necrotizing enterocolitis. Therapeutic decisions based upon clinical staging [J]. Ann Surg, 1978, 187(1): 1-7.
- [5] AHLE M, DROTT P, ELFVIN A, et al. Maternal, fetal and perinatal factors associated with necrotizing enterocolitis in Sweden. A national case-control study [J/OL]. PLoS One, 2018, 13(3): e0194352. DOI: 10.1371/journal.pone.0194352.
- [6] LINDBERG TP, CAIMANO MJ, HAGADORN JL, et al. Preterm infant gut microbial patterns related to the development of necrotizing enterocolitis[J]. J Matern Fetal Neonatal Med, 2020, 33(3): 349-358.
- [7] WANG Y, HOENIG JD, MALIN KJ, et al. 16S rRNA gene-based analysis of fecal microbiota from preterm infants with and without necrotizing enterocolitis[J]. ISME J, 2009, 3(8): 944-954.
- [8] PAMMI M, COPE J, TARR PI, et al. Intestinal dysbiosis in preterm infants preceding necrotizing enterocolitis: a systematic review and meta-analysis[J]. Microbiome, 2017, 5(1): 31.
- [9] STEWART CJ, AJAMI NJ, O'BRIEN JL, et al. Temporal development of the gut microbiome in early childhood from the TEDDY study[J]. Nature, 2018, 562(7728): 583-588.
- [10] PEREZ-MUNOZ ME, ARRIETA MC, RAMER-TAIT AE, et al. A critical assessment of the "sterile womb" and "in utero colonization" hypotheses: implications for research on the pioneer infant microbiome[J]. Microbiome, 2017, 5(1): 48.
- [11] CHONG C, BLOOMFIELD FH, O'SULLIVAN JM. Factors affecting gastrointestinal microbiome development in neonates[J]. Nutrients, 2018, 10(3): 10030274. DOI: 10.3390/nu10030274.
- [12] WAMPACH L, HEINTZ-BUSCHART A, FRITZ JV, et al. Birth mode is associated with earliest strain-conferred gut microbiome functions and immunostimulatory potential [J]. Nat Commun, 2018, 9(1): 5091.
- [13] DOGRA S, SAKWINSKA O, SOH SE, et al. Dynamics of infant gut microbiota are influenced by delivery mode and gestational duration and are associated with subsequent adiposity[J]. mBio, 2015, 6(1): 02419-14. DOI: 10.1128/mBio.02419-14.
- [14] PANNARAJ PS, LI F, CERINI C, et al. Association between breast milk bacterial communities and establishment and development of the infant gut microbiome [J]. JAMA Pediatr, 2017, 171(7): 647-654.
- [15] ELGIN TG, KERN SL, MCELROY SJ. Development of the neonatal intestinal microbiome and its association with necrotizing enterocolitis[J]. Clin Ther, 2016, 38(4): 706-715.
- [16] VATANEN T, FRANZOSA EA, SCHWAGER R, et al. The human gut microbiome in early-onset type 1 diabetes from the TEDDY study[J]. Nature, 2018, 562(7728): 589-594.
- [17] VONGBHAVIT K, UNDERWOOD MA. Prevention of necrotizing enterocolitis through manipulation of the intestinal microbiota of the premature infant[J]. Clin Ther, 2016, 38(4): 716-732.
- [18] CHERNIKOVA DA, MADAN JC, HOUSMAN ML, et al. The premature infant gut microbiome during the first 6 weeks of life differs based on gestational maturity at birth [J]. Pediatr Res, 2018, 84(1): 71-79.
- [19] ROSA PSLA, WARNER BB, ZHOU Y, et al. Patterned progression of bacterial populations in the premature infant gut [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2014, 111(34): 12522-12527.
- [20] ZHOU P, ZHOU Y, LIU B, et al. Perinatal antibiotic exposure affects the transmission between maternal and neonatal microbiota and is associated with early-onset sepsis [J]. mSphere, 2020, 5(1): 00984-19. DOI: 10.1128/mSphere.00984-19.
- [21] MURTHY P, DOSANI A, LODHA A. Acid suppression in neonates: friend or foe? [J]. Indian Pediatr, 2019, 56(7): 541-546.
- [22] GUPTA RW, TRAN L, NORORI J, et al. Histamine-2 receptor blockers alter the fecal microbiota in premature infants [J]. J Pediatr Gastroenterol Nutr, 2013, 56(4): 397-400.
- [23] BROWN CT, XIONG W, OLM MR, et al. Hospitalized premature infants are colonized by related bacterial strains with distinct proteomic profiles [J]. mBio, 2018, 9(2): 00441-18. DOI: 10.1128/mBio.00441-18.
- [24] HO T TB, GROER MW, KANE B, et al. Dichotomous development of the gut microbiome in preterm infants [J]. Microbiome, 2018, 6(1): 157.
- [25] ROMANO-KEELER J, SHILTS MH, TOVCHIGRECHKO A, et al. Distinct mucosal microbial communities in infants with surgical necrotizing enterocolitis correlate with age and antibiotic exposure [J/OL]. PLoS One, 2018, 13(10): e0206366. DOI: 10.1371/journal.pone.0206366.
- [26] WARNER BB, DEYCH E, ZHOU Y, et al. Gut bacteria dysbiosis and necrotizing enterocolitis in very low birthweight infants: a prospective case-control study [J]. Lancet, 2016, 387(10031): 1928-1936.
- [27] HOURIGAN SK, TA A, WONG WS, et al. The microbiome in necrotizing enterocolitis: a case report in Twins and minireview [J]. Clin Ther, 2016, 38(4): 747-753.
- [28] STEWART CJ, FATEMIZADEH R, PARSONS P, et al. Using formalin fixed paraffin embedded tissue to characterize the preterm gut microbiota in necrotizing enterocolitis and spontaneous isolated perforation using marginal and diseased tissue [J]. BMC Microbiol, 2019, 19(1): 52.
- [29] 董琳. 双歧杆菌乳杆菌三联活菌片联合非营养性吸吮治疗新生儿胃肠功能障碍疗效观察 [J]. 新乡医学院学报, 2016, 33

- (10):905-907.
- [30] STEWART CJ, EMBLETON ND, MARRS EC, et al. Temporal bacterial and metabolic development of the preterm gut reveals specific signatures in health and disease[J]. *Microbiome*, 2016, 4(1):67.
- [31] GEPHART SM, GORDON PV, PENN AH, et al. Changing the paradigm of defining, detecting, and diagnosing NEC: perspectives on Bell's stages and biomarkers for NEC[J]. *Semin Pediatr Surg*, 2018, 27(1):3-10.
- [32] CASSIR N, SIMEONI U, LASCOLA B. Gut microbiota and the pathogenesis of necrotizing enterocolitis in preterm neonates[J]. *Future Microbiology*, 2016, 11(2):273-292.
- [33] GRIBAR SC, SODHI CP, RICHARDSON WM, et al. Reciprocal expression and signaling of TLR4 and TLR9 in the pathogenesis and treatment of necrotizing enterocolitis[J]. *J Immunol*, 2009, 182(1):636-646.
- [34] ZHOU Y, LI Y, ZHOU B, et al. Inflammation and apoptosis: dual mediator role for toll-like receptor 4 in the development of necrotizing enterocolitis[J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2017, 23(1):44-56.
- [35] HUI L, DAI Y, GUO Z, et al. Immunoregulation effects of different gammadeltaT cells and toll-like receptor signaling pathways in neonatal necrotizing enterocolitis[J/OL]. *Medicine (Baltimore)*, 2017, 96(8):e6077. DOI: 10.1097/MD.00000000000006077.
- [36] SAMPATH V, LE M, LANE L, et al. The NFKB1 (g.-24519delATTG) variant is associated with necrotizing enterocolitis (NEC) in premature infants[J/OL]. *J Surg Res*, 2011, 169(1):e51-7. DOI: 10.1016/j.jss.2011.03.017.
- [37] MOHANKUMAR K, NAMACHIVAYAM K, CHAPALAMADUGU KC, et al. Smad7 interrupts TGF-beta signaling in intestinal macrophages and promotes inflammatory activation of these cells during necrotizing enterocolitis[J]. *Pediatr Res*, 2016, 79(6):951-961.
- [38] FROST BL, CAPLAN MS. Necrotizing enterocolitis: pathophysiology, platelet-activating factor, and probiotics[J]. *Semin Pediatr Surg*, 2013, 22(2):88-93.
- [39] ATHALYE-JAPE G, RAO S, PATOLE S. Effects of probiotics on experimental necrotizing enterocolitis: a systematic review and meta-analysis[J]. *Pediatr Res*, 2018, 83(1/1):16-22.
- [40] 冯琼. 常见不同类型益生菌对早产儿喂养不耐受防治效果研究[J]. *安徽医药*, 2015, 19(10):2020-2021.
- [41] 唐佳, 郭成, 龚放. 罗伊氏乳杆菌对新生儿坏死性小肠结肠炎氧化应激的保护机制[J]. *南方医科大学学报*, 2019, 39(10):1221-1226.
- [42] 王璐璇, 刘玥宏, 朱继开, 等. 短链脂肪酸在疾病治疗中的研究进展[J]. *世界华人消化杂志*, 2017, 25(13):1179-1186.
- [43] XING T, CAMACHOSALAZAR R, CHEN Y-H. Animal models for studying epithelial barriers in neonatal necrotizing enterocolitis, inflammatory bowel disease and colorectal cancer[J/OL]. *Tissue Barriers*, 2017, 5(4):e1356901. DOI: 10.1080/21688370.2017.1356901.
- [44] KARKMAN A, LEHTIMAKI J, RUOKOLAINEN L. The ecology of human microbiota: dynamics and diversity in health and disease[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2017, 1399(1):78-92.

(收稿日期:2020-07-02,修回日期:2020-08-31)

引用本文:朱云峰,覃艳,曹萌,等. 黄芪多糖对脂肪组织巨噬细胞活化的影响及作用机制[J]. *安徽医药*, 2021, 25(12):2350-2354. DOI: 10.3969/j.issn.1009-6469.2021.12.005.

◇ 药学研究 ◇



黄芪多糖对脂肪组织巨噬细胞活化的影响及作用机制

朱云峰,覃艳,曹萌,翟倩倩,李燕,王涛

作者单位:新乡医学院第一附属医院内分泌科二病区,河南 新乡 453100

通信作者:王涛,男,副教授,副主任医师,研究方向为内分泌学,Email:f348086011@163.com

摘要: **目的** 探讨黄芪多糖(APS)对脂肪组织巨噬细胞活化的影响及作用机制。**方法** 2018年11月至2019年5月,通过0.4 μm 孔径大小的Transwell小室共培养方式,将巨噬细胞种于上室,将脂肪细胞种于下室。实验分为三组,空白对照组(NC组)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)诱导干预组(TNF- α 组)和APS干预组(APS+TNF- α 组),酶联免疫吸附测定(ELISA)检测细胞培养上清液中白细胞介素-6(IL-6)、单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)水平,实时荧光定量逆转录聚合酶链反应(qRT-PCR)检测巨噬细胞诱导型一氧化氮合酶(iNOS)和TNF- α mRNA表达水平,蛋白质印迹法(Western blotting)检测iNOS和磷酸化AMP活化蛋白激酶 α 1(p-AMPK α 1)和沉默信息调节蛋白1(SIRT1)水平。同时,采用8 μm 孔径大小的Transwell小室共培养方式,结晶紫染色观察巨噬细胞的趋化情况。**结果** 与NC组比较,TNF- α 组细胞培养上清液中IL-6和MCP-1水平显著升高($P<0.05$),巨噬细胞中TNF- α mRNA、iNOS mRNA和蛋白水平显著升高($P<0.05$),p-AMPK α 1和SIRT1蛋白水平显著降低($P<0.05$),趋化巨噬细胞数显著升高($P<0.05$),其中NC组iNOS mRNA和蛋白水平分别为(1.00 ± 0.17)、(0.43 ± 0.05),TNF- α 组分别为(3.57 ± 0.31)、(1.18 ± 0.16)。与TNF- α 组比较,APS+TNF- α 组细胞培养上清液中IL-6和MCP-1水平显著降低($P<0.05$),巨噬细胞中TNF- α mRNA、iNOS mRNA和蛋白水平显著降低($P<0.05$),p-AMPK α 1和SIRT1蛋白水平显著升高($P<0.05$),趋化巨噬细胞数显著降低($P<0.05$),其中TNF- α 组iNOS mRNA和蛋白水平(3.57 ± 0.31)、(1.18 ± 0.16),APS+TNF- α 组分别为(1.87 ± 0.22)、(0.62 ± 0.08)。**结论** APS可抑制巨噬细胞的活化,其作用机制与激活AMPK/SIRT1信号通路有关。

关键词: 黄芪; 脂肪组织; 胰岛素抵抗; 黄芪多糖; 肿瘤坏死因子- α ; 巨噬细胞