

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2024.04.016

血清 zonulin、MCP-1、HIF-1 α 与克罗恩病患者疾病活动度和肠道菌群的相关性分析及其鉴别价值分析 *

罗芙蓉 林 奕 王叶青 何盛伊 段文丽

(湖南中医药大学第一附属医院肛肠科 湖南 长沙 410000)

摘要 目的:探讨血清连蛋白(zonulin)、单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)、缺氧诱导因子-1 α (HIF-1 α)与克罗恩病(CD)患者疾病活动度和肠道菌群的相关性,分析 zonulin、MCP-1、HIF-1 α 鉴别重度 CD 的价值。**方法:**选择 2019 年 1 月至 2022 年 1 月湖南中医药大学第一附属医院收治的 162 例 CD 患者,根据克罗恩病活动指数(CDAI)将 CD 患者分为重度组、中度组和轻度组,分别为 42 例、69 例和 51 例,另选同期 151 例健康体检志愿者为对照组。检测 CD 患者和对照组血清 zonulin、MCP-1、HIF-1 α 水平, Pearson 相关分析 zonulin、MCP-1、HIF-1 α 与 CDAI 评分、肠道菌群相对丰度的相关性。受试者工作特征曲线(ROC)分析 zonulin、MCP-1、HIF-1 α 鉴别重度 CD 的价值。**结果:**重度组、中度组、轻度组血清 zonulin、MCP-1、HIF-1 α 水平均高于对照组($P<0.05$)。重度组血清 zonulin、MCP-1、HIF-1 α 水平、大肠杆菌、沃氏嗜胆菌、Atopobium parvulum 相对丰度高于中度组和轻度组,且中度组高于轻度组($P<0.05$);普拉梭菌相对丰度轻度组高于中度组,中度组高于重度组($P<0.05$)。CD 患者血清 zonulin、MCP-1、HIF-1 α 水平与 CDAI 评分、大肠杆菌、沃氏嗜胆菌、Atopobium parvulum 相对丰度呈正相关,与普拉梭菌相对丰度呈负相关($P<0.05$)。联合 zonulin、MCP-1、HIF-1 α 鉴别重度 CD 的曲线下面积为 0.856,高于单独 zonulin、MCP-1、HIF-1 α 的 0.706、0.693、0.747。**结论:**CD 患者血清 zonulin、MCP-1、HIF-1 α 水平均升高,且与 CD 疾病活动度增加和肠道菌群紊乱有关,可能是重度 CD 诊断的潜在生物学标志物。**关键词:**克罗恩病; zonulin; MCP-1; HIF-1 α ; 疾病活动度; 肠道菌群; 相关性; 鉴别价值

中图分类号: R574 文献标识码: A 文章编号: 1673-6273(2024)04-680-05

Correlation Analysis of Serum zonulin, MCP-1 and HIF-1 α with Disease Activity and Intestinal Microbiota in Patients with Crohn's Disease and Their Differential Value Analysis*

LUO Fu-rong, LIN Yi, WANG Ye-qing, HE Sheng-yi, DUAN Wen-li

(Department of Anorectal, First Affiliated Hospital of Hunan University of Traditional Chinese Medicine, Changsha, Hunan, 410000, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the correlation of serum zonulin, monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1), hypoxia-inducible factor-1 α (HIF-1 α) with disease activity and intestinal microflora in patients with Crohn's disease (CD), and to analyze the value of zonulin, MCP-1 and HIF-1 α in the identification of severe CD. **Methods:** 162 patients with CD who were admitted to The First Affiliated Hospital of Hunan University of Chinese Medicine from January 2019 to January 2022 were selected. According to Crohn's disease activity index (CDAI), patients with CD were divided into severe group, moderate group and mild group, with 42, 69, and 51 cases, respectively, another 151 physical examination volunteers during the same period were selected as the control group. The levels of serum zonulin, MCP-1 and HIF-1 α in the patients with CD and control group were detected. Pearson correlation analysis was performed to analyze the correlation between zonulin, MCP-1 and HIF-1 α with CDAI score and the relative abundance of intestinal flora. Receiver operating characteristic curve (ROC) was used to analyze the value of zonulin, MCP-1 and HIF-1 α in identifying severe CD. **Results:** The levels of serum zonulin, MCP-1 and HIF-1 α in the severe group, moderate group and mild group were higher than those in the control group ($P<0.05$). The levels of serum zonulin, MCP-1, HIF-1 α , and the relative abundance of *Escherichia coli*, *Choleosinophilus wardeni*, and *Atopobium parvulum* in the severe group were higher than those in the moderate group and mild group, and the moderate group was higher than the mild group ($P<0.05$), and the relative abundance of *Clostridium pratense* in the mild group was higher than that in the moderate group, and moderate group was higher than the severe group ($P<0.05$). The levels of serum zonulin, MCP-1 and HIF-1 α in patients with CD were positively correlated with CDAI score, the relative abundance of *Escherichia coli*, *Choleosinophilus wardeni* and *Atopobium parvulum*, and negatively correlated with the relative abundance of *Clostridium pratense* ($P<0.05$). The area under curve

* 基金项目:湖南省中医药管理局科研计划项目重点课题(201604)

作者简介:罗芙蓉(1992-),女,硕士研究生,研究方向:肛肠疾病,E-mail: 18692275280@163.com

(收稿日期:2023-06-23 收稿日期:2023-07-18)

(AUC) of zonulin, MCP-1 and HIF-1 α in the identification of severe CD was 0.856, which was higher than 0.706, 0.693 and 0.747 of zonulin, MCP-1 and HIF-1 α alone. **Conclusion:** The levels of serum zonulin, MCP-1 and HIF-1 α are increased in patients with CD, and are associated with increased CD disease activity and intestinal microbiota disorder, which may be a potential biomarker for the diagnosis of severe CD.

Key words: Crohn's disease; Zonulin; MCP-1; HIF-1 α ; Disease activity; Intestinal flora; Correlation; Differential value

Chinese Library Classification(CLC): R574 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2024)04-680-05

前言

克罗恩病(CD)是一种胃肠道慢性、非特异性炎症性疾病,以腹痛、腹泻、便血等为主要特征,可累及口腔至肛门整个消化道的任何部分,且病变呈多节段性,易并发瘘管、腹腔脓肿、肠腔狭窄和肛周病变等并发症,对患者的生活质量产生重大影响^[1]。CD发病机制复杂,目前认为是遗传、环境、肠道微生物菌群和免疫反应共同作用导致的结果^[2],宿主细胞利用肠道菌群代谢物作为能量来源和免疫调节剂来维持肠道稳态,肠道菌群失调可破坏肠道稳态并促进肠道炎症,在CD发生和发展机制中有着重要的作用^[3]。连蛋白(zonulin)是肠黏膜屏障重要结构-紧密连接的主要调节剂,在调节肠黏膜通透性中发挥着重要的作用^[4]。单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)是一种促炎细胞因子,在炎症过程中可激活巨噬细胞并诱导单核细胞向炎症组织迁移,与肠道炎症疾病有关^[5]。缺氧诱导因子-1 α (HIF-1 α)是细胞对缺氧适应性反应的主要调节因子,通过上调三叶因子-3调节抑制肠道组织中细胞间紧密连接(TJ)表达,导致肠道屏障功能障碍^[6]。鉴于此,本研究拟检测CD患者血清zonulin、MCP-1、HIF-1 α 水平,分析其与CD疾病活动度以及肠道菌群的关系,旨在为临床CD诊治提供参考。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选择湖南中医药大学第一附属医院2019年1月至2022年1月收治的162例CD患者,纳入标准:①符合CD诊断标准^[7],结合临床症状、实验室、影像、内镜和组织病理学检查证实为CD;②处于疾病活动期,克罗恩病活动指数(CDAI) ≥ 150 分^[8];③年龄大于18周岁。排除标准:①缺血性结肠炎、放射性肠炎、溃疡性结肠炎等其它肠道疾病;②脓毒症、肠道恶性肿瘤;③自身免疫系统疾病;④近期服用抗感染以及调整肠道菌群药物者。CD患者:男、女分别为98例、64例,体质指数(BMI)20~23 kg/m²,平均(21.05 $\pm$ 0.69)kg/m²,年龄22~35岁,平均(28.16 $\pm$ 0.09)岁。另选择同期健康体检志愿者共151例为对照组,男78例,女73例,BMI 20~24 kg/m²,平均(21.25 $\pm$ 0.79)kg/m²,年龄20~36岁,平均(28.51 $\pm$ 6.11)岁。本研究已经获得湖南中医药大学第一附属医院医学伦理委员会批准。

1.2 血清 zonulin、MCP-1、HIF-1 α 水平检测

CD患者入院后(对照组体检当日)采集空腹静脉血3 mL,血标本于室温下静置0.5 h~1 h,待血液凝固后取上层液离心(美国赛默飞公司 Sorvall ST 8 离心机,相对离心力3 260 $\times$ g)5 min后取血清保存。取血清样本加入板孔内,加入50 μ L酶交联物充分混合,常温孵育60 min,弃孵育液,洗涤样品孔,加入

底物A、B,常温孵育15 min,加入50 μ L终止液充分混合,绘制标准曲线,测定血清zonulin、MCP-1、HIF-1 α 水平,仪器Varioskan LUX全自动酶标仪(美国赛默飞公司),zonulin、MCP-1试剂盒购自上海恒远生物科技有限公司,HIF-1 α 试剂盒购自武汉赛培生物科技有限公司。

1.3 肠道菌群检测

使用无菌收集器收集CD患者清晨新鲜粪便标本5 g,选取中段部署于EP管(无菌棉签操作下),提取粪便菌群DNA(QIAampFast DNA Stool Mini Kit试剂盒购自西班牙凯杰公司),扩增细菌16S rDNA V1-V3区(采用PCR法),通用扩增引物:V2F 5'-CCTACGGGAGGCAGCAG-3'(16S rRNA 338F),V3R 5'-CCAGCAGCCGCGGTAAT-3'(16S rRNA 533R)。以上述提取的DNA作为模板,应用上述引物进行扩增,采用美国Bio-Rad公司生产的CFX96实时荧光PCR仪进行PCR反应。计算肠道菌群丰度信息,主要包括毛螺菌、脆弱拟杆菌、普拉梭菌、韦荣球菌、梭状芽胞杆菌、大肠杆菌、乳酸杆菌、沃氏嗜胆菌、Atopobium parvulum。反应条件:预变性95 $^{\circ}$ C 30 s,变性95 $^{\circ}$ C 5 s,退火延伸60 $^{\circ}$ C 34 s,40个循环,72 $^{\circ}$ C维持5 min。反应体系:TB Green Premix Ex Taq II (TliRNaseH Plus)(2 $\times$)10 μ L、PCR上下游引物各1 μ L、DNA模板2 μ L、ROX Reference Dye II 0.4 μ L,加dd H₂O至30 μ L。CD肠道菌群是经多次收集粪便检测。

1.4 疾病活动度评估

采用CDAI^[8]评估CD活动度,CDAI从稀便次数、腹痛程度(0~3分)、一般情况(0~4分)、肠外表现与并发症(1项1分)、阿片类止泻药(0分,未使用,1分,使用)、腹部包块(可疑2分,肯定5分)、血细胞比容降低、体重[100 $\times$ (1-体重/标准体重)]进行评估,CDAI评分<150分为缓解期, ≥ 150 分活动期,150~220分为轻度,221~450分为中度,>450分为重度。根据CDAI评分将患者分为轻度组、中度组和重度组,分别为51例、69例和42例。

1.5 统计学分析

以SPSS 25.00分析数据,计量资料符合正态分布(Kolmogorov-Smirnov法)以($\bar{x} \pm s$)表示,采用单因素方差分析(两两对比采用LSD-t检验)或独立样本t检验。计数资料以例(%)表示,采用 χ^2 检验。此外,将计量资料按总样本均值转化成两分类资料,行Cochran Armitage趋势检验。Pearson相关系数描述zonulin、MCP-1、HIF-1 α 与CDAI评分、肠道菌群相对丰度的相关性,建立Logistic回归预测/鉴别评估模型,以受试者工作特征曲线(ROC)分析zonulin、MCP-1、HIF-1 α 诊断重度CD的价值, $P < 0.05$ 差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同组别血清 zonulin、MCP-1、HIF-1 α 水平比较 水平比中度组以及轻度组高 ($P<0.05$), 且中度组比轻度组高
 重度组、中度组、轻度组血清 zonulin、MCP-1、HIF-1 α 水平 ($P<0.05$), 见表 1。
 均高于对照组 ($P<0.05$); 重度组血清 zonulin、MCP-1、HIF-1 α

表 1 不同组别血清 zonulin、MCP-1、HIF-1 α 水平比较($\bar{x}\pm s$)
 Table 1 Comparison of serum zonulin, MCP-1, HIF-1 α between the different groups($\bar{x}\pm s$)

Groups	n	zonulin(ng/mL)	MCP-1(pg/mL)	HIF-1 α (ng/L)
Mild group	51	6.95 $\pm$ 0.21 ^a	226.31 $\pm$ 8.46 ^a	65.12 $\pm$ 4.19 ^a
Moderate group	69	8.01 $\pm$ 0.95 ^{ab}	246.85 $\pm$ 12.35 ^{ab}	69.21 $\pm$ 5.43 ^{ab}
Severe group	42	9.34 $\pm$ 0.51 ^{abc}	289.15 $\pm$ 6.02 ^{abc}	78.02 $\pm$ 1.06 ^{abc}
Control group	151	2.61 $\pm$ 0.53	102.31 $\pm$ 26.10	19.32 $\pm$ 4.02
Difference test	F, P	2141.395, 0.000	1574.959, 0.000	4018.145, 0.000
Tendency test	χ^2 , P	238.378, 0.000	238.378, 0.000	238.378, 0.000

Note: compared with the moderate group, ^a $P<0.05$, compared with the control group, ^a $P<0.05$; compared with the mild group, ^b $P<0.05$;

2.2 CD 患者肠道菌群比较 *parvulum* 相对丰度比轻度组高 ($P<0.05$), 但普拉梭菌相对丰度
 重度组大肠杆菌、沃氏嗜胆菌、*Atopobium parvulum* 相对 轻度组高于中度组 ($P<0.05$), 各组在乳酸杆菌、脆弱拟杆菌、毛
 丰度高于中度组和轻度组, 普拉梭菌相对丰度低于中度组和轻 螺菌、韦荣球菌、梭状芽胞杆菌相对丰度比较无统计学差异
 度组 ($P<0.05$); 中度组大肠杆菌、沃氏嗜胆菌、*Atopobium* ($P>0.05$), 见表 2。

表 2 CD 患者肠道菌群比较($\bar{x}\pm s$)
 Table 2 Comparison of intestinal flora in CD patients($\bar{x}\pm s$)

Groups	n	Lactobacillus	Clostridium pratense	Bacteroides fragilis	Spirulina	Veyrococcus	Clostridium	Escherichia coli	Choleosinophilus wardeni	Atopobium parvulum
Mild group	51	22.03 $\pm$ 2.62	15.12 $\pm$ 4.07	25.91 $\pm$ 3.77	9.01 $\pm$ 2.23	13.02 $\pm$ 2.05	23.23 $\pm$ 4.16	13.19 $\pm$ 2.32	4.99 $\pm$ 0.83	2.02 $\pm$ 0.31
Moderate group	69	21.75 $\pm$ 2.13	10.42 $\pm$ 3.11 ^b	25.56 $\pm$ 3.56	8.95 $\pm$ 2.05	13.16 $\pm$ 2.13	23.48 $\pm$ 4.35	18.11 $\pm$ 3.84 ^b	5.02 $\pm$ 0.98 ^b	3.11 $\pm$ 0.36 ^b
Severe group	42	21.63 $\pm$ 2.09	8.25 $\pm$ 2.07 ^{bc}	25.21 $\pm$ 3.43	8.83 $\pm$ 2.09	13.25 $\pm$ 2.59	23.62 $\pm$ 4.07	21.05 $\pm$ 3.69 ^{bc}	7.05 $\pm$ 1.69 ^{bc}	4.96 $\pm$ 0.65 ^{bc}
Difference test	F, P	0.595, 0.553	56.094, 0.000	0.648, 0.525	0.138, 0.871	0.120, 0.887	0.118, 0.889	62.995, 0.000	47.652, 0.000	508.533, 0.000
Tendency test	χ^2 , P	0.033, 0.984	46.209, 0.000	0.342, 0.843	0.530, 0.767	0.659, 0.719	0.175, 0.916	67.132, 0.000	25.442, 0.000	105.554, 0.000

Note: compared with the moderate group, ^a $P<0.05$, compared with the mild group, ^b $P<0.05$.

2.3 血清 zonulin、MCP-1、HIF-1 α 与 CDAI 评分以及肠道菌群 的曲线下面积为 0.856, 高于单独 zonulin、MCP-1、HIF-1 α 诊
 的相关性 断, 见表 5 和图 1。

CD 患者血清 zonulin、MCP-1、HIF-1 α 水平与 CDAI 评分、
 大肠杆菌、沃氏嗜胆菌、*Atopobium parvulum* 相对丰度呈正相
 关 ($P<0.05$), 与普拉梭菌相对丰度呈负相关性 ($P<0.05$), 而与
 乳酸杆菌、脆弱拟杆菌、毛螺菌、韦荣球菌、梭状芽胞杆菌相对
 丰度无相关性 ($P>0.05$), 见表 3。

2.4 zonulin、MCP-1、HIF-1 α 鉴定重度 CD 的价值

以重度组为阳性样本 ($n=42$), 以轻度组和中度组为阴性样本
 ($n=120$), 建立 ROC 预测分析及联合应用回归预测 / 鉴别评估
 模型, 应用 Logistic 回归, 以 zonulin、MCP-1、HIF-1 α 这三个指
 标数据建立回归预测 / 鉴别评估模型, 标准化后的模型结果列
 于表 4。zonulin、MCP-1、HIF-1 α 鉴定重度 CD 的曲线下面积为
 0.706、0.693、0.747, 联合 zonulin、MCP-1、HIF-1 α 鉴定重度 CD

3 讨论

CD 以透壁性肉芽肿性炎症损伤、节段性分布为特征, 病变
 累及部位以回肠末端、回盲区、结肠和肛周等为主, CD 不仅可
 导致肠道症状, 还可引起关节炎、结节性红斑、坏疽性脓皮病、
 口腔黏膜溃疡等肠外表现, 目前缺乏治愈性的方法; 活动期与
 缓解期交替出现, 随着病程进展可出现严重的残疾, 致使患者
 丧失工作和生活的能力^[9]。CD 病因复杂, 其诊断没有金标准,
 临床多通过临床症状、影像、实验室、结肠镜和组织病理学综合
 判断, 缺乏敏感的生物标志物^[10]。

zonulin 是肠上皮细胞在饮食或微生物群刺激后分泌的一种
 肠毒素, 在微生物感染时 zonulin 被激活, 促使肠道上皮细胞

表 3 血清 zonulin、MCP-1、HIF-1 α 与 CDAI 评分以及肠道菌群的相关系数Table 3 Serum Zonulin, MCP-1, HIF-1 α correlation coefficient with CDAI score and intestinal flora

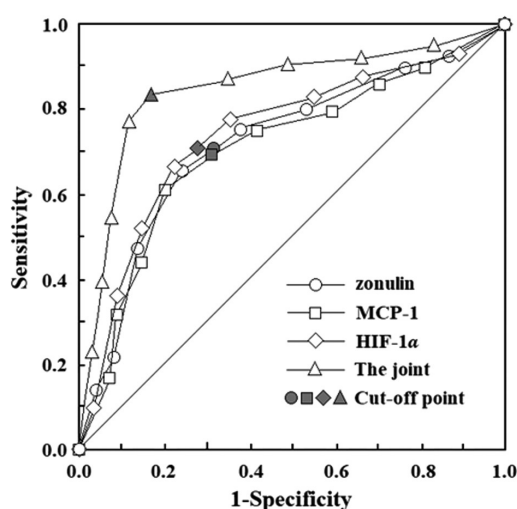
Index	zonulin		MCP-1		HIF-1 α	
	r	P	r	P	r	P
CDAI score	0.512	0.000	0.496	0.000	0.637	0.000
Lactobacillus	0.102	0.206	0.136	0.126	0.125	0.196
Clostridium pratense	-0.592	0.000	-0.501	0.000	-0.573	0.000
Bacteroides fragilis	0.131	0.151	0.125	0.096	0.103	0.113
Spirulina	0.109	0.103	0.095	0.145	0.081	0.218
Veyrococcus	0.096	0.241	0.082	0.103	0.073	0.114
Clostridium	0.053	0.230	0.043	0.262	0.054	0.129
Escherichia coli	0.583	0.000	0.543	0.000	0.509	0.000
Choleosinophilus wardeni	0.636	0.000	0.409	0.000	0.424	0.000
Atopobium parvulum	0.596	0.000	0.557	0.000	0.561	0.000

表 4 zonulin、MCP-1、HIF-1 α 联合鉴定重度 CD 的回归预测分析结果Table 4 zonulin, MCP-1, HIF-1 α regression prediction analysis results of joint identification of severe CD

Indexes	Assignment	β	Se	Wald χ^2	P	OR	OR 0.95CI
constants	-	-0.048	0.023	4.330	0.037	-	-
zonulin	Continuous numerical prototype input	0.252	0.069	13.483	0.000	1.286	1.125~1.472
MCP-1	Continuous numerical prototype input	0.098	0.032	9.416	0.002	1.103	1.036~1.174
HIF-1 α	Continuous numerical prototype input	0.142	0.040	12.709	0.000	1.153	1.066~1.246

表 5 zonulin、MCP-1、HIF-1 α 鉴定重度 CD 的效能的 ROC 分析结果Table 5 zonulin, MCP-1, HIF-1 α ROC analysis results for identifying the efficacy of severe CD

Indexes	AUC(0.95CI)	Threshold	Sensitivity(n/N)	Specificity(n/N)	Youden index	Accuracy(n/N)
zonulin	0.706(0.446~0.949)	8.5 ng/mL	0.714(30/42)	0.667(80/120)	0.381	0.679(110/162)
MCP-1	0.693(0.395~0.980)	270 pg/mL	0.690(29/42)	0.683(82/120)	0.373	0.685(111/162)
HIF-1 α	0.747(0.533~0.934)	72.05 ng/L	0.714(30/42)	0.717(86/120)	0.431	0.716(116/162)
Unite	0.856(0.709~0.976)	-	0.833(35/42)	0.825(99/120)	0.658	0.827(134/162)

图 1 zonulin、MCP-1、HIF-1 α 鉴定重度 CD 的 ROC 分析曲线Fig.1 ROC analysis curve of Zonulin, MCP-1, HIF-1 α for identifying severe CD

发生凋亡,并诱导辅助性 T 细胞(Th)17 增殖分化和其细胞因子释放,介导肠道炎症环境,破坏肠道 TJ 和屏障功能,被认为是肠道屏障功能受损的敏感生物标志物^[11,12]。本研究发现 CD 患者血清 zonulin 水平高于对照组,且血清 zonulin 水平随着 CD 疾病活动程度的加重而增高,表明 zonulin 可能与 CD 发病及其进展有关。分析原因肠道屏障功能受损是 CD 发病的关键,人体肠道由单层上皮细胞紧密排列而成,TJ 是连接相邻上皮细胞和内皮细胞的连接复合物,可保护肠道上皮的完整性和屏障功能,维持肠道稳态^[13]。zonulin 作为 TJ 的主要调节剂,通过蛋白激酶 C 引起靶细胞肌动蛋白聚合,导致紧密连接复合物分解,进而引起肠道通透性增加,肠黏膜炎性损伤^[4],继而导致 CD 发病和进展。

MCP-1 是一种由 ZC3H12A 基因编码的新型锌指蛋白,在单核细胞、巨噬细胞和 CD4⁺T 细胞等多种免疫细胞中表达^[14]。MCP-1 在肠道黏膜固有层巨噬细胞、内皮细胞、梭形细胞以及肠上皮细胞中广泛表达,在炎症期间 MCP-1 表达上调,激活巨

噬细胞并增加单核细胞向组织的迁移,诱导肠道黏膜炎症反应,促使炎症性肠病进展^[15]。本研究中 CD 患者血清 MCP-1 水平高于对照组,且重度组血清 MCP-1 水平高于轻度和中度组,提示 MCP-1 可能也参与 CD 发病过程。MCP-1 参与 CD 的机制尚不清楚,本研究认为:在肠道炎症环境下,IL-4、IL-10 和 IL-13 刺激肠上皮细胞中 MCP-1 表达上调,MCP-1 进一步激活中性粒细胞和单核细胞,诱导肠黏膜早期炎症反应^[16],并进展为 CD。

HIF-1 α 属于由缺氧激活的转录因子家族成员,正常低氧肠道微环境下 HIF-1 α 低度表达,并调节促红细胞生成素、血管内皮生长因子、糖酵解酶等适应缺氧的基因表达,以调节肠道细胞对缺氧的适应水平,维持肠道屏障功能、营养吸收功能、炎症反应以及急性损伤后肠道再生,但是 HIF-1 α 慢性激活会导致促炎反应增强和肠道损伤^[17]。本研究结果表明 CD 患者血清 HIF-1 α 水平增加,且与 CD 病情严重程度有关,提示 HIF-1 α 也可能参与 CD 肠道损伤过程。推测可能的原因为 HIF-1 α 过表达可促使中性粒细胞活化、浸润,诱导肠上皮细胞凋亡,导致肠道屏障完整性破坏,并持续激活促炎信号通路,导致肠道组织损伤^[18]。

进一步分析发现 CD 患者存在肠道菌群紊乱,CD 重度患者肠道菌群紊乱更为突出,表现为普拉梭菌相对丰度减少,致病菌沃氏嗜胆菌、*Atopobium parvulum*、大肠杆菌相对丰度增加,证实肠道菌群紊乱与 CD 发病存在密切关系。已知肠道免疫系统发育高度依赖于肠道正常菌群的建立,致病菌沃氏嗜胆菌在正常肠道中丰度较低,其增殖可激活肠道树突细胞,促使 Th1 活化,诱导肠道炎症反应^[19],*Atopobium parvulum* 是主要产硫化氢(H₂S)的肠道微生物,H₂S 增加可导致线粒体功能及其对内毒素清除能力下降,促使肠道炎症进程,*Atopobium parvulum* 含量被证实与 CD 严重程度相关^[20]。大肠杆菌诱导丙酸盐的产生,丙酸盐进一步刺激单核吞噬细胞,促使 Th17 细胞活化和 IL-1 β 产生,介导肠道炎症反应和 CD 的发生^[21]。普拉梭菌是人类肠道菌群中最重要的细菌之一,可产生丁酸盐,丁酸盐通过消化膳食纤维将其转化为氨基酸、短链脂肪酸等多种对人体健康有益的有机化合物,并可维持 Th17/ 调节性 T 细胞(Treg)平衡发挥抗炎作用,缓解炎症性肠病^[22],相关报道显示普拉梭菌丰度降低可导致肠黏膜中共生菌抗炎活性降低^[23]。

本研究相关性分析 zonulin、MCP-1、HIF-1 α 与普拉梭菌相对丰度呈负相关,与沃氏嗜胆菌、*Atopobium parvulum*、大肠杆菌相对丰度呈正相关,表明 zonulin、MCP-1、HIF-1 α 可能参与 CD 肠道菌群调节过程,zonulin、MCP-1、HIF-1 α 异常表达可能破坏肠道菌群,进而诱导肠道免疫系统紊乱和炎症反应,导致 CD 的发生。现有研究显示 zonulin 的上调改变了紧密连接蛋白的表达,从而破坏肠道屏障功能^[24],粘附侵袭性大肠杆菌可诱导肠上皮中 HIF-1 α 产生,激活血管内皮生长因子/血管内皮生长因子受体信号传导通路,促使肠道炎症损伤、屏障功能破坏和 CD 的发生^[25]。MCP-1 调节肠道菌群的机制尚不清楚,当肠道被病原微生物感染时,肠上皮细胞会产生 CC 趋化因子,驱使 T 淋巴细胞活化、迁移和浸润并产生 IL-4 和干扰素- γ ,进一步刺激 MCP-1 的产生,MCP-1 募集单核细胞至炎症部位诱导肠道炎症和菌群紊乱^[23]。ROC 分析结果显示 zonulin、

MCP-1、HIF-1 α 在重度 CD 鉴别诊断中均具有一定的价值,联合三项指标诊断效能明显提高,表明 zonulin、MCP-1、HIF-1 α 可作为 CD 的潜在生物学标志物。

综上,CD 患者血清 zonulin、MCP-1、HIF-1 α 水平增高,高水平 zonulin、MCP-1、HIF-1 α 与 CD 疾病活动度增加以及肠道菌群紊乱均有关,可能是鉴别 CD 严重程度的生物学标志物。zonulin、MCP-1、HIF-1 α 可能在 CD 肠道菌群调节中发挥一定作用,但具体机制尚不清楚,仍需开展进一步的基础研究加以证实。

参考文献(References)

- [1] 刘洋,何运胜,赵平武,等. 克罗恩病的临床表现及中西医分型研究进展[J]. 现代消化及介入诊疗, 2023, 28(3): 390-394.
- [2] Petagna L, Antonelli A, Ganini C, et al. Pathophysiology of Crohn's disease inflammation and recurrence[J]. Biol Direct, 2020, 15(1): 23.
- [3] 杜骏,徐治中,何宗琦,等. 粪菌移植治疗克罗恩病的研究进展[J]. 中华炎症肠病杂志, 2021, 05(3): 229-232.
- [4] Ramezani Ahmadi A, Sadeghian M, Alipour M, et al. The Effects of Probiotic/Synbiotic on Serum Level of Zonulin as a Biomarker of Intestinal Permeability: A Systematic Review and Meta-Analysis[J]. Iran J Public Health, 2020, 49(7): 1222-1231.
- [5] 王中秋,王清鑫,巩琳琳,等. 放射性肠炎患者肠道菌群的变化及其与炎症反应的关系[J]. 中国肿瘤临床, 2021, 48(6): 275-282.
- [6] Liu Y, Zhu F, Li H, et al. MiR-155 contributes to intestinal barrier dysfunction in DSS-induced mice colitis via targeting HIF-1 α /TFF-3 axis[J]. Aging (Albany NY), 2020, 12(14): 14966-14977.
- [7] 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(2018 年,北京)[J]. 中华消化杂志, 2018, 38(5): 292-311.
- [8] Harvey RF, Bradshaw JM. A simple index of Crohn's-disease activity [J]. Lancet, 1980, 1(8167): 514.
- [9] Yanai H, Levine A, Hirsch A, et al. The Crohn's disease exclusion diet for induction and maintenance of remission in adults with mild-to-moderate Crohn's disease (CDED-AD): an open-label, pilot, randomised trial[J]. Lancet Gastroenterol Hepatol, 2022, 7(1): 49-59.
- [10] 李文杰,张其德,孙仁虎,等. 小肠 CT 及双气囊小肠镜诊断克罗恩病患者的差异性分析[J]. 现代生物医学进展, 2021, 21(1): 117-120.
- [11] Tajik N, Frech M, Schulz O, et al. Targeting zonulin and intestinal epithelial barrier function to prevent onset of arthritis [J]. Nat Commun, 2020, 11(1): 1995.
- [12] 王建刚,胡宜涛,杨兰艳. 肠易激综合征病人血清连蛋白、单核细胞趋化蛋白-1 水平与肠道菌群、炎症反应及胃肠症状严重程度的相关性[J]. 安徽医药, 2022, 26(5): 937-941.
- [13] 张振,李政国,李倩,等. 益生菌对克罗恩病患者肠道屏障功能和免疫调节的影响[J]. 中国微生态学杂志, 2022, 34(11): 1314-1319.
- [14] Huang S, Hu W, Rao D, et al. RIPK3-Dependent Necroptosis Activates MCP-1-Mediated Inflammation in Mice after Intracerebral Hemorrhage[J]. J Stroke Cerebrovasc Dis, 2022, 31(1): 106213.
- [15] Singh S, Anshita D, Ravichandiran V. MCP-1: Function, regulation, and involvement in disease [J]. Int Immunopharmacol, 2021, 101(Pt B): 107598.
- [16] 宋艳琦,安丽丽,霍永利,等. 芍药汤联合美沙拉嗪对湿热型溃疡性结肠炎大鼠 NF- κ B、COX-2、MCP-1 的影响研究[J]. 时珍国医国药, 2021, 32(3): 570-574.

(下转第 655 页)

- [15] 路妍, 孙丽慧, 马亨曼. 依达拉奉联合天麻钩藤饮加减治疗急性脑梗死对患者 Treg 淋巴细胞水平的影响 [J]. 临床和实验医学杂志, 2021, 20(20): 2167-2170.
- [16] 王同兴. 钩藤复方分析及天麻钩藤饮的网络药理学研究 [D]. 广东: 广东药学院, 2015.
- [17] 柳威, 邓林华, 祁东利, 等. 天麻及其有效成分的药理作用概述 [J]. 中药药理与临床, 2021, 37(4): 240-244.
- [18] 乔晶晶, 吴啟南, 薛敏, 等. 益母草化学成分与药理作用研究进展 [J]. 中草药, 2018, 49(23): 5691-5704.
- [19] 李俊, 周东升. 补阳还五汤联合天麻钩藤饮治疗脑梗死的临床疗效 [J]. 实用临床医药杂志, 2019, 23(1): 40-43.
- [20] 张名扬, 吕肖锋, 张微微, 等. 2 型糖尿病合并急性脑梗死患者血糖波动对体内氧化应激水平的影响及意义 [J]. 中国全科医学, 2014, 17(7): 784-787.
- [21] 罗懿钜, 欧阳文, 唐代凤, 等. 牛膝中皂苷和甾酮类物质基础及药理活性研究进展 [J]. 中国现代中药, 2020, 22(12): 2122-2136.
- [22] 李燕, 谢森, 邵明莎, 等. 近 10 年来天麻的药理作用及化学成分研究进展 [J]. 中华中医药学刊, 2017, 35(12): 2987-2993.
- [23] 窦宇红, 刘和录, 吴雄君, 等. 脑外伤后血清和脑脊液中髓鞘磷脂碱性蛋白含量变化及临床意义 [J]. 现代生物医学进展, 2010, 10(13): 2545-2548.
- [24] Bothwell M. NGF, BDNF, NT3, and NT4 [J]. Handb Exp Pharmacol, 2014, 37(220): 3-15.
- [25] 崔振平. 早期康复训练对急性脑梗死患者血清 NGF、NSE、BDNF 及运动功能的影响 [J]. 海南医学院学报, 2017, 23(5): 593-595, 599.
- [26] Kowiański P, Lietzau G, Czuba E, et al. BDNF: A Key Factor with Multipotent Impact on Brain Signaling and Synaptic Plasticity [J]. Cell Mol Neurobiol, 2018, 38(3): 579-593.
- [27] 李红月, 孙志伟, 王淑琴. 天麻素在神经系统的药理作用研究概况 [J]. 中国医院药学杂志, 2015, 35(11): 1047-1050.
- [28] 高晓宇, 丁茹. 钩藤化学成分及药理作用研究进展 [J]. 天津医科大学学报, 2017, 23(4): 380-382.
- [29] 李传朋, 董兴鲁, 贾秋阳, 等. 基于网络药理学和分子对接的栀子对缺血性脑卒中与出血性脑卒中共性干预机制探讨 [J]. 药物评价研究, 2022, 45(10): 1950-1958.

(上接第 684 页)

- [17] Singhal R, Shah YM. Oxygen battle in the gut: Hypoxia and hypoxia-inducible factors in metabolic and inflammatory responses in the intestine [J]. J Biol Chem, 2020, 295(30): 10493-10505.
- [18] Lu H, Lin J, Xu C, et al. Cyclosporine modulates neutrophil functions via the SIRT6-HIF-1 α -glycolysis axis to alleviate severe ulcerative colitis [J]. Clin Transl Med, 2021, 11(2): e334.
- [19] Stolfi C, Maresca C, Monteleone G, et al. Implication of Intestinal Barrier Dysfunction in Gut Dysbiosis and Diseases [J]. Biomedicines, 2022, 10(2): 289.
- [20] Karunakaran G, Yang Y, Tremblay V, et al. Structural analysis of Atopobium parvulum SufS cysteine desulfurase linked to Crohn's disease [J]. FEBS Lett, 2022, 596(7): 898-909.
- [21] Viladomiu M, Metz ML, Lima SF, et al. coli metabolism of propanediol in Crohn's disease regulates phagocytes to drive intestinal inflammation [J]. Cell Host Microbe, 2021, 29(4): 607-619.e8.
- [22] 王春晖, 杨洁, 赵宏芳, 等. 普拉梭菌干预对溃疡性结肠炎小鼠免疫应答、肠道菌群、肠黏膜屏障的影响 [J]. 海南医学院学报, 2020, 26(2): 87-91.
- [23] 张琳, 魏凯艳, 刘益娟. 普拉梭菌对溃疡性结肠炎不典型增生患者 Treg 细胞水平及 IL-23/IL-17 轴的影响 [J]. 中国病原生物学杂志, 2022, 17(2): 224-228.
- [24] 安佳, 王轶奇, 范茹, 等. 肠黏膜屏障功能障碍与自身免疫病 [J]. 中华风湿病学杂志, 2022, 26(1): 56-61.
- [25] Gómez-Ferrer M, Amaro-Prellezo E, Dorronsoro A, et al. HIF-Overexpression and Pro-Inflammatory Priming in Human Mesenchymal Stromal Cells Improves the Healing Properties of Extracellular Vesicles in Experimental Crohn's Disease [J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(20): 11269.
- [26] 杜鹏程, 韩璠, 谷九莲. 溃疡性结肠炎患者血清单核细胞趋化蛋白-1、高迁移率族蛋白 B1、肿瘤坏死因子- α 、白细胞介素-6 和白细胞介素-10 水平与肠道菌群的相关性 [J]. 新乡医学院学报, 2021, 38(4): 370-373.