

# 非酒精性脂肪性肝病患者肠道菌群变化及双歧杆菌三联活菌胶囊对肠道菌群、肝功能、血脂及胰岛素抵抗的影响

易艳容, 曾亚, 何佳, 郭浩宇, 申月明, 王赛 (长沙市中心医院 消化内科, 长沙 410004)

**摘要:** 目的 研究非酒精性脂肪性肝病 (NAFLD) 患者肠道菌群的变化以及双歧杆菌三联活菌胶囊对肠道菌群、肝功能、血脂及胰岛素抵抗的影响。方法 随机选取2015年1月至2015年10月于本院确诊的NAFLD患者60例, 采集粪便标本检测肠道菌群, 同时在门诊健康体检者中随机选取40例作为健康对照组, 比较NAFLD患者与健康对照组肠道菌群的变化情况。将NAFLD患者随机分为A组和B组, 每组30例, 其中A组给予口服多烯磷脂酰胆碱胶囊治疗, 456 mg/次, 3次/天, 疗程30天; B组口服多烯磷脂酰胆碱胶囊 (456 mg/次, 3次/天) 的同时口服双歧杆菌三联活菌胶囊 (420 mg/次, 3次/天), 疗程30天。比较治疗前后各组患者粪便中肠道菌群及血清中肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素-6 (IL-6)、血浆内毒素、丙氨酸氨基转移酶 (ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶 (AST)、总胆红素 (TBil)、总胆固醇 (TC) 和甘油三酯 (TG) 水平的变化。应用稳态模型评估的胰岛素抵抗指数 (HOMA-IR) 分析肠道菌群与血浆内毒素水平的相关性。结果 治疗前, NAFLD患者与健康对照组相比, 双歧杆菌和乳杆菌的数量显著降低 ( $t$ 值分别为-2.320、2.875,  $P$ 值分别为0.022、0.002), 肠葡萄球菌和肠杆菌数量显著升高 ( $t$ 值分别为4.352、3.435,  $P$ 值分别为0.000、0.001), 肠球菌和拟杆菌无显著变化 ( $t$ 值分别为0.834、1.459,  $P$ 值分别为0.401、0.173)。治疗后A组与B组双歧杆菌及乳杆菌的数量均有所上升, B组较A组上升更显著 ( $t$ 值分别为2.455、2.526,  $P$ 值分别为0.027、0.018), 两组治疗后肠葡萄球菌及肠杆菌数量显著下降, B组较A组下降更显著 ( $t$ 值分别为-2.049、2.758,  $P$ 值分别为0.041、0.009)。治疗前NAFLD患者与健康对照组相比, 血浆内毒素、TNF- $\alpha$ 、IL-6和HOMA-IR均显著升高 ( $t$ 值分别为2.783、3.174、6.173和6.730,  $P$ 值分别为0.006、0.002、0.000和0.000)。与A组相比, 治疗后B组血浆内毒素、TNF- $\alpha$ 、IL-6、HOMA-IR、ALT、AST、TBil及TG均显著下降 ( $t$ 值分别为-2.452、-3.038、-3.398、-3.276、-2.473、-2.748、-2.474和-2.536,  $P$ 值分别为0.023、0.005、0.002、0.004、0.018、0.017、0.019和0.017)。肠道菌群与血浆内毒素的相关性分析表明需氧菌与血浆内毒素水平呈正相关, 厌氧菌与血浆内毒素水平呈负相关。结论 NAFLD患者存在肠道菌群构成的改变, 提示肠道菌群失调可能参与NAFLD的发生发展。双歧杆菌三联活菌辅助治疗NAFLD可显著改善患者肠道菌群失调, 降低肠源性内毒素血症, 改善肝功能, 具有一定的治疗价值。

**关键词:** 脂肪肝, 非酒精性; 肠道菌群; 微生态制剂

## Changes of intestinal flora in patients with non-alcoholic fatty liver disease and the effects of bifidobacterium triple viable capsules on intestinal flora, liver function, blood lipid and insulin resistance

YI Yan-rong, ZENG Ya, HE Jia, GUO Hao-yu, SHEN Yue-ming, WANG Sai (Department of Gastroenterology, Central Hospital of Changsha, Changsha 410004, China)

**Abstract: Objective** To observe the changes of intestinal flora in patients with non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and the effects of bifidobacterium triple viable capsules on intestinal flora, liver function, blood lipid and insulin resistance. **Methods** Total of 60 patients who were diagnosed as NAFLD from January 2015 to October 2015 in our hospital were randomly selected and the fecal samples were collected. Total of 40 healthy controls were randomly selected. The changes of intestinal flora in feces between the two groups

were compared. Patients with NAFLD were randomly divided into two subgroups (group A and group B), 30 cases in each group. Patients in group A were treated with polyene phosphatidyl choline orally, 456 mg/time, 3 times daily for 30 days; patients in group B were treated with polyene phosphatidyl choline capsules orally, 456 mg/time, 3 times daily and bifidobacterium triple viable capsules 420 mg/time, 3 times daily for 30 days. Changes of intestinal flora in the feces, serum tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ), interleukin 6 (IL-6), plasma endotoxin, alanine transfer enzymes (ALT), aspartate amino transfer (AST), total bilirubin (TBil), total cholesterol (TC) and triglyceride (TG) were compared before and after treatment. Homeostasis model was used to assess the insulin resistance and the correlation between intestinal flora and plasma endotoxin level was analyzed. **Results** Before treatment, compared with healthy controls, the number of bifidobacteria and lactobacillus in patients with NAFLD decreased significantly ( $t = -2.320, -2.875; P = 0.022, 0.002$ ), and the number of staphylococcus and intestinal bacteria increased significantly ( $t = 4.352, 3.435; P = 0.000, 0.001$ ), there were no significant changes in the numbers of enterococcus and bacteroides ( $t = 0.834, 1.459; P = 0.401, 0.173$ ). After treatment, the numbers of bifidobacteria and lactobacillus increased both in group A and group B, and the differences were statistically significant ( $t = 2.455, 2.526; P = 0.027, 0.018$ ), the number of staphylococcus and intestinal bacteria in group B decreased significantly than those in group A ( $t = -2.049, -2.758; P = 0.041, 0.009$ ). Before treatment, the levels of plasma endotoxin, TNF- $\alpha$ , IL-6 and HOMA-IR in patients with NAFLD were significantly higher than those of healthy controls ( $t = 2.783, 3.174, 6.173, 6.730; P = 0.006, 0.002, 0.000, 0.000$ ). After treatment, compared with group A, the levels of endotoxin, TNF- $\alpha$ , IL-6, HOMA-IR, ALT, AST, TBil and TG decreased significantly in group B ( $t = -2.452, -3.038, -3.398, -3.276, -2.473, -2.748, -2.474, -2.536; P = 0.023, 0.005, 0.002, 0.004, 0.018, 0.017, 0.019, 0.017$ ). Correlation analysis between intestinal flora and plasma endotoxin showed that the aerobic bacteria was positively correlated with the level of serum endotoxin and the anaerobic bacteria was negatively correlated with the level of serum endotoxin. **Conclusions** The composition of intestinal flora changes in patients with NAFLD, which indicates that the intestinal flora probably participate in the occurrence and development of NAFLD. The bifidobacteria triple viable bacteria adjuvant treatment can significantly improve the intestinal flora imbalance and liver function, which can also reduce the intestinal source of endotoxin and has a certain treatment value in patients with NAFLD.

**Key words:** Fatty liver, non-alcoholic; Intestinal flora; Micro ecological preparation

非酒精性脂肪性肝病 (non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD) 是指除外酒精和其他特定损害肝脏因素所致的临床病理综合征, 主要特征为弥漫性肝细胞大泡性脂肪变, 包括单纯性脂肪肝、非酒精性脂肪性肝炎、肝纤维化、肝硬化和肝细胞癌等多个病变阶段<sup>[1]</sup>。随着人们生活习惯的改变和生活水平的提高, NAFLD的发病率逐渐增加且呈低龄化, 将有可能成为全球引起慢性肝脏疾病的最常见原因之一。NAFLD有向终末期肝病发展的风险, 还与代谢性疾病如高脂血症、2型糖尿病以及心脑血管疾病等密切相关<sup>[2]</sup>。目前NAFLD的发病机制尚未明确, 可能与胰岛素抵抗、氧化应激及脂质过氧化损伤等因素有关, 随着“肠-肝轴”的提出, 肠道菌群失调、菌群移位和肠源性内毒素血症所触发的级联放大炎症反应在NAFLD发展中的重要作用已被证实<sup>[3-5]</sup>, 为微生态制剂治疗NAFLD提供了有力的依据。

目前已证实, 通过适当运动和控制饮食来减轻体重可以降低肝内脂肪沉积, 可在一定程度上减轻

肝脏炎症, 但多数患者无法长期坚持。药物治疗仍是目前较为常用的方法, 主要包括降脂药物、保肝抗炎药物、胰岛素增敏剂及维生素E等, 由于药物的不良反应及价格因素使其应用受到一定的限制, 迄今为止尚无很好的药物可以治疗NAFLD<sup>[6-8]</sup>。因此, 在探索NAFLD发病机制的基础上, 寻找经济、安全和有效的药物迫在眉睫。益生菌可以通过改善肠道菌群的构成, 维持肠道微生态平衡, 提高肠黏膜的屏障作用, 阻止病原菌的繁殖和入侵, 降低肠源性内毒素水平, 减轻全身炎症反应。基于这一理论, 本研究观察双歧杆菌三联活菌治疗NAFLD的临床意义。

## 1 资料与方法

### 1.1 研究对象

1.1.1 入选对象 随机选取2015年1月至2015年10月于长沙市中心医院消化科门诊及住院部经临床表现及彩色超声示脂肪肝并经肝功能生物化学检查确诊的NAFLD患者60例, 目前处于非酒精性脂肪性肝炎阶段, 其中男性42例, 女性18例, 年龄18~70岁,

平均( $48.6 \pm 4.5$ )岁;同时于本院门诊进行健康体检者中随机抽取40例作为健康对照组,其中男性27例,女性13例,年龄18~70岁,平均( $47.5 \pm 4.8$ )岁,按自愿原则参加,两组研究对象的性别组成及年龄差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),见表1。

1.1.2 入选标准 符合2010年修订的《非酒精性脂肪性肝病诊疗指南》<sup>[9]</sup>中的诊断标准,同时符合无饮酒史或饮酒折合乙醇量 $< 140$  g/周(女性 $< 70$  g/周)。

1.1.3 排除标准 除外病毒性肝炎、药物性肝病、肝豆状核变性及自身免疫性肝病等可导致脂肪肝的特定疾病,排除妊娠及合并其他基础原发疾病和精神疾病患者。

1.2 研究方法 符合入选条件的60例NAFLD患者随机分为A组和B组,每组30例,A组给予口服多烯磷脂酰胆碱胶囊(赛诺菲制药有限公司)治疗,456 mg/次,3次/天,治疗30天;B组给予口服多烯磷脂酰胆碱胶囊(456 mg/次,3次/天)同时口服双歧杆菌三联活菌胶囊(上海信谊药厂有限公司)420 mg/次,3次/天,治疗30天。同时禁止使用降血脂、降血糖及其他保肝药物,禁止使用酸奶、其他微生态制剂和抗生素等可影响肠道菌群的制剂,A、B两组在性别及年龄上无显著差异( $P > 0.05$ ),见表1。

### 1.3 观察指标

1.3.1 肠道菌群 所有NAFLD患者治疗前后及健康对照组均留取粪便标本。分别采集每位研究对象的新鲜粪便标本1~2 g放入无菌密闭粪便盒,30分钟内送检。取粪便标本0.5 g加入装有4.5 ml生理盐水的无菌试管中,灭菌稀释液连续10倍稀释至 $10^{-8}$ ,震荡混匀,取50  $\mu$ l滴注于不同的培养基上,需氧菌置于35  $^{\circ}$ C孵箱培养24~48小时,厌氧菌置于厌氧罐内,放入厌氧发生剂后封闭,恒温培养箱37  $^{\circ}$ C培养48~72小时。检验方法参考GB4789.2-2010《食

品安全国家标准》<sup>[10]</sup>中食品微生物学检验菌落总数的测定,结果以每克粪便中菌落形成单位的对数值( $\lg$  CFU/g)表示,检测肠道具有代表性的需氧菌3种(肠杆菌、肠球菌和葡萄球菌)和厌氧菌3种(拟杆菌、双歧杆菌和乳杆菌)。

1.3.2 细胞因子及生物化学指标 60例NAFLD患者治疗前后及健康对照组均于清晨空腹采集肘静脉血6 ml,1500 r/min(离心半径400 mm)离心后采集上清液,-80  $^{\circ}$ C保存待测。ELISA法检测血清中TNF- $\alpha$ 和IL-6水平(检测试剂盒均购自上海基免实业有限公司);鲎试验检测血浆内毒素(鲎试剂由厦门鲎试剂厂提供);全自动生化分析仪检测NAFLD患者治疗前后血清丙氨酸氨基转移酶(alanine transfer enzyme, ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(aspartic acid transaminase, AST)总胆红素(total bilirubin, TBil)、总胆固醇(total cholesterol, TC)和甘油三酯(triglyceride, TG)水平;稳态模型评估的胰岛素抵抗指数HOMA-IR=(空腹血糖 $\times$ 空腹胰岛素)/22.5。

1.4 统计方法 采用SPSS 17.0统计软件进行数据分析,计量资料用均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,两组间均数比较采用 $t$ 检验,治疗前后比较采用配对 $t$ 检验,相关性分析采用pearson分析法,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 肠道菌群检测结果 治疗前NAFLD患者与健康对照组比较,双歧杆菌和乳杆菌的数量显著降低( $t$ 值分别为-2.320、-2.875, $P$ 值分别为0.022、0.002),肠葡萄球菌和肠杆菌的数量显著增多( $t$ 值分别为4.352、3.435, $P$ 值分别为0.000、0.001),肠球菌和拟杆菌的数量无显著变化( $t$ 值分别为0.834、1.459, $P$ 值分别为0.401、0.173),见表2。治疗后A组与B组双歧杆菌及乳杆菌的数量

表1 NAFLD患者与健康对照组的一般资料

组别	例数	年龄( $\bar{x} \pm s$ , 岁)	男/女(例)
健康对照组	40	$47.5 \pm 4.8$	27/13
NAFLD组	60	$48.6 \pm 4.5^a$	42/18 <sup>b</sup>
A组	30	$48.4 \pm 4.6$	20/10
B组	30	$48.7 \pm 4.6^c$	21/9 <sup>d</sup>

注:与健康对照组相比:<sup>a</sup> $t=0.845$ ,<sup>a</sup> $P=0.515$ ,<sup>b</sup> $\chi^2=0.014$ ,<sup>b</sup> $P=0.913$ ;与A治疗组相比:<sup>c</sup> $t=0.743$ ,<sup>c</sup> $P=0.672$ ,<sup>d</sup> $\chi^2=0.006$ ,<sup>d</sup> $P=1.000$

表2 治疗前NAFLD患者与健康对照组肠道菌群的比较( $\bar{x} \pm s$ ,  $\lg$  CFU/g)

组别	肠杆菌	肠球菌	双歧杆菌	乳杆菌	葡萄球菌	拟杆菌
健康对照组( $n=40$ )	$8.33 \pm 1.78$	$7.45 \pm 0.98$	$9.62 \pm 2.36$	$7.55 \pm 0.86$	$6.53 \pm 0.54$	$9.80 \pm 2.21$
NAFLD组( $n=60$ )	$9.15 \pm 2.21$	$7.51 \pm 1.26$	$9.05 \pm 1.12$	$6.95 \pm 1.27$	$8.11 \pm 1.23$	$9.76 \pm 2.24$
$t$ 值	3.435	0.834	-2.320	-2.875	4.352	1.450
$P$ 值	0.001	0.401	0.022	0.002	0.000	0.173

均较治疗前上升, B组较A组上升更显著( $t$ 值分别为2.455、2.526,  $P$ 值分别为0.027、0.018), 两组治疗后肠葡萄球菌及肠杆菌数量均较治疗前显著下降, B组较A组下降更显著( $t$ 值分别为-2.049、-2.758,  $P$ 值分别为0.041、0.009), 见表3。

2.2 炎症因子及生物化学指标 治疗前NAFLD患者与健康对照者相比, 血浆内毒素、TNF- $\alpha$ 、IL-6及HOMA-IR均显著升高( $t$ 值分别为2.783、3.174、6.173和6.730,  $P$ 值分别为0.006、0.002、0.000和0.000), 见表4。治疗后A、B两组血清中内毒素、TNF- $\alpha$ 及IL-6水平较治疗前均下降, B组较A组下降更显著( $t$ 值分别为-2.452、-3.038和-3.398,  $P$ 值分别为0.023、0.005和0.002), B组HOMA-IR治疗后较治疗前下降显著( $t = -3.276$ ,  $P = 0.004$ ), A组治疗前后无显著差异( $t = -2.037$ ,  $P = 0.065$ ), 见表5。

2.3 治疗前后肝功能的比较 A组及B组治疗后ALT和

AST均较治疗前下降( $P$ 均 $< 0.05$ ), B组较A组下降更显著( $t$ 值分别为-2.473、-2.748,  $P$ 值分别为0.018、0.017), A组治疗后TC、TG及TBil较治疗前无显著变化( $P$ 均 $> 0.05$ ), B组治疗后TBil和TG较治疗前均下降( $t$ 值分别为-2.474、-2.536,  $P$ 值分别为0.019、0.017), TC治疗前后无显著变化( $t = -1.331$ ,  $P = 0.206$ ), 见表6。

2.4 肠道菌群与内毒素水平相关性分析 肠杆菌、肠球菌和肠葡萄球菌与血浆内毒素水平呈正相关( $r$ 值分别为0.451、0.324和0.682,  $P$ 值分别为0.01、0.03和0.00), 双歧杆菌、乳杆菌和拟杆菌与血浆内毒素水平呈负相关( $r$ 值分别为-0.560、-0.324和-0.282,  $P$ 值分别为0.00、0.03和0.04)。

### 3 讨论

NAFLD是一种与胰岛素抵抗及遗传易感性密切相关的代谢应激性肝损伤<sup>[11,12]</sup>, 发病机制尚未明确, 胰岛素抵抗引起的肝内脂质沉积、肝细胞发

表3 A组与B组治疗前后肠道菌群的比较( $\bar{x} \pm s$ , lg CFU/g)

组别	肠杆菌	肠球菌	双歧杆菌	乳杆菌	葡萄球菌	拟杆菌
A组( $n = 30$ )						
治疗前	9.06 $\pm$ 1.21	7.50 $\pm$ 1.32	9.01 $\pm$ 1.37	6.97 $\pm$ 1.25	8.14 $\pm$ 1.20	9.74 $\pm$ 2.23
治疗后	8.45 $\pm$ 1.23	7.48 $\pm$ 1.35	9.44 $\pm$ 1.13	7.35 $\pm$ 1.89	7.53 $\pm$ 1.43	9.78 $\pm$ 2.26
$t$ 值	-2.048	-0.714	2.056	3.036	-2.820	0.931
$P$ 值	0.043	0.475	0.018	0.006	0.009	0.372
B组( $n = 30$ )						
治疗前	9.08 $\pm$ 1.26	7.52 $\pm$ 1.34	9.08 $\pm$ 1.17	6.89 $\pm$ 1.21	8.09 $\pm$ 0.86	9.78 $\pm$ 2.13
治疗后	8.16 $\pm$ 1.34 <sup>a</sup>	7.46 $\pm$ 1.23 <sup>b</sup>	9.88 $\pm$ 2.13 <sup>c</sup>	7.85 $\pm$ 1.72 <sup>d</sup>	6.90 $\pm$ 1.12 <sup>e</sup>	9.81 $\pm$ 2.11 <sup>f</sup>
$t$ 值	-4.542	-0.720	2.751	3.174	-3.379	0.676
$P$ 值	0.000	0.451	0.013	0.005	0.003	0.482

注: 与A组治疗后相比, <sup>a</sup> $t = -2.758$ , <sup>a</sup> $P = 0.009$ ; <sup>b</sup> $t = -0.731$ , <sup>b</sup> $P = 0.656$ ; <sup>c</sup> $t = 2.455$ , <sup>c</sup> $P = 0.027$ ; <sup>d</sup> $t = 2.526$ , <sup>d</sup> $P = 0.018$ ; <sup>e</sup> $t = -2.049$ , <sup>e</sup> $P = 0.041$ ; <sup>f</sup> $t = 0.853$ , <sup>f</sup> $P = 0.402$

表4 治疗前NAFLD患者与健康对照组血清内毒素、TNF- $\alpha$ 、IL-6及HOMA-IR的比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	内毒素(EU/L)	TNF- $\alpha$ (ng/ml)	IL-6(ng/ml)	HOMA-IR
健康对照组( $n = 40$ )	0.23 $\pm$ 0.11	28.52 $\pm$ 11.0	4.55 $\pm$ 1.14	1.45 $\pm$ 0.38
NAFLD组( $n = 60$ )	0.55 $\pm$ 0.21	89.50 $\pm$ 21.12	39.40 $\pm$ 12.27	3.10 $\pm$ 1.10
$t$ 值	2.783	6.173	6.730	3.174
$P$ 值	0.006	0.000	0.000	0.002

表5 A组与B组治疗前后血清内毒素、TNF- $\alpha$ 、IL-6及HOMA-IR的比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	内毒素(EU/L)	TNF- $\alpha$ (ng/ml)	IL-6(ng/ml)	HOMA-IR
A组( $n = 30$ )				
治疗前	0.56 $\pm$ 0.23	88.50 $\pm$ 23.12	38.90 $\pm$ 13.26	3.13 $\pm$ 1.15
治疗后	0.35 $\pm$ 0.13	77.51 $\pm$ 18.13	26.70 $\pm$ 11.9	2.88 $\pm$ 0.55
$t$ 值	-3.042	-2.783	-4.045	-2.037
$P$ 值	0.005	0.009	0.000	0.065
B组( $n = 30$ )				
治疗前	0.53 $\pm$ 0.16	88.60 $\pm$ 21.17	41.52 $\pm$ 13.20	3.20 $\pm$ 1.14
治疗后	0.26 $\pm$ 0.11 <sup>a</sup>	53.20 $\pm$ 15.20 <sup>b</sup>	15.60 $\pm$ 4.22 <sup>c</sup>	2.28 $\pm$ 1.23 <sup>d</sup>
$t$ 值	-4.541	-3.340	-5.256	-3.276
$P$ 值	0.000	0.002	0.000	0.004

注: 与A组治疗后相比: <sup>a</sup> $t = -2.452$ , <sup>a</sup> $P = 0.023$ ; <sup>b</sup> $t = -3.038$ , <sup>b</sup> $P = 0.005$ ; <sup>c</sup> $t = -3.398$ , <sup>c</sup> $P = 0.002$ ; <sup>d</sup> $t = -2.740$ , <sup>d</sup> $P = 0.017$

表6 A组与B组治疗前后ALT、AST、TBil、TC和TG的比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	ALT (U/L)	AST (U/L)	TBil ( $\mu\text{mol/L}$ )	TC (mmol/L)	TG (mmol/L)
A组 ( $n=30$ )					
治疗前	119.60 $\pm$ 23.30	89.30 $\pm$ 21.70	32.41 $\pm$ 11.20	6.51 $\pm$ 2.23	2.80 $\pm$ 1.12
治疗后	55.60 $\pm$ 18.30	50.10 $\pm$ 10.20	30.10 $\pm$ 8.21	6.37 $\pm$ 1.32	2.56 $\pm$ 1.10
$t$ 值	-3.442	-2.235	-1.673	-1.551	-0.843
$P$ 值	0.002	0.045	0.089	0.124	0.430
B组 ( $n=30$ )					
治疗前	117.34 $\pm$ 21.20	88.52 $\pm$ 21.14	33.12 $\pm$ 7.17	6.55 $\pm$ 1.80	2.81 $\pm$ 1.05
治疗后	37.50 $\pm$ 11.10 <sup>a</sup>	34.30 $\pm$ 12.23 <sup>b</sup>	20.10 $\pm$ 5.20 <sup>c</sup>	6.25 $\pm$ 1.52 <sup>d</sup>	1.70 $\pm$ 0.35 <sup>e</sup>
$t$ 值	-5.741	-4.376	-2.474	-1.331	-2.536
$P$ 值	0.000	0.000	0.019	0.206	0.017

注:与A组治疗后相比:<sup>a</sup> $t=-2.473$ ,<sup>a</sup> $P=0.018$ ;<sup>b</sup> $t=-2.748$ ,<sup>b</sup> $P=0.017$ ;<sup>c</sup> $t=-3.136$ ,<sup>c</sup> $P=0.005$ ;<sup>d</sup> $t=-1.890$ ,<sup>d</sup> $P=0.078$ ;<sup>e</sup> $t=-3.256$ ,<sup>e</sup> $P=0.004$

生脂肪变性、各种原因所致的氧化应激及脂质过氧化使肝细胞发生非特异性炎性损伤,引起非酒精性脂肪性肝炎,肝细胞反复出现炎症坏死及再生,最终发展为肝纤维化和肝硬化甚至肝癌<sup>[5,13,14]</sup>。最近的研究显示肠道菌群失调及肠源性内毒素血症在NAFLD的发病中起着重要的作用<sup>[15-17]</sup>。肠道菌群数量庞大,根据肠道菌群对人体作用的不同,可将其分为有益菌、有害菌和中性菌,各菌群间按一定比例组合,形成生态平衡,构成了肠黏膜的重要生物屏障及免疫屏障,保持肠黏膜的完整性,防止肠腔内的毒性物质入侵机体。对于NAFLD患者,当肠道内有害菌异常增加、肠道菌群紊乱时,内毒素产生增多,微生物屏障受到损伤,大量肠腔内毒素易位进入门脉系统,引起肠源性内毒素血症<sup>[18]</sup>,导致肝细胞损害,更重要的是激活库普弗细胞释放TNF- $\alpha$ 、IL-1、IL-6及血栓素等炎性介质,扩大炎症反应,引起肝细胞的凋亡和坏死<sup>[19-21]</sup>。

本研究通过细菌培养计数法了解NAFLD患者肠道菌群的构成情况,结果显示,与健康人群相比,NAFLD患者肠道双歧杆菌及乳杆菌数量显著下降,肠杆菌和肠葡萄球菌数量显著上升,肠球菌和拟杆菌的数量无显著差异,NAFLD患者存在有益菌下降、有害菌及中性菌增加的现象,与国内的研究结果相似<sup>[17,22]</sup>,提示肠道微生态失衡可能参与了NAFLD的发生发展,治疗后肠道菌群的显著改善更加支持了这个可能性。本研究显示NAFLD患者血浆内毒素、TNF- $\alpha$ 和IL-6水平均显著高于健康对照者,提示这些炎性因子及内源性炎症反应参与了NAFLD的发病。本研究采用直线相关分析分析肠道菌群与肠源性内毒素血症的关系,进一步探索肠道菌群失衡与NAFLD的发病机制,结果表明肠杆菌、肠球菌和肠葡萄球菌与血浆内毒素水平呈正相关,双歧杆菌、乳杆菌和拟杆菌与血浆内毒素

水平呈负相关,提示双歧杆菌、乳杆菌和拟杆菌对维持肠道菌群平衡及减少肠源性内毒素血症有重要作用;从相关系数分析,双歧杆菌的作用最大,NAFLD患者发生肠源性内毒素血症可能更与肠道的有害菌和需氧菌增多有关。肠道菌群失调与NAFLD肠源性内毒素血症有关,造成肝脏炎性联级扩大反应,为微生态制剂治疗NAFLD提供了理论基础。

新型微生态制剂双歧杆菌三联活菌含有浓缩双歧杆菌、嗜酸乳杆菌及粪肠球菌,可以改善肠道菌群紊乱,维持肠道微生态平衡,但目前其治疗NAFLD方面的报道仍较少。本研究采用其治疗NAFLD,比较单用基础保肝药物与在基础保肝药物上联合双歧杆菌三联活菌治疗NAFLD患者的效果,结果显示联合双歧杆菌三联活菌的患者治疗后双歧杆菌及乳杆菌数量显著上升,肠杆菌和葡萄球菌数量显著下降,并且血浆内毒素、HOMA-IR、TNF- $\alpha$ 、IL-6、肝功能(ALT、AST和TBil)及TG均有下降,提示在保肝药物基础上联合双歧杆菌三联活菌能更有效地改善NAFLD患者肠道菌群失调,降低肠源性内毒素血症及炎性因子的产生,显著改善患者的肝功能。治疗前后TC水平无显著改善,分析原因可能与治疗疗程较短及样本量不足有关,可以扩大样本量及延长治疗时间,或观察治疗停止后一段时间的疗效。本研究采用双歧杆菌三联活菌为治疗药物,由于肠道中菌群庞大,不同菌群的作用各异,因此可以进一步比较不同微生态制剂在NAFLD患者中治疗效果的差异。

#### 参考文献

- [1] Bellot P, Frances R, Such J. Pathological bacterial translocation in cirrhosis: pathophysiology, diagnosis and clinical implications[J]. Liver Int, 2013, 33(1): 31-39.
- [2] 张技, 李白雪, 张传涛, 等. 非酒精性脂肪肝的中医药治疗研究进展[J].

- 中药与临床,2014,5(1):63-65.
- [3] Vanni E, Bugianesi E. The gut-liver axis in nonalcoholic fatty liver disease: another pathway to insulin resistance[J]. *Hepatology*,2009,49(6):1791-1793.
- [4] Ebertz CE, Bonfleur ML, Bertasso IM, et al. Duodenal jejunal bypass attenuates non-alcoholic fatty liver disease in western diet-obese rats[J]. *Acta Cir Bras*,2014,29(9):609-614.
- [5] 周语媚, 包剑锋. 非酒精性脂肪肝与肝病关系的研究进展[J]. *中华实验和临床病毒学杂志*,2014,28(2):159-161.
- [6] Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, et al. The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: practice guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases, American College of Gastroenterology, and the American Gastroenterological Association[J]. *Hepatology*,2012,55(6):2005-2023.
- [7] Newsome PN, Allison ME, Andrews PA, et al. Guidelines for liver transplantation for patients with non-alcoholic steatohepatitis[J]. *Gut*,2012,61(4):484-500.
- [8] Torres DM, Williams CD, Harrison SA. Features, diagnosis, and treatment of nonalcoholic fatty liver disease[J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*,2012,10(8):837-858.
- [9] 中华医学会肝病学会脂肪肝和酒精性肝病学组. 非酒精性脂肪性肝病诊疗指南(2010年修订版)[J]. *中华肝脏病杂志*,2010,18(3):163-166.
- [10] 中华人民共和国卫生部. 食品安全国家标准 食品微生物学检测 菌落总数测定(GB 4789.2-2010)[S]. 国家标准,2010,1-6.
- [11] CHEN L, XU WM, ZHANG D. Association of abdominal obesity, insulin resistance, and oxidative stress in adipose tissue in women with polycystic ovary syndrome[J]. *Fertil Steril*,2014,102(4):1167-1174.
- [12] 邓银芝, 黄铁军, 张明哲. 非酒精性脂肪肝病者血清PTX3水平与胰岛素抵抗以及氧化应激相关分析[J/CD]. *中国肝脏病杂志(电子版)*,2015,7(2):101-105.
- [13] Day CP, James OF. Steatohepatitis: a tale of two "hits"[J]. *Gastroenterology*,1998,114(4):842-845.
- [14] Henao-Mejia J, Elinav E, Thaïs CA, et al. Role of the intestinal microbiome in liver disease[J]. *J Autoimmun*,2013,46:66-73.
- [15] Tremaroli V, Bäckhed F. Functional interactions between the gut microbiota and host metabolism[J]. *Nature*,2012,489(7415):242-249.
- [16] Mouzaki M, Comelli EM, Arendt BM, et al. Intestinal microbiota in patients with non-alcoholic fatty liver disease[J]. *Hepatology*,2013,58(1):120-127.
- [17] 杨林辉, 蔡俊, 陈东风. 非酒精性脂肪性肝炎患者肠道菌群的变化及意义[J]. *临床肝胆病杂志*,2012,28(2):124-126.
- [18] 赵龙凤, 李红, 韩德五. 肠源性内毒素血症与肝病[J]. *世界华人消化杂志*,2000,8(10):1145-1149.
- [19] 李伟伟, 韩红波. 小肠细菌过度生长对非酒精性脂肪肝患者肿瘤坏死因子- $\alpha$ 、C反应蛋白[J]. *中国医药指南*,2015,13(21):99-100.
- [20] Hirose M, Nishikawa M, Qian W, et al. Mannose conjugated alendronate selectively depletes Kupffer cells and inhibits endotoxemic shock in the mice[J]. *Hepatology Res*,2006,36(1):3-10.
- [21] Higuchi Y, Kawakami S, Yamashita F, et al. The potential role of fucosylated cationic liposome NF kappaB decoy complexes in the treatment of cytokine related liver disease[J]. *Biomaterials*,2007,28(3):532-539.
- [22] 姚惠香, 朱金水, 陈伟雄, 等. 肠道菌群改变对非酒精性脂肪性肝病的影响[J]. *肝脏*,2013,18(8):538-540.

收稿日期: 2016-01-07

易艳容, 曾亚, 何佳, 等. 非酒精性脂肪性肝病患者肠道菌群变化及双歧杆菌三联活菌胶囊对肠道菌群、肝功能、血脂及胰岛素抵抗的影响[J/CD]. *中国肝脏病杂志(电子版)*,2016,8(3):87-92.