

doi:10.3969/j.issn.1005-3697.2023.08.005

❖ 临床研究 ❖

溃疡性结肠炎患者免疫球蛋白水平与肠道菌群构成变化及疾病严重程度的相关性

刘萍丽, 薛黎, 许大成, 包建玲

(新疆医科大学第一附属医院医学检验中心, 新疆 乌鲁木齐 830000)

【摘要】目的: 探讨溃疡性结肠炎(UC)患者血清免疫球蛋白水平与肠道菌群构成变化及疾病严重程度的相关性。**方法:** 选取 104 例 UC 患者为 UC 组;同期 60 名健康体检者为对照组。根据内镜严重指数(Baron 评分)将 UC 组分为 1~2 分组($n=12$)、2 分组($n=41$)和 3 分组($n=51$);根据菌群失调程度将 UC 组分为菌群正常或 I 度失调组($n=53$)、II 度菌群失调组($n=25$)和 III 度菌群失调组($n=26$);依照 Mayo 评分将 UC 组分为活动期组($n=65$)和缓解期组($n=39$)。根据活动度将 UC 活动期组分为轻度活动组($n=20$)、中度活动组($n=27$)、重度活动组($n=18$)。比较不同分组对象的血清 IgA、IgG、IgM 水平,分析其与 UC 患者疾病活动度、内镜严重指数 Baron 评分和菌群失调度的关系。**结果:** UC 组患者血清 IgA、IgG、IgM 水平低于对照组($P<0.05$);活动期组患者血清 IgA、IgG、IgM 水平低于缓解期($P<0.05$);不同内镜严重指数 UC 患者血清 IgA、IgG、IgM 水平比较:1~2 分组 > 2 分组 > 3 分组($P<0.05$);不同菌群失调程度 UC 患者血清 IgA、IgM 水平比较:菌群正常或 I 度菌群失调组 > II 度菌群失调组 > III 度菌群失调组($P<0.05$);不同疾病活动程度 UC 患者血清 IgA、IgG、IgM 水平比较:重度活动组 < 中度活动组 < 轻度活动组($P<0.05$)。相关性分析显示,UC 患者血清 IgA、IgG、IgM 水平与疾病活动度和内镜严重指数 Baron 评分均呈负相关($P<0.05$);血清 IgA、IgG 水平与菌群失调程度均呈负相关($P<0.05$)。**结论:** UC 患者外周免疫球蛋白水平低于健康人群,且随菌群失调加重、疾病活动度与内镜严重指数增加进一步降低。

【关键词】 溃疡性结肠炎;免疫球蛋白;肠道菌群结构;疾病活动度

【中图分类号】 R574.62 **【文献标志码】** A

Correlation between immunoglobulin levels and changes in intestinal flora composition and disease severity in patients with ulcerative colitis

LIU Ping-li, XUE Li, XU Da-cheng, BAO Jian-ling

(Medical Laboratory Center, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830000, Xinjiang, China)

【Abstract】 Objective: To investigate the correlation between serum immunoglobulin levels and changes in intestinal flora composition and disease severity in patients with ulcerative colitis (UC). **Methods:** 104 patients with UC were selected as UC group. In the same period, 60 healthy subjects were selected as the control group. According to the Baron score, UC group was divided into 1~2 group ($n=12$), 2 group ($n=41$) and 3 group ($n=51$). The UC group was divided into normal flora or dysfunctional I group ($n=53$), dysfunctional II group ($n=25$) and dysfunctional III group ($n=26$) according to the degree of dysbiosis. According to Mayo score, UC group was divided into active group ($n=65$) and remission group ($n=39$). The UC active group was divided into light activity group ($n=20$), moderate activity group ($n=27$) and heavy activity group ($n=18$) according to the activity level. The serum levels of IgA, IgG and IgM in patients in different groups were compared. The relationship with disease activity, Baron score of endoscopic severity index and bacterial dysbiosis in UC patients were analyzed. **Results:** The levels of serum IgA, IgG and IgM in UC group were lower than those in control group ($P<0.05$). The levels of serum IgA, IgG and IgM in active group were lower than those in remission stage ($P<0.05$). Comparison of the levels of serum IgA, IgG and IgM in UC patients with different endoscopic severity index: 1~2 group > 2 group > 3 group ($P<0.05$). Comparison of the levels of serum IgA and IgM in UC patients with different microflora dysregulation: normal microflora and I microflora dysregulation group > II microflora dysregulation group > III microflora dysregulation group ($P<0.05$). Comparison of serum IgA, IgG and IgM levels in UC patients with different disease activity levels: severe activity group < moderate activity group < mild activity group ($P<0.05$). Correlation analysis showed that serum IgA, IgG and IgM levels were negatively correlated with disease activity and Baron score of endoscopic severity index in UC patients ($P<0.05$). The levels of IgA and IgG in serum were negatively correlated with the degree of bacterial imbalance ($P<0.05$). **Conclusion:** The level of peripher-

基金项目: 新疆维吾尔自治区自然科学基金(2019D01C283)

作者简介: 刘萍丽(1978-),女,硕士,主管技师。E-mail:liupingli2023@163.com

al blood immunoglobulin in UC patients is lower than that in healthy people, and further decreased with the aggravation of bacterial imbalance, the increase of disease activity and endoscopic severity index.

【Key words】 Ulcerative colitis; Immunoglobulin; Intestinal flora structure; Disease activity

溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 是一种慢性炎症性肠道疾病, 患者表现为腹泻、腹痛、便血等, 病情反复, 迁延难愈, 对身体健康造成影响^[1]。人体肠道中存在多种细菌, 共同参与肠道代谢, 维持肠道内免疫^[2]。若人体肠道菌群失衡, 细菌移位进入到人体微循环中, 则可能诱发全身炎症反应, 使病情恶化。近年来, 随着微生态和分子生物学研究迅速发展, 临床普遍认为, 肠道菌群失调与机体异常免疫状态相关, 在 UC 疾病的发生、进展中发挥重要作用^[3]。免疫球蛋白主要存在于血液中, 也可存在于唾液、小肠黏膜液、呼吸道黏膜液、乳汁等体液中, 通过特异性结合相应抗原, 发挥体液免疫功能^[4-5]。既往研究中关于 UC 患者免疫球蛋白表达水平变化相关研究较多, 但对于患者免疫球蛋白水平与疾病活动度、内镜严重指数的相关性研究较少。本研究拟通过对比不同菌群失调程度患者免疫球蛋白水平差异, 分析其与疾病活动度与内镜严重指数的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2018 年 6 月至 2022 年 11 月新疆医科大学第一附属医院收治的 104 例 UC 患者为 UC 组; 同期 60 名健康体检者为对照组。UC 组中, 男性 53 例, 女性 51 例; 年龄 (45.11 ± 8.91) 岁。对照组中, 男性 31 例, 女性 29 例; 年龄 (46.12 ± 7.73) 岁。本研究已获医院伦理委员会批准, 患者及家属知情同意。两组患者一般资料比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。UC 组再依照 Mayo 评分分为活动期组 ($n = 65$) 和缓解期组 ($n = 39$); 根据内镜严重指数 (Baron 评分) 分为 1 ~ 2 分组 ($n = 12$)、2 分组 ($n = 41$) 和 3 分组 ($n = 51$); 根据菌群失调程度分为菌群正常或 I 度失调组 ($n = 53$)、II 度菌群失调组 ($n = 25$) 和 III 度菌群失调组 ($n = 26$)。UC 活动期组再根据活动度分为轻度活动组 ($n = 20$)、中度活动组 ($n = 27$)、重度活动组 ($n = 18$)。纳入标准: (1) 符合《炎症性肠病诊断治疗规范与共识意见》中 UC 诊断标准^[6]; (2) 年龄 ≥ 18 岁。排除标准: (1) 入组前 1 周内使用过抗生素、益生菌、免疫抑制剂、激素类等药物; (2) 因肠道致病菌、真菌以及病毒等病原体导致的肠道感染; (3) 伴其他肠道疾病, 如克罗恩

病等; (4) 合并系统性红斑狼疮、免疫性血小板减少性紫癜等免疫性疾病; (5) 合并其他感染性疾病; (6) 合并其他严重器质功能障碍或心脑血管疾病; (7) 合并血液疾病或恶性肿瘤; (8) 临床资料不全。

1.2 方法

1.2.1 免疫球蛋白测定 无菌采所有对象空腹静脉血 5 mL, 37 °C 培养箱中静置 1 h, 转移至 4 °C 冰箱过夜。低温 3 000 r/min 离心 5 min, 取上层血清, 低温储存。采用免疫比浊法测定血清 IgA、IgG、IgM 水平, 试剂盒购于上海杰美基因医药科技, 操作严格按照说明书进行。

1.2.2 粪便标本检测 收集 UC 患者粪便, 操作步骤: 患者便后, 洁净容器取粪便送检, 以无菌接种环挑取, 置于载玻片。载玻片菌层朝上, 酒精灯加热固定 2 ~ 3 次。草酸铵结晶紫 2 滴染色 1 min, 洗掉染色液, 吸干; 碘酒 2 滴染色 1 min, 清洗并吸干; 95% 乙醇脱色 30 s, 清洗并吸干; 石炭酸复红复染 3 min, 清洗并吸干。镜检: 选择染色均匀处, 细菌计数 1 000 个, 革兰氏阳性菌、阴性菌分别为紫色、红色, 计算粪便球杆比。以视野下 501 ~ 5 000 个菌群为正常, I 度、II 度、III 度菌群失调分别为计数 101 ~ 500 个、11 ~ 100 个、< 10 个。

1.2.3 疾病活动度评估 采用 Mayo 评分^[7] 评估 UC 活动度, (1) 腹泻: 正常为 0 分, 2 ~ 3 次/d 为 1 分, 4 ~ 5 次/d 为 2 分, ≥ 6 次/d 为 3 分; (2) 便血: 无为 0 分, 少部分时间便中混血为 1 分, 大部分时间便中出现混血为 2 分, 便血一直出现为 3 分; (3) 黏膜表现: 正常为 0 分, 轻度病变, 红斑、轻度易脆、充血水肿为 1 分, 中度病变, 红斑、血管缺乏纹理、易脆、糜烂、触及易出血为 2 分, 重度病变, 自发性出血、黏膜易脆、溃疡为 3 分; (4) 医师评估病情: 正常、轻、中、重分别为 0 分、1 分、2 分、3 分。以上各项评分之和即为 Mayo 总分, ≤ 2 分代表症状缓解; 3 ~ 5 分、6 ~ 10 分、11 ~ 12 分分别代表轻度、中度、重度活动; 医师评估 UC 病情如下: 轻度为腹泻 < 4 次/d, 无或仅存在轻度便血症状, 未出现贫血、脉速, 无发热表现, 血沉处于正常状态; 重度为腹泻 > 6 次/d, 并伴有明显黏液血便, 体温 > 37.5 °C, 脉搏 > 90 次/min, 血红蛋白水平 < 100 g/L, 血沉 > 30 mm/h; 中度介于轻重度之间。

1.2.4 内镜严重指数评估 采用 UC Baron 评分^[8]

评估:粘膜正常或仅现轻度红斑记0分;粘膜表现为水肿粗糙,血管纹理紊乱表现记1分;接触性出血、糜烂记2分,自发性出血同时有溃疡形成记3分。

1.3 观察指标

(1)UC患者和对照组、UC不同内镜严重指数及不同菌群失调患者及UC不同活动度患者血清IgA、IgG、IgM水平。(2)UC患者血清IgA、IgG、IgM水平与疾病活动度、内镜严重指数Baron评分和菌群失调度的关系。

1.4 统计学分析

采用SPSS20.0软件对数据进行分析与处理。计量资料符合正态分布且方差齐性,以($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较行独立样本 t 检验,多组间比较行单因素方差分析,多个均数两两比较行LSD- t 检验;计数资料以[$n(\%)$]表示,组间比较行独立样本 χ^2 检验;相关性采用Pearson相关性分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 UC组患者与对照组免疫球蛋白水平比较

UC组患者血清IgA、IgG、IgM水平均低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

表1 UC组患者与对照组免疫球蛋白水平比较($\bar{x} \pm s, g/L$)

组别	IgA	IgG	IgM
UC组($n=104$)	2.23 ± 0.49	11.18 ± 1.93	1.06 ± 0.23
对照组($n=60$)	2.80 ± 0.34	12.85 ± 1.58	1.57 ± 0.22
t 值	7.967	5.690	13.894
P 值	<0.001	<0.001	<0.001

2.2 UC缓解期与活动期患者免疫球蛋白水平比较

活动期组患者血清IgA、IgG、IgM水平均低于缓解期,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

表2 缓解期与活动期免疫球蛋白水平比较($\bar{x} \pm s, g/L$)

组别	IgA	IgG	IgM
缓解期组($n=39$)	2.53 ± 0.32	12.03 ± 1.51	1.27 ± 0.19
活动期组($n=65$)	2.05 ± 0.29	10.67 ± 1.43	0.94 ± 0.16
t 值	7.859	4.598	9.484
P 值	<0.001	<0.001	<0.001

2.3 UC不同内镜严重指数患者免疫球蛋白水平比较

UC不同内镜严重指数患者血清IgA、IgG、IgM水平比较,3分组<2分组<0~1分组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表3。

表3 不同内镜严重指数免疫球蛋白水平比较($\bar{x} \pm s, g/L$)

组别	IgA	IgG	IgM
0~1分组($n=12$)	2.57 ± 0.12	12.21 ± 0.93	1.39 ± 0.11
2分组($n=41$)	2.30 ± 0.19*	11.50 ± 1.01*	1.20 ± 0.26*
3分组($n=51$)	2.09 ± 0.21*#	10.68 ± 1.14*#	0.87 ± 0.13*#
F 值	34.318	12.999	54.195
P 值	<0.001	<0.001	<0.001

* $P < 0.05$,与0~1分组相比;# $P < 0.05$,与2分组相比。

2.4 UC不同菌群失调度患者免疫球蛋白水平比较

不同菌群失调度患者血清IgA、IgM水平比较:菌群正常和I度菌群失调组>II度菌群失调组>III度菌群失调组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表4。

表4 不同菌群失调度免疫球蛋白水平比较($\bar{x} \pm s, g/L$)

组别	IgA	IgG	IgM
菌群正常或I度失调组($n=53$)	2.41 ± 0.38	11.35 ± 1.62	1.18 ± 0.27
II度菌群失调组($n=25$)	2.18 ± 0.41*	11.07 ± 1.55	1.01 ± 0.22*
III度菌群失调组($n=26$)	1.92 ± 0.32*#	10.94 ± 1.49	0.87 ± 0.18*#
F 值	15.318	0.665	15.549
P 值	<0.001	0.517	<0.001

* $P < 0.05$,与菌群正常或I度失调组相比;# $P < 0.05$,与II度菌群失调组相比。

2.5 UC不同疾病活动度患者免疫球蛋白水平比较

UC不同疾病活动程度患者血清IgA、IgG、IgM水平比较,重度活动<中度活动<轻度活动,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表5。

表5 不同活动度免疫球蛋白水平比较($\bar{x} \pm s, g/L$)

组别	IgA	IgG	IgM
轻度活动组($n=20$)	2.31 ± 0.24	11.50 ± 1.40	1.12 ± 0.17
中度活动组($n=27$)	2.06 ± 0.21*	10.74 ± 1.28*	0.91 ± 0.15*
重度活动组($n=18$)	1.75 ± 0.25*#	9.64 ± 1.14*#	0.79 ± 0.13*#
F 值	27.914	10.175	23.493
P 值	<0.001	<0.001	<0.001

* $P < 0.05$,与轻度活动组相比;# $P < 0.05$,与中度活动组相比。

2.6 UC患者血清IgA、IgG、IgM水平与疾病活动度和内镜严重指数Baron评分的关系

相关性分析显示,UC患者血清IgA、IgG、IgM水平与疾病活动度和内镜严重指数Baron评分均呈负相关($r = -0.306$ 、 -0.297 、 -0.358 、 -0.514 、 -0.379 、 -0.505 , $P < 0.05$);血清IgA、IgG水平与菌群失调程度呈负相关($r = -0.405$ 、 -0.447 , $P < 0.05$)

3 讨论

UC是消化科常见的结直肠黏膜慢性炎症疾

病,患者临床表现为腹痛持续、腹泻、血便,治疗难度较大,可在一定程度上增加癌变风险^[9]。近年来随着我国经济水平提高,人们饮食结构和生活方式调整,UC 发病率也处于逐年升高的状态。

Noble 等^[10]研究证实,UC 患者普遍存在体液免疫紊乱和免疫球蛋白表达异常。本研究中与健康对照组比较,UC 组患者外周血 IgG、IgA、IgM 水平降低 ($P < 0.05$),与上述研究结果一致。从免疫学角度分析 UC 发病机制,免疫球蛋白异常表达,导致机体免疫调节失衡,IgM、IgG、IgA 水平降低,从而降低机体免疫防御能力,导致肠黏膜损伤,出现 UC 的临床和病理表现^[11]。

临床研究^[12]发现,UC 患者肠道内有益菌群数量如乳酸杆菌、双歧杆菌等比例降低,而有害菌如大肠杆菌、肠球菌比例则明显增加。本研究对比不同菌群失调度 UC 患者免疫球蛋白水平,结果显示,UC 不同菌群失调度患者血清 IgA、IgM 水平差异有统计学意义 ($P < 0.05$),菌群正常和 I 度菌群失调组 > II 度菌群失调组 > III 度菌群失调组,随着菌群失调程度加重,患者血清 IgA、IgG 水平呈下降趋势;相关性分析显示,血清 IgA、IgG 水平与菌群失调程度呈现负相关 ($P < 0.05$)。分析认为可能是 UC 患者肠道内菌群数量与比例改变,破坏微生态平衡,加重肠道内皮细胞损伤,机体免疫被显著抑制,IgA、IgG 异常低表达,进一步降低巨噬细胞作用,形成恶性循环,最终发生肠道炎症反应,引发 UC^[13]。

UC 为慢性复发性疾病,活动期、缓解期交替反复,因此应对患者疾病活动程度进行监测,以便及时调整治疗方案。Cho 等^[14]研究显示,UC 患者血清 IgG 水平与 Mayo 评分呈现负相关。本研究比较疾病活动期与缓解期 UC 患者免疫球蛋白水平,结果显示,活动期患者 IgA、IgG、IgM 水平均低于缓解期 ($P < 0.05$),且不同疾病活动程度 UC 患者血清 IgA、IgG、IgM 水平差异有统计学意义 ($P < 0.05$),且重度活动 < 中度活动 < 轻度活动,随着活动度的增大,IgA、IgG、IgM 水平也随之降低。此外,血清 IgA、IgG、IgM 水平与内镜严重指数 Baron 评分呈负相关 ($P < 0.05$),IgM、IgG、IgA 水平降低,肠道黏膜屏障保护功能降低,细菌无序繁殖,损伤肠道内皮细胞,形成炎症因子释放-肠道菌群失调-免疫功能异常的恶性循环,加重患者病情^[15]。肠道黏膜免疫系统异常反应导致的 IgA、IgG、IgM 低表达,在 UC 疾病发生、发展、转归中具有重要作用。

综上,UC 患者外周血免疫球蛋白水平低于健

康人群,且随菌群失调加重、疾病活动度与内镜严重指数增加进一步降低。

参考文献

- [1] 朱成雷,穆晶晶,徐静雯,等.紫甘薯花青素对 DSS 诱导的溃疡性结肠炎小鼠肠道屏障损伤的修复作用[J].中国病理生理杂志,2020,36(10):1844-1853.
- [2] Sun Y,Zhang Z,Zheng CQ,et al. Mucosal lesions of the upper gastrointestinal tract in patients with ulcerative colitis;a review[J]. World Journal of Gastroenterology,2021,27(22):2963-2978.
- [3] Song ZM,Liu F,Chen YM,et al. CTGF-mediated ERK signaling pathway influences the inflammatory factors and intestinal flora in ulcerative colitis[J]. Biomedicine & Pharmacotherapy,2019,111:1429-1437.
- [4] Zundler S,Becker E,Spocinska M,et al. Hobit- and Blimp-1-driven CD4+ tissue-resident memory T cells control chronic intestinal inflammation[J]. Nature Immunology,2019,20(3):288-300.
- [5] 俞媛,王卿华,陈媛洁,等.痛泻要方对溃疡性结肠炎患者免疫功能及肠道黏膜屏障的调节作用[J].中国中西医结合消化杂志,2020,28(11):858-862.
- [6] 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.
- [7] Lewis JD,Chuai S,Nessel L,et al. Use of the noninvasive components of the mayo score to assess clinical response in Ulcerative Colitis[J]. Inflammatory Bowel Diseases,2008,14(12):1660-1666.
- [8] Paine ER. Colonoscopic evaluation in ulcerative colitis[J]. Gastroenterology Report,2014,2(3):161-168.
- [9] Berends SE,Strik AS,Löwenberg M,et al. Clinical pharmacokinetic and pharmacodynamic considerations in the treatment of ulcerative colitis[J]. Clinical Pharmacokinetics,2019,58(1):15-37.
- [10] Noble A,Durant L,Hoyles L,et al. P093 Dysregulation of cellular vs humoral immunity to the intestinal microbiota in inflammatory bowel disease[J]. Journal of Crohn's and Colitis,2017,11(suppl_1):S123-S124.
- [11] 张巍,徐继轩,叶生亮,等.皮下注射免疫球蛋白的发展及临床应用[J].中国药房,2020,31(3):378-384.
- [12] 刘乐恒,张茜,薛庆节,等.肠道菌群及其在炎症性肠病中的作用[J].中国免疫学杂志,2020,36(16):2036-2041.
- [13] Karnell JL,Rieder SA,Ettinger R,et al. Targeting the CD40-CD40L pathway in autoimmune diseases:Humoral immunity and beyond[J]. Advanced Drug Delivery Reviews,2019,141:92-103.
- [14] Cho H,Jaime H,de Oliveira RP,et al. Defective IgA response to atypical intestinal commensals in IL-21 receptor deficiency reshapes immune cell homeostasis and mucosal immunity[J]. Mucosal Immunology,2019,12(1):85-96.
- [15] 李超,王丹,石喜习,等.炎症性肠病患者肠道菌群分布及其与炎症指标和免疫球蛋白水平的关系[J].中国微生态学杂志,2020,32(11):1293-1296.

(收稿日期:2023-02-06

修回日期:2023-04-02)