

临床研究

结直肠癌围手术期替代应用肠道微生态制剂对肠道菌群及机体免疫功能的影响

朱达坚, 陈小伍, 伍锦浩, 刷永乐, 封静, 陆光生, 欧阳满照, 任宝军, 李泳
南方医科大学附属顺德第一人民医院胃肠胰外科, 广东 佛山 528300

摘要:目的 探讨结直肠癌患者围手术期应用肠道微生态制剂代替传统的术前口服肠道抗菌药对肠道菌群及机体免疫功能的影响。方法 选取需施行腹腔镜结直肠癌根治术病例60例,随机分为对照组和实验组,30例/组。对照组术前肠道准备按传统方法(术前口服肠道抗菌药),实验组于术前5 d起口服肠道微生态制剂(金双歧片)2.0 g, 3次/d,代替术前肠道抗菌药的使用,术后24 h起口服金双歧片2.0 g, 3次/d,至术后第7天。于入院时、术后第7天收集两组新鲜大便以及空腹外周静脉血,比较两组肠道菌群比例,以及血清白介素-2(IL-2)、IgA、IgG和IgM浓度、NK细胞活性、T淋巴细胞亚群CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺比例及CD4⁺/CD8⁺比值。结果 肠道菌群:术后第7天实验组的双歧杆菌、乳酸杆菌、肠球菌菌群数量显著高于对照组($P<0.05$),大肠杆菌、葡萄球菌数量显著低于对照组($P<0.05$);体液免疫功能:术后第7天实验组IL-2、IgA、IgG、IgM水平均显著高于对照组($P<0.05$);细胞免疫功能:术后第7天实验组CD4⁺水平显著高于对照组($P<0.05$)。结论 结直肠癌围手术期应用肠道微生态制剂代替传统的术前口服肠道抗菌药,不仅能有效地纠正肠道菌群失调,还具有改善术后患者免疫功能低下的作用。

关键词:结直肠癌;肠道微生态制剂;免疫功能

中图分类号:R574.63 文献标志码:A 文章编号:1673-4254(2012)08-1190-04

doi: 10.3969/j.issn.1673-4254.2012.08.27 <http://www.cnki.net/kcms/detail/44.1627.R.20120716.1133.028.html>

Effect of perioperative intestinal probiotics on intestinal flora and immune function in patients with colorectal cancer

ZHU Dajian, CHEN Xiaowu, WU Jinhao, JU Yongle, FENG Jing, LU Guangsheng, OUYANG Manzhao, REN Baojun, LI Yong
Department of Gastrointestinal Surgery, Shunde First People's Hospital Affiliated to Southern Medical University, Foshan 528300, China

Abstract: Objective To investigate the effect of perioperative application of intestinal probiotics to substitute oral intestinal antimicrobial agents on intestinal flora and immune function in surgical patients with colorectal cancer. **Methods** Sixty patients with colorectal cancer undergoing elective laparoscopic radical surgery were randomized to receive preoperative bowel preparation using oral intestinal antimicrobial agents ($n=20$) or using oral intestinal probiotics (*Jinshuangqi* Tablets, 2.0 g, 3 times daily) since the fifth day before the operation and at 24 h after the operation for 7 consecutive days. Upon admission and 7 days after the operation, fecal samples and fasting peripheral venous blood were collected from the patients to examine the intestinal flora and serum levels of interleukin-2 (IL-2), IgA, IgG, and IgM, NK cell activity, T lymphocytes subsets CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺ and CD4⁺/CD8⁺ ratio. **Results** At 7 days after the operation, the patients receiving probiotics showed significantly increased counts of intestinal *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, and *Enterococcus* ($P<0.05$) and significantly lowered counts of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* ($P<0.05$). The serum levels of IL-2, IgA, IgG and IgM as well as CD4⁺ cell percentage all increased significantly in probiotics group compared with those in patients with conventional intestinal preparation ($P<0.05$). **Conclusion** Perioperative application of intestinal probiotics to replace preoperative oral intestinal antimicrobial agents can effectively correct intestinal flora imbalance and improve the immune function of surgical patients with colorectal cancer.

Key words: colorectal cancer; intestinal probiotics; immune function

结直肠癌(CRC)是常见的消化道恶性肿瘤之一。临床研究发现结直肠癌患者存在明显的肠道粘膜菌群失衡,主要表现为以双歧杆菌为代表的厌氧菌显著减少,以大肠杆菌为代表的需氧菌显著增加,厌氧菌和需氧菌比例(B/E)倒置,手术后菌群失衡现象更为严重^[1]。

其原因可能与术前使用肠道抗菌药,非选择性地杀灭革兰氏阴性杆菌和厌氧菌有关。另外,实验研究发现肠道菌群失衡可导致机体体液免疫、细胞免疫以及非特异性免疫功能下降^[2]。如何在结直肠癌围手术期纠正肠道菌群失衡显得尤为重要。本研究拟通过在结直肠癌围手术期应用肠道微生态制剂代替传统的术前口服肠道抗菌药,以期纠正肠道菌群失衡,探讨由此对患者机体免疫功能的影响,为今后结直肠癌围手术期的处理提供

收稿日期:2012-05-12

基金项目:广东省医学科学技术研究基金(A2009675)

作者简介:朱达坚,硕士,副主任医师,E-mail: zhudajian123@sina.com

新思路。

1 资料与方法

1.1 一般资料

本研究采用前瞻、单盲、随机、对照的研究设计。选取需施行腹腔镜结直肠癌根治术的结直肠癌病例60例,按信封法随机分成两组,分别为对照组(术前使用肠道抗菌药)和实验组(术前替代使用肠道微生态制剂),30例/组。病例入选标准:(1)肠镜提示结肠或直肠单个肿瘤;(2)活检病理检查证实为腺癌。病例排除标准:(1)术前已有肠梗阻、肠穿孔表现;(2)腹腔和盆腔B超或CT及胸片检查提示已有远处转移(M1);(3)既往有结直肠手术或放化疗史;(4)治疗前肠镜检查提示多原发大肠癌;(5)因重要器官功能不能耐受手术的。手术方式均为腹腔镜结直肠癌根治术。

1.2 围手术期处理方法

对照组病例术前按传统肠道准备方法,术前3 d起口服卡那霉素1 g,灭滴灵0.4 g,维生素K 48 mg,3次/d;术前第2、3天进食半流质饮食,术前1 d进食全流质饮食;术前晚口服蓖麻油30 ml,术前一晚及术晨均清洁灌肠;于麻醉诱导期给予头孢哌酮+舒巴坦2 g静脉推注,术后再给予头孢哌酮+舒巴坦2 g静脉推注,2次/d,连续3 d;术后24 h拔除胃管,口服瑞能早期肠内营养。

实验组病例于术前5 d起口服双歧杆菌、乳杆菌、嗜热链球菌三联活菌片(金双歧)2.0 g,3次/d,代替术前肠道抗菌药的使用,术前饮食、口服泻剂、灌肠及术中、术后使用抗生素同对照组,于术后24 h拔除胃管早期肠内营养时加口服金双歧片2.0 g,3次/d,至术后第7天。

1.3 检测内容包括

1.3.1 肠道菌群的检测 于入院时、术后第7天收集两组病例新鲜大便0.5 g,稀释后接种于双歧杆菌、乳酸杆菌、肠球菌、大肠杆菌、葡萄球菌、酵母菌、类杆菌、消化链球菌等8种选择性培养基平板上进行细菌培养,分析肠道菌群比例。

1.3.2 体液免疫功能的测定 于入院时、术后第7天采集两组病例空腹外周静脉血,采用ELISA方法测定血清白介素-2(IL-2)、IgA、IgG和IgM浓度。

1.3.3 细胞免疫功能的测定 于入院时、术后第7天采集两组病例空腹外周静脉血,分别采用核素释放法测定NK细胞活性,采用直标荧光抗体及免疫荧光流式细胞术检测T淋巴细胞亚群CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺比例及CD4⁺/CD8⁺比值。

1.4 统计学处理

所有计量数据以均值±标准差表示,两个独立样本计量数据比较用*t*检验,检验水准 $\alpha=0.05$,所有数据均采用SPSS 13.0统计软件包进行统计学处理。

2 结果

2.1 病例资料

选取顺德第一人民医院2010年1月~2011年6月期间所收治的结直肠癌病例60例(男36例,女24例),平均年龄(61.2±10.5)岁;其中升结肠癌12例,横结肠癌9例,降结肠癌18例,直肠癌21例;病理学类型:高分化腺癌10例,中分化腺癌31例,低分化腺癌19例;术后病理Dukes分期:A期8例,B期23例,C期29例。60例病例随机分成对照组和实验组,30例/组。两组病例年龄、肿瘤位置、病理学类型、Dukes分期比较无显著性差异。

2.2 肠道菌群数量比较

入院时两组肠道菌群数量比较无显著差异($P>0.05$)。术后第7天实验组的双歧杆菌、乳酸杆菌、肠球菌菌群数量较入院时显著增加($P<0.05$),大肠杆菌、酵母菌、类杆菌、消化链球菌菌群数量较入院时则无显著改变($P>0.05$),双歧杆菌与大肠杆菌数量比值(B/E)显著增加($P<0.05$);而对照组的双歧杆菌、乳酸杆菌、肠球菌菌群数量较入院时显著减少($P<0.05$),大肠杆菌、葡萄球菌、酵母菌、类杆菌菌群数量较入院时显著增加($P<0.05$),B/E值出现倒置。术后第7天实验组的双歧杆菌、乳酸杆菌、肠球菌菌群数量显著高于对照组($P<0.05$),大肠杆菌、葡萄球菌数量显著低于对照组($P<0.05$,表1)。

2.3 体液免疫功能指标比较

入院时两组IL-2、IgA、IgG、IgM水平比较无显著差异($P>0.05$)。术后第7天实验组IL-2和IgA水平较入院时则无显著改变($P>0.05$),IgM和IgG水平较入院时显著性下降($P<0.05$),对照组IL-2、IgA、IgG、IgM水平则较入院时显著性下降($P<0.05$)。术后第7天实验组IL-2、IgA、IgG、IgM水平均显著高于对照组($P<0.05$,表2)。

2.4 细胞免疫功能指标比较

入院时两组NK、CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺水平比较无显著差异($P>0.05$)。术后第7天两组NK、CD3⁺、CD4⁺和CD8⁺水平与入院时相比均有显著性下降($P<0.05$),术后第7天实验组CD4⁺水平显著高于对照组($P<0.05$),两组NK、CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺水平比较无显著差异($P>0.05$,表3)。

3 讨论

随着经济不断发展,人们饮食习惯的改变,我国结直肠癌发病率逐渐升高。目前已证明结直肠癌的发生发展与饮食习惯导致的肠道内环境改变密切相关^[3],而肠道菌群是构成肠道内环境的重要因素^[4]。研究结果显示结直肠癌患者术前肠道菌群在种类、数量、比例、定位和生物学特性上就发生了变化,主要表现为以双歧杆菌为代表的厌氧菌显著减少,以大肠杆菌为代表的需氧

表1 两组病例肠道菌群比较

Tab.1 Comparison of intestinal flora between the two groups (Mean±SD, n=30)

肠道菌群	实验组				对照组				t [#]	P [#]
	入院时	术后7 d	t	P	入院时	术后7 d	t	P		
双歧杆菌	7.73±0.86	9.21±0.80	6.84	0.00	8.03±1.04	4.30±1.12	13.35	0.00	19.54	0.00
乳酸杆菌	8.08±1.04	9.20±0.85	4.55	0.00	8.06±1.10	4.52±0.98	13.17	0.00	19.76	0.00
肠球菌	7.20±0.95	8.48±0.81	5.61	0.00	6.92±1.29	5.14±1.20	5.51	0.00	12.56	0.00
大肠杆菌	7.53±0.58	7.77±0.68	1.48	0.15	7.68±0.57	8.63±0.71	5.70	0.00	4.78	0.00
葡萄球菌	3.70±0.39	3.97±0.42	2.57	0.01	3.59±0.46	4.45±0.52	6.92	0.00	3.95	0.00
酵母菌	3.92±0.63	4.27±0.76	1.89	0.06	3.82±0.48	4.36±0.51	4.22	0.00	0.53	0.60
类杆菌	8.05±0.78	8.41±0.75	1.86	0.07	7.79±0.89	8.67±1.01	3.56	0.00	1.10	0.27
消化链球菌	8.14±0.86	8.32±0.66	0.92	0.36	7.95±0.87	8.01±0.93	0.24	0.81	1.50	0.14
双歧/大肠	1.03±0.16	1.19±0.14	4.15	0.00	1.05±0.16	0.50±0.12	15.14	0.00	20.34	0.00

#: 术后第7天实验组与对照组的比较

表2 两组病例体液免疫功能比较

Tab.2 Comparison of humoral immune status between the two groups (Mean±SD, n=30)

功能指标	实验组				对照组				t [#]	P [#]
	入院时	术后7 d	t	P	入院时	术后7 d	t	P		
IL-2(ng/ml)	12.32±0.63	12.04±0.72	1.67	0.10	12.35±0.77	11.09±0.78	6.27	0.00	4.86	0.00
IgA(g/L)	2.52±0.26	2.47±0.22	0.87	0.39	2.61±0.31	2.26±0.23	5.03	0.00	3.70	0.00
IgG(g/L)	14.57±1.42	12.58±1.16	5.94	0.00	14.69±1.50	11.16±1.11	10.34	0.00	4.85	0.00
IgM(g/L)	1.50±0.09	1.45±0.10	2.20	0.03	1.56±0.09	1.40±0.08	6.69	0.00	2.15	0.04

#: 术后第7天实验组与对照组的比较

表3 两组患者细胞免疫功能比较

Tab.3 Comparison of cellular immune function between the two groups (Mean±SD, n=30)

功能指标	实验组				对照组				t [#]	P [#]
	入院时	术后7 d	t	P	入院时	术后7 d	t	P		
NK(%)	22.25±1.21	20.26±1.04	6.84	0.00	21.98±1.08	19.87±1.03	7.70	0.00	1.42	0.16
CD3 ⁺ (%)	55.62±1.89	53.27±2.38	4.24	0.00	55.89±2.10	52.57±2.71	5.31	0.00	1.05	0.30
CD4 ⁺ (%)	39.95±1.39	37.87±1.53	5.49	0.00	39.74±1.51	36.83±1.55	7.36	0.00	2.60	0.01
CD8 ⁺ (%)	21.79±1.54	20.51±1.50	3.26	0.00	22.14±1.76	19.90±1.50	5.29	0.00	1.57	0.12
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	1.84±0.17	1.86±0.18	0.32	0.75	1.81±0.14	1.86±0.15	1.41	0.16	0.04	0.97

#: 术后第7天实验组与对照组的比较

菌显著增加,厌氧菌和需氧菌比例(B/E)倒置,术后上述变化更加明显^[5-6]。本研究中,对照组入院时和术后第7天的肠道菌群培养结果亦得到了相同的结论。分析其原因,主要与围手术期的一些处理措施:如术前口服肠道抗生素及泻剂、手术麻醉刺激、术后禁食及预防性抗生素的持续应用有关。术前口服肠道抗生素,非选择性地杀灭革兰氏阴性杆菌和厌氧菌有关,使双歧杆菌等生长受抑,破坏肠道黏膜由大肠杆菌、肠球菌、类杆菌和双歧杆菌构成的特异性生物屏障。本研究中,我们术前应用肠道微生态制剂替代口服肠道抗生素,并在术后的早期肠内营养中加入肠道微生态制剂,结果发现,该处理措施能显著地提高术后肠道内双歧杆菌、乳酸杆菌等有

益菌群的数量,减少大肠杆菌、葡萄球菌等致病菌群的数量,纠正术前双歧杆菌与大肠杆菌数量比值(B/E)的倒置。分析其原因,应用肠道微生态制剂替代肠道抗生素,第一,可以避免肠道抗生素非选择性地杀灭革兰氏阴性杆菌和厌氧菌,使双歧杆菌等生长受抑;第二,在围手术期添加双歧杆菌、乳酸杆菌等益生菌可以直接增加肠道内的益生菌的数量,这些益生菌能黏附于肠上皮微绒毛的刷状缘和黏膜层而不被术前口服泻剂所冲走,它能拮抗肠道病原微生物定植和集群生长、拮抗酸性代谢产物(乙酸、乳酸、短链脂肪酸等)、降低肠道局部pH和产生具有广谱抗菌作用的物质,如脂分子、细菌素、过氧化氢、二乙酰、二氧化碳和乙醛等^[7-9],这些物质对肠道

内的大肠埃希菌、沙门菌和链球菌等均有抑菌或杀菌作用,在营养物质有限的情况下,益生菌还可通过其优势生长,竞争性地消耗潜在致病菌的营养素。

上述研究结果显示结直肠癌围手术期应用肠道微生态制剂代替传统的术前口服肠道抗菌药能有效地纠正肠道菌群失调,提高肠道内双歧杆菌、乳酸杆菌等益生菌群的数量,减少大肠杆菌、葡萄球菌等致病菌群的数量。除此以外,本研究结果进一步发现上述措施还具有改善术后患者IL-2、IgA、IgG、IgM体液免疫功能和CD4⁺细胞免疫功能低下的作用。以往曾有研究将三联活菌应用于肝炎后肝硬化患者,结果发现,治疗后随着肠道菌群失衡的改善,外周血中CD4⁺阳性淋巴细胞较治疗前显著增加,提示三联活菌具有一定的免疫调节作用^[10]。结直肠癌患者术前多伴有不同程度的免疫功能低下,而受饮食限制、麻醉和手术的影响,又可使病人机体免疫状况进一步下降^[11-14]。本研究结果显示结直肠癌围手术期应用肠道微生态制剂代替传统的术前口服肠道抗菌药可以有效地改善术后患者免疫功能低下情况。这可能与微生态制剂治疗后肠道菌群比例失调改善,正常的肠道菌群具有刺激宿主免疫功能的作用有关^[15],另外,乳酸杆菌可刺激脾中的NK细胞活性,使TH1细胞增殖,使IgE抗体产生增加^[16]。本研究结果中,肠道微生态制剂对提高细胞免疫功能NK、CD3⁺、CD8⁺作用不大,可能与本研究中实验组术后添加肠道微生态制剂治疗时间不够长有关,如果延长治疗时间,肠道微生态制剂可能会显著提高机体的细胞免疫功能。

综上所述,结直肠癌围手术期替代应用肠道微生态制剂不仅能有效地纠正肠道菌群失调,同时还具有改善术后患者IL-2、IgA、IgG、IgM体液免疫功能和CD4⁺细胞免疫功能低下的作用。

参考文献:

[1] 包维民,王昆华,唐映梅,等.结直肠癌患者手术前后肠道菌群与正常人群的比较[J].结直肠肛门外科,2009,15(4):224-6.

- [2] 梁庆红,张琳,段恕诚,等.肠道菌群失调对小鼠免疫和造血功能状态的影响[J].中华儿科杂志,2004,42(9):708-11.
- [3] Compare D, Nardone G. Contribution of gut microbiota to colonic and extracolonic cancer development [J]. Dig Dis, 2011, 29(6): 554-61.
- [4] West NP, Pyne DB, Peake JM, et al. Probiotics, immunity and exercise: a review[J]. Exerc Immunol Rev, 2009, 15: 107-26.
- [5] Correia MI, Liboredo JC, Consoli ML. The role of probiotics in gastrointestinal surgery[J]. Nutrition, 2012, 28(3): 230-4.
- [6] Jeppsson B, Mangell P, Thorlacius H. Use of probiotics as prophylaxis for postoperative infections [J]. Nutrients, 2011, 3(5): 604-12.
- [7] Ohland CL, Macnaughton WK. Probiotic bacteria and intestinal epithelial barrier function [J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2010, 298(6): G807-19.
- [8] Horvat M, Krebs B, Potrc S, et al. Preoperative synbiotic bowel conditioning for elective colorectal surgery [J]. Wien Klin Wochenschr, 2010, 122(2): 26-30.
- [9] 王明华,罗志飞,李群.结内边缘区B细胞淋巴瘤1例及文献复习[J].海南医学院学报,2011,17(5):594-7.
- [10] 孙晓晖.微生态制剂对肝硬化患者肠道菌群与细胞免疫功能的影响[J].中国现代医生,2011,49(18):1-2,11.
- [11] 林岩,许允琪,丁蓉.肠安康合剂联合FOLFOX4方案治疗晚期结直肠癌临床疗效观察[J].实用临床医药杂志,2010,14(23):52-4.
- [12] 吴东平,贺孝文.结直肠癌中NOB1基因的表达及意义[J].南方医科大学学报,2012,32(3):420-2.
- [13] Nespoli L, Uggeri F, Romano F, et al. Modulation of systemic and intestinal immune response by interleukin-2 therapy in gastrointestinal surgical oncology. Personal experience in the context of current knowledge and future perspectives[J]. Anticancer Res, 2012, 32(3): 989-96.
- [14] 何苗,程宏文.替吉奥联合奥沙利铂治疗晚期结直肠癌的疗效观察[J].实用临床医药杂志,2011,15(17):110-2.
- [15] 赵海英,王惠吉,吕治,等.益生菌对肝硬化患者肠道菌群及外周血T细胞亚群的影响[J].中国新药杂志,2005,14(11):1347-9.
- [16] Górska S, Jarzab A, Gamian A. Probiotic bacteria in the human gastrointestinal tract as a factor stimulating the immune system[J]. Postepy Hig Med Dosw, 2009, 63(23): 653-67.

(编辑:孙昌朋)