

文章编号:1000-5404(2012)23-2411-05

论著

早期类风湿关节炎患者肠道微生物群落分析

刘晓飞¹, 王志中², 王勇¹, 李景怡¹, 张娟³, 曾本华⁴, 万萍¹, 吴力克³, 魏泓⁴, 方勇飞¹ (400038 重庆, 第三军医大学: 西南医院中西医结合科¹, 西南医院全军感染病研究所³, 基础医学部实验动物学教研室⁴; 830000 乌鲁木齐, 解放军第474医院中医康复科²)

[摘要] **目的** 研究类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)患者肠道微生物群落分布特点,探讨类风湿关节炎与肠道菌群的关系。**方法** 收集30例早期RA患者(RA组)与21例健康受试者(对照组)粪便样本,培养与测定肠道菌群计数水平;提取粪便样本基因组DNA,PCR扩增细菌V6-V8区16S rDNA,产物经变性梯度凝胶电泳分离,获得肠道菌群DGGE图谱,分析肠道细菌丰富度、Shannon-Wiener指数、均匀度指标,用非加权类平均法对图像进行相似性聚类分析,并绘出聚类树形图,研究RA患者肠道菌群结构与健康受试者的差异。**结果** 双歧杆菌含量:RA组为(6.21 ± 1.48) CFU/ml,显著低于对照组(8.55 ± 0.90) CFU/ml($P < 0.01$),脆弱类杆菌的含量:RA组为(6.54 ± 1.28) CFU/ml,显著低于对照组(8.73 ± 0.90) CFU/ml($P < 0.01$),乳杆菌、梭菌、肠杆菌、肠球菌数量差异无统计学意义($P > 0.05$)。肠道菌群DGGE图谱示:与对照组[丰富度:(22.8 ± 3.12);Shannon-Wiener指数:(2.98 ± 0.26);均匀度:(0.96 ± 0.05)]相比,RA组丰富度[(16.0 ± 1.05), $P < 0.01$]、Shannon-Wiener指数[(2.48 ± 0.14), $P < 0.01$]和均匀度[(0.90 ± 0.05), $P < 0.01$]显著降低,分别表明RA患者肠道细菌的种类(丰富度)、菌群结构复杂程度、细菌的相对密度(均匀度)显著降低,在DGGE图谱下方区域RA患者肠道菌群条带数量减少,消失明显。图谱相似性聚类分析显示:20例样本聚为两类,一类样本中包含10例患者与1例健康人,二类样本中包含9例健康人。表明RA患者肠道菌群有较高的相似性,RA与健康人肠道菌群相似性低。**结论** 早期RA患者肠道存在菌群失调,肠道细菌数量及结构与健康人有显著差异,其差异变化可能是类风湿关节炎的发病因素之一。

[关键词] 肠道菌群;DGGE;早期类风湿关节炎;多样性指数

[中图分类号] R372; R378; R593.22

[文献标志码] A

Analysis of intestinal microbial community structure in patients with early rheumatoid arthritis

Liu Xiaofei¹, Wang Zhizhong², Wang Yong¹, Li Jingyi¹, Zhang Juan³, Zeng Benghua⁴, Wan Ping¹, Wu Like³, Wei Hong⁴, Fang Yongfei¹ (¹Department of Chinese and Western Integrated Medicine, ³Department of Infectious Diseases, Southwest Hospital, ⁴Department of Laboratory Animal Science, College of Basic Medical Sciences, Third Military Medical University, Chongqing, 400038; ²Department of Rehabilitation, No. 474 Hospital of PLA, Urumqi, Xinjiang Uygur Autonomous Region, 830000, China)

[Abstract] **Objective** To analyze the features of intestinal microbial community structure in patients with rheumatoid arthritis (RA), and to investigate the relationship between RA and intestinal flora. **Methods** Fecal samples were collected from 30 patients with RA (RA group) and 21 healthy individuals (control group). The intestinal flora was cultured and the intestinal flora counts were determined. Bacterial DNA was extracted, and the amplicons of the V6-V8 variable regions of bacterial 16S rDNA were analyzed by denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE). The richness, Shannon-Wiener index and evenness of the intestinal flora were analyzed after the DGGE profiles were obtained. A distance tree was constructed using clustering analysis with the unweighted pair-group method with arithmetic mean (UPGMA). The structures of the intestinal flora between the RA patients and healthy subjects were compared. **Results** The fecal microbiota of the RA group contained significantly less *Bacillus bifidus* and *Bacteroides fragilis* (6.21 ± 1.48 and 6.54 ± 1.28 CFU/ml) than that of the control group did (8.55 ± 0.90 CFU/ml and 8.73 ± 0.90 CFU/ml, $P < 0.01$), while the counts of *Lactobacillus*, *Clostridium*, *Enterobacter* and *Enterococci* were not significantly altered ($P > 0.05$).

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81072921)

[通信作者] 方勇飞,电话:(023) 68754135, E-mail: fyfalan@163.com

As compared with the control group (richness: 22.8 ± 3.12 , Shannon-Wiener: 2.98 ± 0.26 and evenness: 0.96 ± 0.05), the richness (16.0 ± 1.05 , $P < 0.01$), Shannon-Wiener (2.48 ± 0.14 , $P < 0.01$) and evenness (0.90 ± 0.05 , $P < 0.01$) of the RA group significantly reduced, suggesting the number of bacterial species (richness), the diversity of total bacteria and their relative abundance (evenness) in the RA patients decreased remarkably. Moreover, some bands were not detected in the DGGE profile of the RA group. In the cluster analysis of the DGGE profiles, two clusters were found in 20 samples. One cluster included 10 RA samples and 1 control samples, and another cluster contained 9 control samples. It represented high similarity in the same sample group, but low similarity between different groups. **Conclusion** Enteric dysbacteriosis is detected in patients with early RA, and remarkable differences are observed in intestinal microflora between RA patients and healthy individuals. The changes of intestinal flora may be related to the pathogenesis of RA.

[Key words] intestinal microflora; rheumatoid arthritis; PCR-DGGE; microflora diversity

Supported by the National Natural Science Foundation of China (81072921). Corresponding author: Fang Yongfei, Tel: 86-23-68754135, E-mail: fyfalan@163.com

类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)是一种以慢性滑膜炎、骨质破坏及关节功能丧失为特征的自身免疫性疾病,目前发病机制不明确。研究表明,RA发病受遗传与内外环境因素共同影响^[1]。肠道微生态环境与宿主的生长、发育及物质代谢关系密切,影响机体免疫应答功能^[2],其与RA发病关系的研究近年来受到重视^[3]。我们收集早期RA患者粪便标本,采用活菌培养计数法与PCR-DGGE技术,检测肠道活菌培养计数水平、肠道细菌丰富度、Shannon-Wiener指数等指标,探寻肠道菌群数量变化、分布特点与RA疾病的关系。

1 资料与方法

1.1 病例选择和标本采集

RA组:收集第三军医大学西南医院风湿科30例早期RA患者粪便标本,其中男性6例,女性24例,年龄8~71(42 ± 14)岁。对照组:收集21例健康人粪便标本,其中男性14例,女性7例,年龄23~38(29 ± 5.0)岁。所有志愿者2个月内未服用抗生素,无胃肠炎病史,无特殊饮食习惯,在签署知情同意后,于每日早8:00~9:00收集新鲜粪便标本,30min内完成菌群接种,剩余粪便冻存于-70℃备用^[4]。

纳入标准:符合1987年ACR和2010年ACR/EULAR的RA分类标准,病程≤6个月。

排除标准:不符合上述纳入标准,或既往接受改善病情抗风湿药(DMARDs)或泼尼松类药物、正在服用抗生素、近2个月内有胃肠炎病史、有特殊饮食习惯者。重叠其他风湿类疾病如系统性红斑狼疮、干燥综合征、严重的膝骨关节炎等,或合并心、脑、肝、肾和造血系统等严重疾病者,或妊娠、哺乳期妇女、精神病患者等。

1.2 试剂和培养基

培养基包括梭菌鉴别琼脂DCA(生产批号HB0284)、MRS琼脂(生产批号HB0384)、双歧杆菌BS培养基(生产批号HB0394)、脆弱拟杆菌活化培养基肉汤(生产批号HB8712)、

肠球菌琼脂(胆盐-七叶苷-叠氮钠琼脂)(生产批号HB0133)及伊红美蓝琼脂EMB(生产批号HB0107),购自青岛海博生物技术有限公司。PCR引物合成于上海英骏公司,2×PowerTaq PCR MasterMix购自Biotek公司,Marker V(目录号MD105)购自天根公司。

1.3 实验方法

1.3.1 人体肠道菌群活菌计数分析 无菌采取新鲜粪便0.2g,加入内含无菌玻璃珠的试管中,振荡混匀,10倍倍比稀释,将各浓度在选择培养基上培养计数根据菌落形态、革兰染色鉴定所需的菌,平板最小检出率为100个菌落/样品,所得结果换算成以10为底的对数值。培养基见表1,其培养温度均为37℃。

表1 培养基及其检测菌种的情况

菌种	培养基	培养条件	鉴定标准
双歧杆菌	BS	厌氧培养48h	镜检为G ⁺ 、形态不规则、无芽孢
乳杆菌	MRS	厌氧培养48h	镜检为G ⁺ 、形态规则、无芽孢
拟杆菌	脆弱拟杆菌活化培养基肉汤	厌氧培养48h	镜检为G ⁻ 、两端钝圆、染深色
梭菌	DCA	厌氧培养48h	镜检为G ⁺ 、形态梭形、有芽孢
肠球菌	胆盐-七叶苷-叠氮钠琼脂	需氧培养24h	镜检为G ⁺ 、褐色圈、所有菌落
肠杆菌	EMB	需氧培养24h	镜检为G ⁻ 、无芽孢、所有菌落

1.3.2 DGGE分析

1.3.2.1 粪便DNA的提取 参照Muyzer等^[4]的方法,提取粪便菌群总DNA。称量0.1g粪便,转移到2ml的灭菌螺口管(Bio-Spec),加入0.4g铅珠,700μl的细菌裂解缓冲液(500mmol/L NaCl,50mmol/L Tris-HCl,pH=8.0,50mmol/L EDTA,4% SDS),250μl酚:氯仿:异戊醇(25:24:1, Promega),以最大转速在Mini Bead Beater™(Bio-Spec, USA)研磨机上研磨2min,离心5min,将上清液转入1.5ml离心管,添加10mol/L乙酸铵250μl,混匀,冰孵5min,20000×g离心10min,用500μl酚:氯仿:异戊醇(25:24:1)和氯仿抽提上清2次,各3min,向离心管中添加与上清等体积的预冷异丙醇混合均匀,在20℃放置30min,20000×g离心10min获得沉淀用70%乙醇漂洗,自然干燥,加入50μl TE(pH=8.0)和2μl

DNA free-RNase (10 mg/ml)在37℃孵育15 min。用NanoDrop ND-1000 核酸定量仪(Nanodrop technologies)测定样品DNA含量。1.0%的琼脂糖凝胶电泳检验DNA的完整性。

1.3.2.2 PCR扩增 以16SrDNA基因的V6-V8区序列为靶标,扩增肠道菌群DNA。设计V6-V8区引物扩增序列长度489 bp;上游引物(5'-GCclamp * AACGCGAAGAACCCTTAC-3'),下游引物(5'-CGGTGTGTACAAGACCC-3');PCR反应体系:1 μl DNA模板,V6-V8区上下游引物各0.5 μl,12.5 μl 2 × Power Taq MasterMix(BioTeke),加去离子水补充到25 μl。PCR反应条件为:94℃ 5 min;30个循环(94℃ 30 s,56℃ 30 s,72℃ 1 min);72℃ 8 min。PCR完成后,用1.0%琼脂糖凝胶电泳检测其产物完整性,-20℃保存备用。

1.3.2.3 DGGE电泳及染色 参照Muyzer等^[4]的方法,针对16SrDNA的V6-V8区序列扩增产物进行DGGE电泳。采用8.0%聚丙烯酰胺凝胶,变性梯度为35%~65%(100%变性梯度定义为包含7 mol/L尿素和40%甲酰胺),用DCode™ Universal Mutation Detection System(Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA)在220 V预电泳8 min,然后改为85 V电泳16 h。硝酸银染色,获得DGGE凝胶图。

1.3.2.4 DGGE图谱分析 采用Quantity One(Bio-Rad)软件进行相似性和多样性分析,调节图片对比度,去除图片背景。自动为泳道编号,去除泳道背景,识别泳道条带,对DGGE条带数、条带位置及亮度信息进行数值化分析,获得数据矩阵。根据数据矩阵,对肠道微生物区系的菌群多样性进行分析^[5-6],丰富度(richness, S);DGGE图谱每泳道的条带数,每个条带对应为1种菌;多样性Shannon-Wiener指数(H): $H = -\sum Pi \ln Pi$, Pi为第i条带的光密度与该泳道所有条带光密度总和的比值;条带均匀度(E): $E = H/H_{max}$, $H_{max} = \ln S$,其中E为均匀性指数,E值反映肠道各种菌含量的均匀程度,H为实测多样性值, H_{max} 为在最大均匀性(各条带光密度值相等)条件下,条带多样性值。肠道各种细菌含量占总细菌比例相等时,E值最大,菌群最均匀。运用非加权类平均法(unweighted-pair group method arithmetic mean,UPGMA)对图像进行聚类分析,并绘出聚类树形图。

1.4 统计学分析

采用SPSS 18.0统计学软件进行分析,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用独立样本t检验。

2 结果

2.1 肠道菌群培养结果

6种活菌数据经Shapiro-Wilk正态性检验,均符合正态分布,采用独立样本t检验,结果显示:两组间双歧杆菌与脆弱类杆菌计数水平差异有统计学意义($P < 0.05$);其他细菌计数水平差异无统计学意义,见表2。

表2 肠道菌群培养计数结果(CFU/ml, $\bar{x} \pm s$)

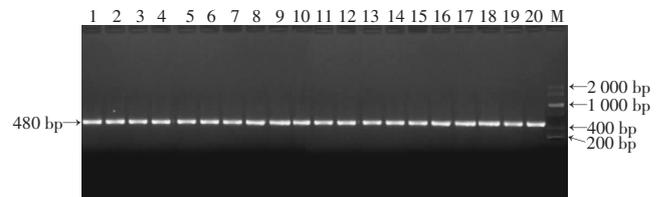
组别	n	双歧杆菌	乳杆菌	脆弱类杆菌	梭菌	肠杆菌	肠球菌
对照组	21	8.55 ± 0.90	6.78 ± 1.18	8.73 ± 0.90	8.41 ± 0.40	7.85 ± 0.84	6.71 ± 0.82
RA组	30	6.21 ± 1.48 ^a	6.40 ± 1.22	6.54 ± 1.28 ^a	8.34 ± 1.01	7.95 ± 0.88	6.45 ± 1.21

a: $P < 0.05$, 与对照组比较

2.2 肠道菌群PCR-DGGE图谱分析

2.2.1 两组粪便细菌微生物V6-V8区16SrDNA表达

PCR扩增肠道细菌16SrDNA V6-V8区的条带灰度均匀一致,扩增片段长度相等(图1)。



1~10:RA组;11~20:对照组;M:标准

图1 两组粪便细菌微生物16SrDNA V6-V8区PCR检测结果

2.2.2 RA患者和健康受试者粪便细菌微生物16SrDNA V6-V8区DGGE图谱分析

采用Quantity One软件分析图谱(图2);RA组与对照组泳道条带数分别为(16.00 ± 1.05)、(22.8 ± 3.12),其差异有统计学意义($P < 0.01$)。DGGE图谱显示:多数优势条带在同一水平上没有显著变化(图2箭头A)。与对照组相比,在DGGE图谱下方区域类风湿关节炎患者肠道菌群条带数量减少消失明显(图2箭头B)。

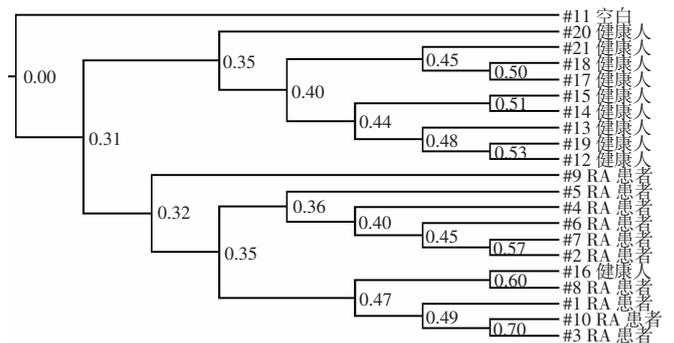


1~10:RA组;11:空白对照;12~21:对照组

图2 两组粪便细菌微生物16SrDNA V6-V8区DGGE图谱

2.2.3 UPGMA聚类分析

对DGGE图谱条带数及亮度信息进行数值化,得到矩阵,根据数据矩阵,运用Quantity One软件计算样本之间的相似性,绘制肠道菌群相似性UPGMA聚类分析进化树。结果表明,样本可以聚合为两类,RA患者聚合为一类;多数健康人样本也能聚合为一类,健康人16号样本与RA患者样本交错聚合在一起(图3)。



1~10:类风湿关节炎患者;11:空白对照;12~21:健康人

图3 粪便菌群UPGMA相似性聚类分析结果

2.2.4 肠道细菌多样性分析 两组间肠道菌群的丰富度、Shannon-Wiener 指数、 H_{max} 及均匀度的差异有统计学意义 ($P < 0.01$, 表 3)。

表 3 粪便菌群 DGGE 图谱的多样性分析 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	丰富度(S)	Shannon-Wiener 指数(H)	H_{max}	菌群均匀度(E)
RA 组	10	16.0 ± 1.05 ^a	2.48 ± 0.14 ^a	2.77 ± 0.07 ^a	0.90 ± 0.05 ^a
对照组	10	22.8 ± 3.12	2.98 ± 0.26	3.12 ± 0.15	0.96 ± 0.05

a: $P < 0.01$, 与对照组比较

3 讨论

类风湿关节炎作为自身免疫性疾病,其发病与遗传、环境等多种因素相关^[7],人体肠道中存在大量的原籍细菌,包括类杆菌、梭菌、双歧杆菌等,能影响机体内环境,参与食物消化,促进蛋白质与维生素等营养物质的合成,是肠道天然屏障^[8]。如果肠道原籍细菌数量减少或者菌群结构发生改变,其屏障作用减弱,致病菌就容易侵袭机体^[9]。Gregersen 等^[10]指出在 RA 患者滑膜中能够分离耶尔森菌属等肠道菌的抗体。体外研究^[11]发现,肠道细菌细胞壁的肽聚糖能够激发细胞因子释放,注射肠道细菌细胞壁成分能够诱发实验动物产生关节炎,表明肠道微生物可能是 RA 发病因素之一。然而目前缺乏针对 RA 患者肠道原籍细菌数量或者菌群结构的研究。

Sjogren 等^[12]研究指出脆弱类杆菌与双歧杆菌数量减少可以阻碍黏膜免疫系统的发育成熟,影响机体免疫功能。我们通过活菌培养发现 RA 患者脆弱类杆菌和双歧杆菌数量显著少于健康受试者 ($P < 0.01$), Round 等^[13]认为脆弱类杆菌能够刺激调节性 T 细胞分泌 IL-10、抑制 Th17 细胞的激活,起到免疫抑制功能。双歧杆菌作为非致病性细菌,能形成生物保护屏障,该屏障通过代谢肠道内容物产酸或分泌抗生素类化合物阻止病菌的入侵,并且具有益生与调节免疫反应等作用^[8]。因此我们认为两种细菌数量的减少可能会导致肠道屏障与免疫功能减弱,诱发肠道条件致病菌侵袭,引起机体对外源性抗原免疫应答。Gregersen 等^[10]认为外来抗原与人体自身抗原结构相似,可导致抗原交叉反应,发挥相似的免疫调节或抗原提呈功能,能够增加 RA 的易感性,诱导与激活机体自身免疫应答,从而引起类风湿关节炎发生。

RA 发病可能是由单一细菌引起的,然而有观点倾向于“内环境菌群失衡”假说。有学者认为,与某种单一微生物感染相比,微生态失调(总微生物负荷量和总微生物结构改变)是影响 RA 发病更重要的因素^[1]。微生态失调症主要表现为种群数量、种群比例改变。由于活菌培养法通常只能培养少数肠道细菌,

80% 的细菌难以通过培养获得^[14],因此单靠活菌培养法检测、分析及评判肠道微生态失衡不完全。

16S rDNA 是编码 16S 核糖体 RNA 的基因,包括 10 个保守区域和 9 个特异性区域,相间排列:其中保守区为所有细菌共有,细菌间无差异;特异性区域具有属或种的特异性,序列有差异。研究中通常根据 16S rDNA 基因中保守区序列设计通用引物进行 PCR 扩增,利用这一特点鉴定菌种、分析菌群结构^[15]。

本实验中我们提取肠道细菌总 DNA,设计 16S rDNA 通用引物,扩增所有细菌的 16S rDNA 片段,扩增产物长度相同、序列不同,电泳时不同序列在 DGGE 凝胶上所处位置不同。横向分析 16S rDNA PCR-DGGE 图谱,相同水平位置条带序列组成相同,为同一种属细菌的 16S rDNA 的片段,比较各泳道同水平位置条带的变化能够揭示此种属菌在各样本中组成的变化,本实验发现在 DGGE 图谱中 B 箭头所示水平位置(图 2) RA 组出现特异性条带不同于健康受试者组,但在其他水平位置两组间条带差异不显著(图 2 箭头 A)。纵向分析图谱,每条泳道所含条带数量,即丰富度,代表每个样本所含菌种类别数量。实验中我们发现 RA 患者组肠道细菌条带数显著少于健康组 ($P < 0.01$),表明 RA 患者肠道细菌的类别显著少于健康组。Kohashi 等^[16]研究发现大鼠佐剂关节炎模型在无菌环境下的发病率显著高于在普通环境下模型发病率,发病程度更加严重,说明肠道细菌对机体有保护作用,能抑制 RA 发病。因此,我们认为 RA 患者肠道细菌种类减少可能是 RA 发病诱导因素之一。

分析任意条带的灰度值,其灰度强弱反映了该条带所代表的微生物含量的多少。比较两组肠道细菌的均匀度 E、Shannon-Wiener 指数:RA 患者组均匀度 E 显著低于健康受试者组 ($P < 0.01$),提示 RA 患者肠道细菌的分布不均匀,RA 患者肠道细菌种群比例不同于健康受试者;RA 患者组多样性 Shannon-Wiener 指数显著低于健康受试者组 ($P < 0.01$),表明 RA 患者组菌群结构相对简单,健康者肠道菌群结构更加复杂,两组间细菌种群结构显著不同。

根据 DGGE 图谱各泳道条带数量、结构特点的相似性,对所有泳道进行聚类分析,发现 RA 患者组能够聚集为一类,提示 RA 患者肠道菌群之间有较高的一致性,RA 患者菌群明显不同于健康受试者。肠道细菌菌群结构发生改变,并且出现原籍细菌明显减少(如类杆菌、双歧杆菌等)或过路菌增加,可以判定为 II 度菌群失调^[8]。菌群失调可使细菌的生物拮抗作用减弱,引起致病菌和条件致病菌侵袭,容易诱发机体免疫。

综上所述,早期 RA 患者肠道微生物群落发生改变,肠道细菌数量及结构改变可能是类风湿关节炎的发病因素之一。本实验为后续研究肠道微生物影响 RA 发病提供基础,但肠道微生物功能基因与蛋白表达的作用有待进一步研究。

参考文献:

- [1] Edwards C J. Commensal gut bacteria and the etiopathogenesis of rheumatoid arthritis[J]. *J Rheumatol*, 2008, 35(8): 1477 - 1479.
- [2] Lee Y K, Mazmanian S K. Has the microbiota played a critical role in the evolution of the adaptive immune system? [J]. *Science*, 2010, 330(6012): 1768 - 1773.
- [3] Chervonsky A V. Influence of microbial environment on autoimmunity [J]. *Nat Immunol*, 2010, 11(1): 28 - 35.
- [4] Muyzer G, de-Waal E C, Uitterlinden A G. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA[J]. *Appl Environ Microbiol*, 1993, 59(3): 695 - 700.
- [5] Janczyk P, Pieper R, Smidt H, *et al*. Changes in the diversity of pig ileal lactobacilli around weaning determined by means of 16S rRNA gene amplification and denaturing gradient gel electrophoresis [J]. *FEMS Microbiol Ecol*, 2007, 61(1): 132 - 140.
- [6] Collier C T, Smiricky-Tjardes M R, Albin D M, *et al*. Molecular ecological analysis of porcine ileal microbiota responses to antimicrobial growth promoters[J]. *J Anim Sci*, 2003, 81(12): 3035 - 3045.
- [7] Vaahtovuori J, Munukka E, Korkeamäki M, *et al*. Fecal microbiota in early

- rheumatoid arthritis[J]. *J Rheumatol*, 2008, 35(8): 1500 - 1505.
- [8] 熊德鑫. 现代肠道微生物生态学[M]. 北京: 中国科学技术出版社, 2003: 142 - 146.
- [9] Liu C, Zhang Z Y, Dong K, *et al*. Adhesion and immunomodulatory effects of *Bifidobacterium lactis* HN019 on intestinal epithelial cells INT-407[J]. *World J Gastroenterol*, 2010, 16(18): 2283 - 2290.
- [10] Gregersen P K, Silver J, Winchester R J. The shared epitope hypothesis. An approach to understanding the molecular genetics of susceptibility to rheumatoid arthritis[J]. *Arthritis Rheum*, 1987, 30(11): 1205 - 1213.
- [11] Toivanen P. Normal intestinal microbiota in the aetiopathogenesis of rheumatoid arthritis[J]. *Ann Rheum Dis*, 2003, 62(9): 807 - 811.
- [12] Sjogren Y M, Tomić S, Lundberg A, *et al*. Influence of early gut microbiota on the maturation of childhood mucosal and systemic immune responses[J]. *Clin Exp Allergy*, 2009, 39(12): 1842 - 1851.
- [13] Round J L, Lee S M, Li J, *et al*. The Toll-like receptor 2 pathway establishes colonization by a commensal of the human microbiota[J]. *Science*, 2011, 332(6032): 974 - 977.
- [14] Scher J U, Abramson S B. The microbiome and rheumatoid arthritis [J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2011, 7(10): 569 - 578.
- [15] Brosius J, Palmer M L, Kennedy P J, *et al*. Complete nucleotide sequence of a 16S ribosomal RNA gene from *Escherichia coli*[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1978, 75(10): 4801 - 4805.
- [16] Kohashi O, Kuwata J, Umehara K, *et al*. Susceptibility to adjuvant-induced arthritis among germfree, specific-pathogen-free, and conventional rats[J]. *Infect Immun*, 1979, 26(3): 791 - 794.

(收稿:2012-08-18;修回:2012-09-17)

(编辑 邓强庭)

《第三军医大学学报》被评为“第四届中国高校精品科技期刊”

教育部科学技术司近日揭晓了“第四届中国高校精品·优秀·特色科技期刊奖”评比结果(教技司[2012]338号)。《第三军医大学学报》荣获“第四届中国高校精品科技期刊”奖。这是本刊继2008、2010年被评为中国高校精品科技期刊后,第3次获此殊荣。

本次评比由教育部科技司委托中国高校科技期刊研究会开展,在目前全国高校2000余种各类科技期刊中,评选出精品科技期刊60种,优秀科技期刊120种,特色科技期刊30种。精品科技期刊为最高级别的奖励,每2年评选1次。

