

TGN, dTGN), dTGN 膜上带负电磷脂的 PtdIns4P 结合原本处于细胞质内的 NLRP3 上的正电序列, 招募 NLRP3 并激活炎症小体。组装激活后的炎症小体 (NLRP3-ASC-pro-Caspase-1) 通过自我切割形成有酶活性的 Caspase-1, 进而促进 IL-1 β 和 IL-18 等炎症因子的成熟和释放, 激活炎症反应。可见, NLRP3 炎症小体在机体内环境稳态的维持中起着重要作用, MSU 致其活化失衡导致了痛风性关节炎的发生和发展, 因此干预 NLRP3 炎症小体的组装, 可成为中医药治疗痛风性关节炎急性发作的新靶点。

本研究显示, B 组治疗后患者血尿酸、红细胞沉降率、CRP、IL-1 β 和 IL-18、PBMCs 中 NLRP3、ACS、Caspase-1 基因表达水平均低于 A 组, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$), 提示加味四妙散可以抑制 NLRP3 炎症小体的生成和活化, 降低了炎症因子的水平, 更有效的减轻了关节疼痛、肿胀、活动障碍等炎症反应。但由于 NLRP3 炎症信号通路十分复杂, 加味四妙散的作用机制还有待于长期的进一步研究。

[参考文献]

(1) Martinon F, Pettrilli V, Mayor A, et al. Gout-associated uric acid crystals activate the NALP3 inflammasome (J). *Nature*, 2006, 440(7081): 237-241.
(2) 中华医学会风湿病学分会. 2016 中国痛风诊疗指南 (J). *中华内科杂志*, 2016, 55(11): 892-899.

(3) 国家中医药管理局. 中医病证诊断疗效标准 (S). 南京: 南京大学出版社, 2012.
(4) 郑晓萸. 中药新药临床研究指导原则 (M). 北京: 中国医药科技出版社, 2002: 115-119.
(5) 邓爱萍, 李颖, 吴志涛, 等. 苍术化学成分和药理的研究进展 (J). *中国中药杂志*, 2016, 41(21): 3904-3913.
(6) 王荣. 川黄柏的化学成分及药理活性研究进展 (J). *临床合理用药*, 2020, 13(1): 173-174.
(7) 尹非, 李雪晨, 叶菲. 高尿酸血症与代谢综合征研究进展 (J). *国际药学研究杂志*, 2017, 44(6): 487-490.
(8) 毕天琛, 杨国宁, 马海春. 中药薏苡仁化学成分及药理活性研究进展 (J). *海峡药学*, 2019, 31(11): 52-56.
(9) 王特, 张晓宇, 张薇, 等. 土茯苓防治痛风的作用机制研究进展 (J). *辽宁中医杂志*, 2020, 48(1): 3.
(10) 肖扬, 李国正. 萆薢药理作用研究进展 (J). *山西中医*, 2018, 34(7): 54-56.
(11) 王语嫣, 王玲. 加减木防己汤治疗急性痛风性关节炎湿热蕴结证的临床观察 (J). *实用中医内科杂志*, 2020, 34(5): 55-57.
(12) Tausche AK, Aringer M. Gouty arthritis (J). *Zeitschrift für Rheumatologie*, 2016, 75(9): 885-898.
(13) 秦颖, 赵伟. NLRP3 炎症小体的负向调控机制 (J). *中国科学: 生命科学*, 2018, 48(11): 1187-1196.
(14) Chen J, Chen ZJ. PtdIns4P on dispersed trans-Golgi network mediates NLRP3 inflammasome activation (J). *Nature*, 2018, 564(7734): 71-76.

[文章编号] 1007-0893(2021)17-0008-04

DOI: 10.16458/j.cnki.1007-0893.2021.17.003

基于 16S rRNA 检测分析宫颈癌患者放射治疗前后肠道菌群变化特征

陈雅云¹ 孙育新² 李凯新¹ 高炳宗¹ 陈晓婷¹ 毛润芝¹ 蔡文杰^{1*}

(1. 福建医科大学附属泉州第一医院, 福建 泉州 362000; 2. 福建医科大学附属第二医院, 福建 泉州 362000)

[摘要] **目的:** 探究电离辐射对宫颈癌患者肠道菌群的影响特点及菌群变化与放射性肠炎发生的相关性。**方法:** 选取福建医科大学附属泉州第一医院 2019 年 1 月至 2020 年 1 月收治的 30 例宫颈癌患者, 在其调强放射治疗的不同时间点收集其粪便样本, 分析肠道微生态的生物标志物, 用 MoBio PowerSoil 试剂盒提取肠道菌群 DNA, 用 MiniSeq 对肠道菌群 16S rRNA 的 V4 区进行测序及生物信息学分析。差异度采用 Wilcoxon 秩和检验等分析。**结果:** 宫颈癌患者放射治疗后肠道微生物群的 α 多样性比放疗前高, 同时放疗前后微生物群落组成 (即 β 多样性) 存在一定差异, 但差异均无统计学意义 ($P > 0.05$); 但是在宫颈癌患者放疗后微生物组成中普雷沃氏菌和链球菌较放疗前有显著变化 ($P < 0.05$)。**结论:** 宫颈癌患者放疗前后微生物成分存在差异, 但有待大规模的前瞻性队列研究证实。

[关键词] 宫颈癌; 肠道菌群; 放射性直肠炎; 16S 核糖体 RNA 基因测序

[中图分类号] R 737.33; R 516.1 [文献标识码] A

[收稿日期] 2021-06-01

[基金项目] 泉州市科技计划项目资助课题 (2018N055S)

[作者简介] 陈雅云, 女, 主治医师, 主要研究方向是妇科恶性肿瘤放化疗。

[*通信作者] 蔡文杰 (E-mail: caiwj2001@sina.com; Tel: 13805997393)

Analysis of the Characteristics of the Changes in Intestinal Flora of Cervical Cancer Patients Before and After Radiotherapy Based on 16S rRNA Detection

CHEN Ya-yun¹, SUN Yu-xin², LI Kai-xin¹, GAO Bing-zong¹, CHEN Xiao-ting¹, MAO Run-zhi¹, CAI Wen-jie^{1*}

(1. Quanzhou First Hospital Affiliated to Fujian Medical University, Fujian Quanzhou 362000; 2. The Second Affiliated Hospital of Fujian Medical University, Fujian Quanzhou 362000)

〔Abstract〕 Objective To explore the characteristics of the effects of radiation on the intestinal flora and the correlation between changes in the flora and the occurrence of radiation enteritis. Methods Thirty patients with cervical cancer admitted to Quanzhou First Hospital Affiliated to Fujian Medical University from January 2019 to January 2020 were selected. Fecal samples were collected at different time points during IMRT radiotherapy to analyze biomarkers of intestinal microecology. The DNA of intestinal flora was extracted with the MoBio PowerSoil kit. The V4 region of 16S rRNA of intestinal flora was sequenced and analyzed by MiniSeq. Wilcoxon rank sum test was used for difference degree. Results The alpha diversity of the intestinal flora after radiotherapy in patients with cervical cancer was higher than that before radiotherapy. At the same time, there were certain differences in the composition of the microbial community (ie, beta diversity) before and after radiotherapy, but the differences were not statistically significant ($P > 0.05$); After radiotherapy for patients with cervical cancer, we observed significant changes in the microbial composition of Prevotella and Streptococcus compared to before radiotherapy ($P < 0.05$). Conclusions There are differences in the microbial composition of cervical cancer patients before and after radiotherapy, but this needs to be confirmed by a large-scale prospective cohort study.

〔Key Words〕 Cervical cancer; Intestinal flora; Radiation enteritis; 16S ribosomal RNA (rRNA) gene sequencing

宫颈癌是常见的妇科肿瘤，放射治疗和外科手术是主要治疗方法。放射治疗在晚期宫颈癌综合治疗中起着至关重要的作用。在医学影像学和放疗技术的发展下，放射治疗已经从基本的二维发展到三维或四维计算机断层扫描成像，而放射毒性仍然是恶性肿瘤患者的最大的障碍。放射性直肠炎是宫颈癌放射治疗常见的并发症，影响患者及其肠道菌群。辐射暴露会导致上皮细胞凋亡，随后是黏膜炎症，并与伤口愈合、纤维化和无组织的血管形成过程有关，导致腹泻、出血、疼痛和生活质量下降。

哺乳动物胃肠道的微生物群包括 1000 多种微生物，肠道菌群参与了食物降解和能量摄入，但也存在着健康和免疫反应的显著差异，菌群结构或功能的变化可能导致各种肠道内外疾病。代谢性、自身免疫性、肝脏和肠道疾病均与肠道菌群失调有关，肠道菌群失调在某些情况下会促进炎症性疾病的易感性^[1]。据报道，放射治疗后肠道菌群的变化主要表现为厚壁菌群和拟杆菌群的多样性降低和变形菌群的增加^[2]。

然而，关于放射治疗过程中肠道菌群结构的变化，目前尚缺乏相关的研究报道。目前尚不清楚关键菌群的变化与放射性直肠炎是否存在相关性，能否通过调整肠道菌群生态结构防治放射性直肠炎。因此，本研究旨在观察宫颈癌患者放疗前后肠道菌群的变化，并研究其与放射性直肠炎发生的相关性。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2019 年 1 月至 2020 年 1 月在福建医科大学附属泉州第一医院接受根治性放疗或术后放疗的 I B ~ IV 期宫颈癌患者共 30 例，患者的年龄为 37 ~ 79 岁，平均 (56.37 ± 9.65) 岁。纳入标准：(1) 年龄 ≥ 18 岁；(2) 经宫颈活

检组织病理检查证实为宫颈癌，病理类型不限；(3) 经临床评价可施行放射治疗方案者；(4) 卡氏行为状态评分 (Karnofsky performance status, KPS) ≥ 60 分；(5) 入组前 7 d 未使用抗菌药物者。排除标准：(1) 合并炎症性肠病、糖尿病、高血压者；(2) 曾有消化道手术史的患者；(3) 放疗禁忌证者；(4) 不具有法律能力或法律能力受到限制者。本研究已通过医院伦理委员会审批，所有患者均知情同意本研究。

1.2 方法

1.2.1 粪便样本收集 分别在放射治疗开始前、放疗第 2 周结束次日，放疗总疗程结束次日 3 个时间点收集患者粪便样本。采集后的粪便样本分装于冻存管内，储存于 -80 °C 冰箱以待检测。

1.2.2 粪便样本的基因测序及生信分析 将收集的所有粪便样本在同一批次中提取、测序和分析 DNA。经过 Nextera XT (Illumina, CA) 标记和双索引条形码的文库制备 DNA (1 ng)。质量评估后 (Multiskan™ GO ELISA)，收集等摩尔文库量并纯化 (QIAquick 凝胶纯化试剂盒；Qiagen, CA) 并用 Illumina Miseq 平台测序。用 Fast QC 进行原始数据质量评估，用 Trimaculator 进行调整，使用滑动窗口质量过滤，丢弃 4 个碱基的平均质量分数 ≤ 28，读数 ≤ 120 个碱基对。配对过滤后的读数，连接并移除人类 DNA 序列 (Kneaddata 管道)；丢弃不成对的读取。使用 QIAME V1.8.0 (微生物生态学定量洞察) 管道处理数据。

1.2.3 放射治疗方案及放射性直肠炎诊断标准 在医生工作站勾画靶区，在放射治疗计划系统制定计划，然后由主任医师确认和验证。根据 QUANTEC (临床正常组织效应的定量分析) 标准，小肠的照射剂量限值为 V45 < 192 mL，

直肠的照射剂量限值为 $V50 < 50\%$ ，再行放射治疗。外照射均采用 6 mV X 线进行调强放射治疗，分割照射每次为 1.8 ~ 2.0 Gy。非手术宫颈癌：总剂量 50 ~ 50.4 Gy，分 25 次完成，每周 5 次。外照射结束 7 d 内行腔内近距离放射治疗，每周 1 次，A 点剂量为 6 ~ 7 Gy · 次⁻¹，共 3 ~ 5 次。宫颈癌术后：总剂量 50 ~ 50.4 Gy，分 25 次完成，每周 5 次。放射性直肠炎诊断标准参考卫生部制定的《放射性直肠炎诊断标准》（GBZ111 - 2002）。

1.3 统计学处理

所有分析均采用 R 3.2.0 软件进行，用 Wilcoxon 秩和检验来确定肠道菌群治疗前后的 α 多样性差异；采用 r-vegan 功能 Adonis 检测治疗前后整个细菌群落的组成是否有差异（ β 多样性），为了直观地显示不同群体之间的聚类，基于加权和非加权 UniFrac 距离进行了主坐标分析。采用 LEfSe 法对治疗前后相关微生物进行鉴定。使用非参数 Kruskal-Wallis 秩和检验和 Wilcoxon 秩和检验来检测多个样本组间的显著差异。选择线性判别分析得分大于 2.032 的微生物群作为与放射治疗相关的微生物群。

2 结果

2.1 患者的一般资料

本研究 30 例宫颈癌患者中，21 例接受根治性放疗，9 例接受术后辅助放疗。23 例出现 1 级放射性直肠炎，3 例出现 2 级放射性直肠炎，未出现 3 ~ 4 级及以上放射性直肠炎不良反应。不同小肠和直肠的照射剂量患者的放射性直肠炎检出率比较，差异无统计学意义（ $P > 0.05$ ），见表 1。

表 1 患者的一般资料 (n = 30, n (%))

指标	检出
TNM 分期	
I	6(20.00)
II	5(16.67)
III	17(56.67)
IV	2(6.67)
放疗方案	
根治性放疗	21(70.00)
术后辅助放疗	9(30.00)
放射性直肠炎	
是	26(86.67)
I 度	23(76.67)
II 度	3(10.00)
否	4(13.33)
联合化疗	
是	23(76.67)
否	7(23.33)
小肠照射剂量	
V45 < 192 mL	13(43.33)
V45 > 192 mL	17(56.67)
直肠照射剂量	
V50 < 50 %	16(53.33)
V50 > 50 %	14(46.67)

2.2 放疗前后相关微生物群的变化

根据观察到的运算的分类单位（operational taxonomic unit, OTU）数量、用 Chao 法估计的 OTU 数量和 Shannon 指数，放疗后肠道微生物群的 α 多样性比放疗前高；肠道微生物群落组成（即 β 多样性）在宫颈癌患者放疗前后发生变化，但差异均无统计学意义（ $P > 0.05$ ），见图 1A ~ C，图 2。不过，宫颈癌患者放疗前后的微生物组成分析揭示了微生物阶段的独特特征，见图 3。放疗后微生物组成变化最为显著。这可能表明微生物对辐射暴露的逐渐反应以及随后肠道环境的变化趋势。

采用 LEfSe 鉴定与辐射诱导的组织损伤相关的细菌分类群，结果见图 4，4 个优势菌（普雷沃氏菌、链球菌、梭状芽孢杆菌、毛螺菌）与放疗前相比丰度发生了显著变化，其中拟杆菌门（LDA 评分 = 2.35, $P < 0.05$ ），厚壁菌门（LDA 评分 = 4.12, $P < 0.05$ ）。放疗后患者肠道菌群中拟杆菌门的普雷沃氏菌明显减少，而厚壁菌门的链球菌和梭状芽孢杆菌明显增多。

3 讨论

笔者利用 Illumina Miseq 高通量测序平台和细菌 16S rRNA 基因分析，研究放疗对宫颈癌患者微生物群落结构变化的影响，鉴定了宫颈癌患者放疗前后粪便中优势肠道菌群和属分类群的相对丰度，并确定它们之间的显著差异，发现放疗后患者肠道菌群中拟杆菌普雷沃氏菌明显减少，而厚壁菌的链球菌和梭状芽孢杆菌明显增多，这一发现与以往发表的动物模型研究不一致。例如，有学者发现，辐射提高了大肠中 Alistipes 菌以及小肠中棒状杆菌属的水平^[1]。有学者使用一种小鼠放射性直肠炎模型，发现小鼠炎症结肠的微生物组成发生了显著变化，厚壁菌丰度降低，变形杆菌和阿克曼菌属和拟杆菌属丰度增加^[2]。

笔者认为这种矛盾的差异可能是由于所研究的物种、疾病的类型，以及辐射的时长影响。众多研究表明，肠道菌群和炎症之间存在关联。普雷沃氏菌属可能与类风湿性关节炎，自闭症和肠道健康有关，包括溃疡性结肠炎^[3]。有研究发现宫颈癌患者和健康女性之间的多种微生物群存在显著差异^[4]。普雷沃氏菌、卟啉单胞菌和 Dialister 菌在宫颈癌患者中丰度较高，而拟杆菌、Alistipes 菌和毛螺菌在健康受试者中显著富集。因此，笔者推测放疗后普雷沃氏菌属的减少是由于放疗对宫颈癌本身的改善，而不一定与放射性直肠炎有关。

笔者在本研究结果中也观察到，放疗后宫颈癌患者链球菌增多，86.67% 的患者发生放射性直肠炎。既往有研究显示链球菌是患者中常见的侵袭性病原体，通常与潜在的疾病（包括免疫缺陷和癌症）相关^[5]。由链球菌引起的一些感染可能是无症状的，但在免疫功能低下的患者中，它们可能导致疾病进展甚至死亡。因此，笔者推测链球菌可能在宫颈癌患者放射性直肠炎的发生发展中起一定作用，其具体机制有待进一步研究。

此外,笔者还发现宫颈癌患者放疗后属于厌氧菌的梭状芽胞杆菌明显增多,这可能与放疗引起梭状芽胞杆菌增多有关,促进宫颈癌的改善。目前已有研究者在研发将梭状芽胞杆菌属作为靶向药物,用来改变肿瘤微环境的含氧量,从而杀死需氧的肿瘤细胞。

在本研究中,笔者发现肠道照射剂量似乎与放射性肠炎的发生无关,而且放射性直肠炎的发生率略高于以往的研究,这可能与样本量小有关。今后,笔者将尝试扩大样本量,进一步探讨肠道菌群、辐射剂量与放射性直肠炎的关系。

综上所述,本研究结果表明:肠道中某些微生物的水平,如普雷沃氏菌和链球菌,与 X 射线照射有关,并表明肠道微生物群的组成可能与宿主肠道健康有关。

〔参考文献〕

- (1) 童晶晶,黎军,周裕文,等. 肠道菌群与疾病的研究进展 (J). 医学信息, 2019, 32(21): 22-25.
- (2) 郑颖,殷祥昶,赵阳,等. 电离辐射对肠道菌群的影响及基于菌群调节的辐射防护研究进展 (J). 中国药理学与毒理学杂志, 2020, 34(7): 549-557.
- (3) 刘星羽,乔惠萍. 益生菌防治直肠癌放射性腹泻的研究现状 (J). 中国疗养医学, 2020, 29(5): 478-481.
- (4) 关怀,管滔,管金珠,等. 微生态对女性生殖健康的影响 (J). 人民军医, 2019, 62(1): 86-89.
- (5) 陈利,吴海英,陈丽丽. 人体微生物菌群与疾病关系 (J). 生命的化学, 2020, 40(4): 555-560.

(文章编号) 1007-0893(2021)17-0011-04

DOI: 10.16458/j.cnki.1007-0893.2021.17.004

急性脑梗死不良预后因素和预测模型研究

申善良 林继新 黄国秋 叶伟海

(南方医科大学顺德医院附属陈村医院, 广东 佛山 528313)

〔摘要〕 **目的:** 探讨急性脑梗死 (ACI) 不良预后的影响因素并建立预测模型。 **方法:** 选取 2019 年 1 月至 2019 年 11 月南方医科大学顺德医院附属陈村医院内科收治的 156 例 ACI 患者为观察组, 74 例非脑梗死患者为对照组。观察两组患者的尿酸、肌酐等指标, 研究 ACI 不良预后的影响因素, 并采用 logistic 回归建立预测模型。 **结果:** 与对照组患者相比, 观察组的肌酐、尿酸、胱抑素 C、同型半胱氨酸、空腹血糖、高密度脂蛋白均较高, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$); 单因素分析结果显示, 年龄、肌酐、尿酸、胱抑素 C、同型半胱氨酸、空腹血糖、总胆固醇、入院时美国国立卫生研究院脑卒中量表 (NIHSS) 评分是 ACI 患者不良预后的影响因素; 多因素分析结果显示, 尿酸、胱抑素 C、同型半胱氨酸、空腹血糖、入院时 NIHSS 评分是 ACI 患者不良预后的独立影响因素; 建立预测模型受试者操作特征曲线 (ROC) 下面积 (AUC) 为 0.71, 有较好的预测效能。 **结论:** 本研究建立的 ACI 预后预测模型准确度较高, 可用于患者预后预测。

〔关键词〕 急性脑梗死; 预后不良因素; 预测模型; 尿酸

〔中图分类号〕 R 743.3 〔文献标识码〕 B

Study on Poor Prognostic Factors and Predictive Models of Acute Cerebral Infarction

SHEN Shan-liang, LIN Ji-xin, HUANG Guo-qiu, YE Wei-hai

(Chencun Hospital Affiliated to Shunde Hospital of Southern Medical University, Guangdong Foshan 528313)

〔Abstract〕 **Objective** To explore the factors affecting the poor prognosis of acute cerebral infarction and establish a predictive model. **Methods** 156 patients with acute cerebral infarction who were admitted to the Department of Internal Medicine of Chencun Hospital from January 2019 to November 2019 were selected as the observation group and 74 patients with non-cerebral infarction as the control group. Observe the uric acid, creatinine and other indicators of the two groups, study the influencing factors of the poor prognosis of acute cerebral infarction, and use the Logistic regression method to establish a predictive model. **Results** The differences in creatinine, uric acid, cystatin C, homocysteine, fasting blood glucose, and high-density lipoprotein index between the two groups were statistically significant ($P < 0.05$); univariate analysis showed that age, creatinine, Uric acid, cystatin C,

〔收稿日期〕 2021-06-21

〔基金项目〕 佛山市卫生和计划生育局医学科研项目资助课题 (20190349)

〔作者简介〕 申善良, 女, 主治医师, 主要从事内科常见病以及多发病的研究工作。