

肠道微生物在异基因造血干细胞移植后移植物 抗宿主病应用中的研究进展

陈丹 王泉 姚浩*

(中国人民解放军西部战区总医院血液科, 成都 610083)

摘要 造血干细胞移植(HSCT)是高危恶性血液疾病和遗传等其他因素危及造血系统疾病的有效治疗手段。然而, 移植物抗宿主病(GVHD)影响了其广泛应用。肠道微生物(GM)多样性稳态的维持和相关代谢产物可促进机体新陈代谢、抵御病原体入侵和调节免疫系统, 从而对宿主健康和疾病产生影响。异基因造血干细胞移植(allo-HSCT)患者在受到药物和外源细胞处理时, 其体内的免疫系统和肠道微生物之间的动态平衡更容易被破坏, 由此会继发肠道炎症和GVHD。因此, GM不仅可作为移植后死亡率的独立预测指标, 还可靶向肠道微生物, 通过营养支持、益生菌、抗生素的选择和使用, 以及粪便微生物菌群移植(FMT)等策略来提高allo-HSCT后GVHD的预防和治疗效果。该文对肠道微生物在异基因造血干细胞移植后GVHD中的研究进展及应用进行了综述, 可为allo-HSCT后GVHD的预防和治疗提供新的思路。

关键词 肠道微生物; 异基因造血干细胞移植; 移植物抗宿主病

The Research Progress and Application of Gut Microbiome in GVHD after the Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation

CHEN Dan, WANG Xiao, YAO Hao*

(Department of Hematology, the General Hospital of Western Theater Command of Chinese
People's Liberation Army, Chengdu 610083, China)

Abstract HSCT (hematopoietic stem cell transplantation) is an effective treatment for high risk hematological malignancies and other hematologic disease. However, GVHD (graft-versus-host disease) blocks its wide application. GM (gut microbiomes) can promote metabolism, resist pathogens and regulate the immune system by maintaining diversity and related metabolites, which have an impact on human health. In particular, allo-HSCT (allogeneic hematopoietic stem cell transplantation) patients are treated with drugs and exogenous cells, which can destroy the dynamic balance between the immune system and intestinal microbiomes. Therefore, GM can not only be used as an independent predictor of mortality after transplantation, but also be a target of prevention and treatment effect of GVHD after allo-HSCT through nutritional support, probiotics, clinical usage of antibiotics and FMT (fecal microbiota transplantation). This article reviewed the research progress and application of intestinal microbiomes in GVHD after allo-HSCT, which can provide new ideas for the prevention and treatment of GVHD after allo-HSCT.

Keywords gut microbiome; allo-HSCT; GVHD

收稿日期: 2021-04-26

接受日期: 2021-07-27

西部战区总医院学科助推基金(批准号: 41732E7)、甘肃省科技计划项目(批准号: 20JR5RA602)和四川省科技计划项目(批准号: 2019YJ0276)资助的课题

*通讯作者。Tel: 028-86571292, E-mail: yaohao9001@163.com

Received: April 26, 2021

Accepted: July 27, 2021

This work was supported by the Subject Boosting Foundation of General Hospital of Western Theater Command (Grant No.41732E7), Science and Technology Project of Gansu Province (Grant No.20JR5RA602) and Science and Technology Project of Sichuan Province (Grant No.2019YJ0276)

*Corresponding author. Tel: +86-28-86571292, E-mail: yaohao9001@163.com

造血干细胞移植 (hematopoietic stem cell transplantation, HSCT) 主要用于高危血液系统恶性疾病和其他危及生命的血液系统和遗传性疾病的治疗^[1]。移植物抗宿主病 (graft-versus-host disease, GVHD) 是引发异基因造血干细胞移植 (allogeneic hematopoietic stem cell transplantation, allo-HSCT) 患者出现移植后高发病率和死亡率的主要原因, 其特征是供者 T 细胞对宿主同种异体抗原的应答和移植后炎性细胞因子表达的失调^[1-2]。哺乳动物肠道微生物 (gut microbiome, GM) 主要由高度多样化、复杂和动态的细菌菌落, 以及真菌、古细菌、病毒等微生物菌群构成, 密度为 $1 \times 10^{13} \sim 1 \times 10^{14}$ 个/g 粪便^[3]。其中厌氧菌约占 51%, 类杆菌约占 48%, 剩下 1% 由变形杆菌、微囊藻、梭菌、蓝藻、放线菌、螺旋藻以及各种真菌、原生动物、病毒和其他微生物组成^[3-4]。共生微生物通过促进新陈代谢、抵御病原体和调节免疫系统对人体的健康和疾病产生影响。共生菌和病原菌协同维持着共生状态下的肠道微生物动态平衡。

allo-HSCT 患者在接受化疗、放疗和抗生素等因素单独或共同影响时, 会严重干扰微生物菌群与宿主免疫系统之间的动态平衡^[5]。肠道微生物对移植物抗宿主病有着重要而复杂的影响。

1 GM的生理功能

人体中蕴藏着数万亿个微生物, 这些微生物会从免疫调节等多个方面对机体健康产生影响。在生命早期发育过程中形成的多种多样的肠道共生成分可通过抑制病原体等多种机制保护宿主免受胃肠道感染^[3]。随着技术进步, 尤其是二代测序 (next-generation sequencing, NGS) 的应用, 大大促进了人们对肠道微生物与疾病风险之间关系的认知^[6]。在过去的十年中, 肠道微生物已成为 allo-HSCT 后同种异体反应和 GVHD 相关致死性的重要调节剂。

1.1 GM与宿主生理

宿主与肠道微生物之间的相互作用主要发生在黏膜表面, 目前已知位于人体不同部位的微生物菌落在成分上是不同的。人类肠黏膜面积在 $250 \sim 400 \text{ m}^2$, 包含 $10^{13} \sim 10^{14}$ 个微生物^[3]。肠上皮是由肠上皮细胞 (intestinal epithelial cells, IECs) 组成的单层细胞, 包含潘氏细胞、杯状细胞和肠道干细胞^[7]。IECs 有两个功能: (1) 充当肠腔及其内容物之间的保护屏障; (2) 获取营养^[7]。有益的肠道共生微生物能

够通过保护宿主免受病原体的侵袭, 进一步补充肠道上皮屏障。

潘氏细胞和杯状细胞在限制细菌渗透到宿主组织中起着关键作用, 并对维持肠道菌群和小肠免疫反应之间的动态平衡起着至关重要的作用^[8-9]。潘氏细胞主要存在于小肠隐窝内, 能够分泌如 α -防御素等抗微生物分子, α -防御素等抗微生物分子在调节微生物菌群中起重要作用^[7]。GVHD 期间潘氏细胞的丢失会导致 α -防御素的减少, 从而继发肠道微生物群落组成的变化多样性的丧失^[7]。杯状细胞可分泌黏蛋白, 并在腔内容物中形成黏膜屏障。ARA 等^[9]发现, GVHD 患者中杯状细胞损伤可导致主要管腔病原体移位和扩散, 从而进一步加速 GVHD 和感染。潘氏细胞是调节小肠微生物密度的重要细胞, 潘氏细胞计数与 GVHD 治疗反应相关, 其数量与临床 GVHD 的严重程度和预后呈负相关, 可作为胃肠道 GVHD 组织病理学分级指标^[8]。研究表明, IECs 的一系列模式识别受体 (pattern recognition receptor, PRR) 可刺激潘氏细胞产生和释放大量的 α -防御素, α -防御素在胞质颗粒中合成和储存, 整个过程不需要微生物相关的分子模式 (microbe-associated molecular patterns, MAMP) 的传感^[8]。而 REG-III γ 的合成则需要来自微生物菌群的信号。正常情况下, 通过控制 MAMPs 与宿主免疫细胞炎症反应的相互作用可抑制细菌或细菌产物通过肠黏膜屏障的系统性移位。炎症疾病, 如炎性肠病, 表现为潘氏细胞数量减少和肠道微生物菌群改变, 提示维持或诱导潘氏细胞分泌足量抗菌肽控制微生物失衡, 可能有助于控制 GVHD 的发生^[8]。

1.2 GM与机体免疫

肠道微生物在调节局部和全身免疫反应中发挥重要作用, 但其在协调免疫应答和调节 allo-HSCT 免疫中的作用机制尚不明确^[10]。INGHAM 等^[11]评估了接受 allo-HSCT 的儿童患者的免疫重建、临床预后和肠道微生物之间的关系, 结果表明, 瘤胃球菌科和毛螺旋菌科丰度较高的患者显示出更高的 NK 细胞和 B 细胞重建效率, 并且只表现出轻度或无急性移植物抗宿主病 (acute graft-versus-host disease, aGVHD) 的发生, 总体生存率得到有效改善。

研究表明, 某些共生细菌可起到诱发效应 T 细胞反应的作用, SCHLUTER 等^[11]在寻找肠道微生物成分在恶性血液肿瘤患者接受 allo-HSCT 治疗中的

作用发现,黏液真杆菌富集的患者表现出较低的复发风险和较缓的疾病进展。DUENAS等^[12]在小鼠研究中发现,由11个菌株组成的复合物可有效提高IFN γ ⁺CD8⁺T细胞的免疫应答效率,从而增强抗肿瘤免疫能力,其中就包含黏液真杆菌。肠道微生物也可影响CD4⁺T辅助细胞,VAN等^[13]的研究表明,小鼠丝状菌的定植证明其可以诱导肠道原始CD4⁺T细胞分化为能够产生白介素17(interleukin 17, IL17)和白介素22(interleukin 22, IL22)的T辅助细胞(T hepler 17, Th17)。在健康人类志愿者中发现,循环记忆型CD4⁺T细胞能够通过对肠道细菌的反应来产生Th17和Th1细胞因子^[13-14]。而在炎症性疾病中,Th17细胞和Tregs之间的动态平衡在GVHD的发生过程中起着重要作用^[14]。另外,白介素6(interleukin 6, IL6)是降低Th17分化的关键炎症因子,其可以改变Th17细胞和Treg细胞之间的平衡,使用IL6抗体特异性阻断IL6信号通路可显著减轻GVHD的严重程度^[14]。

1.3 GM与移植物抗白血病(graft-versus-leukemia, GVL)效应

allo-HSCT的最主要目的是重建恶性血液病患者的免疫系统和清除残留的肿瘤细胞,从而减少复发的风险,该作用也被称为移植物抗白血病(graft-versus-leukemia, GVL)效应^[15]。研究表明,GM及其代谢产物可调节供体细胞和宿主之间的免疫,从而减少GVHD的发生和提高GVL作用^[16]。HANA等^[15]研究发现,GM可通过调节黏膜相关恒定T(mucosal-associated invariant T, MAIT)细胞、 $\gamma\delta$ T细胞和恒定自然杀伤T(invariant natural killer T, NKT)细胞等非经典T细胞来促进机体免疫重建,从而提高GVL效应。JOHAN等^[8]发现,肠道干细胞和潘氏细胞分泌的胰高血糖素素样肽-2(glucagon like peptide-2, GLP-2)在aGVHD小鼠和allo-HSCT患者中的表达量下降,外源补充-GLP-2类似物替度鲁泰可降低aGVHD和皮质激素耐药的重度GVHD的发生,并且不会影响GVL效果。

2 GM与GVHD

肠道微生物由细菌、真菌和病毒等多种微生物成分构成,各种成分之间的关系错综复杂,其稳态的维持及代谢产物对机体免疫和健康有着重要影响^[3]。GVHD作为免疫性疾病,是allo-HSCT最主要的并发症,严重影响allo-HSCT患者的预后。GM多样性和

代谢产物与allo-HSCT患者相关GVHD的发生发展有着密切联系。

2.1 GM多样性丧失与GVHD

GVHD相关肠道炎症发生率与接受allo-HSCT动物模型及人类肠道微生物菌群的变化呈正相关。STAFFAS等^[17]在GVHD小鼠模型中观察到乳杆菌属菌群显著增加,梭状芽胞杆菌属减少,在HSCT前清除乳酸杆菌会加重小鼠GVHD,重新引入优势乳酸菌可显著保护小鼠免受GVHD的侵袭。SANDAN-AND等^[18]在小鼠和GVHD患者中也观察到随着乳酸杆菌和共生细菌的减少,预防性给予小鼠益生菌可保护肠道微生物菌群多样性,从而避免GVHD的发生。

研究表明,保持共生细菌种群多样性可减少炎性肠病和红细胞压积的发生概率,肠道菌群多样性较低的患者死亡率明显较高。HONG等^[19]发现,allo-HSCT的患者肠道微生物菌群多样性低、中、高组的三年总存活率分别为36%、60%和67%。ILETT^[20]的研究表明,蓝藻属共生菌丰度越高的患者,GVHD致死率越低,即总体存活率越高。因此,移植过程中肠道微生物菌群多样性可作为allo-HSCT受者死亡率的独立预测因子^[21]。

当肠道内稳态被破坏时,细菌及其抗原的移位诱导宿主先天免疫细胞表达特定的PRR来检测与微生物相关的病原体相关分子模式(pathogen-associated molecular patterns, PAMPs),从而促进中性粒细胞和抗原提呈细胞(antigen presenting cell, APC)的活化以及增强T细胞刺激能力,加速激活多种免疫细胞^[22]。除了造血来源的细胞表达PRR外,上皮细胞和内皮细胞也表达PRR,这些均会导致主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC)表达的增加和炎性细胞因子的产生,进而推动同种异体T细胞反应引发的炎症反应,从而导致靶器官浸润、凋亡和GVHD^[23]。

2.2 病毒与GVHD

常见肠道定植病毒主要包括EB病毒(Epstein-Barr virus, EBV)、巨细胞病毒(cytomegalovirus, CMV)、BK和John Cunningham等病毒^[3-4]。HSCT尤其是allo-HSCT患者在移植前的各种放疗处理会造成患者发生严重的免疫抑制,从而引起上述肠道原有定植病毒的活化和增殖^[8,10]。研究表明,造血干细胞移植过程中的免疫抑制会造成CMV的重新激

活,从而诱发GVHD,造成移植相关发病率和死亡率的增加^[24]。EB病毒属于疱疹病毒,可引起移植后淋巴增殖性疾病(post-transplantation lymphoproliferative disorder, PTL),从而导致致命后果,但通常不会引起死亡率的增加^[24]。肠道病毒可通过各种方式来调节其他微生物和被其他微生物所调节,肠道细菌能够促进来自不同家族肠道病毒如诺如病毒、小核糖核酸病毒、逆转录病毒和呼肠孤病毒的复制和传播,从而增加患者发生GVHD的风险^[6]。而外源病毒感染既可对allo-HSCT患者构成直接威胁,又可通过诱发GVHD间接干扰患者的预后。研究表明,无论是allo-HSCT移植前还是移植后,诺如病毒感染均可导致较高的发病率和死亡率,小核糖核酸病毒在普通人群中通常引起“普通感冒”,但在HSCT受者等免疫缺陷的宿主中则会引发严重感染或继发GVHD,从而增加移植相关死亡率^[10]。

2.3 真菌与GVHD

虽然肠道细菌是目前GVHD研究的焦点,但仍不可低估真菌的重要性。真菌属假丝酵母菌在肠道的定植被认为是aGVHD发生的危险因素,而乌氟康唑的抗真菌预防可减少GVHD的发生^[6]。Dectin-1是一种关键的模式识别受体,可通过识别真菌细胞壁(如念珠菌细胞壁)中的b-d-葡聚糖,触发黏膜抗真菌的CD4⁺和Th17反应^[22]。IL17和IL22的释放是黏膜抗真菌防御的关键环节。C型凝集素受体可识别假丝酵母菌的细胞壁成分 α -甘露聚糖,从而刺激巨噬细胞产生细胞因子IL6和IL23,从而反过来促进C型凝集素受体识别时Th17的抗真菌作用^[22]。这些真菌壁成分可能与GVHD的病理生理学有关,C型凝集素介导的Th17反应被认为与aGVHD的发病机制有关。研究表明,机体对真菌的适应性免疫应答可分为细胞免疫和体液免疫,细胞免疫主要依赖Th17活化巨噬细胞的Dectin-1、Dectin-2、甘露糖受体和TLR-2等模式识别受体,从而诱导小鼠和人类黏膜及宿主的抗念珠菌防御系统^[22]。

2.4 GM代谢产物与GVHD

微生物代谢产物中的膳食成分对肠道、免疫稳态、能量代谢、血管功能和神经行为等生理过程有着重要影响。胃肠道微生物菌群衍生的短链脂肪酸(short-chain fatty acids, SCFAs)在各种疾病发生发展过程中起着重要作用,如SCFAs中的丁酸可调节组蛋白乙酰化,其为肠上皮细胞(intestinal epithelial

cells, IECs)的能量来源^[7]。丁酸在allo-HSCT后在肠道组织中表达量减少,RIWES等^[25]通过灌胃补充丁酸可促进IECs组蛋白H4乙酰化,改善IEC细胞间连接的完整性,从而减少凋亡发生,减轻GVHD。MATHEWSON等^[26]筛选出17种高产丁酸的梭状芽孢杆菌菌株,发现其可直接促进肠道调节性T细胞(regulatory T cells, Treg)数目的增加,加速巨噬细胞分泌抗炎分子IL10来调节炎症反应,最终在维持胃肠道平衡和降低GVHD方面发挥关键作用。此外,Treg也可通过抑制同种异体反应性T细胞增殖和T效应细胞的增殖来抑制GVHD的进展。

吲哚是由共生细菌中色氨酸酶产生的L-色氨酸,是人类正常粪便气味的来源^[27]。其作为一种“群体感应”信号,可调节毒力和生物膜的形成,同时也可通过IECs调节黏膜屏障功能和促炎、抗炎基因的表达。研究表明,allo-HSCT受者早期(移植后10天)尿样中3-吲哚硫酸盐(3-indoxyl sulfate, 3-IS)水平低与allo-HSCT后1年的移植相关死亡率显著升高有关^[27]。WU等^[27]发现,GVHD患者的粪便标本中硫酸吲哚含量从移植前的(42.5±11.0) mmol/L降至(11.8±2.8) mmol/L,移植后降至(3.5±3.0) mmol/L。3-IS早期降低受胃肠道去污类型、抗生素治疗提前和受体NOD2/CARD15基因型的影响^[28]。尿样中3-IS水平的降低与细菌多样性的丧失有关,粪便标本中3-IS水平的降低与入院时主要共生菌和肠球菌的相互转变相关。该转变在发生活动性胃肠道GVHD的患者中更为明显,在抗生素预防和中性粒细胞减少患者的感染治疗中更为突出^[27-28]。此外,通过菌株特异性肠球菌PCR发现,以上患者标本中以尿肠球菌单独存在或尿肠球菌与粪肠球菌同时存在为主^[27]。这证明了微生物菌群衍生的吲哚在维持黏膜完整性和抗炎保护方面有潜在价值。

3 GM干预与GVHD

现有研究表明,肠道微生物可作为治疗allo-HSCT患者GVHD的潜在靶标。目前,靶向肠道微生物的治疗策略包括:营养支持、益生菌的选择、抗生素的使用,以及粪便微生物菌群移植(fecal microbiota transplantation, FMT)。

3.1 营养支持

Allo-HSCT患者在接受放疗后会产生恶心、厌食和口腔黏膜炎发生等副作用,因此会造成经口

腔获取营养的减少。肠外营养 (parenteral nutrition, PN) 可能会导致肠道菌群的感染和营养不良^[29]。LYAMA等^[30]的研究表明, 清髓后的肠内营养 (enteral nutrition, EN) 可通过降低死亡率和 aGVHD 的发生来提高移植效果。不过, EN 的目的应该以恢复肠道有益菌群为主, AMICO等^[31]研究了 20 名 HSCT 儿童患者发现, 在移植前接受 PN 比移植后接受该治疗方式的患者产生的 SCFA 水平更低。相反, 在移植后接受 EN 的患者肠道微生物恢复速度更快, 产生的布氏瘤胃球菌和普拉梭菌等 SCFA 产物的量也更多。血流感染 (blood stream infection, BSI) 也会受到营养支持的影响, ZAMA等^[29]研究发现, 接受 EN 的 allo-HSCT 患者 BSI 发生率显著降低。目前, 尽管 PN 在 allo-HSCT 患者中应用更广泛, 但越来越多的证据证明通过 EN 来补充营养效果更好。

3.2 益生菌

益生菌可以是单一菌株, 也可以是多种菌株混合物, 其可以通过口服的方式来补充肠内微生物菌群, 从而改善肠内稳态。研究表明, 益生菌可补充、调节肠道微生物组成从而达到抗炎效果^[32]。RIWES等^[7]发现, 在给 allo-HSCT 小鼠补充鼠李糖乳酸杆菌后, 可减少其炎症发生和细菌感染的概率, 从而降低 allo-HSCT 小鼠 aGVHD 的发生率并提高其存活率, 而益生菌植物乳杆菌则在儿童和成人 allo-HSCT 患者中也表现出较好的安全性和有效性。目前, 针对口服植物乳杆菌预防和治疗 GI GVHD 的 III 期临床试验正在进行中 (NCT03057054)^[33]。

3.3 抗生素

20%~60% 的 HSCT 患者因移植所致的并发症会进展为全身性感染, 因此在 allo-HSCT 方案中会预防性给予抗生素来预防和治疗细菌感染。研究表明, 临床使用亚胺培南-西司他丁或哌拉西林-舒巴坦等广谱抗生素会增加下消化道 GVHD 的发生率, allo-HSCT 小鼠在接受以上药物治疗后出现黏液阿克曼菌的扩增和梭状芽胞杆菌数量减少的现象, 而在使用氨曲南或头孢吡肟等窄谱抗生素治疗的患者中则未见影响, 表明以某些抗生素为靶标并被其他抗生素所豁免的共生细菌可作为 GVHD 的预测因子^[34]。

研究表明, 肠道多种微生物与 allo-HSCT 的临床预后有关, 如蓝藻菌属的细菌丰度较高预示着较高的总体生存率, 而蓝藻菌的流失则通常伴随潜在致病菌的扩增^[6,32]。NORONA等^[8]发现, 小鼠 GVHD 的

发生与大肠杆菌的增殖有关, 口服多粘菌素 B 可降低大肠杆菌水平并改善 GVHD。最近的研究表明, 肠源性肠球菌与不良预后相关, 其会显著降低总体生存率和急性 GVHD 的发生发展^[10]。

另外, 使用高剂量不可吸收抗生素进行肠道完全净化可抑制肠道细菌及其化合物移位, 减少模式识别受体信号及其相关炎症和免疫系统的激活, 从而显著降低 allo-HSCT 移植后 aGVHD 的发生^[28]。研究表明, 使用利福昔明的患者在移植后肠球菌阳性率较低, 尿 3-吡啶啉硫酸盐浓度较高, 一年内移植相关死亡率较低, 总体存活率较高, 提示肠球菌菌群可能起负调控作用^[35]。粪肠球菌是肠球菌的一员, 其可通过金属蛋白酶影响黏膜屏障并参与肠道炎症。因此, 针对肠球菌等特定细菌选择合适的抗生素可能会影响肠道微生物群和 allo-HSCT 后的总体存活率^[6]。进一步研究表明, St2、TnFR1 和 REG3 α 等血浆蛋白生物标志物可作为诊断和预测 aGVHD 的无创性工具^[35,37], 这些生物标志物的表达量越高, 表明生物多样性越低。因此, GVHD 生物标志物与肠道微生物菌群之间的关系可为未来设计治疗干预措施提供研究基础。

3.4 FMT

FMT 是指将健康供者提供的粪便悬浮液移植入患者胃肠道。其在 allo-HSCT 患者中的应用主要包括: (1) 复发性艰难梭菌相关的治疗; (2) 皮质醇耐药或依赖型 aGVHD 的治疗; (3) allo-HSCT 患者移植过程中可能受到微生物损伤的预防; (4) 多药耐药菌 (multi-drug-resistant bacteria, MDRB) 肠道定植的治疗^[33]。研究表明, 大约 15%~30% 的 allo-HSCT 受体在移植过程中会发生艰难梭菌感染 (clostridium difficile infection, CDI)^[6]。复发性 CDI 很难治疗, 因为抗生素治疗往往无效, 十二指肠输注供体粪便在缓解复发的 CDI 症状的同时, FMT 还补充了细菌多样性, 增加了类杆菌和梭状芽胞菌簇 IV 和 XIVa 的数量, 减少了变形杆菌的种类^[6]。

KAKIHANA等^[36]对皮质醇耐药或依赖性肠道 GVHD 的 allo-HSCT 患者进行了 FMT, 发现所有病例对 FMT 有治疗反应, 且没有归因于 FMT 的不良事件。VAN等^[13]对 15 名通过 FMT 治疗 allo-HSCT 后发生难治性肠道 GVHD, 发现有 10 名患者胃肠道症状、腹泻得到有效改善, GM 稳态也得到恢复。MDRB 的增加严重挑战目前的临床治疗策略, 尤其增加了 allo-HSCT 患者的治疗风险。研究表明, FMT 对继

发MDRB患者的治疗有较好的安全性,除一名患者发生便秘,两名患者出现I级腹泻外,其他患者没有出现严重不良反应^[33]。接受allo-HSCT的10名患者中,有7名在平均随访13个月(4~40个月)的时候出现了肠道微生物的成功定植^[33]。另一项对两名allo-HSCT患者接受FMT治疗MDRB的结果显示,其中一名实现了GM定植而无并发症,另外一例则未达到治疗效果^[37]。

虽然现有大量的研究表明FMT对allo-HSCT有很好的防治效果,但FMT后微生物在受者体内的命运分化还尚不清楚^[6,13,16,36,38]。基于此,ZHANG等^[6]通过二代测序技术对接受多次FMT治疗GVHD患者肠道细菌、真菌和病毒的纵向动力学分析,结果表明,肠道内细菌、真菌和病毒群落对FMT的反应各不相同,GVHD患者肠道细菌数量在多次FMT后逐渐恢复,多样性也有所增加;真菌菌落表现为多样性先增加,后下降的趋势;而病毒则在多次FMT后组成变化,但多样性稳定上升的现象。这些结果对后续FMT治疗allo-HSCT后GVHD的机制研究和提高FMT的安全性和有效性有着重要的参考价值。

以上研究均表明,通过FMT逆转肠道生物失调有预防和改善肠道GVHD的潜能。然而,FMT治疗在摄取方式(灌肠剂、胶囊及经鼻十二指肠输注)、时间、频率以及供体来源(自体、亲属或健康供者)等许多方面有待优化^[33]。另外,对FMT供体进行耐药菌(其会引发FMT来源的血流感染)等风险排查可最大程度地防止潜在危险的发生。

4 结论与展望

移植抗宿主病是造成HSCT患者死亡的主要原因,微生物菌群及其代谢产物有助于维持免疫系统和维持肠道内环境平衡,从而改变宿主对GVHD的易感性^[28]。大量研究表明,allo-HSCT会破坏肠黏膜,造成共生微生物多样性降低,从而引发肠道菌群失调^[5,35,38]。研究表明,allo-HSCT后的血流感染、移植抗宿主病、器官毒性和总存活率都与肠道菌群组成密切相关^[3,28,44]。随着技术的不断发展,研究人员对肠道微生物菌群在GVHD病理生理学中的具体作用有了更加深入的认识。

虽然目前对微生物菌群中加剧或改善aGVHD危险因素的特定成分尚不明确,但乳杆菌、梭状芽胞杆菌、益生菌群和布鲁氏菌属、类杆菌以及梭状

芽胞菌簇IV和XIVa占优势的患者GVHD发生率较低,在GVHD患者中补充以上菌株可对GVHD起到预防作用^[17,45]。相反,较高丰度的肠球菌和变形杆菌以及双歧杆菌可能会加重GVHD^[20,27]。研究表明,在allo-HSCT使用抗生素治疗期间,肠道菌群发生了重大的改变和多样性的丧失,当肠道菌群的多样性和稳定性被破坏,造成菌血症相关细菌占据生长优势,最终引发GVHD^[35]。然而,以上结果仍需更加深入的研究加以证实和完善。

研究表明,GVHD患者微生物群的变化和随后加重的GVHD可能与肠黏膜受损,尤其是潘氏细胞和杯状细胞的损伤与丢失有关^[8-9]。因此,改善上皮细胞的存活或修复可能有助于抑制病原体的过度生长以及MAMPs、PAMPs和损伤相关分子模式(danger associated molecular pattern, DAMP)的扩散^[8-9]。微生物代谢产物如丁酸盐、超临界脂肪酸和吲哚是微生物菌群影响移植抗宿主病的指示物,它们能够调节黏膜屏障功能以及促炎和抗炎基因的表达^[25-27]。然而,使用这些微生物代谢物作为治疗方法的研究仍然未广泛开展,但FMT已成为治疗严重CDI的一种有效方法^[6]。

随着对肠道微生物菌群在移植抗宿主病中的作用的日益加深,将有助于推动该领域向前发展,并为设计新的方法来预防和治疗移植后GVHD提供研究基础。除探索GVHD期间细菌微生物菌群的变化外,还须重点关注菌群和病毒体的组成。由于宿主微生物菌群由不同的菌落组成,因此研究跨菌落之间的相互作用也非常重要。关注宿主微生物的功能基因组学的研究可更好地描述复杂的跨菌落间相互作用,以此来靶向设计特异性预防和治疗方法。

参考文献 (References)

- [1] FUJI S. How can we distinguish sorafenib-associated skin rash from skin graft-versus-host disease after allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation [J]. *J Clin Oncol*, 2021, 39(12): 1412.
- [2] KROGER N. Preventing graft-versus-host disease without losing graft-versus-leukemia effect after allogeneic stem-cell transplantation [J]. *J Clin Oncol*, 2020, 38(29): 3357-60.
- [3] CHEN L, WANG D, GARMAEVA S, et al. The long-term genetic stability and individual specificity of the human gut microbiome [J]. *Cell*, 2021, doi: 10.1016/j.cell.2021.03.024.
- [4] PENNYCOOK J H, SCANLAN P D. Ecological and evolutionary responses to antibiotic treatment in the human gut microbiota [J]. *FEMS Microbiol Rev*, 2021, doi: 10.1093/femsre/fuab018.

- [5] KHUAT L T, LE C T, PAI C S, et al. Obesity induces gut microbiota alterations and augments acute graft-versus-host disease after allogeneic stem cell transplantation [J]. *Sci Transl Med*, 2020, doi: 10.1126/scitranslmed.aay7713.
- [6] ZHANG F, ZUO T, YEOH Y K, et al. Longitudinal dynamics of gut bacteriome, mycobiome and virome after fecal microbiota transplantation in graft-versus-host disease [J]. *Nat Commun*, 2021, doi: 10.1038/s41467-020-20240-x.
- [7] RIWES M, REDDY P. Short chain fatty acids: postbiotics/metabolites and graft versus host disease colitis [J]. *Semin Hematol*, 2020, 57(1): 1-6.
- [8] NORONA J, APOSTOLOVA P, SCHMIDT D, et al. Glucagon-like peptide 2 for intestinal stem cell and Paneth cell repair during graft-versus-host disease in mice and humans [J]. *Blood*, 2020, 136(12): 1442-55.
- [9] ARA T, HASHIMOTO D, HAYASE E, et al. Intestinal goblet cells protect against GVHD after allogeneic stem cell transplantation via Lypd8 [J]. *Sci Transl Med*, 2020, doi: 10.1126/scitranslmed.aaw0720.
- [10] FIORENZA S, TURTLE C J. Associations between the gut microbiota, immune reconstitution, and outcomes of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation [J]. *Immunometabolism*, 2021, doi: 10.20900/immunometab20210004.
- [11] INGHAM A C, KIELSEN K, CILIEBORG M S, et al. Specific gut microbiome members are associated with distinct immune markers in pediatric allogeneic hematopoietic stem cell transplantation [J]. *Microbiome*, 2019, doi: 10.1186/s40168-019-0745-z.
- [12] VICENTE-DUENAS C, JANSSEN S, OLDENBURG M, et al. An intact gut microbiome protects genetically predisposed mice against leukemia [J]. *Blood*, 2020, 136(18): 2003-17.
- [13] VAN LIER Y F, DAVIDS M, HAVERKATE N, et al. Donor fecal microbiota transplantation ameliorates intestinal graft-versus-host disease in allogeneic hematopoietic cell transplant recipients [J]. *Sci Transl Med*, 2020, doi: 10.1126/scitranslmed.aaz8926.
- [14] INGHAM A C, KIELSEN K, MORDHORST H, et al. Microbiota long-term dynamics and prediction of acute graft-versus-host disease in pediatric allogeneic stem cell transplantation [J]. *Microbiome*, 2021, doi: 10.1186/s40168-021-01100-2.
- [15] ANDRLOVA H, VAN DEN BRINK M, MARKEY K A. An unconventional view of t cell reconstitution after allogeneic hematopoietic cell transplantation [J]. *Front Oncol*, 2020, 10: 608923.
- [16] DEEG H J. Chimerism, the microenvironment and control of leukemia [J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 652105.
- [17] STAFFAS A, BURGOS D S M, VAN DEN BRINK M R. The intestinal microbiota in allogeneic hematopoietic cell transplant and graft-versus-host disease [J]. *Blood*, 2017, 129(8): 927-33.
- [18] SADANAND A, NEWLAND J G, BEDNARSKI J J. Safety of probiotics among high-risk pediatric hematopoietic stem cell transplant recipients [J]. *Infect Dis Ther*, 2019, 8(2): 301-6.
- [19] HONG T, WANG R, WANG X, et al. Interplay between the intestinal microbiota and acute graft-versus-host disease: experimental evidence and clinical significance [J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 644982.
- [20] ILETT E E, JORGENSEN M, NOGUERA-JULIAN M, et al. Associations of the gut microbiome and clinical factors with acute GVHD in allogeneic HSCT recipients [J]. *Blood Adv*, 2020, 4(22): 5797-809.
- [21] GRECO R, NITTI R, MANCINI N, et al. Microbiome markers are early predictors of acute GVHD in allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients [J]. *Blood*, 2021, 137(11): 1556-9.
- [22] LEE S K, PARK M J, JHUN J Y, et al. Combination treatment with metformin and tacrolimus improves systemic immune cellular homeostasis by modulating Treg and Th17 imbalance [J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 581728.
- [23] KOYAMA M, MUKHOPADHYAY P, SCHUSTER I S, et al. MHC class II antigen presentation by the intestinal epithelium initiates graft-versus-host disease and is influenced by the microbiota [J]. *Immunity*, 2019, 51(5): 885-98.
- [24] MASSOUD R, GAGELMANN N, FRITZSCHE-FRIEDLAND U, et al. Comparison of immune reconstitution between anti-T-lymphocyte globulin and post-transplant cyclophosphamide as acute graft-versus-host disease prophylaxis in allogeneic myeloablative peripheral blood stem cell transplantation [J]. *Haematologica*, 2021, doi: 10.3324/haematol.2020.271445.
- [25] RIWES M, REDDY P. Microbial metabolites and graft versus host disease [J]. *Am J Transplant*, 2018, 18(1): 23-9.
- [26] MATHEWSON N D, JENQ R, MATHEW A V, et al. Gut microbiome-derived metabolites modulate intestinal epithelial cell damage and mitigate graft-versus-host disease [J]. *Nat Immunol*, 2016, 17(5): 505-13.
- [27] WU K, YUAN Y, YU H, et al. The gut microbial metabolite trimethylamine N-oxide aggravates GVHD by inducing M1 macrophage polarization in mice [J]. *Blood*, 2020, 136(4): 501-15.
- [28] ROUTY B, LETENDRE C, ENOT D, et al. The influence of gut-decontamination prophylactic antibiotics on acute graft-versus-host disease and survival following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation [J]. *Oncoimmunology*, 2017, 6(1): e1258506.
- [29] ZAMA D, MURATORE E, BIAGI E, et al. Enteral nutrition protects children undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation from blood stream infections [J]. *Nutr J*, 2020, 19(1): 29.
- [30] IYAMA S, TATSUMI H, SHIRAISHI T, et al. Possible clinical outcomes using early enteral nutrition in individuals with allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: A single-center retrospective study [J]. *Nutrition*, 2021, 83: 111093.
- [31] D'AMICO F, BIAGI E, RAMPELLI S, et al. Enteral nutrition in pediatric patients undergoing hematopoietic SCT promotes the recovery of gut microbiome homeostasis [J]. *Nutrients*, 2019, doi: 10.3390/nu11122958.
- [32] CIERNIKOVA S, KASPEROVA B, DRGONA L, et al. Targeting the gut microbiome: an emerging trend in hematopoietic stem cell transplantation [J]. *Blood Rev*, 2021, 48: 100790.
- [33] CHANG C C, HAYASE E, JENQ R R. The role of microbiota in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation [J]. *Expert Opin Biol Ther*, 2021: 1-11.
- [34] JOSEFSDOTTIR K S, BALDRIDGE M T, KADMON C S, et al. Antibiotics impair murine hematopoiesis by depleting the intestinal microbiota [J]. *Blood*, 2017, 129(6): 729-39.
- [35] WEBER D, OEFNER P J, DETTMER K, et al. Rifaximin preserves intestinal microbiota balance in patients undergoing

- allogeneic stem cell transplantation [J]. *Bone Marrow Transplant*, 2016, 51(8): 1087-92.
- [36] KAKIHANA K, FUJIOKA Y, SUDA W, et al. Fecal microbiota transplantation for patients with steroid-resistant acute graft-versus-host disease of the gut [J]. *Blood*, 2016, 128(16): 2083-8.
- [37] BIERNAT M M, URBANIAK-KUJDA D, DYBKO J, et al. Fecal microbiota transplantation in the treatment of intestinal steroid-resistant graft-versus-host disease: two case reports and a review of the literature [J]. *J Int Med Res*, 2020, doi: 10.1177/0300060520925693.
- [38] NGUYEN C L, DOCAMPO M D, VAN DEN BRINK M R, et al. The role of the intestinal microbiota in allogeneic HCT: clinical associations and preclinical mechanisms [J]. *Curr Opin Genet Dev*, 2021, 66: 25-35.