

粪菌移植治疗异基因造血干细胞移植后糖皮质激素耐药胃肠道急性移植物抗宿主病 19 例临床研究

郑雨雨¹ 杨萧天¹ 林国强¹ 卞梅茹¹ 司叶俊¹ 张兴霞¹ 张彦明¹ 吴德沛²

¹徐州医科大学附属淮安医院, 淮安 223002; ²苏州大学附属第一医院血液科, 江苏省血液研究所, 国家血液系统疾病临床医学研究中心, 苏州 215006

通信作者: 张彦明, Email: zhangyanming2005@126.com

【摘要】 目的 探讨粪菌移植(FMT)治疗糖皮质激素耐药胃肠道急性移植物抗宿主病(GI-aGVHD)的临床疗效。方法 纳入2017年3月至2022年3月期间在徐州医科大学附属淮安医院行异基因造血干细胞移植(allo-HSCT)后发生糖皮质激素耐药GI-aGVHD的29例血液病患者,其中19例行FMT治疗(FMT组),10例未接受FMT治疗(对照组)。观察疗效及安全性,分析FMT治疗前后肠道菌群丰度、淋巴细胞亚群比例、外周血炎症因子及GVHD生物标志物的变化。结果 ①13例患者(68.4%)在FMT后临床症状达到完全缓解,对照组2例患者(20.0%)达到完全缓解,差异有统计学意义($P < 0.05$)。FMT后肠道微生物群多样性增加,并逐渐恢复至正常水平,未发生FMT相关感染。②与对照组比较,FMT组治疗后CD3⁺、CD8⁺细胞占比降低,CD4⁺、调节性T细胞(Treg)及CD4⁺/CD8⁺细胞比值升高(P 值均 < 0.05),IL-6浓度低于对照组[4.15(1.91~5.71)ng/L对6.82(2.40~8.91)ng/L, $P = 0.040$],IL-10浓度高于对照组[12.11(5.69~20.36)ng/L对7.51(4.10~9.58)ng/L, $P = 0.024$]。胰岛衍生蛋白3 α (REG3 α)在发生GI-aGVHD时明显升高,FMT组治疗后REG3 α 水平低于对照组[30.70(10.50~105.00) μ g/L对74.35(33.50~139.50) μ g/L, $P = 0.021$]。结论 FMT是糖皮质激素耐药GI-aGVHD的有效、安全治疗方法。FMT可促进肠道菌群多样性的恢复、调节炎症因子和上调Treg细胞表达。

【关键词】 异基因造血干细胞移植; 急性移植物抗宿主病; 肠道菌群; 粪菌移植; 淋巴细胞亚群; 炎症因子

基金项目: 江苏省卫生健康委员会科研面上项目(M2020058);江苏省重大疾病生物资源样本库开放课题(SBK202003003);江苏省重点实验室开放课题(XZSYSKF2020038、XZSYSKF2021026)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2023.05.008

Clinical study of 19 cases of steroid-refractory gastrointestinal acute graft-versus-host disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation with fecal microbiota transplantation

Zheng Yuyu¹, Yang Xiaotian¹, Lin Guoqiang¹, Bian Meiru¹, Si Yejun¹, Zhang Xingxia¹, Zhang Yanming¹, Wu Depai²

¹Department of Hematology, Huai'an Hospital Affiliated to Xuzhou Medical University, Huai'an 223002, China; ²Department of Hematology, the First Affiliated Hospital of Soochow University, Jiangsu Institute of Hematology, National Clinical Research Center for Hematologic Disease, Suzhou 215006, China

Corresponding author: Zhang Yanming, Email: zhangyanming2005@126.com

【Abstract】 Objective To investigate the clinical efficacy of fecal microbiota transplantation (FMT) for treating steroid-refractory gastrointestinal acute graft-versus-host disease (GI-aGVHD).

Methods This analysis included 29 patients with hematology who developed steroid-refractory GI-aGVHD after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (allo-HSCT) in Huai'an Hospital Affiliated to Xuzhou Medical University from March 2017 to March 2022. Among them, 19 patients underwent FMT treatment (the FMT group) and 10 patients did not (the control group). The efficacy and safety of FMT were assessed, as well as the changes in intestinal microbiota abundance, lymphocyte subpopulation ratio, peripheral blood inflammatory cytokines, and GVHD biomarkers before and after FMT treatment. **Results**

① Complete remission of clinical symptoms after FMT was achieved by 13 (68.4%) patients and 2

(20.0%) controls, with a statistically significant difference ($P < 0.05$). Intestinal microbiota diversity increased and gradually recovered to normal levels after FMT and FMT-related infections did not occur. ②The proportion of CD3⁺ and CD8⁺ cells in the FMT group after treatment decreased compared with the control group, and the ratio of CD4⁺, regulatory T cells (Treg), and CD4⁺/CD8⁺ cells increased (all $P < 0.05$). The interleukin (IL)-6 concentration in the FMT group was lower than that in the control group [4.15 (1.91–5.71) ng/L vs 6.82 (2.40–8.91) ng/L, $P = 0.040$], and the IL-10 concentration in the FMT group was higher than that in the control group [12.11 (5.69–20.36) ng/L vs 7.51 (4.10–9.58) ng/L, $P = 0.024$]. Islet-derived protein 3 α (REG3 α) was significantly increased in patients with GI-aGVHD, and the REG3 α level in the FMT group was lower than that in the control group after treatment [30.70 (10.50–105.00) μ g/L vs 74.35 (33.50–139.50) μ g/L, $P = 0.021$]. **Conclusion** FMT is a safe and effective method for the treatment of steroid-refractory GI-aGVHD by restoring intestinal microbiota diversity, regulating inflammatory cytokines, and upregulating Treg cells.

【Key words】 Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation; Acute graft-versus-host disease; Intestinal microbiota; Fecal microbiota transplantation; Lymphocyte subpopulation; Inflammatory cytokines

Fund programs: General Project of Medical Scientific Research of Jiangsu Provincial Health Commission (M2020058); Opening Project of Sample Bank of Biological Resources of Key Diseases in Jiangsu Province (SBK202003003); Opening Project of Jiangsu Key Laboratory (XZSYSKF2020038, XZSYSKF2021026)

DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2023.05.008

胃肠道急性移植抗宿主病(GI-aGVHD)是异基因造血干细胞移植(allo-HSCT)的常见并发症,Ⅲ/Ⅳ级GI-aGVHD严重影响患者的预后及生活质量^[1]。GI-aGVHD主要表现为水样腹泻、腹痛、便血和肠梗阻,导致移植相关早期死亡率增高^[2]。目前,GI-aGVHD的一线治疗主要是糖皮质激素,但近半数患者耐药^[3],二线治疗可选择他克莫司、霉酚酸酯(MMF)、CD25单抗、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)单抗、抗胸腺细胞球蛋白(ATG)、芦可替尼、间充质干细胞(MSC)等,但目前尚无标准的二线治疗方案。

以往研究显示肠道微生物群在allo-HSCT后aGVHD的发生和发展中起重要作用,微生物多样性的丧失可促进aGVHD的发展^[4]。因此,调节肠道菌群稳态和维持有益菌的优势是治疗aGVHD的可行方法。粪菌移植(FMT)已被证明可恢复肠道菌群的多样性^[5],一些小样本研究也显示FMT治疗难治性aGVHD取得良好疗效^[6-8]。我们采用FMT治疗19例allo-HSCT后糖皮质激素耐药GI-aGVHD患者,观察其疗效、安全性并分析肠道菌群丰度及对免疫稳态的影响。

病例与方法

一、病例

本研究为回顾性分析,纳入2017年3月至2022年3月在我院行allo-HSCT后发生糖皮质激素耐药的29例GI-aGVHD患者,其中19例行FMT治疗(FMT组),另10例未接受FMT治疗(对照组)。依

据GVHD国际联盟(MAGIC)标准^[10]进行诊断及分级,满足以下任一条即可诊断糖皮质激素耐药GI-aGVHD:①糖皮质激素治疗3 d疾病进展、7 d无改善或14 d未缓解;②糖皮质激素减量期间治疗失败。所有患者均接受标准皮质糖皮质激素一线治疗和至少一种二线免疫抑制治疗。所有患者均知情同意并签署知情同意书。

二、FMT治疗方案及菌群多样性分析

FMT组19例患者中14例采用液态粪菌制剂(南京粪菌银行产品),5例采用粪菌胶囊(上海宝藤生物公司产品)。FMT前12 h停止使用抗生素,解冻复温的液态粪菌通过鼻十二指肠管注入1~3次,每治疗量3~8单位;粪菌胶囊每治疗量6单位,在1~4 d内分次口服。收集患者治疗前后粪便样本并储存于-80℃条件下,委托上海宝藤生物公司进行16S rRNA基因测序,用属水平显示粪便细菌的组成,利用香农-维纳多样性指数来描述菌群的多样性。

三、疗效和安全性评价

根据FMT后14 d和28 d内腹痛、腹泻等症状的严重程度评估FMT疗效。

腹痛评分:轻度疼痛(1分),中度疼痛(2分),无干预的严重疼痛(3分)和严重疼痛(4分)。

疗效评价标准^[11]:①完全缓解(CR):腹泻、腹痛和(或)出血消失,或大便量在3 d内平均减少 ≥ 500 ml;②部分缓解(PR):血便未完全消失但较最严重时减量超过50%,或日均便量 > 500 ml但较最

严重时减量超过500 ml;③疾病进展(PD):出现新发症状或原有症状加重或便量增量超过50%;④不符合以上标准者定义为疾病稳定(SD)。

根据FMT期间的不良事件和随访情况评估安全性。

四、淋巴细胞亚群检测

采用流式细胞术检测基线、发病时及治疗后外周血淋巴细胞亚群比例。

五、炎症因子及aGVHD生物标志物检测

采用全自动化学发光免疫分析仪(双抗体夹心酶联免疫分析法)检测患者基线、发病时及治疗后血清炎症因子及胰岛衍生蛋白3 α (REG3 α)的浓度,按说明书操作。

六、随访

随访截至2022年6月。总生存(OS)期定义为从GI-aGVHD诊断至患者死亡或随访截止的时间。无进展生存(PFS)期定义为患者接受治疗至任何原因所致复发、死亡或随访截止的时间。

七、统计学处理

采用SPSS 26.0软件进行统计学分析。计量资料用“中位数(范围)”表示,组间比较采用Mann-Whitney *U*检验。计数资料用“例(%)”表示,组间比较采用Fisher精确检验。生存曲线用Kaplan-Meier法绘制,组间生存期比较采用Log-rank检验。所用检验均为双侧, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

一、病例资料

两组患者间性别、年龄、疾病类型、移植前疾病状态等基线特征差异无统计学意义($P > 0.05$) (表1)。所有患者均接受标准糖皮质激素一线治疗和至少一种二线免疫抑制治疗(环孢素A、他克莫司、CD25单抗、布地奈德等)。

二、FMT疗效评估及安全性

患者疗效评估见表2。治疗后14 d, FMT组10例(52.6%)获得CR, 6例获得PR, 16例(89.5%)有效(CR+PR);对照组1例(10.0%)获得CR, 3例获得PR, 两组有效率、CR率差异有统计学意义($P = 0.004$, $P = 0.032$)。治疗后28 d, FMT组13例(68.4%)获得CR, 对照组2例(20.0%)获得CR, 差异有统计学意义($P = 0.021$)。19例中1例CR患者出现恶心、呕吐症状, 对症治疗后缓解, 3例患者出现GVHD进展, 表现为恶心、呕吐及血便。29例患

表1 29例糖皮质激素耐药胃肠道急性移植物抗宿主病(GI-aGVHD)患者临床资料

基本特征	FMT组 (19例)	对照组 (10例)	<i>P</i> 值
年龄[岁, <i>M</i> (范围)]	30(13~60)	41(17~61)	0.456
性别[例(%)]			0.270
男	12(63.2)	4(40.0)	
女	7(36.8)	6(60.0)	
疾病类型[例(%)]			0.089
AML	10(52.6)	2(20.0)	
ALL	2(10.5)	3(30.0)	
CML	1(5.3)	0(0.0)	
MDS	3(15.8)	5(50.0)	
SAA	3(15.8)	0(0.0)	
移植前疾病状态[例(%)]			0.699
完全缓解	12(63.2)	7(70.0)	
非完全缓解	4(21.1)	3(30.0)	
非恶性肿瘤	3(15.8)	0(0.0)	
供者类型[例(%)]			1.000
同胞全相合供者	3(15.8)	2(20.0)	
单倍体供者	15(78.9)	8(80.0)	
无关供者	1(5.3)	0(0.0)	
干细胞来源[例(%)]			0.657
BM+PBSC	7(36.8)	2(20.0)	
PBSC	7(36.8)	4(40.0)	
PBSC+UCB	4(21.1)	4(40.0)	
BM	1(5.3)	0(0.0)	
预处理方案[例(%)]			0.397
改良BU/CY+ATG	12(63.2)	5(50.0)	
改良BU/CY	4(21.1)	1(10.0)	
TBI/CY	0(0.0)	1(10.0)	
DAC+改良BU/CY	2(10.5)	2(20.0)	
AZA+改良BU/CY	0(0.0)	1(10.0)	
Cl+改良BU/CY	1(5.3)	0(0.0)	
预处理方案含ATG[例(%)]			1.000
是	17(89.5)	9(90.0)	
否	2(10.5)	1(10.0)	
急性GVHD分级			1.000
Ⅱ级	2(10.5)	1(10.0)	
Ⅲ/Ⅳ级	17(89.5)	9(90.0)	
GI-aGVHD发病时间[d, <i>M</i> (范围)]	61(22~133)	45(13~150)	0.332
中位随访时间[月, <i>M</i> (范围)]	11(3~42)	7.5(2~57)	0.213

注 FMT:粪菌移植;AML:急性髓系白血病;ALL:急性淋巴细胞白血病;CML:慢性髓性白血病;MDS:骨髓增生异常综合征;SAA:重型再生障碍性贫血;BM:骨髓;PBSC:外周血干细胞;UCB:脐带血;BU:白消安;CY:环磷酰胺;TBI:全身放射治疗;ATG:抗胸腺细胞球蛋白;DAC:地西他滨;AZA:阿扎胞苷;Cl:克拉屈滨

者GVHD治疗过程中有3例发生菌血症或多重耐药菌感染,其中1例发生在对照组,1例发生在

表 2 29例allo-HSCT后糖皮质激素耐药肠道急性移植物抗宿主病(GI-aGVHD)患者疗效评估

疗效指标	FMT组(19例)	对照组(10例)	P值
0 d			
日腹泻量[ml, M(范围)]	843(430~2200)	710(380~1400)	0.028
日腹泻频率[次, M(范围)]	12(5~23)	7(3~20)	0.069
腹痛评分[分, M(范围)]	4(3~4)	4(3~4)	0.378
14 d			
日腹泻量[ml, M(范围)]	470(90~1500)	645(200~900)	0.022
日腹泻频率[次, M(范围)]	4(2~15)	7(3~9)	0.038
腹痛评分[分, M(范围)]	2(0~4)	2(1~4)	0.061
CR+PR[例(%)]	16(84.2)	4(40.0)	0.032
CR[例(%)]	10(52.6)	1(10.0)	0.004
SD[例(%)]	2(10.5)	4(40.0)	0.143
PD[例(%)]	1(5.3)	2(20.0)	1.000
28 d			
日腹泻量[ml, M(范围)]	250(120~889)	330(210~1400)	0.077
日腹泻频率[次, M(范围)]	2(1~10)	3(2~7)	0.062
腹痛评分[分, M(范围)]	1(0~4)	2(0~4)	0.162
CR+PR[例(%)]	15(78.9)	6(60.0)	0.390
CR[例(%)]	13(68.4)	2(20.0)	0.021
SD[例(%)]	1(5.3)	1(10.0)	1.000
PD[例(%)]	3(15.8)	3(30.0)	0.633

注 CR:完全缓解;PR:部分缓解;SD:疾病稳定;PD:疾病进展

FMT治疗前,1例发生在FMT治疗1个月未缓解患者。未出现FMT相关感染。

三、GI-aGVHD发生时及FMT治疗后肠道微生物群特征

在GI-aGVHD发生时患者肠道微生物多样性明显降低,FMT组和对照组间差异无统计学意义

($P=0.377$,图1A)。FMT组FMT治疗后患者肠道菌群多样性明显高于治疗前及非FMT组($P=0.001, P=0.012$,图1A)。与对照组相比,FMT治疗组肠道拟杆菌属、梭菌属、双歧杆菌属的丰度显著升高($P<0.05$),肠球菌属、阿克曼菌属的丰度显著下降($P<0.05$)(图1B)。FMT治疗后有2例患者肠道菌群未见明显改善。

四、FMT治疗对淋巴细胞亚群影响

两组间淋巴细胞亚群在治疗前差异无统计学意义($P>0.05$)。治疗后,FMT组CD3⁺、CD8⁺低于对照组,差异有统计学意义($P=0.036, P=0.040$)。FMT组CD4⁺、Treg、CD4⁺/CD8⁺细胞比值高于对照组,差异有统计学意义($P=0.023, P=0.036, P=0.005$)(表3)。

五、FMT治疗对炎症因子及REG3α的影响

FMT组与对照组外周血炎症因子及REG3α浓度在GI-aGVHD发病前(基线)、发病时差异无统计学意义($P>0.05$)。治疗后,FMT组IL-6、REG3α浓度低于对照组($P=0.040, P=0.021$),IL-10浓度高于对照组($P=0.024$)(表4)。

六、预后分析

FMT组、对照组移植后1年OS率高于对照组[(65.1±13.1)%对(24.0±14.5)%, $P=0.017$],PFS率高于对照组[(49.9±15.7)%对(22.5±14.0)%, $P=0.044$]。

讨 论

在allo-HSCT后,肠道微生物群结构的变化与aGVHD和预后密切相关,提示可通过调节肠道菌

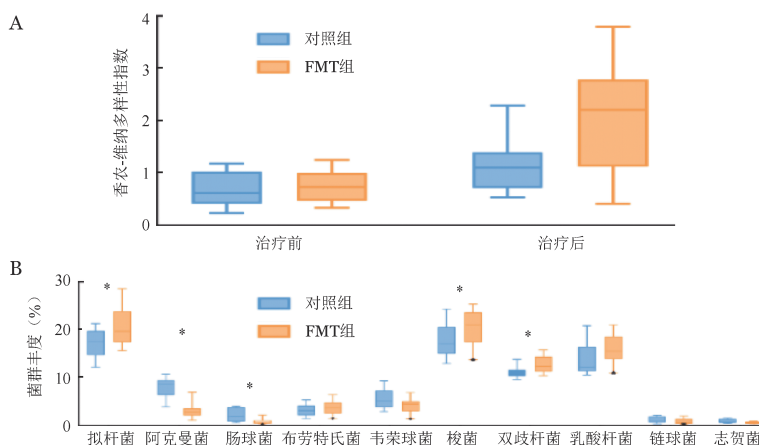


图 1 糖皮质激素耐药肠道急性移植物抗宿主病(GI-aGVHD)患者的粪便微生物群分析(A FMT组、对照组治疗前后香农-维纳多样性指数; B 前10个丰度最高属的相对丰度箱式图,最小平均丰度为>0.01。* $P<0.05$)

表 3 allo-HSCT 后糖皮质激素耐药 GI-aGVHD 患者 FMT 治疗后外周血淋巴细胞亚群检测结果[M(范围)]

检测项目	基线	GVHD 发病时	FMT 治疗后
CD3 ⁺ 细胞(%)			
对照组	66.51(48.21~75.45)	73.72(49.71~94.47)	72.77(58.92~77.65)
FMT 组	70.14(43.20~84.71)	80.15(47.26~92.60)	62.42(31.50~75.24) ^a
CD4 ⁺ 细胞(%)			
对照组	9.94(7.57~36.64)	7.65(5.15~9.15)	9.32(6.75~23.35)
FMT 组	12.59(8.02~41.24)	9.04(5.04~20.64)	15.48(8.06~29.17) ^a
CD8 ⁺ 细胞(%)			
对照组	50.97(41.64~59.95)	63.47(46.15~81.30)	62.95(46.87~70.40)
FMT 组	46.07(18.94~81.80)	57.68(44.78~87.12)	46.28(25.97~69.10) ^a
CD4 ⁺ /CD8 ⁺ 细胞比值			
对照组	0.19(0.16~0.76)	0.12(0.09~0.16)	0.15(0.13~0.48)
FMT 组	0.30(0.10~1.21)	0.16(0.06~0.45)	0.28(0.12~0.76) ^a
Treg(%)			
对照组	3.29(1.43~13.67)	0.62(0.00~3.21)	1.71(0.96~3.33)
FMT 组	8.24(0.56~26.67)	0.11(0.00~5.50)	8.86(0.87~22.22) ^a
B 细胞(%)			
对照组	0.89(0.22~1.78)	0.19(0.00~0.84)	0.68(0.12~1.37)
FMT 组	0.90(0.03~4.07)	0.12(0.00~1.12)	0.56(0.04~4.30)
NK 细胞(%)			
对照组	17.56(8.83~41.72)	9.43(3.70~28.94)	18.52(9.14~46.37)
FMT 组	21.98(5.34~34.58)	13.46(3.52~29.80)	26.26(7.92~57.91)
NKT 细胞(%)			
对照组	7.72(2.83~15.62)	1.76(0.53~9.48)	8.63(1.20~12.64)
FMT 组	9.34(1.46~18.15)	3.93(0.66~12.05)	9.11(0.94~22.12)
活化 T 细胞(%)			
对照组	14.07(8.47~30.68)	30.07(16.52~48.89)	13.54(4.45~35.29)
FMT 组	18.92(2.50~32.50)	35.58(11.88~49.02)	18.25(6.30~29.12)
静止 T 细胞(%)			
对照组	36.42(28.24~56.26)	20.98(9.34~43.78)	35.89(21.62~46.47)
FMT 组	41.79(22.44~73.17)	22.43(10.34~40.90)	43.50(15.20~73.82)

注 allo-HSCT: 异基因造血干细胞移植; GI-aGVHD: 胃肠道急性移植物抗宿主病; FMT: 粪菌移植; Treg: 调节性 T 细胞。与对照组比较, ^a $P < 0.05$

群干预 aGVHD^[12]。本研究分析了 29 例糖皮质激素耐药 GI-aGVHD 的临床资料, 其中 19 例接受了 FMT 治疗, 与治疗前患者的肠道菌群及未接受 FMT 治疗的患者相比, 大多数 FMT 后肠道菌群的多样性及丰度较治疗前及对照组显著改善, 结果与 Defillip 等^[5]的研究相似。此外, FMT 后微生物群的组成明显恢复, 在多数患者中有益菌群如拟杆菌、梭菌增加, 同时肠杆菌等促炎肠道菌群减少。

研究显示, FMT 治疗 GI-aGVHD 的总体缓解率可达 74%, CR 率约为 50%^[6-7, 13]。在本研究中, 多数患者 FMT 后腹泻和腹痛症状减轻, CR 率和有效 (CR+PR) 率分别为 68.4%、78.9%, FMT 组具有更高

的移植后 1 年 OS 率 ($P = 0.017$) 和 PFS 率 ($P = 0.044$), 未观察到 FMT 相关感染。

肠道菌群及其代谢产物通过与免疫细胞的直接和间接作用而影响机体免疫系统, 从而加重或缓解 aGVHD^[14]。研究显示, 可产生短链脂肪酸 (SCFA) 的梭状芽孢杆菌通过上调 Treg 细胞发挥抗炎作用^[15], 促进 allo-HSCT 后肠道上皮损伤的修复及减少细胞凋亡, 从而改善 aGVHD^[16]。梭菌属 (毛螺菌科及瘤胃球菌科) 的减少以及肠杆菌的增加与 Treg/Th17 失衡有关, 从而诱发 aGVHD 的发生^[17]。此外, 梭状芽孢杆菌 Blautia 丰度增加与致死性 aGVHD 发生率降低和 OS 率提高有关^[18]。Zeng 等

表4 两组 GI-aGVHD 患者治疗前后外周血炎症因子及胰岛衍生蛋白 3 α (REG3 α)检测结果[M(范围)]

组别	基线	发病时	治疗后
IL-2(ng/L)			
对照组	0.55(0.21~2.63)	1.43(0.72~4.43)	0.44(0.02~1.08)
FMT组	0.60(0.01~2.22)	1.53(0.71~5.12)	0.64(0.01~2.42)
IL-4(ng/L)			
对照组	0.62(0.37~1.33)	0.02(0.01~0.12)	0.52(0.02~2.04)
FMT组	0.68(0.01~2.99)	0.01(0.01~1.30)	0.77(0.01~3.66)
IL-6(ng/L)			
对照组	4.37(3.92~9.63)	43.78(26.88~74.59)	6.82(2.40~8.91)
FMT组	3.05(1.02~10.61)	21.22(7.58~97.53)	4.15(1.91~5.71) ^a
IL-10(ng/L)			
对照组	12.95(5.90~17.12)	3.20(3.09~4.26)	7.51(4.10~9.58)
FMT组	12.81(5.90~18.78)	3.31(2.11~5.58)	12.11(5.69~20.36) ^a
TNF- α (ng/L)			
对照组	0.22(0.01~0.67)	0.77(0.39~1.78)	0.30(0.01~0.83)
FMT组	0.02(0.01~0.82)	1.08(0.07~2.80)	0.18(0.01~1.60)
IFN- γ (ng/L)			
对照组	0.11(0.01~0.46)	0.69(0.32~1.37)	0.19(0.01~0.62)
FMT组	0.02(0.01~0.67)	0.61(0.02~1.63)	0.02(0.01~1.35)
REG3 α (μ g/L)			
对照组	37.75(7.90~87.10)	303.90(246.90~342.10)	74.35(33.50~139.50)
FMT组	25.60(10.30~86.90)	304.80(58.40~805.20)	30.70(10.50~105.00) ^a

注 GI-aGVHD:胃肠道急性移植抗宿主病;FMT:粪菌移植;TNF- α :肿瘤坏死因子- α ;REG3 α :胰岛衍生蛋白 3 α ;IFN- γ : γ 干扰素。与对照组比较,^a $P < 0.05$

[19]发现来自致病性肠杆菌科的代谢物脂多糖可促进 Th17 介导的炎症反应。Sofi 等^[20]观察到脆弱拟杆菌抑制致病性 T 细胞激活并阻止其向靶器官(如肝脏和肠道)迁移,同时增加时 Treg 细胞表达上调。本研究中,FMT 治疗后 CD3⁺、CD8⁺ 细胞下降、CD4⁺、Treg 和 CD4⁺/CD8⁺ 细胞比值升高,提示 FMT 可能通过减少致病性细胞毒性 T 细胞活化及增加产酸梭菌来上调 Treg 细胞表达,从而改善 aGVHD。

炎症细胞因子在 aGVHD 的发病中起重要作用。预处理引起的肠道损伤可导致肠黏膜通透性增加,从而促进肠道细菌的位移,增强炎症细胞因子反应,为 T 细胞活化和启动提供了环境^[21]。肠道菌群已被证实通过产生 IL-10 和 Th2 相关细胞因子以及诱导 Treg 细胞发挥抗炎作用。IL-10 是典型的抑制 aGVHD 应答因子,能有效抑制分泌 IL-2、IL-6、TNF- α 等的 Th1 细胞和 B 细胞生成的细胞因子^[22]。IL-6 主要由间充质来源的细胞释放,通过多种机制促进 aGVHD 的发生和发展(增加 Th1 和 Th17 细胞亚群、减少 Treg 细胞和直接细胞毒作用等)^[23]。我

们的研究显示,FMT 通过增加肠道菌群的多样性、减少促炎因子 IL-6 的分泌并促进抗炎因子 IL-10 分泌而改善 GI-aGVHD 的病程。

REG3 α 蛋白作为一种 C 型凝集素,主要由胃肠道上皮细胞产生,特别是 Paneth 细胞,其作为一种抗菌蛋白具有保护肠黏膜的作用。研究表明,REG3 α 在 GI-aGVHD 患者中显著升高,与 GI-aGVHD 的发生和严重程度密切相关,REG3 α 是 GI-aGVHD 的重要生物标志物^[24]。本研究发现 FMT 治疗后 GI-aGVHD 患者外周血中 REG3 α 较对照组显著下降,提示 FMT 可能通过改善内皮损伤及恢复肠道屏障及完整性来减轻 GI-aGVHD。

综上,本研究结果显示,FMT 治疗糖皮质激素耐药 GI-aGVHD 具有良好疗效,通过促进肠道菌群多样性的恢复,诱导同种异体反应由免疫、炎性失衡向再平衡的调节,从而达到治疗 GI-aGVHD 的目的,其免疫调控机制有待进一步深入研究。

利益冲突 所有作者声明不存在利益冲突

作者贡献声明 郑雨雨:实施研究、数据收集及分析、文章撰写;张

彦明:研究设计及实施、数据分析、文章审核;吴德沛:研究设计及指导;其他作者:协助研究

参考文献

- [1] Jagasia M, Arora M, Flowers ME, et al. Risk factors for acute GVHD and survival after hematopoietic cell transplantation [J]. *Blood*, 2012, 119 (1): 296-307. DOI: 10.1182/blood-2011-06-364265.
- [2] Yu J, Parasuraman S, Shah A, et al. Mortality, length of stay and costs associated with acute graft-versus-host disease during hospitalization for allogeneic hematopoietic stem cell transplantation [J]. *Curr Med Res Opin*, 2019, 35 (6): 983-988. DOI: 10.1080/03007995.2018.1551193.
- [3] McDonald GB. How I treat acute graft-versus-host disease of the gastrointestinal tract and the liver [J]. *Blood*, 2016, 127 (12): 1544-1550. DOI: 10.1182/blood-2015-10-612747.
- [4] Shono Y, van den Brink MRM. Gut microbiota injury in allogeneic haematopoietic stem cell transplantation [J]. *Nat Rev Cancer*, 2018, 18(5): 283-295. DOI: 10.1038/nrc.2018.10.
- [5] Defilipp Z, Peled JU, Li S, et al. Third-party fecal microbiota transplantation following allo- HCT reconstitutes microbiome diversity [J]. *Blood Adv*, 2018, 2 (7): 745-753. DOI: 10.1182/bloodadvances.2018017731.
- [6] Kakhana 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): 2083-2388. DOI: 10.1182/blood-2016-05-717652.
- [7] Qi X, Li X, Zhao Y, et al. Treating steroid refractory intestinal acute graft- vs.- host disease with fecal microbiota transplantation: a pilot study [J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 2195. DOI: 10.3389/fimmu.2018.02195.
- [8] Zhao Y, Li X, Zhou Y, et al. Safety and efficacy of fecal microbiota transplantation for grade iv steroid refractory GI-GVHD patients: interim results from FMT2017002 trial [J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 678476. DOI: 10.3389/fimmu.2021.678476.
- [9] Harris AC, Young R, Devine S, et al. International, multicenter standardization of acute graft-versus-host disease clinical data collection: a report from the Mount Sinai Acute GVHD International Consortium [J]. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2016, 22(1): 4-10. DOI: 10.1016/j.bbmt.2015.09.001.
- [10] SchoemansHM, LeeSJ, FerraraJL, et al. EBMT-NIH-CIBMTR Task Force position statement on standardized terminology & guidance for graft-versus-host disease assessment [J]. *Bone Marrow Transplant*, 2018, 53 (11): 1401-1415. DOI: 10.1038/s41409-018-0204-7.
- [11] 王倩, 符粤文, 王勇奇, 等. 粪菌移植治疗异基因造血干细胞移植后难治性腹泻四例报告并文献复习 [J]. *中华血液学杂志*, 2019, 40 (10): 853-855. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2019.10.011.
- [12] Peled JU, Gomes ALC, Devlin SM, et al. Microbiota as predictor of mortality in allogeneic hematopoietic- cell transplantation [J]. *N Engl J Med*, 2020, 382(9): 822-834. DOI: 10.1056/NEJMoa1900623.
- [13] Goloshchapov OV, Chukhlovina AB, Bakin EA, et al. Fecal microbiota transplantation for graft-versus-host disease in children and adults: methods, clinical effects, safety [J]. *Ter Arkh*, 2020, 92 (7): 43-54. DOI: 10.26442/00403660.2020.07.000773.
- [14] Nguyen CL, Docampo MD, van den Brink MR, 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. DOI: 10.1016/j.gde.2020.11.007.
- [15] Campbell C, Mckenney PT, Konstantinovskiy D, et al. Bacterial metabolism of bile acids promotes generation of peripheral regulatory T cells [J]. *Nature*, 2020, 581 (7809): 475-479. DOI: 10.1038/s41586-020-2193-0.
- [16] Mathewson ND, Jenq R, Mathew AV, et al. Corrigendum: gut microbiome-derived metabolites modulate intestinal epithelial cell damage and mitigate graft-versus-host disease [J]. *Nat Immunol*, 2016, 17(10): 1235. DOI: 10.1038/ni1016-1235b.
- [17] Han L, Jin H, Zhou L, et al. Intestinal microbiota at engraftment influence acute graft-versus-host disease via the Treg/Th17 balance in allo-HSCT recipients [J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 669. DOI: 10.3389/fimmu.2018.00669.
- [18] Jenq RR, Taur Y, Devlin SM, et al. Intestinal blautia is associated with reduced death from graft-versus-host disease [J]. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2015, 21 (8): 1373-1383. DOI: 10.1016/j.bbmt.2015.04.016.
- [19] Zeng MY, Inohara N, Nuñez G. Mechanisms of inflammation-driven bacterial dysbiosis in the gut [J]. *Mucosal Immunol*, 2017, 10(1): 18-26. DOI: 10.1038/mi.2016.75.
- [20] Sofi MH, Wu Y, Ticer T, et al. A single strain of *Bacteroides fragilis* protects gut integrity and reduces GVHD [J]. *JCI Insight*, 2021, 6(3): e136841. DOI: 10.1172/jci.insight.136841.
- [21] Noor F, Kaysen A, Wilmes P, et al. The gut microbiota and hematopoietic stem cell transplantation: challenges and potentials [J]. *J Innate Immun*, 2019, 11 (5): 405-415. DOI: 10.1159/000492943.
- [22] Zhang P, Hill GR. Interleukin-10 mediated immune regulation after stem cell transplantation: Mechanisms and implications for therapeutic intervention [J]. *Semin Immunol*, 2019, 44: 101322. DOI: 10.1016/j.smim.2019.101322.
- [23] Wilkinson AN, Chang K, Kuns r D, et al. IL-6 dysregulation originates in dendritic cells and mediates graft-versus-host disease via classical signaling [J]. *Blood*, 2019, 134(23): 2092-2106. DOI: 10.1182/blood.2019000396.
- [24] Major-Monfried H, Renteria AS, Pawarode A, et al. MAGIC biomarkers predict long-term outcomes for steroid-resistant acute GVHD [J]. *Blood*, 2018, 131 (25): 2846-2855. DOI: 10.1182/blood-2018-01-822957.

(收稿日期:2022-12-23)

(本文编辑:徐茂强)