微生态调节剂对肠道菌群失调类风湿关节炎大鼠的行为、免疫及病理学影响研究

王 瑞[1]，陈汉玉[1]，兰培敏[1]，张布新[2]，方兴刚[1]*
（1. 十堰市太和医院中西医结合科，湖北十堰 442000；2. 十堰市太和医院儿童康复中心，湖北十堰 442000）

摘要：目的 研究不同微生态调节剂对肠道菌群失调类风湿关节炎（rheumatoid arthritis，RA）大鼠的行为、免疫及病理学影响。**方法** 在 70 只 6 周龄 Wistar 雌性大鼠中，随机选取 10 只为未处理（untreated control，UC）组，60 只建立肠道菌群失调 RA 大鼠模型，分为阴性对照（negative control，NC）组、益生菌（probiotics，Pro）组、益生元（prebiotics，Pre）组、肠黏膜保护剂（intestinal mucosal protectant，IMP）组、合生素（synbiotics，SYN）组、合生素＋肠黏膜保护剂（SYN ＋ IMP）组，每组 10 只，分别给予等量生理盐水或微生态调节剂灌胃，持续 28 d。观察大鼠一般状态、体质量变化，评估关节炎指数；记录各组血清炎症因子、辅助性 T（helper T，Th）17 细胞和调节性 T（regulatory T，Treg）细胞比例及踝关节和滑膜组织的病理学改变。**结果** 与 UC 组相比，NC 组大鼠一般状态较差，体质量增长缓慢，关节炎指数增高（$P < 0.05$）；与 NC 组相比，各干预组大鼠一般状态及体质量增长逐渐恢复，关节炎指数降低，SYN ＋ IMP 组改善效果最佳（$P < 0.05$）。与 UC 组相比，NC 组血清炎症因子白介素（interleukin，IL）-1β、IL-6、肿瘤坏死因子（tumor necrosis factor，TNF）-α、转化生长因子 -β（transforming growth factor-β，TGF-β）、IL-17 和 Th17 细胞升高，IL-10 和 Treg 细胞比例降低（$P < 0.05$）；与 NC 组相比，各干预组血清炎症因子水平、Th17 细胞和 Treg 细胞比例均不同程度改善，SYN ＋ IMP 组最优，差异有统计学意义（$P < 0.05$），Pro、Pre 和 IMP 组差异无统计学意义（$P > 0.05$）。与 UC 组相比，NC 组大鼠血管翳、骨侵蚀形成，伴大量炎症细胞浸润；与 NC 组相比，各干预组大鼠关节病变减轻，炎症细胞减少，SYN ＋ IMP 组改善效果最佳。**结论** 微生态调节剂可降低肠道菌群失调 RA 大鼠的关节炎指数，抑制血清炎症因子水平，纠正机体免疫失衡状态，减轻踝关节和滑膜组织病理学改变。

关键词：类风湿关节炎；肠道菌群失调；微生态调节剂；免疫失衡；病理
中图分类号：R965 **文献标志码**：A **文章编号**：1672-9188（2022）04-0403-08
DOI：10.13683/j.wph.2022.04.008

Effects of microecological modulator on behavior, immunity and pathology in rats of rheumatoid arthritis with intestinal microecological imbalance

WANG Rui[1], CHEN Hanyu[1], LAN Peimin[1], ZHANG Buxin[2], FANG Xinggang[1]*
（*1. Department of Integrative Medicine, Taihe Hospital, Shiyan 442000, Hubei Province, China; 2. Children's Rehabilitation Centre, Taihe Hospital, Shiyan 442000, Hubei Province, China*）

Abstract: ***Objective*** To investigate the effects of different microecological modulators on behavior, immunity and pathology in rheumatoid arthritis（RA）rats with intestinal microecological imbalance. ***Methods*** Seventy six-week-old Wistar female rats were selected randomly, 10 were in the untreated control（UC）group, sixty RA rats with intestinal microecological imbalance were divided into negative control（NC）group, probiotics（Pro）group, prebiotics（Pre）group, intestinal mucosal protective agent（IMP）group, synbiotics（probiotics＋prebiotics, SYN）group, synbiotics＋intestinal mucosal protective agent（SYN＋IMP）group, 10 rats in each group were given the corresponding amount of normal

收稿日期：2021-11-09
作者简介：王瑞，硕士，住院医师，研究方向：风湿免疫性疾病的诊治。
通信作者：方兴刚，博士，副主任医师，研究方向：风湿免疫性疾病的诊治。
基金项目：湖北省卫生健康委2021-2022年度青年人才项目（WJ2021F032）

saline（UC and NC group）or microecological regulator intragastric administration for 28 days. The general status and body weight of rats in each group were observed and arthritis index was evaluated. Serum inflammatory factors, helper T（Th）17 cell and regulatory T（Treg）cell levels and pathological changes of ankle joint and synovial were observed in each group. ***Results*** Compared with UC group, NC group had poor general status, slow weight gain and increased arthritis index（$P<0.05$）. Compared with NC group, the general status and weight gain of RA rats of all the intervention group gradually recovered, arthritis index decreased, and SYN＋IMP group had the best improvement effect（$P<0.05$）. Compared with UC group, the levels of interleukin（IL）-1β, IL-6, tumor necrosis factor（TNF）-α, transforming growth factor（TGF）-β, IL-17 and Th17 cells in NC group were significantly increased, while the levels of IL-10 and Treg cells were significantly decreased（$P<0.05$）. Compared with NC group, the levels of serum inflammatory factors and Th17 cells and Treg cells in all intervention groups were improved in different degrees, and the SYN＋IMP group was better than SYN group, which were better than Pro group, Pre group and IMP group, the differences were statistically significant（$P<0.05$）. There was no significant difference between Pro group, Pre group and IMP group（$P>0.05$）. Compared with UC group, the pathological changes of joints and synovium in NC group were serious, vascular pannus and bone erosion were formed, accompanied by a large number of inflammatory cell infiltration. Compared with NC group, the pathological changes of joints were alleviated, and the infiltration and aggregation of inflammatory cells in all intervention groups were reduced, and SYN＋IMP group had the best improvement effect. ***Conclusion*** Different microecological modulators can reduce the arthritis index, inhibit the level of serum inflammatory factors, correct the immune imbalance and alleviate the histopathological changes of ankle joint and synovial membrane in RA rats with intestinal microecological imbalance.

Key words: rheumatoid arthritis; intestinal microecological imbalance; microecological regulator; immune imbalance; pathology

类风湿关节炎（rheumatoid arthritis，RA）是一种慢性炎症自身免疫性疾病，我国患病率约为0.35%～0.45%，临床表现为滑膜组织炎性增生、血管新生及血管翳形成，并侵蚀关节软骨和骨，进而造成关节功能丧失乃至残疾，严重影响患者生活质量[1]。目前，RA的致病机制尚未明确，近年有研究显示RA在发病前期及病程进展中存在肠道菌群失调，且与RA的病情活动及血清自身抗体滴度相关[2]，可能是促使RA发病和推动RA进展的可能因素之一[3-4]。肠道菌群可直接参与人体的营养吸收、脂肪代谢、能量供应及免疫调节等多方面的生物活动[5-7]，能通过激活或抑制自身及其代谢产物免疫调节相关因子，诱导T、B淋巴细胞活化，产生多种炎症因子或抗体，攻击自身组织、改变黏膜通透性、破坏肠黏膜屏障，从而影响免疫功能，造成RA[8-10]。故调节肠道菌群结构、保护肠道黏膜屏障的完整性成为RA治疗的潜在靶标，也是目前RA研究的热点问题之一。

因此，本研究将不同肠道微生态调节剂及肠道黏膜保护剂应用于肠道菌群失调的RA大鼠模型中，观察大鼠行为学、免疫学、踝关节及滑膜组织的病理学改变，以期为RA的临床治疗提供一定参考。

1 材料与方法

1.1 实验动物

采用6周龄无特定病原体（specific pathogen free，SPF）级的Wistar雌性大鼠共计70只，体质量（200.0±20.0）g，购自咸宁学院医学院动物室，实验动物许可证号：SCXK（鄂）2020-0211，使用许可证：SYXK（鄂）2019-0031。所有实验大鼠均常规标准适应性喂养鼠料，饲养环境通风良好，温度18～25 ℃，湿度50%～60%，自然光照周期，每周更换垫料，普通饲料喂养，自由饮水进食。本研究已获得十堰市太和医院实验动物伦理委员会批准（TH00443）。

1.2 肠道菌群失调RA大鼠模型的建立

采用注射用头孢曲松钠（规格：0.5 g/瓶，批号：20200367，上海罗氏制药有限公司）诱导建立肠道

菌群失调动物模型和胶原诱导性关节炎（collagen induced arthritis，CIA）模型建立 RA 大鼠模型。随机选取 60 只雌性大鼠为试验组，均给予基础饲料适应性喂养，1 周后开始灌服 200 mg/ml 注射用头孢曲松钠，每次 2 ml，一日 2 次，每次间隔 6 ～ 8 h，连续灌胃 8 d，建立肠道菌群失调大鼠动物模型。D9 开始第 1 次免疫，将牛Ⅱ型胶原蛋白（bovine type Ⅱ collagen，CII）溶于 0.05 mmol/L 冰醋酸中制成 2 mg/ml 的 CII 溶液，取 6 ml CII 溶液和 6 ml 弗氏不完全佐剂（incomplete Freund's adjuvant，IFA）等体积混合，匀浆机进行乳化，每只大鼠尾部皮下注射 0.2 ml；D16 进行第 2 次免疫，每只大鼠尾部皮下注射 0.1 ml。建模后大鼠出现多发性关节肿胀则为 RA 模型建立成功 [9]。

1.3 实验分组

10 只正常 SPF 级 Wistar 雌性大鼠为未处理（untreated control，UC）组。60 只肠道菌群失调 RA 大鼠造模成功后，随机分为阴性对照（negative control，NC）组、益生菌（probiotics，Pro）组、益生元（prebiotics，Pre）组、肠黏膜保护剂（intestinal mucosal protectant，IMP）组、合生素（synbiotics，SYN）（即益生菌＋益生元）组、合生素＋肠黏膜保护剂（SYN ＋ IMP）组。干预方法如下。① UC 组：持续 28 d 等量生理盐水灌胃。② NC 组：持续 28 d 等量生理盐水灌胃。③ Pro 组：每晨灌胃双歧杆菌三联活菌散（规格：2 g/ 袋，批号：2020040460，上海上药信谊药厂有限公司）350 mg/kg，持续 28 d。④ Pre 组：每晨灌胃维乐夫菊粉（规格：1 g/ 袋，批号：20201405，丰宁平安高科实业有限公司）300 mg/kg，持续 28 d。⑤ IMP 组：每晨灌胃谷氨酰胺颗粒（规格：1 g/ 袋，批号：2006045，锦州奥鸿药业有限责任公司）200 mg/kg，持续 28 d。⑥ SYN 组：每晨灌胃双歧杆菌三联活菌散 350 mg/kg ＋维乐夫菊粉 300 mg/kg，持续 28 d。⑦ SYN ＋ IMP 组：每晨灌胃双歧杆菌三联活菌散 350 mg/kg ＋维乐夫菊粉 300 mg/kg ＋谷氨酰胺颗粒 200 mg/kg，持续 28 d。

1.4 一般状态及关节炎指数评价

肠道菌群失调 RA 大鼠造模成功后每隔 3 d 观察各组大鼠精神状态、饮食状况、毛发光泽、活动状态及体质量变化，并于干预期间观察每组大鼠左后足、其余三足病变程度及足趾间发炎肿胀情况，以评价关节炎症程度，每周评价 1 次。肿胀评分时，每只腿最多 4 分，每只大鼠最多 16 分。肿胀评分标准 [9]：无肿胀和红斑出现为 0 分，踝关节处出现轻微红斑和肿胀为 1 分，从踝关节到跖骨关节出现红斑和轻微肿胀为 2 分，从踝关节到跖关节出现红斑和中度肿胀为 3 分，包括踝关节、足和脚趾在内均出现红斑和严重肿胀为 4 分。每只大鼠四足肿胀评分和即为关节炎指数，评分＞ 4 分即说明 RA 造模成功 [9]。

1.5 血清实验指标检测

各组大鼠末次干预结束后，给予 10% 水合氯醛麻醉并处死，取腹主动脉血 1 ml，室温静置 2 h，离心（3 000 r/min）10 min，取上清分装，−80 ℃保存待测。采用酶联免疫吸附法检测各组大鼠血清白介素（interleukin，IL）-1β、IL-6、IL-10、IL-17、肿瘤坏死因子（tumor necrosis factor，TNF）-α、转化生长因子（transforming growth factor，TGF）-β 水平；采用流式细胞术检测辅助性 T（helper T，Th）17 细胞和调节性 T（regulatory T，Treg）细胞表达。检测操作严格按照试剂盒及流式细胞仪说明书进行。

1.6 踝关节和滑膜组织病理学检查

踝关节：末次干预结束后将 RA 大鼠麻醉、处死，取大鼠双侧踝关节软骨标本，4% 中性甲醛固定，10% 乙二胺四乙酸（ethylene diamine tetraacetic acid，EDTA）脱钙，矢状位取材，石蜡包埋，连续切片约 4 μm 备用。对大鼠切片样本进行苏木精 - 伊红（hematoxylin-eosin，HE）染色，二甲苯常规脱蜡 2 次，每次 5 min，梯度乙醇水化处理 3 min，自来水冲洗 1 次；苏木精染色 5 min，自来水冲洗 1 次；用 1% 盐酸乙醇溶液分化处理 30 s，0.2% 氨水中反蓝 2 min，自来水冲洗 1 次；0.5% 伊红染色 10 min，自来水冲

洗 1 次；梯度乙醇脱水，中性树胶封片，观察记录血管翳骨侵蚀、炎症细胞浸润、软骨组织退行性改变或坏死情况。

滑膜组织：末次干预后将 RA 大鼠麻醉、处死，取大鼠双膝关节下滑膜组织，常规中性甲醛固定，石蜡包埋，HE 染色，光镜下观察组织学形态，评估炎症细胞浸润程度、滑膜增生程度及血管翳形成等情况。

1.7 统计学分析

应用 SPSS17.0 统计软件进行统计学分析，符合正态分布的计量资料用 $(\bar{x}\pm s)$ 表示，多组间差异比较采用单因素方差分析，两组间比较采用独立 t 检验；重复测量数据采用重复测量的方差分析；不符合正态分布的计量资料则采用非参数检验。以 $P<0.05$ 认为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 一般状态及造模情况

试验过程中肠道菌群失调 RA 大鼠均造模成功。UC 组大鼠毛色光滑，饮食正常，精神佳，反应迅速。造模后，NC 组大鼠毛色失去光泽，精神萎靡，食欲减退，舔足，活动减少，一般状态较 UC 组明显变差，踝关节、足趾关节明显肿胀，足跖厚度增加。NC 组大鼠体质量低于 UC 组，差异具有统计学意义（$t=2.262$，$P<0.05$），详见表 1。关节炎指数明显高于 UC 组，差异具有统计学意义（$t=13.865$，$P<0.05$），详见表 2。表明 RA 模型成功建立。

2.2 体质量及关节炎指数评估

造模后随着干预时间延长，微生态调节剂干预组大鼠一般状态较 NC 组有所好转，体质量不同程度增长，SYN + IMP 组增长最显著（$P<0.05$），见

表 1 各组 RA 大鼠体质量变化比较（$\bar{x}\pm s$，$n=10$，单位：g）

Table 1 Comparison of body weight of RA rats in each group（$\bar{x}\pm s$，$n=10$，unit：g）

组别	造模后1 d	干预1 w	干预2 w	干预3 w	干预4 w
NC组	215.4±15.5	223.6±13.4	235.6±15.9	264.2±15.7	289.5±18.5
Pro组	214.6±17.8	225.3±13.7$^{\#\blacktriangle}$	248.9±14.7$^{*\#\blacktriangle}$	276.4±16.4$^{*\#\blacktriangle}$	303.8±17.3$^{*\#\blacktriangle}$
Pre组	216.4±13.3	226.9±14.6$^{\#\blacktriangle}$	246.7±15.6$^{*\#\blacktriangle}$	274.8±15.3$^{*\#\blacktriangle}$	306.5±18.7$^{*\#\blacktriangle}$
IMP组	216.2±12.3	224.4±15.1$^{\#\blacktriangle}$	246.8±16.4$^{*\#\blacktriangle}$	275.5±17.9$^{*\#\blacktriangle}$	304.7±19.0$^{*\#\blacktriangle}$
SYN组	215.8±14.6	233.5±15.7*	258.6±18.2*	288.7±18.8$^{*\blacktriangle}$	314.6±20.5$^{*\blacktriangle}$
SYN+IMP组	216.7±13.6	235.4±16.1*	262.3±17.8*	297.6±19.5*	320.3±21.6*

注：与 NC 组相比，$^{*}P<0.05$；与 SYN 组相比，$^{\#}P<0.05$；与 SYN + IMP 组相比，$^{\blacktriangle}P<0.05$

Note: *vs* NC group, $^{*}P<0.05$; *vs* SYN group, $^{\#}P<0.05$; *vs* SYN + IMP group, $^{\blacktriangle}P<0.05$

表 2 各组 RA 大鼠关节炎指数评估（$\bar{x}\pm s$，$n=10$）

Table 2 Evaluation of arthritis index of RA rats in each group（$\bar{x}\pm s$，$n=10$）

组别	造模后1 d	干预1 w	干预2 w	干预3 w	干预4 w
NC组	5.7±1.3	6.4±1.9	6.9±2.2	7.7±2.5	7.4±2.3
Pro组	5.6±1.5	6.3±1.3	6.6±2.0$^{*\#\blacktriangle}$	7.3±2.3$^{*\#\blacktriangle}$	7.1±2.0$^{*\#\blacktriangle}$
Pre组	5.6±1.4	6.2±1.4	6.5±1.8$^{*\#\blacktriangle}$	7.2±2.1$^{*\#\blacktriangle}$	7.0±1.8$^{*\#\blacktriangle}$
IMP组	5.7±1.2	6.2±1.6	6.5±1.9$^{*\#\blacktriangle}$	7.3±2.2$^{*\#\blacktriangle}$	6.9±1.7$^{*\#\blacktriangle}$
SYN组	5.6±1.6	6.0±1.3	6.2±1.6*	7.0±1.8*	6.6±1.4*
SYN+IMP组	5.7±1.5	5.9±1.4*	6.0±1.7*	6.8±1.7*	6.4±1.3*

注：与 NC 组相比，$^{*}P<0.05$；与 SYN 组相比，$^{\#}P<0.05$；与 SYN + IMP 组相比，$^{\blacktriangle}P<0.05$

Note: *vs* NC group, $^{*}P<0.05$; *vs* SYN group, $^{\#}P<0.05$; *vs* SYN + IMP group, $^{\blacktriangle}P<0.05$

表 1。NC 组大鼠关节炎指数明显升高，21 d 时达到峰值，其他各微生态调节剂干预组大鼠关节炎指数较 NC 组不同程度降低，其中 SYN ＋ IMP 组改善最为显著（$P < 0.05$）。Pro 组、Pre 组和 IMP 组差异无统计学意义（$P > 0.05$），见表 2。

2.3 血清实验指标比较

NC 组大鼠血清炎症因子 IL-1β、IL-6、TNF-α 水平较 UC 组明显升高，IL-10 水平则明显降低（$P < 0.05$）；各干预组大鼠血清炎症因子水平较 NC 组不同程度改善，SYN ＋ IMP 组优于 SYN 组，SYN 组优于 Pro 组、Pre 组、IMP 组，差异均具有统计学意义（$P < 0.05$），Pro 组、Pre 组、IMP 组差异无统计学意义（$P > 0.05$），详见表 3。与 UC 组相比，NC 组 Th17 细胞比例及其相关细胞因子 IL-17 水平明显升高（$P < 0.05$），Treg 细胞比例明显降低，而细胞因子 TGF-β 水平明显升高（$P < 0.05$）。各干预组 Th17 细胞和 Treg 细胞比例及其细胞因子水平较 NC 组明显改善，SYN ＋ IMP 组优于 SYN 组优于 Pro 组、Pre 组、IMP 组，差异均具有统计学意义（$P < 0.05$），Pro 组、Pre 组、IMP 组差异无统计学意义（$P > 0.05$），详见表 3。

2.4 踝关节和滑膜组织病理学比较

UC 组大鼠踝关节结构完整，关节面平整，关节软骨结构明显，软骨细胞和滑膜细胞排列整齐；滑膜组织、软骨组织及骨小梁正常，未见异常增生；无炎症细胞浸润。NC 组大鼠滑膜组织严重增生，滑膜、骨组织细胞排列紊乱，关节软骨破坏明显；关节间隙明显变窄，骨关节面融合，血管翳、骨侵蚀形成，伴大量炎症细胞浸润。与 NC 组相比，Pro 组、Pre 组、IMP 组大鼠关节滑膜组织增生减轻，关节软骨损害相对降低，关节表面仍不平整；滑膜细胞、骨组织排列尚且紊乱，关节腔隙狭窄仍明显，其余结构改变不明显，炎症细胞浸润减少。SYN 组、SYN ＋ IMP 组大鼠滑膜组织增生明显减轻，滑膜结构、骨组织界面逐渐完整清晰，炎症细胞浸润聚集显著减少，病理改变较 NC 组明显降低，其中 SYN ＋ IMP 组改善最为显著，详见图 1。

3 讨论

本研究建立肠道菌群失调 RA 大鼠模型，发现 NC 组大鼠一般状态较 UC 组明显变差，体质量增长缓慢，踝关节和足趾关节明显肿胀，关节炎指数明显升高；病理示滑膜组织严重增生，关节软骨明显

表 3 各组血清实验指标比较（$\bar{x} \pm s$）

Table 3 Comparison of serum experimental indexes in each group（$\bar{x} \pm s$）

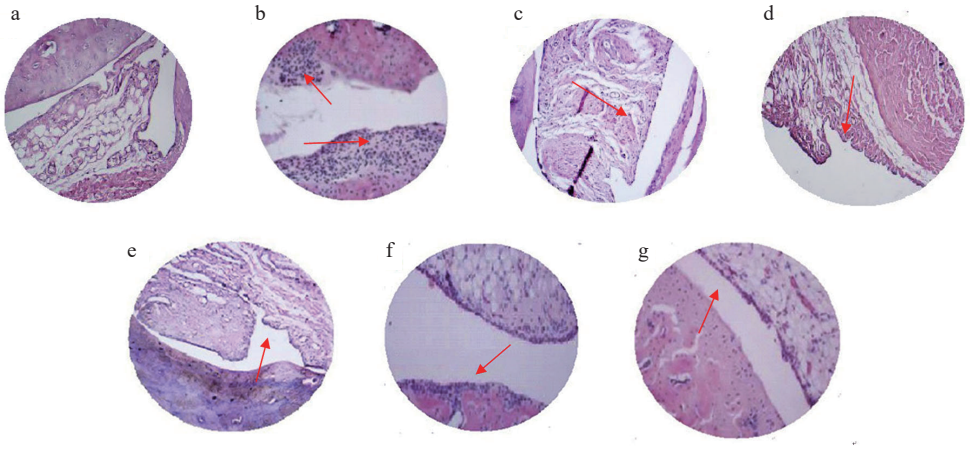
组别	IL-1β/ng·ml^{-1}	IL-6/pg·ml^{-}1	IL-10/ng·L^{-1}	TNF-α/ng·ml^{-1}
UC组（n=10）	1.2±0.3	22.7±5.3	28.6±4.7	20.8±2.4
NC组（n=10）	2.3±0.8*	29.2±4.7*	16.7±2.8*	31.9±3.3*
Pro组（n=10）	1.9±0.5$^{\#}$	27.3±3.8$^{\#▲△}$	21.8±3.6$^{\#▲△}$	28.5±2.9$^{\#▲△}$
Pre组（n=10）	1.8±0.6$^{\#▲△}$	26.5±3.4$^{\#▲△}$	22.5±3.9$^{\#▲△}$	28.2±2.5$^{\#▲△}$
IMP组（n=10）	1.8±0.7$^{\#▲△}$	26.7±4.0$^{\#▲△}$	23.1±3.5$^{\#▲△}$	27.8±3.0$^{\#▲△}$
SYN组（n=10）	1.6±0.4$^{\#}$	24.9±3.3$^{\#}$	26.5±4.0$^{\#}$	24.4±2.6$^{\#}$
SYN＋IMP组（n=10）	1.4±0.5$^{\#}$	23.7±3.6$^{\#}$	27.6±4.4$^{\#}$	22.8±2.4$^{\#}$
组别	Th17/%	IL-17/pg·ml^{-1}	Treg/%	TGF-β/ng·ml^{-1}
UC组（n=10）	1.6±0.7	6.4±2.5	3.3±1.2	117.4±13.5
NC组（n=10）	3.4±0.8*	19.9±6.7*	1.3±0.9*	175.2±16.4*
Pro组（n=10）	2.9±0.4$^{\#▲△}$	16.7±5.8$^{\#▲△}$	1.9±0.7$^{\#▲△}$	159.3±14.2$^{\#▲△}$
Pre组（n=10）	2.7±0.5$^{\#▲△}$	16.1±5.4$^{\#▲△}$	2.1±0.8 $^{\#▲△}$	157.2±12.9$^{\#▲△}$
IMP组（n=10）	2.8±0.7$^{\#▲△}$	15.6±6.0$^{\#▲△}$	2.0±0.9$^{\#▲△}$	161.8±13.3$^{\#▲△}$
SYN组（n=10）	2.5±0.6$^{\#}$	11.3±4.9$^{\#}$	2.5±1.0$^{\#}$	135.4±14.1$^{\#}$
SYN＋IMP组（n=10）	2.2±0.5$^{\#}$	9.8±4.5$^{\#}$	2.7±1.3$^{\#}$	126.5±12.8$^{\#}$

注：与 UC 组相比，$^{*}P < 0.05$；与 NC 组相比，$^{\#}P < 0.05$；与 SYN 组相比，$^{▲}P < 0.05$；与 SYN ＋ IMP 组相比，$^{△}P < 0.05$

Note: *vs* UC group, $^{*}P<0.05$; *vs* NC group, $^{\#}P<0.05$; *vs* SYN group, $^{▲}P<0.05$; *vs* SYN＋IMP group, $^{△}P<0.05$

破坏，血管翳、骨侵蚀等形成，伴大量炎症细胞浸润，与 UC 组差异显著，提示造模成功。研究显示，肠道菌群环境是影响宿主免疫系统应答的重要因素，肠道菌群的分布影响关节炎的易感性和病情进展[2]。益生菌、益生元是重要的肠道菌群微生态调节剂，相关研究证实，乳杆菌或双歧杆菌可调节免疫系统，降低 RA 患者血清促炎因子水平及氧化压力，减轻关节和软骨破坏，延缓关节炎进展[11]。益生菌、益生元通过稳定肠道微生态环境，降低肠道通透性，增强肠内细菌抗原的降解，改变其免疫原性，抵消炎症过程，达到预防或治疗 RA 的作用[12]。肠道菌群失调与肠道屏障功能密切相关，当肠道屏障功能下降时，导致肠道菌群失衡对 RA 受到影响，而肠黏膜保护剂能够保护及修复肠黏膜屏障，改善肠道微生态菌群结构。本研究经给予不同微生态调节剂及肠黏膜保护剂干预发现，各干预组大鼠一般情况好转，关节肿胀程度及关节炎指数较 NC 组明显降低；踝关节、滑膜组织等病理变化也呈现不同程度减轻，炎症细胞浸润减少，SYN ＋ IMP 组改善效果最为显著，表明微生态调节剂能在一定程度上改善肠道菌群失调 RA 大鼠的踝关节和滑膜组织病理学变化，降低关节炎症程度，减轻对关节软骨的破坏。

RA 的病理特征主要为滑膜组织增生、骨和软骨损伤及炎症细胞浸润，在 RA 发病过程中 IL-1、IL-10、IL-6 和 TNF-α 等炎症细胞因子是关键[7]。相关研究显示，IL-1 可促进淋巴细胞和滑膜细胞的增殖与分化，诱发滑膜炎症反应，引起关节损伤[13]。IL-10 可抑制滑膜组织金属蛋白酶表达，减少软骨与骨破坏，延缓 RA 进展，其缺失可加重 RA 炎症症状，加快疾病进展[14]。IL-6 可刺激 B 细胞产生多种炎症介质或免疫球蛋白，且可释放类风湿因子，加重 RA 炎症反应及组织损伤，并可刺激大量血管内皮生长因子，促使血管翳形成[15-16]。TNF-α 是重要的促炎细胞因子，也是重要的免疫调节因子，其高表达可造成促炎 - 抗炎介质间正常生理失衡，在炎症反应、免疫反应中至关重要[17]。RA 发病时，TNF-α 可促进滑膜纤维母细胞增生，促进骨吸收和骨质破坏，抑制骨胶原合成，引起滑膜炎症表现，引发关节损伤[18]。且发现由 IL-1α/β 和 TNF-α 介导的细胞内分子信号转导途径是 RA 的致病机制之一[14]。而本研究发现，NC 组大鼠血清炎症因子 IL-1β、IL-6、TNF-α 水平较 UC 组明显升高，IL-10 水平则明显降低，提示 RA 模型大鼠存在显著的炎症反应，符合 RA 病理学表现。干预后，各干预组血清炎症因子水



a：UC 组，b：NC 组，c：Pro 组，d：Pre 组，e：IMP 组，f：SYN 组，g：SYN ＋ IMP 组

a: UC group, b: NC group, c: Pro group, d: Pre group, e: IMP group, f: SYN group, g: SYN ＋ IMP group

图 1　各组大鼠踝关节组织病理（HE，×200）

Figure 1　Histopathology of the ankle joint of rats in each group（HE，×200）

平较 NC 组不同程度改善，与潘胡丹等[11]研究结果近似，提示微生态调节剂可降低肠道菌群失调 RA 大鼠的关节炎症反应，减轻关节组织损伤，延缓 RA 进展。

既往研究证实，RA 患者存在明显的 Th17/Treg 免疫失衡[19]。Th17 细胞是重要的致病因子，在前炎症细胞因子存在的情况下，由初始 $CD4^+$ T 细胞分化而来，通过激活关节内滑膜细胞、树突状细胞及巨噬细胞分泌 IL-17、TNF-α 等细胞因子，引发炎症反应[19-20]。在无前炎症细胞因子存在时，$CD4^+$ T 细胞则分化为 Treg 细胞，主要介导抗炎反应，通过分泌 IL-10、TGF-β 等细胞因子抑制免疫细胞活性，维持自身免疫耐受[19]。且认为 Th 细胞和 Treg 细胞介导的免疫平衡是 RA 进展的核心机制，Th 细胞是维持机体免疫耐受的重要细胞亚型[21]。本研究发现，NC 组大鼠 Th17 细胞和 Treg 细胞比例及其细胞因子 IL-17、TGF-β 水平明显升高，预估 Th17/Treg ＞ 1，表明 RA 自身存在 Th17/Treg 免疫失衡。干预后各组大鼠 Th17 细胞和 Treg 细胞比例及细胞因子水平较 NC 组显著改善，Th17/Treg ＜ 1，其中 SYN ＋ IMP 组改善效果最佳。研究表明，肠道菌群及其代谢产物能够调节 Th17/Treg 免疫平衡，影响机体免疫耐受、免疫反应及对自身免疫性疾病的易感性[20]。研究证明脆弱拟杆菌的菌体成分荚膜多糖 A 能够诱导 $CD4^+$ T 细胞转化为 $FoxP3^+$ T 细胞，产生抗炎因子，下调促炎因子，以增强机体免疫耐受[5]。本研究结果表明，微生态调节剂能调节 Th17 细胞 /Treg 细胞比例，推测或能调节 Th17/Treg 免疫失衡，纠正 RA 患者的免疫失衡状态，可能通过改善肠道功能屏障，调节机体免疫失衡，抑制炎症细胞因子释放，进而降低关节炎症程度，延缓 RA 进展，具体作用还需进一步研究。不同微生态制剂在 RA 模型中的应用效果对比发现，Pro 组、Pre 组、IMP 组 3 组结果未见统计学差异，可能与益生菌、益生元的干预种类及剂量等有关，故不同微生态制剂的应用差异性及其调节 RA 的分子作用机制仍需进一步探索。

4 结论

综上所述，微生态调节剂能降低肠道菌群失调 RA 大鼠的关节炎指数，减轻踝关节和滑膜组织病理学改变，抑制炎症细胞因子水平，纠正机体免疫失衡状态，可对 RA 的临床治疗提供一定的参考。

参考文献：

[1] Adami G, Saag KG. Osteoporosis pathophysiology, epidemiology, and screening in rheumatoid arthritis[J]. Curr Rheumatol Rep, 2019, 21(7): 34.

[2] 王秋波, 唐淼龙, 李伟, 等. 肠道微生物菌群失调与类风湿关节炎炎症反应的相关性[J]. 中国老年学杂志, 2021, 41(4): 812-815.

[3] Jin ZL, Chen XC. Changes in intestinal florae and serum inflammation in rheumatoid arthritis rats and the effects of probiotics[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2020, 24(22): 11820-11826.

[4] Wen Z, He M, Peng C, *et al*. Metabolomics and 16S rRNA gene sequencing analyses of changes in the intestinal flora and biomarkers induced by *Gastrodia-Uncaria* treatment in a rat model of chronic migraine[J]. Front Pharmacol, 2019, 10: 1425.

[5] Scherer HU, Häupl T, Burmester GR. The etiology of rheumatoid arthritis[J]. J Autoimmun, 2020, 110: 102400.

[6] 董幼丹, 王晓非. 肠道菌群的功与过: 类风湿关节炎诊治中的新思考[J]. 中华风湿病学杂志, 2017, 21(3): 145-148.

[7] 刘雪梅, 于泓. 肠道菌群在类风湿关节炎治疗中的研究进展[J]. 医学综述, 2019, 25(4): 711-715.

[8] 赵越, 黄闰月, 陈秀敏, 等. 肠道微生态与风湿免疫病关系的研究进展[J]. 免疫学杂志, 2019, 35(9): 823-828.

[9] Horta-Baas G, Romero-Figueroa MDS, Montiel-Jarquín AJ, *et al*. Intestinal dysbiosis and rheumatoid arthritis: a link between gut microbiota and the pathogenesis of rheumatoid arthritis[J]. J Immunol Res, 2017, 2017: 4835189.

[10] 闫梦真, 余婕, 董甜甜, 等. 肠道菌群失调引起类风湿关节炎发病的研究进展[J]. 生命科学研究, 2019, 23(2): 168-172.

[11] 潘胡丹, 李润泽, 李婷, 等. 益生菌辅助治疗类风湿关节炎的益处: 随机对照临床试验荟萃分析和系统综述[J]. Engineering, 2017, 3(1): 245-259.

[12] 李文杰, 林琳. 益生菌治疗自身免疫病的研究进展[J]. 现代药物与临床, 2019, 34(11): 3486-3490.

[13] 赵紫琴, 徐瑾, 王瑞琳, 等. 类风湿性关节炎滑膜组织中NLRP3炎性小体及下游因子IL-1β/IL-18的表达及意义[J]. 临床与实验病理学杂志, 2019, 35(5): 534-538.
[14] 蔡辉, 张群燕, 郭郡浩, 等. 类风湿关节炎患者外周血血浆中TNF-α、IL-1β及IL-10的表达及临床意义[J]. 中华中医药学刊, 2017, 35(3): 519-521.
[15] 于彭城, 刘梦, 徐寒梅, 等. 类风湿关节炎相关细胞因子及药物研究进展[J]. 药物生物技术, 2019, 26(2): 159-164.
[16] 刘娜, 肖会, 徐建华, 等. 类风湿关节炎系统损害及疾病活动与血清IL-6、IL-17的相关性研究[J]. 安徽医科大学学报, 2017, 52(4): 566-570.
[17] Li K, Qiu H, Yan J, *et al*. The involvement of TNF-α and TNF-β as proinflammatory cytokines in lymphocyte-mediated adaptive immunity of Nile tilapia by initiating apoptosis[J]. Dev Comp Immunol, 2021, 115: 103884.
[18] 何莲花, 覃清霞, 王晗, 等. 二妙散对TNF-α诱导的人类风湿关节炎成纤维样滑膜细胞功能的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(5): 11-17.
[19] 李凡, 张升校, 李媛, 等. $CD4^+$ T细胞亚群在类风湿关节炎发病机制中的研究进展[J]. 中国药物与临床, 2018, 18(10): 1721-1723.
[20] Kmiołek T, Rzeszotarska E, Wajda A, *et al*. The interplay between transcriptional factors and microRNAs as an important factor for Th17/Treg balance in RA patients[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(19): 7169.
[21] 徐丹, 刘筱玉, 苗苗, 等. 调节Th17/Treg细胞平衡: 类风湿关节炎治疗的新靶点[J]. 中华临床医师杂志(电子版), 2017, 11(9): 1596-1600.

(编辑：史琦琪)

本刊“医药专论”专题预告

心力衰竭是心脏疾病的终末阶段，死亡率及再住院率居高不下。由上海中医药大学附属岳阳中西医结合医院心内科**樊民**主任组织撰写的**超声心动图在心力衰竭诊治中的应用进展**一文介绍了经胸超声心动图在心力衰竭中的评估作用，为心力衰竭的临床评估提供更多参考；**中医非药物疗法应用于慢性心力衰竭的研究进展**则系统综述了针灸、推拿及其他非药物疗法在慢性心力衰竭中的应用；药物治疗是心力衰竭的主要治疗方法之一，由复旦大学附属华山医院心内科**施海明**主任撰写的**慢性心力衰竭的中西医结合治疗研究进展**一文围绕心力衰竭的中西医结合治疗开展分析讨论；除药物治疗外，机械辅助循环装置治亦是治疗心力衰竭的重要方法之一，由上海中医药大学附属岳阳中西医结合医院心内科**樊民**主任组织撰写的**机械辅助循环装置治疗心力衰竭的应用研究进展**简要介绍了机械辅助循环装置及其最近研究和临床应用进展，为心力衰竭的临床治疗提供新的思路；心力衰竭可分为多种亚型，由上海交通大学医学院附属瑞金医院心内科**金玮**主任组织撰写的**射血分数轻度降低的心力衰竭：在争议中求索**一文对射血分数中间值的心力衰竭的流行病学、临床特征、预后转归及治疗等方面进行综述，回顾射血分数中间值的心力衰竭在争议中的求索历程。

敬请关注本刊近期发表的由上海中医药大学附属岳阳中西医结合医院心内科**樊民**主任组织撰稿的**心力衰竭诊疗及中西医结合治疗研究进展**专题。