

- rheumatoid arthritis indicating deficient inflammatory control[J]. Arthritis Res Ther,2005,7(4):R817-R824.
- [20] Pullerits R, Bokarewa M, Dahlberg L, et al. Advanced glycation end products are increased in the skin and blood of patients with severe psoriasis[J]. Acta Derm Venereol, 2017, 97(7): 782-787.
- [21] Kumar S, Lombard DB. Finding ponce de Leon's pill: challenges in screening for anti-aging molecules[J]. F1000Res, 2016, 5(1): 406-416.
- [22] Zheng Z, Cheng C, Dong R, et al. Advanced glycation end products upregulate angiopoietin-like protein 4 expression by activating the renin-angiotensin system in endothelial cells[J]. Biomed Rep, 2015, 3(4): 578-582.
- [23] Stirban A, Negrean M, Stratmann B, et al. Benfotiamine prevents macro- and microvascular endothelial dysfunction and oxidative stress following a meal rich in advanced glycation end products in individuals with type 2 diabetes[J]. Diab Care, 2006, 29(1): 2064-2071.
- [24] Little WC, Zile MR, Kitzman DW, et al. The effect of alagebrium chloride (ALT-711), a novel glucose cross-link breaker, in the treatment of elderly patients with diastolic heart failure[J]. J Card Fail, 2005, 11(1): 191-195.
- [25] Thallas-Bonke V, Lindschau C, Rizkalla B, et al. Attenuation of extracellular matrix accumulation in diabetic nephropathy by the advanced glycation end product cross-link breaker ALT-711 via a protein kinase C--dependent pathway[J]. Diabetes, 2004, 53(1): 2921-2930.
- [26] Diamanti-Kandarakis E, Katsikis I, Piperi C, et al. Effect of long-term orlistat treatment on serum levels of advanced glycation end-products in women with polycystic ovary syndrome[J]. Clin Endocrinol (Oxf), 2007, 66(1): 103-109.
- [收稿日期] 2018-04-10 [修回日期] 2018-07-27
编辑/朱婉蓉

•论著•

肠道菌群与痤疮发生的相关性分析：110例肠道菌群样本的回顾性研究

王萃¹, 张柳萦², 黄卫新²

[1. 树兰(杭州)医院整形美容科 浙江 杭州 310000; 2. 浙江同创越诚健康科技有限公司 浙江 绍兴 312000]

[摘要]目的：探讨肠道菌群是否参与痤疮的发病。方法：回顾性调查分析树兰(杭州)医院曾进行肠道菌群检测的110例患者。根据皮肤状态将其分为痤疮组和非痤疮组，并设计LND评分表对痤疮严重程度进行量化评估，运用R统计软件(t检验，皮尔逊相关性检验)进行两组间肠道6种优势细菌菌群差异分析。结果：两组肠道菌群多样性未发现显著差异，但痤疮组的乳酸菌、双歧杆菌数量均少于非痤疮组，且痤疮组的双歧杆菌与肠杆菌比值(B/E值)低于非痤疮组，差异均有统计学意义($P < 0.05$)。痤疮严重程度与B/E值之间并无统计意义的相关性。结论：痤疮患者肠道内益生菌数量的丢失可能参与痤疮的发病机制，但痤疮严重程度与益生菌的丢失量之间并无线性相关。

[关键词] 痤疮；肠道微生态；聚合酶链式反应；回顾性

[中图分类号] R758.73⁺3 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1008-6455(2018)09-0009-04

Correlation Analysis of Intestinal Microflora and Acne: A Retrospective Study on 110 Patients

WANG Cui¹, ZHANG Liu-ying², HUANG Wei-xin²

[1. Department of Plastic Surgery, Shulan (Hangzhou) Hospital, Hangzhou 310000, Zhejiang, China; 2. Zhejiang Tongchuang Yuecheng Health Technology Co., Ltd, Shaoxing 312000, Zhejiang, China]

Abstract: **Objective** In this study, we retrospective investigate changes in intestinal microflora in patients with acne, and their role in this dermatological disorder. **Methods** 110 patients whose fecal flora were analyzed within a year were retrospective studied. They were classified into acne group and non-acne group. LND tool was used to assess the acne. The numbers of intestinal microflora between the two groups were statistical analyzed. **Results** The number of fecal lactobacillus, as well as bifidobacterium were significantly deceased in patients with acne compared with the non-acne group, and B/E (Bifidobacterium/

Enterobacter) was significantly decreased in patients with acne compared with the non-acne group, the differences were statistically significant ($P < 0.05$). There was no statistically significant correlation between acne severity and B/E value.

Conclusion Intestinal flora in patients with acne was severely disturbed and gut microbiological colonization resistance was impaired. Suggest that the alterations to the microbial flora, specially decreased probiotics, may involve in acne pathogenesis.

Key words: acne; intestinal microflora; polymerase chain reaction(PCR); retrospective

1930年, 皮肤科医生Stokes和Pillsbury首次提出肠-脑-皮肤轴 (gut-brain-skin) 理论, 80多年后的今天, 这个理论再度成为热点。根据该理论, 皮肤疾病与肠道微生态密切相关。为进一步验证肠道菌群是否参与寻常痤疮的发生, 本次收集2017年1月-2017年12月在树兰(杭州)医院进行“人体肠道内6种优势细菌菌群的定量检测”的110例患者的临床资料, 进行回顾性分析。通过随访调查将110例患者分为痤疮组和非痤疮组。分析比较痤疮患者与非痤疮人群肠道菌群的种类、数量差异与相对数量比值, 寻找肠道菌群与痤疮发生的相关性。

1 资料和方法

1.1 临床资料: 选取2017年1月-2017年12月在树兰(杭州)医院进行“人体肠道内6种优势细菌菌群的定量检测”的517例患者, 对其中小于60岁的病例采用电话和书面方式进行随访填表, 共收到有效回访表格110份。

1.2 痤疮诊断与评分: 参考《中国痤疮治疗指南(2014修订版)》对110例中的痤疮患者进行诊断, 面部皮损表现符合痤疮诊断者划分为痤疮组。结合痤疮分级诊疗指南及临床经验, 设计LND评分表对痤疮进行量化评估, 见表1。皮损类型(L, lesion): L=1轻度(I级), 仅有粉刺; L=2指中度(II级), 炎性丘疹; L=3中度(III级), 脓疱; L=4重度(IV级): 结节、囊肿。痤疮数量(N, numerous): N=1代表全身痤疮皮损少于等于5个; N=2代表全身痤疮皮损6~10个(包括6和10); N=3代表全身痤疮皮损11~19个(包括6和10); N=4代表全身痤疮皮损大于等于20个。痤疮病程(D, duration): D=1指病程初发, 不超过半年; D=2指病程反复, 超过半年, 不足2年; D=3指病程反复2年以上; D=4指病程反复2年以上, 且临床治疗无法控制。痤疮评估分值(A, acne) = L+N+D。分值越大表明痤疮症状越明显、治疗难度愈大。110例中不符合痤疮诊断的患者, 痤疮评分A=1。

表1 痤疮量化评估标准

项目	1分	2分	3分	4分
痤疮皮损(L)	仅有粉刺	炎性丘疹	脓疱	结节、囊肿
痤疮数量(N/个)	≤5	6~10	11~19	≥20
痤疮病程(D/月)	初发, ≤6	6~24	≥24	≥24, 且治疗无效

1.3 肠道微生态检测方法: 所有110例患者的肠道微生态检测均在树兰(杭州)医院完成, 采用聚合酶链式反应(Polymerase chain reaction, PCR)检测技术, 对肠球菌、肠杆菌、类杆菌、乳酸菌、双歧杆菌、酪酸梭菌组等6种优势菌群进行定量检测, 同时计算双歧杆菌与肠杆菌比值(Bifidobacterium/Enterobacter, B/E值)。本研究选取乳酸菌、双歧杆菌、肠杆菌、B/E值四项作为组间对照项目。

1.4 统计学分析: 采用R统计软件, 组间比较采用t检验, A值与B/E值的相关性研究采用皮尔逊相关性检验, $P < 0.05$ 视为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况: 110例患者, 其中男性62例, 女性48例, 男女比例为1.29:1; 年龄14~59岁, 平均39.72岁。

2.2 痤疮评分情况: 110例患者中有47例符合痤疮诊断(42.73%), 63例(57.27%)不符合痤疮诊断。痤疮组: 男女比例1.61:1, 平均年龄36.66岁, 痤疮评分A值为3~12分, 平均4.68分; 非痤疮组: 男女比例1.1:1, 平均年龄42.78岁, 痤疮评分A值均为1分。

2.3 肠道菌群种类及数量: 47例符合痤疮诊断病例中, 肠球菌、肠杆菌、类杆菌、乳酸菌、双歧杆菌、酪酸梭菌组等6种优势菌群均可检测到。乳酸菌定量 $18.65 \sim 5.70 \times 10^6$ 个, 平均 3.81×10^5 个; 双歧杆菌定量 $35.93 \sim 2.81 \times 10^7$ 个, 平均 2.43×10^6 个; 肠杆菌定量 $28.9 \sim 1.38 \times 10^8$ 个, 平均 1.14×10^7 个; B/E值 $5.23 \times 10^{-6} \sim 27.896$, 平均2.73。

63例不符合痤疮诊断的病例中, 肠球菌、肠杆菌、类杆菌、乳酸菌、双歧杆菌、酪酸梭菌组等6种优势菌群均被检测到。乳酸菌定量 $1.57 \times 10^3 \sim 2.81 \times 10^8$ 个, 平均 8.00×10^6 个; 双歧杆菌定量 $17.65 \sim 4.00 \times 10^8$ 个, 平均 3.02×10^7 个; 肠杆菌定量 $5.34 \times 10^3 \sim 6.05 \times 10^8$ 个, 平均 2.79×10^7 个; B/E值 $2.54 \times 10^{-4} \sim 778.711$, 平均22.12。

两组肠道菌群多样性未发现显著差异, 但相较于非痤疮组, 痤疮组肠道检测到的乳酸菌及双歧杆菌数量减少, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 肠杆菌数量也减少, 但差异无统计学意义($P > 0.05$)。痤疮组的双歧杆菌与肠杆菌比值(B/E值)低于非痤疮组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

2.4 肠道菌群与痤疮发生的相关性分析结果: 采用皮尔逊相关性检验检测A值与B/E值的相关性, 发现两者间并无统

表2 110例患者痤疮表现与肠道菌群统计情况

组别	例数		平均年龄(岁)	平均痤疮评分(分)	双歧杆菌数量(个)	乳酸菌数量(个)	肠杆菌数量(个)	双歧杆菌与肠杆菌平均比值(B/E)
	男	女						
痤疮组	29/18	36/66	4.68		$2.43 \times 10^{6*}$	$3.81 \times 10^{5*}$	1.14×10^7	2.73*
非痤疮组	33/30	42/78	1.00		3.02×10^7	8.00×10^6	2.79×10^7	22.12

注: *两组间比较, 差异有统计学意义, $P < 0.05$

计意义的相关性($P > 0.05$)。

3 讨论

寻常痤疮(或称粉刺、青春痘, *Acne vulgaris*)是全球最常见的皮肤病之一, 大约影响80%的青少年到青壮年, 仅在美国就可导致每年30亿美元的财政损失^[1]。我国的发病率也很高, 在14~45岁人群的调查中发现, 轻度痤疮患者占48.2%, 中度痤疮患者占24.2%, 重度痤疮患者占27.6%^[2]。寻常痤疮多发于面部、背部、胸部等富含皮脂腺的部位, 始于青春发育期, 可以持续多年, 导致容貌损毁或留下永久性瘢痕, 并对患者的心理成长造成严重的负面影响。寻常痤疮的病因目前尚未清楚, 主要有雄激素、皮脂分泌增加、毛囊皮脂腺开口处过度角化、寻常痤疮丙酸杆菌感染等四大原因^[3]。根据《中国痤疮治疗指南(2014修订版)》, 笔者对痤疮的经典治疗主要是依赖维A酸和抗生素的口服或局部外用, 配合化学疗法(果酸换肤)和物理疗法(红蓝光照射)。但长期口服或外用维A酸类药物, 往往会加重皮肤屏障的破坏, 导致皮肤敏感, 引发其他皮肤症状。尤其异维A酸因不断曝光的严重副作用已被逐渐限制使用, 抗生素疗法也因其耐药性的增加而日渐捉襟见肘。痤疮治疗领域进入了瓶颈时期, 亟待一种安全、经济、有效的治疗方法^[4]。

皮肤科医生Stokes和Pillsbury(1930)首次提出肠-脑-皮肤轴(gut-brain-skin)理论, 他们认为个体的皮肤状态、精神状态都与肠道微环境密切相关。80多年后的今天, 这个理论再度成为热点。人体肠道内栖息着约1 000种以上的细菌, 其总数约 $10^{13} \sim 10^{14}$ 个, 数量是人体体细胞的10倍, 编码约330万个基因, 是人类基因数的150多倍^[5-6]。肠道微生态系统是人体最庞大和最重要的微生态系统, 被称为人类第二基因组, 甚至被认为是一个被遗忘的人体重要“器官”: 由不同的细胞系组成, 参与了人体的物质代谢、黏膜屏障形成、促进免疫系统发育与成熟、保护宿主免受病原攻击等^[7]。人类肠道细菌中最主要的菌属包括双歧杆菌属、乳杆菌属、拟杆菌属和真杆菌属等。正常人每克粪便中含有 $10^{10} \sim 10^{11}$ 个细菌, 其中97%以上的细菌为严格厌氧菌, 不到3%的细菌为兼性厌氧菌^[8]。越来越多的研究结果表明, 肠道微生态在多种疾病发病机制中发挥着重要作用, 如感染性疾病、哮喘、湿疹、痤疮、炎症性肠病、肥胖症、动脉粥样硬化、胰岛素抗药性、肿瘤和精神疾病等。研究发现, 肠道微生态系统通过多种复杂的信号传导途径参与皮肤功能的调节^[9]。

各种调查与研究均从肠-脑-皮肤轴(gut-brain-skin)角度有力地支持痤疮形成与肠道微生态的密切联系。Zhang等(2008)发现, 痤疮患者相较于非痤疮患者, 肠道通透性显著升高, 大便中大肠杆菌数量、血中大肠杆菌内毒素均明显增高, 而大便中乳酸杆菌、双歧杆菌的数量却明显偏少^[10]。Lombardo(2010)发现痤疮患者中小肠细菌过度生长(Small intestinal bacterial overgrowth, SIBO)的发生率是非痤疮患者的10倍, 纠正SIBO后痤疮症状也得到有效缓解^[11]。随着对肠道微生态的进一步研究, 发现肠道优势菌(如: 脆弱类拟杆菌、普拉梭菌、梭菌四群和六群)的代谢产物, 包括维甲酸、多糖A能招募及调节T细胞、淋巴细胞, 从而实现机体的抗炎反应^[12]。而各种因素引起的肠道菌群失调(如: 精神压力、少纤维素饮食、高脂饮食等), 导致B/E值降低, 大量优势菌丢失(尤其是双歧杆菌), 引起肠道通透性显著升高、对内毒素的吸收量增加, 导致P物质升高、植物鞘氨醇(Phytosphingosine, PS)升高, 从而引发过度的炎症反应、氧化应激、胰岛素敏感性下降, 最终形成皮肤疾病。

以上的一系列级联反应导致皮脂过度分泌, 最终导致痤疮发生, 同时反过来增加心理精神压力, 形成新一轮循环^[13]。在此理论的支持下, 有学者将益生菌用于痤疮治疗。1912年Peyri首次将保加利亚乳杆菌用于皮肤局部治疗痤疮。但是直到本世纪初, 学者们才开始系统性研究肠道微生态与皮肤间的关系。Levkovich等^[14]给予小鼠益生菌补充摄入后发现, 小鼠的皮脂腺增加、毛囊形成增多、皮肤增厚。

目前已知的益生菌改善痤疮症状的机理主要集中在以下四方面:

首先, PS途径。植物鞘氨醇(Phytosphingosine, PS)已被证实能有效缓解痤疮症状, 尤其减少丘疹与脓疱, 缓解率达到89%^[15]。Marzio等(1999)^[16]将乳酸菌中的嗜热链球菌种制成乳液, 局部涂抹于皮肤表面1周, 发现能促进PS的合成, 抑制痤疮丙酸杆菌活性和抗炎, 减少痤疮发生。该试验具备可重复性。

第二, P物质途径。P物质是广泛分布于细神经纤维内的一种神经肽, 不仅能促进油脂分泌, 同时也参与应激介导的炎症级联反应。Lee等(2010)^[17]发现长双歧杆菌和副干酪乳杆菌能通过抑制P物质合成最终减轻皮肤炎症反应。

第三, mTOR信号传导途径。人群的流行病学调查发现, 低糖饮食对痤疮症状有明显改善。Kleerebezem(2009)发现肠道菌群能增加葡萄糖耐量^[18]。Burcelin

(2009) 研究发现口服乳双歧杆菌能促进胰岛素分泌、加快糖代谢率。机理是双歧杆菌能有效阻止肠道内的内毒素通过肠壁进入体循环^[19]。反之, 肠道内双歧杆菌的缺失会引起肠壁通透性增加, 身体大量吸收脂多糖内毒素, 从而引起炎症级联反应、氧化应激、胰岛素抵抗和更严重的反应。以上的一系列级联反应导致皮脂过度分泌, 导致痤疮发生, 同时反过来增加心理压力, 形成循环。最新研究发现, 上述过程是通过mTOR信号通路实现的^[4]。哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR) 包括mTOR复合物1(mTOR complex 1, mTORC1)和mTOR复合物2, 能够通过调控RNA翻译、线粒体基因转录或者磷酸化线粒体蛋白来调控线粒体功能, 还参与糖酵解通量与线粒体呼吸平衡^[20]。

第四, 机体的细胞免疫和体液免疫途径。有研究表明, 痤疮患者外周血内毒素、IL-2、IL-4明显增高, IFN- γ 水平明显降低, IgG、IgM和补体的水平与皮损的严重程度呈正相关, 提示痤疮发病中存在淋巴细胞激活和体液免疫应答^[11]。Arck等(2010)通过动物实验发现, 口服罗特乳酸杆菌(*L. reuteri*)能有效降低皮肤毛囊区的炎症反应。Arck进一步发现口服益生菌能减少毛囊区周围抗原提呈细胞表面MHC II分子的表达。

本次研究也发现, 痤疮患者肠道内乳酸菌、双歧杆菌等益生菌的数量、B/E值均少于非痤疮患者, 提示肠道益生菌减少参与痤疮形成机制。不足的是, 本次研究采用回顾性调查形式, 并不能保证研究对象的均一性, 部分研究对象同时存在精神疾患、肝功能失调, 均能引起肠道菌群改变。下一阶段拟设计前瞻性对照研究, 并用益生菌对痤疮患者进行干预治疗, 进一步探寻痤疮与肠道菌群间的关系。

当前, 国际“人体肠道微生态与疾病发生发展的关系与机制研究”进入了高速发展期。肠道微生态研究正在开始从菌群结构功能变化的表象揭示向菌群之间、菌群与人体相互作用等更高维度发展。目前认为, 将肠道和皮肤微生物、肠道状态、大脑以及皮肤视为一个整体, 围绕肠-脑-皮轴进行干预将是解决皮肤疾病的重要方法。因此, 未来皮肤病的治疗趋势一定是将饮食、益生菌、益生元、药物和心理健康等方式综合运用。

4 结论

本次研究中的两组肠道菌群多样性未发现显著差异, 但痤疮组的乳酸菌、双歧杆菌平均数量均少于非痤疮组, 痤疮组的双歧杆菌与肠杆菌比值(B/E值)低于非痤疮组, 痤疮严重程度(A值)与B/E值并无线性相关。上述结果表明痤疮患者肠道内乳酸菌、双歧杆菌等益生菌减少, 提示益生菌的丢失可能参与痤疮发病机制。

[参考文献]

[1]Lynn D,Udari T,Dunnick C,et al.The epidemiology of acne vulgaris

in late adolescence[J].Adolesc Health Med Ther,2016,7:13-25.

[2]兰晓玲,林新瑜,付兴琼,等.痤疮患者心理量化分析及护理[J].中国医疗前沿,2009,4(15):100,102.

[3]Rodan K,Fields K,Falla T.Efficacy of a twice-daily, 3-step, over-the-counter skincare regimen for the treatment of acne vulgaris[J].Clin Cosmet Investig Dermatol, 2017,10:3-9.

[4]Zaenglein AL,Pathy AL,Schlosser BJ,et al.Guidelines of care for the management of acne vulgaris[J].J Am Acad Dermatol,2016,74:945-973.

[5]Wu GD,Lewis JD.Analysis of the human gut microbiome and association with disease[J].Clin Gastroenterol Hepatol,2013,11:774-777.

[6]Ipci K,Altintoprak N,Muluk NB,et al.The possible mechanisms of the human microbiome in allergic diseases[J].Eur Arch Otorhinolaryngol,2017,274:1-10.

[7]Moore-Connors JM,Dunn KA,Bielawski JP,et al.Novel strategies for applied metagenomics[J].Inflamm Bowel Dis,2016,22:709-718.

[8]胡旭,王涛,王沥,等.肠道共生微生物与健康与疾病[J].中国微生物学杂志,2012,24(12):1134-1139.

[9]O'Neill CA,Monteleone G,McLaughlin JT,et al.The gut-skin axis in health and disease: a paradigm with therapeutic implications[J].Bioessays.2016,38:1167-1176.

[10]Zhang H,Liao W,Chao W,et al.Risk factors for sebaceous gland diseases and their relationship to gastrointestinal dysfunction in Han adolescents[J].J Dermatol,2008,35(9):555-561.

[11]Lombardo L,Foti M,Ruggia O,et al.Increased incidence of small intestinal bacterial overgrowth during proton pump inhibitor therapy[J].Clin Gastroenterol Hepatol,2010,8(6):504-508.

[12]Forbes JD,Van Domselaar G,Bernstein CN.The gut microbiota in immune-mediated inflammatory diseases[J].Front Microbiol, 2015,7:1081.

[13]Bowe WP,Logan AC.Acne vulgaris, probiotics and the gut-brain-skin axis-back to the future?[J].Gut Pathog,2011,3(1):1-11.

[14]Levkovich T,Poutahidis T,Smillie C,et al.Probiotic bacteria induce a 'glow of health'[J].PLoS One,2013,8(1):e53867.

[15]Pavicic T,Wollenweber U,Farwick M,et al.Anti-microbial and-inflammatory activity and efficacy of phytosphingosine: an in vitro and in vivo study addressing acne vulgaris[J].Int J Cosmet Sci,2007,29(3):181-190.

[16]Di Marzio L,Cinque B,De Simone C,et al.Effect of the lactic acid bacterium *Streptococcus thermophilus* on ceramide levels in human keratinocytes in vitro and stratum corneum in vivo[J].J Invest Dermatol,1999,113(1):98-106.

[17]Lee WJ,Jung HD,Lee HJ,et al.Influence of substance-P on cultured sebocytes[J].Arch Dermatol Res,2008,300(6):311-316.

[18]Kleerebezem M,Vaughan EE.Probiotic and gut lactobacilli and bifidobacteria: molecular approaches to study diversity and activity[J].Annu Rev Microbiol,2009,63:269-290.

[19]Burcelin R,Luche E,Serino M,et al.The gut microbiota ecology: a new opportunity for the treatment of metabolic diseases?[J].Front Biosci (Landmark Ed),2009,14:5107-5117.

[20]Noureldein MH,Eid AA.Gut microbiota and mTOR signaling: insight on a new pathophysiological interaction[J].Microb Pathog,2018,118:98-104.

[收稿日期]2018-04-10

[修回日期]2018-08-06

编辑/朱婉蓉