从粪菌移植到菌群移植

张发明^{1,2*}, 张婷^{1,2}

1. 南京医科大学第二附属医院消化医学中心, 南京 210011;

2. 南京医科大学整合肠病学重点实验室, 南京 210011

* 联系人, E-mail: fzhang@njmu.edu.cn

2018-06-20 收稿, 2018-08-01 修回, 2018-08-03 接受, 2018-08-30 网络版发表

摘要 粪菌移植本质上是在认识微生物与疾病关系基础上, 对传统中医药治疗方法的现代化应用, 是近几年的医学突破. 然而, 在被评价为医学突破之前, 这既不是技术的突破, 也不是理论的突破, 而是思维方式的突破. 粪菌移植在近几年的应用中正经历巨大的变化, 包括治疗适应症、实验室方法学、治疗策略、给入路径等, 特别是粪菌智能分离系统用于粪菌制备、经内镜肠道植管术用于结肠途径的重复移植等, 为粪菌移植实现现代化奠定了关键性基础. 中华粪菌库和Openbiome作为世界上最大的两个非营利性粪菌库, 分别在中国和北美地区实施粪菌移植的异地救援性治疗. 由于粪菌移植也存在局限性, 研究用于部分替代粪菌移植的选择性菌群移植技术已经成为微生物学家和临床医学家的共同追求. 选择性菌群移植与粪菌移植共同成为菌群移植的重要内涵, 并促进新型益生菌的研究得以快速发展. 菌群移植可望用于包括感染、免疫性疾病、肠脑轴疾病、肝病、肿瘤等多种疾病的治疗. 虽然来自国内外大中心的数据支持菌群移植具有很高的安全性, 但也不能忽略一些不良事件. 菌群移植的安全性, 特别是远期风险, 需要通过大数据、长期真实世界研究来回答. 本文主要涉及对菌群移植的新认识和研究进展, 从中总结发现、思维与技术的共变, 促进了粪菌移植向菌群移植发展.

关键词 粪菌移植, 选择性菌群移植, 益生菌, 难辨梭状芽孢杆菌, 安全性

“粪菌移植”(fecal microbiota transplantation, FMT)对难辨梭状芽孢杆菌感染等肠道菌群相关性疾病的治疗价值, 用“极端的”证据证明肠道菌群与人体疾病的重要关系, 启迪着研究者不断探索, 并已经成为一种重要的研究工具和临床治疗手段, 具有美好的发展前景.

1 FMT的再认识

“粪菌移植”于2012年成为中文学术名词, 近年来, 该词虽已经成为学术交流常规使用的专业名词, 但是对其概念和应用的误解还广泛存在. FMT的移植物中包括细菌、真菌、病毒等微生物及其代谢产物. 但需要强调的是, “菌群”在这些肠道微生物中具有绝

对的代表性, 在追求纯化菌群的理念中更是如此^[1]. “粪菌移植”是对“粪便秘植”(fecal transplant)的美化, “粪”字虽不雅, 其实, 最重要的不在于名称怎么叫, 而是方法学怎么做. 方法粗糙的FMT叫“粪便秘植”是合理的, 但如果在标准化粪菌制备方面, 纯化程度足够高, 解读为“菌群移植”才是名副其实. 无疑, 粪便中存在微生物的代谢产物等, 这些物质对难辨梭状芽孢杆菌感染具有治疗价值^[2], 对其他一些疾病也可能具有治疗效应, 但如果将菌群与小分子物质都纳入FMT治疗用途, 这就只有停留在“crude FMT”^[3]层面; 如果只需要小分子物质, 这个思路与FMT则不属于一个应用范畴. 所谓的“clean FMT”, 应该是在符合美学需求的同时, 还不影响疗效, 这才是发展

引用格式: 张发明, 张婷. 从粪菌移植到菌群移植. 科学通报, 2019, 64: 285–290

Zhang F M, Zhang T. From fecal microbiota transplantation to microbiota transplantation (in Chinese). Chin Sci Bull, 2019, 64: 285–290, doi: 10.1360/N972018-00601

的主要方向。

FMT本质上是对传统中医药治疗方法在新认识基础上的现代化应用。FMT至少具有1700年救治危重症的医学史,却在2013年被评为当年“世界十大医学突破”之一。因此,至少在2013年之前,FMT既不是技术的突破,也不是理论的突破,而是思维方式的突破^[3]。这种成分不清、不可完全重复生产、治病机制不明的混合物用于救命治病被认为是医学突破,在以往的“科学思维”、“分子机制”、“信号通路”等思维世界里获得认可,这可能是绝无仅有的。

2 FMT体系化发展

比医学史本身更重要的是对医学史的反思。2014年调查显示,在美国有40%的医生不愿意尝试FMT用于难辨梭状芽孢杆菌感染的治疗,他们希望等这项治疗有足够的安全性、有效性和患者意愿分析的研究证据再尝试^[4]。2016年调查显示,中国74.29%的已经接受过FMT治疗的炎症性肠病患者愿意接受第二次FMT治疗,原因在于其亲身经历了有效的FMT治疗^[5]。FMT要进入医学主流以惠及更多的病患,前提是医患双方都愿意实施FMT。为了解决医患共需,最重要的措施在于:(1)用机器代替人在实验室从粪便中获取菌群;(2)解决可重复给入FMT的途径。本团队研发了世界上首套智能粪菌分离系统,用于代替人在实验室从事菌群分离工作,并建立了GMP实验室用于支持中华粪菌库面向全国提供救援服务^[1],同时发明了经内镜肠道植管术(transendoscopic enteral tubing, TET; 含经中消化道^[6]和经结肠^[7]两种途径)满足重复性FMT给入的需求^[6,7]。国内外应用的菌群冻存、冻干保存及胶囊化技术^[8],也是FMT发展的重要组成部分。中华粪菌库和Openbiome作为世界上最大的两个非营利性粪菌库,分别在中国和北美地区开展FMT的异地救援性治疗,完成了全世界超过2/3的FMT治疗。FMT体系化发展正在推动FMT进入医学主流,满足医患双方对安全性、疗效、技术与美学的共同需求^[9]。

3 国内外认识FMT的动态性

国内外对FMT的临床选择态度是动态变化的。2013年,美国食品药品监督管理局(FDA)同时对医疗机构和商业机构应用FMT进行从严管理,将其纳入研究型新药对待。同年,美国相关的医学指南推荐

FMT限用于难辨梭状芽孢杆菌第3次复发的治疗^[9]。2018年,新的医学指南则推荐,难辨梭状芽孢杆菌感染在第2次复发并出现治疗困难时即可考虑FMT^[10]。2018年6月,一项新的研究支持将FMT用于初发难辨梭状芽孢杆菌的救治,这一初步结果已发表在*N Eng J Med*杂志,并预示未来临床对难辨梭状芽孢杆菌感染治疗的走向将更加趋向尽早实施FMT^[11]。在中国,江苏省首先于2015年批准FMT收费,这与美国医疗系统开放收费代码的时间相差不大,这也是中国FMT体系建设的重要内容之一。迄今,在网站www.clinicaltrials.gov就有超过200项关于FMT的注册试验,用于约30种适应证(某些疾病或疾病的亚类)的治疗^[3],并有逐渐增多的证据显示,FMT对难治性炎症性肠病、多重细菌耐药等疾病具有挽救治疗价值。虽然FMT还没有被纳入这些疾病治疗的指南推荐范围,但这应该只是时间问题。目前,中国绝大部分医院还不能完成对难辨梭状芽孢杆菌的检测。在病原学诊断不能及时完成的条件下,依据灌肠后行直乙结肠镜检查寻找典型内镜表现(图1),是一种简便有效诊断以难辨梭状芽孢杆菌为主因的伪膜性肠炎的方法。因此,“中华粪菌库紧急救援计划”的实施方案推荐,临床考虑伪膜性肠炎、抗生素相关性腹泻即可考虑FMT^[1],否则,照搬照抄一些外国指南、共识,不符合中国国情和多数医院的院情,不利于有效救命治病。

4 从FMT到选择性菌群移植

4.1 菌群移植的概念发展

FMT属于菌群移植(microbiota transplantation)的范畴。由19名中国专家组成的标准化FMT研究组于2018年发表专家观点^[3],提出了菌群移植的概念框架(图2),包括整体菌群移植(即FMT)和选择性菌群移植(selective microbiota transplantation, SMT)。SMT是通过选择性菌群实现在消化道、生殖道、鼻腔、皮肤等部位的移植,其中,用于模拟FMT的SMT,也被称为配方菌群移植(mini-FMT),mini-FMT只用于消化道^[3]。SMT在消化领域的治疗适应证范围超过FMT,但是其对于严重疾病的疗效可能次于FMT。SMT的应用在当前还处于研究阶段,甚至部分还在假设阶段。发现和深入研究具有重要治疗价值的新型益生菌株,是发展SMT的重要前提。

图1 临床实践中诊疗伪膜性肠炎的简易流程。灌肠后直结肠内镜检查(a)及发现典型团簇状渗出物及其底部溃疡(b), 可依此快速诊断伪膜性肠炎, 并直接在内镜下植入TET管建立FMT结肠给药途径并满足便捷的重复治疗(c)

Figure 1 The simple flow to diagnose and treat pseudomembranous colitis. Endoscopy after enema by washing left colon (a) can be used to confirm the typical findings on mucosa (b), and then the colonic transendoscopic enteral tubing (c) can be performed for setting the convenient delivering way of FMTs through colon

菌群移植对医学的影响是革命性的。未来3~5年, 中国、美国和欧洲将会有大量关于SMT的临床试验出现。菌群移植临床试验所针对的适应证, 包括但不限

图2 菌群移植的发展及疗效变化趋势

Figure 2 The changes and trend of microbiota transplantation in human medical history

于狭隘意义的抗生素相关性腹泻、肠道菌群失调等疾病, 同时其在抗肿瘤药物增效、减毒与减少放射损伤^[12-15], 免疫性疾病、肝病、脑肠轴疾病、器官移植后排斥反应, 皮肤病等领域的应用^[3]将显示重要意义。FMT和SMT目前仍属于医疗技术, 未来有望成为药品^[3]。所以, 以菌群移植为主要内涵的新型医疗技术科室(如菌群移植中心、微生态治疗科)将会适应需求而在越来越多的医院建立。同时这一临床需求的发展, 将促进新的学科门类, 如医学微生物学或临床微生物学, 进一步促进微生态治疗技术的发展。

4.2 菌群移植的策略

不同专家推荐FMT用于治疗不同疾病的支持强度有别, 这不仅与疾病发生原因有关, 还与FMT的方法学和策略(实验室方法、时机、途径、菌群状态、频次等)有关, 后者在近3年逐渐得到重视。FMT升阶治疗策略(step-up FMT strategy)^[3]是治疗策略进展的典型代表。FMT升阶治疗策略由3步组成: 第1步(Step 1)是指单次FMT; 第2步(Step 2)是指多次FMT(≥ 2); 第3步(Step 3)是指在步骤1或步骤2无效时, FMT联合常规药物治疗(例如糖皮质激素、环孢素、抗TNF- α 抗体、全肠内营养)。每一步的疗效都可能在下一步中得以提高, Step 3之所以继续使用常规药物治疗, 其机制可能涉及肠道菌群重建改变宿主的免疫状态、肠道屏障功能以及对常规治疗药物的敏感性。Step 3在FMT基础上结合传统药物治疗, 从而发挥比单独使用FMT或传统药物都更优的疗效, 所显示的临床价值值得思考和研究。因此, FMT升阶治疗策略可望成为多种难治性感染^[16]、免疫性疾病^[17]、肿瘤^[3]等疾病治疗的重要选择。未来对SMT的应用策略与FMT

相似^[3],但发展SMT的前提是需要对单一有益菌株有足够发现和认识,而这需要新的思路和策略^[19].

5 结论与展望

菌群移植并非只能应用于治疗肠道疾病,它同时开启了诸多疾病诊疗的新思路.基于国内外杂志报道、中国菌群移植平台登录病例及我们迄今所治疗4000余例病例的经验,不少肠道疾病患者合并存在的肺炎、哮喘、肝病、糖尿病、皮肤病、造血功能异常、癫痫、抽动秽语综合征,自闭症、睡眠障碍、性功能障碍等合并症,多能通过重建肠道菌群得到缓解甚至治愈^[3].这些证据对认识中医药临床研究强调的整体性具有启发意义.目前,美国胃肠病学会FMT注册项目^[18]和中国菌群移植平台^[3]均已开展针

对菌群移植人群的10年登记随访研究,其重点是评估菌群移植的长期安全性.虽然来自国内外大中心的数据支持其很高的安全性,但是我们不能忽略那些没有报道的不良事件,这些不良事件往往发生在经验缺乏的医疗机构,或者由不具有医疗资质的机构所提供的商业服务所致.菌群移植的近期(小于1个月)和远期(大于1个月)风险需要通过大数据、长期的真实世界研究来回答.

总之,从FMT到SMT,思维方式的改变是前提,智能化菌群分离、全结肠途径FMT、配方菌群移植等技术进步与之辉映,共同推动了菌群移植的发展.目前国内外针对菌群移植的研究和应用仍非常有限,只有重建大部分医生和研究者的知识结构,菌群移植的应用范围和重要价值才能得到更完整的体现.

参考文献

- 1 He Z, Zhang F M. The principle, plan and risk management of the Chinese FMTBank (in Chinese). *Chin J Gastroenterol*, 2017, 22: 193–198 [何植, 张发明. 中华粪菌库的原则、方案 and 风险管理. *胃肠病学*, 2017, 22: 193–198]
- 2 Ott S J, Waetzig G H, Rehman A, et al. Efficacy of sterile fecal filtrate transfer for treating patients with *Clostridium difficile* infection. *Gastroenterology*, 2017, 152: 799–811.e7
- 3 Zhang F, Cui B, He X, et al. Microbiota transplantation: Concept, methodology and strategy for its modernization. *Protein Cell*, 2018, 9: 462–473
- 4 Kelly C R, Kahn S, Kashyap P, et al. Update on fecal microbiota transplantation: Indications, methodologies, mechanisms, and outlook. *Gastroenterology*, 2015, 149: 223–237
- 5 Xu L, Zhang T, Cui B, et al. Clinical efficacy maintains patients' positive attitudes toward fecal microbiota transplantation. *Medicine (Baltimore)*, 2016, 95: e4055
- 6 Long C, Yu Y, Cui B, et al. A novel quick transendoscopic enteral tubing in mid-gut: Technique and training with video. *BMC Gastroenterol*, 2018, 18: 37
- 7 Peng Z, Xiang J, He Z, et al. Colonic transendoscopic enteral tubing: A novel way of transplanting fecal microbiota. *Endosc Int Open*, 2016, 4: E610–E613
- 8 Youngster I, Russell G H, Pindar C, et al. Oral, capsulized, frozen fecal microbiota transplantation for relapsing *Clostridium difficile* infection. *JAMA*, 2014, 312: 1772–1778
- 9 Zhang F M. To promote the standardization of fecal microbiota transplantation into the mainstream (in Chinese). *Chin J Digest Endosc*, 2014, 31: 61–63 [张发明. 将标准化粪菌移植推向主流. *中华消化内镜杂志*, 2014, 31: 61–63]
- 10 McDonald L C, Gerding D N, Johnson S, et al. Clinical practice guidelines for *Clostridium difficile* infection in adults and children: 2017 Update by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and Society for Healthcare Epidemiology of America (SHEA). *Clin Infect Dis*, 2018, 66: 987–994
- 11 Juul F E, Garborg K, Bretthauer M, et al. Fecal Microbiota transplantation for primary *Clostridium difficile* infection. *N Engl J Med*, 2018, doi: 10.1056/NEJMc1803103
- 12 Cui M, Xiao H, Li Y, et al. Faecal microbiota transplantation protects against radiation-induced toxicity. *EMBO Mol Med*, 2017, 9: 448–461
- 13 Gopalakrishnan V, Spencer C N, Nezi L, et al. Gut microbiome modulates response to anti-PD-1 immunotherapy in melanoma patients. *Science*, 2018, 359: 97–103
- 14 Matson V, Fessler J, Bao R, et al. The commensal microbiome is associated with anti-PD-1 efficacy in metastatic melanoma patients. *Science*, 2018, 359: 104–108
- 15 Routy B, Le C E, Derosa L, et al. Gut microbiome influences efficacy of PD-1-based immunotherapy against epithelial tumors. *Science*, 2018, 359: 91–97

- 16 Ianiro G, Masucci L, Quaranta G, et al. Randomised clinical trial: Faecal microbiota transplantation by colonoscopy plus vancomycin for the treatment of severe refractory *Clostridium difficile* infection-single versus multiple infusions. *Aliment Pharmacol Ther*, 2018, doi: 10.1111/apt.14816
- 17 Cui B, Li P, Xu L, et al. Step-up fecal microbiota transplantation strategy: A pilot study for steroid-dependent ulcerative colitis. *J Transl Med*, 2015, 13: 298
- 18 Kelly C R, Kim A M, Laine L, et al. The AGA's fecal microbiota transplantation national registry: An important step toward understanding risks and benefits of microbiota therapeutics. *Gastroenterology*, 2017, 152: 681–684
- 19 Zhao L, Zhang F, Ding X, et al. Gut bacteria selectively promoted by dietary fibers alleviate type 2 diabetes. *Science*, 2018, 359: 1151–1156

Summary for “从粪菌移植到菌群移植”

From fecal microbiota transplantation to microbiota transplantation

Faming Zhang^{1,2*} & Ting Zhang^{1,2}¹ Medical Center for Digestive Diseases, the Second Affiliated Hospital, Nanjing Medical University, Nanjing 210011, China;² Key Lab of Holistic Integrative Enterology, Nanjing Medical University, Nanjing 210011, China

* Corresponding author, E-mail: fzhang@njmu.edu.cn

The history of using the stool from healthy human to treat human diseases dates back to the ancient China. Fecal microbiota transplantation (FMT), which has been regarded as a medical breakthrough in recent years, is essentially a modern medical application based on the new understanding and development on traditional Chinese medicine. The therapeutic value of FMT for microbiota-related diseases such as *Clostridium difficile* infection highlights the important relationship between microbiota and diseases. However, FMT is a breakthrough not in technological or theoretical research, but in medical recognition. FMT has been used in many indications beyond *Clostridium difficile* infection, such as Crohn's disease, ulcerative disease, constipation, diabetes mellitus, cancer, liver cirrhosis, microbiota-gut-brain disease and others. Increasing evidence on FMT revolutionizes our understanding on the mechanism and treatment of microbiota-related diseases. The main progress of FMT in the recent two years focuses on the clinical strategy in refractory disease, methodology in lab and delivering way of FMT by colonic transendoscopic enteral tubing. It is time to end the crude stool transplant in humans and develop standardized FMT into a mainstream therapeutic option to bring benefits to more patients. The systematic development of FMT is pushing it into the mainstream of medicine to meet the common needs of both doctors and patients for safety, efficacy, technology and aesthetics.

Therefore, the recent coined name, selective microbiota transplantation (SMT) for partially replacing FMT has gained more attention than FMT from the researchers in microbiology and clinical medicine in the recent years. SMT could transplant the selective microbiota in the digestive tract, reproductive tract, nasal cavity, skin and others. The range of therapeutic indications for SMT used in gastrointestinal tract exceeds FMT, but its efficacy for serious diseases may be inferior to FMT. Microbiota transplantation, including FMT and SMT will be promising to be used for the treatment of various diseases in the future. According to the published reports and our experience based on more than 4000 cases of diseases we have treated, many patients complicated with pneumonia, asthma, liver disease, diabetes, skin diseases, hematopoietic dysfunction, epilepsy, autism, sleep disorders, sexual dysfunction and other comorbidities can be alleviated or even cured by microbiota transplantation. The real-world study for microbiota transplantation in long term will be critical research to answer the efficacy and the safety in short term and long term. This paper commented the prominent understanding and the latest progress of microbiota transplantation in the recent years.

fecal microbiota transplantation, selective microbiota transplantation, probiotics, *Clostridium difficile*, safety

doi: 10.1360/N972018-00601