

## 开放获取

编辑/

Cristoforo Comi, 意大利东皮埃蒙特大学

评审:

贾小康,

海南医科大学, 中国Shabnam

Nohesara,

伊朗医学科学大学, 伊朗

\*通信朱

✉ zhuweiwen11@126.com

†These作者对这项工作做出了同等的贡献, 并共享第一作者身份

2024年1月17日接收2024年8月

26日接受2024年9月6日出版

引用

曾涛, 林超, 邓宇, 朱文(2024)补充BF839 + 蚯蚓蛋白对帕金森病运动及部分非运动症状的影响:一项随机临床试验。

前沿.神经科.15:1371791。

Doi: 10.3389/fneur.2024.1371791

版权所有

©2024曾、林、邓、朱。这是一篇基于知识共享署名许可(CC BY)的开放获取文章。允许在其他论坛中使用、分发或复制, 前提是根据公认的学术惯例, 注明原作者和版权所有, 并引用本期刊中的原始出版物。任何不符合这些条款的使用、分发或复制都是不被允许的。

# BF839 + 蚯蚓蛋白补充剂对帕金森病运动及部分非运动症状的影响:一项随机临床试验

TingZeng<sup>1†</sup>、ChuhuiLin<sup>1†</sup>、邓玉红<sup>1,2,3</sup>、WeiwenZhu<sup>2,3\*</sup><sup>1</sup>中国广州广州医科大学第二附属医院临床营养科, <sup>2</sup>中国广州广州医科大学第二附属医院神经科学研究所及神经内科, <sup>3</sup>广东省神经遗传学与通路病教育部重点实验室, 广州

一些研究发现益生菌具有治疗PD的潜力, 而蚯蚓蛋白是一种用于治疗PD的中药。本研究的目的是评价脆弱拟杆菌839 (BF839) + 蚯蚓蛋白补充剂作为PD辅助治疗的安全性和有效性, 并观察肠道菌群的变化。方法:招募46例PD患者进行为期12周的1:1随机、双盲、安慰剂对照临床试验, 评估运动和部分非运动症状评分的变化, 并检测肠道微生物群的宏基因组变化。

结果:从基线到12周, 与安慰剂相比, 试验组在联合帕金森病发病率量表(UPDRS)总评分(-7.74±5.92比-1.83±4.14,  $p<0.001$ ), UPDRS第一部分(-0.72±0.81比-0.20±0.72,  $p=0.026$ ), UPDRS第二部分(-2.50±2.24比-0.22±1.98,  $p=0.001$ ), UPDRS第三部分(-3.43±3.42 vs -1.33±2.65,  $p=0.024$ )和UPDRS第四部分(-1.13±1.19 vs -0.15±0.57,  $p=0.001$ )、汉密尔顿抑郁量表-24评分(-3.91±3.99 vs. +1.15±3.42,  $p<0.001$ )、自评焦虑量表评分(-7.04±5.71 vs. -1.23±2.34,  $p<0.001$ )和便秘评分系统评分(-8.59±4.75 vs. 0.27±1.24,  $p<0.001$ )均显著降低。在试验组中, 1名患者出现轻度湿疹, 1名患者出现低血压, 这不能最终归因于补充。与安慰剂组相比, 试验组的粪肠球菌明显增加, 克雷伯氏菌明显减少。结论:本研究首次报道益生菌加蚯蚓蛋白可显著改善PD的运动及部分非运动症状, 且无严重不良反应。然而, 还需要进一步的临床试验和对其潜在机制的探索。

临床试验注册: 临床试验注册 <http://www.chictr.org.cn/>, Identification No: ChiCTR2000035122。

关键词

*Bacteroides fragilis* 839, earthworm, gut microbiota, Parkinson's disease, probiotics

## 1 简介

帕金森病(PD)是一种常见的神经退行性疾病。主要治疗包括左旋多巴等药物,以提高多巴胺水平并改善症状。目前,还没有针对PD的预防性或改进性治疗方法。随着病情的发展,对症治疗需要升级,变得更加复杂,这就导致了更大的副作用风险。

PD病因学与肠道菌群失衡之间的关系引起了越来越多的关注。PD被认为起源于肠道(1)。PD患者的肠道菌群组成与健康个体不同(2)。将PD患者的粪便移植到PD小鼠模型中会加重运动障碍(3),补充混合益生菌(4)可以轻微改善PD小鼠模型的运动功能障碍。补充单一(5)或混合(6)益生菌可改善人类胃肠道便秘、腹痛、腹胀、焦虑和睡眠障碍等非运动症状。然而,很少有研究报道益生菌可以广泛改善PD患者的运动功能。

脆弱拟杆菌(*Bacteroides fragilis*, BF)在PD患者粪便中的丰度较低(2)。BF在第二代益生菌研究中备受关注(7)。BF839是一种无毒的BF菌株,是从健康婴儿粪便中分离出来的一种肠道共生细菌(8)。BF839可以预防肠道和呼吸系统疾病,促进身体健康我们最近报道了BF839对治疗人类银屑病(10)、难治性癫痫(11)和自身免疫性癫痫(12)有效,并改善了脆性X综合征小鼠的学习和记忆(13)。由于BF839可以实质性地影响大脑,因此它也可能起到PD治疗的作用。

蚯蚓(又称蚓)在中国的传统药用可以追溯到2000年。对多份治疗PD的中药经典方剂进行分析,蚯蚓的使用频率为95%(14)。因此,蚯蚓是中医治疗PD的“常用药”。蚯蚓蛋白是中国批准的一种新型食品资源,已经上市13年,没有出现严重的不良反应。蚓肽,一种从蚯蚓中分离的抗菌肽,在PD小鼠模型中增强神经保护和改善运动功能障碍(15)。

本初步研究评估了BF839+蚯蚓蛋白补充剂作为PD患者辅助治疗的安全性和有效性,并与安慰剂进行了比较。通过检测患者肠道微生物群的宏基因组变化来探索其初步机制。

## 2 患者和方法

### 2.1 伦理考虑

这项单中心、双盲、随机、安慰剂对照试验在广州医科大学第二附属医院神经病学与临床营养科进行。本

研究经该院伦理委员会批准(项目编号2019-hs-42),并在中国临床试验注册中心注册(<http://www.chictr.org.cn/>; 鉴定号:ChiCTR2000035122)。受试者在试验开始前提供了书面知情同意书。

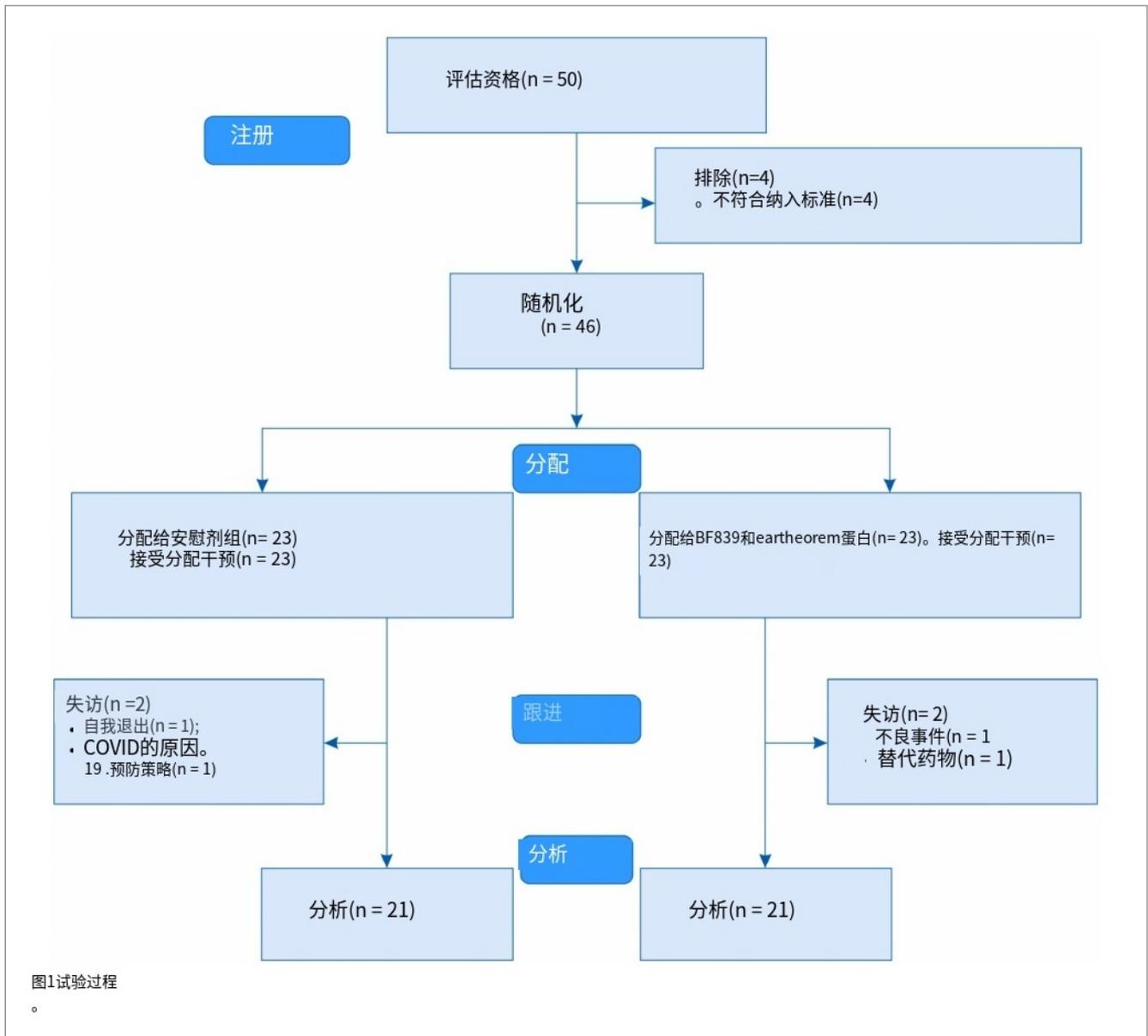
### 2.2 试验设计与参与者

进行了一项为期12周的随机对照试验(RCT),检测了部分患者肠道微生物群的宏基因组变化。图1展示了试验过程。参与者的入组时间为2020年9月1日至2021年8月31日。纳入标准为:(1)符合运动障碍学会(MDS)临床诊断标准和Hoehn and Yahr分期1-3(16,17)的诊断标准,表明临床存在PD;(2)有能力独立或在家庭成员的帮助下完成检查、问卷调查,并提供病史;(3)使用抗帕金森药物,如左旋多巴、多巴胺化酶抑制剂、多巴胺激动剂(DA)、单胺氧化酶B型抑制剂、儿茶酚-o-甲基转移酶抑制剂、盐酸金刚烷胺和三己苯基,前提是入组前30天剂量保持不变。排除标准为:(1)有严重认知障碍或失语、构音障碍导致交流困难;(2)严重肝肾功能障碍或肿瘤;(3)入组前30天使用免疫抑制剂、抗生素或其他益生菌,或粪便微生物移植;(4)有严重且未控制的高血压病史;以及(5)自发性出血、凝血功能障碍或长期使用抗凝剂。退出标准为:(1)失访;(2)不可接受或严重不良事件;(三)试验期间调整抗帕金森药物剂量的;(4)使用<试验补充剂量的20%。所有患者均为原发性PD,无PD家族史。然而,没有进行基因检测,并且排除多因素PD患者主要是基于没有确定的伴随神经系统疾病,如痴呆,脑萎缩,中风。

由独立的神经科医生负责对患者进行评估。评估量表包括UPDRS量表、汉密尔顿抑郁量表-24 (HAMD-24)、焦虑自评量表(SAS)、便秘评分系统量表(CSS)和最低精神状态检查量表(MMSE)。分别于第0天、第6周和第12周对患者进行评估。每项评估均在入组前后的同一时间进行,基本排除了运动波动和运动障碍对结果的影响。事实上,本试验中有4名患者出现了运动波动,但每次评估时他们都处于“ON”状态。应答率定义为患者评分从基线到12周的最小临床重要差异变化的比例(补充数据1.1)。

### 2.3 样本量估计

根据先前的研究结果(18),在Hoehn-Yahr I-III型患者中,安慰剂作为辅助治疗的总UPDRS较基线降低8.5%。在我们的临床前试验数据中,我们观察到一个实质性的



UPDRS下降了45%。我们设置alpha值为0.05，功率效应值为80%，比率为1，并使用pass 11.0软件(NCSS, Inc., USA)计算所需的样本量为40(每组20)。考虑到15%的辍学率，我们招募了46名患者(每组23名患者)。

## 2.4 招募和随机化

参与者按1:1的比例被分配到试验组或安慰剂组，使用隐藏的随机分配，这些随机分配来自使用Python编程环境生成的计算机生成的随机数表。一名护士分配了试验补充剂，但她不知道患者接受的是哪种试验补充剂。BF839 + 蚯蚓蛋白补充剂和安慰剂由中国广州图腾生命医学研究有限公司制备和包装。两种产品几乎一模一样，无法区分。为了保证统计结果的真实性，参与

者和研究人员(包括试验组织人员、随访人员、评价人员、数据录入人员和统计人员)均采用盲法。只有在严重不良事件发生时才需要开盲，并得到督导委员会的批准。

## 2.5 干预措施

10 g BF839 + 蚯蚓蛋白补充试验溶液溶解于200 mL水中，每日2次，或配合安慰剂作为辅助治疗，疗程12周。10克试验补品含有 $10^{-6}$ BF839和0.3克蚯蚓蛋白。关于BF839和蚯蚓蛋白生产的更多细节可以在[补充材料1.2中看到](#)。安慰剂由麦芽糖糊精制成，其气味和味道与包装相同的BF839 + 蚯蚓蛋白补充剂相似。同时保留抗帕金森药物，在整个试验过程中不允许有任何变化。

## 2.6 不良事件

监测患者的胃肠道相关疾病，包括常见的不良事件，如恶心、呕吐、腹泻、便秘、排气增加和皮疹。意料之外的不良事件也被记录。

## 2.7 粪便样本采集、处理和分析

在第0天和第12周随机选择20名患者收集粪便样本。从安慰剂组中选取10例患者；2名患者在第12周末未能提供粪便样本，总共18份样本。在试验组中，选择了10名患者，总共得到了20份样本。样品在家中采集，在室温下运往深圳01生命研究有限公司检测。采用R3.6.3计算物种数，Shannon多样性评估微生物群多样性。采用Bray-Curtis距离和PCoA分析微生物群组成变化，并进行多变量方差分析，确定微生物群组成的时间和组间差异。进行了基因集比对和肠道代谢模块预测(补充资料1.3-1.8)。

## 2.8 统计分析

临床数据采用按方案分析和意向治疗分析进行分析。采用SPSS统计软件(22.0版;SPSS公司,芝加哥,伊利诺伊州,美国)。计量资料用mean±SD表示,组间比较采用t检验。计数资料以病

例数(%)表示,组间比较采用卡方检验或Fisher精确检验。统计学显著性设为 $p < 0.05$ 。

## 3 结果

### 3.1 患者基线特征

在2020年9月1日至2021年8月31日期间筛查的50例患者中,有46例被纳入。在试验组中,一名患者因抗帕金森药物的变化而退出,另一名患者因不良事件退出。在安慰剂组,一名患者因参加另一项试验而撤回同意,另一名患者因COVID-19预防政策而无法返回医院。42名患者完成了试验。表1给出了他们的基线特征。

### 3.2 BF839 + 蚯蚓蛋白显著改善pd相关的运动和非运动症状

6周时,在意向治疗分析中,与安慰剂组相比,试验组的UPDRS总分和UPDRS第四部分评分显著降低。此外,与安慰剂组相比,试验组在UPDRS第一部分、第二部分和第三部分得分呈非显著下降趋势。与安慰剂组相比,试验组HAMD-24、SAS和CSS评分均有显著降低。在每个方案分析中也观察到类似的趋势(表2)。

12周时,在意向治疗分析中,试验组显示UPDRS总量和UPDRS部分显著降低

表1患者的基线特征。

基本信息	试验(n = 21)	安慰剂(n= 21)	p
性别			0.747
男性, N (%)	13 (61.9)	14 (66.7)	
女性, N (%)	8 (38.1)	7 (3)	
年龄(年, 平均年龄)	52.29±8.90	59.57±7.77	0.299
UPDRS总数	22.33 ± 10.09	20.52±7.21	0.614
病程(年, 平均+ sd)	6.19±4.33	6.14±4.73	0.755
Hoehn-Yahr病L-II期分期, N (%)			0.752
III分期付款, N (%)	12 (57.1)	11 (52.4)	
左旋多巴+ ddc - I, N (%)	3.00±1.05	3.01±1.32	0.898
左旋多巴+ DDC-I缓释片, N (%)	19 (90.47)	17 (80.95)	0.378
Da, n (%) mao-bi, n (%)	6(28.57)	4 (19.05)	0.469
金刚烷, N(%)金	13 (61.90)	16 (76.19)	0.063
刚烷胺, N (%)	7 (33.33)	9(42.86)	0.52
金刚烷, N(%)金	2 (9.52)	3(14.29)	0.63
刚烷胺, N (%)	2 (9.52)	1 (4.76)	0.549

P为试验组与安慰剂组的比较,采用卡方检验;DDC-I, dopadecarboxyase -inhibitor, 多巴胺激动剂;MAO-BI, 单胺氧化酶B型抑制剂。

表2试验组和安慰剂组第0d、第6周数据与基线(第0天)、第12w-0d的评分比较。

比例 分数	每协议a				意向治疗和							
	好	6周数据与12周数据 基线(日)		好	6周数据和12周数据 基线数据(0)基线直径							
	试验Pacebo p	试验安慰剂p	试验(n-2)安慰剂	Tial安慰剂p	Tial安慰剂p (n=2)	(n=2)	(n-2)	(n=21)				
					(=2)	(=23]	(=-23)	(=23)	(=23)	(=23)	(=23)	(=23)
总PDR 23100 0572 06 -14- 1480 -315-20401491972 063-3 -145 03 7145 -15414												
UPDRSpart 1917 0524081 002 -409-0460 025 -2902 -21050011 0403-0406-2039-020 1-0202												
我知道 行为 没有												
udspit 1 30433 3 2546 5-526-31 0 201420 00 21 51533 09-1520-215 0- 2512-121活动												
Diy 1												
UPDS part I 1042 106940 089-1982-14 01 -31640-1424 020946 1034039-1 8020-1245 02934342-326 0.2 moto												
检查												
UPDRS部分1 156404 105.10 025 0906 -1946 0.8 - 403 -1067 0.91340104050-0406 -0104 09940 -14 0.193加速												
快递												
UPDS part1 098.11 150 02- 1-212 0 5 9294-0- 12460 091 146 60 1310 -20 065 -250 -0 0 0												
地震时震颤 动作 姿势 震颤 手												
UPDS partI 102.06 1240 087- 045-314068 094 -0401 -3601 0840 19061201 020214 -28460.5 -390.0 -032071 071												
刚性												
UPDRS part 1 1216 3.26.14 06-46-01.16 0458 14137 -5214 0 20158 12005 -330-010 0.46-0.4130												
图1 手 运动 r Altema 动作 双手												
												67+1.32

(续)

TABLE 2 (Continued)

比例 分数	Perprotocol a										意向治疗和									
	好					6周的数据与12周的基线od 基线日					6周数据与12周数据w 基线数据(第0天)基线数据									
	试验安慰剂p		Tia安慰剂p		(n=2)	安慰剂PTrial		安慰剂试验		安慰剂p	试验安慰剂p		试验安慰剂p		(n=21)	(n=21)		(n=21)	(n=21)	
UPDS part 1	191.1	1409	07-170	09014-	54093	01040	1210906-	10304	0543-	009	0.5									
腿a Arig 柴																				
ups part I	3263	2131.0	-54100	-51.04-	9814-	0671.58	0563.125726	160.48-	01.06	-021.3094	-0941.0	-01.2	051							
邮政 萨比利 布拉 蒂和 pai																				
UPDRS部分V	2432.6	921.0	010	-5055	01058	03	-1219-	10	001	2257	0614	0026	0.404	055	0019	-19	-1537	0	运动障碍	
Mmse	00158	288646	07	4107	+0.31363	0.558	043121	406214	040	8.7163	29121	0.99	09023	40.31303	40391.8	.571.0	0.651			
Hamd-24	1963	141976	100	-27941	+0482	032	-424398	+1.63.7101.06.1	13967131	0983	2546	+	1421.3万	-31394	.1340					
说	435148.27	37.60657	04-52456	-00531	0.00	-7151	-123+243	001	4.74	3759631	002	2	4146-043.5	000	0-10451	1234				
CSs	16.54800	1563560705	-710121	06.1.9	401	-9404.1	.00	16948	153	20564136	018.14	400	0945	021						

P.试验组和安慰剂组的基线比较。P.试验组和安慰剂组6周数据与基线(第0天)的比较。P.试验组和安慰剂组在12周时与基线(第0天)的比较。n。

与安慰剂组比较, UPDRS第二部分, UPDRS第三部分和UPDRS第四部分得分。试验组明显优于安慰剂组,特别是在UPDRS第三部分评分的腿部症状(腿部敏捷,由椅子引起)方面。UPDRS第三部分评估的其他症状(表2)也显示,与安慰剂组相比,试验组的症状呈非显著下降趋势。与安慰剂组相比,试验组HAMD-24、SAS和CSS评分显著降低。在每个方案分析中也观察到类似的趋势(表2)。

在意向治疗分析中,与安慰剂组相比,在12周时,试验组在UPDRS总分 $\geq 8$ 分(47.82% Vs 4.34%,  $p = 0.001$ )、UPDRS第二部分总分 $\geq 2$ 分(60.87% Vs 17.39%,  $p = 0.003$ )、UPDRS第三部分总分 $\geq 5$ 分(30.43% Vs 4.34%,  $p = 0.02$ )、CSS  $> 30\%$  (95.65% Vs 0%,  $p < 0.001$ )。各方案分析结果相似(Supplementary Table S1)。试验组有2例特殊病例未接受左旋多巴治疗,仅服用雷沙吉兰(1mg/天)。他们的UPDRS评分分别从基线时的13分和14分大幅下降到12周时的5.5分和4.5分。两名患者在12周时都恢复了嗅觉。此外,试验组中的一名患者报告说他的嗅觉恢复了。

### 3.3 不良事件

在试验组中,4.3%(23人中的1人)的患者报告在3周时出现轻度湿疹,一周后自行消退,没有导致退出研究。此外,试验组中4.3%(1/23)的患者出现头晕和低血压(80-105 mmHg/50-60 mmHg),导致退出研究。然而,该患者同时服用其他中药,包括七叶皂苷钠片、银杏酮滴丸,以及含有三七、黄芪、丹参、中药的复方血栓通胶囊,以改善血液循环。因此,很难确定这些不良事件与使用试验性药物之间的相关性。此外,安慰剂组报告了2例腹胀;然而,这些都不符合研究退出的标准。

### 3.4 肠道菌群的变化

在第0天,安慰剂组和试验组之间的多样性(图2A,B)和物种水平丰度(图2C,D)无显著差异。

在12周时,试验中微生物组多样性的下降幅度大于安慰剂组;然而,差异并不显著(图2A)。在主坐标分析(PCoA)中,没有观察到布雷-柯蒂斯不相似性的聚类(图2B)。

与安慰剂组相比,试验组在12周时显示出尿肠球菌丰度的显著增加。相反,试验组的变痘克雷伯氏菌、肠玫瑰菌、肠沙门氏菌和产气克雷伯氏菌的丰度显著下降(图2C)。与第0天相比,安慰剂组在第12周时显示出更高水平的真杆菌和均匀拟杆菌。然而,与第0天相比,试验组在第12周表现出更高的尿肠球菌丰度和更低的真杆菌丰度(图2D)。

分析了肠道微生物编码的神经活性化合物的代谢功能。在第0天和第12周,安慰剂组和试验组之间没有观察到显著差异。与安慰剂组相比,试验组的双歧杆菌分流、乳酸生成和戊糖磷酸途径(非氧化分支)代谢功能显著增加。同时,谷氨酰胺降解II、硝酸盐还原(异同化)和岩藻糖降解显著降低(图2E)。在12周时,与第0天相比,安慰剂组的琥珀酸生成、硝酸盐还原(异同化)和赖氨酸降解i相关功能显著增强。相比之下,甘油降解II、半胱氨酸生物合成/同型半胱氨酸降解和同型半胱氨酸生成显著降低。在12周时,试验组戊糖磷酸途径(氧化阶段)和丙酮酸:甲酸裂解酶与第0天相比增加。同时,谷氨酸降解I和丙酮酸:铁氧化还原蛋白氧化还原酶显著降低(图2F)。

## 4 讨论

我们观察到UPDRS总分(-7.74 $\pm$ 5.92比-1.83 $\pm$ 4.14,  $p < 0.001$ )、汉密尔顿抑郁量表-24评分(-3.91 $\pm$ 3.99比+1.15 $\pm$ 3.42,  $p < 0.001$ )、自评焦虑量表评分(-7.04 $\pm$ 5.71比-1.23 $\pm$ 2.34,  $p < 0.001$ )和便秘评分系统评分(-8.59 $\pm$ 4.75比0.27 $\pm$ 1.24,  $p < 0.001$ )显著降低( $p < 0.001$ ),这意味着将益生菌联合蚯蚓蛋白干预作为PD患者的辅助治疗对运动和某些非运动症状都有益。这一改善超过了先前的研究结果(19),该研究报告混合益生菌使MDS-UPDRS总分下降6%,因为我们的研究显示减少了约35%(7.74/22.33)(表2)。

一些动物研究表明,肠道生态失调通过增加肠道通透性、神经炎症、突触核蛋白原纤维异常水平的积累、氧化应激和神经递质的产生来影响PD的发生和发展(20)。然而,肠道菌群影响PD的确切机制尚不清楚。无毒形式的BF可以预防结肠炎动物模型中的肠道炎症,防止实验性自身免疫性脑脊髓炎,并激活肠道感觉神经元(21)。对具有母体免疫激活(MIA)和自闭症特征的后代小鼠给予BF已被证明可以通过改善MIA相关的结肠紧密连接蛋白(特别是claudin 8和claudin 15)表达的改变来纠正肠道通透性。这反过来又纠正了mia引起的血清代谢物异常,包括4-乙烯苯基硫酸盐,并改善沟通、重复行为、焦虑样行为和感觉运动功能(22)。虽然人类和小鼠之间存在显著差异,但观察到的治疗效果可能表明这可能是BF治疗效果的机制之一,需要进一步研究。值得注意的是,尽管BF处理的后代粪便样本中没有可检测到的BF,PCoA评分显示的微生物丰富度也没有显著差异,但补充BF仍然减轻了与MIA相关的特定微生物群的变化(22)。Hsiao的这一发现与我们的发现一致,即在粪便和粪便中未检测到BF839

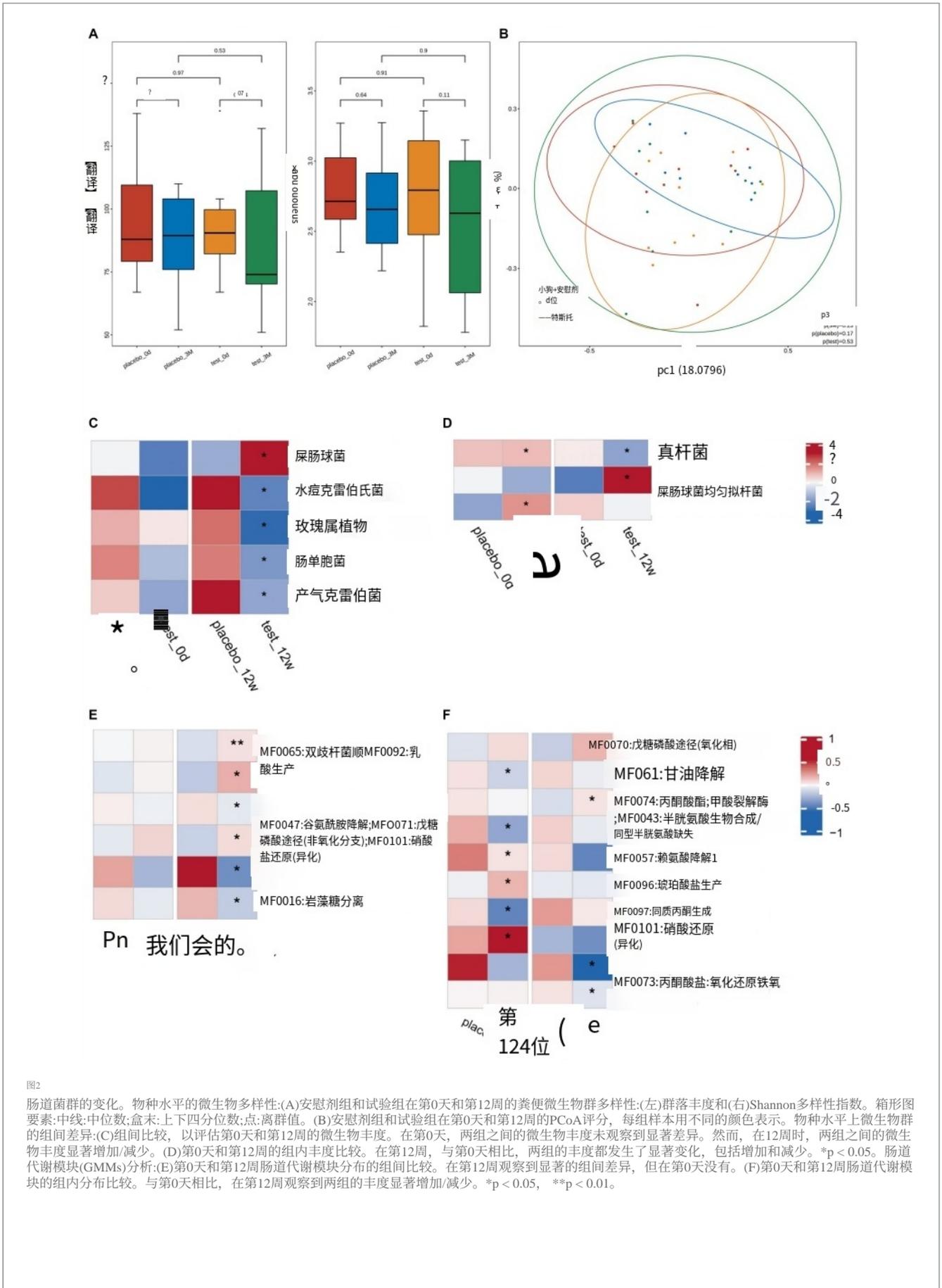


图2

肠道菌群的变化。物种水平的微生物多样性:(A)安慰剂组和试验组在第0天和第12周的粪便微生物群多样性:(左)群落丰度和(右)Shannon多样性指数。箱形图要素:中线:中位数;盒末:上下四分位数;点:离群值。(B)安慰剂组和试验组在第0天和第12周的PCoA评分, 每组样本用不同的颜色表示。物种水平上微生物群的组间差异:(C)组间比较, 以评估第0天和第12周的微生物丰度。在第0天, 两组之间的微生物丰度未观察到显著差异。然而, 在第12周时, 两组之间的微生物丰度显著增加/减少。(D)第0天和第12周的组内丰度比较。在第12周, 与第0天相比, 两组的丰度都发生了显著变化, 包括增加和减少。\* $p < 0.05$ 。肠道代谢模块(GMMs)分析:(E)第0天和第12周肠道代谢模块分布的组间比较。在第12周观察到显著的组间差异, 但在第0天没有。(F)第0天和第12周肠道代谢模块的组内分布比较。与第0天相比, 在第12周观察到两组的丰度显著增加/减少。\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ 。

微生物群落多样性,包括多样性指数和PCoA评分,与安慰剂组无显著差异。

我们的研究结果进一步支持了这样一种观点,即BF可能不会建立长期定植,但可以调节与疾病相关的细菌种类(22),从而改善症状。我们观察到,与安慰剂组相比,试验组的尿肠球菌明显增加,克雷伯氏菌明显减少。这些发现与之前将尿肠球菌移植到PD小鼠体内的研究一致。尿肠球菌显著增加了这些小鼠大脑中的多巴胺水平,改善了PD的表现(23),而克雷伯氏菌与PD的持续时间和严重程度呈正相关(24),表明存在机制联系。克雷伯氏菌可能产生对多巴胺能神经元有毒的代谢物,直接损害神经系统功能;克雷伯氏菌可通过激活肠道免疫系统,影响中枢神经系统功能,引发全身炎症和免疫反应。微生物组通过一个复杂的通路网络与大脑相互作用,涉及免疫系统、迷走神经、肠神经系统、色氨酸代谢、支链氨基酸、短链脂肪酸、肽聚糖、其他微生物代谢物(25)和未知物质。确定BF839发挥其对PD有益作用的具体机制是具有挑战性的,因为它可能涉及多种因素。

虽然蚯蚓是中药中最常用的抗帕金森病药物之一,但其作用机制尚不清楚。为了生存,蚯蚓必须在其消化系统中编码和合成特殊蛋白质,特别是蛋白质水解同工酶家族的蛋白质。蚯蚓蛋白酶由于其纤溶和抗凝作用,已被用于治疗脑血管疾病(26)。PD患者表现为广泛或局灶性脑血灌注不足(27)。益生菌可能通过多种途径影响PD,主要是通过调节代谢物、神经递质和营养物质,这些物质有可能通过血液到达大脑。因此,我们假设增强脑血流灌注可能会潜在地增加益生菌的功效。从蚯蚓中分离出的一种11 mermer抗菌肽(NH<sub>2</sub>-RNRRCIDQQA),可显著增加小鼠脑内分离的小鼠神经干细胞(MNSCs)的增殖,增强蛋白酶体介导的p27Kip1降解,保护MNSCs免受6-羟多巴胺诱导的凋亡。并减轻PD小鼠模型中的运动损伤(15)。因此,我们的研究支持了蚓草素治疗PD的潜力。然而,这种疾病修饰机制并不能完全解释试验中观察到的症状改善。研究产品的潜在有益效果是严格对症的。

在我们的研究中,两名未接受左旋多巴治疗的患者的UPDRS评分比接受左旋多巴治疗的患者有更大的改善。这与先前的研究结果一致,即服用普拉克索而不服用左旋多巴的患者的UPDRS评分有更大的改善(28)。因此,患者可能从不使用美多巴的早期治疗中获益更多。令人惊讶的是,有3名患者报告说他们失去的嗅觉恢复了。鉴于目前尚无有效的方法改善PD患者的嗅觉,本研究为改善该症状提供了重要线索。

虽然人体补充益生菌微生物通常被认为是安全的,但它可能会在免疫调节过程中引起对过敏原的增强反应。在我们的研究中,4.3%的患者出现轻度湿疹就是这一现象的证据。然而,此类反应的严重程度和发生率需要在未来的研究中以更大的样本量进一步观察。有研究报道蚯蚓蛋白胶囊通过抑制肾素-血管紧张素-醛固酮系统(RAAS)的过度激活和血管内皮生长因子蛋白(VEGF)和转化生长因子- $\beta$ 1(TGF- $\beta$ 1)的表达,对自发性高血压大鼠表现出降压作用(29)。蚯蚓蛋白胶囊对人类也有降压作用(30)。在目前的研究中,有一名患者因血压过低而退出了试验。这名患者同时服用了其他作用于心血管系统的中药;因此,目前尚不清楚低血压是否与本研究中使用的试验材料直接相关。然而,由于血压下降是PD患者常见的非运动症状,左旋多巴加重了这种倾向。为了确保安全性,未来的研究应旨在评估更大的受试者队列中低血压的发生率和严重程度,这可能会更清楚地了解与干预相关的潜在风险,并有助于建立适当的安全指南。

## 5 结论

益生菌BF839联合蚯蚓蛋白作为PD的辅助治疗,可显著改善运动及部分非运动症状,无严重不良反应。试验组显示粪肠球菌水平大幅增加,而克雷伯氏菌水平明显下降。这些发现提供了可能解释一些潜在机制的潜在线索。需要更大样本量的进一步研究来更精确地定义其疗效、不良反应和潜在机制。

### 5.1 局限性

这只是一个小样本量的试点试验,结果需要在更多的样本中进行验证。我们没有采用专门针对PD患者的非运动症状量表来评估其心血管症状、睡眠和胃肠功能等,导致结果不完善。我们只测试了20个粪便样本,不能排除麦芽糖糊精可能影响肠道微生物群的可能性,这导致对肠道微生物群测试结果的信心不足。我们没有记录左旋多巴当量日剂量,这也是实验的一个局限性。

## 数据可用性声明

本研究中提出的原创贡献包含在文章/补充材料中,进一步查询可直接联系通讯作者/s。

## 伦理声明

涉及人体的研究得到了广州第二附属医院伦理委员会的批准。这些研究是按照当地立法和制度要求进行的。参与者提供了参与本研究的书面知情同意书。

## 作者贡献

TZ:写作-原稿, 写作-审核编辑, 数据策展, 形式分析, 方法论, 项目管理, 软件。CL:方法论、项目管理、写作-原稿、写作-评审编辑、调研。YD:写作-原稿, 写作-审编, 概念化, 资金获取, 资源, 可视化。WZ:概念化、获得资金、可视化、写作-原稿、写作-审编、监督。

## 资助

作者声明, 本文的研究、撰写和/或发表没有收到任何资金支持。

## 鸣谢

我们要感谢广州图腾生命医学研究有限公司。在这项研究中, BF839, 蚯蚓蛋白, 和

## 参考文献

- Liddle RA. Parkinson's disease from the gut. *Brain Res.* (2018) 1693:201–6. doi: 10.1016/j.brainres.2018.01.010
- Hasegawa S, Goto S, Tsuji H, Okuno T, Asahara T, Nomoto K, et al. Intestinal dysbiosis and lowered serum lipopolysaccharide-binding protein in Parkinson's disease. *PLoS One.* (2015) 10:e0142164. doi: 10.1371/journal.pone.0142164
- Sampson TR, Debelius JW, Thron T, Janssen S, Shastri GG, Ilhan ZE, et al. Gut microbiota regulate motor deficits and neuroinflammation in a model of Parkinson's disease. *Cell.* (2016) 167:1469–1480.e12. doi: 10.1016/j.cell.2016.11.018
- Hsieh TH, Kuo CW, Hsieh KH, Shieh MJ, Peng CW, Chen YC, et al. Probiotics alleviate the progressive deterioration of motor functions in a mouse model of Parkinson's disease. *Brain Sci.* (2020) 10:206. doi: 10.3390/brainsci10040206
- Sun H, Zhao F, Liu Y, Ma T, Jin H, Quan K, et al. Probiotics synergized with conventional regimen in managing Parkinson's disease. *NPJ Parkinsons Dis.* (2022) 8:62. doi: 10.1038/s41531-022-00327-6
- Ibrahim A, Ali RAR, Manaf MRA, Ahmad N, Tajurruddin FW, Qin WZ, et al. Multi-strain probiotics (Hexbio) containing MCP BCMC strains improved constipation and gut motility in Parkinson's disease: a randomised controlled trial. *PLoS One.* (2020) 15:e0244680. doi: 10.1371/journal.pone.0244680
- Chang CJ, Lin TL, Tsai YL, Wu TR, Lai WF, Lu CC, et al. Next generation probiotics in disease amelioration. *J Food Drug Anal.* (2019) 27:615–22. doi: 10.1016/j.jfda.2018.12.011
- Zhang JJ, Li Xian Y, Xu LZ, Wang WY, Zhang HJ, Pang ZH, et al. Isolation and identification of a nontoxic *Bacteroides fragilis*. *Ningxia Med J.* (1991) 13:216–8.
- Zhang JJ, Zhang HM, Zhang Y, Zhang HG, Bi L, Zhang XC, et al. Study on clinical application of *Bacteroides fragilis* (BF839). *Chin J Biol.* (1995) 8:63–5. doi: 10.13200/j. cj.1995.02.63.zhangjj.006
- Lin C, Zeng T, Deng Y, Yang W, Xiong J. Treatment of psoriasis vulgaris using *Bacteroides fragilis* BF839: a single-arm, open preliminary clinical study. *Sheng Wu Gong Cheng Xue Bao* (2021) 37: 3828–3835. doi: 10.13345/j. cj. 210198
- Deng Y, Lin C, Dezhi C. The beneficial effect of *Bacteroides fragilis* (BF839) as a supplementary treatment in drug-resistant epilepsy: a pilot study. *J Epilepsy.* (2021) 7:288–95. doi: 10.7507/2096-0247.20210046
- Lin C, Zeng T, Wu Q, Cao DZ, Li BM, Deng YH, et al. Assessing the effect of early use of bacteroides fragilis 839 in the treatment of "possible autoimmune-related epilepsy". *J Epilepsy.* (2022) 8:298–304. doi: 10.7507/2096-0247.202204008
- Lin C, Zeng T, Lin J. *Bacteroides fragilis* BF839 can improve learning, memory and social novelty of fragile X-mental retardation gene 1 knockout mice. *Chin J Neuromedicine.* (2022) 21:341–7. doi: 10.3760/cma.j.cn115354-20211220-00835
- Xu D, Yonger Y, Huang S. Exploration of medication rule of Peiyuan Tongzhi method in treatment of Parkinson's disease based on auxiliary platform of traditional Chinese medicine inheritance. *Med Recapitulate.* (2022) 28:1419–24. doi: 10.3969/j. issn.1006-2084.2022.07.030
- Kim DH, Lee IH, Nam ST, Hong J, Zhang P, Lu LF, et al. Antimicrobial peptide, lumbricucin, ameliorates motor dysfunction and dopaminergic neurodegeneration in a mouse model of Parkinson's disease. *J Microbiol Biotechnol.* (2015) 25:1640–7. doi: 10.4014/jmb.1507.07011
- Postuma RB, Berg D, Stern M, Poewe W, Olanow CW, Oertel W, et al. MDS clinical diagnostic criteria for Parkinson's disease. *Mov Disord.* (2015) 30:1591–601. doi: 10.1002/mds.26424
- Hoehn MM, Yahr MD. Parkinsonism: onset, progression and mortality. *Neurology.* (1967) 17:427–42. doi: 10.1212/wnl.17.5.427
- Rabey JM, Sagi I, Huberman M, Melamed E, Korczyn A, Giladi N, et al. Rasagiline mesylate, a new MAO-B inhibitor for the treatment of Parkinson's disease: a double-blind study as adjunctive therapy to levodopa. *Clin Neuropharmacol.* (2000) 23:324–30. doi: 10.1097/00002826-200011000-00005

安慰剂是免费提供的。感谢图腾公司的孙长春提供的产品信息。广州图腾生命医学研究有限公司没有参与研究的设计、数据的收集、分析、解释, 也没有参与本文的撰写和发表决定。我们感谢所有同意参与本次研究的患者。感谢深圳01生命科技有限公司提供的菌群检测和技术指导。

## 利益冲突

作者声明, 本研究是在没有任何可能被解释为潜在利益冲突的商业或财务关系的情况下进行的。

## 出版人注

本文中表达的所有主张仅代表作者的观点, 并不一定代表其附属组织的观点, 也不代表出版商、编辑和审稿人的观点。本文中可能评估的任何产品, 或其制造商可能做出的声明, 均不受出版商的保证或认可。

## 补充材料

本文的补充材料可以在网上找到:<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fneur.2024.1371791/full#supplementary-material>

19. Tamtaji OR, Taghizadeh M, Daneshvar Kakhaki R, Kouchaki E, Bahmani F, Borzabadi S, et al. Clinical and metabolic response to probiotic administration in people with Parkinson's disease: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Clin Nutr.* (2019) 38:1031–5. doi: 10.1016/j.clnu.2018.05.018
20. Zhu M, Liu X, Ye Y, Yan X, Cheng Y, Zhao L, et al. Gut microbiota: a novel therapeutic target for Parkinson's disease. *Front Immunol.* (2022) 13:937555. doi: 10.3389/fimmu.2022.937555
21. Erturk-Hasdemir D, Kasper DL. Finding a needle in a haystack: *Bacteroides fragilis* polysaccharide a as the archetypical symbiosis factor. *Ann N Y Acad Sci.* (2018) 1417:116–29. doi: 10.1111/nyas.13660
22. Hsiao EY, McBride SW, Hsien S, Sharon G, Hyde ER, McCue T, et al. Microbiota modulate behavioral and physiological abnormalities associated with neurodevelopmental disorders. *Cell.* (2013) 155:1451–63. doi: 10.1016/j.cell.2013.11.024
23. Wang Y, Tong Q, Ma SR, Zhao ZX, Pan LB, Cong L, et al. Oral berberine improves brain dopa/dopamine levels to ameliorate Parkinson's disease by regulating gut microbiota. *Signal Transduct Target Ther.* (2021) 6:77. doi: 10.1038/s41392-020-00456-5
24. Mao L, Zhang Y, Tian J, Sang M, Zhang G, Zhou Y, et al. Cross-sectional study on the gut microbiome of Parkinson's disease patients in Central China. *Front Microbiol.* (2021) 12:728479. doi: 10.3389/fmicb.2021.728479
25. Cryan JF, O' Riordan KJ, Cowan CSM, Sandhu KV, Bastiaanssen TFS, Boehme M, et al. The microbiota-gut-brain axis. *Physiol Rev.* (2019) 99:1877–2013. doi: 10.1152/physrev.00018.2018
26. Jin L, Jin H, Zhang G, Xu G. Changes in coagulation and tissue plasminogen activator after the treatment of cerebral infarction with lumbrokinase. *Clin Hemorheol Microcirc.* (2000) 23:213–8. doi: 10.1177/107602960000600109
27. Borghammer P, Chakravarty M, Jonsdottir KY, Sato N, Matsuda H, Ito K, et al. Cortical hypometabolism and hypoperfusion in Parkinson's disease is extensive; probably even at early disease stages. *Brain Struct Funct.* (2010) 214:303–17. doi: 10.1007/s00429-010-0246-0
28. Wong KS, Lu CS, Shan DE, Yang CC, Tsoi TH, Mok V. Efficacy, safety, and tolerability of pramipexole in untreated and levodopa-treated patients with Parkinson's disease. *J Neurol Sci.* (2003) 216:81–7. doi: 10.1016/s0022-510x(03)00217-x
29. Zhao XK, Liu B, Jiang HG, Liu PP, Ma CX, Liu K, et al. Regulating mechanism of Dilongjiangya capsules on RAAS system in spontaneously hypertensive rats. *Pharmacol Clin Chin Mater Med.* (2020):167–70. doi: 10.13412/j.cnki.zyy1.2020.02.011
30. Liu PP, Jia L, Li YD, Liu B, Zhao XK. Clinical study on Dilong Jiangya capsule in treatment of essential hypertension with subclinical atherosclerosis of hyperactivity of liver yang type. *Chin J Inf Trad Chin Med.* (2018):24–7. doi: 10.3969/j.issn.1005-5304.2018.04.006