

成都中医药大学

(养生康复学院)

2021 届硕士研究生学位论文

从肠道菌群角度探讨外骨骼机器人辅助步行训练对脊髓损伤患者便秘症状的影响

The effect of exoskeleton robot-assisted walking training on constipation symptoms in patients with spinal cord injury from the perspective of intestinal microflora

研究生姓名：胡晓敏

指导教师：张安仁 教授

学科专业：康复医学与理疗学

2021 年 12 月

学位论文

从肠道菌群角度探讨外骨骼机器人辅助步行训练对脊髓损伤患者便秘症状的影响

The effect of exoskeleton robot-assisted walking training on constipation symptoms in patients with spinal cord injury from the perspective of intestinal microflora

胡晓敏

指导教师姓名： 张安仁 教授

申请学位级别： 硕士 专业名称： 康复医学与理疗学

论文提交时间： 2021 年 11 月 论文答辩时间： 2021 年 11 月

2021 年 12 月

中文摘要

目的:

观察外骨骼机器人辅助步行 (ERAW) 训练对脊髓损伤 (SCI) 便秘患者的临床疗效, 以及 ERAW 训练对 SCI 便秘患者肠道菌群的影响, 初步探讨 ERAW 训练改善 SCI 患者便秘症状的可能机制。

方法:

在西部战区总医院、四川省八一康复中心及成都顾连锦宸康复医院选取 20 例运动完全性损伤 (AISA 分级为 A 级和 B 级) 的 SCI 便秘患者, 随机分为外骨骼组及等待治疗组, 同时招募与 SCI 受试者性别、年龄相匹配的健康志愿者, 最终外骨骼组纳入 8 例、等待治疗组纳入 8 例及健康组纳入 10 例。所有 SCI 受试者均结合其病情, 由主管医师和治疗师评估并拟定相应的常规康复训练方案。外骨骼组额外进行 ERAW 训练 (5 次/周, 40 分钟/次, 共 8 周); 等待治疗组不进行任何额外干预。外骨骼组、等待治疗组及健康组均保持饮食和生活习惯不变。在干预前及干预 8 周后, 外骨骼组和等待治疗组分别进行国际脊髓损伤肠道功能基础数据集、Wexner 便秘评分、神经源性肠功能障碍 (NBD) 评分、下肢运动评分 (LEMS)、世界卫生组织生存质量测定量表简表 (WHOQOL-BREF) 和肠道菌群等指标的评价与检测; 健康组仅入组后进行一次肠道菌群检测。

结果:

1. 基线资料分析结果

三组受试者的人口学资料 (年龄、学历、身高、体重) 无显著差异, 外骨骼组与等待治疗组的病程情况及 ASIA 分级水平无统计学差异, 具有可比性。

2. 主要疗效指标结果

国际脊髓损伤肠道功能基础数据集结果显示: 干预后, 外骨骼组的开塞露使用支数较干预前显著降低 ($P < 0.05$), 手指辅助、排便时间、乳果糖及排便频率较干预前有改善的趋势, 但无统计学意义; 等待治疗组的乳果糖使用较干预前显著增加 ($P < 0.05$)。干预后, 外骨骼组乳果糖使用差值较等待治疗组乳果糖使用差值比较具有显著差异 ($P < 0.05$)。

3. 次要疗效指标结果

(1) NBD 评分

干预后, 外骨骼组 NBD 评分有降低的趋势, 等待治疗组 NBD 评分有所增加, 但均无显著改变 ($P>0.05$); 两组 NBD 评分组间比较无明显区别 ($P>0.05$)。

(2) Wexner 便秘评分

干预前后, 两组 Wexner 便秘评分组内、组间比较均无显著改变。

(3) LEMS 评分

与干预前相比, 外骨骼组干预后 LEMS 评分显著增加 ($P<0.05$); 外骨骼组和等待治疗组组间 LEMS 得分比较无显著差别。

(4) WHOQOL-BREF 量表评分

干预后, 外骨骼组在 WHOQOL-BREF 量表中的心理、生理和社会关系领域的分值较干预前有增加的趋势, 但无显著差异 ($P>0.05$), 环境领域无明显变化; 两组 WHOQOL-BREF 量表各领域分值组间比较无显著差异。

4. 肠道菌群指标结果

(1) 菌群多样性分析

与健康组相比, 外骨骼组、等待治疗组的 Alpha 多样性无明显变化, Beta 多样性具有显著差异 ($P<0.05$)。外骨骼组、等待治疗组的 Alpha 多样性和 Beta 多样性前后对比均无显著差异。

(2) 差异物种分析

1) 干预前三组受试者肠道菌群差异分析

在门水平上, 与健康组相比, 等待治疗组的拟杆菌门丰度显著减少、疣微菌门丰度显著增高 ($P<0.05$), 外骨骼组拟杆菌门、厚壁菌门、变形菌门、疣微菌门和放线菌门丰度无显著差异。与等待治疗组相比, 外骨骼组拟杆菌门丰度明显增加 ($P<0.05$)。

在属水平上, 与健康受试者相比, 外骨骼组和等待治疗组的 *Akkermansia* 菌属、志贺氏菌属丰度显著升高 ($P<0.05$), 巨单胞菌属丰度显著减少 ($P<0.05$); 等待治疗组的劳特氏菌属丰度较健康组减少 ($P<0.05$)。

2) ERAW 训练对 SCI 患者肠道菌群相对丰度的影响

门水平上, 与干预前相比, 外骨骼组干预后的拟杆菌门、疣微菌门丰度有降低趋势, 厚壁菌门、放线菌门、变形菌门丰度有增加趋势, 但均无显著性差

异。

在属水平上,干预后,外骨骼组的罗尔斯顿菌属丰度较等待治疗组显著增加 ($P<0.05$)。外骨骼组干预后的 *Parabacteroides* 菌属、普雷沃菌属 9、*Akkermansia* 菌属丰度较干预前有降低趋势,瘤胃球菌属 UCG-002、瘤胃球菌属 1、罗尔斯顿菌属、双歧杆菌属较干预前有增加趋势,但均无显著差异。

(3) 外骨骼组群落组成与排便指标的相关性分析

干预后较干预前的差值分析发现,外骨骼组的双歧杆菌属差值与 Wexner 评分差值呈正相关,粪杆菌属差值与乳果糖使用差值呈负相关 ($P<0.05$)。

5.安全性评价

本试验各组均未出现不良事件及严重不良事件,外骨骼组也未发生摔倒、皮肤损伤/水泡、关节挛缩等与下肢步行外骨骼相关的不良事件。

结论:

1. ERAW 训练可有效减少 SCI 便秘患者开塞露的使用数量,在排便时间、排便频率、手指辅助等肠功能方面具有潜在益处,且无不良事件发生。
2. ERAW 训练改善 SCI 患者便秘症状的机制可能与粪杆菌属、*Akkermansia* 菌属有关。

关键词: 外骨骼辅助步行训练; 脊髓损伤; 便秘; 肠道菌群

ABSTRACT

Objective:

To observe the clinical effectiveness of exoskeleton-assisted walking (ERAW) training on patients with spinal cord injury (SCI) constipation, and the affect of ERAW training on the intestinal microflora of patients with SCI constipation, and to preliminarily probe the probable mechanism of ERAW training to ameliorate the symptoms of constipation in patients with SCI.

Methods:

Twenty cases of SCI constipation patients with complete sports injuries (AIS/A grades A and B) were selected from the General Hospital of the Western Theater Command, Bayi Rehabilitation Center of Sichuan Province, and Jincheng Rehabilitation Hospital of Chengdu, and were stochastically divided into an exoskeleton group and a waiting treatment group, and healthy volunteers matching the gender and age of the SCI subjects were recruited. Finally, 8 cases were included in the exoskeleton group and waiting for treatment 8 cases were included in the group and 10 cases were included in the healthy group. All SCI subjects were evaluated by the physician in charge and therapist based on their condition, and the corresponding routine rehabilitation training program was drawn up. The exoskeleton group received additional ERAW training (5 times/week, 40 minutes/time, 8 weeks in total); the waiting treatment group did not undergo any additional intervention. The exoskeleton group, the waiting treatment group and the healthy group kept their diet and living habits unchanged. The exoskeleton group and the waiting treatment group received the International SCI Intestinal Function Basic Data Set, Wexner Constipation Score, Neurogenic Bowel Dysfunction (NBD) Score, ASIA Lower Extremity Sports Score, and WHOQOL-BREF Scale before intervention and after 8 weeks of intervention, respectively. Evaluation and detection of intestinal flora and other indicators; the healthy group only conducts intestinal flora detection once.

Results:

1. Baseline data analysis results

The demographic data (age, education, height, weight) of the three groups of subjects had no significant differences, and the exoskeleton group and the waiting-for-treatment group had no statistically significant differences in the course of disease and ASIA grading level, and they were comparable.

2. Results of main efficacy indicators

The results of the International SCI Intestinal Function Basic Data Set showed that after the intervention, the number of Kaiserlu used in the exoskeleton group was significantly reduce than that before the intervention ($P<0.05$), and the finger assistance, defecation time, lactulose and defecation frequency were higher the improvement trend was not statistically significant ($P>0.05$); the use of lactulose in the waiting treatment group was mackedly higher than before the intervention ($P<0.05$). After the training, the decrease in the use of lactulose in the exoskeleton group was noticeably different than the increase in the use of lactulose in the waiting treatment group ($P<0.05$).

3. Results of secondary efficacy indicators

(1) NBD score

After the train, the NBD score of the exoskeleton group tended to decrease, and the NBD score of the waiting treatment group increased, but there was no significant diversification ($P>0.05$); there was no noticeable difference among the two groups of NBD scores ($P>0.05$).

(2) Wexner constipation score

Before and after intervention, there was no noticeable diversification in Wexner constipation scores within and between the two groups.

(3) LEMS score

Compared with before the intervention, the LEMS scores of the exoskeleton group increased obviously after train ($P<0.05$). There was no statistical divergence in the LEMS scores between the exoskeleton group with the waiting therapy group.

(4) WHOQOL-BREF scale score

After the train, the scores of the psychology, physiology and social relations in the WHOQOL-BREF scale of the exoskeleton group increased compared with that before

the train, but there was no statistical difference, and there was no significant change in the environmental field; There was no significant difference in the scores of each field of the WHOQOL-BREF scale.

4. Intestinal flora index results

(1) Analysis of flora diversity

Compared with the healthy group, the Alpha diversity of the exoskeleton group and the waiting treatment group did not change significantly ($P>0.05$), while the Beta diversity had a statistical difference ($P<0.05$). After the train, the Beta diversity and Alpha diversity of the exoskeleton group and the waiting treatment group were not significantly different from those before the intervention ($P>0.05$).

(2) Differential species analysis

1) Analysis of differences in intestinal flora of the three groups of subjects before intervention

At the phylum level, compared with the healthy group, the abundance of *Bacteroides* was conspicuously reduced, and the abundance of *Verrucomicrobia* was conspicuously added ($P<0.05$) in the waiting treatment group; and the abundance of *Bacteroides*, *Firmicutes*, *Verrucomicrobia* and *Actinobacteria* in the exoskeleton group were no statistical difference. In contrast to the waiting treatment group, the abundance of *Bacteroides* in the exoskeleton group was conspicuously added ($P<0.05$).

At the genus level, in contrast to healthy volunteers, in the exoskeleton group and the waiting group, abundance of *Akkermansia* and *Escherichia-Shigella* was conspicuously added ($P<0.05$), and the abundance of *Megamonas* was conspicuously reduced ($P<0.05$). The abundance of *Blautia* in the waiting treatment group was less than in the healthy group ($P<0.05$).

2) The influence of ERAW training on the relative abundance of intestinal flora in patients with SCI

At the phylum level, compared with before the train, the abundances of *Bacteroides* and *Verrucomicrobia* in the exoskeleton group after train have a tendency to decrease, and the abundances of *Firmicutes*, *Actinobacteria*, and *Proteobacteria* have a tendency to increase, but there are no significant differences.

In the genus level, after the train, the abundance of *Ralstonia* in the exoskeleton group was conspicuously better than that in the waiting treatment group ($P<0.05$). The abundance of *Parabacteroides*, *Prevotella* 9, and *Akkermansia* after the train of the exoskeleton group lessened compared with that before the train. *Ruminococcus* UCG-002, *Ruminococcus* 1, *Ralstonia* and *Bifidobacterium* have an increasing trend compared with before the train, but there is no conspicuous difference.

(3) Correlation analysis of the test group's community composition and defecation indicators

The difference analysis after the treatment and before the treatment showed that the difference of *Bifidobacterium* in the exoskeleton group was positively correlated with the difference of Wexner score, and the difference of *Faecalibacterium* was negatively correlated with the difference of lactulose use ($P<0.05$).

5. Safety evaluation

There were no adverse events or serious adverse events in each group of the study, and no adverse events related to lower limb walking exoskeleton, such as falls, skin damage/blisters, and joint contractures, occurred in the experimental group.

Conclusion:

1. Exoskeleton-assisted walking training can effectively reduce the use of glycerini enema in patients with SCI constipation. It has potential benefits in bowel functions such as defecation time, defecation frequency, and finger assistance, and not adverse events occurred.

2. The mechanism of Exoskeleton-assisted walking training to ameliorate the symptoms of constipation in patients with SCI might be related to *Faebacterium* and *Akkermansia*.

Key Words:

exoskeleton assisted walking training; spinal cord injury; constipation; intestinal flora

目 录

中文摘要.....	1
ABSTRACT.....	4
中英文缩略词表.....	10
引言.....	11
1. 研究背景	11
2. 课题来源	14
临床研究.....	15
1. 研究对象	15
1.1 受试者来源.....	15
1.2 样本量.....	15
1.3 诊断标准.....	16
1.4 纳入标准.....	16
1.5 排除标准.....	17
1.6 剔除与脱落标准.....	18
1.7 剔除和脱落病例的处理.....	18
1.8 中止标准.....	18
1.9 伦理学说明.....	19
2. 研究方法	19
2.1 随机分组和盲法.....	19
2.2 试验前资料收集和常规检查.....	19
2.3 干预方法.....	20
2.4 观察指标.....	21
2.5 质量控制.....	24
2.6 不良事件的处理.....	25
2.7 数据分析.....	26
3 技术路线图	26
4 实验结果	27
4.1 受试者完成情况.....	27
4.2 基线分析.....	27
4.3 临床疗效结果.....	28
4.4 肠道菌群结果.....	38
4.5 安全性评价.....	58
讨论.....	59

1. 试验方案的设计依据	59
1.1 SCI 受试者损伤节段的选择	59
1.2 SCI 受试者损伤等级的选择	59
1.3 SCI 受试者年龄及性别的选择	60
1.4 下肢步行外骨骼机器人的选择	60
2. ERAW 训练改善脊髓损伤患者便秘症状的分析	61
3. 脊髓损伤便秘患者肠道菌群的特征分析	66
4. ERAW 训练对脊髓损伤便秘患者肠道菌群影响的分析	68
5. ERAW 干预后肠道菌群物种结构与排便指标相关性的分析	71
结论	74
问题与展望	75
致谢	76
参考文献	77
附件 1 文献综述	89
附件 2: 伦理审批件	100
附件 3: 国际脊髓损伤肠道功能基础数据集 (2.0 版)	101
附件 4: 附图	103
附件 5: 在读期间公开发表的学术论文、专著及科研成果	104
附件 6: 申明及授权书	105

中英文缩略词表

缩略词	英文全称	中文全称
ASIA	American Spinal Cord Injury Association	美国脊柱损伤委员会
ERAW	Exoskeleton robot-assisted walking	外骨骼机器人辅助步行
LEMS	Lower extremity motor score	下肢运动评分
LMN	lower motor neuron	下运动神经元
OTU	operational taxonomic units	操作分类单元
PCoA	Principal coordinates analysis	主坐标分析
SCI	Spinal Cord Injury	脊髓损伤
SCI-QOL	Spinal Cord Injury-Quality of Life	脊髓损伤生存质量
UMN	upper motor neuron	上运动神经元
WHOQOL-BREF	the World Health Organization Quality of Life-BREF	世界卫生组织生存质量测定量表简表
5-HT	5-hydroxy tryptamine	5-羟色胺

引言

1. 研究背景

脊髓损伤（Spinal Cord Injury, SCI）是一种椎管内神经结构及功能受损的中枢神经系统疾病，可使损伤水平及以下感觉、运动、反射等功能发生障碍^[1]，目前仍是医学重大难题之一。脊髓损伤不仅会损害患者的独立性和身体功能，同时亦产生许多并发症，常见并发症有压疮、深静脉血栓、膀胱功能障碍、肠道功能障碍、体位性低血压等，严重影响病患的康复疗效，更甚者危害生命^[2]。据世界卫生组织估计全球每年有25万至50万人患有SCI^[3]，此外美国一项数据分析显示仅0.4%的SCI患者可完全达到功能性恢复，其余均遗留完全性或不完全性的瘫痪^[4]。而我国SCI患者每年新增约5万，是卫生健康领域的重大难题^[5]。

SCI后常出现自主神经功能障碍，包括心血管、膀胱、肠和性活动等方面^[6]。在对SCI患者需求的调查中发现影响患者生存的最大因素不是无法行走，而是缺乏对肠道和膀胱的控制以及手部使用的限制^[7]。肠功能与活动能力被认为是同等重要的问题，这个问题具有双重性，因为不仅脊髓损伤会导致肠蠕动和括约肌控制发生改变，而同时丧失活动性和运动灵活性也使肠功能障碍成为限制生命的主要因素^[8]。脊髓损伤的发生可使肠神经与大脑间的通路受损，从而导致肠动力降低，肛门直肠的协同作用消失，盆底肌、腹肌等肌肉力量减弱，常引起便秘、腹痛、大便失禁、结肠转运时间延长等症状，其中便秘已成为SCI最常见的并发症之一^[9-11]。

研究表明便秘影响大约80%的SCI患者，严重便秘的SCI患者有58%左右，对患者的身体和心理健康造成极大危害^[9, 12]。SCI后的肠道症状被认为与其损伤节段、ASIA分级和受伤时间呈正相关，然而亦有研究发现运动完全性SCI和运动不完全性SCI在结肠传输时间、泻药使用、排便频率、肛门直肠疾病的患病率、Wexner评分和平均肛门基础压方面相似^[13, 14]。在国内同样有研究表明SCI患者便秘的严重程度与年龄、病程和损伤节段无显著性差异，但重度便秘中完全性损伤占比较大，轻度便秘中不完全性损伤比例较大^[12]，且重度便秘治疗过程往往更艰难。因此，本课题着重关注运动完全性SCI的便秘，对提高患者生

活质量、重返社会具有重要意义。

目前国内外已发现 SCI 后便秘对患者生命质量的严重影响,进而陆续制定了与便秘相关的诊断和治疗指南,但这方面的临床研究依然较少。当前治疗 SCI 患者便秘的常用方法有:骶神经前根刺激方法、饮食管理、生物反馈疗法、按摩、灌肠、药物治疗等^[15]。但对于大多数 SCI 患者来说,这些方法在治疗的同时可能引发其他并发症,并且有些方法临床疗效报道不足^[16]。在我国,对 SCI 患者与便秘相关的生活质量和流行病学研究相对滞后,相关的诊疗、康复手段亦存在大片空缺。因此,探索切实有效的治疗手段已迫在眉睫。

众所周知,脊髓损伤患者在院内或院外的日常生活和康复训练中多数都需要辅具支持,而目前常用的有轮椅、矫形器、助行架、减重支持智能康复机器人和上下肢电动康复治疗设备等,但上述设备在移动和训练中不能完全覆盖,大部分脊髓损伤患者依然被轮椅限制,尤其是针对运动完全性损伤的 SCI 患者。而下肢步行外骨骼机器人由此而生,它是一种智能化的助力、矫形和代偿康复设备,是机器人在医疗领域的智能化和机械化的应用。近年来,外骨骼机器人作为一种治疗 SCI 的替代/代偿疗法,已广泛应用于 SCI 运动功能的研究中,提供重复、高效、助力或抗阻步行训练,可帮助患者实现由坐位到站立再到步行的姿势转换,调整步态,增加患者运动量,降低并发症的产生^[17]。有研究表明,外骨骼机器人辅助步行(Exoskeleton robot-assisted walking, ERAW)训练后,完全性/不完全性脊髓损伤患者 6 分钟步行测试、10 米步行测试、Timed Up-and-Go 测试以及心肺指数均有显著改善,表明 ERAW 训练可改善脊髓损伤患者的步态、步行速度及心肺功能^[18-20]。在国内,有研究发现使用 Lokomat 机器人对不完全性 SCI 患者进行步行训练,发现其对下肢运动功能的恢复具有促进作用^[21, 22]。但是下肢步行外骨骼机器人对 SCI 患者便秘的研究相对缺乏,因此本课题将观察 ERAW 训练对 SCI 患者便秘的影响。

近年来,诸多研究证明了肠道菌群与多种疾病相关,包括克罗恩病、营养不良、肥胖和神经精神疾病等^[23-26]。Kristina 等^[27]发现 SCI 小鼠的肠道通透性增加,可使细菌易位到肠系膜淋巴结、肝脏、脾脏、肾脏和血液中,并可诱导肠道菌群失调,损害神经和肠道功能恢复。便秘和肠蠕动减慢等肠道症状均可独立引起细菌易位和肠道菌群失调,便秘诱导的肠道菌群失调可通过加重

C57BL/6 小鼠的 Treg/Th17 和 Treg17/Teff17 失衡和细胞因子紊乱进而加剧炎症反应^[28, 29]。已证实 SCI 的菌群失调与肠道症状密切相关：拟杆菌可能是有害菌群，与运动量和高密度脂蛋白水平呈负相关；小杆菌的降低可能与肠道症状加重相关；巨单胞菌、另枝菌及双歧杆菌可能与 SCI 患者的腹胀、排便时间和便秘相关^[30]。此外，研究发现便秘人群的乳杆菌和双歧杆菌丰度显著降低，致病菌丰度增多，使用泻剂后便秘人群的菌群组成可趋于正常化；同时双歧杆菌亦可改善便秘，其机制可能是通过增加丁酸含量、降低结肠 pH，使肠蠕动增强、结肠通过时间缩短，从而减轻便秘症状，同时发现治疗后梭菌属丰度减少、乳酸杆菌属丰度增加^[31, 32]，这表明菌群与便秘可互相影响对方发展。综上可知，脊髓损伤后引起的菌群失调可影响便秘相关症状，而便秘也会影响菌群的结构和多样性，如此相互作用，形成恶性循环。因此改善肠道菌群无疑会提高 SCI 患者的康复效果和生存质量，调节胃肠蠕动及肠屏障功能是其潜在益处，故以肠道菌群作为 SCI 便秘患者治疗的着眼点是未来研究的重要方向。

已知长期不运动或活动量较少是诱导胃肠蠕动减慢的原因之一，可导致肥胖、便秘，增加心血管及代谢性疾病发生的可能性，同时影响药物吸收及代谢，而有氧运动如游泳、蹬车、散步等均可增加胃肠动力、有助于通便^[33, 34]。适度规律的运动能对胃肠道疾病如便秘产生有益作用，可缓解疾病相关症状，然而长时间或高强度的运动训练可能对胃肠道产生不利作用，加重病情发展^[35]。此外运动疗法可有效改善代谢综合征相关的危险因素，改善宿主肠道菌群的物种结构，阻碍有害菌的定植与生长，增加益生菌丰度。Welly 等^[36]研究显示，运动和热量减少（两组体重相匹配），均可降低脂肪组织炎症，但运动可引起肠道菌群更强烈的改变，并改善胰岛素抵抗，增加脂肪氧化，由此可见运动在促进代谢、减轻体质量中的益处。Evans 等^[37]研究发现自愿轮转运动可提高高脂肪饮食所致肥胖小鼠的肠道菌群多样性，并可使肠道菌群在门水平正常化，可能在肥胖症的防治中发挥作用。此外运动增加了丁酸盐浓度、产丁酸杆菌、乳杆菌属和梭菌属的相对丰度^[38-41]。运动训练后能显著增加菌群物种多样性及有益菌丰度，同时降低了肠道中的有害菌丰度以及肥胖和糖尿病的发病风险，而肥胖和糖尿病是便秘公认的高危因素^[42]。综上，运动可调节肠道菌群物种结构，协调肠道微生物平衡，有利于维持能量稳态；且运动可改善胃肠动力，加强肠蠕

动，缩短结肠通过时间，进而调节便秘。当下相关研究的运动方式多为自主体育运动及有氧运动、抗阻运动，对象均为无运动功能障碍的人或小鼠，且在不同人群或小鼠中菌群改变均不相同。目前关于运动与便秘及肠道菌群的相关研究在 SCI 中较少，故在 SCI 这类运动功能障碍患者中开展此类研究是可行且具有重要的意义的。

临床实际中，脊髓损伤患者因肢体功能障碍，无法完成步行、站立等运动，造成机体功能下降，出现一系列的并发症。下肢步行外骨骼机器人作为一种新型康复工具，目前广泛应用于脊髓损伤运动功能的研究中，其安全性已经得到诸多研究证实^[43, 44]；而在以往研究中已发现日常体育运动等可帮助精神障碍、肥胖及糖尿病等人群改善胃肠蠕动缓解便秘，调节肠道菌群紊乱，但运动对脊髓损伤患者的便秘和肠道菌群的相关研究尚无报道，此外以 ERAW 训练增加运动量的这种训练方式对脊髓损伤患者便秘和肠道菌群的影响也未曾研究，值得进一步探索。综上，ERAW 训练可能通过增加运动量及转换身体姿势以改善 SCI 患者的便秘症状和肠道菌群紊乱，进而减少其所引起的并发症的发生率。同时本课题拟使用的外骨骼机器人为电子科技大学开发研制的下肢步行外骨骼，已进行了临床安全性验证^[45]，达到国际水平，但未研究其对 SCI 患者便秘的影响。

基于上述背景，本课题选择损伤平面在 T2-L1 伴便秘的运动完全性 SCI 患者为研究对象，通过评价干预前后排便相关指标和量表以及肠道菌群等指标的变化特点，初步探索 ERAW 训练对 SCI 患者便秘和肠道菌群的影响，为 SCI 便秘患者的治疗提供新的方向。

2. 课题来源

本课题来源于 2020 年四川省科技计划重点研发项目“截瘫外骨骼机器人对完全性脊髓损伤患者多系统功能影响的研究”（课题编号：2020YFS0168）。

临床研究

将 T2-L1 段运动完全性 SCI 患者随机分为外骨骼组和等待治疗组。外骨骼组进行外骨骼机器人辅助步行(ERAW)训练, 40 分钟/次, 5 次/周, 共 8 周, 等待治疗组不进行任何干预, 观察干预前后受试者国际脊髓损伤肠道功能基础数据集、神经源性肠道功能障碍 (Neurogenic Bowel Dysfunction, NBD) 评分、Wexner 评分、下肢运动评分 (Lower extremity motor score, LEMS)、世界卫生组织生存质量测定量表简表 (the World Health Organization Quality of Life-BREF, WHOQOL-BREF) 的变化情况, 以研究 ERAW 训练对 SCI 患者的改善情况。同时采用 16Sr RNA 高通量测序分析 SCI 患者和健康受试者的肠道菌群差异, 研究 ERAW 训练前后外骨骼组和等待治疗组的肠道菌群差异, 初步探索 ERAW 训练以肠道菌群为着眼点改善 SCI 患者便秘的可能机制。

1. 研究对象

1.1 受试者来源

本研究的 SCI 后便秘患者均为 2020 年 9 月至 2021 年 8 月就诊于西部战区总医院、成都顾连锦宸康复医院及四川省康复医院的住院患者; 同期社会招募健康受试者。所有受试者均完成知情同意书的签署。

1.2 样本量

目前关于外骨骼机器人和肠道菌群研究的样本量计算并无一致标准, 查阅文献发现^[46-49], 外骨骼机器人研究的样本量一般为 5-20 例左右, 肠道菌群相关研究的最小样本量为 8 例。充分考虑干预时间及受试者住院周期的限制, 本试验每组拟纳入的样本量为 8 例。考虑 20% 的样本脱落率, 本试验拟纳入 20 例符合标准的 SCI 伴便秘患者, 10 例符合标准的健康志愿者。

1.3 诊断标准

根据病史、肌电图、临床症状以及 CT 等结果诊断脊髓损伤。按照 2019 年发布的《脊髓损伤神经学分类国际标准》^[50, 51], 确定 SCI 患者的分级水平（见表 1-1）。脊髓损伤后便秘的诊断参照类似便秘罗马IV诊断标准^[52], 尽管未在 SCI 患者中验证该标准, 但是当前尚无评估 SCI 后便秘的诊断标准, 因此参考其他文献选择便秘罗马诊断标准^[14]

表 1-1 ASIA 分级量表

ASIA 分级	损伤程度	损伤表现
A	完全性损伤	骶部（S4-S5）无感觉或运动功能保留
B	不完全感觉损伤	损伤平面以下包括骶部 S4-S5 有感觉功能（轻触觉、针刺觉或肛门深压觉）保留, 但无运动功能, 且身体两侧神经损伤平面以下运动功能保留均不超过三个节段
C	不完全运动损伤	神经损伤平面以下有运动功能保留, 且超过半数的关键肌肌力小于 3 级（0-2 级）
D	不完全运动损伤	神经损伤平面以下有运动功能保留, 至少半数的关键肌肌力大于或等于 3 级
E	正常	使用脊髓损伤神经学分类国际标准检查各节段感觉和运动功能正常, 但之前有神经功能异常病史才可诊为 AIS E 级, 如果之前检查所有节段感觉和运动功能均无异常, 则不做 AIS 分级

1.4 纳入标准

1.4.1 SCI 受试者纳入标准

- （1）20≤年龄≤60 周岁, 性别男性;
- （2）经研究者诊断符合运动完全性 SCI, ASIA 分级为 A 级或 B 级, 损伤平面 T2-L1;
- （3）符合脊髓损伤后便秘诊断标准;
- （4）皮肤保持完整性, 四肢结构完整;

- (5) 身高 155-190 厘米，体重不超过 90 千克；
- (6) 近一月内未用抗生素和益生菌制剂等；
- (7) 受试者坐位平衡应至少达到 1 级，可通过在站立架或其他固定辅具帮助下站立但不能独立步行；
- (8) 受试者能理解研究意义，具备对本试验足够的顺应性，并签署知情同意书。

1.4.2 健康受试者纳入标准

- (1) $20 \leq \text{年龄} \leq 60$ 周岁，性别男性；
- (2) 受试者近一个月内未服用抗生素、益生菌制剂及胃肠道疾病相关药物；
- (3) 无严重腹泻、便秘、炎症性肠病等胃肠道疾病；
- (4) 无严重不良爱好，如长期大量饮酒、吸烟、吸毒等；
- (5) 饮食习惯规律，睡眠正常，近两周无焦虑、抑郁等情况；
- (6) 受试者能够明晰试验内容，并签署知情同意书。

1.5 排除标准

1.5.1 SCI 受试者排除标准

- (1) 双下肢肌张力为 MAS 分级 2 级或以上；
- (2) 药物控制后，收缩压 $>140\text{mmHg}$ 或舒张压 $>90\text{mmHg}$ ；
- (3) 近一月内使用过抗生素、含益生菌等乳制品及益生菌药剂等；
- (4) 近期合并肺部感染、尿路感染者，既往有便秘史；
- (5) 严重的肌肉骨骼系统疾病（不稳定四肢骨折、关节肌腱挛缩、严重骨质疏松等）；
- (6) 限制患者认知、活动能力的合并症或并发症（如精神疾病、体位性低血压、双下肢深静脉血栓、重要脏器功能衰竭等）；
- (7) 研究者判断不合适入选的其他情况。

1.5.2 健康受试者排除标准

- (1) 既往或现患有严重的躯体、神经或精神疾病；
- (2) 现患有严重炎症性肠病、便秘或腹泻等胃肠疾病；
- (3) 近一月内使用过抗生素、含益生菌等乳制品、益生菌药剂及胃肠疾病相关药物等；
- (4) 不配合完成试验相应检查或不愿签署知情同意书者。

1.6 剔除与脱落标准

- (1) 不符合标准而被纳入的病例应剔除；
- (2) 未按规定进行试验而影响数据采集和安全性评估者应剔除；
- (3) 受试者依从性差，自愿退出；
- (4) 发生严重不良事件，不宜继续试验。

1.7 剔除和脱落病例的处理

- (1) 当受试者脱落后，研究人员应采取短信、电话等方式，询问脱落原因，记录末次治疗情况，尽可能多的完成指标评估，并录在原始文件中；
- (2) 当受试者被剔除，研究者应详细记录剔除原因及时间，并完成所能完成的评估项目和数据采集；
- (3) 所有剔除和脱落病例不应由此受到任何歧视或报复，其医疗待遇不应受到任何影响；
- (4) 所有脱落和剔除的受试者应完成意向性分析，及时填写 CRF 表。

1.8 中止标准

- (1) 发生严重不良事件，不能继续者；
- (2) 研究期间志愿者出现其他危重症，需采取紧急治疗者；
- (3) 受试者中途表示退出临床研究；
- (4) 患者不配合相应研究、经研究人员反复解释无效。

1.9 伦理学说明

本试验已取得西部战区总医院、成都顾连锦宸康复医院及四川省康复医院的伦理委员会审批件，编号分别为：2020ky011、5、CKIL-2020028，见附件 2。

2. 研究方法

2.1 随机分组和盲法

采用随机对照、单盲、多中心临床研究的方法，由与试验无关人员根据随机数表按照 1:1 的比例制备封装有“外骨骼组”“等待治疗组”字样的信封。入组受试者根据入组时间进行抽取信封，获知进入外骨骼组或等待治疗组，整个试验由第三方人员揭盲。本试验由于治疗方式存在明显差异，故只对与试验无关的评定人员、数据录入人员和分析人员进行单盲。

2.2 试验前资料收集和常规检查

2.2.1 病史及生命体征等资料收集

受试者训练前必须进行以下资料收集，若有不符合入选标准者则不允入组。

- (1) 人口学资料：年龄、体重、学历程度、身高等；
- (2) 体格检查：皮肤状况；骨骼、关节、肌肉评估；上肢功能评估；
- (3) 现病史：病因、病程；
- (4) 既往史：重要脏器功能障碍病史、骨折史、其他神经功能障碍、听理解障碍等；
- (5) 生命体征：血压、脉搏、体温、呼吸。
- (6) 临床症状：包括体位性低血压、自主神经反射异常、肺部感染、骨质疏松等症状。

2.2.2 常规临床检查

受试者诊断/第一次训练前，必须进行临床检查，若有不符合入选标准者则

不允入组。检查项目中至少应包括以下内容：血常规；血氧饱和度检查；基础生化检查；二便常规；凝血功能检查；十二导联心电图；双下肢静脉血管彩超。

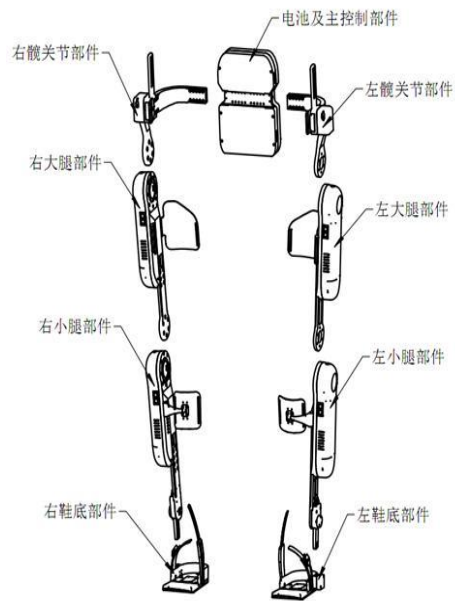
2.3 干预方法

所有 SCI 受试者均由主管医师和康复治疗师结合其病情进行评估并拟定相应的常规康复训练方案及常规用药方案。

2.3.1 外骨骼组

ERAW 训练由下肢步行外骨骼研发团队（电子科技大学程洪教授团队）对各研究中心工作人员进行外骨骼使用培训。外骨骼组受试者保持原有饮食习惯不变，并禁用益生菌制剂及饮料等。

1. 训练设备名称及型号：下肢步行外骨骼 Aider1.0
2. 训练地点：各研究中心的运动大厅；
3. 训练时间：每周一至周五，每天一次，如遇特殊情况可延至周末，共 8 周，每次训练 40 分钟。
4. 注意事项：
 - （1）训练前测试受试者血氧饱和度，防止不良事件发生；
 - （2）嘱受试者训练过程中穿戴护膝、护踝、运动鞋，保护受试者关节。
 - （3）训练过程中须监测受试者的心率，不能高于预计最大心率（220-年龄）的 80%，机器人的步行速度、休息时间取决于受试者的耐受程度。



2.3.2 等待治疗组

等待治疗组的受试者不进行任何额外干预，保持原有饮食习惯不变，并禁用益生菌制剂及饮料等。

2.3.3 健康组

健康组受试者保持原有饮食习惯不变。

2.4 观察指标

2.4.1 一般资料

包括三组受试者的年龄、身高、体重等人口学资料，对 SCI 受试者需记录病程、用药情况等病史情况。

2.4.2 疗效指标观察

评定时间：训练前（0 周）及训练后（8 周）。

（1）主要疗效指标

国际脊髓损伤肠道功能基础数据集 2.0 版^[53]：可在 ISCoS 主页（<http://www.iscos.org.uk/international-sci-datasets>）上查询（见附件 3）。由于此

表为信息收集，无总分计算，故选择下列排便情况信息进行比较分析：包括排便时间、排便频率、手指辅助、聚乙二醇 4000 散、开塞露、乳果糖，开塞露以使用支数行统计分析，其余指标转化为分数行统计分析。见表 2-1。

表 2-1 主要疗效指标计分方法

评价指标	计分方法			
	0 分	1 分	2 分	3 分
乳果糖	从不使用	1-6 支/周	1 支/日	/
聚乙二醇	从不使用	1-6 包/周	1 包/日	/
排便时间	0-30 分钟	31-60 分钟	>60 分钟	
排便频率	1 次/日	2-6 次/周	1 次或 0 次/周	
手指辅助	从不辅助	少于 1 次/周	1-6 次/周	1 次/日

注：受试者获得的分数越高，代表便秘症状越严重。

（2）次要疗效指标

表 2-2 次要疗效指标评价细则

评价指标	评价细则
NBD 评分	由国际脊髓损伤肠道功能基础数据集 2.0 版中的调查资料可计算出 NBD 得分。
Wexner 便秘评分	8 个条目：排便时间、排便频率、排便困难、排便疼痛、排便完整性、排便方式、便秘持续时间和 24h 尝试排便失败次数。得分为 0-30 分。
LEMS	采用徒手肌力测量肌力，共分为六级，每组肌肉得分值等同于测得的肌力级别，分别为 0-5 分，下肢双侧最高得分为 50 分，评分越高表示肌肉功能状态越好。
WHOQOL-BREF ^[54]	包含 4 个维度，分别为生理、社会关系、环境及心理领域，总计 100 分，分值越高生存质量越高。

2.4.3 肠道菌群测序

（1）大便样本收集

所有 SCI 受试者均于干预前及干预 8 周结束后采集大便标本，健康受试者

在入组后采集一次大便标本。使用一次性大便收集管收集受试者当天新鲜样本（尽可能保证样本处于相对厌氧环境），迅速置于存有干冰或冰袋的泡沫箱中，并在两小时内放于-80℃冰箱保存，用于大便 DNA 提取及检测，避免反复冻融。

（2）样本 DNA 纯化

采用 Zymo Research BIOMICS DNA Microprep Kit（Cat# D4301）进行样本 gDNA 纯化，使用 0.8%琼脂糖电泳检测 gDNA 完整性，随后使用 Tecan F200 进行核酸浓度检测（PicoGreen 染料法）。

（3）PCR 扩增

根据测序区域，合成带有索引序列的特异引物对样本的 16S rDNA V4 区域进行扩增，扩增引物序列见表 2-3。PCR 程序见表 2-4。每个样本进行 3 次 PCR 技术重复，取线性期 PCR 产物等量混合后用于后续建库。

表 2-3 引物序列信息

扩增区域	引物名称	引物对
V4	515F	5'-GTGYCAGCMGCCGCGGTAA-3'
	806R	5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3'

表 2-4 PCR 程序

反应温度	反应时间	作用	循环
94 °C	1 分钟	预变性	1 cycles
94 °C	20 秒	变性	25-30 cycles
54°C	30 秒	退火	
72°C	30 秒	延伸	
72°C	5 分钟		1 cycles
4°C		保温	

（4）PCR 产物检测、纯化和定量

将 PCR 产物与 6 倍上样缓冲液混在一起，对目的片段以琼脂糖凝胶电泳。合格样品取目的条带回收，Zymoclean Gel Recovery Kit(D4008) 回收； Qubit@ 2.0 Fluorometer(Thermo Scientific)定量；再等摩尔量合并。

（5）文库构建

NEBNext Ultra II DNA Library Prep Kit for Illumina(NEB#E7645L)用于建库。

（6）高通量测序

采用 PE250 测序方式，选取 Illumina 公司的测序试剂盒 Hiseq Rapid SBS Kit v2(FC-402-4023 500 Cycle)。

(7) 数据分析流程

过滤拼接测序得到的原始数据，以获得后续分析可用的高质量序列。生物信息学操作选择 QIIME2 完成，作图和统计分析主要使用 R6、python 和 java 等完成。主要进行下列分析：OUT 物种注释、物种组成分析、Alpha/Beta 多样性、差异物种分析、不同环境因素对外骨骼组和等待治疗组肠道菌群组成相关分析。

2.4.4 安全性评价

训练期间，对受试者进行每日不良反应监测，若发生不良反应则在 CRF 表中进行记录。主要不良反应有摔倒、皮肤损伤、水泡、血压/心律失常。

2.5 质量控制

2.5.1 试验准备期的质量控制

为使试验得以顺利进行，对本项目实施过程中的有关操作进行了标准化流程制定。采用线上及线下结合的形式对工作人员统一培训，包括熟悉掌握试验的标准化流程、筛选符合标准的受试者、下肢步行外骨骼 Aider1.0 的使用、观察指标的评定、正确填写 CRF 表及研究过程的监控，以保持相关人员的一致性，确保研究可靠性。

2.5.2 试验训练的质量控制

各分中心负责 ERAW 训练的研究人员均由电子科技大学程洪教授团队对其进行操作培训，并定期沟通设备使用情况。严格记录干预期间受试者的康复治疗、ERAW 训练及每日排便等情况。

2.5.3 肠道菌群的质量控制

(1) 药物控制

详细记录受试者研究期间的药物使用情况，包括名称、时间、剂量及用途，

并禁用抗生素、益生菌制剂等，若因病情需要必须使用则剔除试验。

(2) 饮食控制

为了控制饮食对肠道菌群的影响，课题组对受试者家属进行培训，要求所有受试者在研究期间保持原有饮食习惯不变，并记录每日饮食，同时课题组质控员全程监督，若改变饮食习惯则剔除试验，同时禁用含益生菌等乳制品。

(3) 大便收集

大便样本要求采集当天新鲜大便，并采集不接触空气部分的大便，同时使用干冰运输，确保在 2 小时内将标本置于-80℃冰箱保存。

2.5.4 数据的质量控制

设置质控员，对试验全过程进行监督，同时须检查全部数据的记录及 CRE 表的正确填写，确认数据与原始资料一样。为减少误差，对研究者、评定者及统计分析者进行分离。

2.6 不良事件的处理

不良事件是发生在受试者身上的任何不良医学反应，其与干预方法可能不存在因果关系，一旦发生病例死亡、引发住院或明显的功能障碍及残废等严重不良事件，临床医生必须在 2 小时内向课题负责人及相关小组汇报。

本次研究应用下肢步行外骨骼作为干预手段，可能发生的不良事件：摔倒、压疮、皮肤损伤/水泡、局部感染、关节挛缩、腹腔内/胸膜粘连、血压/心律失常等。若发现不良反应，即刻停止训练，并给予积极治疗；病情好转后是否继续参与训练，取决于您的意愿。

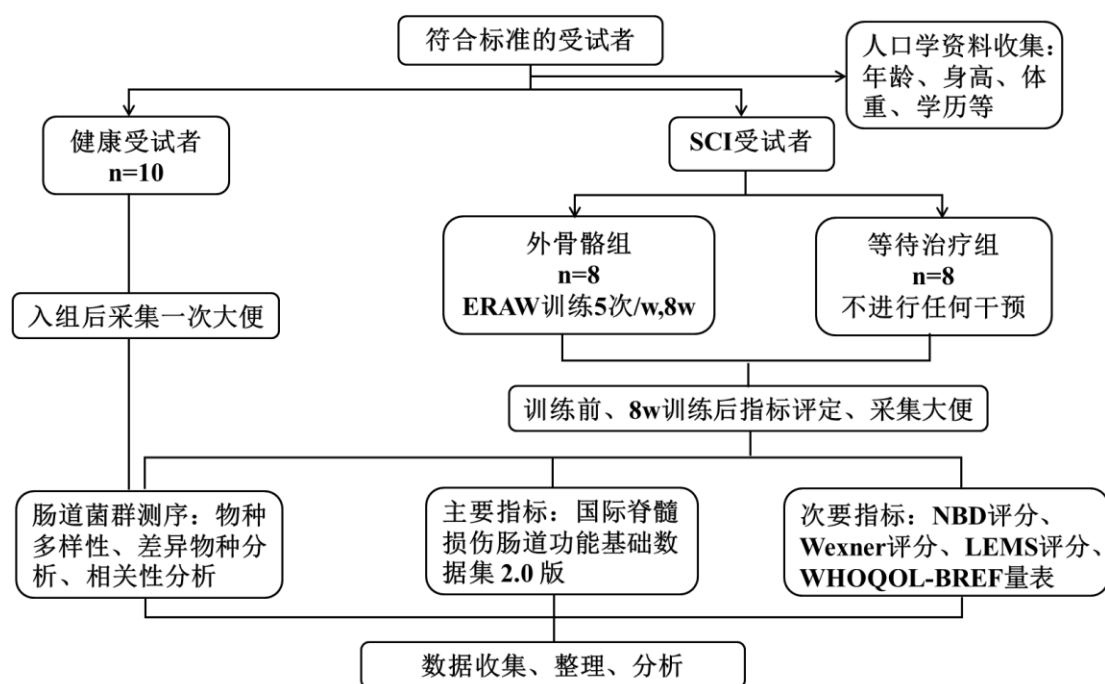
为规避 ERAW 训练过程中不良事件的发生，本研究采取了以下措施：①预防压疮、皮肤损伤、水泡及局部感染：穿戴外骨骼时，受试者大小腿捆绑处覆盖毛巾，膝盖和脚踝处穿戴护膝、护踝，训练前评估绑缚固定板和固定带的松紧程度，训练前后查看双下肢皮肤有无红肿、破口、溃烂；②预防摔倒：每次训练前均仔细检查器械电源、传感器等，训练时研究人员耐心指导受试者步行，且在受试者前后各安排一位工作人员确保安全；③预防血压/心律失常：训练前测量受试者血压、心率及血氧饱和度，训练过程中严密监测心率；④预防关节

挛缩：训练前后检查受试者双下肢各关节活动度；⑤其他情况：各研究中心均配备有规范的急救药品及设备。

2.7 数据分析

统计分析选择 SPSS 23.0 软件， $P < 0.05$ 为具有统计学差异。计量资料用均值 \pm 标准差（ $\bar{X} \pm SD$ ）表示。若数据是正态分布且方差齐，选择配对 t 检验及两独立样本 t 检验；否则使用 Wilcoxon 符号秩和检验及 Wilcoxon Mann-Whitney U 秩和检验。计数资料选用卡方检验；多组比较用单因素方差分析或 Kruskal-Wallis H 检验。若肠道菌群与便秘指标的相关性分析符合正态分布，则使用 Pearson 法；否则使用 Spearman 法。

3 技术路线图



4 实验结果

4.1 受试者完成情况

本研究共纳入 20 例 SCI 受试者，外骨骼组和等待治疗组各 10 例，其中外骨骼组有 2 例受试者因出院未完成全部干预训练而脱落，等待治疗组有 2 例受试者分别因使用益生菌制剂及不愿提供大便标本予以剔除。最终纳入外骨骼组和等待治疗组各 8 例，健康受试者 10 例。见表 4-1。

表 4-1 各组完成情况

组别	完成例数	剔除及脱落例数	总例数
外骨骼组	8	2	10
等待治疗组	8	2	10
健康组	10	0	10
合计	26	4	30

4.2 基线分析

本研究对三组受试者的人口学资料进行比较，并对外骨骼组和等待治疗组进行病程和 ASIA 分级方面的分析，以确定各组的基线资料是否平衡、具有可比性。

4.2.1 人口学资料

三组受试者身高、年龄、体重及学历无差异 ($P>0.05$)，具有可比性。见表 4-2 及表 4-3。

表 4-2 三组受试者人口学资料分析

人口学资料	外骨骼组	等待治疗组	健康组	统计值	P 值
年龄	42.51±12.29	34.39±7.69	38.70±11.29	F=1.162	0.331
身高 (cm)	170.25±5.95	169.88±3.94	173.20±5.55	F=1.109	0.347
体重 (kg)	63.06±8.74	61.38±7.39	69.30±9.25	$\chi^2=4.000$	0.135

表 4-3 三组受试者学历分析

学历	外骨骼组	等待治疗组	健康组	统计值	P 值
初中及以下	5	5	5	/	0.914
高中或中专	2	2	2	/	
本科或大专	1	1	2	/	
本科以上	0	0	1	/	

4.2.2 病情资料

所有 SCI 受试者的 ASIA 分级及病程无显著差别 ($P>0.05$), 具有可比性。见表 4-4。

表 4-4 两组受试者病情分析

	外骨骼组	等待治疗组	统计值	P 值
病程(月)	5.14±1.28	4.60±1.58	t=0.753	0.464
ASIA 分级 (A/B)	5/3	7/1	/	0.569

4.3 临床疗效结果

4.3.1 主要疗效指标

(1) 干预前后两组排便情况组间比较

由表 4-5 可知, 干预前外骨骼组和等待治疗组的排便频率、排便时间、手指辅助、开塞露、乳果糖及聚乙二醇 4000 散无明显差异 ($P>0.05$)。

由表 4-6 可知, 干预后, 与等待治疗组相比, 外骨骼组的排便频率、排便时间、手指辅助、开塞露、聚乙二醇 4000 散、乳果糖等方面不具有明显差异 ($P>0.05$)。

表 4-5 干预前两组排便情况比较

	外骨骼组	等待治疗组	统计值	<i>P</i> 值
排便时间	1.50±0.76	1.38±0.52	Z=-0.185	0.878
排便频率	1.75±0.46	1.25±0.46	Z=-0.522	0.721
手指辅助	1.75±1.29	2.00±0.93	Z=-0.224	0.878
开塞露	1.88±0.83	1.38±0.52	Z=-1.273	0.279
乳果糖	0.50±0.93	0.25±0.46	Z=-0.277	0.878
聚乙二醇 4000 散	0.38±0.74	0.25±0.46	Z=-0.139	0.959

表 4-6 干预后两组排便情况比较

	外骨骼组	等待治疗组	统计值	<i>P</i> 值
排便时间	1.38±0.52	1.13±0.35	Z=-1.118	0.442
排便频率	1.50±0.53	1.13±0.35	Z=-1.567	0.117
手指辅助	1.50±0.93	1.38±0.92	Z=-0.114	0.959
开塞露	1.38±0.52	0.94±0.18	Z=-2.011	0.130
乳果糖	0.38±0.52	1.00±0.93	Z=-1.431	0.195
聚乙二醇 4000 散	0.38±0.52	0.13±0.35	Z=-1.118	0.442

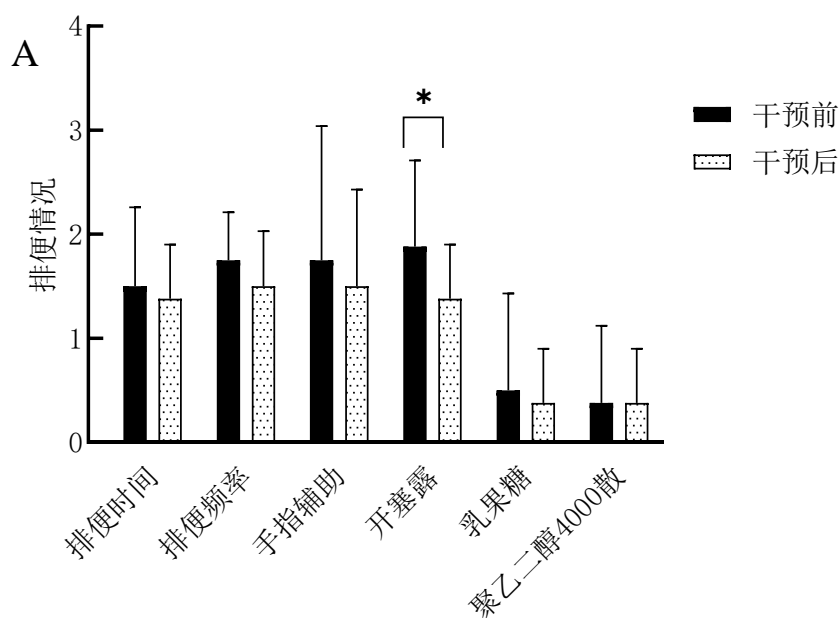
(2) 干预前后两组排便情况组内比较

干预后，外骨骼组开塞露使用支数较干预前明显减少 ($P<0.05$)；外骨骼组的排便时间、手指辅助、乳果糖较干预前有降低的趋势，而排便频率亦有增加趋势，但无明显差异 ($P>0.05$)。与干预前相比，等待治疗组干预后的乳果糖使用明显增多 ($P<0.05$)。见表 4-7 及图 1。

表 4-7 两组排便情况组内比较

		干预前	干预后	统计值	P 值
排便时间	外骨骼组	1.50±0.76	1.38±0.52	Z=-0.577	0.564
	等待治疗组	1.38±0.52	1.13±0.35	Z=-1.414	0.157
排便频率	外骨骼组	1.75±0.46	1.50±0.53	t=1.000	0.351
	等待治疗组	1.25±0.46	1.13±0.35	Z=-0.577	0.564
手指辅助	外骨骼组	1.75±1.29	1.50±0.93	t=1.000	0.351
	等待治疗组	2.00±0.93	1.38±0.92	Z=-1.890	0.059
开塞露	外骨骼组	1.88±0.83	1.38±0.52	Z=-2.000	0.046*
	等待治疗组	1.38±0.52	0.94±0.18	Z=-1.633	0.102
乳果糖	外骨骼组	0.50±0.93	0.38±0.52	Z=-0.577	0.564
	等待治疗组	0.25±0.46	1.00±0.93	t=-3.000	0.020*
聚乙二醇 4000 散	外骨骼组	0.38±0.74	0.38±0.52	Z=0.000	1.000
	等待治疗组	0.25±0.46	0.13±0.35	Z=-1.000	0.317

注：*表示与干预前相比 $P < 0.05$ 。



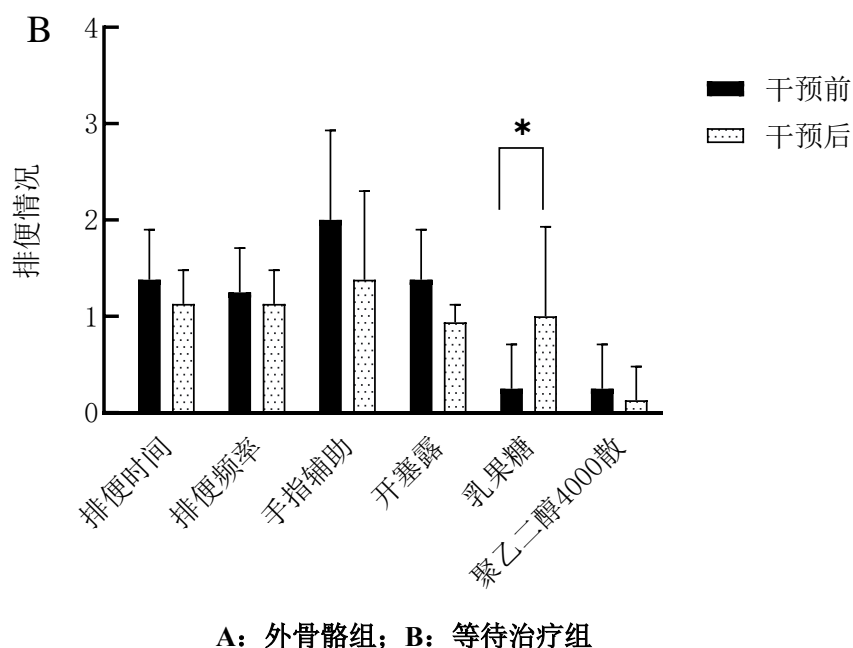


图 1 干预前后外骨骼组和等待治疗组排便情况比较

注: *表示与干预前相比 $P < 0.05$ 。

(3) 两组排便情况差值比较

与干预前相比,干预后,外骨骼组乳果糖使用减少较等待治疗组乳果糖使用增加存在显著差异 ($P < 0.05$);在手指辅助、排便时间、开塞露、排便频率、及聚乙二醇 4000 散方面,外骨骼组和等待治疗组前后差值无明显区别 ($P > 0.05$)。见表 4-8 及图 2。

表 4-8 两组排便情况差值比较

	外骨骼组	等待治疗组	统计值	P 值
排便时间	-0.13±0.64	-0.25±0.46	Z=-0.387	0.798
排便频率	-0.25±0.71	-0.13±0.64	Z=-0.413	0.068
手指辅助	-0.25±0.71	-0.63±0.74	Z=-0.867	0.442
开塞露	-0.50±0.53	-0.44±0.62	Z=-1.273	0.279
乳果糖	-0.13±0.64	0.75±0.71	Z=-2.227	0.038*
聚乙二醇 4000 散	0.00±0.53	-0.13±0.35	Z=-0.540	0.721

注: 差值为干预后排便情况减去干预前排便情况所得, *表示与等待治疗组相比 $P < 0.05$ 。

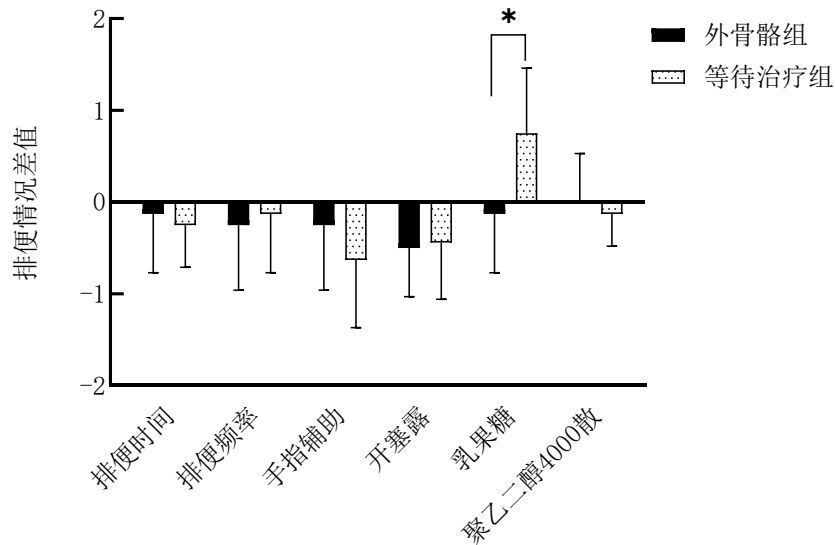


图 2 干预前后两组排便情况差值比较

注：差值为干预后排便情况减去干预前排便情况所得值，*表示与等待治疗组相比 $P < 0.05$ 。

4.3.2 次要疗效结果

(1) NBD 评分

1) 干预前后 NBD 评分组间比较

干预前两组 NBD 评分无明显区别 ($P > 0.05$)，具有可比性。干预后两组无明显差异，其差值比较亦无差异 ($P > 0.05$)，但外骨骼组下降了 1.50 ± 4.72 分，等待治疗组增加了 1.38 ± 6.86 分。见表 4-9。

表 4-9 两组 NBD 评分组间比较

	外骨骼组	等待治疗组	统计值	P 值
干预前	13.75±5.73	12.25±5.04	t=0.556	0.587
干预后	12.25±5.12	13.63±7.35	t=-0.434	0.671
干预前后差值	-1.50±4.72	1.38±6.86	t=-0.976	0.346

注：差值为干预后排便情况减去干预前 NBD 评分所得。

2) 干预前后 NBD 评分组内比较

与干预前相比，干预后外骨骼组 NBD 评分有降低趋势；等待治疗组 NBD 评分有所增加，但均不存在显著差异 ($P > 0.05$)。见表 4-10。

表 4-10 两组 NBD 评分组内比较

	干预前	干预后	统计值	<i>P</i> 值
外骨骼组	13.75±5.73	12.25±5.12	<i>t</i> =0.899	0.399
等待治疗组	12.25±5.04	13.63±7.35	<i>t</i> =-0.567	0.589

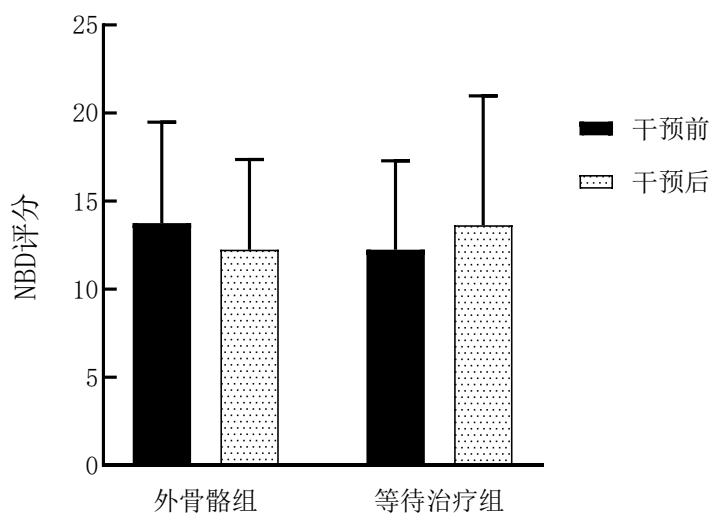


图 3 干预前后两组 NBD 评分比较

(2) Wexner 便秘评分

1) 干预前后 Wexner 评分组间比较

干预前两组 Wexner 评分无明显差异 ($P>0.05$), 具有可比性。干预后两组无显著差异, 其差值比较亦无明显差别 ($P>0.05$)。见表 4-11。

表 4-11 干预前、后两组 Wexner 便秘评分比较

	外骨骼组	等待治疗组	统计值	<i>P</i> 值
干预前	7.75±3.06	6.38±1.78	<i>t</i> =1.101	0.290
干预后	8.13±2.70	5.88±1.36	<i>t</i> =2.109	0.053
干预前后差值	0.38±2.45	-0.50±1.85	<i>t</i> =0.807	0.433

2) 干预前后 Wexner 评分组内比较

与干预前相比, 干预后外骨骼组和等待治疗组的 Wexner 便秘评分无明显改变 ($P>0.05$)。见表 4-12 及图 4。

表 4-12 干预前后外骨骼组及等待治疗组 Wexner 便秘比较

	干预前	干预后	统计值	P 值
外骨骼组	7.75±3.06	8.13±2.70	t=-0.434	0.678
等待治疗组	6.38±1.78	5.88±1.36	t=0.764	0.470

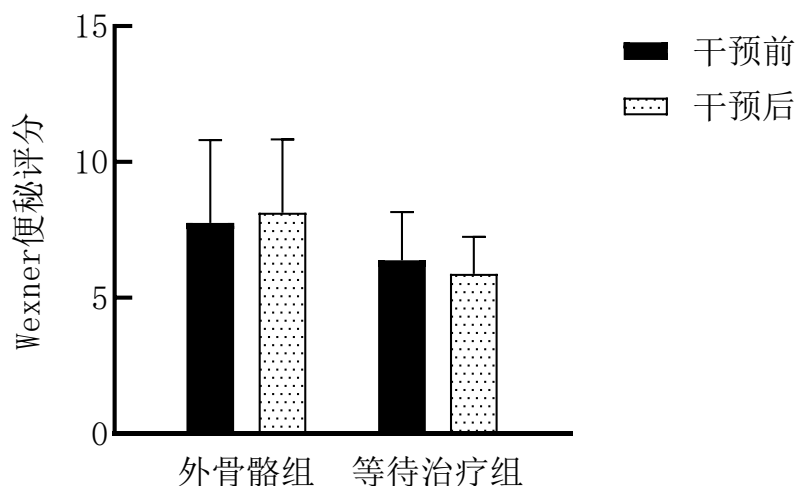


图 4 干预前后两组 Wexner 评分比较

(3) LEMS 评分

1) 干预前后 LEMS 评分组间比较

干预前, 两组 LEMS 评分无显著差异 ($P>0.05$), 具有可比性。干预后, 外骨骼组较等待治疗组无明显差别, 其差值对比亦无显著差异 ($P>0.05$)。见表 4-13。

表 4-13 两组 LEMS 评分组间比较

	外骨骼组	等待治疗组	统计值	P 值
干预前	2.69±3.63	1.94±2.54	Z=-0.695	0.505
干预后	3.63±3.96	2.44±3.29	Z=-1.108	0.279
干预前后差值	0.94±0.94	0.50±0.93	Z=-1.468	0.195

2) 干预前后 LEMS 评分组内比较

与干预前相比, 外骨骼组干预后的 LEMS 评分显著改善 ($P<0.05$); 等待治疗组 LEMS 评分前后比较无明显变化 ($P>0.05$)。见表 4-14 及图 5。

表 4-14 两组 LEMS 评分组内比较

	干预前	干预后	统计值	P 值
外骨骼组	2.69±3.63	3.63±3.96	t=-2.813	0.026*
等待治疗组	1.94±2.54	2.44±3.29	Z=-1.414	0.157

注：*表示与干预前相比 $P < 0.05$ 。

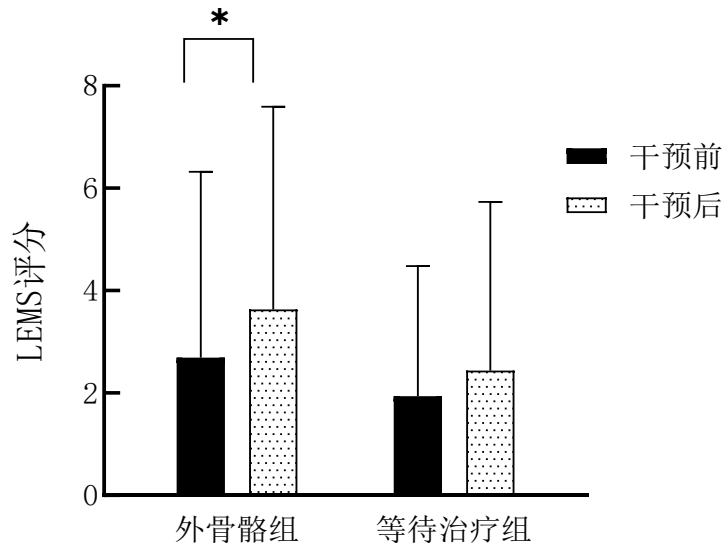


图 5 干预前后两组 LEMS 评分比较

注：*表示与干预前相比 $P < 0.05$ 。

(4) WHOQOL-BREF 量表

1) 干预前后 WHOQOL-BREF 量表组间比较

干预前，两组 WHOQOL-BREF 量表各领域分值无明显区别 ($P > 0.05$)，具有可比性。干预后，外骨骼组较等待治疗组无明显差异 ($P > 0.05$)。见表 4-15 及表 4-16。

表 4-15 干预前 WHOQOL-BREF 量表评分比较

	外骨骼组	等待治疗组	统计值	P 值
生理领域	9.75±2.35	11.36±2.32	t=-1.377	0.190
心理领域	11.88±1.97	12.42±1.85	t=-0.566	0.580
社会关系领域	11.84±1.58	13.17±1.50	Z=-1.406	0.195
环境领域	11.19±2.61	11.63±1.85	t=-0.387	0.704

表 4-16 干预后 WHOQOL-BREF 量表评分比较

	外骨骼组	等待治疗组	统计值	<i>P</i> 值
生理领域	11.11±2.94	11.79±1.22	$Z=-0.369$	0.721
心理领域	12.12±1.89	13.33±1.07	$t=-1.581$	0.136
社会关系领域	12.17±1.66	13.00±1.18	$Z=-0.998$	0.382
环境领域	11.06±2.27	11.81±1.22	$t=-0.821$	0.425

2) 干预前后 WHOQOL-BREF 量表组内比较

与干预前相比, 干预后外骨骼组的心理、生理、社会关系领域得分有增加趋势, 但无明显改变 ($P>0.05$), 环境领域无明显变化; 等待治疗组干预前后无显著变化 ($P>0.05$)。见表 4-17 及图 6。

表 4-17 两组 WHOQOL-BREF 量表组内比较

		干预前	干预后	统计值	<i>P</i> 值
生理领域	外骨骼组	9.75±2.35	11.11±2.94	$t=-1.594$	0.155
	等待治疗组	11.36±2.32	11.79±1.22	$t=-0.581$	0.580
心理领域	外骨骼组	11.88±1.97	12.12±1.89	$t=-0.292$	0.779
	等待治疗组	12.42±1.85	13.33±1.07	$t=-1.950$	0.092
社会关系领域	外骨骼组	11.84±1.58	12.17±1.66	$t=0.518$	0.620
	等待治疗组	13.17±1.50	13.00±1.18	$Z=-0.577$	0.564
环境领域	外骨骼组	11.19±2.61	11.06±2.27	$t=0.188$	0.856
	等待治疗组	11.63±1.85	11.81±1.22	$Z=-0.577$	0.564

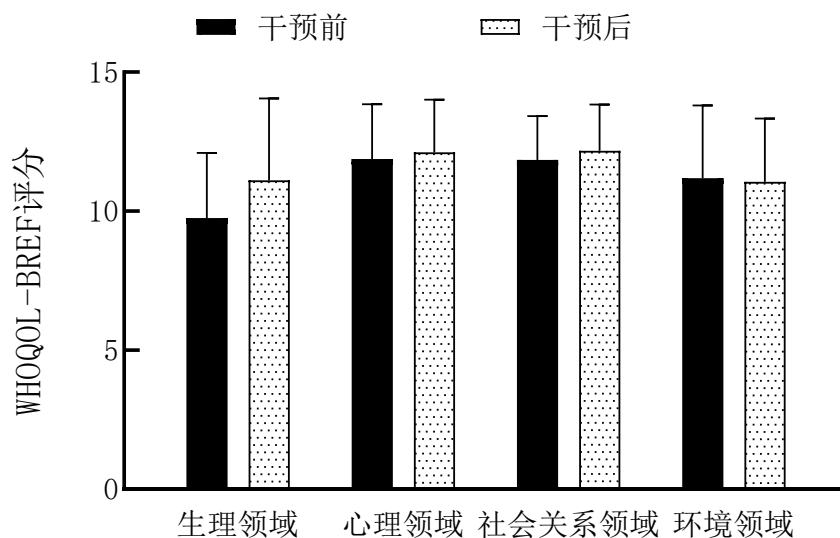


图 6 干预前后外骨骼组 WHOQOL-BREF 评分比较

3) 两组 WHOQOL-BREF 量表差值比较

在干预前后的差值比较中, 外骨骼组与等待治疗组无明显差别 ($P > 0.05$)。见表 4-18。

表 4-18 干预前后两组 WHOQOL-BREF 量表差值比较

	外骨骼组	等待治疗组	统计值	P 值
生理领域	1.36±2.41	0.43±2.09	t=-0.823	0.424
心理领域	0.25±2.39	0.92±1.33	Z=-0.527	0.645
社会关系领域	0.33±1.78	-0.17±0.85	Z=-0.163	0.878
环境领域	-0.13±1.88	0.19±0.88	Z=-0.318	0.798

4.4 肠道菌群结果

本研究共收集了 42 个大便样本，其中包括外骨骼组（N=8）和等待治疗组（N=8）干预前后的两次标本，健康组（N=10）的一次标本。

4.4.1 OUT 统计分析

为了便于观察样本的物种多样性及物种群落组成，按照 97% 的相似度对样本的所有序列进行 OUT 聚类，最终得到有效序列，每个 OUT 代表一个序列。根据 OUT 丰度表制作 Venn 图，可直观展示多个样本间所共有和独有的 OUT 数。五组共有的 OUT 有 61 个，干预前外骨骼组的特有 OUT 有 8 个，干预后外骨骼组的特有 OUT 有 14 个，干预前等待治疗组的特有 OUT 有 15 个，干预后等待治疗组的特有 OUT 有 7 个，健康组的特有 OUT 有 16 个。见图 7。

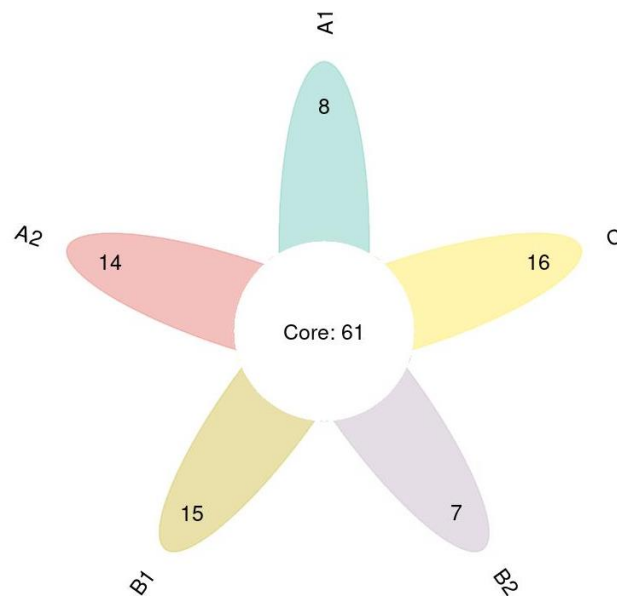


图 7 OUT Venn 图

注：A1 代表外骨骼组干预前，A2 代表外骨骼组干预后，B1 代表等待治疗组干预前，B2 代表等待治疗组干预后，C 代表健康组。

4.4.2 物种分类统计

为了直观地展示每组样本不同分类水平上高丰度类群的平均丰度，对成组的数据求平均并使用柱状图展示。

(1) 所有受试者门水平组成情况

在门水平上：菌群丰度排名前五的是拟杆菌门 (*Bacteroidetes*)、厚壁菌门 (*Firmicutes*)、变形菌门 (*Proteobacteria*)、放线菌门 (*Actinobacteria*) 和疣微菌门 (*Verrucomicrobia*)。见图 8。

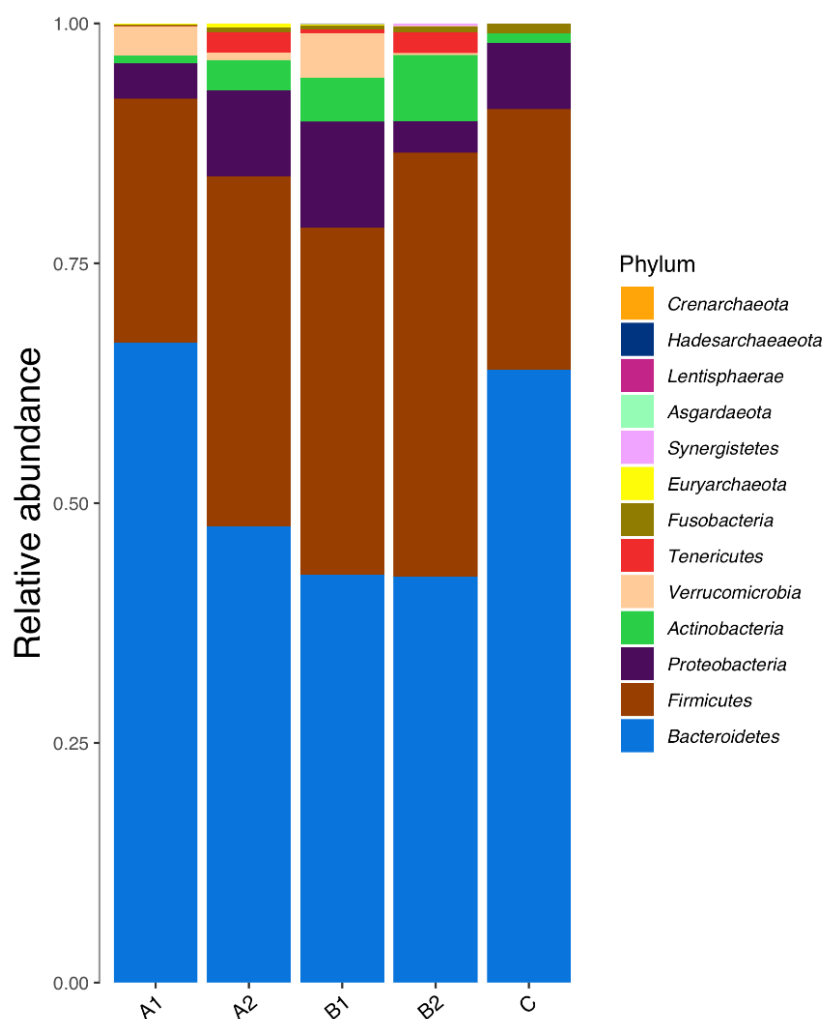


图 8 所有受试者肠道菌群门水平丰度柱状图

注：A1 代表外骨骼组干预前，A2 代表外骨骼组干预后，B1 代表等待治疗组干预前，B2 代表等待治疗组干预后，C 代表健康组。

(2) 所有受试者属水平组成情况

在属水平上，排名前五的肠道菌群是：拟杆菌属 (*Bacteroides*)、瘤胃球菌属 (*Ruminococcus 1*)、普雷沃氏菌属 (*Prevotella 9*)、瘤胃球菌属 UCG-002 (*Ruminococcaceae UCG-002*)、*Parabacteroides* 菌属。见图 9。

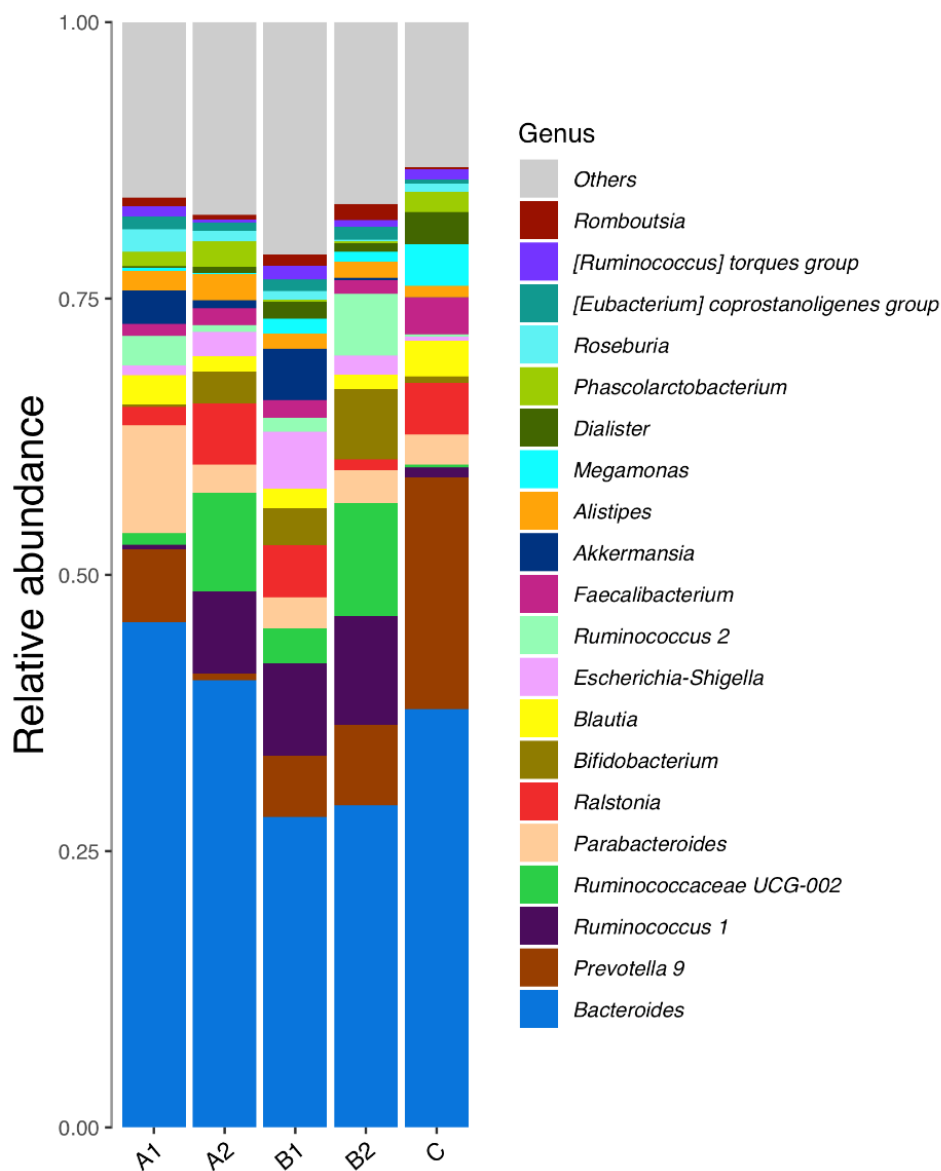


图 9 所有受试者肠道菌群属水平丰度柱状图

注：A1 代表外骨骼组干预前，A2 代表外骨骼组干预后，B1 代表等待治疗组干预前，B2 代表等待治疗组干预后，C 代表健康组。

4.4.3 物种分类树

物种分类树是观察物种结构、特定物种的分类信息及样本组间比较情况，通常选择所有样品中相对丰度前 10 的属进行分析，不同颜色代表不同组别，各组在此分类上的丰度占比以扇形面积表示。各样本的物种分类树见图 10。

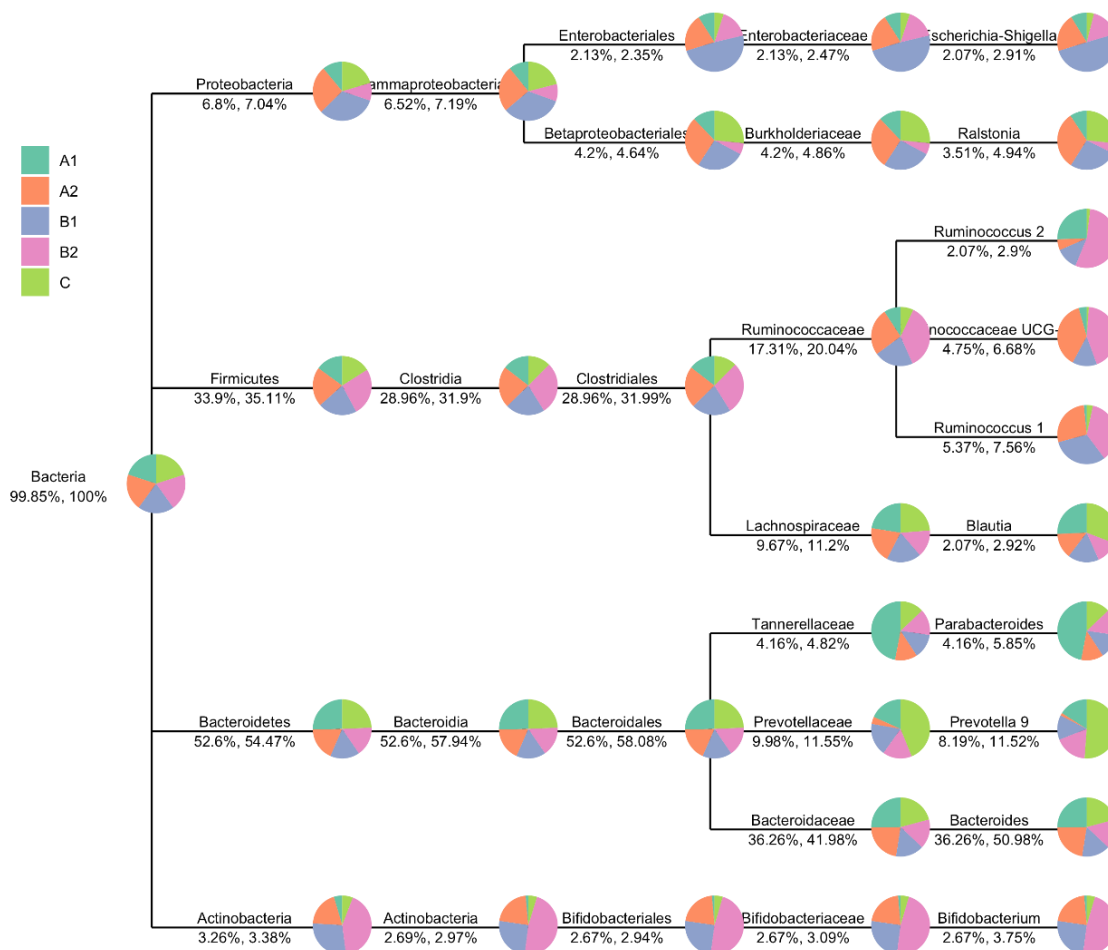


图 10 物种分类树

注：A1 代表外骨骼组干预前，A2 代表外骨骼组干预后，B1 代表等待治疗组干预前，B2 代表等待治疗组干预后，C 代表健康组。

4.4.4 系统发育分析

系统发育分析是重建进化树，即通过比对序列的特点和碱基差异，择出相宜的重构造方式和进化模型以实现进化树的构建。本研究使用极大似然法进

行分析建树，选用丰度排名前 50 的 OTU 进行展示。每条分支代表一个 OUT 序列，分支长度代表其变化的程度，越短表示差异越小，进化距离越近。各样品间最大丰度排名前 50 的 OUT 进化树见图 11。

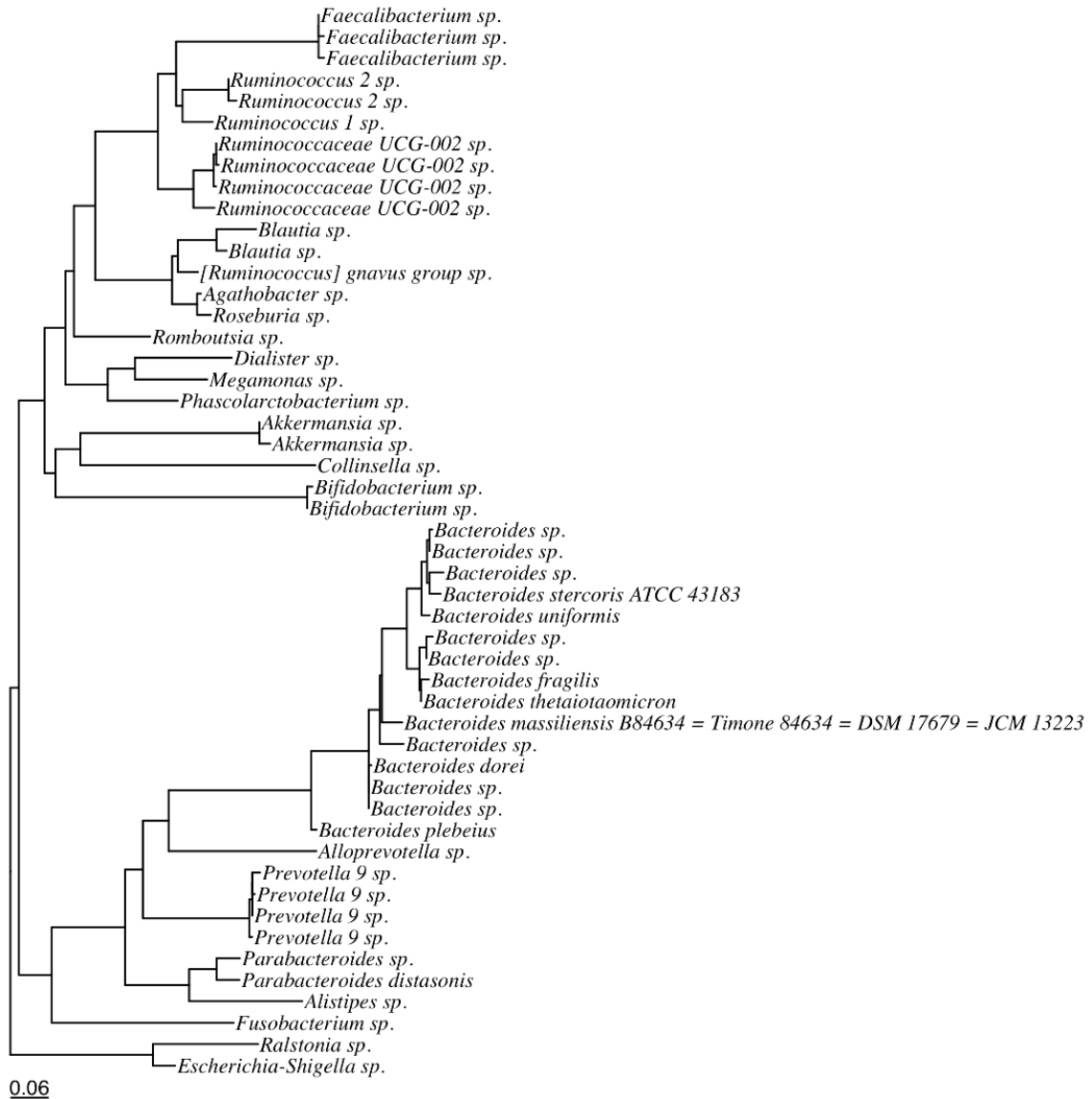


图 11 系统发育树

4.4.5 Alpha 多样性

(1) 稀释曲线

对样品测序量是否能够反映其物种多样性我们通常采用稀释曲线来判断，其亦可间接反映物种丰富程度。当图中线条趋于平直时即可认为测序数据量已基本涵盖样品的全部物种，继续扩大测序量只会出现少许的低丰度物种。本试

验所有样本的稀释曲线如图 12，可知本试验的数据测序量合理。

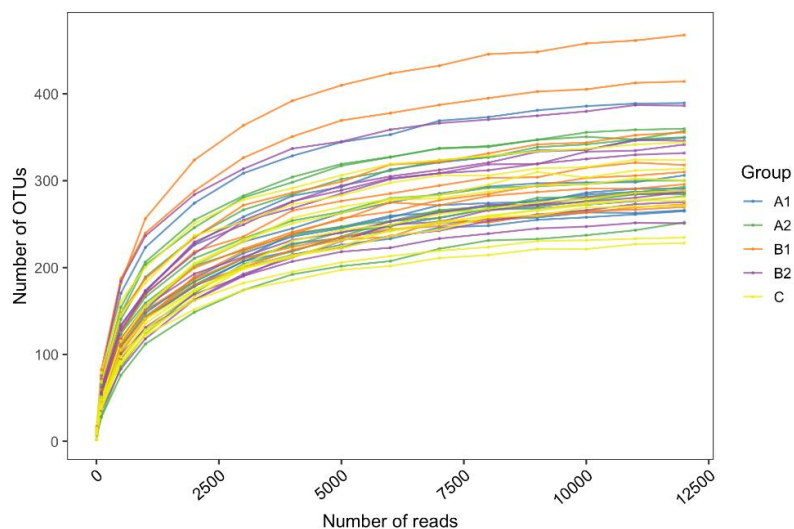


图 12 所有样本的稀释曲线

注：A1 代表外骨骼组干预前，A2 代表外骨骼组干预后，B1 代表等待治疗组干预前，B2 代表等待治疗组干预后，C 代表健康组。

(2) Rank-abundance 曲线

为了解样品物种丰度和均度通常选择 Rank-abundance 曲线。横轴曲线宽度与物种丰度呈正比；曲线的平缓程度与物种均度呈正比关系，曲线越平则物种均度越高。本试验中样品的物种均度差异不大。见图 13。

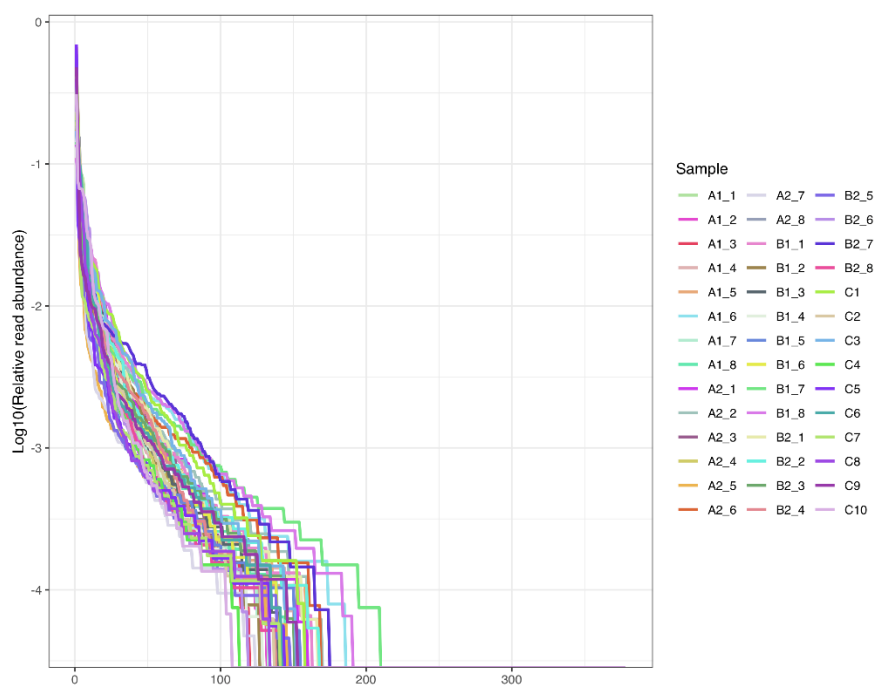


图 13 所有样本的 OUT Rank-abundance 曲线

(3) Alpha 多样性指数分析

Alpha 多样性可体现单样品的物种多样性和丰度, 包括 Chao1、Simpson、PD 及 Shannon 指数。chao1 指数估计物种丰度, Simpson 和 Shannon 指数评估物种多样性, PD 指数度量系统发育多样性, 以上指数大小与物种丰度、多样性和进化差异性呈正比关系。

1) 干预前 SCI 受试者与健康受试者 Alpha 多样性比较

干预前, 三组受试者的 Chao1 指数、Simpson 指数、PD 指数及 Shannon 指数的组间比较无显著性差异 ($P>0.05$), 表明三组受试者的物种丰度和物种多样性无明显区别。见图 14。

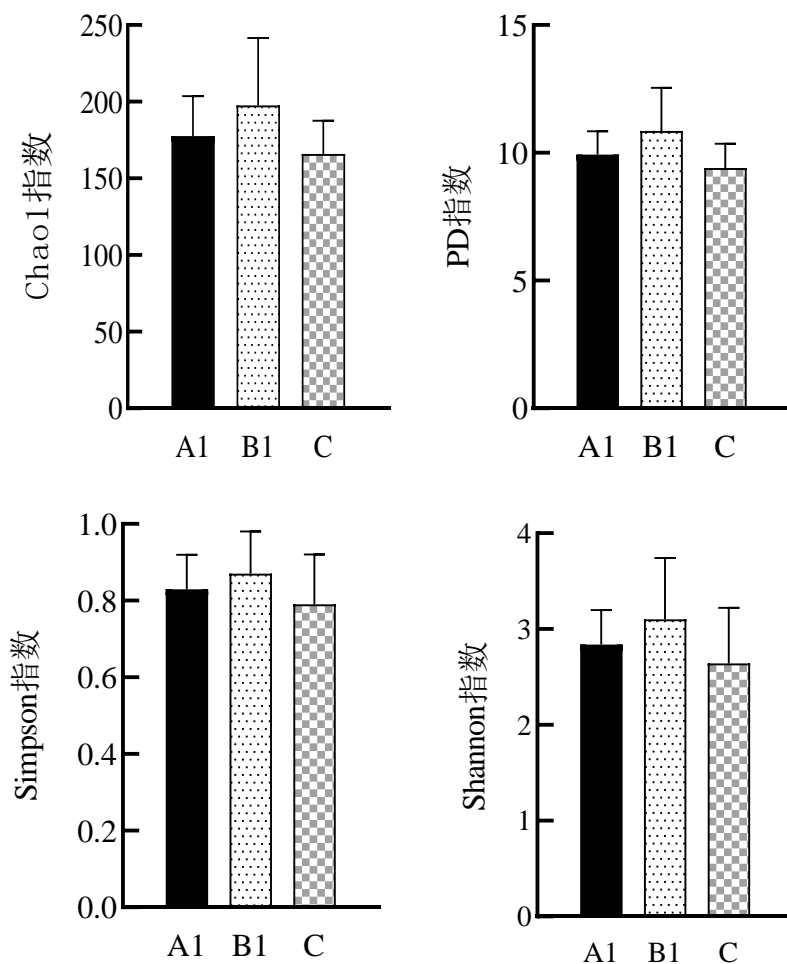


图 14 干预前三组 Alpha 多样性指数比较

注: A1 代表外骨骼组干预前, A2 代表外骨骼组干预后, B1 代表等待治疗组干预前, B2 代表等待治疗组干预后, C 代表健康组。

2) 干预后外骨骼组和等待治疗组 Alpha 多样性比较

干预后，外骨骼组的 Chao1 指数、Shannon 指数、PD 指数及 Simpson 指数与等待治疗组相比无差别 ($P>0.05$)。见图 15。

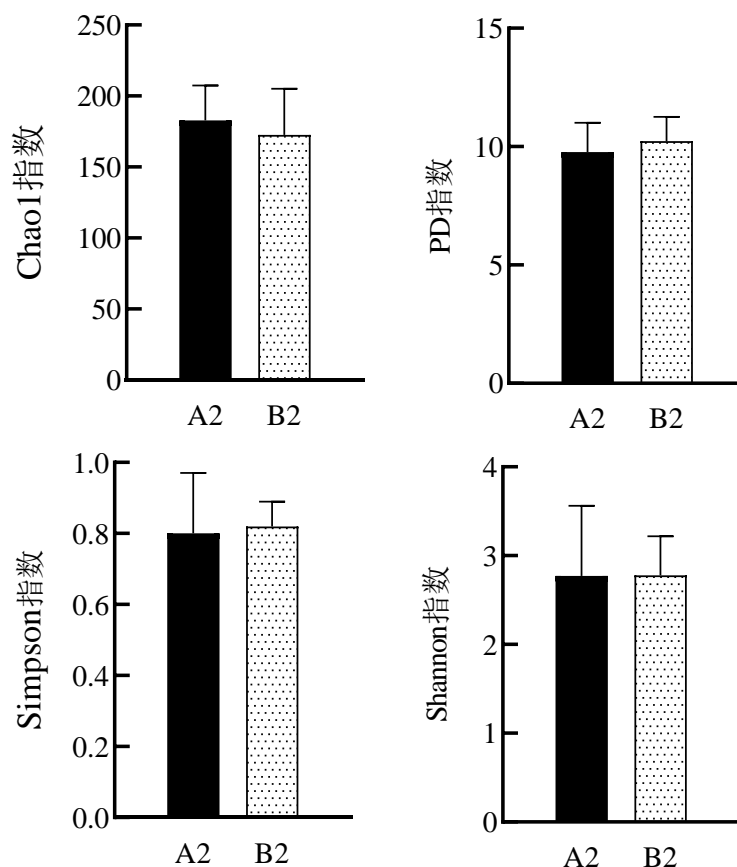


图 15 干预后两组 Alpha 多样性指数比较

注：A2 代表外骨骼组干预后，B2 代表等待治疗组干预后。

3) 外骨骼组和等待治疗组 Alpha 多样性组内比较

干预后，外骨骼组的 Chao1 指数、Shannon 指数及 Simpson 指数较干预前相比有增加的趋势，PD 指数有所降低，但均无显著性变化 ($P>0.05$)；等待治疗组 Chao1 指数、Simpson 指数、PD 指数及 Shannon 指数有降低的趋势，但无明显差别 ($P>0.05$)。见图 16。

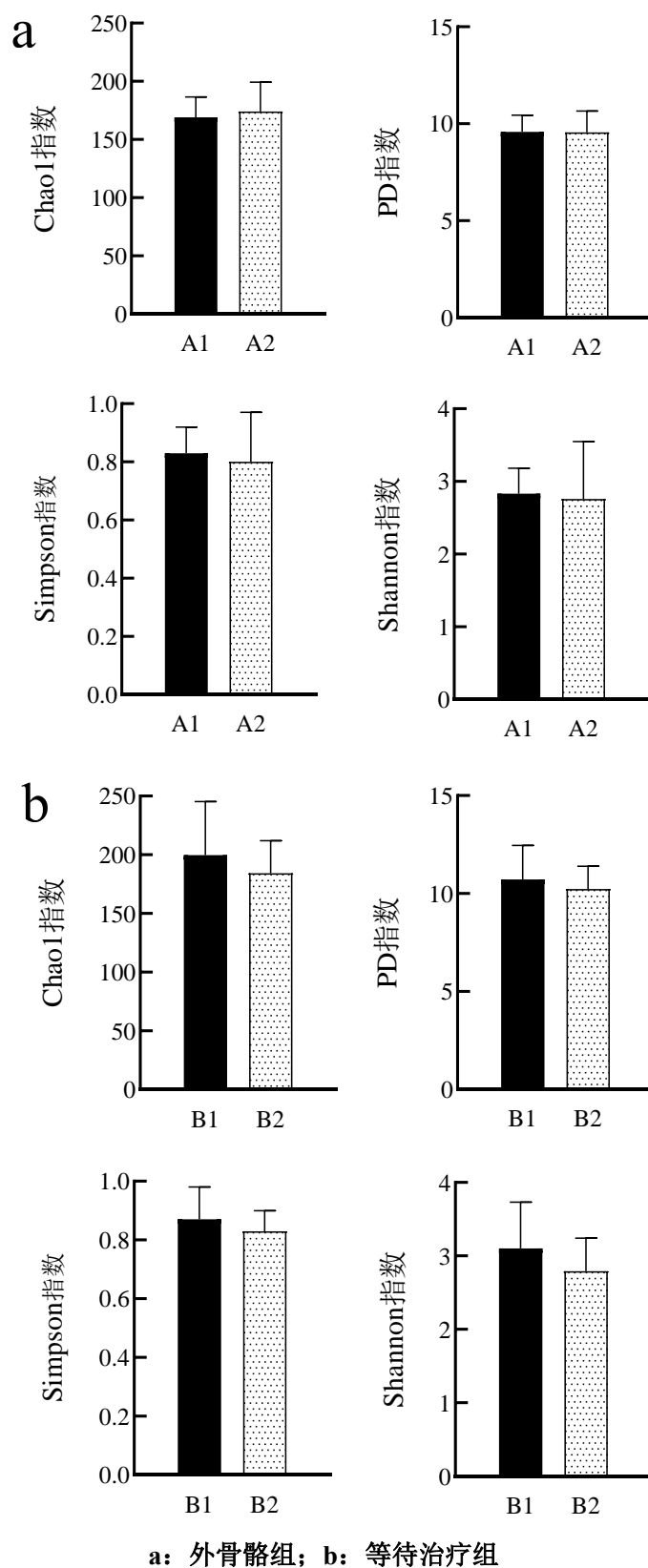


图 15 干预前后两组 Alpha 多样性指数比较

注：A1 代表外骨骼组干预前，A2 代表外骨骼组干预后，B1 代表等待治疗组干预前，B2 代表等待治疗组干预后。

4.4.6 Beta 多样性

Beta 多样性是对不同样本间群落构成的差异比较。Beta 多样性可用 OTU 的丰度信息进行样本间距离计算，也可用 OTU 之间的系统发生关系进行计算。本试验选择基于 Bray-Curtis 距离的 PCoA (Principal Co-ordinates Analysis, PCoA) 分析来评价样本间物种组成的差异性，并用 PerMANOVA 对差异进行验证。

(1) PCoA 分析

PCoA 分析是评价样品物种结构的同异性，距离越近，物种结构越类似。干预前，外骨骼组和等待治疗组大部分聚集在图的上方，健康组大部分聚集在图的下方，表明外骨骼组和等待治疗组无明显差别，但两组与健康组的肠道菌群组成存在一定的差异。干预后，外骨骼组样品间距离较为分散，等待治疗组大部分聚集在下方，表明两组样本的物种组成不具有明显差别。见图 17 及图 18。

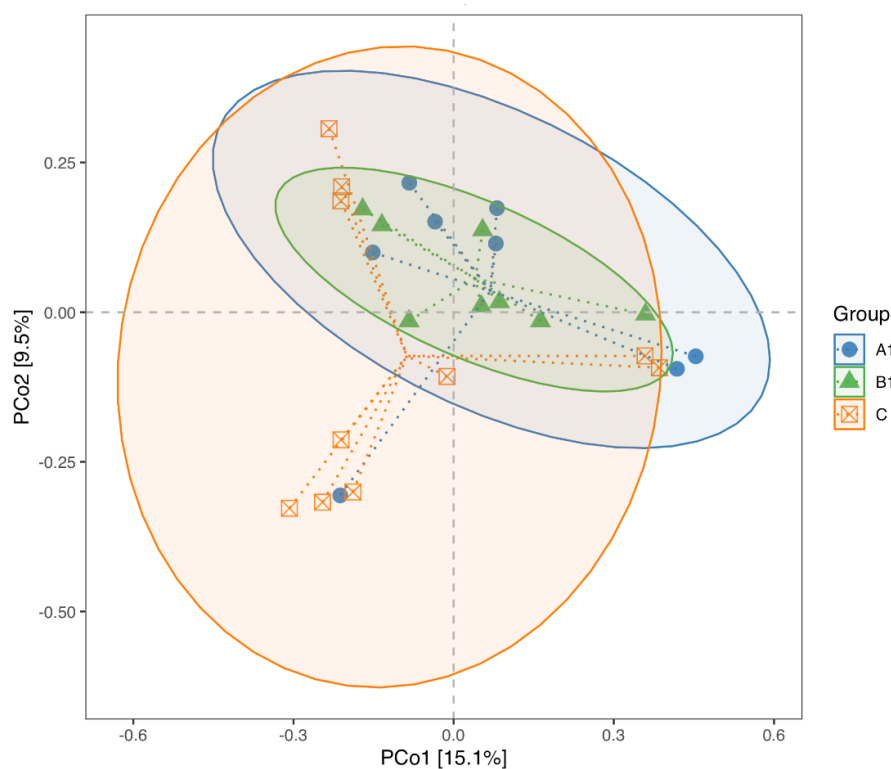


图 17 干预前三组受试者的 PCoA 分析

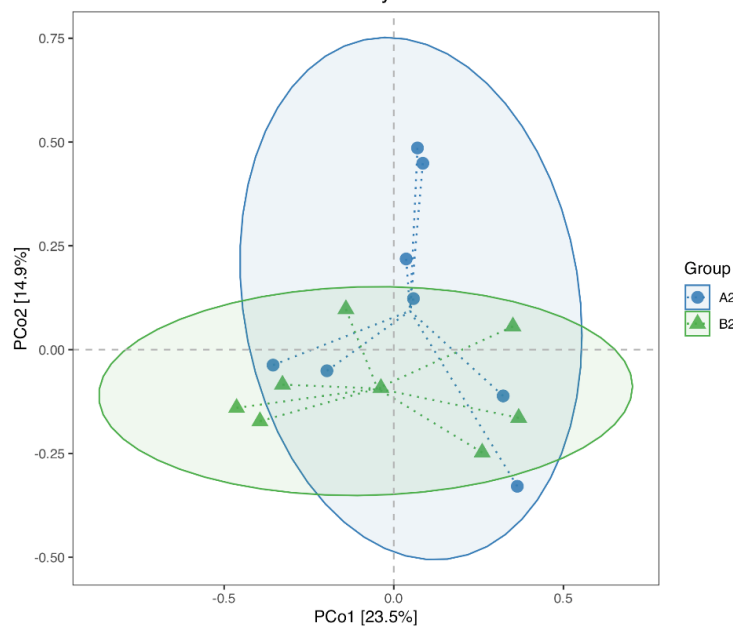


图 18 干预后外骨骼组和等待治疗组的 PCoA 分析

(2) PerMANOVA

为了计算各样本组间距离上的显著差异，使用 PerMANOVA 进行分析。PerMANOVA 是非参数检验的多元方差分析，用以组间差异显著性的检验。P 值小于 0.05 代表具有明显差异。干预前，外骨骼组和等待治疗组的 Beta 多样性无明显区别，外骨骼组、等待治疗组和健康组的 Beta 多样性存在明显差别 ($P < 0.05$)；干预后外骨骼组和等待治疗组的 Beta 多样性无显著性差异 ($P > 0.05$)。见表 4-19。

表 4-19 干预前后三组 PerMANOVA 分析比较

组别	R ²	P 值
A1 vs B1	0.076	0.261
A1 vs C	0.081	0.049*
B1 vs C	0.110	0.003*
A1 vs B1 vs C	0.118	0.009*
A1vsA2	0.044	0.915
B1vsB2	0.030	0.994
A2vsB2	0.074	0.316

注：*表示组间差异有统计学意义。

4.4.7 差异物种分析

(1) 干预前三组受试者肠道菌群差异分析

在门水平上，与健康组比较，等待治疗组的拟杆菌门丰度明显减少 ($P < 0.05$)、疣微菌门丰度明显增高 ($P < 0.05$)，变形菌门、厚壁菌门和放线菌门丰度无明显区别；外骨骼组在拟杆菌门、厚壁菌门、变形菌门、放线菌门和疣微菌门丰度上无显著差别 ($P > 0.05$)。外骨骼组的拟杆菌门丰度显著高于等待治疗组 ($P < 0.05$)。

在属水平上，与健康受试者相比，外骨骼组和等待治疗组的 *Akkermansia* 菌属、志贺氏菌属 (*Escherichia-Shigella*) 丰度明显增加 ($P < 0.05$)，巨单胞菌属 (*Megamonas*) 丰度明显减少 ($P < 0.05$)；等待治疗组的劳特氏菌属 (*Blautia*) 丰度较健康组减少 ($P < 0.05$)。外骨骼组、等待治疗组的普雷沃菌属 (*Prevotella* 9) 和粪杆菌属 (*Faecalibacterium*) 丰度与健康组相比有降低的趋势，但无明显变化 ($P > 0.05$)。与等待治疗组相比，外骨骼组的志贺氏菌属丰度明显减少 ($P < 0.05$)。见图 19-22。

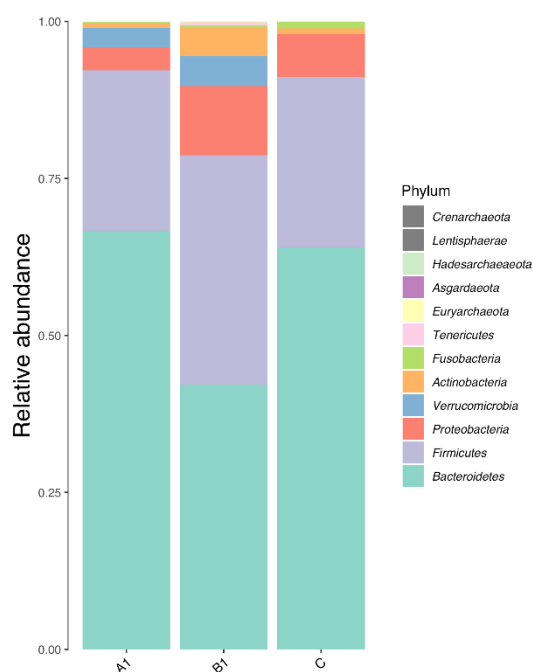


图 19 干预前三组门水平丰度比较

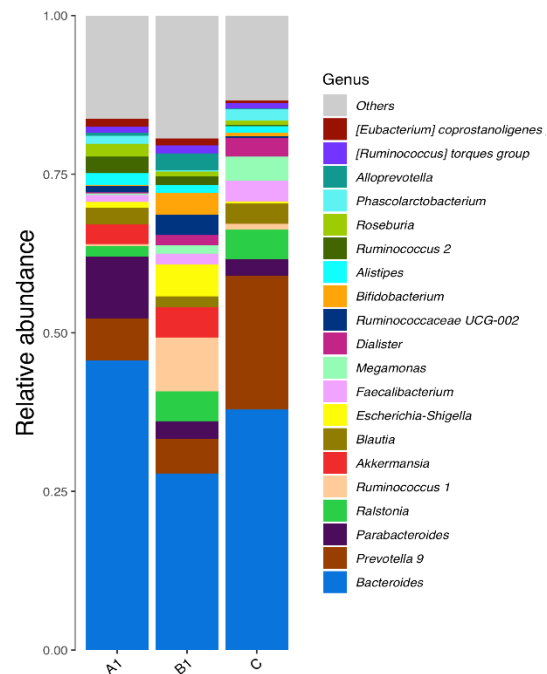


图 20 干预前三组属水平丰度比较

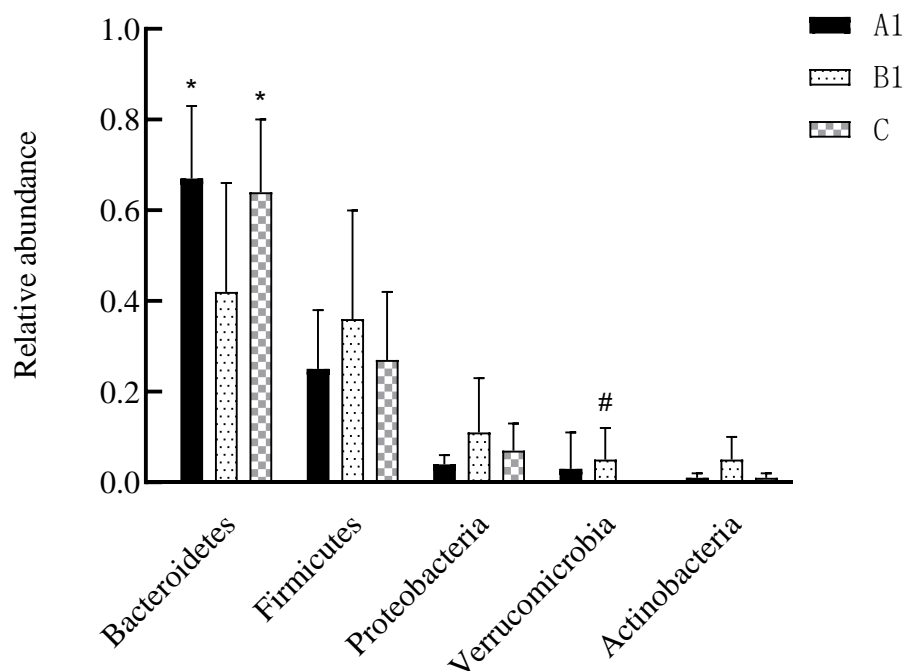


图 21 干预前三组受试者门水平丰度比较

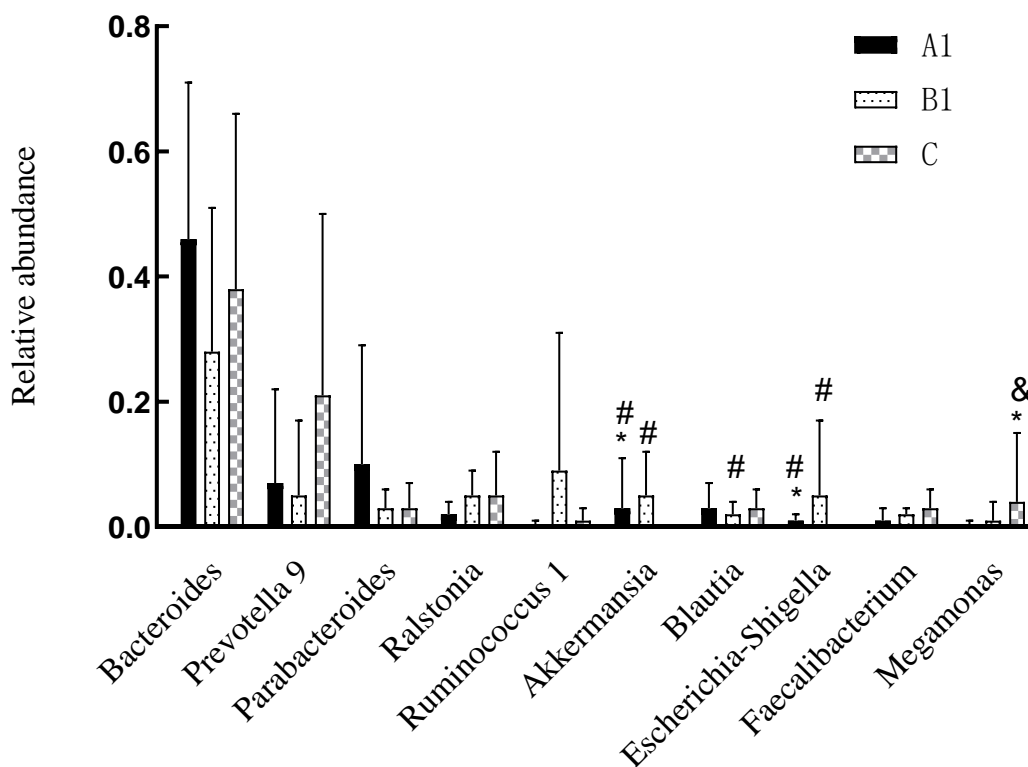


图 22 干预前三组受试者属水平丰度比较

注：A1 代表外骨骼组干预前，B1 代表等待治疗组干预前，C 代表健康组。*代表与等待治疗组相比 $P < 0.05$ ，&代表与外骨骼组相比 $P < 0.05$ ，#代表与健康组相比 $P < 0.05$ 。

(2) 干预前后外骨骼组肠道菌群差异组内比较

在门水平上，外骨骼组干预后的拟杆菌门、疣微菌门丰度较干预前有降低趋势，放线菌门、厚壁菌门、变形菌门丰度较干预前有增加趋势，但均无明显差异 ($P>0.05$)。

在属水平上，*Parabacteroides* 菌属、劳特氏菌属 (*Blautia*)、*Akkermansia* 菌属、拟杆菌属、瘤胃球菌属 2、普雷沃菌属 9 丰度较干预前有降低趋势，考拉杆菌属 (*Phascolarctobacterium*)、双歧杆菌属 (*Bifidobacterium*)、瘤胃球菌属 UCG-002、粪杆菌属、瘤胃球菌属 1、罗尔斯顿菌属 (*Ralstonia*) 较干预前有升高趋势，但均无明显差异 ($P>0.05$)。见图 23-26。

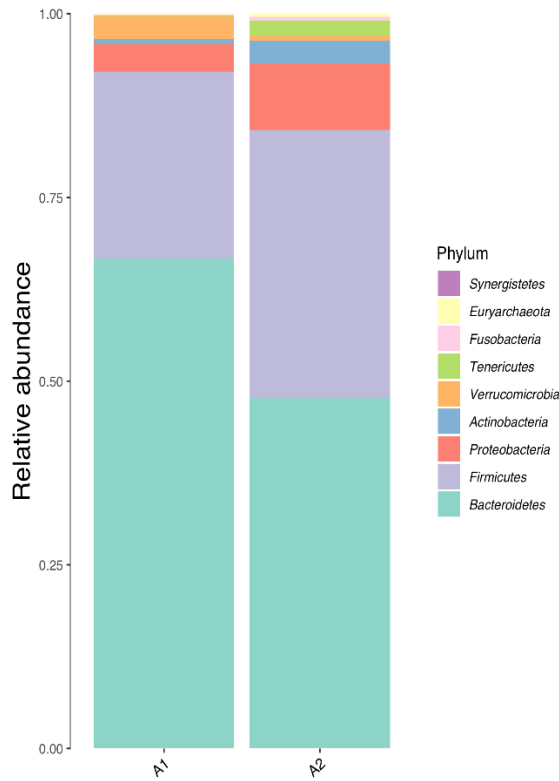


图 23 外骨骼组门水平丰度组内比较

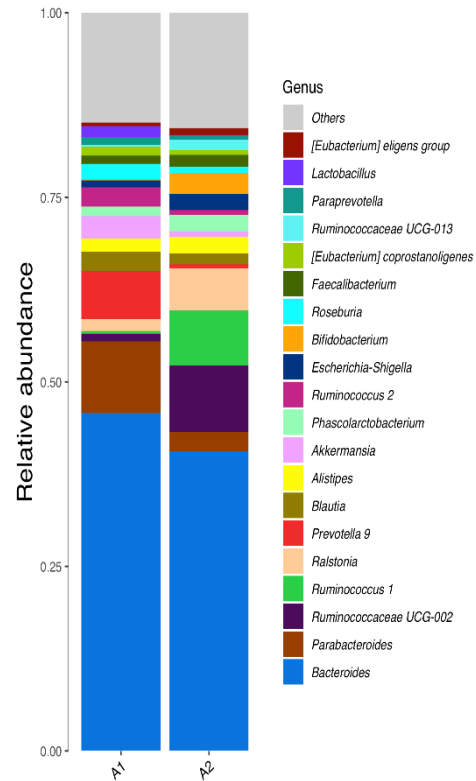


图 24 外骨骼组属水平丰度组内比较

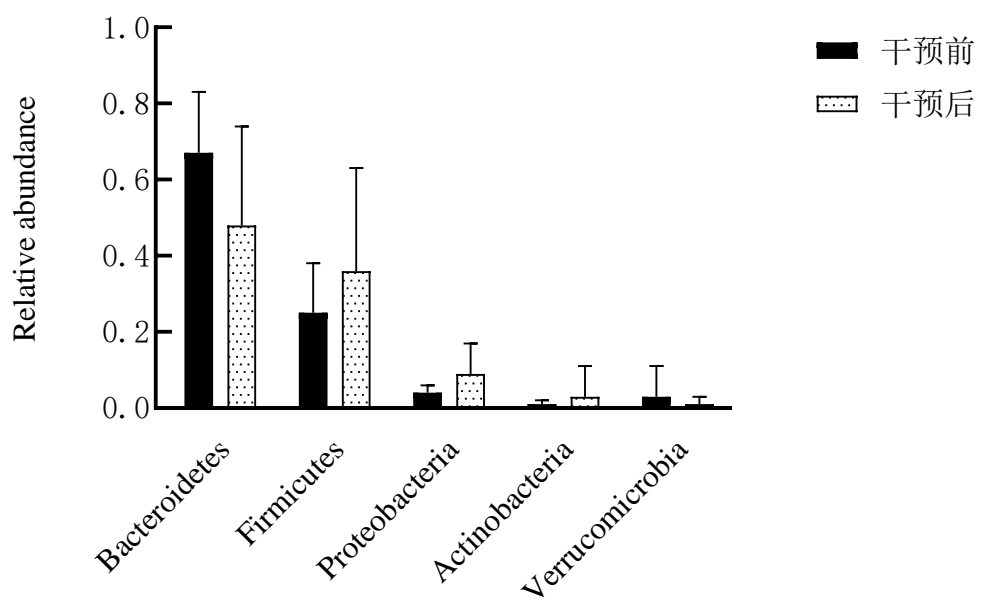


图 25 干预前后外骨骼组门水平丰度比较

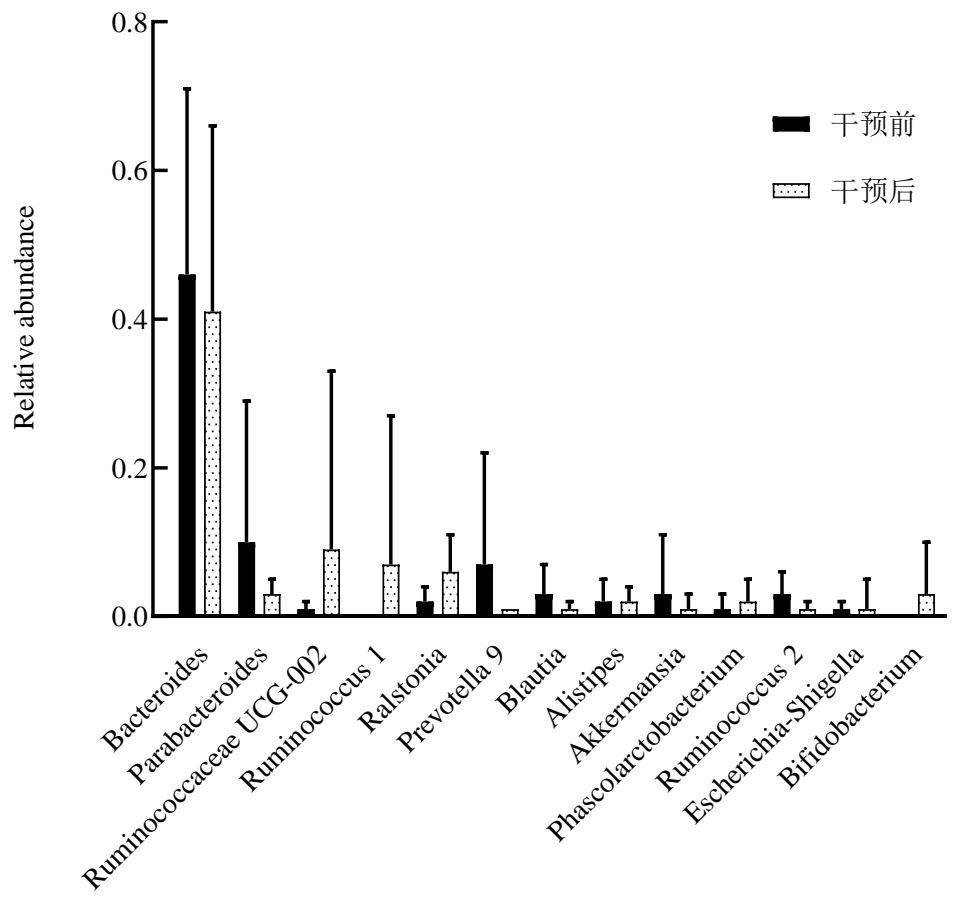


图 26 干预前后外骨骼组属水平丰度比较

(3) 干预前后等待治疗组肠道菌群差异组内比较

门水平上，等待治疗组干预后的疣微菌门、变形菌门丰度较干预前有降低趋势，厚壁菌门丰度比干预前有所增加，但均无明显差异 ($P>0.05$)。

属水平上，等待治疗组干预后的罗尔斯顿菌属 (*Ralstonia*)、*Akkermansia* 菌属相对丰度较干预前有降低趋势，瘤胃球菌属 UCG-002 相对丰度较干预前有增加趋势，但无统计学差异 ($P>0.05$)。见图 27-30。

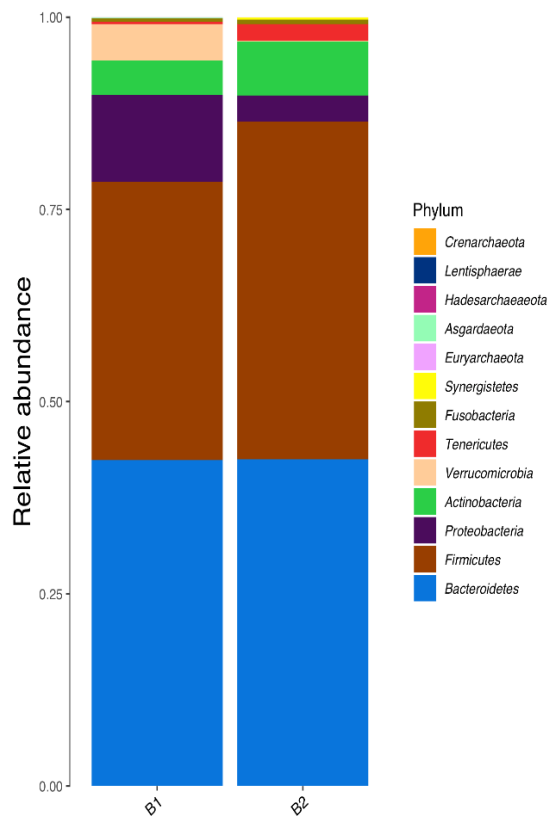


图 27 等待治疗组门水平丰度组内比较

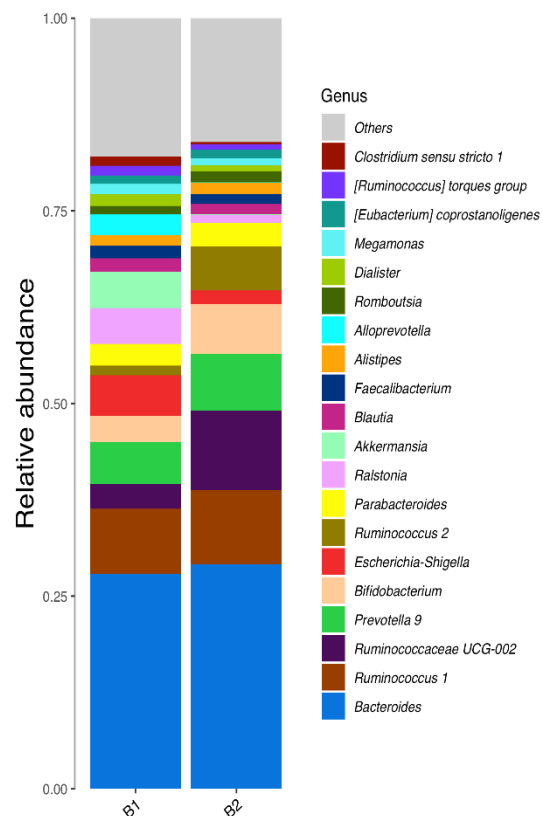


图 28 等待治疗组属水平丰度组内比较

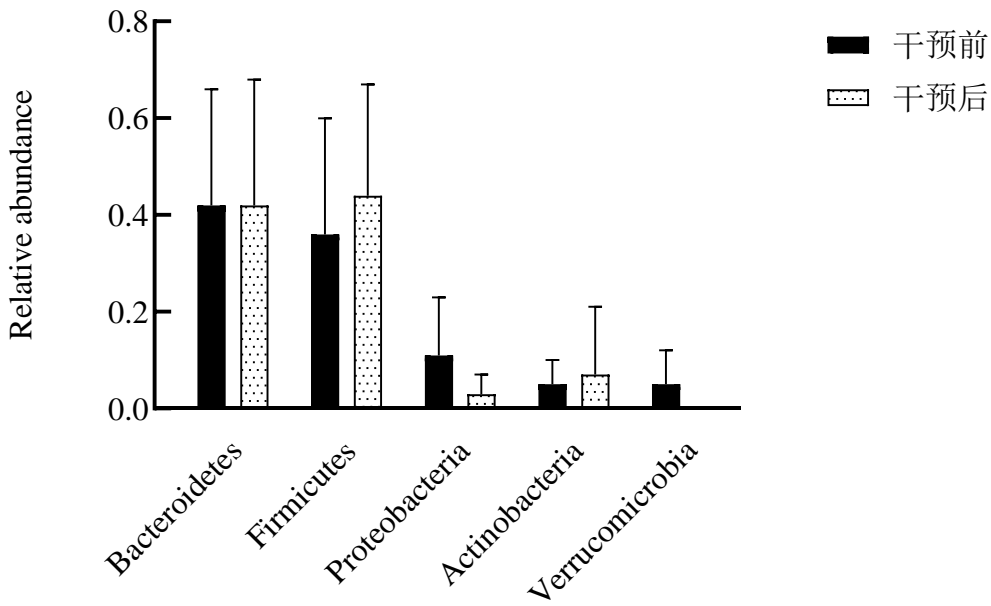


图 29 干预前后等待治疗组门水平丰度比较

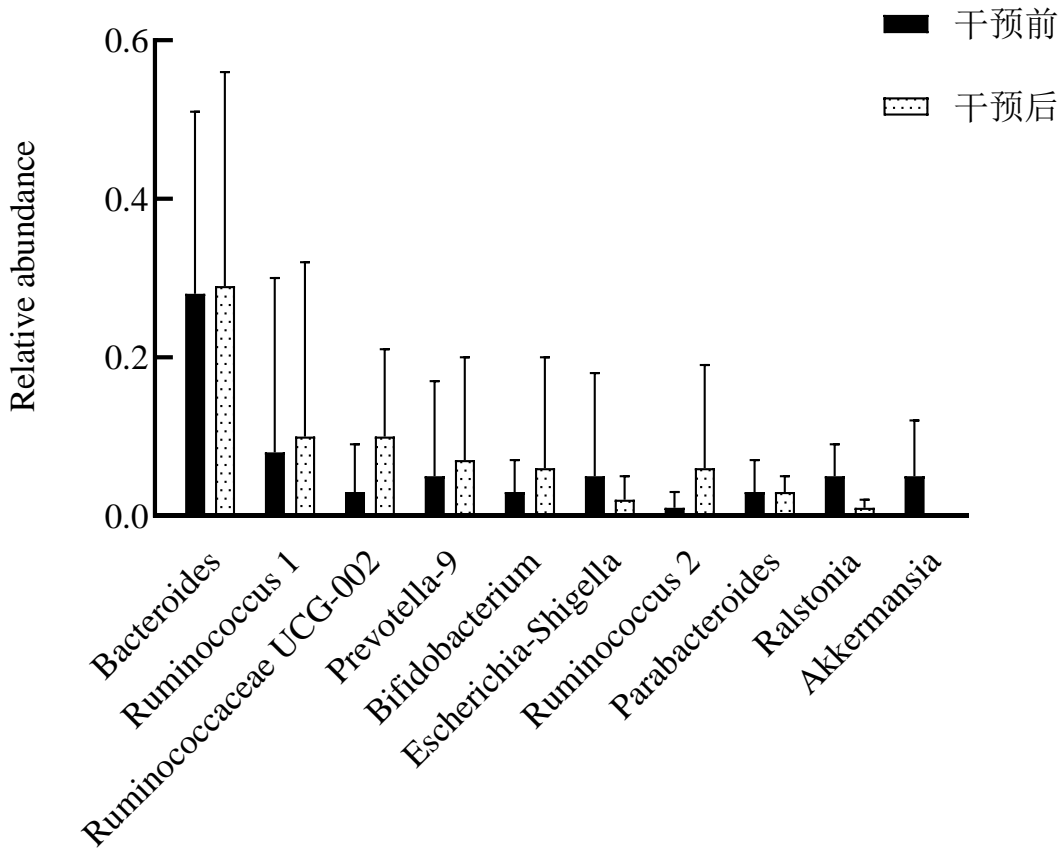


图 30 干预前后等待治疗组属水平丰度比较

(4) 干预后外骨骼组和等待治疗组肠道菌群差异组间比较

干预后，在门水平上，外骨骼组的拟杆菌门、厚壁菌门、放线菌门、软壁菌门（*Tenericutes*）和变形菌门丰度较等待治疗组无显著差异（ $P>0.05$ ）。

在属水平上，外骨骼组的罗尔斯顿菌属（*Ralstonia*）丰度较等待治疗组明显增高（ $P<0.05$ ），两组在瘤胃球菌属 UCG-002、拟杆菌属、双歧杆菌属、普雷沃菌属 9 等菌属中无明显差别（ $P>0.05$ ）。

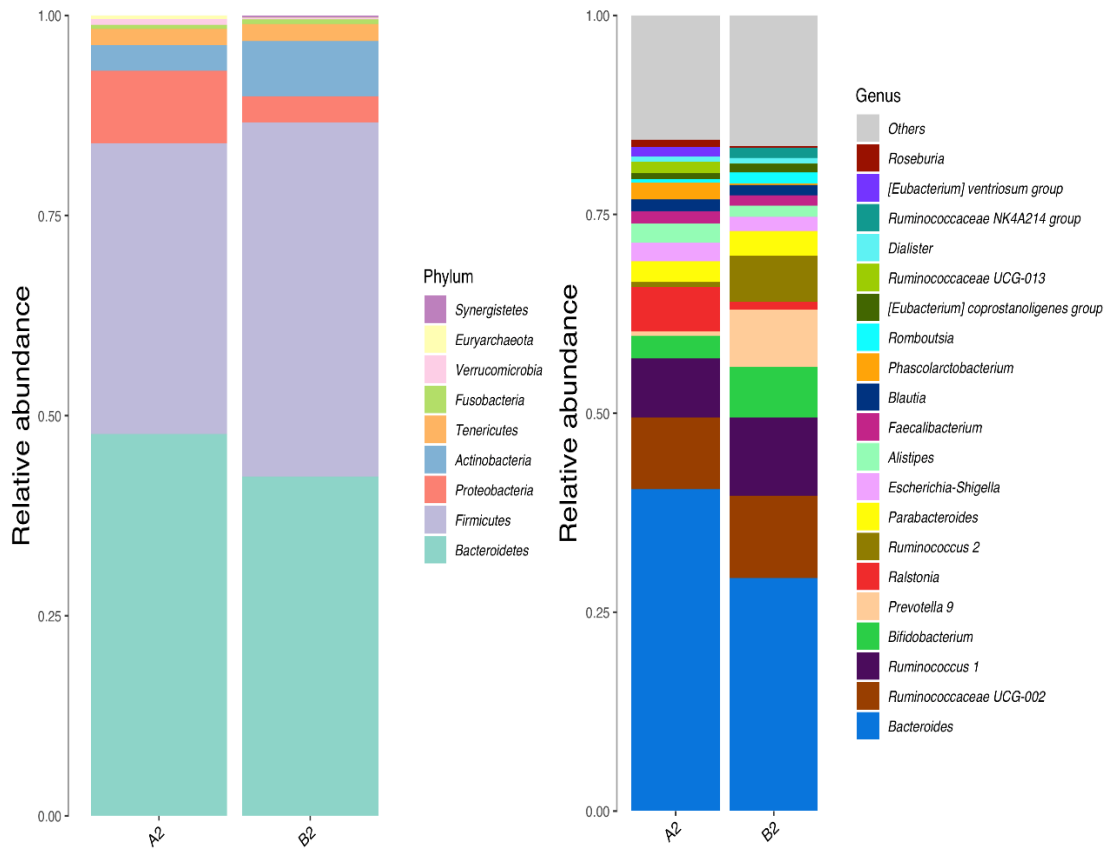


图 31 干预后两组门水平丰度组间比较

图 32 干预后两组属水平丰度组间比较

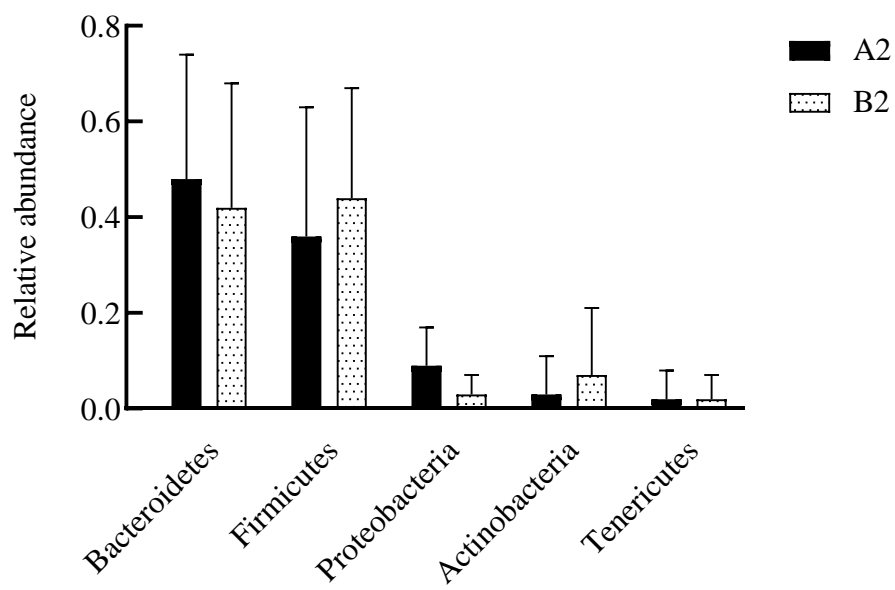


图 33 干预后两组门水平丰度比较

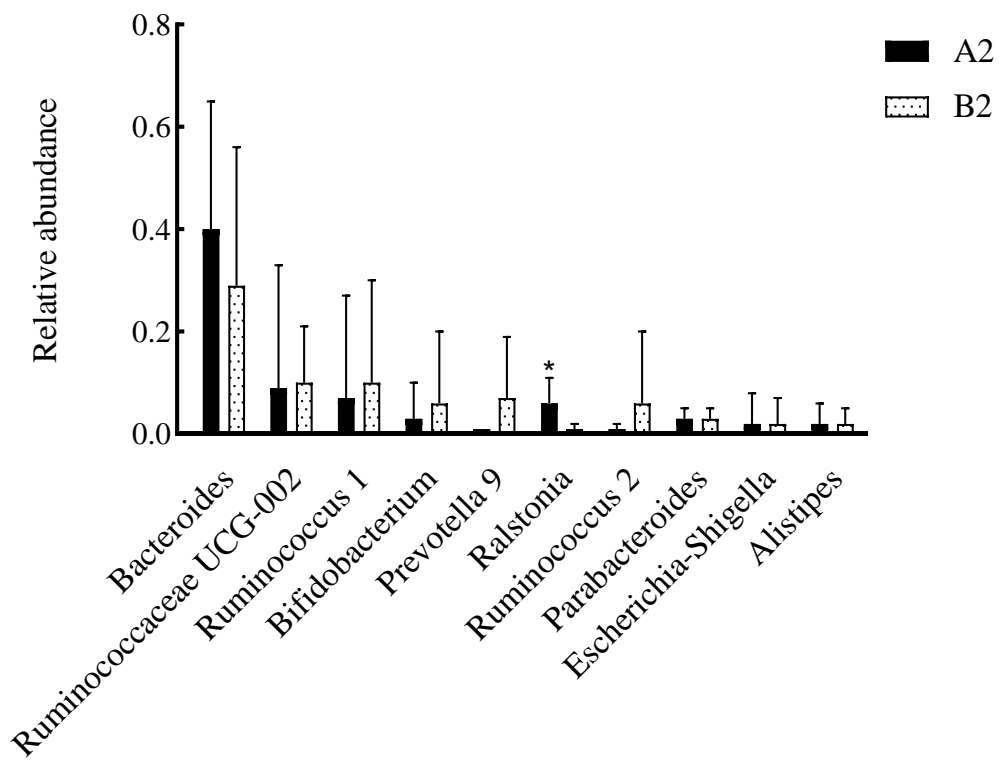


图 34 干预后两组属水平丰度比较

4.4.8 外骨骼组菌群结构与排便指标的相关性分析

选用 Spearman 秩相关计算属水平物种与排便指标的相关程度并进行显著性检验，本研究是将排便指标在样品中对应的值与 *Akkermansia* 菌属、粪杆菌属 (*Faecalibacterium*)、双歧杆菌属在样品中对应的丰度值进行相关性分析。结果显示如下：干预前，外骨骼组受试者的双歧杆菌属、*Akkermansia* 菌属、粪杆菌属与排便指标无显著相关性 ($P>0.05$)。干预后较干预前的差值分析发现，外骨骼组的双歧杆菌属差值与 Wexner 评分差值呈正相关，粪杆菌属差值与乳果糖使用差值呈负相关。见表 4-20 及表 4-21。

表 4-20 干预前外骨骼组肠道菌群与排便指标的相关性

指标	Bifidobacterium		Akkermansia		Faecalibacterium	
	r 值	P 值	r 值	P 值	r 值	P 值
Wexner 评分	0.446	0.268	0.155	0.713	-0.518	0.188
排便时间	0.261	0.532	-0.305	0.463	-0.014	0.974
排便频率	-0.126	0.766	0.000	1.000	0.504	0.203
开塞露	0.189	0.654	-0.175	0.678	0.050	0.906
手指辅助	0.383	0.349	0.178	0.673	-0.358	0.384
乳果糖	0.000	1.000	-0.195	0.644	-0.126	0.766
聚乙二醇 4000 散	0.187	0.657	0.321	0.438	-0.062	0.883
NBD 评分	-0.120	0.776	0.578	0.134	-0.639	0.088

表 4-21 干预前后外骨骼组肠道菌群差值与排便指标差值的相关性

指标	Bifidobacterium		Akkermansia		Faecalibacterium	
	r 值	P 值	r 值	P 值	r 值	P 值
Wexner 评分	0.719	0.045*	-0.012	0.978	-0.659	0.076
排便时间	0.481	0.227	-0.069	0.872	-0.385	0.346
排便频率	-0.274	0.512	-0.013	0.976	0.209	0.620
开塞露	0.218	0.604	0.463	0.280	-0.327	0.429
手指辅助	0.574	0.137	-0.143	0.735	-0.235	0.576
乳果糖	0.674	0.067	0.412	0.310	-0.770	0.025*
聚乙二醇 4000 散	0.327	0.429	-0.109	0.797	-0.109	0.797
NBD 评分	0.275	0.509	0.084	0.844	-0.263	0.528

注：差值为干预后数值减干预前数值；*代表菌群物种与排便指标具有显著相关性。

4.5 安全性评价

本试验各组受试者均未出现任何不良事件，外骨骼组也未发生摔倒、皮肤损伤/水泡、关节挛缩等与下肢步行外骨骼相关的不良事件。见表 4-22。

表 4-22 外骨骼组不良事件发生情况

不良事件	外骨骼组（人数）
摔倒	0
皮肤损伤/水泡	0
关节挛缩	0
局部感染	0
血压/心律异常	0

讨论

1. 试验方案的设计依据

1.1 SCI 受试者损伤节段的选择

脊髓损伤患者的排便障碍常被分为上运动神经元性（upper motor neuron, UMN）损伤和下运动神经元性（lower motor neuron, LMN）损伤。UMN 损伤是脊髓圆锥以上水平的损伤，从脊髓到结直肠、肛门的反射结构被完全保存，两者间的神经连接未受影响，排便初级中枢（S2-S4）依然能接收到大便刺激的信号传递，一旦肠壁受到充盈大便刺激，即引起反射性排便，但此排便活动不具备自主控制的能力，使随意性控制消失的肛门外括约肌长期处于收缩状态，致排便艰难，引发便秘，此时排便需手指辅助抠便或使用开塞露等润滑剂。LMN 损伤是指脊髓圆锥以下水平的损伤，导致脊髓和结直肠、肛门间的反射结构受到破坏，影响脊髓介导的排便反射活动，即便肠壁受到充足大便刺激，也不足以诱导排便，出现失反射肠道。此时主要由肌间神经丛单独协调的节段性肠蠕动将大便徐徐推入至乙状结肠，由于盆底肌和肛门外括约肌变得弛缓、脊髓排便反射无法诱出，导致大便失禁^[55-57]。同时有研究表明，UMN 与 LMN 的胃肠转运时间均显著增加，但两者间并无差异^[58]。本试验主要研究对象为脊髓损伤伴便秘患者，故选取脊髓圆锥以上水平损伤的 SCI 患者，同时受试者需符合便秘罗马IV诊断标准^[52]。此外，本试验使用的干预设备为下肢步行外骨骼，使用对象为双上肢功能正常、双下肢瘫痪的患者，最终本研究选择的 T2-L1 节段的 SCI 患者。

1.2 SCI 受试者损伤等级的选择

目前关于脊髓损伤分级与便秘严重程度的关系尚无统一定论，不同研究可能由于地域、研究方法学等原因使研究结果不一致。Liu 等发现 SCI 后的肠道症状与其 ASIA 分级呈正相关，ASIA 分级为 A 级的患者发生严重 NBD 的风险更高^[13]。王一吉等对纳入的 73 例 SCI 患者分类显示：轻度便秘中不完全性损伤占

比更大，但在 48 例重度便秘者中完全性损伤 26 例，不完全性损伤 22 例，差别不明显^[12]。同时亦有研究发现运动完全性 SCI 和运动不完全性 SCI 在结肠传输时间、泻药使用、排便频率、Wexner 评分等方面无明显差异^[14]。综上可知，SCI 患者的便秘严重程度与损伤程度的关系还未有明确的标准，而在日常生活中，相比运动不完全 SCI 患者，运动完全性 SCI 患者的功能障碍更严重，受到的生活限制更多；同时下肢步行外骨骼在脊髓损伤中的应用更多考虑为代偿作用，对患者的长远生活具有重要意义。因此选择运动完全性 SCI 患者更有研究价值。

1.3 SCI 受试者年龄及性别的选择

随着世界各国经济水平的飞速发展、全球人口老龄化，交通事故、高空坠落等意外增多，使 SCI 发病率逐年增高^[59,60]，而年龄及性别是其中无法忽视的因素。在中国，不同地区的男女比例存在明显差异。北京一项调查发现该院 1992 年至 2006 年收治的 1264 例 SCI 患者中男女比例为 3.98: 1，天津在 2004 年至 2011 年间男性 SCI 患病率为女性的 5 倍以上，近期李文选等对 2012 至 2019 年的 956 名 SCI 患者的分析显示男女比例为 2.34: 1，而上海在 2009 年至 2015 年间男女比例仅为 2.1: 1，明显低于其他地区。但整体结果显示中国 SCI 患者的男女比例为 3~4: 1^[61-64]。此外，本试验使用的外骨骼机器人设备尺寸更符合男性的身高体型，大部分女性由于骨架和体型较小，在穿戴外骨骼机器人步行时易出现不协调、不稳定的步态，对女性受试者可能存在安全隐患，故本试验考虑只纳入男性。各项调查显示，SCI 的发病年龄多在 20~60 岁区间，平均年龄呈不断增加趋势，其原因可能与青壮年多从事高危职业相关^[61,63,65]。因此本试验最终选择 20~60 岁的男性患者。

1.4 下肢步行外骨骼机器人的选择

实际生活中，对于运动完全性截瘫患者而言，其日常生活依然被轮椅所限制，出院回归家庭后因缺乏良好规律的综合康复训练极易引发或加重压疮、下肢血栓、肺部感染等并发症。而本试验所用的下肢步行外骨骼机器人对运动完全性损伤的 SCI 患者来说，更大的意义在于代偿/替代作用。患者回归家庭后可

通过穿戴下肢步行外骨骼机器人进行站立、行走，通过姿势的转换、步行能力的提升及运动量的增加可能有助于改善排便和肺功能等^[66-68]。加拿大的一项调查研究表明，在 126 名受试者中有 30% 的患者参加了长时间的站立以改善或保持健康^[69]。

当下，国内外人工智能康复均发展迅猛，从整体水平来看，国外康复机器人研发较早，设备材料品质较好，操作方便，功能全面，此外，适当的病情反馈与详细的康复训练指导也使医务工作者和病人更容易接受。而国内的外骨骼机器人由于研发起步时间较晚、相关材料技术水平较为落后，与国外设备存在显著差距。目前医院使用的设备多以国外机器人为主，但国外康复机器人的价格昂贵，以 Lokomat 机器人为例，其售价高达数百万人民币，而 2015 年推出的 Ekso Bionics Gt 外骨骼设备也需十万美元，这让大多数医疗机构和患者望而却步^[70]。本次临床试验中使用的外骨骼机器人为电子科技大学团队研发的下肢康复训练器，其采用的外骨骼机器人综合技术达到了国内领先水平，具有价格合理、适合我国临床需要的特点，并且可以弥补国内外骨骼产品的空缺，破除国外技术垄断^[71,72]。随着研究的深入，国内的康复机器人质量终会越来越好，有望减少病患家庭的经济压力，具有巨大的社会效益。同时，国产外骨骼机器人在脊髓损伤便秘方面的研究还未有文献报告，因此我们采用国产外骨骼机器人干预，观察其对 SCI 便秘患者的临床疗效，希望为 SCI 后便秘症状的治疗提供新思路。

2. ERAW 训练改善脊髓损伤患者便秘症状的分析

脊髓损伤的发生可使大脑与肠道神经间的通路受损，从而导致肠道动力降低，肛门直肠协同失调，腹肌、盆底肌等相关肌肉出现肌力减弱，可继发引起便秘、腹痛等症状。便秘在全球范围内的患病率为 15%^[73]，是临床常见病症，主要包括排便时间增加、排便困难、排空不完全和需辅助排便等症状^[74]。在中国，大约有 4%-10% 的人群患有慢性便秘，且逐年增加，年龄、性别、心理压力、饮食结构等均为便秘的高危因素^[15]。根据发病原因，慢性便秘分为原发性、继发性便秘。原发性便秘大部分由结肠神经肌肉功能障碍或肛门直肠感觉运动功能障碍所致，继发性便秘则与药物使用（如抗抑郁药、镇痛药）、器质性疾病（如脊髓损伤、脑卒中）等原因有关^[75,76]。脊髓损伤后由于神经通路和

反射调节障碍导致的便秘是继发性便秘的重要组成部分，也是困扰大部分 SCI 患者生活的重要原因^[9]。一项对 559 名脊髓损伤患者再住院的调查显示，一年有 11% 的患者因胃肠问题再次入院，仅次于肌肉骨骼和呼吸系统疾病，给患者日常生活带来了巨大影响，使其受到精神心理压力和高额医疗费用的双重困扰^[77]。Liem 等人在患病长达 20 年的 SCI 患者中发现有 47.9% 的受试者存在便秘，由此需要更多的日常生活帮助^[78]。越来越多的医护人员和患者开始关注 SCI 后的便秘问题，并尝试了饮食干预、药物治疗、手指辅助排便、腹部按摩和手术治疗等方法，得出了部分有效结果，但由于大多数研究规模较小且证据质量有限，因此有必要进一步探索新的或联合治疗方法^[79]。

目前运动对身体产生的益处得到了越来越多的认可。一篇关于肌肉力量训练与癌症发病率和死亡率相关的系统评价和 meta 分析研究共纳入了 1297620 例参与者，包括 32196 例病患和 31939 例死亡者，结果显示肌肉力量训练与肾癌发病率和癌症总死亡率的降低有关，结合有氧运动可能会产生更显著的效果^[80]。近期日本筑波大学研究团队发现，中强度持续训练、高强度间歇训练均可增强大鼠空间记忆和海马脑神经源性神经营养因子信号的表达，对大脑功能方面存在有益作用^[81]。同时运动疗法在心脏病、糖尿病、肥胖等疾病中亦可给人们带来健康益处^[82-84]。

此外，运动训练在缓解便秘症状方面亦是一种有效治疗方法，且运动不需要花费太多费用，仅通过日常规律、适度的锻炼也可达到意想不到的作用。在青少年及成人中发现长期久坐或体育锻炼缺乏与便秘的发生息息相关^[85]，同时 6 岁以下儿童的调查结果也显示体力活动与便秘发生率呈明显负相关性^[86,87]。运动训练已被证实可加强肠道蠕动，缩短结肠通过时间，改善便秘，而长期不运动可使便秘症状加重^[34]。2018 年发表的一篇关于运动疗法治疗肠道疾病的系统评价和 meta 分析，共筛选出 9 项随机对照试验，涉及 680 例受试者，其中八项研究与有氧运动（气功、步行和身体运动）有关，一项涉及无氧运动，分析表明运动显著缓解便秘相关症状，但结果具有较高偏倚风险^[88]。在一项临床试验中，研究者以脑卒中恢复阶段受试者为观察对象，随机分为运动组和对照组，运动组给予普通护理和 MOTO 智能运动锻炼，对照组给予普通护理，结果发现与对照组相比，运动组排便情况的临床疗效明显更好^[89]。此外，一项随机对照

试验纳入重度脑瘫患儿 22 例，随机分为对照组及试验组，对照组接受被动站立训练，试验组接受为 Hart Walker 装置步行训练，干预 6 个月后，与对照组相比，试验组的便秘现患率显著减少^[90]。综上可知，运动训练与便秘的发生发展具有密切关系，运动训练可改善继发性便秘的相关症状。

临床中，脊髓损伤患者常因肢体功能障碍，无法完成步行、站立等运动，造成机体功能下降，出现一系列的并发症，例如便秘。下肢步行外骨骼机器人作为一种辅助 SCI 患者步行的新型康复运动设备，目前广泛应用于脊髓损伤运动功能的研究中，其安全性已经得到诸多研究证实^[91,92]。

本试验结果表明 ERAW 训练能显著增加 LEMS 评分，改善患者肌力。与以往研究一致^[19, 21]，石芝喜等随机将 40 例颈胸段 ASIA 分级为 C-D 级的 SCI 患者分为常规组和试验组，两组分别接受常规运动训练和步行机器人训练，结果显示机器人步行训练可明显改善 C-D 级 SCI 患者的步行功能、提高 LEMS 得分^[21]；另一种外骨骼机器人 IHMC 也可帮助 SCI 患者实现行走，提高运动能力^[93]。此外，在另一项研究中，对慢性（>1 年）脊髓损伤受试者使用 ReWalk 2.0 动力外骨骼进行为期 12 周的 ReWalk 行走训练，并评估受试者的步行进展、坐姿平衡、皮肤感觉、痉挛和皮质脊髓束强度，从稳定性和摇摆速度的极限来看一些受试者的坐姿平衡得到了改善，神经性疼痛没有长期变化，从大脑到背部伸肌的运动通路的强度保持不变，痉挛的变化在训练前痉挛程度高和痉挛程度低的受试者之间存在差异，最终随着训练的进行，一些患者的功能得到了改善，特别是在不完全性脊髓损伤的患者中^[94]。为了研究 ERAW 训练对完全性 SCI 患者功能的影响，日本筑波大学 Cybernics 实验室以一名 19 岁的 C4 完全性 SCI 男子为研究对象，对其使用 HAL 外骨骼辅助的跑步机步行训练，共训练 10 次，每周 2 次，结果显示步行距离和时间从 25.2 米/7.6 分钟增加到 148.3 米/15 分钟，干预后的改良 Ashworth 量表分数也下降了，表明了 HAL 辅助的跑步机训练对慢性完全性脊髓损伤患者的运动功能具有益处^[95]；由美国团队研发设计的 Vanderbilt Exoskeleton 机器人可协助 SCI 患者完成起立、行走、上下台阶、蹲坐，并且 T10 节段的完全性 SCI 患者通过训练后，其起立行走出现了与正常人类似的行走步态；与膝踝足矫形器相比，使用 Vanderbilt Exoskeleton 时，受试者表现出更快的步态转换，步行期间速度的提高和运动量的减少更为显著^[96]。上述两项完全

性 SCI 患者试验均为单个病例的报告，虽然出现了明显的益处，但还需要更多的样本量进行验证。Karelis 等^[97]对五例非进行性创伤性完全性 SCI 患者使用 Ekso 外骨骼机器人进行 6 周干预（每周三次），干预后发现受试者腿部和四肢去脂体重显著增加，总脂肪量、腿部和四肢脂肪量减少，小腿肌肉横截面积显著增加；且胫骨的骨密度增加了 14.5%，但无统计学意义。而在一项使用本试验同型号外骨骼机器人的研究中，研究者将 18 例 SCI 受试者随机分为 ERAW 组和常规组，均接受 16 次 50-60 分钟的训练（4 周，4 次/周），并通过用力肺活量（FVC）、1 秒用力呼气量（FEV 1）等评估肺活动能力，结果显示 ERAW 组的 FVC、预测 FVC%和 FEV 1 的数值较常规组显著增加，表明 ERAW 具有对肺功能参数的潜在益处^[66]。以上研究总体表明下肢步行外骨骼机器人能使 SCI 患者在一定程度上摆脱过度依赖被动运动的状态，增加运动量，进而对 SCI 患者的运动功能、心肺功能及骨骼健康等具有明显益处。

本试验通过比较干预前后外骨骼组和等待治疗组的排便情况来观察国产外骨骼机器人辅助步行训练对 SCI 患者便秘症状的影响。本试验结果显示，与等待治疗组相比，ERAW 训练后外骨骼组开塞露使用支数减少更为显著；在乳果糖药物使用方面，外骨骼组在 ERAW 干预后出现了减少趋势，而等待治疗组的乳果糖使用显著增加，外骨骼组的开塞露和乳果糖使用减少说明该组受试者对排便药物的依赖性减轻了。与以往研究结果一致^[98]，Chun 等招募了 10 例 T1-T11 运动完全性 SCI 患者，使用以色列的 ReWalk 外骨骼机器人进行干预，10 名参与者在 10-12 周内完成了 25-63 次外骨骼机器人辅助步行训练，干预后有 5 名受试者报告泻药和/或大便软化剂使用减少。以上表明 ERAW 训练可改善 SCI 患者的便秘症状。

在排便频率、排便时间及手指辅助方面，本试验中的外骨骼组得分出现降低趋势，说明其便秘症状具有改善情况。Hubscher 等纳入 10 例平均病程为 4.4 年的慢性 SCI 患者，通过减重支持在跑步机上进行总计 80 次的运动训练（每次 1 小时），发现干预后患者的平均排便时间显著减少了^[99]。在 Chun 的研究中亦有受试者报告排便频率减少（5/10），排便事故减少（6/10）^[98]。另一项多中心、交叉、随机、对照试验纳入 50 例慢性（>6 月）SCI 受试者，随机分为两组，第一组先接受 ERAW 训练（使用设备为 ReWalk 和 Ekso GT 外骨骼机器人）共

12 周，每周 3 次，然后再过渡到常规活动训练，共 12 周，每周 3 次，第二组与第一组的训练安排相反，并通过 10 题肠功能调查问卷、布里斯托粪便分类法评估肠功能变化，结果显示 ERAW 后 24% 的 SCI 受试者减少了肠道计划所需时间，整体粪便形态趋于正常化，这项研究与 Chun 的结果有些差别，并未发现排便频率和排便事故方面的改善^[67]。而本试验同样仅发现改善的趋势变化，未得出显著性结果，但这无法否认 ERAW 训练对 SCI 便秘患者存在的积极影响。

在便秘评分方面，干预后，外骨骼组 NBD 评分出现降低趋势，等待治疗组 NBD 评分有所增加，但均无明显差异。干预后，外骨骼组和等待治疗组的 Wexner 便秘评分较干预前无明显改变。在一项回顾性分析中，使用 HAL Robot Suit 辅助 SCI 患者在跑步机上步行，并用克利夫兰评分系统评估便秘，结果显示急性组（<1 年）的克利夫兰评分具有下降趋势，但差异无统计学意义，所有患者和慢性组（>1 年）的克利夫兰评分均无明显变化，克利夫兰基线评分较高的患者似乎比轻度至中度评分的患者受益更多^[100]。本试验中所有受试者病程均为一年以内，与上述试验结果类似，在干预后均出现改善趋势。综上结果表明 ERAW 训练可在一定程度上改善肠功能。

本试验采用 WHOQOL-BREF 量表评估生存质量。与干预前相比，干预后外骨骼组该量表的生理、心理、社会关系三个领域的得分有增加趋势，但无明显差异。与以往研究一致，Gorman 等使用脊髓损伤生活质量（SCI-QOL）评估 ERAW 干预前后 SCI 受试者的肠道管理满意度，其分数越低表示越满意，结果显示 SCI-QOL 量表评分没有显著变化^[67]。但是在另一项研究中，SCI 患者使用 Ekso GT 机器人进行合计 8 周的训练（3 次/周），干预结束后发现慢性（>1 年）SCI 患者的生活满意度增加了，而在急性组（<1 年）中未出现这种变化^[101]。本试验纳入的受试者病程在 3 至 8 月之间，他们对肠道管理的熟悉程度较病程 1 年及以上患者可能更差，且由于受伤时间不长，对疾病恢复的期望值较高，这可能影响受试者的生存质量评分。

造成上述部分阴性结果的原因可能有：①样本量，受研究时间及研究经费限制，本试验共纳入脊髓损伤受试者 16 例，样本量较少。②干预频次，目前外骨骼机器人干预 SCI 的频次一般在 18-60 次之间，本试验共计干预 40 次，可能存在干预频次较少的原因。③研究对象问题，本试验选择的受试者为运动完全

性损伤的 SCI 患者，需长期使用轮椅，其运动功能较差，对肠道功能的影响可能较大，因此短时间的干预可能无法得出有效结果。这些原因是对本试验阴性结果的反思及推测，未来还需进一步研究，已证实上述原因对试验结果的影响。

3.脊髓损伤便秘患者肠道菌群的特征分析

人类肠道菌群是一个复杂庞大的群落，有100万亿的细菌分布在1000多个物种上^[102]，对机体多种生理活动具有重要影响，包括营养稳态、代谢、免疫等^[103,104]。影响肠道微生物结构的原因主要包括地理位置、宿主遗传学、饮食、抗生素及益生菌使用等^[105]。尽管肠道菌群存在于胃肠道中，但它们也可以离开胃肠道并定殖其他组织，在机体其他组织中引起反应。国内外多项研究发现脊髓损伤患者的肠道菌群结构出现改变，且与免疫功能和血脂水平存在关联，但相对全球庞大的脊髓损伤人群而言，当下的肠道菌群研究还远远不足以表征SCI 人群的标志^[106,107]。

本试验结果发现：与健康受试者相比，SCI受试者的Alpha多样性无明显改变，Beta多样性存在显著性差异。这与近期意大利研究团队发表的结果一致：肠道菌群测序报告显示健康人与SCI患者的Alpha多样性无显著差异、基于Bray-Curtis 距离的主坐标分析出现了显著分离^[108]。但是Zhang等发现与健康男性相比，完全性SCI患者肠道菌群的Alpha多样性显著降低及Beta多样性均出现明显分离^[30]；该团队又对完全性颈脊髓损伤患者单独进行分析，与健康组相比，SCI患者的ACE指数和Chao1指数无显著差异，Simpson指数显著降低；Beta多样性结果显示两组间肠道菌群结构存在明显差异^[106]。在对胸脊髓损伤患者的肠道菌群进行研究时，发现SCI患者的OTUs数、Shannon指数、PD指数显著低于健康个体，且完全性损伤受试者的OTUs数、Shannon指数与Pielou均匀度略微低于不完全性损伤，但无显著差异^[109]。此外，一项动物实验研究显示，与假手术组相比，T4损伤和T10损伤组成的SCI组的Alpha多样性显著降低及Beta多样性差异具有统计学意义，而T4组和T10组的Shannon指数未见明显差异，表明无论损伤水平高低的脊髓损伤均会破坏肠道菌群的物种多样性^[110]。上述研究结果显示SCI患者的Alpha多样性显著低于健康受试者，然而也有研究发现SCI患者的Alpha多样性出现增加。Li等研究显示急性脊髓损伤患者与健康人相比具有更高

的Alpha多样性，同本团队前期研究结果一致^[107,111]。综上发现，SCI后肠道菌群的多样性结果不一致，其可能是由于纳入的SCI受试者病程、损伤程度不同或受试者存在地区性差异，还需更多研究观察SCI患者肠道菌群多样性的特点。

在门水平上，本试验发现，与健康组相比，外骨骼组在疣微菌门丰度上有增加趋势，但无显著性；等待治疗组的拟杆菌门丰度明显减少、疣微菌门丰度显著增多。外骨骼组的拟杆菌门丰度较等待治疗组显著增加。这与另一项研究结果部分一致，其发现慢性完全性SCI患者的变形菌门、疣微菌门显著高于健康组^[30]。Yu等将完全性与不完全性SCI患者的肠道菌群特征进行比较，结果显示完全性SCI患者放线菌门和互养菌门（*Synergistetes*）显著富集，不完全性SCI患者的拟杆菌门、蓝藻菌门（*Cyanobacteria*）和变形菌门显著富集^[109]。此外，在动物实验中，Du等发现了T10SCI大鼠的厚壁菌门显著低于假手术组，T4和T10SCI大鼠的放线菌门显著高于假手术组^[110]。因此，SCI便秘患者门水平的肠道菌群与健康人群相比确实出现了显著改变，但不同的研究显著富集的物种存在不一致。

在属水平上，本试验发现，与健康者相比，SCI受试者的*Akkermansia*菌属、志贺氏菌属相对丰度显著升高，巨单胞菌属相对丰度显著减少；SCI等待治疗组的劳特氏菌属（*Blautia*）相对丰度较健康组减少。此外，与健康组相比，SCI患者的普雷沃菌属和粪杆菌属、戴阿利斯特杆菌属（*Dialister*）相对丰度呈降低的趋势，但无显著差别。本研究的结果大致与以往研究结果类似^[108]，与健康志愿者相比，SCI患者的*Akkermansia*菌属显著增加，粪杆菌属显著降低。Zhang等的研究显示SCI组中巨单胞菌属（*Megamonas*）、普雷沃菌属9、*[Eubacterium]-rectale-group*菌属、戴阿利斯特杆菌属（*Dialister*）和*Subdoligranulum*菌属的丰度显著低于健康男性组，拟杆菌属、*Lachnoclostridium*菌属、劳特氏菌属（*Blautia*）和志贺氏菌属的丰度显著高于健康男性组^[30]；但是该团队单独分析完全性颈脊髓损伤患者与健康受试者的物种分类差异时，发现SCI患者的粪杆菌属、巨单胞菌属、普雷沃菌属9较健康组低，而劳特氏菌属、志贺氏菌属和*Akkermansia*菌属在SCI患者中更为富集^[106]，两项分析所富集的菌属出现了一些差别；而本试验所选的受试者为T2-L1段的运动完全性SCI患者，也发现了志贺氏菌属和*Akkermansia*菌属显著增加、粪杆菌属的降低趋势，与该研究结果趋势一致。Gungor等在30例SCI受试者和10例健康受试者中使用

16S rRNA 检测肠道微生物，发现SCI患者的产丁酸菌属—罗斯氏菌属

(*Roseburia*) 和假丁酸弧菌(*Pseudobutyrvibrio*)减少，并且与肠道互作关系密切的戴阿利斯特杆菌属和巨单胞菌属亦减少了^[112]。本团队前期研究发现SCI组的梭杆菌属 (*Fusobacterium*) 丰度明显减少，瘤胃球菌属- torques group

([*Ruminococcus*] torques group)、志贺氏菌属、*Alistipes*菌属、*Parabacteroides*菌属、毛螺旋菌属 UCG-008 (*Lachnospiraceae* UCG-008) 等菌属的丰度明显增加^[108]。

综合本试验及其他研究发现，SCI后菌群丰度增加的物种主要涉及：放线菌门、变形菌门、疣微菌门、志贺氏菌属、劳特氏菌属、*Lachnoclostridium*菌属、拟杆菌属、毛螺旋菌属 UCG-008、*Akkermansia*菌属、*Alistipes*菌属、瘤胃球菌属和*Parabacteroides*菌属；肠道菌群丰度减少的物种主要包括：厚壁菌门、粪杆菌属、巨单胞菌属、普雷沃菌属9、*[Eubacterium]-rectale-group*菌属、戴阿利斯特杆菌属、*Subdoligranulum*菌属、假丁酸弧菌、罗斯氏菌属和梭杆菌属。可知，脊髓损伤后机体肠道菌群的结构特征显示出明显的改变，而这些变化可能使患者疾病症状加重或引发其他并发症。

4. ERAW 训练对脊髓损伤便秘患者肠道菌群影响的分析

SCI后细菌易位和菌群失调的发展可能导致各种合并症，如：抑郁、肥胖、肠易激综合征、心脏病、慢性疲劳综合征等，但目前这些合并症通常被归因于瘫痪或与SCI后适应生活相关的心理压力^[113]。脊髓损伤诱导的自主神经功能障碍如便秘可导致菌群失调并损害免疫功能，损害宿主防御，使其更易受到感染，而脊髓损伤后常见的重复或持续的抗生素使用和心理压力也会加剧自主神经功能障碍对肠道菌群的影响^[114,115]。已有研究证明益生菌通过各种机制影响肠粘膜稳态，包括平衡肠道菌群稳态，稳定肠上皮屏障功能，调节免疫反应^[116]；同时益生菌也被用于治疗SCI患者的尿路感染和腹泻等并发症^[117,118]。在SCI便秘的治疗中补充益生菌可能改善便秘症状。Madempudi等以功能性便秘患者为研究对象，随机分为益生菌组和安慰剂组，益生菌组每日服用凝结芽孢杆菌 Unique IS2，干预四周，结果显示益生菌组的自主排便频率、肠蠕动次数、粪便粘稠度均明显增加，可显著改善便秘症状^[119]。Barichella等为了评估益生菌和益

生元在帕金森便秘患者中的疗效，选取了120例帕金森便秘受试者，随机分为两组，分别接受发酵乳（含益生元、益生菌）和安慰剂，连续四周，每天一次，结果表明食用发酵乳的受试者其每周自主排便次数较安慰剂组增加，可改善帕金森患者的便秘^[120]。但是Dimidi等使用双歧杆菌 NCC2818时，发现其对轻度慢性便秘无效^[121]，这与其他益生菌研究效果不一致，可能是由于研究方法学的差异所致，不同研究在便秘的诊断、临床指标的评价、患者便秘的严重程度方面均可能存在差异，最终影响研究结果。为了更全面的表征益生元干预对人体微生物群的影响，研究人员对42例参与者进行随机、双盲、对照试验，分别以菊粉和安慰剂对受试者进行交叉试验，代谢组学分析发现食用菊粉并未使粪便代谢产物的分布发生显著变化，16S rDNA 基因扩增子测序结果发现双歧杆菌和厌氧菌的相对丰度增加，*Bilophila*菌属相对丰度减少，同时观察到*Bilophila*菌属丰度降低与软便和便秘特有生活质量衡量指标的有利变化有关^[122]。综上表明，调节肠道菌群可能是改善SCI便秘症状的新方向。

运动对肠道菌群的影响是一个新兴领域，部分研究证实运动、肠道菌群与便秘之间存在紧密关系。Song等研究发现运动量增加可使精神障碍伴便秘患者的肠动力增加、结肠通过时间缩短，这可能影响微生物的结构^[33]。在一些代谢性疾病（如肥胖和糖尿病）中发现运动训练可通过调节肠道菌群多样性和物种组成，抑制其发展进程，而这些疾病均可能诱发便秘^[123,124]。在长期缺乏运动的人群中，研究者发现其体内新陈代谢速率降低，粪便代谢产物中短链脂肪酸、丁酸盐和丙酸盐的含量较长期运动的人下降^[40]；而运动训练可增加产丁酸盐菌群的丰度，丁酸盐对肠粘膜和免疫反应具有保护作用，且丁酸钠已被证实可通过激活AKT/NF- κ B（Nuclear factor-kappaB，NF- κ B）通路促进Cajal间质细胞的增殖，以增加肠道运动^[37,125,126]。此外，研究发现便秘人群的肠功能紊乱，肠道菌群失调，与肠活动具有密切关系的产丁酸盐菌群减少，并可能通过其代谢产物及肠神经通路影响便秘进程^[31,127,128]。综上，运动训练可能通过调节肠道菌群结构，影响其代谢产物，以改善SCI便秘症状。

本试验采用的国产外骨骼机器人，是针对脊髓损伤患者的新型运动工具，可使SCI便秘患者增加步行训练。为了验证ERAW训练改善SCI患者便秘症状的机制是否与肠道菌群有关，本试验采用16Sr RNA高通量测序对干预前后外骨骼组和等待治疗组的肠道菌群进行分析。结果显示，干预后组间比较，外骨骼组

的罗尔斯顿菌属 (*Ralstonia*) 丰度与等待治疗组相比明显增加。目前对罗尔斯顿菌属的相关研究多在番茄、辣椒、烟草、茄科等植物方面, 导致青枯病^[129,130]。关于人体方面的研究相对较少, Hur等发现特应性角结膜炎患者的结膜微生物罗尔斯顿菌属显著低于健康对照组^[131], 而在哮喘和肺动脉高压患者的呼吸道微生物、溃疡性结肠炎及合并慢性肾病患者的肠道微生物中发现罗尔斯顿菌属显著高于健康对照组^[132-134]。此外, 罗尔斯顿菌属中的一个关键成员 *Ralstonia pickettii* 是一种机会性病原体, 在免疫功能低下时引发感染^[134,135]。Sun等发现伴或不伴2型糖尿病的牙周炎患者的唾液微生物中 *Ralstonia pickettii* 丰度增加, 有效控制血糖后, 伴发2型糖尿病的牙周炎患者的 *Ralstonia pickettii* 丰度降低^[136]。以上证据似乎表明罗尔斯顿菌属在宿主体内具有消极影响, 但任何一种细菌我们都不能仅以好细菌或坏细菌来定义, 在不同的疾病状态下其可能发挥不同效应, 而目前罗尔斯顿菌属与脊髓损伤、便秘的相关研究尚未有文献报道, 因此还需进一步研究证实其作用。

本试验发现, 干预后外骨骼组的 *Parabacteroides* 菌属、普雷沃菌属9、*Akkermansia* 菌属相对丰度较干预前有降低趋势, 瘤胃球菌属UCG-002、瘤胃球菌属1、双歧杆菌属、粪杆菌属较干预前有增加趋势, 但均无统计学差异。本试验重点关注与便秘关系密切的粪杆菌属、*Akkermansia* 菌属、双歧杆菌属。

研究发现粪杆菌属能够促进结肠转运, 其机制可能是由肠道菌群代谢色氨酸产生色胺, 而后激活结肠上皮细胞上的5-羟色胺 (5-hydroxytryptamine, 5-HT) 受体, 从而增加结肠分泌阴离子及液体分泌, 促进胃肠道转运^[137,138]。此外, 粪杆菌属可使肠道中丁酸浓度增加, 亦促进5-HT的产生, 抑制多巴胺的产生, 增强乙酰胆碱的释放, 这些共同作用会使肠道蠕动增加、结肠通过时间减少, 同时多巴胺被抑制后会导致吸水率降低, 使粪便含水量增加, 均可缓解便秘症状^[139-141]。在本试验中发现SCI受试者的粪杆菌属较健康受试者存在降低的趋势, 这可能导致机体结肠转运减慢, 影响排便; 而在ERAW干预后, 粪杆菌属出现了增加趋势。故ERAW训练改善SCI患者便秘症状的机制可能与增加粪杆菌属有关。

Akkermansia 菌属在移植便秘患者粪菌小鼠的肠道中显著增加, 可产生大量降解黏液样物质和肠粘蛋白的酶, 致大便干结, 加重便秘进展; 同时肠道血清素转运蛋白表达增加, 过多的5-HT被重新吸收, 小鼠肠道组织中5-HT水平减

少, 改变肠道运动, 破坏肠蠕动和肠粘膜屏障, 致使便秘症状加重^[142,143]。此外, 对SPF小鼠灌胃便秘人群粪便后, 发现小鼠肠道菌群多样性下降, 益生菌减少, *Akkermansia*菌属和拟杆菌属增加, 导致肠蠕动受损, 且发生便秘^[144]。本试验的结果同样显示SCI便秘患者的*Akkermansia*菌属较健康志愿者显著增加, ERAW干预后, 受试者的*Akkermansia*菌属出现下降趋势。因此ERAW训练可能通过减少*Akkermansia*菌属改善SCI患者的便秘症状。

有研究显示双歧杆菌可缓解洛哌丁胺诱导的小鼠便秘, 其机制可能是通过增高丙酸和丁酸的含量, 进而降低结肠pH, 使肠蠕动增强和结肠通过时间缩短^[32]。本试验结果发现ERAW干预后, 双歧杆菌属出现增加趋势。Erlandson等同样发现运动24周可使50-75岁老年人的双歧杆菌属显著增加^[145]。这与双歧杆菌属作为传统益生菌的作用一致^[146]。由此可知, ERAW训练亦可能通过调节双歧杆菌改善SCI患者便秘症状。

运动与人类健康之间的关系已被广泛研究, 并且运动对我们的健康做出了许多有益的贡献^[147]。但目前运动训练调节肠道菌群结构的研究依然较少, 在低、中、高强度的运动中, 谁对肠道菌群的调节更适宜也是未知之数。此外, 有研究发现运动对肠道菌群结构及身体成分的影响可能与运动开始的发育阶段有关, 运动使青少年跑步者的去脂体重持续增加, 并形成与适应性代谢相关的结构模式, 而上述变化在成年跑步者中未发现^[148], 这是否提醒我们在发育早期阶段开始运动可以获得更优更深远的益处。在本试验中, 外骨骼机器人步行训练对SCI受试者肠道菌群的影响有限, 只呈现了趋势变化, 这与Lamoureux等的研究结果一致^[149], 我们的结果不明显可能与强度及受试者的年龄段不同有关, 未来还需更多的相关研究加以验证。

5. ERAW 干预后肠道菌群物种结构与排便指标相关性的分析

本研究结果显示, 干预前, 外骨骼组的双歧杆菌属、*Akkermansia* 菌属、粪杆菌属与排便指标无显著相关性。在另一项研究中亦发现双歧杆菌属、*Akkermansia* 菌属、粪杆菌属与SCI患者的NBD评分和排便时间无显著相关^[30]。干预后较干预前的差值分析发现, 外骨骼组的粪杆菌属差值与乳果糖使用差值

呈负相关，双歧杆菌属差值与 Wexner 评分差值呈正相关。在轻度认知障碍、重度抑郁症和帕金森病等人群发现粪杆菌属降低^[150-152]，本试验结果发现 SCI 受试者的粪杆菌属较健康组出现下降趋势。粪杆菌属作为抗炎、产丁酸盐的细菌，其减少可能丧失抑制上皮炎症和保护肠道屏障的作用，对肠稳态不利^[153]。我们发现在 ERAW 干预后，受试者的粪杆菌属呈现了上升趋势，并且与乳果糖的使用减少呈负相关，其可能通过增加结肠转运时间和丁酸含量来缓解便秘相关症状^[39,137]。

Clarke 等^[154]将橄榄球运动员与高 BMI (>28) 健康男性相比，发现运动员的 *Akkermansia* 菌属明显较高，体育运动积极与不积极的女性中亦是如此^[155]。在肥胖、代谢性疾病、肝损伤中 *Akkermansia* 菌属表现出明显的有益作用，这似乎预示着 Akk 菌的下一代益生菌地位^[156-158]。然而，Yang 等发现 *Akkermansia muciniphila* 的给药可加重高硬脂酸饮食小鼠的急性移植物抗宿主病的相应症状^[159]。此外，神经病学领域的多项研究发现受试者肠道中的 *Akkermansia* 菌显著富集，并与诱导促炎反应有关，这些研究涉及了帕金森病、多发性硬化及阿尔茨海默症^[160-162]。本试验亦发现 SCI 患者的 *Akkermansia* 菌属较健康组显著增加。但是近期发表的一项报告发现，从多发性硬化患者中分离的 *Akkermansia* 可改善实验性自身免疫性脑脊髓炎小鼠的炎症反应，作者认为 *Akkermansia* 升高可能是多发性硬化患者微生物群的一种补偿性有益反应^[163]。对于 *Akkermansia* 菌属在机体中到底是有益还是有害，根据目前的研究还无法定论，其受宿主、微生物其他菌株、遗传背景、环境及疾病状态等多方面的影响，不能将其单一的认定为是有害菌或有益菌，需从整体角度考虑^[164]。以往研究证实 *Akkermansia* 菌属可加重便秘症状^[142,144]，为期六周的耐力运动减少了久坐超重女性的 *Akkermansia* 菌属^[165]。本试验虽然并未发现 *Akkermansia* 菌属与 SCI 患者排便指标的相关性，但 ERAW 干预后出现了 *Akkermansia* 菌属的降低趋势。

双歧杆菌作为益生菌的作用得到了诸多研究的证实。Khalif 等发现便秘人群的双歧杆菌减少，使用双歧杆菌后可使便秘症状得到减轻^[31,32]。然而有研究发现便秘患者与非便秘患者相比，其传统益生菌乳酸杆菌和双歧杆菌并未减少^[166,167]，本试验中干预前外骨骼组的双歧杆菌与健康组也无明显差异。这些矛盾的结果可能与研究方法及人群的差异有关，Deschasaux 等对同一城市不同种

族的人群进行分析，发现种族对肠道菌群差异具有很大影响，且与代谢健康状况无关^[168]。一项 Meta 分析报告使用至少 2 种以上的益生菌可显著改善大便硬度及腹胀情况，单独使用双歧杆菌达不到此效果，这可能需要我们反思双歧杆菌对便秘的治疗效果^[169]。我们的结果发现 ERAW 干预后，外骨骼组的双歧杆菌出现增加趋势，但相关性分析结果显示干预前后的双歧杆菌变化与 Wexner 评分变化呈正相关，这可能与双歧杆菌通过降低粪便含水量以改善腹泻有关^[170]，这个过程是否会对便秘产生作用，还需进一步验证。因此，本试验中 ERAW 干预通过增加双歧杆菌属改善便秘症状的机制还有待深入研究。

综上，ERAW 训练对 SCI 便秘患者肠道功能的改善具有一定作用，并可调节与便秘相关的肠道菌群丰度，我们推测：ERAW 训练可能通过调节肠道菌群的组成进而减轻 SCI 便秘患者的临床症状。未来的工作还需进一步确认运动引起菌群变化是否为改善便秘的主要因素，而这个作用可能不是单一由菌群决定，宿主的新陈代谢和细菌间的相互作用都会对研究产生影响，差异物种与理化指标的相关性只是起到引导作用，还需要更严谨及全面的代谢组学、宏基因组学等分析方法来对详细机制进行研究。

结论

1. ERAW 训练可有效减少 SCI 便秘患者开塞露的使用数量，在排便时间、排便频率、手指辅助等肠功能方面具有潜在益处，且无不良事件发生。
2. ERAW 训练改善 SCI 患者便秘症状的机制可能与粪杆菌属、*Akkermansia* 菌属有关。

问题与展望

脊髓损伤是当今世界面临的重大医学难题，尤其是运动完全性 SCI，目前尚无有效的治疗手段。外骨骼作为治疗 SCI 的代偿/替代疗法，其安全性已得到诸多研究证实，且在步行功能方面的改善也有报道，但目前对于 SCI 后便秘及肠道菌群的研究仍不多见，值得进一步的探索。本课题着眼于下肢步行外骨骼机器人应用于 SCI 便秘患者，实现康复治疗与日常活动的结合，帮助康复团队以尽可能少的人为干预有效地完成任务，减轻康复治疗师的压力，推动下肢步行外骨骼机器人在 SCI 中的发展，同时也为 SCI 患者提供一种新的康复方式。

问题：

- (1) 受研究时间及肠道菌群检测的影响，致使本试验的样本量可能较少。
- (2) 因受试者住院周期影响，致使受试者干预时间偏短，未进行长期疗效的评价。
- (3) 受研究时间及研究经费限制，本试验未设置其他帮助站立、增加运动的干预方法作为等待治疗组，且未进行肠道菌群相关的基因组学方面的印证。

展望：

- (1) 进一步扩大样本量，并对运动不完全性损伤的 SCI 患者进行研究，全面观察 ERAW 训练对 SCI 患者的治疗效果。
- (2) 下一步的工作将研究对象扩展为外骨骼机器人家庭用户，观察长期维持训练对 SCI 患者的影响。
- (3) 可设置其他帮助站立、增加运动的训练方法（如髁膝踝足矫形器）作为等待治疗组，进一步验证 ERAW 训练与其他方法对 SCI 患者的治疗情况。
- (4) 采用宏基因组学等方法观察 ERAW 干预后 SCI 患者肠道菌群基因层面的变化，深入探索 ERAW 通过调节肠道菌群缓解 SCI 便秘的可能机制。

致谢

值此论文完成之时，内心感触良多，十分幸运遇到诸多良师诤友，感谢你们给予的支持和关心。

感谢我的导师张安仁教授，老师丰富的学识、一丝不苟的工作态度和严谨的科研精神让我受益匪浅，在我心中树立了一个清晰的科研者形象。感谢老师的耐心指导，让我在学习道路上始终沿着正确的方向前进，高山仰止，师恩难忘，在今后人生道路上我将不忘您的教诲，砥砺前行。

感谢西部战区总医院康复科王文春老师、庞日朝老师、刘建成老师、白新刚老师、苟翔老师，感谢你们对我课题的指导与帮助，在课题的撰写、实施、分析方面提出了众多宝贵建议，感谢你们在生活中对我们的照顾与关心。感谢赵小华、李杰、汪俊宇、周蕊寒等师兄师姐对我的帮助与支持。感谢同门王丽群、叶佳美、王静怡对我的陪伴、鼓励与帮助，三年以来，感恩有你。感谢尹杰、冯婧、周小珏、常聪、岑秋宇、魏娟芳、崔艳如、王琳杰师弟师妹们对我的鼓励与帮助。

感谢四川省八一康复中心刘雅婷老师、曹恒老师、舒新川老师、苑杰华老师、吕小洋老师、李文杰老师对本试验的支持与帮助。感谢成都顾连锦宸康复医院王倩老师、江玥老师、刘畅老师、周超老师、李雨芳老师、曾祥斌老师、咎鑫老师、张天香老师对本试验的支持与帮助。

感谢我的家人对我一如既往的支持、关心、帮助与鼓励，让我在三年的学习生涯中可以毫无后顾之忧的学习，谢谢你们。

感谢成都中医药大学对我的培养，感谢养生康复学院所有老师和同学的帮助。感谢所有参与我的论文答辩及评审的各位老师！

由衷感谢所有关心支持我的老师、家人、朋友、同学，谢谢你们一直以来的帮助与鼓励。

感谢四川省科技计划项目（2020YFS0168）对本试验的资助！

参考文献

- [1] 李建军, 杨明亮, 杨德刚, 等. “创伤性脊柱脊髓损伤评估、治疗与康复”专家共识[J]. 中国康复理论与实践, 2017, 23 (03): 274-287.
- [2] Nas K, Yazmalar L, Şah V, et al. Rehabilitation of spinal cord injuries[J]. World J Orthop, 2015, 6 (1): 8-16.
- [3] Courtine G, Sofroniew M V. Spinal cord repair: advances in biology and technology[J]. Nat Med, 2019, 25(6): 898-908.
- [4] Spinal Cord Injury (SCI) 2016 Facts and Figures at a Glance[J]. J Spinal Cord Med, 2016, 39(4): 493-494.
- [5] 吴周睿, 朱元贵, 程黎明, 等. 脊髓损伤与修复的关键科学问题[J]. 中国科学基金, 2013, 3: 137-153.
- [6] Chen C Y, Chuang T Y, Tsai Y A, et al. Loss of Sympathetic Coordination Appears to Delay Gastrointestinal Transit in Patients with Spinal Cord Injury[J]. Digestive Diseases and Sciences, 2004, 49(5): 738-743.
- [7] McDonald JW, Sadowsky C. Spinal-cord injury[J]. Lancet, 2002, 359: 417-425.
- [8] Lynch A C, Frizelle F A. Colorectal motility and defecation after spinal cord injury in humans.[J]. Progress in Brain Research, 2006, 152(6): 335-343.
- [9] Faaborg PM, Finnerup NB, Christensen P, et al. Abdominal pain: a comparison between neurogenic bowel dysfunction and chronic idiopathic constipation [J]. Gastroenterol Res Pract, 2013, 2013: 365037
- [10] Faaborg PM, Christensen P, Rosenkilde M, et al. Do gastrointestinal transit times and colonic dimensions change with time since spinal cord injury? [J]. Spinal Cord, 2011, 49(4): 549-553.
- [11] Kanda Y, Hashiramoto M, Shimoda M, et al. Dietary restriction preserves the mass and function of pancreatic β cells via cell kinetic regulation and suppression of oxidative/ER stress in diabetic mice[J]. J Nutr Biochem, 2015, 26(3): 219-226.
- [12] 王一吉, 周红俊, 刘根林, 等. 脊髓损伤患者不同便秘程度结肠通过时间比较[J]. 中国康复理论与实践, 2019, 25(01): 86-89.
- [13] Liu C, Huang C, Chen C, et al. Prediction of severe neurogenic bowel dysfunction in persons with spinal cord injury[J]. Spinal Cord, 2010, 48(7): 554-559.
- [14] Valles M, Mearin F. Pathophysiology of bowel dysfunction in patients with motor incomplete spinal cord injury: comparison with patients with motor complete spinal cord injury.[J]. Dis Colon Rectum, 2009, 52(9): 1589-1597.
- [15] 中华医学会消化病学分会胃肠动力学组, 功能性胃肠病协作组. 中国慢性便秘专家共识意见[J]. 中华消化杂志, 2019, 39(9): 577-598.
- [16] Włodarczyk J, Waśniewska A, Fichna J, et al. Current Overview on Clinical Management of Chronic Constipation[J]. J Clin Med, 2021, 10(8): 1738.

- [17] Akdogan E, Arif M. The design and control of a therapeutic exercise robot for lower limb rehabilitation: Physiotherabot[J]. Mechatronics, 2011, 21: 509-522.
- [18] Sale P, Russo E F, Scarton A, et al. Training for mobility with exoskeleton robot in spinal cord injury patients: a pilot study[J]. Eur J Phys Rehabil Med, 2018, 54(5): 745-751.
- [19] Tefertiller C, Hays K, Jones J, et al. Initial Outcomes from a Multicenter Study Utilizing the Indego Powered Exoskeleton in Spinal Cord Injury[J]. Top Spinal Cord Inj Rehabil, 2018, 24 (1): 78–85.
- [20] Escalona M J, Brosseau R , Vermette M , et al. Cardiorespiratory demand and rate of perceived exertion during overground walking with a robotic exoskeleton in long-term manual wheelchair users with chronic spinal cord injury: A cross-sectional study.[J]. Ann Phys Rehabil Med, 2018, 61(4): 215-223.
- [21] 石芝喜, 刘明俭, 蔡朋, 等. 下肢步行机器人用于 C-D 级脊髓损伤患者步行训练的疗效研究[J]. 中国康复医学杂志, 2018, 33(01): 96-98.
- [22] 郭素梅, 李建民, 吴庆文, 等. 机器人步态训练对不完全性脊髓损伤患者肌肉及步行功能的影响[J]. 中国康复医学杂志, 2012, 27 (4): 360-363.
- [23] Torres J, Hu J, Seki A, et al. Infants born to mothers with IBD present with altered gut microbiome that transfers abnormalities of the adaptive immune system to germ-free mice[J]. Gut, 2019.
- [24] Blanton LV, Charbonneau MR, Salih T, et al. Gut bacteria that prevent growth impairments transmitted by microbiota from malnourished children[J]. Science, 2016, 351 (6275).
- [25] Petersen C, Bell R, Klag K A, et al. T cell–mediated regulation of the microbiota protects against obesity[J]. Science, 2019, 365(6451).
- [26] Erny D, Prinz M. Microbiology: Gut microbes augment neurodegeneration[J]. Nature, 2017, 544(7650): 304-305.
- [27] Kigerl KA, Hall JC, Wang L, et al. Gut dysbiosis impairs recovery after spinal cord injury[J]. J Exp Med, 2016, 213(12): 2603–2620.
- [28] Balzan S, de Almeida Quadros C, de Cleva R, et al. Bacterial translocation: overview of mechanisms and clinical impact[J]. J Gastroenterol Hepatol, 2007, 22: 464-471.
- [29] Lin X, Liu Y, Ma L, et al. Constipation induced gut microbiota dysbiosis exacerbates experimental autoimmune encephalomyelitis in C57BL/6 mice[J]. J Transl Med, 2021, 19(1): 317.
- [30] Zhang C, Zhang W, Zhang J, et al. Gut microbiota dysbiosis in male patients with chronic traumatic complete spinal cord injury[J]. J Transl Med, 2018, 16(1): 353.
- [31] Khalif I, Quigley E M, Konovitch E A, et al. Alterations in the colonic flora and intestinal permeability and evidence of immune activation in chronic constipation[J]. Digestive and Liver Disease, 2005, 37(11): 838-849.

- [32] Wang L, Hu L, Xu Q, et al. Bifidobacterium adolescentis Exerts Strain-Specific Effects on Constipation Induced by Loperamide in BALB/c Mice[J]. Int J Mol Sci, 2017, 18(2).
- [33] Song B K, Kim Y S, Kim H S, et al. Combined exercise improves gastrointestinal motility in psychiatric in patients[J]. World J Clin Cases, 2018, 6(08): 51-57.
- [34] Kim Y S, et al. Aerobic exercise improves gastrointestinal motility in psychiatric inpatients[J]. World J Gastroenterol, 2014, 20(30): 10577-10584.
- [35] Bilski J, Mazurbialy A I, Magierowski M, et al. Exploiting Significance of Physical Exercise in Prevention of Gastrointestinal Disorders[J]. Current Pharmaceutical Design, 2018, 24(18): 1916-1925.
- [36] Welly RJ, Liu TW, Zidon TM, et al. Comparison of diet versus Exercise on metabolic function & gut microbiota in obese rats [J]. Med Sci Sports Exerc, 2016, 48(9): 1688-1698.
- [37] Evans CC, Lepard KJ, Kwak JW, et al. Exercise prevents weight gain and alters the gut microbiota in a mouse model of high fat diet-induced obesity [J]. PLoS One, 2014, 9(3): e92193.
- [38] Allen JM, Mailing LJ, Cohrs J, et al. Exercise training-induced modification of the gut microbiota persists after microbiota colonization and attenuates the response to chemically -induced colitis in gnotobiotic mice[J]. Gut Microbes, 2018, 9(2): 115–130.
- [39] Allen J M, Mailing L J, Niemi G M, et al. Exercise Alters Gut Microbiota Composition and Function in Lean and Obese Humans.[J]. Med Sci Sports Exerc, 2018, 50(4): 747-757.
- [40] Barton W , Penney N C , Cronin O , et al. The microbiome of professional athletes differs from that of more sedentary subjects in composition and particularly at the functional metabolic level[J]. Gut, 2018, 67(4): 625-633.
- [41] Cronin O, Barton W, Skuse P, et al. A Prospective Metagenomic and Metabolomic Analysis of the Impact of Exercise and/or Whey Protein Supplementation on the Gut Microbiome of Sedentary Adults[J]. mSystems, 2018, 3(3): e00044-18.
- [42] 于春霞, 刘素娟, 傅力. 运动调节肠道菌群改善机体代谢机制研究进展[J]. 生理科学进展, 2018(4): 315-318.
- [43] Kolakowsky-Hayner SA, Crew J, Moran S, et al. Safety and feasibility of using the EksoTM bionic exoskeleton to aid ambulation after spinal cord injury.[J].Spine, 2013, 2: S4–003.
- [44] Bortole M, Venkatakrishnan A, Zhu F, et al. The H2 robotic exoskeleton for gait rehabilitation after stroke: early findings from a clinical study.[J].Neuroeng Rehabil, 2015, 12: 54.
- [45] Xiang X N, Ding M F, Zong H Y, et al. The safety and feasibility of a new rehabilitation robotic exoskeleton for assisting individuals with lower extremity

- motor complete lesions following spinal cord injury (SCI): an observational study[J]. *Spinal Cord*, 2020, 58(7): 787-794.
- [46] Gotoda T, Takano C, Kusano C, et al. Gut microbiome can be restored without adverse events after *Helicobacter pylori* eradication therapy in teenagers[J]. *Helicobacter*, 2018, 23(6): e12541.
- [47] Guanziroli E, Cazzaniga M, Colombo L, et al. Assistive powered exoskeleton for complete spinal cord injury: correlations between walking ability and exoskeleton control[J]. *Eur J Phys Rehabil Med*, 2019, 55(2): 209-216.
- [48] Escalona MJ, Brosseau R, Vermette M, et al. Cardiorespiratory demand and rate of perceived exertion during overground walking with a robotic exoskeleton in long-term manual wheelchair users with chronic spinal cord injury: A cross-sectional study[J]. *Ann Phys Rehabil Med*, 2018, 61(4): 215-223.
- [49] Bar-Yoseph H, Carasso S, Shklar S, et al. Oral Capsulized Fecal Microbiota Transplantation for Eradication of Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae Colonization With a Metagenomic Perspective[J]. *Clin Infect Dis*, 2021, 73(1): 166-175.
- [50] 王吉一, 周红俊, 李建军, 等. 脊髓损伤神经学分类国际标准检查表最新修订及解读[J]. *中国康复理论与实践*, 2015, 21(8): 879-882.
- [51] 康海琼, 周红俊, 刘根林, 等. 脊髓损伤神经学分类国际标准检查表 2019 版最新修订及解读[J]. *中国康复理论与实践*, 2019, 25(8): 983-985.
- [52] Mearin F, Lacy BE, Chang L, et al. Bowel Disorders[J]. *Gastroenterology*, 2016, 150: 1393-1407.
- [53] 张洁, 杨德刚, 李建军, 等. 国际脊髓损伤肠道功能基础数据集最新修订及解读[J]. *中国康复理论与实践*, 2017, 23(10): 1236-1240.
- [54] Jang Y, Hsieh C L, Wang Y H, et al. A validity study of the WHOQOL-BREF assessment in persons with traumatic spinal cord injury[J]. *Arch Phys Med Rehabil*, 2004, 85(11): 1890-1895.
- [55] 吴超, 于涛, 王振宇, 等. 脊髓损伤后神经源性肠功能障碍的发生机制[J]. *中国临床神经外科杂志*, 2017, 22(04): 282-285.
- [56] Stiens S A, Bergman S B, Goetz L L. Neurogenic bowel dysfunction after spinal cord injury[J]. *Arch Phys Med Rehabil*, 1997, 78(3): S86.
- [57] 刘秋玲, 陈晖. 电针治疗脊髓损伤后肠道功能障碍临床研究概况[J]. *中国伤残医学*, 2017, 25(2): 98-100.
- [58] Fynne L, Worsøe J, Gregersen T, et al. Gastric and small intestinal dysfunction in spinal cord injury patients[J]. *Acta Neurol Scand*, 2012, 125: 123–128.
- [59] Jackson AB, Dijkers M, Devivo MJ, et al. A demographic profile of new traumatic spinal cord injuries: change and stability over 30 years[J]. *Arch Phys Med Rehabil*, 2004, 85(11): 1740-1748.
- [60] 陈星月, 陈栋, 陈春慧, 等. 中国创伤性脊髓损伤流行病学和疾病经济负担的

- 系统评价[J]. 中国循证医学杂志, 2018, 18 (02): 143-150.
- [61] 郝春霞, 李建军, 周红俊, 等. 1264 例住院脊髓损伤患者的流行病学分析[J]. 中国康复理论与实践, 2007(11): 1011-1013.
- [62] Wu Q, Ning GZ, Li YL, et al. Factors affecting the length of stay of patients with traumatic spinal cord injury in Tianjin, China[J]. J Spinal Cord Med, 2013, 36(3): 237-42.
- [63] 李文选, 李瑞峰, 于宝龙. 2012~2019 年度 956 例创伤性脊髓损伤住院患者流行病学分析[J]. 中国脊柱脊髓杂志, 2021, 31(07): 626-631.
- [64] Yuan S, Shi Z, Cao F, et al. Epidemiological Features of Spinal Cord Injury in China: A Systematic Review[J]. Front Neurol, 2018, 9: 683.
- [65] 杨泉雄, 于前进, 秦江, 等. 脊髓损伤住院患者 1027 例流行病学分析[J]. 脊柱外科杂志, 2016, 14(05): 301-305.
- [66] Xiang XN, Zong HY, Ou Y, et al. Exoskeleton-assisted walking improves pulmonary function and walking parameters among individuals with spinal cord injury: a randomized controlled pilot study[J]. J Neuroeng Rehabil, 2021, 18(1): 86.
- [67] Gorman PH, Forrest GF, Asselin PK, et al. The Effect of Exoskeletal-Assisted Walking on Spinal Cord Injury Bowel Function: Results from a Randomized Trial and Comparison to Other Physical Interventions[J]. J Clin Med, 2021, 10(5): 964.
- [68] Brinkemper A, Aach M, Grasmücke D, et al. Improved Physiological Gait in Acute and Chronic SCI Patients After Training With Wearable Cyborg Hybrid Assistive Limb[J]. Front Neurorobot, 2021, 15: 723206.
- [69] Eng JJ, Levins SM, Townson AF, et al. Use of prolonged standing for individuals with spinal cord injuries[J]. Phys Ther, 2001, 81(8): 1392-9.
- [70] 桓茜. 人体下肢外骨骼康复机器人的研究[D]. 陕西科技大学, 2018.
- [71] Chen Q, Cheng H, Yue C, et al. Dynamic Balance Gait for Walking Assistance Exoskeleton[J]. Appl Bionics Biomech, 2018, 7847014.
- [72] 黄瑞. 下肢助力外骨骼层级交互式学习控制算法研究[D]. 电子科技大学, 2018.
- [73] Bharucha A E, Lacy B E. Mechanisms, Evaluation, and Management of Chronic Constipation[J]. Gastroenterology, 2020, 158(5): 1232-1249.
- [74] Lacy B E, Fermín Mearin, Chang L, et al. Bowel Disorders.[J]. Gastroenterology, 2016, 150(6): 1393-1407.
- [75] Black C J, Ford A C. Chronic idiopathic constipation in adults: epidemiology, pathophysiology, diagnosis and clinical management[J]. Med J Aust, 2018, 209(2): 86-91.
- [76] Sharma A, Rao S, Kearns K, et al. Review article: diagnosis, management and patient perspectives of the spectrum of constipation disorders[J]. Aliment Pharmacol Ther, 2021, 53(12): 1250-1267.
- [77] Jaglal SB, Munce SE, Guilcher SJ, et al. Health system factors associated with

- rehospitalizations after traumatic spinal cord injury: a population-based study[J]. *Spinal Cord*, 2009, 47(8) :604—609.
- [78] Liem N R, Mccoll M A, King W, et al. Aging with a spinal cord injury: factors associated with the need for more help with activities of daily living.[J]. *Arch Phys Med Rehabil*, 2004, 85(10): 1567-1577.
- [79] D Mcclurg, Norton C. What is the best way to manage neurogenic bowel dysfunction?[J]. *Bmj*, 2016, 354: i3931.
- [80] Nascimento W, Ferrari G, Martins CB, et al. Muscle-strengthening activities and cancer incidence and mortality: a systematic review and meta-analysis of observational studies[J]. *Int J Behav Nutr Phys Act*, 2021, 18(1): 69.
- [81] Masahiro O, Daisuke M, Koki O, et al. High-intensity Intermittent Training Enhances Spatial Memory and Hippocampal Neurogenesis Associated with BDNF Signaling in Rats[J]. *Cereb Cortex*, 2021, 31(9): 4386-4397.
- [82] Taylor JL, Bonikowske AR, Olson TP. Optimizing Outcomes in Cardiac Rehabilitation: The Importance of Exercise Intensity[J]. *Front Cardiovasc Med*, 2021 Sep 3, 8: 734278.
- [83] Smith JAB, Savikj M, Sethi P, et al. Three weeks of interrupting sitting lowers fasting glucose and glycemic variability, but not glucose tolerance, in free-living women and men with obesity[J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2021, 321(2): E203-E216.
- [84] Vechetti I J, Peck B D, Yuan W, et al. Mechanical overload-induced muscle-derived extracellular vesicles promote adipose tissue lipolysis[J]. *FASEB J*, 2021, 35(6): e21644.
- [85] Asakura K, Masayasu S, Sasaki S. Dietary intake, physical activity, and time management are associated with constipation in preschool children in Japan[J]. *Asia Pac J Clin Nutr*, 2017, 26(1): 118-129.
- [86] Huang R, Ho SY, Lo WS, Lam TH. Physical activity and constipation in Hong Kong adolescents. *PLoS One*, 2014, 9(2).
- [87] Iovino P, Chiarioni G, Bilancio G, et al. New onset of constipation during long-term physical inactivity: a proof-of-concept study on the immobility-induced bowel changes[J]. *PLoS One*, 2013, 8(8): e72608.
- [88] Gao R, Tao Y, Zhou C, et al. Exercise therapy in patients with constipation: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials[J]. *Scand J Gastroenterol*, 2019, 54(2): 169-177.
- [89] 卢柳艺, 张奇, 任平, 等. MOTomed 智能运动训练对脑卒中患者便秘的影响[J]. *护理实践与研究*, 2017, 14(09): 150-151.
- [90] Eisenberg S, Zuk L, Carmeli E, et al. Contribution of stepping while standing to function and secondary conditions among children with cerebral palsy[J]. *Pediatr Phys Ther*, 2009, 21(1): 79-85.

- [91]Kolakowsky-Hayner SA, Crew J, Moran S, et al. Safety and feasibility of using the EksoTM bionic exoskeleton to aid ambulation after spinal cord injury[J]. Spine, 2013, 2: S4–003.
- [92]Bortole M, Venkatakrishnan A, Zhu F, et al. The H2 robotic exoskeleton for gait rehabilitation after stroke: early findings from a clinical study[J]. Neuroeng Rehabil, 2015, 12: 54.
- [93]Hian Kai Kwa, Noorden, Jerryll. Development of the IHMC mobility assist exoskeleton. Proceedings of the 2009 IEEE international conference on Robotics and Automation. Kobe, Japan. May 2009: 2556-2562.
- [94]Khan AS, Livingstone DC, Hurd CL, et al. Retraining walking over ground in a powered exoskeleton after spinal cord injury: a prospective cohort study to examine functional gains and neuroplasticity[J]. J Neuroeng Rehabil, 2019, 16(1): 145.
- [95]Ikumi A, Kubota S, Shimizu Y, et al. Decrease of spasticity after hybrid assistive limb® training for a patient with C4 quadriplegia due to chronic SCI[J]. J Spinal Cord Med, 2017, 40(5): 573-578.
- [96]Farris RJ, Quintero HA, Murray SA,et al. A preliminary assessment of legged mobility provided by a lower limb exoskeleton for persons with paraplegia[J]. IEEE Trans Neural Syst Rehabil Eng, 2014, 22(3): 482–490.
- [97]Karelis AD, Carvalho LP, Castillo MJ, et al. Effect on body composition and bone mineral density of walking with a robotic exoskeleton in adults with chronic spinal cord injury[J]. J Rehabil Med, 2017, 49(1): 84-87.
- [98]Chun A, Asselin PK, Knezevic S, et al. Changes in bowel function following exoskeletal-assisted walking in persons with spinal cord injury: an observational pilot study[J]. Spinal Cord, 2020, 58(4): 459-466.
- [99]Hubscher CH, Herrity AN, Williams CS, et al. Improvements in bladder, bowel and sexual outcomes following task-specific locomotor training in human spinal cord injury[J]. PLoS One, 2018, 13(1): e0190998.
- [100]Brinkemper A, Grasmücke D, Yilmaz E, et al. Influence of Locomotion Therapy With the Wearable Cyborg HAL on Bladder and Bowel Function in Acute and Chronic SCI Patients[J]. Global Spine J, 2021, 16: 21925682211003851.
- [101]Baunsgaard CB, Nissen UV, Brust AK, et al. Exoskeleton gait training after spinal cord injury: An exploratory study on secondary health conditions[J]. J Rehabil Med, 2018, 50(9): 806-813.
- [102]Qin J, Li R, Raes J, et al. A human gut microbial gene catalogue established by metagen-omic sequencing[J]. Nature, 2010, 464(7285): 59–65.
- [103]Belkaid Y, Harrison O J. Homeostatic Immunity and the Microbiota[J]. Immunity, 2017, 46(4): 562-576.
- [104]Canfora EE, Meex RCR, Venema K, et al. Gut microbial metabolites in obesity,

- NAFLD and T2DM[J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2019, 15(5): 261-273.
- [105]Gaulke C A, Sharpton T J. The influence of ethnicity and geography on human gut microbiome composition[J]. *Nature Medicine*, 2018, 24(10): 1495-1496.
- [106]Zhang C, Jing Y, Zhang W, et al. Dysbiosis of gut microbiota is associated with serum lipid profiles in male patients with chronic traumatic cervical spinal cord injury[J]. *Am J Transl Res*, 2019, 11(8): 4817-4834.
- [107]汪俊宇. 脊髓损伤患者肠道菌群特征及其与细胞免疫的关系研究[D]. 成都中医药大学, 2019.
- [108]Bazzocchi G, Turrone S, Bulzamini MC, et al. Changes in gut microbiota in the acute phase after spinal cord injury correlate with severity of the lesion[J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 12743.
- [109]Yu B, Qiu H, Cheng S, et al. Profile of gut microbiota in patients with traumatic thoracic spinal cord injury and its clinical implications: a case-control study in a rehabilitation setting[J]. *Bioengineered*, 2021, 12(1): 4489-4499.
- [110]Du J, Zayed AA, Kigerl KA, et al. Spinal Cord Injury Changes the Structure and Functional Potential of Gut Bacterial and Viral Communities[J]. *mSystems*, 2021, 6(3): e01356-20.
- [111]Li J, Van Der Pol W, Eraslan M, et al. Comparison of the gut microbiome composition among individuals with acute or long-standing spinal cord injury vs. able-bodied controls[J]. *J Spinal Cord Med*, 2020, 4: 1-9.
- [112]Gungor B, Adiguzel E, Gursel I, et al. Intestinal Microbiota in Patients with Spinal Cord Injury[J]. *PLOS ONE*, 2016, 11(1): e0145878.
- [113]Kigerl KA, Mostacada K, Popovich PG. Gut Microbiota Are Disease-Modifying Factors After Traumatic Spinal Cord Injury[J]. *Neurotherapeutics*, 2018, 15(1): 60–67.
- [114]Brommer B, Engel O, Kopp MA, et al. Spinal cord injury-induced immune deficiency syndrome enhances infection susceptibility dependent on lesion level[J]. *Brain*, 2016, 139(Pt 3): 692–707.
- [115]Riegger T, Conrad S, Schluesener HJ, et al. Immune depression syndrome following human spinal cord injury(SCI): a pilot study[J]. *Neuroscience*, 2009, 158: 1194-1199.
- [116]Van Baarlen P, Wells J M, Kleerebezem M. Regulation of intestinal homeostasis and immunity with probiotic lactobacilli[J]. *Trends Immunol*, 2013, 34(5): 208-215.
- [117]Wong S, Jamous A, O'Driscoll J, et al. A *Lactobacillus casei* Shirota probiotic drink reduces antibiotic-associated diarrhoea in patients with spinal cord injuries: a randomised controlled trial[J]. *Br J Nutr*, 2014, 111(04): 672-678.
- [118]Anukam K C, Hayes K, Summers K, et al. Probiotic *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 and *Lactobacillus reuteri* RC-14 May Help Downregulate TNF-Alpha, IL-6, IL-8, IL-10 and IL-12 (p70) in the Neurogenic Bladder of Spinal Cord Injured Patient with Urinary Tract Infections: A Two-Case Study[J]. *Adv Urol*, 2009, 2009: 1-5.

- [119]Madempudi RS, Neelamraju J, Ahire JJ, et al. *Bacillus coagulans* Unique IS2 in Constipation: A Double-Blind, Placebo-Controlled Study[J]. *Probiotics Antimicrob Proteins*, 2020, 12(2): 335-342.
- [120]Barichella M, Pacchetti C, Bolliri C, et al. Probiotics and prebiotic fiber for constipation associated with Parkinson disease: An RCT[J]. *Neurology*, 2016, 87(12): 1274-1280.
- [121]Dimidi E, Zdanaviciene A, Christodoulides S, et al. Randomised clinical trial: *Bifidobacterium lactis* NCC2818 probiotic vs placebo, and impact on gut transit time, symptoms, and gut microbiology in chronic constipation[J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2019, 49(3): 251-264.
- [122]Vandeputte D, Falony G, Vieira-Silva S, et al. Prebiotic inulin-type fructans induce specific changes in the human gut microbiota[J]. *Gut*, 2017, 66(11): 1968-1974.
- [123]Liu Y, Wang Y, Ni Y, et al. Gut Microbiome Fermentation Determines the Efficacy of Exercise for Diabetes Prevention[J]. *Cell Metab*, 2020, 31(1): 77-91.
- [124]Quiroga R, Nistal E, Estébanez B, et al. Exercise training modulates the gut microbiota profile and impairs inflammatory signaling pathways in obese children[J]. *Exp Mol Med*, 2020, 52(7): 1048-1061.
- [125]Lamoureux EV, Grandy SA, Langille MGI. Moderate Exercise Has Limited but Distinguishable Effects on the Mouse Microbiome[J]. *mSystems*, 2017, 2(4): 00006-17.
- [126]He Q, Han C, Huang L, et al. Astragaloside IV alleviates mouse slow transit constipation by modulating gut microbiota profile and promoting butyric acid generation[J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24(16): 9349-9361.
- [127]胡晓敏, 叶佳美, 王丽群, 等. 基于肠道菌群探讨运动改善慢性便秘的可能机制[J]. *中国全科医学*, 2021, 24(15): 1984-1988.
- [128]Yarullina DR, Shafigullin MU, Sakulin KA, et al. Characterization of gut contractility and microbiota in patients with severe chronic constipation[J]. *PLoS One*, 2020, 15(7): e0235985.
- [129]Abebe AM, Choi J, Kim Y, et al. Development of diagnostic molecular markers for marker-assisted breeding against bacterial wilt in tomato[J]. *Breed Sci*, 2020, 70(4): 462-473.
- [130]Sun Y, Wang K, Caceres-Moreno C, et al. Genome sequencing and analysis of *Ralstonia solanacearum* phylotype I strains FJAT-91, FJAT-452 and FJAT-462 isolated from tomato, eggplant, and chili pepper in China[J]. *Stand Genomic Sci*, 2017, 12: 29.
- [131]Hur MS, Lee JS, Jang M, et al. Analysis of the Conjunctival Microbiome in Patients with Atopic Keratoconjunctivitis and Healthy Individuals[J]. *Ann Dermatol*, 2021, 33(2): 163-169.
- [132]Liu HY, Li CX, Liang ZY, et al. The Interactions of Airway Bacterial and Fungal Communities in Clinically Stable Asthma[J]. *Front Microbiol*, 2020, 11: 1647.
- [133]Zhang C, Zhang T, Lu W, et al. Altered Airway Microbiota Composition in Patients With Pulmonary Hypertension[J]. *Hypertension*, 2020, 76(5): 1589-1599.
- [134]Kim JM, Rim JH, Kim DH, et al. Microbiome analysis reveals that *Ralstonia* is

- responsible for decreased renal function in patients with ulcerative colitis[J]. Clin Transl Med, 2021, 11(3): e322.
- [135]Ryan MP, Pembroke JT, Adley CC. *Ralstonia pickettii*: a persistent gram-negative nosocomial infectious organism[J]. J Hosp Infect, 2006, 62(3): 278-84.
- [136]Sun X, Li M, Xia L, et al. Alteration of salivary microbiome in periodontitis with or without type-2 diabetes mellitus and metformin treatment[J]. Sci Rep, 2020, 10(1): 15363.
- [137]Parthasarathy G, Chen J, Chen X, et al. Relationship Between Microbiota of the Colonic Mucosa vs Feces and Symptoms, Colonic Transit, and Methane Production in Female Patients With Chronic Constipation[J]. Gastroenterology, 2016, 150(2): 367-379.
- [138]Bhattarai Y, Williams B B, Battaglioli E J, et al. Gut Microbiota-Produced Tryptamine Activates an Epithelial G-Protein-Coupled Receptor to Increase Colonic Secretion[J]. Cell Host Microbe, 2018, 23(6).
- [139]Reigstad CS, Salmonson CE, Rainey JF 3rd, et al. Gut microbes promote colonic serotonin production through an effect of short-chain fatty acids on enterochromaffin cells[J]. FASEB J, 2015, 29(4): 1395-403.
- [140]Agus A, Planchais J, Sokol H. Gut Microbiota Regulation of Tryptophan Metabolism in Health and Disease[J]. Cell Host Microbe, 2018, 23(6): 716-724.
- [141]Asano Y, Hiramoto T, Nishino R, et al. Critical role of gut microbiota in the production of biologically active, free catecholamines in the gut lumen of mice[J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2012, 303(11): 1288-95.
- [142]Cao H, Liu X, An Y, et al. Dysbiosis contributes to chronic constipation development via regulation of serotonin transporter in the intestine[J]. Scientific Reports, 2017, 7(1).
- [143]Derrien M, Vaughan EE, Plugge CM, et al. *Akkermansia muciniphila* gen. nov., sp. nov., a human intestinal mucin-degrading bacterium[J]. Int J Syst Evol Microbiol, 2004, 54(Pt 5): 1469-1476.
- [144]Fu R, Li Z, Zhou R, et al. The mechanism of intestinal flora dysregulation mediated by intestinal bacterial biofilm to induce constipation[J]. Bioengineered, 2021, 12(1): 6484-6498.
- [145]Erlandson KM, Liu J, Johnson R, et al. An exercise intervention alters stool microbiota and metabolites among older, sedentary adults[J]. Ther Adv Infect Dis, 2021, 8: 20499361211027067.
- [146]Hata S, Nakajima H, Hashimoto Y, et al. Effects of probiotic *Bifidobacterium bifidum* G9-1 on the gastrointestinal symptoms of patients with type 2 diabetes mellitus treated with metformin: an open-label, single-arm, exploratory research trial[J]. J Diabetes Investig, 2021.
- [147]Dangardt FJ, McKenna WJ, Lüscher TF, et al. Exercise: friend or foe[J]? Nat Rev Cardiol, 2013, 10(9): 495-507.
- [148]Mika A, Van Treuren W, Gonzalez A, et al. Exercise is More Effective at Altering

- Gut Microbial Composition and Producing Stable Changes in Lean Mass in Juvenile versus Adult Male F344 Rats[J]. PLOS ONE, 2015, 10(5).
- [149]Lamoureux EV, Grandy SA, Langille MGI. Moderate Exercise Has Limited but Distinguishable Effects on the Mouse Microbiome[J]. mSystems, 2017, 2(4): e00006-17.
- [150]Zhang X, Wang Y, Liu W, et al. Diet quality, gut microbiota, and microRNAs associated with mild cognitive impairment in middle-aged and elderly Chinese population[J]. Am J Clin Nutr, 2021, 114(2): 429-440.
- [151]Liu RT, Rowan-Nash AD, Sheehan AE, et al. Reductions in anti-inflammatory gut bacteria are associated with depression in a sample of young adults[J]. Brain Behav Immun, 2020, 88: 308-324.
- [152]Romano S, Savva GM, Bedarf JR, et al. Meta-analysis of the Parkinson's disease gut microbiome suggests alterations linked to intestinal inflammation[J]. NPJ Parkinsons Dis, 2021, 7(1): 27.
- [153]Martín R, Chain F, Miquel S, et al. The commensal bacterium *Faecalibacterium prausnitzii* is protective in DNBS-induced chronic moderate and severe colitis models[J]. Inflamm Bowel Dis, 2014, 20(3): 417-30.
- [154]Clarke SF, Murphy EF, O'Sullivan O, et al. Exercise and associated dietary extremes impact on gut microbial diversity[J]. Gut, 2014, 63(12): 1913-20.
- [155]Bressa C, Bailén-Andrino M, Pérez-Santiago J, et al. Differences in gut microbiota profile between women with active lifestyle and sedentary women[J]. PLoS One, 2017, 12(2): e0171352.
- [156]Yoon HS, Cho CH, Yun MS, et al. *Akkermansia muciniphila* secretes a glucagon-like peptide-1-inducing protein that improves glucose homeostasis and ameliorates metabolic disease in mice[J]. Nat Microbiol, 2021, 6(5): 563-573.
- [157]Hänninen A, Toivonen R, Pöysti S, et al. *Akkermansia muciniphila* induces gut microbiota remodelling and controls islet autoimmunity in NOD mice[J]. Gut, 2018, 67(8): 1445-1453.
- [158]Keshavarz Azizi Raftar S, Ashrafian F, Yadegar A, et al. The Protective Effects of Live and Pasteurized *Akkermansia muciniphila* and Its Extracellular Vesicles against HFD/CCl4-Induced Liver Injury[J]. Microbiol Spectr, 2021, 22: e0048421.
- [159]Yang B, Zhang X, Gong H, et al. High stearic acid diet modulates gut microbiota and aggravates acute graft-versus-host disease[J]. Signal Transduct Target Ther, 2021, 6(1): 277.
- [160]Heintz-Buschart A, Pandey U, Wicke T, et al. The nasal and gut microbiome in Parkinson's disease and idiopathic rapid eye movement sleep behavior disorder[J]. Mov Disord, 2018, 33(1): 88-98.
- [161]Vogt NM, Kerby RL, Dill-McFarland KA, et al. Gut microbiome alterations in

- Alzheimer's disease[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 13537.
- [162]Cekanaviciute E, Yoo BB, Runia TF, et al. Gut bacteria from multiple sclerosis patients modulate human T cells and exacerbate symptoms in mouse models[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2017, 114(40): 10713-10718.
- [163]Cox LM, Maghzi AH, Liu S, et al. Gut Microbiome in Progressive Multiple Sclerosis[J]. *Ann Neurol*, 2021, 89(6): 1195-1211.
- [164]Cirstea M, Radisavljevic N, Finlay BB. Good Bug, Bad Bug: Breaking through Microbial Stereotypes[J]. *Cell Host Microbe*, 2018, 23(1): 10-13.
- [165]Munukka E, Ahtiainen JP, Puigbó P, et al. Six-Week Endurance Exercise Alters Gut Metagenome That Is not Reflected in Systemic Metabolism in Over-weight Women[J]. *Front Microbiol*, 2018, 9: 2323.
- [166]Zhu L, Liu W, Alkhouri R, et al. Structural changes in the gut microbiome of constipated patients[J]. *Physiol Genomics*, 2014, 46(18): 679-86.
- [167]田宏亮. 菌群移植治疗慢传输型便秘的临床机制研究及治疗策略优化[D]. 南京: 南京大学, 2017.
- [168]Deschasaux M, Bouter KE, Prodan A, et al. Depicting the composition of gut microbiota in a population with varied ethnic origins but shared geography[J]. *Nat Med*, 2018, 24(10): 1526-1531.
- [169]Zhang C, Jiang J, Tian F, et al. Meta-analysis of randomized controlled trials of the effects of probiotics on functional constipation in adults[J]. *Clin Nutr*, 2020, 39(10): 2960-2969.
- [170]Yang B, Huang Z, He Z, et al. Protective effect of *Bifidobacterium bifidum* FSDJN7O5 and *Bifidobacterium breve* FHNQ23M3 on diarrhea caused by enterotoxigenic *Escherichia coli*[J]. *Food Funct*, 2021, 12(16): 7271-7282.

附件 1 文献综述

基于肠道菌群探讨运动改善慢性便秘的可能机制

摘要：慢性便秘是常见的健康问题，也是许多高死亡率疾病的诱发因素，严重影响人类的健康和生存质量，给家庭和社会带来沉重的精神和经济负担，而目前针对慢性便秘的治疗方法疗效有限，故需寻找一种便捷、经济、有效的方法。运动训练在慢性便秘的预防和治疗中发挥重要作用，并且运动可调节肠道菌群的组成，而有研究表明便秘后发生的肠道菌群紊乱使肠腔内菌群代谢物（如 SCFAs、5-HT）含量降低，抑制肠道运动，加速慢性便秘的发展，故运动、菌群与便秘三者间必存在密切联系。因此本文就运动对便秘的调节作用、肠道菌群在便秘中的调控机制和运动对肠道菌群的影响进行综述，以此探索运动训练通过调节肠道菌群的组成改善慢性便秘的可能性，希望能进一步完善运动缓解便秘的分子机制。

关键词：慢性便秘；运动；肠道菌群；短链脂肪酸

Exploration on the possible mechanism of exercise in the improvement of chronic constipation based on gut microbiota

Abstract: As a common health problem and an inducing factor for many diseases with high mortality rate, chronic constipation seriously affects the health and quality of life of human, , and brings heavy spiritual and economic burden to families and society. However, there is the limited efficacy for the treatment methods of chronic constipation at present, so it is necessary to find a convenient, economical and effective method. Exercise training plays an important role in the prevention and treatment of chronic constipation. In addition, exercise can regulate the composition of gut microbiota, and some studies have shown that gut microbiota disorder after constipation reduces the content of gut microbiota metabolites (such as SCFAs and 5-HT), inhibits intestinal movement and accelerates the development of chronic constipation, so there must be a close relationship between exercise, flora and constipation. Therefore, this paper reviews the regulatory effect of exercise on constipation, the regulatory mechanism of gut microbiota in constipation and the influence of exercise on gut microbiota, so as to

explore the possibility of exercise training in the improvement of chronic constipation by regulating the composition of intestinal flora, and hope to further improve the molecular mechanism of exercise in the remission of constipation.

Key words: chronic constipation; exercise; gut microbiota; short chain fatty acids

慢性便秘是临床常见的胃肠道疾病，主要表型为排便困难、间隔时间长或排空不完全等，且病程至少为 6 个月^[1]。中国慢性便秘的患病率为 4.0%~10.0%，呈逐年上升趋势，高龄、性别、饮食习惯、生活方式、精神心理压力等均为其危险因素，并多见于肠道原发疾病、神经源性疾病和代谢性疾病等^[2]。目前针对便秘患者的治疗方法包括膳食纤维补充剂和泻药等，但 47% 的患者对当前的治疗策略不满意，主要因为疗效问题^[3]。临床研究显示便秘患者伴有肠道菌群紊乱的表现，而无菌小鼠的肠蠕动减慢，表明了肠道菌群在便秘中具有重要作用^[4-5]。因此补充益生菌成为治疗便秘的新方法。研究认为益生菌可以增加肠蠕动次数、自然排便频率和粪便稠度等，显著缓解便秘症状^[6]。然而也有研究发现益生菌对治疗轻度慢性便秘无效，这可能与各实验的指标评价方法、患者疾病严重程度和菌株特异性作用有关。研究表明粪菌移植用于慢传输型便秘（slow transit constipation, STC）患者中是安全的，具有改善 STC 患者症状的潜力^[7]，但目前没有强有力的证据支持将粪菌移植用于慢性便秘。因此寻找无创有效的方法对治疗慢性便秘至关重要。运动改善便秘的理论已被公众认同，但人们对运动预防和治疗便秘的机制知之甚少。当下多项研究表明运动训练可以调控肠道菌群，对机体发挥积极作用。本文将通过回顾国内外文献，探讨运动调节肠道菌群是否能对便秘产生作用。

1 运动对便秘的调节作用

近年来随着研究的深入，人类对运动产生的身体益处的分子机制有了进一步的认识。研究表明在视网膜神经节细胞受损后，运动能阻止大脑的神经营养因子流失，并维持视网膜神经元的功能^[8]。在多种肿瘤小鼠模型中，运动通过动员和重分配自然杀伤细胞以抑制肿瘤生长^[9]。此外，运动可能是改善慢性便秘患者症状的有效干预方式。日本一项学龄前儿童便秘调查认为较高的体力活动与较低的便秘发生率显著相关^[10]，同时香港大学的研究指出便秘与中国青少年体育活动不足和久坐行为过多有关^[11]。研究发现长期不运动是胃肠蠕动减少

的危险因素，导致便秘并且可以影响药物吸收、体重增加以及相关的代谢和心血管疾病，而有氧运动（如步行、骑自行车）等可改善胃肠动力、利于通便^[12]。研究表明日常体育锻炼加速胃排空，而运动强度过高会延迟胃排空，可能是由于 H^+ 的血液蓄积导致酸碱失衡引起的^[13]。在 18 名体育专业女学生中发现中等强度运动组的胃泌素和胃动素水平比安静组和高强度运动组更高，同样地运动也引起雪橇犬的血清胃泌素增加^[14]。胃肠激素的增加可促进机体消化，增强胃肠动力，有利于便秘的预防和治疗。综上，定期适度的运动可对胃肠道疾病包括慢性便秘产生有益作用，从而减轻症状，但高强度或长时间的耐力训练会对胃肠道产生负面影响，进而加剧疾病严重程度^[15]。

2 便秘患者后肠道菌群紊乱

作为肠道常见疾病之一，近年来多项研究指出肠道菌群与便秘的发生发展息息相关。KHALIF 等^[16]在便秘患者中发现双歧杆菌和乳酸杆菌浓度明显降低，潜在致病菌和真菌增加，使用泻剂后可使其菌群正常化。而在另一项国内研究中却发现 STC 患者的双歧杆菌显著高于健康对照组，乳酸杆菌含量在两组间无统计学意义，而在 STC 患者中缺乏的主要菌种是普氏菌和罗氏杆菌，推测这种差异可能与地域性饮食习惯有关^[17]。此外，在功能型便秘儿童中发现脆弱拟杆菌（*Bacteroides fragilis*）、卵形拟杆菌（*Bacteroides ovatus*）、长双歧杆菌（*Bifidobacterium longum*）、副杆菌属（*Parabacteroides*）增加，另枝菌属（*Alistipes finegoldii*）减少^[4]。

3 肠道菌群对慢性便秘的调控机制

3.1 短链脂肪酸 将接受了粪菌移植的 STC 患者的粪便微生物群移植到无菌小鼠中，发现这些小鼠的颗粒频率和水百分比比较低，颗粒较小，胃肠传输时间延迟和结肠平滑肌自发收缩较弱，同时微生物代谢物测量表明丁酸水平显著降低、乙酸或丙酸水平无显著差异。补充丁酸盐后，小鼠的颗粒频率、水百分比和结肠收缩力都有所增加，表明肠道菌群可通过改变其衍生的代谢物在便秘的发展中影响肠蠕动，然而到底是何类菌种影响了短链脂肪酸（short-chain fatty acids, SCFA）浓度以此在便秘中发挥作用并未说明^[18]。同年有研究表明，双歧杆菌可增加 SCFAs 水平以缓解便秘，其具体机制是通过增加丁酸和丙酸含量，从而降低结肠 pH，较低的 pH 值会增强蠕动并减少结肠通过时间，最终改善便秘，并

且治疗后乳酸杆菌含量增高、梭菌属含量降低^[19]。此外, WANG 等^[20]发现膳食补充剂低聚糖可增加便秘小鼠粪便中的含水量, 减少肠道运输时间, 调节肠道菌群的组成并提高粪便中 SCFAs 的浓度。同样地有研究发现细菌产生的饱和和长链脂肪酸也有助于促进大鼠的结肠运动、增加排便频率^[21]。综上表明调节菌群代谢物 SCFAs 或是改善便秘的可行方法。众所周知, SCFAs 是由肠道菌群代谢膳食纤维产生的物质, 有报道显示, 不同结构组成的膳食纤维通过对 GM 的精确调节可直接影响 SCFAs 的产量^[22], 因此研究便秘、肠道菌群与 SCFAs 时应充分关注饮食结构带来的影响。

3.2 5-羟色胺 研究发现无菌小鼠的肠道运输时间减慢, 且与 5-羟色胺 (5-hydroxytryptamine, 5-HT) 含量降低有关, 将正常小鼠菌群移植给无菌小鼠后可加速肠道蠕动^[5]。有报道显示 5-HT 对肠道运动具有双重活性^[23]。其一, 用餐后食物通过幽门括约肌到达十二指肠球部, 当十二指肠球部达到临界值时, 5-HT 会大量释放, 通过促进肠道运动将驻留食物推向远端; 其二, 5-HT 激活迷走神经反应性 GPR65 神经元以启动肠-脑-胃回路, 引起显著阻滞的胃运动, 减少新内容物进入十二指肠球部。肠嗜铬细胞 (Enterochromaffin cell, EC) 是产生 5-HT 的主要来源, 色氨酸羟化酶 1 (Tryptophan Hydroxylase 1, TPH1) 是非神经元 5-HT 合成的限速酶^[24]。研究表明, 肠道菌群紊乱增加肠道血清素转运蛋白的表达, 重新摄取过量的 5-HT, 降低了小鼠肠道组织中的 5-HT 水平, 促进慢性便秘的发展^[25]。此外, 便秘引起的菌群失调可通过减少肠杯状细胞最终损害肠道屏障 (主要与 AKK 菌的增多有关)。抑郁症患者通常伴有便秘和肠道菌群改变, 且有报道证实两者均与 5-HT 有关。研究发现重度抑郁症患者中存在一种 TPH2 突变体 (TPH2-R441H), 而 TPH2 是神经元 5-HT 合成的限速酶^[26]。研究者创建了具有类似突变 (TPH2-R439H) 的小鼠, 发现该小鼠肠神经元的 5-HT 水平显著低于正常小鼠, 其肠神经系统发育及相关胃肠道功能异常, 同时胃肠道转运和结直肠推进运动减慢, 口服 5-羟基色氨酸缓释片可使 TPH2-R439H 小鼠的上述表型恢复正常, 改善便秘。同样有研究表明, 应激诱导的肠道菌群变化参与抑郁症的发病机制, 主要与色氨酸代谢中的 5-HT 途径受损以及海马神经元中 5-HT 的合成利用不足有关^[27]。上述研究表明肠道菌群能够通过调节 5-HT 的产生进而控制便秘的发展。

3.3 其他因素 越来越多的研究证实肠道菌群和饮食已成为肠道运动的重要调节因素，其主要通过细菌代谢产物调节肠道生理活动（包括蠕动）。然而最近有研究发现，肠神经回路中的芳香烃受体（Aryl Hydrocarbon Receptor, AHR）可作为连接菌群等肠腔环境因素与肠神经功能输出的生物传感器，在调节肠道运动中发挥重要作用^[28]。在大便频率遗传学研究中，证实了 AHR 对排便次数具有积极影响^[29]。AHR 受宿主基因程序和肠道菌群的联合管控，其在不同肠段中的表达水平与菌群载量一致。敲除 AHR 基因或过表达其负反馈调节因子细胞色素氧化酶 P450（CYP）1A1，可导致小鼠结肠蠕动减少，与微生物群耗竭小鼠的情况类似，增加抗生素处理小鼠的肠神经 AHR 水平，可部分恢复肠道运动功能^[28]。此外，研究发现鼠李糖乳杆菌 GG（LGG）可显著增加小鼠排便频率和回肠肌肉收缩，并减少肠道转运时间，其信号传导依赖于肠粘膜的黏附性、肠神经细胞内的氧化还原机制以及 LGG 生成的甲酰肽受体 1^[30]。

4 运动对肠道菌群的影响

人体肠道菌群对健康至关重要，其在宿主免疫发育、新陈代谢和营养稳态等方面发挥作用，饮食、遗传、年龄和生活习惯等因素均可影响肠道菌群的组成。小鼠和人类研究中发现，体育锻炼可以改变肠道菌群组成，对健康产生有益作用。研究证实，将运动训练 6 周小鼠的肠道菌群定植于无菌小鼠后，其降低了化学结肠炎的反应，同时减少结肠缩短和粘液消耗，改善机体肠腔环境^[31]。在运动和久坐的大鼠之间，微生物群组成明显不同，自由轮转运动组中异杆菌属（*Allobaculum* spp.）和梭状芽胞杆菌属（*Clostridiales*）富集^[32]。有研究证明轮转运动可增加双歧杆菌和乳杆菌属含量，显著改变总体微生物组成并增加丁酸盐浓度^[33]。另一种运动模式—全身振动可以改变 2 型糖尿病小鼠的肠道菌群组成，使 SCFAs 产生菌（拟杆菌属和 *Alistipes* 菌属）增多^[34]。对体型肥胖和瘦弱的普通受试者进行试验，发现运动训练可引起人体 GM 的改变，且增加产丁酸菌属，如罗氏菌属（*Roseburia* spp.）、毛螺菌属（*Lachnospira* spp.）、粪杆菌属（*Faecalibacterium* spp.）、梭菌属（*Clostridiales* spp.）等，但这种变化取决于体质指数，仅在体型瘦弱个体中发现 SCFAs 浓度增加^[35-36]。

在专业运动员中，肠道菌群的组成与普通人群有所差异。与健康受试者相比，橄榄球运动员的肠道菌群多样性增强。并且运动员粪便中含有丰富的

SCFAs（包括丙酸盐、丁酸盐、醋酸盐等），这可能与其饮食习惯有关，因为丙酸盐、丁酸盐的浓度分别与蛋白质和膳食纤维的摄入量密切相关^[37]。此外，不同职业运动员的肠道菌群组成也不相同。PETERSEN 等^[38]发现自行车运动员的肠道菌群组成可分为 3 个分类学集群，分别为高水平普氏菌属（*Prevotella*）、高水平拟杆菌属（*Bacteroides*）、混合菌属（拟杆菌属、普氏菌属、真杆菌属、瘤胃菌属、AKK 菌属），且分类学集群与运动员水平（职业或业余）无显著相关性，但普氏菌属的高水平与每周平均训练时间相关，同时在职业自行车运动员中史氏甲烷短杆菌转录活性更高。最新研究显示^[39]，马拉松前后，运动员的肠道菌群组成变化很大，其中变化最大的就是一韦荣球菌，进一步分析发现，其丰度只与运动状态相关而与其他个体情况无关。然而，蒋兴宇等发现跑步人群中毛螺菌科和拟杆菌科的丰度显著高于少动人群，普雷沃氏菌科和韦荣球菌科显著低于少动人群^[40]。综上表明，运动可以改变肠道菌群，并引起产丁酸菌属、普氏菌属、甲烷短杆菌属和韦荣球菌等菌群改变，由于研究对象、运动方式和强度、环境等不同而导致菌群丰度增加或降低的结果不一致，并且这些改变的菌群是否可以改善便秘，还有待进一步论证。

5 运动通过肠道菌群改善便秘的可能机制

大量研究表明运动、便秘和肠道菌群之间存在紧密的相互作用。日常运动训练可以加速胃排空，增强胃肠蠕动，减少胃肠通过时间，以减轻便秘症状。同时便秘患者肠道菌群的丰度和多样性发生了变化，并通过菌群代谢物 SCFAs、5-HT 及肠神经回路影响便秘的发生发展。已知运动训练可以改变肠道菌群的组成，那么运动是否能够通过影响肠道菌群而改善便秘。其可能机制有：第一，运动可增加小鼠和人体的双歧杆菌、乳杆菌属、拟杆菌属、罗氏菌属、梭菌属等产丁酸菌属，以丰富 SCFAs 的浓度，而 SCFAs 可增强粪便含水量和结肠收缩力，减少结肠通过时间。第二，梭状芽孢杆菌产生的 SCFAs 或次级胆汁酸可直接作用于 EC，诱导 TPH1 的表达，促进结肠 5-HT 合成，增强肠道运动功能，而运动可增加梭状芽孢杆菌属的含量^[18,41]。此外 5-HT 的合成与代谢也受肠道菌群的直接调节，但目前尚不清楚哪些菌群可影响 5-HT，以及运动是否能改变这些菌群。第三，肠道细胞表达的 AHR 可增强肠道运动功能，并与 CYP1A1 形成自动调节反馈回路，CYP1A1 可代谢 AHR 配体，终止 AHR 信号传导，同时 CYP1A1

的表达又依赖于 AHR^[28,42]。丁酸盐已被证实能够诱导 AHR 和 CYP1A1 表达,而丙酸盐只能诱导 AHR 的表达^[42],因此运动训练可通过增加丁酸盐和丙酸盐的浓度以激活 AHR 和 CYP1A1 的表达,达到增加肠蠕动改善便秘的作用。然而丁酸和丙酸的作用并不相同,两者含量的变化如何使 AHR 和 CYP1A1 的综合作用指向有益处还需要进一步探索。第四,马拉松运动员和奥运会赛艇运动员在运动前后变化最大的菌群是韦荣球菌属,宏基因组学分析发现韦荣球菌属将乳酸代谢为丙酸的甲基丙二酰辅酶 A 通路的基因丰度上升^[39]。那么,我们是否可以寻找一类合适多数普通民众的运动方式和运动强度以增加韦荣球菌属,进而增强乳酸的代谢,减轻胃潴留;同时血清乳酸可穿过肠上皮屏障进入肠腔,通过增加肠道内丙酸的产生,减少肠道通过时间并缓解便秘。第五,AKK 菌是在肠黏液层稳定定殖的肠道共生菌,被认为是下一代益生菌的候选之一,具有抵抗肠道炎症、保护肠屏障和维持肠内稳态的作用,并可代谢 SCFAs,有利于治疗便秘^[43]。在自行车运动员的一个队列中发现 AKK 菌数量增多,因此运动可能通过增加 AKK 菌的含量改善便秘,但并未在所有自行车运动员中发现,其他运动方式人群中也未报道,还需更多研究证实^[38]。此外,在移植便秘患者粪菌的小鼠中发现 AKK 菌增加,由于其可产生大量使黏液样物质和肠粘蛋白降解的酶,致大便干燥,加剧便秘,这提醒我们需理性看待 AKK 菌对机体的作用,其有益或有害作用可能受多种因素的影响,无法单一认定某种细菌的功能^[25]。

6 总结

综上所述,运动训练可能通过调节肠道菌群的组成及其代谢产物的变化而预防和治疗便秘。然而停止 6 周运动训练将逆转运动引起的菌群变化,其肠道菌群组成的改变只是暂时性的,并依赖于运动训练的刺激,表明长期的运动训练更可能维持对肠道菌群的影响^[35]。在前驱糖尿病患者中,运动对胰岛素敏感性和糖稳态的改善作用与 GM 及其代谢物密切相关,不同患者可能因此对运动存在差异性应答,某些人无法从中获益^[44]。在此背景下,我们推测运动对便秘的改善作用也可能存在这种情况,那么基于肠道菌群的个性化干预方式可能更利于便秘患者。因此,适度、长期、个性化的运动方式在便秘患者中更值得提倡,但尚缺乏大规模的数据来支撑这一理论。

在肠道菌群相关研究中,细菌的数量和活性,谁对各细菌间的相互作用及

宿主与整体新陈代谢的作用更强，在目前的知识阶段尚无法得到明确的答案，未来需依赖于多元组学、基因组学和代谢组学方法的相互印证补充。此外，多数研究比较了疾病和健康状况下肠道菌群的差异和某些相关性，但相关性不等于因果性，需要更严谨的应用多方法学进行因果验证。故运动调控肠道菌群以此改善便秘的分子机制还需充足的实验证明。

参考文献

- [1] LACY B E, FERMIN MEARIN, CHANG L, et al. Bowel Disorders.[J]. *Gastroenterology*, 2016, 150(6): 1393-1407.
- [2] 中华医学会消化病学分会胃肠动力学组, 功能性胃肠病协作组.中国慢性便秘专家共识意见(2019,广州)[J]. *中华消化杂志*, 2019, 39(9): 577-598.
- [3] JOHANSON J F, KRALSTEIN J. Chronic constipation: a survey of the patient perspective[J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2007, 25 (5) :599-608. DOI: 10.1111/j.1365-2036.2006.03238.x.
- [4] DE MEIJ T G, DE GROOT E F, ECK A, et al. Characterization of Microbiota in Children with Chronic Functional Constipation[J]. *PLOS ONE*, 2016, 11(10).
- [5] DE VADDER F, GRASSET E, MANNERAS HOLM L, et al. Gut microbiota regulates maturation of the adult enteric nervous system via enteric serotonin networks[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2018, 115(25): 6458-6463.
- [6] MADEMPUDI R S, NEELAMRAJU J, AHIRE J J, et al. *Bacillus coagulans* Unique IS2 in Constipation: A Double-Blind, Placebo-Controlled Study[J]. *Probiotics Antimicrob Proteins*, 2019: 1-8.
- [7] TIAN H, DING C, GONG J, et al. Treatment of Slow Transit Constipation With Fecal Microbiota Transplantation: A Pilot Study[J]. *J Clin Gastroenterol*, 2016, 50(10): 865-870.
- [8] CHRYSOSTOMOU V, GALIC S, VANWIJNGAARDEN P, et al. Exercise reverses age-related vulnerability of the retina to injury by preventing complement-mediated synapse elimination via a BDNF-dependent pathway[J]. *Aging Cell*, 2016, 15(6): 1082-1091.
- [9] PEDERSEN L, IDORN M, OLOFSSON GH, et al. Voluntary Running Suppresses Tumor Growth through Epinephrine- and IL-6-Dependent NK Cell Mobilization and Redistribution[J]. *Cell Metab*, 2016, 23(3): 554-562.
- [10] ASAKURA K, MASAYASU S, SASAKI S. Dietary intake, physical activity, and time management are associated with constipation in preschool children in Japan[J]. *Asia Pac J Clin Nutr*, 2017, 26(1): 118-129.
- [11] HUANG R, HO SY, LO WS, Lam TH. Physical activity and constipation in Hong

- Kong adolescents[J]. PLoS One, 2014, 9(2).
- [12]SONG B K, KIM Y S, KIM H S, et al. Combined exercise improves gastrointestinal motility in psychiatric in patients[J]. World J Clin Cases, 2018, 6(08): 51-57.
- [13]DAVIS J, CAMILLERI M, ECKERT D,et al. Physical activity is associated with accelerated gastric emptying and increased ghrelin in obesity [J]. Neurogastroenterol Motil, 2020.
- [14]乔德才, 时晓昀, 刘晓莉. 不同强度运动对体育专业女大学生胃肠激素和免疫物质的影响[J]. 中国运动医学杂志, 2008, (06): 735-736+751.
- [15]BILSKI J, MAZURBIALY A I, MAGIEROWSKI M, et al. Exploiting Significance of Physical Exercise in Prevention of Gastrointestinal Disorders[J]. Current Pharmaceutical Design, 2018, 24 (18) : 1916-1925.
- [16]KHALIF I, QUIGLEY E M, KONOVIH E A, et al. Alterations in the colonic flora and intestinal permeability and evidence of immune activation in chronic constipation[J]. Dig Liver Dis, 2005, 37(11): 838-849.
- [17]田宏亮. 菌群移植治疗慢传输型便秘的临床机制研究及治疗策略优化[D]. 南京: 南京大学, 2017.
- [18]GE X, ZHAO W, DING C, et al. Potential role of fecal microbiota from patients with slow transit constipation in the regulation of gastrointestinal motility[J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 441.
- [19]WANG L, HU L, XU Q, et al. Bifidobacterium adolescentis Exerts Strain-Specific Effects on Constipation Induced by Loperamide in BALB/c Mice[J]. Int J Mol Sci, 2017, 18(2).
- [20]WANG L, HU L, YAN S, et al. Effects of different oligosaccharides at various dosages on the composition of gut microbiota and short-chain fatty acids in mice with constipation[J]. Food Funct, 2017, 8(5): 1966-1978.
- [21]ZHAO L, HUANG Y, LU L, et al. Saturated long-chain fatty acid-producing bacteria contribute to enhanced colonic motility in rats.[J]. Mbio, 2018, 6(1): 107-107.
- [22]DRRHAN EC, YANG C, PEREZ-MUNOZ ME, et al. Precision Microbiome Modulation with Discrete Dietary Fiber Structures Directs Short-Chain Fatty Acid Production[J]. Cell Host Microbe, 2020, 27(3): 389-404.
- [23]WILLIAMS E K, CHANG R B, STROCHLIE D E, et al. Sensory Neurons that Detect Stretch and Nutrients in the Digestive System[J]. Cell, 2016, 166(1): 209-221.
- [24]MARTIN AM, YABUT JM, CHOO JM, et al. The gut microbiome regulates host glucose homeostasis via peripheral serotonin[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2019, 116(40): 19802-19804.
- [25]CAO H, LIU X, AN Y, et al. Dysbiosis contributes to chronic constipation development via regulation of serotonin transporter in the intestine[J]. Scientific


- Reports, 2017, 7(1).
- [26] ISRAELYAN N, DEL COLLE A, LI Z, et al. Effects of Serotonin and Slow-Release 5-Hydroxytryptophan on Gastrointestinal Motility in a Mouse Model of Depression[J]. *Gastroenterology*, 2019, 157(2): 507-521.
- [27] SIOPI E, CHEVALIER G, KATSIMPARDI L, et al. Changes in Gut Microbiota by Chronic Stress Impair the Efficacy of Fluoxetine[J]. *Cell Rep*, 2020, 30(11): 3682-3690.
- [28] OBATA Y, CSATANO Á, BOEING S, et al. Neuronal programming by microbiota regulates intestinal physiology[J]. *Nature*, 2020, 578(7794): 284-289.
- [29] JANKIPERSADSING S A, HADIZADEH F, BONDER M J, et al. A GWAS meta-analysis suggests roles for xenobiotic metabolism and ion channel activity in the biology of stool frequency[J]. *Gut*, 2017, 66(4): 756-758.
- [30] CHANDRASEKHARAN B, SAEEDI B J, ALAM A, et al. Interactions Between Commensal Bacteria and Enteric Neurons, via FPR1 Induction of ROS, Increase Gastrointestinal Motility in Mice[J]. *Gastroenterology*, 2019, 157(1): 179-192.
- [31] ALLEN J M, MAILING L J, COHRS J, et al. Exercise training-induced modification of the gut microbiota persists after microbiota colonization and attenuates the response to chemically -induced colitis in gnotobiotic mice[J]. *Gut Microbes*, 2018, 9(2): 115–130.
- [32] CAMPBELL S C, WISNIEWSKI P J, NOJI M, et al. The Effect of Diet and Exercise on Intestinal Integrity and Microbial Diversity in Mice[J]. *PLoS One*, 2016, 11(3).
- [33] QUEIPO-ORTUNO M I, SEOANE L M, MURRI M, et al. Gut microbiota composition in male rat models under different nutritional status and physical activity and its association with serum leptin and ghrelin levels[J]. *PLoS One*, 2013, 8(5).
- [34] YU J C, HALE V L, KHODADADI H, et al. Whole Body Vibration-Induced Omental Macrophage Polarization and Fecal Microbiome Modification in a Murine Model[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(13): 3125.
- [35] ALLEN J M, MAILING L J, NIEMIRO G M, et al. Exercise Alters Gut Microbiota Composition and Function in Lean and Obese Humans[J]. *Med Sci Sports Exerc*, 2018, 50(4): 747-757.
- [36] CRONIN O, BARTON W, SKUSE P, et al. A Prospective Metagenomic and Metabolomic Analysis of the Impact of Exercise and/or Whey Protein Supplementation on the Gut Microbiome of Sedentary Adults[J]. *mSystems*, 2018, 3(3).
- [37] BARTON W, PENNEY N C, CRONIN O, et al. The microbiome of professional athletes differs from that of more sedentary subjects in composition and particularly at the functional metabolic level[J]. *Gut*, 2018, 67(4): 625-633.

- [38]PETERSEN L M, BAUTISTA E J, NGUYEN H, et al. Community characteristics of the gut microbiomes of competitive cyclists[J]. Microbiome, 2017, 5(1): 98.
- [39]SCHEIMAN J, LUBER J M, CHAVKIN T A, et al. Meta-omics analysis of elite athletes identifies a performance-enhancing microbe that functions via lactate metabolism[J]. Nat Med, 2019, 25(7): 1104-1109.
- [40]蒋兴宇, 赵霞, 邹凌云, 等. 适度运动对人体肠道菌群结构的影响[J]. 第三军医大学学报, 2017, 39(18): 1824-1831.
- [41]YANO J M, YU K, DONALDSON G P, et al. Indigenous bacteria from the gut microbiota regulate host serotonin biosynthesis [J]. Cell, 2015, 161(2): 264-276.
- [42]KORECKA A, DONA A, LAHIRI S, et al. Bidirectional communication between the Aryl hydrocarbon Receptor (AhR) and the microbiome tunes host metabolism[J]. NPJ Biofilms Microbiomes, 2016, 2: 16014.
- [43]ZHANG T, LI Q, CHENG L, et al. Akkermansia muciniphila is a promising probiotic[J]. Microb Biotechnol, 2019, 12(6): 1109-1125.
- [44]LIU Y, WANG Y, NI Y, et al. Gut Microbiome Fermentation Determines the Efficacy of Exercise for Diabetes Prevention[J]. Cell Metab, 2020, 31(1): 77-91.

附件 2：伦理审批件

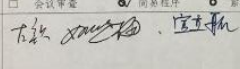

■批件号：2020 科研 011 (2020ky011)

**西部战区总医院伦理委员会
科研项目审批件**

项目名称	截瘫外骨骼机器人对完全性脊髓损伤患者多系统功能影响的研究					
项目负责人	王文春	职称	副主任医师			
提交审议资料	临床科研项目研究方案；病理报告表；主要研究者专业履历；知情同意书；医疗器械注册证。					
方案版本号	1.0	知情同意书版本号	1.0			
参会情况	应到	14	实到	10	回避	0
结论	同意	补充资料后同意	补充资料后重新审议	不同意		
	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
会议日期	2020.7.8					
会议地点	药剂科会议室					
备注（可另附页）：	同意：1 票 补充资料后同意：9 票					
主任 / 副主任委员	 2020 年 7 月 9 日					

四川省八一康复中心（四川省康复医院）
医学伦理委员会医学研究项目伦理批件

编号：CKLL-2020028

项目名称	截瘫外骨骼机器人对完全性脊髓损伤患者多系统功能影响的研究				
研究主要内容	<p>脊髓损伤是当今世界面临的重大医学难题，尤其是完全性脊髓损伤，目前尚无有效的治疗手段。外骨骼机器人作为治疗 SCI 的替代疗法，其安全性已得到诸多研究证实，且在步行功能方面的改善也有报道，但目前对于 SCI 后其他系统的研究仍不多见，值得进一步的探索。若外骨骼机器人能对 SCI 后循环、呼吸、泌尿、消化、运动等系统产生积极促进作用，将为外骨骼机器人应用于脊髓损伤中提供又一可靠理论依据。为 SCI 患者全面康复提供新的治疗策略，同时可减轻康复治疗中的工作压力。</p> <p>本研究采用前瞻性、随机对照研究，按照所设定的纳入标准选取完全性脊髓损伤患者 20 例（其中四川省八一康复中心完成 12 例，西部战区总医院和成都锦江区康复医院各完成 4 例），随机分为试验组和对照组。试验组进行常规运动治疗和截瘫外骨骼机器人训练（下肢步行外骨骼，Aider1.1，电子科技大学），对照组进行常规运动治疗，训练时间为每日 1 次，每周 5 次，共 8 周。常规运动治疗依据“急性性脊柱脊髓损伤评估、治疗与康复”专家共识，主要为关节活动度训练、牵伸训练、平衡训练、转移训练等。取 4 个时间点进行各系统评定（包括循环呼吸系统、消化系统、泌尿系统、肌肉骨骼系统、疼痛、生活质量等的研究），分别为训练前、训练第 4 周结束后、训练第 8 周结束后、训练结束后 4 周。</p>				
研究负责人	常存军	职称	副主任医师	联系方式	18683255217
提供材料	<input checked="" type="checkbox"/> 临床研究方案 <input checked="" type="checkbox"/> 知情同意书 <input type="checkbox"/> 病例报告表				
伦理审查方式	<input type="checkbox"/> 会议审查 <input checked="" type="checkbox"/> 简易程序 <input type="checkbox"/> 紧急情况受试者研究的审查				
参与审查委员					
审查表决人数	通过 3 人	修改后通过 0 人	不通过 0 人	终止研究 0 人	回避 0 人
主任/副主任委员	常存军		会议地点	2020 年 7 月 11 日	
会议日期	2020 年 7 月 11 日		批准日期	2020 年 7 月 11 日	
结论：(1) 同意实施	<input checked="" type="checkbox"/>		(4) 不同意	<input type="checkbox"/>	
(2) 建议修改后实施	<input type="checkbox"/>		(5) 停止/中止该项目研究	<input type="checkbox"/>	
(3) 建议修改后重新审查	<input type="checkbox"/>				
伦理委员会盖章	 日期：2020 年 7 月 11 日				

联系电话	18908069418	移动电话		电子邮箱	wwc1977@foxmail.com
通信地址	西部战区总医院康复医学科			邮政编码	610000
申请人（项目负责人）承诺：以上所填内容（包括表二的各附件材料）均属实，如获批准，我将严格按照提供的方案进行研究，并遵守成都锦江区康复医院医学伦理管理委员会的相关规定。					
申请人（项目负责人）签字：王文春			日期：2020 年 5 月 10 日		
申报单位领导意见（如果领导是研究者，请副主管签字）： 我已审查本研究项目，研究设计和方法合理，研究者有足够的资金保障开展研究，因此我单位同意开展此项研究，希望得到成都锦江区康复医院医学伦理管理委员会的进一步审查。					
单位领导签字：袁一			日期：2020.5.26		
成都锦江区康复医院医学伦理管理委员会审批意见：					
主任委员签字：袁一			日期：2020.5.27		

附件 3：国际脊髓损伤肠道功能基础数据集 (2.0 版)

国际脊髓损伤肠道功能基础数据集 (2.0 版) ←

记录日期：____ 年 ____ 月 ____ 日 ☐ 不详 ←

1. 与脊髓损伤无关的胃肠道或肛门括约肌功能障碍 ←

☐ 无 ☐ 有，详细说明 ☐ 不详 ←

2. 胃肠道外科手术 ←

☐ 无 ☐ 不详 ←

☐ 阑尾切除术 完成手术的日期 _____ ←

☐ 胆囊切除术 完成手术的日期 _____ ←

☐ 结肠造瘘术 最后完成的手术日期 _____ ←

☐ 回肠造瘘术 最后完成的手术日期 _____ ←

☐ 其他，详细说明最后完成的手术日期 _____ ←

3. 排便方法和肠道管理方式(最近四周内)： ←

主要 次要 ←

正常排便 ☐ ☐ ←

向下用力/挤压排便 ☐ ☐ ←

手指肛门直肠刺激 ☐ ☐ ←

使用栓剂 ☐ ☐ ←

手掏排便 ☐ ☐ ←

小包装灌肠剂(≤150 ml) ☐ ☐ ←

灌肠剂(>150 ml) ☐ ☐ ←

结肠造瘘术 ☐ ☐ ←

骶神经前根刺激 ☐ ☐ ←

其他方法，说明 ☐ ☐ ←

☐ 不详 ☐ 不适用 ←

4. 平均排便时间(最近四周内)：* ←

☐ 0~30 分钟 (0) ☐ 31~60 分钟 (3) ☐ 超过 60 分钟 (7) ←

☐ 不详 ☐ 不适用 ←

5. 排便次数(最近四周内)：* ←

☐ 每日 1 次 (0) ☐ 每周 2~6 次 (1) ☐ 每周 1 次或更少 (6) ←

☐ 不详 ☐ 不适用 ←

6. 大便时伴随不适、头痛或大汗(最近四周内)：* ←

☐ 无 (0) ☐ 是 (2) ☐ 不详 ←

7. 手指刺激肛门或手指帮助排泄(最近四周内)：* ←

☐ 每日 1 次 (6) ☐ 每周 1 次或多次 (6) ☐ 少于每周 1 次 (0) ☐

☐ 从不 (0) ☐ 不详 ☐

8. 大便失禁频率 (最近四周内): * ☐

☐ 每日一次 (0) ☐ 每周 1~6 次 (7) ☐ 每月 1~4 次 (6) ☐

☐ 少于每月 1 次 (0) ☐ 从不 ☐ 不详 ☐

9. 排气失禁 (最近四周内): * ☐

☐ 无 (0) ☐ 有 (2) ☐

☐ 不详 ☐ 不适用 ☐

10. 需要外用尿布、衬垫或塞子 (最近四周内): ☐

☐ 无 ☐ 有 ☐ 不详 ☐

11. 口服泻药 (最近四周内): * ☐

☐ 无 ☐

☐ 有, 滴剂或液体 (2) ☐

☐ 膨胀或渗透性的 ☐ 刺激的 ☐

☐ 有, 片剂、胶囊或颗粒 (2) ☐

☐ 膨胀或渗透性的 ☐ 刺激的 ☐

☐ 胃肠促动力剂 ☐

☐ 其他, 注明: _____ ☐

☐ 不详 ☐

12. 止泻剂或治疗大便失禁的药物 (最近四周内): * ☐

☐ 无 (0) ☐ 有 (4) ☐ 不详 ☐

13. 肛周问题 (最近四周内): * ☐

☐ 无 (0) ☐ 有 (3) ☐ 痔疮 ☐ 肛周溃疡 ☐ 肛裂 ☐ 直肠脱垂 ☐

☐ 其他, 说明 _____ ☐ 不详 ☐

14. 腹痛或不适 (最近四周内): ☐

☐ 每天 ☐ 每周 1~6 次 ☐ 每周 1 次或更少 ☐ 从不 ☐ 不详 ☐

☐

总得分 (可选且只适用于成人): * _____ ☐

注: 带*的用于计算 NBD 评分。服用滴剂或液体, 片剂、胶囊或颗粒各计 2 分。

(NBD 评分说明: 0~6 很轻微, 7~9 轻度, 10~13 中度, 14 及以上严重的神经源性肠功能障碍。)☐

☐

附件 4：附图

姓名: 张德龙 ID号: 201356 入组时间: 2021.4.13
研究中心: 四川八一医院

饮食记录表

日期	早餐	午餐	晚餐
2021.4.19	鸡蛋、稀饭、包子	红豆炒肉、白菜、米饭	豆干炒肉、青菜、米饭
2021.4.20	鸡蛋、稀饭、包子	茄子炒肉、土豆丝、米饭	面条、苹果
2021.4.21	鸡蛋、稀饭、包子	红烧肉、青菜、米饭	面条
2021.4.22	鸡蛋、稀饭、包子	西兰花炒肉、小酥肉、米饭	蛋炒饭
2021.4.23	鸡蛋、稀饭、包子	青椒肉丝、青菜、米饭	土豆丝炒肉、青菜、米饭
2021.4.24	鸡蛋、稀饭、包子	茄子炒肉、白菜、米饭	饺子
2021.4.25	鸡蛋、稀饭、包子	蒜泥、茄子炒肉、米饭	面条
2021.4.26	鸡蛋、稀饭、包子	土豆炒肉、青菜、米饭	抄手
2021.4.27	鸡蛋、稀饭、包子	蒜泥炒肉、四季豆、米饭	抄手
2021.4.28	鸡蛋、稀饭、包子	茄子炒肉、小白菜、米饭	抄手
2021.4.29	鸡蛋、稀饭、包子	土豆炒肉、干煸四季豆、米饭	面条
2021.4.30	鸡蛋、稀饭、包子	青椒肉丝、青菜、米饭	面条

注: 此表由受试者及其家属每日填写, 研究人员每日查阅。

附图 1 受试者饮食记录表

外骨骼训练记录表

日期	开机检查	训练开始时间	训练结束时间	患者身体状态	是否耐受	器械状态	研究者	受试者
第三周 星期一 2021/4/19日	✓	13时40分 18秒	14时20分 33秒	良好	耐受	正常	张德龙	张德龙
星期二 2021/4/20日	✓	13时45分 20秒	14时25分 26秒	良好	耐受	正常	张德龙	张德龙
星期三 2021/4/21日	✓	13时45分 50秒	14时30分 12秒	良好	耐受	正常	张德龙	张德龙
星期四 2021/4/22日	✓	13时40分 30秒	14时20分 25秒	良好	耐受	正常	张德龙	张德龙
星期五 2021/4/23日	✓	13时50分 10秒	14时30分 30秒	良好	耐受	正常	张德龙	张德龙
第四周 星期一 2021/4/26日	✓	13时45分 20秒	14时25分 50秒	良好	耐受	正常	张德龙	张德龙
星期二 2021/4/27日	✓	13时45分 30秒	14时25分 12秒	良好	耐受	正常	张德龙	张德龙
星期三 2021/4/28日	✓	14时05分 00秒	14时35分 00秒	良好	耐受	正常	张德龙	张德龙
星期四 年 月 日		时 分 秒	时 分 秒					
星期五 2021/4/29日	✓	14时00分 40秒	14时35分 24秒	良好	耐受	正常	张德龙	张德龙

附图 2 外骨骼训练记录表

截瘫外骨骼机器人对完全性脊髓损伤患者
多系统功能影响的研究
病例报告表
(Case Report Form)

受试者编号: 6
受试者姓名: 张德龙
联系电话: 15201111111
家庭地址: 四川省成都市武侯区
研究者: 王立春
研究负责人: 王立春
入组时间: 2020年11月9日

附图 3 受试者病例报告表

附件 5：在读期间公开发表的学术论文、专著及科研成果

序号	成果（论文、专著、获奖项目）名称	成果鉴定、颁奖部门及奖励类别、等级或发表刊物与出版单位、时间	本人署名次序
1	吲哚及衍生物靶向 T 细胞调控中枢神经系统的研究进展	《医学研究生学报》，2020 年第 33 卷第 11 期	第一作者
2	基于肠道菌群探讨运动改善慢性便秘的可能机制	《中国全科医学》，2021 年第 24 卷第 15 期	第一作者

附件 6：申明及授权书

独创性声明

本人郑重声明：所呈交的学位论文是本人在成都中医药大学攻读硕士学位期间在导师指导下独立进行研究工作所取得的成果，无抄袭及编造行为。据我所知，除了文中特别加以标注和致谢的地方外，本论文中不包含其他人已经发表或撰写过的研究成果。与我一同工作的同志对本研究所做的任何贡献均已在论文中作了明确的说明并表示了谢意。

学位论文作者签名（亲笔）：胡晓敏 2021 年 12 月 17 日

学位论文使用授权书

根据国家相关规定，已通过的学位论文应当公开发表。本人同意：成都中医药大学有权通过影印、复印等手段汇编学位论文予以保存，并提供查阅和借阅；有权向国家有关部门、其他相关机构送交论文及电子版，公布（或刊登）论文内容。

保密论文在解密后应遵守此规定。

学位论文作者签名（亲笔）：胡晓敏 2021 年 12 月 17 日

指导教师签名（亲笔）： 2021 年 12 月 17 日