

让肠道告诉你...

都润肠讯[📶]

都润肠道健康研究中心主办

宿主和微生物相互作用形成胃肠道环境 (II)
肠道菌群适应环境变化

17
第十七期



dorun
for the real health

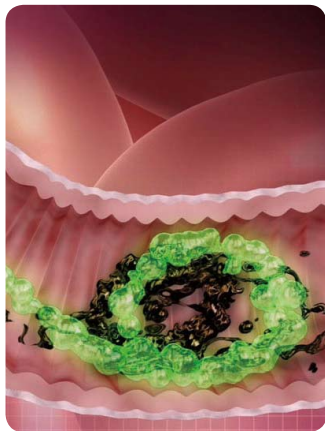
contents



03

基础理论:

宿主和微生物相互作用形成
胃肠道环境 (II)



09

基础理论:

肠道菌群适应环境变化



14

研究前言

基础理论

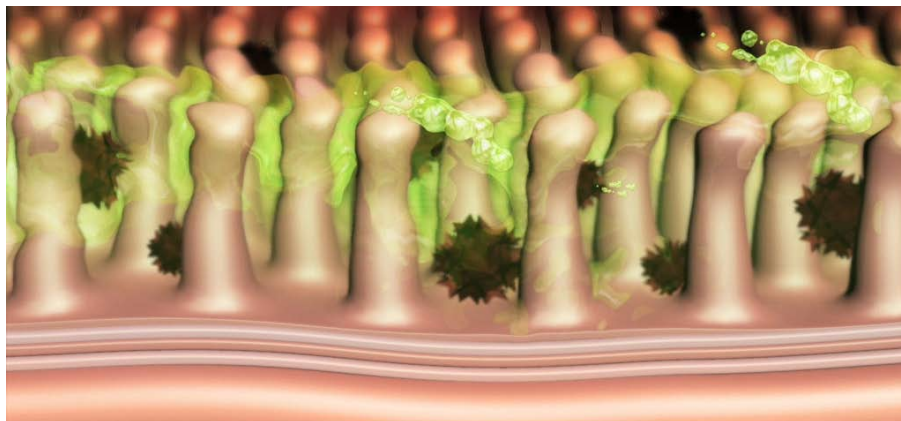
聚焦：免疫和微生物 宿主和微生物相互作用形成胃肠道环境（II）

共生定植抗力的病原性破坏

一些病原体在宿主肠道中可以克服共生抗力并大量繁殖。最近多项研究已经阐明了利用特定细菌破坏肠道菌群共生防御的分子机制。Ng等最近发现，使用抗生素导致固有菌群破坏后，某些腹泻病原菌的数量增加。实验表明接种单个多形拟杆菌定植到无菌小鼠体内，多形拟杆菌能够获得粘液唾液酸和岩藻糖，但不能利用。这导致沙门氏菌和梭状芽孢杆菌中的nan操纵子途径（单一启动子相关联的基因簇参与相关代谢功能的调控）表达的上调，使得唾液酸和岩藻糖进行营养代谢。这促使这些病原体比在共生多形拟杆菌缺失发生的情况下更好地增殖。通过链霉素治疗传统饲养小鼠的复杂菌群导致唾液酸的增加，由于消耗唾液酸的共

生微生物很可能已经被消除，从而导致了后续接种病原体的扩散。这些结果表明，对病原菌的共生抗力也来源于对副产物的竞争，这些副产物是其他共生菌代谢产生的，如多形拟杆菌。在某些情况下，病原菌可以控制这些途径。这项研究中出现的一个关键问题是确认链霉素敏感型唾液酸共生菌。这些细菌可能在腹泻疾病的预防中具有治疗价值。

另一个最新研究策略，病原菌利用定植有效地促进导致过剩自由基的宿主炎症反应。这个概念主要是通过沙门氏菌的发病机制进行研究。自由基可以作为大多数共生菌种不表达的代谢途径的电子受体，尤其是连四硫酸盐还原酶群（*ttrA*），以便在呼吸作用中利用。表达这种酶的病原菌可以因此获得增长优势。鼠伤寒沙门氏菌感染引起炎症反应并在吞噬细胞呼吸爆发期间通过NAPDH氧化酶活力生成活性氧（ROS）。稳态条件



下，共生菌在发酵过程中产生 H_2S ，然后通常通过上皮细胞转化为无毒的硫代硫酸盐以防止毒性。由上皮细胞产生的ROS氧化硫代硫酸钠，导致产生替代连四硫酸盐的产物。这反过来又促进沙门氏菌（表达*ttrA*的基因簇）的呼吸作用，从而使得这种病菌产生生长优势。Maier等人最近研究了在低复杂度的肠道环境下，或者是不到20种菌群组成

情况下，鼠伤寒沙门氏菌入侵肠道生态系统的初始阶段，结果表明肠道菌群数量降低但仍有许多共生微生物，包括毛螺旋菌和拟杆菌，促使沙门氏菌感染。作者特别研究了任何炎症和活性氧产生前的阶段。研究结果表明，在初步扩展阶段，沙门氏菌表达的氢化酶能够使它利用来自共生发酵的氢气产物作为能量来源。

这一机制确定炎症如何使外源性病原菌鼠伤寒沙门氏菌的扩增；然而，问题仍然是炎症如何影响与人类慢性炎症性疾病相关的固有微生物的增殖。菌群失调的情况经常与各种炎症性疾病相关如炎症性肠病（IBD），由于某些菌种的过度繁殖（或减少），共生关系已经实质性改变了菌种的相对丰度。例如，来源于多个独立的人类基因组16S测序研究证实，肠杆菌科细菌丰度的增加（大肠杆菌菌群为主）与IBD诊断结果呈正相关。更具体地说，通过共培养和粘膜活检抗体检测方法证实，大肠杆菌与炎症性肠病（IBD）相关联，尽管这些相关性在共生的大肠杆菌和肠炎之间一直仍未可能建立一种因果关系。最新研究中，Winter等人试图剖析一个问题，即大肠杆菌的扩增是否引起炎症反应的次生效应。作者研究证实，在体内肠道炎症（使用上皮细胞损伤剂DSS产生的）导致硝

酸盐和亚硝酸盐离子的生产，这些离子选择性的被兼性厌氧菌如大肠杆菌利用。不像其它大多数共生菌，大肠杆菌表达的硝酸还原酶螯合硝酸根离子作为终端电子受体促进无氧呼吸。这个过程赋予大肠杆菌（但不是缺乏这些还原酶的突变体）生长优势，这种细菌能利用炎症反应的硝酸盐产物产生能量，优于大部分严格依靠发酵来满足自身能量需求的肠道厌氧菌。这些数据表明，作为炎症反应期间硝酸盐产生的次生结果，大肠杆菌增殖是更具代表性的肠道炎症标志物。

虽然肠道菌群对病原菌的入侵保持一个强烈的协同抗力，但仍有特定病原菌和固有共生菌已经进化到利用共生菌和宿主衍生的代谢产物来破坏代谢过程。抵御病原菌定植的第二道防线涉及肠道屏障的免疫防御，这在塑造肠道微生物群的组成方面也发挥了举足轻重的作用。

微生物与肠道屏障的相互作用

肠黏膜屏障防御包括物理屏障（单层上皮细胞）和化学屏障（包括粘液层、分泌型IgA和抗菌肽(AMPs)。研究表明这个物理-化学屏障构成肠道免疫系统的部分并在肠道微生物菌群组成中起着至关重要的作用。同样，微生物自身通过代谢产物和免疫刺激配体调节肠道免疫系统的功能。现在有研究的热点是共生微生物释放的可溶性因子如何影响肠上皮细胞，以及这些上皮细胞在活化的免疫细胞群和微生物之间形成物理屏障。

屏障的免疫防御作用：IgA

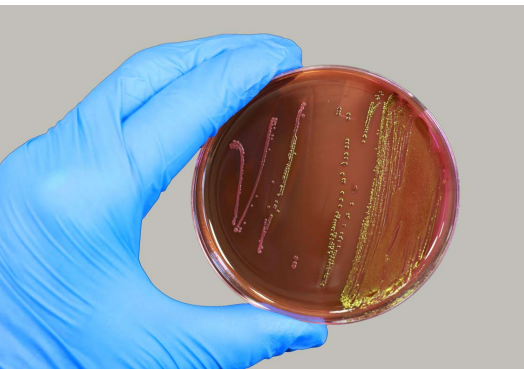
IgA分泌后穿越上皮细胞进入肠腔并为细菌提供了抵抗病原体的关键防御。在无菌小鼠，最明显的免疫学缺陷之一是分泌型IgA的缺失和浆细胞的缺乏。由共生菌定植的无

菌小鼠可以逆转此种缺陷型，表明菌群调控肠道浆细胞和分泌型IgA的产生。这个过程是由树突状细胞（DC）获取肠道共生细菌并迁移至肠系膜淋巴结与B细胞相互作用诱导产生IgA。最近的一项研究中采取IgA诱导进一步分析检查B细胞发育的早期阶段V（D）J在小鼠各组织中重组。实验表明，B细胞受体的修饰不仅发生在胚胎的肝脏和骨髓，也发生在肠道固有层中。B细胞受体肠道特异

性修饰似乎是由发育的微生物群产生的信号调控的，这种现象在无菌小鼠并不存在。这项研究对肠道定植发生后，IgA特异性反应对共生菌如何产生提供了一个解释。共生微生物因此调节肠道特异性B细胞IgA库的初始发育。研究证实，共生菌通过Toll样受体（TLR）调控肠上皮细胞和粘膜DCs的功能来诱导IgA开关配体。此外，缺失多聚IgA受体（pIgR）的小鼠不能转运IgA进入肠腔，从而增加了肠系膜淋巴结细菌的存在。总体而言，这表明菌群在形成基于阻止共生细菌穿越肠上皮屏障转移的肠道免疫反应中的重要作用。尽管微生物在这些过程中是很重要的，关于特定的细菌对IgA的诱导机制仍尚未确定。

越来越多的证据表明肠道互惠关系的存在，如肠道IgA特异性控制微生物菌群的组成。Wei等对于体细胞突变对肠道B细胞免疫

功能影响的研究表明，活化诱导胞嘧啶核苷脱氨酶基因的一个位点突变产生的小鼠，影响B细胞进行体细胞突变并限制它们分泌型IgA库多样性的能力。这些小鼠自然发育失调与特定的细菌如小肠结肠炎耶尔氏菌过度生长有关，正常的多样化的IgA库对控制这些共生菌是必需的。此外，最近Kawamoto等人研究表明，在肠道共生的厚壁菌门和IgA的选型之间存在反馈循环调节作用。利用Foxp3+转移的T细胞到T细胞缺陷的小鼠，研究证明这些细胞在Peyer's集合淋巴结生发中心选择高度多样化的IgA库。这反过来又有助于维持更多样化的菌群，特别是厚壁菌门，这有利于在Peyer's集合淋巴结的Foxp3 + T细胞进一步扩增。因此，IgA和微生物群相互调节，在动态平衡中宿主与微生物之间互利共生。接下来的研究主要是IBD病原入侵或慢性炎症期间这些过程是如何被破坏的。



屏障免疫防御的角色：抗菌蛋白 (AMPs)

与IgA类似，AMPs似乎也 and 微生物群具有互惠关系。这些进化上古老的先天免疫肽类是由大多数黏膜上皮细胞（和一些免疫细胞）产生和分泌的；位于小肠隐窝腺的潘氏细胞，是小肠中这些肽的主要来源。在肠道产生的主要AMPs包括 α -防御素（由潘氏细胞产生）， β -防御素（由结肠产生），C型凝集素（胰岛衍生蛋白（REG）家族再生，由潘氏细胞和肠上皮细胞产生），抗菌肽（由结肠产生），和溶菌酶，磷脂酶A2，和核糖核酸酶（均由潘氏细胞产生）。这些肽的作用机制各不相同。广谱的针对细菌的防御素和抗菌肽具有阳离子残基，可以吸引带负电荷的富含脂质膜的细菌产生微孔导致细胞裂解，而其他AMPs，包括C型凝集素，通过专门结合肽聚糖选择性地对革兰氏

阳性细菌作用。尽管AMPs具有如此效力，随着的抗生素使用，一些病原体也进化出机制以逃避AMPs的杀害。例如，沙门氏菌和志贺氏菌通过减少阴离子细胞壁的负电荷来排斥阳离子AMPs或通过抑制肠道这些分子的合成来逃避防御素。最近，我们已经开始了解AMP分泌的调节，这似乎被严格控制以尽量减少一些AMPs对哺乳动物细胞膜的毒性作用。在无菌小鼠的研究已经表明，一些肠道AMPs需要微生物源的信号，而其他仅依赖于宿主。 β -防御素2、REG3 γ 和血管生成素4（RNase）在无菌小鼠体内表达量非常低或缺失，但在有菌群定植的传统饲养小鼠中表达升高。此外，其他的研究已经开始解开这个微生物驱动的AMP表达分子基础。例如，直接对上皮细胞TLRs刺激是REG3 γ 表达所需要的，因为缺乏髓样分化初级反应蛋白88（MyD88）的小鼠肠上



皮细胞REG3 γ 出现显著减少，潘氏细胞的活力降低。此外，细胞内的病原体识别受体（PRR）核苷酸寡聚化结构域（NOD2）被革兰氏阳性和阴性细菌的胞壁酰二肽配体激活，诱导来自潘氏细胞的大量AMPs释放。



作为这一作用的结果，与同窝对照相比，NOD2缺失的小鼠小肠菌群的组成发生大幅改变。微生物信号也可能通过非PRR依赖的机制诱导AMPs。例如，短链脂肪酸代谢产物丁酸在人肠上皮细胞有效诱导抗菌肽的表

达，从而增强抗感染能力。AMP调节的另一个重要方面是，与那些微弱的AMP活动相关的细胞内的氧化条件相比，当这些分子孤立时，可以观察到它们经历了通过降低肠腔内环境进行的选择性转译后活化。

AMPs不仅受共生菌群调节而且在菌群的组成中起着重要的作用。在小鼠采用抗体介导的reg3 γ 中和功能的研究中提供了AMP直接参与抗机会性肠道病原菌VRE的直接证据。重要的是，Salzman等人表明 α -防御素特别是对肠道菌群主要门类的组成产生深远的影响。作者比较了Mmp7缺陷小鼠的菌群（无法切割和激活 α -防御素）和 α -防御素过度表达转基因小鼠，发现之间的差异出现在厚壁菌门和拟杆菌门的细菌组成。最后，AMPs在微生物群的形成包括上皮细胞表面和微生物之间的分离起到重要作用。最近的研究表明，这个作用在很大程度上是由富含

AMP活力的肠道黏膜层建立的。基础日粮下的reg3 γ 缺陷型小鼠，由reg3 γ 靶向的革兰氏阳性细菌在肠道表面的定植明显增加；然而，在肠腔食糜细菌含量没有变化，表明AMP的活力仅限黏膜层和上皮细胞表面。

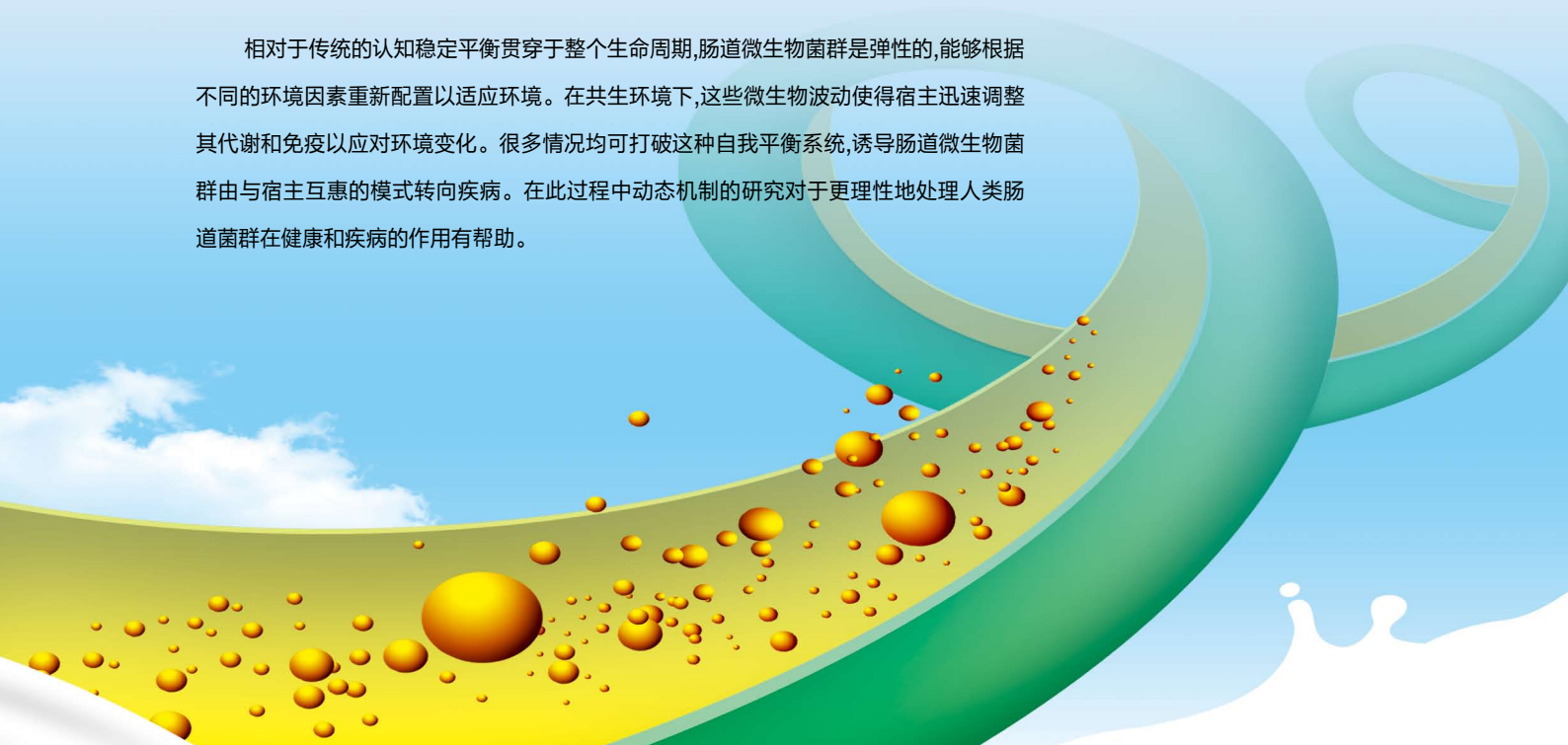
总之，研究表明，宿主的免疫防御屏障不仅防止微生物的入侵而且在形成正常共生种群的组成也起着至关重要的作用。这里存在一种互惠关系，共生菌提供反馈信号，该信号通过调节免疫系统保持微生物和上皮物理屏障之间的分隔。

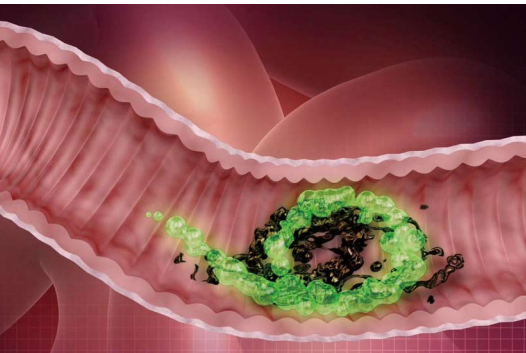
注：上述内容参考自“Host – microbe interactions shaping the gastrointestinal environment” Trends in Immunology. November 2014 (35)

研究进展

肠道菌群适应环境变化

相对于传统的认知稳定平衡贯穿于整个生命周期,肠道微生物菌群是弹性的,能够根据不同的环境因素重新配置以适应环境。在共生环境下,这些微生物波动使得宿主迅速调整其代谢和免疫以应对环境变化。很多情况均可打破这种自我平衡系统,诱导肠道微生物菌群由与宿主互惠的模式转向疾病。在此过程中动态机制的研究对于更理性地处理人类肠道菌群在健康和疾病的作用有帮助。





人类肠道微生物群是适应性的

人类90%的细胞组成的微生物细胞。这些微生物大多数生活在胃肠道内(GIT)构成人类肠道微生物菌群。肠道内容物的浓度达到 10^{12} CFU / g的肠道菌群可能是地球上生物最密集、最多样化并且快速进化的细菌生态系统。肠道微生物的基因组可以为人体提供尚未进化出的功能，机体的新陈代谢、生理学和免疫特性都与肠道微生物群落相关。例如，

肠道菌群能通过降解难消化的多糖来增强消化效率，与此同时也起到GIT病原菌的屏障作用。

此外,免疫系统和肠道微生物之间的互动对我们了解机体免疫系统的发育、建立和功能是至关重要的。研究进行了无菌(GF)小鼠模型显示,胃肠道超微结构的发育取决于与肠道菌群之间的动态互动。一项具有里程碑意义的研究基于三个小鼠模型——无菌小鼠、无菌小鼠接种正常肠道微生物群和正常无菌小鼠的后代——Heijtz等人证明了肠道微生物菌群也会影响围产期的突触发生,调节大脑发育和功能。此外,无菌小鼠进行的研究表明,在宿主遭遇伤害性刺激时肠道微生物群会影响宿主痛觉和行为反应。

最近的研究关于大脑和肠道系统中肠道菌群作用的假说,扩展出一系列的肠道微生物的生理功能和与之对应的与胃肠神经学。胃

肠道微生物菌群在物种水平显示出巨大的生物多样性。人类肠道微生物群16S rRNA基因序列发现了1000多种不同种类的细菌。在更高的系统发育水平,人类胃肠道微生物的生物多样性减少,导致特定的系统发育树只有少数分支。地球上有100种不同细菌但人体内只有6大类:拟杆菌门、厚壁菌门、放线菌、变形菌门、梭菌属、疣微菌门。这些微生物类群在健康的人类肠道中在相对丰度方面通常呈现高保守性:65%的厚壁菌门,25%拟杆菌门,5%的放线菌,8%变形菌门和1%梭菌属、疣微菌门。

微生物类群在健康的人类肠道中呈现高保守性，在成年后相对稳定。

肠道菌群不同日粮、环境微生物和地理条件下的动态

肠道微生物群在改变日粮后有快速响应的能力。事实上，微生物菌群在1-3天的时间内发生组成和功能的变化以适应日粮的改变。分子研究表明宿主的微生物菌群根据肠道中的可发酵碳水化合物调整其种系谱，有趣的是，这些波动受个体微生物物种组成的影响，在微生物群进化型中呈现出个体特异性饮食依赖性的改变。

当前研究微生物菌群对日粮的适应性并导致肠道菌群不断变化的动态关系是以长期和短期的日粮饲喂作为研究周期的，通过选择最佳降解效果的微生物种群底物，变化的微生物菌群为宿主提供了容易适应饮食变化的能力。

环境中接触到的细菌对人类肠道微生物菌群适应性的作用排在第二位。在整个人类的生活里，肠道菌群与环境微生物不断相互

每个健康人的机体内都有特定微生物种群，不同的亚种构成了人类肠道菌群。根据Turnbaugh的研究,70%的微生物是具备种群特异性的，其丰度不超过0.5%。由于先天与后天因素的影响,成人肠道菌群经历从一出生时就开始的极其动态的定植过程，在断奶后趋于稳定。

从系统发育和功能组成上讲，一般认为微生物菌群是在成年后相对稳定。然而,最近采用纵向的方法研究人类肠道微生物群生态系统，提出了关于人类肠道菌群新的、更多的动态视图。分子生物学的研究深入探讨肠道菌群对不同环境变化的动态响应,在针对日粮饮食、环境细菌、地理起源和气候变化时呈现出了意想不到的可塑性。最近，McNulty等人评估了14人的微生物菌群动态，连续每2周取他们的粪便微生物群，周期为120天。在

4个月的时间，phylotypes的74.6%显性基因和36%的个体微生物补充类型不断变化,揭示出人类肠道微生物群的系统发育和功能可塑性的相关程度。

由于不同群体肠道菌群有不同的健康状况,一般研究中微生物学家可以定义一个核心微生物，核心微生物是稳定的人类肠道菌群的一部分,与宿主存在互惠共生关系。然而,研究中强调,每个个体的肠道菌群是一个动态的存在,这种可塑性和平衡状态对人类健康的影响程度还有待研究。最近重要的肠道微生物菌群的研究强调其动态变化与环境压力的关系。此外,这种可塑性变化对人类健康的重要性通过体内平衡被破坏后导致疾病来体现。这些报道和假说将肠道微生物生态学研究从静态视图向动态肠道生态系统进行转变。

作用并调节机体免疫功能，特别是在动物出生之初，根据环境微生物的变化肠道微生物变化并影响到机体免疫系统的发展。环境中的微生物（包括食物、粪便）对于最初动物免疫系统生理机能的建立是必要的。微生物在生命的最初阶段可以调节我们的免疫系统。人类肠道微生物群在不同的气候和地理条件下显示出惊人的适应性。数据分析表明，肠道微生物菌群根据地理起源而有所不同，例如美国人厚壁菌门占有优势，日本为放线菌，朝鲜和中国显示拟杆菌。肠道菌群的差异可能是宿主遗传学以及环境气候和饮食习惯、生活方式导致。

宿主和微生物之间是一个共生动态的过程，微生物菌群根据不同的环境条件发生改变来适应机体的代谢和免疫的平衡。

宿主和微生物之间互惠的失衡

饮食、环境以及内在因素(如慢性炎症和机体老化)可能导致肠道微生物菌群从互利的健康稳态模式向疾病状态转变。在西方生活模式下肥胖的人身上出现肠道菌群失调

和关键肠道微生物菌群丢失的情况，这是由于环境压力下宿主和微生物共生平衡的打破。与相对瘦的人，肥胖人群的肠道菌群厚壁菌丰度较高的，放线菌和拟杆菌门相应减少。

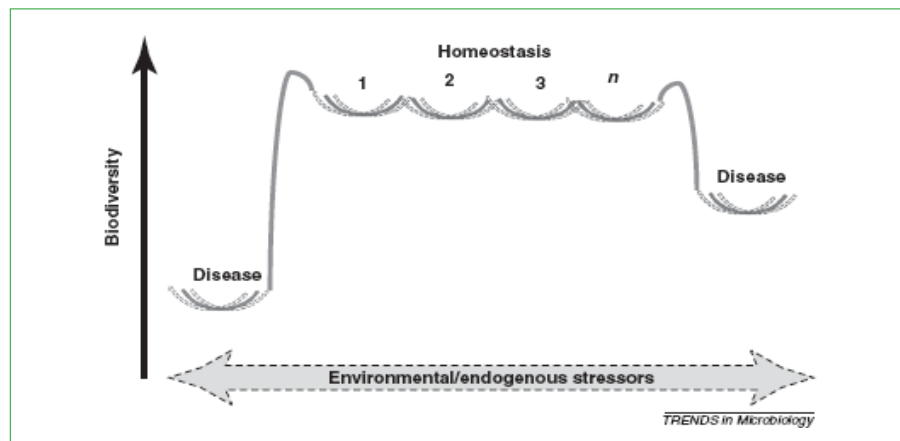


图1 宿主和微生物的共生动态。

在某些情况下,环境压力(饮食和/或其他环境因素如感染、卫生和清洁)和内源性因素来源(如炎症或老化)使肠道菌群从维持稳态的互利共生模式转变成疾病相关模式，通常具有较低的系统发育水平和生物多样性。

研究发现，肥胖型微生物群落功能多样性较低，拥有丰富的参与脂质、碳水化合物和氨基酸代谢的基因。这些数据表明，肥胖相关的肠道菌群有助于从饮食中不断吸收能量。

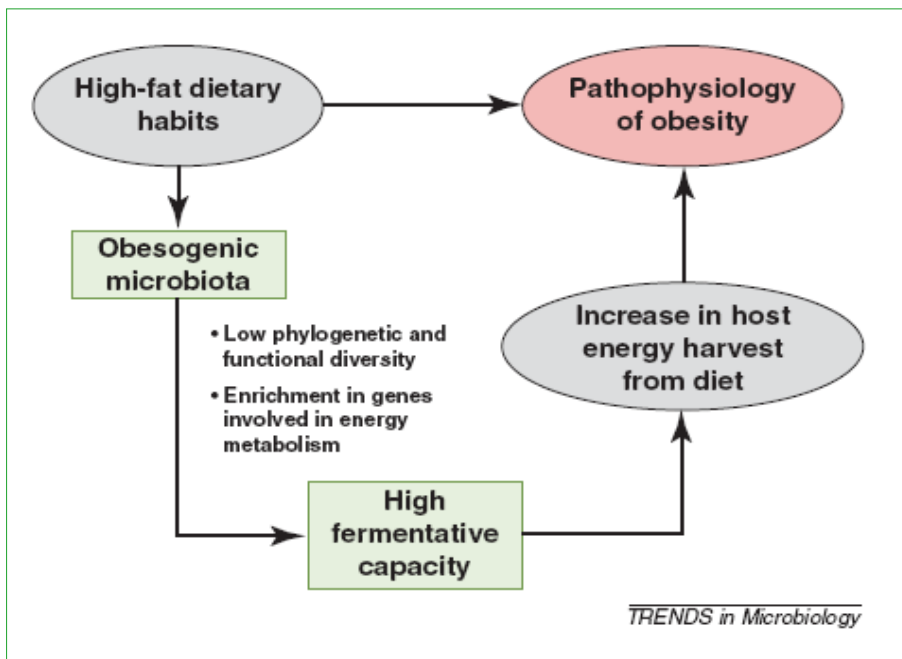
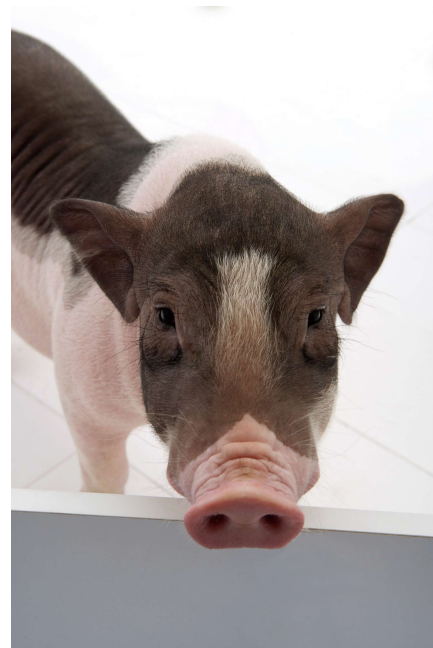


图2 微生物—宿主互利共生破坏来应对高脂饮食。

从高脂饮食摄入大量的热量使得肠道菌群重新配置，减少其遗传多样性并丰富具有参与能量代谢基因的微生物组。这些具有高发酵能力的肥胖微生物群，增加宿主从食物中获取能量，从而导致肥胖的病理生理学。

在正常健康状态下，动物机体肠道微生物菌群对于日粮环境等条件快速反应以适应机体的代谢和免疫的平衡。在菌群失衡的情况下，这种宿主和微生物间的互惠关系被打破。菌群与宿主间的适应性动态平衡过程为我们了解肠道微生物—宿主之间的关系是必要的。随着基因分子技术的发展，对于肠道微生物多样性、菌群动态平衡研究的深入，我们对菌群与宿主的共同进化以及菌群适应性的了解加深，这对于我们了解菌群在健康和疾病中的作用提供帮助。

注：上述内容参考自Intestinal microbiota is a plastic factor responding to environmental changes. Trends in Microbiology. 2012,(20).



研究前沿

肠道微生物反映寄主的偏好性和特异性



人类和动物肠道菌群差异的研究对了解人体健康，检测人类病原体的新策略提供帮助。通过对于与营养吸收相关联的*Blautia*菌属的研究证实微生物的表达与宿主相关。在检测收集到7位宿主的16S RNA 在V6区域57M的基因序列中，我们使用寡核苷酸配型证实在*Blautia*中有200个高分辨率的操作分类单元。分析显示了13种寄主专一性的寡核苷酸型（oligotypes），分别是存在于人类（3种）、猪（6种）、牛（1种）、鹿（1种）和鸡（2种）的粪便中。另外，有171 寡核苷酸型在所有宿主微生物菌群中显示出不同的物种丰度。污水和粪便样本中*Blautia*菌属的寡核苷酸型显示显著的连续性。并且*Blautia*菌株在不同文化和地理环境中均存在。研究结果表明，*Blautia*菌株在宿主体内宿主特异性和宿主偏好性由宿主生理而不是饮食习惯来决定的。

注：上述内容参考自A single genus in the gut microbiome reflects host reference and specificity. ISME Journal .2015(9)。

肠精灵[®]

守护肠道健康

肠精灵[®] 家族



肠优[®]

猪专用枯草芽孢杆菌



肠佳[®]

蛋禽专用枯草芽孢杆菌



肠悦[®]

肉禽专用枯草芽孢杆菌



肠爽[®]

水产专用枯草芽孢杆菌



同源筛分

Homologous
screening



合生发酵

Synbiotic
fermentation

更多信息请致电 400-652-6899 或登录 www.dorunbio.com

dorun
for the real health

都润 只为真健康

更多资讯请拨打“真健康”专线：400-652-6899
或登录 www.dorunbio.com



北京都润科技有限公司

地址：北京市海淀区中关村南大街12号农科院饲料所科研辅助楼505(100081)
电话：010-62159219 62159129 传真：010-62158831

Beijing Dorun Science & Technology Co., Ltd

Add.:No. 505 Feed affiliated building in Chinese Academy of Agricultural Sciences,
12 ZhongGuanCun South Avenue, Haidian District, Beijing(100081)
Tel: 010-62159219 62159129 Fax:010-62158831