

让肠道告诉你...

都润肠讯[📶]

都润肠道健康研究中心主办

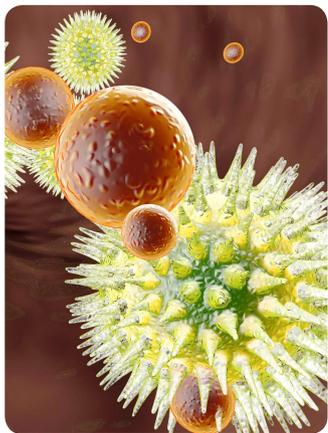
18
第十八期

宿主和微生物相互作用形成胃肠道环境（III）

益生元与鸡肠道微生物的关系和研究进展

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 (III)



08

研究进展:

益生元与鸡肠道微生物的关系和研究进展



14

研究前沿:

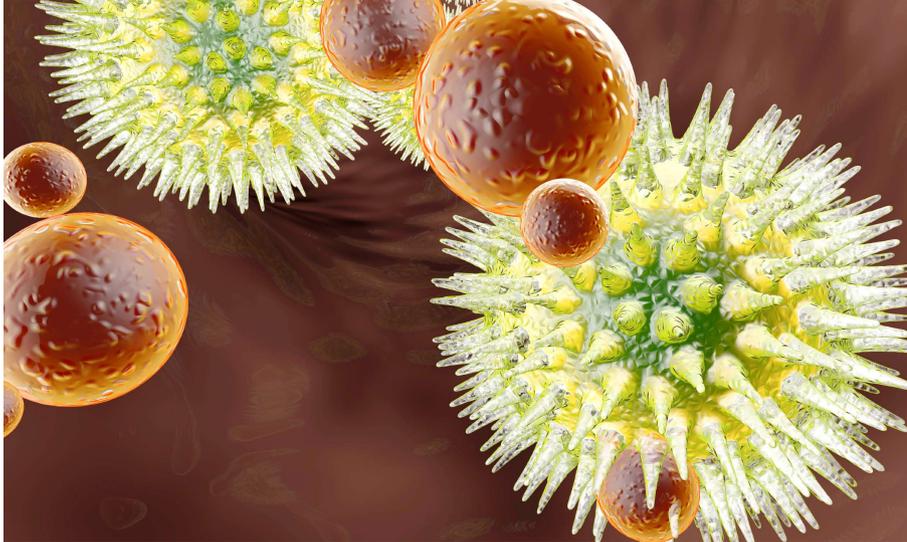
Science: 研究肠道微生物群的新方法

基础理论

宿主和微生物相互作用形成胃肠道环境（III）

肠道上皮屏障微生物调节

肠道上皮屏障是由肠干细胞（ISC）生态位可以分化的细胞类型形成的，包括潘氏细胞（小肠），肠内分泌细胞，杯状细胞，吸收性结肠细胞（结肠）或肠细胞（小肠）。细菌代谢产物和分子模式是肠道微生物与肠上皮细胞相互沟通的媒介。如上所述，短链脂肪酸是肠道发酵细菌主要的代谢产物。无论哪种糖或纤维基质被降解，这些分子在上皮表面起着至关重要的作用。尤其丁酸是结肠细胞的首选吸收能源，在体外提高组织移植体中分化型结肠细胞生存。丙酸和乙酸比丁酸更有效地吸收到血液中，并对宿主的功能和免疫力具有显著的系统性影响。这些短链脂肪酸通过结合G蛋白偶联受体（GPCRs）和109A促进各种宿主代



谢激素和消化过程,这些受体在肠道细胞和免疫细胞亚群中是差异化表达的。Maslowski等人开创性的工作研究了细菌代谢产物如何影响免疫系统,特别是短链脂肪酸。通过研究GPR43功能缺失的小鼠,作者发现了这些分子在抑制哮喘、结肠炎和关节炎的炎症中发挥重要的作用。最近,Smith等人的研究表明,无菌小鼠结肠调节性T细胞(Tregs)

的数量减少,通过移植微生物群,SCFA和GPR43结合的方式可将这一缺陷逆转。研究还表明,当小鼠患结肠炎时,短链脂肪酸可通过结合GPR43直接诱导Treg细胞增殖,从而抑制T细胞转移。SCFAs可能在IBD中表现出临床相关性,IBD患者体内这些分子的水平明显低于正常控制值。正如我们已经讨论的,短链脂肪酸起到控制微生物组成并减轻

炎症反应的作用。SCFAs的这些研究很可能仅仅是这方面许多发现的其中之一。有许多其他潜在的代谢物会通过影响上皮的翻转和屏障的完整性影响免疫系统或上皮细胞。

最近的研究已经有证据表明在隐窝细菌的定位与ISCs相邻,微生物在稳态和修复期间,是否以及如何刺激ISCs增殖/分化是研究的热点。到目前为止大量的研究表明存在间接的互动。Buchon等人用无菌果蝇与共生细菌软腐病菌融合。他们发现,融合后刺激肠上皮细胞增殖。作者认为,ISCs对ROS信号响应,该信号是由宿主免疫系统随着定植产生的而不是细菌本身。类似的过程在小鼠中被确认,通过共生乳酸菌诱导ISC增殖,这个过程是由肠上皮细胞上Nox1基因诱导ROS产生的。在研究衰老对果蝇肠道稳态和上皮细胞增殖的影响,结果表明,在幼蝇时期肠道转录因子Foxo慢性激活。Foxo诱导微

生物菌群失调并通过NF- κ B活性调节异常增加先天免疫信号水平。当果蝇变老时，这种失调导致ROS驱动的ISC过度增殖。这个过程在无菌的果蝇中并没有发生，表明在上皮屏障发育不良时，微生物群诱导ROS有一定的作用。

宿主-共生菌之间直接的相互作用是由肠道粘液层的存在决定的，它们由上皮杯状细胞产生并覆盖肠上皮细胞。其重要性由缺失该功能的突变体证明，如Muc2基因，导致未经治疗的小鼠（5周龄）发生自发性结肠炎症而且比用DSS治疗后的野生型小鼠患有更严重的结肠炎。共生的菌群已证明调节粘液的产生，其最有说服力的证据来自于无菌啮齿动物的研究。与传统饲养的小鼠相比，无菌小鼠杯状细胞的数量更少、形态更小。此外，无菌啮齿动物粘液层的总厚度减少。这种现象是可逆的，通过添加来自传统饲养动

物的菌群可以改善。我们目前关于杯状细胞对共生微生物产物敏感的机制的了解是极其有限的，而且现在是IBD发病机制方面研究的热点题目。

上皮细胞和粘液层对来自微生物群的信息产生响应，包括微生物分子模式和代谢产物。产生这些影响的细胞和分子机制仍存在许多悬而未决的问题，未来研究的方向是确

定微生物配体及其代谢物对ISCs的影响。它将确定由细菌组成变化引起的代谢产物变化是否将直接影响疾病状态下（例如IBD）上皮屏障的功能。

关于肠道菌群与疾病的新概念

在研究肠道菌群方面一个新的概念是存在于个体微生物组的特定的细菌属的重要



性和对疾病状态的影响性上可能弱于构成细菌基因网络的细菌属。基于对健康个体的种群分析，细菌基因的个体差异比种属水平的组成相对更少。同样，这种模式的细菌基因比细菌种属特征更多地预测IBD疾病状态。因此，它可能对分析存在于个体微生物组上的基因途径更有用，而不是在对特定的细菌分类上。这种类型的基因通路分析表明细菌

的代谢途径，如氧化应激通路，在IBD比细菌分类组成更显著地转变。此外，系统发育和微生物基因功能的进化链可能是充分的以至于仅仅序列测定16S标记基因可以预测生活在人类肠道中未能培养的微生物的代谢作用。最近的研究表明，菌群丰度（例如细菌基因）的普遍缺失预示的疾病。在IBD中，类似的观察已经证明，与健康对照组相比，

在被感染的病人中细菌基因的数量至少减少20%。这些发现对治疗干预是否具有潜在的启示还有待发现。

结论

接下来，在菌群对宿主生理影响的研究方面将有很大进展。过去有一个主要的预设是，在体外无法验证特定微生物或代谢产物对主要的肠道上皮细胞的直接影响。保持细胞培养及其区系差异稳定性的新技术的出现可能会为我们提供新的视角来看待上皮细胞和微生物间的相互作用。更进一步，当我们将共生菌作用于相互依赖的网络及与宿主间的相互作用的机制有更多了解后，我们就有望验证，到底是微生物群的变化是由疾病引起的，还是说这种变化是引发疾病的。这点在指导疾病治疗策略，包括微生物基因组工程学上是一个关键进展。一个重要的进步



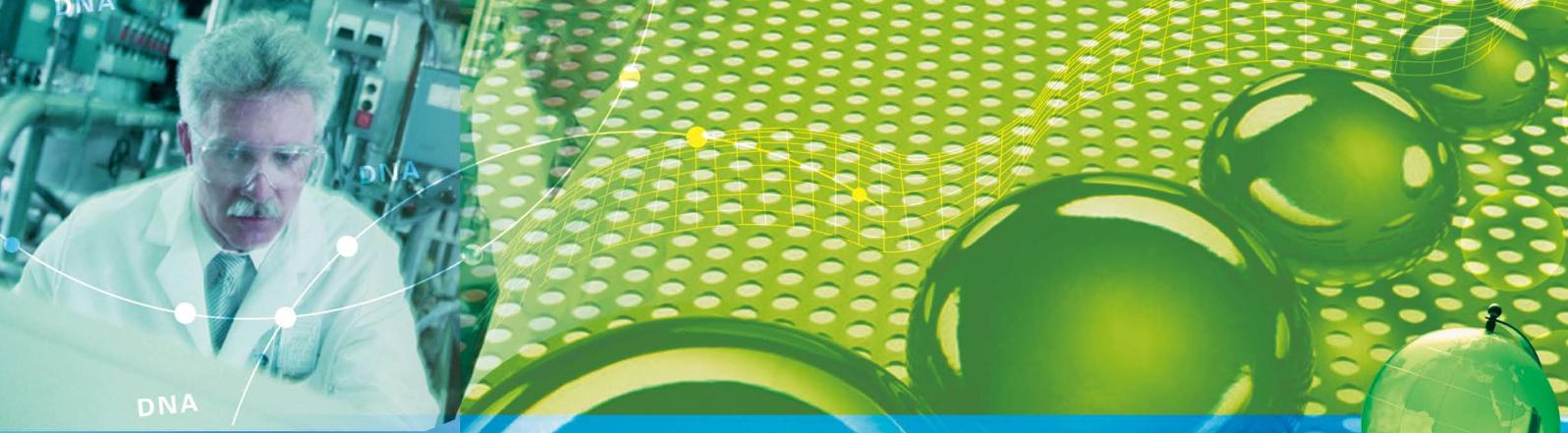
将是人类基因组计划成果转化为相关的动物模型，目的是通过实验评估不同的微生物及共生网络在宿主健康和疾病中的功能角色，以及验证环境干扰对这些微生物群的影响。例如，基因组分析显示细菌氧化还原途径在IBD中是紊乱的。考虑到这一途径在上皮细胞增殖中可能比较重要，那么就出现一个关键的问题，这种行为在IBD中是否是疾病的触发因素。

对宿主-微生物在动态平衡和疾病中的相互作用机制更好的理解使得靶向治疗成为可能，包括特定微生物群的控制。虽然粪便移植在耐药艰难梭菌的治疗上已经产生令人兴奋的结果，但不确定的治疗方法，可能带来未知的长期后果，对其他肠道疾病也不一定适用。对微生物群更精准的调控会有更好的效用。对这些相互作用更深层次的理解也可能导致我们在抗生素的使用上采用更为保守的立场，特别是在生命早期，抗生素对共



生-宿主关系有着长期的影响。尽管最近我们在对共生定植，竞争及其影响免疫细胞的发育和分化的了解上有了进展，许多宿主-微生物的相互作用仍不为人知。

注：上述内容参考自Host - microbe interactions shaping the gastrointestinal environment. Trends in Immunology November. 2014, 35,(11)



研究进展

益生元与鸡肠道微生物的关系和研究进展

益生元是由特定的肠道微生物群代谢并为宿主提供健康益处的非消化饲料原料。它们通过调节肠道微生物群防止病原体粘附宿主细胞影响肠道健康。本文综述了鸡只肠道微生物菌群和益生元调节的肠道微生物菌群和免疫功能，以便我们更好地了解家禽肠道微生物群，为增强动物健康和生产力提供理论指导。

胃肠道(GI)微生物群在促进鸡只健康、生产能力以及疾病防治方面的重要作用在过去的研究中已经被确定,现在关于优化鸡只肠道微生物群干预措施是研究的重点。传统的抗生素使用是最有效的提高饲料效率和保持动物健康的策略。但由于抗生素耐药性的出现和其可能传播到人的潜在危害,替代抗生素生长促进剂如益生元和益生菌制剂开始广泛认可并使用。随着研究的深入,益生元的作用机制从对动物生长性能的改善转移到对肠道微生物生态功能的作用上来。益生元的概念随之发生变化:在宿主体内非消化的化合物,可以通过肠道微生物代谢产生的有益物质调节肠道微生物群组成和活动。

研究中关于益生元对肠道微生物群和宿主免疫影响的研究比较少,高通量测序技术的进步提供了一个更深入了解细菌多样性和

微生物菌群与动物免疫系统相互作用的研究途径。本文通过总结鸡用益生元对肠道微生物菌群的影响,概述鸡消化道菌群与维持肠道健康的关系,并建议进行深入研究以进一步理解益生元作用机制。

鸡肠道微生物菌群

鸡的消化道是非常复杂的微生物菌群,拥有600多个种和100多个细菌属。鸡肠道菌群最丰富的是厚壁菌门,随后是变形菌门和拟杆菌门,放线菌、柔壁菌、蓝藻和梭菌丰度相对较低。菌群沿鸡胃肠道不同的位置分布。胃和十二指肠的微生物菌群相似,由乳酸菌组成,乳酸菌在一些鸡只体内其组成甚至高达99%。乳酸菌的多样性最高。空肠也由乳酸菌种,主要是唾液乳杆菌*L. salivarius*和*L. avarius*。回肠的微生物组成更多样化,与

十二指肠和空肠相比菌群组成更不稳定。回肠中主要是由乳酸菌、肠球菌、大肠杆菌、痢疾杆菌和梭状芽孢杆菌组成。鸡盲肠微生物最为密集。关于鸡盲肠的肠道微生物群最详细的信息是有效的。盲肠是对于非碳水化合物化合物发酵菌株以及病原体主要定植区域。鸡有两对盲囊,其菌群相似,主要是梭状芽孢杆菌属,其次是乳酸菌和瘤胃球菌属。盲肠中的梭状芽孢杆菌主要为梭菌科、毛螺



菌科和瘤胃菌科。肠球菌科、肠杆菌科类杆菌的含量相对丰富。盲肠中还有未知的或者未分类细菌菌群。脆弱拟杆菌和乳杆菌 (*L. crispatus*, *L. johnsonii*, *L. salivarius* and *L. reuteri*) 占到盲肠微生物的40%以上。由于在研究胃肠道微生物菌群一般以粪便为研究对象,造成研究不同段胃肠道微生物群的结构波动较大。但一般认为乳杆菌科、消化链球菌科、链球菌科、梭菌科和肠杆菌科是粪便微生物群的主要组成。蛋鸡的粪便微生物菌群比肉鸡的更复杂。最新研究中试验证实,肉鸡盲肠和粪便中大约有88%的基因分类单元,其中99.25%的序列是相似的。

类似于人类肠道存在三类微生物,鸡盲肠道微生物群可以分为四大菌群。菌群实际上是不同的细菌群落,每个由不同的细菌属组成。菌群与饲喂日粮、性别、日龄和个体情

况相关联。环境微生物定植的随机性是肠道菌群发生变化的主要原因。

鸡肠道微生物群与日粮、遗传基因型,饲喂环境条件和放养密度相关。随着日龄的增加肠道菌群的复杂性也随之增加。某些细菌会随时间消失或出现在肠道微生物群,有些则在鸡只整个生命周期保持稳定。在小鸡体内厚壁菌门占主导地位,7月龄以上则为拟杆菌。蛋鸡盲肠的微生物群从孵化到60周呈现四种不同表现。

肠道微生物与家禽健康的关系

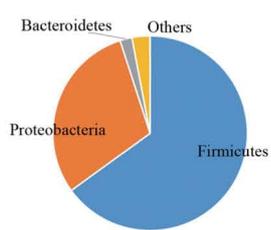
肠道微生物群是胃肠道对肠道病原体主要的防御组成。肠道微生物菌群的紊乱及其与宿主间平衡的破坏在肠道疾病的发展中扮演着关键角色,如产气荚膜杆菌、梭状芽孢杆菌、艾美球虫属、肠炎沙门氏菌等病原菌

感染后,鸡盲肠的微生物群发生明显变化。

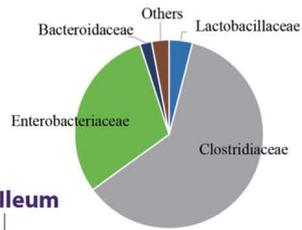
鸡肠道微生物群也调节肠道基因表达,T-cell介导的免疫反应具有加速肠道免疫系统成熟的作用。此外,肠道微生物相互作用以及微生物与宿主之间相互作用影响宿主生理功能的发挥。一些细菌表型(乳酸菌属、瘤胃球菌属、梭菌属内)与其性能的增强相关联。在鸡盲肠中,梭状芽孢杆菌对于丁酸盐的产生很重要,特别是某些物种在IV和XIVa这两个菌群。丁酸盐作为一个重要的能量来源有助于动物机体的生长,也能作用于促炎细胞因子抑制炎症反应。宏基因组检测分析鸡的盲肠微生物群,发现超过200种非淀粉多糖降解酶和相关的短链脂肪酸(SCFAs)。这些SCFAs不仅提供能量,还间接降低盲肠的pH值防止病原体的增长,提高矿物质的吸收。

7 days old

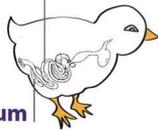
Phylum



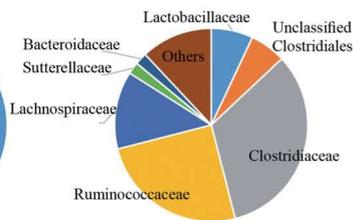
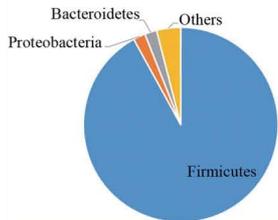
Family



Ileum

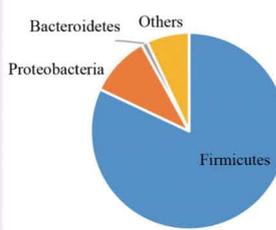


Cecum

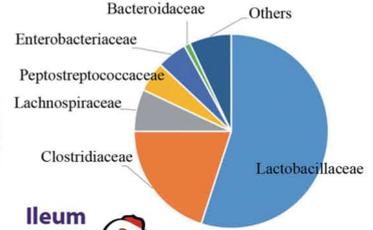


35 days old

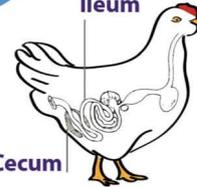
Phylum



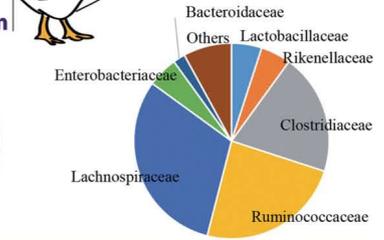
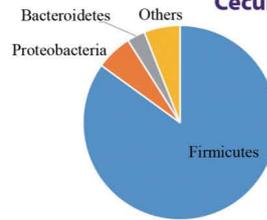
Family



Ileum



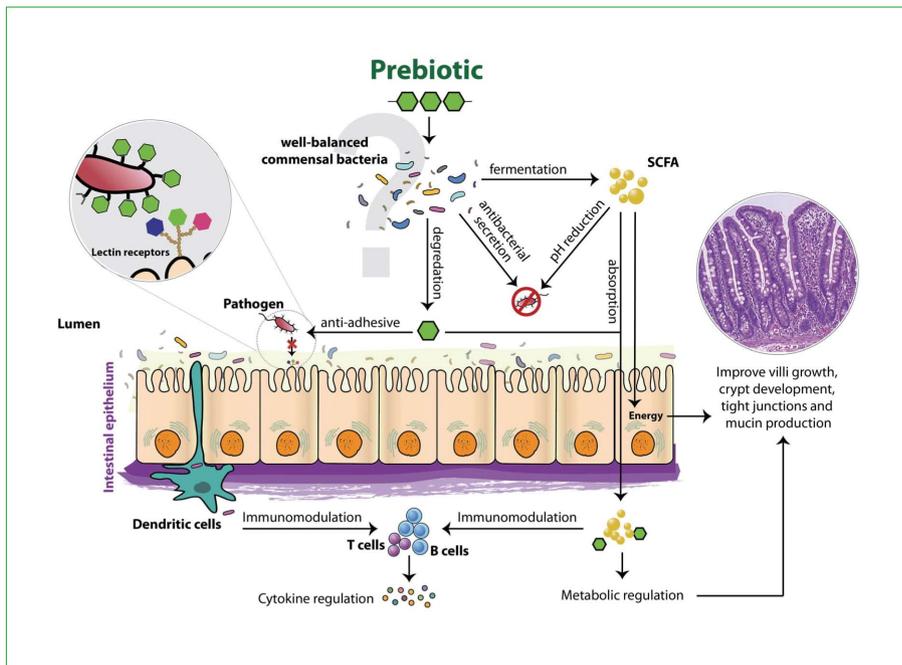
Cecum



益生元对肠道微生物的影响

很多细菌培养研究报道，饲喂益生元后在鸡只肠道中有大量的乳酸杆菌和双歧杆菌。此外,各种潜在的机制提出了益生元介导的肠道微生物群的变化对健康有益处,包括竞争排除病原体,产生抗菌因子,刺激宿主适应性免疫反应和改善肠道形态结构。然而,由于传统培养中未培养微生物的存在阻碍了我们对完整的肠道微生物群的复杂性的了解。新一代测序技术已经使我们能够研究复杂的微生物种群,利用分子技术研究益生元和益生菌对家禽肠道微生物群和免疫系统的影响。

低聚果糖、菊粉是在动物中研究最多的益生元,其不能被家禽的消化酶水解,而是到达结肠由肠道微生物群发酵分解。使用PCR变性梯度凝胶电泳(DGGE)方法研究,日粮中补充菊粉(10克/Kg)对微生物群落结构的影



益生元的潜在作用机制

益生元是通过肠道共生微生物群进行代谢的。肠道微生物群可以利用益生元发酵为SCFA（主要是乙酸、丙酸和丁酸）。SCFA降低肠腔pH值为上皮细胞提供能源,并对炎症反应和代谢调节有深远的影响。微生物菌群的平衡对于改善肠道黏膜结构有很大的影响。一些菌株产生的抗菌素或刺激树突状细胞并产生免疫。低聚糖和单糖可以减少病原体在上皮细胞表面位点的定殖。

响,实验结果表明,肉鸡空肠和盲肠食糜中的微生物变化不大。也有实验表明,补充菊粉(5克/Kg)后肉鸡回肠微生物菌群明显不同。用定量PCR的方法检测添加菊粉(2.5g/kg)后微生物菌群的变化,乳酸菌的数量增加,并限制了*C. perfringens*和大肠杆菌的增长,回肠中乳酸菌的多样性也增加了。在体外研究中,菊粉对鸡巨噬细胞如HD11细胞,可以吞噬并杀死肠炎菌*S. Enteritidis*。

结论:

到目前为止,研究肠道微生物菌群以及益生元作用仍然是有限的范围和深度。研究表明,益生元能调节肠道微生物群和免疫相互作用从而促进家禽动物的健康。多数研究都集中添加益生元后,双歧杆菌和乳酸杆菌作为有益菌数量的增加。事实上,不

同菌株或者菌属可能对动物健康产生更深远的影响。例如,*C. butyricum*和*Faecalibacterium prausnitzii*是肠道主要菌群,代谢比较活跃,在肠道菌群失衡后的再平衡方面有重要作用。此外,不同种属的双歧杆菌和乳酸菌可能

诱发不同免疫反应和代谢途径并维护上皮屏障完整性。因此,应用高通量测序技术分析肠道微生物群及其代谢物、膳食纤维包括益生元的生理功能是今后研究的方向。使用的宏基因组方法分析代谢物将推进我们对肠道微生物源和益生元所扮演的角色的理解,这对

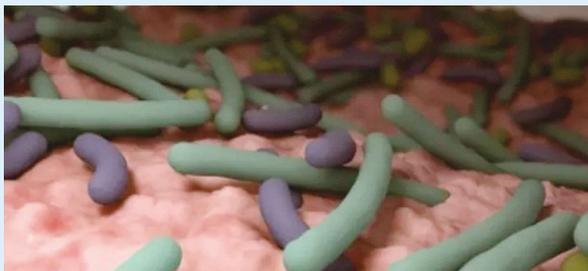


于我们研究家禽肠道微生物区系,改善肠道健康和预防疾病起到指导作用。

注:上述内容参考自Prebiotics and gut microbiota in chickens. FEMS Microbiology Letters,2015,362(15)

研究前沿

Science: 研究肠道微生物群的新方法



最近微生物群的著名学者Jeffrey I. Gordon建立一种归纳法，分析对人类肠道微生物群多菌株特征的健康决定因素，获得能表征饮食改变导致的基因特征改变，设计新型益生菌，实现治疗疾病的目的。

该研究建立了一种肠道菌群研究方法，是多类插入序列分析multi-taxon InsertionSequencing(INSeq)，该方法主要是通过检测大量菌群的千万个转座子突变和动物肠道菌群类型，对菌群类型进行分析。研究主要对人类肠道内4种常见细菌类型，解纤维芽胞杆菌*B. cellulosilyticus*、卵圆类杆菌

*Bovatus*和两个多形拟杆菌*B. thetaiotaomicron*亚种进行了实验分析。INSeq库分别包括87,000到167,000异源转座子突变种，将4个突变体库和11种通常出现在人类肠道微生物群野生菌种一起移植给无菌动物。动物分别给单糖加高脂饮食、植物多糖加低脂饮食或混合交叉饮食。将粪便或盲肠微生物群INSeq的相对丰度作为每个基因的“健康指数”，比较输入和输出健康指数。根据对比体外培养数据和体内输出数据的差异，设计出对健康有促进作用的益生菌配方。

Multi-taxonINSeq提供了一个量化菌群分析模式，能确定细菌类型和饮食特定效应，提供饮食在基因水平的量化检测方法，发现最常见的谷物半纤维素阿糖基木聚糖能操纵具有代表性的拟杆菌属*cellulosilyticus*水平，能区分出阿糖基木聚糖和高脂肪饮食对肠道菌群和其他拟杆菌属的影响。

理论上，这一方法能作为全面分析宿主基因型、饮食、生理、代谢、免疫因素以及病理状态对肠道细菌栖息地和微生物影响的手段，可以作为开发干预肠道菌群提高健康水平的有效工具。

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