

让肠道告诉你...

都润肠讯[📶]

都润肠道健康研究中心主办

肠道微生物与大脑之间的联系

肠道菌群对免疫发育和功能的调节 (III)

21

第二十一期

dorun
for the real health

contents



03

基础理论：

肠道微生物与大脑之间的联系



08

研究进展：

肠道菌群对免疫发育和功能的调节 (III)



14

专家观点：

基础理论

肠道微生物与大脑之间的联系

Rebecca Knickmeyer是北卡罗莱纳大学医学院的一位神经学家，她通过一系列的行为和性格测试监测30名新生儿从出生到一岁的活动。Knickmeyer同时分析孩子粪便中的微生物菌群，包括细菌、病毒和其他微生物。项目主要是对肠道微生物在婴儿期是否可以改变大脑发育进行研究。越来越多的数据表明，无菌条件下肠道微生物影响动物行为并可以改变大脑生理学和神经化学。

研究人员研究胃肠道和精神神经疾病间的联系，如焦虑、抑郁症、自闭症以及精神分裂症和神经退行性疾病。“一般来说，用微生物进行研究是巨大的问题”，Rob Knight圣地亚哥加州大学的微生物学家这样说，“很难说清楚微生物的差异是疾病产生的原因还是后果”。肠道细菌的机制可能与大脑活动相互作用有关，但现在还不能证实菌群对于机体发育和健康的重要性。

一些营养品公司声称益生菌通过解决消化的问题来处理人的情绪化问题。制药公司探索新的治疗神经系统疾病的方法，致力于研究肠道微生物和它们产生的分子物质。

肠道反应

在过去的两年里，美国位于Bethesda的国家心理健康研究所(NIMH)已经建立了七

个试点，资助了100万美元来研究“微生物-肠道-大脑”轴系统。

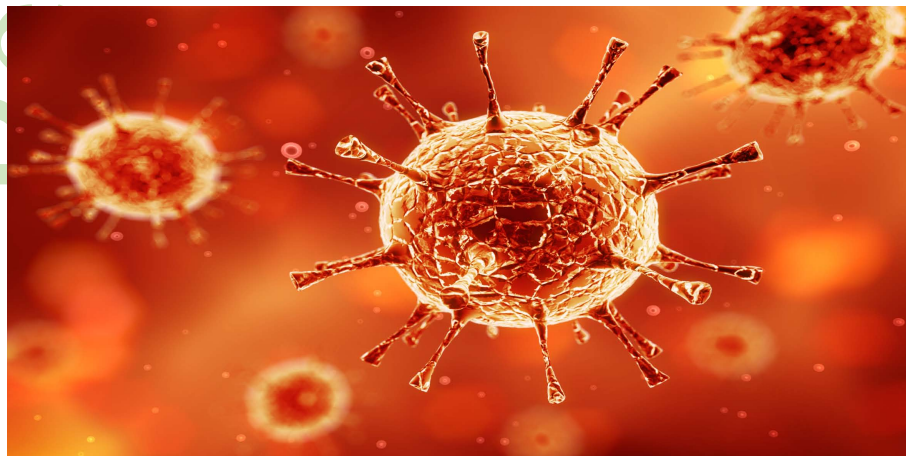
曾经学者认为微生物和大脑之间没什么联系，除了当病原体穿透为保护大脑免受感染和炎症的血脑屏障的时候。当微生物通过血脑屏障时会有严重后果，例如狂犬病的病毒引发宿主有侵略行为、焦躁不安和恐水。绝大多数的宿主微生物对宿主行为没有显著

影响。

2000年，加拿大小镇Walkerton由于饮用水污染了大肠杆菌、空肠弯曲杆菌等病原体。大约2300人感染严重的胃肠道疾病，其中许多发展为慢性肠易激综合征(IBS)。

通过八年的研究，汉密尔顿的麦克马斯特大学的胃肠病学家斯蒂芬·柯林斯发现肠易激综合症的持续会引发患者心理问题，如抑郁和焦虑。另一个胃肠病学家Bercik认为炎症引起精神病症状也可能由微生物菌群引起。

2011年的一项研究中，通过移植不同小鼠的肠道微生物菌群菌株，同种微生物菌群移植的小鼠行为特点相似。“相对害羞”的小鼠在移植了有冒险精神小鼠的肠道微生物后行为表现出更多的探索性。“这是令人惊讶的，微生物菌群决定宿主行为并在动物中有显著差异，”Bercik说。现在研究还在进



行，从患有肠易激综合症以及焦虑症的人类粪便中提取细菌移植到小鼠体内可以诱发焦虑行为，而移植健康人类的微生物则不会导致这种现象。

这些实验一般使用无菌小鼠。通过剖腹产手术防止母体产道微生物定植。然后无菌隔离，饲喂热压处理过的食物和过滤空气。这种动物因此脱离了与共有微生物漫长进化的过程。

2011年，免疫学家斯文佩特森和神经学家Rochellys Diaz罗切利在实验室测试中，无菌小鼠与自然出生的小鼠表现出更少的焦虑行为。但从进化论的角度来看，对于许多食肉型小型哺乳动物来讲，焦虑少并不总是一件好事。通过研究动物大脑发现，无菌鼠纹状体有更高的与焦虑相关的化学物质，包括神经递质5-羟色胺。研究还表明，无菌小鼠再到正常环境中后他们的行为也不能随之



正常化，但他们的后代小鼠会恢复部分正常行为，这表明微生物起到重要的影响。

之前的工作主要是关注于动物肠道，很少有心理方面的人员，所以研究结果基本是描述外在和行为改变，而不是中枢神经系统。现在研究人员可以通过观察现象和机制来研究微生物对于大脑的影响。2013年，NIMH形成了致力于研究神经科学的研究，

旨在揭示功能机制以及开发药物来治疗心理疾病。

Judith Eisen，俄勒冈大学的神经学家，通过研究无菌斑马鱼的透明胚胎可以很容易将发育中大脑形象化。当然无菌是在一个完全非自然的情况下，但它为研究微生物功能提供了机会。

微生物代谢产物中化学物质的研究

与此同时，研究人员开始发现肠道细菌可以获得大脑信号。成年小鼠的微生物代谢产物影响血脑屏障的基本生理功能。肠道微生物通过消化碳水化合物分解成短链脂肪酸，例如，生成脂肪酸丁酸盐，通过细胞间联系增加血脑屏障的作用（见“肠脑轴”）。

最近的研究也表明，肠道微生物直接影响神经递质水平以及与神经元的联系。例如研究发现肠道微生物分泌某些代谢物促进结肠内部细胞5-羟色胺的产生，一些抗抑郁药物通过促进5-羟色胺的分泌促进神经元之间的连接。这些细胞负责小鼠体内60%的末梢神经5-羟色胺的分泌。

研究发现无菌鼠体血液内5-羟色胺显著减少，而孢子形成菌（主要是梭状芽孢杆菌，它可分解短链脂肪酸）则可以帮助动物恢复5-羟色胺在体内的水平。拥有自然微生物菌群

的小鼠，抗生素的使用可以降低血清素的产生。但目前尚不清楚改变肠道内5-羟色胺的水平是否能触发一连串分子活动，进而影响大脑活动。

实验证明，无菌小鼠比自然条件下的小鼠成年后在特定的大脑区域有更多的神经元。致力于肠脑轴学的神经科学家，爱尔兰科克大学的John Cryan说，“很多神经科学研究成果如血脑屏障，小鼠神经形成和小胶质细胞的激活，大脑和脊髓免疫类细胞，都证明是受微生物菌群影响的。”

2015年神经科学会议上Cryan的团队的研究结果表明，至少在特定的大脑部分，髓鞘即覆盖神经纤维脂肪的形成也受到肠道微生物的影响。另外，无菌小鼠不会发生多发性硬化症，它的特点是神经纤维的髓鞘缺失。已经有公司开始针对某些类型的肠道细菌产生的代谢物是否可能被用来治疗人类的多发性硬化症进行研究。

宾夕法尼亚大学的神经学家Tracy Bale说人为干预的手段可能已经被批准。三年前，她研究微生物通过胎盘作用于由于母体应激对后代产生的影响。

研究发现神经紧张造成乳酸杆菌明显减少，它是幼体动物体内主要的肠道微生物。这些微生物菌群可能会影响神经发育。在工作中可以通过培养剖腹产小鼠出生的阴道微生物菌群来分析母体神经系统的影响，并希望通过接种没有精神压力的小鼠微生物菌群来缓解怀孕小鼠的精神压力。

一个纽约大学医学院的微生物学家Dominguez-Bello，通过给剖腹产出生的婴儿用母体阴道微生物擦洗口腔和皮肤使得婴儿最终得到和阴道分娩婴儿类似的微生物菌群。

现在仍不清楚微生物和行为之间的联系，以及它对于人类健康的重要性，但很多研究正在进行。2007年，美国国家卫生研究院主任Francis Collins提出人类微生物组计

划，大规模研究人类的微生物，并认为可能有助于解决人体心理健康疾病。

这一研究横跨免疫学，微生物学和神经科学等学科。这是一个很有价值的研究，特别是寻求可能缓解大脑相关疾病饮食建议方面。

在Knickmeyer对啮齿动物的大脑区域扫描显示，扁桃腺和前额叶皮层都有受到微生物菌群的影响。最大的问题是如何处理所有的混杂因素，例如饮食，环境因素等都会对其微生物菌群和神经发育造成影响。

Knickmeyer推测用肠道微生物治疗精神障碍可能失败的其他原因，比如，微生物与人类基因组之间的联系，也许受体基因促进某些类型的细菌定植。

注：上述内容参考自“Brain meet Gut”, Nature.2015, 526(15)

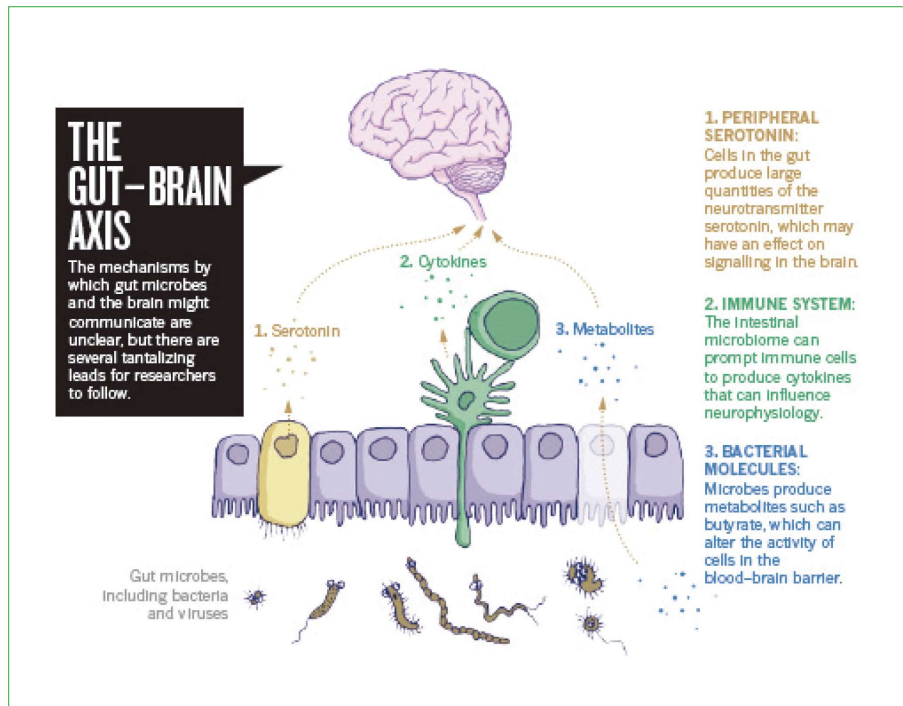


图 肠脑轴理论

- 1/ 神经末端的5-羟色胺：肠道细胞产生很多神经递质并对大脑信号产生影响。
- 2/ 免疫系统：肠道微生物促进免疫细胞产生细胞激素，从而对神经产生影响。
- 3/ 细菌代谢产物：细菌代谢的产物的作用，如丙酸可以改变血脑屏障中细胞活性。

研究进展

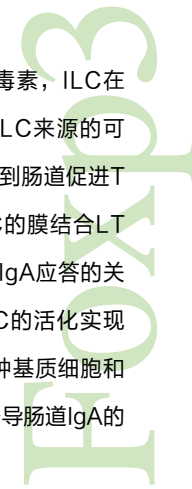
肠道菌群对免疫发育和功能的调节（III）

微生物菌群刺激多种途径促进分泌型IgA产生

在哺乳动物中，IgA占总抗体产物约75%，在粘膜分泌物中最丰富的免疫球蛋白是分泌型IgA二聚体。对无菌小鼠的研究确定，共生细菌是分泌型IgA产物的强诱导剂，IgA产物是重要的菌群组成和宿主接触肠道菌群的调节剂。例如，口服鞭毛蛋白拮抗鞭毛蛋白特异性CD4⁺ T细胞的系统性活化从而诱导肠道IgA产物的产生。

对微生物菌群应答的IgA需要高剂量并且是持续的细菌来诱导。并且它是灵活的，因





为IgA的特异性可迅速对菌群组成的变化做出响应。一部分肠道中的IgA⁺浆细胞可以获得髓样表型和功能特性来对微生物菌群的刺激做出应答，如产生TNF- α 或诱导型一氧化氮合酶（iNOS）。这些“多功能”的IgA⁺浆细胞有助于宿主防御柠檬酸杆菌，在B细胞缺乏TNF- α 和iNOS表达的小鼠中表现出IgA产物的减少和微生物菌群的改变。因此，IgA⁺B细胞可能通过产生IgA或通过完善抗菌因子影响微生物菌群的改变。

肠道B细胞的发育也可由微生物菌群影响，B细胞发育的早期阶段主要发生在骨髓。最近的一项研究发现，在断奶时肠道中包含大量的未成熟的B细胞进行Rag重组酶的表达，V(D)J重组以及B细胞受体编辑。肠道中共生菌促进早期B细胞的发育，而无菌断奶的小鼠LP中未成熟B细胞的数量显著减少。这些发现对粘膜部位免疫球蛋白谱的多元化以及在定植

初期建立对共生抗原的耐受性上都具有意义。

IgA通过T细胞依赖的或非依赖的机制发生类别转换重组，主要发生在粘膜相关淋巴组织，包括派尔集合淋巴结（PPs），孤立淋巴滤泡和肠系膜淋巴结中。在T细胞非依赖途径，共生细菌诱导IEC和IMP分泌细胞因子，（如TNF家族的B细胞活化因子（BAFF）），增殖诱导配体（APRIL），和TGF- β 的产生，促进IgA的转换。由于某些菌群和肠上皮细胞密切接触，一些菌群的物种在诱导IgA应答具有更高的效率，如SFB。在肠系膜淋巴结通过CD103⁺ DC呈递共生菌抗原诱导IgA应答。此外，作为B细胞滤泡和生发中心（GC）形成的关键组织者，滤泡树突状细胞（FDC）和间质细胞也可以随着肠道环境的TLR和RA受体激动剂刺激分泌BAFF和TGF- β 支持IgA在PPs的类别进行转换。最近的研究还发现，通过

提供不同形式的细胞因子淋巴毒素，ILC在诱导肠道IgA中发挥的作用。ILC来源的可溶性LT（LTA3）使T细胞归巢到肠道促进T细胞依赖性IgA应答，而在ILC的膜结合LT（LTA1b2）是T细胞非依赖性IgA应答的关键，这可能是通过调节局部DC的活化实现的。总之，这些研究表明，多种基质细胞和固有白细胞有助于微生物菌群诱导肠道IgA的产生。

Foxp3⁺ Treg细胞参与了T细胞依赖性IgA的产生，因为Treg细胞转移到T细胞缺陷小鼠通过TGF- β 的供给恢复了肠道IgA分泌。与这些结果一致，Foxp3⁺ Treg细胞可以在PPs分化为滤泡辅助性T细胞（Tfh）。然而，这些观察受到了细胞发育研究的挑战，后者表明，PPs中大部分的Tfh细胞是起源于Th17细胞，而不是Treg细胞。此外，IL-17信号缺陷的小鼠肠道聚合的免疫球蛋白受体

(pIgR)表达减少而且肠道IgA的水平较低,在对霍乱毒素的应答中, Th17来源的(Tfh)细胞对T细胞依赖的肠道IgA的诱导是至关重要的。调节性T细胞、Th17和(Tfh)细胞在肠道的可塑性需要进一步研究,但考虑到不同种类的微生物菌群是Treg和Th17细胞的有效诱导剂,它们可能调节T细胞依赖性肠道IgA的产生。

肠道IgA如何调节菌群组成, AIDG23S转基因小鼠在活化诱导胞嘧啶核苷脱氨酶(AID)包含一个点突变,导致体细胞超变异缺陷(SHM)而不是类别转换重组,从而能够选择性评估SHM在黏膜内稳态的作用。没经过SHM点突变的小鼠表现正常水平的肠道IgA和IgA⁺ B细胞,它们在PPs表现出明显的GC倾向的B细胞增殖,这是伴随着小肠菌群的增殖,而且增加了对口服小肠结肠炎耶尔森菌和霍乱毒素的易感性。此外,缺乏抑制

协同受体PD-1(一种由Tfh细胞表达的关键调节分子)的小鼠,其在PPs的GC中失调的Tfh细胞会累积,这导致IgA⁺ B细胞选择性失调以及随着细菌结合能力的下降肠道IgA谱发生改变。这反过来又导致PD-1缺陷小鼠显著的失调。Hapfelmeier等人对可逆定植的研究强调了菌群持续刺激对位于PPGCs的IgA⁺ B细胞中SHM的诱导作用,这维持了多元化的、高亲和力的IgA的分泌以及体液对共生菌免疫反应的平衡。

通过固有信号通路感知微生物菌群对于全身性B细胞反应是重要的。肠道菌群的全身性抗体反应的缺失被认为是一个保持良好的共生菌和粘膜动态平衡的标志,且在先天免疫保护缺失时起到有益作用。此外, Kirkland等人发现B细胞内的MyD88信号通过影响IgM,而不是IgA产物,在防止DSS诱导的肠道损伤引起的微生物菌群扩散中起作用。同样,

在Myd88缺陷小鼠中,通过抗共生菌抗原的全身性T细胞依赖性IgG产物来避免感染菌血症的发生。最近, Rauch等人确定了一个新的固有免疫反应催化剂——源自B1a细胞的(IRA) B细胞亚型,其可产生GM-CSF并有助于预防感染性休克。尽管IRA B细胞的分化依赖于MyD88信号,但它们分泌IgM而不是IgA,因此,需要进一步的研究来评估其在肠道内环境稳定中的潜在作用。

肠道菌群影响T细胞的分化和功能

小肠中含有大量的进行各种调节和效应功能的T淋巴细胞。最近的研究集中在微生物菌群如何调节CD4⁺ T细胞亚群之间的平衡以及共生细菌如何间接影响Th17和Treg细胞诱导。通过调节iMP和IEC在前面已经讨论过。此外, T细胞也可以表达PRR,允许它们来对



微生物菌群的组成进行感知并直接应答。例如，细胞内在的TLR2信号增强Th17细胞的分化和对病原菌进行应答反应。同样，富含上皮内淋巴细胞（IEL）的 $\gamma\delta$ T细胞是固有IL-17产物的一个重要来源，也可以直接对TLR2激动剂应答。此外，共生细菌调节 $\gamma\delta$ T细胞的丰度和活化状态，而无菌小鼠或抗生素治疗的

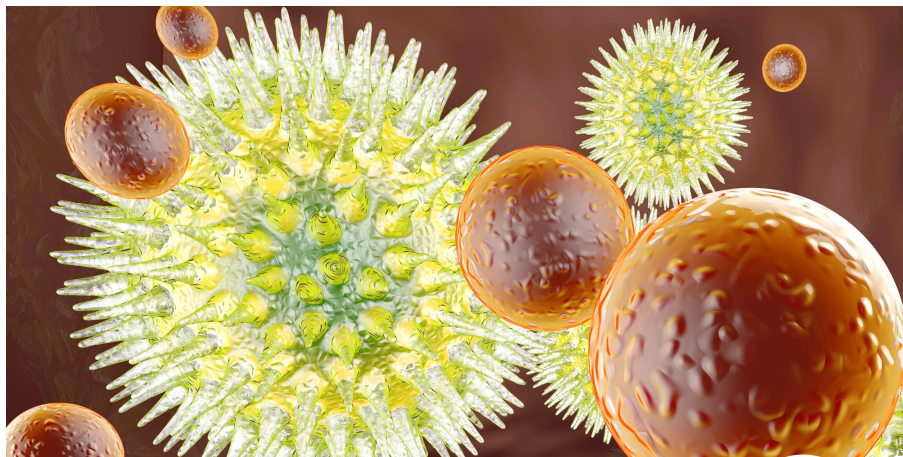
小鼠肠道中IL-17产物 $\gamma\delta$ T细胞较少。另一项研究报道， $\gamma\delta^+$ IEL可对穿过上皮屏障的肠道细菌响应产生AMPs；然而，在这种情况下感知细菌需要IEC的MyD88信号激活。此外，IEL的丰度可以通过Ahr的激活来调节，因为Ahr缺陷型小鼠没有供给IEL，小肠内共生菌负荷也增加。这些研究表明ILC驱动的孤立淋巴滤泡

的形成需要Ahr信号，这些研究强调了饮食、黏膜免疫成熟和微生物菌群之间的重要联系。共生菌的影响已经扩展到恒定自然杀伤T细胞（iNKT）：通过研究显示，出生时接触共生菌群限制了iNKT细胞在粘膜部位的聚集。在生命初期，共生菌接触缺乏导致成年小鼠表现出对恶唑酮诱导的结肠炎（一种iNKT依赖性疾病）死亡率增加且对过敏性哮喘的易感性增加。具体来说，通过共生菌抑制结肠iNKT细胞的发育，可能至少部分是通过iNKT细胞与共生来源的抑菌鞘脂类化合物相互作用介导的。总的来说，这些研究结果表明，微生物菌群对肠道固有的和适应性T细胞群体的发育和活化产生广泛而持久的影响。

关于共生菌如何影响Foxp3⁺ Treg细胞诱导的研究仍然不多，但最近的研究结果对了解这一过程有新的进展。革兰氏阴性厌氧共生脆弱拟杆菌的荚膜多糖（PSA）能通过

直接和T淋巴细胞的TLR2相互作用或间接通过TLR2依赖的DC的调控能促进IL-10产生型Foxp3⁺ Treg细胞。此外，最近的证据表明，来自共生微生物菌群的短链脂肪酸代谢物（尤其是丁酸）能直接诱导肠道Foxp3⁺ iTreg的分化。就是通过抑制组蛋白去乙酰化酶（HDAC），丁酸促进iTreg的诱导，因为丁酸处理的CD4⁺ T细胞表现出Foxp3位点的乙酰化增加，包括关键CNS1增强子区域对于iTreg分化是必不可少的。免疫学中的一个关键问题是免疫系统如何区分共生菌和病原体，因为它们都表达类似的病原相关分子模式（PAMPs）。这些新的数据表明，短链脂肪酸代谢产物作为“替代共生”，是一种对有益的共生微生物菌群保持动态平衡和耐受的信号。

iTreg促进共生代谢产物的活化与以前的研究报道一致，Foxp3⁺ iTreg细胞在LP表



达一种独特的T细胞受体亚型（TCRs），其可识别来自共生微生物菌群的抗原表位。此外，在Foxp3⁺ iTreg细胞的TCR谱是不同于那些在LP效应CD4⁺ T细胞表达的，表明接触某些共生抗原可优先指导CD4⁺ T细胞分化为iTreg细胞。然而，最近的一份报告表明，关于局部诱导的iTreg在维持对肠道菌群的耐受性上起主导作用。因此，单细胞高通量测

序显示大多数结肠Foxp3⁺ Treg细胞表达的TCRs共享胸腺Foxp3⁺ Treg的数量，包括许多能够识别微生物菌群源性抗原的TCR。此外，类似于上述IgA反应的灵活性，用抗生素控制微生物菌群的组成导致结肠Foxp3⁺ Treg细胞的TCR谱改变。目前的证据表明微生物菌群至少以两种方式形成肠道Treg细胞库；通过提供促进iTreg从头分化的因子以及通过

提供抗原肽刺激胸腺衍生的nTreg细胞的特异性克隆。

结语

共生微生物菌群有助于宿主免疫系统发育、成熟以及调节。宿主-微生物菌群相互作用的复杂和动态性说明免疫反应可由微生物菌群在多个水平进行调控。首先涉及到的的是由IEC和iMP感知微生物菌群的组成和代谢，而在稳态条件下有助于维持肠道屏障功能并调节iMP以有利于调节反应。ILC通过快速检测在压力条件下或感染期间由IEC和iMP释放的细胞因子，保持肠道免疫稳态的干扰下稳定。然而，微生物菌群也可以通过产生代谢产物作为Ahr配体直接影响ILC的功能。同样，在适应性免疫水平下，肠道中仅有T、B细胞由IEC和局部的iMP调节因子产生反应，这也是微生物菌群抗原及其代谢产物的

直接作用。说明菌群可以直接或间接的调节肠道不同细胞区域的免疫和炎症反应，以及细胞间的反应来促进不同状况或感染条件下协调的灵活的应答。

最近的研究在理解肠道中的免疫-微生物菌群相互作用的概念起到促进作用，将微生物菌群代谢产物的影响具体化。调节代谢产物如短链脂肪酸的确定，共生菌代谢产物的分子途径，为解决肠道疾病如IBD提供了新的可能性方法。然而，这些研究成果潜力仍有待挖掘。微生物菌群代谢产物（如短链脂肪酸）的多效性，使开发高效、靶向输送到相关细胞（如IEC与固有层T细胞）的机制可行。此外，这些代谢物之间协同和/或拮抗作用以及与其他免疫调节因子（如细胞因子）的作用仍需深入研究。此外，这些代谢物在系统性炎症性疾病的控制是否表现出类似的免疫调节潜力需要进一步研究。

对健康和患病宿主个体间微生物菌群

组成差异的研究进展快速，例如，异源粪便菌群移植（FMT）显示出对复发性梭状芽孢杆菌感染的疗效，尽管起作用的细菌成分仍须明确。当与从以上研究中得到的改善的分子学研究融合，在这一领域的额外的进步应该允许一种新的人体益生共生菌的识别。然而，在治疗上使用明确的细菌依赖于克服以下的技术障碍，包括建立新的培养技术以使益生菌的生长和筛选变成可能，以及设计试验以确保有效的表达，以及在需要时，在肠道内长期的存活等问题。此领域持续的进展对促进炎症可能的治疗方法和开发针对粘膜病原体的疫苗都是必不可少的。

注，上述内容参考自 [Modulation of immune development and function by intestinal microbiota Trends in Immunology.2014, 35 \(11\)](#)



2015年饲料企业数量大幅下降，产业集中度明显提高。饲料添加剂和原料开发能力稳定提升。2016年畜牧行业质量安全要求更加严格:加快发展安全高效环保饲料产品，下一步饲料中有机砷将停用，低矿配方应提上日程。推广安全环保饲料产品，精准能量配方，环境友好为重点。

——魏宏阳 农业部畜牧业司饲料处副处长
氨基酸与饲料原料应用讨论会 2016年北京

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