

让肠道告诉你...

都润肠讯

都润肠道健康研究中心主办

23

第二十三期

肠道微生物菌群生态位和功能的研究进展 (II)

生命早期肠道菌群的定殖对免疫系统的影响 (II)



dorun
SARIN RESEARCH

contents



03

基础理论:

肠道微生物菌群生态位和功能的研究进展 (II)



08

研究进展:

生命早期肠道菌群的定殖对免疫系统的影响 (II)



14

专家观点:

基础理论

肠道微生物菌群生态位和功能的研究进展（II）

动物肠道微生物菌群可以抵抗病原菌的入侵。入侵菌种被肠道内的细菌抑制,因为无法取代原籍菌种获得繁殖优势而无法定殖于肠道。研究认为,细菌在肠道能力的发挥取决于利用特定的限制营养素的能力。梭状芽孢杆菌和大肠杆菌的研究表明,对于病原体抑制作用是由营养的可用性决定的。研究表明,限制性营养可以决定宿主菌群中菌种的丰度。相应地,各种宿主衍生的生长基质可以解释稳定肠道微生物菌群多样性的原因,因为有些菌种针对特定营养进行吸收和代谢,像脆弱拟杆菌。肠道空间生态位由宿主决定的,同限制性营养一样,可能有助于解释菌群的持久性以及对于病原体的抵抗性。

肠道微生物生物学机制

抗菌素: 被称为潘氏细胞的特异上皮免疫细胞, 位于小肠隐窝的底部,分泌大量的抗菌素,限制粘膜表面细菌的增长。

带正电的抗菌肽相互作用，并破坏膜带负电荷的细菌。修饰后的脂质A是脂质部分脂多糖(LPS)和革兰氏阴性细菌外膜的主要组成部分，可以防御在一些病原体的阳离子抗菌肽。在*B. thetaiotaomicronn*以及幽门螺旋杆菌中磷酸化的脂质对于发生炎症后菌群的弹性定植是重要。

粘液和附着力：为到达上皮细胞，病原菌和共生菌都必须与粘液屏障和免疫系统抗衡(图4)。分泌的MUC2交联形成多肽产生粘性胶状物质,并作为屏障和宿主防御物质。缺乏MUC2的小鼠结肠隐窝中充满了细菌,组织被生物膜覆盖,表明胶状粘液是微生物菌群黏附组织的主要障碍。然而,某些细菌能够穿过粘液到达上皮组织。

总的来说,病原菌感染是由于黏附在肠道上皮细胞,这也是共生菌可以定植的原因。

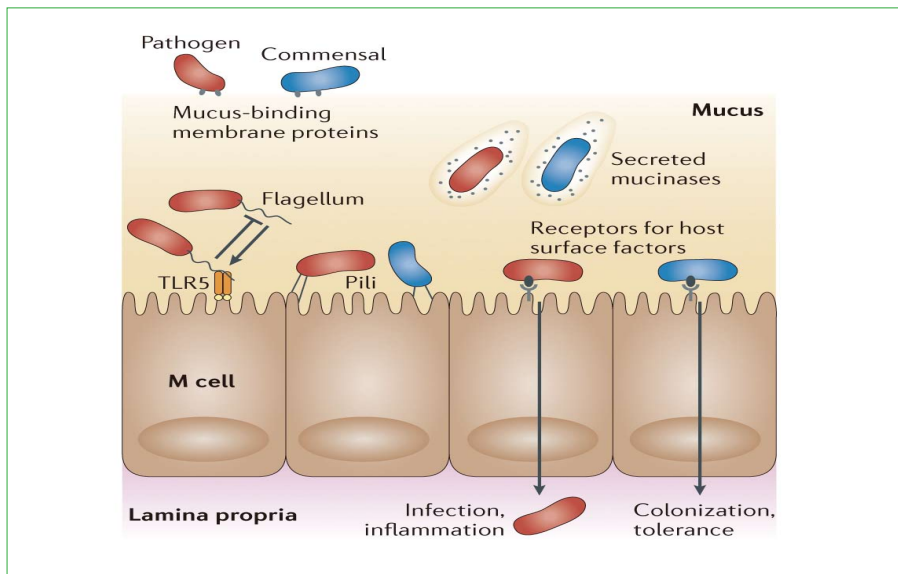


图4 细菌进入上皮细胞。

病原体和共生菌能够穿过肠道上皮黏液层。凝集素和粘液结合蛋白促进与黏液层最初的相互作用。粘多糖酶和蛋白酶用于降低粘液浓度使得细菌可以穿过粘液层。而一些病原体(如沙门氏菌)可以用鞭毛游过粘稠的粘液。Toll样受体5(TLR5)感应鞭毛蛋白并有效抑制肠道大多数细菌鞭毛蛋白的生物合成。共生菌和病原体通过鞭毛、凝集素和其他外膜蛋白质黏附到上皮细胞表面配体上。黏附使得肠道共生菌和病原体进入,并实现致病菌入侵组织。M细胞是上皮细胞上特异性的免疫哨兵,可以用于检测肠道细菌和病原体在上皮细胞上的易位现象。

免疫调节：为了在肠道中生长繁殖,与宿主组织密切关联的非致病性细菌必须耐受免疫系统。粘膜中含有大量sIgA, 它们和菌群相互作用。许多肠道细菌被sIgA覆盖着某些具备黏附功能的如幽门螺杆菌和SFB也被sIgA覆盖。结合sIgA的共生细菌可能导致黏膜生物膜的形成,而作为病原体黏附的屏障。用Rag1基因敲除小鼠(由于缺乏V(D)J重组激活蛋白1(Rag1)适应性免疫系统缺失)进行无菌研究, 结果表明,多形拟杆菌 *B. thetaiotaomicron*覆盖着sIgA可以减少微生物的数量,还会导致炎症信号减少和细菌基因表达的变化。通过这些机制,sIgA调节体内宿主和微生物菌群的平衡,以及粘膜表面宿主和潜在的病原体之间的平衡。此外,天然抗体可以识别细菌荚膜多糖;虽然这些研究主要关

于传染性病原体,抗体也可能代表一种宿主选择自身细菌菌种的进化策略。然而,免疫系

统如何可靠地区分有害和有益微生物的案例仍然是有限的。

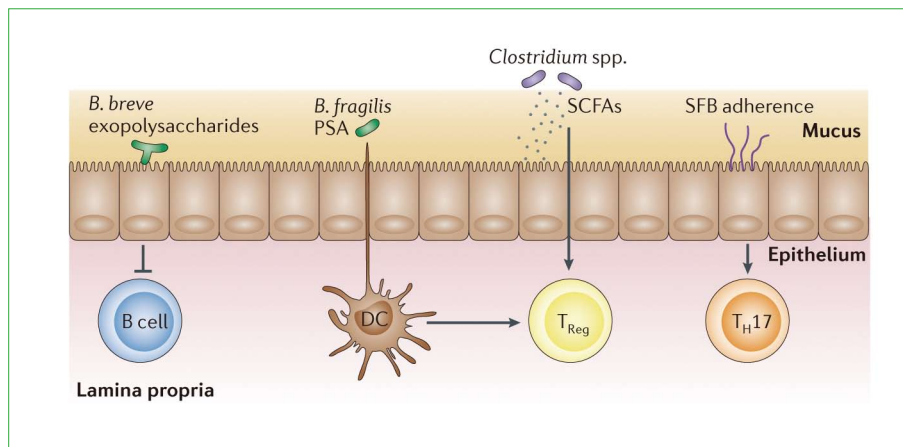


图5 共生肠道菌的免疫调节作用。

共生肠道细菌通过与上皮细胞和抗原呈递细胞(如树突状细胞(dc)相互作用)以及通过产生信号代谢产物来诱导和调节免疫作用。双歧杆菌可以通过减少炎症细胞因子的产生来抑制B细胞反应。脆弱拟杆菌荚膜多糖(PSA)以及梭状芽孢杆菌产生的短链脂肪酸(SCFAs)可以刺激调节性T细胞(TReg)产生抗炎白细胞介素-10。分段丝状细菌(SFB)进入上皮细胞的微绒毛之间并刺激辅助T细胞17(TH17)的发育,这对粘膜免疫细胞对抗细胞外的病原体是重要的。

在健康和疾病中的应用

肠道微生境可能有助于微生物群落的发展和稳定,因为空间分层的生态位促进更大的多样性。小鼠粪便微生物菌群最初是由变形菌门组成,但断奶后,优势菌群成为梭状芽孢杆菌和拟杆菌。菌群发育的次序可能是从近端到远端部分,与肠道粪便流动方向基本一致并且为是单向的。肠道细菌可以在环境遭到破坏后在某些区域作为菌种种子库继续繁殖(图6)。 *B. fragilis* 突变体无法在抗生素治疗和肠道感染后继续在结肠隐窝生存。隐窝和阑尾是肠道微生物的集聚地,其中富含不同的微生物菌落和免疫细胞。实验中兔子阑尾中的微生物与B细胞和T细胞协同作用表明这些组织相关领域是免疫调节的场所。微生境如隐窝、粘液和阑尾可能在促进免疫内稳态、保护微生物免受竞争以及肠道紊乱后菌群结构改变或者肠腔特定细菌减少后的菌群重建这些过程中是至关重要的。

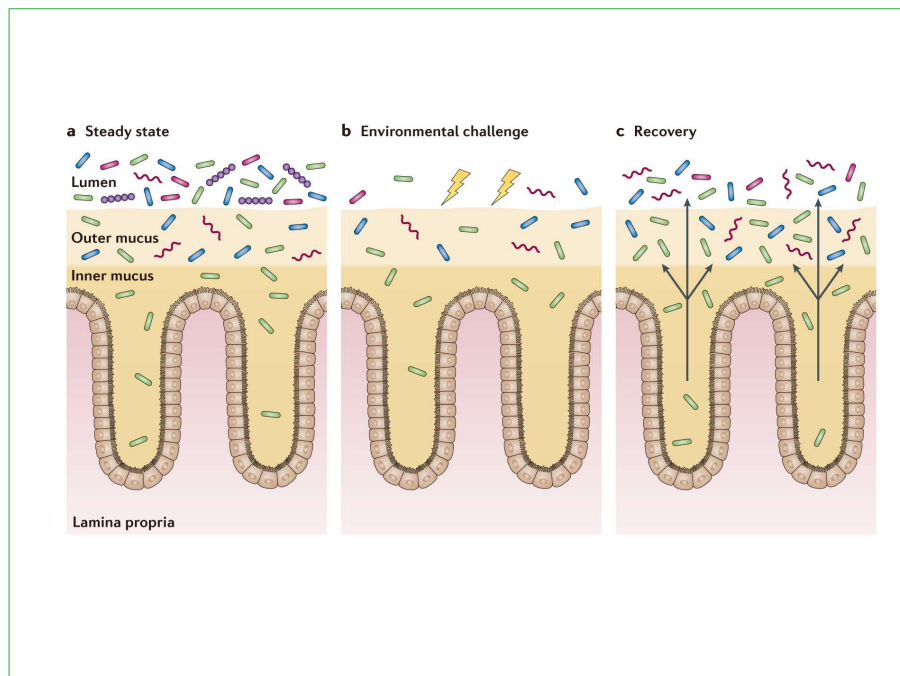


图6 肠道是细菌储藏中心,保证菌种的多样性。

隐窝等特定领域内黏液层等结构在促进免疫内稳态、保护共生菌种以及当细菌群落结构发生改变时补充肠道微生物菌群方面可能是至关重要的。A 菌株能够穿过内黏液层进入隐窝。B 当日粮改变、使用抗生素或异常胃肠蠕动情况下,改变肠腔菌群,但粘膜隐窝起到保护重要细菌菌种的作用。C 隐窝和粘膜中保存的菌种繁殖后再返回肠腔。

总结:

肠道微生物菌群横向和纵向上的生物地理学分层, 对于了解微生物菌群在肠道生态系统以及微生物与宿主之间的关系是重要的。

本文简述了宿主通过限制性营养以及限制作用位点来选择微生物。免疫系统选择体内共生菌中有益的菌种来占据位点。菌种可以接近上皮细胞, 形成稳定微生物菌种库。因此, 通过特定的免疫、黏附和营养选择, 宿主维持多元、稳定的宿主-微生物共生体。

注: 参考自 “Gut biogeography of the bacterial microbiota” *Nature*. 2015, 14(10).



研究进展

生命早期肠道菌群的定殖对免疫系统的影响（II）

年龄影响结肠和肺中的iNKT细胞

恒定的自然杀伤T细胞（iNKT）表达一种恒定的TCR- α 链和各种TCR- β 链阵列，识别由CD1d（一种主要组织相容性复合体MHC-I样分子）呈递的内源和外源（细菌）脂质病原体。在无菌动物，iNKT细胞在外周组织（如脾脏和肝脏）减少和对脂质抗原刺激的低反应，通过移植成年小鼠中可以表达iNKT抗原的细菌可以正常化。在无菌小鼠与SPF小鼠对比观察中，粘膜组织如肺和结肠包含的iNKT

细胞数量大幅增加，在结肠炎和气道高反应性（AHR）实验模型中观察到相关联的炎症反应增强。这种iNKT细胞的积累和对iNKT细胞环境因素的高反应性诱导的结肠炎可以通过移植标准微生物菌群到无菌小鼠体内来正常化，如在生命的前两周移植脆弱拟杆菌或用脆弱拟杆菌-衍生鞘脂类抗原来进行治疗（图1A）。iNKT细胞在肺中聚积导致无菌小鼠易感哮喘，可以通过移植标准的微生物菌群而不能依靠在生命的前两周移植脆弱拟杆菌（图1B）。

这些研究已经发现至少有两个非互斥机制，微生物可以通过该机制调节结肠和肺中

iNKT出现的频率。无菌动物结肠iNKT细胞的积累与趋化因子配体CXCL16水平升高有关，在这个关键的两周时间里，接种后其表达的正常化依赖于微生物菌群诱导的CXCL16基因的表现遗传变异。相反，通过人类共生脆弱拟杆菌使iNKT细胞频率正常化似乎涉及在早期生命通过脆弱拟杆菌-衍生鞘脂被抑制使得iNKT细胞的增殖受到抑制。有趣的是肠道脆弱拟杆菌定殖是组织特异性的，因为它仅限于结肠，有力地支持了特定的微生物和潜在的信号可以调节不同器官iNKT的聚集和增殖。

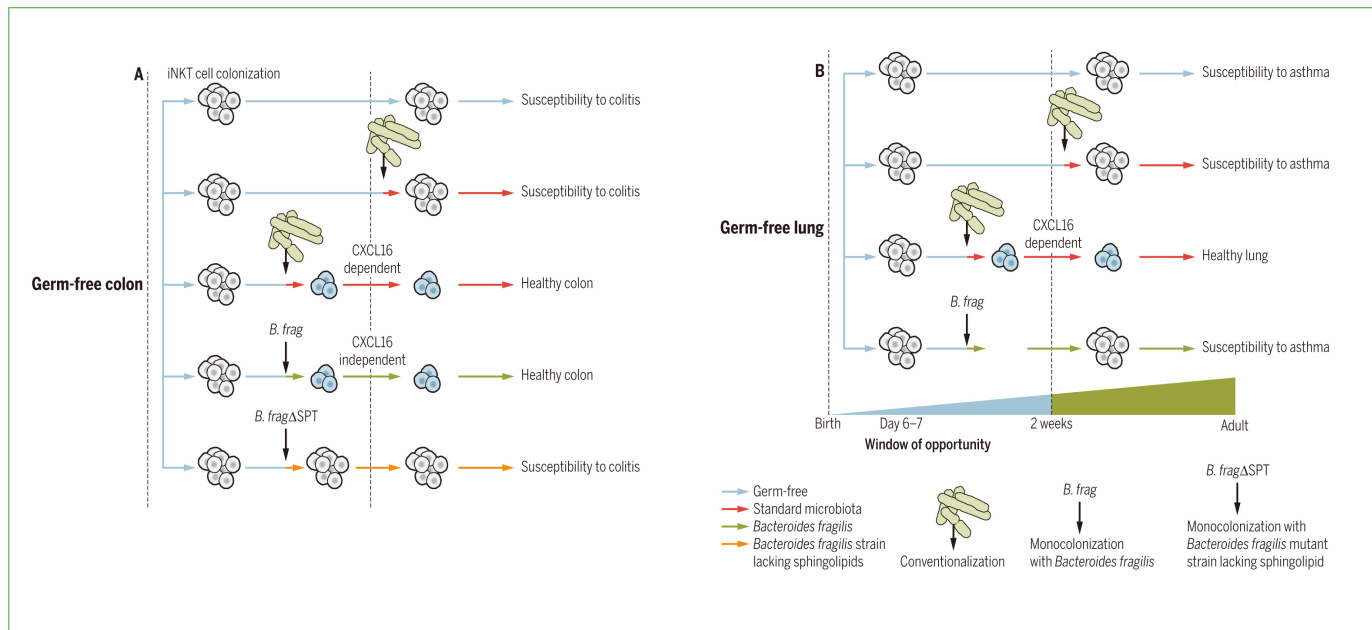


图1 生命早期iNKT细胞的定殖由菌群调节并影响后续生活中对结肠炎和哮喘的敏感性。

(A) 在出生第一周iNKT细胞从胸腺迁移到结肠。它们在无菌小鼠结肠的异常积累导致后续对恶唑酮诱导的结肠炎的易感性。在机会窗口期，间接种标准的微生物或移植脆弱拟杆菌(*B. frag*)而不是缺乏鞘脂类的脆弱拟杆菌(*B. frag* ΔSPT)可恢复结肠iNKT细胞数量并使对结肠炎增加的易感性消失。相反，在出生2周内接种标准菌群，iNKT细胞数量以依赖于CXCL16的机制减少，移植脆弱拟杆菌以CXCL16独立的方式调节结肠iNKT细胞的数量，取决于来自脆弱拟杆菌的神经鞘脂类抑制剂阻碍iNKT细胞增殖。(B) 在无菌小鼠肺组织中iNKT细胞的积累导致之后对哮喘的易感性。在机会窗口期间接种标准微生物，而不是移植脆弱拟杆菌以CXCL16依赖的方式恢复结肠iNKT细胞的数量并使对哮喘的易感性消失。

B细胞和IgE

IgE是由B细胞产生的抗体，在对过敏原的反应和对病原体的免疫中起着举足轻重的作用。最近的一项研究表明，无菌小鼠中IgA和IgG1的水平下降时，血清中IgE的水平在断奶后约30天升高，因为在PPs和MLNs中B细胞亚型类别转换到IgE的速度增强。在无菌动物，IgE水平的升高与由于食物引起的全身性过敏的过度反应相关。无菌小鼠血清中高IgE水平与PPs及肠系膜淋巴结中依赖于CD4 + T细胞的IL-4产物随之增加相关联。无菌小鼠正常微生物菌群从出生到4周龄定殖，而不是之后在成年后有正常的IgE水平，这和这段时间所特有的微生物菌群调节IgE产物相一致。成年小鼠IgE的产生依赖于新生儿肠道细菌多样性而不是特定种类的细菌定殖，因此，低多样性的微生物菌群在生命早期不足以使IgE的水平正常。



在肺和皮肤中的调节性T细胞

接触屋尘螨（HDM）后产生抗原，对iNKT细胞具有CD1d限制性抗原，在生命的前2周而不是之后，诱导源于肺中传统CD4 + T细胞的helios-阴性调节性T细胞亚群。因此，在成年生活中最初接触HDM导致AHR增加相对于在生命早期首先接触HDM观察到的。具体来说，早期生命过敏原诱导的helios-阴性调节性T细胞的发育依赖于微生物菌群和涉及在

T细胞的免疫检查点分子程序性细胞凋亡蛋白1（PD1）和在树突状细胞的PD-L1的表达，使得生命早期PD-L1的缺乏阻止helios-阴性调节性T细胞的增加和接触HDM哮喘的增加。因此，为期两周的机会窗口存在于接触过敏原引起的调节性T细胞变化以预防哮喘。生命早期普遍的微生物菌群作用与在肺过敏性疾病的调节保持一致，在此期间使用抗生素治疗可增加小鼠对过敏性哮喘的易感性。

皮肤中也存在着类似的年龄限制调节性T细胞活性的调控。小鼠与人皮肤的细菌菌株在头2周内定植，但此后来源于胸腺诱导活化皮肤中的调节性T细胞积累，并维持成年共生菌衍生抗原的免疫耐受性。断奶后成年小鼠菌群定植开始，这样共生的抗原特异性免疫耐受不启动。此外，这种早期生命阶段活性调节性T细胞的积累似乎是对皮肤特异性的，在肠道固有层中没有观察到。新生小鼠抗生素治疗可诱导对皮肤微生物组成长期修饰并对成年牛皮癣的发育敏感，这和IL-22产生型T细胞的增加相

关。在生命早期微生物菌群对胸腺衍生和诱导调节性T细胞的调控可能是组织特异性的，这意味着即使是同一类型的细胞（如调节性T细胞）在不同的器官中特异性机制的影响不同。

上皮细胞

新生儿期耐受性的建立可通过非免疫细胞来调节。例如，小鼠IECs在生命的前两周里TLR信号特异性地下调，但此后不再出现。这使得上皮细胞对TLR刺激反应比较低，如革兰氏阴性菌的脂多糖。新生儿耐受依赖于TLR4和分娩方式。事实上，剖宫产出生的新生儿的IECs不下调TLR信号且更容易出现上皮损伤，表明上皮耐受发育过程中接触特定类型微生物的重要作用。这些研究强调了在早期生命中上皮细胞在耐受性途径的建立中发挥的重要潜在作用。

脾脏中的红细胞

一类小亚型的红细胞表达转铁蛋白受体

CD71。从出生到2周龄的脾脏中富含CD71 + 红细胞且在成年后消失。它们的发育不依赖于微生物；在无菌小鼠和SPF小鼠中类似的数量也观察到。然而，它们在抑制髓系细胞对病原体的反应（例如，单核细胞增生李斯特氏菌）或共生中发挥作用。在后一种情况下，抑制CD71导致在SPF条件下的新生儿肠道髓系细胞炎症细胞因子/肿瘤坏死因子的基础表达水平增加。这些研究表明，不仅在早期生命中接触微生物调节免疫系统的发育，而且在关键的生命时期，宿主也维持着关键且特异的机械途径调节宿主对微生物的反应。

生命早期微生物菌群紊乱及其和人类疾病的关系

微生物-免疫相互作用似乎对早期生命免疫系统的发育起着重要的作用，而这种相互作用的破坏可能导致潜在持久的免疫异常，生命早期是否接触微生物可能影响成年生活对疾病

的易感性。有新的证据支持这一假设。

在农场环境生活的孩子感染过敏性疾病的风险下降，可能通过涉及泛素修饰酶A20的机制。此外，怀孕期间接触农场可以调节免疫反应使婴儿得哮喘的概率下降。这种保护作用可能与婴儿的Treg细胞活性增强相关。虽然是不确定的证据，这种年少时接触农场的保护作用归结于微生物的作用，因为与其他孩子相比，接触农场环境的个体拥有不同的微生物多样性。在成人的研究显示，抗生素治疗与微生物组成的持续变化有关，这可能适用于生命早期阶段。例如，在生命的前6个月内使用抗生素则在6岁时对过敏和哮喘的易感性增加。另一项研究表明，在出生第一年接触抗生素与8岁时喘息和湿疹的发生相关，即使考虑到早期生命呼吸道感染。同时，在儿童期接触抗生素，特别是在出生第一年，与炎症性肠病（IBD）发生的风险增加有关。在出生第一年接触抗生素也使超重和中心型肥胖发展的易感性增加甚

至可能会导致以后的生活中II型糖尿病的发生概率的增加。此外，最近的一项研究表明，在婴儿期肠道菌群组成的变化可导致I型糖尿病的发展。生命早期接触来源于雄性NOD小鼠微生物菌群的雌性NOD小鼠可以具备雄激素依赖性途径可以保护其预防糖尿病。剖宫产方式出生的孩子微生物菌群组成不同，在儿童期和成年生活中可能更易患肥胖、I型糖尿病、过敏和哮喘。后者机制的基础还不清楚，可能涉及许多因素包括抗生素干预。

同时，这些研究支持了早期生活微生物菌群组成的紊乱和与以后生活中疾病发展之间的间接联系。最近关于儿童嗜酸性粒细胞性食管炎（EOE）的临床研究中研究了在这个潜在的关联，其中小鼠模型表明这是iNKT细胞介导的疾病。在这个例子中，患EOE年幼的儿童（6岁以下）表现出食管中TCR V α 24（典型的iNKT细胞的TCR- α 链）、CD1D和CXCL16转录水平的增加，通过饮食干预治疗EOE可使

其正常。资料表明，iNKT细胞相关转录的增加在生命早期接触抗生素时出现。

母乳中含有蛋白质、母体细菌和对于新生儿发育重要的营养素，也可以参与建立新生儿的微环境。这包括了母乳喂养赋予新生儿的免疫系统对成年肥胖或IBD的发生产生保护作用。然而，具体的产妇因素包括微生物菌群和涉及的机制仍有待确定。

结论

宿主的粘膜组织是高度动态的结构，介于外部环境和内部免疫及非免疫组织之间。粘膜同样是共生微生物的关键位点，在决定宿主的形态和功能方面起着重要的作用，和它们所作用的宿主一样，同样受到各种环境因素的影响。粘膜面系统的有序建立对免疫系统的正常发育以及微生物本身都非常重要。此外，近期有观点认为在这一界面一些决定稳态和对外界环境耐受的关键的免疫机制是由一系列微生物

与宿主间的相互作用决定的，这一相互作用仅发生在生命初期很短的一段时间里。这特异地产生“机会窗口”的概念，在生命早期接触特定的微生物确定的特异性免疫从而产生持久的记忆功能。这个与哺乳期动物相关的时间段，关系到人类的发育仍有待确定。最近的一项研究表明，这种早期生命微生物的影响在妊娠期可能是显而易见的。在怀孕期间，微生物的定殖调节特定固有免疫细胞的数量和活力。这个过程依赖于微生物诱导的，并在哺乳期间转移到新生儿的微生物衍生的分子特异性母源抗体。这些观点通过表明疾病的风险可能会开始在生命最早期的日子里，包括产前期，对人类疾病有深刻的影响。了解其具体细节对了解复杂的疾病机制，并干预疾病有很大的影响。

注：[上术内容参考自How colonization by microbiota in early life shapes the immune system](#)

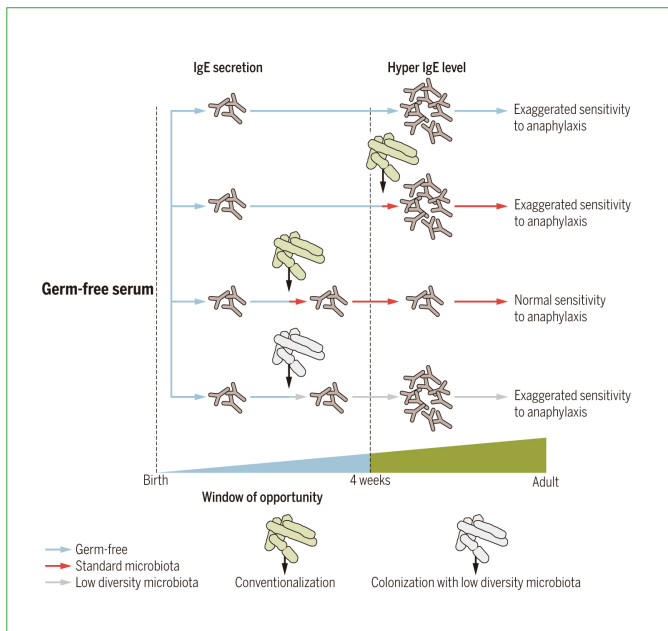


图2 生命早期接触微生物菌群调节成年小鼠血清IgE水平和对于食物诱导的过敏反应的敏感性。

IgE聚积在出生后4周的无菌小鼠血清中，由于粘膜B细胞IgE同型转换成IgE。“高IgE水平”导致对食物过度过敏反应，可以通过在生命早期接种标准的微生物解决，但此后不能。在机会窗口期间无菌小鼠低多样性的菌群定植使得成年生活中高IgE水平未能正常化。

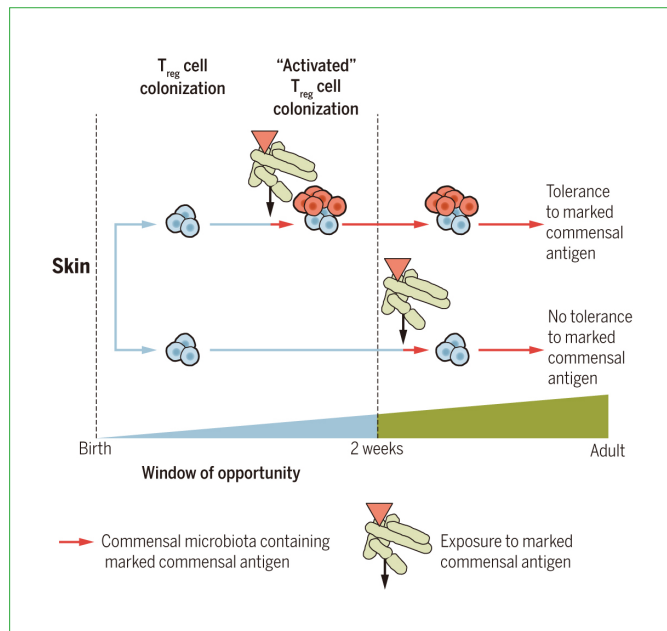


图3 植入新生小鼠皮肤的Treg细胞和诱导对共生菌的免疫耐受。

新生儿皮肤随着共生菌群的定植导致“活化的”Treg细胞（红细胞）积累，它们特异性的识别人工标记的抗原，在后续的生活中耐受相同的抗原。含有特定共生微生物菌群包括标记的共生菌群（红三角）定植的成年动物不会导致皮肤Treg细胞积累或建立免疫耐受。



专家观点：

禁抗是一定的，抗生素替代物的说法不科学，称肠道促进剂更合适；氧化锌虽有效，但长期饲喂高锌会导致比抗生素更严重的后果——产生新一代对金属元素和抗生素都具有耐药性的新型细菌；母子一体化的营养平衡，通过供给母猪均衡充足的营养，促进乳腺和胎儿发育，仔猪自然会健康强壮。

——印遇龙院士 中国科学院亚热带农业生态研究所
第五届国内外教槽料发展高峰论坛 2016 长沙

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

Symbiotic
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