

让肠道告诉你...

dorun
for the real health

都润肠讯

都润肠道健康研究中心主办

肠道菌群和宿主健康 (II) —— 菌群相关疾病

肠道内微生物菌群和病原菌相互关系的研究进展 (I)

28

第二十八期



dorun
for the real health

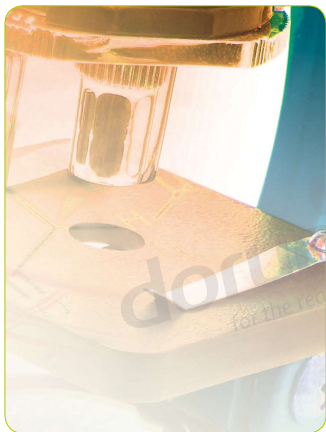
contents



03

基础理论:

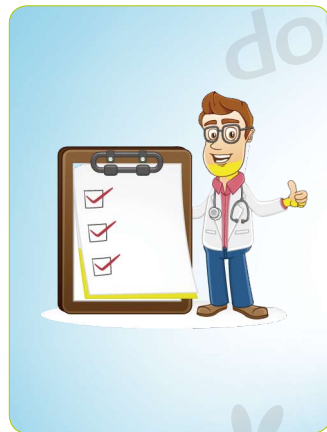
肠道菌群和宿主健康 (II)
——菌群相关疾病



09

研究进展:

肠道内微生物菌群和病原菌
相互关系的研究进展 (I)



14

专家观点:

基础理论

肠道菌群和宿主健康（II）

——菌群相关疾病

肠道菌群与肥胖相关疾病

2004年开始，Gordon等人研究表明，肠道微生物与肥胖之间的潜在联系。厚壁菌门相对丰度的增加和拟杆菌的减少与肥胖小鼠的肠道菌群有关，这可由人类膳食干预的研究证实：肥胖者（体重指数，BMI > 30）体重减轻伴随着拟杆菌的相对丰度增加。然而，大多数研究表明，与肥胖相关的拟杆菌与厚壁菌门的比例（BF）减少仍然是有争议的。这可能是由于人类受试者的基因型和生活方式的异质性。最近的研究已经确定了饮食，尤其是脂肪含量，对标准化实验动物的影响。微生物菌群变化的主要来源取决于实验中使用的饮食，越来越多的证据表明，高脂肪摄入，而不是肥胖本身对微生物菌群有直接的影响。然而，只有BMI超标的肥胖和瘦的人类个体，微生物组暴露在根本不同的环境因素，包括饮食和宿主激素因素。此外，肥胖及其代谢并发症的病因，包括低度炎症反应、高脂血症、高血压、糖耐量异常和糖尿病，反映

了这些多种基因、行为和环境因素的复杂相互作用。最后，BMI作为肥胖指标的准确性是有限的，25%的肥胖者实际上可以被视为代谢“健康”（即，正常的脂质和葡萄糖代谢）。由于在各种各样的群体有多方面的混杂因素，因此，直接将胃肠道微生物组成和肥胖联系起来仍然有待研究深入。

这种复杂性导致了治疗肥胖从作为单一的表型转变成尝试相关的微生物特征或通过代谢综合征（如糖尿病）相关的多种特征来区分。最近，两个全基因组关联研究以345个中国人和145欧洲妇女来进行。在这两项研究中，重新生成的宏基因组物种水平基因簇作为判定指标，通过数学建模，更好的区分患者和对照组，比基于任何人类基因组变异或其它已知的危险因素如BMI和腰围的类似分析具有较高的特异性。在功能水平，膜转运和氧化应激相关的基因富集在患者的微生物群，而丁酸生物合成下降。虽然两个研



究中发现了微生物基因编码功能的高度相似性，但两组群体中最有判断意义的宏基因组的基因簇是不同的，表明生物标志物对于研究的群体可能是特定的。

在另一个宏基因组的研究中，观察肥胖个体微生物基因丰度，以高基因数或低基因数（HGC和LGC）将个体分层。HGC个体具有假定的抗炎物质如普拉氏梭杆菌较高发

病率的特征，且有机酸（包括丁酸）的产生潜力增加。与此相反，LGC个体表现出拟杆菌和参与氧化应激反应基因的相关性。值得注意的是，只有生化指标（如胰岛素抵抗）和基因计数显著相关，体重和BMI不相关，表明BMI不足以作为‘肥胖及其相关代谢紊乱（OAMD）’的指标。有研究表明，饮食引起的减肥显著增加LGC个体基因的丰度，这与改善代谢状态有关。虽然基因丰富度没有完全恢复，这些结果支持长期饮食习惯和肠道菌群结构之间关系的报道。这也表明通过饮食可以实现微生物的持久调节。

最近有研究发现宿主血糖稳态和肠道菌群组成之间的因果关系。来自瘦的供体的FMT转移到有代谢综合征的个体显著增加他们对胰岛素的敏感性。移植使得粪便中丁酸浓度、微生物多样性以及丁酸生产者肠罗斯氏菌相关的细菌相对丰度增加。

同时，这些研究表明，微生物在宿主的

能量代谢以及OAMD的建立和发展中起着重要的作用，虽然确切的机制仍不清楚。矛盾的结果可能是由于各种各样的方法和基因型的异质性、生活方式以及饮食。OAMD个体肠道具有炎症相关的微生物菌群，较低的丁酸生产潜能以及细菌多样性和/或基因丰富度的减少。虽然OAMD的主要原因是相对于消耗而言过量的热量摄入，肠道微生态的差异可能作为一种重要的介质和一种新的治疗靶点或生物标志物，用以治疗代谢功能障碍和肥胖。

肠道菌群与炎症性肠病(IBD)


炎症性肠病包括克罗恩病（CD）和溃疡性结肠炎（UC），是基因易感个体对肠道菌群异常免疫反应所致的疾病。早期的研究涉及IBD发病机制中的细菌，首先确定一个潜在菌种，可以引起IBD特征的炎症反应。例如，副结核分枝杆菌亚种和一些变形菌门包括肠

幽门螺旋菌，非贴壁/肠弯杆菌以及贴壁和侵袭性大肠杆菌。最近焦点已经转向认识到在IBD中肠道菌群作为一个整体变化。改变肠道菌群或生态失调的观点可能是过去十年里在IBD研究领域最重要的发展。随着宿主与微生物共生关系的研究表明，正常肠道菌群的变化在IBD的发展中可能起到决定性作用。

IBD患者肠道微生物菌群的变化与克罗恩氏病（CD）或溃疡性结肠炎（UC）明确相关：最一致的变化是厚壁菌门的减少。表明在IBD患者中拟杆菌属可能发生空间重组，与对照组相比，脆弱拟杆菌在IBD患者菌群中占更大比例。

在CD患者肠道菌群中厚壁菌门菌种 *F. prausnitzii* 的减少已有文献报道，特别是在回肠，但是在儿科群组中已经显示 *F. prausnitzii* 的增加，表明菌种的动态作用值得进一步研究。其他的研究也证实了厚壁

菌门多样性降低，与对照组相比，IBD患者检测到较少的菌种组成。厚壁菌门和拟杆菌门发生变化，变形菌门菌种数量增加，表明在IBD患者慢性炎症初期菌种的作用。更具体地说，大肠杆菌数量的增加，包括致病性变种，已在CD回肠发现。IBD患者的宏基因组所包含的基因比健康人群减少25%，表明肠道宏蛋白质组的蛋白量降低和功能途径相关性。具体而言，回肠CD已被证明与细菌碳水化合物代谢改变和细菌宿主相互作用以及人类宿主分泌的酶相关。IBD期间功能失调的详细调查基于来自231个人以及额外的11个宏基因组中推测的微生物基因含量。本研究确认了微生物在应对氧化应激耐受、免疫逃避和宿主代谢吸收中的富集，以及在肠道短链脂肪酸的生物合成和典型的肠道碳水化合物代谢以及氨基酸生物合成过程中相应的损耗。类似的微生物代谢的变化已在诸如



T2D的其他炎症条件下观察到，表明共有的核心肠道微生物对慢性炎症和免疫激活的反应。此外，最近研究表明，病毒伴随着患者 *Caudovirales* 噬菌体显著扩张而致病。

调节微生物菌群作为治疗IBD的一种方法

一些临床试验已经研究出调节IBD患者肠道菌群的方法，其中许多早于“组学”时代。这样的试验提供了一个“理论依据”对肠道微生物在IBD中的作用十分重要，但结合个体方式与IBD的复杂多因素性质仍然是一个挑战，特别是在解决不同的表型和基因型的

疾病以及疾病过程的不同阶段，如预防、维持缓解和复发治疗。

溃疡性结肠炎（UC）

在益生菌研究方面，IBD最大的临床试验之一是在UC患者使用 *E. coli* Nissle1917。患者（n = 327）被分配到一个双盲、双模拟试验中，服用益生菌或美沙拉嗪。在UC维持缓解中，*E. coli* Nissle现在被认为是5-氨基水杨酸的有效替代物。有两项已发表的关于多菌种益生菌（VSL#3）在UC 轻中度复发情况下的临床试验，均表明高剂量可以起到更好的效果，但对患者是否有临床意义还有

待阐明。另一种方法是从健康供体的整个肠道移植菌群（FMT）。在IBD，最近的系统分析表明，45%（54 / 119）达到临床缓解。只有群组研究进行分析的36%达到临床缓解。UC两个随机对照试验显示不一致的结果：一个试验中通过上胃肠道途径给予两种粪便移植，粪便移植组和对照组（给予自体粪便）之间在临床上或内镜缓解均无显著差异。第二个试验中，UC患者被随机分配，每周接受来自健康供体或空白对照剂的粪便灌肠6周，与对照组相比，给予FMT的患者更容易得到缓解。关于转移方式、转移频率和最佳的供体/宿主特性仍是未解决的问题。

克罗恩氏病 (CD)

抗生素在治疗特定的CD患者组表现出疗效，但一些抗生素可能是有害的，显示出宿主和微生物菌群之间复杂的相互作用。在处理CD切除手术患者临床复发时，甲硝唑或奥硝唑被用来预防性治疗。在CD中对于益生菌的使用和益生元方面没有临床相关证据基础，虽然在CD低聚果糖的开放性试验显示出潜力，但临床实验并不支持。

慢性肠炎

慢性肠炎患者的发病率高达50%，虽然仅约10%需要临床治疗。抗生素是主要的治疗方法，如果单一抗生素失效，可以在较长时间使用多种抗生素或者使用针对个别患者微生物群群的抗生素。益生菌 (VSL # 3) 降低慢性肠炎发病风险并缓解抗生素诱导疾病，显著降低慢性肠炎患者的临床复发率。

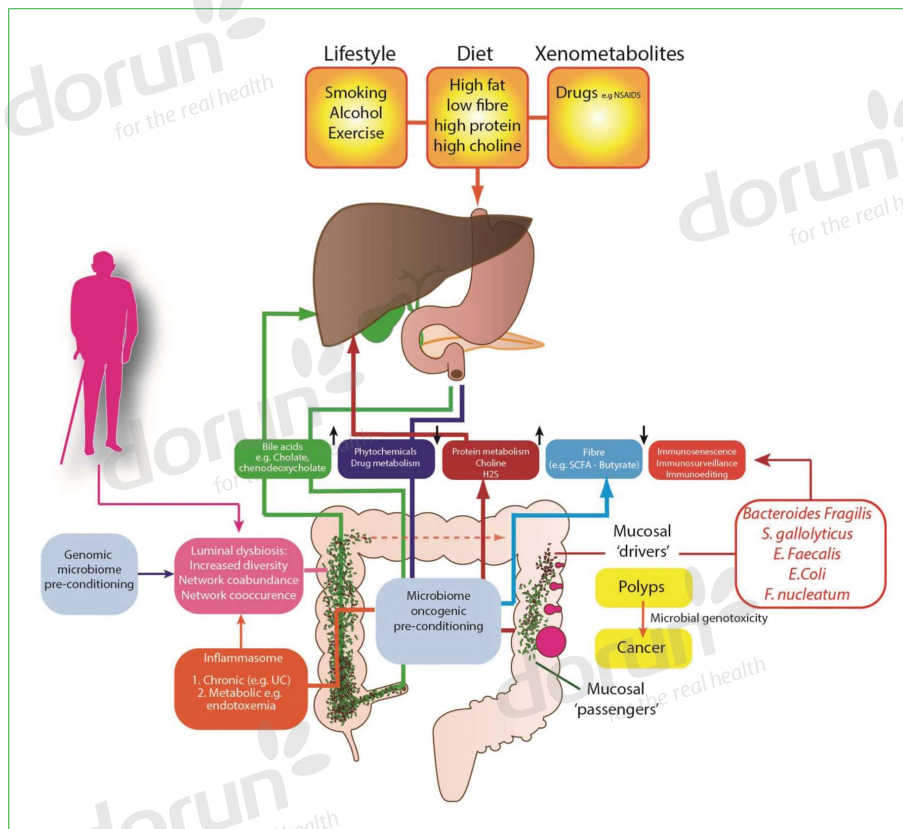


图1 结肠癌的肠道微生物机制

结论

在过去的十年中，人类微生物组引起的兴趣大大增加。共生微生物驱动宿主某些功能。在无菌啮齿类动物实验中，消除微生物菌群几乎影响到宿主的正常生理功能。在

一些关键疾病中微生物及其微生物组也起关键的调节作用（表1）。通过更好地了解微生物对这些疾病的机制和贡献，我们希望开发新的治疗方法和策略来调节微生物菌群以治疗或预防疾病。此外，在某些情况下，在

常规诊断之前使用微生物组检测肠道相关疾病是可能的。在未来，我们希望利用这些信息来更准确地区分患者从而为了更有效的治疗。

表1. 肠道菌群对宿主健康影响的关键性认识

主题	认识
肠道菌群	▶ 肠道菌群是宿主特异性的且可变的。
	▶ 菌群多样性的丧失对健康有不利影响；保护关键微生物的功能更为重要。
饮食调节	▶ 难消化的碳水化合物是肠道菌群的“食物”。
	▶ 益生菌、益生元和多酚可以通过微生物菌群促进肠道健康
肥胖	▶ 肠道微生物是肥胖的一个环境因素。
	▶ 微生物的未知功能可以用来推断模拟或治疗肥胖及其相关的代谢紊乱。
炎症性肠病 (IBD)	▶ 微生物菌群的变化是IBD发病的关键，这些可能是由宿主基因和/或环境因素的作用。
	▶ 针对微生物仍是治疗该病的一个具有吸引力的选择。

注：文章参考自 “The gut microbiota and host health: a new clinical frontier”. Gut. 2016, 65: 330– 339.

研究进展

肠道内微生物菌群和病原菌相互关系的研究进展 (I)

微生物菌群对动物机体健康有重要作用，其变化可能引起病原菌的感染。抗生素影响肠道微生物菌群组成，并使得宿主营养结构发生变化，这可能导致致病性菌群的增殖。病原菌可以利用微生物源性碳、氮源作为营养物质并利用调节信号实现自身的生长繁殖。炎症反应下肠道环境发生改变，阐明微生物菌群、宿主和致病菌之间相互作用对于微生物菌群对抗疾病有重要的影响。

在过去的十年里，关于微生物菌群在机体健康和营养方面重要作用的认识稳步增长。最初的研究集中在微生物菌群的分类上，包括与宿主健康或疾病状态有关的微生物菌群构成。微生物菌群、宿主和致病菌之间的联系成为现在研究的热点，揭示微生物菌群组成如何能够抵抗致病菌的入侵。大多数研究都是在胃肠道内进行的，肠道菌群在属种的水平上有所不同，但在门的水平上主要是由拟杆菌和壁厚菌组成，其次是变形菌门和放线菌。宿主遗传、日粮和环境改变（如抗生素治疗）可以改变微生物菌群，从而影响个体对感染性疾病的易感性。

微生物菌群可以促进机体对病原菌的抗性。例如，抗生素治疗后，无菌环境中繁殖的小鼠(称为无菌小鼠)更

容易感染肠致病菌，如福氏志贺氏菌（*Shigella flexneri*）、啮齿枸橼酸杆菌（*Citrobacter rodentium*）、李斯特菌（*Listeria monocytogenes*）和沙门氏菌肠杆菌等。某些微生物可以导致致病菌的增殖或毒性增强。例如，通过研究不同微生物菌群组成对于小鼠进行*C. rodentium*（可特异性导致小鼠肠炎）感染的实验表明：从疑似易感染小鼠体内移植微生物菌群可诱发类似的疾病易感性；相应的，如果移植抗性微生物菌群则促进易感动物产生耐菌性。流行病学的调查也证实这一观点。例如，在对瑞典成年人研究中显示，弯曲杆菌感染的差异性依赖于体内微生物的组成。在微生物菌群中多样性更高的个体以及粪球菌属数量更多的菌群组成，对*C. jejuni*的感染有明显的耐受性。

宿主日粮对微生物菌群组成有深远的影响，并对宿主生理、免疫和感染性疾病的敏感性有一定的影响。日粮类型会影响到肠出

血性大肠杆菌(EHEC) O157:H7型的定殖。补充植物营养物质可以促进有益的梭状菌增殖从而保护小鼠不被*C. rodentium*侵入。

由于分子研究方法的创新，结合传统的方法，推动了对于微生物菌群、宿主和致病菌之间相互作用研究的推进。在新一代测序技术的推动下，对微生物菌群组成进行了研究，促进了转录分析。代谢组学研究迅速扩大了对微生物菌群和致病细菌对肠道代谢环境影响的认识。

抗生素

抗生素带来了革命性的变化，它被认为是 对细菌感染的“灵丹妙药”。传统的抗生素可以抑菌或杀菌，这意味着抗生素是不加区分地杀死或阻碍致病和有益微生物的增殖。抗生素改变微生物菌群的分类、基因组和功能特征，这种影响可能是暂时性的，也可能是永久性的。抗生素可以降低微生物菌

群的多样性，从而使得病原菌在宿主体内增殖，如感染*C. difficile*后菌体增殖，从而导致腹泻甚至死亡。*C. difficile*是一种孢子形成菌，在萌发过程中分泌两种毒素（TcdA和TcdB）并引起结肠炎。大部分的*C. difficile*的感染都是在医院，但是*C. difficile*的孢子也是无处不在的。*C. difficile*可以在不引起疾病的情况下入侵哺乳动物的肠道，但是使用抗生素更容易感染*C. difficile*并促使结肠炎发生。抗生素的使用使得沙门氏菌*S. Typhimurium*更容易入侵体内并发病。这两种菌均是以唾液酸为碳源，它们依赖于菌群中可以糖化的菌，如拟杆菌。而抗生素治疗增加了游离唾液酸的丰富程度，从而促使其增殖。抗生素的使用也触发了有机酸琥珀酸酯的产生，从而给*C. difficile*带来生长优势。微生物菌群对于肠道健康和致病菌感染的机制尚处于起步阶段，但研究表明微生物变化与肠道炎症相关联。

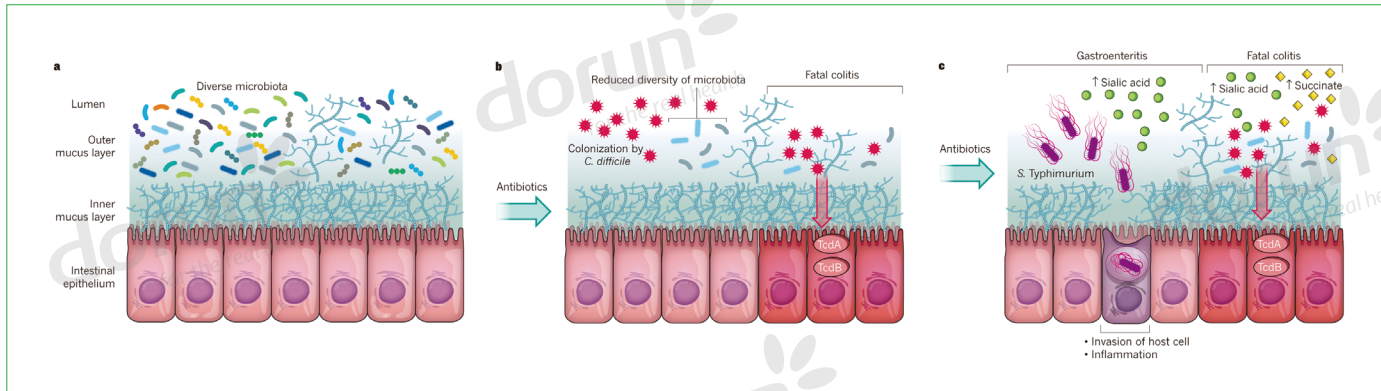


图1: 抗生素使用对微生物菌群及病原体的影响。

A、微生物菌种多样且互不干扰，能抵抗肠上皮内病原体的入侵。B、抗生素治疗后，微生物菌群多样性降低，导致了*C. difficile*的增殖。*C. difficile*释放毒素(TcdA和TcdB)破坏上皮细胞，导致炎症(结肠炎)和细胞死亡。C、抗生素治疗导致游离唾液酸来自宿主和肠腔内的琥珀酸来自微生物增加。高浓度唾液酸促进了*S. Typhimurium*的增殖，从而导致炎症(肠胃炎)。高浓度的唾液酸和琥珀酸进一步促进了*C. difficile*的增殖和结肠炎的发生。

营养物质的利用

日粮中的单糖被小肠吸收，无法作为微生物和致病菌的营养来源。微生物菌群能够利用未消化的植物多糖。

肠道上皮由一层粘液层保护，黏液中含

有丰富的海藻糖、半乳糖、唾液酸、N-乙酰氨基葡萄糖和甘露糖。这些糖由微生物菌群中可以利用糖的菌所利用，如拟杆菌。然而，肠道中的致病细菌也可以利用这些糖来促进自身的增殖。有研究用多形拟杆菌来研究其在肠

道中合成的过程。唾液酸是粘膜聚糖最终形态的糖，多形拟杆菌有唾液酸酶活性，但缺乏唾液酸利用的代谢途径。多形类杆菌从黏液中释放出的唾液酸可以被*C. difficile*和*S. Typhimurium*利用，形成生长优势。

微生物菌群依赖多形类杆菌的作用获得唾液酸，而缺乏唾液酸酶的突变体对于这两种致病细菌的生长未起到促进作用。多形类杆菌有多种酶，可以从宿主体内分离出海藻糖，使得肠腔中有高浓度的可利用海藻糖，游离海藻糖可以被*S. Typhimurium*用作碳源。重要的是，多形类杆菌可以促进无菌小鼠体内的粘膜糖基化。

菌群位于肠腔和肠外黏液层中。肠出血性大肠杆菌（EHEC）紧密附着于肠上皮细胞的肠细胞。EHEC与微生物群竞争营养：由于多形类杆菌可以利用多糖，所以不需要与EHEC竞争，EHEC只能使用单糖和双糖，EHEC主要与非致病性大肠杆菌存在竞争关系。在哺乳动物肠道时，肠杆菌优先利用海藻糖作为碳源。EHEC利用其他的糖源，如半乳糖、六价糖、甘露糖和核糖，这些都是肠杆菌无法优先利用的（图2）。

EHEC以海藻糖作为信号分子调节自身

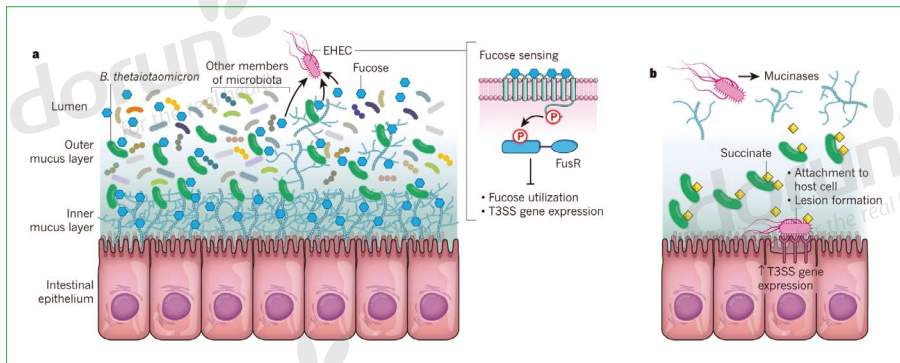


图2 肠出血性大肠杆菌通过微生物提供的营养实现毒性调节。

A、微生物菌群位于肠腔和外黏液层，多形类杆菌是菌群的重要组成部分，它可以从黏液中释放出海藻糖使得其他微生物可以利用糖类。当EHEC通过FusKR信号系统感知海藻糖时，它既抑制自身对糖的使用，也抑制了T3SS基因的表达。T3SS是一种蛋白质转运装置，可以使细菌分泌出效应蛋白进入宿主细胞从而防止EHEC与共生肠杆菌的营养竞争，也阻止T3SS表达上不必要的能量消耗。B、多形类杆菌的代谢物（如琥珀酸）导致粘多糖酶表达量增加，黏液层变稀薄使得EHEC能够到达肠上皮。多形类杆菌分泌琥珀酸和其他代谢产物，这些代谢物是糖异生（营养不良环境）所需要的。EHEC感知信号后T3SS的表达增加，使得细菌附着在宿主肠上皮细胞上，引起腹泻的发生。

代谢、腔内的毒性和在结肠外黏液层的表达。通过识别致病性基因，形成了一种信号感应传导系统。传导系统由膜结合组氨酸激酶传感器FusK组成，FusK对海藻糖的磷酸化起

作用。它将磷酸盐转移到反应调节器FusR上，这是一个转录因子。由于磷酸化激活了FusR，从而抑制了EHEC中利用海藻糖的基因表达，使得EHEC避免了与共生性肠杆菌竞

争营养素。为防止EHEC不必要的能量消耗，FusR抑制了编码EHEC毒力机制的基因，粘附在细胞上，并抑制宿主细胞功能。因此，EHEC使用海藻糖（一种由宿主产生的可以被微生物菌群利用的信号）来感知肠道的环境，并调节自身的新陈代谢和毒性。

为了达到上皮细胞内壁，EHEC和鼠类柠檬酸杆菌（一种致命肠道细菌 *C. rodentium*）产生粘液酶裂解黏液型糖蛋白的蛋白质骨架。这些酶的表达是随多形类杆菌代谢物的增加而增加的。黏液是结肠中糖的主要来源之一，在大肠杆菌和柠檬酸杆菌定殖的地方，粘液层通过葡萄糖衍生物作用在上皮细胞附近形成了营养不良的环境。多形类杆菌改变了小鼠肠道的代谢环境，提高了琥珀酸等有机酸的水平。通过转录调控子Cra，当EHEC和柠檬酸杆菌到达肠道上皮内壁时，激活了细菌蛋白分泌系统T3SSs的表达。因此，EHEC利用了多形类杆菌的代

谢，精确地调节其代谢和毒性(图2)。

其他致病细菌也可以在微生物产生琥珀酸的情况下调节其基因表达，如 *C. difficile* 诱导琥珀酸转化为丁酸，使其在宿主体内获得生长优势。在多形类杆菌存在下，*C. difficile* 突变体在肠道内无法转化琥珀酸从而不能增殖。微生物群产生的短链脂肪酸是微生物菌群和肠道致病细菌相互作用的重要决定性因素。短链脂肪酸的丰度和组成在肠道的每个区域都是不同的，并且可能有助于致病性细菌的识别能力。肠道内最丰富的短链脂肪酸是醋酸、丙酸和丁酸。伤寒沙门氏菌一般存在于回肠中，醋酸盐浓度为30mM，在此浓度下的沙门氏菌致病性基因1(*spi1*)调节T3SS(T3SS-1)的表达，这与细菌入侵宿主有关。而在结肠70mM丙酸盐和20 mM丁酸盐条件下，T3SS - 1的表达受到抑制。丙酸酯和丁酸盐可能对T3SS-1的调控级联有影响，但是具体机制尚未阐明。结肠中EHEC

在不同丁酸水平的实验发现，通过激活Lrp42的转录，增加了T3SS的表达。小肠中醋酸盐和丙酸盐浓度对EHEC的毒力表达没有明显的影响。

日粮对肠道菌群组成和短链脂肪酸的浓度有影响。高纤维含量会导致丁酸盐的增加，从而增加了宿主糖鞘脂Gb3的表达，这是EHEC产生的Shiga毒素的受体。Shiga毒素可导致溶血性尿毒综合征(HUS)的发生。因此，吃高纤维日粮的动物比低纤维饮食动物更容易受到Shiga毒素的影响。微生物源性醋酸盐的增加可以保护动物免受毒素引起疾病的影响，例如，双歧杆菌有助于提高肠道内醋酸盐的含量，有助于提高肠上皮的屏障功能，防止Shiga毒素进入血液。

注：文章参考自“Interactions between the microbiota and pathogenic bacteria in the gut”. *Nature*.2016,535(7610) :85–96.



专家观点

近几年生物饲料产业发展迅猛，主要存在两方面问题：

一是生物安全问题，生物发酵饲料成分复杂，如致病基因、耐药基因、转基因、杂菌及有毒有害物质等，均会造成生物安全事故，需要成熟的技术手段进行支撑；

二是生物饲料评价体系，目前只有发酵豆粕有行业标准，地源发酵饲料还没有相关标准；

因此，必须从这两个方面着手建立生物安全防控和生物饲料评价体系，规范生物饲料相关企业的健康发展。

——农业部畜牧业司 BFC·第五届中国生物饲料科技大会
2017年9月天津

dorun
for the real health

dorun
for the real health

肠精灵®

守护肠道健康

dorun
for the real health

dorun
for the real health

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

dorun
for the real health

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303(100081)
电话：010-62159219 62159129 传真：010-62158831

Beijing Dorun Science & Technology Co., Ltd

Add.:No. 303 Feed affiliated building in Chinese Academy of Agricultural Sciences,
12 ZhongGuanCun South Avenue, Haidian District, Beijing(100081)
Tel: 010-62159219 62159129 Fax:010-62158831

