

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

抗生素、菌群失调与疾病的关系 (I)

肠道内微生物菌群和病原菌相互关系的研究进展 (II)

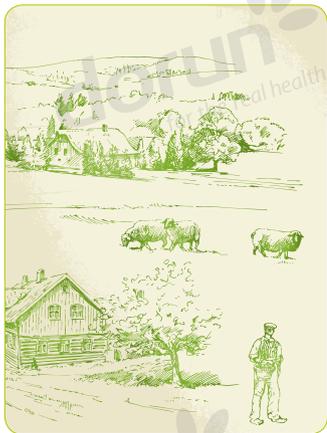
29

第二十九期



dorun
for the real health

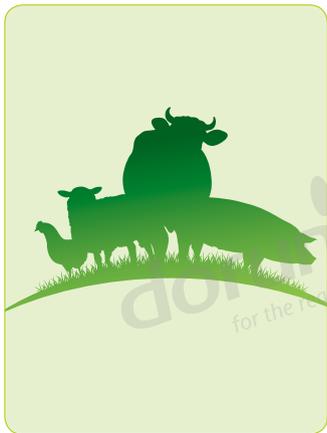
contents



03

基础理论:

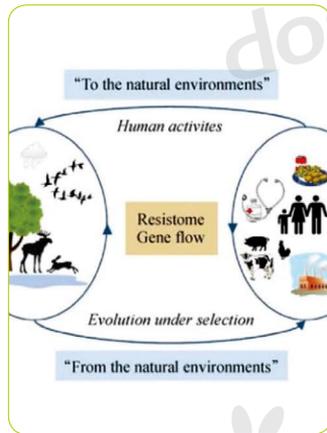
抗生素、菌群失调
与疾病的关系 (I)



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 (II)



14

热点透视:

基础理论

抗生素、菌群失调与疾病的关系（I）

抗生素是迄今为止儿童处方中应用最普遍的药物。近期的流行病学资料显示，早期抗生素的使用与成年后疾病表型是相关的。在婴幼儿期抗生素的使用会引起肠道菌群不平衡，即微生态失调。肠道菌群对抗生素的反应及其与疾病的潜在联系在研究婴幼儿肠道变化这一过程中是尤为复杂的。在此，我们综述了目前与抗生素、生态失衡和疾病方面的进展情况并提出一个在儿童上由抗生素引发生态失衡的研究框架。我们建议今后关于抗生素微生物调控效果的研究应重点关注4种类型的生态失衡——健康菌群的减少、多样性的减少、代谢能力的改变和致病菌的增加。建立一个数量最多且多样化的基础菌群进而确立一个健康的婴幼儿期微生物发育，这对儿童肠道菌群失调的进一步诊断、阐述和最终治疗是非常重要的。这个方法同样有助于为确定婴幼儿阶段抗生素的使用提供基础实验数据。

前言

抗生素是迄今为止儿童处方中应用最普遍的药物。流行病学资料显示，早期抗生素的应用与之后疾病（如肥胖症、糖尿病和哮喘）的发生是密切相关的。有关抗生素应用的纵向研究已证实抗生素对肠道菌群的多样性及组成存在短期和长期影响。数量众多且日益增加的研究显示菌群失衡在很多疾病中是常见现象。了解早期应用抗生素的短期及长期效应对肠道菌群多样性和组成的影响，对于识别与处方药使用趋势相关风险是非常重要的。然而，现有的文献仅限于直接揭示微生物失衡成为幼年时期抗生素应用与后来疾病发展间的联系。

这篇文章，我们综述了大量互补性资料，包括与抗生素及微生物生态失调相关的微生物学研究、有关引发特殊疾病的特定生态失衡类型的机理研究，以及有关支持抗生素和越来越多疾病风险的综述文章。通过这种方式我

们可以确定抗生素有关的4种生态失衡类型，并且提出一个研究框架，以便在几种主要疾病情况下讨论和测定幼儿微生物菌群失调。我们的分析研究揭示了一系列有关微生物组调控与抗生素相关疾病风险的成因机制。

抗生素的滥用

大量的抗生素应用于门诊，其中三分之一是不必要的。2010年，美国开具了7450万幼儿抗生素处方，即平均给每个孩子都开具了一个抗生素的处方，这占到儿童用药总量的四

分之一。研究表明，抗生素处方常常是不必要的，有学者估计其中50%是不必要的。近30%的儿童在首次门诊诊断时都会遇到抗生素处方，对病毒性上呼吸道感染来说大部分是不适合的。在可以使用窄谱抗生素时却滥用广谱抗生素的情况明显增多。甚至在根据患者年龄、并发症和社会环境因素的不同进行调整后，相同感染的儿童会在问诊和治疗过程中遇到差别巨大的抗生素处方。这种现象看似非常普遍，美国各州和欧洲许多国家的人均抗生素处方率变化范围很广，不同区域细菌感染几率的差异却无法解释上述不同。

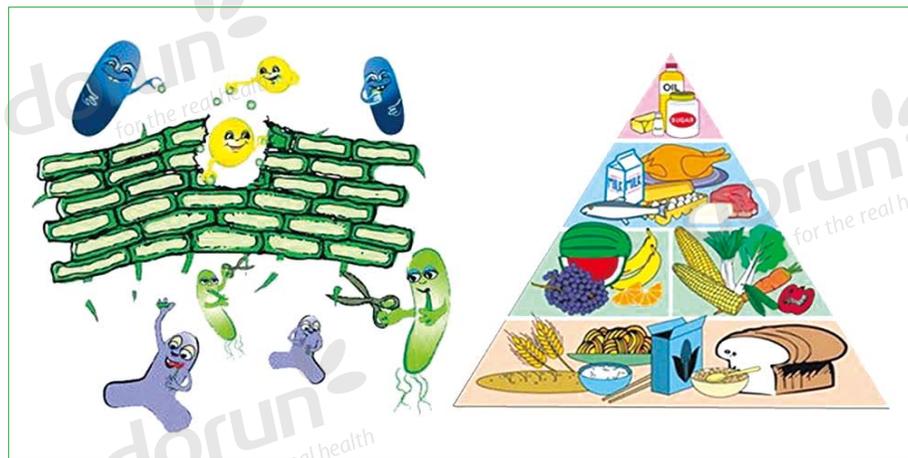
除了肠道菌群调控作用之外，不合理的抗生素处方会导致药物相关的副作用和抗生素耐药性的增强。在美国每年有超过140,000起急诊患者出现抗生素相关的副反应，其中包括20%的患者出现药物副作用。除此以外，抗生素的使用还与抗生素的耐受性有密切关系，世界卫生组织已将其认定为



“人类健康的三大威胁之一”。最近研究发现，婴儿肠道微生物中抗生素耐受基因的流行程度会随着年龄增加，剖腹产婴儿会有更大的比例出现耐药基因。感染耐药细菌会增加发病率和死亡率，医疗成本也随之大幅增加。一家医疗机构估计，2010年花费在治疗耐药菌感染上的费用大约是2000亿美元。我们虽然了解到这些事实，但是，限制抗生素使用的工作却做得很少。我们必须深入了解必需和非必需抗生素的长期影响，这对于更好地记录抗生素处方正负效应比率以及增强儿童健康都是非常重要的。

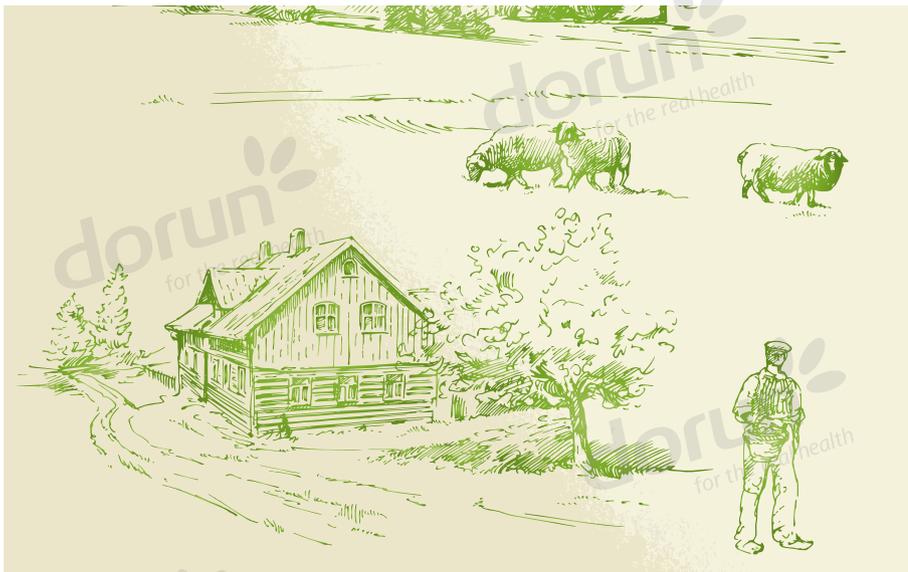
正常宿主微生物菌群的发育及胃肠道的发育

胃肠道的发育开始于胚胎时期，其基础结构在孕早期结束前开始形成。紧密链接出现在妊娠第10周，肠绒毛在妊娠12-19周形成。分



娩后，胃肠道经历从羊水到食物的巨大变化。胃肠道会发生很多变化，包括胃中pH的改变。例如，一些报道称胃中最初pH是6-8，这可能是由于羊水的缓冲作用，在出生一小时内pH会降低至1.5-2.5，这也是成人胃中pH数值。然而，由于摄取具有缓冲能力的乳品，婴儿胃中的pH值通常会再达到7-7.6这一较高水平。

胃中pH值在生命早期比较高的话会有重要的影响，包括与后期相比较高的养分吸收率和较弱的消化能力，这都可能有助于机体摄取的细菌在胃肠道后段增殖。在出生后的整个发育过程中，婴儿胃肠道的直径和长度都会增加，并且由于乳源性生长因子及促生长发育激素的作用，初期多孔性结构大都在出生后几天内消失。



微生物菌群的发育

尽管一般认为健康婴儿的胃肠道在出生前是无菌的，但是最近的研究认为最初的菌群定殖发生在子宫中。出生后数小时，母体阴道、排泄物、皮肤微生物群及环境中的微生物成为婴儿肠道中的定殖菌，具体构成比例取决于分娩的方式。其它一些因素如早产、婴儿的饮食（母乳或配方奶粉）、保健措施和抗生素的使用最终都会影响婴儿肠道微生物的组成。尽管长期以来菌群组成变化巨大的定殖是看似无序的，肠道菌群发育取决于达尔文的动力学——最能适应肠道条件变化的细菌最有可能存活下来。在生命的最初几个星期我们可以清楚的看到这一点，兼性好氧菌的定殖会降低可利用氧，而这又是严格厌氧菌生长所必需的。在美国，婴儿肠道中最初定殖着变形细菌和厚壁菌，接着放线菌逐渐增加，这可能是由于摄取了母乳。

胃肠相关淋巴组织的发育，包括肠系膜淋巴结、派尔淋巴结和固有层中的淋巴细胞，在足月婴儿出生时是完整的。例如，与粘蛋白生成相关的杯状细胞在妊娠第12周就可发挥作用。同样，潘氏细胞可分别在妊

娠第13、20周可分泌防御素和溶菌酶。尽管足月新生儿一出生就具有发育完整的消化道，但是接触食物中抗原、激素、生长因子和细菌等外源性刺激对整个生命过程发挥适当的功效是必需的。

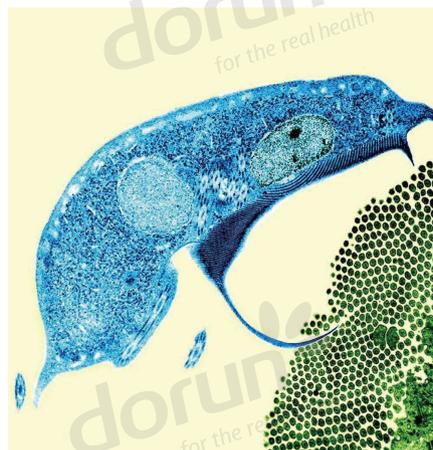
到6个月时，拟杆菌占据了主导地位，而变形细菌和厚壁菌逐渐减少，这可能是由于断奶时固态食物中碳水化合物丰富的缘故。在快满1周岁的时候，婴儿的肠道的主要细菌是拟杆菌和厚壁菌。健康婴儿的肠道在出生后两年内会经历组成的巨大变化，这会持续到3岁，这时肠道微生物与成人就相差不大了。

重要的宿主细菌相互作用

肠道免疫系统的成熟要依据同期肠道微生物发育情况而定。现在已经发现无菌动物的肠道相关淋巴样组织存在明显的免疫缺陷，同样，派尔集合淋巴结和肠系膜淋巴结也出现非正常发育。派尔集合淋巴结和肠系膜淋巴结产前即开始发育，独立的淋巴滤泡是在分娩之后开始发育；但是这些组织需要与肠道微生物的重要种类产生互作以确保正确的分化并具备功能性，进而完成适应性免

疫的建立。此免疫系统必须在肠道保持抗炎状态，尤其是当接触到相当数量来源于共生体、激素和食物的无害抗原。

不同细胞类型的相互作用对实现免疫系统功能完整性是必需的。我们重点强调几种对肠道微生物有重要依赖性的免疫细胞类型。树突细胞（DCs），最重要的抗原呈递细胞类型之一，存在于肠腔，是炎症反应或耐受性反应的重要因素。树突细胞可以抑制



或诱发特异性T细胞的活性，并且具有将初始T细胞分化为针对特定目标抗原的效应型T细胞和调节性T细胞。

辅助性T细胞在将抗原呈递给特定细胞因子的过程中发挥关键作用，特定细胞因子为其它免疫细胞提供方向并最终产生免疫学反应。已经发现肠道微生物成员参与Th17细胞的分化，这是一类辅助性T细胞，其在黏膜表面分泌IL-17以产生防御素并促使中性白细胞聚集以对抗感染。促发炎症Th17细胞必须与抗炎性调节T细胞保持平衡，特别是在防止自身免疫失调过程。已经发现某些梭状芽孢杆菌有助于调节型T细胞的增殖和分化，通过刺激固有淋巴细胞和T细胞上细胞因子IL-22的产生，在降低肠上皮渗透率方面有直接作用。固有淋巴细胞有助于诱导促炎症反应，是细胞因子IL-22的主要来源。这种细胞因子对于诱发杯状细胞粘液数量、刺激抗菌蛋白的产生、保护细胞免受损害和调节细胞

分化方面都很重要。一些研究证实，微生物信号可以调节固有淋巴细胞所产生细胞因子 IL-22 的产量，这表明肠道微生物在宿主对抗感染和炎症疾病的防护机制中发挥重要作用。另外，还发现长双歧杆菌有助于淋巴集结中 DCs 的成熟及胸腺 T 细胞的发育。一些特定的微生物信号被认为是调节性 T 细胞和恒定自然杀伤细胞适当发育所必需的，其为一系列能够快速诱导大量细胞因子的 T 细胞亚型，可以刺激或抑制一系列免疫反应。在本文中我们建议今后的工作框架章节会介绍重要的微生物-宿主相互作用。由于各种免疫细胞及其复杂的信号网络对维护机体健康十分重要，所以如果其发育存在障碍就会引发持续的不良反应。

注：文章参考自“Antibiotics, Pediatric Dysbiosis, and Disease”, Cell Host & Microbe 17, May 13, 2015:553–564.

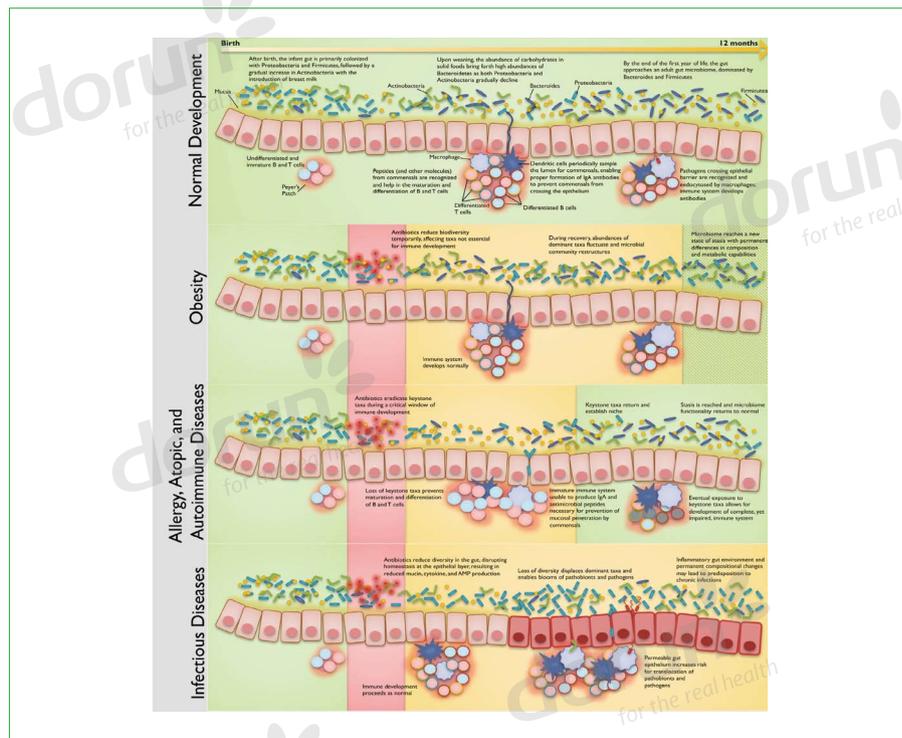


图1. 宿主-微生物组发育在健康、菌群失调和疾病中的架构

疾病类型与微生态失衡的类型相关，与宿主-微生物组发育过程有很强的相关性。疾病类型与微生态失衡的类型并不一定是相互排斥的。所提出的机制基于大量文献事实，包括机制的研究和流行病学调查。

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 (II)

利用微生物源性和宿主的信号

微生物对肠道的感染和疾病的发生都有影响。如霍乱弧菌是导致腹泻的主要原因，感染后肠道菌群大量破坏。瘤胃球菌属 (*Ruminococcus obeum*) 可以通过产生吲哚酮自诱导剂-2阻碍霍乱弧菌的定殖。



除了微生物菌群直接分泌的信号外，致病细菌还能修饰宿主衍生信号以调节其毒性。如霍乱弧菌有一种VI型分泌系统(T6SS)用于杀死其他细菌。肠道中，霍乱弧菌与黏膜菌群接触影响肠内胆汁酸的组成。双歧杆菌通过代谢胆汁酸(甘氨脱氧胆酸，牛磺脱氧胆酸钠，胆酸)转化为胆汁酸脱氧胆酸，对霍乱弧菌T6SS的活性进行负调控，降低了T6SS基因的表达，霍乱弧菌对于肠道菌的杀灭作用降低。

肠道是神经递质是重要的传导信号，调节肠道蠕动、血液流动和离子分泌。微生物菌群会影响肠腔内神经递质的生物合成。另一种致病菌感应到的微生物修饰宿主信号是神经递质去甲肾上腺素。例如，微生物诱导血清素的生物合成，微生物源性的酶活性增加了肠道内去甲肾上腺素的水平。去甲肾上腺素是由肠神经系统的肾上腺素神经元合成的，宿主可以通过其与葡糖醛酸结合产生葡

糖苷酸而被灭活。微生物产生的葡糖醛酸酶可以清除葡糖醛酸，从而使得肠道内去甲肾上腺素的水平增加。肠道内的几种致病细菌能促使去甲肾上腺素激活毒力基因的表达，包括EHEC、*S. Typhimurium*和副溶血弧菌。细菌中有两个已经发现了的肾上腺素传感器：膜结合的组氨酸激酶QseC和QseE。QseC还感应到微生物产生的信号自动诱导子-3，像这样宿主和微生物的信号感知在同一受体水平上，这被称为跨界融合信号。

炎症反应

虽然日粮和微生物组成影响肠道对于营养的利用，肠道环境变化的关键因素是宿主的炎症反应。肠道炎症与微生物菌群的失衡有关，表现为大量厌氧菌减少，兼性厌氧菌增殖。在结肠炎和遗传性结肠炎的小鼠体

内，肠道菌群的组成也有类似的变化。微生物菌群结构的变化可能反映了由于宿主炎症反应所造成的营养环境改变。炎症反应中，碳水化合物成分的改变使得肠道中营养物质发生变化。小鼠肠道粘膜感染沙门氏菌后诱导了感染白介素(IL)-22的产生，刺激上皮细胞表达半乳糖苷2- α -L-己糖基转移酶，并增加了粘液中碳水化合物1、2-岩藻糖基化。肠道菌群可以从粘液碳水化合物中分解出岩藻糖，这促使肠杆菌中可以利用岩藻糖的基因进行诱导表达。类似地，小鼠感染鼠伤寒沙门氏菌诱导结肠炎的发生，小鼠体内多糖的糖基化增加，这与岩藻糖利用时蛋白质的合成有关。感染鼠类柠檬酸杆菌后粘液层糖基化作用引起肠道菌群结构发生变化，从而保护宿主免受致病菌增殖及移位的影响。

炎症环境下，肠道营养环境变化使得活性氧和活性氮菌种形成优势菌群。促炎细胞因子如干扰素- γ (IFN- γ)激活肠道上皮细

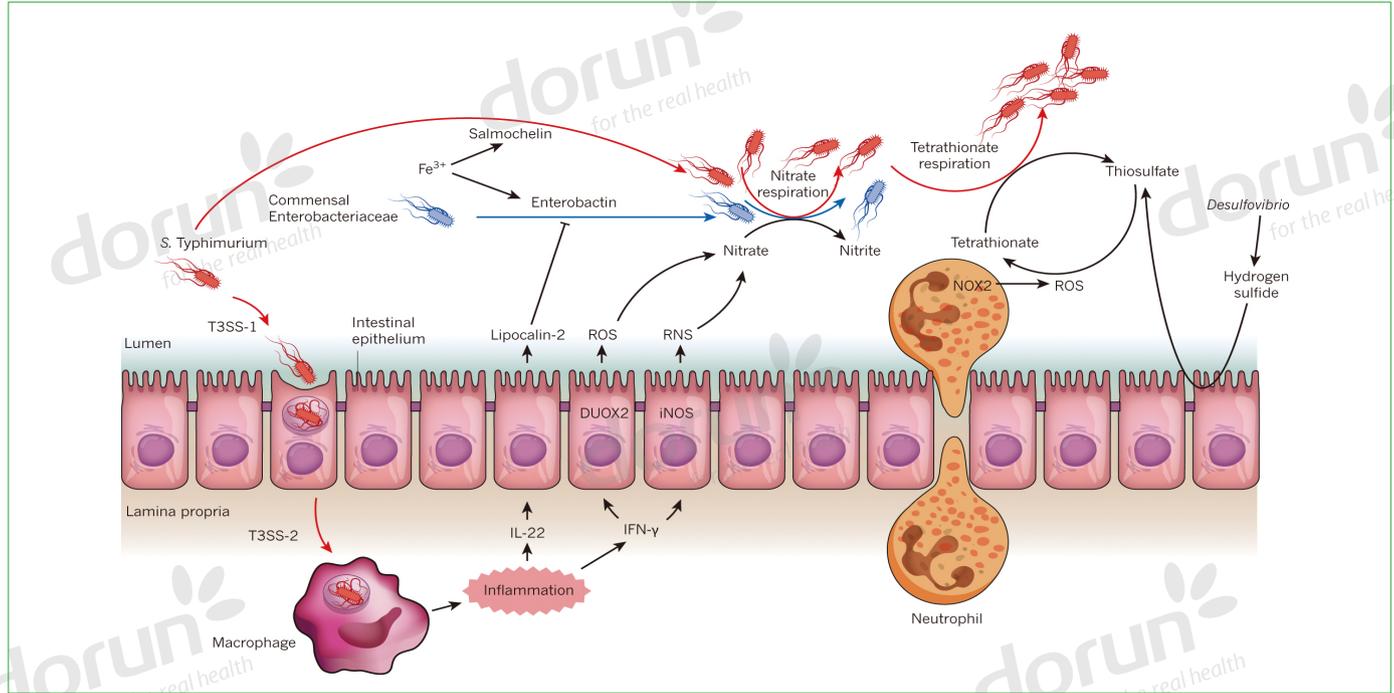


图2 肠道炎症对营养利用的影响。

鼠伤寒沙门菌产生毒性因子(t3ss - 1和t3ss - 2)引发肠道炎症。炎症时释放的细胞因子（如IL - 22和IFN- γ ）触发肠道上皮细胞上抗菌分子脂质运载蛋白-2、活性氧(ROS)和活性氮(RNS)的释放。脂质运载蛋白-2阻碍依赖铁载体的共生肠杆菌的生长(Fe^{3+})。RNS和iROS反应生成硝酸盐，通过硝酸盐呼吸作用促进鼠伤寒沙门菌的生长。微生物源性硫化氢经肠上皮细胞转化为硫代硫化氢。在炎症过程中迁移到肠内的中性粒细胞产生ROS，将内源性硫化化合物(硫代硫酸盐)转化为电子受体进一步促进鼠伤寒沙门菌的生长。

胞双氧化酶,产生过氧化氢。编码氧化酶基因 *DUOX2* 的表达增加,克罗恩病和溃疡性结肠炎与粘膜微生物菌群相关联。IFN- γ 诱导上皮细胞 *Nos2* 酶的产生,氧化催化产生精氨酸。炎症性肠病患者结肠中一氧化氮的浓度升高。虽然活性氧和活性氮菌种具有抗菌活性,但当它们到达上皮细胞时,在肠腔内迅速形成无毒化合物。例如,宿主炎症期间,这些菌种形成硝酸盐,硝酸盐浓度升高诱导小鼠小肠发生结肠炎(图2)。硝酸盐还原酶广泛存在肠杆菌科中,与硝酸呼吸中电子传递系统相关联,但梭状芽孢杆菌和拟杆菌属的缺少此基因编码。因此,宿主炎症反应产生的呼吸电子受体在肠腔内形成了一个供共生肠杆菌科菌群生长繁殖的区域,而非专性厌氧菌。

炎症反应中,营养物质对于致病菌与肠杆菌科菌群争夺养分并入侵肠道生态系统起到驱动作用。在没有炎症或抗生素治疗的情况下,肠道菌群利用可用的营养,使得病原菌



的进入非常具有挑战性。当有细菌引发肠道炎症,出现新的营养物质使得病原菌生长繁殖。研究表明, *S. Typhimurium* 利用 *t3ss - 1* 和 *t3ss - 2* 侵入肠道上皮细胞确保其在宿主组织中存活,从而触发急性肠道炎症和肠胃炎。炎症反应促进沙门氏菌在肠道中的感染,这种

病原菌主要通过粪口途径传播。

沙门氏菌感染后细菌与共生肠杆菌竞争营养物质。例如,沙门氏菌通过硝酸盐呼吸在发炎的肠内增殖,这导致了与共生肠杆菌的竞争。沙门氏菌可以利用比其竞争菌群更广泛的电子受体来获得生长优势。微生物菌群中的脱

硫弧菌产生电子受体，释放出硫化氢被结肠上皮细胞转化为无毒的硫代硫酸盐。沙门氏菌的毒性因子导致嗜中性粒细胞在肠黏膜上聚集，这些中性粒细胞中有部分迁移到肠腔，导致炎症性腹泻。中性粒细胞通过吞噬细菌保护粘膜上皮细胞,但产生的活性氧物NADPH (也称为细胞色素b - 245) 为呼吸电子受体,将硫代硫酸盐转化为连四硫酸盐,促进了肠道沙门氏菌增殖(如图2)。

宿主的炎症反应引起了共生菌和致病性肠杆菌之间竞争铁等微量元素。IL-22 诱导小鼠的上皮细胞释放出脂质运载蛋白抗体 (lipocalin-2) (也称为中性粒细胞)。Lipocalin-2使得铁的利用率降低。

肠杆菌会产生低分子铁螯合物(或含铁细胞),沙门氏菌和共生大肠杆菌分泌糖基衍生物,称为 Fe^{3+} 螯合物*Salmocheilin*,它不受脂质运载蛋白抗体 (lipocalin-2) 的约束。通过分泌*salmocheilin*以及两种不与脂质运载蛋



白抗体结合的含铁细胞,益生性肠杆菌菌株 Nissle1917可以抑制炎症肠内沙门氏菌的增殖。上皮细胞分泌的lipocalin-2使沙门氏菌能够完全依赖于肠杆菌来获取铁(图2)。铁的限制诱导了细菌外膜中含铁受体蛋白的合成。一种含铁受体蛋白—肠杆菌素 I受体(CirA)对沙门氏菌敏感。因此,宿主的炎症反应下,共生菌和致病性肠杆菌通过营养和抗菌性来争夺优势地位。

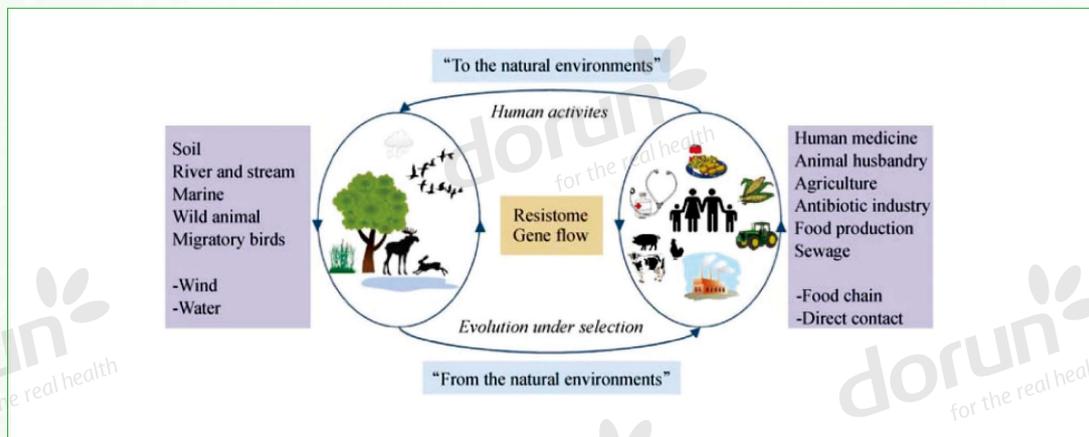
展望

微生物菌群的16S rRNA测序技术为微生物的分类组成提供有力的技术支持,为微生物菌群全基因组测序提供了更详细的技术手段。无菌动物,还有新兴技术如激光捕获微解剖和转录学,使微生物菌群、宿主和致病菌之间联系的研究更深入。现在,多类插入序列分析实现了对微生物菌群代谢、免疫以及病理状态对肠道细菌栖息地和微生物之间作用的研究。定量成像技术的发展为胃肠道微生物的定位提供了更深入的研究,同时能够研究微生物之间相互作用。多学科研究对于新的技术和见解、研究微生物群以及宿主和致病菌之间相互作用起到巨大的推动作用。

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

热点透视

抗生素抗性基因“来源于自然环境”并“返回到自然环境中”。自然环境是抗生素的抗性基因库。环境细菌中的原始抗生素抗性基因可以被人类或动物病原菌获得，并在抗生素的选择压力下逐渐进化成为抗性基因。人类生产和使用抗生素过程中，抗性基因或携带抗性基因的细菌被扩散后再返回自然环境中。大多数情况下，抗生素抗性基因在各自生态位（自然环境、人类和动物相关的环境）更容易转移。抗性基因流不适用于染色体突变引起的抗生素耐受。



注：上述内容参考自“The antibiotic resistome: gene flow in environments, animals and human beings”. *Front. Med.* 2017, 11(2): 161 – 168.

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

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

