

让肠道告诉你...

# 都润肠讯

都润肠道健康研究中心主办

## 猪胃肠道屏障防御机制及其发育关键

微生物和固有免疫（III）

# 32

第三十二期



dorun  
for the real health

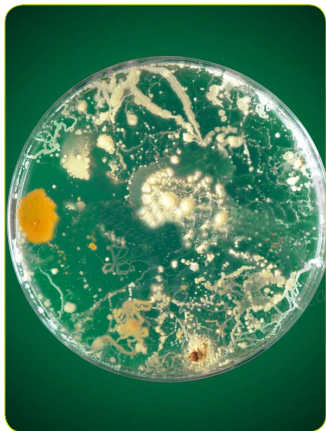
# contents



**03**

**基础理论:**

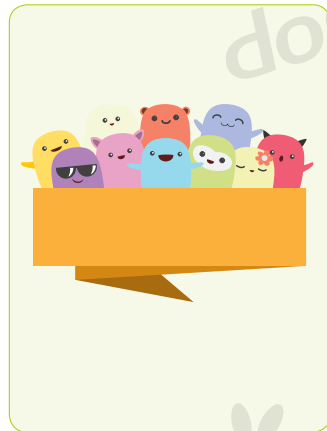
猪胃肠道屏障防御机制  
及其发育关键



**10**

**研究进展:**

微生物和固有免疫 (III)



**14**

**研究前沿:**

蛋壳微生物及其母体微生物  
菌群的跨代遗传

# 基础理论

## 猪胃肠道屏障防御机制及其发育关键

胃肠道（GI）上皮和固有层持续暴露于恶劣的肠腔环境中，包括大量毒素、抗原、病原体等。在这种环境中，肠道必须为肠腔中的致病性和抗原性成分提供屏障，以防止强烈的免疫激活和潜在的败血症，这对宿主的存活至关重要。同时，胃肠道系统必须有效地输送肠腔营养、水和电解质，这对于维持和生长至关重要，并且选择性地摄取膳食和微生物抗原，以促进粘膜免疫系统的适当发育和成熟。为实现这些不同的功能，胃肠道系统配备了多层复杂的屏障结构。本文将着重探讨胃肠道上皮细胞、肠道免疫及肠神经系统所提供的特异性屏障防御及其发育关键。

### 胃肠道屏障对胃肠道健康和疾病防御的重要性

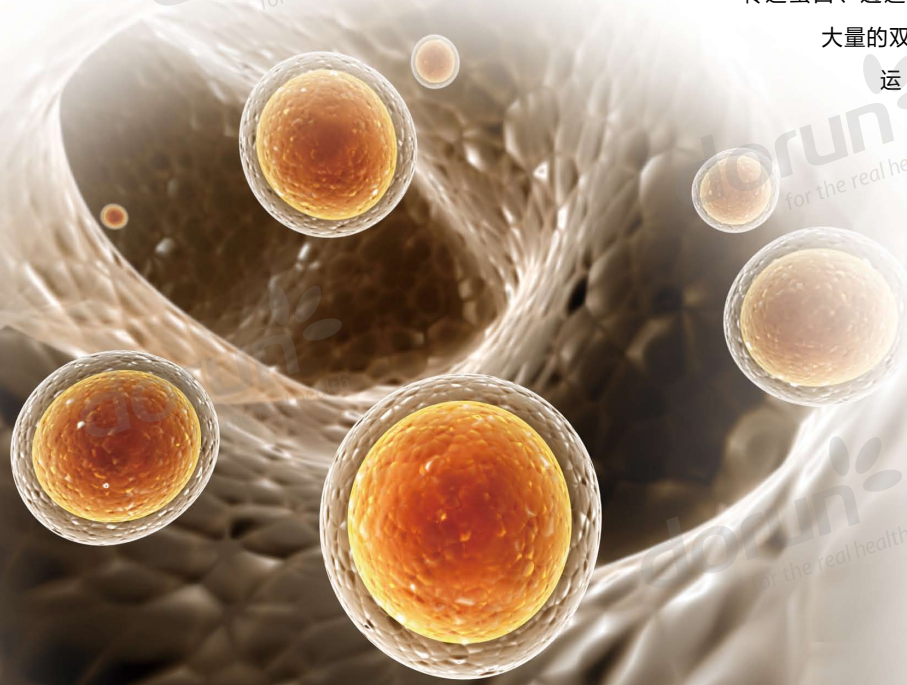
胃肠道屏障是由肠道上皮细胞、免疫成分及肠道神经系统提供的宿主防御机制的多层系统构成。这些屏障机制对

健康和疾病至关重要。目前，已经对这些特定功能进行了大量的研究，为更清晰地认识胃肠道屏障机制在动物生产、营养和健康中的作用，下面就主要的胃肠道屏障机制做简要概述。

## 胃肠道上皮细胞的屏障特性

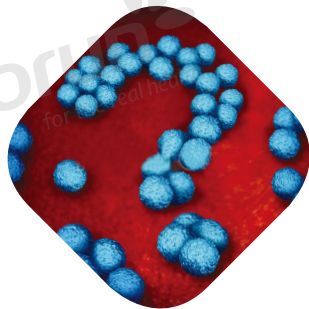
位于胃肠道的单层上皮细胞构成了宿主与外界之间最大的界面。肠上皮细胞通过刷状酶活性及顶端和基底层的一排营养载体促进营养素的分解和吸收，同时通过电解质转运蛋白、通道和泵促进大量的双向水分转运。上皮细胞必须对

有害的管腔内容物提供屏障，包括病原体、抗原和毒素，并作为第一道防线。胃肠道上皮细胞提供多种外在和内在的防御机制。最关键的机制之一是建立通透性屏障，主要由紧密连接（TJs）调节，紧密连接（TJs）由大量细胞内和顶端细胞间膜蛋白组成（例如，zonula occludens、occludin和claudins）。紧密连接蛋白通过调节上皮细胞离子选择性和孔径大小来调节上皮的渗漏，被称为“门功能”。紧密连接在上皮极性的建立中起着关键的作用，它对顶端和基底侧转运体和受体功能的区分很重要，被称为“栅栏功能”。栅栏功能所产生的极性对于维持有效营养素（葡萄糖、氨基酸）和水分运输所需的顶端钠离子梯度是重要的。而致密或有抵抗力的上皮是屏障功能的关键，上皮细胞必须表现出正常的细胞旁生理梯度以及对溶质驱动的水吸收和跨细胞抗原摄取所需的跨细胞渗透性。肠上皮屏障也由专门





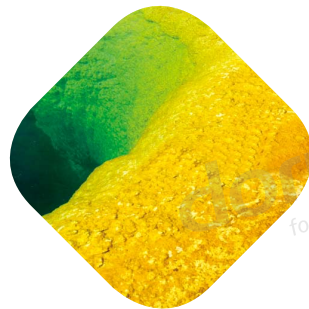
的上皮细胞类型支持，如提供保护性粘液层的杯状细胞和分泌抗菌肽的潘氏细胞。肠上皮细胞通过分泌 $\text{Cl}^-$ 和 $\text{HCO}_3^-$ 离子提供缓冲和pH调节，这在很大程度上是由隐窝上皮细胞进行的。上调离子和液体的分泌能力被认为是在应对应激和疾病挑战时清除病原体的一种重要机制。肠内分泌细胞在病原菌识别中起着重要的作用，可以合成和释放神经肽，如5-羟色胺和肽YY (PYY)，它们具有从病原菌防御到食欲代谢调节的多种生理



功能。肠上皮细胞通过识别致病信号分子并分泌白细胞介素 (IL) 和生长因子 (例如IL-17A、IL-33、IL-23和转化生长因子- $\beta$ ) 而起免疫前哨细胞的作用，具有重要的免疫调节特性。

### 胃肠道免疫系统的屏障特性

肠道内的固有免疫细胞和相关淋巴组织构成机体最大的免疫器官。由于大量的抗原性肠腔环境以及持续接触肠腔产物，胃肠道



免疫系统通过多种分子机制被严格调控，以防止过度激活对持续接触的大量抗原和炎症物质发生炎症反应。然而，胃肠道免疫系统还必须能够迅速有力地对上皮屏障中的任何破坏做出反应，或者在病原/抗原挑战的情况下调动固有免疫和适应性免疫应答，这对于预防感染和炎症的全身性传播是至关重要的。总之，胃肠道免疫系统的控制和反应之间的微妙平衡对于优化胃肠道健康是至关重要的，并且这种平衡的破坏是胃肠道炎症性疾病和免疫抑制相关疾病的关键。

## 肠神经系统屏障机制

肠神经系统包含一亿多个神经元，它与脊髓一样多，在肠道及整个全身健康中起着重要作用。肠神经系统由位于肌肉（肌间神经丛）和粘膜下层（粘膜下神经丛）中的2个主要神经系统的神经节组成，分别控制运动、蠕动及粘膜和上皮功能。肠神经系统通过不断释放一系列神经化学物质，在肠蠕动、分泌和吸收以及上皮通透性的调节中起着关键作用。神经系统也是通过神经免疫突触调节全身和局部胃肠道免疫应答的主要因子，能调节细菌毒素的感受和粘附。由于其在正常肠道功能中的关键作用，肠神经系统功能的紊乱会对胃肠道健康产生有害的影响。越来越多的证据表明，肠神经系统功能障碍在与猪胃肠道健康相关的重要胃肠道疾病状态中作为一种机制，包括分泌性腹泻、运动改变和炎症。例如，许多腹泻病原体包括肠毒性大肠杆菌肠毒素，轮状病毒介导的腹泻激活神经分泌反应，包括通过上皮细

胞下的感觉纤维感知毒素，进而传递信号并激发分泌神经元活化，通过释放的神经化学物质血管活性肠肽和乙酰胆碱介导，这些可以促使电解质和液体的分泌。应激性神经内分泌介质如儿茶酚胺和促肾上腺皮质激素（ACTH）可



影响重要的猪肠道病原体对肠粘膜的粘附和黏附。肠神经系统表型和功能的显著变化可以改变对应激源（如断奶和来自胞内劳森菌病原的挑战）的反应。目前对神经元免疫通讯作为一种解释胃肠道疾病机制的途径研究越来越多。

## 出生后胃肠道屏障发育的关键时期

出生后的前三个月是猪胃肠道发育的主要成熟期。在此期间，随着新生仔猪适应子宫外环境，肠上皮细胞、免疫和肠神经系统（ENS）的表型和功能发生显著变化（图1）。虽然某些发育变化是内在遗传规划或生物钟的结果，但许多变化受环境因素变化的影响。在这段时间许多发育过程表现出高度的可塑性，因此，在这个关键时期发生的干扰很大程度上决定长期表型和胃肠道功能的形成。以下将讨论与上述胃肠道屏障防御有关的胃肠道屏障功能的发育关键。

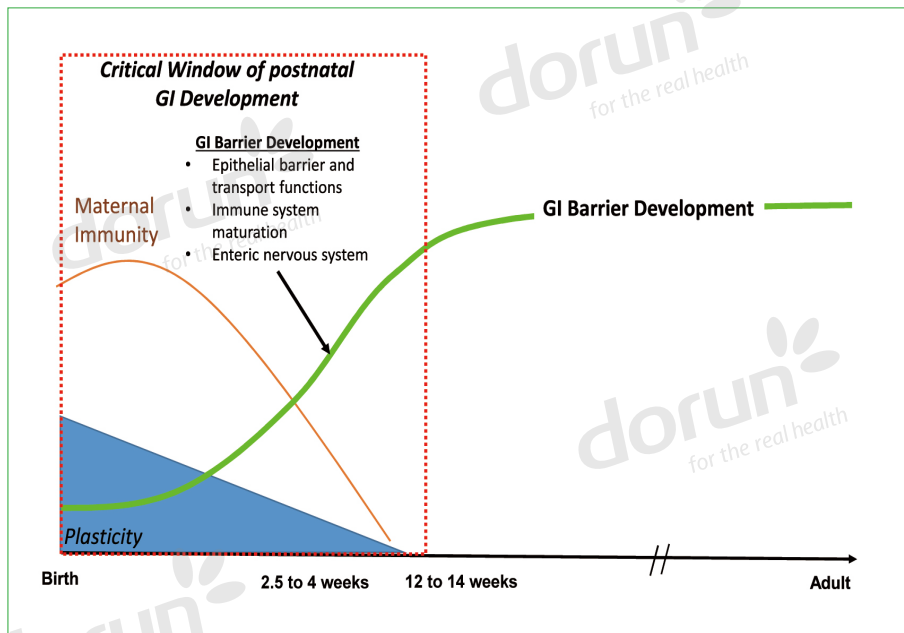


图1. 猪出生后胃肠道屏障功能的发育

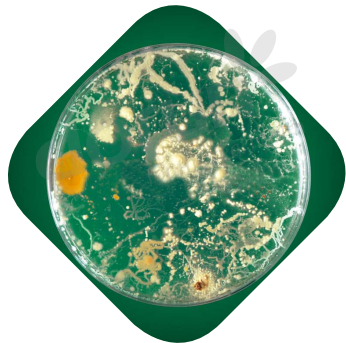
在出生后的头12周内，猪的胃肠系统经历了显著的发育过程。初乳和母猪奶水最初给仔猪提供被动免疫以及重要的生长和免疫因素。出生后，以上皮屏障、运输功能以及免疫和肠道神经系统（由绿线表示）的成熟为特征，在12至14周龄内几乎全部完成。此时发生的发育过程表现出高度的可塑性，并决定了胃肠道屏障的成熟表型和功能的形成。

## 出生后肠上皮屏障的发育

上皮屏障的建立出生后迅速发生，其特点是肠道通透性迅速下降。该过程对于避免免疫系统接触来自食物和定殖微生物菌群中的新环境抗原至关重要，否则会引发大量的炎症反应。虽然会存在物种差异，但在大多数动物中，肠上皮屏障功能的发育发生在出生后最初的2到3周内，其特征是肠通透性下降。促使早期出生后屏障发育的确切机制尚不明确，但认为这是由几个因素驱动的，包括固有的遗传规划、微生物定殖、摄入初乳和乳源因子。

## 出生后肠道免疫屏障的发育

出生和断奶是免疫系统发育面临的主要挑战，其必须适应胃肠道微生物定殖、母乳和饲料抗原。除上皮屏障的快速建立之外，其他外源性和内源性的因素作用来抑制免疫激活。例如，乳源性免疫球蛋白（如IgA）、



母体白细胞和乳聚糖可起到调节肠道微生物使其保持中性的作用。此外，母乳提供抗炎性细胞因子和肽抑制新生儿Toll样受体（TLR）和炎症细胞因子表达。在胃肠道免疫发育过程中额外的机制防止免疫系统过度活化，新生儿出生时有很少的淋巴细胞且共刺激分子表达减少。新生儿免疫系统倾向T辅助细胞2（Th2：体液）免疫反应，因为它们产生T辅助细胞1（Th1）细胞因子如干扰素- $\gamma$ （IFNG）和白介素-12（IL-12）的能力被抑制，而Th2细胞因子如IL-4、IL-10和IL-13则相对较高。加之，新生T细胞对IL-4的高反应性和对IL-12的低反应性，进一步使免疫应答倾向Th2。此外，分子与T细胞受体（TCR）上它们的特异性抗原发生结合的互补决定区3（CDR3）更短，使新生儿T细胞反应性降低。新生儿出生后几周，淋巴细胞在功能和结构上都开始发育，克服了初生免疫抑制阶段。未断奶（哺

乳期）仔猪在约6周内可获得稳定数量的淋巴细胞。同时，第二淋巴器官（如空肠和回肠派伊尔结）迅速成熟，其特征是淋巴细胞浸润。淋巴细胞与多种抗原的相互作用，包括自身抗原和细菌，有助于区分自身抗原和非自身抗原，进而有助于实现体内稳态。淋巴细胞与抗原的适当相互作用也导致其增殖，产生免疫球蛋白和均衡的Th1/Th2细胞因子。总之，在早期胃肠道发育中，一些母体和宿主机制起到限制免疫激活的作用，表明免疫抑制环境对于免疫系统的优化和长期成熟的重要性。因此，在这个关键时期，不适当或过度的免疫刺激有可能破坏肠道免疫系统的发育和长期功能的发挥。

## 出生后肠神经系统的发育

在出生后的生活中，肠道神经系统发生重大变化，包括功能性神经回路的形成、神经节生成和神经化学表型的改变。在神经



形成和增殖之后是神经元数量下降或“神经元修剪”的一个时期，结果产生成年神经元表型。胆碱能神经元是一种在出生后表现出明显的发育变化的导入神经元系统。肠道中胆碱能神经分布表现为表达胆碱乙酰转移酶（ChAT）神经元的比例，限制酶合成乙酰胆碱的速度，以及胃肠道中主要兴奋性神经递质。胆碱乙酰转移酶神经元的比例在出生后的生活中急剧增加，约占粘膜下神经丛神经元的44%，其中62%在肌间神经丛成熟。除了胆碱能神经元外，5-羟色胺和肾上腺素能神经元在出生后胃肠道发育过程中发生重大变化。

总之，胃肠道屏障功能的主要发育变化发生在出生后。在这段时间内正在发育的胃肠道系统表现出高度的可塑性，且随环境因子改变。因此，在这段时间内应激或炎症干扰可能有长期的影响。已论述的外源性和内源性保护机制支持这一概念，如快速建



立的上皮屏障功能和免疫抑制的免疫表型，这一发育的关键时期仍然受到保护或者不受干扰。可惜的是，这种脆弱的胃肠道系统发育期恰逢最有压力的生产时期，包括早期断奶、疫苗接种、运输、饮食变化等。因此，目前的生产实践对猪长期胃肠道发育和健康产生深远的影响。

## 结论

自然条件下，出生后早期的特点是免疫和内分泌沉寂的关键时期，这是胃肠道系统正常发育和功能所必需的。然而，在商业生产过程中，许多应激源在这个关键时期被强加给仔猪。尽管仔猪克服断奶期并能表现良好，但断奶等早期生命应激对猪的发育和胃肠道健康以及对疾病易感性的持久影响将贯穿整个生产周期。了解胃肠道屏障的防御机制及其发育关键，有助于在早期生产实践中减少应激对猪胃肠道屏障功能的影响，并促进猪的最佳发育和长期肠道健康。

注：文章参考自：[Weaning stress and gastrointestinal barrier development: Implications for lifelong gut health in pigs](#). *Animal Nutrition*, 2017 (3): 313–321.

# 研究进展

## 微生物和固有免疫（III）

### 系统“对话”机制

许多生理环境受微生物和固有免疫系统之间相互作用的影响，从功能层面研究介导这种通讯的分子和细胞机制是有意义的。由之前的研究可知，共生微生物的定殖会影响固有免疫系统的活力。

## 转录重编码序

在无菌小鼠中最引人注目的观察之一是，单一共生细菌或单一肠道病毒定殖的动物中肠道基因表达重新编码。这包括参与宿主营养吸收和消化、屏障功能、肠道运动、肠道免疫应答、血管生成和外源物质代谢基因的表达。无菌小鼠的研究及其出生后发育过程中自然界微生物的定殖已经证实了这些发现，表明通过微生物菌群的肠道转录重编码跨越胃肠道的不同区域，并且部分依赖于固有免疫系统的微生物感知受体。微生物对转录的影响超过肠道本身。例如，无菌小鼠的肝脏在一系列具有代谢和非代谢功能基因的表达中表现出极大的改变。

宿主对细菌定殖的转录在部分进化上是保守的，如小鼠和斑马鱼之间的双向微生物移植所示。宿主对微生物定殖的反应具有相当程度的物种特异性，特别是在免疫系统成熟方面。尽管这样的例子强调了共生定殖的转录反应对先天免疫系统的重要性，但另有

研究表明可通过基因表达以外的其他机制来调节。微生物菌群参与泛素信号的调节、蛋白质巢式化、RelA的核转录（也称为转录因子p65）和囊泡转运，说明共生微生物的全部调节范围还有待定义。

## 表观编码

由于转录组的很大一部分是由微生物以特定器官的方式形成的，基因调控机制必须将微生物信号整合到基因表达的调控中。尽管我们对细菌病原体可调节宿主表观基因组已有所了解，但关于固有免疫系统中共生微生物定殖的表观遗传解释才开始被研究。在生物体层面，通过打开染色体结构调节肠道基因表达的转录重编码被排除在外，因为无菌小鼠中染色质开放性与定殖小鼠相似。相反，在宿主中基因转录的微生物调控可能通过特异性转录因子的差异表达及其与染色质的结合来实现。在组织水平上探索这种可能性可以揭示潜在的调控途径，通过该途径将

微生物的状态信息整合到宿主组织的染色体结构中。

这种现象的具体例子存在于固有免疫系统中。对无菌小鼠肠上皮细胞的表观遗传修饰分析表明，编码脂多糖传感器TLR4的基因甲基化水平较低，这表明共生细菌可能通过PRRS的表观遗传抑制而诱导耐受。无菌新生小鼠中微生物的定殖可减少趋化因子编码基因Cxcl16的甲基化水平，从而降低该基因表达并减少恒定自然杀伤T细胞募集，改善结肠炎和过敏性哮喘。对来自于菌群定殖小鼠和无菌小鼠的单核吞噬细胞比较显示，微生物促进炎症基因位点组蛋白H3赖氨酸4三甲基化，包括编码I型干扰素的基因。组蛋白的乙酰化也类似地参与了微生物菌群和免疫系统的固有防护之间的“对话”。从肠上皮细胞特异性地将组蛋白去乙酰化酶3剔除时，基因表达被大量地改变，上皮屏障的完整性丧失。这些畸变被认为是微生物依赖的，因为缺乏肠道组蛋白去乙酰化酶3的无菌

小鼠与有微生物定殖的同类没有表现出相同的表型。

尽管负责改变特定表观遗传的微生物信号大多是未知的，但微生物代谢物而不仅仅是微生物本身，机械地影响组蛋白修饰的协作是有可能的。例如，微生物产生的短链脂肪酸中的丁酸通过抑制组蛋白脱乙酰酶来调节结肠巨噬细胞的免疫应答，维持对共生微生物的免疫耐受性具有潜在贡献。因此，通过表观遗传修饰进行转录重编码是微生物菌群影响宿主固有免疫的重要机制。阐明微生物分子影响宿主细胞表观基因组并调节转录组以应对微生物定殖状态的精确机制是未来研究中一个令人振奋的领域。

## 分级反馈抑制

宿主体内微生物生态系统的局部遏制和功能维持对于哺乳动物固有免疫系统来说是一个艰巨的挑战。微生物和宿主之间的协同进化使得复杂反馈抑制来完成这项任务。这

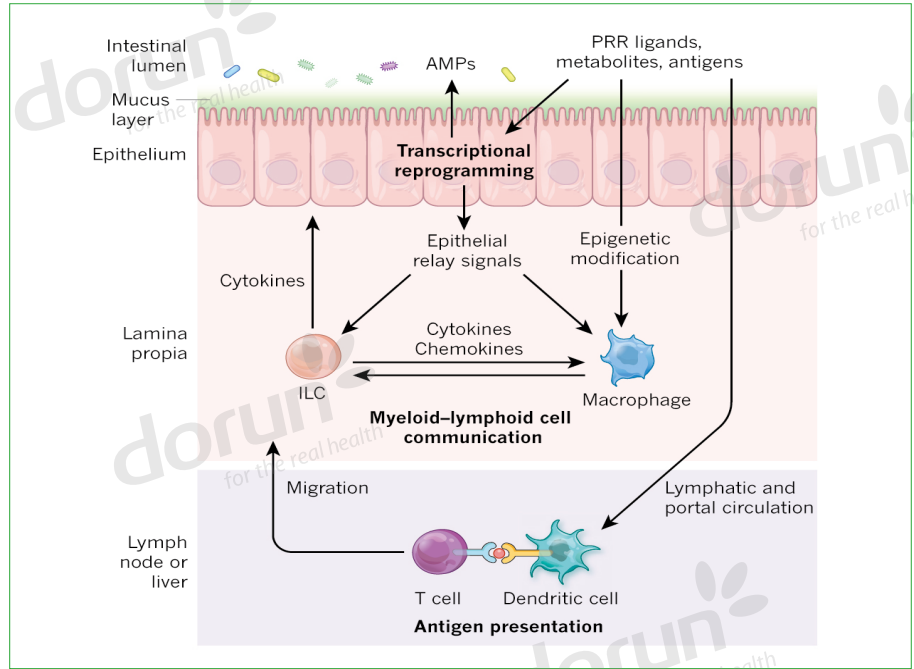


图4. 微生物菌群和固有免疫系统的相互作用

宿主和微生物之间的反馈抑制被限制在肠壁的上皮细胞层，其中包含一个简短的电路，将微生物传感与转录重编码和抗菌反应联系起来。这种作用的一种典型细胞因子是旁分泌IL-18。延伸到下面固有层的反馈抑制涉及上皮细胞、髓样细胞以及借助细胞因子和趋化因子的淋巴样细胞之间的作用。介导这种相互作用的细胞因子代表是IL-22和IL-23。微生物代谢产物也可到达引流淋巴结和肝脏，树突状细胞在此调节抗共生微生物的T细胞免疫以促进微生物抑制。

些抑制可以由肠壁内各个层级的细胞调节。虽然它们往往局限于上皮，直接接触微生物，但有时会延伸到潜在的粘膜固有层甚至淋巴门脉循环（图4）。

从进化的角度而言，受限于上皮的反馈抑制机制可以代表宿主-菌群相互作用的最古老形式：首先，PRRs对微生物的识别；其次，宿主的转录反应；第三，分泌效应分子。使用这种限制调节回路的优点是，炎症反应可被局限于上皮层，而不涉及整个组织或器官。例如，抗菌肽的上皮自主调节和黏膜分泌NLRP6、NOD2，以及由NLRC4控制肠上皮细胞的死亡，这些都发生在没有其他调节层细胞明显贡献的情况下。

固有免疫系统和微生物群之间的“对话”也可延伸到固有层。微生物感知固有层的髓系细胞提供调节信号，对宿主维持互利共生以及启动炎症反应至关重要。髓细胞调控的重要途径，如由ILCs产生的IL-22，诱导产生上皮再生胰岛衍生蛋白3（RegIII）

$\beta$ 、ReaIII $\gamma$ 以及抗菌肽对于维持大多数共生菌和肠上皮层的空间分离是重要的，而且这种调控对于局部的共生遏制也是关键的。

到达淋巴和门静脉循环的调控回路代表微生物和免疫系统之间更深层次的相互作用。抗原呈递细胞迁移到肠系膜淋巴结，从共生的肠道微生物转运物质，是诱导共生特异的适应性免疫应答所必需的。同样，树突状细胞将微生物抗原从定殖皮肤转移到引流淋巴结，在那里产生的细胞因子决定抗共生免疫反应的特征。类似的“防火墙”可能存在于肝脏，微生物产物通过门静脉进入。

因此，多层次的剖析有助于固有免疫介导的微生物菌群抑制及其对宿主-微生物相互作用为特征的组织特异性免疫应答的调控。

注：文章参考自：The microbiome and innate immunity. Nature, 2016 (535): 65–74.





## 研究前沿

# 蛋壳微生物及其母体微生物菌群的跨代遗传

微生物菌群对动物的发育、健康和菌群平衡至关重要。宿主与微生物菌群之间的联系普遍存在，进化过程中宿主特异性选择肠道微生物菌群。了解微生物与动物宿主之间的起源和进化，对于预测潜在微生物菌群变异对宿主适应性，以及在不同宿主和宿主菌群之间发现动物微生物菌群的生态学 and 进化的规律和特征至关重要。

卵细胞作为禽类动物母体微生物菌群的

跨代载体，保证了细胞遗传特性得以延续。通过调查野生雀鸟（木云雀和云雀）的蛋壳微生物，应用16S rRNA基因测序，发现新产蛋上的细菌群落与雌性泄殖腔的微生物菌群是不同的。然而，土壤微生物在新产蛋上繁殖迅速，蛋壳微生物菌群的组成与母体皮肤、羽毛和与下蛋直接接触的巢料菌群非常相似。通过系统发育结构分析和跟踪微生物源发现，直接接触源对于蛋壳微生物作用更

大，而不是体内转移共生体的物种分类。母体-蛋-巢系统可以综合评估鸟类卵微生物组。蛋类微生物的起源表明蛋壳微生物在跨代传播上潜力有限。

注：文章参考自“[Microbiome assembly of avian eggshells and their potential atransgenerational carriers of maternal microbiota](#)”. *The ISME Journal*. 2018, 12: 1375 - 1388.

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](http://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](http://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

