

拟杆菌与肠道微生态

李亚丹¹ 任宏伟² 吴彦彬¹ 边艳青^{1*}

(1. 河北师范大学生命科学学院 石家庄 050016)

(2. 河北交通职业技术学院 石家庄 050091)

摘要: 人和动物的肠道正常微生态体系对于维持机体的健康有重要作用。文章主要介绍了肠道中的优势厌氧菌——拟杆菌的作用及其作用机理, 从其基因组角度揭示它对宿主益生作用的根源, 为进一步认识动物与其共生菌的互惠关系提供了重要依据, 同时也为动物肠道疾病的防治提供重要的理论基础。

关键词: 肠道微生态, 拟杆菌, 基因组, 多糖水解

Bacteroides and Gut Microbial Ecology

LI Ya-Dan¹ REN Hong-Wei² WU Yan-Bin¹ BIAN Yan-Qing^{1*}

(1. College of Life Science of Hebei Normal University, Shijiazhuang 050016)

(2. Hebei Jiaotong Vocational & Technical College, Shijiazhuang 050091)

Abstract: The natural gut microbial ecology in animal's body has crucial influence to the health of their host. In this article, the mechanism that how the prominent gut symbiont, *Bacteroides*, act is revealed. From the Functional Genomic view we could have further insights about Host-*Bacteroides* mutually beneficial relationships. And it also provide an important foundation and new perspectives about host's health.

Keywords: Gut microbial ecology, *Bacteroides*, Genome, Hydrolyzing polysaccharides

动物体内微生态是一个极其复杂的体系, 它所包含的微生物群与宿主的免疫、营养、生物拮抗、急慢性感染有着密切的联系^[1]。而动物体内含微生物群最多的部分是肠道微生态体系, 这一体系对维持肠道微生态平衡有着深远影响。在微生态平衡理论和微生态防治理论指导下, 人工分离正常菌群, 并通过特殊工艺制成活菌制剂^[2,3], 使用活菌制剂不仅能促进动物胃肠道正常微生物体系的建立, 刺激肠道内免疫功能, 还能及时杀死入侵病菌, 又能减少氨及其它腐败物质的产生, 阻碍有害物质及废物的吸收^[4,5], 防治动物肠道疾病的发生, 减轻动物养殖

业的损失, 具有显著的经济效益和社会效益。

1 动物肠道微生态

在人和其它哺乳动物的肠道中, 定植着 60-400 种不同的微生物, 其总数可达百万亿个, 已证实动物粪便干重的 1/3 左右为细菌^[6,7]。这些数量巨大的共生细菌主要生活在消化道粘膜表层, 形成微生态保护层。共生菌与机体作为一个有机整体存在, 相互依赖, 相互影响, 构成了一个复杂而微妙的微生态环境^[8]。肠道内的自然菌群, 包括拟杆菌、乳酸菌、双歧杆菌、大肠杆菌等, 它们以相对恒定的比例长

基金项目: 石家庄市重点攻关项目(No.06150162A)。

* 通讯作者: Tel: 0311-86268283; ✉: bianyanqing151@sohu.com

收稿日期: 2007-05-25; 接受日期: 2007-08-01

期生活在肠道固定的区域之内,通过自身的代谢过程,影响着周围环境中的成分的改变,从而维持并调节了肠道的微生态平衡;另外,他们还通过菌体本身所拥有的一些成分,如肽聚糖、菌多糖、磷壁酸等等,介导定植,促使免疫反应发生,提高机体的抵抗力;还有一些菌产生特殊的蛋白质和酶,可构成帮助宿主消化吸收的功能体系。因此,我们开始日益重视这些与动物体关系亲密的微生物群体。

在正常情况下,宿主固定的饮食、行为习惯使得肠道内环境相对恒定;而一旦有突然的改变介入,如由于宿主的各种病理状态——创伤、免疫抑制治疗及抗感染或外界环境因素改变,就会对固有菌群这一复杂体系造成刺激,也就意味着肠道中长时间的动态平衡被打破,固有菌群将从数量和分布上发生剧烈的变化,某些致病菌和条件致病菌趁机大量增殖时,动物就会发病^[9,10,11]。例如仔猪发生腹泻时,检测结果显示其肠道中在正常状态定植的优势厌氧菌——拟杆菌数量急剧下降,与此同时好氧菌大肠杆菌大幅增多,二者之比在健康仔猪肠道内是100/1,患病时比例则变为1/1^[12]。我们可以从中得出结论,肠道菌群的正常分布与动物体的健康有着极为密切的关系。

2 益生菌研究现状

近年来,由于环境污染、农药残留、饲料中乱用抗生素等因素使动物消化道内的微生态平衡发生改变,产生耐药菌株,细菌发生变异等^[13],降低动物消化道微生态环境的平衡能力,不利于动物的生长发育和生态环境的保护。所以,人们已经越来越多的把目光转向了微生态制剂——依据微生态学理论而制成的含有益生菌的活菌制剂,其功能在于维持宿主的微生态平衡、调整宿主的微生态失调并兼有其他保健功能。利用这种有益生作用的活菌制剂来调节动物体内的微生态动态平衡,达到防治疾病及其它有益作用效果。

目前国内已经公认的益生菌主要集中在乳酸菌、双歧杆菌、酵母菌、芽胞杆菌几个菌属,并对其益生机理有了较为清晰的认识。在这几种菌中,酵母菌是一种兼性厌氧菌,芽胞杆菌是一种好氧菌,而在动物肠道中兼性厌氧菌和好氧菌的总数还不过1%,99%以上的常驻菌群都是专性厌氧菌^[6]。因此,研究者对于厌氧菌益生作用的重视程度正在逐步提

高。属于专性厌氧菌的微生态制剂,首先被人们用于生产的是乳酸菌,乳酸菌作为益生菌的是基于它能够发酵产酸,能有效降低消化道的pH值,造成一个能阻止有害病原菌生长繁殖的酸性环境,这样就可以起到防止有害菌定植的作用^[14];另一种肠道内正常菌群——G⁺专性厌氧菌双歧杆菌的益生机理是近些年研究比较成熟的一个方向,现已成为人们公认的益生菌。例如双歧杆菌可以利用短链分支糖类物质而大量增殖,形成微生态竞争优势,同时产生短链脂肪酸和一些抗菌物质,直接抑制了外源致病菌和肠内固有腐败细菌的生长繁殖,有害物质大量减少,疾病的发生也随之受到控制^[15]。然而,除了上述益生菌菌种外,肠道中另一种优势厌氧菌——拟杆菌还未得到充分的利用和开发。

3 拟杆菌的研究现状

3.1 拟杆菌与肠道微生态的关系

肠道微生态平衡的建立是在正向效应(促使种群发展形成群体的效应)和外相效应(限制或抑制种群的过度膨胀的效应)二者相互作用,达到平衡时完成的^[4],同时优势菌群的种类和数量就被固定下来。研究证实拟杆菌在1g健康人的粪便中数量可达 3.2×10^{10} ^[6],是绝对优势菌;此外拟杆菌在猪、牛、羊、兔、鸡、麻鸭、鲤鱼体内经过检测也为优势菌群^[1]。这种优势菌通过自身的定植直接抑制其他有害菌群的黏附,而且在菌群失调时重新引入拟杆菌,可以尽快使宿主肠道内微生态体系恢复平衡状态。

3.2 拟杆菌的益生作用机理

对于拟杆菌的益生作用,很多国外学者从不同的方面进行了大量的研究,发现拟杆菌在帮助宿主分解多糖提高营养利用率^[16]、加快肠粘膜的血管形成^[17]以及免疫系统发育以提高宿主的免疫力^[18]、维持肠道微生态平衡^[19,20]等方面均有着举足轻重的作用。特别是拟杆菌对多糖的利用方面作用尤为突出。

拟杆菌在分解多糖方面的作用,从它的基因组角度去分析,会更加透彻,同时会让我们对它与人类之间的互惠共生关系有进一步的理解。这种微生物在人体内长期存活并充满活力显示了它高超的生存技能:1)感受肠道多变环境,调节自身基因表达,帮助宿主利用食物多糖;2)通过建立并维持一种与宿主间的互惠关系而调节宿主基因表达。已完成全基因组测序的多形拟杆菌(*Bacteroides thetaiotaomicron*) VPI-5482的基因组序列提供了从分子水平充

分认识拟杆菌的这两大方面的作用的渠道。

多形拟杆菌 VPI-5482 (ATCC29148, 从健康人体粪便中分离), 正常情况下, 它在人体小肠末端、结肠中大量存在, 已经被研究者看作是影响肠基因表达的模式菌^[21]。其基因组全长为 6.26Mb。基因组编码的 4779 个蛋白中, 占比例最大的是编码与多糖降解、吸收有关的酶类、细胞表面碳水化合物连接蛋白、有关荚膜多糖合成的蛋白(如糖基转移酶), 环境感应和信号传导蛋白(单或双蛋白系统、膜外功能(ECF)-type sigma factors), 还有与 DNA 移位相关的一些蛋白(转位酶)^[22], 这些蛋白不仅对拟杆菌本身, 也为补充宿主功能做出了贡献。

3.2.1 从多形拟杆菌基因组看其对环境改变的适应, 以助宿主消化多糖: 拟杆菌能利用的营养来源于食物颗粒、肠粘液层、或是脱落的肠道上皮细胞^[7]。这种多方向的获养手段是由于当环境发生改变, 其中之一的获养途径受到了抑制, 拟杆菌可以自动调节自身基因组, 以产生适应性的蛋白质和酶, 尽快地适应环境而不至使自身代谢受到影响。

在多形拟杆菌 VPI-5482 的基因组编码的蛋白中, 存在两大类能精确感受环境信息的元件即 ECF-type σ 因子和单组分或双组分信号传导系统。

ECF-type σ 因子是一种环境感受因子, 它的存在表明拟杆菌的基因表达要受环境信号的调节。 σ 因子是组成细菌的 RNA 多聚酶复合体的成份之一, 在应对多种生理刺激引起的共转录反应中起着关键性的作用。多形拟杆菌具有相当数量的 ECF-type σ 因子, 一旦环境刺激发生作用, ECF-type σ 因子就会释放出来, 连接到 RNA 聚合酶上启动下游基因的转录。实验表明, 多形拟杆菌的一部分 SusC、SusD (淀粉利用系统蛋白^[23]) 成对出现的多基因簇的上游, 拥有 ECF-type σ 因子的基因^[22]。这样, 一旦环境刺激发生, 使 ECF-type σ 因子表达受到影响, 继而诱导 SusC、SusD 的表达或将其抑制, 通过这一过程将环境变化与拟杆菌的淀粉利用相联系。

ECF-type σ 因子对环境变化的感应作用从一方面揭示了拟杆菌为什么可以从容应对宿主体内糖类发生的变化。另一感应环境并做出反应的元件是极具代表性的单组分或双组分信号传导系统。多形拟杆菌 32 个单组分系统中有 22 个位于营养利用相关的基因(19 个临近寡糖-多糖水解酶、3 个临近硫酸酯酶)的附近^[22], 以便于根据营养来源调节相关基

因的表达。每一个单组分系统包含一个单体蛋白, 但它和双组分系统一样可调节环境变化引起的基因表达变化。

另外, 多形拟杆菌具有多种可移动的遗传元件: 一个 33kb 的质粒, 63 个移位酶, 4 个共轭转座子同源蛋白^[22], 这些元件的基因转移和突变机制赋予多形拟杆菌非凡的能力来改变它的基因组内容, 产生强大的适应性使其经受住肠道内一次次的清洗后得以保留下来。

从这几个方面我们能够清晰的理解多形拟杆菌感受环境改变, 及时作出自我调节的本质所在。这也是它作为肠道优势菌存在的根本原因。多形拟杆菌对于宿主最核心的益生作用在于根据环境变化来调节多糖利用功能从而帮助宿主消化吸收本不能消化的食物多糖成分^[24,25], 这一重要功能的发挥有赖于基因组编码的多种糖基水解酶和糖代谢过程中的相关酶类。

在多形拟杆菌的基因组所编码的蛋白质中几种有代表性的糖基水解酶: α -半乳糖苷酶、 β -半乳糖苷酶、 α -葡糖苷酶、 β -葡糖苷酶、 β -葡糖醛酸糖苷酶、 β -呋喃果糖苷酶、 α -甘露糖苷酶、淀粉酶和 1, 2- β -木糖苷酶, 比其它肠道共生菌——双歧杆菌、大肠杆菌的同类酶含量都多, 甚至超过任何一种已测序的细菌^[26]。它还拥有一些糖苷水解酶, 用于利用宿主自身来源的一些糖类, 例如硫酸软骨素、粘蛋白、透明质酸盐和肝磷脂, 均可被其利用。相反地, 人类的 2.85Gb 的基因组中只包含 98 个已知的或仅仅是尚未得到证实的葡萄糖苷水解酶^[7], 而且还缺乏消化以木糖、果胶、阿拉伯糖为组成单位的多糖的酶, 而这些在食物纤维中是非常常见的。(也就是说, 人体具有消化、吸收糖功能的酶的数量与多形拟杆菌比相当于 1 比 64^[7])。经过计算, 多形拟杆菌发酵多糖的产物, 为它的人体宿主提供了日需热量的 10%~15%^[27]。

另外, 多形拟杆菌的基因组编码的许多外膜蛋白, 与细菌对寡聚糖、多聚糖的需求有关。基因组中最大的转录区域编码 106 个外膜蛋白 SusC 的同源蛋白, 和另外 57 个 SusD 的同源蛋白。SusC、SusD 可调节淀粉与细菌表面的连接, 继而外膜蛋白、细胞周质中的 α -淀粉酶发挥作用可将淀粉降解^[22]。

用大量定植多形拟杆菌的无菌鼠模型已经清楚的了解多形拟杆菌贮存糖的行为。实验鼠分为两组, 一组以一固定标准给无菌鼠喂食多糖含量高的

食物(包括木糖、半乳糖、阿拉伯糖、葡萄糖为基本组分的多糖),另一组喂食不含多糖的食物,一段时间后以扫描电镜观察,发现在第一组小鼠肠道内多形拟杆菌聚集在未消化或部分消化的食物颗粒上,还利用肠粘膜层的糖构件,同时还利用脱落的上皮连接细胞表面糖链的成分。菌的整个基因组转录图显示,这种高多糖食物影响了 SusC、SusD 同源蛋白的选择性上调,如糖基水解酶(木糖酶、阿拉伯糖酶、果胶酸盐裂解酶)的部分活性以及编码运送甘露糖、半乳糖、葡萄糖、到糖酵解途径和运送阿拉伯糖、木糖到戊糖磷酸途径的酶的基因。而在第二组中,食物中富含单糖,不含多糖,则导致 SusC、SusD 同源蛋白转录时,选择性上调的蛋白与第一组的不同,如从粘膜糖中寻找利用对象的糖基水解酶,以及去除肠粘膜糖修饰(为避免被降解)的酶^[7]。

由此我们可以看出,拟杆菌对环境的敏感应变能力及其基因组编码的大量糖基水解酶、糖代谢过程酶使得拟杆菌成为帮助宿主有效利用食物多糖的至关重要的常驻菌。

3.2.2 建立并维持一种与宿主间的互惠关系而调节宿主基因表达:对无菌鼠的研究表明,多形拟杆菌还辅助合成肠上皮粘膜所需糖类,如 α -连接岩藻糖可由多形拟杆菌的 α -岩藻糖酶合成^[22]。拟杆菌能感应肠液内岩藻糖含量,进而可以调节人体肠上皮岩藻糖的合成量,并当宿主食物中缺乏戊糖时拟杆菌还可以诱导宿主 α -1, 2-岩藻糖基转移酶的产生,继而生成带有岩藻糖基团的糖^[21]。有研究表明,接种多形拟杆菌还可导致无菌动物回肠中 Na⁺/葡萄糖共运输蛋白(cotransporter, SGLT-1) mRNA 的水平升高^[20],这使得即使在相同肠内葡萄糖含量情况下,定植多形拟杆菌可加快葡萄糖从肠道运往其它需要之处,更有利于宿主正常机能的完成。

综上,由于拟杆菌自身的基因组特性,决定了它所编码的蛋白是维持宿主健康所不可或缺的,能够变废为宝,提高食物营养的利用效率;在营养来源发生变化时,又辅助宿主积极应对,与宿主共渡难关,维持宿主-细菌这一有序、复杂、精密调控的动态平衡体系。

3.3 拟杆菌的最新研究动态

目前,利用基因芯片杂交技术,研究者在动物生长特定时期——新生动物哺乳期、断奶换食期对拟杆菌的基因转录情况给予了关注,因为这一时

期由于食物的突然转变,引起宿主的肠道内应激性反应,容易使宿主抵抗力下降,导致肠道菌群失调,使感染病原菌的机会增加。同时,试验联合使用气相色谱技术和生化试验,对这个时期多形拟杆菌分解多糖的情况进行分析。结果表明:在哺乳期,多形拟杆菌主要利用的能量来源于宿主本身和母乳中的单糖、寡聚糖成分;当宿主断奶后,多形拟杆菌扩大了代谢可利用的多糖的范围,开始从这时所摄取含丰富植物性多糖的食物中获取能量^[28]。这一成果让我们以一个新的角度看待拟杆菌的益生作用,同时也为拟杆菌能迅速感应环境、调节基因表达这一分子机制提供可靠的证据,而且给拟杆菌的应用奠定了初步的理论基础。

4 展望

综上所述,理论研究表明拟杆菌在分解多糖调节及促进肠道发育等方面有重要的作用,但拟杆菌的开发和应用还有待进一步的发展。在今后的研究工作中,积极开展对多种动物体内拟杆菌特性的研究,更加全面、完整的了解和把握拟杆菌的益生作用,必然会为人类及动物养殖业减少使用药物甚至不依赖药物而达到保健治疗的目标做出贡献^[29, 30]。但拟杆菌的抗逆性差,如何增加它的稳定性,将包埋技术、微囊制备技术应用于拟杆菌微生态制剂的制备,成为今后研究的一个方向。

参考文献

- [1] 何明清,倪学勤. 我国动物微生态制剂研究、开发和应用动态. 科技视野, 2002, 21: 1-8.
- [2] 海存秀. 饲用微生态制剂的应用研究进展. 青海大学学报, 2006, 24(1): 52-58.
- [3] 柳 斌,李文平. 动物微生态制剂在畜牧生产中的应用. 养殖与饲料, 2006, 3: 15-20.
- [4] 张凤林,全 男,于立业. 益生菌的应用. 吉林畜牧兽医, 2006, 27(1): 54-56.
- [5] 梁明振,梁贤威,林宝东,等. 动物微生态制剂的研究进展. 粮食与饲料工业, 2003, 1: 28-30.
- [6] 周德庆. 微生物学教程(第二版). 北京: 高等教育出版社, 1993, pp.256-258.
- [7] Fredrik Backhed, Ruth E Ley, Justin L Sonnenburg, et al. Host-Bacterial Mutualism in the Human Intestine. *Science*,

- 2005, **307**(5717): 1915–1921.
- [8] 方红宇, 方鹤松. 微生态及其微生态制剂. 现代实用医学, 2003, **15**(12): 734–750.
- [9] 徐世文, 王伟, 李守军. 断乳仔猪营养性腹泻的病因和综合防治措施. 饲料博览, 1999, **11**(6): 29–31.
- [10] 谭利伟, 麻丽坤, 尹兆正, 等. 有机酸在断奶仔猪饲料中的应用研究进展. 中国饲料, 2006, **6**: 16–19.
- [11] 沈国顺, 刘丽霞, 刘春秀. 早期断奶仔猪腹泻发生的原因及预防措施. 畜牧与兽医, 2001, **33**(6): 32–33.
- [12] 何明清. 我国动物微生态制剂的起源、发展战略及应用前景. 中国微生态学杂志, 2001, **13**(3): 166–168.
- [13] 赵桂英, 段纲, 杨亮宇, 等. 仔猪消化道菌群变化与仔猪腹泻的关系. 家畜生态, 2004, **25**(4): 44–47.
- [14] 陶常义. 早期断奶仔猪腹泻的原因分析与营养调控. 湖南饲料, 2003, **2**: 18–19.
- [15] 维烈, 郭庆华. 新型蛋白饲料. 北京: 化学工业出版社, 2003, pp.85–90.
- [16] Fredrik Backhed, Hao Ding, Jeffrey I Gordon, *et al.* The Gut Microbiota as An Environmental Factor That Regulates Fat Storage. *PNAS*, 2004, **101**(44): 15718–15723.
- [17] Thaddeus S Stappenbeck, Lora V Hooper, Jeffrey I Gordon. Developmental Regulation of Intestinal Angiogenesis by Indigenous Microbes via Paneth Cells. *PNAS*, 2002, **99**(24): 15451–15455.
- [18] Lora V Hooper. Bacterial Contributions to Mammalian Gut Development. *Trends in Microbiology*, 2004, **12**(3): 129–134.
- [19] Cynthia L Sears. A Dynamic Partnership: Celebrating our Gut Flora. *Anaerobe*, 2005, **11**(5): 247–251.
- [20] Hooper Lora V, Melissa H Wong, Anders Thelin, *et al.* Molecular Analysis of Commensal Host-Microbial Relationships in the Intestine. *Science*, 2001, **291**(2): 881–885.
- [21] Hooper LV, Xu J, Falk PG, *et al.* A Molecular Sensor That Allows A Gut Commensal to Control Its Nutrient Foundation in A Competitive Ecosystem. *PNAS*, 1999, **96**(17): 9833–9838.
- [22] Jian Xu, Magnus K Bjursell, Jason Himrod, *et al.* A Genomic View of the Human *Bacteroides thetaiotaomicron* Symbiosis. *Science*, 2003, **299**(5615): 2074–2077.
- [23] Cho KH, Salyers AA. Biochemical Analysis of Interactions between Outer Membrane Proteins That Contribute to Starch Utilization by *Bacteroides thetaiotaomicron*. *The Journal of Bacteriology*, 2001, **183**(24): 7224–7230.
- [24] Hooper LV, Midtvedt T, Gordon JI. How Host-microbial Interactions Shape the Nutrient Environment of the Mammalian Intestine. *Annual Review of Nutrition*, 2002, **22**: 283–307.
- [25] Jian Xu, Herbert C Chiang, Magnus K Bjursell, *et al.* Message from A Human Gut Symbiont: Sensitivity: Is A Prerequisite for Sharing. *Trends in Microbiology*, 2004, **12**(1): 21–28.
- [26] Jian Xu, Jeffrey I Gordon. Honor thy symbionts. *PNAS*, 2003, **100**(18): 10452–10459.
- [27] Bergman EN. Energy Contributions of Volatile Fatty Acids from the Gastrointestinal Tract in Various Species. *Physiological Reviews*, 1990, **70**(2): 567.
- [28] Magnus K Bjursell, Eric C Martens, Jeffrey I Gordon. Functional Genomic and Metabolic Studies of the Adaptations of a Prominent Adult Human Gut Symbiont, *Bacteroides thetaiotaomicron*, to the Suckling Period. *The Journal of Biological Chemistry*, 2006, **281**(47): 36269–36279.
- [29] Ruth E Ley, Daniel A Peterson, Jeffrey I Gordon. Ecological and Evolutionary Forces Shaping Microbial Diversity in the Human Intestine. *Cell*, 2006, **124**(4): 837–848.
- [30] Maria L Marco, Sonia Pavan, Michiel Kleerebezem. Towards Understanding Molecular Modes of Probiotic Action. *Current Opinion in Biotechnology*, 2006, **17**(2): 204–210.