

DOI: 10.7524/AJE.1673-5897.20161028001

王泓鸥, 董四君. 肠道微生物受环境污染的影响及其对宿主疾病的调控作用[J]. 生态毒理学报, 2017, 12(3): 110-119

Wang H O, Dong S J. Influences of the environment pollution on the intestinal microbiota and its regulations on host diseases [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2017, 12(3): 110-119 (in Chinese)

肠道微生物受环境污染的影响及其对宿主疾病的调控作用

王泓鸥^{1,2}, 董四君^{1,*}

1. 中国科学院城市环境研究所 中国科学院城市环境与健康重点实验室, 厦门 361021

2. 中国科学院大学, 北京 100049

收稿日期: 2016-10-28 录用日期: 2016-10-31

摘要: 宿主肠道内存在的大量微生物与其健康状况直接相关, 这些微生物是人和动物健康成长不可或缺的。肠道微生物通过多种途径调节人体生理功能的同时也受到人体内外环境的影响。因此, 分析建立肠道微生物、相关疾病的产生原因和作用机制以及环境影响因子之间的联系具有重要意义。本文首先针对肠道微生物对人体的物质与能量代谢、先天和获得性免疫、胃肠道功能等方面的影响进行综述。然后重点分析了近年来有关肠道微生物对环境污染所致健康效应的影响及作用机制的研究进展。以期加深肠道微生物与人类健康之间相互作用机理的理解, 并为环境毒理学与肠道微生物之间关系的研究提供新的思路。

关键词: 环境污染; 肠道微生物; 疾病调节

文章编号: 1673-5897(2017)3-110-10 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

Influences of the Environment Pollution on the Intestinal Microbiota and Its Regulations on Host Diseases

Wang Hongou^{1,2}, Dong Sijun^{1,*}

1. Key Laboratory of Urban Environment and Health, Institute of Urban Environment, Chinese Academy of Sciences, Xiamen 361021, China

2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

Received 28 October 2016 accepted 31 October 2016

Abstract: A large number of microbes in guts are essential and directly related to their host health. A number of studies indicated that intestinal microbial communities regulate physiological functions of human body through a variety of pathways in relation to internal and external environments. Theoretically, it is of a great significance to establish linkages among intestinal microorganisms, functionary mechanisms of related diseases, and possible environmental impacts. This paper firstly reviewed interactions of human intestinal microorganism with material and energy metabolisms, innate and postnatal (or gifted and acquired) immunities, and gastrointestinal functions. Further, the paper emphasized proceedings of studies on relationships between intestinal microorganisms and health effects

基金项目: 国家自然科学基金(41390240, 21477124)

作者简介: 王泓鸥(1988-), 女, 博士, 研究方向为环境毒理学与环境卫生学, E-mail: howang@iue.ac.cn

* 通讯作者 (Corresponding author), E-mail: sjdong@iue.ac.cn

of environmental pollution and their possible mechanisms. With this review and analysis, we wish to acquire a better understanding of interactive mechanisms between intestinal microorganisms and human health, which might provide new opinions for studying relationship between environmental toxicology and intestinal microbes.

Keywords: environmental pollution; intestinal microbes; disease modifying

肠道微生物是宿主机体肠道中的正常菌群,包括细菌、古细菌、病毒和真菌等千余种种系,主要为厌氧菌,且数量为需氧菌和兼性厌氧菌的数百倍^[1];按菌属划分,肠道内最主要的为厚壁菌属和拟杆菌属,其余多为变形菌、疣微菌、放线菌、梭杆菌属和蓝藻等^[2-3]。健康成年人的肠道中存在约 10^{14} 个微生物,是人体细胞数量的 10 倍左右,在人体内形成了独特、复杂的生态系统,并通过其代谢或与宿主间的相互作用调节宿主正常代谢和疾病等,因此肠道微生物与宿主不仅是共生关系,还可以被视为一个调节生理功能的独立器官^[4-5]。

肠道微生物不仅可以通过多种途径调节人体生理功能,同时也受到人体内外环境的影响。宿主基因在肠道菌群的建立和塑造过程中起重要作用,并且宿主的饮食、年龄、健康状况和生活环境等因素也参与调节肠道微生物稳态^[6-7]。目前环境有害因素对肠道微生物的影响作用及其机制尚不明确,因此,基于前人对肠道微生物的研究,本文主要综述肠道微生物对宿主疾病的影响,以及肠道微生物在环境污染所致健康效应中的调节作用,并期望能够为肠道微生物在环境毒理学研究中的重要作用提供一定的参考。

1 肠道微生物与宿主疾病的关系 (Relationships between intestinal microbiota and host diseases)

肠道微生物已被证实与宿主的健康与疾病有密切联系,越来越多的研究发现宿主诸多系统的疾病是由于肠道菌群失调所致。

1.1 肠道菌群失衡与肠道疾病

在过去的几十年中,大量基因组学和代谢组学的研究证实肠道微生物不仅可以促进宿主健康,菌群的改变或失衡也可以引发多系统疾病^[8],其中与肠道微生物联系最紧密的是肠道系统疾病,例如炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)、肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)和散发性结、直肠癌。

克罗恩病(Crohn's disease, CD)和溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是典型的慢性肠道炎症性疾病,临床表现为腹泻、体重减轻、胃肠道溃疡、穿孔和

阻塞等^[9]。早在十几年前,科学家就发现肠道菌群结构的变化与 IBD 密切相关,但是这种改变是 IBD 的临床表现之一还是其主要致病因素尚不明确^[10]。越来越多的研究认为,IBD 的发生并非某种致病菌导致的,而主要由肠道菌群组成结构的变化或菌群代谢失调所致。宏基因组测序发现,IBD 患者的肠道微生物改变主要表现为菌群多样性显著下降和厚壁菌门微生物的数量减少^[11-12];另外结肠中变形菌和芽孢杆菌含量较高而拟杆菌和毛螺旋菌的比例有所下降,以及小肠内变形杆菌比例升高且芽孢杆菌含量下降也是 IBD 患者肠道微生物变化的表现之一^[13]。进一步的临床调查还发现,IBD 患者的肠道内厚壁菌门微生物数量越低,手术后的复发率越高^[14]。

IBS 与肠道菌群紊乱是相互作用的:一方面,饮食改变、精神压力以及免疫功能发生变化等均会导致宿主肠道的异常运动,粘膜分泌改变,肠黏膜通透性增加以及肠道神经功能和激素释放的改变,从而引发肠道微生物多样性和稳定性降低,最终导致 IBS 发生;另一方面,IBS 患者的免疫异常可通过肠道炎症细胞因子和抗微生物肽释放增加而影响肠道微生物稳态,最终形成恶性循环^[15]。不同于 IBD, IBS 患者大肠内的肠道菌群中厚壁菌门数量相对健康人群较高,而拟杆菌属数量相对较低^[16-17];以及小肠中肠道菌群异常生长,具体表现为菌群迁移率降低,小肠内菌群过度繁殖^[15]。

2016 年美国最新的统计数据显示,肠道肿瘤的患病率和死亡率排在所有肿瘤的第 3 位^[18],而我国 2000—2011 年间对癌症发病率和死亡率的连续调查发现,肠道肿瘤的患病率和死亡率均从第 5 位上升至了第 3 位^[19]。肠道菌群失衡可能是结肠、直肠癌的主要病因之一。有研究发现,结、直肠癌患者肠道内产丁酸的菌群数量明显下降,而肠道微生物可通过分泌短链脂肪酸酯、丙酸、丁酸和某些酚类物质来预防炎症反应和肿瘤形成^[20]。但也有研究认为,肠道微生物可以通过代谢产生胆汁酸而导致癌症发生^[21]。

1.2 肠道微生物与慢性病

1.2.1 肠道微生物与免疫系统疾病的关系

肠道微生物的生理特征与免疫系统极为相似,

它不仅包含大量的遗传信息还具有宿主特异性,并且可因饮食、手术或抗生素等因素导致结构改变^[22]。

新生儿对微生物暴露不足会导致免疫系统发育不全。在无菌小鼠肠道内,肠相关淋巴组织发育缺陷并且肠分泌型 IgA 分泌减少,同时也表现出与正常小鼠相比 Peyer's 淋巴集结更少和肠系膜淋巴结较小^[23]。IgA 是粘膜免疫的基础,肠分泌型 IgA 可以保护肠道粘膜完整性并有助于宿主和肠道菌群共生^[24-25]。另外,新生儿肠道菌群多样性降低且某些益生菌如双歧杆菌种数量下降时,婴儿时期更易发生过敏性湿疹^[26]。前瞻性出生队列研究发现,肠道菌群结构改变也与儿童哮喘发病相关,当肠道内厌氧菌总量上升时发生哮喘的几率明显升高,但梭状芽孢杆菌比例升高可避免哮喘发作^[27]。

肠道微生物还能促进宿主自身免疫性疾病的发生发展^[28]。1 型糖尿病作为一种自身免疫性疾病越来越多地受到人们重视,其发病机制与 T 细胞介导胰岛 β 细胞破坏相关,然而研究发现肠道微生物与宿主先天免疫系统相互作用可促进 1 型糖尿病的发生^[29]。患 1 型糖尿病的婴幼儿生长发育过程中肠道菌群多样性会随年龄降低,并且与健康儿童相比,以卵形假杆菌为代表的门拟杆菌的总量增加,而厚壁菌在肠道菌群中的比例则有所下降^[30]。

1.2.2 肠道微生物与肥胖和 2 型糖尿病的关系

宿主脂质和碳水化合物代谢受肠道微生物消化吸收的影响,当肠道菌群失衡时,会引起宿主肥胖和 2 型糖尿病等代谢性疾病^[31]。

肠道菌群与脂肪堆积和肥胖密切相关。向无菌小鼠肠道内移植不同结构的菌群后发现肠道微生物可以在不同程度上影响小鼠能量吸收和代谢^[32]。研究认为肥胖可能与肠道内厚壁菌属数量增加和拟杆菌属数量降低相关^[33-35]。2 型糖尿病作为一种复杂的代谢性疾病,虽然与肠道微生物的关联较弱,但仍然表现出一定程度的肠道菌群失衡,具体表现为产丁酸菌数量下降和多种机会性病原菌数量增加^[36-37]。机制研究发现,高脂饮食会导致小鼠副交感神经兴奋并促进生长素和胰岛素分泌,如此形成一个正反馈调节,导致小鼠食欲过盛、甘油三酯增高、肝脏和骨骼肌内异位脂质沉积以及肝脏和骨骼肌内胰岛素拮抗,而肠道微生物可通过乙酸分泌调节肠-脑-胰岛 β 细胞轴并加强这一正反馈调节,最终造成宿主能量过度储备、脂肪堆积和胰岛素拮抗^[38]。

1.2.3 肠道微生物与心血管疾病的关系

心血管疾病的病因主要分为遗传因素和环境因

素两方面,高脂饮食使得血管中的胆固醇和甘油三酯水平升高是公认的心血管疾病危险因素之一,然而肠道菌群在此过程中的调控作用还鲜为人知。一系列研究认为肠道微生物会通过磷脂酸胆碱和氧化三甲胺(TMAO)代谢增加心血管疾病的风险。肠道内微生物可代谢产生 TMAO,导致巨噬细胞清道夫受体表达上调,巨噬细胞的胆固醇积聚和泡沫细胞形成增加,最终导致动脉粥样硬化^[39],并且当抑制肠道菌群 TMAO 生成后,动脉粥样硬化症状可得到改善^[40]。另外,心血管疾病还与血小板反应加剧和血栓形成有关,血小板直接暴露于 TMAO 后会增加细胞内 Ca^{2+} 释放,并通过激活多种激动剂导致血小板活化而增加凝血,因此肠道微生物代谢产生 TMAO 还具有增加血小板高反应和增强的血栓形成的潜力^[41]。

1.3 肠道微生物与神经精神系统疾病的关系

越来越多的研究关注于肠道菌群对脑部生理功能和宿主行为及精神状态的影响,并提出了“微生物-肠道-脑轴”的概念^[42]。

肠道微生物可以通过调节免疫系统对宿主缺血性中风的结果产生影响。过去的大量研究发现缺血性中风与外周免疫细胞有关,其机制可能涉及调节性 T 细胞(Treg)细胞和产白介素-17T 细胞(IL-17⁺ $\gamma\delta$ T)^[43-47]。肠道菌群可能通过增加 IL-17⁺ $\gamma\delta$ T 细胞活性而增加脑中风的危险。实验中使用阿莫西林和克拉维酸 2 种抗生素处理小鼠,引起小鼠肠道内菌群多样性降低,且变形菌门比例上升以及厚壁菌门/拟杆菌门微生物的比例下降,导致肠道内 CD4⁺FoxP3⁺Treg 细胞数量增加而 IL-17⁺ $\gamma\delta$ T 细胞数量减少,随后诱导抗生素处理小鼠和对照组小鼠大脑中动脉闭塞,结果发现处理组小鼠脑梗塞面积相较于对照组减少了 60% \pm 6%^[48]。

肠道微生物和中枢神经系统之间可以通过神经内分泌、神经免疫以及自主神经系统和肠神经系统之间的交感/副交感神经臂而建立通信,并影响宿主的行为和精神状态^[49]。肠道微生物还可以分泌神经递质类物质,包括色氨酸、5-羟色胺前体、以及神经递质 γ -氨基丁酸(GABA),因此肠道菌群与精神障碍如精神分裂症、孤独症、焦虑症和抑郁症密切相关^[50,51]。精神分裂症一直被认为与遗传因素相关,而最新的研究发现精神分裂症患者肠道微生物结构与健康人群不同,其肠道菌群中具有较高水平的肿瘤坏死因子- α (TNF- α)^[52]。自闭症患儿肠道内的梭菌属和拟杆菌属微生物显著高于正常儿童,而梭菌

属微生物早已被证实不仅可以导致肠道问题还会产生神经毒素^[53-55]。

2 肠道微生物对环境污染所致健康效应的调节作用 (Relationships between intestinal microbiota and health effects of environmental pollution)

前文通过论述肠道菌群失衡与宿主各个系统疾病的关系证明肠道微生物的结构或功能改变可导致疾病发生的危险性升高或降低,因此作为肠道菌群稳定或失衡的重要因素,当环境因素发生变化时,机体不仅通过自身应答产生适应性变化或疾病,也会受到肠道菌群的调节^[56]。然而,与肠道微生物相关的环境毒理学研究尚处于起步阶段,因此后文将主要针对环境污染对肠道菌群的影响及其产生的健康效应进行综述,为环境毒理学研究的新领域提供参考。

2.1 环境污染所致肠道疾病的流行病学研究

2.1.1 空气污染

空气污染分为气体污染(臭氧(O₃)、氮氧化物(NO_x)、一氧化碳(CO)、二氧化碳(CO₂)和二氧化硫(SO₂)等)和颗粒物污染(花粉、硝酸盐、硫化物、多环芳烃和矿物燃烧产物等)^[57]。空气污染已被证实是呼吸道和心血管疾病的危险因素^[58],然而仅有极少量研究关注空气污染与肠道疾病的关系。流行病学调查发现,空气污染暴露与IBD、阑尾炎和婴儿胃肠道感染均相关。

美国Wisconsin州对IBD的生态分析发现,空气总污染物排放与成人IBD入院率显著相关(泊松相关系数(RHO)=0.28; $P=0.02$);泊松回归结果显示污染物浓度每上升 1^{-10g} ,IBD的入院率就会增加40%(发病率比(IRR)=1.40; 95%置信区间(95% CI)=1.31~1.50);分别研究溃疡性结肠炎(IRR=1.48; 95% CI=1.27~1.73)和克罗恩病(IRR=1.39; 95% CI=1.26~1.52)时也发现了相似的结果^[59]。然而,英国健康改善网络数据库(The Health Improvement Network, THIN)的分析发现二氧化氮(NO₂)、SO₂和大气颗粒物(PM₁₀)与IBD没有显著相关性,然而当环境中NO₂浓度升高时,23岁以下的人群更易被诊断出克罗恩病(比值比(OR)=2.31; 95% CI=1.25~4.28);相似的,当环境中SO₂浓度较高时,25岁以下人群的溃疡性结肠炎患病率较高(OR=2.00; 95% CI=1.08~3.72)^[60]。

空气污染的短期暴露也和胃肠道疾病相关。空气污染和阑尾炎入院率的相关性调查发现,空气中

O₃浓度升高是阑尾炎的危险因素(OR=1.14; 95% CI=1.03~1.25),而夏季空气中O₃(OR=1.32; 95% CI=1.10~1.57)、SO₂(OR=1.30; 95% CI=1.03~1.63)、NO₂(OR=1.76; 95% CI=1.20~2.58)、NO(OR=1.35; 95% CI=1.01~1.80)和PM₁₀(OR=1.20; 95% CI=1.05~1.38)等污染物的浓度与阑尾炎患病率的相关性更为显著^[61]。另一项针对臭氧和阑尾炎患病率的病例对照研究则明确指出,当环境中7 d臭氧平均值每升高16 ppb时,阑尾炎患病率会出现上升趋势(OR=1.07; 95% CI=1.02~1.13),然而臭氧暴露只有对穿孔性阑尾炎的影响有统计学意义(OR=1.22; 95% CI=1.09~1.36)^[62]。

空气污染对儿童胃肠道的影响也不容忽视。Orazio等^[63]对意大利的6个城市中空气污染和儿科急诊量的关系进行调查,发现空气中一氧化碳浓度与儿童胃肠道疾病最相关,空气中一氧化碳每增加 $1.1 \mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ 时0~2岁儿童的胃肠疾病急诊量增加3.8%,并且在意大利Urticaceae城市发现,当空气中花粉含量每增加 $27.7 \text{粒}\cdot\text{m}^{-3}$ 时儿童肠道不适的急诊量会增加2.6%。

2.1.2 水污染

饮水经口暴露后直接作用于消化道,并影响肠道健康,因此水污染与肠道疾病关系的研究开展得较早也较为全面。早在20世纪90年代就有关于饮用水和自来水对肠道疾病影响的研究,美国费城对65岁以上老年居民的饮用水和胃肠道疾病就医记录进行分析发现当入院前9~11 d饮用水浊度增加25%时,肠道疾病入院率增加9% (95% CI=5.3~12.7)^[64]。饮水中的细菌和病毒等可能是导致IBS的原因之一。意大利加尔达湖遭受污染后导致周边城市饮用水中诺如病毒爆发,随后对周边城市中348位病毒感染患者随访1年后发现爆发3 d内有恶心、呕吐和腹泻症状的病人比例分别为66%、60%和77%,同时发热和体重减轻($\geq 3 \text{ kg}$)的病人比例分别为50%和19%,第12个月时,有13%的病毒感染者被诊断出IBS,而对照组(186名为感染诺如病毒的同地区居民)仅有3例IBS新增病例($P<0.0001$; OR=11.40; 95% CI=3.44~37.82)^[65]。饮用水如果受到微囊藻毒素(microcystin, MC)污染即可导致大肠癌,中国浙江省对8个乡镇进行回顾性队列研究;首先对这8个乡镇的饮用水情况进行检测,发现MC的阳性率在井水、自来水、河水和池塘水中分别为0、0、36.23%和17.14%;随后,调查了1977—

1996年间确诊的408例结肠和直肠癌患者的饮水情况,结果发现饮用河水和池塘水的人群发病率高于饮用井水和自来水的人群;与饮用井水的人群相比,患结肠和直肠癌的相对风险度(relative risk, RR)分别为1.88(自来水)、7.94(河水)和7.70(池塘水);因此得出结论:饮用水中MC浓度与结肠和直肠癌的患病率呈正相关(定比尺度百分比(ratio scale, RS)=0.881, $P < 0.01$)^[66]。

除饮用水外,泳池、海水浴场或温泉等娱乐设施中的水也可经口进入人体肠道。美国对2个受废水处理厂污染的沙滩和海水浴场进行前瞻性队列研究,调查了游泳后48 h和10~12 d的胃肠道症状的发生情况发现,在美国印第安纳州的海水浴场中游泳者患肠道疾病的比例是不游泳者的2倍(OR=1.96; 95% CI=1.33~2.90),而在俄亥俄州的海水浴场中游泳与肠道疾病的相关性较弱(OR=1.50; 95% CI=1.06~2.13)^[67]。中国台湾34个温泉浴池的水质监测发现,其中有13个(38.2%)浴池检出肠道病毒,其中最常检出的是柯萨奇病毒A2,其次是埃可病毒11肠道病毒71型(EV71)和猪肠道病毒9型,这些肠道病毒均对人体肠道健康造成潜在威胁^[68]。

2.2 环境污染所致健康效应的机制研究

环境污染大多通过氧化损伤和炎症性反应引起机体多种疾病的发生,然而越来越多的研究发现环境污染还通过调节机体肠道内微生物的结构和代谢而对机体产生不同影响。

2.2.1 大气颗粒物

通常认为大气颗粒物可经口暴露直接进入人体肠道或通过污染食物及饮水进入肠道,解剖学研究发现,颗粒物还可以通过呼吸道进入人体后经粘膜纤毛清除作用运送到肠道内^[69-71]。大气颗粒物可引起肠道氧化损伤和炎症性疾病发生,使肠粘膜通透性升高,肠道细胞内炎症细胞因子IL-6表达上调,以及细胞线粒体活性氧(ROS)释放和氧化剂依赖性NF- κ B活化^[72]。另外,大气颗粒物引起急/慢性肠道炎症反应发生的同时还会改变肠道微生物结构。当小鼠短期(7~14 d)暴露于PM₁₀时会发生肠粘膜通透性增加以及小肠中促炎细胞因子的分泌量明显上升,当长期(35 d)暴露于PM₁₀时,野生型129/SvEv小鼠和IL-10缺陷型(IL-10^{-/-})小鼠肠道内促炎细胞因子的表达均上升并且短链脂肪酸浓度和肠道微生物结构也均发生变化,但IL-10^{-/-}型小鼠的肠道疾病则较为严重^[73]。进一步研究发现,IL-10^{-/-}型小鼠接

受PM₁₀暴露后,肠道内拟杆菌、厚壁菌和疣微菌的相对含量均发生了明显变化。而肠道内短链脂肪酸含量与肠道菌群结构密切相关;PM₁₀暴露后小鼠肠道内的支链脂肪酸异丁酸和异戊酸浓度明显升高,并且异丁酸和异戊酸是缬氨酸、亮氨酸或异亮氨酸的降解产物,这些物质的浓度增加则提示了肠道环境和肠道微生物结构的改变;此外,大气颗粒物暴露后还导致丁酸的浓度降低,而丁酸是结肠和粘膜免疫细胞的必需脂肪酸,丁酸浓度的降低常与粘膜炎症性反应密切相关^[74-75]。

2.2.2 重金属

经口摄入的重金属可通过多种机制造成机体氧化损伤、肿瘤发生或遗传毒性,而肠道微生物对重金属在宿主体体内吸收、分布和代谢有重要的调节作用。

一方面,肠道微生物可能通过主动摄入或被动吸收而减少重金属对机体的伤害^[76-77]。肠道微生物还可以维持肠道屏障的完整性,并且肠道菌群及其代谢产物可以调节肠道内环境,包括pH值、氧化平衡和酶活性等,这些均对肠道抵抗重金属污染的能力产生影响^[78]。另外,肠道微生物还可以通过多种方式抑制重金属从肠道向外周血液或组织扩散。

例如,对无菌小鼠和正常SPF小鼠喂食氯化镉(CdCl₂)6周后取小鼠外周血和金属蓄积的主要器官组织(肝、脾、肾、大肠和小肠)进行重金属含量检测以及目标基因表达分析发现,无菌小鼠组织内镉含量是SPF小鼠的5~10倍,说明肠道微生物可以显著减少肠道重金属的生物利用度;正常小鼠肠道组织内的金属硫蛋白相关基因Mt1和Mt2相对表达量较低,则正常小鼠肠道内重金属不易被运送至外周血液,并且仅在镉暴露时特异性激活的氧化应激反应酶——血红素加氧酶-1(Hmox-1)在正常小鼠体内表达量也显著低于无菌小鼠^[79]。

另一方面,重金属污染暴露会引起机体内肠道菌群失衡,并有可能进一步影响消化道和整个肠道的内稳态。持续喂食小鼠CdCl₂或氯化铅(PbCl₂)8周后,发现小鼠肠道菌群结构发现了明显变化,毛螺菌属的数量显著下降而乳杆菌科和丹毒丝菌的数量则有所增加^[80]。相似的研究还发现,连续喂食小鼠CdCl₂3周后,小鼠肠道菌群的生长明显受到抑制,其中拟杆菌的生长抑制最为明显,并且益生菌中乳杆菌和双歧杆菌的比例也显著下降,同时还发现小鼠肠道内短链脂肪酸代谢的关键基因表达水平明显降

低,而炎性细胞因子 TNF- α 的表达量明显上升^[81]。

另外,值得注意的是肠道微生物可以通过调节机体对重金属的代谢能力,并作用于肠脑轴而影响儿童脑部的生长发育。流行病学研究认为汞中毒是儿童自闭症的环境危险因素之一,对自闭症患儿肠道菌群分析发现,其体内正常肠道菌群数量明显降低,而酵母菌和大肠杆菌的比例则显著升高,这2种肠道微生物会将不易被机体吸收的无机汞转化为极易吸收的甲基汞^[56,82]。

2.2.3 持久性有机污染物

持久性有机污染物(persistent organic pollutants, POPs)广泛分布于空气、土壤和水中,具有半衰期长和生物放大效应等特点,可以通过食物链和饮水对人体造成极大危害,并且能够影响肠道微生物结构,打乱肠道菌群稳态。多氯联苯(polychlorinated biphenyl, PCB)的经口暴露会使肠道菌群丰度明显降低,并且变形菌的比例下降^[83]。四氯二苯并呋喃(tetrachlorodibenzofurans, TCDF)经口暴露可导致小鼠肠道内丁酸代谢变化,从而使肠道内厚壁菌门/拟杆菌的比例改变^[84]。

此外,肠道菌群可通过自身代谢或发酵产生 POPs 的代谢产物而加重其对机体的毒性作用。多数 POPs 可以通过激活芳香烃受体(aryl hydrocarbon receptor, AhR)通路而导致肥胖或2型糖尿病等^[85]。多环芳烃(polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs)作为一种重要的 POPs,是一种强致癌物质并具有一定的内分泌干扰作用,通常经口进入人体,在肠道细胞和肝细胞内与 AhR 结合后干扰生物转化酶的活性^[86]。大多数 PAHs 若经过酶的活化,对消化道几乎没有毒性。然而人体肠道内有丰富的微生物菌群,通过自身代谢活动或代谢产物可以将 PAHs 转化为具有生物活性的代谢产物,尤其是类雌激素代谢产物,从而对机体造成毒性作用或内分泌干扰作用,并且这种转化作用在结肠内最为明显^[87]。普通 C57BL/6J 小鼠和芳香烃受体通路阻断(AhR^{-/-})小鼠进行比较,经 TCDF 喂食 5 d 后,普通小鼠在 AhR 依赖性菌群的作用下,法尼醇 X 受体(farnesoid X receptor, FXR)通路受到阻断,导致小鼠发生炎症性反应和代谢综合征,以及肝脏糖、脂异生和肝糖原分解^[84]。

3 总结与展望(Summarization and prospect)

综上所述,肠道微生物可以通过代谢或与宿主间的相互作用对肠道、免疫系统、心脑血管系统以及神经精神等多系统疾病起到调控作用,菌群紊乱及

异常代谢导致疾病发生发展或不良预后。近年来,越来越多的研究关注环境污染对肠道菌群的作用,及肠道菌群受到环境污染刺激后对主机体的生理功能的影响。随着环境毒理学和肠道微生物研究的不断深入,今后需要对环境污染引起肠道菌群紊乱所导致疾病的机制进行深入研究。随着高通量测序技术的日益成熟,宏基因组学、代谢组学和蛋白质组学等技术被越来越多地应用到肠道微生物研究中,然而针对肠道微生物开展的环境毒理学研究尚处于起步阶段,研究方法和手段亟待完善,将高通量测序技术应用其中,以更好地阐明环境污染对人体肠道菌群结构和功能的影响,以及其对人体健康的调控作用将成为必然趋势。

宏基因组学(Metagenomics)又称微生物环境基因组学,是指通过直接从样品中提取全部微生物 DNA 并构建文库,利用基因组学的研究方法研究全部微生物的遗传信息构成及群落功能。如今越来越多的研究通过该方法鉴别健康人群和疾病人群的肠道菌群结构差异,为肠道菌群结构与疾病的关系提供参考。因此,宏基因组学方法应更多地应用于毒理学研究,通过分析不同应答条件下肠道菌群的基因表型或特征是否与宿主疾病相关,或找出与宿主疾病相关的某些特异性基因,来达到了解肠道菌群变化对机体的调控作用的目的。

代谢组学(Metabonomics)是研究组织或细胞在某一特定时期内所有代谢产物的一门学科。肠道菌群作为人体内又一器官,可通过其代谢作用及代谢产物调节机体正常生理功能,帮助机体消化或通过产生某些代谢产物如短链氨基酸来补充机体营养或维持机体内稳态,因此将代谢组学应用于肠道微生物的研究已成为一项必不可少的技术和方法。在环境毒理学研究中,可应用代谢组学研究在不同环境刺激下,肠道菌群的整体代谢情况的改变,通过肠道菌群代谢产物的变化了解其结构和功能所产生的相应变化,以及肠道菌群变化后对机体的影响。

随着 Science 杂志建立肠道微生物专题,以及 Nature 和 Cell 等世界顶尖学术杂志相继对肠道菌群研究进行大量报道,越来越多的人关注肠道微生物与机体健康的关系。自 2003 年人类基因组计划完成以来,人类微生物组计划作为其延伸也受到越来越多的关注。多组学联用在肠道微生物研究中已成为必然趋势,通过这种快速、高通量、全面的结构功能和表型的分析方法可以帮助人类对肠道微生物在

环境因素刺激下的应答反应及调控作用有更全面、更深入的了解和认知。

通讯作者简介:董四君(1966-),男,博士,研究员,研究方向为环境毒理、环境防卫医学和肠道微生态等,发表学术论文60余篇。

参考文献(References):

- [1] Clemente J C, Ursell L K, Parfrey L W, et al. The impact of the gut microbiota on human health: An integrative view[J]. Cell, 2012, 148(6): 1258-1270
- [2] The Human Microbiome Project Consortium. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome [J]. Nature, 2012, 486(7402): 207-214
- [3] Qin J, Li R, Raes J, et al. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing [J]. Nature, 2010, 464(7285): 59-65
- [4] Xu J, Gordon J I. Honor thy symbionts [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2003, 100(18): 10452-10459
- [5] Lozupone C A, Stombaugh J I, Gordon J I, et al. Diversity, stability and resilience of the human gut microbiota [J]. Nature, 2012, 489(7415): 220-230
- [6] Benson A K, Kelly S A, Legge R, et al. Individuality in gut microbiota composition is a complex polygenic trait shaped by multiple environmental and host genetic factors [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2010, 107(44): 18933-18938
- [7] Reyes A, Haynes M, Hanson N, et al. Viruses in the faecal microbiota of monozygotic twins and their mothers [J]. Nature, 2010, 466(7304): 334-338
- [8] Lepage P, Leclerc M C, Joossens M, et al. A metagenomic insight into our gut's microbiome [J]. Gut, 2013, 62(1): 146-158
- [9] Hendrickson B A, Gokhale R. Clinical aspects and pathophysiology of inflammatory bowel disease [J]. Clinical Microbiology Reviews, 2002, 15(1): 79-94
- [10] Sartor R B. Intestinal microflora in human and experimental inflammatory bowel disease [J]. Current Opinion in Gastroenterology, 2001, 17(4): 324-330
- [11] Peterson D A, Frank D N, Pace N R, et al. Metagenomic approaches for defining the pathogenesis of inflammatory bowel diseases [J]. Cell Host & Microbe, 2008, 3(6): 417-427
- [12] Manichanh C, Rigottier-Gois L, Bonnaud E, et al. Reduced diversity of faecal microbiota in Crohn's disease revealed by a metagenomic approach [J]. Gut, 2006, 55(2): 205-211
- [13] Frank D N, Amand A L S, Feldman R A, et al. Molecular-phylogenetic characterization of microbial community imbalances in human inflammatory bowel diseases [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2007, 104(34): 13780-13785
- [14] Sokol H, Pigneur B, Watterlot L, et al. *Faecalibacterium prausnitzii* is an anti-inflammatory commensal bacterium identified by gut microbiota analysis of Crohn disease patients [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2008, 105(43): 16731-16736
- [15] Collins S M. A role for the gut microbiota in IBS [J]. Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology, 2014, 11(8): 497-505
- [16] Jeffery I B, O' Toole P W, Öhman L, et al. An irritable bowel syndrome subtype defined by species-specific alterations in faecal microbiota [J]. Gut, 2012, 61(7): 997-1006
- [17] Rajilić-Stojanović M, Biagi E, Heilig H G H J, et al. Global and deep molecular analysis of microbiota signatures in fecal samples from patients with irritable bowel syndrome [J]. Gastroenterology, 2011, 141(5): 1792-1801
- [18] Siegel R L, Miller K D, Jemal A. Cancer statistics, 2016 [J]. CA: A Cancer Journal for Clinicians, 2016, 66(1): 7-30
- [19] Chen W, Zheng R, Baade P D, et al. Cancer statistics in China, 2015 [J]. CA: A Cancer Journal for Clinicians, 2016, 66(2): 115-132
- [20] Wang T, Cai G, Qiu Y, et al. Structural segregation of gut microbiota between colorectal cancer patients and healthy volunteers [J]. The ISME Journal, 2012, 6(2): 320-329
- [21] Louis P, Hold G L, Flint H J. The gut microbiota, bacterial metabolites and colorectal cancer [J]. Nature Reviews Microbiology, 2014, 12(10): 661-672
- [22] Marchesi J R, Adams D H, Fava F, et al. The gut microbiota and host health: A new clinical frontier [J]. Gut, 2016, 65(2): 330-339
- [23] Round J L, Mazmanian S K. The gut microbiota shapes intestinal immune responses during health and disease [J]. Nature Reviews Immunology, 2009, 9(5): 313-323
- [24] Bouskra D, Brézillon C, Bérard M, et al. Lymphoid tissue genesis induced by commensals through NOD1 regulates intestinal homeostasis [J]. Nature, 2008, 456(7221): 507-510
- [25] Macpherson A J, Geuking M B, McCoy K D. Immunoglobulin A: A bridge between innate and adaptive immunity [J]. Current Opinion in Gastroenterology, 2011, 27(6): 529-533
- [26] Wang M, Karlsson C, Olsson C, et al. Reduced diversity in the early fecal microbiota of infants with atopic eczema

- [J]. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 2008, 121(1): 129-134
- [27] Verhulst S L, Vael C, Beunckens C, et al. A longitudinal analysis on the association between antibiotic use, intestinal microflora, and wheezing during the first year of life [J]. *Journal of Asthma*, 2008, 45(9): 828-832
- [28] Lee Y K, Mazmanian S K. Has the microbiota played a critical role in the evolution of the adaptive immune system? [J]. *Science*, 2010, 330(6012): 1768-1773
- [29] Wen L, Ley R E, Volchkov P Y, et al. Innate immunity and intestinal microbiota in the development of Type 1 diabetes [J]. *Nature*, 2008, 455(7216): 1109-1113
- [30] Giongo A, Gano K A, Crabb D B, et al. Toward defining the autoimmune microbiome for Type 1 diabetes [J]. *The ISME Journal*, 2011, 5(1): 82-91
- [31] Germansky K A, Leffler D A. Development of quality measures for monitoring and improving care in gastroenterology [J]. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*, 2011, 25(3): 387-395
- [32] Vijay-Kumar M, Aitken J D, Carvalho F A, et al. Metabolic syndrome and altered gut microbiota in mice lacking Toll-like receptor 5 [J]. *Science*, 2010, 328(5975): 228-231
- [33] Turnbaugh P J, Ley R E, Mahowald M A, et al. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest [J]. *Nature*, 2006, 444(7122): 1027-1131
- [34] Ley R E, Turnbaugh P J, Klein S, et al. Microbial ecology: Human gut microbes associated with obesity [J]. *Nature*, 2006, 444(7122): 1022-1023
- [35] Blaut M, Klaus S. *Intestinal Microbiota and Obesity* [M]. Garmen: Springer-Verlag, 2012: 251-273
- [36] Qin J, Li Y, Cai Z, et al. A metagenome-wide association study of gut microbiota in Type 2 diabetes [J]. *Nature*, 2012, 490(7418): 55-60
- [37] Cai L, Wu H, Li D, et al. Type 2 diabetes biomarkers of human gut microbiota selected via iterative sure independent screening method [J]. *PLOS One*, 2015, 10(10): e0140827
- [38] Perry R J, Peng L, Barry N A, et al. Acetate mediates a microbiome-brain- β -cell axis to promote metabolic syndrome [J]. *Nature*, 2016, 534(7606): 213-217
- [39] Wang Z, Klipfell E, Bennett B J, et al. Gut flora metabolism of phosphatidylcholine promotes cardiovascular disease [J]. *Nature*, 2011, 472(7341): 57-63
- [40] Wang Z, Roberts A B, Buffa J A, et al. Non-lethal inhibition of gut microbial trimethylamine production for the treatment of atherosclerosis [J]. *Cell*, 2015, 163(7): 1585-1595
- [41] Zhu W, Gregory J C, Org E, et al. Gut microbial metabolite TMAO enhances platelet hyperreactivity and thrombosis risk [J]. *Cell*, 2016, 165(1): 111-124
- [42] Rhee S H, Pothoulakis C, Mayer E A. Principles and clinical implications of the brain-gut-enteric microbiota axis [J]. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 2009, 6(5): 306-314
- [43] Shichita T, Sugiyama Y, Ooboshi H, et al. Pivotal role of cerebral interleukin-17-producing $\gamma\delta$ T cells in the delayed phase of ischemic brain injury [J]. *Nature Medicine*, 2009, 15(8): 946-950
- [44] Gelderblom M, Weymar A, Bernreuther C, et al. Neutralization of the IL-17 axis diminishes neutrophil invasion and protects from ischemic stroke [J]. *Blood*, 2012, 120(18): 3793-3802
- [45] Liesz A, Hu X, Kleinschnitz C, et al. Functional role of regulatory lymphocytes in stroke facts and controversies [J]. *Stroke*, 2015, 46(5): 1422-1430
- [46] Liesz A, Suri-Payer E, Veltkamp C, et al. Regulatory T cells are key cerebroprotective immunomodulators in acute experimental stroke [J]. *Nature Medicine*, 2009, 15(2): 192-199
- [47] Hu X, Li P, Chen J. Pro: Regulatory T cells are protective in ischemic stroke [J]. *Stroke*, 2013, 44(8): e85-e86
- [48] Benakis C, Brea D, Caballero S, et al. Commensal microbiota affects ischemic stroke outcome by regulating intestinal $\gamma\delta$ T cells [J]. *Nature Medicine*, 2016, 22(5): 516-523
- [49] Cryan J F, Dinan T G. Mind-altering microorganisms: The impact of the gut microbiota on brain and behaviour [J]. *Nature Reviews Neuroscience*, 2012, 13(10): 701-712
- [50] Barrett E, Ross R, O' Toole P, et al. γ -Aminobutyric acid production by culturable bacteria from the human intestine [J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2012, 113(2):411-417
- [51] Evrensel A, Ceylan M E. The gut-brain axis: The missing link in depression [J]. *Clinical Psychopharmacology and Neuroscience*, 2015, 13(3): 239-244
- [52] Nemani K, Ghomi R H, McCormick B, et al. Schizophrenia and the gut-brain axis [J]. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 2015, 56: 155-160
- [53] Adams J B, Johansen L J, Powell L D, et al. Gastrointestinal flora and gastrointestinal status in children with autism-comparisons to typical children and correlation with autism severity [J]. *BMC Gastroenterology*, 2011, 11(1): 22
- [54] Parracho H M, Bingham M O, Gibson G R, et al. Differences between the gut microflora of children with autistic

- spectrum disorders and that of healthy children [J]. *Journal of Medical Microbiology*, 2005, 54(10): 987-991
- [55] Finegold S M, Dowd S E, Gontcharova V, et al. Pyrosequencing study of fecal microflora of autistic and control children [J]. *Anaerobe*, 2010, 16(4): 444-453
- [56] Phillips M L. Gut reaction: Environmental effects on the human microbiota [J]. *Environmental Health Perspectives*, 2009, 117(5): A198-A205
- [57] Goldberg M. A systematic review of the relation between long-term exposure to ambient air pollution and chronic diseases [J]. *Reviews on Environmental Health*, 2008, 23(4): 243-298
- [58] Brunekreef B, Holgate S T. Air pollution and health [J]. *The Lancet*, 2002, 360(9341): 1233-1242
- [59] Ananthakrishnan A N, McGinley E L, Binion D G, et al. Ambient air pollution correlates with hospitalizations for inflammatory bowel disease: An ecologic analysis [J]. *Inflammatory Bowel Diseases*, 2011, 17(5): 1138-1145
- [60] Kaplan G G, Hubbard J, Korzenik J, et al. The inflammatory bowel diseases and ambient air pollution: A novel association [J]. *The American Journal of Gastroenterology*, 2010, 105(11): 2412-2419
- [61] Kaplan G G, Dixon E, Panaccione R, et al. Effect of ambient air pollution on the incidence of appendicitis [J]. *Canadian Medical Association Journal*, 2009, 181(9): 591-597
- [62] Kaplan G G, Tanyingoh D, Dixon E, et al. Ambient ozone concentrations and the risk of perforated and nonperforated appendicitis: A multicity case-crossover study [J]. *Environmental Health Perspectives (Online)*, 2013, 121(8): 939-943
- [63] Orazzo F, Nespoli L, Ito K, et al. Air pollution, aeroallergens, and emergency room visits for acute respiratory diseases and gastroenteric disorders among young children in six Italian cities [J]. *Environmental Health Perspectives*, 2009, 117(11): 1780-1785
- [64] Schwartz J, Levin R, Goldstein R. Drinking water turbidity and gastrointestinal illness in the elderly of Philadelphia [J]. *Journal of Epidemiology and Community Health*, 2000, 54(1): 45-51
- [65] Zanini B, Ricci C, Bandera F, et al. Incidence of post-infectious irritable bowel syndrome and functional intestinal disorders following a water-borne viral gastroenteritis outbreak [J]. *The American Journal of Gastroenterology*, 2012, 107(6): 891-899
- [66] Lun Z, Hai Y, Kun C. Relationship between microcystin in drinking water and colorectal cancer [J]. *Biomedical and Environmental Sciences*, 2002, 15(2): 166-171
- [67] Wade T J, Calderon R L, Sams E, et al. Rapidly measured indicators of recreational water quality are predictive of swimming-associated gastrointestinal illness [J]. *Environmental Health Perspectives*, 2006, 114(1): 24-28
- [68] Hsu B M, Chen C H, Wan M T. Prevalence of enteroviruses in hot spring recreation areas of Taiwan [J]. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 2008, 52(2): 253-259
- [69] Kreyling W, Blanchard J, Godleski J, et al. Anatomic localization of 24-and 96-h particle retention in canine airways [J]. *Journal of Applied Physiology*, 1999, 87(1): 269-284
- [70] Möller W, Häußinger K, Winkler-Heil R, et al. Mucociliary and long-term particle clearance in the airways of healthy nonsmoker subjects [J]. *Journal of Applied Physiology*, 2004, 97(6): 2200-2206
- [71] Vidgren M, Waldrep J, Arppe J, et al. A study of 99m technetium-labelled beclomethasone dipropionate dilaurylphosphatidylcholine liposome aerosol in normal volunteers [J]. *International Journal of Pharmaceutics*, 1995, 115(2): 209-216
- [72] Mutlu E A, Engen P A, Soberanes S, et al. Particulate matter air pollution causes oxidant-mediated increase in gut permeability in mice [J]. *Particle and Fibre Toxicology*, 2011, 8(1): 19
- [73] Kish L, Hotte N, Kaplan G G, et al. Environmental particulate matter induces murine intestinal inflammatory responses and alters the gut microbiome [J]. *PLOS One*, 2013, 8(4): e62220
- [74] Nicholson J K, Holmes E, Kinross J, et al. Host-gut microbiota metabolic interactions [J]. *Science*, 2012, 336(6086): 1262-1267
- [75] Salim S Y, Kaplan G G, Madsen K L. Air pollution effects on the gut microbiota: A link between exposure and inflammatory disease [J]. *Gut Microbes*, 2014, 5(2): 215-219
- [76] Morozzi G, Cenci G, Scardazza F, et al. Cadmium uptake by growing cells of gram-positive and gram-negative bacteria [J]. *Microbios*, 1985, 48(194): 27-35
- [77] Halttunen T, Collado M, El-Nezami H, et al. Combining strains of lactic acid bacteria may reduce their toxin and heavy metal removal efficiency from aqueous solution [J]. *Letters in Applied Microbiology*, 2008, 46(2): 160-165
- [78] Claus S P, Ellero S L, Berger B, et al. Colonization-induced host-gut microbial metabolic interaction [J]. *MBio*, 2011, 2(2): e00271-00210
- [79] Breton J, Daniel C, Dewulf J, et al. Gut microbiota limits heavy metals burden caused by chronic oral exposure [J].

- Toxicology Letters, 2013, 222(2): 132-138
- [80] Breton J, Massart S, Vandamme P, et al. Ecotoxicology inside the gut: Impact of heavy metals on the mouse microbiome [J]. BMC Pharmacology and Toxicology, 2013, 14(1): 62
- [81] Liu Y, Li Y, Liu K, et al. Exposing to cadmium stress cause profound toxic effect on microbiota of the mice intestinal tract [J]. PLOS One, 2014, 9(2): e85323
- [82] Adams J B, Romdalvik J, Ramanujam V S, et al. Mercury, lead, and zinc in baby teeth of children with autism versus controls [J]. Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A, 2007, 70(12): 1046-1051
- [83] Choi J J, Eum S Y, Rampersaud E, et al. Exercise attenuates PCB-induced changes in the mouse gut microbiome [J]. Environmental Health Perspectives (Online), 2013, 121(6): 725
- [84] Zhang L, Nichols R G, Correll J, et al. Persistent organic pollutants modify gut microbiota-host metabolic homeostasis in mice through aryl hydrocarbon receptor activation [J]. Environmental Health Perspectives (Online), 2015, 123(7): 679
- [85] Lee D H, Porta M, Jacobs D R Jr, et al. Chlorinated persistent organic pollutants, obesity, and Type 2 diabetes [J]. Endocrine Reviews, 2014, 35(4): 557-601
- [86] Marinković N, Pašalić D, Potočki S. Polymorphisms of genes involved in polycyclic aromatic hydrocarbons' biotransformation and atherosclerosis [J]. Biochemia Medica, 2013, 23(3): 255-265
- [87] Van deWiele T, Vanhaecke L, Boeckert C, et al. Human colon microbiota transform polycyclic aromatic hydrocarbons to estrogenic metabolites [J]. Environmental Health Perspectives, 2005, 113(1): 6-10 ◆