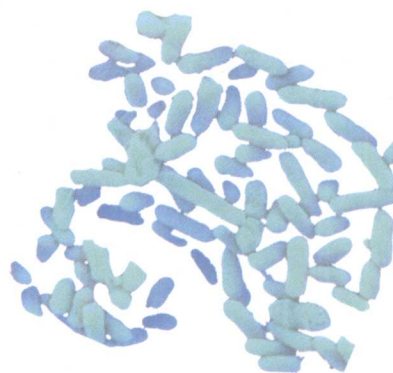


“十一五”国家重点图书出版规划



应用生物技术大系

Comprehensive Series of Applied Biotechnology



肠道微生态制剂与 消化道疾病的防治

主 编 熊德鑫

副主编 姚玉川

Intestinal Microecological Preparations
and the Treatment of Digestive Tract Diseases



科学出版社

www.sciencep.com

应用生物技术大系

肠道微生物制剂与消化道 疾病的防治

Intestinal Microecological Preparations and the Treatment
of Digestive Tract Diseases

主 编 熊德鑫

副主编 姚玉川

科 学 出 版 社

北 京

内 容 简 介

这是我国第一本系统地介绍微生物生态学理论与肠道微生态制剂临床应用的专著。书中较详细地介绍了微生物学与消化内科形成交叉学科的基本情况,提出了有关消化道疾病产生的机制,防治方法及使用益生剂的生物防治全新观念,并将国内外尤其是欧美发达国家使用益生剂防治腹泻、IBS、IBD、HP 及相关疾病和消化道肿瘤的宝贵经验介绍给医学界同仁,以提高我国的诊治水平,更好地为患者服务。

本书可作为从事医学微生物学、微生物学、免疫学、病理学,尤其消化道内科基础和临床研究人员及医学院校的师生、科研人员的参考书。

图书在版编目(CIP)数据

肠道微生态制剂与消化道疾病的防治/熊德鑫主编. —北京:科学出版社, 2008

(应用生物技术大系)

ISBN 978-7-03-021830-8

I. 肠… II. 熊… III. 微生物-制剂-应用-消化系统疾病-防治-研究
IV. R37 R57

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2008)第 062026 号

责任编辑:罗 静 沈晓晶/责任校对:钟 洋
责任印制:钱玉芬/封面设计:耕者设计工作室

科学出版社出版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

源海印刷有限责任公司印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2008 年 8 月第 一 版 开本:787×1092 1/16

2008 年 8 月第一次印刷 印张:18 1/2

印数:1—2 000 字数:421 000

定价:65.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换〈环伟〉)

本书编委会

主 编 熊德鑫

副主编 姚玉川

编 委 (以姓氏笔画为序)

王立生 吴承堂 罗育其

郑跃杰 姚玉川 熊德鑫

前 言

由陈灏珠先生等于 20 世纪 50 年代主编的《实用内科学》出版以来，转眼过去了五十多年，他们培养了一代又一代医学接班人，可谓功载千秋。

由于医学科技发展异常迅猛，内科消化系疾病的研究也进展迅速，尤其是受交叉学科的渗透，更是对发病机制及防治提出了许多新的理念。目前，消化系统疾病的防治几乎有 1/3 使用生物防治——益生剤防治。也就是说微生态学作为一门交叉学科几乎完全渗透到内科学中，成为消化内科防治疾病的重要手段之一。因此，了解微生态学知识对消化科临床医师来说已是件刻不容缓的大事。加之医学科技事业发展日新月异，作为国内微生态学研究的学者群体，我们深感很有必要将肠道微生态制剂在防治腹泻等消化道疾病方面的情况介绍给临床工作者，更应将世界发达或先进国家应用微生态制剂防治消化道疾病，包括腹泻、IBS、IBD、HP 及相关疾病的防治应用概况尽快地介绍给国内医学界的同仁，以扩大思路，保证临床诊疗措施的先进性和科学性。于是我们编写了《肠道微生态制剂与消化道疾病的防治》一书，供广大医务工作者及医学专业学生在学习和临床实践中参考。由于时间仓促，加之我们知识浅薄，书中不足及错误之处还望智者指正。

我们作为国内一代微生态学研究工作者群体，愿为推动微生态制剂更广泛地应用于临床而贡献我们微薄的力量，为人类的健康事业服务。

熊德鑫

2008 年 1 月于北京

目 录

前言

第一章 肠道微生物学与微生态制剂	1
第一节 微生态学概述	1
第二节 肠道微生态学简介	1
第三节 肠道正常菌群的来源	2
第四节 肠道微生态制剂	3
第五节 几个与肠道微生态学有关的名词和肠道微生态学研究简况	4
第六节 肠道菌群分子生态学研究近况简介	9
主要参考文献	18
第二章 肠道菌群及其免疫调节机制	20
第一节 胃肠道菌群概述	20
第二节 免疫系统概述	22
第三节 肠道黏膜免疫系统	24
第四节 肠道菌群对肠道免疫系统的作用：无菌动物	28
第五节 肠道菌群对周围免疫系统的作用：无菌动物	33
第六节 肠道菌群对普通动物免疫系统的作用	36
第七节 肠道有益菌对体外免疫细胞的直接作用	39
第八节 益生菌免疫调节的临床研究	43
主要参考文献	46
第三章 肠道重要原籍菌——双歧杆菌的研究进展	50
第一节 双歧杆菌的黏附作用	50
第二节 双歧杆菌黏附后的生理效应	54
第三节 双歧杆菌的免疫激活作用	56
第四节 双歧杆菌的免疫耐受	58
主要参考文献	61
第四章 肠道微生态制剂与生物治疗方法的质量控制和调控问题	63
第一节 肠道微生态制剂——益生剂和益生原、合生原和生物治疗方法(BTA)	63
第二节 生物治疗方法、食品添加剂、功能食品、保健食品等几个基本概念介绍	64
第三节 从微生物研制成生物药品	66
主要参考文献	72
第五章 益生剂和作用机制的研究进展	75
第一节 概述	75
第二节 益生剂和防治机制的研究概况	76
第三节 伯拉德酵母菌作用机制的研究	80

第四节 肠道微生态的作用和影响	85
主要参考文献	93
第六章 益生剂的药理学研究	95
第一节 伯拉德酵母菌的药理学	95
第二节 乳酸菌的药理学	100
第三节 双歧杆菌的药理学	103
第四节 益生剂调节胃肠道菌群的机制研究	109
主要参考文献	113
第七章 益生剂在防治腹泻及其相关疾病中的应用	115
第一节 感染性腹泻的生物防治	115
第二节 其他有关腹泻的相关性疾病	121
第三节 抗生素相关性腹泻的防治	127
主要参考文献	134
第八章 益生剂在 IBD 防治中的应用	135
第一节 炎症性肠病	135
第二节 益生菌概述	150
第三节 益生菌与炎症性肠病	156
主要参考文献	175
第九章 益生剂在肠易激综合征防治中的应用	178
第一节 肠道菌群在 IBS 发病中的作用	178
第二节 肠易激综合征临床表现和诊断	181
第三节 益生剂在 IBS 治疗中的应用	182
主要参考文献	184
第十章 益生剂在防治 HP 感染及相关疾病中的应用	187
第一节 幽门螺杆菌与胃炎	187
第二节 幽门螺杆菌及慢性胃炎	191
第三节 幽门螺杆菌与消化性溃疡	192
第四节 幽门螺杆菌与胃癌	196
第五节 关于幽门螺杆菌的防治	198
第六节 益生剂在防治 HP 感染相关疾病中的应用	201
主要参考文献	205
第十一章 益生剂在防治消化道肿瘤方面的应用现状与进展	209
第一节 消化道微生物构成、功能及其研究方法	209
第二节 胃肠道微生物的致癌机制	217
第三节 生物治疗制剂对消化道肿瘤的防治作用	222
第四节 展望	230
主要参考文献	230
第十二章 益生剂在儿童过敏性疾病防治中的作用	232
第一节 过敏性疾病的发病机制	232

第二节 过敏性疾病的流行病学与“卫生学说”	233
第三节 过敏性疾病中的肠道菌群紊乱	234
第四节 益生剂对过敏性疾病的临床防治研究	235
第五节 肠道菌群在过敏性疾病发病中的实验研究	235
第六节 展望	236
主要参考文献	237
第十三章 胃肠黏膜与相关疾病中微生态制剂防治应用进展	239
主要参考文献	243
第十四章 益生剂、益生原（生态营养）及合生原制剂	244
第一节 益生剂	244
第二节 益生原	252
第三节 生态营养	258
第四节 合生原	263
主要参考文献	265
第十五章 益生剂的风险和未来	268
第一节 生物治疗的风险简述	268
第二节 生物治疗剂未来的研究方向	271
第三节 乳酸杆菌的生理学	279
主要参考文献	283

第一章 肠道微生物学与微生态制剂

Intestinal Microecology and Microecological Preparations

熊德鑫 解放军总医院第一附属医院

第一节 微生物学概述

生态学“ecology”一词来源于希腊文，由 oikos 和 logos 两个词汇组合而成，oikos 是指居住之地，而 logos 是指论述或综述，两者相叠加便成为“ecology”。1866 年由 Haeckel 提出这个术语，当时定义为研究生物有机体与其无机环境之间相互关系的科学。1907 年 Shelford 将这个词定义为“有机体的生活要求和种属的习性的综合”。到 20 世纪 60 年代，Odum 将生态学定义为“种属和群落的生物学”，到 1972 年 Krebs 又将其定义为“决定生物分布和数量相互作用的科学研究”。我国生态学家马世骏于 1979 年提出“生态学是一门多学科性的生态科学，它是研究生命系统与环境系统之间的相互作用规律及其机制的科学”。说得通俗点，生态学是描述生物与生物，生物与环境所构成的相互依赖、相互作用客观规律的科学。微生物学（microecology）是 1977 年由 Volker Rush 博士提出来的，并且他在德国建立了第一个微生态研究所。Rush 对“微生物学”一词的定义是“研究正常微生物群与宿主相互关系的生命科学分支，是微观层次的生态学，即细胞或分子水平的生态学。”

而研究肠道正常微生物群与宿主或与微生物构成相互作用、相互依赖规律的科学就称为肠道微生物学。它是生态学的微观层次的研究领域，属于细胞或分子生态学。

第二节 肠道微生物学简介

肠道微生物学是胃肠生态学微观层次的研究领域，是细胞或分子水平的生态学，也是多学科的一个边缘交叉学科。其研究的主要内容是肠道正常微生物群与宿主和环境构成的相互作用、相互制约的微生物系客观规律，其侧重是微生物系对宿主的生态效应。其研究手段既包括细胞学及分子生物学技术，也包括共生生物和无菌生物技术。近几年的研究成果证明，离开肠道微生物学，对消化道生理、病理学的研究其结论必定是不完整的，也是不科学的或不准确的。

首先从肠道正常菌群的重量来说，胃肠道表面所携带正常菌群的重量差不多有 1kg，相当于最大消化腺——肝的重量，且其生理作用丝毫不逊于肝，它们既参与机体代谢的全过程，又参与许多肠道毒物的分解、消化过程，与宿主健康状态休戚相关。

再从肠道菌群的细胞数量来看，以人体身上每 100 个细胞计算，99 个为微生物细胞，只有 1 个是体细胞。由此美国哥伦比亚大学南特尔教授曾讲过：“人类和动物体的

生理参数，很少不因内源性细菌存在而受到某种程度的影响。”

现在讲肠道微生物生态学，我们以胃肠道为例。1g 肠道内容物差不多含有 1000 个菌种，其细菌总重量也约有 1kg，总数量差不多是地球人数的 2 万倍以上。在显微镜下，这些肠内细菌丛宛若花草丛生的菌际社会。尤其是肠道正常菌群，它不仅具有数量或重量的优势，而且在生理作用方面也左右着宿主的个体健康。以结肠为例，过去认为它仅仅是“藏污纳垢”的地方，是粪便储存的“下水道”，但肠道微生物学研究证明：它是正常微生物群滋生繁衍最重要的场所，是人体微生态中一片生机勃勃的绿洲，相当于地球上的“肺”——重要“湿地”生境。如此庞大的肠内细菌可以充分利用人体经初步消化后的食物残渣，进行十分复杂的发酵工程等生化活动，这样它们在人体的代谢、营养、免疫功能发育和成熟、定植抗力，以及延缓衰老、抗癌症、抗感染等诸多方面都发挥了巨大的作用。可见对消化道功能的认识，尤其是对消化道疾病的防治的前提是了解肠道微生物生态学知识。肠道菌群与人体健康休戚相关，不仅表现在参与人体代谢方面，而且它对人体肠内毒素的处理也具有重要的意义。肠内毒素大致上由两部分构成，一类是肠内腐败菌利用蛋白质及脂肪类发酵后产生的剧毒代谢物，如酚、吲哚、吡咯、尸毒素等；另一大类是肠道主要腐败菌革兰氏阴性菌自溶的细胞壁成分——内毒素（即脂多糖）。一旦肠道通透性增加，上述毒素便进入血液或侵入淋巴管中，随即经循环而至全身细胞或组织，造成胃肠中毒及老化，进而引起机体重要脏器衰竭，引发多脏器功能衰竭或者引发各种慢性病甚至癌症。

肠道正常菌群在生态平衡时维护宿主健康，生态失调时则患病。肠道微生态系统是肠道正常微生物群与胃肠环境以及宿主构成相互制约、相互作用的统一体。可见肠道微生态系统与宿主胃肠道患病或健康密切相关，因此不了解肠道微生物生态学，就不能很好的防治消化道疾病。

第三节 肠道正常菌群的来源

人和哺乳动物出生前都是无菌的，出生后来自母亲的产道、周围环境和空气中的细菌在 2~3h 内就开始在新生儿的肠黏膜定植。开始是肠球菌和大肠杆菌，随后是梭杆菌、酵母菌、葡萄球菌、链球菌和乳杆菌。喂养方式影响肠道菌群的定植顺序，如人工喂养儿的肠道内第一天就有大肠杆菌、肠球菌及消化链球菌；母乳喂养儿的第一天双歧杆菌就定植在肠黏膜，乳杆菌第二天定植，类杆菌和酵母菌则第四天才定植；而人工喂养儿双歧杆菌要到第六天才定植，类杆菌第十一天才定植，乳杆菌和酵母菌第十三天定植，而梭杆菌第十四天定植。可见一个人肠道正常菌群的建立大约需要 7~14 天完成。

人的一生一般要经历两次正常微生物群的演替过程，第一次是从出生到第 1~2 周左右，肠道从无菌到有菌，从最初出现的需氧菌与兼性厌氧菌占优势的状态转化为专性厌氧菌占优势，这个转变时期也是正常菌群定植时期，这个时期完成以后，菌群就趋于稳定，形成具有婴幼儿特点的肠道菌群；第二次演替是从乳喂养到混合喂养，尤其是向成人饮食转型，肠道菌群会发生大的变动。成人肠道菌群是相对稳定的，一般因患病或用药才会发生变动。但是随着宿主进入老年期，肠道菌群也会发生变化，这种菌群的改变也会加速宿主的老化，从而形成一个恶性循环。人们抗衰老的另一途径就是使衰老的

恶性循环向良性循环转化。

第四节 肠道生态制剂

一、定义

肠道生态制剂是指生产菌种选自胃肠道优势种群，经微生态和生物工程制备，能顺利地通过人的生物屏障，通过改善消化道微生态平衡或酶平衡从而防治消化道相关疾病的微生物制剂。

二、益生剂的概念

益生剂的概念开始由诺贝尔奖得主——俄国著名微生物专家梅杰尼可夫 (Metchnikoff) 1906 年首先提出的“肠道菌有益论”的理论发展而来。早期人们使用的微生态制剂被称为微生态调节剂，或称为微生态制品，直到 1965 年首先由勒利 (Lilly) 和斯迪维尔 (Stillwell) 使用益生剂 (probiotics)* 一词。它源于拉丁文，pro 与英文中 pro 类似，即有助于或有益于；bio 与英文中 life 类似，即生命的或生物的；tics 有制剂的含义。

1965 年由勒利等提出益生剂是一种微生物物质，它能刺激另一种微生物的生长，其反义词为抗生素 (antibiotics)。到 1971 年，Sperit 提出益生剂 (probiotics) 是能够促进微生物生长的组织提取物，而这一描述并未被普遍接受。直至 1989 年，由著名的生态学家富勒 (Fuller) 提出益生剂的定义后，益生剂一词才被普遍接受。益生剂是一种通过改变肠道微生态平衡或酶平衡，从而对宿主发挥有益作用的口服的活的微生物。富勒定义中有两个基本要素，一是强调微生物菌体作为益生剂的基本成分的重要性，二是强调益生剂必须对宿主产生有益的作用，其主要机制包括改善微生态和酶的平衡。1992 年，哈维拉尔 (Havenr) 和维立特 (Veld) 对益生剂的定义作了补充，给出“补充单一或混合培养的活菌，通过改善原籍菌的特性而对宿主产生有益的作用”的定义，指出原籍菌的重要性。它参与定植抗力或生物屏障的构建，抵御外来菌在体内定植和增殖，对机体无害，是有益的、必需的。这种定义比以前的定义又进了一步。1996 年阿拉莫 (Arameo) 进一步确定了益生剂的定义：益生剂是含生理性的活菌或死菌 (包括其组分和代谢产物)，经口服或由其他途径摄入，旨在改善黏膜表面的微生物或酶的平衡，或刺激机体特异性或非特异性免疫机制，提高机体的定植力或免疫力的微生物制剂。阿拉莫的定义较全面地肯定了益生剂的机制：既包括微生态平衡又包括酶平衡，尤其是包括免疫学机制以及定植抗力；此定义还提出了益生剂不仅是对活菌有作用，对一些食品添加剂死菌或代谢产物也起到一定的生理作用。此定义比较全面但准确性不够，尤其是无法与保健食品相区别，即定义范围太广。直至 2001 年 10 月由世界卫生组织和联合国粮食与农业组织 (WHO/FAO) 有关益生剂研究专家在阿根廷的科尔多瓦

* 国内这个释词也不统一，我个人认为还是应该统一，按魏曦和刘秉阳教授 (两位中国微生态学开创和研究的先驱者) 的意见，将“probiotics”译为益生剂较为妥当或较为确切。希望国内同行可以统一这个词的译法，译为益生剂，不再将此词译成益生菌或益生素。

召开了第一届关于益生菌营养和保健功能的评价的会议,并对“probiotics”益生菌这个词进行了重新定义:益生菌是指摄入一定数量,对宿主健康产生有益作用的活的微生物制剂。这可能还不是最后的定义。这一定义中有两大要素:①限定只包括活菌,一切不是活菌的制剂都不能作为益生菌,但可以称为其他保健品或食品添加剂;②摄入足够剂量,对宿主健康产生有益作用。换句话说:益生菌必须是活的微生物制剂,此外还强调需摄入一定数量才能表现其效果,即摄入数量不够也可能不表现稳定的临床效果。此定义简洁明了,为世界上绝大多数微生态研究工作者所接受,其突出了作为微生物活菌的重要性,以区别其他制剂,还突出了活菌数量与效果密切相关,指出制剂发挥作用的关键和本质问题。

第五节 几个与肠道微生态学有关的名词和肠道微生态学研究简况

一、生物疗法

最近许多消化道疾病的防治文献上常出现这个词汇,即 biotherapeutic agent——BTA,根据其意应译为生物治疗方法(生物疗法),国外也出版了这方面的专著,如 Cary Welmer 等(1999)的“*Biotherapeutic Agents and Infectious Diseases*”,即《传染性疾病与生物疗法》,因此引进这个词到国内并注明其含义是很有必要的。

生物治疗剂是通过与宿主的天然微生态系统相互作用,且可用作保护和治疗人类疾病的一类活的微生物制剂。而生物疗法是指利用生物制剂,包括血清、疫苗等,尤其是益生菌(如肠道生态制剂)来防治相关疾病的方法。

生物疗法是人们与传染病等病原菌斗争过程中开辟的新的策略和思维。众所周知,许多疾病包括一些传染病的治疗和控制的难点,一方面是耐药菌增多与条件致病菌的感染率增加;另一方面,由于新的病原微生物出现,或耐新抗生素的病原菌产生,因此不仅要加大抗生素用量,而且必须不断地开发新的抗生素。但是无论人类怎样努力,开发新的抗生素的速度总是赶不上细菌产生耐药的速度,因此另辟新径已经刻不容缓。在欧美,20世纪60年代就开始系统研究微生物对致病菌的拮抗作用。被选育的微生物本身是无毒无害的,它除了激活患者的免疫机制来拮抗病原体,或本身就可拮抗病原微生物而不产生耐药菌之外,必须还有另一重要特点,即见效快。疫苗等生物制品一般需要数周才能起作用,而益生菌可立即起作用。另外益生菌还可以单独或联合抗生素一起使用,选择使用妥当,效果倍增。

二、肠道微生态学研究概述

1. 胃肠黏膜与菌群概述

现在我们都知道人类胃肠道约有 300m^2 的黏膜表面,种植的上万种不同种群约 $10^{13} \sim 10^{14}$ 个细菌。在胃肠道不同部位,细菌的定植取决于肠道的 pH、蠕动、组织中的氧化还原能力、细菌黏附、细菌协作、黏膜分泌型抗体、营养的有效利用率、饥饿以及细菌拮抗。革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌、需氧菌、厌氧菌的微生物区系已经通过种植的方法被广泛研究,结果表明部位不同区系分布各异。由于肠蠕动和胃酸的抗微生物作

用,正常的胃和近端小肠仅含有相当少量的细菌。完整的回盲瓣对于阻挡结肠的细菌反流入回肠起到了非常重要的屏障作用。肠道微生物在胃肠道的生理、病理过程中起到重要的作用。一定数量的细菌对于胃肠道黏膜免疫系统的形成、正常的生理环境的稳定以及必要营养的提供都是非常必要的。培养技术证实食谱的改变对于肠道微生物分布的影响是微不足道的。更多的最新分子生物学技术证实食谱可以改变微生物区系的分布,但是占主导地位的菌群不会发生实质性的改变。与之形成对比的是抗生素可以显著地改变肠道微生物的分布。

2. 人类微生物区系与宿主交互作用生理学

正常的胃肠道微生物对于宿主的生理过程是非常必要的。胃肠道微生物在营养过程、免疫功能以及广泛的其他宿主活动中起着非常重要的作用。这些其他的宿主活动部分将在下文详细说明。巴斯德(1822~1895)曾提出肠道微生物可能在食物的消化中扮演十分必要的角色。现在我们知道细菌隐藏着独特的代谢能力,这些能力可以使其他一些难于利用的营养物质被代谢。肠道微生物提供各种酶,它们可以作用于内源性的底物或食物成分,例如,利用纤维素生成短链脂肪酸,以及其他一些必要的可以被宿主吸收的物质。宿主与细菌的相互作用被定义为共栖,从代谢能力中得到特定的物质。细菌也生产大量的可供宿主利用的维生素,特别是B族维生素。

微生物对于潜在的病原体移植具有抵抗作用,这些潜在的病原体在居留菌区难以获得营养。自身的或是本地的微生物在胃肠道特定的栖息地定植。然而在不正常的情况下,自身的或是本地的细菌仅仅定植在特定的区域。正常的菌群通过释放代谢废物(如细菌素和具有抗菌活性的大肠菌素)来阻止外来种群或是潜在的致病源的移植。致病性关系都会导致对宿主的损伤。大部分的致病微生物都是外源性的。然而,生态系统的一些自身的菌群同宿主和谐相处,当系统被打破时就会成为致病原。抗生素疗法可以显著地减少正常菌群,宿主会受到复发的致病原或是正常存在的少量的微生物的大量繁殖的侵扰。一个著名的例子就是用克林霉素治疗后,梭状芽孢杆菌过度增殖从而导致伪膜性结肠炎。

已经知道,微生物因子可以影响宿主出生后的生长发育。出生后早期的共栖性获得不仅对于自身而且对于其他的抗原的免疫耐受的发育都是非常必要的。T细胞与B细胞免疫应答的发育依赖于微生物区系。针对正常胃肠道微生物抗原产生的天然抗体在大量的致病原免疫中非常重要。肠道淋巴滤泡中的Ig基因的高频突变在调控微生物区系的分布中起着关键性的作用。

微生物区系参与了胆汁酸的代谢。在结肠中,细菌酶将胆酸、鹅脱氧胆酸分别转化为次级胆酸:脱氧胆酸和石胆酸。它们很少被重吸收,大部分随粪便排出体外。在小肠细菌过度增殖的患者中,胆酸在小肠中进一步分解,从参与正常的肠肝循环中移除,导致胆酸的吸收不良和脂肪泻。脂肪泻被定义为在粪便中过度地丢失脂肪,如24h超过7g或是超过摄入量的9%。

通过对比常规饲养动物和野生动物的特性,人们了解到正常肠道菌群的功能。在野生动物的小肠内,固有层白细胞浸润明显减少,派尔集合淋巴结的大小减小,数目也显著减少。而且,肠内pH越高,减少的潜能就越明显。同常规饲养动物相似,野生动物肠道在黏膜生理学炎症快速形成后会发生单一菌株的增殖。移动性复合运动是禁食时出

现的一种能动性循环方式,对近端小肠细菌的过度增殖有重要的机械调控作用。肠道微生物区系存在时肠道能够缓慢移动。在对野生大鼠肌电活动测定中发现,对肠道移动复合运动是促进还是抑制取决于微生态区系相关的种群中厌氧菌的无氧代谢的功能,它对于小肠的规则峰电活动是一种促发因子。梭状芽孢杆菌、嗜酸性乳酸杆菌、双歧杆菌等具有发酵能力的细菌诱导进入野生型大鼠的胃肠道可明显缩短移动性复合运动的运动周期,加速小肠的蠕动。与之相对照,那些具有呼吸功能的细菌(如微球菌、放线菌和大肠埃希杆菌等)进入野生型大鼠的胃肠道则会延长移动性复合运动的运动周期。肠道微生物区系在饥饿时可以加速肠蠕动,而不会改变对食物的肠道肌电反应。总之,常规肠道微生物区系对移动性复合运动的促进作用反映了带有一定负面效应的细菌种群的网络效应。

三、各生境中正常菌群和过路菌概述

(1) 口腔、口咽部与食道正常菌群和过路菌

口腔和口咽部寄居着革兰氏阳性和革兰氏阴性的微生物。大部分种群为链球菌、奈瑟氏菌、韦荣氏球菌,也存在少量的梭状杆菌、类杆菌、乳酸杆菌、葡萄球菌、酵母菌、肠杆菌等。食道被覆鳞状上皮层,是混有黏液和唾液的机械屏障,其内含有产生分泌型免疫球蛋白的细胞,所有这些构成了防止感染的屏障。但是由于解剖和生理的缺陷,细菌可以通过食物吞咽、口腔微生物的移位、胃内反流而入侵食道。拥有大面积黏膜、富含细菌种群、位于口咽的下游,这些都使得食道为细菌移位提供了一个潜在的微环境。但是到目前为止,人们在食道方面完成的研究非常有限。最近的一个关于食道远端的微生物分类分析表明,其中链球菌占 39%,普雷沃菌占 17%,韦荣氏球菌占 14%,而且证明大部分食道细菌与上游口腔微生物相似或稍有区别。大量的培养研究表明,需氧微生物始终存在,专性厌氧菌只占 80%。在不同的研究项目中没有发现细菌在构成和定位频率上有何不同。

过路菌的致病原是一种通过直接接触或感染另一种生物而使其致病的微生物。因此,那种仅有致病毒素而无微生物存在的情况也不能称可致病原。当宿主防御机制下降,或是共栖微生物进入身体无菌区,这些共栖微生物会变得有致病性。那些具有免疫缺陷的患者的食道会感染白色念珠菌、巨细胞病毒、单纯疱疹病毒、荚膜组织胞浆菌、鸟分枝杆菌以及隐孢子虫病。这些微生物通常在免疫功能正常的人身上很少见到。除了分枝杆菌外,涉及食道远端的炎症细菌病因学还未被研究。食道分枝杆菌感染极为少见(仅占 0.14%),主要出现在继发性肺结核免疫力减弱和免疫活性低的宿主。

(2) 胃十二指肠正常菌群与过路菌

正常菌群区系

人的胃被覆柱状分泌上皮。因为胃内的低 pH 水平(高酸)使得正常的胃内的大部分细菌被杀死,被检测到的典型数量不到 10^3 cfu/ml,乳酸菌通常可以从人类胃内容物中分离,尤其是应用厌氧菌技术。念珠菌和其他一些酵母菌属也可被检测到。与胃内容物分离的细菌被认为是短暂的细菌。这些细菌多是从胃的栖息区而来或是在摄入物质中存在的。胃内的正常寄生微生物包括主要的革兰氏阳性需氧菌,如链球菌、葡萄球菌、

乳酸杆菌。从肠内容物分离的微生物主要种群包括：乳杆菌、链球菌、双歧杆菌、梭状芽孢杆菌、韦荣氏球菌、葡萄球菌、放线菌、白色念珠菌、溶组织杆菌、奈瑟氏球菌、微球菌和脲支原体属等。当酸度生理性减少时，如在夜间，复合型运动的Ⅰ期（运动静止期），在禁食的患者肠内容物中也可以使用培养基分离大量肠球菌、假单胞菌、链球菌、葡萄球菌和罗氏菌（口腔球菌）。

过路菌区系

与上皮密切相关并黏附到上皮的细菌，如幽门螺旋杆菌，极难从胃内取样。幽门螺旋杆菌是一种革兰氏阴性细菌，寄居在靠近胃上皮的黏膜层下。通常幽门螺旋杆菌在人10岁前极少能被检测到，而在18~30岁的人群中检测率增加到10%，在超过60岁的人群中增加到50%。在发展中国家，大部分儿童在10岁前感染幽门螺旋杆菌，而在50岁以下的成人中流行，可达到80%以上的感染高峰。幽门螺旋杆菌感染范围与年龄和社会经济的差异有关。幽门螺旋杆菌可以产生尿素酶，它可以降解尿素为氨和碳酸氢盐。氨可以提供一种碱性环境，保护细菌免受胃酸的损伤。大多数的感染患者没有幽门螺旋杆菌感染的症状。然而，幽门螺旋杆菌可以导致症状明显的急性胃炎，如上腹部疼痛、胃气胀、恶心、呕吐和（或）慢性肠炎，而且也可能与溃疡性疾病和胃肿瘤有关。

除了幽门螺旋杆菌外，其他的胃细菌仅仅在胃酸减少（无盐酸症）的患者中明显可见。无盐酸症可以发生在老年人身上。细菌在胃腔内的定居通常发生在那些应用抗胃酸分泌的药物的患者身上，很多患者都在规则地应用这些抗分泌药物。胃酸受抑制可以允许细菌在胃内生存，这将导致依赖pH增高的胃细菌过度增殖。感染性胃炎很少由结核分枝杆菌、鸟分枝杆菌、放线菌、梅毒螺旋体导致。

（3）小肠正常菌群区系与过路菌区系

正常菌群区系

小肠由近端、中端、远端构成，分为十二指肠、空肠、回肠。小肠腔内容物的流速从十二指肠至回肠依次减慢。小肠中分离出来的细菌包括从小肠上游栖息部位（如口腔）下降而来的和随食物摄入的。禁食期，在小肠的复合型运动作用下细菌同食糜一起通过小肠。复合型运动的内源性助消化活性可以阻止结肠细菌进入远端小肠，这些细菌可以导致小肠细菌过度增殖。从小肠分离出的微生物种群有乳杆菌、链球菌、双歧杆菌、梭状芽孢杆菌胶性菌属、类杆菌、韦荣氏球菌和其他革兰氏阴性无芽孢厌氧菌、葡萄球菌、放线菌属、酵母菌、白色念珠菌、嗜血菌等。微生物密度在远端小肠增加，小肠的上2/3处（十二指肠和空肠）仅包含少量大致相同的微生物，约为 $10^3 \sim 10^5$ cfu/ml。培养研究提示耐酸厌氧型革兰氏阳性种群（如乳酸杆菌、链球菌）控制着上端部位。而越靠近远端，革兰氏阴性菌逐渐增加而占统治地位。Whipple病又称为肠原性脂肪代谢障碍症，它是一种由 *Tropheryma whippelii* 导致的少见的多系统细菌感染疾病。虽然数十年来因为培养方法等原因而没有从小肠直接培养出来，而是通过组织病理学被诊断的，但今天可以从十二指肠和粪便标本中通过PCR技术或核蛋白体RNA技术检测到 *Tropheryma whippelii*。盲肠起始端的切片上有丰富的微生物，发现它们通过回盲瓣返回回肠。回肠的微生物开始和结肠的肠内容物的微生物是相似的，大约为 $10^7 \sim 10^8$ cfu/ml。随着肠内运动的减少、酸度的下降和氧化还原电位的降低，回肠保持了更多不同种类和数量的微生物群落。危害氧化还原电位的因素有梗阻、郁积、

组织缺血、组织创伤、血管功能不全和外来异物。氧化还原电位的降低是造成厌氧菌感染的特异性因素。

过路菌区系

小肠的致病菌常常导致严重的腹泻，它们产肠毒性大肠杆菌和霍乱弧菌，当粪便中有霍乱弧菌时即可诊断。肠致病性大肠杆菌可以产生肠毒素，它可以促进肠黏膜细胞分泌并导致腹泻，是旅行者腹泻的常见原因。在小肠细菌过度增殖中，小肠近端定居着比平时更多数量的微生物，往往会频繁出现厌氧菌，而平时这些细菌在十二指肠和空肠上端都不会大量存在。在十二指肠或空肠抽吸物中微生物计数达到 10^5 cfu/ml 时通常就可以被认为是小肠细菌过度增殖 (SIBO)。一些胃肠病学专家认为小肠微生物浓度超过 10^3 cfu/ml 也应作为 SIBO 的阳性诊断。胃酸的过度抑制可能促进近端小肠定植。为诊断 SIBO，可以应用小肠的定量培养，这被认为是诊断的金标准。在弥散性小肠功能障碍中，为了检测细菌过度增殖可以对十二指肠降部的流质抽吸物进行培养。

(4) 大肠正常菌群与过路菌区系

正常菌群区系

大肠包括盲肠、结肠和直肠，隐匿有超过 500 种细菌种群，主要 (99.9%) 是专性厌氧菌，约 $10^{11} \sim 10^{12}$ cfu/g。从大肠和粪便标本分离出来的主要微生物种群有乳杆菌、链球菌、双歧杆菌、梭状芽孢杆菌、丙酸杆菌、优杆菌、类杆菌、梭杆菌属、韦荣氏球菌、葡萄球菌、芽孢杆菌、酵母菌、放线菌、肠杆菌、肠球菌、微小球果螺菌、胶形菌属、粪球菌、瘤胃球菌、氨基酸球菌、琥珀酸弧菌、丁酸弧菌、巨球形菌属、芽殖菌属、链条杆菌属、消化链球菌属等。在结肠主要是类杆菌、双歧杆菌、优杆菌、梭菌和大肠杆菌等。新奇的分子技术增添了人们对微生物更深的认识，对绝大部分微生物的厌氧属性以及培养状况知识的认识不足使它成为培养技术的被挑战者。人们将绝大部分注意力集中到排泄物上存在的细菌，从而限制了对结肠不同部位黏膜相关微生物的认识。大量的微生物种群都可以在大肠发育，尤其是在盲肠，因为在食物流中食物在这个部位相对滞留 (达 60h) 且有非常低的氧化还原电位。腔内容物的通过时间超过了细菌的倍增时间。需要关注 (担心) 的是该区域内的微生物是栖所短暂性的还是本处发生的。大肠上游栖所的细菌移居到该区域的腔内。短暂性栖所的微生物不可能显著形成这个区域的种群水平。定植于结肠处的微生物对处理未消化的碳水化合物非常重要。

过路菌区系

耶尔森菌、沙门氏菌、志贺氏杆菌、弯曲杆菌、梭状芽孢杆菌、出血性大肠杆菌和致病性大肠杆菌是结肠内导致腹泻的最常见的致病菌。腹泻也可在口服抗生素治疗后发生。难于吸收的抗生素改变了结肠正常菌群的分布。正常菌群的抑制会导致耐药菌的增殖，如酵母菌、难辨梭状芽孢杆菌增加。这些微生物会产生一种蛋白毒素造成结肠黏膜的坏死和溃疡，这被称为抗生素相关的出血性结肠炎。

(5) 粪便菌群及其特点

粪便是一个复杂的微生物栖息地，有许多细菌占据的小生境。以重量比估计，细菌占粪便的 30%，粪便干重的 40%~55%。粪便中的所有细菌都易受到结肠直肠脱水和浓缩机制以及粪便上微生物激烈的生物化学活性的影响。当取材仅为粪便标本时，就不能显示菌落在胃肠的定位和构成成分。可从粪便标本中培养的优势种群 (如类杆菌) 几

乎占 20%。粪便标本中主要有普里沃菌（革兰氏阴性厌氧菌）、优杆菌、梭状芽孢杆菌属、球菌属（革兰氏阳性厌氧菌）。粪便中的主要细菌的特点有：时间稳定性、宿主特异性、受年龄影响、一般不会发生明显的改变。

粪便标本在处理前必须收集在无菌包中，并低温保存（ $-80\sim 4^{\circ}\text{C}$ ）。可以应用粪便标本或直肠拭子诊断霍乱。直肠拭子中的测试片可以快速诊断由霍乱弧菌导致的霍乱。测试片分析应用胶体金颗粒，是基于一步免疫成像原理。测试片的敏感性和特异性分别是 92% 和 91%。该快速诊断（10min 内就可诊断）需要一定的技术基础。

胃肠道微生物的绝大部分知识来源于结肠或粪便的细菌学。研究人类近端结肠微生物的主要限制是缺乏合适的取材方法。仅从粪便取材的研究不能揭示胃肠道上皮和隐窝类型的微生物的构成成分和定位。由于取材部位的局限性，这类研究结果只能揭示出结肠的某些部位，而不能反应出大肠大多部位的腔内群落的构成。

粪便的 pH 低是由于摄入了难以吸收的碳水化合物，或在小肠内碳水化合物吸收不良，从而导致结肠内的细菌发酵碳水化合物。粪便的 pH 低于 6 明显提示碳水化合物吸收不良。乳糖呼吸氢实验可以证实碳水化合物吸收不良。给予禁食的患者溶有 25g 乳糖的水，间隔数小时在呼吸氢测量仪的记录基线处测定呼出气体的氢含量。因为氢不是正常人体的代谢产物，任何呼吸氢浓度的增加均反应细菌的酵解，这提示不能吸收的乳糖已到达结肠。

四、总结

上文已经研究了人类肠道微生物的各种不同方法和它们的优缺点。如果想要获取胃肠道的信息需要权衡研究问题的利弊和经济后果。人类胃肠道取样远比动物模型取样难得多，因为取样的部位相对于整个区域是较小的。在动物模型中为了肠道彻底取样和研究可以处死动物。不幸的是，事故中丧生的个体是胃肠道微生物全部信息的最佳来源。总之，患者更喜欢非侵袭性方法。非侵袭性方法同研究目的一样对于年幼的患者、妊娠妇女、老年人都是非常重要的。因为非侵袭性方法的应用使得整个胃肠道取样的难度大大降低。然而，非侵袭性方法常常没有高度的敏感性和特异性。侵袭性方法有准确定位取材的优点，像内镜一样极其令人不快，但是有很高的敏感性和特异性。胃肠道内任何部位获取令人满意的无污染标本的条件包括：①严格无菌的操作方法，这需要应用的器材适于加热或气体灭菌；②防止临时安顿在管道内的培养标本在到达取材部位前和退回时被污染；③从被获取的培养中验证定位。

随着分子生物学技术的发展，当前的取样技术得到改善。厌氧培养方法已经被取代。但当前取样方法的合理改良似乎仅仅在一些小的细节上。毫秒技术是一项在人类胃肠取样的合理改良和微生物分析方面有前途的技术。

第六节 肠道菌群分子生态学研究近况简介

一、概述

人体胃肠道是巨大数量的微生物集聚地，它形成的微生态系统在很大程度上可以说是现在才得以逐步揭示，肠道微生物的数目远远超过了人体的细胞数，形成一个最多样