

猪营养 与饲料科学

猪肠道微生物代谢与思考

马曦 韩萌 李德发*

(动物营养学国家重点实验室,农业部饲料工业中心,

中国农业大学动物科学技术学院,北京 100193)

摘要:肠道微生物及其代谢对动物机体健康与疾病的发挥着关键性影响和调控作用。哺乳动物的肠道不仅是进行消化和吸收营养物质的主要部位,肠道中有大量复杂多样的微生物通过或者定殖,对维持胃肠系统的生理动态平衡发挥着至关重要的作用。随着研究的不断深入,日粮和营养食谱中的“fiber gap”,肠道微生物的“bowel cleansing”功能,“traveling microbiome”的调节作用,“live probiotics”的干预方式等,成为最新研究热点。从营养学的角度看,肠道微生物既影响着动物机体对营养物质的吸收和代谢,又调控着宿主日常的生理功能、疾病免疫等方面。肠道菌群已被证实能够通过微生物-脑-肠轴与机体进行相互调控,从而达到改变宿主的机体代谢和肠道屏障功能以及免疫系统稳态的效果,且肠道微生物的代谢可能是通过微生物-脑-肠轴来调节宿主的生理机能和健康状况。本文概述了以猪为代表的肠道微生物区系及其代谢产物对宿主肠道健康的影响,并且阐述了肠道微生物和机体整体代谢之间的互作关系,并对未来的研究热点进行了展望。

关键词:肠道微生物;代谢产物;微生物-脑-肠轴;宿主健康

在人和动物的体内存在着大量的微生物,这些微生物能够帮助宿主建立和维持健康,其中 90% 的微生物居住在胃肠道^[1]。数量庞大复杂多样的微生物菌群代谢产生丰富多样的代谢产物,从而使肠道成为体内一个重要的代谢部位。肠道微生物既影响着营养物质的消化、吸收和能量供应,又调控着宿主正常生理功能及疾病的发生与发展,肠道微生态系统对机体正常功能的运行有着至关重要的影响。例如在肠道黏膜表面存在着一层由肠道菌群组成的生物屏障,能够有效抑制病原菌增殖^[2]。而近年来,日益增多的研究开始转向肠道菌群与大脑之间的联系,已有结果表明,肠道菌群通过神经、内分泌、代谢和免疫的途径参与了肠道和中枢神经系统的双向调节。肠道菌群可以通过自身或代谢产物影响机体,机体也可以通过神经、免疫和内分泌等途径影响肠道菌群的变化,以维持微生态的平衡,该双向调节系统被称为微生物-脑-肠轴^[3]。

脑-肠轴包括中枢神经系统和胃肠系统之间的传入和传出的神经,是将机体的内分泌和免疫学的信号综合在一起的神经轴^[4]。然而由于肠道微生物对机体健康的重要性,微生物-脑-肠轴的概念又被广泛地提及和研究,肠道菌群和脑-肠轴不仅分别对胃肠道具有调节作用,两者亦相互作用,协同发挥调节作用。此轴能够双向作用,但是每个方向的作用机制又有所不同。

单胃动物的消化道内存在多种类型的微生物,包括细菌、古菌、真菌、病毒和寄生虫等,这些微生物及其代谢产物在营养、免疫等方面对宿主的健康有重要的意义^[5]。研究表明,整个消化道内均存在微生物,且不同肠段微生物组成存在差异。在胃和小肠内,主要以梭菌Ⅸ群、链球菌和乳杆菌等为优势菌群,

* 通讯作者:李德发,E-mail: defali@cau.edu.cn

每克消化道内容物内细菌的数量为 $10^5 \sim 10^7$; 盲肠微生物多样性较高, 以厚壁菌门中的梭菌Ⅳ群、梭菌ⅩⅣ群和拟杆菌门为最优势菌群, 细菌数量为 $10^{12} \sim 10^{13}$ /g 内容物; 自结肠到直肠, 微生物的优势菌群仍为拟杆菌门和厚壁菌门^[6]。此外, 研究表明肠道微生物菌群受到许多因素的影响, 包括亲缘关系、日粮组成、日龄、生活环境和应激等。Lay 等研究表明, 不同国籍的人其消化道微生物菌群存在较大差异^[7]。Spor 等通过对比发现同卵双胞胎之间微生物的相似性高于异卵双胞胎^[8]。Xu 等研究发现纤维类物质可对微生物菌群产生一定影响^[9]。

因此, 本文概述了肠道微生物研究方面的最新进展, 包括纤维缺口、肠道清洁、旅行微生物组和活性益生菌等, 以及如何通过微生物-脑-肠轴的作用保持动态平衡, 调节宿主的代谢与营养物质的吸收, 从而调节整个机体的代谢, 以及肠道对微生物代谢产物的感应以及微生物与宿主的互相作用。

1 肠道微生物及其代谢产物

在生物体漫长的进化过程中, 肠道微生物与其宿主相互选择并形成了一个相互依赖、相互制约、互惠共生的生态系统, 并作为肠道生态系统的一部分存在, 构成一个统一体。然而, 肠道微生物区系的建立是一个非常复杂的过程, 尽管许多微生物可以在肠道内定殖, 但更多的微生物不能生长, 定居下来的微生物经过与宿主长期的相互适应和选择, 逐渐形成正常的胃肠道微生物区系。但是由于消化道各部位组织结构和生理特性不同, 寄居在各部位的微生物菌落的数量、组成有所差异。

肠道微生物的发酵功能对于猪的肠道健康有着至关重要的作用。中短链脂肪酸(short-chain fatty acids, SCFAs)是肠道微生物中最重要的代谢产物之一, 宿主肠道中代谢产物的种类主要由进入肠道的日粮中的碳水化合物的种类以及微生物菌群的结构共同决定。单胃动物肠道中乙酸、丙酸和丁酸含量最高, 其含量和比例间接反映肠道微生物菌群状况。微生物发酵即微生物的活性对于宿主的肠道健康也起到重要作用, 主要包括刺激肠道蠕动、提高能量产量、维生素合成及肠道免疫刺激等方面。

与 GF 小鼠比较, 具有正常肠道微生物环境的小鼠摄取能量的能力更强, 由此可以看出, 肠道内的微生物有助于肠道消化碳水化合物等营养物质^[10]。有实验证明^[11], GF 小鼠相比于正常小鼠肠道中的 SCFAs 的含量明显下降, 同时, 粪便中的卡路里含量增加 87%。此外有针对肥胖小鼠和人类的肠道微生物进行测序, 结果发现肠道微生物的确能够增加营养物质的代谢水平, 从而提高能量和营养物质的获取^[12]。

2 日粮营养对肠道微生物的调控和干预

研究表明, 生活方式诱发的肠道微生物组消耗对健康有深远的影响。高等动物已经发展了其定殖胃肠道微生物的不可或缺的交互作用, 比如通过复杂的微生物菌群结构提供动物肠道免疫系统的发育信号。基于动物模型的研究证据表明某一宿主肠道共生的微生物菌群结构的破坏, 将导致慢性非传染性疾病, 如肥胖、心血管病、结肠癌、过敏的增加等免疫系统介导的病状, 以及其他特应性疾病(包括哮喘)、自闭症和自体免疫疾病^[13]。在非传染性疾病的肠道微生物的作用是在人类中检测的, 但疾病风险流行病学显示, 在生命早期扰乱建立肠道菌群的做法(例如剖腹产、抗生素、配方喂养), 经常和病状与异常微生物相关联。重要的是, 大多数非传染性疾病在过去 10 年内大幅增加, 这表明现代生活方式可能导致细菌共生的保护作用损失。事实上, 通过比较美国和欧洲社区等发达国家, 与南美、非洲和巴布亚新几内亚农村人力社区(通常非传染性疾病的发病率较低)肠道菌群的比较, 结果提供了令人信服的证据, 工业化导致肠道微生物多样性大幅下降^[14]。

2.1 纤维缺口(fiber gap)

研究证实, 一种低纤维饮食是微生物组消耗的关键驱动因素^[15]。现代社会的低纤维饮食的可能因

素包括膳食结构、抗生素、饮食习惯、卫生习惯等,这些日粮营养影响因素的组合已经造成肠道微生物多样性的下降。然而,实验证明其中最重要的因素是微生物菌群必需的碳水化合物(MACS),主要是不可消化的膳食碳水化合物,即日粮纤维,成为提供给动物前肠道的定殖微生物的主要原料。研究显示,在猪日粮中添加低水平的不可消化纤维基本上可以持续的造成几代子代动物肠道菌群多样性的消耗^[16]。膳食纤维,这是 NRC 认定的日粮配方中不可消化碳水化合物的主要来源,其摄入量,与无论是非工业化社会散养猪的养殖户,还是西方发达国家的规模化养殖猪场相比,都不可忽略地低很多。这种低纤维饮食提供给肠道微生物的营养物质不足,最终导致的不仅微生物物种在这些门类上依赖的损失,而且还有最终生产的发酵终产物减少,以及重要的生理和免疫功能紊乱^[17]。换言之,通过改变饮食及在之后的动物肠道微生物相互作用的饮食,我们可能已经打乱肠道共生,减少或除去由微生物提供的对动物进化的益处。这个过程可能导致传染性和非传染性疾病的上升。纤维缺口造成的猪养殖过程中,发病率和死亡率的显著提升,强烈提示我们去考虑尝试保护和恢复潜在的猪肠道微生物的多样性^[18]。

2.2 肠道清洁(bowel cleansing)

已知肠道清洁时可以检测到肠道菌群的变化,然而尚未开展详细描述或长期作用的微生物群研究。此外,单次高剂量清洁和多次低剂量清洁的两种不同的给药方法已经在实践中使用,而计量的对肠道菌群的影响还没有被解决^[19]。研究显示,在 IBS 患者增加腹泻和肠道清洁后,粪便中的丝氨酸蛋白酶主要是胰腺来源的。研究发现,肠道清洁后,大部分肠道菌群能恢复到肠道准备后基线组成。特别地,几个类群包括变形菌和相关的后续样品中 *Dorea formicigenerans* 和效率较低的微生物回收比显著增加。这些结果提供了与肠道清洁的泻下灌洗相关的微生物变化和对 IBS 和其他腹泻病看到的变化的理解。多次肠道清洁引入更少的肠道菌群结构改变^[20]。

2.3 旅行微生物组(traveling microbiome)

以往的观点认为,在肠道微生物中,定殖的微生物菌群对动物的肠道和全身健康有重要影响,而那些只是随食糜“通过”动物胃肠道的微生物对动物肠道的作用几乎可以忽略不计。最新的研究表明,那些没有定殖的肠道微生物菌群的结构,现定义为“旅行微生物组”,同样对动物肠道有着非常重要的调控作用^[21]。而且,由于旅行微生物组的通过速率,决定了其更新速率更快,其对肠道和机体的健康的影响,相比于定殖微生物,更呈现出即时的作用效果。比如旅行微生物组重要肠道致病菌群的比例,如沙门氏菌属的比例上升,能迅速地导致动物肠道腹泻症状。旅行微生物组对机体健康调控的机制尚有待深入的研究,一般认为其主要是工作主要菌群的分泌物、代谢产物,以及对定殖菌群结构的调控来实现的^[22]。

2.4 活性益生菌(live probiotics)

益生菌群对肠道的有益功能已经得到广泛证实,其应用也日益受到关注。与其他对动物机体有益的营养活性物质不同,益生菌需要以活性的形式添加才能达到最好的效果,因此,“活性益生菌”的概念现在成为肠道菌群干预措施的热点^[23]。简言之,就是从健康的猪肠道食糜中分离出益生菌(甚至是益生菌群的混合物),通过直接或者间接的方式,作用到目标猪群的干预模式。所分离的益生菌群,可以经过体外培养和微生物工程的方法,进行大规模的扩增,而添加到目标猪群的方式也有很多种,包括灌胃、饲料添加、饮用水添加等多种方式,其作用效果和机制尚有待进一步研究^[23]。

3 肠道微生物与微生物-脑-肠轴的作用机制(microorganisms-brain-gut axis)

动物肠道微生物及微生物代谢产物对动物的肠道健康,以及营养物质的代谢和应用发挥着极其重

要的作用。作为肠道代谢产物的 SCFAs 和 BAs,对肠道屏障功能,免疫反应和肠道运动多有调节作用,调节的机制因受体的不同存在差异。通常情况下,SCFAs 和 BAs 等代谢产物对肠道的作用是双向的。微生物-脑-肠轴能够将微生物和机体代谢行为联系起来,具有重要的生理意义。微生物具备对营养物质较强的代谢和应答能力,进而发挥其在机体代谢和免疫调节中的作用。微生物与宿主之间,通过神经、内分泌和免疫系统等信号通路相互作用,影响机体肠道屏障、营养代谢、免疫应答神经发育等生理机能。SCFAs,组胺和血清素都是该过程中关键的调节因子。

微生物-脑-肠轴是指中枢神经系统与胃肠道功能相互作用的双向调节轴,其包括中枢神经系统、自主神经系统、下丘脑-垂体-肾上腺轴、肠道内神经系统等结构,各部分功能相互协调。肠道菌群可以通过神经途径、内分泌途径、免疫途径以及代谢途径参与肠道和中枢神经系统的双向调节,影响宿主的脑功能,宿主也可以通过调控肠道菌群以维持微生态的平衡。

微生物-脑-肠轴是肠道微生物和宿主相互作用的一个途径,通常受到遗传、疾病、免疫、营养、环境等因素的影响。基于这样的理念和可检验的假设,可以进一步研究肠道微生物对动物健康的维持以及疾病的治疗作用。

3.1 神经-内分泌途径

肠道内神经丛广泛分布着促肾上腺皮质激素释放激素神经元,因此肠道应激时,促肾上腺皮质激素释放激素分泌增多,使肠上皮通透性增加,引起内脏高敏感,此过程的关键在于肥大细胞^[24],应激状态下肥大细胞被激活,肠黏膜上皮紧密连接蛋白的表达量降低,肠黏膜屏障被破坏,导致肠道细菌易位,最终激活肠道免疫系统^[25]这一过程说明了脑-肠轴的重要性,如果功能紊乱可影响肠道的免疫系统^[26]。

神经信号在传导至细胞时,普遍存在特异性模式识别受体(pattern recognition receptor, PRRs),该类受体在肠黏膜细胞中的正常表达对肠道菌群稳定也十分重要,其中 Toll 样受体(Toll-like receptor, TLR),NOD 样受体(NOD-like receptor, NLR)作用尤为显著,TLR 主要在消化道表达,是联系微生物和宿主之间相互识别和发挥作用的关键部件,NLRs 中的 NOD1 和 NOD2 是参与识别病原微生物的专门受体^[27]。Tao 等^[28]的研究发现,仔猪断奶应激会引起肠道微生物菌群的变化,而特异性 PRRs 受体能够识别特定种类的菌群,从而促进断奶仔猪的肠道黏膜的发育和成熟。上述研究提示,应激导致的肠道菌群改变可能与 PRRs 在肠道中的表达改变有关。

肠道是动物体内最大的内分泌器官,其中存在着 20 余种肠内分泌细胞^[29]。通常情况下,肠道内分泌细胞受到刺激后,会通过内分泌和旁分泌系统影响中枢神经系统(central nervous system, CNS)。下丘脑-垂体-肾上腺轴(hypothalamic pituitary adrenal, HPA)释放皮质醇调节肠道免疫细胞和细胞因子的释放活性,最终影响肠道通透性和屏障功能并且改变肠道的结构。同时,肠道菌群可调节 HPA 轴的活性和对大脑刺激效果,研究发现,稳定的肠道菌群有助于维持 HPA 轴的正常工作。无菌动物是研究肠道菌群的常用模型,与普通动物相比,无菌动物的 HPA 轴表现出对应激的过度反应,导致产生过多的肾上腺皮质激素和皮质醇^[30],影响肠道免疫细胞和细胞因子的释放活性以及肠道通透性和屏障功能并且改变肠道的结构。

事实上,肠内分泌细胞中普遍存在有 TLRs,调节内分泌细胞的分泌活性^[31]。此外,肠道内的肠嗜铬细胞很容易受到肠道菌群的刺激,分泌 5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)来调节肠道功能。5-HT 是由前体物质色氨酸通过吲哚胺 2,3-加氧酶的作用合成的,且吲哚胺 2,3-加氧酶的激活依赖于炎性细胞因子和激素^[32]。因此,肠道菌群能够通过影响促炎性细胞因子和皮质醇,继而影响色氨酸合成 5-HT 来影响肠道的代谢功能。

3.2 迷走神经途径

支配肠道的神经可以根据神经元的位置分为两大类。一类是外在神经,包括脊髓和迷走传入神经,

另一类是固有神经。肠道中约有 1 亿内部神经,而外部神经的数目大约为 5 000^[33]。内在神经和外在神经共同维持肠道正常功能。其中外源性神经是通过背侧脊髓与迷走神经的孤束核中的第一层神经元形成突触,将各种信息传递到大脑,不同类型的迷走神经将不同肠道信息传递到大脑,根据受体的不同,迷走神经可分为 3 类^[34]。

第一类是机械敏感迷走神经。机械类迷走神经主要支配肠系膜、肠纵环形肌以及肠道间质细胞。此类迷走神经对机械性刺激并不敏感,仅仅对炎症肠病(inflammatory bowel disease, IBD)较敏感。第二类是化学敏感型迷走神经。此类迷走神经通常受到肠内分泌细胞分泌的厌食神经肽等的作用,从而调节摄食行为。第三类是免疫迷走神经。这种类型的迷走神经末梢与和肠黏膜的免疫细胞接触,通常受到由肥大细胞和淋巴细胞释放的蛋白酶,5-HT 等细胞因子的影响。

肠道微生物区系能够广泛地参与调节胃肠道的神经内分泌及免疫和迷走神经通路,从而影响中枢神经系统和宿主的行为。相关研究表明,肠神经系统与肠道菌群肠肌丛接触,参与肠的运动和细胞分泌。此外,肠道神经系统的迷走神经与大脑信息传输系统的迷走神经形成突触连接,从而实现相互之间的影响。相关研究表明,肠道神经系统的感觉神经元细胞的活动指数在无菌动物中,相比于普通动物常年偏低,而当无菌动物的肠道菌群恢复正常定殖后,该指数恢复正常水平^[35]。

3.3 免疫途径

已有的研究成果已经认识到肠道微生物能够帮助维持机体正常的生理活动和免疫系统机能,而免疫系统也能够影响中枢神经系统^[36]。因此认为肠道微生物能够通过免疫系统来影响中枢神经系统的功能。微生物主要通过以下 3 种免疫途径影响大脑的作用:首先,由肠道菌群引发的细胞因子进入血液循环系统,然后进入大脑,通过血脑屏障,影响大脑的功能^[37]。其次,TLRs 可以在室旁核和脉络丛的巨噬细胞中表达,并能对肠道菌群中的 MAMPs 产生应答,释放出特定的细胞因子^[38]。这些细胞因子通过自由扩散的方式进入大脑,进而影响其活性^[39]。第三,白介素-1(IL-1)受体促进血管周围的巨噬细胞和脑小血管上皮细胞释放前列腺素,从而影响脑神经的活动^[40]。

4 肠道微生物区系对动物健康的影响

肠道微生物群落在通常情况下处于平衡态,机体通过微生物-脑-肠轴调节神经系统、消化系统、免疫系统和大脑的功能,进而维持整个机体的正常代谢水平和健康状况^[41]。当微生物菌群的平衡被打破时,就可能会出现各种代谢、免疫与神经疾病等^[42]。

4.1 肠道微生物对营养代谢的调节

微生物具备对营养物质较强的代谢和应答能力,包括微生物区系的改变和代谢的变化,进而发挥其在机体代谢和免疫调节中的角色。研究猪肠道微生物组成对营养物质代谢的调节作用,有助于加深关于肠道微生物对机体代谢贡献的认识,为完善饲料组成以及提高营养物质的吸收利用提供参考。

4.1.1 微生物对碳水化合物代谢的调节

日粮是影响肠道菌群的主要因素之一,不同的饮食结构会引起肠道微生物种类、数量以及其代谢活动的变化,同时也会刺激肠道炎症和免疫反应发生变化^[43]。碳水化合物是人类和动物重要的能量资源。然而,人体内的酶不能降解非消化性碳水化合物,例如纤维素、木聚糖、抗性淀粉和菊粉等。这部分碳水化合物在结肠中通过微生物的发酵,最终产生短链脂肪酸,主要是乙酸、丙酸和丁酸^[44]。SCFAs 在结肠中当作结肠上皮细胞的重要能源被吸收,而乙酸和丙酸则到达肝脏和外周器官生成糖异生基质与脂肪等。此外,这些 SCFAs 作为炎症调节剂和血管扩张药对肠道健康有深远的影响,同时能够促进

肠能动性性和部分伤口的愈合^[45]。存在于这些聚糖中的糖苷键需要人类基因组不编码的糖苷水解酶和多糖裂解酶裂解,但肠道内的有益菌,如多形拟杆菌、拟杆菌和双歧杆菌^[46]拥有糖苷水解酶和多糖裂解酶的量是任何动物机体内的两倍,这些酶能够很好地在人类和动物的机体内利用^[47]。

机体内环境的变化引起炎症因子的生成,进而会造成肠道组织炎症病变,短链脂肪酸对炎症因子生成的影响,使其成为近年来的研究热点。溃疡性结肠炎(UC)是一种消化道的自身免疫性疾病,有研究认为该病源于结肠上皮对短链脂肪酸的利用障碍^[48]。Breuer 等^[49]针对溃疡性结肠炎患者直接灌肠短链脂肪酸,发现能够改善病症。在体外 SD 大鼠离体结肠炎模型中^[50],使用丁酸钠于结肠细胞上,检测结肠上皮细胞的凋亡情况。结果发现,与正常组相比,丁酸钠组结肠细胞凋亡速率明显低于正常组,这表明,一定浓度的丁酸钠能够抑制正常结肠上皮细胞的凋亡。另外,SCFAs 能通过影响某些炎症细胞释放细胞因子而起到抗炎作用。Sofia 等^[51]研究乙酸、丙酸、丁酸与抗炎因子释放的关系,结果发现,30 mmol/L 的乙酸、丙酸、丁酸能降低 TNF- α 因子(肿瘤坏死因子)的释放,而不影响 IL- κ 蛋白的释放,表明乙酸盐、丙酸盐对结肠炎症具有良好的治疗效果。有研究报道^[52] SCFAs 可降低生产的促炎症因子在体外,包括 IL-1 β , IL-6 和 TNF- α 和提高生产抗炎细胞因子 IL-10。

除了作为能量源,在哺乳动物结肠上皮细胞中 SCFAs 也对增殖,分化和基因表达起到调节作用,其中丁酸作为一个有效的组蛋白脱乙酰作用抑制剂,调节哺乳动物 2% 的转录^[53]。醋酸和丙酸结合 G 蛋白偶联受体-41(G protein coupled receptor, GPCR)和 GPCR43 可以调节基因表达和影响基因功能^[54]。例如,用于人类 GPCR43 和小鼠 GPCR43 转录物在免疫细胞表达量增加,如中性粒细胞和嗜酸性粒细胞^[55]。GPCR43 也在结肠上皮细胞中表达,并能够影响细胞的增殖和上皮屏障的完整性^[56]。

4.1.2 微生物对糖脂代谢的调节

微生物发酵产物 SCFAs,不仅可以作为能量底物,也可作为代谢能量。SCFAs 已被证明能够作为信号分子结合至 GPCR,从而提高营养的吸收和脂肪组织生长。SCFAs 结合 GPCR31,能刺激瘦素的表达^[57]。瘦素主要影响白色脂肪的代谢,白色脂肪组织不仅是器官,也有能量存储的功能,而且是产生内分泌因子的重要部位。在 GPCR41 缺陷型小鼠中通常肽 YY(PYY)的表达量较少,而 PYY 是一种肠内分泌细胞衍生的激素,通常抑制肠道运动,延缓食糜通过肠道的时间^[58]。这一证据表明,通过 SCFA-GPCR41 活化促进营养物质的吸收,主要是通过增加 PYY 的释放,这是微生物代谢产物和脂肪代谢之间的一个很好的例子。

微生物还能调节胆汁酸代谢,胆汁酸能够调节 G 蛋白偶联胆酸受体(G protein-coupled bile acid receptor, GPBAR1)和法尼酯 X 受体(farnesoid X receptor, FXR)等受体的表达^[59],并参与肝肠循环,调解甘油三酯,胆固醇,能源和葡萄糖的稳态。胆汁酸从肠道吸收,然后进入血液循环,激活 GPBAR1 和 FXR 的外周器官从而有助于整个机体的新陈代谢。GPBAR1 在棕色脂肪组织和肌肉中的激活能够增加能量消耗从而防止饮食诱导的肥胖^[60]。Sarah Farr 的实验研究^[61]表明,脑-肠轴主要通过胰高血糖素样肽-1(glucagon-like peptide-1, GLP-1)对调节肠道脂蛋白的产生起到重要作用。

4.2 肠道微生物对神经发育的调节

微生物-脑-肠轴是一个双向神经通信系统,以往的研究主要集中在其参与的功能性胃肠疾病,如肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)^[62]等。最近,越来越多的证据表明肠道菌群可通过该轴调节大脑发育,并影响机体的行为^[63]。因此,越来越多的研究将重点放在微生物-脑-肠轴对神经发育的潜在影响。

Braniste V 等^[29]在对小鼠的研究中初次发现肠道细菌可获得大脑信号。通过研究动物大脑发现,无菌小鼠的纹状体分泌更多的与焦虑相关的化学物质,包括神经递质、5-羟色胺。研究还表明,无菌小鼠再回到正常环境中后他们的行为也不能随之正常化,但它们的后代小鼠通过接种自然健康微生物菌群会恢复部分正常行为,这表明微生物菌群在神经物质的分泌中起到重要的影响。

此外,临床研究表明,自闭症(autism spectrum disorder, ASD)等脑疾患者往往伴随着肠道微生物菌群的变化和紊乱症状。虽然 ASD 的确切病因和病理仍有待研究,但肠道和 ASD 大脑之间的相互作用已经获得了广泛的关注。Mayer 等的研究^[64]也证实了 ADS 与微生物-脑-肠轴之间存在密切的联系。SCFAs 是微生物-脑-肠轴关键的调节因子,它能够越过血脑屏障,直接调节大脑活动。MacFabe 等人的研究发现,ADS 儿童患者的粪便样品中 SCFAs 的水平要低得多^[65]。另一方面,粪便中的中短链脂肪酸的量可受到多种因素的影响,如其他中短链脂肪酸的量,可溶性膳食纤维的摄入量,以及药物的摄入等因素。还有其他的研究表明母亲的身体状况也可能会增加后代患 ASD 的可能^[66]。Foley 等的研究结果指出了另一种可能性,即母亲的肠道菌群也可能会影响后代患 ASD 的风险^[67]。

4.3 肠道微生物对繁殖性能的调节

有研究表明,微生物代谢产物的生理水平可通过精子、卵子、胎盘、母乳等繁殖环节影响新生儿的健康。因此,亲代的肠道健康和机体稳态不仅影响自身健康,也对后代产生了影响^[68]。肠道菌群不仅能够进入血液改变血液中氨基酸的含量,还会产生含氮、硫的代谢产物。通常情况下,产生过量的微生物代谢产物(例如氨、一氧化氮和硫化氢等)是有害的,因此,调节孕期亲代的肠道微生物菌群,尤其是与氨基酸相关的微生物是调节和维持机体代谢平衡和生殖健康的关键^[69]。

4.4 肠道微生物对动物行为的调节

微生物-脑-肠轴将微生物和机体代谢行为联系起来,微生物的代谢产物作为配体能够结合肠上皮组织或肠周围神经系统的受体,引起脑肠肽释放,改变食欲,某些代谢产物如乙酸则具有直接调节脑组织生理活动的作用。Bravo 等^[70]的研究发现,益生菌可通过迷走神经调节大脑皮质氨基丁酸(gamma amino acid butyric acid, GABA)受体的表达,从而减轻焦虑、抑郁行为。此外有研究显示,自闭症小鼠血清 4-乙基硫酸苯酯浓度升高,给予拟杆菌治疗后,4-乙基硫酸苯酯浓度降低,小鼠焦虑行为缓解。上述研究表明肠道菌群改变可能通过调节机体代谢从而影响动物行为^[71]。

有研究表明,通过先进的手段,实现微生物的调控可以作为新兴的治疗手段提高宿主的健康状况。通过饮食干预,选择性的增加或减少某种肠道微生物,能够影响动物的行为,减少焦虑的行为出现,从而提高生活质量^[72]。

5 影响微生物-脑-肠轴作用的因素

5.1 遗传和营养因素

研究发现,肠道细菌群落的差异可能是由于每个品种的特定遗传效应等因素的影响^[73]。研究表明日粮组成是影响肠道微生物组成和活性的一个关键因素,并且它决定着挥发性脂肪酸和其他代谢终产物的产量,这些因素决定着仔猪的肠道健康是否能得到改善。例如,大肠杆菌往往是影响幼龄动物肠道健康的重要菌种之一。此外,食物添加剂往往也能够变肠道菌群的菌群结构,从而对机体的抗氧化和抗炎症能力产生影响^[74]。而日粮对微生物的影响会导致微生物代谢产物变化,这些代谢产物进入血液后,又会进一步地影响宿主的大脑活动。因此,利用改善日粮的方法恢复微生物-脑-肠轴的平衡对 ADS 等疾病也有一定的治疗效果,同时也会改变社会行为等^[75]。

益生菌对动物健康能够产生有益的影响,例如产生抗菌物质,抑制消化系统疾病,增强肠道菌群平衡等。在猪生产中,添加使用益生菌,能够有效地调节肠道微生物,调节免疫系统,与致病菌产生竞争排斥^[76]。因此,从动物健康的角度来看,益生菌能够改善肠道菌群结构和分布,从而改善动物健康和肠道

疾病的发生^[77]。

5.2 环境因素

动物生产的环境因素也是影响动物肠道微生物的重要原因之一。溴氯甲烷是甲烷的抑制剂,已在动物生产中被广泛使用。然而,近期的研究结果表明,甲烷对动物的肠道菌群和代谢模式也会产生一定的影响。动物呼入过多的甲烷对采食量和体增重没有显著性的差异,但肠道菌群及其代谢产物却受到了很显著的影响。结肠中的微放线菌,酸杆菌和变形菌等微生物的含量均显著下降,同时微生物代谢产物氨基酸、SCFAs 和碳水化合物等也有显著的减少,此外氨基酸的发酵产物有所增加,从而增加了潜在的有害化合物。这些发现表明了,在动物生产中大量使用溴氯甲烷,对动物的健康是十分不利的^[78]。

5.3 日粮纤维

最近的研究揭示了日粮纤维在维持动物胃肠道微生物菌群多样性方面的关键性作用,因此从动物肠道健康的角度看,日粮纤维的营养需要非常关键,而现有的猪日粮配方中存在重要的纤维需要缺口,缺口比例高达 1/3~1/2。目前已对猪日粮中纤维的主要来源类型包括大豆皮、小麦皮、豌豆皮和玉米皮等,不同来源类型的日粮纤维差异,以及不同饲料加工工艺对这些纤维的物理、化学特性的改变开展了探索性研究,以及对日粮纤维在肠道发酵后的主要代谢产物中短链脂肪酸的生成、对肠道消化酶的调控、对肠道吸收的转运载体变化、对肠道屏障功能基因的表达调控开展了卓有成效的研究^[79-84]。在人的医学研究方面,已经发现膳食纤维是很好的抗生素替代物,如邵峰等研究发现膳食纤维可以调控肠道微生物细菌鞭毛Ⅲ型分泌系统(T3SS),通过 NAIP-NLRC4 炎症小体途径(NAIP-NLRC4 inflammasome),调控胃肠道的天然免疫系统^[85]。

6 小结和展望

综上所述,高等动物肠道微生物及其代谢产物,对调控胃肠道功能发挥着关键作用,进而对动物的疾病和健康发挥着深远的影响。基于微生物多样性高通量测序、微生物菌谱鉴定、代谢产物和酶谱分析技术的革命性突破,未来通过微生物组学等开展微生物与宿主间互作关系,通过营养等方式干预宿主肠道微生物健康,特别是如何弥补日粮纤维缺口,将继续成为国际研究热点。

在此国际研究趋势下,在动物营养特别是猪的营养领域,未来的研究将集中关注以下方面:①猪日粮中不同类型纤维的剂量-效应关系和组合应用。猪日粮纤维的主要来源类型如大豆皮和玉米皮等,研究不同来源类型的日粮纤维差异,以及不同饲料加工工艺对这些纤维的物理、化学特性的改变,探讨它们的组合效应对猪肠道微生物的发酵、微生物组的影响,进而阐明日粮纤维对猪胃肠道以至全身生理功能的影响模式,特别是需要重点研究和揭示肠道微生物重要产物中短链脂肪酸的受体;②由于猪具有与人高度相似的遗传背景和生活习性特点如营养膳食等,未来猪作为人疾病和健康相关研究的动物模型方面发挥着不可替代的作用,特别是以猪为模型,探讨日粮纤维对肠道蛋白、碳水化合物等消化吸收和代谢转化的模式和调控机制,从而揭示膳食纤维缺乏对人慢性非传染性疾病如肥胖、2 型糖尿病、心脑血管病的作用机制;③以猪为模型,研究肠道微生物组的菌群结构和代谢,揭示肠道微生物及其代谢产物对动物体内重要生命活动的生理、生化调节机制,有助于阐明肠道微生物与宿主共生和互作的模式;④以猪为模型研究肠道微生物与肠道免疫系统之间的互作和调控机制,如病原菌的定殖规律、新生仔猪肠黏膜免疫系统的建立和完善机制等,发掘出靶向性提高动物肠道天然免疫功能的生物药物或生物饲料添加剂等。

参考文献

- [1] Human Microbiome Project Consortium. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome[J]. *Nature*, 2012, 486(7402): 207-214.
- [2] 田锋, 王新颖. 肠道菌群与肠黏膜固有免疫[J]. *外科理论与实践*, 2016(1): 79-82.
- [3] 王文建, 郑跃杰. 肠道菌群与中枢神经系统相互作用及相关疾病[J]. *中国微生态学杂志*, 2016(2): 240-245.
- [4] Ma X, Chen J, Tian Y. Pregnane X receptor as the “sensor and effector” in regulating epigenome[J]. *Journal of Cellular Physiology*, 2015, 230(4): 752-757.
- [5] 杨利娜, 边高瑞, 朱伟云. 单胃动物肠道微生物菌群与肠道免疫功能的相互作用[J]. *微生物学报*, 2014, 05: 480-486.
- [6] Ley R E, Peterson D A, Gordon J I. Ecological and evolutionary forces shaping microbial diversity in the human intestine. *Cell*, 2006, 124(4): 837-848.
- [7] Lay C, Rigottier-Gois L, Holmstrom K, et al. . Colonic microbiota signatures across five northern European countries. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, 71 (7): 4153-4155.
- [8] Spor A, Koren O, Ley R. Unravelling the effects of the environment and host genotype on the gut microbiome. *Nature Reviews Microbiology*, 2011, 9(4): 279-290.
- [9] Xu X, Xu P, Ma C, et al. . Gut microbiota, host health, and polysaccharides. *Biotechnology Advances*, 2013, 31(2): 318-337.
- [10] Wang W, Yang Q, Sun Z, et al. . Editorial: Advance of Interactions Between Exogenous Natural Bioactive Peptides and Intestinal Barrier and Immune Responses[J]. *Current Protein and Peptide Science*, 2015, 16(7): 574-575.
- [11] Huang C, Song P, Fan P, et al. . Dietary sodium butyrate decreased postweaning diarrhea by modulating intestinal permeability and changing the bacterial community in weaned piglets. *The Journal of Nutrition*, 2015, 145(12): 2774-2780.
- [12] Wang J, Han M, Zhang G, et al. . The signal pathway of antibiotic alternatives on intestinal microbiota and immune function[J]. *Current Protein and Peptide Science* (In press).
- [13] Perez-Lopez A, Behnsen J, Nuccio S P, et al. . Mucosal immunity to pathogenic intestinal bacteria[J]. *Nature Reviews Immunology*, 2016, 16(3): 135-48.
- [14] Riddle M S, Connor B A. The Traveling Microbiome[J]. *Current Infectious Disease Reports*, 2016, 18(9): 29.
- [15] Jones M L, Ganopoulosky J G, Martoni C J, et al. . Emerging science of the human microbiome[J]. *Gut Microbes*, 2014, 5(4): 446-457.
- [16] Waldron D. Microbiome: In transit. *Nature Reviews Microbiology*, 2015, 13(11): 659.
- [17] Kahrstrom C T, Pariente N, Weiss U. Intestinal microbiota in health and disease[J]. *Nature*, 2016, 535(7610): 47.
- [18] Gilbert J A, Quinn R A, Debelius J, et al. . Microbiome-wide association studies link dynamic microbial consortia to disease[J]. *Nature*, 2016, 535(7610): 94-103.
- [19] Baumler A J, Sperandio V. Interactions between the microbiota and pathogenic bacteria in the gut[J]. *Nature*, 2016, 535(7610): 85-93.
- [20] Honda K, Littman D R. The microbiota in adaptive immune homeostasis and disease[J]. *Nature*, 2016, 535(7610): 75-84.
- [21] Thaïss C A, Zmora N, Levy M, et al. . The microbiome and innate immunity[J]. *Nature*, 2016, 535(7610): 65-74.
- [22] Sonnenburg J L, Backhed F. Diet-microbiota interactions as moderators of human metabolism[J]. *Nature*, 2016, 535(7610): 56-64.
- [23] Charbonneau M R, Blanton L V, Digiulio D B, et al. . A microbial perspective of human developmental biology[J]. *Nature*, 2016, 535(7610): 48-55.
- [24] Vanuytsel T, Van Wanrooy S, Vanheel H, et al. . Psychological stress and corticotropin-releasing hormone increase intestinal permeability in humans by a mast cell-dependent mechanism[J]. *Gut*, 2014, 63(8): 1293-1299.
- [25] Wilcz-Villega E M, Mcclean S, O’Sullivan M A. Mast cell tryptase reduces junctional adhesion molecule-A (JAM-A) expression in intestinal epithelial cells: implications for the mechanisms of barrier dysfunction in irritable bowel syn-

- drome[J]. The American Journal of Gastroenterology, 2013,108(7):1140-1151.
- [26] Emanuele E, Orsi P, Boso M, et al. . Low-grade endotoxemia in patients with severe autism[J]. Neuroscience Letters, 2010,471(3):162-165.
- [27] Fukata M, Arditì M. The role of pattern recognition receptors in intestinal inflammation [J]. Mucosal Immunology, 2013,6(3):451-463.
- [28] Tao X, Xu Z, Wan J. Intestinal microbiota diversity and expression of pattern recognition receptors in newly weaned piglets [J]. Anaerobe, 2015,32:51-56.
- [29] Braniste V, Al-Asamkh M, Kowal C, et al. . The gut microbiota influences blood-brain barrier permeability in mice [J]. Science Translational Medicine, 2014,6(263):263ra158-263ra158.
- [30] Chen J, Li Y, Tian Y, et al. . Interaction between microbes and host intestinal health: modulation by dietary nutrients and gut-brain-endocrine-immune axis[J]. Current Protein and Peptide Science, 2015,16(7):592-603.
- [31] Grenham S, Clarke G, Cryan J F, et al. . Brain-gut-microbe communication in health and disease[J]. Front Physiol, 2011,2(94. 10):3389.
- [32] Clarke G, Stilling R M, Kennedy P J, et al. . Minireview: Gut microbiota: the neglected endocrine organ [J]. Molecular Endocrinology, 2014,28(8):1221-1238.
- [33] Braniste V, Al-Asamkh M, Kowal C, et al. . The gut microbiota influences blood-brain barrier permeability in mice [J]. Science Translational Medicine, 2014,6(263):263ra158-263ra158.
- [34] Lis S, Feng J, Luo J, et al. . Eact, a small molecule activator of TMEM16A, activates TRPV1 and elicits pain-and itch-related behaviors[J]. British Journal of Pharmacology, 2016.
- [35] 朱伟云, 余凯凡, 慕春龙, 等. 猪的肠道微生物与宿主营养代谢[J]. 动物营养学报, 2014,26(10):3046-3051.
- [36] Petra A I, Panagiotidou S, Hatzigelaki E, et al. . Gut-microbiota-brain axis and its effect on neuropsychiatric disorders with suspected immune dysregulation[J]. Clinical Therapeutics, 2015,37(5):984-995.
- [37] Dewulf E M, Cani P D, Neyrinck A M, et al. . Inulin-type fructans with prebiotic properties counteract GPR43 overexpression and PPAR γ -related adipogenesis in the white adipose tissue of high-fat diet-fed mice[J]. The Journal of Nutritional Biochemistry, 2011,22(8):712-722.
- [38] Ahn Y, Narous M, Tobias R, et al. . The ketogenic diet modifies social and metabolic alterations identified in the prenatal valproic acid model of autism spectrum disorder [J]. Developmental Neuroscience, 2014, 36(5): 371-380.
- [39] 譙仕彦, 侯成立, 曾祥芳. 乳酸菌对猪肠道屏障功能的调节作用及其机制[J]. 动物营养学报, 2014, 26(10): 3052-3063.
- [40] Al Oomran Y, Aziz Q. The brain-gut axis in health and disease[M]// Microbial Endocrinology: The Microbiota-Gut-Brain Axis in Health and Disease. Springer New York, 2014:135-153.
- [41] Fan P, Li L, Rezaei A, et al. . Metabolites of dietary protein and peptides by intestinal microbes and their impacts on gut [J]. Current Protein and Peptide Science, 2015,16(7):646-654.
- [42] 李茂涓, 牛俊坤, 缪应雷. 脑-肠轴与炎症性肠病关系的研究进展[J]. 世界华人消化杂志, 2015,7:1097-1103.
- [43] 张晶, 覃小丽, 刘雄. 膳食主成分对肠道微生物的影响研究进展[J]. 食品科学, 2015,05:305-309.
- [44] Tremaroli V, Backhed F. Functional interactions between the gut microbiota and host metabolism[J]. Nature, 2012, 489(7415):242-249.
- [45] Russo A J. Decreased plasma myeloperoxidase associated with probiotic therapy in autistic children[J]. Clinical Medicine Insights. Pediatrics, 2015,9:13.
- [46] Nøhr M K, Egrod K L, Christiansen S H, et al. . Expression of the short chain fatty acid receptor GPR41/FFAR3 in autonomic and somatic sensory ganglia[J]. Neuroscience, 2015,290:126-137.
- [47] Reigstad C S, Salmonson C E, Rainey J F, et al. . Gut microbes promote colonic serotonin production through an effect of short-chain fatty acids on enterochromaffin cells [J]. The FASEB Journal, 2015,29(4):1395-1403.
- [48] Stephane N M D, Driffa M M D, Ivan G M D, et al. . Tumor necrosis factor alpha reduces butyrate oxidation in vitro in human colonic mucosa: a link from inflammatory process to mucosal damage [J]. Inflamm Bowel Dis, 2005,11(6):559-566.

- [49] Breuer R I, Soergel K H, Lashner B A, et al. . Short chain fatty acid rectal irrigation for left -sided ulcerative colitis: a randomised, placebo controlled trial[J]. Gut, 1997, 40(4): 485-491.
- [50] 胡卫. 丁酸钠对结肠上皮细胞凋亡的影响[J]. 武汉大学学报(医学版), 2007(4): 468-470.
- [51] Sofia T, Fredrik W, Martin K, et al. . Anti-inflammatory properties of the short-chain fatty acids acetate and propionate: A study with relevance to inflammatory bowel disease[J]. World Journal of Gastroenterology, 2007, 13(20): 2826-2832.
- [52] Liu H, Zhang J, Zhang S, et al. . Oral administration of *Lactobacillus fermentum* I5007 favors intestinal development and alters the intestinal microbiota in formula-fed piglets[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2014, 62(4): 860-866.
- [53] Xu J, Bjursell M K, Himrod J, et al. . A genomic view of the human-*Bacteroides thetaiotaomicron* symbiosis[J]. Science, 2003, 299(5615): 2074-2076.
- [54] Martens E C, Lowe E C, Chiang H, et al. . Recognition and degradation of plant cell wall polysaccharides by two human gut symbionts[J]. PLoS Biol, 2011, 9(12): e1001221.
- [55] Donohoe D R, Garge N, Zhang X, et al. . The microbiome and butyrate regulate energy metabolism and autophagy in the mammalian colon[J]. Cell Metabolism, 2011, 13(5): 517-526.
- [56] Suzuki T, Yoshida S, Hara H. Physiological concentrations of short-chain fatty acids immediately suppresses colonic epithelial permeability[J]. British Journal of nutrition, 2008, 100(02): 297-305.
- [57] Mu C, Yang Y, Luo Z, et al. . The colonic microbiome and epithelial transcriptome are altered in rats fed a high-protein diet compared with a normal-protein diet[J]. The Journal of Nutrition, 2016, 146(3): 474-483.
- [58] Liu S, Mi W L, Li Q, et al. . Spinal IL-33/ST2 Signaling Contributes to Neuropathic Pain via Neuronal CaMKII-CREB and Astroglial JAK2-STAT3 Cascades in Mice[J]. The Journal of the American Society of Anesthesiologists, 2015, 123(5): 1154-1169.
- [59] Tolhurst G, Heffron H, Lam Y S, et al. . Short-chain fatty acids stimulate glucagon-like peptide-1 secretion via the G-protein-coupled receptor FFAR2[J]. Diabetes, 2012, 61(2): 364-371.
- [60] Thomas C, Pellicciari R, Pruzanski M, et al. . Targeting bile-acid signalling for metabolic diseases[J]. Nature Reviews Drug Discovery, 2008, 7(8): 678-693.
- [61] Farr S, Baker C, Naples M, et al. . Central Nervous System Regulation of Intestinal Lipoprotein Metabolism by Glucagon-Like Peptide-1 via a Brain-Gut Axis[J]. Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology, 2015, 35(5): 1092-1100.
- [62] Swann J R, Want E J, Geier F M, et al. . Systemic gut microbial modulation of bile acid metabolism in host tissue compartments[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2011, 108(Supplement 1): 4523-4530.
- [63] Berman S, Petriz B, Kajeniene A, et al. . The microbiota: an exercise immunology perspective[J]. Exerc Immunol Rev, 2015, 21: 70-79.
- [64] Mayer E A, Tillisch K, Gupta A. Gut/brain axis and the microbiota[J]. Journal of Clinical Investigation, 2015, 125(3): 926.
- [65] Macfabe D F. Enteric short-chain fatty acids: microbial messengers of metabolism, mitochondria, and mind; implications in autism spectrum disorders[J]. Microbial Ecology in Health and Disease, 2015, 26.
- [66] Luo J, Feng J, Liu S, et al. . Molecular and cellular mechanisms that initiate pain and itch[J]. Cellular and Molecular Life Sciences, 2015, 72(17): 3201-3223.
- [67] Yano J M, Yu K, Donaldson G P, et al. . Indigenous bacteria from the gut microbiota regulate host serotonin biosynthesis[J]. Cell, 2015, 161(2): 264-276.
- [68] Jaeggi T, Kortman G A M, Moretti D, et al. . Iron fortification adversely affects the gut microbiome, increases pathogen abundance and induces intestinal inflammation in Kenyan infants[J]. Gut, 2015, 64(5): 731-742.
- [69] Dai Z, Wu Z, Hang S, et al. . Amino acid metabolism in intestinal bacteria and its potential implications for mammalian reproduction[J]. Molecular Human Reproduction, 2015, 21(5): 389-409.
- [70] Bravo J A, Forsythevp, Chew M V, et al. . Ingestion of *Lactobacillus* strain regulates emotional behavior and central

- GABA receptor expression in a mouse via the vagus nerve[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2011,108(38):16050-16055.
- [71] Davenport E R,Cusanovich D A,Michelini K,et al. . Genome-Wide Association Studies of the Human Gut Microbiota [J]. *PloS one*,2015,10(11):e0140301.
- [72] Lyte M,Chapel A,Lyte J M,et al. . Resistant Starch Alters the Microbiota-Gut Brain Axis: Implications for Dietary Modulation of Behavior[J]. *PloS One*,2016,11(1):e0146406.
- [73] Pajarillo E A B,Chae J P,Balolong M P,et al. . Pyrosequencing-based analysis of fecal microbial communities in three purebred pig lines[J]. *Journal of Microbiology*,2014,52(8):646-651.
- [74] Morel F B,Oozeer R,Piloquet H,et al. . Prewaning modulation of intestinal microbiota by oligosaccharides or amoxicillin can contribute to programming of adult microbiota in rats [J]. *Nutrition*,2015,31(3):515-522.
- [75] Chassaing B,Koren O,Goodrich J K,et al. . Dietary emulsifiers impact the mouse gut microbiota promoting colitis and metabolic syndrome [J]. *Nature*,2015,519(7541):92-96.
- [76] Cammarota G,Ianiro G,Bibbò S,et al. . Gut microbiota modulation:probiotics,antibiotics or fecal microbiota transplantation[J]. *Internal and Emergency Medicine*,2014,9(4):365-373.
- [77] Holm J B,Rønnevik A,Tastesen H S,et al. . Diet-induced obesity, energy metabolism and gut microbiota in C57BL/6J mice fed Western diets based on lean seafood or lean meat mixtures [J]. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 2016,31:127-136.
- [78] Yang Y X,Mu C L,Luo Z,et al. . Bromochloromethane,a Methane Analogue,Affects the Microbiota and Metabolic Profiles of the Rat Gastrointestinal Tract[J]. *Applied and Environmental Microbiology*,2016,82(3):778-787.
- [79] Chen H,Mao X,He J,et al. . Dietary fibre affects intestinal mucosal barrier function and regulates intestinal bacteria in weaning piglets[J]. *British Journal of Nutrition*,2013,110(10):1837-1848.
- [80] Chen H,Wang W,Degroote J,et al. . Arabinoxylan in wheat is more responsible than cellulose for promoting intestinal barrier function in weaned male piglets[J]. *Journal of Nutrition*,2015,145(1):51-58.
- [81] Chen H,Mao X,Yin J,et al. . Comparison of jejunal digestive enzyme activities, expression of nutrient transporter genes, and apparent fecal digestibility in weaned piglets fed diets with varied sources of fiber[J]. *Journal of Animal and Feed Sciences*,2015,24:41-47.
- [82] Chen H,Mao X,Che L,et al. . Impact of fiber types on gut microbiota, gut environment and gut function in fattening pigs[J]. *Animal Feed science and Technology*,2014,195:101-111.
- [83] Che L,Chen H,Yu B,et al. . Long-term intake of pea fiber affects colonic barrier function, bacterial and transcriptional profile in pig model[J]. *Nutrition and Cancer*,2014,66(3):388-399.
- [84] Chen H,Chen D,Qin W,et al. . Wheat bran components modulate intestinal bacteria and gene expression of barrier function relevant proteins in a piglet model[J]. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*,2016 (In press).
- [85] Zhao Y,Shao F. The NAIP-NLRC4 inflammasome in innate immune detection of bacterial flagellin and type III secretion apparatus[J]. *Immunological Reviews*,2015,265(1):85-102.

猪利用氮营养素的机制及 营养调控研究进展*

朱伟云** 余凯凡

(江苏省消化道营养与动物健康重点实验室,
南京农业大学消化道微生物研究室,南京 210095)

摘要:我国蛋白质饲料资源紧缺、养猪业高氮排放污染问题突出,提高蛋白质饲料资源利用效率进而减少资源浪费、降低氮排放是养猪业可持续发展的需要。饲料中的氮营养素首先经过动物胃和肠道代谢,在此过程中,肠道微生物菌群也参与氮素的代谢转化,其后氮素再经过肝脏代谢进到肌肉等靶器官进行代谢沉积,促使机体生长。因此,研究氮营养素在消化道、肝脏和肌肉组织中的消化代谢规律及调节机制,是提高氮营养素利用效率、减少氮排放的重要基础。本文结合国家“973”计划项目“猪利用氮营养素的机制及营养调控”研究,总结了胃肠道化学感应、小肠黏膜功能、肠道微生物组成对日粮蛋白质水平的响应及影响,日粮蛋白质在肝脏的代谢转化和在肌肉的沉积规律等一些研究的进展,为丰富猪蛋白质营养理论,完善饲料粮组成、制定精准营养配方,探寻缓解蛋白质饲料资源紧缺和养猪业高氮排放的营养调控措施提供参考。

关键词:氮营养素利用;蛋白质;氨基酸;吸收代谢;猪

随着畜牧业的迅猛发展,我国优质蛋白质饲料资源日益紧缺。另一方面,由于氮营养素利用效率不高,日粮氮通过粪尿排到环境造成污染。实际上,不科学的日粮氮营养素供给模式是造成蛋白质资源利用效率不高的重要因素,其根本是由于人们对氮营养素在猪机体内的消化代谢规律及其调节机制的认识不够。因此,研究猪利用氮营养素的机制及营养调控,是科学制定猪对日粮氮营养素供给模式,进而提高氮营养素利用效率、减少氮排放的重要前提和基础。

机体利用氮营养素的效率,取决于氮营养素模式与机体的相互作用及整合,涉及消化、代谢过程的调节,包括环境信号(营养素及其代谢物)、胞内信号传递及功能基因的表达调控;同时受肠道微生物与宿主相互作用的影响。项目组在国家“973”计划项目的资助下,以氮营养素在消化道、肝脏和肌肉组织消化代谢过程中的供给模式变化为主线,以氮营养素-微生物-组织器官间的化学信号感应与传递为内在联系,从细胞分子、组织器官和整体水平上开展了氮营养素的消化代谢规律及调节机制的研究,并提出了一些针对性的日粮模式。本文主要结合项目的研究进展,围绕猪利用氮营养素的机制及营养调控进行综述。

* 基金项目:国家重点基础研究发展计划(973)(2013CB127300)

** 第一作者简介:朱伟云(1962—),女,教授,博士生导师,E-mail: zhuweiyun@njau.edu.cn

1 胃肠道化学感应与氮营养素的消化

动物胃肠道内存在肠道内分泌细胞与迷走神经之间的一种营养素化学感应系统(nutrient chemosensing system),该感应系统可将信息从胃肠道传递给大脑,在营养素消化过程中起着重要作用^[1]。肠道内分泌细胞表面的各类营养素感应受体通过特异性识别肠腔内的蛋白质、脂类、糖类等营养素,激活细胞下游信号通路,促使胃肠激素如酪酪肽(peptide YY, PYY)、胆囊收缩素(cholecystokinin, CCK)等的分泌,进而通过内分泌、旁分泌或神经分泌途径调控机体对营养素的吸收与代谢。

日粮氮营养素供应水平会直接影响胃肠道氮营养素的消化进而可能影响生产性能。项目组研究表明,平衡4种必需氨基酸(赖氨酸、蛋氨酸、色氨酸、苏氨酸)条件下,日粮蛋白质水平降低3个百分点(与NRC标准相比,下同),断奶仔猪、生长猪和肥育猪的料重比不受影响,采食量和日增重均有所下降,但差异不显著。而当日粮蛋白质水平降低6个百分点时,各阶段猪生长性能均显著下降。当日粮蛋白质水平相对较高时,更多的氨基酸可被吸收进机体血液循环当中。而额外添加的4种必需氨基酸,显然缓解了这几种氨基酸在机体代谢库的缺乏,各组差异不显著。但当蛋白质水平降低6个百分点时,这几种氨基酸含量仍相对偏低,这也表明,由于用以维持机体合成代谢的蛋白质不足,这些必需氨基酸被“征用”而浪费。

日粮蛋白质进入胃肠道后,可刺激胃酸和消化酶的分泌,使蛋白质降解为肽、氨基酸和氨等。在不同肠段肠腔及肠细胞中,消化酶的分泌不仅可能受到摄入营养素的种类、数量、组成或其消化产物的影响^[2],还受到胃肠激素的调节。项目组研究表明,日粮蛋白质水平降低3个百分点和6个百分点,不影响断奶仔猪、生长猪和肥育猪胃肠道消化酶如胰脂肪酶、胰蛋白酶的酶活性以及胃蛋白酶原Ⅰ和Ⅱ、胃泌素的分泌,但胰脏脂肪酶活性随日粮蛋白水平下降而显著下降。感应氮营养素氨基酸和肽的受体主要是G蛋白耦联受体超家族成员(GPCRs),如TLRs、CaSR和GPRC6A等。研究表明,日粮蛋白质水平主要影响空肠感受体T1R3基因的表达,不影响感受体GPR93基因在十二指肠和空肠中的表达。胃肠激素也受到日粮蛋白水平的影响,猪从仔猪阶段开始降日粮蛋白质水平,Grelin、GIP浓度随蛋白水平降低而显著降低,PYY浓度也有降低的趋势,CCK浓度在中蛋白水平最高。

2 小肠黏膜结构、功能与氮营养素吸收利用

从猪小肠肠腔吸收进入门静脉的所有氨基酸均可在肠道等门静脉排流组织,中发生分解代谢^[3]。日粮中97%的谷氨酸和天冬氨酸、70%的谷氨酰胺、40%~50%的丝氨酸和甘氨酸、40%的精氨酸和脯氨酸、20%~40%的支链氨基酸以及30%~60%的其他必需氨基酸在小肠中进行代谢^[4]。大量氮营养素在小肠黏膜中被代谢,因此,小肠黏膜的结构和功能直接影响氮营养素的吸收与利用。项目组研究发现,与低蛋白日粮相比,参照NRC标准的正常蛋白日粮可以促进仔猪小肠黏膜紧密连接蛋白Claudin-1表达,完善肠黏膜屏障;而在生长猪和育肥猪阶段,正常蛋白日粮降低了Claudin-1和E-cadherin的表达,增加细胞旁路的渗透性。正常蛋白日粮显著增加育肥猪阶段空肠杯状细胞的数量,提高Muc2的分泌,使黏液层增厚,有利于黏膜屏障,这种影响是否与营养物质吸收有关有待进一步研究。研究同时发现,日粮蛋白质水平降低影响了猪小肠组织中与氮素消化代谢功能相关的基因和蛋白表达。此外,对氨基酸与小肠黏膜功能的研究表明,谷氨酸可提高猪小肠上皮细胞单层细胞电阻,降低其通透性,并上调紧密连接蛋白Occludin、Claudin-3、ZO-2和ZO-3的表达,增强黏膜完整性^[5]。谷氨酰胺也可调控紧密连接蛋白的表达,影响猪肠道上皮屏障功能^[6]。

蛋白质在肠道内经酶解产生的游离氨基酸可通过其转运载体转入肠上皮细胞;产生的小肽可通过H⁺驱动肽转运载体转入肠上皮细胞,然后部分被继续降解成氨基酸^[7]。项目组对不同日粮蛋白质水

平下的猪小肠氨基酸、小肽转运载体表达规律进行研究发现,日粮蛋白质水平可显著影响仔猪空肠 b⁰⁺AT 和 PepT1 的基因表达,日粮蛋白质水平下降 6 个百分点下调了空肠 EAAT3 基因表达。日粮蛋白水平对仔猪小肠中主要负责转运 L 型赖氨酸、精氨酸和鸟氨酸的碱性氨基酸转运载体 CAT1 的表达没有影响,这可能与日粮提供的碱性氨基酸(赖氨酸、精氨酸)已满足猪的需要有关。进一步对谷氨酸转运载体 EAAT3 的功能研究表明,EAAT3 可以激活 mTOR 信号通路促进细胞增殖,上调胱氨酸-谷氨酸交换载体 xCT,调控胱氨酸转运和维持胞内谷氨酸代谢池的稳定^[8]。项目组研究还发现了碱性氨基酸转运载体 y⁺LAT1 的编码基因 SLC7A7 是 CDX2 的靶基因,CDX2 可上调 SLC7A7 的表达,促进猪肠道上皮细胞的增殖^[9]。

3 肠道微生物与氮营养素的消化代谢

肠黏膜和肠道微生物的蛋白质周转迅速且量大。受日粮因素和肠黏膜分泌物的刺激,肠道微生物可通过调节自身的基因表达和蛋白分泌,以适应肠道内环境^[10]。肠道微生物可代谢氮营养素产生氨基酸、生物胺和氨等,同时利用氨态氮合成氨基酸,影响动物机体的氨基酸稳态。因此,肠道微生物可以调节宿主的氨基酸池和氮周转^[11]。表明,猪肠道微生物菌群及其代谢受到日粮蛋白质水平和来源的影响^[12]。日粮蛋白质水平显著影响肠道菌体氨基酸组成及消化酶特征。肠道微生物菌体天冬氨酸、丙氨酸、谷氨酸、亮氨酸对日粮蛋白质水平响应更明显,随日龄增加微生物菌体氨基酸显著变化数量也增加;日粮蛋白质水平升高和必需氨基酸(EAA)/非必需氨基酸(NEAA)降低,回肠内容物与粪便微生物菌体 EAA/NEAA 降低。不同日粮蛋白质水平影响猪肠道微生物硝酸还原酶、腺苷脱氨酶、谷氨酰胺合成酶、尿素酶、谷丙转氨酶、蛋白酶的活性,而且其对肠道微生物的蛋氨酸、组氨酸、赖氨酸、精氨酸、甘氨酸、酪氨酸、色氨酸、谷氨酸脱羧酶的活性影响显著。

相当部分日粮氮营养素在肠道中被分解代谢^[13],除肠黏膜细胞外,肠道微生物也直接参与了氮营养素的代谢。项目组研究首次发现,猪小肠微生物可大量代谢赖氨酸、蛋氨酸、苯丙氨酸和苏氨酸,但对缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸等支链氨基酸的代谢率低^[14, 15]。该结果与小肠上皮细胞对氨基酸的代谢规律相反^[16, 17],提示小肠微生物与上皮细胞在氨基酸代谢上存在分工协作。肠腔和肠壁微生物对氨基酸的利用也存在差异。肠腔游离微生物对氨基酸的分解能力较强;肠壁松散连接微生物对氨基酸的代谢比较复杂,既存在合成代谢也存在分解代谢;肠壁紧密连接微生物对氨基酸主要表现出较强的合成能力^[15]。

肠道微生物与宿主氮利用相辅相成,项目组通过饲料添加抗生素干预肠道微生物,研究肠道微生物对氮营养素利用的影响,发现空肠、回肠食糜各种氨基酸浓度均下降,而血液中各种氨基酸浓度则上升。菌群结果表明,抗生素干预改变菌群区系,降低十二指肠、空肠、回肠总菌含量,其中回肠总菌含量下降达显著水平;不同区室肠段微生物组成均不相同,肠腔和黏膜微生物也有很大差异;抗生素显著改变了前段肠道的肠腔微生物组成,尤其是胃和十二指肠,而对黏膜微生物以及后肠微生物无显著影响。该研究提示,饲用抗生素干预肠道菌群改变下氮代谢发生变化,微生物菌群影响氮利用的机制有待进一步解析与研究。

4 肝脏中氮营养素的代谢通路及其调节

肝脏是氮营养素代谢的中枢,来源于门静脉和肝动脉的氨基酸和血氨进入肝脏后可形成尿素或合成蛋白质,其余部分则由肝静脉进入血液循环。肝脏中氨基酸的一条代谢途径是用于合成蛋白质(尤其是白蛋白)。项目组研究发现,仔猪日粮蛋白质水平降低 6 个百分点对血清中白蛋白水平无显著影响,但显著降低 IGF-1 含量。通过对 14% 和 20% 蛋白日粮组中肝脏组织进行表达谱测序分析,结果表明,