

肠道菌群与昼夜节律的关系

李文琪 曹济民

摘要 人和动物肠腔内寄生着一群种类和数量都极为庞大的微生物(主要为细菌),总称为肠道菌群(gut microbiota)。肠道菌群发挥着许多重要而不可或缺的作用,它们在受宿主因素影响的同时,也能参与宿主生命活动的调节。近年来关于肠道菌群的研究不断涌现,肠道菌群在人类健康中的作用引起了人们的高度关注。研究发现,肠道菌群与生物钟之间存在着复杂的相互影响和平衡关系;这种平衡一旦遭到破坏,机体将产生一系列的病理生理改变。本文简要综述了近年来有关肠道菌群与生物钟关系的新进展,包括肠道菌群本身的结构和功能的节律性,以及肠道菌群活动与宿主生物钟(中枢钟和外周钟)之间的相互影响及其可能机制。

关键词 肠道菌群 肠-脑-微生物群轴 昼夜节律

中图分类号 R363 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2017.11.002

肠道菌群中的微生物种类繁多,数目惊人。一些突破性研究显示了肠道微生物和多种疾病(如癌症、代谢性疾病、中枢神经系统疾病等)的发病有密切关联;同时,越来越多的研究证据显示肠道菌群与人体生物钟有密切关系。然而目前并不很清楚肠道菌群是如何与生物钟系统相互作用的。本文重点就肠道菌群对肠-脑-微生物群轴、肠道菌群的昼夜节律和肠道菌群与生物钟的联系三大问题进行介绍和讨论。

一、肠道菌群与肠-脑-微生物群轴

健康成人肠道内的微生物大约有 1000 多种,其总重量约 1.0~1.5kg,数量高达 10^{14} 个,大约是正常人体细胞数量的 10 倍,而且其编码基因数目超过人体自身基因数目的 100 倍,其遗传信息的总和叫作“微生物组”或“元基因组”,是控制人类健康的“第二基因组”^[1]。数量庞大的肠道微生物与宿主共同进化,形成一种长期共生的关系,对维持机体健康发挥着至关重要的作用。

肠道菌群可分为共生菌、条件致病菌和致病菌。其中 99% 为共生菌,它们是肠道菌群的主体,其构成相对固定并且较为稳定地寄居在肠道内,在物种进化过程中形成一种与宿主相互依存、相互制约的关系,共同维持机体稳态^[2,3]。多种因素如基因型、饮食、炎症、抗生素等均可对肠道微生物群体产生影响^[4]。

肠道菌群的功能繁多,包括参与糖代谢、纤维降解以及免疫系统的维护等。此外,肠道菌群还可以调节神经活动以及参与神经-精神性疾病,如应激、自闭症、疼痛、多发性硬化症等的发生、发展^[5]。微生物群落的复杂性,连同其多样性、稳定性和可塑性,使肠道菌群更易适应肠道环境^[6]。但是,一旦外界环境改变或内在稳态遭到破坏,肠道菌群的种类、丰度及构成比例等将发生改变,从而引起肠道菌群失调^[7]。肠道菌群与人体健康密不可分,因此,对于肠道菌群的研究有重要意义。

肠道菌群自身以及与宿主之间的微妙平衡对于维持机体健康和消化系统的功能非常重要;睡眠以及生活方式对肠道菌群的平衡都有着巨大的影响。近来的研究显示,肠道菌群对中枢神经系统的功能起着至关重要的作用。在胃肠道与脑之间存在着双向联系,即肠-脑轴,是由中枢神经系统、自主神经系统和肠神经系统共同组成的^[8]。而肠道菌群在肠-脑轴中起到不可或缺的作用,它将肠神经系统和中枢神经系统的活动紧密地联系在一起,由此衍生出“肠-脑-微生物群轴”的概念^[9]。许多动物实验证据表明,中枢神经系统与胃肠道之间通过肠-脑轴的双向作用,肠道菌群可影响神经系统的发育和功能,如认知和行为等^[10]。

二、肠道菌群活动的昼夜节律性

研究表明,肠道菌群在群体结构和功能活动方面都表现有昼夜节律,这种节律性振荡是由食物摄入的时间和饮食结构所调控的,其对于宿主的昼夜节律转录组、表观遗传组和代谢组有明显的全身性的影

基金项目:国家自然科学基金资助项目(31471126, 81300139)

作者单位:100005 中国医学科学院基础医学研究所/北京协和医学院基础学院生理学系

通讯作者:曹济民,电子信箱:caojimin@126.com

响^[11]。但肠道菌群究竟如何影响宿主的生理功能及病理状态,目前尚不十分清楚。

为了观察肠道菌群自身活动的昼夜节律,研究者们进行了一系列实验。小鼠被置于 12h 光照、12h 黑暗的“人工昼夜”环境,在授时时间 ZT0、ZT6、ZT12 和 ZT18 时分别进行粪便取样并对其进行细菌 16S rRNA 测序,结果显示小鼠肠道菌群的组成随昼夜变化而变化,在样品里的所有细菌种类中,15% 以上的细菌的丰度呈显著地周期性变化,它们属于梭菌目、乳杆菌目以及拟杆菌目,约占到了肠道细菌总数的 60%^[12]。Liang 等^[13]在“门”的分级水平观察了肠道菌群组成的昼夜节律,发现哺乳动物肠道菌群中最主要的两种成分——拟杆菌门和厚壁菌门的相对以及绝对丰度呈昼夜周期性变化;用相对定量及绝对定量的方法进一步证实了肠道菌群的种类及丰度存在着昼夜变化,并且发现雄性和雌性之间这种变化的差异,提示性别对肠道菌群自身活动及其与生物钟的关系可能产生影响。肠道菌群本身在群体结构和功能上呈现出节律性波动,并且通过肠-脑轴的双向联系影响脑的活动,从而直接或间接地影响着宿主由中枢调节的生理活动,因而肠道菌群与宿主生物钟之间必然存在着某种联系。

三、肠道菌群与生物钟的联系

生物钟普遍存在于生物界,是将个体生理节律与外部光照等自然环境联系起来的重要机制^[12]。生命体在长期的进化过程中形成一种昼夜节律来适应地球自转引起的昼夜交替,其可以设定多种生命活动的合适时间,如进食、体温、睡眠-觉醒、激素分泌和代谢稳态^[14]。昼夜节律,也称为近日节律,其节律周期约为 24h,可受到外界环境如光照、食物等条件的影响,是研究最多、最重要的生物节律^[15]。

哺乳动物的中枢钟(母钟)位于下丘脑的视交叉上核(SCN),是昼夜节律的“起搏点”,控制着全身的节律活动;外周钟(子钟)位于组织细胞中,控制效应器的节律。在自然状态下,生物钟接受外界环境的周期信号,经过生物钟基因及其编码的蛋白质组成的反馈回路,调控自身的振荡系统,使机体的各种生命活动与环境周期保持同步^[14]。其分子物质基础是以 CLOCK-BMAL1 异源二聚体为核心的一系列钟基因组成的转录-翻译反馈环路^[16]。

宿主和肠道微生物之间的相互作用可表现在不同组织中的节律性活动,而且对于宿主代谢稳态尤为关键,如果失去这种节律性的控制,则可能导致肥胖、

代谢综合征及其他病症^[11]。

1. 肠道菌群与中枢钟的相互作用:中枢生物钟最主要的功能是协调外周组织的生理活动,通过多种神经和体液信号使外周生物钟保持同步,来适应外界环境的需要。所以,宿主生物钟的紊乱会引起肠道菌群的改变;反之,肠道菌群失调也可对中枢钟产生影响。

(1) 宿主昼夜节律紊乱可致肠道菌群改变:研究表明,慢性倒时差会影响某些生理活动的正常运行,引起昼夜节律的紊乱。有研究者在小鼠身上模拟倒时差以观察肠道菌群是否会受到影响。他们每 3 天给小鼠倒 1 次时差,4 周以后肠道菌群仅有轻微的改变,而延长倒时差时间至 16 周以后,小鼠的肠道菌群构成失去了昼夜节律性,说明外界环境的慢性改变在影响饮食和睡眠的昼夜节律性的同时,肠道菌群亦发生了改变。对钟基因 *Per1* 和 *Per2* 双敲除(*Per1/2-/-*)小鼠的粪便检测显示,*Per1/2-/-*小鼠的肠道菌群几乎完全失去了昼夜周期性变化,而且肠道菌群所涉及的大部分功能也失去了原有的昼夜节律性^[12]。对钟基因 *Bmal1* 敲除小鼠的粪便进行细菌 16S rRNA 测序,发现不仅肠道细菌的昼夜节律性发生明显改变,而且细菌丰度及组成也发生了变化^[13]。总之,无论是激活性的 *Bmal1* 还是抑制性的 *Per1* 和 *Per2*,宿主的钟基因都是肠道微生物群节律性的基础,其形成依赖于宿主生物钟的正常运作^[12]。这些研究进一步支持了宿主生物钟与肠道微生物群节律性之间的紧密联系。(2) 肠道菌群失调可致 SCN 钟基因表达改变:无菌(germ-free, GF)动物是研究肠道菌群对宿主脑活动影响的常用动物模型。Leone 等^[17]通过检测 GF 小鼠和 SPF 级小鼠 SCN 钟基因的表达水平,发现在给予相同的光-暗周期的条件下,肠道微生物群的缺失会使 SCN 钟基因的表达发生改变。这说明肠道微生物群在钟基因表达的维持中起到了重要甚至关键的作用,肠道微生物群的结构和组成会改变钟基因调控网络的平衡,由此导致代谢紊乱等病理改变。

2. 肠道菌群与外周钟的相互作用:除了位于 SCN 的中枢钟,外周器官如胃肠道、肝脏、心脏、肾脏等也有自己的生物钟(外周钟)。外周钟有自身的节律活动能力,但受中枢钟的调控,其对生理功能的调节是通过钟基因对下游钟控基因的表达调控来实现的。研究发现肠道菌群与不同器官的外周钟有密切关系。

(1) 肠道菌群与肠生物钟:人体绝大部分微生物

存在于肠道中,肠道菌群与肠道黏膜免疫存在复杂的交互作用,从而维持肠道的稳态。如若肠道稳态被打破,将直接影响肠道功能,参与或导致疾病的发生、发展^[18]。肠道是人体最大的免疫器官,肠道菌群在结构和功能上与肠黏膜免疫的昼夜节律性密切相关。研究人员用混合抗生素强饲小鼠,得到微生物群明显减少引起的宏观的无菌样表型,该动物表现出小肠派氏结明显减少、盲肠扩大和脾脏变小,并且这种抗生素处理的小鼠结肠上皮细胞的基因表达谱也发生了明显变化,说明肠道菌群失调引起了肠道相关功能的改变^[19]。Mukherji 等^[20]通过检测用抗生素处理后的小鼠盲肠和结肠上皮细胞的核受体和钟基因的表达谱,发现其表达与正常肠上皮细胞不同,这些结果表明肠道菌群参与调控肠上皮细胞核受体和钟基因的表达。另一项研究则是让小鼠每周施行昼夜颠倒的倒时差并且给予高脂高糖饮食,12 周之后分 6 个时间点取小鼠的近端结肠,检测其钟基因的表达水平,发现 Per2 表达的昼夜节律性发生改变;取其粪便进行细菌 16S rRNA 测序,肠道微生物的结构及组成亦发生改变^[21]。由此推测,慢性生物钟紊乱可能会导致肠黏膜屏障功能破坏和炎症发生,进而引起肠道菌群失调。

(2) 肠道菌群与肝生物钟:肠和肝都来源于胚胎时期的原始肠道,后来发育成两个复杂、成熟的代谢器官^[22]。它们之间通过门静脉和胆管形成一种直接的功能上的联系,这提示代谢性肝病与肠道微生物之间的密切联系^[23]。因此,在研究肠道菌群与生物钟之间的相互作用时,对肝脏钟基因表达的分析是很有必要的。通过对肝脏样品的基因表达的分析,无菌鼠肝脏的 Bmal1、Rev-erb α 、Rev-erb β 、Per1、Per2 和 Cry1 的 mRNA 表达模式与 SPF 级小鼠相比有明显不同^[24]。Leone 等^[17]的实验也得到相似的结果,从而证实了 GF 小鼠与 SPF 小鼠肝脏钟基因的表达水平不同。这说明肠道微生物群缺失会使肝脏钟基因表达发生改变,由此可能引起肝脏的生物钟和代谢功能发生紊乱。

四、展 望

数量庞大的肠道菌群相对稳定地存在于肠道中,与肠道自身功能、中枢系统的功能,以及其他组织器官的功能都有着千丝万缕的联系。肠道菌群通过肠-脑轴影响宿主的中枢神经系统活动和行为。肠-脑轴是由免疫、迷走神经和神经-内分泌系统构成的肠和脑之间的信息交流系统,肠道菌群可通过多

种途径发挥其作用。

本文着重阐述了肠道菌群与宿主昼夜节律之间的相互作用,包括肠道菌群与中枢钟 SCN 和外周钟之间的相互作用和关系。然而,肠道菌群的节律性活动如何参与肠道或全身的昼夜节律调控网络,宿主-微生物群的节律性振荡乃至功能活动如何协调,有待进一步的研究。今后的研究如果能阐明肠道菌群调节宿主的基因表达、细胞活动、器官功能和整体行为的机制,以及阐明宿主生物钟或其他功能活动如何反馈调节肠道菌群的机制,将深入认识肠道菌群-宿主共生的重大生物学意义,并提出针对肠道菌群防治疾病的新对策。

参考文献

- 1 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
- 2 Collins SM, Surette M, Bercik P. The interplay between the intestinal microbiota and the brain [J]. *Nat Rev Microbiol*, 2012, 10 (11): 735-742
- 3 Rosselot AE, Hong CI, Moore SR. Rhythm and bugs: circadian clocks, gut microbiota, and enteric infections [J]. *Curr Opin Gastroenterol*, 2016, 32 (1): 7-11
- 4 Mu C, Yang Y, Zhu W. Gut Microbiota: The Brain Peacekeeper [J]. *Front Microbiol*, 2016, 7: 345
- 5 Cryan JF, Dinan TG. Mind-altering microorganisms: the impact of the gut microbiota on brain and behaviour [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2012, 13 (10): 701-712
- 6 Lozupone CA, Stombaugh JI, Gordon JI, *et al.* Diversity, stability and resilience of the human gut microbiota [J]. *Nature*, 2012, 489 (7415): 220-230
- 7 Ghaisas S, Maher J, Kanthasamy A. Gut microbiome in health and disease: Linking the microbiome-gut-brain axis and environmental factors in the pathogenesis of systemic and neurodegenerative diseases [J]. *Pharmacol Ther*, 2016, 158: 52-62
- 8 Foster JA, McVey Neufeld KA. Gut-brain axis: how the microbiome influences anxiety and depression [J]. *Trends Neurosci*, 2013, 36 (5): 305-312
- 9 Wang Y, Kasper LH. The role of microbiome in central nervous system disorders [J]. *Brain Behav Immun*, 2014, 38: 1-12
- 10 Rogers GB, Keating DJ, Young RL, *et al.* From gut dysbiosis to altered brain function and mental illness: mechanisms and pathways [J]. *Mol Psychiatry*, 2016, 21 (6): 738-748
- 11 Thaïss CA, Levy M, Korem T, *et al.* Microbiota diurnal rhythmicity programs host transcriptome Oscillations [J]. *Cell*, 2016, 167 (6): 1495-1510, e12
- 12 Thaïss CA, Zeevi D, Levy M, *et al.* Transkingdom control of microbiota diurnal oscillations promotes metabolic homeostasis [J]. *Cell*, 2014, 159 (3): 514-529

(下转第 71 页)

- duces directional cell migration and spontaneous metastasis via a CXCR4/Gαi/mTORC1 axis [J]. *FASEB J*, 2015, 29(3):1056 – 1068
- 7 D'Alterio C, Consales C, Polimeno M, *et al.* Concomitant CXCR4 and CXCR7 expression predicts poor prognosis in renal cancer [J]. *Curr Cancer Drug Targets*, 2010, 10(7):772 – 781
- 8 Schrevel M, Karim R, ter Haar NT, *et al.* CXCR7 expression is associated with disease – free and disease – specific survival in cervical cancer patients [J]. *Br J Cancer*, 2012, 106(9):1520 – 1525
- 9 Kim J, Takeuchi H, Lam S T, *et al.* Chemokine receptor CXCR4 expression in colorectal cancer patients increases the risk for recurrence and for poor survival [J]. *J Clin Oncol*, 2005, 23(12):2744 – 2753
- 10 Schimanski CC, Schwald S, Simiantonaki N, *et al.* Effect of chemokine receptors CXCR4 and CCR7 on the metastatic behavior of human colorectal cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2005, 11(5):1743 – 1750
- 11 Katsumoto K, Kume S. The role of CXCL12 – CXCR4 signaling pathway in pancreatic development [J]. *Theranostics*, 2013, 3(1):11 – 17
- 12 Gomez – Casal R, Epperly MW, Wang H, *et al.* Radioresistant human lung adenocarcinoma cells that survived multiple fractions of ionizing radiotherapy are sensitive to HSP90 inhibition [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(42):44306 – 44322
- 13 Feys L, Descamps B, Vanhove C, *et al.* Radiotherapy – induced lung damage promotes breast cancer lung – metastasis through CXCR4 signaling [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(29):26615 – 26632
- 14 Sah NK, Khan Z, Khan GJ, *et al.* Structural, functional and therapeutic biology of survivin [J]. *Cancer Lett*, 2006, 244(2):164 – 171
- 15 Guha M, Altieri DC. Survivin as a global target of intrinsic tumor suppression networks [J]. *Cell Cycle*, 2009, 8(17):2708 – 2710
- 16 Khan Z, Tiwari RP, Khan N, *et al.* Induction of apoptosis and sensitization of head and neck squamous carcinoma cells to cisplatin by targeting survivin gene expression [J]. *Curr Gene Ther*, 2012, 12(6):444 – 453
- 17 Salz W, Eisenberg D, Plescia J, *et al.* A survivin gene signature predicts aggressive tumor behavior [J]. *Urol Oncol Seminars Origin Invest*, 2005, 65(9):3531 – 3534
- 18 Kucia M, Reza R, Miekus K, *et al.* Trafficking of normal stem cells and metastasis of cancer stem cells involve similar mechanisms: pivotal role of the SDF – 1 – CXCR4 axis [J]. *Stem Cells*, 2005, 23(7):879 – 894
- 19 Burger JA, Peled A. CXCR4 antagonists: targeting the microenvironment in leukemia and other cancers [J]. *Leukemia J*, 2008, 23(1):43 – 52
- 20 Zeelenberg IS, Stalle RV, Roos E. The Chemokine Receptor CXCR4 Is Required for Outgrowth of Colon Carcinoma Micrometastases [J]. *Cancer Research*, 2003, 63(13):3833 – 3839
- 21 Kim J, Takeuchi H, Lam ST, *et al.* Chemokine receptor CXCR4 expression in colorectal cancer patients increases the risk for recurrence and for poor survival [J]. *Journal of Clinical Oncology Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, 2005, 23(12):2744 – 2753
- 22 Zeng L, Li T, Xu DC, *et al.* Death receptor 6 induces apoptosis not through type I or type II pathways, but via a unique mitochondria – dependent pathway by interacting with Bax protein [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2012, 287(34):29125 – 29133

(收稿日期:2017 – 02 – 08)

(修回日期:2017 – 03 – 10)

(上接第 6 页)

- 13 Liang X, Bushman FD, FitzGerald GA. Rhythmicity of the intestinal microbiota is regulated by gender and the host circadian clock [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, 112(33):10479 – 10484
- 14 Saini C, Suter DM, Liani A, *et al.* The mammalian circadian timing system: synchronization of peripheral clocks [J]. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*, 2011, 76:39 – 47
- 15 Antle MC, Silver R. Orchestrating time: arrangements of the brain circadian clock [J]. *Trends Neurosci*, 2005, 28(3):145 – 151
- 16 Buhr ED, Takahashi JS. Molecular components of the Mammalian circadian clock [J]. *Handb Exp Pharmacol*, 2013(217):3 – 27
- 17 Leone V, Gibbons SM, Martinez K, *et al.* Effects of diurnal variation of gut microbes and high – fat feeding on host circadian clock function and metabolism [J]. *Cell Host Microbe*, 2015, 17(5):681 – 689
- 18 Brown EM, Sadarangani M, Finlay BB. The role of the immune system in governing host – microbe interactions in the intestine [J]. *Nat Immunol*, 2013, 14(7):660 – 667
- 19 Reikvam DH, Erofeev A, Sandvik A, *et al.* Depletion of murine intestinal microbiota: effects on gut mucosa and epithelial gene expression [J]. *PLoS One*, 2011, 6(3):e17996
- 20 Mukherji A, Kobiita A, Ye T, *et al.* Homeostasis in intestinal epithelium is orchestrated by the circadian clock and microbiota cues transduced by TLRs [J]. *Cell*, 2013, 153(4):812 – 827
- 21 Voigt RM, Forsyth CB, Green SJ, *et al.* Circadian Disorganization Alters Intestinal Microbiota [J]. *PLoS One*, 2014, 9(5):e97500
- 22 Sheaffer KL, Kaestner KH. Transcriptional networks in liver and intestinal development [J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2012, 4(9):a008284
- 23 Minemura M, Shimizu Y. Gut microbiota and liver diseases [J]. *World J Gastroenterol*, 2015, 21(6):1691 – 1702
- 24 Montagner A, Korecka A, Polizzi A, *et al.* Hepatic circadian clock oscillators and nuclear receptors integrate microbiome – derived signals [J]. *Sci Rep*, 2016, 6:20127

(收稿日期:2017 – 03 – 15)

(修回日期:2017 – 03 – 23)