

肠道菌群与糖尿病的免疫发病机制:表观遗传调控

周丽媛 肖新华

摘要 糖尿病(diabetes mellitus, DM),被称为“21 世纪的灾难”,给全球带来巨大的健康和经济负担。但其病因和发病机制尚不明确,了解糖尿病的病因及发病机制有利于疾病的预防和治疗。随着宏基因组时代的到来,肠道微生物在 DM 发病中的作用受到越来越多的重视。大量研究发现,肠道菌群失调参与糖尿病的发病。最近炎症相关基因的表观遗传调控方面的发现,提示肠道菌群可能是参与糖尿病免疫发病机制的一种方式。本综述对 DM 发病机制中肠道菌群的作用及表观遗传调控进行了讨论。

关键词 肠道菌群 糖尿病 免疫发病机制 表观遗传调控

中图分类号 R587.1

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2018.02.003

糖尿病(diabetes mellitus, DM)是一种遗传和环境因素共同作用的、以慢性高血糖为基本生化特征的多因素复杂慢性代谢性疾病。最新版国际糖尿病联合会(IDF)调查发现,在 2015 年全球约 4.15 亿成年人(20~79 岁)患有糖尿病,发生率高达 8.8%,预计 2040 年患病人数将达到 6.42 亿,成为 21 世纪全球面临的最严重的健康问题之一。但到目前为止,糖尿病的病因和发病机制仍不十分明确。虽然基因和传统环境因素在糖尿病的发病中起着至关重要的作用,但并不能较好地解释目前糖尿病发生率的快速增长。因此迫切地需要进一步探索糖尿病的病因及发病机制,预防和减少糖尿病的发生,并找到新的治疗靶点。

随着人类高通量测序技术的快速发展,宏基因组技术也越来越成熟,肠道菌群逐渐成为各大医学领域研究的热点。在正常人体内,寄生的微生物与宿主体之间维持着生态平衡,肠道菌群在宿主肠道上皮层的完整性、肠道固有黏膜免疫的发育和成熟及适应性免疫的调节、肠神经系统的成熟等方面均起着重要的作用^[1]。越来越多的研究表明,糖尿病患者体内的肠道菌群与非糖尿病患者相比,发生了显著的变化^[2]。肠道菌群作为一种环境因素,在不影响宿主的遗传基因序列的同时,可以通过表观遗传修饰对宿

主的基因表达进行调控^[3]。因此,本文探讨肠道菌群在糖尿病的免疫发病机制中表观遗传调控的作用,并进一步为糖尿病的治疗探索新的靶点。

一、肠道菌群与糖尿病

人类微生物组计划研究发现,宿主的健康与否与肠道微生物的多样性和稳定性密切相关^[4]。肠道是人体最大的免疫器官,在肠道中存在着总重量达 1~2kg 的肠道菌群,其数量达到 10^{14} 以上,包括 1000 多个种属,通常与宿主处于一种平衡共生关系,在人类的健康中扮演重要的角色。肠道菌群具有多种重要的生理功能,在代谢方面,可以合成宿主所需的氨基酸,吸收饮食中的脂肪和脂溶性维生素,参与胆汁酸相关的代谢,帮助宿主消化复杂的碳水化合物以及植物多糖,通过发酵产生主要的产物——短链脂肪酸(short-chain fatty acids, SCFAs),如丁酸、醋酸、丙酸等^[5]。此外,肠道菌群在肠道上皮屏障的维持、肠道渗透性的调控、宿主固有免疫和适应性免疫的成熟及调节等方面均发挥着重要的作用^[6]。菌群的组成易受到遗传因素、饮食、生活方式、以及抗生素等的影响而发生改变,进而导致机体代谢紊乱。因此肠道菌群失调在包括 1 型糖尿病(type 1 diabetes mellitus, T1DM)和 2 型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)等多种疾病中扮演了重要的角色。

1. T1DM: T1DM 是一种遗传因素和环境因素共同作用导致的以胰岛素绝对缺乏为基本特征的自身免疫性疾病。虽然目前有关 T1DM 患者肠道菌群组成改变的研究结果尚不完全一致,但均显示肠道菌群失调与 T1DM 相关。

在芬兰的一项病例对照研究中发现,高危的自身

基金项目:国家自然科学基金资助项目(面上项目)(81570715、81200584);国家卫生和计划生育委员会内分泌重点实验室项目;国家临床重点专科资助课题;中国医学科学院诺和诺德糖尿病研究英才基金资助项目(UTF2013)

作者单位:100730 北京,中国医学科学院/北京协和医学院北京协和医院内分泌科、国家卫生和计划生育委员会重点实验室

通讯作者:肖新华,电子信箱: xiaoxhua@medmail.com.cn

免疫性 T1DM 儿童与健康儿童相比,其肠道菌群中的厚壁菌门所占比例减少,而拟杆菌门增加,厚壁菌门与拟杆菌门的比值降低,提示这些菌群成分的改变可能成为 T1DM 的早期诊断标志^[7]。另一项研究对比了正常儿童和 16 例白人 T1DM 儿童的肠道菌群,发现拟杆菌、梭状芽孢杆菌、韦荣球菌的数目在 T1DM 患儿肠道菌群中均增加,而双歧杆菌、乳酸杆菌、直肠真杆菌以及普雷沃菌属的数量显著降低,与此同时,此项研究发现 T1DM 儿童肠道菌群中双歧杆菌、乳酸杆菌的减少以及厚壁菌门与拟杆菌门比值的降低均与其血糖水平呈显著负相关,而梭状芽孢杆菌数量的增加与其糖化血红蛋白水平呈正相关^[8]。很多动物实验也证实肠道菌群紊乱在 T1DM 的发生和发展中起着重要的作用。Toivonen 等^[9]发现可发酵纤维饮食与非肥胖糖尿病(non-obese diabetes, NOD)鼠发生 T1DM 的风险相关,进食富含可发酵纤维饮食的 NOD 鼠与进食不含可发酵纤维饮食的鼠相比,T1DM 的发生率更高,同时其肠道菌群发生紊乱——拟杆菌门增加,厚壁菌门减少,菌群多样性也降低。

2. T2DM: T2DM 是以胰岛素抵抗和胰岛素分泌不足为基本特征的慢性代谢性疾病,近年来越来越多的研究显示肠道菌群失调在 T2DM 的发病中也起到了重要的作用。

早期研究发现与体重正常人群相比,体重增加人群的肠道菌群多样性显著降低,且肠道菌群中厚壁菌门显著增加,而拟杆菌门明显减少^[10]。但与此相反,Swartz 等^[11]发现超重人群与正常人群相比,肠道菌群中厚壁菌门与拟杆菌门比值更低。此后 Larsen 等^[12]比较了 36 个正常人和 T2DM 男性患者的粪便肠道菌群,证实 T2DM 患者肠道菌群组成发生改变,其厚壁菌门和梭菌门比例显著降低,拟杆菌门与厚壁菌门的比值、拟杆菌门-普雷沃菌属的比值及球形梭菌-直肠真杆菌的比值均与血糖浓度呈正相关,与体重指数无关,而变形菌门高度富集,且变形菌门数量与血糖浓度也呈正相关。2012 年 Qin 等^[13]对汉族 T2DM 患者的肠道微生物进行了宏基因组关联分析,研究发现了大约 60000 个 T2DM 相关标志物, T2DM 患者肠道微生物菌群发生失调,一些有益的产丁酸的细菌在 T2DM 患者中减少,而各种条件致病菌有所增加。这些研究均表明肠道菌群失调与 T2DM 密切相关。

二、肠道菌群与糖尿病的免疫发病机制

肠道菌群失调在 DM 发病中起着重要的作用,但

目前肠道微生态失衡导致 DM 发生的机制尚不明确。在高脂饮食诱导的 DM 小鼠模型中,肠道菌群通过调节内毒素血症导致 DM 的发生,提示肠道菌群参与糖尿病炎症相关的免疫发病机制^[14]。

1. T1DM: T1DM 是由 T 细胞免疫破坏胰腺 β 细胞所致。据估计全球每年约有 80000 名儿童发生 T1DM^[15]。目前已有大量研究发现 T1DM 患者肠道菌群组成发生了改变,并在动物实验中得到了证实,且显示免疫反应可能在这个过程中起到了重要的作用。

MyD88 (myeloid differentiation factor 88) 是 Toll 样受体 (toll-like receptors, TLRs) 炎性信号通路下游的重要转导蛋白,其依赖的信号通路在固有免疫和适应性免疫中均发挥着重要的作用。Wen 等^[16]通过使用 MyD88 基因敲除 NOD 鼠模型研究发现, NOD 鼠缺乏 MyD88 蛋白可以减少 T1DM 的发生,同时伴随着肠道菌群组成的改变,因此机体免疫在肠道菌群与 T1DM 的发生中扮演了重要的角色。

T 淋巴细胞是机体适应性免疫的重要组成部分,产生的应答是细胞免疫,因此在 T1DM 中起着不可替代的作用,目前较多研究发现 $CD4^+$ T 细胞的分化异常在肠道菌群与 DM 的发生中扮演了重要的角色。一项关于 NOD 鼠研究,在其婴幼儿期给予万古霉素治疗,肠道菌群中多数的革兰阳性菌和革兰阴性菌均大量减少,而 Akkermansia muciniphila 成为优势菌,糖尿病发生率显著降低,同时,肠道黏膜产生促炎细胞因子的 $CD4^+$ T 细胞分化增多^[17]。Alam 等^[18]已经证实,在小鼠模型中,肠道微生物缺乏会导致 T 辅助 (Th)1、Th17 和 T 调节 (Treg) 细胞在肠道内的分化失衡。此外,胰岛的 Treg 细胞可能有助于调控糖尿病的 T 细胞。另一项研究显示,1 型糖尿病小鼠小肠固有层含大量的 Th17 细胞,同时有较多的分节丝状菌,因此这些细菌可能与肠道免疫系统有关,尤其是 Th17 细胞^[19]。

此外, T 淋巴细胞的改变致使其产生的细胞因子也发生了相应的变化。Wang 等^[20]发现在柠檬酸杆菌感染的结肠中,固有淋巴细胞和 $CD4^+$ T 细胞产生的白介素 22 (IL-22) 能改善代谢紊乱并恢复黏膜免疫,进一步阐明了肠道菌群和 $CD4^+$ T 细胞的免疫相互作用。最近一项研究发现在 1 型糖尿病小鼠模型的食物中补充大量的肠道菌群代谢产物——乙酸或丁酸,可以减少糖尿病的发生,同时均能作用于 β 细胞以及扩大自身反应性 T 细胞群来降低淋巴组织中

的自身反应性 T 细胞的比例,增加 Treg 细胞的数量和功能,减少致使糖尿病的 IL-21 等^[21]。

因此,肠道菌群可以通过调节固有免疫、CD4⁺ T 细胞的分化以及其细胞因子的产生影响 T1DM 的发生,这也可能成为未来治疗糖尿病的新靶点。

2. T2DM: 与 T1DM 类似,肠道菌群也参与了 T2DM 的免疫发病机制。肠道是宿主免疫系统与环境之间的天然屏障,而在 T2DM 患者中,这种屏障由于肠道菌群的改变受到破坏,共生菌因此可以穿过屏障发生异位,导致机体处于低度炎性状态^[22]。如在高脂饮食诱导的糖尿病和肥胖鼠小鼠模型中,肠道菌群发生了改变,导致代谢性内毒素血症和炎性反应,增加肠壁通透性,这些改变与巨噬细胞浸润以及炎性细胞因子 TNF- α 、IL-1 β 等的产生相关。的确,肠道菌群可以通过调节免疫导致肥胖和胰岛素抵抗的发生。肥胖会伴有全身的轻度炎症,进一步引发胰岛素抵抗和 T2DM 的发生。Ding 等对比了高脂饮食诱导肥胖的无菌小鼠和正常小鼠,发现正常小鼠肠道上皮细胞 NF- κ B 激活,TNF- α 水平增加,这表明肠道炎性状态和菌群密切相关。在合并有消化道肿瘤的糖尿病患者中,补充微生物和肠内营养复合物能改善其胰岛素抵抗和免疫状态,CD4⁺ T 细胞、CD4⁺/CD8⁺ T 细胞比值及自然杀伤细胞的数量增加,提示微生物补充能够增强机体免疫。因此,肠道菌群失调在 T2DM 的炎症相关免疫发病机制中扮演着重要的角色。

三、表观遗传调控在肠道菌群失调与糖尿病中的作用

表观遗传学是研究基因序列没有发生改变的情况下,基因的表达却发生变化的一门学科,主要包括 DNA 甲基化、组蛋白翻译后修饰、非编码 RNA (ncRNA),会随着环境因素的改变调控机体基因的表达。目前已有大量研究显示表观遗传学的改变和心血管疾病、肿瘤、衰老和神经退行性疾病、精神紊乱性疾病、免疫系统疾病、糖尿病和肥胖相关,在介导环境因素与遗传因素相互作用中起着重要的作用。肠道菌群作为一种环境因素,可能通过表观遗传学修饰调控宿主基因表达,导致包括糖尿病、炎症性肠病、结肠癌、自闭症等的发生。

正如上文所述,肠道菌群能直接影响糖尿病患者的免疫系统。有研究发现肠道菌群可能通过表观遗传学途径与固有免疫系统相互作用,进一步导致 T1DM 的发生^[23]。在 T2DM 患者中,肠道菌群的多样

性以及普拉梭菌数量降低可以影响宿主的表观遗传调控,减少游离脂肪酸受体 3 (free fatty acid receptor 3, FFAR3) 基因的甲基化,不仅影响短链脂肪酸与游离脂肪酸受体 (FFARs) 的结合,还可能参与调控饱腹与饥饿循环^[24]。此外,T2DM 患者 TLR2 和 TLR4 基因的甲基化减少。因此肠道菌群失调参与了 T2DM 炎性反应的表观遗传调控。

表观遗传学修饰具有可逆性及可遗传性,尽管 DNA 序列没有发生改变,这种变化可以随着细胞分裂而持续数代。上述研究均提示表观遗传修饰可能是肠道菌群调控 DM 患者免疫反应的机制,进一步为更好的理解糖尿病患者中肠道菌群失调与宿主的相互作用关系提供了依据。但是,目前对这一表观遗传机制的研究甚少,因此需要进一步进行体内及体外研究,来阐明糖尿病中肠道菌群失调对宿主的表观遗传调控机制,并在此基础上探索菌群相关的治疗。

四、展 望

综上所述,近年来糖尿病发生率仍在迅猛增长。原已被学界广泛认可的遗传因素和传统环境因素并不能完全解释 DM 发生率的增长趋势,因此对 DM 病因和发病机制的进一步探索迫在眉睫。近年来已有较多的临床研究及动物实验均发现肠道菌群失调与 DM 的发生密切相关。作为人体重要“器官”的肠道菌群,对人体具有重要的生理作用。目前肠道菌群失调导致 DM 的机制尚不统一,但肠道菌群在糖尿病的炎症相关免疫发病机制中的作用受到越来越多的重视。紊乱的肠道菌群通过影响固有免疫、CD4⁺ T 细胞的分化以及其细胞因子的产生调控 T1DM 的发生,表观遗传学修饰在这一免疫反应中可能起着重要的作用。在 T2DM 中,肠道菌群失调导致炎性细胞因子的表达发生改变,脂肪酸和炎症相关基因的甲基化降低,因此表观遗传调控免疫反应可能是肠道菌群失调致使 T2DM 的一个重要的机制,可能成为糖尿病治疗的新方向。未来需要进一步深入探索肠道菌群与 DM 关系的表观遗传调控免疫反应机制,为糖尿病的预防和治疗开辟新的道路。

参考文献

- 1 Wells JM, Rossi O, Meijerink M, *et al.* Epithelial crosstalk at the microbiota - mucosal interface[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011, 108 (Suppl 1):4607 - 4614
- 2 Bouter KE, van Raalte DH, Groen AK, *et al.* Role of the gut microbiome in the pathogenesis of obesity and obesity - related metabolic dysfunction[J]. *Gastroenterology*, 2017, 152 (7):1671 - 1678
- 3 Woo V, Alenghat T. Host - microbiota interactions: epigenomic regulation[J]. *Curr Opin Immunol*, 2017, 44:52 - 60

- 4 Human Microbiome Project Consortium. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome[J]. *Nature*, 2012, 486: 207 – 214
- 5 Zhang M, Chekan JR, Dodd D, *et al.* Xylan utilization in human gut commensal bacteria is orchestrated by unique modular organization of polysaccharide – degrading enzymes[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111: E3708 – 3717
- 6 Putignani L, Del Chierico F, Vernocchi P, *et al.* Gut microbiota dysbiosis as risk and premorbid factors of IBD and IBS along the childhood – adulthood transition[J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2016, 22 (2): 487 – 504
- 7 Giongo A, Gano KA, Crabb DB, *et al.* Toward defining the autoimmune microbiome for type 1 diabetes[J]. *ISME J*, 2011, 5: 82 – 91
- 8 Murri M, Leiva I, Gomez – Zumaquero JM, *et al.* Gut microbiota in children with type 1 diabetes differs from that in healthy children: a case – control study[J]. *BMC Med*, 2013, 11: 46 – 50
- 9 Toivonen RK, Emani R, Munukka E, *et al.* Fermentable fibres condition colon microbiota and promote diabetogenesis in NOD mice[J]. *Diabetologia*, 2014, 57: 2183 – 2192
- 10 Gill S, Mihai P, Robert T, *et al.* Metagenomic analysis of the human distal gut[J]. *Science*, 2006, 312 (1355): 1355 – 1359
- 11 Schwiertz A, Taras D, Schäfer K, *et al.* Microbiota and SCFA in lean and overweight healthy subjects[J]. *Obesity*, 2010, 18 (1): 190 – 195
- 12 Larsen N, Vogensen FK, Van Den Berg FW, *et al.* Gut microbiota in human adults with type 2 diabetes differs from non – diabetic adults [J]. *PLoS One*, 2010, 5 (2): e9085
- 13 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
- 14 Patterson E, Ryan PM, Cryan JF, *et al.* Gut microbiota, obesity and diabetes[J]. *Postgrad Med J*, 2016, 92 (1087): 286 – 300
- 15 Chiang JL, Kirkman MS, Laffel LM, *et al.* Type 1 diabetes sourcebook authors: type 1 diabetes through the life span: a position state-

- ment of the American Diabetes Association[J]. *Diabetes Care*, 2014, 37 (7): 2034 – 2054
- 16 Wen L, Ley RE, Volchkov PV, *et al.* Innate immunity and intestinal microbiota in the development of type 1 diabetes[J]. *Nature*, 2008, 455 (7216): 1109 – 1113
- 17 Hansen CH, Krych L, Nielsen DS, *et al.* Early life treatment with vancomycin propagates *Akkermansiamuciniphila* and reduces diabetes incidence in the NOD mouse[J]. *Diabetologia*, 2012, 55 (8): 2285 – 2294
- 18 Alam C, Bittoun E, Bhagwat D, *et al.* Effects of a germ – free environment on gut immune regulation and diabetes progression in non – obese diabetic (NOD) mice[J]. *Diabetologia*, 2011, 54 (6): 1398 – 1406
- 19 Kriegel MA, Sefik E, Hill JA, *et al.* Naturally transmitted segmented filamentous bacteria segregate with diabetes protection in nonobese diabetic mice[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108 (28): 11548 – 11553
- 20 Wang X, Ota N, Manzanillo P, *et al.* Interleukin – 22 alleviates metabolic disorders and restores mucosal immunity in diabetes[J]. *Nature*, 2014, 514 (7521): 237 – 241
- 21 Mariño E, Richards JL, McLeod KH, *et al.* Gut microbial metabolites limit the frequency of autoimmune T cells and protect against type 1 diabetes[J]. *Nat Immunol*, 2017, 18 (5): 552 – 562
- 22 Lin L, Zhang JQ. Role of intestinal microbiota and metabolites on gut homeostasis and human diseases[J]. *BMC Immunol*, 2017, 18 (1): 2
- 23 Wen L, Ley RE, Volchkov PY, *et al.* Innate immunity and intestinal microbiota in the development of type 1 diabetes[J]. *Nature*, 2008, 455 (7216): 1109 – 1113
- 24 Remely M, Aumüller E, Jahn D, *et al.* Microbiota and epigenetic regulation of inflammatory mediators in type 2 diabetes and obesity [J]. *Benef Microbes*, 2014, 5 (1): 33 – 43

(收稿日期: 2017 – 06 – 07)

(修回日期: 2017 – 06 – 22)

(上接第 4 页)

- 20 Shishtar E, Sievenpiper JL, Djedovic V, *et al.* The effect of ginseng (the genus *panax*) on glycemic control: a systematic review and meta – analysis of randomized controlled clinical trials[J]. *PLoS One*, 2014, 9 (9): e107391
- 21 薛涛, 夏朝霞, 郭丽莎, 等. 人参降糖作用的研究进展[J]. *中国现代中药*, 2014, 16 (5): 428 – 432
- 22 郑永仁, 刘传凤, 王礴, 等. 人参皂苷 Rg1 对 2 型糖尿病大鼠模型血糖调控作用[J]. *中国民族民间医药*, 2016, 25 (20): 18 – 22
- 23 Uzayisenga R, Ayeka PA, Wang Y. Anti – diabetic potential of *panax* notoginseng saponins (PNS): a review[J]. *Phytother Res*, 2014, 28 (4): 510 – 516
- 24 马萍, 胡荣, 王小英, 等. 中药人参治疗糖尿病的研究进展[J]. *湖北中医药大学学报*, 2013, 15 (1): 63 – 65
- 25 Bang H, Kwak JH, Ahn HY, *et al.* Korean red ginseng improves glucose control in subjects with impaired fasting glucose, impaired glucose tolerance, or newly diagnosed type 2 diabetes mellitus [J]. *J Med Food*, 2014, 17 (1): 128 – 134
- 26 马林沁, 张京春, 刘玥, 等. 中药人参制剂对胰岛素抵抗干预效应的

- 的 meta 分析[J]. *中国循证医学杂志*, 2016, 16 (7): 819 – 827
- 27 陈立, 程瑾, 杨明炜, 等. 梓醇对 3T3 – L1 脂肪细胞糖脂代谢的影响及其机制研究[J]. *中药新药与临床药理*, 2013, 24 (2): 111 – 115
- 28 许瑞, 刘莉, 毕艳平, 等. 梓醇对糖尿病及其并发症作用的研究进展[J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2015, 13 (9): 1082 – 1085
- 29 刘影, 刘涛, 赵晓军, 等. 地黄寡糖对二型糖尿病大鼠糖脂代谢及肝脏超微结构的影响[J]. *中国现代应用药学*, 2014, 31 (11): 1312 – 1316
- 30 赵素霞, 王娟娟, 张振凌, 等. 地黄叶与桑叶降血糖作用研究[J]. *中医学报*, 2015, 30 (10): 1411 – 1413
- 31 王胜娟, 陈瑶, 李朝玲, 等. 地黄对于糖尿病大鼠微炎症状态的作用[J]. *现代生物医学进展*, 2016, 16 (15): 2828 – 2830
- 32 康伟, 王肃. 地黄多糖对糖尿病肾病大鼠模型的治疗作用及对 PPAR – γ 信号通路的影响[J]. *中国生化药物杂志*, 2015, 35 (9): 30 – 37
- 33 孙瑞茜, 彭静, 郭健, 等. 鬼箭羽的现代药理作用研究成果[J]. *环球中医药*, 2015, 8 (2): 245 – 248

(收稿日期: 2017 – 11 – 27)

(修回日期: 2017 – 11 – 30)