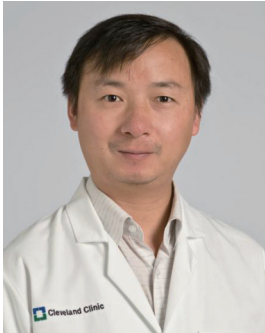


DOI: 10.13376/j.cblls/2017092

文章编号: 1004-0374(2017)07-0682-05



王则能, 克利夫兰医学中心研究员、凯斯西储大学助理教授。复旦大学生命科学学院学士, 北京大学生命科学学院硕士、博士。曾任职于黄石市第三制药厂、黄石飞云制药有限公司、中国科学院植物研究所。2002年底赴美留学, 先后参与癌细胞脂质信号转导、过氧化物酶介导的动脉粥样硬化以及哮喘形成机理、肠道细菌参与心脏病的发病机制研究, 首次报道氧化三甲胺与心血管疾病发生的相互关系。相关研究成果发表在 *Nature*、*Cell*、*Nature Medicine*、*New England Journal of Medicine*、*European Heart Journal*、*Cell Metabolism*、*Arterioscler Thromb Vasc Biol*、*JBC* 等杂志。

肠道微生物与动脉粥样硬化

王则能^{1*}, 颜彦²

(1 克利夫兰医学中心细胞与分子医学系, 美国俄亥俄州克利夫兰 44122; 2 复旦大学附属中山医院心内科, 上海 200032)

摘要: 肠道微生物通过其代谢产物参与一些生理及病理过程。主要介绍了几类与动脉粥样硬化相关的代谢产物, 包括胆汁盐、短链脂肪酸、原儿茶酸、氧化三甲胺、脂多糖, 阐述其如何影响动脉粥样硬化的进程, 并讨论了通过降低一些有害代谢产物来预防与治疗动脉粥样硬化性心血管疾病的可行性。

关键词: 肠道微生物; 动脉粥样硬化; 代谢产物

中图分类号: Q93; R543 **文献标志码:** A

Gut microbiota and atherosclerosis

WANG Ze-Neng^{1*}, YAN Yan²

(1 Department of Cellular & Molecular Medicine, Cleveland Clinic, Cleveland, Ohio 44122, USA;
2 Department of Cardiovascular Medicine, Zhongshan Hospital, Fudan University, Shanghai 200032, China)

Abstract: Gut microbiota is involved in some physiological processes and disease pathogenesis mediated by metabolites. This article introduced several metabolites, including bile salts, short chain fatty acids, protocatechuic acid, trimethylamine N-oxide and lipopolysaccharide as well, which are associated with atherosclerosis progression. In addition, the possibility on decreasing atherosclerotic cardiovascular disease frequency by inhibition of the production of harmful metabolites was also discussed.

Key words: gut microbiota; atherosclerosis; metabolite

在人体肠道中有高达 39 万亿个微生物, 其数量为人体细胞总和的 1.3 倍, 主要是细菌, 其基因组总和比人类大 100 倍^[1-2]; 我国华大基因报道, 人体胃肠道共有 988 万个微生物基因^[3]。大部分细菌在肠道内与人体营共生生活, 帮助人体消化、吸收、制造维生素与短链脂肪酸、构建免疫体系、防御病

原体入侵, 但也存在一些致病菌, 其生长处于抑制状态, 一旦生态平衡失调, 它们快速繁殖导致各种疾病。目前已知胃溃疡、肠炎、肥胖、II 型糖尿病、

收稿日期: 2016-11-21

基金项目: NIH RO1HL130819

*通信作者: E-mail: wangz2@ccf.org

哮喘、心血管疾病、老年痴呆症等多种疾病与肠道细菌的生态失调有关^[4]。细菌主要通过其特有的代谢方式制造代谢产物影响人类的健康。

目前研究发现细菌通过其产生的代谢产物影响人类的健康, 主要包括短链脂肪酸、胆汁酸、多酚类等, 还有一类细菌的非代谢产物, 如脂多糖也对人类健康产生影响。此外, 研究发现细菌介导的代谢产物氧化三甲胺可以导致动脉粥样硬化患者发生不良心血管事件。

1 动脉粥样硬化发病机制

动脉粥样硬化是发生在动脉管壁上的慢性炎症反应, 表现为动脉管壁粥样斑块形成导致管腔变窄, 弹性丧失, 最终引起不良心血管事件, 如心肌梗死、脑中风、死亡^[5]。起因于低密度脂蛋白(LDL)的氧化修饰触发内皮细胞释放细胞间粘分子、巨噬细胞向化蛋白。单核细胞穿过血管内膜募集到被修饰的LDL, 分化为巨噬细胞, 通过其表达的清道夫受体SR-A1和CD36吞噬更多的被修饰的LDL而发育成泡沫细胞, 泡沫细胞发生细胞程序死亡或坏死, 吸引更多的巨噬细胞前来吞噬清除, 从而形成具有更大脂核的斑块; 与此同时, 坏死的泡沫细胞释放细胞因子, 促使血管平滑肌细胞增生、迁移到内膜, 释放细胞外基质、胶原, 形成纤维盖。早期形成的纤维盖具有稳定斑块的功能, 到后期巨噬细胞释放胞外金属蛋白酶9(MMP9)水解斑块纤维盖, 导致斑块破裂, 激活血小板, 血小板聚集凝结成血栓, 如发生在冠状动脉则导致心肌梗死, 发生在脑血管即中风^[5-6]。NF- κ B是调节动脉粥样硬化的主要转录因子, 它调控许多蛋白质的表达, 参与动脉粥样硬化的启动、泡沫细胞的形成、炎症反应、平滑肌细胞增生与迁移调控^[7]。由动脉粥样硬化导致的死亡占全球死亡的1/3。一些营养添加剂与药物可抑制动脉粥样硬化的相关过程而延缓动脉粥样硬化的发生发展^[6]。细菌的代谢产物通过抑制或促进动脉粥样硬化的相关过程而表现出对动脉粥样硬化的预防或促进效应^[8]。

2 肠道细菌水解胆汁盐是排出体内胆固醇并减少斑块形成的方式

动脉粥样斑块中的胆固醇可通过ABCA1、ABCG1转运蛋白转运到新生的HDL上, 形成成熟的HDL, 然后通过肝细胞的SR-B1受体转运到肝脏^[9]。胆汁酸是在肝脏中以胆固醇为底物经多步酶

促催化合成的, 胆固醇7 α -羟化酶(CYP7A1)是胆汁酸合成的第一步催化酶, 也是胆汁酸合成调控的关键酶^[10]。胆汁酸以与甘氨酸或牛磺酸的结合态——胆汁盐分泌到胆囊中, 再由胆囊管分泌到小肠中, 其中90%~95%的胆汁盐在回肠以主动运输的方式又被吸收回到肝脏中, 通过激活胆汁酸受体FXR, 增加FGF15/19的转录合成, 抑制CYP7A1的表达, 从而抑制胆汁酸的合成, 维持胆汁酸的稳态^[11]。未经肠道吸收返回到肝中余下的5%~10%胆汁盐在结肠中经细菌表达的胆汁盐水解酶水解, 释放游离的胆汁酸, 部分从粪便排除。胆汁盐水解酶在双歧杆菌、乳酸杆菌、梭菌、肠球菌、拟杆菌属的一些细菌中表达^[12], 其中一些细菌为益生菌。胆固醇在体内主要以胆汁酸的形式清除出去。清除斑块中的胆固醇能降低斑块的体积, 并可稳定斑块。此外, 一些细菌在肠道将胆固醇还原为粪醇, 从而降低胆固醇的吸收, 这也是机体控制胆固醇浓度的一种方式^[13]。

3 结肠细菌代谢产物短链脂肪酸对抗动脉粥样硬化

短链脂肪酸是指含1~6个碳原子的小分子脂肪酸, 是细菌在结肠中的厌氧发酵产物, 其前体可以是糖类和蛋白质, 但在动物的消化道中, 糖类和蛋白质在进入结肠前就已被消化吸收。真正能成为底物的是肠道消化酶不能消化的多糖及可溶性纤维, 如寡聚果糖、菊粉、果胶、阿拉伯木聚糖^[14]。细菌发酵碳水化合物可产生乙酸, 体内还有一些乙酸产生细菌能利用氢气与二氧化碳或甲酸反应生成乙酸; Negativicutes、韦荣氏球菌科(Veillonellaceae)以及毛螺菌科(Lachnospiraceae)为丙酸产生菌; 粪球菌属(*Coprococcus*)、*Faecalibacterium*、优杆菌属(*Eubacterium*)以及罗斯氏菌(*Roseburia*)为丁酸产生菌^[15]。短链脂肪酸可被结肠细胞吸收成为营养能源物质。短链脂肪酸也可吸收进血液循环, 通过乙酰辅酶A进入Kreb's循环, 给全身细胞提供能源, 这一方面也是肥胖症的发病机制^[16]。另一方面, 短链脂肪酸通过与受体GPR41、GPR43、GPR109A结合传递下游信号; 此外, 短链脂肪酸能抑制组蛋白脱乙酰化酶活性^[17]。丙酸和丁酸可抑制NF- κ B及TNF信号通路^[18-19], 导致oxLDL激活的血管内皮细胞合成的VCAM-1与ICAM-1表达量降低^[20]。短链脂肪酸还促进胆汁酸的合成^[21], 从而延缓动脉粥样硬化发生过程。

4 肠道细菌作用下的花青素-3-葡萄糖苷的代谢产物拮抗动脉粥样硬化

我国中山大学凌文华教授课题组报道,花青素-3-葡萄糖苷经过肠道细菌的作用转化为原儿茶酸,原儿茶酸通过抑制 mi-10b mRNA 的表达而解除对巨噬细胞 ABCA1、ABCG1 的表达抑制,从而使巨噬细胞吞噬的 LDL 胆固醇反向运输排出增加,进而减轻动脉粥样硬化^[22]。

5 肠道细菌参与合成的氧化三甲胺促使动脉粥样硬化

氧化三甲胺(TMAO)为三甲胺(TMA)在肝脏中被黄素单加氧酶(FMO)催化的氧化产物。三甲胺是肠道细菌通过三甲胺裂解酶对含三甲胺基团的化合物进行切割的产物。一些食物,如肉食类富含卵磷脂、胆碱及肉碱等,为三甲胺的主要来源^[23-25]。目前报道有3种三甲胺裂解酶,分别称为CutC/D、CntA/B及YeaW/X^[26-28]。在人体肠道中已检测到13种细菌含有CutC/D基因,其中5种属于梭菌,26种细菌含有CntA/B基因,10种细菌含有YeaW/X基因^[29]。TMAO作为一种化学分子伴侣,能对抗尿素引起的蛋白质变性^[30]。在海洋鱼类中,体内贮存的高浓度TMAO能有效地抗凝^[31]。一些细菌用TMAO作为末端电子受体^[32]。长期以来,TMAO一直被认为是三甲胺的代谢废物。一些罕见患者肝脏中缺乏FMO3,致使TMA在体内积累,通过皮肤扩散而呈鱼腥味。近年来研究发现,TMAO可导致动脉粥样硬化血栓性疾病的发生,这使TMAO在临床上的重要性受到了广泛的关注^[23-25,33]。

TMAO一方面促进巨噬细胞清道夫受体SR-A1、CD36的表达,导致巨噬细胞吞噬更多的被氧化或氨基甲酰化修饰的低密脂蛋白,积累更多的胆固醇;另一方面,通过降低胆汁酸的合成或转运,使胆固醇的反向运输降低^[23-25]。此外,TMAO激活心肌内皮细胞和平滑肌细胞的MAPK及NF- κ B信使^[34],导致血管炎症反应,使血管壁沉积更多的泡沫细胞,引起动脉粥样硬化,继而发生不良心血管事件,如心肌梗死、脑中风以及死亡。除了胆碱外,其他一些含三甲胺官能团的化合物,如肉碱、N,N,N-三甲基羧丁基胺在红肉中富含,也可通过肠道细菌代谢裂解产生三甲胺,进而在肝中氧化成TMAO而促进动脉粥样硬化发生。我们可通过寻找化学结构类似物来抑制肠道细菌三甲胺裂解酶的活性,

从而降低血液中TMAO的浓度,延缓三甲胺营养物引起的动脉粥样硬化。3,3-二甲基-1-丁醇为胆碱的结构类似物,不仅可以抑制胆碱三甲胺裂解酶的活性,还可以抑制其他三甲胺营养物裂解产生三甲胺;此外,它还可以影响肠道细菌的组成,降低一些能利用胆碱作为底物生成三甲胺的细菌百分比组成,通过对肝肾功能评估未发现其副作用^[35]。我国重庆第三军医大学糜漫天教授实验室报道,白藜芦醇(一种天然植物抗毒素)可以降低动脉粥样硬化的发生发展,机制一方面是通过肠道细菌重组而降低体内氧化三甲胺浓度,另一方面是通过增加胆汁盐水解酶的活性,促使胆汁盐成游离态而降低回肠的吸收,同时刺激胆固醇氧化成胆酸,从而增强胆固醇通过粪便的反向运输能力^[36]。

6 革兰氏阴性细菌外膜成分脂多糖促进动脉粥样硬化

脂多糖是革兰氏阴性细菌外膜的成分,其分子结构是由脂类与多糖组成的复合分子,亦称内毒素,在体内能激发多种炎症反应。在人体的动脉粥样硬化斑块里可检测到内毒素,是由于“肠漏”造成的脂多糖通过小肠膜的紧密连接处进入肠上皮细胞,后由过乳糜微粒转运到血液循环^[37]。此外,一些细菌可通过口腔直接进入血液循环,也可在斑块中检测到^[38]。脂多糖能激发与动脉粥样硬化相关的炎症反应,脂多糖通过与Toll受体相结合,促进MMP9的表达,水解稳定斑块纤维盖的胞外基质,从而使斑块破裂^[37],继而激活血小板,血小板再凝聚成栓塞,最终引发心血管事件。上海交通大学赵立平教授领导的课题组报道了通过饮食干预降低肠道革兰氏阴性细菌的百分比组成从而降低体内内毒素的含量,改善肠道屏障,抑制炎症反应^[39],这可成为延缓动脉粥样硬化的一种新方案。

7 结语

已报道的肠道细菌参与形成的代谢产物有上百种,每种代谢产物都可与某种生理功能、病理反应相关联^[40]。通过研究肠道细菌的代谢产物与动脉粥样硬化性心血管疾病发生的关系,为治疗心血管疾病开辟了新的途径。根据代谢产物是抑制或促进动脉粥样硬化,增加或降低体内的浓度,或者增加或减少肠道能产生这种代谢产物的细菌,可达到预防与治疗的目的。

[参 考 文 献]

- [1] Sender R, Fuchs S, Milo R. Are we really vastly outnumbered? Revisiting the ratio of bacterial to host cells in Humans. *Cell*, 2016, 164: 337-40
- [2] Qin J, Li R, Raes J, et al. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature*, 2010, 464: 59-65
- [3] Li J, Jia H, Cai X, et al. An integrated catalog of reference genes in the human gut microbiome. *Nat Biotechnol*, 2014, 32: 834-41
- [4] Sun J, Chang EB. Exploring gut microbes in human health and disease: pushing the envelope. *Genes Dis*, 2014, 1: 132-9
- [5] Ross R. Atherosclerosis--an inflammatory disease. *N Engl J Med*, 1999, 340: 115-26
- [6] Moss JW, Ramji DP. Nutraceutical therapies for atherosclerosis. *Nat Rev Cardiol*, 2016, 13: 513-32
- [7] de Winther MP, Kanters E, Kraal G, et al. Nuclear factor κ B signaling in atherogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2015, 25: 904-14
- [8] Chistiakov DA, Bobryshev YV, Kozarov E, et al. Role of gut microbiota in the modulation of atherosclerosis-associated immune response. *Front Microbiol*, 2015, 6: 671
- [9] Cuchel M, Rader DJ. Macrophage reverse cholesterol transport: key to the regression of atherosclerosis? *Circulation*, 2006, 113: 2548-55
- [10] Jelinek DF, Andersson S, Slaughter CA, et al. Cloning and regulation of cholesterol 7 α -hydroxylase, the rate-limiting enzyme in bile acid biosynthesis. *J Biol Chem*, 1990, 265: 8190-7
- [11] Kim I, Ahn SH, Inagaki T, et al. Differential regulation of bile acid homeostasis by the farnesoid X receptor in liver and intestine. *J Lipid Res*, 2007, 48: 2664-72
- [12] Begley M, Hill C, Gahan CG. Bile salt hydrolase activity in probiotics. *Appl Environ Microbiol*, 2006, 72: 1729-38
- [13] Veiga P, Juste C, Lepercq P, et al. Correlation between faecal microbial community structure and cholesterol-to-coprostanol conversion in the human gut. *FEMS Microbiol Lett*, 2005, 242: 81-6
- [14] Cummings JH. Fermentation in the human large intestine: evidence and implications for health. *Lancet*, 1983, 1: 1206-9
- [15] Ríos-Covián D, Ruas-Madiedo P, Margolles A, et al. Intestinal short chain fatty acids and their link with diet and human health. *Front Microbiol*, 2016, 7: 185
- [16] Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA, et al. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature*, 2006, 444: 1027-31
- [17] Waldecker M, Kautenburger T, Daumann H, et al. Inhibition of histone-deacetylase activity by short-chain fatty acids and some polyphenol metabolites formed in the colon. *J Nutr Biochem*, 2008, 19: 587-93
- [18] Park JS, Lee EJ, Lee JC, et al. Anti-inflammatory effects of short chain fatty acids in IFN- γ -stimulated RAW 264.7 murine macrophage cells: involvement of NF- κ B and ERK signaling pathways. *Int Immunopharmacol*, 2007, 7: 70-7
- [19] Liu T, Li J, Liu Y, et al. Short-chain fatty acids suppress lipopolysaccharide-induced production of nitric oxide and proinflammatory cytokines through inhibition of NF- κ B pathway in RAW264.7 cells. *Inflammation*, 2012, 35: 1676-84
- [20] Siennicka A. The effect of short-chain fatty acids on expression of endothelial adhesion molecules stimulated by oxidatively modified LDL. *Ann Acad Med Stetin*, 2005, 51: 117-26
- [21] Matziouridou C, Marungruang N, Nguyen TD, et al. Lingonberries reduce atherosclerosis in Apoe(-/-) mice in association with altered gut microbiota composition and improved lipid profile. *Mol Nutr Food Res*, 2016, 60: 1150-60
- [22] Wang D, Xia M, Yan X, et al. Gut microbiota metabolism of anthocyanin promotes reverse cholesterol transport in mice via repressing miRNA-10b. *Circ Res*, 2012, 111: 967-81
- [23] Wang Z, Klipfell E, Bennett BJ, et al. Gut flora metabolism of phosphatidylcholine promotes cardiovascular disease. *Nature*, 2011, 472: 57-63
- [24] Tang WH, Wang Z, Levison BS, et al. Intestinal microbial metabolism of phosphatidylcholine and cardiovascular risk. *N Engl J Med*, 2013, 368: 1575-84
- [25] Koeth RA, Wang Z, Levison BS, et al. Intestinal microbiota metabolism of L-carnitine, a nutrient in red meat, promotes atherosclerosis. *Nat Med*, 2013, 19: 576-85
- [26] Craciun S, Balskus EP. Microbial conversion of choline to trimethylamine requires a glycyl radical enzyme. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109: 21307-12
- [27] Zhu Y, Jameson E, Crosatti M, et al. Carnitine metabolism to trimethylamine by an unusual Rieske-type oxygenase from human microbiota. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111: 4268-73
- [28] Koeth RA, Levison BS, Culley MK, et al. γ -Butyrobetaine is a proatherogenic intermediate in gut microbial metabolism of L-carnitine to TMAO. *Cell Metab*, 2014, 20: 799-812
- [29] Falony G, Vieira-Silva S, Raes J. Microbiology meets big data: the case of gut microbiota-derived trimethylamine. *Annu Rev Microbiol*, 2015, 69: 305-21
- [30] Bennion BJ, Daggett V. Counteraction of urea-induced protein denaturation by trimethylamine N-oxide: a chemical chaperone at atomic resolution. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101: 6433-8
- [31] Takeuchi K, Hatanaka A, Kimura M, et al. Aspolin, a novel extremely aspartic acid-rich protein in fish muscle, promotes iron-mediated demethylation of trimethylamine-N-oxide. *J Biol Chem*, 2003, 278: 47416-22
- [32] Strom AR, Olafsen JA, Larsen H. Trimethylamine oxide: a terminal electron acceptor in anaerobic respiration of bacteria. *J Gen Microbiol*, 1979, 112: 315-20
- [33] Zhu W, Gregory JC, Org E, et al. Gut microbial metabolite TMAO enhances platelet hyperreactivity and thrombosis risk. *Cell*, 2016, 165: 111-24
- [34] Seldin MM, Meng Y, Qi H, et al. Trimethylamine N-oxide

- promotes vascular inflammation through signaling of mitogen-activated protein kinase and nuclear factor- κ B. *J Am Heart Assoc*, 2016, 5: e002767
- [35] Wang Z, Roberts AB, Buffa JA, et al. Non-lethal inhibition of gut microbial trimethylamine production for the treatment of atherosclerosis. *Cell*, 2015, 163: 1585-95
- [36] Bode LM, Bunzel D, Huch M, et al. *In vivo* and *in vitro* metabolism of trans-resveratrol by human gut microbiota. *Am J Clin Nutr*, 2013, 97: 295-309
- [37] Caesar R, Fak F, Backhed F. Effects of gut microbiota on obesity and atherosclerosis via modulation of inflammation and lipid metabolism. *J Intern Med*, 2010, 268: 320-8
- [38] Koren O, Spor A, Felin J, Fak F, et al. Human oral, gut, and plaque microbiota in patients with atherosclerosis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108: S4592-8
- [39] Xiao S, Fei N, Pang X, et al. A gut microbiota-targeted dietary intervention for amelioration of chronic inflammation underlying metabolic syndrome. *FEMS Microbiol Ecol*, 2014, 87: 357-67
- [40] Nicholson JK, Holmes E, Kinross J, et al. Host-gut microbiota metabolic interactions. *Science*, 2012, 336: 1262-7