



常见肠道菌群代谢产物作为疾病诊断的指针的研究进展

韩睿盈¹ 姜志深¹ 高灿宇² 任彪^{*1}

1 四川大学华西口腔医院 国家口腔疾病临床医学研究中心 口腔疾病国家重点实验室 四川 成都 610041

2 四川大学华西医院康复医学中心 康复医学四川省重点实验室 四川 成都 610041

摘要: 人类肠道菌群能够产生多种代谢产物或与人体相互作用产生肠道菌群-宿主共代谢物, 显著影响人体各大系统的生理功能。当人体健康状态以及肠道菌群发生变化时, 肠道代谢物的种类和含量也会相应受到影响, 因此肠道菌群代谢产物具有作为疾病诊断指针的巨大潜力。本文总结了常见的几类肠道微生物代谢产物, 包括糖类、胆碱代谢物、脂质、氨基酸与肽类、维生素、胆汁酸、短链脂肪酸、酚、苯甲酰基和苯基衍生物等, 及其在不同疾病状态下的作用机理, 以期更好地理解肠道菌群、代谢产物和疾病之间的相关性, 为疾病的预防、诊断和治疗提供新的靶点。

关键词: 肠道菌群, 代谢产物, 疾病诊断, 检测方法

Research progress of intestinal flora metabolites as indicators for disease diagnosis

HAN Ruiying¹ JIANG Zhishen¹ GAO Canyu² REN Biao^{*1}

1 State Key Laboratory of Oral Diseases, National Clinical Research Center for Oral Diseases, West China Hospital of Stomatology, Sichuan University, Chengdu, Sichuan 610041, China

2 Rehabilitation Key Laboratory of Sichuan Province, Center of Rehabilitation Medicine, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu, Sichuan 610041, China

Abstract: The human intestinal flora can produce a variety of metabolites, or interact with human body to produce intestinal flora-host co-metabolites, which can impact the physiological functions of the major body systems. When the health conditions and intestinal flora change, the types and content of the metabolites will be affected accordingly, which indicate that the intestinal flora metabolites can be potential indicators for disease diagnosis. This article summarizes several common types of intestinal microbial metabolites, including carbohydrates, choline metabolites, lipids, amino acids and peptides, vitamins, bile acids, short-chain fatty acids, phenols, and benzoyl and phenyl derivatives. Furthermore, we expound their mechanisms of action in different diseases to highlight the correlations between intestinal flora, metabolites, and diseases, and to indicate that intestinal metabolites can be served as the new targets for the prevention, diagnosis, and treatment of these diseases.

Foundation items: National Natural Science Foundation of China (81870778); Science and Technology Program of Sichuan Province (2020YJ0227)

***Corresponding author:** Tel: 86-28-85501232; E-mail: renbiao@scu.edu.cn

Received: 21-01-2021; **Accepted:** 01-04-2021; **Published online:** 29-04-2021

基金项目: 国家自然科学基金(81870778); 四川省科技计划项目(2020YJ0227)

***通信作者:** Tel: 028-85501232; E-mail: renbiao@scu.edu.cn

收稿日期: 2021-01-21; **接受日期:** 2021-04-01; **网络首发日期:** 2021-04-29

Keywords: intestinal flora, metabolite, disease diagnosis, detection technology

1 肠道微生物代谢物概述

1.1 肠道微生物在维持消化系统生理功能中的作用

肠道菌群数量众多且多种多样。肠道中的微生物细胞约为人类真核细胞的 10 倍,被称为人体的“第二基因组”^[1]。肠道微生物能够维持人体消化系统的 3 个重要生理功能,即新陈代谢、营养和保护^[2]。

首先,肠道菌群参与人体消化系统对食物的消化及代谢。肠道菌群可以利用不能被小肠消化的物质,例如膳食纤维等,以及一些未被消化的糖类、蛋白质和肽类。同时,肠道菌群也可以与人体协同作用,形成肠道菌群-宿主共代谢物,例如短链脂肪酸、维生素 H 和维生素 K 等。这些代谢产物不仅可以作为肠道微生物的能量物质,而且可以运输到身体的其他部位,被各种周围组织如胰岛、肝脏等摄取利用,从而刺激细胞生长、抑制有害微生物的生长、参与疾病防御,影响机体健康^[1,3-5]。其次,肠道细菌的产物对肠道具有重要的营养作用,例如短链脂肪酸显著影响肠上皮细胞的营养作用。此外,丁酸酯可抑制肿瘤上皮细胞系中的细胞增殖并刺激细胞分化,从而促进细胞从肿瘤向非肿瘤表型的转化^[6]。第三,肠道菌群作为微生物屏障参与先天免疫,对肠道具有保护作用^[2]。该屏障是抵御外部病原体的重要防线。黏附在肠道中的非致病细菌可以防止病原体附着和进入上皮细胞。同时,正常菌群能够与上皮细胞相互作用,分泌能够杀死或抑制致病微生物的物质,从而抵抗病原体的感染与入侵;长期使用广谱抗生素能够抑制正常的消化道菌群生长,导致肠道菌群失衡,更易引起葡萄球菌性和白色念珠菌性肠炎^[7]。

当肠道菌群的组成、比例和数量发生病理性变化时,能够导致与菌群相关的代谢物的含量和种类发生相应的变化,影响宿主的生理功能。因

此,肠道菌群代谢产物的变化具有作为疾病诊断指标的重要潜力。

1.2 常见肠道微生物代谢产物的分类及其产生的机理

肠道微生物对维持人体消化系统的生理功能有着至关重要的作用,同时也会产生多种病理或生理性代谢产物,并与人体一起形成肠道菌群-宿主共代谢物。这些代谢产物通常包含糖类、胆碱代谢物、脂类、氨基酸与肽类、维生素、胆汁酸、短链脂肪酸、酚类、苯甲酰和苯基衍生物、醇类、醛类等脂肪烃衍生物等,与多种疾病息息相关(表 1)。

1.2.1 糖类

肠道微生物代谢产物中的糖类包括单糖、寡糖等,这主要是由于食物中的纤维素可以被细菌的糖苷水解酶水解,经细胞代谢过程产生糖类的各类代谢产物。糖类代谢进一步能够形成乙酸、丙酸及丁酸^[8]等短链脂肪酸。

1.2.2 肽类及氨基酸

肽类和氨基酸主要是由肠道细菌分解食物中的蛋白质而产生的。它们可以在微生物的作用下进一步转化。例如,脯氨酸、亮氨酸、异亮氨酸和其他支链氨基酸可以进一步转变为支链脂肪酸,而芳香氨基酸如苯丙氨酸、色氨酸和酪氨酸的细菌代谢产物则是酚和萘类化合物^[9]。

1.2.3 脂类

肠道菌群代谢物中的脂类化合物主要包括共轭脂肪酸、脂多糖(Lipopolysaccharide, LPS)、肽聚糖、酰基甘油、鞘磷脂及胆固醇等。例如,LPS 参与革兰氏阴性细菌的质膜形成,并且是微生物与宿主相互作用的典型媒介。在典型的西方人的肠道中,拟杆菌属约占肠道细胞总数的 50%^[4],这些细胞包含 300 mg LPS,因此 LPS 是肠道中最丰富的分子之一^[10]。

1.2.4 短链脂肪酸

短链脂肪酸(Short-Chain Fatty Acid, SCFA)是

肠道菌群代谢物中非常重要的一类物质, 具有抗炎、调节胰岛素与胰高血糖素分泌等作用, 主要包括乙酸盐、丙酸盐和丁酸盐, 是内源细菌菌丛消化结肠中不可吸收的糖类(如纤维素)而产生的单羟基烃。例如, 肠道菌群中的梭菌簇 IV 和 XIVa、罗斯氏菌、粪杆菌、粪球菌等^[9], 可利用纤维素和抗性淀粉进行细胞氧化产生 SCFA, 同时产生的还有二氧化碳和氢。

1.2.5 胆汁酸

胆汁酸(Bile Acids, BA), 特别是仲胆汁酸, 例如脱氧胆酸、石胆酸, 通常是由肝脏经肠道微

生物催化先合成伯胆汁酸, 伯胆汁酸再经脱羟基而形成。与之相关的微生物包括乳酸杆菌、双歧杆菌、肠杆菌、拟杆菌、梭状芽孢杆菌^[9]。

1.2.6 胆碱代谢物

胆碱代谢物主要包括三甲胺-N-氧化物(Trimethylamine-N-Oxide, TMAO)、甲胺、二甲胺、三甲胺(Trimethylamine, TMA)、二甲基甘氨酸等物质。肠道微生物能够催化食物中的胆碱向三甲胺转化, 然后由肝脏中的类黄酮单加氧酶系统进一步代谢产生 TMAO。与之相关的微生物包括普氏粪杆菌和双歧杆菌^[9]。

表 1 微生物代谢物的分类及相关疾病

Table 1 Common gut microbial metabolites and relevant diseases

大类 Major class	小类 Small class	相关疾病 Relevant diseases	参考文献 References
糖类 Carbohydrate	单糖、低聚糖等 Monosaccharide, oligosaccharide		[8]
肽类及氨基酸 Peptides and amino acids	支链氨基酸、芳香氨基酸等 Branched chain amino acid, aromatic amino acid	癌症 Cancer	[9]
脂类 Lipids	共轭脂肪酸、脂多糖、肽聚糖、酰基甘油、鞘磷脂、胆固醇等 Conjugated fatty acids, LPS, peptidoglycan, acylglycerols, sphingomyelin, cholesterol	糖尿病、肥胖、慢性肝病等 Diabetes, obesity, chronic liver disease	[10]
短链脂肪酸 Short-chain fatty acids	乙酸、草酸、丙酸、乳酸、丁酸、异丁酸、2-甲基丙酸、戊酸、异戊酸、己酸等 Acetate, propionate, butyrate, isobutyrate, 2-methylpropionate, valerate, isovalerate, hexanoate	糖尿病、肥胖、结直肠癌 Diabetes, obesity, colorectal cancer	[9]
胆汁酸 Bile acids	胆酸盐、高胆酸盐、脱氧胆酸盐、鹅去氧胆酸盐、 α -氯胆酸盐等 Cholate, hyocholate, deoxycholate, chenodeoxycholate, α -muricholate	糖尿病、慢性肝病、酒精性肝病、炎症性肠病 Diabetes, chronic liver disease, alcoholic liver disease, inflammatory bowel disease	[9]
胆碱代谢物 Choline metabolites	甲胺、二甲胺、三甲胺、三甲胺-N-氧化物、二甲甘氨酸、甜菜碱等 Methylamine, dimethylamine, trimethylamine, trimethylamine-N-oxide, dimethylglycine, betaine	肝病和心血管疾病 Liver disease and cardiovascular disease	[9]
维生素 Vitamins	维生素 K、维生素 B12、生物素(维生素 H)、叶酸、硫胺素等 Vitamin K, vitamin B12, biotin, folate, thiamine	凝血功能障碍、贫血 Coagulopathy, anemia	[11]
酚类、苯甲酰和苯基衍生物 Phenolic, benzoyl, and phenyl derivatives	苯甲酸、马尿酸、2-羟基马尿酸等 Benzoic acid, hippuric acid, 2-hydroxyhippuric acid	高血压、肥胖、儿童自闭症 Hypertension, obesity, childhood autism	[9,12]
醇类、醛类等脂肪烃衍生物 Alcohols, aldehydes and adipose hydrocarbon derivatives	乙醇、乙醛等 Ethanol, acetaldehyde	肌无力、肝病、脑损伤 Myasthenia, liver diseases, brain injury	[13-14]

1.2.7 维生素

哺乳动物无法自身合成维生素, 因此例如维生素 B、维生素 K、维生素 H、叶酸、硫胺素、核黄素等维生素, 以及合成维生素的原料如吡啶等物质, 都必须通过肠道吸收。肠道中这些物质主要有 2 种来源: 饮食来源和肠道微生物来源^[11]。部分肠道益生菌, 如乳酸杆菌、双歧杆菌等, 与维生素 B、K 和叶酸的合成密不可分^[11]。

1.2.8 酚类、苯甲酰和苯基衍生物

苯丙氨酸、色氨酸和酪氨酸等芳香族氨基酸在细菌内代谢可产生苯酚、苯基衍生物和类固醇代谢物^[12]。与苯酚有关的微生物包括艰难梭菌、普氏粪球菌、双歧杆菌、乳酸杆菌, 以及一种存在于人类排泄物中的新菌种——*Subdoligranulum*^[9]。多胺包括亚精胺、腐胺等。人体内的氨基酸可以在脱羧酶和丙胺转移酶的作用下形成此类物质。相关微生物包括空肠弯曲菌、梭状芽孢杆菌和解糖菌^[9]。

1.2.9 醇类、醛类等脂肪烃衍生物

醇类、醛类等脂肪烃衍生物(如乙醇、乙醛)是主要由肠道白色念珠菌产生的有害产物, 可能引发肝脏损伤, 导致机体对药物、污染物和其他毒素的解毒能力降低; 可能造成大脑损伤、失去自控力、协调性差、语言发育障碍、攻击性行为、精神障碍、记忆力丧失、目光呆滞、外周神经受损和肌无力等病变。

2 肠道微生物代谢产物与疾病之间的相互关系

2.1 肽类和氨基酸

肠道微生物组不仅与消化系统疾病有关, 而且与全身性的癌症有关。肠道菌群组成的变化可能会破坏肠道稳态, 并导致结肠炎甚至肿瘤的发生^[15]。肠道微生物代谢的肽类或氨基酸主要与肿瘤的发生发展相关。分解氨基酸的主要肠道菌群是链球菌属、光滑念珠菌和埃希氏菌属这 3 大类。特定氨基酸的缺乏可选择性地影响细胞的生长更新, 例如甲硫氨酸、精氨酸、亮氨酸、丝氨酸

等^[16]。以甲硫氨酸为例, 甲硫氨酸的代谢会产生 S-腺苷甲硫氨酸(S-Adenosylmethionine, SAM), 其中 SAM 是体内主要的甲基供体, 同时也是去甲基化抑制剂^[17]。减少甲硫氨酸的摄入, 即甲硫氨酸限制, 能够增加肿瘤坏死因子相关凋亡诱导受体-2 (Tumor Necrosis Factor-Related Apoptosis Inducing Ligands Receptor-2, TRAIL-R2)在细胞表面的表达, 从而启动乳腺肿瘤对 TRAIL-R2 激动剂的应答^[16], 抑制肿瘤的生长。

2.2 脂质

2.2.1 肥胖与糖尿病

LPS 是革兰氏阴性菌中的一种内毒素, 由脂质和多糖组成。肥胖人群中脂多糖的含量高于正常人群。LPS 与其受体 CD14 形成复合物, 并被宿主细胞膜表面的 Toll 样受体-4 (Toll-Like Receptors 4, TLR-4)识别。在 TLR4 作用下, LPS 首先被内毒素结合蛋白(Lipopolysaccharide Binding Protein, LBP)捕获^[18], 继而刺激多种细胞因子的释放, 而这些细胞因子正是胰岛素抵抗的关键诱导剂^[19]。因此 LPS 和 CD14 的结合会影响胰岛素的敏感性, 从而引发肥胖症和糖尿病。

2.2.2 肝纤维化

静止的造血干细胞(Hemopoietic Stem Cell, HSC)是肝成纤维细胞的主要来源, Kupffer 细胞分泌肝脏中的转化生长因子- β (Transforming Growth Factor- β , TGF- β)。在肝损伤过程中, Kupffer 细胞通过清除细胞碎片维持内环境稳态, 同时通过募集免疫细胞引起炎性浸润, 激活 HSC 和肝星状细胞, 大量合成细胞外基质及胶原纤维, 从而引起肝纤维化。在静止的 HSC 中, 肠道代谢物 LPS 可激活 TLR-4, 上调趋化因子分泌, 同时能够诱导 Kupffer 细胞的趋化作用, 下调 TGF- β 假受体 Bambi 的表达, Bambi 与 TGF- β I 型受体结构相似, 但不具有同样的活性。Bambi 可以竞争性地与 II 型受体结合, 其表达的下调使 HSC 对 TGF- β 诱导的信号更加敏感, 并通过 MyD88-NF- κ B 依赖性途径不受限制地持续激活 Kupffer 细胞, 从而显著加重

肝纤维化^[20]。

2.3 短链脂肪酸

2.3.1 肥胖与糖尿病

肠道微生物可以合成大量的糖苷水解酶来消化纤维素, 从而产生短链脂肪酸, 例如正丁酸、乙酸和丙酸等。研究表明, 在 2 组具有相同年龄、性别等特征的小鼠中, 成年的无菌小鼠比带有微生物群的小鼠体重更轻; 从常规繁殖的小鼠中分离肠道菌群移植到无菌小鼠中, 会引起后者的肥胖。表明肠道菌群可以增加宿主脂肪的贮藏量^[21-22]。肠道菌群中与肥胖相关的细菌更易于将糖类转化为短链脂肪酸^[21], 并刺激调节能量摄取和消耗的激素分泌^[23]。

肠道中多糖经细胞氧化产生的 SCFA 对肥胖和糖尿病的发生有双重效果。SCFA 是一些肠内分泌细胞表达的 G 蛋白偶联受体(GProtein-Coupled Receptor, Gpr) 41 和 Gpr43 的配体^[21]。一方面, 丁酸和丙酸在胰岛 β 细胞和交感神经节中都能够激活 Gpr41, 抑制胰岛素分泌并提高交感神经兴奋性, 交感神经系统活动增加可抑制食物摄入。另一方面, 乙酸、丙酸和丁酸对 Gpr43 表现出相似的活性。乙酸和丙酸可通过 Gpr43 抑制脂肪分解、促进脂肪生成, 并且 Gpr43 基因敲除小鼠对高脂饮食诱导的肥胖、胰岛素不敏感和血脂异常具有抗药性^[24]。

SCFA 和 Gpr41 的相互作用还能够刺激瘦素的表达, 这主要表现为 SCFA 激活 Gpr41 使其表达水平增加, 高水平的 Gpr41 可提高丙酸刺激瘦素表达的能力。瘦素是主要由白色脂肪组织分泌的激素, 对饮食和能量代谢具有多效作用^[21]。瘦素可以通过促进肠 L 细胞的分化, 从而促进内源性胰高血糖素样肽-1 (Glucagon-Like Peptide-1, GLP-1) 的产生来抑制胰高血糖素的分泌, 降低食欲等, 有效降低糖尿病或肥胖的发生^[25]。

此外, SCFA 可以通过多种机制诱导动物和培养细胞胰岛素抵抗。SCFA 激活 TLRs 特别是在免疫细胞、白色脂肪组织和肝脏中表达的 TLR-4, 以

激活下游的促炎过程。TLR-4 通过适配蛋白髓系分化初级反应蛋白 88 (Recombinant Human Myeloid Differentiation Primary Response 88, MYD88) 启动细胞内信号通路, MYD88 可激活 TLR-4 介导的核因子 κ B (Nuclear Factor, NF- κ B) 激酶亚基 β (IKK β) 和 Jun N 端激酶(JNK) 通路, SCFA 经由此类通路抑制胰岛素信号的激活, 但胰岛素信号通路中 IKK β 和 JNK 的直接靶点仍有待确定; 同时, SCFA 通过细胞中的内质网应激促进 NF- κ B 通路的激活及下游多种级联炎症反应的发生。这些通路都被认为直接参与介导 SCFA 诱导的胰岛素抵抗^[25-26]。

2.3.2 炎症反应

当机体发生病变时, 肠道菌群结构紊乱, 大肠杆菌、脆弱拟杆菌等革兰氏阴性细菌数量增多, 产生的内毒素增多, 肠屏障功能下降, 细胞炎症因子分泌增多, 最终诱发局部或全身炎症。由粪肠球菌等细菌产生的丁酸能够调节中性粒细胞功能状态及其转移过程, 抑制炎症诱导的血管细胞黏附分子-1 (Vascular Cell Adhesion Molecule-1, VCAM-1) 的表达, 增加结肠上皮紧密连接蛋白的表达, 并减少免疫细胞释放的细胞因子和趋化因子, 表现出显著的抗炎作用^[27]。丁酸钠能够通过减少 TLR-4 的表达, 抑制 AKT 和 NF- κ B p65 信号通路, 从而改善细菌脂多糖引起的炎症反应及肠上皮屏障功能障碍; 减少肠道大肠杆菌、脆弱拟杆菌、肠球菌等的相对丰度, 改善肠道菌群失衡; 还能够抑制炎症相关细胞因子的 mRNA 表达, 抑制炎症的发生^[28-29]。

肠道真菌尤其是白色念珠菌、酿酒酵母菌与炎症性肠病(Inflammatory Bowel Disease, IBD) 患者真菌紊乱存在密切关系^[30]。多项研究表明, IBD 患者肠道黏膜真菌的丰富度及多样性较正常患者明显升高, IBD 患者粪便中的白色念珠菌阳性率显著升高, 丰度明显增加, 酿酒酵母菌丰度则显著降低^[31]。肠道真菌可通过肠道黏膜免疫调节 IBD^[32]。目前普遍认为 C 型凝集素受体(C-Type Lectin Receptor, CLR) 是参与真菌调节 IBD 的主要

模式识别受体, 包括 Dectin-1、Dectin-3、甘露糖受体和甘露糖结合凝集素(Mannose Binding Lectin, MBL)等。具体地, Dectin-1 识别真菌酵母细胞表面上的 β -葡聚糖, 而 Dectin-2 识别真菌菌丝表面上的 α -甘露聚糖; Dectin-3 是一种 CLR, 也称为 MCL/CLECSF8/Clec4d, 可作为模式识别受体, 通过识别 α -甘露聚糖来参与真菌感染。念珠菌感染可能通过促进炎症因子释放, 加重 Dectin-1 缺陷小鼠肠道炎症相关, 但也有研究认为 Dectin-1 的作用与小鼠品系有关。另外, Dectin-3 和 MBL 同样参与 IBD 患者对真菌的免疫过程^[33], Dectin-3 缺陷型小鼠对白色念珠菌和热带假丝酵母菌的敏感性增强, 而 MBL 缺陷或被阻断后肠道内真菌数量明显增加。以上研究表明肠道真菌细胞壁成分可与肠道黏膜细胞的特异性受体相互作用, 调节肠道炎症反应。

2.3.3 结肠癌

丁酸盐是结肠细胞的重要能量来源, 可以维持黏膜的完整性, 保护结肠的健康, 并可影响结肠细胞功能等预防结肠癌。丁酸盐在不同浓度下可促进结肠细胞转化, 并促使肿瘤抑制蛋白 p21WAF1/CIP1 和 mRNA 水平保持在细胞周期的 G1 期, 抑制癌细胞的增殖。高浓度下, 其还能通过抑制癌细胞组蛋白脱乙酰基酶的活性, 诱导细胞凋亡^[34]。丁酸既可以在低浓度下参与供能, 刺激正常细胞生长, 又可在高浓度时作为抗肿瘤物质积累在细胞核中, 调节基因表达抑制肿瘤细胞生长, 这种现象被称为“丁酸悖论”。这可能与丁酸辅助剂的含量有关^[21,34]。

2.3.4 结石

草酸是肠道白色念珠菌的重要产物, 肠道草酸吸收的增加使得尿草酸排泄增多, 是形成草酸钙结石的重要病理因素^[35]。草酸主要有食物、真菌(如念珠菌)和人体代谢产物 3 个来源, 其中, 饮食摄入的草酸绝大多数被肠道中的微生物群作为能量来源所利用。人体缺乏草酸代谢相关的酶, 所以机体正常情况下通过保持摄入、排泄和肠道菌群降解的平衡来维持正常草酸水平, 一旦肠道吸收

草酸过多, 草酸钙结石的形成风险就会明显增加。

肠道微生物群落能够降解肠道中的草酸, 从而降低血液中的草酸含量, 是预防肾结石形成的有利因素。研究表明, 人或啮齿类动物可以通过口服乳酸杆菌、双歧杆菌等益生菌增强肠道降解草酸的作用, 服用后短期内尿草酸排泄会显著降低, 但只能短暂维持^[36-37]。此外, 肠道中念珠菌的含量与草酸吸收和结石形成存在关联。研究发现, 草酸水平高与念珠菌过度生长及其导致的相关代谢产物升高具有相关性; 念珠菌过度生长会导致阿拉伯糖水平升高, 而阿拉伯糖是真菌合成草酸盐所需的原料^[38]。

肠道菌群不仅能够通过降解草酸减少肠道吸收, 而且具有促进肠道分泌草酸的能力。肠道草酸的分泌是通过肠上皮细胞上的阴离子转运蛋白 Slc26a6 来限制草酸的净吸收而实现的。研究发现, 肠道细菌如产甲酸草酸杆菌及其代谢产物可以增强 Slc26a6 活性刺激肠道草酸分泌^[39]。

2.4 胆汁酸

2.4.1 糖尿病

在肝脏中, 胆固醇可用于合成初级胆酸和去氧胆酸, 这有助于小肠中的胆固醇、脂肪和脂溶性维生素的溶解和吸收。原胆汁酸在肠道末端可被吸收并运输到肝脏。肠道菌群与初级胆汁酸结合, 以避免其被吸收, 并通过肠道菌群的进一步代谢形成次级胆汁酸^[40]。胆酸可以作为信号分子与受体结合, 如胆甾调节核受体(Nuclear Farnesoid X Receptor, FXR)和 G 蛋白偶联胆汁酸受体 5 (Membrane Takeda G-Protein Receptor 5, TGR5), 它们都能够参与糖基化过程。FXR 在血糖中含量稳定, TGR5 促进血糖含量维持稳定^[41]。FXR 能够被初级胆汁酸激活, 然而 TGR5 是由次级胆汁酸激活的, 如脱氧胆酸和石胆酸^[42]。说明肠道菌群可以通过影响胆汁酸代谢的类型来参与血糖的调节。

2.4.2 非酒精性脂肪肝病 (Nonalcoholic Fatty Liver Disease, NAFLD)

BA 的前体是胆酸(Cholic Acid, CA), 二者均

与 NAFLD 的发生有着密切联系。CA 合成始于肝细胞, 有 2 条途径: 经典途径和替代途径。经典途径从胆固醇 7- α 羟基酶(Cholesterol 7- α Hydroxylase, CYP7A1)催化的反应开始, 最终产生 CA, 替代途径由 CYP27A1 催化, 最终产物为鹅去氧胆酸^[43]。

在代谢过程中, 牛磺 β 胆酸(Taurocholate β Cholic Acid, T- β -MCA)被合成并排泄到肠道内, 双歧杆菌和乳酸菌产生的胆盐水解酶(Bile Salt Hydrolase, BSH)能够在回肠中水解 T- β -MCA, 使其转化为鼠胆酸, 随后激活 FXR 促进神经酰胺通过肠-肝轴释放。神经酰胺能够促进肝脏脂肪合成, 从而加重非酒精性脂肪肝的病情。

BA 还能够作为一种信号分子, 通过不同受体调节自身的代谢平衡, 影响糖、脂肪和能量的代谢^[44]。BA 转运蛋白也能影响 BA 的信号传递及 BA 与肠道菌群的相互作用, 参与 NAFLD 的病理生理过程。

2.4.3 炎症性肠病(IBD)

胆汁酸的种类与 IBD 的发生发展有着密切关系。在肠道中, 次级胆汁酸(Secondary Bile Acid, SBA)与初级胆汁酸(Primary Bile Acid, PBA)之间的转化过程依赖于部分微生物的生物合成功能。SBA 可能与肠道炎症的减轻相关。溃疡性结肠炎患者肠道内石胆酸和去氧胆酸的水平降低, 这可能与溃疡性结肠炎患者 PBA 转化为 SBA 所需的基因表达受抑制相关。在小鼠结肠炎模型中, SBA 通过依赖 TGR5 胆汁酸受体的途径发挥抗炎作用, 可一定程度上减少肠道炎症^[45]。

石胆酸和去氧胆酸能够通过激活 TGR5 受体, 抑制人外周血源性巨噬细胞产生促炎细胞因子, 这是 IBD 发生的关键介质。巨噬细胞可极化为有促炎性的 M1 或消炎性的 M2 这 2 种类型, 这决定了 TGR5 的激活是刺激促炎反应还是消炎反应。TGR5 激活还能够诱导巨噬细胞从 M1 到 M2 表型的部分转化, 从而使 IL-10:IL-12 含量比升高, IL-10 随后抑制诸如 TNF- α 和 IL-6 等促炎性细胞因子的产生和作用。此外, 石胆酸能够通过一种胆汁酸受体——维生素 D 受体(Vitamin D Receptor, VDR)抑制 Th1 的激

活, 从而也起到抑制炎症的作用。胆汁酸的转化对炎症状态的影响为肠炎的治疗提供了一种新思路。

2.5 胆碱

2.5.1 动脉粥样硬化

胆碱及其衍生物 TMA、TMAO 等都是肠道微生物主要的代谢物, 其含量的升高很可能导致动脉粥样硬化。有研究表明, 血浆中 TMAO 的增加可能会增加体内清道夫受体 B 类 1 成员(SRB1 或 CD36)和巨噬细胞 SR1 型(SRA1)的水平, 从而促使动脉粥样硬化斑块的形成, 使人体动脉粥样硬化的风险大大增加^[46-47]。

TMAO 与胆固醇和甘油三酯的代谢密切相关^[48]。TMAO 可上调巨噬细胞表面的 CD36 和清道夫受体 A, 抑制巨噬细胞的胆固醇逆向转运(Reverse Cholesterol Transport, RCT)作用, 促进巨噬细胞胆固醇的积累, 降低血浆 HDL 水平。由于血浆 HDL 能够逆向转运胆固醇, 具有抗动脉粥样硬化作用, 因此 TMAO 也可间接导致动脉粥样硬化风险升高。同时, TMAO 能够影响血管紧张素 II 的血液动力学作用, 导致核因子 κ B 信号的激活, 血小板活化增强, 对血栓形成具有促进效应, 这些也是动脉粥样硬化发展的重要机制^[49]。

TMAO 与胆汁酸代谢密切相关^[50]。TMAO 可通过增加小异二聚体伴侣(Small Heterodimer Partner, SHP)和 FXR 的表达, 抑制肝脏胆汁酸合成中的关键酶 CYP7A1 的表达^[51]。此外, FXR 的激活可能间接提高 TMAO 水平^[52]。胆汁酸能够清除体内的胆固醇, 其减少加剧了胆固醇的积累, 更易引起动脉粥样硬化。动脉粥样硬化的发展进一步增加了心肌梗塞和中风的风险。

2.5.2 血栓及心血管炎症

胆碱能够改变血小板依赖的钙信号, 以此增强血小板的反应活性, 而随着血小板的活化, 血管中血栓形成的风险增高。胆碱还可以通过与 G 蛋白偶联受体的相互作用引起主动脉组织强烈的炎症反应。在此过程中, 血管内皮细胞中的 NF- κ B 也将被激活, NF- κ B 的激活可以上调 IL-6 和细胞

黏附分子-1 的表达, 从而促进炎症反应并促进血管平滑肌细胞的增殖^[53]。

2.5.3 非酒精性脂肪肝病

胆碱作为食物中的一种营养物质, 在肝脏中首先被摄取和利用, 部分用于合成低密度脂蛋白(Low-Density Lipoprotein, LDL), 这种物质能够起到甘油三酯运输载体的作用。在胆碱缺乏的情况下, LDL 合成减少, 脂肪酸蓄积的风险增加, 从而引起NAFLD。此外, NAFLD的发展也能够引起TMAO的增加。研究人员在中国广州的3 000多名普通居民中进行了一项横断面研究, 结果表明NAFLD的严重程度与TMAO的升高、甜菜碱含量和甜菜碱/胆碱比值的降低有相关性^[54]。这一发现表明, TMAO不仅能够促进NAFLD的发展, 其含量还与NAFLD的严重性密切相关^[54]。

患有NAFLD的患者总是伴随胆碱缺乏症状, 同时肠道内胆碱的代谢消耗增加, 肠道微生物厚壁菌门中的 *Erysipelotrichia* 显著增加^[55]。*Erysipelotrichia* 可以利用胆碱作为代谢物质, 并产生引起尿中毒的甲胺, 造成肝功能损害^[55]。

2.5.4 肾脏疾病

用正常均衡饮食、高胆碱饮食和高TMAO饮食分别饲喂C57BL/6J小鼠6周, 添加胆碱和TMAO补充剂的小鼠中, 肾小管间质纤维化加重, 并相应地出现更多的胶原沉积^[56]。该发现表明, 血浆中胆碱和TMAO的增加能够导致进行性肾小管蛋白形成、肾纤维化和功能障碍。血浆TMAO水平还与病理监测指标、肾组织功能损害指标之间存在显著的剂量依赖性关系^[56]。患有终末期肾病的患者体内TMA和TMAO水平升高^[53]。梭状芽孢杆菌、大肠杆菌、肠杆菌、不动杆菌和变形杆菌等5种肠道微生物能够将胆碱转移到TMA中, 慢性肾病患者体内这一过程显著增加, 同时TMAO水平也相应增加^[57]。

2.6 维生素

2.6.1 神经功能障碍

维生素B12是化学结构最复杂的维生素, 其来

源完全依赖于食物, 维生素B12缺乏可能引起神经功能障碍。其缺乏往往由以下原因引起: (1) 饮食原因, 食物中的维生素B12不足, 可直接引起机体维生素B12摄入不足; (2) 维生素B12的吸收不良, 例如, 消化系统疾病能够影响维生素B12的吸收, 当脂肪摄入过少时, 脂溶性维生素的吸收也会受影响, 贫血时维生素B12的吸收也会受阻; (3) 机体对维生素需求相对增加, 例如妊娠和哺乳期妇女、儿童、特殊工种及某些特殊情况下的人, 正常量的维生素B12可能无法满足生理需求; (4) 遗传性维生素B12代谢紊乱也可能导致其缺乏。

维生素缺乏能够引起多项神经功能障碍。以维生素B12为例, 维生素B12缺乏与多种神经疾病有着密切的关系, 如中枢神经系统有痴呆、帕金森综合征, 精神症状上可引起抑郁、精神分裂、躁狂等现象, 脊髓、周围神经系统等疾病^[58]。维生素B12能够介导甲基丙二酰CoA向琥珀酰的转化, 以及CoA和同型半胱氨酸(Homocysteine, Hcy)转化为甲硫氨酸的酶促反应, 而在后一反应中, 甲钴胺能够作为甲硫氨酸合成酶的辅助因子, 将5-甲基四氢叶酸的甲基转移到Hcy中形成甲硫氨酸。SAM能够作为甲基的供体, 参与DNA、RNA、蛋白质、髓鞘和许多神经递质等重要物质的甲基化。一旦体内维生素B12缺乏, SAM的产生就会受阻, 引起严重的代谢紊乱, 导致神经髓鞘形成障碍等神经病变^[59]。

Hcy的转化被阻断能够刺激N-甲基-D-D-乙醇酸受体和激活凋亡相关蛋白Bax和p53, 产生细胞毒性作用, 最终损害神经功能。甲硫氨酸合成紊乱会阻止亚甲基四氢叶酸转化为四氢叶酸, 导致亚甲基四氢叶酸的合成减少, 而后者是DNA前体脱氧胸苷(d-UMP)的RNA前体脱氧胸苷(d-UMP)转化的重要辅助因子, 从而导致DNA合成减少, 出现神经功能障碍^[60]。

2.6.2 糖尿病

维生素B12是甲硫氨酸合成酶反应中必不可少的辅助因子, 其将同型半胱氨酸转化为甲硫氨

酸。因此,低水平的维生素B12可能增加组织中的Hcy,而半胱氨酸升高可能与胰岛素拮抗有关。Hcy浓度升高可能损害骨骼肌、脂肪组织和肝脏中内皮细胞的功能,从而减少胰岛素在这些组织内的递送及发挥作用^[61]。妊娠期间母亲体内维生素B12和叶酸的水平与母亲孕期的肥胖、胰岛素拮抗,以及新生儿的胰岛素拮抗水平有关,但维生素B12对胰岛素拮抗的作用机制尚未完全阐明^[61]。

维生素B12缺乏能够改变脂肪组织中的循环miRNA,导致脂肪的产生和胰岛素拮抗。miRNA能够调控脂肪细胞分化,引起不良的代谢反应,如血脂异常、高血压、胰岛素拮抗等。此外,miRNA受到干扰时,机体患II型糖尿病的风险增加^[62]。同时,维生素B12的缺乏能够导致甲基丙二酸(Methylmalonic Acid, MMA)转化为琥珀酰辅酶A的过程受阻,从而导致MMA的积累,引起脂肪生成增多和胰岛素拮抗^[59]。

2.7 醇类、醛类等脂肪烃衍生物

2.7.1 肝病

肝脏疾病患者机体内均有不同程度菌群失调。其中,慢性乙型肝炎造成机体肝功能损伤,导致补体合成减少、网状内皮细胞功能损伤和机体的免疫力降低,从而加速白色念珠菌等条件致病菌的快速增殖^[63]。白色念珠菌在缺氧条件下可将丙酮酸经丙酮酸脱羧酶作用生成乙醇,在乙醇脱氢酶的作用下进行无氧氧化生成乙醇和CO₂,一旦患者肠道菌群失调,白色念珠菌过度生长,利用肠道中的糖不断进行无氧氧化,则机体内将不断产生大量乙醇和乙醛,对机体产生危害^[14]。

乙醇能够进一步改变肠道菌群的组成和数量,促进酒精性肝病发生和进展^[64]。研究表明,酗酒群体肠道的拟杆菌门相对丰度较高,其中一类是含有内毒素(LPS)的革兰阴性兼性厌氧菌^[65]。乙醇还能够增加菌群产物的肝脏易位,促进酒精性肝病发生和进展。乙醇能够增加真菌β-葡聚糖在小鼠体内循环中的转运,通过激活Kupffer细胞和其他骨髓衍生细胞上的C型凝集素样受体

CLEC7A通路诱导肝脏炎症,使IL-1β表达和分泌增加,导致肝细胞脂肪变性与细胞死亡。此外,酒精还可促进白色念珠菌产生白色念珠菌素,多聚蛋白毒素ECE1可直接损伤肝细胞,加剧酒精性肝病^[66],白色念珠菌素移位至肝脏后,会导致炎症细胞因子IL-1和趋化因子CXCL-1、CXCL-2的增加,最终引发肝脏损伤^[67]。

乙醛是糖类和乙醇代谢过程中产生的剧毒和致突变产物,被世卫组织归类为重要的致癌物^[13]。肠道内的白色念珠菌等微生物具有乙醇脱氢酶活性,通过代谢肠道内的乙醇,产生乙醛^[68]。机体内大量乙醛的堆积能够显著增加肝脏负担,使人体的解毒能力受到严重影响,还可能通过引起突变而导致癌症,对机体具有极大危害^[69]。

2.7.2 肌无力

乙醇和乙醛可导致肌肉功能损害,尤其是白色念珠菌过度增殖导致乙醛在肌肉中堆积,引起肌无力、易激惹和疼痛等肌肉损伤症状。乙醇的长期产生和堆积可导致收缩蛋白的减少,如Iβ、IIx和IIβ肌球蛋白亚型、Titin和新球蛋白,损害骨骼肌中肌浆和肌原纤维蛋白池的合成速率^[70],导致骨骼肌蛋白丧失和质量降低,引起肌肉虚弱,增加肌肉的疲劳性。然而使用乙醛培养的成肌细胞和肌管中,以及在用乙醛脱氢酶化学抑制剂预处理的动物中,蛋白质合成也减少,可见骨骼肌蛋白合成受抑制是乙醇与乙醛引起肌肉功能损害的主要机制。

3 肠道微生物代谢物的检测方法及其诊断意义

肠道微生物及其代谢物检测的分子生物技术主要包括基于PCR的16S rRNA基因指纹图谱技术、荧光原位杂交技术(Fluorescence *in situ* Hybridization, FISH)、基因芯片和元基因组测序等^[71-72]。此外,近年来肠道微生物代谢物的检测方法不断发展与改善,检测思路也由基因组学、转录组学、蛋白质组学向代谢组学方法转变。传统检测手段与色谱、质谱等技术的创新性结合及

计算机软件系统的辅助, 有效地提高了检测的精度与效率。

3.1 传统检测手段

细菌培养是微生物鉴定的基本方法, 技术相对成熟, 仍被许多研究者采用; 但由于培养法耗时较长、培养要求高且影响因素复杂, 分子生物学的手段被引入细菌的检测中, 弥补了传统培养法的诸多不足, 被广泛应用于肠道微生物的研究。

传统的分子生物学检测手段主要在核酸、蛋白质等水平上进行分子检测及分析推断。核酸水平的检测通常以分子杂交为基本原理, 通过测定标志性 DNA 序列或宏基因组序列, 检测肠道微生物及其代谢物种类, 如基于 PCR 的 16S rRNA 基因指纹图谱技术、荧光原位杂交、基因芯片和元基因组测序等, 具有较长的应用历史。然而, 这些检测技术所获结果信息量巨大, 主要通过基因数据推测代谢产物, 准确性有限, 难以满足科学发展的需求。

此外, 蛋白质组学方法也常被用于检测肠道微生物代谢产物, 其中最常用的为电泳技术; 而为了区分不同状态下肠道菌群的蛋白图谱, 质谱技术等也常被引入蛋白质组学检测。这些检测手段通常注重对大分子蛋白质的分析检测, 通过推测蛋白功能预测代谢产物、推断作用机制。与核酸水平的检测技术相同, 这些方法也不能获取具体的代谢产物信息。对于通过肠道微生物代谢物辅助疾病诊断, 仅依赖传统检测手段具有较大的局限性。

3.2 新型检测手段

目前主要应用代谢组学方法进行肠道微生物及其代谢物的检测。代谢组学方法的思路是对所有代谢物进行定量分析, 并寻找代谢物与生理病理变化的相对关系, 常用分析技术主要有质谱 (Mass Spectrum, MS) 技术与核磁共振 (Nuclear Magnetic Resonance, NMR) 2 种。前者通常采用色谱质谱联用平台, 常见种类有气相色谱质谱 (Gas Chromatography Mass Spectrometry, GC-MS)、毛

细管电泳质谱 (Capillary Electrophoresis Mass Spectrometry, CE-MS)、液相色谱质谱 (Liquid Chromatography Mass Spectrometry, LC-MS) 等, 而且超高效液相色谱与质谱联用 (Ultra Performance Liquid Chromatography-Mass Spectrometry, UPLC-MS) 具备更高的分析能力。具体而言, GC-MS 主要适于挥发性热稳定化合物, 如短链脂肪酸和氨基酸, CE-MS 主要适用于小型可电离分子, 如部分氨基酸、胺和羧酸等, LC-MS 可用于检测不同类型的胆汁酸和脂质。NMR 的灵敏度较色谱-质谱系统偏低, 但是样品和仪器操作部分没有物理相互作用, 可在接近生理条件下进行实验, 进行实时和动态检测。

以一种利用气相色谱/飞行时间质谱 (Gas Chromatography Time-of-Flight Mass Spectrometry, GC/TOFMS) 平台的自动化高通量定量方法^[73]为例, GC/TOFMS 能够高通量绝对定量检测 150 种重要的肠道菌群代谢物, 使血清、尿液、粪便或细菌 (如大肠杆菌) 中的肠道菌群代谢物在 15 min 内完成检测。这些代谢产物包括氨基酸、脂肪酸、有机酸、酚类、苯基或苄基衍生物、胍等物质, 涉及与肠道菌群代谢有关的几种重要代谢途径。通过对代谢组学技术的不同创新与优化, 将更有助于锁定不同疾病状态下, 特定肠道微生物的种类及变化, 从而更精准地对疾病状态进行评估预测以及诊断。

4 总结与展望

肠道菌群代谢是一个复杂的网络, 其数量大、种类繁多、参与的代谢途径具有较高多样性。肠道微生物代谢物种类及含量的改变能够影响物质代谢、信号传导、基因表达、能量稳态等多个方面, 通过多途径、多因素造成机体局部或整体的生理或病理性变化, 最终影响疾病的发生发展。这些代谢物的改变情况及其综合作用效果对疾病的诊断具有重要意义, 对疾病发生发展的病理机制以及治疗具有指导作用。例如, 心血管疾病、

肝脏疾病和癌症等对人体健康具有较大危害, 其致病因素可能涉及肠道微生物代谢紊乱, 对患者肠道微生物及其代谢物的研究可以辅助判断病情阶段、推测发病机制、进行靶向治疗。本文阐述了肠道微生物的几类常见代谢物以及导致各种疾病发展的机制。通过对人体肠道菌群代谢产物进行定量测定, 可有效地对各种代谢进行综合分析, 为后续的靶向治疗等奠定基础。

同时, 关于肠道微生物目前仍有许多问题有待解决, 例如, 是否有更科学、更系统的方法根据肠道微生物代谢物与某些疾病的关系进行分类, 或一种疾病中不同代谢产物如何交互作用来影响疾病的发生发展, 以及与其他疾病的关系? 这些问题需要更深入的系统研究, 从机制方面更精准地研究每一种代谢物及其之间的相互作用, 从而为疾病的预防、诊断和治疗提供新的思路。

REFERENCES

- [1] Hagan T, Cortese M, Rouphael N, Boudreau C, Linde C, Maddur MS, Das J, Wang H, Guthmiller J, Zheng NY, et al. Antibiotics-driven gut microbiome perturbation alters immunity to vaccines in humans[J]. *Cell*, 2019, 178(6): 1313-1328.e13
- [2] Guarner F, Malagelada JR. Gut flora in health and disease[J]. *Lancet*, 2003, 361(9356): 512-519
- [3] Lokody I. Microbial genetics: bacterial sensors report on the gut[J]. *Nature Reviews Genetics*, 2014, 15(5): 290
- [4] Wu GD, Compher C, Chen EZ, Smith SA, Shah RD, Bittinger K, Chehoud C, Albenberg LG, Nessel L, Gilroy E, et al. Comparative metabolomics in vegans and omnivores reveal constraints on diet-dependent gut microbiota metabolite production[J]. *Gut*, 2016, 65(1): 63-72
- [5] Chinen T, Rudensky AY. The effects of commensal microbiota on immune cell subsets and inflammatory responses[J]. *Immunological Reviews*, 2012, 245(1): 45-55
- [6] Han A, Bennett N, Ahmed B, Whelan J, Donohoe DR. Butyrate decreases its own oxidation in colorectal cancer cells through inhibition of histone deacetylases[J]. *Oncotarget*, 2018, 9(43): 27280-27292
- [7] Hews CL, Tran SL, Wegmann U, Brett B, Walsham ADS, Kavanaugh D, Ward NJ, Juge N, Schüller S. The StcE metalloprotease of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* reduces the inner mucus layer and promotes adherence to human colonic epithelium *ex vivo*[J]. *Cellular microbiology*, 2017, 19(6): e12717
- [8] Wan JW, Wu YB, Pham Q, Yu LL, Chen MH, Boue SM, Yokoyama W, Li B, Wang TTY. Effects of rice with different amounts of resistant starch on mice fed a high-fat diet: attenuation of adipose weight gain[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2020, 68(46): 13046-13055
- [9] Nicholson JK, Holmes E, Kinross J, Burcelin R, Gibson G, Jia W, Pettersson S. Host-gut microbiota metabolic interactions[J]. *Science*, 2012, 336(6086): 1262-1267
- [10] Jacobson AN, Choudhury BP, Fischbach MA. The biosynthesis of lipooligosaccharide from bacteroides thetaiotaomicron[J]. *mBio*, 2018, 9(2): e02289-2317
- [11] Engevik MA, Morra CN, Röth D, Engevik K, Spinler JK, Devaraj S, Crawford SE, Estes MK, Kalkum M, Versalovic J. Microbial metabolic capacity for intestinal folate production and modulation of host folate receptors[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10: 2305
- [12] Zheng XJ, Xie GX, Zhao AH, Zhao LJ, Yao C, Chiu NHL, Zhou ZX, Bao YQ, Jia WP, Nicholson JK, et al. The footprints of gut microbial-mammalian co-metabolism[J]. *Journal of Proteome Research*, 2011, 10(12): 5512-5522
- [13] Uttamo J, Nieminen MT, Kaihovaara P, Bowyer P, Salaspuro M, Rautemaa R. Xylitol inhibits carcinogenic acetaldehyde production by *Candida* species[J]. *International Journal of Cancer*, 2011, 129(8): 2038-2041
- [14] Li D, Chen H, Florentino A, Alex D, Sikorski P, Fonzi WA, Calderone R. Enzymatic dysfunction of mitochondrial complex I of the *Candida albicans* goal mutant is associated with increased reactive oxidants and cell death[J]. *Eukaryotic cell*, 2011, 10(5): 672-682
- [15] Bergstrom K, Liu XW, Zhao YM, Gao N, Wu Q, Song K, Cui Y, Li Y, McDaniel JM, McGee S, et al. Defective intestinal mucin-type O-glycosylation causes spontaneous colitis-associated cancer in mice[J]. *Gastroenterology*, 2016, 151(1): 152-164.e11
- [16] Strelakova E, Malin D, Good DM, Cryns VL. Methionine deprivation induces a targetable vulnerability in triple-negative breast cancer cells by enhancing TRAIL receptor-2 expression[J]. *Clinical Cancer Research*, 2015, 21(12): 2780-2791
- [17] Minot SS, Willis AD. Clustering co-abundant genes identifies components of the gut microbiome that are reproducibly associated with colorectal cancer and inflammatory bowel disease[J]. *Microbiome*, 2019, 7(1): 110
- [18] Yang T, Richards EM, Pepine CJ, Raizada MK. The gut microbiota and the brain-gut-kidney axis in hypertension and chronic kidney disease[J]. *Nature Reviews Nephrology*, 2018, 14(7): 442-456
- [19] Mauer J, Chaurasia B, Goldau J, Vogt MC, Ruud J, Nguyen KD, Theurich S, Hausen AC, Schmitz J, Brönneke HS, et al. Signaling by IL-6 promotes alternative activation of macrophages to limit endotoxemia and obesity-associated resistance to insulin[J]. *Nature Immunology*, 2014, 15(5):

- 423-430
- [20] Hackstein CP, Assmus LM, Welz M, Klein S, Schwandt T, Schultze J, Förster I, Gondorf F, Beyer M, Kroy D, et al. Gut microbial translocation corrupts myeloid cell function to control bacterial infection during liver cirrhosis[J]. *Gut*, 2017, 66(3): 507-518
- [21] Sonnenburg JL, Bäckhed F. Diet-microbiota interactions as moderators of human metabolism[J]. *Nature*, 2016, 535(7610): 56-64
- [22] Mardinoglu A, Shoaie S, Bergentall M, Ghaffari P, Zhang C, Larsson E, Bäckhed F, Nielsen J. The gut microbiota modulates host amino acid and glutathione metabolism in mice[J]. *Molecular Systems Biology*, 2015, 11(10): 834
- [23] Kellow NJ, Coughlan MT, Reid CM. Metabolic benefits of dietary prebiotics in human subjects: a systematic review of randomised controlled trials[J]. *The British Journal of Nutrition*, 2014, 111(7): 1147-1161
- [24] Ha CW, Lam YY, Holmes AJ. Mechanistic links between gut microbial community dynamics, microbial functions and metabolic health[J]. *World Journal of Gastroenterology*, 2014(44): 16498-16517
- [25] Valdes AM, Walter J, Segal E, Spector TD. Role of the gut microbiota in nutrition and health[J]. *BMJ (Clinical Research ed)*, 2018, 361: k2179
- [26] Yang Q, Vijayakumar A, Kahn BB. Metabolites as regulators of insulin sensitivity and metabolism[J]. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2018, 19(10): 654-672
- [27] Scott NA, Andrusaite A, Andersen P, Lawson M, Alcon-Giner C, Leclaire C, Caim S, Le Gall G, Shaw T, Connolly JPR, et al. Antibiotics induce sustained dysregulation of intestinal T cell immunity by perturbing macrophage homeostasis[J]. *Science Translational Medicine*, 2018, 10(464): eaao4755
- [28] Gong T, Cui YJ, Zhou XD, Tang BY, Ren B, Li YQ. Synergistic antibacterial activity of berberine in combination with amylnmetacresol against *Enterococcus faecalis in vitro*[J]. *Sichuan Da Xue Xue Bao: Yi Xue Ban*, 2020, 51(6): 749-754
龚涛, 崔钰嘉, 周学东, 汤博钰, 任彪, 李雨庆. 黄连素与戊间甲酚对粪肠球菌的体外协同抗菌效果研究[J]. *四川大学学报(医学版)*, 2020, 51(6): 749-754
- [29] Cui YQ, Wei ZT, Cao Y, Zhang H, Li RL, Wang KJ, Sun Q. Effects of sodium butyrate on intestinal flora and inflammatory factors in rats with renal calcium oxalate stones[J]. *Journal of Sichuan University: Natural Science Edition*, 2020, 57(4): 818-824 (in Chinese)
崔雅倩, 魏志涛, 曹月, 张慧, 李若琳, 王坤杰, 孙群. 丁酸钠对肾草酸钙结石大鼠肠道菌群及炎症因子的影响[J]. *四川大学学报(自然科学版)*, 2020, 57(4): 818-824
- [30] Li J, Chen D, Yu B, He J, Zheng P, Mao X, Yu J, Luo J, Tian G, Huang Z, et al. Fungi in gastrointestinal tracts of human and mice: from community to functions[J]. *Microbial Ecology*, 2018, 75(4): 821-829
- [31] Sokol H, Leducq V, Aschard H, Pham HP, Jegou S, Landman C, Cohen D, Liguori G, Bourrier A, Nion-Larmurier I, et al. Fungal microbiota dysbiosis in IBD[J]. *Gut*, 2017, 66(6): 1039-1048
- [32] Li QR, Wang CY, Tang C, He Q, Li N, Li JS. Dysbiosis of gut fungal microbiota is associated with mucosal inflammation in Crohn's disease[J]. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 2014, 48(6): 513-523
- [33] Wang TT, Pan D, Zhou ZC, You Y, Jiang CY, Zhao XQ, Lin X. Dectin-3 deficiency promotes colitis development due to impaired antifungal innate immune responses in the gut[J]. *PLoS Pathogens*, 2016, 12(6): e1005662
- [34] O'Keefe SJD. Diet, microorganisms and their metabolites, and colon cancer[J]. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 2016, 13(12): 691-706
- [35] Ticinesi A, Nouvenne A, Chiussi G, Castaldo G, Guerra A, Meschi T. Calcium oxalate nephrolithiasis and gut microbiota: not just a gut-kidney axis[J]. *Nutrients*, 2020, 12(2): 548
- [36] Abratt VR, Reid SJ. Oxalate-degrading bacteria of the human gut as probiotics in the management of kidney stone disease[J]. *Advances in Applied Microbiology*, 2010, 72: 63-87
- [37] Sadaf H, Raza SI, Hassan SW. Role of gut microbiota against calcium oxalate[J]. *Microbial pathogenesis*, 2017, 109: 287-291
- [38] Pareek S, Kurakawa T, Das B, Motooka D, Nakaya S, Rongsen-Chandola T, Goyal N, Kayama H, Dodd D, Okumura R, et al. Comparison of Japanese and Indian intestinal microbiota shows diet-dependent interaction between bacteria and fungi[J]. *NPJ Biofilms and Microbiomes*, 2019, 5(1): 37
- [39] Knauf F, Ko N, Jiang ZR, Robertson WG, Van Itallie CM, Anderson JM, Aronson PS. Net intestinal transport of oxalate reflects passive absorption and SLC26A6-mediated secretion[J]. *Journal of the American Society of Nephrology*, 2011, 22(12): 2247-2255
- [40] Krych Ł, Nielsen DS, Hansen AK, Hansen CHF. Gut microbial markers are associated with diabetes onset, regulatory imbalance, and IFN- γ level in NOD mice[J]. *Gut Microbes*, 2015, 6(2): 101-109
- [41] Pathak P, Liu HL, Boehme S, Xie C, Krausz KW, Gonzalez F, Chiang JYL. Farnesoid X receptor induces Takeda G-protein receptor 5 cross-talk to regulate bile acid synthesis and hepatic metabolism[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2017, 292(26): 11055-11069
- [42] Out C, Patankar JV, Doktorova M, Boesjes M, Bos T, De Boer S, Havinga R, Wolters H, Boverhof R, Van Dijk TH, et al. Gut microbiota inhibit Asbt-dependent intestinal bile acid reabsorption via Gata4[J]. *Journal of Hepatology*, 2015, 63(3): 697-704

- [43] Huang FJ, Zheng XJ, Ma XH, Jiang RQ, Zhou WY, Zhou SP, Zhang YJ, Lei S, Wang SL, Kuang JL, et al. Theabrownin from Pu-erh tea attenuates hypercholesterolemia via modulation of gut microbiota and bile acid metabolism[J]. *Nature Communications*, 2019, 10(1): 4971
- [44] Honda A, Miyazaki T, Iwamoto J, Hirayama T, Morishita Y, Monma T, Ueda H, Mizuno S, Sugiyama F, Takahashi S, et al. Regulation of bile acid metabolism in mouse models with hydrophobic bile acid composition[J]. *Journal of Lipid Research*, 2020, 61(1): 54-69
- [45] Sinha SR, Haileselassie Y, Nguyen LP, Tropini C, Wang M, Becker LS, Sim D, Jarr K, Spear ET, Singh G, et al. Dysbiosis-induced secondary bile acid deficiency promotes intestinal inflammation[J]. *Cell Host & Microbe*, 2020, 27(4): 659-670.e5
- [46] Tang WHW, Li DY, Hazen SL. Dietary metabolism, the gut microbiome, and heart failure[J]. *Nature Reviews Cardiology*, 2019, 16(3): 137-154
- [47] Geng J, Yang CC, Wang BJ, Zhang XW, Hu TT, Gu Y, Li J. Trimethylamine N-oxide promotes atherosclerosis via CD36-dependent MAPK/JNK pathway[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2018, 97: 941-947
- [48] Romano KA, Vivas EI, Amador-Noguez D, Rey FE. Intestinal microbiota composition modulates choline bioavailability from diet and accumulation of the proatherogenic metabolite trimethylamine-N-oxide[J]. *mBio*, 2015, 6(2): e02481
- [49] Ufnal M, Zadlo A, Ostaszewski R. TMAO: a small molecule of great expectations[J]. *Nutrition*, 2015, 31(11/12): 1317-1323
- [50] Pathak P, Helsley RN, Brown AL, Buffa JA, Choucair I, Nemet I, Gogonea CB, Gogonea V, Wang ZN, Garcia-Garcia JC, et al. Small molecule inhibition of gut microbial choline trimethylamine lyase activity alters host cholesterol and bile acid metabolism[J]. *American Journal of Physiology Heart and Circulatory Physiology*, 2020, 318(6): H1474-H1486
- [51] Ding L, Chang MR, Guo Y, Zhang LY, Xue CH, Yanagita T, Zhang TT, Wang YM. Trimethylamine-N-oxide (TMAO)-induced atherosclerosis is associated with bile acid metabolism[J]. *Lipids in Health and Disease*, 2018, 17(1): 286
- [52] Bennett BJ, De Aguiar Vallim TQ, Wang ZN, Shih DM, Meng YH, Gregory J, Allayee H, Lee R, Graham M, Crooke R, et al. Trimethylamine-N-oxide, a metabolite associated with atherosclerosis, exhibits complex genetic and dietary regulation[J]. *Cell Metabolism*, 2013, 17(1): 49-60
- [53] Chu HK, Williams B, Schnabl B. Gut microbiota, fatty liver disease, and hepatocellular carcinoma[J]. *Liver Research*, 2018, 2(1): 43-51
- [54] Chen YM, Liu Y, Zhou RF, Chen XL, Wang C, Tan XY, Wang LJ, Zheng RD, Zhang HW, Ling WH, et al. Associations of gut-flora-dependent metabolite trimethylamine-N-oxide, betaine and choline with non-alcoholic fatty liver disease in adults[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 19076
- [55] Leung C, Rivera L, Furness JB, Angus PW. The role of the gut microbiota in NAFLD[J]. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 2016, 13(7): 412-425
- [56] Tang WHW, Wang ZN, Kennedy DJ, Wu YP, Buffa JA, Agatsuma-Boyle B, Li XS, Levison BS, Hazen SL. Gut microbiota-dependent trimethylamine N-oxide (TMAO) pathway contributes to both development of renal insufficiency and mortality risk in chronic kidney disease[J]. *Circulation Research*, 2015, 116(3): 448-455
- [57] Al-Obaide MAI, Singh R, Datta P, Rewers-Felkins KA, Salguero MV, Al-Obaidi I, Kottapalli KR, Vasylyeva TL. Gut microbiota-dependent trimethylamine-N-oxide and serum biomarkers in patients with T2DM and advanced CKD[J]. *Journal of Clinical Medicine*, 2017, 6(9): 86
- [58] Mahalle N, Bhide V, Greibe E, Heegaard CW, Nexø E, Fedosov SN, Naik S. Comparative bioavailability of synthetic B12 and dietary vitamin B12 present in cow and buffalo milk: a prospective study in lactovegetarian Indians[J]. *Nutrients*, 2019, 11(2): 304
- [59] Molloy AM, Pangilinan F, Mills JL, Shane B, O'Neill MB, McGaughey DM, Velkova A, Abaan HO, Ueland PM, McNulty H, et al. A common polymorphism in HIBCH influences methylmalonic acid concentrations in blood independently of cobalamin[J]. *American Journal of Human Genetics*, 2016, 98(5): 869-882
- [60] Gu SX, Stevens JW, Lentz SR. Regulation of thrombosis and vascular function by protein methionine oxidation[J]. *Blood*, 2015, 125(25): 3851-9
- [61] Lai JS, Pang WW, Cai SR, Lee YS, Chan JKY, Shek LPC, Yap FKP, Tan KH, Godfrey KM, Van Dam RM, et al. High folate and low vitamin B12 status during pregnancy is associated with gestational diabetes mellitus[J]. *Clinical Nutrition: Edinburgh, Scotland*, 2018, 37(3): 940-947
- [62] Adai Kalakoteswari A, Vatish M, Alam MT, Ott S, Kumar S, Saravanan P. Low vitamin B12 in pregnancy is associated with adipose-derived circulating miRs targeting PPAR γ and insulin resistance[J]. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 2017, 102(11): 4200-4209
- [63] Wu FF, Peng YZ. Gut microbiota at different stages of HBV infection[J]. *The Journal of Practical Medicine*, 2017, 33(12): 2032-2035 (in Chinese)
伍非凡, 彭永正. 乙型肝炎病毒不同感染状态下的肠道菌群结构[J]. *实用医学杂志*, 2017, 33(12): 2032-2035
- [64] Shen TD, Pysopoulou N, Rustgi VK. Microbiota and the liver[J]. *Liver Transplantation*, 2018, 24(4): 539-550
- [65] Han SH, Suk KT, Kim DJ, Kim MY, Baik SK, Kim YD, Cheon GJ, Choi DH, Ham YL, Shin DH, et al. Effects of probiotics (cultured *Lactobacillus subtilis*/*Streptococcus*

- faecium*) in the treatment of alcoholic hepatitis: randomized-controlled multicenter study[J]. *European Journal of Gastroenterology & Hepatology*, 2015, 27(11): 1300-1306
- [66] Jiang SM, Xu J, Lv LX, Wang QQ, Wang ST, Li LJ. New focus on microecology: intestinal fungi[J]. *Chinese Journal of Clinical Infectious Diseases*, 2020, 13(5): 380-386 (in Chinese)
蒋诗漫, 徐佳, 吕龙贤, 王锵强, 王淑婷, 李兰娟. 微生物生态新焦点: 肠道真菌[J]. *中华临床感染病杂志*, 2020, 13(5): 380-386
- [67] Chu HK, Duan Y, Lang S, Jiang L, Wang YH, Llorente C, Liu JY, Mogavero S, Bosques-Padilla F, Abraldes JG, et al. The *Candida albicans* exotoxin candidalysin promotes alcohol-associated liver disease[J]. *Journal of Hepatology*, 2020, 72(3): 391-400
- [68] Song YJ, Li SX, Zhao YJ, Zhang YS, Lv Y, Jiang YY, Wang Y, Li DM, Zhang H. ADH1 promotes *Candida albicans* pathogenicity by stimulating oxidative phosphorylation[J]. *International Journal of Medical Microbiology*, 2019, 309(6): 151330
- [69] Liao M, Cheng L, Zhou XD, Ren B. Research progress of *Candida albicans* on malignant transformation of oral mucosal diseases[J]. *West China Journal of Stomatology*, 2020, 38(4): 431-437 (in Chinese)
廖敏, 程磊, 周学东, 任彪. 白色念珠菌对口腔黏膜疾病恶性转化作用的研究进展[J]. *华西口腔医学杂志*, 2020, 38(4): 431-437
- [70] Crowell KT, Laufenberg LJ, Lang CH. Chronic alcohol consumption, but not acute intoxication, decreases *in vitro* skeletal muscle contractile function[J]. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, 2019, 43(10): 2090-2099
- [71] Qin JJ, Li YR, Cai ZM, Li SH, Zhu JF, Zhang F, Liang SS, Zhang WW, Guan YL, Shen DQ, et al. A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes[J]. *Nature*, 2012, 490(7418): 55-60
- [72] Oh J, Byrd AL, Deming C, Conlan S, Program NCS, Kong HH, Segre JA. Biogeography and individuality shape function in the human skin metagenome[J]. *Nature*, 2014, 514(7520): 59-64
- [73] Zhao LJ, Ni Y, Su MM, Li HS, Dong FC, Chen WL, Wei RM, Zhang LL, Guiraud SP, Martin FP, et al. High throughput and quantitative measurement of microbial metabolome by gas chromatography/mass spectrometry using automated alkyl chloroformate derivatization[J]. *Analytical Chemistry*, 2017, 89(10): 5565-5577