

王梦楠,秦合伟,郭宁,等. 下一代益生菌防治动脉粥样硬化的研究进展 [J]. 中国比较医学杂志, 2022, 32(12): 95-102.
Wang MN, Qin HW, Guo N, et al. Research progress in the prevention and treatment of atherosclerosis using next-generation probiotics [J]. Chin J Comp Med, 2022, 32(12): 95-102.
doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2022.12.013

下一代益生菌防治动脉粥样硬化的研究进展

王梦楠¹, 秦合伟^{2*}, 郭 宁¹, 宋雪梅¹, 牛雨晴¹, 孙孟艳¹

(1.河南中医药大学, 郑州 450046; 2.河南省中医院康复医学科, 郑州 450002)

【摘要】 动脉粥样硬化是脂质和复合糖类沉积于大中动脉内壁的慢性代谢性疾病,其病机复杂且受多种危险因素影响,是心血管疾病的主要病理基础。近些年研究发现,肠道内的微生物可以通过多种途径如调节宿主代谢和炎症影响动脉粥样硬化进程,通过饮食干预、益生菌、益生元、粪菌移植等方式维持肠道菌群的动态平衡能够有效延缓动脉粥样硬化进展。其中下一代益生菌包括嗜黏蛋白阿克曼菌、小克里斯滕森氏菌、普拉梭菌等非传统肠道菌群及经过基因编辑的设计型益生菌成为新的预防和治疗工具,是防治动脉粥样硬化的潜在的诊断和药理学靶点。

【关键词】 下一代益生菌;设计型益生菌;动脉粥样硬化;肠道菌群

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2022) 12-0095-08

Research progress in the prevention and treatment of atherosclerosis using next-generation probiotics

WANG Mengnan¹, QIN Hewei^{2*}, GUO Ning¹, SONG Xuemei¹, NIU Yuqing¹, SUN Mengyan¹

(1. Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China.

2. Department of Rehabilitation Medicine, Henan Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450002)

【Abstract】 Atherosclerosis is a chronic metabolic disease in which lipids and complex carbohydrates are deposited on the inner wall of large and medium arteries. Its pathogenesis is complex and affected by various risk factors, and it is the main pathological basis of cardiovascular disease. Recent studies showed that the gut microbiota can affect the process of atherosclerosis through various mechanisms, including regulating host metabolism and inflammation. Maintaining the dynamic balance of the intestinal flora through dietary interventions, probiotics, prebiotics, and fecal-bacteria transplantation can effectively delay the progression of atherosclerosis. Among these approaches, next-generation probiotics, including *Akkermansia muciniphila*, *Christensenia minuta*, *Faecalibacterium prausnitzii* and other non-traditional intestinal flora and gene-edited designer probiotics, have become new prevention and treatment tools. The gut microbiota thus presents a potential diagnostic and pharmacological target for the prevention and treatment of atherosclerosis.

【Keywords】 next-generation probiotics; designer probiotics; atherosclerosis; gut microbiota

【基金项目】 国家自然科学基金青年科学基金项目(81704030);河南省科技攻关计划项目(212102310359);河南省中医药科学研究专项课题(20-21ZY1023);河南省中医药拔尖人才培养项目专项课题(2022ZYBJ15);中原英才计划中原青年拔尖人才资助项目(豫组通[2021]44号)。

【作者简介】 王梦楠(1998—),女,硕士,研究方向:心血管疾病的预防与治疗。E-mail:198255365@qq.com

【通信作者】 秦合伟(1982—),男,博士,副主任医师,硕士生导师,研究方向:心脑血管疾病与常见内科疾病的治疗与康复。

E-mail:qinhewei2012@126.com

动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)是一种发生在大中动脉内膜的全身炎症性疾病,该疾病周期较长,往往始于童年时期,受血糖、血脂、年龄、性别、遗传等多种因素影响,是脑卒中、冠心病等心血管疾病(cardiovascular diseases, CVD)的主要病理基础。CVD 是人类健康的头号杀手,至 2020 年我国患此类疾病的人数已超 3 亿,其发病率及死亡率均居首位^[1]。深入研究 AS 的发病机制对防治 CVD 具有重要意义。

随着高通量测序技术和生物信息学技术的应用,科学家们发现肠道菌群紊乱参与 AS 的发生、发展,而维持宿主肠道微生物群的平衡对降低肠道屏障通透性、调节宿主代谢、预防肠道及全身炎症至关重要。益生菌可以平衡和调节肠道微生物多样性,与专注于人体肠道健康的传统益生菌相比,下一代益生菌(next-generation probiotics, NGPs)被视为活体生物药(live biotherapeutic product, LBP),其研究与开发针对特定疾病。研究表明,嗜黏蛋白阿克曼菌、拟杆菌等下一代益生菌可以协助和参与与肠道微生物相关的各种有益生化途径从而起到抗 AS 作用。本文对下一代益生菌防治动脉粥样硬化的作用机制和研究进展作一综述,以期对临床上防治 AS 提供新的研究方向。

1 动脉粥样硬化与肠道微生物

动脉粥样硬化是由多种因素引起的慢性炎症性疾病,始于大中动脉内膜发生的脂肪浸润及复合糖类沉积,进而内膜呈灶状纤维化并出现钙质沉着,形成 AS 斑块,导致血管壁变硬增厚并伴随管腔狭窄。该过程涉及内膜纤维化、脂肪斑块的形成、平滑肌细胞的增殖、单核细胞和 T 淋巴细胞的趋化、血小板过度活跃和胆固醇积累,其特征是对内源性抗原(如热休克蛋白)和外源性微生物抗原产生免疫反应^[2-3]。目前临床上采用他汀类药物对 AS 患者进行降脂治疗,但该方法会引起肝损伤、肌痛等不良反应,无法满足所有需求。

人类胃肠道中存在 100 万亿(10^{14})个微生物,包括细菌、古细菌、真菌、原生动物和病毒。作为一种能够调节宿主代谢的活性器官,肠道微生物已被证明与 AS 进展密切相关。与健康人群相比,动脉粥样硬化患者肠道微生物群中柯林氏菌属、肠杆菌科、链球菌科和克雷伯氏菌属的丰度较高,而产生短链脂肪酸(short chain fatty acids, SCFAs)的真杆菌

属、罗斯氏菌属和瘤胃球菌属的丰度较低^[4]。Szabo 等^[5]发现与患有亚临床动脉粥样硬化的受试者相比,颈动脉内膜中层厚度值正常的人群中普雷沃菌科的丰度更高,且厚壁菌门/拟杆菌门的比例与颈动脉内膜中层厚度呈正相关。肠道微生物的结构成分及其代谢产物包括脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)、氧化三甲胺(trimethylamine oxide, TMAO)、胆汁酸(bile acids, BAs)、SCFAs、马尿酸盐、吲哚硫酸盐等也可通过调控宿主免疫、炎症反应,影响血管内皮功能和调节脂质代谢等途径改变动脉粥样硬化的进程^[6]。

2 下一代益生菌

2.1 下一代益生菌的含义

随着对肠道微生物与疾病关系的深入认识和生物测序技术的快速发展,科学家们提出了新的概念即“下一代益生菌”,是指从健康供体肠道菌群中识别、分离出的有别于传统益生菌的新型细菌及通过添加、删除或过表达特定基因而开发的转基因微生物,它们符合益生菌的定义,但未曾应用于促进人体健康^[7-8]。人类胃肠道中细菌密集,可通过比对健康人和患者肠道中的微生物群组成差异来筛选 NGPs,分子生物学、宏基因组测序、16S rRNA 高通量测序等尖端测序技术和生物信息学技术能够对微生物群进行全面的分析,以鉴定、分离出潜在的 NGPs,随后进行成分分析、宏基因组学研究和宿主反应来选择有效的益生菌,并对选定的新益生菌进行体外细胞系试验、动物试验或人体临床试验来验证其功能,以便阐明潜在的分子改善机制。

2.2 下一代益生菌的来源及候选菌群

2.2.1 人类肠道菌群

NGPs 来源于人类肠道和粪便中细菌的不同种属,大多数来自拟杆菌门和厚壁菌门,较为典型的菌株有霍氏真杆菌、普氏菌、小克里斯滕森氏菌、普拉梭菌以及来自疣微菌门的嗜黏蛋白阿克曼菌^[9]。详见表 1。

古细菌又名古生菌、古菌,是除细菌域和真核生物域外的第三大生命领域,一些在人体肠道中自然生长的特定古细菌——产甲烷菌被认为是潜在的下一代益生菌,从大型人类队列的宏基因组分析中推断出产甲烷菌约占肠道微生物总量的 1.5%^[31]。详见表 2。

表 1 肠道细菌中的下一代益生菌候选者
Table 1 Next-generation probiotic candidates in intestinal bacteria

候选细菌 Candidate bacteria	种属 Species	有益影响 Beneficial effects	参考文献 References
非产毒素脆弱拟杆菌 <i>NTBF-Bacteroides fragilis</i>	拟杆菌门, 拟杆菌科, 拟杆菌属 <i>Bacteroides, Bacteroidaceae, Bacteroides</i>	调节肠道免疫反应, 抗炎, 产生 SCFAs Modulates intestinal immune response, anti-inflammatory, and produces SCFAs	[10-11]
多形拟杆菌 <i>Bacteroides thetaiotaomicron</i>	拟杆菌门, 拟杆菌科, 拟杆菌属 <i>Bacteroides, Bacteroidaceae, Bacteroides</i>	产生叶酸, 降低血浆甘油三酯水平, 减轻肥胖 Produces folic acid, lowers plasma triglyceride levels and reduces obesity	[12-13]
单形拟杆菌 <i>Bacteroides uniformis</i>	拟杆菌门, 拟杆菌科, 拟杆菌属 <i>Bacteroides, Bacteroidaceae, Bacteroides</i>	产生叶酸, 减轻体重, 改善免疫系统和肠道屏障通透性 Produces folic acid, reduces obesity, improves immune system and gut barrier permeability	[14-15]
解木聚糖拟杆菌 <i>Bacteroides xylanisolvens</i>	拟杆菌门, 拟杆菌科, 拟杆菌属 <i>Bacteroides, Bacteroidaceae, Bacteroides</i>	合成叶酸, 减轻脂肪肝变性 Produces folic acid, reduces liver steatosis	[12]
金氏副拟杆菌 <i>Parabacteroides goldsteini</i>	拟杆菌门, 拟杆菌科, 副拟杆菌属 <i>Bacteroides, Parabacteroides</i>	修复肠道黏膜屏障, 抑制炎症, 降血脂, 减轻肥胖 Repairs intestinal barrier, inhibits inflammation, lowers blood lipids and reduces obesity	[16]
狄氏副拟杆菌 <i>Parabacteroides distasonis</i>	拟杆菌门, 拟杆菌科, 副拟杆菌属 <i>Bacteroides, Parabacteroides</i>	改善代谢性内毒素血症和肠道屏障通透性, 降低血浆胆固醇水平 Improves metabolic endotoxemia and gut barrier permeability, reduces plasma cholesterol levels	[17-18]
普氏菌 <i>Prevotella copri</i>	拟杆菌门, 普雷沃氏菌科, 普雷沃氏菌属 <i>Bacteroides, Prevotellaceae, Prevotella</i>	产生琥珀酸, 改善葡萄糖稳态 Produces succinic acid and improves glucose homeostasis	[19]
嗜黏蛋白阿克曼氏菌 <i>Akkermansia muciniphila</i>	疣微菌门, 阿克曼氏菌科, 阿克曼氏菌属 <i>Verrucomicrobia, Akkermansiaceae, Akkermansia</i>	修复肠道黏膜屏障, 改善代谢性内毒素血症 Repairs intestinal barrier and improves metabolic endotoxemia	[5, 20]
小克里斯滕森氏菌 <i>Christensenella minuta</i>	厚壁菌门, 克里斯滕森菌科, 克里斯滕森菌属 <i>Firmicutes, Christensenellaceae, Christensenella</i>	保持肠道上皮完整性, 降低血浆胆固醇水平, 改善肠道微生物多样性 Maintains the integrity of intestinal epithelium, reduces plasma cholesterol levels, improves intestinal microbial diversity	[21-22]
霍氏真杆菌 <i>Eubacterium hallii</i>	厚壁菌门, 真杆菌科, 真杆菌属 <i>Firmicutes, Eubacteriaceae, Eubacterium</i>	促进肠道上皮完整性和调节免疫反应, 改善胰岛素抵抗 Maintains the integrity of intestinal epithelium, regulates immune response and improves insulin resistance	[15]
罗氏弧菌 <i>Roseburia intestinalis</i>	厚壁菌门, 毛螺菌科, 罗氏菌属 <i>Firmicutes, Lachnospiraceae, Roseburia</i>	调节肠道免疫反应, 抑制炎症 Modulates intestinal immune response, inhibits inflammation	[23-24]
颤螺菌 <i>Oscillospira</i>	厚壁菌门, 瘤胃球菌科, 颤螺菌属 <i>Firmicutes, Ruminococcaceae, Oscillospira</i>	产生丁酸盐, 抑制炎症, 减轻肥胖 Produces butyrate, inhibits inflammation and reduces obesity	[25]
瘤胃球菌 <i>Ruminococcus bromii</i>	厚壁菌门, 瘤胃球菌科, 瘤胃球菌属 <i>Firmicutes, Ruminococcaceae, Ruminococcus</i>	产生 SCFAs, 抑制炎症, 降解抗性淀粉, 促进脂肪代谢 Produces SCFAs, inhibits inflammation, reduces resistant starch and promotes fat metabolism	[26-27]
普拉梭菌 <i>Faecalibacterium prausnitzii</i>	厚壁菌门, 瘤胃球菌科, 柔嫩梭菌属 <i>Firmicutes, Ruminococcaceae, Faecalibacterium</i>	修复肠道屏障, 改善脂蛋白代谢, 减轻体重 Repairs intestinal barrier, improves lipoprotein metabolism and reduces obesity	[28-29]
丁酸梭菌 <i>Clostridium butyricum</i>	厚壁菌门, 瘤胃球菌科, 梭菌属 <i>Firmicutes, Ruminococcaceae, Clostridium</i>	产生丁酸盐, 保护肠道屏障完整性和免疫功能 Produces butyrate, protects the intestinal barrier and immune function	[30]

表 2 肠道古生菌中的下一代益生菌候选者
Table 2 Next-generation probiotic candidates in intestinal archaea

候选古细菌 Candidate archaea	种属 Species	有益影响 Beneficial effects	参考文献 References
史氏甲烷短杆菌 <i>Methanobrevibacter smithii</i>	甲烷杆菌目, 甲烷杆菌科, 甲烷短杆菌属 <i>Methanobacteriales</i> , <i>Methanobacteriaceae</i> , <i>Methanobrevibacter</i>	降低血浆氧化三甲胺含量, 调节免疫反应, 改善肠道微生物多样性 Reduces plasma TMAO levels, modulates immune response, and improves intestinal microbial diversity	[22, 32]
<i>Methanomassiliicoccus luminyensis</i>	马赛球菌目, 马赛甲烷球菌科, 马赛甲烷球菌属 <i>Methanomassiliicoccales</i> , <i>Methanomassiliicoccaceae</i> , <i>Methanomassiliicoccus</i>	降低机体三甲胺和氧化三甲胺含量 Reduces the level of trimethylamine and trimethylamine oxide	[31, 33]

注: *Methanomassiliicoccus luminyensis* 无中文学名。

Note. *Methanomassiliicoccus luminyensis* has no Chinese scientific name.

2.2.2 设计型益生菌

NGPs 还包括通过添加、删除或过表达特定基因的设计型益生菌, 涉及新陈代谢、技术压力耐受性、在人类肠道中的生存能力及治疗和预防分子的粘膜定向递送, 以确定对宿主的一种或多种健康益处, 从而衍生出用于防治各种疾病的“活体生物药”概念^[8]。使用基因组编辑工具可以对现有的益生菌进行进一步的修改与探索, 如转录激活因子样效应物核酸酶 (transcription activator-like effector nuclease, TALEN) 技术与锌指核酸酶 (zinc-finger nuclease, ZFN) 技术能够完成一系列遗传学编辑修饰操作, 近些年出现的 CRISPR/Cas9 (clustered regularly interspaced short palindromic repeats/CRISPR-associated protein 9) 技术可以完成 RNA 导向的 DNA 识别和编辑, 且更易于操作, 为基因组编辑提供了一个更好的平台。

2.3 下一代益生菌的局限性

由于 NGPs 发现历史短暂且未进行过大规模发酵, 大部分 NGPs 的安全性尚未明确。此外, 大多数 NGPs 候选者对需氧条件高度敏感, 现有的工业厂房设计和工艺流程不能创造适宜的厌氧环境, 一些细菌和古细菌在肠道中也无法长时间定殖; 并且培养 NGPs 的具体营养需求尚未阐明, 已知的经过充分研究的 NGPs 则需要复杂的营养需求, 这需要实验室规模的粘蛋白、瘤胃液、血红素肉汤等, 这些技术因素成为了大规模开发及生产新益生菌的障碍^[8]。另一方面, 微生物组的功能取决于其结构和多样性, 这在多因素的影响下在个体中是高度独特的, 将新的微生物引入肠道需考虑其有效性和不同个体之间的差异性反应。新的微生物是否会对已建立的肠道菌群结构带来意想不到的结果, 对宿主

产生不可控的有害影响, 是下一代益生菌广泛应用于临床前需解决的重要问题^[34]。

3 下一代益生菌防治动脉粥样硬化的作用机制

3.1 改善肠道屏障通透性

肠道屏障是抵御病原微生物和有毒物质入侵人体的第一道防线, 由粘液层、上皮层和固有层组成, 若肠道屏障的通透性增加导致革兰阴性菌外膜上的 LPS 进入血液, 就会促进炎症细胞因子表达和泡沫细胞形成, 从而加速 AS 进程。肠道屏障的粘液层主要由上皮层杯状细胞分泌的黏蛋白 (mucoprotein, MUC) 组成, *A. muciniphila* 的黏蛋白降解能力可刺激 MUC 的产生, 增加粘液层的厚度, 改善内毒素血症^[20]。研究显示下一代益生菌 *R. intestinalis*、*Parabacteroides*、*Oscillospira*、*R. bromii*、*C. minuta*、*F. prausnitzii*、*C. butyricum* 及无毒的 *B. fragilis* 等菌株能够有效改善肠道屏障功能, 可能是这些菌株能够产生 SCFAs 丁酸盐, 丁酸盐被证明能够下调促炎细胞因子的肠道转录水平并增加 MUC 和上皮层紧密连接 (tight junction, TJ) 蛋白的表达量, 保护屏障的完整性, 而丁酸盐可通过脂肪酸氧化为机体提供能量并增加氧气的消耗和缺氧诱导因子的稳定性, 增强上皮屏障功能^[10, 21, 23, 27, 30, 35]。功能性免疫反应参与调节肠道屏障的完整性, *R. intestinalis* 的结构成分鞭毛蛋白与 Toll 样蛋白受体 5 (toll-like receptor, TLR5) 相结合能够调节免疫反应, 提升 TJ 的表达^[23]。*A. muciniphila* 和 *Clostridium genus* 产生的色氨酸代谢产物吲哚-3-丙酸 (indole-3-propionic acid, IPA) 同样能够改善肠道屏障功能, 当动脉粥样硬化发生时, IPA 的合成减少^[36-37]。

肠道屏障在预防、阻止肠道及全身炎症的过程中发挥重要作用, 丁酸盐的供能、抗炎、抗氧化作用

帮助维持正常的肠道屏障功能,低膳食纤维会使丁酸盐的产生减少,而富含纤维的饮食可以提高肠道中产丁酸盐细菌的丰度。到目前为止,直接使用产丁酸盐的菌株作为益生菌补充剂仍面临许多技术挑战,因为大多数丁酸盐生产者都是高度厌氧的,而创造适宜这些菌株生存的无氧环境仍受到许多技术因素限制。

3.2 调节胆固醇合成与代谢

脂质沉积于人体大中动脉内膜是 AS 形成的关键步骤。部分来自毛螺菌科和瘤胃菌科的 NGPs 能够产生 SCFAs 丙酸盐进而抑制胆固醇合成限速酶 3-羟基-3-甲基-戊二酸单酰辅酶 A 还原酶 (3-hydroxy-3-methyl glutaryl coenzyme A reductase, HMGCR) 的活性,减少胆固醇合成;SCFAs 还可以上调肝脏胆固醇调节元件结合蛋白 2 (sterol-regulatory element binding protein 2, SREBP2) mRNA 的表达,激活低密度脂蛋白 (low density lipoprotein, LDL) 受体,进而增强循环 LDL 的清除^[38]。BAs 是胆固醇的下游代谢产物,肠道菌群可以参与 BAs 的代谢,包括水解初级结合胆汁酸和将游离的初级胆汁酸暂时脱羟基转化为重吸收效率较低的次级胆汁酸,从而影响肝中胆固醇向 BAs 的转化,调节血浆胆固醇水平,参与上述过程的菌属有拟杆菌属、梭菌属、乳酸杆菌属、双歧杆菌属和真杆菌属等^[2,39]。除此之外,小克里斯滕森氏菌新菌株 *C. minuta* DSM33407 也能够促进初级胆汁酸的去结合而增加次级胆汁酸的合成^[21]。而 *Parabacteroides* 丰度与血浆胆固醇水平和小鼠主动脉斑块大小呈负相关,其中的 *P. distasonis* 同样具有广泛的胆酸转化功能,可以将多种结合型胆酸水解,并使其转化为次级胆酸,进而激活肠道 FXR 信号通路,缓解高脂血症^[17-18]。Kashanova 等^[28]发现血液中高水平的极低密度脂蛋白和中密度脂蛋白胆固醇与内膜中层增厚有关,且此二者含量分别与 *F. prausnitzii* 与 *P. copri* 的丰度呈负相关;但也有研究表明,*P. copri* 和 LDL 呈正相关,其高丰度与胰岛素抵抗、肥胖、高血压及非酒精性脂肪肝有关^[40]。

3.3 影响血浆 TMAO 水平

高胆碱饮食中的营养物质经肠道中多种微生物酶复合物代谢产生三甲胺 (trimethylamine, TMA), TMA 进入门静脉,经过肝中宿主酶进一步代谢产生 TMAO;血浆 TMAO 浓度升高会激活巨噬细胞流入胆固醇,导致泡沫细胞形成,还会使血小板过度活

跃并促进内皮细胞衰老、血管老化和氧化应激反应从而加快 AS 进展。TMAO 水平与光杆菌属、脱硫弧菌属、梭杆菌属、普雷沃氏菌属、瘤胃球菌科等 13 种粪便菌群丰度显著相关^[41]。减少 TMA 的合成或将其转化为惰性化合物可限制后续产生的不良影响,研究表明,一些人类肠道的古细菌——嗜温产甲烷杆菌可以使用 TMA 作为末端电子受体,氢气作为电子供体,通过三甲胺甲基转移酶 (MttB) 产生甲烷,以此来减少 TMAO 的合成,如 *Methanomassiliicoccus luminyensis* B10,而以二氧化碳作为末端电子受体产生甲烷且不具备 MttB 基因的 *M. smithii* 也可以降低小鼠血浆中 TMAO 浓度^[31-32]。在产甲烷古菌的三甲胺甲基转移酶中发现的由终止密码子 UAG 有义编码生成的吡咯氨基酸 (pyrrolysine, Pyl) 是 MttB 的必要成分,对大肠杆菌进行工程改造以正确编码和合成 Pyl 能够促进肠道中 MttB 的原位合成和递送,从而促进 TMA 向甲烷转化,减少 TMA 扩散至肝的量^[33]。

TMAO 是肠道菌群失调和血管病变之间的主要介质,目前临床常使用 TMA 裂解酶抑制剂 3-3-二甲基-1-丁醇 (3, 3-dimethyl-1-butanol, DMB) 来减少 TMA 产生,进而降低血浆 TMAO 水平,而对产甲烷菌及重组益生菌的深入研究让我们认识到该问题的新的解决方法。随后可将研究焦点聚集在消除产甲烷菌的最终产物甲烷带来的不良影响,如食物通过肠道的速度减慢;以及利用设计型益生菌减少肠道中 TMA 的表达,从而发挥稳定的降 TMAO 作用。

3.4 调节氨基酸代谢

氨基酸代谢失调会影响葡萄糖和脂质代谢及巨噬细胞、泡沫细胞形成,在 AS 中起到重要作用。同型半胱氨酸 (homocysteine, Hcy) 作为蛋氨酸和半胱氨酸的中间代谢产物,是一种毒性氨基酸,可通过损伤血管内皮细胞,促进血管平滑肌细胞增殖及诱发炎性反应和氧化应激反应等途径引发 AS。研究表明, *Bacteroides* 成员 *B. thetaiotaomicron*、*B. xylanisolvens*、*B. dorei* 和 *B. uniformis* 可产生叶酸并促进其代谢,叶酸的代谢产物 5-甲基四氢叶酸能够为 Hcy 提供甲基,使之重新转化为蛋氨酸^[12,14]。支链氨基酸 (branched chain amino acids, BCAAs) 循环水平升高会出现胰岛素抵抗,促进炎症反应和活性氧的生成导致内皮功能障碍,还会增加血小板活性致使血栓形成,用 *B. thetaiotaomicron* 灌胃可降低血液

中 BCAAs 的浓度并减轻饮食引起的小鼠体重增加和肥胖^[42-43];但 Cho 等^[44]学者的研究却表明该菌株会增加小肠中脂肪酶活性,促进脂质消化吸收和体重增加,并加重代谢紊乱。*Clostridium*、*Bacteroides*、*A. muciniphila* 等菌属参与肠道中芳香族氨基酸(aromatic amino acids, AAAs)如色氨酸代谢为吲哚及其衍生物的过程,这些产物与芳香烃受体(aromatic hydrocarbon receptor, AhR)相结合可有效抑制肠道炎症并降低 CVD 风险因素^[45-46]。

越来越多的研究关注 Hcy 与 AS 的相关性,高同型半胱氨酸血症已被认为是 CVD 的独立危险因素,补充叶酸和维生素 B₆、维生素 B₁₂ 是临床常用的下调机体 Hcy 水平的方法,应注意的是叶酸的补充剂量因人而异,不要在一段时间内大剂量使用,以免导致哮喘、皮疹。适当应用 NGPs 使其在宿主肠道内原位合成叶酸可能成为降低血浆 Hcy 水平,减轻高同型半胱氨酸血症及其并发症的主要研究方向。

3.5 改善肠道微生物多样性

下一代益生菌可以通过平衡和调节肠道微生物的多样性及丰度来影响 AS 的发生与发展。如 *C. minuta* DSM33407 的长期给药显著减少了高脂饮食诱导的微生物易位,改善了远端结肠的微生物多样性,还恢复了接种肥胖者粪便微生物群的个体中厚壁菌门/拟杆菌门的比例^[21]。除此之外,克里斯滕森菌科成员在发酵过程中可以产生大量的氢气,从而促进某些氢营养产甲烷菌如 *M. smithii* 的肠道定殖,并向其他丁酸盐生产者提供乙酸盐来塑造肠道微生物的组成,*B. thetaiotaomicron* 也已被证明能够支持 *M. smithii* 的生长,在无菌小鼠体内同时接种上述两种微生物,可增加果聚糖的发酵,促进 *M. smithii* 生长代谢,从而改善宿主的肠道功能^[22,47]。

肠道菌群失调与动脉粥样硬化之间存在紧密的关联,通过饮食干预、粪菌移植或服用益生菌、益生元等方式调整肠道菌群结构使肠道保持健康、稳定状态能够有效延缓动脉粥样硬化进程。NGPs 的发展与特定疾病密切相关,利用 NGPs 来定向重塑肠道微生物群结构是一种防治 AS 的新方法,但要注意不能盲目干预患者的肠道菌群结构,以免造成胃肠道紊乱等诸多不良后果。

3.6 其他

动脉粥样硬化病变的免疫组织化学研究表明,肠道中存在 *R. intestinalis* 定殖的小鼠的巨噬细胞数

量减少但胶原蛋白水平增加,表明该菌株促进了 AS 斑块的稳定性;同时在这些小鼠体内检测到了较高水平的酮体 β -羟基丁酸酯,它可以通过抑制核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3(nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor protein 3, NLRP3)的激活和释放来抑制慢性炎症过程^[24]。表达灵芝 8 蛋白(lingzhi 8 protein, LZ8)的重组乳酸乳球菌可以降低主动脉中 IL-1 β 的基因表达,减少主动脉内膜厚度和内皮下泡沫细胞数量,从而表现出对 AS 的改善作用^[48]。Deshpande 等^[3]对耻垢分枝杆菌进行基因改造,使其成为表达载脂蛋白 B、热休克蛋白 60 和肺炎衣原体外膜蛋白的三肽多抗原重组分子,重组的耻垢分枝杆菌具有免疫原性,在口服给药时激活树突状细胞并产生持久的记忆 T 细胞,促进调节性免疫反应发生,减缓了小鼠模型中 AS 的发展。

4 总结与展望

通过操纵肠道共生菌来影响宿主的各项生理功能进而改善健康或治疗疾病目前已成为医学学科的热门研究领域。本文阐述了 NGPs 对动脉粥样硬化产生的积极作用,提示 NGPs 可能成为调节机体代谢、免疫等功能的新趋势。但由于技术因素限制和缺乏先验知识,许多微生物菌群仍然无法在体外培养;除此之外,很多实验研究成果未得到验证,还不能指导个人健康、公共卫生及临床实践,大众对服用经过基因编辑的微生物的接受度如何目前也没有定论。肠道菌群是一个复杂的生态系统,迄今为止,科学家们尚未完全揭示各菌株之间和菌群与宿主之间的相互作用机制,这是肠道菌群所需研究的焦点内容,同时全面了解 NGPs 的有效性、安全性、药物敏感性模式、潜在的毒力因素及利用 NGPs 防治疾病的生理学、基因组学和代谢组学特征也是不可或缺的。

参考文献:

- [1] 中国心血管健康与疾病报告编写组. 中国心血管健康与疾病报告 2020 概要 [J]. 中国循环杂志, 2021, 36(6): 521-545.
- [2] Duttaroy AK. Role of gut microbiota and their metabolites on atherosclerosis, hypertension and human blood platelet function: a review [J]. Nutrients, 2021, 13(1): 144.
- [3] Deshpande V, Krishnan R, Philip S, et al. Oral administration of recombinant *Mycobacterium smegmatis* expressing a tripeptide construct derived from endogenous and microbial antigens

- prevents atherosclerosis in ApoE^{-/-} mice [J]. Cardiovasc Ther, 2016, 34(5): 314-324.
- [4] Verhaar BJH, Prodan A, Nieuwdorp M, et al. Gut microbiota in hypertension and atherosclerosis: a review [J]. Nutrients, 2020, 12(10): 2982.
- [5] Szabo H, Hernyes A, Pirooska M, et al. Association between gut microbial diversity and carotid intima-media thickness [J]. Medicina (Kaunas), 2021, 57(3): 195.
- [6] 杜李宇, 李倩滢, 陈伟哲, 等. 肠道菌群促炎与动脉粥样硬化关系研究进展 [J]. 食品科学, 2022, 43(3): 325-332.
- [7] 李有宸, 高海女, 李兰娟. 从粪菌移植到下一代益生菌: 挑战与进展 [J]. 中国微生物学杂志, 2022, 34(2): 223-227.
- [8] Singh TP, Natraj BH. Next-generation probiotics: a promising approach towards designing personalized medicine [J]. Crit Rev Microbiol, 2021, 47(4): 479-498.
- [9] Lin TL, Shu CC, Lai WF, et al. Investiture of next generation probiotics on amelioration of diseases-strains do matter [J]. Med Microecol, 2019, 1-2: 100002.
- [10] Qu D, Sun F, Feng S, et al. Protective effects of *Bacteroides fragilis* against lipopolysaccharide-induced systemic inflammation and their potential functional genes [J]. Food Funct, 2022, 13(2): 1015-1025.
- [11] Tan H, Zhao J, Zhang H, et al. Novel strains of *Bacteroides fragilis* and *Bacteroides ovatus* alleviate the LPS-induced inflammation in mice [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2019, 103(5): 2353-2365.
- [12] Qiao S, Bao L, Wang K, et al. Activation of a specific gut *Bacteroides*-folate-liver axis benefits for the alleviation of nonalcoholic hepatic steatosis [J]. Cell Rep, 2020, 32(6): 108005.
- [13] Liu R, Hong J, Xu X, et al. Gut microbiome and serum metabolome alterations in obesity and after weight-loss intervention [J]. Nat Med, 2017, 23(7): 859-868.
- [14] Liu S, Zhao W, Liu X, et al. Metagenomic analysis of the gut microbiome in atherosclerosis patients identify cross-cohort microbial signatures and potential therapeutic target [J]. FASEB J, 2020, 34(11): 14166-14181.
- [15] De Filippis F, Esposito A, Ercolini D. Outlook on next-generation probiotics from the human gut [J]. Cell Mol Life Sci, 2022, 79(2): 76.
- [16] Cason CA, Kuntz TM, Chen EB, et al. Microbiota composition modulates inflammation and neointimal hyperplasia after arterial angioplasty [J]. J Vasc Surg, 2020, 71(4): 1378-1389.
- [17] Ezeji JC, Sarikonda DK, Hopperton A, et al. *Parabacteroides distasonis*: intriguing aerotolerant gut anaerobe with emerging antimicrobial resistance and pathogenic and probiotic roles in human health [J]. Gut Microbes, 2021, 13(1): 1922241.
- [18] Huang K, Liu C, Peng M, et al. Glycoursodeoxycholic acid ameliorates atherosclerosis and alters gut microbiota in apolipoprotein E-deficient mice [J]. J Am Heart Assoc, 2021, 10(7): e019820.
- [19] De Vadder F, Kovatcheva-Datchary P, Zitoun C, et al. Microbiota-produced succinate improves glucose homeostasis via intestinal gluconeogenesis [J]. Cell Metab, 2016, 24(1): 151-157.
- [20] Katiraei S, de Vries MR, Costain AH, et al. *Akkermansia muciniphila* exerts lipid-lowering and immunomodulatory effects without affecting neointima formation in hyperlipidemic APOE * 3-Leiden. CETP mice [J]. Mol Nutr Food Res, 2020, 64(15): e1900732.
- [21] Mazier W, Le Corf K, Martinez C, et al. A new strain of *Christensenella minuta* as a potential biotherapy for obesity and associated metabolic diseases [J]. Cells, 2021, 10(4): 823.
- [22] Ruaud A, Esquivel-Elizondo S, de la Cuesta-Zuluaga J, et al. Syntrophy via interspecies H₂ transfer between *Christensenella* and *Methanobrevibacter* underlies their global cooccurrence in the human gut [J]. mBio, 2020, 11(1): e03235-e03219.
- [23] Nie K, Ma K, Luo W, et al. *Roseburia intestinalis*: a beneficial gut organism from the discoveries in genus and species [J]. Front Cell Infect Microbiol, 2021, 11: 757718.
- [24] Kasahara K, Krautkramer KA, Org E, et al. Interactions between *Roseburia intestinalis* and diet modulate atherogenesis in a murine model [J]. Nat Microbiol, 2018, 3(12): 1461-1471.
- [25] Yang J, Li Y, Wen Z, et al. *Oscillospira*-a candidate for the next-generation probiotics [J]. Gut Microbes, 2021, 13(1): 1987783.
- [26] Lordan C, Thapa D, Ross RP, et al. Potential for enriching next-generation health-promoting gut bacteria through prebiotics and other dietary components [J]. Gut Microbes, 2020, 11(1): 1-20.
- [27] Liu F, Shan S, Li H, et al. Millet shell polyphenols prevent atherosclerosis by protecting the gut barrier and remodeling the gut microbiota in ApoE^{-/-} mice [J]. Food Funct, 2021, 12(16): 7298-7309.
- [28] Kashtanova DA, Klimenko NS, Tkacheva ON, et al. Subfractional spectrum of serum lipoproteins and gut microbiota composition in healthy individuals [J]. Microorganisms, 2021, 9(7): 1461.
- [29] Maioli TU, Borrás-Nogues E, Torres L, et al. Possible benefits of *Faecalibacterium prausnitzii* for obesity-associated gut disorders [J]. Front Pharmacol, 2021, 12: 740636.
- [30] Stoeva MK, Garcia-So J, Justice N, et al. Butyrate-producing human gut symbiont, *Clostridium butyricum*, and its role in health and disease [J]. Gut Microbes, 2021, 13(1): 1-28.
- [31] Brugère JF, Ben Hania W, Arnal ME, et al. Archaea: microbial candidates in next-generation probiotics development [J]. J Clin Gastroenterol, 2018, 52(1): S71-S73.
- [32] Fu BC, Hullar MAJ, Randolph TW, et al. Associations of plasma trimethylamine N-oxide, choline, carnitine, and betaine with inflammatory and cardiometabolic risk biomarkers and the fecal microbiome in the multiethnic cohort adiposity phenotype study [J]. Am J Clin Nutr, 2020, 111(6): 1226-1234.
- [33] Fadhlou K, Arnal ME, Martineau M, et al. Archaea, specific

- genetic traits, and development of improved bacterial live biotherapeutic products: another face of next-generation probiotics [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2020, 104(11): 4705-4716.
- [34] Mousa WK, Chehadeh F, Husband S. Recent advances in understanding the structure and function of the human microbiome [J]. Front Microbiol, 2022, 13: 825338.
- [35] Ghosh S, Whitley CS, Haribabu B, et al. Regulation of intestinal barrier function by microbial metabolites [J]. Cell Mol Gastroenterol Hepatol, 2021, 11(5): 1463-1482.
- [36] Konopelski P, Mogilnicka I. Biological effects of indole-3-propionic acid, a gut microbiota-derived metabolite, and its precursor tryptophan in mammals' health and disease [J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(3): 1222.
- [37] Cason CA, Dolan KT, Sharma G, et al. Plasma microbiome-modulated indole-and phenyl-derived metabolites associate with advanced atherosclerosis and postoperative outcomes [J]. J Vasc Surg, 2018, 68(5): 1552-1562.
- [38] Pushpass RG, Alzoufari S, Jackson KG, et al. Circulating bile acids as a link between the gut microbiota and cardiovascular health: impact of prebiotics, probiotics and polyphenol-rich foods [J]. Nutr Res Rev, 2022, 35(2): 161-180.
- [39] 唐洪玉, 宋馨, 夏永军, 等. 益生菌中胆盐水解酶作用机制研究进展 [J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(13): 286-292.
- [40] Liu Z, Li J, Liu H, et al. The intestinal microbiota associated with cardiac valve calcification differs from that of coronary artery disease [J]. Atherosclerosis, 2019, 284: 121-128.
- [41] Cho CE, Aardema NDJ, Bunnell ML, et al. Effect of choline forms and gut microbiota composition on trimethylamine-*N*-oxide response in healthy men [J]. Nutrients, 2020, 12(8): 2220.
- [42] Xu Y, Jiang H, Li L, et al. Branched-chain amino acid catabolism promotes thrombosis risk by enhancing tropomodulin-3 propionylation in platelets [J]. Circulation, 2020, 142(1): 49-64.
- [43] Fan Y, Pedersen O. Gut microbiota in human metabolic health and disease [J]. Nat Rev Microbiol, 2021, 19(1): 55-71.
- [44] Cho SH, Cho YJ, Park JH. The human symbiont *Bacteroides thetaiotaomicron* promotes diet-induced obesity by regulating host lipid metabolism [J]. J Microbiol, 2022, 60(1): 118-127.
- [45] Zhu Y, Shui X, Liang Z, et al. Gut microbiota metabolites as integral mediators in cardiovascular diseases (Review) [J]. Int J Mol Med, 2020, 46(3): 936-948.
- [46] 王丽群, 庞日朝, 胡晓敏, 等. 肠道菌群对色氨酸代谢的影响研究进展 [J]. 中国比较医学杂志, 2021, 31(4): 129-136.
- [47] 马思彦, 王俊平, 董丽娜, 等. 无菌动物在宿主肠道菌群研究中的应用 [J]. 实验动物科学, 2020, 37(2): 78-82.
- [48] Lee MF, Chiang CH, Lin SJ, et al. Recombinant *Lactococcus lactis* expressing Ling Zhi 8 protein ameliorates nonalcoholic fatty liver and early atherogenesis in cholesterol-fed rabbits [J]. Biomed Res Int, 2020, 2020: 3495682.

[收稿日期] 2022-04-23

(上接第 76 页)

- [15] 马素好, 赵建华. 银耳多糖对反复脑缺血再灌注小鼠学习记忆的影响 [J]. 河南医学高等专科学校学报, 2016, 28(2): 65-67.
- [16] 曹铭, 费维成, 杨升平. 银耳多糖 WSK 在强化皮肤屏障中的应用研究 [J]. 当代化工研究, 2020, 14: 106-108.
- [17] 国家卫生和计划生育委员会. 食品安全国家标准: 急性经口毒性试验 非书资料: GB 15193.3-2014 [S]. 2015.
- [18] 国家卫生和计划生育委员会. 食品安全国家标准: 细菌回复突变试验 非书资料: GB 15193.4-2014 [S]. 2015.
- [19] 国家卫生和计划生育委员会. 食品安全国家标准: 哺乳动物红细胞微核试验 非书资料: GB 15193.5-2014 [S]. 2015.
- [20] 国家卫生和计划生育委员会. 食品安全国家标准: 小鼠精原细胞或精母细胞染色体畸变试验 非书资料: GB 15193.8-2014 [S]. 2015.
- [21] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 食品安全国家标准 90 天经口毒性试验 非书资料: GB 15193.13-2015 [S]. 2015.
- [22] 贾汉卿, 安英林, 郑淑芹. 银耳多糖 J 的急性毒性实验 [J]. 佳木斯医学院学报, 1990, 13(2): 99.
- [23] 贾汉卿, 安英林, 郑淑芹. 银耳多糖 J₁ 的慢性毒性实验 [J]. 佳木斯医学院学报, 1990, 13(2): 99.
- [24] 贾汉卿, 安英林, 郑淑芹. 银耳多糖 J₁ 对小白鼠生殖的影响 [J]. 佳木斯医学院学报, 1990, 13(2): 100.
- [25] 贾汉卿, 安英林, 郑淑芹. 银耳多糖 J 致癌实验 [J]. 佳木斯医学院学报, 1990, 13(2): 100.

[收稿日期] 2022-05-19