

• 综 述 •

肠道菌群与慢性肾脏病相关性的研究进展^{*}

张宇姿 综述, 李珉珉[△] 审校

(暨南大学附属第一医院临床医学检验中心, 广东广州 510630)

摘 要:随着高通量测序在微生物领域的应用,越来越多证据表明,肠道菌群与慢性肾脏病(CKD)的发生、发展密切相关。CKD 病理状态能诱导肠道菌群组成和功能发生改变,并引起多种肠源性尿毒症毒素(UTs)的增加及肠黏膜屏障功能受损,这些 UTs 移位刺激了机体内的炎症反应,增加了发生心血管疾病的风险。本文就肠道菌群在 CKD 中研究现状及相关作用机制作一综述,以期能为延缓 CKD 的持续进展提供新的帮助。

关键词:肠/微生物学; 慢性病; 肾疾病/治疗; 尿毒症; 毒素类,生物学; 综述

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2019.10.022 **中图法分类号:**R692;R378

文章编号:1673-4130(2019)10-1244-04 **文献标识码:**A

Research advancement on the correlation between intestinal flora and chronic kidney disease^{*}

ZHANG Yuzi, LI Minmin[△]

(Inspection Center, Clinical Medicine, the First Affiliated Hospital of Jinan University, Guangzhou, Guangdong 510630, China)

Abstract: With the application of high-throughput sequencing in the field of microbiology, an increasing evidence suggests that the gut microbiota is closely related to the pathogenesis of chronic kidney disease (CKD). The pathological state of CKD can induce changes in the composition and function of the gut microbiome, that lead to generation of multiple enterogenous uremic toxins (UTs) and dysfunction of intestinal barrier. These toxins translocate into circulation stimulated systemic inflammation and increased cardiovascular risk. This review focus on the research status and related mechanisms of the microbiome in CKD pathogenesis, in the hope to provide new help for delaying the persistent progression.

Key words: enterology/microbiology; chronic diseases; kidney disease/treatment; uremia; toxins, biology; review

慢性肾脏病(CKD)患病率逐年提高,现已成为全球重要性公共卫生问题。尽管对疾病的病因及相关危险因素有了更好的控制,但肾脏结构和功能进行性不可逆性损害,最终发展为终末期肾脏病(ESRD)阶段仍不可避免,并可累全身多个系统,常危及患者生命安全。

肠道菌群是近年来的研究热点,测序技术和生物信息学的进展揭示了肠道微生物组在疾病活动中的意义。“以微生物为中心的 CKD 进展理论”多方面阐明了肠道微生态失调引起的细菌负荷及内毒素移位与 CKD 进展相关。已提出了改善肠道菌群紊乱的多种干预策略,评估其在 CKD 治疗中的价值,可能有助于对 CKD 患者进行更好的管理。

1 肠道菌群概述

1.1 肠道菌群的组成与功能 在人体肠道中寄居着

超过 100 万亿个微生物,是人体细胞总量的 10 倍以上,其种类繁多,可达上千种,主要由拟杆菌门、厚壁菌门、变形菌门、放线菌门及疣微菌门构成,其中拟杆菌门和厚壁菌门占 90%,且约 70%的微生物在结肠中定植^[1]。其与宿主相互制约,相互依赖,在动态中保持平衡稳态,不仅能帮助人体从食物中吸收营养、合成维生素,还作为一个整体参与了保护宿主对抗病原微生物、免疫调节及内分泌代谢等多种病理生理过程。

1.2 肠道菌群的探索与发展 肠道菌群是人类遗传和代谢多样性来源之一,约编码 330 万个特异基因,是人类基因组编码基因数的 150 多倍,被称为“人类第二套基因组”^[1]。在以往肠道菌群的研究中人们主要采用分离培养、分子指纹图谱、分子探针及生物芯片等技术,但这些方法在检测精确度、深度及实验过

^{*} 基金项目:广东省新药筛选重点实验室开放基金项目(GDKLND-2018OF003)。[△] 通信作者, E-mail: limm269@126.com。

本文引用格式:张宇姿,李珉珉. 肠道菌群与慢性肾脏病相关性研究进展[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(10): 1244-1247.

程方面均存在一定的缺陷。新一代高通量测序技术的宏基因组测序彻底打破了传统测序的局限性,不需对微生物进行分离培养,而是以环境中的整个微生物群落作为研究对象,通过提取微生物总 DNA,并一次性对几十万至几百万条 DNA 分子进行序列测定,从而对微生物种群结构、进化关系等进行研究。在此基础上代谢组学与蛋白质组学等发展加深了人类对肠道微生物的理解,联合应用有助于了解病理生理状态下特定微生物群及代谢产物的变化规律,从而对疾病的发生机制提供理论依据,将有助于寻找治疗相关靶点,用于疾病的诊治^[2-3]。

1.3 肠道菌群的影响因素 肠道菌群定植是人类出生后从环境中获得的,生命最初时期喂养、分娩类型和抗菌药物使用会较大地影响肠道微生物群的形成,并对婴儿代谢和免疫系统的发育发挥着重要作用^[4]。随着时间的推移其会受到更多因素的影响发生动态适应性变化,如较重要的饮食和宿主基因型^[5-6],这些因素极大地影响着个体对疾病的易感性。有研究表明,这些暴露因素引起的肠道微生物组的持久性转变可影响机体代谢及免疫,并参与其下游疾病,如过敏、肥胖和 1 型糖尿病等疾病的发生^[7]。

2 CKD 中肠道菌群的变化及影响因素

已有的证据显示,CKD 能诱导肠道菌群改变,且通常表现为从一个分布较均匀和复杂的群落向更单一、主导更明显的群落的方向转变。VAZIRI 等^[8]通过系统基因芯片比较了 ESRD 患者和健康个体粪便样本中肠道菌群的结构,结果显示,两组之间 190 个细菌操作分类单元(OTUs)的丰度有显著差异。为控制个体间差异、伴随症状、饮食和药物干预等因素的影响,在 5/6 的肾切除术或假手术后的 8 周内检查了在相同条件下的雄性大鼠的肠道菌群,结果显示,尿毒症和对照组之间 175 种细菌 OTUs 的丰度存在明显差异,其中最显著的是乳酸菌科和普氏菌科的减少。WONG 等^[9]在代谢组学表征研究中描述了 ESRD 患者中含有尿素酶、尿酸酶和吡啶及对甲酚形成酶的肠道细菌显著扩增,而产生短链脂肪酸(SCFA)的细菌减少,这种菌群失调更易引起 CKD 不可逆性进展。

在 CKD/ESRD 背景下,多种因素导致肠道菌群微生态失调:(1)高浓度尿素扩散入肠腔,经肠内细菌尿素酶的作用形成氨,导致肠道 pH 改变,刺激胃肠道黏膜引起炎症^[10];(2)蛋白质同化受损、肠蠕动减慢,导致未消化的蛋白质、氨基酸在肠腔内滞留,有利于水解蛋白质的细菌增殖,通过发酵产生更多的有毒代谢物;(3)晚期肾功能衰竭,结肠代替肾脏成为尿素、尿酸和草酸盐排泄的主要部位,导致局部生化环

境改变^[11];(4)严格限制富含钾和草酸的饮食摄入,减少了肠道菌群的主要营养来源,从而影响肠道菌群的组成和代谢;(5)限制磷酸盐的摄入或长期服用磷酸盐结合剂、铁剂等也可改变肠道环境,影响肠道菌群;(6)由于透析患者血管通路和其他感染问题,抗生素的频繁使用会影响肠道菌群的组成。

3 肠道微生态失调参与 CKD 的可能机制

3.1 肠道菌群与尿毒症毒素 由饮食中摄取的蛋白质或其他含氮物质可经肠道菌群腐败作用及体内转化最终生成肠源性尿毒症毒素(UTs)。硫酸吡啶酚(IS)和硫酸对甲酚(PCS)是现今研究得最多的 UTs,其是反映肾功能的生物标志物,积极参与了 CKD 疾病的进展。IS 是色氨酸通过微生物色氨酸酶生成吡啶,被吸收后在肝中氧化硫酸化转化而成的,PCS 则是由酪氨酸和苯丙氨酸在肠道菌群作用下生成对甲酚,然后在肝或肠细胞中硫酸盐化转化而成。正常情况下这些 UTs 经肾脏排泄。在 CKD 晚期阶段肾小球滤过功能明显下降,不足以排泄体内多余的 UTs,且 IS 与 PCS 在体内 90% 以上与蛋白结合,透析疗法也难以有效地清除^[12]。UTs 在体内的蓄积加剧了潜在的毒性作用。在早期尿毒症大鼠研究中发现,IS 超负荷可通过增加转化生长因子- β 1(TGF- β 1)、基质金属蛋白酶抑制剂-1 和 I 型前胶原的异常基因表达及诱导细胞氧化应激而加速肾小管间质纤维化和肾小球硬化的进展^[13]。SUN 等^[14]研究表明,IS 和 PCS 可通过肾素-血管紧张素-醛固酮系统激活 TGF- β /Smad 通路,增加上皮-间质细胞转分化(EMT)相关转录因子——Snail 在肾小管中的表达,在体内、外诱导肾小管上皮细胞的 EMT,从而导致肾单位的进一步损失。在 CKD 患者中,心血管疾病(CVD)的发生风险较健康者高 2~3 倍,是引起 CKD 患者死亡的最常见病因^[15]。许多研究将 CVD 不良后果归因于 UTs,如氧化三甲胺(TMAO),由肠道菌群以膳食中胆碱/肉碱部分为基质转化形成,CKD 患者 TMAO 水平升高可通过促进泡沫细胞的形成和增加巨噬细胞的清道夫受体而促进动脉粥样硬化^[16]。IS 被证明能通过刺激炎症通路活化,诱导氧化应激,增强白细胞对血管内皮细胞黏附等方式损伤内皮细胞,促进心肌细胞纤维化和肥大,介导心脏不良重塑^[17]。LIN 等^[18]研究表明,游离 IS 和 PCS 血清水平与 CKD 患者增加的病死率有关,且 PCS 可作为诊断 CKD 患者 CVD 的生物标志物。

3.2 肠道黏膜屏障功能受损 CKD 患者常可在无临床感染的情况下表现出全身微炎症状态,这些炎症通常与“内毒素血症”相关。血清内毒素水平作为细菌移位的标志,其最可能的来源是肠道菌群。

ANDERSEN 等^[19] 在小鼠模型中证实,CKD 相关的系统炎症状态与肠道菌群失调、肠屏障功能障碍和细菌易位有关,当使用抗菌药物抑制肠道菌群移位后血清内毒素及系统炎症标记物水平明显降低。VAZIRI 等^[20] 的研究首次发现尿毒症可导致结肠紧密连接(TJ)的关键蛋白成分——claudin-1、occludin 和 ZO-1 显著下降。且大量尿素扩散入胃肠道与尿毒症个体中具有脲酶的细菌协同作用促进肠道中氨和氢氧化铵的形成可能是介导上皮跨膜电阻下降伴 TJ 的关键蛋白成分消耗从而引起肠上皮屏障功能障碍的原因^[21]。另外,CKD 引起的肠壁瘀血、水肿,以及透析期 ESRD 患者超滤量过多或透析中低血压引起肠缺血损伤使肠壁局部抵抗力下降,也可导致肠通透性增加^[22]。

3.3 CKD 患者免疫调节异常 CKD 患者疾病进展与全身性炎症和获得性免疫缺陷相关。通常巨噬细胞和其他先天性免疫细胞表面存在着多种不同的模式识别受体,能识别外来抗原并与其结合,然后通过补体激活凝集素通路、内吞作用或 Toll 受体(TLR)介导信号转导等方式诱导免疫应答^[23-24]。在 CKD 中内毒素移位入内循环,与 TLR4 或 CD14 结合,通过诱导髓样分化因子 MyD88 的信号传导,导致核因子 κ B 和促分裂原活化蛋白激酶活化,最终引起以促炎性细胞因子——白细胞介素-(IL-1)、IL-6、肿瘤坏死因子 α 释放为中心的慢性炎症反应^[25]。有研究表明,血液透析的 ESRD 人群常表现为适应性免疫力被削弱,辅助性 T 细胞 1/辅助性 T 细胞 2 比例失衡。其机制可能与 T 淋巴细胞功能受损及树突状抗原提呈细胞共刺激因子(CD80、CD86)作用减弱有关^[24]。这种获得性免疫缺陷增加了 CKD 患者感染、动脉粥样硬化及营养不良等并发症发生率。

4 肠道菌群对 CKD 的干预研究

肠道菌群在 CKD 系统炎症中发挥了重要作用,使其成为有潜力的治疗靶点。已在体外模型和临床试验中研究了益生菌、益生元等微生物制剂对改善肠道菌群紊乱、减少 UTs 产生和延缓 CKD 进展的疗效。如 ROSSI 等^[26] 进行的随机临床试验结果显示,合生元(含益生菌与益生元)显著降低了血清 PCS 水平,还对粪便菌群进行了有利的修饰,特别是双歧杆菌的富集和瘤胃球菌的消耗。但由于 CKD 患者微生物群的组成和功能的变化是由肠道不利的生化和生理环境介导的。因此,简单地通过引入有利的微生物来恢复正常的微生物群效果仍有待于进一步研究证实。

SIRICH 等^[27] 研究表明,在血液透析患者中增加膳食纤维可能会降低血浆 IS 和 PCS 水平,而不需加

强透析治疗。VAZIRI 等^[28] 在大鼠实验中发现,高抗性淀粉饮食摄入有益于减弱氧化应激、炎症、恢复结肠上皮 TJ 和延迟 CKD 进展。这可能与肠道菌群发酵难消化的复合碳水化合物,产生 SCFA 等有益代谢产物,为肠上皮细胞和调节性 T 淋巴细胞提供能量,同时,降低结肠内环境 pH 值、减少有害菌生长、限制结肠炎性反应等作用有关^[29]。因此,对 CKD 的营养管理已有相关研究提出根据微生物及其代谢产物来指导食物摄取,并结合传统的限制盐和蛋白质方法,为 CKD 患者提供更有益的饮食谱。

AST-120 是一种口服碳吸附剂,主要通过胃肠隔离减少全身性毒素吸收。已有大量临床随机试验证实,AST-120 能抑制 UTs 前体物质(如吲哚)的吸收和延缓 CKD 患者透析的开始时间^[30]。在大鼠实验中也显示了 AST-120 可减轻尿素诱导的结肠上皮 TJ 破坏及相关的内毒素血症、氧化应激和全身炎症反应^[31]。因此,添加 AST-120 作为标准治疗方案可能对延缓 CKD 进展有益。

综上所述,在 CKD 患者和动物中宿主与微生物组之间存在双向关系,肠道菌群与肾脏疾病的相互作用使肠道微生物代谢紊乱和肾脏损害进一步加剧。具体而言,肠道菌群可能会削弱肠道屏障功能,增加 UTs 产生,导致内毒素血症和全身炎症,促进 CKD 病情进展和心血管(CV)并发症的产生。而随着 CKD 进展,肠道内环境改变及药物、饮食等影响反过来又促使肠道菌群失调,最终导致预后不良。肠道菌群作为影响 CKD 进展的非传统危险因素,未来的研究应探索微生物组与人类基因组的相互作用及如何利用微生物组的代谢潜能来治疗 CKD,从而为临床治疗提出新的见解。

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] 张金娜, 柳爱华, 吴晓磊, 等. 宏基因组学和代谢组学在人类肠道微生态研究中的应用[J]. 中国热带医学, 2013 (6): 770-772.
- [3] WANG W L, XU S Y, REN Z G, et al. Application of metagenomics in the human gut microbiome[J]. World J Gastroenterol, 2015, 21(3): 803-814.
- [4] MEROPOL S B, EDWARDS A. Development of the infant intestinal microbiome: a bird's eye view of a complex process[J]. Birth Defects Res C Embryo Today, 2015, 105 (4): 228-239.
- [5] DAVENPORT E R. Elucidating the role of the host genome in shaping microbiome composition [J]. Gut Microbes, 2016, 7(2): 178-184.

- [6] XU Z, KNIGHT R. Dietary effects on human gut microbiome diversity[J]. Br J Nutr, 2015, 113 Suppl: S1-5.
- [7] 乔维洲, 孙福伯. 免疫性病变与肠道菌群相关性研究进展[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 24(23): 3199-3201.
- [8] VAZIRI N D, WONG J, PAHL M, et al. Chronic kidney disease alters intestinal microbial flora[J]. Kidney Int, 2013, 83(2): 308-315.
- [9] WONG J, PICENO Y M, DESANTIS T Z, et al. Expansion of urease- and Uricase-Containing, indole- and p-Cresol-Forming and contraction of Short-Chain fatty Acid-Producing intestinal microbiota in ESRD[J]. Am J Nephrol, 2014, 39(3): 230-237.
- [10] KANG J Y. The gastrointestinal tract in uremia[J]. Dig Dis Sci, 1993, 38(2): 257-268.
- [11] HATCH M, FREEL R W, VAZIRI N D. Intestinal excretion of oxalate in chronic renal failure[J]. J Am Soc Nephrol, 1994, 5(6): 1339-1343.
- [12] VIAENE L, ANNAERT P, DE LOOR H, et al. Albumin is the main plasma binding protein for indoxyl sulfate and p-cresyl sulfate[J]. Biopharm Drug Dispos, 2013, 34(3): 165-175.
- [13] MIYAZAKI T, ISE M, SEO H, et al. Indoxyl sulfate increases the gene expressions of TGF-beta 1, TIMP-1 and pro-alpha 1(I) collagen in uremic rat kidneys[J]. Kidney Int Suppl, 1997, 62: S15-22.
- [14] SUN C Y, CHANG S C, WU M S. Uremic toxins induce kidney fibrosis by activating intrarenal renin-angiotensin-aldosterone system associated epithelial-to-mesenchymal transition[J]. PLoS One, 2012, 7(3): e34026.
- [15] GANSEVOORT R T, CORREA-ROTTER R, HEMMELGARN B R, et al. Chronic kidney disease and cardiovascular risk: epidemiology, mechanisms, and prevention[J]. Lancet, 2013, 382(9889): 339-352.
- [16] USSHER J R, LOPASCHUK G D, ARDUINI A. Gut microbiota metabolism of L-carnitine and cardiovascular risk[J]. Atherosclerosis, 2013, 231(2): 456-461.
- [17] LEKAWANVIJIT S, ADRAHTAS A, KELLY D J, et al. Does indoxyl sulfate, a uraemic toxin, have direct effects on cardiac fibroblasts and myocytes? [J]. Eur Heart J, 2010, 31(14): 1771-1779.
- [18] LIN C J, WU V, WU P C, et al. Meta-Analysis of the associations of p-Cresyl sulfate (PCS) and indoxyl sulfate (IS) with cardiovascular events and All-Cause mortality in patients with chronic renal failure[J]. PLoS One, 2015, 10(7): e0132589.
- [19] ANDERSEN K, KESPER M S, MARSCHNER J A, et al. Intestinal dysbiosis, barrier dysfunction, and bacterial translocation account for CKD-Related systemic inflammation[J]. J Am Soc Nephrol, 2017, 28(1): 76-83.
- [20] VAZIRI N D, YUAN J, RAHIMI A, et al. Disintegration of colonic epithelial tight junction in uremia: a likely cause of CKD-associated inflammation[J]. Nephrol Dial Transplant, 2012, 27(7): 2686-2693.
- [21] VAZIRI N D, YUAN J, NORRIS K. Role of Urea in intestinal barrier dysfunction and disruption of epithelial tight junction in chronic kidney disease[J]. Am J Nephrol, 2013, 37(1): 1-6.
- [22] MCINTYRE C W, HARRISON L E, ELDEHNI M T, et al. Circulating endotoxemia: a novel factor in systemic inflammation and cardiovascular disease in chronic kidney disease[J]. Clin J Am Soc Nephrol, 2011, 6(1): 133-141.
- [23] ANDERS H J, ANDERSEN K, STECHER B. The intestinal microbiota, a leaky gut, and abnormal immunity in kidney disease[J]. Kidney Int, 2013, 83(6): 1010-1016.
- [24] KATO S, CHMIELEWSKI M, HONDA H, et al. Aspects of immune dysfunction in end-stage renal disease[J]. Clin J Am Soc Nephrol, 2008, 3(5): 1526-1533.
- [25] 朱雪坤, 杨日芳, 孟艳秋. Toll 样受体 4 配体的研究进展[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2016, 30(4): 389-396.
- [26] ROSSI M, JOHNSON D W, MORRISON M, et al. Synbiotics easing renal failure by improving gut microbiology (SYNERGY): A randomized trial[J]. Clin J Am Soc Nephrol, 2016, 11(2): 223-231.
- [27] SIRICH T L, PLUMMER N S, GARDNER C D, et al. Effect of increasing dietary fiber on plasma levels of Colon-Derived solutes in hemodialysis patients[J]. Clin J Am Soc Nephrol, 2014, 9(9): 1603-1610.
- [28] VAZIRI N D, LIU S M, LAU W L, et al. High amylose resistant starch Diet ameliorates oxidative stress, inflammation, and progression of chronic kidney disease[J]. PLoS One, 2014, 9(12): e114881.
- [29] 王璐璇, 刘玥宏, 朱继开, 等. 短链脂肪酸在疾病治疗中的研究进展[J]. 世界华人消化杂志, 2017, 25(13): 1179-1186.
- [30] SCHULMAN G, VANHOLDER R, NIWA T. AST-120 for the management of progression of chronic kidney disease[J]. Int J Nephrol Renovasc Dis, 2014, 7: 49-56.
- [31] VAZIRI N D, YUAN J, KHAZAEI M, et al. Oral activated charcoal adsorbent (AST-120) ameliorates chronic kidney Disease-Induced intestinal epithelial barrier disruption[J]. Am J Nephrol, 2013, 37(6): 518-525.

(收稿日期: 2018-10-20 修回日期: 2019-01-28)