

· 动物及环境耐药 ·

罗义 南开大学教授，博士生导师。国家杰出青年科学基金获得者，获得第十三届“中国青年女科学家”奖，天津市“中青年科技创新领军人才”，教育部“新世纪”优秀人才。现任“环境污染过程与基准”教育部重点实验室主任。担任国内外期刊 *PLoS ONE*、《生态毒理学报》编委，中国自然资源学会理事，中国自然资源学会资源循环利用专业委员会副主任兼秘书长。率先开展环境中抗生素以及耐药基因传播扩散的研究，主持了国家杰出青年科学基金、教育部博士点基金、国家环保公益项目和教育部“新世纪优秀人才支持计划”项目等。在环境科学领域重要刊物上发表论文 100 余篇，多篇发表在本领域最具影响力期刊 *Environ Sci Technol*，7 篇论文入选环境生态领域“ESI 高被引论文”，单篇最高引用 385 次。



细菌耐药影响肠道菌群及其宿主免疫调控

高琰宇，毕文静，吴新颜，朱骁，罗义

南开大学 环境科学与工程学院 环境污染过程与基准教育部重点实验室，天津 300350

高琰宇，毕文静，吴新颜，等. 细菌耐药影响肠道菌群及其宿主免疫调控. 生物工程学报, 2018, 34(8): 1259-1269.

Gao YY, Bi WJ, Wu XY, et al. Bacterial resistance influences intestinal flora and host immune regulation. Chin J Biotech, 2018, 34(8): 1259-1269.

摘要: 抗生素在养殖业、医疗业及制药业的广泛应用导致环境中的细菌耐药性日益严重，环境中的抗生素及耐药细菌一旦进入人体肠道，将破坏肠道菌群稳态，对人体健康造成威胁，而残存于饮食中的环境污染物质则加剧了细菌耐药造成的人体健康影响。文中在总结大量文献的基础上，阐述了细菌耐药对人体和动物肠道菌群的影响机制及其相关的机体免疫调控，以环境中影响人体肠道菌群获得耐药性的来源作为切入点，阐述抗生素和耐药细菌进入人体肠道后对人体肠道菌群结构和耐药基因组成的影响，以及与人体免疫和免疫调节相关疾病之间的相关机制，并对今后的研究方向进行了展望。

关键词: 细菌耐药，抗生素，耐药基因，肠道菌群，免疫

Received: April 2, 2018; **Accepted:** June 27, 2018

Supported by: National Science Found for Distinguished Young Scholars of China (No. 41525013), National Natural Science Foundation of China (No. 41473085).

Corresponding author: Yi Luo. Tel: +86-22-85358553; E-mail: luoy@nankai.edu.cn

国家杰出青年科学基金 (No. 41525013)，国家自然科学基金 (No. 41473085) 资助。

网络出版时间：2018-07-13

网络出版地址：<http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1998.Q.20180712.1701.001.html>

Bacterial resistance influences intestinal flora and host immune regulation

Yanyu Gao, Wenjing Bi, Xinyan Wu, Xiao Zhu, and Yi Luo

Ministry of Education Key Laboratory of Pollution Processes and Environmental Criteria, College of Environmental Science and Engineering, Nankai University, Tianjin 300350, China

Abstract: Overuse of antibiotics in aquaculture, husbandry and healthcare has led to antibiotics residues in the environment and the generation of antibiotic resistant bacteria that can be transferred into the human gut through food chain. Based on literatures, we reviewed the influence of bacterial resistance on intestinal flora and related immune regulation. Taking the source of antibiotic resistance to human intestinal flora as an entry point, we addressed the structure of human intestinal flora and the composition of drug resistance genes after exposure to pollutants. Moreover, we discussed the relationship among changes of intestinal flora, antibiotic resistance genes and immunomodulation related diseases. Last, we also indicated future research needs.

Keywords: bacterial resistance, antibiotic, antibiotic resistance genes, intestinal flora, immunity

动物肠道是肠道细菌生长繁殖的重要场所，肠道微生物菌群对宿主健康发挥着重要作用。肠道微生物菌群即通常所说的“肠道菌群”，其数量巨大，是一个复杂、庞大的微生物生态系统，在动物和人体营养代谢、免疫和疾病等方面都扮演重要的角色^[1-3]。抗生素作为人类医学的重要发明，问世 70 多年来创造了许多医学奇迹。但这 70 多年间人类对抗生素在动物养殖和医疗领域的生产、使用和长期滥用导致越来越多细菌耐药性的出现。迄今已有很多报道指出耐药菌和耐药基因在食物和饮用水中都有检出^[4-6]，一旦这些耐药菌和耐药基因进入人体肠道，将造成肠道菌群结构的改变，耐药基因一旦在肠道细菌之间传播扩散，将进一步影响机体免疫，对人体健康构成威胁。

1 肠道菌群耐药的原因

肠道微生物之间关系密切，十分有利于耐药基因 (Antibiotic resistance genes, ARGs) 通过水平基因转移 (Horizontal gene transfer, HGT) 在不同肠道细菌之间传播，人类肠道为耐药基因的定殖和扩增提供了适宜的生长环境和丰富的营养物质。肠道菌群作为耐药基因的储存库，多重耐药

基因在肠道中一旦传播至人致病菌，则使许多疾病的救治更加棘手^[7-9]。近年来外源性耐药菌和耐药基因进入人体肠道从而对肠道健康产生影响的研究也日益增多。

人类对抗生素的生产、使用和滥用，导致细菌耐药，严重影响肠道菌群的种类和结构。抗生素在临床上长期使用破坏人体肠道菌群的动态平衡，使肠道菌群中致病菌和条件致病菌数量增多。研究发现使用治疗剂量的四环素后，四环素耐药基因从动物来源的大肠杆菌转移至人体胃肠道中的土著大肠杆菌中^[10]。另有一项研究比较了来自 8 个国家 (包括中国、日本、拉美国家以及欧洲国家) 275 名参与者的肠道宏基因组，与其他国家的参与者相比，中国参与者肠道内有更多种类的耐药基因亚型，这与中国人抗生素使用种类多和频率高密切相关^[11]。另有研究显示，克拉霉素用于治疗消化性溃疡疾病，肠道内大环内酯耐药基因 *erm(B)* 在治疗后立即显示出 1 000 倍的增加，且 4 年后依然处于较高水平^[12]。使用 SDD 疗法治疗后患者体内氨基糖苷类、大环内酯类、喹诺酮类以及四环素类耐药基因 (*aac(6')-li*, *erm(C)*, *qac(A)*, *tet(Q)*) 水平也显著提高^[13]。除了药物摄

入,人和动物还可以通过多种途径被动摄入抗生素。动物源性食物中残留有抗生素,饮用水中也检测到残留的抗生素以及耐药基因(ARGs)^[14]。这些低剂量的抗生素以及耐药基因经食物链长期被动摄入,也可能改变肠道菌群的稳态从而威胁人体健康。抗生素的摄入,增加了耐药基因在肠道中传播的风险,对人类健康构成严重威胁。有研究显示,通过食物的摄入,将动物体内的氟喹诺酮和环丙沙星耐药基因转移至人体肠道^[15]。

由于抗生素具有促生长和防治疾病的作用,畜禽养殖业和水产养殖业中大量使用抗生素,仅2013年我国用于畜禽养殖业的抗生素就有8.1万t,占总抗生素使用量的52%^[16]。然而被摄入动物体内的抗生素只有小部分被吸收,有些抗生素还可能残留于动物各组织或器官中,导致动物组织或器官中产生耐药菌。耐药菌以及耐药基因沿着食物链通过与人体直接或间接接触而进行传播。直接食用被耐药菌污染的动物食品(如肉、牛奶、蛋、海鲜等),可能会导致耐药菌或耐药基因传播至人体肠道。目前,已从水产品、家禽甚至昆虫体内检测到了含有多重耐药基因的致病菌或条件致病菌,例如Fallah等从市场上售卖的海鲜中发现并分离出了一种普遍存在的条件致病菌产单核细胞李斯特菌*Listeria monocytogenes*,该菌对青霉素、氨基青霉素、四环素和万古霉素都具有抗性^[17]。Moawad等从埃及北部地区的鸡、牛肉和内脏样本中分离出了对氨基西林、头孢噻肟、四环素、链霉素、甲氧苄啶/磺胺甲恶唑和阿莫西林克拉维酸等耐药的菌株沙门氏菌*Salmonella enterica*和大肠杆菌*Escherichia coli*^[18]。Milanović等甚至在食用的昆虫体内也发现了11种可转移的耐药基因(*erm(A)*, *erm(B)*, *erm(C)*, *vanA*, *vanB*, *tet(M)*, *tet(O)*, *tet(S)*, *tet(K)*, *mecA*, *blaZ*)^[19]。Wang等发现多粘菌素耐药基因MCR-1可从上游种鸡场沿着鸡肉生产链(上游种鸡场-商品鸡场-屠宰场-超市)一直传播至超市^[20]。上述研究表

明,耐药细菌和耐药基因在动物性食物链中广泛存在,而且能发生广泛传播。

此外,动物源性食品在生产和加工过程中,残留于动物体内的致病菌会通过生物膜吸附在肉类和加工器表面,造成耐药基因交叉污染。在生物膜的保护作用下,利用常规的清洗和杀菌的方式并不能将吸附在食品和加工器表面的耐药菌有效去除^[21],而这种残存下来的耐药菌可以利用食品基质进行增殖,吸附在加工器表面的耐药菌也可以进行增殖。通过交叉污染的方式,耐药菌以及耐药基因在加工过程中在不同的动物源食品中也发生相互传播^[22]。Khan等从印度北部地区零售商店生肉及家禽的样本中分离出一种会引起胃肠疾病的致病菌空肠弯曲杆菌*Campylobacter jejuni*,并且从使用过的砧板和刀具上也分离出这种菌,在鸡肉中观察到该菌污染最高,其次为鸡肠道、砧板和刀,鸡肉中该菌的含量显著高于鸡肠道,可能是由于屠宰和卫生条件差造成的交叉污染^[23]。此外,在食品生产过程中添加或者由于食品污染本身造成的某些污染物以及化学品等也会导致食品中耐药基因含量的增加。Deng等从动物来源的零售食品中分离出的沙门氏菌中发现普遍存在抗菌素耐药性,其对抗生素、消毒剂和重金属的耐性因肉类和血清型而异,许多研究发现了抗生素耐药性与消毒剂或重金属相关的耐药基因具有高度相关性^[24],这可能是由于使用消毒剂为耐药性的选择菌株提供了选择压力,从而使零售肉类成为传播耐药菌的储藏库。Romero等从中分离出的菌株有75.86%至少对一种抗生素或杀菌剂(Biocides)具有抗性,6.7%的菌株对至少3种杀菌剂和抗生素具有抗性,该研究还发现在经硫酸铜和氯化锌处理后菌株中同时也检测出了耐碳青霉烯类耐药基因(*blaNDM-1*)^[25]。食物中耐药细菌进入人体肠道,会对肠道菌群产生影响,尤其是具有耐药性的人畜共患病原菌,由食源性动物感染之后,会经食物链向人体肠道传播,对人

体健康造成严重威胁。

除了食物中含有抗生素和耐药细菌,在养殖业中使用的抗生素大部分未被代谢也会直接进入水环境,污染地表水、地下水甚至是饮用水,导致饮用水中耐药基因污染。越来越多的研究发现饮用水源地中含有抗生素和抗性细菌,Su 等研究从水源地到自来水厂出水的过程中发现即使经过处理后,自来水中仍含有耐药菌和耐药基因,研究还发现假单胞菌 *Pseudomonas* 经过饮用水厂处理过程发生增殖^[26]。Ma 等对来自中国、南非、新加坡和美国 25 个城市饮用水样本中的耐药基因检测发现了 6 种 ARG 类型的 181 种亚型,其中杆菌肽、氨基糖苷、磺胺、 β -内酰胺等耐药基因占优势^[14]。刘珊珊等对天津市某小区生活饮用水中胞外耐药基因检测发现,在 12 份水样中 *tet C* 的检出率最高,其次为 *sul1*、*qnr A*、*amp C*、*aad A* 和 *cat A1*,生活饮用水中以 *sul1* 胞外耐药基因的污染最严重^[27]。消毒是杀灭或抑制病原微生物的过程,并且在消毒剂日常使用中常常采取高剂量,以达到最快的杀菌速度。而在不断使用消毒剂的过程中会对自然环境中的细菌造成压力,促使细菌对消毒剂逐渐产生耐药性^[28]。Zhang 等研究发现在饮用水生物砂滤过程中重金属铜污染会促进饮用水中耐药细菌和耐药基因的扩增,并且不论是低剂量还是高剂量的铜暴露都可以促使耐药细菌和耐药基因的增殖^[29]。残存于环境中的重金属和消毒剂等可能会通过协同作用促进饮用水环境中耐药细菌和耐药基因的增加^[30-31],因此耐药细菌会通过饮水进入人体肠道,对人体肠道健康造成威胁。

2 耐药所致肠道菌群的结构组成变化

2.1 细菌耐药对肠道菌群结构的影响

抗生素的长期使用导致其对肠道菌群组成产生影响,研究发现,使用抗生素后会致肠道菌群致病菌沙门氏菌如鼠伤寒沙门氏菌的定殖增

多,从而更易引起疾病^[32]。头孢菌素进入肠道,会抑制乳酸杆菌和双歧杆菌的生长,促使艰难梭菌过度繁殖^[33],引发炎症,同时肠道内的机会性病原菌阴沟肠杆菌也会增加^[34]。很多研究比较了第三代头孢菌素头孢哌酮进入肠道后对肠道菌群的影响,Henri 等^[35-36]和 Panda 等^[37]的研究显示在摄入头孢哌酮期间厚壁菌门细菌减少,变形菌门细菌增加,这与另一项研究抗生素对小鼠肠道微生物多样性影响的研究结果一致。有研究者发现,在种的水平上头孢哌酮的使用使肠道内乳酸菌显著增加,梭状芽胞杆菌数量上升且在结束摄入时达到最高水平^[38]。也有研究表明,头孢哌酮会导致肠道菌群的数量显著降低,致使白色念珠菌数量急剧增多^[39]。但是有研究发现青霉素对肠道菌群的影响微乎其微^[40],但是如果在怀孕初期给予低剂量青霉素(LDP)而不是在断奶时摄入,会诱导婴儿更强的生理学改变,体重和脂肪含量在成年期增加,而编码 RegIII- γ 、 β -防御素和 IL-17 等蛋白质的肠免疫基因的表达降低^[41],使机体更容易感染疾病。

Panda 等^[37]也研究了喹诺酮类抗生素对肠道菌群的影响,研究指出氧氟沙星进入肠道后会致变形杆菌的减少,摄入期间会持续降低,但是该种抗生素对于厚壁菌门、拟杆菌门和放线菌门的影响甚微。一项关于学龄前儿童使用抗生素的研究显示,大环内酯类抗生素进入肠道,会引起以双歧杆菌为优势属的放线菌减少,致使革兰氏阴性拟杆菌和变形杆菌的增加^[40]。克拉霉素和甲硝唑联合作用,短期治疗消化性溃疡疾病,治疗后发现肠道中双歧杆菌、梭状芽胞杆菌和拟杆菌等数量明显减少^[12]。有研究表明,链霉素治疗可以增加紫单胞菌科和拟杆菌科的耐药水平,从而增加肺炎和结肠炎的易感性^[42]。链霉素和卡那霉素进入肠道,会导致肠道内大量游离的唾液酸增多,而这些唾液酸可以被伤寒沙门氏菌和梭状芽胞杆菌等机会性病原菌利用,以促进它们的生长^[43]。

广泛地使用克林霉素和氨苄青霉素治疗,会增加患者对艰难梭菌的敏感性,引起腹泻等疾病^[44]。

近年来,为减少医院院内感染和交叉感染,SDD(选择性消化道去污染)抗生素生态疗法开始用于临床研究。这种疗法综合多粘菌素、妥布霉素、两性霉素和第三代头孢菌素四种抗生素,作用于口咽部和胃肠道来预防革兰氏阴性菌、金黄色葡萄球菌和酵母的二次定植^[45]。有研究发现,使用SDD治疗的患者与健康受试者相比,其肠道菌群结构和多样性发生了很大改变。其影响包括微生物多样性降低,大肠杆菌以及厌氧革兰氏阳性梭菌水平降低,拟杆菌和肠球菌增多等^[13]。服用治疗剂量抗生素会增加临床病人二重感染的发病几率,被动摄入残留剂量的抗生素则有可能导致肠道菌群失调症的发生,本质上这都与抗生素导致的肠道菌群的变化密切相关。

2.2 外源性耐药基因在肠道菌群中的定殖与传播

耐药基因的水平转移与抗生素的作用有直接的关系,在抗生素的选择压力下,耐药基因向可移动遗传元件的整合,造成细菌多重耐药。耐药基因通过水平转移在不同质粒或质粒与基因组之间交换,促进多重耐药菌的形成和蔓延^[46]。研究发现某些广泛使用的抗生素可以通过作为DNA损伤的SOS诱导剂来增强肠中的HGT。例如,Modi等在评价小鼠口服环丙沙星和氨苄青霉素对耐药基因组影响时,发现抗生素处理诱导了细菌的SOS反应,导致释放的病毒颗粒中基因的丰度增加,然而这种携带有扩增的耐药基因的病毒颗粒可能随着噬菌体感染时转导到其他细菌,使其他细菌获得耐药性^[47]。过度使用抗生素作为兽药饲料添加剂,可能会通过施用抗生素污染的粪肥,在农业耕地中产生大量的细菌耐药,最终影响到人体肠道。一项关于蚯蚓堆肥生物技术的研究显示,移动遗传元件的辅助转移使得摄入的ARGs可以持续通过肠道环境。衰减的ARGs与

细菌群落的关联程度高于增加的ARGs,说明细菌多样性的减少伴随着某些ARGs的消除,而这些ARGs可能与肠道细菌类群有关^[48]。

另外,有些研究者发现重金属、消毒剂、生物杀灭剂等通过与抗生素的协同作用促进耐药细菌中携带耐药基因的可移动遗传元件(Mobile gene elements, MGEs)的水平转移^[46,49-30],并且这些物质往往会残留于食物中,再经生物链进入人体肠道内,进而会影响肠道菌群结构。有研究发现部分ARGs和生物杀灭剂的抗性基因位于同一遗传因子上,微生物对抗生素和生物杀灭剂抗性的调控元件部分重合,这都使生物杀灭剂能通过协同作用共同促进耐药基因水平升高^[46,50]。Vogwill等研究发现耐药基因的演化需要付出适合度代价(Fitness cost),并且发现一般的染色体抗性突变比通过质粒获得抗性所付出的代价更高^[51]。此外,Bengtsson等研究发现如果环境中菌群持留某种耐药性MGEs的适合度代价可以忽略不计,就会使其通过水平转移进而成为耐药菌^[52]。San等通过构建铜绿假单胞菌*Pseudomonas aeruginosa*和pNUK73耐药质粒进行适合度代价的研究,结果发现铜绿假单胞菌在获得pNUK73质粒后,其染色体基因转录谱发生改变,使两个被编码在染色体和MGEs的基因失活,以降低其获得pNUK73的适合度代价,并减少pNUK73的复制表达^[53]。以上研究表明适合度代价对于耐药基因的传播具有重要影响,因此关于适合度代价对耐药质粒传播扩散影响的相关机制的研究十分必要,但是目前有关适合度代价的研究还局限于环境和单菌种,在肠道菌群中相关研究少见报道。

3 肠道菌群耐药对宿主免疫的影响

在肠道菌群中包含有大量的微生物,基因的水平转移频率被认为非常高^[54]。在健康人的肠道中,肠道菌群结构能维持一定的稳定性,抗生素通过饮水、食物链进入人体肠道后改变肠道菌群

稳态,包括肠道菌群的组成和结构,加剧了肠道中的细菌耐药。肠道微生物的组成会影响宿主的生理活动和免疫,包括宿主的免疫系统的成熟和功能^[55-56]。而肠道细菌中携带有耐药基因和毒力因子的质粒一旦通过水平转移,转移到致病菌上,则会给宿主带来极大的免疫健康风险^[56-57]。

3.1 肠道微生物中耐药基因的水平转移与宿主免疫

水平基因转移(HGT)会导致细菌病原体中的耐药基因和毒力因子的快速传播^[58-59],而在实验室和临床环境中,接合性质粒转移是HGT的一种类型,会加剧细菌耐药。携带耐药基因的质粒DNA通过接合不但可以完成同一种属细菌之间的基因转移,而且也可以完成不同种属细菌之间的相互传递,甚至可以发生在细菌和真菌之间,这被视为耐药基因水平转移的主要方式^[60]。在许多质粒上,除了携带有耐药基因,也携带有一些毒力因子,相关研究发现,从马驹和免疫功能低下的人(如艾滋病患者中)分离出的马红球菌中均含有一个毒力质粒,该毒力质粒会影响驹和鼠体内模型系统中的巨噬细胞的生长,该毒力质粒可以通过接合的方式从含有该质粒的马红球菌(供体菌)转移到无该质粒的马红球菌(受体菌)中,且转移频率很高^[56]。并且该实验中使用的毒力质粒,含有潮霉素抗性基因,也可以通过接合的方式转移到受体菌上。也有相关研究发现2型创伤弧菌含有编码对鳗鱼和其他硬骨鱼固有免疫力抗性的可转移的毒性质粒,可以通过水平转移该质粒,使鳗鱼等硬骨鱼致死^[57]。Alex等研究了在金黄色葡萄球菌中的243个测序的质粒,每个质粒都含有特定的耐药基因(包括*ermC*和*cat*)和毒力基因(包括*entA*、*entG*、*entJ*、*entP*),但是在该研究中并未发现复合基因的接合转移。若肠道微生物中携带有这种同时含有耐药基因以及毒力因子的质粒,一旦通过水平转移,转移到致病菌上,那么将会影响宿主的免疫,对人体健康

造成极大的威胁,目前该研究存在一定空白,亟待研究。在人体肠道微生物中有高度多样的耐药基因,抗生素治疗引起人体微生物群落耐药基因组成发生变化。抗生素通过改变微生物群落从而影响宿主肠道相关免疫系统的稳态^[61-62],同时由于肠道内细菌密度高,因此肠道是基因水平转移发生频率非常高的微生态系统^[54,63],高营养素的流入和恒定的温度维持持续活跃的细菌代谢,其次微生物多样性和携带可转移的质粒供体对质粒的水平转移具有“扩增效应”^[64]。一旦致病菌从肠道菌群中的细菌中获得耐药基因或者毒力因子,并在长期处于抗生素治疗的选择压力下,将造成严重的健康危害。

3.2 肠道微生物影响宿主免疫

当环境中的污染物(如抗生素等)改变肠道微生物组成时,会造成肠道失调,肠道菌群的变化会影响调节宿主的生理活动,包括免疫系统的成熟和功能。肠道微生物影响人体免疫与代谢的发病机制复杂,其中包含先天性和适应性免疫反应以及与机体代谢相关的机制。先天性免疫反应主要是通过影响炎症小体、炎症细胞因子、小胶质细胞、Toll样受体等导致机体炎症恶化;适应性免疫反应主要是通过影响如T细胞、肥大细胞等加重机体的炎症情况;肠道微生物还会通过影响机体的代谢活动如胆汁酸代谢、TMAO途径、脂肪酸代谢等进一步影响宿主的生理机能,下面重点阐述了肠道微生物与人体免疫和代谢的相互作用机制。

3.2.1 肠道菌群与宿主先天性免疫

研究证实抗生素的长期使用会导致肠道生态系统失调,进一步促进肠道菌群中多重耐药(MDR)细菌的传播,并进一步通过影响先天性免疫分子从而导致宿主炎症性疾病恶化。例如,Ayres等利用由葡聚糖硫酸钠诱导的肠道炎症的小鼠模型证明了抗生素治疗导致肠道中多重耐药的大肠杆菌增殖,这种多重耐药的大肠杆菌能激活Naip5-N1rc4炎症小体(是先天免疫系统的重要

要组成部分) 进而导致小鼠快速死亡^[65]。在另一项研究中, Knoop 等证明口服氨苄青霉素、链霉素都会诱导生态失调介导的细菌易位, 并且观察到了炎性细胞因子 (CXCL1、IL-17 和 IFN γ) 增加, 会使葡聚糖硫酸钠诱导的结肠炎症恶化^[66]。使用广谱抗生素造成宿主在炎症性疾病期间表现为机体免疫毒害作用, 例如, Fernanda 等发现在急性胰腺炎 (AP) 的小鼠中, 与对照组 (生理盐水预处理组) AP 小鼠相比 (存活 7 d), 使用美罗培南预处理后会加速 AP 小鼠的死亡 (存活 2 d)。同时, 在使用鸡尾酒诱导的 AP 大鼠中也发现同样的现象。此外, 在幼年时定殖球菌的小鼠通过涉及 Toll 样受体的机制使急性胰腺炎加重^[67]。此外, 肠道微生物还会影响大脑中最丰富的免疫细胞——小胶质细胞的成熟和功能。Erny 等发现, 与常规定殖的对照小鼠相比, 无菌鼠在灰质、白质、胼胝体、海马区、嗅球和小脑中的未成熟小胶质细胞明显增加^[68]。肠道微生物还通过激活星形胶质细胞芳香烃受体 (AHR) 的微生物代谢来调节星形胶质细胞活性, 星形胶质细胞是大脑中最丰富的神经胶质细胞, 能够整合相邻胶质细胞、神经元、血管和免疫细胞的信息来调节神经的兴奋性以及突触形成, 在脑代谢中也发挥了重要的作用^[69]。

3.2.2 肠道菌群与宿主适应性免疫

环境污染物进入人体肠道后, 改变肠道菌群影响机体的适应性免疫, 进而引发炎症。肠道菌群改变后, 肠道中微生物的代谢物——短链脂肪酸 SCFAs 特别是乙酸、丙酸和丁酸, 是 G 蛋白偶联受体 41 (GPR41)、GPR43、GPR49(在免疫 T 细胞中高表达的配体, SCFAs 有调节 T 细胞的功能; SCFAs 也是结肠细胞 (特别是丁酸盐) 和糖原异生 (特别是丙酸盐) 和组蛋白脱乙酰酶抑制剂的能量底物, 这些特性使得微生物代谢物——SCFAs 在影响宿主肠道免疫方面发挥了重要的作用^[70]。研究发现, 与对照组相比, 肠炎患者肠道菌群生物多样性降低, 类杆菌和肠杆菌的丰度增加, 厚

壁菌的丰度降低^[71]。相关的研究指出, 在肠炎患者肠道菌群中某些共生微生物减少, 如厚壁菌是 SCFAs 的生产者, 能产生丁酸盐, 可以通过 G-蛋白偶联受体 43 诱导 T 细胞分化, 而该菌的减少会加重溃疡性结肠炎疾病。此外, 相关研究发现, 白细胞介素 1 受体拮抗剂敲除后的小鼠 (IL1rn^{-/-}) 会自发地发展由 T 细胞介导的关节炎, 小鼠会表现出肠道生态失调, 主要是由于瘤胃球菌 *Ruminococcus* 和普雷沃氏菌 *Prevotella genera* 的减少造成的^[72]。研究发现由于 T 细胞识别问题以及抗葡萄糖-6-磷酸异构酶抗体而产生的具有炎症性关节炎的转基因小鼠, 若重新引入分段的丝状细菌后, 分段丝状细菌恢复了 Th17 细胞区室并产生自身的抗体, 迅速加重小鼠的关节炎^[73]。也有一些研究表明, 肠道微生物也会通过调节外周骨髓细胞、T 细胞和肥大细胞来影响大脑性疾病^[69], 外周骨髓细胞、T 细胞和肥大细胞还会与大脑亚群共享共同的造血细胞, 还会影响胚胎卵黄囊中的髓样发育^[74]。

3.2.3 肠道菌群影响宿主代谢通路

抗生素不合理使用会造成腹泻和近乎所有的伪膜性肠炎, 这些疾病都与肠道中的微生物——艰难梭菌相关。肠道菌群紊乱的情况下, 艰难梭菌会过度增殖并释放毒素, 引起以肠道病理损伤为主的感染性疾病, 即艰难梭菌感染 (CDI)。并且相关研究发现, CDI 患者中的初级胆汁酸含量显著升高, 而次级胆酸汁含量显著下降; 胆素原显著减少, 而与色氨酸代谢和脂肪酸代谢等相关代谢产物则显著升高^[75]。原发性胆汁酸首先在肝脏产生, 随后, 肠道微生物群可将其转化为继发性胆汁酸。不同的胆汁酸可以结合不同的受体 (如 TGR5 和 FXR), 可以促进膳食脂肪的吸收, 调节脂质和葡萄糖代谢, 调节肠道微生物。改变的肠道微生物群反过来会影响胆汁酸库, 从而改变宿主的能量代谢^[76]。也有相关研究显示, 过量食用饮食中的锌可以加重肠道中艰难梭菌的毒素活性并进一步

改变宿主免疫应答进而加重腹泻或者伪膜性肠炎等疾病。此外, 锌结合 S100 钙卫蛋白具有抗艰难梭菌的作用, 该蛋白介导的金属限制是宿主对艰难梭菌感染免疫应答的一个重要因素^[77]。

最近也有相关的证据表明肠道微生物中的生态系统紊乱在肝病患者中也很常见^[78-80]。临床研究表明, 口服万古霉素会通过减少肠道微生物种群的多样性, 影响胆汁酸代谢和胰岛素的敏感性进一步影响宿主的生理机能^[81]。有研究显示, 使用抗生素来干扰饲喂高胆固醇饮食的大鼠和喂食正常饮食的大鼠(对照)的肠道微生物种群, 发现抗生素处理后大鼠肠道的拟杆菌和厚壁菌丰度降低, 变形菌丰度大大增加, 抗生素诱导的肠道微生物的变化加重了高胆固醇饮食大鼠的胆固醇积累和肝损伤。这可能是由于肠通透性和血浆脂多糖(LPS)的增加, 其导致LPS吸收增加和TLR4信号传导的激活, 导致肝组织中的促炎细胞因子和趋化因子的合成^[78]。

4 结论与展望

抗生素的滥用导致环境中细菌耐药性日益严重, 而环境中外源性的耐药细菌和耐药基因会通过饮水和食物链暴露进入人体肠道, 对肠道稳态和人体健康造成威胁。同时携带有耐药基因和毒力因子的质粒通过水平转移传播到肠道致病菌上, 会对宿主免疫构成极大的危害。肠道中的细菌耐药也会造成宿主肠道菌群失调, 影响宿主的先天性免疫和适应性免疫以及相关的代谢通路, 进一步加重宿主的炎症疾病。因此研究细菌耐药与人体肠道菌群之间的相互作用及其机制非常必要, 可为正确评估环境中的耐药基因对人体健康风险评价提供基础数据和理论依据。同时, 肠道微生物影响人体免疫并加重宿主疾病的机制极其复杂, 未来的研究重点应在环境污染物引起的肠道微生物调节人体免疫与代谢通路机制的揭示, 此外, 同时携带有耐药基因与毒力因子的质粒在

肠道中的复合转移以及该质粒中耐药基因与毒力基因的表达情况也还存在空白之处, 亟待解决。

REFERENCES

- [1] Grenham S, Clarke G, Cryan JF, et al. Brain-gut-microbe communication in health and disease. *Front Physiol*, 2011, 2: 94.
- [2] Schirmer M, Smeekens SP, Vlamakis H, et al. Linking the human gut microbiome to inflammatory cytokine production capacity. *Cell*, 2016, 167(4): 1125-1136.e8.
- [3] Geva-Zatorsky N, Sefik E, Kua L, et al. Mining the human gut microbiota for immunomodulatory organisms. *Cell*, 2017, 168(5): 928-943.e11.
- [4] Jiang L, Hu XL, Xu T, et al. Prevalence of antibiotic resistance genes and their relationship with antibiotics in the Huangpu River and the drinking water sources, Shanghai, China. *Sci Total Environ*, 2013, 458-460: 267-272.
- [5] Shi P, Jia SY, Zhang XX, et al. Metagenomic insights into chlorination effects on microbial antibiotic resistance in drinking water. *Water Res*, 2013, 47(1): 111-120.
- [6] Ram S, Vajpayee P, Shanker R. Contamination of potable water distribution systems by multiantimicrobial-resistant enterohemorrhagic *Escherichia coli*. *Environ Health Perspect*, 2008, 116(4): 448-452.
- [7] Rolain JM. Food and human gut as reservoirs of transferable antibiotic resistance encoding genes. *Front Microbiol*, 2013, 4: 173.
- [8] Hu Y, Yang X, Qin J, et al. Metagenome-wide analysis of antibiotic resistance genes in a large cohort of human gut microbiota. *Nat Commun*, 2014, 4: 2151.
- [9] Pal C, Bengtsson-Palme J, Kristiansson E, et al. The structure and diversity of human, animal and environmental resistomes. *Microbiome*, 2016, 4(1): 54.
- [10] Hirsh DC, Burton GC, Blendon DC, et al. The effect of tetracycline upon establishment of *Escherichia coli* of bovine origin in the enteric tract of man. *J Appl Bacteriol*, 1974, 37(3): 327-333.
- [11] Ghosh TS, Gupta SS, Nair GB, et al. *In silico* analysis of antibiotic resistance genes in the gut microflora of individuals from diverse geographies and age-groups. *PLoS ONE*, 2013, 8(12): e83823.
- [12] Jakobsson HE, Jernberg C, Andersson AF, et al. Short-term antibiotic treatment has differing long-term

- impacts on the human throat and gut microbiome. *PLoS ONE*, 2010, 5(3): e9836.
- [13] Buelow E, González TDJB, Fuentes S, et al. Comparative gut microbiota and resistome profiling of intensive care patients receiving selective digestive tract decontamination and healthy subjects. *Microbiome*, 2017, 5: 88.
- [14] Ma LP, Li B, Jiang XT, et al. Catalogue of antibiotic resistome and host-tracking in drinking water deciphered by a large scale survey. *Microbiome*, 2017, 5: 154.
- [15] Bertrand S, Weill FX, Cloeckaert A, et al. Clonal emergence of extended-spectrum β -Lactamase (CTX-M-2)-producing *Salmonella enterica* serovar virchow isolates with reduced susceptibilities to ciprofloxacin among poultry and humans in Belgium and France (2000 to 2003). *J Clin Microbiol*, 2006, 44(8): 2897–2903.
- [16] Hu Y, Bai JG, Hu XM, et al. Exploring on the status, reasons and countermeasures of antibiotics abuse. *Chin J Soc Med*, 2013, 30(2): 128–130 (in Chinese).
胡燕, 白继庚, 胡先明, 等. 我国抗生素滥用现状、原因及对策探讨. *中国社会医学杂志*, 2013, 30(2): 128–130.
- [17] Fallah AA, Saei-Dehkordi SS, Mahzounieh M. Occurrence and antibiotic resistance profiles of *Listeria monocytogenes* isolated from seafood products and market and processing environments in Iran. *Food Control*, 2013, 34(2): 630–636.
- [18] Moawad AA, Hotzel H, Awad O, et al. Occurrence of *Salmonella enterica* and *Escherichia coli* in raw chicken and beef meat in northern Egypt and dissemination of their antibiotic resistance markers. *Gut Pathog*, 2017, 9: 57.
- [19] Milanović V, Osimani A, Pasquini M, et al. Getting insight into the prevalence of antibiotic resistance genes in specimens of marketed edible insects. *Int J Food Microbiol*, 2016, 227: 22–28.
- [20] Wang Y, Zhang RM, Li JY, et al. Comprehensive resistome analysis reveals the prevalence of NDM and MCR-1 in Chinese poultry production. *Nat Microbiol*, 2017, 2(4): 16260.
- [21] Giaouris E, Heir E, Hébraud M, et al. Attachment and biofilm formation by foodborne bacteria in meat processing environments: causes, implications, role of bacterial interactions and control by alternative novel methods. *Meat Sci*, 2014, 97(3): 298–309.
- [22] Tan X, Wang P, Li R, et al. Recent advances in understanding antibiotic resistance of pathogens in animal-derived foods. *Food Science*, 2017, 38(19): 285–293 (in Chinese).
谈笑, 王娉, 李睿, 等. 动物源性食品中病原菌的耐药性研究进展. *食品科学*, 2017, 38(19): 285–293.
- [23] Khan JA, Rathore RS, Abulreesh HH, et al. Prevalence and antibiotic resistance profiles of campylobacter Jejuni isolated from poultry meat and related samples at retail shops in northern India. *Foodborne Pathog Dis*, 2018, 15(4): 218–225.
- [24] Deng WW, Quan Y, Yang SZ, et al. Antibiotic resistance in salmonella from retail foods of animal origin and its association with disinfectant and heavy metal resistance. *Microb Drug Resist*, 2017, doi: 10.1089/mdr.2017.0127.
- [25] Romero JL, Grande Burgos MJ, Pérez-Pulido R, et al. Resistance to antibiotics, biocides, preservatives and metals in bacteria isolated from seafoods: co-selection of strains resistant or tolerant to different classes of compounds. *Front Microbiol*, 2017, 8: 1650.
- [26] Su HC, Liu YS, Pan NCG, et al. Persistence of antibiotic resistance genes and bacterial community changes in drinking water treatment system: from drinking water source to tap water. *Sci Total Environ*, 2017, 616–617: 453–461.
- [27] Liu SS, Hou AM, Zhang KM, et al. Extracellular antibiotic resistance genes in tap water in a district of Tianjin. *Mil Med Sci*, 2017, 41(4): 282–286 (in Chinese).
刘珊珊, 侯爱明, 张坤明, 等. 天津某小区生活饮用水中胞外耐药基因污染分析. *军事医学*, 2017, 41(4): 282–286.
- [28] Chapman JS. Disinfectant resistance mechanisms, cross-resistance, and co-resistance. *Int Biodeteriorat Biodegradat*, 2003, 51(4): 271–276.
- [29] Zhang ML, Chen LH, Ye CS, et al. Co-selection of antibiotic resistance via copper shock loading on bacteria from a drinking water bio-filter. *Environ Pollut*, 2018, 233: 132–141.
- [30] Ye Z, Gu AZ, Miao H, et al. Subinhibitory concentrations of disinfectants promote the horizontal transfer of multidrug resistance genes within and across genera. *Environ Sci Technol*, 2017, 51(1): 570–580.
- [31] Di Cesare A, Eckert EM, Corno G. Co-selection of antibiotic and heavy metal resistance in freshwater bacteria. *J Limnol*, 2016, 75(S2): 59–66.
- [32] Modi SR, Collins JJ, Relman DA. Antibiotics and the gut microbiota. *J Clin Investigat*, 2014, 124(10):

- 4212–4218.
- [33] Kozyrskyj AL, Ernst P, Becker AB. Increased risk of childhood asthma from antibiotic use in early life. *Chest*, 2007, 131(6): 1753–1759.
- [34] Raymond F, Ouameur AA, Déraspe M, et al. The initial state of the human gut microbiome determines its reshaping by antibiotics. *ISME J*, 2016, 10(3): 707–720.
- [35] Knecht H, Neuling SC, Heinsen FA, et al. Effects of β -lactam antibiotics and fluoroquinolones on human gut microbiota in relation to *Clostridium difficile* associated diarrhea. *PLoS ONE*, 2014, 9(2): e89417.
- [36] Dethlefsen L, Huse S, Sogin ML, et al. The pervasive effects of an antibiotic on the human gut microbiota, as revealed by deep 16S rRNA sequencing. *PLoS Biol*, 2008, 6(11): e280.
- [37] Panda S, El Khader I, Casellas F, et al. Short-term effect of antibiotics on human gut microbiota. *PLoS ONE*, 2014, 9(4): e95476.
- [38] Yin J, Prabhakar M, Wang S, et al. Different dynamic patterns of β -lactams, quinolones, glycopeptides and macrolides on mouse gut microbial diversity. *PLoS ONE*, 2015, 10(5): e0126712.
- [39] Noverr MC, Noggle RM, Toews GB, et al. Role of antibiotics and fungal microbiota in driving pulmonary allergic responses. *Infect Immun*, 2004, 72(9): 4996–5003.
- [40] Korpela K, Salonen A, Virta LJ, et al. Intestinal microbiome is related to lifetime antibiotic use in Finnish pre-school children. *Nat Commun*, 2016, 7: 10410.
- [41] Becattini S, Taur Y, Pamer EG. Antibiotic-induced changes in the intestinal microbiota and disease. *Trends Mol Med*, 2016, 22(6): 458–478.
- [42] Russell SL, Gold MJ, Reynolds LA, et al. Perinatal antibiotic-induced shifts in gut microbiota have differential effects on inflammatory lung diseases. *J Allergy Clin Immunol*, 2015, 135(1): 100–109.e5.
- [43] Ng KM, Ferreyra JA, Higginbottom SK, et al. Microbiota-liberated host sugars facilitate post-antibiotic expansion of enteric pathogens. *Nature*, 2013, 502(7469): 96–99.
- [44] Buffie CG, Bucci V, Stein RR, et al. Precision microbiome reconstitution restores bile acid mediated resistance to *Clostridium difficile*. *Nature*, 2015, 517(7533): 205–208.
- [45] Stoutenbeek CP, van Saene HKF, Miranda DR, et al. The effect of selective decontamination of the digestive tract on colonisation and infection rate in multiple trauma patients. *Intensive Care Med*, 1984, 10(4): 185–192.
- [46] Yang FX, Mao DQ, Luo Y, et al. Horizontal transfer of antibiotic resistance genes in the environment. *Chin Appl Ecol*, 2013, 24(10): 2993–3002 (in Chinese). 杨凤霞, 毛大庆, 罗义, 等. 环境中抗生素抗性基因的水平传播扩散. *应用生态学报*, 2013, 24(10): 2993–3002.
- [47] Modi SR, Lee HH, Spina CS, et al. Antibiotic treatment expands the resistance reservoir and ecological network of the phage metagenome. *Nature*, 2013, 499(7457): 219–222.
- [48] Wang H, Sangwan N, Li HY, et al. The antibiotic resistome of swine manure is significantly altered by association with the *Musca domestica* larvae gut microbiome. *ISME J*, 2017, 11(1): 100–111.
- [49] Zhou BR, Wang C, Zhao Q, et al. Prevalence and dissemination of antibiotic resistance genes and coselection of heavy metals in Chinese dairy farms. *J Hazardous Mater*, 2016, 320: 10–17.
- [50] Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks. Assessment of the antibiotic resistance effects of biocides[EB/OL]. (2009-01-19) [2012-12-20]. http://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/04_scenih_r/docs/scenih_r_o_021.pdf.
- [51] Vogwill T, MaClean RC. The genetic basis of the fitness costs of antimicrobial resistance: a meta-analysis approach. *Evol Appl*, 2015, 8(3): 284–295.
- [52] Bengtsson-Palme J, Kristiansson E, Larsson DGJ. Environmental factors influencing the development and spread of antibiotic resistance. *FEMS Microbiol Rev*, 2018, 42(1), doi: 10.1093/femsre/fux053.
- [53] San MA, Toll-Riera M, Qi Q, et al. Interactions between horizontally acquired genes create a fitness cost in *Pseudomonas aeruginosa*. *Nat Commun*, 2015, 6: 6845.
- [54] Kelly BG, Vespermann A, Bolton DJ. Gene transfer events and their occurrence in selected environments. *Food Chem Toxicol*, 2009, 47(5): 978–983.
- [55] Stecher B, Maier L, Hardt WD. ‘Blooming’ in the gut: how dysbiosis might contribute to pathogen evolution. *Nat Rev Microbiol*, 2013, 11(4): 277–284.
- [56] Belkaid Y, Hand TW. Role of the Microbiota in immunity and inflammation. *Cell*, 2014, 157(1): 121–141.
- [57] Tripathi VN, Harding WCC, Willingham LM, et al. Conjugal transfer of a virulence plasmid in the opportunistic intracellular actinomycete *Rhodococcus*

- equi*. J Bacteriol, 2012, 194(24): 6790–6801.
- [58] Amaro C, Sanjuán E, Fouz B, et al. The fish pathogen vibrio vulnificus biotype 2: epidemiology, phylogeny, and virulence factors involved in warm-water vibriosis. Microbiol Spectr, 2015, 3(3), doi: 10.1128/microbiolspec.
- [59] Nash RP, McNamara DE, Ballentine WK, et al. Investigating the impact of bisphosphonates and structurally related compounds on bacteria containing conjugative plasmids. Biochem Biophys Res Commun, 2012, 424(4): 697–703.
- [60] de la Cruz F, Davies J. Horizontal gene transfer and the origin of species: lessons from bacteria. Trends Microbiol, 2000, 8(3): 128–133.
- [61] Ehlers LJ, Bouwer EJ. RP4 plasmid transfer among species of *Pseudomonas* in a biofilm reactor. Water Sci Technol, 1999, 39(7): 163–171.
- [62] Stecher B, Hardt WD. Mechanisms controlling pathogen colonization of the gut. Curr Opin Microbiol, 2011, 14(1): 82–91.
- [63] Jakobsson HE, Jernberg C, Andersson AF, et al. Short-term antibiotic treatment has differing long-term impacts on the human throat and gut microbiome. PLoS ONE, 2010, 5(3): e9836.
- [64] Smillie CS, Smith MB, Friedman J, et al. Ecology drives a global network of gene exchange connecting the human microbiome. Nature, 2011, 480(7376): 241–244.
- [65] Knapp CW. M Pilar Francino (ed): horizontal gene transfer in microorganisms. Ecotoxicology, 2013, 22(9): 1443–1444.
- [66] Knoop KA, McDonald KG, Kulkarni DH, et al. Antibiotics promote inflammation through the translocation of native commensal colonic bacteria. Gut, 2016, 65(7): 1100–1109.
- [67] Soares FS, Amaral FC, Silva NLC, et al. Antibiotic-induced Pathobiont dissemination accelerates mortality in severe experimental Pancreatitis. Front Immunol, 2017, 8: 1890.
- [68] Erny D, de Angelis ALH, Jaitin D, et al. Host microbiota constantly control maturation and function of microglia in the CNS. Nat Neurosci, 2015, 18(7): 965–977.
- [69] Rothhammer V, Mascalfroni ID, Bunse L, et al. Type I interferons and microbial metabolites of tryptophan modulate astrocyte activity and central nervous system inflammation via the aryl hydrocarbon receptor. Nat Med, 2016, 22(6): 586–597.
- [70] Koh A, de Vadder F, Kovatcheva-Datchary P, et al. From dietary fiber to host physiology: short-chain fatty acids as key bacterial metabolites. Cell, 2016, 165(6): 1332–1345.
- [71] Gkouskou KK, Deligianni C, Tsatsanis C, et al. The gut microbiota in mouse models of inflammatory bowel disease. Front Cell Infect Microbiol, 2014, 4: 28.
- [72] Rogier R, Ederveen THA, Boekhorst J, et al. Aberrant intestinal microbiota due to IL-1 receptor antagonist deficiency promotes IL-17- and TLR4-dependent arthritis. Microbiome, 2017, 5: 63.
- [73] Wu HJ, Ivanov II, Darce J, et al. Gut-residing segmented filamentous bacteria drive autoimmune arthritis via T helper 17 cells. Immunity, 2010, 32(6): 815–827.
- [74] Forsythe P. Microbes taming mast cells: implications for allergic inflammation and beyond. Eur J Pharmacol, 2015, 778: 169–175.
- [75] Gu SL. Metagenomic and metabolomic approach studying the diversity of gut microbiota in patients with *Clostridium difficile* infection[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2016 (in Chinese).
顾思岚. 基于高通量测序和代谢组学的艰难梭菌感染患者肠道微生态研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2016.
- [76] Hylemon PB, Zhou HP, Pandak WM, et al. Bile acids as regulatory molecules. J Lipid Res, 2009, 50(8): 1509–1520.
- [77] Zackular JP, Moore JL, Jordan AT, et al. Dietary zinc alters the microbiota and decreases resistance to *Clostridium difficile* infection. Nat Med, 2016, 22(11): 1330–1334.
- [78] Miyake Y, Yamamoto K. Role of gut microbiota in liver diseases. Hepatol Res, 2013, 43(2): 139–146.
- [79] Qin N, Yang FL, Li A, et al. Alterations of the human gut microbiome in liver cirrhosis. Nature, 2014, 513(7516): 59–64.
- [80] Schnabl B, Brenner DA. Interactions between the intestinal microbiome and liver diseases. Gastroenterology, 2014, 146(6): 1513–1524.
- [81] Vrieze A, Out C, Fuentes S, et al. Impact of oral vancomycin on gut microbiota, bile acid metabolism, and insulin sensitivity. J Hepatol, 2014, 60(4): 824–831.

(本文责编 陈宏宇)