

· 微生物与生命健康专题 ·

吕韶钧 北京师范大学体育与运动学院教授，博士生导师。长期从事传统功法康养研究，主持国家重点研发计划、国家社科基金等国家和省部级项目10余项。以第一作者或通讯作者身份在*BMJ Open*、*Scientific Reports*、*BMC Sports Science Medicine and Rehabilitation*、《中国循环杂志》《体育科学》等SCI/SSCI/CSSCI/CSCD期刊上发表论文几十篇。



肠道菌群及其代谢产物氧化三甲胺——冠心病治疗的新靶点

李亚梦¹，崔美泽¹，孙婧²，魏秋阳¹，刘明宇¹，张建伟¹，亓红香²，赵丽丽²，房辉¹，陈在浩¹，吕韶钧¹

1 北京师范大学 体育与运动学院，北京 100875

2 淄博岱山万杰医院，山东 淄博 255000

李亚梦，崔美泽，孙婧，等. 肠道菌群及其代谢产物氧化三甲胺——冠心病治疗的新靶点. 生物工程学报, 2021, 37(11): 3745-3756.

Li YM, Cui MZ, Sun J, et al. Gut microbiota and its metabolite trimethylamine-N-oxide (TMAO): a novel regulator in coronary artery disease. Chin J Biotech, 2021, 37(11): 3745-3756.

摘要: 冠心病 (Coronary artery disease, CAD) 是全球发病率和死亡率最高的一种心血管疾病，冠心病和肠道菌群失调密切相关，肠道菌群可能是未来冠心病的重要诊断标志物，改善肠道菌群微环境有望成为治疗冠心病的新途径。作为肠道菌群参与合成的活性代谢产物，氧化三甲胺 (Trimethylamine-N-oxide, TMAO) 水平的升高与心血管疾病患病风险、全因死亡率的增加有关；基础研究表明 TMAO 可能具有促动脉粥样硬化特性；这些研究提示 TMAO 可作为预防和治疗冠心病的潜在靶点。文中分析了当前调控肠道菌群及其代谢产物 TMAO 治疗冠心病的临床及基础性研究，以期对冠心病的治疗提供帮助。

关键词: 冠心病，肠道菌群，肠道菌群代谢产物，氧化三甲胺

Received: April 13, 2021; **Accepted:** July 5, 2021

Supported by: National Key Research and Development Program of China (No. 2018YFC2000600).

Corresponding author: Shaojun Lü. Tel: +86-10-62987842; E-mail: I13121860699@163.com

国家重点研发计划 (No. 2018YFC2000600) 资助。

网络出版时间: 2021-08-12

网络出版地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1998.q.20210811.1618.002.html>

Gut microbiota and its metabolite trimethylamine-N-oxide (TMAO): a novel regulator in coronary artery disease

Yameng Li¹, Meize Cui¹, Jing Sun², Qiuyang Wei¹, Mingyu Liu¹, Jianwei Zhang¹, Hongxiang Qi², Lili Zhao², Hui Fang¹, Zaihao Chen¹, and Shaojun Lü¹

1 College of Physical Education and Sports, Beijing Normal University, Beijing 100875, China

2 Zibo Bashan Wanjie Hospital, Zibo 255000, Shandong, China

Abstract: Coronary artery disease (CAD) is a chronic disease but causes the highest mortality and morbidity among the cardiovascular diseases worldwide. Correlations between CAD and gut microbiota have been observed. This suggests that the gut microbiota could become a vital diagnostic marker of CAD, and restoring the gut habitat may become a promising strategy for CAD therapy. The elevated level of trimethylamine-N-oxide (TMAO), a gut microbiota-derived metabolite, was found to be associated with the increased risk of cardiovascular disease and the all-cause mortality. Preclinical studies have shown that it has pro-arteriosclerosis properties. It is likely that regulating the production of TMAO by gut microbiota may become a promising strategy for anti-atherosclerosis therapy. This review summarizes the clinical and preclinical researches on the intervention of CAD by regulating the gut microbiota and the microbiota-derived metabolite TMAO, with the aim to provide new target for the therapy of CAD.

Keywords: coronary artery disease, gut microbiota, microbiota-derived metabolites, trimethylamine-N-oxide

2019年美国心脏协会报告显示冠心病 (Coronary artery disease, CAD) 现患病人数高达1 100万,是当前美国发病率和死亡率最高的一种心血管疾病^[1]。当前冠状动脉血运重建技术的成熟、心脏康复项目的推广、冠心病危险因素的控制取得了不错的进展,但是CAD死亡率依旧居高不下^[2],急需识别新的冠心病诊断标志物,开发新的治疗手段解决当前困境。

肠道菌群是影响人体健康的重要因素^[3]。健康机体的肠道菌群相对稳定,在门水平上主要由硬壁菌、拟杆菌、变形菌、放线杆菌和疣微菌组成^[4],按其功能可分为共生菌和条件致病菌,肠道菌群与宿主的共生关系有益于共生菌的生长,也可抑制条件致病菌的过度生长^[5]。大量临床研究表明冠心病发病风险的提高可能与肠道菌群结构变化有关,肠道菌群失调可能是冠心病发展的重要风险因素,未来肠道菌群可能成为冠心病的重要诊断标志物^[6-10]。这为调控肠道菌群治疗冠心病研究提供了理论基础,改善肠道菌群微环境有望成为治疗冠心病的新途径^[11-12]。

肠道菌群通过其代谢产物和冠心病产生

联系,例如通过产生、释放包括氧化三甲胺 (Trimethylamine-N-oxide, TMAO) 等重要代谢产物影响宿主的代谢途径^[13]。肠道菌群对心血管疾病的影响由其代谢物介导,作用于肠道菌群代谢产物的产生、转运以及作用途径的干预策略有助于改善心血管疾病的表型^[14]。TMAO是肠道菌群参与合成的活性代谢产物,代谢组学在微生物领域的应用使得人们发现升高的TMAO水平与心血管疾病风险、全因死亡率的增加有关^[15];基础研究表明TMAO可能具有促动脉粥样硬化特性^[16];口服三甲胺 (Trimethylamine, TMA) 裂解酶抑制剂、调整饮食结构可降低TMAO水平、抑制血栓的形成;提示TMAO可作为冠心病预防和治疗的潜在靶点^[17]。

基于此,本文分析了调控肠道菌群及其代谢产物TMAO治疗冠心病的相关研究,以期为冠心病的治疗提供参考。

1 调控肠道菌群治疗冠心病的干预策略

1.1 提高身体活动水平

运动可以直接或间接形式发挥心脏保护作

用。运动对糖脂代谢能力的调节、心血管不良事件的降低已在许多研究中得到证实^[18]。运动也可以预防血栓,除了改变众所周知的心血管疾病危险因素外,规律性运动也可以通过其他途径促进心血管健康^[19],肠道菌群及其代谢产物或许发挥了一定作用^[20]。除此以外,研究表明运动也是影响肠道菌群结构和功能的重要生活方式^[21]。

当前已有研究者开始关注运动对宿主肠道菌群结构和功能的影响。12 周的运动干预可以有效改善具有久坐行为健康女性的肠道菌群,提高其运动能力^[22]。运动也可调节肥胖人群肠道菌群的结构和功能,肠道菌群的变化与宿主肥胖表型有关,与饮食无关,这种关系受运动的持续性影响^[23]。6 周的短期运动对老年人肠道菌群影响不大,但是肠道菌群与心血管疾病风险因素的变化趋势相关^[24]。6 周的短期有氧运动不仅对超重人群肠道菌群产生影响^[25],还能改变肥胖儿童的免疫状态^[26]。

综述性研究对肠道菌群、运动、心血管疾病三者关系进行论述,试图揭示运动通过重塑肠道菌群微环境达到改善心血管疾病临床表型的效果^[27]。基础研究表明运动引起的肠道菌群结构变化与心肌梗死小鼠的心脏功能有关,该研究提示运动调节肠道菌群可能是未来治疗心血管疾病的方向^[28]。最近一项涉及 39 名男性前驱糖尿病患者的研究发现,运动能否改善患者的胰岛素敏感性取决于肠道菌群。该研究推测,运动可以重塑肠道微环境,例如改变炎症、氧化状态和局部的免疫状态,这些微环境对菌群的生长和相互作用影响很大,进而放大肠道菌群的细微差异,并最终导致运动带来不同的血糖控制效果^[29]。不同于以往的关联性研究,这项结合了随机对照试验和小鼠模型的研究首次为肠道菌群参与运动改善机体代谢提供了直接的因果证据。

基于以上研究,本文推测运动可能通过调控肠道菌群(结构和功能)进而达到治疗冠心病的效果。

1.2 调整饮食结构

微生物菌群在消化、吸收膳食成分方面起着关键作用,其合成的代谢物通过血液循环对宿主新陈代谢产生影响。饮食通过影响宿主肠道菌群的组成和功能,从而调节宿主的生理生化反应,在宿主和肠道菌群之间建立一个相互作用、相互依赖的系统^[30]。多项研究表明饮食是影响 CAD、高血压和肠道菌群的重要因素^[31],调整饮食结构改善肠道微环境可能是预防、治疗疾病的有效方法。

为有效预防心血管疾病,世界卫生组织建议人体每天钠摄入量应低于 2 g,一项来自 18 个国家的前瞻性研究的数据结果表明,当每日钠摄入量大于 5 g 时,钠摄入量和心血管疾病以及中风患病率密切相关^[32]。

高食盐摄入量不仅会影响啮齿动物微生物多样性,对人体肠道菌群也有负面作用。研究表明,高食盐摄入量增加了动物的欧文氏菌属丰度,降低了棒状杆菌科丰度。在高食盐摄入量的人体粪便样品中没有发现鼠乳杆菌的踪迹。从生理机制上来讲,高盐饮食通过促炎因子、细胞因子的增加,造成人体局部或全身组织的炎症反应,破坏肠道屏障,进而造成血压的升高。高盐饮食还可能通过影响特殊菌群的代谢途径激活盐皮质激素从而升高血压^[33]。

荟萃分析表明,较高的纤维消耗量与较低的冠心病风险相关^[34]。富含纤维的膳食模式可提高高血压小鼠产乙酸类肠道细菌的丰度,显著减少心肌肥大和纤维化等病理特征^[35]。

饮食结构在冠心病发生发展过程中扮演着重要角色,为管理、治疗冠心病提供了低成本、易于管理的新选择,其中富含膳食纤维的低盐饮食对冠心病的康复非常重要;但是存在患者依从性差等问题,在制定营养处方时需要特别注意。

1.3 补充益生菌、益生元、合生制剂、后生元

益生菌是具有活性的微生物,一定量的益生菌会给宿主带来益处。大量临床试验和动物实验

表明, 益生菌可调节宿主代谢, 具体表现为: 调整低密度脂蛋白/高密度脂蛋白比值, 降低血压, 减少炎症因子的产生, 控制血糖和体重, 改善疾病表型 (冠心病、高脂血症 高血压、糖尿病、肥胖症、慢性肾病), 这与它们的抗炎、抗氧化、肠道屏障等功能密不可分^[36-37]。

口服益生菌可保护心脏。永久性冠状动脉闭塞引起的急性心肌梗死大鼠模型, 经益生菌鼠李糖乳杆菌 GR-1 治疗后, 大鼠心室结构和功能得到改善^[38]。Lam 等认为益生菌作用于梗死心脏的可能机制是益生菌植物乳杆菌通过降低瘦素水平, 进而减小大鼠心脏梗死面积^[39]。另外, 益生菌通过发酵紫甘薯、酸奶可以有效阻止高血压危象伴有心力衰竭大鼠模型的心肌细胞凋亡^[40]。

对慢性心力衰竭患者进行益生菌布拉氏酵母菌干预后, 患者全身炎症反应降低, 左心室射血分数提高, 尽管该研究样本量较小 ($n=20$), 但是没有发生不良事件, 证明益生菌补充疗法安全、无副作用, 同时被试耐受性好^[41]。对 150 名收缩性心力衰竭患者进行为期 3 个月的益生菌布拉迪酵母菌补充剂干预, 检测到患者左心室射血分数增加 5%^[42]。持续 6 周、每天 1 次的 Lp299v 口服补充剂可改善男性稳定性冠心病患者血管内皮功能, 减少全身炎症反应^[43]。临床试验与动物实验相结合的数据表明, 活性外阴双歧杆菌和多雷双歧杆菌对于缓解冠心病患者动脉粥样硬化病情有帮助^[44]。益生菌的抗动脉粥样硬化特性可能是通过调控胆固醇代谢通路起作用^[6]。

大多数益生元是存在于水果、蔬菜和谷物等天然产品中的碳水化合物。饮食中添加菊粉可使患有高胆固醇血症的载脂蛋白 E 基因敲除 (Apolipoprotein E knockout, ApoE^{-/-}) 小鼠动脉粥样硬化斑块减少 35%^[45]。饮食中添加菊粉或菊粉丙酸酯可降低肥胖症患者胰岛素敏感性, 降低全身炎症反应^[46]。也有研究认为膳食中添加菊粉改变了特定的菌属, 升高了盲肠中短链脂肪酸的水

平, 但是并不影响血浆中胆固醇水平和动脉粥样硬化斑块的大小^[47]。

当前证据虽不支持使用益生元作为膳食补充剂应用临床, 但是考虑到益生元对脂代谢和炎症反应的作用, 未来有可能把益生元开发成促进心血管健康的膳食补充剂治疗冠心病。

合生制剂是指由活的微生物和能被宿主微生物 (包括宿主原有的和补充的) 选择性利用的底物组成的混合物, 可为宿主带来健康益处。分为互补型和协同型, 常见的互补型合生制剂由益生菌+益生元组成^[48]。糖尿病合并冠心病患者补充 12 周的合生制剂后, 胰岛素代谢指标和胆固醇水平发生良性变化^[49]。益生菌+益生元的膳食补充剂对肥胖、II 型糖尿病、非酒精性脂肪肝疾病的治疗也具有积极协同作用^[50]。

益生菌经热处理、物理性处理、高静水压处理、冷冻干燥、超声波振荡等方式处理后, 仍保有其与活菌相同活性的菌体成分, 称为后生元^[51]。采用巴氏灭菌法处理嗜粘菌及其膜蛋白 amuc_1 100 治疗超重/肥胖胰岛素抵抗患者的研究表明, 后生元可调节人体代谢能力^[52]。

总之, 益生菌、益生元、合生制剂和后生元有益于心血管健康, 是治疗冠心病等心血管疾病的新方向。但是益生菌、益生元、合生制剂和后生元的最佳剂量以及起作用的菌株、干预周期、背后的机制没有达成共识^[36]。因此, 需要更多的随机对照试验 (Randomized controlled trial, RCT) 和设计合理的基础研究解决这些问题。

1.4 口服抗生素

抗生素治疗心血管疾病由来已久, 1995 年至 2005 年间, 超过 19 000 名患者被纳入抗生素治疗冠心病肺炎衣原体的随机对照试验中, 结果表明抗生素治疗不能降低患者死亡率、也不能减少心血管不良事件的发生^[53], 随后小样本的随机对照试验验证了该结论^[54]。大样本、随机、前瞻性研究发现抗生素对稳定性心血管疾病、急性冠脉综

合征、外周动脉疾病不仅没有效果,还可能增加心血管死亡率^[55],例如大环内酯类抗生素的使用与患镰状细胞贫血病(Sickle cell disease, SCD)几率及心血管死亡风险增加有关^[56]。除了可能存在抗生素耐药性风险外,抗生素安全性也是个问题。10年随访数据表明,经克拉霉素治疗后的稳定性冠心病患者心血管死亡率增加^[57]。随着成年后累积接触抗生素的增加,老年妇女发生心血管不良事件风险增加^[58]。具体原因尚不可知,推测可能是抗生素的使用造成肠道微生物易位导致的炎症反应^[59]。

广谱抗生素的使用影响了心肌梗死大鼠肠道微生物菌群的组成,进一步发现抗生素还能通过影响芳香族氨基酸的代谢和瘦素的水平减少梗死面积^[60-61]。尽管基础研究表明广谱抗生素在心血管疾病预防中具有一定功效,但考虑到抗生素无法区分条件致病菌以及共生菌可能导致腹泻、肠道菌群紊乱等安全性问题^[54],当前研究并不支持将抗生素用于冠心病治疗。

1.5 粪菌移植

“粪菌移植”(Fecal microbiota transplantation, FMT)是将健康捐赠者粪便中的功能菌群移植到患者胃肠道内,重建具有正常功能的肠道菌群,实现肠道及肠道外疾病的治疗。这个过程包括在疾病和相关失调发生前的某个时间点获取从健康捐赠者或被试者自身(自体FMT)收集的过滤粪便,并将其移植到某种疾病患者的肠道中^[62]。

FMT对治疗艰难梭菌感染疾病(*Clostridium difficile* infection, CDI)十分有效,相较于益生菌补剂,粪菌移植使菌群发生永久性变化,实现肠道微环境的重塑,发挥作用更大^[63]。由于FMT治疗复发性CDI的高成功率以及较高的安全性使得FMT成为一种新型疗法治疗包括帕金森综合征、肌纤维痛、肥胖、胰岛素抵抗、代谢综合征、自闭症在内的和肠道菌群失调有关的疾病^[64]。

在一个小型RCT研究中,研究人员评估20例

患有心脏代谢综合征(Cardiomicrobial syndrome, CS)的男性肥胖患者的血管炎症指标,其中10名患者接受了来自纯素主义者的异种粪菌移植,10名患者接受自体粪菌移植,结果发现尽管素食供体FMT诱导了像素食主义者一样的肠道菌群(另一组没有变化),但是FMT后,患者动脉粥样硬化斑块没有显著性变化^[65]。瘦型供体的FMT可使CS肥胖受试者的胰岛素敏感性和肠道菌群正常化,但这种变化是暂时的,并不能维持太久^[66]。

当前的FMT技术尚不成熟,供体选择、样本处理、供体和受体之间的免疫相容性、FMT治疗方案的标准化、供体肠道菌群中如噬菌体、古菌、病毒等非细菌成分对受体的影响等问题都未达成共识^[62]。除此以外,粪菌移植存在安全风险,例如菌群中的内毒素可能导致新的胃肠道感染,发生并发症^[67]。有研究显示移植大肠杆菌后,两名CDI患者发生菌血症,其中一人死亡^[68]。

为解决FMT安全性和标准化问题,南京医科大学第二附属医院相关课题组在国内外呼吁推动FMT标准化,并致力于解决其体系化发展所需要的智能化设备、器械、方法和知识教育。该团队对传统的FMT进行了技术革新,研发了洗涤菌群移植(Washed microbiota transplantation, WMT)技术。该技术由FMT标准化共识研究小组于2019年定义,是指在高级别实验室条件下,基于智能粪菌分离系统,对健康供体粪便完成菌群分离、漂洗、定量、储存,并涉及相应的转运、合适给人途径等过程。WMT是FMT发展的新阶段。重点体现在方法学的两大进展:一是利用机器取代人制备菌液,提高其效率和安全性;二是经内镜肠道植管术使通过结肠途径多次移植成为现实^[69-70]。

尽管当前研究显示WMT具有较高的安全性,并且在治疗胃肠道疾病方面具有一定的疗效^[71-72],但是当前WMT技术尚处于起步阶段,还需要大量的临床研究和基础研究验证该技术在

冠心病人群中应用的安全性和有效性。

1.6 定向改造微生物

合成生物学的发展使研究者设计、改造用于治疗目的的活性微生物成为可能。微生物定向改造是具有较好应用前景的新兴领域,包括3个类型:工程共生菌、合成的微生物群落和噬菌体靶向调控^[73]。这些新方法具有多种优势,例如对菌群功能的准确调控。

工程共生菌可以作为药物传递系统,提高药物疗效、减少副作用^[74]。给大鼠灌注工程大肠杆菌后,高脂膳食诱导的肥胖症状出现消退趋势^[75]。大鼠灌注工程格氏乳杆菌后,其肠道胰岛β细胞数量增加,高血糖症状减轻^[76]。

合成的微生物群落在缓解疾病症状方面已经取得一定进展。例如在结肠炎和过敏性腹泻动物模型中,口服合成的微生物群落后(17株能够提高Treg细胞丰度和诱导重要抗炎分子分泌的梭状芽孢杆菌丰度),实验动物疾病症状减轻^[77]。一个由11种菌株组成的微生物群落可以诱导活化的CD8⁺T细胞产生细胞因子IFN-γ,该群落在小鼠体内定植后,激发了宿主对感染单核细胞增生性李斯特菌的抵抗力,这些菌株也提高了免疫检查点抑制剂在相同基因的肿瘤模型中的作用效果^[78]。

因大多数噬菌体具有细菌特异性,在人体可发挥抗炎和免疫调节作用,这为噬菌体靶向调控菌株提供可能,同时在阐明特定菌群和疾病的关系方面独具价值^[73,79]。

生物学与合成生物学的研究进展表明定向改造微生物的临床应用前景广阔,当前使用微生物定向改造技术改善疾病表型尚处于初步发展阶段,在应用这些生物合成剂之前,明确微生物群落之间、微生物群落和宿主之间的作用机制、进行大量临床试验验证治疗效果和安全性十分必要;在合成生物学方面,仍旧需要技术的改进以满足在基因组水平和生态水平上对各种共生细菌进行改造的需求^[73,80]。

2 调控 TMAO 治疗冠心病的干预策略

2.1 调整饮食结构

给高脂血症 ApoE^{-/-}小鼠喂食富含肉碱^[81]、胆碱^[16]类食物会增加血清 TMAO 水平并最终发展为动脉粥样硬化,如果在喂食之前给予抗生素治疗,TMAO 水平不变、也不会发展为动脉粥样硬化^[16]。红肉、蛋类富含胆碱以及含有胆碱的化合物,如磷脂酰胆碱、左旋肉碱及其代谢产物γ-丁酸甜菜碱,是 TMAO 的主要食物来源。减少红肉的摄入,增加植物性食物以及鱼类和海鲜的摄入、改善饮食结构可降低 TMAO 水平,这或许是规避心血管疾病风险较为简洁有效的方法^[82]。

2.2 补充益生菌

益生菌(如乳酸杆菌)可降低 ApoE^{-/-}小鼠 TMAO 水平,减少动脉粥样硬化斑块的形成^[83]。与对照组相比,在富含胆碱饲料中掺杂产气大肠杆菌后,小鼠血清 TMAO 和粪便 TMA 水平较低,产气大肠杆菌可显著降低血清 TMAO 水平,同时改变肠道菌群组成,该研究提示益生菌补充剂可能通过 TMAO 作用于动脉粥样硬化^[84]。

2.3 口服抗生素

抗生素可以防止 TMAO 前体(胆碱、甜菜碱和左旋肉碱)转化为 TMA。临床试验表明,口服如环丙沙星和甲硝唑等广谱抗生素可降低 TMAO 水平^[85]。给小鼠灌注万古霉素、硫酸新霉素、甲硝唑和氨苄西林的混合物,发现血浆 TMAO 水平下降、泡沫细胞减少^[81]。需要特别注意的是抗生素不仅对 TMAO 起作用,对肠道菌群稳态也有一定影响,并不能精准区分益生菌和致病菌。因此,尽管抗生素可以降低 TMAO 水平,当前研究并不推荐抗生素作为干预冠心病的策略。

2.4 调控肠道菌群-TMA-TMAO 代谢途径

当前研究表明一些小分子可靶向调控肠道菌群-TMA-TMAO 代谢途径进而起到治疗动脉粥样硬化的效果。主要从3个方面起作用:抑制 TMA

的生成、抑制肝脏黄素单氧化酶 3 (Hepatic flavin monooxygenase 3, FMO3) 的表达、调控参与 TMA 生成的菌群。

作用于不同 TMA 裂解酶的 TMA 抑制剂 3,3-二甲基-1-丁醇(3,3-dimethyl-1-butanol, DMB), 可降低动物模型的 TMAO 水平并逆转动脉粥样硬化^[86], DMB 也能抑制促纤维化作用^[87]。另一个特异靶向的例子是米屈肼, 一种 γ -丁酰甜菜碱 (Gamma-butyrobetaine, GBB) 羟化酶介导的 L-肉碱生物合成抑制剂, 可以降低小鼠的 TMAO 和 TMA 水平^[88]。白藜芦醇是存在于虎杖等植物中的非黄酮类多酚化合物, 研究表明白藜芦醇通过重塑 ApoE^{-/-}小鼠肠道菌群, 抑制 TMA 的生成, 进而降低肝脏中 TMAO 的转化, 减轻小鼠动脉粥样硬化症状^[27]。黄连等中药含有的小檗碱可以降低高脂饮食诱导的动脉粥样硬化 ApoE^{-/-}小鼠的高 TMAO 水平^[89]。碘甲基胆碱 (Iodomethylcholine, IMC) 和氟甲基胆碱 (Fluoromethyl choline, FMC) 是使胆碱利用基因簇 C 或胆碱利用基因簇 D 永久失活的新型强效抑制剂, 在不影响共生菌生存能力的前提下, 可近乎完全地抑制高胆碱膳食模式诱导生成的高血清 TMA、TMAO 水平, 减少血小板聚集, 防止血栓的形成^[90]。

Guneulsterone 作为一种法尼酯 X 受体拮抗剂可作用于肠道菌群-TMA-TMAO 代谢途径, 通过抑制肝脏中 FMO3 的表达降低外周血中 TMAO 水平^[91]。

古菌作为原核生物, 没有核膜和 DNA, 以环状形式存在, 可以需氧、兼性厌氧或严格厌氧的形式存在, 代表性古菌有产甲烷古菌和嗜热菌^[92]。产甲烷古菌 *Methanomassiliicoccus luminyensis* B10 菌株可将 TMA 代谢成甲烷 (一种无味惰性气体) 降低肠道 TMA 浓度, 用于防治心血管疾病^[93]。将 5 种产甲烷的古菌定植于 C57BL/6 小鼠肠道后, 小鼠血浆 TMAO 水平随古菌在肠道定植的增加而显著降低, 以 *Methanobrevibacter*

smithii 为主的产甲烷古菌的定植有延缓 ApoE^{-/-}小鼠动脉粥样硬化进程的效果^[68]。

尽管基础研究表明, 调控肠道菌群-TMA-TMAO 代谢途径中的小分子化合物以及相关肠道菌群似乎可以改善心血管疾病表型, 但其潜在功效和安全性仍需大量临床试验评估^[94]。

3 总结与展望

当前肠道菌群及其代谢产物 TMAO 和冠心病之间的潜在联系已经在很多研究中得到阐释, 虽然可以明确肠道菌群和冠心病的发生发展密切相关, 但是因果关系尚不明确。肠道菌群通过其代谢产物和冠心病产生联系, 由肠道菌群厌氧发酵的短链脂肪酸通过参与糖脂代谢、调节血压等途径控制心血管风险因素。动物实验表明 TMAO 具有致动脉硬化特性, 临床数据仅仅显示 TMAO 具有 CAD 诊断标志物的可能性。这些结论为以肠道菌群及其代谢产物为靶点的冠心病干预策略的实施提供了可能^[86]。基于此, 研究者逐渐意识到肠道菌群及其代谢产物 TMAO 可能在改善冠心病健康状况方面起到一定的作用。

本研究认为当前这些调控 CAD 患者肠道菌群及其代谢产物 TMAO 的干预策略处于起步阶段, 整体上具有很好的应用前景。未来仍旧需要大样本、设计严谨、过程详细的随机双盲对照试验、基于科赫法则的多重确证试验等微生物研究常见的因果推断研究方法以及人工智能领域的因果推断研究方法来扩充当前研究。

REFERENCES

- [1] Benjamin EJ, Muntner P, Alonso A, et al. Correction to: heart disease and stroke statistics—2019 update: a report from the American heart association. *Circulation*, 2019, 139(10): e56-e528.
- [2] Levine GN, Bates ER, Bittl JA, et al. 2016 ACC/AHA guideline focused update on duration of dual antiplatelet therapy in patients with coronary

- artery disease: a report of the American college of cardiology/American heart association task force on clinical practice guidelines. *J Am Coll Cardiol*, 2016, 68(10): 1082-1115.
- [3] Foxman B, Rosenthal M. Implications of the human microbiome project for epidemiology. *Am J Epidemiol*, 2013, 177(3): 197-201.
- [4] Human Microbiome Project Consortium. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature*, 2012, 486(7402): 207-214.
- [5] Mukherjee S, Joardar N, Sengupta S, et al. Gut microbes as future therapeutics in treating inflammatory and infectious diseases: lessons from recent findings. *J Nutr Biochem*, 2018, 61: 111-128.
- [6] Zhang B, Wang X, Xia R, et al. Gut microbiota in coronary artery disease: a friend or foe? *Biosci Rep*, 2020, 40(5): BSR20200454.
- [7] Zhu Q, Gao RY, Zhang Y, et al. Dysbiosis signatures of gut microbiota in coronary artery disease. *Physiol Genom*, 2018, 50(10): 893-903.
- [8] Fialho A, Fialho A, Kochhar G, et al. Association between small intestinal bacterial overgrowth by glucose breath test and coronary artery disease. *Dig Dis Sci*, 2018, 63(2): 412-421.
- [9] Emoto T, Yamashita T, Sasaki N, et al. Analysis of gut microbiota in coronary artery disease patients: a possible link between gut microbiota and coronary artery disease. *J Atheroscler Thromb*, 2016, 23(8): 908-921.
- [10] Emoto T, Yamashita T, Kobayashi T, et al. Characterization of gut microbiota profiles in coronary artery disease patients using data mining analysis of terminal restriction fragment length polymorphism: gut microbiota could be a diagnostic marker of coronary artery disease. *Heart Vessels*, 2017, 32(1): 39-46.
- [11] Vinjé S, Stoes E, Nieuwdorp M, et al. The gut microbiome as novel cardio-metabolic target: the time has come! *Eur Heart J*, 2014, 35(14): 883-887.
- [12] Jin M, Qian Z, Yin J, et al. The role of intestinal microbiota in cardiovascular disease. *J Cell Mol Med*, 2019, 23(4): 2343-2350.
- [13] Xu H, Wang X, Feng W, et al. The gut microbiota and its interactions with cardiovascular disease. *Microb Biotechnol*, 2020, 13(3): 637-656.
- [14] Ahmad AF, Dwivedi G, O'Gara F, et al. The gut microbiome and cardiovascular disease: current knowledge and clinical potential. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2019, 317(5): H923-H938.
- [15] Yao ME, Liao PD, Zhao XJ, et al. Trimethylamine-N-oxide has prognostic value in coronary heart disease: a meta-analysis and dose-response analysis. *BMC Cardiovasc Disord*, 2020, 20(1): 7.
- [16] Koeth RA, Wang Z, Levison BS, et al. Intestinal microbiota metabolism of L-carnitine, a nutrient in red meat, promotes atherosclerosis. *Nat Med*, 2013, 19(5): 576-585.
- [17] Zhu YQ, Li QQ, Jiang H. Gut microbiota in atherosclerosis: focus on trimethylamine N-oxide. *APMIS*, 2020, 128(5): 353-366.
- [18] Hannah WN, Harrison SA. Lifestyle and dietary interventions in the management of nonalcoholic fatty liver disease. *Dig Dis Sci*, 2016, 61(5): 1365-1374.
- [19] Fiuza-Luces C, Santos-Lozano A, Joyner M, et al. Exercise benefits in cardiovascular disease: beyond attenuation of traditional risk factors. *Nat Rev Cardiol*, 2018, 15(12): 731-743.
- [20] Gerdes V, Gueimonde M, Pajunen L, et al. How strong is the evidence that gut microbiota composition can be influenced by lifestyle interventions in a cardio-protective way? *Atherosclerosis*, 2020, 311: 124-142.
- [21] Schmidt TSB, Raes J, Bork P. The human gut microbiome: from association to modulation. *Cell*, 2018, 172(6): 1198-1215.
- [22] Morita E, Yokoyama H, Imai D, et al. Aerobic exercise training with brisk walking increases intestinal Bacteroides in healthy elderly women. *Nutrients*, 2019, 11(4): E868.
- [23] Allen JM, Mailing LJ, Niemi GM, et al. Exercise alters gut microbiota composition and function in lean and obese humans. *Med Sci Sports Exerc*, 2018, 50(4): 747-757.
- [24] Taniguchi H, Tanisawa K, Sun X, et al. Effects of short-term endurance exercise on gut microbiota in elderly men. *Physiol Rep*, 2018, 6(23): e13935.
- [25] Munukka E, Ahtiainen JP, Puigbó P, et al. Six-week endurance exercise alters gut metagenome that is not reflected in systemic metabolism in over-weight

- women. *Front Microbiol*, 2018, 9: 2323.
- [26] Quiroga R, Nistal E, Estébanez B, et al. Exercise training modulates the gut microbiota profile and impairs inflammatory signaling pathways in obese children. *Exp Mol Med*, 2020, 52(7): 1048-1061.
- [27] Chen JY, Guo Y, Gui YJ, et al. Physical exercise, gut, gut microbiota, and atherosclerotic cardiovascular diseases. *Lipids Health Dis*, 2018, 17(1): 17.
- [28] Liu ZH, Liu HY, Zhou HB, et al. Moderate-intensity exercise affects gut microbiome composition and influences cardiac function in myocardial infarction mice. *Front Microbiol*, 2017, 8: 1687.
- [29] Liu Y, Wang Y, Ni YQ, et al. Gut microbiome fermentation determines the efficacy of exercise for diabetes prevention. *Cell Metab*, 2020, 31(1): 77-91.e5.
- [30] Dannekiold-Samsøe NB, Dias de Freitas Queiroz Barros H, Santos R, et al. Interplay between food and gut microbiota in health and disease. *Food Res Int*, 2019, 115: 23-31.
- [31] Jama HA, Beale A, Shihata WA, et al. The effect of diet on hypertensive pathology: is there a link via gut microbiota-driven immunometabolism? *Cardiovasc Res*, 2019, 115(9): 1435-1447.
- [32] Mente A, O'Donnell M, Rangarajan S, et al. Urinary sodium excretion, blood pressure, cardiovascular disease, and mortality: a community-level prospective epidemiological cohort study. *Lancet*, 2018, 392(10146): 496-506.
- [33] Kim M, Huda MN, Bennett BJ. Sequence meets function—microbiota and cardiovascular disease. *Cardiovasc Res*, 2021. DOI: 10.1093/cvr/cvab030. Online ahead of print.
- [34] Threapleton DE, Greenwood DC, Evans CEL, et al. Dietary fibre intake and risk of cardiovascular disease: systematic review and meta-analysis. *BMJ*, 2013, 347: f6879.
- [35] Marques FZ, Nelson E, Chu PY, et al. High-fiber diet and acetate supplementation change the gut microbiota and prevent the development of hypertension and heart failure in hypertensive mice. *Circulation*, 2017, 135(10): 964-977.
- [36] Thushara RM, Gangadaran S, Solati Z, et al. Cardiovascular benefits of probiotics: a review of experimental and clinical studies. *Food Funct*, 2016, 7(2): 632-642.
- [37] Cavalcanti Neto MP, Aquino JS, Romão da Silva LF, et al. Gut microbiota and probiotics intervention: a potential therapeutic target for management of cardiometabolic disorders and chronic kidney disease? *Pharmacol Res*, 2018, 130: 152-163.
- [38] Gan XT, Ettinger G, Huang CX, et al. Probiotic administration attenuates myocardial hypertrophy and heart failure after myocardial infarction in the rat. *Circ Heart Fail*, 2014, 7(3): 491-499.
- [39] Lam V, Su JD, Koprowski S, et al. Intestinal microbiota determine severity of myocardial infarction in rats. *Faseb J*, 2012, 26(4): 1727-1735.
- [40] Lin PP, Hsieh YM, Kuo WW, et al. Probiotic-fermented purple sweet potato yogurt activates compensatory IGF IR/PI3K/Akt survival pathways and attenuates cardiac apoptosis in the hearts of spontaneously hypertensive rats. *Int J Mol Med*, 2013, 32(6): 1319-1328.
- [41] Costanza AC, Moscovitch SD, Faria Neto HCC, et al. Probiotic therapy with *Saccharomyces boulardii* for heart failure patients: a randomized, double-blind, placebo-controlled pilot trial. *Int J Cardiol*, 2015, 179: 348-350.
- [42] Mayerhofer CCK, Awoyemi AO, Moscovitch SD, et al. Design of the GutHeart-targeting gut microbiota to treat heart failure-trial: a phase II, randomized clinical trial. *ESC Heart Fail*, 2018, 5(5): 977-984.
- [43] Malik M, Suboc TM, Tyagi S, et al. *Lactobacillus plantarum* 299v supplementation improves vascular endothelial function and reduces inflammatory biomarkers in men with stable coronary artery disease. *Circ Res*, 2018, 123(9): 1091-1102.
- [44] Yoshida N, Emoto T, Yamashita T, et al. *Bacteroides vulgatus* and *Bacteroides dorei* reduce gut microbial lipopolysaccharide production and inhibit atherosclerosis. *Circulation*, 2018, 138(22): 2486-2498.
- [45] Rault-Nania MH, Gueux E, Demougeot C, et al. Inulin attenuates atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. *Br J Nutr*, 2006, 96(5): 840-844.
- [46] Chambers ES, Byrne CS, Morrison DJ, et al. Dietary supplementation with inulin-propionate ester or inulin improves insulin sensitivity in adults with overweight and obesity with distinct effects on the

- gut microbiota, plasma metabolome and systemic inflammatory responses: a randomised cross-over trial. *Gut*, 2019, 68(8): 1430-1438.
- [47] Hoving LR, Katiraei S, Pronk A, et al. The prebiotic inulin modulates gut microbiota but does not ameliorate atherosclerosis in hypercholesterolemic APOE*3-Leiden.CETP mice. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 16515.
- [48] Swanson KS, Gibson GR, Hutkins R, et al. The international scientific association for probiotics and prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of synbiotics. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2020, 17(11): 687-701.
- [49] Tajabadi-Ebrahimi M, Sharifi N, Farrokhian A, et al. A randomized controlled clinical trial investigating the effect of synbiotic administration on markers of insulin metabolism and lipid profiles in overweight type 2 diabetic patients with coronary heart disease. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 2017, 125(1): 21-27.
- [50] Patel R, DuPont HL. New approaches for bacteriotherapy: prebiotics, new-generation probiotics, and synbiotics. *Clin Infect Dis*, 2015, 60(Suppl 2): S108-S121.
- [51] Aguilar-Toalá JE, Garcia-Varela R, Garcia HS, et al. Postbiotics: an evolving term within the functional foods field. *Trends Food Sci Technol*, 2018, 75: 105-114.
- [52] Depommier C, Everard A, Druart C, et al. Supplementation with *Akkermansia muciniphila* in overweight and obese human volunteers: a proof-of-concept exploratory study. *Nat Med*, 2019, 25(7): 1096-1103.
- [53] Andraws R, Berger JS, Brown DL. Effects of antibiotic therapy on outcomes of patients with coronary artery disease: a meta-analysis of randomized controlled trials. *JAMA*, 2005, 293(21): 2641-2647.
- [54] Trøseid M, Andersen GØ, Broch K, et al. The gut microbiome in coronary artery disease and heart failure: current knowledge and future directions. *EBioMedicine*, 2020, 52: 102649.
- [55] Campbell LA, Rosenfeld ME. Persistent *C. pneumoniae* infection in atherosclerotic lesions: rethinking the clinical trials. *Front Cell Infect Microbiol*, 2014, 4: 34.
- [56] Cheng YJ, Nie XY, Chen XM, et al. The role of macrolide antibiotics in increasing cardiovascular risk. *J Am Coll Cardiol*, 2015, 66(20): 2173-2184.
- [57] Winkel P, Hilden J, Hansen JF, et al. Clarithromycin for stable coronary heart disease increases all-cause and cardiovascular mortality and cerebrovascular morbidity over 10 years in the CLARICOR randomised, blinded clinical trial. *Int J Cardiol*, 2015, 182: 459-465.
- [58] Heianza Y, Zheng Y, Ma WJ, et al. Duration and life-stage of antibiotic use and risk of cardiovascular events in women. *Eur Heart J*, 2019, 40(47): 3838-3845.
- [59] 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.
- [60] Miyazaki-Anzai S, Masuda M, Kohno S, et al. Simultaneous inhibition of FXR and TGR5 exacerbates atherosclerotic formation. *J Lipid Res*, 2018, 59(9): 1709-1713.
- [61] Lam V, Su J, Hsu A, et al. Intestinal microbial metabolites are linked to severity of myocardial infarction in rats. *PLoS ONE*, 2016, 11(8): e0160840.
- [62] Leshem A, Horesh N, Elinav E. Fecal microbial transplantation and its potential application in cardiometabolic syndrome. *Front Immunol*, 2019, 10: 1341.
- [63] Rao K, Safdar N. Fecal microbiota transplantation for the treatment of *Clostridium difficile* infection. *J Hosp Med*, 2016, 11(1): 56-61.
- [64] Choi HH, Cho YS. Fecal microbiota transplantation: current applications, effectiveness, and future perspectives. *Clin Endosc*, 2016, 49(3): 257-265.
- [65] Smits LP, Kootte RS, Levin E, et al. Effect of vegan fecal microbiota transplantation on carnitine- and choline-derived trimethylamine-N-oxide production and vascular inflammation in patients with metabolic syndrome. *J Am Heart Assoc*, 2018, 7(7): e008342.
- [66] Kootte RS, Levin E, Salojärvi J, et al. Improvement of insulin sensitivity after lean donor feces in metabolic syndrome is driven by baseline intestinal microbiota composition. *Cell Metab*, 2017, 26(4):

- 611-619.e6.
- [67] De Leon LM, Watson JB, Kelly CR. Transient flare of ulcerative colitis after fecal microbiota transplantation for recurrent *Clostridium difficile* infection. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2013, 11(8): 1036-1038.
- [68] Ramezani A, Nolin TD, Barrows IR, et al. Gut colonization with methanogenic Archaea lowers plasma trimethylamine N-oxide concentrations in apolipoprotein e^{-/-} mice. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 14752.
- [69] 张发明. 影响《洗涤菌群移植南京共识》实践的关键问题. *南京医科大学学报 (自然科学版)*, 2021, 41(1): 1-3.
Zhang FM. The key issues affecting the practice of Nanjing consensus on methodology of washed microbiota transplantation. *J Nanjing Med Univ Nat Sci*, 2021, 41(1): 1-3 (in Chinese).
- [70] 张发明, 刘亚飞. 洗涤菌群移植途径选择的证据与决策. *中华胃肠外科杂志*, 2020, 23(Z1): 45-47.
Zhang FM, Liu YF. Evidence and decision of the choice of delivery way in washed microbiota transplantation. *Chin J Gastrointest Surg*, 2020, 23(Z1): 45-47 (in Chinese).
- [71] Zhang T, Li P, Wu X, et al. Alterations of *Akkermansia muciniphila* in the inflammatory bowel disease patients with washed microbiota transplantation. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2020, 104(23): 10203-10215.
- [72] Zhang T, Lu G, Zhao Z, et al. Washed microbiota transplantation vs. manual fecal microbiota transplantation: clinical findings, animal studies and *in vitro* screening. *Protein Cell*, 2020, 11(4): 251-266.
- [73] Tan Y, Shen J, Si T, et al. Engineered live biotherapeutics: progress and challenges. *Biotechnol J*, 2020, 15(10): e2000155.
- [74] Claesen J, Fischbach MA. Synthetic microbes as drug delivery systems. *ACS Synth Biol*, 2015, 4(4): 358-364.
- [75] Chen ZY, Guo LL, Zhang YQ, et al. Incorporation of therapeutically modified bacteria into gut microbiota inhibits obesity. *J Clin Invest*, 2014, 124(8): 3391-3406.
- [76] Duan FF, Liu JH, March JC. Engineered commensal bacteria reprogram intestinal cells into glucose-responsive insulin-secreting cells for the treatment of diabetes. *Diabetes*, 2015, 64(5): 1794-1803.
- [77] Atarashi K, Tanoue T, Oshima K, et al. Treg induction by a rationally selected mixture of *Clostridia* strains from the human microbiota. *Nature*, 2013, 500(7461): 232-236.
- [78] Tanoue T, Morita S, Plichta DR, et al. A defined commensal consortium elicits CD8⁺ T cells and anti-cancer immunity. *Nature*, 2019, 565(7741): 600-605.
- [79] Górski A, Bollyky PL, Przybylski M, et al. Perspectives of phage therapy in non-bacterial infections. *Front Microbiol*, 2018, 9: 3306.
- [80] Mimee M, Mimee M, Citorik RJ, et al. Microbiome therapeutics—advances and challenges. *Adv Drug Deliv Rev*, 2016, 105(pt a): 44-54.
- [81] Wang Z, Klipfell E, Bennett BJ, et al. Gut flora metabolism of phosphatidylcholine promotes cardiovascular disease. *Nature*, 2011, 472(7341): 57-63.
- [82] Wang Z, Bergeron N, Levison BS, et al. Impact of chronic dietary red meat, white meat, or non-meat protein on trimethylamine N-oxide metabolism and renal excretion in healthy men and women. *Eur Heart J*, 2019, 40(7): 583-594.
- [83] Qiu L, Tao XY, Xiong H, et al. *Lactobacillus plantarum* ZDY04 exhibits a strain-specific property of lowering TMAO via the modulation of gut microbiota in mice. *Food Funct*, 2018, 9(8): 4299-4309.
- [84] Qiu L, Yang D, Tao X, et al. *Enterobacter aerogenes* ZDY01 attenuates choline-induced trimethylamine N-oxide levels by remodeling gut microbiota in mice. *J Microbiol Biotechnol*, 2017, 27(8): 1491-1499.
- [85] Tang WH, Wang Z, Levison BS, et al. Intestinal microbial metabolism of phosphatidylcholine and cardiovascular risk. *N Engl J Med*, 2013, 368(17): 1575-1584.
- [86] Wang ZN, Roberts AB, Buffa JA, et al. Non-lethal inhibition of gut microbial trimethylamine production for the treatment of atherosclerosis. *Cell*, 2015, 163(7): 1585-1595.
- [87] Chen K, Zheng XQ, Feng MC, et al. Gut microbiota-dependent metabolite trimethylamine

- N-oxide contributes to cardiac dysfunction in western diet-induced obese mice. *Front Physiol*, 2017, 8: 139.
- [88] Kuka J, Liepinsh E, Makrecka-Kuka M, et al. Suppression of intestinal microbiota-dependent production of pro-atherogenic trimethylamine N-oxide by shifting L-carnitine microbial degradation. *Life Sci*, 2014, 117(2): 84-92.
- [89] Shi Y, Hu J, Geng J, et al. Berberine treatment reduces atherosclerosis by mediating gut microbiota in apoE^{-/-} mice. *Biomed Pharmacother*, 2018, 107: 1556-1563.
- [90] Roberts AB, Gu X, Buffa JA, et al. Development of a gut microbe-targeted nonlethal therapeutic to inhibit thrombosis potential. *Nat Med*, 2018, 24(9): 1407-1417.
- [91] Gautam A, Paudel YN, Abidin S, et al. Guggulsterone, a farnesoid X receptor antagonist lowers plasma trimethylamine-N-oxide levels: an evidence from *in vitro* and *in vivo* studies. *Hum Exp Toxicol*, 2019, 38(3): 356-370.
- [92] Eme L, Doolittle WF. *Archaea*. *Curr Biol*, 2015, 25(19): R851-R855.
- [93] Brugère JF, Borrel G, Gaci N, et al. Archaeobiotics: proposed therapeutic use of *Archaea* to prevent trimethylaminuria and cardiovascular disease. *Gut Microbes*, 2014, 5(1): 5-10.
- [94] 乐世俊, 王文晓, 陶慧娟, 等. 肠道菌群-TMA-TMAO 代谢途径与心血管疾病的研究进展. *中华心血管病杂志*, 2020, 48(2): 159-163.
- Yue SJ, Wang WX, Tao HJ, et al. Research progress of targeting gut microbiota-TMA-TMAO pathway in cardiovascular diseases. *Chin J Cardiol*, 2020, 48(2): 159-163 (in Chinese).

(本文责编 郝丽芳)