

生物钟与肠道菌群关系的研究进展

钟 月 赵莉萍 张小勇* (四川师范大学生命科学学院 成都 610101)

摘 要 肠道菌群与人体各种代谢、生理活动密切相关,近些年来研究发现,肠道菌群同样存在昼夜节律性且与生物钟互作维持机体的稳态,其失衡与糖尿病、脂肪肝等多种疾病的发生密切相关。本文综述了生物钟的基本作用机制及与肠道菌群的相互作用,以期中学生物学稳态部分及光信号调节生命活动部分的教学提供参考。

关键词 生物钟 肠道菌群 相互作用

Research progress on the relationship between biological clocks and gut microbiota

ZHONG Yue, ZHAO Liping, ZHANG Xiaoyong*

(College of Life Sciences of Sichuan Normal University, Chengdu 610101, China)

Abstract The gut microbiota is closely related to various metabolic and physiological activities in the human body. Recent studies have found that gut microbiota also exhibited circadian rhythms and interacted with biological clocks to maintain homeostasis. Imbalances in the system are closely associated with the onset of various diseases, such as diabetes and fatty liver. This paper reviewed the basic mechanisms of biological clocks and their interactions with gut microbiota, aiming to provide references for teaching high school biology on the topics of homeostasis and the regulation of life activities by light signals.

Keywords biological clock; gut microbiota; interaction

1 生物钟与肠道菌群的概念

1.1 生物钟 生物钟是生物为适应地球日夜更替的周期而演化形成生命活动的节律性,也称作昼夜节律。主要可以从系统与分子两个水平理解生物钟的作用机理。系统水平上,生物钟包含位于下丘脑视交叉上核的中枢生物钟和分布于人体各组织、器官的外周生物钟两个部分^[1]。中枢生物钟通过视网膜-下丘脑通路接收光源性刺激信号,同时整合来自其余神经传导途径的非光源性生理信号(如食物、酸碱度、激素刺激等),并借助神经调节、内分泌调节等方式发出信息,控制全身的昼夜节律活动。外周生物钟受生物钟基因间的相互作用和周期性表达的共同调控,可与中枢生物钟实现同步,维持各组织器官昼夜节律的稳定,进而确保各系统的内源性昼夜节律与外界昼夜交替保持同步^[1]。分子水平上,生物钟指的是细胞内自发的转录-翻译互作网络中的活化、抑制转录因子相互制约所形成的一套负反馈网络。该网络中生物钟基因以 *CLOCK* (circadian locomotor output cycles kaput)、*BMAL1* (brain and muscle ARNT-like1)、*PER1/2/3* (Period1/2/3)、*CRY1/2* (cryptochrome1/2) 为核心,而 *CLOCK* 和 *BMAL1* 能够形成异二聚体与靶基因启动子 E-box 元件进行组装,由此启动 *PER1/2/3*、*CRY1/2* 转录并表达形成 PER 蛋白、CRY 蛋白,这两者将组装为异二聚体

反作用于 *CLOCK*、*BMAL1* 的生理功能,整个过程组成一套负反馈环路^[2]。同时, NR1D1/NR1D2 (nuclear receptor subfamily 1 group D member 1/2) 和 ROR α/β (retinoic acid-related orphan receptor α/β) 共同构成生物钟体系额外的调控通道, NR1D1/NR1D2 和 RORs 蛋白能够通过 *BMAL1* 调控 NFIL3 蛋白 (nuclear factor interleukin-3 regulated protein) 的节律性表达,协同正、负调控因子维持生物钟节律性振荡^[3]。

1.2 肠道菌群 肠道菌群是寄居在人体肠道黏膜表面的微生物群体,其数目庞大但种类相对固定,与人体之间形成了紧密的共生关系,在宿主体内形成了相对稳定的肠道微生态系统。人体的肠道微生物数量高达 10^{14} , 约为人体自身细胞数目的 10 倍,其种类共计 1000 多种^[4], 以厚壁菌门和拟杆菌门为主导,总重约 1—1.5 千克,因此肠道菌群也被称为人体的另外一大“器官”。肠道菌群的功能繁多,不仅能为宿主降解食物中的大分子物质,促进吸收,并且参与人体众多代谢活动(如脂质代谢、纤维分解),以及免疫系统的功能维持等。同时,肠道菌群还参与神经系统的调节以及神经退行性疾病(如阿尔兹海默症、帕金森病、多发性硬化症等)的发生^[5]。复杂而庞大的肠道菌群,以类似人体系统的工作模式,共同承担人体多项生理功能,因此只有健康的菌群才能维持机体稳态的动态平衡。

2 生物钟与肠道菌群的相互作用

2.1 肠道菌群的昼夜节律性 大量研究表明,肠道菌群同样存在昼夜节律性。虽然肠道环境黑暗,没有光源性信号的刺激,但宿主体内的各种生命活动与代谢均有节律性,而其中饮食节律直接关联肠道菌群的相对丰度与生理功能,这导致肠道中一些特定的菌群及其分泌功能随昼夜更替表现出节律性振荡^[1]。Litichevskiy 等研究发现,约 15% 的肠道微生物种类表现出相对丰度节律性,在宿主摄食阶段,宿主体内的胆汁酸分泌会增多,将食物中脂肪乳化为小脂肪滴,促进肠道对脂肪的吸收,而厚壁菌门的瘤胃球菌、毛螺菌等菌属能够分泌胆汁水解酶,以解离与脱羟基的形式将结合胆汁酸转变为游离胆汁酸,助力肝脏对胆汁酸的回收,因此,宿主进食接近尾声时,厚壁菌门菌群的相对丰度会达到顶峰;由于拟杆菌门大多种类能够分泌消化宿主肠道黏液物质,该门菌群的相对丰度会在宿主禁食阶段达到顶峰^[2]。

2.2 生物钟对肠道菌群的调节机制 宿主生物钟主要通过调节肠黏膜屏障的通透性与肠道营养影响肠道菌群的生理功能和相对丰度。

2.2.1 调节肠黏膜屏障的通透性 肠道黏液层是肠道菌群与人体相互作用的主要场所,也是二者之间的一道屏障,其通透性受中枢生物钟的调节。肠道紧密连接蛋白和密封蛋白 1 是相邻上皮细胞间顶端部分的跨膜蛋白,参与控制细胞旁通道的通透性,而中枢生物钟蛋白 CLOCK 和 BMA1 可作为转录因子,与闭合蛋白、密封蛋白 1 启动子区的基因调控元件 E-box 结合,调控闭合蛋白和密封蛋白 1 的转录,从而调节肠道通透性与肠上皮屏障。因此,宿主昼夜节律发生紊乱,将影响相关蛋白的表达水平,破坏肠黏膜屏障,导致肠道菌群与宿主的相互作用异常,使肠道微生态失去平衡。例如,Kyoko 等^[6]在小鼠中的研究表明,在正常昼夜交替情况下,正常小鼠的闭合蛋白以及密封蛋白 1 的转录与翻译水平在结肠处表现出昼夜节律的同步发生,并伴随着结肠通透性的正常改变。而在生物钟基因 *PER2* 突变型的小鼠,闭合蛋白与密封蛋白 1 的转录与翻译一直保持较高的表达率,没有昼夜节律的改变,这导致结肠通透性一直很低,影响肠道菌群与肠道屏障的相互作用,致使肠道菌群生理功能受损。在通过改变环境的光照程度所培育出的生物钟紊乱的小鼠中,检测出肠上皮屏障遭受破坏、通透性提高,这促使肠道菌群的促炎性分泌物进入肠上皮细胞,破坏肠道微生态、引起结肠炎^[7]。

2.2.2 调节肠道营养 宿主的饮食节律作为生物钟的一部分,也会影响食物的摄入从而调控肠道营养,而肠道菌群的分泌功能及其相对丰度会根据肠道营养情

况而改变,因此不规律饮食将导致肠道菌群失调。研究发现,在授时时间(Zeitgeber Time)为 4 点与 16 点时,夜间限食的小鼠肠道营养不足,盲肠内肠道菌群分泌的短链脂肪酸浓度升高,能抑制结肠生长激素的释放,而可以随意进食的小鼠肠道营养充足,盲肠内短链脂肪酸浓度无明显波动,且失去抑制作用^[8]。此外,与随意喂食的高脂肪饮食小鼠相比,在小鼠活动期喂食高脂肪食物且夜间限食的小鼠肠道营养过剩情况有所缓解,肠道微生物生境内多样性增加,且厚壁菌门与拟杆菌门相对丰度显著上升^[9]。

2.3 肠道菌群对宿主生物钟的调节机制 肠道菌群主要从调节宿主生物钟基因的转录与翻译、调控信号转导两个方面影响宿主生物钟。

2.3.1 调节宿主生物钟基因的转录与翻译 肠道菌群能从转录和翻译水平上影响宿主生物钟基因的表达。例如,肠道微生物能够诱导小肠上皮细胞中组蛋白脱乙酰酶 3(HDAC3)的表达,而 HDAC3 会节律性地聚集到上皮细胞中的染色质上,通过去乙酰化组蛋白来抑制生物钟基因的转录,且 HDAC3 在组蛋白乙酰化、生物钟基因表达过程中会产生同步的昼夜振荡^[10]。

2.3.2 调控宿主生物钟信号转导 肠道微生物及其代谢产物能够调控宿主细胞表面信号接收与细胞内信号通路传导,对维持宿主正常昼夜节律功能具有重要意义。例如,肠道菌群中的分段丝状细菌对肠上皮细胞的节律附着,会驱动 3 型先天性淋巴细胞的免疫细胞信号转导,引发免疫活性物质白细胞介素 22 的产生,而白细胞介素 22 能磷酸化肠上皮细胞的信号转导器 STAT3 蛋白,并激活 STAT3 蛋白的节律性表达,从而刺激上皮细胞中抗菌蛋白节律性产生,在肠道先天免疫中形成节律。肠道菌群的代谢物内毒素能与肠上皮细胞中的 Toll 样受体结合,激活上皮细胞内转录因子信号转导和转录激活因子 3 通路,可影响生物钟转录因子 NFIL3 的节律性振荡^[11]。此外,粪便中肠道菌群分泌的短链脂肪酸浓度变化(开灯 4 小时后达到峰值)能够调节结肠肌层中的两种 G 蛋白受体(GPCR43、GPCR41)的节律性表达,且对结肠平滑肌条带收缩的抑制作用呈昼夜节律,致使小鼠结肠发生周期性运动(每日两次的团块长距离移动)^[12]。

3 生物钟与肠道菌群相互作用对生物体的影响

生物钟与肠道菌群的相互作用对生物体的营养代谢、各项生理功能具有重要意义,目前研究主要集中于脂质代谢、机体稳态、神经系统疾病发生、糖尿病发生等方面。

3.1 调节脂质吸收、储藏与代谢 肠道菌群能够通过调节宿主昼夜节律的变化影响脂质吸收、储藏与代谢。

在小鼠实验中,小鼠肠道微生物分泌的小分子物质、鞭毛蛋白以及脂多糖等能够通过影响宿主生物钟基因 *NR1D1* 的表达,调控宿主小肠上皮细胞内的生物钟转录因子 NFIL3 蛋白的转录与翻译通路,由此影响细胞内脂质的运输与储藏^[13]。与正常饮食或低脂饮食的小鼠相比,高脂肪饮食小鼠的肠道微生物群主要通过激活宿主对过氧化物酶体增殖物激活受体 PPAR 信号转导的昼夜节律,调节响应高脂肪饮食的肝脏脂质代谢,导致小鼠肥胖^[14]。进一步研究发现,肠道菌群通过节律性接触肠道中髓样细胞和 3 型淋巴细胞,触发白细胞介素 22 的产生,间接抑制长链非编码 RNA (lncRNA) 的表达,而 lncRNA 能激活抑制脂质代谢的信号轴,降低脂质吸收速率。其中,肠道微生物群分泌短链脂肪酸的昼夜节律对宿主的脂质代谢昼夜节律具有重要影响。

3.2 维持机体稳态 肠道菌群的多种代谢物能与机体生物钟互作共同维持机体稳态。例如,厚壁菌群会降解大肠肠道内的顽固糖类化合物,分泌酸性化合物(如乳酸、乙酸),这些化合物会被再次分解转化,产生丙酸、丁酸,其中没有被肠道微生物代谢掉的脂肪酸会通过肠壁进入体循环,调节体内酸碱的动态平衡,这些分泌物的含量会发生明显昼夜节律性波动,与代谢稳态密切相关^[15]。哺乳动物食用含硫蛋白后,通过体内肠道微生物中的沙门氏菌、埃希氏菌、梭杆菌等代谢会分泌 H_2S ,而 H_2S 将抑制其余微生物的繁殖、功能活动,制约着菌群分泌乙酸、丁酸等代谢产物,从而调节宿主的生物钟和化能反应,影响着结肠内的胆汁与硫酸盐黏蛋白等含硫物质的运转。其中胆汁代谢同样反映了人体与肠道菌群的相互作用,小肠内胆汁的含量与进食规律有同步的昼夜节律振荡^[16],小肠内胆汁含量的周期性波动影响并改变着肠道环境,所以胆汁含量的周期性波动制约着肠道微生态的动态平衡。

3.3 与神经系统疾病的关系 昼夜节律破坏和肠道菌群失调会诱导有毒代谢物和促炎细胞因子的产生,从而破坏血脑屏障完整性,提高神经系统疾病发病率。肠道微生物组成的改变、厚壁细菌相对丰度的异常增加会诱导与炎症有关的核蛋白 HMGB1 从肠道释放进入循环中,激活转录因子 NF- κ B 蛋白,在生物钟基因 *CLOCK* 的正调控下,NF- κ B 信号通路会活化神经胶质细胞以及促进白细胞介素 6、白细胞介素 8、单核细胞趋化蛋白的表达,导致血脑屏障的破坏,引发或加速伴随年龄增长的神经系统疾病^[17]。同时,部分肠道菌群的鞭毛蛋白与内毒素能特异性调节转录因子 NFIL3 蛋白的昼夜节律,因此,肠道菌群失调会影响 NFIL3 蛋白昼夜节律的幅度^[18],进而影响小胶质细胞免疫活

性,加剧神经炎症。

3.4 与糖尿病的关系 肠道微生物与宿主生物钟能够相互调节,共同参与糖类代谢。人类因时差与轮班工作形成的昼夜节律错位,可致使肠道菌群的生物节律紊乱,反过来降低人体核心时钟基因 *BMAL1* 与 *CRY1* 的转录水平,使生物钟机制受损,影响糖类代谢^[13],从而导致葡萄糖耐量不良,增加糖尿病发生的风险。肠道菌群中的梭菌属分泌的 7- α -脱氢基酶能将初级胆汁酸转化为次级胆汁酸,激活肠道膜受体 G 蛋白偶联受体 (TGR5),TGR5 能促进肠道释放胰高血糖素样肽-1,从而改善葡萄糖代谢和胰岛素敏感性。而宿主中枢生物钟系统下丘脑视交叉上核通过室旁核将信号传递至自主神经系统,促进肾上腺皮质分泌糖皮质激素,提高血糖水平,同时刺激胃酸与胃蛋白酶的产生,增加饥饿感。该信号通路异常会导致宿主过度饮食,破坏肠道菌群的微生态,梭菌属丰度与数量会减少,降低宿主体内葡萄糖代谢水平和胰岛素敏感性,导致血糖水平过高,促成糖尿病的发生。此外,宿主体内的生物钟基因 *BMAL2*、*CLOCK* 和 *CRY* 的多态性也会增加 2 型糖尿病的风险,而长期健康饮食可与 *CLOCK* 基因位点的 *rs1801260* 单核苷酸多态性相互作用,通过影响葡萄糖代谢维持机体正常血糖水平^[19]。

4 结语

生物钟能够影响肠道菌群的数量、丰度、功能活动,而肠道菌群的完整性、代谢活动又能反作用于生物钟。两者相互作用能从多方面调控人体的代谢活动,与人类的健康联系紧密,也对相关疾病的靶向治疗具有重要意义。但是,目前对于生物钟如何影响肠道菌群对肠道的节律性附着、肠道菌群的代谢物如何调节宿主功能活动的昼夜节律等具体调节机制尚不明确,对于如何通过调节肠道菌群的昼夜节律性治疗相关疾病的临床研究也还需进一步开展。

(基金项目:四川省教育厅四川师范大学基础教育课程中心重点课题“基于高中生物学新课标的新评价方式研究”,No. 川 KZ202302; * 通信作者)

主要参考文献

- [1] DING L, XIAO X. Gut microbiota: closely tied to the regulation of circadian clock in the development of type 2 diabetes mellitus [J]. Chinese Medical Journal, 2020, 133(7): 817-825.
- [2] LITICHEVSKIY L, THAISS CA. The oscillating gut microbiome and its effects on host circadian biology [J]. Annual Review of Nutrition, 2022, 42: 145-164.
- [3] KIMBERLY CH, JOSEPH TS. Circadian clock genes and the transcriptional architecture of the clock mechanism [J]. Journal of Molecular Endocrinology, 2019, 63(4): R93-R102.

- [4] CHIKARA I, TADASHI S. Impact of *Helicobacter pylori* infection on gut microbiota [J]. World Journal of Gastroenterology, 2021, 27(37): 6224–6230.
- [5] 李琳, 赵静. 肠道菌群与神经退行性疾病之间关系的研究进展[J]. 生物学教学, 2021, 46(3): 8–10.
- [6] OH-OKA K, HIROSHI K, KAYOKO I, et al. Expressions of tight junction proteins Occludin and Claudin-1 are under the circadian control in the mouse large intestine; implications in intestinal permeability and susceptibility to colitis [J]. PLoS One. 2014, 9(5): e98016.
- [7] AMARA J, SALIBA Y, HAJAL J, et al. Circadian rhythm disruption aggravates DSS-induced colitis in mice with fecal calprotectin as a marker of colitis severity [J]. Digestive Diseases and Sciences, 2019, 64: 3122–3133.
- [8] SEGERS A, DESMET L, SUN S, et al. Night-time feeding of Bmal1^{-/-} mice restores SCFA rhythms and their effect on ghrelin [J]. Journal of Endocrinology, 2020, 245(1): 155–164.
- [9] WOLLMUTH EM, ANGERT ER. Microbial circadian clocks: host-microbe interplay in diel cycles [J]. BMC Microbiology, 2023, 23(124): 39–44.
- [10] ZHENG K, WANG Y, LI Y, et al. The intestinal microbiota programs diurnal rhythms in host metabolism through histone deacetylase 3 [J]. Science, 2019, 365(6460): 1428–1434.
- [11] JUAN BF, MARIA AT. Epithelial toll-like receptors and their role in gut homeostasis and disease [J]. Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology, 2020, 17(5): 263–278.
- [12] ANNELEEN S, LOUIS D, THEO T, et al. The circadian clock regulates the diurnal levels of microbial short-chain fatty acids and their rhythmic effects on colon contractility in mice [J]. Acta Physiologica, 2019, 225(3): e13193.
- [13] RONG B, WU Q, SAEED M, et al. Gut microbiota — a positive contributor in the process of intermittent fasting-mediated obesity control [J]. Animal Nutrition, 2021, 7(4): 1283–1295.
- [14] FRAZIER K, KAMBAL A, ZALE EA, et al. High-fat diet disrupts REG3γ and gut microbial rhythms promoting metabolic dysfunction [J]. Cell Host & Microbe, 2022, 30(6): 809–823.
- [15] DING L, LIU J, ZHOU L, et al. A high-fat diet disrupts the hepatic and adipose circadian rhythms and modulates the diurnal rhythm of gut microbiota-derived short-chain fatty acids in gestational mice [J]. Frontiers in Nutrition, 2022(9): 925390.
- [16] CUI Y, LI S, YIN Y, et al. Daytime restricted feeding promotes circadian desynchrony and metabolic disruption with changes in bile acids profiles and gut microbiota in C57BL/6 male mice [J]. The Journal of Nutritional Biochemistry, 2022, 109: 109–121.
- [17] YUAN S, LIU Z, XU Z, et al. High mobility group box 1 (HMGB1): a pivotal regulator of hematopoietic malignancies[J]. Journal of Hematology & Oncology, 2020, 13(1): 91.
- [18] CHOI H, RAO MC, CHANG EB. Gut microbiota as a transducer of dietary cues to regulate host circadian rhythms and metabolism [J]. Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology, 2021(18): 679–689.
- [19] LEE DY, JUNG I, PARK SY. Attention to innate circadian rhythm and the impact of its disruption on diabetes [J]. Diabetes & Metabolism Journal, 2024, 48(1): 37–52. ♦