

肠道菌群及其代谢产物作为阿尔茨海默病 诊断生物标志物的研究进展

程丽珍, 苗 雅

(上海交通大学附属第六人民医院老年病科, 上海 200235)



【摘要】阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是老年期痴呆最常见的一种类型,随着“脑-肠轴”理论的提出,越来越多的研究证实 AD 的发生发展与肠道菌群构成及其代谢产物的改变密切相关。本文就近年肠道菌群及其代谢产物在 AD 领域的研究进行综述和讨论,以此为着眼点,阐述以粪便为标本的肠道菌群及其代谢产物检查作为 AD 诊断生物标志物的应用前景。

【关键词】阿尔茨海默病;肠道菌群;生物标志物

【中图分类号】R749.16

【文献标志码】A

【收稿日期】2021-07-05

Research progress of gut microbiota and its metabolites as diagnostic biomarkers of Alzheimer's disease

Cheng Lizhen, Miao Ya

(Department of Geriatrics, Shanghai Jiao Tong University Affiliated Sixth People's Hospital)

【Abstract】Alzheimer's disease (AD) is the main cause of senile dementia. With the proposal of the “brain-gut axis” theory, more and more studies have confirmed the occurrence and development of AD are closely related to the change of gut microbiota and its metabolites. This article reviews and discusses the changes of fecal gut microbiota and its metabolites occurred in AD. Besides, the application prospects of fecal gut microbiota and its metabolites as AD diagnostic biomarkers are described.

【Key words】Alzheimer's disease; gut microbiota; biomarkers

人类的肠道是数万亿微生物的家园,包括细菌、真核生物和病毒,它们与人类宿主存在共生关系。健康人肠道的主要菌门是拟杆菌门、厚壁菌门和变形菌门,其中以厚壁菌和拟杆菌为主^[1]。健康的肠道菌群构成有助于宿主肠道屏障功能维持、食物吸收代谢和免疫系统发育等。肠道菌群可以利用肠内容物合成或代谢多种物质,主要包括短链脂肪酸(short-chain fatty acids, SCFAs)、胆汁酸及小分子气体等。这些代谢物可与肠上皮相互作用,也可进入血液循环中,对宿主的新

陈代谢和健康产生全身性影响^[2]。肠道菌群及其代谢产物异常已被证明和多种疾病相关^[3-5]。此外,由于非侵入性、方便、价廉等优势,粪便肠道菌群及其代谢产物已成为多种疾病的潜在生物标志物^[6-7]。

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是一种起病隐匿的进行性发展的神经系统退行性疾病,是老年期痴呆最常见的一种类型,但目前其诊断和治疗仍存在很多困境。AD 病理过程的出现早于临床症状数十年^[8],因此寻找有效的生物标志物对 AD 早期诊断、鉴别诊断以及治疗干预具有重要意义。随着“脑-肠轴”理论的提出,越来越多的研究证实 AD 的发生发展与肠道菌群构成及其代谢产物的改变密切相关。本文就 AD 中肠道菌群及其代谢产物改变进行综述和讨论,以此为着眼点,阐述粪便检查肠道菌群及其代谢产物作为 AD 诊断生物标志物的应用前景。

1 AD 肠道菌群的构成发生改变

近年来,AD 肠道菌群构成失调的报道屡屡涌现。在动物实验中,众多研究表明,AD 相关小鼠模型的肠道微生物群发生了明显改变。Shen L 等^[9]发现,随着年龄的增长,APP/PS1

作者介绍:程丽珍, Email: lizheng1112@163.com,

研究方向: 认知功能障碍。

通信作者:苗 雅, 副主任医师, 医学博士, 硕导。上海医学会老年医学专科分会青年委员会副主任委员、中华医学会老年医学分会第十届委员会青年委员、上海市医学会老年医学专科分会第十届委员会神经精神学组委员、《实用老年医学》青年编委会编委、中国老年医学学会认知障碍分会第一届委员会神经心理量表评估学术工作委员会委员、中国女医师协会第一届老年医学专业委员会委员; 承担国家自然科学基金、上海市科委自然科学基金及校级课题多项; 在国内外相关期刊发表论文 20 余篇, 其中 SCI 收录 10 余篇。Email: nning-my@163.com。

基金项目:上海市自然科学基金资助项目(编号: 19ZR1438800)。

优先出版: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20211117.0900.004.html>
(2021-11-17)

小鼠的肠道菌群多样性降低,进一步检测发现 APP/PS1 小鼠螺杆菌科、弧菌科、臭杆菌属、螺杆菌属的丰度均明显高于 WT 小鼠,而普氏菌属的丰度明显减低。Bäuerl C 等^[10]报道了 APP/PS1 小鼠肠道菌群中变形菌门增加,尤其是萨特菌属。在临床研究中,Cattaneo A 等^[11]首次报道了肠道菌群在 AD 相关认知功能障碍人群中发生改变。他发现与健康对照人群和认知障碍伴 β 淀粉样蛋白(β amyloid, A β)阴性患者相比,认知障碍伴 A β 阳性患者的肠道菌群中促炎菌类如大肠杆菌的数量增加,而抗炎菌类如直链真杆菌的数量减少。此外,血液促炎细胞因子 IL-1 β 、NLRP3 和 CXCL2 与大肠杆菌的丰度呈正相关,与直链真杆菌呈负相关。这些结果支持了肠道菌群在认知功能障碍人群中的改变及其和大脑淀粉样变性、血液炎症指标之间的联系,但该研究纳入的人群没有明确的 AD 临床诊断,且仅使用定量 PCR 检测了 6 种选定的细菌类群的丰度,结论有一定的局限性。随后 Vogt NM 等^[12]采用 16S rRNA 测序法对 AD 患者的肠道菌群组成进行了全面深入的研究。结果表明,AD 患者肠道菌群的丰度和多样性有所降低,组成发生改变,其中厚壁菌门和放线菌门的丰度低于健康对照人群,而拟杆菌门的丰度则增高。他们还分析了属水平菌群丰度与脑脊液生物标志物之间的相关性,菌群丰度与脑脊液 A β_{42} /A β_{40} 水平呈明显负相关,与脑脊液磷酸化 tau 蛋白(phosphorylated tau, p-tau)和 p-tau/A β_{42} 水平呈明显正相关。Zhuang ZQ^[13]和 Haran JP^[14]等的研究同样证实了 AD 患者肠道菌群的丰度和多样性发生了改变。

虽然以上研究皆提示 AD 患者的肠道菌群发生了改变,但这些变化与认知功能障碍的相关性仍存疑问。为了解决这个疑问,研究者们同时纳入了轻度认知功能障碍(mild cognitive impairment, MCI)患者进行分析研究。Liu P 等^[15]的研究报道了 AD 患者粪便肠道菌群的多样性低于遗忘型轻度认知功能障碍(amnesic mild cognitive impairment, aMCI)和健康对照人群。其中,厚壁菌门的丰度明显下降,变形菌门的丰度增加。此外, γ 变形菌纲、肠杆菌目和肠杆菌科在健康对照人群、aMCI 和 AD 患者中的丰度呈逐步上升趋势。Li BY 等^[16]的研究指出 MCI 与 AD 在肠道菌群中的变化相似,主要表现为双歧杆菌属、乳杆菌属、链球菌属、埃希菌属、布劳特菌属、多尔菌属丰度升高,拟杆菌属、萨特菌属、副普菌属、狄氏副拟杆菌、另枝菌属丰度减低。此外,粪便中阿克曼菌的丰度与内侧颞叶萎缩程度呈正相关;毛螺旋菌科中纺锤链杆菌属、布鲁氏菌属和多雷亚菌属的丰度与简易智力状态检查量表(mini-mental state examination, MMSE)评分负相关;梭菌科中的粪杆菌属、丁酸球菌属和哈氏厚壁菌属的丰度与 MMSE 评分正相关。AD 肠道菌群的构成发生改变已有大量的文献支撑,且肠道菌群的特征性改变和 AD 其他生物标志物密切相关,这也为其成为 AD 诊断生物标志物奠定了基础。

2 AD 肠道菌群代谢产物发生改变

上述无论是动物研究还是临床研究都证实了 AD 肠道菌群的构成发生改变,而肠道菌群的异常势必会引起肠道代

谢产物的改变。在动物实验中,Zhang L 等^[17]发现 APP/PS1 小鼠肠道菌群的代谢产物发生改变,主要表现为 SCFAs 水平降低。Yuan BF 等^[18]的研究报道,与野生型小鼠相比,APP/PS1 小鼠的 85 种代谢产物含量明显升高,126 种代谢产物含量明显降低。Zheng J 等^[19]进一步研究表明,与野生型小鼠相比,APP/PS1 小鼠丙酸、异丁酸、3-羟基丁酸、3-羟基异丙酸含量降低,乳酸、2-羟基丁酸、2-羟基异丁酸、乙酰丙酸、丙戊酸含量升高。Wu L 等^[20]在人群中进行了粪便代谢组学分析,试图明确 AD、aMCI 和健康对照人群肠道菌群代谢产物的差异。他们的研究指出 AD、健康对照人群在色氨酸代谢物、SCFAs 和石胆酸方面存在明显差异,aMCI 和 AD 在甲酸、乙酸、丙酸、2-甲基丁酸、异戊酸 5 种 SCFAs 存在明显差异。此外,AD 的代谢产物改变与认知障碍相关,其中 SCFAs 水平与蒙特利尔认知评估量表(Montreal cognitive assessment, MoCA)评分、临床痴呆评定量表(clinical dementia rating, CDR)评分呈负相关。这些结果表明,肠道菌群代谢产物与 AD 的发生和进展密切相关,以粪便为标本的肠道菌群代谢产物的检查为 AD 的诊断和治疗提供了一个可关注的策略选择。

3 肠道菌群及其代谢产物作为 AD 诊断生物标志物的可行性

由于 AD 以及 MCI 患者肠道菌群的构成及其代谢产物发生改变,且该改变与其他 AD 生物标志物的变化及认知障碍的严重程度相关,这些证据为肠道菌群及其代谢物成为 AD 的诊断生物标志物提供了可能。已有多项研究利用肠道菌群及其代谢物特征性改变构建 AD 诊断模型:Li BY 等^[16]根据 AD 患者和健康对照人群粪便和血液的菌群差异构建了随机森林模型,使用与一般线性模型结果相比属水平上明显不同的丰度类群作为输入。在粪便数据模型中,每个属的受试者工作特征曲线下面积(area under curve, AUC)为 0.781,在血液数据模型中为 0.864。在随机森林模型中,将不同的粪便肠道菌群菌属作为输入,得到不同的截断值,并以此作为分类依据能够正确识别 30 例 MCI 患者中的 28 例,灵敏度高达 93%,分类错误率仅为 6.3%。Liu P 等^[15]基于优势菌群的诊断模型能够有效地区分 aMCI、AD 与健康对照(AUC 分别为 0.890、0.940),以及 AD 与 aMCI(AUC=0.925)。此外,基于肠杆菌科丰度的诊断模型能够区分 AD 与 aMCI(AUC=0.688)及 AD 与健康对照(AUC=0.698)。Wu L 等^[20]利用 AD 的 14 种特征性肠道菌群代谢产物建立了不同的诊断模型,其中吲哚丙酮酸(indole-3-pyruvic acid, IPYA)和 5 种 SCFAs(甲酸、乙酸、丙酸、2-甲基丁酸和异戊酸)组成的诊断模型有效地区分了 aMCI、AD 与健康对照(aMCI vs. 健康对照, AUC=0.999, $P=0.000$; AD vs. 健康对照, AUC=0.999, $P=0.000$)。值得注意的是,单独 IPYA 也能对 aMCI、AD 与健康对照进行准确的分类(aMCI vs. 健康对照, AUC=0.955, $P=0.000$; AD vs. 健康对照, AUC=0.958, $P=0.000$)。此外,该 5 种 SCFAs 能有效辨别 aMCI、AD、健康对照 3 个人群(aMCI vs. AD, AUC=0.922, $P=0.000$; aMCI vs. 健康对照, AUC=0.848, $P=0.000$; AD vs. 健康

对照, $AUC=0.953$, $P=0.000$)。上述研究充分展示了肠道菌群及其代谢产物作为 AD 诊断生物标志物可能性, 其中 AUC 最高可达 0.999。此外, MCI 作为临床前阶段 AD 也能被有效地从健康对照人群中辨别出来, 可见, 肠道菌群及其代谢产物作为 AD 早期诊断的生物标志物也有很大的应用前景。然而, 以上研究都是基于中国人群展开研究的。由于遗传和环境因素, 肠道菌群具有个体间的差异性。在环境因素中, 饮食习惯在调节肠道菌群及其代谢产物组成方面起着关键作用^[20]。因此, 还需要对不同饮食习惯的人群进行更大规模的研究来证实这些结果。

4 展 望

目前较多研究阐述了肠道菌群及其代谢物在 AD 人群中的改变, 其与 AD 的相关性被普遍认可。此外, 不同研究者建立的诊断模型为肠道菌群及其代谢产物作为 AD 诊断生物标志物的临床应用提供了一定的基础。虽然目前肠道菌群及其代谢产物作为 AD 诊断或鉴别诊断生物标志物尚无定论, 但在 AD 患者中的明显变化提示其参与了 AD 的疾病发生, 同时也为 AD 药物研发提供了新的靶点, 带来了新的契机。新型抗 AD 药物甘露特钠胶囊 (GV-971) 可以重建肠道菌群, 减轻大脑中的神经炎症^[22]。在 1 项最新的 III 期临床试验中^[23], GV-971 被证明在改善认知方面有明显的疗效。相信在不久的将来, 肠道菌群及其代谢物的研究能为 AD 的临床诊治带来更多新的突破。

参 考 文 献

- [1] Human Microbiome Jumpstart Reference Strains Consortium, Nelson KE, Weinstock GM, et al. A catalog of reference genomes from the human microbiome[J]. *Science*, 2010, 328(5981): 994–999.
- [2] Daliri EB, Wei S, Oh DH, et al. The human microbiome and metabolomics: current concepts and applications[J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2017, 57(16): 3565–3576.
- [3] Pluta R, Januszewski S, Czuczwar SJ. The role of gut microbiota in an ischemic stroke[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(2): E915.
- [4] Scheperjans F, Aho V, Pereira PA, et al. Gut microbiota are related to Parkinson's disease and clinical phenotype[J]. *Mov Disord*, 2015, 30(3): 350–358.
- [5] Ge YS, Wang XH, Guo YL, et al. Gut microbiota influence tumor development and alter interactions with the human immune system[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2021, 40(1): 42.
- [6] Ticinesi A, Nouvenne A, Tana C, et al. Gut microbiota and microbiota-related metabolites as possible biomarkers of cognitive aging[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2019, 1178: 129–154.
- [7] Temraz S, Nassar F, Nasr R, et al. Gut microbiome: a promising biomarker for immunotherapy in colorectal cancer[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(17): E4155.
- [8] Villemagne VL, Burnham S, Bourgeat P, et al. Amyloid β deposition,

neurodegeneration, and cognitive decline in sporadic Alzheimer's disease: a prospective cohort study[J]. *Lancet Neurol*, 2013, 12(4): 357–367.

- [9] Shen L, Liu L, Ji HF. Alzheimer's disease histological and behavioral manifestations in transgenic mice correlate with specific gut microbiome state[J]. *J Alzheimers Dis*, 2017, 56(1): 385–390.
- [10] Bäuerl C, Collado MC, Diaz Cuevas A, et al. Shifts in gut microbiota composition in an APP/PSS1 transgenic mouse model of Alzheimer's disease during lifespan[J]. *Lett Appl Microbiol*, 2018, 66(6): 464–471.
- [11] Cattaneo A, Cattane N, Galluzzi S, et al. Association of brain amyloidosis with pro-inflammatory gut bacterial taxa and peripheral inflammation markers in cognitively impaired elderly[J]. *Neurobiol Aging*, 2017, 49: 60–68.
- [12] Vogt NM, Kerby RL, Dill-McFarland KA, et al. Gut microbiome alterations in Alzheimer's disease[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 13537.
- [13] Zhuang ZQ, Shen LL, Li WW, et al. Gut microbiota is altered in patients with Alzheimer's disease[J]. *J Alzheimers Dis*, 2018, 63(4): 1337–1346.
- [14] Haran JP, Bhattarai SK, Foley SE, et al. Alzheimer's disease microbiome is associated with dysregulation of the anti-inflammatory P-glycoprotein pathway[J]. *mBio*, 2019, 10(3): e00619–e00632.
- [15] Liu P, Wu L, Peng GP, et al. Altered microbiomes distinguish Alzheimer's disease from amnesic mild cognitive impairment and health in a Chinese cohort[J]. *Brain Behav Immun*, 2019, 80: 633–643.
- [16] Li BY, He YX, Ma JF, et al. Mild cognitive impairment has similar alterations as Alzheimer's disease in gut microbiota[J]. *Alzheimers Dement*, 2019, 15(10): 1357–1366.
- [17] Zhang L, Wang Y, Xiayu X, et al. Altered gut microbiota in a mouse model of Alzheimer's disease[J]. *J Alzheimers Dis*, 2017, 60(4): 1241–1257.
- [18] Yuan BF, Zhu QF, Guo N, et al. Comprehensive profiling of fecal metabolome of mice by integrated chemical isotope labeling–mass spectrometry analysis[J]. *Anal Chem*, 2018, 90(5): 3512–3520.
- [19] Zheng J, Zheng SJ, Cai WJ, et al. Stable isotope labeling combined with liquid chromatography–tandem mass spectrometry for comprehensive analysis of short-chain fatty acids[J]. *Anal Chim Acta*, 2019, 1070: 51–59.
- [20] Wu L, Han YQ, Zheng ZP, et al. Altered gut microbial metabolites in amnesic mild cognitive impairment and Alzheimer's disease: signals in host–microbe interplay[J]. *Nutrients*, 2021, 13(1): 228.
- [21] Bibbò S, Ianaro G, Giorgio V, et al. The role of diet on gut microbiota composition[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2016, 20(22): 4742–4749.
- [22] Wang XY, Sun GQ, Feng T, et al. Sodium oligomannate therapeutically remodels gut microbiota and suppresses gut bacterial amino acids–shaped neuroinflammation to inhibit Alzheimer's disease progression[J]. *Cell Res*, 2019, 29(10): 787–803.
- [23] Xiao SF, Chan P, Wang T, et al. A 36-week multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled, parallel-group, phase 3 clinical trial of sodium oligomannate for mild-to-moderate Alzheimer's dementia[J]. *Alzheimers Res Ther*, 2021, 13(1): 62.

(责任编辑: 冉明会)