

多糖利用位点研究进展及其在中药药理研究中的应用

辜沅, 舒青龙*

(江西中医药大学基础医学院, 南昌 330004)

[摘要] 多糖利用位点(PULs)是与多糖分解代谢相关且位于特定区域的一组基因簇,包括淀粉利用系统(SusC), SusD, 及编码外膜糖蛋白结合蛋白、编码碳水化合物活性酶等基因。多糖利用位点广泛存在于肠道拟杆菌中,这种能突出利用多糖的能力是拟杆菌适应肠道的生存策略之一。一方面,肠道拟杆菌的丰度高、种类繁多,是中药调节肠道菌群的最主要靶点菌群;另一方面,诸多中药化学成分中,中药多糖是重要有效成分且含量高,也可以作为肠道细菌的竞争性碳源;中药多糖如何基于碳源调节肠道拟杆菌是中药药理学研究的重要内容。本文结合最新的文献介绍了多糖利用位点的基因及蛋白构成、综述了多糖利用位点研究的最新进展,分析了多形拟杆菌和脆弱拟杆菌基因组中多糖利用位点多样性及其组成;同时,结合自己的中药多糖体外影响拟杆菌的碳源实验,对基于多糖利用位点研究中药微生态药理机制提出了展望,该方向的研究,不仅是细菌多糖利用位点研究的新内容,也是“人-药物-菌群”整体观及中医健脾研究的重要内容。

[关键词] 多糖利用位点; 中药多糖; 拟杆菌; 碳源; 肠道菌群

[中图分类号] R2-0;R22;R285.5;R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)16-0193-08

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20191505

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20190417.1342.009.html>

[网络出版时间] 2019-04-18 15:54

Research Progress of Polysaccharide Utilization Loci and Its Application in Pharmacological Research of Chinese Medicinal Herb

GU Yuan, SHU Qing-long*

(School of Basic Medicine Sciences, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China)

[Abstract] Polysaccharide utilization loci (PULs) are a group of gene clusters related to polysaccharides catabolism and located in specific areas, including starch utilization system (SusC), SusD, encoding outer membrane glycoprotein binding proteins, and carbohydrate active enzymes. The wide existence of PULs in Bacteroides, and the extraordinary ability of utilizing polysaccharide is its survival strategy to adapt to the intestinal tract. On one hand, Bacteroides feature a high abundance and variety, making it the most important bacterial target group regulated by traditional Chinese medicine (TCM). On the other hand, polysaccharide is an important effective constituent among TCM chemicals, with a high content, and can also be used as a competitive carbon source for intestinal bacteria. Therefore, what is the mechanism of regulating the intestinal flora based on the carbon source of polysaccharide is an important part of the pharmacological research of TCM. According to the latest literatures, this paper introduces the gene and protein composition of PULs, reviews the latest developments in PULs research, and analyzes the structure of PULs in the genomes of *Bacteroides fragilis* and *Bacteroides thetaiotaomicron*. Furthermore, we also put forward a prospect for the pharmacological micro-ecological mechanism

[收稿日期] 20190102(001)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(31560038,81473455);江西省自然科学基金项目(20171BAB205087);江西省高等教育教学改革课题(JXJG-18-12-8)

[第一作者] 辜沅,在读硕士,从事中西医结合专业研究,Tel:0791-87118921,E-mail:2769264245@qq.com。

[通信作者] *舒青龙,博士,教授,硕士生导师,从事中医药微生态学,研究,Tel:0791-87118921,E-mail:shuqinglong@126.com

of TCM based on PULs based on our carbon source experiments, which focuses the effects of *Bacteroides* by TCM polysaccharides *in vitro*. This research is not only the new content of bacterial PULs researches, but also the important part of researches of "human-drug-bacteria" holistic view and TCM spleen-tonifying concept.

[Key words] polysaccharide utilization loci; traditional Chinese medicine polysaccharide; *Bacteroides*; carbon source; gut flora

肠道菌群是肠道微生态的重要组成,包括 1 000 多种不同细菌,细菌数量约为 1×10^{14} 个^[1],肠道菌群丰度最高的菌群主要是拟杆菌和厚壁菌两大类群,肠道菌群主要功能包括肠道提供屏障保护、协助人体的消化吸收、提高免疫力、药物的转化等^[2-3]。现代研究已证实,肠道菌群与中药复方的临床功效紧密相关,如中药能促进拟杆菌等益生菌的生长调节肠道菌群结构的平衡^[4]等,这与中药复方多层次、多靶点的特点也极为吻合。

肠道菌群中,根据丰度及多样性,拟杆菌是中药复方作用的最重要菌群靶点之一,这和拟杆菌很强的分解多糖能力极为相关^[5]。现代研究表明,肠道拟杆菌对多糖的利用方面作用尤为突出,在水解多糖为底物的碳源上具有特殊的优势,根据基因组的研究,绝大多数的拟杆菌都拥有丰富的多糖利用位点^[6],拟杆菌这种适应能力,对特定碳源的使用无疑给它们在肠道内环境一个“优势者”的角色,而在中药复方治疗过程中,其中药多糖成分很可能可以充当这种差异碳源的角色,从而导致拟杆菌群的不同变化。这种“多糖-拟杆菌-中药”的关联,很可能是健脾复方调节肠道菌群研究的新方向,亟待进一步研究^[7-8]。

基于此,笔者做了一些初步的工作,包括①对于多形拟杆菌和脆弱拟杆菌的多糖利用位点进行了全基因组的深入分析;②对这 2 种拟杆菌分别在参苓白术散多糖和理中汤多糖进行了体外碳源实验及其转录组分析,从多糖利用位点的差异性表达分析了不同复方多糖调节肠道拟杆菌的机制。

据此,本文结合前期的研究及最新的文献介绍了多糖利用位点的基因及蛋白构成、综述了多糖利用位点研究的最新进展,旨在推进基于多糖利用位点研究中药生态药理机制提,促进“人-药物-菌群”为整体观的复方健脾现代机制研究。

1 多糖利用位点简介

哺乳动物胃肠道含有极为密集的微生物群落,胃肠道是微生物分解膳食植物多糖的场所。植物饮食主要由植物细胞壁多糖组成,这些多糖不能被宿主酶消化,70% 肠道多糖由微生物发酵分解代

谢^[9]。由于肠道菌群是自然界中微生物生物转化植物多糖速度最快的群体之一,人们对肠道菌具有的酶及酶系统有相当大的兴趣。

肠道微生物群的主要营养成分来源于宿主和膳食复合碳水化合物,为了充分利用这些营养源,菌群拥有复杂、多变的系统来监测、捕获和利用这些聚糖,参与了一系列的代谢转化过程。对人体培养菌群的研究表明,拟杆菌门主要由拟杆菌属成员组成,具有广泛的分解多种植物和动物多糖的能力^[10]。拟杆菌是一种革兰氏阴性细菌且作为宿主远端肠道丰富菌种之一^[11],拟杆菌可以分解机体饮食、黏膜多糖,以及存在其他肠道微生物表面的多糖是其成为优势菌种的因素^[12]。随着 DNA 测序技术的进展,基因组研究主要集中在膳食纤维与微生物群落之间的关系,从而深入了解微生物生态系统的营养如何影响机体的生理代谢。

研究发现,来自各种环境的拟杆菌结合和降解各种多糖的方式极为相似^[13]。由有机体编码的不同多糖利用位点所有组成决定了肠道中细菌的代谢生活方式^[14]。这些革兰氏阴性细菌拥有与多糖分解代谢相关且位于特定区域的一组基因簇称为多糖利用位点。多糖利用位点首次在人体肠道拟杆菌中被发现,以编码糖苷水解酶和外膜脂蛋白、与生物代谢相关且位于特定区域的一组基因簇,可以协助特定多糖的分解,是分解多糖的关键,此位点在细菌中普遍存在^[10]。每个拟杆菌淀粉利用系统都包含以下特征:①淀粉利用系统(Sus)C 同源基因, TonB 依赖性转运蛋白(TBDR)提供运输低聚糖所需的能量;②SusD 同源基因,其表达一种外膜脂蛋白,结合特定的多糖并参与将低聚糖向 SusC 转运过程^[15]。

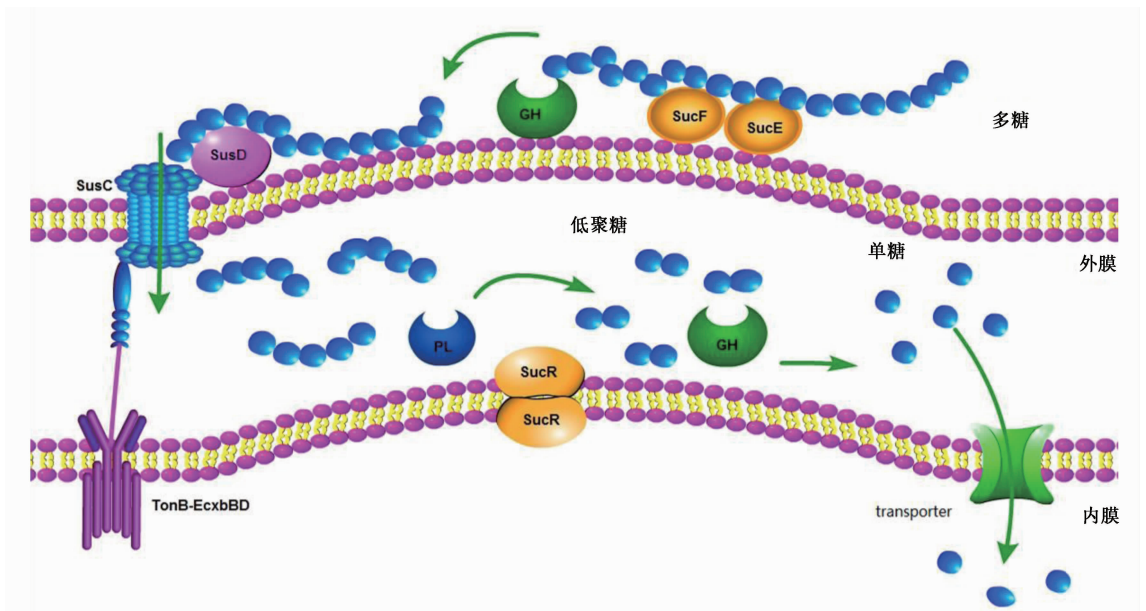
多糖利用位点除了 SusC 和 SusD 基因外,还包括其他外膜糖蛋白结合蛋白的基因,包括编码碳水化合物活性酶、反应调节剂和转运体等基因组成,这些蛋白均在拟杆菌有效降解多至单个底物起重要作用^[13],其中多糖利用位点的种类、降解何种多糖等与 CAZymes 基因表达的酶功能紧密联系,但这些酶的基因常被较大片段的未知功能基因区域分开,这也利于这些基因的表达调控。目前,CAZy 包含酶

类包括糖苷水解酶(GH),糖基转移酶(GT),多糖裂解酶(PL),碳水化合物酯酶(CE),碳水化合物结合模块(CBM)^[16]。在拟杆菌基因组序列发表的近年来,科学家已经获得了大量关于植物和动物聚糖利用过程的信息。此外,多糖利用位点基因表达的调控也得到了广泛的研究,如 CAO 等^[17]报道了反义小 RNA 抑制其同源多糖利用位点基因表达的一种新的调控机制。这一调节机制被证是脆弱拟杆菌的多糖利用位点共同参与宿主多糖的利用,也是其他人类肠道拟杆菌的一个守恒特征。

2 多糖利用位点蛋白及基因结构

每个编码不同种类多糖降解基因的利用位点都是相似的,在多形拟杆菌中将负责多糖运输、分解并对此过程进行调控的功能蛋白称之为淀粉利用系统^[5]。每个多糖利用位点编码的蛋白包括以下

功能:①在细菌表面将多糖进行绑定;②在外膜对特定的多糖进行分解;③将生成的低聚糖从细菌表面转运到壁膜间隙;④在壁膜间隙中,低聚糖被糖苷水解酶和多糖水解酶降解为更小的低聚糖或单糖,这些低聚糖被运输到细胞质中;⑤通过降解产物去调节多糖利用位点的表达。这种分解多糖的途径见图 1,可以帮助细菌将大的聚合物降解成足够小的片段^[18-19],以便通过外膜孔而不会将消化的产物丢失给附近的其他竞争性菌种。拟杆菌主要通过遗传、垂直或水平转移交换多糖利用位点的形式获得新功能,因此,现在的拟杆菌有许多编码不同酶的多糖利用位点,这些酶是专门用来降解的特定的多糖。多糖利用位点的多样性赋予拟杆菌分解多种多糖的能力,在机体结肠进一步优化分解代谢复杂的碳水化合物^[20]。



多糖由 SusE, SusF(黄色)等蛋白在表面结合,经外膜表面糖苷水解酶(GH,绿色)将原始多糖分解为多个低聚糖,由 SusD 蛋白(粉红色)结合绑定,通过 SusC 蛋白(蓝色)转运从外膜穿过。SusC 蛋白的活性取决于 TonB 复合物(紫色),该复合物提供运输低聚糖所需的能量。这些低聚糖通过壁膜间隙 GH 或多糖水解酶(PL,深蓝色)进一步分解为更小的低聚糖。SusR 蛋白(黄色)通过修饰参与多糖运输和分解基因转录,对壁膜间隙低聚糖产物的产生作出反应

图 1 多糖在拟杆菌中分解过程

Fig. 1 Decomposition of polysaccharides in bacteroides

淀粉利用系统中有 8 个促进淀粉利用的基因,其编码淀粉附着细胞所需的所有蛋白以及表面淀粉酶和 TonB 依赖性转运蛋白协调淀粉水解与麦芽低聚糖进入细胞;其中一个调节基因 SusR 和 7 个结构基因 SusA ~ SusG。其中 SusC 和 SusD, SusE, SusF 均为外膜蛋白,研究发现即使在没有多糖分解和运输的情况下也是一直存在,当 SusR 检测到有多糖分解过程时,外膜蛋白表达水平会显著升高,即

SusA—SusG 基因的表达受 SusR 基因的调控,当存在麦芽糖或大分子低聚糖时,SusR 可以促进 Sus 结构基因的表达^[21]。SusC, SusD 已经被遗传分析证明是淀粉结合所必需的,实验表明,SusC 和 SusD 形成复合通过协同作用,结合裂解的低聚糖,并将其穿过外膜进入细胞质。

在同一操纵子中,编码另外 2 种外膜蛋白基因 SusE, SusF 被证明对淀粉的利用不重要,当二者与

SusC 和 SusD 同时存在时,实际上减少了淀粉的结合^[22]。淀粉在细胞外部分被 α -淀粉酶 SusG 降解,其他多糖利用位点编码类似的局域酶,外膜表面糖结合蛋白将结合的多糖部分降解为寡糖^[23]。每个多糖利用位点还编码一个调控因子,该调控因子在识别出分解多糖的中间产物后控制利用位点内基因的转录。除了淀粉和果聚糖浆外,果胶和半纤维素浆也在分离的肠道细菌中被检测到。目前还不清楚果胶浆和纤维素之间的关系。在绝大多数情况下调控是正确的,但控制果糖聚合物利用的调节剂是由果糖本身激活的^[24]。

3 种类型的利用位点监管机制,胞质外 σ 功能因子 (ECF- δ)/反 δ 因子, SusR 型、双组分杂交系统 (HTCs)^[25]。ECF- δ /反 δ 因子可以对人乳低聚糖和宿主黏液 O-聚糖以及其他未知碳水化合物产物的分解进行调控。SusR 家族的成员参与了葡萄糖聚合物的控制。例如,麦芽糖结合到胞质 SusR 蛋白, Sus 编码基因的转录机制被激活。SusR 蛋白家族成员被预测为二聚体,能够识别 67 bp 或 77 bp 的直接重复序列^[26]。HTCs 将经典双组分系统结构组合成单一蛋白质。经典的双组分系统由一个传感器蛋白组成,该传感器蛋白通过修改同源调节蛋白的磷酸化状态来响应一个(或多个)信号,该同源调节蛋白通常是一个 DNA 结合转录调节蛋白^[27]。

3 拟杆菌多糖利用位点特点介绍

人体肠道微生物群在碳水化合物代谢方面,拟杆菌对多糖降解能力较强。其利用复杂碳水化合物的机制已被广泛研究^[28]。高通量测序技术的普及,人们对拟杆菌基因系统的获得和转录组数据的发掘极大促进对多糖利用位点不断深入了解,细菌基因

组测序显示所有肠道拟杆菌都具有多糖利用位点,并且每个位点赋予不同聚糖分解的能力。多糖利用位点的标志是一对邻近的基因编码 TonB 依赖性外膜转运蛋白 (SusC 同源基因) 和相关多糖结合蛋白 (SusD 同源基因) 和相关糖苷水解酶,对不同独特的多糖进行利用。多糖利用位点已确定可以分解不同底物,如木葡聚糖、阿拉伯木聚糖, α -甘露聚糖,菊糖和紫菜聚糖等^[29]。基于这一共性,生物信息学工具现在可以预测拟杆菌基因组中的这些位点^[30]。

不同位点编码序列决定了肠道细菌的代谢方式,拟杆菌基因组可以编码几十个不同的位点。多形拟杆菌和卵圆拟杆菌其全基因组的用于编码多糖利用位点,这突出了利用位点编码多糖摄取方式对拟杆菌适应肠道的重要性。研究发现肠道寄生多形拟杆菌 (VPI-5482) 和卵圆拟杆菌 (ATCC 8483) 的基因组中分别含有 88 个和 110 个多糖利用位点,转录组分析显示多形拟杆菌和卵圆拟杆菌通过不同的底物可将多糖利用位点进行诱导。多形拟杆菌中位点 866 个基因组成,平均每个位点含有 10 个基因,占其全基因组 18%,每个位点都致力于利用膳食多糖或宿主聚糖,全基因组编码可利用淀粉的蛋白质 163 种,多糖裂解酶 15 种以及糖苷水解酶 226 种。多形拟杆菌拥有黏蛋白-O-聚糖、宿主聚糖、淀粉等多种不同多糖的利用位点已被发现,包括 88 个基因簇已全部被预测,部分位点见图 2。脆弱拟杆菌 (BF638R) 初步分析发现有 47 个假定的多糖利用位点,22 个独立的 SusC, SusD 蛋白^[31]。这些细菌在肠道中占据着不同的位置,都能降解淀粉、储存多糖和胶质,即使多形拟杆菌不能降解半纤维素,而卵圆拟杆菌不能利用宿主黏液聚糖进行生长,在其多糖

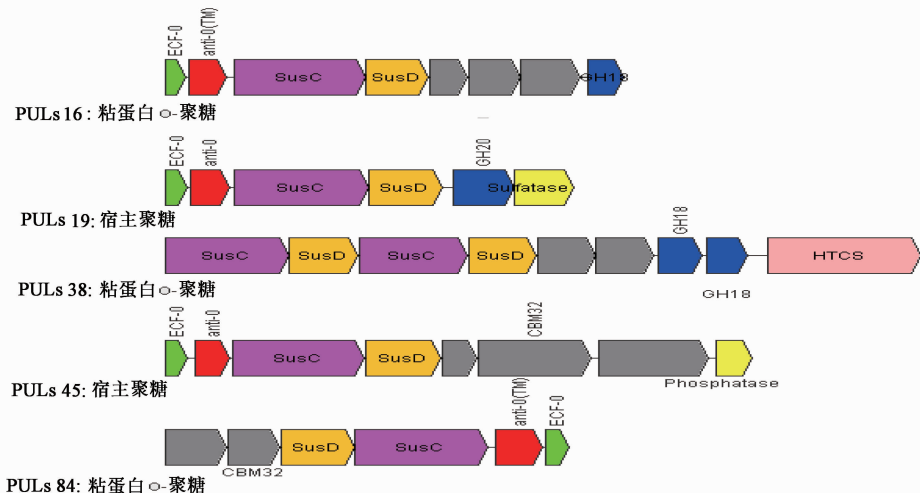


图 2 多形拟杆菌 (VPI-5482) 分解粘蛋白-O-聚糖、宿主聚糖、淀粉利用位点

Fig. 2 *Bacteroides thetaiotaomicron* VPI-5482 decomposes mucin-O-glycan, host glycan, starch utilization loci

利用位点储备中有所体现^[10,24]。通过多糖利用位点的关键基因,发现脆弱拟杆菌(ATCC 25285)全基因组能够编码碳水化合物脂酶 5 种,多糖裂解酶 3 种,糖苷水解酶 141 种,糖苷转移酶 83 种,其中预测多糖利用位点 31 个,部分位点见图 3。目前对多糖利用位点预测技术尚不成熟,还需要进一步摸索以便深入发掘更多的多糖利用位点。拟杆菌还具有其他细菌不含有的特有分解多糖的酶,比如阿拉伯糖酶, β -甘露糖苷酶,壳多糖酶等。

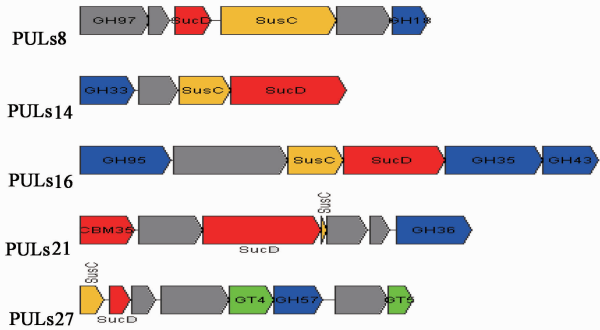


图 3 脆弱拟杆菌(ATCC 25285)部分多糖利用位点
Fig. 3 *Bacteroides fragilis* ATCC 25285 partial polysaccharide utilization loci

4 结合多糖利用位点的中药药理研究

近现代研究学者分别从不同中草药等植物中提取许多具有生物活性的植物多糖进行试验,研究发现中药多糖能够抗菌、抗病毒、降血糖、抗衰老、增强机体免疫力、降血脂等多种改善机体生物活性功能^[32-33]。中药里有许多具有生物活性的中药多糖且含量很高,是治疗疾病为重要有效成分,其成分十分复杂。中药多糖主要成分为单糖及其单糖衍生物,含有果糖、半乳糖、鼠李糖、阿拉伯糖、木糖、葡萄糖等多种单糖,糖酸(半乳糖醛酸)与糖醇(甘露醇)为单糖衍生物总要组成成分^[34]。中医药主要是以多味中药共同组合配伍而成的方,主要为了提高药物功效,起到相辅相成的作用,又可以消除某种特殊药物的毒性,将药物对机体的损害降到最低^[35-36]。

人体肠道内的微生物是人体健康的重要调节因子,肠道微生物群落结构的改变与多种疾病有关,包括炎症肠病^[37]、脑卒中的发生^[38]、癌症^[39]、糖尿病^[40]和肥胖症^[41]。学者研究发现,五大类有利于细菌生长的因子分别在中药多糖、蛋白质、水果蔬菜汁、益生元及其他物质。吴秀等^[42]通过饮食失常及番泻叶灌胃给小鼠建立脾虚模型,发现造模后小鼠肠道中脆弱拟杆菌、乳酸杆菌、双歧杆菌和大肠埃希菌群数目均增加,通过四君子汤多糖治疗,发现小鼠

肠道菌群中各种细菌均恢复正常,可知四君子汤多糖具有调节肠道菌群平衡作用。理中汤对抗生素相关性腹泻等动物模型中对紊乱肠道菌群均有调节作用,并且对肠道菌群多样性有明显增强作用,对腹痛、腹泻等胃肠道疾病起到治疗作用^[43]。腹泻患者的肠道微生物群中厌氧菌(双歧杆菌比肠杆菌)明显下降,经中药止泻复方参苓白术散治疗后,双歧杆菌、类杆菌、乳酸菌等益生菌显著增加,肠杆菌、肠球菌等条件致病菌明显减少,治疗后肠道菌群趋于平衡^[44]。参苓白术散能够促进益生菌生长,对条件致病菌起到抑制作用,且显著增加肠道菌群的多样性^[45]。

在参苓白术散多糖培养基环境下,分别在体外培养肠道拟杆菌、厚壁菌等多种细菌,拟杆菌生长明显增强,但厚壁菌无明显变化,可知参苓白术散可以促进拟杆菌的生长^[46]。理中汤多糖体外培养发现,理中汤能作为优势碳源明显有效促进拟杆菌体外生长,且有不同程度对厚壁菌抑制作用^[47]。中药多糖可以直接作用于肠上皮细胞,使得黏膜屏障保护功能得以加强,进而阻止大肠杆菌侵犯宿主,此点也许是中药多糖增强机体免疫力重要机制^[48-49]。

人类基因组只能编码助消化的碳水化合物活性酶,将蔗糖、乳糖等双糖及容易消化的淀粉分解成单糖,但不能对复杂的多糖进行降解^[50]。肠道微生物可以合成多种宿主不具备分解代谢多糖能力的酶,具有将化学成分多样且复杂的中药多糖和动物多糖发酵成短链脂肪酸的能力,让宿主更容易吸收^[51-52]。拟杆菌基因组对中药多糖以及宿主黏液多糖等运输和分解具有优势,如以黏蛋白作为营养底物,并对这些产物分解过程进行调控并促进自身生长繁殖,使其具有相对于其他菌种的竞争优势^[53]。

机体肠道的微生物在很大程度上取决于作为能源的植物多糖。机体获得从肠道寄生的微生物提供的营养物质中获益的能力,并且肠道和免疫系统的进化已经适应了复杂的微生物群的存在。对宿主利益和危害的平衡取决于微生物群落的分布、多样性、物种组成和代谢输出的总体状态,这是互利共生的典型例子。研究发现,母乳中的低聚糖是机体早期微生物繁殖的重要营养来源;当机体开始摄取膳食纤维期间拟杆菌数量逐渐增长,由此可知复杂饮食结构能够引起肠道菌群的改变^[54]。机体与肠道定植的微生物之间的关系是在漫长而复杂的共同进化后产生的结果。

以母乳调节肠道菌群类似的是,拟杆菌突出利用多糖的能力可能和中药多糖调节菌群相关。如多形拟杆菌对多糖的利用方面作用尤为突出,其基因组所编码的蛋白质中含有几种有代表性的糖基水解酶, α -半乳糖苷, β -葡萄糖醛酸糖苷酶, β -呋喃果糖苷酶, α -甘露糖苷酶,淀粉酶和 1,2- β -木糖苷酶,且其水解酶的种类超过任何一种已测序的细菌,多形拟杆菌包含任何形式的糖基水解酶,似乎能够切割大多数在自然界中发现的糖苷键^[55]。脆弱拟杆菌可水解的糖苷键包括 β -1,1/ β -1,2/ β -1,3/ β -1,6 连接的糖苷键,C-糖苷键,C-S 键,C-N 键,C-F 键, β -1,4-葡萄糖醛酸苷键, β -1,4-半乳糖苷键等^[56]。单形拟杆菌可水解的糖苷键包括 α -1,2/ α -1,3/ α -1,4/ α -1,6/ α 1-连接的糖苷键, β -1,4-葡萄糖醛酸苷键等^[57]。

人们对厚壁菌糖代谢机制也开始产生浓厚的兴趣^[58-59],研究发现厚壁菌具有与拟杆菌多糖利用位点系统类似的革兰氏阳性多糖利用位点(gpPULs)基因组成,但是缺乏 SusC 和 SusD 基因确定多糖利用位点。gpPULs 类似多糖利用位点有多种转运蛋白,如①ATP-结合转运蛋白(ABC);②阳离子同向转运家族蛋白;③主要促进超家族转运蛋白;④PEP-磷酸转移酶系统转运蛋白(PEP-PTS),调节蛋白和 CAZymes 组成^[60]。拟杆菌这种适应能力,对特定碳源营养来源的使用无疑给其在肠道内环境一个“优势者”的角色,而在中药复方治疗过程中,其中药多糖成分很可能可以充当这种差异碳源的角色,从而导致拟杆菌群的不同变化。

笔者对多形拟杆菌和脆弱拟杆菌进行了多糖利用位点的位点分析,并对这 2 株菌分别在参苓白术散多糖、理中汤多糖为唯一碳源培养基的培养下进行了转录组分析,发现参苓白术散多糖、理中汤多糖能促进拟杆菌的体外生长^[46-47],但多糖利用位点的表达有差异。对于多形拟杆菌和脆弱拟杆菌,2 种多糖为其唯一碳源时部分多糖利用位点有显著差异,分别为多形拟杆菌的多糖利用位点(PUL) 22, PUL 78 和脆弱拟杆菌的 PUL 13, PUL 29。

5 展望

中药是在中医理论指导下防治疾病的药物,中药复方的“方理”是阐释方剂的关键,其体现了中医学的整体观念和辨证论治思想。中医中“健脾”和肠道菌群平衡的理念和原理极其相似,讲究“人-药物-菌群”的整体观和肠道菌群此消彼长的动态平衡。虽然中医思想指导下用药的中药复方可以调节肠道菌群,进而达到中医健脾的效果,但中药复方便

通过何种成分,针对哪种主要菌群,进而达到调节肠道菌群的机制尚不明了。

肠道拟杆菌基因组拥有较多多糖利用位点的特点,及中药复方中多糖成分的最大含量,暗示着不同肠道菌群多糖利用位点的差异可能是中药复方调节肠道菌群的机制之一。结合多糖利用位点的中药药理研究以下几个方面待深入研究:①符合“同病异治”和“异病同治”健脾复方的微生态药理比对研究;②基于不同中药多糖成分为底物的多糖利用位点的精确定位及其对菌群调节的机制研究;③不同菌群结构多糖利用位点表达与中药复方调节菌群的效果;④以多糖利用位点研究结果为基础的中药益生元的研究;⑤其他菌群如厚壁菌、变形菌等和拟杆菌在中药复方影响下的多糖利用位点表达差异研究;⑥中药复方影响下不可培养菌群多糖利用位点的研究。

[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] CHEN L, Brar M S, Leung F C C, et al. Triterpenoid herbal saponins enhance beneficial bacteria, decrease sulfate-reducing bacteria, modulate inflammatory intestinal microenvironment and exert cancer preventive effects in ApcMin/+ mice [J]. Oncotarget, 2016, 7(21): 31226-31242.
- [3] D'Argenio, Valeria, Salvatore F. The role of the gut microbiome in the healthy adult status [J]. Clin Chi Acta, 2015, 451: 97-102.
- [4] 孙冶, 李新鸣, 王茜, 等. 益生菌对肠道健康的功效及其作用机制的研究进展 [J]. 沈阳医学院学报, 2018, 20(4): 347-360.
- [5] 王雨珊, 李万丛, 游颖, 等. 中药调节肠道菌群改善人体健康的研究进展 [J]. 中草药, 2018, 49(9): 2203-2209.
- [6] XU J, CHEN H B, LI S L. Understanding the molecular mechanisms of the interplay between herbal medicines and gut microbiota [J]. Med Res Rev, 2017, 37(5): 1140-1185.
- [7] 郑礼胜, 邵文, 兰新新, 等. 基于肠道菌群新靶点的中药防治糖尿病研究进展 [J]. 药物评价研究, 2017, 40(8): 1173-1181.
- [8] 刘骏, 孙经梦, 王辉. 肠道菌群与疾病发生及中草药调节和治疗作用的研究概述 [J]. 中国微生态学杂志, 2013, 25(7): 855-860.
- [9] Soest P J V. Nutritional ecology of the ruminant [J]. Corn Uni P, 1994, 44(11): 2552-2561.

- [10] Martens E C, Chiang H C, Gordon J I. Mucosal glycan foraging enhances fitness and transmission of a saccharolytic human gut bacterium [J]. *Cell Host Mic*, 2008, 4(5):447-457.
- [11] Consortium H M P. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome [J]. *Nature*, 2012, 486(7402):207-214.
- [12] Martens E C, Kelly A G, Tazuin A S, et al. The devil lies in the details: how variations in polysaccharide fine-structure impact the physiology and evolution of gut microbes [J]. *J Mole Bio*, 2014, 426(23):3851-3865.
- [13] Martens E C, Koropatkin N M, Smith T J, et al. Complex glycan catabolism by the human gut microbiota: the bacteroidetes sus-like paradigm [J]. *J Bio Chem*, 2009, 284(37):24673-24677.
- [14] McNulty N P, Wu M, Erickson A R, et al. Effects of diet on resource utilization by a model human gut microbiota containing *Bacteroides cellulosilyticus* WH2, a symbiont with an extensive glycobiome [J]. *PLoS Bio*, 2013, 11(8):e1001637.
- [15] Glenwright A J, Pothula K R, Bhamidimarri S P, et al. Structural basis for nutrient acquisition by dominant members of the human gut microbiota [J]. *Nature*, 2017, 541(7637):407-411.
- [16] Lombard V, Golaconda R H, Drula E, et al. The carbohydrate-active enzymes database (CAZy) in 2013 [J]. *Nuc Aci Res*, 2014, 42(D1):D490-D495.
- [17] CAO Y, Färstner K U, Vogel J, et al. cis-Encoded Small RNAs, a conserved mechanism for repression of polysaccharide utilization in *Bacteroides* [J]. *J Bac*, 2016, 198(18):2410-2418.
- [18] Ndeh D, Rogowski A, Cartmell A, et al. Complex pectin metabolism by gut bacteria reveals novel catalytic functions [J]. *Nature*, 2017, 544(7648):65-70.
- [19] Cuskin F, Lowe E C, Temple M J, et al. Human gut Bacteroidetes can utilize yeast mannan through a selfish mechanism [J]. *Nature*, 2015, 517(7533):165-169.
- [20] Schwalm N D, Groisman E A. Navigating the gut buffet control of polysaccharide utilization in *Bacteroides spp* [J]. *Tren Mic*, 2017, 25(12):1005-1015.
- [21] Matthew H F, Darrell W C, Nicole M K. The Sus operon: a model system for starch uptake by the human gut *Bacteroidetes* [J]. *Cell Mol Scie*, 2016, 73(14):1-15.
- [22] Cameron E A, Maynard M A, Smith C J, et al. Multidomain carbohydrate-binding proteins involved in *Bacteroides thetaiotaomicron* starch metabolism [J]. *J Bio Chem*, 2012, 287(41):34614-34625.
- [23] Temple M J, Cuskin F, Baslé, Arnaud, et al. A *Bacteroidetes locus* dedicated to fungal 1, 6- β -glucan degradation: unique substrate conformation drives specificity of the key endo-1, 6- β -glucanase [J]. *J Bio Chem*, 2017, 292(25):10639-10650.
- [24] Martens E C, Lowe E C, Chiang H, et al. Recognition and degradation of plant cell wall polysaccharides by two human gut symbionts [J]. *PLoS Bio*, 2011, 9(12):e1001221.
- [25] Schwalm N D, Townsend G E, Groisman E A. Multiple signals govern utilization of a polysaccharide in the gut bacterium *Bacteroides thetaiotaomicron* [J]. *MBio*, 2016, 7(5):e01342-16.
- [26] Ravcheev D A, Godzik A, Osterman A L, et al. Polysaccharides utilization in human gut bacterium *Bacteroides thetaiotaomicron*: comparative genomics reconstruction of metabolic and regulatory networks [J]. *BMC Gen*, 2013, 14(1):873.
- [27] Groisman E A. Feedback control of two-component regulatory systems [J]. *Ann Rev Mic*, 2016, 70(1):103-124.
- [28] Lloydprice J, Abuali G, Huttenhower C. The healthy human microbiome [J]. *Genome Medicine*, 2016, 8(1):51.
- [29] Rogowski A, Briggs J A, Mortimer J C, et al. Corrigendum: glycan complexity dictates microbial resource allocation in the large intestine [J]. *Nat Commun*, 2016, doi: 10.1038/ncomms10705.
- [30] Terrapon N, Lombard V, Gilbert H J, et al. Automatic prediction of polysaccharide utilization loci in *Bacteroidetes species* [J]. *Bioinformatics*, 2015, 31(5):647-655.
- [31] CAO Y, Rocha E R, Smith C J. Efficient utilization of complex N-linked glycans is a selective advantage for *Bacteroides fragilis* in extraintestinal infections [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111(35):12901-12906.
- [32] 孟祥云, 郭树明, 杨丽霞. 中药植物多糖对2型糖尿病胰岛素抵抗的作用机制研究进展 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2017, 23(8):220-225.
- [33] 钱增堃, 崔凡, 凌云熹, 等. 泽泻多糖对糖尿病大鼠肝脏糖脂代谢的影响 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2018, 24(11):117-125.
- [34] 张培, 郑晓萍, 马玉玲, 等. 党参多糖单糖组成与其对HepG2细胞毒活性的相关分析 [J]. *中草药*, 2016, 47(15):2684-2692.
- [35] 李雨庭, 李诗畅, 牛雯颖, 等. 方剂药理研究的方法与思路 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2017, 23(21):229-234.
- [36] 安婉丽, 李雪丽, 孔冉, 等. 中医药治疗肠道菌群失调症的方剂用药规律分析 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2018, 24(12):210-215.
- [37] Claire L B, Neves A L, Chilloux J, et al. Impact of the

- gut microbiota on inflammation, obesity, and metabolic disease [J]. *Genome Med*, 2016, doi: 10.1186/s13073-016-0303-2.
- [38] 李艳,宋亚刚,白明,等. 基于调控肠道菌群探讨中药防治脑卒中[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2019, 25(1): 228-234.
- [39] Roy S, Trinchieri G. Microbiota: a key orchestrator of cancer therapy [J]. *Nat Rev Can*, 2017, 17(5): 271-285.
- [40] TAI N, WONG F S, WEN L. The role of gut microbiota in the development of type 1, type 2 diabetes mellitus and obesity[J]. *Rev End Met Dis*, 2015, 16(1): 55-65.
- [41] Sonnenburg J L, Fredrik B. Diet-microbiota interactions as moderators of human metabolism[J]. *Nature*, 2016, 535(7610): 56-64.
- [42] 吴秀,周联,罗霞,等. 四君子汤多糖对脾虚小鼠肠道菌群及免疫功能的影响[J]. *中药药理与临床*, 2014, 30(2): 12-14.
- [43] 舒青龙,王萍,封勇,等. 理中汤对抗生素相关性腹泻模型构建中肠道菌群变化的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2015, 21(21): 82-87.
- [44] 丁维俊,周邦靖,翟慕东,等. 参苓白术散对小鼠脾虚模型肠道菌群的影响[J]. *北京中医药大学学报*, 2006, 29(8): 530-533.
- [45] 辜沅,舒青龙. 基于肠道微生态的参苓白术散药理研究进展[J]. *时珍国医国药*, 2018, 29(3): 674-676.
- [46] 张丽萍,伍荷洁,舒青龙. 基于“碳源”研究参苓白术散中药多糖对二株肠道拟杆菌体外生长的影响[J]. *天然产物研究与开发*, 2018, 30(1): 73-78.
- [47] 伍荷洁,张丽萍,舒青龙. 不同浓度理中汤多糖作为碳源对肠道拟杆菌及厚壁菌体外生长的影响[J]. *山东医药*, 2018, 58(23): 29-32.
- [48] 臧凯宏,吴建军,秦红岩,等. 黄芪多糖对溃疡性结肠炎大鼠肠道黏膜屏障的影响[J]. *中药材*, 2017, 40(1): 208-211.
- [49] 张晓,唐力英,吴宏伟,等. 穿心莲现代研究进展[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2018, 24(18): 222-234.
- [50] Kaoutari A E, Armougom F, Gordon J I, et al. The abundance and variety of carbohydrate-active enzymes in the human gut microbiota [J]. *Nat Rev Mic*, 2013, 11(7): 497-504.
- [51] Koropatkin N M, Cameron E A, Martens E C. How glycan metabolism shapes the human gut microbiota [J]. *Nat Rev Mic*, 2012, 10(5): 323-335.
- [52] Morrison D J, Preston T. Formation of short chain fatty acids by the gut microbiota and their impact on human metabolism [J]. *Gut Microbes*, 2016, 7(3): 189-200.
- [53] Benjdia A, Martens E C, Gordon J I, et al. Sulfatases and a Radical S-adenosyl-L-methionine (AdoMet) enzyme are key for mucosal foraging and fitness of the prominent human gut Symbiont, *Bacteroides thetaiotaomicron* [J]. *J Bio Chem*, 2011, 286(29): 25973-25982.
- [54] Murphy E A, Velazquez K T, Herbert K M. Influence of high-fat diet on gut microbiota: a driving force for chronic disease risk [J]. *Cur Opin Clin Nut Meta Care*, 2015, 18(5): 515-520.
- [55] Teravest M. Regulated expression of polysaccharide utilization and capsular biosynthesis loci in biofilm and planktonic *Bacteroides thetaiotaomicron* during growth in chemostats [J]. *Bio Bioe*, 2013, 111(1): 165-173.
- [56] Thornton R F, Murphy E C, Kagawa T F, et al. The effect of environmental conditions on expression of *Bacteroides fragilis* and *Bacteroides thetaiotaomicron* C10 protease genes [J]. *BMC Microbiol*, 2012, 12(1): 190.
- [57] Renouf M, Hendrich S. *Bacteroides uniformis* is a putative bacterial species associated with the degradation of the isoflavone genistein in human feces [J]. *J Nutr*, 2011, 141(6): 1120-1126.
- [58] ZE X, Ben-David Y, Laverde-Gomez J A, et al. Unique organization of extracellular amylases into amylozymes in the resistant starch-utilizing human colonic, *Firmicutes*, Bacterium, *Ruminococcus bromii* [J]. *MBio*, 2015, 6(5): e01058-15.
- [59] Cockburn D W, Orlovsky N I, Foley M H, et al. Molecular details of a starch utilization pathway in the human gut symbiont, *Eubacterium rectale* [J]. *Mol Mic*, 2015, 95(2): 209-230.
- [60] Sheridan P O, Martin J C, Lawley T D, et al. Polysaccharide utilization loci and nutritional specialization in a dominant group of butyrate-producing human colonic *Firmicutes* [J]. *Mic Geno*, 2015, 2(2): 1-16.

[责任编辑 周冰冰]