



无菌动物在肠-肝轴研究中的应用前景

魏应凤^{1,2}, 梁雁¹, 林臣鸿¹, 章旭君¹, 陈佳宁¹, 汤建华², 顾秋平², 刁宏燕^{1*}

(1. 浙江大学医学院附属第一医院传染病诊治国家重点实验室, 感染性疾病诊治协同创新中心, 杭州 310003;
2. 赣州市人民医院, 赣州 341000)

【摘要】 肠道和肝之间通过肠-肝轴紧密相连, 肠道疾病可以影响肝功能, 肝疾病也可以诱发肠道菌群和功能的变化。无菌动物是一种身体所有部位都没有任何活的细菌、真菌、病毒及寄生虫的动物, 无菌动物的出现为研究微生物与宿主之间的相互作用提供了有力的实验工具。同时, 由于无菌动物缺乏正常肠道菌群的特点, 它在肠-肝轴的研究中也起到了极大的推进作用。本文将对无菌动物在肠-肝轴中的应用前景做简要综述。

【关键词】 无菌动物; 肠-肝轴; 肠道菌群

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2017) 06-0671-05

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2017.06.016

Prospects of germ-free animals in the study of gut-liver axis

WEI Ying-feng^{1,2}, LIANG Yan¹, LIN Chen-hong¹, ZHANG Xu-jun¹, CHEN Jia-ning¹, TANG Jian-hua²,
GU Qiu-ping², DIAO Hong-yan^{1*}

(1. State Key Laboratory for Diagnosis and Treatment of Infectious Diseases, Collaborative Innovation Center for Diagnosis and Treatment of Infectious Diseases, The First Affiliated Hospital, College of Medicine, Zhejiang University, Hangzhou 310003, China; 2. Ganzhou People's Hospital, Ganzhou 341000)

【Abstract】 Intestine and liver have very closely relationship due to the gut-liver axis, intestinal disease can affect the liver function, and the liver disease may also induce intestinal disorders. The germ-free animals have no living bacteria, fungi, viruses and parasites. The appearance of germ-free animals provides a powerful experimental tool for studying the interaction between the host and the intestinal microorganisms. At the same time, due to the characteristics of lacking normal intestinal flora, germ-free animals play a great role in promoting the study of gut-liver axis. In this paper, we will briefly review the application prospects of germ-free animals in the research of gut-liver axis.

【Key words】 Germ-free animal; Gut-liver axis; Intestinal microflora

Corresponding author: DIAO Hong-yan. E-Mail: diaohy@zju.edu.cn

无菌动物是指身体任何部位及生活环境中均检测不出任何活的细菌、真菌、病毒及寄生虫的动物。通常情况下, 哺乳动物在母体的子宫内时处于完全的无菌状态。构建无菌动物可通过将临产动物的子宫取出后转移到无菌手术隔离器中, 然后在隔离器内将子宫剖开, 从而获得完全无菌的新生动物。接

下来将此无菌新生动物在无菌隔离包中给予无菌饲料和水饲养, 待其成年后在无菌环境内繁殖后代, 从而建立无菌动物^[1-4]。无菌动物已经成为了一种重要的科研工具, 它不仅在肠道菌群的研究中发挥了举足轻重的作用, 而且在免疫及代谢的研究中也发挥着关键作用^[1, 5, 6]。

【基金项目】 国家自然科学基金面上项目 (No. 81571953); 浙江省医药卫生科技项目省部共建计划 (No. 2015118507); 浙江省自然科学基金面上项目 (No. LY16H190002)。

【作者简介】 魏应凤 (1988 -), 男, 博士, 主要从事肝病及肠病的免疫发病机制研究。Email: wyf1988@aliyun.com

【通讯作者】 刁宏燕, 女, 博士, 教授, 博士生导师, 主要从事肝病的免疫发病机制研究。Email: diaohy@zju.edu.cn

肠道和肝脏之间关系密切,“肠-肝轴”的概念在 1998 年由马歇尔提出,肝脏疾病与肠道粘膜屏障及肠道菌群的关系日益受到关注。肠道和肝脏有着相同的胚胎起源,因此他们有着非常密切的解剖和功能关系^[7]。肝脏的血流供应 70% 左右是来自于门静脉,而门静脉的血液主要是来自于肠系膜上及肠系膜下静脉,这组静脉血管中含有来自于消化道的各种微生物的代谢产物及其他消化道代谢物^[8]。肠道屏障的改变会增加肠腔内的细菌和毒素等物质进入肠系膜静脉,然后这些物质可随血流到达肝脏,从而影响肝脏的功能。另一方面,肝脏的功能的变化对肠道内稳态也会造成很大影响,比如肝硬化患者和正常人相比肠道菌群会发生巨大改变^[9],小鼠发生急性肝脏损伤时肠道的通透性也会发生巨大的改变^[10]。

无菌动物的肠道没有微生物,它的出现为肠-肝轴的研究提供了新方法开辟了新思路。无菌鼠的出现方便了研究正常肠道菌群对维持机体功能发挥的作用,结合菌群移植等技术为探究各类不同肠道菌群对机体各类正常功能的维持和各类疾病的发展提供了可能。无菌鼠在肠-肝轴研究中有得天独厚的优势,我们课题组应用无菌小鼠研究了急性肝损伤,发现无菌小鼠对刀豆蛋白诱导的急性肝脏损伤不敏感,这一现象和无菌小鼠肠道缺乏活化肝脏自然杀伤性 T 细胞(natural killer T, NKT)的糖脂质抗原相关^[10]。近些年应用无菌动物研究肠-肝轴的报道越来越多^[11-14],本文就无菌动物在肠-肝轴研究中的应用前景作简要综述。

1 无菌动物

越来越多的研究证实,肠道微生物在正常生理功能的维持和疾病的发生发展中起重要作用,比如肠道微生物可以调节骨密度,影响大脑的发育和人的行为,影响心血管系统及调节肝脏功能^[15-18]。无菌动物的出现为微生物与宿主之间相互作用的研究提供了有力的实验工具,特别是对肝脏与肠道微生物之间相互作用的研究起到了极大推进作用。

1.1 无菌动物的建立

无菌动物的概念最早在 1885 年由巴斯德提出,在 1895 年世界上第一批无菌动物(无菌猪)诞生在柏林大学,当时这些猪只存活了 13 d。由于技术及条件的限制,无菌动物发展的道路非常坎坷,直至 1940 年科学家们才成功构建出了第一批无菌大鼠,

到 1959 年才成功培育出第一批无菌小鼠^[3, 19, 20]。发展初期,无菌动物是在无菌不锈钢笼中培育的,随着技术的进步渐渐的开发出了更加灵活轻便的塑料无菌笼。无菌动物培育装置为动物提供一个与外界隔绝的无菌生活环境,所需物品都是经过完全消毒灭菌后再通过无菌屏障传送到无菌培育装置中。建立一个新品系无菌动物需要较长时间,以建无菌小鼠品系为例,首先通过无菌剖宫产技术将胎儿从普通小鼠母体中取出来,转运到无菌培育装置中以后用其他无菌母鼠代乳,给鼠食用灭菌的食物和水。而且,通过剖宫产技术得到的第一代无菌小鼠不宜用于实验,它们可能含有从非无菌小鼠母体中获得病毒或细菌^[3]。在无菌小鼠的培育过程中,需使用粪便样本培养基 16S PCR 检测技术实时检测小鼠是否被污染^[21]。

1.2 无菌动物的特征

和普通动物相比,无菌动物除了无菌以外,在营养、代谢、身体结构及免疫方面都有自己的特点。下面以无菌小鼠为例,对这些特点进行简要举例。和普通小鼠不同,无菌小鼠需要在食物中额外添加维生素 K 和 B 才能保持健康,无菌小鼠的体脂比更低,且无菌鼠的基础代谢率较低^[3]。在身体结构方面,相比普通小鼠,无菌鼠的肝脏体积和肠道总质量更小,无菌鼠的肠道固有层和结肠壁更薄,更为突出的是无菌鼠有巨大的盲肠^[3]。此外,无菌鼠和普通鼠的免疫系统也存在一定差异,无菌鼠更容易诱发感染^[3]。

1.3 国内外无菌动物培育的现状

近些年,随着各种疾病和菌群关系的研究需求拉动,国内外对无菌动物的培育越来越重视,全球各国对无菌平台的建设迅速增长,欧洲以小鼠变异库为核心建设了欧洲悉生动物资源体系,美国以悉生动物资源中心为核心构建了国家级的悉生动物平台。在国内,第三军医大学无菌动物课题组突破了无菌小鼠培育的关键技术,在国内建立了最具影响力的无菌动物平台,培育了 C57BL/6 J、BALB/c、DBA 及 KM 小鼠等无菌鼠品系^[11];此外,浙江大学传染病诊治国家重点实验室建立了无菌大鼠品系,为肠道微生态的研究提供了有力工具^[22]。

2 肠-肝轴

肠道和肝脏之间有着非常密切的解剖和功能关系,肝脏疾病可以引起肠道功能紊乱,而且肠道疾病

也会带来肝脏功能的损伤。

2.1 肝脏疾病诱发肠道功能紊乱

肝脏疾病患者通常合并恶心、呕吐及腹泻等胃肠道症状,这些症状的出现与肝脏疾病可诱发肠道功能紊乱相关。肝脏功能紊乱时可能降低肠道的蠕动,促进肠道细菌生长,诱发细菌异位及导致肠道血流循环障碍等。在肝硬化的病人中,有研究提示肝硬化会降低肠道的蠕动^[23, 24],然而肠道活动能力受阻的程度和肝功能的 Child-Pugh 分级不呈正相关^[24]。小鼠门脉高压模型研究提示,肠蠕动受阻和升高的门脉压力阻碍了肠道的肌电活动相关^[25]。肠道蠕动能力受阻会进一步诱发其他肠道功能紊乱发生,肠腔内细菌可能因此而过分生长。有研究指出,20%~75%的慢性肝病患者会出现肠道细菌异常增长,该现象的发生率和肝脏疾病的严重程度有一定相关性^[26]。肝病患者肠道细菌的异常增长可能和患者的胃酸分泌减少、肠腔 IgA 缺乏,营养失调及肠蠕动异常相关。肠道细菌异常增长可诱发维生素 B12、碳水化合物、脂肪和蛋白质的吸收异常,可增加肝脏细菌毒素的积聚,导致肝脏胆汁酸的异常分泌,从而进一步的加重肝脏损伤^[27, 28]。此外,严重肝脏疾病引起的门脉高压可进一步的导致肠道淤血,从而影响肠道微生态平衡及营养物质的吸收。总之,由于肝脏与肠道的解剖及功能的紧密关系,肝脏疾病会间接的导致肠道功能的紊乱。

2.2 肠道疾病合并肝脏损伤

肠道和肝脏解剖关系密切,门静脉提供肝脏 70%左右的血流,且门静脉血主要来源于肠系膜静脉,肠道中微生物的代谢物、肠道分泌物及消化产物可以通过门脉到达肝脏,进而调节肝脏功能。炎症性肠病(IBD)是一种特发性肠道炎症性疾病,包括溃疡性结肠炎(UC)和克罗恩病(CD)。IBD 通常合并肝脏及胆道疾病,比如 CD 患者常常合并肝肉芽肿^[29],大约 40%~50%的 IBD 患者合并脂肪肝,一些出现瘘管及肛周病变的 CD 患者可合并肝淀粉样变性^[30]。肠道肿瘤的发病率越来越高,特别是结肠及直肠肿瘤给人类健康造成极大的威胁,由于肝脏和肠道密切的解剖关系,很多肠道肿瘤首发转移到肝脏。根据文献报道,肠道感染也会影响到肝脏,比如某些细菌引起的感染性腹泻导致进入肝脏的内毒素增加,进而引起明显的肝功能异常^[31]。总之,肠道和肝脏之间可以通过肠-肝轴相互影响,肠-肝轴在肠道及肝脏疾病的发生机制中起重要作用。

3 无菌动物在肠-肝轴研究中的应用

近些年,关于肠-肝轴的研究越来越多,无菌动物成为研究肠-肝轴的有力工具,无菌动物可为研究单一细菌或者部分肠道微生物与宿主的相互作用提供简单模型。下面我们将对无菌鼠在肝脏及肠道相关疾病研究中的应用做简要总结。

3.1 肠道菌群影响肝脏的损伤和修复

肝脏有丰富的血流供应,很多因素可以诱发肝脏损伤,但是肝脏又具有极强的自我修复能力。无菌动物在研究肠道菌群对肝脏损伤及修复的影响及机制中有很大的优势,这方面的研究也越来越多。早在 1990 年,有研究发现部分肝切除的无菌小鼠肝脏修复速度要明显比正常小鼠慢,肠道细菌来源的脂多糖(LPS)可以促进肝脏的修复^[32]。近些年的另外一项研究发现,和普通小鼠相比,酒精过量摄入可以在无菌小鼠诱发更加严重的肝脏损伤,并且酒精可以在无菌小鼠的肝脏中诱发更加明显的肝脂肪变性,这些现象可能和无菌小鼠缺乏肠道菌群影响酒精代谢有关^[33]。此外,我们课题组最近的研究发现无菌小鼠对刀豆蛋白诱导的急性肝脏损伤不敏感,这一现象和无菌小鼠肠道缺乏活化 NKT 的糖脂抗原密切相关^[10]。这些应用无菌小鼠研究肝-肠轴的文献显示,肠道菌群在肝脏的损伤和修复中发挥关键作用。

3.2 肠道菌群影响肝脏代谢

肝脏是体内以代谢为主要功能的器官,许多药物的代谢都要经过肝脏,研究发现无菌动物肝脏中药物代谢酶的表达谱与普通动物有很大差异,且对无菌动物的肠道菌群进行重构可以间接的改变肝脏药物代谢酶的表达谱^[11, 13, 34, 35]。和普通小鼠相比,无菌小鼠肝脏中的细胞色素氧化酶(Cyp1a2) 基因的表达水平增加了 51%,过氧化物酶体增殖物激活受体 α (PPAR α) 的表达水平增加了 202%^[34]。然而,无菌小鼠肝脏中也有一些药物代谢基因如 Cyp2b10、Cyp3a11 的表达水平却显著低于普通小鼠^[34]。此外,有研究发现,在无菌小鼠的饮水中加入 8 种活菌(包括 3 种双歧菌、4 种乳酸菌和 1 种链球菌)喂养一段时间后,UDP-葡萄糖醛酸转移酶 1a9 和 2a3 的表达水平显著降低^[13]。这些数据表明,肠道细菌对肝脏各类药物代谢酶的表达起重要的调节作用,肠道菌群是肝脏药物代谢能力的一种重要调控因素。

在无菌动物的研究中,不但发现肠道菌群对肝脏的损伤、修复及代谢起重要调节作用,也有研究发现肠道菌群对肝脏的分泌功能及肝脏肿瘤生成过程起调节作用^[14, 36]。这些数据说明,无菌鼠在研究肠道细菌对肝脏代谢的作用方面有很大的应用前景。

3.3 无菌动物在肠道研究中的应用

此外,无菌动物在肠道疾病的研究中也有非常大的应用价值。有研究报道,相比普通小鼠,无菌小鼠有很强的抗肠道细菌 IgA 反应,但是缓慢的给无菌小鼠肠道定植肠道细菌可以逐渐的减弱这种 IgA 免疫反应^[37]。也有研究报道,在无菌小鼠中,一些非致病细菌会调节结肠上皮细胞中基因的表达^[38]。此外,无菌小鼠目前也被用于肠道炎症及肠道肿瘤的研究^[39]。总之,无菌动物的出现对肠-肝轴的研究起了很大的推动作用,无菌动物逐渐被使用到各种肝脏及肠道相关疾病的研究中。

4 总结

肠道和肝脏之间关系密切,肠道菌群、肠道分泌物及肠道消化产物可以通过肠-肝轴的作用调节肝脏的功能及疾病的发生,肝脏也可以通过肠-肝轴的作用影响肠道。肠-肝轴的研究越来越受到关注,无菌动物逐渐成为了研究肠-肝轴的热门实验工具。目前的一些研究发现无菌动物在肝脏损伤、修复及代谢,还有肠道的免疫、炎症及肿瘤等研究中有很高的利用价值。由于无菌动物得天独厚的优势,相信它在肠-肝轴研究中有非常广阔的应用前景。

参 考 文 献

- [1] 曾本华, 魏泓. 无菌动物与微生物学专题教学改革实践 [J]. 中国微生物学杂志, 2017, 29(3): 354 - 356.
- [2] Gordon HA. The germ-free animal [J]. Am J Digest Dis, 1960, 5(10): 841 - 867.
- [3] Al-Asmakh M, Zadjali F. Use of germ-free animal models in microbiota-related research [J]. J Microbiol Biotechnol, 2015, 25(10): 1583 - 1588.
- [4] Corring T, Juste C, Simoes-Nunes C. Digestive enzymes in the germ-free animal [J]. Reprod Nutr Dev, 1981, 21(3): 355 - 370.
- [5] Backhed F, Manchester JK, Semenkovich CF, et al. Mechanisms underlying the resistance to diet-induced obesity in germ-free mice [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2007, 104(3): 979 - 984.
- [6] Koren O, Goodrich JK, Cullender TC, et al. Host remodeling of the gut microbiome and metabolic changes during pregnancy [J]. Cell, 2012, 150(3): 470 - 480.
- [7] 陈蛟, 张映林, 刘作金. 肝肠轴相关机制研究进展 [J]. 现代医药卫生, 2014, 30(22): 3405 - 3408.
- [8] Szabo G, Bala S, Petrasek J, et al. Gut-liver axis and sensing microbes [J]. Dig Dis, 2010, 28(6): 737 - 744.
- [9] Qin N, Yang F, Li A, et al. Alterations of the human gut microbiome in liver cirrhosis [J]. Nature, 2014, 513(7516): p. 59 - 64.
- [10] Wei Y, Zeng B, Chen J, et al. Enterogenous bacterial glycolipids are required for the generation of natural killer T cells mediated liver injury [J]. Sci Rep, 2016, 6: 36365.
- [11] Kuno T, Hirayama-Kurogi M, Ito S, et al. Effect of intestinal flora on protein expression of drug-metabolizing enzymes and transporters in the liver and kidney of germ-free and antibiotics-treated mice [J]. Mol Pharm, 2016, 13(8): 2691 - 2701.
- [12] Canesso MCC, Lacerda NL, Ferreira CM, et al. Comparing the effects of acute alcohol consumption in germ-free and conventional mice: the role of the gut microbiota [J]. BMC Microbiol, 2014, 14: 240.
- [13] Selwyn FP, Cheng SL, Klaassen CD, et al. Regulation of hepatic drug-metabolizing enzymes in germ-free mice by conventionalization and probiotics [J]. Drug Metab Dispos, 2016, 44(2): 262 - 274.
- [14] Selwyn FP, Csanaky IL, Zhang Y, et al. Importance of large intestine in regulating bile acids and glucagon-like peptide - 1 in germ-free mice [J]. Drug Metab Dispos, 2015, 43(10): 1544 - 1556.
- [15] Al - Asmakh M, Anuar F, Zadjali F, et al. Gut microbial communities modulating brain development and function [J]. Gut Microbes, 2012, 3(4): 366 - 373.
- [16] Bjorkholm B, Bok CM, Lundin A, et al. Intestinal microbiota regulate xenobiotic metabolism in the liver [J]. PLoS One, 2009, 4(9): e6958.
- [17] Sjogren K, Engdahl C, Henning P, et al. The gut microbiota regulates bone mass in mice [J]. J Bone Miner Res, 2012, 27(6): 1357 - 1367.
- [18] Stepankova, R, Tonar Z, Bartova J, et al. Absence of microbiota (germ-free conditions) accelerates the atherosclerosis in ApoE-deficient mice fed standard low cholesterol diet [J]. J Atheroscler Thromb, 2010, 17(8): 796 - 804.
- [19] Wostmann BS. The germfree animal in nutritional studies [J]. Annu Rev Nutr, 1981, 1: 257 - 279.
- [20] Yi P, Li L. The germfree murine animal: an important animal model for research on the relationship between gut microbiota and the host [J]. Vet Microbiol, 2012, 157(1 - 2): 1 - 7.
- [21] Smith K, McCoy KD, Macpherson AJ. Use of axenic animals in studying the adaptation of mammals to their commensal intestinal microbiota [J]. Semin Immunol, 2007, 19(2): 59 - 69.
- [22] 易萍. 无菌大鼠模型的建立及相关生物学特性研究 [D]. 2013, 浙江大学.
- [23] Wegener M, Schaffstein J, Dilger U, et al. Gastrointestinal transit of solid-liquid meal in chronic alcoholics [J]. Dig Dis Sci, 1991, 36(7): 917 - 923.
- [24] Van Thiel DH, Fagioli S, Wright HI, et al. Gastrointestinal

- transit in cirrhotic patients: effect of hepatic encephalopathy and its treatment [J]. *Hepatology*, 1994, 19(1): 67–71.
- [25] Stewart JJ, Battarbee HD, Farrar GE, et al. Intestinal myoelectrical activity and transit time in chronic portal hypertension [J]. *Am J Physiol*, 1992, 263(4 Pt 1): G474–479.
- [26] Morencos FC, de las Heras Castano G, Martin Ramos L, et al. Small bowel bacterial overgrowth in patients with alcoholic cirrhosis [J]. *Dig Dis Sci*, 1995, 40(6): 1252–1256.
- [27] Shindo K, Machida M, Miyakawa K, et al. A syndrome of cirrhosis, achlorhydria, small intestinal bacterial overgrowth, and fat malabsorption [J]. *Am J Gastroenterol*, 1993, 88(12): 2084–2091.
- [28] Baraona E, Julkunen R, Tannenbaum L, et al. Role of intestinal bacterial overgrowth in ethanol production and metabolism in rats [J]. *Gastroenterology*, 1986, 90(1): 103–110.
- [29] Dordal E, Glagov S, Kirsner JB. Hepatic lesions in chronic inflammatory bowel disease. I. Clinical correlations with liver biopsy diagnoses in 103 patients [J]. *Gastroenterology*, 1967, 52(2): 239–253.
- [30] Guardiola – Arevalo A, Alcantara-Torres M, Valle-Munoz J, et al. Amyloidosis and Crohn's disease [J]. *Rev Esp Enferm Dig*, 2011, 103(5): 268–274.
- [31] Khosla SN, Singh R, Singh GP, et al. The spectrum of hepatic injury in enteric fever [J]. *Am J Gastroenterol*, 1988, 83(4): 413–416.
- [32] Cornell RP, Liljequist BL, Bartizal KF. Depressed liver regeneration after partial hepatectomy of germ-free, athymic and lipopolysaccharide-resistant mice [J]. *Hepatology*, 1990, 11(6): 916–922.
- [33] Chen P, Miyamoto Y, Mazagova M, et al. Microbiota protects mice against acute alcohol-induced liver injury [J]. *Alcohol Clin Exp Res*, 2015, 39(12): 2313–2323.
- [34] Selwyn FP, Cui JY, Klaassen CD. RNA-seq quantification of hepatic drug processing genes in germ-free mice [J]. *Drug Metab Dispos*, 2015, 43(10): 1572–1580.
- [35] Selwyn FP, Cheng SL, Bammler TK, et al. Developmental regulation of drug-processing genes in livers of germ-free mice [J]. *Toxicol Sci*, 2015, 147(1): 84–103.
- [36] Grant GA, Roe FJ. Influence of germ-free status on hepatoma induction by 7, 12 – dimethylbenz(a) anthracene in C3H mice [J]. *Nature*, 1969, 222(5200): 1282–1283.
- [37] Hapfelmeier S, Lawson MA, Slack E, et al. Reversible microbial colonization of germ-free mice reveals the dynamics of IgA immune responses [J]. *Science*, 2010, 328(5986): 1705–1709.
- [38] Fukushima K, Ogawa H, Takahashi K, et al. Non-pathogenic bacteria modulate colonic epithelial gene expression in germ-free mice [J]. *Scand J Gastroenterol*, 2003, 38(6): 626–634.
- [39] Tlaskalova-Hogenova H, Stepankova R, Kozakova RH, et al. The role of gut microbiota (commensal bacteria) and the mucosal barrier in the pathogenesis of inflammatory and autoimmune diseases and cancer: contribution of germ-free and gnotobiotic animal models of human diseases [J]. *Cell Mol Immunol*, 2011, 8(2): 110–120.

[收稿日期] 2017–10–09

(上接第 670 页)

- [22] Wing K, Klocke K, Samuelsson A, et al. Germ free mice deficient of reactive oxygen species have increased arthritis susceptibility [J]. *Eur J Immunol*, 2015, 45(5): 1348–1353.
- [23] Liu X, Zeng B, Zhang J, et al. Role of the gut microbiome in modulating arthritis progression in mice [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 30594.
- [24] Filho RACP, Díaz SJA, Fernando FS, et al. Immunomodulatory activity and control of Salmonella, Enteritidis colonization in the intestinal tract of chickens by Lactobacillus based probiotic [J]. *Veter Immunol Immunopathol*, 2015, 167(1–2): 64–69.
- [25] Niess JH, Leithäuser F, Adler G, et al. Commensal gut flora drives the expansion of proinflammatory CD4 T cells in the colonic lamina propria under normal and inflammatory conditions [J]. *J Immunol*, 2008, 180(1): 559–568.
- [26] De AM, Francavilla R, Piccolo M, et al. Autism spectrum disorders and intestinal microbiota [J]. *Gut Microbes*, 2015, 6(3): 207–213.
- [27] Van Praet JT, Donovan E, Vanassche I, et al. Commensal microbiota influence systemic autoimmune responses [J]. *Embo Journal*, 2015, 34(4): 466–474.
- [28] Krych L, Nielsen D S, Hansen A K, et al. Gut microbial markers are associated with diabetes onset, regulatory imbalance, and IFN- γ level in NOD mice [J]. *Gut Microbes*, 2015, 6(2): 101–109.
- [29] Nemoto Y, Kanai T, Kameyama K, et al. Long-lived colitogenic CD4⁺ memory T cells residing outside the intestine participate in the perpetuation of chronic colitis [J]. *Gastroenterology*, 2009, 133(8): 5059–5068.
- [30] Mazmanian SK, Round JL, Kasper DL. A microbial symbiosis factor prevents intestinal inflammatory disease [J]. *Nature*, 2008, 453(7195): 620–625.
- [31] Mattner J, Debord K L, Ismail N, et al. Exogenous and endogenous glycolipid antigens activate NKT cells during microbial infections [J]. *Nature*, 2005, 434(7032): 525–529.
- [32] Costello M, Ciccio F, Willner D, et al. Brief report: intestinal dysbiosis in ankylosing spondylitis [J]. *Arthritis Rheumatol*, 2015, 67(3): 686–691.
- [33] Kelly D, Mulder IE. Microbiome and immunological interactions [J]. *Nutr Rev*, 2012, 70 Suppl 1: S18–30.

[收稿日期] 2017–09–10