

人类免疫缺陷病毒感染者肠道微生态及代谢物和肠黏膜屏障损伤的相关性

Intestinal microecology and metabolite and intestinal mucosal barrier damage in HIV-infected patients

邓忠芸¹, 崔凡^{1,2△}

DENG Zhong-yun, CUI Fan

1. 电子科技大学, 四川 成都 610054; 2. 四川省医学科学院·四川省人民医院(电子科技大学附属医院)皮肤性病研究所, 四川 成都 610031

【摘要】 人类免疫缺陷病毒(HIV)感染过程中,肠道CD4⁺T细胞被大量破坏,黏膜屏障损伤、免疫功能障碍。这导致肠道微生物群、肠道上皮细胞和肠道黏膜免疫组成的肠道微生态失衡,从而微生物易位、免疫激活。肠黏膜损伤和微生物易位的水平与非艾滋病合并症的风险和艾滋病感染者的死亡率密切相关。HIV感染者肠道损伤和微生物易位的血液生物标志物在大量文献中被作为非艾滋病共病的风险标志物。在这篇综述中,重点讨论HIV感染者中肠道微生态的变化、肠黏膜屏障的损伤以及作为血液生物标志物的代谢物的变化。

【关键词】 人类免疫缺陷病毒感染;肠道微生态;肠黏膜屏障;代谢物

【中图分类号】 R512.91

【文献标志码】 B

【文章编号】 1672-6170(2024)04-0168-05

艾滋病是由人类免疫缺陷病毒(HIV)感染引起的获得性免疫缺陷综合征(AIDS)。肠道是HIV感染的主要靶器官,感染早期黏膜CD4⁺T细胞严重损耗,黏膜屏障损伤、免疫功能障碍,导致微生物群失调、微生物易位和免疫激活,这是非感染性共病和死亡的主要原因。经过抗逆转录病毒治疗(ART)后HIV感染者发病率和死亡率大幅下降。尽管经过ART后病毒得到显著抑制、循环的CD4⁺T细胞恢复、全身炎症水平降低,但是肠黏膜屏障损伤和免疫功能障碍仍然存在^[1]。HIV感染者肠道微生物易位,随之全身免疫激活,加速艾滋病的进展。肠道菌群失调、肠黏膜屏障损伤和微生物易位会导致血浆中相应代谢物水平的改变,如微生物易位标志物:脂多糖(LPS)、可溶性CD14(sCD14)、内毒素核心抗体(EndoCAb)、短链脂肪酸(SCFAs)、(1-3)-β-D-葡聚糖(β-DG),肠道损伤标志物:肠道脂肪酸结合蛋白(I-FABP)。作为测量肠道屏障损伤程度和微生物易位的有效生物标志物,这些指标易于从血液中获得、能够进行准确可重复的测量。笔者从近年来HIV感染者肠道微生态及代谢物和肠黏膜损伤的变化做一综述。

1 肠道微生态与肠黏膜

1.1 肠道微生态与肠道菌群 肠道微生态是人类微生态的主要组成部分。肠道微生态由肠道微生物群、肠道上皮细胞和肠道黏膜免疫系统组成。肠道微生态参与消化吸收和物质代谢,抑制致病微生物

物的生长,它还作为机体的天然免疫屏障,调节肠道的先天免疫,控制黏膜屏障功能,并参与肠上皮细胞增生或凋亡等生理活动^[2]。肠道微生物组成成分除了细菌,也包括真菌与病毒,它们按一定比例组合,相互制约、相互依赖。

1.2 肠黏膜屏障 肠黏膜屏障主要是由以下几方面组成的:生物屏障、物理屏障、免疫屏障。①生物屏障:主要包括共生菌和病原菌等各种肠道菌群;②物理屏障:主要包括黏液层、肠上皮细胞和紧密连接;③免疫屏障:包括免疫球蛋白和免疫细胞,如T细胞、B细胞等^[3]。

1.2.1 生物屏障是肠道屏障的第一道防线 微生物遍布人体各处,包括胃肠道、皮肤、唾液和口腔黏膜等。在人类微生物群中,细菌数量远超真核生物和古细菌2~3个数量级。而绝大多数的细菌存在于结肠中,约为10¹⁴个,其次是皮肤,约为10¹²个。在消化道中细菌总数占比最大的为结肠,而胃和小肠占的比例微不足道。肠道微生物群中有最高的微生物负荷、多样性和功能效能,包括必需营养素的生物合成、膳食成分的化学修饰和免疫调节分子的来源^[4]。此外,它还具有抵抗病原菌入侵、调节肠道黏膜免疫应答等作用。健康人类肠道菌群包含9个细菌门,其中厚壁菌门(Firmicutes)、放线菌门(Actinobacteria)、拟杆菌门(Bacteroidetes)和变形菌门(Proteobacteria)占主导地位。主要的细菌科有毛螺旋菌科(Lachnospiraceae)、瘤胃球菌科(Ruminococcaceae)、普雷沃菌科(Prevotellaceae)、拟杆菌科(Bacteroidaceae)和理研菌科(Rikenellaceae)^[4]。健康人类真菌群落包括390种真菌,包括皮肤、阴道、口腔和消化道中的335种158属。真菌生物群

【基金项目】 国家自然科学基金资助项目(编号:81101231)

△通讯作者

只占人类微生物群落的一小部分,但在维持体内平衡方面发挥着重要作用。在生理状态下,胃肠道中的优势真菌念珠菌属与人体处于共生状态。肠道上皮细胞从肠道共生微生物或入侵病原体中获取信号,通过向免疫细胞呈递信号和调节肠黏膜屏障来适应肠道环境的变化^[3]。

1.2.2 物理屏障 黏液层、肠上皮细胞和紧密连接共同构成肠黏膜的物理屏障。作为结肠抵御共生菌和入侵病原体的第一道物理屏障,黏液层由杯状细胞分泌的黏液不断补充覆盖在肠道上皮形成。黏蛋白(MUCs)是结肠黏液层的主要结构及功能成分。MUCs 可根据其分泌方式及分布部位的不同分为分泌 MUCs 及跨膜 MUCs,肠道黏液的主要成分是分泌 MUCs 中的 MUC2^[5],其由杯状细胞合成、分泌,形成黏液骨架,限制病原微生物群的定植和入侵。MUC2 复杂的 O-糖基还可作为肠道共生菌提供结合位点,有利于肠道微生态的建立及平衡。MUC1 具备保护上皮细胞、参与宿主-微生物群之间相互作用的功能^[6]。因此,黏液层是肠黏膜屏障的重要组成部分。

肠上皮细胞形成动态单层的上皮屏障,上皮单分子层通常将宿主与外界环境隔离开来,以避免不必要的抗原入侵所带来的危害。肠上皮细胞由多种具备明确功能的不同细胞类型所组成:吸收性肠上皮细胞、潘氏细胞、肠内分泌细胞、杯状细胞、簇状细胞和微褶细胞,它们分别在吸收、抗菌肽分泌、激素分泌、黏液产生、味觉-化学感觉反应和抗原采样等方面发挥作用^[7]。如潘氏细胞分泌多种化学屏障分子,包括抗菌肽、防御素和 Reg3 家族蛋白,它们有助于保护肠道上皮免受肠道病原体的感染。

紧密连接是多种蛋白构成的复合物,广泛分布在上皮细胞和内皮细胞的顶侧膜区域。紧密连接是一种选择性的渗透性屏障,通过调节水、离子和大/小分子物质经旁细胞途径的转运,还限制细胞膜脂质和蛋白的自由流动。紧密连接主要由闭合蛋白(Occludin)、密封蛋白(Claudin)家族、连接黏附分子(JAMs)、闭锁小带蛋白(ZO)1-3、三细胞紧密连接跨膜蛋白和扣带蛋白组成^[8]。Claudin 1 降低了细胞旁通透性并增加屏障功能,而 Claudin 2 则与孔隙形成有关并增加细胞旁通透性。ZO 蛋白通过 N 端区域与许多跨膜蛋白相互作用,而 C 端则与肌动蛋白细胞骨架和细胞骨架相关的蛋白相互作用。因此,紧密连接对肠道屏障完整性及功能起着重要作用。

1.2.3 免疫屏障 肠道是人体重要的免疫器官,肠道黏膜免疫系统具有多种免疫细胞类型,如中性粒

细胞、单核细胞/巨噬细胞、树突状细胞、肥大细胞、固有淋巴细胞、B 细胞和 T 细胞。胃肠道是人体最大的淋巴器官,也是机体抵御感染性病原体的主要生理和免疫屏障。肠道免疫系统可以通过以下几种机制调节黏膜屏障功能:①分泌细胞因子;②调节抗菌肽的产生;③调节微生物群;④toll 样受体识别微生物相关分子模式^[9]。

2 HIV 感染者肠黏膜屏障损伤

2.1 HIV 感染后生物屏障的损伤 随着高通量测序技术和大数据处理技术的发展,我们对微生物失调与 HIV 感染之间关系的认识逐渐进步。HIV 感染者肠道微生物失调主要包括细菌菌群失调和真菌菌群失调。

2.1.1 细菌菌群失调 在 HIV 感染者肠道细菌菌群失调的研究中,大多数研究表明与未感染 HIV 的健康对照组相比,HIV 感染不同阶段的患者都存在菌群失调和菌群多样性的降低^[10-12]。在 HIV 感染者肠道菌群变化的研究中,大多数研究表明在门水平上 HIV 感染者厚壁菌门显著减少,而拟杆菌门与变形菌门显著增多^[10, 13, 14],也有研究表明与健康对照组相比 HIV 感染者拟杆菌门、变形菌门、厚壁菌门、放线菌门和梭菌门不存在显著差异^[12]。HIV 感染者的重要肠道黏膜保护因素较健康对照者降低,如瘤胃球菌科、毛螺旋菌科、理研菌科、拟杆菌科减少,相关的细菌代谢产物丁酸和戊酸水平降低^[12, 15]。同时,HIV 感染者的肠道黏膜破坏因素增加,如莫拉菌科(Moraxellaceae)和普雷沃氏菌(Prevotella)增加^[12],这与黏膜免疫细胞激活和系统性微生物易位相关,从而诱导持续炎症反应,加速 HIV 病程的发展。在经过 ART 之后,个体内部细菌类群的 beta 多样性显著增加,但 HIV 感染者肠道细菌菌群仍不能完全恢复至正常水平,如普雷沃氏菌与 ART 前相比显著减少,但与健康对照组相比厚壁菌门丰度仍然较低^[10]。在 HIV 感染后,有一小部分人 HIV 抗体呈阳性,但在未用药或停止用药的情况下,体内 HIV 病毒载量可以在很长时间内维持无法检测到的水平,这一类人群被称为精英控制者。精英控制者与病毒血症患者肠道微生物组成有差异,如在门水平上精英控制者中拟杆菌门丰度较病毒血症患者高,而变形菌门丰度较病毒血症患者低^[10]。

2.1.2 真菌菌群失调 肠道真菌只占肠道微生物比例的很小一部分,且高度可变^[16],但其对肠道微生态的平衡起着不可忽视的作用。在 HIV 感染者与健康对照组肠道真菌群落中均以子囊菌门和担子菌门最为丰富^[17],但 HIV 感染者中真菌物种多样

性有所下降。HIV 感染者正常微生物菌群失调,肠道细菌会降低对真菌的拮抗作用,肠道生态平衡被打破,与人体处于共生状态的肠道优势真菌念珠菌在肠道内过度生长。这种情况下,白念珠菌及其相关毒力因子通过黏附上皮细胞,诱导产生炎症介质而损伤上皮细胞,从而加重肠道上皮屏障的损害,促进微生物易位^[18]。研究发现与健康对照组相比,HIV 感染者中念珠菌属及白念珠菌在肠道中丰度显著增加^[19],在未治疗的 HIV 感染者中更为明显。

2.2 HIV 感染后物理屏障的损伤 在组织学上,HIV 感染主要表现为绒毛萎缩。HIV 诱导的屏障缺陷是由于上皮细胞的凋亡和紧密连接蛋白组成的改变。与健康对照组相比,HIV 感染者肠黏膜出现明显的炎细胞浸润,肠上皮细胞坏死脱落增加,肠腺数量减少、坏死增加,黏膜固有层坏死、肌层断裂^[20]。此外,在黏液层方面,HIV 感染者中随病程进展,分泌 MUCs 的杯状细胞数量减少、坏死增加,MUC1、MUC2 表达水平下降^[20]。因此,肠上皮细胞与黏液层对肠黏膜屏障的完整性起着重要作用。

关于紧密连接的破坏,在 Nazli 等研究中证实了以下几点:①暴露于 HIV 可以通过破坏紧密连接直接破坏肠黏膜上皮屏障的完整性;②紧密连接的破坏是由于 ZO-1 早期移位破坏紧密连接完整性,随后由于转录减少导致 ZO-1 蛋白减少;③HIV 感染者中紧密连接(Claudin, Occludin 和 ZO-1)的 mRNA 和蛋白水平表达显著降低;④屏障功能的破坏与病毒和细菌跨上皮单层易位有关^[21]。这是第一个证明 HIV 可以直接破坏黏膜上皮屏障功能,从而导致微生物易位增强的研究^[21]。由此可见,紧密连接对于肠黏膜物理屏障完整性的有不可或缺的作用。

2.3 免疫屏障 HIV 对 CD4⁺T 细胞有特殊的亲嗜性,而肠道是人体重要的 CD4⁺T 细胞库,是 CD4⁺T 细胞表达 CCR5 受体(HIV 感染所需细胞辅助因子)最多的部位,故肠道是 HIV 复制的主要场所,同时也是病毒攻击最主要的靶器官。HIV 感染引发的肠道 CD4⁺T 淋巴细胞消耗,主要影响 Th17 淋巴细胞。分泌肠细胞稳态促进因子(IL-17 和 IL-22)的细胞亚群(Th17、Th22 和 ILC3 细胞)大量丢失贯穿整个病程。这些淋巴细胞发挥着重要的黏膜免疫功能,因为它们在 IL-17 分泌时诱导肠道上皮细胞合成抗菌肽,以及招募中性粒细胞到肠道相关淋巴组织清除病原体^[22]。肠道免疫屏障的破坏引起局部发生炎症反应,进而大量中性粒细胞浸润、肠黏膜细胞凋亡,导致肠道物理屏障破坏,肠黏膜通透性增加。

3 HIV 感染者肠道损伤和微生物易位的血液标志

物

3.1 微生物易位标志物

3.1.1 LPS LPS 是革兰氏阴性菌细胞壁的特异性产物。在生理状态下,肠道屏障阻止微生物及其产物(如 LPS)进入体循环。Branchley 等报道慢性 HIV 感染者和 AIDS 患者血浆中 LPS 显著高于未感染者;经过 ART 会降低血浆中 LPS 水平^[23]。同时,也有研究表明 HIV 感染者血浆 LPS 水平高于健康对照组^[24]。在 HIV 病程缓慢进展者(CD4⁺T>500 细胞/ μ l, 持续时间>10 年,血浆 HIV-RNA 水平<10000 拷贝/ml)中,CD4⁺T 细胞计数与 LPS 水平呈正相关,这一观察证实了低病毒血症和稳定的 T 细胞计数有助于控制肠道微生物易位,控制疾病进展速度^[24]。

3.1.2 sCD14 sCD14 可直接与循环中的 LPS 结合,诱导激活全身炎症。在 Negi 等的研究中,证实 HIV 感染者中 sCD14 水平高于未感染者;与缓慢进展者相比,快速向艾滋病期发展的 HIV 感染者 LPS 和 sCD14 水平更高;此研究中观察到 CD4⁺T 细胞计数、病毒载量均与 sCD14 呈正相关^[24]。有研究也观察到在 HIV 感染者中 sCD14 是整个 HIV 感染过程中唯一显示与 CD4/CD8 比值和病毒水平显著相关的生物标志物^[15, 25]。另有研究表明虽然 sCD14 与 LPS 在 HIV 感染者中显著正相关,但只有 sCD14 水平与 HIV 进展相关标记物(hs-CRP 和 D-二聚体)独立相关^[26],因此 sCD14 被认为是 HIV 感染中更相关的测量指标。

3.1.3 EndoCAb EndoCAb 是 LPS 核心寡糖的 IgM 抗体,可以中和 LPS 活性^[25]。在急性微生物易位的情况下,这些抗体结合并清除循环中的 LPS,其滴度下降。在 Branchley 等的研究中,与健康对照组相比,急性/早期 HIV 感染者血浆中 EndoCAb 滴度显著降低;其血浆滴度与 LPS 之间存在显著负相关关系;在精英控制者中,血浆 LPS 水平低于进展者,而血浆 EndoCAb 滴度显著高于进展者;这一观察表明维持较高滴度的循环 EndoCAb 可以更有效地中和血浆 LPS,从而减少免疫激活,减缓疾病进展^[23]。

3.1.4 SCFAs SCFAs 是膳食纤维在结肠中发酵的主要产物,是调节机体活动重要的代谢物。SCFAs 主要包括乙酸、丙酸、丁酸和戊酸,它们在维持肠黏膜屏障功能方面发挥着重要作用。而在 SCFAs 中丁酸的作用是最重要的,包括作为结肠细胞的代谢能量来源、增加 Claudin-1 的转录从而增强肠道屏障功能、保护结肠细胞免受细胞损伤和应激。与健康对照组相比,HIV 感染者肠道中丁酸和戊酸明显减少,其他短链脂肪酸未发现明显差异;

相对应产丁酸和戊酸的菌群减少,在科水平上,丁酸和戊酸的浓度与理研菌科(Rikenellaceae)和瘤胃球菌科(Ruminococcaceae)呈正相关;在属水平上,丁酸和戊酸浓度与理研菌科的 Alistipes 属、毛螺旋菌科的 Roseburia 属正相关^[12]。在其余多篇研究中也表明 HIV 感染者中产丁酸的细菌减少、丁酸浓度降低^[11, 13, 15],丁酸的含量降低可能是导致 HIV 感染相关上皮屏障破坏的一个促成因素,从而导致微生物易位。

3.1.5 β -DG β -DG 是真菌细胞壁上的特有成分,具有高度免疫原性,可刺激中性粒细胞、巨噬细胞和 T 细胞。在 Mehraj 等的研究中,HIV 感染者中 β -DG 水平升高; β -DG 与 CD4⁺T 淋巴细胞计数呈负相关,与 ART 启动时间、病毒载量、LPS、sCD14 和 I-FABP 呈正相关;研究结果表明 β -DG 水平与细菌易位标记物、肠道黏膜损伤和 HIV 疾病进展相关^[27]。经过 ART 后,HIV 感染者血浆中 β -DG 水平有所降低,但仍高于健康对照组水平^[28, 29],且经 ART 后 LPS、sCD14 水平仍高于健康对照组;表明尽管病毒受到抑制,HIV 感染者与健康人相比免疫激活增强、肠道通透性改变和真菌易位。

3.2 肠道损伤标志物 血浆中 I-FABP 是一种细胞膜蛋白,富含于肠黏膜上皮绒毛中。在健康人中,它主要参与脂肪酸从肠细胞顶端膜到内质网的转运。在 Cheru 等的研究中,I-FABP 在 HIV 感染者中显著高于 HIV 阴性对照者和精英控制者;在慢性 HIV 感染者中,I-FABP 与膳食中添加糖和饱和脂肪酸的摄入量呈正相关^[30]。在 Meyer-Myklestad 等的研究中观察到免疫无应答者(INRs)的 I-FABP 高于免疫应答者(IRs);而 INRs 与 IRs 的肠道微生物组成无明显差异^[31]。另有研究表明 I-FABP 和微生物易位标记物 sCD14、LPS 水平之间无相关性^[26]。这些证据均表明在 HIV 感染中肠上皮细胞损伤和黏膜免疫功能障碍是独立于肠道微生物群的。

4 结论

HIV 感染破坏了肠道生物屏障、物理屏障、免疫屏障的完整性,促进微生物的易位和免疫激活。即使经过 ART 可抑制病毒、逐步恢复宿主免疫,但菌群失调、微生物易位、肠黏膜损伤和免疫激活仍不能完全逆转。本文总结了多种微生物易位和肠道损伤的血浆标记物信息,但由于研究设计的异质性,不同研究之间存在不一致的结果。未来需要更有力的证据来验证这些生物标志物在临床环境中或肠道修复中发挥的作用。

【参考文献】

[1] Ruiz-Briseno MDR, De Arcos-Jimenez JC, Ratkovich-Gonzalez S, et

- al. Association of intestinal and systemic inflammatory biomarkers with immune reconstitution in HIV plus patients on ART [J]. Journal of Inflammation-London, 2020, 17(1):32.
- [2] Fu Q, Song T, Ma X, et al. Research progress on the relationship between intestinal microecology and intestinal bowel disease [J]. Animal models and experimental medicine, 2022, 5(4):297-310.
- [3] Kayama H, Okumura R, Takeda K. Interaction Between the Microbiota, Epithelia, and Immune Cells in the Intestine [J]. Annual Review of Immunology, 2020,38:23-48.
- [4] Ahrodia T, Das S, Bakshi S, et al. Structure, functions, and diversity of the healthy human microbiome [J]. Progress in molecular biology and translational science, 2022, 191(1):53-82.
- [5] Hansson GC. Mucins and the Microbiome [J]. Annual Review of Biochemistry, 2020,89:769-793.
- [6] Pelaseyed T, Hansson GC. Membrane mucins of the intestine at a glance [J]. Journal of Cell Science, 2020, 133(5):240929.
- [7] Martens EC, Neumann M, Desai MS. Interactions of commensal and pathogenic microorganisms with the intestinal mucosal barrier [J]. Nature Reviews Microbiology, 2018, 16(8):457-470.
- [8] Otani T, Furuse M. Tight junction structure and function revisited [J]. Trends in Cell Biology, 2020, 30(10):805-817.
- [9] Di Tommaso N, Gasbarrini A, Ponziani FR. Intestinal barrier in human health and disease [J]. International Journal of Environmental Research and Public Health, 2021, 18(23):12836.
- [10] Nowak P, Troseid M, Avershina E, et al. Gut microbiota diversity predicts immune status in HIV-1 infection [J]. Aids, 2015, 29(18):2409-2418.
- [11] Lu W, Feng Y, Jing F, et al. Association between gut microbiota and CD4 recovery in HIV-1 infected patients [J]. Journal of the International Aids Society, 2018, 21:136-137.
- [12] Qing Y, Xie H, Su C, et al. Gut microbiome, short-chain fatty acids, and mucosa injury in young adults with human immunodeficiency virus infection [J]. Digestive Diseases and Sciences, 2019, 64(7):1830-1843.
- [13] Gonzalez-Hernandez LA, Del Rocio Ruiz-Briseno M, Sanchez-Reyes K, et al. Alterations in bacterial communities, SCFA and biomarkers in an elderly HIV-positive and HIV-negative population in western Mexico [J]. BMC Infectious Diseases, 2019, 19(1):234.
- [14] Russo E, Nannini G, Sterrantino G, et al. Effects of viremia and CD4 recovery on gut "microbiome-immunity" axis in treatment-naive HIV-1-infected patients undergoing antiretroviral therapy [J]. World Journal of Gastroenterology, 2022, 28(6):635-652.
- [15] Zhang Y, Xie Z, Zhou J, et al. The altered metabolites contributed by dysbiosis of gut microbiota are associated with microbial translocation and immune activation during HIV infection [J]. Frontiers in Immunology, 2023, 13:1020822.
- [16] Belvoncikova P, Splichalova P, Videnska P, et al. The human mycobiome: colonization, composition and the role in health and disease [J]. Journal of Fungi, 2022, 8(10):1046.
- [17] Jose Gosalbes M, Jimenez-Hernandez N, Moreno E, et al. Interactions among the mycobiome, bacteriome, inflammation, and diet in people living with HIV [J]. Gut Microbes, 2022, 14(1):2089002.
- [18] Zaongo S D, Ouyang J, Isnard S, et al. Candida albicans can foster