

实验室介绍



宋昕阳博士, 2021年起任中国科学院分子细胞科学卓越创新中心(生物化学与细胞生物学研究所)研究员, 博士生导师, 研究组长。该实验室主要利用无菌小鼠模型、小鼠遗传修饰或疾病模型, 并结合免疫学、微生物遗传学、分子生物学、基因组学、转录组学及代谢组学等多学科技术手段系统阐明各类共生微生物来源的小分子代谢产物调控宿主黏膜免疫稳态及疾病易感性的分子机理。

http://cemcs.cas.cn/sourcedb_cemcs_cas/zw/pi/202107/t20210708_6129280.html

肠道共生微生物脂质代谢物的黏膜免疫调节功能与机制

王亚婷 张浩浩 谢亚栋 宋昕阳*

(细胞生物学国家重点实验室, 中国科学院分子细胞科学卓越创新中心/生物化学与细胞生物学研究所, 上海 200031)

摘要 机体的肠道黏膜表面存在着大量与宿主免疫系统互作的共生微生物, 其所编码的代谢通路可产生多种具有免疫调节活性的小分子物质。膳食脂肪可经脂解作用形成游离脂肪酸, 并在肠道胆汁酸的协助下作为必需营养元素被机体所吸收利用。与此同时, 肠道共生微生物既可将宿主来源的胆汁酸转化为多种脱结合胆汁酸或次级胆汁酸, 也可将部分膳食来源的长链不饱和脂肪酸代谢为多种异构衍生物。目前, 关于肠道共生微生物介导的脂质代谢网络调控宿主黏膜免疫系统发育、成熟与功能的研究方兴未艾。结合该实验室的相关研究, 该文将对共生微生物脂质代谢物与肠道黏膜免疫互作机制的前沿进展进行综述与讨论。

关键词 肠道黏膜免疫; 共生微生物; 脂质代谢物

Mucosal Immunomodulatory Function and Mechanism of Gut Commensal Microorganism-Derived Lipid Metabolites

WANG Yating, ZHANG Haohao, XIE Yadong, SONG Xinyang*

(State Key Laboratory of Cell Biology, Center for Excellence in Molecular Cell Science, Shanghai Institute of Biochemistry and Cell Biology, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China)

收稿日期: 2023-11-27

接受日期: 2024-01-26

国家重点研发计划(批准号: 2022YFA0807300、2023YFA1800200)和国家自然科学基金(批准号: 32270945)资助的课题

*通信作者。Tel: 021-54921628, E-mail: xinyang.song@sibcb.ac.cn

Received: November 27, 2023

Accepted: January 26, 2024

The work was supported by the National Key R&D Program of China (Grant No.2022YFA0807300, 2023YFA1800200) and the National Natural Science Foundation of China (Grant No.32270945)

*Corresponding author. Tel: +86-21-54921628, E-mail: xinyang.song@sibcb.ac.cn

Abstract Trillions of symbiotic microorganisms interact with the host immune system on the surface of the intestinal mucosa. Their encoded microbial metabolic pathways can produce a variety of small molecules with immunomodulatory activities. Dietary fats undergo lipolysis to release free FAs (fatty acids). These FAs are then absorbed and utilized by the body as essential nutrients with the assistance of gut BAs (bile acids). Meanwhile, intestinal symbiotic microorganisms can convert host-derived BAs into deconjugated BAs or secondary BAs, and modify unsaturated long-chain FAs into various intestinal FA isomers. Research into how microbial lipid metabolic networks modulate the development, maturation, and function of our mucosal immune system is emerging. With this teams' relevant studies, this review will summarize and discuss the recent progress of mechanistic insights on the interaction between microbial lipid metabolites and gut mucosal immunity.

Keywords gut mucosal immunity; symbiotic microorganisms; lipid metabolites

1 人体共生微生物来源脂质分子的种类与结构

脂质分子是人体重要的能量来源,也对维持细胞膜结构稳定性至关重要。同时,其结构的多样性赋予其作为信号分子的功能,广泛参与机体的生理病理过程。脂质分子不仅来源于膳食摄入或机体内源代谢途径,亦可由定植在肠道黏膜表面的共生微生物群落合成与转化所提供。近年来,人体共生微生物来源脂质分子对机体健康维持或疾病进程的影响受到广泛的研究关注。

人体的黏膜屏障器官如肠道组织从新生到发育成熟的过程也伴随着人体与外界微生物共生关系的建立。人体的共生微生物包括细菌、真菌、病毒以及少量原生生物,其基因组合集被称为微生物组^[1-2]。据最新研究显示,肠道中的共生微生物以细菌为主,有1 000至4 000种之多,其数量达到38万亿,略多于我们30万亿的体细胞总数^[3]。这些肠道共生菌主要包括拟杆菌门(Bacteroidetes)、厚壁菌门(Firmicutes)、变形菌门(Proteobacteria)、疣微菌门(Verrucomicrobia)、放线菌门(Actinobacteria)、梭杆菌门(Fusobacteria)及蓝菌门(Cyanobacteria)类的微生物^[1]。作为人体的“第二基因组”,微生物组所编码的生物合成/转化代谢网络可将来源于机体或食物的天然前体物质(包括脂质分子等)转化成多种具有宿主生理病理调节活性的小分子物质^[4-5]。共生微生物来源的脂质活性分子主要分为结构脂质分子及脂质代谢分子两大类。前者主要包括如磷脂类(phospholipids)、甘油酯类(glycerolipids)、糖脂类(saccharolipids)、鞘脂类(sphingolipids)及磺酸脂类(sulfonolipids)等微生物膜脂组分^[6-7];后者主要包括微生物代谢类脂质分子如胆汁酸(bile acids)、胆固

醇(cholesterol)及激素(hormones)等甾醇类(sterols)微生物代谢物和各类短链或长链脂肪酸代谢物(short-chain or long-chain fatty acids)^[6-7]。

共生微生物的结构脂质分子对于其自身胞膜的完整性、膜蛋白的稳定性、电子传递链的能量产生以及抵御外界环境的压力至关重要。目前,我们对于微生物结构性膜脂分子的认识主要来源于少量的肠道革兰氏阴性细菌如大肠杆菌(*Escherichia coli*, *E. coli*)、拟杆菌(*Bacteroides*)、另支菌(*Alistipes*)及普雷沃氏菌(*Prevotella*)等。类似于真核生物的膜脂组分,共生微生物的膜脂也包括各类磷脂类分子:磷脂乙醇胺(phosphoethanolamine, PE)、磷酸甘油(phosphoglycerol, PG)、磷酸胆碱(phosphocholine, PC)、磷酸丝氨酸(phosphoserine, PS)及磷酸肌醇(phosphoinositol, PI)等;各类甘油酯类分子:甘油二酯(diacylglycerol, DAG)及甘油三酯(triacylglycerol, TAG)等^[8-9];拟杆菌门专属的鞘脂类分子:鞘氨醇(sphinganine)、神经酰胺磷酸乙醇胺(ceramide phosphoethanolamine, CerPE)、神经酰胺磷酸肌醇(ceramide phosphoinositol, CerPI)、二羟基神经酰胺(dihydroceramide, DHCer)、 α -半乳糖神经酰胺(α -galactosylceramide, α -GC)及一磷酸神经酰胺(ceramide-1-phosphate, Cer1P)等^[10]。同时也包括各类微生物特有的膜脂分子如由酰化脂质构造脂质A(lipid A)与不同头部糖类构造所组成的脂多糖分子(lipopolysaccharide, LPS)或脂寡糖(lipooligosaccharide, LOS)等^[11]。与宿主细胞膜脂分子相比,微生物膜脂分子具有独特的结构,比如其脂质酰基链长度存在奇数链的情况,且其末端会形成支链结构,这些不同于真核细胞的脂质结构使得这些分子会被宿主的先天免疫系统所识别,并

激活包括 Toll 样、Nod 样或 C-型凝集素受体在内的先天免疫受体^[6]。同时,微生物来源的脂质分子也可对宿主的免疫系统发挥抑制功能,如拟杆菌的鞘脂分子可以抑制宿主恒定自然杀伤 T 细胞(invariant natural killer T, iNKT)的数量以防止其过度活化带来的炎症效应^[12-13]。

共生微生物来源的脂质代谢分子可来源于对宿主或膳食来源天然前体的生物转化,其中主要包括脂肪酸(fatty acids)和甾醇类脂质(sterol lipids)分子两大类。微生物可产生结构独特的脂肪酸分子,包括一系列的短链脂肪酸分子(其脂肪酸链含 1~6 个碳原子),其中直链结构的短链脂肪酸如乙酸、丙酸和丁酸主要来自微生物对于膳食纤维的发酵作用,而支链结构的短链脂肪酸如 2-甲基丁酸、异丁酸和异戊酸主要来自微生物的支链氨基酸代谢途径^[14]。微生物来源的长链脂肪酸(其脂肪酸链的碳原子数大于 12)包括基于 α -酮酸(α -keto acid)从头合成的各类异式(iso-)或反异式脂肪酸分子(anteiso-fatty acids)如 13-甲基十四烷酸或 12-甲基十四烷酸^[15-16];基于单不饱和脂肪酸形成的碳环脂肪酸(carbocyclic fatty acids)^[16-17];以及通过微生物长链脂肪酸异构化通路形成的各类脂肪酸异构体及其异构化中间体等^[18]。微生物来源的甾醇脂质主要包括各类胆汁酸(bile acids)衍生物如脱结合胆汁酸(deconjugated bile acids)、次级胆汁酸(secondary bile acids)及非牛磺酸或甘氨酸的新型微生物结合胆汁酸(microbial-conjugated bile acids)^[19-21];各类胆固醇衍生物如硫酸胆固醇(cholesterol sulfate)及胆固醇修饰的葡萄糖苷(cholesteryl acyl α -glucoside)^[22-24];以及各类激素衍生物如葡萄糖醛酸化或硫化的雌激素(glucuronidated or sulfonated estrogen)等^[23,25]。

微生物来源的脂质分子对于维持微生物组自身的稳定性以及宿主的能量代谢、免疫稳态都至关重要,但由于人体共生微生物种属众多且差异巨大,相关脂质分子的微生物合成通路、转化途径及其结构分析鉴定仍有巨大的挖潜空间。同时,这类脂质作为肠道黏膜微环境中的重要胞外信号分子,其调控肠道各类型细胞发育编程、命运决定以及宿主黏膜稳态与疾病易感性的分子机理仍有广阔的研究前景。本文将就领域内的近期前沿进展进行综述,重点讨论微生物来源的胆汁酸及脂肪酸代谢通路及其产物分子的黏膜免疫调节功能与机制。

2 宿主肠道黏膜免疫屏障区域化的结构与功能

宿主肠道负责体内绝大部分营养和水分的吸收,在解剖学上分为小肠和大肠,根据其物理和结构特性又可将小肠细分为十二指肠、空肠和回肠,而大肠分为盲肠、结肠和直肠。由于肠道与外界抗原接触密切,肠道免疫系统需要抵御外源病原体并对共生微生物和食物抗原形成耐受。与此同时,肠道含有丰富的共生微生物,从小肠到结肠丰度逐渐增加,并在结肠区域达到峰值,故肠道的不同区段需采取不同的策略以维持局部组织稳态,其中包括改变肠道绒毛(villi)与隐窝(crypt)上皮亚群组成及功能、黏液层完整性和区域免疫系统的特化^[26-27]。

肠道黏膜免疫系统由黏膜表面折叠而成的单层肠道各类型上皮细胞(epithelial cells)、上皮细胞间(intraepithelial region)淋巴细胞和其下的固有层(lamina propria)免疫细胞以及附属次级淋巴组织结构如派氏结(Peyer's patches)和肠系膜淋巴结(mesenteric lymph nodes)构成。肠道隐窝底部的干细胞向上分化为特化的肠上皮细胞^[28],主要包括六种类型:肠吸收细胞(enterocyte)、杯状细胞(goblet cell)、潘氏细胞(Paneth cell)、M细胞(microfold cell)、Tuft 细胞(Tuft cell)和肠内分泌细胞(enteroendocrine cell),它们各有不同的功能^[28-29]。肠细胞是数量最多的肠上皮细胞类型,主要负责营养与水分的吸收,并通过紧密连接(tight junction)分子形成物理性屏障^[29]。杯状细胞主要产生黏液分子(mucin),且其比例沿着肠道逐渐增加,可占结肠上皮细胞的 25% 以上,杯状细胞分泌的黏液分子覆盖肠上皮外表面形成黏液层(mucus layer),进一步完善肠道的物理屏障^[30-31]。成熟的肠吸收细胞只能存活几天,然后从绒毛尖端脱落至肠腔中,但潘氏细胞可以在隐窝基底存活 1~2 个月^[28]。潘氏细胞仅分布于小肠,可通过分泌溶菌酶(lysozyme)、防御素(defensin)等抗菌分子发挥抗菌作用,同时也通过产生表皮生长因子 EGF、WNT3 和 Notch 的配体 Dll4 来帮助维持正常的隐窝干细胞活性^[32-33]。M 细胞主要具有免疫监视的功能,参与肠腔抗原的转胞作用(transcytosis),对于其下的派氏结内免疫反应的有效启动至关重要^[34]。Tuft 细胞可以释放 IL-25 及类花生酸类分子(eicosanoids)等,主要参与肠道 II 型免疫反应^[35]。肠内分泌细胞可分泌肠道激素分子如 GLP-1 等,主要参与调节机体进食、体重

及血糖水平^[36], 而肠道上皮细胞的营养代谢功能与其免疫屏障功能之间的交互作用仍有待深入探索。

肠道上皮层间淋巴细胞 (intraepithelial lymphocytes, IELs) 主要分散存在于小肠肠道上皮细胞间隙, 对于维持肠道黏膜的免疫平衡至关重要。根据 T 细胞受体 (T cell receptor, TCR) 的类型, IELs 可以分为 TCR $\alpha\beta$ ⁺ 和 TCR $\gamma\delta$ ⁺ IELs^[37-38]。与经典 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 细胞不同, IELs 包括先天型 IELs 和诱导型 IELs^[37-38]。先天型 IELs 的 TCR 类型主要是 TCR $\alpha\beta$ 或 TCR $\gamma\delta$, 共受体并非经典的 CD4 或 CD8 $\alpha\beta$ 分子, 而是 CD8 $\alpha\alpha$ 分子, 其主要发育来源是表达肠道归巢分子 $\alpha\text{E}\beta 7$ 整合素和 CCR9 的胸腺前体细胞经血液循环识别肠道上皮细胞表达的 E-cadherin 和 CCL25 信号从而归巢至肠道上皮间, 并在肠道上皮间进一步发育成熟^[37-38]。而诱导型 IEL 仅表达 TCR $\alpha\beta$, 包括 TCR $\alpha\beta$ ⁺CD4⁺ 和 TCR $\alpha\beta$ ⁺CD8 $\alpha\beta$ ⁺ 两类, 它们均来源于经典的 CD4⁺ 或 CD8 $\alpha\beta$ ⁺ T 细胞^[37-38], 在肠道相关淋巴组织中被激活后经血液循环归巢进入肠道上皮层成为诱导型 IELs, 其中一部分诱导型 IELs 在肠上皮环境中能够被同时诱导表达 CD8 $\alpha\alpha$ 共受体^[37-38]。诱导型 IEL 可识别经典 MHC I 或 MHC II 类分子递呈的抗原^[37-38]。由于诱导型和先天型 IEL 均处于上皮屏障内, 两类 IEL 细胞都参与宿主的免疫屏障功能维持, 抵抗细菌、病毒或寄生虫感染^[39-43]。而部分 IEL 亚型如 TCR $\alpha\beta$ ⁺CD4⁺CD8 $\alpha\alpha$ ⁺ IEL 还兼具调节性功能, 其分泌的 IL-10 可防止上皮免疫反应的过度活化^[44-45]。最近也有研究报道, TCR $\alpha\beta$ ⁺CD8 $\alpha\alpha$ ⁺ IEL 的细胞毒作用可抑制肠道肿瘤的发生发展^[46]。

肠道上皮层以下是固有层区域, 含有多种不同类型的免疫细胞, 其中 CD4⁺ T 细胞亚群是肠道稳态维持的重要参与者, 包括 Th1、Th2、Th17 和 Treg 等多种高度分化的细胞亚群^[47-49]。在食物和微生物的影响下, 固有层中多种 CD4⁺ T 细胞亚群, 尤其是 Th17 和 Treg 细胞, 在肠道各个区段的分布和功能不同。Th17 细胞在人和小鼠的小肠结肠固有层区域都存在^[47,50], 肠道微生物影响 Th17 细胞在固有层的比例, 无菌小鼠和抗生素处理小鼠肠道固有层中 Th17 细胞的比例显著下降, 其中分段丝状细菌 (segmented filamentous bacteria, SFB) 已明确在小鼠中对 Th17 细胞具有诱导效果^[51]。而人体肠道来源的共生微生物如青春双歧杆菌 (*Bifidobacterium adolescentis*) 也被报道可以在无菌小鼠定植模型中诱导 Th17 细胞^[52]。

在稳态条件下, Th17 细胞通过产生 IL-17A、IL-17F 和 IL-22 等细胞因子刺激抗菌肽的产生并增强肠上皮细胞之间的紧密连接以维持上皮屏障的完整性^[53-54]。而在稳态失调的情况下, Th17 细胞在 IL-23 和 IL-1 β 刺激下产生过量的 IL-17、IFN- γ 和 GM-CSF, 促进炎症或自身免疫性疾病^[55-56]。而 FOXP3⁺ Treg 细胞通过平衡炎症作用以及建立对来自共生微生物或食物抗原的耐受反应来维持黏膜稳态, 并促进上皮屏障功能和组织修复来保护肠道生理机能^[57-59]。Treg 细胞在肠道固有层中分布广泛, 在小肠固有层中有 10%~20% 的 CD4⁺ T 细胞为 Treg 细胞, 而该比例在结肠固有层中达到 20%~40%^[60]。肠道 Treg 细胞由三个亚群组成, 包括由微生物激活的 ROR γ ^tNRP1⁻ 外周 Treg 细胞、可能由食物抗原激活的 ROR γ ^tNRP1⁻ 外周 Treg 细胞和胸腺来源的 GATA3⁺NRP1⁺ Treg 细胞^[60-64]。早期研究发现微生物来源的短链脂肪酸 (short-chain fatty acids, SCFAs) 是诱导肠道 Treg 细胞分化发育的重要微生物因素^[65-67], 而近期研究发现其他类型的微生物代谢产物如胆汁酸代谢物也参与到外周 Treg 的分化发育调控 (见本文第 3 节)。

肠道固有层区域还具有 CD8⁺ T 细胞亚群、分泌抗体的 B 细胞亚群、先天淋巴细胞亚群及树突状细胞和巨噬细胞亚群等, 各免疫细胞之间形成通讯网络以促进肠道黏膜免疫屏障的功能^[26-27]。近年来, 肠道免疫细胞与非免疫细胞如神经细胞、成纤维细胞的互作也被报道参与到黏膜稳态的维持^[68-69], 限于篇幅, 本文不一一综述。

3 共生微生物胆汁酸转化的免疫调节功能与机制

胆汁酸主要是由胆固醇在肝脏中经历级联的酶促反应所形成的甾醇类分子。人体肝脏所合成的两种主要初级胆汁酸 (primary bile acids) 是胆酸 (cholic acid, CA) 和鹅去氧胆酸 (chenodeoxycholic acid, CDCA)。同时, 这些初级胆汁酸会与甘氨酸 (glycine) 或牛磺酸 (taurine) 进一步发生结合反应 (conjugation), 形成结合形式的初级胆汁酸如 TCA、TCDCA、GCA 和 GCDCA 等, 从肝脏分泌进入胆囊存储。胆囊会在进食的作用下发生收缩, 从而将胆汁酸释放进入小肠以协助宿主吸收膳食脂肪酸以及脂溶性的维生素。小肠中 95% 的胆汁酸会经由肠肝循环 (enterohepatic circulation) 重新为肝脏所吸收, 而大约 5% 的

胆汁酸会进入结肠并被共生微生物进行生物转化形成微生物来源的胆汁酸代谢物^[19]。

共生微生物的胆汁酸生物转化途径主要包括三类^[19]: (1) 由胆盐水解酶(bile salt hydrolase, BSH)介导的胆汁酸脱结合反应, 将肝脏合成的接合型初级胆汁酸还原为脱结合的初级胆汁酸; (2) 由3-、7-或12-羟基类固醇脱氢酶(3-/7-/12-hydroxysteroid dehydrogenase, 3-/7-/12-HSDH)介导的胆汁酸分子3-、7-或12-羟基的氧化和差向异构化(oxidation and epimerization)反应, 形成各类脱氢或羟基异构化的胆汁酸分子; (3) 由7 α -脱羟基途径(7 α -dehydroxylation)形成的次级胆汁酸(secondary bile acids)如脱氧胆酸(deoxycholic acid, DCA)和石胆酸(lithochalic acid, LCA)。最近, 科研人员发现肠道微生物也可以介导非甘氨酸或牛磺酸依赖的新型胆汁酸结合反应, 形成如Phe-chol(phenylalanocholeic acid)、Tyr-chol(tyroscholeic acid)或Leu-chol(leucocholeic acid)等新型结合型胆汁酸, 但相关微生物来源的催化酶及其催化机理仍有待鉴定与明确^[20]。相较于微生物的胆汁酸7 α -脱羟基途径, 其胆汁酸脱结合及氧化和差向异构化途径广泛分布于包括拟杆菌(*Bacteroides*)、梭菌(*Clostridium*)、乳酸杆菌(*Lactobacillus*)及双歧杆菌(*Bifidobacterium*)在内的多种肠道共生菌之中^[19], 其酶促反应的选择性决定了其胆汁酸代谢产物的相对丰度并塑造了肠道胆汁酸的种类分布与丰度^[70]。而微生物次级胆汁酸的生成途径主要存在于少量肠道共生梭菌如闪烁梭菌(*Clostridium scindens*)及柔嫩梭菌(*Clostridium leptum*)中^[19], 由胆汁酸诱导的7 α -脱羟基操纵子(bile acid-inducible operons)介导的级联催化反应将胆酸和鹅去氧胆酸转化为脱氧胆酸与石胆酸, 相关酶促反应的级联顺序及中间体已于近期被系统揭示^[21](图1)。抗生素、运动、饮食和其他肠道失调状态将通过改变肠道微生物群的组成或活性, 从而影响胆汁酸代谢^[71]。胆汁酸代谢失调已被报道直接影响肥胖症^[72]、癌症^[73]、炎症性肠病^[74]以及宿主对包括艰难梭菌(*Clostridioides difficile*)在内的病原菌肠道感染的抵抗过程^[75-77]。艰难梭菌感染(*Clostridioides difficile* infection, CDI)已经成为医院获得性腹泻的主要病因之一。肠道内的初级或次级胆汁酸可以直接结合并整合艰难梭菌毒素TcdB以降低菌株毒力^[78]。但宿主来源的初级胆汁酸对艰难梭菌基本没有毒性,

且可以诱导艰难梭菌从孢子萌发到活跃产生毒素的状态^[79], 而微生物来源的次级胆汁酸如DCA和LCA及其衍生物isoLCA和isoalloLCA已被证明可直接抑制艰难梭菌的萌发和生长^[80-84]。由于微生物的胆盐水解酶决定了肠道胆汁酸的构成, 其活性也被报道对于限制艰难梭菌的肠道定植具有重要作用^[85-86]。

微生物来源的胆汁酸不仅通过自身的脂溶性特征参与宿主的能量代谢, 而且其自身也具有信号分子的活性, 可通过胆汁酸受体FXR或TGR5等调控宿主的新陈代谢^[87-89]。与此同时, 胆汁酸及其受体介导的免疫调节效应也逐步为我们所认识。微生物的胆汁酸代谢物及其信号通路最先被报道通过两种途径负调控宿主的先天免疫反应^[90-91]。第一种方式是胆汁酸所激活的FXR通路直接参与对NF κ B及AP-1靶基因的负调控, 其机制是激活的FXR入核通过稳定NCoR复合物对炎症相关基因启动子区域的抑制作用来控制LPS-TLR4信号通路介导的炎症因子风暴^[92]。第二种方式是胆汁酸可以通过其受体信号抑制NLRP3炎症小体所介导的炎症效应^[93]。胆汁酸早期被报道可通过其膜受体TGR5介导的cAMP信号来抑制LPS诱导的炎症因子表达^[94], 但分子机制不明。近期有研究表明TGR5可通过cAMP-PKA信号磷酸化NLRP3蛋白291位的丝氨酸, 进而导致NLRP3的泛素化并抑制炎症小体的激活^[95]。同时, 另一项研究揭示FXR也可以通过与NLRP3及Casp1发生互作以负调炎症小体的激活^[96]。这些研究提示微生物来源的胆汁酸代谢物及其受体可在多个层面调控宿主的先天免疫信号, 防止其过度激活所导致的炎症性休克反应的发生。

近年来, 微生物胆汁酸代谢物对宿主适应性免疫的调控作用, 特别是其对肠道黏膜T细胞亚群的塑造功能也逐渐为人们所揭示。如上文所述, 肠道中的Th17和Treg细胞对于肠道抗感染免疫及维持肠道免疫稳态至关重要。LCA的两个代谢衍生物3-oxoLCA和isoalloLCA被报道可以分别调控肠道Th17和Treg的分化发育^[97]。3-oxoLCA可以通过直接结合控制Th17细胞命运的核心转录因子ROR γ t来抑制Th17细胞的分化发育^[97]。而isoalloLCA可以促进线粒体活性氧的产生, 从而促进Treg细胞核心转录因子Foxp3的表达以促进Treg细胞的分化发育^[97], 相关研究也揭示Foxp3基因增强子区保守非编码序列3(conserved noncoding sequence 3, CNS3)以及核

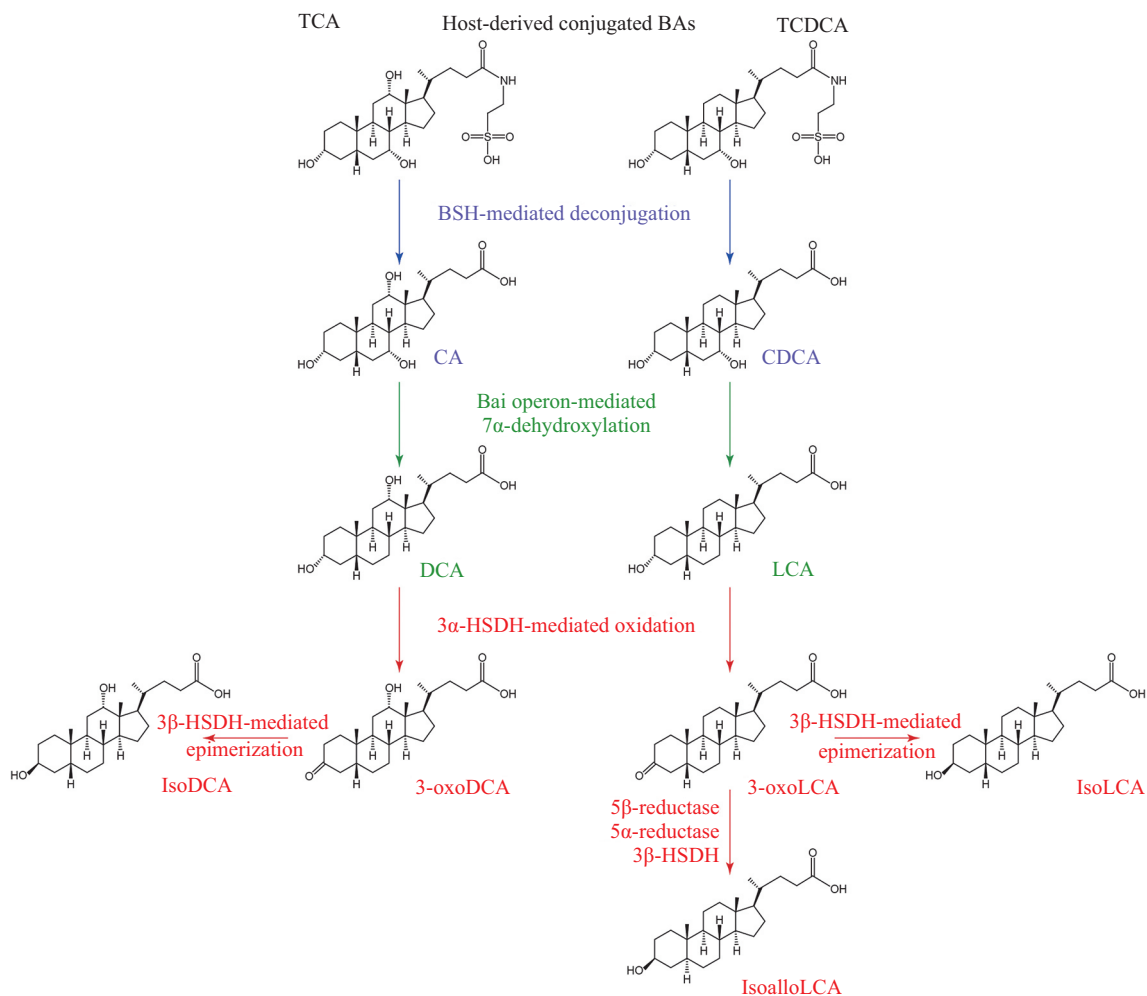


图1 微生物的胆汁酸转化途径及其免疫调节产物

Fig.1 The microbial biotransformation of bile acids and its immunomodulatory products

受体 NR4A1 参与到这一调控过程^[97-98]。同时, 研究也发现来自人体放线菌门和梭菌门的部分共生微生物如迟缓埃格特菌(*Eggerthella lenta*)等可通过 3-羟基类固醇脱氢酶将 LCA 转变成 3-oxoLCA 及 isoLCA, 而后者也显示出类似的抑制 Th17 细胞分化发育的调控作用^[99]。而肠道拟杆菌可通过级联的 5 β -还原酶(5 β -reductase)、5 α -还原酶(5 α -reductase)和 3 β -羟基类固醇脱氢酶(3 β -HSDH)介导的酶促反应将 3-oxoLCA 转变为具有 Treg 调节活性的 isoalloLCA^[98]。由胆盐水解酶 BSH 介导的胆汁酸脱结合反应是微生物代谢宿主肝脏及小肠来源胆汁酸的门户反应, BSH 的代谢活性将直接决定宿主肠道胆汁酸池的大小以及组成^[19]。我们同时期的研究发现拟杆菌的 BSH 代谢途径对于结肠中 ROR γ t⁺ 的 Treg 细胞水平的维持至关重要^[100], 而前期也有研究工作证实 ROR γ t⁺ Treg 细胞是肠道中主要受微生物定植调控的 Treg 亚型, 且

发挥重要的免疫调节功能^[61-62,101]。不同于上述两项工作, 我们发现微生物来源的胆汁酸代谢物主要通过胆汁酸核受体 VDR 来维持 ROR γ t⁺ Treg 细胞在肠道中的水平^[100,102]。VDR 在 Treg 细胞中的缺失抑制了 ROR γ t 在 Treg 细胞中介导的转录程序, 相关敲除小鼠在肠炎模型中也呈现出症状加剧的疾病表型^[100]。由于肠道中高浓度的胆汁酸具有潜在的细胞毒性, 肠道效应 T 细胞也通过核受体 CAR 来促进外源性转运蛋白(xenobiotic transporter) MDR1 的表达来形成胆汁酸耐受并促进抑炎因子 IL-10 的表达以抑制肠道炎症^[103]。肠道微生物来源的胆汁酸不仅可以直接作用于 T 细胞发挥调控功能, 也可以通过间接的途径控制 T 细胞分化发育, 一项随后的研究发现, 活泼瘤胃球菌(*Ruminococcus gnavus*)的 3-羟基类固醇脱氢酶可将 DCA 转变为 isoDCA, 而 isoDCA 可以通过抑制肠道树突状细胞中 FXR 介导的基因表达来促进

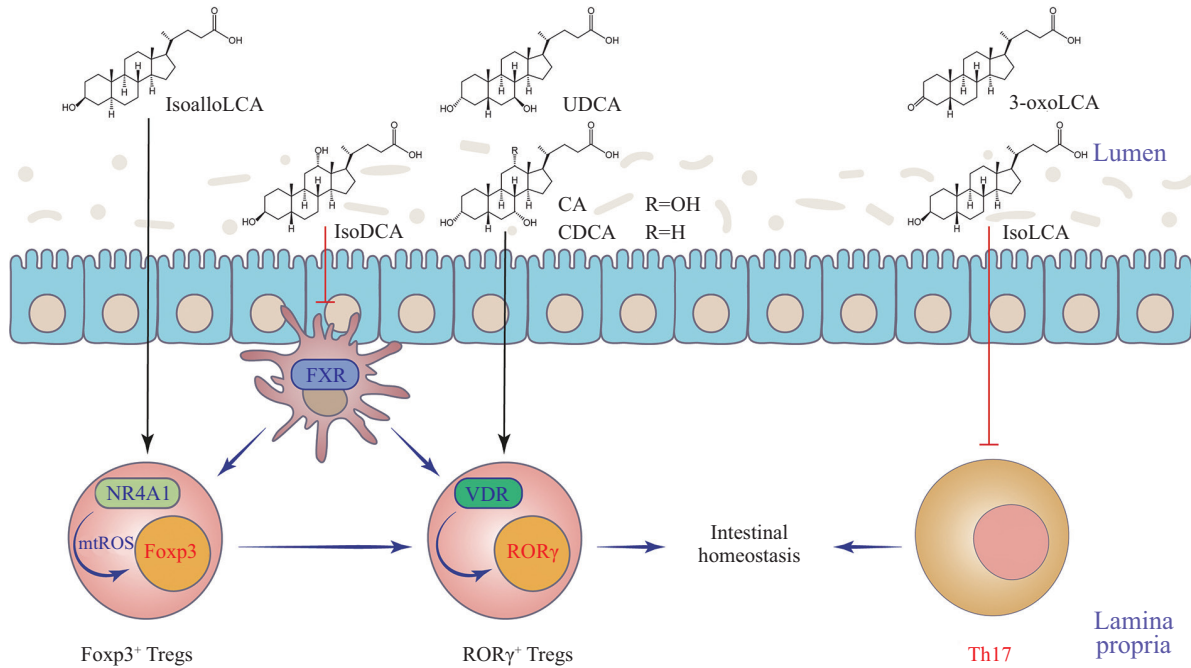


图2 微生物胆汁酸代谢物对肠道T细胞亚群的调控

Fig.2 The modulation of microbial bile acid metabolites on gut T cell subsets

外周Treg细胞的分化发育^[104](图2)。

上述相关研究揭示微生物胆汁酸的多条代谢途径,包括起始的胆汁酸脱接合途径,产生次级胆汁酸LCA和DCA的7 α -脱羟基途径以及次级胆汁酸羟基氧化和差向异构化途径,均参与到具有免疫调节活性胆汁酸分子的生成,提示肠道胆汁酸代谢网络及其来源的活性分子可通过调节Th17与Treg细胞的平衡以促进肠道免疫稳态的运行与维持。而靶向相关胆汁酸代谢酶或改变胆汁酸代谢流的策略是否可用于有效干预肠道炎症性疾病仍有待进一步研究探索。

4 共生微生物脂肪酸异构化的免疫调节功能与机制

人体的必需脂肪酸(essential fatty acids)包括亚油酸(linoleic acid, LA)和亚麻酸(linolenic acid, LNA),它们分别是omega-6和omega-3多不饱和脂肪酸的前体,其主要来源是膳食摄入^[105],并经过人体的脂肪酸代谢途径分别形成二高 γ -亚麻酸(dihomo-gamma-linolenic acid, DGLA)、花生四烯酸(arachidonic acid, AA)和二十碳五烯酸(eicosapentaenoic acid, EPA)、二十二碳六烯酸(docosahexaenoic acid, DHA)^[105]。与此同时,共生微生物也会对脂解后释放的亚油酸(C18:2 c9,c12)及亚麻酸(C18:3

c9,c12,c15)进行生物转化,改变其碳碳不饱和键在脂肪酸链上的位置,形成一系列微生物来源的亚油酸异构体,亦称共轭亚油酸(conjugated LAs, CLAs)如c9,t11 CLA、t10,c12 CLA或t8,t10 CLA,及亚麻酸异构体,亦称共轭亚麻酸(conjugated LNAs, CLNAs)如c9,t11,c15 CLNA或c9,t13,c15 CLNA^[18]。

共生微生物的脂肪酸异构化途径主要由亚油酸异构酶(linoleate isomerase, LAI)介导,可将亚油酸和亚麻酸转变为上述脂肪酸异构体^[18]。通过序列比对,亚油酸异构酶与肌球蛋白交叉反应抗原(myosin-cross-reactive antigen, MCRA)高度同源,它们都具备水合酶(hydratase)的活性,参与合成羟化脂肪酸。除了亚油酸异构酶外,研究显示脂肪酸的异构化过程可能还有其他蛋白参与,形成多步骤的酶促反应,最终使得碳碳不饱和键的位置发生改变形成脂肪酸异构体^[106]。具有亚油酸异构酶的共生微生物主要包括乳酸杆菌、双歧杆菌、肠球菌(*Enterococcus*)、丙酸杆菌(*Propionibacterium*)及少量梭菌种属如生孢梭菌(*Clostridium sporogenes*),而大部分人体共生拟杆菌均不携带该基因^[18,107](图3)。

在亚油酸向共轭亚油酸的微生物转化过程中,多种脂肪酸中间体也会随之产生,如羟化或氧化的亚油酸(hydroxy- and oxo-LAs)^[108]。这些微生物来源的长链脂肪酸代谢物的生物活性及其在疾病中

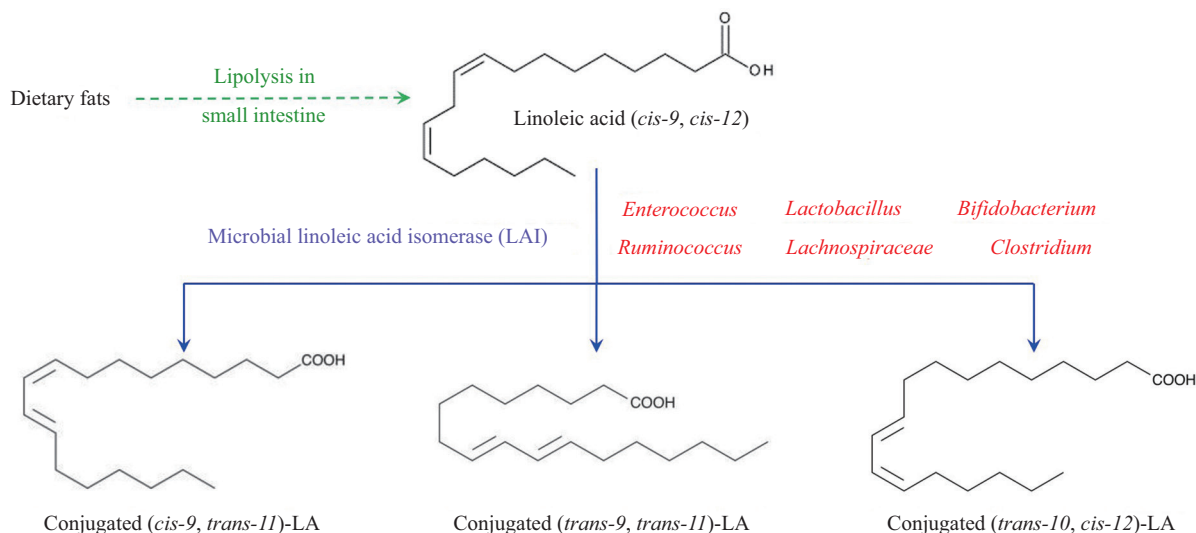


图3 微生物的亚油酸异构化途径及其产物

Fig.3 The microbial isomerization of linoleic acid and its products

扮演的角色目前并不清楚,最近有研究发现过量摄入膳食亚油酸会导致肥胖及相关炎症反应,而微生物的亚油酸代谢可降低肥胖相关风险^[109]。该研究发现亚油酸的衍生物10-羟基-顺式-12-十八碳烯酸(10-hydroxy-cis-12-octadecenoic acid, HYA)可以通过肠道GPR40和GPR120信号促进胰高血糖素样肽-1(glucagon-like peptide-1, GLP-1)的分泌从而调控机体的代谢稳态^[109]。同时,亦有文献发现多种亚油酸或亚麻酸的微生物衍生物可以激活宿主的核受体信号,提示它们可能广泛参与到宿主的代谢或免疫调控过程^[110]。

小肠上皮是机体代谢吸收长链脂肪酸的主要场所^[111],同时,可在小肠定植的共生微生物如乳酸杆菌、双歧杆菌及肠球菌等均携带脂肪酸异构化反应(fatty acid isomerization)通路如亚油酸异构酶基因^[118]。关于无菌小鼠的研究发现小肠上皮间淋巴细胞亚群的分化发育受到共生微生物定植的影响,特别是一类共表达CD4和CD8 $\alpha\alpha$ 表面分子的诱导型IEL在小肠上皮间的积聚完全依赖于共生微生物的存在以及TCR对于微生物抗原的识别^[112-114]。前期的研究表明这群CD4⁺CD8 $\alpha\alpha$ ⁺的IEL是通过下调CD4细胞内的ThPOK转录因子发育而来^[45,115-116],然而其上游调控机制仍不清楚。我们通过无菌小鼠单菌定植模型对20株来源于人体肠道的共生菌株进行了黏膜免疫调控活性评估,发现大部分的共生拟杆菌菌株(不携带亚油酸异构酶)均无法有效

诱导CD4⁺CD8 $\alpha\alpha$ ⁺的IEL在小肠的分化发育,而携带亚油酸异构酶的菌株却可以在无菌小鼠的小肠上皮间诱导这一类型的细胞^[107]。当利用微生物遗传学将亚油酸异构酶从肠球菌中敲除后^[117],缺陷菌株在丧失亚油酸异构化能力的同时,也不能在无菌小鼠模型中诱导CD4⁺CD8 $\alpha\alpha$ ⁺的IEL^[107]。与先天型IEL相比,CD4⁺CD8 $\alpha\alpha$ ⁺的IEL高表达肝细胞核因子4 α /g(hepatocyte nuclear factor 4 α /g, HNF4 α /g),而HNF4 α /g也被报道参与调控上皮细胞发育与脂质代谢^[118-119]。与HNF4 α /g在肠道上皮细胞中的冗余功能不同,HNF4 α /g对于肠道免疫系统的调控体现出它们在功能上的差异。我们和其他实验室发现HNF4 α 参与小肠先天型IEL的分化发育,而不影响小肠诱导型IEL的水平^[107,120]。而HNF4 β 却体现出相反的免疫调节特性,其基因敲除小鼠具有正常的小肠先天型IEL,但CD4⁺CD8 $\alpha\alpha$ ⁺的诱导型IEL细胞水平却显著下降^[107]。我们也证明微生物来源的亚油酸异构体CLAs只能结合并激活HNF4 β ,而不影响HNF4 α 的活性,且T细胞内源性的CLA-HNF4 β 轴对于维持CD4⁺CD8 $\alpha\alpha$ ⁺的IEL稳态及其抗感染功能至关重要^[107]。最终,我们发现CLAs可以通过HNF4 β 促进白介素18受体1(interleukin 18 receptor 1, IL-18R1)在CD4⁺ IEL细胞上的表达,而IL-18也被首次报道通过下调ThPOK的表达来促进CD8 α 在CD4⁺ IEL细胞中的表达,以维持小肠中CD4⁺CD8 $\alpha\alpha$ ⁺的IEL细胞水平及其黏膜屏障的完整性^[107](图4)。

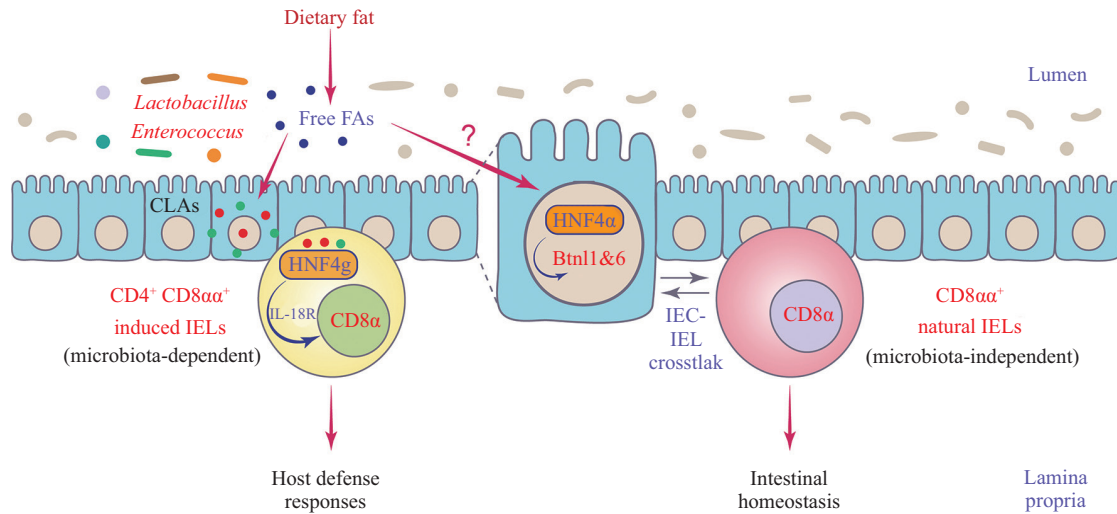


图4 微生物/膳食脂肪酸代谢对肠道上皮间淋巴细胞的调控

Fig.4 The modulation of microbial/dietary fatty acid metabolism on gut IELs

5 结语与展望

结合我们近期的相关研究, 本文重点回顾了微生物来源的胆汁酸与脂肪酸代谢物调控肠道免疫屏障功能的前沿研究进展。而人类肠道共生微生物群落来源脂质分子的多样性和复杂性给科学界的研究带来了巨大的机遇与挑战。近年来, 微生物组高通量测序技术(如16S rDNA测序和宏基因组测序)及代谢组学技术的运用使得我们可以鉴定宿主微生物群落种属组成及其脂质代谢产物, 并通过生物信息学技术建立其与宿主特定黏膜免疫表型之间的相关性。但基于组学技术的研究手段仍无法有效地系统发掘共生微生物所介导的脂质代谢信号网络调控黏膜免疫系统发育与功能的因果机理。

目前, 人体共生微生物组脂质代谢分子研究主要面临的挑战在于: (1) 肠道共生微生物种类繁多, 且部分种属无法实现体外分离培养, 因而难以评估其脂质代谢能力; (2) 由于微生物遗传学操作技术开发的局限, 大量共生微生物的基因组(包括其胆汁酸或脂肪酸等脂质代谢途径)无法实现精确编辑; (3) 由于脂质化合物结构的多样性, 共生微生物与宿主互作所产生的大量新型脂质代谢产物无法被深入挖掘并注释其化学结构; (4) 建立新型微生物脂质代谢分子与宿主受体或靶标分子直接对应关系的实验技术手段亟待提高。这些研究挑战虽然对我们全面理解共生微生物来源脂质分子如何在细胞和分子水平上与其宿主免疫系统发生相互作用造成制约, 但也为新型共生微生物分离培养、新型脂质活性生物

小分子的鉴定及共生微生物基因编辑技术的开发与应用留有广泛的拓展空间。

本实验室也以此为契机, 从共生微生物的黏膜免疫调控研究出发, 希望系统阐明各类微生物来源的小分子代谢产物(包括脂质代谢分子)调控宿主黏膜免疫稳态以及疾病易感性的分子机理。我们将无菌小鼠模型、小鼠遗传学与疾病模型与免疫学技术相结合, 并利用细菌遗传学针对共生微生物的脂质代谢通路进行精准编辑和操纵, 明确其代谢途径与产物, 解析这些脂质分子所介导的信号网络调控宿主黏膜免疫系统发育与功能, 进而影响机体生理与病理的内在机理。

参考文献 (References)

- [1] HUMAN MICROBIOME PROJECT C. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome [J]. *Nature*, 2012, 486(7402): 207-14.
- [2] SEKIROV I, RUSSELL S L, ANTUNES L C, et al. Gut microbiota in health and disease [J]. *Physiol Rev*, 2010, 90(3): 859-904.
- [3] SENDER R, FUCHS S, MILO R. Revised estimates for the number of human and bacteria cells in the body [J]. *PLoS Biol*, 2016, 14(8): e1002533.
- [4] DONIA M S, FISCHBACH M A. HUMAN MICROBIOTA. Small molecules from the human microbiota [J]. *Science*, 2015, 349(6246): 1254766.
- [5] KRAUTKRAMER K A, FAN J, BACKHED F. Gut microbial metabolites as multi-kingdom intermediates [J]. *Nat Rev Microbiol*, 2021, 19(2): 77-94.
- [6] BROWN E M, CLARDY J, XAVIER R J. Gut microbiome lipid metabolism and its impact on host physiology [J]. *Cell Host Microbe*, 2023, 31(2): 173-86.

- [7] MOROZUMI S, UEDA M, OKAHASHI N, et al. Structures and functions of the gut microbial lipidome [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids*, 2022, 1867(3): 159110.
- [8] SOHLENKAMP C, GEIGER O. Bacterial membrane lipids: diversity in structures and pathways [J]. *FEMS Microbiol Rev*, 2016, 40(1): 133-59.
- [9] RYAN E, JOYCE S A, CLARKE D J. Membrane lipids from gut microbiome-associated bacteria as structural and signalling molecules [J]. *Microbiology*, 2023, 169(3): 001315.
- [10] HEAVER S L, JOHNSON E L, LEY R E. Sphingolipids in host-microbial interactions [J]. *Curr Opin Microbiol*, 2018, 43: 92-9.
- [11] DI LORENZO F, DE CASTRO C, SILIPO A, et al. Lipopolysaccharide structures of Gram-negative populations in the gut microbiota and effects on host interactions [J]. *FEMS Microbiol Rev*, 2019, 43(3): 257-72.
- [12] AN D, OH S F, OLSZAK T, et al. Sphingolipids from a symbiotic microbe regulate homeostasis of host intestinal natural killer T cells [J]. *Cell*, 2014, 156(1/2): 123-33.
- [13] OH S F, PRAVEENA T, SONG H, et al. Host immunomodulatory lipids created by symbionts from dietary amino acids [J]. *Nature*, 2021, 600(7888): 302-7.
- [14] GUO C J, ALLEN B M, HIAM K J, et al. Depletion of microbiome-derived molecules in the host using clostridium genetics [J]. *Science*, 2019, 366(6471): eaav1282.
- [15] KANEDA T. Iso- and anteiso-fatty acids in bacteria: biosynthesis, function, and taxonomic significance [J]. *Microbiol Rev*, 1991, 55(2): 288-302.
- [16] COLOSIMO D A, KOHN J A, LUO P M, et al. Mapping interactions of microbial metabolites with human G-protein-coupled receptors [J]. *Cell Host Microbe*, 2019, 26(2): 273-82.e7.
- [17] HARI S B, GRANT R A, SAUER R T. Structural and functional analysis of *E. coli* cyclopropane fatty acid synthase [J]. *Structure*, 2018, 26(9): 1251-8.e3.
- [18] SALSINHA A S, PIMENTEL L L, FONTES A L, et al. Microbial production of conjugated linoleic acid and conjugated linolenic acid relies on a multienzymatic system [J]. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2018, 82(4): e00019-18.
- [19] RIDLON J M, KANG D J, HYLEMON P B. Bile salt biotransformations by human intestinal bacteria [J]. *J Lipid Res*, 2006, 47(2): 241-59.
- [20] QUINN R A, MELNIK A V, VRBANAC A, et al. Global chemical effects of the microbiome include new bile-acid conjugations [J]. *Nature*, 2020, 579(7797): 123-9.
- [21] FUNABASHI M, GROVE T L, WANG M, et al. A metabolic pathway for bile acid dehydroxylation by the gut microbiome [J]. *Nature*, 2020, 582(7813): 566-70.
- [22] LE H H, LEE M T, BESLER K R, et al. Characterization of interactions of dietary cholesterol with the murine and human gut microbiome [J]. *Nat Microbiol*, 2022, 7(9): 1390-403.
- [23] YAO L, D'AGOSTINO G D, PARK J, et al. A biosynthetic pathway for the selective sulfonation of steroidal metabolites by human gut bacteria [J]. *Nat Microbiol*, 2022, 7(9): 1404-18.
- [24] JAN H M, CHEN Y C, SHIH Y Y, et al. Metabolic labelling of cholesteryl glucosides in *Helicobacter pylori* reveals how the uptake of human lipids enhances bacterial virulence [J]. *Chem Sci*, 2016, 7(9): 6208-16.
- [25] PELLOCK S J, REDINBO M R. Glucuronides in the gut: sugar-driven symbioses between microbe and host [J]. *J Biol Chem*, 2017, 292(21): 8569-76.
- [26] MOWAT A M, AGACE W W. Regional specialization within the intestinal immune system [J]. *Nat Rev Immunol*, 2014, 14(10): 667-85.
- [27] AGACE W W, MCCOY K D. Regionalized development and maintenance of the intestinal adaptive immune landscape [J]. *Immunity*, 2017, 46(4): 532-48.
- [28] BEUMER J, CLEVERS H. Cell fate specification and differentiation in the adult mammalian intestine [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2021, 22(1): 39-53.
- [29] PETERSON L W, ARTIS D. Intestinal epithelial cells: regulators of barrier function and immune homeostasis [J]. *Nat Rev Immunol*, 2014, 14(3): 141-53.
- [30] JOHANSSON M E, AMBORT D, PELASEYED T, et al. Composition and functional role of the mucus layers in the intestine [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2011, 68(22): 3635-41.
- [31] JOHANSSON M E, PHILLIPSON M, PETERSSON J, et al. The inner of the two Muc2 mucin-dependent mucus layers in colon is devoid of bacteria [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(39): 15064-9.
- [32] CLEVERS H C, BEVINS C L. Paneth cells: maestros of the small intestinal crypts [J]. *Annu Rev Physiol*, 2013, 75: 289-311.
- [33] OUELLETTE A J. Paneth cells and innate mucosal immunity [J]. *Curr Opin Gastroenterol*, 2010, 26(6): 547-53.
- [34] MABBOTT N A, DONALDSON D S, OHNO H, et al. Microfold M cells: important immunosurveillance posts in the intestinal epithelium [J]. *Mucosal Immunol*, 2013, 6(4): 666-77.
- [35] SCHNEIDER C, O'LEARY C E, LOCKSLEY R M. Regulation of immune responses by tuft cells [J]. *Nature Rev Immunol*, 2019, 19(9): 584-93.
- [36] GRIBBLE F M, REIMANN F. Function and mechanisms of enteroendocrine cells and gut hormones in metabolism [J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2019, 15(4): 226-37.
- [37] VAN KAER L, OLIVARES-VILLAGOMEZ D. Development, homeostasis, and functions of intestinal intraepithelial lymphocytes [J]. *J Immunol*, 2018, 200(7): 2235-44.
- [38] CHEROUTRE H, LAMBOLEZ F, MUCIDA D. The light and dark sides of intestinal intraepithelial lymphocytes [J]. *Nature Rev Immunol*, 2011, 11(7): 445-56.
- [39] MONTUFAR-SOLIS D, GARZA T, KLEIN J R. T-cell activation in the intestinal mucosa [J]. *Immunol Rev*, 2007, 215: 189-201.
- [40] MASOPUST D, VEZYS V, MARZO A L, et al. Preferential localization of effector memory cells in nonlymphoid tissue [J]. *Science*, 2001, 291(5512): 2413-7.
- [41] ISMAIL A S, SEVERSON K M, VAISHNAVA S, et al. Gammadelta intraepithelial lymphocytes are essential mediators of host-microbial homeostasis at the intestinal mucosal surface [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108(21): 8743-8.
- [42] DALTON J E, CRUICKSHANK S M, EGAN C E, et al. Intraepithelial gammadelta+lymphocytes maintain the integrity of intestinal epithelial tight junctions in response to infection [J]. *Gastroenterology*, 2006, 131(3): 818-29.
- [43] INAGAKI-OHARA K, SAKAMOTO Y, DOHI T, et al. Gammadelta T cells play a protective role during infection with *Nippostrongylus brasiliensis* by promoting goblet cell function in the small intestine [J]. *Immunology*, 2011, 134(4): 448-58.

- [44] DAS G, AUGUSTINE M M, DAS J, et al. An important regulatory role for CD4⁺CD8⁺ alpha alpha T cells in the intestinal epithelial layer in the prevention of inflammatory bowel disease [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2003, 100(9): 5324-9.
- [45] SUJINO T, LONDON M, HOYTEMA VAN KONIJNENBURG D P, et al. Tissue adaptation of regulatory and intraepithelial CD4⁺T cells controls gut inflammation [J]. Science, 2016, 352(6293): 1581-6.
- [46] ZHANG H, HU Y, LIU D, et al. The histone demethylase Kdm6b regulates the maturation and cytotoxicity of TCRalpha⁺CD8alpha⁺ intestinal intraepithelial lymphocytes [J]. Cell Death Differ, 2022, 29(7): 1349-63.
- [47] IVANOV I I, MCKENZIE B S, ZHOU L, et al. The orphan nuclear receptor RORgammat directs the differentiation program of proinflammatory IL-17⁺ T helper cells [J]. Cell, 2006, 126(6): 1121-33.
- [48] MAYNARD C L, HARRINGTON L E, JANOWSKI K M, et al. Regulatory T cells expressing interleukin 10 develop from Foxp3⁺ and Foxp3⁻ precursor cells in the absence of interleukin 10 [J]. Nat Immunol, 2007, 8(9): 931-41.
- [49] VEENBERGEN S, SAMSOM J N. Maintenance of small intestinal and colonic tolerance by IL-10-producing regulatory T cell subsets [J]. Curr Opin Immunol, 2012, 24(3): 269-76.
- [50] SATHALIYAWALA T, KUBOTA M, YUDANIN N, et al. Distribution and compartmentalization of human circulating and tissue-resident memory T cell subsets [J]. Immunity, 2013, 38(1): 187-97.
- [51] IVANOV I I, ATARASHI K, MANEL N, et al. Induction of intestinal Th17 cells by segmented filamentous bacteria [J]. Cell, 2009, 139(3): 485-98.
- [52] TAN T G, SEFIK E, GEVA-ZATORSKY N, et al. Identifying species of symbiont bacteria from the human gut that, alone, can induce intestinal Th17 cells in mice [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2016, 113(50): E8141-E50.
- [53] DUBIN P J, KOLLS J K. Interleukin-17A and interleukin-17F: a tale of two cytokines [J]. Immunity, 2009, 30(1): 9-11.
- [54] ZENEWICZ L A, YANCOPOULOS G D, VALENZUELA D M, et al. Innate and adaptive interleukin-22 protects mice from inflammatory bowel disease [J]. Immunity, 2008, 29(6): 947-57.
- [55] WAGNER A, WANG C, FESSLER J, et al. Metabolic modeling of single Th17 cells reveals regulators of autoimmunity [J]. Cell, 2021, 184(16): 4168-85, e21.
- [56] WU H J, IVANOV I I, DARCE J, et al. Gut-residing segmented filamentous bacteria drive autoimmune arthritis via T helper 17 cells [J]. Immunity, 2010, 32(6): 815-27.
- [57] RAMANAN D, PRATAMA A, ZHU Y, et al. Regulatory T cells in the face of the intestinal microbiota [J]. Nat Rev Immunol, 2023, 23(11): 749-62.
- [58] KIM K S, HONG S W, HAN D, et al. Dietary antigens limit mucosal immunity by inducing regulatory T cells in the small intestine [J]. Science, 2016, 351(6275): 858-63.
- [59] VIGNALI D A, COLLISON L W, WORKMAN C J. How regulatory T cells work [J]. Nat Rev Immunol, 2008, 8(7): 523-32.
- [60] TANOUE T, ATARASHI K, HONDA K. Development and maintenance of intestinal regulatory T cells [J]. Nat Rev Immunol, 2016, 16(5): 295-309.
- [61] SEFIK E, GEVA-ZATORSKY N, OH S, et al. MUCOSAL IMMUNOLOGY. Individual intestinal symbionts induce a distinct population of RORgamma⁺ regulatory T cells [J]. Science, 2015, 349(6251): 993-7.
- [62] OHNMACHT C, PARK J H, CORDING S, et al. MUCOSAL IMMUNOLOGY. The microbiota regulates type 2 immunity through RORgammat⁺ T cells [J]. Science, 2015, 349(6251): 989-93.
- [63] ATARASHI K, TANOUE T, OSHIMA K, et al. Treg induction by a rationally selected mixture of *Clostridia* strains from the human microbiota [J]. Nature, 2013, 500(7461): 232-6.
- [64] ATARASHI K, TANOUE T, SHIMA T, et al. Induction of colonic regulatory T cells by indigenous *Clostridium* species [J]. Science, 2011, 331(6015): 337-41.
- [65] ARPAIA N, CAMPBELL C, FAN X, et al. Metabolites produced by commensal bacteria promote peripheral regulatory T-cell generation [J]. Nature, 2013, 504(7480): 451-5.
- [66] FURUSAWA Y, OBATA Y, FUKUDA S, et al. Commensal microbe-derived butyrate induces the differentiation of colonic regulatory T cells [J]. Nature, 2013, 504(7480): 446-50.
- [67] SMITH P M, HOWITT M R, PANIKOV N, et al. The microbial metabolites, short-chain fatty acids, regulate colonic Treg cell homeostasis [J]. Science, 2013, 341(6145): 569-73.
- [68] JACOBSON A, YANG D, VELLA M, et al. The intestinal neuro-immune axis: crosstalk between neurons, immune cells, and microbes [J]. Mucosal Immunol, 2021, 14(3): 555-65.
- [69] BRUGGER M D, BASLER K. The diverse nature of intestinal fibroblasts in development, homeostasis, and disease [J]. Trends Cell Biol, 2023, 33(10): 834-49.
- [70] YAO L, SEATON S C, NDOUSSE-FETTER S, et al. A selective gut bacterial bile salt hydrolase alters host metabolism [J]. eLife, 2018, 7: e37182.
- [71] HAMILTON J P, XIE G, RAUFMAN J P, et al. Human cecal bile acids: concentration and spectrum [J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2007, 293(1): G256-63.
- [72] JOYCE S A, MACSHARRY J, CASEY P G, et al. Regulation of host weight gain and lipid metabolism by bacterial bile acid modification in the gut [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2014, 111(20): 7421-6.
- [73] MA C, HAN M, HEINRICH B, et al. Gut microbiome-mediated bile acid metabolism regulates liver cancer via NKT cells [J]. Science, 2018, 360(6391): eaan5931.
- [74] LAVELLE A, SOKOL H. Gut microbiota-derived metabolites as key actors in inflammatory bowel disease [J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2020, 17(4): 223-37.
- [75] ALAVI S, MITCHELL J D, CHO J Y, et al. Interpersonal gut microbiome variation drives susceptibility and resistance to cholera infection [J]. Cell, 2020, 181(7): 1533-46, e13.
- [76] BURGESS S L, LESLIE J L, UDDIN J, et al. Gut microbiome communication with bone marrow regulates susceptibility to amebiasis [J]. J Clin Invest, 2020, 130(8): 4019-24.
- [77] WILSON K H. Efficiency of various bile salt preparations for stimulation of *Clostridium difficile* spore germination [J]. J Clin Microbiol, 1983, 18(4): 1017-9.
- [78] TAM J, ICHO S, UTAMA E, et al. Intestinal bile acids directly modulate the structure and function of *C. difficile* TcdB toxin [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2020, 117(12): 6792-800.
- [79] SORG J A, SONENSHEIN A L. Bile salts and glycine as cogener-

- minants for *Clostridium difficile* spores [J]. J Bacteriol, 2008, 190(7): 2505-12.
- [80] THANISSERY R, WINSTON J A, THERIOT C M. Inhibition of spore germination, growth, and toxin activity of clinically relevant *C. difficile* strains by gut microbiota derived secondary bile acids [J]. Anaerobe, 2017, 45: 86-100.
- [81] USUI Y, AYIBIEKE A, KAMIICHI Y, et al. Impact of deoxycholate on *Clostridioides difficile* growth, toxin production, and sporulation [J]. Heliyon, 2020, 6(4): e03717.
- [82] BUFFIE C G, BUCCI V, STEIN R R, et al. Precision microbiome reconstitution restores bile acid mediated resistance to *Clostridium difficile* [J]. Nature, 2015, 517(7533): 205-8.
- [83] BEGLEY M, GAHAN C G, HILL C. The interaction between bacteria and bile [J]. FEMS Microbiol Rev, 2005, 29(4): 625-51.
- [84] SATO Y, ATARASHI K, PLICHTA D R, et al. Novel bile acid biosynthetic pathways are enriched in the microbiome of centenarians [J]. Nature, 2021, 599(7885): 458-64.
- [85] FOLEY M H, WALKER M E, STEWART A K, et al. Bile salt hydrolases shape the bile acid landscape and restrict *Clostridioides difficile* growth in the murine gut [J]. Nat Microbiol, 2023, 8(4): 611-28.
- [86] MULLISH B H, MCDONALD J A K, PECHLIVANIS A, et al. Microbial bile salt hydrolases mediate the efficacy of faecal microbiota transplant in the treatment of recurrent *Clostridioides difficile* infection [J]. Gut, 2019, 68(10): 1791-800.
- [87] PERINO A, SCHOONJANS K. Metabolic messengers: bile acids [J]. Nat Metab, 2022, 4(4): 416-23.
- [88] SAYIN S I, WAHLSTROM A, FELIN J, et al. Gut microbiota regulates bile acid metabolism by reducing the levels of tauro-beta-muricholic acid, a naturally occurring FXR antagonist [J]. Cell Metab, 2013, 17(2): 225-35.
- [89] THOMAS C, GIOIELLO A, NORIEGA L, et al. TGR5-mediated bile acid sensing controls glucose homeostasis [J]. Cell Metab, 2009, 10(3): 167-77.
- [90] POSTLER T S, GHOSH S. Understanding the holobiont: how microbial metabolites affect human health and shape the immune system [J]. Cell Metab, 2017, 26(1): 110-30.
- [91] BRESTOFF J R, ARTIS D. Commensal bacteria at the interface of host metabolism and the immune system [J]. Nat Immunol, 2013, 14(7): 676-84.
- [92] VAVASSORI P, MENCARELLI A, RENGA B, et al. The bile acid receptor FXR is a modulator of intestinal innate immunity [J]. J Immunol, 2009, 183(10): 6251-61.
- [93] LAMKANFI M, DIXIT V M. Mechanisms and functions of inflammasomes [J]. Cell, 2014, 157(5): 1013-22.
- [94] KAWAMATA Y, FUJII R, HOSOYA M, et al. A G protein-coupled receptor responsive to bile acids [J]. J Biol Chem, 2003, 278(11): 9435-40.
- [95] GUO C, XIE S, CHI Z, et al. Bile acids control inflammation and metabolic disorder through inhibition of NLRP3 inflammasome [J]. Immunity, 2016, 45(4): 944.
- [96] HAO H, CAO L, JIANG C, et al. Farnesoid X receptor regulation of the NLRP3 inflammasome underlies cholestasis-associated sepsis [J]. Cell Metab, 2017, 25(4): 856-67, e5.
- [97] HANG S, PAIK D, YAO L, et al. Bile acid metabolites control T_H17 and T_{reg} cell differentiation [J]. Nature, 2019, 576(7785): 143-8.
- [98] LI W, HANG S, FANG Y, et al. A bacterial bile acid metabolite modulates T_{reg} activity through the nuclear hormone receptor NR4A1 [J]. Cell Host Microbe, 2021, 29(9): 1366-77, e9.
- [99] PAIK D, YAO L, ZHANG Y, et al. Human gut bacteria produce T_H17-modulating bile acid metabolites [J]. Nature, 2022, 603(7903): 907-12.
- [100] SONG X, SUN X, OH S F, et al. Microbial bile acid metabolites modulate gut ROR γ ⁺ regulatory T cell homeostasis [J]. Nature, 2020, 577(7790): 410-5.
- [101] GEVA-ZATORSKY N, SEFIK E, KUA L, et al. Mining the human gut microbiota for immunomodulatory organisms [J]. Cell, 2017, 168(5): 928-43, e11.
- [102] MAKISHIMA M, LU T T, XIE W, et al. Vitamin D receptor as an intestinal bile acid sensor [J]. Science, 2002, 296(5571): 1313-6.
- [103] CHEN M L, HUANG X, WANG H, et al. CAR directs T cell adaptation to bile acids in the small intestine [J]. Nature, 2021, 593(7857): 147-51.
- [104] CAMPBELL C, MCKENNEY P T, KONSTANTINOVSKY D, et al. Bacterial metabolism of bile acids promotes generation of peripheral regulatory T cells [J]. Nature, 2020, 581(7809): 475-9.
- [105] DAS U N. Essential fatty acids: biochemistry, physiology and pathology [J]. Biotechnol J, 2006, 1(4): 420-39.
- [106] KISHINO S, PARK S B, TAKEUCHI M, et al. Novel multi-component enzyme machinery in lactic acid bacteria catalyzing C=C double bond migration useful for conjugated fatty acid synthesis [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2011, 416(1/2): 188-93.
- [107] SONG X, ZHANG H, ZHANG Y, et al. Gut microbial fatty acid isomerization modulates intraepithelial T cells [J]. Nature, 2023, 619(7971): 837-43.
- [108] KISHINO S, TAKEUCHI M, PARK S B, et al. Polyunsaturated fatty acid saturation by gut lactic acid bacteria affecting host lipid composition [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2013, 110(44): 17808-13.
- [109] MIYAMOTO J, IGARASHI M, WATANABE K, et al. Gut microbiota confers host resistance to obesity by metabolizing dietary polyunsaturated fatty acids [J]. Nat Commun, 2019, 10(1): 4007.
- [110] NOGUCHI M, SHIMIZU M, LU P, et al. Lactic acid bacteria-derived gamma-linolenic acid metabolites are PPAR δ ligands that reduce lipid accumulation in human intestinal organoids [J]. J Biol Chem, 2022, 298(11): 102534.
- [111] DUCA F A, WAISE T M Z, PEPPLER W T, et al. The metabolic impact of small intestinal nutrient sensing [J]. Nat Commun, 2021, 12(1): 903.
- [112] CERVANTES-BARRAGAN L, CHAI J N, TIANERO M D, et al. Lactobacillus reuteri induces gut intraepithelial CD4⁺CD8 α pha α ⁺ T cells [J]. Science, 2017, 357(6353): 806-10.
- [113] BILATE A M, LONDON M, CASTRO T B R, et al. T cell receptor is required for differentiation, but not maintenance, of intestinal CD4⁺ intraepithelial lymphocytes [J]. Immunity, 2020, 53(5): 1001-14, e20.
- [114] BOUSBAINE D, FISCH L I, LONDON M, et al. A conserved bacteroidetes antigen induces anti-inflammatory intestinal T lymphocytes [J]. Science, 2022, 377(6606): 660-6.
- [115] MUCIDA D, HUSAIN M M, MUROI S, et al. Transcriptional

- reprogramming of mature CD4⁺ helper T cells generates distinct MHC class II-restricted cytotoxic T lymphocytes [J]. *Nat Immunol*, 2013, 14(3): 281-9.
- [116] BILATE A M, BOUSBAIN D, MESIN L, et al. Tissue-specific emergence of regulatory and intraepithelial T cells from a clonal T cell precursor [J]. *Sci Immunol*, 2016, 1(2): eaaf7471.
- [117] THURLOW L R, THOMAS V C, HANCOCK L E. Capsular polysaccharide production in *Enterococcus faecalis* and contribution of CpsF to capsule serospecificity [J]. *J Bacteriol*, 2009, 191(20): 6203-10.
- [118] CHEN L, VASOYA R P, TOKE N H, et al. HNF4 regulates fatty acid oxidation and is required for renewal of intestinal stem cells in mice [J]. *Gastroenterology*, 2020, 158(4): 985-99, e9.
- [119] CHEN L, TOKE N H, LUO S, et al. A reinforcing HNF4-SMAD4 feed-forward module stabilizes enterocyte identity [J]. *Nat Genet*, 2019, 51(5): 777-85.
- [120] LEI X, KETELUT-CARNEIRO N, SHMUEL-GALIA L, et al. Epithelial HNF4A shapes the intraepithelial lymphocyte compartment via direct regulation of immune signaling molecules [J]. *J Exp Med*, 2022, 219(8): e20212563.