

重点选题“儿童肠道微生物”·特约专栏

肠道菌群及耐药基因组与抗生素之间关系的研究进展[▲]

叶闻瑜 冯彩霞 单庆文*

[广西医科大学第一附属医院儿科/广西儿科疾病临床医学研究中心(疑难危重诊治),广西南宁市 530021]



单庆文,医学博士,教授,硕士、博士生导师,广西医科大学第一附属医院儿科第二党支部书记,儿科(儿科学教研室)副主任兼二病区主任,广西高校儿童疾病研究重点实验室主任。担任中华医学会儿科学分会感染学组委员、中华医学会儿科学分会儿童感染及肝病学组委员、中华医学会儿科学分会消化病学分会儿科消化协作组委员、中国医师协会儿科医师分会儿童感染专业委员会委员、中国医师协会内镜医师分会儿科消化专业委员会委员。主持及参与国家、省部级课题10多项。带领儿科消化团队发表学术论文将近100篇,其中SCI论文22篇。获广西科学技术进步奖三等奖、广西卫生适宜技术推广奖一等奖各1项,参编译著1部、国内指南共识7篇。主要研究方向为儿童消化系统疾病,尤其在儿童肝病、幽门螺杆菌感染及肠黏膜损伤相关疾病等有较深造诣。2023年8月带领儿科消化团队成立广西医科大学第一附属医院儿童肝病等专病门诊,依托于广西儿科疾病临床医学研究中心,常规开展儿童肝病的诊治,将为成立广西儿童肝病诊治中心奠基。

【提要】 肠道菌群携带的基因被认为是人类的“第二基因组”,肠道菌群也是抗生素耐药基因(ARG)的储存库。肠道菌群组成和功能的紊乱与多种疾病有关。而抗生素的使用打破了肠道菌群原有的稳态,加剧了ARG的传播和扩散,增加了特异性ARG的丰度,对临床治疗造成不良影响。本文就肠道菌群及耐药基因组与抗生素之间的关系做一综述,并对未来研究方向进行展望,以期为肠道耐药基因组的研究提供新思路,同时为临床上合理使用抗生素提供理论依据。

【关键词】 肠道菌群;肠道耐药基因组;抗生素耐药基因;抗生素;综述

【中图分类号】 R 378.2 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 0253-4304(2024)01-0010-05

DOI: 10.11675/j.issn.0253-4304.2024.01.02

Relation of intestinal flora and drug resistance genome with antibiotics: a research progress

YE Wenyu, FENG Caixia, SHAN Qingwen

(Department of Pediatrics, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University/Guangxi Research Center for Pediatric Disease Clinical Medicine [Diagnosis and Treatment of Difficult and Critical Conditions], Nanning 530021, Guangxi, China)

【Abstract】 Genes carried by intestinal flora are considered as “the second genome” of humans, and intestinal flora is also reservoir of antibiotic resistance gene (ARG). Disturbance in composition and function of intestinal flora is related to multiple diseases. However, the use of antibiotics disrupts the original homeostasis of intestinal flora, intensifies spread and diffusion of ARG, increases abundance of specific ARG, and exerts adverse effects on clinical treatment. In this review, the relation of intestinal flora and drug resistance genome with antibiotics is summarized, and future research directions are prospected, aiming at providing new ideas for the research of intestinal drug resistance genome and theoretical basis for the rational use of antibiotics in clinics at the same time.

【Key words】 Intestinal flora, Intestinal drug resistance genome, Antibiotic resistance gene, Antibiotics, Review

[▲]基金项目:国家自然科学基金(82060101);广西儿科疾病临床医学研究中心(桂科AD22035219)

第一作者简介:叶闻瑜,在读博士研究生,研究方向为儿童感染及消化系统疾病。

*单庆文为通信作者及本期专栏主持人。

微生物群中含有多达100万亿个细菌,细菌分布在人体各个部位,其中肠道微生物是人体最大、最复杂的微生态系统。肠道菌群种类超过1 000种,其数量是人体细胞总数的10倍,且肠道菌群携带的基因数目超过人体自身基因总数的100倍,被认为是人类的“第二基因组”^[1]。在生理状态下,肠道菌群保持动态平衡以维持机体健康,因此肠道菌群也被称为“被遗忘的器官”^[2]。抗生素作为20世纪医学领域最重要的发现之一,其可杀灭细菌或抑制细菌生长,同时促进耐药菌和抗生素耐药基因(antibiotic resistance gene, ARG)被筛选和富集,从而扰乱人体肠道菌群的稳态,引发各种肠内外疾病。随着生物信息学、合成生物学、宏基因组学等技术的发展,研究者发现人类肠道菌群拥有较高的丰度和多样性,是ARG的“储存库”^[3]。本文就肠道菌群及耐药基因组与抗生素的关系进行综述,以期对肠道耐药基因组的研究提供新思路,同时为临床上合理使用抗生素提供理论依据。

1 肠道菌群的组成及其与抗生素的关系

1.1 肠道菌群的组成 人类肠道菌群初始来源于母亲阴道、粪便和皮肤的微生物群,以及周围环境的微生物群,随后其组成受到生活方式、饮食和药物的影响,丰度和多样性也持续变化,在出生后前6个月人体肠道菌群的变化最为活跃,双歧杆菌和拟杆菌数量急剧增加,直到出生后2~3年人体肠道菌群才趋于稳定^[4],且肠道内不同部位的菌群组成存在差异^[5]。每个人都有独特的肠道菌群,我国人群肠道菌群共有34个核心菌属和39个核心菌种^[6],厚壁菌门、拟杆菌门、放线菌门和变形杆菌门数量占细菌总数的90%以上^[7],其中拟杆菌属的比例较高,约为30%^[2]。

1.2 抗生素对肠道菌群的影响 抗生素的使用导致大量耐药菌株的出现。据统计,在造成相关感染的细菌中,超过70%的细菌对世界范围内用作一线治疗的至少一种抗生素具有耐药性^[8]。目前抗生素耐药性已成为人类健康的最大威胁之一。抗生素通过影响肠道菌群的基因表达、蛋白质活性和整体代谢,导致人体肠道菌群发生改变,减少肠道菌群的多样性^[9]。抗生素的使用会破坏原有肠道菌群的定植抗性,从而促使病原体入侵。例如,抗生素不仅降低原有肠道菌群对艰难梭菌、沙门氏菌的定植抗性,而且会增加机体对特定机会致病菌的易感性^[10-11]。抗生素的使用可引起肠道菌群失调,其中氨苄西林、万古霉素、硫酸新霉素、甲硝唑可导致肠道拟杆菌门和厚

壁菌门相对丰度下降,变形菌门相对丰度增加^[12]。一项Meta分析评估了抗生素与双歧杆菌属(放线菌门)丰度之间的关系,结果显示抗生素如青霉素类和大环内酯类抗生素与双歧杆菌属丰度的降低显著相关^[13]。Hinterwirth等^[14]分析了学龄前儿童服用阿奇霉素后肠道菌群的改变情况,发现用药后肠道变形杆菌门数量减少,包括人源弯曲杆菌、空肠弯曲杆菌和解尿弯曲杆菌,且这一变化在用药5 d后最为显著。新生儿重症监护室使用抗生素种类较多,覆盖了窄谱和广谱抗生素,其中三代头孢菌素和碳青霉烯类药物等抗生素对肠道物种丰富度降低的影响更大^[15-16]。已有研究显示,新生儿重症监护室患儿肠道菌群以大肠杆菌、克雷伯氏菌、肠杆菌和肠球菌为主,通常具有多重耐药性,这也是导致患儿菌血症的原因之一^[17]。

1.3 抗生素引起的肠道菌群失调对机体的影响 大量研究表明,肠道菌群组成和功能的紊乱与多种疾病有关,包括胃肠道疾病、神经系统疾病、呼吸系统疾病、代谢性疾病、肝脏疾病和心血管疾病等^[18-20]。抗生素被称为摧毁肠道菌群的“核武器”,其通过破坏肠道菌群的结构和功能介导多种疾病的发生。婴儿肠道中的乳酸菌和双歧杆菌对机体免疫系统发育至关重要,且厚壁菌门与拟杆菌门的比值与肥胖倾向有关^[21],因此婴幼儿时期使用抗生素后引起的菌群失调可能与其成年后哮喘、肥胖的发生有关。例如,国外一项研究显示,2岁内开始服用大环内酯类抗生素的儿童更容易出现肥胖和哮喘^[22]。此外,乳酸杆菌、双歧杆菌、大肠杆菌、肠球菌和毛杆菌等肠道菌群可产生多种神经递质和神经营养因子,包括 γ -氨基丁酸和脑源性营养因子,而抗生素的使用可导致上述肠道菌群紊乱,通过脑-肠轴影响神经递质和其他神经营养因子的合成,进而影响中枢神经系统发育和功能调节,引发情绪及行为异常,甚至增加抑郁症的患病风险^[23-24]。在抗生素干预后梭菌属的丰度反而显著增加^[25],而梭状芽孢杆菌XⅧ群产生的外毒素可能会促进孤独症的发生^[26]。抗生素引起的肠道菌群代谢产物水平紊乱也可对机体产生不良影响。短链脂肪酸是肠道菌群一类重要的代谢产物,具有调节免疫、抗肿瘤和调控基因表达等作用,抗生素滥用导致的短链脂肪酸产生菌(主要分布于厚壁菌门)减少可能会影响肿瘤免疫治疗^[25]。

2 肠道耐药基因组及其与抗生素的关系

2.1 肠道耐药基因组的来源 人类肠道菌群作为 ARG 的储存库,约含有 6 095 种新型抗生素抗性决定簇^[27]。刚出生的婴儿即使从未使用抗生素,肠道也可出现 ARG,但目前尚不清楚 ARG 何时出现^[3]。有学者认为 ARG 最早出现在出生后 1 周或更晚的新生儿粪便中,并在出生后 30 d 内保持稳定^[28]。已有多项研究表明,人体肠道耐药基因组主要来源于母体,母体可能通过子宫内传播或阴道分娩过程中的抗生素耐药细菌传播给新生儿,新生儿也可能在出生后通过暴露于病房空气、饮用水和母乳传播获得。例如,Zhang 等^[28]在 82 名新生儿粪便和新生儿母亲的羊水、初乳样本,以及病房空气和饮用水样本中检测到 9 种最常见的 ARG,这些 ARG 可导致细菌对四环素类抗生素(*tetM* 基因)、 β -内酰胺类抗生素(*mecA*、*blaTEM*、*blaNDM-1* 和 *ampC* 基因)、大环内酯类抗生素(*ermB* 基因)、磺酰胺类抗生素(*sul2* 基因)、氨基糖苷类抗生素 [*aac(6')-Ib* 基因] 和多聚肌苷类抗生素(*mcr-1* 基因)耐药。de Goffau 等^[29]认为,胎盘没有微生物群,而产道中含有大量细菌,且这些细菌可能含有 ARG;其还发现从母乳中分离出的细菌也对多种抗生素耐药,包括葡萄球菌、链球菌和肠球菌等,分离的表皮葡萄球菌可携带多种 ARG,包括 *mecA* 基因和 *ermB* 基因。一项母乳宏基因组研究表明,母亲的一些 ARG 和移动遗传元件可以从母亲的肠道和母乳转移到婴儿肠道^[30]。然而,与母亲相比,新生儿具有更高丰度的 ARG,这可能是因为新生儿粪便中具有高丰度的 γ -变形杆菌,而 γ -变形杆菌通常携带几种耐药基因,且新生儿粪便中存在肠道首批定植菌,也可能与产时和新生儿时期抗生素的使用有关,可通过使用益生菌和噬菌体来调节新生儿 ARG 的丰度^[31]。

2.2 肠道耐药基因组与抗生素耐药的关系 抗生素耐药性通常是通过 ARG 获得。目前已知的 ARG 种类繁多,几乎所有的抗生素都有对应已知的 ARG^[32]。ARG 可通过噬菌体、质粒和移动遗传元件在种内和种间水平转移,从而在菌群中迅速传播^[33],其中基因水平转移可促使多重耐药细菌快速进化和传播^[34]。作为人类肠道 ARG 转移的介质之一,质粒可跨越人

类肠道菌群不同的属,甚至不同的门。例如,pB10 是一种 IncP-1 型质粒,具有在几乎所有种类的 α -变形菌、 β -变形菌和 γ -变形菌中转移和复制的能力^[35]。肠杆菌科细菌的质粒通常携带 ARG,质粒 Clstr_417 成为大肠杆菌和拟杆菌之间的穿梭载体^[36]。此外,Busi 等^[37]通过对 20 个婴儿肠道宏基因组的预测性计算分析后发现,6%~8% 的 ARG 位于质粒或噬菌体上。因此,肠道又称为“基因-基因组-宏基因组反应器”。Su 等^[38]通过对全球不同生态系统的 52 515 个微生物基因组进行了移动遗传元件和毒力因子基因(*vfg*)鉴定,鉴定出 6 159 个携带 ARG 的宏基因组组装基因组(ARG-carrying metagenome-assembled genome, ACM),其中大部分来自人类肠道。Malin 等^[39]对 162 个肠道宏基因组测序后发现,几乎在所有样本中均可观察到 ARG *ermB* 和 *bla2e-cfxa* 分别对红霉素和头孢菌素耐药的现象。

2.3 肠道菌群对抗生素耐药的机制 健康人体肠道菌群对抗生素耐药的机制主要包括促进抗生素主动外排,产生修饰或破坏抗生素结构的酶,以及改变抗生素作用靶点等,其中促进抗生素主动外排这一机制最为常见^[40]。四环素类抗生素耐药相关基因是在人类肠道微生物群中最丰富的 ARG,其主要通过外排机制介导四环素类抗生素的抗性^[41]。肠杆菌科菌群是 ARG 的最大宿主,其携带的 ARG 占有 ACM 的 14%,占有 ARG 的 64%^[38]。肠杆菌科菌群最重要的耐药机制是产生超广谱 β -内酰胺酶,这些酶可以破坏 β -内酰胺类抗生素的 β -内酰胺环,从而使 β -内酰胺类抗生素失活。肠球菌科菌群是 ARG 的第二大载体,天然含有部分 ARG,并能迅速获得其他 ARG,包括多重耐药基因,这导致其对万古霉素耐药^[42],而肠球菌对万古霉素的耐药机制主要是改变万古霉素的作用靶点。

3 小结与展望

抗生素耐药性已成为一个日趋严重的全球性问题,抗生素滥用导致 ARG 在肠道中积累并在不同菌群之间传播。因此,迫切需要采取行动减少人类肠道中 ARG 的产生和传播。既往认为益生菌干预是改

善抗生素所致微生物群紊乱的手段,并可防止肠道抗性组的扩散。Su等^[43]发现,新型冠状病毒肺炎(novel corona virus disease 2019, COVID-19)患者入院时即存在肠道抗性组扩散,并可持续至病毒清除后6个月,在病毒阳性期间使用抗生素可加重肠道抗性组的扩散,而无论是急性感染期间或在病毒清除后使用益生菌均可降低COVID-19患者肠道菌群的ARG数量和丰度。然而,益生菌是否能有效消除肠道菌群中的ARG仍存在争议。已有学者在商业益生菌产品和常见益生菌补充剂菌群的基因组中发现了ARG,且至少有一部分ARG可转移到共生菌和病原体中,益生菌的应用不仅导致受抗生素干扰的肠道中携带ARG的菌株数量增加,益生菌本身也可能成为肠道抗性组的储存库^[44]。因此,益生菌对肠道菌群ARG的影响仍需要进一步研究。今后,可结合肠道菌群的独特性开发新型抗生素,不仅可直接对抗病原体,还能减少对正常肠道菌群的损害。此外,应进一步研究肠道益生菌在控制肠道菌群ARG的产生和传播方面的作用。

致谢:本研究获得广西高校儿童疾病研究重点实验室协助完成。

参 考 文 献

- [1] 段宇婧,吴新颜,陈则友,等.人体肠道耐药基因组的研究进展[J].生态毒理学报,2020,15(4):1-10.
- [2] 刘俊兰,刘 瑶,吕慧颖,等.人体共生菌及其抗菌分子研究进展[J].生物工程学报,2018,34(8):1316-1325.
- [3] 李海北,杨沂嫡,李君文,等.人类肠道菌群中抗生素耐药基因的研究进展[J].中国药理学与毒理学杂志,2021,35(2):81-89.
- [4] Gibson MK, Crofts TS, Dantas G. Antibiotics and the developing infant gut microbiota and resistome [J]. Curr Opin Microbiol, 2015, 27: 51-56.
- [5] Zeb F, Osaili T, Obaid RS, et al. Gut microbiota and time-restricted feeding/eating: a targeted biomarker and approach in precision nutrition [J]. Nutrients, 2023, 15(2): 259.
- [6] Zhang W, Han N, Zhang TT, et al. The spatial features and temporal changes in the gut microbiota of a healthy Chinese population [J]. Microbiol Spectr, 2022, 10(6): e0131022.
- [7] 骆慧晓,张晓婷,汪 庆,等.人体肠道菌群中抗生素耐药基因的水平转移研究[J].中国抗生素杂志,2023,48(7):745-753.
- [8] Casaburi G, Duar RM, Vance DP, et al. Early-life gut microbiome modulation reduces the abundance of antibiotic-resistant bacteria [J]. Antimicrob Resist Infect Control, 2019, 8: 131.
- [9] Kesavelu D, Jog P. Current understanding of antibiotic-associated dysbiosis and approaches for its management [J]. Ther Adv Infect Dis, 2023, 10: 20499361231154443.
- [10] Wu ZJ, Xu QM, Gu SL, et al. *Akkermansia muciniphila* ameliorates *Clostridioides difficile* infection in mice by modulating the intestinal microbiome and metabolites [J]. Front Microbiol, 2022, 13(): 841920.
- [11] 方鼎丽,方 芳,郭沁园,等.抗生素对肠道定植抗力的影响研究进展[J].中国抗生素杂志,2021,46(2):113-120.
- [12] Ran X, He Y, Ai Q, et al. Effect of antibiotic-induced intestinal dysbacteriosis on bronchopulmonary dysplasia and related mechanisms [J]. J Transl Med, 2021, 19(1): 155.
- [13] McDonnell L, Gilkes A, Ashworth M, et al. Association between antibiotics and gut microbiome dysbiosis in children: systematic review and meta-analysis [J]. Gut Microbes, 2021, 13(1): 1-18.
- [14] Hinterwirth A, Sié A, Coulibaly B, et al. Rapid reduction of campylobacter species in the gut microbiome of preschool children after oral azithromycin: a randomized controlled trial [J]. Am J Trop Med Hyg, 2020, 103(3): 1266-1269.
- [15] Gibson MK, Wang B, Ahmadi S, et al. Developmental dynamics of the preterm infant gut microbiota and antibiotic resistome [J]. Nat Microbiol, 2016, 1: 16024.
- [16] Schulman J, Profit J, Lee HC, et al. Variations in neonatal antibiotic use [J]. Pediatrics, 2018, 142(3): e20180115.
- [17] Schwartz DJ, Langdon AE, Dantas G. Understanding the impact of antibiotic perturbation on the human microbiome [J]. Genome Med, 2020, 12(1): 82.
- [18] Shao HQ, Zhang CY, Xiao NQ, et al. Gut microbiota characteristics in mice with antibiotic-associated diarrhea [J]. BMC Microbiol, 2020, 20(1): 313.
- [19] Xu H, Wang X, Feng WK, et al. The gut microbiota and its interactions with cardiovascular disease [J]. Microb Biotechnol, 2020, 13(3): 637-656.

- [20] Chen YW, Zhou JH, Wang L. Role and mechanism of gut microbiota in human disease [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2021, 11:625913.
- [21] Ronan V, Yeasin R, Claud EC. Childhood development and the microbiome—the intestinal microbiota in maintenance of health and development of disease during childhood development [J]. *Gastroenterology*, 2021, 160(2):495–506.
- [22] Iizumi T, Battaglia T, Ruiz V, et al. Gut microbiome and antibiotics [J]. *Arch Med Res*, 2017, 48(8):727–734.
- [23] Fröhlich EE, Farzi A, Mayerhofer R, et al. Cognitive impairment by antibiotic-induced gut dysbiosis: analysis of gut microbiota-brain communication [J]. *Brain Behav Immun*, 2016, 56:140–155.
- [24] Hao WZ, Li XJ, Zhang PW, et al. A review of antibiotics, depression, and the gut microbiome [J]. *Psychiatry Res*, 2020, 284:112691.
- [25] Palleja A, Mikkelsen KH, Forslund SK, et al. Recovery of gut microbiota of healthy adults following antibiotic exposure [J]. *Nat Microbiol*, 2018, 3(11):1255–1265.
- [26] Strati F, Cavalieri D, Albanese D, et al. New evidences on the altered gut microbiota in autism spectrum disorders [J]. *Microbiome*, 2017 Feb 22;5(1):24.
- [27] Ruppé E, Ghozlane A, Tap J, et al. Prediction of the intestinal resistome by a three-dimensional structure-based method [J]. *Nat Microbiol*, 2019, 4(1):112–123.
- [28] Zhang KM, Jin M, Yang D, et al. Antibiotic resistance genes in gut of breast-fed neonates born by caesarean section originate from breast milk and hospital ward air [J]. *BMC Microbiol*, 2022, 22(1):36.
- [29] de Goffau MC, Lager S, Sovio U, et al. Human placenta has no microbiome but can contain potential pathogens [J]. *Nature*, 2019, 572(7769):329–334.
- [30] Pärnänen K, Karkman A, Hultman J, et al. Maternal gut and breast milk microbiota affect infant gut antibiotic resistome and mobile genetic elements [J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1):3891.
- [31] Leo S, Curtis N, Zimmermann P. The neonatal intestinal resistome and factors that influence it—a systematic review [J]. *Clin Microbiol Infect*, 2022, 28(12):1539–1546.
- [32] Theophilus RJ, Taft DH. Antimicrobial resistance genes (ARGs), the gut microbiome, and infant nutrition [J]. *Nutrients*, 2023, 15(14):3177.
- [33] Fredriksen S, de Warle S, van Baarlen P, et al. Resistome expansion in disease-associated human gut microbiomes [J]. *Microbiome*, 2023, 11(1):166.
- [34] Shen Z, Tang CM, Liu GY. Towards a better understanding of antimicrobial resistance dissemination: what can be learnt from studying model conjugative plasmids? [J]. *Mil Med Res*, 2022, 9(1):3.
- [35] Jain A, Srivastava P. Broad host range plasmids [J]. *FEMS Microbiol Lett*, 2013, 348(2):87–96.
- [36] Yang LL, Mai GQ, Hu Z, et al. Global transmission of broad-host-range plasmids derived from the human gut microbiome [J]. *Nucleic Acids Res*, 2023, 51(15):8005–8019.
- [37] Busi SB, de Nies L, Habier J, et al. Persistence of birth mode-dependent effects on gut microbiome composition, immune system stimulation and antimicrobial resistance during the first year of life [J]. *ISME Commun*, 2021, 1(1):8.
- [38] Su ZG, Wen DH. Characterization of antibiotic resistance across Earth's microbial genomes [J]. *Sci Total Environ*, 2022, 816:151613.
- [39] Malin JJ, von Wintersdorff CJH, Penders J, et al. Longitudinal fluctuations of common antimicrobial resistance genes in the gut microbiomes of healthy Dutch individuals [J]. *Int J Antimicrob Agents*, 2023, 61(3):106716.
- [40] Kang K, Imamovic L, Misiakou MA, et al. Expansion and persistence of antibiotic-specific resistance genes following antibiotic treatment [J]. *Gut Microbes*, 2021, 13(1):1–19.
- [41] Hu YF, Yang X, Qin JJ, et al. Metagenome-wide analysis of antibiotic resistance genes in a large cohort of human gut microbiota [J]. *Nat Commun*, 2013, 4:2151.
- [42] MacDonald T, Dunn KA, MacDonald J, et al. The gastrointestinal antibiotic resistome in pediatric leukemia and lymphoma patients [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2023, 13:1102501.
- [43] Su Q, Liu Q, Zhang L, et al. Antibiotics and probiotics impact gut antimicrobial resistance gene reservoir in COVID-19 patients [J]. *Gut Microbes*, 2022, 14(1):2128603.
- [44] Montassier E, Valdés-Mas R, Bataud E, et al. Probiotics impact the antibiotic resistance gene reservoir along the human GI tract in a person-specific and antibiotic-dependent manner [J]. *Nat Microbiol*, 2021, 6(8):1043–1054.

(收稿日期:2023-10-14 修回日期:2023-12-15)