

肠道菌群影响宿主行为的研究进展

罗佳^{①②③}, 金锋^{①*}

① 中国科学院心理研究所, 心理健康重点实验室, 北京 100101;

② 中国科学院大学, 北京 100049;

③ 四川师范大学教师教育学院, 成都 610068

* 联系人, E-mail: jinfeng@psych.ac.cn

2014-03-04 收稿, 2014-04-04 接受, 2014-07-02 网络版发表

日本 NSBJ 乳酸菌研究特别寄付金资助

摘要 肠道内定植了数量众多、种类丰富的肠道菌群, 它们和宿主间形成了互利共生的关系, 对宿主的健康产生着重大影响. 近年来, 随着对肠道菌群调控作用研究的不断深入, 发现肠道菌群不仅调控肠道活动, 还影响宿主的脑功能和行为. 肠道菌群通过肠-脑轴调控宿主行为, 而肠-脑轴是由免疫、神经内分泌和迷走神经途径构成的肠道和脑之间的交流系统. 动物研究(无菌动物、肠道病原菌感染以及抗生素和益生菌处理动物)和临床观测结果表明, 肠道菌群通过肠-脑轴对宿主的应激反应、焦虑、抑郁和认知功能产生重要影响. 平衡的肠道菌群可以促进宿主的身心健康, 而肠道菌群失调则可能引发肠-脑疾病(如肠易激综合征、炎性肠道疾病和肝性脑病)和中枢神经系统疾病(如多发性硬化症、阿尔兹海默症和自闭症等). 深入了解肠道菌群对宿主行为的影响, 有助于更好地理解肠易激综合征和多发性硬化症等的发病机理, 并认识到调节和恢复正常肠道菌群的安全有效措施(补充益生菌)是治疗精神心理疾病的重要组成部分.

关键词

肠道菌群
肠-脑轴
焦虑
抑郁
认知

肠道菌群数量众多、种类丰富, 广泛参与多种生理活动, 对人类的健康至关重要^[1-4]. 在微生物学研究领域, 研究人员早已发现肠道菌群能够调节肠道运动和分泌, 分解食物中的大分子复合多糖, 参与营养物质的消化和吸收, 维持肠上皮屏障的完整性, 促进并维护免疫系统的正常发育和活动等^[5,6]. 在 20 世纪也许还很难想象肠道菌群和脑之间的联系, 然而随着对肠道菌群调控功能了解的不断深入, 研究者们发现, 肠道菌群不仅调节肠道, 还能影响脑的活动甚至行为. 肠道菌群调控脑和行为的研究成果来自于多个方面, 包括肠道神经系统^[7]、神经影像学^[8]、肠道菌群和宿主的相互作用^[9,10], 以及肠道菌群-肠-脑轴^[11-13]. 这些研究结果表明, 肠道菌群通过肠-脑轴影响脑和行为. 肠-脑轴是肠和脑之间的信息交流系统, 由免疫、迷走神经和神经内分泌途径构成^[14,15].

相关的动物研究则提供了肠道菌群调控宿主行为的直接证据. 目前调控肠道菌群的实验方法主要有无菌饲养、肠道病原菌感染、抗生素处理和服用益生菌. 研究发现, 与正常动物相比, 肠道菌群发生改变(无菌动物、肠道病原菌感染以及被抗生素和益生菌处理过的动物)在行为(焦虑、抑郁和认知行为等)和神经生化上发生了明显的改变^[16-19]. 例如, 无菌动物具有过度的应激反应、空间记忆能力下降, 以及相关脑区脑源性神经营养因子(BDNF)、5-HT 和谷氨酸受体(NR)的表达异常^[16,20]; 抗生素处理则增加了小鼠在明暗箱测试中的探索行为、减少了穿梭的潜伏期以及提高了海马和杏仁核中 BDNF 的水平^[17]; 肠道柠檬酸杆菌感染会导致小鼠的焦虑行为和迷走神经节 c-FOS 蛋白表达的增加^[21]; 益生菌鼠李糖乳杆菌可以改善应激小鼠的焦虑和抑郁行为, 并恢复

引用格式: 罗佳, 金锋. 肠道菌群影响宿主行为的研究进展. 科学通报, 2014, 59: 2169-2190

Luo J, Jin F. Recent advances in understanding the impact of intestinal microbiota on host behavior (in Chinese). Chin Sci Bull (Chin Ver), 2014, 59: 2169-2190, doi: 10.1360/N972014-00120

伽马氨基丁酸 (GABA)_A 和 GABA_B 受体在海马、下丘脑、杏仁核和前额叶的正常表达水平^[19]。

另一方面的证据来自于肠道菌群失调引发的疾病。首先,由于参与调控肠和脑的活动,肠道菌群失调可能导致肠-脑疾病。人类常见的肠-脑疾病包括肠易激综合征(IBS)、炎性肠道疾病(IBD)和肝性脑病(HE)。这类疾病不仅具有明显的肠道症状(如排便异常、消化不良、腹痛、腹胀和肠道炎症等),同时还伴有焦虑、抑郁和认知功能减退等神经精神症状^[22-26]。已有大量的研究发现,肠-脑疾病患者的肠道菌群发生了显著改变^[27-29],且肠道菌群失调会导致动物出现类似于人类的肠-脑疾病^[30-32]。此外,肠道菌群失调还可能导致中枢神经系统(CNS)疾病。相关研究发现,肠道菌群失调很可能是导致多发性硬化症、精神分裂、慢性疲劳综合征、阿尔兹海默症和帕金森症等的重要原因^[33-36]。因此,对于肠道菌群失调导致的心理和精神异常,调节和恢复正常肠道菌群的疗法可能更直接和安全有效。服用益生菌被认为是促进心理健康的潜在有效措施,因为它是肠道内的有益微生物,有利于改善胃肠道环境和维护肠道菌群平衡,常见的有乳酸菌和双歧杆菌。动物和临床研究的结果表明,益生菌能够降低焦虑和抑郁、提高认知能力,改善自闭症、多发性硬化症、阿尔兹海默症和帕金森症等,有益于人类的心理健康^[19,34,35,37-41]。

相对于其他领域的研究,肠道菌群调控行为的研究尚处于起步阶段,但已经逐渐成为多个领域的研究热点。它的发展和壮大需要依赖神经科学、微生物学、心理学、胃肠病学、精神病学、免疫学和药理学等多个领域的合作。肠道菌群调控行为的研究拓展了我们对肠道菌群调控功能的了解,并提供了一个良好的机会去全面重新地认识情绪和行为的调控机制。随着研究的进展,以肠道菌群为靶点的益生菌干预可能在今后成为改善情绪和治疗精神疾病的安全有效的疗法。

1 肠道菌群

肠道菌群数量众多、种类丰富,以人类为例,肠道内定植的细菌数量约为 $10^{13} \sim 10^{14}$,超过人体细胞总数的 10 倍,所编码的基因至少是人类基因组的 150 倍^[1,2,42]。人类的编码基因大概有 26600,在数量上远少于其他物种,比如水稻有 46000 个编码基因^[43,44],这和我们人类在生理、情感以及行为上的复

杂性形成了鲜明对比,被称之为基因组的复杂性难题(genome-complexity conundrum)。人体有 2 个基因组,一个是我们从父母那里遗传来的人基因组,另一个是我们出生后进入人体的肠道共生微生物的基因组,称为“微生物组”,也称“元基因组”^[45,46]。在长期的共生中,人类和肠道菌群在基因水平上形成了人类-肠道菌群的基因复合体,使得人类的基因复杂性远超过了水稻等其他物种,因为研究表明人类转录组所含的 4026600 个 mRNA 中约有 4×10^6 个 mRNA 来自于肠道菌群^[43,44]。这种基因水平上的交流在功能上体现为肠道菌群广泛参与宿主的各项生理活动。多项研究表明,肠道菌群和胃肠道、肝脏、皮肤和中枢系统等器官具有密切的交流,并参与营养物质的消化和吸收、神经发育和传递以及免疫等活动^[5,6,47]。从人类基因组计划中我们看到,对人类遗传信息的解读并未掌握人类健康以及疾病治疗的关键,因为人类对与我们共生的数量庞大的肠道菌群还不甚了解。我们应该重新思考并认识到人类健康和疾病治疗的关键可能在于肠道菌群。美国国立卫生研究院(NIH)于 2007 年启动的“人类微生物组计划”意在帮助人类在健康评估与监测,以及慢性病的早期诊断与治疗等方面取得突破性进展^[45,46]。目前已有研究发现,肠道菌群失调很可能是导致肥胖、高血压和糖尿病等代谢疾病,以及抑郁、焦虑和认知功能下降等精神心理疾病的重要原因^[48-52]。

一个成年人肠道内定植的菌群估计超过 10000 种^[53],其中厚壁菌门和拟杆菌门是人类肠道菌群中占有数量优势的 2 个主要的菌门,其次数量较多的还包括变形菌门、放线菌门、梭杆菌门和疣微菌门^[54]。肠道菌群的初始定植发生在出生时,来自于婴儿通过产道时接触的复杂菌群。因此出生后的一段时间内,肠道菌群的构成具有明显的母系特征,大约一年后才逐渐转变为个体化的结构^[55-57]。影响肠道菌群构成的一个重要因素就是饮食结构。例如,高脂或高蛋白的食物促进拟杆菌的增殖,而普雷沃菌属数量的增加则需要高碳水化合物的饮食^[58,59]。肠道菌群的构成在正常情况下处于动态平衡中,互相制约、共存共荣。然而,肠道菌群失调会增加疾病的易感性。感染、疾病以及抗生素等都可能破坏肠道菌群的平衡,从而对宿主健康产生不良影响^[59]。例如,由于饮食结构改变、免疫抵抗力降低以及炎症状态增加等因素^[60],老年人的肠道菌群构成与青年人相比发生显

著改变,且直接与其健康状况相关^[61,62].

肠道菌群在调节胃肠道运动、促进消化吸收和提高免疫力等方面的作用早已被人熟知:肠道菌群在肠道黏膜表面形成一道保护性的生物屏障,抑制病原菌的过度增殖和病毒感染;促进先天免疫和获得性免疫的发育和维护免疫系统的正常功能;调节胃肠道运动,直接或间接参与3大营养物质的能量代谢,参与维生素的合成,影响脂肪的吸收和分布等^[5,6,63,64].而近十几年来,越来越多的研究开始关注肠道菌群

对脑功能的影响.已有研究表明,肠道菌群参与调控脑发育、应激反应、焦虑、抑郁、认知功能等中枢神经系统活动^[14,19,20,35,65].肠道菌群、肠道和脑这3者间进行着密切的信息交流,使得我们对行为和情绪的调控方式有了全新和更全面的认识.肠道菌群是机体的重要组成部分,肠道菌群的作用不仅局限于胃肠道,而且可以通过肠-脑轴的3条途径(免疫、神经内分泌和迷走神经途径)形成肠道菌群-肠-脑轴,能够对脑功能和行为产生重大的影响(图1).

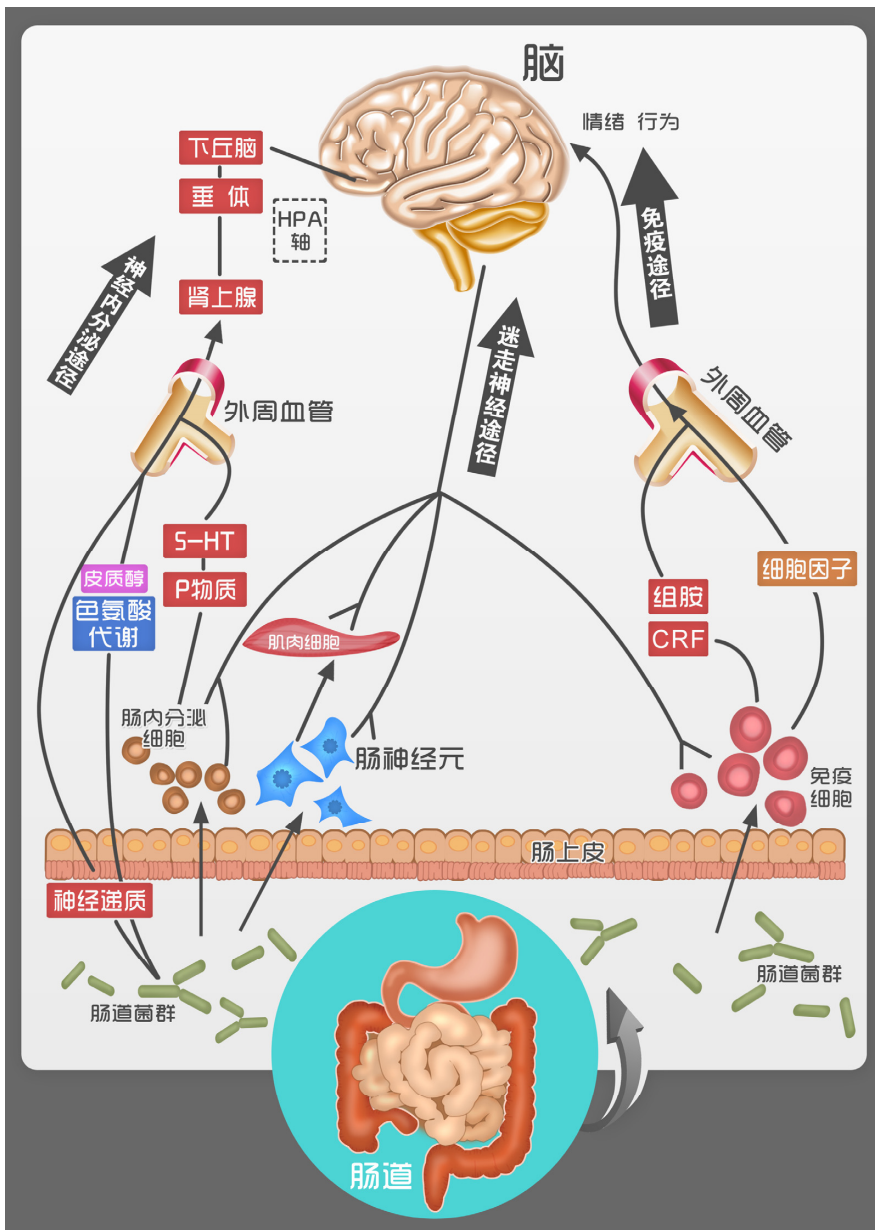


图1 (网络版彩色)肠道菌群通过肠-脑轴的免疫、神经内分泌和迷走神经途径调控宿主行为示意图

2 肠道菌群影响宿主行为的途径: 肠-脑轴

2.1 免疫途径

由于肠道内定植的肠道菌群数量庞大和构成复杂, 肠道淋巴组织含有的免疫细胞占整个机体免疫细胞的 70%~80%^[66]. 正常情况下, 免疫系统能区分共生菌和病原菌, 对共生菌免疫耐受而对病原菌产生免疫反应^[67]. 这种免疫区分是通过肠上皮细胞的信号传导来实现的: 特化的肠上皮细胞——微皱细胞能将菌群的信息通过转吞胞作用传递给淋巴集结中的抗原提呈细胞; 同时, 固有层的突触细胞直接在肠上皮细胞的紧密连接间伸出突触来接收肠腔内的菌群信号^[67]. 这 2 种信号传导细胞上均有多种 Toll-like 受体(TLRs)的表达, 不同的 TLRs 识别不同肠道菌的信号, 即细菌相关的分子结构(MAMPs), 比如 TLR2 识别革兰氏阳性菌的肽聚糖, TLR4 结合革兰氏阴性菌的脂多糖以及 TLR5 识别革兰氏阳性和阴性菌的鞭毛蛋白. TLRs 和 MAMPs 的结合激活免疫系统, 释放细胞因子等免疫活性物质, 引起对共生菌的免疫耐受而对病原菌进行免疫清除^[68]. 免疫学家们早就认识到肠道菌群维护和促进免疫系统的正常活动和发育^[69-71], 而免疫系统对中枢神经系统活动具有重要影响^[18,72,73]. 由此, 肠道菌群可以通过免疫途径影响脑功能, 主要包括以下 3 种方式: 一是肠道菌群诱导产生的细胞因子进入循环系统, 通过血脑屏障上的转运系统进入脑, 直接对脑的活动和功能产生影响^[74]; 二是脑室周器和脉络丛中的巨噬样细胞上也有 TLRs 表达, 能对循环系统中肠道菌群的 MAMPs 产生应答并释放细胞因子^[75]. 由于室周器在血脑屏障的外面, 释放的细胞因子以自由扩散的方式进入大脑, 对脑的活动产生影响^[76]; 三是血管周的巨噬细胞和脑小血管的上皮细胞上表达的 IL-1 受体能直接和循环系统中肠道菌群产生的 IL-1 结合, 产生前列腺素 E₂, 调节脑的活动和功能^[77,78]. 动物研究的结果支持肠道菌群通过免疫途径调控脑的活动. 无菌动物是研究肠道菌群如何通过免疫途径影响脑活动的一个很好的模型动物. 无菌动物没有肠道菌群, 且免疫系统发育不成熟^[9,63,71]. Sudo 等人^[20]发现, 与正常动物相比, 无菌动物表现出过度的应激反应; 而当无菌动物肠道内定植正常菌群后, 免疫系统发育良好且应激反应恢复正常. 此外, 另一个常用

的方法是肠道病原菌感染, 因为肠道病原菌本身是肠道菌群的组成部分, 且其感染会导致肠道菌群发生改变^[79-81]. Bercik 等人^[18]发现, 鼠鞭毛虫感染会导致小鼠的结肠炎、血液中促炎细胞因子(包括肿瘤坏死因子 (TNF) α 和干扰素(INF) γ)的浓度升高, 并出现焦虑行为; 而抗炎药物降低感染小鼠结肠炎和促炎细胞因子浓度的同时改善了焦虑行为.

除了免疫途径, 肠道菌群还可以通过其他途径调控中枢活动和行为. 比如, 在 Bercik 等人^[18]进行的研究中, 服用益生菌长双歧杆菌虽然对感染小鼠血液中的促炎细胞因子水平没有影响, 但能够显著改善焦虑行为.

2.2 神经内分泌途径

肠道共有 20 多种肠内分泌细胞, 它们构成了人体最大的内分泌器官^[82]. 接收刺激后, 肠内分泌细胞通过内分泌和旁分泌的方式影响中枢神经系统活动. 内分泌传递是指肠内分泌细胞释放的神经内分泌物质进入循环系统并最终作用于下丘脑及其相关脑区; 旁分泌传递则是神经内分泌物通过作用于迷走神经影响中枢神经系统的活动. 内分泌传递的一个重要组成部分是下丘脑-垂体-肾上腺(HPA)轴. 当受到应激时, HPA 轴释放皮质醇, 皮质醇能够调控肠道免疫细胞的活动和细胞因子的释放、影响肠道的渗透性和屏障功能以及改变肠道菌群的结构. 相反地, 肠道菌群也能够调节 HPA 轴的活动, 对脑的活动产生影响. Sudo 等人^[20]发现, 肠道菌群在 HPA 轴正常活动的维护中发挥了重要作用. 与正常动物相比, 无菌动物表现出 HPA 轴对束缚应激的过度反应, 释放过多的促肾上腺皮质激素和皮质酮. 而无菌动物定植正常肠道菌群后 HPA 轴活动恢复正常. 类似的结果在近期发表的几项研究中有报道. 雌雄的无菌小鼠在受到新颖环境应激后均表现出了过度的应激反应, 并伴随有增强的神经内分泌活动^[83]. 幼年期母子分离引发的长期肠道菌群改变可能是大鼠成年后表现出异常的 HPA 轴活动和过度应激行为的原因^[84,85]. 此外, Gareau 等人^[86]发现服用乳酸菌能够使母子分离导致大鼠升高的皮质酮水平恢复正常. Ait-Belgnaoui 等人^[87]也发现, 束缚应激的大鼠服用乳酸菌后过度的 HPA 轴活动能够恢复正常.

事实上, 肠内分泌细胞上有 Toll-like 受体分布, 因此肠道菌群能够调控肠内分泌细胞的分泌活动^[88].

肠道还有一类特殊的肠内分泌细胞——肠嗜铬细胞,其分泌的神经递质五羟色胺(5-HT),使得机体95%的5-HT都在肠道分布.肠道菌群调节嗜铬细胞释放5-HT,并以旁分泌的方式调节大脑的情绪活动^[89].此外,肠道菌群还通过影响色氨酸的代谢调控中枢的活动.色氨酸是5-HT合成的前体物质,其主要的代谢途径是被吲哚胺2,3-加双氧酶(IDO)转化为犬尿氨酸,而IDO的激活依赖于促炎细胞因子和皮质类固醇^[90].肠道菌群可能通过影响促炎细胞因子和皮质醇的产生参与调控色氨酸的代谢活动.有研究表明,肠道内的一种益生菌婴儿双歧杆菌能够调控犬尿氨酸的水平^[91].

2.3 迷走神经途径

根据神经元所在的位置,支配肠道的神经可以分为2类:一类是外在神经,包括脊髓和迷走传入神经;另一类是内在神经,肠道神经元发出的神经.在肠道,内在神经的数量约为1亿,而外在神经的数量大概有5000^[92].外在和内在神经间不仅形成多条反射回路来维持肠道的正常活动和调节肠道对刺激的反应,外在神经还通过和脊髓背角第一层的神经元以及迷走神经的孤束核胞体形成突触,将肠道的多种信息传递到大脑.根据迷走神经上分布受体的不同,可以将迷走神经分为3类,不同类型的迷走神经传递不同的肠道信息到达大脑.

第1类是机械敏感型的迷走神经,这类迷走神经支配肠系膜、肠纵环肌以及接近肠道的卡哈尔间质细胞.由于神经末端上有机敏敏感通道的分布,这类迷走神经对胃肠道的扩张、收缩以及运动很敏感^[92-95].但是,在正常情况下机械敏感型迷走神经对机械刺激没有反应,只有当肠道炎症发生时这些神经才具有机械敏感性^[96,97].第2类是化学敏感型的迷走神经,这类迷走神经上有食欲受体分布且神经末端和肠内分泌细胞接触,能对肠内分泌细胞分泌的促食欲和厌食神经肽产生反应,调节中枢的摄食行为.事实上,摄食行为受机体营养状况的影响,因为化学敏感型迷走神经上食欲受体的表达受肠腔内营养物质的调控,比如禁食造成促食欲受体的增加、厌食受体的减少,从而增加动物的摄食行为^[98].第3类是免疫型迷走神经,这类迷走神经末端和肠黏膜的免疫细胞接触,能对肥大细胞和淋巴球细胞释放的多种信号因子作出反应,包括肥大细胞分泌的组胺、蛋白酶、

5-HT和促肾上腺皮质激素释放因子(CRF)以及巨噬细胞释放的细胞因子^[99-101].

由于广泛参与调控肠道的运动、神经内分泌和免疫活动,比如调节肠道运动和分泌活动、影响营养物质的消化吸收和调控免疫细胞的成熟和细胞因子的释放,肠道菌群通过相应迷走神经的传递能够影响中枢神经系统和宿主行为.相关的研究结果为肠道菌群调控行为的迷走神经途径提供了证据.Powley等人^[102]认为,肠道神经系统在迷走神经途径中扮演了重要角色.解剖学证据表明,肠肌间神经丛的感觉神经元一方面接触肠道菌群,另一方面和肠道的运动神经元形成突触,参与调控肠道的运动和分泌等活动.不仅如此,肠道神经系统还与由肠到脑的迷走神经形成突触连接^[102],构成了肠道菌群-肠道神经系统-迷走神经-脑这一信息传递途径.近期的一项研究结果支持这一观点.通过记录肠道神经系统感觉神经元细胞内的活动,研究者们发现无菌动物与正常动物相比,肠道感觉神经元的活动降低,而无菌动物定植正常菌群后感觉神经元的活动恢复正常^[103].此外,服用益生菌罗伊氏乳杆菌也能够增强大鼠肠道感觉神经元的活动^[104].Goehler等人^[105]调查了肠道内定植空肠弯曲杆菌对脑功能的影响.空肠弯曲杆菌是一种食源性的病原菌,其感染能够增加迷走神经传入脑区c-Fos(神经元激活的标志)的表达,导致小鼠的焦虑行为.此外,相关研究发现益生菌改善行为的作用也是由迷走神经介导的.迷走神经切断后,益生菌长双歧杆菌改善结肠炎小鼠焦虑行为的有益作用也随之消失^[38].

需要说明的是,肠-脑轴的3条途径并不是相互独立、相互排斥的,肠道菌群可能通过其中一条或多条途径影响脑功能和行为.的确,大多数的研究并未对每条途径的活动进行检测,其结果表明肠道菌群可能通过某条途径影响行为,但并未排除其他途径的可能性.比如,虽然Lyte等人^[21]的研究表明,肠道的柠檬酸杆菌是通过迷走神经途径而非免疫途径导致小鼠的焦虑行为,但研究中并未检测神经内分泌途径的活动.Sudo等人^[20]的研究则发现,不同肠道菌可能对肠-脑轴产生不同的影响.无菌小鼠分别服用益生菌婴儿双歧杆菌、致病性大肠杆菌和非致病性大肠杆菌后,下丘脑室旁核(PVN)中表达c-Fos的神经元数量显著增多(迷走神经途径).而在这3种肠道菌中,致病性大肠杆菌引发的PVN神经元活动的增强

最为明显,并伴有血液中促炎细胞因子明显地增多(免疫途径)和HPA轴活动的增强(神经内分泌途径);相比之下,益生菌和非致病性大肠杆菌虽能激活PVN神经元的活动,但引发的HPA轴活动的增强持续时间较短,且对系统性免疫反应没有影响^[20].

3 肠道菌群调控宿主的行为

在动物研究中可以使用不同的实验方法改变肠道菌群(肠道病原菌感染,给予抗生素或益生菌)甚至完全去除肠道菌群(无菌动物),然后观察这些肠道菌群发生改变的动物相对于正常动物在脑活动和行为上的变化,能够得到肠道菌群调控宿主行为的直接证据.

3.1 无菌动物

无菌动物是评估肠道菌群对宿主脑活动影响的常用动物模型,是指不能检出任何活的微生物的动物.无菌动物饲养在无菌的环境中,防止出生时产道菌群在肠道的定植及以后生活中接触任何活的微生物.与肠道内定植正常菌群的动物相比,无菌动物的神经生化和相关行为均发生了显著改变.

与无菌动物相比,肠道内定植多形拟杆菌小鼠的突触囊泡-相关蛋白33(参与突触神经传导的一种蛋白)的mRNA表达量增加了2~5倍^[106].Sudo等人^[20]比较了无菌动物和限菌(SPF,无特定病原菌)级动物对束缚应激的反应,认为肠道菌群在下丘脑-垂体-肾上腺(HPA)轴的发育和应激反应的调控中发挥了重要作用.与正常动物相比,成年无菌动物束缚后表现出异常高的促肾上腺皮质激素和皮质酮激素水平;而肠道内定植来自于正常动物粪便的菌群后,无菌动物对应激的异常反应得到改善.有趣的是,接种正常菌群的时间越早,对应激的反应越趋于正常.当无菌母鼠在生产前接种正常菌群时,它的后代成年后对应激的反应表现为完全正常,这说明肠道菌群参与了中枢神经系统发育关键期的调控.

此外,与正常动物相比,无菌动物脑源性神经营养因子(BDNF,参与神经元生长和存活的神经营养因子)以及谷氨酸受体2A(NR2A)在皮质和海马的表达减少^[20].而最近的另一项研究则发现无菌动物海马*Bdnf*的mRNA表达增加,而杏仁核5-*ht1a*受体和*Nr2b*的mRNA表达减少^[107].肠道菌群还调控5-HT系统,与正常菌群动物相比,无菌小鼠海马中5-HT

和其代谢物5-HIAA的水平升高,血浆中5-HT的前体物质色氨酸的浓度增多;无菌小鼠在断奶后定植正常肠道菌群虽然对海马5-HT和5-HIAA的浓度没有影响,但可以恢复血浆色氨酸的正常水平^[83].这些神经生化物质的失调可能导致动物的行为异常,因为BDNF,5-HT和NR表达的异常将引发焦虑等行为^[108-110].支持这一观点的研究表明,在评估认知能力的新颖物体识别和T迷宫的测试中,无菌动物的非空间记忆和工作记忆受到损伤^[81].此外,最近的一项研究利用不同种类的小鼠具有不同生理、行为和肠道菌群构成的特点^[111,112],设计了一系列肠道菌群移植的实验,并得出肠道菌群调控宿主行为的结论.当无菌的BALB/c和NIH Swiss小鼠接种来自同种小鼠的肠道菌群后,其行为和同种小鼠的行为相似;当接种来自不同种小鼠的肠道菌群后,其行为则变得和肠道菌群来源小鼠的行为类似^[17],说明供体小鼠的肠道菌群直接决定了受体小鼠的行为.有趣的是,有研究发现,无菌小鼠与对照组相比,血浆中皮质酮浓度升高且在高架十字和明暗箱测试中的焦虑行为明显减少^[14,107].这个结果有些使人感到疑惑,因为过度的HPA轴活动应该伴随着焦虑行为的增多,且无菌动物的异常行为应该增多.目前还不是很清楚无菌动物表现出低焦虑水平的原因,但与对照相比,无菌动物相关脑区焦虑行为相关的基因表达发生了明显的改变,比如海马*Bdnf*和5-HT_{1A}受体mRNA的表达,以及杏仁核*Nr2b* mRNA的表达^[14,107].进一步的研究发现,在幼年期(出生的3周内)定植正常肠道菌群能够改善无菌小鼠的低水平焦虑行为^[14,83].而成年期(出生10周以后)的肠道菌群定植却对无菌小鼠的焦虑行为没有影响^[14,113].因此,低水平的焦虑行为可能是无菌动物异常行为的表现.然而在另一项研究中,Gareau等人^[81]并没有观察到无菌小鼠和正常小鼠在焦虑行为上的差异.无菌小鼠与正常小鼠相比,它们在明暗箱测试中的穿梭次数和待在明箱中的时间没有显著差异^[81].无菌动物在不同研究中表现出的不同焦虑行为可能和研究中使用的不同小鼠种类、性别以及采用的行为测试方法有关,因为相关研究发现这些因素都可能对焦虑行为的测试结果产生影响^[83,114-117].

3.2 抗生素处理动物

抗生素处理是另一种常用于评估肠道菌群对宿

主行为影响的方法, 因为抗生素会导致肠道菌群结构发生改变. 研究表明, 新霉素和杆菌肽的联合使用会造成 NIH Swiss 小鼠肠道活动和功能的广泛改变: 肠道菌群失调(乳酸菌属和拟杆菌属数量显著下降, 肠杆菌数量增多), 肠道 MPO 酶(炎性细胞活动的指标, 表示肠道炎症的程度)水平小幅升高, 免疫活性 P 物质(肠壁内的感觉神经递质)水平升高, 以及内脏运动感知反应(结直肠扩张后的腹壁收缩反应, 广泛用于测定内脏痛觉感知)增强. 当给予这些小鼠干酪乳杆菌灌胃治疗后, 抗生素引发的肠道炎症、神经递质改变和内脏痛觉过敏均得到明显改善^[30]. P 物质可能在肠道菌群对行为的调控中发挥了重要作用. 研究表明, 肠道菌群改变将增加 P 物质水平和导致焦虑行为^[118], 而 P 物质的小幅增加即可引发焦虑和抑郁行为^[119]. 此外, Bercik 等人^[17]发现相同的抗生素制剂不仅导致 BALB/c 小鼠的肠道菌群失调, 还改变了小鼠的行为和中枢神经系统的活动, 比如增加了小鼠在明暗箱测试中的探索行为, 减少了穿梭的潜伏期 and 提高了海马和杏仁核中 BDNF 的水平. 值得注意的是, 该实验中抗生素对肠道和脑功能的影响并非是由于抗生素非特异的系统性副作用引起的, 而是通过作用于肠道菌群来实现的, 因为注射抗生素和无菌小鼠口服抗生素均不影响肠道炎症反应和行为^[17].

3.3 肠道病原菌感染动物

除了引发肠道菌群失调、肠道炎症、运动和分泌活动异常以及黏膜损伤等病理改变外, 越来越多的研究开始关注肠道病原菌对脑功能和行为的影响. 肠道病原菌本身是肠道菌群的组成部分, 且其感染会导致肠道菌群发生改变^[79-81]. 最近的一项研究发现, 感染鼠鞭毛虫小鼠的焦虑行为增多, 海马 *Bdnf* mRNA 的表达减少, 血浆犬尿氨酸/色氨酸的比值升高, 血浆中促炎细胞因子(TNF- α 和 INF- γ)的浓度增加^[18]. 接下来, 研究者对感染的小鼠进行多种治疗处理, 探讨肠道菌群影响宿主行为的机制. 感染前进行迷走神经切断并没有防止焦虑行为出现, 说明感染导致的行为异常不是由迷走神经介导的. 给予抗炎制剂(依那西普和布地奈德)能恢复感染小鼠的正常行为, 减少血浆炎性细胞因子浓度和降低色氨酸的代谢水平, 但没有影响海马 *Bdnf* mRNA 的表达. 给予感染小鼠服用长双歧杆菌也能够恢复正常行为,

同时恢复海马 *Bdnf* mRNA 的正常表达, 但不影响细胞因子的浓度和色氨酸的代谢水平. 抗炎药物和益生菌都能调节肠道菌群, 虽然两者对小鼠神经生化物质的影响不尽相同, 但都改善了小鼠感染后的焦虑行为, 说明肠道菌群可能通过多条途径调控行为. 肠道菌群影响行为的研究中较常使用的另一种肠道病原菌是鼠类柠檬酸杆菌(一种定植于结肠, 能引起鼠类暂时性结肠炎的病原菌). 鼠类柠檬酸杆菌的感染会导致大鼠肠道菌群失调, 厚壁菌门、拟杆菌门、肠杆菌和直肠真杆菌的数量增多, 血清皮质酮水平升高(HPA 轴活动增加), 认知能力下降, 海马 BDNF 和 c-FOS 的表达降低; 而乳酸菌干预可以防止以上改变的发生^[81]. 不同于鼠鞭毛虫的感染, 研究发现柠檬酸杆菌感染引发的行为改变是经由迷走神经途径传递的, 因为在另一项研究中发现, 在柠檬酸杆菌的感染初期(7~8 h)小鼠出现明显的焦虑行为和迷走神经节 c-FOS 蛋白的表达显著增加^[21]. 不仅如此, 还发现其他几种肠道病原菌对中枢神经系统和行为的影响也是通过迷走神经途径完成的. 空肠弯曲杆菌感染 1~2 d 后, 包括孤束核在内的脑干内脏感觉神经节的 c-FOS 表达增加; 感染 2 d 后, 调控应激反应的下丘脑室旁核的 c-FOS 表达增加^[120]. 空肠弯曲杆菌感染的小鼠还表现出焦虑行为, 且终纹底核(杏仁核的扩展恐惧系统)的 c-FOS 表达增加^[105]. 此外, 研究者发现鼠伤寒沙门氏菌的感染也能激活由肠道到脑的迷走神经^[121].

3.4 益生菌给予动物

益生菌是指对宿主(人类和动物)有益的活性微生物. 1965 年, Lilly 和 Stillwell^[122]将益生菌定义为: 任何可以促进肠道菌种平衡, 增加宿主健康效益的活的微生物. 益生菌大体可以分为 3 类: 乳酸菌、双歧杆菌和革兰氏阳性球菌.

近十几年来, 益生菌以其促进肠道菌群平衡的有益作用成为肠道菌群-肠-脑轴领域的研究热点^[123,124]. 有研究表明, 服用抗生素(阿莫西林)7 d 会导致健康人肠道菌群的失调, 表现为梭菌、真细菌、拟杆菌和肠杆菌数量增多; 而服用复合益生菌(乳酸菌和双歧杆菌)3 周可使肠道菌群恢复到服用抗生素前的正常结构^[125]. 在大鼠的水回避应激模型中, 瑞士乳杆菌和鼠李乳杆菌的联合使用能够防止应激导致的肠黏膜细菌的过度增殖以及由损伤肠上皮到达

肠系膜淋巴结的细菌易位^[126]。

益生菌不仅维护肠道菌群平衡,还调控脑功能和行为。最近的一项研究显示瑞士乳杆菌和长双歧杆菌的结合使用能够减少大鼠的焦虑和抑郁行为,并促进人类的心理健康^[37]。在大鼠的心肌梗塞模型中,同样的益生菌组合可以恢复大鼠正常的肠道渗透性和减少抑郁行为^[127]。Bravo 等人^[128]最近发现,应激小鼠服用鼠李糖乳杆菌 JB-1 后,高架十字迷宫测试中开臂的探索行为增加、强迫游泳测试中不动行为减少(焦虑和抑郁行为减少)、升高的血清皮质酮水平降低以及 GABA_A 和 GABA_B 受体(其表达异常是引发焦虑和抑郁的因素)在多个情绪相关脑区(海马、下丘脑、杏仁核和前额叶等)的表达恢复正常。鼠李糖乳杆菌的这些改善作用是依靠迷走神经传递的,因为迷走神经切断后鼠李糖乳杆菌不影响小鼠的焦虑和抑郁行为以及相关脑区 GABA_A 和 GABA_B 受体的表达。Bercik 等人^[38,129]发现,长双歧杆菌 NCC3001 能防止结肠炎小鼠的焦虑行为以及海马 *Bdnf* mRNA 的表达异常,且其调控行为的作用也是依赖于迷走神经途径的,因为迷走神经切断后长双歧杆菌不再具有抗焦虑的作用。

除了迷走神经途径,益生菌还可能通过免疫和神经内分泌途径影响脑的功能。Gareau 等人^[81]表示,服用乳酸菌后柠檬酸杆菌感染小鼠的肠道菌群构成恢复正常、促炎免疫反应降低、HPA 轴活动恢复正常以及认知功能得到改善。在强迫游泳和母子分离的大鼠抑郁模型中,婴儿双歧杆菌表现出抗抑郁的功能,它能够降低血浆中促炎细胞因子的浓度和色氨酸的代谢水平^[91,130],而促炎细胞因子的增多和色氨酸代谢水平的升高均是引发抑郁行为的重要因素^[131]。

虽然目前关于益生菌改善情绪和行为的证据还主要集中在动物研究,也有为数不多的研究表明益生菌有益于人类的情绪健康。研究数据显示,益生菌改善肠道环境、促进肠道菌群平衡、改善焦虑情绪、降低应激反应,有益于 IBS 患者的心理健康^[34,132,133]。在一项随机、双盲、安慰剂对照的研究中,健康被试服用益生菌(瑞士乳杆菌和长双歧杆菌的复合益生菌)或是安慰剂 30 d 后接受一系列的量表测试。焦虑、抑郁、认知功能和压力量表的测试结果表明,服用益生菌被试的心理状态要显著好于服用安慰剂的被试^[39,134]。在另一项随机、双盲、安慰剂对照的实验中,研究者在实验前以及服用益生菌发酵的酸奶或是

安慰剂 3 周后的 10 d 和 20 d,对健康被试的情绪和认知功能进行了测试。结果发现,实验前高抑郁水平的被试在服用益生菌后,他们的情绪得到了显著改善^[40]。在一项初步临床研究中,服用干酪乳杆菌 2 个月相对于安慰剂可以显著改善慢性疲劳综合征患者的焦虑和抑郁情绪^[34,135]。Tillisch 等人^[136]采用功能磁共振成像的方法检测了服用益生菌一个月对 45 名健康女性在情绪反应测试中脑活动的影响。结果表明,与对照组相比,益生菌(乳酸双歧杆菌、保加利亚乳杆菌和乳酸乳杆菌)显著降低了被试脑岛中部和后部的活动,说明改善了被试的情绪反应。虽然这方面的临床研究还处于初期阶段、数量不多,且研究对象主要是健康人群,还未直接评估益生菌改善焦虑和抑郁症等患者情绪的作用。但以上研究的结果表明,益生菌具有改善人类情绪和促进心理健康的巨大潜力。在今后,恢复正常肠道菌群的益生菌补充可能将成为治疗心理和精神疾病的安全有效疗法。

4 肠道菌群失调引发的疾病

由于肠道菌群维护肠道和脑的正常活动,肠道菌群失调则可能引发肠-脑异常甚至中枢神经系统(CNS)疾病。接下来,我们将讨论肠道菌群失调在肠-脑疾病和 CNS 疾病中发挥的作用。人类的肠-脑疾病主要有肠易激综合征(IBS)、炎性肠道疾病(IBD)和肝性脑病(HE),它们不仅具有明显的炎性和功能性肠道症状,还伴随有情绪和行为的异常,比如焦虑、抑郁和认知功能减退等。此外,大量的研究结果表明,肠道菌群失调可能是导致多发性硬化症、自闭症、慢性疲劳综合征、阿尔兹海默症等 CNS 疾病的重要原因。测定肠道菌群的构成已经成为人类疾病研究中的一个重要组成部分。大量确凿的证据表明肠-脑疾病和 CNS 疾病患者的肠道菌群构成与健康对照相比发生了显著改变,且肠道菌群失调将导致动物出现类似于人类的肠-脑疾病和 CNS 疾病,说明肠道菌群失调可能是导致肠-脑疾病和 CNS 疾病的原因。

4.1 肠易激综合征

肠易激综合征(IBS)是功能性的肠道疾病,这类疾病表现为慢性反复的可发生于胃肠道任何部位的疼痛和不适,但缺乏可以解释肠道功能不适的形态学病变^[137]。IBS 患者除了肠道功能不适,还常伴有焦虑和抑郁的情绪症状^[22,138-142]。最近的一项临床调查

研究表明,在接受调查的 256 位 IBS 患者中,190 人 (74.2%) 有焦虑和抑郁症状^[138]。一项跨度 8 年的对 1641 名门诊患者的调查研究也发现,焦虑和抑郁与 IBS 显著相关^[23]。总结 IBS 的症状主要包括:脑活动异常、肠道运动改变、内脏感知痛觉过敏、HPA 轴对应激的反应过度、小肠细菌过度增殖(SIBO)、肠道低水平促炎反应和自主神经系统失调等^[143-145],可以归纳为肠-脑活动的异常。因此,有研究者认为肠道菌群失调可能是导致 IBS 的原因,其可能的机理是肠道菌群失调引发非组织损伤的低水平炎症^[30],进而造成肠道功能失调以及焦虑和抑郁等症状。支持这一观点的研究表明,IBS 患者常表现出低水平炎症^[99,146,147],而促炎细胞因子比如 TNF- α 、IL-6 和 INF- γ 水平的升高可能引发抑郁症状^[148]。

临床和流行病学的调查研究发现 IBS 患者往往会出现小肠细菌的过度增殖(SIBO),为肠道菌群失调引发 IBS 提供了证据^[149-151]。SIBO 增加肠道产气,可能诱发 IBS 的肠道不适症状,包括腹部胀痛、胀气和肠道蠕动过快^[150,152]。此外,不少临床研究显示细菌性感染引发的胃肠炎是导致 IBS 的危险因素^[153-155]。约有 1/3 的细菌性感染(弯曲杆菌、沙门氏菌、痢疾型大肠杆菌,以及志贺氏菌等)的肠炎患者会在感染后发展成为慢性的胃肠道疾病,其中一部分患者会患上感染后 IBS^[156-158]。

进一步的证据来自于测定 IBS 患者肠道菌群构成的研究,已有大量的研究报道 IBS 患者的肠道菌群与健康人相比发生了变化^[159-161]。粪便肠道菌群培养法的结果表明,与健康人比较,IBS 患者肠道的大肠杆菌群、乳酸菌和双歧杆菌显著减少,而需氧菌增加^[162,163]。最近的一项研究采用 16S rRNA 法分析了粪便菌群的构成,结果显示与对照相比 IBS 患者肠道菌群构成发生了显著改变,其中乳酸菌数量显著减少^[27]。类似的乳酸菌减少也在腹泻型的 IBS 患者中发现,而便秘型 IBS 患者肠道内韦永氏球菌的数量增多^[164]。然而各项研究中 IBS 患者肠道菌群变化的结果并不一致,不能提出一个 IBS 肠道菌群构成的通用模式^[163,165],这可能是由于采用了不同的菌群分析方法和患者本身存在的差异比如饮食结构不同、抗生素使用的差异以及不同的肠道内环境等^[162,166]。

以上研究表明,肠道菌群失调可能导致 IBS,而动物研究的结果支持这一观点。健康 NIH Swiss 小鼠服用非吸收类的抗生素后,肠道菌群发生改变并表现

出一系列的 IBS 症状,包括肠杆菌增多以及乳酸菌和拟杆菌减少、低水平的肠道炎症、内脏感知痛觉过敏以及免疫活性 P 物质在肠肌丛的表达增加^[30]。另一项研究结果也发现,肠道菌群失调将会导致动物出现肠道不适和行为异常的 IBS 症状。小鼠服用而非注射抗生素后肠道菌群发生明显改变、P 物质水平升高、肠道痛觉感知过敏、低水平炎症以及出现焦虑行为^[118]。

4.2 炎性肠道疾病

炎性肠道疾病(IBD)是伴随肠黏膜损伤的肠道炎症性疾病。IBD 包括溃疡性结肠炎(UC)和克罗恩病(CD),分别以肠道的溃疡性病变和弥漫性黏膜坏死为特征^[167]。许多证据表明 IBD 患者除了肠道病变,还伴有焦虑和抑郁的情绪症状。与对照组相比,IBD 患者的交感和副交感神经活动异常,且这种神经活动的失调与焦虑行为相关^[168-170]。对照研究显示,IBD 患者中焦虑和抑郁症的发病率显著增加^[171-173]。对不同时期 IBD 患者精神状况的调查研究表明,在 IBD 静止期焦虑和抑郁的发病率大概是 29%~35%^[174],而当 IBD 复发时会有高达 80%和 60%的患者出现焦虑和抑郁症状^[175]。流行病学调查研究发现与正常人群相比,IBD 患者焦虑和抑郁的症状增加,且增加的程度与 IBD 的严重程度相关^[176]。

IBD 的发病原因至今仍不明确,但研究表明可能和免疫、遗传以及环境因素有关,其中作为环境因素之一的肠道菌群在 IBD 的发生发展中扮演了重要角色。对比 IBD 患者与健康人群的肠道菌群构成,总体来看,IBD 患者肠道菌群的多样性降低,数量减少^[177]。高通量宏基因组分析法对比了 IBD 患者与健康人的肠道菌群,结果显示 IBD 患者粪便菌群的基因数量比健康人少 25%^[1]。Seksik 等人^[28]发现 IBD 患者粪便菌群的构成与正常人有所不同:感染性大肠杆菌和肠球菌增多,而拟杆菌、拟球梭菌和双歧杆菌减少。Hense 等人^[177]发现 IBD 患者厚壁菌门细菌的数量减少,而拟杆菌门和肠杆菌科细菌的数量增多。最近的一项研究中,Joossens 等人^[178]对比了 CD 患者与健康对照的粪便菌群构成,发现主要有 5 种细菌的数量发生了重大变化,它们是梭状芽孢杆菌、小类杆菌、柔嫩梭菌群、青春双歧杆菌和活泼瘤胃球菌。此外,IBD 患者肠黏膜菌群的构成与正常人群相比也有所不同。赵立平等人^[179]采用变性梯度凝胶电泳方法对 UC 患者的肠黏膜菌群进行分析,结果表明同一位

患者的溃疡和正常结肠黏膜的乳酸菌、柔嫩梭菌以及拟杆菌在数量上存在明显的差异。类似地,其他研究也发现 CD 患者肠黏膜的柔嫩梭菌(一种具有抗炎作用的共生菌)的数量显著减少^[180]。

以上结果表明肠道菌群失调在 IBD 中的重要性,而相关的动物研究则提供了进一步的证据,表明肠道菌群失调可能导致 IBD。Garrett 等人^[31]发现相对于正常小鼠, *T-bet*^(-/-) *xRag2*^(-/-) 转基因的 UC 小鼠粪便中肠杆菌科肺炎球菌和奇异变形杆菌的数量显著增多,且这 2 种细菌在肠道的定植将直接导致正常小鼠患上肠炎。Ohkusa 等人^[32]用从 UC 患者肠道内分离出的变形梭状杆菌给大鼠灌肠,结果大鼠的肠道发生了类似于人类的溃疡性结肠炎病变。限菌(SPF, 无特定病原菌)级的 HLA-B27 转基因大鼠会自发结肠炎,而无菌的 HLA-B27 大鼠则表现正常^[181]。

4.3 肝性脑病

肝性脑病(HE)是由慢性肝功能衰竭引起的脑功能失调的疾病,是一种复杂的神经精神异常的综合征,以严重的认知功能下降、精神障碍和运动失调为特征。随着病程的发展,患者还表现出睡眠障碍、人格特征改变、焦虑和抑郁等情绪症状、陷入昏迷甚至导致死亡^[182]。虽然 HE 是由慢性肝功能衰竭引发的,但肝脏和肠道之间存在由激素、细胞因子以及营养代谢物的信息交流构成的双向密切联系^[183],且肠道菌群能够调节肝肠间信息传递物质的产生和释放,因此肠道菌群失调可能导致 HE。Hoefert 等人^[183]早在 80 多年前就首先提出慢性肝炎患者的肠道菌群发生改变。从那以后,越来越多的研究开始关注肠道菌群在 HE 中发挥的作用。最近的一项研究指出,小肠细菌过度增殖(SIBO)在肝硬化患者中普遍存在,且与肝病的严重程度相关^[184]。大量的临床和动物研究结果显示,HE 患者的肠道菌群发生了改变。Liu 等人^[185]首次报道了 HE 肝硬化患者的肠道菌群发生了显著改变,粪便中致病性大肠杆菌和葡萄球菌的数量增多;而合生素治疗显著地增加了肠道中非产氨菌如乳酸菌的数量,且伴随着血氨浓度和内毒素血症的下降以及肝功能的好转。Chen 等人^[186]对比了中国肝硬化患者与健康人群的肠道菌群构成,发现肝硬化患者肠杆菌科、韦荣球菌和链球菌的数量增多,而毛螺菌的数量减少。Bajaj 等人^[29,187,188]进一步对 HE 患者的粪便菌群构成进行了详细的分析。他们发现与对照

组相比,HE 肝硬化患者和非 HE 肝硬化患者的粪便菌群构成均发生了明显改变。与非 HE 肝硬化患者相比,对照组含有较多的毛螺菌科、瘤胃菌科,较少的肠杆菌科、梭杆菌科、产碱杆菌科、乳酸杆菌科以及明串珠菌科的细菌;HE 肝硬化患者相对于对照具有较多的肠杆菌科、产碱杆菌科、乳酸杆菌科和链球菌科的细菌。其中,产碱杆菌的增多被认为可能导致认知功能下降,因为产碱杆菌科的细菌是变形菌门的条件性感染病原菌,且能代谢尿素产生氨;肠杆菌科中的大部分细菌是感染性病原菌,其数量的增多可能加重肝硬化后期的肠道炎症和肝功能衰竭;瘤胃菌科的细菌则具有防止感染和肝病程度加深的保护作用,因为其数量的减少伴随着内毒素血症以及终末期肝病评分的增加^[29,187]。随后,为了进一步验证肠道菌群失调在 HE 中的作用,Bajaj 等人^[188]对比了 HE 肝硬化患者与非 HE 肝硬化患者的肠道菌群构成。与非 HE 肝硬化患者相比,HE 肝硬化患者在终末期肝病和认知功能的测试中表现较差,且具有较高的 IL-6 和内毒素水平。HE 肝硬化患者与对照组间的肠道菌群差异大于非 HE 肝硬化患者与对照组间的差异。虽然 HE 和非 HE 肝硬化患者的粪便菌群构成没有明显的不同,但这两者的肠黏膜菌群构成存在明显的差异。与非 HE 肝硬化患者相比,HE 肝硬化患者肠黏膜的罗氏菌属减少,肠球菌、韦永氏球菌、巨型球菌和伯克氏菌增多,且这些细菌数量的增多伴随着患者认知功能的减退。

事实上,肠道菌群的代谢产物能直接影响 HE 患者的脑功能。HE 患者肠道中含尿素酶细菌数量的增多(如克雷白式杆菌和变形菌属细菌)会产生过多的氨气、硫醇、苯二氮、锰和脂多糖等神经毒性物质^[189,190]。由于 HE 患者肝脏代谢能力下降,无法清除这些有毒物质,造成血液中有毒物质浓度的升高,其中高血氨被认为是导致 HE 的重要原因^[191,192]。氨是具有神经毒性的小分子物质,容易透过脂膜被吸收而通过血脑屏障进入脑,对脑的结构和功能造成损害^[184]。虽然其他器官也产生氨气,但肠道菌群仍然是氨气产生的主要来源。在结肠中,肠道菌群代谢蛋白和尿素产生大量的氨气,其余在小肠产生,是细菌代谢谷氨酰胺的产物^[192]。目前治疗 HE 的常用制剂,比如抗生素和乳果糖,都直接或间接地作用于肠道菌群,以达到降低血氨的目的^[193,194]。因此,肠道菌群失调导致 HE 的一个有力证据是 HE 患者在接受

抗生素或乳果糖治疗后情绪和认知功能得到改善^[195-197]。利福昔明是一种常用于治疗 HE 的临床非吸收类抗生素^[196,197]。在最近的一项双盲、安慰剂对照的临床研究中^[194], 299 名 HE 缓解期的患者被分为 2 组, 分别服用安慰剂和利福昔明 6 个月(一天 2 次, 每次 550 mg)。结果表明, 利福昔明能显著降低 HE 的复发率, 利福昔明组 HE 的复发率为 22.1%, 而安慰剂组的复发率为 45.9%。乳果糖是另一种临床治疗 HE 的常用药物。一系列临床研究的结果肯定了乳果糖改善 HE 症状的作用, 比如改善认知功能和提高生活质量等^[198-200]。

4.4 中枢神经系统(CNS)疾病

多发性硬化症(MS)是一种慢性的、炎症性的、脱髓鞘的中枢神经系统疾病, 主要症状包括视觉障碍、肌肉无力、抑郁、严重疲劳、平衡障碍和认知损害等。多个研究肯定了肠道菌群在多发性硬化症中的重要性^[33,201]。Borody 等人^[33]的研究发现, 接受来自于健康人的粪便菌群能够显著改善 MS 患者的神经症状。Kerstin 等人^[202]则发现, 肠道菌群是引发中枢脱髓鞘病变的必要因素, 因为复发缓解型硬化症的造模能够导致限菌小鼠自发脑脊髓炎, 却对无菌小鼠没有影响; 而该造模方法能够导致接种限菌小鼠肠道菌群的无菌小鼠自发脑脊髓炎。此外, 初步的临床研究结果显示, 益生菌可以有效地缓解 MS 的进程和改善患者的预后情况^[41]。西登哈姆氏舞蹈病是急性风湿热的神经症状表现, 其主要临床特征是不自主的舞蹈动作, 病变主要影响大脑皮层、基底节和小脑。已有研究发现, 链球菌感染引发的对基底神经节的自身免疫反应可能是导致舞蹈病的原因^[203,204]。

慢性疲劳综合征(CFS)是一种身体出现慢性疲劳征状的病症, 具体定义是长期(连续 6 个月以上)原因不明的强度疲劳感觉或身体不适^[205,206]。除了持续的疲劳感, CFS 患者会出现认知减退、睡眠障碍、食欲下降、焦虑和抑郁等神经心理症状^[207]。与健康人群相比, CFS 患者的肠道菌群发生明显变化, 比如大肠杆菌和双歧杆菌数量减少, 以及肠球菌数量增多^[208]。而在急性发病期, CFS 患者粪便菌群中白色念珠菌的数量显著增多^[209]。Logan 等人^[135]也发现, CFS 患者相对于健康人群, 肠道的双歧杆菌显著减少而需氧菌增多, 而乳酸菌能够显著改善 CFS。类似地, 一项研究检验了复合益生菌(干酪乳杆菌、嗜酸乳杆菌和乳

酸双歧杆菌)对 CFS 患者症状和生理活动的影响。结果表明, 服用益生菌四周显著改善了 CFS 患者的疲劳症状、健康状态和生理活动^[210]。另一项双盲、随机、安慰剂对照的研究表明, 与安慰剂组相比, 服用干酪乳杆菌两个月显著降低了 CFS 患者的焦虑和抑郁水平, 并显著增加了肠道内乳酸菌和双歧杆菌的数量^[34]。

自闭症被归类为一种由于神经系统失调而导致的发育障碍, 不能进行正常的语言表达和社交活动, 常做一些刻板和重复性的动作和行为^[211]。对大量同卵双胞胎的调查研究显示, 遗传和环境因素是导致自闭症的重要原因^[212], 其中一个重要的环境因素就是肠道菌群失调。多个研究的结果表明, 自闭症儿童普遍在 3 岁前曾过度服用抗生素^[213,214], 而抗生素会导致肠道菌群失调^[215]。已有大量研究报道自闭症患者的肠道菌群结构发生改变^[216,217]。有一项研究比较了自闭症儿童与正常儿童的肠道菌群构成, 结果表明与正常儿童相比, 自闭症儿童肠道菌群的多样性降低, 且肠道内的普氏菌属、粪球菌属和韦荣球菌科的数量显著降低。研究者进一步考察了肠道症状、饮食构成和自闭症程度与肠道菌群改变的相关性。结果出人意料地发现, 自闭症儿童肠道菌群多样性和数量的降低均与自闭症程度显著相关, 而与肠道症状程度和饮食构成无关^[218]。Hsaio 等人^[35]发现, 自闭症模型小鼠不仅具有自闭症相关的行为, 还出现了肠道渗透性增强和肠道菌群的改变, 而人类肠道内共生的脆弱拟杆菌(*Bacteroides fragilis*)能够恢复自闭症小鼠正常的肠道渗透性和肠道菌群结构, 并改善其焦虑行为、交流行为、感觉运动行为和重复刻板行为。肠道菌群可能通过影响机体的代谢活动调控自闭症小鼠的行为, 因为正常小鼠接受自闭症小鼠血浆中增高的代谢物后会出现明显的行为异常, 而脆弱拟杆菌恢复代谢组正常活动的同时也改善了行为^[35]。肠道菌群的脂多糖是引发自闭症的另一个重要因素。革兰氏阴性病原菌脂多糖引发的炎症反应会增大血脑屏障的通透性, 使得过度的汞在小脑累积, 引发自闭症^[213,219]。此外, LPS 还会导致谷胱甘肽水平的降低^[220], 增加儿童患自闭症和共济失调等精神疾病的风险^[221], 因为谷胱甘肽是中枢重要的抗氧化剂, 能够去除重金属毒性。支持这一观点的研究表明, 自闭症儿童肠道内革兰氏阴性的脱硫弧菌和普通拟杆菌数量显著增多^[222]。除此之外, 革兰氏阳性

的梭菌也被认为可能是引发自闭症的原因。梭菌释放外毒素和丙酸盐^[217,223]，而丙酸盐会导致大鼠出现自闭症行为^[224]。艰难梭状芽孢杆菌产生的甲酚会降低谷胱甘肽，加重自闭症^[225]。

阿尔兹海默症(AD)又称老年痴呆或脑退化症，是一种持续性退行性神经功能障碍，病理改变主要为皮质弥漫性萎缩、沟回增宽、脑室扩大、神经元大量减少，并可见 β 淀粉样蛋白老年斑和神经原纤维结等病变。主要症状有语言障碍、知觉障碍(认识不能、失认症)、情感不稳、易怒、冷漠和疲倦等^[226]。肠道菌群产生的神经毒素可能是导致AD的原因之一。研究发现，肠道菌群中的蓝藻细菌和蓝绿藻等产生的神经毒性物质 β -N-甲氨基-L-丙氨酸(丙烯酰胺, BMAA)通过激活NMDA受体、引发氧化应激并降解谷胱甘肽将导致MS、AD和帕金森氏症的神经病变^[36,227,228]。肠道蓝藻细菌产生的其他神经毒素(比如类毒素和贝类毒素)可能也将引发退行性神经病变，尤其是当肠道渗透性增强的时候^[229]。此外，大量的研究发现，导致自闭症、焦虑、抑郁、AD和精神分裂等CNS疾病的危险因素有过度的自身免疫应答、出生前后受到病菌和病毒感染以及中枢自身免疫抗体增多^[230,231]，而肠道菌群可以通过调控宿主对致病微生物的免疫反应以及自身免疫应答，进而影响CNS疾病^[231,232]。相关的初步临床研究表明，益生菌可以有效地改善自闭症、焦虑、抑郁以及精神分裂症的症状和控制疾病的发展^[231,233,234]。

5 总结及展望

以上动物和临床研究的结果证明了肠道菌群-肠-脑轴的存在，并表明肠道菌群不仅调控生理活动，还通过肠-脑轴的免疫、神经内分泌和迷走神经途径影响宿主的行为。正常的肠道菌群保证宿主生理活动的正常进行并促进宿主的心理健康；而肠道菌群失调将造成肠道炎症、胃肠道功能不适和神经毒性代谢物的增多，并引发焦虑和抑郁症状、异常的应激反应和认知能力降低，可能是导致IBS、IBD和HE等肠-脑疾病，以及多发性硬化症、自闭症、慢性疲劳综合征和阿尔兹海默症等CNS疾病的原因之一。今后的研究应当着重于阐明肠道菌群调节肠-脑轴的机理，这能够帮助我们了解肠道菌群失调在IBS和阿尔兹海默症等疾病中的作用，更加全面深入地理解精神心理疾病的发病机制，拓展我们对脑活动调控机制

的了解。

理解肠道菌群调控宿主行为的功能对今后精神心理疾病的治疗具有重要意义。对于肠道菌群失调导致的中枢神经活动异常，调节和恢复正常肠道菌群的疗法可能更直接、更安全有效。目前临床上常用的作用于肠道菌群的药物主要有抗生素和乳果糖。临床治疗IBS的常用抗生素有新霉素和利福昔明^[235]，治疗IBD的抗生素主要包括灭滴灵和环丙沙星^[236]，治疗HE的药物主要有利福昔明和乳果糖^[237]。虽然它们在治疗IBS、IBD和HE中表现出了一定的有效性，但仍存在副作用大、疗效不稳定和依从性差等诸多不足，不是理想的治疗制剂。抗生素的抗菌特异性差，可能造成病原菌抗生素抗性的产生^[238]，且抗生素的使用会引发肠道菌群失调，加重甚至导致IBS和IBD^[30,239]；乳果糖疗效不稳定，在其维持治疗期间HE常常复发^[240,241]，且具有引发腹泻和水盐代谢紊乱的副作用以及加重肠梗阻和乳糖不耐症的风险。

益生菌调节肠道菌群平衡，有利于宿主身心健康，被认为是治疗心理精神疾病的安全有效制剂。已有不少的研究报道了益生菌改善情绪和调节宿主行为的有益作用^[34,37,127,128,132,133]，且临床研究显示IBS^[132,242]、IBD^[243,244]和HE^[245,246]患者，以及自闭症、CFS、MS和AD患者^[34,41,231,233]服用益生菌后消化道症状、神经症状、焦虑抑郁情绪和认知能力得到改善，生活质量得到提高。这说明益生菌具有用于治疗肠-脑疾病和CNS疾病的良好前景，但仍有几个需要注意的问题。

首先，益生菌改善情绪和行为的临床研究还需要加深机制的探讨。比如，在益生菌改善IBS的临床研究中，虽然已有大量的研究结果支持益生菌对IBS的改善作用，但其中不少研究只对益生菌的改善作用进行了观测，没有深入探讨益生菌改善作用的可能机制和对肠道菌群的影响^[247-249]，且这方面的研究结果并不一致，还存在着部分阴性结果的报道^[250,251]。有研究统计，在目前发表的益生菌改善IBS症状的研究中大约有3/4的研究得到了阳性结果，还有1/4是阴性结果^[252]。造成结果不一致的原因可能包括实验设计上的差异、IBS患者类型和性别的差异、使用益生菌种类和活力的差异、使用单一菌种和复合菌的差异以及益生菌服用次数和疗程的差异等，这些都是以后临床研究中需要考虑的问题。此外，忽视安慰剂对肠道菌群的影响也可能是导致阴性结果的重要原

因之一。在 2 个相似的研究中, 研究者们探讨了含有多种益生菌的酸奶(2 个实验均采用了嗜酸乳杆菌和双歧杆菌的混合菌, 浓度均为 10^7 CFU/mL, 服用 8 周)相对于不含益生菌的酸化牛奶, 改善 IBS 症状的作用^[250,251]。虽然这 2 个研究得出的结论是益生菌对 IBS 没有显著的改善作用, 因为酸化牛奶和酸奶对 IBS 的改善作用没有显著差异。但有趣的是, 服用酸化牛奶和酸奶均显著地改善了 IBS 患者的症状。这 2 个研究均未对肠道菌群进行检测, 而酸化牛奶本身会对肠道菌群产生影响, 这可能是导致阴性结果的原因。相关研究表明, 牛奶本身和酸性环境会对肠道菌群的构成产生重大影响^[253-256], 毕竟安慰剂组连续 8 周每天服用酸化牛奶 400 mL。已有研究表明, 革兰氏阳性杆菌普遍具有耐酸能力^[257], 且酸性环境能够显著增加革兰氏阳性的乳酸菌和双歧杆菌的数量^[255,258], 提示酸化牛奶改善 IBS 的作用可能是由于其增加了肠道内益生菌的数量。其次, 需要认识到每个种类的益生菌都有其独特的性质, 可能和宿主进行特异性的相互作用。某种益生菌具有调节宿主行为的有益作用, 但不能由此进行推论认为其他种类

的益生菌或是包含该菌的复合型益生菌也具有类似的作用。有研究者发现, 甚至是同一种类不同菌株的益生菌的生理调节作用也是不相同的^[259,260]。再次, 如今益生菌的应用中有一个越来越常见但似乎缺少充足科学论证的做法, 那就是使用复合型的益生菌制剂。复合型益生菌包含了多种益生菌, 与单种益生菌相比, 可能的优势是能够融合各种益生菌的有益作用, 其综合作用可能大于每种益生菌单独使用时的相加效应, 能够发挥更广泛的有益作用。然而, 还有一种可能性是多种益生菌的混合使用可能造成各个益生菌间的相互抑制和有益效果的相互抵消, 导致总体有益作用的降低。目前这个问题似乎还没有引起足够重视, 只有少数的研究比较了复合益生菌和单种益生菌的有效性^[261]。因此, 还没有足够的证据支持复合型益生菌的有益作用大于单种益生菌。还有一点需要注意的是, 益生菌的有益作用依赖于和宿主的相互作用, 相同的益生菌在不同的宿主中发挥的作用可能不尽相同。因此, 将在动物研究中得到的结果推论到人类的临床应用上时, 我们还需要格外地谨慎。

参考文献

- 1 Qin J, Li R, Raes J, et al. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature*, 2010, 464: 59–65
- 2 Gill S R, Pop M, DeBoy R T, et al. Metagenomic analysis of the human distal gut microbiome. *Science*, 2006, 312: 1355–1359
- 3 Sekirov I, Russell S L, Antunes L C, et al. Gut microbiota in health and disease. *Physiol Rev*, 2010, 90: 859–904
- 4 Clemente J C, Ursell L K, Parfrey L W, et al. The impact of the gut microbiota on human health: An integrative view. *Cell*, 2012, 148: 1258–1270
- 5 Bercik P, Collins S M, Verdu E F. Microbes and the gut-brain axis. *Neurogastroenterol Motil*, 2012, 24: 405–413
- 6 Round J L, O'Connell R M, Mazmanian S K. Coordination of tolerogenic immune responses by the commensal microbiota. *J Autoimmun*, 2010, 34: J220–J225
- 7 Furness J B. The enteric nervous system and neurogastroenterology. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2012, 9: 286–294
- 8 Mayer E A, Aziz Q, Coen S, et al. Brain imaging approaches to the study of functional GI disorders: A Rome Working Team Report. *Neurogastroenterol Motil*, 2009, 21: 579–596
- 9 Round J L, Mazmanian S K. The gut microbiota shapes intestinal immune responses during health and disease. *Nat Rev Immunol*, 2009, 9: 313–323
- 10 Raybould H E. Gut microbiota, epithelial function and derangements in obesity. *J Physiol*, 2012, 590: 441–446
- 11 Collins S M, Bercik P. The relationship between intestinal microbiota and the central nervous system in normal gastrointestinal function and disease. *Gastroenterology*, 2009, 136: 2003–2014
- 12 Collins S M, Surette M, Bercik P. The interplay between the intestinal microbiota and the brain. *Nat Rev Microbiol*, 2012, 10: 735–742
- 13 Bercik P. The microbiota-gut-brain axis: Learning from intestinal bacteria? *Gut*, 2011, 60: 288–289
- 14 Heijtz R D, Wang S, Anuar F, et al. Normal gut microbiota modulates brain development and behavior. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108: 3047–3052
- 15 Cryan J F, Dinan T G. Mind-altering microorganisms: The impact of the gut microbiota on brain and behaviour. *Nat Rev Neurosci*, 2012, 13: 701–712
- 16 Gareau M G, Wine E, Rodrigues D M, et al. Bacterial infection causes stress-induced memory dysfunction in mice. *Gut*, 2011, 60: 307–317

- 17 Bercik P, Denou E, Collins J, et al. The intestinal microbiota affect central levels of brain-derived neurotrophic factor and behavior in mice. *Gastroenterology*, 2011, 141: 599–609
- 18 Bercik P, Verdu E F, Foster J A, et al. Chronic gastrointestinal inflammation induces anxiety-like behavior and alters central nervous system biochemistry in mice. *Gastroenterology*, 2010, 139: 2102–2112
- 19 Bravo J A, Forsythe P, Chew M V, et al. Ingestion of *Lactobacillus* strain regulates emotional behavior and central GABA receptor expression in a mouse via the vagus nerve. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108: 16050–16055
- 20 Sudo N, Chida Y, Aiba Y, et al. Postnatal microbial colonization programs the hypothalamic-pituitary-adrenal system for stress response in mice. *J Physiol*, 2004, 558: 263–275
- 21 Lyte M, Li W, Opitz N, et al. Induction of anxiety-like behavior in mice during the initial stages of infection with the agent of murine colonic hyperplasia *Citrobacter rodentium*. *Physiol Behav*, 2006, 89: 350–357
- 22 Suzana T G, Aleksandar N, Dusan L, et al. Irritable bowel syndrome, anxiety, depression and personality characteristics. *Psychiatr Danub*, 2010, 22: 418–424
- 23 Addolorato G, Mirijello A, D'Angelo C, et al. State and trait anxiety and depression in patients affected by gastrointestinal diseases: Psychometric evaluation of 1641 patients referred to an internal medicine outpatient setting. *Int J Clin Pract*, 2008, 62: 1063–1069
- 24 Häuser W J, Janke K H, Klump B, et al. Anxiety and depression in patients with inflammatory bowel disease: Comparisons with chronic liver disease patients and the general population. *Inflamm Bowel Dis*, 2011, 17: 621–632
- 25 Saul W. Hyperammonemic encephalopathy. *Medicine (Abingdon)*, 2002, 81: 240–249
- 26 Cryan J F, O'Mahony S M. The microbiome-gut-brain axis: From bowel to behavior. *Neurogastroenterol Motil*, 2011, 23: 187–192
- 27 Kassinen A, Krogius-Kurikka L, Mäkituokko H, et al. The fecal microbiota of irritable bowel syndrome patients differs significantly from that of healthy subjects. *Gastroenterology*, 2007, 133: 24–33
- 28 Seksik P, Rigottier-Gois L, Gramet G, et al. Alterations of the dominant faecal bacterial groups in patients with Crohn's disease of the colon. *Gut*, 2003, 52: 237–242
- 29 Bajaj J S, Ridlon J M, Hylemon P B, et al. Linkage of gut microbiome with cognition in hepatic encephalopathy. *Am J Physiol-gastr L*, 2012, 302: G168–G175
- 30 Verdú E F, Bercik P, Verma-Gandhu M, et al. Specific probiotic therapy attenuates antibiotic induced visceral hypersensitivity in mice. *Gut*, 2006, 55: 182–190
- 31 Garrett W S, Gallini C A, Yatsunencko T, et al. *Enterobacteriaceae* act in concert with the gut microbiota to induce spontaneous and maternally transmitted colitis. *Cell Host Microbe*, 2010, 8: 292–300
- 32 Ohkusa T, Okayasu I, Oghihara T, et al. Induction of experimental ulcerative colitis by *Fusobacterium varium* isolated from colonic mucosa of patients with ulcerative colitis. *Gut*, 2003, 52: 79–83
- 33 Borody T, Leis S, Campbell J, et al. Fecal microbiota transplantation (FMT) in multiple sclerosis (MS). *Am J Gastroenterol*, 2011, 106: S352
- 34 Rao A V, Bested A C, Beaulne T M, et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled pilot study of a probiotic in emotional symptoms of chronic fatigue syndrome. *Gut Pathog*, 2009, 1: 6
- 35 Hsiao E Y, McBride S W, Hsien S, et al. Microbiota modulate behavioral and physiological abnormalities associated with neurodevelopmental disorders. *Cell*, 2013, 155: 1451–1463
- 36 Brenner S R. Blue-green algae or cyanobacteria in the intestinal micro-flora may produce neurotoxins such as Beta-N-Methylamino-L-Alanine (BMAA) which may be related to development of amyotrophic lateral sclerosis, Alzheimer's disease and Parkinson-Dementia-Complex in humans and Equine Motor Neuron Disease in horses. *Med Hypotheses*, 2013, 80: 103
- 37 Messaoudi M, Lalonde R, Violle N, et al. Assessment of psychotropic-like properties of a probiotic formulation (*Lactobacillus helveticus* R0052 and *Bifidobacterium longum* R0175) in rats and human subjects. *Brit J Nutr*, 2011, 105: 755–764
- 38 Bercik P, Park A J, Sinclair D, et al. The anxiolytic effect of *Bifidobacterium longum* NCC3001 involves vagal pathways for gut-brain communication. *Neurogastroenterol Motil*, 2011, 23: 1132–1139
- 39 Messaoudi M, Violle N, Bisson J F, et al. Beneficial psychological effects of a probiotic formulation (*Lactobacillus helveticus* R0052 and *Bifidobacterium longum* R0175) in healthy human volunteers. *Gut Microbes*, 2011, 2: 256–261
- 40 Benton D, Williams C, Brown A. Impact of consuming a milk drink containing a probiotic on mood and cognition. *Eur J Clin Nutr*, 2007, 61: 355–361
- 41 Von Geldern G, Mowry E M. The influence of nutritional factors on the prognosis of multiple sclerosis. *Nat Rev Neurol*, 2012, 8: 678–689
- 42 Kurokawa K, Itoh T, Kuwahara T, et al. Comparative metagenomics revealed commonly enriched gene sets in human gut microbiomes. *DNA Res*, 2007, 14: 169–181
- 43 Venter J C, Adams M D, Myers E W, et al. The sequence of the human genome. *Science*, 2001, 291: 1304–1351

- 44 International Rice Genome Sequencing Project. The map-based sequence of the rice genome. *Nature*, 2005, 436: 793–800
- 45 Human Microbiome Project Consortium. A framework for human microbiome rese arch. *Nature*, 2012, 486: 215–221
- 46 Human Microbiome Project Consortium. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature*, 2012, 486: 207–214
- 47 Forsythe P, Kunze W A, Bienenstock J. On communication between gut microbes and the brain. *Curr Opin Gastroenterol*, 2012, 28: 557–562
- 48 Pluznick J L, Protzko R J, Gevorgyan H, et al. Olfactory receptor responding to gut microbiota-derived signals plays a role in renin secretion and blood pressure regulation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110: 4410–4415
- 49 DiBaise J K, Frank D N, Mathur R. Impact of the gut microbiota on the development of obesity: Current concepts. *Am J Gastroenterol Suppl*, 2012, 1: 22–27
- 50 Naseer M I, Bibi F, Alqahtani M H, et al. Role of gut microbiota in obesity, type 2 diabetes and Alzheimer’s disease. *CNS Neurol Disord Drug Targets*, 2014, 13: 305–311
- 51 Bested A, Logan A, Selhub E. Intestinal microbiota, probiotics and mental health: From Metchnikoff to modern advances: Part III—convergence toward clinical trials. *Gut Pathog*, 2013, 5: 4
- 52 Ejtahed H S, Mohtadi-Nia J, Homayouni-Rad A, et al. Probiotic yogurt improves antioxidant status in type 2 diabetic patients. *Nutrition*, 2012, 28: 539–543
- 53 Ley R E, Peterson D A, Gordon J I. Ecological and evolutionary forces shaping microbial diversity in the human intestine. *Cell*, 2006, 124: 837–848
- 54 Eckburg P B, Bik E M, Bernstein C N, et al. Diversity of the human intestinal microbial flora. *Science*, 2005, 308: 1635–1638
- 55 Grenham S, Clarke G, Cryan J F, et al. Brain-gut-microbe communication in health and disease. *Front Physiol*, 2011, 2: 94
- 56 Mackie R I, Sghir A, Gaskins H R. Developmental microbial ecology of the neonatal gastrointestinal tract. *Am J Clin Nutr*, 1999, 69: S1035–S1045
- 57 Palmer C, Bik E M, DiGiulio D B, et al. Development of the human infant intestinal microbiota. *PLoS Biol*, 2007, 5: e177
- 58 O’Keefe S J, Greer J B. Microbial induction of immunity, inflammation and cancer. *Front Physiol*, 2011, 1: 168
- 59 Forsythe P, Sudo N, Dinan T, et al. Mood and gut feelings. *Brain Behav Immun*, 2010, 24: 9–16
- 60 Franceschi C, Bonafe M, Valensin S, et al. Inflamm-aging: An evolutionary perspective on immunosenescence. *Ann Ny Acad Sci*, 2000, 908: 244–254
- 61 Claesson M J, Cusack S, O’Sullivan O, et al. Composition, variability, and temporal stability of the intestinal microbiota of the elderly. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108: 4586–4591
- 62 Claesson M J, Jeffery I B, Conde S, et al. Gut microbiota composition correlates with diet and health in the elderly. *Nature*, 2012, 488: 178–184
- 63 Olszak T, An D, Zeissig S, et al. Microbial exposure during early life has persistent effects on natural killer T cell function. *Science*, 2012, 336: 489–493
- 64 Bäckhed F, Ding H, Wang T, et al. The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101: 15718–15723
- 65 Cryan J F, Dinan T G. Mind-altering microorganisms: The impact of the gut microbiota on brain and behaviour. *Nat Rev Neurosci*, 2012, 13: 701–712
- 66 Furness J B, Kunze W A, Clerc N. Nutrient tasting and signaling mechanisms in the gut. II. The intestine as a sensory organ: Neural, endocrine, and immune responses. *Am J Physiol*, 1999, 277: G922–G928
- 67 Artis D. Epithelial-cell recognition of commensal bacteria and maintenance of immune homeostasis in the gut. *Nat Rev Immunol*, 2008, 8: 411–420
- 68 Medzhitov R. Recognition of microorganisms and activation of the immune response. *Nature*, 2007, 449: 819–826
- 69 Bäckhed F, Ley R E, Sonnenburg J L, et al. Host-bacterial mutualism in the human intestine. *Science*, 2005, 307: 1915–1920
- 70 Cebra J J. Influences of microbiota on intestinal immune system development. *Am J Clin Nutr*, 1999, 69: S1046–S1051
- 71 Macpherson A J, Harris N L. Interactions between commensal intestinal bacteria and the immune system. *Nat Rev Immunol*, 2004, 4: 478–485
- 72 Dantzer R, O’Connor J C, Freund G G, et al. From inflammation to sickness and depression: When the immune system subjugates the brain. *Nat Rev Neurosci*, 2008, 9: 46–56
- 73 Maier S F, Watkins L R. Cytokines for psychologists: Implications of bidirectional immune-to-brain communication for understanding behavior, mood, and cognition. *Psychol Rev*, 1998, 105: 83–107
- 74 Banks W A. The blood-brain barrier in psychoneuroimmunology. *Immunol Allergy Clin*, 2009, 29: 223–228
- 75 Quan N, Whiteside M, Herkenham M. Time course and localization patterns of interleukin-1 β messenger RNA expression in brain and pituitary after peripheral administration of lipopolysaccharide. *Neuroscience*, 1998, 83: 281–293
- 76 Vitkovic L, Konsman J P, Bockaert J, et al. Cytokine signals propagate through the brain. *Mol Psychiatry*, 2000, 5: 604–615

- 77 Kongsman J P, Vignes S, Mackerlova L, et al. Rat brain vascular distribution of interleukin-1 type-1 receptor immunoreactivity: Relationship to patterns of inducible cyclooxygenase expression by peripheral inflammatory stimuli. *J Comp Neurol*, 2004, 472: 113–129
- 78 Schiltz J C, Sawchenko P E. Distinct brain vascular cell types manifest inducible cyclooxygenase expression as a function of the strength and nature of immune insults. *J Neurosci*, 2002, 22: 5606–5618
- 79 Videnska P, Sisak F, Havlickova H, et al. Influence of *Salmonella enterica serovar* Enteritidis infection on the composition of chicken cecal microbiota. *BMC Vet Res*, 2013, 9: 140
- 80 McHardy I, Li X, Tong M, et al. HIV Infection is associated with compositional and functional shifts in the rectal mucosal microbiota. *Microbiome*, 2013, 1: 26
- 81 Gareau M G, Wine E, Rodrigues D M, et al. Bacterial infection causes stress-induced memory dysfunction in mice. *Gut*, 2011, 60: 307–317
- 82 Raybould H E. Gut chemosensing: Interactions between gut endocrine cells and visceral afferents. *Auton Neurosci*, 2010, 153: 41–46
- 83 Clarke G, Grenham S, Scully P, et al. The microbiome-gut-brain axis during early life regulates the hippocampal serotonergic system in a sex-dependent manner. *Mol Psychiatry*, 2013, 18: 666–673
- 84 García-Ródenas C L, Bergonzelli G E, Nutten S, et al. Nutritional approach to restore impaired intestinal barrier function and growth after neonatal stress in rats. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 2006, 43: 16–24
- 85 O'Mahony S M, Marchesi J R, Scully P, et al. Early life stress alters behavior, immunity, and microbiota in rats: Implications for irritable bowel syndrome and psychiatric illnesses. *Biol Psychiat*, 2009, 65: 263–267
- 86 Gareau M G, Jury J, MacQueen G, et al. Probiotic treatment of rat pups normalises corticosterone release and ameliorates colonic dysfunction induced by maternal separation. *Gut*, 2007, 56: 1522–1528
- 87 Ait-Belgnaoui A, Durand H, Cartier C, et al. Prevention of gut leakiness by a probiotic treatment leads to attenuated HPA response to an acute psychological stress in rats. *Psychoneuroendocrinology*, 2012, 37: 1885–1895
- 88 Hughes D T, Sperandio V. Inter-kingdom signalling: Communication between bacteria and their hosts. *Nat Rev Microbiol*, 2008, 6: 111–120
- 89 Gershon M D, Tack J. The serotonin signaling system: From basic understanding to drug development for functional GI disorders. *Gastroenterology*, 2007, 132: 397–414
- 90 Ruddick J P, Evans A K, Nutt D J, et al. Tryptophan metabolism in the central nervous system: Medical implications. *Expert Rev Mol Med*, 2006, 8: 1–27
- 91 Desbonnet L, Garrett L, Clarke G, et al. The probiotic *Bifidobacteria infantis*: An assessment of potential antidepressant properties in the rat. *J Psychiat Res*, 2008, 43: 164–174
- 92 Clerc N, Furness J B. Intrinsic primary afferent neurones of the digestive tract. *Neurogastroenterol Motil*, 2004, 16: 24–27
- 93 Grundy D, Al-Chaer E D, Aziz Q, et al. Fundamentals of neurogastroenterology: Basic science. *Gastroenterology*, 2006, 130: 1391–1411
- 94 Phillips R J, Powley T L. Tension and stretch receptors in gastrointestinal smooth muscle: Re-evaluating vagal mechanoreceptor electrophysiology. *Brain Res Rev*, 2000, 34: 1–26
- 95 Lynn P, Zagorodnyuk V, Hennig G, et al. Mechanical activation of rectal intraganglionic laminar endings in the guinea pig distal gut. *J Physiol*, 2005, 564: 589–601
- 96 Brierley S M. Molecular basis of mechanosensitivity. *Auton Neurosci*, 2010, 153: 58–68
- 97 Feng B, Gebhart G F. Characterization of silent afferents in the pelvic and splanchnic innervations of the mouse colorectum. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2011, 300: G170–G180
- 98 de Lartigue G, de La Serre C B, Raybould H E. Vagal afferent neurons in high fat diet-induced obesity; intestinal microflora, gut inflammation and cholecystokinin. *Physiol Behav*, 2011, 105: 100–105
- 99 Barbara G, Wang B, Stanghellini V, et al. Mast cell-dependent excitation of visceral-nociceptive sensory neurons in irritable bowel syndrome. *Gastroenterology*, 2007, 132: 26–37
- 100 Romeo H E, Tio D L, Rahman S U, et al. The glossopharyngeal nerve as a novel pathway in immune-to-brain communication: Relevance to neuroimmune surveillance of the oral cavity. *J Neuroimmunol*, 2001, 115: 91–100
- 101 Bluthé R M, Walter V, Parnet P. Lipopolysaccharide induces sickness behaviour in rats by a vagal mediated mechanism. *C R Acad Sci*, 1994, 317: 499–503
- 102 Powley T L, Wang X Y, Fox E A, et al. Ultrastructural evidence for communication between intramuscular vagal mechanoreceptors and interstitial cells of Cajal in the rat fundus. *Neurogastroenterol Motil*, 2008, 20: 69–79
- 103 McVey Neufeld K A, Mao Y K, Bienenstock J, et al. The microbiome is essential for normal gut intrinsic primary afferent neuron excitability in the mouse. *Neurogastroenterol Motil*, 2013, 25: 183–188
- 104 Kunze W A, Mao Y K, Wang B, et al. *Lactobacillus reuteri* enhances excitability of colonic AH neurons by inhibiting calcium-dependent potassium channel opening. *J Cell Mol Med*, 2009, 13: 2261–2270

- 105 Goehler L E, Park S M, Opitz N, et al. *Campylobacter jejuni* infection increases anxiety-like behavior in the holeboard: Possible anatomical substrates for viscerosensory modulation of exploratory behavior. *Brain Behav Immun*, 2008, 22: 354–366
- 106 Hooper L V, Wong M H, Thelin A, et al. Molecular analysis of commensal host-microbial relationships in the Intestine. *Science*, 2001, 291: 881–884
- 107 Neufeld K M, Kang N, Bienenstock J, et al. Reduced anxiety-like behavior and central neurochemical change in germ-free mice. *Neurogastroenterol Motil*, 2011, 23: 255–264
- 108 Bergami M, Rimondini R, Santi S, et al. Deletion of TrkB in adult progenitors alters newborn neuron integration into hippocampal circuits and increases anxiety-like behavior. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105: 15570–15575
- 109 Akimova E, Lanzenberger R, Kasper S. The serotonin-1A receptor in anxiety disorders. *Biol Psychiat*, 2009, 66: 627–635
- 110 Barkus C, McHugh S B, Sprengel R, et al. Hippocampal NMDA receptors and anxiety: At the interface between cognition and emotion. *Eur J Pharmacol*, 2010, 626: 49–56
- 111 Jacobson L H, Cryan J F. Feeling strained? Influence of genetic background on depression-related behavior in mice: A review. *Behav Genet*, 2007, 37: 171–213
- 112 Benson A K, Kelly S A, Legge R, et al. Individuality in gut microbiota composition is a complex polygenic trait shaped by multiple environmental and host genetic factors. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107: 18933–18938
- 113 Neufeld K A, Kang N, Bienenstock J, et al. Effects of intestinal microbiota on anxiety-like behavior. *Commun Integr Biol*, 2011, 4: 492–494
- 114 Rogel-Salazar G, López-Rubalcava C. Evaluation of the anxiolytic-like effects of clomipramine in two rat strains with different anxiety vulnerability (Wistar and Wistar-Kyoto rats): Participation of 5-HT1A receptors. *Behav Pharmacol*, 2011, 22: 136–146
- 115 Riebe, Caitlin J, Wotjak, et al. A practical guide to evaluating anxiety-related behavior in rodents. *TRP Channels in Drug Discovery*. Volume 1. Clifton: Humana Press, 2012. 167–185
- 116 Anchan D, Clark S, Pollard K, et al. GPR30 activation decreases anxiety in the open field test but not in the elevated plus maze test in female mice. *Brain Behav*, 2014, 4: 51–59
- 117 An X L, Zou J X, Wu R Y, et al. Strain and sex differences in anxiety-like and social behaviors in C57BL/6J and BALB/cJ mice. *Exp Anim Tokyo*, 2011, 60: 111–123
- 118 Collins S, Verdu E, Denou E, et al. The role of pathogenic microbes and commensal bacteria in irritable bowel syndrome. *Dig Dis*, 2009, 27: 85–89
- 119 Herpfer I, Katzev M, Feige B, et al. Effects of substance P on memory and mood in healthy male subjects. *Hum Psychopharmacol*, 2007, 22: 567–573
- 120 Gaykema R P, Goehler L E, Lyte M. Brain response to cecal infection with *Campylobacter jejuni*: Analysis with Fos immunohistochemistry. *Brain Behav Immun*, 2004, 18: 238–245
- 121 Wang X, Wang B R, Zhang X J, et al. Evidences for vagus nerve in maintenance of immune balance and transmission of immune information from gut to brain in STM-infected rats. *World J Gastroenterol*, 2002, 8: 540–545
- 122 Lilly D M, Stillwell R H. Probiotics: Growth-promoting factors produced by microorganisms. *Science*, 1965, 147: 747–748
- 123 Fooks L J, Gibson G R. Probiotics as modulators of the gut flora. *Br J Nutr*, 2002, 88: S39–S49
- 124 Ng S C, Hart A L, Kamm M A, et al. Mechanisms of action of probiotics: Recent advances. *Inflamm Bowel Dis*, 2009, 15: 300–310
- 125 Engelbrektson A, Korzenik J R, Pittler A, et al. Probiotics to minimize the disruption of faecal microbiota in healthy subjects undergoing antibiotic therapy. *J Med Microbiol*, 2009, 58: 663–670
- 126 Zareie M, Johnson-Henry K, Jury J, et al. Probiotics prevent bacterial translocation and improve intestinal barrier function in rats following chronic psychological stress. *Gut*, 2006, 55: 1553–1560
- 127 Arseneault-Bréard J, Rondeau I, Gilbert K, et al. Combination of *Lactobacillus helveticus* R0052 and *Bifidobacterium longum* R0175 reduces post-myocardial infarction depression symptoms and restores intestinal permeability in a rat model. *Brit J Nutr*, 2012, 107: 1793–1799
- 128 Bravo J A, Forsythe P, Chew M V, et al. Ingestion of *Lactobacillus* strain regulates emotional behavior and central GABA receptor expression in a mouse via the vagus nerve. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108: 16050–16055
- 129 Clarke G, Cryan J F, Dinan T G, et al. Review article: Probiotics for the treatment of irritable bowel syndrome—Focus on lactic acid bacteria. *Aliment Pharm Therap*, 2012, 35: 403–413
- 130 Desbonnet L, Garrett L, Clarke G, et al. Effects of the probiotic *Bifidobacterium infantis* in the maternal separation model of depression. *Neuroscience*, 2010, 170: 1179–1188
- 131 Maes M, Berk M, Goehler L, et al. Depression and sickness behavior are Janus-faced responses to shared inflammatory pathways. *BMC Medicine*, 2012, 10: 66–84
- 132 Logan A C, Katzman M. Major depressive disorder: Probiotics may be an adjuvant therapy. *Med Hypotheses*, 2005, 64: 533–538
- 133 Silk D B, Davis A, Vulevic J, et al. Clinical trial: The effects of a trans-galactooligosaccharide prebiotic on faecal microbiota and symptoms in irritable bowel syndrome. *Aliment Pharm Therap*, 2009, 29: 508–518

- 134 Messaoudi M, Lalonde R, Violle N, et al. Assessment of psychotropic-like properties of a probiotic formulation (*Lactobacillus helveticus* R0052 and *Bifidobacterium longum* R0175) in rats and human subjects. *Brit J Nutr*, 2011, 105: 755–764
- 135 Logan A C, Venket Rao A, Irani D. Chronic fatigue syndrome: Lactic acid bacteria may be of therapeutic value. *Med Hypotheses*, 2003, 60: 915–923
- 136 Tillisch K, Labus J S, Ebrat B, et al. Modulation of the brain-gut axis after 4-week intervention with a probiotic fermented dairy product. *Gastroenterology*, 2012, 142: S115
- 137 Mayer E A. Irritable Bowel Syndrome. *New Engl J Med*, 2008, 358: 1692–1699
- 138 Modabbernia M J, Mansour-Ghanaei F, Imani A, et al. Anxiety-depressive disorders among irritable bowel syndrome patients in Guilan, Iran. *BMC Res Notes*, 2012, 5: 112
- 139 Henningsen P, Zimmermann T, Sattel H. Medically unexplained physical symptoms, anxiety, and depression: A meta-analytic review. *Psychosom Med*, 2003, 65: 528–533
- 140 Heitkemper M, Jarrett M. Irritable bowel syndrome: Does gender matter? *J Psychosom Res*, 2008, 64: 583–587
- 141 Cain K, Jarrett M, Burr R, et al. Gender differences in gastrointestinal, psychological, and somatic symptoms in irritable bowel syndrome. *Digest Dis Sci*, 2009, 54: 1542–1549
- 142 Heitkemper M M, Jarrett M E. Update on irritable bowel syndrome and gender differences. *Nutr Clin Pract*, 2008, 23: 275–283
- 143 Katsanos A H, Giannopoulos S, Tsivgoulis G. The brain-gut axis in the pathophysiology of irritable bowel syndrome. *Immuno-Gastroenterology*, 2012, 1: 23–26
- 144 Ghoshal U C, Kumar S, Mehrotra M, et al. Frequency of small intestinal bacterial overgrowth in patients with irritable bowel syndrome and chronic non-specific diarrhea. *J Neurogastroenterol Motil*, 2010, 16: 40–46
- 145 Chang J Y, Talley N J. An update on irritable bowel syndrome: From diagnosis to emerging therapies. *Curr Opin Gastroenterol*, 2011, 27: 72–78
- 146 Gonsalkorale W M, Perrey C, Pravica V, et al. Interleukin 10 genotypes in irritable bowel syndrome: Evidence for an inflammatory component? *Gut*, 2003, 52: 91–93
- 147 O'Mahony L, McCarthy J, Kelly P, et al. *Lactobacillus* and *bifidobacterium* in irritable bowel syndrome: Symptom responses and relationship to cytokine profiles. *Gastroenterology*, 2005, 128: 541–551
- 148 Capuron L, Dantzer R. Cytokines and depression: The need for a new paradigm. *Brain Behav Immun*, 2003, 17: 119–124
- 149 Pimentel M, Lin H C, Enayati P, et al. Methane, a gas produced by enteric bacteria, slows intestinal transit and augments small intestinal contractile activity. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2006, 290: G1089–G1095
- 150 Lin H C. Small intestinal bacterial overgrowth: A framework for understanding irritable bowel syndrome. *JAMA*, 2004, 292: 852–858
- 151 Parisi G, Leandro G, Bottona E, et al. Small intestinal bacterial overgrowth and irritable bowel syndrome. *Am J Gastroenterol*, 2003, 98: 2572–2572
- 152 Lee H R, Pimentel M. Bacteria and irritable bowel syndrome: The evidence for small intestinal bacterial overgrowth. *Curr Gastroenterol Rep*, 2006, 8: 305–311
- 153 Marshall J K, Thabane M, Garg A X, et al. Incidence and epidemiology of irritable bowel syndrome after a large waterborne outbreak of bacterial dysentery. *Gastroenterology*, 2006, 131: 445–450
- 154 Spiller R C. Estimating the importance of infection in IBS. *Am J Gastroenterol*, 2003, 98: 238–241
- 155 Parry S D, Stansfield R, Jelley D, et al. Does bacterial gastroenteritis predispose people to functional gastrointestinal disorders? A prospective, community-based, case-control study. *Am J Gastroenterol*, 2003, 98: 1970–1975
- 156 Ericsson C D, Hatz C, DuPont A W. Postinfectious irritable bowel syndrome. *Clin Infect Dis*, 2008, 46: 594–599
- 157 Spiller R C. Is IBS caused by infectious diarrhea? *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol*, 2007, 4: 642–643
- 158 Ji S, Park H, Lee D, et al. Post-infectious irritable bowel syndrome in patients with Shigella infection. *J Gastroen Hepatol*, 2005, 20: 381–386
- 159 Kerckhoffs A P, Samsom M, van der Rest M E, et al. Lower *Bifidobacteria* counts in both duodenal mucosa-associated and fecal microbiota in irritable bowel syndrome patients. *World J Gastroenterol*, 2009, 15: 2887–2892
- 160 Kerckhoffs A P, Ben-Amor K, Samsom M, et al. Molecular analysis of faecal and duodenal samples reveals significantly higher prevalence and numbers of *Pseudomonas aeruginosa* in irritable bowel syndrome. *J Med Microbiol*, 2011, 60: 236–245
- 161 Carroll I, Chang Y H, Park J, et al. Luminal and mucosal-associated intestinal microbiota in patients with diarrhea-predominant irritable bowel syndrome. *Gut Pathog*, 2010, 2: 19
- 162 Si J M, Yu Y C, Fan Y J, et al. Intestinal microecology and quality of life in irritable bowel syndrome patients. *World J Gastroenterol*, 2004, 10: 1802–1805
- 163 Mättö J, Maunukela L, Kajander K, et al. Composition and temporal stability of gastrointestinal microbiota in irritable bowel syndrome —A longitudinal study in IBS and control subjects. *FEMS Immunol Med Microbiol*, 2005, 43: 213–222
- 164 Malinen E, Rinttila T, Kajander K, et al. Analysis of the fecal microbiota of irritable bowel syndrome patients and healthy controls with real-time PCR. *Am J Gastroenterol*, 2005, 100: 373–382

- 165 Tana C, Umesaki Y, Imaoka A, et al. Altered profiles of intestinal microbiota and organic acids may be the origin of symptoms in irritable bowel syndrome. *Neurogastroenterol Motil*, 2010, 22: 512–519
- 166 Ringel Y, Carroll I M. Alterations in the intestinal microbiota and functional bowel symptoms. *Gastrointest Endosc Clin N Am*, 2009, 19: 141–150
- 167 Xavier R J, Podolsky D K. Unravelling the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Nature*, 2007, 448: 427–434
- 168 Lindgren S, Stewenius J, Sjölund K, et al. Autonomic vagal nerve dysfunction in patients with ulcerative colitis. *Scand J Gastroenterol*, 1993, 28: 638–642
- 169 Lindgren S, Lilja B, Rosén I, et al. Disturbed autonomic nerve function in patients with Crohn's disease. *Scand J Gastroenterol*, 1991, 26: 361–366
- 170 Ganguli S C, Kamath M V, Redmond K, et al. A comparison of autonomic function in patients with inflammatory bowel disease and in healthy controls. *Neurogastroenterol Motil*, 2007, 19: 961–967
- 171 Walker J R, Ediger J P, Graff L A, et al. The manitoba IBD cohort study: A population-based study of the prevalence of lifetime and 12-month anxiety and mood disorders. *Am J Gastroenterol*, 2008, 103: 1989–1997
- 172 Graff L A, Walker J R, Bernstein C N. Depression and anxiety in inflammatory bowel disease: A review of comorbidity and management. *Inflamm Bowel Dis*, 2009, 15: 1105–1118
- 173 Kurina L M, Goldacre M J, Yeates D, et al. Depression and anxiety in people with inflammatory bowel disease. *J Epidemiol Community Health*, 2001, 55: 716–720
- 174 Mittermaier C, Dejaco C, Waldhoer T, et al. Impact of depressive mood on relapse in patients with inflammatory bowel disease: A prospective 18-month follow-up study. *Psychosom Med*, 2004, 66: 79–84
- 175 Addolorato G, Capristo E, Stefanini G F, et al. Inflammatory bowel disease: A study of the association between anxiety and depression, physical morbidity, and nutritional status. *Scand J Gastroenterol*, 1997, 32: 1013–1021
- 176 Nahon S, Lahmek P, Durance C, et al. Risk factors of anxiety and depression in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis*, 2012, 18: 2086–2091
- 177 Hansen J, Gulati A, Sartor R B. The role of mucosal immunity and host genetics in defining intestinal commensal bacteria. *Curr Opin Gastroenterol*, 2010, 26: 564–571
- 178 Joossens M, Huys G, Cnockaert M, et al. Dysbiosis of the faecal microbiota in patients with Crohn's disease and their unaffected relatives. *Gut*, 2011, 60: 631–637
- 179 Zhang M, Liu B, Zhang Y, et al. Structural shifts of mucosa-associated *Lactobacilli* and *Clostridium leptum* subgroup in patients with ulcerative colitis. *J Clin Microbiol*, 2007, 45: 496–500
- 180 Sokol H, Pigneur B, Watterlot L, et al. *Faecalibacterium prausnitzii* is an anti-inflammatory commensal bacterium identified by gut microbiota analysis of crohn disease patients. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105: 16731–16736
- 181 Hoentjen F, Welling G W, Harmsen H J, et al. Reduction of colitis by prebiotics in HLA-B27 transgenic rats is associated with microflora changes and immunomodulation. *Inflamm Bowel Dis*, 2005, 11: 977–985
- 182 Bajaj J S. Review article: The modern management of hepatic encephalopathy. *Aliment Pharm Therap*, 2010, 31: 537–547
- 183 Bajaj J S, Hylemon P B, Younossi Z. The intestinal microbiota and liver disease. *Am J Gastroenterol Suppl*, 2012, 1: 9–14
- 184 Abu-Shanab A, Quigley E M. The role of the gut microbiota in nonalcoholic fatty liver disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2010, 7: 691–701
- 185 Liu Q, Duan Z P, Ha D K, et al. Synbiotic modulation of gut flora: Effect on minimal hepatic encephalopathy in patients with cirrhosis. *Hepatology*, 2004, 39: 1441–1449
- 186 Chen Y, Yang F, Lu H, et al. Characterization of fecal microbial communities in patients with liver cirrhosis. *Hepatology*, 2011, 54: 562–572
- 187 Bajaj J S, Gillevet P, Patel N, et al. A longitudinal systems biology analysis of lactulose withdrawal in hepatic encephalopathy. *Metab Brain Dis*, 2012, 27: 205–215
- 188 Bajaj J S, Hylemon P B, Ridlon J M, et al. Colonic mucosal microbiome differs from stool microbiome in cirrhosis and hepatic encephalopathy and is linked to cognition and inflammation. *Am J Physiol-gastr L*, 2012, 303: G675–G685
- 189 Solga S F, Diehl A M. Gut flora-based therapy in liver disease? The liver cares about the gut. *Hepatology*, 2004, 39: 1197–1200
- 190 Dhiman R K, Chawla Y K. Minimal hepatic encephalopathy: Should we start treating it? *Gastroenterology*, 2004, 127: 1855–1857
- 191 Basile A S, Jones E A. Ammonia and GABA-ergic neurotransmission: Interrelated factors in the pathogenesis of hepatic encephalopathy. *Hepatology*, 1997, 25: 1303–1305
- 192 Williams R. Review article: Bacterial flora and pathogenesis in hepatic encephalopathy. *Aliment Pharmacol Ther*, 2007, 25(Suppl 1): 17–22
- 193 Sharma B C, Sharma P, Agrawal A, et al. Secondary prophylaxis of hepatic encephalopathy: An open-label randomized controlled trial of lactulose versus placebo. *Gastroenterology*, 2009, 137: 885–891

- 194 Bass N M, Mullen K D, Sanyal A, et al. Rifaximin treatment in hepatic encephalopathy. *New Engl J Med*, 2010, 362: 1071–1081
- 195 Morgan M Y. The treatment of chronic hepatic encephalopathy. *Hepatogastroenterology*, 1991, 38: 377–387
- 196 Sidhu S S, Goyal O, Mishra B P, et al. Rifaximin improves psychometric performance and health-related quality of life in patients with minimal hepatic encephalopathy (The RIME Trial). *Am J Gastroenterol*, 2011, 106: 307–316
- 197 Bajaj J S, Heuman D M, Wade J B, et al. Rifaximin improves driving simulator performance in a randomized trial of patients with minimal hepatic encephalopathy. *Gastroenterology*, 2011, 140: 478–487
- 198 Prasad S, Dhiman R K, Duseja A, et al. Lactulose improves cognitive functions and health-related quality of life in patients with cirrhosis who have minimal hepatic encephalopathy. *Hepatology*, 2007, 45: 549–559
- 199 Horsmans Y, Solbreux P M, Daenens C, et al. Lactulose improves psychometric testing in cirrhotic patients with subclinical encephalopathy. *Aliment Pharmacol Ther*, 1997, 11: 165–170
- 200 Mittal V V, Sharma B C, Sharma P, et al. A randomized controlled trial comparing lactulose, probiotics, and L-ornithine L-aspartate in treatment of minimal hepatic encephalopathy. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 2011, 23: 725–732
- 201 Ascherio A, Munger K. Environmental risk factors for multiple sclerosis. Part I: The role of infection. *Ann Neurol*, 2007, 61: 288–299
- 202 Berer K, Mues M, Koutrolos M, et al. Commensal microbiota and myelin autoantigen cooperate to trigger autoimmune demyelination. *Nature*, 2011, 479: 538–541
- 203 Hornig M. The role of microbes and autoimmunity in the pathogenesis of neuropsychiatric illness. *Curr Opin Rheumatol*, 2013, 25: 488–495
- 204 Ben-Pazi H, Stoner J A, Cunningham M W. Dopamine receptor autoantibodies correlate with symptoms in sydenham’s chorea. *PLoS One*, 2013, 8: e73516
- 205 Evengård B, Klimas N. Chronic fatigue syndrome: Probable pathogenesis and possible treatments. *Drugs*, 2002, 62: 2433–2446
- 206 Holgate S T, Komaroff A L, Mangan D, et al. Chronic fatigue syndrome: Understanding a complex illness. *Nat Rev Neurosci*, 2011, 12: 539–544
- 207 Wessely S, Chalder T, Hirsch S, et al. Psychological symptoms, somatic symptoms, and psychiatric disorder in chronic fatigue and chronic fatigue syndrome: A prospective study in the primary care setting. *Am J Psychiatry*, 1996, 153: 1050–1059
- 208 Butt H L, Dunstan R H, McGregor N R, et al. “Bacterial colonisation” in patients with persistent fatigue. *Proceedings of the AHMF International Clinical and Scientific Conference*. Sydney, Australia, 2001
- 209 Evengård B, Gräns H, Wahlund E, et al. Elevated levels of *Candida albicans* in the faecal microflora of chronic fatigue syndrome patients during the acute phase of illness. *Scand J Gastroent*, 2007, 42: 1514–1515
- 210 Sullivan A, Nord C, Evengard B. Effect of supplement with lactic-acid producing bacteria on fatigue and physical activity in patients with chronic fatigue syndrome. *Nutr J*, 2009, 8: 4
- 211 Plauché J C, Myers S M. Identification and evaluation of children with autism spectrum disorders. *Pediatrics*, 2007, 120: 1183–1215
- 212 Hallmayer J, Cleveland S, Torres A, et al. Genetic heritability and shared environmental factors among twin pairs with autism. *Arch Gen Psychiat*, 2011, 68: 1095–1102
- 213 Adams J B, Romdalvik J, Levine K E, et al. Mercury in first-cut baby hair of children with autism versus typically-developing children. *Toxicol Environ Chem*, 2008, 90: 739–753
- 214 Niehus R, Lord C. Early medical history of children with autism spectrum disorders. *J Dev Behav Pediatr*, 2006, 27: S120–S127
- 215 Willing B P, Russell S L, Finlay B B. Shifting the balance: Antibiotic effects on host-microbiota mutualism. *Nat Rev Microbiol*, 2011, 9: 233–243
- 216 de Theije C G, Wopereis H, Ramadan M, et al. Altered gut microbiota and activity in a murine model of autism spectrum disorders. *Brain Behav Immun*, 2014, 37: 197–206
- 217 Parracho H M, Bingham M O, Gibson G R, et al. Differences between the gut microflora of children with autistic spectrum disorders and that of healthy children. *J Med Microbiol*, 2005, 54: 987–991
- 218 Kang D W, Park J G, Ilhan Z E, et al. Reduced incidence of *Prevotella* and other fermenters in intestinal microflora of autistic children. *PLoS One* 2013, 8: e68322
- 219 Minami T, Oda K, Gima N, et al. Effects of lipopolysaccharide and chelator on mercury content in the cerebrum of thimerosal-administered mice. *Environ Toxicol Phar*, 2007, 24: 316–320
- 220 Zhu Y, Carvey P M, Ling Z. Altered glutathione homeostasis in animals prenatally exposed to lipopolysaccharide. *Neurochem Int*, 2007, 50: 671–680
- 221 Piemonte F, Pastore A, Tozzi G, et al. Glutathione in blood of patients with Friedreich’s ataxia. *Eur J Clin Invest*, 2001, 31: 1007–1011
- 222 Finegold S M, Dowd S E, Gontcharova V, et al. Pyrosequencing study of fecal microflora of autistic and control children. *Anaerobe*, 2010, 16: 444–453
- 223 Song Y, Liu C, Finegold S M. Real-time PCR quantitation of clostridia in feces of autistic children. *Appl Environ Microb*, 2004, 70: 6459–6465

- 224 MacFabe D F, Cain N E, Boon F, et al. Effects of the enteric bacterial metabolic product propionic acid on object-directed behavior, social behavior, cognition, and neuroinflammation in adolescent rats: Relevance to autism spectrum disorder. *Behav Brain Res*, 2011, 217: 47–54
- 225 Selmer T, Andrei P I. p-Hydroxyphenylacetate decarboxylase from *Clostridium difficile*. *Eur J Biochem*, 2001, 268: 1363–1372
- 226 Hishikawa N, Takahashi Y, Amakusa Y, et al. Effects of turmeric on Alzheimer's disease with behavioral and psychological symptoms of dementia. *Ayu*, 2012, 33: 499–504
- 227 Banack S A, Caller T A, Stommel E W. The cyanobacteria derived toxin beta-N-methylamino-L-alanine and amyotrophic lateral sclerosis. *Toxins*, 2010, 2: 2837–2850
- 228 Vyas K J, Weiss J H. BMAA—An unusual cyanobacterial neurotoxin. *Amyotroph Lateral Scler*, 2009, 10: 50–55
- 229 Tran L, Greenwood-Van Meerveld B. Age-associated remodeling of the intestinal epithelial barrier. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2013, 68: 1045–1056
- 230 Ball M J, Lukiw W J, Kammerman E M, et al. Intracerebral propagation of Alzheimer's disease: Strengthening evidence of a herpes simplex virus etiology. *Alzheimers Dement*, 2013, 9: 169–175
- 231 Douglas-Escobar M, Elliott E, Neu J. Effect of intestinal microbial ecology on the developing brain. *JAMA Pediatr*, 2013, 167: 374–379
- 232 Horning M. The role of microbes and autoimmunity in the pathogenesis of neuropsychiatric illness. *Curr Opin Rheumatol*, 2013, 25: 488–795
- 233 Bravo J A, Julio-Pieper M, Forsythe P, et al. Communication between gastrointestinal bacteria and the nervous system. *Curr Opin Pharmacol*, 2012, 12: 667–672
- 234 Logan A C, Katzman M. Major depressive disorder: Probiotics may be an adjuvant therapy. *Med Hypotheses*, 2005, 64: 533–538
- 235 Basseri R J, Weitsman S, Barlow G M, et al. Antibiotics for the treatment of irritable bowel syndrome. *Gastroenterol Hepatol*, 2011, 7: 455–493
- 236 Perencevich M, Burakoff R. Use of antibiotics in the treatment of inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis*, 2006, 12: 651–664
- 237 Mullen K, Prakash R. Antibiotic treatment for hepatic encephalopathy. *Hepatic Encephalopathy*. Clifton: Humana Press, 2012
- 238 Jernberg C, Löfmark S, Edlund C, et al. Long-term impacts of antibiotic exposure on the human intestinal microbiota. *Microbiology*, 2010, 156: 3216–3223
- 239 Hviid A, Svanström H, Frisch M. Antibiotic use and inflammatory bowel diseases in childhood. *Gut*, 2011, 60: 49–54
- 240 Bajaj J S, Sanyal A J, Bell D, et al. Predictors of the recurrence of hepatic encephalopathy in lactulose-treated patients. *Aliment Pharm Therap*, 2010, 31: 1012–1017
- 241 Flamm S L. Rifaximin treatment for reduction of risk of overt hepatic encephalopathy recurrence. *Therap Adv Gastroenterol*, 2011, 4: 199–206
- 242 Kajander K, Myllyluoma E, Rajilić-Stojanović M, et al. Clinical trial: Multispecies probiotic supplementation alleviates the symptoms of irritable bowel syndrome and stabilizes intestinal microbiota. *Aliment Pharm Therap*, 2008, 27: 48–57
- 243 Malin M, Suomalainen H, Saxelin M, et al. Promotion of IgA immune response in patients with Crohn's disease by oral bacteriotherapy with *Lactobacillus* GG. *Ann Nutr Metab*, 1996, 40: 137–145
- 244 Gupta P, Andrew H, Kirschner B S, et al. Is *lactobacillus* GG helpful in children with Crohn's disease? Results of a preliminary, open-label study. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 2000, 31: 453–457
- 245 Shukla S, Shukla A, Mehboob S, et al. Meta-analysis: The effects of gut flora modulation using prebiotics, probiotics and synbiotics on minimal hepatic encephalopathy. *Aliment Pharm Therap*, 2011, 33: 662–671
- 246 Bajaj J S, Saeian K, Christensen K M, et al. Probiotic yogurt for the treatment of minimal hepatic encephalopathy. *Am J Gastroenterol*, 2008, 103: 1707–1715
- 247 Whorwell P J, Altringer L, Morel J, et al. Efficacy of an encapsulated probiotic bifidobacterium infantis 35624 in women with irritable bowel syndrome. *Am J Gastroenterol*, 2006, 101: 1581–1590
- 248 Williams E A, Stimpson J, Wang D, et al. Clinical trial: Amultistrain probiotic preparation significantly reduces symptoms of irritable bowel syndrome in a double-blind placebo-controlled study. *Aliment Pharm Therap*, 2009, 29: 97–103
- 249 Guglielmetti S, Mora D, Gschwender M, et al. Randomised clinical trial: *Bifidobacterium bifidum* MIMBb75 significantly alleviates irritable bowel syndrome and improves quality of life—a double-blind, placebo-controlled study. *Aliment Pharm Therap*, 2011, 33: 1123–1132
- 250 Simrén M, Öhman L, Olsson J, et al. Clinical trial: The effects of a fermented milk containing three probiotic bacteria in patients with irritable bowel syndrome—A randomized, double-blind, controlled study. *Aliment Pharm Therap*, 2010, 31: 218–227
- 251 Søndergaard B, Olsson J, Ohlson K, et al. Effects of probiotic fermented milk on symptoms and intestinal flora in patients with irritable bowel syndrome: A randomized, placebo-controlled trial. *Scand J Gastroenterol*, 2011, 46: 663–672
- 252 Simrén M, Barbara G, Flint H J, et al. Intestinal microbiota in functional bowel disorders: A Rome foundation report. *Gut*, 2012: 302167

- 253 Mountzouris K C, McCartney A L, Gibson G R. Intestinal microflora of human infants and current trends for its nutritional modulation. *Brit J Nutr*, 2002, 87: 405–420
- 254 Guaraldi F, Salvatori G. Effect of breast and formula feeding on gut microbiota shaping in newborns. *Front Cell Infect Microbiol*, 2012, 2: 94
- 255 Engevik M A, Hickerson A, Shull G E, et al. Acidic conditions in the NHE2–/– mouse intestine result in an altered mucosa-associated bacterial population with changes in mucus oligosaccharides. *Cell Physiol Biochem*, 2013, 32: 111–128
- 256 Li Z J, Yi G F, Yin J D, et al. Effects of organic acids on growth performance, gastrointestinal pH, intestinal microbial populations and immune responses of weaned pigs. *Asian-Aust J Anim Sci*, 2008, 21: 252–261
- 257 Cotter P D, Hill C. Surviving the acid test: Responses of gram-positive bacteria to low pH. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2003, 67: 429–453
- 258 Charteris W P, Kelly P M, Morelli L, et al. Development and application of an *in vitro* methodology to determine the transit tolerance of potentially probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* species in the upper human gastrointestinal tract. *J Appl Microbiol*, 1998, 84: 759–768
- 259 Vissers Y M, Snel J, Zuurendonk P F, et al. *Lactobacillus* strains differentially modulate cytokine production by hPBMC from pollen-allergic patients. *FEMS Immunol Med Microbiol*, 2011, 61: 28–40
- 260 López P, Gueimonde M, Margolles A, et al. Distinct *Bifidobacterium* strains drive different immune responses *in vitro*. *Int J Food Microbiol*, 2010, 138: 157–165
- 261 Chapman C M, Gibson G R, Rowland I. Health benefits of probiotics: Are mixtures more effective than single strains? *Eur J Nutr*, 2011, 50: 1–17

Recent advances in understanding the impact of intestinal microbiota on host behavior

LUO Jia^{1,2,3} & JIN Feng¹

¹ Key Laboratory of Mental Health, Institute of Psychology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China;

² University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China;

³ Teacher Education College, Sichuan Normal University, Chengdu 610068, China

The complex communities of enteric flora that colonize the human gastrointestinal (GI) tract play an important role in human health. Within the GI tract, microbiota have a mutually beneficial relationship with their host by modulating gut motility and secretion, as well as maintaining normal mucosal immune function, epithelial barrier integrity and nutrient absorption. Although the impact of enteric flora on regulating GI physiological activity is well known, how microbiota influence brain function and behavior is poorly understood. Accumulating data indicates that intestinal microbiota might communicate with the central nervous system (CNS) through immune, neuroendocrine and neural pathways, termed the gut-brain axis. Studies in germ-free animals and in animals exposed to pathogenic bacterial infections, probiotic bacteria or antibiotic drugs suggest a role for intestinal microbiota in the regulation of stress responses, anxiety, depression and cognition. Homeostasis of enteric flora composition improves host health, while disruption of this composition alters gut-brain functions and increases susceptibility to diseases, such as irritable bowel syndrome (IBS), inflammatory bowel disease (IBD), hepatic encephalopathy (HE), autism, Alzheimer's disease (AD), multiple sclerosis (MS) and chronic fatigue syndrome (CFS). In support of this proposition, increasing data from clinical studies revealed that enteric flora composition from patients of the above diseases are altered compared to healthy individuals, and microbiota dysbiosis can induce similar symptoms in animals. An increased understanding of the impact of microbiota on behavior could provide insights into the pathogenesis of gut-brain dysfunction (IBS, IBD and HE) and CNS disease (MS, autism and AD, etc.), and promote further exploration for the development of microbiota-based or microbiota-specific therapeutic strategies for CNS disease.

intestinal microbiota, gut-brain axis, anxiety, depression, cognition

doi: 10.1360/N972014-00120