

酪酸梭菌治疗骨质疏松症的研究进展

冯超¹ 韩晓强² 陈剑¹ 温杨宁¹ 孙海彪^{2*}

1. 山西医科大学第一临床学院, 山西 太原 030001

2. 山西医科大学第一医院骨科, 山西 太原 030001

中图分类号: R681 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2018) 11-1526-04

摘要: 骨质疏松症是以骨量减少, 导致骨脆性增高及骨折危险性增加的一种全身性骨病。随着社会人口老龄化骨质疏松性骨折越来越多见, 显著增加了老年人死亡率以及社会经济负担。炎症肠病患者存在骨质丢失现象, 与骨质疏松的发生密切相关, 临床上常用酪酸梭菌辅助治疗炎症肠病, 因而酪酸梭菌对骨质的影响应引起关注。本文通过联系炎症肠病引发骨质疏松、酪酸梭菌治疗炎症肠病的相关作用机制, 以初步探讨酪酸梭菌可能具有治疗骨质疏松症的作用。

关键词: 骨质疏松症; 酪酸梭菌; 炎症肠病

The development of the treatment of osteoporosis with clostridium butyricum

FENG Chao¹, HAN Xiaoqiang², CHEN Jian¹, WEN Yangning², SUN Haibiao^{2*}

1. The First Clinical College of Shanxi Medical University, Shanxi University, Taiyuan 030001, China

2. Department of Orthopedic, The First Clinical College of Shanxi Medical University, Shanxi University, Taiyuan 030001, China

* Corresponding author: SUN Haibiao, Email: suny0607@163.com

Abstract: Osteoporosis is a systemic bone disease that reduces bone mass and leads to increased bone fragility and increased risk of fracture. With the increasing number of osteoporotic fractures in the social population, the mortality of the elderly and the social and economic burden increased significantly. Bone loss in patients with inflammatory bowel disease is closely related to the occurrence of osteoporosis. In clinical practice, clostridium butyricum is commonly used in the treatment of inflammatory bowel disease. Therefore, the effect of clostridium butyricum on bone should be concerned. This article discusses the possible mechanism of clostridium butyricum in the treatment of osteoporosis by connecting with inflammatory bowel disease and osteoporosis, and the related mechanism of clostridium butyricum in the treatment of inflammatory bowel disease.

Key words: osteoporosis; clostridium butyricum; inflammatory bowel disease

骨质疏松症 (osteoporosis, OP) 是以骨量减少、骨组织结构退化为特征、导致骨脆性增高及骨折危险性增加的一种全身性骨病, 是老年人的常见病和多发病。OP 与社会人口老龄化关系紧密, 其最大的危害是骨质疏松性骨折, 髋骨骨折、椎体骨折和前臂远端骨折一直被认为是典型的骨质疏松性骨折, 其中髋部骨折有最严重的后果。随着世界人口老龄化, 世界范围内髋部骨折的发病率每年增加 1% ~ 3%, 髋部骨折越来越多见, 这显著增加了老年人死亡率以及社会经济负担, 幸运的是 OP 是可以预防的^[1]。益生菌是一类由人体有益肠道菌组成的膳

食或药物补剂, 通过抑制肠道内有害菌生长、促进有益菌增殖来改善或维持肠道菌群的平衡, 促进宿主机体健康^[2]。

促炎细胞因子白介素-1 (interleukin-1, IL-1), 肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 和抗炎因子白介素-10 (interleukin-10, IL-10), 对肠道上皮屏障通透性具有很大影响, IL-1 和 TNF- α 可使肠道上皮通透性增加, 而 IL-10 有助于维持肠道上皮屏障的完整^[3]。炎症肠病 (inflammatory bowel disease, IBD) 是指一系列肠道慢性炎症性疾病, 包括克罗恩病和溃疡性结肠炎, IBD 对骨骼的影响是复杂的, IBD 患者肠道中的微生物相关分子白介素-6 (interleukin-6, IL-6)、TNF- α 可经循环到达骨, 激活骨髓中的免疫应答作用于成骨细胞和破骨细胞, 导致骨形成减少和再吸收增加^[4]。临床上常用酪酸

基金项目: 青年三晋学者特聘教授支持计划 [晋财(2016)128-2]

* 通信作者: 孙海彪, Email: suny0607@163.com

梭菌 (*Clostridium butyricum*, *C. butyricum*) 辅助治疗 IBD, 其具有降低 IBD 体内炎症因子水平, 抑制炎症进展恶化作用, 此外 *C. butyricum* 还能够调节人体肠道微生态并补充产丁酸细菌, 在肠道内能代谢产生低聚半乳糖、丁酸、叶酸等有益产物, 受到学者们越来越多的关注。

综上, *C. butyricum* 通过影响成骨及溶骨相关炎症因子来治疗 IBD, 而上述炎症因子对 OP 的发生发展起了关键作用。我们猜想 *C. butyricum* 可能对于 OP 的治疗有一定的作用, 因此文章对相关研究结果进行综述^[9-23], 探讨 *C. butyricum* 治疗 OP 的可能机制, 为 OP 的治疗提供新的思路。

1 OP 与益生菌

骨骼的重建是通过具有骨形成功能的成骨细胞与具有骨吸收功能的破骨细胞完成的。OP 的基本病理机制是骨代谢过程中骨吸收和骨形成的偶联出现缺陷, 导致人体内的钙磷代谢不平衡, 使骨密度 (bone mineral density, BMD) 逐渐减少而引起的一系列临床症状, 目前主要可分为原发性 OP 和继发性 OP, 其中原发性 OP 除特发性外, 还可分为 I 型和 II 型, I 型又称为绝经后骨质疏松症 (postmenopause osteoporosis, PMOP), II 型又称为老年性骨质疏松症 (senile osteoporosis, SOP)^[5]。多项研究表明益生菌可以调节骨代谢, Li 等^[2]通过给予 PMOP 小鼠模型市售的益生菌补充剂 VSL # 3 治疗后, 发现益生菌可以完全防止骨质流失。Ohlsson 等^[6]研究表明给予 PMOP 小鼠模型益生菌治疗后可以抑制去卵巢 (ovariectomized, OVX) 小鼠皮质骨中破骨细胞形成, 抑制骨吸收。可见益生菌对 OP 有一定的治疗作用。

2 IBD 与 OP

研究^[7]表明结肠炎的多种动物模型, 包括 4% 葡聚糖硫酸钠 (dextran sulfate sodium, DSS) 诱导鼠、人白细胞抗原-B27 (human lymphocyte antigen-B27, HLA-B27) 转基因鼠和 IL-10 基因敲除小鼠的骨量都减少, 并且其骨强度和骨体积分数发生变化, 可见肠炎模型通过肠道内的微生物影响免疫系统, 能影响骨的质量和结构。其相关机制如下。

2.1 IBD 通过炎症因子参与 OP 的发生

IBD 患者和实验性肠炎小鼠模型中炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 水平升高, 这些炎症因子可以通过 p38 MAPK 信号通路促进破骨细胞分化成熟而

导致骨量丢失增加。IL-1 β 能刺激并加强破骨细胞活性, 增强骨吸收能力, 导致吸收过度; TNF- α 可通过诱导破骨细胞自身前体细胞分化, 产生大量破骨细胞从而促进骨吸收, 降低骨基质钙水平, 抑制成骨细胞功能, 最终造成 OP; IL-6 可以促进破骨细胞分化, 抑制破骨细胞凋亡以延长其寿命, 高水平 IL-6 会降低 BMD 水平, 抑制骨小梁形成^[8]。

2.2 IBD 通过炎症介质一氧化氮 (nitric oxide, NO) 参与 OP 的发生

Armour 等^[9]认为炎症介质 NO 与 OP 密切相关, 并用炎症诱导的 OP 动物模型, 解释了 IBD 易发生 OP 的机制, 即炎症所致的促炎因子增加可通过激活骨髓部位的诱导型一氧化氮合成酶 (inducible nitric oxide synthase, iNOS) 产生大量 NO, 这种机制产生的 NO 能增强 IL-1 和 TNF 对骨细胞的影响, 导致了 OP 的发生, 而利用一氧化氮合成酶 (nitric oxide synthase, NOS) 抑制剂 L-NMMA 可以反转炎症诱导 OP 动物的骨量减少。另有研究表明 iNOS 可在其翻译前被调控, 心血管病变、革兰氏阴性菌内毒素即脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS)、TNF- α 和 IL-1 β 等可诱导其产生大量 NO, 而抗炎因子 IL-10、血小板衍生生长因子 (platelet-derived growth factor, PDGF)、胰岛素样生长因子-1 (insulin-like growth factor 1, IGF-1) 等可抑制其产生 NO^[10]。IBD 患儿由于营养不良及炎症会导致血清 IGF-1 的水平降低, 可能对成骨细胞分化和功能以及骨形成产生不利影响^[4]。而 PDGF 能够促进各种来源的成骨细胞分裂、增殖, 并抑制破骨细胞, 具有治疗 OP 作用^[11]。这些研究表明通过避免 IGF-1、PDGF 减少, 对于预防 OP 有一定意义, 其机制可能是这两种因子通过调节 iNOS, 降低 NO 水平进而降低 IL-1、TNF 活性, 实现预防 OP 作用。

3 *C. butyricum* 干预 OP

C. butyricum 可以补充肠道内产丁酸细菌, 体内存在着脱氢酶、氢化酶、糖苷酶、内酰胺酶等酶系, 能在肠道内参与代谢产生低聚半乳糖、丁酸、叶酸, 对机体有极大益处^[12]。

3.1 产生低聚半乳糖

黄永坤等^[13]研究表明 *C. butyricum* 产品, *C. butyricum* 二联活菌散剂含有大量低聚糖, 尤其是低聚半乳糖, Whisner 等^[14]发现青少年女性摄入低聚半乳糖 3 周后, 钙吸收量增大, 肠道菌群中双歧杆菌的比例增高。而 Han 等^[15]发现双歧杆菌能减少

细胞内自噬相关蛋白的水平和分布,能有效抑制 LPS 诱导的肠道上皮细胞的自噬,从而改善和维持肠道上皮屏障功能。此外低聚半乳糖还可以被微生物发酵产生醋酸、丙酸、丁酸、乳酸等,从而降低肠道 pH 值,促进钙和镁的吸收,降低促炎性反应^[16]。这些研究表明 *C. butyricum* 二联活菌散剂可以通过代谢产生低聚半乳糖,增加肠道中双歧杆菌的比例,改善和维持肠道上皮屏障功能,促进钙吸收,增加骨盐沉积并进一步提高骨量。

3.2 产生叶酸

叶酸在叶酸还原酶、二氢叶酸还原酶和其他酶的作用下,最终形成甲基四氢叶酸,进一步促进合成四氢生物喋呤(tetrahydrobiopterin, BH4),提高内皮型一氧化氮合酶(endothelial nitric oxide synthase, eNOS)的活性,增加血浆 NO 的合成及生物利用率,还可以恢复受损 NO 的生物利用度^[17]。王海敏等^[18]发现 OVX 大鼠血浆 NO 水平降低,导致氧化应激参与了 OVX 大鼠 OP 的发生,而高剂量叶酸能提高血浆 NO 水平,改善氧化应激,提升 OVX 大鼠腰椎和股骨 BMD,可能是防治 OVX 大鼠 OP 的机制之一。这些研究表明 *C. butyricum* 通过在肠道内代谢产生大量叶酸,可能具有调节血浆 NO 的水平及功能、减轻 BMD 降低趋势,从而可能具有预防 PMOP 作用。

3.3 产生丁酸

研究^[19]表明 DSS 诱发结肠炎的模型中,肠黏膜通透性增加最早出现,后期才检测到组织学病理变化,而丁酸盐可以反转粘膜通透性的增加,表明黏膜通透性的增加是炎症性肠病黏膜炎症发生的重要因素,丁酸通过降低粘膜通透性发挥治疗结肠炎疾病的作用。而另有研究^[20]表明 *C. butyricum* 是通过增加紧密连接蛋白表达,从而实现降低肠道通透性的作用。Lucas 等^[21]给小鼠补充丁酸后发现小鼠的骨小梁间隔缩小、骨体积分数增加、骨量明显增加,表明丁酸可以抑制破骨细胞分化,可能具有预防 PMOP 作用。而 Li 等^[2]表明 PMOP 小鼠模型的肠道上皮屏障通透性增加,肠上皮紧密连接蛋白表达减少,并通过给予其市售的益生菌补充剂 VSL # 3 治疗后,发现益生菌可以通过降低肠道通透性,抑制肠道和骨髓的炎症,完全防止骨质流失。这些研究表明,结肠炎模型和 PMOP 模型鼠的肠道上皮屏障通透性都增加、骨量都减少,而丁酸可能通过上调紧密连接蛋白基因的表达、降低肠道通透性、抑制肠道炎症反应、抑制破骨细胞分化进而提升骨量对肠炎

所致的 OP 与 PMOP,可能有一定预防作用。

Smith 等^[22]通过将高剂量 LPS 置入雄性 SD 大鼠皮下,发现其会导致大鼠椎体 BMD 减低,胫骨干骺端骨小梁处骨质减少、骨小梁减少、骨小梁分离并且该处的 IL-1、TNF- α 的水平增高,表明 LPS 所诱导的炎症模型与骨质流失密切相关,并且可能是由骨组织局部高水平 IL-1、TNF- α 所介导的。Ohlsson 等^[6]研究表明给予 PMOP 小鼠模型益生菌治疗后,可减少 TNF α 和 IL-1 β 这两种炎症细胞因子的表达,从而抑制雌激素缺乏小鼠皮质骨中破骨细胞的形成,证实了联合阻断两种细胞因子(IL-1 β , TNF- α)可以抑制骨吸收。这些研究表明,炎症所致的骨质丢失与雌激素缺乏所致的骨质丢失可能都与 IL-1、TNF- α 水平同时增高相关。

丁酸能下调由 LPS 刺激外周血单核细胞(peripheral blood mononuclear cells, PBMC)所产生的 TNF- α 、IL-1 β 水平,上调 IL-10 水平,进而下调炎症免疫反应,而对非 LPS 刺激 PBMC 产生的炎症因子无显著的影响^[23]。这表明丁酸能特异性降低由 LPS 刺激 PBMC 所产生的炎症因子水平,可能通过联合降低 IL-1 β 、TNF- α 水平而减轻 IBD、雌激素缺乏所导致的骨质丢失。

4 结论及对未来的展望

近年来研究表明肠道菌群通过免疫系统可以影响破骨细胞的生成,从而达到调节骨代谢的目的^[6]。IBD 患者血清中的 IL-6 水平增加,而通过降低 IL-6 水平,可以反转其血清导致骨外植体中成骨细胞和成骨细胞活性降低的作用^[4]。胃肠道功能障碍后,血清 IL-6 水平增加,而 *C. butyricum* 能降低 IL-6 水平^[20]。可见 *C. butyricum* 可能通过降低肠炎患者血清 IL-6 水平,对 IBD 所致的 OP 有一定预防作用。此外男性在 55 岁以后低骨量现象常见,而在 70 岁以后低雄性激素是男性 OP 症的独立危险因素,雄激素替代能减轻性腺机能减退患者 BMD 降低趋势^[24]。*C. butyricum* 可以通过改变肠道菌群和肠肝循环以恢复肠道内稳态,能增加雄甾酮(一种高效的雄性激素)水平,从而影响类固醇激素的生物合成途径^[25]。因而其可能对老年男性 OP 也具有一定预防作用。

总之 *C. butyricum* 及其相关产品在肠道内能够代谢产生低聚半乳糖、丁酸、叶酸,通过调节肠道菌群(增加产丁酸细菌、双歧杆菌比例)、恢复肠道上皮屏障功能、降低肠粘膜通透性、修复受损肠黏膜、

联合降低 IL-1、TNF- α 水平、提高抗炎因子 IL-10 水平、提高血浆 NO 的合成及生物利用率并恢复其正常功能等途径从而降低肠道 pH 从而促进钙吸收、抑制骨吸收、避免骨组织结构的破坏,提升骨量。目前 *C. butyricum* 主要用于治疗肠炎,其对 PMOP、SOP 和 IBD 患者所并发的 OP 可能具有一定预防作用,但仍缺乏一定的数据支持,需大量研究者从事有关 *C. butyricum* 与骨代谢、OP 之间的研究来提供实验依据。

【参 考 文 献】

- [1] Kanis JA, Johnell O, Laet CD, et al. A meta-analysis of previous fracture and subsequent fracture risk[J]. Bone, 2004, 35(2):375-382.
- [2] Li JY, Chassaing B, Tyagi AM, et al. Sex steroid deficiency-associated bone loss is microbiota dependent and prevented by probiotics[J]. J Clin Invest, 2016, 126(6): 2049-2063.
- [3] 商海霞, 郑寒丹, 吴焕淦, 等. 炎症性肠病中细胞因子对肠上皮紧密连接的影响及针灸效应机制研究概况[J]. 中华中医药学刊, 2015(10):2344-2347.
- [4] Sylvester FA. Inflammatory Bowel Disease: Effects on Bone and Mechanisms [M]. Understanding the Gut-Bone Signaling Axis, 2017, 1033:133-150.
- [5] Kearns AE, Khosla S, Kostenuik PJ. Receptor activator of nuclear factor kappaB ligand and osteoprotegerin regulation of bone remodeling in health and disease[J]. Endocr Rev, 2008, 29(2): 155-192.
- [6] Ohlsson C, Engdahl C, Fåk F, et al. Probiotics protect mice from ovariectomy-induced cortical bone loss[J]. PLoS One, 2014, 9(3):e92368.
- [7] Sartor RB. Mechanisms of disease: pathogenesis of Crohn's disease and ulcerative colitis[J]. Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol, 2006, 3(7):390-407.
- [8] Aldaghri NM, Aziz I, Yakout S, et al. Inflammation as a contributing factor among postmenopausal Saudi women with osteoporosis[J]. Medicine, 2017, 96(4):e5780.
- [9] Armour KE, Hof RJV, Grabowski PS, et al. Evidence for a pathogenic role of nitric oxide in inflammation - induced osteoporosis[J]. J Bone Miner Res, 1999, 14(12):2137-2142.
- [10] Bonafè F, Guarnieri C, Muscari C. Nitric oxide regulates multiple functions and fate of adult progenitor and stem cells[J]. J Physiol Biochem, 2015, 71(1):141-153.
- [11] Khan A, Morrison A, Cheung A, et al. Osteonecrosis of the jaw (ONJ): diagnosis and management in 2015[J]. Osteoporos Int, 2016, 27(3): 853-859.
- [12] Luo H, Zeng Q, Han S, et al. High-efficient n-butanol production by co-culturing *Clostridium acetobutylicum* and *Saccharomyces cerevisiae* integrated with butyrate fermentative supernatant addition[J]. World J Microbiol Biotechnol, 2017, 33(4):76.
- [13] 黄永坤, 潘媛, 肖桦, 等. 单方中药马蹄香和 5 种微生态制剂中的低聚糖含量测定和比较分析[J]. 中国微生态学杂志, 2012, 24(10):868-872.
- [14] Whisner CM, Martin BR, Schoterman MH, et al. Galactooligosaccharides increase calcium absorption and gut bifidobacteria in young girls: a double-blind cross-over trial[J]. Br J Nutr, 2013, 110(7):1292-1303.
- [15] Han C, Ding Z, Shi H, et al. The role of probiotics in lipopolysaccharide-induced autophagy in intestinal epithelial cells [J]. Cell Physiol Biochem, 2016, 38(6):2464-2478.
- [16] Oh SY, Youn SY, Park MS, et al. Synthesis of stachyobifiose using bifidobacterial α -galactosidase purified from recombinant escherichia coli [J]. J Agric Food Chem, 2018, 66(5): 1184-1190.
- [17] Octavia Y, Kararigas G, Boer MD, et al. Folic acid reduces doxorubicin - induced cardiomyopathy by modulating endothelial nitric oxide synthase [J]. J Cell Mol Med, 2017, 21(12): 3277-3287.
- [18] 王海敏, 汤旭磊, 王朝旭. 叶酸对去卵巢大鼠抗氧化酶、一氧化氮合酶和一氧化氮的影响[J]. 中国病理生理杂志, 2016, 32(2):359-362.
- [19] Michielan A, D'Incà R. Intestinal permeability in inflammatory bowel disease: pathogenesis, clinical evaluation, and therapy of leaky gut[J]. Mediators Inflamm, 2015(5):1-10.
- [20] Li H, Sun J, Du J, et al. *Clostridium butyricum* exerts a neuroprotective effect in a mouse model of traumatic brain injury via the gut-brain axis [J]. Neurogastroenterol Motil, 2018, 30(5):e13260.
- [21] Lucas S, Omata Y, Hofmann J, et al. Short-chain fatty acids regulate systemic bone mass and protect from pathological bone loss[J]. Nature Communications, 2018, 9(1):55.
- [22] Smith BJ, Lerner MR, Bu SY, et al. Systemic bone loss and induction of coronary vessel disease in a rat model of chronic inflammation[J]. Bone, 2006, 38(3): 378-386.
- [23] Asarat M, Apostolopoulos V, Vasiljevic T, et al. Short-chain fatty acids produced by synbiotic mixtures in skim milk differentially regulate proliferation and cytokine production in peripheral blood mononuclear cells [J]. Int J Food Sci Nutr, 2015, 66(7):755-765.
- [24] Kotwal N, Upreti V, Nachankar A, et al. A Prospective, Observational Study of Osteoporosis in Men [J]. Indian J Endocrinol Metab, 2018, 22(1):62-66.
- [25] Yu LM, Zhao KJ, Wang SS, et al. Gas chromatography/mass spectrometry based metabolomic study in a murine model of irritable bowel syndrome [J]. World J Gastroenterol, 2018, 24(8): 894-904.

(收稿日期: 2018-04-14;修回日期: 2018-07-01)