

阿尔茨海默病与肠道微生物

胡旭, 王涛 and 金峰

Citation: 中国科学: 生命科学 **46**, 1174 (2016); doi: 10.1360/N052016-0080

View online: <http://engine.scichina.com/doi/10.1360/N052016-0080>

View Table of Contents: <http://engine.scichina.com/publisher/scp/journal/SSV/46/10>

Published by the 《中国科学》杂志社

Articles you may be interested in

阿尔茨海默病与肠道微生物

中国科学: 生命科学, ;

阿尔茨海默病体液生物学标记物研究进展

中国科学C辑: 生命科学 **39**, 821 (2009);

基于随机森林和富集分析的阿尔茨海默症GWA研究

中国科学: 生命科学 **42**, 639 (2012);

靶向PrP及A_{Beta}的治疗性抗体研究进展

中国科学: 生命科学 **40**, 679 (2010);

阿尔茨海默病发病的分子机制研究进展

科学通报 **43**, 2363 (1998);



评述

阿尔茨海默病与肠道微生物

胡旭, 王涛, 金锋*

中国科学院心理研究所, 中国科学院心理健康重点实验室, 北京 100101

* 联系人, E-mail: jinfeng@psych.ac.cn

收稿日期: 2016-01-27; 接受日期: 2016-04-08; 网络版发表日期: 2016-09-30

广东新日生物科技有限公司“共生微生物研究”项目资助

摘要 阿尔茨海默病是一种常见的中枢神经系统退行性疾病, 主要表现为认知功能损伤。肠道微生物通过微生物-肠-脑轴调节宿主大脑功能和行为, 包括认知行为、宿主的无菌状态、抗生素干扰、益生菌干预、饮食习惯等都会影响肠道微生物的组成和肠道的生理功能, 同时也会影响宿主的认知行为, 增加或降低宿主患阿尔茨海默病的风险。肠道微生物的紊乱导致的肠道通透性和血脑屏障通透性增加会增加神经退行性病变的发生。肠道微生物的代谢产物及其对宿主神经生化的影响会增加或降低阿尔茨海默病的风险。病原微生物的感染也会增加阿尔茨海默病的风险, 同时, 阿尔茨海默病的发病也支持“卫生假说”, 这些结果都提示阿尔茨海默病可能起源于肠道, 与肠道微生物的紊乱密切相关。通过个性化的饮食定制或有益微生物的干预调节肠道微生物的平衡或将成为治疗阿尔茨海默病的新方法。

关键词 阿尔茨海默病, 肠道微生物, 肠漏, 脑漏, 饮食, 感染, 卫生假说

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD), 俗称老年痴呆或老年认知障碍, 是一种老年人中常见的中枢神经系统退行性疾病, 是痴呆症中最常见的一种形式, 占所有痴呆的 60%~80%^[1]。AD 的主要临床表现为渐进性记忆障碍、认知功能障碍、人格改变及语言障碍等神经精神症状, 目前难以治愈, 导致患者的日常活动严重受损^[2]。据估计, 2010 年全世界大约有 0.36 亿痴呆症患者, 预计今后每 20 年将增加 1 倍, 2030 年将达到约 0.66 亿, 2050 年将达到 1.15 亿^[3]。

随着世界人口老龄化增加, AD 的发病率逐年上升, 严重危害老年人的身心健康和生活质量, 给患者造成深重的痛苦, 也给家庭和社会带来沉重的负担。

我国人口老龄化问题也非常严重, 2010 年全国人口普查数据表明, 老年人口约占我国总人口的 10%以上, 按照目前的发病率推测, 到 2050 年我国将有 800~1200 万 AD 患者。在老龄化日趋显著的情况下, AD 已成为严重的社会公共卫生问题, 其高发病率和高致残率已经成为影响人类健康的重大疾患, 这也引起政府和医学界的普遍关注, 成为当前神经科学研究领域的热点和难点。

AD 的病理学表现主要包括神经细胞外 β -淀粉样蛋白(amyloid protein β , A β)聚集形成的斑块, 称为老年斑(senile plaque, SP), 神经细胞内 tau 蛋白过度磷酸化形成的神经原纤维缠结(neurofibrillary tangle,

引用格式: 胡旭, 王涛, 金锋. 阿尔茨海默病与肠道微生物. 中国科学: 生命科学, 2016, 46: 1174–1191, doi: 10.1360/N052016-00080

英文版见: Hu X, Wang T, Jin F. Alzheimer's disease and gut microbiota. Sci China Life Sci, 2016, 59: 1006–1023, doi: 10.1007/s11427-016-5083-9

NFT)以及反应性小胶质细胞活化、神经突营养不良、神经元丢失和突触功能紊乱^[2]。目前, 关于 AD 的具体发病机理普遍认为是遗传因素与环境因素共同作用的结果。

通过对 AD 患者进行全基因组关联研究, 发现了大量对 AD 具有重要影响的基因组区域, 找到若干 AD 发病的易感基因, 主要涉及免疫反应、炎症、细胞迁移以及脂类运输等通路^[4]。其中, 载脂蛋白 E(apolipoprotein E, ApoE)是最常见的一个 AD 易感基因, 它有 3 种等位基因($\varepsilon 2$, $\varepsilon 3$ 和 $\varepsilon 4$), $\varepsilon 3$ 是中性等位基因, $\varepsilon 4$ 是高风险等位基因, 而 $\varepsilon 2$ 是保护性等位基因, $\varepsilon 4$ 等位基因以剂量依赖的方式影响 AD 的发病年龄^[2]。这些基因的变异都是与生俱来的, 不可改变的, 另外也有一些非遗传的因素, 例如, 劳动者在职业活动中长期反复的接触诸如杀虫剂、电磁场、有机溶剂以及挥发性的麻醉剂等危险因素, 心脑血管疾病、高血压、糖尿病、血脂障碍、外伤性脑损伤及抑郁等身体疾病状况, 吸烟、酗酒等生活方式都会影响 AD 的发病风险。这些非遗传的环境因素被认为与遗传的易感基因共同作用增加 AD 的发病。

21 世纪以来更多的研究表明, 人类共生微生物也是影响宿主健康非常重要的环境因素。人类共生微生物大约有 95% 位于肠道, 在人类营养、消化、神经营养、炎症、生长、免疫以及保护机体免受外源病原菌的感染中发挥主要作用^[5]。近年来的研究也发现, 肠道微生物通过微生物-肠-脑轴与中枢神经系统相互联系, 影响大脑功能和行为。随着对人体共生微生物的深入研究发现, 肥胖^[6]、糖尿病^[7]、高血压^[8]、肝硬化^[9]、自闭症^[10]、抑郁症^[11]、帕金森病^[12]等人体疾病状态都与肠道微生物的数量和组成存在很大的相关性。目前, 关于 AD 与肠道微生物相关性的研究刚刚起步, 基于已有关于 AD 的流行病学调查和发病机制的研究, 肠道微生物对大脑功能和行为的影响以及在自闭症、抑郁症、帕金森病等神经系统疾病发病中的作用, 提示 AD 的发病可能始于肠道, 与肠道微生物相关。本文将对此做一综述。

1 肠道微生物影响大脑发育和行为

1.1 肠道微生物

人类基因组计划开始以前, 科学家们曾经预测人类将有大约 10 万个以上的基因, 基因组解析完成

后关于人体疾病和健康的原因将一目了然。然而出乎意料的是, 当人类基因组详细图谱构建完成之后, 仅发现了大约 26600 个蛋白编码基因, 这一数目远低于预期, 甚至远小于水稻(*Oryza sativa*)基因组的 46000 个基因, 这也成为困扰全世界科学家的人类基因组的复杂性难题(genome-complexity conundrum)。直到最近, 人们才意识到长期以来忽略了人体中另一个庞大而多样的基因组——人类共生微生物基因组^[13]。人体是共生微生物的天然栖息地, 包括古细菌、细菌、病毒等。据估计, 仅在人的肠道中有大约 1000 种, 10^{14} 个细菌, 细菌密度约为 $10^{11}\sim 10^{12}/mL$, 是目前已知的细菌密度最高的微生物生态系统。不同的个体肠道微生物的组成存在差异。不同的细菌组成也决定了人体生化、个体的遗传差异性以及对疾病抵抗力的差异^[14]。在目前已知的 55 个细菌门中, 哺乳动物的胃肠道中主要以拟杆菌门(Bacteroidetes)和硬壁菌门(Firmicutes)占主导, 其余的包括变形菌门(Proteobacteria), 疣微菌门(Verrucomicrobia), 梭杆菌门(Fusobacteria), 蓝细菌门(Cyanobacteria), 放线菌门(Actinbacteria)和螺旋体门(Spirochetes)等^[15]。这些肠道微生物编码约 4000000 个基因, 人类宿主本身加上肠道微生物基因组使得其遗传复杂性接近 4026600 个, 远超过水稻和其他物种^[16,17]。这不仅在一定程度上解释了人类基因组的复杂性难题, 也体现出肠道微生物在参与宿主正常生理功能中的重要作用。人们通常认为肠道的内容物仅是一些对身体无用的东西, 现在人们开始意识到其中的微生物及其代谢产物对于宿主健康的重要性, 肠道微生物通过抵御病原体、代谢膳食营养、影响食物吸收等, 在维持宿主健康中发挥重要作用^[18]。肠道也拥有一套独立的复杂的神经系统, 现在越来越多的临床研究和科学研究证据表明, 肠道微生物与中枢神经系统的健康和稳定运行之间也存在一定的相关性^[19]。

1.2 肠道微生物与大脑发育

肠-脑轴是将大脑和肠道功能整合的双向信息交流系统^[20]。最近的研究表明, 肠道微生物参与了肠-脑轴的功能反应, 在肠道与大脑的信息交流中起着非常重要的作用, 因为提出了“微生物-肠-脑轴”的概念, 表示肠道、肠道微生物和大脑之间互相交流的复杂网络, 调节免疫、胃肠道和中枢神经系统功能^[21]。在健康的个体中, 肠道微生物相对稳定, 与宿主形成

互惠共生的关系, 当宿主-微生物这种互惠共生关系被破坏将可能增加大脑、消化系统和代谢功能紊乱^[21]。例如, 微生物与中枢神经系统之间的双向信息交流将影响宿主的应激反应、疼痛感知、神经生化以及肠-脑轴异常等^[20,22,23]。无菌动物的研究表明, 肠道微生物可以影响动物的行为, 并能够改变大脑生理学以及神经生化特征^[24]。无菌小鼠(*Mus musculus*) (germ-free, GF)因为缺乏正常的肠道菌群, 其下丘脑-垂体-肾上腺轴(hypothalamic-pituitary-adrenal axis, HPA)的发育异常, 导致其对应激的反应发生改变, 海马脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)的表达水平降低^[25]。使用常规饲养的小鼠的粪便或婴儿双歧杆菌(*Bifidobacterium infantis*)重建 GF 小鼠的肠道菌群能够部分纠正这种异常^[25]。HPA 轴是神经内分泌系统的重要组成部分, 参与调控应激反应, 并参与调节许多身体活动, 如消化、免疫甚至行为等, 这一研究表明 HPA 轴的活性受到肠道微生物的调节, 也表明肠道微生物对于神经系统发育的重要性。

在出生时, 人体几乎是无菌的, 但是在出生后的极短时间内, 细菌就会迅速定殖于肠道, 并在幼年期和青年期不断发育完善。因此, 早期生活中肠道细菌的定殖和发育能够决定后期生活中的身心健康。与肠道微生物的发育成熟类似, 幼年期和青年期也是大脑发育的关键时期, 因此, 在这些时期破坏肠道微生物与宿主的共生关系将改变肠-脑轴信号, 影响一生的健康, 增加神经发育障碍的风险。然而发育成长阶段肠道微生物的不稳定性和不成熟性使得个体易受环境因素的影响, 例如, 抗生素的使用、应激、不良饮食、感染等都会导致菌群失衡, 从而对身心健康产生负面影响, 导致在后期生活中脑部疾病的发生^[26]。到成年期, 肠道微生物趋于成熟和稳定, 大脑的发育也趋于成熟, 但是突触修剪(synaptic pruning)以及髓鞘形成(myelination)仍在继续发生^[27], 因此, 这一时期肠道微生物的改变仍可能影响大脑功能和行为。在肠道菌群的定殖、发育和成熟阶段, 维持健康的肠道微生物也将有助于预防衰老相关的脑部疾病。虽然, 衰老阶段已经不是神经发育的重要阶段, 但是随着衰老, 机体内会出现促炎症反应状态慢性进行性的升高, 称为炎性衰老(inflammaging)^[28], 这种炎性衰老的过程会逐渐破坏肠道微生物的平衡,

严重影响着肠道微生物的组成^[29,30], 肠道微生物的多样性和稳定性逐渐降低^[31,32]。老年人群的肠道微生物组成通常受到居住环境、饮食习惯以及个体的健康状况的影响^[33], 此外, 老年人群中药物的使用、消化功能和胃肠道运动功能的退化、营养吸收不良以及免疫功能减弱等都会降低肠道微生物的多样性和稳定性^[34]。老年人群中肠道微生物多样性和稳定性的降低通常也伴随着大脑重量和认知功能的降低。研究发现, 大脑重量从约 45~50 岁开始逐渐下降, 86 岁以后达到最低, 此时的平均脑重与最大脑重相比下降大约 11%^[35]。这些与衰老相关的大脑形态的变化通常与免疫系统破坏、氧化应激增加以及大脑中淀粉样蛋白斑块的积累等同时发生, 这些通常表现在各种各样衰老相关的记忆损伤和障碍中, 例如, Claesson 等人^[33]研究关注了老年人群的肠道菌群特征, 发现其营养状况对肠道菌群组成非常重要, 这也说明通过饮食和营养干预调节老年人群的肠道菌群, 恢复其菌群多样性可能改善老年人群的身心健康。

宿主的肠道微生物也能持续控制中枢神经系统中小胶质细胞的成熟过程和功能, 无菌小鼠全身的小胶质细胞都会出现缺陷, 细胞数目的比例也会发生变化, 而且出现发育不成熟的现象, 直接后果是损伤免疫反应, 进而导致神经系统疾病, 包括 AD 的发生^[36]。由此可见, 维持健康的肠道菌群, 对于保持正常的大脑发育和功能至关重要。

2 肠道微生物影响阿尔茨海默病的直接证据

2.1 肠道微生物与认知行为

近年来, 关于肠道微生物的研究越来越受到关注, 肠道微生物在维持宿主正常的生理和功能中发挥着重要作用, 肠道微生物的改变也会导致大脑功能的改变, 进而影响宿主的行为^[37]。肠道微生物在调节人类和动物认知行为中也发挥了重要作用。目前的研究主要通过无菌动物实验、益生菌干预、抗生素干扰和粪便菌群移植等方式改变肠道菌群, 观察肠道菌群发生改变以后宿主在认知行为方面的改变, 得到肠道微生物调节宿主认知行为的证据。与无特定病原体(specific pathogen free, SPF)小鼠相比, GF 小鼠表现出非空间记忆的缺陷和工作记忆的损伤^[38]。抗生素会严重干扰肠道菌群的平衡, Wang 等人^[39]通

过氨基青霉素处理断奶 SD 大鼠(*Rattus norvegicus*)1 个月后, 不仅肠道菌群发生紊乱, 血清中的应激反应激素皮质酮的含量也明显升高, 同时大鼠出现焦虑样行为和空间记忆的损伤; 如果氨基青霉素处理的同时给大鼠服用益生菌 *Lactobacillus fermentum* NS9 可以恢复肠道菌群平衡, 缓解抗生素导致的焦虑样行为和空间记忆能力的损伤。柠檬酸杆菌 (*Citrobacter rodentium*) 是一种革兰氏阴性的致病菌, 能导致小鼠短暂的肠炎, 改变肠道微生物的组成。*C. rodentium* 感染不足以改变小鼠的记忆和认知, 但同时给感染的小鼠施加一次应激则会导致其非空间识别记忆和工作记忆的降低, 而在感染前 1 周使用益生菌干预不仅能够有效恢复感染导致的肠道菌群失衡, 也能有效地阻止应激诱导的认知行为的改变^[38]。Liang 等人^[40]发现益生菌 *Lactobacillus helveticus* NS8 能够明显改善慢性束缚应激诱导的大鼠认知功能紊乱。Luo 等人^[41]通过给大鼠腹腔注射醋酸铵构建高血氨大鼠模型, 发现大鼠在 Morris 水迷宫测试中的学习和记忆能力明显降低, 而服用益生菌 *Lactobacillus helveticus* NS8 能够明显改善这种认知行为的异常。另有研究表明, *Lactobacillus helveticus* 发酵乳能显著改善东莨菪碱诱导的小鼠认知损伤^[42], *Bifidobacteria longum* 1714 能够明显提高 BALB/c 小鼠在新颖物体识别、巴恩斯迷宫和条件性恐惧实验中表现出的学习和记忆能力^[43]。给健康的志愿者服用益生菌发酵的乳制品, 会改变大脑连接, fMRI 神经影像学评估发现控制情绪和感觉的中枢脑区受到明显的影响^[44]。同样, 给健康志愿者服用益生菌 (*L. helveticus* 和 *B. longum*) 也能明显改善受试者应对外界刺激的认知能力^[45]。

肥胖会降低大脑功能, 并增加 AD 的风险。研究人员认为这不一定是肥胖本身造成的, 可能是与肥胖相关的其他因素在起作用, 如肠道菌群。Bruce-Keller 等人^[46]先用普通饲料和高脂饲料喂养 C57BL/6 小鼠, 10 周后, 高脂饲料饲喂的小鼠增重约 50%, 研究人员收集这两种小鼠的肠道细菌, 移植给肠道细菌被抗生素清除的体重正常的小鼠中, 结果发现, 移植高脂饲料喂养的小鼠肠道细菌的小鼠表现出焦虑和认知损伤, 同时小鼠的肠道通透性和炎症标记物都有所增加, 大脑也出现轻微的炎症。这一研究高脂饮食相关的行为改变很可能是饮食引起的

肠道菌群的变化的结果, 也说明肠道菌群的改变可能参与调节认知行为。

认知行为损伤是 AD 的主要病理表现之一, 肠道微生物的改变可以改变认知行为, 也说明肠道微生物改变在 AD 的发生发展中的潜在作用。

2.2 饮食、肠道微生物与阿尔茨海默病

长期以来, 饮食在疾病发生以及疾病预防中的作用一直备受关注。以往的研究认为, 食物中普遍使用的麸质和糖类以及缺乏健康脂肪的摄入等都会导致机体炎症, 最终破坏中枢神经系统功能, 影响大脑健康。现在的研究证据表明, 食物对大脑健康的影响并不是因为食物必定导致机体的炎症反应, 而是始于食物对于肠道微生物平衡的破坏。来自欧洲分子生物学实验室 (European Molecular Biology Laboratory, EMBL) 以及国际 MetaHIT 联合会的科学家们通过比较分析来自不同国家和地区人群的肠道微生物, 根据肠道中大量出现的细菌种类的差异, 将人体肠道微生物分为 3 种肠型 (enterotype), 分别以拟杆菌属 (*Bacteroides*)、普氏菌属 (*Prevotella*) 和瘤胃球菌属 (*Ruminococcus*) 为主要菌群^[47]。拟杆菌属擅长分解碳水化合物和蛋白质; 普氏菌属擅长分解植物多糖和肠道黏液层中的黏液糖蛋白 (mucin glycoproteins), 同时能与免疫系统相互作用; 而瘤胃球菌属会帮助细胞吸收过多的糖分^[47]。研究发现, 肠型和遗传背景、种族、性别、年龄及体重系数等无关, 而与长期的饮食习惯相关^[48]。以拟杆菌属为主的肠型与动物蛋白和饱和脂肪酸的摄入过多有关; 而以普氏菌为主的肠型则与碳水化合物的摄入有关^[48]。

饮食也通常被认为与 AD 的发生发展密切相关。Omega-3(ω-3) 多不饱和脂肪酸 (polyunsaturated fatty acids, PUFAs) 对于神经元和大脑功能至关重要^[49]。主要的 ω-3 PUFAs 包括二十二碳六烯酸 (docosahexaenoic acid, DHA, 22:6) 和二十碳五烯酸 (eicosapentaenoic acid, EPA, 20:5)。机体低水平的 ω-3 PUFAs 可能与神经退行性疾病相关, 包括 AD, 研究发现, 与健康对照相比, AD 患者的血清中 DHA 的水平明显降低^[50]。增加膳食中 ω-3 PUFAs 的摄入能降低痴呆的风险, 减缓衰老相关的认知能力下降^[51,52]。DHA 和 EPA 主要从深海鱼中提取获得, 是人类 ω-3 PUFAs 的膳食主要来源。调查发现, 增加饮食中鱼类

的摄入可以显著降低 AD 的风险^[52,53]。肠道是脂肪酸吸收的主要场所, ω -3 PUFAs 在肠道中的吸收也受到多种条件的限制, 主要包括饮食中脂肪酸的组成、机体自身和脂肪酸存在的形式等的影响。Solakivi 等人^[54]分析了 32 例肠易激综合症(irritable bowel syndrome, IBS)患者和 59 例健康对照的血清中 PUFAs 的含量和种类, 发现 IBS 患者血清中的 DHA 的含量明显降低, 说明 IBS 患者的肠道对 DHA 的吸收能力发生了改变。膳食中的脂肪酸是肠道微生物的主要碳源之一, 肠道微生物可以对膳食中的脂肪酸再次进行代谢, 改变肠道内脂肪酸的组成, 进而改变机体脂肪酸的组成。肠道微生物或许也在一定程度上参与了肠道对 ω -3 PUFAs 的吸收。本实验室在肉猪(*Sus scrofa domestica*)养殖实验中观察到, 在饮食中添加有益微生物, 改变了肠道菌群, 猪肉中 DHA 的含量也明显升高(数据未发表)。同时, 食物中的脂肪酸也可以直接或间接地调节肠道微生物的组成, 影响宿主的免疫系统。研究人员通过给小鼠饲喂富含 ω -3 PUFAs 的饲料, 其肠道菌群的组成也发生显著的变化^[55,56]。所以, 一方面, 膳食中的 ω -3 PUFAs 可能通过改变肠道微生物的组成, 进而影响大脑功能; 另一方面, 健康的肠道和肠道菌群可能帮助促进食物中 ω -3 PUFAs 的吸收, 降低 AD 的风险, 而功能紊乱的肠道和肠道菌群则可能降低机体对 ω -3 PUFAs 的吸收, 从而增加 AD 的风险。

Eskelinen 等人^[57]的一项研究通过对芬兰 1409 名 65~79 岁的老人人群进行了 21 年的追踪调查, 发现每天喝 3~5 杯咖啡的人患 AD 的风险比每天不喝或者只喝 2 杯以内的人群降低了 65%。以前的研究重点关注咖啡对大脑的保护作用, 因为越来越多的证据表明由于体内氧化还原平衡遭到破坏, 过多的活性氧物质的积累对身体造成的氧化损伤直接参与 AD 等神经退行性病变的病理过程^[58], 而咖啡中富含有助于健康的多酚, 它是一种食物中富含的抗氧化剂, 能够降低氧化应激对脑组织的损伤, 从而降低 AD 的风险。一些其他抗氧化剂, 如维生素 C、维生素 E、黄酮类物质等的摄入, 也都被认为与 AD 的发病风险降低有关^[59~61]。近年来的研究发现, 咖啡的这种作用可能发生在肠道微生物的水平^[62]。首先, 肠道微生物能够很轻易地消化咖啡豆中的纤维, 获取能量帮助自己生长繁殖, 同时能够降低肠道中硬壁菌/拟杆菌

的比例, 这种比例的变化与身体炎症水平降低有关^[63]; 其次, 机体利用咖啡多酚的能力在很大程度上也受到肠道微生物的影响, 多酚经人体摄入后, 需由肠道微生物分解为更易被人体吸收的小分子物质, 才能增加多酚的生物利用度和活性, 因此, 要最大限度地发挥多酚的健康效应, 必须拥有健康的肠道微生物^[64]。其他抗氧化剂和营养物质对身体的保护作用或许在某种程度上也依赖于肠道微生物的平衡, 健康的肠道微生物能增加它们的生物活性和机体对他们的利用率, 从而最大限度地发挥它们对大脑的保护作用, 降低 AD 的风险。

以上都是研究饮食中的单一营养物质对 AD 风险的影响, 有的研究也考虑了不同的饮食类型和食物搭配对 AD 的影响。膳食中每天摄入水果和蔬菜能够降低 AD 的风险, 因为其富含抗氧化剂和维生素; 而饮食中多摄入一些坚果、鱼类和蔬菜油等也能降低 AD 的发病, 因为它们能提供大量的 ω -3 PUFAs 和抗氧化剂^[65~67]。西方饮食(Western diet)以高脂高糖为主, 高脂高糖的饮食会导致认知损伤和海马依赖的记忆障碍, 增加 AD 的发生率。饮食中摄入脂肪或热量高的国家 AD 的发病率也较高, 而脂肪摄入低的国家 AD 的发病率也较低, 流行病学调查显示, 饮食中饱和脂肪酸摄入过高是 AD 发病的一个高风险因素^[68,69]。高脂饮食能诱导小鼠中枢神经系统中 A β 的积累和记忆损伤^[70,71]。越来越多的研究表明, 低热量的饮食可以延缓大脑的衰老^[72]。动物实验表明, 饮食中限制热量的摄入(caloric restriction)能够阻止 A β 的积累, 减缓 AD 的进程^[73], 同时能够减缓衰老过程中学习和记忆能力的退化, 降低 AD 的风险^[74]。Witte 等人^[75]通过减少一组平均年龄 60 岁的健康老年人约 30% 的热量摄取, 干预 3 个月后他们表现出记忆能力的增加。高脂饮食导致的肠道菌群破坏能够产生大量的内毒素, 增加肠道通透性, 导致高内毒素血症, 诱导系统性炎症, 从而增加疾病的的发生^[76]。而饮食中在限制热量的摄取能够通过优化肠道菌群来增强对宿主健康的促进作用, 其中与健康呈正相关的细菌数量因热量限制而增加, 如乳酸杆菌属细菌, 与健康呈负相关的细菌数量则因热量限制而减少^[77]。地中海式饮食(Mediterranean diet)被认为是世界上最健康的饮食之一, 其主要特点为富含蔬菜水果、五谷杂粮、豆类和坚果等植物性食物, 橄榄油为主要食用油,

每天食用适量的乳制品，每周食用少量鱼、禽肉和蛋类，并且每天饮用少量红酒^[78]。流行病学调查发现，对地中海式饮食习惯依从性越低的人群，AD 和轻度认知功能损害(mild cognitive impairment, MCI)的发病率也越高^[79]；而对地中海式饮食习惯依从性越高，AD 的发病风险也显著降低^[80]。Marlow 等人^[81]通过采用地中海式饮食对克罗恩病患者进行干预，发现地中海式饮食对克罗恩病具有积极的作用，患者的炎性标记物水平降低，同时肠道菌群也表现出恢复正常的趋势，拟杆菌门和梭菌属的细菌数量增加，而变形菌门和芽孢杆菌属细菌数量减少。这也提示地中海式饮食可能通过平衡肠道菌群在疾病控制，包括 AD 的发病中发挥重要作用^[82]。

肠道菌群的健康和多样性直接依赖于所摄取的食物，以上的研究都提示肠道微生物在饮食诱导的 AD 的发病风险增加或降低中发挥着重要的作用，但是，肠道微生物在疾病的控制，尤其是 AD 的控制中如何发挥作用还有待进一步的研究。

2.3 肠漏、脑漏和阿尔茨海默病

人的胃肠道黏膜表面，从食道到肛门排列着单层的上皮细胞，它们形成一层肠道黏膜屏障保护机体免受病原微生物的感染，阻止有害的颗粒物、化学物、细菌和其他可能对健康造成威胁的有机体进入血液循环，在保护宿主健康中发挥着十分重要的作用^[83]。细胞之间的连接称为紧密连接，当紧密连接的能力出现问题时，将导致肠道通透性增加，也就是肠漏(leaky gut)。当肠道屏障功能出现问题，肠道通透性增加，身体的炎症水平也随之增加，进而导致疾病的发生^[83,84]。

血脑屏障(blood-brain barrier)的完整性对于大脑的发育和功能至关重要，过去人们通常认为血脑屏障具有不可透过性，能阻止任何可能有危害的物质进入大脑，近年来的研究发现，很多物质能够威胁血脑屏障的完整性，使得各种各样的分子进入大脑，威胁大脑健康，包括蛋白、病毒甚至是细菌^[85]。肠道环境的改变能够渐渐地破坏大脑保护其免受有毒物质侵害的能力，由于肠漏引起的炎症最终也会导致脑漏(leaky brain)，也就是血脑屏障的通透性增加。

肠道菌群平衡的破坏与肠漏直接相关^[86]，应激、病原菌感染、抗生素使用等都会破坏肠道微生物的平衡，导致肠道通透性的增加。肠道微生物对于血脑屏

障的发育和完整性也至关重要，GF 小鼠表现出血脑屏障的通透性增加，而重建 GF 小鼠的肠道菌群，其血脑屏障的通透性也相应降低^[87]。

脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)由脂类和糖类组成，是革兰氏阴性细菌细胞壁的主要成分，在正常的肠道菌群中约有 50%~70% 为革兰氏阴性菌。LPS，又被称为内毒素，一旦进入血液将引起身体严重的炎症反应。健康条件下，LPS 被肠上皮紧密连接阻断在血液循环以外，当紧密连接出现问题，肠道通透性增加，LPS 进入血液循环，就能引起炎症。因此血液总 LPS 的水平不仅是身体炎症的表现，也是肠漏的表现。研究发现 AD 患者血浆中 LPS 的水平比健康对照高 3 倍^[88]。研究发现，给小鼠腹腔注射 LPS 能够导致学习障碍，此外，这些小鼠海马中 A_B 的水平增加^[89]。海马是大脑的记忆中枢，A_B 是 AD 发病的关键蛋白，在 AD 患者中 A_B 透过血脑屏障从血液向大脑的转入增加而大脑向血液的转出降低，从而导致大脑中 A_B 的积累，这也说明 AD 患者的血脑屏障通透性的改变以及大脑清除 A_B 的能力降低^[90,91]。LPS 可能在增加大脑 A_B 积累进而诱发 AD 中发挥作用，研究表明，小鼠腹腔注射 LPS 能改变血脑屏障对 A_B 的转运，增加血液向大脑的转入，降低大脑向血液的转出，同时诱导增加神经元中 A_B 的产生^[92]。其他研究也表明给大鼠腹腔注射 LPS 能够导致严重的记忆问题^[89,93]。

钙卫蛋白(calprotectin)是中性粒细胞和单核细胞释放的一种蛋白，粪便钙卫蛋白水平的升高被认为是肠道炎症的标记物，研究发现粪便钙卫蛋白浓度和肠道通透性之间也存在明显的相关性^[94]。Leblhuber 等人^[95]分析了 22 位 AD 患者的粪便钙卫蛋白浓度，发现其浓度明显高于正常值，说明 AD 患者的肠道通透性增加。

AD 患者血浆 LPS 和粪便钙卫蛋白水平的升高说明在 AD 患者中肠道炎症和肠漏的存在，也进一步表明肠道及肠道微生物可能参与 AD 的病理发生。

2.4 肠道微生物对神经生化及代谢的影响与阿尔茨海默病

肠道中革兰氏阳性的兼性厌氧或微需氧的乳杆菌和双歧杆菌，例如，*Lactobacillus brevis* 和 *Bifidobacterium dentium* 能够代谢谷氨酸产生γ-氨基丁酸(γ-aminobutyric acid, GABA)，GABA 是人类中枢神经系统中主要的抑制性神经递质^[96]。GABA 系统

(GABAergic system)的功能紊乱与认知功能损伤有关^[97]。胃肠道中 GABA 的增加与中枢神经系统 GABA 的增加相关, 肠道菌群的紊乱, 特别是乳杆菌及双歧杆菌的数量的减少将影响肠道中 GABA 的产生, 导致中枢神经系统中 GABA 水平的降低, AD 患者的尸检研究发现, AD 患者的额叶、颞叶和顶叶皮层 GABA 水平降低^[97,98]。

五羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)在认知功能的调节中非常重要。研究发现, 多达 95% 的 5-HT 都由肠道合成, 肠道微生物在 5-HT 的合成过程中起着重要作用。GF 小鼠血液中 5-HT 的含量要比正常小鼠低大约 60%, 而当重建 GF 小鼠的肠道菌群, 5-HT 在血液中的浓度会显著上升^[99]。研究人员通过评估 GF 小鼠以及利用 SPF 小鼠粪便悬液重建 GF 小鼠肠道菌群(Ex-GF)后大脑的代谢组, 分析了肠道微生物对大脑代谢组的影响, 发现 38 种代谢物的浓度存在明显差异, 其中大约有 10 种参与大脑功能, 5-HT 合成的前体色氨酸的水平明显降低, 说明 5-HT 生物合成通路的改变^[100]。动物和人类临床实验都发现选择性五羟色胺再摄取抑制剂(selective serotonin reuptake inhibitors, SSRIs)能够减少大脑中 A_B 的产生, 说明增加细胞外 5-HT 的水平能够有效地减少 A_B 蛋白斑的形成, 从而降低 AD 的风险^[101]。这也说明由于肠道菌群紊乱导致的 5-HT 的合成改变可能影响 AD 的病理进程。

谷氨酸是人中枢神经系统中主要的兴奋性神经递质, N-甲基-D-天冬氨酸谷氨酸受体(N-methyl-D-aspartate glutamate receptor, NMDA)是中枢神经系统中的一种谷氨酸受体, NMDA 受体不仅在神经系统发育过程中发挥着重要的生理作用, 参与调节神经元的存活、神经元树突和轴突结构发育以及突触可塑性的形成等, 在神经元回路的形成中 NMDA 受体亦起着关键作用, 有资料表明 NMDA 受体是学习与记忆过程中一类至关重要的受体^[102,103]。研究表明, NMDA 受体的表达与肠道微生物之间也存在一定的联系, GF 小鼠海马 NMDA 受体 NR2B 亚基 mRNA 的表达明显降低^[104], 抗生素处理扰乱肠道菌群也显著降低了海马 NMDA 受体的水平^[39]。

脑源性神经营养因子(brain derived neurotrophic factor, BDNF)是在脑内合成的一种蛋白质, 它广泛分布于中枢神经系统内, 在中枢神经系统发育过程中, 对神经元的存活、分化、生长发育起重要作用, 并能

防止神经元受损伤死亡、改善神经元的病理状态、促进受损伤神经元再生及分化等生物效应, 而且也是成熟的中枢及周围神经系统的神经元维持生存及正常生理功能所必需的。GF 小鼠 BDNF 蛋白的表达明显降低, 同时伴随着认知功能的改变^[38], 其他研究也发现, GF 小鼠海马 BDNF mRNA 的表达水平也明显下调^[24,105]。有趣的是, 在 BDNF 缺乏的小鼠中, 支配胃肠道的神经系统, 包括迷走神经的发育也会发生改变^[106]。调查发现 AD 患者大脑和血清的 BDNF 水平也会明显降低^[107]。以上研究说明肠道微生物可能通过调节 BDNF 的表达改变宿主认知, 最终诱发 AD。

肠道菌群中的蓝藻细菌(cyanobacteria)和蓝绿藻(blue-green algae)等产生的神经毒性物质β-N-甲胺基-L-丙氨酸(β-N-Methylamino-L-Alanine, BMAA)也被认为与 AD 的发病有关^[108,109]。在焦虑、应激、慢性肠道炎症性疾病或营养不良的条件下将进一步诱导 BMAA 的产生, 最终导致神经系统功能紊乱。BMAA 是一种神经毒性的氨基酸, 能够错误地插入肽链导致蛋白质的错误折叠, 蛋白质的错误折叠也是 AD 患者中 A_B 富集的老年斑的标志性特征^[110]。最近的研究发现, 慢性接触 BMAA 会触发大脑中神经纤维缠结和淀粉样蛋白的沉积, 增加 AD 的风险^[111]。其他蓝细菌产生的神经毒素, 包括蛤蚌毒素(saxitoxin)和鱼腥藻毒素-α(anatoxin-α)也可以进一步导致神经系统疾病, 特别在衰老过程中^[108]。因此, 肠道中蓝细菌数量的增加可能增加 AD 的发病风险。

肠道细菌也能产生大脑健康所必需的各种维生素, 包括维生素 B12。研究证实, 维生素 B12 的缺乏是痴呆症的一个重要的风险因子, 血清维生素 B12 的水平低与 AD 和 MCI 的风险增加有关^[112]。在健康的老年人群中, 维生素 B12 的水平越高, 其认知能力也越高^[113]。虽然能从食物中获得维生素 B12, 但是也有很大一部分满足日常需要的维生素 B12 来源于肠道细菌的合成。美国的一项研究调查发现, 维生素 B12 缺乏影响了 10%~15% 的 60 岁以上的人群^[114], 这些人群可能因为饮食不良以及药物的使用影响肠道微生物的组成, 从而导致维生素 B12 合成的降低。

A_B 的积累是 AD 的主要病理特征之一, 中枢神经系统中 A_B 的产生和清除处于动态平衡状态。很多细菌和真菌都能分泌淀粉样蛋白, 导致中枢神经系统及全身淀粉样蛋白含量的增加, 从而打破这种动态平

衡, 导致 A_β积累, 进而增加 AD 的风险^[115].

最近, 研究人员利用气相色谱质谱(gas chromatography-mass spectrometry, GC/MS)分析了 AD 模型小鼠尿液, 发现一些可挥发性的代谢物发生改变, 这些改变不是新的代谢物的产生, 而是尿液中现有代谢物浓度的变化, 而且这些变化通常发生在大脑病理变化之前^[116]. 尿液中的成分很大一部分源于肠道微生物的代谢, 尿液成分的变化也预示着肠道微生物的改变^[117]. AD 小鼠尿液代谢物的变化也可能与肠道微生物的差异有关, 这些变化发生在大脑病理变化之前, 也表明在大脑病理变化之前肠道微生物已经发生了改变, 肠道微生物的这种改变可能最终导致大脑病理的变化, 甚至包括 AD 的发生.

宏基因组、转录组、蛋白组和代谢组的研究揭示了胃肠道微生物对健康和疾病的作用. 每个人都有自己独特的肠道微生物的组成, 通过生化反应的个体差异, 可能导致每个人对衰老相关的疾病, 如 AD, 具有不同的敏感性.

3 肠道微生物影响阿尔茨海默病的间接证据

3.1 从“卫生假说”分析阿尔茨海默病与微生物的关系

20世纪80年代提出的“卫生假说”认为, 幼年期卫生条件的改善减少了人们与微生物接触的机会, 导致日后患过敏性疾病概率增加^[118]. 接触微生物对于免疫系统功能的发育至关重要, 研究表明自身免疫功能失调与微生物接触不充分有关^[119]. 现代的生活方式, 如抗生素的滥用、食品添加剂和防腐剂的大量使用、清洁的饮用水、环境卫生的改善, 都导致人们接触微生物的机会越来越少, 包括一些无害的微生物和寄生虫等. T 细胞是免疫功能重要的调节因子, T 细胞系统也被认为是卫生假说中主要受影响的系统^[120]. 对免疫系统持续性的低水平刺激, 如接触这些无害微生物, 能够诱导初始 T 细胞向调节性 T 细胞(Treg 细胞)转化, 而不是向 Th1 和 Th2 效应细胞转化^[121]. Th1 细胞在抗细胞内病原体感染中发挥重要作用, 在胞内细菌感染时, Th1 细胞优先发育并引发吞噬细胞介导的宿主防御应答, 主要参与细胞免疫; 而 Th2 细胞在抗细胞外病原体感染中发挥重要作用, 主要参与体液免疫^[122]. 在正常情况下, Th1 细胞和

Th2 细胞处于平衡状态, Th1 细胞持续性强应答与自身免疫病有关, 而过度的 Th2 细胞应答与过敏反应有关. Treg 是免疫耐受的关键调节因子, 其功能失调会导致自主免疫紊乱. 幼年期与微生物接触不充分, 免疫刺激不足, 会导致 Treg 增生不足, 从而促进过敏性疾病、自身免疫性疾病和慢性炎症性疾病的产生^[123,124]. 流行病学调查发现, 接触微生物多样性水平高的人群患自身免疫病和过敏症的风险要低, 在早期生活环境接触良性传染性病原体较少的个体患自身免疫病和过敏症的风险升高^[125-127].

从免疫水平上说, AD 被认为是一种系统性的炎症性疾病^[128], 其表现出 Th1 介导为主的炎症水平上升^[122], 这种炎症特征与自身免疫病存在很大的相似性^[129]. AD 与自身免疫病在免疫学上的相似性可能导致其流行病学的模式也存在一定的相似性. 关于“AD 的卫生假说”(hygiene hypothesis for Alzheimer's disease)预测 AD 的发生可能与微生物多样性呈负相关, 与环境卫生条件呈正相关. 免疫刺激不足导致的免疫系统功能紊乱可能通过 T 细胞系统导致 AD 发病风险增加. 从妊娠期到儿童期被认为是免疫系统建立的关键时期, 但是 Treg 的增生却贯穿于整个生命周期, 呈现出年龄相关的 Treg 数目的增加, 在青春期和 60 岁左右时达到顶峰^[130-132]. 因此, 不仅是生命早期的免疫刺激会影响 AD 的发病风险, 整个生命周期中的免疫刺激同样会影响 AD 的发病, 整个生命周期中微生物的接触可能与 AD 风险相关. 一项研究发现, 与健康人群相比, AD 患者和轻度认知损伤患者外周血中 Treg 数目增加, 而轻度认知损伤患者中 Treg 诱导的免疫抑制比 AD 患者和健康人群更强, 这也在一定程度上解释了为什么 AD 易感人群中 Treg 功能充足的人群只会发展成轻度认知损伤而 Treg 功能不足的人群将发展成 AD^[133]. 同样, 在 AD 的发病过程中, Treg 功能充足的人群可能在轻度认知损伤阶段停留的时间更长, 而 Treg 功能不足的人群则可能更快地发展成 AD. 这也说明 AD 的发病可能也支持卫生假说.

2013 年, Molly Fox 博士及其同事比较了世界上 192 个国家和地区的寄生虫侵袭和肠道细菌的多样性与 AD 发病率的关系^[134]. 他们的研究发现, 公共卫生条件较差的国家和地区, AD 的流行程度也越低; 而那些公共卫生条件较好的国家和地区, 寄生虫侵

袭的水平以及肠道微生物的多样性较低, AD 的发病率则显著上升。用于评估幼年期卫生条件的指标包括居住地、农场生活史、兄弟姐妹数目、出生次序、接触动物、寄生虫感染等。研究表明, 生活在农村^[135]、兄弟姐妹多^[136]、出生次序靠后^[137]、经常接触家畜或宠物^[138]的人群患过敏及自身免疫病的风险降低。在发展中国家和农村环境中, 微生物的多样性水平高, 接触微生物的机会也多; 而发展中国家和城市环境中, 由于环境卫生条件的改善, 微生物的多样性水平较低, 接触微生物的机会减少。与发展中国家相比, 发达国家的 AD 发病率更高, 在北美和欧洲国家 80 岁人群 AD 的发病率比其他国家要高^[139]。一项 meta 分析发现, 拉丁美洲、中国和印度的 AD 发病率比欧洲低, 在这些地区农村人群比城市人群低^[140]。具有相似种族背景的人群, 生活在卫生环境较低的地区 AD 的发病率低, 而生活在卫生环境较高的地区 AD 的发病率也高^[141]。AD 的发病风险随着环境卫生条件的变化而变化。有研究表明, 移民人口的 AD 发病率介于他们的祖国和移民国之间, 从环境卫生高的国家移民至环境卫生低的国家能够降低 AD 的风险^[142]。这些都说明卫生条件与 AD 的发病风险呈正相关, 支持 AD 的卫生假说。拥有相对较多的兄弟姐妹被认为生命早期的免疫激活也较高, 因为可以与更多的孩子相互接触获得更多的微生物; 而出生次序靠后的孩子比出生靠前的孩子有更多的接触微生物的机会, 因为他们在童年期有更长的时间与兄弟姐妹们玩耍。兄弟姐妹多和出生靠后的人群过敏症的发病率较低^[137,143], 但是目前还没有关于兄弟姐妹数目和出生次序与 AD 发病率的相关报道。

3.2 微生物感染与阿尔茨海默病

越来越多的研究开始关注微生物感染在衰老和 AD 发病中的作用, AD 患者的多数病理学改变, 如炎症、脑细胞萎缩、免疫异常、淀粉样蛋白生成、基因表达的变化以及认知损伤都被认为与微生物感染有关^[144-148]。正常情况下, 肠道微生物与宿主处于一个健康的、互惠互利的共生状态, 这种共生环境会有效地抑制潜在的病原微生物的感染和大量繁殖。当这种共生环境遭到破坏时, 一些潜在的病原微生物的数量会迅速增加, 最终导致疾病的发生, 包括自身免疫病、糖尿病、代谢综合征、肥胖以及应激诱导的神经精神疾病, 如自闭症、精神分裂症和 AD 等。人类

中枢神经系统无时无刻不受到大量外源性和内源性的微生物和病原体的威胁, 包括细菌、真菌、病毒和寄生虫等。几乎所有类型的微生物都被认为与 AD 的易感性和发病过程有关, 特别是在衰老过程中, 因为随着衰老, 先天免疫和生理屏障功能通常都受到损伤, 使得微生物以及一些神经毒性物质更容易进入中枢神经系统, 诱发炎症和损伤^[149]。

肺炎衣原体(*Chlamydophila pneumoniae*)、幽门螺旋杆菌(*Helicobacter pylori*)、弓形虫(*Toxoplasma gondii*)、单纯疱疹病毒(*herpes simplex virus, HSV*)、人类免疫缺陷病毒(*human immunodeficiency virus, HIV*)、人类巨细胞病毒(*human cytomegalovirus, HCMV*)等常见病原体的感染都被认为与 AD 的发病有关^[150-155]。Katan 等人^[156]在一项健康人群的前瞻性对比研究中, 通过简易智力量表(mini mental state examination, MMSE)测量发现, 身体感染这些病原体的数量与认知功能的损伤程度存在相关性。Strandberg 等人^[157]的研究也发现这些病原体的血清学检测呈阳性的老年人通常也会表现出一定程度的认知功能的损伤。

C. pneumoniae 是衣原体科的一种专性细胞内寄生的革兰氏阴性细菌, 能够引起肺炎, 早在 1998 年就有科学家在 AD 患者死后在其脑组织中非常普遍地检测到 *C. pneumoniae* 的感染^[150]。2006 年, 研究人员采用免疫组化的方法在 AD 患者脑部的星形胶质细胞、小胶质细胞以及神经元中观察到 *C. pneumoniae* 的感染, 而且这些感染的细胞与 AD 患者的两个主要病理指标 SP 和 NFT 所在的脑区共定位, 表明 *C. pneumoniae* 的感染可能增加 AD 的发病风险^[158]。给 3 月龄的 BALB/c 小鼠鼻内感染 AD 患者大脑中分离的 *C. pneumoniae*, 病理分析发现感染后 3 个月小鼠大脑内出现 A β 的沉积, 说明 *C. pneumoniae* 的感染可能参与 AD 的发病^[159]。在体外细胞培养实验中发现, *C. pneumoniae* 感染的小鼠星形胶质细胞的培养上清液中一些促炎症的分子的产生显著升高, 包括 MCP-1, IL-6 和 TNF- α 等, 将神经元细胞置于 *C. pneumoniae* 感染的小鼠星形胶质细胞的培养上清液加入, 细胞的死亡明显增多^[160,161]。这一结果表明, 肺炎衣原体感染中枢神经系统可能通过激活小胶质细胞和星形胶质细胞, 刺激促炎症反应, 从而促进一系列细胞因子和趋化因子的产生, 导致神经退行性病变而在神经炎症乃至 AD 的发病中起重要作用。

H. pylori 是一种附着于胃上皮细胞表面的革兰氏阴性菌, 被认为是慢性胃炎及胃溃疡的主要致病原因, 也是胃癌的致病元凶。近年来的病例-对照研究表明, *H. pylori* 感染与 AD 之间也存在一定的相关性, *H. pylori* 感染的 AD 患者在 MMSE 测试中得分更低, 表明其更加严重的认知损伤^[162]。同时, 研究发现根除 AD 患者的 *H. pylori* 感染可延长 AD 患者的存活期, 也潜在地表明 *H. pylori* 可能参与 AD 的致病进程^[151]。*H. pylori* 感染可能通过释放促炎症因子以及诱导氧化应激影响 AD 的病理生理学^[163]。*Toxoplasma gondii* 是一种细胞内寄生虫, 能够通过促进大脑和中枢神经系统慢性炎症导致脑炎和神经系统功能紊乱。最近的研究发现, AD 患者血清中抗 *T. gondii* 抗体显著增加, 表明 AD 与 *T. gondii* 感染之间可能存在联系^[152]。

HSV-1 是一种常见的嗜神经性病毒, 在人群中的感染率极高。一旦感染人体, HSV-1 可长期潜伏在周围神经系统的三叉神经节中, 并伴随终身, 在应激条件下病毒会激活。老年人随着年龄的增长, 免疫功能逐渐减弱, HSV-1 容易进入中枢神经系统, 引起神经系统病变。HSV-1 可以导致单纯疱疹病毒性脑炎(herpes simplex encephalitis, HSE)的发生, HSE 患者大脑的受损区域与 AD 患者的病理特征非常相似^[164]。HSE 与 AD 患者受损脑区的相似性、HSV-1 的高感染率以及一旦感染潜伏终身的特性表明 HSV-1 感染可能参与了 AD 的发病。大量的证据表明, HSV-1 可能是 AD 发病的危险因子, 流行病学调查资料显示, 90% 的 AD 患者脑内的淀粉样蛋白斑块中都检测到了 HSV-1 的 DNA^[165]。AD 患者的脑中微管相关蛋白 Tau 蛋白总量多于正常人, 且正常 Tau 蛋白减少而异常磷酸化 Tau 蛋白大量增加。研究发现 HSV-1 感染可以促进脑内 Tau 蛋白磷酸化的产生^[166]。当人的脑细胞被 HSV-1 感染时, 一种被称为 miRNA-146a 的促炎症的小的非编码的单链 RNA 表达显著上调, 这种 miRNA 的表达在 AD 患者的脑部也显著上调^[167]。这些都表明 HSV-1 感染与 AD 的发病过程具有十分紧密的联系。

HIV 是一种感染人类免疫系统细胞的慢病毒, 属于逆转录病毒的一种, 导致获得性免疫缺陷综合征(acquired immunodeficiency syndrome, AIDS), 俗称艾滋病。该病毒破坏人体的免疫能力, 导致免疫系统

失去抵抗力, 使得机体容易受到感染。HIV 可以通过多种途径对神经系统包括大脑、脊髓和外周神经造成广泛损伤, 由 HIV 引起的原发性中枢神经系统损伤, 即 HIV 相关神经认知紊乱(HIV-associated neurocognitive disorder, HAND)已经成为 HIV 感染者重要的慢性中枢神经系统并发症, 包括艾滋病痴呆综合征(AIDS dementia complex)、HIV 相关脑病(HIV-associated encephalopathy)和艾滋病相关认知功能下降(AIDS-associated cognitive decline)等^[154]。组织病理学研究发现, HIV 感染者大脑表现出与 AD 患者类似的脑萎缩和神经元丢失^[168]。比较分析发现, HAND 和 AD 患者的大脑具有共同的错误调节的基因表达谱, 包括神经免疫反应的改变以及突触传递的进行性损伤^[154]。这些都表明 HIV 感染可以促进 AD 的发病。

HCMV 也是疱疹病毒家族中的重要成员之一, 是人类疱疹病毒组中最大的一种病毒。健康人群感染 HCMV 通常不引人注意, 但是免疫受损、HIV 感染或器官移植的患者一旦感染 HCMV 则可能威胁生命。近年来, 科研人员通过对 AD 患者的血清、脑脊液和冷冻保存的淋巴细胞进行分析研究了 CMV 感染与 AD 患者的临床及病理特征的关系, 发现 AD 患者的 NFT 的数目与 CMV 抗体的水平呈正相关, CMV 血清反应阳性的 AD 患者的衰老 T 细胞(CD4⁺ 或 CD8⁺CD28⁻CD57⁺)的比例明显高于 CMV 血清反应阴性的患者, 而且这些与 AD 的病理诊断相关^[155]。这些数据都表明 CMV 感染与 AD 的发病之间存在相关性。

除此之外, 一些牙周致病的螺旋体以及丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)感染也被发现与 AD 的发病有关, 可以显著增加 AD 的发病风险^[169,170]。

慢性真菌感染也可以增加 AD 的风险, 近年来的研究在 AD 患者的外周血液中发现了酵母和真菌蛋白, 包括 1,3-β-葡聚糖(1,3-β-glucan)和真菌多糖等^[171,172]。Pisa 等人^[173]使用抗真菌抗体通过免疫组化的方法检查了 11 位生前患有 AD 的患者和 10 位生前没有 AD 的对照组人员的脑组织样本, 在所有 AD 患者的脑中都发现了真菌细胞及菌丝, 但是对照组人员的大脑中没有一例发现真菌。

肠道微生物在宿主防御中发挥重要作用, 能够有效地抵御外源病原微生物的感染, 无菌动物更容

易被感染^[174]。不难理解肠道微生物对肠道病原菌感染的抵御作用。流行病学调查发现, 难辨梭状芽孢杆菌性结肠炎(*Clostridium difficile* colitis)通常发生在抗生素治疗之后, 说明抗生素治疗导致的肠道菌群被破坏可能促进了感染的发生^[175]。Sekirov 等人^[176]通过抗生素处理扰乱 C57BL/6 小鼠的肠道菌群平衡发现, 小鼠更容易受到鼠伤寒沙门氏菌(*Salmonella enterica* serovar *Typhimurium*)的感染, 表明健康的肠道微生物在宿主抵抗肠道病原菌感染中的重要性。肠道微生物不仅参与肠道免疫, 同时也被认为是全身免疫系统的重要调节因子, 因此也就不难理解肠道微生物对于肠道以外的病原微生物感染的抵御作用了。Schuijt 等人同样通过使用抗生素清除 C57BL/6 小鼠的肠道微生物, 然后鼻内感染肺炎链球菌(*Streptococcus pneumoniae*), 与不经抗生素处理的对照小鼠相比, 其肺部和血液中细菌数量明显要高, 且小鼠的死亡率升高; 当对肠道微生物被清除的小鼠进行粪便微生物移植后, 能够明显缓解 *S. pneumoniae* 感染对小鼠的影响, 说明肠道微生物在宿主防御 *S. pneumoniae* 感染中发挥着重要的作用。虽然, 目前还没有直接的证据表明肠道微生物在抵抗 *C. pneumoniae*, HSV, HCMV 的感染中发挥作用。基于以上研究, 有理由相信肠道菌群的失衡也会增加这些病原微生物对宿主感染的机会。所以, 肠道微生物的紊乱可能增加宿主被病原微生物感染的机会, 从而增加 AD 的发病风险, 而健康的肠道菌群能够在一定程度上抵御外源病原微生物的感染, 从而降低 AD 的发病风险。

4 常见疾病与阿尔茨海默病的关联

肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)和炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是两类常见的胃肠道疾病。IBS 是一种常见的与微生物-肠-脑轴改变相关功能性胃肠道疾病, 通常在应激或肠道感染的情况下表现出来, 而 IBD 患者通常表现为肠道通透性增加, 肠道微生物的改变和炎症。IBS 和 IBD 患者通常也表现出认知能力的下降, 说明肠道与认知功能之间的潜在联系^[177,178]。

很多心血管风险因子, 如肥胖、高血压、糖尿病等也与 AD 相关。糖尿病是一种胰岛素缺乏或胰岛素抵抗的代谢性疾病, 也被证明与肠道菌群的改变相

关^[179]。糖尿病患者通常伴随着学习和记忆的轻度损伤, 2013 年《新英格兰医学杂志》的一项研究报告, 无论是否患有糖尿病, 血糖水平升高都会增加认知障碍的发病风险^[180]。随着血糖的有效控制, 糖尿病患者学习和记忆能力都将有所改善^[181]。在糖尿病大鼠的饮水中添加益生菌(*L. acidophilus*, *B. lactis* 和 *L. fermentum*)不仅能显著降低空腹血糖水平, 也能逆转学习记忆的损伤和海马电生理活动的改变^[182]。糖尿病患者肠道菌群的改变是否参与调控患者认知功能还有待进一步的研究。

肝性脑病(hepatic encephalopathy, HE)也通常被认为是在肠道微生物的改变导致肠道通透性增加的背景下发生^[183]。一些特殊的菌群(*Alcaligenaceae*, *Porphyromonadaceae*, *Enterobacteriaceae*)与 HE 的发生, 认知功能的降低和炎症的发生具有强烈的相关性^[184]。使用抗生素利福昔明能够显著改善 HE 患者的认知行为, 提高患者的生活质量^[185]; 给 HE 患者服用乳果糖治疗后, 其情绪和认知功能也得到明显的改善^[186]。这些表明 HE 患者的认知功能损伤可能是由肠道菌群失衡引起, 因为利福昔明和乳果糖都是通过直接或间接作用于肠道微生物, 抑制肠道中产氨细菌的生长繁殖, 减少肠道中氨的产生, 通过改变肠道菌群及其代谢产物达到改善患者认知损伤的目的^[187]。

帕金森病(Parkinson's disease, PD)是一种常见的中枢神经系统疾病, 研究发现 PD 患者肠道中普氏菌的比例明显降低^[12]。PD 的典型病例特征是形成 α -突触核蛋白(α -synuclein)聚集的路易体(lewy body), Holmqvist 等人^[188]的研究发现, α -突触核蛋白能够通过迷走神经从肠道转运至大脑, 表明 PD 或起源于肠道。

目前, 还没有研究报告直接表明 AD 与肠道菌群的紊乱相关, 但是一些肠道疾病(IBS, IBD)以及非肠道疾病(糖尿病, HE)与认知损伤和肠道菌群的关系, 以及中枢神经系统疾病 PD 与肠道微生物的相关性都提示其他中枢神经系统退行性病变, 或许都起源于肠道, 与肠道菌群的紊乱直接相关, 包括 AD。

5 总结和展望

肠道微生物通过微生物-肠-脑轴调节宿主大脑功能和行为。宿主的无菌状态、抗生素的干扰、益生

菌干预、病原菌感染、饮食习惯等都会影响肠道微生物的组成和肠道的生理功能, 同时也会影响宿主的认知行为, 改变宿主患 AD 的风险。肠道微生物的紊乱也能导致肠道通透性(肠漏)和血脑屏障通透性(脑漏)的增加, 引起全身性炎症和中枢神经系统炎症, 进而导致神经系统疾病的发生。肠道微生物的代谢产物及其对宿主神经生化的影响, 也会增加或降低 AD 的风险, 如 GABA, 5-HT, 维生素的合成以及 NMDA 受体和 BDNF 的表达等。病原微生物的感染, 如肺炎衣原体、幽门螺旋杆菌、HSV、HIV、HCMV 等, 都会增加 AD 的风险, 肠道微生物的健康与否也会在一定程度上影响病原菌的感染。同时, AD 的发病也支持“卫生假说”, 这些结果都提示 AD 的发病可能也与肠道微生物的紊乱相关。目前, 关于肠道微生物与 AD 相关的研究还很少, 在未来的研究中, 可以通过对研究 AD 患者与健康人群的肠道微生物的差异, 寻找与疾病相关的一些特定微生物, 然后将这些特定的微生物移植到无菌动物或是经抗生素清除

肠道菌群的实验动物中, 观察其是否可以诱导与 AD 相关的疾病表型或病理特征, 最后研究这些微生物参与 AD 发生的机理。同时, ApoE 是 AD 的一个易感基因, HSV 感染和高脂饮食的摄入会增加 AD 的风险, 尤其在 ApoE ε4 等位基因的携带者中^[68,153], 说明肠道微生物可能与宿主自身的基因共同决定 AD 的发病风险。宿主自身的基因也在一定程度上影响肠道微生物的组成, 进而诱发疾病^[189]。因此, 外界环境因素造成的肠道菌群紊乱以及宿主自身基因对肠道菌群的影响可能共同决定了疾病的易感性, 包括 AD。宿主自身的基因是遗传自父母, 与生俱来, 难以改变, 而肠道微生物则可以通过饮食的干预或者有益微生物的补充进行调节。本实验室在前期的多个临床个例的调查中发现, 微生物的干预能够有效地改善和提高 AD 患者的认知能力, 这些结果还有待进行进一步验证。可以预见, 通过个性化的饮食定制调节肠道微生物的平衡或将可能成为脑部疾病包括 AD 治疗的新方法。

参考文献

- 1 Alzheimer's Association. 2015 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimers Dement*, 2015, 11: 332–384
- 2 Reitz C, Brayne C, Mayeux R. Epidemiology of Alzheimer disease. *Nat Rev Neurol*, 2011, 7: 137–152
- 3 Prince M, Bryce R, Albanese E, et al. The global prevalence of dementia: a systematic review and metaanalysis. *Alzheimers Dement*, 2013, 9: 63–75
- 4 Lambert J C, Ibrahim-Verbaas C A, Harold D, et al. Meta-analysis of 74,046 individuals identifies 11 new susceptibility loci for Alzheimer's disease. *Nat Genet*, 2013, 45: 1452–1458
- 5 Hooper L V, Gordon J I. Commensal host-bacterial relationships in the gut. *Science*, 2001, 292: 1115–1118
- 6 Ley R E, Turnbaugh P J, Klein S, et al. Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity. *Nature*, 2006, 444: 1022–1023
- 7 Qin J, Li Y, Cai Z, et al. A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes. *Nature*, 2012, 490: 55–60
- 8 Yang T, Santisteban M M, Rodriguez V, et al. Gut dysbiosis is linked to hypertension. *Hypertension*, 2015, 65: 1331–1340
- 9 Qin N, Yang F L, Li A, et al. Alterations of the human gut microbiome in liver cirrhosis. *Nature*, 2014, 513: 59–64
- 10 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
- 11 Naseribafrouei A, Hestad K, Avershina E, et al. Correlation between the human fecal microbiota and depression. *Neurogastroenterol Motil*, 2014, 26: 1155–1162
- 12 Scheperjans F, Aho V, Pereira P A B, et al. Gut microbiota are related to Parkinson's disease and clinical phenotype. *Mov Disord*, 2015, 30: 350–358
- 13 Qin J, Li R, Raes J, et al. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature*, 2010, 464: 59–65
- 14 Aziz Q, Dore J, Emmanuel A, et al. Gut microbiota and gastrointestinal health: current concepts and future directions. *Neurogastroenterol Motil*, 2013, 25: 4–15
- 15 Backhed F, Ley R E, Sonnenburg J L, et al. Host-bacterial mutualism in the human intestine. *Science*, 2005, 307: 1915–1920
- 16 Venter J C, Adams M D, Myers E W, et al. The sequence of the human genome. *Science*, 2001, 291: 1304–1351
- 17 Human Microbiome Project Consortium. A framework for human microbiome research. *Nature*, 2012, 486: 215–221
- 18 Cho I, Blaser M J. The human microbiome: at the interface of health and disease. *Nat Rev Genet*, 2012, 13: 260–270
- 19 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
- 20 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
- 21 Cryan J F, O'Mahony S M. The microbiome-gut-brain axis: from bowel to behavior. *Neurogastroenterol Motil*, 2011, 23: 187–192
- 22 Collins S M, Surette M, Bercik P. The interplay between the intestinal microbiota and the brain. *Nat Rev Microbiol*, 2012, 10: 735–742
- 23 Foster J A. Gut feelings: bacteria and the brain. *Cerebrum: the Dana forum on brain science*, 2013, 2013: 9
- 24 Diaz Heijtz R, Wang S, Anuar F, et al. Normal gut microbiota modulates brain development and behavior. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108: 3047–3052
- 25 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
- 26 Borre Y E, O'Keeffe G W, Clarke G, et al. Microbiota and neurodevelopmental windows: implications for brain disorders. *Trends Mol Med*, 2014, 20: 509–518
- 27 Sowell E R, Peterson B S, Thompson P M, et al. Mapping cortical change across the human life span. *Nat Neurosci*, 2003, 6: 309–315
- 28 Franceschi C. Inflammaging as a major characteristic of old people: can it be prevented or cured? *Nutr Rev*, 2007, 65: S173–S176
- 29 O'Toole P W, Claesson M J. Gut microbiota: changes throughout the lifespan from infancy to elderly. *Int Dairy J*, 2010, 20: 281–291
- 30 Guigoz Y, Dore J, Schiffrin E J. The inflammatory status of old age can be nurtured from the intestinal environment. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2008, 11: 13–20
- 31 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
- 32 Biagi E, Nylund L, Candela M, et al. Through ageing, and beyond: gut microbiota and inflammatory status in seniors and centenarians. *PLoS One*, 2010, 5: e10667
- 33 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
- 34 Biagi E, Candela M, Turroni S, et al. Ageing and gut microbes: perspectives for health maintenance and longevity. *Pharmacol Res*, 2013, 69: 11–20
- 35 Dekaban A S. Changes in brain weights during the span of human life: relation of brain weights to body heights and body weights. *Ann Neurol*, 1978, 4: 345–356
- 36 Erny D, Hrabe de Angelis A L, Jaitin D, et al. Host microbiota constantly control maturation and function of microglia in the CNS. *Nat Neurosci*, 2015, 18: 965–977
- 37 Sampson T R, Mazmanian S K. Control of brain development, function, and behavior by the microbiome. *Cell Host Microbe*, 2015, 17: 565–576
- 38 Gareau M G, Wine E, Rodrigues D M, et al. Bacterial infection causes stress-induced memory dysfunction in mice. *Gut*, 2011, 60: 307–317
- 39 Wang T, Hu X, Liang S, et al. *Lactobacillus fermentum* NS9 restores the antibiotic induced physiological and psychological abnormalities in rats. *Benef Microbes*, 2015, 6: 707–717
- 40 Liang S, Wang T, Hu X, et al. Administration of *Lactobacillus helveticus* NS8 improves behavioral, cognitive, and biochemical aberrations caused by chronic restraint stress. *Neuroscience*, 2015, 310: 561–577
- 41 罗佳, 王涛, 梁姗, 等. 高血氨大鼠服用乳酸菌后焦虑降低和认知功能改善. *中国科学: 生命科学*, 2014, 44: 208–217
- 42 Ohsawa K, Uchida N, Ohki K, et al. *Lactobacillus helveticus*-fermented milk improves learning and memory in mice. *Nutr Neurosci*, 2015, 18: 232–240
- 43 Savignac H M, Tramullas M, Kiely B, et al. Bifidobacteria modulate cognitive processes in an anxious mouse strain. *Behav Brain Res*, 2015, 287: 59–72
- 44 Tillisch K, Labus J, Kilpatrick L, et al. Consumption of fermented milk product with probiotic modulates brain activity. *Gastroenterology*, 2013, 144: 1394–1401
- 45 Messaoudi M, Lalonde R, Vioille N, et al. Assessment of psychotropic-like properties of a probiotic formulation (*Lactobacillus helveticus* R0052 and *Bifidobacterium longum* R0175) in rats and human subjects. *Br J Nutr*, 2011, 105: 755–764
- 46 Bruce-Keller A J, Salbaum J M, Luo M, et al. Obese-type gut microbiota induce neurobehavioral changes in the absence of obesity. *Biol Psychiatry*, 2015, 77: 607–615
- 47 Arumugam M, Raes J, Pelletier E, et al. Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature*, 2011, 473: 174–180

- 48 Wu G D, Chen J, Hoffmann C, et al. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science*, 2011, 334: 105–108
- 49 Yehuda S, Rabinovitz S, Mostofsky D I. Essential fatty acids and the brain: from infancy to aging. *Neurobiol Aging*, 2005, 26: 98–102
- 50 Tully A M, Roche H M, Doyle R, et al. Low serum cholestryl ester-docosahexaenoic acid levels in Alzheimer's disease: a case-control study. *Br J Nutr*, 2003, 89: 483–489
- 51 Solfrizzi V, Colacicco A M, D'Introno A, et al. Dietary intake of unsaturated fatty acids and age-related cognitive decline: a 8.5-year follow-up of the Italian Longitudinal Study on Aging. *Neurobiol Aging*, 2006, 27: 1694–1704
- 52 Morris M C, Evans D A, Bienias J L, et al. Consumption of fish and n-3 fatty acids and risk of incident Alzheimer disease. *Arch Neurol*, 2003, 60: 940–946
- 53 Barberger-Gateau P, Letenneur L, Deschamps V, et al. Fish, meat, and risk of dementia: cohort study. *BMJ*, 2002, 325: 932–933
- 54 Solakivi T, Kaukinen K, Kunnas T, et al. Serum fatty acid profile in subjects with irritable bowel syndrome. *Scand J Gastroenterol*, 2011, 46: 299–303
- 55 Liu T Y, Hougen H, Vollmer A C, et al. Gut bacteria profiles of *Mus musculus* at the phylum and family levels are influenced by saturation of dietary fatty acids. *Anaerobe*, 2012, 18: 331–337
- 56 Yu H N, Zhu J, Pan W S, et al. Effects of fish oil with a high content of n-3 polyunsaturated fatty acids on mouse gut microbiota. *Arch Med Res*, 2014, 45: 195–202
- 57 Eskelinen M H, Ngandu T, Tuomilehto J, et al. Midlife coffee and tea drinking and the risk of late-life dementia: a population-based CAIDE study. *J Alzheimers Dis*, 2009, 16: 85–91
- 58 Butterfield D A, Perluigi M, Sultana R. Oxidative stress in Alzheimer's disease brain: new insights from redox proteomics. *Eur J Pharmacol*, 2006, 545: 39–50
- 59 Morris M C, Evans D A, Bienias J L, et al. Dietary intake of antioxidant nutrients and the risk of incident Alzheimer disease in a biracial community study. *JAMA*, 2002, 287: 3230–3237
- 60 Masaki K H, Losonczy K G, Izmirlian G, et al. Association of vitamin E and C supplement use with cognitive function and dementia in elderly men. *Neurology*, 2000, 54: 1265–1272
- 61 Zandi P P, Anthony J C, Khachaturian A S, et al. Reduced risk of Alzheimer disease in users of antioxidant vitamin supplements—The Cache County Study. *Arch Neurol*, 2004, 61: 82–88
- 62 Jaquet M, Rochat I, Moulin J, et al. Impact of coffee consumption on the gut microbiota: a human volunteer study. *Int J Food Microbiol*, 2009, 130: 117–121
- 63 Cowan T E, Palmnas M S A, Yang J, et al. Chronic coffee consumption in the diet-induced obese rat: impact on gut microbiota and serum metabolomics. *J Nutr Biochem*, 2014, 25: 489–495
- 64 Moco S, Martin F P J, Rezzi S. Metabolomics view on gut microbiome modulation by polyphenol-rich foods. *J Proteome Res*, 2012, 11: 4781–4790
- 65 Barberger-Gateau P, Raffaitin C, Letenneur L, et al. Dietary patterns and risk of dementia—The three-city cohort study. *Neurology*, 2007, 69: 1921–1930
- 66 Gu Y A, Nieves J W, Stern Y, et al. Food combination and Alzheimer disease risk a protective diet. *Arch Neurol*, 2010, 67: 699–706
- 67 Hughes T F, Andel R, Small B J, et al. Midlife fruit and vegetable consumption and risk of dementia in later life in Swedish twins. *Am J Geriatr Psychiatry*, 2010, 18: 413–420
- 68 Laitinen M H, Ngandu T, Rovio S, et al. Fat intake at midlife and risk of dementia and Alzheimer's disease: a population-based study. *Dement Geriatr Cogn Disord*, 2006, 22: 99–107
- 69 Eskelinen M H, Ngandu T, Helkala E L, et al. Fat intake at midlife and cognitive impairment later in life: a population-based CAIDE study. *Int J Geriatr Psychiatry*, 2008, 23: 741–747
- 70 Refolo LM, Malester B, LaFrancois J, et al. A high fat, high cholesterol diet accelerates beta-amyloid accumulation in the CNS of a transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dis*, 2001, 433–447
- 71 Knight E M, Martins I V A, Gumusguz S, et al. High-fat diet-induced memory impairment in triple-transgenic Alzheimer's disease (3xTgAD) mice is independent of changes in amyloid and tau pathology. *Neurobiol Aging*, 2014, 35: 1821–1832
- 72 Martin B, Mattson M P, Maudsley S. Caloric restriction and intermittent fasting: two potential diets for successful brain aging. *Ageing Res Rev*, 2006, 5: 332–353
- 73 Patel N V, Gordon M N, Connor K E, et al. Caloric restriction attenuates Abeta-deposition in Alzheimer transgenic models. *Neurobiol Aging*, 2005, 26: 995–1000
- 74 Fontan-Lozano A, Saez-Cassanelli J L, Inda M C, et al. Caloric restriction increases learning consolidation and facilitates synaptic

- plasticity through mechanisms dependent on NR2B Subunits of the NMDA receptor. *J Neurosci*, 2007, 27: 10185–10195
- 75 Witte A V, Fobker M, Gellner R, et al. Caloric restriction improves memory in elderly humans. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106: 1255–1260
- 76 Cani P D, Bibiloni R, Knauf C, et al. Changes in gut microbiota control metabolic endotoxemia-induced inflammation in high-fat diet-induced obesity and diabetes in mice. *Diabetes*, 2008, 57: 1470–1481
- 77 Zhang C, Li S, Yang L, et al. Structural modulation of gut microbiota in life-long calorie-restricted mice. *Nat Commun*, 2013, 4: 2163
- 78 Willett W C, Sacks F, Trichopoulou A, et al. Mediterranean diet pyramid—a cultural model for healthy eating. *Am J Clin Nutr*, 1995, 61: 1402s–1406s
- 79 Gardener S, Gu Y, Rainey-Smith S R, et al. Adherence to a mediterranean diet and Alzheimer's disease risk in an Australian population. *Transl Psychiatry*, 2012, 2: e164
- 80 Scarimeas N, Stern Y, Tang M X, et al. Mediterranean diet and risk for Alzheimer's disease. *Ann Neurol*, 2006, 59: 912–921
- 81 Marlow G, Ellett S, Ferguson I R, et al. Transcriptomics to study the effect of a Mediterranean-inspired diet on inflammation in Crohn's disease patients. *Hum Genomics*, 2013, 7: 24
- 82 Del Chierico F, Vernocchi P, Dallapiccola B, et al. Mediterranean diet and health: food effects on gut microbiota and disease control. *Int J Mol Sci*, 2014, 15: 11678–11699
- 83 Turner J R. Intestinal mucosal barrier function in health and disease. *Nat Rev Immunol*, 2009, 9: 799–809
- 84 Kelly J R, Kennedy P J, Cryan J F, et al. Breaking down the barriers: the gut microbiome, intestinal permeability and stress-related psychiatric disorders. *Front Cell Neurosci*, 2015, 9: 392
- 85 Welling M M, Nabuurs R J, van der Weerd L. Potential role of antimicrobial peptides in the early onset of Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dement*, 2015, 11: 51–57
- 86 Jakobsson H E, Rodriguez-Pineiro A M, Schutte A, et al. The composition of the gut microbiota shapes the colon mucus barrier. *Embo Rep*, 2015, 16: 164–177
- 87 Braniste V, Al-Asmakh M, Kowal C, et al. The gut microbiota influences blood-brain barrier permeability in mice. *Sci Transl Med*, 2014, 6: 263ra158
- 88 Zhang R, Miller R G, Gascon R, et al. Circulating endotoxin and systemic immune activation in sporadic amyotrophic lateral sclerosis (SALS). *J Neuroimmunol*, 2009, 206: 121–124
- 89 Kahn M S, Kranjac D, Alonso C A, et al. Prolonged elevation in hippocampal Abeta and cognitive deficits following repeated endotoxin exposure in the mouse. *Behav Brain Res*, 2012, 229: 176–184
- 90 LaRue B, Hogg E, Sagare A, et al. Method for measurement of the blood-brain barrier permeability in the perfused mouse brain: application to amyloid-beta peptide in wild type and Alzheimer's Tg2576 mice. *J Neurosci Methods*, 2004, 138: 233–242
- 91 Deane R, Wu Z H, Zlokovic B V. RAGE (Yin) versus LRP (Yang) balance regulates Alzheimer amyloid beta-peptide clearance through transport across the blood-brain barrier. *Stroke*, 2004, 35: 2628–2631
- 92 Jaeger L B, Dohgu S, Sultana R, et al. Lipopolysaccharide alters the blood-brain barrier transport of amyloid beta protein: a mechanism for inflammation in the progression of Alzheimer's disease. *Brain Behav Immun*, 2009, 23: 507–517
- 93 Lee J W, Lee Y K, Yuk D Y, et al. Neuro-inflammation induced by lipopolysaccharide causes cognitive impairment through enhancement of beta-amyloid generation. *J Neuroinflammation*, 2008, 5: 37
- 94 Berstad A, Arslan G, Folvik G. Relationship between intestinal permeability and calprotectin concentration in gut lavage fluid. *Scand J Gastroenterol*, 2000, 35: 64–69
- 95 Leblhuber F, Geisler S, Steiner K, et al. Elevated fecal calprotectin in patients with Alzheimer's dementia indicates leaky gut. *J Neural Transm*, 2015, 122: 1319–1322
- 96 Barrett E, Ross R P, O'Toole P W, et al. gamma-Aminobutyric acid production by culturable bacteria from the human intestine. *J Appl Microbiol*, 2012, 113: 411–417
- 97 Lanctot K L, Herrmann N, Mazzotta P, et al. GABAergic function in Alzheimer's disease: evidence for dysfunction and potential as a therapeutic target for the treatment of behavioural and psychological symptoms of dementia. *Can J Psychiat*, 2004, 49: 439–453
- 98 Solas M, Puerta E, Ramirez M J. Treatment options in Alzheimer's Disease: the GABA story. *Curr Pharm Des*, 2015, 21: 4960–4971
- 99 Yano J M, Yu K, Donaldson G P, et al. Indigenous bacteria from the gut microbiota regulate host serotonin biosynthesis. *Cell*, 2015, 161: 264–276
- 100 Matsumoto M, Kibe R, Ooga T, et al. Cerebral low-molecular metabolites influenced by intestinal microbiota: a pilot study. *Front Syst Neurosci*, 2013, 7: 9

- 101 Cirrito J R, Disabato B M, Restivo J L, et al. Serotonin signaling is associated with lower amyloid-beta levels and plaques in transgenic mice and humans. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108: 14968–14973
- 102 Lakhan S E, Caro M, Hadzimichalis N. NMDA receptor activity in neuropsychiatric disorders. *Front Psychiatry*, 2013, 4: 52
- 103 Li F, Tsien J Z. Memory and the NMDA receptors. *N Engl J Med*, 2009, 361: 302–303
- 104 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, e119
- 105 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
- 106 Murphy M C, Fox E A. Mice deficient in brain-derived neurotrophic factor have altered development of gastric vagal sensory innervation. *J Comp Neurol*, 2010, 518: 2934–2951
- 107 Carlino D, De Vanna M, Tongiorgi E. Is altered BDNF biosynthesis a general feature in patients with cognitive dysfunctions? *Neuroscientist*, 2013, 19: 345–353
- 108 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
- 109 Banack S A, Caller T A, Stommel E W. The cyanobacteria derived toxin beta-N-methylamino-L-alanine and amyotrophic lateral sclerosis. *Toxins (Basel)*, 2010, 2: 2837–2850
- 110 Mulligan V K, Chakrabarty A. Protein misfolding in the late-onset neurodegenerative diseases: common themes and the unique case of amyotrophic lateral sclerosis. *Proteins*, 2013, 81: 1285–1303
- 111 Cox P A, Davis D A, Mash D C, et al. Dietary exposure to an environmental toxin triggers neurofibrillary tangles and amyloid deposits in the brain. *Proc Biol Sci*, 2016, doi: 10.1098/rspb.2015.2397
- 112 Quadri P, Fragiocomo C, Pezzati R, et al. Homocysteine, folate, and vitamin B-12 in mild cognitive impairment, Alzheimer disease, and vascular dementia. *Am J Clin Nutr*, 2004, 80: 114–122
- 113 Duthie S J, Whalley L J, Collins A R, et al. Homocysteine, B vitamin status, and cognitive function in the elderly. *Am J Clin Nutr*, 2002, 75: 908–913
- 114 Pautas E, Cherin P, De Jaeger C, et al. Vitamin B12 deficiency in the elderly. *Presse Med*, 1999, 28: 1767–1770
- 115 Zhao Y, Lukiw W J. Microbiome-generated amyloid and potential impact on amyloidogenesis in Alzheimer's disease (AD). *J Nat Sci*, 2015, 1: e138
- 116 Kimball B A, Wilson D A, Wesson D W. Alterations of the volatile metabolome in mouse models of Alzheimer's disease. *Sci Rep*, 2016, 6: 19495
- 117 Evenepoel P, Meijers B K I, Bammens B R M, et al. Uremic toxins originating from colonic microbial metabolism. *Kidney Int*, 2009, 76: S12–S19
- 118 Strachan D P. Hay fever, hygiene, and household size. *BMJ*, 1989, 299: 1259–1260
- 119 Rook G A. Hygiene hypothesis and autoimmune diseases. *Clin Rev Allergy Immunol*, 2012, 42: 5–15
- 120 Rook G A W. Introduction: the Changing Microbial Environment, Darwinian Medicine and the Hygiene Hypothesis. *The Hygiene Hypothesis and Darwinian Medicine* Springer: Basel, Switzerland, 2009. 1–27
- 121 Rook G A, Lowry C A. The hygiene hypothesis and psychiatric disorders. *Trends Immunol*, 2008, 29: 150–158
- 122 Schwarz M J, Chiang S, Muller N, et al. T-helper-1 and T-helper-2 responses in psychiatric disorders. *Brain Behav Immun*, 2001, 15: 340–370
- 123 Rook G A. The hygiene hypothesis and the increasing prevalence of chronic inflammatory disorders. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 2007, 101: 1072–1074
- 124 Romagnani S. The increased prevalence of allergy and the hygiene hypothesis: missing immune deviation, reduced immune suppression, or both? *Immunology*, 2004, 112: 352–363
- 125 Lynch N R, Hagel I, Perez M, et al. Effect of anthelmintic treatment on the allergic reactivity of children in a tropical slum. *J Allergy Clin Immunol*, 1993, 92: 404–411
- 126 Vonmutius E, Fritzsch C, Weiland S K, et al. Prevalence of asthma and allergic disorders among children in united Germany: a descriptive comparison. *BMJ*, 1992, 305: 1395–1399
- 127 Cookson W O, Moffatt M F. Asthma: an epidemic in the absence of infection? *Science*, 1997, 275: 41–42
- 128 Pellicano M, Larbi A, Goldeck D, et al. Immune profiling of Alzheimer patients. *J Neuroimmunol*, 2012, 242: 52–59
- 129 D'Andrea M R. Add Alzheimer's disease to the list of autoimmune diseases. *Med Hypotheses*, 2005, 64: 458–463
- 130 Prescott S L. Promoting tolerance in early life: pathways and pitfalls. *Curr Allergy Clin Im*, 2008, 21: 64–69

- 131 Gregg R, Smith C M, Clark F J, et al. The number of human peripheral blood CD4⁺ CD25(high) regulatory T cells increases with age. *Clin Exp Immunol*, 2005, 140: 540–546
- 132 Faria A M, de Moraes S M, de Freitas L H F, et al. Variation rhythms of lymphocyte subsets during healthy aging. *Neuroimmunomodulation*, 2008, 15: 365–379
- 133 Saresella M, Calabrese E, Marventano I, et al. PD1 negative and PD1 positive CD4⁺T regulatory cells in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*, 2010, 21: 927–938
- 134 Fox M, Knapp L A, Andrews P W, et al. Hygiene and the world distribution of Alzheimer's disease: epidemiological evidence for a relationship between microbial environment and age-adjusted disease burden. *Evol Med Public Health*, 2013, 2013: 173–186
- 135 von Mutius E, Vercelli D. Farm living: effects on childhood asthma and allergy. *Nat Rev Immunol*, 2010, 10: 861–868
- 136 von Mutius E, Martinez F D, Fritzsch C, et al. Skin test reactivity and number of siblings. *BMJ*, 1994, 308: 692–695
- 137 Matricardi P M, Franzinelli F, Franco A, et al. Sibship size, birth order, and atopy in 11,371 Italian young men. *J Allergy Clin Immunol*, 1998, 101: 439–444
- 138 Apter A J. Early exposure to allergen: is this the cat's meow, or are we barking up the wrong tree? *J Allergy Clin Immunol*, 2003, 111: 938–946
- 139 Ziegler-Graham K, Brookmeyer R, Johnson E, et al. Worldwide variation in the doubling time of Alzheimer's disease incidence rates. *Alzheimers Dement*, 2008, 4: 316–323
- 140 Libre Rodriguez J J, Ferri C P, Acosta D, et al. Prevalence of dementia in Latin America, India, and China: a population-based cross-sectional survey. *Lancet*, 2008, 372: 464–474
- 141 Hendrie H C, Osuntokun B O, Hall K S, et al. Prevalence of Alzheimer's disease and dementia in two communities: Nigerian Africans and African Americans. *Am J Psychiatry*, 1995, 152: 1485–1492
- 142 Yamada T, Kadekaru H, Matsumoto S, et al. Prevalence of dementia in the older Japanese-Brazilian population. *Psychiatry Clin Neurosci*, 2002, 56: 71–75
- 143 Jarvis D, Chinn S, Luczynska C, et al. The association of family size with atopy and atopic disease. *Clin Exp Allergy*, 1997, 27: 240–245
- 144 Heintz C, Mair W. You are what you host: microbiome modulation of the aging process. *Cell*, 2014, 156: 408–411
- 145 Miklossy J. Emerging roles of pathogens in Alzheimer disease. *Expert Rev Mol Med*, 2011, 13: e30
- 146 Bhattacharjee S, Lukiw W J. Alzheimer's disease and the microbiome. *Front Cell Neurosci*, 2013, 7: 153
- 147 Huang W S, Yang T Y, Shen W C, et al. Association between *Helicobacter pylori* infection and dementia. *J Clin Neurosci*, 2014, 21: 1355–1358
- 148 Mancuso R, Baglio F, Cabinio M, et al. Titers of herpes simplex virus type 1 antibodies positively correlate with grey matter volumes in Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*, 2014, 38: 741–745
- 149 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
- 150 Balin B J, Gerard H C, Arking E J, et al. Identification and localization of *Chlamydia pneumoniae* in the Alzheimer's brain. *Med Microbiol Immunol*, 1998, 187: 23–42
- 151 Kountouras J, Boziki M, Zavos C, et al. A potential impact of chronic *Helicobacter pylori* infection on Alzheimer's disease pathobiology and course. *Neurobiol Aging*, 2012, 33: e3–e4
- 152 Prandota J. Possible link between *Toxoplasma Gondii* and the anosmia associated with neurodegenerative diseases. *Am J Alzheimers Dis*, 2014, 29: 205–214
- 153 Itzhaki R F, Wozniak M A. Herpes simplex virus type 1 in Alzheimer's disease: the enemy within. *J Alzheimers Dis*, 2008, 13: 393–405
- 154 Borjabad A, Volsky D J. Common transcriptional signatures in brain tissue from patients with HIV-associated neurocognitive disorders, Alzheimer's disease, and Multiple Sclerosis. *J Neuroimmune Pharmacol*, 2012, 7: 914–926
- 155 Lurain N S, Hanson B A, Martinson J, et al. Virological and immunological characteristics of human cytomegalovirus infection associated with Alzheimer disease. *J Infect Dis*, 2013, 208: 564–572
- 156 Katan M, Moon Y P, Paik M C, et al. Infectious burden and cognitive function The Northern Manhattan Study. *Neurology*, 2013, 80: 1209–1215
- 157 Strandberg T E, Pitkala K H, Linnauvori K H, et al. Impact of viral and bacterial burden on cognitive impairment in elderly persons with cardiovascular diseases. *Stroke*, 2003, 34: 2126–2131
- 158 Gerard H C, Dreses-Werringloer U, Wildt K S, et al. *Chlamydophila (Chlamydia) pneumoniae* in the Alzheimer's brain. *FEMS Immunol Med Microbiol*, 2006, 48: 355–366
- 159 Little C S, Hammond C J, MacIntyre A, et al. *Chlamydia pneumoniae* induces Alzheimer-like amyloid plaques in brains of BALB/c mice. *Neurobiol Aging*, 2004, 25: 419–429

- 160 Boelen E, Steinbusch H W, van der Ven A J, et al. *Chlamydia pneumoniae* infection of brain cells: an *in vitro* study. *Neurobiol Aging*, 2007, 28: 524–532
- 161 Balin B J, Hudson A P. Etiology and pathogenesis of late-onset Alzheimer's disease. *Curr allergy Asthma Rep*, 2014, 14: 417
- 162 Roubaud-Baudron C, Krolak-Salmon P, Quadrio I, et al. Impact of chronic *Helicobacter pylori* infection on Alzheimer's disease: preliminary results. *Neurobiol Aging*, 2012, 33: e11–e19
- 163 Kountouras J, Gavalas E, Zavos C, et al. Alzheimer's disease and *Helicobacter pylori* infection: defective immune regulation and apoptosis as proposed common links. *Med Hypotheses*, 2007, 68: 378–388
- 164 Ball M J. Limbic predilection in Alzheimer dementia: is reactivated herpesvirus involved. *Can J Neurol Sci*, 1982, 9: 303–306
- 165 Wozniak M A, Mee A P, Itzhaki R F. Herpes simplex virus type 1 DNA is located within Alzheimer's disease amyloid plaques. *J Pathol*, 2009, 217: 131–138
- 166 Wozniak M A, Frost A L, Itzhaki R F. Alzheimer's disease-specific tau phosphorylation is induced by herpes simplex virus type 1. *J Alzheimers Dis*, 2009, 16: 341–350
- 167 Lukiw W J, Cui J G, Yuan L Y, et al. Acyclovir or Abeta42 peptides attenuate HSV-1-induced miRNA-146a levels in human primary brain cells. *Neuroreport*, 2010, 21: 922–927
- 168 Widera M, Klein A N, Cinar Y, et al. The D-amino acid peptide D3 reduces amyloid fibril boosted HIV-1 infectivity. *AIDS Res Ther*, 2014, 11: 1
- 169 Poole S, Singhrao S K, Kesavulu L, et al. Determining the presence of periodontopathic virulence factors in short-term postmortem Alzheimer's disease brain tissue. *J Alzheimers Dis*, 2013, 36: 665–677
- 170 Chiu W C, Tsan Y T, Tsai S L, et al. Hepatitis C viral infection and the risk of dementia. *Eur J Neurol*, 2014, 21: 1068–e59
- 171 Alonso R, Pisa D, Marina A I, et al. Fungal infection in patients with Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*, 2014, 41: 301–311
- 172 Alonso R, Pisa D, Rabano A, et al. Alzheimer's disease and disseminated mycoses. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2014, 33: 1125–1132
- 173 Pisa D, Alonso R, Rabano A, et al. Different brain regions are infected with fungi in Alzheimer's Disease. *Sci Rep*, 2015, 5: 15015
- 174 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
- 175 Crogan N L, Evans B C. *Clostridium difficile*: an emerging epidemic in nursing homes. *Geriatric Nursing*, 2007, 28: 161–164
- 176 Sekirov I, Tam N M, Jogova M, et al. Antibiotic-induced perturbations of the intestinal microbiota alter host susceptibility to enteric infection. *Infect Immun*, 2008, 76: 4726–4736
- 177 Gomborone J E, Dewsnap P A, Libby G W, et al. Selective affective biasing in recognition memory in the irritable-bowel-syndrome. *Gut*, 1993, 34: 1230–1233
- 178 Castaneda A E, Tuulio-Henriksson A, Aronen E T, et al. Cognitive functioning and depressive symptoms in adolescents with inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol*, 2013, 19: 1611–1617
- 179 Tilg H, Moschen A R. Microbiota and diabetes: an evolving relationship. *Gut*, 2014, 63: 1513–1521
- 180 Crane P K, Walker R, Hubbard R A, et al. Glucose levels and risk of dementia. *N Engl J Med*, 2013, 369: 540–548
- 181 Vanhanen M, Kuusisto J, Koivisto K, et al. Type-2 diabetes and cognitive function in a non-demented population. *Acta Neurol Scand*, 1999, 100: 97–101
- 182 Davari S, Talaei S A, Alaei H, et al. Probiotics treatment improves diabetes-induced impairment of synaptic activity and cognitive function: behavioral and electrophysiological proofs for microbiome-gut-brain axis. *Neuroscience*, 2013, 240: 287–296
- 183 Benjamin J, Singla V, Arora I, et al. Intestinal permeability and complications in liver cirrhosis: a prospective cohort study. *Hepatol Res*, 2013, 43: 200–207
- 184 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
- 185 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
- 186 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
- 187 Bajaj J S, Heuman D M, Sanyal A J, et al. Modulation of the metabiome by rifaximin in patients with cirrhosis and minimal hepatic encephalopathy. *PLoS One*, 2013, 8: e60042
- 188 Holmqvist S, Chutna O, Bousset L, et al. Direct evidence of Parkinson pathology spread from the gastrointestinal tract to the brain in rats. *Acta Neuropathol*, 2014, 128: 805–820
- 189 Ley R E. The gene-microbe link. *Nature*, 2015, 518: S7