

下一代益生菌 Akk 菌的研究进展

贺凯茹¹, 乌日娜¹, 丁瑞雪¹, 纪帅奇¹, 朱永亮², 武俊瑞^{*1}

1 沈阳农业大学食品学院 辽宁省食品发酵技术工程研究中心 沈阳市微生物发酵技术创新重点实验室,
辽宁 沈阳 110866

2 苏州普瑞森基因科技有限公司, 江苏 苏州 215000

贺凯茹, 乌日娜, 丁瑞雪, 纪帅奇, 朱永亮, 武俊瑞. 下一代益生菌 Akk 菌的研究进展[J]. 微生物学通报, 2022, 49(6): 2308-2324

He Kairu, Wurina, Ding Ruixue, Ji Shuaiqi, Zhu Yongliang, Wu Junrui. Research progress of the next-generation probiotics *Akkermansia muciniphila*[J]. Microbiology China, 2022, 49(6): 2308-2324

摘 要: Akk 菌(*Akkermansia muciniphila*)是具有巨大发展潜力的下一代益生菌, 被广泛认为是改善炎症性肠病、肠易激综合征、糖尿病、肥胖症和渐冻症等疾病的一种新的潜在候选菌。近年来, 随着人们对肠道共生菌重视程度的加深和各种组学技术的发展, Akk 菌迅速成为益生菌研究领域的热点。然而, 目前国内外有关 Akk 菌最新研究进展的归纳总结仍较少。因此, 本文对近十年国内外有关 Akk 菌取得的最新研究进展进行综述, 从 Akk 菌对宿主健康的调控作用, Akk 菌的分离、鉴定和培养, 以及 Akk 菌研究面临的挑战、机遇和前景等几方面进行阐述, 以期国内外同行对 Akk 菌的进一步深入研究和开发提供参考。

关键词: Akk 菌; 下一代益生菌; 宿主健康; 疾病; 益生特性

基金项目: 辽宁省自然科学基金地区联合基金项目(2020-MZLH-34); 宁夏回族自治区重点研发计划农业农村领域项目(2022BBF03021); 沈阳市中青年科技创新领军人才项目(RC200495); 沈阳市科技创新平台项目(21-103-0-14, 21-104-0-28)

Supported by: Natural Science Foundation Regional Joint Fund of Liaoning Province (2020-MZLH-34); Agricultural and Rural Field Projects of the Ningxia Autonomous Region's Key Research and Development Program (2022BBF03021); Shenyang Plan for Young and Middle-aged Leading Scientists, Engineers, and Innovators (RC200495); Shenyang Science and Technology Innovation Platform Project (21-103-0-14, 21-104-0-28)

***Corresponding author:** E-mail: junruiwu@126.com

Received: 2021-10-01; **Accepted:** 2021-11-22; **Published online:** 2022-01-18

Research progress of the next-generation probiotics *Akkermansia muciniphila*

HE Kairu¹, Wurina¹, DING Ruixue¹, JI Shuaiqi¹, ZHU Yongliang², WU Junrui^{*1}

¹ Liaoning Provincial Engineering Research Center of Food Fermentation Technology, Shenyang Key Laboratory of Microbial Fermentation Technology Innovation, Food Science College, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110866, Liaoning, China

² Suzhou Precision Gene Technology Limited Company, Suzhou 215000, Jiangsu, China

Abstract: *Akkermansia muciniphila*, the next generation of probiotics with significant development potential, is widely considered to be a new candidate for alleviating diseases such as inflammatory bowel disease, irritable bowel syndrome, diabetes, obesity, and amyotrophic lateral sclerosis. With the increasing attention to intestinal bacteria and the advancement of omics technologies in recent years, *A. muciniphila* has rapidly become a hot spot in the research on probiotics. However, at present, the latest research progress of *A. muciniphila* remains to be summarized. Therefore, this paper summarizes the research achievements of *A. muciniphila* in the recent decade from the perspectives of the regulatory effect of *A. muciniphila* on host health, the isolation, identification, and culture of *A. muciniphila*, the challenges, opportunities, and prospects of research on *A. muciniphila*, aiming to provide reference for the further research and development of *A. muciniphila*.

Keywords: *Akkermansia muciniphila*; next-generation probiotics; host health; disease; probiotic properties

肠道中的嗜黏蛋白阿克曼菌(*Akkermansia muciniphila*, Akk)是一种定植于肠道黏液层的革兰氏阴性厌氧菌,作为益生菌中的“明星候选菌”,在益生菌研究领域中具有独一无二的地位^[1]。目前的研究发现, Akk 菌与多种疾病密切相关,与炎症性肠病^[2]、渐冻症^[3]、高血压^[4]和糖尿病^[5]等呈负相关性。因此,基于 Akk 菌或添加一定量 Akk 菌的益生菌产品有望成为治疗多种疾病的新途径。近年来,随着微生物结构和多样性解析技术的进步及宏基因组学的应用,人们对 Akk 菌的相关研究取得了重大进展。借助大规模基因组测序分析技术, Akk 菌发挥益生特性的机制已逐步揭示。作为下一代肠道益生菌, Akk 菌相关研究是近年来的一大热点。

1 Akk 菌概述

Akk 菌是宿主肠道丰富度最高的溶解型细

菌, 占总肠道细菌量的 0.5%–5.0%, 可以利用黏蛋白作为其唯一的碳、氮和能量来源, 进而为上皮细胞提供能量^[6]。 Akk 菌属于疣微菌门(*Verrucomicrobia*)阿克曼菌属(*Akkermansia*)^[1], 目前阿克曼菌属主要包括 Akk 菌和 *A. glycaniphila*^[7]两种(表 1)。 Akk 菌是疣微菌门第一个被成功分离鉴定出的肠道微生物^[10], 在 2004 年由荷兰瓦赫宁根大学研究者 Derrien 等^[8]从成人的粪便中分离纯化得到, 并以微生物学家 Antoon D. L. Akkermans 博士的名字命名为 *Akkermansia muciniphila*。 Akk 菌是一种革兰氏阴性、不运动、不形成孢子的椭圆形细菌, 其单细胞长轴约为 0.6–1.0 μm , 生物体多以单细胞或成对生长, 很少呈链状生长^[8]。在黏蛋白基础培养基上, Akk 菌可观察到白色菌膜, 菌落被丝状结构覆盖, 菌株直径约为 0.7 mm^[11], 其最适生长温度为 37 $^{\circ}\text{C}$, 最适生长 pH 值为 6.5^[8]。

表 1 阿克曼菌属物种的典型菌株

Table 1 Typical strains of *Akkermansia* species

菌株 Strains	来源 Source	碳源 Carbon source	GC 含量 GC content (mol%)	基因组大小 Genome size (Mb)	CRISPR	参考文献 References
<i>A. muciniphila</i> MucT	成人粪便 Human faeces	黏蛋白 Mucin	47.6	—	—	[8]
<i>A. muciniphila</i> ATCC BAA-835	—	—	55.8	2.66	2	[9]
<i>A. glycaniphila</i> Pyt T	网纹蟒蛇新鲜粪便 Fresh feces of reticulated python	黏蛋白、半乳糖 Mucin, Galactose	57.6	3.07	4	[7]

注：—：在文章中未进行描述

Note: —: Not described in the article.

Akk 菌主要定殖于肠道黏液层中^[1,12]，对肠屏障、黏液的产生和黏液层厚度发挥着重要作用。人肠道上皮细胞被黏膜层覆盖，其中富含黏蛋白。黏蛋白是由上皮杯状细胞分泌的大型糖蛋白，由具有多种碳水化合物链的蛋白质骨架组成；其存在的主要碳水化合物是 N-乙酰半乳糖胺、N-乙酰氨基葡萄糖、岩藻糖和半乳糖，并被 N-乙酰神经氨酸修饰；这些 O-聚糖通过 O-糖苷键与丝氨酸和苏氨酸残基相连^[13]。Akk 菌可以利用黏蛋白肽骨架中的 O-聚糖和氨基酸作为能量来源，防止肠道受到外来物质的侵害；Akk 菌可分解黏液，为其他肠道菌群提供营养，从而获得生态优势^[14]。由于黏液降解，Akk 菌具有产生乙酸盐和丙酸盐的能力^[15]，丙酸盐可以通过 Gpr43 受体向宿主发出信号，其他短链脂肪酸也可以通过 Gpr41 向宿主发出信号，刺激生物群相互作用和宿主反应。肠道中 Akk 菌丰度的降低可能影响肠道黏膜层厚度，导致肠道的屏障功能受损，使其更容易遭受病原菌和有毒物质的侵害，从而引发疾病。

2 Akk 菌对宿主健康的调控作用研究进展

研究发现，Akk 菌与宿主的健康、代谢和

免疫等有着密切的联系。借助动物模型和人体试验，研究者们发现 Akk 菌丰度变化与神经类疾病、高血压、糖尿病及肥胖等诸多疾病显著相关。Akk 菌对宿主健康的调控作用已被广泛认识，研究表明，其具有促进肠黏膜屏障修复、调节肠道菌群代谢、影响“肠-肝轴”和“脑-肠轴”等功能^[16]，说明 Akk 菌可能是一种潜在的可以改善宿主健康的下一代益生菌。

2.1 干预炎症性肠病

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是一种非特异性的慢性复发性疾病，其发病机理尚不完全明确^[17]，通常难以治愈。Akk 菌的益生特性在代谢疾病中已被广泛认可，但其在 IBD 中的治疗潜力引发了很多争议。

2013 年，Ganesh 等^[18]以鼠伤寒沙门氏菌感染的 SIHUMI 小鼠为模型，发现 Akk 菌可导致肠道微生物群的改变，引起小鼠盲肠组织的病理学评分显著升高，盲肠和结肠组织中促炎细胞因子 IFN- γ 、IP-10、TNF- α 、IL-12、IL-17 和 IL-6 的 mRNA 表达水平升高。Akk 菌可以降解黏蛋白，Ganesh 等的研究也揭示了 Akk 菌可以改变黏液层的厚度，促进病原体从肠腔转入宿主组织，从而加剧鼠伤寒沙门氏菌感染引起的炎症。同年，Kang 等^[19]通过让 C57BL/6 小鼠

口服葡聚糖硫酸钠(dextran sulfate sodium salt, DSS)建立 IBD 模型, 并第一个使用宏基因组分析评估肠道细菌来源的胞外小泡(extracellular vesicles, EV)在结肠炎发展中的作用; 研究表明, Akk 菌衍生的胞外小泡处理后的结肠炎小鼠体重减轻、结肠长度增加, 组织学显示结肠壁有较好的上皮稳定性和较少的炎症细胞浸润, 可见 Akk 菌的 EV 在 DSS 诱导的结肠炎的发展中具有保护作用。2020 年, Wang 等^[20]发现, IBD 小鼠粪便中 Akk 菌的数量显著减少, 口服灭活的 Akk 菌或 Amuc_1100 (一种特定的外膜蛋白)可有效改善结肠炎小鼠的肠道炎症, 减少巨噬细胞和 CD8⁺细胞毒性 T 淋巴细胞(cytotoxic T lymphocyte, CTL)的结肠浸润; 同时, 他们还发现, Akk 菌和 Amuc_1100 可以通过 CTL 的扩增和激活来抑制小鼠结肠炎相关肿瘤的发生, TNF- α 表达的增强和程序性死亡受体 1(programmed death-1, PD-1)这种重要的免疫抑制分子的下调就证实了这一点。炎症性肠病在过去 50 年中已经发展成为一种全球性疾病, 研究认为 Akk 菌可能是 IBD 发病过程中最关键的因素, 虽然研究结果相互矛盾, 但多项研究表明 Akk 菌正在成为一种新型的保护剂^[21]。

2.2 防治肠易激综合征

肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)是一种功能性肠病^[22], 常表现为腹痛、腹泻及便秘。目前, IBS 的生理和病理变化机制尚不明确, 研究表明其可能与肠道菌群失调等多种因素相关^[22]。

Gobert 等^[23]利用 DSS 诱导的动物结肠炎模型发现, 与健康个体相比, 便秘型肠易激综合征患者肠道中 Akk 菌的相对丰度增加, 经 Akk 菌处理的小鼠其促炎效应因子 IFN- γ 、IL-17、TNF- α 、IL-1 β 和 NOS2 的基因表达受到抑制, 揭示了 IBS 患者肠道微生物的抗炎作用在一定

程度上是由 Akk 菌介导的。徐孝平等^[22]对腹泻型 IBS 兔模型中的肠道菌群进行研究发现, 与正常对照相比, WHBE 兔 IBS 模型中 Akk 菌的数量显著减少, 打破了原有的肠道菌群平衡, 引起黏膜层变薄, 有害物质或病原体更易侵害肠道, 导致肠屏障功能受损, 此研究证明 Akk 菌可能是诱发 IBS 的关键菌之一。Alam 等^[24]的研究也表明, Akk 菌可以调节肠上皮细胞中的信号通路, 例如通过甲酰肽受体 1(formyl peptide receptor 1, FPR1)和依赖氧化还原介导的上皮增殖和迁移来促进黏膜伤口的恢复, 提高细胞外调节蛋白激酶(extracellular regulated protein kinases, ERK)磷酸化的水平, 这可能是 Akk 菌对抗肠道功能障碍作用的潜在机制。Akk 菌作为一种重要的共生细菌, 其抗炎特性近几年得到了广泛的研究, 人们认识到 Akk 菌可能在 IBS 的发病机制中发挥重要作用, 这为研究具有潜在治疗作用的 Akk 菌制剂提供了前景。

2.3 预防和治疗肥胖

越来越多的证据表明 Akk 菌是预防或治疗肥胖相关代谢紊乱的新候选者。早期的研究表明, 灌胃 Akk 菌可以预防小鼠肥胖症及其他并发症的发生, 逆转了由高脂饮食诱导的代谢紊乱^[25], Akk 菌治疗增加了脂肪细胞分化标记物和脂质氧化的 mRNA 表达; 同时研究发现, 给药 Akk 菌增加了回肠中大麻素的水平, 其具有控制炎症、肠道屏障和肠道肽的分泌等功能^[5](图 1)。Yang 等^[26]研究发现, 早年肥胖与神经发育障碍风险增加有关, 早期高脂饮食(high fat diet, HFD)会损害小鼠下丘脑依赖的学习和记忆, 影响神经发育和认知功能, 同时 Akk 菌的丰度显著降低; 用 Akk 菌治疗 HFD 小鼠可恢复肠道通透性, 恢复神经元发育和突触可塑性, 减少下丘脑小胶质细胞增生和炎症性细胞因子的表达, 从而改善学习缺陷和记忆; 研究

表明, Akk 菌可能带来一种有希望的策略,可以改善“肠-脑轴”,从而预防高脂饮食诱导的肥胖和相关的认知能力下降。Depommier 等^[27]发现,小鼠每天口服巴氏杀菌的 Akk 菌,可减轻由高脂饮食诱导的体重和脂肪量的增加,并降低食物的能量效率;同时,他们研究发现巴氏杀菌的 Akk 菌可以影响脂滴调节因子 perilipin2 相关蛋白的表达,增加粪便中的能量排泄并减少碳水化合物转运蛋白的表达,同时降低了血浆总胆固醇(图 1)。多项动物实验证明, Akk 菌独特的抗肥胖特性可使其作为潜在的肥胖判定指标。

截至目前, Akk 菌预防和治疗肥胖的作用机制已有部分被阐明。Akk 菌可以促进肠道内黏膜的更新,不仅有助于维持肠道屏

障,而且有助于提高粪便中的能量损失,减少代谢性内毒素的吸收^[28]。同时,给药 Akk 菌增加了内源性大麻素 2-花生四烯酸甘油(2-arachidonoylglycerol, 2-AG)的水平,改善了代谢紊乱,减轻了循环炎症细胞因子的水平及外周和脑部的炎症^[25]。上述结果表明, Akk 菌可能是参与肥胖相关疾病发展的关键因素,同时这些结果还为开发使用 Akk 菌以预防或治疗肥胖症提供了依据。

2.4 调节糖尿病

Akk 菌可调节糖尿病并缓解相关症状。Mithieux^[29]研究发现, I 型糖尿病小鼠中 Akk 菌数量较少, Akk 菌在 I 型糖尿病的发展中起到保护作用,其保护机制可能是通过增强肠道屏障刺激黏液的生成,从而使黏液层厚度增加;同

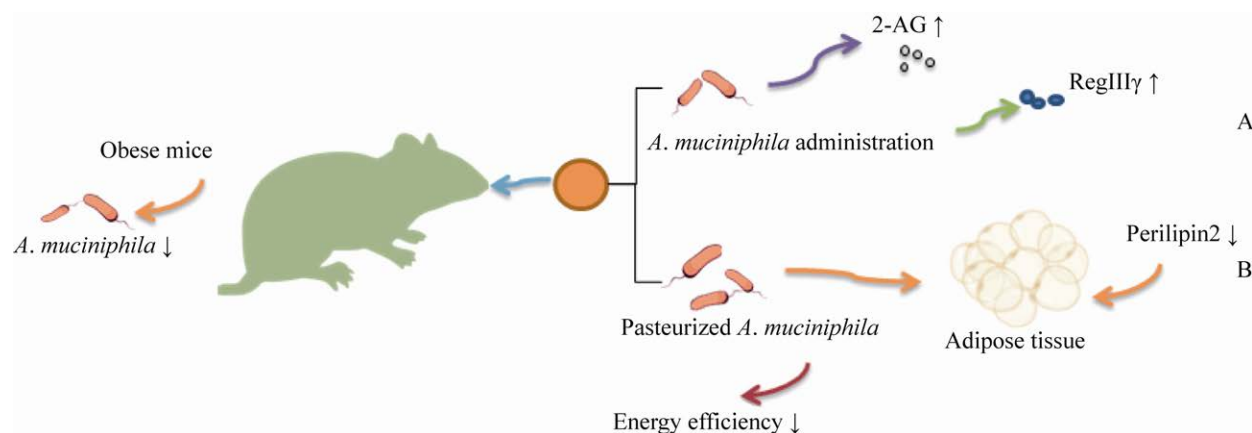


图 1 Akk 菌预防和治疗肥胖的作用机制 Akk 菌在患有肥胖症的小鼠体内丰度降低, Akk 菌治疗可改善肥胖小鼠的代谢紊乱。A: 灌胃 Akk 菌增加了内源性大麻素 2-花生四烯酸甘油(2-AG)的水平和抗菌肽 RegIII γ 的表达,减轻了代谢性内毒血症和全身炎症; B: 给予肥胖小鼠口服灭活的 Akk 菌,可缓解肥胖并降低食物的能量效率,同时巴氏杀菌的 Akk 菌可以使脂滴调节因子 perilipin2 相关蛋白的表达下调,降低食物的能量效率

Figure 1 The mechanism of *A. muciniphila* in preventing and treating obesity. *A. muciniphila* abundance is decreased in obese mice. *A. muciniphila* treatment can improve the metabolic disorder of obese mice. A: Agavage of *A. muciniphila* increases the level of endogenous cannabinoid 2-arachidonoylglycerol (2-AG) and the expression of antibacterial peptide RegIII γ , and reduces metabolic endotoxemia and systemic inflammation; B: Oral administration of inactivated *A. muciniphila* to obese mice can alleviate obesity and reduce the energy efficiency of food. Meanwhile, pasteurized *A. muciniphila* can down regulate the expression of lipid droplet factor perilipin2 related protein and reduce food energy efficiency.

时降低胰岛炎症, 促进胰岛中的 Foxp³⁺ Treg 细胞和胰腺淋巴结中白细胞介素 10 (interleukin 10, IL-10)和转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)的表达。Zhang 等^[30]让糖尿病大鼠口服 Akk 菌, 观察到肝糖原的水平降低, Akk 菌可以改善大鼠的肝功能, 增强对葡萄糖/脂毒性的抵抗能力; 同时, 研究发现, 糖尿病大鼠可以产生比正常大鼠更多的丙二醛, 口服 Akk 菌可以减少多余的丙二醛, 表明 Akk 菌有抵抗 II 型糖尿病氧化损伤的能力。Zhang 等^[31]最新发表的文章表明, 消瘦型 II 型糖尿病患者 Akk 菌的丰度显著降低, 补充 Akk 菌可以通过降低 β -鹅去氧胆酸(β -chenodeoxycholic acid, β -CDCA)的水平, 刺激胰岛素的分泌和增强成纤维细胞生长因子 15/19 (fibroblast growth factor 15/19, FGF15/19)表达, 以保护小鼠免受葡萄糖不耐受损伤。这些研究表明, Akk 菌的丰度与糖尿病密切相关, Akk 菌被认为是未来用于治疗糖尿病理想的新型益生菌之一。

2.5 防治自闭症

自闭症(autism spectrum disorder, ASD)又称自闭症谱系障碍, 是一种神经发育障碍。有证据表明自闭症和胃肠道微生物群的改变有关。Wang 等^[32]分析量化可能影响自闭症儿童健康的胃肠道细菌, 观察到 ASD 儿童相较于健康儿童, 粪便中的双歧杆菌和 Akk 菌的数量显著降低; ASD 儿童黏液层屏障比健康儿童更薄, 表明 ASD 患者可能通过破坏黏液层屏障及增加肠道的通透性促进疾病的发展。Newell 等^[33]利用 ASD 动物模型, 发现生酮饮食会触发小鼠肠道微生物的重塑, 导致 ASD 小鼠 Akk 菌水平正常化, 生酮已被证实可以改善 ASD 患者的核心症状。Zou 等^[34]利用 16S rRNA 基因测序技术评估 ASD 儿童和健康儿童粪便微生物群的变化, 从物种水平上, ASD 儿童肠道

微生物群中 Akk 菌和脆弱拟杆菌的数量减少; 另外, 基于 ASD 菌群预测特定功能的变化, 与对照相比, ASD 儿童生酮氨基酸代谢(包括赖氨酸降解、色氨酸代谢等)降低, ASD 儿童肠道微生物群唯一富集的功能模块是细胞抗原, 这可能与 ASD 患者的免疫功能障碍有关。Goo 等^[35]利用体内 Akk 菌含量较少的 Fmr1 KO 小鼠, 探索粪菌移植(fecal microbiota transplantation, FMT)与自闭症行为的关系; 发现 FMT 削弱了小鼠的自闭症行为, 如智力迟钝和社交障碍等, FMT 的作用可能与 Akk 菌的增多和 TNF- α 水平的降低有关。越来越多的证据表明, 肠道微生物群和自闭症的关系越来越清楚。这些证据提出了新的可能性, 即自闭症可以通过肠道微生物群进行诊断甚至治疗。

2.6 延缓渐冻症发展

渐冻症, 即肌萎缩侧索硬化症(amyotrophic lateral sclerosis, ALS)^[3], 是一种神经退行性疾病。ALS 鉴别诊断比较复杂, 其确切的发病机制至今尚未完全阐明。Akk 菌可能在渐冻症的发病机制中发挥重要作用。2019 年, Blacher 等^[3]以易感 ALS 的 SOD1-Tg 小鼠为模型, 运用 16S rRNA 基因测序技术评估肠道菌群及血清代谢物的潜在作用; 随着疾病的发展, Akk 菌的丰度逐渐降低; 补充 Akk 菌可能通过增加烟酰胺的生物合成缓解疾病的发展。Gotkine 等^[36]的研究也证明, Akk 菌可能通过代谢性肠-脑相互作用参与各种神经系统疾病, Akk 菌可以产生烟酰胺, 烟酰胺这一代谢物又可通过血流到达中枢神经系统, 影响运动神经元的易感性, 因此, 全身给药烟酰胺可以改善小鼠的运动功能和基因表达模式, 并显著延长了小鼠的寿命。目前的研究表明, Akk 菌等肠道微生物与神经退行性疾病存在明显的关系, 然而对 ALS 等神经系统疾病的研究比较匮乏, 因此后续仍需进

行大量的科研工作。

2.7 对其他疾病的作用

Akk 菌在其他疾病的发生、发展和调控中也发挥着重要作用。阑尾炎是一种由多因素引发的阑尾炎性病变,有研究表明 Akk 菌的相对丰度与阑尾的病变程度呈显著负相关^[37]。Akk 菌在克罗恩病病人和盲肠炎患者^[2]中定殖较少;在结肠直肠癌患者中,Akk 菌的定殖数量增加了约 4 倍^[38];补充 Akk 菌可抑制小鼠的结肠肿瘤发生^[39],Akk 菌的定殖特性对肿瘤的形成也具有一定的参考意义^[39],Akk 菌在宿主肠道健康中发挥积极作用^[40]。高脂高胆固醇(high fat/high cholesterol, HFHC)饮食可诱导非酒精性脂肪性肝炎,Akk 菌治疗可逆转 HFHC 饮食诱导的大鼠认知功能障碍,使大脑代谢活性恢复正常^[41],微生物群和认知通过“肠-脑轴”紧密相连,Akk 菌在中枢神经系统中发挥着重要作用。同时,Rao 等^[42]发现 Akk 菌还可以通过调节 L-天冬氨酸在“肠-肝轴”的代谢,改善代谢功能障碍相关的脂肪肝;Akk 菌治疗能有效增加“肠-肝轴”中的胆汁酸代谢和脂质氧化,促进肝脏中的胆固醇转运,保持肠道屏障的完整性,重塑肠道微生物群的组成;同时代谢组学显示这些改善作用伴随着从肠道转运的肝脏中 L-天冬氨酸水平的增加而发生。

Akk 菌与宿主健康及代谢紊乱具有相关性,Akk 菌对宿主健康的调控作用已被广泛认知(图 2),成为近年来益生菌领域的研究热点。作为下一代益生菌,特别是在炎症性肠病、结肠直肠癌、糖尿病及肥胖等相关疾病的评定和治疗方面,Akk 菌潜力巨大,可成为相关疾病早期诊断或者治疗的潜在靶点或工具。

3 Akk 菌分离、鉴定和培养研究进展

近年来,宏基因组学和高通量等新型测序

技术极大地丰富了微生物的检测手段,组学和培养方法的整合有望帮助人们深入了解肠道菌群的结构和功能,但为了探索微生物在体外环境中的生理特性,有必要分离纯菌株^[11]。Akk 菌作为一种常见的肠道厌氧菌,距离 2004 年^[8]首次成功分离已有十余年。然而只有非常有限的菌株被成功培养,部分原因是它们对氧气的敏感性和微小的菌落形态。这对全面理解 Akk 菌的基因组、生物学特征和分子作用机制构成了障碍,只有建立快速、准确的分离纯化和鉴定方法,才能更好地进行体外和临床试验。

2004 年,Derrien 等^[8]利用高纯黏蛋白成功分离且证明了一种新的疣微菌门革兰氏阴性菌——Akk 菌的存在。2012 年,Hansen 等^[43]用万古霉素治疗糖尿病小鼠,发现小鼠体内 Akk 菌增加,表明添加万古霉素有利于 Akk 菌的分离和筛选。2015 年,Caputo 等^[44]采用含有万古霉素或亚胺培南的选择性培养基对 Akk 菌进行培养,基因组测序发现培养液中疣微菌门数量较多,并且该研究得到了第一份从人类粪便样本中完全测序的细菌报告。然而 Caputo 参考 Derrien 的方法未从粪便样本中成功分离出 Akk 菌^[44]。表明 Akk 菌的生长环境、培养条件等都可能对菌株产生影响,因此,选择优异的分离纯化方法可以大大提高成功率。

自 2004 年成功分离出 Akk 菌以来,以黏蛋白为基础的培养基一直用于分离培养,但 Akk 菌与黏蛋白平衡之间的潜在机制尚未完全阐明。Shin 等^[45]探索黏蛋白对 Akk 菌基因表达和益生特性的影响,转录组分析显示,大多数编码黏蛋白降解酶的基因在黏蛋白存在的情况下显著上调;相比之下,在黏蛋白耗尽的情况下,大多数参与糖酵解和能量代谢途径的基因(包括编码 ATP 合酶、琥珀酸脱氢酶和 NADH 脱氢酶的基因)表达上调,同时黏蛋白的缺失能

诱导编码 Amuc_1100 基因的表达。该结果表明 Akk 菌的有益作用可能取决于相应环境的黏蛋白含量。同样地, Liu 等^[46]借助转录组学和代谢组学相结合的方法探究 Akk 菌对 BHI 培养基中添加黏蛋白的反应及其潜在机制, 研究发现 Akk 菌对能量代谢、氨基糖和核苷酸糖代谢及半乳糖代谢途径有强烈的反应, 以适应培养基中高浓度的黏蛋白。黏蛋白的添加对 Akk 菌的生长有显著影响, BHI 培养基中添加黏蛋白可以促进 Akk 菌细胞的生长, 同时黏蛋白的加入量越高, 不同表达基因的数量越多, 黏蛋白可以上调编码糖苷酶水解酶基因的表达^[46]。Liu 等^[46]的研究表明黏蛋白是 Akk 菌碳水化合物和氨基酸的很好来源, 可以通过改变对碳水化合物和氨基酸的影响来改变其代谢特征。黏蛋白含量在 Akk 菌代谢中发挥着重要作用, Akk 菌在黏蛋白培养基上生长状况良好^[8]。此后, 我国的科研人员利用黏蛋白培养基进行选择性地富集, 优化筛选过程和条件。翟齐啸等^[47]配制了 Akk 菌特异性筛选培养基, 可使 Akk 菌的阳性率高达 70%。张怡轩等^[48]发明了一种高密度培养 Akk 菌的方法, 通过对人源性黏蛋白中氨基酸及其糖链组成进行模拟, 进而替代天然黏蛋白为 Akk 菌提供氮源, 其氮源不含潜在过敏源, 适于 Akk 菌的工业化生产。

作为疣微菌门唯一能被培养的微生物, Akk 菌有多种鉴定方法, 包括 16S rRNA 基因测序、PCR 鉴定和免疫学方法等^[49]。由于其 16S rRNA 基因序列易于检测, 在宏基因组学分析中常发现该菌的存在。2011 年, 第一个 Akk 菌株 ATCC BAA-835^[9]的基因组序列和功能基因信息被报道, ATCC BAA-835 的完整基因组由一个 2.66 Mb 的环状染色体组成。同时, 蛋白质组学研究发现, Akk 菌中存在许多

基因编码黏蛋白降解酶, 如糖苷酶和硫酸酯酶等^[50], Akk 菌发挥其代谢特性主要归因于黏蛋白降解酶, 黏蛋白降解释放聚糖以促进黏蛋白降解细菌的生长, 并影响其他肠道微生物^[46]。2015 年, Caputo 等^[44]采用一种全新的基因组测序方法, 直接从人粪便中采集 Akk 菌, 并将其与获得的宏基因组数据进行组装, 共鉴定出 2 237 个基因。2017 年, Guo 等^[51]采用全基因组鸟枪法测序从人类和小鼠粪便样品中分离了 39 种新的 Akk 菌株, 通过宏基因组测序、组装和注释, 鉴定出 5 644 个独特的蛋白质; 在物种水平上, 39 株 Akk 菌被确定为 3 个主要的系统群 AmI、AmII 和 AmIII, 这些系统群构成独立进化的离散细菌种群, 分别显示出高全基因组核苷酸多样性和不同的代谢和功能特征。2019 年, Xing 等^[52]对 *Akkermansia* 的 23 个菌株全基因组序列进行比较研究的结果表明, 23 个菌株在系统发育树中形成 4 个进化支, Akk 菌的泛基因组处于开放状态, Akk 菌的进化相对保守。2020 年, Kirmiz 等^[53]通过泛基因组分析, 确定了 Akk 菌的 4 个系统群(AmI–AmIV), 具有不同的功能潜力; 同时, 他们在 AmII 和 AmIII 系统群中鉴定出一组完整的基因, 这些基因可用于钴胺素的生物合成。2021 年, Becken 等^[54]从人粪便中分离出 71 株 Akk 菌, 基于对这些菌株的基因组和表型分析, 发现不同 Akk 菌分离株有不同的表型。在微生物研究领域, 基因组学对全面了解微生物信息具有显著推动作用, Akk 菌的基因组学相关研究如表 2 所示。

4 Akk 菌研究面临的挑战

作为新发现的热点菌, 阿克曼菌属因其基因组信息的缺乏而被科研人员所忽视^[11]。Akk

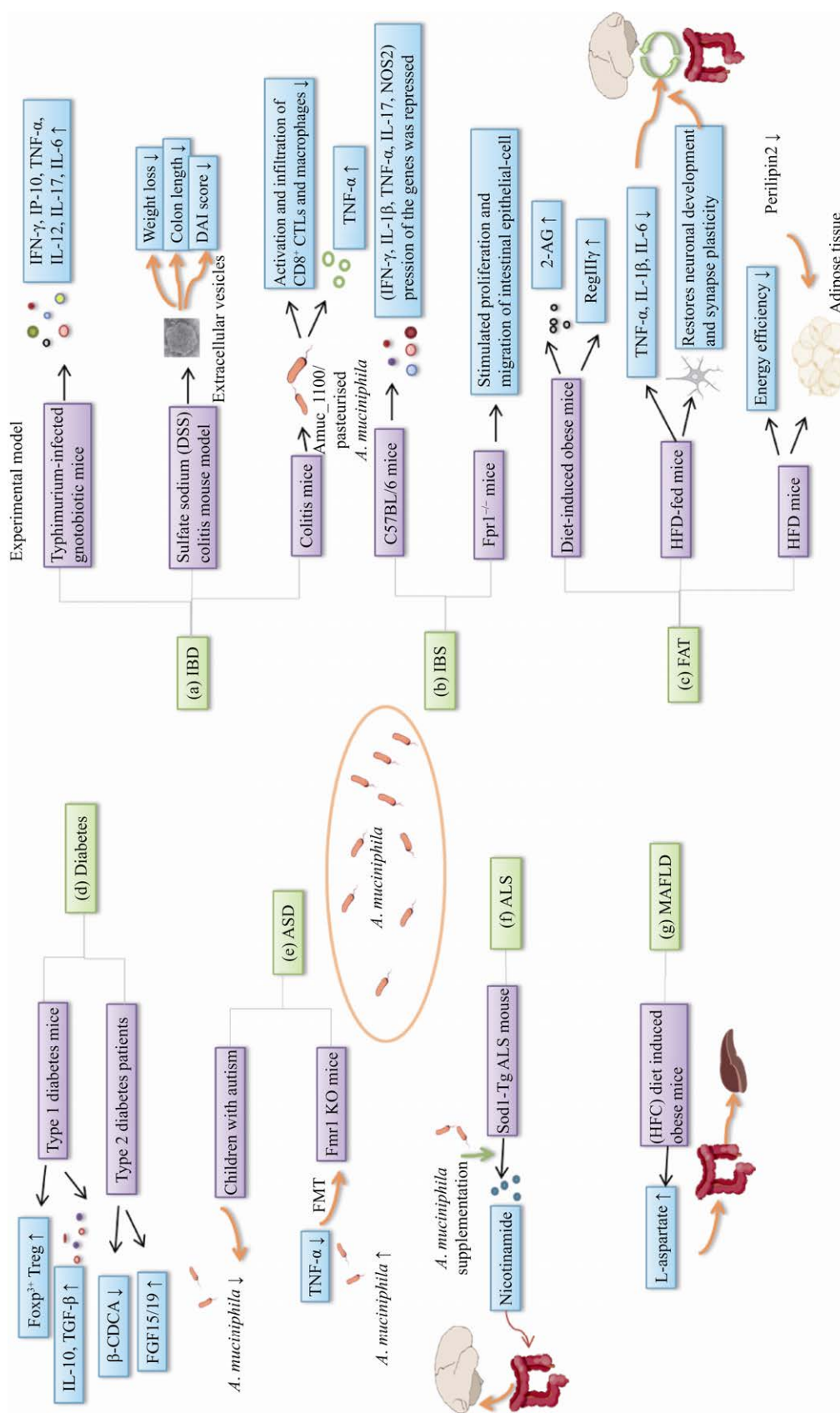


图 2 Akk 菌对宿主健康的调控作用研究 (a) 干预炎症性肠病: 以鼠伤寒沙门氏菌感染的小鼠为模型, 发现 Akk 菌可以使促炎细胞因子 IFN- γ 、IP-10、TNF- α 、IL-12、IL-17 和 IL-6 的 mRNA 表达水平升高; 以 DSS 诱导的结肠炎小鼠为模型, Akk 菌衍生的胞外小泡处理后的结肠炎小鼠体重减轻, 结肠长度增加, DAI 评分降低; 口服灭活的 Akk 菌或 Amuc_1100, 减轻巨噬细胞和 CD8⁺ 细胞毒性 T 淋巴细胞(CTL)的结肠浸润, 同时 TNF- α 表达增强。(b) Akk 菌可防治肠易激综合征: 经 Akk 菌处理的结肠炎小鼠其促炎效应因子 IFN- γ 、IL-17、TNF- α 、IL-1 β 和 NOS2 的基因表达受到抑制; Akk 菌可以调节肠上皮细胞中的信号通路, 促进上皮增殖和迁移来促进黏膜损伤的修复, 从而对抗肠道功能障碍。(c) Akk 菌预防和肥胖: 用 Akk 菌治疗 HFD 小鼠, 可恢复肠道通透性, 恢复神经元发育和突触可塑性, Akk 菌可以改善肠-脑轴, 从而预防高脂饮食诱导的肥胖; 给予肥胖小鼠口服灭活的 Akk 菌, 可以使脂滴调节因子 perilipin2 相关蛋白的表达下调, 降低食物的能量效率。(d) Akk 菌可调节糖尿病, 并缓解相关症状: Akk 菌在 I 型糖尿病的发展中起到保护作用, 可以促进 Foxp³⁺ Treg 细胞和 IL-10、TGF- β 的表达; II 型糖尿病患者体内 Akk 菌的丰度降低, Akk 菌可以通过降低 β -CDCA 的水平, 增强 FGF15/19 表达, 保护小鼠免受葡萄糖不耐受损伤。(e) 防治自闭症: ASD 儿童相较于健康儿童其粪便中 Akk 菌的数量显著降低; FMT 削弱了小鼠的自闭症行为, FMT 的作用可能与 Akk 菌的增多和 TNF- α 水平的降低有关。(f) 延缓渐冻症发展: 以易感 ALS 的 SOD1-Tg 小鼠为模型, 发现补充 Akk 菌可能通过增加烟酰胺的生物合成缓解疾病的发展, Akk 菌可能通过代谢性肠-脑相互作用参与神经系统疾病。(g) 改善代谢功能障碍相关脂肪肝: Akk 菌还可以通过调节 L-天冬氨酸在肠-肝轴的代谢, 改善代谢功能障碍相关的脂肪肝

Figure 2 Study on the regulation of *A. muciniphila* on host health. (a) Intervention in inflammatory bowel disease: Using *Typhimurium*-infected gnotobiotic mice as models, *A. muciniphila* was found to increase the mRNA expression levels of pro-inflammatory cytokines IFN- γ , IP-10, TNF- α , IL-12, IL-17 and IL-6; Using DSS induced colitis mice as models, extracellular vesicles treated with colitis mice lost weight, increased colon length, and decreased DAI scores. Oral inactivation of *A. muciniphila* or Amuc_1100 reduced activation and infiltration of CD8⁺ CTLs and macrophages, while TNF- α expression was enhanced. (b) *A. muciniphila* can prevent irritable bowel syndrome: *A. muciniphila* treated colitis mice inhibited the expression of pro-inflammatory cytokines IFN- γ , IL-17, TNF- α , IL-1 β and NOS2; *A. muciniphila* can regulate the signal pathway in intestinal epithelial cells, stimulated proliferation and migration of intestinal epithelial-cell to promote the repair of mucosal damage, so as to fight intestinal dysfunction. (c) *A. muciniphila* can prevent and treat obesity: Treatment of HFD mice with *A. muciniphila* can restore intestinal permeability, neuronal development and synaptic plasticity, and *A. muciniphila* can improve the enteric-brain axis, thus preventing obesity induced by fat high diet; Oral administration of inactivated *A. muciniphila* in obese mice down-regulated the expression of lipid-droplet regulator perilipin2-related protein and reduced the energy efficiency of food. (d) *A. muciniphila* can regulate diabetes and relieve related symptoms: *A. muciniphila* plays a protective role in the development of type I diabetes, promoting the expression of Foxp³⁺ Treg cells, IL-10 and TGF- β ; The abundance of *A. muciniphila* in patients with type 2 diabetes decreased, and *A. muciniphila* can enhance FGF15/19 expression and protect mice from glucose intolerance by decreasing the level of β -CDCA. (e) Prevention and treatment of autism: the number of *A. muciniphila* in faeces of children with ASD is significantly lower than that of normal children; FMT attenuated autistic behavior in mice, and the effect of FMT may be related to the increase of *A. muciniphila* and the decrease of TNF- α levels. (f) Delay the progression of ALS: Taking SOD1-TG ALS mice as models, it was found that *A. muciniphila* supplementation may alleviate the progression of the disease by increasing nicotinamide biosynthesis, and *A. muciniphila* may be involved in neurological diseases through metabolic gut-brain interaction. (g) Improvement of metabolic dysfunction-associated fatty liver disease: *A. muciniphila* can also improve metabolic dysfunction-related fatty liver by regulating L-aspartate metabolism on the enteric-liver axis.

表 2 Akk 菌的基因组学研究(近十年)

Table 2 Genomic studies of *Akkermansia muciniphila* (recent 10 years)

时间 Time	样本来源 Sample source	基因组 Genome	基因组大小 Genome size (Mb)	GC (mol%)	系统群 System group	参考文献 References
2011.3	—	<i>A. muciniphila</i> ATCC BAA-835	2.66	55.8	—	[9]
2015.2	人粪便 Human feces	<i>A. muciniphila</i> Urmite	—	—	—	[44]
2017.10	人和小鼠的粪便 Human and mouse feces	39 个 <i>A. muciniphila</i> 新分离株 39 new isolates of <i>A. muciniphila</i>	2.65–3.20	—	AmI, AmII, AmIII	[51]
2019.11	—	NCBI 中的 23 株 <i>Akkermansia</i> 菌株 23 strains of <i>Akkermansia</i> in NCBI	2.43–3.11	55.0–58.1	—	[52]
2020.1	—	75 个 <i>Akkermansia</i> 基因组 75 <i>Akkermansia</i> genomes	—	—	AmI, AmII, AmIII, AmIV	[53]
2021.5	儿童粪便 Children's feces	71 个 <i>A. muciniphila</i> 菌株 71 <i>A. muciniphila</i> strains	2.60–3.30	—	AmI, AmII, AmIII, AmIV	[54]

注：—：在文章中未进行描述

Note: —: Not described in the article.

菌能很好地利用胃肠道黏液素，与宿主的健康水平有着千丝万缕的联系，其有望成为许多疾病的治疗靶点，但多方面因素限制了该菌的研究和应用。

4.1 分离鉴定困难、培养条件的限制

Akk 菌被分为 4 个系统群，但目前的研究仍集中在 MucTl 上，其是 AmI 的典型菌株。Akk 菌是一种厌氧菌，因其对氧较为敏感，所以难以分离培养。Akk 菌对氧气的敏感性及生长培养条件限制了人们的研究，这需要科研工作者们进一步深度挖掘和探索。

随着厌氧设施的完善(如厌氧培养箱的大规模使用)和各种选择性分离培养方法的改进，并不断对 Akk 菌进行诱变和选育，相信 Akk 菌会逐渐被驯化，实现工业化生产。

4.2 功能作用机制尚不完全清楚

目前，关于 Akk 菌的研究主要集中在解释其与疾病的联系上，其与宿主相互作用的机理尚不完全清楚。肠道微生物发挥作用时会产生一些代谢产物，不同代谢产物共同介导信号的发生。作为下一代益生菌，只有正确认识到

Akk 菌与肠道屏障和免疫代谢的关系，才能更加精准地给予益生菌对宿主健康进行调控。

近年来，随着微生物组学和前沿分子生物学的发展，给 Akk 菌等肠道益生菌带来了很大的发展空间。通过建立定菌动物模型、借助多组学联用的分析技术以及注释方法的不断完善，人们对 Akk 菌与宿主健康关系的相关研究逐渐深入，相信随着科技的不断进步，Akk 菌与宿主相互作用的分子机制会逐步被揭晓。

4.3 临床基础数据支撑不足

Akk 菌的直接干预主要采用动物模型，人体内的安全性、可行性及耐受性还缺乏更多的研究数据支撑。2019 年 7 月，Depommier 等^[55]给予超重/肥胖的人类志愿者补充 Akk 菌，这也是 Akk 菌补充剂的首次人体实验，这项实验证实了每天口服 10^{10} 细胞剂量的 Akk 活菌对人体是安全的。初步的数据表明，人在短期内口服 Akk 菌未产生不良反应，但其长期效果及是否产生毒副作用等需要在更多的人体临床试验中进一步验证。与此同时，人和鼠等动物模型发挥肠道益生作用是有差别的，因此，将鼠等

的试验结果转移到人身上应尤为注意。

4.4 剂量依赖性

研究表明, 必须有充足数量的 Akk 菌才能发挥其益生特性。研究人员发现, 小鼠补充低剂量的活 Akk 菌(4.0×10^6 CFU)并不能改善由高脂饮食引起的葡萄糖耐量受损^[56], 这一结果说明 Akk 的益生特性和剂量具有一定的相关性。Akk 菌使用剂量的相关研究目前仍较少, 科研人员仍需要对 Akk 菌进行安全性和有效性评价, 探索 Akk 菌与剂量反应的关系。

4.5 潜在的致病性

有一些刊物报道了高丰度 Akk 菌与疾病的关联, 相悖的研究结论显示了 Akk 菌可能存在潜在的致病性。Chassaing 等^[57]观察到 Akk 菌增加了 IL10^{-/-}小鼠的肠道通透性, 导致黏液保护功能的受损、细菌粘附性和炎症性微生物群的增加。Seregin 等^[58]发现, 反复灌胃 Akk 菌可导致 SPF IL10^{-/-}小鼠结肠炎严重程度的增加。Akk 菌作为一种肠道共生菌, 本身无致病性, 但其是否会与其他细菌协同作用而导致疾病的发生, 以及如何保障其在临床应用中不会产生毒害作用也是需要关注的焦点。科研工作者可以借助 Akk 菌与宿主作用的分子机制, 探索其是否会产生毒性代谢产物而引起炎症或者免疫反应, 或者通过基因组学、代谢组学等多组学的研究探讨是否存在某些毒力因子。

越来越多的研究表明, Akk 菌在宿主健康的调控和疾病的防治等方面表现出很高的发展潜力。然而研究发现, 部分 Akk 菌研究报告结果相互矛盾, 盲目使用 Akk 菌制剂可能带来潜在危害。同时, 新型活菌药物正面临着尴尬、模糊的局面, 其生产和发售仍需大量的基础数据和临床试验, 获批适应症有限、循证严重不足等也限制了 Akk 菌的发展。

5 机遇与前景

随着科研工作的深入和人民健康意识的提升, Akk 菌逐渐被人们所认知。目前, 多个生物制药公司和科研机构在 Akk 菌研究上投入巨大, 作为极具关注的下一代益生菌, Akk 菌具有广阔的发展前景。以添加 Akk 菌为代表的活菌药品是当前研究应用的热点。2020 年 6 月, Pendulum Therapeutics 公司推出了首款含有 Akk 菌的食品——Pendulum Glucose Control (PGC), 该产品经过临床试验证明了其安全性^[59]。该产品打破了 Akk 菌“零应用”的瓶颈, 并于 2021 年完成了 5 400 万美元的 C 轮融资, 表明 Akk 菌具有巨大的市场需求和发展空间。

利用食物或补剂增加肠道内 Akk 菌的数量从而发挥其益生特性, 也是当前研究应用的焦点^[12]。Anhê 等^[60]发现蔓越莓提取物能逆转高脂肪-高蔗糖饮食诱导的胰岛素抵抗和肝脏脂肪变性, 这些发现与改善肠道-肝脏内稳态和肠道中 Akk 菌的丰度增加有关^[61], 强调肠-肝轴是蔓越莓提取物的主要靶点。口服益生元或合生元, 间接促进 Akk 菌的丰度, 可用于治疗某些疾病。干酪乳杆菌 SY13 和乳果糖对小鼠肠道中的 Akk 菌促进效果显著^[62]。高脂饮食可降低小鼠粪便中 Akk 菌的丰度, 补充一定量的益生元(低聚果糖)可恢复其数量, 逆转代谢性内毒素血症和相关疾病^[25]。在未来通过服用补剂、益生元或合生元等, 增加 Akk 菌的数量进而调控宿主健康潜力巨大。

目前人们在积极寻找下一代益生菌的候选者, 主要包括来自拟杆菌属、粪杆菌属和阿克曼氏菌属的菌株^[63]。随着宏基因组等组学工具、大数据和人工智能等算法及系统生物学研究体系的发展, Akk 菌的重要性得以展现。广泛存在的 Akk 菌深刻影响着宿主免疫、代谢和

疾病, Akk 菌因其独特的益生特性有望成为替代双歧杆菌或乳酸菌的新的肠道益生菌。乳酸菌是至今研究和开发最成熟的肠道微生物, 我们团队对其进行了深入的研究, 借助东北传统发酵食品, 筛选了大量的乳酸菌^[64], 建立了自己的菌库。借助分离得到的菌株, 我们对植物乳杆菌 FS5-5^[65]和植物乳杆菌 WW^[66]进行了探索, 发现植物乳杆菌 WW 大豆提取物能改善高脂饮食诱导的脂质代谢功能障碍。同时, 李宏睿等通过对营养肥胖型大鼠肠道进行微生物多样性分析, 发现大鼠结肠中的优势菌属为 *Akkermansia* 等^[67]; 我们借助翟齐啸等^[47]的方法正积极地对大鼠结肠中的 Akk 菌进行分离培养。同时, 随着高通量测序技术的应用、分离鉴定技术的优化和厌氧培养设备的完善, Akk 菌相关研究更系统化和规模化, 其在临床上的应用也越来越广泛。随着科研数据的增加和市场的不断扩大, Akk 菌与宿主健康的作用机制也逐渐清楚, Akk 菌具有广阔的前景, 研究者们应努力使其早日进入市场应用中, 为人类健康助力。

6 结论

Akk 菌与渐冻症、糖尿病、自闭症和炎症性疾病的发生密切相关, 该菌已经成为科研工作者近年来的研究热点, 在益生菌研究领域占有一席之地。与此同时, 随着宏基因组学的发展和生物学研究的不断深入, 在未来的研究中, 更多的 Akk 菌相关疾病会逐渐被发现, Akk 菌在宿主健康与疾病中的分子作用机制也会逐渐清楚^[68]。随着人们对 Akk 菌研究的深入及其菌制剂或相关益生菌产品的出现, 相信会为宿主健康的防护提供新的方向和选择进而造福人类。

REFERENCES

- [1] 宾蕾, 邓仲良, 毕玉晶, 杨瑞馥. 嗜黏蛋白阿克曼菌: 一种潜在的益生菌[J]. 生物技术通讯, 2019, 30(5): 674-682
Bin L, Deng ZL, Bi YJ, Yang RF. A potential probiotic: *Akkermansia muciniphila*[J]. Letters in Biotechnology, 2019, 30(5): 674-682 (in Chinese)
- [2] Png CW, Lindén SK, Gilshenan KS, Zoetendal EG, McSweeney CS, Sly LI, McGuckin MA, Florin THJ. Mucolytic bacteria with increased prevalence in IBD mucosa augment *in vitro* utilization of mucin by other bacteria[J]. The American Journal of Gastroenterology, 2010, 105(11): 2420-2428
- [3] Blacher E, Bashiardes S, Shapiro H, Rothschild D, Mor U, Dori-Bachash M, Kleimeyer C, Moresi C, Harnik Y, Zur M, et al. Potential roles of gut microbiome and metabolites in modulating ALS in mice[J]. Nature, 2019, 572(7770): 474-480
- [4] Li J, Zhao FQ, Wang YD, Chen JR, Tao J, Tian G, Wu SL, Liu WB, Cui QH, Geng B, et al. Gut microbiota dysbiosis contributes to the development of hypertension[J]. Microbiome, 2017, 5(1): 14
- [5] 伍非凡. *Akkermansia muciniphila* 亚型改善高脂饮食诱导的小鼠代谢紊乱及神经退行性变[D]. 广州: 南方医科大学硕士学位论文, 2017
Wu FF. An *Akkermansia muciniphila* subtype improves high-fat diet induced metabolic disorder and neurodegenerative processes in mice[D]. Guangzhou: Master's Thesis of Southern Medical University, 2017 (in Chinese)
- [6] Arumugam M, Raes J, Pelletier E, Le Paslier D, Yamada T, Mende DR, Fernandes GR, Tap J, Bruls T, Batto JM, et al. Enterotypes of the human gut microbiome[J]. Nature, 2011, 473(7346): 174-180
- [7] Ouwerkerk JP, Aalvink S, Belzer C, De Vos WM. *Akkermansia glycaniphila* sp. nov., an anaerobic mucin-degrading bacterium isolated from reticulated python faeces[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2016, 66(11): 4614-4620
- [8] Derrien M, Vaughan EE, Plugge CM, De Vos WM. *Akkermansia muciniphila* gen. nov., sp. nov., a human intestinal mucin-degrading bacterium[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2004, 54(Pt 5): 1469-1476
- [9] Van Passel MWJ, Kant R, Zoetendal EG, Plugge CM, Derrien M, Malfatti SA, Chain PSG, Woyke T, Palva A,

- De Vos WM, et al. The genome of *Akkermansia muciniphila*, a dedicated intestinal mucin degrader, and its use in exploring intestinal metagenomes[J]. PLoS One, 2011, 6(3): e16876
- [10] Derrien M, Belzer C, De Vos WM. *Akkermansia muciniphila* and its role in regulating host functions[J]. Microbial Pathogenesis, 2017, 106: 171-181
- [11] 王磊, 姚泓, 彭永正, 李嘉雯, 吴希阳. *Akkermansia muciniphila* 的分离培养及其在不同人群的定植比较研究进展[J]. 食品科学, 2018, 39(11): 327-333
- Wang L, Yao H, Peng YZ, Li JW, Wu XY. Isolation and cultivation of *Akkermansia muciniphila* and comparison of its colonization in different populations: a review[J]. Food Science, 2018, 39(11): 327-333 (in Chinese)
- [12] 韩伟, 王超, 李晓敏, 张晓琳. 肠道中 *Akkermansia muciniphila* 数量影响因素的研究进展[J]. 中国微生物学杂志, 2019, 31(3): 356-359, 364
- Han W, Wang C, Li XM, Zhang XL. The factors influencing the quantity of *Akkermansia muciniphila* in the intestines: research progress[J]. Chinese Journal of Microecology, 2019, 31(3): 356-359, 364 (in Chinese)
- [13] Ottman N, Davids M, Suarez-Diez M, Boeren S, Schaap PJ, Martins Dos Santos V, Smidt H, Belzer C, De Vos WM. Genome-scale model and omics analysis of metabolic capacities of *Akkermansia muciniphila* reveal a preferential mucin-degrading lifestyle[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2017, 83(18): e01014-e01017
- [14] 欧子豪. *Akkermansia muciniphila* 对阿尔茨海默病模型小鼠的保护作用[D]. 广州: 南方医科大学硕士学位论文, 2018
- Ou ZH. Protective Effects of *Akkermansia muciniphila* in Mice Models with Alzheimer's Disease[D]. Guangzhou: Master's Thesis of Southern Medical University, 2018 (in Chinese)
- [15] Belzer C, De Vos WM. Microbes inside—from diversity to function: the case of *Akkermansia*[J]. The ISME Journal, 2012, 6(8): 1449-1458
- [16] 张树辉, 邵繁, 段正兰, 丁洋, 陈拓, 周锦勇, 施国平, 陈玉根. 中药促进 Akk 菌功能发挥的研究进展[J]. 中医药信息, 2020, 37(6): 118-123
- Zhang SH, Bu F, Duan ZL, Ding Y, Chen T, Zhou JY, Shi GP, Chen YG. Research progress of Chinese herbs in promoting function exertion of Akk bacterium[J]. Information on Traditional Chinese Medicine, 2020, 37(6): 118-123 (in Chinese)
- [17] MacFarlane GT, Blackett KL, Nakayama T, Steed H, MacFarlane S. The gut microbiota in inflammatory bowel disease[J]. Current Pharmaceutical Design, 2009, 15(13): 1528-1536
- [18] Ganesh BP, Klopffleisch R, Loh G, Blaut M. Commensal *Akkermansia muciniphila* exacerbates gut inflammation in *Salmonella* Typhimurium-infected gnotobiotic mice[J]. PLoS One, 2013, 8(9): e74963
- [19] Kang CS, Ban M, Choi EJ, Moon HG, Jeon JS, Kim DK, Park SK, Jeon SG, Roh TY, Myung SJ, et al. Extracellular vesicles derived from gut microbiota, especially *Akkermansia muciniphila*, protect the progression of dextran sulfate sodium-induced colitis[J]. PLoS One, 2013, 8(10): e76520
- [20] Wang LJ, Tang L, Feng YM, Zhao SY, Han M, Zhang C, Yuan GH, Zhu J, Cao SY, Wu Q, et al. A purified membrane protein from *Akkermansia muciniphila* or the pasteurised bacterium blunts colitis associated tumorigenesis by modulation of CD8⁺ T cells in mice[J]. Gut, 2020, 69(11): 1988-1997
- [21] Zhang T, Ji X, Lu G, Zhang F. The potential of *Akkermansia muciniphila* in inflammatory bowel disease. Applied microbiology and biotechnology, 2021, 105(14-15): 5785-5794
- [22] 徐孝平, 徐剑钦, 黄俊杰, 刘军平, 陈方明, 蔡兆伟, 蔡月琴, 潘永明. WHBE 兔与日本大耳白兔腹泻型肠易激综合征模型的肠道菌群研究[J]. 中国实验动物学报, 2018, 26(2): 165-173
- Xu XP, Xu JQ, Huang JJ, Liu JP, Chen FM, Cai ZW, Cai YQ, Pan YM. Characterization of intestinal microflora in WHBE rabbit and Japanese white rabbit models of diarrhea-predominant irritable bowel syndrome[J]. Acta Laboratorium Animalis Scientia Sinica, 2018, 26(2): 165-173 (in Chinese)
- [23] Gobert AP, Sagrestani G, Delmas E, Wilson KT, Verriere TG, Dapoigny M, Del'homme C, Bernalier-Donadille A. The human intestinal microbiota of constipated-predominant irritable bowel syndrome patients exhibits anti-inflammatory properties[J]. Scientific Reports, 2016, 6: 39399
- [24] Alam A, Leoni G, Quiros M, Wu H, Desai C, Nishio H, Jones RM, Nusrat A, Neish AS. The microenvironment of injured murine gut elicits a local pro-restitutive microbiota[J]. Nature Microbiology, 2016, 1: 15021
- [25] Everard A, Belzer C, Geurts L, Ouwerkerk JP, Druart C, Bindels LB, Guiot Y, Derrien M, Muccioli GG, Delzenne NM, et al. Cross-talk between *Akkermansia muciniphila* and intestinal epithelium controls diet-induced obesity[J]. PNAS, 2013, 110(22): 14922-14927

- 9066-9071
- [26] Yang YJ, Zhong ZQ, Wang BJ, Xia XW, Yao WY, Huang L, Wang YL, Ding WJ. Early-life high-fat diet-induced obesity programs hippocampal development and cognitive functions via regulation of gut commensal *Akkermansia muciniphila*[J]. Neuropsychopharmacology, 2019, 44(12): 2054-2064
- [27] Depommier C, Van Hul M, Everard A, Delzenne NM, De Vos WM, Cani PD. Pasteurized *Akkermansia muciniphila* increases whole-body energy expenditure and fecal energy excretion in diet-induced obese mice[J]. Gut Microbes, 2020, 11(5): 1231-1245
- [28] 沈男, 刘毅, 盖中涛. 嗜黏蛋白阿克曼氏菌及其在肥胖机制中的研究进展[J]. 基础医学与临床, 2018, 38(10): 1475-1479
- Shen N, Liu Y, Gai ZT. Research progress of *Akkermansia muciniphila* and its mechanism in obesity[J]. Basic & Clinical Medicine, 2018, 38(10): 1475-1479 (in Chinese)
- [29] Mithieux G. Does *Akkermansia muciniphila* play a role in type 1 diabetes?[J]. Gut, 2018, 67(8): 1373-1374
- [30] Zhang L, Qin QQ, Liu MN, Zhang XL, He F, Wang GQ. *Akkermansia muciniphila* can reduce the damage of gluco/lipotoxicity, oxidative stress and inflammation, and normalize intestine microbiota in streptozotocin-induced diabetic rats[J]. Pathogens and Disease, 2018, 76(4): fty028
- [31] Zhang J, Ni YQ, Qian LL, Fang QC, Zheng TT, Zhang ML, Gao QM, Zhang Y, Ni JC, Hou XH, et al. Decreased abundance of *Akkermansia muciniphila* leads to the impairment of insulin secretion and glucose homeostasis in lean type 2 diabetes[J]. Advanced Science: Weinheim, Baden-Wurttemberg, Germany, 2021, 8(16): e2100536
- [32] Wang L, Christophersen CT, Sorich MJ, Gerber JP, Angley MT, Conlon MA. Low relative abundances of the mucolytic bacterium *Akkermansia muciniphila* and *Bifidobacterium* spp. in feces of children with autism[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2011, 77(18): 6718-6721
- [33] Newell C, Bomhof MR, Reimer RA, Hittel DS, Rho JM, Shearer J. Ketogenic diet modifies the gut microbiota in a murine model of autism spectrum disorder[J]. Molecular Autism, 2016, 7(1): 37
- [34] Zou R, Xu FF, Wang YZ, Duan MM, Guo M, Zhang Q, Zhao HY, Zheng HJ. Changes in the gut microbiota of children with autism spectrum disorder[J]. Autism Research, 2020, 13(9): 1614-1625
- [35] Goo N, Bae HJ, Park K, Kim J, Jeong Y, Cai MD, Cho K, Jung SY, Kim DH, Ryu JH. The effect of fecal microbiota transplantation on autistic-like behaviors in Fmr1 KO mice[J]. Life Sciences, 2020, 262: 118497
- [36] Gotkine M, Kviatkovsky D, Elinav E. Amyotrophic lateral sclerosis and intestinal microbiota — toward establishing cause and effect[J]. Gut Microbes, 2020, 11(6): 1833-1841
- [37] Swidsinski A, Dörffel Y, Loening-Baucke V, Theissig F, Rückert JC, Ismail M, Rau WA, Gaschler D, Weizenegger M, Kühn S, et al. Acute appendicitis is characterised by local invasion with *Fusobacterium nucleatum/necrophorum*[J]. Gut, 2011, 60(1): 34-40
- [38] Weir TL, Manter DK, Sheflin AM, Barnett BA, Heuberger AL, Ryan EP. Stool microbiome and metabolome differences between colorectal cancer patients and healthy adults[J]. PLoS One, 2013, 8(8): e70803
- [39] Fan LN, Xu CC, Ge QW, Lin YF, Wong CC, Qi YD, Ye B, Lian QW, Zhuo W, Si JM, et al. *A. muciniphila* suppresses colorectal tumorigenesis by inducing TLR2/NLRP3-mediated M1-like TAMs[J]. Cancer Immunology Research, 2021, 9(10): 1111-1124
- [40] Zhai QX, Feng SS, Arjan N, Chen W. A next generation probiotic, *Akkermansia muciniphila*[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2019, 59(19): 3227-3236
- [41] Higarza SG, Arbolea S, Arias JL, Gueimonde M, Arias N. *Akkermansia muciniphila* and environmental enrichment reverse cognitive impairment associated with high-fat high-cholesterol consumption in rats[J]. Gut Microbes, 2021, 13(1): 1880240
- [42] Rao Y, Kuang ZQ, Li C, Guo SY, Xu YH, Zhao DD, Hu YT, Song BB, Jiang Z, Ge ZH, et al. Gut *Akkermansia muciniphila* ameliorates metabolic dysfunction-associated fatty liver disease by regulating the metabolism of L-aspartate via gut-liver axis[J]. Gut Microbes, 2021, 13(1): 1927633
- [43] Hansen CHF, Krych L, Nielsen DS, Vogensen FK, Hansen LH, Sørensen SJ, Buschard K, Hansen AK. Early life treatment with vancomycin propagates *Akkermansia muciniphila* and reduces diabetes incidence in the NOD mouse[J]. Diabetologia, 2012, 55(8): 2285-2294
- [44] Caputo A, Dubourg G, Croce O, Gupta S, Robert C, Papazian L, Rolain JM, Raoult D. Whole-genome assembly of *Akkermansia muciniphila* sequenced directly from human stool[J]. Biology Direct, 2015, 10: 5

- [45] Shin J, Noh JR, Chang DH, Kim YH, Kim MH, Lee ES, Cho S, Ku BJ, Rhee MS, Kim BC, et al. Elucidation of *Akkermansia muciniphila* probiotic traits driven by mucin depletion[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10: 1137
- [46] Liu XY, Zhao F, Liu H, Xie YT, Zhao D, Li CB. Transcriptomics and metabolomics reveal the adaption of *Akkermansia muciniphila* to high mucin by regulating energy homeostasis[J]. *Scientific Reports*, 2021, 11: 9073
- [47] 翟齐嘯, 陈卫, 冯赛赛, 田丰伟, 陆文伟, 赵建新, 张灏. 一种阿克曼氏菌特异性筛选培养基及其制备方法和应用: CN109355349B[P]. 2021-03-26
Zhai QX, Chen W, Feng SS, Tian FW, Lu WW, Zhao JX, Zhang H. Specific screening medium for *Akkermansia muciniphila* and preparation method and application thereof: CN109355349B[P]. 2021-03-26 (in Chinese)
- [48] 张怡轩, 李野. 一种高密度培养阿克曼嗜黏蛋白菌的方法: CN110079474A[P]. 2019-08-02
Zhang YX, Li Y. Method for high-density culture of *Akkermansia muciniphila*: CN110079474A[P]. 2019-08-02 (in Chinese).
- [49] 宾蕾. RTCA 检测肠道微生物细胞毒性研究及 Akk 细菌 Amuc-1100 抗体制备[D]. 衡阳: 南华大学硕士学位论文, 2020
Bin L. Detection of cytotoxicity of gut microbiota by RTCA and preparation of Amuc-1100 antibody[D]. Hengyang: Master's Thesis of University of South China, 2020 (in Chinese)
- [50] 赵凡, 李春保. 肠道菌 *Akkermansia muciniphila* 的特性及其与机体健康的关系[J]. *微生物学通报*, 2017, 44(6): 1458-1463
Zhao F, Li CB. Characteristics of intestinal bacterium *Akkermansia muciniphila* and the association with host health[J]. *Microbiology China*, 2017, 44(6): 1458-1463 (in Chinese)
- [51] Guo XF, Li SH, Zhang JC, Wu FF, Li XC, Wu D, Zhang M, Ou ZH, Jie ZY, Yan QL, et al. Genome sequencing of 39 *Akkermansia muciniphila* isolates reveals its population structure, genomic and functional diversity, and global distribution in mammalian gut microbiotas[J]. *BMC Genomics*, 2017, 18(1): 800
- [52] Xing JY, Li XB, Sun YJ, Zhao JJ, Miao SH, Xiong Q, Zhang YG, Zhang GS. Comparative genomic and functional analysis of *Akkermansia muciniphila* and closely related species[J]. *Genes & Genomics*, 2019, 41(11): 1253-1264
- [53] Kirmiz N, Galindo K, Cross KL, Luna E, Rhoades N, Podar M, Flores GE. Comparative genomics guides elucidation of vitamin B₁₂ biosynthesis in novel human-associated *Akkermansia* strains[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2020, 86(3): e02117-e02119
- [54] Becken B, Davey L, Middleton DR, Mueller KD, Sharma A, Holmes ZC, Dallow E, Remick B, Barton GM, David LA, et al. Genotypic and phenotypic diversity among human isolates of *Akkermansia muciniphila*[J]. *mBio*, 2021, 12(3): e00478-e00421
- [55] Depommier C, Everard A, Druart C, Plovier H, Van Hul M, Vieira-Silva S, Falony G, Raes J, Maiter D, Delzenne NM, et al. Supplementation with *Akkermansia muciniphila* in overweight and obese human volunteers: a proof-of-concept exploratory study[J]. *Nature Medicine*, 2019, 25(7): 1096-1103
- [56] Shin NR, Lee JC, Lee HY, Kim MS, Whon TW, Lee MS, Bae JW. An increase in the *Akkermansia* spp. population induced by metformin treatment improves glucose homeostasis in diet-induced obese mice[J]. *Gut*, 2014, 63(5): 727-735
- [57] Chassaing B, Koren O, Goodrich JK, Poole AC, Srinivasan S, Ley RE, Gewirtz AT. Dietary emulsifiers impact the mouse gut microbiota promoting colitis and metabolic syndrome[J]. *Nature*, 2015, 519(7541): 92-96
- [58] Seregin SS, Golovchenko N, Schaf B, Chen JC, Pudlo NA, Mitchell J, Baxter NT, Zhao LL, Schloss PD, Martens EC, et al. NLRP6 protects IL10^{-/-} mice from colitis by limiting colonization of *Akkermansia muciniphila*[J]. *Cell Reports*, 2017, 19(4): 733-745
- [59] Perraudeau F, McMurdie P, Bullard J, Cheng A, Cutcliffe C, Deo A, Eid J, Gines J, Iyer M, Justice N, et al. Improvements to postprandial glucose control in subjects with type 2 diabetes: a multicenter, double blind, randomized placebo-controlled trial of a novel probiotic formulation[J]. *BMJ Open Diabetes Research & Care*, 2020, 8(1): e001319
- [60] Anhê FF, Nachbar RT, Varin TV, Vilela V, Dudonné S, Pilon G, Fournier M, Lecours MA, Desjardins Y, Roy D, et al. A polyphenol-rich cranberry extract reverses insulin resistance and hepatic steatosis independently of body weight loss[J]. *Molecular Metabolism*, 2017, 6(12): 1563-1573
- [61] Anhê FF, Roy D, Pilon G, Dudonné S, Matamoros S, Varin TV, Garofalo C, Moine Q, Desjardins Y, Levy E, et al. A polyphenol-rich cranberry extract protects from diet-induced obesity, insulin resistance and intestinal

- inflammation in association with increased *Akkermansia* spp. population in the gut microbiota of mice[J]. Gut, 2015, 64(6): 872-883
- [62] 提盼盼, 汪建明, 逢晓阳, 吕加平. 干酪乳杆菌 SY13 及其合生元对小鼠肠道中 *Akkermansia muciniphila* 丰度的影响[J]. 食品工业科技, 2018, 39(10): 308-314
- Ti PP, Wang JM, Pang XY, Lyu JP. Effects of *Lactobacillus casei* SY13 and its symbiotic on the abundance of *Akkermansia muciniphila* in mice intestine tract[J]. Science and Technology of Food Industry, 2018, 39(10): 308-314 (in Chinese)
- [63] Saarela MH. Safety aspects of next generation probiotics[J]. Current Opinion in Food Science, 2019, 30: 8-13
- [64] Meng LS, Zhang Y, Liu YM, Tao DB, Yue XQ, Cao XY, Wu RN, Wu JR. Diversity and screening of lactic acid bacteria in la-baica made by Korean-Chinese in northeastern China[J]. Food Biotechnology, 2017, 31(3): 193-209
- [65] Wu RN, Song XF, Liu QY, Ma DR, Xu F, Wang QQ, Tang XY, Wu JR. Gene expression of *Lactobacillus plantarum* FS₅-5 in response to salt stress[J]. Annals of Microbiology, 2016, 66(3): 1181-1188
- [66] Cao CX, Wu RN, Zhu XY, Li Y, Li M, An FY, Wu JR. Ameliorative effect of *Lactobacillus plantarum* WW-fermented soy extract on rat fatty liver via the PPAR signaling pathway[J]. Journal of Functional Foods, 2019, 60: 103439
- [67] 李宏睿, 张德琴, 金晓蕾, 唐晓, 王大文, 高雪, 辛鹏飞, 何进程, 麻富斌, 周彩云, 等. 营养性肥胖大鼠模型肠道菌群的微生物多样性分析[J]. 中国比较医学杂志, 2020, 30(11): 1-9
- Li HR, Zhang DQ, Jin XL, Tang X, Wang DW, Gao X, Xin PF, He JC, Ma FB, Zhou CY, et al. Analysis of intestinal microbiota diversity in nutritional obesity rats[J]. Chinese Journal of Comparative Medicine, 2020, 30(11): 1-9 (in Chinese)
- [68] Cani PD, De Vos WM. Next-generation beneficial microbes: the case of *Akkermansia muciniphila*[J]. Frontiers in Microbiology, 2017, 8: 1765