

读书报告



胡文攀

2018/8/4

The Host Shapes the Gut Microbiota via Fecal MicroRNA

Shirong Liu,¹ Andre Pires da Cunha,¹ Rafael M. Rezende,¹ Ron Cialic,¹ Zhiyun Wei,¹ Lynn Bry,² Laurie E. Comstock,³ Roopali Gandhi,¹ and Howard L. Weiner^{1,*}

¹Department of Neurology, Ann Romney Center for Neurologic Diseases, Brigham and Women's Hospital, Harvard Medical School, Boston, MA 02115, USA

²Department of Pathology, Brigham and Women's Hospital, Harvard Medical School, Boston, MA 02115, USA

³Division of Infectious Diseases, Department of Medicine, Brigham and Women's Hospital, Harvard Medical School, Boston, MA 02115, USA

*Correspondence: hweiner@rics.bwh.harvard.edu

<http://dx.doi.org/10.1016/j.chom.2015.12.005>

IF=17.87

前言

MicroRNAs (miRNAs)是长度为19-23nt的单链非编码RNA，在细胞核中合成，通过转录后调控作用抑制相应靶基因的翻译，来参与细胞发生、分化、发育、凋亡等多个生物学过程。

由于肠道菌群在宿主代谢和免疫以及疾病中起着重要作用，了解宿主调节微生物群落的机制，并找出控制微生物群落的方法尤为重要。此外，越来越多的证据表明**miRNAs**存在于体外，并在体液中循环。而正常的肠道中是否存在功能性**miRNA**是未知的。因此，**我们鉴定肠腔内的miRNAs，并证明它们在调节肠道微生物过程的作用，探究宿主调节微生物群落的机制。**

粪便中存在**miRNA**吗？

粪便中**miRNA**的来源？

粪便中**miRNA**会影响肠道微生物吗？

粪便中**miRNA**是直接作用于肠道微生物的吗？是否具有特异性？

粪便中**miRNA**是直接进入细菌调控宿主基因转录的吗？



鉴别人类与小鼠粪便样品的 **miRNA?**

结果

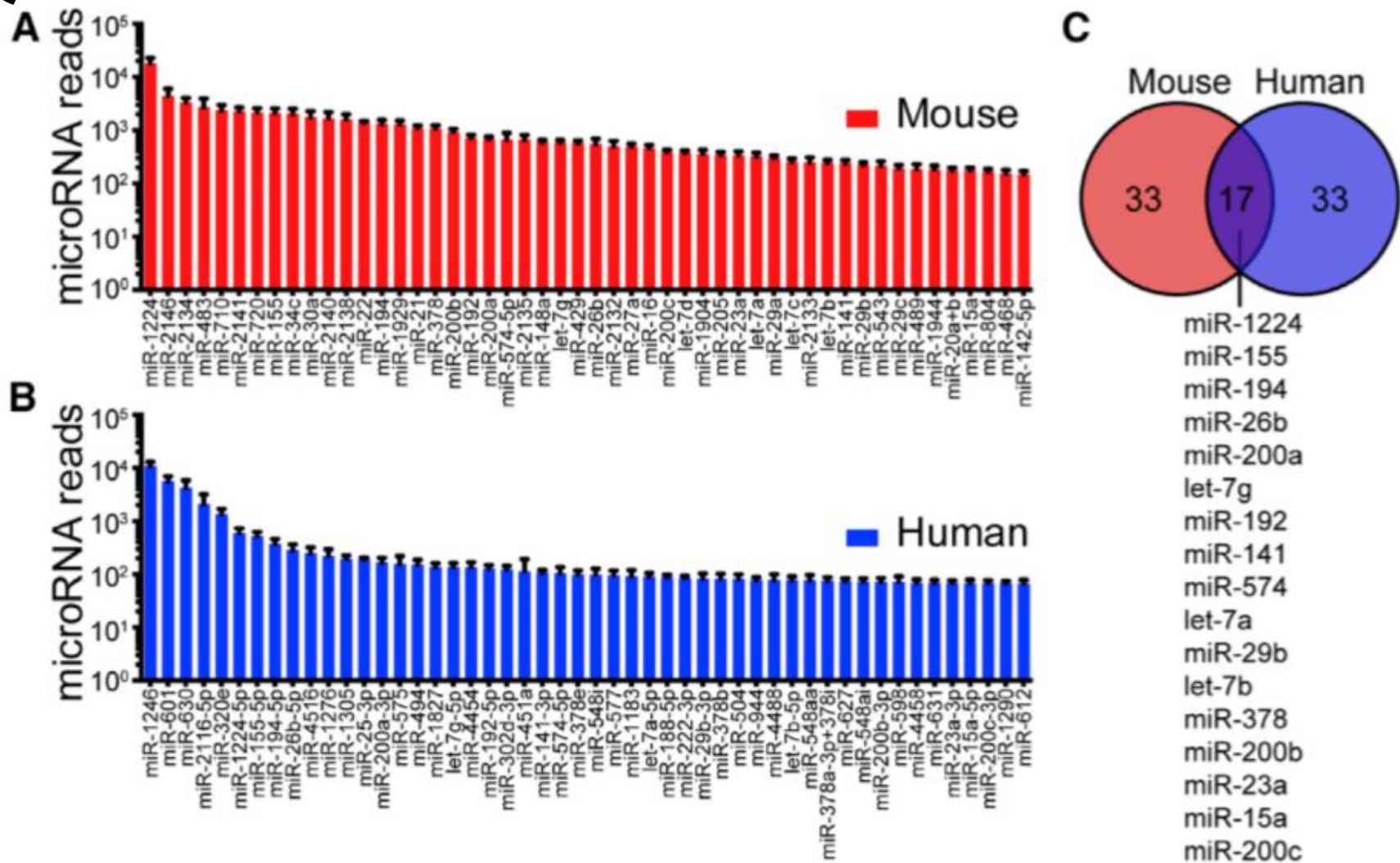


Figure 1. Identification of miRNA in Feces and Intestinal Luminal

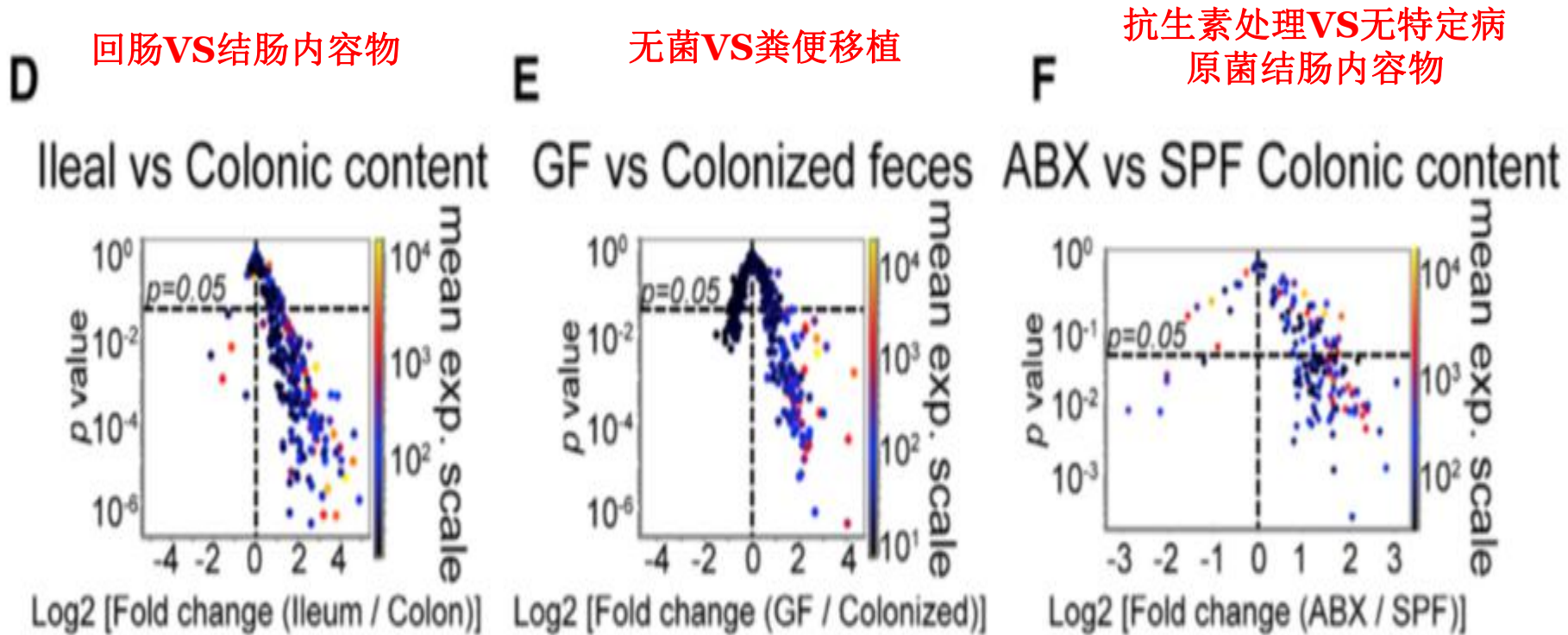


Figure 1. Identification of miRNA in Feces and Intestinal Luminal

Fig.1小结:

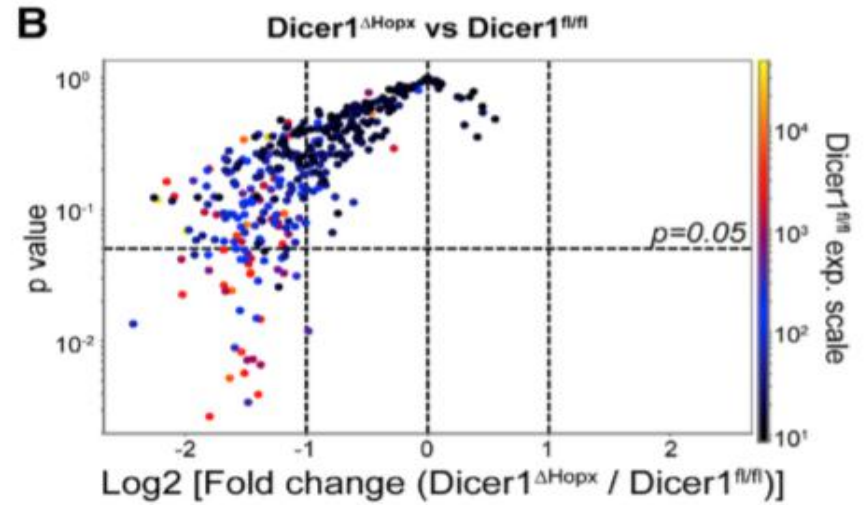
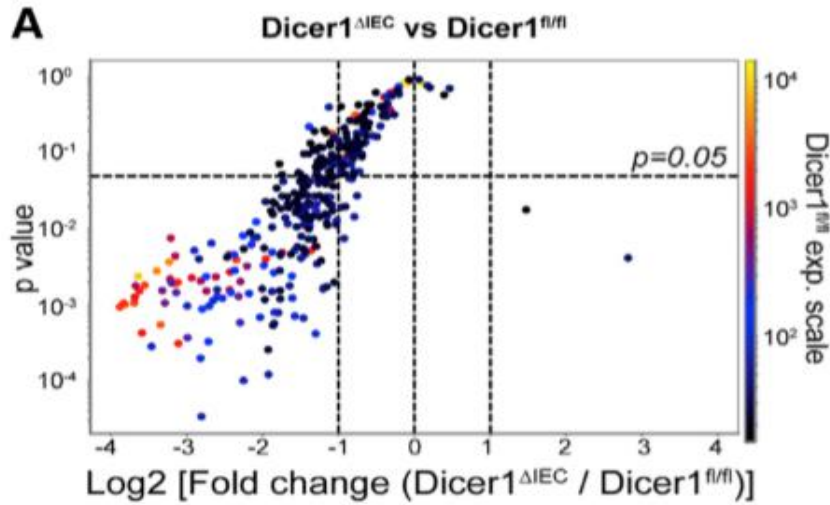
- 人和鼠类粪便中都有大量miRNA的存在。
- miRNA在肠腔的不同部位丰度不同，回肠丰度高。
- 移除肠中微生物可使肠中miRNA的数量增加，即微生物的存在会影响miRNA。

粪便中miRNA来源于哪儿，肠上皮细胞？**Hopx**阳性细胞？

Hopx⁺ cell: **Hopx**基因表达的细胞，如潘氏细胞、杯状细胞等。

肠上皮细胞miRNA缺陷表达小鼠
VS野生型小鼠（即WT小鼠）

Hopx细胞miRNA缺陷表达小鼠VS
野生型小鼠（即WT小鼠）



DSS结肠炎诱导VS未经处理
小鼠

淋巴T、B细胞Rag1基因敲除小鼠
VS B6小鼠

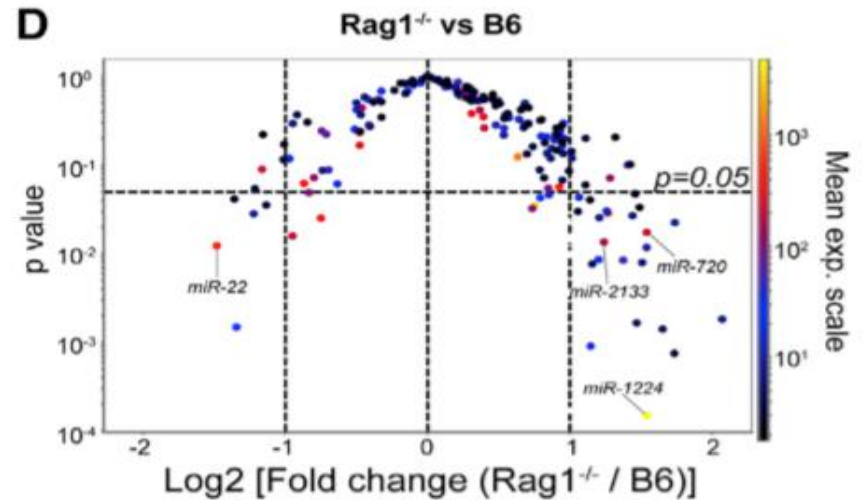
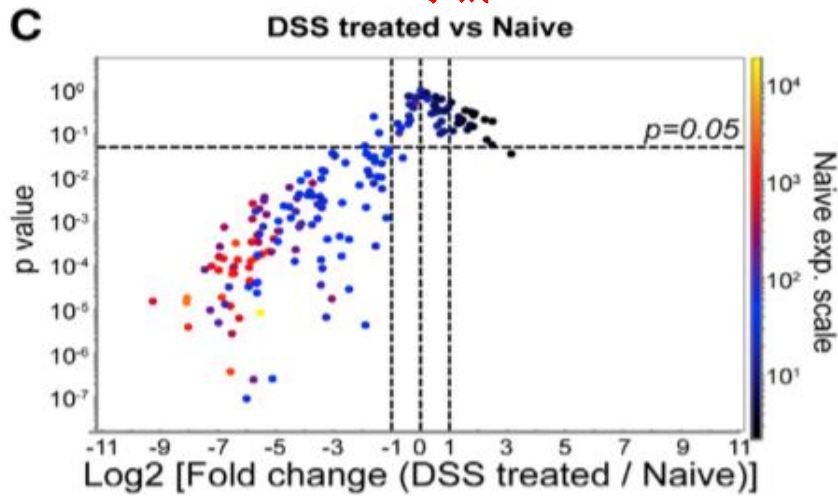


Figure 2. Intestinal Epithelial Cells and Hopx-Expressing Cells are Two Predominant Fecal miRNA Sources

Fig.2小结:

- 肠上皮细胞和Hox阳性细胞是粪便miRNA的两个主要来源。



粪便**miRNA**会影响肠道中微生物吗？

UniFrac距离及(un)Weighted UniFrac分析

UniFrac距离是用于比较生物群落的距离度量，利用各样品间序列的进化信息来比较样品在特定的进化谱系中是否有显著的**微生物群落差异**。

UniFrac包括weighted UniFrac（加权UniFrac，定量）和unweighted UniFrac（未加权，定性），广泛用于微生物生态学研究，包括基于UniFrac的 β 多样性分析、基于UniFrac的主坐标分析(PCoA)和基于UniFrac的多样品相似度树分析。

UniFrac：差异通过0-1距离值表示。若两个群落完全相同，那么它们没有各自独立的进化过程，UniFrac值为0；若两个群落在进化树中完全分开，即它们是完全独立的两个进化过程，那么UniFrac值为1。

PCoA 分析：直观显示不同样品中微生物进化上的相似性及差异性。

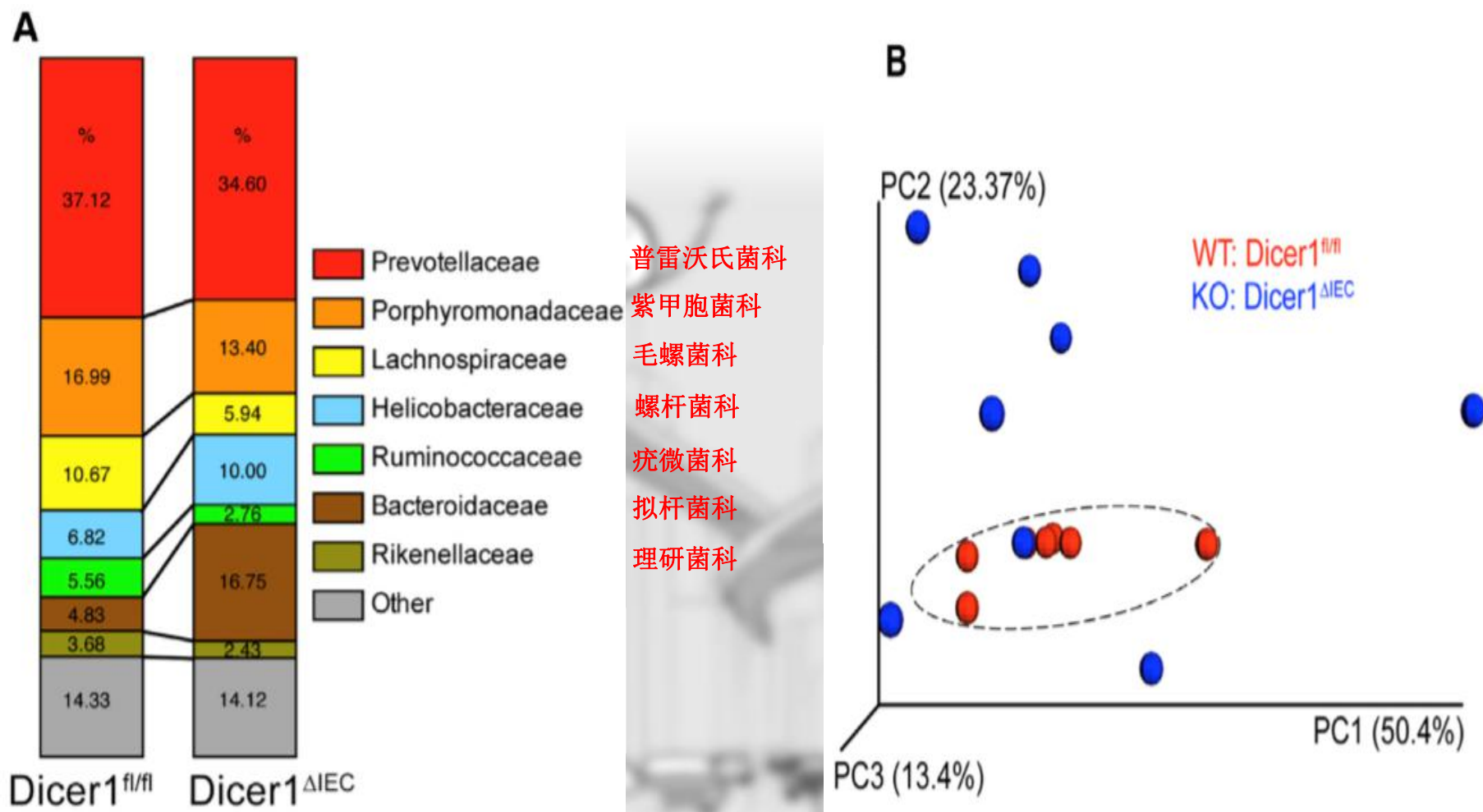
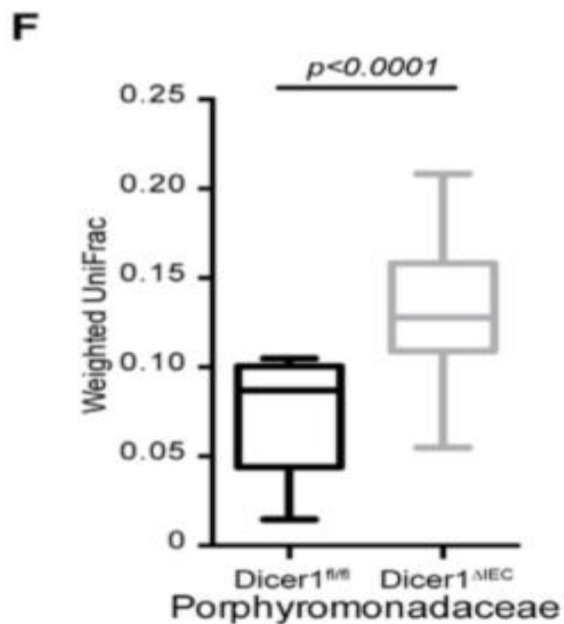
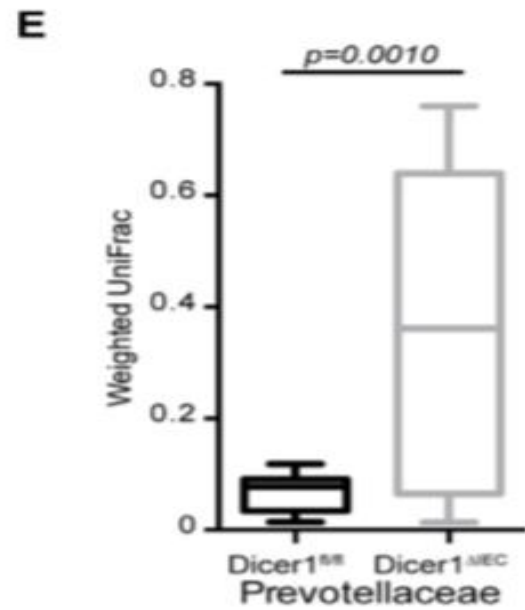
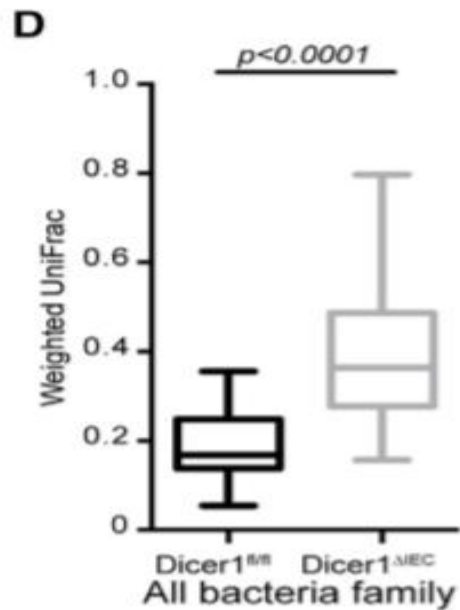
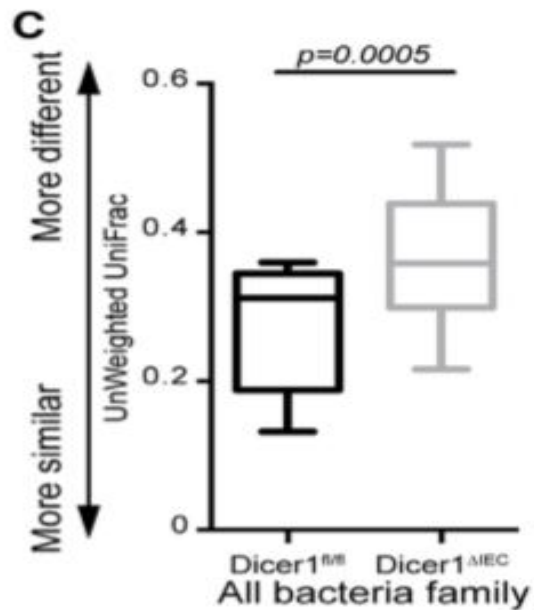
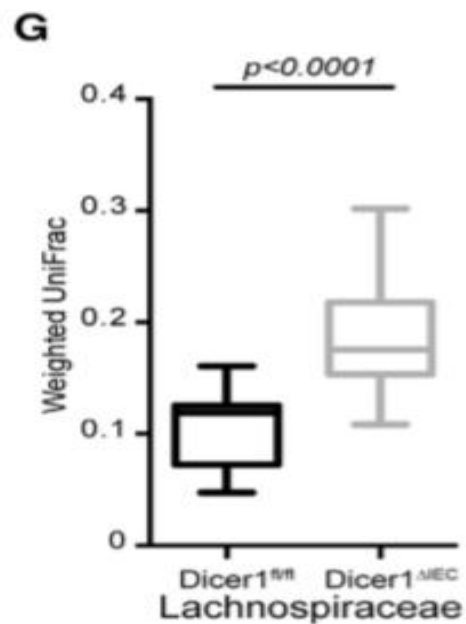


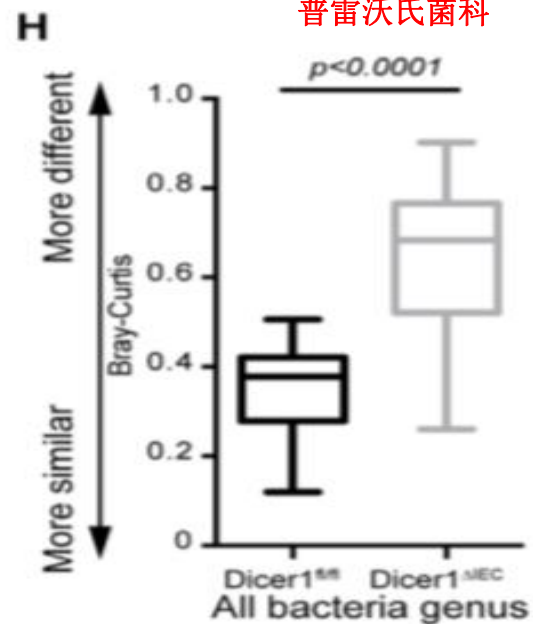
Figure 3. Deficiency of Intestinal Epithelial Cell miRNA Increases the Dissimilarity of the Gut Microbiota Bacterial 16S rDNA sequence-based surveys were performed on the feces of 16 mice (n = 7 *Dicer1^{fl/fl}*, 9 *Dicer1^{ΔIEC}* mice).



紫甲胞菌科



毛螺菌科



普雷沃氏菌科

β -多样性分析

Fig.3小结:

- 与Dicer1^{fl/fl}相比 Dicer1^{ΔIEC}小鼠肠道微生物β-多样性增加，即缺乏miRNA可使菌群的差异性增加，这种增加可能来自于细菌种类的变化，也可能来自于部分细菌数量的变化。



粪便**miRNA**是直接作用于肠道微生物吗？

体外培养：
兼性厌氧大肠杆菌（**E.coli**）
厌氧的梭杆菌(**Fn**)

与合成的miRNA类似
物混合培养

体外培养前，对细菌核酸序列的miRNA的靶向位点进行预测，发现每个细菌核酸序列都被许多miRNA预测为靶标。
例如：**miR-101**、**hsa-miR-515-5p**等靶向Fn；**hsa-miR-1224-5p**、**hsa-miR-1226-5p**等靶向E.coli。

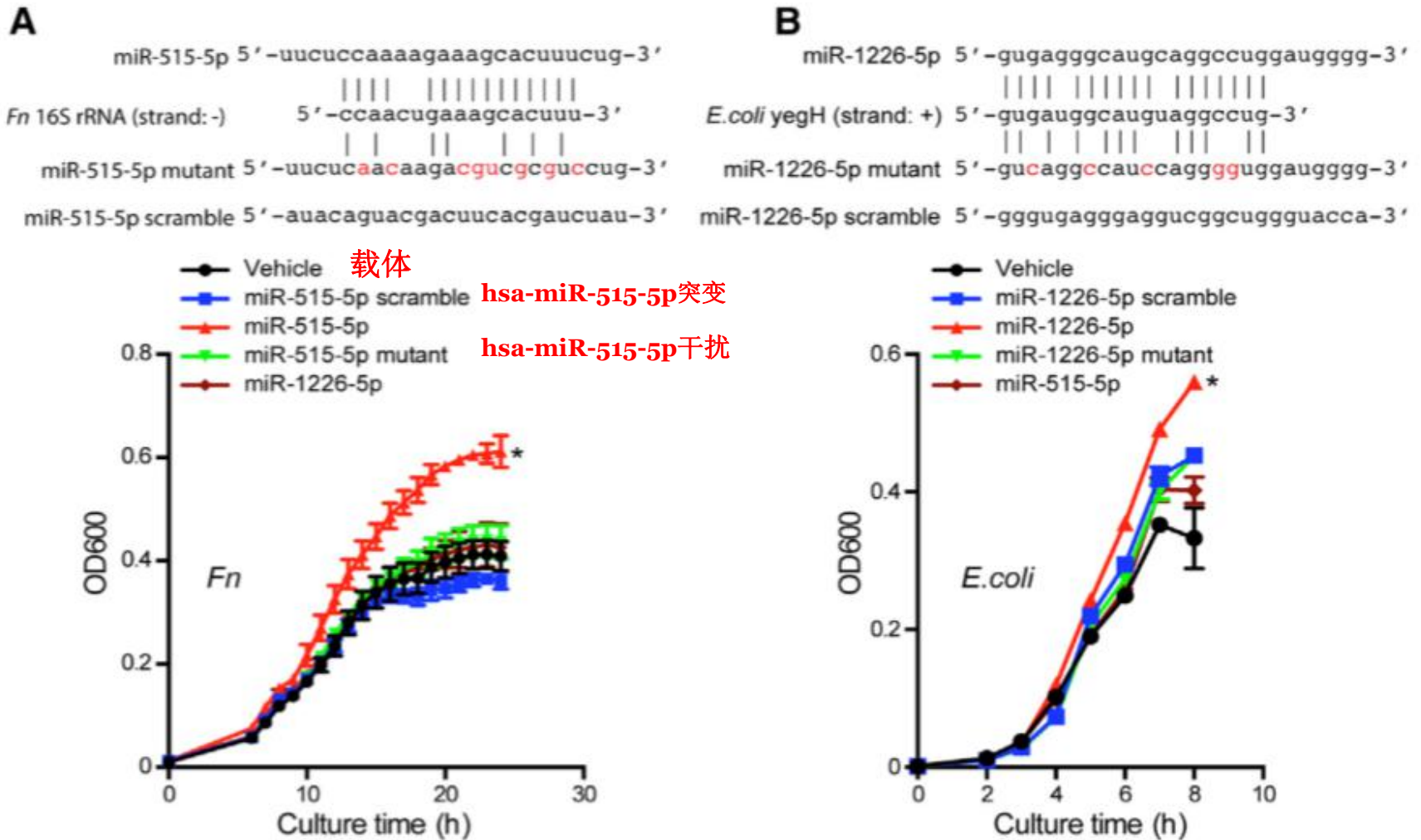



Figure 4. Host miRNA Directly Affects the Growth of Gut Bacteria (A and B) Based on pilot culture experiments

Fig.4小结:

- 结果表明 **miRNAs**可**直接影响细菌**的生长。作为对照使用通过改变miRNA的预测miRNA-靶配对位点合成的**miRNAs**、突变的**miRNAs**并不会对目标细菌产生促进生长的作用，表明这种影响是**具有序列特异性的**。



miRNA是如何对微生物发挥调控作用？

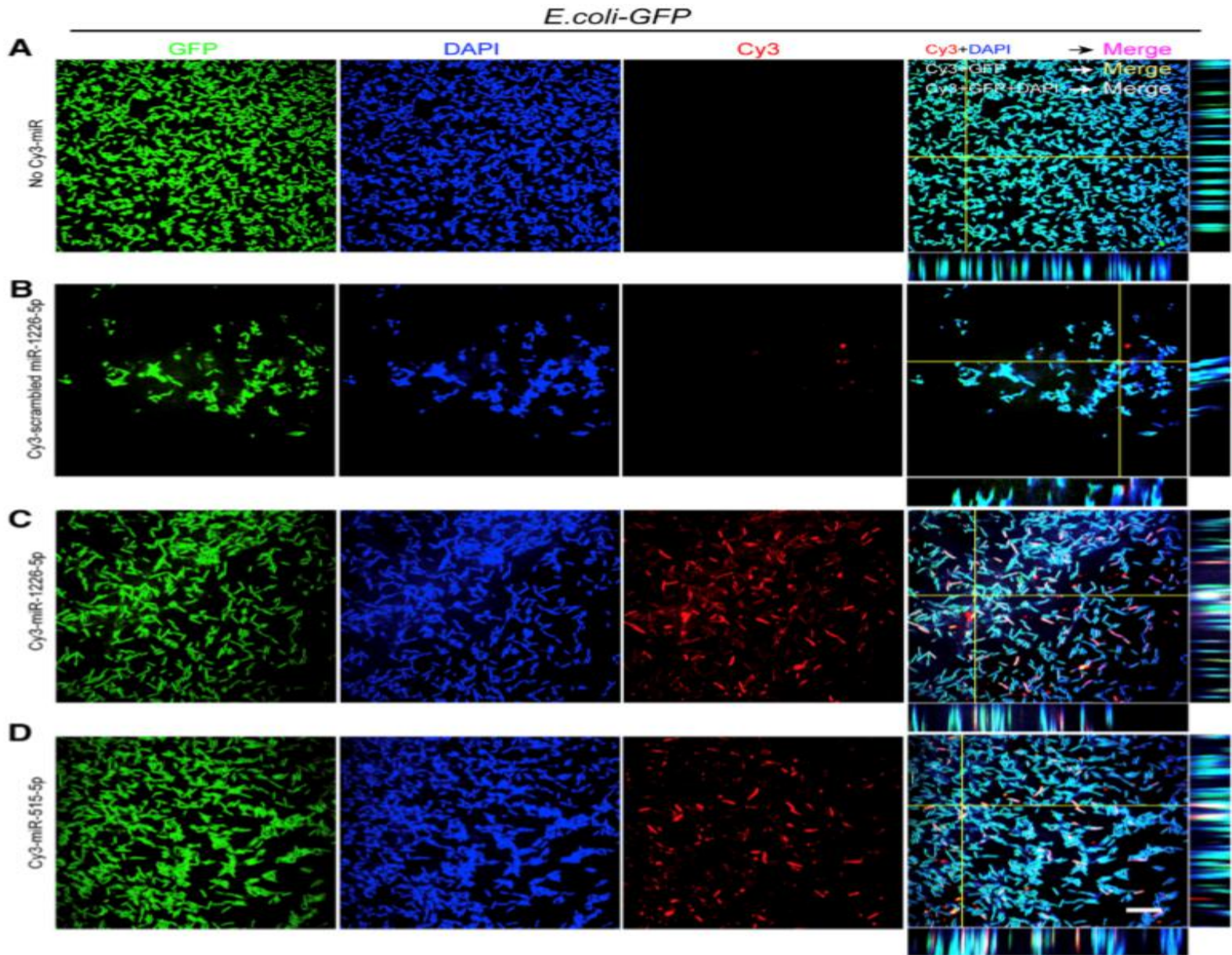


Figure 5. Host miRNA Enters Bacteria and Specifically Regulates Bacterial Gene Transcripts

E-F. 流式细胞仪细菌miRNA的动态积累

G-H. 细菌受miRNA特异性影响-转录水平

显示
Cy3-
miRN
A阳性
Fn的
百分比

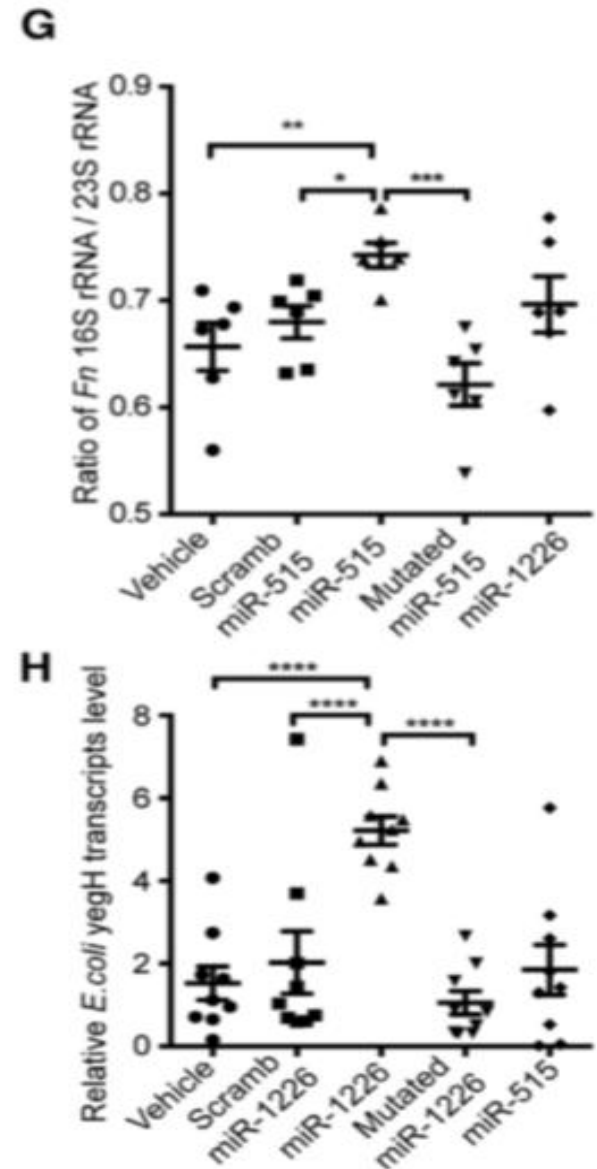
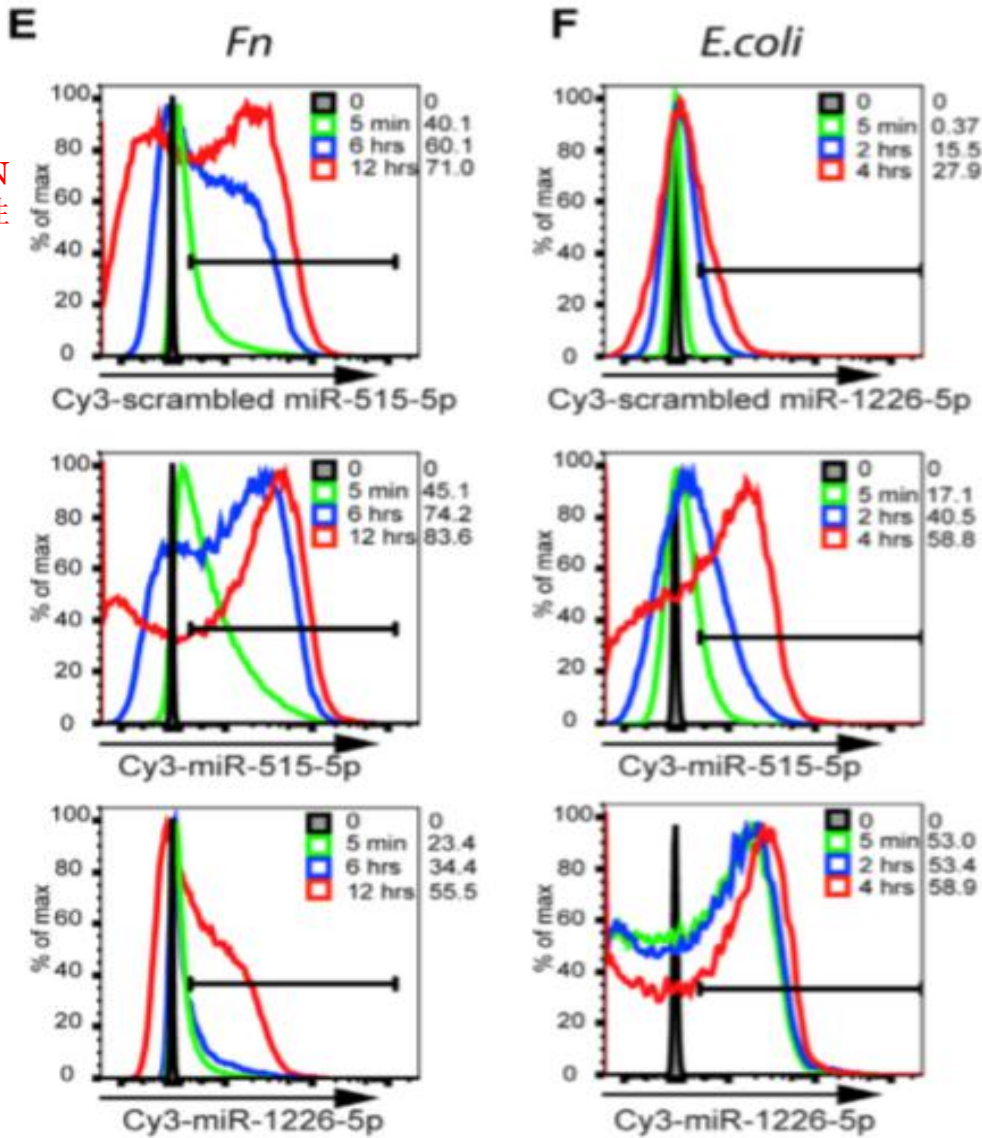


Fig.5小结:

- 宿主miRNAs可**进入细菌中并调控基因转录。**



粪便**miRNA**移植能恢复小鼠的结肠炎吗？

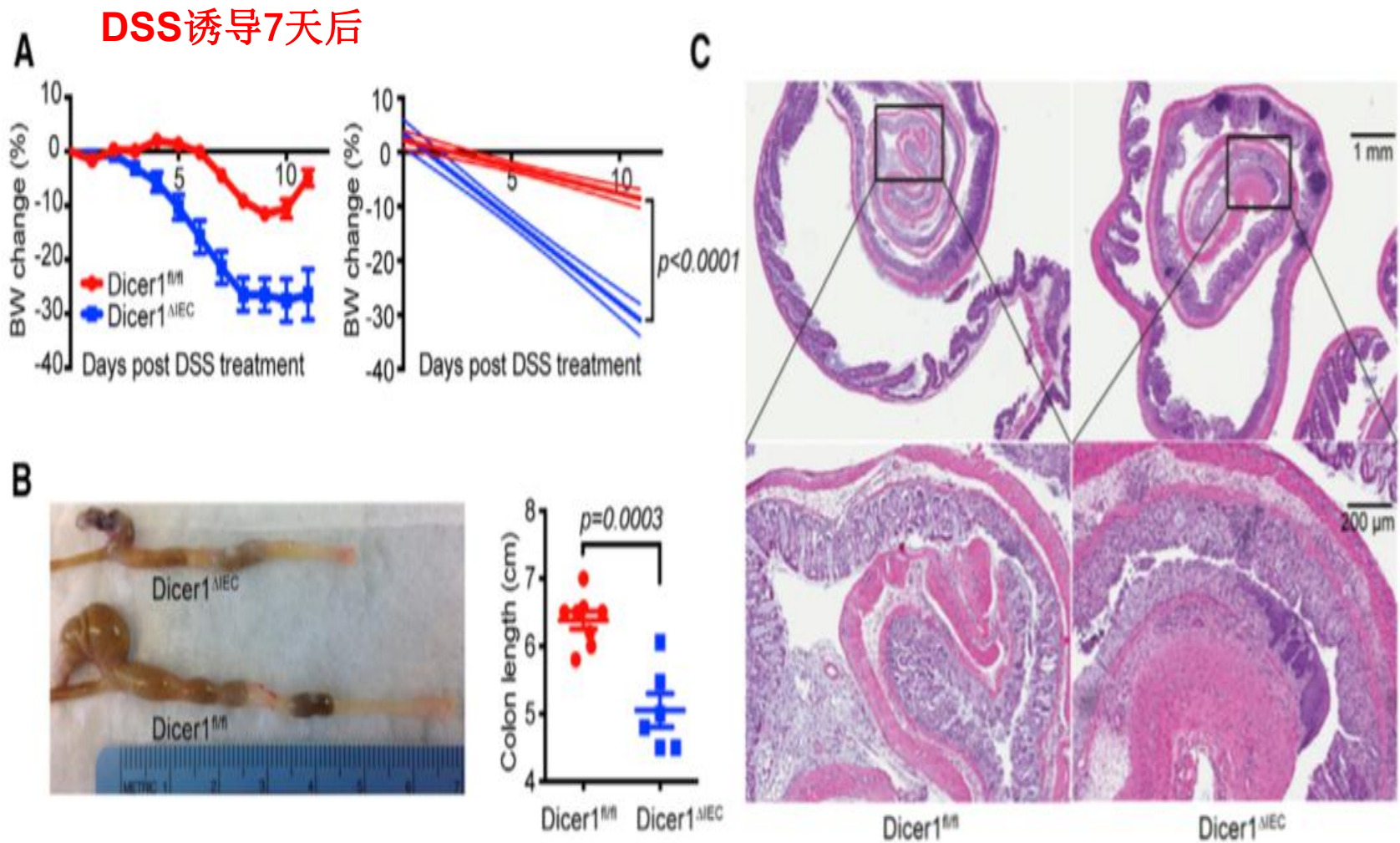


Figure 6. IEC miRNA Deficiency Is Associated with Exacerbated DSS Colitis and Is Rescued Following WT Fecal RNA Transplantation (A–C) 6-week-old gender-matched $Dicer1^{fl/fl}$ and $Dicer1^{\Delta IEC}$ littermates were treated with 3% DSS in drinking water for 7 days.

与WT小鼠相比，结肠炎诱导 $Dicer1^{\Delta IEC}$ 小鼠表现出更大的体重减轻和结肠缩短，此外还表现结肠组织完整性的广泛丧失。

供体粪便RNA从Dicer1^{fl/fl}或Dicer1^{ΔIEC}小鼠粪便中分离，移植给Dicer1^{ΔIEC}受体小鼠7天后，再用DSS诱导7天。

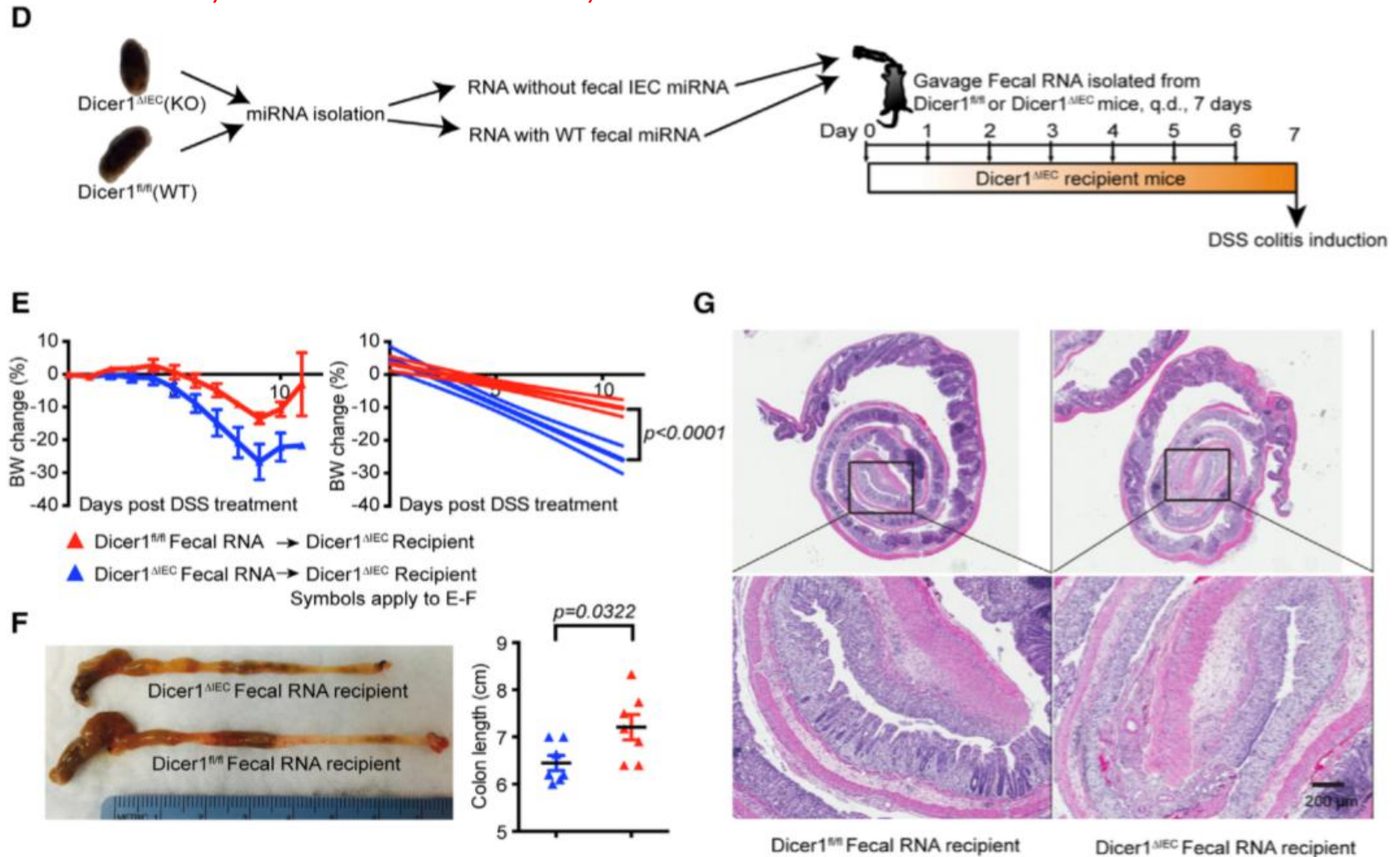
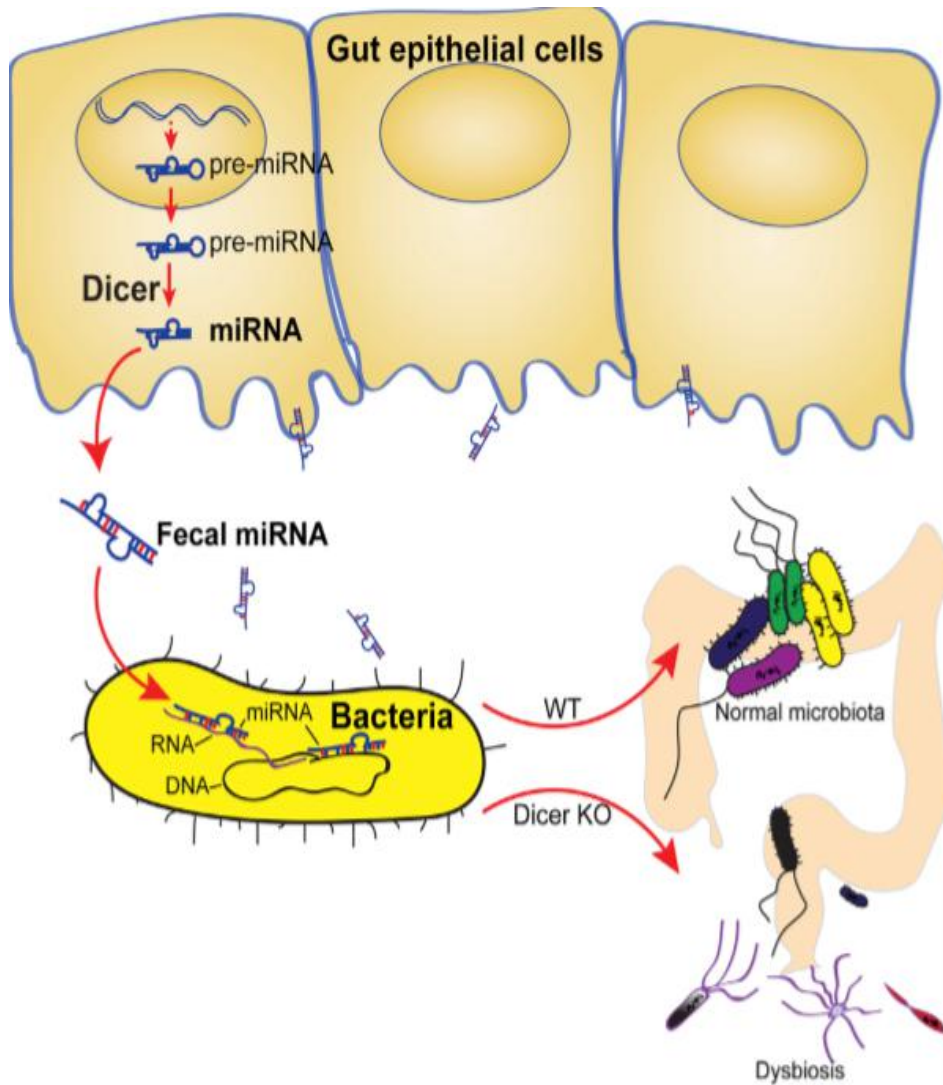


Figure 6. IEC miRNA Deficiency Is Associated with Exacerbated DSS Colitis and Is Rescued Following WT Fecal RNA Transplantation (E–G) In the recipients, body weight change (values are mean \pm SEM, $p < 0.0001$ between groups) (E), colonic length (values are mean \pm SEM, $p = 0.0322$ between groups, *t* test) (F), and histologic analysis (H&E) (G) at day 9 post DSS administration were analyzed

Fig.6小结:

- **WT或Dicer1^{ΔIEC}粪便miRNA移植可相应缓解结肠炎带来的损害。可减少体重，延长结肠长度，减少结肠损伤。这些数据表明，即肠腔内miRNAs在保护肠上皮屏障的完整性方面非常重要。**

讨论



- miRNAs are normal constituents of murine and human feces
- Host gut epithelial cells and Hopx+ cells are the main sources of fecal miRNA
- miRNAs enter bacteria and regulate bacterial gene expression and growth
- Fecal miRNAs are essential for the maintenance of normal gut microbiota

THANKS!

