

肠道微生物与骨骼健康

冯元贞, 龙 敏*

重庆医科大学附属第二医院内分泌科, 重庆

收稿日期: 2023年1月3日; 录用日期: 2023年1月28日; 发布日期: 2023年2月6日

摘 要

肠道菌群是人体最大的生态系统, 是居住在机体肠道内的一群共生细菌、真菌、病毒的总称。大量的研究已经证实, 其在调控人体重要的生理过程和众多复杂疾病的机制中发挥着关键作用。本文将结合近年来的研究进展及热点, 综述肠道菌群调控骨代谢的各种潜在机制, 通过阐述肠道菌群对各种生物学过程的调节作用, 包括营养吸收和肠粘膜屏障、免疫系统功能、激素环境和代谢产物, 来全面总结肠道微生物群和骨代谢之间的关系, 本文还将综述以肠道菌群为目标, 维持骨骼稳态, 预防和治疗骨质疏松症的新思路 and 靶点。

关键词

肠道菌群, 骨代谢, 骨质疏松, 益生菌, 益生元

Gut Microbiota and Bone

Yuanzhen Feng, Min Long*

Department of Endocrinology and Metabolism of the Second Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing

Received: Jan. 3rd, 2023; accepted: Jan. 28th, 2023; published: Feb. 6th, 2023

Abstract

Gut microbiota is the largest ecosystem of the human body consisting of bacteria, fungi, and viruses that colonize human intestine. Numerous studies have confirmed that gut microbiota plays a key role in the regulation of a wide variety of biological processes and the pathogenic mechanism of many complex diseases. In this review, we summarize various potential mechanisms of gut microbiota about how to affect bone metabolism including nutrients absorption, intestinal mucosal barrier, immune system, hormone and gut microbial excretion by products. This paper also describes those microbiota important for the regulation of bone metabolism may serve as novel therapeutic targets to maintaining bone homeostasis, preventing and treating osteoporosis.

*通讯作者。

Keywords

Gut Microbiota, Bone Metabolism, Osteoporosis, Probiotics, Prebiotics

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

骨质疏松症是一种系统性、代谢性骨病,其特征是骨量和骨密度降低,以及骨组织微结构改变,降低骨骼强度,增加骨骼脆性,从而增加骨折发生的风险,导致显著的发病率和死亡率。

近年来,肠道菌群因其对骨代谢的显著影响,并作为改善骨密度的潜在新靶点备受关注。肠道菌群与各种疾病发生发展具有一定相关性。大量研究提出,肠道菌群与骨代谢调控密切相关,涉及的机制包括营养吸收、肠道屏障功能、肠道内及全身免疫反应以及内分泌环境,但相关机制仍尚未被完全发现。本文旨在总结肠道菌群与骨代谢相互作用的机制,以及由此衍生的治疗及预防骨质疏松新的治疗思路。

2. 肠道菌群在骨骼稳态中的作用

2.1. 肠道菌群与骨骼相互作用

K. Sjögren 的一项比较无菌小鼠和常规饲养小鼠骨密度和骨骼微结构的研究证明了肠道微生物群具有调节骨代谢的作用,7 周龄无菌雌性小鼠的股骨骨骼结构和密度优于常规饲养的雌性小鼠。且当无菌小鼠重新定植肠道菌群时,骨密度和骨小梁的皮质横截面积均降低[1]。另一项研究通过基因测序,发现与正常对照组相比,骨质疏松和骨质减少患者的肠道细菌组成和多样性发生了改变[2]。

Charbonneau 等人的研究表示[3],母乳低聚糖(human milk oligosaccharides, HMOs)在严重营养不良婴儿母亲的乳汁中明显较少,HMOs 对人类来说不是重要的营养物质,但肠道细菌以 HMOs 作为能量来源。将营养不良婴儿的粪便中的肠道菌群定植在无菌小鼠中,会导致小鼠生长迟钝。再补充 HMOs 可增加小鼠骨体积,这表明益生元可诱导的肠道菌群正修饰从而刺激骨生长。

长期使用抗生素会极大地减少肠道菌群的生物多样性,Cox 的研究指出,在断奶期间和出生时给予低剂量青霉素(LDP)的小鼠与没有 LDP 的小鼠相比,乳酸菌和节段性丝状细菌(SFB)的水平较低,骨密度明显增加[4]。

综上所述,这些研究表明,肠道菌群的变化可调节骨生长和骨量。

2.2. 肠道菌群通过调节免疫系统对骨稳态产生影响

免疫系统和骨代谢之间存在密切的相互作用。Sjogren 研究显示[1],与无菌小鼠相比,常规饲养小鼠的 CD4+T 细胞、TNF α 和破骨前体细胞(CD4+/GR1-)水平增加[1]。在 3 周龄时无菌雌性小鼠定植肠道菌群,导致骨密度下降,骨髓 CD4+T 细胞增加,破骨细胞前体增加,表明肠道菌群在介导骨生理过程中免疫系统发挥了关键作用。

2.2.1. Th17 和 Treg 细胞

肠道菌群参与了循环细胞因子的产生和免疫细胞的发育,特别是 Th17 和 Treg 淋巴细胞的发育。Th17 细胞可以通过分泌高水平 IL-17、RANKL、TNF- α 促进破骨细胞的生成。在女性中,血清 IL-17 的升高

与骨质疏松症密切相关,清除 IL17 [5]或使用抗 IL17 抗体[6]可以防止骨丢失。Tregs 通过分泌 IL-4、IL-10 和转化生长因子- β 来调节破骨细胞的形成和阻断骨吸收。在 GF 小鼠中, Treg 细胞和 IL-10 显著减少。

许多研究表明肠道微生物与 Treg 和 Th17 细胞之间存在密切关系。梭状芽胞杆菌 IV、XIVa 和 XVIII 可诱导 Treg 细胞的增殖和分化[7]。Clausii 芽孢杆菌[8]、嗜乳酸杆菌[9]可通过调节 Treg-Th17 细胞平衡抑制 OVX 小鼠的骨丢失。肠道克雷伯杆菌属、肠球菌属、瘤胃球菌属也可通过调节 Treg-Th17 细胞平衡用骨代谢[8]。

2.2.2. NOD1 和 NOD2 信号通路

固有免疫系统能通过特殊的模式识别受体(PRRs)来识别入侵的病原体,进而启动免疫应答。胞浆内 NOD 样受体家族(NLR)是目前已发现的模式识别受体之一。NOD1 和 NOD2 通过识别细菌肽聚糖,促进炎症反应。NOD1 或 NOD2 特异性失活的无菌小鼠的皮质骨量没有明显增加,表明无菌小鼠对皮质骨密度的影响依赖于 NOD1 或 NOD2 的信号。此外, NOD2 缺陷小鼠骨髓巨噬细胞形成的破骨细胞比野生型小鼠少,提示细菌诱导的骨吸收依赖于 NOD2 信号[10]。

2.2.3. TLR5

TLR5 是识别鞭毛蛋白的先天免疫受体,鞭毛蛋白是细菌的主要蛋白之一。最近的一项研究发现,TLR5 通过激活 RANKL 通路,在炎症诱导的骨丢失和破骨细胞形成过程中起作用。TLR5 缺陷的小鼠,肠道微生物群的稳定性会降低,共生菌群鞭毛蛋白的表达增加,鞭毛蛋白表达的增加导致细菌运动性的增加和细菌通过内皮屏障易位的增加,细菌可以在内皮屏障中触发免疫反应,导致肠道上皮细胞炎症并出现代谢综合征[11]。但如果 TLR5 缺陷小鼠是在无菌环境中长大的,或者它们的肠道菌群被长期口服抗生素所抑制,小鼠则不会出现代谢综合征[12]。

2.3. 肠道菌群通过影响宿主代谢对骨稳态进行调节

2.3.1. 钙

钙是人体骨骼中的主要矿物质,肠道微生物群对钙的影响主要受短链脂肪酸(SCFAs)的调节。SCFAs 是生物体内肠道细菌发酵的主要产物。一研究些表明,增加益生菌和/或益生元的数量可以促进肠道分泌更多的 SCFAs。SCFAs 主要通过降低肠道 pH 值;增加肠细胞的增殖;增强细胞内钙转运蛋白基因表达来增加钙吸收。此外,在动物身上的研究表明,补充钙可调节肠道菌群组成,有利于有益细菌生长[13]。

2.3.2. 维生素 D

维生素 D 通过激活细胞间钙通道,介导细胞内钙扩散,调节钙吸收。研究表明,健康受试者使用罗伊氏乳杆菌可以增加血清 25-OH 维生素 D 的水平,从而影响钙的吸收,有利于骨骼生长[14]。肠道上皮细胞维生素 D 受体缺失的小鼠模型表现出菌群失调以及炎症性肠病易感性增加[15]。

2.3.3. 胆汁酸

肠道微生物群在胆汁酸代谢中起着重要作用,胆汁酸通过对成骨细胞和破骨细胞的各种信号的调节来平衡骨代谢。初级胆汁酸通过厌氧菌转化为次级胆汁酸激活 FXR 信号,通过上调 Runx2 和增强细胞外信号调节激酶(ERK)和 β -catenin 信号,显著促进成骨细胞矿化[16]。当细菌将初级胆汁酸转化次级胆汁酸时,次级胆汁酸作为肠细胞 G 蛋白偶联胆汁酸受体 5 (TGR5)的激动剂,可增加胰高血糖素的产生,促进甲状腺细胞分泌降钙素,从而抑制骨吸收。

2.3.4. 维生素 K

肠道微生物是维生素 K 的主要来源。临床研究发现低维生素 K 水平与骨折风险升高有关,但与骨密

度无关[17]。维生素 K 可能通过调节骨基质中维生素 K 依赖蛋白的存在而影响骨基质, 如骨钙素。维生素 K 是骨钙素羧化所必需的, 维生素 K 不足导致体循环中未羧化骨钙素浓度增加, 骨基质脆性增加, 对裂纹的抵抗力弱。Guss 最近的研究发现, 微生物诱导小鼠骨组织强度降低, 与肠道微生物产生维生素 K 的能力降低, 盲肠、肝脏和肾脏中的维生素 K 浓度降低, 骨基质中的骨钙素浓度降低相关联[18]。

2.4. 肠道菌群通过影响肠粘膜屏障来调节骨稳态

肠道上皮是宿主和肠道微生物群之间的屏障。肠道微生物产生的各种代谢物, 是维持肠道上皮完整性的重要物质。Hamilton 等人提出, 肠道微生物群组成的改变可导致肠道通透性的增加, 促进毒素和病原体的吸收, 降低营养的生物利用率, 引发异常的肠道和全身促炎症反应, 从而导致包括骨质疏松症在内的多种慢性疾病[19] [20]。肠道黏膜屏障功能障碍可导致血清脂多糖(LPS)水平升高, LPS 可造成股丢失。在 3 个月大的大鼠体内植入 LPS 延时释放颗粒, 模拟慢性炎症大鼠模型, 可测得大鼠股骨有骨丢失, 高剂量 LPS 组胫骨近端干骺端的骨小梁体积减小, 且 IL-1、(COX)-2 和 TNF 在骨髓区域被检测到上调[21]。

2.5. 肠道微生物代谢产物对骨代谢的影响

肠道微生物代谢产物在骨代谢中也发挥重要作用, 例如短链脂肪酸(SCFAs)。

结肠中的细菌可以将无法消化的碳水化合物发酵成 SCFAs, 不同的肠内细菌可产生不同的 SCFAs, 其中丁酸是结肠上皮细胞的主要能量来源。低聚糖饮食增加了 SCFAs 的产生, 改变了肠道菌群的组成, 表明肠道菌群、膳食纤维类型和 SCFAs 具有相关性[22]。

胰高血糖素样因子-1 (IGF-1)在生长板的成熟和次级骨化中心的形成过程中起重要作用。试验证明 SCFAs 可诱导 IGF-1 促进骨生长, 抗生素治疗可降低 SCFAs、IGF-1 和 P1NP 水平, 给予 SCFAs 后抗生素治疗组小鼠的 IGF-1 水平升高且骨量增加。SCFAs 在肠粘膜中具有抗炎作用, 丁酸和丙酸可通过抑制组蛋白脱乙酰酶(HDAC3, HDAC4)来调节基因表达, 从而激活 Treg 功能保护肠道[23] [24]。SCFAs (丙酸和丁酸)可下调破骨细胞的骨吸收活性, 用丙酸和丁酸治疗小鼠可以显著增加骨量, 防止绝经后和炎症引起的骨丢失。

2.6. 肠道菌群通过影响激素环境来调节骨稳态

现已发现肠道菌群与多种激素密切相关, 如性激素、5-HT、GABA 等, 其中以雌激素最为重要。雌激素受体(ER)在成骨细胞、破骨细胞中表达。雌激素能够诱导破骨细胞凋亡并抑制成骨细胞凋亡。雌激素除了直接影响骨细胞外, 还调节氧化应激和免疫系统, 从而影响骨转换周期。雌激素缺失通过刺激促炎细胞因子如 TNF、IL-7 和 IL-1 的生成, 抑制成骨细胞成熟。

研究表明, 雌激素缺乏导致骨丢失需要依赖微生物群, 益生菌可明显抑制雌激素缺乏所诱导的骨吸收。在雌激素缺乏小鼠模型中, 雌激素缺乏的无菌小鼠未出现骨质丢失[25]。但当将无菌小鼠常规饲养后, 肠道内定植微生物群, 小鼠出现了骨丢失, 这表明雌激素缺乏诱导骨丢失依赖于肠道微生物[25]。雌激素缺乏会使常规饲养小鼠体内产生 TNF 和 IL-17 的 T 细胞增殖, TNF、RANKL 水平的升高。相反, 在无菌小鼠中, 在性激素缺乏后, TNF、RANKL 和 IL-17 的产生没有增加[25]。研究表明, 在 OVX 小鼠模型中, 鼠李糖乳杆菌 GG(LGG)和 VSL3 益生菌混合制剂可完全抑制 OVX 诱发的脊柱骨小梁吸收[25]。

此外雄激素缺乏也会导致骨小梁和皮质骨密度降低。雄激素受体信号在维持骨小梁和皮质骨强度及厚度起重要作用。雄激素完全不敏感的男性骨密度较正常男性低[26]。目前研究表明, 雄激素主要通过在外周向雌激素转化来调节男性的骨骼稳态[27], 更多的复杂机制还未明确。

3. 肠道微生物群作为骨质疏松症治疗的靶点

目前治疗 OP 的药物主要分为三大类: 骨矿化药物(钙、活性维生素 D 及其类似物等); 骨形成促进剂(甲状旁腺激素类似物); 骨吸收抑制剂(雌激素、选择性雌激素受体调节剂、降钙素、双膦酸盐等)。这些药物在治疗骨质疏松方面都取得了良好的效果, 但也表现出潜在的副作用。钙剂过量补充可能会导致, 如肾结石、高钙血症和心肌梗死等副作用。选择性雌激素受体调节剂雷洛昔芬不能用于有静脉栓塞或血栓形成倾向的患者。双膦酸盐药物可能会造成颌骨坏死和不典型的粗隆下骨折。对大鼠的研究提示特立帕肽(甲状旁腺激素类)长期给药会使骨肉瘤发生率增加。新型口服抗骨质疏松药奥当卡替(组织蛋白酶 K 抑制剂)有可能与卒中风险显著升高相关。因此通过对肠道微生物群的治疗, 安全有效地缓解骨质疏松的发展可能是一种新的方案策略。

3.1. 益生菌

益生菌是通过定植在人体内, 改变宿主某一部位菌群组成的一类对宿主有益的活性微生物。人体、动物体内有益的微生物主要有如乳杆菌、双歧杆菌、枯草芽孢杆菌以及酵母菌等。其已被证明可以改变肠道微生物群的组成和/或代谢活性, 调节宿主的免疫反应, 并增强上皮屏障功能。

研究表明益生菌罗伊氏乳杆菌可通过参与破骨形成和雌激素信号转导的关键通路的免疫调节防止骨丢失。罗伊氏乳杆菌能减轻肠道炎症, 增加健康雄性小鼠的骨密度; 可以改善去卵巢小鼠模型的骨丢失; 可增加假卵巢切除术雌性小鼠模型(皮肤切口诱导一种持久的炎症状态)骨密度。此外研究表明, 罗伊氏乳杆菌可调控参与破骨形成的基因(如 RANKL、OPG 和 IL-10)的表达, 抑制 TNF- α 的活性及其介导的骨吸收[28] [29]。补充益生菌对幼龄大鼠和去卵巢的大鼠的骨骼生长都有益。

在人类中, 发酵乳制品是益生菌的主要来源。一些观察性研究调查了骨骼健康和发酵奶制品之间的联系: 酸奶摄入量每增加一单位, 女性患骨质疏松症的风险降低 39%, 男性患骨质疏松症的风险降低 52%; 酸奶消费者与非饮用者相比, 因衰老引起的桡骨皮质骨丢失得到改善; 与低奶酪或发酵奶制品摄入量相比, 高摄入量妇女的死亡率和骨折发生率较低。

3.2. 益生元

益生元是通过改变肠道菌群组成和活性而有益于宿主健康的不可消化的食品成分, 可作为肠道菌群底物。益生元包括大量由短链糖组成的不可消化的低聚糖, 其安全性较高。大量研究表明多种益生元可改善啮齿动物和人类的骨骼健康。在人类中, 通过为期一年的低聚果糖(FOS)治疗可以检测到青春期女孩全身骨密度的增加, 以及绝经后妇女的骨丢失的减少[30] [31]。目前益生元改善矿物质吸收和骨骼健康的机制包括增加肠道中益生菌比例、增加短链脂肪酸的产生、改变肠道 pH 值以及调节免疫系统。

益生元的定义目前还存在争议, 定义可能会扩大, 以包括除碳水化合物以外的各种细菌代谢底物, 如酚类化合物。天然多酚具有免疫调节、调节微生物群、抗炎以及抗骨质疏松等活性[32]。槟榔种子作为中药方剂用于治疗骨质疏松症, 已被证明含有大量的多酚类物质。益生元与植物多酚的协同作用对骨骼健康也有益处。在卵巢切除的大鼠中, 低聚果糖和大豆异黄酮协同治疗后, 胫骨的骨小梁微结构得到改善[33]。

4. 结论

总而言之, 骨质疏松症的发生是遗传、环境、营养和其他因素(如活动丧失和骨质流失)综合作用的结果。许多研究已经证明肠道菌群与骨质疏松之间存在密切联系, 因此人类肠道菌群可能是骨质疏松病原学中的重要组成。现已提出了几种机制来解释肠道菌群在骨质疏松病因学中的作用, 如调节营养吸收和

肠粘膜屏障、免疫系统功能、激素环境、肠道-脑轴。然而大多数机制尚未完全明确。同时, 以调节肠道菌群为靶点的治疗策略, 有助于避免现有药物在治疗中的不良反应, 并为未来的临床治疗提供新的思路, 但相关益生菌及益生元的具体类型、剂量、适用人群、应用时间仍需要进一步探索。

参考文献

- [1] Sjögren, K., Engdahl, C., Henning, P., *et al.* (2012) The Gut Microbiota Regulates Bone Mass in Mice. *Journal of Bone and Mineral Research*, **27**, 1357-1367. <https://doi.org/10.1002/jbmr.1588>
- [2] Wang, J., Wang, Y., Gao, W., *et al.* (2017) Diversity Analysis of Gut Microbiota in Osteoporosis and Osteopenia Patients. *PeerJ*, **15**, 3450-3450. <https://doi.org/10.7717/peerj.3450>
- [3] Charbonneau, M.R., O'Donnell, D., Blanton, L.V., *et al.* (2016) Sialylated Milk Oligosaccharides Promote Microbiota-Dependent Growth in Models of Infant Undernutrition. *Cell*, **164**, 859-871. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.01.024>
- [4] Cox, L.M., Yamanishi, S., Sohn, J., *et al.* (2014) Altering the Intestinal Microbiota during a Critical Developmental Window Has Lasting Metabolic Consequences. *Cell*, **158**, 705-721. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.05.052>
- [5] DeSelm, C.J., Takahata, Y., Warren, J., *et al.* (2012) IL-17 Mediates Estrogen-Deficient Osteoporosis in an Act1-Dependent Manner. *Journal of Cellular Biochemistry*, **113**, 2895-2902. <https://doi.org/10.1002/jcb.24165>
- [6] Tyagi, A.M., Mansoori, M.N., Srivastava, K., *et al.* (2014) Enhanced Immunoprotective Effects by Anti-IL-17 Antibody Translates to Improved Skeletal Parameters under Estrogen Deficiency Compared with Anti-RANKL and Anti-TNF- α Anti-Bodies. *Journal of Bone and Mineral Research*, **29**, 1981-1992. <https://doi.org/10.1002/jbmr.2228>
- [7] Atarashi, K., *et al.* (2011) Induction of Colonic Regulatory T Cells by Indigenous Clostridium Species. *Science*, **331**, 337-341. <https://doi.org/10.1126/science.1198469>
- [8] Dar, H.Y., Pal, S., Shukla, P., *et al.* (2018) *Bacillus clausii* Inhibits Bone Loss by Skewing Treg-Th17 Cell Equilibrium in Postmenopausal Osteoporotic Mice Model. *Nutrition*, **54**, 118-128. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2018.02.013>
- [9] Dar, H.Y., Shukla, P., Mishra, P.K., *et al.* (2018) *Lactobacillus acidophilus* Inhibits Bone Loss and Increases Bone Heterogeneity in Osteoporotic Mice via Modulating TregTh17 Cell Balance. *Bone Reports*, **5**, 46-56. <https://doi.org/10.1016/j.bonr.2018.02.001>
- [10] Yang, S., Takahashi, N.T., Sato, N., *et al.* (2005) Muramyl Dipeptide Enhances Osteoclast Formation Induced by Lipopolysaccharide, IL-1 α , and TNF- α through Nucleotide-Binding Oligomerization Domain 2-Mediated Signaling in Osteoblasts. *Immunology*, **175**, 1956-1964. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.175.3.1956>
- [11] Cullender, T.C., Chassaing, B., Janzon, A., *et al.* (2013) Innate and Adaptive Immunity Interact to Quench Microbiome Flagellar Motility in the Gut. *Cell Host & Microbe*, **14**, 571-581. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2013.10.009>
- [12] Vijay-Kumar, M., Aitken, J.D., Carvalho, F.A., *et al.* (2010) Metabolic Syndrome and Altered Gut Microbiota in Mice Lacking Toll-Like Receptor 5. *Science*, **328**, 228-231. <https://doi.org/10.1126/science.1179721>
- [13] Chaplin, A., Parra, P., Laraichi, S., Serra, F. and Palou, A. (2016) Calcium Supplementation Modulates Gut Microbiota in a Prebiotic Manner in Dietary Obese Mice. *Molecular Nutrition & Food Research*, **60**, 468-480. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201500480>
- [14] Jones, M.L., Martoni, C.J. and Prakash, S. (2013) Oral Supplementation with Probiotic *L. reuteri* NCIMB 30242 Increases Mean Circulating 25-Hydroxyvitamin D: A Post Hoc Analysis of a Randomized Controlled Trial. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, **98**, 944-2951. <https://doi.org/10.1210/jc.2012-4262>
- [15] Wu, S., Zhang, Y.G., Lu, R., *et al.* (2015) Intestinal Epithelial Vitamin D Receptor Deletion Leads to Defective Autophagy in Colitis. *Gut*, **64**, 1082-1094. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2014-307436>
- [16] Rønn, S.H., Harsløf, T., Pedersen, S.B. and Langdahl, B.L. (2016) Vitamin K2 (Menaquinone-7) Prevents Age-Related Deterioration of Trabecular Bone Microarchitecture at the Tibia in Postmenopausal Women. *European Journal of Endocrinology*, **175**, 541-549. <https://doi.org/10.1530/EJE-16-0498>
- [17] Emaus, N., Gjesdal, C.G., Almås, B., *et al.* (2010) Vitamin K2 Supplementation Does Not Influence Bone Loss in Early Menopausal Women: A Randomised Double-Blind Placebo-Controlled Trial. *Osteoporosis International*, **21**, 1731-1740. <https://doi.org/10.1007/s00198-009-1126-4>
- [18] Guss, J.D., Taylor, E., Rouse, Z., *et al.* (2019) The Microbial Metagenome and Bone Tissue Composition in Mice with Microbiome-Induced Reductions in Bone Strength. *Bone*, **127**, 146-154. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2019.06.010>
- [19] Hijazi, Z., Molla, A.M., Al-Habashi, H., *et al.* (2004) Intestinal Permeability Is Increased in Bronchial Asthma. *Archives of Disease in Childhood*, **89**, 227-229. <https://doi.org/10.1136/adc.2003.027680>
- [20] Hamilton, M.K., Boudry, G., Lemay, D.G. and Raybould, H.E. (2015) Changes in Intestinal Barrier Function and Gut

- Microbiota in High-Fat Diet-Fed Rats Are Dynamic and Region Dependent. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, **308**, G840-G851. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00029.2015>
- [21] Smith, B.J., Lerner, M.R., Bu, S.Y., *et al.* (2006) Systemic Bone Loss and Induction of Coronary Vessel Disease in a Rat Model of Chronic Inflammation. *Bone*, **38**, 378-386. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2005.09.008>
- [22] Smiricky-Tjardes, M.R., Grieshop, C.M., Flickinger, E.A., Bauer, L.L. and Fahey Jr., G.C. (2003) Dietary Galactooligosaccharides Affect Ileal and Total-Tract Nutrient Digestibility, Ileal and Fecal Bacterial Concentrations, and Ileal Fermentative Characteristics of Growing Pigs. *Journal of Animal Science*, **81**, 2535-2545. <https://doi.org/10.2527/2003.81102535x>
- [23] Davie, J.R. (2003) Inhibition of Histone Deacetylase Activity by Butyrate. *The Journal of Nutrition*, **133**, 2485-2493. <https://doi.org/10.1093/jn/133.7.2485S>
- [24] Sanford, J.A., *et al.* (2016) Inhibition of HDAC8 and HDAC9 by Microbial Short-Chain Fatty Acids Breaks Immune Tolerance of the Epidermis to TLR Ligands. *Science Immunology*, **1**, eaah4609. <https://doi.org/10.1126/sciimmunol.aah4609>
- [25] Li, J.-Y., Chassaing, B., Tyagi, A.M., *et al.* (2016) Sex Steroid Deficiency-Associated Bone Loss Is Microbiota Dependent and Prevented by Probiotics. *Journal of Clinical Investigation*, **126**, 2049-2063. <https://doi.org/10.1172/JCI86062>
- [26] Sobel, V., Schwartz, B., Zhu, Y.-S., Cordero, J.J. and Imperato-McGinley, J. (2006) Bone Mineral Density in the Complete Androgen Insensitivity and 5 α -Reductase-2 Deficiency Syndromes. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, **91**, 3017-3023. <https://doi.org/10.1210/jc.2005-2809>
- [27] Finkelstein, J.S., Lee, H., Leder, B.Z., *et al.* (2016) Gonadal Steroid-Dependent Effects on Bone Turnover and Bone Mineral Density in Men. *Journal of Clinical Investigation*, **126**, 1114-1125. <https://doi.org/10.1172/JCI84137>
- [28] Jones, S.E., Whitehead, K., Saulnier, D., Thomas, C.M., Versalovic, J. and Britton, R.A. (2011) Cyclopropane Fatty Acid Synthase Mutants of Probiotic Human-Derived *Lactobacillus reuteri* Are Defective in TNF Inhibition. *Gut Microbes*, **2**, 69-79. <https://doi.org/10.4161/gmic.2.2.15282>
- [29] Thomas, C.M., Hong, T., van Pijkeren, J.P., *et al.* (2012) Histamine Derived from Probiotic *Lactobacillus Reuteri* Suppresses TNF via Modulation of PKA and ERK Signaling. *PLOS ONE*, **7**, e31951. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0031951>
- [30] Abrams, S.A., Griffin, I.J., Hawthorne, K.M., *et al.* (2005) A Combination of Prebiotic Short- and Long-Chain Inulin-Type Fructans Enhances Calcium Absorption and Bone Mineralization in Young Adolescents. *The American Journal of Clinical Nutrition*, **82**, 471-476. <https://doi.org/10.1093/ajcn/82.2.471>
- [31] Slevin, M.M., Allsopp, P.J., Magee, P.J., *et al.* (2014) Supplementation with Calcium and Short-Chain Fructo-Oligosaccharides Affects Markers of Bone Turnover But Not Bone Mineral Density in Postmenopausal Women. *The Journal of Nutrition*, **144**, 297-304. <https://doi.org/10.3945/jn.113.188144>
- [32] Mei, F., Meng, K., *et al.* (2021) Arecanut (*Areca catechu* L.) Seed Polyphenol-Ameliorated Osteoporosis by Altering Gut Microbiome via LYZ and the Immune System in Estrogen-Deficient Rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **69**, 246-258. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c06671>
- [33] Devareddy, L., Khalil, D.A., Korlagunta, K., *et al.* (2006) The Effects of Fructo-Oligosaccharides in Combination with Soy Protein on Bone in Osteopenic Ovariectomized Rats. *Menopause*, **13**, 692-699. <https://doi.org/10.1097/01.gme.0000195372.74944.71>