

粪便微生物粗提液通过抑制 NF- κ B 信号的抗溃疡性结肠炎研究

徐敏, 蒙月月, 靳坦, 赵莉, 霍贵成

(东北农业大学, 乳品科学教育部重点实验室, 黑龙江哈尔滨 150030)

摘要: 本文研究了粪便微生物粗提液对人工诱发溃疡性结肠炎小鼠的治疗作用。将 64 只健康小鼠随机分为 4 组, 即完全空白组 (n=20)、肠炎空白组 (n=20)、SASP (柳氮磺胺吡啶) 组 (n=12) 和 FMT (粪便微生物移植) 组 (n=12), 处理组小鼠自由饮用 3% 葡聚糖硫酸钠盐 (DSS) 溶液 7 d, 建立溃疡性结肠炎 (UC) 模型; 造模后, SASP 组、FMT 组同时分别给予柳氮磺胺吡啶片及鼠源粪便微生物提取液干预治疗 4 周, 灌胃频率 2 d/次, 然后进行为期两周的后续观察。结果显示: 与肠炎空白组小鼠相比, 粪便微生物粗提液使 UC 小鼠血清 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 水平显著降低 ($p<0.05$), 并降低 NF- κ B 的蛋白表达, 增加 I κ B 的蛋白表达。研究表明: 粪便微生物粗提液可通过抑制 NF- κ B 信号通路的活化来发挥抗溃疡性结肠炎功效, 具有应用于临床医学的潜力。

关键词: 溃疡性结肠炎; 粪便微生物粗提液; NF- κ B 信号通路

文章编号: 1673-9078(2016)11-35-40

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2016.11.006

Anti-colitis Effect of Fecal Microbiota Crude Extract via Suppressing the Nuclear Factor- κ B Signaling Pathway

XU Min, MENG Yue-yue, JIN Da, ZHAO Li, HUO Gui-cheng

(Northeast Agriculture University, Key Laboratory of Dairy Science, Ministry of Education, Harbin 150030, China)

Abstract: The effect of crude extract of fecal microbiota on artificially-induced ulcerative colitis in mice was investigated in this study. A total of 64 healthy mice were randomly divided into four groups: blank (n=20), enteritis blank (n=20), sulfasalazine (SASP, n=12), and fecal microbiota transplantation (FMT, n=12). Mice assigned to the treated groups were allowed to freely drink 3% dextran sulfate sodium salt (DSS) solution for seven days, to establish the ulcerative colitis (UC) model. Subsequently, mice in the SASP and FMT groups were treated with SASP solution and crude extract of fecal microbiota for four weeks, respectively. Mice were observed for two weeks with a gavage performed once every two days. The results showed that compared with the enteritis blank group, crude extract of fecal microbiota significantly decreased serum interleukin (IL)-6, IL-1 β , and tumor necrosis factor (TNF)- α levels ($p<0.05$), reduced nuclear factor (NF)- κ B protein expression, and increased the level of I κ B protein expression. The results indicate that crude extract of fecal microbiota exerts an anti-colitis effect by suppressing activation of the NF- κ B signaling pathway and has potential applications in clinical medicine.

Key words: Ulcerative colitis; fecal microbial extracts; NF- κ B signaling pathway

溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 是一种病理漫长与反复发作的炎症性疾病, 其临床表现为腹泻、黏液脓血便、腹痛和里急后重等, 多呈反复发作的慢性病程^[1]。目前溃疡性结肠炎的病因与发病机制尚不十分清楚, 以往研究主要集中于遗传易感性和免疫异常等方面^[2]。最近有研究显示, 宿主肠道菌群改变、代谢表型改变以及 NF- κ B 信号通路失调很可能是导

致溃疡性结肠炎发生和发展的关键因素。机体受到外界刺激 (如脂多糖、IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α) 时, NF- κ B 会与 I κ B 分离, 游离的 NF- κ B 将进入细胞核, 从而调控 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 等炎症细胞因子的表达, 从而活化机体 NF- κ B 信号通路, 迫使机体处于持续的活化状态, 过多的炎症细胞因子会引起机体炎症, 从而导致溃疡性结肠炎等炎症性疾病^[3]。

目前治疗溃疡性结肠炎的方法主要包括药物治疗、营养治疗、心理治疗及手术治疗, 其中药物治疗是最主要的方法。临床常用三类药物柳氮磺胺类、类固醇激素类和免疫抑制剂类。总体来说, 上述药物治疗见效快, 疗效好, 可缓解 UC 患者燃眉之苦, 但长

收稿日期: 2016-04-28

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31401512); 国家863项目 (2011AA100902)

作者简介: 徐敏 (1991-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品科学

通讯作者: 霍贵成 (1958-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 食品微生物与生物技术

期使用副作用较大,患者不能耐受。首先,传统药物无法根治患者疾病,治标不治本;其次,不良作用大,易引起患者头疼、恶心,造成机体消化系统、血液系统异常;传统药物还具有潜在的致毒致癌性。

粪菌移植,定义为将健康机体粪便中的功能菌群,移植到患者胃肠道内,重建具有正常功能的肠道菌群,以实现肠道及肠道外疾病的诊疗。粪菌移植能够发挥确切疗效的原因,是移植的菌群尽可能维持了健康供者的功能肠道菌群,并最终在受者肠道内重建适合受者的功能菌群^[4-5]。

本研究以健康小鼠的粪便微生物提取液为目标菌群,以人工溃疡性结肠炎小鼠为试验对象,通过灌胃健康鼠源粪便微生物粗提液的方式,研究粪便微生物粗提液对溃疡性结肠炎小鼠肠道结构及 NF- κ B 信号通路的影响,旨在探究粪便微生物提取液对溃疡性结肠炎小鼠疾病的治疗效果。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

BALB/c 小鼠,64 只,雌性,清洁级,7 周购自北京维通利华试验动物技术有限公司(小鼠许可证号 SCXK 2012-0001),保持饲养环境温度(23±2)℃,每天人工灯光照明 12 h,标准小鼠饲料喂养,自由饮水;IL-1 β 提取试剂盒、IL-6 试剂盒和 IL-10 试剂盒,购自武汉博士德生物科技有限公司;甲醛溶液,天津博迪化工股份有限公司。

电子显微镜: Motic; 注射器: 江苏治宇医疗器械有限公司; 液氮罐: 成都金凤液氮容器有限公司; 眼科解剖盒: 沈阳市久鸣铝制品厂。

1.2 试验方法

1.2.1 粪便微生物粗提液的制备

观察小鼠精神状态、毛发情况、排便频率与粪便形态等信息,筛选出目标小鼠,并对其进行标记,作为粪便微生物移植供体小鼠。将供体小鼠的新鲜晨便标本置于无菌厌氧容器中,冰上保存,2 h 内运至实验室进行处理,按 7:15 (g/mL) 的比例将粪便溶于无菌 PBS 溶液中,分别用 2.0、1.0、0.5 和 0.25 mm 的无菌不锈钢筛过滤,6000 r/min、15 min 离心,取菌体,无菌 PBS 清洗 3 次,重置于 PBS 溶液中,制得粪便微生物粗提液,4℃ 冰箱保存备用^[6]。

1.2.2 动物模型的建立

将 64 只 BALB/c 雌鼠随机分成 4 组, I 完全空白组(20 只)、II 肠炎空白组(20 只)、III SASP 组(12

只)和 IV FMT 组(12 只)。将 3% 葡聚糖硫酸钠(DSS)溶于水瓶中,让 II、III 和 IV 组小鼠自由饮用 7 d,以诱发试验性溃疡性结肠炎小鼠模型^[7],其中, I 完全空白组小鼠饮用灭菌蒸馏水;第 8 d,分别解剖完全空白组、肠炎空白组小鼠 8 只(参考 ELISA 试验血清的用量),摘眼球取血,并取小鼠结肠组织,并以小鼠表观状况、结肠完整性和肠道病理学评分等为指标,验证小鼠溃疡性结肠炎模型是否建立成功。

1.2.3 试验设计

本研究试验设计如下: I 完全空白组(20 只): 正常饮食,无特殊处理; II 肠炎空白组(20 只): 建模后,按照 0.3 mL PBS/只进行灌胃,灌胃持续 4 周,灌胃频率 1 次/2 d; III SASP 组(12 只): DSS 造模后,按照 0.0092 g SASP 溶液/0.3 mL PBS/只进行灌胃,灌胃持续 4 周,灌胃频率 1 次/2 d; IV FMT 组(12 只): 造模后,按照 0.14 g 粪便微生物/0.3 mL PBS/只进行灌胃,灌胃持续 4 周,灌胃频率 1 次/2 d。灌胃期间每天记录粪便性状、毛发情况和隐血等^[8];灌胃结束后,每组分别处死小鼠 8 只,摘眼球取血,并取小鼠结肠组织,宏观观察小鼠结肠组织情况;并对小鼠结肠组织行 HE 染色,记录病理学指标图片;每组剩余的小鼠进行后续观察,2 周后同上进行处理。本研究试验设计图如图 1。

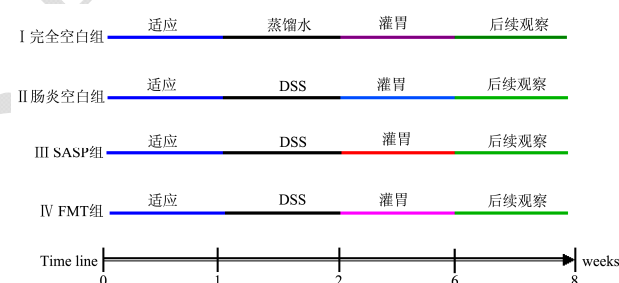


图 1 试验方案

Fig.1 Experimental design

1.2.4 小鼠结肠组织宏观病理学评价分析小鼠肠黏膜组织

灌胃结束后,每组随机选取小鼠,腹腔注射 20% 氨基甲酸乙酯麻醉(6 mL/kg),固定于解剖台上,摘眼球取血,脱颈处死小鼠后,然后沿腹部正中切口,将结肠从盲肠、直肠中间剪开,快速剖取结肠,沿着肠系膜剪开,取出肛门至盲肠末端的整个结肠和直肠段及结肠粪便,观察各组小鼠结肠的炎症、充血及溃烂情况,并置显微镜下观察肠黏膜;根据如下表格,邀请 40 人对各组小鼠结肠组织宏观病理学进行随机评分,0~3 分评估代表发炎与发炎程度,3 分最严重;0~3 分代表隐窝损害程度,3 分最严重;0~3 分代表溃疡程度,3 分最严重;然后用百分数表示:1 分代表

表 1 肠道组织宏观病理学评分标准

Table 1 Macroscopic pathology scoring criteria of intestinal tissues			
分数	隐窝结构	炎症细胞透过性	溃疡
0	正常	不透过	完整上皮细胞
1	隐窝长度减少<30%	炎性细胞透过黏膜层	黏膜层溃疡
2	隐窝长度减少>30%，杯状细胞减少	侵入黏膜下层	黏膜下层溃疡
3	几乎全部隐窝损失	跨膜透过	跨膜溃疡

1.2.5 小鼠结肠组织微观病理学评价分析小鼠肠黏膜组织

灌胃结束后，各组随机选取待解剖小鼠，对其腹腔注射 20%氨基甲酸乙酯麻醉（6 mL/kg），固定于解剖台上，眼球取血分离血清，脱颈处死小鼠，然后沿腹部正中切口，将结肠从盲肠和直肠中间剪开，快速剖取结肠，沿着肠系膜剪开，取出肛门至盲肠末端的整个结肠和直肠段，并于结肠末端（距肛门 1 cm）处剪取 0.5 cm 长的结肠，福尔马林浸泡，进行 HE 染色以做病理检查^[10]。

1.2.6 小鼠血清 IL-1β、IL-6、TNF-α 含量的测定

本研究以与 NF-κB 信号通路密切相关的 IL-1β、IL-6 和 TNF-α 等炎性细胞因子为指标，研究鼠源粪便微生物提取液对人工溃疡性结肠炎小鼠的作用^[10]。灌胃结束后，各组随机选取待解剖小鼠，对其腹腔注射 20%氨基甲酸乙酯麻醉（6 mL/kg），固定于解剖台上，眼球取血，室温自然凝固 1 h 后，离心，取血清，待所有样品收集完后分别用细胞因子（IL-1β、IL-6、TNF-α）ELISA 试剂盒检测^[11]。

1.2.7 小鼠结肠 NF-κB、IκB 蛋白的表达

本研究通过 Western-blotting 法，测定与 NF-κB 信号通路密切相关的两种关键蛋白 NF-κB 和 IκB 的表达情况，以研究粪便微生物提取液对机体炎性的修复情况^[12]。灌胃结束后，各组随机选取待解剖小鼠，对其腹腔注射 20%氨基甲酸乙酯麻醉（6 mL/kg），固定于解剖台上，眼球取血后，取结肠组织，液氮速冻后转移到-80℃冰箱保存，然后用 Western-blotting 进行检测关键蛋白的表达情况。

1.3 统计学分析

试验结果经 SPSS 13.0 统计软件分析，两两比较采用 Duncan 法。实验结果采用 Mean±SD 表示，p<0.05 为差异有显著性意义。

2 结果与讨论

2.1 溃疡性结肠炎小鼠模型的验证

从建模起始（第 0 d）到建模结束（第 8 d），小鼠体重下降率为 13.76%，肠炎空白组小鼠表观状态不佳，具体表现在小鼠目光呆滞、毛发暗沉卷曲，有脱毛现象，见图 2a；并且，肠炎空白组小鼠尾根处有血斑，说明小鼠有显性便血现象，见图 2b；由 HE 染色图（见图 2c）可知，肠炎空白组相对于完全空白组 HE 染色图，小鼠结肠组织，肠黏膜萎缩，黏膜表面钝化，隐窝破坏，结构不完整，因此急性溃疡性结肠炎模型建立成功，可进行下一步治疗试验。

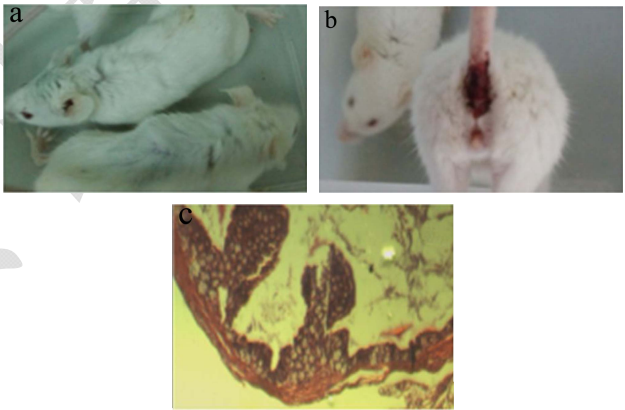


图 2 溃疡性结肠炎小鼠症状

Fig.2 Clinical symptoms of UC in mice

2.2 粪便微生物提取液对溃疡性结肠炎小鼠

结肠组织宏观病理学的影响

灌胃结束后，各组小鼠的宏观病理学评分如图 3 所示，由图 3 可知，肠炎空白组小鼠的宏观病理学评分较高，显著差别与处理组及完全空白组；完全空白组小鼠宏观病理学评分较低，约为 0 分，显著差异与其他组；在各处理组中，FMT 处理组小鼠宏观病理学评分较低，与抗生素组之间差异不显著，试验结果表明粪便微生物粗提液可改善溃疡性结肠炎小鼠结肠的炎症、充血及溃烂情况，从而修复溃疡性结肠炎小鼠的肠黏膜损伤。

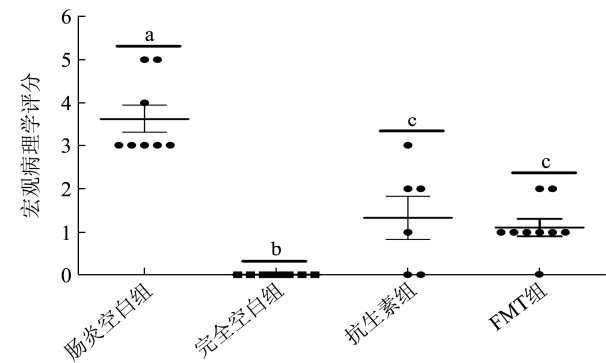


图3 小鼠宏观病理学评分图

Fig.3 Macroscopic pathology scoring of intestinal tissue

2.3 粪便微生物提取液对溃疡性结肠炎小鼠结肠组织微观病理学的影响

肠炎空白组、FMT 组、SASP 组及完全空白组的 HE 染色病理图见图 4。

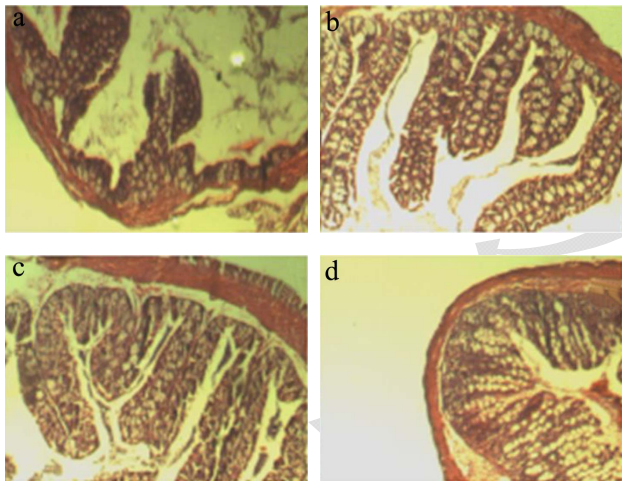


图4 小鼠 HE 染色图

Fig.4 Hematoxylin-eosin staining images of mice in different groups

注：a 为肠炎空白组小鼠；b 为 FMT 组小鼠；c 为 SASP 组小鼠；d 为完全空白组小鼠。

由图 4 可知，肠炎空白组小鼠，肠黏膜萎缩，黏膜表面钝化，隐窝破坏，基本处于肠黏膜屏障失衡状态（图 4a）；经过两个疗程的粪便微生物移植疗法治疗之后，FMT 组小鼠肠黏膜细胞排列基本整齐，肠黏膜结构完整，无组织坏死现象（图 4b），说明粪便微生物移植疗法可以很好的修复溃疡性结肠炎小鼠的肠黏膜损伤；并且与 SASP 组、完全空白组小鼠 HE 染色图相比，无明显的差异，说明粪便微生物提取液可维持小鼠黏膜排列整齐，形态完整，基本恢复正常。

2.4 小鼠血清细胞因子水平

表 2 灌胃结束后小鼠血清细胞因子水平

Table 2 Serum cytokine levels of mice after the oral administration of treatment (X±SD)

组别	n	IL-1β	IL-6	TNF-α
肠炎空白组	8	103.5±11.6 ^a	84.8±8.0 ^a	91±5.5 ^a
FMT 组	8	21.9±5.0 ^b	19.8±4.9 ^b	31.4±5.9 ^b
SASP 组	8	19.0±3.1 ^b	15.5±1.9 ^{bc}	28.2±7.1 ^b
完全空白组	8	15.3±2.1 ^c	10.3±4.0 ^c	21.3±4.8 ^c

注：单位为 pg/mL；均与肠炎空白组数据对比进行显著性分析，标不同字母表示差异显著（ $p<0.05$ ）。

灌胃结束后小鼠血清细胞因子水平含量见表 2。

由表 2 可知，肠炎空白组小鼠血清中 IL-1β 含量较高，可能是由于患溃疡性结肠炎，促使机体持续活化，从而促进 IL-1β 的高度表达，而经过粪便微生物移植疗法，溃疡性结肠炎小鼠血清中 IL-1β 含量显著降低，并于 SASP 组小鼠此种细胞因子含量无显著的差异，说明鼠源粪便微生物提取液可以显著降低机体细胞因子 IL-1β 的水平，能达到市面上传统治疗溃疡性结肠炎的方法。同理，粪便微生物粗提取液在降低溃疡性结肠炎小鼠血清 IL-6 及 TNF-α 方面也有显著功效。试验结果表明，小鼠机体在受到造模物质-葡聚糖硫酸钠盐（DSS）刺激后会产生一定的免疫调节反应，分泌大量的细胞因子，但是随着益生菌的灌胃处理，小鼠肠道 NF-κB 信号免疫机制遭到破坏，抑制了相关细胞因子的表达及翻译过程^[13]。鼠源粪便微生物提取液可能是通过抑制信号通路从而降低与 NF-κB 信号通路密切相关的 IL-1β、IL-6 及 TNF-α 等炎性细胞因子的含量的方式来发挥治疗溃疡性结肠炎小鼠的功效，如图 5 所示。

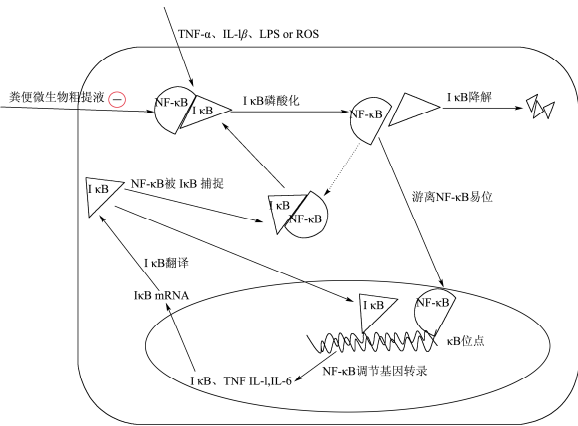


图5 粪便微生物提取液调控 NF-κB 信号通路可能机制图

Fig.5 Possible mechanism of action of crude extract of fecal microbiota via suppression of the NF-κB signaling pathway

2.5 小鼠结肠组织关键蛋白表达情况

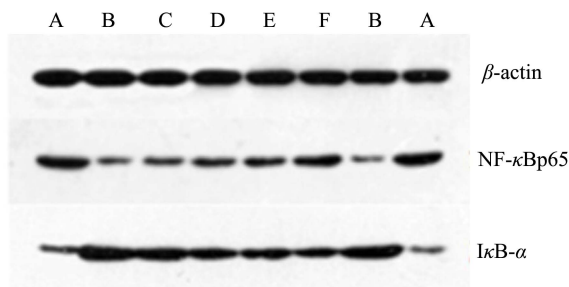


图6 不同组小鼠结肠蛋白 Western-blotting 表达情况

Fig.6 Expression levels of proteins from colon tissues of mice in different groups by western blot

注: A 代表肠炎空白组; B 代表完全空白组; E 代表 SASP 组; F 代表 FMT 组。抗 β -肌动蛋白抗体结合分子量为 42 ku 的相应蛋白用作内部对照。

如图 6 所示, 肠炎空白组小鼠肠道的 NF- κ B p65 蛋白表达量较高, 而 I κ B 的表达较低; 经过对 UC 小鼠两个疗程的粪便微生物提取液治疗后, 发现小鼠肠道的 NF- κ B p65 蛋白表达量显著降低, 而 I κ B 的表达显著增高。人工模型 UC 小鼠结肠组织中 NF- κ B p65 蛋白表达量较高, 而 I κ B 的表达较低, 说明过多游离的 NF- κ B p65 进入细胞核参与细胞因子的调控, 从而引起机体的持续炎症反应; 而经过对 UC 小鼠两个疗程的粪便微生物提取液治疗后, 小鼠肠道的 NF- κ B p65 蛋白表达量显著降低, 而 I κ B 的表达显著增高, 说明粪便微生物提取液可以抑制 NF- κ B p65 与 I κ B 的分离, 游离的 NF- κ B p65 蛋白表达量显著降低; 因此, 粪便微生物提取液可通过抑制 NF- κ B 免疫信号通路来发挥抗溃疡性结肠炎能力。粪便微生物移植疗法发挥作用的机制可能是因为: 一方面, 正常健康小鼠粪便微生物粗提取液中可能存在某种活性物质, 如有益菌的细胞壁成分、LPS 或者过氧化物, 可通过抑制 NF- κ B 与 I κ B 分离, 从而阻止游离的 NF- κ B 进入细胞核, 抑制机体 NF- κ B 信号通路的持续活化, 来起到抗溃疡性结肠炎的功效^[14~16]; 另一方面粪便微生物提取液可以提高肠道菌群多样性, 粪便微生物移植之前, 肠道菌群以厚壁菌门和拟杆菌门为主, 而粪便微生物移植可以增加小鼠肠道菌群多样性, 主要是拟杆菌门及产生丁酸盐的菌群组成, 其中, 厚壁菌门和拟杆菌门在维持肠道内环境稳态方面均具有重要作用, 厚壁菌门通过产生丁酸盐维持肠上皮细胞的完整性, 并增强机体免疫反应, 拟杆菌门能抑制有害菌的增殖^[17~20]。

3 结论

3.1 粪便微生物粗提取液干预前期可修复溃疡性结肠炎小鼠肠黏膜损伤, 干预后期可使溃疡性结肠炎小鼠结肠组织排列逐渐整齐, 宏观上及微观上接近正常小鼠结肠组织状况, 显著改善溃疡性结肠炎小鼠肠黏膜损伤现象。

3.2 粪便微生物粗提取液干预可显著降低溃疡性结肠炎小鼠血清中 IL-1 β 、IL-6 及 TNF- α 含量, 对与 NF- κ B 信号通路密切相关的 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 等炎症细胞因子具有显著的调节作用。

3.3 粪便微生物粗提取液干预可通过抑制 NF- κ B 免疫信号通路来发挥抗溃疡性结肠炎能力, 具体表现在粪便微生物提取液干预治疗后, 小鼠肠道的 NF- κ B p65 蛋白表达量显著降低, 而 I κ B 的表达显著增高; 推测粪便微生物提取液通过抑制 NF- κ B p65 与 I κ B 的分离, 促使游离的 NF- κ B p65 蛋白表达量显著降低。

参考文献

- [1] 赵晶. 杨梅素对 DSS 诱导的小鼠急性溃疡性结肠炎的保护作用研究[D]. 长春: 吉林大学, 2013
ZHAO Jing. Protective effect of myricetin on DSS-induced acute ulcerative colitis mice [D]. Changchun: Jilin University, 2013
- [2] 陈蕾蕾. 美沙拉嗪联合思密达治疗溃疡性结肠炎大鼠的疗效及机制[D]. 杭州: 浙江大学, 2013
CHEN Lei-lei. Effect and mechanism of mesalamine combined with smecta in treatment of ulcerative colitis rats [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2013
- [3] 侯天舒. 电针对溃疡性结肠炎模型大鼠肠道微生态及宿主代谢的影响研究[D]. 成都: 成都中医药大学, 2012
HOU Tian-shu. Modulating effects of electro-acupuncture on gut microbiota and host global metabolism in ulcerative colitis rats [D]. Chengdu: Chengdu University of TCM, 2012
- [4] 林敏怡, 陈焯. 粪菌移植治疗复发性艰难梭菌感染[J]. 现代消化及介入诊疗, 2014, 23(6): 411-414
LIN Min-yi, CHEN Ye. Faecal microbiota transplantation and bacteriotherapy for recurrent *Clostridium difficile* infection [J]. Modern Digestion & Intervention, 2014, 23(6): 411-414
- [5] 江学良, 崔云龙, 张宗梅, 等. 粪菌移植的研究现状、存在问题与发展方向[J]. 中华消化病与影像杂志, 2014, 23(4): 152-155
JIANG Xue-liang, CUI Yun-long, ZHANG Zong-mei, et al. Research actuality, major problems and development

- direction of fecal microbiota transplanation [J]. Chinese Journal of Digestion and Medical Imageology, 2014, 23(4): 152-155
- [6] 陈文敏. 川弓嗉对实验性溃疡性结肠炎NF- κ B/COX-2信号通路的影响[D]. 重庆: 重庆医科大学, 2012
- CHEN Wen-min. Effects of tetramethylpyrazine on experimental ulcerative colitis in NF- κ B/COX-2 signal pathway [D]. Chongqing: Chongqing University of Medicine, 2012
- [7] 王婷婷, 李丹凤, 刘宾, 等. 嗜酸乳杆菌对感染大肠杆菌O157:H7小鼠肠道微生物区系的影响[J]. 食品工业科技, 2014, 21(4): 341-345
- WANG Ting-ting, LI Dan-feng, LIU Bin, et al. Effects of *Lactobacillus acidophilus* KLDS AD1 on intestinal microbiota of *Escherichia coli* O157:H7 injected mice [J]. Science and Technology of Food Industry, 2014, 21(4): 341-345
- [8] 王学红. 防治溃疡性结肠炎的益生菌的筛选及其部分机制的影响[D]. 长沙: 中南大学, 2007
- WANG Xue-hong. Screen of probiotics to prevention and cure to ulcerative colitis and part of research of the mechanism [D]. Changsha: Zhongnan University, 2007
- [9] 汪珍珍. 同病异治复方对急性癫痫模型的作用及对PTZ点燃大鼠GABA传导通路的影响[D]. 广州: 南方医科大学, 2010
- WANG Zhen-zhen. Propostoperative neuro-psychological evaluation in surgical treatment of epilepsy [D]. Guangzhou: Nanfang University of Medicine, 2010
- [10] 李飞. 凝结芽孢杆菌对恶唑酮诱导的大鼠溃疡性结肠炎的治疗作用研究[D]. 青岛: 青岛科技大学, 2011
- LI Fei. *Bacillus coagulans* on the oxazolone-induced rat study on treatment of ulcerative colitis [D]. Qingdao: Qingdao University of Science and Technology, 2011
- [11] LI G J. Intestinal probiotics: Interactions with bile salts and reduction of cholesterol [J]. Procedia Environmental Sciences, 2012, 12: 1180-1186
- [12] 徐敏, 田辉, 杜金城, 等. 多菌种共固定化发酵制备枸杞红枣乳酸饮料[J]. 中国酿造, 2015, 34(7): 164-167
- XU Min, TIAN Hui, DU Jin-cheng, et al. Preparation of *Lycium chinense* and date yoghurt drink by multi-strain immobilized fermentation [J]. China Brewing, 2015, 34(7): 164-167
- [13] Hu J T, Wang C F, Ye L P, et al. Anti-tumour immune effect of oral administration of *Lactobacillus plantarum* to CT26 tumour-bearing mice [J]. Indian Academy of Sciences, 2015, 40(10): 269-279
- [14] Mariman R, Tielen F, Koning F, et al. The probiotic mixture VSL#3 has differential effects on intestinal Im-mune parameters in healthy female BALB/c and C57BL/6 mice [J]. The Journal of Nutrition, 2015, 145(10): 1354-1361
- [15] Whelan R A, Rausch S, Ebner F, et al. A transgenic probiotic secreting a parasite immunomodulator for site-directed treatment of gut inflammation [J]. The American Society of Gene & Cell Therapy, 2014, 22(10): 1730-1740
- [16] Wang L F, Zhang J C, Guo Zh, et al. Effect of oral consumption of probiotic *Lactobacillus planatarum* P-8 on fecal microbiota, SIgA, SCFAs, and TBAs of adults of different ages [J]. Nutrition, 2013, 30(10): 776-783
- [17] Moeinian M, Ghasemi-Niri S F, Mozaffari S, et al. Beneficial effect of butyrate, *Lactobacillus casei* and L-carnitine combination in preference to each in experimental colitis [J]. World Journal of Gastroenterol, 2014, 20(31): 10876-10885
- [18] Sang L X, Chang B, Dai C, et al. Heat-killed VSL#3 ameliorates dextran sulfate sodium (DSS)-induced acute experimental colitis in rats [J]. Molecular Sciences, 2014, 15(31): 15-28
- [19] 徐敏, 边鑫, 杜金城, 等. 粪便微生物粗提液修复溃疡性结肠炎的研究[J]. 食品工业科技, 2016, 29(9): 1-8
- XU Min, BIAN Xin, DU Jin-cheng, et al. Recovery effect of fecal microbial extracts on mouse with ulcerative colitis [J]. Science and Technology of Food Industry, 2016, 29(9): 1-8
- [20] 徐敏, 杜金城, 丁秀云, 等. 乳酸菌联合酵母菌发酵制备一种新型沙棘酒[J]. 中国酿造, 2016, 35(1): 174-176
- XU Min, DU Jin-cheng, DING Xiu-yun, et al. Research on the new Seabuckthorn wine fermented by lactic acid bacteria and Yeast [J]. China Brewing, 2016, 35(1): 174-176