

# 甲基烯丙基三硫醚对溃疡性结肠炎小鼠炎症因子及肠道菌群的调节作用

吴苹, 刘晋倩, 王硕, 董晶, 范宗强, 李震, 陈芳\*  
(聊城大学药学院, 山东聊城 252059)

**摘要:** 该研究探究了甲基烯丙基三硫醚 (allyl methyl trisulfide, AMTS) 对溃疡性结肠炎小鼠炎症因子及肠道菌群的调节作用。观察小鼠体重、结肠长度、疾病活动指数 (DAI) 及结肠组织变化, ELISA 检测血清中肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ )、白细胞介素-6 (IL-6) 水平, 16S rRNA 系统测序技术检测肠道菌群的变化。研究表明模型组体重下降 25.59%, AMTS 低、中、高剂量组分别下降 4.06%、9.88% 和 5.45%。模型组 DAI 值为 3.51, AMTS 三个剂量组分别为 2.60、2.88 和 2.79。与模型组相比, AMTS 的三个干预组都减轻了结肠组织炎症细胞浸润, 同时都显著性降低了结肠中促炎细胞因子 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 的水平 ( $p < 0.01$ ,  $p < 0.05$ )。AMTS 组较模型组可增加肠道菌群丰度及多样性。与模型组相比, AMTS 还能降低拟杆菌、变形菌等数量, 提高厚壁菌、乳酸杆菌等有益菌群的数量。研究表明 AMTS 可通过降低炎症因子水平和增加肠道菌群的多样性缓解溃疡性结肠炎小鼠的症状。

**关键词:** 甲基烯丙基三硫醚 (AMTS); 溃疡性结肠炎; 炎症因子; 肠道菌群

文章编号: 1673-9078(2021)11-120-127

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2021.11.0281

## Regulating Effects of Allyl Methyl Trisulfide on Inflammatory Factor and Intestinal Flora in Ulcerative Colitis Mice

WU Ping, LIU Jinqian, WANG Shuo, DONG Jing, FAN Zongqiang, LI Zhen, CHEN Fang\*  
(School of Pharmacy, Liaocheng University, Liaocheng 252059, China)

**Abstract:** The regulating effects of allyl methyl trisulfide (AMTS) on inflammatory factor and intestinal flora in ulcerative colitis mice were investigated in this study. Body weight, colon length, disease activity index (DAI) and histological changes were observed. Tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) and interleukin-6 (IL-6) contents in serum were detected by ELISA method. And the intestinal flora diversity in mice feces was analyzed by 16s rDNA high throughput sequencing. The results showed that the weight of the model group decreased by 25.59%, and the low-dose, medium-dose and high-dose AMTS groups were decreased by 4.06%, 9.88% and 5.45% respectively. The DAI in model group was 3.51, the three AMTS groups were 2.60, 2.88 and 2.79, respectively. Compared with the model group, three dosages of AMTS groups ameliorated inflammatory infiltration in colonic tissue, and significantly decreased the levels of pro-inflammatory cytokines, like TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 ( $p < 0.01$ ,  $p < 0.05$ ). The abundance and diversity of intestinal flora were increased after administration with AMTS. Compared to the model group, the microbial abundance of Bacteroidetes, Proteobacteria were decreased, and the abundance of Firmicutes, *Lactobacillus* were increased in the AMTS groups. In conclusion, the results indicate that AMTS alleviates the symptoms of ulcerative colitis by reducing the level of inflammatory factors and increasing the abundance and diversity of intestinal flora in mice.

**Key words:** allyl methyl trisulfide (AMTS); ulcerative colitis; inflammatory factor; intestinal flora

引文格式:

吴苹, 刘晋倩, 王硕, 等. 甲基烯丙基三硫醚对溃疡性结肠炎小鼠炎症因子及肠道菌群的调节作用[J]. 现代食品科技, 2021, 37(11): 120-127

WU Ping, LIU Jinqian, WANG Shuo, et al. Regulating effects of allyl methyl trisulfide on inflammatory factor and intestinal flora in ulcerative colitis mice [J]. Modern Food Science and Technology, 2021, 37(11): 120-127

收稿日期: 2021-03-16

基金项目: 国家自然科学基金项目(31401799); 山东省抗体制药协同创新中心开放课题(CIC-AD1816); 山东省自然科学基金项目(ZR2020MC126)

作者简介: 吴苹(1988-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 微生物与生物制药, E-mail: wuping8816@163.com

通讯作者: 陈芳(1980-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 微生物与生物制药, E-mail: chenfang20045@163.com

溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 是一种炎症性肠病, 主要在结肠的远端靠近直肠的部位发病, 通过在肠黏膜和黏膜下层形成溃疡面而产生连续性炎症反应<sup>[1]</sup>。这种病的临床症状主要表现为严重的腹痛、腹泻和便血。自 21 世纪以来, 该病的发病率在全球范围内不断呈上升趋势<sup>[2]</sup>。溃疡性结肠炎的发病机制目前还不清楚, 研究表明其发病病因与遗传、环境、免疫<sup>[3,4]</sup>以及肠道菌群有关。目前, 该病主要以抗炎和免疫调节为主, 以生物制剂治疗为辅。治疗的药物能有效缓解疾病症状, 但同时也伴有许多副作用。因此, 从天然资源中开发创新有效的药物对减少副作用和改善治疗效果尤为重要。

大蒜是一种药食同源的植物, 可入脾、胃、肺经, 具有抗菌、消炎等多重功效, 在中医应用上历史悠久。研究发现大蒜中的提取物, 如大蒜素、大蒜多糖、二烯丙基二硫醚 (DADS)、二烯丙基三硫醚 (DATS)、甲基烯丙基二硫醚 (AMDS) 和甲基烯丙基三硫醚 (AMTS) 等, 具有抗炎抗氧化的作用, 可被用于预防或治疗炎症性疾病。例如徐兴华等<sup>[5]</sup>研究表明大蒜素对溃疡性结肠炎小鼠有治疗作用, 其作用机制可能是通过抑制 TNF- $\alpha$  和 MPO 的水平, 阻断炎症的放大效应。Wang 等<sup>[6]</sup>研究发现大蒜多糖可通过增加毛螺菌和乳酸菌的丰度以及降低费克蓝姆菌属和壁厚菌门的丰度来发挥调节肠道菌群的作用, 达到治疗效果。Lee 等<sup>[7]</sup>研究发现大蒜有机硫提取物 DATS 可通过抑制 NF- $\kappa$ B/STAT3 信号通路缓解 DSS 诱导的小鼠结肠炎。Zhang 等<sup>[8]</sup>研究表明 AMDS 通过 NF- $\kappa$ B 信号通路抑制肠上皮细胞中 IL-8 和 IP-10 的分泌, 对肠道炎症具有改善作用。而对于提取物 AMTS 的研究, Zhao 等<sup>[9]</sup>研究发现它对乙酰氨基酚诱导的肝毒性具有保护作用, 但是该提取物对溃疡性结肠炎的作用机制尚不清楚。因此, 本研究以 AMTS 为实验对象, 探索其对溃疡性结肠炎的影响及作用机制, 研究其调节肠道菌群多样性和提高肠道免疫系统的关系, 为开发具有抗溃疡性结肠炎的药物提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

AMTS (CAS 号: 34135-85-8) 购自湖北信康医药化工有限公司; TNF- $\alpha$  试剂盒、IL-1 $\beta$  试剂盒、IL-6 试剂盒, 武汉云克隆科技股份有限公司; 苏木精伊红 (HE) 染色试剂盒, 杭州碧云天公司; 乙醇 (分析纯), 国药集团化学试剂有限公司; 其他试剂均为国产分析纯。

SF-400A 型电子称, 奥豪斯仪器 (上海) 有限公

司; 倒置显微镜, 日本 Olympus 公司; 8S-1 型磁力搅拌器, 江苏省金坛市金城国胜实验仪器厂; MY-10 手持式匀浆仪, 上海净信实业发展有限公司; HFU 40400BA 型超低温冰箱, 美国 Thermo 公司; 5425R 型低温离心机, 德国 eppendorf 公司; Synergy H1 酶标仪, 美国 BIOTEK 公司。

ICR 小鼠, SPF 级, 体重 16~20 g, 雄性, 购于济南朋悦实验动物繁育有限公司, 实验动物许可证号: SCXK(鲁)20190003。小鼠在动物房正常饲养, 适应环境 7 d, 自由饮食, 19~23 °C, 光暗周期 12/12 h。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 试验动物分组、建模及给药

将 50 只小鼠适应性喂养一周后, 按平均体重无显著性差异分为 5 组, 每组 10 只, 分别为空白对照组 (Control)、模型组 (DSS 组)、AMTS 低剂量组 AMTS (L) 25 mg/(kg·d)、AMTS 中剂量组 AMTS (M) 50 mg/(kg·d) 和 AMTS 高剂量组 AMTS (H) 100 mg/(kg·d), AMTS 剂量的选择参照 Zhao 等<sup>[9]</sup>方法。除空白组外, 其余 4 组连续自由饮用 2% 的 DSS 溶液 7 d, 建立小鼠溃疡性结肠炎模型。从第 8 d 开始, AMTS 组分别给予低、中、高三个剂量灌胃, 空白组和 DSS 组给予等量玉米油, 每日一次, 连续灌胃 7 d。

#### 1.2.2 标本采集

在末次给药 24 h 后, 对小鼠进行眼球取血, 在 4 °C 下 3000 r/min 离心 10 min 后取上清液, 然后将上清液在 -80 °C 保存用于生化分析。采血后将小鼠脱颈椎处死, 解剖小鼠并收集结肠组织, 测量结肠长度后置于 4% 多聚甲醛溶液中固定用于病理分析。最后收集小鼠 24 h 的新鲜粪便。采用拎尾法进行粪便的采集, 拎起小鼠的尾巴, 通过刺激小鼠, 排出粪便。用灭菌的镊子收集每只小鼠的粪便, 每收集完一只小鼠的粪便后, 用酒精擦拭镊子进行灭菌, 继续收集另外一只小鼠的粪便。收集好的粪便放入无菌的 EP 管, 并将 EP 管立即放入冰盒中, 最后放入 -80 °C 冰箱保存, 用于肠道菌群的检测。

表 1 疾病活动指数 (DAI) 评分标准

Table 1 Standard of mice disease activity index (DAI) score

体重下降/%	便血情况	大便性状	评分值/分
<1	阴性	正常	0
≥1~5	-	-	1
≥5~10	阳性, 但无肉眼可见便血	稀软	2
≥10~15	-	-	3
≥15	肉眼可见便血	水样便	4

注: “-”表示在上下指标之间者。

### 1.2.3 疾病活动指数 (DAI) 的评估

参照文献<sup>[10,11]</sup>的方法,对造模后小鼠的体重、粪便黏度和便血等情况进行评分(表1),每天记录一次疾病活动指数(DAI)评分,以评估结肠炎的严重程度。评分的每一项指数均按0~4分进行评分,0分表示无疾病症状,4分表示严重疾病症状。具体标准见表1。

### 1.2.4 小鼠结肠组织病理学观察

采用苏木精和伊红(HE)染色法分析结肠组织病理变化。对取出的小鼠的结肠组织用4%多聚甲醛溶液固定,固定24h后进行乙醇脱水,然后再经乙醇和二甲苯脱水,用石蜡包埋制成蜡块。将蜡块用切片机制备5 μm切片并用HE法染色,最后在光学显微镜下观察结肠组织的病理变化。

### 1.2.5 炎症因子测定

对小鼠进行眼球取血,在4℃下3000 r/min离心10 min后取上清液,然后将上清液在-80℃保存用于生化分析。对收集的血清使用酶联免疫吸附法进行炎症因子测定。根据酶联免疫吸附(ELISA)试剂盒说明书操作步骤,检测各组小鼠血清中的炎症细胞因子(TNF-α、IL-1β和IL-6)水平。

### 1.2.6 肠道菌群 16S rRNA 测序及生物信息学分析

结肠炎是由肠道共生菌群或其代谢物侵入肠道屏障,驱动免疫细胞的激活和分化而引发的<sup>[12]</sup>。根据文献<sup>[13,14]</sup>报道的16S rRNA检测分析,将收集的小鼠粪便委托微生物科技节(上海)有限公司进行测序分析,以便确定AMTS对DSS诱导的小鼠溃疡性结肠炎肠道菌群的影响。

### 1.2.7 统计分析

数据用均数±标准差(Mean±SD)表示。所有数据均采用IBM SPSS 24统计软件进行分析。数据比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA)和Tukey检验进行差异显著性分析。 $p < 0.05$ 为有统计学意义。图形分析采用Graph Pad Prism 5.0。

## 2 结果与分析

### 2.1 AMTS 对体重和 DAI 的影响

溃疡性结肠炎小鼠最典型的症状就是体重下降,如图1a所示,模型组在第9d开始出现体重下降,平均体重为26.63 g。到了第12d,模型组小鼠平均体重为22.58 g,空白组平均体重为31.05 g,模型组体重与空白组相比下降显著,具有统计学意义( $p < 0.01$ )。与模型组相比,AMTS干预组在第9d出现体重下降,但下降缓慢。比较第14d体重时发现,模型组较第9d

时体重下降25.59%,AMTS低剂量组下降4.06%,AMTS中剂量组下降9.88%,AMTS高剂量组5.45%。AMTS低剂量组体重下降最少,模型组体重下降最多。

疾病活动指数对评估结肠炎的严重程度具有指导意义<sup>[10,11]</sup>。从图1b可以看到,造模期间模型组DAI评分明显高于空白组。比较最后一天DAI时发现,空白组的DAI值为0,模型组DAI值为3.51,AMTS低剂量组为2.60,AMTS中剂量组为2.88,AMTS高剂量组为2.79。这说明经AMTS灌胃干预后,小鼠DAI评分明显下降,并且与模型组相比具有显著性差异( $p < 0.01$ )。

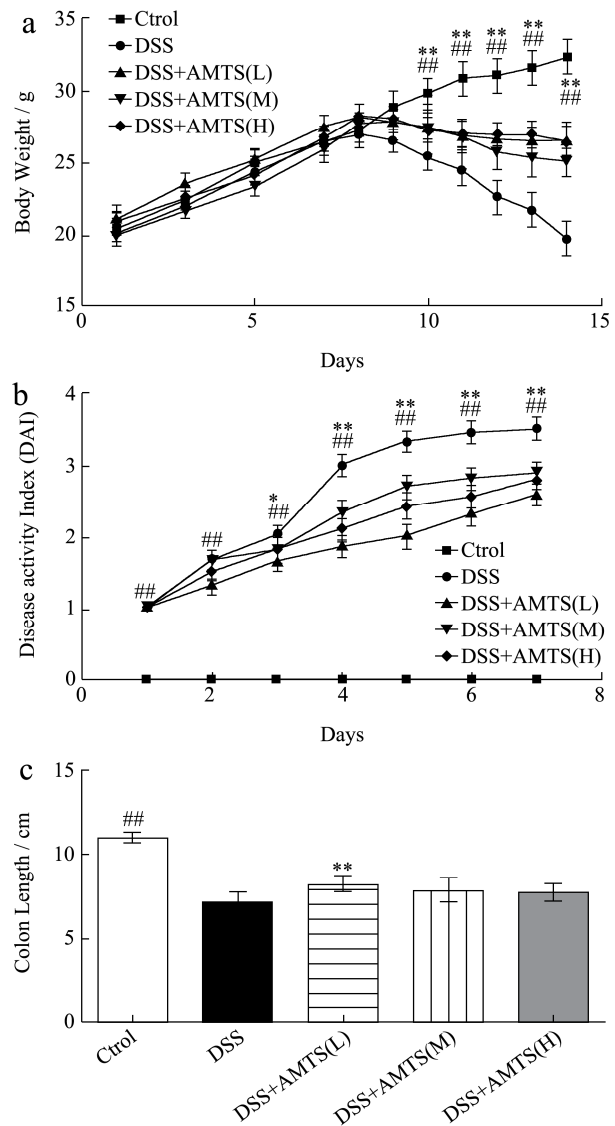


图1 AMTS对DSS结肠炎小鼠的结肠症状的影响

Fig.1 Effect of AMTS on the symptoms of DSS induced ulcerative colitis in mice

注:(a)小鼠体重变化分析(g);(b)疾病活动指数分析;(c)小鼠结肠长度分析(cm);所有数据均以平均值mean±SD表示(n=10)。\* $p < 0.05$ ,\*\* $p < 0.01$ ,治疗组vs DSS组;# $p < 0.05$ ,### $p < 0.01$ ,空白组vs DSS组。

溃疡性结肠炎会导致小鼠肠壁增厚,结肠长度缩

短,所以结肠长度也是评价溃疡性结肠炎的一个间接指标<sup>[15]</sup>。图 1c 中结果表明,空白组结肠长度为 11.07 cm,模型组长度明显收缩,平均长度为 7.17 cm,较正常组相比缩短 35.23%,两组具有显著性差异 ( $p<0.01$ )。AMTS 低剂量的结肠长度为 8.19 cm,与模型组相比具有显著性差异 ( $p<0.01$ )。中剂量组 7.89 cm 和高剂量组 7.8 cm 的结肠长度较模型组增加,但差异无显著性。

吴铭等<sup>[16]</sup>用芸薹属紫菜蔬乙醇提取物对 2% DSS 诱导的小鼠结肠炎结果表明,与空白组相比,模型小鼠体重显著下降 ( $p<0.05$ ),DAI 指数显著升高 ( $p<0.05$ ),并且结肠长度较正常组结肠长度缩短 61.70%。本实验的上述结果说明 DSS 诱导的溃疡性结肠炎模型是成功的,AMTS 能抑制结肠炎小鼠体重下降,改善腹泻和便血现象,缓解溃疡性结肠炎。

## 2.2 结肠组织病理学分析

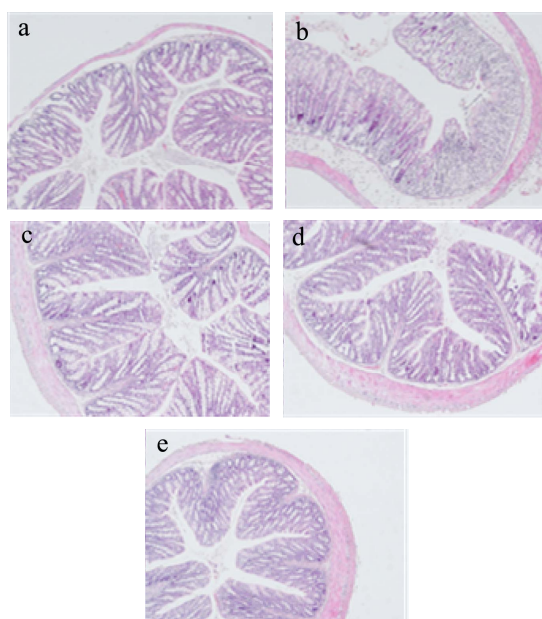


图 2 DSS 结肠炎小鼠结肠组织切片 HE 染色 (10×)

Fig.2 HE staining of intestinal tissue sections of DSS induced ulcerative colitis in mice (10×)

注: (a) 正常组; (b) 模型组; (c) AMTS 低剂量组; (d) AMTS 中剂量组; (e) AMTS 高剂量组。

徐敏等<sup>[17]</sup>在粪便微生物粗提液对 3% DSS 诱导的小鼠结肠炎的结果中,对结肠组织的 HE 染色发现,正常小鼠结肠组织隐窝腺、基质和粘膜等上皮结构保存完整,而 DSS 组小鼠肠组织出现典型的隐窝上皮损毁,粘膜广泛损伤和炎症细胞浸润。在本研究中,如图 2 所示,空白组小鼠结肠组织的黏膜上皮结构完整清晰,腺体排列整齐,无炎症细胞浸润。模型组小鼠的结肠组织存在隐窝变形、杯状细胞丢失、炎症细胞浸润和

严重的黏膜损伤。与模型组相比,AMTS 剂量组能减轻隐窝上皮变形、杯状细胞丢失,小鼠黏膜炎症程度明显改善,黏膜病变有所减轻,炎症细胞浸润有所减少,这说明 AMTS 对 DSS 所致的结肠炎有保护作用。

## 2.3 AMTS 调节炎症因子的分泌

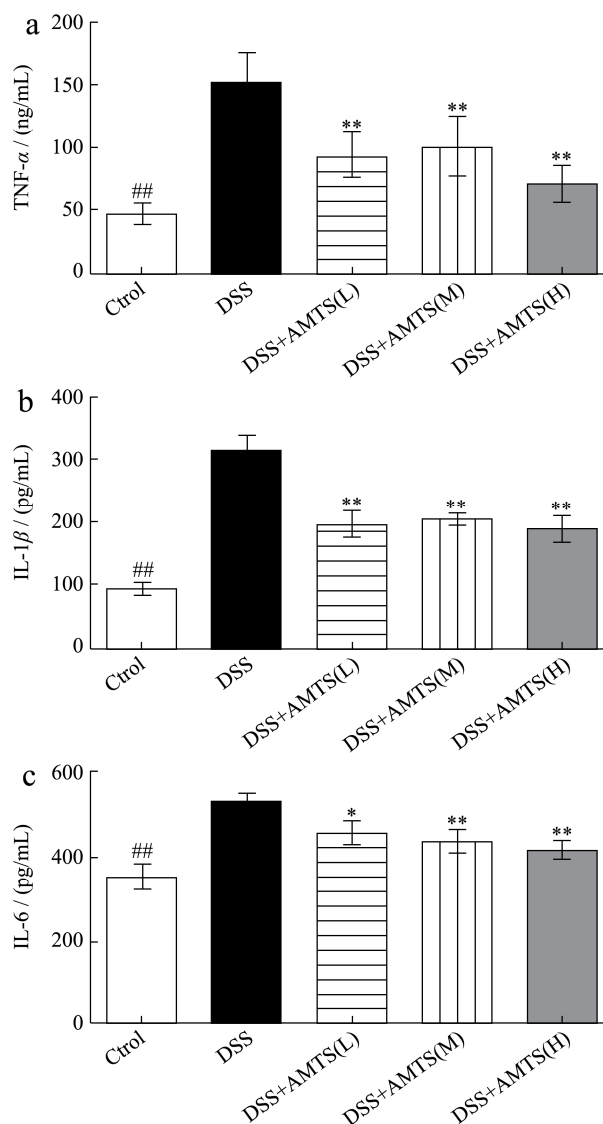


图 3 AMTS 对 DSS 结肠炎小鼠炎症细胞因子的影响

Fig.3 Effect of AMTS on the inflammatory factors of DSS induced ulcerative colitis in mice

注: (a) TNF-α 含量; (b) IL-1β 含量; (c) IL-6 含量。  
\* $p<0.05$ , \*\* $p<0.01$ , 治疗组 vs DSS 组; # $p<0.05$ , ## $p<0.01$ , 空白组 vs DSS 组。

促炎细胞因子的失调是炎症性肠病 (IBD) 的一个标志。越来越多的文献<sup>[18,19]</sup>表明促炎细胞因子在 IBD 的发病机制中起关键作用。促炎细胞因子水平的升高,例如 TNF-α、IFN-γ、IL-1β、IL-6 等,是结肠炎病症的主要特征。因此下调促炎因子水平对溃疡性结肠炎是一种可行的治疗策略。

在本实验中,结果如图3所示,与空白组相比,模型组小鼠血清中促炎因子 IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$  水平明显增加 ( $p < 0.01$ ),分别较正常组小鼠升高 3.39 倍、1.52 倍和 3.38 倍。与模型组相比,AMTS 低剂量、AMTS 中剂量组以及 AMTS 高剂量组小鼠血清 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 水平明显降低 ( $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$ ),其中 TNF- $\alpha$  水平分别降低了 40.13%、34.87%和 53.95%; IL-1 $\beta$  水平分别降低了 39.25%、34.62%和 39.10%; IL-6 水平分别降低了 14.48%、18.34%和 21.74%; 给药组间差异不明显。这一结果与 Kanwal 等<sup>[20]</sup>的研究结果相类似。Kanwal<sup>[20]</sup>发现竹荪多糖 (DIP) 可下调结肠炎小鼠中的促炎细胞因子,尤其是高剂量 (33 mg/kg) 的竹荪多糖,可显著下调 IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$  和 IFN- $\gamma$  等炎症因子水平 ( $p < 0.01$ )。因此,研究结果表明,DSS 模型组的 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 水平升高,而使用 AMTS 处理则可显著降低这些炎症因子的水平。这说明 AMTS 降低疾病活动指数以及缓解组织病理损伤可能与调节炎症因子水平有关。

## 2.4 AMTS 对结肠炎小鼠肠道菌群的影响

### 2.4.1 韦恩图

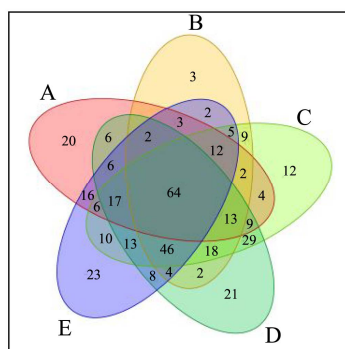


图4 小鼠肠道菌群的韦恩图

Fig.4 Venn diagram of different mice microflora

注: A: 空白组; B: 模型组; C: AMTS 低剂量组; D: AMTS 中剂量组; E: AMTS 高剂量组。图5同。

韦恩图可用于统计多个样品中共有和独有的 OTU 数目,可以比较直观的反映样品的 OTU 数目组成相似性及重叠情况。Kanwal 等<sup>[20]</sup>研究了 DIP 对 DSS 诱导的结肠炎小鼠肠道菌群的影响。其中,韦恩图显示空白组粪便的 OTU 为 1418,模型组粪便的 OTU 数与空白组相比下降 33.29%; DIP 低剂量组和高剂量组与空白组相比分别下降 14.88%和 3.81%。本研究采用韦恩图分析各组小鼠菌群 OTU 的数量及其种类的交叉情况。图4中,五组小鼠粪便中 OUT 共有 385 个,核心 OTU 有 65 个,占总 OTU 数的 16.88%。各组特异性 OTU/总 OTU 分别为空白组 20/180,模型组

3/185, AMTS 低剂量组 12/229, AMTS 中剂量组 21/258, AMTS 高剂量组 23/237。空白组与模型组在总的 OTU 数量上没有差异,但空白组的特异性 OTU 数量明显高于模型组。AMTS 三个剂量组的总 OTU 数量均高于空白组和模型组,这说明 AMTS 处理可以增加小鼠肠道菌群的丰富度。

### 2.4.2 小鼠肠道菌群 $\alpha$ 多样性分析

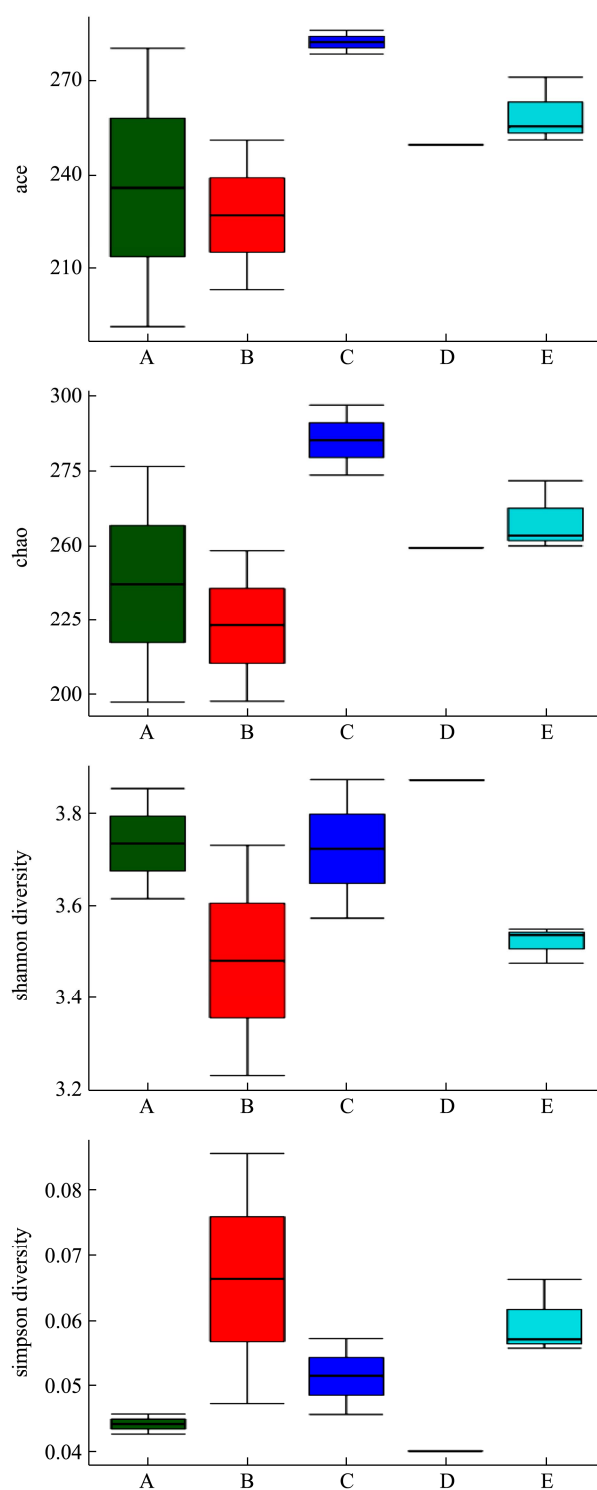


图5  $\alpha$  多样性箱线图

Fig.5 Boxplot of alpha diversity



本研究采用  $\alpha$  多样性分析来比较不同分组的小鼠肠道菌群的多样性和丰富度。 $\alpha$  多样性分析包括 chao 指数、ace 指数, shannon 指数以及 simpson 指数等。chao 指数和 ace 指数反映样品中群落的丰富度,可直观地反映群落中物种的数量。shannon 指数以及 simpson 指数反映群落的多样性,受样品群落中物种丰富度和物种均匀度的影响。chao 指数、ace 指数、shannon 指数越大, simpson 指数越小,则说明样品中的物种越丰富。如图 5 所示,与空白组相比,模型组的 chao 指数、ace 指数、shannon 指数均降低, simpson 指数升高。经 25 mg/kg、50 mg/kg 和 100 mg/kg AMTS 处理的小鼠肠道菌群,其 chao 指数、ace 指数、shannon 指数均高于模型组, simpson 指数低于模型组,这说明 AMTS 可以提高小鼠肠道菌群的多样性和丰富度。

有研究表明<sup>[20]</sup>用 DIP 处理结肠炎小鼠 14 d 后, DIP 组不仅会增加小鼠肠道菌群的丰富度,而且还增加了多样性。分析本实验结果可以发现,小鼠饮用 DSS 溶液后降低了肠道菌群的多样性和丰富度,而 AMTS 同样可以改善肠道菌群的丰富度,增加多样性。

### 2.4.3 小鼠肠道菌群 $\beta$ 多样性分析

群落结构组成柱状图是根据分类学分析结果,得知一个或多个样品在各分类水平上的分类学比对情况。从群落结构组成柱状图中可以分析样品中的微生物种类及各种微生物的相对丰度。

图 6a 是样品在门水平上的各组肠道菌群的群落结构。空白组菌群反映正常小鼠肠道菌群的构成,可以看出,在门水平上,拟杆菌门 (Bacteroidetes)、厚壁菌门 (Firmicutes)、变形杆菌门 (Proteobacteria)、放线菌门 (Actinobacteria) 和蓝藻门 (Cyanobacteria) 是主要物种。与空白组相比,模型组在门水平上, Firmicutes、脱铁杆菌门 (Deferribacteres)、Cyanobacteria 的比例显著升高, Bacteroidetes、Proteobacteria、Actinobacteria 明显减少。有研究报道 Bacteroidetes 是促进结肠炎发生发展的主要因素之一, Chen 等<sup>[21]</sup>已经证实 Bacteroidetes 的失调与 IBD 有关。在本研究中可以看到,与空白组相比, Bacteroidetes 的相对丰度在 DSS 诱导的小鼠结肠炎中升高,而 AMTS 低剂量和高剂量能显著降低 Bacteroidetes 的相对丰度,说明我们的研究结果和文献报道具有一致性。

图 6b 显示,在属水平上,除去未确定分类的肠道菌,在空白组中 Bacteroidetes、另枝菌属 (*Alistipes*)、拟普雷沃菌属 (*Alloprevotella*)、乳酸杆菌 (*Lactobacillus*)、臭味菌属 (*Odoribacter*)、埃希氏菌 (*Escherichia*)、葡萄球菌属 (*Staphylococcus*) 是主要

菌属。与空白组相比,模型组中的 Bacteroidetes、*Alistipes*、*Alloprevotella*、*Odoribacter* 较空白组有增加趋势,而 *Lactobacillus*、*Escherichia* 有减少趋势。图 6b 可以看到,与模型组相比,AMTS 低剂量和高剂量组下调了 *Alistipes* 的丰度,同时高剂量组还降低了 *Odoribacter* 的丰度。陈燕等<sup>[22]</sup>研究发现短链脂肪酸的浓度与肠道菌群密切相关,其中乙酸、丙酸与丁酸在肠道中是主要的短链脂肪酸。*Alistipes* 及 *Odoribacter* 是有害菌,其丰度与乙酸存在显著负相关,会导致短链脂肪酸代谢异常,促进炎症的发生。本研究中,AMTS 降低了有害菌 *Alistipes* 及 *Odoribacter* 的增殖,与以上结果一致。

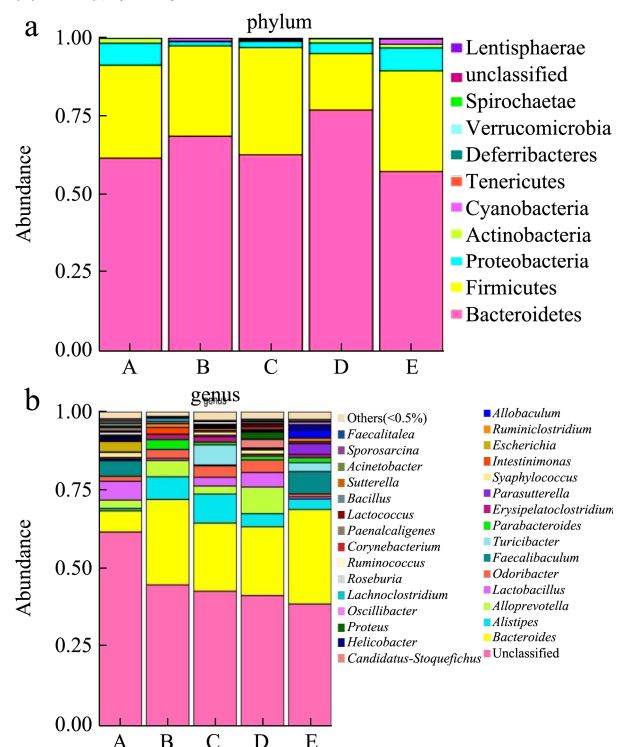


图 6 物种分布柱状图

Fig.6 Histogram of horizontal species

注: (a) 门水平物种分布柱状图; (b) 属水平物种分布柱状图。A: 空白组; B: 模型组; C: AMTS 低剂量组; D: AMTS 中剂量组; E: AMTS 高剂量组。

图 6b 还显示,模型组的 *Lactobacillus*、幽门螺杆菌 (*Helicobacter*) 丰度明显低于空白组。AMTS 低剂量和中剂量较模型组 *Lactobacillus* 的丰度有增加趋势,中剂量组的 *Helicobacter* 较模型组也明显增加。研究证明 *Lactobacillus* 是一种益生菌,能通过阻止致病菌的定植与粘附形成抗菌生物屏障,调节肠道菌群平衡<sup>[23]</sup>。因此用 AMTS 干预处理后会提高结肠炎小鼠 *Lactobacillus* 的丰度。近几年研究发现<sup>[24]</sup>*Helicobacter* 感染与 IBD 呈负相关, Li 等<sup>[25]</sup>在研究中发现,幽门螺杆菌感染可能通过调节中性粒细胞活化蛋白,促进抗

炎因子 IL-10 的产生, 从而减轻结肠炎症状。

以上数据说明, AMTS 可以逆转结肠炎小鼠肠道微生物群的变化, 增加潜在有益菌的丰度, 如 *Odoribacter* 和 *Helicobacter*, 减少潜在有害细菌的丰度, 如 *Alistipes* 和 *Bacteroidetes* 的丰度。

### 2.4.4 基于物种信息的 Bray-Curtis 距离分析

Bray-Curtis 距离是反映两个群落之间差异性的常用指标。本研究基于物种信息的 Bray-Curtis 距离分析, 用来比较各样品间基于群落组成的层次聚类, 样品之间的距离越远说明差异越大。Cui 等<sup>[26]</sup>在研究黄连素通过调节结肠内肠道菌群治疗溃疡性结肠炎中发现, 肠道菌群的系统聚类树空白组和黄连素组相距较近, 和模型组相距较远。在本研究中, 从图 7a 可见, 在门水平上, 空白组和 AMTS 中剂量组的 Bray-Curtis 距离最近, 其次是 AMTS 低剂量和高剂量的距离较近, 模型组距离最远。在属水平上(图 7b), AMTS 低剂量和高剂量组样本相距较近, 而空白组与模型组、AMTS 干预组相距较远。上述结果提示, 在门水平上 AMTS 组的肠道菌群与空白组具有一定的相似性, 而与模型组差异明显。在属水平上, 模型组和 AMTS 干预组样本间多样性差异较小, 而空白组与模型组、AMTS 干预组样本间多样性差异较大。

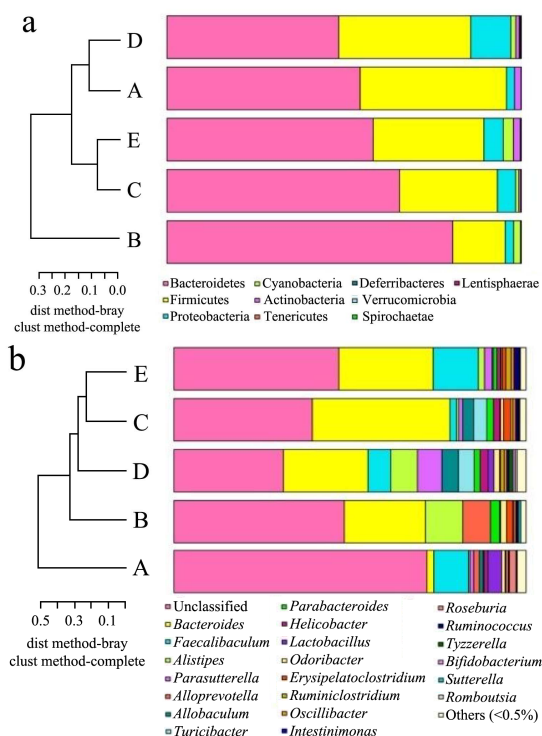


图7 物种水平样品聚类树与柱状图组合分析图

Fig.7 Histogram of horizontal species

注: (a) 门水平物种分布柱状图; (b) 属水平物种分布柱状图。A: 空白组; B: 模型组; C: AMTS 低剂量组; D: AMTS 中剂量组; E: AMTS 高剂量组。

## 3 结论

本研究初步证实了 AMTS 对溃疡性结肠炎的保护作用与炎症因子水平和肠道菌群的结构密切相关。在该研究中, 我们首次发现了 AMTS 对小鼠溃疡性结肠炎的作用, 并揭示了 AMTS 改善肠道损伤、调节细胞因子水平以及恢复肠道菌群结构的可能机制。研究表明, AMTS 作为一种潜在的治疗结肠炎天然产物, 可进行大量深入的研究, 以便为开发相关药物提供理论依据。

## 参考文献

- [1] Conrad K, Roggenbuck D, Laass M W. Diagnosis and classification of ulcerative colitis [J]. *Autoimmunity Reviews*, 2014, 13(4-5): 463-466
- [2] Ungaro R, Mehandru S, Allen P B, et al. Ulcerative colitis [J]. *Lancet*, 2017, 389(10080): 1756-1770
- [3] Cetinkaya A, Bulbuloglu E, Kurutas E B, et al. Beneficial effects of N-acetylcysteine on acetic acid-induced colitis in rats [J]. *Journal of Experimental Medicine*, 2005, 206(2): 131-139
- [4] Hill D A, Hoffmann C, Abt M C, et al. Metagenomic analyses reveal antibiotic-induced temporal and spatial changes in intestinal microbiota with associated alterations in immune cell homeostasis [J]. *Mucosal Immunology*, 2010, 3(2): 148-158
- [5] 徐兴华, 郭汶慧, 王凯悦, 等. 大蒜素对 BALB/c 小鼠溃疡性结肠炎的影响及其作用机制[J]. *济宁医学院学报*, 2020, 43(5): 326-329
- [6] XU Xinghua, GUO Wenhui, WANG Kaiyue, et al. The effect of allicin on ulcerative colitis in BALB/c and its mechanism [J]. *Journal of Jining Medicine University*, 2020, 43(5): 326-329
- [7] Wang XL, Wang X, Jiang H, et al. Marine polysaccharides attenuate metabolic syndrome by fermentation products and altering gut microbiota: an overview [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2018, 195: 601-612
- [8] Lee H J, Lee H G, Choi K S, et al. Diallyl trisulfide suppresses dextran sodium sulfate-induced mouse colitis: NF- $\kappa$ B and STAT3 as potential targets [J]. *Biochemical & Biophysical Research Communications*, 2013, 437(2): 267-273
- [9] Zhang Y, Wang Y, Zhang F, et al. Allyl methyl disulfide inhibits IL-8 and IP-10 secretion in intestinal epithelial cells via the NF- $\kappa$ B signaling pathway [J]. *International*

- Immunopharmacology, 2015, 27(1): 156-163
- [9] Zhao H J, Li M J, Zhang M P, et al. Allyl methyl trisulfide protected against acetaminophen (paracetamol)-induced hepatotoxicity by suppressing CYP2E1 and activating Nrf2 in mouse liver [J]. Food & Function, 2019, 10(4): 2244-2253
- [10] Tian Z, Liu J, Liao M, et al. Beneficial effects of fecal microbiota transplantation on ulcerative colitis in mice [J]. Digestive Diseases & Sciences, 2016, 61(8): 2262-2271
- [11] Tian M, Ma P, Zhang Y, et al. Ginsenoside Rk3 alleviated DSS-induced ulcerative colitis by protecting colon barrier and inhibiting NLRP3 inflammasome pathway [J]. International Immunopharmacology, 2020, 85: 106645.
- [12] Zhang W, Cheng C, Han Q, et al. Flos *Abelmoschus manihot* extract attenuates DSS-induced colitis by regulating gut microbiota and Th17/Treg balance [J]. Biomed Pharmacother, 2019, 117: 109162
- [13] Darnaud M, Dos Santos A, Gonzalez P, et al. Enteric delivery of regenerating family member 3 alpha alters the intestinal microbiota and controls inflammation in mice with colitis [J]. Gastroenterology, 2018, 154(4): 1009-1023 e1014
- [14] Li J, Li R, Li N, et al. Mechanism of antidiabetic and synergistic effects of ginseng polysaccharide and ginsenoside Rb1 on diabetic rat model [J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2018, 158: 451-460
- [15] 钟敏,李昕宇,郝佳美,等.正北芪多糖对结肠炎小鼠的抗炎作用研究[J/OL].食品工业科技:1-13[2021-08-10].  
<https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020090241>  
ZHONG Min, LI Xinyu, HAO Jiamei, et al. Anti-inflammatory effect of astragalus polysaccharide from astragali radix on mice with ulcerative colitis [J]. Science and Technology of Food Industry, 1-13 [2021-08-10]. <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020090241>
- [16] 吴铭,宋家乐,任源,等.芸薹属紫菜蔬乙醇提取物对葡聚糖硫酸钠致小鼠结肠炎的预防作用[J].现代食品科技,2019, 35(9):159-168  
WU Ming, SONG Jiale, REN Yuan, et al. Preventive effects of purple brassica vegetables ethanolic extracts in DSS induced mice colitis [J]. Modern Food Science and Technology, 2019, 35(9): 159-168
- [17] 徐敏,蒙月月,靳姐,等.粪便微生物粗提液通过抑制 NF- $\kappa$ B 信号的抗溃疡性结肠炎研究[J].现代食品科技,2016,11:43-48  
XU Min, MENG Yueyue, JIN Da, et al. Anti-colitis effect of fecal microbiota crude extract via suppressing the nuclear Factor- $\kappa$ B signaling pathway [J]. Modern Food Science and Technology, 2016, 11: 43-48
- [18] Neurath M F. Cytokines in inflammatory bowel disease [J]. Nature Reviews Immunology, 2014, 14(5): 329-342
- [19] Fin A, Dpallone F. What is the role of cytokines and chemokines in IBD? [J]. Inflammatory Bowel Diseases, 2008(14 Suppl 2): S117-S118
- [20] Kanwal S, Joseph T P, Aliya S, et al. Attenuation of DSS induced colitis by *Dictyophora indusiata* polysaccharide (DIP) via modulation of gut microbiota and inflammatory related signaling pathways [J]. Journal of Functional Foods, 2020, 64: 103641
- [21] Chen L A, Yu H, Albesiano E, et al. A sensitive stool diagnostic assay to study enterotoxigenic bacteroides fragilis in inflammatory bowel disease and colitis-associated cancer [J]. Gastroenterology, 2011, 140(5): S360-S360
- [22] 陈燕,曹郁生,刘晓华.短链脂肪酸与肠道菌群[J].江西科学, 2006,1:38-40  
CHEN Yan, CAO Yusheng, LIU Xiaohua. Short chain fatty acids and intestinal microflora [J]. Jiangxi Science, 2006, 1: 38-40
- [23] Chen D, Chen G, Chen C, et al. Prebiotics effects *in vitro* of polysaccharides from tea flowers on gut microbiota of healthy persons and patients with inflammatory bowel disease [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 158: 968-976
- [24] Castano R N, Kaakoush N O, Lee W S, et al. Dual role of *Helicobacter* and *Campylobacter* species in IBD: a systematic review and meta-analysis [J]. Gut, 2017, 66(2): 235-249
- [25] LI X, TAN J, ZHANG F, et al. *H.pylori* infection alleviates acute and chronic colitis with the expansion of regulatory B cells in mice [J]. Inflammation, 2019, 42(5): 1611-1621
- [26] Cui H, Cai Y, Wang L, et al. Berberine regulates Treg/Th17 balance to treat ulcerative colitis through modulating the gut microbiota in the colon [J]. Front Pharmacol, 2018, 9: 571