

菊粉对炎症性肠病小鼠肠道菌群的调节作用

吴瑞丽¹, 刘通², 王振³, 程征宇³, 陈托⁴, 杨嘉力⁵, 杨少奇⁵

(1. 山东省寄生虫病防治研究所, 山东第一医科大学附属消化病医院, 山东济宁 272033)

(2. 宁夏医科大学基础医学院, 宁夏银川 750004) (3. 乐山市人民医院消化内科, 四川乐山 614000)

(4. 自贡市第四人民医院, 四川自贡 643000) (5. 宁夏医科大学总医院消化内科, 宁夏银川 750000)

摘要: 探讨膳食菊粉对炎症性肠病 (IBD) 小鼠肠道微生物区的调节作用。本研究采用葡聚糖硫酸钠 (DSS) 诱导法建立 IBD 小鼠模型, 将 C57BL/6 小鼠随机分为 3 组: 空白对照组 (CON) 饮用蒸馏水; 模型组 (IBD) 饮用含 2.5% DSS 的蒸馏水; 菊粉干预模型组 (INU) 在 DSS 诱导的同时摄入 2 g/kg 菊粉; 每日监测小鼠体重、粪便粘稠度及便血情况。实验结束后, HE 染色观察小鼠结肠组织病理改变, 16S rDNA 高通量测序分析小鼠肠道菌群多样性改变。研究结果显示, 菊粉摄入能够明显提高 IBD 小鼠的体重 ($p<0.05$), 缓解其腹泻、便血和结肠组织损伤, 降低疾病活动指数 ($p<0.05$)。测序结果表明: 菊粉干预后乳酸杆菌 (*Lactobacillus*) 和双歧杆菌 (*Bifidobacterium*) 的丰度较 IBD 组分别显著升高至 28.70% 和 0.06% ($p<0.05$); 变形菌门 (*Proteobacteria*) 丰度较 IBD 组显著降低至 0.66% ($p<0.05$)。本研究表明菊粉通过选择性促进益生菌 *Lactobacillus* 和 *Bifidobacterium* 生长, 抑制 *Proteobacteria* 生长, 改变了 IBD 小鼠肠道菌群组成。

关键词: 炎症性肠病; 菊粉; 肠道菌群; 高通量测序

文章编号: 1673-9078(2020)12-13-21

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2020.12.0598

Inulin Regulating Action of Gut Microbiota in Inflammatory Bowel Disease Mice

WU Rui-li¹, LIU Tong², WANG Zhen³, CHENG Zheng-yu³, CHEN Tuo⁴, YANG Jia-li⁵, YANG Shao-qi⁵

(1. Shandong Institute of Parasitic Diseases, Shandong First Medical University & Shandong Academy of Medical Sciences, Jinan 272033, China) (2. School of Basic Medical Sciences, Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, China) (3. Department of Gastroenterology, the People's Hospital of Leshan, Leshan, 614000, China) (4. The Fourth People's Hospital of Zigong, Zigong 643000, China) (5. Department of digestive system, General Hospital of Ningxia Medical University, Yinchuan 750000, China)

Abstract: The effects of dietary inulin on gut microbiota in inflammatory bowel disease (IBD) in mice were investigated. The mice were fed dextran sulfate sodium (DSS) to establish IBD mice model. In this study, C57BL/6 mice were randomly divided into three groups: blank control group (CON) was administered with distilled water, model group (IBD) was treated with distilled water containing 2.5% DSS, as well as inulin treated with model group (INU) was administered with 2 g/kg inulin and 2.5% DSS. The body weight, fecal consistency and hematochezia of mice in diverse groups were monitored daily. After intervention, the pathological features of colon tissue were observed by hematoxylin-eosin staining, as well as intestinal flora diversity in feces of mice was analyzed by 16s rDNA high throughput sequencing. The results showed that inulin administration significantly increased the body weights ($p<0.05$), ameliorated diarrhea, hematochezia and colonic

引文格式:

吴瑞丽, 刘通, 王振, 等. 菊粉对炎症性肠病小鼠肠道菌群的调节作用[J]. 现代食品科技, 2020, 36(12): 13-21

WU Rui-li, LIU Tong, WANG Zhen, et al. Inulin regulating action of gut microbiota in inflammatory bowel disease mice [J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 36(12): 13-21

收稿日期: 2020-06-29

基金项目: 宁夏自然科学基金项目 (2019A0179); 宁夏自治区“十三五”重点研发计划 (重大科技项目) (2016BZ02); 宁夏医科大学创新创业训练项目 (S201910752025)

作者简介: 吴瑞丽 (1983-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 炎症性肠病相关研究; 共同第一作者: 刘通 (1994-), 男, 在读硕士研究生, 研究方向: 病原免疫相关研究

通讯作者: 王振 (1987-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 炎症性肠病相关研究

tissue damage, as well as reduced disease activity index in IBD mice ($p<0.05$). The sequencing results indicated that after inulin supplementation, the relative abundance of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* were increased to 28.70% and 0.06% ($p<0.05$), respectively, compared with IBD group, whilst the proportion of *Proteobacteria* was decreased to 0.66% in comparison with IBD group ($p<0.05$). In conclusion, inulin administration altered the composition of gut microbiota in IBD mice via increasing probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* and decreasing *Proteobacteria*.

Key words: inflammatory bowel disease; inulin; gut microbiota; high-throughput sequencing

炎症性肠病 (Inflammatory bowel disease, IBD) 是一种病因不明的慢性非特异性肠道炎症性疾病, 主要包括溃疡性结肠炎 (Ulcerative colitis, UC) 和克罗恩病 (Crohn's disease, CD) [1,2]。该病具有反复发作和治愈困难的特点, 患者主要表现为腹痛、腹泻、里急后重和粘液血便, 严重者可出现肠穿孔、中毒性巨结肠等并发症, 甚至可能危及生命 [3,4]。其病因和发病机制并不清楚, 目前普遍认为可能与遗传、环境因素、免疫、肠道菌群失调有关 [5,6]。虽然市面上已经出现了很多药物和治疗方法缓解 IBD, 但并不能从根源上治愈。因此迫切需要新的思路和方案防治 IBD。

人类肠道中有一个复杂而丰富的微生物聚集区称为肠道微生物群。最近的研究发现肠道菌群失调、病原菌过度增值和肠粘膜通透性改变是 IBD 的重要诱因 [7,8]。有研究显示, IBD 患者的肠道菌群多样性、种类和丰度发生明显变化, 侵袭性肠菌如变形菌门 (*Proteobacteria*) 的比例明显升高, 而益生菌双歧杆菌 (*Bifidobacterium*) 和乳酸菌 (*Lactobacillus*) 的比例显著降低, 肠道菌群稳态失调 [9]。病原菌过度增值导致其代谢产物脂多糖 (Lipopolysaccharide, LPS) 显著增加, 同时分泌免疫抑制蛋白, 导致黏膜免疫失调, 肠粘膜通透性增加 [10]。动物研究发现粪便菌群移植 (Fecal microbiota transplantation, FMT) 疗法可以帮助重建肠道正常菌群, 进而有效改善 IBD 症状 [11,12]。此外, 益生元和益生菌摄入也能够有效改善 IBD 患者的肠道菌群失调 [13,14]。

菊粉型果聚糖 (Inulin) 是一种植物来源的果糖, 作为经典的益生元, 它能特异性促进益生菌在结肠定植, 从而改善肠道环境和宿主健康 [15,16]。研究表明, 菊粉可以选择性刺激多囊卵巢综合征 (Polycystic ovary syndrome, PCOS) 小鼠肠道内 *Bifidobacterium* 的生长, 进而改善 PCOS 的炎症和菌群失调 [17]。此外, 菊粉作为一种不可消化的选择性发酵膳食纤维, 能够减少食物在胃肠道停留时间, 同时增加粪便的持水性和容量, 使得粪便易于排出, 起到肠道清道夫的作用, 对便秘和腹泻起到双向调节作用 [18]。但菊粉对 IBD 小鼠肠道菌群的影响尚不清楚。

因此, 本研究采用经典的葡聚糖硫酸钠 (Dextran

sulfate sodium, DSS) 诱导法建立 IBD 小鼠模型, 该方法实验操作简单, 诱导的 IBD 小鼠模型表现位腹泻、便秘、潜血、体重下降和肠道溃疡等病理特征, 与临床表现吻合度高, 是最常用的 IBD 小鼠造模方法 [19]。同时给予菊粉饮食干预, 探讨其对 IBD 小鼠肠道菌群的作用, 为临床 IBD 的治疗提供新的思路和理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

24 只雄性 SPF 级 C57BL/6 小鼠 (6~8 周龄, 体重 20 ± 1.6 g) 购买于北京维通利华实验动物技术有限公司 (合格证号: SCXK 京 2016-0006), 相关研究均符合实验动物伦理委员会的要求。

1.2 实验材料与设备

菊粉 (可溶性膳食纤维) 购自河北承德丰宁平安高科实业有限公司, 含有 91% 菊糖型果聚糖和 9% 的糖 (蔗糖+果糖+葡萄糖); DSS 购自 MP Biomedicals 公司; -80 °C 超低温保存箱 MDF-U500VX, 凌仪生物; LEICA 显微镜 DMI3000, Leica 公司; 生物组织包埋机 YD-6L, 益迪医疗。

1.3 实验设计及模型建立

表 1 疾病活动指数 (DAI) 评价规则

体重降低/%	粪便性状	便血	分值
无	正常粪便	无	0
1~5			1
6~10	松散粪便	潜血阳性	2
11~15			3
>15	稀水粪便	肉眼血便	4

适应性饲养 1 周后, 按体重随机分为 3 组 (8 只/组): 空白对照组 (CON)、模型组 (IBD) 和菊粉干预模型组 (INU)。参照文献报道采用 DSS 诱导法建立 IBD 小鼠模型 [19]。IBD 组将 DSS 溶于蒸馏水中配制成 2.5% (m/V) 溶液供小鼠饮用 7 d; CON 组小鼠饮用蒸馏水; INU 组在 DSS 诱导的同时每天补充菊粉

(2 g/kg)^[20]。期间每天记录小鼠体重,大便粘稠度和便血情况,按表 1 疾病活动指数(Disease activity index, DAI)评价规则进行评分。7 d 后收集小鼠粪便,将小鼠转移到干净的灭菌笼中(每笼 1 只)收集各组小鼠的新鲜粪便约 0.5 g,立即置于无 RNA 酶的冻存管中-80 °C 保存。

1.4 测定指标及方法

1.4.1 结肠组织病理学观察

实验结束后,获取小鼠结肠组织,用 4%多聚甲醛固定,经酒精梯度脱水、二甲苯透明后嵌入石蜡。苏木素-伊红(Hematoxylin-eosin, HE)染色结肠组织切片,在光学显微镜下观察各组小鼠结肠组织的特征性形态变化。

1.4.2 16S rDNA 高通量测序分析

根据参考文献描述的方法^[17,21],使用十六烷基三甲基溴化铵法(Cetyltrimethylammonium Bromide, CTAB)提取细菌总 DNA。在 1000 μ L 溴化十六烷基三甲基铵裂解液中加入适量溶菌酶和样品后放在 65 °C 的水浴中多次混合,促进其完全溶解。离心后取上清液加入苯酚(pH 8.0)、氯仿、异戊醇(三者比例为 25:24:1),倒置混合,12000 $\times$ g 离心 10 min。收集的上清液加入异丙醇,上下摇动后,混合物在-20 °C 下析出。按照前面的离心条件再次离心混合物,所得沉淀物用 1 mL 75%乙醇洗涤两次。紧接着,将沉淀物在干净的长凳上吹干或在室温下风干,DNA 样品用 ddH₂O 溶解。最后,将 1 μ L 的核糖核酸酶 A 加入溶解的样品中,37 °C 放置 15 min,得到细菌 DNA,-20 °C 保存,直到应用。通过聚合酶链反应(PCR)扩增 16S rDNA 基因的 V3 和 V4 高变区域:341F-CCTAYGGGRBGCASCAG, 806R-GGACTACNNGG GTATCTAAT。使用 TruSeq®DNA 无 PCR 样品制备试剂盒构建文库,以进行 Qubit 定量和文库检测。通过测试后,使用 Ion S5 XL 平台对文库进行测序,测序结果由中国北京诺禾致源生物信息有限公司完成。

1.5 统计学方法

采用 SPSS 21.0 和 GraphPad Prism 6.01 软件处理实验数据。实验数据以均数 $\pm$ 标准差表示,多组间差异比较采用单因素方差分析(One way analysis of variance, ANOVA),两两比较采用 SNK-q 检验。以 $p < 0.05$ 认为差异有统计学意义, $p < 0.01$ 认为差异有显著统计学意义。

2 结果与讨论

2.1 菊粉干预可降低小鼠疾病活动指数

在 2.5% DSS 诱导的 5~7 d,与 CON 组相比,IBD 组小鼠体重明显下降($p < 0.05$,图 1a);并伴随严重的腹泻和便血等症状,DAI 指数随 DSS 诱导时间逐渐升高(图 1b),与前人研究类似^[19],说明 DSS 诱导的 IBD 小鼠模型是成功的。菊粉干预后,INU 组小鼠体重较 IBD 组先缓慢下降,在第 6~7 d 开始明显上升($p < 0.05$,图 1a);腹泻和便血等症状在第 6~7 d 也有所改善,DAI 指数较 IBD 组明显下降($p < 0.05$),但仍高于 CON 组(图 1b),提示菊粉对 DSS 诱导的 IBD 小鼠的体重和腹泻及便血情况有一定的改善作用,这可能归功于菊粉对便秘和腹泻的双向调节作用^[18]。

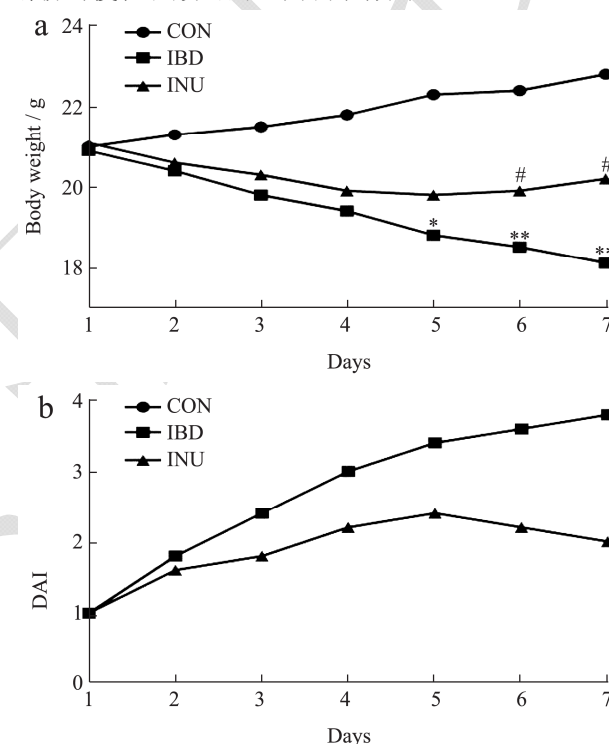


图 1 菊粉对小鼠的体重和疾病活动指数的影响

Fig.1 The effects of inulin intervention on body weight and DAI in mice

注: *: 与 CON 组比较, $p < 0.05$; **: 与 CON 组比较, $p < 0.01$; #: 与 IBD 组比较, $p < 0.05$ 。

2.2 菊粉干预减轻了 IBD 小鼠结肠的病理损伤

图 2 是各组小鼠结肠组织 HE 染色后的光镜图片。CON 组小鼠结肠组织正常:上皮为单层柱状,由柱状细胞和大量杯状细胞组成,粘膜下层可见成群分布的脂肪细胞。与 CON 组相比,DSS 诱导的 IBD 小鼠结肠组织其粘膜上皮广泛水肿,可见腺体结构破坏,杯

状细胞丢失, 粘膜隐窝脓肿形成, 并伴有广泛的炎细胞(中性粒细胞和巨噬细胞)浸润和明显的组织损伤, 其病理特征与临床 IBD 患者类似^[22]。动物实验研究发现, 菊粉和低聚果糖能够减轻炎症反应进而缓解溃疡性结肠炎等炎性肠道疾病, 提示菊粉对炎性肠道疾病可能有防治功效^[23]。与前人研究类似, 菊粉干预后 INU 组小鼠结肠组织炎细胞浸润明显减少, 杯状细胞增多, 腺体结构逐渐恢复, 说明菊粉对 IBD 小鼠结肠组织损伤具有一定的改善作用。

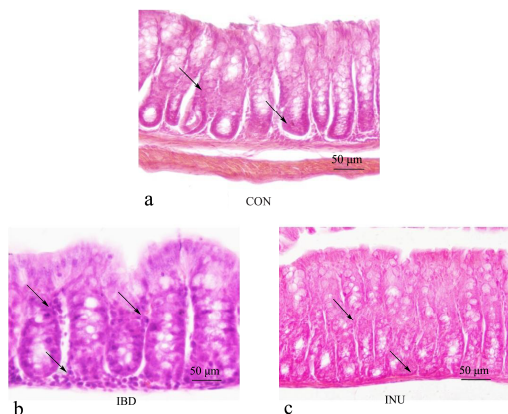


图2 光镜下小鼠结肠组织切片图 (HE×40)

Fig.2 Tissue section of mice colonic tissue under light microscope (HE×40)

2.3 菊粉对 IBD 小鼠肠道菌群的影响

2.3.1 物种 Alpha 多样性分析

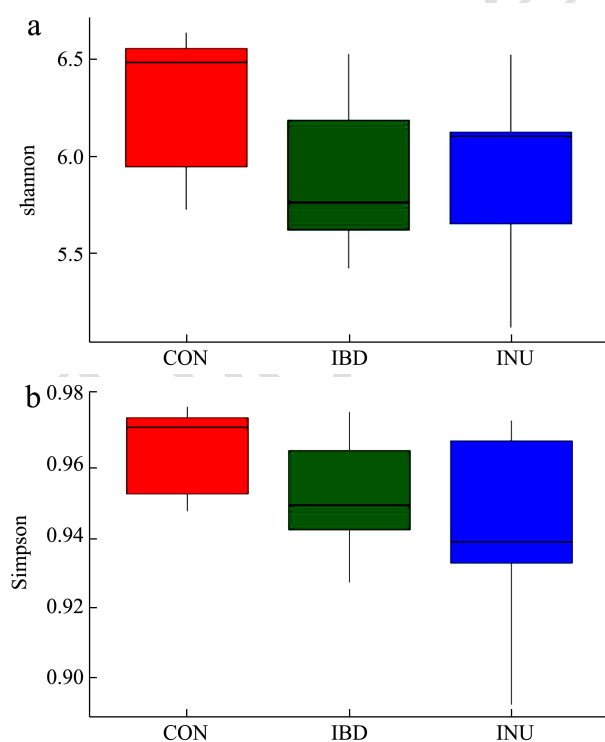


图3 小鼠肠道菌群的香农指数和辛普森指数

Fig.3 Shannon index and simpson index of mice gut microflora

本研究用香农指数 (Shannon index)、辛普森指数 (Simpson index)、稀释曲线 (Rarefaction Curve) 和等级丰度曲线 (Rank Abundance Curve) 评价各组小鼠肠道菌群生物多样性和菌群丰度^[24]。

香农指数和辛普森指数包括了测量群落的异质性。香农指数借用了信息论方法, 香农指数越大, 表示不确定性大, 这个群落中未知的因素越多, 也就是生物多样性越高。辛普森指数是一种简便的测定群落中物种多样性的指数, 群落中种数越多, 各种个体分配越均匀, 指数越高, 指示群落多样性越好。如图 3a 所示, 香农指数 CON 组最高, IBD 组次之, INU 组最低, 说明 CON 组肠道菌群生物多样性最高, 经 Tukey's 检验和 Wilcoxon 秩和检验各组差异无统计学意义 ($p>0.05$)。辛普森指数结果与香农指数类似 (图 3b), CON 组最高, INU 组次之, IBD 组最低, 说明 CON 组肠道微生物群多样性最好, 但各组差异无统计学意义 ($p>0.05$)。

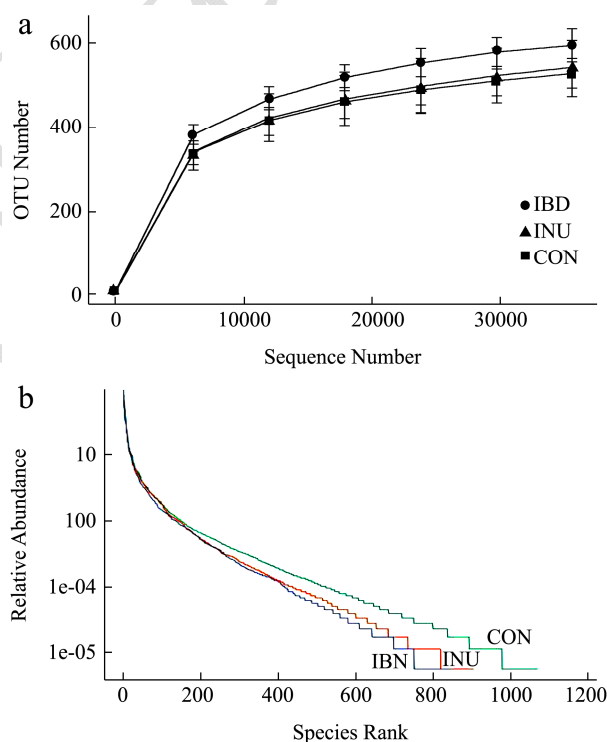


图4 小鼠粪便菌群的稀释曲线和等级丰度曲线图

Fig.4 Rarefaction curve and rank abundance curve of mice fecal microflora

稀释曲线可直接反映测序数据量的合理性, 间接反映样品中物种的丰富程度。如图 4a 所示, 当测序数量达到 20000 时, 曲线逐渐趋向平坦, 说明本次测序数据量渐进合理; 当测序数量达到 40000 时, 能够基本覆盖所有物种, 更多的数据量也只会产生极少量新的物种 (OTUs)。此外, 在物种丰富度方面, CON 组最高, INU 组次之, IBD 组最低; 但在物种分布均匀

度方面,经 Tukey's 检验和 Wilcoxon 秩和检验各组差异无统计学意义。等级丰度曲线可直观的反映样品中物种的丰富度和均匀度。在水平方向上,物种的丰富度越高,曲线在横轴上的跨度越大;在垂直方向上,曲线越平缓,物种分布越均匀。等级丰度曲线结果与稀释曲线类似(图 4b),CON 组曲线在横轴上的跨度最大,表明 CON 组物种丰富度最高;在垂直方向上,各组曲线平滑度基本类似,表明各组小鼠粪便样本中物种均匀,数据真实可信。

综上所述,CON 组物种丰富度最高,生物多样性最好,模型组物种丰富度较低,可能与该小鼠结肠组织损伤,肠道屏障破坏导致的菌群失调有关^[25]。

2.3.2 运算分类单元 (Operational Taxonomic Units, OTUs) 分析

大量研究表明,肠道微生物区系结构变化与 IBD 的发生发展密切相关^[6,9]。为了方便了解每个样本测序结果中的菌种、菌属等数目信息,根据不同的相似度水平,对所有序列进行 OTU 划分,通常对 97%相似水平下的 OTU 进行生物信息统计分析^[21]。OTUs 分析结果显示(图 5),三组小鼠粪便中共有 OTU 物种 605 个,CON 组、IBD 组及 INU 组特有的 OTU 物种分别为 116 个、67 个、70 个。

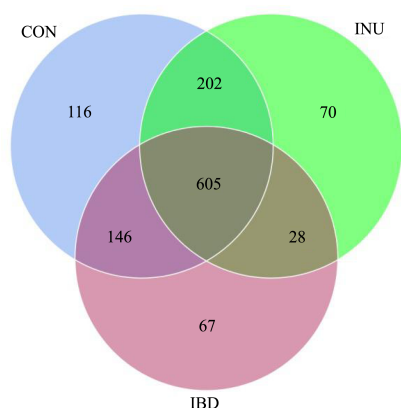


图 5 维恩图显示不同组唯一和共有的 OTUs

Fig.5 Venn diagram showing the unique and shared OTUs in the diverse groups

2.3.3 物种 Beta 多样性分析

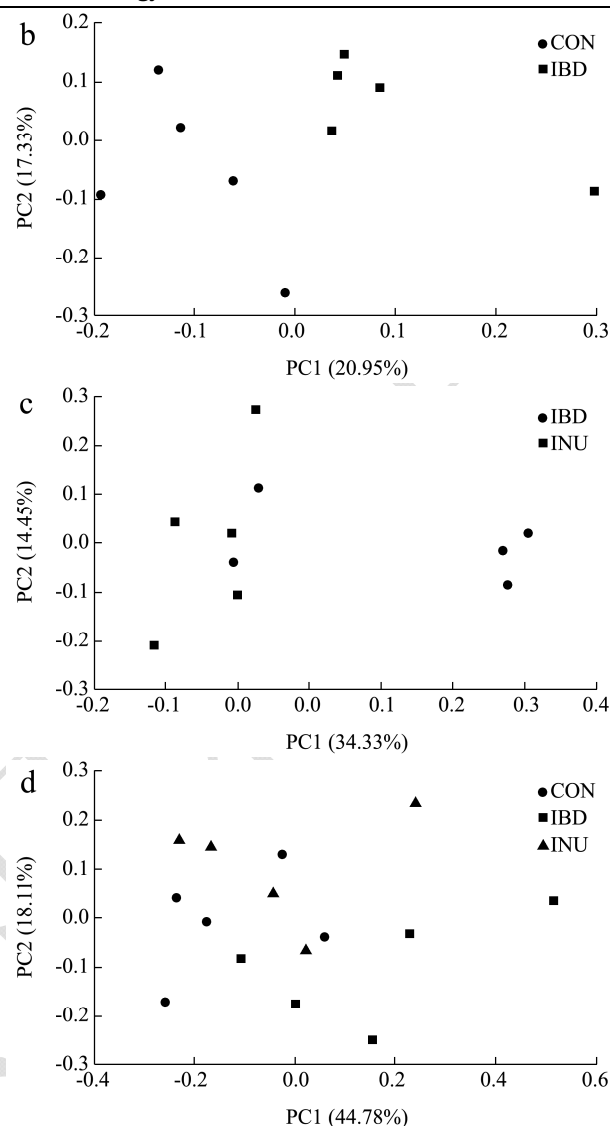
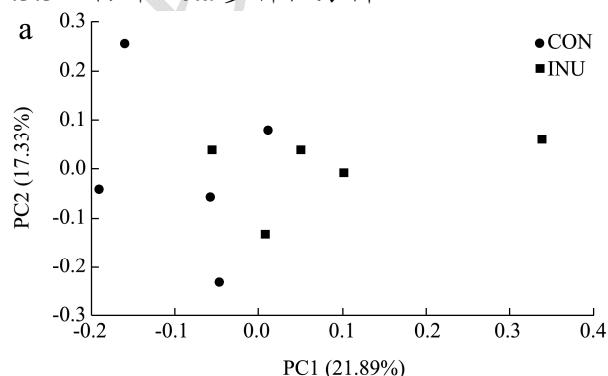


图 6 主坐标分析

Fig.6 Principal Co-ordinates Analysis

本研究用主坐标分析 (PCoA, Principal Co-ordinates Analysis) 和无度量多维标定法 (NMDS, Non-Metric Multi-Dimensional Scaling) 评价各组小鼠肠道菌群 β 多样性,主要评估各组各样本间肠道菌群构成的差异^[26]。基于 Unweighted Unifrac 距离来进行 PCoA 分析,样品距离越接近,表示物种组成结构越相似,群落差异很大的样品则会远远分开。PCoA 结果显示(图 6),CON 组与 INU 组大部分样本距离接近,表明它们的群落结构组成相似,推测菊粉干预后小鼠的肠道菌群逐渐恢复接近于正常(图 6a)。CON 组和 IBD 组各样本的距离较远,表明两组小鼠的肠道菌群组成存在着较大差异,推测 IBD 组小鼠的肠道菌群稳态被破坏(图 6b)。IBD 组与 INU 组样本部分距离较近,但差异没有图 6a 明显(图 6c)。图 6d 结果显示,CON 组样本与 INU 组样本距离较近,与 IBD 组距离较远,表明菊粉干预后一定程度上改变了 IBD

小鼠肠道菌群的结构,使之接近于正常,但没有完全恢复到正常菌群状态。

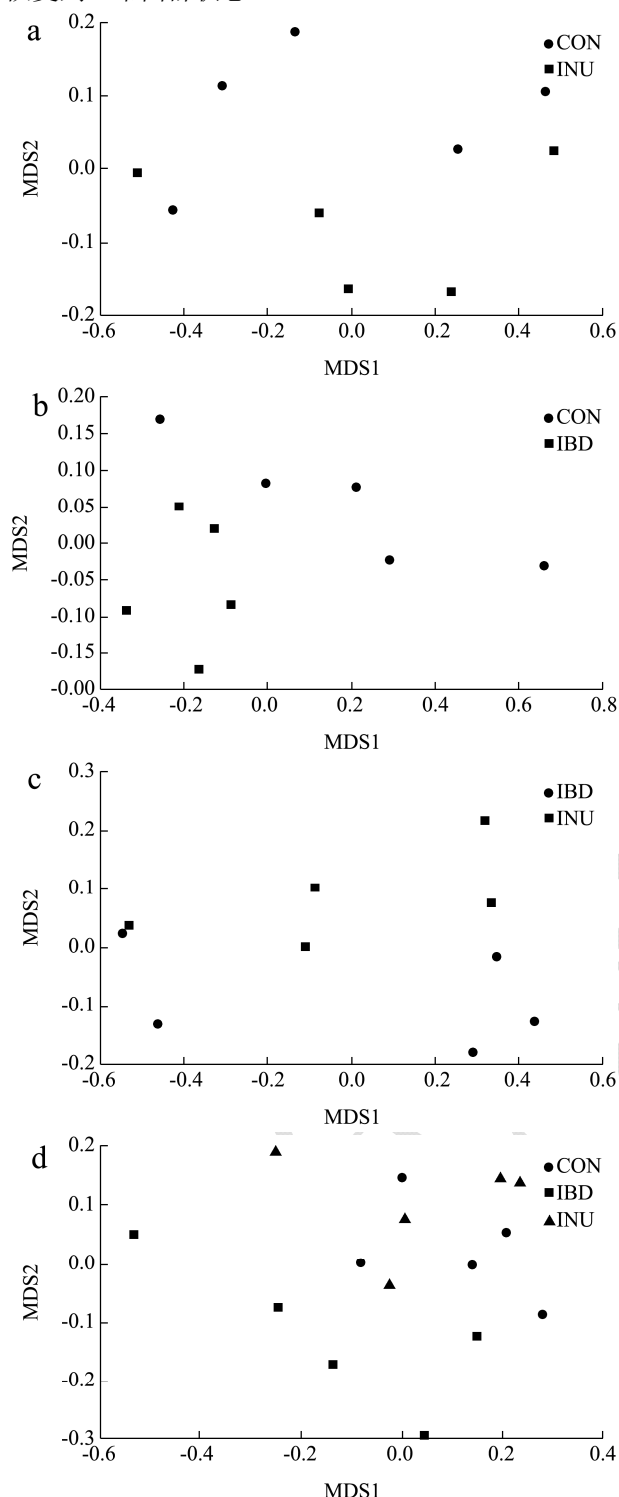


图7 无量纲多维标度法分析

Fig.7 Non-metric multi-dimensional scaling

NMDS 统计是一种适用于生态学研究的排序方法,作为非线性模型,其设计目的是为了克服线性模型 PCoA 的缺点,更好地反映生态学数据的非线性结构,通过点与点间的距离反映样本的组间和组内差异等。NMDS 结果与 PCoA 结果类似(图7),说明 IBD

组小鼠的肠道菌群在菊粉干预后有所改善。

2.3.4 肠道菌群结构分析

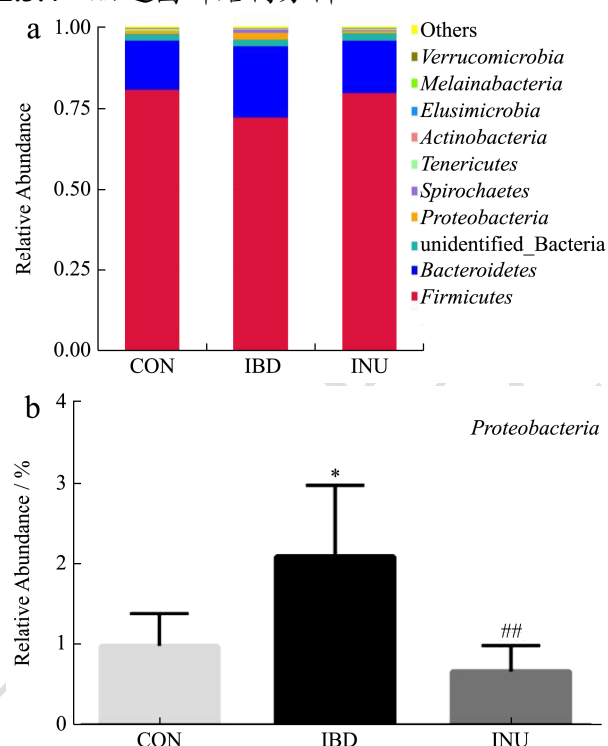


图8 肠道菌群门水平相对丰度

Fig.8 The relative abundance of gut microbial species in phylum level

注: *: 与 CON 组比较, $p < 0.05$; #: 与 IBD 组比较, $p < 0.01$ 。

为了进一步评估菊粉干预对 IBD 小鼠肠道菌群的影响,本课题分析了不同处理组小鼠肠道菌群在门和属水平的差异。门水平的结果如图 8a 所示,各组小鼠的肠道中大约 90% 是厚壁菌门 (*Firmicutes*) 和拟杆菌门 (*Bacteroidetes*), 另外 8% 由未定义细菌 (*Unidentified_Bacteria*) 和 *Proteobacteria* 组成,其余细菌相对丰度较低。与 CON 组相比,模型组 *Proteobacteria* 的相对丰度显著升高至 2.08% ($p < 0.05$),与 IBD 患者类似^[9]。菊粉干预后 INU 组较模型组 *Proteobacteria* 的相对丰度显著降低至 0.66% ($p < 0.01$),提示模型组肠道菌群改变,菊粉干预有助于调节肠道菌群组成(图 8b)。以往研究发现,膳食菊粉能够降低 PCOS 小鼠 *Proteobacteria* 的相对丰度进而改善肠道菌群紊乱,与本部分研究结果一致^[17]。众所周知 *Proteobacteria* 包括很多病原菌(大肠杆菌、沙门氏菌、霍乱弧菌、幽门螺杆菌等),所有细菌均为革兰氏阴性菌,其外膜主要由 LPS 组成, LPS 显著增加会导致黏膜免疫失调,肠粘膜通透性增加。肠源性 LPS 进入体循环通过门静脉转移到肝脏后与巨噬细胞表面 Toll 样受体 4 (Toll like receptor 4, TLR-4) 结合,促

进巨噬细胞分泌大量炎症因子驱动炎症反应,加重 IBD 肠道炎症和菌群失调^[27]。此外, *Proteobacteria* 及其代谢产物能够通过改变胆汁酸的结合状态促进 IBD 等肠道疾病的发生^[28]。门水平结果表明菊粉干预有利于抑制肠道 *Proteobacteria* 生长,调节肠道菌群结构。

属水平的结果如图 9a 所示,乳酸杆菌 (*Lactobacillus*) 和未定义反刍球菌科 (Unidentified *Ruminococcaceae*) 是优势菌。众所周知益生菌 *Lactobacillus* 具有调节肠道菌群的作用,通过阻止致病菌的定植与粘附形成抗菌生物屏障,维持肠道菌群平衡^[29]。此外, *Lactobacillus* 具有调节血脂、抗炎、抗氧化的作用,通过调节肠道内的免疫反应抑制肠道炎症的发生^[30]。*Bifidobacterium* 作为常见的益生菌能够抑制机体病原菌的生长,其代谢产物短链脂肪酸能够为肠道提供营养,促进紧密连接蛋白的表达,保持肠壁完整性,抑制肠道组织中炎症细胞因子的水平,进而缓解 IBD 症状^[31,32]。动物实验研究发现,菊粉摄入能够选择性促进 PCOS 小鼠肠道 *Bifidobacterium* 的比例维持肠道稳态平衡和抗炎,其机制可能与 *Lactobacillus* 和 *Bifidobacterium* 丰度增加后抑制了 NF- κ B 和调控 NF- κ B 的基因有关。与前人研究类似^[17,28],与 CON 组相比,IBD 组小鼠 *Lactobacillus* 和双歧杆菌 (*Bifidobacterium*) 比例显著降低至 14.80% 和 0.02% ($p<0.01$),菊粉干预后 INU 组 *Lactobacillus* 和 *Bifidobacterium* 比例显著升高至 28.70% 和 0.06% ($p<0.05$),说明菊粉干预可以提高益生菌的比例,促进肠道菌群的恢复 (图 9b、d)。本研究表明,菊粉干预后选择性促进益生菌 *Lactobacillus* 和 *Bifidobacterium* 的增值,发挥抗炎和调节肠道菌群的作用,进而缓解 IBD 小鼠的菌群失调。

幽门螺杆菌 (*Helicobacter*) 一种常见的革兰阴性微需氧菌,主要定植于人类胃肠黏膜上皮表面,该细菌感染后容易诱发慢性胃炎、消化性溃疡等胃肠道疾病^[33,34]。近几年研究发现 *Helicobacter* 可能在 IBD 的发生发展中起双重作用^[35]。在本研究中 (图 9c) IBD 组小鼠的 *Helicobacter* 比例较 CON 组显著降低至 0.12% ($p<0.01$),菊粉干预后差异无统计学意义 ($p>0.05$),推测该类细菌的减少降低了对 IBD 小鼠的免疫保护作用,与临床研究一致^[36]。临床研究发现 *Helicobacter* 感染与 IBD 发病风险呈负相关,IBD 患者 *Helicobacter* 的感染率明显低于正常对照组患者^[36]。*Helicobacter* 对 IBD 的保护作用可能与其分泌的中性粒细胞活化蛋白有关,这种蛋白可以通过调节 Toll 样受体促进抗炎因子 IL-10 的产生,减轻结肠黏膜的炎症反应,改善肠道慢性炎症^[37]。

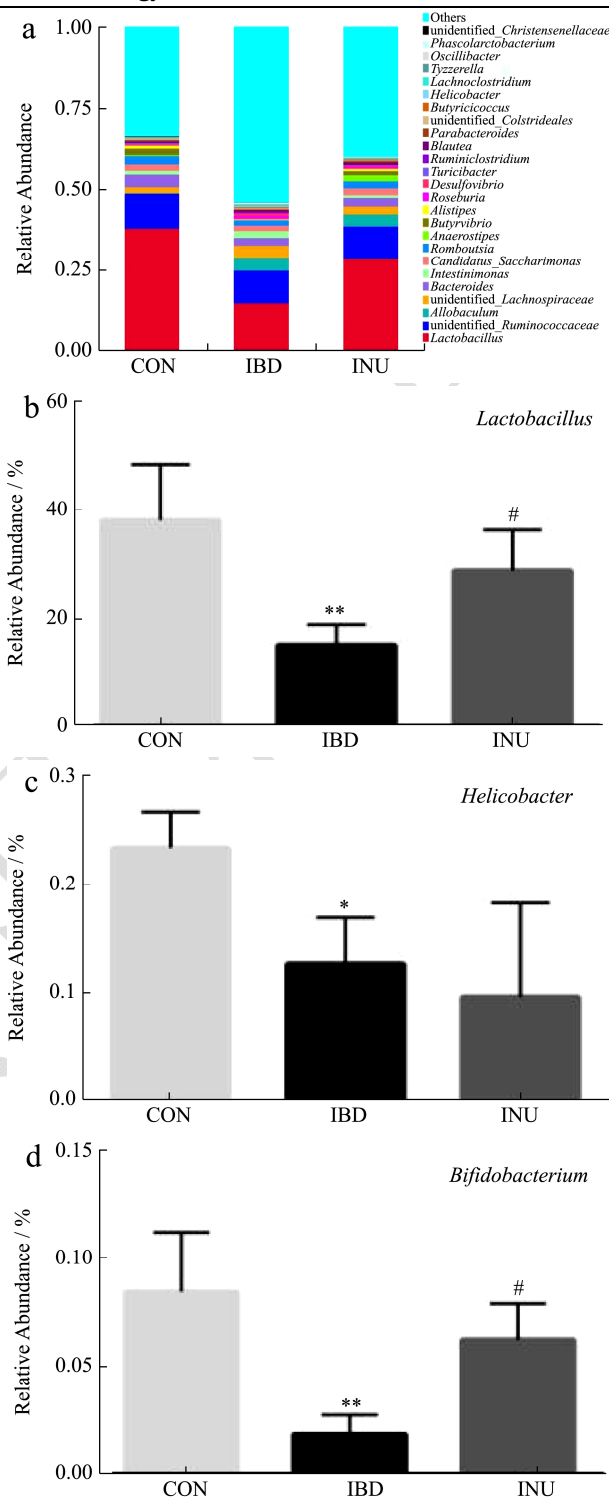


图9 肠道菌群属水平相对丰度

Fig.9 The relative abundance of gut microbial species in genus level

注: *: 与 CON 组比较, $p<0.05$; **: 与 CON 组比较, $p<0.01$; #: 与 IBD 组比较, $p<0.05$ 。

综上所述,菊粉干预可以调节 IBD 小鼠的肠道菌群结构和生物多样性,通过选择性促进益生菌 *Lactobacillus* 和 *Bifidobacterium* 生长,抑制 *Proteobacteria* 生长,一定程度上改变了 IBD 小鼠肠道

菌群结构,从而维持了IBD小鼠肠道健康。

3 结论

本研究初步证实菊粉能够提高IBD小鼠体重,缓解其腹泻、便血和结肠组织损伤,并且一定程度上改变了IBD小鼠的肠道菌群组成,丰富了该病的发病机制,为临床预防和治疗该病提供了新的思路与方案。关于菊粉改善IBD小鼠肠道菌群的确切机制需要接下来做进一步展开研究。

参考文献

- [1] Hodson R. Inflammatory bowel disease [J]. *Nature*, 2016, 540(7634): S97
- [2] Khor B, Gardet A, Xavier R J. Genetics and pathogenesis of inflammatory bowel disease [J]. *Nature*. 2011, 474(7351): 307-317
- [3] Fuglestad M A, Thompson J S. Inflammatory bowel disease and short bowel syndrome [J]. *Surg Clin North Am*, 2019, 99(6): 1209-1221
- [4] 刘占举.我国炎症性肠病的基础研究现状和临床转化挑战[J].*中华内科杂志*.2018,57(2):81-83
LIU Zhan-ju. The basic research status and clinical transformation challenge of inflammatory bowel disease in China [J]. *Chinese Journal of Internal Medicine*, 2018, 57(2): 81-83
- [5] Kuhnen A. Genetic and environmental considerations for inflammatory bowel disease [J]. *Surg Clin North Am*, 2019, 99(6): 1197-1207
- [6] Sheehan D, Shanahan F. The gut microbiota in inflammatory bowel disease [J]. *Gastroenterol Clin North Am*, 2017, 46(1): 143-154
- [7] Cammarota G, Ianiro G, Cianci R, et al. The involvement of gut microbiota in inflammatory bowel disease pathogenesis: potential for therapy [J]. *Pharmacol Ther*, 2015, 149: 191-212
- [8] Imhann F, Vich V A, Bonder M J, et al. Interplay of host genetics and gut microbiota underlying the onset and clinical presentation of inflammatory bowel disease [J]. *Gut*, 2018, 67(1): 108-119
- [9] Eom T, Kim Y S, Choi C H, et al. Current understanding of microbiota- and dietary-therapies for treating inflammatory bowel disease [J]. *J Microbiol*, 2018, 56(3): 189-198
- [10] Lavelle A, Sokol H. Gut microbiota-derived metabolites as key actors in inflammatory bowel disease [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2020, 17(4): 223-237
- [11] Burrello C, Giuffrè M R, Macandog A D, et al. Fecal microbiota transplantation controls murine chronic intestinal inflammation by modulating immune cell functions and gut microbiota composition [J]. *Cells*, 2019, 8(6): 517
- [12] 周钺,孙鹏飞,尹继瑶,等.粪菌移植治疗炎症性肠病的研究进展[J].*上海交通大学学报(医学版)*,2020, 40(2): 267-270
ZHOU Cheng, SUN Peng-fei, YIN Ji-yao, et al. Progress in the treatment of inflammatory bowel disease by fecal bacteria transplantation [J]. *Journal of Shanghai Jiaotong University (Medical Edition)*, 2020, 40(2): 267-270
- [13] Coqueiro A Y, Raizel R, Bonvini A, et al. Probiotics for inflammatory bowel diseases: a promising adjuvant treatment [J]. *Int J Food Sci Nutr*, 2019, 70(1): 20-29
- [14] Guandalini S, Sansotta N. Probiotics in the treatment of inflammatory bowel disease [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2019, 1125: 101-107
- [15] Wilson B, Whelan K. Prebiotic inulin-type fructans and galacto-oligosaccharides: definition, specificity, function, and application in gastrointestinal disorders [J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2017, 32 (Suppl 1): 64-68
- [16] 王晨,朝浩鹏,谢宇端.菊粉对高脂高糖饮食诱导肥胖小鼠的减肥作用与其调节肠道菌群的关系分析[J].*安徽医药*,2020,24(4):666-670
WANG Chen, CHAO Hao-peng, XIE Yu-duan. Analysis of the relationship between inulin and regulation of intestinal flora in obese mice induced by high-fat and high-sugar diet [J]. *Anhui Medical and Pharmaceutical Journal*, 2020, 24(4): 666-670
- [17] Xue J, Li X, Liu P, et al. Inulin and metformin ameliorate polycystic ovary syndrome via anti-inflammation and modulating gut microbiota in mice [J]. *Endocr J*, 2019, 66(10): 859-870
- [18] Yu T, Zheng Y P, Tan J C, et al. Effects of prebiotics and synbiotics on functional constipation [J]. *Am J Med Sci*, 2017, 353(3): 282-292
- [19] Bang B, Lichtenberger L M. Methods of Inducing Inflammatory Bowel Disease in Mice [M]. *Curr Protoc Pharmacol*, 2016, 72: 5-58
- [20] 王振,张晓霞,杨小利,等.菊粉对酒精性肝病小鼠肝组织NF- κ B及血浆炎症因子IL-6、TNF- α 的影响[J].*宁夏医科大学学报*,2019,41(9):877-881
WANG Zhen, ZHANG Xiao-xia, YANG Xiao-li, et al. Effects of inulin on NF- κ B and plasma inflammatory cytokines IL-6 and TNF- α in mice in alcoholic liver disease [J]. *Journal of Ningxia Medical University*, 2019, 41(9): 877-881
- [21] Zhu L, Sha L, Li K, et al. Dietary flaxseed oil rich in omega-3

- suppresses severity of type 2 diabetes mellitus via anti-inflammation and modulating gut microbiota in rats [J]. *Lipids Health Dis*, 2020, 19(1): 20
- [22] D'Aldebert E, Quaranta M, Sebert M, et al. Characterization of human colon organoids from inflammatory bowel disease patients [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2020, 8: 363
- [23] Leenen C H, Dieleman L A. Inulin and oligofructose in chronic inflammatory bowel disease [J]. *J Nutr*, 2007, 137(Suppl11): 2572S-2575S
- [24] 崔芳,史春丽,尹梅,等.枸杞多糖对过敏性哮喘小鼠肠道菌群的影响[J].现代食品科技.2019,35(9): 67-73
CUI Fang, SHI Chun-li, YIN Mei, et al. Effect of lycium barbarum polysaccharide on gut microbiota in allergic asthmatic mice [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2019, 35(9): 67-73
- [25] Ni J, Wu G D, Albenberg L, et al. Gut microbiota and IBD: causation or correlation? [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2017, 14(10): 573-584
- [26] Li K, Zhang L, Xue J, et al. Dietary inulin alleviates diverse stages of type 2 diabetes mellitus via anti-inflammation and modulating gut microbiota in db/db mice [J]. *Food Funct*, 2019, 10(4): 1915-1927
- [27] Zhou X, Li W, Wang S, et al. YAP aggravates inflammatory bowel disease by regulating M1/M2 macrophage polarization and gut microbial homeostasis [J]. *Cell Rep*, 2019, 27(4): 1176-1189
- [28] Devkota S, Chang E B. Interactions between diet, bile acid metabolism, gut microbiota, and inflammatory bowel diseases [J]. *Dig Dis*, 2015, 33(3): 351-356
- [29] 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]. *Int J Biol Macromol*, 2020, 158(1): 968-976
- [30] von Schillde M A, Hormannsperger G, Weiher M, et al. Lactocepin secreted by *Lactobacillus* exerts anti-inflammatory effects by selectively degrading proinflammatory chemokines [J]. *Cell Host Microbe*, 2012, 11(4): 387-396
- [31] Srutkova D, Schwarzer M, Hudcovic T, et al. *Bifidobacterium longum* CCM 7952 promotes epithelial barrier function and prevents acute DSS-induced colitis in strictly strain-specific manner [J]. *PLoS One*, 2015, 10(7): e134050
- [32] Liu M, Li S, Zhang Q, et al. Oral engineered *Bifidobacterium longum* expressing rhMnSOD to suppress experimental colitis [J]. *Int Immunopharmacol*, 2018, 57: 25-32
- [33] Chen Y, Wu G, Zhao Y. Gut microbiota and alimentary tract injury [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2020, 1238: 11-22
- [34] On S, Miller W G, Houf K, et al. Minimal standards for describing new species belonging to the families *Campylobacteraceae* and *Helicobacteraceae*: *Campylobacter*, *Arcobacter*, *Helicobacter* and *Wolinella* spp [J]. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2017, 67(12): 5296-5311
- [35] Castano-Rodriguez 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
- [36] Axelrad J E, Cadwell K H, Colombel J F, et al. Systematic review: gastrointestinal infection and incident inflammatory bowel disease [J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2020, 51(12): 1222-1232
- [37] 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

(上接第 102 页)

- [45] 郑鹏程,刘盼盼,龚自明,等.湖北红茶特征性香气成分分析 [J].茶叶科学,2017,37(5): 465-475
ZHENG Peng-cheng, LIU Pan-pan, GONG Zi-ming, et al. Analysis of characteristic aroma components of Hubei black tea [J]. *Journal of Tea Science*, 2017, 37(5): 465-475
- [46] Zheng X, Li Q, Xiang L, et al. Recent advances in volatiles of teas [J]. *Molecules*, 2016, 21(3): 338
- [47] Feng Z, Li Y, Li M, et al. Tea aroma formation from six model manufacturing processes [J]. *Food Chemistry*, 2019, 285: 347-354
- [48] Chen Q, Zhu Y, Dai W, et al. Aroma formation and dynamic changes during white tea processing [J]. *Food Chemistry*, 2019, 274: 915-924