

燕麦 β -葡聚糖对脓毒症小肠损伤相关基因表达的影响

吴昆鹏¹, 陈莹², 黄治家^{1*}, 言彩红¹

(1. 南华大学附属第二医院, 重症医学科, 湖南 衡阳 421001; 2. 南华大学附属第二医院, 麻醉科, 湖南 衡阳 421001)

【摘要】目的 探索燕麦 β -葡聚糖对脓毒症小肠损伤相关基因表达的影响。**方法** SD 大鼠随机分为正常对照组 (NC 组), 实验对照组 (TC 组), 燕麦 β -葡聚糖组 (Oglu 组)。TC 组和 Oglu 组以盲肠结扎穿孔 (cecal ligation and puncture, CLP) 法建立脓毒症模型。Oglu 组以不同剂量燕麦 β -葡聚糖灌胃。12 h 后收集各组小肠组织, Western blot 检测小肠组织损伤基因表达。**结果** 1) 燕麦 β -葡聚糖减轻脓毒症诱导的小肠损伤, 降低脓毒症大鼠小肠组织中 TNF- α 、IL-1 β 及 IL-6 水平 ($P < 0.05$); 2) 脓毒症组小肠损伤相关蛋白 Bcl-2 表达下调, Bax、caspase-3、Toll 样、凋亡基因 FAS 和 FASL、NF- κ B 表达明显增加; 3) 燕麦 β -葡聚糖组小肠粘膜 Bax、caspase-3、Toll 样、凋亡基因 FAS 和 FASL、NF- κ B 的表达低于明显脓毒症组, 而 Bcl-2 表达较高。**结论** 燕麦 β -葡聚糖调控脓毒症大鼠小肠损伤基因的表达, 保护小肠上皮免受脓毒症的损伤。

【关键词】 燕麦 β -葡聚糖; 脓毒症; 肠粘膜

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2017) 12-0039-07

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2017.12.007

Effects of oat β -glucan on the expression of small intestine injury-related genes in septic rats

WU Kun-peng¹, CHEN Ying², HUANG Zhi-jia^{1*}, YAN Cai-hong¹

(1. Department of Intensive Care Medicine, The Second Hospital Affiliated to South China University, Hengyang 421001, China;

2. Department of Anesthesia, The Second Hospital Affiliated to South China University, Hengyang 421001)

【Abstract】Objective To explore the effect of oat β -glucan on gene expression in small intestine injury in sepsis. **Methods** SD rats were randomly divided into normal control group (NC group), experimental control group (TC group) and oat β -glucan group (Oglu group). TC group and Oglu group were used to establish sepsis model with CLP method, and oglu group with different doses of oat β -glucan. After 12 h the small intestine tissue were collected. Western blot was used to detect gene expression in the small intestine tissue injury. **Results** 1) Oat β -glucan reduced sepsis-induced small intestine injury, and reduced the TNF- α , IL-1 β and IL-6 levels in small intestine of septic rats. (2) The expression of small intestinal injury-related proteins such as Bax, caspase-3, Toll-like, apoptotic genes FAS and FASL and NF- κ B were significantly increased, and Bcl-2 expression was down-regulated in the TC group. (3) The expressions of Bax, caspase-3, Toll-like, apoptotic genes FAS and FASL and NF- κ B in oat β -glucan-treated rats were lower than that in the septic rats, while Bcl-2 expression was higher than the TC group. **Conclusions** Oat β -glucan regulates the expression of small intestinal injury genes in septic rats and protects the small intestinal epithelium against sepsis-induced injury.

【Key words】 Oat β -glucan; Sepsis; Intestinal mucosa

【基金项目】 湖南省教育厅基金(15C1212)。

【作者简介】 吴昆鹏 (1980 -), 男, 主治医师, 研究方向: 脓毒症。E-mail: iron_head@yeah.net

【通讯作者】 黄治家 (1983 -), 男, 主治医师, 研究方向: 脓毒症。E-mail: 35675205@qq.com

目前认为肠道是脓毒症发生发展的始动因素^[1],脓毒症时造成肠黏膜上皮水肿,上皮细胞膜及细胞间连接断裂,细胞坏死,上皮从绒毛顶端开始脱落,甚至黏膜全层脱落而形成溃疡,造成肠道通透性增加、肠屏障功能受损,肠道细菌及其毒素得以吸收进入循环系统而发生细菌移位,使全身炎症反应综合征(systemic inflammatory response syndrome, SIRS)加剧、失控,严重时诱发多器官功能障碍综合征(multiple organ dysfunction syndrome, MODS),甚至危及患者生命^[2]。故肠功能的保护是脓毒症治疗中极为重要的论题。早在上世纪 80 年代,国外学者就发现燕麦和大麦中富含的水溶性 β -葡聚糖对人体肠道的保护作用^[3,4],但主要强调营养膳食方面,对肠道基因影响方面的研究极少。为此,我们建立大鼠脓毒症模型,研究燕麦 β -葡聚糖对小肠损伤过程中基因表达的影响。

1 材料和方法

1.1 实验动物

60 只清洁级 SD 雄性大鼠,6~8 周龄,体重 280~320 g,由南华大学实验动物部提供[SCXK(湘)2015-0001][SYXK(湘)2015-0001]。通过口服管饲法每天处理小鼠,并单独饲养在 25℃ 和 55% (相对湿度)的笼中。

1.2 主要试剂

T 试剂盒、Trizol、PCR 试剂盒购自 Promega 公司;Taq 聚合酶、RNase inhibitor 购自 TaKaRa 公司;肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)、ELISA 试剂盒购自美国 Pierce 公司;兔抗鼠 Bcl-2、Bax、caspase-3、FAS、FASL、p65、 β -actin 和 TPB 抗体购自 Santa Cruz。

1.3 实验方法

1.3.1 燕麦 β -葡聚糖的提取

山西产燕麦品种:晋燕 8 号,山西省农科院高寒作物研究所提供。燕麦原料经布勒磨粉机分离燕麦麸皮和燕麦粉。收集麸皮并粉碎过筛后冷藏备用。根据 Bhatti^[5]和 Ahmad^[6]所述的方法,从燕麦麸中提取高分子量 β -葡聚糖,不同之处在于固体:液体比例为 1:8, pH 7.0。通过控制酸水解时间(HCl, pH 1.0, 80℃),从初始分离物获得中等分子量的 β -葡聚糖和低分子量 β -葡聚糖的样品。然后将分离物进行彻底透析 3 d,并通过冷冻干燥浓缩。

通过 AOAC 官方方法 995.16,使用测定试剂盒(Megazyme International, Bray, Ireland)测定每种样品的总 β -葡聚糖含量。通过具有多角度激光散射(SEC-LLS)的尺寸排阻色谱法测定 β -葡聚糖样品的分子量的值。使用凯氏定氮法测定蛋白质的量。通过在 121℃ 的真空烘箱中将称重的样品干燥 5 h 并测量重量损失来分析水分。使用 Ubbelohde 毛细管粘度计,在 37℃ 下测定各 β -葡聚糖溶液的特性粘度 $[\eta]$,并根据 Huggins 方程进行计算。3% (w/v) 燕麦 β -葡聚糖溶液进行流变学测量。通过配有锥板几何形状(4, 20 mm)的受控应变流变仪(TA Instrument, USA)测量粘度,并且在 37℃ 从 0.1/s ~ 100/s 的剪切速率下进行稳定剪切速率扫描。

1.3.2 实验分组与处理

60 只大鼠随机分为正常对照组(NC 组, $n = 20$),实验对照组(TC 组, $n = 20$),燕麦 β -葡聚糖组(Oglu 组, $n = 20$)。实验前均适应性喂养 3 d。TC 组和 Oglu 组以 CLP 法^[7,8]建立脓毒症模型。建模方法:实验大鼠用氯胺酮(60 mg/kg, 肌注)麻醉,仰面固定四肢在操作台上,随后在腹部中线行一个 2 cm 切口,暴露盲肠,找到回盲瓣的远端,用 18 号针头穿刺两次,并挤出少许粪便,将肠管返回腹腔。逐层缝合腹部伤口,术后用立即 30 mL/kg 生理盐水复苏,然后将动物放回笼内。Oglu 组经口灌胃给予 3% 的 Oglu 溶液,依据文献给予不同剂量^[9]:500 mg/(kg·d);1000 mg/(kg·d);2000 mg/(kg·d)。TC 组予以糖水喂养,实验 12 h 后三组分别处死 10 只大鼠^[8],取各组大鼠全部小肠组织,分为 3 部分:一部分用蒸馏水漂洗,浸泡于多聚甲醛中,进行病理切片观察^[10];一部分用 0.9% 生理盐水按 10% 浓度制成匀浆,3000 r/min 离心 10 min,取上清液,冷冻于液氮中,用 ELISA 试剂盒检测炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 及 IL-6,依据文献,以小肠粘膜病理损伤及炎症因子确认脓毒症模型^[11]。

1.3.3 RNA 提取与实时定量 PCR

采用实时定量 PCR 法检测肠道组织细胞膜外 Toll 样受体(Toll-like receptors, TLR2、TLR4、TLR5、TLR6)基因表达。即将肠组织制成匀浆后,采用 TRIzol 试剂提取细胞总 RNA,并将其逆转录为 cDNA。加入 10 mmol/L 正向和反向引物以及 SYBR 后(Invitrogen, Carlsbad, CA),实时定量 PCR 于 ABI 7500 上进行扩增。扩增条件:94℃ 预变性 10 min,随后进入以下 35 个循环:94℃ 1 min, 58℃ 1 min,

72℃ 3 min。本研究所用的引物如下:TLR2:forward 5'- GCTCCTGTGACTTCCTGTCC-3', reverse 5'- CCG AAAGCACAAAGATGGTT-3'; TLR4: forward 5'- AG GCAGCCATAACTTCTCCA-3', reverse 5'- GGTTGAG TAGGGGCATTTGA-3';TLR5:forward 5'- AACGCTTT GCTCAAACACCT-3', reverse 5'- ACCCTCTGATGGA CTGATGC-3';TLR6:forward 5'- ACTGACCTTCCTGG ATGTGG-3', reverse 5'- GCACCACTCACTCTGGACA A-3';β-actin, forward 5'-ACC CAC ACT GTG CCC ATC TA-3', reverse 5'-CGG AAC CGCTCA TTG CC-3'。结果以 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 表示。

1.3.4 蛋白提取与 Western blot 分析

采用 Western blot 检测小肠组织 Bcl-2、Bax、caspase-3、FAS 和 FASL 基因的表达以及 NF-κB 的核转位。即采用 Pierce 提供的试剂盒提取细胞总蛋白和核蛋白。测定其浓度后,将加入等体积的 2 × SDS 上样缓冲液煮沸 5 min,取 20 μL 蛋白用于 SDS-PAGE。电泳结束后,将其电转印到硝酸纤维素膜上。用 5% 脱脂奶粉室温封闭 2 h,后,加入兔抗鼠 Bcl-2、Bax、Caspase-3、FAS、FASL 以及 p65 或 β-actin 或 TPB 一抗(Santa Cruz)4℃ 孵育过夜,并采用 ECL 发光(Millipore, Billerica, MA)、显影(VL Chemi-Smart 3000, Viogene Biotek, CA)。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 21.0 软件进行数据统计,实验数据

用平均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,组间比较采用独立样本 *t* 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有显著性。

2 结果

2.1 病理组织学

病理学分析显示正常组肠粘膜完整(图 1 A)。脓毒症组中,上皮细胞间隙增大,绒毛上皮细胞和隐窝细胞数量减少,绒毛上皮排列紊乱,大量炎性细胞浸润(图 1B)。相比之下,在燕麦 β-葡聚糖组中,上皮细胞间隙仅在少数区域扩大,隐窝上皮细胞丰富,炎性细胞减少(图 1C)。

2.2 各组小肠组织中炎性因子水平比较

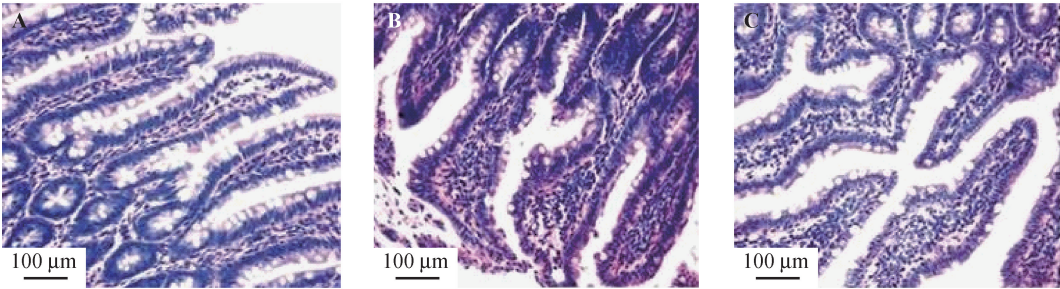
脓毒症组小肠组织中 TNF-α、IL-1β 及 IL-6 水平显著高于正常对照组及燕麦 β-葡聚糖组 ($P < 0.05$);燕麦 β-葡聚糖组仍高于正常对照组 ($P < 0.05$)。(表 1)

2.3 各组小肠损伤相关基因表达

2.3.1 燕麦 β-葡聚糖对脓毒症大鼠小肠组织 Bcl-2 和 Bax 蛋白表达的影响

与正常对照组相比,脓毒症组(TC 组)Bcl-2 蛋白表达下调,Bax 表达明显增加,燕麦 β-葡聚糖处理后 Bcl-2 蛋白表达上调,而 Bax 蛋白表达下降,并且随燕麦 β-葡聚的剂量增加而下降明显。见图 2。

2.3.2 燕麦 β-葡聚糖对脓毒症大鼠小肠组织 Caspase-3 活化表达的影响



注:A:对照组;B:脓毒症组;C:Oglu 组。

图 1 各组空肠组织病理学检查(Bar = 100 μm)

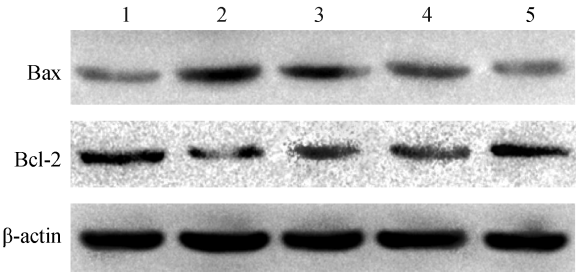
Note. A:Control group;B:Sepsis group;C:Oglu group.

Fig. 1 Histopathological examination of jejunum in each group. HE staining

表 1 各组小肠组织中 TNF-α、IL-1β 及 IL-6 水平(pg/mg)
Tab. 1 TNF-α, IL-1β and IL-6 levels in the small intestine

炎症因子 Inflammatory factor	正常对照组 Control group	脓毒症组 Sepsis group	燕麦 β-葡聚糖组 Oglu group
TNF-α	1.02 ± 0.10	4.72 ± 0.44 *	2.80 ± 0.31 * #
IL-1β	0.19 ± 0.01	6.26 ± 0.71 *	3.79 ± 0.23 * #
IL-6	0.52 ± 0.01	5.89 ± 0.78 *	3.92 ± 0.27 * #

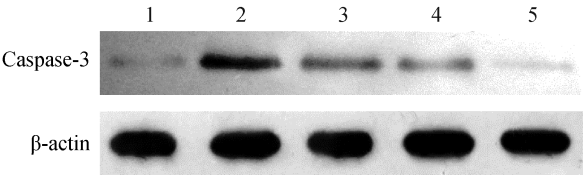
注:与正常对照组比较,* $P < 0.05$;与脓毒症组比较,# $P < 0.05$ 。
Note. Compared with the normal control group,* $P < 0.05$; compared with the sepsis group,# $P < 0.05$.



注:1:NC 组;2:TC 组;3:500 mg/kg·d Oglu 组;4:1000 mg/kg·d Oglu 组;5:2000 mg/kg·d Oglu 组。

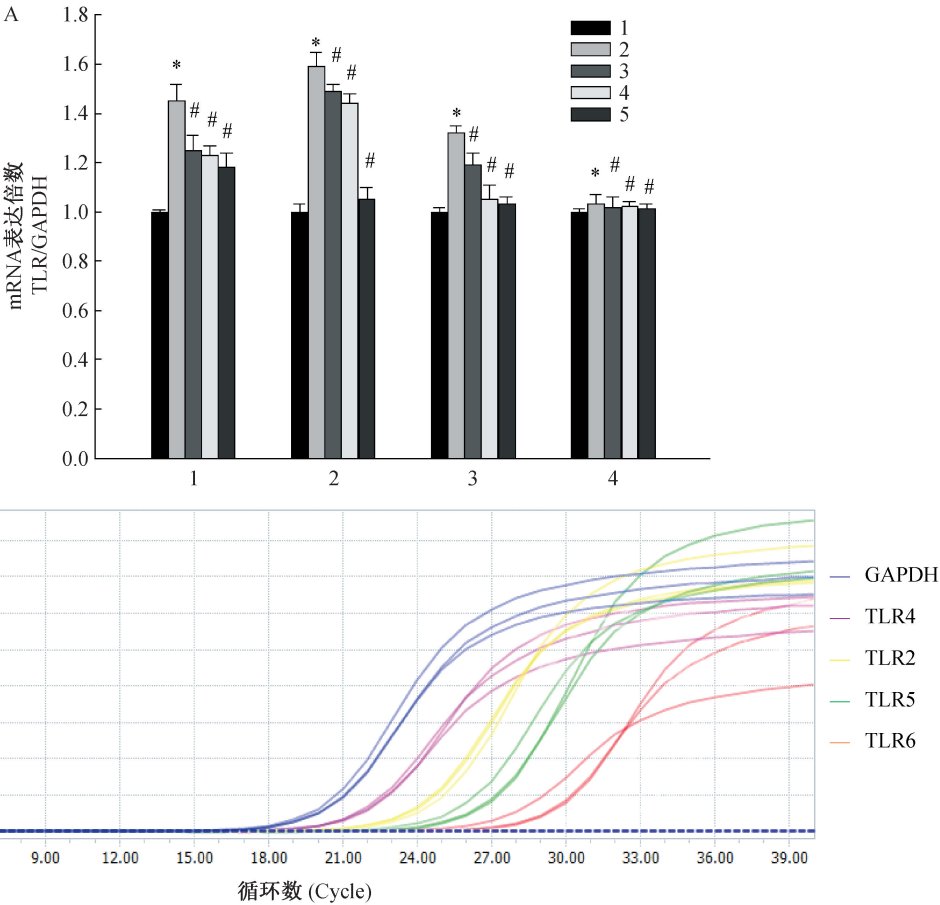
图 2 各组大鼠小肠组织 Bcl-2 和 Bax 蛋白表达
Note. 1:NC group; 2:TC group; 3:500 mg/kg·d Oglu group; 4:1000 mg/kg·d Oglu group; 5:2000 mg/kg·d Oglu group.
Fig. 2 Expression of Bcl-2 and Bax proteins in the small intestine of rats

与正常对照组相比,脓毒症组(TC 组)Caspase-3 蛋白表达明显增加,燕麦 β-葡聚糖处理后 Caspase-3 蛋白表达下降,并且随燕麦 β-葡聚糖有剂量增加而下降明显。见图 3。



注:1:NC 组;2:TC 组;3:500 mg/kg·d Oglu 组;4:1000 mg/kg·d Oglu 组;5:2000 mg/kg·d Oglu 组。

图 3 各组大鼠小肠组织 Caspase-3 活化表达
Note. 1:NC group; 2:TC group; 3:500 mg/kg·d Oglu group; 4:1000 mg/kg·d Oglu group; 5:2000 mg/kg·d Oglu group.
Fig. 3 Expression of caspase-3 in the small intestine of rats in each group



注:A:各组大鼠小肠组织细胞膜外 Toll 样受体表达;B:实时定量 PCR 扩增曲线;1:正常对照组;2:脓毒症组;3:500 mg/kg·d Oglu 组;4:1000 mg/kg·d Oglu 组;5:2000 mg/kg·d Oglu 组。;与正常对照组相比, * $P < 0.05$;与脓毒症组相比, # $P < 0.05$ 。

图 4 各组大鼠小肠组织细胞膜外 Toll 样受体表达及 PCR 扩增
Note. A:Expression of Toll-like receptor in the small intestine tissue of rats in each group; B:Real-time quantitative PCR amplification curve; 1:Normal control group; 2:TC group; 3:500 mg/kg·d Oglu group; 4:1000 mg/kg·d Oglu group; 5:2000 mg/kg·d Oglu group; Compared with the normal control group, * $P < 0.05$; compared with the TC group, # $P < 0.05$.
Fig. 4 Expression and proliferation of Toll-like receptors and PCR amplification in the small intestine of rats in each group

2.3.3 燕麦 β-葡聚糖对脓毒症大鼠肠道组织细胞膜外 TOLL 样受体 (TLR2、TLR4、TLR5、TLR6) 基因表达的影响

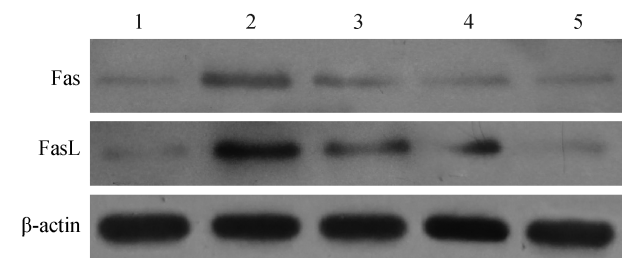
与正常对照组相比,脓毒症组(TC 组)Toll 样受体 2,4,5 表达明显增加,燕麦 β-葡聚糖处理后各 Toll 样受体表达下降,并且随燕麦 β-葡聚糖有剂量增加而下降明显。见图 4。

2.3.4 燕麦 β-葡聚糖对脓毒症大鼠小肠细胞凋亡时 FAS 和 FASL 基因表达的影响

脓毒症大鼠小肠细胞凋亡基因 FAS 和 FASL 表达明显增加,而燕麦 β-葡聚糖下调 FAS 和 FASL 凋亡基因的表达,随燕麦 β-葡聚糖剂量增加,两者表达明显减少。见图 5。

2.3.5 燕麦 β-葡聚糖对脓毒症大鼠小肠组织 NF-κB p65 亚基核转位的影响

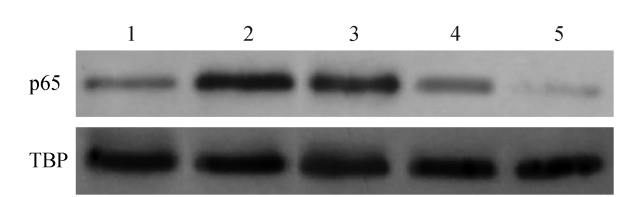
脓毒症模型组中细胞核内 NF-κB 亚基 p65 含量明显增高,而用不同浓度 Oglu 处理后,细胞核内 p65 水平逐渐降低,表明 NF-κB 活性受到抑制。而细胞核内参 TBP(TATA 盒结合蛋白)水平无明显变化。见图 5。



注:1:NC 组;2:TC 组;3:500 mg/kg·d Oglu 组;4:1000 mg/kg·d Oglu 组;5:2000 mg/kg·d Oglu 组。

图 5 各组大鼠小肠组织 FAS 和 FASL 表达
Note. 1:NC group; 2:TC group; 3:500 mg/kg·d Oglu group; 4:1000 mg/kg·d Oglu group; 5:2000 mg/kg·d Oglu group.

Fig. 5 Expression of FAS and FASL in the small intestine of rats in each group



注:1:NC 组;2:TC 组;3:500 mg/kg·d Oglu 组;4:1000 mg/kg·d Oglu 组;5:2000 mg/kg·d Oglu 组。

图 6 各组大鼠小肠组织 NF-κB 表达
Note. 1:NC group; 2:TC group; 3:500 mg/kg·d Oglu group; 4:1000 mg/kg·d Oglu group; 5:2000 mg/kg·d Oglu group.

Fig. 6 Expression of NF-κB in the small intestine of rats in each group

3 讨论

大量的基础及临床研究均已表明燕麦 β-葡聚糖对肠道有很好的保健作用^[12,13],燕麦 β-葡聚糖纤维在减少心血管疾病风险和控制血糖方面的作用已得到广泛的确认,但其他潜在的益处,包括调节肠道微生物群和炎症,仍在被探索^[14]。膳食 β-葡聚糖可能会改变幼猪肠组织反应,在断奶后期特异性调控了肠段基因的选择和形态的表达^[15]。在给予回肠造口术患者富含燕麦 β-葡聚糖饮食后发现,其小肠和结肠细胞系免疫功能是增强的,这些对肠细胞的免疫刺激作用有可能有助于增强宿主对侵袭性病原体的抵抗能力^[16]。

本研究建立脓毒症模型,发现其脓毒症能明显诱导大鼠小肠损伤,而燕麦 β 葡聚糖能减轻脓毒症诱导的小肠病理改变,能抑制炎症反应,如脓毒症模型大鼠中小肠组织中 TNF-α、IL-1β 和 IL-6 水平的降低所示。进一步探索燕麦 β 葡聚糖保护小肠的分子机制,动物实验发现燕麦 β-葡聚糖对肠道功能的调节影响到基因层次,其抑制长链脂肪酸和胆固醇的体外肠吸收,是由于 β-葡聚糖下调参与脂肪酸合成和胆固醇代谢的基因的表达,减少肠道脂肪酸结合蛋白和脂肪酸转运蛋白 4 mRNA^[17]。同样我们知道脓毒症模型中存在大鼠小肠上皮细胞凋亡,Bcl-2 家族基因 Bcl-2 表达下调,而 Bax 表达升高^[18,19]。Bcl-2 蛋白是 bcl-2 原癌基因的编码产物,是细胞存活促进因子,Bcl-2 蛋白家族是一个特别的家族,目前已发现 25 种 Bcl-2 家族同源蛋白,其成员中有些促进凋亡,如 Bad、Bid、Bax,有些成员阻止细胞凋亡,如 Bcl-2、Bcl-x、Bcl-w、Bcl-2 能够阻止细胞色素 C 从线粒体释放到细胞质,从而抑制了细胞凋亡。本研究使用燕麦 β-葡聚糖干预后,RT-PCR 显示 Bcl-2 表达上调,Bax 表达下调,Bax / Bcl-2 比例有所改善,提示燕麦 β-葡聚糖能明显防止脓毒症诱导的小肠上皮细胞凋亡,且增加燕麦 β-葡聚糖剂量,能提升这种保护效应。Caspase-3 是细胞凋亡过程中最主要的终末剪切酶,也是细胞毒性 T 淋巴细胞(cytotoxic lymphocyte,CTL)杀伤机制的重要组成部分,细胞凋亡受到严格调控,在正常细胞 caspase 处于非活化的酶原状态,凋亡程序一旦开始,caspase 被活经随后发生凋亡蛋白酶的层叠级联反应,发生不可逆的凋亡,在肠上皮细胞凋亡中发挥重要作用^[20]。我们的研究中发现,脓毒症模型小肠

组织 caspase-3 表达增加,喂食燕麦 β -葡聚糖后能明显抑制 caspase-3 的表达,从而减少了小肠上皮细胞的凋亡,且在实验使用的剂量范围内有一定的剂量依赖性。

Toll 样受体是参与非特异性免疫(天然免疫)的一类重要蛋白质分子,当微生物突破机体的物理屏障,如皮肤、粘膜等时,TLR 可以识别它们并激活机体产生免疫细胞应答^[21]。肠上皮细胞表达 Toll 样受体,其在保守的微生物因子如脂多糖(LPS)上诱导上皮反应,包括上皮细胞增殖,分泌型 IgA 分泌到腔中并产生粘蛋白和抗微生物肽,从而促进肠屏障功能^[22]。在肠上皮细胞和对照鱼的固有层细胞中,TLR2 以低水平表达。肠上皮通过其促炎基因的表达,炎性细胞因子的释放和炎性细胞的募集直接参与粘膜免疫反应。如在炎症性肠病肠易激综合征患者小肠粘膜中 Toll 样受体 2,4,5 和 9 的表达明显增加^[23,24]。脓毒症小肠粘膜存在炎症反应,在本研究中,脓毒症大鼠空肠组织中 Toll 样受体 2,4,5 表达较正常对照组明显增加,而在燕麦 β -葡聚糖组表达下降,提示了燕麦 β -葡聚糖可能导致肠黏膜 TLRs 的表达下降及其信号转导通路活化减弱,从而减轻肠粘膜炎症。

Fas/FasL 作为可直接启动细胞凋亡的信号途径,也是是负向调节介导肠上皮细胞细胞凋亡最为重要的膜蛋白分子^[25]。在本研究中,脓毒症组小肠组织 Fas/FasL 基因表达明显增加,而燕麦 β -葡聚糖组 Fas 和 FasL 凋亡基因的表达明显下调,随燕麦 β -葡聚糖剂量增加,这种效应更加明显。前面的研究均提示燕麦 β -葡聚糖可以调节肠道免疫反应,富含燕麦 β -葡聚糖的粪便水刺激细胞因子诱导的肠细胞免疫反应^[16]。使用燕麦 β -葡聚糖的小鼠在肠细胞中表现出增加的肠 NF- κ B 反式激活,特别是在小肠近端(回肠),但是在结肠中未被激活^[26]。本研究脓毒症模型组中细胞核内 NF- κ B 亚基 p65 含量明显增高,而用不同浓度燕麦 β -葡聚糖处理后,p65 水平逐渐降低,表明 NF- κ B 活性受到抑制。

综上所述,燕麦 β -葡聚糖能通过不同途径抑制脓毒症大鼠的小肠细胞凋亡,从而实现其脓毒症肠道保护作用,但是如在动物和人体中观察到的,燕麦 β -葡聚糖对肠道免疫的影响研究还处在初期,从宏观到微观的潜在机制,都需要进一步评估。

参考文献:

[1] Fay KT, Ford ML, Coopersmith CM. The intestinal microenvi-

ronment in sepsis[J]. Biochim Biophys Acta,2017,1863(10): 2574-2583.

- [2] Rombeau JL, Takala J. Summary of round table conference: gut dysfunction in critical illness[J]. Intensive Care Med,1997,23(4):476-479.
- [3] Estrada A, van Kessel A, Laarveld B. Effect of administration of oat beta-glucan on immune parameters of healthy and immunosuppressed beefsteers[J]. Can J Vet Res, 1999, 63(4): 261-268.
- [4] Bourdon I, Yokoyama W, Davis P. Postprandial lipid, glucose, insulin, and cholecystokinin responses in men fed barley pasta enriched with beta-glucan[J]. Am J Clin Nutr, 1999, 69(1): 55-63.
- [5] Bhatti RS. Laboratory and pilot plant extraction and purification of β -glucans from hull-less barley and oat brans[J]. J Cereal Sci, 1995, 22(2): 163-170.
- [6] Ahmad A, Anjum FM, Zahoor T, et al. Extraction and characterization of β -d-glucan from oat for industrial utilization[J]. Int J Biol Macromol,2010,46(3):304-309.
- [7] Siempos II, Lam HC, Ding Y, et al. Cecal ligation and puncture-induced sepsis as a model to study autophagy in mice[J]. J Vis Exp, 2014, (84): e51066.
- [8] 王宁,周红,郭毅斌,等. 心导管留置术后盲肠结扎穿孔术(CLP)脓毒症动物模型的建立[J]. 中国比较医学杂志, 2008,18(10):12-14.
- [9] Liu M, Zhang Y, Zhang H, et al. The anti-diabetic activity of oat β -d-glucan in streptozotocin-nicotinamide induced diabetic mice[J]. Int J Biol Macromol,2016, 91:1170-1176.
- [10] 赵玉琼,李瑞生,陈华. 三种固定液对大、小鼠肠道组织石蜡切片质量的影响[J]. 中国比较医学杂志,2014,24(11):53-56.
- [11] Wan SX, Shi B, Lou XL, et al. Ghrelin protects small intestinal epithelium against sepsis-induced injury by enhancing the autophagy of intestinal epithelial cells[J]. Biomed Pharmacother, 2016, 83:1315-1320.
- [12] Earnshaw SR, McDade CL, Chu Y, et al. Cost-effectiveness of maintaining daily intake of oat β -glucan for coronary heart disease primary prevention[J]. Clin Ther,2017,39(4):804-818. e3.
- [13] Ryan PM, London LE, Bjorndahl TC, et al. Microbiome and metabolome modifying effects of several cardiovascular disease interventions in apo-E-/- mice[J]. Microbiome,2017,5(1):30.
- [14] Menon R, Gonzalez T, Ferruzzi M, et al. Oats-from farm to fork[J]. Adv Food Nutr Res,2016,77:1-55.
- [15] Metzler-Zebeli BU, Gänzle MG, Mosenthin R, et al. Oat β -glucan and dietary calcium and phosphorus differentially modify intestinal expression of proinflammatory cytokines and monocarboxylate transporter 1 and cecal morphology in weaned pigs[J]. J Nutr,2012,142(4):668-674.
- [16] Ramakers JD, Volman JJ, Björklund M, et al. Fecal water from ileostomic patients consuming oat beta-glucan enhances immune responses in enterocytes[J]. Mol Nutr Food Res,2007,51(2): 211-220.

- [17] Drozdowski LA, Reimer RA, Temelli F, et al. Beta-glucan extracts inhibit the in vitro intestinal uptake of long-chain fatty acids and cholesterol and down-regulate genes involved in lipogenesis and lipid transport in rats[J]. J Nutr Biochem, 2010, 21(8): 695 – 701.
- [18] Fu H, Wang QS, Luo Q, et al. Simvastatin inhibits apoptosis of endothelial cells induced by sepsis through upregulating the expression of Bcl-2 and downregulating Bax[J]. World J Emerg Med, 2014, 5(4): 291 – 297.
- [19] Klingensmith NJ, Yoseph BP, Liang Z, et al. Epidermal growth factor improves intestinal integrity and survival in murine sepsis following chronic alcohol ingestion[J]. Shock, 2017, 47(2): 184 – 192.
- [20] Grossmann J, Walther K, Artinger M, et al. Induction of apoptosis before shedding of human intestinal epithelial cells[J]. Am J Gastroenterol, 2002, 97(6): 1421 – 1428.
- [21] Kim CH. B cell-helping functions of gut microbial metabolites[J]. Microb Cell, 2016, 3(10): 529 – 531.
- [22] Johnston DG, Corr SC. Toll-like receptor signalling and the control of intestinal barrier function[J]. Methods Mol Biol, 2016, 1390: 287 – 300.
- [23] Tan Y, Zou KF, Qian W, et al. Expression and implication of toll-like receptors TLR2, TLR4 and TLR9 in colonic mucosa of patients with ulcerative colitis[J]. J Huazhong Univ Sci Technol Med Sci, 2014, 34(5): 785 – 790.
- [24] 郭文涛, 刘萍, 董丽娜, 等. 腹泻型肠易激综合征患者肠黏膜优势菌的改变与 Toll 样受体 2 和 4 基因表达的相关性研究[J]. 中华内科杂志, 2016, 55(7): 541 – 543.
- [25] Zimmerman MA, Singh N, Martin PM, et al. Butyrate suppresses colonic inflammation through HDAC1-dependent Fas upregulation and Fas-mediated apoptosis of T cells[J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2012, 302(12): G1405 – 1415.
- [26] Volman JJ, Mensink RP, Ramakers JD, et al. Dietary (1→3), (1→4)- β -D-glucans from oat activate nuclear factor- κ B in intestinal leukocytes and enterocytes from mice[J]. Nutr Res, 2010, 30(1): 40 – 48.

[收稿日期] 2017 – 05 – 30

专家问答

问: 影像实验室的建设或选择应考虑哪些问题? 对建设规范有哪些要求? 与动物房如何合理衔接?

答: 一般情况下影像实验室应建设在动物房内, 动物的传递可设置传递窗, 减少污染和降级使用的可能。目前, 动物房的建设要求越来越严格很多都是比照国际实验室的认证。动物房有很多细节需要留意, 现在国际上有一个 Top 实验室认证, 具体要求包括动物只出不进、排气、内部压力(正压, 也就是外面的气体不能进入)、温度, 等。可以说, 在整个影像中心与实验动物房的建设中, 动物房部分的要求越来越严格, 而设备则越做越简单。举个例子, 早期的磁共振是所有设备里面大家最头疼的, 因为早期磁共振设备大概有六七千公斤重, 对建筑物的承载、震动等都需要进行非常缜密的计算, 而且必须有设备防护, 这些综合在一起, 可能一个学校里能找到一两个点来安装磁共振设备就不错了。但现在的磁共振当然越做越简单了, 几乎像活体光学设备一样简单, 现在的磁共振自带屏蔽, 磁场的安全范围也没有问题, 还可以实现在一个房间里同时有 PET、CT 和 MR 三台设备, 从而做到将代谢、结构和功能融合在一起。所以说, 对动物房的要求越来越高, 而把设备越做越简单的目的不是让设备的功能变少, 而是为了更方便做实验, 这就是目前的发展趋势。

(感谢第四军医大学 师长宏 教授和冷泉港生物科技股份有限公司分子影像部门副总经理 王志宇 先生的解答)