

湛雪梅,彭西,叶俏波,等. 两种 UC 小鼠模型的病理损伤和肠道菌群对比研究 [J]. 中国实验动物学报, 2021, 29(6): 758-767.

Shen XM, Peng X, Ye QB, et al. Comparative study of intestinal flora and histopathological damage in mice with ulcerative colitis induced by DSS and TNBS [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2021, 29(6): 758-767.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2021.06.007

两种 UC 小鼠模型的病理损伤和肠道菌群对比研究

湛雪梅¹, 彭西^{2*}, 叶俏波³, 叶臻³, 邓庆⁴, 王娟¹, 温昌琳², 袁施彬^{1*}

(1. 西华师范大学生命科学学院, 四川 南充 637002; 2. 成都大学药学院, 成都 610106; 3. 成都中医药大学基础医学院, 成都 611137; 4. 四川扬克斯特科技有限公司, 成都 611135)

【摘要】 目的 用葡聚糖硫酸钠(DSS)和2,4,6-三硝基苯磺酸(TNBS)构建小鼠溃疡性结肠炎模型,对比研究临床症状、结肠组织病理损伤和结肠菌群构成。**方法** C57BL/6 雄性小鼠 30 只,随机分为对照组、DSS 组和 TNBS 组。造模期 7 d。每日监测临床症状,包括体重和粪便隐血,造模结束时取结肠做组织病理诊断,使用 16S rDNA 测序技术检测结肠内容物的菌群组成。**结果** 临床显示,DSS 组从第 3 天开始排软便,第 5 天粪便隐血阳性,体重下降;TNBS 组第 2 天体重下降,造模前 4 d 排软便和稀便,且粪便隐血阳性。剖检显示,两个模型组的结肠重量均增加,仅 DSS 组结肠显著变短。组织病理学上,DSS 组结肠溃疡灶部位固有结构破坏及临近隐窝扩张,TNBS 组溃疡灶中见隐窝结构存留及隐窝细胞增生。两个模型组结肠菌群紊乱的特征存在差异。与对照组比较,软壁菌门和蓝藻菌门的丰度在 DSS 组无显著性变化而在 TNBS 组增加($P < 0.05$);酸杆菌门丰度在 DSS 组无显著性变化而在 TNBS 组显著降低($P < 0.05$);放线菌门和乳杆菌属的丰度在 DSS 组降低($P < 0.05$)而在 TNBS 组无显著性变化;拟杆菌属在 DSS 组丰度上升而在 TNBS 组显著下降($P < 0.05$)。**结论** DSS 和 TNBS 乙醇诱导的 UC 模型在临床症状、结肠组织病理损伤特征和肠道菌群结构既有共性,也有其自身特点。研究结果可为动物模型选择提供一定的理论参考。

【关键词】 溃疡性结肠炎;肠道菌群;病理组织损伤;16S rDNA;DSS;TNBS

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2021)06-0758-10

Comparative study of intestinal flora and histopathological damage in mice with ulcerative colitis induced by DSS and TNBS

SHEN Xuemei¹, PENG Xi^{2*}, YE Qiaobo³, YE Zhen³, DENG Qin⁴, WANG Juan¹, WEN Changlin², YUAN Shibin^{1*}

(1. College of Life Science, China West Normal University, Nanchong 637002, China. 2. College of Pharmacy, Chengdu University, Chengdu 610106. 3. School of Basic Medicine, Chengdu University of TCM, Chengdu 611137. 4. Si Chuan Youngster Technology Co., Ltd, Chengdu 611135)

Corresponding author: YUAN Shibin. E-mail: yshibin1020@cwnu.edu.cn; PENG Xi. E-mail: pengxi@cdu.edu.cn

【基金项目】 国家自然科学基金(81973742),四川省教育厅科研创新团队(自然科学)项目(17TD0037),西华师范大学英才基金项目(17YC357)。

Funded by the National Natural Science Foundation of China (81973742), Creative Research Groups of Sichuan Provincial Education Department (17TD0037), Talent Foundation Project of China West Normal University (17YC357).

【作者简介】 湛雪梅(1996—),女,在读硕士研究生,研究方向:动物生态学。Email:2631242847@qq.com

【通信作者】 袁施彬(1971—),女,教授,博士,研究方向:野生动物营养生态。Email: yshibin1020@cwnu.edu.cn;

彭西(1973—),女,教授,博士,研究方向:药理学。Email: pengxi@cdu.edu.cn。

* 共同通信作者

【Abstract】 Objective Mouse models of ulcerative colitis (UC) were established with sodium dextran sulfate (DSS) and 2,4,6-trinitrobenzene sulfonic acid (TNBS) to compare the differences in clinical symptoms, pathological lesions and colonic flora. **Methods** Thirty male C57BL/6 mice were randomly divided into a control group, DSS group and TNBS group. The modeling period was 7 days. Clinical symptoms, including body weight and fecal occult blood, were monitored daily. The colon was harvested at the end of modeling for histopathological diagnosis, and 16S rDNA sequencing technology was used to detect the bacterial composition of the colon contents. **Results** The clinical result showed that DSS induced diarrhea three days after treatment, fecal occult blood was positive, and body weight was decreased on the fifth day. TNBS treatment decreased body weight on the second day, soft and loose stools were observed from the first to the fourth day, and fecal occult blood was positive. At necropsy, the colon weight in both model groups was increased, whereas the colon in the DSS group was significantly shorter. Histopathologically, the ulcer foci in the colon exhibited a damaged histological structure, and the nearby crypts were dilated in the DSS group, whereas residual crypts accompanied by obvious cell proliferation were observed in the ulcer foci of the TNBS group. The characteristics of colon flora disturbances in the two model groups were different. Compared with the control group, the abundances of *Tenericutes* and *Cyanobacteria* were not significantly altered in the DSS group but were increased in the TNBS group ($P < 0.05$). The abundance of *Acidobacteria* was unchanged in the DSS group but significantly decreased in the TNBS group ($P < 0.05$). The abundance of *Actinobacteria* and *Lactobacillus* was significantly decreased in the DSS group but unchanged in the TNBS group ($P < 0.05$). The abundance of *Bacteroidetes* was significantly increased in the DSS group but decreased in the TNBS group ($P < 0.05$). **Conclusions** The UC models induced by DSS and TNBS/ethanol showed similar characteristics in clinical symptoms, pathological changes in colon tissue and intestinal microflora structure, but the two models also exhibited distinct characteristics. The result provide a theoretical reference for animal model selection.

【Keywords】 ulcerative colitis; intestinal flora; histopathological damage; 16S rDNA; DSS; TNBS

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 是炎症性肠病 (inflammatory bowel disease, IBD) 的一种, 病因与遗传、免疫和环境因素有关, 主要引起结肠和直肠黏膜及黏膜下层的非特异性慢性炎症, 临床症状包括腹泄、腹痛、便血、呕吐和体重减轻等^[1]。UC 发病时, 可见肠道菌群失衡、肠道免疫反应过度, 并兼有肠道黏膜损伤^[2]。早在 1958 年, 就有将健康人的粪便功能菌移植进患者体内来治疗 UC 的报道^[3]。临床应用显示, 肠道粪菌移植治疗能修复肠道菌群、缓解过度免疫、减轻症状^[4], 但存在供体菌标准化和耐药菌传播等问题。UC 动物模型是研究发病学、筛选药物、评价药效的必要手段, 根据建模方法可分为化学性、免疫和基因修饰性两大类^[5]。其中, DSS (dextran sulfate sodium) 模型和 TNBS (2,4,6-trinitrobenzen sulfonic acid) 乙醇模型是最常用的化学性动物模型^[6-7]。至今尚未见有关于这两种模型肠道菌群改变的对比研究。因此, 本实验分别用 DSS 自由饮法和 TNBS 乙醇混合物灌肠法, 建立 C57BL/6 小鼠的 UC 模型, 对比研究 DSS 模型和 TNBS 模型的结肠病理损伤和菌群构成特征的差异性, 丰富了 UC 动物模型的基础研究资料。结果可为选择不同 UC 动物模型

提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

6 ~ 8 周龄的 SPF 级雄性 C57BL/6 小鼠 30 只, 由四川大学提供【SCXK(川)2018-026】, 体重 20 ~ 22 g。动物饲养于成都中医药大学【SYXK(川)2017-179】。造模前适应性喂养 1 周, 室温控制 20 ~ 23℃, 湿度控制 50% ~ 60%, 自然光暗周期。所有实验操作均通过西华师范大学伦理委员会的审查 (审准号: CWN2021D031)。

1.1.2 主要试剂与仪器

DSS (0216011090, MP Bio 公司)、TNBS (P2297, 西格玛奥德里奇 (上海) 贸易有限公司)、注射用盐酸替他明盐酸唑拉西洋 (外兽药证字 43 号, 法国维克有限公司)、便隐血试剂 (BA-2020B, 珠海贝索生物技术有限公司)、无水乙醇 (64-17-5, 成都金山化学试剂有限公司)、苏木素 (420699, 赛默飞世尔科技公司)、伊红 (392155, 赛默飞世尔科技公司)。

RM2235 石蜡切片机 (莱卡, 德国)、CX22 光学显微镜 (莱卡, 日本)、DM1000 徕卡显微成像系统

(莱卡,德国)、819 切片刀(莱卡,德国)、KD-98-II A 恒温水浴锅(天津市泰斯特仪器有限公司,中国)。

1.2 方法

1.2.1 分组和模型建立

将 30 只小鼠随机分为对照组、DSS 组和 TNBS 组,每组 10 只,5 只/笼。对照组正常饲喂。DSS 组小鼠自由饮用 4% DSS 药液,每只小鼠药液饮用量为 0.04 mL/(g·d)。TNBS 组小鼠造模前 24 h 禁食不禁水。舒泰(注射用盐酸替他明盐酸唑拉西洋)(0.1 mL/100 g)肌肉注射麻醉小鼠,用 8 号灌肠针从肛门处插入约 3 ~ 4 cm,将 TNBS/乙醇(5% TNBS:50%乙醇=1:1)混合液按 0.1 mL/20 g 体重剂量缓慢注入肠腔内。药液注射完后再注入约 0.2 mL 空气,保持倒立 1 min 后拔出灌肠针。小鼠苏醒后正常饲喂。造模期 7 d。

1.2.2 临床观察

造模期间每日定时称重,观察精神状况和粪便性状,并采用匹拉米洞半定量法测定便隐血。隐血/血便分数评分标准:加显色剂后立即呈紫蓝色(4分);10 s 内呈紫蓝色(3分);1 min 内呈紫红色(2分);1 ~ 2 min 内逐渐产生紫红色(1 min);判读时间内无颜色反应(0分)。

1.2.3 样品采集

结肠内容物样品:造模 7 d 后,用舒泰麻醉处死小鼠,取出结肠组织,置冰盒上,纵向剖开结肠,取结肠内容物放入 2 mL 无菌防冻管中,液氮速冻后,转移于-80℃冰箱,用于肠道菌群检测。将同组的每 3 只小鼠的粪便混合成 1 个样,取 3 个样进行菌群检测。

结肠组织样品:观察结肠的大体病变并拍照记录,测量结肠的长度和重量后,将结肠组织置 4%多聚甲醛液中固定 24 h 以上,用于组织病理诊断。

1.2.4 组织病理学观察

将固定好的结肠进行梯度乙醇脱水、透明、浸蜡和包埋,制成 5 μm 厚的石蜡切片,并进行苏木精-伊红(HE)染色,显微镜下观察组织病理损伤情况。

1.2.5 结肠内容物的 16S rDNA 测序

使用 MN NucleoSpin 96 Soil DNA 试剂盒提取结肠内容物的细菌总 DNA,再用 1.8%琼脂糖凝胶电泳检验 DNA 的浓度和纯度;使用特异性引物(338F-806R)进行 PCR 扩增;再使用 Monarch DNA 胶试剂

盒回收扩增产物。引物序列为 F:5'-ACTCCTACGGAGGCAGCA-3'; R:5'-GGACTACHVGGGTWCTAAT-3'。PCR 产物经定量和文库构建后,利用 Illumina HiSeq 2500 平台进行 16S rDNA V3 + V4 测序。

使用 Trimmomatic v0.33、cutadapt 1.9.1、FLASH v1.2.7 和 UCHIME v4.2 软件分析测序所得 Raw Reads,经过滤与识别,得到最终有效数据(effective reads)。将有效序列聚类为分类单元(OTUs),对 OTUs 进行物种注释,在门和属水平绘制物种分布柱状图和聚类树图。使用 Mothur 软件测算结肠微生物的 Alpha 多样性指数(包括 Ace 指数和 Shannon 指数),进行菌群丰度和多样性评估。用 QIIME 软件进行非度量多维标度法(Non-Metric Multi-Dimensional Scaling, NMDS)分析。最后通过 LefSe(Linear Discriminant Analysis (LDA) Effect Size)分析组间 Biomarker 的统计学差异。

1.3 统计学分析

用 SPSS 26.0 软件分析实验数据,用平均值±标准差($\bar{x} \pm s$)表示数据结果,用单因素方差法分析组间差异性。 $P < 0.05$ 表示差异具有显著性。

2 结果

2.1 临床观察、结肠长度和重量变化结果

对照组小鼠精神状况良好,无腹泻、软便和便血。DSS 组小鼠从造模第 3 天粪便松软,随后软便现象日趋严重,至第 7 天排稀溏血便;小鼠精神逐渐萎靡、活动能力下降、毛发失去光泽。TNBS 组在造模第 1 天即有部分小鼠排软便,至第 3 天,粪便稀软不成形,随后渐趋正常(图 1A)。DSS 组从造模后第 5 天体重逐渐下降, TNBS 组从第 2 天急剧下降,随后逐渐上升(图 1C)。对照组粪便隐血检测结果均呈阴性;DSS 组第 5 天开始粪便隐血分数显著升高;TNBS 组部分小鼠在造模第 1 天检出粪便隐血阳性,第 4 天达最高,随后降低(图 1D)。

剖检观察:对照组结肠黏膜层的颜色和厚度正常;DSS 组结肠明显缩短、肠壁增厚、黏膜层颜色暗沉,局部见深褐色、隆起、点状或圆形或不规则形病灶(三角形区域);TNBS 组结肠颜色变红,见少量浅灰褐色,略高于黏膜表面的小病灶(红圈内,图 1B)。

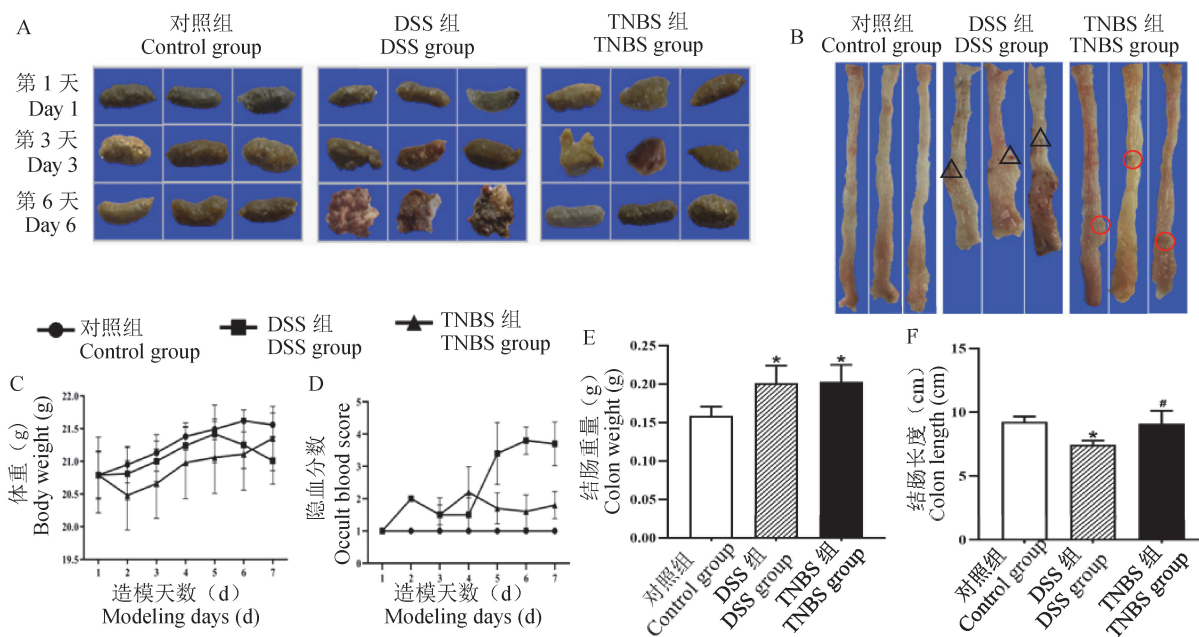
结肠重量:DSS 组和 TNBS 组的结肠重量较对

照组显著增加 ($P < 0.05$), DSS 组和 TNBS 组间无显著差异 ($P > 0.05$) (图 1E)。结肠长度: DSS 组结肠长度较对照组和 TNBS 组显著变短 ($P < 0.05$), 对照组和 TNBS 组之间无显著性差异 ($P > 0.05$) (图 1F)。

2.2 小鼠结肠组织病理诊断结果

如图 2 所示, 对照组结肠的组织结构层次清晰, 黏膜层、黏膜下层和肌肉层清晰可见, 隐窝和杯状

细胞排列整齐。DSS 组结肠黏膜层形成溃疡灶, 坏死波及黏膜全层致固有结构消失, 结缔组织增生, 其间见数量不等的炎症细胞浸润 (三角形); 溃疡灶附近的隐窝扩张 (星号)。TNBS 组结肠黏膜层的隐窝上皮细胞和杯状细胞增生, 局部细胞层次增厚, 偶见分支结构形成 (箭头); 隐窝间结缔组织增生并伴有数量不等的炎性细胞浸润 (方框), 致隐窝间隙增宽。



注: A: 粪便性状变化; B: 剖检病变; C: 体重变化; D: 粪隐血分数变化; E: 结肠重量变化; F: 结肠长度变化; 与正常组比较, * $P < 0.05$; 与 DSS 组比较, # $P < 0.05$ 。(下图同)

图 1 各实验组小鼠体重、隐血分数、结肠长度和重量比较

Note. A. Changes of fecal traits. B. Anatomic appearance. C. Weight change. D. Fecal occult blood fraction changes. E. Changes in colonic weight. F. Changes in colonic length. Compared with the normal group, * $P < 0.05$. Compared with the DSS group, # $P < 0.05$. (The same in the following figures)

Figure 1 Comparison of body weight, fecal occult blood fraction, colonic length and weight of mice in different experimental groups

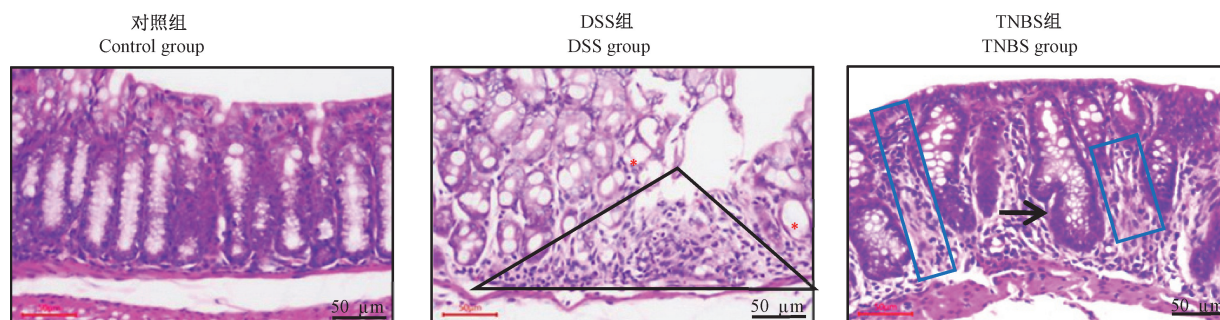


图 2 各组小鼠结肠的组织病理变化

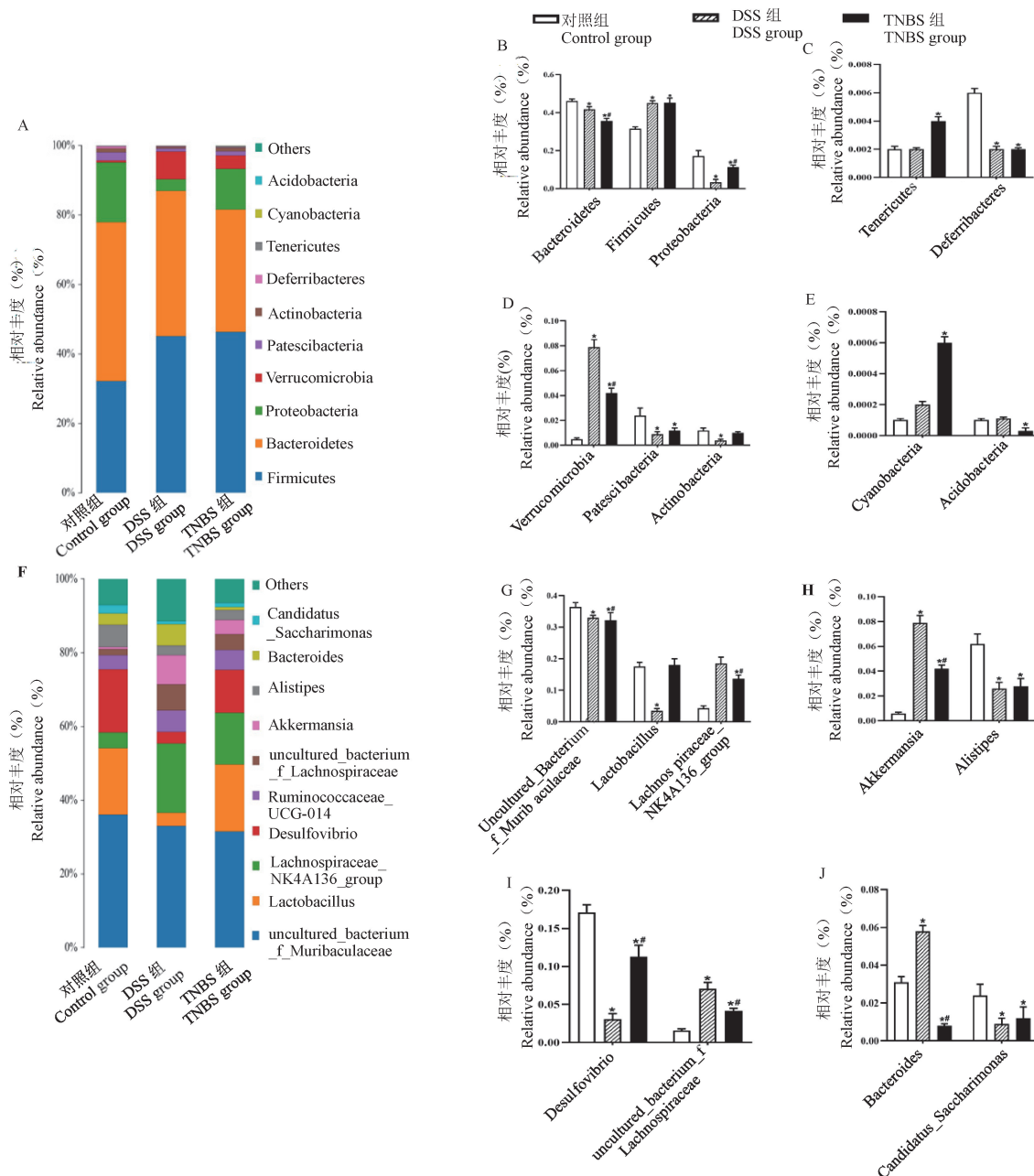
Figure 2 Histopathological changes of mice colon in each group

对属水平丰度前 10 的菌群进行统计分析。与对照组相比, DSS 组 *uncultured_bacterium_f_Muribaculaceae*、乳杆菌属 (*Lactobacillus*)、脱硫弧菌属 (*Desulfovibrio*)、*Alistipes* 和 *Candidatus_Saccharimonas* 相对丰度降低 ($P < 0.05$), *uncultured_bacterium_f_Lachnospiraceae*、*Akkermansia* 和拟杆菌属 (*Bacteroides*) 相对丰度上升 ($P < 0.05$); TNBS 组 *uncultured*

bacterium_f_Muribaculaceae、脱硫弧菌属、*Alistipes*、拟杆菌属和 *Candidatus_Saccharimonas* 相对丰度降低 ($P < 0.05$), *Lachnospiraceae_NK4A136_group*、*uncultured_bacterium_f_Lachnospiraceae* 和 *Akkermansia* 相对丰度升高 ($P < 0.05$) (见图 4F, 4G, 4H, 4I, 4J)。

通过 LeFSe 分析比较各组间显著性差异物种, 3 组共有 28 个丰度靠前的显著性差异物种, 以 LDA

值大于 3.5 为筛选标准, 确定各个组中丰度较高的微生物。通过 LeFSe 分析显示, DSS 组显著性最高的是 *Clostridium_sensu_stricto_1*、梭菌目 (*Clostridiales*)、梭菌科 (*Clostridiaceae*)、*uncultured_bacterium_f_Lachnospiraceae* 和梭菌属 (*Clostridia*); TNBS 组显著性最高的是 *Eubacterium_xylophilum_group* (见图 5A, 5B)。

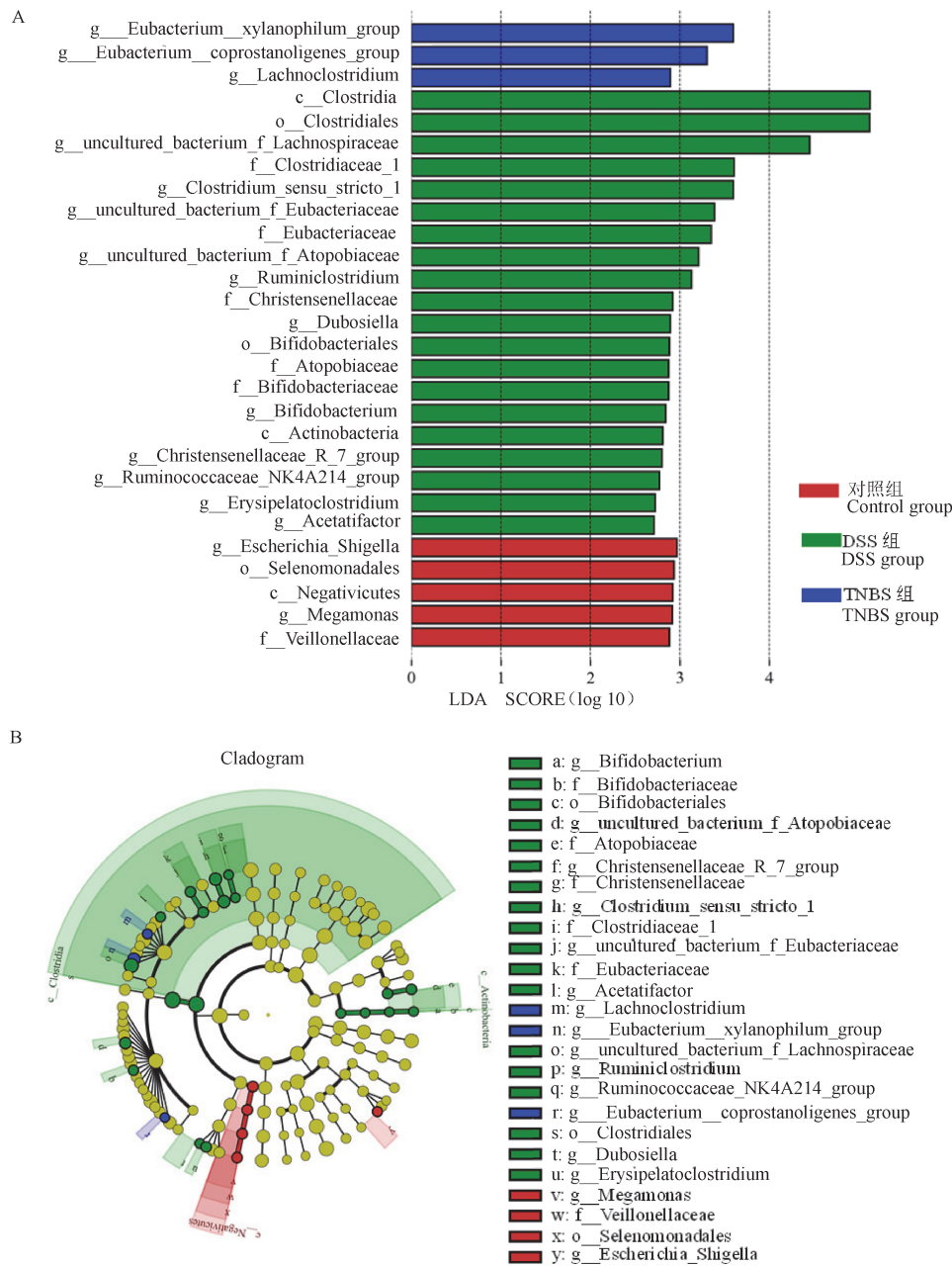


注: A: 门水平丰度前 10 的物种丰度柱状图; B、C、D、E: 各组门水平丰度前 10 的物种显著性; F: 各组属水平丰度前 10 的物种丰度柱状图; G、H、I、J: 各组属水平丰度前 10 存在显著性差异物种。

图 4 各组小鼠菌群组成和差异分析

Note. A. Bar chart of the top 10 species in horizontal abundance of each phyla. B, C, D, E. The top 10 species with significant differences in the level of abundance of phyla. F. Bar charts of the top 10 species in horizontal abundance of each genus. G, H, I, J. The first 10 species showed significant differences in horizontal abundance among each group.

Figure 4 Microflora composition and difference analysis of each group



注:A:LDA 值分布柱状图;B:进化分支图。由内至外辐射的圆圈代表了由门至种的分类级别;在不同分类级别上的每一个小圆圈代表该水平下的一个分类,小圆圈直径大小与相对丰度大小成正比;着色原则为将无显著差异的物种统一着色为黄色,红色、绿色和蓝色分别代表对照组、DSS 组和 TNBS 组。

图 5 LefSe 显著性分析

Note. A. Histogram of LDA value distribution. B. Evolutionary branching. The circles radiating from the inside to the outside represent classification levels from phylum to species. Each small circle at different taxonomic levels represents a taxon at that level, and the diameter of the small circle is proportional to the relative abundance. The coloring principle was that the species without significant differences were uniformly colored yellow, red, green and blue represented the control group, DSS model group and TNBS model group, respectively.

Figure 5 Significance analysis of LEFSE

3 讨论

UC 动物模型是研究发病机制和药物筛选的重要手段,其中 DSS 和 TNBS 诱导的 UC 模型最为常

用。已有研究报道,这两种模型均表现为肠道黏膜屏障功能降低、肠道免疫功能紊乱并触发炎症反应、肠道菌群失衡、肠道形态结构受损,与人体患者的损伤特征相似^[8-9]。但很少有文献资料系统研究

两种模型的差异性。本研究重点关注 DSS 和 TNBS 诱导的 UC 小鼠模型在临床症状、病理变化特征和肠道菌群构成上的差异。

临床症状显示, DSS 组和 TNBS 组小鼠均表现为稀便、血便和体重波动, 但各有自身特征。DSS 组从造模第 3 天, 稀便和血便症状逐渐加重; TNBS 组造模当天血便, 第 3 天时稀便和血便最严重, 随后逐渐恢复。本实验 DSS 组临床症状与已有研究较一致, 仅粪便性状改变的时间存在差异, 原因可能与不同的药液浓度、实验动物种属、造模周期等因素有关^[10]。也有研究报道 TNBS 小鼠血便症状先加重再恢复^[11-12]。两种模型病程进展的差异性与成模机制密切相关。DSS 不直接腐蚀肠壁, 而是缓慢渐进性损伤肠上皮细胞, 致细菌、肠内抗原等促炎物质进入黏膜层而引发炎症^[13]; TNBS 造模时, 乙醇灼伤肠黏膜后, TNBS 与组织内赖氨酸的 ϵ 基团结合形成完全抗原, 引起免疫应答性炎症反应^[14]。

剖检显示, 两种模型的结肠均表现为重量增加和溃疡灶形成。病理组织变化的共同特征为结肠黏膜上皮细胞和杯状细胞坏死、结缔组织增生和炎性细胞浸润。不同之处有二: 一是结肠溃疡灶结构不同, DSS 组溃疡灶部位固有层消失, 而 TNBS 组溃疡灶内残留隐窝结构; 二是隐窝病变特征不同, DSS 组隐窝扩张更明显, 胞核成分减少, 而 TNBS 组隐窝壁上的细胞核成分致密。已有研究显示, DSS 模型^[15-16]和 TNBS 模型^[17-18]的病理损伤特征相似, 包括结肠缩短、黏膜层结构受损、炎性水肿和炎性浸润。对人 UC 的研究显示, 结肠的组织病理变化包括上皮损伤、隐窝扩张、细胞增生和炎症反应^[8]。本实验中 TNBS 组发生明显的隐窝细胞增生, 与人 UC 的病变特征更接近, 提示 TNBS 模型可能更适用于人 UC 的发病机理和药物筛选研究。

门水平丰度的菌群测序结果显示两种模型的相同之处是: DSS 组和 TNBS 组拟杆菌门、变形菌门、*Patescibacteria* 和脱铁杆菌门的相对丰度都降低, 厚壁菌门和疣微菌门的相对丰度均升高; 不同之处是: 软壁菌门和蓝藻菌门的丰度在 TNBS 组增加而在 DSS 组无显著性变化; 放线菌门丰度仅在 DSS 组显著降低, 酸杆菌门丰度仅在 TNBS 组显著降低。属水平丰度的测序结果显示, DSS 组和 TNBS 组 *uncultured_bacterium_f_Muribaculaceae*、脱硫弧菌属、*Alistipes* 和 *Candidatus_Saccharimonas* 的相对丰度降低, *uncultured_bacterium_f_Lachnospiraceae* 和

Akkermansia 的相对丰度升高; 区别在于乳杆菌属仅在 DSS 组丰度降低, 拟杆菌属在 DSS 组丰度上升而在 TNBS 组显著下降。结果表明, 两种 UC 模型的肠道菌群在门水平和属水平上均与对照组显著不同, 发生了明显的菌群结构紊乱。已有研究表明, UC 患者或 UC 模型动物不同门和属细菌的相对丰度改变, 均反映出肠道菌群结构紊乱^[19-22]。肠道菌群是肠道微生态系统的重要组成部分, 参与营养和能量供应、保护肠道粘膜屏障、调节宿主免疫^[3, 23-24]。本实验中, 肠道菌群结构紊乱可能加重结肠的组织病理损伤和功能紊乱。在 DSS 和 TNBS 模型中菌群变化, 会对结肠上皮屏障和免疫功能产生特定的干扰作用。因此本实验进一步分析了 3 种常见菌群变化对 UC 潜在的损伤机制。

在属水平上, 与对照组相比, 疣微菌门中的 *Akkermansia* 的相对丰度在两个模型组中都异常升高, 其中 DSS 组最高。部分研究认为, *Akkermansia* 相对丰度与结肠炎小鼠的组织病理损伤和炎症呈正相关^[25-26]。也有研究观察到它的丰度与肠道炎症呈负相关, 原因是 *Akkermansia* 中的艾克曼菌在人体肠道中定植, 有维持肠道菌群、保护肠粘膜、减轻肠道炎症和调节糖脂代谢等作用^[27-29]。因此, 艾克曼菌异常增多对机体是否有益存在争议, 还需进一步探究。

拟杆菌属是与炎症性肠病高度有关的微生物群^[30]。与对照组比较, DSS 组拟杆菌属相对丰度显著升高; TNBS 组相对丰度降低, 与已有研究结果一致^[31-32]。拟杆菌是一种中性菌, 若发生不稳定增殖则为致病菌, 吕志堂等^[33]发现拟杆菌属中的脆弱拟杆菌与结直肠癌和炎症性肠病密切相关。脆弱拟杆菌分为产肠毒素脆弱拟杆菌 (enterotoxigenic *Bacteroides fragilis*, ETBF) 和非产肠毒素脆弱拟杆菌 (nontoxigenic *Bacteroides fragilis*, NTBF)^[34-35]。有研究发现^[36-37]结直肠癌患者肠道中的 ETBF 数量明显升高, 其可能的致癌机制包括干扰粘膜免疫反应、诱导上皮细胞变化等^[38]; 而 NTBF 通过产生胞外多糖保护结肠黏膜免受致炎因子侵害^[39], 抑制结肠炎和结直肠癌的发展^[40]。本实验 DSS 组中拟杆菌属的丰度升高是否与致病性 ETBF 增多有关, TNBS 组中拟杆菌属丰度降低是否与 NTBF 减少有关, 尚需进一步研究。

与对照组相比, DSS 组中乳杆菌属丰度显著降低, TNBS 组无差异。乳杆菌属中乳酸菌是厚壁菌

门中的有益菌,具有抗致病菌、增强上皮屏障、调节免疫等作用,主要通过分泌短链脂肪酸阻止致病菌入侵和增殖,恢复肠道菌群平衡,减少肠道炎症的产生^[41-42]。因此,本实验中,乳酸菌减少与 DSS 组小鼠的结肠上皮损伤和炎症反应的活跃密切相关。

综上所述,DSS 和 TNBS 建立的 UC 小鼠模型在临床症状、结肠组织病理损伤和肠道菌群组成上均有异同,实验结果不仅为 UC 发病机理的研究提供理论依据,也可作为筛选 UC 治疗药物及药效研究时选择不同动物模型提供参考。

参 考 文 献(References)

- [1] Ungaro R, Mehandru S, Allen PB, et al. Ulcerative colitis [J]. *Lancet*, 2017, 389(10080): 1756-1770.
- [2] Shen ZH, Zhu CX, Quan YS, et al. Relationship between intestinal microbiota and ulcerative colitis: mechanisms and clinical application of probiotics and fecal microbiota transplantation [J]. *World J Gastroenterol*, 2018, 24(1): 5-14.
- [3] 刘鸿程, 宋光. 肠道菌群在溃疡性结肠炎中的研究进展 [J]. *医学综述*, 2020, 26(14): 2819-2823.
Liu HC, Song G. Research progress of intestinal flora in ulcerative colitis [J]. *Med Recapitulate*, 2020, 26(14): 2819-2823.
- [4] 林艺娟, 丁健, 黄循钊, 等. 粪菌移植对小鼠实验性结肠炎 TLR4 信号通路及肠黏膜屏障的影响 [J]. *中国微生态学杂志*, 2021, 33(3): 256-263, 270.
Lin YJ, Ding J, Huang XR, et al. Effects of fecal microbiota transplantation on TLR4 signaling pathway and intestinal mucosal barrier in mouse model of experimental colitis [J]. *Chin J Microecol*, 2021, 33(3): 256-263, 270.
- [5] 石磊, 李军祥, 史瑞, 等. 溃疡性结肠炎的动物模型研究进展 [J]. *解放军医药杂志*, 2020, 32(12): 107-112.
Shi L, Li JX, Shi R, et al. Research progress on animal models of ulcerative colitis [J]. *Med Pharm J Chin PLA*, 2020, 32(12): 107-112.
- [6] 何育佩, 杜正彩, 侯小涛, 等. 溃疡性结肠炎动物模型研究进展 [J]. *世界科学技术-中医药现代化*, 2020, 22(2): 423-433.
He YP, Du ZC, Hou XT, et al. Research review on animal models of ulcerative colitis [J]. *Modern Tradit Chin Med Mater-World Sci Tech*, 2020, 22(2): 423-433.
- [7] Kritarth MS, Paresh K. Animal models for preclinical drug research on ulcerative colitis: a review [J]. *J Sci Soc*, 2018, 45(2): 80-83.
- [8] 鲁香凤, 张书信, 傅丽元, 等. 人溃疡性结肠炎与小鼠模型的组织病理学变化比较及机制探讨 [J]. *中国实验动物学报*, 2018, 26(5): 597-602.
Lu XF, Zhang SX, Fu YL, et al. Comparison of histopathological changes in large intestinal mucosa between human ulcerative colitis and a induced rat model by Sodium Dextran Sulfate [J]. *Acta Lab Anim Sci Sin*, 2018, 26(5): 597-602.
- [9] Bilsborough J, Fiorino MF, Henkle BW. Select animal models of colitis and their value in predicting clinical efficacy of biological therapies in ulcerative colitis [J]. *Expert Opin Drug Discov*, 2020, 16(5): 567-577.
- [10] 陈素傲, 金世柱. 葡聚糖硫酸钠诱导鼠溃疡性结肠炎模型研究进展 [J]. *中国比较医学杂志*, 2020, 30(4): 142-146.
Chen SA, Jin SZ. Murine model of dextran sodium sulfate-induced ulcerative colitis [J]. *Chin J Comp Med*, 2020, 30(4): 142-146.
- [11] 燕玉奎, 王志旺, 郭玫, 等. 红芪对小鼠溃疡性结肠炎的作用及其物质基础研究 [J]. *中国临床药理学杂志*, 2019, 35(21): 2698-2701.
Yan YK, Wang ZW, Guo M, et al. Effect of Radix Hedysari on mice ulcerative colitis and its material basis [J]. *Chin J Clin Pharm*, 2019, 35(21): 2698-2701.
- [12] 董瑞娟, 黄翔, 葛东宇, 等. 肠泰胶囊改善三硝基苯磺酸诱导的小鼠实验性结肠炎的作用及其机制研究 [J]. *中华中医药杂志*, 2019, 34(3): 1202-1206.
Dong RJ, Huang X, Ge DY, et al. Effects and mechanism of Changtai Capsule on trinitrobenzene sulfonic acid induced colitis in mice [J]. *Chin J Tradit Chin Med Pharm*, 2019, 34(3): 1202-1206.
- [13] Kiesler P, Fuss IJ, Strober W. Experimental models of inflammatory bowel diseases [J]. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*, 2015, 1(2): 154-170.
- [14] 张瑶, 颜宏利, 周海玥, 等. 化学法建立溃疡性结肠炎动物模型的研究进展 [J]. *世界华人消化杂志*, 2015, 23(27): 4384-4392.
Zhang Y, Yan HL, Zhou HY, et al. Animal models of ulcerative colitis developed with chemicals [J]. *World Chin J Digestology*, 2015, 23(27): 4384-4392.
- [15] 刘丽, 康安, 刘春样, 等. 清肠化湿方对溃疡性结肠炎小鼠炎症及肠道菌群的影响 [J]. *南京中医药大学学报*, 2021, 37(1): 47-53.
Liu L, Kang A, Liu CX, et al. Effects of Qingchang Huashi Decoction on inflammation and gut florain ulcerative colitis mice [J]. *J Nanjing Univ Tradit Chin Med*, 2021, 37(1): 47-53.
- [16] 施丽婕, 刘苏仪, 于潇, 等. 化瘀通阳方对溃疡性结肠炎模型大鼠肠道菌群和氨基酸代谢的影响 [J]. *中医杂志*, 2020, 61(19): 1731-1737.
Shi LJ, Liu SY, Yu X, et al. Effect of Huayu Tongyang Prescription on intestinal flora and amino acid metabolism in rats with ulcerative colitis [J]. *J Tradit Chin Med*, 2020, 61(19): 1731-1737.
- [17] 赖慧敏, 黄敏聪, 楼招欢, 等. 天台乌药对 TNBS 诱导的溃疡性结肠炎模型大鼠的抗炎作用研究 [J]. *中国比较医学杂志*, 2021, 31(2): 37-44.
Lai HM, Huang MC, Lou ZH, et al. The effect of Tiantai Radix Linderae on a rat model of ulcerative colitis induced by TNBS [J]. *Chin J Comp Med*, 2021, 31(2): 37-44.
- [18] 石岩, 姚俊, 许亚平. BC-1215 抑制三硝基苯磺酸诱导的小鼠肠黏膜炎症反应 [J]. *临床与病理杂志*, 2020, 40(9):

- 2241–2247.
- Shi Y, Yao J, Xu YP, et al. BC-1215 inhibits trinitrobenzene sulfonic acid-induced colitis in mice [J]. J Clin Pathol Res, 2020, 40(9): 2241–2247.
- [19] 余今菁, 李欢, 胡邱宇, 等. 基于高通量测序技术的溃疡性结肠炎患者肠道菌群多样性研究 [J]. 华中科技大学学报 (医学版), 2018, 47(4): 460–465.
- Yu JJ, Li H, Hu QY, et al. Research on gut microbiota diversity in patients with ulcerative colitis by high-throughput sequencing [J]. Acta Med Univ Sci Technol Huazhong, 2018, 47(4): 460–465.
- [20] 李云, 戴岳, 夏玉凤. 溃疡性结肠炎内源性代谢物和肠道菌群变化研究进展 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2017, 31(9): 907–913.
- Li Y, Dai Y, Xia YF. Research progress on changes of endogenous metabolites and intestinal flora in ulcerative colitis [J]. Chin J Pharmacol Toxicol, 2017, 31(9): 907–913.
- [21] 陈健, 张梁坤, 谷文超, 等. 半夏泻心汤对右旋葡聚糖硫酸钠诱导的溃疡性结肠炎小鼠肠道菌群的影响 [J]. 中国中药杂志, 2021, 46(11): 2871–2880.
- Chen J, Zhang LK, Gu WC, et al. Effect of Banxia Xiexin Decoction on intestinal flora of mice with ulcerative [J]. Chin J Chin Mater Med, 2021, 46(11): 2871–2880.
- [22] 吴昊, 于小红, 王焕君, 等. 雷公藤对右旋葡聚糖硫酸钠诱导的溃疡性结肠炎小鼠肠道菌群的影响 [J]. 中草药, 2020, 51(2): 387–396.
- Wu H, Yu XH, Wang HJ, et al. Effect of Tripterygium wilfordii on intestinal flora in mice with ulcerative colitis induced by Dextran Sodium Sulfate [J]. Chin Tradit Herbal Drugs, 2020, 51(2): 387–396.
- [23] Chen YH, Michalak M, Agellon LB. Importance of nutrients and nutrient metabolism on human health [J]. Yale J Biol Med, 2018, 91(2): 95–103.
- [24] Belkaid Y, Harrison OJ. Homeostatic immunity and the microbiota [J]. Immunity, 2017, 46(4): 562–576.
- [25] Ring C, Klopfeisch R, Dahlke K, et al. Akkermansia muciniphila strain ATCC BAA-835 does not promote short-term intestinal inflammation in gnotobiotic interleukin-10-deficient mice [J]. Gut Microbes, 2019, 10(2): 188–203.
- [26] Bian XY, Wu WR, Yang LY, et al. Administration of Akkermansia muciniphila ameliorates Dextran Sulfate Sodium-Induced ulcerative colitis in mice [J]. Front Microbiol, 2019, 10: 2259.
- [27] 陈凯迪, 严建. 艾克曼菌与炎症性肠病的研究进展 [J]. 江苏医药, 2021, 47(2): 200–203.
- Chen KD, Yan J. Advances in research on Akkmanian and inflammatory bowel disease [J]. Jinagsu Med J, 2021, 47(2): 200–203.
- [28] Bajer L, Kverka M, Kostovcik M, et al. Distinct gut microbiota profiles in patients with primary sclerosing cholangitis and ulcerative colitis [J]. World J Gastroenterol, 2017, 23(25): 4548–4558.
- [29] Earley H, Lennon G, Balfe Á, et al. The abundance of Akkermansia muciniphila and its relationship with sulphated colonic mucins in health and ulcerative colitis [J]. Sci Rep, 2019, 9(1): 15683.
- [30] Zhang SL, Wang SN, Miao CY. Influence of microbiota on intestinal immune system in ulcerative colitis and its intervention [J]. Front Immunol, 2017, 8: 1674.
- [31] Liu JL, Gao YY, Zhou J, et al. Changes in serum inflammatory cytokine levels and intestinal flora in a self-healing Dextran Sodium Sulfate-induced ulcerative colitis murine model [J]. Life Sci, 2020, 263(1): 118587.
- [32] Wu ZC, Zhao ZL, Deng JP, et al. Sanhuang Shu' ai decoction alleviates DSS-induced ulcerative colitis via regulation of gut microbiota, inflammatory mediators and cytokines [J]. Biomed Pharmacother, 2020, 125: 109934.
- [33] 吕志堂, 许晓娜, 张怡君. 脆弱拟杆菌在炎症性肠病、结直肠癌促进、调控及防治中的作用 [J]. 微生物学杂志, 2020, 40(4): 1–8.
- Lv ZT, Xu XN, Zhang YJ. Role of Bacteroides fragilis in the promotion regulation and prevention of inflammatory bowel disease and colorectal cancer [J]. J Microbiol, 2020, 40(4): 1–8.
- [34] Elahi M, Nakayama-Imahiji H, Hashimoto M, et al. The human gut microbe Bacteroides thetaiotaomicron suppresses toxin release from Clostridium difficile by inhibiting autolysis [J]. Antibiotics (Basel), 2021, 10(2): 187.
- [35] Zheng L, Luo M, Kuang G, et al. Capsular polysaccharide from Bacteroides fragilis protects against ulcerative colitis in an undegraded form [J]. Front Pharmacol, 2020, 11: 570476.
- [36] Keenan JJ, Aitchison A, Purcell RV, et al. Screening for enterotoxigenic Bacteroides fragilis in stool samples [J]. Anaerobe, 2016, 40: 50–53.
- [37] Haghi F, Goli E, Mirzaei B, et al. The association between fecal enterotoxigenic B. fragilis with colorectal cancer [J]. BMC Cancer, 2019, 19(1): 879.
- [38] Wong SH, Zhao L, Zhang X, et al. Gavage of fecal samples from patients with colorectal cancer promotes intestinal carcinogenesis in germ-free and conventional mice [J]. Gastroenterology, 2017, 153(6): 1621–1633.
- [39] Chu H, Khosravi A, Kusumawardhani IP, et al. Gene-microbiota interactions contribute to the pathogenesis of inflammatory bowel disease [J]. Science, 2016, 352(6289): 1116–1120.
- [40] Lee YK, Mehrabian P, Boyajian S, et al. The protective role of Bacteroides fragilis in a murine model of colitis-associated colorectal cancer [J]. MSphere, 2018, 3(6): e00587–18.
- [41] Zhang Z, Lv J, Pan L, et al. Roles and applications of probiotic Lactobacillus strains [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2018, 102(19): 8135–8143.
- [42] Wang G, Liu Y, Lu Z, et al. The ameliorative effect of a Lactobacillus strain with good adhesion ability against Dextran Sulfate Sodium-induced murine colitis [J]. Food Funct, 2019, 10(1): 397–409.

[收稿日期] 2021-06-30