玉米皮阿魏酰低聚糖调节小鼠肠道菌群及缓解结肠炎的研究

杨 柳， 欧仕益， 黄俊卿， 宋 媛*
（暨南大学 食品科学教育部重点实验室，广东 广州 510600）

摘要： 采用葡聚糖硫酸钠(DSS)诱导小鼠产生结肠炎症，结合组织切片和16S rRNA基因测序技术，探讨了玉米皮阿魏酰低聚糖(FOs)对结肠炎的缓解及对肠道菌群失衡的调节作用。结果表明，与对照组相比，FOs可以改善小鼠结肠的组织学损伤，上调肠道紧密连接蛋白表达，下调相关促炎因子表达，表现出对肠道屏障的保护作用。此外，FOs改善了结肠炎引起的小鼠肠道菌群失衡，降低了厚壁菌门和拟杆菌门的相对丰度比值，增加了乳酸杆菌属和毛螺杆菌属等益生菌的相对丰度，并抑制葡萄球菌等致病菌在肠道的定植。与对照组相比，FOs显著增加了结肠短链脂肪酸的质量分数，对结肠微生态也有积极影响。该研究结果表明，FOs可以调节DSS诱导的肠道菌群紊乱、优化肠道菌群结构、提高肠道菌群的多样性，有效改善结肠炎症。

关键词： 阿魏酰低聚糖；结肠炎；肠道菌群；短链脂肪酸；葡聚糖硫酸钠
中图分类号：TS 201.4　　**文章编号：**1673-1689(2024)05-0146-10　　**DOI：**10.12441/spyswjs.20230320004

Regulation of Colon Microbiota and Alleviation of Colon Colitis in Mice by Maize Feruloylated Oligosaccharides

YANG Liu, *OU Shiyi*, *HUANG Junqing*, *SONG Yuan**
(Key Laboratory of Food Science, Ministry of Education, Jinan University, Guangzhou 510600, China)

Abstract: Dextran sulfate sodium (DSS) was used to induce colitis in mice, and the effects of feruloylated oligosaccharides (FOs) on alleviating colitis and regulating intestinal flora imbalance were investigated by tissue sectioning combined with 16S rRNA gene sequencing. The results showed that compared to the DSS group, FOs ameliorated the histological damage, up-regulated the expression of intestinal tight junction proteins, and decreased the expression of pro-inflammatory factors, exerting protective effects on the intestinal barrier. In addition, FOs improved the colitis-induced imbalance in the intestinal microbiota of mice, decreased the abundance ratio of the Firmicutes to Bacteroidetes, increased the abundance of probiotic bacteria such as *Lactobacillus* and *Muribaculaceae*, and inhibited the colonization of pathogenic bacteria such as *Staphylococcus*. Compared to the normal group, FOs significantly increased the content of colonic short-chain fatty acids, positively affecting the intestinal micro-ecology. The results indicated that FOs could regulate

收稿日期： 2023-03-20　　**修回日期：** 2023-05-21
基金项目： 广州市科技计划项目(202102010073)。
* **通信作者：** 宋 媛(1979—)，女，博士，副主任医师，主要从事健康饮食与疾病防治研究。E-mail：sybil9876@126.com

DSS-induced intestinal flora disorders, optimize intestinal flora structure, improve intestinal flora diversity, and effectively ameliorate colonic inflammation.

Keywords: feruloylated oligosaccharides, colitis, intestinal flora, short-chain fatty acids, dextran sulfate sodium

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis,UC)是一种常见的慢性炎症性疾病，发病率呈逐年上升趋势,其发病机制与多种因素有关,包括遗传因素、肠道屏障受损、肠道菌群失衡及免疫应答失调等[1]。其中肠道微生物紊乱与结肠炎的发生和发展密切相关,通常表现为肠道菌群比例失调、微生物多样性下降等[2]。目前主要通过免疫抑制剂、氨基水杨酸盐、皮质类固醇等来治疗结肠炎,但部分药物有明显副作用[3],因此寻找替代药物或通过膳食干预来预防和治疗结肠炎尤为重要。

FOs 由阿魏酸(FA)和阿拉伯木聚糖组成,可以通过水解来自植物细胞壁的酯化多糖获得,例如玉米皮和麦麸。FOs 几乎不被小肠吸收,可直接进入结肠中代谢[4]。在肠道微生物释放的阿魏酸酯酶的作用下,FOs 水解释放的 FA 会被宿主缓慢吸收,在血液中浓度稳定的时间更长,FA 对氧化应激和炎症相关的疾病具有积极作用,释放的寡糖可以通过增强 β 细胞的功能和促进胰岛素分泌来改善血糖代谢[5-6]。作者所在团队之前的研究表明,适当剂量的 FOs 对于结肠炎和糖尿病都会发挥抗炎活性，并且可以显著增加大鼠粪便中微生物的丰度和多样性[7-9]。已有研究发现，阿魏酸有潜在的肠道菌群调节功能,而功能性寡糖可以促进肠道中益生菌的增殖以及抑制有害菌的生长,并表现出对高胆固醇、高血糖和肠道疾病的预防作用[10-11]。FOs 兼具阿魏酸和低聚糖的生理功能,具有抗氧化活性、益生元的生理功效和抑制糖基化的作用[12-15],但 FOs 对肠道微生态的调节,尤其是 FOs 对结肠炎的预防和辅助治疗作用却鲜有研究。

作者探讨了 FOs 对 DSS 诱导的小鼠结肠炎的缓解作用及肠道菌群调节机制,利用现代生物技术评价 FOs 对结肠炎症的抗炎效果,以期提高玉米麸皮的综合利用价值,并希望为 FOs 在结肠炎患者的膳食辅助治疗中提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

30 只 SPF 级 BALB/c 雄性小鼠,8 周龄,体质量(25±3) g,由广东药康生物科技有限公司提供,动物许可证号:SCXK(粤)2020-0054;动物实验于广州华腾生物医药有限公司进行,动物实验伦理审查编号:SYXK(粤)2020-0237;DSS:美国 MP Biomedicals 公司。

FOs 采用玉米皮制备,冷冻保藏[13]。主要成分为阿魏酰阿拉伯糖和(5-O-阿魏酸-α-*L*-阿拉伯糖)-1,3-木糖，两者的质量比为 9:1。其平均聚合度为 3.0,结合态阿魏酸、还原糖和总糖的质量分数分别为 49、315、959 mg/g。单糖组成中,木糖、阿拉伯糖、半乳糖和葡萄糖分别占总糖质量的 46.4%、40.5%、3.8%和 8.7%。

1.2 仪器与设备

OSE-Y30 TGrinder 组织研磨器:北京TIANGEN 有限公司;CT14RD 低温超速离心机:上海精科天美科学仪器有限公司;ATX224 电子分析天平:岛津实验器材有限公司;DW-HL528 超低温冷冻储存箱:中科美菱低温科技有限公司;WP-UPT-20 超纯水仪：四川沃特尔水处理设备有限公司;AMR-100 酶标分析仪：杭州奥盛仪器有限公司;SOPTOP XD 生物显微镜：舜宇光学科技有限公司;H2050-R 冷冻离心机:湘仪仪器有限公司;MB-96 组织研磨器:浙江美壁仪器有限公司;QL-866 涡旋混匀仪:海门市其林贝尔仪器有限公司;Thermo Trace 1310 气相色谱仪、Thermo ISQ LT 质谱仪:安捷伦科技有限公司。

1.3 方法

1.3.1 *动物实验及分组* 小鼠在(21±2) ℃、相对湿度 75%和 12 h 明暗循环的动物房适应性饲养 7 d 后，将小鼠随机分为4 组 (n=6):NC 组 (对照组)、DSS 组(质量分数 2.5% DSS)、FOs-200 组(质量分数2.5% DSS + 200 mg/kg FOs，以小鼠体质量计)、FOs-400 组(质量分数 2.5% DSS + 400 mg/kg FOs,

以小鼠体质量计)。除对照组饮用生理盐水外,其他3组均连续7 d饮用质量分数为2.5%的DSS溶液建立肠道屏障损伤模型[16],DSS组和FOs处理组采用灌胃方式饲喂从玉米皮中提取的阿魏酰低聚糖。每天监测小鼠的体质量减量、粪便形态和便血情况并进行疾病活动指数(disease activity index,DAI)评分(见表1)。之后取小鼠结肠进行组织切片观察和免疫组织化学检测,取结肠内容物测定短链脂肪酸和肠道微生物。

表1 DSS诱导结肠炎的疾病活动指数评分

Table 1 Disease activity index scoring system of DSS-induced colitis

分数	体质量减少质量分数/%	粪便形态	便血程度
0	0	正常	无便血
1	1~5	正常	无便血
2	6~10	软且黏稠	无便血
3	11~15	不规则、未成形粪便	轻微出血

1.3.2 形态观察和免疫组织化学检测 取结肠末端2 cm的组织样本,用质量分数为4%的多聚甲醛溶液固定结肠组织样本,经石蜡包埋后,进行切片、脱蜡、苏木精-伊红(hematoxylin-eosin,HE)染色、脱水和封片,在生物显微镜下放大观察结肠组织形态。另外,结肠组织经切片、抗原修复、免疫染色和封片后进行免疫组织化学检测。

1.3.3 血清细胞促炎因子测定 ELISA法检测相关促炎因子的表达水平,用酶标仪测定吸光度并绘制标准曲线,计算出TNF-α和IL-1β的质量浓度并分析各组表达水平的差异。

1.3.4 结肠短链脂肪酸质量分数测定 利用气相色谱-质谱联用仪(gas chromatography-mass spectrometry,GC-MS)对结肠内的短链脂肪酸质量分数进行测定。取结肠内容物样本于2 mL离心管中,加50 μL体积分数15 %的磷酸,再加125 μg/mL的内标(4-甲基戊酸)溶液100 μL和乙醚400 μL,匀浆1 min,于4 ℃下200 r/s离心10 min,取上清液过0.22 μm有机滤膜进行气相色谱-质谱分析[17]。

1.3.5 16S rRNA基因扩增和测序 收集小鼠结肠内容物置于2 mL的灭菌冻存管,立刻放入-80 ℃冰箱保存,每组随机选取3个样本由广州迎欣生物技术有限公司对小鼠结肠微生物进行相关测序分析。使用DNA提取试剂盒对小鼠结肠样本的DNA进行提取,采用Nanodrop分光光度计对DNA进行定量,并通过质量分数1.2%的琼脂糖凝胶电泳检测DNA的纯度。之后取适量的DNA样品于离心管中,无菌水稀释样品至1 ng/μL,以稀释后的基因组DNA为模板,根据选择的测序区域,添加样本特异性Barcode引物。随后进行PCR扩增,采用全式金公司的Pfu高保真DNA聚合酶,进行扩增产物磁珠纯化回收和扩增产物荧光定量。构建好的测序文库经过Qubit定量和文库检测合格后,根据PCR产物浓度进行等量混样,最后使用Illumina平台进行测序,采用QIIME软件包进行序列分析。

1.3.6 数据处理与分析 每组实验设置3个平行,数据用平均数±标准差表示。使用SPSS 20.0软件进行单因素方差分析,采用Tukey检验进行显著性分析,$P<0.05$表示差异显著。采用OriginPro 8.5软件和GraphPad Prism 9.3.0软件绘图。

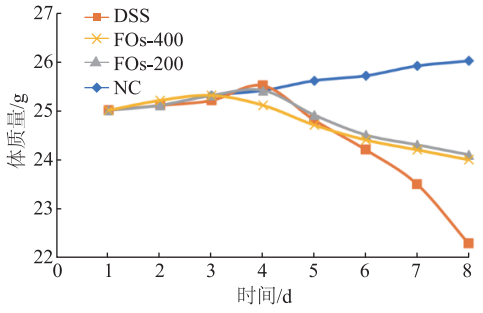
2 结果与分析

2.1 FOs对小鼠体质量和DAI的影响

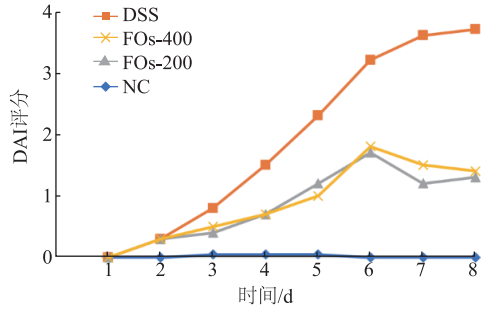
小鼠的体质量变化见图1(a),实验前3 d各组小鼠的体质量较为稳定,没有显著性差异,之后5 d经DSS处理的3组小鼠体质量下降明显,DSS组下降的趋势最为显著。FOs的干预一定程度上抑制了小鼠体质量下降的趋势,FOs-200组和FOs-400组对体质量影响的效果相近,且均与DSS组出现了显著性差异($P<0.05$)。小鼠的DAI评分见图1(b),实验期间观察到,前期DSS的处理使小鼠出现了腹泻和粪便轻微带血,后期粪便失去了具体形态且存在严重出血的现象,小鼠的肠道屏障受损。FOs的干预显著缓解了小鼠腹泻和便血的情况。

2.2 FOs对小鼠结肠组织的影响

炎症对肠黏膜形态的主要影响是炎症细胞通过受损上皮细胞之间的间隙浸润到隐窝,形成隐窝脓肿。由图2可知,NC组结肠隐窝结构完整、肌层厚度适中、无炎性细胞浸润。DSS组出现腺体萎缩、肌层增厚、上皮细胞脱落,并且出现了黏膜损伤及炎性细胞浸润。而FOs处理组上皮结构趋于正常、隐窝结构趋于完整、肌层厚度适中、腺体数量也增多。说明FOs可以改善结肠组织的损伤,对DSS诱导的结肠损伤小鼠的肠道完整性具有保护作用。



（a）小鼠体质量变化



（b）小鼠DAI评分变化

图 1　FOs 对 DSS 诱导的结肠炎小鼠体质量和 DAI 评分的影响

Fig. 1　Effects of FOs on body weight and DAI score on DSS-induced colitis in mice

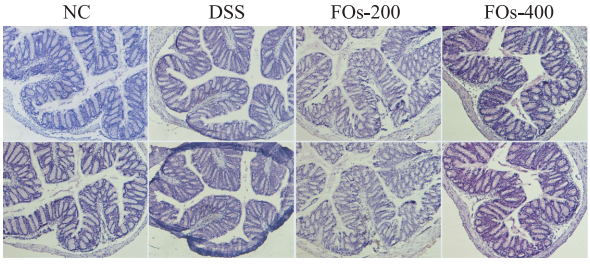


图 2　小鼠结肠组织 HE 染色结果

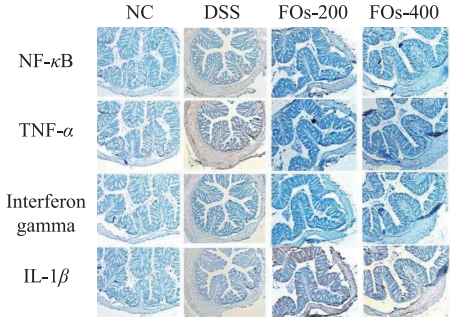
Fig. 2　Hematoxylin-eosin staining in colonic tissue of mice

2.3　FOs 对炎症因子的影响

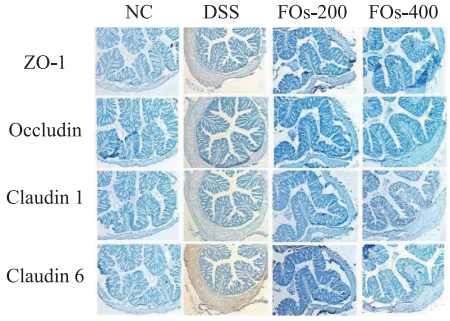
核因子(NF-κB)已被证实与肥胖、胰岛素抵抗和代谢紊乱有关，NF-κB 驱动多种促炎因子和细胞因子的表达，并导致免疫细胞聚集，进一步加强炎症反应[18]。促炎因子通过表达黏附分子、成纤维增殖因子、凝血因子和诱导细胞凋亡等途径驱动炎症反应和组织损伤。TNF-α 通过激活 MLCK 的表达增加肠道通透性并引起肠黏膜损伤，诱导一系列炎症反应，包括潘氏细胞坏死、巨噬细胞和 T 细胞活化以及上皮细胞脱落等[19]。产生白细胞介素 IL-23 的单核吞噬细胞在 UC 的发病机制中有着重要作用，而 IL-1β 信号传导对于 IL-23 的产生至关重要，IL-1β 的局部激活是介导促炎反应的中心环节，过量的 IL-1β 会促使其他炎症因子表达，加重肠黏膜的炎症损伤[20]。此外，肠道通透性增加是肠道屏障受损的标志之一，而紧密连接蛋白是构成肠上皮细胞的基础，主要包括 Occludin、Claudins、ZO-1 等，紧密连接蛋白通过调节肠黏膜的通透性和激活相关反应来保护肠道屏障的完整，对于维持肠道稳态有着积极作用[21]。

由图 3 可知，DSS 组中多个促炎因子的阳性表达增加，主要集中在肌层、黏膜层及黏膜下层，而 FOs 处理组中的促炎因子表达明显降低，趋向于 NC 组，说明 FOs 可以通过下调促炎因子的分泌来改善炎症引起的损伤。同时，DSS 组紧密连接蛋白的表达水平明显降低，而 FOs 有效提高了紧密连接蛋白的表达水平，表明 FOs 具有修复肠道屏障的功能。

以促炎因子 TNF-α 和 IL-1β 的表达水平来评价炎症反应的程度，结果如图 4 所示。与 NC 组相比，DSS 组 TNF-α 和 IL-1β 的质量浓度显著升高，FOs 的干预降低了促炎因子 TNF-α 和 IL-1β 的质量浓度，与 DSS 组相比具有极显著差异（$P<0.001$），其中 FOs-200 组的 TNF-α 和 IL-1β 质量浓度更接近 NC 组，可能是因为不同剂量的 FOs 释放出的阿魏酸浓度和稳定性有差异。结果进一步说明 FOs 的干预可以下调促炎因子的表达水平，从而缓解 DSS 诱导的小鼠肠道屏障受损。



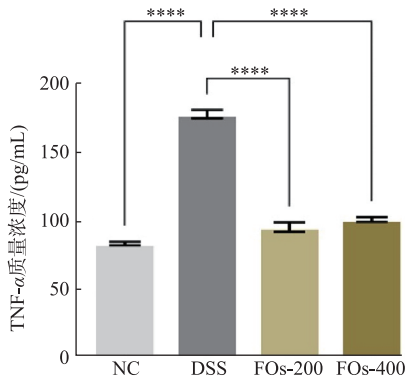
（a）促炎因子水平



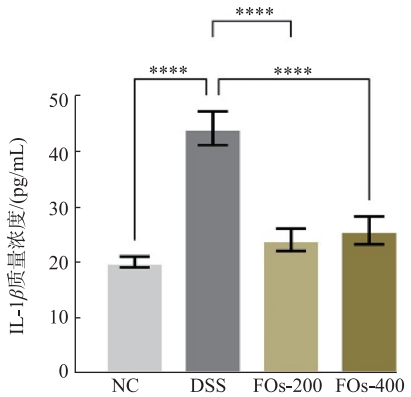
（b）紧密连接蛋白水平

图 3　小鼠结肠免疫组织化学检测结果

Fig. 3　Immunohistochemical results of mouse colon



（a）TNF-α表达水平



（b）IL-1β表达水平

**** 表示差异极显著。

图 4　FOs 对 DSS 诱导的结肠炎小鼠 TNF-α 和IL-1β 表达水平的影响

Fig. 4　Effects of FOs on the expression levels of TNF-α and IL-1β on DSS-induced colitis in mice

2.4　FOs 对小鼠肠道菌群失衡的调节效果

Lactobacillus（乳酸杆菌属）属于厚壁菌门，是肠道典型的益生菌，有助于肠黏膜的修复和肠上皮细胞的增殖，可促进短链脂肪酸分泌，调节肠黏膜免疫应答和预防炎症反应[22]。*Muribaculaceae*（毛葭杆菌属）属于拟杆菌门，其丰度与短链脂肪酸的增加有关，具备生产琥珀酸盐、乙酸盐和丙酸盐的发酵途径，在结肠中的主要发酵产物为丙酸盐，而丙酸盐会影响葡萄糖稳态并抑制组蛋白脱乙酰酶[23]。*Staphylococcus*（葡萄球菌属）是肠道中的致病菌之一，Hu 等研究发现小鼠在感染葡萄球菌后肠道通透性增加，并产生一系列的炎症损伤[24]。

由图 5 可知，在属水平上，DSS 组有益微生物 *Lactobacillus* 和 *Muribaculaceae* 显著减少，FOs 处理组有益微生物明显增多，相比于 DSS 组，FOs-400 组的 *Lactobacillus* 增加了 208%，FOs-200 组的 *Muribaculaceae* 增加了39%，但都未恢复到正常水平。而有害微生物 *Staphylococcus* 在 DSS 处理后增多，FOs 的干预显著降低了 *Staphylococcus* 的相对丰度。结合之前的研究得出，FOs 可以通过提高肠道中益生菌的相对丰度、增加短链脂肪酸的分泌、修复受损的肠黏膜和肠道屏障，从而改善结肠炎小鼠的肠道菌群失衡。

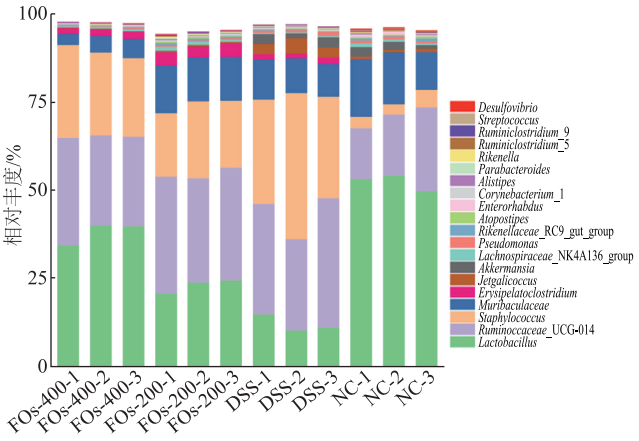


图 5　小鼠结肠微生物属水平上的相对丰度柱状图

Fig. 5　Histogram of relative abundance of intestinal microflora in mice at the genus levels

由图 6 可知，门水平上肠道菌群仍以 Firmicutes（厚壁菌门）、Bacteroidetes（拟杆菌门）以及 Proteobacteria（变形菌门）为优势菌门。DSS 诱导后小鼠结肠内 Firmicutes 和 Bacteroidetes 的相对丰度比值（F/B）升高。F/B 失调与肥胖、肠道炎症等疾病密切相关，该比值升高是肠道菌群失调的典型特征之一[25]，研究表明植物多糖能够有效降低 F/B[26]。从图中得出 FOs-200 组的 F/B 有所下降，FOs-400 组却相反，是因为 *Lactobacillus* 和 *Muribaculaceae* 分别属于厚壁菌门和拟杆菌门，而图 5 中 FOs-400 组的 *Lactobacillus* 相对丰度升高，FOs-200 组的 *Muribaculaceae* 相对丰度升高，分别对 F/B 的变化产生了影响。说明 FOs 在门水平上对菌群的调节存在剂量依赖关系，FOs-200 组可以有效逆转 DSS 诱导的结肠炎小鼠的 F/B 升高。

以上结果表明，适当剂量的 FOs 可以提高有益菌的相对丰度、降低有害菌的相对丰度，有效逆转 DSS 诱导的肠道菌群失衡的趋势，通过调节肠道菌群的组成和结构使结肠炎小鼠的肠道菌群与正常小鼠更相似，从而改善 DSS 诱导的结肠炎症。

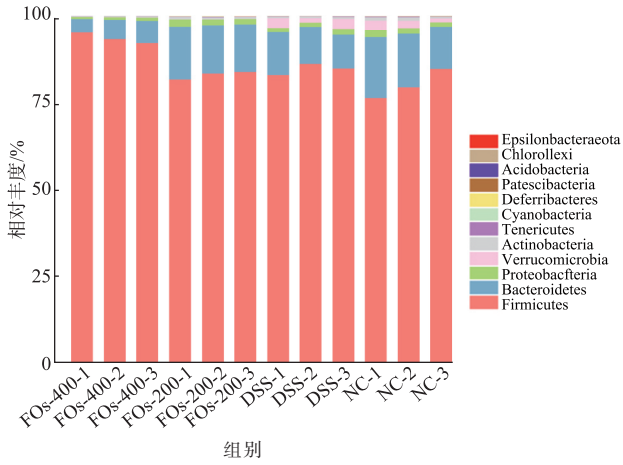


图 6　小鼠结肠微生物门水平上的相对丰度柱状图

Fig. 6　Histogram of relative abundance of intestinal microflora in mice at the phylum levels

2.5　FOs 对小鼠肠道微生物多样性的影响

α 多样性可以表征肠道微生物的丰富度、多样性和均匀度。Chao1 指数和 Observed species 指数与微生物的物种丰富度呈正相关。由图7(a)的 Chao1 指数和 Observed species 指数可知，与 NC 组相比，DSS 组小鼠结肠微生物的物种丰富度明显下降，饲喂 FOs 后微生物的物种丰富度显著提高，其中 FOs-200 组有显著抑制物种丰富度下降的作用($P<0.05$)。Goods coverage 反映了测序的深度，结果显示本次测序的数据有统计学意义。由 α 多样性得出，适当剂量的 FOs 具有恢复肠道微生物丰富度并增加物种多样性的能力。

β 多样性用来评估不同组间微生物组成的差异，采用主坐标分析(principal co-ordinates analysis，PCoA)来评价 β 多样性。由图 7(b)可知，PCoA1 和 PCoA2 的贡献率分别为 62.9%和 22.9%，NC 组和 DSS 组间出现明显的分界线，表示 DSS 组小鼠肠道微生物的组成与 NC 组相比发生了显著变化。FOs 处理组沿第一主坐标向 NC 组偏移，FOs 处理组中心与 NC 组中心连接点的距离明显小于 DSS 组与 NC 组的距离，且均偏离 DSS 组向 NC 组靠近，以 FOs-200 组最为明显。说明 FOs 可以提高小鼠肠道微生物的物种多样性及相对丰度，适当剂量的 FOs 能有效调节肠道菌群失衡，使之恢复到正常的组成和结构。

2.6　FOs 对小鼠肠道微生物组成和组间差异的影响

韦恩图直观反映了样本中物种组成的相似性及重叠情况。由图 8(a)可知，4 组样品共有的OTU

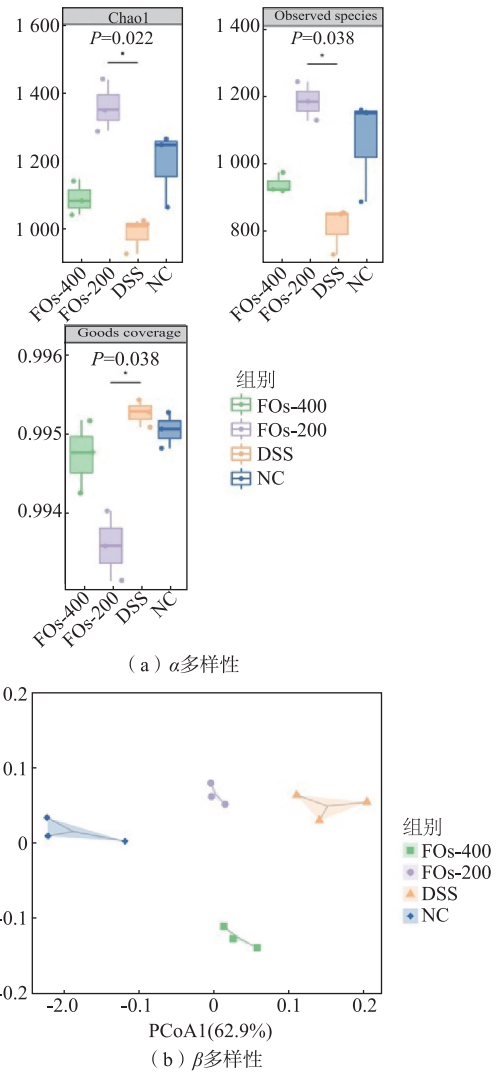
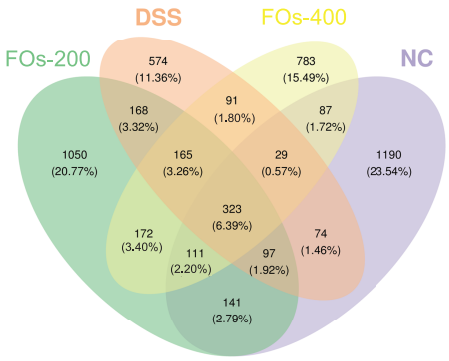


图 7　FOs 对小鼠结肠微生物多样性的影响

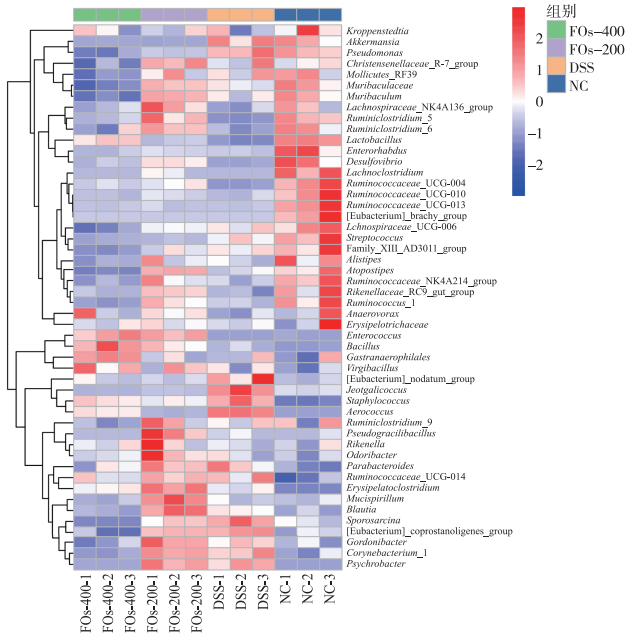
Fig. 7　Effects of FOs on intestinal microbiota diversity of colon in mice

个数为 323 个，占总 OTU 数目的 6.39%。DSS 组与 NC 组共有 523 个 OTU，FOs-200 组和 NC 组共有 672 个 OTU。相比于 DSS 组，FOs-200 组小鼠的肠道微生物组成与 NC 组更为相似，说明 FOs 可以改变肠道微生物的物种组成，从而调节 DSS 诱导的肠道微生物紊乱。图 8(b)反映了各组微生物相对丰度的差异，其结果与相对丰度柱状图类似。NC 组和 DSS 组小鼠肠道微生物相对丰度差异显著，FOs-400 组与 NC 组较为相似，再次验证了 FOs 能够改善小鼠肠道微生物的物种组成和结构。另外，筛选出组间相对丰度显著差异物，FOs-200 组的显著差异物种为 *Ruminococcaceae*（瘤胃球菌属），*Ruminococcaceae* 属于厚壁菌门，在肠道中发酵复杂

多糖产生丁酸盐及其他短链脂肪酸。丁酸盐既能为肠黏膜上皮细胞的修复提供能量来源,保护肠黏膜屏障,又能恢复肠道菌群平衡,改善肠道的微生态环境,对免疫调节和肠道稳态具有重要作用[27]。



(a) 韦恩图



(b) 属水平相对丰度聚类热图

图 8　小鼠肠道菌群组间差异性分析

Fig. 8　Analysis of differences in intestinal microbiota among groups in mice

2.7　FOs 对小鼠结肠短链脂肪酸的影响

短链脂肪酸是肠道微生物合成的主要代谢物,也是肠道微生物进行代谢调节的关键介质。短链脂肪酸不仅可以作为细胞代谢和微生物的能量来源,还参与多种信号的传导机制,有助于维持肠道稳态和塑造健康的肠道环境[28]。短链脂肪酸对肠道屏障功能、肠道稳态和免疫应答等具有重要的调节作用。短链脂肪酸可以通过调节葡萄糖稳态、胰岛素敏感性和炎性内环境来调节葡萄糖代谢。脂质代谢中短链脂肪酸不仅作为底物参与反应,并且可作为脂质代谢的调节因子,具有增加脂肪酸氧化、抑制脂肪酸合成和减少脂肪储存的功能[29]。此外,短链脂肪酸对于肠道屏障的保护也有着重要作用,这或许归功于胰高血糖素样肽 2(GLP-2) 内源性产生后所介导的益生元效应[30]。

由图 9 可知,FOs 使结肠中短链脂肪酸质量分数显著增加,这与 FOs 对肠道微生物的调节作用及其分解释放的低聚糖有关。和 NC 组相比,FOs 处理组的乙酸、丙酸、丁酸质量分数显著增多。相比于 NC 组,FOs-200 组乙酸质量分数增加了 29.5%,FOs-400 组乙酸质量分数增加了 37.2%;相比于 NC 组,FOs-200 组丙酸质量分数增加了 130.3%,FOs-400 组丙酸质量分数增加了 165.5%。由图 10 可知,DSS 处理降低了小鼠结肠中短链脂肪酸质量分数,与 NC 组相比,结肠中乙酸、丙酸和丁酸质量分数均显著降低,而 FOs 处理组的小鼠结肠中短链脂肪酸质量分数比 DSS 组明显增多,具有极显著差异($P<0.001$)。

短链脂肪酸通过调节炎性细胞因子的分泌、紧密连接蛋白的表达和免疫细胞的活化,在改善肠道屏障和肠道通透性方面发挥重要作用。拟杆菌属主要负责产生乙酸和丙酸,图 10 中 FOs 处理组的乙酸和丙酸质量分数增加可能与拟杆菌属的相对丰度增加有关。乙酸被吸收后可作为肌肉组织的能量来源;丙酸被吸收到血液中,之后转运到肝脏中转化为葡萄糖乙酸盐,参与糖脂代谢。乙酸能够恢复肠道通透性、增强肠道屏障功能、对肠上皮细胞和免疫细胞都会产生有益的影响[31]。乙酸的产生与乳酸杆菌属正相关,这与图 5 中 FOs 处理组乳酸杆菌属相对丰度升高的结果一致。丙酸不仅可以调节肠道激素水平,充当外周组织的能量来源,还会参与葡萄糖和脂肪的生成循环等。此外,研究发现丙酸能够减轻 DSS 诱导的结肠炎和组织损伤,同时可诱导上皮细胞中 Reg3b 的表达,而 Reg3b 在组织损伤时会刺激肠道干细胞分化[32]。产生丁酸的菌属主要是厚壁菌属,丁酸通过线粒体中的 β 氧化代谢,可以提供肠上皮细胞总能量需求的 60%~70%。诸多研究表明,丁酸对宿主的肠道健康大有裨益,它可以促进肠黏膜的增殖、肠上皮细胞的分化,从而改善肠道屏障功能[33]。

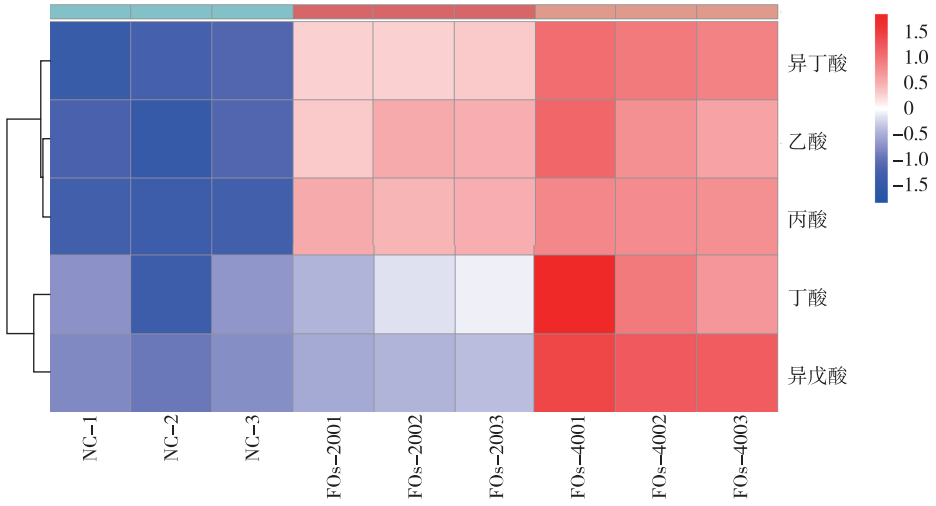
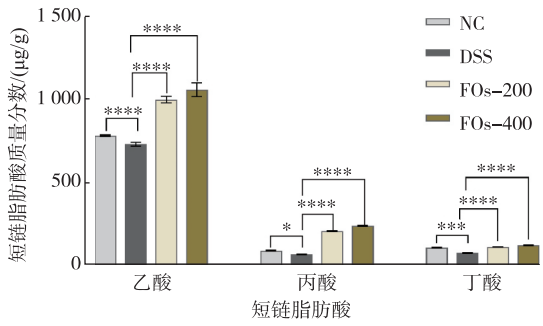


图 9　小鼠结肠短链脂肪酸差异代谢物热图

Fig. 9　Heat map of short-chain fatty acids differential metabolites in colon of mice

以上结果表明,FOs 使结肠中短链脂肪酸质量分数显著增多,对肠道健康具有积极影响,进一步维持了肠道稳态,有效改善了 DSS 诱导的结肠炎症。



* 表示有差异,*** 表示差异显著,**** 表示差异极显著。

图 10　小鼠结肠短链脂肪酸组间差异柱状图

Fig. 10　Histogram of differences between groups of short-chain fatty acids in colon of mice

3　结　语

FOs 在治疗结肠组织损伤方面有着显著功效,且对肠道屏障完整性具有保护作用,通过预防结肠炎引起的腺体萎缩、肌层增厚、黏膜损伤和炎性细胞浸润来发挥抗炎功效。其作用机制为 FOs 通过下调多种免疫系统相关的促炎因子的分泌,包括 NF-κB、TNF-α、IL-1β 等,阻止其驱动炎症反应和组织损伤,从而保护肠道屏障。另外 FOs 可通过提高紧密连接蛋白 Occludin、Claudins、ZO-1 等的表达水平来维持肠道屏障的完整,从而改善炎症引起的肠黏膜损伤和肠道屏障受损。同时,FOs 可以有效调节肠道微生物的组成和结构,逆转肠道菌群失衡的趋势,从而改善 DSS 诱导的结肠炎症。具体表现为提高 *Lactobacillus* 和 *Muribaculaceae* 等益生菌的相对丰度,降低 *Staphylococcus* 等致病菌的相对丰度,FOs-200 组小鼠肠道的 F/B 也有所下降,而该比值升高是肠道菌群失衡的典型特征之一。此外,适当剂量的 FOs 具有恢复肠道微生物丰度和提高物种多样性的能力。α 多样性的结果表明,FOs-200 组的 Chao1 指数和 Observed species 指数显著高于DSS 组,PCoA 图反映出 FOs 处理组明显偏离 DSS 组向 NC 组靠近的现象,以 FOs-200 组最为明显。通过对小鼠肠道菌群进行组间差异性分析得出,相比于 DSS 组,FOs 处理组的肠道微生物组成与 NC 组更为相似。说明 FOs 可以通过改变肠道微生物的物种组成来调节 DSS 诱导的肠道微生物紊乱,从而改善肠道的微生态环境。短链脂肪酸对于维持肠道稳态、保护肠道屏障和塑造健康的肠道环境有着重要作用。FOs 使小鼠结肠中短链脂肪酸质量分数显著增加,其中乙酸、丙酸和丁酸质量分数的增加尤为显著,它们可以从不同方面对肠道健康产生积极影响,进一步维持健康的肠道稳态,对结肠炎的缓解和改善具有积极意义。综上所述,一定剂量的 FOs 对 DSS 诱导的小鼠溃疡性结肠炎具有预防和缓解作用,该研究结果为 FOs 用于制备功能性食品和结肠炎的膳食辅助治疗提供了重要参考。

参考文献:

[1] UNGARO R,MEHANDRU S,ALLEN P B,et al. Ulcerative colitis[J]. **Lancet**,2017,389:1756-1770.

[2] OHKUSA T,KOIDO S. Intestinal microbiota and ulcerative colitis[J]. **Journal of Infection and Chemotherapy**,2015,21(11):761-768.

[3] EISENSTEIN M. Ulcerative colitis:towards remission[J]. **Nature**,2018,563(7730):33.

[4] HUANG J Q,WANG Y,YANG L,et al. Effect of maize bran feruloylated oligosaccharides on the formation of endogenous contaminants and the appearance and textural properties of biscuits[J]. **Food Chemistry**,2018,245:974-980.

[5] YASMIN A,BUTT M S,AFZAAL M,et al. Prebiotics,gut microbiota and metabolic risks:unveiling the relationship[J]. **Journal of Functional Foods**,2015,17:189-201.

[6] MALUNGA L N,ECK P,BETA T. Inhibition of intestinal α-glucosidase and glucose absorption by feruloylated arabinoxylan mono- and oligosaccharides from corn bran and wheat aleurone[J]. **Journal of Nutrition and Metabolism**,2016,2016:1932532.

[7] HUANG J Q,WANG X Q,TAO G Y,et al. Feruloylated oligosaccharides from maize bran alleviate the symptoms of diabetes in streptozotocin-induced type 2 diabetic rats[J]. **Food & Function**,2018,9(3):1779-1789.

[8] SONG Y,WU M S,TAO G,et al. Feruloylated oligosaccharides and ferulic acid alter gut microbiome to alleviate diabetic syndrome[J]. **Food Research International**,2020,137:109410.

[9] OU J Y,HUANG J Q,SONG Y,et al. Feruloylated oligosaccharides from maize bran modulated the gut microbiota in rats[J]. **Plant Foods for Human Nutrition**,2016,71(2):123-128.

[10] 马丽媛,黄雪莹,尚尔坤,等. 超声辅助酶法提取玉米皮中多糖及其抗氧化性测定[J]. 食品与机械,2023,39(5):186-192.
MA L Y,HUANG X Y,SHANG E K,et al. Ultrasound-assisted enzymatic extraction of polysaccharides from corn bran and determination of their antioxidant activity[J]. **Food & Machinery**,2023,39(5):186-192. (in Chinese)

[11] XIA X C,ZHU L Q,LEI Z W,et al. Feruloylated oligosaccharides alleviate dextran sulfate sodium-induced colitis *in vivo*[J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**,2019,67(34):9522-9531.

[12] OU J Y,SUN Z. Feruloylated oligosaccharides:structure,metabolism and function[J]. **Journal of Functional Foods**,2014,7:90-100.

[13] YAO S W,WEN X X,HUANG R Q,et al. Protection of feruloylated oligosaccharides from corn bran against oxidative stress in PC 12 cells[J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**,2014,62(3):668-674.

[14] FANG H Y,CHEN Y K,CHEN H H,et al. Immunomodulatory effects of feruloylated oligosaccharides from rice bran[J]. **Food Chemistry**,2012,134(2):836-840.

[15] MUNYAKA P M,RABBI M F,KHAFIPOUR E,et al. Acute dextran sulfate sodium (DSS)-induced colitis promotes gut microbial dysbiosis in mice[J]. **Journal of Basic Microbiology**,2016,56(9):986-998.

[16] ZHOU X T,QI W C,HONG T,et al. Exopolysaccharides from *Lactobacillus plantarum* NCU116 regulate intestinal barrier function via STAT3 signaling pathway[J]. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**,2018,66(37):9719-9727.

[17] HAN X,GUO J L,YOU Y L,et al. A fast and accurate way to determine short chain fatty acids in mouse feces based on GC-MS [J]. **Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**,2018,1099:73-82.

[18] CATRYSSE L,VAN LOO G. Inflammation and the metabolic syndrome:the tissue-specific functions of NF-κB[J]. **Trends in Cell Biology**,2017,27(6):417-429.

[19] DELGADO M E,BRUNNER T. The many faces of tumor necrosis factor signaling in the intestinal epithelium[J]. **Genes and Immunity**,2019,20(8):609-626.

[20] ASCHENBRENNER D,QUARANTA M,BANERJEE S,et al. Deconvolution of monocyte responses in inflammatory bowel disease reveals an IL-1 cytokine network that regulates IL-23 in genetic and acquired IL-10 resistance[J]. **Gut**,2021,70(6):1023-1036.

[21] 张芷萌,倪策,欧晓晖,等. 食源性生物活性肽的免疫功能研究进展[J]. 食品与机械,2023,39(5):193-202.
ZHANG Z M,NI C,OU X H,et al. Research progress on immune function of food-derived bioactive peptides[J]. **Food &**

Machinery,2023,39(5):193-202. (in Chinese)

[22] WANG M X,LIN L,CHEN Y D,et al. Evodiamine has therapeutic efficacy in ulcerative colitis by increasing *Lactobacillus acidophilus* levels and acetate production[J]. **Pharmacological Research**,2020,159:104978.

[23] ORMEROD K L,WOOD D L,LACHNER N,et al. Genomic characterization of the uncultured *Bacteroidales* family S24-7 inhabiting the guts of homeothermic animals[J]. **Microbiome**,2016,4(1):36.

[24] HU X Y,GUO J,ZHAO C J,et al. The gut microbiota contributes to the development of *Staphylococcus aureus*-induced mastitis in mice[J]. **The ISME Journal**,2020,14:1897-1910.

[25] MAGNE F,GOTTELAND M,GAUTHIER L,et al. The Firmicutes/Bacteroidetes ratio:a relevant marker of gut dysbiosis in obese patients?[J]. **Nutrients**,2020,12(5):1474.

[26] 张竞男,苑红,马春丽,等. 黄芪多糖通过调节肠道菌群抑制高脂饮食小鼠肠道炎症反应[J]. 食品与生物技术学报,2022,41(4):19-24.
ZHANG J N,YUAN H,MA C L,et al. Experimental investigation on inhibitory effect of *Astragalus* polysaccharides on intestinal inflammation in high-fat diet mice by intestinal flora regulation[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**,2022,41(4):19-24. (in Chinese)

[27] LOUIS P,FLINT H J. Diversity,metabolism and microbial ecology of butyrate-producing bacteria from the human large intestine [J]. **FEMS Microbiology Letters**,2009,294(1):1-8.

[28] 汪家琦,康文丽,吴忠坤,等. 益生菌复合配方对小鼠肠道功能的影响[J]. 食品与机械,2022,38(8):7-13.
WANG J Q,KANG W L,WU Z K,et al. Effects of composite probiotics on the intestinal function in mice [J]. **Food & Machinery**,2022,38(8):7-13. (in Chinese)

[29] HE J,ZHANG P W,SHEN L Y,et al. Short-chain fatty acids and their association with signalling pathways in inflammation, glucose and lipid metabolism[J]. **International Journal of Molecular Sciences**,2020,21(17):6356.

[30] CANI P D,POSSEMIERS S,VAN DE WIELE T,et al. Changes in gut microbiota control inflammation in obese mice through a mechanism involving GLP-2-driven improvement of gut permeability[J]. **Gut**,2009,58(8):1091-1103.

[31] FUKUDA S,TOH H,HASE K,et al. Bifidobacteria can protect from enteropathogenic infection through production of acetate[J]. **Nature**,2011,469(7331):543-547.

[32] BAJIC D,NIEMANN A,HILLMER A K,et al. Gut microbiota-derived propionate regulates the expression of Reg3 mucosal lectins and ameliorates experimental colitis in mice[J]. **Journal of Crohn's & Colitis**,2020,14(10):1462-1472.

[33] 姜金池,顾敏雯,苏印,等. 益生菌对糖脂代谢紊乱相关疾病的缓解作用及机制[J]. 食品与生物技术学报,2024,43(4):17-24.
JIANG J C,GU M W,SU Y,et al. Alleviating effect and mechanism of probiotics on glycolipid metabolism disorder[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**,2024,43(4):17-24. (in Chinese)

(责任编辑:史润东东)