论 著

过量摄入游离糖对结肠炎小鼠及肠道菌群的影响

黄慧敏，吴肖肖，王　易，吴　旭
1.西南医科大学药学院 药理系分子药理（泸州 646000）；2.西南医科大学 川南医学转化研究院（泸州 646000）

【摘　要】目的 探究过量摄入游离糖（free sugar, FS）是否会加重小鼠结肠炎及对肠道菌群的影响。**方法** 自由饮用3.5%葡聚糖硫酸钠（dextran sulfate sodium, DSS）连续诱导小鼠5 d，建立肠炎模型。将30只无特定病原体（specific pathogen free, SPF）级雄性C57BL/6J小鼠随机分为对照组，DSS组和DSS + FS（11 g/kg）组，每组10只。从实验第1 d开始，每隔1 d灌胃1次FS，其余组灌胃相同体积的蒸馏水。每2 d对各组小鼠称重并观察其便血、腹泻等症状，第12 d收集各组小鼠粪便后处死小鼠。ELISA法检测小鼠血清中脂多糖（lipopolysaccharide，LPS）含量；测量小鼠结肠长度；TUNEL法检测肠上皮细胞凋亡；苏木精-伊红染色观察结肠病理学变化；使用338F（5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3'）和806R（5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3'）对16S rRNA基因V3-V4区进行测序分析肠道菌群变化。**结果** 成功建立急性结肠炎模型。与对照组相比，DSS处理后小鼠出现便血、体重下降、结肠长度缩短、粘膜脱落、炎性细胞浸润、隐窝变形等病理改变；细胞凋亡增加；血清中LPS水平升高；肠炎小鼠肠道菌群结构发生显著改变，在门水平上，DSS处理后的两组拟杆菌门（*Bacteroidetes*）丰度明显减少而厚壁菌门（*Firmicutes*）、疣微菌门（*Verrucomicrobia*）以及变形菌门（*Proteobacteria*）丰度增多，在属水平上，DSS处理后的两组*norank_f_Muribaculaceae*、*Faecalibaculum*、分节丝状菌属（*Gandidatatus_Arthromitus*）、戈登氏杆菌属（*Gordonibacter*）丰度减少，拟杆菌属（*Bacteroides*）、阿克曼氏菌属（*Akkermansia*）、毛螺旋菌属（*Lachnospiraceae_UCG_006*）、埃希氏菌-志贺氏菌属（*Escherichia_Shigella*）丰度增多，以上结果提示菌群失调。与DSS组相比，DSS + FS组以上指标显著加重（$P < 0.05$），结肠炎状态加重，菌群结构发生进一步改变。**结论** 过量摄入的游离糖可促进小鼠结肠炎的发展，伴随肠道菌群显著失调。

【关键词】 炎性肠病　游离糖　肠道菌群　急性结肠炎模型
【中图分类号】 R285.5　**文献标志码** A　DOI：10.3969/j.issn.2096-3351.2021.06.006

Effects of excessive intake of free sugar on colitis and gut microbiota in a mouse model

HUANG Hui-min, WU Xiao-xiao, WANG Yi, WU Xu
1.*Laboratory of Molecular Pharmacology, Department of Pharmacology, School of Pharmacy, Southwest Medical University, Luzhou 646000, China*; 2.*South Sichuan Institute of Translation Medicine, Luzhou 646000, China*

【Abstract】Objective To explore whether excessive intake of free sugar (FS) aggravates colitis in mice and its effects on gut microbiota. **Methods** A colitis model was established by providing mice with free access to 3.5% dextran sulfate sodium (DSS) for 5 consecutive days. A total of 30 specific pathogen-free male C57BL/6J mice were randomly divided into control group, DSS group, and DSS + FS group (FS, 11 g/kg), with 10 mice per group. From the first day of the experiment, FS was given by gavage every other day, with an equal volume of distilled water given by gavage in the control groups. All the mice were weighed and observed for hematochezia and diarrhea every 2 days. At the 12th day, the feces was collected and then the mice were sacrificed in each group. Enzyme-linked immunosor-

基金项目：国家自然科学基金（81703807）；四川省科技计划项目（2019YJ0486）
第一作者简介：黄慧敏，硕士。
通信作者：吴　旭，副教授。E-mail: wuxulz@126.com

bent assay was used to measure the content of lipopolysaccharide (LPS) in serum. The length of the colon was measured. Intestinal epithelial cell apoptosis was determined by terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick end labeling. The pathological changes of the colon were observed with hematoxylin and eosin staining. the changes of intestinal flora were determined by 16S rRNA V3/V4 region sequencing with the primers 338F (5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3') and 806R (5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3'). **Results** An acute colitis model was successfully established. Compared with those in the control group, the mice after DSS treatment developed hematochezia, a reduction in body weight, an increase in serum LPS level, a decrease in colon length, mucosal shedding, inflammatory cell infiltration, crypt distortion, and increased cell apoptosis. The mice with colitis had significant changes in the composition of gut microbiota. At the phylum level, the two groups with DSS treatment showed significantly decreased abundance of *Bacteroidetes* and significantly increased abundance of *Firmicutes*, *Verrucomicrobia*, and *Proteobacteria*. At the genus level, the two groups with DSS treatment showed decreased abundance of *norank_f_Muribaculaceae*, *Faecalibaculum*, *Candidatus Arthromitus*, and *Gordonibacter* and increased abundance of *Bacteroides, Akkermansia, Lachnospiraceae_UCG_006*, and *Escherichia-Shigella*. The results indicated the presence of dysbacteriosis. Compared with the DSS group, the DSS+FS group had significantly aggravated changes in the above indicators ($P < 0.05$), suggesting severer colitis and further imbalanced gut microbiota. **Conclusion** Excessive FS intake can promote the development of colitis in mice and cause significant imbalance of gut microbiota.

【Key words】 Inflammatory bowel disease Free sugar Gut microbiota Acute colitis model

炎性肠病(inflammatory bowel disease,IBD)在我国发病率呈逐年增长趋势,是一种慢性、易复发性、炎症性疾病。有研究发现,IBD的发生与饮食因素(特别是高蛋白、高脂饮食)有极大关联[1-2]。探讨饮食因素对IBD的影响一直是研究的热点。虽然现有的流行病学研究没有证据表明高游离糖(free sugar,FS)饮食与IBD的关联,但是高游离糖一直是IBD病人不被推荐的饮食[3]。游离糖(蔗糖、葡糖糖、果糖)更是被世界卫生组织(WHO)强烈推荐限制摄入[4]。然而在日常生活中,我们很容易就会摄入过量的游离糖;游离糖的摄入主要是经过食品或饮料中添加的糖以及天然存在于蜂蜜、糖浆、果汁和浓缩果汁中的糖。有研究表明,高糖饮食与炎症诱导、菌群失调等密切相关[5-7];它还是肥胖、非酒精性脂肪肝、糖尿病等慢性非传染性疾病的危险因子[8-11]。

有研究表明,龙眼鲜果及干品龙眼肉均含有大量游离糖,主要类型为单糖(葡萄糖和果糖)及双糖(蔗糖);在干品中,这三种糖总含量高达68.8±5.4%,其中蔗糖含量最高(39.1±7.3%),果糖次之(17.7±2.7%),葡萄糖最少(12±4.1%)[12]。因此,我们推断大量食用龙眼肉将导致过量的游离糖摄入。这可能是过食龙眼肉引发"上火"(一种与全身炎症有关的中医症状)的原因之一[13]。本研究中,我们提出大量食用龙眼肉伴随的过量游离糖摄入可能会促进小鼠结肠炎的发展,并使其肠道菌群发生失调。

1 材料与方法

1.1 动物

SPF级雄性C57BL/6J小鼠,5 w龄,体重(20±2)g,购自北京华阜康生物科技股份有限公司,饲养于西南医科大学SPF级动物房。动物的护理和所有实验程序均已获得西南医科大学动物的使用和伦理委员会批准(批准号:NO.20202-26)。

1.2 实验器材

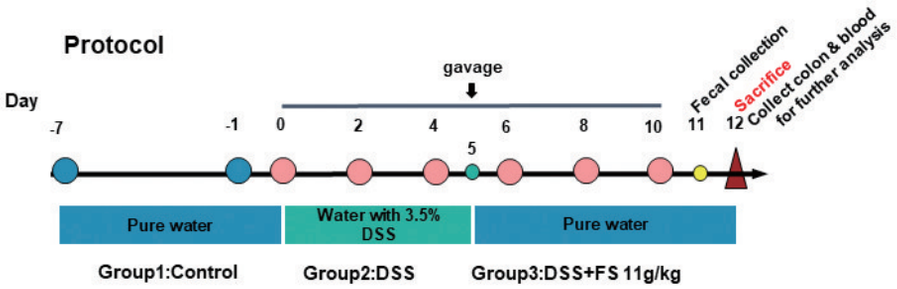
1.2.1 材料与试剂 饲料(南通特洛菲饲料科技有限公司,批号:LAD0011);葡萄糖,果糖,蔗糖(USA,Sigma-Aldrich);葡聚糖硫酸钠,分子量为36 000-50 000(美国国际实验室,批号:612470);LPS ELISA Kit(CUSABIO,批号:CSB-E13066 m);TUNEL细胞凋亡检测试剂盒(碧玉天,批号:C1088);蛋白酶K(碧云天,批号:ST533);4%多聚甲醛(Biosharp,批号:BL539A);乙醚(成都市科隆化学品有限公司,批号:60-29-7);磷酸盐缓冲液(北京索莱宝科技有限公司,型号:P1010)。

1.2.2 主要仪器 多功能酶标仪(Molecular Devices Corporation,型号:Spectran Max 190);倒置荧光显微镜((NIKON,型号:Ts2R+FL);低温高速离心机(Eppendorf,型号:5427R);超微量分析天枰(美国康州HZ电子有限公司,型号:HZK-FA210S);电热恒

温培养箱(上海齐欣科学仪器有限公司,型号:DHP-9082);涡旋混匀器(IKA公司,型号:C-MAG-HS7)等。

1.3 实验方法

1.3.1 动物造模及给药方法 将30只C57BL/6J小鼠随机分为对照组,DSS组和DSS+FS组,每组10只,在SPF级动物房饲养1周适应环境后造模。参照文献采用自由饮用3.5%葡聚糖硫酸钠(DSS)连续诱导小鼠5 d建立结肠炎模型,建模成功后恢复小鼠自由饮水。如前文所述按照龙眼肉中游离糖的含量设计一个高剂量游离糖组,剂量为11 g/kg(相当于成人日服用龙眼肉80~112 g)。从实验第1 d开始,每隔1 d灌胃1次FS,其余组灌相同体积的蒸馏水。实验具体分组给药方案如图1所示。



注:将小鼠随机分为Group1(对照组),Group2(DSS组)和Group3(DSS+FS组),从第−7 d开始适应环境自由饮用无菌水。第0天开始Group2和Group3将饮用水更换为3.5%葡聚糖硫酸钠(DSS)。第5 d后所有组别小鼠恢复饮用无菌水。从实验开始,Group3每隔1 d灌胃1次FS,其余组灌相同体积的蒸馏水。

图1 DSS诱导小鼠结肠炎模型构建与游离糖的治疗方案

1.3.2 小鼠体重与结肠长度 每2 d对各组小鼠称重并观察其便血、腹泻等症状,第12 d收集小鼠粪便后处死小鼠取出小鼠全结肠并记录结肠长度。

1.3.3 ELISA测定小鼠血清中LPS水平 小鼠用乙醚麻醉后摘眼球取血,血液于4 ℃过夜后4 ℃ 3 500 rpm/min离心10 min,取100 μL上清进行LPS检测,实验步骤严格按照制造商方案进行操作,最后用酶标仪在450 nm波长下测量样本光密度。

1.3.4 H&E染色 小鼠结肠去除肠内容物用磷酸缓冲液(PBS)清洗后同一部位取1 cm放置于4%多聚甲醛中固定,经脱水、包埋后切片,采用苏木精-伊红染色法制片,在显微镜下观察具体病变。从炎性细胞浸润(0~3分)、隐窝变形(0~3分)、黏膜脱落(0~3分)三方面对小鼠结肠病变情况进行病理评分。

1.3.5 TUNEL法检测细胞凋亡 取石蜡切片,二甲苯中脱蜡5 min。换用新鲜的二甲苯,再脱蜡5 min。无水乙醇5 min。90%乙醇2 min。70%乙醇2 min,蒸馏水2 min;滴加20 μg/mL蛋白酶K,25 ℃作用20 min,PBS洗3次;每个样本滴加30 μL TUNEL检测液,37 ℃避光孵育1 h,PBS洗3次;抗荧光淬灭封片液封片后荧光显微镜下观察。

1.3.6 16 S肠道菌群测序 收集小鼠粪便,提取样品总DNA后,根据保守区设计得到引物,在引物末端加上测序接头,进行PCR扩增并对其产物进行纯化、定量和均化后使用NEXTFLEX Rapid DNA-Seq Kit进行建库。利用Illumina公司的Miseq PE 300平台进行测序;对序列进行拼接及注释;然后对样本数据进行多方面分析。

1.4 统计分析方法

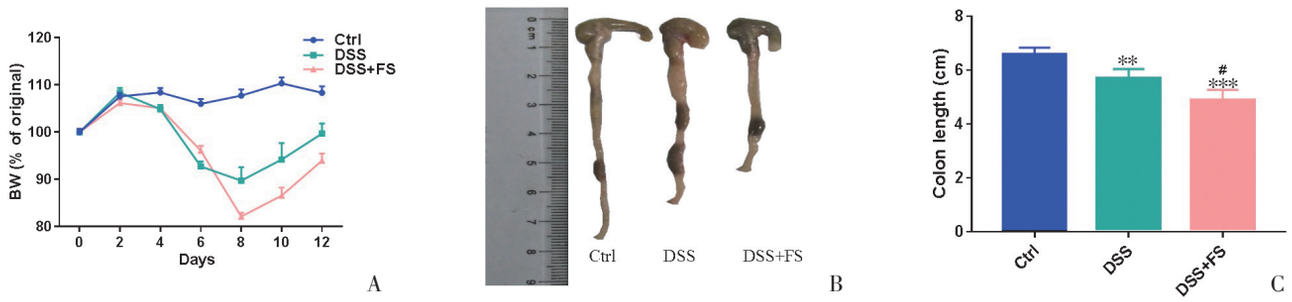
使用GraphPad Prism 7对实验数据进行统计学分析,计量资料采用均数± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,各组之间的统计学差异采用One-way ANOVA方差分析。$P < 0.05$为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 过量摄入游离糖对急性肠炎小鼠的作用

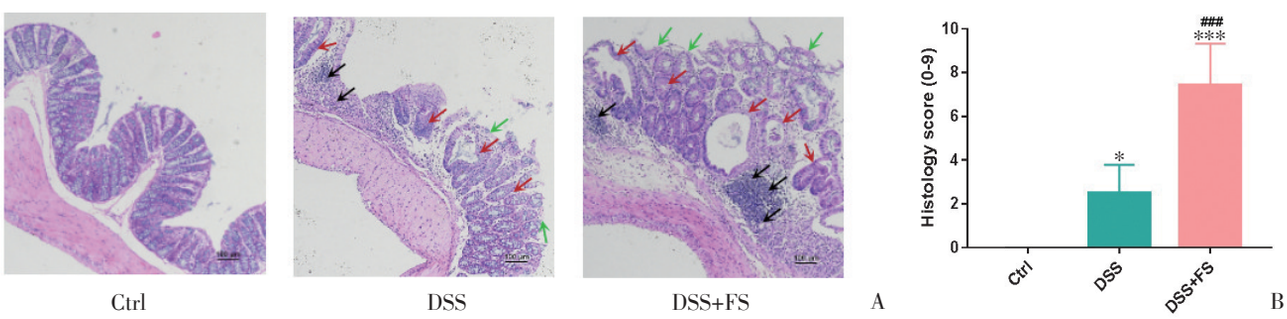
2.1.1 对小鼠体重及结肠长度的影响 如图2A所示,实验第4 d,DSS组和DSS+FS组小鼠体重开始下降,无便血现象,粪便颜色正常;第6 d,DSS组和DSS+FS组小鼠体重开始骤降,几乎每只小鼠都出现便血现象,腹泻严重;第8 d,DSS组小鼠体重下降了19%,DSS+FS组小鼠体重下降了24%,便血情况加重。与对照组相比,DSS组小鼠在第6 d体重明显下降($P < 0.01$)。与DSS组相比,DSS+FS组小鼠在第8 d出现了更明显的体重损失($P < 0.01$)。如图2B,2C所示,与对照组小鼠相比,DSS处理后显著缩短结肠长度($P < 0.01$);与DSS组相比,给予过量游离糖后进一步使小鼠结肠长度缩短($P < 0.05$),使炎症加重。

2.1.2 对小鼠结肠病理组织学的影响 小鼠病理切片及评分如图3A,3B所示,对照组小鼠黏膜结构完



注：A：小鼠体重变化；B：小鼠结肠形态；C：小鼠结肠长度（与对照组相比，$^{**}P < 0.01$，$^{***}P < 0.001$；与模型组相比，$^{\#}P < 0.05$）

图2　过量摄入游离糖使DSS诱导的结肠炎小鼠体重下降并使结肠缩短

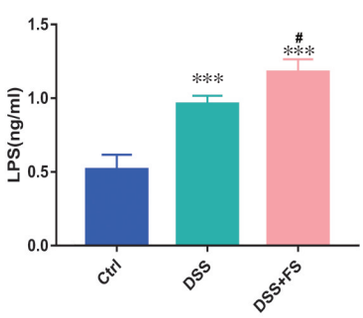


注：A：小鼠结肠病理切片（HE染色，×100）（红色箭头：隐窝变形；蓝色箭头：黏膜缺失；黑色箭头：炎性浸润）；B：HE染色结肠切片的组织学评分（与对照组相比，$^{*}P < 0.05$，$^{***}P < 0.001$；与模型组相比，$^{\#\#\#}P < 0.001$）

图3　过量摄入游离糖加重DSS诱导的结肠炎小鼠病理损伤

整，隐窝（腺体）排列规则，杯状细胞内粘液含量正常，无炎性细胞浸润；与对照组相比，DSS处理组黏膜大部分脱落，部分隐窝出现上移现象，隐窝基底部变宽，出现少量炎性浸润，杯状细胞粘液减少，病理评分明显高于对照组（$P < 0.05$），证明结肠炎模型成功；与DSS组相比，给予过量游离糖后黏膜广泛缺失，隐窝出现大量萎缩、扭曲与分支等现象，有大量的炎性细胞浸润，杯状细胞粘液几乎全部消失，病理评分明显高于DSS组（$P < 0.001$）。

2.1.3　对小鼠血清中LPS含量的影响　与对照组相比，DSS处理后小鼠血清中LPS含量显著升高（$P < 0.001$），给予过量游离糖后小鼠血清中LPS含量比DSS组进一步显著升高（$P < 0.05$）；见图4。结果提示，摄入游离糖会使小鼠肠黏膜损伤更严重，肠通透性增加。



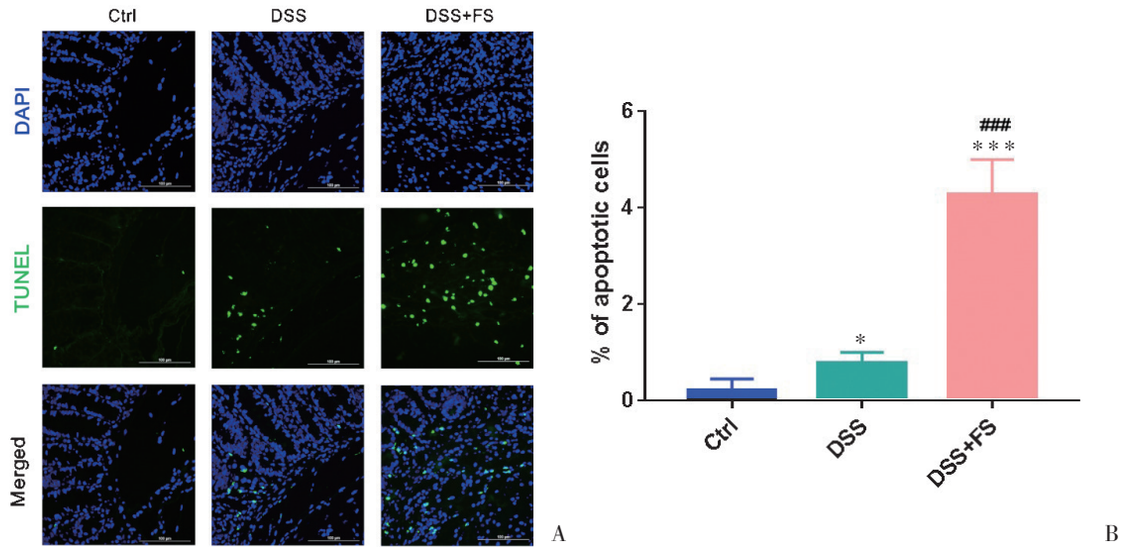
注：与对照组相比，$^{***}P < 0.001$；与模型组相比，$^{\#}P < 0.05$。

图4　过量摄入游离糖使DSS诱导的结肠炎小鼠LPS含量升高

2.1.4　对小鼠细胞凋亡的影响　细胞在发生凋亡时会使基因组DNA发生断裂，断裂时暴露的3'-OH可以在末端脱氧核苷酸转移酶（terminal deoxynucleotidyl transferase，TdT）的催化下加上绿色荧光探针荧光素（FITC）标记的dUTP（fluorescein-dUTP），从而可以通过荧光显微镜检测到呈现绿色荧光的凋亡细胞。如图5A，5B所示与对照组小鼠相比，DSS处理后细胞凋亡率显著增加（$P < 0.01$）；而与DSS组相比，给予过量游离糖后细胞凋亡率进一步升高（$P < 0.05$）。

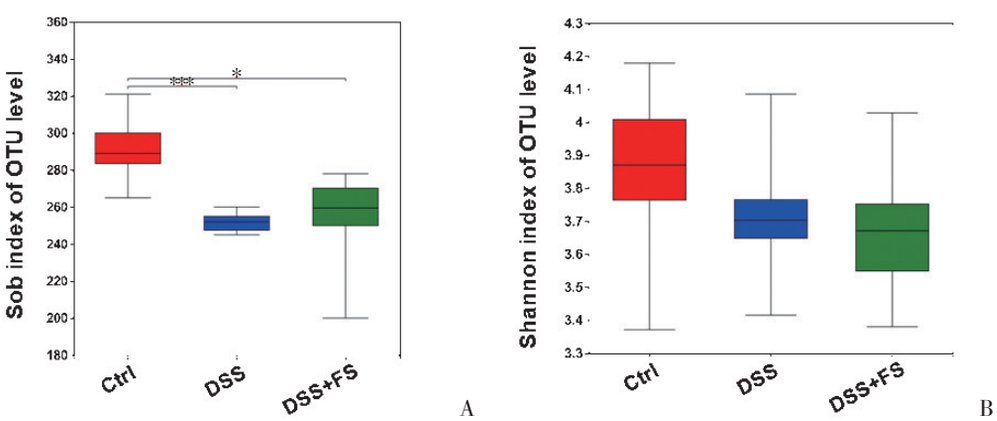
2.2　过量摄入游离糖对小鼠肠道菌群的影响

2.2.1　Alpha多样性分析　Alpha多样性反映的是单个样品物种丰富度及物种多样性，有多种衡量指标，本研究主要分析Sobs和Shannon这两个指数。Sobs指数衡量物种丰度即物种数量的多少；Shannon指数用于衡量物种多样性，Shannon值越大，菌群多样性越高。从图6A，6B中可以看出，给予3.5% DSS处理后的两组菌群丰富度显著减少（$P < 0.01$）；给予3.5% DSS处理后的两组菌群的多样性也有所下降，但无显著性差异。



注:A:结肠组织(TUNEL染色,×400);B:TUNEL法细胞凋亡率(与对照组相比,$^{*}P < 0.05$,$^{***}P < 0.001$;与模型组相比,$^{\#\#\#}P < 0.001$)

图5 过量摄入游离糖加重DSS诱导的结肠炎小鼠细胞凋亡



注:A:菌群丰富度(与对照组相比,$^{*}P < 0.05$,$^{***}P < 0.001$);B:菌群多样性指数OTU水平

图6 Alpha文中表示无显著性差异多样性分析

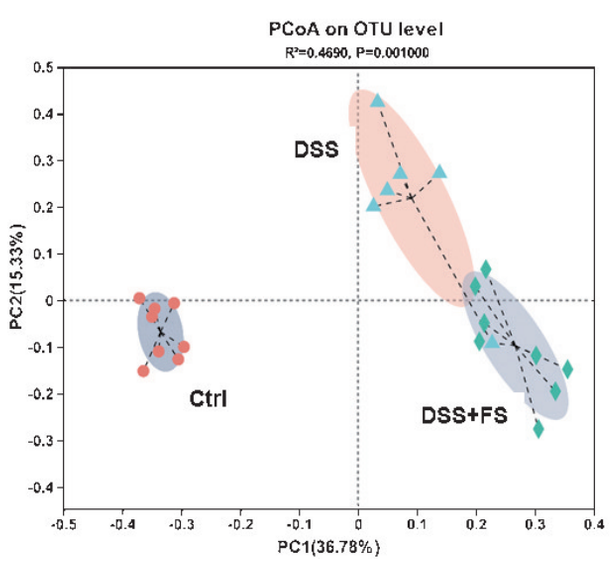
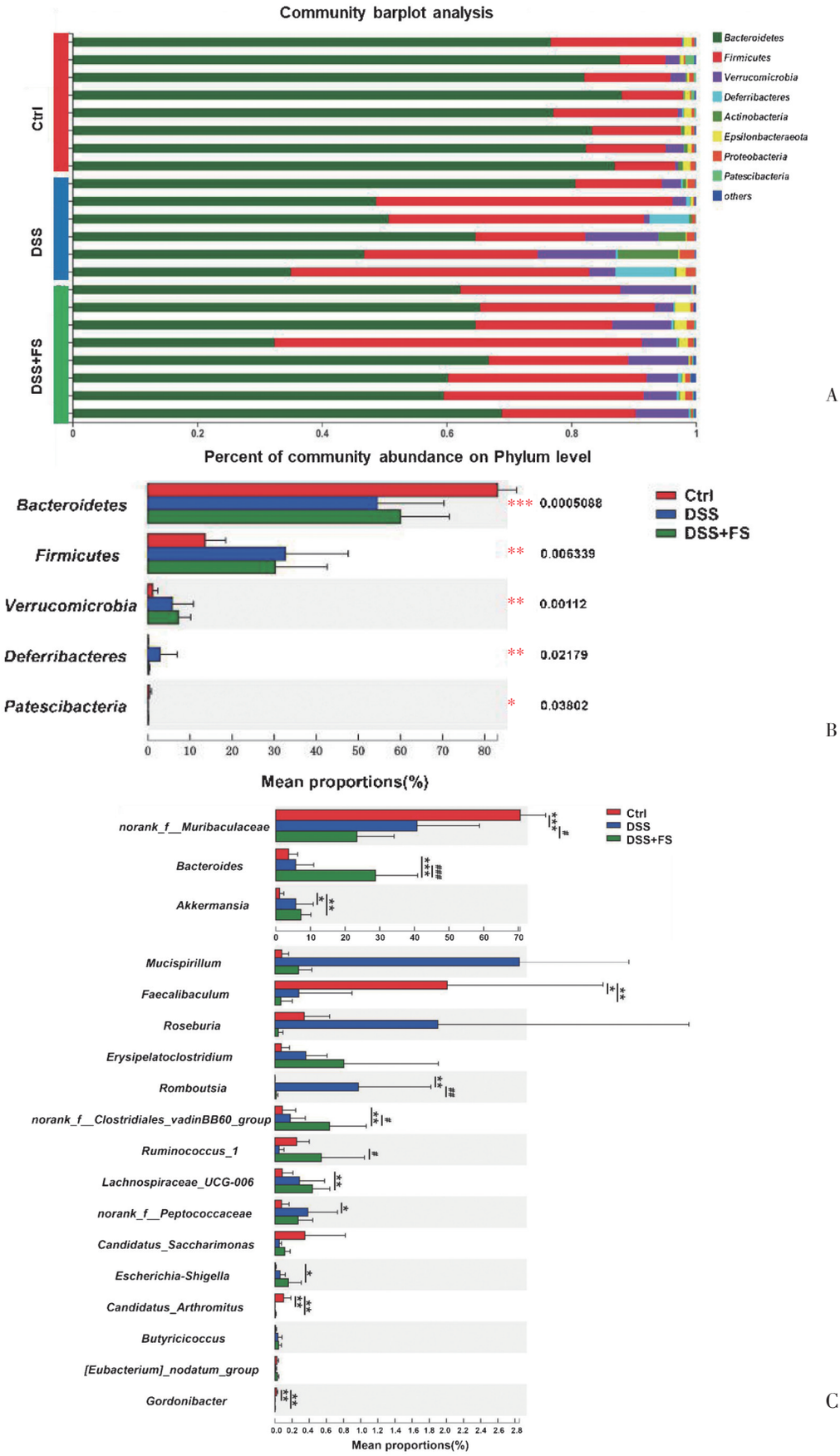


图7 基于OTU水平的PCoA分析

2.2.2 Beta多样性分析 Beta多样性(beta diversity)分析主要是比较不同样品在物种结构方面存在的相似程度。本研究主要采用主坐标分析法(principal co-ordinates analysis)进行比较,其通过一系列的特征值和特征向量进行排序,选择主要的前几位特征值,采取降维的思想,找到距离矩阵中最主要的坐标,从而观察个体或群体间的差异。通过主坐标分析可以实现多个样品的分类,进一步展示样品间物种多样性差异。通过图7可以看出,与对照组相比,DSS组和DSS + FS组两组菌群结构发生显著变化(P = 0.001),各组间区分明显;相较于DSS组,DSS + FS组对肠道菌群结构的影响差异增大。

2.2.3 物种分类学分析 基于物种注释结果,统计分析每个样本中门和属水平的菌群变化,以评估每

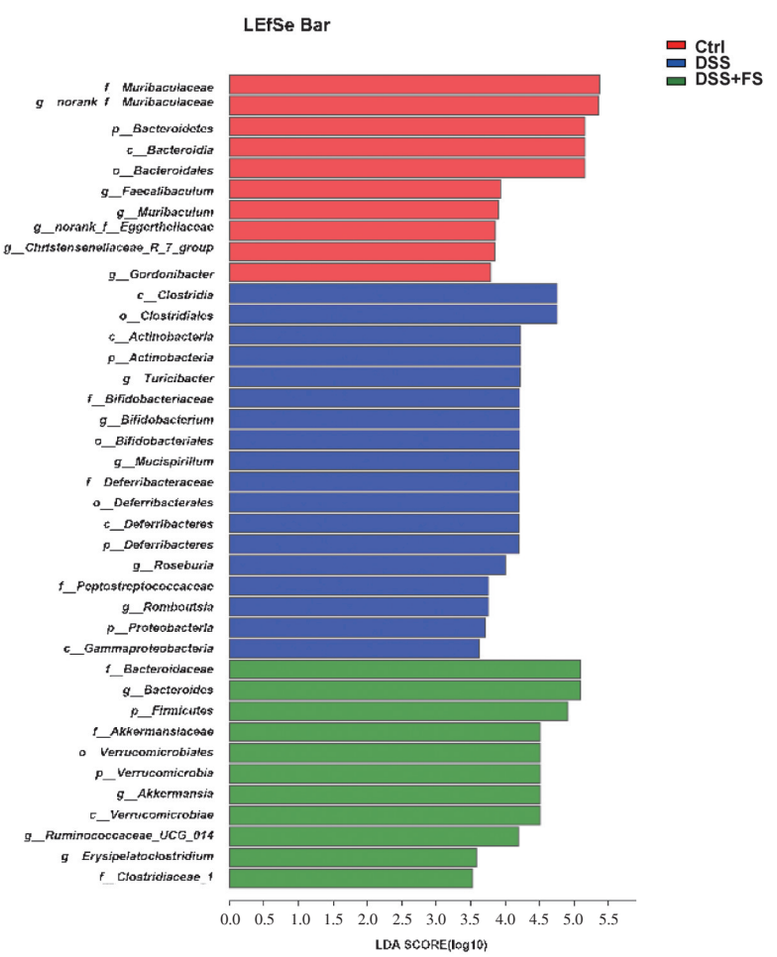


注：A：门水平上群落丰度的百分比；B：门水平菌群变化统计学分析；C：属水平菌群变化统计学分析。（与对照组相比，$^{*}P < 0.05$，$^{**}P < 0.01$，$^{***}P < 0.001$；与模型组相比，$^{\#}P < 0.05$，$^{\#\#}P < 0.01$，$^{\#\#\#}P < 0.001$）

图8 物种分类学分析结果

个组在门和属水平的物种组成差异。从图8A和8B可以看出,基于门分类水平主要检测出8种菌门,其中占比最多的主要是拟杆菌门(*Bacteroidetes*)、厚壁菌门(*Firmicutes*)和疣微菌门(*Verrucomicrobia*),其余菌群占比较少。与对照组相比,经DSS处理后的两组拟杆菌门丰度明显减少($P < 0.05$);厚壁菌门丰度显著增多($P < 0.05$);疣微菌门丰度显著增多($P < 0.05$)。从图8C可以看出,属分类水平物种分析结果表明与对照组相比,DSS组中*norank_f_Muribaculaceae*、*Faecalibaculum*、分节丝状菌(*Gandidatatus_Arthromitus*)、戈登氏杆菌属(*Gordonibacter*)丰度显著减少($P < 0.05$),阿克曼氏菌属(*Akkermansia*)、消化球菌属(*norank_f_Peptococcaceae*)、*Romboutsia*丰度显著增加($P < 0.05$);与对照组相比,高剂量游离糖组中*norank_f_Muribaculaceae*、*Faecalibaculum*、分节丝状菌属、戈登氏杆菌属丰度显著减少($P < 0.05$),拟杆菌属(*Bacteroides*)、阿克曼氏菌属、*norank_f_Clostridiates_vadinBB60_group*、瘤胃球菌属(*Ruminococcus_1*)、毛螺旋菌属(*Lachnospiraceae_UCG_006*)、埃希氏菌-志贺氏菌属(*Escherichia_Shigella*)丰度显著增加($P < 0.05$);与模型组相比,高剂量游离糖组中*norank_f_Muribaculaceae*、*Romboutsia*丰度显著减少($P < 0.05$),拟杆菌属、*norank_f_Clostridiates_vadinBB60_group*、瘤胃球菌属丰度显著增加($P < 0.05$)。

2.2.4 菌群间显著差异分析 组间差异显著性分析主要用于发现不同组间具有统计学差异的Biomarker,即组间特异性菌群。根据设定的Biomarker筛选标准(LDA score > 3.5)找出符合条件的Biomarker,本研究主要使用LEfSe〔Line Discriminant Analysis (LDA) Effect Size〕分析。从图9中可以看出,对照组中*Muribaculaceae*(从科到属)、拟杆菌目(从门到目)丰度较高;DSS组中梭菌目(*Clostridiales*,从纲到目)、放线菌目(*Actinobacteria*,从纲到目)、苏黎世杆菌属(*Turicibacter*)、变形菌门(*Proteobacteria*)、变形菌纲(*Gammaproteobacteria*)等为优势菌群;在DSS + FS组中拟杆菌科(从属到科)、厚壁菌门、阿克曼氏菌科(从属到科)、疣微菌纲(从门到纲)、瘤胃球菌属、*Erysipelatoclostridium*等菌群占优势。



注:横坐标表示物种的LDA得分,其中显著差异的LDA值设置为3.5,每个柱子表示一个物种

图9 三组差异菌群的LDA评分

3 讨论

自由饮用DSS诱导实验性结肠炎是研究炎性肠病的常用模型，其对肠道上皮细胞有直接的毒性，破坏肠道黏膜屏障完整性并激发炎症，临床上的表现为体重减轻、便血、腹泻、精神不佳；组织学分析表现为结肠黏膜脱落、隐窝变形、杯状细胞减少、炎性浸润以及细胞凋亡。DSS诱导的结肠炎发生和发展都与肠道菌群的失衡有关[14-15]，DSS处理后会使肠道菌群丰富度和多样性减少，使菌群的结构发生显著的改变，肠道内的稳态被破坏可使肠道黏膜屏障完整性降低，会使细菌及LPS等有害物质透过肠粘膜进入血液[16]。有报告强调，膳食游离糖破坏了小鼠肠道微生物群，促进了结肠炎[17-18]。亦有研究证实，游离糖中尤其是果糖可能会诱导肠道菌过度生长、改变肠道通透性，使致炎因子LPS的吸收增多[19]。虽然很多的研究已表明高脂肪饮食会引发IBD[20-22]，但是糖的作用尚不明确。最新的一项研究表明，在分别单独给予葡萄糖、果糖和蔗糖后小鼠更容易患结肠炎或者会使DSS诱导的结肠炎加重，利用基因测序技术对小鼠肠道菌群进行分析后发现，大部分的有益细菌丰度减少，三种糖处理后的组小鼠肠道黏液层变薄，使小鼠肠道菌群的组成发生改变。研究证实，摄入这些高糖后会使肠道菌群发生明显的紊乱和改变，从而使肠道黏液屏障受损，使小鼠患结肠炎的易感性增强或者会加重小鼠的结肠炎[23]。

本研究基于龙眼肉中含有大量的游离糖，推断过食龙眼肉导致游离糖过量摄入，可能促进肠炎。本实验中，游离糖的剂量根据龙眼肉（过量食用情况下）中的含量计算而得。结果发现，DSS诱导的结肠炎小鼠给予FS后，与DSS组相比，体重下降的更多，结肠也缩短的更明显，组织学显示结肠细胞凋亡明显增多，黏膜部分脱落，出现大量的炎性细胞浸润，隐窝结构出现异常（隐窝扭曲、分支和萎缩）等情况，杯状细胞丢失严重，血清中LPS水平升高显著，从以上结果得出摄入过量的游离糖促进了DSS诱导的小鼠结肠炎的发展。此外，在此基础上对小鼠粪便进行16S rRNA高通量测序分析菌群的多样性及差异发现：给予DSS处理后两组菌群丰度及多样性明显减少，菌群结构发生显著变化，灌胃过量的FS后对肠道菌群的结构影响最大。与对照组相比，在门水平上，DSS处理后的两组拟杆菌门丰度明显减少而厚壁菌门、疣微菌门以及变形菌门丰度增多；在属水平上DSS处理后的两组*norank_f_Muribaculaceae*、*Faecalibaculum*、分节丝状菌属、戈登氏杆菌属丰度减少，拟杆菌属、阿克曼氏菌属、毛螺旋菌属、埃希氏菌-志贺氏菌属丰度增多。拟杆菌门、*norank_f_Muribaculaceae*、分节丝状菌属、戈登氏杆菌属这些肠道菌可能有助于缓解炎症、抑制有害菌并具有免疫调节功能[24-25]；厚壁菌门、变形菌门、埃希氏菌-志贺氏菌属这些肠道菌大部分都为有害细菌的代表，其中变形菌含有病原体，如幽门螺杆菌、霍乱弧菌、志贺氏菌，其增加被认为是生态失调和炎症性肠病等疾病风险的诊断标志物[26]。从这些主要的菌群变化中可以看出经过DSS处理会使小鼠肠道致病菌丰度增多而有益菌减少。过量摄入游离糖的小鼠肠道菌群中发现厚壁菌门、*Erysipelatoclostridium*为优势菌群，埃希氏菌-志贺氏菌属明显比DSS组丰度增多，提示促进菌群失调。

世界卫生组织推荐控制的是“游离糖”[4]，它对健康是不利的[27]，本研究也证实过量的游离糖会促进肠道菌群紊乱，加重DSS诱导的小鼠结肠炎损伤。糖，尤其是多糖，广泛存在于中草药中，如党参[28]、枸杞[29]、黄芪[30]、龙眼[31]。其抗病毒、免疫调节、保肝、抗肿瘤、抗氧化、降血糖、降血脂、抗炎症等药效已经得到验证[32-35]。经研究证实多糖会促进有益菌的生长[36-37]，其机制可能是增加游离短链脂肪酸（free short chain fatty acids，SCFA）细菌的产生，促进SCFA的生成来发挥作用[38-39]，改善肠道功能，调节糖代谢紊乱，从而起到一个保护的作用。本文只是按比例给予了龙眼肉中游离糖的含量，并没有做龙眼多糖对DSS诱导的小鼠结肠炎的影响实验，我们猜想龙眼多糖可能会通过调节肠道菌群，促进有益菌生长，从而对DSS诱导的结肠炎小鼠起到一定的保护作用。

4 结论

过量摄入游离糖会加重小鼠结肠炎进展，使小鼠肠道菌群发生紊乱，而直接服用龙眼肉是否会引发肠炎进展还有待进一步研究。

参 考 文 献

[1] Rizzello F, Spisni E, Giovanardi E, *et al*. Implications of the westernized diet in the onset and progression of IBD[J]. Nutrients, 2019, 11(5): 1033.

[2] Raman M, Ghosh S. Diet and nutrition in IBD-progress and gaps[J]. Nutrients, 2019, 11(8): 1740.

[3] Owczarek D, Rodacki T, Domagała-Rodacka R, *et al*. Diet and nutritional factors in inflammatory bowel diseases[J]. World J Gastroenterol, 2016, 22(3): 895-905.

[4] World Health Organization. Guideline: sugars intake for adults and children[EB/OL]. (2015-03-04).http://www.who.int/nutrition/publications/guidelines/sugars_intake/en/.

[5] Więckowska-Gacek A, Mietelska-Porowska A, Wydr-

ych M, *et al*. Western diet as a trigger of Alzheimer's disease: from metabolic syndrome and systemic inflammation to neuroinflammation and neurodegeneration[J]. Ageing Res Rev, 2021, 70: 101397.

[6] Benton D, Young HA. Sugary drinks and cancer risk: more to diet than just sugar[J]. BMJ, 2019, 366: l5095.

[7] Chazelas E, Srour B, Desmetz E, *et al*. Sugary drink consumption and risk of cancer: results from NutriNet-Santé prospective cohort[J]. BMJ, 2019, 366: l2408.

[8] Jensen T, Abdelmalek MF, Sullivan S, *et al*. Fructose and sugar: a major mediator of non-alcoholic fatty liver disease[J]. J Hepatol, 2018, 68(5): 1063-1075.

[9] Taskinen MR, Packard CJ, Borén J. Dietary fructose and the metabolic syndrome[J]. Nutrients, 2019, 11(9): 1987.

[10] Debras C, Chazelas E, Srour B, *et al*. Total and added sugar intakes, sugar types, and cancer risk: results from the prospective NutriNet-Santé cohort[J]. Am J Clin Nutr, 2020, 112(5): 1267-1279.

[11] Schwimmer JB, Ugalde-Nicalo P, Vos MB. Low free sugar diet in adolescents with nonalcoholic fatty liver disease-reply[J]. JAMA, 2019, 321(24): 2469.

[12] 钟名诚, 饶伟文, 肖聪. HPLC-ELSD法测定龙眼肉中果糖、葡萄糖、蔗糖的含量[J]. 中国药品标准, 2011, 12(1): 44-48.

[13] Pan MH, Zhu SR, Duan WJ, *et al*. "Shanghuo" increases disease susceptibility: modern significance of an old TCM theory[J]. J Ethnopharmacol, 2020, 250: 112491.

[14] Chu HQ, Tao X, Sun ZG, *et al*. Galactooligosaccharides protects against DSS-induced murine colitis through regulating intestinal flora and inhibiting NF-κB pathway[J]. Life Sci, 2020, 242: 117220.

[15] 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: 118587.

[16] Costantini L, Molinari R, Farinon B, *et al*. Impact of omega-3 fatty acids on the gut microbiota[J]. Int J Mol Sci, 2017, 18(12): 2645.

[17] Rinninella E, cintoni M, Raoul P, *et al*. Food components and dietany habits: reys for a healthy gut microbiota composition[J].Nutrients,2019;11(10):2393.

[18] Llewellyn SR, Britton GJ, Contijoch EJ, *et al*. Interactions between diet and the intestinal microbiota alter intestinal permeability and colitis severity in mice[J]. Gastroenterology, 2018, 154(4): 1037-1046.e2.

[19] Chassaing B, Etienne-Mesmin L, Gewirtz AT. Microbiota-liver axis in hepatic disease[J]. Hepatology, 2014, 59(1): 328-339.

[20] Tanaka S, Nemoto Y, Takei Y, *et al*. High-fat diet-derived free fatty acids impair the intestinal immune system and increase sensitivity to intestinal epithelial damage[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2020, 522(4): 971-977.

[21] Zhao D, Cai CW, Chen QY, *et al*. High-fat diet promotes DSS-induced ulcerative colitis by downregulated FXR expression through the TGFB pathway[J]. Biomed Res Int, 2020, 2020: 3516128.

[22] Fritsch J, Garces L, Quintero MA, *et al*. Low-fat, high-fiber diet reduces markers of inflammation and dysbiosis and improves quality of life in patients with ulcerative colitis[J]. Clin Gastroenterol Hepatol, 2021, 19(6): 1189-1199.e30.

[23] Khan S, Waliullah S, Godfrey V, *et al*. Dietary simple sugars alter microbial ecology in the gut and promote colitis in mice[J]. Sci Transl Med, 2020, 12(567): eaay6218.

[24] Lv J, Jia YT, Li J, *et al*. Gegen Qinlian decoction enhances the effect of PD-1 blockade in colorectal cancer with microsatellite stability by remodelling the gut microbiota and the tumour microenvironment[J]. Cell Death Dis, 2019, 10(6): 415.

[25] Jin S, Zhao D, Cai CW, *et al*. Low-dose penicillin exposure in early life decreases Th17 and the susceptibility to DSS colitis in mice through gut microbiota modification[J]. Sci Rep, 2017, 7: 43662.

[26] Shin NR, Whon TW, Bae JW. Proteobacteria: microbial signature of dysbiosis in gut microbiota[J]. Trends Biotechnol, 2015, 33(9): 496-503.

[27] Breda J, Jewell J, Keller A. The importance of the world Health organization sugar guidelines for dental health and obesity prevention[J]. Caries Res, 2019, 53(2): 149-152.

[28] 刘雪枫, 乔婧, 高建德, 等. 党参多糖对溃疡性结肠炎大鼠结肠上皮NF-κB信号通路的影响[J]. 中成药, 2021, 43(6): 1445-1450.

[29] 万和林, 叶毅丰, 韩抒恒, 等. 枸杞多糖及其免疫调节机制研究进展[J]. 中国食物与营养, 2021: 1-5.

[30] 张晓蕾, 黄昌怿. 黄芪中多糖及总皂苷的含量测定[J]. 家庭医药. 就医选药, 2018(5): 341-342.

[31] 冯潮, 温亚州, 杨宇哲, 等. 新鲜和干制龙眼果肉多糖免疫调节活性的分析[J]. 食品与生物技术学报, 2021, 40(6): 52-59.

[32] 田家俊, 秦阳, 王南平. 中药多糖类化合物抗疲劳作用及其机制研究进展[J]. 生命的化学, 2021, 41(5): 1018-1024.

[33] 曾小燕, 李鸿霞, 梁纪强, 等. 中药多糖体外抗氧化作用研究进展[J]. 亚太传统医药, 2020, 16(7): 181-188.

[34] 代云云, 谢晓蓉, 王鹏波, 等. 中药多糖降脂作用机理的研究进展[J]. 中药药理与临床, 2021: 1-11.

[35] 王莹. 枸杞多糖的分离纯化及基于对肠道菌群调节的免疫作用机制研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2020.

[36] 张洪源, 任广振, 黄建政, 等. 健脾类中药多糖对脾虚相关病症肠道菌群影响的研究现状[J]. 中国中医药信息杂志,2021: 1-5.

[37] 张廷婷, 赵文颖, 谢倍珍, 等. 黑木耳及其多糖对高脂饮食大鼠的降血脂和肠道菌群调节作用[J]. 中国食品学报, 2021: 1-15.

[38] Valcheva R, Koleva P, Martínez I, *et al*. Inulin-type fructans improve active ulcerative colitis associated with microbiota changes and increased short-chain fatty acids levels[J]. Gut Microbes, 2019, 10(3): 334-357.

[39] Yao Y, Yan LJ, Chen H, *et al*. Cyclocarya paliurus polysaccharides alleviate type 2 diabetic symptoms by modulating gut microbiota and short-chain fatty acids[J]. Phytomedicine, 2020, 77: 153268.

(2020-09-28 收稿)