

酵剂组 ($P < 0.05$); 山药对照组与中剂量复合发酵剂组小鼠结肠肠道中乙酸、丙酸水平比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 中剂量复合发酵剂组小鼠结肠肠道中丁酸显著高于山药对照组和低剂量复合发酵剂组 ($P < 0.05$)。结论 干酪乳杆菌-山药复合发酵剂能显著抑制 UC 小鼠结肠组织中 IL-8、TNF- α 表达及 MPO 活性, 促进结肠组织中紧密连接蛋白的表达及短链脂肪酸的产生, 调节肠道菌群平衡; 改善 UC 症状。

关键词: 益生菌; 干酪乳杆菌; 山药; 溃疡性结肠炎; 抗炎; 肠道菌群

中图分类号: R574.6 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-7239(2023)05-0401-10

Regulation effect of *Lactobacillus casei*-yam compound starter on intestinal flora and anti-inflammation in mice with ulcerative colitis

ZHU Yu¹, ZHENG Zhi^{1,2,3}, ZHU Shaohui^{1,3}, HOU Dong^{1,3}, CHEN Xuan¹, KWON Youngjoo⁴, PARK Byounghee^{2,5}, JIANG Linjuan¹

(1. Xinxiang Key Laboratory of Applied Microbial Technology, School of Public Health, Xinxiang Medical University, Xinxiang 453003, Henan Province, China; 2. Hanling Medical Technology Research Institute Co., Nanjing 211100, Jiangsu Province, China; 3. Xinxiang Key Laboratory of Medicine, the First Affiliated Hospital of Xinxiang Medical University, Weihui 453100, Henan Province, China; 4. School of Pharmacy, Ewha Woman's University, Seoul 04393, Republic of Korea; 5. Raphagen Company Limited, Seoul 04393, Republic of Korea)

Abstract: **Objective** To explore the regulation effects of *Lactobacillus casei*-yam compound starter on intestinal flora and its anti-inflammatory in mice with ulcerative colitis (UC). **Methods** *Lactobacillus casei* (SJP6841L2) and yam powder were mixed and fermented to produce *Lactobacillus casei*-yam compound starter. A total of 60 mice were randomly divided into blank control group, UC model group, yam control group, low-dose compound starter group, medium-dose compound starter group and high-dose compound starter group, with 10 mice in each group. The mice in the UC model group, yam control group, low-dose compound starter group, medium-dose compound starter group and high-dose compound starter group were induced by 2,4,6-trinitrobenzene sulfonic acid to prepare UC model; the mice in the normal control group were injected with volume fraction 50% ethanol through anus. After successful modeling, the mice in the normal control group and UC model group were administrated normal saline (10 mL · kg⁻¹) by oral gavage every day; the mice in the yam control group were administrated 200 mg · kg⁻¹ non-fermented yam preparation by oral gavage every day; and the mice in the low-dose compound starter group, the medium-dose compound starter group and the high-dose compound starter group were administrated 50, 100 and 200 mg · kg⁻¹ *Lactobacillus casei*-yam compound starter by oral gavage every day, respectively, lasted for 10 days. After treatment for 10 days, the general symptoms including mucopurulent bloody stool and diarrhea of mice in each group were observed; the mice in each group were killed, the colon was taken, and the length, thickness and weight of the colon were measured, the edema of the colon tissue was observed; the pathological changes of the colon tissue of mice in each group was observed by hematoxylin-eosin staining, the activity of myeloperoxidase (MPO) in colon tissue of mice in each group was detected by ultra-violet spectrophotometry, and the expressions of interleukin-8 (IL-8), tumor necrosis factor- α (TNF- α), heme oxygenase-1 (HO-1) and nuclear factor- κ B (NF- κ B) in colon tissue of mice in each group were detected by enzyme-linked immunosorbent assay, the expressions of intestinal up-regulated seal protein 1 (claudin 1) and zona atresia protein-1 (ZO-1) in colon tissue of mice in each group were detected by Western blot method, the number of *bifidobacteria*, *lactobacilli*, *bacteroides* and *enterobacteria* in intestinal tract of colon were detected by bacterial physiological and biochemical identification method, the levels of acetic acid, propionic acid and butyric acid in intestinal tract of colon of mice in each group were detected by gas chromatography method. **Results** Compared with the intervention of single yam, *Lactobacillus casei*-yam compound starter could significantly improve the length, thickness and weight of colon in mice with UC ($P < 0.05$), as well as the symptoms of enteritis such as mucopurulent bloody stool and diarrhea; and it could significantly reduce the loss of colonic crypt and goblet cells, inhibit the infiltration of inflammatory cells, restore the damaged mucosa and tissue structure of colon in UC rats. The levels of IL-8, TNF- α , NF- κ B, HO-1 and the activity of MPO in colon tissue of mice in the UC model group, yam control group, low-dose compound starter group and medium-dose compound starter group were significantly higher than those in the blank control group and high-dose compound starter group, and the levels of claudin 1 and ZO-1 were significantly lower than those in the blank control group and the high-dose compound starter group ($P < 0.05$); there was no significant difference in the levels of IL-8, TNF- α , NF- κ B, HO-1, claudin 1, ZO-1 and the activity of MPO in colon tissue of mice between the blank control group and the high-dose compound starter group ($P > 0.05$); the levels of IL-8, TNF- α , NF- κ B, HO-1 and the activity of MPO in colon tissue of mice in the yam control group and medium-dose compound starter group were significantly lower than those in the UC model group and low-dose compound starter group, and the levels of claudin 1 and ZO-1 were significantly higher than those in the UC model group and low-dose compound starter group ($P < 0.05$). There was no significant difference in the levels of IL-8, TNF- α , NF- κ B, HO-1, claudin 1, ZO-1 and the activity of MPO in colon tissue of mice between the yam control group and medium-dose compound starter group, UC model group and low-dose compound starter group ($P > 0.05$). The number of

bifidobacteria, *lactobacilli* and *bifidobacteria/enterobacteria* (B/E) value in intestinal tract of colon of mice in the UC model group, yam control group, low-dose compound starter group and medium-dose compound starter group were significantly lower than those in the blank control group and the high-dose compound starter group, and the number of *bacteroides* and *enterobacteria* were significantly higher than those in the blank control group and the high-dose compound starter group ($P < 0.05$); there was no significant difference in the number of *bifidobacteria*, *lactobacilli*, *bacteroides*, *enterobacteria* and B/E value in intestinal tract of colon of mice between the blank control group and the high-dose compound starter group ($P > 0.05$); the number of *lactobacilli* and B/E value in intestinal tract of colon of mice in the yam control group and medium-dose compound starter group were significantly higher than those in the UC model group and low-dose compound starter group, and the number of *bacteroides* and *enterobacteria* were significantly lower than those in the blank control group and high-dose composite starter group ($P < 0.05$); there was no significant difference in the number of *bifidobacteria*, *lactobacilli*, *bacteroides*, *enterobacteria* and B/E value in intestinal tract of colon of mice between the yam control group and medium-dose compound starter group, UC model group and low-dose compound starter group ($P > 0.05$). The levels of acetic acid, propionic acid and butyric acid in intestinal tract of colon of mice in the UC model group, yam control group, low-dose compound starter group and medium-dose compound starter group were significantly lower than those in the blank control group and high-dose compound starter group ($P < 0.05$); there was no significant difference in the levels of acetic acid, propionic acid and butyric acid in intestinal tract of colon of mice between the blank control group and high-dose compound starter group ($P > 0.05$); the level of acetic acid in intestinal tract of colon of mice in the yam control group, low-dose compound starter group and medium-dose compound starter group was significantly higher than that in the UC model group ($P < 0.05$); the level of propionic acid in intestinal tract of colon of mice in the yam control group and the medium-dose compound starter group was significantly higher than that in the UC model group ($P < 0.05$); the level of butyric acid in intestinal tract of colon of mice in the medium-dose compound starter group was significantly higher than that in the UC model group ($P < 0.05$); the levels of acetic acid and propionic acid in intestinal tract of colon of mice in the yam control group and medium-dose compound starter group were significantly higher than those in the low-dose compound starter group ($P < 0.05$); there was no significant difference in the levels of acetic acid and propionic acid in intestinal tract of colon of mice between the yam control group and the medium-dose compound starter group ($P > 0.05$); the level of butyric acid in intestinal tract of colon of mice in the medium-dose compound starter group was significantly higher than that in the yam control group and the low-dose compound starter group ($P < 0.05$). **Conclusion** *Lactobacillus casei*-yam compound starter can significantly inhibit the expressions of IL-8, TNF- α and MPO activity in intestinal tissues, promote the expression of tight junction protein and production of short-chain fatty acids in colon tissue, regulate the imbalance of intestinal flora, and improve the symptoms of UC mice.

Key words: probiotics; *Lactobacillus casei*; yam; ulcerative colitis; anti-inflammatory; intestinal flora

溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 是一种常见的慢性复发性疾病, 主要症状为腹泻、腹痛、黏液脓血便, 且多伴有营养不良, 其机制与炎症活动、肠内营养流失、营养吸收障碍、代谢紊乱等有关^[1-2]。到目前为止, 还没有根除 UC 的治疗方案。最新研究证实, 针对 UC 患者应先考虑改善肠道菌群平衡、营养不良, 才能缓解结肠炎症状, 从而改善治疗结局^[3]。山药是具有营养价值的药食同源食材, 含多糖、薯蓣皂苷元等营养成分, 具有补脾养胃、增强免疫力等功能; 中药学认为, UC 治疗可选用性质较为温和的山药。但山药的开发和利用存在局限性, 目前如何提高山药利用价值仍是主要挑战^[4]。本课题组前期研究证实, 益生菌体外接种复合发酵方案可抑制肠道内的致病菌, 提高肠道免疫力, 对多种慢性疾病有改善作用^[5-8]。干酪乳杆菌 (*Lactobacillus casei*) 不仅具有降低胆固醇和血压、增强人体免疫及预防癌症等功效, 还能促进营养物质的吸收, 可用于预防或治疗肠道微生物群紊乱相关疾病^[9]。基于此, 本研究应用干酪乳杆菌 SJP6841L2 菌 (KCCM10729P) 制作干酪乳杆菌与山药复合发酵剂,

探讨其对 2, 4, 6-三硝基苯磺酸 (2, 4, 6-trinitrobenzene-sulfonic acid, TNBS) 诱导的 UC 小鼠肠道菌群平衡的影响及抗炎作用, 为提高山药利用价值及制定防治慢性 UC 患者的营养膳食策略奠定基础 and 理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物和细菌 60 只无特定病原体级 5 周龄雄性 BALB/C 小鼠购自北京维通利华实验动物技术有限公司, 体质量 (19.8 ± 1.6) g。饲养环境为温度 (22 ± 2) $^{\circ}\text{C}$ 、湿度 (55 ± 8) %, 正常饮食, 光/暗周期 12 h/12 h。所有动物实验操作符合新乡医学院伦理委员会要求。干酪乳杆菌 SJP6841L2 (KCCM10729P) 由韩国莱帕坚公司赠送。

1.2 主要试剂和仪器 山药产于河南焦作, 普通灭菌饲料、垫料购自北京维通利华实验动物技术有限公司, TNBS 购自西格玛奥德里奇 (上海) 有限公司, API 50 CHL Medium 菌株快速鉴定试剂盒购自法国梅里埃公司, 益生菌选择性培养基、菌株选择性培养基亚硫酸铋琼脂和乳酸杆菌选择性培养基购自青岛

海博生物公司,乙酸、丙酸、丁酸标准品购自德国 Sigma 公司,密封蛋白 1 (claudin 1)、闭锁小带蛋白-1 (zonula occludens-1, ZO-1)、甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH) 一抗和二抗购自美国圣克鲁斯生物技术公司,血红素加氧酶-1 (heme oxygenase-1, HO-1)、核因子- κ B (nuclear factor kappa B, NF- κ B)、白细胞介素-8 (interleukin-8, IL-8)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 酶联免疫吸附测定 (enzyme linked immunosorbent assay, ELISA) 检测试剂盒购自美国 Biolegend 公司;HH. CP-T01A 型 CO₂ 细胞培养箱购自杭州川一实验仪器有限公司, SX-300 型高温高压灭菌锅购自日本 Tomy 公司, CX21 型光学生物显微镜购自日本奥林巴斯公司, HZQ-F160A 型恒温震荡培养箱购自上海一恒科学仪器有限公司, 754 型紫外可见分光光度计购自上海菁华科技仪器有限公司, FD-1 型压盖冷冻干燥机购自北京博医康实验仪器有限公司, UV-2100 型紫外分光光度计购自郑州南北仪器设备有限公司, 5804R 型高速冷冻离心机购自德国 Eppendorf 公司, HR-2 型手持式组织匀浆机购自上海沪析实业有限公司, VITEK2 全自动细菌鉴定仪购自法国梅里埃公司, 7890 型气相色谱仪、DB-FFAP 毛细管柱购自美国安捷伦公司。

1.3 实验方法

1.3.1 干酪乳杆菌-山药复合发酵剂和无发酵山药剂制作 将干酪乳杆菌放入乳酸细菌培养基, 37 °C 下培养 48 h 后进行活化备用。山药粉末制备: 在 300 g 山药中加入 1.5 L 蒸馏水, 95 °C 下灭菌 1 h, 冷冻、干燥后获得山药粉末, 保存于 -20 °C 冰箱备用。干酪乳杆菌-山药复合发酵粉末制备: 将山药粉末放入干酪乳杆菌混合液中, 调整菌数为 8×10^9 CFU · L⁻¹, 37 °C 发酵 3 d, 每天检测 pH 值和酸碱度; 发酵结束后, 经过滤、冷冻、干燥后获得干酪乳杆菌-山药复合发酵粉末, 保存于 -20 °C 冰箱备用。

1.3.2 动物分组及模型制备 将 60 只小鼠随机分为空白对照组、UC 模型组、山药对照组、低剂量复合发酵剂组、中剂量复合发酵剂组、高剂量复合发酵剂组, 每组 10 只。小鼠适应性饲养 1 周后开始制备 UC 模型。取 250 mL TNBS (100 mg · kg⁻¹) 溶解到体积分数 50% 乙醇中制备 TNBS 溶液。UC 模型组、山药对照组、低剂量复合发酵剂组、中剂量复合发酵剂组、高剂量复合发酵剂组小鼠腹腔注射戊巴比妥钠进行麻醉, 用 2 mm 硅胶导管插入小鼠肛门内 8 cm 处注入 TNBS 溶液, 并提起小鼠尾巴, 持续倒置 2 min, 第 2 天, 小鼠出现粪便潜血、腹泻、体质量下降判定为造模成功^[5]。空白对照组小鼠经肛门注射体积分数 50% 乙醇。造模成功后, 空白对照

组、UC 模型组小鼠每天经口灌胃生理盐水 (10 mL · kg⁻¹), 山药对照组小鼠每天经口给予 200 mg · kg⁻¹ 无发酵山药剂灌胃, 低剂量复合发酵剂组、中剂量复合发酵剂组、高剂量复合发酵剂组每天经口分别给予 50、100、200 mg · kg⁻¹ 干酪乳杆菌-山药复合发酵剂灌胃, 持续 10 d。

1.3.3 观察并记录小鼠一般肠炎情况 每天同一时间监测小鼠体质量, 观察小鼠黏液脓血便、腹泻等情况。

1.3.4 组织取材 各组小鼠于实验第 11 天用乙醚麻醉, 开腹, 心脏取血, 取结肠组织。观察结肠组织水肿、出血、损伤程度, 记录结肠长度和重量; 取距离肛门 1 cm 肠组织, 用磷酸盐缓冲液 (pH 7.4) 洗 3 次, -70 °C 保存; 剩余结肠组织于 40 g · L⁻¹ 多聚甲醛溶液中固定 3 d, 备用。

1.3.5 苏木精-伊红 (hematoxylin-eosin, HE) 染色 观察各组小鼠结肠组织病理学变化 取固定后的结肠组织, 乙醇脱水, 再次经乙醇、二甲苯脱水, 石蜡包埋, 5 μm 切片, 行 HE 染色, 在光学显微镜下观察结肠组织的病理学变化。

1.3.6 紫外分光光度法检测各组小鼠结肠组织中髓过氧化物酶 (myeloperoxidase, MPO) 活性 取 -70 °C 冰箱保存的结肠组织, 加入含体积分数 0.5% 十六烷基三甲基溴化铵的磷酸盐缓冲液 50 mL, 用手持式组织匀浆机每 30 s 匀浆 1 次, 重复 3 次。匀浆后的结肠组织于 -70 °C 条件下冷冻 3 h, 37 °C 下解冻, 重复 3 次。组织匀浆液 12 000 × g 离心 15 min, 取 100 μL 上清液, 加入 2.4 mL 60 mmol · L⁻¹ 磷酸盐缓冲液 (pH 6.0), 25 °C 下反应 10 min, 加入 500 μL 叠氮化钠 (1.0 g · L⁻¹) 终止反应, 应用紫外分光光度计在 460 nm 处测定吸光度值计为 OD₁, 1 min 后再次测定计为 OD₂, 持续 5 min, 计算 MPO 平均值 [MPO_{平均} = (OD_{n+1} - OD_n) × 稀释倍数/结肠组织质量]。

1.3.7 ELISA 法检测各组小鼠结肠组织中 IL-8、TNF- α 、HO-1 和 NF- κ B 的表达水平 取 1 mg 结肠组织匀浆, 生理盐水稀释 10 倍, 应用 IL-8、TNF- α 、HO-1、NF- κ B ELISA 试剂盒检测 HO-1、NF- κ B、IL-8、TNF- α 表达水平, 严格按照试剂盒说明书步骤进行操作。

1.3.8 Western blot 检测各组小鼠结肠组织中 claudin 1 和 ZO-1 蛋白表达 取匀浆后的结肠组织 2 mg, 用蛋白定量试剂计算蛋白浓度; 取 50 μg 蛋白, 经质量分数 10% 聚丙烯酰胺凝胶电泳后, 蛋白转印到聚偏二氟乙烯膜, 加 claudin 1、ZO-1、GAPDH 一抗 (滴度 1:1 000), 室温下过夜, 三氨基甲烷缓冲液洗涤 3 次, 加辣根过氧化物酶标记羊抗鼠 IgG

2 h,再用三氨基甲烷缓冲液洗涤3次,滴加增强电化学发光液,在曝光仪上显影,以GADPH为内参,使用Image J软件对蛋白条带灰度值进行定量分析。以目的蛋白灰度值与内参蛋白灰度值比值表示目的蛋白相对表达量。

1.3.9 细菌生理生化鉴定法检测各组小鼠结肠肠道中双歧杆菌、乳酸杆菌、拟杆菌和肠杆菌数量 取小鼠结肠内容物约0.5 g,用无菌生理盐水稀释至10、100、1 000倍,取100 μL原液和各稀释液,使用菌株快速鉴定试剂盒对菌株进行分离、筛选后,用全自动细菌鉴定仪鉴定菌株,测定方法参照检测试剂盒说明书。鉴定后的双歧杆菌、乳酸杆菌、拟杆菌、肠杆菌分别接种于选择性培养基平板上,厌氧菌在厌氧恒温培养箱、好氧菌在具有供养装置的恒温培养箱中培养24 h,用显微镜观察生成菌落数,计算各组菌株数和双歧杆菌/肠杆菌(B/E)值。

1.3.10 气相色谱法检测各组小鼠结肠肠道中乙酸、丙酸和丁酸水平 取1 g小鼠结肠内容物,加入1 mL体积分数10%的硫酸溶液进行酸化,再加入5 mL丙酮,震荡,12 000 ×g离心5 min,取上清液,应用气相色谱法检测肠道中乙酸、丙酸、丁酸水平,分析条件如下:载气为流速0.75 mL·min⁻¹的氦气,进样器温度为220℃,离子源和界面温度为250℃。加热箱初始温度为90℃(2 min),温度以每分钟5℃升至80℃,然后以每分钟10℃升至200℃,最后以每分钟20℃升至250℃。以乙酸、丙酸、丁酸标准品绘制标准曲线,以标准曲线的浓度和峰面积计算样品中乙酸、丙酸、丁酸水平,结果以μmol·g⁻¹表示。

1.4 统计学处理 应用SPSS 25.0软件进行数据统计与分析。计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用最小显著性差异法*t*检验,*P* < 0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 干酪乳杆菌-山药复合发酵剂发酵前后菌数和pH值比较 干酪乳杆菌-山药复合发酵剂溶解液初始、发酵第4天pH值分别为5.9 ± 0.1、3.7 ± 0.1,初始pH值显著高于发酵第4天,差异有统计学意义(*t* = 66.000, *P* = 0.000);干酪乳杆菌-山药复合发酵剂初始、发酵第4天总菌数分别为(1.4 ± 0.2)、(8.2 ± 0.2) logCFU·mL⁻¹,发酵第4天总菌数较初始总菌数增长了(17.8 ± 0.7)倍,差异有统计学意义(*t* = 102.000, *P* = 0.000)。

2.2 6组小鼠一般症状及结肠组织病理变化 UC模型组小鼠结肠出现多发小溃疡、水肿、肠壁粘连及出血。山药对照组和低剂量复合发酵剂组小鼠结肠

出现部分水肿,中剂量复合发酵剂组小鼠结肠出现轻微水肿,高剂量复合发酵剂组和空白对照组小鼠结肠无水肿、溃疡、血便、腹泻等肠炎症状。UC模型组小鼠第2天出现腹泻、血便、食欲下降等症状,毛发凌乱、呆滞、反应迟钝等反应。山药对照组和中剂量复合发酵剂组小鼠的症状在第3天出现好转;8 d后,小鼠体质量无明显变化,毛发光泽度、大便情况、活跃度、饮食、精神状态良好,与空白对照组小鼠比较无明显差别。

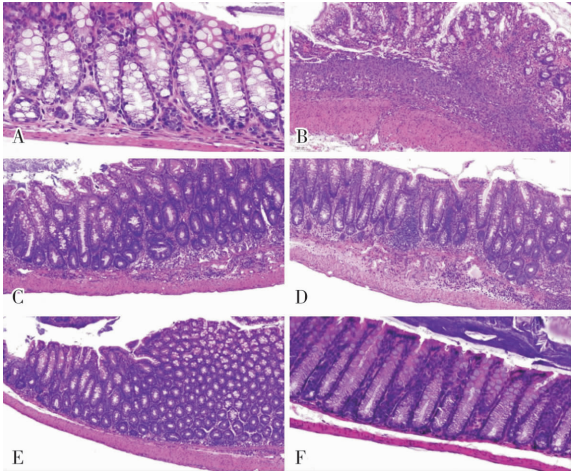
2.3 6组小鼠结肠组织的长度、厚度、重量比较 结果见表1。UC模型组、山药对照组、低剂量复合发酵剂组、中剂量复合发酵剂组小鼠结肠的长度显著短于空白对照组和高剂量复合发酵剂组,结肠厚度显著厚于空白对照组和高剂量复合发酵剂组,结肠重量显著大于空白对照组和高剂量复合发酵剂组,差异有统计学意义(*P* < 0.05)。空白对照组与高剂量复合发酵剂组小鼠结肠的长度、厚度、重量比较差异无统计学意义(*P* > 0.05)。山药对照组和中剂量复合发酵剂组小鼠结肠的长度显著长于UC模型组和低剂量复合发酵剂组,结肠厚度、重量显著小于UC模型组和低剂量复合发酵剂组,差异有统计学意义(*P* < 0.05)。山药对照组与中剂量复合发酵剂组小鼠结肠的长度、厚度、重量比较差异无统计学意义(*P* > 0.05);UC模型组与低剂量复合发酵剂组小鼠结肠的长度、厚度、重量比较差异无统计学意义(*P* > 0.05)。

表1 6组小鼠结肠的长度、厚度和重量比较
Tab. 1 Comparison of length, thickness and weight of colon of mice among the six groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	长度/mm	厚度/μm	重量/(g·cm ⁻¹)
空白对照组	10	109.7 ± 0.1	2.2 ± 0.2	0.26 ± 0.09
UC模型组	10	84.2 ± 2.4 ^a	10.2 ± 0.4 ^a	0.98 ± 0.16 ^a
山药对照组	10	90.2 ± 4.7 ^{ab}	4.1 ± 0.1 ^{ab}	0.58 ± 0.02 ^{ab}
低剂量复合发酵剂组	10	86.3 ± 2.4 ^a	9.6 ± 0.8 ^a	0.91 ± 0.06 ^a
中剂量复合发酵剂组	10	90.4 ± 4.6 ^{ab}	4.9 ± 0.4 ^{ab}	0.64 ± 0.02 ^{ab}
高剂量复合发酵剂组	10	110.4 ± 1.9	2.8 ± 0.2	0.24 ± 0.03
<i>F</i>		42.159	203.291	63.349
<i>P</i>		0.000	0.000	0.000

注:与空白对照组、高剂量复合发酵剂组比较^a*P* < 0.05;与UC模型组、低剂量复合发酵剂组比较^b*P* < 0.05。

2.4 6组小鼠结肠组织病理变化 结果见图1。空白对照组和高剂量复合发酵剂组小鼠结肠黏膜上皮组织完整清晰,隐窝、杯状细胞无损伤,无炎症细胞浸润,无溃疡面。UC模型组小鼠结肠的隐窝、杯状细胞丢失,大量炎症细胞浸润,黏膜上皮组织完全损伤。山药对照组和低剂量复合发酵剂组小鼠结肠组织中仍有大量炎症细胞浸润和轻微溃疡面,部分隐窝、杯状细胞出现损伤,部分黏膜上皮组织损伤。低剂量复合发酵剂组小鼠结肠组织中有少量炎症细胞浸润,隐窝、杯状细胞清晰,黏膜及结肠组织结构完整。



A:空白对照组(×40);B:UC模型组(×10);C:山药对照组(×10);D:低剂量复合发酵剂组(×10);E:中剂量复合发酵剂组(×10);F:高剂量复合发酵剂组(×20)。

图 1 6 组小鼠结肠组织病理学(HE 染色)

Fig.1 Histopathology of colon tissues of mice in the six groups(HE staining)

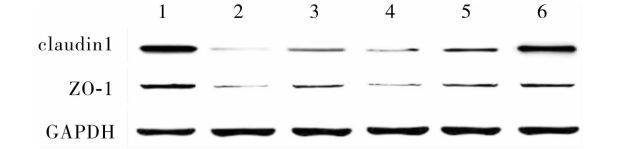
表 2 6 组小鼠结肠组织中 IL-8、TNF-α、NF-κB、HO-1 水平和 MPO 活性比较

Tab.2 Comparison of the levels of IL-8, TNF-α, NF-κB, HO-1 and activity of MPO in colon tissues of mice among the six groups

组别	n	IL-8/(μg · L ⁻¹)	TNF-α/(ng · L ⁻¹)	NF-κB/(ng · g ⁻¹)	HO-1/(ng · g ⁻¹)	MPO/(U · g ⁻¹)
空白对照组	10	0.21 ± 0.10	34.2 ± 2.1	0.7 ± 0.2	0.8 ± 0.2	8.5 ± 2.8
UC 模型组	10	0.67 ± 0.12 ^a	150.1 ± 13.2 ^a	4.3 ± 0.3 ^a	4.1 ± 0.2 ^a	40.2 ± 3.8 ^a
山药对照组	10	0.54 ± 0.11 ^a	86.6 ± 3.6 ^{ab}	3.2 ± 0.3 ^{ab}	3.6 ± 0.3 ^{ab}	28.5 ± 3.4 ^{ab}
低剂量复合发酵剂组	10	0.66 ± 0.11 ^a	130.1 ± 11.8 ^{ab}	4.1 ± 0.2 ^a	3.8 ± 0.2 ^a	38.0 ± 3.6 ^a
中剂量复合发酵剂组	10	0.46 ± 0.10 ^{ab}	74.1 ± 5.4 ^{ab}	2.4 ± 0.2 ^{ab}	2.8 ± 0.3 ^{ab}	19.8 ± 3.2 ^{ab}
高剂量复合发酵剂组	10	0.32 ± 0.10	45.6 ± 2.5	1.0 ± 0.3	1.0 ± 0.2	13.5 ± 2.8
F		10.256	107.045	104.342	111.053	46.801
P		0.001	0.000	0.000	0.000	0.000

注:与空白对照组、高剂量复合发酵剂组比较^a*P* < 0.05;与 UC 模型组、低剂量复合发酵剂组比较^b*P* < 0.05。

2.6 6 组小鼠结肠组织中 claudin 1 和 ZO-1 蛋白表达水平比较 结果见图 2 和表 3。UC 模型组、山药对照组、低剂量复合发酵剂组、中剂量复合发酵剂组小鼠结肠组织中 claudin 1、ZO-1 蛋白相对表达量显著低于空白对照组和高剂量复合发酵剂组,差异有统计学意义(*P* < 0.05)。空白对照组与高剂量复合发酵剂组小鼠结肠组织中 claudin 1、ZO-1 蛋白相对表达量比较差异无统计学意义(*P* > 0.05)。山药对照组和中剂量复合发酵剂组小鼠结肠组织中 claudin 1、ZO-1 蛋白相对表达量显著高于 UC 模型组和低剂量复合发酵剂组,差异有统计学意义(*P* < 0.05)。山药对照组与中剂量复合发酵剂组及 UC 模型组与低剂量复合发酵剂组小鼠结肠组织中 claudin 1、ZO-1 蛋白相对表达量比较差异无统计学意义(*P* > 0.05)。



1:空白对照组;2:UC模型组;3:山药对照组;4:低剂量复合发酵剂组;5:中剂量复合发酵剂组;6:高剂量复合发酵剂组。

图 2 6 组小鼠结肠组织中 claudin 1 和 ZO-1 蛋白表达

Fig.2 Expressions of claudin 1 and ZO-1 protein in colon tissues of mice among the six groups

2.5 6 组小鼠结肠组织中 IL-8、TNF-α、NF-κB、HO-1 水平及 MPO 活性比较 结果见表 2。UC 模型组、山药对照组、低剂量复合发酵剂组、中剂量复合发酵剂组小鼠结肠组织中 IL-8、TNF-α、NF-κB、HO-1 水平及 MPO 活性显著高于空白对照组和高剂量复合发酵剂组,差异有统计学意义(*P* < 0.05)。空白对照组与高剂量复合发酵剂组小鼠结肠组织中 IL-8、TNF-α、NF-κB、HO-1 水平及 MPO 活性比较差异无统计学意义(*P* > 0.05)。山药对照组和中剂量复合发酵剂组小鼠结肠组织中 TNF-α、NF-κB、HO-1 水平及 MPO 活性显著低于 UC 模型组和低剂量复合发酵剂组,差异有统计学意义(*P* < 0.05)。山药对照组与中剂量复合发酵剂组及 UC 模型组与低剂量复合发酵剂组小鼠结肠组织中 IL-8、TNF-α、NF-κB、HO-1 水平及 MPO 活性比较差异无统计学意义(*P* > 0.05)。

表 3 6 组小鼠结肠组织中 claudin 1 和 ZO-1 蛋白相对表达量比较

Tab.3 Comparison of the relative expression of claudin 1 and ZO-1 protein in colon tissues of mice among the six group

组别	n	claudin 1 蛋白	ZO-1 蛋白
空白对照组	10	1.21 ± 0.21	0.68 ± 0.31
UC 模型组	10	0.05 ± 0.00 ^a	0.10 ± 0.01 ^a
山药对照组	10	0.31 ± 0.10 ^{ab}	0.29 ± 0.10 ^{ab}
低剂量复合发酵剂组	10	0.15 ± 0.10 ^a	0.09 ± 0.01 ^a
中剂量复合发酵剂组	10	0.48 ± 0.10 ^{ab}	0.33 ± 0.00 ^{ab}
高剂量复合发酵剂组	10	1.20 ± 0.21	0.44 ± 0.11
F		43.529	9.140
P		0.000	0.001

注:与空白对照组、高剂量复合发酵剂组比较^a*P* < 0.05;与 UC 模型组、低剂量复合发酵剂组比较^b*P* < 0.05。

2.7 6 组小鼠结肠肠道中双歧杆菌、乳酸杆菌、拟杆菌、肠杆菌数及 B/E 值比较 结果见表 4。UC 模型组、山药对照组、低剂量复合发酵剂组、中剂量复合发酵剂组小鼠结肠肠道中双歧杆菌、乳酸杆菌数及 B/E 值显著低于空白对照组和高剂量复合发酵剂组,差异有统计学意义(*P* < 0.05)。空白对照组与高剂量复合发酵剂组小鼠结肠肠道中双歧杆菌、乳酸杆菌、拟杆菌、肠杆菌数及 B/E 值比较差异无统计学意义(*P* > 0.05)。山药对照组和中

剂量复合发酵剂组小鼠结肠肠道中乳酸杆菌数及 B/E 值显著高于 UC 模型组和低剂量复合发酵剂组,拟杆菌、肠杆菌数显著低于空白对照组和高剂量复合发酵剂组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。山

表 4 6 组小鼠结肠肠道中双歧杆菌、乳酸杆菌、拟杆菌、肠杆菌数及 B/E 值比较

Tab.4 Comparison of the number of *bifidobacterium*, *lactobacilli*, *bacteroides*, *enterobacteria* and B/E value in intestinal tract of colon of mice among the six groups

组别	<i>n</i>	双歧杆菌	乳酸杆菌	拟杆菌	肠杆菌	B/E
空白对照组	10	8.6 ± 0.4	7.8 ± 0.4	6.1 ± 0.4	4.0 ± 0.4	1.4 ± 0.0
肠炎模型组	10	7.4 ± 0.3 ^a	5.6 ± 0.4 ^a	7.9 ± 0.4 ^a	5.6 ± 0.4 ^a	0.9 ± 0.0 ^a
山药对照组	10	7.8 ± 0.3 ^a	6.6 ± 0.4 ^{ab}	7.0 ± 0.4 ^{ab}	4.5 ± 0.2 ^{ab}	1.1 ± 0.0 ^{ab}
低剂量复合发酵剂组	10	7.3 ± 0.4 ^a	5.8 ± 0.4 ^a	8.0 ± 0.4 ^a	5.5 ± 0.4 ^a	0.9 ± 0.0 ^a
中剂量复合发酵剂组	10	7.9 ± 0.3 ^a	6.6 ± 0.3 ^{ab}	6.9 ± 0.3 ^{ab}	4.5 ± 0.3 ^{ab}	1.1 ± 0.0 ^{ab}
高剂量复合发酵剂组	10	8.6 ± 0.3	7.9 ± 0.5	6.0 ± 0.5	4.1 ± 0.3	1.4 ± 0.0
<i>F</i>		8.435	17.222	14.711	12.009	339.936
<i>P</i>		0.001	0.000	0.000	0.001	0.000

注:与空白对照组、高剂量复合发酵剂组比较^a $P < 0.05$;与 UC 模型组、低剂量复合发酵剂组比较^b $P < 0.05$ 。

2.8 6 组小鼠结肠肠道中乙酸、丙酸及丁酸水平比较 结果见表 5。UC 模型组、山药对照组、低剂量复合发酵剂组和中剂量复合发酵剂组小鼠肠道中乙酸、丙酸、丁酸水平显著低于空白对照组和高剂量复合发酵剂组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。空白对照组与高剂量复合发酵剂组小鼠肠道中乙酸、丙酸、丁酸水平比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。山药对照组、低剂量复合发酵剂组、中剂量复合发酵剂组小鼠肠道中乙酸水平显著高于 UC 模型组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。山药对照组和中剂量复合发酵剂组小鼠肠道中丙酸水平显著高于 UC 模型组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。中剂量复合发酵剂组小鼠肠道中丁酸水平显著高于 UC 模型组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。山药对照组和中剂量复合发酵剂组小鼠肠道中乙酸、丙酸水平显著高于低剂量复合发酵剂组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。山药对照组与中剂量复合发酵剂组小鼠肠道中乙酸、丙酸水平比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。中剂量复合发酵剂组小鼠肠道中丁酸水平显著高于山药对照组和低剂量复合发酵剂组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

表 5 6 组小鼠结肠肠道中乙酸、丙酸及丁酸水平比较

Tab.5 Comparison of the levels of acetic acid, propionic acid and butyric acid in intestinal tract of colon of mice among the six groups

组别	<i>n</i>	乙酸/($\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$)	丙酸/($\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$)	丁酸/($\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$)
空白对照组	10	72.3 ± 8.5	13.2 ± 3.3	16.2 ± 3.6
UC 模型组	10	35.6 ± 3.6 ^a	5.2 ± 0.9 ^a	9.8 ± 1.7 ^a
山药对照组	10	60.3 ± 7.6 ^{abc}	10.7 ± 1.3 ^{abc}	12.2 ± 3.1 ^a
低剂量复合发酵剂组	10	54.7 ± 6.3 ^{ab}	8.2 ± 1.5 ^a	11.2 ± 2.6 ^a
中剂量复合发酵剂组	10	64.9 ± 8.2 ^{abc}	10.2 ± 1.1 ^{abc}	15.2 ± 2.3 ^{acd}
高剂量复合发酵剂组	10	78.2 ± 9.1	14.1 ± 2.2	18.5 ± 4.1
<i>F</i>		12.163	8.863	3.653
<i>P</i>		0.000	0.001	0.031

注:与空白对照组、高剂量复合发酵剂组比较^a $P < 0.05$;与 UC 模型组比较^b $P < 0.05$;与低剂量复合发酵剂组比较^c $P < 0.05$;与山药对照组比较^d $P < 0.05$ 。

药对照组与中剂量复合发酵剂组及 UC 模型组与低剂量复合发酵剂组小鼠结肠肠道中双歧杆菌、乳酸杆菌、拟杆菌、肠杆菌数及 B/E 值比较差异均无统计学意义($P > 0.05$)。

表 4 6 组小鼠结肠肠道中双歧杆菌、乳酸杆菌、拟杆菌、肠杆菌数及 B/E 值比较

Tab.4 Comparison of the number of *bifidobacterium*, *lactobacilli*, *bacteroides*, *enterobacteria* and B/E value in intestinal tract of colon of mice among the six groups

组别	<i>n</i>	双歧杆菌	乳酸杆菌	拟杆菌	肠杆菌	B/E
空白对照组	10	8.6 ± 0.4	7.8 ± 0.4	6.1 ± 0.4	4.0 ± 0.4	1.4 ± 0.0
肠炎模型组	10	7.4 ± 0.3 ^a	5.6 ± 0.4 ^a	7.9 ± 0.4 ^a	5.6 ± 0.4 ^a	0.9 ± 0.0 ^a
山药对照组	10	7.8 ± 0.3 ^a	6.6 ± 0.4 ^{ab}	7.0 ± 0.4 ^{ab}	4.5 ± 0.2 ^{ab}	1.1 ± 0.0 ^{ab}
低剂量复合发酵剂组	10	7.3 ± 0.4 ^a	5.8 ± 0.4 ^a	8.0 ± 0.4 ^a	5.5 ± 0.4 ^a	0.9 ± 0.0 ^a
中剂量复合发酵剂组	10	7.9 ± 0.3 ^a	6.6 ± 0.3 ^{ab}	6.9 ± 0.3 ^{ab}	4.5 ± 0.3 ^{ab}	1.1 ± 0.0 ^{ab}
高剂量复合发酵剂组	10	8.6 ± 0.3	7.9 ± 0.5	6.0 ± 0.5	4.1 ± 0.3	1.4 ± 0.0
<i>F</i>		8.435	17.222	14.711	12.009	339.936
<i>P</i>		0.001	0.000	0.000	0.001	0.000

注:与空白对照组、高剂量复合发酵剂组比较^a $P < 0.05$;与 UC 模型组、低剂量复合发酵剂组比较^b $P < 0.05$ 。

3 讨论

有研究发现,干酪乳杆菌可有效预防或治疗肠道微生物群紊乱相关疾病,在食品发酵工程及生物医药领域受到广泛关注^[9]。益生菌以山药低聚糖作为碳源,分泌酸性化合物、细菌素、苯乳酸等多种抑菌活性物质,并促进益生菌进一步增殖。本研究首次利用干酪乳杆菌(SJP6841L2)制作干酪乳杆菌与山药发酵混合剂,结果发现,干酪乳杆菌与山药发酵后,总菌数较初始总菌数增长(17.8 ± 0.7)倍,且微环境偏于酸性($\text{pH } 3.7$),说明山药的营养物质和酸性条件能够促进干酪乳杆菌生长和增殖。有研究报道,干酪乳杆菌可产生有机酸物质,降低周围环境的 pH 值,形成酸性微环境^[10],这与本研究结果一致。

山药含有丰富的多糖、皂苷类、氨基酸、维生素、脂肪酸等营养成分,具有抗炎、调节免疫、降血糖、抗肿瘤、抗氧化、抑菌等多种生物学功能。而 UC 患者的肠道黏膜机械屏障受损、通透性增高、细胞微环境遭到破坏、黏膜缺血和缺氧,导致营养成分吸收障碍、吸收不充分、营养丢失。益生菌作为活性有益微生物,对胆汁酸和低 pH 值环境具有耐受能力,可提高肠道细胞外消化能力、增加肠道吸收转运载体的表达及维持肠道黏膜屏障。此外,益生菌能增加绒毛高度、增加隐窝深度、降低上皮电阻,维护肠上皮结构完整性,促进营养物质吸收。本研究结果显示,空白对照组和高剂量复合发酵剂组小鼠结肠长度显著长于 UC 模型组、山药对照组、低剂量复合发酵剂组、中剂量复合发酵剂组,结肠厚度显著小于 UC 模型组、山药对照组、低剂量复合发酵剂组、中剂量复

合发酵剂组,结肠组织的重量显著低于 UC 模型组、山药对照组、低剂量复合发酵剂组、中剂量复合发酵剂组;空白对照组与高剂量复合发酵剂组小鼠结肠组织的长度、厚度、重量比较差异无统计学意义;山药对照组和中剂量复合发酵剂组小鼠结肠长度显著长于 UC 模型组和低剂量复合发酵剂组,结肠厚度、重量显著小于 UC 模型组和低剂量复合发酵剂组;山药对照组与中剂量复合发酵剂组小鼠结肠组织的长度、厚度、重量比较差异无统计学意义;UC 模型组与低剂量复合发酵剂组小鼠结肠组织的长度、厚度、重量比较差异无统计学意义。这一结果说明,干酪乳杆菌-山药发酵复合发酵剂能改善 UC 模型小鼠结肠组织损伤,且呈一定剂量关系。此外,本研究结果显示,UC 模型组小鼠结肠组织出现多发小溃疡、水肿、肠壁粘连及出血;山药对照组和低剂量复合发酵剂组小鼠结肠组织出现部分水肿,中剂量复合发酵剂组小鼠出现轻微水肿,高剂量复合发酵剂组和正常组小鼠结肠组织无水肿、溃疡,无血便、腹泻等肠炎表现。UC 模型组小鼠第 2 天出现腹泻、血便、食欲下降等症状;山药对照组和中剂量复合发酵剂组小鼠的症状在第 3 天出现好转,且 8 d 后小鼠体质量无明显变化,毛发光泽度、大便情况、活跃度、饮食、精神状态良好;这说明,干酪乳杆菌-山药复合发酵剂可改善 UC 模型小鼠的水肿、溃疡、血便、腹泻等肠炎表现;推测,干酪乳杆菌-山药复合发酵剂可能通过干酪乳杆菌自身生理代谢功效,形成酸性微环境、改善肠道黏膜屏障、恢复肠上皮结构完整性,防止肠道内山药营养成分流失,提高山药药理功效,促进 UC 的改善。

UC 主要发病机制为结肠组织的中性粒细胞浸润,引起肠黏膜组织炎症反应。IL-8 可在内皮细胞受到炎症刺激时发挥趋化作用,是溃疡性结肠炎早期复发的生物标志。TNF- α 可导致肠道细胞凋亡和炎症反应,引起肠道组织损伤^[11]。有研究报道,乳酸芽孢杆菌液处理的山药可显著抑制肠炎小鼠肠道组织中促炎因子 TNF- α 分泌^[12]。本研究结果显示,空白对照组和高剂量复合发酵剂组小鼠结肠组织中 IL-8、TNF- α 水平及 MPO 活性显著低于 UC 模型组、山药对照组、低剂量复合发酵剂组、中剂量复合发酵剂组,空白对照组与高剂量复合发酵剂组小鼠结肠组织中 IL-8、TNF- α 水平及 MPO 活性比较差异无统计学意义;山药对照组和中剂量复合发酵剂组小鼠

结肠组织中 IL-8、TNF- α 水平及 MPO 活性显著低于 UC 模型组和低剂量复合发酵剂组,山药对照组与中剂量复合发酵剂组及 UC 模型组与低剂量复合发酵剂组小鼠结肠组织中 IL-8、TNF- α 水平及 MPO 活性比较差异无统计学意义;这说明,与单独山药干预比较,干酪乳杆菌-山药复合发酵剂可显著抑制 UC 模型小鼠结肠组织中炎症因子水平,从而减轻肠道炎症反应,且呈一定量效关系。NF- κ B 是免疫调控中一个重要的信号传导因子。UC 发生时 NF- κ B 被激活,然后通过信号通路促进氧化应激,并诱导炎症刺激相关因子如血红素分解代谢过程中限速酶 HO-1 的分泌。本研究结果显示,高剂量复合发酵剂组小鼠结肠组织中 NF- κ B 和 HO-1 水平显著低于 UC 模型组、山药对照组、低剂量复合发酵剂组和中剂量复合发酵剂组,高剂量复合发酵剂组与空白对照组小鼠结肠组织中 NF- κ B 和 HO-1 水平比较差异无统计学意义,山药对照组和中剂量复合发酵剂组小鼠结肠组织中 NF- κ B 和 HO-1 水平显著低于 UC 模型组和低剂量复合发酵剂组,山药对照组与中剂量复合发酵剂组及 UC 模型组与低剂量复合发酵剂组小鼠结肠组织中 NF- κ B 和 HO-1 水平比较差异无统计学意义;这说明,与单独山药干预比较,干酪乳杆菌-山药复合发酵剂能显著降低 UC 模型小鼠的 NF- κ B 和 HO-1 表达,且呈一定量效关系,说明其抗炎机制与 NF- κ B/HO-1 信号通路有关^[13]。此外,本研究结果显示,空白对照组和高剂量复合发酵剂组小鼠结肠组织中 claudin 1、ZO-1 蛋白相对表达量显著高于 UC 模型组、山药对照组、低剂量复合发酵剂组、中剂量复合发酵剂组,空白对照组与高剂量复合发酵剂组小鼠结肠组织中 claudin 1、ZO-1 蛋白相对表达量比较差异无统计学意义,山药对照组和中剂量复合发酵剂组小鼠结肠组织中 claudin 1、ZO-1 蛋白相对表达量显著高于 UC 模型组和低剂量复合发酵剂组,山药对照组与中剂量复合发酵剂组及 UC 模型组和低剂量复合发酵剂组小鼠结肠组织中 claudin 1、ZO-1 蛋白相对表达量比较差异无统计学意义,说明,干酪乳杆菌-山药复合发酵剂能显著促进 UC 模型小鼠肠道组织中 ZO-1^[14] 和 claudin 1^[15] 蛋白的表达,降低肠黏膜通透性、维持肠上皮内环境稳定、有效保护肠黏膜屏障,从而修复肠道组织^[16]。

肠道最重要的益生菌是双歧杆菌和乳酸杆菌^[17-18]。临床研究发现,UC 患者肠道中双歧杆菌

和乳酸菌数量显著少于健康人群,说明肠道益生菌群失衡与 UC 具有重要关系^[19]。有研究也证实,补充双歧杆菌可显著降低中度活动期溃疡性结肠炎老年患者结肠组织中 IL-6、TNF- α 表达,说明肠道内有益菌增加可缓解或改善 UC 的发生和发展。本研究结果显示,空白对照组和高剂量复合发酵剂组小鼠肠道中双歧杆菌、乳酸杆菌数及 B/E 值显著高于 UC 模型组、山药对照组、低剂量复合发酵剂组、中剂量复合发酵剂组,拟杆菌、肠杆菌数显著低于 UC 模型组、山药对照组、低剂量复合发酵剂组、中剂量复合发酵剂组;空白对照组与高剂量复合发酵剂组小鼠肠道中双歧杆菌、乳酸杆菌、拟杆菌、肠杆菌数及 B/E 值比较差异无统计学意义;山药对照组和中剂量复合发酵剂组小鼠肠道中乳酸杆菌数及 B/E 值显著高于 UC 模型组和低剂量复合发酵剂组,拟杆菌、肠杆菌数显著低于空白对照组和高剂量复合发酵剂组;山药对照组和中剂量复合发酵剂组小鼠肠道中双歧杆菌、乳酸杆菌、拟杆菌、肠杆菌数及 B/E 值比较差异无统计学意义;这说明,干酪乳杆菌-山药复合发酵剂能显著提高 UC 小鼠肠道中双歧杆菌和乳酸杆菌,降低拟杆菌、肠杆菌数,使其 B/E 值恢复到正常水平,从而调节肠道菌群平衡。

益生菌通过代谢能合成多种生物酶和氨基酸等人体必需营养元素,参与肠道中营养物质的消化和吸收^[20-21]。本研究结果显示,UC 模型组、山药对照组、低剂量复合发酵剂组和中剂量复合发酵剂组小鼠肠道中乙酸、丙酸、丁酸水平显著低于空白对照组和高剂量复合发酵剂组;空白对照组与高剂量复合发酵剂组小鼠肠道中乙酸、丙酸、丁酸水平比较差异无统计学意义;山药对照组、低剂量复合发酵剂组、中剂量复合发酵剂组小鼠肠道中乙酸水平显著高于 UC 模型组;山药对照组和中剂量复合发酵剂组小鼠肠道中丙酸水平显著高于 UC 模型组;中剂量复合发酵剂组小鼠肠道中丁酸水平显著高于 UC 模型组;山药对照组和中剂量复合发酵剂组小鼠肠道中乙酸、丙酸水平显著高于低剂量复合发酵剂组;山药对照组与中剂量复合发酵剂组小鼠肠道中乙酸、丙酸水平比较差异无统计学意义;中剂量复合发酵剂组小鼠肠道中丁酸水平显著高于山药对照组和低剂量复合发酵剂组;这说明,干酪乳杆菌-山药复合发酵剂较单一山药干预能更显著地促进乙酸、丙酸、丁酸等氨基酸分泌,调节肠道菌群。因此认为,干酪乳

杆菌 SJP6841L2 与山药体外发酵,可促进山药的分解并提高营养成分吸收,从而提高山药膳食利用价值,但该作用机制有待进一步深入探讨。

总之,本研究制备的干酪乳杆菌与山药发酵复合发酵剂,能显著抑制肠道组织中 IL-8、TNF- α 表达及 MPO 活性,促进肠道上调紧密连接蛋白表达及短链脂肪酸产生,调节 UC 肠道菌群平衡,从而达到改善 UC 的目的,这为制定根除治疗 UC 的山药营养膳食策略提供依据。

参考文献:

[1] 孙晋洁,王丽华,何伯圣,等. 炎症性肠病营养护理研究进展[J]. 实用临床医药杂志,2021,25(8):124-128,132.
SUN J J, WANG L H, HE B S, et al. Research progress of nutrition nursing in patients with inflammatory bowel disease[J]. *J Clin Med Pract*, 2021, 25(8):124-128, 132.

[2] DAI Z F, MA X Y, YANG R L, et al. Intestinal flora alterations in patients with ulcerative colitis and their association with inflammation[J]. *Exp Ther Med*, 2021, 22(5):1322.

[3] 陶柱萍,龙宇,李灿委,等. 肠道菌群在中草药抗溃疡性结肠炎中的作用[J]. 药学学报,2021,56(2):391-402.
TAO Z P, LONG Y, LI C W, et al. Role of gut microbiota in the treatment of ulcerative colitis with traditional Chinese medicine[J]. *Acta Pharm Sinica*, 2021, 56(2):391-402.

[4] 张子怡,钟亚东,胡婕伦. 山药多糖调控肠道菌群的研究进展[C]. //2021 中国食品科学技术学会第十八届年会论文集, 2022:176-177.
ZHANG Z Y, ZHONG Y D, HU J L. Advances in studies on Chinese yam polysaccharide regulating gut microbiota [C]. //Abstracts of the 18th Annual Meeting of China Society of Food Science and technology, 2022:176-177.

[5] 姜林娟,郑志,朱绍辉,等. 酪酸梭菌-糯米复合发酵液对鼠伤寒沙门菌的抑制作用及其对鼠伤寒沙门菌感染小鼠肠道分泌型免疫球蛋白 A 的影响[J]. 新乡医学院学报,2022,39(2):113-121.
JIANG L J, ZHENG Z, ZHU S H, et al. Inhibitory effect of *Clostridium butyricum*-glutinous rice compound fermentation liquid on *Salmonella typhimurium* and its effect on secretory immunoglobulin A in intestine of mice infected with *Salmonella typhimurium*[J]. *J Xinxiang Med Univ*, 2022, 39(2):113-121.

[6] 姜林娟,朱绍辉,郑志,等. 植物乳杆菌-辣椒复合发酵剂对肥胖 2 型糖尿病小鼠的减肥及降血糖作用[J]. 郑州大学学报(医学版),2022,57(2):206-211.
JIANG L J, ZHU S H, ZHENG Z, et al. Effect of *Lactobacillus Plantarum*-capsicum fermentation agent on obesity and hyperglycemia in obese type 2 diabetes mice[J]. *J Zhengzhou Univ (Med Sci)*, 2022, 57(2):206-211.

- [7] 郑志,姜林娟,朱绍辉,等. 益生菌-海带复合发酵液对肥胖大鼠肠道菌群的影响及抗肥胖效果[J]. 郑州大学学报(医学版), 2022,57(3):308-314.
- ZHENG Z,JIANG L J,ZHU S H,*et al.* Gut microbes and anti-obesity effect of the probiotic and sea-tent fermentation liquid on obese rats[J]. *J Zhengzhou Univ (Med Sci)*, 2022,57(3):308-314.
- [8] 姜林娟,郑志,朱绍辉,等. 益生菌植物乳杆菌、鼠李糖乳杆菌、罗伊乳杆菌对医院常见致病病原菌的抑菌作用[J]. 新乡医学院学报,2022,39(6):501-506.
- JIANG L J,ZHENG Z,ZHU S H,*et al.* Antibacterial effect of *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus rhamnosus* and *Lactobacillus reuteri* on common pathogenic bacteria in hospital[J]. *J Xinxiang Med Univ*, 2022,39(6):501-506.
- [9] HILL D,SUGRUE I, TOBIN C, *et al.* The *Lactobacillus casei* group: history and health related applications[J]. *Front Microbiol*, 2018,19:2107.
- [10] 王旭,曹春振,杨志馨,等. 干酪乳杆菌 HDS-01 发酵对酸菜品质和细菌群落结构的影响[J]. 食品工业科技,2022,43(16):158-166.
- WANG X,CAO C Z,YANG Z X,*et al.* Effect of *Lactobacillus casei* HDS-01 on the quality index and bacterial community structure of sauerkraut[J]. *Sci Technol Food Ind*, 2022,43(16):158-166.
- [11] HU L H,LIU J Y,YIN J B. Eriodictyol attenuates TNBS-induced ulcerative colitis through repressing TLR4/NF- κ B signaling pathway in rats[J]. *Kaohsiung J Med Sci*, 2021,37(9):812-818.
- [12] 张慧莹,曾丽萍,任运红,等. 乳酸芽孢杆菌发酵液护色的山药多糖对葡聚糖硫酸钠诱导的小鼠结肠炎的改善作用及机制[J]. 食品科学,2022,43(9):120-127.
- ZHANG H Y,ZENG L P,REN Y H,*et al.* Ameliorative effect of polysaccharides from Chinese Yam treated with the fermentation broth of *Bacillus* sp. to inhibit browning on dextran sulfate sodium-induced colitis in mice[J]. *Food Sci*, 2022,43(9):120-127.
- [13] ARKALI G,AKSAKAL M,KAYA S Ö. Protective effects of carvacrol against diabetes-induced reproductive damage in male rats: modulation of Nrf2/HO-1 signaling pathway and inhibition of NF- κ B-mediated testicular apoptosis and inflammation[J]. *Andrologia*, 2021,53(2):e13899.
- [14] MOHAMAD NOR M H, AYOB N, MOKHTAR N M, *et al.* The effect of probiotics (MCP[®] BCMC[®] Strains) on hepatic steatosis, small intestinal mucosal immune function, and intestinal barrier in patients with non-alcoholic fatty liver disease[J]. *Nutrients*, 2021,13(9):3192.
- [15] AN J,HA E M. Lactobacillus-derived metabolites enhance the antitumor activity of 5-FU and inhibit metastatic behavior in 5-FU-resistant colorectal cancer cells by regulating claudin-1 expression[J]. *J Microbiol*, 2020,58(11):967-977.
- [16] WANG Y,LIU J,HUANG Z,*et al.* Coptisine ameliorates DSS-induced ulcerative colitis via improving intestinal barrier dysfunction and suppressing inflammatory response[J]. *Eur J Pharmacol*, 2021,896:173912.
- [17] 郑志,朱瑜,姜林娟,等. 益生菌摄入对低纤维饮食小鼠肠道菌群失衡的影响[J]. 郑州大学学报(医学版), 2022,57(5):677-683.
- ZHENG Z,ZHU Y,JIANG L J,*et al.* Effects of probiotics on gut microbial imbalance caused by low-fiber diets in mice[J]. *J Zhengzhou Univ(Med Sci)*, 2022,57(5):677-683.
- [18] EL-SHARKAWY H,TAHOUN A,RIZK A M,*et al.* Evaluation of *Bifidobacteria* and *Lactobacillus* probiotics as alternative therapy for salmonella typhimurium infection in broiler chickens[J]. *Animals (Basel)*, 2020,10(6):1023.
- [19] 梁雁玲,许瑾,聂煜哲. 复方嗜酸乳杆菌联合赖氨酸锌颗粒治疗小儿腹泻的作用机制及临床疗效观察[J]. 当代医学, 2021,27(2):1-5.
- LIANG Y L,XU J,NIE Y Z. Mechanism of action and clinical efficacy of compound *Lactobacillus acidophilus* combined with lysine zinc gluconate granules in treating children with diarrhea[J]. *Contemp Med*, 2021,27(2):1-5.
- [20] 郑志,姜林娟,朱瑜,等. 鞣花酸对 DSS 诱导的溃疡性结肠炎小鼠的改善及对 COX2/p38/JNK/ERK/I κ B- α /NF- κ B 和 iNOS/3-NT/CYP2E1 信号通路的作用[J]. 食品与药品, 2022,24(4):295-300.
- ZHENG Z,JIANG L J,ZHU Y,*et al.* Ameliorating effect of ellagic acid on ulcerative colitis in mice induced by DSS and its effect on COX2/p38/JNK/ERK/I κ B- α /NF- κ B and iNOS/3-NT/CYP2E1 signal pathways[J]. *Food Drug*, 2022,24(4):295-300.
- [21] ZHENG Z, PARK J K, JIANG L, *et al.* Beneficial effects of fermentation of red chili pepper using *Lactococcus lactis* subs. *cremoris* RPG-HL-0136 in high-fat diet-induced obese mice[J]. *J Med Food*, 2023,26(2):81-92.

(本文编辑:周二强)