熊果酸对酒精性肝损伤大鼠肠道微生态的影响

马浩然[1]，张男男[1]，张文龙[2]，李可欣[1]，贾海莲[1]，戈娜[1*]

（1.包头医学院营养与食品健康研究所，2.包头医学院第一附属医院）

前言

酒精性肝损伤又称酒精性肝病(alcoholic liver disease，ALD)，是指长期大量饮酒所致的肝损伤，也是导致肝癌甚至急性肝衰竭最常见的诱因之一。越来越多的研究显示，酒精能够引起肝细胞损伤，肠道菌群改变，肠道细菌代谢产物易位，这些均揭示出肠道菌群在酒精诱导的肝损伤中扮演的重要角色 。熊果酸(Ursolic Acid，UA)又名乌索酸，乌苏酸，香树脂醇，是一种弱酸性五环三萜类化合物，分子式为$C_{30}H_{48}O_3$，其不仅具有抗炎、抑菌、抗氧化、免疫调节等多种生物学效应，而且具有活性强、安全性高、毒性低(口服LD50为8330 mg/kg)等特性。既往有研究发现熊果酸对酒精性肝损伤有保护作用，但机制不明。本次研究应用ERIC-PCR和PCR-DGGE指纹图谱分析以及real-time PCR技术等方法将探讨熊果酸对酒精性肝损伤大鼠肠道菌群的影响，以期为后续熊果酸对酒精性肝损伤的保护作用机制研究提供可参考的依据，同时也为酒精性肝损伤的防治提供新思路。

目的

探讨熊果酸(Ursolic Acid，UA)补充对酒精性肝损伤大鼠肠道菌群的影响，为酒精性肝损伤的防治拓展新思路。

方法

健康2月龄雄性Wistar大鼠30只随机分为3组（每组10只）：正常对照组：每日给予生理盐水灌胃1次，持续8周；酒精模型组：每日给予50%（V/V）酒精8ml/(kg•bw•d)灌胃2w，第3周把酒精剂量提高至12ml/(kg•bw•d)，持续灌胃6w；熊果酸干预组：每日分别给150mg/(kg•bw•d)熊果酸，1h后再灌酒精，剂量同模型组，实验持续8周。末次灌胃12小时后，麻醉取血，同时留取肝脏组织及粪便。观察各组大鼠肝脏组织病理学变化；检测血清转氨酶活性以及大鼠血浆内毒素水平；检测血浆D-乳酸(D-LA)含量；ERIC-PCR、PCR-DGGE技术获取粪便肠道菌群指纹图谱，并进行大鼠肠道菌群多样性分析；real-time PCR技术检测各组大鼠肠道内大肠杆菌和长双歧杆菌的含量。

结果

1 熊果酸干预对酒精暴露大鼠肝脏组织病理学改变的影响

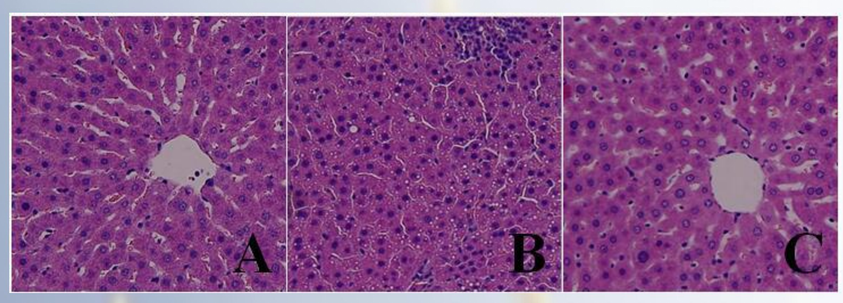

图1 HE染色观察大鼠肝脏组织的病理学改变（×400）

注：A.正常对照组；B.酒精模型组；C.熊果酸干预组

2 熊果酸干预对酒精诱导肝损伤大鼠血清转氨酶活性的影响

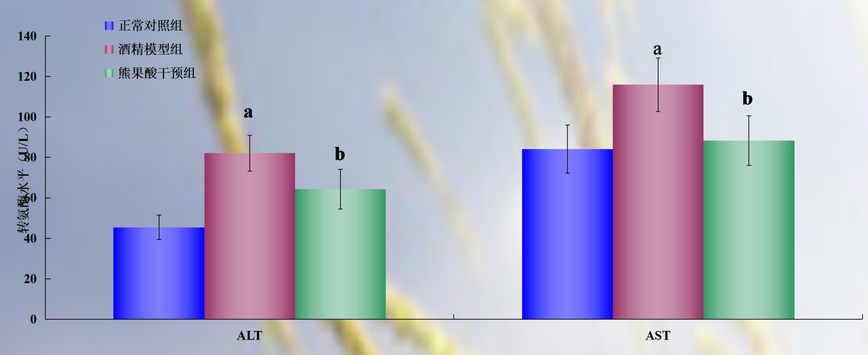

图2 熊果酸对酒精性肝损伤大鼠血清转氨酶水平的影响

注：与正常组对照组比较，[a] $P<0.05$；与酒精模型组比较，[b] $P<0.05$

3 UA对酒精性肝损伤大鼠血浆中D-LA和内毒素水平的影响

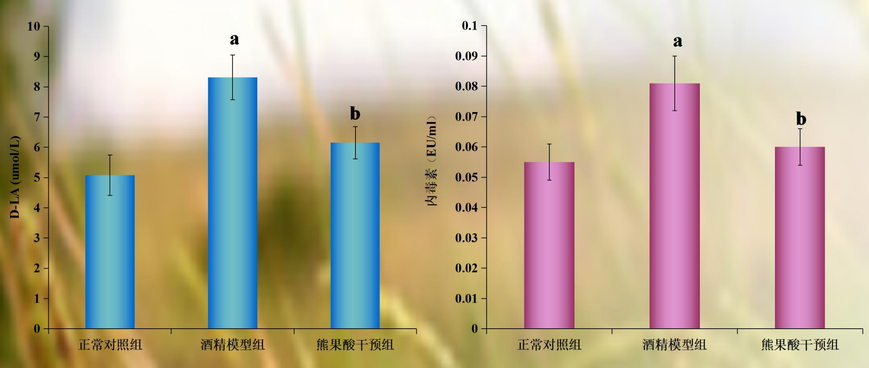

图3 UA对大鼠血浆D-LA水平的影响　　图4 UA对大鼠血浆内毒素水平的影响

注：与正常组对照组比较，[a] $P<0.05$；与酒精模型组比较，[b] $P<0.05$

4 各组大鼠肠道菌群ERIC-PCR指纹图谱分析

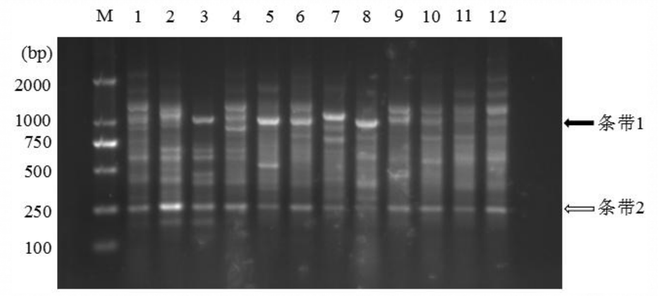

图5 各组大鼠粪便肠道菌群ERIC-PCR指纹图谱分析

注：M:DL2000 Marker；1-4 正常对照组；5-8酒精模型组；9-12熊果酸干预组

5 各组大鼠粪便总DNA提取及PCR-DGGE指纹图谱分析

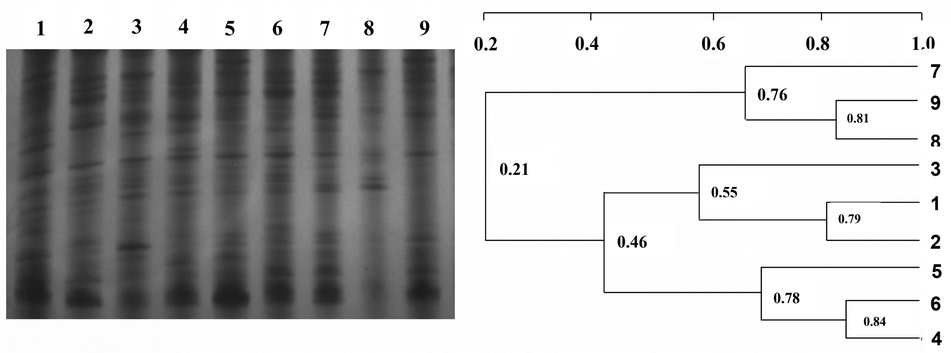

图6 各组DGGE图谱中肠道菌群的变化以及UPGMA聚类分析

注： 1.2.3分组为正常对照组；4.5.6分组为熊果酸干预组；7.8.9分组为酒精模型组

6 粪便中特定菌株的定量分析

表1 熊果酸对酒精暴露大鼠肠道菌群特定菌株的定量分析比较[M(P25，P75), n=10]

组别	长双歧杆菌	大肠杆菌
正常对照组	4.4303(4.3883, 4.5061)	2.2999(1.8135,2.8129)
酒精模型组	3.8237(2.8914,4.2283)[a]	4.3941(3.3669,6.4162)[a]
UA干预组	4.2163(3.9162,5.0178)[b]	3.2910(2.2770,3.9276)[b]

注：与正常组对照组比较，[a] $P<0.05$；与酒精模型组比较，[b] $P<0.05$

结论

适量的补充UA能够有效改善酒精引起的大鼠肝脏损伤，其作用机制可能与UA调节酒精引起的肠道菌群结构和数量的改变，改善肠道微生态有关。