

DOI:10.13350/j.cjpb.230709

• 论著 •

# 日本血吸虫感染小鼠肝脏炎症反应与肠道菌群谱的相关性研究\*

梅丛进, 杨莹莹, 董盼盼, 宋丽君, 周永华, 许永良, 余传信\*\*

(江苏省血吸虫病防治研究所, 国家卫生健康委员会寄生虫病预防与控制技术重点实验室, 江苏无锡 214064)

**【摘要】** 目的 观察和分析 C57BL/6J 小鼠感染日本血吸虫后肝脏病变与肠道菌群变化的相关性。方法 将 10 只 6 周龄的 C57BL/6J 小鼠随机分为健康对照组和日本血吸虫感染组。感染组每只小鼠感染(15(1)条日本血吸虫尾蚴。在感染后的第 7 周解剖小鼠, 取肝脏组织, 1) 经石蜡包埋后进行 HE 和 Masson 染色检查; 2) 采用比色法测定羟脯氨酸(HYP)含量; 3) 提取肝组织的 mRNA, 采用 RT-PCR 检测炎症因子 IL-1b 和 TGF-b 的 mRNA 水平; 4) 留取小鼠粪便, 委托华大基因公司进行微生物多样性检测。结果 小鼠肝脏切片经 HE 和 Masson 染色后检查, 感染组平均单个肉芽肿和胶原面积在感染后 7 周分别为  $148\ 532\ \mu\text{m}^2$  和  $193\ 209\ \mu\text{m}^2$ 。健康对照组和感染组羟脯氨酸含量分别为 0.18 和 0.34  $\mu\text{g}/\text{mg}$ , 差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。RT-PCR 检测健康对照组和感染组炎症因子 IL-1b mRNA 相对表达量分别为 1.06 和 8.33, 差异有统计学意义( $P < 0.01$ ); 纤维化因子 TGF-b mRNA 相对表达量分别为 1.05 和 9.58, 差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。粪便 16s 多样性分析显示, 感染组小鼠肠道菌群的 Shannon 指数低于健康对照组, Simpson 指数高于健康对照组。门水平物种组成分析显示, 血吸虫感染小鼠粪便中厚壁菌门(Firmicutes)丰度显著下调( $P < 0.05$ )。在属水平, 感染小鼠粪便中拟杆菌属(*Bacteroides*), 帕拉普菌(*Paraprevotella*), 螺杆菌属(*Helicobacter*)的相对丰度均显著上调(均  $P < 0.05$ ), 粪球菌属相对丰度显著下调( $P < 0.05$ )。对差异菌属与 IL-1b、TGF-b 和 HYP 进行环境因子关联分析, 其中拟杆菌属、帕拉普菌和螺杆菌属丰度与 IL-1b、TGF-b、HYP mRNA 水平呈正相关, 粪球菌属丰度与上述炎症因子 mRNA 相对水平呈负相关。结论 小鼠感染日本血吸虫后肝脏虫卵肉芽肿样病变及炎症因子的 mRNA 相对表达水平变化与其肠道菌群组成的变化相关, 拟杆菌属、帕拉普菌和螺杆菌属丰度与炎症因子及纤维化因子的 mRNA 水平呈正相关, 粪球菌属丰度与上述炎症因子 mRNA 水平呈负相关。

**【关键词】** 日本血吸虫; 虫卵肉芽肿炎症; 肠道菌群; 相互关系

**【中图分类号】** R383.24

**【文献标识码】** A

**【文章编号】** 1673-5234(2023)07-0793-06

[*Journal of Pathogen Biology*. 2023 Jul;18(7):793-798.]

## Correlation between liver inflammation and intestinal flora in mice infected with *Schistosoma japonicum*

MEI Congjin, YANG Yingying, DONG Panpan, SONG Lijun, ZHOU Yonghua, XU Yongliang, YU Chuanxin (*Jiangsu Institute of Parasitic Diseases, National Health Commission Key Laboratory of Parasitic Disease Control and Prevention, Wuxi 214064, Jiangsu, China*)\*\*\*

**【Abstract】** **Objective** The aim of this study is to observe and analyze the correlation between liver lesions and intestinal flora in C57BL/6J mice infected with *Schistosoma japonicum*. **Methods** 10 mice (6-week-old) were randomly divided into 2 groups, healthy control group and *Schistosoma japonicum*-infected group. Each mouse in the infected group was infected with 15 *Schistosoma japonicum* caecal larvae. The liver tissues were dissected at the 7th week after infection to perform the following analysis: 1) After paraffin embedding, HE and Masson staining were performed; 2) The content of hydroxyproline (HYP) was determined by colorimetry; 3) The mRNA was extracted from the liver tissues, and the expression levels of inflammatory factors IL-1b and TGF-b in the liver tissues were analyzed by RT-PCR; 4) The feces of mice were collected and tested for microbial diversity by BGI Tech. **Results** After HE and Masson staining, the average area of single granuloma and collagen in the infected group was  $148\ 532\ \mu\text{m}^2$  and  $193\ 209\ \mu\text{m}^2$ , respectively. The content of hydroxyproline in healthy control group and infection group was 0.18 and 0.34  $\mu\text{g}/\text{mg}$ , respectively, and the difference was statistically significant ( $P < 0.01$ ). The mRNA expression levels of IL-1b mRNA in healthy control group and

\* **【基金项目】** 无锡市科技发展基金项目(No. N20202040); 无锡市卫生健康委科研项目(No. Q201937, Q202001); 江南大学公共卫生研究中心青年项目(No. JHPU201834); 所级人才项目(No. JHPU-RC-202005)。

\*\* **【通讯作者】** 余传信, E-mail: chxnyu@163.com

**【作者简介】** 梅丛进(1990-), 女, 江苏人, 硕士, 助理研究员。研究方向: 血吸虫感染与免疫学。E-mail: meicongjin@163.com  
梅丛进和杨莹莹为共同第一作者

infection group were 1.06 and 8.33, respectively, and the differences were statistically significant ( $P < 0.01$ ); the mRNA expression levels of fibrosis factor TGF- $\beta$  were 1.05 and 9.58, respectively, and the difference was statistically significant ( $P < 0.01$ ). 16s feces diversity analysis showed that the Shannon index of intestinal flora in infected group was lower than that in healthy control group, and Simpson index was higher than that in healthy control group. Analysis of phylum level species composition showed that the abundance of Firmicutes in infected mice feces was significantly decreased ( $P < 0.05$ ). At the genus level, the relative abundance of *Bacteroides*, *Paraprevotella* and *Helicobacter* in infected mice feces was significantly up-regulated ( $P < 0.05$ ), the relative abundance of *Coproccoccus* was significantly decreased ( $P < 0.05$ ). The correlation analysis of environmental factors between different bacteria and IL-1 $\beta$ , TGF- $\beta$  and HYP showed that the abundance of *Bacteroides*, *Paradulococcus* and *Helicobacter* were positively correlated with the mRNA levels of IL-1 $\beta$ , TGF- $\beta$  and HYP, while the abundance of *Coproccoccus* was negatively correlated with the relative mRNA levels of the above inflammatory factors. **Conclusion** The changes of liver egg granulomatous lesions and the mRNA expression levels of inflammatory factors in *Schistosoma japonicum* infected mice are related to the changes of intestinal flora. The abundance of *Bacteroides*, *Palaphumella* and *Helicobacter* were positively correlated with the mRNA levels of inflammatory factors and fibrosis factors, while the abundance of *Coproccoccus* was negatively correlated with the mRNA levels of these inflammatory factors.

**【Key words】** *Schistosoma japonicum*; granulomatous inflammation; intestinal flora; interrelationship

血吸虫病是一种危害严重的人兽共患寄生虫病,广泛分布于热带和亚热带地区,全球感染人数超过2.5亿<sup>[1]</sup>。我国是日本血吸虫病主要流行区,该病曾经是我国重要的公共卫生问题之一。寄生于宿主门静脉系统的日本血吸虫成虫产卵,并沉积于肝、肠组织,引起肝、肠组织肉芽肿和纤维化<sup>[2]</sup>。滞留在肝脏和肠壁中的虫卵是主要的致病因素,其分泌的虫卵抗原可引起肝脏及肠壁黏膜肉芽肿炎症。研究显示,肠道菌群的数量是人体细胞数量的10倍以上,被称为人体隐藏器官<sup>[3]</sup>。虫卵沉积肠道组织,改变肠道的渗透能力和微生态,导致肠道菌群紊乱,进而使微生物产物脂多糖(Lipopolysaccharide, LPS)等通过肠肝轴循环被肝脏细胞上的免疫受体(如枯否细胞和肝星状细胞)识别,启动并维持炎症的级联反应,影响血吸虫感染肝纤维化病变的进程<sup>[4-5]</sup>。越来越多的研究表明,肠道菌群不仅可作为一个生物标记,并有可能成为一个治疗靶点<sup>[6]</sup>。本研究拟观察日本血吸虫感染小鼠的肝脏病理变化,并检测炎症因子IL-1 $\beta$ 及纤维化因子TGF- $\beta$  mRNA水平变化,分析这些变化与肠道菌群变化的相关性,为基于肠肝轴探索肝纤维化形成机制以及通过调节菌群平衡改善血吸虫病肝脏炎症提供实验依据。

## 材料与amp;方法

### 1 材料

**1.1 主要试剂和仪器** XD-20型光学显微镜购于宁波舜宇仪器有限公司;BX51型倒置显微镜购于日本OLYMPUS公司;HE染色试剂盒和Masson染色试剂盒购于索莱宝公司,货号分别为G1120和G1346。生物组织切片机购于北京轩泰仪公司;Trizol(总RNA抽提试剂)和反转录试剂盒购于瑞士罗氏公司;

羟脯氨酸(Hydroxyproline, HYP)试剂盒购于南京建成公司。

**1.2 实验动物和感染性钉螺** 7周龄C57BL/6J小鼠10只,体重(20 $\pm$ 2)g,购于扬州大学,采用SPF级小鼠标准饲料及无菌水喂养,实验期间小鼠自由饮食饮水。日本血吸虫江苏株感染性钉螺由江苏省血吸虫病防治研究所钉螺室提供。将感染性钉螺置于20~25℃脱氯水中白炽灯光照2h孵出血吸虫尾蚴。

本研究遵循《中华人民共和国科学技术部实验动物照顾与使用指南》(【2006】398号)。所有实验操作均按照《中华人民共和国实验室生物安全通用要求》(GB19489-2008)执行,并获得江苏省血吸虫病防治研究所伦理许可,伦理批号【2020】12。

### 2 方法

**2.1 日本血吸虫感染小鼠模型的建立** 将小鼠固定于绑鼠板上,手动拔除小鼠腹部毛发(约3cm<sup>2</sup>)。挑取(15 $\pm$ 1)条尾蚴于盖玻片上,然后将盖玻片贴于小鼠腹部20min,使日本血吸虫尾蚴经小鼠腹部裸露皮肤进入小鼠体内。

**2.2 动物分组及处理** 将10只小鼠随机分成2组,健康对照组(WT组,不作任何处理)和日本血吸虫感染模型组(WTSJ组),每组5只。WTSJ组于感染后第7周处死小鼠,打开腹腔,经门静脉灌注柠檬酸钠溶液进行冲虫,计数每只小鼠的虫荷。取出肝脏右后叶,称重后放入4%KOH溶液中37℃消化24h,在倒置相差显微镜下进行虫卵计数,计算每克肝脏组织的虫荷。每克肝脏中虫卵的数量=右后叶肝脏组织中虫卵的总数/右后叶肝脏重量。取出肝脏右前叶,用4%多聚甲醛固定,用于制作肝脏病理切片。取肝脏左内叶30~100mg,放于Trizol中,用于mRNA检测。取肝

脏左外叶 30~100 mg,用于 HYP 测定。

**2.3 肝脏 HE 染色和 Masson 染色检查** 小鼠肝脏经 4%多聚甲醛固定后常规石蜡包埋,在石蜡切片机上连续切取 4  $\mu\text{m}$  厚的切片<sup>[7]</sup>,60  $^{\circ}\text{C}$  烤片后根据索莱宝 HE 染色和 Masson 染色试剂盒说明书进行染色,倒置显微镜下观察并拍照。取 25 个单个虫卵肉芽肿,计算其平均面积。

**2.4 16S rDNA 测序及分析** 取新鲜小鼠粪便,提取 DNA 后进行 16S rDNA 高通量测序。采用细菌通用引物扩增 16S 的 V3-V4 区,扩增产物经过纯化和质检后通过 HiSeq 平台进行测序。粪便 DNA 提取、扩增与测序均委托华大基因公司完成,并对测序结果进行  $\alpha$  多样性分析,物种组成分析,关键物种差异比较分析和环境因子关联分析等。

**2.5 HYP 测定** 小鼠肝脏组织羟脯氨酸(HYP)的测定参照羟脯氨酸试剂盒(编号:A030-2-1,南京建成生物工程研究所)的说明书进行。

**2.6 统计学分析** 采用 GraphPad Prism 5 进行统计学分析。计量资料的分析采用  $t$  检验、Mann Whitney  $u$  检验、Kruskal Wallis 检验、秩和检验、单因素方差分析(one-way ANOVA)和 spearman 相关分析, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 结 果

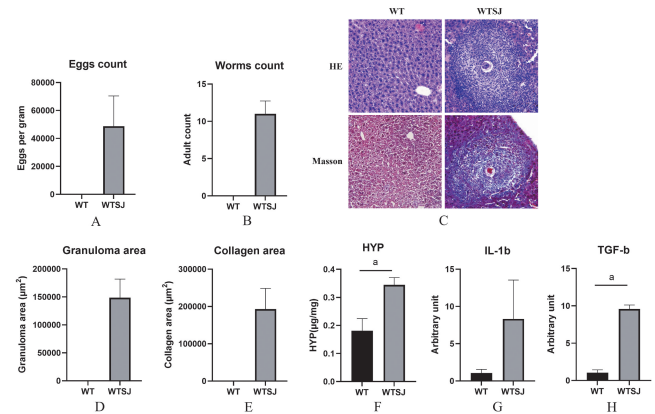
### 1 日本血吸虫感染小鼠肝脏炎症反应

小鼠感染日本血吸虫后 7 周,肝门静脉和肠系膜的成虫总数量为(11.00 $\pm$ 1.00)条/只(图 1B),虫卵数量为(48 672.80 $\pm$ 12 573.98)个/g(图 1A)。HE 染色后显微镜下观察,未感染日本血吸虫小鼠的肝脏结构和形态正常,感染日本血吸虫小鼠的肝脏可见有虫卵沉积,且虫卵周围有大量炎症细胞浸润,形成虫卵肉芽肿样病变,平均单个虫卵肉芽肿的面积为 148 532  $\mu\text{m}^2$ (图 1C)。Masson 染色结果显示,感染后肉芽肿附近已有胶原纤维出现(图 1D)。比色法测定肝脏组织 HYP 含量,健康对照组和感染组分别为(0.18 $\pm$ 0.02) $\mu\text{g}/\text{mg}$ 和(0.34 $\pm$ 0.01) $\mu\text{g}/\text{mg}$ ,组间比较差异有统计学意义( $t = 5.625, P < 0.01$ )(图 1F)。健康对照组和感染组小鼠肝脏炎症因子 IL-1b 的 mRNA 相对表达量分别为 1.06 $\pm$ 0.28 和 8.32 $\pm$ 3.01,感染后呈现上升趋势(图 1G);健康对照组和感染组 TGF- $\beta$  mRNA 相对表达量分别为 1.04 $\pm$ 0.21 和 9.57 $\pm$ 0.31,差异有统计学意义( $t = 22.43, P < 0.01$ )(图 1H)。

### 2 血吸虫感染鼠肠道菌群 $\alpha$ 多样性

(多样性是对样品中物种多样性进行分析,包括 Shannon 指数和 Simpson 指数等。Shannon 指数和

Simpson 指数反映的是群落多样性。Shannon 值越大,Simpson 值越小,说明群落多样性越高。健康对照组和感染组小鼠的 Shannon 指数分别为 4.05 $\pm$ 0.15 和 3.94 $\pm$ 0.17,Simpson 指数分别为 0.06 $\pm$ 0.015 和 0.09 $\pm$ 0.02。可以看出,感染后 Shannon 指数降低(图 2A),而 Simpson 指数升高(图 2B),说明感染后小鼠肠道菌群的  $\alpha$  多样性下降。



A 虫卵计数 B 成虫计数 C HE 和 Masson 染色 D 虫卵肉芽肿统计图 E 胶原面积统计图 F 羟脯氨酸含量 GIL-1b 的 mRNA 表达水平 HTGF- $\beta$  的 mRNA 表达水平(a 组间比较, $P < 0.01$ )

图 1 日本血吸虫感染鼠肝脏病变及炎症因子 mRNA 表达水平

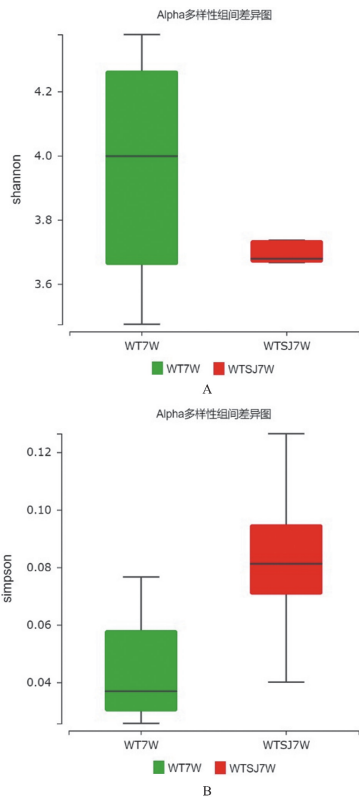
A Egg per gram B Adult count C HE and Masson staining D Statistical chart of egg granuloma E Statistical chart of collagen area F Content of hydroxyproline G mRNA expression level of IL-1b H mRNA expression level of TGF- $\beta$ (<sup>a</sup>  $P < 0.01$ ).

Fig. 1 Liver lesions and inflammatory factors in mice infected with *S. japonicum*

### 3 血吸虫感染小鼠肠道菌群门、属水平的物种组成以及关键物种丰度差异分析

通过 Source Tracker 物种来源分析,对 OTU 进行物种分类。在门水平和属水平(属水平上,物种丰度在所有样品中均低于 0.5% 的物种全部合并为 Others)对各样品作物种丰度柱状图。其中门水平的物种相对丰度柱状图(图 3A)显示,小鼠肠道菌群主要由厚壁菌门(*Firmicutes*)、拟杆菌门(*Bacteroides*)组成。健康对照组小鼠肠道拟杆菌门和厚壁菌门的比例为 90.42%,而感染后的比例为 77.20%,呈现下降趋势。对门水平上丰度排名前 10 的物种进行关键物种差异分析,其中厚壁菌门在感染后显著下降( $t = 3.050, P < 0.05$ )(图 4A)。属水平物种相对丰度柱状图(图 3B)显示,日本血吸虫感染小鼠肠道菌群与健康对照组小鼠相比发生显著改变。对属水平上丰度排名前 10 的物种进行关键物种差异分析,拟杆菌属(*Bacteroides*),帕拉普菌(*Paraprevotella*),螺杆菌属(*Helicobacter*)相对丰度显著上升(均  $P < 0.05$ ),粪球菌属(*Coprococcus*)相对丰度显著下降( $P < 0.05$ )(图 4B)。





A Shannon 指数 B Simpson 指数  
图 2 日本血吸虫感染小鼠肠道菌群 α 多样性变化  
A Shannon index B Simpson index  
Fig. 2 diversity of intestinal microflora in mice infected with *S. japonicum*

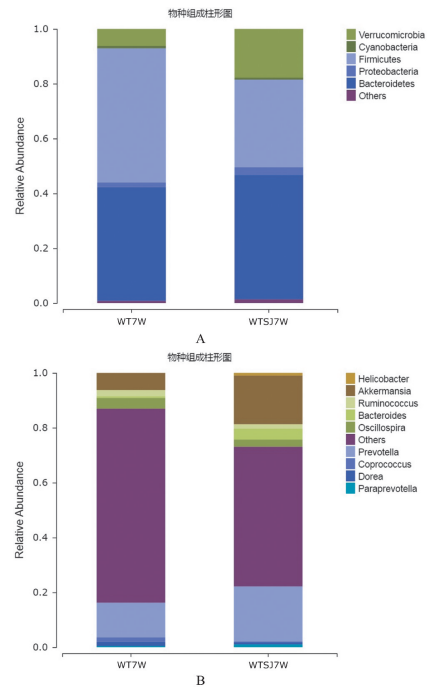
#### 4 环境因子关联分析

为了明确不同炎症因子和纤维化因子与肠道微生物菌群变化的关系,将属水平上的差异物种与这些因子进行相关性分析,从而得到与这些因子相关的物种信息。其中对健康对照组和日本血吸虫感染组间肠道菌群属水平差异物种分析采用秩和检验,差异物种与表型(HYP, IL-1b, TGF-b)的相关性采用 spearman 相关分析,结果如图 5。帕拉普菌与 HYP 呈现显著正相关( $r=0.669, P<0.05$ ),拟杆菌属与 HYP 呈现显著正相关( $r=0.736, P<0.05$ ),螺杆菌属与 HYP 呈现显著正相关( $r=0.723, P<0.05$ );粪球菌属与 HYP 呈现显著负相关( $r=-0.720, P<0.05$ )。

#### 讨论

肝纤维化是多种慢性肝病共同的病理过程<sup>[8]</sup>,其特征是细胞外基质(Extracellular matrix, ECM)合成和降解失衡的结果<sup>[9]</sup>。肝纤维化如得不到有效控制,会进展为肝硬化、肝功能障碍,最终导致死亡。肝纤维化发生过程中许多细胞因子及信号分子参与了肝纤维化过程的调节, TGF-b 是肝纤维化发病的关键介质<sup>[10]</sup>,具有活化肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC),促进胶原蛋白基因表达的作用,是肝纤维化最

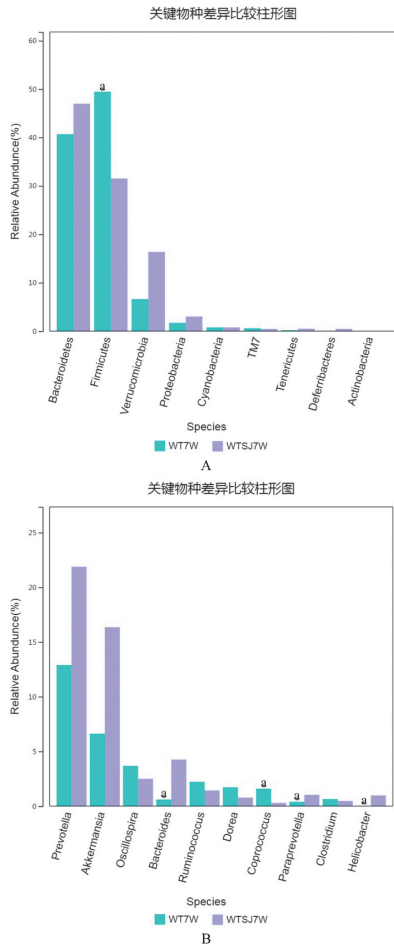
重要的始动因子之一<sup>[11]</sup>。本研究结果显示,小鼠感染日本血吸虫后肝脏 TGF-b mRNA 相对表达量显著上升,肝脏肉芽肿和纤维化面积也显著增加,说明 TGF-b 可作为纤维化的重要指标。IL-1b 是白细胞介素家族中的重要成员,主要是由活化的单核巨噬细胞所合成和分泌,作为炎性细胞因子的 IL-1b 过度释放会成为疾病进展的病因<sup>[12]</sup>。本研究结果显示,小鼠感染日本血吸虫后肝脏炎症因子 IL-1b mRNA 相对表达量迅速升高,与纤维化因子 TGF-b mRNA 和肝损伤的变化趋势一致。



A 日本血吸虫感染小鼠肠道菌群门水平的物种组成变化 B 日本血吸虫感染小鼠肠道菌群属水平的物种组成变化  
图 3 日本血吸虫感染小鼠肠道菌群的门水平和属水平的物种组成变化  
A Changes in species composition of intestinal microflora at phylum level B Changes in species composition of intestinal microflora at genus level  
Fig. 3 Changes in species composition of intestinal microflora at phylum and genus levels in mice infected with *S. japonicum*

肝脏与肠道关系密切,通过肠-肝轴的生理结构相互连接。有研究表明,寄生虫感染会造成宿主肠道菌群的变化<sup>[13-16]</sup>。本研究通过对日本血吸虫感染小鼠的粪便进行 α 多样性分析、物种组成分析、关键物种差异分析及环境因子关联分析,发现小鼠感染日本血吸虫感染后肠道菌群的 Shannon 指数下降, Simpson 指数上升,即小鼠肠道菌群的 α 多样性降低,与 Jenkins 等<sup>[16]</sup>报道曼氏血吸虫感染 50d 小鼠肠道菌群的 α 多样性降低相一致。研究发现,肠道菌群多样性较高的个体其健康状态趋于稳定<sup>[17]</sup>。而在疾病状态时肠道菌群的多样性降低,这可能导致某些与致病相关的菌群形成优势菌群,致病力增强<sup>[18]</sup>。本研究中血吸虫感

染小鼠肠道菌群的  $\alpha$  多样性降低,炎症反应增强,导致机体的免疫失调,从而使肝脏炎症进一步加剧。

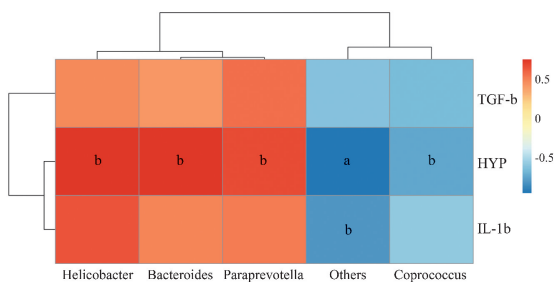


A 日本血吸虫感染小鼠肠道菌群门水平关键物种差异分析 B 日本血吸虫感染小鼠肠道菌群属水平关键物种差异分析(a 组间比较,  $P < 0.05$ )

图 4 关键物种差异分析

A Comparison of key different species at phylum level B Comparison of key different species at genus level

Fig. 4 Comparison of key different species



注: X轴和 Y轴分别为物种和环境因子,色块的颜色表示相关系数,其中红色代表正相关,蓝色代表负相关;颜色深浅代表相关系数大小(组间比较, a  $P < 0.05$ ; b  $P < 0.01$ )。

图 5 基于 spearman 相关性热图分析

Notes: X and Y axis are genus and environmental factors. The color block represents the correlation coefficient. The red represents the positive correlation and the blue represents the negative correlation. The color depth represents the size of the correlation coefficient. The value of  $P < 0.05$  is marked with "a", and  $P < 0.01$  is marked with "b".

Fig. 5 Heatmap analysis based on spearman

使用广谱抗生素清除曼氏血吸虫感染小鼠肠道菌群后,小鼠的肠道炎症减轻,同时伴随着肠道肉芽肿的减轻<sup>[19]</sup>。表明肠道菌群对于疾病的发生发展确实起重要作用。在健康的成人和小鼠体内,厚壁菌门和拟杆菌门构成肠道菌群的主要菌门,变形菌门和其他菌门的比例较低<sup>[20]</sup>。本研究得到同样的结果。小鼠感染日本血吸虫后肠道菌群中的厚壁菌门相对丰度显著下降( $P < 0.05$ )。粪球菌属(*Coprococcus*)作为厚壁菌门的重要成员,其相对丰度也显著下降( $P < 0.05$ )。粪球菌属是肠道的重要菌属,能发酵碳水化合物,产生丁酸。丁酸盐具有抗炎、诱导细胞自噬、调节肠道菌群失调以及促进肠肝轴能量代谢的作用<sup>[21]</sup>。小鼠感染日本血吸虫后粪球菌属显著下调,可能导致其产生的丁酸盐减少,抗炎水平下降,从而导致肝脏虫卵炎症加重。

在属水平上,拟杆菌属(*Bacteroides*),帕拉普菌(*Paraprevotella*),螺杆菌属(*Helicobacter*)相对丰度在感染血吸虫后较健康对照组显著上升( $P < 0.05$ ),提示这些菌属可能与血吸虫病肝脏虫卵肉芽肿相关。拟杆菌属是人和小鼠肠道中的正常菌群之一,正常情况下其含量一般比较稳定<sup>[22]</sup>,在宿主的免疫、营养代谢等方面起重要作用,但也是一种潜在的条件致病菌<sup>[23-24]</sup>。寄生在人体表或体腔的条件致病菌在正常机体中不会致病,在免疫功能不全或其他不健康的特殊条件下则有害<sup>[25]</sup>,其种类和数量远远多于致病菌,因而更容易发生细菌移位,诱发免疫应答,导致炎症、内源性感染及组织损伤。本研究结果显示日本血吸虫感染小鼠肠道拟杆菌属相对丰度显著上升( $P < 0.05$ ),且与 IL-1 $\beta$  和 TGF- $\beta$  mRNA 相对表达量及 HYP 水平呈正相关,推测血吸虫感染后拟杆菌属细菌具有致病菌的功能,通过肠-肝轴的细菌和致病因子的移位导致肝脏炎症进一步加重。流行病学研究表明,螺杆菌可通过胆道或门静脉系统感染人体肝脏,且其感染与肝癌发病率呈正相关,提示螺杆菌可能在肝癌的发生发展中具有重要作用<sup>[26]</sup>。Fox 等<sup>[27]</sup>研究发现,螺杆菌的肠道定殖足以促进肝癌的发生,且并不需要螺杆菌转运到肝脏,也不需要其诱导肝炎。该研究结果更加有力地说明螺杆菌对于肝癌发生的促进作用。本研究中血吸虫感染小鼠螺杆菌属丰度显著上升( $P < 0.05$ ),且与 IL-1 $\beta$  和 TGF- $\beta$  mRNA 相对表达量及 HYP 水平呈正相关,说明螺杆菌属的细菌除了与人类肝癌相关,也与血吸虫病肝脏肉芽肿关系密切,推测其可能通过门静脉系统的细菌移位或者细菌产物通过门静脉循环到肝脏,导致肝脏炎症的进一步发展。

综上所述,本研究表明日本血吸虫感染小鼠肠道菌群属水平上的拟杆菌属(*Bacteroides*),帕拉普菌

(*Paraprevotella*), 螺杆菌属 (*Helicobacter*) 丰度显著上升, 且与 IL-1b 和 TGF- $\beta$  mRNA 相对表达量及 HYP 水平呈正相关, 而粪球菌属 (*Coprococcus*) 丰度显著下降, 且与 IL-1b 和 TGF- $\beta$  mRNA 相对表达量及 HYP 水平呈现负相关。提示可通过调整肠道菌群平衡来治疗或预防血吸虫感染所致的肝脏炎症病变。

#### 【参考文献】

- [1] Gryseels B, Polman K, Clerinx J, et al. Human schistosomiasis [J]. Lancet, 2006, 368(9541):1106-1118.
- [2] Andrade ZA. Schistosomiasis and liver fibrosis[J]. Parasite Immunol, 2009, 31(11):656-663.
- [3] Albillos A, de Gottardi A, Rescigno M. The gut-liver axis in liver disease: Pathophysiological basis for therapy [J]. J Hepatol, 2020, 72(3):558-577.
- [4] Chassaing B, Etienne-Mesmin L, Gewirtz AT. Microbiota-liver axis in hepatic disease[J]. Hepatology, 2014, 59(1):328-39.
- [5] Tripathi A, Debelius J, Brenner DA, et al. The gut-liver axis and the intersection with the microbiome[J]. Nat Rev Gastro Hepat, 2018, 15(7):397-411.
- [6] Roderburg C, Luedde T. The role of the gut microbiome in the development and progression of liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma[J]. Gut microbes, 2014, 5(4):441-445.
- [7] Song LJ, Yin XR, Mu SS, et al. The Differential and Dynamic Progression of Hepatic Inflammation and Immune Responses During Liver Fibrosis Induced by *Schistosoma japonicum* or Carbon Tetrachloride in Mice[J]. Front Immunol, 2020, 11: 570-524.
- [8] Dongiovanni P, Romeo S, Valenti L. Hepatocellular carcinoma in nonalcoholic fatty liver: role of environmental and genetic factors [J]. World J Gastroentero, 2014, 20(36):12945-12955.
- [9] Bataller R, Brenner DA. Liver fibrosis. Clin Cancer Investig [J]. 2005, 115 (2):209-218.
- [10] Bi WR, Yang CQ, Shi Q. Transforming growth factor- $\beta$ 1 induced epithelial-mesenchymal transition in hepatic fibrosis[J]. Hepato-Gastroenterol, 2012, 59(118):1960-1963.
- [11] 董玲, 孙剑勇, 杜施霖, 等. 基因芯片研究甘草酸对大鼠肝星状细胞转化生长因子- $\beta$  信号通路的影响[J]. 中华消化杂志, 2006, 269:4.
- [12] 全卉, 江宇泳. IL-1 $\beta$  在酒精性肝病发病机制中的作用[J]. 临床肝胆病杂志. 2021, 37 5:3.
- [13] Su C, Su L, Li Y, et al. Helminth-induced alterations of the gut microbiota exacerbate bacterial colitis[J]. Mucosal Immunol, 2018, 11(1):144-157.
- [14] Walk ST, Blum AM, Ewing SA, et al. Alteration of the murine gut microbiota during infection with the parasitic helminth *Heligmosomoides polygyrus*[J]. Inflamm Bowel Dis, 2010, 16(11): 1841-1849.
- [15] Reynolds LA, Finlay BB, Maizels RM. Cohabitation in the Intestine: Interactions among Helminth Parasites, Bacterial Microbiota, and Host Immunity[J]. Journal of immunology, 2015, 195 (9):4059-4066.
- [16] Jenkins TP, Peachey LE, Ajami NJ, et al. *Schistosoma mansoni* infection is associated with quantitative and qualitative modifications of the mammalian intestinal microbiota[J]. Sci Rep, 2018, 8(1):12072.
- [17] Le Chatelier E, Nielsen T, Qin J, et al. Richness of human gut microbiome correlates with metabolic markers [J]. Nature, 2013, 500(7464):541-546.
- [18] Lozupone CA, Stombaugh JI, Gordon JI, et al. Diversity, stability and resilience of the human gut microbiota[J]. Nature, 2012, 489(7415):220-230.
- [19] Holzschel M, Layland LE, Loffredo-Verde E, et al. Lack of host gut microbiota alters immune responses and intestinal granuloma formation during schistosomiasis[J]. Clin Exp Immunol, 2014, 175(2):246-257.
- [20] Shin NR, Whon TW, Bae JW. Proteobacteria: microbial signature of dysbiosis in gut microbiota[J]. Trends Biotechnol, 2015, 33(9):496-503.
- [21] 沈倩, 张军. 丁酸盐在炎症性肠病中的作用研究进展[J]. 南京医科大学, 2022, 31(5):568-572.
- [22] 周祎青, 郑裕华, 陈颂, 等. 连翘对岭南湿热模型小鼠的作用及其肠道菌群变化的研究[J]. 广州中医药大学, 2019, 30(6):678-685.
- [23] Wexler HM. Bacteroides: the good, the bad, and the nitty-gritty [J]. Clin Microbiol Rev, 2007, 20(4):593-621.
- [24] 范薇. 实验小鼠肠道正常菌群[J]. 军事医学科学院实验动物中心, 2004, 14(1):58-61.
- [25] 陈弋, 王琛, 徐秋英, 等. 两种岭南湿热证小鼠模型肠道菌群动态变化的研究[J]. 广州中医药大学实验动物中心, 2020, 22(7): 2186-2197.
- [26] Pellicano R, Menard A, Rizzetto M, et al. *Helicobacter* species and liver diseases: association or causation[J] Lancet Infect Dis, 2008, 8(4):254-260.
- [27] Fox JG, Feng Y, Theve EJ, et al. Gut microbes define liver cancer risk in mice exposed to chemical and viral transgenic hepatocarcinogens[J]. Gut, 2010, 59(1):88-97.

【收稿日期】 2022-12-13 【修回日期】 2023-03-05