

DOI:10.13350/j.cjpb.231010

• 论著 •

旋毛虫感染和色氨酸补充对长爪沙鼠肠道菌群的影响*

叶瑞¹,董贤凤¹,郑明辉^{1,2**}

(1. 遵义医科大学寄生虫学教研室,贵州遵义 563000;2. 中国疾病预防控制中心)

【摘要】 目的 动态观察长爪沙鼠(*Meriones unguiculatus*, Mongolian gerbil)感染旋毛虫(*Trichinella spiralis*)和补充色氨酸后体内肠道菌群的变化,计数长爪沙鼠体内成虫与肌幼虫荷虫量,初步探究补充色氨酸对旋毛虫病的影响。 方法 建立长爪沙鼠旋毛虫感染模型,分别于感染后0 d(对照组)、7 d(TS7组)、14 d(TS14组)、28 d(TS28组)无菌采集长爪沙鼠新鲜粪便进行16S rDNA高通量测序,分析各组长爪沙鼠肠道菌群的动态变化。将感染旋毛虫第7 d的长爪沙鼠处死,用无菌剪刀截取其小肠,纵向剖开,置于生理盐水中孵育并收集成虫计数;在感染旋毛虫肌幼虫的第28 d处死,称取1 g肌肉,消化后在显微镜下计数肌幼虫数量,计算成虫和幼虫减虫率。 结果 沙鼠肠道菌群在门水平中,拟杆菌门与厚壁菌门占总组成90%以上。与对照组相比,感染组肠道期拟杆菌门占比下降7.98%;色氨酸组拟杆菌门占比呈先升高后下降的趋势,在囊包期降低至45.60%。感染组沙鼠厚壁菌门占比逐渐降低至33.30%;色氨酸组厚壁菌门在感染初期开始下降,于幼虫移行期降至28.07%,随后开始恢复。在属水平,各感染阶段 *Muribaculaceae* 菌属、拟杆菌属和乳酸杆菌属的变化较为明显。LEfSe分析显示,厌氧棒状菌属、杜氏杆菌属、双歧杆菌属、乳酸杆菌属、副拟杆菌属、候选单胞生糖菌属是对照组、感染组和色氨酸组以及各个感染阶段之间具有显著差异的菌属。补充色氨酸后,感染旋毛虫长爪沙鼠体内成虫数量和肌幼虫数量与未补充组比较均显著减少,成虫减虫率为22.08%($P<0.05$),肌幼虫减虫率为33.83%($P<0.01$)。 结论 旋毛虫感染和补充色氨酸可改变沙鼠肠道菌群组成,但在不同感染阶段有所差异。此外,补充色氨酸能显著减少长爪沙鼠体内虫体的数量。

【关键词】 旋毛虫;长爪沙鼠;色氨酸;肠道菌群**【中图分类号】** R383.15**【文献标识码】** A**【文章编号】** 1673-5234(2023)10-1162-07[*Journal of Pathogen Biology*. 2023 Oct;18(10):1162-1168.]

Effects of *Trichinella spiralis* infection and tryptophan supplementation on intestinal flora in Mongolian gerbil

YE Rui¹, DONG Xianfeng¹, ZHENG Minghui^{1,2} (1. Department of Parasitology, Zunyi Medical University, Zunyi 563000, China; 2. Chinese Center for Disease Control and Prevention)^{***}

【Abstract】 **Objective** To dynamically observe the changes of intestinal flora in Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*) infected with *T. spiralis* and supplemented with tryptophan, The number of adult worms and muscle larvae in Mongolian gerbil was counted, and the effect of tryptophan supplementation on trichinosis was preliminarily explored. **Methods** The model of Mongolian gerbils infected with *T. spiralis* was established, and the fresh feces of Mongolian gerbils were collected aseptically at 0 d (control group), 7 d (TS7 group), 14 d (TS14 group) and 28 d (TS28 group) after infection for 16S rDNA high-throughput sequencing, and the dynamic changes of intestinal flora of each group of Mongolian gerbils were analyzed. Mongolian gerbils infected with *T. spiralis* was killed on the 7 d, and its small intestine was cut with aseptic scissors, and then it was incubated in physiological saline and the adult worms were collected and counted. Mongolian gerbils were killed on the 28 d after they were infected with the muscle larvae of *T. spiralis*, and 1 g of muscle was weighed. After digestion, the number of muscle larvae was counted under the microscope, and the worm reduction rate of adults and larvae was calculated. **Results** *Bacteroidetes* and *Firmicutes* accounted for more than 90% of intestinal flora of gerbils in the phylum level. Compared with the control group, the proportion of *Bacteroidetes* in the intestinal phase of the infection group decreased by 7.98%; The proportion of *Bacteroidetes* in the tryptophan group increased first and then decreased to 45.60% in the encystation stage. The proportion of *Firmicutes* in infected gerbils gradually decreased to 33.30%; *Firmicutes* in the tryptophan group began to decline at the early stage of infection, decreased to 28.07% at the larval migration stage, and then began to recover. At the genus level, the changes of *Muribaculaceae*, *Bacteroides* and *Lactobacillus* were more obvious in each infection stage. LEfSe analysis showed that *Anaerostipes*, *Dubosiel-*

* 【基金项目】 中国博士后科学基金项目(No. 2019M)。

** 【通讯作者】 郑明辉, E-mail: ivying0209@hotmail.com

【作者简介】 叶 瑞(1997-),男,湖北利川人,硕士在读,主要研究方向:寄生虫感染与免疫。E-mail: 1250794530@qq.com

la, *Lactobacillus*, *Parabacteroides*, and *Candidatus_Saccharimonas* were the genera with significant differences between the control, infection, and tryptophan groups as well as between the infection stages. After tryptophan supplementation, the number of adult worms and muscle larvae in Mongolian gerbils infected with *T. spiralis* were significantly reduced compared with those in the non supplemented group, and the reduction rate of adult worms was 22.08% ($P<0.05$), and the reduction rate of muscle larvae was 33.83% ($P<0.01$). **Conclusion** *T. spiralis* infection and tryptophan supplementation can change the composition of intestinal flora in gerbils, but there are differences in different infection stages. In addition, tryptophan supplementation could significantly reduce the number of worms in Mongolian gerbils.

【Key words】 *Trichinella spiralis*; Mongolian gerbil; tryptophan; intestinal flora

旋毛虫(*Trichinella spiralis*)属于线虫动物门,无尾感器纲(Aphasmida),刺嘴目(Enoplida),其整个生活史主要由肌幼虫、成虫和新生幼虫组成^[1-2]。旋毛虫在宿主内的感染过程主要包括肠道期(1周)、幼虫移行期(2—3周)以及囊包形成期(4—16周)3个阶段^[3]。研究表明旋毛虫可寄生于多种动物体内,但大部分保虫宿主无法兼有症状明显、饲养经济、易感等特点。2003年,刘晖等^[4]报道用旋毛虫感染沙鼠模型获得成功。长爪沙鼠亦称蒙古沙鼠(Mongolian gerbil),隶属于哺乳纲,啮齿目(Rodentia)、鼠科(Muridae)、沙鼠亚科(Gerbillinae)、沙鼠属(*Meriones*)^[5]。长爪沙鼠具有特殊的解剖结构、生理特点和行为学特征,常用作肿瘤、神经性疾病和传染性疾病^[6-7]等研究的模型动物。在寄生虫学领域,长爪沙鼠对多种原虫、吸虫、绦虫和线虫等均易感^[8]。与小白鼠相比,长爪沙鼠对旋毛虫更为易感,且在感染旋毛虫后表现出与人感染旋毛虫后相似的发病时间段和临床特征,而小鼠未出现症状^[4]。因此,长爪沙鼠适合于建立旋毛虫感染模型。

旋毛虫是一种肠道线虫,感染宿主后最先引起肠道内的变化,而肠道菌群在其中发挥重要作用。肠道寄生虫与肠道菌群的组成及功能密切相关,寄生虫与肠道菌群间的相互作用对疾病的进程和发展产生重要影响^[9]。研究发现,益生菌在旋毛虫感染过程中发挥重要作用,如乳双歧杆菌可提高小鼠有益肠道菌群的丰度,并降低小鼠体内旋毛虫数量^[10]。而除了益生菌外,日粮色氨酸的添加除了能对大鼠的促炎和抑炎细胞因子含量进行调控并维持相对平衡,还能改善肠道菌群的组成结构,影响普雷沃氏菌等的多样性^[11]。多项研究均表明在饲料中添加适当的色氨酸能够增加优势肠道菌群的丰度,减少有害菌的相对丰度,并起到促进肠道健康维持的作用^[12-13]。给予小鼠益生菌可起到治疗旋毛虫病中的作用,而色氨酸对旋毛虫病以及感染后肠道菌群的影响尚不清楚。本研究通过建立旋毛虫感染长爪沙鼠的动物模型,对旋毛虫感染及色氨酸补充后不同感染阶段旋毛虫减虫率、肠道菌群组成结构和多样性变化进行分析,探索色氨酸补充对旋毛虫病的影响,为将色氨酸以及肠道有益菌群应用到抗旋

毛虫病治疗提供参考。

材料与方法

1 材料

1.1 主要试剂 L-色氨酸和胃蛋白酶购于中国 Bio-sharp 生物科技有限公司;DNA 提取试剂盒购于中国 Tiangen 公司。

1.2 实验动物与旋毛虫虫株 长爪沙鼠由遵义医科大学寄生虫学教研室提供,体重 40~60 g,鼠龄 9~12 周。小白鼠保种旋毛虫大理株,由大理医学院杨毅梅提供,采用喂饲法转种长爪沙鼠后用于试验。

2 方法

2.1 旋毛虫感染长爪沙鼠模型的建立与试验分组

将旋毛虫保种沙鼠处死,解剖沙鼠并取其肌肉,制作肌肉压片,计数肌幼虫数量,每只长爪沙鼠经口饲喂 80 条肌幼虫^[4]。将 44 只长爪沙鼠随机分为 3 组:未感染对照组(简称对照组)、感染组和色氨酸补充感染组(简称色氨酸组)。感染组沙鼠经口饲喂肌幼虫 80 条/只;色氨酸组经口饲喂肌幼虫 80 条/只,并使用含有 0.1 mg/g BW/d 色氨酸的水处理沙鼠直到试验结束^[14];未感染对照组不饲喂旋毛虫肌幼虫。实验动物的使用严格遵守《国际动物保护准则》相关标准。

2.2 长爪沙鼠旋毛虫减虫率测定

2.2.1 成虫减虫率测定 动物试验第 7 d,脱颈处死感染组以及色氨酸组长爪沙鼠,取其小肠,生理盐水洗净后放在悬于烧杯上的脱脂纱布上,加入无菌生理盐水,以没过小肠为准,在 37 °C 恒温培养箱中孵育 4 h,孵育期间成虫自小肠黏膜中钻出并透过纱布进入生理盐水中。4 h 后移去纱布和小肠,经 200 目筛网过滤,液体静置沉淀 20 min,弃上清,用生理盐水反复清洗 2~3 次,旋毛虫成虫沉淀在容器底部。收集旋毛虫成虫,在显微镜下计数,计算成虫减虫率。成虫减虫率(%)=[(感染组成虫数-色氨酸组成虫数)/感染组成虫数]×100%^[15]。

2.2.2 肌肉幼虫减虫率测定 动物感染第 28 d,脱颈处死感染组以及色氨酸组长爪沙鼠并解剖,每只长爪沙鼠取肌肉 1 g(包括膈肌、胸肌、腿肌和咬肌),用手术剪剪碎后放入三角瓶内,加入含 1% 胃蛋白酶-浓盐酸

消化液 20 mL, 混匀后放入 37 ℃ 摆床中震荡消化 5~7 h(180 r/min)至肌肉完全消化。随后用 80 目筛过滤消化液去除残渣, 液体部分静置沉淀 20 min, 弃上清, 用生理盐水反复清洗虫体 2~3 次。小心去除上层液体, 收集旋毛虫肌幼虫, 在显微镜下计数幼虫总数, 计算肌幼虫数减虫率。肌幼虫数减虫率(%)=[(感染组肌幼虫数-色氨酸组肌幼虫数)/感染肌幼虫数]×100%。

2.3 粪便采集与 DNA 提取 分别于感染后第 0、7、14、28 d 无菌采集各组长爪沙鼠新鲜粪便, 每组 4 只。取粪便时, 轻柔沙鼠腹部刺激排便, 使用 2 mL 无菌 EP 管接住粪便, 每只沙鼠收集 3~5 粒新鲜粪便, 采用 DNA 提取试剂盒提取 DNA, 按说明书操作。提取的 DNA 采用 1.2% 琼脂糖凝胶电泳进行质量检测。

2.4 16S rDNA 的 V3-V4 区 PCR 扩增与测序分析 以提取的粪便 DNA 为模板, 以引物 5'-CCTAY-GGGRBGCASCAG-3' 和 5'-GGACTACNNNGGG-TATCTAAT T-3' 对 16SrDNA 的 V3-V4 可变区进行 PCR 扩增, 扩增产物在 Illumina 平台上机测序, 由北京诺禾致源生物信息科技有限公司完成。采用 QIIME 软件对原始数据进行分析、拼接和过滤等处理。通过 Uparse 软件对所有样品的有效数据进行聚类分析, QIIME 软件计算各样品菌群在门、属水平上的物种组成分布, 分析菌群的 Alpha 多样性和 Beta 多样性, 以及物种差异性。

2.5 统计学分析 采用 Graph Prism 8.0 软件进行数据的统计学分析与作图。计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 两两比较采用独立样本的 t 检验, 多组间比较采用单因素方差(One-way ANOVA)分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

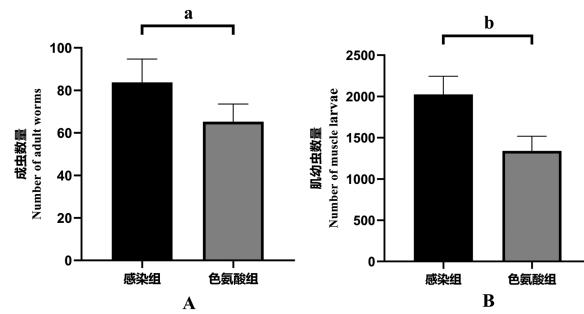
1 长爪沙鼠旋毛虫减虫率

与感染组相比, 色氨酸组成虫数量和肌幼虫数量均显著减少, 攻虫后第 7 d 色氨酸组成虫平均值为 65 条, 标准偏差为 8.30, 感染组成虫平均值为 84 条, 标准偏差为 10.99, 计算得到成虫减虫率为 22.08% ($P < 0.05$); 攻虫后第 28 d 色氨酸组成虫平均值为 1 340 条, 标准偏差为 178.34, 感染组成虫平均值为 2 024 条, 标准偏差为 220.15, 计算得到肌幼虫减虫率为 33.83% ($P < 0.01$) (图 1)。

2 肠道菌群 Alpha 多样性分析

为了了解不同处理组和感染阶段长爪沙鼠肠道菌群的物种多样性和丰富度, 遂进行了 Alpha 多样性分析。其中, Shannon 指数是样本中微生物种类数的标志, 即样本的多样性, Chao1 指数是样本中微生物物种

总数的标志, 即样本的丰富度。Chao1 指数(图 2A)分析显示, 感染组和色氨酸组肠道菌群丰富度与对照组相比均有减少, 其中感染组肠道菌群丰富度自肠道期(7 d)开始下降, 于幼虫移行期(14 d)降至最低, 与对照组相比差异有统计学意义($P < 0.05$), 在囊包期(28 d)有所回升; 色氨酸组肠道菌群丰富度于肠道期降至最低, 随后开始回升, 但在各个感染阶段均显著低于对照组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与感染组相比, 色氨酸组肠道菌群丰富度在同时间点均有所降低。Shannon 指数(图 2B)分析表明, 感染组和色氨酸组的多样性与对照组相比均有所减少, 且在肠道期、幼虫移行期和囊包期呈动态下降趋势, 于恢复期降至最低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与感染组相比, 色氨酸组肠道菌群丰富度和多样性在同时间点均有所降低。



注:与未补充色氨酸感染组相比,^a $P < 0.05$; ^b $P < 0.01$ 。

图 1 旋毛虫感染沙鼠成虫数量(A)与肌幼虫数量(B)

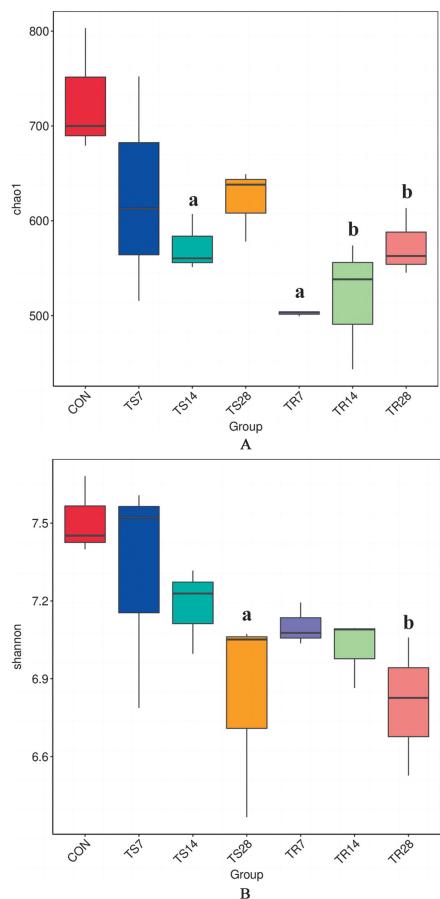
Notes: Compared with the infection group without tryptophan supplementation, ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$.

Fig. 1 Number of adult worms(A) and muscle larvae(B) infected with *T. spiralis* in gerbils

3 肠道菌群物种组成分析

3.1 肠道菌群门水平物种丰度 在门分类水平上, 根据各组的丰度信息进行排名, 选出前 10 位物种, 主要菌门为: 拟杆菌门(Bacteroidetes)、厚壁菌门(Firmicutes)、变形菌门(Proteobacteria)、放线菌门(Actinobacteria)、髌骨菌门(Patescibacteria)、广古菌门(Euryarchaeota)、螺旋体门(Spirochaetota)、疣微菌门(Verrucomicrobiota)、蓝藻菌门(Cyanobacteria)、弯曲杆菌门(Campylobacterota), 在各个分组中拟杆菌门与厚壁菌门均为主要优势菌。与对照组相比, 感染组拟杆菌门在肠道期降低 7.98%; 色氨酸组拟杆菌门呈先上升后下降的趋势, 在囊包期降低至 45.60%。厚壁菌门在感染组逐步降低至 33.30%; 色氨酸组厚壁菌门在感染初期开始下降, 于幼虫移行期降至 28.07%, 随后开始恢复。感染组和色氨酸组在囊包期变形菌门相对丰度分别升高 5.01% 和 3.40%。放线菌门在感染组肠道期和色氨酸组囊包期的相对丰度分别升高 3.26% 和 1.83%, 其余感染阶段放线菌门的相对丰度较为稳定。髌骨菌门在感染各阶段均有所升高。广古

菌门的相对丰度在色氨酸组肠道期升高 2.98%，在幼虫移行期升高 1.05%，在囊包期升高 2.56%（图 3）。



A Chao1 指数 B Shannon 指数。与对照相比,^a $P < 0.05$; ^b $P < 0.01$ 。

图 2 沙鼠肠道菌群 Alpha 多样性差异分析箱线图

A Chao1 index B Shannon index. Compared with the control group,^a $P < 0.05$; ^b $P < 0.01$.

Fig. 2 Alpha diversity difference analysis boxplot of intestinal flora in gerbils

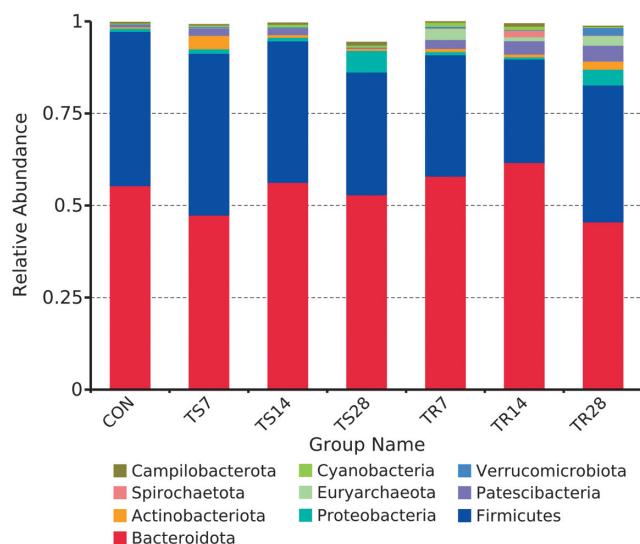


图 3 沙鼠肠道菌群门水平物种组成柱状图

Fig. 3 Histogram of species composition at phylum level of intestinal flora in gerbils

3.2 肠道菌群属水平物种丰度 基于物种注释结果，选取每个分组在属分类水平上丰度排名前 10 位的物种，主要菌属为：*Muribaculaceae* 属、拟杆菌属(*Bacteroides*)、乳酸杆菌属(*Lactobacillus*)、梭状芽孢杆菌属(*Clostridia_UCG-014*)、杜氏杆菌属(*Dubosia*)、毛螺菌属(*Lachnospiraceae_NK4A136_group*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)、双歧杆菌属(*Bifidobacterium*)、RF39 菌属和候选单胞生糖菌属(*Candidatus_Saccharimonas*)。在各个感染阶段中，*Muribaculaceae* 属、拟杆菌属和乳酸杆菌属的变化较为明显。与对照组相比，感染组 *Muribaculaceae* 属的相对丰度比列在各个感染阶段有所降低，尤其是在囊包期降低 20.45%；色氨酸组 *Muribaculaceae* 属的相对丰度在肠道期和幼虫移行期分别升高 2.82% 和 8.22%，在囊包期下降 16.27%。感染组拟杆菌属的相对丰度在肠道期下降 0.30%，随后呈上升趋势，至囊包期上升 14.75%；色氨酸组拟杆菌属的相对丰度较为稳定。感染组乳酸杆菌属的相对丰度呈先升高后下降的趋势，其中在幼虫移行期升高 12.51%，囊包期降低 8.09%，但仍高于对照组；色氨酸组乳酸杆菌属的相对丰度在感染各个阶段呈逐步上升的趋势，分别升高 1.13%、2.46%、7.01%。杜氏杆菌属在感染组肠道期升高 2.28%，毛螺菌属在感染组和色氨酸组均有所下降(图 4)。

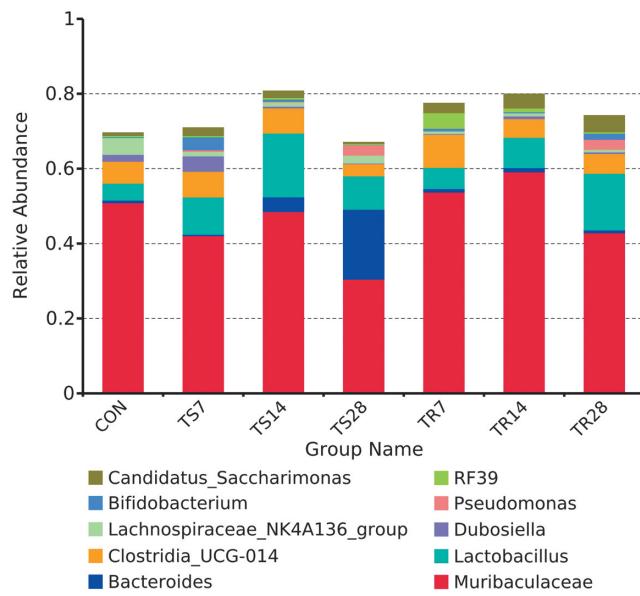


图 4 沙鼠肠道菌群属水平物种组成柱状图

Fig. 4 Histogram of species composition at genus level of intestinal flora in gerbils

4 LEfSe 多级物种分析

采用 LEfSe 分析方法，比较在不同分类水平上负责区分各个感染阶段的关键肠道菌群。LDA 值分布柱状图中展示了 LDAscore 大于 3.5 的物种，即具有

统计学差异的 Biomarker, 共有 44 种, 其中对照组 5 种, TS7 组 9 种, TS14 组 7 种, TS28 组 6 种, TR7 组 7 种, TR14 组 2 种, TR28 组 8 种。属水平丰度较高且具有显著差异的物种在对照组为厌氧棒状杆菌属 (*Anaerostipes*), TS7 组为杜氏杆菌属 (*Dubosiella*)、双歧杆菌属 (*Bifidobacterium*)、*Rs_E47_termite_group* 菌属和直肠真杆菌属 (*Eubacterium_ruminantium_group*), TS14 组为乳酸杆菌属 (*Lactobacillus*)、副拟杆菌属 (*Parabacteroides*) 和 *Ruminococcus_sp.* 属, TS28 组为拟杆菌属 (*Bacteroides*) 和气味杆菌属 (*Odoribacter*), TR7 组为甲烷短杆菌属 (*Methanobrevibacter*) 和 *Incisae_Sedis* 菌属, TR14 组为纤维素降解菌属 (*Cellulosilyticum*), TR28 组为候选单胞生糖菌属 (*Candidatus_Saccharimonas*) 和厌氧支原体属 (*Anaeroplasma*), (图 5)。

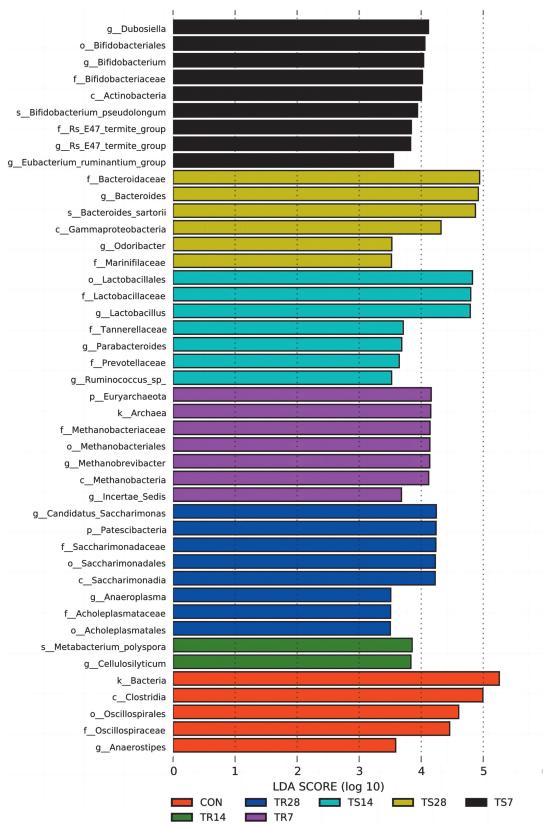


图 5 沙鼠肠道菌群 LEfSe 分析 LDA 柱形图

Fig. 5 LEfSe analysis LDA histogram of intestinal flora in gerbils

讨 论

旋毛虫病是由旋毛虫感染引起的一种流行广泛的人畜共患寄生虫病, 宿主的肠道是旋毛虫寄生的初始部位。本研究对旋毛虫感染以及色氨酸补充后长爪沙鼠肠道菌群进行了 Alpha 多样性分析、不同水平物种组成分析以及 LEfSe 分析, 结果表明旋毛虫感染以及色氨酸补充会导致感染不同阶段肠道菌群多样性、组成丰度的改变, 且色氨酸的补充显著降低肠道期旋毛

虫成虫数量, 同时也致使囊包期幼虫囊包的减少, 发挥了一定的抗旋毛虫感染作用。

哺乳动物的胃肠道是一种独特的器官, 由多种肠道菌群组成, 研究表明肠道蠕虫感染与肠道菌群密切相关^[9]。由于旋毛虫具有侵袭性迁移和定植的能力, 通过增加致病性大肠埃希菌和机会性粘螺旋菌的肠道定植, 从而导致肠道菌群的失衡^[16-17]。本研究中长爪沙鼠感染旋毛虫后肠道菌群组成发生改变, 肠道菌群的丰富度和多样性均有所降低, 与 Liu 等^[16]的研究结果相一致, 即旋毛虫感染降低了小鼠肠道菌群在感染前期的多样性。但关于囊包期的肌肉幼虫是否会影响肠道菌群尚不清楚, 而蠕虫对肠道菌群的影响不一定局限于其所在的感染部位, 比如胆管内的华支睾吸虫也会对肠道菌群造成影响^[18]。本研究观察了长爪沙鼠在旋毛虫感染整个阶段的肠道菌群丰富度和多样性的变化, 代表菌群丰富度 Chao 指数发现先于肠道期和幼虫移行期降低, 随后在囊包期有所升高, 但代表菌群多样性 Shannon 指数呈现持续减少, 说明相对于多样性, 肠道菌群丰富度的恢复可能更有利于旋毛虫引起肠道菌群紊乱的恢复。以上表明急性肠道成虫感染以及慢性肌幼虫定殖均会导致长爪沙鼠肠道菌群多样性降低。然而有文献报道小鼠在感染旋毛虫的不同时期肠道菌群多样性及丰度均高于对照组^[19-20], 这可能与所用动物模型和旋毛虫虫株不同有关。此外, 色氨酸补充使旋毛虫感染后长爪沙鼠肠道菌群的多样性有所降低, 且也略低于同时期感染组的多样性, 有待进一步研究。

肠道菌群主要由 4 个菌门组成, 包括拟杆菌门、厚壁菌门、变形杆菌门和放线菌门, 其他菌门所占构成较低, 与本研究一致^[21]。本研究显示沙鼠肠道菌群中的拟杆菌门和厚壁菌门占 90% 以上, 而厚壁菌门与拟杆菌门比值下降是肠道菌群失调的标志^[22]。本研究中, 长爪沙鼠在感染旋毛虫后厚壁菌门与拟杆菌门的比值在肠道期升高, 随后开始降低, 在囊包期降至最低且低于对照组, 而补充色氨酸后厚壁菌门与拟杆菌门的比值在肠道期开始下降, 于幼虫移行期降至最低, 随后开始恢复, 在囊包期的比值趋于对照组水平, 表明旋毛虫感染可改变肠道菌群门水平的物种丰度, 且补充色氨酸可在囊包期改善旋毛虫感染所引起的肠道菌群紊乱。广古菌门在感染组和对照组中丰度极低, 而补充色氨酸在一定程度上提高了有益菌群广古菌门的丰度。研究表明广古菌门在抗肿瘤中发挥重要作用^[23]。

属水平分析显示, *Muribaculaceae* 属丰度与对照组相比在感染不同阶段均有所降低。*Muribaculaceae* 属为有益菌, 在维持和保护肠黏液层屏障功能中发挥重要作用, 且其丰度与促炎因子呈负相关^[24]。旋毛虫

感染可能通过降低 *Muribaculaceae* 属来破坏肠道屏障从而发挥致病和促炎作用,而补充色氨酸后其丰度维持在较高水平,因此推测色氨酸可能通过调节 *Muribaculaceae* 属从而促进对肠道屏障的保护和抗炎作用。拟杆菌属和乳酸杆菌属在旋毛虫感染后有所升高,与 Liu 等^[16]的研究结果相一致。沙鼠感染旋毛虫后肠道菌群中的拟杆菌属和乳酸杆菌丰度升高,且有研究表明拟杆菌属与肠道线虫感染相关^[25]。拟杆菌属是大量存在于人和动物肠道内的正常菌群,在炎症性肠病的动物模型中发现,拟杆菌属是引起结肠炎的重要因素,具有一定的促炎特性^[26]。Hans 等^[27]报道在 DSS 小鼠模型肠道菌群中的拟杆菌属相对丰度增加。拟杆菌属丰度的增加与小鼠结肠炎的发病相关,其丰度的降低能减少肠道炎症的发生。拟杆菌属可能是旋毛虫感染后期引起炎症反应的重要因素之一,本试验中沙鼠补充色氨酸后拟杆菌属的丰度较感染组各个时间点均有所降低,提示色氨酸可能通过调节拟杆菌属的变化从而发挥抗炎作用。乳酸杆菌可调节促炎和抗炎因子的分泌水平,从而控制炎症和重建动物体内的免疫平衡^[28]。旋毛虫感染后乳酸杆菌丰度的升高可能是机体参与免疫调节的途径之一,而本试验并未发现色氨酸对乳酸杆菌的丰度有所干预。

LEfSe 分析有助于寻找不同分组和感染阶段中具有显著差异的生物标志物。有益菌厌氧棒状菌属能够引起丁酸盐的产生,丁酸盐作为短链脂肪酸盐的成员,一方面有利于维持肠道上皮细胞的生长和肠道黏膜的功能,另一方面还可以在肠道疾病中发挥抗炎作用^[29]。因此厌氧棒状菌属能够对宿主健康起到积极的调控作用,本研究中厌氧棒状菌属显著富集仅发生在对照组,表明旋毛虫感染引起产短链脂肪酸有益菌丰度下降,旋毛虫可能通过下调丁酸含量来发挥致病和促炎作用。有害菌杜氏杆菌属在肠道期显著富集,有研究表明杜氏杆菌属与短链脂肪酸的合成呈负相关,且在肝癌发生中发挥重要作用^[30],杜氏杆菌属可能是旋毛虫感染前期重要的致病生物标志物。益生菌如乳酸杆菌和副拟杆菌属可改善结直肠癌和炎症性肠病等肠道疾病,在肠道健康保持方面发挥重要作用^[31-32]。当感染进入幼虫移行期,机体感染程度加重,而乳酸杆菌和副拟杆菌属在旋毛虫感染后逐步升高,在幼虫移行期显著富集,这可能是长爪沙鼠在随着感染程度增加后对抗旋毛虫感染的一种自我保护机制。候选单胞生糖菌属在补充色氨酸后的囊包期显著富集。单胞生糖菌属具有抗炎作用,其丰度下降可能会导致炎症因子过度表达^[33]。

本研究观察了色氨酸对长爪沙鼠旋毛虫病的影响,色氨酸补充后的减虫率分析表明色氨酸能够促进

旋毛虫虫体的排除,可能具有一定的抗旋毛虫病作用。旋毛虫感染以及色氨酸补充能改变长爪沙鼠肠道菌群组成以及多样性,诱导不同有益和有害菌群的产生,且在不同感染阶段有所差异,而对于色氨酸是否可通过调节某些肠道菌群丰度从而增强机体抗旋毛虫感染仍有待深入研究,色氨酸与抗寄生虫药物联用能否对治疗效果有所提升以及缓解副作用等仍有待进一步探讨。

【参考文献】

- [1] Murrell KD, Pozio E. Worldwide occurrence and impact of human trichinellosis, 1986-2009 [J]. Emerg Infect Dis, 2011, 17 (12): 2194-2202.
- [2] 崔晶,王中全. 我国旋毛虫病的流行趋势及防治对策[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志,2005,23(5):344-349.
- [3] Yang F, Guo KX, Yang DQ, et al. Functional analysis of *Trichinella spiralis* serine protease 1.2 by siRNA mediated RNA interference[J]. Trop Biomed, 2020, 37(2):458-470.
- [4] 刘晖,黄学贵,万启惠,等. 旋毛虫感染长爪沙鼠的实验研究[J]. 遵义医学院学报,2003,26(2):114-115.
- [5] 李长龙,杜小燕,陈振文. 长爪沙鼠资源开发利用进展[J]. 中国实验动物学报,2014,22(6):106-109,113.
- [6] Song M, Ahn JH, Kim H, et al. Chronic high-fat diet-induced obesity in gerbils increases pro-inflammatory cytokines and mTOR activation, and elicits neuronal death in the striatum following brief transient ischemia[J]. Neurochem Internat, 2018, 121: 75-85.
- [7] Quintar AA, Gon alves BF, Taboga SR, et al. The Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*) as a model for inflammation-promoted prostate carcinogenesis[J]. Cell Biol Internat, 2017, 41(11): 1234-1238.
- [8] 柳建发,蒋雯雯,周飞,等. 长爪沙鼠寄生虫感染和疾病动物模型的建立[J]. 宁波大学学报(理工版),2010,23(04):117-120.
- [9] Burgess SL, Gilchrist CA, Lynn TC, et al. Parasitic protozoa and interactions with the host intestinal microbiota[J]. Infect Immun, 2017, 85(8):e00101-17.
- [10] 迟茜文,解文利,姚梦玮,等. 乳双歧杆菌对旋毛虫感染小鼠炎性细胞因子及肠道菌群的影响[J]. 医学动物防治,2023,39(03): 282-287,293.
- [11] 李金龙. 日粮色氨酸促进抗菌肽表达对肠道微生物区系的调控和 ETEC 的预防作用[D]. 西南大学,2018.
- [12] 徐敏杰. L-色氨酸和褪黑激素对中华绒螯蟹血糖代谢及免疫性能的影响[D]. 上海海洋大学,2018.
- [13] 胡红. 日粮色氨酸对断奶仔猪生长性能、肠道屏障功能、微生物区系和防御 ETEC 侵袭的影响研究[D]. 西南大学,2021.
- [14] 王斌. L-色氨酸缓解动物肠道炎症的作用机制研究[D]. 中国农业大学,2018.
- [15] 申丽,洁朱声,华罗仲,等. 旋毛虫成虫可溶性抗原和排泄分泌抗原对小鼠免疫保护作用的比较研究[J]. 中国人兽共患病杂志, 1999(5):6-8.
- [16] Liu S, Pan J, Meng X, et al. *Trichinella spiralis* infection decreases the diversity of the intestinal flora in the infected mouse [J]. J Microbiol Immunol Infect, 2021, 54(3):490-500.

- [17] Li CK, Seth R, Gray T, et al. Production of proinflammatory cytokines and inflammatory mediators in human intestinal epithelial cells after invasion by *Trichinella spiralis* [J]. Infect Immun, 1998, 66(5): 2200-2206.
- [18] Xu M, Jiang Z, Huang W, et al. Altered gut microbiota composition in subjects infected with *Clonorchis sinensis* [J]. Front Microbiol, 2018, 9: 2292.
- [19] 邢鑫. 旋毛虫感染小鼠肠道菌群变化与免疫应答关系初步研究 [D]. 吉林农业大学, 2017.
- [20] Chen HL, Xing X, Zhang B, et al. Higher mucosal type II immunity is associated with increased gut microbiota diversity in BALB/c mice after *Trichinella spiralis* infection [J]. Mol Immunol, 2021, 138: 87-98.
- [21] Riva A, Borgo F, Lassandro C, et al. Pediatric obesity is associated with an altered gut microbiota and discordant shifts in Firmicutes populations [J]. Environment Microbiol, 2017, 19(1): 95-105.
- [22] Mukherjee S, Joardar N, Sengupta S, et al. Gut microbes as future therapeutics in treating inflammatory and infectious diseases: Lessons from recent findings [J]. J Nutrit Biochem, 2018, 61: 111-128.
- [23] Safarpour A, Ebrahimi M, Shahzadeh Fazeli SA, et al. Supernatant metabolites from *Halophilic Archaea* to reduce tumorigenesis in prostate cancer *In-vitro* and *In-vivo* [J]. Ira J Pharmaceut Res, 2019, 18(1): 241-253.
- [24] Lagkouvardos I, Lesker TR, Hitch TCA, et al. Sequence and cultivation study of *Muribaculaceae* reveals novel species, host preference, and functional potential of this yet undescribed family [J]. Microbiome, 2019, 7(1): 28.
- [25] Holm JB, Sorobetea D, Kiilerich P, et al. Chronic *Trichuris muris* infection decreases diversity of the intestinal microbiota and concomitantly increases the abundance of *Lactobacilli* [J]. PloS one, 2015, 10(5): e0125495.
- [26] Davranti M, Harris S, Smith PJ, et al. The relationship between mucosal microbiota, colitis, and systemic inflammation in chronic granulomatous disorder [J]. J Clin Immunol, 2022, 42(2): 312-324.
- [27] Hans W, Scholmerich J, Gross V, et al. The role of the resident intestinal flora in acute and chronic dextran sulfate sodium-induced colitis in mice [J]. Eur J Gastroenterol Hepatol, 2000, 12(3): 267-273.
- [28] 潘东斌, 孙笑非, 王文娟, 等. 益生菌在动物营养健康中的研究进展 [J]. 饲料研究, 2022, 45(12): 121-125.
- [29] Sorbara MT, Littmann ER, Fontana E, et al. Functional and genomic variation between Human-Derived isolates of *Lachnospiraceae* reveals inter- and intra-species diversity [J]. Cell Host Microbe, 2020, 28(1): 134-146.
- [30] 周文斌, 郑越, 尚佳, 等. 二乙基亚硝胺诱导肝细胞癌模型肠道微生态研究 [J]. 浙江大学学报(医学版), 2022, 51(4): 438-453.
- [31] Takamura T, Harama D, Fukumoto S, et al. *Lactobacillus bulgaricus* OLL1181 activates the aryl hydrocarbon receptor pathway and inhibits colitis [J]. Immunol Cell Biol, 2011, 89(7): 817-822.
- [32] Lei Y, Tang L, Liu S, et al. *Parabacteroides* produces acetate to alleviate heparanase-exacerbated acute pancreatitis through reducing neutrophil infiltration [J]. Microbiome, 2021, 9(1): 115.
- [33] 梁露莹, 林鸿鑫, 蔡义思, 等. 基于 16S rDNA 测序研究当归拈痛汤对风湿热痹佐剂性关节炎大鼠肠道菌群的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2023, 29(9): 18-27.

【收稿日期】 2023-04-20 【修回日期】 2023-07-07

(上接 1161 页)

- [9] Zhang X, Liang Y. Decreased expression of CPEB3 predicts a poor prognosis in patients with melanoma: A study based on TCGA data [J]. Biomed Res Int, 2021, 2021: 8197936.
- [10] Rosendahl C, Clark S. General practice and melanoma management in Australia: controversies and implications for generalist GP training [J]. Med J Aust, 2023, May 15; 218(9): 397-398.
- [11] Kovacs SA, Fekete JT, Gyorffy B. Predictive biomarkers of immunotherapy response with pharmacological applications in solid tumors [J]. Acta Pharmacol Sin, 2023, Apr 13.
- [12] Wang XP, Cooper NG. Comparative in silico analyses of cpeb1-4 with functional predictions [J]. Bioinform Biol Insights, 2010, 4: 61-83.
- [13] Liu F, Zhang G, Lv S, et al. miRNA-301b-3p accelerates migra-

tion and invasion of high-grade ovarian serous tumor via targeting CPEB3/EGFR axis [J]. J Cell Biochem, 2019, 120(8): 12618-12627.

- [14] Zou CD, Zhao WM, Wang XN, et al. MicroRNA-107, a novel promoter of tumor progression that targets the CPEB3/EGFR axis in human hepatocellular carcinoma [J]. Oncotarget, 2016, 7(1): 266-278.
- [15] Liu H, Ma X, Niu N, et al. MIR-301b-3p promotes lung adenocarcinoma cell proliferation, migration and invasion by targeting DLC1 [J]. Technol Cancer Res Treat, 2021, 20: 1533033821990036.

【收稿日期】 2023-05-20 【修回日期】 2023-08-14