

辣椒素改善大肠杆菌O157:H7感染的小鼠胃肠道炎症和肠道菌群结构

张婷¹, 易金美², 吴中琴¹, 王远亮^{1,3}, 侯爱香^{1*}, 李宗军^{1*}

(1. 湖南农业大学食品科学技术学院, 湖南长沙 410125) (2. 湖南农业大学继续教育学院, 湖南长沙 410125) (3. 湖南农业大学长沙现代食品创新研究院, 湖南长沙 410125)

摘要: 该文研究了不同剂量辣椒素对大肠杆菌 O157:H7 感染小鼠胃肠道炎症和肠道菌群结构的改善作用。通过构建大肠杆菌 O157:H7 小鼠感染模型, 将成功感染的小鼠随机分为对照组、感染组、辣椒素处理组 (15、7.5、3.75 mg/kg), 试验周期 7 d。记录小鼠摄食量和体质量, 检测血清中炎症因子肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 白细胞介素-6 (IL-6) 和肠道中炎症标志物髓过氧化物酶 (MPO) 含量, 观察结肠和胃组织病理变化, 并通过 16S rDNA 测序检测小鼠肠道菌群的变化。研究发现, 15 mg/kg 辣椒素的摄入显著降低了大肠杆菌 O157:H7 感染小鼠血清和肠道的炎症因子含量, 显著改善了胃肠道屏障损伤和炎症情况, 显著增加了阿克曼氏菌属 (*Akkermansia*)、厌氧小体属 (*Anaeroplasma*) 和鲸杆菌属 (*Cetobacterium*) 的丰度, 其中 *Akkermansia* 的相对丰度较对照组提高了 48%; 显著降低了另枝菌属 (*Alistipes*)、肠球菌属 (*Enterococcus*) 和约克氏菌属 (*Yokenella*) 等的丰度。综上所述, 适当食用辣椒素含量为 15 mg/kg 的食物可以改善大肠杆菌 O157:H7 感染患者胃肠道炎症情况和肠道菌群结构。这可为大肠杆菌 O157:H7 感染患者的治疗和膳食方式提供指导意见。

关键词: 辣椒素; 大肠杆菌 O157:H7; 胃肠道炎症; 肠道微生物

文章编号: 1673-9078(2025)06-67-77

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2025.6.0249

Ameliorative Effects of Capsaicin on Gastrointestinal Inflammation and Gut Microbiota Structure in *Escherichia coli* O157:H7-Infected Mice

ZHANG Ting¹, YI Jinmei², WU Zhongqin¹, WANG Yuanliang^{1,3}, HOU Aixiang^{1*}, LI Zongjun^{1*}

(1. College of Food Science and Technology, Hunan Agricultural University, Changsha 410125, China)

(2. College of Continuing Education, Hunan Agricultural University, Changsha 410125, China)

(3. Changsha Institute of Modern Food Innovation, Hunan Agricultural University, Changsha 410125, China)

Abstract: The effects of different capsaicin doses on gastrointestinal inflammation and the gut microbiota structure in mice infected with *Escherichia coli* O157:H7 were studied. Mice were randomly divided into control group, infection group, and capsaicin treatment group (15, 7.5, 3.75 mg/kg) for 7 days. Food intake and body weight were recorded. Serum levels of inflammatory factors TNF- α and IL-6, and intestinal levels of MPO were detected. Histopathological changes in the colon and stomach were observed. The gut microbiota structure was analyzed by 16S rDNA sequencing. The results showed that 15 mg/kg capsaicin significantly reduced the levels of inflammatory factors in the serum and intestine, significantly improved the gastrointestinal barrier damage and inflammation, significantly increased the abundance of *Akkermansia*, *Anaeroplasma*, and *Cetobacterium*, and significantly reduced the abundance of *Alistipes*, *Enterococcus*, and *Yokenella*. In conclusion, appropriate consumption of food containing 15 mg/kg capsaicin can improve the gastrointestinal inflammation and gut microbiota structure in mice infected with *Escherichia coli* O157:H7. This can provide guidance for the treatment and dietary habits of patients with *Escherichia coli* O157:H7 infection.

引文格式:

张婷, 易金美, 吴中琴, 等. 辣椒素改善大肠杆菌 O157:H7 感染的小鼠胃肠道炎症和肠道菌群结构[J]. 现代食品科技, 2025, 41(6): 67-77.

ZHANG Ting, YI Jinmei, WU Zhongqin, et al. Ameliorative effects of capsaicin on gastrointestinal inflammation and gut microbiota structure in *Escherichia coli* O157:H7-Infected mice [J]. Modern Food Science and Technology, 2025, 41(6): 67-77.

收稿日期: 2024-03-01

基金项目: 湖南省自然科学基金青年项目 (2020JJ5233)

作者简介: 张婷 (1999-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品生物技术, E-mail: zhangting9909@163.com

通讯作者: 李宗军 (1968-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 食品生物技术, E-mail: hnlijongjun@163.com; 共同通讯作者: 侯爱香 (1982-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 食品生物技术, E-mail: aixianghou@163.com

Escherichia coli O157:H7-infected mice were investigated. A mouse model of *E. coli* O157:H7 infection was established, and successfully infected mice were randomly divided into control, infected, and capsaicin-treated groups, receiving 15, 7.5, and 3.75 mg/kg capsaicin treatment, respectively, for seven days. The food intake and body weight were recorded. Levels of inflammatory factors, including tumor necrosis factor- α and interleukin-6 in the serum, and the inflammatory marker myeloperoxidase in the intestinal tissue, were determined. Histopathological changes in the colon and gastric tissues were observed. Additionally, changes in the mouse gut microbiota were identified through 16S rDNA sequencing. The results revealed that administration of 15 mg/kg capsaicin substantially reduced the levels of inflammatory factors in the serum and intestinal tissue of *E. coli* O157:H7-infected mice, improved gastrointestinal barrier damage and inflammation, and increased the abundance of *Akkermansia*, *Anaeroplasma*, and *Cetobacterium*. The relative abundance of *Akkermansia* increased by 48% compared to that in the control group. In contrast, capsaicin intake substantially reduced the abundance of *Alistipes*, *Enterococcus*, and *Yokenella*. In conclusion, dietary intake of 15 mg/kg capsaicin can improve gastrointestinal inflammation and the gut microbiota structure in mice infected with *E. coli* O157:H7. These findings provide insights for treatment interventions and dietary strategies for mice with *E. coli* O157:H7 infection.

Key words: capsaicin; *Escherichia coli* O157:H7; gastrointestinal inflammation; gut microbiota

辣椒素 (trans-8-methyl-N-vanillyl-6-nonenamide) 是辣椒中的主要辛辣成分, 早在公元前 7000 年, 辣椒就在世界范围内被用作调味品和药物^[1]。大量研究表明, 辣椒素具有多重功效, 包括杀菌^[2,3]、降血压^[4]、减肥^[5]、抗糖尿病^[6]、抗癌^[7,8]等。近年来, 研究辣椒素对结肠炎的影响文献越来越多, Wan 等^[9]研究发现, 辣椒素可以通过改善乙酰胆碱诱导的结肠炎小鼠血管舒张, 以及阻断瞬时受体电位香草酸 4 (Transient Receptor Potential Vanilloid 4, TRPV4) 通道来抑制肠道 Cl^- 分泌并促进 Na^+ 吸收来发挥抗结肠炎作用。Chen 等^[10]通过对结肠炎大鼠连续 4 周灌胃 12 mg/kg 辣椒素发现, 结肠炎大鼠血清白细胞介素 6 (IL-6) 水平和结肠中瞬时受体电位香草酸 1 (Transient Receptor Potential Vanilloid 1, TRPV1) 和瞬间受体电位离子通道 TRPA1 (Transient Receptor Potential A1, TRPA1) 的蛋白表达降低, 血清超氧化物歧化酶和过氧化氢酶活性以及结肠白细胞介素 10 (IL-10) 水平提高。但华西医院一项 2016 年 9 月至 2018 年 11 月对连续一次或多次复发的炎症性肠病患者进行问卷调查发现, 50% 的溃疡性结肠炎患者和 40.7% 克罗恩病患者报告显示摄入辛辣食物会使他们的症状恶化^[11]。综合这些研究来看, 辣椒素剂量和作用时间的不同对结肠炎的作用呈现出了不同的影响。

大肠杆菌 O157:H7 是一种食源性疾病致病菌, 其产生的志贺毒素可破坏肠道屏障, 加剧全身炎症, 造成出血性结肠炎和肠道微生态紊乱^[12]。人类

和动物中的大肠杆菌 O157:H7 感染可追溯到 1970 年代, 自首次发现以来, 该病原体的流行率一直在上升, 且造成的死亡率很高。目前, 常用于治疗大肠杆菌 O157:H7 的药物为抗生素, 但大肠杆菌 O157:H7 对抗生素的耐药性也在与日俱增。因此, 迫切需要探索能够替代抗生素的治疗方式。基于本研究团队先前对辣椒素体外抑菌及对人粪便微生物体外培养特性的研究表明, 7.5 mg/kg 辣椒素对大肠杆菌 O157:H7 的生长具有一定的抑制作用, 且对人体肠道微生物的生长具有调节作用^[13]。辣椒素在体内是否也能达到同样的效果呢? 目前为止还没有关于辣椒素对大肠杆菌 O157:H7 感染影响的公开报道。因此, 本研究通过构建大肠杆菌 O157:H7 感染模型, 探究 15、7.5、3.75 mg/kg 辣椒素对大肠杆菌 O157:H7 感染的影响, 以期为大肠杆菌 O157:H7 感染患者的治疗和膳食方式提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 动物

SPF 级雄性 ICR 小鼠, 4 周龄, 体质量为 17~20 g, 购于湖南长沙斯莱克景达实验动物有限公司, 许可证号 SCXK (湘) 2019-0004, 动物伦理编号 BRECHAU-2023-082。

1.1.2 菌株和试剂

大肠杆菌 O157:H7 CICC 21530 菌株, 购于中

国工业微生物菌种保藏管理中心；天然辣椒素（纯度 98%），购于北京中科质检生物技术有限公司；大豆油，购于益海嘉里食品营销有限公司；EasyID 大肠埃希氏菌 O157:H7 生化鉴定试剂盒，购于广东环凯微生物科技有限公司；LB 肉汤培养基，购于青岛高科技工业园海博生物技术有限公司；小鼠肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 酶联免疫分析试剂盒、小鼠白细胞介素-6 (IL-6) 酶联免疫分析试剂盒、小鼠髓过氧化物酶 (MPO) 酶联免疫分析试剂盒、质量分数为 4% 的多聚甲醛通用型组织固定液，均购于上海酶联生物科技有限公司。

1.1.3 主要仪器设备

CPI14 分析天平，奥豪斯仪器有限公司；JP-0305 超声波清洗器，深圳市洁盟清洗设备有限公司；TGL-20M 冷冻离心机，长沙英泰仪器有限公司；SpectraMax® ABS Plus 酶标仪，美谷分子仪器（上海）有限公司；SKY-2102C 立式恒温培养摇床，上海苏坤实业有限公司；G-560E 旋涡振荡器，波西米亚科学工业公司；Testo 205 便携式 pH 计，深圳德图仪表有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 试验路线图

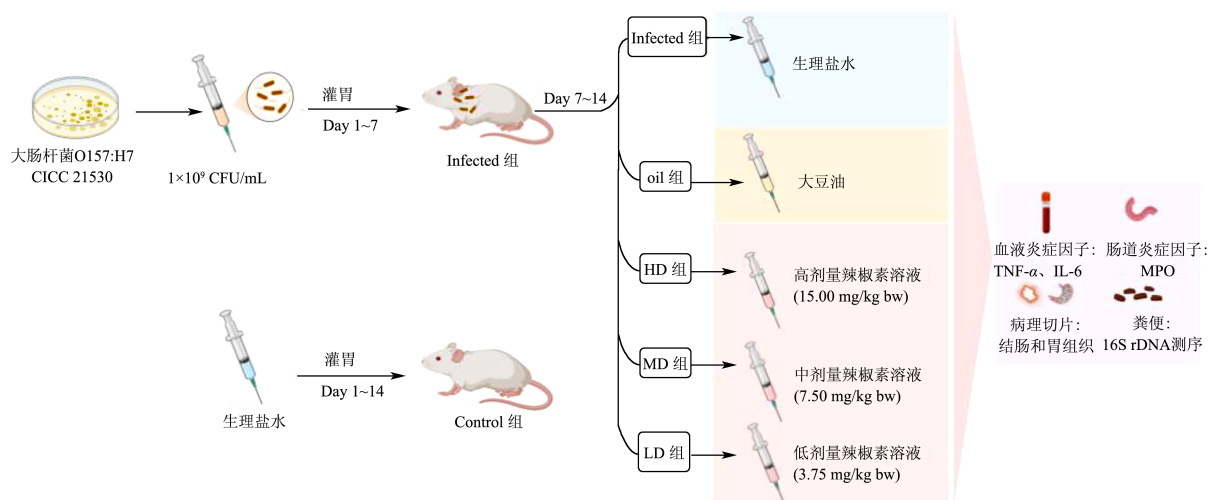


图 1 实验路线图

Fig.1 Roadmap for experiments

1.2.2 大肠杆菌O157:H7菌悬液制备

大肠杆菌 O157:H7 CICC 21530 菌株接种于液体肉汤培养基中，以 150 r/min，37 °C 在恒温振荡培养箱中有氧培养 24 h。收集的细菌于 4 °C，8 000 r/min 离心 5 min，并用无菌生理盐水洗涤 3 次，然后将细菌沉淀物重新悬浮到无菌生理盐水中，参照程建平^[14]对大肠杆菌 O157:H7 动物感染模型研究的结果，将菌悬液调整为 1.0×10^9 CFU/mL。

1.2.3 辣椒素溶液制备

用分析天平精确称量 30 mg 辣椒素（精确到 0.001 g）于 50 mL 洁净离心管中，因辣椒素为脂溶性，因此在辣椒素中加入 20 mL 大豆油，在旋涡振荡器中涡旋 20 s，混和后转移至 20 mL 容量瓶，加入大豆油定容。在 30 °C 以 40 kHz 超声 20 min，混均后得到质量浓度为 1.5 mg/mL 的辣椒素溶液，依次取 1.5 mg/mL 辣椒素溶液 5 mL，分别加入 5 mL 和 15 mL 大豆油稀释，制得质量浓度为 0.75 mg/mL

和 0.375 mg/mL 的辣椒素溶液。

1.2.4 大肠杆菌O157:H7感染模型建立

将小鼠置于温度 23~25 °C，湿度 60%~70% 的标准实验室环境中进行 12 h 的黑暗 / 光照循环，每个笼子饲养六只，用标准实验室食物喂养，自由饮水。小鼠适应性喂养 5 d 后随机分为 Control 组 ($n=12$) 和 Infected 组 ($n=60$)。Control 组小鼠灌胃 0.2 mL/10 g 体质量的无菌生理盐水，Infected 组小鼠灌胃 0.2 mL/10 g 体质量的 1.0×10^9 CFU/mL 大肠杆菌 O157:H7 菌悬液。每天监测并记录小鼠体质量和摄食量。持续灌胃 1 周后，采集所有小鼠的粪便用 EasyID 大肠埃希氏菌 O157:H7 生化鉴定试剂盒检测小鼠粪便中大肠杆菌 O157:H7。

1.2.5 辣椒素干预治疗

将感染成功的 Infected 组小鼠随机平均分为 Infected 组 ($n=12$)、Oil 组 ($n=12$)、HD 组 ($n=12$)、MD 组 ($n=12$) 和 LD 组 ($n=12$)。Infected 组小鼠灌胃

无菌生理盐水, Oil 组小鼠灌胃大豆油, HD 组、MD 组和 LD 组每天分别灌胃 15、7.5、3.75 mg/kg 的辣椒素溶液, 根据小鼠每日体质量变化以 0.1 mL/10 g 体质量确定灌胃体积。持续灌胃 1 周后, 各组小鼠禁食一夜, 进行眼球取血后脱颈。解剖小鼠剪取胃组织和部分十二指肠和结肠组织, 结肠和胃组织放入质量分数为 4% 的多聚甲醛固定液中固定, 十二指肠用锡箔纸包裹, 并收集结肠中粪便放入无菌洁净离心管中, 将小鼠粪便与十二指肠均置于液氮中冷冻, 最终放入 -80°C 冰箱保存以备后续试验。

1.2.6 生化评估

血液静置 30 min 后, 于 4°C , 3 000 r/min 离心 15 min 收集血清, 使用小鼠肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 酶联免疫分析试剂盒和小鼠白细胞介素-6 (IL-6) 酶联免疫分析试剂盒检测 TNF- α 和 IL-6 含量。十二指肠样品加入一定量的 PBS (pH 值 7.4), 用匀浆器将样品匀浆, 3 000 r/min 离心 20 min, 收集上清, 使用小鼠髓过氧化物酶 (MPO) 酶联免疫分析试剂盒检测 MPO 含量。

1.2.7 组织学分析

结肠和胃组织在质量分数为 4% 多聚甲醛固定液中固定 24 h, 然后, 组织脱水, 石蜡包埋, 切片, 采用苏木精-伊红 (H&E) 染色。此外, 使用碘酸希夫 (PAS) 对结肠组织进行染色。所有图像都是在带有相机的光学显微镜下观察的, 使用 CaseViewer 软件对病理切片进行详细查看和分析。

1.2.8 肠道菌群分析

粪便中的细菌基因组 DNA (每组 $n=5$) 由广州基迪奥生物科技有限公司进行测序。

1.2.9 数据分析

采用 GraphPad Prism 8.0.1 统计学软件进行数据分析和绘图, 数据均以均值 $\pm$ 标准差表示, 采用 one-way ANOVA 方法进行组间显著性分析, $P < 0.05$ 表示差异显著有统计学意义。

2 结果与讨论

2.1 大肠杆菌 O157:H7 感染评估

EasyID 大肠埃希氏菌 O157:H7 生化鉴定试剂盒检测结果显示, Control 组小鼠均呈阴性, Infected 组小鼠均呈阳性结果, 说明 Infected 组小鼠均已成

功感染大肠杆菌 O157:H7。

2.2 小鼠摄食量和体质量变化

干预期间, 每天在灌胃前称量并记录小鼠体质量和摄食量, 结果如图 2 所示。由图 2a 可知, Control 组、Infected 组和 HD 组小鼠的摄食量均随着干预时间的增加而缓慢上升, 且在 15 mg/kg 辣椒素干预的第 2 天后, HD 组上升趋势高于 Control 组和 Infected 组。而 Oil 组、MD 组和 LD 组摄食量仅在干预第一天有所增加, 而后转为下降趋势。由图 2b 可知, 各组小鼠体质量均呈现平稳增加的趋势。干预前小鼠体质量均在 29 g 左右, 随着干预时间的增加, 小鼠之间的体质量差距渐渐拉大, 体质量最高的组为 Control 组, 最低的为 HD 组, 两组间差距为 1~2 g。上述结果表明, 7.5 mg/kg 和 3.75 mg/kg 辣椒素的摄入会降低小鼠的食欲, 而 15 mg/kg 辣椒素的摄入能在不降低大肠杆菌 O157:H7 感染小鼠食欲的情况下减轻小鼠的体质量, 这或许是 15 mg/kg 辣椒素的摄入增加了感染小鼠能量消耗的原因。Josse 等^[15]的研究发现, 健康男性每天摄入 10 mg 以上的辣椒素能够增加肾上腺素的分泌和能量消耗, 促进机体产热和代谢。

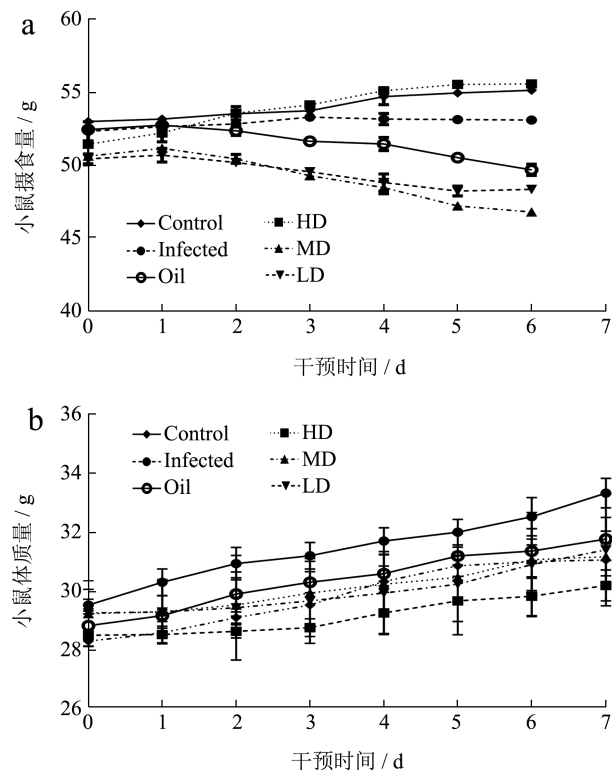


图 2 小鼠摄食量和体质量的变化 (a) 摄食量 (b) 体质量
Fig.2 Changes of food intake and body weight in mice (a) food intake (b) body weight

2.3 辣椒素对小鼠血液和肠道中炎症水平的影响

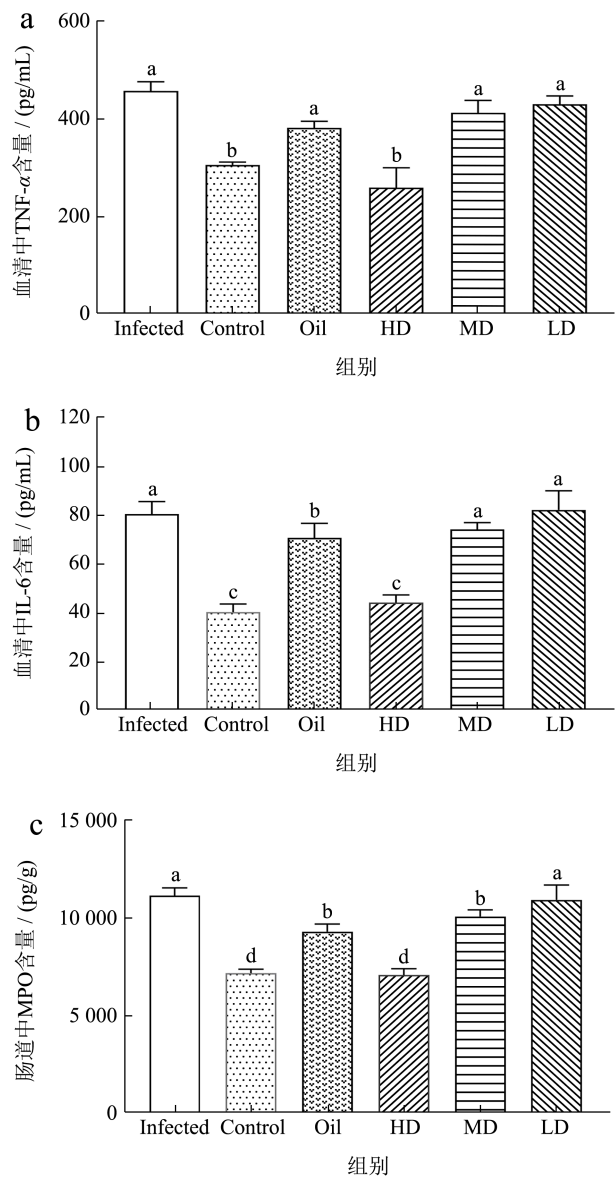


图3 小鼠血清和肠道中炎症因子含量 (a) 血清中 TNF- α 含量 (b) 血清中 IL-6 含量 (c) 肠道中 MPO 含量

Fig.3 Content of inflammatory factors in serum and intestine of mice (a) content of TNF- α in serum (b) content of IL-6 in serum (c) content of MPO in intestinal tract

注：数值表示为 Mean $\pm$ SD (n=12)；字母不同代表差异显著 (P<0.05)。

TNF- α 、IL-6 和 MPO 是典型的促炎因子，能够刺激和引导免疫系统的反应，调节炎症细胞的增殖、分化和活化，从而引起组织损伤和炎症反应。小鼠血清炎症因子中 TNF- α 、IL-6 含量和肠道中 MPO 活性情况如图 3 所示。结果表明，小鼠血清和肠道中的炎症水平与辣椒素浓度呈现出了剂量依赖

性，小鼠血清炎症因子中 TNF- α 、IL-6 含量和肠道中 MPO 含量均随着辣椒素剂量的减少而增加。对小鼠进行辣椒素干预后发现，与 Oil 组相比，摄入 15 mg/kg 辣椒素显著降低了大肠杆菌 O157:H7 感染小鼠的炎症水平 (P<0.01)，且 HD 组各炎症因子水平均与 Control 组非常接近，说明摄入 15 mg/kg 辣椒素能够使大肠杆菌 O157:H7 感染小鼠体内的炎症水平逐步恢复正常状态。而摄入 7.5 mg/kg 和 3.5 mg/kg 辣椒素对小鼠炎症并未起到改善作用 (P>0.05)。Shin 等^[16]的研究表明，对小鼠饲喂 10~20 mg/kg 辣椒素能通过阻断脂多糖诱导的核因子 - κ B (Nuclear Factor-kappa B, NF- κ B) 的消失，从而使 NF- κ B 失活，表现出抗炎特性。本研究表明，在大肠杆菌 O157:H7 感染的情况下，摄入 15 mg/kg 辣椒素所表现的抗炎特性最佳。

2.4 辣椒素对大肠杆菌O157:H7感染小鼠结肠组织的影响

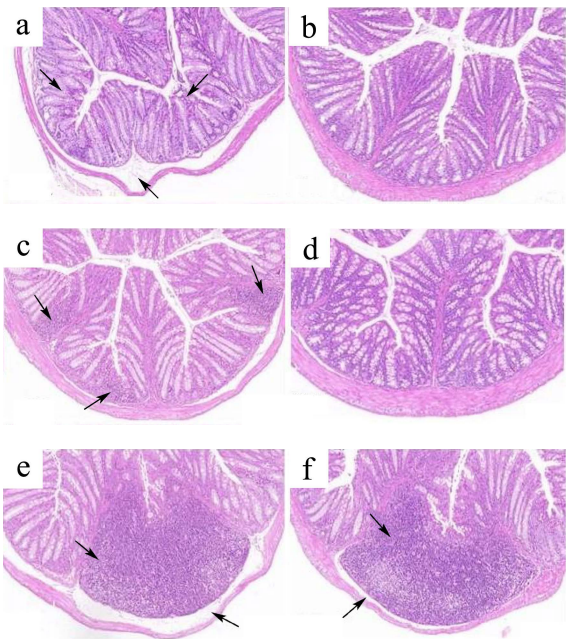


图4 结肠组织 H&E 染色切片 ($\times 15$)

Fig.4 H&E stained sections of colon tissue ($\times 15$)

注：a 为 Infected，b 为 Control，c 为 Oil，d 为 HD，e 为 MD，f 为 LD。图 5、6 同。

大肠杆菌 O157:H7 所引起的肠道炎症常表现为结肠炎，因此对感染小鼠的结肠组织进行了 H&E 染色。结肠中的杯状细胞能分泌保护肠道的粘液物质，其经 PAS 染色可呈紫红色，因此进一步对结肠进行了 PAS 染色。由图 4 的 H&E 染色结果显示，经大肠杆菌 O157:H7 感染后，小鼠肌层局部断裂脱

落，固有层肠腺排列不规则，且扩张严重，肠粘膜上皮不完整。**Control** 组小鼠肠壁结构完整，上皮细胞排列有序，腺体细胞形态正常。**Oil** 组肠黏膜结构完整，上皮细胞形态正常，但肌层可见局部脱落，固有层局部存在粒细胞浸润。**MD** 组和 **LD** 组肠壁明显变薄，且伴随不同程度的脱落，固有层出现大量粒细胞浸润，炎症侵及黏膜下层。而 **HD** 组肠黏膜结构完整无溃疡，上皮细胞形态正常，腺体排列紧密而又规则。由图 5 的 PAS 染色结果可知，与 **Infected** 组、**MD** 组和 **LD** 组相比，**HD** 组杯状细胞显著增多，且与 **Control** 组数量十分接近。**Oil** 组杯状细胞也有一定的增加，但增加数量不及 **HD** 组。

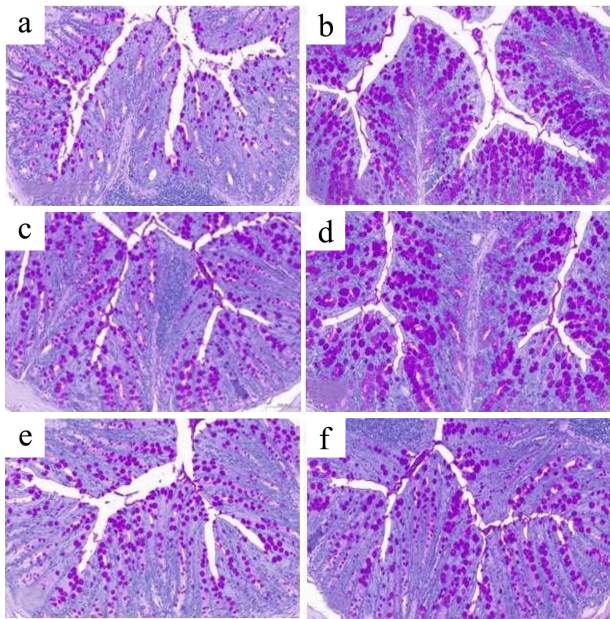


图 5 结肠组织 PAS 染色切片 (× 15)

Fig.5 PAS stained sections of colon tissue (×15)

高剂量的辣椒素可以修复肠道屏障，而低剂量的辣椒素会降低肠道屏障的通透性，这在体外和体内动物研究中都得到了证实^[17]。罗鑫等^[18]通过对低温低湿环境下的小鼠连续一周灌胃 10~20 mg/kg 辣椒素发现，小鼠断裂的十二指肠绒毛恢复正常。**Chen** 等^[19]的研究表明，连续 5 d 摄入 0.20 mg/kg 辣椒素会诱导中性粒细胞在固有层积聚，导致小鼠结肠炎恶化。本研究表明，连续一周灌胃 15 mg/kg 辣椒素能够有效改善由大肠杆菌 O157:H7 感染所引起的小鼠结肠炎，而 7.5 和 3.75 mg/kg 的摄入对结肠炎在一定程度上加重了结肠炎的恶化。

2.5 辣椒素对大肠杆菌O157:H7感染小鼠胃组织的影响

胃组织在消化系统中起着重要作用，辣椒素的

消化吸收与胃组织密切相关。由图 6 可知，经大肠杆菌 O157:H7 感染后，小鼠上皮细胞形态不规则，且出现脱落情况，胃黏膜下层出现严重炎症浸润，肌层内毛细血管出现充血现象，腺体与肌层出现分离，胃底腺腺体间隙明显增宽，腺体内出现大量空白透亮区，表明腺体细胞出现水肿，且部分腺体细胞因为水肿而破裂。**Oil** 组、**MD** 组和 **LD** 组小鼠肌层内毛细血管也出现了充血现象，且腺体与肌层分离。此外，**LD** 组小鼠上皮细胞还出现了脱落情况。而 **Control** 组和 **HD** 组小鼠胃壁结构完整，上皮细胞形态正常，腺体排列整齐有序。这说明，大肠杆菌 O157:H7 的感染会对小鼠胃组织出现炎症情况，并对腺体造成损伤，而 15 mg/kg 辣椒素的摄入能够明显改善小鼠胃部组织结构的损伤和炎症情况。罗鑫等^[18]的研究也发现，15 mg/kg 辣椒素能够通过下调 NF- κ B 的基因表达来下调促炎因子白细胞介素 1 β 的表达量，从而缓解胃组织炎症情况。出现这一现象，一方面可能是辣椒素通过感觉神经末梢释放中介肽和降钙素基因相关肽来增强微循环，进而实现胃黏膜的修复^[20]，另一方面也可能是辣椒素通过刺激粘液的分泌和胃黏膜血液流动，帮助处理胃中的酸，从而促进消化性溃疡的愈合^[21]。

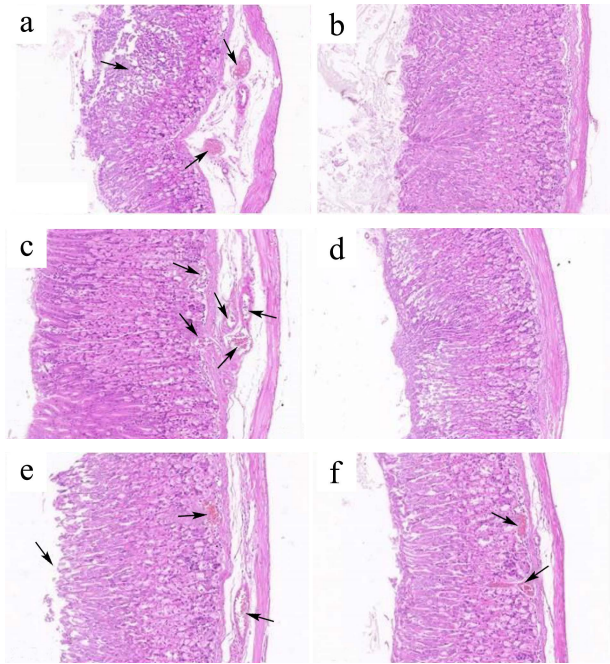


图 6 胃组织 H&E 染色切片 (× 15)

Fig.6 H&E stained sections of stomach tissue (×15)

2.6 辣椒素对大肠杆菌O157:H7感染小鼠肠道微生物群的影响

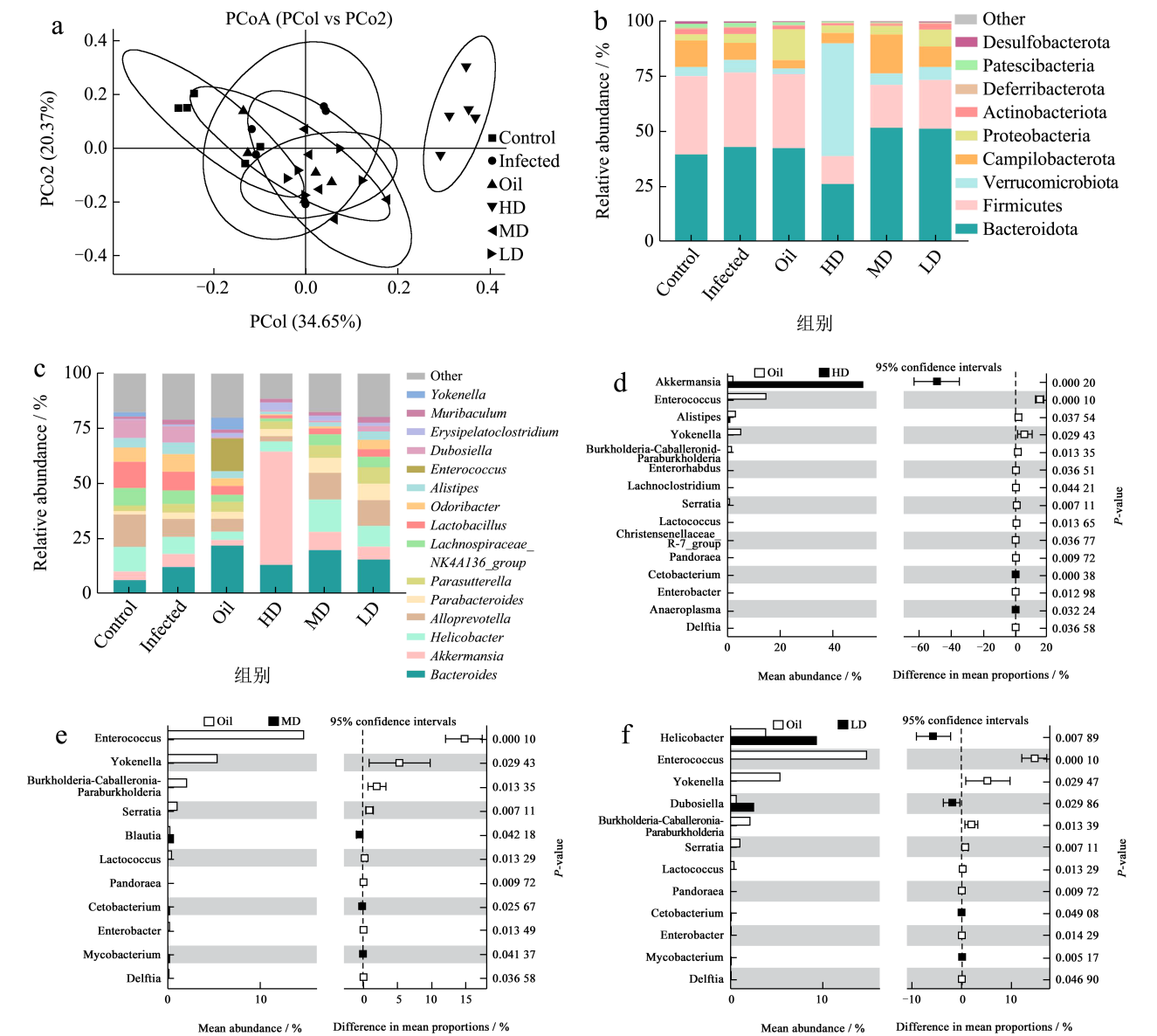
肠道菌群的平衡与宿主的健康密切相关，其可

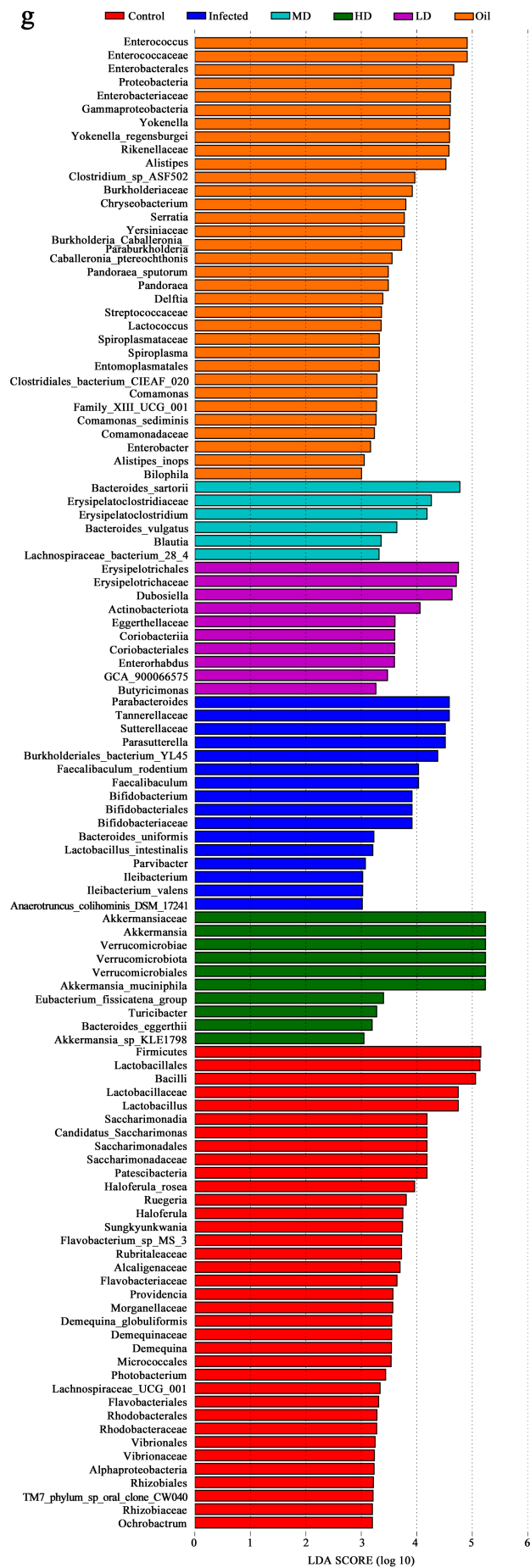
影响宿主代谢表型^[22]和免疫调节^[23]。众多研究表明,辣椒素通过调节肠道菌群的平衡,进而调节代谢^[24]与炎症^[25]。

通过对粪便样本中的细菌 16S rDNA V3+V4 区域进行测序来评估肠道微生物群的组成,并采用主坐标分析(PCoA)法分析了肠道微生物群的群落结构,结果如图 7a 所示。15 mg/kg 辣椒素的摄入使 HD 组与其他各组均明显分离,表明 15 mg/kg 辣椒素对感染小鼠肠道菌群的调节作用明显。

为进一步分析辣椒素对大肠杆菌 O157:H7 感染小鼠微生物群的调节情况,挑选每个分组在

门水平上物种相对丰度大于 1% 的肠道微生物群绘制物种堆叠图,结果如图 7b 所示。在门水平上,相对丰度>1% 的微生物群主要由拟杆菌门(Bacteroidota)、厚壁菌门(Firmicutes)和疣微菌门(Verrucomicrobiota)等组成。选取各组样本中属水平丰度排名前 15 的物种进行详细展现,其他已知物种归为 other,进一步阐明属水平上肠道菌群的结构,结果如图 7c 所示。排名前 15 的肠道菌群主要由拟杆菌属(*Bacteroides*)、阿克曼氏菌属(*Akkermansia*)、螺杆菌属(*Helicobacte*)和拟普雷沃氏菌属(*Alloprevotella*)等构成。





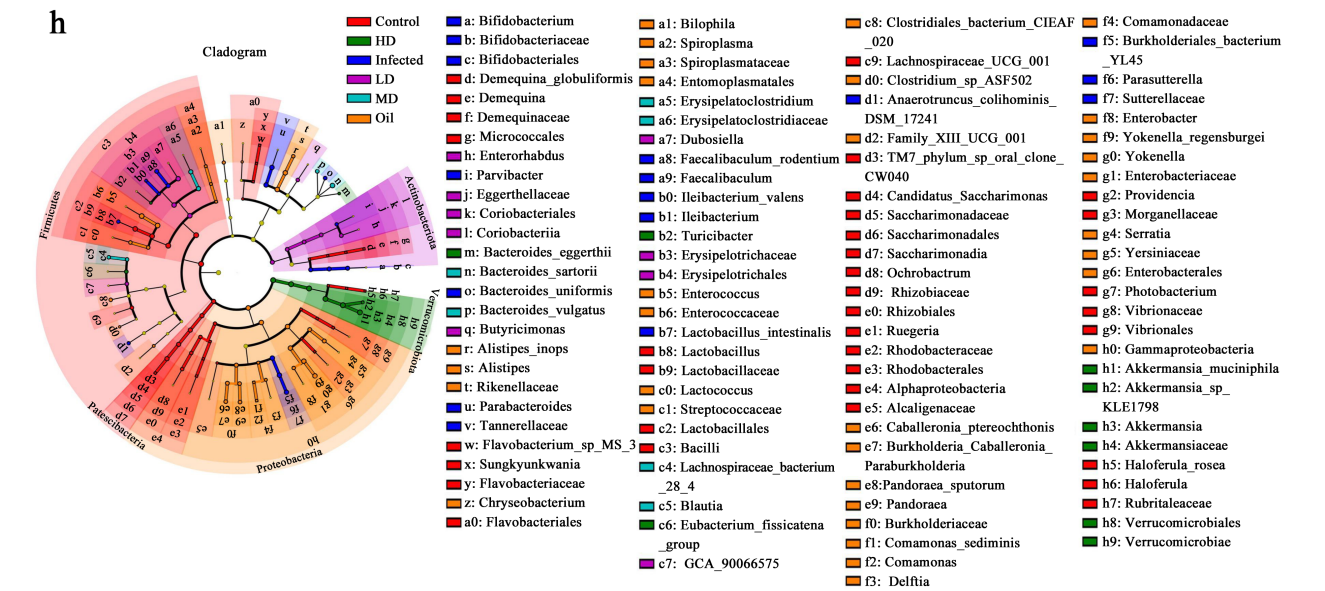


图 7 辣椒素干预对小鼠肠道菌群的影响 (a) PCoA 分析 (b) 门水平物种丰度 (c) 属水平物种丰度 (d) (e) (f) Welch'st 检验分析 (g) LDA 得分图 (h) 菌群进化分支图

Fig.7 Effect of capsaicin intervention on intestinal flora in mice (a) PCoA analysis (b) phyla horizontal species abundance (c) genus horizontal species abundance (d) (e) (f) Welch 'st test analysis (g) LDA score plot (h) Microbiota evolutionary branch plot

进一步对属水平上排名前 15 的肠道菌群进行 Welch'st 检验 ($P \leq 0.05$)。由图 7d~7f 可知, 与 Oil 组相比, 相对丰度较高且显著增加的菌属为 HD 组的 *Akkermansia* 和 LD 组的 *Helicobacte*, 显著降低的为三组中的肠球菌属 (*Enterococcus*) 和约克氏菌属 (*Yokenella*)。HD 组显著增加了阿克曼氏菌属 (*Akkermansia*)、厌氧小体属 (*Anaeroplasma*) 和鲸杆菌属 (*Cetobacterium*) 的丰度, 显著降低了另枝菌属 (*Alistipes*)、肠球菌属 (*Enterococcus*) 和约克氏菌属 (*Yokenella*) 等的丰度。值得注意的是, HD 组样本中的 *Akkermansia* 相比于其他组均提高了 40% 以上的相对丰度值。*Akkermansia* 目前被认为是下一代有益微生物^[26], 其通过降解粘蛋白大量增殖, 可以促进粘膜层的新陈代谢, 通过增加粘液层的厚度和紧密连接蛋白的表达来保护肠道屏障^[27]。相关研究表明, 辣椒素可以作为粘蛋白促分泌剂增加肠道中粘蛋白的数量^[28], 这或许是 HD 组样本中 *Akkermansia* 显著增加的原因。除此之外, *Akkermansia* 已被众多研究证明具有抗肥胖作用^[29,30], 这在辣椒素干预期间小鼠的体质量的监测结果中也发现, 15 mg/kg 辣椒素的摄入减轻了小鼠的体质量, 这或许与辣椒素对 *Akkermansia* 生长的促进作用有关。

为了进一步揭示各组中优势微生物的主要细菌生物标志物, 根据 LDA 效应大小进行了 LEfSe 分

析 ($LDA > 3$, $P < 0.05$), 结果如图 7g、7h 所示。在 Infected 组、Control 组、Oil 组、HD 组、MD 组和 LD 组中分别发现了 16、36、33、10、6 和 10 个分类群的优势细菌标记, 差异最大的属包括 *Akkermansia*、*Helicobacte*、*Enterococcus* 和 *Bacteroides* 等, 说明这些菌群在肠道中起到了关键调节作用。

2.7 肠道微生物群与炎症因子水平的关系

宿主免疫炎症反应与肠道菌群密切相关, 因此进一步对属水平上丰度排名前 15 位的微生物与 TNF- α 、IL-6、MPO 进行了 Spearman 的相关性分析, 以确定炎症因子的水平与肠道菌种之间是否存在显著关联性。Spearman 相关系数值越接近 1, 表示正相关性越强, 越接近 -1, 表示负相关性越强。如图 8 所示, *Alloprevotella* 和 *Parasutterlla* 与 IL-6 和 MPO 成显著正相关性, 相关系数均为 0.9, 说明这两株菌属能够显著促进小鼠体内炎症的产生。Yu 等^[31]的研究也表明, *Alloprevotella* 菌属丰度的增加进一步恶化了小鼠结肠炎的严重程度。与炎症因子呈负相关性的为 *Akkermansia*、*Enterococcus*、*Bacteroides* 和 *Erysipelatocolstridium* 菌属, 但相关性并不显著。这或许是因为, 当 TRPV1 通道被激活后, 辣椒素改变肠道兴奋性和敏感性, 并诱导神经肽的局部释放, 如 P 物质 (Neurokinin P, P 物质) 或降钙素相关肽, 这些神经肽可以通过改变肠道环

境中的炎症和免疫条件来次级调节肠道微生物群的组成和结构^[32]。

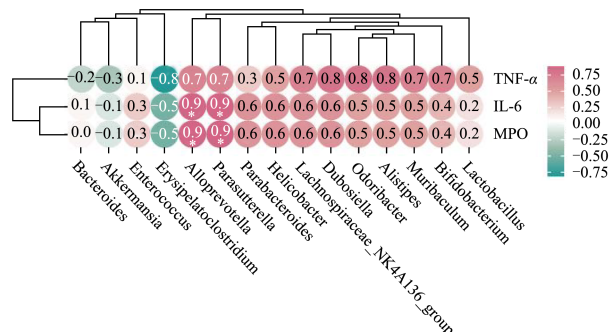


图8 属水平肠道菌群与炎症因子 (TNF-α、IL-6、MPO) 相关分析的热图

Fig.8 Heatmap of correlation analysis between genus level gut flora and inflammatory factors (TNF-α, IL-6, MPO)

注: * 代表差异显著 ($P < 0.05$)。

3 结论

本研究发现, 在大肠杆菌 O157:H7 感染的情况下, 连续一周摄入 15 mg/kg 辣椒素能够显著下调血液中 TNF-α 和 IL-6 和肠道中 MPO 炎症因子的表达水平, 改善结肠的炎症性水肿, 修复结肠和胃组织屏障损伤, 且能够显著调节肠道菌群组成与结构, 尤其是对 *Akkermansia* 的调节作用最为显著。因此, 对于大肠杆菌 O157:H7 感染患者而言, 适当食用辣椒素含量为 15 mg/kg 的食物可以降低其血液和胃肠道炎症水平, 缓解结肠炎症状, 促进体内益生菌的生长, 改善肠道菌群结构。本研究只探讨了持续一周摄入辣椒素对大肠杆菌 O157:H7 感染小鼠的影响, 更长摄入时间或更高剂量辣椒素对大肠杆菌 O157:H7 感染小鼠或许会有更加显著的效果, 这值得进一步研究。

参考文献

- [1] ZHANG L Y, LU W, LU C, et al. Beneficial effect of capsaicin via TRPV4/EDH signals on mesenteric arterioles of normal and colitis mice [J]. J Adv Res, 2022, 39(8): 291-303.
- [2] SINGH H G, FAIRS A, SYARHABIL M. Anti-fungal activity of capsicum frutescence and *Zingiber officinale* against key post-harvest pathogens in citrus [J]. International Conference on Biomedical Engineering and Technology, 2019, 11(5): 1-6.
- [3] GOCI E, HALOCI E, DI S A, et al. Evaluation of *in vitro* capsaicin release and antimicrobial properties of topical pharmaceutical formulation [J]. Biomolecules, 2021,

11(3): 432-433.

- [4] SZALLASI A. The vanilloid (capsaicin) receptor TRPV1 in blood pressure regulation: a novel therapeutic target in hypertension? [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2023, 24(10): 8769-8799.
- [5] WANG Y W, TANG C, TANG Y, et al. Capsaicin has an anti-obesity effect through alterations in gut microbiota populations and short-chain fatty acid concentrations [J]. Food & Nutrition Research, 2020, 64(4): 3525-3526.
- [6] ZHANG S Q, TANG L L, XU F S, et al. TRPV1 receptor-mediated hypoglycemic mechanism of capsaicin in streptozotocin-induced diabetic rats [J]. Frontiers in Nutrition, 2021, 8(3): 55-75.
- [7] BROWN K C, MODI K J, LIGHT R S, et al. Anticancer activity of region B capsaicin analogs [J]. Journal of Medicinal Chemistry, 2023, 66(7): 4294-4323.
- [8] MERRITT J C, RICHBART S D, MOLES E G, et al. Anti-cancer activity of sustained release capsaicin formulations [J]. Pharmacology & Therapeutics, 2022, 238(1): 108-177.
- [9] WAN H X, CHEN X Y, ZHANG F L, et al. Capsaicin inhibits intestinal Cl(-) secretion and promotes Na(+) absorption by blocking TRPV4 channels in healthy and colitic mice [J]. Journal of Biological Chemistry, 2022, 298(5): 101-847.
- [10] CHEN Y S, LIAN Y Z, CHEN W H, et al. Lycium barbarum polysaccharides and capsaicin inhibit oxidative stress, inflammatory responses, and pain signaling in rats with dextran sulfate sodium-induced colitis [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2022, 23(5): 2423-2424.
- [11] CHEN Y, MA C, DANG Y, et al. P082 Spicy food is a vital trigger for relapse in patient with inflammatory bowel disease [J]. Journal of Crohn's and Colitis, 2020, 14(Supplement_1): S176-177.
- [12] ZHAO X Q, WANG L, ZHU C L, et al. The antimicrobial peptide MPX protects against enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 infection, inhibits inflammation, and enhances the intestinal epithelial barrier [J]. Frontiers in Microbiology, 2021, 12(2): 21-22.
- [13] 张婷, 王玮媛, 彭澳, 等. 辣椒素和辣椒水提物的抗氧化特性及对人粪便微生物体外培养特性的影响 [J]. 食品工业科技, 2023, 44(6): 146-154.
- [14] 程建平, 邹全明, 毛旭虎, 等. 肠出血性大肠杆菌 O157:H7 感染动物模型的建立 [J]. 中国人兽共患病杂志, 2005, 4: 276-278.
- [15] JOSSE A R, SHERRIFFS S S, HOLWERDA A M, et al. Effects of capsinoid ingestion on energy expenditure and lipid oxidation at rest and during exercise [J]. Nutrition & Metabolism, 2010, 16(8): 16-21.

- [16] SHIN Y H, NAMKOONG E, CHOI S, et al. Capsaicin regulates the NF- κ B pathway in salivary gland inflammation [J]. Journal of Dental Research, 2013, 92(6): 547-552.
- [17] ROACA A E, IEASNU M I, ZAHIU C D M, et al. Capsaicin and gut microbiota in health and disease [J]. Molecules, 2020, 25(23): 12-15.
- [18] 罗鑫,牛素敏,董轶群,等.辣椒素缓解低温低湿条件下小鼠胃肠道炎症的研究[J].现代食品科技,2023,39(1):1-13.
- [19] CHEN K X, SHEN S, CHEN Y, et al. A proteomic and RNA-seq transcriptomic dataset of capsaicin-aggravated mouse chronic colitis model [J]. Sci Data, 2022, 9(1): 548-549.
- [20] XIANG Y W, XU X L, ZHANG T, et al. Beneficial effects of dietary capsaicin in gastrointestinal health and disease [J]. Experimental Cell Research, 2022, 417(2): 21-23.
- [21] RAIMURA M, TASHIMA K, MATSUMOTO K, et al. Neuronal nitric oxide synthase-derived nitric oxide is involved in gastric mucosal hyperemic response to capsaicin in rats [J]. Pharmacology, 2013, 92(1-2): 60-70.
- [22] ZHANG D D, LIU J, CHENG H, et al. Interactions between polysaccharides and gut microbiota: a metabolomic and microbial review [J]. Food Research International, 2022, 160(1): 55-57.
- [23] JUN J X, KOLAPO M A, RE J F. Mechanistic insight into the gut microbiome and its interaction with host immunity and inflammation [J]. Animal Nutrition, 2020, 6(4): 421-428.
- [24] SZALLASI A. Dietary capsaicin: a spicy way to improve cardio-metabolic health? [J]. Biomolecules, 2022, 12(12): 17-83.
- [25] ZIMIRAD M, NOORI M, AZIMIRAD F, et al. Curcumin and capsaicin regulate apoptosis and alleviate intestinal inflammation induced by clostridioides difficile *in vitro* [J]. Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials, 2022, 21(1): 1-16.
- [26] JAYACHANDRAN M, CHUNG S S M, XU B. A critical review of the relationship between dietary components, the gut microbe *Akkermansia muciniphila*, and human health [J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2020, 60(13): 2265-2276.
- [27] BU F, DING Y, CHEN T, et al. Total flavone of *Abelmoschus manihot* improves colitis by promoting the growth of *Akkermansia* in mice [J]. Scientific Reports, 2021, 11(1): 27-37.
- [28] VIJAY K, VIBHU K, NEHA M.. Mucin secretory action of capsaicin prevents high fat diet-induced gut barrier dysfunction in C57BL/6 mice colon [J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2022, 145(4): 112-114.
- [29] KIM S, LEE Y, KIM Y, et al. *Akkermansia muciniphila* prevents fatty liver disease, decreases serum triglycerides, and maintains gut homeostasis [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2020, 86(7): e03004-e03019.
- [30] GARCIA-MAZCORRO J F, MINAMOTO Y, KAWAS J R, et al. *Akkermansia* and microbial degradation of mucus in cats and dogs: implications to the growing worldwide epidemic of pet obesity [J]. Veterinary Sciences, 2020, 7(2): 44.
- [31] YU B, WANG Y, TAN Z, et al. Resveratrol ameliorates DSS-induced ulcerative colitis by acting on mouse gut microbiota [J]. Inflammopharmacology, 2024, 32: 2023-2033.
- [32] KIM C S, KAWADA T, KIM B S, et al. Capsaicin exhibits anti-inflammatory property by inhibiting I κ B- α degradation in LPS-stimulated peritoneal macrophages [J]. Cellular Signalling, 2003, 15(3): 299-306.