



鼠衣原体改善 DSS 诱导的小鼠溃疡性结肠炎的作用研究

贺庆芝¹, 罗晓清¹, 马芙蓉¹, 郑慧怡¹, 王昕¹, 金盈圻¹, 成国锋¹, 钟光明^{2*}

¹南华大学衡阳医学院, 湖南 衡阳 421001

²美国德克萨斯大学圣安东尼奥健康科学中心微生物与免疫学系, 德克萨斯 圣安东尼奥 78229

摘要:【目的】探讨鼠衣原体(*Chlamydia muridarum*)对小鼠溃疡性结肠炎的作用。【方法】取 15 只雌性 C57BL/6J 小鼠随机分为 3 组, 每组 5 只动物, 分别为空白对照组(Control)、肠炎模型组(DSS)、实验组(CM+DSS)。选取 CM+DSS 组小鼠予以 2×10^5 IFU 的鼠衣原体灌胃处理, 并在其感染后第 29 天开始, 给予 DSS 组和 CM+DSS 组的小鼠 2% DSS 饮水, 持续 5 d, 每天监测小鼠体重和肠炎疾病评分, 实验结束后检测小鼠结肠长度和结肠组织炎性改变。【结果】肠炎模型组的小鼠均表现出典型的肠炎症状(包括体重减轻、肠炎疾病评分、结肠长度和组织炎性改变); 而经鼠衣原体预处理的小鼠(CM+DSS 组)肠炎症状显著减轻, 表现在肠炎疾病评分降低, 体重和结肠长度有所恢复, 肠组织炎性损伤减轻。【结论】鼠衣原体对 DSS 诱导的小鼠溃疡性结肠炎具有改善作用。

关键词: 鼠衣原体, 肠道菌群, 溃疡性结肠炎

衣原体是一种革兰氏阴性、严格寄生在活细胞内的病原菌。能使人致病的衣原体主要有沙眼衣原体(*Chlamydia trachomatis*)、肺炎衣原体(*Chlamydia pneumoniae*)和鹦鹉热衣原体(*Chlamydia psittaci*)。其中沙眼衣原体主要感染泌尿生殖道上皮细胞, 引起性传播疾病, 严重时可导致异位妊娠、不孕不育等并发症, 还可促进 HIV 的感染。沙眼衣原体根据其生物学特性和致病性又分为三

种生物型, 即鼠生物型、沙眼生物型和性病淋巴肉芽肿生物型。沙眼衣原体鼠生物型主要感染小鼠引起小鼠肺炎, 因而过去称为鼠肺炎型沙眼衣原体(Mouse Pneumonitis agent), 现将其划分为一新的衣原体种, 即鼠衣原体(*Chlamydia muridarum*)^[1]。目前对衣原体的研究主要集中在其致病性方面, 其中对泌尿生殖道和呼吸系统的研究最多, 对消化系统的研究比较罕见, 而对肠道的作用及相关

基金项目: 湖南省自然科学基金(2018JJ2326); 南华大学大学生研究性学习和创新性实验计划项目(2018XJXZ379, 2018XJXZ382)

*通信作者。Tel: +86-734-8281224; E-mail: Zhonggm@UTHSCSA.edu

收稿日期: 2019-06-19; 修回日期: 2019-08-20; 网络出版日期: 2019-12-04

的分子机制尚无相关文献报道。

溃疡性结肠炎(Ulcerative colitis, UC)是非特异性炎症性肠病的一种,其主要发生部位在结肠粘膜,病变特征通常为肠黏膜的慢性炎症和溃疡性改变,临床症状主要包括腹泻、便血和体重减轻^[2-3]。溃疡性结肠炎的发病原因很复杂,目前认为与遗传、免疫、肠道微生态和环境等关系密切。该病病程长,反复发作,已成为一种全国性的健康问题^[4]。一些药物虽可以暂时缓解其临床症状,但难以适应多样化的病症,且难达根治的效果,这对人们的身体健康造成了极大威胁。因此,研究其具体致病机制和寻找新的治疗手段成为了科研和医疗工作者当前急需解决的重要问题。

本实验拟用 DSS 分别构建鼠衣原体感染/未感染的野生型 C57BL/6J 小鼠肠炎模型,研究鼠衣原体对 DSS 诱导的溃疡性结肠炎的作用。它是从一个新的视角来阐明衣原体的作用,这在理论上具有创新性。该项目的完成不仅能丰富衣原体的新理论和新知识,而且可能为溃疡性结肠炎寻找新的治疗手段提供新思路。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 菌株、动物与细胞株:鼠衣原体 G13.32.1 由美国德克萨斯大学圣安东尼奥健康科学中心(UTHSCSA)钟光明教授实验室提供;所有野生型 C57BL/6J 小鼠均购于南京君科生物工程有限公司;HeLa 229 细胞购自上海中国科学院细胞库。

1.1.2 主要试剂:DMEM 培养基购自 Qiagen 公司,胎牛血清购自 GIBCO 公司,甲羟孕酮醋酸酯

和 Hoechst 染料购自 Sigma 公司,兔抗衣原体抗体和 Cy2(绿色)标记的羊抗兔 IgG 均由 UTHSCSA 提供,DSS 购于美国 MPBio 公司。

1.2 细胞培养

人宫颈癌细胞株(HeLa 229)为本实验室保存,常规传代培养。细胞用含 10%胎牛血清的 DMEM 培养液,在 37 °C、5% CO₂ 孵箱中培养。

1.3 衣原体培养

衣原体在 HeLa 229 细胞中扩增,分离纯化后,-80 °C 保存备用。

1.4 动物感染模型

5-6 周龄雌性 C57BL/6J 小鼠 15 只,随机分为 3 组,分别为空白对照组(Control)、肠炎模型组(DSS)、实验组(CM+DSS)。CM+DSS 组小鼠经灌胃(intragastric, i.g)感染 2×10^5 包涵体单位(Inclusion-forming unit, IFU)的鼠衣原体 G13.32.1,建立小鼠感染模型。感染后第 3、7、14、21、28 天进行小鼠肛拭子取上皮细胞,借助玻璃珠和振荡器破碎细胞,离心,取上清,感染已经准备好的细胞(提前一天种 96 孔板),继续培养 48 h 后,取出 96 孔板,采用间接免疫荧光检测肠道中衣原体数量。为增加小鼠对衣原体感染的敏感性,构建更有效的动物感染模型,衣原体感染前 5 d 所有小鼠均皮下注射 2.5 mg 甲羟孕酮醋酸酯。

1.5 间接免疫荧光试验(Indirect immunofluorescent assay, IFA)

取 96 孔细胞培养板,PBS 洗涤细胞 2 次;用预冷的 4%多聚甲醛常温固定 1 h(或过夜),PBS 洗涤 3 次,0.1% triton X-100 室温处理 10 min, PBS 洗涤 3 次,每次 5 min;用含 10%小牛血清的 DMEM 常温封闭 1 h;一抗兔抗衣原体(1:2000 稀释,实

实验室自备) 4 °C 孵育细胞过夜或常温孵育 2 h; PBS 洗 3 次, 每次 5 min; 二抗 Cy2-羊抗兔 IgG (1:300 稀释)和 Hoechst 细胞核 DNA 染料(1:1000 稀释)避光混合, 常温孵育 45 min; PBS 洗涤 3 次, 在荧光显微镜下计数包涵体的数量。

1.6 包涵体形成单位(Inclusion-forming unit, IFU)计数

低倍镜或高倍镜下随机取 5 个视野, 计算每个视野中衣原体的包涵体数量; 结合细胞的稀释度和显微镜的放大倍数, 用 Excel 表算出 IFU 值, 再将 IFU 值转换成对数值(log10)。

1.7 肠炎模型

建立小鼠溃疡性结肠炎模型^[5], 即将葡聚糖硫酸钠(DSS, 分子量为 36000–50000)溶于蒸馏水中, 配制成 2%的 DSS 溶液; 从 CM+DSS 组衣原体感染第 29 天开始, 连续给予 DSS 组和 CM+DSS 组小鼠 5 d 2% DSS 自由饮水, 即可建立小鼠溃疡性结肠炎模型。

1.8 称量体重

从给予 DSS 前开始每天固定时间称量小鼠体重, 以前一天的体重为基数。

1.9 肠炎疾病活动指数(Disease activity index, DAI)评估

从给予 DSS 前一天开始每天固定时间观察小鼠体重、粪便性状和隐血情况, 按照以下标准对小鼠进行评分, 将小鼠体重、粪便性状和隐血情况的评分相加即小鼠的 DAI 分值, 以评估肠炎疾病的严重程度。评分标准如下^[6]: (1) 体重改变评分标准(0–4 分): 小鼠体重下降 0%–1%被评为 0 分; 下降 1%–5%被评为 1 分; 下降 5%–10%被评为 2 分; 下降 10%–20%被评为 3 分; 下降 20%以上

被评为 4 分。(2) 粪便性状评分标准(0–4 分): 正常粪便 0 分; 软便 1 分; 稀便 2 分; 腹泻 4 分。(3) 粪便隐血评分标准(0–4 分): 正常粪便 0 分; 粪便表面有血迹 2 分; 严重出血 4 分。将以上 3 个分数相加再除以 3 即 DAI 的分值。

1.10 测量结肠长度

颈椎脱臼法处死实验小鼠, 固定后剖鼠, 取回盲部至肛门段, 用尺子直接测量。

1.11 HE 染色

在距盲部 3 cm 处取约 0.5 cm 长末端回肠, 去除肠内容物后固定于 4%多聚甲醛中, 石蜡切片及苏木精-伊红染色: 循着梯度脱水-透明-浸蜡-包埋-切片-烤片-脱蜡-水化-苏木精染核-1%盐酸分化-0.5%氨水反蓝-伊红染色-梯度脱水-透明-封片的步骤^[7], 最后在光镜下观察肠道粘膜淤血、上皮细胞脱落坏死及炎症细胞浸润等病理组织变化。

1.12 统计学分析

实验数据以均数±标准差($x \pm s$)表示, 运用 SPSS 17.0 软件进行统计分析, 均数之间的比较采用方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果和分析

2.1 鼠衣原体在 C57BL/6J 小鼠体内生长稳定

本实验通过用鼠衣原体灌胃 C57BL/6J 小鼠, 建立小鼠感染模型, 在第 0, 3, 7, 14, 21, 28 天分别检测小鼠肛门拭子的衣原体包涵体数, 实验结果显示: 在第 3 天后, 小鼠肛门拭子的衣原体包涵数维持在一个较高且稳定的范围之内。这表明鼠衣原体在小鼠的肠道生长情况良好, 有利于后续实验(表 1)。

表 1. 鼠衣原体在 C57BL/6J 小鼠肠道内的生长情况[log₁₀ (x ± s)]
Table 1. Growth of *C. muridarum* in the intestinal tract of wild-type mice

GROUP	D3	D7	D14	D21	D28
CM+DSS	0.86±1.05	3.87±1.01	3.61±0.80	3.41±1.05	3.86±0.62
DSS	ND	ND	ND	ND	ND
Control	ND	ND	ND	ND	ND

ND: Not detected.

2.2 鼠衣原体抑制 DSS 诱导的 C57BL/6J 小鼠体重下降

诱导小鼠肠炎后每天在固定时间监测小鼠的体重变化情况。结果如图 1 所示, Control 组小鼠在整个监测期间体重出现了小幅度的上升; DSS 组小鼠的体重在第 4 天后开始呈现出不断降低的趋势, 在第 11 天下降到最低值, 体重下降了约 26%; CM+DSS 组小鼠的体重也在第 4 天后开始下降, 在第 8 天时体重停止下降, 第 8 天为体重下降的最低点, 体重下降了约 17%, 从第 9 天后体重开始恢复, 在第 11 天时体重接近第 0 天的体重, 体重仅下降 5%。这表明鼠衣原体可一定程度上抑制 DSS 诱导的 C57BL/6J 小鼠体重下降。

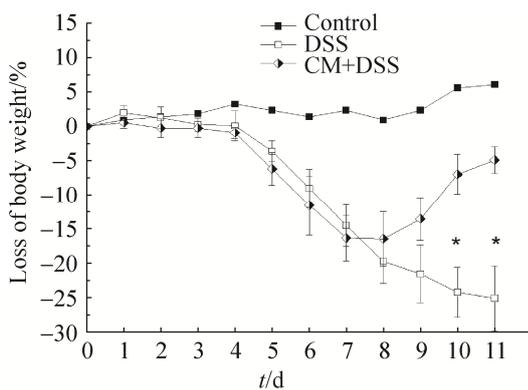


图 1. 鼠衣原体对 DSS 诱导的 C57BL/6J 小鼠体重的影响

Figure 1. Effect of *C. muridarum* on the body weight of mice with DSS-induced colitis. Compared with DSS group. *: $P < 0.05$.

2.3 鼠衣原体降低 DSS 诱导的 C57BL/6J 小鼠肠炎疾病评分

每天在固定时间监测小鼠体重变化的同时, 对小鼠进行疾病评分。结果如图 2 所示, DSS 组从给予 DSS 后第 2 天起, 肠炎评分不断上升, 在第 7 天达到峰值约 2.5 分, 之后疾病评分基本趋于稳定; 而 CM+DSS 组小鼠, 从给予 DSS 后第 3 天起, 肠炎评分不断上升, 在第 7 天达到峰值约 2.7 分, 但从第 8 天开始, 小鼠的肠炎评分不断下降到第 11 天接近正常值。这表明鼠衣原体在一定程度上能降低 DSS 诱导的 C57BL/6J 小鼠肠炎疾病评分。

2.4 鼠衣原体恢复 DSS 诱导的 C57BL/6J 小鼠结肠长度

实验结束后处死小鼠并对小鼠结肠长度进行测量。结果如图 3 所示, Control 组小鼠的结肠平

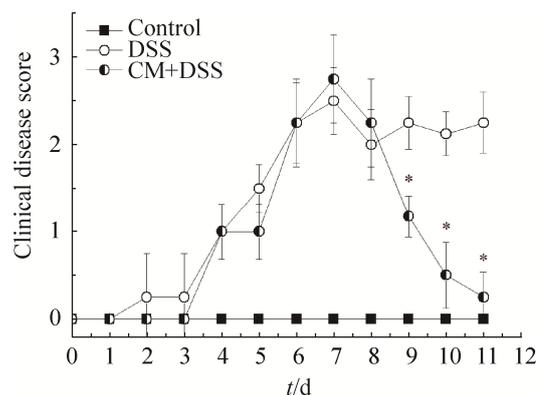


图 2. 鼠衣原体对 DSS 诱导的 C57BL/6J 小鼠肠炎疾病评分的影响

Figure 2. Effect of *C. muridarum* on the disease activity index score of mice with DSS-induced colitis. Compared with DSS group. *: $P < 0.05$.

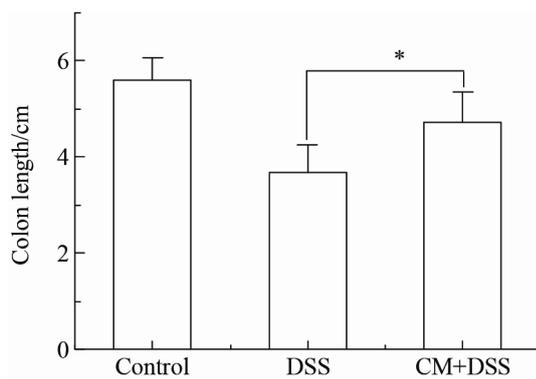


图 3. 鼠衣原体对 DSS 诱导的 C57BL/6J 小鼠结肠长度的影响

Figure 3. Effect of *C. muridarum* on the colon length of mice with DSS-induced colitis. Compared with DSS group. *: $P < 0.05$.

均长度约为(5.61±0.45) cm; DSS 组小鼠的结肠长度较 Control 组小鼠明显缩短, 平均约为(3.73±0.56) cm; 而 CM+DSS 组小鼠的结肠长度平均约为(4.82±0.60) cm, 较 DSS 组显著性增加。这表明鼠衣原体能一定程度上恢复 DSS 诱导的 C57BL/6J 小鼠结肠长度。

2.5 鼠衣原体修复 DSS 诱导的 C57BL/6J 小鼠结肠组织损伤

为了进一步明确鼠衣原体对溃疡性结肠炎的改善作用, 取小鼠结肠组织进行 HE 染色分析。结果显示, Control 组小鼠结肠各层结构清晰, 黏膜层肠腺丰富, 排列规则, 黏膜下层以及肌层未见明显异常(图 4-A); DSS 组小鼠结肠局部溃疡, 黏膜层肠腺明显减少, 可见脓肿灶(见图 4-B 黑色箭头), 结缔组织增生, 并伴有大量的炎性细胞浸润, 以巨噬细胞和中性粒细胞为主(见图 4-B 灰色箭头), 损伤侵及黏膜下层以及肌层, 肌层肌纤维坏死, 也伴有大量的炎性细胞浸润(见图 4-B 白色箭头); CM+DSS 组小鼠结肠组织结构基本完整, 黏膜层中偶见小灶性的炎性细胞浸润, 以淋巴细

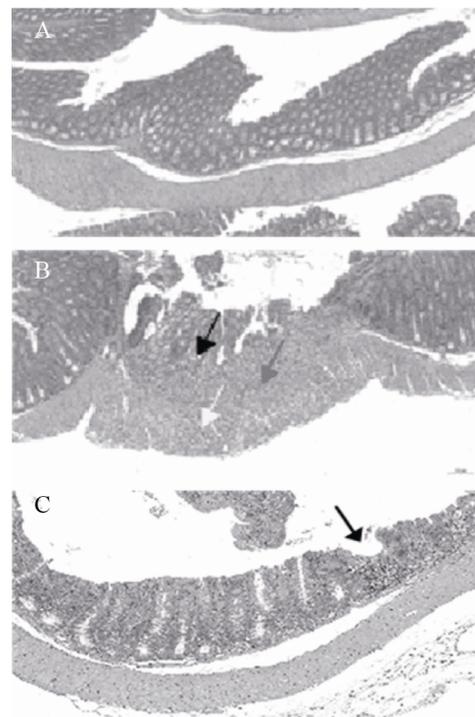


图 4. 鼠衣原体对 DSS 诱导的 C57BL/6J 小鼠结肠炎症反应的影响(10×)

Figure 4. Effect of *C. muridarum* on the inflammatory reaction in mice colon with DSS-induced colitis (10×). A: Control group; B: DSS group; C: CM+DSS group.

胞为主(见图 4-C 黑色箭头), 余未见明显改变。这表明, 鼠衣原体能显著性修复 DSS 诱导的 C57BL/6J 小鼠结肠组织损伤。

3 讨论

溃疡性结肠炎(Ulcerative colitis, UC)是一种常见的消化系统慢性炎症性疾病。其临床症状主要有腹痛、腹泻和便血等, 也常出现皮肤、关节、眼、骨骼、肝胆管等肠道外的临床表现^[8-9]。虽然免疫抑制剂能在一定程度上控制部分患者的病情, 但是鉴于长期使用免疫抑制剂存在价格昂贵、毒副作用强、且并不是对所有患者都有效等问题, 因此探讨其发病机制并寻找新的治疗手段一直是

该病研究领域急需解决的问题^[10]。

关于溃疡性结肠炎的具体致病机制目前尚不十分明确, 研究发现肠道菌群失调是造成溃疡性结肠炎发病的重要原因之一^[11]。肠道菌群包含有与宿主共生的生理性细菌, 如双歧杆菌、乳杆菌等, 多归为益生菌; 条件致病菌, 如肠杆菌、肠球菌等; 过路病原菌, 如变形杆菌、假单胞菌等, 在肠道短暂存在^[12]。正常情况下宿主保护性免疫和肠道菌群之间的相互作用使肠道处于稳定平衡状态, 称为肠道稳态^[13]。各种原因引起的肠道菌群结构和功能变化(肠道菌群失调)是导致肠道稳态被打破的重要原因之一, 该稳态一旦被打破, 即导致肠道功能失调, 从而形成肠炎。大量文献报道溃疡性结肠炎患者与正常人的肠道菌群存在数量和种类上的显著差异。Nishino 等^[14]证实, 肠炎患者的肠道菌群失调, 肠道内变形菌门细菌较正常人显著性增多, 但厚壁菌门、拟杆菌门细菌显著减少。研究表明通过调整肠道菌群结构, 扶植肠道正常益生菌增长, 抑制致病菌过度繁殖, 可以达到治疗肠道疾病的效果^[15]。李萍^[16]通过体内体外实验证实, 清肠化湿汤对体外双歧杆菌的生长有促进作用, 且对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、沙门氏菌有抑制作用, 灌胃治疗模型大鼠可显著降低大鼠的肠炎疾病评分值和粘膜受损程度。除此之外, 大量文献也证实^[17]一些肠道益生菌能够调节肠道菌群, 从微生态角度防治溃疡性结肠炎。

此外, 肠道细菌可通过调节炎症因子的表达以达到治疗肠炎的目的。在研究双歧杆菌、乳酸杆菌对肠炎的作用中发现^[18], 治疗组促炎因子 IL-6、TNF- α 和 IL-8 的表达水平显著性下降。同时 Satish Kumar 等^[19]又发现, 双歧杆菌治疗组不仅 IL-1 β 的表达水平降低, IL-10 表达上调, 且双

歧杆菌对 IL-1 β 水平的调节作用会随 IL-10 水平的升高而降低, 从而发挥对肠炎的缓解作用。除此以外, 外源添加一些非益生性的肠道共生菌也被证实有改善肠炎的作用。吴一中^[20]发现与鼠衣原体同为革兰氏阴性菌的幽门杆菌可以通过增加小肠粘膜中 Th2 细胞免疫(IL-10 等表达水平显著上升)起到减轻肠道炎症的作用, 同时 Th17 免疫反应相关细胞因子 IL-6、IL-1 β 等表达水平均有显著性减少。可见肠道细菌能通过调节细胞炎症因子的表达以缓解肠炎。课题组前期研究结果表明, 衣原体可能是肠道正常菌群的一份子, 对肠道的作用并不清楚, 其是否也像一些肠道共生菌一样可缓解肠炎呢? 本研究用 DSS 构建小鼠肠炎模型, 研究了鼠衣原体对溃疡性结肠炎的作用。结果显示, 鼠衣原体可以显著性地改善肠炎引发的体重减轻、结肠长度缩短、肠炎疾病评分降低, 和结肠组织炎性改变。这表明鼠衣原体对 DSS 诱导的小鼠溃疡性结肠炎具有改善作用。然而, 衣原体是否也能通过调节肠道菌群, 恢复肠道稳态来发挥抗溃疡性结肠炎的作用? 或是通过调节细胞炎症因子的表达以缓解肠炎呢? 又或是通过改变其他肠道细菌种类和数目, 影响其对炎症因子表达的调节作用来达到改善溃疡性结肠炎的目的? 这有待于我们后续进一步的研究。

参考文献

- [1] Ammerdorffer A, Stojanov M, Greub G, Baud D. Chlamydia trachomatis and chlamydia-like bacteria: new enemies of human pregnancies. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 2017, 30(3): 289–296.
- [2] Ungaro R, Mehandru S, Allen PB, Peyrin-Biroulet PL, Colombel PJF. Ulcerative colitis. *The Lancet*, 2017, 389(10080): 1756–1770.
- [3] Mackesy DZ, Goalstone ML. Extracellular signal-regulated kinase-5: novel mediator of insulin and tumor necrosis factor

- α -stimulated vascular cell adhesion molecule-1 expression in vascular cells. *Journal of Diabetes*, 2014, 6(6): 595–602.
- [4] Prideaux L, Kamm MA, de Cruz PP, Chan FKL, Ng SC. Inflammatory bowel disease in Asia: a systematic review. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 2012, 27(8): 1266–1280.
- [5] Cai LT, He Q, Ai XY, Chen ZF, Zhi FC. β -arrestin2 promoting mice colitis through impairment of epithelial barrier function. *The Journal of Practical Medicine*, 2017, 33(14): 2291–2294. (in Chinese)
蔡丽婷, 何琼, 艾修云, 陈振峰, 智发朝. β -arrestin2 通过破坏肠上皮屏障功能而促进小鼠肠炎. 实用医学杂志, 2017, 33(14): 2291–2294.
- [6] Berberat PO, A-Rahim YI, Yamashita K, Warny MM, Csizmadia E, Robson SC, Bach FH. Heme oxygenase-1-generated biliverdin ameliorates experimental murine colitis. *Inflammatory Bowel Diseases*, 2005, 11(4): 350–359.
- [7] Kim M, Galan C, Hill AA, Wu WJ, Fehlner-Peach H, Song HW, Schady D, Bettini ML, Simpson KW, Longman RS, Littman DR, Diehl GE. Critical role for the microbiota in CX₃CR1⁺ intestinal mononuclear phagocyte regulation of intestinal T cell responses. *Immunity*, 2018, 49(1): 151–163.
- [8] Nemati S, Teimourian S. An overview of inflammatory bowel disease: general consideration and genetic screening approach in diagnosis of early onset subsets. *Middle East Journal of Digestive Diseases*, 2017, 9(2): 69–80.
- [9] Yu YR, Rodriguez JR. Clinical presentation of Crohn's, ulcerative colitis, and indeterminate colitis: symptoms, extraintestinal manifestations, and disease phenotypes. *Seminars in Pediatric Surgery*, 2017, 26(6): 349–355.
- [10] Huang DX, Lu CQ, He ZP. Effect of mesalazine combined with Kangfuxin liquid on ulcerative colitis in elderly patients and its effects on serum inflammatory cytokines and coagulation indexes. *Chinese Journal of Gerontology*, 2013, 33(15): 3769–3770. (in Chinese)
黄夺夏, 陆翠钦, 何张平. 美沙拉嗪与康复新液联合治疗老年溃疡性结肠炎的疗效及对血清炎症细胞因子、凝血指标的影响. 中国老年学杂志, 2013, 33(15): 3769–3770.
- [11] Landman C, Quévrain E. Gut microbiota: description, role and pathophysiologic implications. *La Revue de Médecine Interne*, 2016, 37(6): 418–423.
- [12] Wen M, Yang QL, Zhang CX, Gao ZY, Zhang DK, Guo LF, Shang Q. Research progress of intestinal flora and ulcerative colitis. *Hainan Medical Journal*, 2018, 29(13): 1866–1869. (in Chinese)
温萌, 杨桥兰, 张翠霞, 高祝英, 张德奎, 郭丽芳, 尚琪. 肠道菌群与溃疡性结肠炎的研究进展. 海南医学, 2018, 29(13): 1866–1869.
- [13] Jia SY, Li JX, Zhu FC. Correlation between intestinal microbiota and immune response to vaccination. *Chinese Journal of Microbiology and Immunology*, 2018, 38(3): 237–240. (in Chinese)
贾斯月, 李靖欣, 朱凤才. 肠道微生物群与疫苗免疫应答相关性的临床研究进展. 中华微生物学和免疫学杂志, 2018, 38(3): 237–240.
- [14] Nishino K, Nishida A, Inoue R, Kawada Y, Ohno M, Sakai S, Inatomi O, Bamba S, Sugimoto M, Kawahara M, Naito Y, Andoh A. Analysis of endoscopic brush samples identified mucosa-associated dysbiosis in inflammatory bowel disease. *Journal of Gastroenterology*, 2018, 53(1): 95–106.
- [15] Zhan YQ. Effect of probiotics on intestinal flora in patients with colon cancer undergoing chemotherapy. *China Practical Medicine*, 2018, 13(32): 105–107. (in Chinese)
詹玉强. 益生菌对结肠癌化疗患者肠道菌群的影响. 中国实用医药, 2018, 13(32): 105–107.
- [16] 李萍. 从肠道微生态探讨清肠化湿汤治疗溃疡性结肠炎黏膜损伤的机制研究. 北京中医药大学硕士学位论文, 2018.
- [17] Karimi S, Rashidian E, Birjandi M, Mahmoodnia L. Antagonistic effect of isolated probiotic bacteria from natural sources against intestinal *Escherichia coli* pathotypes. *Electronic Physician*, 2018, 10(3): 6534–6539.
- [18] Zhao YL. Effect of bifidobacterium on interleukin-6 and tumor necrosis factor alpha in peripheral blood of children with rotavirus enteritis. *Smart Healthcare*, 2018, 4(25): 37–38, 41. (in Chinese)
赵玉龙. 双歧杆菌对轮状病毒肠炎患儿外周血白介素-6 和肿瘤坏死因子- α 的影响及疗效观察. 智慧健康, 2018, 4(25): 37–38, 41.
- [19] Kumar CSVS, Reddy KK, Boobalan G, Reddy AG, Chowdhary CSR, Vinoth A, Jayakanth K, Rao GS. Immunomodulatory effects of *Bifidobacterium bifidum* 231 on trinitrobenzenesulfonic acid-induced ulcerative colitis in rats. *Research in Veterinary Science*, 2017, 110: 40–46.
- [20] 吴一中. 幽门螺杆菌通过增加小鼠肠粘液中 Th2 细胞反应减轻 TNBS 诱导肠炎的作用研究. 南方医科大学博士学位论文, 2018.

Amelioration of DSS-induced ulcerative colitis in mice by *Chlamydia muridarum*

Qingzhi He¹, Xiaoqing Luo¹, Furong Ma¹, Huiyi Zheng¹, Xin Wang¹, Yingqi Jin¹, Guofeng Cheng¹, Guangming Zhong^{2*}

¹ Hengyang Medical College, University of South China, Hengyang 421001, Hunan Province, China

² Department of Microbiology and Immunology, University of Texas Health Science Center at San Antonio, San Antonio 78229, Texas, USA

Abstract: [Objective] To study the effect of *Chlamydia muridarum* on the ulcerative colitis induced by dextran sulfate sodium (DSS) in mice. [Methods] In total 15 female C57BL/6J mice were randomly divided into 3 groups: control group, DSS group, experimental group (CM+DSS group). The mice of CM+DSS group were administrated with 2×10^5 IFU *Chlamydia muridarum* by gavage. After 28 days, the mice of the DSS group and CM+DSS group drank 2% DSS water for 5 days, then they were monitored for body weight and disease activity index, the colon length of all mice, and the inflammatory damage of intestine tissue. [Results] The model of ulcerative colitis induced by DSS was well established with the body weight loss of colitis mice, increased disease activity index, short colon length, and severe inflammatory reaction of colon tissue. Compared with the DSS group, CM+DSS group recovered largely, including the body weight loss, disease activity index, colon length, and colon inflammatory damage. [Conclusion] *Chlamydia muridarum* could ameliorate ulcerative colitis induced by DSS.

Keywords: *Chlamydia muridarum*, intestinal flora, ulcerative colitis

(本文责编: 李磊)

Supported by the Natural Science Foundation of Hunan Province (2018JJ2326) and by the Research and Innovation Experiment Program of University of South China (2018XJXZ379, 2018XJXZ382)

*Corresponding author. Tel: +86-734-8281224; E-mail: Zhonggm@UTHSCSA.edu

Received: 19 June 2019; Revised: 20 August 2019; Published online: 4 December 2019