doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2021.19.006

肠内营养联合益生菌对直肠恶性肿瘤术后大鼠肠粘膜屏障及血清炎症因子的影响 *

顾亚静 李蓉蓉 陈培培 李 悦 李 莉△

(新疆医科大学第一附属医院临床营养科 新疆 乌鲁木齐 830011)

摘要 目的:研究肠内营养(enteral nutrition, EN)联合益生菌对直肠恶性肿瘤术后大鼠肠粘膜屏障及血清炎症因子的影响。**方法:**选取 32 只 SPF 级雄性 SD 大鼠,随机分对照组、模型组、EN 组和 EC 组,每组 8 只。模型组、EN 组和 EC 组建立直肠恶性肿瘤术后模型,EN 组灌胃给予肠内营养混悬液,EC 组灌胃肠内营养混悬液加益生菌颗粒, 对照组和模型组灌胃同体积的生理盐水,四组大鼠均连续灌胃 7 d。观察各组大鼠小肠超微结构;检测 occludin 蛋白、D- 乳糖及炎症因子的表达水平。**结果:**模型组大鼠小肠上皮细胞紧密连接和绒毛结构遭破坏,EN 组和 EC 组与模型组相比有明显改善。与对照组相比,模型组大鼠 occludin 蛋白和抑炎因子 IL-10 的表达水平均较低,D- 乳糖、血清白介素 1β(interleukin-1β, IL-1β)和肿瘤坏死因子 -α(tumor necrosis factor-α,TNF-α)的表达水平较高($P<0.05$);与模型组相比,EN 组和 EC 组的 occludin 蛋白和 IL-10 的表达水平较高,D- 乳糖、IL-1β 和 TNF-α 的表达水平较低($P<0.05$);与 EN 组相比,EC 组 occludin 蛋白和 IL-10 的表达水平较高,D- 乳糖、IL-1β 和 TNF-α 的表达水平较低($P<0.05$)。**结论:**肠内营养联合益生菌可有效改善直肠恶性肿瘤术后大鼠的肠道屏障功能,提高 occludin 蛋白的表达,降低 D- 乳糖的表达,降低促炎因子 IL-1β 和 TNF-α 的表达同时升高抑炎因子 IL-10 的表达。

关键词:肠内营养;益生菌;直肠恶性肿瘤;肠粘膜屏障;炎症因子

中图分类号:R735.3;R459.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2021)19-3628-05

Effect of Enteral Nutrition Combined with Probiotics on Intestinal Mucosal Barrier and Serum Inflammatory Factors of Rats after Rectal Cancer Operation*

GU Ya-jing, LI Rong-rong, CHEN Pei-pei, LI Yue, LI Li△

(Department of Clinical Nutrition, The First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi, Xinjiang, 830011, China)

ABSTRACT Objective: To study the effect of enteral nutrition (EN) combined with probiotics on intestinal mucosal barrier and serum inflammatory factors of rats after rectal cancer operation. **Methods:** 32 male SPF grade SD rats were randomly divided into control group, model group, EN group and EC group, with 8 rats in each group. The model group, EN group and EC group were established postoperative rectal cancer model, the EN group was administrated with enteral nutritional suspension, the EC group was administrated with enteral nutritional suspension combined with probiotic granules, the control group and model group were administrated with same volume of saline. The ultrastructure of small intestine of each group was observed, the occludin protein, D-lactose and inflammatory factors were detected. **Results:** The tight junction and villi structure of intestinal epithelial cells of model group were disorganized, while EN group and EC group were improved. As compared with control group, the expression of occludin protein and IL-10 of model group were lower, while D-lactose, IL-1β and TNF-α were higher ($P<0.05$); as compared with model group, the expression of occludin protein and IL-10 of EN group and EC group were higher, while D-lactose, IL-1β and TNF-α were lowedr($P<0.05$); as compared with EN group, the expression of occludin protein and IL-10 of EC group were higher, while D-lactose, IL-1β and TNF-α were lowedr ($P<0.05$). **Conclusion:** EN combined with probiotics could siginificantly alleviate the intestinal mucosal barrier function, increase the expression of occludin protein and decrease the expression of D-lactose, decrease the expression of IL-1β and TNF-α while increase the expression of IL-10.

Key words: Enteral nutrition; Probiotics; Cancer of rectum; Intestinal mucosal barrier; Inflammatory factors

Chinese Library Classification(CLC): R735.3; R459.3 Document code: A

Article ID:1673-6273(2021)19-3628-05

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81960145)

作者简介:顾亚静(1980-),女,硕士研究生,主管技师,研究方向:临床营养专业,

电话:18935938710,E-mail:guyajing10@163.com

△ 通讯作者:李莉(1968-),女,博士,硕士生导师,研究方向:营养与疾病,电话:13201215011,E-mail:xj_lily@126.com

(收稿日期:2021-03-03 接受日期:2021-03-27)

前言

直肠恶性肿瘤是消化道常见的恶性肿瘤之一，为目前全球范围内发病率第三的恶性肿瘤，严重威胁人类的生命健康[1]。目前广泛性根治手术为临床上主要治疗手段[2]，然而，既往研究[3,4]表明，饥饿、创伤、严重感染及手术等均可引发机体产生强烈的创伤应激，并可导致肠粘膜细胞萎缩、肠绒毛稀疏断裂、肠粘膜通透性增大等现象。完整的肠道屏障可有效阻止细菌、毒素、大分子抗原等有害物质的吸收，维持机体内环境的稳定，而肠粘膜屏障一旦受损，即可引发多种疾病[5]。因此，术后尽快恢复肠道屏障功能对于维持患者机体免疫平衡、抑制全身炎症反应以及促进患者的康复至关重要。肠内营养（enteral nutrition, EN）是指经胃肠道提供机体代谢所需各类营养物质的营养支持方式，为吞咽困难、消化道疾病、意识障碍以及重症患者等的最主要的营养支持方式之一[6]。但手术等创伤应激状态下患者肠道微环境往往伴随一定的改变，肠道菌群失衡，致病菌增多，因此标准的肠内营养无法有效的改善创伤应激状态下机体的营养状况、炎症反应和免疫失衡[7]。益生菌为机体正常肠道菌群中的一类优势菌群，可通过与肠黏膜紧密结合而形成生物屏障，并定植于宿主肠道内，对于维持肠道微环境稳态、降低肠粘膜通透性、刺激机体免疫反应等具有重要的作用[8]。因此，本研究将肠内营养联合益生菌应用于直肠恶性肿瘤手术切除模型大鼠，观察其对大鼠肠粘膜屏障以及血清炎症因子表达水平的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 选取 6 周龄 SPF 级雄性 SD 大鼠 32 只，体质量 160~180 g，由我院医学动物实验中心提供，许可证号：SYXK（疆）2020-0906，常规饲养于恒温恒湿洁净动物房内，正常 12 h 昼夜交替，自由摄食饮水。

1.1.2 主要试剂 N- 甲基 -N- 亚硝基脲（N-methyl-N-nitrosourea, NMU）、戊巴比妥钠：美国 Sigma-Aldrich 公司；肠内营养混悬液（TPF）：纽迪希亚制药（无锡）有限公司；益生菌颗粒：上海励成营养科技有限公司；兔抗大鼠 occludin 抗体：北京博奥森生物技术有限公司；DAB 试剂盒：美国 Promega 公司；酶联免疫吸附试验（ELISA）试剂盒：美国 TSZ 公司。

1.1.3 主要仪器 低温冰箱：青岛海尔股份有限公司；全自动酶联免疫分析仪：美国 BioTek 公司；病理石蜡包埋机：湖北康泰医疗设备有限公司；石蜡切片机：深圳市瑞沃德生命科技有限公司；qRT-PCR 仪：美国 MJ-Research 公司。

1.2 方法

1.2.1 MNU 药液的配制 用灭菌注射液用水溶解适量 MNU 药粉，配制为浓度为 4 mg/mL 的 MNU 药液。

1.2.2 分组及建模 大鼠适应性饲养 1 周后，随机分为对照组、模型组、肠内营养（EN）组、肠内营养 + 益生菌（EC）组，每组 8 只。模型组、EN 组和 EC 组均采用灌肠 MNU 药液的方法建立直肠恶性肿瘤模型，在注射器前段涂抹少许石蜡油，按 1 mL/200 g 的剂量给予各只大鼠灌肠，缓慢匀速推注后原位保持 10 min，共连续灌肠 16 周，其中前 4 周以 3 次 / 周的频率灌肠，第 5~16 周以 1 次 / 周的频率给予灌肠。对照组以相同频率给予同体积的生理盐水灌肠。

1.2.3 肿瘤的切除 末次灌肠结束后次日，腹腔注射 2 %戊巴比妥钠麻醉模型组、EN 组和 EC 组大鼠，待麻醉效果满意后，仰卧固定大鼠，备皮，常规消毒，以手术剪逐层打开肛门上 1 cm 处，打开腹腔，纵向剪开直肠，找到并切除肿瘤，逐层缝合伤口，并在手术部位撒少许青霉素药粉；对照组大鼠仅打开腹腔，不作任何处理后即缝合。手术全程均严格执行无菌操作，术后大鼠自由摄食饮水。

1.2.4 给药方法 自手术结束后的次日开始，EN 组灌胃给予肠内营养混悬液，混悬液热量为 1673.6 kJ/100 g，灌胃量为 598.19 kJ/(kg·d)，每天分三次灌胃；EC 组灌胃肠内营养混悬液加益生菌颗粒，灌胃量同 EN 组；对照组和模型组灌胃同体积的生理盐水。四组大鼠均连续灌胃 7 d。

1.2.5 小肠超微结构观察 实验结束后处理各组大鼠，打开腹腔，取距回盲部 5 cm 处小肠组织约 1 cm，用冰冷的生理盐水反复冲洗除去内容物，置于 4℃的 2 %戊二醛溶液中固定 30 min，在冰面上切取约 5 mm^3 大小的组织块，再次以 4℃的 2 %戊二醛溶液固定 3 h，以冰冷的 PBS 冲洗三次，1 %锇酸固定，酒精洗脱，醋酸铀、枸橼酸铅双重染，制作电镜片，在透射电镜下观察各组大鼠小肠超微结构。

1.2.6 免疫组化法检测 occludin 蛋白的表达 将各组大鼠小肠和直肠的石蜡样本，切约 3 μm 厚的薄片，置于 42℃水箱展片，65℃烤片 4 h，随后以二甲苯脱蜡，乙醇水化，再以 EDTA（pH 8.0）修复抗原，加一抗，置于室温下孵育过夜，PBS 洗涤，加二抗，室温下继续孵育 30 min，DAB 显色 5 min，蒸馏水冲洗，复染，显微镜下读片，以 PBS 替代一抗作为空白对照，所有操作均按照试剂盒说明书进行。分别由两名病理医师采用双盲法进行结果判读，在高倍镜下（400×）随机选取 5 个阳性细胞密集的视野，采用 Image-pro 病理图像分析软件半定量计算阳性物质的积分光密度，用以表示 occludin 蛋白的表达水平。

1.2.7 比色法检测血清 D- 乳糖的表达 各组大鼠眼眶取血 4 mL，4000 rpm 离心 10 min，取上层血清，采用 D- 乳糖检测试剂盒测定其中 D- 乳糖的表达水平。

1.2.8 IL-1β、TNF-α 和 IL-10 表达水平的检测 取各组大鼠血清，采用 ELISA 法检测其中 IL-1β、TNF-α 和 IL-10 的表达水平。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 22.0 软件对数据进行统计分析，计量资料以（$\bar{x}\pm s$）表示，多组间比较采用单因素方差分析（ANOVA），各组之间两两比较采用 dunnett-t 检验，以 $P<0.05$ 表示有统计学差异。

2 结果

2.1 小肠超微结构观察

透射电镜观察可见对照组大鼠小肠组织完整，微绒毛排列整齐，上皮细胞连接清晰紧密；模型组大鼠小肠上皮细胞连接间隙变宽，绒毛结构完整性遭破坏，绒毛排列不齐、间质疏松，出现断裂或脱落等现象；EN 组和 EC 组大鼠与模型组相比绒毛结构完整性及排列规则性等均有明显改善，见图 1。

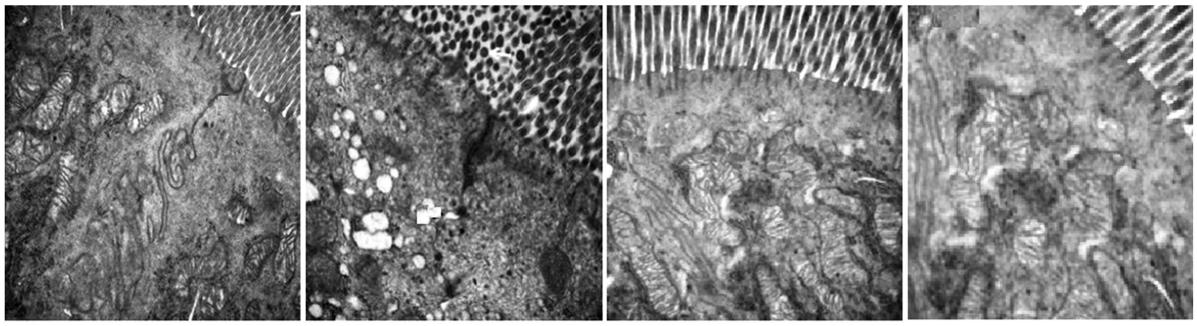


图 1 各组大鼠小肠超微结构变化(15000×)

Fig. 1 Changes of ultrastructure of small intestine of each group(15000×)

2.2 occludin 蛋白的表达比较

与对照组相比,模型组大鼠的小肠和直肠中 occludin 蛋白的表达水平均较低(*P*<0.05);EN 组和 EC 组的 occludin 蛋白的表达水平显著高于模型组(*P*<0.05);与 EN 组相比,EC 组 occludin 蛋白的表达水平较高(*P*<0.05),见表 1。

表 1 各组大鼠小肠和直肠 occludin 蛋白的表达水平比较($\bar{x}\pm s$)

Table 1 Comparison of expression levels of occludin protein in small intestine and rectum of each group($\bar{x}\pm s$)

Groups	n	Expression of occluding proteins	
		Small intestine	Rectum
Control group	8	3.98±0.61	4.60±0.68
Model group	8	0.92±0.35*	1.04±0.31*
EN group	8	2.09±0.37*#	2.17±0.57*#
EC group	8	2.90±0.51*#△	3.24±0.62*#△
F		59.796	58.242
P		<0.001	<0.001

Note: *P<0.05 vs control group; #P<0.05 vs model group; △ P<0.05 vs EN group.

2.3 D- 乳糖表达水平比较

与对照组相比,模型组大鼠血清 D- 乳糖表达水平较高(*P*<0.05);与模型组相比,EN 组和 EC 组的 D- 乳糖表达水平较低(*P*<0.05);与 EN 组相比,EC 组 D- 乳糖表达水平较低(*P*<0.05),见表 2。

表 2 各组大鼠血清 D- 乳糖表达水平比较($\bar{x}\pm s$)

Table 2 Comparison of expression level of serum D-lactose of each group($\bar{x}\pm s$)

Groups	n	D- lactose (mmol/L)
Control group	8	0.35±0.03
Model group	8	1.93±0.19*
EN group	8	1.23±0.08*#
EC group	8	0.96±0.12*#△ &
F		237.449
P		<0.001

Note: *P<0.05 vs control group; #P<0.05 vs model group; △ P<0.05 vs EN group.

2.4 IL-1β、TNF-α 和 IL-10 的表达水平比较

与对照组相比,模型组大鼠血清促炎因子 IL-1β 和 TNF-α 的表达水平显著升高、而抑炎因子 IL-10 的表达水平显著降低(*P*<0.05);与模型组相比,EN 组和 EC 组的 IL-1β 和 TNF-α 的表达水平较低、IL-10 的表达水平较高(*P*<0.05);EC 组的 IL-1β 和 TNF-α 的表达水平低于 EN 组、IL-10 的表达水平高于 EN 组(*P*<0.05),见表 3。

3 讨论

直肠恶性肿瘤为消化道常见的恶性肿瘤之一,腹腔镜全直

表 3 各组大鼠血清 IL-1β、TNF-α 和 IL-10 的表达水平比较($\bar{x}\pm s$)

Table 3 Comparison of expression level of serum IL-1β, TNF-α and IL-10 of each group($\bar{x}\pm s$)

Groups	n	IL-1β(ng/L)	TNF-α(ng/L)	IL-10(ng/L)
Control group	8	1.03±0.11	15.87±3.13	53.84±6.76
Model group	8	2.96±0.23*	39.86±5.58*	23.44±5.02*
EN group	8	2.13±0.18*#	31.41±4.04*#	33.77±5.67*#
EC group	8	1.66±0.15*#△	23.72±3.69*#△	41.89±6.02*#△
F		176.405	47.774	37.961
P			＜0.001	＜0.001

Note: *P＜0.05 vs control group; #P＜0.05 vs model group; △ P＜0.05 vs EN group.

肠系膜切除术(total mesorectal excision, TME)等根治术为目前临床上治疗直肠恶性肿瘤的主要手段[9]。然而,术前的禁食、手术带来的创伤应激、抗菌药物的使用等均会导致肠道微环境的破坏、菌群失调、肠绒毛稀疏断裂、肠粘膜通透性增大等[10]。一旦肠粘膜屏障功能受损,便可导致肠道内致病菌、内毒素以及代谢废物等穿透肠壁侵入体循环,引起全身炎症反应、重症感染、免疫功能失调等,故保持肠粘膜屏障的完整性对于维持机体内环境稳态及预防某些疾病的发生至关重要[11]。EN 是指经胃肠道提供机体代谢所需各类营养物质的营养支持方式,益生菌可有效补充肠道内正常生理性优势菌群,调节肠道微环境生态平衡,抑制有害菌群的生长,减少炎性细胞对肠粘膜的损伤,并在肠道内形成有层次的菌膜,从而降低肠黏膜通透性,增强肠道黏膜的修复能力,此外还可刺激机体免疫反应,提高机体免疫功能[12,13]。已有多项研究[14-16]表明,肠内营养联合益生菌对急性胰腺炎、重症呼吸系统疾病、颅脑损伤、卒中等均具有良好的疗效。

本研究将肠内营养联合益生菌应用于直肠恶性肿瘤手术切除模型大鼠,透射电镜观察小肠超微结构可见,模型组大鼠小肠上皮细胞紧密连接和绒毛结构遭破坏,绒毛出现断裂或脱落,提示手术带来的创伤应激可导致肠道屏障功能的损伤;经肠内营养和益生菌治疗后,EN 组和 EC 组大鼠的小肠上皮细胞连接间隙和绒毛结构与模型组相比均得以明显改善,提示肠内营养联合益生菌可有效改善创伤应激大鼠的肠道屏障功能。

Occludin 蛋白是构成紧密连接最重要的结构蛋白之一,可调控细胞间的紧密连接,封闭细胞旁间隙,当 occludin 蛋白缺失时,即可导致紧密连接无法形成,因此 occludin 蛋白的表达水平可反映紧密连接和肠道屏障功能的损伤情况[17]。本研究通过进一步检测 occludin 蛋白的表达水平可以发现,模型组大鼠小肠和直肠中 occludin 蛋白的表达水平显著低于对照组;而 EN 组和 EC 组 occludin 蛋白的表达水平与模型组相比均明显提高,同时 EC 组高于 EN 组,与 Zheng T 等[18]的动物实验结果类似,该学者探究肠内营养和益生菌的结合促进回肠袋 - 肛门吻合术后恢复,结果显示肠内营养联合益生菌可有效促进肠袋 - 肛门吻合术后大鼠的恢复,联用组大鼠的营养状况、粪便菌群分布、病理组织学评分以及 occludin 蛋白的表达水平均显著优于肠内营养或益生菌单用组。

哺乳动物自身几乎不产生 D- 乳糖,血清中的 D- 乳糖主要来源于肠道中微生物的代谢,并经由肠粘膜吸收入血。由于 D- 乳糖分子量较大,在肠道屏障功能正常的情况下,血清 D- 乳糖的表达水平极低;当肠道屏障受损时,肠道中的 D- 乳糖即可被大量吸收入血,导致血清 D- 乳糖表达水平的显著上调,因此血清 D- 乳糖可作为反映肠道功能和屏障损伤的有效标志物之一[19,20]。本研究中,与对照组相比,模型组大鼠血清 D- 乳糖表达水平显著升高,提示大鼠肠黏膜屏障遭破坏;经肠内营养联合益生菌治疗后,EN 组和 EC 组的 D- 乳糖表达水平均显著降低,提示肠内营养联合益生菌有效改善了大鼠肠道屏障功能,减少了对肠道内 D- 乳糖的吸收;同时 EC 组 D- 乳糖表达水平低于 EN 组,目前还没有直接研究肠内营养联合益生菌在直肠恶性肿瘤术后对 D- 乳糖的影响。但刘跃平等[21]的研究类似,在常规抗病毒治疗的基础上联用益生菌用于病毒性腹泻患者的治疗,结果表明益生菌可有效改善患者肠道菌群和肠粘膜功能,且联用组患者 D- 乳糖的表达水平与常规治疗组均有显著差异。提示益生菌可促进对肠道屏障功能的改善作用。

既往研究[22]表明,手术、术后疼痛等应激反应可引起环氧化酶的活化并激发炎症级联反应,导致促炎因子的大量释放和抑炎因子的分泌减少。IL-1β 和 TNF-α 为典型的单核细胞和巨噬细胞分泌的促炎因子,是神经 - 内分泌 - 免疫功能复杂网络系统中的重要介质,其表达水平的高低可反映机体损伤程度和刺激程度[23]。Watari 等[24]的研究表明,TNF-α 可通过增加肠道上皮细胞脱落、增加肠粘膜的通透性而损伤肠道屏障功能。Shen 等[25]的研究还发现,TNF-α 可造成 occludin 蛋白的功能异常,无法定位于细胞间紧密连接而发挥作用,从而导致细胞间紧密连接的破坏。IL-1β 对肠道屏障的生理改变与 TNF-α 相似,且可与 TNF-α 产生协同作用,增强炎症反应[26]。IL-10 为重要的抑炎因子,当机体发生感染、创伤应激、自身免疫系统疾病等情况时,抑炎因子的表达上调,并刺激 B 淋巴细胞增殖产生抗体,从而发挥体液免疫[27]。基础研究[28]发现,敲除 IL-10 基因的小鼠其肠道上皮细胞间隙为正常小鼠的两倍,上皮细胞脱落增多,肠道通透性增加。本研究结果显示,模型组大鼠血清促炎因子 IL-1β 和 TNF-α 的表达水平显著高于对照组,而抑炎因子 IL-10 显著低于对照组,提示直肠恶性肿瘤术后模型大鼠的肠道屏障功能存在损伤;经肠内营养联合益生菌治疗后,EN 组和 EC 组大鼠血清 IL-1β 和 TNF-α 的表达水平显著显著降低,而 IL-10 显著升高,提示肠内营养联合益生菌有效改善了大鼠肠道屏障功能,减轻了炎症反应;此外 EC 组 IL-1β 和 TNF-α 的表达水平低于 EN 组、IL-10 的表达水平高于 EN 组,提示益生

菌可促进对肠道屏障功能的改善作用。与顾慧媛[29]的研究类似,该学者探究了益生菌联合早期肠内营养治疗对重症急性胰腺炎患者血清炎性因子、肠黏膜屏障功能的影响,对照组予早期肠内营养支持治疗,观察组在此基础上联合应用双歧三联活菌胶囊治疗,结果显示治疗后,观察组患者的血清 CRP、TNF-α、IL-6 明显低于对照组。本研究通过直肠恶性肿瘤术后大鼠,给予肠内营养联合益生菌,结果显示大鼠的肠道屏障功能、炎症状态均得到了改善,对后续研究肿瘤、肠道疾病术后的治疗有一定的提示作用。

综上,本研究表明,肠内营养联合益生菌可有效改善直肠恶性肿瘤术后大鼠的肠道屏障功能,提高 occludin 蛋白的表达,降低 D- 乳糖的表达,降低促炎因子 IL-1β 和 TNF-α 的表达同时升高抑炎因子 IL-10 的表达,减轻炎症反应状态。

参 考 文 献(References)

[1] Siegel RL, Miller KD, Fedewa SA, et al. Colorectal cancer statistics[J]. CA A Cancer Journal for Clinicians, 2017, 67(3): 104-117

[2] Gollins S, Moran B, Adams R, et al. Association of Coloproctology of Great Britain & Ireland (ACPGBI): Guidelines for the Management of Cancer of the Colon, Rectum and Anus (2017)-Multidisciplinary Management[J]. Colorectal Disease, 2017, 19(Suppl 3): 37-66

[3] 樊理华,李东丽,何佳群,等.结直肠癌大鼠热创伤应激模型建立与评价[J].浙江医学,2019, 41(3): 225-229

[4] Akbari P, Braber S, Varasteh S, et al. The intestinal barrier as an emerging target in the toxicological assessment of mycotoxins [J]. Archives of Toxicology, 2017, 91(3): 1007-1029

[5] Vancamelbeke M, Severine Vermeire. The intestinal barrier: a fundamental role in health and disease [J]. Expert Review of Gastroenterology and Hepatology, 2017, 11(11): 1-14

[6] Reintam Blaser A, Starkopf J, Alhazzani W, et al. Early enteral nutrition in critically ill patients: ESICM clinical practice guidelines [J]. Intensive Care Medicine, 2017, 43(3): 380-398

[7] Narayanan S, Nagengast A, Hussain A, et al. Palliative Considerations Regarding Enteral Access in Surgical Patients [J]. Current Surgery Reports, 2020, 8(4): s40137020002493

[8] Wan G, Wang L, Zhang G, et al. Effects of probiotics combined with early enteral nutrition on endothelin-1 and C-reactive protein levels and prognosis in patients with severe traumatic brain injury [J]. J Int Med Res, 2020, 48(3): e300060519888112

[9] 杜涛, 傅传刚. 3D 腹腔镜下直肠癌根治术中植物神经保护的研究[J].中华结直肠疾病电子杂志, 2019, 8(4): 31-34

[10] Merce Albert-Bayo Paracuellos I, Ana M, et al. Intestinal Mucosal Mast Cells: Key Modulators of Barrier Function and Homeostasis[J] Cells, 2019, 8(2): e135

[11] Yang P, Hu H, Liu Y, et al. Dietary stachyose altered the intestinal microbiota profile and improved the intestinal mucosal barrier function of juvenile turbot, Scophthalmus maximus L [J]. Aquaculture, 2018, 486: 98-106

[12] Yang Z, Huili WU, Kunkun LI, et al. Effect of probiotics combined with Xuebijing Injection on PCT, CRP and plasma D-D in patients with acute pancreatitis [J]. Drug Evaluation Research, 2019, 42(4): 681-684

[13] Hemert SV, Ormel G. Influence of the Multispecies Probiotic Ecologic® BARRIER on Parameters of Intestinal Barrier Function [J]. Food & Nutrition Sciences, 2014, 5(18): 1739-1745

[14] Lenoir-Wijnkoop I, Merenstein D, Korchagina D, et al. Probi otics Reduce Health Care Cost and Societal Impact of Flu-Like Respiratory Tract Infections in the USA: An Economic Modeling Study [J]. Frontiers in Pharmacology, 2019, 10: e980

[15] 杨芳.益生菌联合肠内营养在重症患者疾病治疗中的应用[J].临床与病理杂志, 2018, 38(12): 2702-2706

[16] Akhoundzadeh K, Vakili A, Shadnoush M, et al. Effects of the Oral Ingestion of Probiotics on Brain Damage in a Transient Model of Focal Cerebral Ischemia in Mice[J]. Iran J Med, 2018, 43(431): 32-40

[17] Huang J, Ge S, Wang Y, et al. Expression of Endothelial Tight Junction Protein Occludin under Mechanical Factors after Stent Implantation [J]. MCB Molecular and Cellular Biomechanics, 2019, 16(S2): 138-139

[18] Zheng T, Gao Y, Xu Y, et al. Combination of Enteral Nutrition and Probiotics Promote Recovery Following Ileal Pouch-Anal Anastomosis in Rats[J]. Inflammation, 2020(Suppl 1): 1-12

[19] Jia, Shi, Xin-Huai, et al. Influence of the Maillard-type caseinate glycation with lactose on the intestinal barrier activity of the caseinate digest in IEC-6 cells[J]. Food & function, 2019, 10(4): 2010-2021

[20] 王洁,何桂珍,王玉康. 肠道屏障功能测定方法的相关性[J].中华临床营养杂志, 2014, 22(4): 213-218

[21] 刘跃平,石涵,李红,等. 益生菌对病毒性腹泻患者菌群结构及黏膜屏障功能变化的影响[J].中国预防医学杂志, 2018, 19(6): 448-451

[22] Mert T, Sahin M, Sahin E, et al. Anti-inflammatory properties of Liposome-encapsulated clodronate or Anti-Ly6G can be modulated by peripheral or central inflammatory markers in carrageenan-induced inflammation model[J]. Inflammopharmacology, 2019, 27: 603-612

[23] Soo, Hyun, Ahn, et al. IL-17A Contributes to the Pathogenesis of Endometriosis by Triggering Proinflammatory Cytokines and Angiogenic Growth Factors [J]. J Immunology, 2015, 195 (6): 2591-2600

[24] Watari A, Sakamoto Y, Hisaie K, et al. Rebeccamycin Attenuates TNF-α-Induced Intestinal Epithelial Barrier Dysfunction by Inhibiting Myosin Light Chain Kinase Production [J]. Cellular Physiology and Biochemistry, 2017, 41(5): 1924-1934

[25] Shen, Zhuang, Jia, et al. Rhein ameliorates lipopolysaccharide-induced intestinal barrier injury via modulation of Nrf2 and MAPKs [J]. Life Sciences, 2019, 216(1): 168-175

[26] Chen Y, Zhang H, Cheng Y, et al. Dietary l-threonine supplementation attenuates lipopolysaccharide-induced inflammatory responses and intestinal barrier damage of broiler chickens at an early age[J]. British J Nutrition, 2018, 119(11): e1254

[27] Mcguirk P, Mills K HG. Direct anti-inflammatory effect of a bacterial virulence factor: IL-10-dependent suppression of IL-12 production by filamentous hemagglutinin from Bordetella pertussis [J]. Eur J Immunol, 2015, 30(2): 415-422

[28] Wang H, Dong J, Shi P, et al. Anti-mouse CD52 mAb ameliorates intestinal epithelial barrier function in IL-10 knockout mice with spontaneous chronic colitis[J]. Immunology, 2014, 144(2): 254-262

[29] 顾慧媛, 高欣, 钱丽娟,等. 益生菌联合早期肠内营养治疗对重症急性胰腺炎患者血清炎性因子,肠黏膜屏障功能的影响[J].海南医学, 2017, 28(23): 3793-3795