*Coprococcus catus*对小鼠肝缺血再灌注损伤的保护作用

姚童[†], 李锐[†], 陈鹏^{*}

南方医科大学基础医学院病理生理学教研室, 广州 510515.

[†] 同等贡献

^{*} 联系人, E-mail: perchen@smu.edu.cn

收稿日期: 2021-09-09; 接受日期: 2021-12-01; 网络版发表日期: 2022-06-13

国家自然科学基金(批准号: 32071124)资助

摘要 肝脏缺血再灌注损伤(hepatic ischemia reperfusion, HIRI)是机体休克或肝脏外科手术术后重要并发症. 肠道菌群在肝损伤中起着至关重要的作用, 但目前其对HIRI的调控研究还处于起步阶段. 为了深入探究HIRI与肠道菌群的直接联系, 本课题组研究了具体肠道共生菌灵巧粪球菌(*Coprococcus catus*, *C. catus*)对HIRI的潜在贡献. 本研究建立小鼠肝脏缺血再灌注损伤模型, 并通过抗生素清除小鼠肠道菌群, 氯磷酸二钠脂质体注射清除小鼠巨噬细胞. 结果显示, 清除革兰氏阳性细菌可加剧小鼠HIRI, 肠道革兰氏阳性共生菌——*C. catus*可改善肝脏缺血再灌注引起的肝损伤. 此外, 巨噬细胞清除后, *C. catus*的保护效应削弱很多, 但仍显示一定保护HIRI的趋势. 本研究发现了一种新的可以保护小鼠肝脏缺血再灌注损伤的肠道革兰氏阳性厌氧细菌——*C. catus*, 该菌可部分依赖于巨噬细胞缓解肝脏缺血再灌注引发的炎症反应及肝损伤.

关键词 肠道菌群, 肝脏缺血再灌注损伤, 灵巧粪球菌

肝缺血再灌注损伤(hepatic ischemia reperfusion, HIRI)是指肝脏经历缺血缺氧后, 血液复流时肝脏原本正常功能和结构并未恢复, 反而损伤进一步加重的现象^[1]. HIRI的发病机制复杂, 主要为氧化应激和炎症反应, 包括缺血时肝脏糖原、ATP的消耗及氧气供应不足造成的肝脏代谢紊乱和肝细胞损伤, 以及恢复血流后由于钙超载及过量活性氧自由基产生等原因导致的炎症反应的加重^[2-4]. 其中巨噬细胞作为主要免疫细胞可通过多种途径参与HIRI进程^[5,6]. 作为临床常见并发症之一, HIRI多见于感染、低血容量性休克、肝移

植、部分肝切除^[7,8]. HIRI可能导致患者术后恢复缓慢、移植免疫排斥反应增加、移植物功能障碍, 严重时可能导致患者器官衰竭和死亡^[9,10]. 虽然目前临床已采取一定手段预防HIRI, 但迄今为止相关机制的研究和干预手段仍较为匮乏.

近年来, 肠道共生菌在参与调节肝脏功能及相关疾病进展的研究屡见不鲜. 有研究表明, 一些共生菌可通过本身或其代谢产物调节肠道微环境. 例如, 鼠李糖杆菌R0011(*Lactobacillus rhamnosus* R0011)和嗜酸乳酸杆菌R0052(*Lactobacillus acidophilus* R0052)

引用格式: 姚童, 李锐, 陈鹏. *Coprococcus catus*对小鼠肝缺血再灌注损伤的保护作用. 中国科学: 生命科学, 2022, 52
Yao T, Li R, Chen P. The protective effect of *Coprococcus catus* on hepatic ischemia-reperfusion injury in mice (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2022, 52, doi: 10.1360/SSV-2021-0337

可通过降低肠道大肠杆菌丰度及细菌内毒素含量改善酒精性肝炎患者的肝损伤^[11]。此外,部分共生菌还可以通过调节免疫系统缓解肝损伤^[12],例如植物乳杆菌C88(*Lactobacillus plantarum* C88)可以通过抑制TLR2/NF- κ B信号通路,减少促炎因子释放从而减轻肝脏炎症反应及损伤^[13];长双歧杆菌R1075(*Bifidobacterium longum* R0175)不仅可以抑制促炎因子的产生,还可以通过降低有害菌的相对丰度来改善肝脏损伤^[14]。因此,挖掘肠道共生菌与HIRI相关性对寻找HIRI新的治疗和干预方式具有十分重要的意义。

本课题组通过不同抗生素联用筛选,发现革兰氏阳性菌在HIRI进程中具有一定保护作用,同时结合本课题组前期研究工作,发现粪球菌*Coprococcus*的丰度变化与HIRI有一定相关性^[15]。*Coprococcus*目前已被报道与肝硬化及非酒精性脂肪肝等多种肝脏疾病相关^[16,17]。作为粪球菌*Coprococcus*属的模式菌,有研究表明灵巧粪球菌(*Coprococcus catus*, *C. catus*)丰度与抑郁症及子痫呈负相关^[18,19]。此外*C. catus*还可以产生丁酸^[20],丁酸可以通过调控肠道菌群组成,抑制肝脏巨噬细胞激活及降低肝细胞过氧化来保护肝脏^[21,22]。目前*C. catus*与HIRI之间的关系尚未有明确报道。本文将创新性探索*C. catus*和HIRI的相关性,初步揭示*C. catus*在HIRI中的作用机制,为临床HIRI的干预治疗提供新的可能性。

1 材料与方法

1.1 材料和主要试剂

SPF级健康雄性C57BL/6小鼠,鼠龄8~10周,体重22~25 g,购自中国北京华康康生物科技股份有限公司。所有小鼠都给予自由饮水与进食。实验方案均由南方医科大学动物伦理委员会批准。

硫酸新霉素、甲硝唑、氨苄青霉素、万古霉素(中国上海麦克林生化科技有限公司);磷酸盐缓冲液(dulbecco's phosphate buffered saline, DPBS)、Trizol试剂(赛默飞世尔科技(中国)有限公司);氯磷酸二钠脂质体(clodronate liposomes, 荷兰AMS公司);谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)试剂盒、谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)试剂盒、髓过氧化物酶(myeloperoxidase, MPO)活性试剂盒(中国南京建成生物工程研究所);*C. catus*(美国ATCC公司, 27761);

PYG大豆肉汤(中国青岛海博生物公司);Ly6G抗体(美国Cell Signaling Technology公司);逆转录试剂盒、SYBR Green(日本Toyobo公司);4%多聚甲醛(中国北京雷根生物技术有限公司);引物合成(中国华大基因有限公司);ABI7500实时荧光定量PCR仪(美国ABI公司)。

1.2 模型制备及给药

(1) 建立HIRI小鼠模型。小鼠麻醉后沿腹部正中开口,暴露肝脏,用无损伤血管夹阻断小鼠肝左叶和肝中叶血流造成70%肝脏缺血,持续夹闭90 min后移除血管夹重新恢复血供,6 h后处死小鼠,收取小鼠肝脏左叶、中叶和血清样本用于后续分析。

(2) 抗生素干预。广谱(ABX)干预:小鼠每日灌胃200 mg/kg硫酸新霉素、200 mg/kg甲硝唑、200 mg/kg氨苄青霉素和100 mg/kg万古霉素一次,持续4天。窄谱抗生素干预:小鼠每日灌胃100 mg/kg万古霉素合并200 mg/kg氨苄青霉素,持续4天,其主要用于清除小鼠肠道革兰氏阳性菌(Gla(+));小鼠每日灌胃200 mg/kg甲硝唑合并200 mg/kg硫酸新霉素,持续4天,其主要用于清除革兰氏阴性细菌(Gla(-))。

(3) *C. catus*干预及小鼠巨噬细胞的清除。*C. catus*组和灭活*C. catus*组小鼠每日分别灌胃 1×10^8 CFU存活及灭活*C. catus*(100℃ 10 min灭活)一次,持续3天,对照组小鼠灌胃等量DPBS。小鼠巨噬细胞清除需在HIRI手术前24 h尾静脉注射150 μ L氯磷酸二钠脂质体^[15]。

1.3 方法

(1) 小鼠血清生化指标检测。小鼠血液样本800×g离心15 min,取血清,根据试剂盒说明书于340 nm处测定吸光度并计算谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)水平,具体操作步骤遵照产品说明书。

(2) 髓过氧化物酶(myeloperoxidase, MPO)活性检测。取小鼠肝脏组织研磨制备匀浆液,根据试剂盒说明书于460 nm处测定吸光度并计算MPO活性,具体操作步骤遵照产品说明书。

(3) 细菌培养。使用PYG大豆肉汤于37℃厌氧环境下培养*C. catus*,当*C. catus*达到对数生长后期,800×g离心5 min,收集培养基上清和细菌。*C. catus*经高温100℃,10 min处理,得到灭活*C. catus*。

(4) H&E染色和Suzuki评分. 用4%多聚甲醛固定小鼠肝脏样本, 脱水包埋并切片(4 μm). 组织切片遵照标准苏木素伊红方案染色后脱水, 封片镜检, 光镜下观察肝损伤情况. 用ImageJ软件统计坏死面积并根据Suzuki评分系统进行统计. Suzuki评分系统: 淤血水平(无=0, 最小=1, 轻度=2, 中度=3, 严重=4), 空泡化(无=0, 最小=1, 轻度=2, 中度=3, 重度=4)和坏死水平(无=0, 个别细胞坏死=1, 细胞坏死<30%=2, 细胞坏死30%~60%=3, 细胞坏死>60%=4)^[23].

(5) 免疫组织化学染色. 用4%多聚甲醛固定小鼠肝脏样本, 脱水包埋并切片(4 μm). Ly6G抗体(抗体浓度1:500)孵育样本后显色, 苏木素染色3~5 min, 水洗15 min, 脱水封片, 光镜下观察染色情况并用ImageJ软件统计阳性染色面积.

(6) RNA提取及实时荧光定量PCR检测. 取20 mg小鼠肝脏样本, 用Trizol法提取小鼠肝脏总RNA并检测浓度和纯度, 随后逆转录为cDNA并用于实时荧光定量PCR, 以18S为内参(相关引物序列见表1).

(7) 统计分析. 应用Graphpad Prism 6软件进行分析, 2-tailed Student's *t*-test作为两组间统计分析方法, 所有数据均表示为mean±SEM. *P*<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 革兰氏阳性菌参与HIRI进展

为了筛选调控小鼠HIRI进程的肠道菌群类型, 本研究分别联用不同抗生素清除小鼠肠道细菌, 随后进行肝脏缺血再灌注手术观察不同组小鼠肝脏损伤程度. 如图1A所示, Gla(+)组(主要清除小鼠肠道革兰氏

阳性菌)和ABX组(清除小鼠肠道革兰氏阳性菌和阴性菌)的小鼠血清ALT和AST水平、肝脏MPO活性(中性粒细胞浸润水平)显著高于未经抗生素处理的对照组小鼠, 而Gla(-)组(主要清除小鼠肠道革兰氏阴性菌)小鼠血清ALT和AST水平、肝脏MPO活性相比于对照组则没有显著变化. 此外, 肝脏病理染色结果显示, 相比于对照组和Gla(-)组小鼠, Gla(+)组和ABX组小鼠肝小叶结构被破坏, 大量肝细胞坏死, 肝血窦淤血, 同时肝脏汇管区存在炎性细胞浸润, 肝脏损伤程度明显加重(图1B). 同时图1C显示, Gla(+)组和ABX组的HIRI代表性细胞因子及趋化因子(*TNFα*, *IL6*, *Cxcl2*)基因表达水平相比对照组和Gla(-)组显著上调. 上述结果表明, 相比于革兰氏阴性菌, 革兰氏阳性菌的存在保护了小鼠因肝脏缺血再灌注导致的肝细胞损伤和炎症浸润.

2.2 *C. catus*对HIRI有保护作用

本实验进一步深入探究有保护作用的具体革兰氏阳性菌株. 根据本课题组前期筛选, 本研究进一步确定了革兰氏阳性菌——*C. catus*作为研究对象. 给予小鼠灌胃存活及灭活的*C. catus*并进行肝脏缺血再灌注手术, 如图2A和B所示: 相比于HIRI模型组, *C. catus*处理组小鼠血清ALT和AST水平以及肝脏MPO活性显著降低, 肝细胞空泡和坏死减少, 炎性细胞浸润程度降低, 肝脏病理损伤显著改善. 此外, 两组小鼠肝脏Ly6G阳性染色相比于HIRI模型组均显著减少(图2C). 在基因水平上, *C. catus*干预后HIRI小鼠肝脏炎症因子(*TNFα*, *IL6*)及趋化因子(*Cxcl1*, *Cxcl2*, *Cxcl10*)的表达均有一定程度降低(图2D). 上述结果表明, 活化和灭活的*C. catus*都可以抑制肝脏炎性细胞浸润, 保护小鼠因缺血再灌注引起的肝脏损伤. 值得注意的是, 相比于有

表 1 real-time PCR引物序列

Table1 The primer sequences of real-time PCR

基因	正向引物(5'~3')	反向引物(5'~3')
<i>18S</i>	AGTCCCTGCCCTTTGTACACA	CGATCCGAGGGCCTCACTA
<i>TNFα</i>	AGGGTCTGGGCCATAGAACT	CCACCACGCTCTTCTGTCTAC
<i>IL6</i>	ACCAGAGGAAATTTTCAATAGGC	TGATGCACTGCAGAAAACA
<i>Cxcl1</i>	TCCGTTACTTGGGGACAC	CCCACTCAAGAATGGTCGC
<i>Cxcl2</i>	TCCAGGTCAGTTAGCCTTGC	CGGTCAAAAAGTTTGCCTTG
<i>Cxcl10</i>	CCTATGGCCCTCATCTCAC	CTCATCCTGCTGGGTCTGAG
<i>Ccl3</i>	GTGGAATCTTCCGGCTGTAG	ACCATGACACTCTGCAACCA

图 1 革兰氏阳性菌有助于改善小鼠HIRI。给小鼠分别灌胃组合抗生素4天后, 进行肝脏缺血再灌注手术。A: 血清ALT和AST水平及肝脏MPO活性($n=7$); B: H&E染色和Suzuki评分($n=7$), 比例尺: 50 μm ; C: 小鼠肝脏细胞因子和趋化因子($TNF\alpha$, $IL6$, $Cxcl2$)基因水平($n=7$)。*, $P<0.05$, n.s.表示无统计学意义

Figure 1 Gram-positive bacteria showed the modulatory effect on improving HIRI. Mice were administered with antibiotics by oral gavage once daily for 4 d and underwent hepatic I/R surgery. A: Serum transaminase levels and hepatic MPO activity ($n=7$); B: H&E staining and Suzuki scores ($n=7$), scale bar: 50 μm ; C: the mRNA levels of key cytokines and chemokine in liver ($TNF\alpha$, $IL6$, $Cxcl2$) ($n=7$). *, $P<0.05$, n.s. indicates nonsignificant

活性的*C. catus*, 灭活*C. catus*处理的HIRI小鼠肝脏Ly6G阳性细胞浸润和基因水平*IL6*的表达进一步降低, 推测灭活的*C. catus*可能对HIRI具有更好的保护作用。

2.3 灭活*C. catus*对HIRI的保护作用部分依赖于巨噬细胞

为了进一步研究*C. catus*在HIRI中的保护机制, 首

图 2 *C. catus*对HIRI具有保护作用。给*C. catus*组小鼠和灭活的*C. catus*组小鼠分别灌胃存活和灭活的*C. catus*, 1×10^8 CFU每只每天, 持续3天, 然后进行肝脏缺血再灌注手术。A: HIRI小鼠的血清ALT和AST水平以及肝脏MPO活性($n=5 \sim 11$); B: H&E染色和Suzuki评分($n=5$), 比例尺: 50 μ m; C: 肝脏Ly6G免疫组化染色($n=5$), 比例尺: 50 μ m; D: 小鼠肝脏细胞因子和趋化因子(*Cxcl1*, *Cxcl2*, *Cxcl10*, *Ccl3*, *TNF α* , *IL6*)基因水平($n=4 \sim 6$)。*, $P < 0.05$

Figure 2 *C. catus* protected against HIRI. Mice were treated with live *C. catus* or inactivated *C. catus* by oral gavage 1×10^8 CFU once daily for 3 d and underwent hepatic I/R surgery. A: Serum transaminase levels and hepatic MPO activity of HIRI mice ($n=5 \sim 11$); B: H&E staining and Suzuki scores ($n=5$), scale bar: 50 μ m; C: immunohistochemistry of Ly6G in HIRI mice liver ($n=5$), scale bar: 50 μ m; D: the mRNA levels of key cytokines and chemokines in liver (*Cxcl1*, *Cxcl2*, *Cxcl10*, *Ccl3*, *TNF α* , *IL6*) ($n=4 \sim 6$). *, $P < 0.05$

先本研究想明确 *C. catus* 是否通过其自身代谢产物改善小鼠 HIRI。使用 *C. catus* 培养上清预处理小鼠 3 天, 随后实施肝脏缺血再灌注手术。如图 3A 和 B 所示: *C. catus* 培养上清处理组相比于空白培养基处理组, 小鼠血清 ALT 和 AST 均无显著差异, 肝脏病理结果同样无显著差异。虽然已有明确研究表明, 丁酸作为 *C. catus* 的代谢产物可以保护肝脏缺血再灌注损伤。但是体外培养 *C. catus* 环境单一, 影响丁酸产生及浓度的因素多样且复杂(时间、氧气、酸碱度等)。其次除丁酸外, *C. catus* 上清中还存在其他细菌代谢产物, 尚未明确这些代谢产物对于 HIRI 的干扰作用。因此结合上述实验结果, 本课题组推测 *C. catus* 更大可能是通过其细菌本身而非其代谢产物保护小鼠 HIRI。

因此, 为了进一步阐明 *C. catus* 的作用机制, 考虑到巨噬细胞在 HIRI 进程中的主导作用以及灭活 *C. catus* 更为明显的保护作用, 本课题组推测 *C. catus* 可能通过调节巨噬细胞功能从而改善小鼠 HIRI。本研究利用氯磷酸二钠脂质体(liposomes)清除小鼠巨噬细胞, 给予灭活 *C. catus* 预处理并实施肝脏缺血再灌注手术。如图 4A 和 B 所示, liposomes 组和 liposomes 合并灭活 *C. catus* 处理的 HIRI 小鼠血清 ALT 和 AST 水平、肝脏

MPO 活性、肝脏病理损伤水平均显著低于模型组小鼠; 细胞因子及趋化因子的基因表达水平也有一定程度降低, 特别是 *TNFA*, *IL6*, *Ccl3* 以及 *Cxcl10*(图 4C)。此外, 本课题组发现, 血清生化指标、促炎因子基因水平的表达结果(特别是 *IL6*, $P=0.061$)显示 liposomes 合并灭活 *C. catus* 相比于 liposomes 组, 其肝脏损伤和炎症水平存在进一步降低的趋势, 提示除了巨噬细胞外, 灭活 *C. catus* 可能会影响某种其他途径保护 HIRI。综上结果表明, *C. catus* 可能部分依赖于调控巨噬细胞活性从而改善小鼠 HIRI。

3 讨论

肝缺血再灌注损伤作为肝脏外科手术常见的并发症, 一直是临床研究热点之一。肝缺血再灌注损伤可直接导致肝细胞坏死及肝细胞再生障碍, 严重影响肝脏手术成功率和患者愈后水平。研究表明, 接受肝脏移植的患者在 1~5 年内的死亡率高达 26%, 而 HIRI 正是导致其术后死亡率增高的一大原因^[24]。目前临床解决 HIRI 的手段仍相当有限。肠道微生物在肝病的发生发展过程中扮演着十分重要的角色, 肠

图 3 *C. catus* 的代谢产物并未改善小鼠 HIRI。给小鼠灌胃预处理 *C. catus* 培养上清 200 μ L 每只每天, 持续 3 天, 随后实施肝脏缺血再灌注手术, 空白培养基作为对照。A: HIRI 小鼠的血清 ALT 和 AST 水平 ($n=4-5$); B: H&E 染色和 Suzuki 评分 ($n=4$), 比例尺: 50 μ m。n.s. 表示无统计学意义

Figure 3 The metabolites of *C. catus* did not alleviate HIRI. Mice were treated with 200 μ L culture supernatant of *C. catus* by oral gavage once daily for 3 d and underwent hepatic I/R surgery. Blank medium was used as control. A: Serum transaminase levels of HIRI mice ($n=4-5$); B: H&E staining and Suzuki scores ($n=4$). Scale bar: 50 μ m. n.s. indicates nonsignificant

图 4 *C. catus*部分依赖于巨噬细胞改善小鼠HIRI。给小鼠灌胃灭活的*C. catus* 1×10^8 CFU每只每天,持续3天,尾静脉注射氯磷酸二钠脂质体清除小鼠巨噬细胞并进行肝脏缺血再灌注手术。A: HIRI小鼠的血清ALT和AST水平以及肝脏MPO活性($n=5\sim7$); B: H&E染色和Suzuki评分($n=5$),比例尺: 50 μm ; C: 小鼠肝脏细胞因子和趋化因子(*Cxcl1*, *Cxcl2*, *Cxcl10*, *Ccl3*, *TNFα*, *IL6*)基因水平($n=5\sim7$)。*, $P<0.05$

Figure 4 *C. catus* partially relied on macrophages to improve HIRI. Mice were treated with inactivated *C. catus* by oral gavage 1×10^8 CFU once daily for 3 d and underwent hepatic I/R surgery. The mice were also injected clodronate liposomes for macrophages clearance. A: Serum transaminase levels and hepatic MPO activity of HIRI mice ($n=5\sim7$); B: H&E staining and Suzuki scores ($n=5$), scale bar: 50 μm ; C: the mRNA levels of key cytokines and chemokines in whole liver (*Cxcl1*, *Cxcl2*, *Cxcl10*, *Ccl3*, *TNFα*, *IL6*) ($n=5\sim7$). *, $P<0.05$

道菌群失衡和肠道屏障的损伤将增加细菌移位及肠道菌群代谢物变化,进而引发肝脏炎症和损伤^[25]。研

究表明,一些共生菌不仅可以通过降低细菌内毒素的产生,提高宿主肠道的抗炎作用,还可以通过参与

抗菌素的合成等多种途径减轻肝脏损伤^[26,27]。因此,肠道菌群在肝病的研究中具有巨大的潜在临床意义和转化价值。

目前 *C. catus* 作为肠道共生菌参与多种疾病进展已有报道^[19,20]。然而 *C. catus* 对于 HIRI 的作用和相关机制尚不明确。因此,本研究较为深入地探究了 *C. catus* 与 HIRI 的关系。结果发现,首先 *C. catus* 可以明显改善小鼠 HIRI, 实验结果提示,灭活的 *C. catus* 相比于活化的 *C. catus* 有进一步抑制小鼠肝脏炎症反应并改善 HIRI 的趋势。这较大程度地赋予了该菌未来可能的临床转化前景,因为相比于活菌干预,灭活菌的处理可能更加安全、可控。此外,正如图4所示,本课题组推测 *C. catus* 并非完全依赖于巨噬细胞参与 HIRI 进程。同样,考虑到肝脏实质细胞特别是肝细胞氧化应激相关通路在 HIRI 进程中起到的重要作用,本课题组也检测了 *C. catus* 治疗后 HIRI 小鼠肝脏氧化应激重要指标——超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活力和丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量,然而结果表明, *C. catus* 治疗后 HIRI 小鼠肝脏 SOD 和 MDA 均没有显著性差异(结果未展示),推测 *C. catus* 可能并非通过肝细胞氧化应激相关通路改善小鼠 HIRI。因为 *C. catus*

调控 HIRI 的机制复杂且 HIRI 相关信号通路和机制众多,除巨噬细胞免疫反应和肝脏实质细胞氧化应激通路外,自噬、凋亡、铁死亡等多种细胞信号通路也参与调控 HIRI。 *C. catus* 可能还通过抑制巨噬细胞炎症反应以外的其他细胞类型(如中性粒细胞,肝实质细胞等)和相关通路保护小鼠肝缺血再灌注损伤。当然,综合本实验结果中 *C. catus* 对于炎症因子表达水平的明显抑制(如 *IL6*, *Cxcl2*, *Cxcl10*),本课题组在后续实验中仍将集中研究免疫细胞和炎症反应相关信号通路,进一步深入探究 *C. catus* 抑制 HIRI 中肝脏促炎反应的分子机制。

综上所述,本研究发现了一种新的可以保护小鼠肝缺血再灌注损伤的肠道革兰氏阳性厌氧细菌——*C. catus*。该研究为 *C. catus* 对 HIRI 的保护作用提供了理论基础和临床转化的可能性,也为 HIRI 背景下的肠道菌群干预治疗提供了新的见解。当然,除 *C. catus* 外,也不能忽视其他肠道微生物影响 HIRI 的可能性。未来本课题组也将进一步深入探索 *C. catus* 在巨噬细胞和其他细胞类型中的具体作用机制,继续探究其他肠道菌群在 HIRI 中潜在的调控作用,为临床肝缺血再灌注导致的肝损伤提供更多潜在的干预治疗手段。

参考文献

- 1 Olthof P B, van Golen R F, Meijer B, et al. Warm ischemia time-dependent variation in liver damage, inflammation, and function in hepatic ischemia/reperfusion injury. *Biochim Biophys Acta*, 2017, 1863: 375–385
- 2 Peralta C, Jiménez-Castro M B, Gracia-Sancho J. Hepatic ischemia and reperfusion injury: effects on the liver sinusoidal milieu. *J Hepatol*, 2013, 59: 1094–1106
- 3 Motiño O, Francés D E, Casanova N, et al. Protective role of hepatocyte cyclooxygenase-2 expression against liver ischemia-reperfusion injury in mice. *Hepatology*, 2019, 70: 650–665
- 4 Katwal G, Baral D, Fan X, et al. SIRT3 a major player in attenuation of hepatic ischemia-reperfusion injury by reducing ROS via its downstream mediators: SOD2, CYP-D, and HIF-1 α . *Oxid Med Cell Longev*, 2018, 2018: 1–13
- 5 Ye L, He S, Mao X, et al. Effect of hepatic macrophage polarization and apoptosis on liver ischemia and reperfusion injury during liver transplantation. *Front Immunol*, 2020, 11: 1193
- 6 Tsuchihashi S, Zhai Y, Bo Q, et al. Heme oxygenase-1 mediated cytoprotection against liver ischemia and reperfusion injury: inhibition of type-I interferon signaling. *Transplantation*, 2007, 83: 1628–1634
- 7 Zhai Y, Petrowsky H, Hong J C, et al. Ischaemia-reperfusion injury in liver transplantation—from bench to bedside. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2013, 10: 79–89
- 8 Nastos C, Kalimeris K, Papoutsidakis N, et al. Global consequences of liver ischemia/reperfusion injury. *Oxid Med Cell Longev*, 2014, 2014: 1–13
- 9 Zhai Y, Busuttill R W, Kupiec-Weglinski J W. Liver ischemia and reperfusion injury: new insights into mechanisms of innate-adaptive immune-mediated tissue inflammation. *Am J Transplant*, 2011, 11: 1563–1569
- 10 Yang W, Chen J, Meng Y, et al. Novel targets for treating ischemia-reperfusion injury in the liver. *Int J Mol Sci*, 2018, 19: 1302

- 11 Hong M, Kim S W, Han S H, et al. Probiotics (*Lactobacillus rhamnosus* R0011 and *acidophilus* R0052) reduce the expression of toll-like receptor 4 in mice with alcoholic liver disease. [PLoS ONE](#), 2015, 10: e0117451
- 12 O'Sullivan D J. Genomics can advance the potential for probiotic cultures to improve liver and overall health. [Curr Pharm Des](#), 2008, 14: 1376–1381
- 13 Huang L, Zhao Z, Duan C, et al. *Lactobacillus plantarum* C88 protects against aflatoxin B1-induced liver injury in mice via inhibition of NF- κ B-mediated inflammatory responses and excessive apoptosis. [BMC Microbiol](#), 2019, 19: 170
- 14 Wang K, Lv L, Yan R, et al. *Bifidobacterium longum* R0175 Protects Rats against ^d-Galactosamine-induced acute liver failure. [mSphere](#), 2020, 5
- 15 Li R, Xie L, Li L, et al. The gut microbial metabolite, 3,4-dihydroxyphenylpropionic acid, alleviates hepatic ischemia/reperfusion injury via mitigation of macrophage pro-inflammatory activity in mice. [Acta Pharm Sin B](#), 2022, 12: 182–196
- 16 Zhang Y, Zhao M, Jiang X, et al. Comprehensive analysis of fecal microbiome and metabolomics in hepatic fibrosis rats reveal hepatoprotective effects of Yincheng Wuling powder from the host-microbial metabolic axis. [Front Pharmacol](#), 2021, 12: 713197
- 17 Ye J, Lv L, Wu W, et al. Butyrate protects mice against methionine-choline-deficient diet-induced non-alcoholic steatohepatitis by improving gut barrier function, attenuating inflammation and reducing endotoxin levels. [Front Microbiol](#), 2018, 9: 1967
- 18 Hugerth L W, Andreasson A, Talley N J, et al. No distinct microbiome signature of irritable bowel syndrome found in a Swedish random population. [Gut](#), 2020, 69: 1076–1084
- 19 Liu J, Yang H, Yin Z, et al. Remodeling of the gut microbiota and structural shifts in Preeclampsia patients in South China. [Eur J Clin Microbiol Infect Dis](#), 2017, 36: 713–719
- 20 Reichardt N, Duncan S H, Young P, et al. Phylogenetic distribution of three pathways for propionate production within the human gut microbiota. [ISME J](#), 2014, 8: 1323–1335
- 21 Qiao Y, Qian J, Wang F, et al. Butyrate protects liver against ischemia reperfusion injury by inhibiting nuclear factor kappa B activation in Kupffer cells. [J Surg Res](#), 2014, 187: 653–659
- 22 Liu B, Ma Z Y, Wu G, et al. Butyrate protects rats from hepatic ischemia/reperfusion injury. [Int J Clin Exp Med](#), 2015, 8: 5406–5413
- 23 Khader A, Yang W L, Godwin A, et al. Sirtuin 1 stimulation attenuates ischemic liver injury and enhances mitochondrial recovery and autophagy. [Crit Care Med](#), 2016, 44: e651–e663
- 24 Lee S, Matsuoka L, Cao S, et al. Identifying predictors of outcomes in combined heart and liver transplantation. [Transplant Proc](#), 2019, 51: 2002–2008
- 25 Tripathi A, Debelius J, Brenner D A, et al. The gut-liver axis and the intersection with the microbiome. [Nat Rev Gastroenterol Hepatol](#), 2018, 15: 397–411
- 26 Erdaş M, Akyüz F, Can B, et al. In vivo effects of *Viscum album* and probiotics against carbon tetrachloride-induced liver injury. [J Bioenerg Biomembr](#), 2021, 53: 139–148
- 27 Meroni M, Longo M, Dongiovanni P. The role of probiotics in nonalcoholic fatty liver disease: a new insight into therapeutic strategies. [Nutrients](#), 2019, 11: 2642

The protective effect of *Coprococcus catus* on hepatic ischemia-reperfusion injury in mice

YAO Tong, LI Rui & CHEN Peng

Department of Pathophysiology, School of Basic Medical Sciences, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China

Hepatic ischemia reperfusion injury (HIRI) is a common complication after shock or liver surgery. The gut microbiota plays an important role in liver injury, but the relationship between gut microbiota and HIRI has not been fully understood. In order to further explore the detail contribution of gut microbiota to HIRI, here we studied the potential effect of intestinal symbiotic bacteria (*Coprococcus catus*, *C. catus*) on HIRI progression in mice. We established mice HIRI model (70% liver blood flow was restricted for 90 min, followed by 6 h reperfusion) and mice were gavaged with narrow-spectrum antibiotics to deplete gut microbiota. Clodronate liposomes were employed to deplete macrophages in vivo. Our results showed that HIRI was exacerbated after the depletion of gram-positive bacteria, but this phenomenon did not occur in the depletion of gram-negative bacteria. In addition, the intestinal gram-positive commensal bacteria (*C. catus*) can improve HIRI in mice. Compared with *C. catus* culture supernatant, inactivated *C. catus* displayed a significant improvement of HIRI. Furthermore, *C. catus* still showed a certain tendency to protect HIRI in macrophage-cleared mice. In this study, we reported the beneficial effects of a new strain of intestinal gram-positive anaerobe-*C. catus* against HIRI in mice. *C. catus* may partially rely on macrophages to relieve inflammation and liver damage during HIRI.

gut microbiota, hepatic ischemia reperfusion injury, *Coprococcus catus*

doi: [10.1360/SSV-2021-0337](https://doi.org/10.1360/SSV-2021-0337)