

水性增强,在进入小肠时其吸收远不如甙元,所以食用大豆有一定的效果,而食用丹贝效果更佳。^[5,6]

3.3 Genistein 抑制肿瘤的机理

在本实验中,我们观察到丹贝异黄酮和 genistein 只有在较高剂量和浓度时才有较好的抑制癌细胞作用,且 IC_{50} 都较高,这表明 genistein 不完全是通过细胞毒的作用直接杀死癌细胞的。genistein 是一种植物雌激素,雌激素在体内与雌激素受体(ER)作用,而 ER 能将雌激素在靶细胞内浓缩,因此在体内实际上 Genistein 在很低浓度时已发生作用,体外实验忽视了靶细胞的作用。1987 年 Akiyama 报道染料木素是很强的 PTK 酶抑制剂,而这种酶可刺激新血管的形成以提供恶性肿瘤细胞氧气和养分,染料木素通过抑制 PTK 酶阻断新血管的生成达到防癌抑癌的作用^[4,7]。Genistein 还可能通过抑制 PTK 酶系的信号转导级联的下游某个靶部位而起作用。genistein 还可通过增强细胞免疫和抗氧化作用来抑制癌细胞生长和增殖,Wei 等 1993 年报道染料木素可以强烈抑制促癌剂 TPA 诱发的多核白细胞及 HL-60 细胞中 H_2O_2 的形成和黄嘌呤/黄嘌呤氧化酶系统中 O_2 的产生。鉴于促癌剂发生中伴随着活性氧的产生,推测 genistein 还可

以通过清除自由基对肿瘤细胞产生抑制。^[8,9]

参考文献

- 1 高霞,江汉湖. 丹贝异黄酮提取物抗肿瘤作用研究. 南京农业大学硕士论文,1999,7.
- 2 Hagiwara, M. Inoue, S. et al. Differential effects of flavonoids as inhibitors of tyrosine protein kinases and serine/threonine protein kinases. *Biochem Pharmacol* 1988, 37: 2987 ~ 92.
- 3 Geahlen, Koonchanok, N. M., et. al. Inhibition of protein-tyrosine kinase activity by flavonoids and related compound. *J Nat Prod* 1989, 52: 982 ~ 6.
- 4 Akiyama, T. Ishid, J. et al. Genistein, a specific inhibitor of tyrosine specific protein kinases. *J. Biol. Chem.* 1987, 262: 5592 ~ 5595.
- 5 Barnes, S. Effect of genistein on in vitro and in vivo models of cancer. *J Nutr* 1995, 125: 7775 ~ 7835.
- 6 Naim, M. Soybean isoflavones characterization determination and antifungal activity. *J Agr. Food Chem.* 1974, 22: 806—810.
- 7 Cantlery L. C., Auger K. R., et al. Oncogenes and signal transduction. *Cell* 1991, 64(1): 281 ~ 302.
- 8 Frenkel, K. Carcinogen-mediated oxidant formation and oxidative DNA damage. *Pharmacol Ther.* 1992, 53: 127 ~ 166.
- 9 Wei H, Ro, et al. Inhibition of UV light—and Fenton reaction induced oxidative DNA damage by the soybean isoflavone genistein. *Carcinogenesis*. 1996, 17: 73.

低聚异麦芽糖改善小鼠胃肠道功能的研究

金宗濂 王政 陈文 田熠华 金川 张颖 马远芳 北京联合大学应用文理学院生化系 100083

摘要 以二月龄雄性 BALB/c 小鼠为实验对象,研究了 IMO-50 与 IMO-90 调节胃肠道菌群的功能,结果表明:连续给予 IMO-50 或 IMO-90 14 天后,小鼠胃肠道内双歧杆菌数量显著增加。以二月龄雄性 BALB/c 小鼠为实验对象,以复方地芬诺酯建立的便秘模型为参比对照,研究 IMO-50 与 IMO-90 的润畅通便功能,结果表明:在连续给予受试物 14 天后,便秘小鼠的小肠推进率显著提高,首便、首黑便时间明显缩短,8 小时排便重量显著增加。提示 IMO-50 和 IMO-90 均可改善小鼠胃肠道功能。

关键词 低聚异麦芽糖 双歧杆菌 乳杆菌 便秘

Abstract The present paper reported the regulative effect of IMO on intestinal flora and constipation of two-months mice. The results showed that after IMO-50 or IMO-90 were fed to mice for two weeks, intestinal Bifidobacteria was significantly increased, and the time of first excrement and first black excrement was significantly shortened, and the weight of excrement in eight hours was increased.

This suggested that both IMO-50 and IMO-90 had regulative effect on intestinal flora, and could prevent mice from constipation.

Key words Isomaltooligosaccharide Bifidobacteria Lactobacilli Constipation

低聚异麦芽糖(IMO)又称分支低聚麦芽糖,主要由 $\alpha-1,6$ 糖苷键结合的异麦芽糖、潘糖及异麦芽三糖组成。据报道,低聚异麦芽糖具有预防龋齿、促进双歧杆菌增殖、润畅通便、防止心血管病的发生、改善食

物中钙的吸收等作用^{[1][2]}。因此,近年来国内外对低聚异麦芽糖的研究及利用异常活跃。目前,低聚异麦芽糖产品规格有两种,即主要成分占 50% 以上的 IMO-50 和主要成分占 85% 以上的 IMO-90。

本研究旨在研究 IMO-50 和 IMO-90 改善胃肠道菌群与润畅通便作用的有效剂量、作用特点,为今后进一步研究、开发及合理利用低聚异麦芽糖资源提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物:

BALB/C 二级雄性、雌性小鼠(购自中国医学科学院动物中心繁殖场),体重 18—22g。

润畅通便实验选用雌性小鼠,按体重随机分组。

肠道菌群实验选用雄性小鼠,按体重随机分组。

1.1.2 样品:由江苏省微生物研究所提供

50% 低聚异麦芽糖,浅黄色透明粘稠液体。

90% 低聚异麦芽糖,白色粉末。

1.1.3 剂量:各实验中所设的 IMO-50 及 IMO-90 的剂量如结果表中所示。

1.2 实验方法

1.2.1 肠道菌群的计数

无菌采取小鼠粪便,放入已灭菌的装有 3ml 稀释液的试管中,称重,振荡混匀。采取 10 倍系列稀释至 10^{-8} 或 10^{-9} ,选择合适的稀释度分别接种在培养基上^{[7][8]}。培养 48 小时后,以菌落形态,革兰氏染色镜检计数菌落,计算出每克湿便中的菌数,取对数后进行统计处理。

理。

1.2.2 小肠推进实验

在连续给予受试物 14 天后,各组小鼠禁食 24h。实验开始前各剂量组给予受试物,正常对照组及模型对照组给予等量蒸馏水。30min 后,除正常对照组外,其余各组灌喂复方地芬诺酯 50mg/kg. bw。20min 后,各组灌喂 15% 碳黑墨水 0.1ml/10g. bw。经 20min 颈脱臼处死动物,立即取出自幽门至盲肠部的整段小肠,不加牵引平铺成直线。测量小肠全长和幽门至墨水运动前沿位移,计算小肠推进率。

小肠推进率(%) = 墨水移动距离(cm) / 小肠全长(cm) × 100%

1.2.3 小鼠排便实验

在连续给予受试物 14 天后,各组小鼠禁食 24h。除正常对照组外,其余各组灌喂复方地芬诺酯 10mg/kg. bw。1h 后给各组小鼠灌喂 10% 碳黑墨水 0.1ml/10g. bw,受试物组碳黑墨水混合相应剂量的受试物。观察记录每只小鼠自灌喂复立地芬诺酯起,首便时间、首黑便时间以及 8h 内排便重量。

2 结果与分析

2.1 低聚异麦芽糖对小鼠体重的影响:

给予小鼠不同剂量的 IMO-50 和 IMO-90 14 天前,与正常对照比较,各剂量组间体重均无显著性差异。提示服用低聚异麦芽糖对小鼠的体重无任何影响。

2.2 IMO-50 对小鼠胃肠道功能的影响:

2.2.1 对小鼠肠道菌群的影响:

由表 1 可知,在连续给予 IMO-50 14 天后,小鼠肠道内的四种菌群数量发生了变化。各剂量组与空

表 1 IMO-50 对小鼠肠道菌群的影响(logCFU/g, $\bar{X} \pm SD$ $n = 12$)

菌名	空白对照组		低剂量组 (1.7g/kg. bw)		中剂量组 (2.5g/kg. bw)		高剂量组 (5.0g/kg. bw)	
	灌服前	灌服后	灌服前	灌服后	灌服前	灌服后	灌服前	灌服后
肠杆菌	7.74 ± 0.44	7.69 ± 0.42	7.74 ± 0.43	7.77 ± 0.41	7.81 ± 0.29	7.75 ± 0.28	7.80 ± 0.41	7.70 ± 0.38
肠球菌	7.72 ± 0.34	7.66 ± 0.34	7.63 ± 0.54	7.64 ± 0.53	7.86 ± 0.52	7.77 ± 0.45	7.59 ± 0.42	7.20 ± 0.43#* *
双歧杆菌	9.11 ± 0.33	9.13 ± 0.28	9.20 ± 0.42	9.24 ± 0.45	9.19 ± 0.34	9.54 ± 0.36#* *	9.07 ± 0.23	9.36 ± 0.32#* *
乳杆菌	9.05 ± 0.43	9.06 ± 0.36	9.12 ± 0.45	9.17 ± 0.41	9.18 ± 0.50	9.26 ± 0.56	9.11 ± 0.42	9.43 ± 0.36*

灌喂前后比较 $P < 0.05$

* 与空白对照组比较 $P < 0.05$

* * 与空白对照组比较 $P < 0.01$

白对照组比较的结果, 及将各剂量组灌服前后自身比较的结果均提示中剂量 IMO-50 已具有改善肠道菌群的功能, 而高剂量在促进双歧杆菌和增殖与减少肠球菌数量方面均有作用, 效果比中剂量更好。

2.2.2 对小鼠小肠推进率的影响:

在连续灌喂了 IMO-50 14 天后, 与正常对照组比较, 模型对照组小鼠小肠推进率显著降低, 说明模型建立成功。与模型对照组相比较, 低、中、高剂量组小肠推进率提高了 22% - 55%。提示低剂量 (3.3g/kg, bw) 的 IMO-50 即可有效改善小鼠小肠推进率。

表 2 IMO-50 对小鼠小肠推进率的影响 ($X \pm SD$)

组别	动物只数 n	小肠推进率 (%)
模型对照组	12	38.0 $\pm$ 5.4
低剂量组 (3.3g/kg, bw)	12	46.5 $\pm$ 11.2 *
中剂量组 (5.0g/kg, bw)	12	55.4 $\pm$ 12.9 * *
高剂量组 (10.0g/kg, bw)	12	58.9 $\pm$ 7.5 * *
正常对照组	12	63.1 $\pm$ 9.3 * *

* 与模型对照组比较 P < 0.05

* * 与模型对照组比较 P < 0.001

表 3 IMO-50 对小鼠排便时间及重量的影响 (logCFU/g, $X \pm SD$ n = 12)

组别	受试物剂量 (g/kg, bw)	首次排便时间 (min)	首次排黑便时间 (min)	8 小时排便重量 (g)
模型对照组	0	260.59 $\pm$ 44.23	341.67 $\pm$ 27.69	0.5102 $\pm$ 0.2019
低剂量组	3.3	248.33 $\pm$ 54.00	322.95 $\pm$ 21.46	0.5352 $\pm$ 0.1459
中剂量组	5.0	180.38 $\pm$ 47.76 * *	305.48 $\pm$ 32.98 * *	0.7074 $\pm$ 0.1200 * *
高剂量组	10.0	218.90 $\pm$ 50.76 *	310.28 $\pm$ 24.12 * *	0.7599 $\pm$ 0.1992 * *
空白对照组	0	82.12 $\pm$ 11.26 * *	181.57 $\pm$ 14.92 * *	1.3901 $\pm$ 0.3853 * *

* 与模型对照组比较 P < 0.05

* * 与模型对照组比较 P < 0.001

* * 与模型对照组比较 P < 0.01

表 4 IMO-90 对小鼠肠道菌群的影响 (logCFU/g, $X \pm SD$ n = 12)

菌名	空白对照组		低剂量 (1.2g/kg, bw)		中剂量组 (1.7g/kg, bw)		高剂量组 (3.4g/kg, bw)	
	灌服前	灌服后	灌服前	灌服后	灌服前	灌服后	灌服前	灌服后
肠杆菌	7.76 $\pm$ 0.58	7.36 $\pm$ 0.55	7.72 $\pm$ 0.47	7.53 $\pm$ 0.45	7.81 $\pm$ 0.43	7.47 $\pm$ 0.35	7.79 $\pm$ 0.48	7.56 $\pm$ 0.32
肠球菌	7.75 $\pm$ 0.57	7.69 $\pm$ 0.46	7.68 $\pm$ 0.47	7.57 $\pm$ 0.42	7.88 $\pm$ 0.52	7.82 $\pm$ 0.32	7.63 $\pm$ 0.32	7.33 $\pm$ 0.24 # *
双歧杆菌	9.11 $\pm$ 0.47	9.34 $\pm$ 0.46	9.18 $\pm$ 0.29	9.51 $\pm$ 0.20	9.23 $\pm$ 0.21	9.55 $\pm$ 0.13	9.06 $\pm$ 0.49	9.59 $\pm$ 0.50
乳杆菌	9.01 $\pm$ 0.50	8.94 $\pm$ 0.34	9.05 $\pm$ 0.41	9.06 $\pm$ 0.31	9.07 $\pm$ 0.23	9.32 $\pm$ 0.22	9.09 $\pm$ 0.22	9.44 $\pm$ 0.21

灌喂前后比较 P < 0.05

* 与空白对照组比 P < 0.05

灌喂前后比较 P < 0.01

* * 与空白对照组比 P < 0.01

灌喂前后比较 P < 0.001

* * * 与空白对照组比 P < 0.001

kg, bw) 的 IMO-50 即可有效改善小鼠小肠推进率。

2.2.3 对小鼠排便功能的影响:

在连续给予小鼠 IMO-50 14 天后, 与正常对照组比较, 模型对照组小鼠首次排便时间和首次排黑便时间均明显延长, 8h 排便重量显著减少, 提示便秘模型建立成功。与模型对照组相比较的结果表明中剂量 (5.0g/kg, bw) 的 IMO-50 即可有效改善小鼠的便秘状况。

2.3 IMO-90 对小鼠胃肠道功能的影响:

2.3.1 对小鼠肠道菌群的影响:

结果如表 4 所示。在连续给予小鼠 IMO-90 14 天后, 将各组灌服前后的菌群数量做自身对照, 同时也将灌服后各剂量组与空白对照组相比较, 结果显示 IMO-90 具有改善肠道菌群的功能, 有效剂量为 1.2g/d/kg, bw

2.3.2 低聚异麦芽糖对小鼠小肠推进率的影响:

在连续灌喂了 IMO-90 14 天后, 模型对照组与正常对照组相比, 小鼠小肠推进率降低了 35%, 表示模型建立成功。与模型对照组相比较, 低、中、高剂量组

小肠推进率分别提高了 28%~50%。提示低剂量 (2.5g/kg. bw) 的 IMO-90 为改善小鼠小肠推进率的有效剂量。

表 5 IMO-90 对小鼠小肠推进率的影响 (X ± SD)

组别	动物只数 n	小肠推进率 (%)
模型对照组	13	43.1 ± 7.6
低剂量组 (2.5g/kg. bw)	14	55.1 ± 10.0 * *
中剂量组 (3.3g/kg. bw)	14	63.4 ± 15.6 * * *
高剂量组 (6.7g/kg. bw)	13	64.7 ± 12.6 * * *
正常对照组	14	66.2 ± 12.9 * * *

* * 与模型对照组比较 P < 0.01

* * * 与模型对照组比较 P < 0.001

2.3.3 低聚异麦芽糖对小鼠排便功能的影响：

由表 6 可知，在连续给予小鼠 IMO-90 14 天后，模型对照组小鼠比正常对照组小鼠首次排便时间、首次排黑便时间明显延长，8 小时排便重量显著减少，表示便秘模型建立成功。与模型对照组相比较的结果表明中剂量 (3.3g/kg. bw) 的 IMO-90 为改善小鼠的便秘状况的有效剂量。

表 6 IMO-90 对小鼠排便时间及重量的影响 (n = 12)

组别	受试物剂量 (g/kg. bw)	首次排便时间 (min)	首次排黑便时间 (min)	8g 排便重量 (g)
模型对照组	0	280.30 ± 68.25	365.67 ± 32.76	0.4188 ± 0.1804
		237.02 ± 60.93	331.38 ± 57.18	0.5351 ± 0.2504
		184.92 ± 60.14 * *	288.59 ± 45.88 * *	0.5888 ± 0.1530 *
低剂量组	2.5	271.45 ± 41.72	325.47 ± 57.16 *	0.5969 ± 0.1130 * *
		76.08 ± 10.51 * * *	144.29 ± 13.57 * * *	1.2854 ± 0.3250 * * *
中剂量组	3.3			
高剂量组	6.7			
空白对照组	0			

* 与模型对照组比较 P < 0.05

* * 与模型对照组比较 P < 0.01

* * * 与模型对照组比较 P < 0.001

3 讨论

人体肠道菌群可被分为对人体健康有益和有害两大类。双歧杆菌和乳杆菌是有益菌，这类菌可抑制病原菌的生长繁殖，激活巨噬细胞的吞噬作用，增强机体的非特异性和特异性免疫反应，提高机体抗病能力。而肠球菌、肠杆菌等是条件有害菌，可将食物中的一些成分变为多种有害物质，如胺、吲哚、酚类，从而引起某些肠道疾病。因此，肠道菌群间形成的相互协调、制约的微生态环境与人体健康密切相关^{[3][4][5]}。

本实验结果表明，IMO-50 和 IMO-90 都具有调节小鼠肠道菌群的作用。表 1 显示，IMO-50 调节小鼠肠道菌群的有效剂量为 2.5g/kg. bw，若剂量加倍，

则效果更全面。表 4 提示 IMO-90 调节小鼠肠道菌群的有效剂量为 1.2g/kg. bw，剂量增加到 3.4g/kg. bw 时，其调节效果更佳。

IMO 是功能性低聚糖的一种，二十世纪八十年代由日本学者首先开发成产品。IMO 属难消化性低聚糖，其渗透压仅为葡萄糖的 1/4，因而在经过小肠时被吸收利用的速度比单、双糖慢得多。进入大肠后，被双歧杆菌所利用，而肠内有害菌则很难利用它们。双歧杆菌以其为养分得到大量繁殖。另外，由于 IMO 的水分温度为 0.75，比蔗糖、高麦芽糖浆、葡萄糖将等都低，而一般的细菌、霉菌在水分湿度小于 0.8 的环境中不能生长，因此，双歧杆菌得以大量增殖，使有益菌在肠道内占绝对优势。由此，IMO 可以作为双歧因子，使双歧杆菌增殖，从而其代谢产物醋酸和乳酸也必然增多，降低肠道内 pH 值，抑制有害菌的生长，大大减少了它们的有毒代谢物，如胺、吲哚等。同时低 pH 的微生态环境还可以刺激肠道的蠕动。另外，由于 IMO 的难消化性，使其具备膳食纤维的作用，也起到了促进肠道蠕动的功效^{[2][6]}。

本文的润畅通便实验结果显示，中等剂量的 IMO-50 (5.0g/kg. bw) 和 IMO-90 (3.3g/kg. bw) 均可有效缩短便秘小鼠首次排便时间和首次排黑便时间，明显增加 8h 排便重量；低剂量的 IMO-50 (3.3g/kg. bw) 和 IMO-90 (2.5g/kg. bw) 即可有效增加便秘小鼠的小肠推进率，到高剂量时，二者都可使便秘小鼠的小肠推进率恢复到正常小鼠的状态。

本实验结果提示 IMO 不仅促进了小鼠肠道微生态环境的良性调整，而且具有润畅通便功效。

参考文献

- 1 郑建仙等. 功能性低聚糖析论. 食品与发酵工业, 23(1): 39, 1997.
- 2 尤新. 功能性发酵制品. 中国轻工业出版社, 2000.
- 3 Ishibashi N. Shimamura S. et al. Bifidobacteria: research and development in Japan, Food Technology, 1993, 6: 126.
- 4 Yoshioka H. Fujita K. et al. Development of the normal intestinal flora and its clinical significance in infants and children, Bifidobacteria Microflora, 1991, 10(1): 11.
- 5 熊德鑫. 微生态制剂. 江西科学, 1990, 1(52): 161.
- 6 胡新平等. 功能糖类—异麦芽低聚糖. 食品与发酵工业, 1996, 5: 70.
- 7 何道生主编. 厌氧罐临床与实验室检查. 解放军 304 医院, 1987, 139, 184.
- 8 R. E. 不坎南等. 伯杰细菌鉴定手册 (第八版). 科学出版社, 1984, 928.