

- [13] 高彭,陈东宛,吕金昌,等. 2002—2015年北京市顺义区市售食品中食源性致病菌污染状况[J]. 卫生研究,2017,46(1):159-161.
- [14] 谢爱蓉,上官智慧,胡玉琴,等. 温州市食品中金黄色葡萄球菌污染状况及分子流行病学特征研究[J]. 中国食品卫生杂志,2018,30(3):249-252.
- [15] 刘勋,郑文,姚令辉,等. 2010—2016年郴州市食品中金黄色葡萄球菌污染状况监测结果[J]. 职业与健康,2019,35(1):45-48.
- [16] 秦磊,王建红,高静,等. 2015年河北省唐山市食品中金黄色葡萄球菌的检测情况分析[J]. 医学动物防制,2017,33(4):424-428.
- [17] 李艳芬,刘晶晶,吴玲玲,等. 2015年郑州市食品中食源性致病菌监测结果分析[J]. 河南预防医学杂志,2017,28(11):882-886.
- [18] 阎学燕,张春艳,黄淑华,等. 2011—2015年河南省开封市部分市售食品中沙门氏菌和金黄色葡萄球菌污染状况分析[J]. 医学动物防制,2017,33(4):393-395.
- [19] 周少君,梁辉,朱海明,等. 广东省熟肉制品中金黄色葡萄球菌的污染调查及初步风险评价[J]. 中国食品卫生杂志,2014,26(5):496-500.
- [20] 李光辉,郭卫芸,高雪丽,等. 2003年—2015年金黄色葡萄球菌食物中毒事件特征分析[J]. 食品研究与开发,2018,39(6):200-203.
- [21] 顾其芳,张红芝,刘玥,等. 金黄色葡萄球菌食品分离株肠毒素基因及耐药性研究[J]. 中国卫生检验杂志,2018,28(11):1321-1323.
- [22] 李孟寒,李莹,闫琳,等. 中国食源性金黄色葡萄球菌耐药及肠毒素特征[J]. 中国公共卫生,2019,35(5):574-578.
- [23] 张健,陈惠玲,邓志爱,等. 广州市食源性金黄色葡萄球菌肠毒素及耐药性分析[J]. 实用预防医学,2018,25(4):398-400.

研究报告

水溶性蜂胶缓解大鼠溃疡性结肠炎作用机制研究

周华,张敏

(安徽医学高等专科学校,安徽 合肥 230601)

摘要:目的 探究水溶性蜂胶(WSP)在缓解右旋葡聚糖硫酸钠(DSS)诱导的溃疡性结肠炎(UC)大鼠肠道炎症中的作用机制。方法 40只雄性大鼠进行分组设置:对照组(CON组)、结肠炎模型组(DSS组)、低剂量蜂胶组(L-WSP组)、中剂量蜂胶组(M-WSP组)、高剂量蜂胶组(H-WSP组),每组8只。通过记录大鼠疾病活动指数(DAI)、结肠长度、小肠黏膜通透性及结肠组织学评分(HS),评估各组大鼠肠道炎症损伤程度。酶联免疫吸附测定(ELISA)检测各组大鼠结肠组织匀浆中白细胞介素-6(IL-6)、IL-9及肿瘤坏死因子- α (TNF- α)含量。结果 与CON组比较,DSS组大鼠体重降低、有稀便和血便,结肠长度缩短,HS升高,差异均有统计学意义($P < 0.05$);与DSS组比较,M-WSP组和H-WSP组大鼠上述各项指标均明显改善,差异均有统计学意义($P < 0.01, P < 0.05$)。与CON组比较,DSS组大鼠结肠组织匀浆中促炎细胞因子IL-6、IL-9及TNF- α 水平升高,差异均有统计学意义($P < 0.05$);与DSS组比较,M-WSP组和H-WSP组大鼠上述因子下降,差异均有统计学意义($P < 0.01, P < 0.05$)。结论 WSP可通过降低促炎细胞因子IL-6、IL-9和TNF- α 的水平,改善肠道黏膜屏障功能,缓解结肠炎症。

关键词:水溶性蜂胶;溃疡性结肠炎;肠黏膜屏障;细胞因子

中图分类号:R155 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2020)06-0625-06

DOI:10.13590/j.cjfh.2020.06.007

Mechanism of water-soluble propolis in alleviating ulcerative colitis in rats

ZHOU Hua, ZHANG Min

(Department of Physiology, Anhui Medical College, Anhui Hefei 230601, China)

Abstract: Objective To investigate the mechanism of water-soluble propolis (WSP) in relieving dextran sulfate sodium (DSS)-induced intestinal inflammation in ulcerative colitis (UC) rats. **Methods** SD rats were randomly divided into 5 groups: CON, DSS, L-WSP, M-WSP, H-WSP. By measuring disease activity index (DAI) score, colon length, small intestinal mucosa permeability and histological score (HS) of rats, the degree of intestinal inflammation injury in each

收稿日期:2020-09-25

基金项目:安徽医学高等专科学校科研创新团队(WJH202009t);2018年安徽省自然课题重点项目(KJ2018A0801);2019年医学机能实验学MOOC示范项目(2019ahyzmooc001);2020年安徽省高校自然科学研究重点项目(KJ2020A0860)

作者简介:周华 女 讲师 研究方向为消化生理 E-mail:huazhou727@qq.com

group was evaluated. ELISA was used to detect the level of IL-6, IL-9 and TNF- α in colon homogenate of rats. **Results** Compared with CON group, DSS group experienced severe weight loss, loose stools, and bloody stools, shortened colon length, and increased HS ($P < 0.05$). While compared with DSS group, M-WSP group and H-WSP group were significantly improved ($P < 0.01$, $P < 0.05$). Compared with CON group, the content of proinflammatory cytokines IL-6, IL-9 and TNF- α in colon tissue homogenate in DSS group increased significantly ($P < 0.05$), while decreased significantly in M-WSP group and H-WSP group compared with CON group ($P < 0.01$, $P < 0.05$). **Conclusion** WSP can improve the intestinal mucosal barrier function and reduce intestinal inflammation by reducing the levels of proinflammatory cytokines IL-6, IL-9 and TNF- α .

Key words: Water-soluble propolis; ulcerative colitis; intestinal mucosal barrier; cytokine

炎性肠病 (inflammatory bowel disease, IBD) 是一种以肠黏膜及固有层反复发炎为特征的慢性非特异性炎症性疾病, 伴随腹痛、腹泻、体重减轻等症状, 由不受控制的炎症性免疫反应所致, 包括克罗恩病 (Crohn's disease, CD) 和溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 两种亚型。研究^[1]表明, 超过 220 万欧洲人受到 IBD 的影响, 富含 n-6 多不饱和脂肪酸 (n-6 poly-unsaturated fatty acids, PUFAs) 的西方饮食是发展 IBD 最普遍的环境危险因素; 非洲, 亚洲和南美等新兴工业化国家中 IBD 发病率也在逐步增加。IBD 患者病程较长, 易反复发作, 需要终身服药, 缺乏治愈方法, 罹患结直肠癌和小肠癌的风险增加, 对患者的健康和生活质量产生重大影响。

肠黏膜屏障功能障碍是 IBD 发病机理中的显著缺陷^[2]。肠黏膜屏障功能受损可能触发持续的免疫反应并加剧肠炎。正常情况下, 肠黏膜屏障仅允许少量抗原和细菌通过, 若屏障功能的稳态遭到破坏, 则会导致抗原和细菌通过性增强; 继而, 进一步损害肠黏膜, 导致活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 的产生增加, 继而导致诸如 IBD 的病理状况。因此, 肠黏膜屏障功能受损已成为 IBD 的标识, 通过增强肠黏膜屏障功能来限制抗原/细菌进入黏膜下层, 具有预防和治疗 IBD 的功效。

我国是盛产蜂胶的大国, 蜂胶主要成分有酚类物质和黄酮类化合物, 具有较强的抗氧化、抗肿瘤、抗病毒、保肝等生物活性, 已被广泛用于食品、药品和化妆品等领域。其中所含的多酚是植物的次级代谢产物, 具有强大的抗炎作用, 在维持肠黏膜屏障结构和功能完整, 促进肠道健康等方面具有重要的作用和潜力^[3-4]。目前, 关于我国蜂胶是否可通过改善肠黏膜屏障功能, 减轻肠道炎症, 从而缓解和治疗 IBD 的研究鲜有报道。本研究利用右旋葡聚糖硫酸钠 (dextran sulfate sodium, DSS) 诱导 UC 大鼠的肠道炎症反应模型, 评价我国水溶性蜂胶 (water soluble propolis, WSP) 缓解 IBD 的作用并对其机制进行初步探讨, 从而为后续进一步利用 WSP 开展 UC 的治疗提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

雄性 SD 大鼠, 40 只, 体质量约 170~210 g [合肥蜀山实验动物中心, 实验动物合格证号: SCXK (鲁) 20140007, 使用许可证号: SYXK (皖) 2017-006], 试验前适应性喂养 7 d, 笼养于可控照明 (12 h 明/暗周期) 环境中, 给予自由饮水和饮食, 实验室通风正常, 室温控制在 20 °C, 相对湿度 70%。

1.1.2 主要仪器与试剂

K-1 型快速混匀器, -80 °C 超低温冰箱, 电热恒温水浴箱, DYY-10C 电泳仪, 倒置显微镜, UV-3200PCS 可见紫外分光光度计。

水溶性蜂胶 (批号: 20121103-A, 广州市杰禾蜂业有限公司), Evans Blue (EB, 美国 Sigma), DSS (美国 Sigma), 隐血检测试剂盒、白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6)、IL-9、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 试剂盒均购自合肥志宏泰克生物技术有限公司。5% DSS 溶液: 称取 5 g DSS, 溶解并定容至 100 mL 蒸馏水中, 制备成 5% DSS 溶液。

1.2 方法

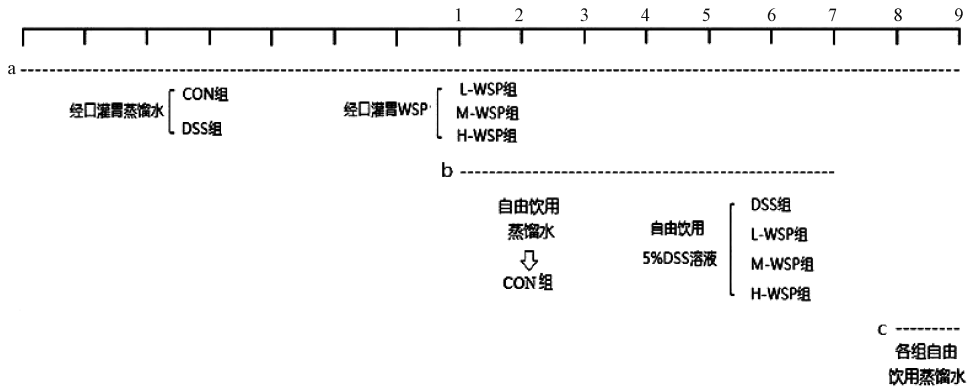
1.2.1 试验分组

实验大鼠经适应性喂养 7 d 后, 随机均分为 5 组 ($n = 8$), 分别为对照组 (control group, CON 组)、结肠炎模型组 (dextran sulfate sodium group, DSS 组)、低剂量蜂胶组 (low-WSP group, L-WSP 组)、中剂量蜂胶组 (mediate-WSP group, M-WSP 组)、高剂量蜂胶组 (high-WSP group, H-WSP 组)。

1.2.2 受试物给予

称取 WSP 1 g, 溶解并定容至 100 mL 蒸馏水中, 制成高剂量组受试物溶液, 中、低剂量组按等比例稀释配制; 受试物灌胃剂量 0.2 mL/10 g, 即 L-WSP、M-WSP 和 H-WSP 组剂量分别 50、100 和 200 mg/kg BW^[5]; 在整个药物给予过程中, CON 组和 DSS 组经口灌胃等量蒸馏水。上述步骤 7 d 后, CON 组自由饮用蒸馏水 7 d; DSS 组、L-WSP 组、M-WSP 组和 H-WSP 组自由饮用 5% DSS 溶液 7 d。

最后,停止自由饮用 DSS 溶液,各组均正常自由饮用蒸馏水饲养 2 d,见图 1。



注:a:整个药物给予周期;b:DSS 诱导 UC 期间;c:停用 DSS 期间

图 1 受试物给予示意图

Figure 1 Schematic diagram of test substance administration

1.2.3 一般指标

如图 1 所示,从给予 DSS 第 1 天开始,每天同一时间点观察各组大鼠体质量、便血情况、粪便性状并详细记录数据。将第 1 天体质量标记为试验前起始体质量。

1.2.4 大鼠体质量变化百分数

各组大鼠体质量变化百分数用公式进行计算:体质量变化(%)=[(试验后某天体质量-试验前起始体质量)/试验前起始体质量+1]×100%

1.2.5 便血情况

使用隐血检测试剂盒检测大鼠便血情况。将大鼠粪便收集至 0.5 mL EP 管中,滴入试剂盒中 A、B 混合液,观察结果:当加入显色剂 B 后,立即产生紫蓝色,报告为(+++);当加入显色剂 B 后,10 s 内产生紫蓝色,报告为(+++);当加入显色剂 B 后,1 min 内产生紫红色,报告为(++);当加入显色剂 B 后,1~2 min 逐渐产生紫红色,报告为(+);当加入显色剂 B 后,在判读时间内未出现任何颜色反应,报告为(-)。

1.2.6 疾病活动指数(disease activity index, DAI)评分

从第 2 天开始基于体质量变化、粪便性状及便血情况,根据评分标准评估 DAI,DAI=(体质量下降分数+粪便性状分数+大便隐血情况分数)/3,评分标准见表 1。

表 1 DAI 评分标准

分数	体质量下降/%	粪便性状	便血
0	无	正常	无肉眼血便
1	1~5	正常	+
2	≥5~10	稀便	++
3	≥10~15	松散	+++
4	≥15	水样便	++++

1.2.7 小肠黏膜通透性

整个药物给予周期结束后,即第 10 天将各组大鼠处死,制备小肠肠囊,向其内注入 EB 溶液 0.2 mL;并置于 37 ℃ 的 Krebs 液中水浴 30 min;生理盐水冲洗肠腔后干燥 24 h,称肠组织干重;加入 1 mL 甲酰胺溶液孵育 24 h;最后,4 ℃ 3 500 r/min 离心 10 min(离心半径 15 cm),取上清液,使用紫外分光光度计检测,波长为 655 nm,根据标准曲线计算肠组织中 EB 含量。

1.2.8 结肠组织学评分(histological score, HS)

将 5 组大鼠肛门 2 cm 以上的结肠全部取下,将肠管纵行剖开,取部分结肠组织用 4% 多聚甲醛固定,石蜡包埋后进行常规病理切片、HE 染色。结肠组织学损伤评分标准^[6]见表 2。

表 2 结肠组织学损伤评分标准

计分	组织学改变
0	正常的组织学形态
1	组织学损伤局限于内皮细胞,轻度的炎症细胞浸润
2	局灶性溃疡,组织结构破坏仅限于黏膜层,异常的肠壁腺体结构,轻度的炎症细胞浸润
3	局灶性、透壁性的溃疡和炎症,轻至中度的炎症细胞浸润
4	较大的透壁性的溃疡和炎症,中度的炎症细胞浸润
5	大的溃疡和炎症,病变从黏膜浸及至浆膜,重度的炎症细胞浸润

1.2.9 结肠组织匀浆中 IL-6、IL-9 和 TNF-α 检测

取部分结肠组织与生理盐水按 1:9 比例混合,使用组织研磨器研磨,4 ℃ 3 000 r/min 离心 10 min(离心半径 15 cm),取上清液,按照试剂盒说明书检测各组结肠组织匀浆中 IL-6、IL-9 和 TNF-α 的水平。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 22 软件进行统计学分析,所有数据均以均值±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间数据比较采用单因素 ANOVA 方法检验,多组间两两比较,方差

齐,采用 LSD/SNK 法,方差不齐,采用 Tamhane's T2 法检验; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 WSP 对 DSS 诱导 UC 大鼠体质量和 DAI 评分的影响

未给予 DSS 前,每组大鼠体质量均稳定增长。

给予 DSS 后,CON 组大鼠仍显示出体质量的稳定增长;与 CON 组比较,DSS 组自第 2 天开始体质量变化百分数发生明显下降,差异有统计学意义 ($P < 0.01$);与 DSS 组比较,H-WSP 组自第 2 天开始体质量变化百分数升高 ($P < 0.05$),M-WSP 组自第 5 天开始明显升高 ($P < 0.01$),L-WSP 组自第 6 天开始明显升高 ($P < 0.01$),差异均有统计学意义,见表 3。

表 3 各组大鼠体质量和 DAI 评分变化结果 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 3 Changes in body mass and DAI score of rats in each group

分组	体质量变化/%							
	第 2 天	第 3 天	第 4 天	第 5 天	第 6 天	第 7 天	第 8 天	第 9 天
CON 组	100.39±0.04	102.30±0.29	104.06±0.23	105.03±0.43	107.65±0.36	109.11±0.11	110.56±0.19	112.47±0.23
DSS 组	98.26±0.09**	95.49±0.21**	95.49±0.22**	93.66±0.37**	89.49±0.35**	86.37±0.31**	81.59±0.16**	80.30±0.20**
L-WSP 组	98.26±0.08	95.51±0.26	95.51±0.26	93.81±0.28	91.37±0.18##	91.61±0.19##	92.20±0.08##	93.55±0.19##
M-WSP 组	98.27±0.05	95.64±0.15	95.68±0.17	95.67±0.25##	95.82±0.30##	96.48±0.24##	98.26±0.25##	101.39±0.32##
H-WSP 组	98.34±0.07#	95.75±0.24#	95.81±0.21##	97.35±0.40##	100.24±0.26##	102.58±0.28##	105.41±0.26##	107.67±0.15##
分组	DAI 评分							
	第 2 天	第 3 天	第 4 天	第 5 天	第 6 天	第 7 天	第 8 天	第 9 天
CON 组	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
DSS 组	0.58±0.24**	1.58±0.15**	1.88±0.31**	2.38±0.12**	2.71±0.12**	3.33±0.18**	3.92±0.24**	3.88±0.35**
L-WSP 组	0.46±0.17	1.50±0.25	1.50±0.18##	2.13±0.17##	2.42±0.15##	2.42±0.15##	2.42±0.24##	2.38±0.12##
M-WSP 组	0.38±0.12#	1.29±0.28##	1.29±0.28##	1.42±0.15##	1.63±0.12##	1.42±0.15##	1.17±0.25##	1.08±0.15##
H-WSP 组	0.42±0.15#	0.58±0.24##	0.75±0.15##	1.38±0.12##	1.08±0.15##	0.96±0.12##	0.75±0.15##	0.75±0.24##

注: **表示与 CON 组比较 $P < 0.01$; #表示与 DSS 组比较 $P < 0.05$; ##表示与 DSS 组比较 $P < 0.01$

与 CON 组比较,DSS 组 DAI 评分自第 2 天开始出现明显升高,差异有统计学意义 ($P < 0.01$);与 DSS 组比较,M-WSP 组 ($P < 0.01$) 和 H-WSP 组 ($P < 0.05$) DAI 评分自第 2 天开始有明显差异,L-WSP 组 ($P < 0.01$) 自第 4 天开始有明显差异(见表 3)。

2.2 WSP 对 DSS 诱导 UC 大鼠结肠长度和 HS 的影响

与 CON 组比较,DSS 组结肠长度缩短、HS 升高,差异均有统计学意义 ($P < 0.01$);与 DSS 组比较,M-WSP 组和 H-WSP 组结肠长度增长、HS 降低,差异均有统计学意义 ($P < 0.01$),L-WSP 组结肠长度和 HS 无明显变化,差异无统计学意义 ($P > 0.05$),见表 4。

表 4 各组大鼠结肠长度、HS 及小肠黏膜通透性变化结果 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 4 Changes in colon length, HS and the intestinal mucosal permeability of rats in each group

分组	结肠长度/cm	HS	小肠黏膜通透性 / ($\mu\text{g/g}$)
CON 组	21.89±0.44	0.25±0.46	494.27±7.34
DSS 组	17.71±0.44**	4.50±0.53**	986.14±6.47**
L-WSP 组	17.90±0.38	4.13±0.35	980.08±4.37
M-WSP 组	18.49±0.29##	3.50±0.53##	971.43±6.07##
H-WSP 组	20.89±0.52##	2.63±0.52##	920.95±6.78##

注: **表示与 CON 组比较 $P < 0.01$; ##表示与 DSS 组比较 $P < 0.01$

2.3 WSP 对 DSS 诱导 UC 大鼠小肠黏膜通透性的影响

与 CON 组比较,DSS 组小肠黏膜通透性升高,差异有统计学意义 ($P < 0.01$);与 DSS 组比较,M-WSP 组和 H-WSP 组小肠黏膜通透性降低,差异均有统计学意义 ($P < 0.01$),L-WSP 组小肠黏膜通透性无明显变化,差异无统计学意义 ($P > 0.05$),见表 4。

2.4 WSP 对 DSS 诱导 UC 大鼠结肠组织匀浆中 IL-9、IL-6、TNF- α 含量的影响

与 CON 组比较,DSS 组 IL-9、IL-6、TNF- α 水平均升高,差异均有统计学意义 ($P < 0.01$);与 DSS 组比较,M-WSP 组和 H-WSP 组的 IL-9、IL-6、TNF- α 水平均下降,差异均有统计学意义 ($P < 0.05, P < 0.01$),见表 5。

表 5 各组大鼠结肠组织匀浆中 IL-6、IL-9、TNF- α 结果 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 5 Contents of IL-6, IL-9 and TNF- α in the colon tissue homogenate of rats in each group

分组	IL-6/(pg/mg)	IL-9/(ng/mg)	TNF- α / (ng/mg)
CON 组	3 874.00±52.11	36.68±2.53	44.72±1.65
DSS 组	4 135.70±45.54**	235.10±11.25**	76.98±2.08**
L-WSP 组	4 096.54±22.74	225.85±15.08	75.68±2.80
M-WSP 组	4 084.04±35.69#	219.21±12.40##	72.61±1.76##
H-WSP 组	3 910.44±37.03##	172.16±10.42##	54.48±2.01##

注: **表示与 CON 组比较 $P < 0.01$; #表示与 DSS 组比较 $P < 0.05$; ##表示与 DSS 组比较 $P < 0.01$

3 讨论

3.1 WSP 对 DSS 诱导 UC 大鼠肠道炎症的缓解

许多植物来源的化学物质,包括多酚化合物,具有抗炎、抗氧化的活性。饮食中富含多酚的食物,例如绿茶、咖啡、浆果、葡萄和其他水果/蔬菜,对维持完整的肠黏膜屏障和增加紧密连接(tight junction, TJ)相关蛋白的表达具有一定作用^[7]。UC 患者每天接受标准的富含花青素的越橘制剂进行6周的治疗,其缓解率可达63%^[8];还发现富含多酚的蔓越莓提取物,有助于预防饮食引起的肥胖、胰岛素抵抗和肠道炎症等疾病^[9]。蜂胶是蜜蜂从植物芽和分泌物中收集的复杂树脂混合物,富含蜜蜂的唾液和含酶的分泌物,用于蜂巢的构建、适应和保护。已鉴定出蜂胶含有丰富的多酚成分,具有较好的药理学活性,已广泛用于食品、药品和保健品行业。

DSS 诱导的啮齿类动物 UC 模型,目前被认为是类似于人类 UC 的最佳模型,具有 UC 的典型特征:腹泻、便血、体质量减轻、结肠组织病理学改变等;是研究 UC 细胞和分子机制的一种工具,越来越多被用于抗炎药物的开发^[10]。先前研究^[11]的结果表明,结肠的长度与实验性结肠炎的严重程度呈负相关;结肠炎症涉及结肠黏膜的破坏和溃疡,导致诸如炎症单核细胞和巨噬细胞等炎症细胞的浸润以及固有层的增厚等。本研究中,与 CON 组比较,DSS 组大鼠均出现一定程度的体质量减轻,稀便和血便;肉眼观察结肠长度明显缩短;HS 升高;肠黏膜通透性升高,DSS 诱导的大鼠 UC 模型建立。给予中、高浓度 WSP 灌胃的模型大鼠,与 DSS 组比较,体质量、结肠长度增加,DAI 评分、HS 均降低,差异均有统计学意义。表明肠内营养中加入中、高浓度 WSP,可以降低肠黏膜通透性,缓解 UC 大鼠结肠组织损伤的程度。

3.2 WSP 对 DSS 诱导的 UC 大鼠肠黏膜屏障保护的作用机制

肠黏膜是抵御外界环境机械和化学性刺激的重要屏障。肠黏膜屏障周围的微环境包括分泌细胞因子的细胞,如上皮内淋巴细胞、树突状细胞和嗜酸性粒细胞等,其紧邻肠上皮组织基底外侧膜,在 IBD 期间,因上皮屏障破坏导致细菌/抗原侵入黏膜层,引起这些细胞的数量和组成发生变化,并产生直接影响肠道上皮屏障的细胞因子级联反应,激活并产生大量促炎性细胞因子,进一步促使肠黏膜屏障功能减弱,导致屏障渗漏^[12]。IBD 的严重程度与促炎性细胞因子的产生密切相关^[13]。因此,促炎性细胞因子是 IBD 治疗中的重要靶标,通过限制这些细胞因子的作用,使肠黏膜屏障功能逐渐恢

复,从而缓解肠壁炎症。

本研究结果证实,TNF- α 是促进 UC 发病的促炎性细胞因子之一。TNF- α 是一种由单核细胞产生的多功能细胞因子,在炎症的发展中起重要作用。TNF- α 通过增加 TNF 相关凋亡诱导配体(TNF-related apoptosis-inducing ligand)的表达而在细胞凋亡阶段发挥重要作用。POUILLON 等^[14]研究发现 TNF- α 会引起内皮通透性增加,然后通过刺激细胞内黏附分子的合成导致嗜中性白细胞募集到肠道。在临床中也发现 TNF- α 表达的增加可能导致 UC 患者的黏膜屏障功能缺陷,从而加剧炎症。故严格调节 TNF- α 含量对维持肠道黏膜屏障完整性具有重要作用,抗 TNF- α 构成 UC 主要治疗方向。CHAUDHARY 等^[15]研究发现,八味喜乐散(中药复方)可通过抑制 DSS 诱导 UC 小鼠的 TNF- α 表达并改善其黏膜屏障功能。在临床中,诸如英夫利昔单抗、阿达木单抗等作为 TNF- α 阻滞剂已成功用于 IBD 患者的治疗。本研究结果显示,DSS 诱导的 UC 大鼠结肠组织匀浆中 TNF- α 含量较对照组明显增高,而灌胃中、高浓度的 WSP 的 UC 大鼠,TNF- α 含量较 DSS 组明显降低。一定剂量的 WSP 摄入可有效降低结肠组织中 TNF- α 含量,保护肠黏膜屏障功能,缓解肠道炎症。

早期研究^[16]表明,实验性结肠炎和 UC 患者肠道黏膜固有层的巨噬细胞和 CD4⁺ T 细胞产生的促炎性细胞因子 IL-6 增加。IL-6 是典型的促炎细胞因子,它主要由巨噬细胞产生,并在炎症反应的急性期分泌。IL-6 通过与 IL-6 可溶性受体(IL-6 soluble receptor, sIL-6R)结合在信号转导过程中发挥重要作用。IL-6/sIL-6R 的复合物刺激细胞在表面表达 gp130 蛋白,IL-6 通过 gp130 发送信号,gp130 的激活导致信号转导子和转录激活子 3(STAT3)的激活。STAT3 本身会诱导抗凋亡因子 B 淋巴细胞瘤-2(Bcl-2)和 Bcl-xL,从而导致 T 细胞对细胞凋亡具有抵抗性。T 细胞通过积累对细胞凋亡的抵抗作用,最终导致慢性炎症发生^[17],故 IL-6 是 UC 的潜在治疗靶点。WANG 等^[18]发现红景天苷可通过减弱核因子 κ B(NF- κ B)、丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)和 JAK/STAT3 信号通路来抑制促炎性细胞因子 IL-6 的分泌,从而对 IBD 发挥抗炎作用。本研究通过对各组大鼠结肠组织匀浆中 IL-6 含量的检测,发现 DSS 组大鼠较 CON 组明显升高,而灌胃中、高浓度的 WSP 可降低发炎结肠组织中 IL-6 含量。推测肠内营养中加入中、高浓度的 WSP 通过抑制促炎性细胞因子 IL-6 的分泌,发挥抗炎作用。

研究^[19]已提出一种新鉴定的促炎性细胞因子

IL-9,在多种免疫介导的炎性疾病(包括哮喘和IBD)中起着重要的调节作用。IL-9是由T辅助细胞(T helper,Th)的新亚型-Th9细胞产生,IL-9及其受体促进UC的发展;在UC患者发炎的黏膜活检中观察到IL-9过高表达,IL-9通过改变肠黏膜屏障功能影响肠黏膜伤口愈合;抑制IL-9信号途径可减轻DSS诱导的结肠炎小鼠的肠道炎症^[20];LI等^[21]发现在实验性UC模型的肠道炎症发展过程中,IL-9通过调节紧密连接蛋白Claudin-8调节肠黏膜的屏障功能。这些研究表明,IL-9可能是IBD发作的另一个关键性调节因子,其通过作用于肠上皮细胞,削弱肠黏膜屏障功能。本研究发现DSS组大鼠结肠组织IL-9含量高于CON组,灌胃中、高浓度的WSP可降低结肠组织中IL-9含量。这与MATUSIEWICZ等^[22]发现在UC的动物模型中,中和IL-9可改善炎症过程的结果一致,这可能对于治疗该疾病具有重要意义。

综上所述,WSP含有丰富的多酚成分,具有良好的药理学活性,可通过降低促炎细胞因子IL-6、IL-9和TNF- α 的水平,改善肠黏膜屏障功能,增加肠道屏障结构和功能的完整性,在UC治疗和预防中具有一定的潜力。

参考文献

- [1] CHIBA M, NAKANE K, KOMATSU M. Westernized diet is the most ubiquitous environmental factor in inflammatory bowel disease[J]. The Permanente Journal, 2019, 23: 18-107.
- [2] BAMIAS G, PIZARRO T T, COMINELLI F. Pathway-based approaches to the treatment of inflammatory bowel disease [J]. Translational Research, 2016, 167(1): 104-115.
- [3] ZHOU H, WANG H H, SHI N, et al. Potential protective effects of the water-soluble Chinese propolis on hypertension induced by high-salt intake[J]. Clin Transl Sci, 2020, 13(5): 907-915.
- [4] BARBOSA B G, DE MENEZES DE SOUZA L, DOS SANTOS A S, et al. Hydroalcoholic extract of Brazilian red propolis exerts protective effects on acetic acid-induced ulcerative colitis in a rodent model [J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2017, 85(11): 687-696.
- [5] ZHOU H, WANG H H, SHI N, et al. Potential protective effects of the water-soluble Chinese propolis on hypertension induced by high-salt intake[J]. Clinical and Translational Science, 2020, 13(5): 907-915.
- [6] 郝蕾,李媛媛,乔菲,等. 青柏溃结汤对葡聚糖硫酸钠诱导的大鼠溃疡性结肠炎的治疗作用[J]. 南昌大学学报(医学版), 2019, 59(3): 11-15.
- [7] CHEN Z G, CHEN H Y, LI X, et al. Fumonisin B₁ damages the barrier functions of porcine intestinal epithelial cells in vitro[J]. Journal of Biochemical and Molecular Toxicology, 2019, 33(11): e22397.
- [8] ROTH S, SPALINGER M R, GOTTIER C, et al. Bilberry-derived anthocyanins modulate cytokine expression in the intestine of patients with ulcerative colitis[J]. PLoS One, 2016, 11(5): e0154817.
- [9] SANTANA D G, OLIVEIRA A S, DE SANTANA SOUZA M T, et al. Vaccinium macrocarpon Aiton extract ameliorates inflammation and hyperalgesia through oxidative stress inhibition in experimental acute pancreatitis [J]. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2018, 2018: 1-13.
- [10] WU X X, GUO Y L, MIN X J, et al. Neferine, a bisbenzylisoquinoline alkaloid, ameliorates dextran sulfate sodium-induced ulcerative colitis [J]. The American Journal of Chinese Medicine, 2018, 46(6): 1263-1279.
- [11] SHIN M R, KIM K J, KIM S H, et al. Comparative evaluation between sulfasalazine alone and in combination with herbal medicine on DSS-induced ulcerative colitis mice [J]. Biomed Res Int, 2017, 2017: 6742652.
- [12] THOMAS S, HOXHA K, ALEXANDER W, et al. Intestinal barrier tightening by a cell-penetrating antibody to Bin1, a candidate target for immunotherapy of ulcerative colitis [J]. Journal of Cellular Biochemistry, 2019, 120(3): 4225-4237.
- [13] TAGHIPOUR N, MOSAFFA N, AGHDAAEI H A, et al. Immunomodulatory effect of *Syphacia obvelata* in treatment of experimental DSS-induced colitis in mouse model [J]. Scientific Reports, 2019, 9(1): 19127.
- [14] POUILLON L, BOSSUYT P, PEYRIN-BIROULET L. Considerations, challenges and future of anti-TNF therapy in treating inflammatory bowel disease [J]. Expert Opinion On Biological Therapy, 2016, 16(10): 1277-1290.
- [15] CHAUDHARY G, MAHAJAN U B, GOYAL S N, et al. Protective effect of *Lagerstroemia speciosa* against dextran sulfate sodium induced ulcerative colitis in C57BL/6 mice [J]. American Journal of Translational Research, 2017, 9(4): 1792-1800.
- [16] XIAO Y T, YAN W H, CAO Y, et al. Neutralization of IL-6 and TNF- α ameliorates intestinal permeability in DSS-induced colitis [J]. Cytokine, 2016, 83(4): 189-192.
- [17] KASEMBELI M, BHARADWAJ U, ROBINSON P, et al. Contribution of STAT3 to inflammatory and fibrotic diseases and prospects for its targeting for treatment [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2018, 19(8): 2299.
- [18] WANG J W, PAN Y B, CAO Y Q, et al. Salidroside regulates the expressions of IL-6 and defensins in LPS-activated intestinal epithelial cells through NF- κ B/MAPK and STAT3 pathways [J]. Iranian Journal of Basic Medical Sciences, 2019, 22(1): 31-37.
- [19] WANG D, LI H, DUAN Y Y, et al. TL1A modulates the severity of colitis by promoting Th9 differentiation and IL-9 secretion [J]. Life Sciences, 2019, 231(6): 116536.
- [20] TIAN L L, LI Y, ZHANG J, et al. IL-9 promotes the pathogenesis of ulcerative colitis through STAT3/SOCS3 signaling [J]. Bioscience Reports, 2018, 38(6): BSR20181521.
- [21] LI L, HUANG S S, WANG H L, et al. Cytokine IL9 triggers the pathogenesis of inflammatory bowel disease through the miR21-CLDN8 pathway [J]. Inflamm Bowel Dis, 2018, 24(10): 2211-2223.
- [22] MATUSIEWICZ K, IWA ŃCZAK B, MATUSIEWICZ M. Th9 lymphocytes and functions of interleukin 9 with the focus on IBD pathology [J]. Advances in Medical Sciences, 2018, 63(2): 278-284.