

# 鱼腥草多酚对葡聚糖硫酸钠 (DSS) 诱导小鼠 溃疡性结肠炎的改善作用

董晶<sup>1</sup>, 王帅珂<sup>2</sup>, 吴苹<sup>1</sup>, 王硕<sup>1</sup>, 刘晋倩<sup>1</sup>, 冀芦沙<sup>1</sup>, 陈芳<sup>1\*</sup>

(1. 聊城大学药学院, 山东聊城 252000) (2. 聊城市人民医院, 转化医学研究联合实验室, 山东聊城 252000)

**摘要:** 该研究探讨了鱼腥草多酚对溃疡性结肠炎小鼠的改善效果。50 只 KM 雄性小鼠随机分为空白组、模型组、鱼腥草多酚低、中、高剂量组。使用浓度为 3.5% 的葡聚糖硫酸钠 (dextran sulphate sodium, DSS) 溶液连续灌胃 9 d 制备小鼠肠炎模型。造模后第 3 d 灌胃给药, 每天 1 次, 连续 10 d。观察小鼠体重变化、结肠组织形态学改变和疾病活动指数 (disease active index, DAI); 采用酶联法 (ELISA) 测定血清中炎症因子: 肿瘤坏死因子 (TNF- $\alpha$ ), 白细胞介素 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), 白细胞介素 (IL-6),  $\gamma$  干扰素 (IFN- $\gamma$ ); 试剂盒检测小鼠血清中肝肾生化指标: 血清丙氨酸转氨酶 (ALT)、天冬氨酸转氨酶 (AST)、血尿素氮 (BUN)、血肌酐 (Cr)。分析发现, 与模型组相比, 鱼腥草多酚干预组小鼠的便血减轻, 结肠平均增加至 8.35 cm (低剂量组)、9.53 cm (中剂量组)、10.87 cm (高剂量组)。DAI 指数分别降低了 29.83%、46.45%、54.82%。血清中 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6、IFN- $\gamma$  表达水平显著降低 ( $p < 0.01$ )。同时, 鱼腥草多酚各剂量组降低了 ALT、AST、Cr、BUN 水平 ( $p < 0.05$ )。鱼腥草多酚可以有效改善 DSS 诱导 KM 雄性小鼠溃疡性结肠炎, 降低血清促炎因子水平, 其机制可能与抑制 NF- $\kappa$ B 相关。

**关键词:** 鱼腥草活性物; 溃疡性结肠炎; 葡聚糖硫酸钠; 炎症因子

文章编号: 1673-9078(2021)12-7-13

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2021.12.0336

## Protective Effect of Polyphenol of *Houttuynia cordata* on Ulcerative Colitis Induced by Sodium Dextran Sulfate (DSS) in Mice

DONG Jing<sup>1</sup>, WANG Shuaike<sup>2</sup>, WU Ping<sup>1</sup>, WANG Shuo<sup>1</sup>, LIU Jinqian<sup>1</sup>, JI Lusha<sup>1</sup>, CHEN Fang<sup>1\*</sup>

(1. College of Pharmacy, Liaocheng University, Liaocheng 252000, China)

(2. Joint Laboratory for Translational Medicine Research, Liaocheng People's Hospital, Liaocheng 252000, China)

**Abstract:** In the current study, the ameliorating effect of total polyphenol from *Houttuynia cordata* on mice with ulcerative colitis was studied. 50 male KM mice were randomly divided into control group, model group, low-, medium- and high-dose groups of polyphenol in *Houttuynia cordata*. The model group was induced by administering 3.5% dextran sodium sulphate (DSS) for 9 days. On third day, the polyphenol groups were infused to stomach after DSS administration for another 10 days. The changes of mice body weight, colonic histomorphology and the disease activity index (DAI) of each group were observed. The levels of TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IFN- $\gamma$  in serum were detected by ELISA. The expressions of aspartate aminotransferase (AST), aspartate transaminase (ALT), creatinine (Cr) and blood urea nitrogen (BUN) in serum were measured. Compared with the DSS group, polyphenol groups significantly reduced symptoms with bloody stool. Disease activity index (DAI) decreased to 29.83%, 46.45% and 54.82%, respectively. The mice colon increased to 8.35 cm (in low dose group), 9.53 cm (in medium dose group), and 10.87 cm (in high dose group) on average. Also, treatment with polyphenol considerably the ALT and AST level and the expression of tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), interleukin-6 (IL-6) were decreased. These results demonstrate

引文格式:

董晶,王帅珂,吴苹,等.鱼腥草多酚对葡聚糖硫酸钠(DSS)诱导小鼠溃疡性结肠炎的改善作用[J].现代食品科技,2021,37(12):7-13,+229

DONG Jing, WANG Shuaike, WU Ping, et al. Protective effect of polyphenol of *Houttuynia Cordata* on ulcerative colitis induced by sodium dextran sulfate (DSS) in mice [J]. Modern Food Science and Technology, 2021, 37(12): 7-13, +229

收稿日期: 2021-03-28

项目基金: 山东省自然科学基金项目 (ZR2020MC126); 山东省抗体制药协同创新中心开放课题 (CIC-AD1816); 山东省教育厅研究生教学改革重点项目 (SDYJG19056)

作者简介: 董晶 (1992-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 生物制药, E-mail: 1181604447@qq.com

通讯作者: 陈芳 (1980-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 生物制药, E-mail: chenfang20045@163.com

that polyphenol in *Houttuynia cordata* has an ameliorative effect on colonic damage, and decrease the level of serum proinflammatory factor. The mechanism may be related to inhibiting the activation of NF- $\kappa$ B.

**Key words:** *Houttuynia cordata* active ingredients; ulcerative colitis; dextran sodium sulphate (DSS); inflammatory factor

溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC), 其发病特征以结肠粘膜下层溃疡以及炎症为主, 是一种常见的炎症性肠炎。近几年, UC 的发病率在发展中国家逐年上涨<sup>[1]</sup>。UC 发病机制及病因与多种因素有关: 病理学因素、遗传因素、药物因素以及生活方式的改变, 如饮食习惯、吸烟、压力和缺乏锻炼等。研究发现 UC 黏膜炎症以嗜酸性粒细胞和中性粒细胞浸润为主要特征。报告显示, UC 可能与肝肠病变相互关联<sup>[2-3]</sup>。“肠-肝轴”的概念由 Marshal 等人<sup>[4]</sup>于 1998 年提出, 肝脏和肠道通过门静脉和胆管相互关联<sup>[5]</sup>。当长期接触酒精或饮用大量葡聚糖硫酸钠 (DSS) 溶液可导致肠道屏障受损, 肠源性内毒素经过受损的肠粘膜移位至肝脏与内毒素蛋白、分化簇 14 结合, 激活 NF- $\kappa$ B 炎症信号通路, 产生肿瘤坏死因子 (TNF- $\alpha$ ) 和趋化因子等多种炎症因子, 最终造成肝损伤。肝脏损伤程度与肠道损伤程度呈正相关, 这可能成为 UC 发病机制过程中的重要环节<sup>[6-8]</sup>。

DSS 是一种化学药物诱导模型, 其具体的诱导机制仍不明确, 但通常认为与肿瘤坏死因子、IL-6、干扰素等相关, 是目前肠炎造模最常用的方式。研究发现, 肠道促炎细胞因子包括肿瘤坏死因子 TNF- $\alpha$ 、白细胞介素 (IL-1 $\beta$ ) 和抗炎因子 IL-10 等与 UC 的发生密切相关。肠道细胞炎症因子的长期浸润使结肠部位病变。因此, 治疗 UC 的关键是调节肠道炎症因子、抑制肠道炎症反应<sup>[9]</sup>。

溃疡性结肠炎可致患者生活痛苦不堪, 严重可引起肝肾器官损伤等并发症。近年来, 我国西药治疗 UC 取得了一定的疗效, 但仍存在较多的不良反应。中医治疗具有一定的优势, 在我国中医理论中 UC 的临床表现归属“泄泻、久痢、肠风、脏毒”的范畴。鱼腥草 (*Houttuynia cordata*, HC) 富含多种营养物质, 药用食用价值较高, 味辛, 性微寒, 具有清热解毒、抗病毒等作用<sup>[10]</sup>。HC 种植成本低廉、几乎无毒副作用、药用价值高且广泛。多酚是一类植物次生代谢产物, 广泛分布于自然界中, 具有抗氧化<sup>[11]</sup>、抗菌消炎<sup>[12]</sup>、护肝和提高免疫力等功效<sup>[13]</sup>。诸多研究显示, 鱼腥草中富含多酚类物质, 且具有较强的活性, 可用于临床和医学研究<sup>[14-15]</sup>。提示鱼腥草多酚具有潜在的治疗 UC 的功效。本研究将探讨鱼腥草多酚对 UC 小鼠的保护效果及可能的抗炎机制, 以期为 UC 临床抗炎药物的研发提供一定的理论基础和治疗手段。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 实验动物

KM 小鼠, 体重 18~22 g, 雄性。购自: 济南朋悦实验动物繁育有限公司, 动物生产许可证号 (SCXK 鲁 20140007)。

### 1.2 主要试剂与仪器设备

鱼腥草提取物 (产品规格为 10:1), 西安瑞林生物科技有限公司; 葡聚糖硫酸钠盐, Sigma-Aldrich; 血清丙氨酸转氨酶 (ALT)、天冬氨酸转氨酶 (AST)、血尿素氮 (BUN)、血肌酐 (Cr), 碧云天生物技术有限公司; 白细胞介素 6 (IL-6)、白细胞介素 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) 和肿瘤坏死因子  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) ELISA 试剂盒, 碧云天生物技术有限公司。高速冷冻离心机, Eppendorf 公司; 电子恒温水浴锅, 上海优浦科学仪器有限公司; MK 酶联免疫检测仪, Thermo 公司。

### 1.3 试验方法

#### 1.3.1 鱼腥草中总酚含量测定

本实验采用优化的三氯化铁-铁氰化钾方法, 测定 HC 多酚含量, 以没食子酸为对照品, 配制不同浓度的没食子酸标准溶液, 于 760 nm 处测定溶液吸光值, 绘制标准曲线进行含量测定。以没食子酸浓度 ( $\mu$ g/mL) 为横坐标, 吸光度值 (A) 为纵坐标, 绘制标准曲线。线性方程为  $y=0.1521x+0.0072$ ,  $r=0.9989$ , 结果表明没食子酸在 0.31~0.94  $\mu$ g/mL 范围内线性关系良好。取适量待测样品置于 10 mL 容量瓶中, 加入 0.3% 的十二烷基硫酸钠, 加入铁氰化钾溶液与铁氰化钾混合溶液 (1:1) 1.5 mL, 混匀, 于暗处放置 20 min, 760 nm 处测定溶液吸光值, 代入标准曲线中, 计算多酚含量<sup>[16]</sup>。

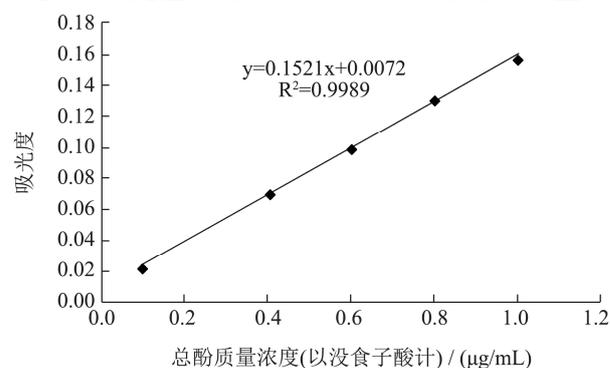


图 1 没食子酸标准曲线

Fig.1 Standard curve of gallic acid

### 1.3.2 动物分组与造模

适应性喂养 3 d, 随机分为 5 组, 鱼腥草多酚低、中、高剂量组, 空白对照组、模型组 (n=10)。空白组给予无菌水, 模型组和鱼腥草多酚组自由饮用 0.4 mL 3.5% 的 DSS 溶液 9 d (开始给予 DSS 为实验第 4 d), 造模后, 鱼腥草多酚组分别按照低、中、高剂量 (40 mg/kg、60 mg/kg、100 mg/kg) 进行药物灌胃处理, 每日一次共 10 d。每日称重并观察小鼠进食变化, 粪便情况 (收集粪便)。给药结束 3 d 后, 麻醉并解剖小鼠, 通过摘取眼球从每只小鼠采集约 1 mL 血液, 分离血清于 -20 °C 保存。沿腹腔中线打开腹腔, 分离结肠和肝肾, 测量、观察、称重于 -80 °C 冰箱保存样品备用。

### 1.3.3 疾病活动指数 (Disease activity index, DAI) 评分

DAI 评分包括: 动物体重下降数值、动物粪便粘稠度、动物粪便隐血情况, 可以比较直观的反映动物建模是否成功。DAI 评分范围为 0~12 分<sup>[17]</sup>, 评分按照严重程度划分为: 体重下降 (0~4 分); 腹泻情况 (0~4 分); 出血情况 (0~4 分)。

### 1.3.4 组织病理学检查

解剖小鼠后, 取结肠组织, 使用 10% 的中性甲醛溶液固定 24 h, 乙醇梯度洗脱 (70%、85%、95%、100% 的酒精), 石蜡铺好后切成片 (厚度为 4 μm), 二甲苯脱蜡, 依红染色, 乙醇洗脱, 二甲苯澄清, 封片。光镜观察形态学变化。

### 1.3.5 酶联免疫法测定结肠中细胞因子 TNF-α、IL-6、IFN-γ、IL-1β

取适量动物结肠标本约 80 mg, 冰水浴中制备 5% 的组织匀浆液, 采用 Bradford 法测组织总蛋白浓度。按照酶联免疫吸附剂说明书测定炎症因子浓度, 450 nm 处测定标准品和样品吸光值, 绘制标准曲线。

### 1.3.6 小鼠血清中 AST、ALT、Cr 和 BUN 水平测定

使用全自动生化分析仪检测动物血清, 按说明步骤操作, 实验设立对照组孔、模型组孔、多酚组孔, 每组四个重复, 绘制标准曲线, 测得 AST、ALT、Cr、BUN。

### 1.3.7 统计学分析方法

数据来自至少 3 个独立实验, 采用 GraphPad Prism 5.0 程序进行单因素方差比较, 数据以平均值±标准偏差 (Mean±SD) 呈现。p<0.05, 具有统计学意义。

## 2 结果与讨论

### 2.1 HC 多酚含量测定

多酚类物质存在于多种植物中, 具有抗炎、抗病毒、保护神经等多种生物活性, 多酚物质作为鱼腥草中的活性成分, 其含量测定在鱼腥草药材的质量控制中具有重要意义。文献报道, 鱼腥草叶片中含丰富的多酚类物质<sup>[18]</sup>, 本实验以鱼腥草叶片纯提取物为原料, 采用分光光度法, 按照标准曲线步骤反应后, 测得吸光值, 将实验结果换算为每克鱼腥草纯提取物中含有的多酚相当于没食子酸的毫克数 (mg/g), 测得 HC 多酚平均含量为 22.80 mg/g, 与文献报道结果一致<sup>[19]</sup>。

### 2.2 HC 多酚对小鼠体重的影响

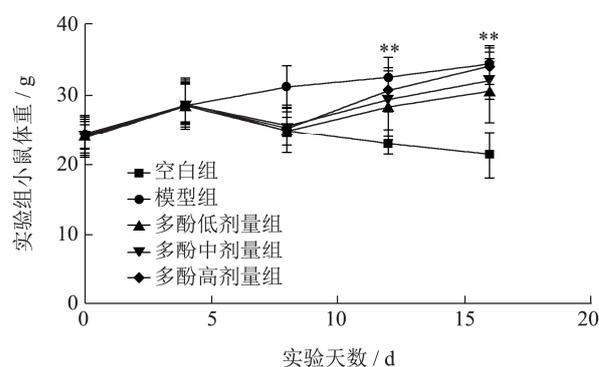


图 2 HC 多酚对小鼠体重影响

Fig.2 The effects of total polyphenol from *Houttuynia cordata* on body weight in mice with colitis (Mean±SD, n=10)

实验中观察发现, 模型组大部分小鼠第 5 d 时开始同时出现稀便, 第 6~7 d 出现不同程度的便血。该实验结果表明 3.5% 的 DSS 可以成功诱导结肠炎模型的建立, 以体重减轻、腹泻等为主要特征。如图 2 所示, 给予 DSS 溶液后第 7 d, 除空白组外, 各组小鼠体重均呈下降趋势: DSS 组下降了 6.12%、低剂量组下降了 6.01%、中剂量组下降了 5.83%、高剂量组下降了 6.24%。在造模第 10 d, 经过不同剂量鱼腥草多酚药物干预后, 实验小鼠体重情况如下: DSS 组下降了 12.03%、低剂量组增加了 6.07%、中剂量组增加了 10.02%、高剂量组增加了 13.04% ( $p<0.01$ )。上述数据表明, 鱼腥草多酚可以改善小鼠结肠炎所导致的体重下降, 且各剂量组间呈剂量依赖性。

### 2.3 HC 多酚对小鼠 DAI 评分和结肠外观的影响

实验记录发现空白组小鼠, 动作灵活, 毛发顺滑, 粪便正常, 精神状态正常; 模型组小鼠可见动作反应迟缓, 饮水和进食量锐减, 且大多呈蜷缩状, 大便不成形, 肛周粘有稀便。模型组小鼠肠壁明显增厚, 溃疡面有深褐色坏死物附着, 肠管段狭窄严重粘连, 充

血水肿较明显，肠壁变薄且不易分离（图 3b）。各治疗组小鼠肠管有不同程度的点状或节段性黏膜充血，严重程度较模型组减轻。模型组小鼠在给予 DSS 溶液饮水第 3~4 d，DAI 评分显著升高；经过鱼腥草多酚干预第 10~12 d，DAI 评分较空白组分别降低了 26.83%、41.46%、54.46% ( $p<0.01$ )；多酚剂量组结肠分别平均增加了 2 cm、3.17 cm、4.52 cm，且肠肌层比较完整。结果表明，鱼腥草多酚可以降低 DAI 评分，改善 DSS 所致的腹泻和便血情况。

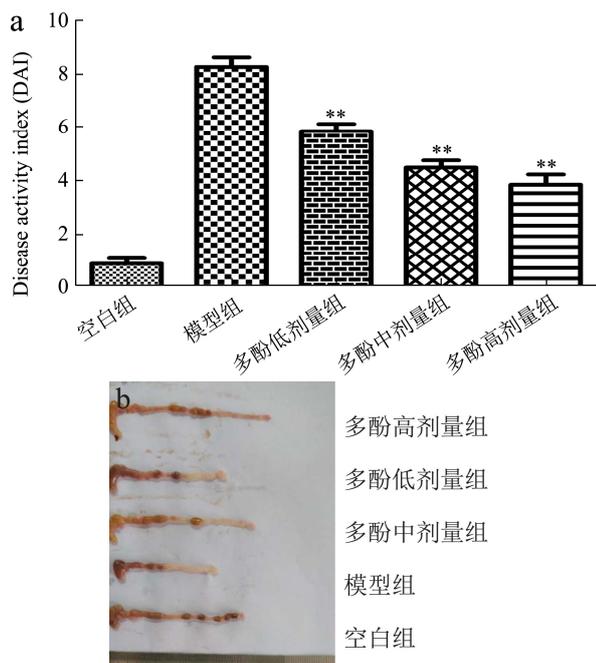


图 3 HC 多酚对小鼠 DAI 评分和结肠外观的影响

Fig.3 The effects of total polyphenol from *Houttuynia cordata* on DAI score and colonic appearance in mice with colitis (Mean±SD, n=10)

注：与模型组相比，\*\* $p<0.01$ 。

#### 2.4 HC 多酚对小鼠结肠组织病理学的影响

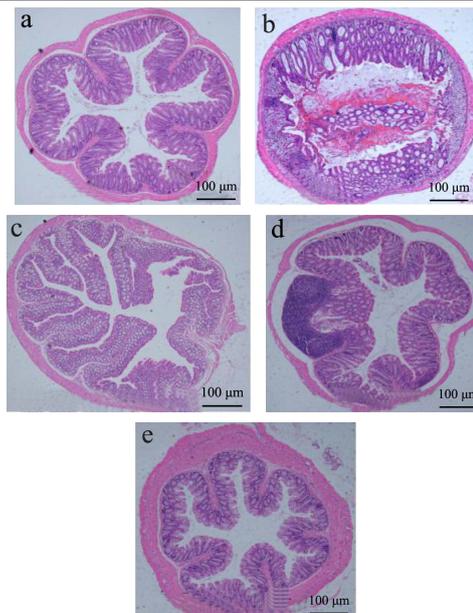


图 4 小鼠结肠组织 H&E 染色

Fig.4 Colon histopathology analysis

注：a：空白组；b：模型组；c：多酚低剂量组；d：多酚中剂量组；e：多酚高剂量组。

组织病理学染色结果直接表明 DSS 成功诱导了小鼠溃疡性结肠炎（图 4）。模型组小鼠肠粘膜组织结构受损，粘膜内外壁厚薄不均，结肠腺体变形粘膜，内层严重溃疡及糜烂面形成；相反，空白组小鼠肠粘膜完整，上皮细胞致密且排列有序，内层无溃疡面。多酚低剂量组切片上存在着少量的溃疡面且黏膜外壁不完整，相比模型组有一定程度的减轻；多酚中剂量组组织结构较完整，仍存在轻微溃疡面；多酚高剂量组结肠切片上溃疡面不明显，几乎无炎症细胞浸润，可趋近于正常组的状态。HC 活性成分显著减弱了结肠病理变化，可以减轻 DSS 诱导的炎症细胞浸润。

#### 2.5 HC 多酚对 UC 小鼠结肠长度/重量的影响

表 1 HC 多酚对 UC 小鼠的结肠长度、重量的影响

Table 1 Effects of polyphenol from *Houttuynia cordata* on colon length and colon weight in UC mice (Mean±SD, n=10)

组别	结肠长度/cm	结肠质量/mg	结肠重量长度比/(cm/mg)
空白组	11.63±0.58 <sup>a</sup>	163.03±22.92 <sup>b</sup>	14.03±2.43 <sup>c</sup>
模型组	6.35±0.33 <sup>c</sup>	324.44±23.13 <sup>a</sup>	51.02±14.50 <sup>a</sup>
HC 多酚低剂量	8.35±0.25 <sup>b</sup>	250.35±37.80 <sup>b</sup>	29.90±5.85 <sup>b</sup>
HC 多酚中剂量	9.52±0.98 <sup>b</sup>	241.93±15.28 <sup>b</sup>	25.15±7.86 <sup>b</sup>
HC 多酚高剂量	10.87±0.53 <sup>a</sup>	232.65±8.49 <sup>b</sup>	21.31±10.02 <sup>c</sup>

注： $p<0.05$  认为具有统计学差异，不同字母代表显著性差异，下表同。

如表 1 所示，模型组小鼠结肠平均长度为 6.35 cm，空白组长度为 11.63 cm，DSS 灌胃处理后结小鼠结肠缩减至 6.35 cm，较空白对照组相比缩短了 45.50% ( $p<0.05$ )。通过灌胃给予鱼腥草多酚药物干预

后，模型组小鼠结肠长度增加明显<sup>[20]</sup>。经多酚各剂量组干预后的小鼠结肠平均长度为 8.35 cm、9.52 cm、10.87 cm，分别增加了 23.02%、33.33%、41.60%。结肠重量方面，DSS 组小鼠结肠重量较对照组增加了

49.40% ( $p<0.05$ ), 药物治疗中、高剂量组平均重量为 241.93 mg、232.65 mg, 分别减少了 25.60%、28.40%。低剂量组平均重 250.35 mg, 仅能减少 22.80%。治疗组间相比, 多酚高剂量组治疗效果优于其余两组。模

型组的结肠重量长度比显著增加至 51.01 cm ( $p<0.05$ ), 结果显示, HC 多酚可以改善 DSS 引起的结肠缩短和肠重增加, 且具有统计学意义。

表 2 HC 多酚对 UC 小鼠的肝肾指数的影响

Table 2 Effects of polyphenol from *Houttuynia cordata* on liver and kidney index in UC mice (Mean±SD, n=10)

组别	肝重/g	肾重/g	肝指数/%	肾指数/%
空白组	1.28±0.49 <sup>b</sup>	0.46±0.02 <sup>a</sup>	4.24±0.23 <sup>b</sup>	1.49±0.02 <sup>a</sup>
模型组	1.51±0.57 <sup>a</sup>	0.55±0.30 <sup>a</sup>	4.49±0.34 <sup>a</sup>	1.67±0.23 <sup>a</sup>
HC 多酚低剂量组	1.46±0.44 <sup>a</sup>	0.44±0.02 <sup>a</sup>	4.31±0.21 <sup>a</sup>	1.51±0.04 <sup>a</sup>
HC 多酚中剂量组	1.36±0.56 <sup>b</sup>	0.52±0.04 <sup>a</sup>	4.18±0.12 <sup>b</sup>	1.54±0.05 <sup>a</sup>
HC 多酚高剂量组	1.32±0.46 <sup>b</sup>	0.46±0.05 <sup>a</sup>	4.10±0.54 <sup>b</sup>	1.44±0.12 <sup>a</sup>

表 3 小鼠血清中 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 和 IFN- $\gamma$  浓度Table 3 Comparison of concentrations of TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, and IFN- $\gamma$  in serum (Mean±SD, n=10)

组别	IFN- $\gamma$	IL-6	TNF- $\alpha$	IL-1 $\beta$
空白组	77.32±4.70 <sup>d</sup>	40.68±1.20 <sup>c</sup>	50.58±5.62 <sup>c</sup>	44.02±1.78 <sup>c</sup>
模型组	481.56±60.10 <sup>a</sup>	406.46±21.57 <sup>a</sup>	303.32±7.89 <sup>a</sup>	335.03±24.09 <sup>a</sup>
HC 多酚低剂量	265.65±33.56 <sup>b</sup>	132.46±1.72 <sup>b</sup>	270.66±46.19 <sup>a</sup>	137.33±10.70 <sup>b</sup>
HC 多酚中剂量	125.23±36.25 <sup>c</sup>	118.25±25.06 <sup>b</sup>	154.23±23.34 <sup>b</sup>	125.64±10.78 <sup>b</sup>
HC 多酚高剂量	113.75±7.45 <sup>c</sup>	108.46±2.77 <sup>b</sup>	133.43±38.96 <sup>b</sup>	100.77±7.53 <sup>b</sup>

表 4 小鼠血清中 AST、ALT、CR 和 BUN 水平

Table 4 Comparison of concentrations of AST, ALT, CR and BUN in serum (Mean±SD, n=10)

组别	AST	ALT	CR	BUN
空白组	32.42±1.56 <sup>b</sup>	124.62±8.30 <sup>b</sup>	40.47±3.49 <sup>b</sup>	7.48±1.48 <sup>c</sup>
模型组	56.97±3.64 <sup>a</sup>	156.54±14.41 <sup>a</sup>	68.27±6.44 <sup>a</sup>	10.69±0.11 <sup>a</sup>
HC 多酚低剂量	38.56±1.50 <sup>b</sup>	132.46±1.72 <sup>a</sup>	54.28±6.23 <sup>a</sup>	8.75±1.22 <sup>b</sup>
HC 多酚中剂量	38.92±7.36 <sup>b</sup>	126.54±10.73 <sup>b</sup>	51.43±7.82 <sup>a</sup>	8.12±2.33 <sup>b</sup>
HC 多酚高剂量	37.38±1.20 <sup>b</sup>	122.16±7.46 <sup>b</sup>	47.80±6.55 <sup>b</sup>	7.93±1.52 <sup>c</sup>

## 2.6 HC 多酚对 UC 小鼠肝肾指数影响

分别计算小鼠肝指数 (肝重/体重×100%)、肾指数 (肾重/体重×100%), 如表 2 所示, 不同剂量药物治疗组肝脏均重为 1.46 g、1.36 g、1.32 g, 肝指数分别为 4.31%、4.18%、4.10%, 变化不明显; 模型组小鼠肝肾平均重量: 1.51 g、0.55 g 与空白组比较, 分别增加了 17.92%、19.63%。模型组与空白组小鼠重量比较明显加重, 说明通过 DSS 造模不仅使小鼠肠道受损还造成一定肝脏损伤。提示饮用 DSS 会损伤肠粘膜, 肠内容物通过门静脉进入肝脏, 进而使肝指数增加。

## 2.7 HC 多酚对小鼠炎症因子的影响

IL-1 $\beta$  是一种促炎性细胞因子, 可激活多种炎症细胞<sup>[21]</sup>。TNF- $\alpha$  是机体免疫应答和炎症反应的重要调节因子, 可促进肠道上皮细胞凋亡, 参与 UC 炎症反应的发生<sup>[22]</sup>。如表 3 所示, DSS 显著增加了炎症因子浓

度, 与空白组比较差异极显著 ( $p<0.01$ ), DSS 模型组小鼠结肠组织中 TNF- $\alpha$  含量较正常组增加了 6 倍、IL-1 $\beta$  增加了 7 倍、IL-6 增加了 10 倍、IFN- $\gamma$  增加了 6 倍 ( $p<0.05$ )。给予药物干预后, 小鼠 HC 多酚低、中、高各剂量组 TNF- $\alpha$  水平分别降低了 10.92%、48.24%、56.27%; IL-1 $\beta$  水平降低了 59.14%、62.57%、70.1%; IL-6 水平降低了 67.55%、49.25%、56.13%; IFN- $\gamma$  水平降低了 44.90%、74.05%、76.50%, 与 Lee 等<sup>[23]</sup>的研究结果一致, 鱼腥草提取物抑制了 TNF- $\alpha$ 、促炎因子白细胞介素的生成。

表 4 模型组动物血清中血清丙氨酸转氨酶、天冬氨酸转氨酶的表达水平分别为 156 U/L、56 U/L, 与空白组比较明显升高了 20.51%、42.86% ( $p<0.05$ ); 观察给药组中、高剂量小鼠 AST、ALT 水平, 明显低于 DSS 模型组 ( $p<0.05$ ) 且优于低剂量组; 而模型组小鼠的血尿素氮 (BUN)、血肌酐 (Cr) 水平为 10.48 U/L、68.27 U/L, 较空白组分别增加了 26.62%、40.72%。

多酚高剂量组 Cr、BUN、AST、ALT 水平显著低于模型组 ( $p < 0.05$ )。以上结果表明, HC 提取物多酚不仅可以抑制 UC 小鼠肠道炎症因子的生成, 且对 DSS 诱导的肝肾指标的上升具有一定调节作用。

### 3 讨论

大量研究表明多酚具有抗炎作用: 蓝莓果实多酚提取物能够抑制 LPS (脂多糖) 诱导的 RAW264.7 巨噬细胞炎症反应, 减少 NO 的分泌, 下调炎症因子<sup>[24]</sup>; 黑覆盆子的根部和果实多酚通过降低 NO 的分泌、细胞因子 (IL-1、IL-6、IL-10) 和前列腺素, 证明多酚具有抗炎活性<sup>[25]</sup>。本研究从实验诱导期开始, 除空白组外, 其余各组小鼠体重开始下降, 灌胃给予肠炎小鼠 40 mg/kg、60 mg/kg、100 mg/kg 的多酚后, 比较第 10 d 时发现, 多酚各剂量组动物体重呈上升趋势, 多酚干预可以显著抑制 DSS 引起的肠炎小鼠体重下降。每 3 d 使用 EP 管搜集一次粪便, 观察发现, 空白对照组小鼠实验过程重粪便状态始终正常, 干燥且成型不粘着; 除空白对照组外, 小鼠粪便从实验诱导期开始, 变化较为明显, 颜色开始变深, 松散不成型, 出现稀便, 进入诱导期第 6~7 d, 模型组部分小鼠开始出现严重的便血现象。直至多酚干预后第 10 d 开始得到缓解, 第 11 d 后, 粪便颜色开始变浅, 稀便、便血现象减少。多酚高剂量组动物粪便趋于正常状态。解剖小鼠后, 通过测量结肠长度, 观察结肠状态, 如图 2 所示, 与 DSS 组比较, 多酚高剂量组的结肠长度最长, 中剂量组次之, 低剂量组最短; 解剖时发现 HC 多酚高剂量组结肠肿胀程度较少, 低剂量组略有粘连, 说明高剂量组对于 DSS 诱导的 UC 结肠外观的改善作用优于低剂量组。图 1 和图 2 表明多酚药物干预 UC 小鼠, 可以显著降低 DAI 指数包括 DSS 诱导引起的动物体重下降、便血、结肠缩短现象。

病理学切片观察显示, 模型组小鼠肠道杯状细胞被破坏以及大量炎症细胞浸润, HC 多酚改善了结肠组织病变, 其中高剂量组明显抑制了结肠组织肿胀和溃疡严重程度, 图 3 切片显示, UC 小鼠结肠组织杯状细胞增加, 肠粘膜完整, 高剂量组疗效最佳, 其次为中剂量组, 呈剂量依赖性。说明 HC 多酚可通过修复肠黏膜, 减少炎症细胞浸润, 从而改善溃疡性结肠炎。

研究表明, TNF- $\alpha$ 、IL-6 和 IL-1 $\beta$  等炎症因子的异常升高是肠道黏膜的炎性损伤和 UC 发生的原因之一<sup>[26]</sup>。本实验中 DSS 组小鼠血清中炎症因子 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  及 AST、ALT 表达水平均高于空白组小鼠。Gabele 等<sup>[27]</sup>研究发现, DSS 诱导小鼠肠道炎症可以促

进肠道内毒素移位至肝脏、导致肝脏损伤, 与本实验研究结果相似。小鼠在经过 DSS 刺激后, 激发机体内天然免疫途径, 通过受损的肠道黏膜移位至肝脏, 通过 NF-kappaB 炎症信号通路产生大量的肝脏和肠道炎症因子。如表 3 所示, 经多酚各剂量组药物干预后, UC 小鼠肠道炎症因子显著下降 ( $p < 0.05$ ), 说明在降低小鼠血清 TNF- $\alpha$ 、IL-6 等炎症因子方面具有一定疗效; ALT、AST 是存在与肝脏内的转氨酶, 该指标异常升高可显示肝脏炎症或病变, 表 4 显示, 多酚各剂量组数值较模型组下降, 肝脏炎症较少; 多酚高剂量组肾脏指标 Cr 和 BUN 数值显著降低 ( $p < 0.05$ ), 而低剂量组疗效不明显。HC 多酚可以改善 DSS 引起的肝肾炎症指标和肝肾指数的增加。

### 4 结论

综上所述, 鱼腥草多酚提取物可以降低 DAI 系数、肝肾炎症指数, 抑制肠道炎症因子的升高, 改善 DSS 诱导的溃疡性结肠炎, 且对肝肾没有毒性。因此, HC 多酚防治 DSS 诱导的 UC 的作用机制可能通过作用于 NF- $\kappa$ B 通路, 减弱炎症因子表达量的上调, 促进 UC 小鼠肠粘膜修复, 从而抑制肠道炎症反应。其具体的作用机制有待于进一步的研究与证实。因此, 鱼腥草多酚具有潜在的药用价值, 可作为治疗溃疡性结肠炎的中草药进行开发利用。

### 参考文献

- [1] 潘治平, 崔焱辉, 沈锋. 白细胞介素-35 在溃疡性结肠炎中的作用[J]. 中国现代医学杂志, 2019, 22: 44-48
- [2] PAN Zhiping, CUI Junhui, SHEN Feng. The role of interleukin-35 in ulcerative colitis [J]. Journal of Chinese Modern Medicine, 2019, 22: 44-48
- [3] Targan S R, Karp L C. Defects in mucosal immunity leading to ulcerative colitis [J]. Immunological Reviews, 2010, 206(1): 296-305
- [4] Colia, Ripalta, Corrado A, et al. Rheumatologic and extraintestinal manifestations of inflammatory bowel diseases [J]. Annals of Medicine, 2016, 48(8): 577-585
- [5] Marshall J C. The gut as a potential trigger of exercise-induced inflammatory responses [J]. Canadian Journal of Physiology and Pharmacology, 1998, 76(5): 479-484
- [6] Cheng C, Tan J, Qian W. Gut inflammation exacerbates hepatic injury in the high-fat diet induced NAFLD mouse attention to the gut-vascular barrier dysfunction [J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2018, 106: 157-166

- [6] Cederbaum A I, Yang L, Wang X, et al. CYP2E1 sensitizes the liver to LPS- and TNF  $\alpha$ -induced toxicity via elevated oxidative and nitrosative stress and activation of ASK-1 and JNK mitogen-activated kinases [J]. *International Journal of Hepatology*, 2012, 582790
- [7] Keshavarzian A, Farhadi A, Forsyth C B, et al. Evidence that chronic alcohol exposure promotes intestinal oxidative stress, intestinal hyperpermeability and endotoxemia prior to development of alcoholic steatohepatitis in rats [J]. *Journal of Hepatology*, 2009, 50(3): 538-547
- [8] Gyongyi, Szabo, Shashi, et al. Alcoholic liver disease and the gut-liver axis [J]. *World J Gastroenterol*, 2010, 16(11): 1321-1329
- [9] Zheng Z, Dai Z, Cao Y, et al. Docosapentaenoic acid (DPA, 22:5n-3) ameliorates inflammation in an ulcerative colitis model [J]. *Food & Function*, 2019, 10: 4199-4209
- [10] 王帅珂.鱼腥草活性成分提取及其对小鼠结肠炎功能恢复的研究[D]. 聊城:聊城大学,2020  
WANG Shuaike. Study on extraction of active components of *Houttuynia cordata* and functional recovery of colitis in mice [D]. Liaocheng: Liaocheng University, 2020
- [11] Segev A, Badani H, Galili L, et al. Total phenolic content and antioxidant activity of chickpea (*Cicer arietinum* L.) as affected by soaking and cooking conditions [J]. *Food & Nutrition Sciences*, 2011, 2(7): 724-730
- [12] Xu B, Chang S. Total phenolic, polyphenol, anthocyanin, flavan-3-ol, and flavonol profiles and antioxidant properties of pinto and black beans (*Phaseolus vulgaris* L.) as affected by thermal processing [J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2009, 57(11): 4754
- [13] Lai R, Chen J, Feng X, et al. Research progress on polyphenol of *Canarium album* (Lour.) Raeusch [J]. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 2018, 39(12): 2532-2541
- [14] 孟江,董晓萍,周毅生,等.鲜鱼腥草酚类化学成分的研究[J]. *中国中药杂志*,2007,32(10):929-931  
MENG Jiang, DONG Xiaoping, ZHOU Yisheng, et al. Study on chemical constituents of fresh *Houttuynia cordata* [J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2007, 32(10): 929-931
- [15] 杜向群,陈敏燕,许颖.鱼腥草成分、药理的研究进展[J].*江西中医药*,2012,43(2):66-68  
DU Xiangqun, CHEN Minyan, XU Ying. Research progress on components and pharmacology of *Houttuynia cordata* [J]. *Jiangxi Traditional Chinese Medicine*, 2012, 43(2): 66-68
- [16] 蔡文国,吴卫,邵金凤,等.Folin-Ciocalteu 法测定鱼腥草多酚的含量[J].*食品科学*,2010,14:201-204  
CAI Wenguo, WU Wei, SHAO Jinfeng, et al. The content of polyphenols in *Houttuynia cordata* was determined by folin-ciocalteu method [J]. *Food Science*, 2010, 14: 201-204
- [17] 吴铭,宋家乐,任源,等.芸薹属紫菜蔬乙醇提取物对葡聚糖硫酸钠致小鼠结肠炎的预防作用[J].*现代食品科技*,2019,9: 159-168  
WU Ming, SONG Jiale, REN Yuan, et al. Preventive effect of ethanol extracts from *Brassica* on colitis induced by dextran sulphate sodium in mice [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2019, 9: 159-168
- [18] Chaiyasut C, Jaikang C, Suttajit M, et al. Antioxidative activity, polyphenolic content and anti-glycation effect of some Thai medicinal plants traditionally used in diabetic patients [J]. *Medicinal Chemistry*, 2009, 5(2): 139-147
- [19] Zhang Z, Shen M, WU Wenhui. Optimized extraction technology and content determination of total polyphenol in *Houttuynia cordata* from different habitats [J]. *Chinese Archives of Traditional Chinese Medicine*, 2016, 34(10): 2445-2448
- [20] 李阳,郝艺照,傅熠俊,等.黄连素预防葡聚糖硫酸钠诱导溃疡性结肠炎的作用机制[J].*中华中医药杂志*,2017,8:3431-3435  
LI Yang, HAO Yizhao, FU Yijun, et al. Mechanism of berberine in prevention of ulcerative colitis Induced by dextran sulphate sodium [J]. *Chinese Journal of Traditional Medicine*, 2017, 8: 3431-3435
- [21] 黎笑兰,张新广,尹少萍.白芨多糖抑制溃疡性结肠炎大鼠炎症反应与氧化应激[J].*基础医学与临床*,2020,2:224-228  
LI Xiaolan, ZHANG Xinguang, YIN Shaoping. *Bletilla striata* polysaccharide inhibits inflammatory response and oxidative stress in rats with ulcerative colitis [J]. *Basic Medicine and Clinical Practice*, 2020, 2: 224-228
- [22] Olaleye S B, Onasanwo S A, Ige A O, et al. Anti-inflammatory activities of a kolaviron-inhibition of nitric oxide, prostaglandin E2 and tumor necrosis factor-alpha production in activated macrophage-like cell line [J]. *African Journal of Medicine & Medical Sciences*, 2010, 39: 41-46
- [23] Lee H J, Seo H S, Kim G J, et al. *Houttuynia cordata* Thunb inhibits the production of pro-inflammatory cytokines through inhibition of the NF $\kappa$ B signaling pathway in HMC-1 human mast cells [J]. *Molecular Medicine Reports*, 2013, 8(3): 731-736

(下转第 229 页)