

霍山石斛多糖对溃疡性结肠炎小鼠的抗炎作用

谷仿丽^{1,2}, 黄仁术^{1,2}, 何晓梅^{1,2}

(1. 皖西学院生物与制药工程学院, 安徽六安 237012; 2. 安徽省中药资源保护与持续利用工程实验室, 安徽六安 237012)

摘要 [目的]探究霍山石斛多糖对溃疡性结肠炎小鼠的抗炎作用。[方法]应用葡聚糖硫酸钠建立溃疡性结肠炎模型,灌胃给予模型小鼠不同剂量的霍山石斛多糖,观察霍山石斛多糖对模型小鼠 DAI、血清细胞因子 IL-1、TNF- α 水平及结肠病理组织学的影响,分析霍山石斛对溃疡性结肠炎小鼠的抗炎作用。[结果]与模型组相比,霍山石斛多糖高、中剂量组显著降低 DAI、血清细胞因子 IL-1、TNF- α 水平 ($P < 0.05$),改善结肠病理组织学。[结论]霍山石斛多糖通过抗炎治疗溃疡性结肠炎小鼠。

关键词 霍山石斛多糖; 溃疡性结肠炎; 小鼠; 抗炎

中图分类号 R285 文献标识码 A

文章编号 0517-6611(2020)14-0176-02

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2020.14.049



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

Anti-inflammatory Effect of *Dendrobium huoshanense* Polysaccharide on Ulcerative Colitis Mice

GU Fang-li^{1,2}, HUANG Ren-shu^{1,2}, HE Xiao-mei^{1,2} (1. Dept of Biological and Pharmaceutical Engineering, West Anhui University, Lu'an, Anhui 237012; 2. Laboratory for the Protection and Sustainable Utilization of Traditional Chinese Medicine Resources in Anhui, Lu'an, Anhui 237012)

Abstract [Objective] To study the anti-inflammatory effect of *Dendrobium huoshanense* polysaccharide on ulcerative colitis mice. [Method] The ulcerative colitis model was established by dextran sodium sulfate, and different doses of *Dendrobium huoshanense* polysaccharide were given to the model mice by gavage. The effects of *Dendrobium huoshanense* polysaccharide on Dai, IL-1, TNF- α levels in serum and histopathology of colon were observed, and the anti-inflammatory effects of *Dendrobium huoshanense* on ulcerative colitis mice were analyzed. [Result] Compared with the model group, the levels of Dai, IL-1 and TNF- α in the high and medium dose group were significantly reduced ($P < 0.05$), and the histopathology of colon was improved. [Conclusion] *Dendrobium huoshanense* polysaccharide has anti-inflammatory effect on ulcerative colitis mice.

Key words *Dendrobium huoshanense* polysaccharide; Ulcerative colitis; Mice; Anti-inflammatory

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)发病机制尚不清楚,多认为是肠道感染、自身免疫、遗传、精神心理等相互作用的结果^[1]。溃疡性结肠炎发病时炎症因子水平升高,导致结肠黏膜损伤,甚至糜烂^[2];患者表现为腹泻、腹痛、黏液脓便血、体重减轻等。目前主要通过抗炎促进结肠组织恢复、增加肠道黏膜免疫力治疗溃疡性结肠炎^[3]。

霍山石斛被誉为“中华九大仙草之首”,具有益胃生津、滋阴清热、润肺止咳、明目强身等功效^[4]。现代研究表明,霍山石斛主要含有多糖类物质、石斛碱、多种游离氨基酸及丰富的微量元素等成分^[5],具有抗炎、增强免疫、调节胃肠道、降血糖、肝保护等作用^[6-7]。因此,笔者研究霍山石斛多糖对溃疡性结肠炎小鼠的抗炎作用。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物。昆明种健康小鼠,体重(22±2)g,购自安徽医科大学动物研究所动物实验中心。

1.1.2 仪器设备。电子分析天平(郑州万博仪器设备有限公司);旋转蒸发器(R52A,上海亚荣);Synergy H1 多功能酶标仪(美国佰腾仪器有限公司)。

1.1.3 药品和试剂。霍山石斛采自皖西学院石斛种植园;葡聚糖硫酸钠由美国 sigma 公司生产;柳氮磺吡啶肠溶片由上海信宜天平制药有限公司生产;粪便隐血定性检测试剂盒

(邻联甲苯胺法)由北京雷根生物技术有限公司生产;IL-1、TNF- α 检测试剂盒由南京建成生物工程研究所生产;乙醇、硫酸、萘酮等均为分析纯。

1.2 方法

1.2.1 霍山石斛多糖的制备。取新鲜的大别山产霍山石斛,除去杂质,清水洗净,50℃烘干,粉碎过40目筛,药粉继续烘干至恒重。以料液比1:30,80℃水提3次,每次2h。合并提取液,减压浓缩至相对密度1.12。浓缩液中加入95%乙醇,边加边搅拌,加至浓缩液的2倍,保鲜膜密封,放置于4℃冰箱24h,3000 r/min离心10 min,取沉淀物去蛋白,纤维柱法分离得霍山石斛多糖,采用萘酮-硫酸法^[8]测定多糖含量。

1.2.2 溃疡性结肠炎模型复制。取体重相近的健康小鼠60只,雌雄性各半,随机分为空白组(10只)和模型组(50只)。正常组小鼠正常摄食、饮水,模型组小鼠自由饮用配制的5%葡聚糖硫酸钠(dextran sulfate sodium, DDS)水溶液5d,建成溃疡性结肠炎模型^[9]。

1.2.3 动物分组与给药。将溃疡性结肠炎模型小鼠随机分为霍山石斛多糖高剂量(200 mg/kg)、中剂量(100 mg/kg)、低剂量(50 mg/kg)组,柳氮磺吡啶(sulfasalazine, SASP)组,模型组。于试验第6天,分别灌胃给予霍山石斛多糖高、中、低剂量组霍山石斛多糖200、100、50 mg/kg, SASP组300 mg/kg,正常组蒸馏水,一天1次,连续灌胃14d。

1.2.4 指标采集与检测。试验期间,分别在造模第5天、给药7d、14d末,检测试验小鼠体重、大便性状及便血,并根据表1评分计算 DAI=(体质量下降百分率+大便性状+便血)/

基金项目 安徽省高校自然科学基金重点项目(KJ2019A0627);安徽省林业科技攻关团队项目(2017062)。

作者简介 谷仿丽(1980—),女,安徽宿州人,副教授,硕士,从事天然产物研究与开发工作。

收稿日期 2020-05-12

3^[10]。给药第 14 天各小组实验鼠末次给药 1 h 后,摘眼球取血后即刻颈椎脱臼处死小鼠,解剖,取距肛门 8 cm 处部分结肠,用生理盐水冲洗,除去多余脂肪及附着粪便,观察结肠黏膜病变情况,随后浸泡在 10% 甲醛溶液中固定,乙醇脱水,石蜡包埋、切片,苏木精-伊红染色,显微镜下观察每个结肠组织状况。血液离心后取血清,ELISA 法检测白介素-1 (Interleukin-1beta, IL-1)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 水平。

表 1 DAI 评分标准
Table 1 DAI scoring criteria

分值 Score	体重下降率 Weight loss rate//%	大便形状 Stool shape	便血 Blood in the stool
0	无	正常	隐血(-)
1	1~5	半稀便	隐血(+)
2	>5~10		隐血(++)
3	>10~15	稀便	肉眼便血
4	>15		

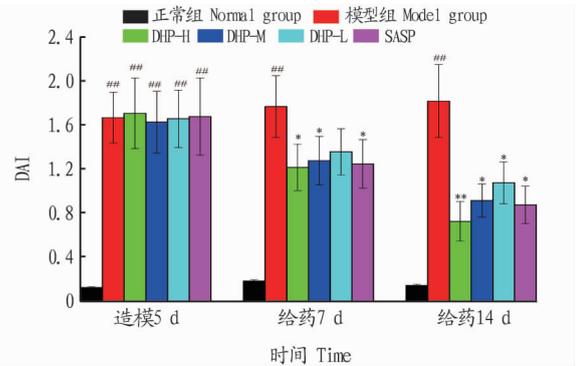
1.3 数据统计与分析 所有数据采用 SPSS 23 进行统计分析,组间比较采用 t 检验, $P < 0.05$ 为有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 霍山石斛多糖对溃疡性结肠炎小鼠 DAI 的影响 模型组小鼠自由饮用葡聚糖硫酸钠水溶液 5 d 后,出现了明显的溃疡性结肠炎症状,黏液脓血便、身体时而蜷曲状、体重下降、精神不佳;持续灌胃给药 14 d 后,各给药组与模型组比较,症状明显改善,体重增长,大便性状趋于正常。从图 1 可看出,小鼠造模 5 d,DAI 评分显著升高 ($P < 0.01$);给药 7 d,霍山石斛多糖高、中剂量组 DAI 显著降低 ($P < 0.05$),低剂量组有降低趋势,但不明显 ($P > 0.05$);给药 14 d,霍山石斛高、中、低剂量组均显著降低 DAI 评分,与 SASP 组相当;表明霍山石斛多糖具有改善溃疡性结肠炎小鼠一般症状的作用。

2.2 霍山石斛多糖对溃疡性结肠炎小鼠细胞因子 IL-1、TNF- α 水平的影响 从表 2 可以看出,与正常组比较,模型组血清 IL-1、TNF- α 水平显著升高 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$),表明模型组小鼠产生了炎症反应;与模型组比较,霍山石斛多

糖高、中、低剂量组显著降低 UC 小鼠血清 IL-1 水平 ($P < 0.05$),霍山石斛多糖高、中剂量组显著降低 UC 小鼠血清 TNF- α 水平(与模型组比较 $P < 0.05$),降低效果与阳性药 SASP 相当,表明霍山石斛多糖具有明显的抗炎作用。



注:与正常组比较,### $P < 0.01$;与模型组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$

Note:Compared with the normal group,### $P < 0.01$; compared with the model group,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$

图 1 霍山石斛多糖对溃疡性结肠炎小鼠 DAI 的影响

Fig.1 The effect of *Dendrobium huoshanense* polysaccharide on DAI in mice with ulcerative colitis

表 2 霍山石斛多糖对溃疡性结肠炎小鼠血清 IL-1、TNF- α 的影响

Table 2 Effects of *Dendrobium huoshanense* polysaccharide on serum IL-1 and TNF- α in mice with ulcerative colitis

组别 Group	剂量 Dosage mg/kg	IL-1 pg/mL	TNF- α pg/mL
正常组 Normal group	—	73±12	48±7
模型组 Model group	—	140±22 ^{##}	92±14 [#]
DHP-H	200	86±16*	63±9*
DHP-M	100	97±18*	72±11*
DHP-L	50	108±19*	85±12
SASP	300	92±16*	68±8*

注:与正常组比较,# $P < 0.05$,## $P < 0.01$;与模型组比较,* $P < 0.05$

Note:Compared with the normal group,# $P < 0.05$,## $P < 0.01$; compared with the model group,* $P < 0.05$

2.3 结肠黏膜大体观察及组织病理学观察 从图 2 可以看出,正常组结肠黏膜完整,肉眼观察未见水肿及溃疡。模型组结肠黏膜损伤最严重,溃疡数目多且范围广,组织水肿明

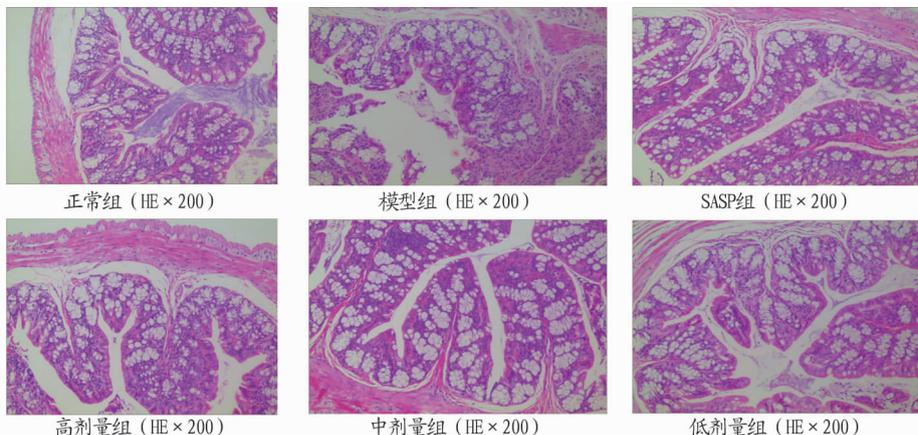


图 2 霍山石斛多糖对溃疡性结肠炎小鼠结肠病理组织学的影响

Fig.2 The effect of *Dendrobium huoshanense* polysaccharide on the histopathology of colon in mice with ulcerative colitis

- [18] 郭恢财,李琴,胡斌华,等.鄱阳湖水利枢纽工程建设对自然保护区候鸟栖息地的影响[J].环境科学与技术,2016,39(9):181-186.
- [19] 熊新农.鄱阳湖生态经济区建设的全局思考与区域规划[J].人民长江,2016,47(7):14-17.
- [20] 吴寒冰,胡煜晖,王恕立.鄱阳湖生态经济区主导产业发展的政策体系[J].企业经济,2013(10):25-29.
- [21] 罗洁,周明.鄱阳湖生态经济区产业低碳化研究[J].生态经济,2012(3):110-112.
- [22] 廖丽华,胡新富,赖芬.《天工开物》农学思想对鄱阳湖生态经济区建设的启示[J].农业考古,2012(6):116-118.
- [23] 贺晓英,贺缠生.北美五大湖保护管理对鄱阳湖发展之启示[J].生态学报,2008,28(12):6235-6242.
- [24] 李晋明,赵小敏,张军,等.鄱阳湖地区农业资源利用分区研究[J].江西农业大学学报,2011,33(6):1252-1256.
- [25] 王琦,张彩英,曹华斌,等.鄱阳湖重金属污染对畜牧业的危害及防治[J].黑龙江畜牧兽医,2015(1):76-79.
- [26] 周小云.多重文明交融与本土文化产业化发展:以鄱阳湖生态经济区为例[J].求实,2011(8):61-64.
- [27] 程宇昌.明清时期鄱阳湖区渔民文化初探:以鄱阳县古渔村管驿前为例[J].农业考古,2015(3):248-255.
- [28] 沈中印.环鄱阳湖城市群文化创意产业发展研究[J].城市发展研究,2012,19(1):77-80.
- [29] 杨婷.鄱阳湖生态经济区古村落的水文化探究[J].农业考古,2012(4):233-236.
- [30] 张朝霞,喻厚伟.构建鄱阳湖文化产业的思考[J].农业考古,2010(3):35-37.
- [31] 王俊奇.环鄱阳湖地区民俗体育文化与生态经济区建设研究[J].西安体育学院学报,2011,28(5):579-582.
- [32] 刘春年,杨德惠.基于企业架构的区域文化信息资源规划与管理研究:以鄱阳湖生态经济区为例[J].情报资料工作,2011(3):67-71.
- [33] 孙冬英.鄱阳湖生态经济区城市生态旅游开发研究[J].安徽农业科学,2011,39(36):22504-22505.
- [34] 余悦.鄱阳湖地域茶文化及江西文化对外交流战略[J].农业考古,2008(5):114-117.
- [35] 宋艳春,余敦.鄱阳湖生态经济区资源环境综合承载力评价[J].应用生态学报,2014,25(10):2975-2984.
- [36] 胡启武,尧波,刘影,等.鄱阳湖区人地关系转变及其驱动力分析[J].长江流域资源与环境,2010,19(6):628-633.
- [37] 吕添贵,李洪义,何方义,等.基于生态适宜度模型的城乡土地利用分区与优化布局:以鄱阳湖生态经济区为例[J].水土保持研究,2017,24(3):258-263.
- [38] 李洪义,何方义,李芳颖,等.鄱阳湖生态经济区城乡建设用地扩张驱动力研究[J].国土资源科技管理,2014,31(1):31-35.
- [39] 方玉杰,王金保,孙善磊,等.鄱阳湖生态经济区小流域土壤侵蚀模拟[J].环境科学与技术,2014,37(7):167-172.
- [40] 席海燕,王圣瑞,郑丙辉,等.流域人类活动对鄱阳湖生态安全演变的驱动[J].环境科学研究,2014,27(4):398-405.
- [41] 刘嗣明,方辉.长江中游城市群空间结构优化研究[J].学习与实践,2013(7):5-13.
- [42] 罗凤兰,钟芸.中部各省“十二五”城市发展规划比较分析[J].商业时代,2011(33):134-135.
- [43] 刘肖利,张智,贾玉连,等.鄱阳湖生态经济区城市体系空间结构分形特征分析[J].长江流域资源与环境,2012,21(S1):12-17.
- [44] 钟业喜,蒋梅鑫.鄱阳湖生态经济区交通可达性研究[J].江西师范大学学报(自然科学版),2010,34(1):107-111.
- [45] 何先应.农业科技人才的开发与利用:以江西鄱阳湖地区为例[J].江西社会科学,2012,32(12):70-73.
- [46] 杨志其.经济开发区技能型人才培养研究:以鄱阳湖生态经济区为例[J].企业经济,2012,31(12):168-170.
- [47] 程肇基.地方高校服务区域经济发展的探索与思考:以江西高校服务环鄱阳湖生态经济区为例[J].教师教育研究,2015,27(2):14-20.
- [48] 杨同华,许晨.鄱阳湖生态经济区建设背景下江西职教师资培养问题的探究[J].教育与职业,2011(5):55-56.
- [49] 冯弋江,武丹,苏玉慧.鄱阳湖生态经济区创新创业型人才培养体系构建分析[J].经济研究参考,2013(47):63-64.

(上接第 177 页)

显,有炎症细胞浸润,部分腺体被毁坏。各治疗组与模型组相比结肠黏膜光滑平整,能看到愈合的溃疡组织,无炎症细胞浸润,无明显溃疡及水肿,其中 SASP 组和霍山石斛高剂量组与正常组最为接近。

3 小结

有研究表明,遗传、环境、精神等因素会激发机体的免疫系统,促使免疫细胞释放 IL-1、TNF- α 等炎症细胞因子,损伤肠黏膜,引起结肠黏膜渗漏、水肿,甚至溃疡,引发黏液脓血便、体重减轻等^[11]。该研究结果发现,霍山石斛多糖可显著降低炎症细胞因子 IL-1、TNF- α 水平,减轻结肠黏膜损伤,促进溃疡愈合,降低了 DAI 评分,表明霍山石斛多糖具有通过抗炎治疗溃疡性结肠炎作用。

参考文献

- [1] 李博林,刘启泉,张晶,等.兰术四草化油解毒方对溃疡性结肠炎大鼠细胞因子水平的影响[J].中国老年学杂志,2016,36(24):6085-6087.
- [2] 解春静,庄彦华,栾雨芝.溃疡性结肠炎发病机制中免疫因素的研究进

- 展[J].细胞与分子免疫学杂志,2013,29(8):889-892.
- [3] 刘青梅,陈曦,邢乃欣,等.中医药治疗溃疡性结肠炎作用机制的研究进展[J].中国老年学杂志,2008,28(8):830-832.
- [4] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:2015 版一部[S].北京:中国医药科技出版社,2015.
- [5] 陈乃东,高峰,林欣,等.不同种源霍山石斛生物碱比较研究[J].中药材,2014,37(6):953-956.
- [6] LIN J, CHANG Y J, YANG W B, et al. The multifaceted effects of polysaccharides isolated from *Dendrobium huoshanense* on immune functions with the induction of interleukin-1 receptor antagonist (IL-1ra) in monocytes [J]. PLoS One, 2014, 9(4):1-2.
- [7] 司华阳,陈乃东,陈乃富.霍山石斛多糖的分离鉴定及药理活性研究进展[J].天然产物研究与开发,2016,28(3):467-470.
- [8] 陈乃东,陈乃富,王陶陶,等.组培霍山石斛、野生霍山石斛及河南石斛多糖及乙醇溶出物动态积累规律研究[J].天然产物研究与开发,2015,27(12):2090-2094.
- [9] 阿来依·买买卡比力,阿不来提·阿合买买提,木塔力甫·艾买提,等.肠炎相关肠癌小鼠模型及急性肠炎小鼠模型特征研究[J].新疆医科大学学报,2017,40(8):1069-1073.
- [10] OKAYASU I, HATAKEYAMA S, YAMADA M, et al. A novel method in the induction of reliable experimental acute chronic ulcerative colitis in mice [J]. Gastroenterology, 1990, 98(3):694-702.
- [11] 张瑞芳,陈朝晖,刘瀚沧,等.溃疡性结肠炎的发病机制及其治疗进展[J].生命的化学,2018,38(2):241-249.