

## 鱼腥草多糖对DSS诱导小鼠结肠炎的改善作用

吴 苹, 刘晋倩, 董 晶, 王 硕, 范宗强, 李 震, 王帅珂, 陈 芳

### Improving Effect of *Houttuynia Cordata* Polysaccharide on Dextran Sodium Sulfate-induced Ulcerative Colitis

WU Ping, LIU Jinqian, DONG Jing, WANG Shuo, FAN Zongqiang, LI Zhen, WANG Shuaike, and CHEN Fang

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2021030063>

## 您可能感兴趣的其他文章

### Articles you may be interested in

#### 正北芪多糖对结肠炎小鼠的抗炎作用研究

Anti-inflammatory Effect of Astragali Radix Polysaccharide on Mice with Ulcerative Colitis

食品工业科技. 2021, 42(16): 325-330

#### 苦丁茶粗多酚对DSS诱导C57BL/6J小鼠溃疡性结肠炎的预防作用

Preventive effects of Kuding tea crude polyphenols in DSS-induced C57BL/6J mice ulcerative colitis

食品工业科技. 2017(09): 357-362

#### 百合多糖的纯化及其对肠道菌群失调小鼠的调节作用

Purification of Lily Polysaccharide and Its Regulatory Effect on Intestinal Flora Dysregulation Mice

食品工业科技. 2020, 41(8): 295-300,306

#### 植物乳杆菌KLDS1.0386联合色氨酸对溃疡性结肠炎的影响

Effect of *Lactobacillus plantarum* KLDS 1.0386 Combined with Degrading Tryptophan on Ulcerative Colitis

食品工业科技. 2020, 41(12): 296-301

#### 鱼腥草多糖的研究进展

Research Progress of *Houttuynia cordata* Polysaccharide

食品工业科技. 2021, 42(9): 382-387

#### 小蓬草乙醇提取物对葡聚糖硫酸钠诱导的溃疡性结肠炎小鼠的抗炎作用

Anti-inflammatory Effects of Ethanol Extract from *Conyza canadensis* on DSS-induced Ulcerative Colitis in Mice Model

食品工业科技. 2021, 42(15): 314-320



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

吴苹, 刘晋倩, 董晶, 等. 鱼腥草多糖对 DSS 诱导小鼠结肠炎的改善作用 [J]. 食品工业科技, 2021, 42(23): 362–369. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021030063

WU Ping, LIU Jinqian, DONG Jing, et al. Improving Effect of *Houttuynia Cordata* Polysaccharide on Dextran Sodium Sulfate-induced Ulcerative Colitis[J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(23): 362–369. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021030063

# 鱼腥草多糖对 DSS 诱导小鼠结肠炎的改善作用

吴 苹<sup>1</sup>, 刘晋倩<sup>1</sup>, 董 晶<sup>1</sup>, 王 硕<sup>1</sup>, 范宗强<sup>1</sup>, 李 震<sup>1</sup>, 王帅珂<sup>2</sup>, 陈 芳<sup>1,\*</sup>

(1.聊城大学药学院, 山东聊城 252059;

2.聊城人民医院, 山东聊城 252059)

**摘 要: 目的:** 探究鱼腥草多糖 (*Houttuynia cordata* polysaccharides, HCP) 对葡聚糖硫酸钠诱导的溃疡性结肠炎的疗效及可能的作用机制。**方法:** 将雄性昆明小鼠随机分为 5 组 (n=10), 分别为空白组、模型组、鱼腥草低剂量组、鱼腥草高剂量组和柳氮磺胺吡啶 (SASP) 阳性药物对照组。采用 2.5% 葡聚糖硫酸钠 (Dextran sulfate sodium salt, DSS) 水溶液让小鼠自由饮用 9 d, 诱导溃疡性结肠炎 (Ulcerative colitis, UC) 模型。建模成功后, 空白组和模型组自由饮用蒸馏水, 鱼腥草多糖低、高剂量组分别灌胃 1、2 g/kg/d 鱼腥草多糖溶液, 阳性药物组灌胃柳氮磺胺吡啶 9 mg/kg/d, 连续干预 6 d。评估疾病活动指数 (Disease activity index, DAI), HE 染色观察结肠组织病理切片, ELISA 检测血清中炎症细胞因子肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )、 $\gamma$ -干扰素 (IFN- $\gamma$ )、白细胞介素-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ )、白细胞介素-6 (IL-6) 水平以及肝肾功能指标谷丙转氨酶 (ALT)、谷草转氨酶 (AST)、肌酐 (CR)、尿素氮 (BUN) 含量, 16S rRNA 系统测序技术检测分析小鼠肠道菌群的变化, 研究鱼腥草多糖对小鼠结肠炎的影响。**结果:** 与模型组相比, 鱼腥草多糖组能够显著的降低 DAI 评分 ( $P<0.05$ ), 减少结肠组织溃疡面积, 显著性降低 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6、IFN- $\gamma$  的水平 ( $P<0.01$ ) 和 ALT、AST、CR、BUN 的含量 ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ), 增加肠道菌群的丰富度。**结论:** 鱼腥草多糖可缓解溃疡性结肠炎小鼠的症状, 其作用效果可能与改善肠道黏膜环境、降低炎症因子水平和维持肠道菌群的稳态有关。

**关键词:** 鱼腥草多糖, 溃疡性结肠炎, 炎症因子, 肠道菌群

中图分类号: R285.5

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2021)23-0362-08

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2021030063



本文网刊:

## Improving Effect of *Houttuynia Cordata* Polysaccharide on Dextran Sodium Sulfate-induced Ulcerative Colitis

WU Ping<sup>1</sup>, LIU Jinqian<sup>1</sup>, DONG Jing<sup>1</sup>, WANG Shuo<sup>1</sup>, FAN Zongqiang<sup>1</sup>, LI Zhen<sup>1</sup>, WANG Shuaike<sup>2</sup>, CHEN Fang<sup>1,\*</sup>

(1.School of Pharmacy, Liaocheng University, Liaocheng 252059, China;

2.Liaocheng People's Hospital, Liaocheng 252059, China)

**Abstract: Objective:** To explore the effect of *Houttuynia cordata* polysaccharide (HCP) on dextran sulfate sodium salt (DSS) induced ulcerative colitis (UC) and its possible mechanism in mice. **Methods:** Fifty KM male mice were randomly divided into 5 groups (n=10): normal control group, model group, HCP low dose group (1 g/kg/day), HCP high dose group (2 g/kg/day), and Sulfasalazine positive group (SASP, 9 mg/kg/d). The UC model was induced with 2.5% DSS by water drinking for 9 days in mice. After successfully established the model in mice, the normal control group and the model group were free drinking distilled water, HCP in doses of 1 g/kg/day and 2 g/kg/day groups were given by filling to the stomach after DSS administration, and the positive group was treated with 9 mg/kg/d Sulfasalazine aqueous solution for 6 days. Assessing disease activity index (DAI) of mice in each group, observing colonic tissue structure by HE, detecting pro-

收稿日期: 2021-03-08

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31401799); 山东省抗体制药协同创新中心开放课题 (CIC-AD1816); 山东省自然科学基金项目 (ZR2020MC126)。

作者简介: 吴苹 (1988-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 微生物与生物制药, E-mail: wuping8816@163.com。

\* 通信作者: 陈芳 (1980-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 微生物与生物制药, E-mail: chenfang20045@163.com。

inflammatory cytokines tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), leukocyte-mediated interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) and interleukin-6 (IL-6) contents and detecting the liver and kidney biochemical indexes levels alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), creatinine (CR) and blood urea nitrogen (BUN) in serum by ELISA method, using 16S rRNA phylogenetic sequencing to detect the changes of intestinal flora in rat feces. **Results:** Compared with the model group, the DAI scores in both dosages of HCP were significantly decreased ( $P < 0.05$ ), the colonic tissue structures were dose-dependently improved. Also, HCP dose-dependently decreased the levels of pro-inflammatory cytokines (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IFN- $\gamma$ ) and the contents of liver and kidney biochemical indexes (ALT, AST, CR, BUN). In addition, the gut microbiota imbalance was modulated in HCP treated groups during colitis by increasing the gut microbial diversity. **Conclusion:** HCP may alleviate the symptoms of ulcerative colitis by improving the intestinal mucosal environment, reducing the level of inflammatory factors and maintaining the homeostasis of intestinal flora in mice.

**Key words:** *Houttuynia cordata* polysaccharide(HCP); ulcerative colitis; inflammatory factor; intestinal flora

鱼腥草属三白草科,是一种多年生草本植物<sup>[1]</sup>,在中医应用上历史悠久。鱼腥草含有多种化合物,包括多糖、脂肪酸、多酚、黄酮类化合物和甾醇类化合物等<sup>[2]</sup>,传统上鱼腥草的提取物可被用于预防或治疗炎症性疾病<sup>[3]</sup>。鱼腥草多糖是鱼腥草的主要活性成分之一,大量科学研究证明,鱼腥草多糖具有消炎抗菌、抗病毒、免疫调节和保护肠道等多种活性功能<sup>[2,4]</sup>。

溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 是一种炎症性肠病,主要在结肠的远端靠近直肠的部位发病,通过在肠黏膜和黏膜下层形成溃疡面而产生连续性炎症反应<sup>[5]</sup>。这种病的临床症状主要表现为严重的腹痛、腹泻和便血。自 21 世纪以来,该病的发病率在全球范围内不断呈上升趋势<sup>[6]</sup>。溃疡性结肠炎的发病机制目前还不清楚,研究表明其发病病因与遗传、环境、免疫<sup>[7-8]</sup>以及肠道菌群有关。目前,该病主要以抗炎和免疫调节为主,以生物制剂治疗为辅。但药物治疗在缓解疾病症状的同时常伴有许多副作用,而天然药物治疗结肠炎能有效缓解副作用。因此,从天然资源中开发创新有效的药物对减少副作用和改善治疗效果尤为重要。

目前,有文献报道天然多糖对溃疡性结肠炎有显著的缓解作用<sup>[9-11]</sup>,例如有研究表明<sup>[12]</sup>鱼腥草粗多糖能够改善 DSS 诱导的结肠炎小鼠腹泻和粪便粘稠、不定型等结肠炎症状,但是鱼腥草多糖对该病的作用机制尚不清楚。本课题组前期探索了鱼腥草粗多糖对结肠炎功能恢复的可行性<sup>[12]</sup>,现通过对结肠炎小鼠灌胃鱼腥草多糖,探索其对结肠炎的治疗效果及作用机制,为开发具有抗溃疡性结肠炎的功能性食品或保健品提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

鱼腥草多糖(含量 98%) 杨凌慈缘生物技术有限公司;葡聚糖硫酸钠盐(MW36000-50000) 上海翊圣生物科技有限公司;KM 小鼠,SPF 级,实验动物许可证号:SCXK(鲁)20190003,体重 16~20 g,雄性 济南朋悦实验动物繁育有限公司。小鼠在动物房正常饲养,适应环境 7 d,自由饮食普通饲料,19~23 °C,光暗周期 12/12 h;TNF- $\alpha$  试剂盒、IFN- $\gamma$  试剂盒、IL-

1 $\beta$  试剂盒、IL-6 试剂盒 武汉云克隆科技股份有限公司;肌酐(CR)试剂盒、血尿素氮(BUN)试剂盒、丙氨酸氨基转移酶(ALT)试剂盒、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)试剂盒 南京建成生物工程研究所;苏木精伊红(HE)染色试剂盒 杭州碧云天公司;乙醇分析纯,国药集团化学试剂有限公司;其他试剂均为国产分析纯。

SF-400A 型电子称 奥豪斯仪器(上海)有限公司;DP-80 正置显微镜 日本 Olympus 公司;8S-1 型磁力搅拌器 江苏省金坛市金城国胜实验仪器厂;MY-10 手持式匀浆仪 上海净信实业发展有限公司;HFU 40400BA 型超低温冰箱 美国 Thermo 公司;5425R 型低温离心机 德国 eppendorf 公司;Synergy H1 酶标仪 美国 BIOTEK 公司。

### 1.2 实验方法

1.2.1 溃疡性结肠炎模型的建立以及治疗方案 适应性喂养一周后,按平均体重无显著性差异分为 5 组,每组 10 只,分别为空白组 Control、模型组 DSS、多糖低剂量组 DSS+HCP(L)、多糖高剂量组 DSS+HCP(H)和阳性药物组 DSS+SASP。除空白组外,其余 4 组自由连续饮用 2.5% 的 DSS 溶液 9 d,然后再给予蒸馏水 3 d,建立小鼠溃疡性结肠炎模型<sup>[13]</sup>。从第 13 d 开始,空白组和 DSS 组分别给予蒸馏水溶液,阳性药物组给予 SASP 9 mg/kg/d 灌胃,经过本课题组前期剂量初筛确定,鱼腥草多糖组分别给予低剂量 1 g/kg/d 和高剂量 2 g/kg/d 灌胃,共饲养 6 d。饲养过程中每 3 d 记录体重和疾病活动指数。第 19 d,在小鼠空腹 12 h 后用戊巴比妥钠麻醉后处死,对小鼠进行眼球取血,在 4 °C 下 3000 r/min 离心 10 min 后取上清,在-80 °C 保存用于生化分析。同时收集小鼠的结肠组织,测量结肠长度后一部分置于 4% 多聚甲醛溶液中固定,一部分保存于-80 °C 进行生化分析。最后收集小鼠解剖前 24 h 的新鲜粪便,用于肠道菌群的检测。

1.2.2 疾病活动指数 (DAI) 的评估 参考 LI 等<sup>[14]</sup>的方法,对造模后小鼠的体重、粪便黏度和便血的情况进行评分(表 1),每 3 d 记录一次疾病活动指数 (DAI) 评分,以评估结肠炎的严重程度,评分的每一

项指数均按 0~4 分进行评分, 0 分表示无疾病症状, 4 分表示严重疾病症状。具体标准见表 1。

表 1 疾病活动指数(DAI)评分标准

Table 1 Standard of mice disease activity index (DAI) score

体重下降(%)	便血情况	大便性状	评分值(分)
<1	阴性	正常	0
≥1~5	—	—	1
≥5~10	阳性, 但无肉眼可见便血	稀软	2
≥10~15	—	—	3
≥15	肉眼可见便血	水样便	4

注: 便血情况采用隐血试剂盒检测; “—”表示在上下指标之间者。

1.2.3 小鼠结肠长度及结肠组织病理学观察 用分度值为 1 mm 的直尺测量小鼠从盲肠到肛门的结肠长度; 采用苏木精和伊红 (HE) 染色法分析结肠组织病理变化。对取出的小鼠结肠组织用 4% 多聚甲醛溶液固定 24 h 后进行乙醇脱水, 再经乙醇和二甲苯脱水, 用石蜡包埋制成蜡块。将蜡块用切片机制备 5 μm 切片并用 HE 法染色, 在光学显微镜下观察结肠组织的病理变化。

1.2.4 炎症因子、肝肾功指标测定 小鼠进行眼球取血, 在 4 °C 下 3000 r/min 离心 10 min 后取上清液, 然后将上清液在 -80 °C 下保存用于生化分析。对收集的血清使用酶联免疫吸附法进行炎症因子、肝肾功指标测定。根据酶联免疫吸附 (ELISA) 试剂盒说明书操作步骤, 检测各组小鼠血清中的炎症细胞因子 (TNF-α、IFN-γ、IL-1β 和 IL-6) 水平, 同时采用试剂盒检测肝肾功指标 (ALT、AST、CR 和 BUN)。

1.2.5 肠道菌群 16S rRNA 测序及生物信息学分析 结肠炎是由肠道共生菌群或其代谢物侵入肠道屏障, 驱动免疫细胞的激活和分化而引发的<sup>[15]</sup>。根据文献报道的 16S 核糖体 RNA 检测分析<sup>[16-17]</sup>, 收集的小鼠粪便由 NovoMagic 有限公司进行 16S rRNA 分析, 以便确定 HCP 对 DSS 诱导的小鼠溃疡性结肠炎的影响。

### 1.3 统计分析

数据用均数±标准差表示。所有数据均采用 IBM spss 24 统计软件进行分析。数据比较采用单因素方差分析和卡方检验。P<0.05 为有统计学意义。图形分析采用 Graph Pad Prism 8.0。

## 2 结果与分析

### 2.1 鱼腥草多糖对结肠炎小鼠体重和 DAI 的影响

在饮用 2.5% DSS 溶液 9 d 后, 与空白组相比, 模型组小鼠出现了体重下降、半稀便、大便隐血以及肛门便血的症状, 这些现象表明, 小鼠结肠炎模型造模成功。如图 1-A 所示, 空白组小鼠的体重一直处于上升趋势, 模型组在第 6 d 出现体重下降。经鱼腥草多糖和阳性药物干预后, 小鼠体重逐渐升高。实验第 15 d, 与模型组相比, 鱼腥草多糖高剂量组和阳性

药物组小鼠体重极显著增加(P<0.01)。实验第 18 d, 与模型组相比, 鱼腥草多糖低、高剂量组和阳性药物组体重均增加, 差异极显著(P<0.01)。其中, 多糖低剂量、高剂量两组的体重无显著性差异; 阳性药物组和多糖低剂量组差异显著(P<0.05), 与多糖高剂量组无显著性差异。这表明鱼腥草多糖可以改善小鼠结肠炎所导致的体重下降, 且各剂量组间的效果呈剂量依赖性。

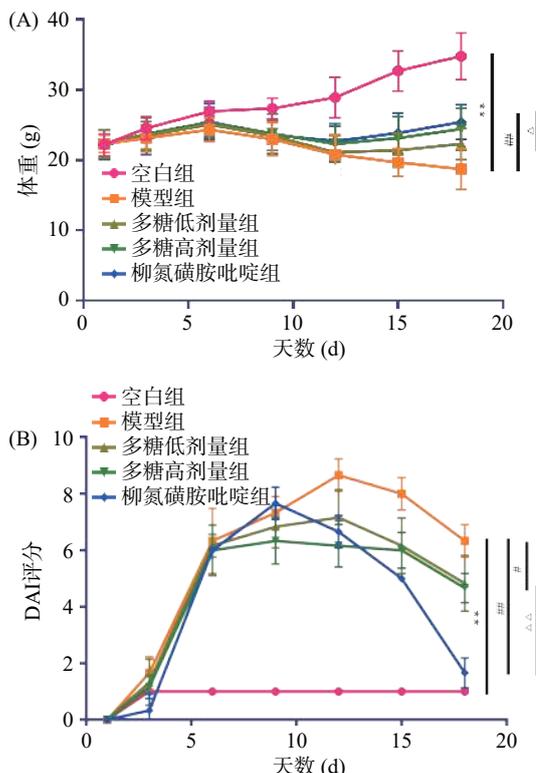


图 1 鱼腥草多糖对 DSS 结肠炎小鼠体重和 DAI 的影响  
Fig.1 Effect of HCP on the body weight and DAI of DSS induced ulcerative colitis in mice

注: 所有数据均以平均值±SD 表示 (n=10)。空白组 vs 模型组: \*P<0.05, \*\*P<0.01; 模型组 vs 所有剂量治疗组: #P<0.05, ##P<0.01; 阳性药物组 vs 多糖治疗组: ΔP<0.05, ΔΔP<0.01; 图 2、图 4~图 5 同。

DAI 评分对评估结肠炎的严重程度具有指导意义<sup>[14,18]</sup>, 评分反映了小鼠体重变化、粪便稀软程度以及粪便出血情况的总和, 分值越高说明结肠炎越严重。从图 1-B 可以看到, 造模期间模型组 DAI 评分明显高于空白组(P<0.01), 经鱼腥草多糖和阳性药物干预后, 鱼腥草多糖组和阳性药物组 DAI 评分明显下降。比较最后一天 DAI 时发现, 与空白组相比, 模型组评分明显升高, 差异极显著(P<0.01)。与模型组相比, 多糖组和阳性对照组 DAI 评分明显降低, 差异具有统计学意义(P<0.05, P<0.01)。这说明鱼腥草多糖能缓解结肠炎小鼠体重下降, 减轻腹泻和便血现象。

### 2.2 鱼腥草多糖对结肠炎小鼠结肠长度的影响

溃疡性结肠炎会导致小鼠肠壁增厚, 结肠长度缩短, 因此结肠长度也是评价溃疡性结肠炎的一个间接指标<sup>[19]</sup>。本次实验结果表明, 空白组的平均结肠长

度最长,为(11.65±0.59)cm,与空白组相比,模型组结肠长度明显收缩,平均长度为(6.48±0.32)cm,具有极显著性差异( $P<0.01$ ,图 2A~B)。与模型组相比,鱼腥草多糖低剂量和高剂量组的结肠长度显著增加,平均长度分别为(8.45±0.27)cm 和(9.51±0.34)cm;SASP 组为(9.77±0.53)cm。以上数据表明,鱼腥草多糖给药处理能改善溃疡性结肠炎小鼠的病理状况。

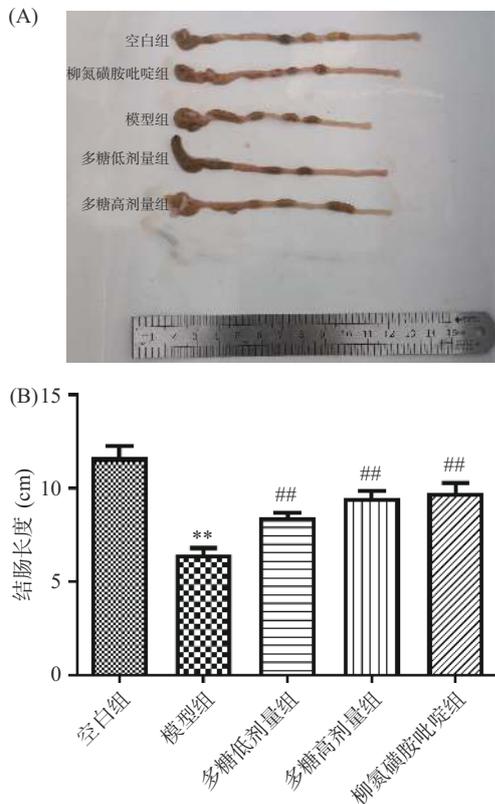


图 2 鱼腥草多糖对 DSS 结肠炎小鼠结肠长度的影响  
Fig.2 Effect of HCP on the colonic length of DSS induced ulcerative colitis in mice

### 2.3 结肠组织病理学分析

通过 HE 染色法观察分析各组小鼠结肠组织病理的变化。如图 3 所示,空白组小鼠结肠组织的黏膜上皮结构完整清晰,腺体排列整齐,无炎症细胞浸润。模型组小鼠的结肠组织存在隐窝变形、杯状细胞丢失、炎症细胞浸润和严重的黏膜损伤。鱼腥草多糖低剂量组有少量的溃疡面和炎症细胞浸润,与模型组相比黏膜病变有一定程度的减轻;多糖高剂量组结肠组织结构较完整,溃疡面不明显,但仍存在轻微炎症细胞浸润现象;阳性药物组溃疡面不明显,几乎无炎症细胞浸润。这说明鱼腥草多糖减轻了 DSS 所致的黏膜病变,保护了结肠组织。

### 2.4 鱼腥草多糖对结肠炎小鼠炎症因子的影响

研究表明,结肠炎与促炎细胞因子(包括  $TNF-\alpha$ 、 $IL-1\beta$ 、 $IL-6$  和  $IFN-\gamma$ )的上调和抗炎细胞因子( $IL-4$ 、 $IL-10$ )的下调有关<sup>[5]</sup>。结果如图 4 所示,与空白组相比,模型组小鼠血清中促炎因子  $IFN-\gamma$ 、 $IL-1\beta$ 、 $IL-6$  和  $TNF-\alpha$  水平显著增加,差异极显著 ( $P<0.01$ )。与模型组相比,鱼腥草多糖低、高剂量组以及阳性药物组小鼠血清中  $IFN-\gamma$ 、 $IL-1\beta$ 、 $IL-6$  和  $TNF-\alpha$  的水平明显降低 ( $P<0.01$ ),给药组间差异不明显。结果表明 DSS 组的小鼠血清  $IFN-\gamma$ 、 $IL-1\beta$ 、 $IL-6$  和  $TNF-\alpha$  水平明显增加,而鱼腥草多糖一定程度地下调了促炎因子的含量,说明鱼腥草多糖对 DSS 诱导的溃疡性结肠炎有明显的抗炎作用。

### 2.5 鱼腥草多糖对结肠炎小鼠肝肾功能指标的影响

在小鼠肝肾功能相关血清生化指标中,血清中谷草转氨酶 (AST)、谷丙转氨酶 (ALT) 活性反映肝细胞损伤程度<sup>[20]</sup>,肝细胞损伤越严重,血清中 AST、ALT 的水平越高。如图 5A~B 所示,与空白组相比,模型组 ALT、AST 水平明显升高 ( $P<0.01$ )。相反,

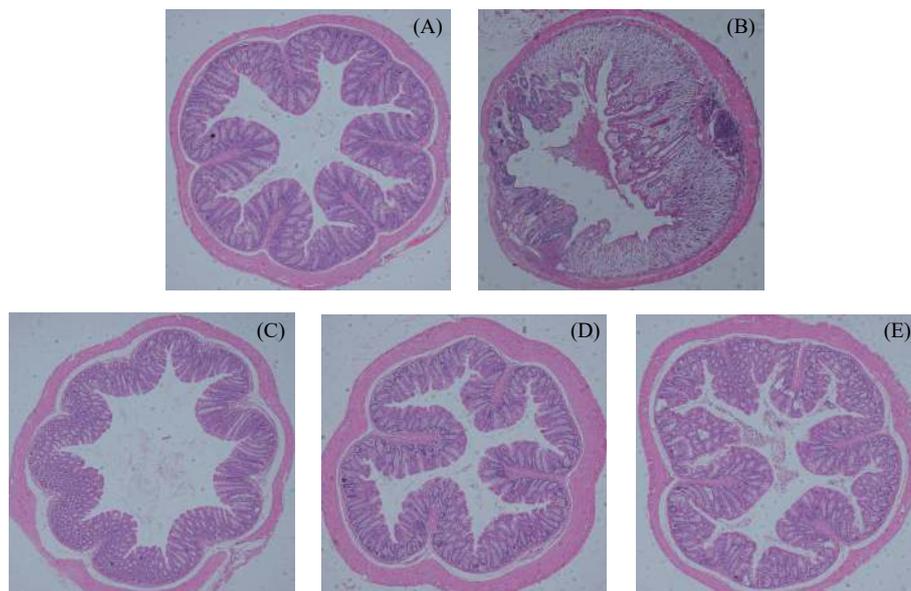


图 3 DSS 结肠炎小鼠结肠组织切片 HE 染色 (4X)

Fig.3 HE staining of intestinal tissue sections of DSS induced ulcerative colitis in mice (4X)

注: (A) 空白组; (B) 模型组; (C) 鱼腥草多糖低剂量组; (D) 鱼腥草多糖高剂量组; (E) 柳氮磺胺吡啶组。

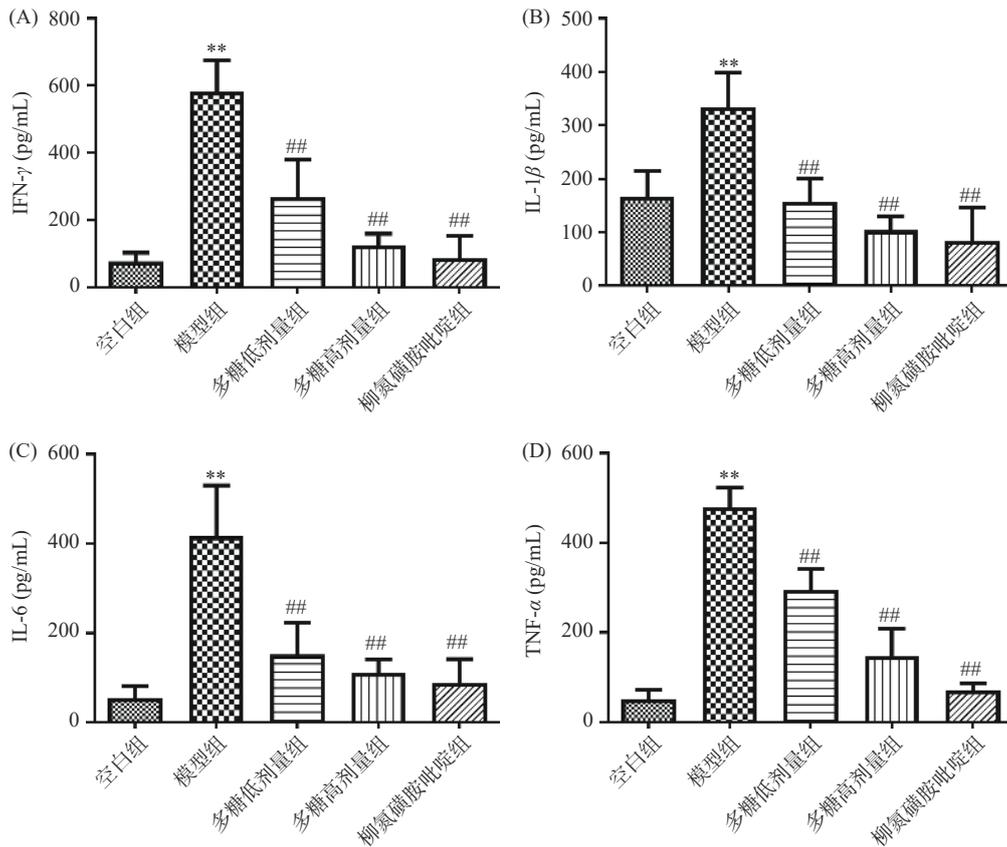


图 4 鱼腥草多糖对 DSS 结肠炎小鼠炎症细胞因子的影响

Fig.4 Effect of HCP on the inflammatory factors of DSS induced ulcerative colitis in mice

注: (A)IFN- $\gamma$  含量; (B)IL-1 $\beta$  含量; (C)IL-6 含量; (D)TNF- $\alpha$  含量。

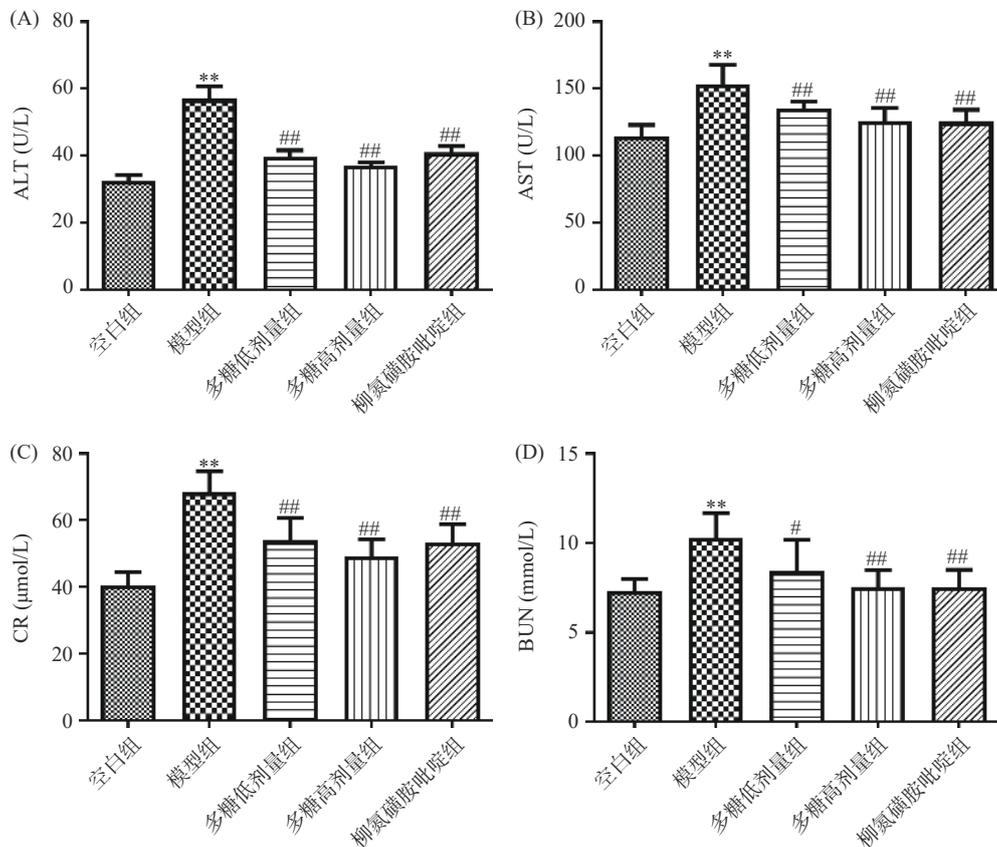


图 5 鱼腥草多糖对 DSS 结肠炎小鼠肝肾生化指标的影响

Fig.5 Effect of HCP on the liver and kidney biochemical indexes of DSS induced ulcerative colitis in mice

注: (A)ALT 含量; (B)AST 含量; (C)CR 含量; (D)BUN 含量。

与模型组相比,多糖低剂量和多糖高剂量组显著降低了小鼠血清中 AST 和 ALT 的水平 ( $P<0.01$ )。这说明多糖处理具有保护肝脏受损的作用。血清肌酐 (CR)、血尿素氮 (BUN) 均通过肾脏进行代谢,其浓度越高表明肾脏损伤越严重<sup>[21]</sup>。如图 5C~D 所示,与空白组相比,模型组血清中 CR、BUN 的水平均明显升高,差异极显著 ( $P<0.01$ )。给药干预后,与模型组相比,鱼腥草多糖组及阳性药物组中 CR 水平均极显著降低 ( $P<0.01$ ),并且给药组间差异不明显;如图 5D 所示,与模型组相比,鱼腥草多糖高剂量组和阳性药物组的 BUN 水平均出现极显著下降 ( $P<0.01$ ),多糖低剂量组则显著下降 ( $P<0.05$ ),多糖的治疗效果呈现一定的剂量依赖性。以上结果表明,模型组结肠炎小鼠 ALT、AST、CR 和 BUN 的水平明显增加,说明小鼠的肝肾产生了一定程度的损伤,而用鱼腥草多糖干预后,小鼠体内 ALT、AST、CR 和 BUN 水平明显减少,说明鱼腥草多糖在保护肝肾功能方面具有一定的作用。

### 2.6 鱼腥草多糖对结肠炎小鼠肠道菌群的影响

本研究采用稀释性曲线 (Rarefaction curve) 来比较测序数据量不同的样本中物种的丰富度,在图 6A 中,物种的稀释性曲线最后趋于平滑,说明该样本的测序数据量是合理的<sup>[22]</sup>。与空白组相比,模型组的物种丰富度较低;与模型组相比,鱼腥草多糖低剂量和高剂量组的物种丰富度升高,并趋向于空白组,这说明鱼腥草多糖能提高结肠炎小鼠的物种丰富度。研

究中采用丰度等级图 (Rank-abundance) 曲线来比较物种丰富度和物种均匀度。在图 6B 中,与空白组比较,模型组肠道菌群物种丰度降低,与模型组比较,鱼腥草多糖低剂量和高剂量组菌群物种丰度升高。以上结果表明,鱼腥草多糖具有保护肠道菌群的潜在作用。

同时,本研究采用主坐标分析 (Principal coordinate analysis, PCoA) 检测样本间菌群丰度整体差异。PCoA 是对多维的微生物数据进行降维,从而在不同的角度表征这两个样本间的群落差异<sup>[23]</sup>。各组样本 OUT 丰度的 PCoA 分析结果显示,各组间区分明显,表明模型组及药物干预组等可影响肠道菌群的丰度及结构。图 6C 中,与空白组相比,模型组与阳性药物组分散较远,表明模型组和阳性药物组菌群结构较空白组变化大,而鱼腥草多糖低剂量和高剂量组则向空白组靠拢,说明鱼腥草多糖可促进肠道菌群丰度和结构的恢复。

DSS 处理后,小鼠肠道屏障受损,肠道环境改变,导致肠道菌群组成发生改变<sup>[24]</sup>。有研究报道变形菌门 (Proteobacteria)<sup>[25]</sup> 和拟杆菌门 (Bacteroidetes)<sup>[26]</sup> 可促进肠道产生过量的促炎细胞因子,二者是结肠炎主要的致病菌门。如图 6D 所示,从门水平主要的 10 个菌门可以看出,占比较多的菌门有厚壁菌门 (Firmicutes)、拟杆菌门和变形菌门。与空白组相比,模型组的厚壁菌门的相对丰度显著降低,而拟杆菌门和变形菌门的相对丰度显著升高。与模型组相比,鱼腥草多糖处理组中变形菌门和拟杆菌门的相对丰度

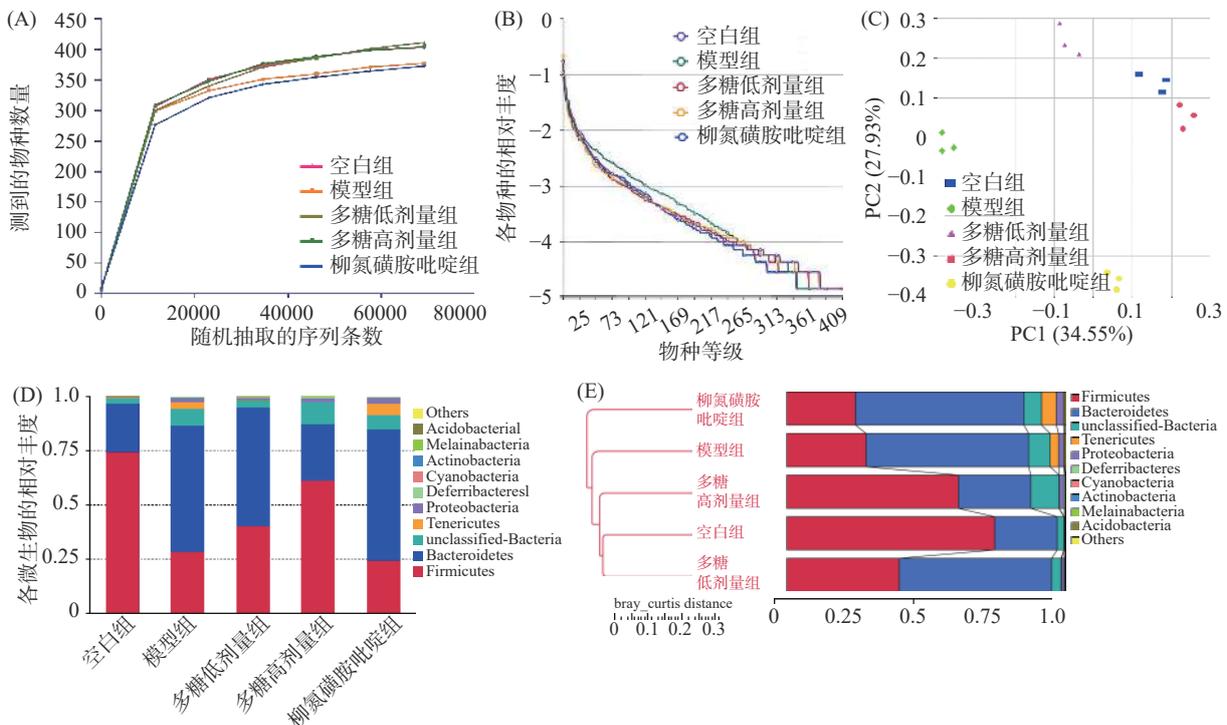


图 6 鱼腥草多糖对 DSS 结肠炎小鼠肠道菌群的影响

Fig.6 Effect of HCP on the intestinal microbial distribution of DSS induced ulcerative colitis in mice

注: (A) 稀释性曲线图; (B) 丰度等级图; (C) 小鼠肠道菌群 PCoA 图; (D) 各组小鼠肠道菌群门分类水平物种柱状图; (E) 各组小鼠门水平样品聚类树与柱状图组合分析图。

显著降低,而厚壁菌门水平明显升高。值得一提的是,与模型组相比,阳性药物组的厚壁菌门和拟杆菌门的水平没有明显变化,这可能是由于柳氮磺胺吡啶副作用的表现,柳氮磺胺吡啶会被结肠内部细菌的偶氮还原酶分解产生磺胺吡啶,长时间服用产生过量的磺胺吡啶可能破坏了肠道内环境,导致有害菌拟杆菌门的水平升高。这说明鱼腥草多糖处理组中促炎因子水平的降低也可能与肠道中变形菌门和拟杆菌门的降低有关。

Bray-Curtis 距离是反映两个群落之间差异性的常用指标。本研究基于物种信息的 Bray-Curtis 距离分析,用来比较各样品间基于群落组成的层次聚类,由图 6E 可见,空白组和鱼腥草多糖低剂量组的距离最近,其次是多糖高剂量组。这表明空白组和鱼腥草多糖组之间的群落组成的层次聚类差异性较小。而空白组和模型组的 Bray-Curtis 距离较远,表明这两组样品间的群落组成的层次聚类差异较大。

### 3 结论

溃疡性结肠炎的病因和发病机制非常复杂,其中肠道免疫功能失衡是导致结肠炎的重要因素,主要表现为促炎因子和抗炎因子水平不平衡<sup>[27]</sup>。肠道菌群的多样性减少以及结构失调也会破坏肠道稳态,加重肠道的炎症反应<sup>[28]</sup>。

本研究表明,鱼腥草多糖不仅减轻了溃疡性结肠炎小鼠的体重减轻、腹泻便血及肠道损伤等病理症状,而且明显减轻了小鼠因饮用 DSS 而导致的肝肾损伤。促炎细胞因子参与调控结肠炎的发生和发展<sup>[29-30]</sup>,病人一旦发病往往伴随着促炎细胞因子水平的升高,因此下调促炎因子水平是治疗该病的一种策略。本研究发现鱼腥草多糖能抑制巨噬细胞分泌 TNF- $\alpha$  等炎症因子,降低促炎细胞因子的水平,这与临床上使用 TNF- $\alpha$  抑制剂改善急性结肠炎<sup>[31]</sup> 具有相似性。这说明鱼腥草多糖降低小鼠 DAI 以及缓解组织病理损伤可能与调节炎症因子水平相关。

鱼腥草多糖改善结肠炎的作用还可能与其影响小鼠的肠道菌群有关。变形菌门<sup>[25]</sup> 和拟杆菌门<sup>[26]</sup> 参与调控结肠炎的发病,可通过促进产生过量的促炎因子增加肠道的炎症反应。鱼腥草多糖能显著降低两者的相对丰度,调节肠道菌群紊乱,维持微生物稳态,这可能也是减轻炎症的一个作用方面。此外,鱼腥草多糖还可能影响了肠道菌群代谢产物的含量,如短链脂肪酸,通过代谢产物发挥抗炎保护作用,目前本课题组正开展相关的工作,以期进一步阐明鱼腥草多糖对结肠炎的作用机制。

综上所述,鱼腥草多糖对溃疡性结肠炎的保护作用与炎症因子水平和肠道菌群结构密切相关。本研究揭示了鱼腥草多糖改善肠道损伤、调节细胞因子水平、恢复肠道菌群结构的可能机制,可为开发预防结肠炎的功能性食品或保健品提供理论和实验依据。

### 参考文献

- [1] 吴莘,陈芳.鱼腥草提取物抗炎及抗氧化作用研究进展概述[J].生物学教学,2020,45(10):4-6. [WU P, CHEN F. Research progress on anti-inflammatory and antioxidant effects of *Houttuynia cordata* extracts[J]. Biology Teaching, 2020, 45(10): 4-6.]
- [2] YANG L, JIANG J G. Bioactive components and functional properties of *Houttuynia cordata* and its applications[J]. Pharmaceutical Biology, 2009, 47(12): 1154-1161.
- [3] 宋也好,游慧婷,姚于飞,等.鱼腥草多糖对脂多糖诱导大鼠慢性炎症肺损伤的保护作用[J].现代食品科技,2020(6):1-8. [SONG Y H, YOU H T, YAO Y F, et al. Protective effect of *Houttuynia cordata* polysaccharide on LPS induced chronic inflammatory lung injury in rats[J]. Modern Food Science and Technology, 2020(6): 1-8.]
- [4] XU Y Y, ZHANG Y Y, OU Y Y, et al. *Houttuynia cordata* Thunb. polysaccharides ameliorates lipopolysaccharide-induced acute lung injury in mice[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2015, 173: 81-90.
- [5] KANWAL S, JOSEPH T P, ALIYA S, et al. Attenuation of DSS induced colitis by *Dictyophora indusiata* polysaccharide (DIP) via modulation of gut microbiota and inflammatory related signaling pathways[J]. Journal of Functional Foods, 2020: 64.
- [6] UNGARO R, MEHANDRU S, ALLEN P B, et al. Ulcerative colitis[J]. Lancet, 2017, 389(10080): 1756-1770.
- [7] CETINKAYA A, BULBULOGLU E, KURUTAS E B, et al. Beneficial effects of N-acetylcysteine on acetic acid-induced colitis in rats[J]. Tohoku Journal of Experimental Medicine, 2005, 206(2): 131-139.
- [8] HILL D A, HOFFMANN C, ABT M C, et al. Metagenomic analyses reveal antibiotic-induced temporal and spatial changes in intestinal microbiota with associated alterations in immune cell homeostasis[J]. Mucosal Immunology, 2010, 3(2): 148-158.
- [9] WANG X, WANG X, JIANG H, et al. Marine polysaccharides attenuate metabolic syndrome by fermentation products and altering gut microbiota: An overview[J]. Carbohydrate Polymers, 2018(195): 601-612.
- [10] CAI Y, LIU W, LIN Y X, et al. Compound polysaccharides ameliorate experimental colitis by modulating gut microbiota composition and function[J]. Journal of Gastroenterology and Hepatology, 2018, 34(9): 1554-1562.
- [11] LARSEN N, DE S C B, KRYCH L, et al. Effect of potato fiber on survival of *Lactobacillus* species at simulated gastric conditions and composition of the gut microbiota *in vitro*[J]. Food Research International, 2019, 125: 108644.
- [12] 王帅珂,吕英杰,张月鹏,等.蒲公英和鱼腥草粗多糖对小鼠 DSS 诱导性肠炎的功能恢复研究[J].聊城大学学报(自然科学版),2020,33(1):79-84. [WANG S K, LV Y J, ZHANG Y P, et al. Study on healing function of Dandelion and *Houttuynia cordata* crude polysaccharide in mice induced with DSS[J]. Journal of Liaocheng University(Nat Sci), 2020, 33(1): 79-84.]
- [13] WIRTZ S, POPP V, KINDERMANN M, et al. Chemically induced mouse models of acute and chronic intestinal inflammation[J]. Nature Protocols, 2017, 12, 1295-1309.

- [ 14 ] LI X, TAN J, ZHANG F, et al. *H. pylori* infection alleviates acute and chronic colitis with the expansion of regulatory B Cells in mice[J]. *Inflammation*, 2019, 42(5): 1611–1621.
- [ 15 ] WEI Z A, CHENG C A, QIN H A, et al. Flos *Abelmoschus manihot* extract attenuates DSS-induced colitis by regulating gut microbiota and Th17/Treg balance[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2019, 117: 109162.
- [ 16 ] DARNAUD M, DOS S A, GONZALEZ P, et al. Enteric delivery of regenerating family member 3 alpha alters the intestinal microbiota and controls inflammation in mice with colitis[J]. *Gastroenterology*, 2018, 154(4): 1009–1023e1014.
- [ 17 ] LI J, LI R, LI N, et al. Mechanism of antidiabetic and synergistic effects of ginseng polysaccharide and ginsenoside Rb1 on diabetic rat model[J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2018, 158: 451–460.
- [ 18 ] TIAN Z, LIU J, LIAO M, et al. Beneficial effects of fecal microbiota transplantation on ulcerative colitis in mice[J]. *Digestive Diseases & Sciences*, 2016, 61(8): 2262–2271.
- [ 19 ] 钟敏, 李昕宇, 郝佳美, 等. 正北芪多糖对结肠炎小鼠的抗炎作用研究[J]. *食品工业科技*, 2021, 42(16): 325–330. [ ZHONG M, LI X Y, HAO J M, et al. Anti-inflammatory effect of astragalus polysaccharide from *Astragali Radix* on mice with ulcerative colitis[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2021, 42(16): 325–330. ]
- [ 20 ] DOMITROVIC R, RASHED K, CVIJANOVIC O, et al. Myricitrin exhibits antioxidant, anti-inflammatory and antifibrotic activity in carbon tetrachloride-intoxicated mice[J]. *Chemico-biological Interactions*, 2015, 230: 21–29.
- [ 21 ] RASKOVIC A, PAVLOVIC N, KVRGIC M, et al. Effects of pharmaceutical formulations containing thyme on carbon tetrachloride-induced liver injury in rats[J]. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 2015, 15(1): 1–11.
- [ 22 ] LI M Y, LUO H J, WU X, et al. Anti-inflammatory effects of Huangqin decoction on dextran sulfate sodium-induced ulcerative colitis in mice through regulation of the gut microbiota and suppression of the Ras-PI3K-Akt-HIF-1alpha and NF-kappaB pathways[J]. *Front Pharmacol*, 2019, 10: 1552–1552.
- [ 23 ] 陈融, 刘博, 陈凯, 等. 不同浓度的葛根多糖对小鼠肠道菌群的影响[J]. *中国畜牧杂志*, 2021, 57(5): 226–231, 236. [ CHEN R, LIU B, CHEN K, et al. Effects of different concentrations of *Pueraria* polysaccharide on intestinal microflora of mice[J]. *Chinese Journal of Animal Science*, 2021, 57(5): 226–231, 236. ]
- [ 24 ] ALBA R N, FRANCESCA A, JOSÉ G M, et al. Intestinal anti-inflammatory effect of the probiotic *Saccharomyces boulardii* in DSS-induced colitis in mice: Impact on microRNAs expression and gut microbiota composition[J]. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 2018, 61: S0955–28631830533.
- [ 25 ] POWELL N, WALKER A W, STOLARCZYK E, et al. The transcription factor T-bet regulates intestinal inflammation mediated by interleukin-7 receptor+ innate lymphoid cells[J]. *Immunity*, 2012, 37(4): 674–684.
- [ 26 ] CHEN L A, YU H, ALBESIANO E, et al. A sensitive stool diagnostic assay to study enterotoxigenic *bacteroides fragilis* in inflammatory bowel disease and colitis-associated cancer[J]. *Gastroenterology*, 2011, 140(5): S360–S360.
- [ 27 ] 曹晖, 吴东升, 张彧, 等. 基于高通量测序技术研究芍药汤对溃疡性结肠炎大鼠肠道菌群的影响[J]. *中国中医药信息杂志*, 2021, 28(1): 61–66. [ CAO H, WU D S, ZHANG Y, et al. Effects of Shaoyao decoction on intestinal flora of ulcerative colitis rats based on high-throughput sequencing technology[J]. *Chinese Journal of Information on TCM*, 2021, 28(1): 61–66. ]
- [ 28 ] KOZIK A J, NAKATSU C H, CHUN H, et al. Comparison of the fecal, cecal, and mucus microbiome in male and female mice after TNBS-induced colitis[J]. *PLoS ONE*, 2019, 14(11): e0225079.
- [ 29 ] SUN B, YUAN J, WANG S, et al. Qingchang suppository ameliorates colonic vascular permeability in dextran-sulfate-sodium-induced colitis[J]. *Front Pharmacol*, 2018, 9: 1235.
- [ 30 ] TIAN M, MA P, ZHANG Y, et al. Ginsenoside Rk3 alleviated DSS-induced ulcerative colitis by protecting colon barrier and inhibiting NLRP3 inflammasome pathway[J]. *International Immunopharmacology*, 2020, 85: 106645.
- [ 31 ] YING L Q, ERI R D, HELEN F J, et al. Fucooidan extracts ameliorate acute colitis[J]. *PLoS ONE*, 2015, 10(6): e0128453.