

溃疡性结肠炎模型小鼠黏膜损伤的研究

谭林燕 符秀娟* 胡伟利 张晓蕾 傅琪彦

海南职业技术学院

DOI:10.12238/bmtr.v5i6.6632

[摘要] 目的: 分析溃疡性结肠炎模型小鼠黏膜损伤情况。方法: 选择2022年3月-10月为研究时间段, 以健康雄性C57BL/6小鼠36只作为研究对象, 随机分成两组, 即正常对照组(对照组)、葡聚糖硫酸钠诱导组(DSS组), 各18只, DSS组连续1周饮用3%DSS水建立DSS模型, 分析小鼠血液检验结果、肠道黏膜情况。结果: DSS组血清TNF- α 、IL-6、IL-1 β 及INF- γ 均高于对照组($P < 0.05$); DSS组结肠黏膜TNF- α 、IL-6、IL-1 β 及INF- γ 均高于对照组($P < 0.05$); DSS组结肠长度短于对照组, 组织学评分高于对照组($P < 0.05$)。结论: 溃疡性结肠炎可导致小鼠结肠缩短, 增加血液及肠道黏膜中的炎性因子, 结肠黏膜存在明显的炎症反应。

[关键词] 溃疡性结肠炎; 动物实验; 肠粘膜损伤

中图分类号: R632.1 文献标识码: A

Study on mucosal injury in ulcerative colitis model mice

Linyan Tan Xiujuan Fu* Weili Hu Xiaolei Zhang Qiyan Fu

Hainan Vocational and Technical College

[Abstract] Objective: To analyze the mucosal injury of ulcerative colitis model mice. How: The study period from March to October 2022 was selected. 36 healthy male C57BL/6 mice were randomly divided into two groups: normal control group (control group) and glucan sulfate induction group (DSS group), with 18 mice in each group. The DSS group drank 3%DSS water for a week to establish the DSS model. The results of blood test and intestinal mucosa of mice were analyzed. Results: Serum TNF- α , IL-6, IL-1 β and INF- γ in DSS group were lower than those in control group ($P < 0.05$). TNF- α , IL-6, IL-1 β and INF- γ of colon mucosa in DSS group were lower than those in control group ($P < 0.05$). The length of colon in DSS group was shorter than that in control group, and histological score was higher than that in control group ($P < 0.05$). Conclusion: Ulcerative colitis can shorten the colon of mice, increase the inflammatory factors in blood and intestinal mucosa, and there are obvious inflammatory reactions in colon mucosa.

[Key words] ulcerative colitis; Animal experiments; Intestinal mucosal injury

溃疡性结肠炎是一种慢性的炎症性肠道疾病^[1-2], 其对人体的危险性主要体现在持续的肠道炎症引起的组织损害上, 该病发生和发展受到多种因素的影响, 包括遗传、环境、免疫等多个层面。其中, 遗传因素在溃疡性结肠炎的易感性中发挥着重要作用, 但环境因素的变化也与疾病的爆发和进展密切相关。免疫系统的异常激活是导致炎症性肠道病变的主要原因之一。患者常因为肠道黏膜的溃疡、出血和炎症性变化而面临着长期的疼痛、腹泻、贫血等一系列临床问题^[3-4]。肠道炎症的程度和范围对表现症状有着直接的影响, 而黏膜损伤则是其中一个主要的病理特征。患者往往在病程中经历了反复的炎症发作和缓解, 病程不可预测, 严重影响了患者的生活

质量。更为严重的是, 溃疡性结肠炎与结肠癌的发生率显著增加, 为患者带来了潜在的生命威胁。因此, 深入了解溃疡性结肠炎的发病机制, 尤其是对黏膜损伤的研究, 对于制定有效的治疗和预防策略至关重要。本次研究通过对溃疡性结肠炎模型小鼠黏膜损伤进行深入研究, 为寻求更精准、有效的治疗方案提供依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择2022年3月-10月为研究时间段, 以健康雄性C57BL/6小鼠36只作为研究对象, 体质量20-28g; 饲养条件: 温度20-25℃, 湿度45-55%, 自由饮食, 每日循环光照。将36只健康小鼠采用随

机原则分成两组，即正常对照组（对照组）、葡聚糖硫酸钠诱导组（DSS组），各18只。

1. 2方法

3gDSS与蒸馏水100ml混匀，配成3%浓度DSS溶液。对照正常规饲养1周，自由饮水；DSS组连续1周饮用3%浓度DSS溶液，每日更换新DSS溶液；第8d，两组小鼠按照40mg/kg的剂量腹腔注射1%戊巴比妥钠，麻醉起效后，在小鼠眼球取血；采集血液样本后，按照800mg/kg的剂量再次腹腔注射1%戊巴比妥钠，待小鼠死亡后剖开腹腔，分离获取结肠组织，测量结肠长度；取中段结肠1cm，使用磷酸盐缓冲盐溶液处置干净后，置于4%多聚甲醛中进行固定，其余结肠组织储存与-80℃；将固定完毕的结肠组织再脱水、透明处理，石蜡包埋，封片，切片（4μm），HE染色，利用光学显微镜进行观察，判断病理学评分；选择适当结肠组织经冷磷酸盐缓冲液进行冲洗，在冰浴的条件下利用玻璃匀浆器进行充分匀浆；在4℃、3500r/min、10min条件下离心，取上清液；眼球血静置后，同样在4℃、3500r/min、10min条件下离心，取上清液；采用ELISA检测血清及组织上清液炎症因子。

1. 3观察指标

观察指标：（1）组间血清炎症因子比较，收集血液样本，检验血清TNF-α、IL-6、IL-1β及INF-γ水平。（2）组间结肠黏膜炎症因子比较，检验肠道组织黏膜TNF-α、IL-6、IL-1β及INF-γ水平。（3）组间结肠长度及组织学评分比较，检测结肠长度，评估组织学评分；组织学评分为炎症程度、病变深度、隐窝损伤及病变范围评分总和：①炎症程度：a. 0分，无中性粒细胞浸润；b. 1分，隐窝部位或者上皮组织可见中性粒细胞浸润程度≤50%，且未见糜烂、溃疡，即轻度炎症；c. 2分，隐窝部位或者上皮组织可见中性粒细胞浸润程度>50%，且未见糜烂、溃疡，即中度炎症；d. 3分，隐窝部位或者上皮组织可见中性粒细胞浸润程度>50%，且未见糜烂、溃疡，即中度炎症；d. 4分，糜烂、溃疡；②病变深度：a. 0分，无病变；b. 1分，仅至黏膜层；b. 2分，深至黏膜下层；c. 3分，深至肌层；d. 4分，深至浆膜层；③隐窝损伤：a. 0分，无损伤；b. 1分，基底部隐窝损伤部分占比1/3；c. 2分，基底部隐窝损伤部分占比2/3分；d. 3分，仅表皮完整；e. 4分，全隐窝及上皮均遭到损坏；④病变范围：a. 0分，病变≤1%；b. 1分，病变>1%至25%；c. 2分，病变>25%至50%；d. 3分，病变>50%至75%；d. 4分，>75%。

1. 4统计学分析

采用SPSS 24.0分析数据，以（%）表示计数资料，行检验，以（）表示计量资料，行t检验，P<0.05提示数据差异有统计学意义。

2 结果

2. 1组间血清炎症因子比较

DSS组血清TNF-α、IL-6、IL-1β及INF-γ均高于对照组（P<0.05）；详见表1。

2. 2组间结肠黏膜炎症因子比较

DSS组结肠黏膜TNF-α、IL-6、IL-1β及INF-γ均高于对照组（P<0.05）；详见表2。

表1 组间血清炎症因子比较（pg/ml $\bar{x} \pm s$ ）

分组	TNF-α	IL-6	IL-1β	INF-γ
DSS 组 (n=18)	0.29±0.06	63.75±5.27	11.93±1.58	2.49±0.23
对照组 (n=18)	0.18±0.04	35.10±2.13	3.26±0.34	1.24±0.08
t	6.472	21.384	22.756	21.778
P	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

表2 组间结肠黏膜炎症因子比较（pg/ml $\bar{x} \pm s$ ）

分组	TNF-α	IL-6	IL-1β	INF-γ
DSS 组 (n=18)	0.24±0.02	64.22±4.65	11.42±1.63	2.60±0.25
对照组 (n=18)	0.13±0.04	22.67±2.74	1.28±0.16	1.01±0.06
t	10.436	32.662	26.267	26.238
P	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

2. 3组间结肠长度及组织学评分比较

DSS组结肠长度短于对照组，组织学评分高于对照组（P<0.05）；详见表3。

表3 组间结肠长度及组织学评分比较（ $\bar{x} \pm s$ ）

分组	结肠长度（cm）	组织学评分（分）
DSS 组（n=18）	6.67±1.23	3.26±0.58
对照组（n=18）	9.36±1.52	0.24±0.10
t	5.837	21.770
P	<0.001	<0.001

3 讨论

溃疡性结肠炎是一种慢性非特异性炎症性肠病，主要累及结肠黏膜。这种疾病通常表现为结肠黏膜的连续性、弥漫性炎症，最常见的发生部位为直肠，病变可向上扩展至整个结肠^[5-6]。本次研究中，DSS组血清、结肠黏膜TNF-α、IL-6、IL-1β及INF-γ均高于对照组（P<0.05）。TNF-α（肿瘤坏死因子-α）：TNF-α是一种由多种免疫细胞产生的炎症性细胞因子，它在炎症反应中扮演着重要角色。在溃疡性结肠炎中，TNF-α的过度产生与疾病的发病和进展密切相关。TNF-α参与了肠道黏膜的炎症反

应,促进了炎症细胞浸润和上皮细胞损伤,同时还参与了血管通透性的调节。抗TNF- α 治疗已经成为溃疡性结肠炎的一线治疗手段之一,通过抑制TNF- α 的作用,可以减轻炎症、促进黏膜愈合。IL-6(白细胞介素-6): IL-6是一种免疫细胞因子,具有促炎和抗炎的双重作用。在溃疡性结肠炎中,IL-6的过度产生与炎症的持续存在有关。IL-6参与了炎症细胞的活化、黏膜屏障的损害和纤维化的发展。IL-6也被认为与溃疡性结肠炎患者的病程严重程度和预后有关。IL-1 β (白细胞介素-1 β): IL-1 β 是一种重要的炎症介质,在免疫反应中发挥关键作用。在溃疡性结肠炎中,IL-1 β 的产生增加,与肠道炎症和黏膜损伤紧密相关。IL-1 β 促进炎症细胞的浸润、黏膜上皮细胞的凋亡和黏膜组织的破坏,进而加剧疾病的发展。IFN- γ (干扰素- γ): IFN- γ 是一种主要由T淋巴细胞和自然杀伤细胞产生的免疫调节分子,具有调节炎症和免疫应答的作用。在溃疡性结肠炎中,IFN- γ 的异常产生可能参与了免疫系统的过度激活,导致黏膜的炎症和损伤。TNF- α 、IL-6、IL-1 β 和IFN- γ (干扰素- γ)是一组重要的炎症性细胞因子,它们在免疫系统中发挥着关键的调节作用。这些细胞因子与溃疡性结肠炎及其黏膜损伤之间存在密切的关联。

本次研究中,DSS组结肠长度短于对照组,组织学评分高于对照组($P<0.05$)。组织学评分是对溃疡性结肠炎(UC)黏膜损伤程度和炎症程度进行客观评价的一种重要手段。这种评分体系通过对取自患者肠道黏膜标本的显微镜下的组织学特征进行定量和定性的评估,提供了对疾病病理学状态的详细描述。本次研究中,炎症程度、病变深度、隐窝损伤及病变范围评分总和:(1)炎症程度的讨论:在溃疡性结肠炎患者中,炎症程度是评估黏膜损伤严重程度的重要指标之一^[7];炎症的程度可以从轻度、中度到重度;轻度炎症主要表现为结肠黏膜的轻度红肿和充血,伴随着少量的炎性浸润;中度炎症则引起更为显著的黏膜红肿、溃疡形成和炎性细胞浸润,影响黏膜屏障的完整性;重度炎症常伴随着大面积的溃疡形成、深层次的炎性细胞浸润,甚至可引起结肠壁的明显增厚。炎症的程度直接关系到患者的临床症状,也反映了病变的严重程度。(2)病变深度的讨论:病变深度是另一个衡量溃疡性结肠炎黏膜损伤的重要参数^[8];通常,病变深度可分为表浅性和深层次两个层次;表浅性病变主要涉及结肠黏膜表层,包括黏膜上皮细胞脱落、溃疡形成等,但通常不涉及结肠壁的全层;深层次的病变涉及黏膜、黏膜下层,甚至可扩展到肌层,导致结肠壁的明显增厚;深度的病变通常与更严重的炎症、更大范围的黏膜损伤以及患者症状的加重相关。(3)隐窝损伤的讨论:溃疡性结肠炎的黏膜损伤不仅限于表面,还涉及结肠

的隐窝,即肠道黏膜的凹陷区域;隐窝损伤是疾病进展中的一个重要特征,其包括黏膜上皮细胞的脱落、炎性细胞的浸润以及溃疡的形成;由于隐窝是肠道黏膜中微生物和免疫系统相互作用的场所,其损伤可能导致炎症的进一步扩散和慢性化,加剧患者的症状。(4)病变范围的讨论:病变范围是评估溃疡性结肠炎黏膜损伤的另一关键方面;该疾病可以呈现为连续性的、弥漫性的炎症,从直肠开始向上蔓延至整个结肠;病变范围的扩大通常伴随着炎症的加重和症状的恶化。有时病变范围可能局限在结肠的一部分,例如左半结肠或右半结肠。病变范围的不同也可能影响治疗的选择和疾病的预后。通过综合讨论炎症程度、病变深度、隐窝损伤以及病变范围等多个角度,我们能够更全面、深入地了解溃疡性结肠炎的黏膜损伤特征,为制定个体化治疗策略提供更为详实的依据。本次研究证实,溃疡性结肠炎对小鼠结肠黏膜的损伤及组织炎性细胞浸润均比较明显,且结肠长度因溃疡性结肠炎的影响而缩短。

总之,溃疡性结肠炎可导致小鼠结肠缩短,增加血液及肠道黏膜中的炎性因子,结肠黏膜存在明显的炎症反应。

[课题项目]

海南职业技术学院校级科研课题(项目编号: HZY2023-10)。

[参考文献]

- [1]何琼,李建栋.炎症性肠病流行病学研究进展[J].实用医学杂志,2019,35(18):2962-2966.
- [2]贺冰洁,刘志科,沈鹏,等.2011-2020年宁波市鄞州区炎症性肠病发病的流行病学研究[J].北京大学学报(医学版),2022,54(3):511-519.
- [3]关清,崔妙玲,莫焱,等.溃疡性结肠炎患者症状群及其影响因素分析[J].护士进修杂志,2021,36(21):1926-1931.
- [4]鲁香凤,秦伟娜,耿运玲.溃疡性结肠炎的病因、影响因素及机制探讨[J].中华中医药杂志,2022,37(10):6140-6144.
- [5]胡义亭,张建,刘洪娜,等.老年溃疡性结肠炎临床特点分析[J].临床消化病杂志,2019,31(3):163-166.
- [6]李爱英,王烜.近10年中国溃疡性结肠炎临床特点分析[J].现代消化及介入诊疗,2019,24(12):1387-1392.
- [7]李曦,吴仲,代丽娜,等.依托咪酯对DNBS诱导的大鼠溃疡性结肠炎氧化应激和炎症因子表达的干预及机制研究[J].中国免疫学杂志,2021,37(23):2822-2826,2831.
- [8]李博林,郭榆西,郭彤,等.化浊解毒方对溃疡性结肠炎大鼠结肠黏膜病理形态及免疫调控的影响[J].河北中医,2019,41(4):581-586.