

## 骆驼乳对葡聚糖硫酸钠诱导小鼠结肠炎的保护作用

郭坤杰<sup>1</sup>, 何静<sup>1</sup>, 吉日木图<sup>1,2\*</sup>

(<sup>1</sup>内蒙古农业大学 乳品生物技术与工程教育部重点实验室 呼和浩特 010018

<sup>2</sup>内蒙古骆驼研究院 内蒙古阿拉善 750306)

**摘要** 探讨骆驼乳(CM)对葡聚糖硫酸钠(DSS)诱导小鼠结肠炎的保护作用,为结肠炎的研究和治疗提供新的切入点。小鼠自由饮用含 2.5% DSS 的水,造模,连续 7 d。将 60 只 C57BL/6 小鼠随机分成 4 组:空白组、模型组、CM 组(10 mL/kg)和 CM+DSS 组。通过体重变化、疾病活动指数(DAI)评分、病理学评分和免疫组织化学评估 CM 对结肠炎小鼠的作用。采用 ELISA 和实时荧光定量 PCR 检测血清炎症细胞因子水平和结肠髓过氧化物酶(MPO)活性,进一步探究 CM 对炎症的影响。结果显示,与模型组相比,CM 干预后能显著降低 DSS 诱导结肠炎小鼠的体重损失和 DAI 评分 ( $P<0.05$ ),显著减少结肠 MPO 活性和血清炎症细胞因子(IL-1 $\beta$ 、IL-6 和 IL-10)水平( $P<0.05$ ),并能缓解结肠缩短症状( $P<0.05$ ),保护结肠组织结构。CM 具有抑制中性粒细胞浸润,降低炎症和保护结肠组织结构的作用,对 DSS 诱导的小鼠结肠炎损伤有一定的保护作用。

**关键词** 骆驼乳; 结肠炎; 葡聚糖硫酸钠; 炎症

**文章编号** 1009-7848(2022)03-0062-10 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2022.03.008

炎性肠病 (Inflammatory bowel disease, IBD) 主要包括克罗恩病 (Crohn's disease, CD) 和溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC), 而 UC 是一种慢性非特异性肠道炎症性疾病。在 UC 中, 病变主要在直肠和结肠发生, 导致肠上皮表面损伤; 而 CD 在胃肠道的任何部位均可发生<sup>[1]</sup>。两者的临床症状都涉及腹痛、肠道出血、便血、体重减轻和腹泻等。目前 IBD 的病因尚未完全明确, 可归因于与遗传、免疫和环境因素有关<sup>[2-3]</sup>。有研究表明, 其发病机制主要包括肠上皮屏障破坏、固有免疫防御失控和肠道微生物失调<sup>[4-5]</sup>。近年来, IBD 发病率逐年攀升, 无法彻底根治。越来越多的人喜欢通过天然食物来预防结肠炎<sup>[6]</sup>。

骆驼乳 (camel milk, CM) 具有多种生物活性成分, 因具有多种保健功能而被广泛食用, 被作为一种基本营养补充剂来帮助免疫缺陷患者<sup>[7]</sup>。与其它反刍动物乳相比, CM 还可以被乳糖不耐受患者和牛奶过敏患者食用<sup>[8]</sup>, 其脂肪、胆固醇和乳糖含量低, 钙、镁、铜、锌等矿物质含量高, 维生素 A、B<sub>2</sub>、C、E 等含量高<sup>[9]</sup>。除了分泌型 IgA 和 IgM 的含

量高外, CM 还含有多种抗菌和抗病毒活性的纳米抗体, 并含有多种具有免疫调节特性的生物活性蛋白, 包括溶菌酶、乳糖过氧化物酶和 *N*-乙酰氨基葡萄糖酶<sup>[10]</sup>。此外, CM 中含有低聚糖, 低聚糖是一种益生元, 它可以减少致病性微生物附着于结肠黏膜并有利于双歧杆菌数量增加。同时, CM 富含乳铁蛋白, 具有较好的抗氧化和抗炎特性。据报道, CM 对糖尿病<sup>[11-12]</sup>、肾病<sup>[13]</sup>和酒精性肝损伤<sup>[14-15]</sup>具有保护和减轻作用。然而, 关于 CM 对 IBD 保护作用的研究还很有限。本研究旨在探究 CM 对葡聚糖硫酸钠 (dextran sulfate sodium, DSS) 诱导小鼠结肠炎的预防作用。

### 1 材料与方法

#### 1.1 材料与试剂

驼乳, 内蒙古自治区阿拉善右旗所属的牧区。

试验动物购于北京维通利华实验动物技术有限公司, 6~8 周雄性 C57BL/6 小鼠 60 只 (许可证编号: SCXK(京)2016-0001, SPF 级); 饲料购于北京科澳协力公司。

葡聚糖硫酸钠, 美国 MPBiomedicals 公司; 白介素 6(IL-6)、白介素 1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )、白介素 10(IL-10)、脂多糖 (LPS) 和髓过氧化物酶 (MPO) ELISA 试剂盒, 上海酶联生物科技有限公司; 石蜡、甲醛、二甲苯, 上海国药集团; 动物组织总 RNA 提取试

收稿日期: 2021-03-18

基金项目: 内蒙古自治区自然科学基金项目(2020BS03040)

作者简介: 郭坤杰(1995—), 女, 硕士生

通信作者: 吉日木图 E-mail: yeluotuo1999@vip.163.com

剂盒,成都福际生物技术有限公司;中性树脂,北京索莱宝公司;反转录试剂盒,苏州宇恒生物科技有限公司;SYBR Green 荧光定量 PCR,苏州宇恒生物科技有限公司;苏木素、伊红,BASO 公司。

## 1.2 仪器与设备

Bio Tack 酶标仪,美国伯腾仪器有限公司;ZJ-4IVC 动物实验系统,苏州冯氏实验动物设备有限公司;高速冷冻离心机,德国 Eppencbrf 公司;实时荧光定量 PCR 仪,瑞士 Roche 公司;PCR 仪,美国赛默飞世尔科技公司;2014-181Ab 真空冷冻干燥机,上海东富龙科技股份有限公司;Bead Ruptor 24 Elit 多功能生物样品均质器,美国 Omni International 公司;GHP-9270 隔水式恒温培养箱,上海一恒科学仪器有限公司;各型号微量加样器,德国 Eppencbrf 公司。

## 1.3 方法

**1.3.1 结肠炎小鼠模型的构建和分组** 6~8 周龄雄性 C57BL/6 小鼠,饲养于清洁级动物房,适应环境 1 周,喂食普通饲料,自由进食及饮水。将 60 只小鼠随机分成空白组、模型组、CM 组和 CM+DSS 组(见图 1)。空白组和模型组,连续灌胃生理盐水 21 d,从第 15~21 天开始,模型组自由饮用 2.5% DSS 溶液;CM 组和 CM+DSS 组,连续灌胃 CM 21 d,从第 15~21 天开始,CM+DSS 组自由饮用 2.5% DSS 溶液。试验结束后处死小鼠,收集小鼠的结肠组织、血清和粪便。血清和一半结肠在-80℃保存,另一半结肠固定在 4%缓冲甲醛中进行组织学观察。

**1.3.2 疾病活动指数评价组织病理学评分** 如表

表 2 组织病理学评分表

Table 2 Histopathology score sheet

积分	0	1	2	3	4
炎症	无	轻度	中度	中度	重度
隐窝破坏	无	基底部 1/3 隐窝消失	基底部 2/3 隐窝消失	仅上皮层完整	隐窝和上皮层消失
病变深度	无	黏膜下层	肌层	浆膜层	

**1.3.4 TUNEL 法检测细胞凋亡** 先将组织切片进行脱蜡,然后将稀释后的蛋白酶 K 滴加至切片 37℃,PBS 洗涤 3 次;滴加 50 μL 检测液,37℃孵育 60 min,PBS 洗涤 3 次;滴加 10 μg/mL Hoechst 33342 孵育 1 min,PBS 洗涤 3 次;使用荧光显微

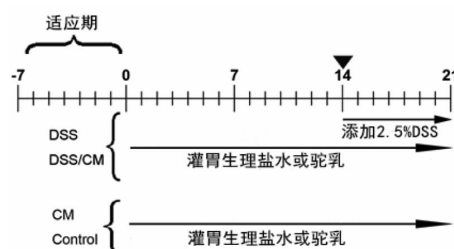


图 1 各组小鼠处理方案示意图

Fig.1 Schematic diagram of the treatment plan of each group of mice

表 1 DAI 评分表

Table 1 DAI score sheet

大便性状	大便隐血	体重下降/%	计分
正常	正常	0	0
		1~5	1
松散	隐血阳性	5~10	2
		10~20	3
稀便	肉眼血便	>20	4

1 所示,按照 Hamamoto 等<sup>[6]</sup>标准计算各组小鼠的 DAI 评分,每日称重,观察大便性状和隐血情况。

体重变化率=(起始体重-试验当天体重)/起始体重×100%

DAI=大便性状+大便隐血+体重下降

**1.3.3 组织病理学评分** 结肠通过 4%多聚甲醛进行固定,脱水透明,石蜡包埋后,切片、脱蜡和苏木精-伊红 (hematoxylin-eosin staining,H&E)染色,透明并封片,镜检观察。如表 2 所示,根据 Cooper 标准计算病理组织学评分<sup>[7]</sup>。

镜观察并拍照。

**1.3.5 免疫组织化学检测紧密连接蛋白的表达**

先将切片进行脱蜡水化,再进行高压抗原修复,使用 3%的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 去离子水 37℃孵育,PBS 洗涤 3 次;采用山羊血清孵育 30 min,然后滴加一抗 4℃

过夜, PBS 洗涤 3 次, 滴加二抗 37 °C 孵育 30 min, PBS 洗涤 3 次。使用 DAB 显色, 并用苏木素进行复染, 中性树胶封片, 胞浆呈黄色细颗粒状则判断为阳性产物, 用电子显微镜观察并拍照。

1.3.6 MPO 活性及血清 IL-1 $\beta$ 、IL-6 和 IL-10 含量的检测 取结肠组织匀浆于 pH 7.4 PBS 缓冲液中, 14 000 g, 4 °C 离心 15 min, 收集上清液。小鼠眼球取血后, 室温放置 3~4 h, 3 000 r/min 20 min 离心, 收集上清, -80 °C 保存作进一步分析。结肠 MPO 活性及血清 IL-1 $\beta$ 、IL-6 和 IL-10 含量检测按照上海酶联试剂盒说明书进行测定。

1.3.7 实时荧光定量 PCR 检测结肠组织中 IL-1 $\beta$ 、IL-6 和 IL-10 的 mRNA 水平 取小鼠结肠组织提取 RNA, 按照 Animal Total RNA Isolation Kit 说明书方法操作, 并测定总 RNA 浓度及纯度; 按照 UEIris II RT-PCR System for First-Strand cDNA Synthesis 说明书进行反转录, 合成 cDNA 后于 -20 °C 保存。引物基因序列由北京博迈德基因技术有限公司合成。引物序列见表 3。依据 2<sup>- $\Delta\Delta$ CT</sup> 法计算 mRNA 的表达。每个样本设置为 3 个复孔, 总反应体系为 20  $\mu$ L, 其反应条件为 95 °C 30 s, 95 °C 5 s, 57 °C 30 s, 72 °C 30 s。根据样本 CT 值做相关计算, 根据溶解曲线判断 PCR 产物是否具有特异性。

#### 1.4 统计学分析

通过 SPSS 19.0 统计软件对各组数据及数据间差异显著水平进行统计学分析, 所有数据都以  $\bar{x} \pm s$  表示,  $P < 0.05$  为统计学上有显著差异。图表采用 Graphpad 6.01 软件制作。

表 3 引物序列

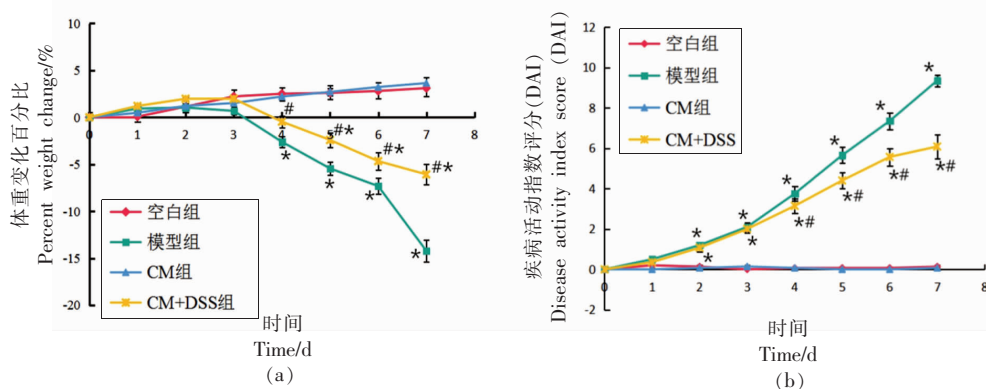
基因	序列
IL-1 $\beta$	Forward-5' CgCAGCAgCACATCAACAAg-3'
	Reverse-5' CCACgggAAAACACAggTAg-3'
IL-6	Forward-5' AggAgACTTCACAgAggATACCA-3'
	Reverse-5' TCATTTCCACgATTTCCCAgAgA-3'
IL-10	Forward-5' AgTggAgCaggTgAAgAgTgAT-3'
	Reverse-5' CggAgAgAggTACAAACgAggT-3'
GAPDH	Forward-5' AAgTTCAACggCACAgTCAAgg-3'
	Reverse-5' CATACTCAgCACCgATCACC-3'

## 2 结果与分析

### 2.1 小鼠体重和 DAI 变化

研究表明, DSS 诱导的小鼠结肠炎与人类的 IBD 症状相似<sup>[18]</sup>。处死小鼠前, 每天对各组小鼠进行称重, 每组小鼠体重无显著差异。如图 2 所示, 随 2.5% DSS 的饮用, 空白组和 CM 组小鼠体重每天缓慢增长, 模型组和 CM+DSS 组均表现出体重下降趋势, 到第 7 天时分别下降了 14.2% 和 6.1%。与空白组相比, 模型组小鼠从第 4 天开始体重变化率具有显著差异 ( $P < 0.05$ )。相比模型组, CM+DSS 组小鼠体重下降程度相对减小, 且后期下降趋势减缓, 从第 4 天开始体重变化率具有显著的统计学差异 ( $P < 0.05$ ), 表明 CM 干预后可以缓解结肠炎小鼠体重减轻症状。

在处死小鼠前 1 天, DAI 评分由观察者通过结合体重变化情况、大便隐血和性状等情况综合性进行评估。除体重外, 随 DSS 的饮用模型组和 CM+DSS 组的饮食和饮水量也开始减少, 且第 3



注: 与模型组相比, \* $P < 0.05$ ; 与空白组相比, # $P < 0.05$ 。

图 2 驼乳对结肠炎小鼠体重变化率和 DAI 评分的影响

Fig.2 The effect of camel milk on the weight change rate and DAI score of colitis mice

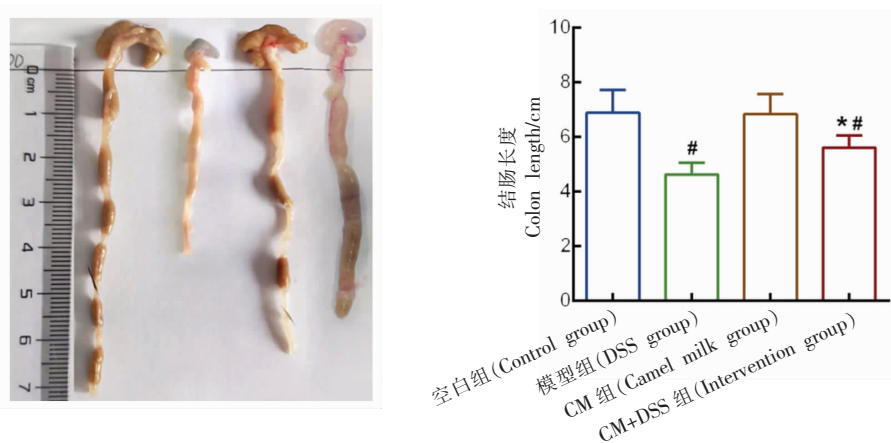
天时小鼠开始腹泻,第 4 天时逐渐开始便血。从第 2 天开始,与空白组相比,模型组 DAI 评分具有显著的统计学差异( $P<0.05$ ),至第 7 天 DAI 评分达到最高,高达 9.6 分。与模型组相比,CM+DSS 组 DAI 评分均低于模型组( $P<0.05$ ),到第 7 天时评分为 6.1 分,且增加幅度相对缓慢,从第 4 天开始与模型组相比具有显著的统计学差异 ( $P<0.05$ )。此外,补充 CM 缓解了结肠炎小鼠的其它病理学特征,包括大便隐血和腹泻。

### 2.2 结肠长度和病理组学评分

解剖小鼠后,取出结肠组织观察结肠长度变化。结肠长度变化是衡量炎症的一个重要标准,炎

症加剧,结肠会肿胀缩短。如图 3 所示,空白组小鼠结肠组织长度最长,表面光滑且未见肿胀,肠内粪便成型,而模型组结肠长度最短,与空白组结肠长度相比具有显著统计学差异( $P<0.05$ ),且表现出明显水肿,肠内粪便呈黄色水样脓液。通过 CM 干预后,结肠缩短情况有所缓解,CM+DSS 组小鼠结肠长度与模型组相比具有显著的统计学差异 ( $P<0.05$ ),表明 CM 可以缓解结肠炎小鼠结肠缩短的症状。

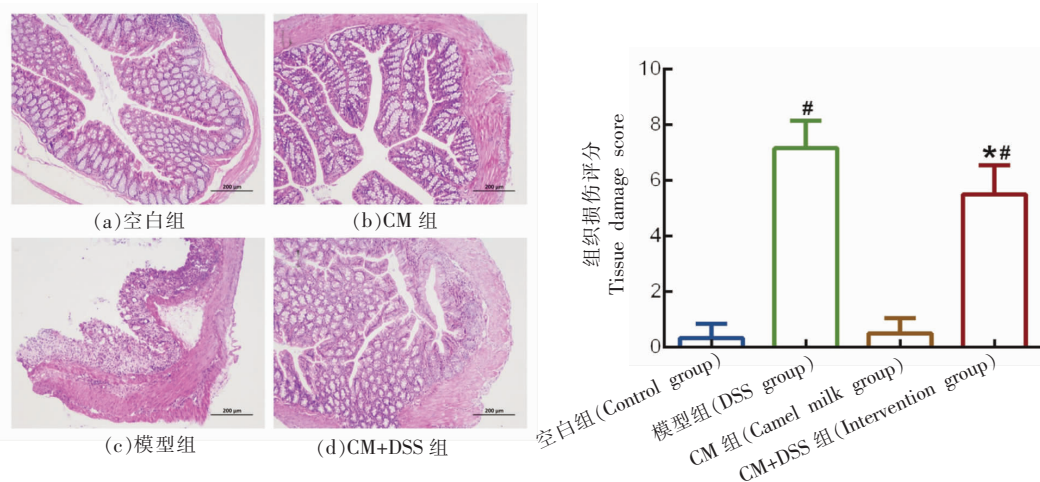
如图 4 所示,通过 H&E 染色结果表明,空白组和 CM 组小鼠结肠组织腺体排列整齐,结肠黏膜完整,隐窝正常,未见病变;模型组小鼠结肠组



注:与模型组相比,\* $P<0.05$ ;与空白组相比,<sup>#</sup> $P<0.05$ 。

图 3 驼乳对结肠炎小鼠结肠长度的影响

Fig.3 The effect of camel milk on the colon length of mice with colitis



注:与模型组相比,\* $P<0.05$ ;与空白组相比,<sup>#</sup> $P<0.05$ 。

图 4 小鼠结肠组织 HE 染色病理图及组织损伤评分

Fig.4 HE staining pathology and tissue damage score of mouse colon tissue

织腺体排列紊乱,肠黏膜被破坏,弥漫性溶解坏死,隐窝和杯状细胞明显减少,炎性细胞浸润情况严重,病变严重,导致组织损伤评分显著升高,与空白组相比具有显著的统计学差异 ( $P<0.05$ ); CM+DSS 组小鼠结肠组织黏膜破坏程度减少,组织较完整,小部分腺体缺失,炎性细胞浸润少,炎症程度较模型组减轻,组织损伤评分降低,与模型组相比具有显著的统计学差异 ( $P<0.05$ ),表明 CM 可以明显改善结肠炎小鼠的组织损伤情况。

### 2.3 TUNEL 法检测肠上皮细胞凋亡

肠上皮细胞的凋亡和增殖是维持肠道内缓解稳态的关键<sup>[9]</sup>。由病理切片结果得知结肠炎小鼠肠黏膜被破坏,因此通过 TUNEL 法进一步检测肠上皮细胞的凋亡情况,探讨 CM 是否通过调节细胞凋亡来维持上皮的完整性。如图 5 所示,TUNEL 检测结果发现,空白组和 CM 组小鼠结肠上皮组织无细胞凋亡特征;模型组小鼠肠上皮组织伴有组织损伤的细胞凋亡特征,细胞凋亡数最多;CM+DSS 组小鼠肠上皮组织细胞凋亡明显减少,说明 CM 可能通过抑制肠上皮细胞凋亡来改善肠道屏障功能的完整性。

### 2.4 紧密连接蛋白 Claudin-1、Occludin 和 ZO-1 的表达

由于肠上皮黏液层是抵御病原体入侵的第一道防线,其功能在很大程度上依赖于细胞间紧密连接,因此检测了紧密连接蛋白 Claudin-1、Occludin 和 ZO-1 在结肠组织中的表达与分布。如图 6、图 7 和图 8,免疫组化染色结果所示,在空白组和 CM 组中 Claudin-1、Occludin 和 ZO-1 的表达量较高,主要分布在肠上皮细胞顶端的表面与隐窝之间,排列整齐,呈连续性分布;在模型组中 Claudin-1、Occludin 和 ZO-1 的表达量明显减少,还有少量阳性细胞,排列紊乱,呈不连续性分布,部分区域出现完全丢失的情况;在 CM+DSS 组中 Claudin-1、Occludin 和 ZO-1 的表达量和阳性细胞数量显著高于模型组。

### 2.5 小鼠结肠 MPO 活性及血清 IL-1 $\beta$ 、IL-6 和 IL-10 含量

MPO 是中性粒细胞浸润的重要标志。如图 9 所示,饮用 2.5% DSS 后,模型组小鼠的结肠 MPO 活性最高,与空白组相比具有显著的统计学差异

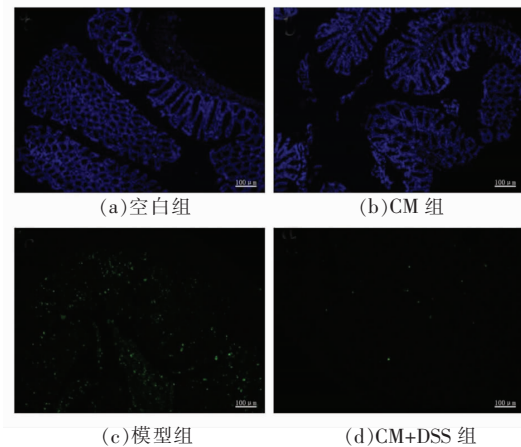


图 5 驼乳对结肠炎小鼠组织细胞凋亡的影响  
Fig.5 The effect of camel milk on cell apoptosis in mice with colitis

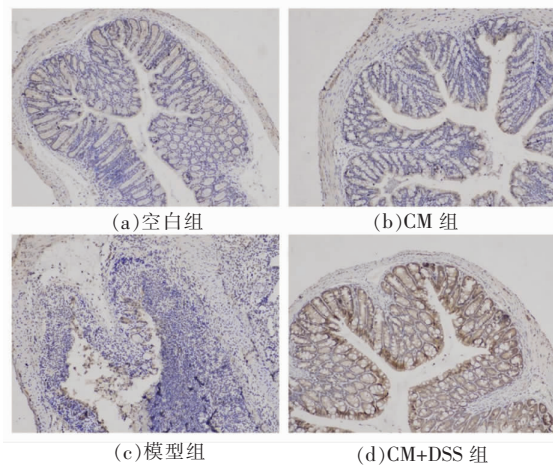


图 6 各组小鼠结肠组织中 Claudin-1 蛋白的免疫组化染色

Fig.6 Immunohistochemical staining of Claudin-1 protein in the colon tissue of mice in each group

( $P<0.05$ )。通过驼乳干预后,CM+DSS 组的 MPO 活性明显低于模型组,且与模型组具有显著的统计学差异 ( $P<0.05$ ),表明 CM 可能通过减少炎性细胞的浸润从而改善炎症。

ELISA 检测结果所示,与空白组相比,模型组小鼠中结肠组织的炎性细胞因子 IL-6、IL-10 和 IL-1 $\beta$  水平升高,且具有显著的统计学差异 ( $P<0.05$ ),表明模型组小鼠具有炎症;通过驼乳干预后,CM+DSS 组小鼠结肠组织中的炎性细胞因子水平明显下调 ( $P<0.05$ ),且与模型组具有显著的

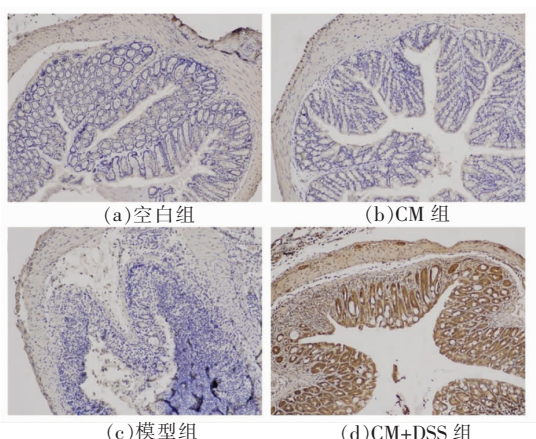


图 7 各组小鼠结肠组织中 Occludin 蛋白的免疫组化染色  
Fig.7 Immunohistochemical staining of Occludin protein in the colon tissue of mice in each group

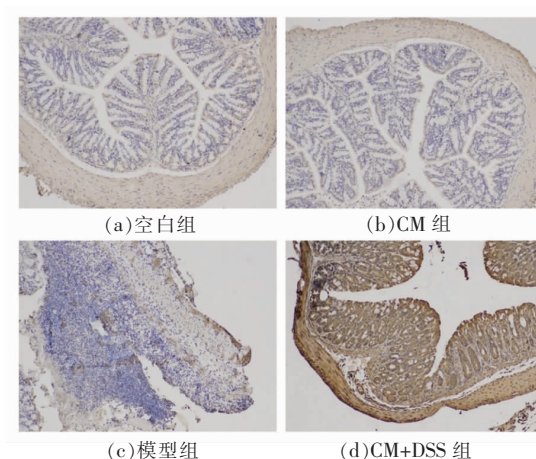
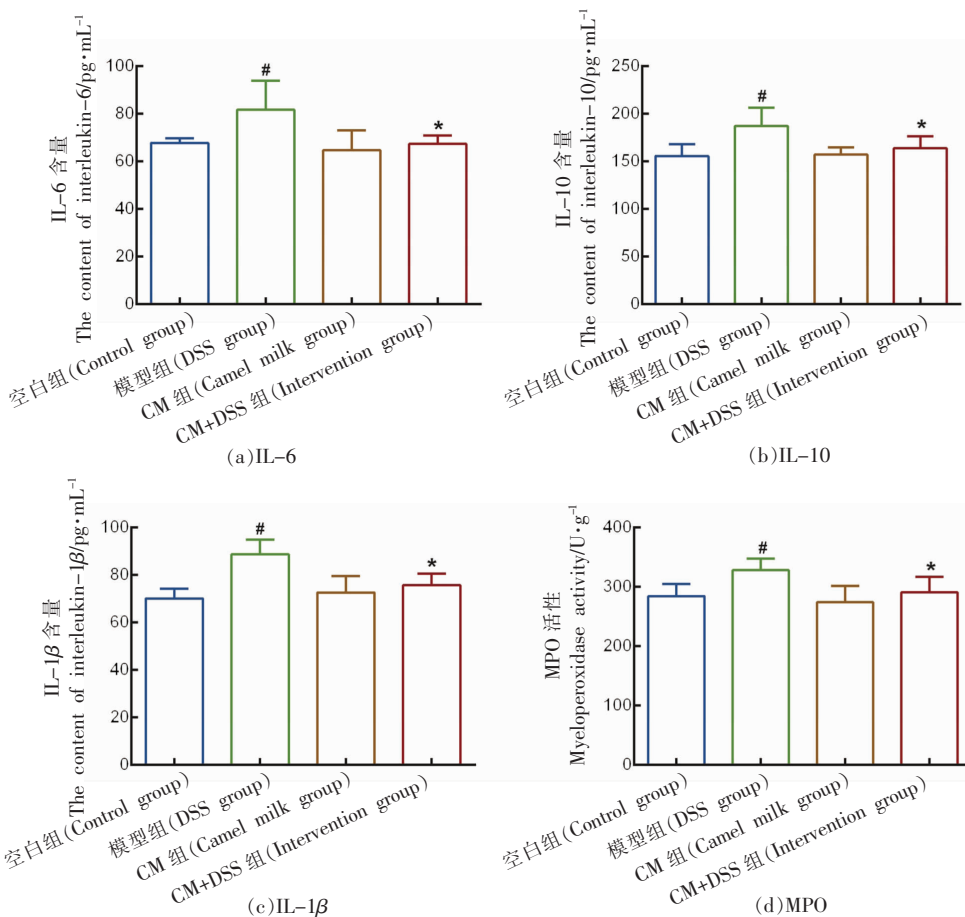


图 8 各组小鼠结肠组织中 ZO-1 蛋白的免疫组化染色  
Fig.8 Immunohistochemical staining of ZO-1 protein in colon tissue of mice in each group

统计学差异 ( $P < 0.05$ ), 水平接近空白组, 表明 CM 可能通过降低炎症细胞因子水平从而抑制炎症。

此外, 空白组与 CM 组之间没有显著的统计学差异。



注: 与模型组相比,  $*P < 0.05$ ; 与空白组相比,  $^{\#}P < 0.05$ 。

图 9 骆驼乳对结肠炎小鼠血清炎症细胞因子含量的影响

Fig.9 The effect of camel milk on serum inflammatory cytokine levels in colitis mice

## 2.6 实时荧光定量 PCR 检测结肠组织中 IL-1 $\beta$ 、IL-6 和 IL-10 的 mRNA 水平

为进一步确定 CM 对 DSS 诱导小鼠结肠炎的保护作用,检测的典型促炎细胞因子 IL-1 $\beta$  和 IL-6 以及抗炎细胞因子 IL-10 在结肠组织中 mRNA 的相对表达量。如图 10a 所示,与空白组相比,模型组具有最高丰度的 IL-6 mRNA,且与空白组具有显著的统计学差异( $P<0.05$ ),而 CM+DSS 组小鼠的 IL-6 mRNA 水平显著低于模型组( $P<0.05$ )。如图 10b 所示,空白组和 CM 组的 IL-10 mRNA

表达量相对较小,而模型组的 IL-10 mRNA 水平达到最高,且与空白组具有显著的统计学差异( $P<0.05$ )。与模型组相比,CM+DSS 组的 IL-10 mRNA 水平显著低于模型组( $P<0.05$ )。如图 10c 所示,空白组和 CM 组的 IL-1 $\beta$  mRNA 相对表达量较小,而模型组具有最高丰度的 IL-1 $\beta$  mRNA,且与空白组具有显著的统计学差异( $P<0.05$ )。与模型组相比,CM+DSS 组小鼠的 IL-1 $\beta$  mRNA 水平显著降低( $P<0.05$ )。

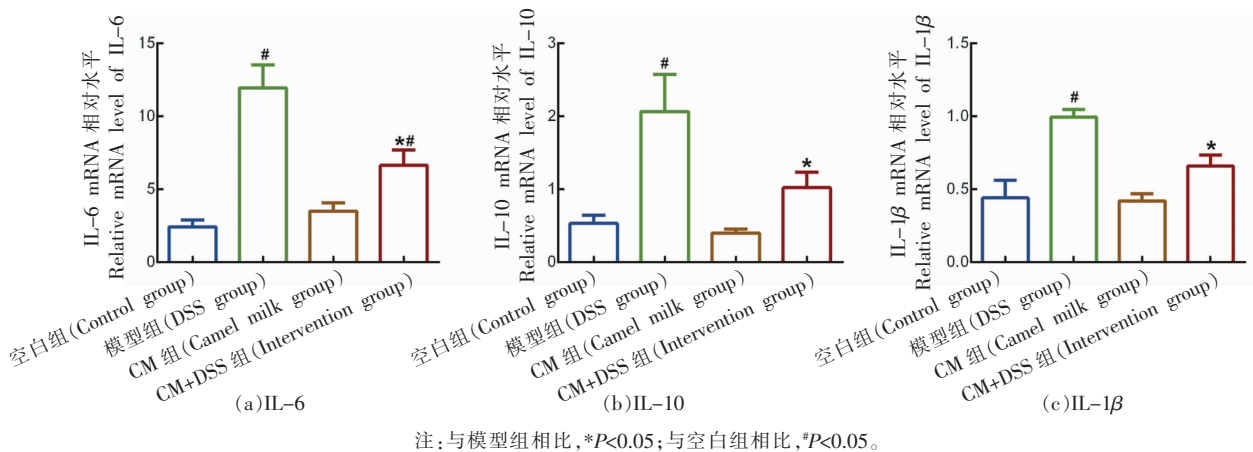


图 10 驼乳对结肠炎小鼠炎性细胞因子的 mRNA 影响

Fig.10 The effect of camel milk on the mRNA of inflammatory cytokines in mice with colitis

## 3 讨论

驼乳是一种重要的膳食补充剂,可以维持身体健康,增强体力,提高疾病预防能力<sup>[7]</sup>。本研究表明,DSS 诱导的结肠炎小鼠会出现食欲不振、体重下降、腹泻、便血和结肠缩短等症状<sup>[20-21]</sup>。本试验通过给小鼠自由饮用含 2.5% DSS 的水进行造模,连续饮用 7 d,在第 3 天开始出现腹泻,第 4 天开始出现便血症状,直至第 7 天时小鼠结肠炎症状加重。解剖后,结肠炎小鼠结肠组织明显水肿充血,长度缩短,HE 染色发现肠上皮黏膜被破坏、腺体排列紊乱、隐窝消失和炎性细胞浸润等症状。而通过 CM 干预的小鼠,上述症状均有所改善。在改善结肠损伤的同时,驼乳还减少了肠上皮细胞的凋亡以及紧密连接蛋白 Claudin-1、Occludin 和 ZO-1 的缺失。因此,本研究推测 CM 的保护作用归因于它的抗炎特性。

先前有研究表明,降低炎性细胞因子水平是

治疗 IBD 的一个重要指标<sup>[22]</sup>,如 TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-1 $\beta$  和 IL-10 在 IBD 的形成中起主导作用。此外,这些炎性细胞因子的基因都有 NF- $\kappa$ B 的结合位点,并受这些因子的转录调控<sup>[23]</sup>。经本研究证实 CM 干预后可明显降低促炎细胞因子 IL-6 和 IL-1 $\beta$  水平,从而有效减缓 IBD 症状。同时,本研究结果显示,随 DSS 饮用抗炎细胞因子 IL-10 水升高。虽然之前有研究报道结肠炎小鼠的 IL-10 水平降低<sup>[24]</sup>,但仍有研究表明在 IBD 患者以及 TNBS 和 DSS 诱导的小鼠结肠炎中存在 IL-10 水平升高的情况<sup>[25]</sup>。Barada 等<sup>[25]</sup>研究指出,在诱导结肠炎 3 h 后 IL-10 水平就开始升高,1 周后达到高峰,3 周后升高 4.5 倍。由于 IL-10 可以下调 MHC II 类抗原呈递和促炎细胞因子如 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  和 IL-6,所以认为 IL-10 水平升高是一种对结肠损伤的代偿机制,可以抑制黏膜炎症。

经 Su 等<sup>[26]</sup>研究证实,肠上皮屏障破坏也是

IBD 形成的重要因素之一,屏障功能受损后,黏膜免疫系统暴露于肠内微生物,导致细菌和其它抗原进入,从而进一步扩大炎症。肠上皮细胞如分泌黏液并产生三叶草因子的杯状细胞和产生抗菌肽和生长因子的潘氏细胞<sup>[27]</sup>,其分泌物共同构成保护性黏液层,是发挥肠屏障功能的关键。因此,维持肠上皮屏障的紧密性和完整性也是 IBD 治疗的重要目标<sup>[28]</sup>。诸多研究证实,紧密连接蛋白如 ZO-1、Occludin 和 Claudin-1 与上皮屏障功能受损有关,其中 ZO-1 是紧密连接中的主要蛋白,与肠上皮完整性相关<sup>[29]</sup>,可作为肠道机械屏障的标志物。Occludin 对紧密连接稳定性和屏障功能十分重要<sup>[30]</sup>。Claudin-1 是一种完整的膜蛋白,是紧密连接链的组成部分<sup>[31]</sup>。本研究通过免疫组化检测紧密连接蛋白表达,结果表明,CM+DSS 组的紧密连接蛋白表达量显著增加。此外,越来越多的研究表明,肠上皮细胞凋亡参与了 UC 的形成过程,并与 IBD 的发病机制有关<sup>[32-33]</sup>。本研究结果表明,模型组小鼠促进肠上皮细胞凋亡,导致肠道屏障破坏,易受微生物感染。相反,CM 干预后小鼠肠上皮细胞凋亡明显减少,推测可能通过抑制细胞凋亡对肠道屏障起到保护作用。

综上所述,本研究结果揭示 CM 能够通过调节肠道通透性、紧密连接蛋白表达等方式来缓解 DSS 对小鼠结肠机械屏障的破坏,通过抑制炎症细胞因子的分泌来缓解结肠的炎症反应,实现对肠黏膜屏障的保护作用。

### 参 考 文 献

- [1] BANG B, LICHTENBERGER L M. Methods of inducing inflammatory bowel disease in mice[J]. *Curr Protoc Pharmacol*, 2016, 72(5): 581-584.
- [2] TAGHIPOUR N, MOLAEI M, MOSAFFA N, et al. An experimental model of colitis induced by dextran sulfate sodium from acute progresses to chronicity in C57BL/6; correlation between conditions of mice and the environment[J]. *Gastroenterology & Hepatology from Bed to Bench*, 2016, 9(1): 45-52.
- [3] BURKE K E, BOUMITRI C, ANANTHAKRISHNAN A N. Modifiable environmental factors in inflammatory bowel disease[J]. *Current Gastroenterology Reports*, 2017, 19(5): 21.
- [4] HARRIS KATHARINE G, CHANG EUGENE B. The intestinal microbiota in the pathogenesis of inflammatory bowel diseases: New insights into complex disease[J]. *Clinical Science*, 2018, 132(18): 2013-2028.
- [5] LLOYD-PRICE J, ARZE C, ANANTHAKRISHNAN A N, et al. Multi-omics of the gut microbial ecosystem in inflammatory bowel diseases[J]. *Nature*, 2019, 569(7758): 655-662.
- [6] PLÉ, COLINE RICHOUX R, JARDIN J, et al. Single-strain starter experimental cheese reveals anti-inflammatory effect of *Propionibacterium freudenreichii* CIRM BIA 129 in TNBS-colitis model[J]. *Journal of Functional Foods*, 2015, 18(1): 575-585.
- [7] YATEEM A, BALBA M T, AL-SURRAYAI T, et al. Isolation of lactic acid bacteria with probiotic potential from camel milk[J]. *International Journal of Dairy Science*, 2008, 3(4): 194-199.
- [8] DALLAK M. Camel's milk protects against cadmium chloride-induced hypochromic microcytic anemia and oxidative stress in red blood cells of white albino rats[J]. *American Journal of Pharmacology & Toxicology*, 2009, 4(4): 136-143.
- [9] ZHANG H, YAO J, ZHAO D, et al. Changes in chemical composition of alxa bactrian camel milk during lactation[J]. *Journal of Dairy Ence*, 2005, 88(10): 3402-3410.
- [10] LAILA Y A, NADRA E E, RONALD S. Camel milk as a potential therapy as an antioxidant in autism spectrum disorder (ASD)[J]. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine: eCAM*, 2013, 1(1): 1-8.
- [11] 侯志梅, 丁雪梅, 李风, 等. 驼乳清蛋白影响糖尿病大鼠胰腺  $\beta$  细胞功能的效果以及作用机制初探[J]. *临床和实验医学杂志*, 2020, 19(1): 39-43.
- [12] HOU Z M, DING X M, LI F, et al. Study on the effect of camel whey protein on pancreatic  $\beta$  cell function and its mechanism in rats with diabetes[J]. *Journal of Clinical and Experimental Medicine*, 2020, 19(1): 39-43.
- [12] 蔡瑞丽. 新疆双峰驼奶对 2 型糖尿病患者血糖, 血脂及炎症细胞因子的相关研究[D]. 乌鲁木齐: 新疆医科大学, 2019: 10-13.
- CAI R L. Correlation of Xinjiang Bactrian camel



- milk on blood sugar, blood lipids and inflammatory cytokines in patients with type 2 diabetes [D]. Urumqi: Xinjiang Medical University, 2019: 10–13.
- [13] 王雪莹. 双峰驼奶对2型糖尿病大鼠肝脏和肾脏的组织形态及其细胞凋亡影响的研究[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2015: 2–5.
- WANG X Y. Effects of Bactrian camel milk on the histomorphology and apoptosis of liver and kidney in type 2 diabetic rats[D]. Lanzhou: Gansu Agricultural University, 2015: 2–5.
- [14] 乔向宇. 鲜驼乳和自然发酵驼乳对小鼠急性酒精性肝损伤的保护作用研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2019: 24–28.
- QIAO X Y. Protective effects of fresh camel milk and naturally fermented camel milk on acute alcoholic liver injury in mice[D]. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2019: 24–28.
- [15] 孙宇, 张娟, 卿德刚, 等. 牛磺酸联合驼乳粉对小鼠酒精性肝损伤的影响研究[J]. 中国乳业, 2019(4): 4.
- SUN Y, ZHANG J, QING D G, et al. Effects of taurine combined with camel milk powder on alcoholic liver injury in mice[J]. China Dairy Industry, 2019(4): 4.
- [16] HAMAMOTO N, MAEMURA K, HIRATA I, et al. Inhibition of dextran sulphate sodium (DSS)-induced colitis in mice by intracolonicly administered antibodies against adhesion molecules (endothelial leucocyte adhesion molecule-1 (ELAM-1) or intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1)[J]. Clinical and Experimental Immunology, 1999, 117(3): 462–468.
- [17] COOPER H S, MURTHY S N S, SHAH R S, et al. Clinicopathological study of dextran sulfate sodium experimental murine colitis[J]. Laboratory Investigation, 1993, 69(2): 238–249.
- [18] VALATAS V, BAMIAS G, KOLIOS G. Experimental colitis models: Insights into the pathogenesis of inflammatory bowel disease and translational issues [J]. European Journal of Pharmacology, 2015, 759(1): 253–264.
- [19] PEDERSEN J, LACASSE E C, SEIDELIN J B, et al. Inhibitors of apoptosis (IAPs) regulate intestinal immunity and inflammatory bowel disease (IBD) inflammation[J]. Trends in Molecular Medicine, 2014, 20(11): 652–665.
- [20] CHEN D, CHEN G, WAN P, et al. Digestion under saliva, simulated gastric and small intestinal conditions and fermentation in vitro of polysaccharides from the flowers of *Camellia sinensis* induced by human gut microbiota [J]. Food & Function, 2017, 1(1): 4619.
- [21] MERCIER S, BREUILLE D, MOSONI L, et al. Chronic inflammation alters protein metabolism in several organs of adult rats[J]. Journal of Nutrition, 2002, 132(1): 1921–1928.
- [22] BIASI F, ASTEGIANO M, LEONARDUZZI G, et al. Polyphenol supplementation as a complementary medicinal approach to treating inflammatory bowel disease[J]. Current Medicinal Chemistry, 2011, 18(1): 4851–4865.
- [23] ZHANG D K, LI N C, XIAO L H, et al. Tetrandrine ameliorates dextran-sulfate-sodium-induced colitis in mice through inhibition of nuclear factor- $\kappa$ B activation[J]. International Journal of Colorectal Disease, 2009, 24(1): 5–12.
- [24] BORRELLI F, FASOLINO I, ROMANO B, et al. Beneficial effect of the non-psychoactive plant cannabinoid cannabigerol on experimental inflammatory bowel disease [J]. Biochemical Pharmacology, 2013, 85(9): 1306–1316.
- [25] BARADA K A, MOURAD F H, SAWAH S I, et al. Up-regulation of nerve growth factor and interleukin-10 in inflamed and non-inflamed intestinal segments in rats with experimental colitis[J]. Cytokine, 2007, 37(3): 236–245.
- [26] SU L P, SHEN L, DANIEL R, et al. Targeted epithelial tight junction dysfunction causes immune activation and contributes to development of experimental colitis[J]. Gastroenterology, 2009, 136(2): 551–563.
- [27] UHLIG H H, POWRIE F. Translating immunology into therapeutic concepts for inflammatory bowel disease[J]. Annual Review of Immunology, 2018, 36(1): 755–781.
- [28] WOO J K, CHOI S, KANG J H, et al. Fermented barley and soybean (BS) mixture enhances intestinal barrier function in dextran sulfate sodium (DSS)-induced colitis mouse model[J]. BMC Complementary and Alternative Medicine, 2016, 16(1): 1–9.
- [29] FURUSE M. Direct association of occludin with ZO-1 and its possible involvement in the localization of occludin at tight junctions.[J]. The Journal of Cell

- Biology, 1994, 127(6): 1617–1626.
- [30] SAITOU M, FURUSE M, SASAKI H, et al. Complex phenotype of mice lacking occludin, a component of tight junction strands[J]. *Molecular Biology of the Cell*, 2001, 11(12): 4131–4142.
- [31] FURUSE M, FUJITA K, HIIRAGI T, et al. Claudin-1 and -2: novel integral membrane proteins localizing at tight junctions with no sequence similarity to occludin[J]. *The Journal of Cell Biology*, 1998, 141(7): 1539.
- [32] BLANDER J M. Death in the intestinal epithelium—basic biology and implications for inflammatory bowel disease[J]. *The FEBS Journal*, 2016, 283(14): 2720–2730.
- [33] AHMAD R, SORRELL M F, BATRA S K, et al. Gut permeability and mucosal inflammation: bad, good or context dependent[J]. *Mucosal Immunology*, 2017, 10(2): 307.

### Preventive Effects of Camel Milk on Dextran Sulfate Sodium-induced Ulcerative Colitis in Mice

Guo Kunjie<sup>1</sup>, He Jing<sup>1</sup>, Ji Rimutu<sup>1,2\*</sup>

(<sup>1</sup>Key Laboratory of Dairy Biotechnology and Bioengineering, Ministry of Education, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010018

<sup>2</sup>Inner Mongolia Camel Research Institute, Alxa 750306, Inner Mongolia)

**Abstract** The aim of our study was to investigate the protective role of camel milk (CM) on dextran sulfate sodium (DSS)-induced colitis in mice, which might provide a new entry point for the research and treatment of colitis. In this study, ulcerative colitis was induced by oral administration of 2.5% DSS for 7 days in drinking water. A total of 60 male C57BL/6 mice were randomly divided into 4 groups: control group, model group, CM group (10 mL/kg) and CM+DSS group. The protective effect of CM was assessed by weight change, disease activity index (DAI), histopathological scores and immunochemistry. Detect the level of inflammatory cytokines and myeloperoxidase (MPO) activity in colon and serum by ELISA and real-time fluorescent quantitative PCR to further reflect the influence of camel milk on inflammation. Compared with the model group, CM supplement decreased weight loss and DAI ( $P>0.05$ ), also significantly reduced the levels of MPO activity and inflammatory cytokine (IL-1 $\beta$ , IL-6 and IL-10) levels in serum and colon tissue ( $P<0.05$ ). Meanwhile, CM can relieve the colon shorten symptoms ( $P<0.05$ ) and protect colon tissue structure. Camel milk has the effects of inhibiting neutrophil infiltration, reducing inflammation and protecting the structure of colon tissue, and has a certain protective effect on DSS-induced colitis damage in mice.

**Keywords** camel milk; colitis; dextran sodium sulfate; inflammation