

刘朝阳,吴琳琳,田茂生,等. 贻贝粘蛋白粘附性及抗氧化作用对大鼠溃疡性结肠炎的实验研究 [J]. 中国实验动物学报, 2021, 29(5): 570-577.

Liu ZY, Wu LL, Tian MS, et al. Experimental study on the adhesion and antioxidant effect of MAP on ulcerative colitis in rats [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2021, 29(5): 570-577.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2021.05.002

贻贝粘蛋白粘附性及抗氧化作用对大鼠溃疡性结肠炎的实验研究

刘朝阳¹, 吴琳琳¹, 田茂生¹, 张明全¹, 赵娜¹, 高记华^{1,2*}

(1. 河北中医学院, 石家庄 050091; 2. 河北中医学院第一附属医院, 石家庄 050011)

【摘要】 目的 观察贻贝粘蛋白(MAP)对大鼠溃疡性结肠炎肠黏膜的影响,从粘附性及抗氧化角度探讨其作用机制。**方法** 将32只SPF级SD大鼠随机分为正常组、模型组、美沙拉嗪组、贻贝粘蛋白组(0.6 mg/kg),每组8只。正常组予普通饮用水,其余各组以5%葡聚糖硫酸钠(DSS)自由饮水7d制备溃疡性结肠炎模型,造模后24h分别每日给药,观察记录各组大鼠每日疾病活动指数(DAI)、体重变化,给药7d后解剖取材,记录各组大鼠结肠长度、重量、肠重比,行结肠黏膜大体形态(CMDI)与病理组织学观察。取大鼠肠黏膜行体外试验,采取氯化硝基四氮唑蓝(NBT)染色法观察MAP对大鼠肠黏膜粘附性及抗氧化作用的影响。**结果** 与正常组相比,模型组从实验第5天开始DAI评分明显升高($P < 0.05$),体重下降($P < 0.05$),可见肠黏膜充血、水肿和溃疡形成,以及结肠隐窝肿胀变形,黏膜下组织大量炎细胞浸润;与模型组相比,美沙拉嗪组和贻贝粘蛋白组大鼠体重、结肠长度均增加($P < 0.05$),DAI评分、肠重比、CMDI评分及病理组织学评分均降低($P < 0.05$)。NBT实验中可见大鼠直肠黏膜出现染蓝现象,且随时间延长,染蓝程度进一步加深。**结论** MAP通过对肠黏膜良好的粘附及抗氧化作用,能明显改善溃疡性结肠炎模型大鼠症状,修护肠黏膜屏障损伤,可为MAP治疗溃疡性结肠炎提供可靠的实验依据。

【关键词】 贻贝粘蛋白;溃疡性结肠炎;大鼠;粘附性;抗氧化

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2021)05-0570-08

Experimental study on the adhesion and antioxidant effect of MAP on ulcerative colitis in rats

LIU Zhaoyang¹, WU Linlin¹, TIAN Maosheng¹, ZHANG Mingquan¹, ZHAO Na¹, GAO Jihua^{1,2*}

(1. Hebei University of Chinese Medicine, Shijiazhuang 050091, China.

2. the First Affiliated Hospital of Hebei University of Chinese Medicine, Shijiazhuang 050011)

Corresponding author: GAO Jihua. E-mail: gaojihua2005@163.com

【Abstract】 Objective To observe the effect of mussel adhesive protein(MAP) on the intestinal mucosa of rats with ulcerative colitis, and to explore potential mechanisms from the perspectives of adhesion and antioxidant actions. **Methods** A total of 32 specific pathogen-free grade SD rats were randomly divided into four groups: a normal group, model group, mesalazine group and MAP group (0.6 mg/kg body weight), with eight rats in each group. The normal group was provided ordinary drinking water, whereas the other groups were given 5% dextran sodium sulfate (DSS) for 7 days to induce ulcerative colitis, and daily dosing was started during the 24 h after molding. The disease activity index (DAI)

【基金项目】 国家自然科学基金(82174381),河北省中医药管理局资助项目(2020108),河北中医学院研究生创新能力培养资助项目(XCXZZBS2021019)。

Funded by the National Natural Science Foundation of China(82174381), Hebei Province Administration of Traditional Chinese Medicine(2020108), Project of Postgraduate Creativity Training Foundation of Hebei University of Chinese Medicine(XCXZZBS2021019).

【作者简介】 刘朝阳(1993—),女,硕士研究生,研究方向:中医药治疗肛门直肠盆底疾病。Email:419739806@qq.com

【通信作者】 高记华(1964—),男,教授,主任医师,博士生导师,研究方向:中医药治疗肛门直肠盆底疾病。Email:gaojihua2005@163.com

scores and body weights of the rats in each group were observed and recorded. After 7 days of DSS administration, samples were collected to determine the colorectal length and intestine:body weight ratio for each group, and the histology and gross morphology of the colorectal mucosa were examined. The adhesion and antioxidant effects of MAP on the intestinal mucosa of rats was investigated in vitro by nitro blue tetrazolium chloride (NBT) staining. **Results** Compared with the normal group, the model group showed significantly higher DAI scores ($P < 0.05$) and a decreased body weight ($P < 0.05$) from day 5 onwards, and shorter colorectal length and lower intestinal weight ratio ($P < 0.05$), as well as higher colon mucosal damage index (CMDI) ($P < 0.05$) and pathohistological ($P < 0.05$) scores. Congestion, edema, and ulceration were observed in the colorectal mucosa, as well as swelling and distortion of the colonic crypts and extensive infiltration of inflammatory cells in submucosal tissue. These findings showed that the ulcerative colitis model was successfully established in rats. Compared with the model group, the body weight and colorectal length of rats in the mesalazine and MAP groups were increased ($P < 0.05$), whereas DAI scores, intestinal weight ratio, and CMDI and histopathological scores were decreased ($P < 0.05$). In comparison with the mesalazine group, rats in the MAP group showed similar body weight growth trends and DAI scores, as well as similar levels of intestinal mucosal edema, congestion and inflammatory cell infiltration, indicating that MAP had potentially similar therapeutic effects to those of mesalazine in ulcerative colitis. The NBT staining produced blue histology in the rectal mucosa of rats, and the degree of blue staining increased with time. **Conclusions** Through adhesion and antioxidant effects on intestinal mucosa, MAP can significantly improve the symptoms of dilute stool, blood in stool and weight loss in rats with ulcerative colitis, and repair a damaged intestinal mucosal barrier. Additionally, MAP reduced the congestion and edema of rat rectal mucosa, as well as effectively reduced the infiltration of inflammatory cells, suggesting therapeutic potential for the treatment of ulcerative colitis by MAP.

【Keywords】 MAP; ulcerative colitis; rat; adhesion; antioxidant

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 是一种慢性炎症性肠病, 临床表现为持续或反复发作的腹泻、黏液脓血便等症状, 具有病程长、易反复发作的特点^[1-4]。UC 的黏膜炎症从直肠开始, 并以连续的方式向结肠近端延伸, 且炎症通常局限于黏膜层^[1]。研究显示, UC 是一种肠道屏障疾病, 其肠道屏障的功能障碍主要体现在紧密连接的表达变化, 以及在炎症状态下, 黏膜的黏附性下降^[5]。且高浓度自由基水平和抗氧化能力低下为 UC 的主要病因之一, 所以清除氧自由基、抑制过氧化可以预防并治疗溃疡性结肠炎^[6]。目前临床多采用口服药物治疗 UC, 由于 UC 直肠炎症反应致大量肠液分泌及腹泻, 一般外用药难以维持直肠给药的药物治疗浓度, 且以局部治疗为主的直肠给药制剂匮乏, 所以寻找一种粘附性高、具有良好抗氧化作用的直肠给药制剂是解决问题的有效途径。

贻贝粘蛋白 (mussel adhesive protein, MAP) 是海洋贻贝的足丝腺分泌并纯化的大分子蛋白, 该蛋白与高等植物细胞壁中的伸展蛋白相似, 是一种属于糖蛋白类型的粘液蛋白, 具有超强的黏着性能^[7]。MAP 具有搭载高载量正电荷、多巴基团可氧化成膜以及良好疏水性等结构特点, 可形成具有抗氧化能力的纳米级网状微观支架, 从而抑制炎症,

并促进多种细胞贴壁和爬行替代^[8-9]。贻贝足丝蛋白中含有大量的 L-3,4-二羟基苯丙氨酸 (DOPA), 该基团在碱性和过量甘氨酸作为还原剂的条件下, 可参与发生氧化还原反应。研究显示, 活性氧的代谢产物在 UC 的炎症发生发展过程中具有重要的作用^[10], 超氧阴离子自由基 (O_2^-) 是分子氧的单电子还原产物, 具有较高的反应活性, 极易衰变成活性氧单元^[11]。氯化硝基四氮唑蓝 (nitroretetrazolium blue chloride, NBT) 还原反应常被用于清除 O_2^- 能力大小的检测, 故 NBT 染色法可提示抗氧化作用。本研究旨在探讨 MAP 对溃疡性结肠炎模型大鼠肠黏膜的作用效果, 从粘附性和抗氧化抗炎角度探究其相关的作用机制, 从而为临床治疗 UC 提供科学依据和治疗新思路。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

32 只 8 周龄健康 SPF 级雄性 SD 大鼠, 体重 180 ~ 190 g, 来自浙江维通利华实验动物技术有限公司【SCXK (浙) 2020-0002】, 质量合格证号: 20200730Aazz06190009。动物饲养于菲诺克生物科技(上海)有限公司实验动物中心 SPF 级屏障环境

【SYXK(沪)2018-0023】，单笼饲养。饲养室温度(22 ± 3)℃，湿度 40% ~ 70%，灯光 12 h 明暗交替。所有大鼠标准鼠食饲养，自由饮水。所有操作均符合菲诺克生物科技(上海)有限公司实验动物伦理学要求(伦理审批号:phenotek-sh012)。

1.1.2 主要试剂与仪器

葡聚糖硫酸钠(MP Biomedicals, SR01606);美沙拉秦栓(Dr. Falk Pharma GmbH, 190329A);天然贻贝黏蛋白高聚物肛肠敷料(江阴贝瑞森制药有限公司, 20200707-5);空白凝胶基质(江阴贝瑞森制药有限公司, 20200707-1);硝酸纤维素转印膜(Pall Corporation, T70720);固体氢氧化钾(上海麦克林生化科技有限公司, C10285994);甘氨酸(Sigma-Aldrich, SLBR4281V);贻贝粘蛋白(江阴贝瑞森生化技术有限公司, 20012001-R);氯化硝基四氮唑蓝(上海前进试剂厂, 190327);10%福尔马林中性固定液(南昌雨露实验器材有限公司, 190803)

5% DSS 溶液:称取葡聚糖硫酸钠(纯度:100%)80 g,加入 1600 mL 饮用水,搅拌至溶液澄清,常温贮存,每日配置。美沙拉秦:美沙拉秦栓 45℃ 水浴溶化,现用现配;甘氨酸-钾缓冲液(pH=10):称取 75 g 甘氨酸溶解于 400 mL 水中,用固体氢氧化钾(KOH)调节 pH=10,加水定容至 500 mL,配好后 4℃ 保存;NBT 染色液:称取 9 mg NBT 加 15 mL 甘氨酸-钾缓冲液溶解,混匀,临用现配;贻贝粘蛋白溶液:称取 10 mg 贻贝粘蛋白加 10 mL 生理盐水溶解,现用现配。

LeicaASP200 型全自动脱水机(LEICA 公司,德国);Leica RM2245 型半自动切片机(LEICA 公司,德国);Leica ST4040 型全自动染色机(LEICA 公司,德国);Olympus BX53 型光学显微镜(Olympus, 日本);SC180 型图像分析系统(Olympus, 日本);分析天平(常州奥豪斯仪器制造有限公司,中国);HH-1 型数显恒温水浴锅(常州智博瑞仪器制造有限公司,中国);烘箱(上海跃进医疗器械有限公司,中国);D610 型数码相机(尼康映像仪器销售有限公司,日本);培养皿;灌胃针;外科手术器械;1 mL 注射器、2 mL 注射器;比例尺;滤纸。

1.2 方法

1.2.1 实验分组

根据体重将 32 只清洁级雄性 SD 大鼠随机分为 4 组分别为正常组、模型组、美沙拉秦组、贻贝粘蛋白组,每组 8 只。单笼饲养,每只动物在尾部标记

单独的动物号,且每只笼具有笼具标签。

1.2.2 造模

模型组、美沙拉秦组、贻贝粘蛋白组的动物连续 7 d 自由饮用 5%(w/v) DSS 溶液,制备 UC 模型。正常组动物同时予以普通饮用水作为对照。每日通过观测各组大鼠 DAI 评分、体重,监测模型进展情况。

1.2.3 给药

造模 24 h 大鼠经直肠途径局部治疗给药,模型组给予空白凝胶基质,美沙拉秦组予美沙拉秦,贻贝粘蛋白组给予天然贻贝黏蛋白高聚物肛肠敷料,正常组不做任何操作。给药前所有动物麻醉成功后,挤出直肠末端内大便,取仰卧位,以 1 mL 注射器连接灌胃针吸药物,每只大鼠给药 300 μ L,缓慢注入直肠肠腔,灌胃针插入深度约 8 cm,给药时左手捏紧肛门,给药完毕采取头低臀高位放回饲养笼,保持尾部朝上避免药物流出,早晚各 1 次,连续 7 d。

1.2.4 取材

于实验第 8 天各组动物行 CO₂ 安乐处死后,沿大鼠肛周皮毛边缘起 0.5 cm 环形分离肛门,剥离肠管至盲肠根部,测量自然伸展状态下盲肠根部到肛门的结直肠长度,剥离多余的肌肉、脂肪、肠系膜等组织,纵剖全段结直肠,平铺肠管进行结直肠黏膜大体观察评分并拍照记录,生理盐水冲洗干净并用吸水纸拭干,分析天平称重,结肠组织以肛门为中心卷成“瑞士卷”形状,然后浸泡在 10%福尔马林中性固定液中,以供病理组织学观察。

1.2.5 观察指标

(1)体重:实验期间每日同一时间称量所有动物体重并记录。

(2)疾病活动指数(DAI)评分:计算公式:DAI=(体重下降分数+大便性状分数+便血分数)/3,将每只动物置于无垫料的干净笼内自由排便,待粪便数目 ≥ 5 ,按照表 1 中标准^[12-13],根据所有粪便颗粒硬度和颜色,综合评价大便性状和便血情况。

(3)结直肠长度:测量各组大鼠取材后自然伸展状态下结直肠的长度。

(4)结直肠黏膜大体形态(CMDI)评分:将所有标本进行纵剖,平铺肠管,按表 2 标准^[14-15]进行 CMDI 评分并拍照记录。

(5)结直肠重量与肠重比:所有标本称量湿重,计算肠重比:肠重比=肠重量/肠长度

(6)病理组织学观察:各组标本固定后,逐级乙

醇脱水、透明、浸蜡、包埋、切片,常规 HE 染色,光镜下观察组织病理学改变并按表 3 标准^[16]进行评分记录。

(7)体外实验:NBT 法检测 MAP 粘附性及抗氧化作用

取长度 1 cm 的大鼠直肠组织 4 段,纵剖铺平,

黏膜面朝上用大头钉固定于滤纸片上,其中 1 段作为空白对照,其余 3 段分别浸泡于贻贝粘蛋白溶液(1 mg/mL)不同时间(10 s,1 min,10 min),取出后使用生理盐水冲洗表面 3 次,置于生理盐水湿盒,生理盐水湿润滤纸,将湿盒盖好后置于 37℃ 烘箱中烘干 15 h。取出后将滤纸更换成醋酸纤维素膜,将肠

表 1 DAI 评分表

Table 1 DAI Scores

体重下降 Loss of weight	大便性状 Stool consistency	大便隐血/肉眼血便 Bleeding	评分 Score
≤ 1%	正常 Normal	正常(-) Normal	0
5%	非常软但成形 Soft but still formed	隐血(+) Negative hemocult	1
5% ~ 10%	半稀便 Soft	肉眼血便(++) Positive hemocult	2
10% ~ 15%	稀便 Very soft and wet	肉眼血便(+++) Blood traces in stool visible	3
>15%	较重稀便 Watery diarrhea	肉眼血便(>+++) Gross bleeding	4

表 2 CMDI 评分表

Table 2 CMDI scores

结直肠黏膜大体形态表现 Gross morphological manifestations of the colorectal mucosa	评分 Score
正常,无损伤 Normal, no damage	0
轻度充血,水肿,表面光滑,无糜烂损伤 Mild hyperemia, edema, smooth surface, no erosion damage	1
中度充血,水肿,黏膜粗糙呈颗粒状,有糜烂或肠粘连 Moderate hyperemia, oedema, coarse granular mucosa, erosion or intestinal adhesions	2
高度充血水肿,黏膜表面有坏死、溃疡形成,溃疡最大纵径< 1 cm,肠壁增厚或表面有坏死及炎症 Highly congested and edematous, with necrosis and ulcer formation on the mucosal surface, maximum longitudinal diameter of ulcer < 1 cm, thickening of the intestinal wall or necrosis and inflammation on the surface	3
在 3 分基础上溃疡最大纵径> 1 cm 或全肠壁坏死 Maximum longitudinal diameter of ulcer >1 cm on a 3-point basis or total bowel wall necrosis	4

表 3 病理组织学评分标准

Table 3 Pathological histology scoring criteria

结直肠组织病理表现 Histopathological manifestations of the colorectum	评分 Score
正常且无炎症细胞浸润 The tissue is normal and not infiltrated by inflammatory cells	0
轻微炎症细胞浸润,黏膜下组织无损伤 Slight inflammatory cell infiltration, no damage to submucosal tissue	1
中度炎症细胞浸润和黏膜下组织被破坏(损伤范围在 10% ~ 25%) Moderate inflammatory cell infiltration and destruction of submucosal tissue(damage ranges from 10% to 25%)	2
明显的炎症细胞浸润,黏膜下组织被破坏,结肠壁增厚(损伤范围在 25% ~ 50%) Significant inflammatory cell infiltration, destruction of submucosal tissue and thickening of the colonic wall(damage ranges from 25% to 50%)	3
严重的炎症细胞浸润,大规模结肠组织损伤(损伤范围 > 50%)和结肠壁增厚 Severe inflammatory cell infiltration, massive colonic tissue damage (>50% damage) with thickening of the colonic wall	4

黏膜面朝下置于培养皿中,加入 NBT 染色液 15 mL,使组织被 NBT 染色液均匀浸没,避光染色 15 min 观察各段组织染色情况并拍照记录。同法,空白组织浸泡生理盐水 15 min。

1.3 统计学分析

各组数据采用 SPSS 25.0 与 GraphPad Prism 8.0 进行数据统计,所有数值采用平均值 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,符合正态分布采用单因素方差分析,非正态分布采用秩和检验,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

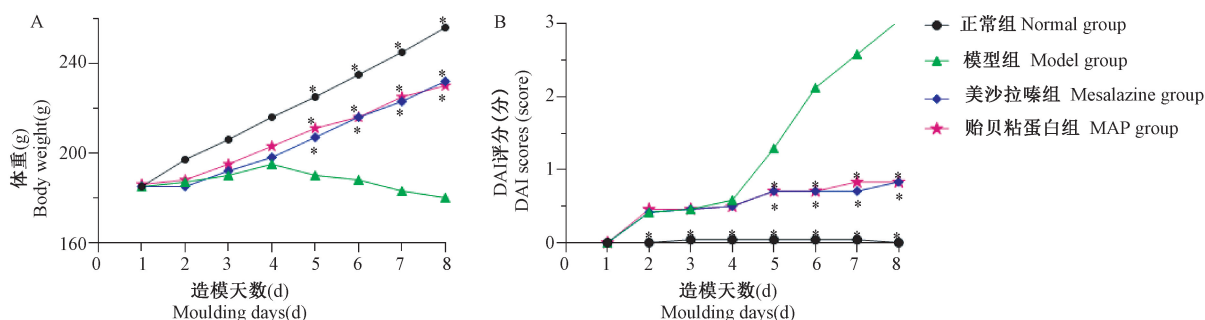
2 结果

2.1 体重与 DAI 评分

正常组大鼠体重呈平稳上升趋势,模型组与正

常组相比,于实验第 5 天出现体重明显下降,差异具有显著性($P < 0.05$);与模型组相比,美沙拉嗪组和贻贝粘蛋白组自第 5 天起可见体重呈上升趋势,且差异具有显著性($P < 0.05$,图 1A)。

模型组第 3 天可见 5 只大鼠出现稀便;第 4 天所有动物均有稀便且活动减少;部分动物肉眼血便于第 5 天出现,个别反应迟钝;第 6 天部分大鼠出现皮毛不洁,体重下降;第 7 天模型组所有动物出现肉眼血便,个别出现精神萎靡、体重明显下降,模型组与正常组 DAI 评分差异具有显著性($P < 0.05$);与模型组相比,美沙拉嗪组和贻贝粘蛋白组各项体征均减轻,DAI 评分明显下降,差异具有显著性($P < 0.05$);正常组大鼠无明显变化(图 1B)。



注:A:体重比较;B:DAI 评分比较,与模型组相比,* $P < 0.05$ 。(下图同)

图 1 体重与 DAI 评分

Note. A. Comparison of body weight. B. Comparison of DAI scores. Compared with the model group, * $P < 0.05$. (The same in the following figure)

Figure 1 Body weight and DAI scores

2.2 结直肠解剖数据与黏膜大体形态观察

与正常组相比,模型组结直肠长度缩短、肠重比增加,差异具有显著性($P < 0.05$);与模型组相比较,美沙拉嗪组和贻贝粘蛋白组结直肠长度增加、肠重比降低,差异具有显著性($P < 0.05$,见图 2A, 2B)。

模型组结直肠黏膜形态观察见肠黏膜高度水肿、充血,部分黏膜粗糙、糜烂,可见多个大小不等溃疡形成,肠壁增厚(图 2D),CMDI 评分高于正常组($P < 0.05$,图 2C);与模型组相比,美沙拉嗪组和贻贝粘蛋白组可见结直肠黏膜水肿、充血减轻,偶见黏膜粗糙(图 2D),CMDI 评分均低于模型组,差异具有显著性($P < 0.05$,图 2C)。

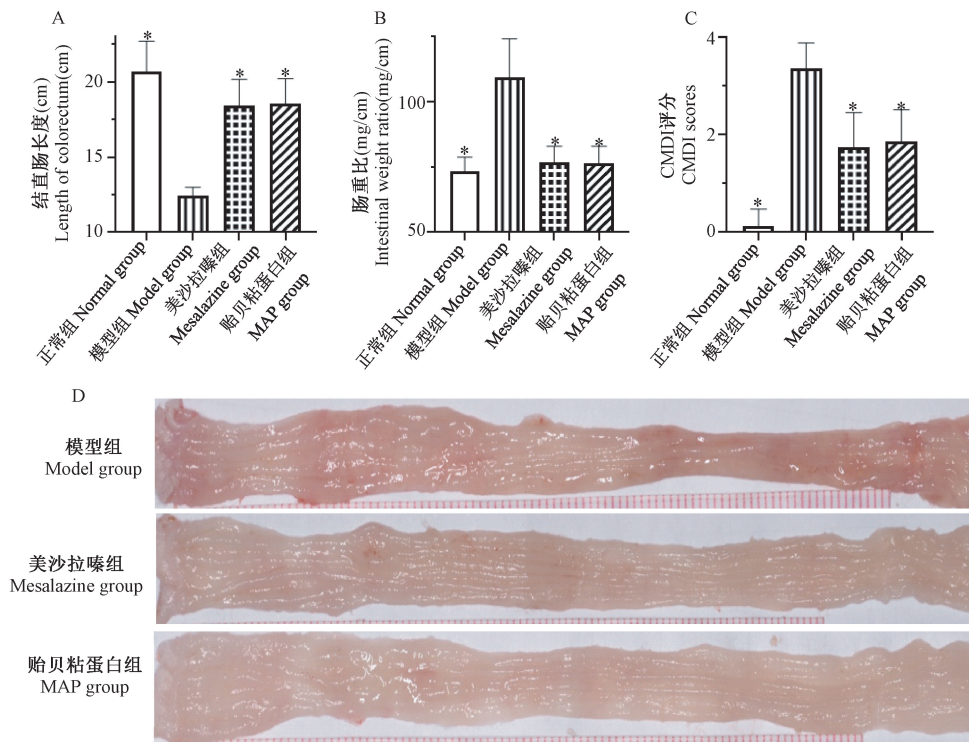
2.3 病理组织学观察

正常组大鼠结直肠黏膜上皮完整,隐窝结构清晰,腺体排列规则,未见炎症细胞浸润,病理组织学评

分为(0.13 ± 0.35)分;模型组大鼠可见结直肠黏膜腺体结构被破坏,结肠隐窝肿胀变形,黏膜下组织大量炎细胞浸润,病理组织学评分为(3.38 ± 0.74)分高于正常组,差异具有显著性($P < 0.05$);美沙拉嗪组、贻贝粘蛋白组可见与模型组相似的病理变化,但病变程度较模型组减轻,病理组织学评分为美沙拉嗪组(2.38 ± 0.74)分、贻贝粘蛋白组(2.13 ± 0.64)分,均低于模型组($P < 0.05$),且贻贝粘蛋白组可见黏膜上皮轻微至轻度再生(见图 3)。

2.4 体外实验:NBT 法检测 MAP 粘附性及抗氧化作用结果

实验可见空白对照组织无染色;与空白对照组织相比,浸泡 10 s 组织出现染蓝;与浸泡 10 s 组织相比,浸泡 1 min 组织可见染蓝加深;浸泡 10 min 组织可见较浸泡 1 min 组织更加明显的深蓝色(见图 4)。



注：A：结直肠长度比较；B：肠重比较；C：CMDI 评分比较；D：结直肠黏膜大体形态观察。

图 2 结直肠解剖数据与黏膜大体形态观察

Note. A. Comparison of length of colorectum. B. Comparison of intestinal weight ratio. C. Comparison of CMDI scores. D. Observation of gross morphology of colorectal mucosa.

Figure 2 Colorectal anatomical data and observation of gross morphology of colorectal mucosa

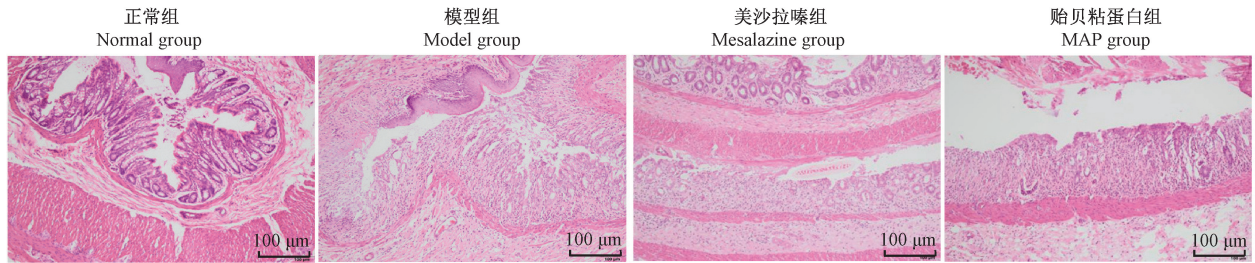


图 3 病理组织学观察

Figure 3 Observation of pathological histological

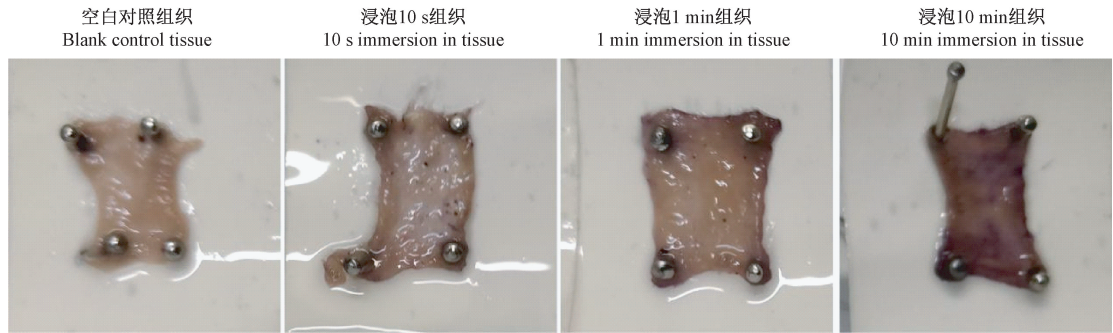


图 4 MAP 对直肠黏膜粘附及抗氧化作用观察

Figure 4 Observations on the adhesion and antioxidant effects of MAP on rectal mucosa

3 讨论

据统计,我国 UC 的发病率呈逐年上升趋势,且多发于青壮年,并存在一定癌变的危险性^[17-18]。在 UC 的发病过程中,氧化应激可导致肠道黏膜生物屏障被破坏,造成机体炎症性损伤^[1,19]。MAP 良好的粘附性可利于肠黏膜黏液层的重建、修护黏膜屏障,还能减少持续的炎性刺激黏膜上皮细胞、使屏障功能得以恢复^[6,20-22],故在本研究与模型组相比,贻贝粘蛋白组大鼠可见体重明显增加、稀便和便血症状明显改善,肠黏膜水肿及充血明显减轻。

生物体系中具有抗氧化能力的物质能有效抵御氧化应激的有害损伤,从而发挥抗炎作用^[23]。在前期评价 MAP 抗氧化及清除自由基能力的研究显示^[24],MAP 对于 DPPH·自由基的清除范围为 4.59% ~ 91.06%;MAP 对 ABTS·+ 的清除率为 13.26% ~ 93.77%;FRAP 法中随着 MAP 浓度的变化其还原能力值范围为 0.153FRAP 值到 1.825FRAP 值。贻贝足丝蛋白中 DOPA 基团在碱性和过量甘氨酸作为还原剂的条件下,与 NBT 可氧化还原生成不溶性的蓝紫色结晶甲臌,于本研究体外实验中可见肠黏膜染色为不同程度蓝紫色,表明 MAP 粘附于大鼠肠黏膜可发生氧化还原反应,且呈现一定的时间相关性,由此可见,MAP 能够有效清除超氧阴离子、抑制过氧化,具有良好的抗炎作用,故本研究病理组织学观察中可见贻贝粘蛋白组大鼠炎细胞浸润程度较模型组明显减轻,与前期研究所得 MAP 具有良好抗氧化活性能力的结论相符。

美沙拉嗪属氨基水杨酸类药物,作为一种非甾体类抗炎药,可通过抑制前列腺素的合成以及炎症介质白三烯的形成,产生抑制肠黏膜炎性反应的作用^[25]。与美沙拉嗪组相比,贻贝粘蛋白组大鼠可见与其相似的体重增长趋势和 DAI 评分,且肠黏膜水肿、充血及炎细胞浸润程度均十分相近,可见 MAP 具有与美沙拉嗪对 UC 所相近的治疗作用。MAP 良好的粘附性使其在直肠可维持药物的治疗浓度,且直肠黏膜为相当稳定的物理化学和酶环境,可避免部分肝首过效应,以直肠给药方式还可避免口服治疗的不良反应^[26]。MAP 具有粘附范围广、对粘附面的要求低等特点,临床中对促进慢性溃疡愈合及促进细胞的粘附等均具有良好效果^[27-29],已被广泛应用于医学领域。

本研究通过建立 UC 大鼠模型,观察 MAP 对溃

疡性结肠炎模型大鼠症状的改善作用,并取得了确切疗效,其作用机制为 MAP 具有良好粘附性和抗氧化能力,在直肠局部可维持药物的治疗浓度,不仅能修护肠黏膜屏障功能,还可以清除自由基减轻炎症,从而减轻肠黏膜屏障损伤,发挥修复肠黏膜的作用,为临床开发局部治疗的直肠给药制剂治疗 UC 提供新思路。

参 考 文 献 (References)

- [1] Kobayashi T, Siegmund B, Le Berre C, et al. Ulcerative colitis [J]. Nat Rev Dis Primers, 2020, 6(1): 74.
- [2] 吴开春, 梁洁, 冉志华, 等. 炎症性肠病诊断与治疗的共识意见(2018 年·北京) [J]. 中国实用内科杂志, 2018, 38(9): 796-813.
Wu KC, Liang J, Ran ZH, et al. Chinese consensus on diagnosis and treatment of inflammatory bowel disease (Beijing·2018) [J]. Chin J Practical Int Med, 2018, 38(9): 796-813.
- [3] Miyamoto S, Naruse H, Sakamoto N. Budesonide foam for prevention of rectal stricture following endoscopic submucosal dissection [J]. Digest Endo, 2019, 31(5): 588.
- [4] Beasley R, Holliday M, Reddel HK, et al. Controlled trial of budesonide-formoterol as needed for mild asthma [J]. N Engl J Med, 2019, 380(21): 2020-2030.
- [5] Spalinger MR, Atrott K, Baebler K, et al. Administration of the hyper-immune bovine colostrum extract IMM-124E ameliorates experimental murine colitis [J]. J Crohns Colitis, 2019, 13(6): 785-797.
- [6] Tahan G, Gramignoli R, Marongiu F, et al. Melatonin expresses powerful anti-inflammatory and antioxidant activities resulting in complete improvement of acetic-acid-induced colitis in rats [J]. Dig Dis Sci, 2011, 56(3): 715-720.
- [7] 高敏, 张长虹, 周俊, 等. 贻贝粘蛋白综述 [J]. 安徽农业科学, 2011, 39(32): 19860-19862.
Gao M, Zhang CH, Zhou J, et al. A review of mussel mucin [J]. J Anhui Agri Sci, 2011, 39(32): 19860-19862.
- [8] Waite JH, Tanzer ML. Polyphenolic substance of mytilus edulis: novel adhesive containing L-dopa and hydroxyproline [J]. Sci, 1981, 212(4498): 1038-1040.
- [9] Lee BP, Messersmith PB, Israelachvili JN, et al. Mussel-inspired adhesives and coatings [J]. Annu Rev Mater Res, 2011, 41(1): 99-132.
- [10] Jubeh TT, Nadler MM, Barenholz Y, et al. Local treatment of experimental colitis in the rat by negatively charged liposomes of catalase, TMN and SOD [J]. J Drug Target, 2006, 14(3): 155-163.
- [11] 刘瑞恒, 付时雨, 詹怀宇. 氯化硝基四氮唑蓝显色检测超氧阴离子自由基的研究 [J]. 分析测试学报, 2008, 27(4): 355-359.
Liu RH, Fu SY, Zhan HY. Spectrophotometric determination of superoxide anion radical with nitroblue tetrazolium [J]. J Instr Anal, 2008, 27(4): 355-359.

- [12] Liu XW, He HY, Huang TT, et al. Tanshinone IIA Protects against dextran sulfate sodium- (DSS-) induced colitis in mice by modulation of neutrophil infiltration and activation [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2016, 2016: 7916763.
- [13] Fu JX, Wei B, Wen T, et al. Loss of intestinal core 1-derived O-glycans causes spontaneous colitis in mice [J]. *J Clin Invest*, 2011, 121(4): 1657-1666.
- [14] Ekström GM. Oxazolone-induced colitis in rats: effects of budesonide, cyclosporin A, and 5-aminosalicylic acid [J]. *Scand J Gastroenterol*, 1998, 33(2): 174-179.
- [15] 李茹柳, 迟莉, 郭文峰, 等. 白术黄芪汤单药提取部位组方对不同病变阶段大鼠溃疡性结肠炎的影响 [J]. *中国中药杂志*, 2008, 33(2): 209-212.
- Li RL, Chi L, Guo WF, et al. Effects of a single extracted part of Bai Zhu Huang Qi Tang on ulcerative colitis in rats at different stages of lesions [J]. *Chin J Chin Mater Med*, 2008, 33(2): 209-212.
- [16] 何育佩, 杜正彩, 侯小涛, 等. 溃疡性结肠炎动物模型研究进展 [J]. *世界科学技术-中医药现代化*, 2020, 22(2): 423-433.
- He YP, Du ZC, Hou XT, et al. Advances in the study of animal models of ulcerative colitis [J]. *Modernization Tradit Chin Med Mater Med World Sci Technol*, 2020, 22(2): 423-433.
- [17] Zhai H, Liu A, Huang W, et al. Increasing rate of inflammatory bowel disease: a 12-year retrospective study in NingXia, China [J]. *BMC Gastroenterol*, 2016, 16: 2.
- [18] Yu Q, Mao R, Lian L, et al. Surgical management of inflammatory bowel disease in China: a systematic review of two decades [J]. *Intest Res*, 2016, 14(4): 322-332.
- [19] 陈素傲, 金世柱. 葡聚糖硫酸钠诱导鼠溃疡性结肠炎模型研究进展 [J]. *中国比较医学杂志*, 2020, 30(4): 142-146.
- Chen SA, Jin SZ. Murine model of dextran sodium sulfate-induced ulcerative colitis [J]. *Chin J Comp Med*, 2020, 30(4): 142-146.
- [20] Shah SC, Colombel JF, Sands BE, et al. Mucosal healing is associated with improved long-term outcomes of patients with ulcerative colitis: a systematic review and meta-analysis [J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2016, 14(9): 1245-1255.
- [21] Liu ZQ, Jiang M, Zhao JM, et al. Efficacy of a wound-dressing biomaterial on prevention of postinflammatory hyperpigmentation after suction blister epidermal grafting in stable vitiligo patients: a controlled assessor-blinded clinical study with *in vitro* bioactivity investigation [J]. *Arch Dermat Res*, 2020, 312(9): 635-645.
- [22] Zhang F, Xie GX, Pan JS. Tunable adsorption and film formation of mussel adhesive protein by potential control [J]. *Langmuir*, 2017, 33(35): 8749-8756.
- [23] 马小媛, 钱卫平. 抗氧化能力评价方法 [J]. *化学进展*, 2011, 23(8): 1737-1746.
- Ma XT, Qian WP. Methods to determine antioxidant capacity [J]. *Pro Chem*, 2011, 23(8): 1737-1746.
- [24] 闭静秀, 何利中, 高敏. 贻贝粘蛋白氧化交联特性研究 [J]. *世界最新医学信息文摘*, 2018, 18(55): 66-67, 69.
- Bi JX, He LZ, Gao M. Oxidative cross-linking properties of mussel adhesive protein [J]. *World Latest Med Inform*, 2018, 18(55): 66-67, 69.
- [25] 王丽梅, 相祎, 吴颖, 等. 甘露聚糖肽联合美沙拉嗪治疗溃疡性结肠炎的临床效果 [J]. *中国医药导报*, 2018, 15(33): 89-92, 97.
- Wang LM, Xiang W, Wu Y, et al. Clinical efficacy of Mannatide combined with Mesalazine in the treatment of ulcerative colitis [J]. *Chin Med Herald*, 2018, 15(33): 89-92, 97.
- [26] Mélanie M, Rute N, Bruno S, et al. Rectal administration of nanosystems: from drug delivery to diagnostics [J]. *Mater Today Chem*, 2018, 10: 128-141.
- [27] 殷雨林, 邓建华, 王小磊. 贻贝粘蛋白纤维素敷料用于慢性溃疡临床观察 [J]. *智慧健康*, 2017, 3(10): 79-80, 89.
- Yin YL, Deng JH, Wang XL. The clinical observation of mussel adhesive protein cellulose dressing for chronic ulcer [J]. *Smart Healthcare*, 2017, 3(10): 79-80, 89.
- [28] Kang TY, Lee JH, Kim BJ, et al. *In vivo* endothelialization of tubular vascular grafts through in situ recruitment of endothelial and endothelial progenitor cells by RGD-fused mussel adhesive proteins [J]. *Biofabrication*, 2015, 7(1): 015007.
- [29] Wang Y, Lan HL, Yin TY, et al. Covalent immobilization of biomolecules on stent materials through mussel adhesive protein coating to form biofunctional films [J]. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2020, 106: 110187.

[收稿日期] 2021-03-09