

• 论著—实验研究 •

饮食“发物”羊肉对溃疡性结肠炎小鼠巨噬细胞极化的调控作用^{*}

卢心毓¹ 毛堂友¹ 袁亚利¹ 李军祥¹ 王木源¹ 张文基¹ 邢韵淇¹ 王林恒¹

[摘要] 目的:研究饮食“发物”羊肉对溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)小鼠的影响,为 UC 患者的饮食方案提供理论依据。方法:将 32 只 SPF 级健康雌性 C57BL/6 小鼠随机分为空白组、模型组、羊肉低剂量组、羊肉中剂量组、羊肉高剂量组。空白组小鼠全程自由进食饮水,模型组和羊肉低、中、高各剂量组均自由饮用 2.5 % (w/v) 葡聚糖硫酸钠(DSS)溶液 5 d、去离子水 7 d 为 1 个周期,重复 3 个周期以建立慢性 UC 模型,以开始给予 DSS 溶液为第 1 天,第 6 天开始给予羊肉各剂量组 0.25、0.50、1.00 g/mL 浓度的羊肉混悬液灌胃,模型组给予等量去离子水灌胃,期间每日观察小鼠一般情况,测量体重、检测便潜血、记录粪便性状,计算疾病活动指数(disease activity index, DAI)。干预结束后取结肠组织,苏木精-伊红染色评估病理损伤程度并进行组织病理学评分;取脾脏组织,制备单细胞悬液,流式细胞术检测 M1 型、M2 型巨噬细胞的水平;RT-qPCR 检测结肠黏膜紧密连接相关蛋白(ZO-1、E-cadherin)、M1 型巨噬细胞因子(TNF- α 、IL-6)、M2 型巨噬细胞因子(IL-10、TGF- β)的 mRNA 含量。结果:与空白组比较,UC 小鼠均表现出不同程度的体重下降、大便稀溏、便血;与模型组比较,羊肉各剂量组小鼠体重明显下降($P<0.01$ 或 $P<0.05$),DAI 呈升高趋势,其中中、高剂量组差异有统计学意义($P<0.05$);与模型组比较,羊肉各剂量组小鼠结肠病理损伤程度呈升高趋势,其中中、高剂量组差异有统计学意义($P<0.01$);羊肉各剂量组的结肠 ZO-1、E-cadherin mRNA 呈降低趋势,其中中、高剂量组差异有统计学意义($P<0.01$);与模型组比较,羊肉各剂量组小鼠脾脏 M1 型巨噬细胞表达升高($P<0.01$ 或 $P<0.05$),相关细胞因子 TNF- α 、IL-6 mRNA 水平升高,其中高剂量组差异有统计学意义($P<0.01$),脾脏 M2 型巨噬细胞表达降低($P<0.01$),相关细胞因子 IL-10、TGF- β mRNA 水平降低($P<0.01$ 或 $P<0.05$)。结论:饮食“发物”羊肉会破坏小鼠 UC 结肠黏膜屏障,加重肠道炎症表现,其机制可能与促进巨噬细胞向 M1 细胞分化、抑制向 M2 细胞分化,从而加重 M1/M2 型巨噬细胞失衡有关。

[关键词] 溃疡性结肠炎;羊肉;巨噬细胞;免疫调控;肠道炎症

DOI:10.3969/j.issn.1671-038X.2024.01.05

[中图分类号] R259 **[文献标志码]** A

The regulation of dietary lamb on the macrophage polarization in mice with ulcerative colitis

LU Xinyu MAO Tangyou YUAN Yali LI Junxiang WANG Muyuan
ZHANG Wenji XING Yunqi WANG Linheng

(Department of Gastroenterology, Dongfang Hospital, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing, 100078, China)

Corresponding author: WANG Linheng, E-mail: wanglinheng@sina.com

Abstract Objective: To study the effect of lamb on macrophage polarization in mice with ulcerative colitis (UC) induced by dextran sodium sulfate(DSS) and provide a theoretical basis for the dietary regimen of UC patients. **Methods:** Thirty-two healthy female C57BL/6 mice with SPF grade were randomly divided into control group, DSS group, low-dose lamb group, medium-dose group and high-dose lamb group. The mice in the control group ate and drank freely throughout the process. The DSS group and the low, medium and high dose group of lamb were free to drink 2.5% (w/v) DSS solution for 5 days and deionized water for 7 days for 1 cycle, repeated 3 cycles to establish a chronic UC model. Take the start of giving DSS solution as day 1, started to gavage lamb suspension of 0.25 g/mL, 0.50 g/mL, 1.00 g/mL dose on day 6. The DSS group was given the same amount of de-

^{*}基金项目:国家自然科学基金面上项目(No:82374411);中华中医药学会青年人才托举工程项目(No:CACM-2022-QNRC2-A02);首都卫生发展科研专项(No:首发 2022-4-4205)

¹北京中医药大学东方医院消化科(北京,100078)

通信作者:王林恒, E-mail: wanglinheng@sina.com

引用本文:卢心毓,毛堂友,袁亚利,等.饮食“发物”羊肉对溃疡性结肠炎小鼠巨噬细胞极化的调控作用[J].中国中西医结合消化杂志,2024,32(1):23-29. DOI:10.3969/j.issn.1671-038X.2024.01.05.

onized water, during which the general condition, weight, and stool of all groups were recorded every day. Colon tissue was retained after the intervention and the degree of pathological damage was assessed by H&E staining and histopathological scoring evaluation. Spleen tissue was collected to prepare single-cell suspension and the level of M1 and M2 macrophages was measured by flow cytometry and the content of *TNF- α* , *IL-6*, *IL-10*, *TGF- β* , *ZO-1*, *E-cadherin* mRNA were detected by RT-qPCR. **Results:** Compared with the control group, UC mice showed different degrees of weight loss, diarrhea and bloody stool. Compared with the DSS group, the weight of mice in each dose group of lamb decreased significantly ($P < 0.01$ or $P < 0.05$) and DAI showed an increasing trend, among which there were statistical differences in the middle and high-dose group ($P < 0.05$). Compared with the DSS group, the degree of pathological damage of the colon of mice in each dose group of lamb showed an increasing trend, and there were statistical differences in the middle and high dose group ($P < 0.01$). The colonic tight junction-associated proteins *ZO-1* and *E-cadherin* mRNA in each dose group of lamb showed a decreasing trend and there were differences in the medium and high dose group ($P < 0.01$). Compared with the DSS group, the content of M1 macrophages in the spleen of mice in each dose group of lamb was significantly increased ($P < 0.01$ or $P < 0.05$). The content of M1 macrophage-associated inflammatory factors *TNF- α* and *IL-6* mRNA showed an increasing trend and there were statistical differences in the high-dose group ($P < 0.01$). The content of M2 macrophages was significantly reduced ($P < 0.01$) and the content of M2 macrophages-associated inflammatory factors *IL-10* and *TGF- β* mRNA decreased ($P < 0.01$ or $P < 0.05$). **Conclusion:** Dietary lamb can damage the mucosal barrier and aggravate the intestinal inflammation of UC and its mechanism is related to promoting the differentiation of macrophages to M1 cells and inhibiting the differentiation to M2 cells, thereby aggravating the imbalance of M1/M2 macrophages.

Key words ulcerative colitis; lamb; macrophage; immune regulation; intestinal inflammation

溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 是一种累及结肠黏膜和黏膜下层的慢性肠道炎症性疾病, 临床表现以腹泻、腹痛、黏液脓血便为主^[1]。UC 的发病机制尚不十分明确, 既往研究已揭示了肠道组织损伤与肠黏膜屏障受损及免疫紊乱有关^[2]。肠道黏膜免疫系统的稳态是由多种免疫细胞及细胞因子所构建的复杂动态平衡, 其中巨噬细胞受刺激后, 向促炎或抑炎的功能发生极化, 产生 M1、M2 不同表型^[3], 成了 UC 病情进展的重要免疫因素。

流行病学调查显示, 随着饮食结构的改变, UC 的发病率呈逐年升高趋势, 从侧面提示食物因素可能是导致其发病率上升的重要推动因素^[4], 参与了该病的发生和发展, 并影响其疗效、预后及转归^[5]。“发物”主要是指有升散、动风、助火、动血作用, 能够引起慢性病病情加重或复发的食物, 羊肉因其性温味甘, 具有温热、补益、发散作用, 被认为是常见“发物”之一。研究发现羊肉能加重肺部或皮肤的炎症反应^[6-7], 但羊肉对肠道炎症的作用笔者尚未见相关报道。因此, 本研究以巨噬细胞极化为切入点, 探索羊肉对 UC 小鼠肠道炎症的调控作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物

32 只健康 SPF 级雌性 C57BL/6 小鼠, 6~8 周龄, 体重 18~20 g, 购自斯贝福 (北京) 生物技术有限公司 [实验动物许可证号: SCXK (京) 2019-0010; 合格证号: 110324231103265557]。经北京中医药大学东方医院实验动物伦理委员会批准 (No: DPYY202307M), 饲养于北京中医药大学东方医院实验动物中心, 12 h 光照/黑夜循环, 温度 25 ℃,

湿度 60%, 自由饮食饮水。

1.2 羊肉混悬液制备

羊后腿肉 (12 月龄蒙古羊) 购自盒马鲜生 (食品生产许可证号 SC11141172600249)。根据中国居民膳食指南, 参考人类每日摄入 40 g 羊肉^[8], 折合小鼠剂量为 0.50 g/mL, 作为中剂量组 (Lamb-M 组); 另外设置 0.25 g/mL、1.00 g/mL 为低剂量组 (Lamb-L 组) 及高剂量组 (Lamb-H 组)。

制备方法: 将 500 g 羊肉洗净后仔细去除筋膜, 将其粉碎并煮沸灭菌, 用去离子水分别稀释至低 (0.25 g/mL)、中 (0.50 g/mL)、高 (1.00 g/mL) 3 个浓度, 随后分装于 -20 ℃ 条件下保存, 使用时提前取出水浴复温。

1.3 主要试剂与仪器

DSS (平均分子量 36 000~50 000, MP Bio-medical), 便潜血试纸 (珠海贝索生物技术有限公司), 苏木精-伊红染液套装、苏木精分化液、苏木精返蓝液 (武汉赛维尔生物科技有限公司), RP-MI1640 培养液 (Hyclone), FBS (Gibco), BSA 牛血清白蛋白 (BIODEE), 红细胞裂解液、1×PBS、双抗 (北京索莱宝科技有限公司), 流式抗体 FITC-anti mouse-F4/80 Antibody (123108, Biolegend), APC-anti mouse-CD16/32 Antibody (101326, Biolegend), PE-anti mouse-CD206 Antibody (141706, Biolegend), Trizol 试剂 (Invitrogen), One Step TB Green PrimeScript[®] RT-PCR Kit II (Perfect Real Time) (Takara), 7300 型实时荧光定量 PCR 仪 (Applied Biosystems), 流式细胞仪 (MateCyte 2 L6C, 北京层浪生物科技有限公司)。

1.4 造模及给药方法

适应性饲养 7 d 后,按体重随机分为空白组、模型组(DSS)、Lamb-L 组(0.25 g/mL)、Lamb-M 组(0.50 g/mL)、Lamb-H 组(1.00g/mL)。空白组小鼠全程自由进食饮水,DSS 组和 Lamb-L 组、Lamb-M 组、Lamb-H 组小鼠均采用自由饮用 2.5 % (w/v)DSS 溶液 5 d、去离子水 7 d,重复 3 个周期以建立慢性 UC 模型^[9]。以开始给予 DSS 溶液为第 1 天,从第 6 天开始,羊肉各剂量组给予相应浓度的羊肉混悬液干预,DSS 组给予等量去离子水灌胃,按 1 mL/100 g 鼠重,每只给予 0.2 mL/次,1 次/d,持续 31 d。

1.5 观察指标

1.5.1 一般情况 观察小鼠毛发色泽、精神状态、体重、粪便性状等一般情况并做记录。

1.5.2 疾病活动指数 疾病活动指数(disease activity index,DAI)包括体重下降指数、粪便性状、粪便潜血,DAI=三者评分之和/3,具体评分标准^[10]见表 1。

表 1 DAI 评分标准

指标	评分/分				
	0	1	2	3	4
体重下降指数	无下降	1%~5%	>5%~10%	>10%~15%	>15%
粪便性状	正常		松散		腹泻
粪便潜血	无		阳性		肉眼血便

1.5.3 苏木精-伊红染色 将小鼠麻醉处死,取适量结肠组织于 4%甲醛中固定,随后进行梯度乙醇脱水,二甲苯透明,石蜡包埋及切片,将石蜡切片脱蜡至水后使用苏木精染液染细胞核,伊红染液染细胞质,随后梯度乙醇脱水,二甲苯透明,中性树脂封

固,显微镜下观察结肠组织病理损伤情况,并记录组织病理学评分,具体评分标准^[11]见表 2。

表 2 结肠组织病理学评分标准

组织学改变	评分/分			
	0	1	2	3
炎症细胞浸润	无	轻微	中等	严重
组织损伤深度	无	黏膜层	黏膜下层	黏膜肌层

1.5.4 流式细胞术测定小鼠脾脏 M1 型、M2 型巨噬细胞的含量 将小鼠麻醉处死,取适量脾脏组织快速转移至 1640 培养液中,经过研磨、离心、裂红、重悬,制备单个细胞混悬液。随后加入 3%BSA 溶液,封闭后加入 F4/80、CD16/32、CD206 流式抗体进行细胞膜表面染色,洗涤离心后重悬细胞,进行流式细胞术测定。

1.5.5 RT-qPCR 法测定小鼠结肠细胞因子的表达 按照试剂盒说明书步骤使用 Trizol 试剂(Invitrogen)从结肠中提取总 RNA。然后,使用 One Step TB Green PrimeScript[®]™ RT-PCR Kit II (Perfect Real Time)(Takara)在 7300 实时荧光定量 PCR 仪进行扩增反应,温度 42 ℃ 5 min、95 ℃ 10 s,然后在 95 ℃ 5 s、60 ℃ 31 s 的条件下循环 40 次,随后在 95 ℃ 15 s、60 ℃ 1 min、95 ℃ 15 s 的条件下进行熔融曲线分析。通过甘油三磷酸酯脱氢酶(GAPDH)对基因的相对表达归一化,根据公式 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算目的基因表达水平。扩增片段长度为 80~300 bp,引物序列见表 3。

1.6 统计学方法

应用 GraphPad prism 9 进行数据统计及绘图。数据以 $\bar{X} \pm S$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA),组间两两比较采用 LSD 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

表 3 本实验所用引物

基因	上游(5'-3')	下游(5'-3')	扩增片段长度/bp
GAPDH	TGGAATCCTGTGGCATCCATGAAAC	TAAAACGCAGCTCAGTAACAGTCCG	349
IL-6	TAGTCCTTCCTACCCCAATTTCC	TTGGTCCTTAGCCACTCCTTC	76
IL-10	CCACAAAGCAGCCTTGCA	AGTAAGAGCAGGCAGCATAGCA	73
TNF- α	CCCTCACACTCAGATCATCTTCT	GCTACGACGTGGGCTACAG	61
TGF- β	CTCCCGTGGCTTCTAGTGC	GCCTTAGTTTGGACAGGATCTG	133
ZO-1	CTTCTCTTGCTGGCCCTAAAC	TGGCTTCACTTGAGGTTTCTG	101
E-cadherin	CGACCGGAAGTGACTCGAAAT	TCAGAACCACTGCCCTCGTAAT	188

2 结果

2.1 小鼠的一般情况

空白组小鼠精力旺盛,进食正常,毛发有光泽。经 DSS 诱导后,与空白组比较,DSS 组及羊肉各剂量组 UC 小鼠均有不同程度的体重下降、大便稀溏、便血,并出现精神萎靡、行动缓慢、进食减少、毛

发暗淡等表现。

2.2 小鼠体重

空白组、DSS 组、Lamb-L 组、Lamb-M 组、Lamb-H 组的小鼠体重(g)分别为:19.822 $\pm$ 0.788、18.766 $\pm$ 0.263、17.408 $\pm$ 0.544、17.195 $\pm$ 0.632、17.268 $\pm$ 0.536。与空白组比较,DSS 组小

鼠体重呈下降趋势;与 DSS 组比较,羊肉各剂量组小鼠的体重明显下降($P<0.01$ 或 $P<0.05$)。

2.3 小鼠 DAI

空白组、DSS 组、Lamb-L 组、Lamb-M 组、Lamb-H 组的小鼠 DAI 分别为: 0.222 ± 0.344 、 0.800 ± 0.298 、 1.167 ± 0.408 、 1.333 ± 0.211 、 1.476 ± 0.178 。与空白组比较,DSS 组小鼠 DAI 升高($P<0.05$);与 DSS 组比较,羊肉各剂量组小鼠 DAI 呈升高趋势,其中 Lamb-M 组、Lamb-H 组与 DSS 组差异有统计学意义($P<0.01$ 或 $P<0.05$)。

2.4 小鼠结肠苏木精-伊红染色及组织病理学评分

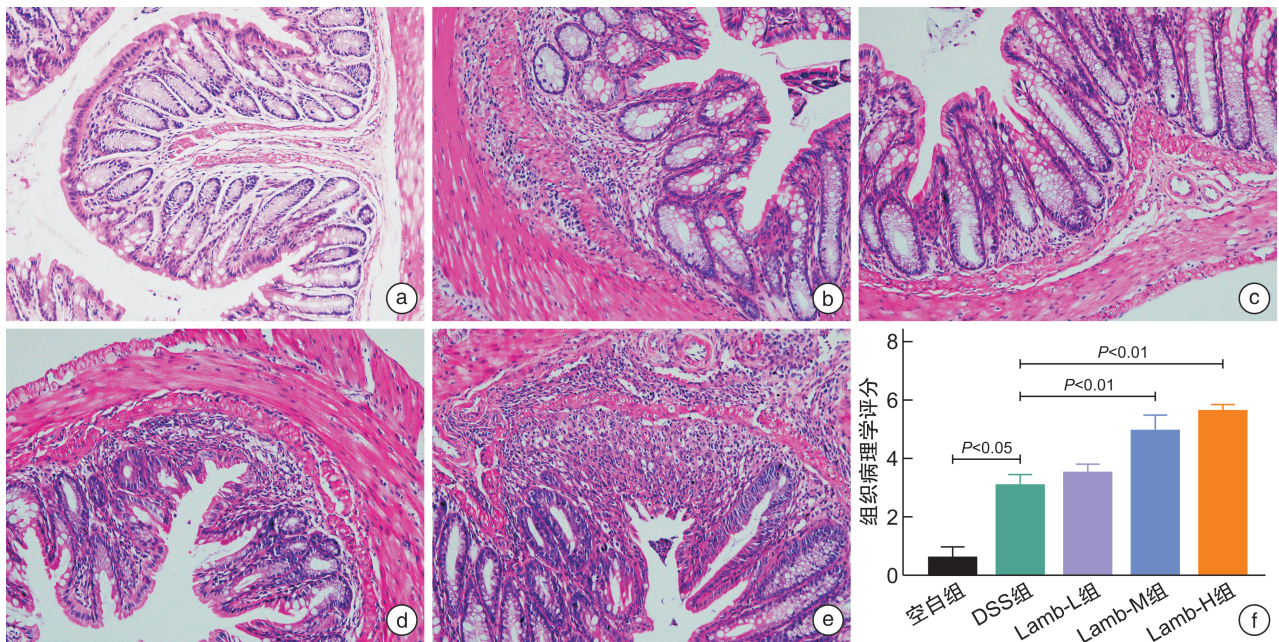
经苏木精-伊红染色,可见空白组小鼠结肠组织隐窝结构完好清晰、紧密整齐,黏膜肌完整;与空白组比较,DSS 组小鼠结肠组织可见隐窝结构较稀疏,基底稍上移,有炎症细胞浸润;与 DSS 组比较,

羊肉各剂量组小鼠结肠组织黏膜糜烂明显,隐窝结构被破坏,大量炎症细胞浸润,局部有溃疡形成。

空白组、DSS 组、Lamb-L 组、Lamb-M 组、Lamb-H 组的小鼠结肠组织病理学评分分别为: 0.667 ± 0.817 、 3.167 ± 0.753 、 3.600 ± 0.548 、 5.000 ± 1.265 、 5.667 ± 0.516 。与空白组比较,DSS 组小鼠结肠组织病理学评分明显升高($P<0.01$);与 DSS 组比较,羊肉各剂量组小鼠结肠组织病理学评分呈上升趋势,其中 Lamb-M 组、Lamb-H 组与 DSS 组差异有统计学意义($P<0.01$)。见图 1。

2.5 羊肉对 UC 小鼠结肠黏膜屏障相关蛋白的影响

与 DSS 组比较,羊肉各剂量组的结肠 ZO-1、*E-cadherin* mRNA 呈降低趋势,其中 Lamb-M 组、Lamb-H 组与 DSS 组差异有统计学意义($P<0.01$)。见表 4。



a:空白组;b:DSS组;c:Lamb-L组;d:Lamb-M组;e:Lamb-H组;f:组织病理学评分对比图。

图1 羊肉对各组小鼠结肠组织病理学损伤的影响(苏木精-伊红染色)

表4 各组小鼠结肠 ZO-1、*E-cadherin* mRNA 含量的比较

组别	例数	$\bar{X} \pm S$	
		ZO-1 mRNA	<i>E-cadherin</i> mRNA
DSS 组	6	1.028 ± 0.275	1.016 ± 0.161
Lamb-L 组	6	0.785 ± 0.173	0.635 ± 0.351
Lamb-M 组	7	$0.274 \pm 0.100^{1)}$	$0.484 \pm 0.276^{1)}$
Lamb-H 组	7	$0.328 \pm 0.109^{1)}$	$0.225 \pm 0.078^{1)}$

与 DSS 组比较,¹⁾ $P<0.01$ 。

2.6 羊肉对 UC 小鼠脾脏 M1 型巨噬细胞含量的影响

DSS 组、Lamb-L 组、Lamb-M 组、Lamb-H 组的 M1 型巨噬细胞含量分别为: 3.418 ± 0.361 、

4.784 ± 0.329 、 4.467 ± 0.577 、 5.503 ± 0.821 。与 DSS 组比较,羊肉各剂量组的脾脏 M1 型($F4/80^{+}$ $CD16/32^{+}$)巨噬细胞均升高,均差异有统计学意义($P<0.01$ 或 $P<0.05$)。见图 2。

2.7 羊肉对 UC 小鼠结肠 M1 型巨噬细胞因子的影响

与 DSS 组比较,羊肉各剂量组的结肠 *TNF- α* 、*IL-6* mRNA 均升高,其中 Lamb-H 组与 DSS 组差异有统计学意义($P<0.01$ 或 $P<0.05$)。见表 5。

2.8 羊肉对 UC 小鼠脾脏 M2 型巨噬细胞含量的影响

DSS 组、Lamb-L 组、Lamb-M 组、Lamb-H 组

的 M2 型巨噬细胞含量分别为: 1.990 ± 0.266 、 1.257 ± 0.313 、 1.414 ± 0.151 、 1.280 ± 0.102 。与 DSS 组比较,羊肉各剂量组的脾脏 M2 型($F4/80^+$

$CD206^+$) 巨噬细胞均降低,差异有统计学意义($P < 0.01$)。见图 3。

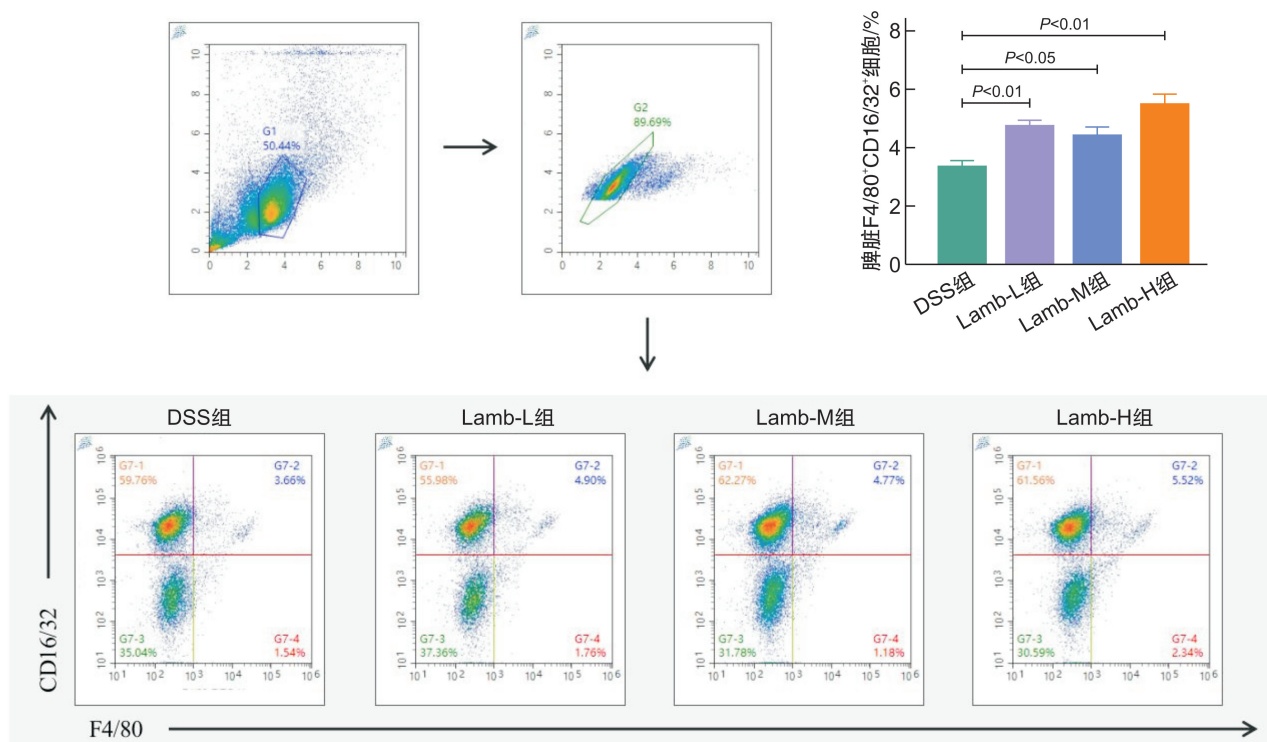


图 2 各组小鼠 M1 型巨噬细胞的表达

表 5 各组小鼠结肠 $TNF-\alpha$ 、 $IL-6$ mRNA 含量的比较

		$\bar{X} \pm S$	
组别	例数	$TNF-\alpha$ mRNA	$IL-6$ mRNA
DSS 组	6	1.014 ± 0.183	1.008 ± 0.137
Lamb-L 组	6	1.338 ± 0.212	2.043 ± 0.745
Lamb-M 组	7	1.963 ± 0.943	2.068 ± 0.463
Lamb-H 组	7	$2.620 \pm 0.639^{1)}$	$2.608 \pm 1.231^{2)}$

与 DSS 组比较, $^{1)} P < 0.01$, $^{2)} P < 0.05$ 。

2.9 羊肉对 UC 小鼠结肠 M2 型巨噬细胞因子的影响

与 DSS 组比较,羊肉各剂量组的结肠 $TGF-\beta$ 、 $IL-10$ mRNA 均降低,差异有统计学意义($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。见表 6。

3 讨论

UC 具有病程长、易反复发作的特点,严重影响患者的生存质量^[12]。目前 UC 的发病机制尚不明确,遗传、环境、饮食等因素都会影响其发病,因此探寻更多元化的 UC 管理方案,对减缓病情的发展与复发、提高患者生存质量具有重要意义。UC 的发生与结肠黏膜屏障受损、免疫功能紊乱密切相关。结肠黏膜屏障由肠上皮细胞、黏液层、紧密连接蛋白等构成,其中紧密连接相关蛋白 ZO-1、E-cadherin 等在肠上皮细胞中广泛分布,在阻挡有害

物质侵袭、维持肠道结构完整性中起关键作用^[13]。同时,在 UC 复杂的免疫激活过程中,巨噬细胞在介导体内免疫平衡反应中起着重要作用,M1 型巨噬细胞可分泌 $TNF-\alpha$ 、 $IL-6$ 、 $IL-1\beta$ 、 $IL-12$ 、MCP-1 等促炎递质,发挥促进炎症反应的作用;M2 型巨噬细胞可分泌 $IL-10$ 、 $TGF-\beta$ 、 $RELM-\alpha$ 、AMAC-1 等抑炎因子,促进组织修复及伤口愈合^[14]。M1/M2 型巨噬细胞处于动态的免疫平衡调节状态,研究发现,当肠道微环境有利于 M1 极化时,将导致或加重 UC 的发生、发展,有利于 M2 极化时,将缓解 UC 的病情发展^[15]。此外,对于 DSS 诱导的 UC 小鼠进行研究,发现减少巨噬细胞向 M1 型极化可减轻 UC 的炎症反应^[16]。由此可见,结肠黏膜屏障受损、M1/M2 型巨噬细胞失衡是影响 UC 复发的重要因素。

“发物”是中医传统饮食文化中的重要概念,首载于明代《普济方》。明朝之前,发物常分散出现在“忌食”、“食禁”等概念之中,包括葱姜蒜、辣椒、韭菜、羊肉、蟹肉、酒糟等食物。“发物”是否致病,既与其本身性味有关,亦取决于患者固有体质及病变特征^[17]。现代医家总结认为,广义的“发物”系指因摄入而诱发产生某种疾病或激发新病、或妨碍既有疾病治疗、诱发病情加重,或影响机体康复的一

类食物,狭义的“发物”主要应是指有升散、动风、助火、动血作用,能够引起过敏或感染加重、病情复发的食物。羊肉是我国传统肉类来源之一,《本草纲目》中记载羊肉“气味苦、甘、大热,无毒”;《金匱要略》亦记载“当归生姜羊肉汤”,取其味厚气温,补气生血,用以治疗寒疝、产后腹痛。此外,因其具有温热、补益、发散作用,羊肉也被认为是常见“发物”之

一^[18]。根据临床经验总结,“发物”可能诱发疾病发生,或使慢性病病情加重,还可能导致疾病复发,以消化系统为例,“发物”致病与消化道黏膜屏障完整性受损有关,尤在慢性炎症导致黏膜屏障不完整时容易出现。因此慢性炎症患者需控制“发物”的摄入^[19]。

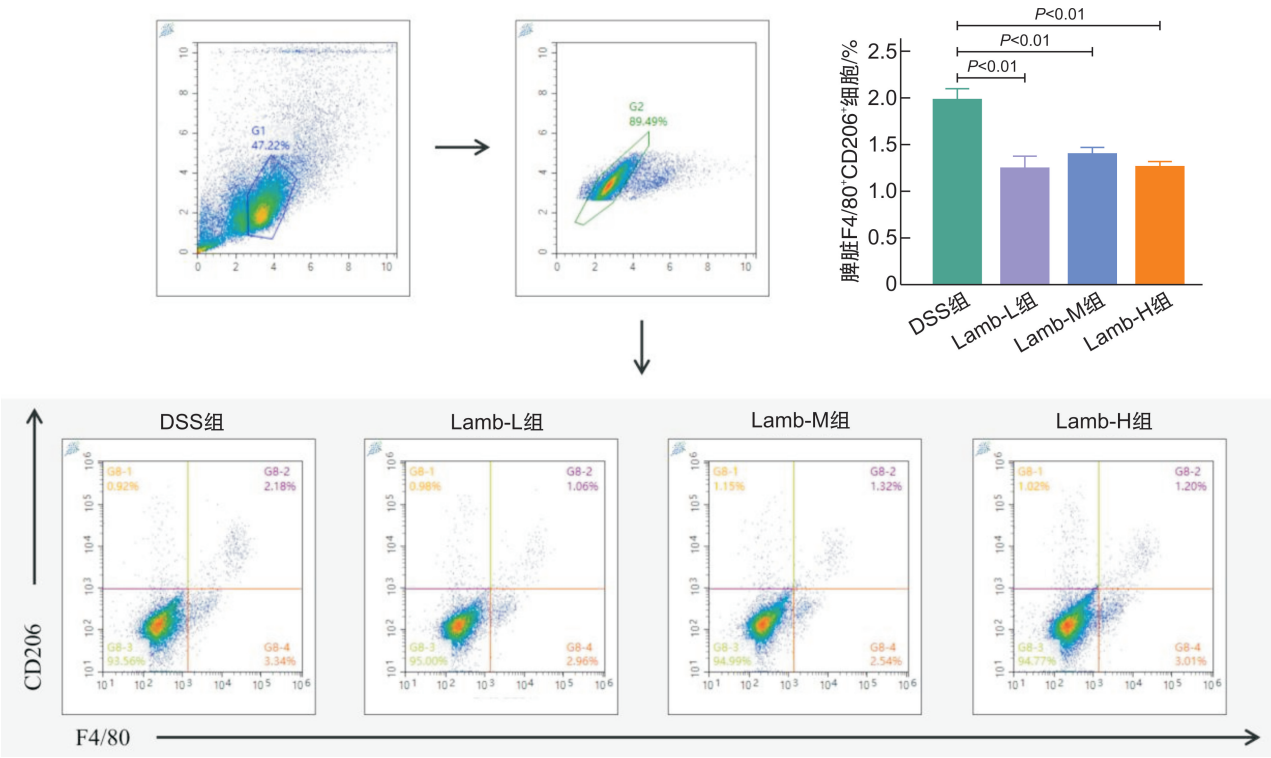


图 3 各组小鼠 M2 型巨噬细胞的表达

表 6 各组小鼠结肠 $TGF-\beta$ 、 $IL-10$ mRNA 含量的比较

$\bar{X} \pm S$			
组别	例数	$TGF-\beta$ mRNA	$IL-10$ mRNA
DSS 组	6	1.037 ± 0.301	1.042 ± 0.341
Lamb-L 组	6	$0.523 \pm 0.172^{1)}$	$0.545 \pm 0.095^{1)}$
Lamb-M 组	7	$0.600 \pm 0.256^{2)}$	$0.525 \pm 0.041^{1)}$
Lamb-H 组	7	$0.493 \pm 0.193^{1)}$	$0.460 \pm 0.146^{1)}$

与 DSS 组比较, ¹⁾ $P < 0.01$, ²⁾ $P < 0.05$ 。

UC 以慢性肠道炎症性表现为主,病程长、难治愈、易反复发作,严重影响患者的生存质量。患者肠道黏膜屏障结构和功能受损,不仅对食物的消化和吸收功能下降,而且具有免疫原性的食物也更容易通过受损的肠道黏膜屏障接触肠道免疫系统,进而诱发或加重肠道免疫性炎症,加剧肠道黏膜损伤^[20]。此外,临床研究发现高摄入红肉(系指羊肉、牛肉、猪肉等富含肌红蛋白的肉类)会增加 UC 的复发风险、加重炎症程度^[21]。对于 DSS 诱导的 UC 小鼠,高摄入红肉可加重其结肠炎症,促

进巨噬细胞 M1 亚型表达 $TNF-\alpha$ 、 $IL-1\beta$ 、 $IL-6$ 等促炎因子,并能降低厚壁菌门与拟杆菌门比例从而导致肠道菌群紊乱^[22]。但单一羊肉对肠道炎症是否会有影响,目前笔者尚未见相关报道。

本研究以巨噬细胞为切入点,探索羊肉对 UC 小鼠肠道炎症的调控作用。本研究发现,经羊肉干预后,UC 小鼠体重较 DSS 组小鼠降低,DAI 升高,结肠组织病理损伤程度升高,表明羊肉对 UC 具有加重作用。为了进一步明确羊肉诱导的结肠上皮屏障功能的改变,我们检测了结肠黏膜紧密连接相关蛋白 $ZO-1$ 、 $E-cadherin$ mRNA 的表达,发现羊肉各剂量组的表达均降低,表明羊肉对 UC 小鼠结肠黏膜屏障具有破坏作用。随后我们检测了巨噬细胞相关指标,结果显示羊肉各剂量组小鼠脾脏 M1 型巨噬细胞表达升高,相关细胞因子 $TNF-\alpha$ 、 $IL-6$ mRNA 水平升高,脾脏 M2 型巨噬细胞表达降低,相关细胞因子 $IL-10$ 、 $TGF-\beta$ mRNA 水平降低,表明羊肉能够上调 M1 型巨噬细胞及其相关促炎因子 $TNF-\alpha$ 、 $IL-6$ mRNA 的表达,降低 M2 型

巨噬细胞及其相关抑炎因子 *IL-10*、*TGF- β* mRNA 的表达,说明羊肉可能通过促进 M1 型巨噬细胞、抑制 M2 型巨噬细胞,使巨噬细胞向促炎方向极化,导致 M1/M2 失衡,从而加重 UC 的炎症表现。

4 结论

综上所述,饮食羊肉会破坏 UC 结肠黏膜屏障,加重肠道炎症表现,其机制可能与促进巨噬细胞向 M1 细胞分化、抑制向 M2 细胞分化,从而加重 M1/M2 型巨噬细胞失衡有关。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Eisenstein M. Ulcerative colitis: towards remission [J]. *Nature*, 2018, 563(7730): S33.
- [2] Michielan A, Dinca R. Intestinal Permeability in Inflammatory Bowel Disease: Pathogenesis, Clinical Evaluation, and Therapy of Leaky Gut [J]. *Mediators Inflamm*, 2015, 2015: 628157.
- [3] 靳丽媛, 司艺玲, 陈光辉. 巨噬细胞表型极化在糖尿病心肌病发生发展和修复过程中的作用 [J]. *解放军医学院学报*, 2017, 38(1): 68-70, 74.
- [4] Levine A, Sigall Boneh R, Wine E. Evolving role of diet in the pathogenesis and treatment of inflammatory bowel diseases [J]. *Gut*, 2018, 67(9): 1726-1738.
- [5] Sabino J, Torres J. You Are What You Eat, But Can Diet Prevent Inflammatory Bowel Diseases? [J]. *Gastroenterology*, 2020, 158(8): 2304-2305.
- [6] 汪一晗, 邢凤玲, 傅宏阳, 等. 发物对接触性皮炎模型大鼠的影响 [J]. *浙江中医药大学学报*, 2021, 45(3): 222-228.
- [7] Guilleminault L, Williams EJ, Scott HA, et al. Diet and Asthma: Is It Time to Adapt Our Message? [J]. *Nutrients*, 2017, 9(11): 1227.
- [8] Zheng HC, Wang YA, Liu ZR, et al. Consumption of Lamb Meat or Basa Fish Shapes the Gut Microbiota and Aggravates Pulmonary Inflammation in Asthmatic Mice [J]. *J Asthma Allergy*, 2020, 13: 509-520.
- [9] Wu X, Chen H, Gao X, et al. Natural Herbal Remedy Wumei Decoction Ameliorates Intestinal Mucosal Inflammation by Inhibiting Th1/Th17 Cell Differentiation and Maintaining Microbial Homeostasis [J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2022, 28(7): 1061-1071.
- [10] Sun Z, Li J, Dai Y, et al. Indigo Naturalis Alleviates Dextran Sulfate Sodium-Induced Colitis in Rats via Altering Gut Microbiota [J]. *Front Microbiol*, 2020, 11: 731.
- [11] Sun Z, Li J, Wang W, et al. Qingchang Wenzhong Decoction Accelerates Intestinal Mucosal Healing Through Modulation of Dysregulated Gut Microbiome, Intestinal Barrier and Immune Responses in Mice [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 738152.
- [12] 黄美惠, 张志谦, 耿学斯. 溃疡性结肠炎的外科治疗进展 [J]. *中国现代普通外科进展*, 2020, 23(1): 78-81.
- [13] Barmeyer C, Fromm M, Schulzke JD. Active and passive involvement of claudins in the pathophysiology of intestinal inflammatory diseases [J]. *Pflügers Arch*, 2017, 469(1): 15-26.
- [14] Hume DA. The Many Alternative Faces of Macrophage Activation [J]. *Front Immunol*, 2015, 6: 370.
- [15] 方一, 刘倩, 钟捷, 等. 巨噬细胞极化对溃疡性结肠炎病情发展的影响 [J]. *诊断学理论与实践*, 2015, 14(6): 568-572.
- [16] 李跃文, 万强. 绿原酸调控巨噬细胞极化治疗溃疡性结肠炎的机制研究 [J]. *浙江中医药大学学报*, 2023, 47(9): 969-975, 1001.
- [17] 臧超越, 裴明, 李昱芃. 基于“因人制宜”及“发物”理论初探慢性肾脏病“辨体论忌” [J]. *天津中医药*, 2022, 39(12): 1564-1567.
- [18] 朱飞叶, 谢冠群. 中医饮食禁忌发物探讨 [J]. *中华中医药杂志*, 2018, 33(7): 3104-3106.
- [19] 赵进喜, 贾海忠, 段行武, 等. 发物致病, 多种多样; 趋利避害, 稳定病情 [J]. *环球中医药*, 2022, 15(1): 42-45.
- [20] 崔子烨, 谭妍妍, 丁康. 饮食干预与炎症性肠病相关性的中西医研究进展 [J]. *中国中西医结合消化杂志*, 2023, 31(2): 151-156.
- [21] Jowett SL, Seal CJ, Pearce MS, et al. Influence of dietary factors on the clinical course of ulcerative colitis: a prospective cohort study [J]. *Gut*, 2004, 53(10): 1479-1484.
- [22] 刘慧敏, 侯慧, 李丹萍. 高摄入红肉通过改变肠道菌群加重小鼠溃疡性结肠炎 [J]. *中国微生态学杂志*, 2023, 35(4): 396-402.

(收稿日期: 2023-09-15)