

DOI:10.3969/j.issn.1003-5060.2023.06.020

百里醌对化学诱导的溃疡性结肠炎的保护作用

吴磊, 李广莹, 闫永平, 肖桂然

(合肥工业大学 食品与生物工程学院, 安徽 合肥 230601)

摘要:百里醌(thymoquinone, TQ)是从黑种草种子中提取的一种天然化合物,被证实具有抗氧化、抗肿瘤、抗炎等效果,对辐射等外部因素引起的肠炎具有治疗作用。文章利用经典模式生物果蝇研究发现,TQ对野生型果蝇的寿命具有提升作用。此外,采用化学物葡聚糖硫酸钠(dextran sodium sulfate, DSS)诱导果蝇溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)模型,研究 TQ 对肠道炎症的保护作用,结果表明,TQ 能显著提高 DSS 诱导的 UC 模型果蝇的生存率与攀爬能力,并改善 DSS 暴露导致的成虫肠道形态及肠壁损伤。因此 TQ 摄入能够明显缓解 DSS 诱导的 UC。

关键词:果蝇;百里醌(TQ);肠道炎症;肠道形态;肠道通透性

中图分类号:Q74 **文献标志码:**A **文章编号:**1003-5060(2023)06-0849-04

Protective effect of thymoquinone on chemically induced ulcerative colitis

WU Lei, LI Guangying, YAN Yongping, XIAO Guiran

(School of Food and Biological Engineering, Hefei University of Technology, Hefei 230601, China)

Abstract: Thymoquinone(TQ) is a natural compound extracted from black grass seeds, which has been proved to have antioxidant, anti-tumor and anti-inflammatory effects, and has therapeutic effects on enteritis caused by external factors such as radiation. In this work, the classical model organism *Drosophila melanogaster* was studied, and it was found that TQ could improve the life span of wild *Drosophila melanogaster*. In addition, the protective effect of TQ on intestinal inflammation in *Drosophila melanogaster* ulcerative colitis(UC) model induced by dextran sodium sulfate(DSS) was investigated. It was found that TQ could significantly improve the survival rate and climbing ability in *Drosophila melanogaster* UC model induced by DSS, and improve the intestinal morphology and intestinal wall injury of adults induced by DSS exposure. To sum up, TQ intake can obviously alleviate DSS-induced UC.

Key words: *Drosophila melanogaster*; thymoquinone(TQ); intestinal inflammation; intestinal morphology; intestinal permeability

肠炎是目前全球范围内发病最多、分布最广泛的疾病之一,严重影响人们的健康、生活和工作,给个人、家庭和社会带来严重的经济负担。炎症性肠病是指以胃肠道慢性炎症为特征的克罗恩病(Crohn disease)和溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)2种疾病。克罗恩病导致胃肠道任何

部分的跨壁溃疡,最常影响回肠和结肠的末端。UC包括结肠黏膜的弥漫性炎症,最常累及直肠(直肠炎),但也可能延伸至乙状结肠(直乙状结肠炎)、超出乙状结肠(远端溃疡性结肠炎)或包括整个结肠进入盲肠(全结肠炎)^[1]。如果炎症性肠病治疗不彻底,那么可能会引起消化吸收功能差、营

收稿日期:2021-08-02;修回日期:2021-08-18

基金项目:国家自然科学基金资助项目(31671284);安徽省科协人才托举计划资助项目(RCTJ202001)

作者简介:吴磊(1996—),男,安徽池州人,合肥工业大学硕士生;

肖桂然(1988—),女,山东邹城人,博士,合肥工业大学教授,博士生导师,通信作者, E-mail: xiaoguiran.101@163.com.

养不良、肠黏膜溃疡引起出血等诸多后果。近年来,国内外医学界越来越重视对肠炎的诊疗,许多研究者都对肠炎诊疗方案进行优化和推陈出新。调查研究显示,饮食不当在促进肠炎发生发展中起到关键性作用。研究发现,有些人类膳食中的活性成分对肠炎具有良好的防治作用,其机制与抗炎、抗氧化、免疫调节等有关^[2]。因此寻找并研究这类活性物质意义重大。

毛茛科一年生草本植物黑种草种子常用于传统医疗各种疾病,如胃肠道疾病、头疼、高血压、支气管哮喘等疾病^[3]。百里醌(thymoquinone, TQ)是从黑种草种子中提取的活性物质,化学名称为 2-异丙基-5-甲基-1,4-苯并醌,分子式为 $C_{10}H_{12}O_2$ 。研究发现 TQ 具有抗氧化、抗炎和抗肿瘤等作用,对正常细胞毒性很小^[4],可用于多种疾病的治疗,例如 TQ 能够抑制由乙酸诱导的大鼠结肠炎^[5],治疗实验性风湿性关节炎^[6],抑制鼠脓毒性腹膜炎^[7]。

果蝇是遗传和发育研究中重要的模式生物之一,其特点是生长发育周期短,饲养方便,其组织与器官结构与哺乳动物相对应,例如其中肠与哺乳动物的小肠类似,其马氏管与肾脏类似^[8]。果蝇已被应用于帕金森、阿尔兹海默症、肿瘤、炎症等多种疾病的研究中,并取得显著成果。

目前,多种动物实验模型被广泛用于研究炎症性肠病的病因、发病机制及测试新开发药物药效等,尤其以葡聚糖硫酸钠(dextran sodium sulfate, DSS)诱导的 UC 模型应用最广。DSS 诱导的果蝇肠炎模型的病因、临床症状、病理改变及治疗效果均与人类 UC 相似,可用于研究 UC 病因、发病机制^[9]。肠道上皮是抵御环境压力(包括有毒化学物质)的重要防御系统,肠道完整性的破坏是多种肠道疾病的主要原因之一^[10]。TQ 已被证实放射线诱导的肠屏障破坏中起保护作用^[11],然而,其对有毒化合物诱导的炎症的防御效果研究不多。本研究利用 DSS 诱导的果蝇 UC 模型,探究有毒化学物质诱导肠炎的机制,并从营养的角度探讨 TQ 对有毒化学物质诱导的肠道破坏的保护作用,研究结果为天然物质预防及治疗炎症性肠病提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料及仪器

野生型果蝇 W^{1118} 购于维也纳果蝇中心(Vienna *Drosophila* Research Center); DSS、亮蓝购

于上海麦克林生化科技股份有限公司; TQ 购于美国 Sigma; 其他试剂均为分析纯。

酶标仪(澳大利亚 INFINITE MNANO); 倒置荧光 DIC 显微镜(日本 Nikon); 超敏化学发光成像系统(美国 ProteinSimple 公司)。

1.2 果蝇培养及寿命测定

在 25 °C、60%湿度下,光照 12 h、黑暗 12 h 循环培养。对照组在玉米酵母标准食品上培养。

黑腹果蝇在 25 °C、60%湿度下进行 12 h/12 h 光/暗循环培养。24 h 内采集新羽化成蝇。每 2~3 d 将 50 只成虫培养并转移到装满新鲜食物的新瓶子中。每天统计存活蝇数,实验重复 3 次。

1.3 以 DSS 构建果蝇肠炎模型

将 W^{1118} 野生型果蝇随机分为对照组和实验组,对照组给予果蝇正常食物(normal food, NF),实验组在果蝇的膳食中加入一定浓度 TQ,挑 2 组果蝇子一代,将子一代果蝇分别给予 5%蔗糖(SUC)、5% SUC+4% DSS 处理,构建果蝇肠炎模型。

1.4 存活率的测定

以 NF 或含 TQ 的食物饲养 3~5 d 的新羽化果蝇(雌、雄各 30 只),饥饿 2 h,转移到含有 5% SUC+4% DSS 毒性化合物的 2 层滤纸的小管中。所有实验均以不添加 DSS 的 5% SUC 溶液为阴性对照。滤纸和溶液每 24 h 更换 1 次。每天更换滤纸,监测存活率。实验重复 3 次。

1.5 攀爬能力的测定

在温度为 25 °C、湿度为 60% 的环境光下进行实验。10 只新羽化(3 日龄)的果蝇喂食添加或不添加 DSS(4%)的 SUC(5%)溶液 24 h。用足够的力量将果蝇移到内底面,用非常轻的力度反复敲击圆柱体上的封闭泡沫垫。每次实验从最后一次拍打果蝇开始,持续 6 s,并统计超过 8 cm 高度的果蝇数量。实验重复 3 次。

1.6 果蝇肠道形态和通透性的测定

10 只新羽化的(3 日龄)雌蝇暴露于 4% DSS 72 h,在 1×PBS 中解剖,立即在荧光显微镜下观察并记录肠道形态。

为了评价添加 TQ 对肠道通透性的影响,将果蝇分别饲喂 TQ(100 μ mol/L)和 NF 作为实验组与对照组。添加亮蓝制成质量分数为 2.5% 的染色培养基,将实验组与对照组新羽化的雌蝇每隔 1 d 饥饿 2 h,用滤纸浸泡 DSS/SUC 溶液处理 6 h,然后将果蝇转移到亮蓝染色的食物中,处理 7 d 后拍摄记录果蝇身体状态。

1.7 数据统计与分析

所有数据的统计分析和图形显示均使用 GraphPad Prism 8.0 进行。组间比较采用 t 检验,多组采用单因素方差分析(ANOVA)。统计结果以(平均值±标准差)表示。显著性水平 $P < 0.05$ (*), $P < 0.01$ (**), $P < 0.001$ (***)。

2 结果与分析

2.1 TQ 对野生型果蝇寿命的影响

环境压力和氧化压力是导致组织稳态下降和功能退化的主要原因,也加速了黑腹果蝇的衰老^[12]。据报道,TQ 具有抗氧化能力。为了验证 TQ 对氧化应激损伤的缓解作用,本文研究 TQ 对黑腹果蝇寿命的影响,如图 1 所示。

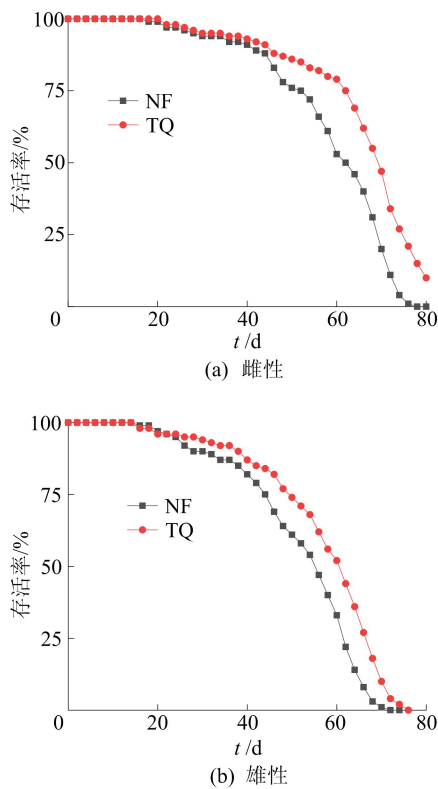


图 1 TQ 对野生型果蝇寿命的影响

为了研究 TQ 对黑腹果蝇的影响,野生型果蝇 W^{1118} 在标准玉米粉培养基含或不含 TQ ($100 \mu\text{mol/L}$) 上饲养,发现长期喂食 TQ 显著提高了雌、雄果蝇的寿命,分别比对照组提高 11.3% 和 9.8%,显著延长了果蝇寿命。

2.2 TQ 对摄入 DSS 果蝇存活率的影响

DSS 诱导的 UC 可损伤成蝇的肠道,使黑腹果蝇的存活时间缩短,如图 2 所示。由图 2 可知,与 NF-DSS 组相比,添加 TQ ($100 \mu\text{mol/L}$) 可显

著提高 DSS 组的存活率;TQ-DSS 组与 NF-DSS 组相比,雌、雄果蝇存活率分别提高了 12.5% 和 20.0%。

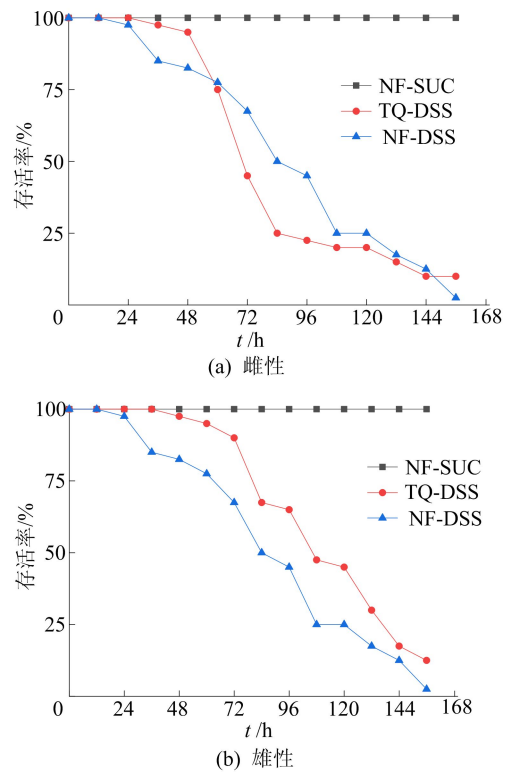


图 2 TQ 对 UC 模型果蝇存活率的影响

2.3 TQ 对摄入 DSS 果蝇攀爬能力的影响

攀爬能力是衡量果蝇活力的一个指标。TQ 对摄入 DSS 果蝇攀爬能力的影响如图 3 所示。

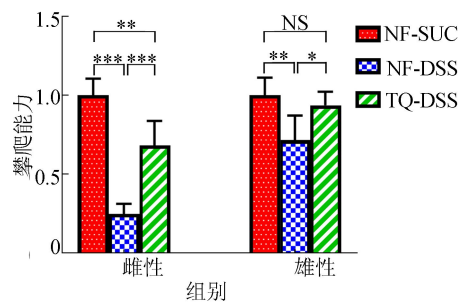


图 3 TQ 对 UC 模型果蝇攀爬能力的影响

由图 3 可知,经 DSS 处理 48 h 后,NF-DSS 组果蝇攀爬能力较 NF-SUC 组显著降低(雌性下降 75%,雄性下降 29%);添加 TQ 提高了攀爬能力(雌性提高 41%,雄性提高 22%)。结果表明,TQ 能挽救因有毒化学物质而降低的攀爬能力。

2.4 TQ 对 UC 模型果蝇肠道形态的影响

DSS 诱导的黑腹果蝇肠道损伤可引起肠道形态的改变,如图 4 所示。由图 4 可知,DSS(NF-

DSS)处理果蝇的肠道长度比蔗糖对照(NF-SUC)短 23%。与对照组(NF-DSS)相比,TQ-DSS 组肠道长度延长 13%。因此,TQ 可改善因 DSS 诱导产生的肠道形态变化。

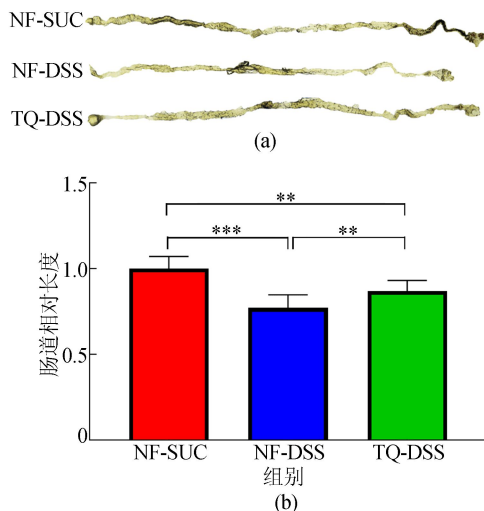


图 4 TQ 对 UC 模型果蝇肠道形态的影响

2.5 TQ 对 UC 模型果蝇肠道通透性的影响

果蝇肠道屏障功能的丧失可以通过一种名为亮蓝的不可吸收的蓝色食用染料检测,当肠道通透性增加时,亮蓝会透过肠上皮从而浸染全身。为了研究 TQ 在维持肠道屏障完整性方面的作用,本文使用亮蓝实验评估果蝇的肠道完整性,结果如图 5 所示。

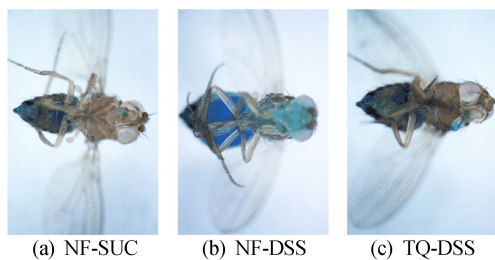


图 5 TQ 对 UC 模型果蝇肠道通透性的影响

由图 5 可知,与 NF-SUC 组相比,DSS 处理后,身体蓝色染色增加,补充 TQ 后,TQ-DSS 组的果蝇身体蓝色染色明显下降。结果表明,TQ 对 DSS 引起的肠屏障功能破坏具有保护作用。

3 结 论

TQ 是一种从黑种草种子中提取的活性单萜分子,已被证实具有抗氧化、抗肿瘤和抗炎等功能。虽然 TQ 的药理作用已被广泛研究和证实,但其对肠道炎症治疗的作用却鲜有报道。肠上皮

细胞是维持肠内环境稳定的重要屏障,许多肠道疾病都与肠上皮细胞的凋亡有关,包括由有毒化学物质引起的溃疡性结肠炎。本文通过饲喂果蝇 DSS 建立肠道损伤模型,从寿命、存活率、攀爬能力、肠道形态、肠道通透方面探讨 TQ 对有毒化合物所致 UC 的治疗效果。研究发现,TQ 可以提高果蝇成虫的寿命,并显著缓解 DSS 暴露后成虫存活率及攀爬能力下降和肠道形态受损的情况,表明 TQ 对肠道疾病有保护作用,为天然物质预防及治疗炎症性肠病提供参考。

[参 考 文 献]

- [1] KASER A. Inflammatory bowel disease[J]. Medical Journal of Australia, 2009, 92(3): 72.
- [2] 朱文龙,戴岳. 中药有效成分治疗溃疡性结肠炎研究进展[J]. 亚太传统医药, 2014, 10(2): 52-54.
- [3] 高杰,李焕荣,高翔,等. 香料植物:黑种草[J]. 特种经济动植物, 2007, 10(3): 41.
- [4] SAKAMOTO J, MATSUI T, KODERA Y. Paclitaxel chemotherapy for the treatment of gastric cancer[J]. Gastric Cancer, 2009, 12(2): 69-78.
- [5] ALI B H, BLUNDEN G. Pharmacological and toxicological properties of *Nigella sativa* [J]. Phytotherapy Research, 2003, 17(4): 299.
- [6] BUTT M S, SULTAN M T. *Nigella sativa*: reduces the risk of various maladies[J]. Critical Reviews in Food Science & Nutrition, 2010, 50(7): 654-665.
- [7] WOO C C, KUMAR A P, SETHI G. Thymoquinone: potential cure for inflammatory disorders and cancer [J]. Biochemical Pharmacology, 2012, 83(4): 443-451.
- [8] 万永奇,谢维. 生命科学与人类疾病研究的重要模型:果蝇[J]. 生命科学, 2006, 18(5): 425-429.
- [9] RAJENDIRAN V, NATARAJAN V, DEVARAJ S N. Anti-inflammatory activity of *Alpinia officinarum* hance on rat colon inflammation and tissue damage in DSS induced acute and chronic colitis models [J]. Food Science and Human Wellness, 2018, 7(4): 273-281.
- [10] OKUMURA R, TAKEDA K. Maintenance of intestinal homeostasis by mucosal barriers [J]. Inflammation and Regeneration, 2018, 38: 1-8.
- [11] HOU Q, LIU L, DONG Y, et al. Effects of Thymoquinone on radiation enteritis in mice [J]. Scientific Reports, 2018, 8(1): 11.
- [12] COBOURNE-DUVAL M K, TAKA E, MENDONCA P, et al. The antioxidant effects of thymoquinone in activated BV-2 murine microglial cells [J]. Neurochemical Research, 2016, 41(12): 3227-3238.

(责任编辑 闫杏丽)