

趋化素水平与 IBS-D 模型小鼠肠黏膜炎症相关性

邢卓越,白娟,高欣,黄嘉睿,徐丽红,高银凤
(石河子大学第一附属医院全科医学科,石河子 832000)

摘要 目的 观察并分析应激性腹泻型肠易激综合征 (IBS-D) 模型小鼠血清和肠黏膜趋化素水平与肠黏膜炎症是否具有相关性。方法 128 只雌性 C57BL/6J 小鼠利用随机数字表进行随机分组,设 IBS-D 组和对照组各 64 只,急性束缚应激法 (WRS) 构建应激性 IBS-D 动物模型,酶联免疫吸附实验检测小鼠血清和肠黏膜趋化素水平,苏木精-伊红 (HE) 染色观察结肠黏膜炎症,结肠组织 Geboes 评分评估结肠黏膜炎症的严重程度。结果 IBS-D 组小鼠血清趋化素浓度升高且在实验第 1 周达到峰值 ($t=6.538, P<0.001$),肠黏膜趋化素浓度升高且在实验第 4 周达到峰值 ($t=8.104, P<0.001$);实验第 1 周 IBS-D 小鼠结肠黏膜开始出现炎症反应,以第 5 周最为显著 ($P<0.05$),Geboes 评分 (1.75 ± 0.50) vs (0.55 ± 0.52)。结论 应激性 IBS-D 小鼠血清及肠黏膜趋化素水平的升高与肠道黏膜炎症的严重程度呈时序性关联,推测血清和肠黏膜趋化素水平升高与肠黏膜炎症的发生和进展具有相关性。

关键词 腹泻型肠易激综合征;动物模型;趋化素;肠黏膜炎症;急性束缚应激

中图分类号 R 574

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2025)11-2091-05

doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2025.11.014

目前,全球肠易激综合征 (irritable bowel syndrome, IBS) 患病率约为 10% ~ 20%,以腹泻型 IBS (diarrhea-predominant IBS, IBS-D) 为主要亚型,占比约 31% ~ 48%^[1-2]。由于缺乏有效治愈手段,患者症状易反复,生活质量等方面受到很大影响。IBS 病因复杂,发病机制并不明确。研究^[3-4]表明,IBS-D 患者肠黏膜存在低度炎症并伴活化淋巴细胞增加,而炎症是导致内脏高敏感性和肠道运动异常的重要因素之一,内脏高敏感性在疼痛感知和腹部不适中发挥关键作用,即肠黏膜慢性炎症是 IBS-D 患者出现腹痛、便意频繁的病理基础。

近年来,脂肪因子趋化素 (chemerin) 作为一种具有广泛靶点的促炎因子而引起关注。有临床研究^[5]提示 IBS-D 患者血清趋化素水平明显增高,但未进一步分析趋化素水平升高与 IBS-D 患者肠黏膜炎症的相关性。该实验采用急性束缚应激法 (wire restraint stress, WRS) 构建应激性 IBS-D 动物模型,

观察血清和肠黏膜中趋化素水平变化,分析其与肠黏膜炎症是否具有相关性,为后期开展趋化素在 IBS-D 肠黏膜炎症发生发展中的作用及相关机制的研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 实验动物 128 只雌性健康 C57BL/6J 小鼠,6 ~ 8 周龄,体质量 16 ~ 18 g,购自河南斯克贝斯生物科技股份有限公司,合格证号:SCXK(豫),2020-0005。饲养于石河子大学药学院动物实验中心,室温控制在 $(22 \pm 2)^\circ\text{C}$,湿度为 40% ~ 60%,均自由摄食及饮水。该实验通过石河子大学第一附属医院动物实验伦理审查,批准号:A2023-243-01。

1.2 实验分组 将实验小鼠常规饲养 1 周后称重,按体质量进行编号,设 IBS-D 组和对照组,利用随机数字表进行随机分组,每组 64 只。共设定 8 个观察时间节点,小鼠分组后为实验第 0 周,实验开始后 1 周标记为实验第 1 周,依次记录至第 7 周,其中实验第 1 ~ 2 周为构建动物模型期。在每个时间节点按小鼠体质量编号,利用随机数字表选择 8 只小鼠作为本时间节点的观察对象进行处理,获得实验标本。整个实验进程中无小鼠死亡。

1.3 实验组织标本获取

1.3.1 血清标本 小鼠禁食 12 h,戊巴比妥钠腹腔麻醉后行眼球摘除术,眼眶取血 0.5 mL,血液样本

2025-09-23 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:81660095);石河子大学科研项目(编号:ZZZC2023043)

作者简介:邢卓越,女,硕士研究生;

徐丽红,女,硕士生导师,教授,主任医师,硕士生导师,通信作者,E-mail:xueli_2006@126.com;

高银凤,女,硕士研究生,主治医师,通信作者,E-mail:15299913952@163.com

4℃冰箱静置2 h离心取血清,分装,保存于-80℃超低温冰箱,用于小鼠血清趋化素水平分析。

1.3.2 肠黏膜组织标本和肠道黏液标本 获取血液标本后,立即解剖小鼠,打开腹腔,沿肠系膜剖开结肠组织,留取近肛门端1 cm的远端结肠0.5 cm作为病理组织标本,生理盐水清洗肠道内容物,滤纸吸干结肠表面水分,冰板上平铺展开,盖玻片轻刮取肠黏液,移液枪将肠黏液置于含1% FBS不含钙镁的Hanks缓冲液中,吹打混匀,4℃冰箱静置2 h,然后4℃、4 000 r/min离心10 min,取上清液分装后保存于-80℃超低温冰箱,用于小鼠肠黏液层趋化素水平分析。

1.3.3 病理组织标本 将留取的病理组织标本置于10%中性福尔马林固定24 h,切片后HE染色,行组织病理学观察。

1.4 实验方法

1.4.1 WRS法制备应激性IBS-D小鼠模型 参考本课题组既往实验方法^[3]进行操作。戊巴比妥钠轻度麻醉小鼠后,用纸胶带包裹束缚小鼠前肩、前上肢及胸背部,限制小鼠梳理面部及头颈部,但不控制其活动,约2~5 min后小鼠苏醒并在笼中自由活动、自由进食及饮水。每日束缚1次,每次束缚时间2 h,共持续14 d。正常对照组小鼠同期腹腔注射等体积生理盐水。

1.4.2 评估小鼠模型 参考本课题组既往实验^[3]进行操作。观察小鼠一般情况、粪便隐血、粪便含水量、体质量、肠道传输功能(结肠钢珠排出实验)、结肠组织病理学改变,评估小鼠模型制备情况。

1.4.3 结肠组织病理学 10%中性福尔马林溶液固定结肠组织,常规取材、脱水、包埋、切片,苏木精-伊红(hematoxylin-eosin staining, HE)染色。光学

显微镜下观察结肠黏膜炎症情况,根据Geboes评分标准^[6]评估结肠组织炎症情况。

1.4.4 趋化素水平检测 利用小鼠趋化素酶联免疫吸附测定试剂盒(购自上海将来实业股份有限公司)检测血清和肠黏膜趋化素浓度。

1.5 统计学处理 应用SPSS 26.0软件进行统计处理,小鼠粪便含水量、体质量、结肠病理组织学Geboes评分、血清和肠趋化素浓度用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)描述,小鼠肠道传输功能的小鼠钢珠排出时间用中位数(四分位距)描述。对计量资料,两样本均数比较采用*t*检验或Wilcoxon秩和检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组小鼠粪便含水量、体质量及肠道传输功能比较 与对照组比较:IBS-D组小鼠在实验开始后第1~7周粪便含水量均升高,差异均有统计学意义($P < 0.05$),在第3周的粪便含水量达到高峰,见图1A;IBS-D组小鼠体质量缓慢上升,在实验第2~4周低于同期对照组小鼠,在实验第5~7周与对照组小鼠相当,见图1B。在实验第0周前,IBS-D组小鼠小钢珠排出的时间与对照组小鼠相当,差异无统计学意义($Z = -1.570, P = 0.116$);实验第2周后,IBS-D组小鼠排出小钢球的时间较对照组时间减少,差异有统计学意义($Z = -4.905, P < 0.001$)。提示IBS-D组小鼠肠道传输速度增快。见图1C。

2.2 两组小鼠结肠组织病理学改变及Geboes评分对比 光学显微镜观察小鼠远端结肠,对照组小鼠结肠表面上皮完整,腺体排列规则,无溃疡,黏膜下无充血、水肿,偶可见少量炎性淋巴细胞,Geboes评分(0.55 ± 0.52)。实验第1~3周IBS-D组小鼠结

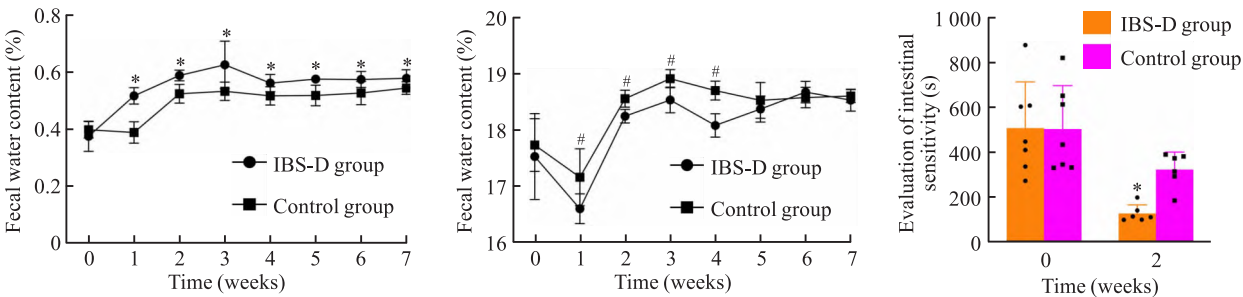


图1 IBS-D小鼠与正常小鼠粪便含水量、体质量、肠道传输功能随时间变化趋势的对比
Fig.1 Variation tendency of fecal water content, body weight and intestinal transit function with time in normal control mice and IBS-D model mice

A: Fecal water content; B: Body mass; C: Intestinal transit function; * $P < 0.05$ vs control group; # $P < 0.05$ vs IBS-D group

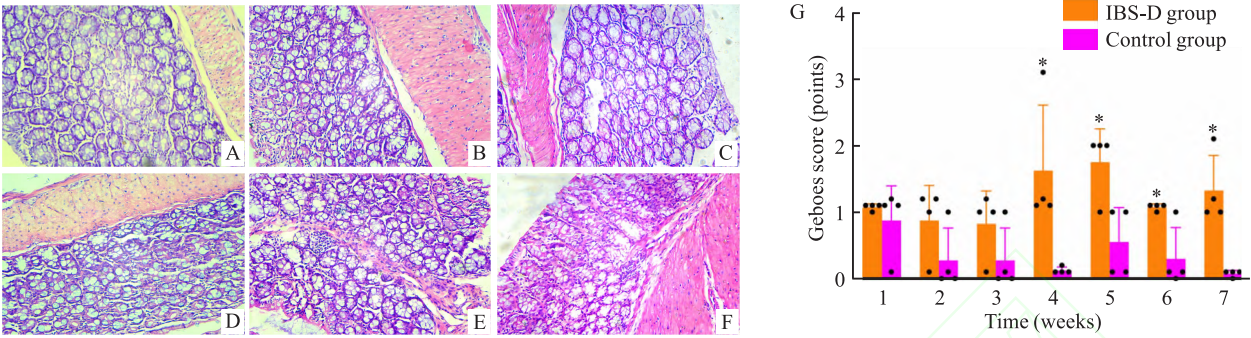


图2 小鼠远端结肠组织 HE 染色结果 (× 200) 及 Geboes 评分

Fig.2 The results of HE staining (× 200) and Geboes score of distal colon tissue in control mice and IBS-D mice

A: Control mice 2 w; B: Control mice 5 w; C: Control mice 7 w; D: IBS-D mice 2 w; E: IBS-D mice 5 w; F: IBS-D mice 7 w; G: Colon Geboes score.

肠上皮完整,腺体排列规则,无溃疡,结肠黏膜层有炎性淋巴细胞出现,两组小鼠 Geboes 评分差异无统计学意义;实验第 4~7 周,IBS-D 小鼠结肠黏膜层淋巴细胞增加,Geboes 评分较对照组升高,差异有统计学意义($P < 0.05$),其中在实验第 5 周,IBS-D 小鼠黏膜层淋巴细胞明显增多、聚集,有少许散在中性粒细胞,Geboes 评分(1.75 ± 0.50)达最高。见图 2。

2.3 两组小鼠血清趋化素浓度变化 实验第 0 周,两组小鼠血清趋化素浓度相当,差异无统计学意义。与对照组比较,IBS-D 组小鼠血清趋化素浓度升高,且在第 1 周达到顶峰($t = 6.538, P < 0.001$),在第 2~5 周缓慢下降但较对照组小鼠仍升高(均 $P < 0.05$);在第 6、7 周,较对照组变化不明显($P > 0.05$)。见图 3。

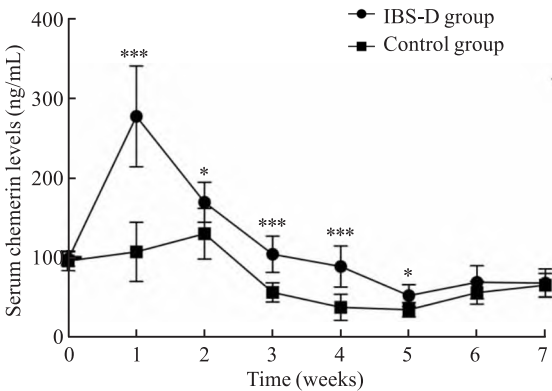


图3 两组小鼠血清趋化素浓度变化及随时间变化趋势

Fig.3 The changes of serum chemerin concentration in two groups of mice and the trend with time was shown

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ vs control group

2.4 两组肠黏膜趋化素浓度变化比较 实验第 0 周,两组小鼠肠黏膜趋化素浓度相当,差异无统计学意义。与对照组比较:实验第 1~4 周 IBS-D 组小鼠肠黏膜趋化素浓度升高,差异有统计学意义($P < 0.05$),且 IBS-D 组小鼠肠黏膜趋化素浓度波动上升,第 4 周达到顶峰($t = 8.104, P < 0.001$);实验第 5~7 周 IBS-D 组小鼠肠黏膜趋化素浓度较高但差异无统计学意义。见图 4。

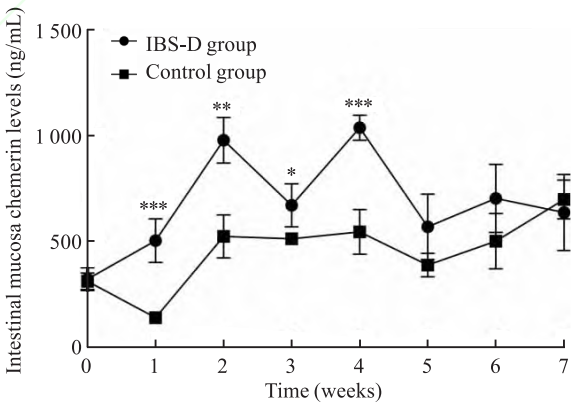


图4 两组小鼠肠黏膜趋化素浓度比较及随时间变化趋势

Fig.4 Comparison of chemerin concentration in intestinal mucosa of two groups of mice and its change trend with time was shown

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ vs control group.

3 讨论

近年来,IBS 发病率逐年增加,不仅给患者的生活质量和心理健康带来危害,且加重了社会经济负担。根据罗马 IV 标准^[2],IBS 分为腹泻型、便秘型、混合型和不定型四个临床亚型,其中,IBS-D 为主要亚型,故本实验选择 IBS-D 为研究亚型。IBS 发病

机制复杂,除与肠道通透性改变、心理社会因素、微生物群生态失调等有关外,脑-肠轴失调及内脏高敏感性亦参与 IBS 的发病^[7-9]。目前普遍认为,肠慢性低度炎症是 IBS-D 主要病理生理学机制之一^[3-4],但炎症的启动机制不明。

IBS-D 动物模型的制备方法多种,既往研究^[3]已证实 WRS 法构建 IBS-D 动物模型方法简单、模型稳定、且肠道黏膜产生低度炎症但并不造成溃疡的形成,模型小鼠表现出肠道传输功能亢进、内脏敏感性增高,能较好地模拟生物-社会-心理因素在人类应激性 IBS-D 发生中的影响。因此,本研究选用 WRS 法制备的 IBS-D 动物模型。通过评估小鼠的精神状态改变、体质量、粪便含水量、肠道传输功能级组织病理学改变,证实本次 WRS 法构建的应激性 IBS-D 动物模型成功。

趋化素是一种由脂肪组织分泌的调节脂肪分化的脂肪因子,可通过调节组织特异性免疫应答和代谢而发挥趋化、免疫调节作用,在肺、肝脏和结肠均表达^[10-11]。大量研究^[12-13]表明,局部或循环趋化素水平升高与多种疾病的慢性炎症状态密切相关,如 2 型糖尿病、动脉粥样硬化等。近年临床研究^[14-15]表明,血清趋化素表达不仅在炎症性肠病(克罗恩病和溃疡性结肠炎)患者中显著升高,在 IBS-D 患者中亦显著升高^[5],推测趋化素可能参与了 IBS-D 肠慢性低度炎症的发生,有待研究进一步确认。

本实验结果显示,实验第 1~2 周,IBS-D 小鼠血清趋化素水平达到顶峰,肠黏膜趋化素水平同时呈轻度升高,肠黏膜层呈轻度炎症反应,以淋巴炎性细胞为主;实验第 4 周,IBS-D 小鼠血清趋化素水平有所下降而肠黏膜趋化素水平明显升高并达到峰值,肠黏膜炎症反应明显加重(Geboes 评分增加),出现淋巴炎性细胞聚集,提示应激性 IBS-D 小鼠血清趋化素水平变化、肠黏膜趋化素水平变化及肠黏膜炎症变化有时序性关联。Baram et al^[5]的临床研究表明趋化素与 IBS 患者临床症状严重程度和心理因素有显著相关性。本实验研究结果与其临床研究结论相一致。

综上所述,心理应激可能通过上调血清和肠黏膜趋化素表达水平,进而参与 IBS-D 肠黏膜炎症的发生发展过程。但其具体机制仍需通过后续研究进一步验证。

参考文献

[1] Huang K Y, Wang F Y, Lv M, et al. Irritable bowel syndrome;

epidemiology, overlap disorders, pathophysiology and treatment [J]. World J Gastroenterol, 2023, 29(26): 4120-35. doi:10.3748/wjg.v29.i26.4120.

[2] Gadour E, Hassan Z, Gadour R. A comprehensive review of transaminitis and irritable bowel syndrome[J]. Cureus, 2021, 13(7): e16583. doi:10.7759/cureus.16583.

[3] 彭颖,徐丽红. 腹泻型肠易激综合征小鼠模型的建立与评价[J]. 安徽医科大学学报, 2021, 56(7): 1152-5. doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2021.07.028.

[3] Peng Y, Xu L H. Establishment and evaluation of mouse model of diarrhea-predominant irritable bowel syndrome [J]. Acta Univ Med Anhui, 2021, 56(7): 1152-5. doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2021.07.028.

[4] 德庆卓嘎,索菲娅·迪里夏提,涂蕾. 肠易激综合征内脏敏感性的调控机制研究进展[J]. 临床消化病杂志, 2025, 37(1): 55-58. doi:10.3870/lcxh.j.issn.1005-541X.2025.01.013.

[5] Baram M A, Abbasnezhad A, Ghanadi K, et al. Serum levels of chemerin, apelin, and adiponectin in relation to clinical symptoms, quality of life, and psychological factors in irritable bowel syndrome[J]. J Clin Gastroenterol, 2020, 54(5): e40-9. doi:10.1097/MCG.0000000000001227.

[6] Geboes K, Riddell R, Ost A, et al. A reproducible grading scale for histological assessment of inflammation in ulcerative colitis[J]. Gut, 2000, 47(3): 404-9. doi:10.1136/gut.47.3.404.

[7] Zhao L, Yang W, Chen Y, et al. A Clostridia-rich microbiota enhances bile acid excretion in diarrhea-predominant irritable bowel syndrome[J]. J Clin Invest, 2020, 130(1): 438-50. doi:10.1172/JCI130976.

[8] Hillestad E M R, van der Meeren A, Nagaraja B H, et al. Gut bless you: the microbiota-gut-brain axis in irritable bowel syndrome[J]. World J Gastroenterol, 2022, 28(4): 412-31. doi:10.3748/wjg.v28.i4.412.

[9] De Palma G, Shimbori C, Reed D E, et al. Histamine production by the gut microbiota induces visceral hyperalgesia through histamine 4 receptor signaling in mice[J]. Sci Transl Med, 2022, 14(655): eabj1895. doi:10.1126/scitranslmed.abj1895.

[10] Er L K, Hsu L A, Juang J J, et al. Circulating chemerin levels, but not the RARRES2 polymorphisms, predict the long-term outcome of angiographically confirmed coronary artery disease[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(5): 1174. doi:10.3390/ijms20051174.

[11] Sochal M, Mosińska P, Fichna J. Diagnostic value of chemerin in lower gastrointestinal diseases-a review[J]. Peptides, 2018, 108: 19-24. doi:10.1016/j.peptides.2018.08.012.

[12] 贾笑迪,裴晓艳,汪琼,等. 2 型糖尿病病人血清趋化素水平与腹型肥胖及大血管病变的关系[J]. 蚌埠医学院学报, 2021, 46(5): 598-601. doi:10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2021.05.010.

[12] Jia X D, Pei X Y, Wang Q, et al. Relationship among serum chemerin level, abdominal obesity and diabetic macroangiopathy in patients with type 2 diabetes mellitus[J]. J Bengbu Med Coll, 2021, 46(5): 598-601. doi:10.13898/j.cnki.issn.1000-

2200. 2021. 05. 010.

- [13] Tan L, Lu X, Jan Danser A H, et al. The role of chemerin in metabolic and cardiovascular disease: a literature review of its physiology and pathology from a nutritional perspective[J]. *Nutrients*, 2023, 15(13): 2878. doi:10.3390/nu15132878.
- [14] Weigert J, Obermeier F, Neumeier M, et al. Circulating levels of chemerin and adiponectin are higher in ulcerative colitis and

chemerin is elevated in Crohn's disease[J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2010, 16(4): 630–7. doi:10.1002/ibd.21091.

- [15] Sochal M, Fichna J, Gabryelska A, et al. Serum levels of chemerin in patients with inflammatory bowel disease as an indicator of anti-TNF treatment efficacy[J]. *J Clin Med*, 2021, 10(19): 4615. doi:10.3390/jcm10194615.

The correlation between Chemerin levels and intestinal mucosal inflammation in IBS-D model mice

Xing Zhuoyue, Bai Juan, Gao Xin, Huang Jiarui, Xu Lihong, Gao Yinfeng

(*Dept of General Practice, The First Affiliated Hospital of Shihezi University, Shihezi 832000*)

Abstract *Objective* To investigate the correlation of chemerin levels in the serum and intestinal mucosal with intestinal mucosal inflammation in IBS-D mice. *Methods* A total of 128 female C57BL/6J mice were randomly divided into IBS-D group and control group, with 64 mice in each group. Wire Restraint Stress method (WRS) was used to construct an animal model of IBS-D. Enzyme-linked immunosorbent assay was used to detect serum and colonic mucosal chemerin levels in mice. Hematoxylin-eosin (HE) staining was used to observe colonic mucosal inflammation. Geboes value was used to evaluate the severity of colonic mucosal inflammation. *Results* In the IBS-D group, the concentration of serum chemerin increased and reached the peak in the first week of the experiment ($t = 6.538, P < 0.001$), and the concentration of colonic mucosa chemerin increased and reached the peak in the fourth week of the experiment ($t = 8.104, P < 0.001$); in the first week of experiment, the colonic mucosa of IBS-D mice showed inflammatory reaction, which was the most significant in the fifth week ($P < 0.05$). Geboes score was (1.75 ± 0.50) *vs* (0.55 ± 0.52). *Conclusion* There is a temporal sequence between the elevation of serum and intestinal mucosal chemerin levels and the severity of intestinal mucosal inflammation, and it is hypothesized that the elevated serum and intestinal mucosal chemerin levels correlate with the onset and progression of intestinal mucosal inflammation.

Key words diarrhea-predominant irritable bowel syndrome; animal model; chemerin; intestinal mucosa inflammation; wire restraint stress

Fund program National Natural Science Foundation of China (No. 81660095); Scientific Research Project of Shihezi University (No. ZZZC2023043)

Corresponding authors Xu Lihong, E-mail: xueli_2006@126.com; Gao Yinfeng, E-mail: 15299913952@163.com