

网络出版时间: 2023-09-20 12:16:32 网络出版地址: <https://link.cnki.net/urlid/34.1065.r.20230918.1410.003>

# 不同浓度葡聚糖硫酸钠诱导小鼠急性溃疡性结肠炎模型的评价

许和鹏, 董伟波, 魏伟, 常艳

**摘要** 目的 对 1.5% 和 3.0% 两种浓度葡聚糖硫酸钠 (DSS) 诱导急性溃疡性结肠炎 (UC) 模型进行比较, 得到病死率低且经济高效的造模方案。方法 将 C57BL/6J 小鼠随机均分为对照组、1.5% DSS 组、3.0% DSS 组。对照组小鼠饮用灭菌水, DSS 组小鼠饮用相应浓度的 DSS 溶液, 连续 7 d。第 8~14 天小鼠全部饮用灭菌水。观测小鼠便血情况, 计算第 1~14 天疾病活动指数、体质量下降百分比和存活率。第 8 天处死小鼠, 计算脾脏指数, 测量结肠长度; HE 染色观察结肠组织病理变化; 免疫组化法检测结肠组织紧密连接蛋白 Claudin-1 和 Occludin 表达; 免疫荧光检测结肠组织巨噬细胞比例; ELISA 法测定血清和结肠组织匀浆肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 的水平。结果 与对照组比较, 1.5% 和 3.0% DSS 两组小鼠均显示出与人类 UC 类似的临床表现和病理学特征, 结肠长度均缩短 ( $P < 0.01$ ), 结肠组织 Claudin-1 和 Occludin 表达均降低 ( $P < 0.01$ ), 脾脏指数均升高 ( $P < 0.01$ ), 结肠组织巨噬细胞比例均升高 ( $P < 0.01$ ), 血清和结肠组织匀浆 TNF- $\alpha$  水平均升高 ( $P < 0.01$ )。1.5% DSS 组小鼠 14 d 内存活率高于 3.0% DSS 组小鼠。结论 给予小鼠 1.5% 浓度的 DSS 溶液饮用 7 d 可高效经济地建立急性 UC 模型。

**关键词** 葡聚糖硫酸钠; 急性溃疡性结肠炎; 模型

**中图分类号** R 574.621; R 965.1

**文献标志码** A **文章编号** 1000-1492(2023)10-1627-07

**doi:** 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2023.10.003

溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 是一种非特异性炎症性肠病 (inflammatory bowel disease, IBD) [1]。流行病学调查发现 [2], UC 风险增高有关的因素包括饮食、药物和生活方式等, 上述因素可导致人体肠道微生物群失衡, 影响宿主对抗原的免疫

反应, 但具体原因还未完全明确。现已开发了多种动物模型, 其中葡聚糖硫酸钠 (dextran sulfate sodium, DSS) 诱导的急性 UC 模型对探讨人类 UC 发病机制有着重要意义 [3]。DSS 会破坏肠黏膜屏障, 增加肠道通透性, 进一步引发肠黏膜免疫紊乱, 与人类 UC 炎症反应模式相似。其次, DSS 诱导的急性 UC 模型有着造模周期短、操作简便、高重现性和可控性的特点, 已成为普遍使用的 UC 造模方式 [4]。但研究 [5] 发现, DSS 诱导的急性 UC 成模率与 DSS 分子量、浓度以及造模时间有关, 其中 DSS 浓度直接影响小鼠肠道炎症的程度、结肠黏膜病理改变及病死率。因此, 该研究通过全面的评价指标对 1.5% 和 3.0% DSS 诱导小鼠急性 UC 模型比较, 筛选更优的建模方案, 为更好地探究 UC 病理机制和开展药物治疗奠定实验基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 动物** 6~8 周 SPF 级 C57BL/6J 小鼠, 雄性, 体质量 ( $22 \pm 2$ ) g, 购自江苏集萃药康生物科技有限公司, 生产许可证号: SCXK(苏)2018-0008。本课题由安徽医科大学临床药理研究所动物研究伦理委员会批准 (批准号: PZ-2021-031), 实验中相关方法均根据动物实验相关指南和法规进行。

**1.1.2 试剂** DSS 造模剂 (MW: 36~50 ku, 货号: MB5535) 购自大连美伦生物技术有限公司; 粪便隐血检测试剂盒 (货号: C027-I-I) 购自南京建成生物工程研究所; 小鼠肿瘤坏死因子- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ ) ELISA 试剂盒 (货号: 1217202) 购自深圳市达科为生物技术股份有限公司; Claudin-1 (货号: RT1141)、Occludin (货号: R1510-33) 以及 F4/80 (货号: RT1212) 一抗购自杭州华安生物技术有限公司; 酶标山羊抗兔 IgG 聚合物 (货号: PV-6001) 和 DAB 显色试剂盒 (货号: ZLI-9018) 购自北京中杉金桥生物技术有限公司; 兔抗大鼠 647 荧光二抗 (货号: CSA3829) 购自英国 Cohesion Biosciences 公司; DAPI (货号: C0065)、5% BSA (货号: SW3015)、曲拉通 Triton X-100 (货号: T8200)、ETAD 抗原修复液

2023-05-31 接收

**基金项目:** 安徽省自然科学基金 (编号: 2108085MH320); 安徽省高校协同创新项目 (编号: GXXT-2020-065)

**作者单位:** 安徽医科大学临床药理研究所, 抗炎免疫药物教育部重点实验室, 安徽医科大学类风湿关节炎研究中心, 抗炎免疫药物安徽省协同创新中心, 合肥 230032

**作者简介:** 许和鹏, 男, 硕士研究生;

常艳, 女, 教授, 硕士生导师, 责任作者, E-mail: yychang@ahmu.edu.cn;

魏伟, 男, 教授, 博士生导师, 责任作者, E-mail: wwei@ahmu.edu.cn

(货号: C1003) 购自北京索莱宝科技有限公司。

**1.1.3 主要仪器** 3DHISTECH 病理切片扫描仪购自济南丹吉尔电子有限公司; Infinite M1000 PRO 酶标仪购自瑞士 Tecan 公司; TCS SP8 激光共聚焦显微镜购自德国 Leica 公司。

## 1.2 方法

**1.2.1 UC 小鼠模型建立** 小鼠饮用灭菌水作为对照组, 小鼠饮用 1.5% 或 3.0% DSS 溶液为模型组, 均为 7 d, 造模当天认定为第 0 天。

**1.2.2 实验内容** ① 将小鼠随机均分为对照组、1.5% DSS 组、3.0% DSS 组, 每组各 10 只, 对照组给予灭菌水, 另外两组制备 UC 模型, 第 8~14 天三组小鼠全部饮用灭菌水。称量小鼠体质量, 计算体质量下降百分比 = (当天体质量 - 第 0 天体质量) / 第 0 天体质量 × 100%, 观察小鼠粪便松软度和粪便潜血情况, 记录生存情况。绘制各组小鼠 DAI 评分折线图(评分细则见表 1<sup>[6]</sup>), 体质量下降百分比折线图和生存曲线。② 将小鼠随机均分为对照组、1.5% DSS 组、3.0% DSS 组, 每组各 10 只。第 8 天麻醉处死小鼠后, 获取血清样本; 观察小鼠脾脏并称脾脏质量, 计算脾脏指数 = 脾脏质量 (mg) / 体质量 (g); 测量结肠长度, 取结肠组织, 去除肠内容物, 以 4% 多聚甲醛固定, 石蜡包埋, 切片(厚度 5 μm), 进行 HE 染色, 观察结肠炎性细胞浸润、肠上皮及隐窝破坏情况和溃疡面积形成等情况, 进行组织学评分(评分细则见表 2<sup>[6]</sup>), 同时留取结肠组织样本用于检测 TNF-α 水平。

表 1 DAI 评分标准

评分	体质量下降百分比 (%)	大便性状	血便
0	无	正常	阴性
1	1~5	-	-
2	>5~10	松散	潜血
3	>10~20	-	-
4	>20	稀便	肉眼血便

表 2 组织学评分标准

评分	炎症	黏膜损伤	隐窝破坏	缺损面积 (%)
0	无	无	无	0
1	轻度	黏膜层	1/3	1~25
2	中度	黏膜下层	2/3	>25~50
3	重度	肌层	100%	>50~75
4	-	-	100% + 上皮细胞丢失	>75~100

**1.2.3 免疫组化检测结肠组织紧密连接蛋白 Claudin-1 和 Occludin 的表达** 取小鼠结肠组织蜡块, 切片常规处理 4 ℃ 过夜孵育 Claudin-1(稀释比为 1:

100) 以及 Occludin(稀释比为 1:100) 抗体, 次日滴加适量酶标羊抗兔 IgG 聚合物, 室温孵育 2 h, DAB 显色后, 苏木精复染, 封片后镜下观察结肠组织 Claudin-1 和 Occludin 表达情况。将免疫组化染色强度分为 4 类: 0 分, 细胞无着色; 1 分, 细胞着色为淡黄色; 2 分, 细胞着色为棕色; 3 分, 细胞着色为深棕色。同时将阳性细胞百分比分为 5 类: 0 分, 无阳性细胞; 1 分, 阳性细胞 ≤ 20%; 2 分, 20% < 阳性细胞 ≤ 50%; 3 分, 50% < 阳性细胞 ≤ 75%; 4 分, 阳性细胞 > 75%。最终将染色强度分值与阳性细胞百分比相乘得出评分结果<sup>[7]</sup>。

**1.2.4 免疫荧光检测结肠组织巨噬细胞比例** 取小鼠结肠石蜡切片, 经过脱蜡后, 滴加 0.5% 曲拉通 Triton X-100, 放在湿盒内通透 10 min; 切片浸泡在 EDTA 抗原修复液内 10 min; 然后用 5% BSA 封闭 30 min, 滴加 F4/80 一抗(稀释比为 1:100), 置于湿盒内于 4 ℃ 冰箱过夜, 次日常 PBS 洗涤后, 滴加荧光二抗(稀释比为 1:200), 室温下于湿盒内孵育 90 min; 洗涤后加入 10 μl DAPI, 避光孵育 8 min, 激光共聚焦阅片, 最后用 Image J 计算 F4/80<sup>+</sup> 细胞数和总细胞数, 可得结肠组织巨噬细胞比例<sup>[8]</sup>。

**1.2.5 TNF-α 的含量测定** 采用 ELISA 试剂盒检测小鼠血清和结肠组织匀浆 TNF-α 含量, 具体操作严格按照说明书进行。

**1.3 统计学处理** 采用 SPSS 22.0 软件进行统计学分析, 计量数据用  $\bar{x} \pm s$  表示。多组数据间采用单因素方差分析,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义, 使用 GraphPad Prism 6.0 作图。

## 2 结果

**2.1 小鼠 14 d 内生存曲线** 通过观察小鼠 14 d 生存情况发现, 对照组小鼠在第 1~14 天未出现死亡; 1.5% DSS 组小鼠第 11 天死亡 1 只, 第 12 天死亡 1 只; 3.0% DSS 组小鼠第 8 天死亡 1 只, 第 9 天死亡 3 只, 第 11 天死亡 2 只。1.5% DSS 组小鼠最终存活百分比为 80%; 而 3.0% DSS 组小鼠最终存活百分比为 40%, 见图 1。

**2.2 小鼠 DAI 评分** 与对照组比较, 1.5% DSS 组(第 2 天:  $F = 25.08$ ,  $P > 0.05$ ; 第 3 天:  $F = 73.54$ ,  $P < 0.05$ ; 第 4 天:  $F = 202.00$ ,  $P < 0.01$ ; 第 5 天:  $F = 642.50$ ,  $P < 0.01$ ; 第 6 天:  $F = 522.30$ ,  $P < 0.01$ ; 第 7 天:  $F = 1307.00$ ,  $P < 0.01$ ) 和 3.0% DSS 组(第 2 天:  $F = 25.08$ ,  $P < 0.05$ ; 第 3 天:  $F = 73.54$ ,  $P < 0.01$ ; 第 4 天:  $F = 202.00$ ,  $P < 0.01$ ; 第 5 天:  $F = 642.50$ ,

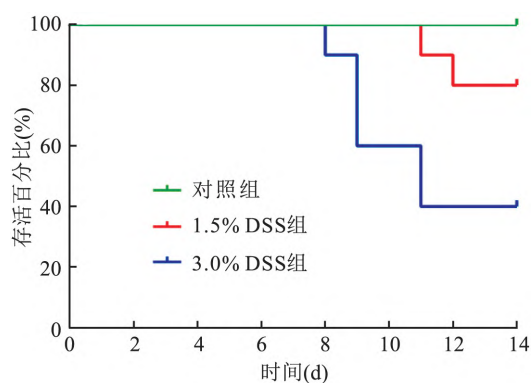


图1 小鼠14 d内存活曲线

$P < 0.01$ ; 第6天:  $F = 522.30$ ,  $P < 0.01$ ; 第7天:  $F = 1307.00$ ,  $P < 0.01$ ) 小鼠DAI评分在第2~7天均升高,在第7天时DAI评分达到峰值。其中,DSS两组间在第3~6天差异有统计学意义(第3天:  $F = 73.54$ ,  $P < 0.01$ ; 第4天:  $F = 202.00$ ,  $P < 0.01$ ; 第5天:  $F = 642.50$ ,  $P < 0.01$ ; 第6天:  $F = 522.30$ ,  $P < 0.05$ ),但第7天差异无统计学意义( $F = 1307.00$ ,  $P > 0.05$ )。第7天DSS两组小鼠均出现体重减轻、肉眼血便情况,视为造模成功,成模率达100%。在停止饮用DSS溶液计算第8~14天DAI评分发现,DSS两组小鼠DAI评分呈下降趋势,但均高于对照组,差异有统计学意义,而DSS两组之间差异无统计学意义,见图2。

**2.3 小鼠体重下降百分比** 与对照组比较,1.5% DSS组(第5天,  $F = 16.52$ ,  $P > 0.05$ ; 第6天,  $F = 39.86$ ,  $P < 0.01$ ; 第7天,  $F = 106.90$ ,  $P < 0.01$ )和3.0% DSS组(第5天,  $F = 16.52$ ,  $P < 0.01$ ; 第6天,  $F = 39.86$ ,  $P < 0.01$ ; 第7天,  $F = 106.90$ ,  $P < 0.01$ )小鼠体重在第5~7天均降低。其中,DSS两组间在第5~6天差异有统计学意义(第5天,  $F = 16.52$ ,  $P < 0.05$ ; 第6天,  $F = 39.86$ ,  $P < 0.01$ ),但第7天差异无统计学意义( $F = 106.90$ ,  $P > 0.05$ )。在停止饮用DSS溶液计算体重下降百分比发现,DSS两组小鼠在第8~14天下降百分比有减少趋

势,但与对照组比较,差异有统计学意义,而DSS两组小鼠之间差异无统计学意义,见图3。

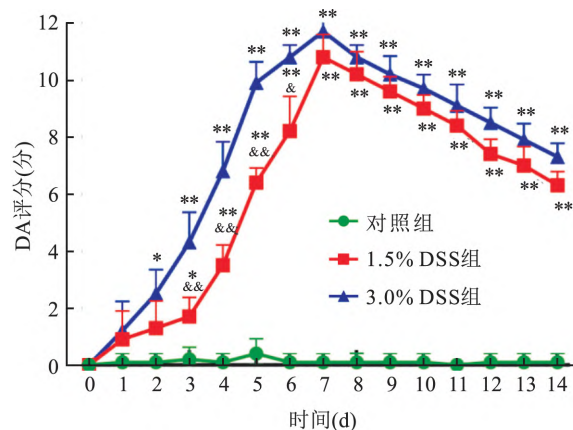


图2 小鼠DAI评分

与对照组比较: \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ ; 与3.0% DSS组比较:  $^{\&}P < 0.05$ ,  $^{\&\&}P < 0.01$

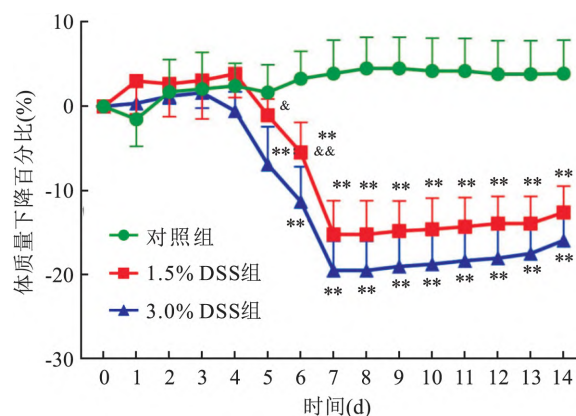


图3 小鼠体重下降百分比

与对照组比较: \*\*  $P < 0.01$ ; 与3.0% DSS组比较:  $^{\&}P < 0.05$ ,  $^{\&\&}P < 0.01$

**2.4 小鼠便血情况** 3.0% DSS组小鼠第2天出现粪便松散或隐血试验阳性,第4~7天可见肉眼血便状况;1.5% DSS组小鼠第4天出现粪便松散或隐血试验阳性,第6~7天可见肉眼血便状况。小鼠第7天肛门便血情况见图4。

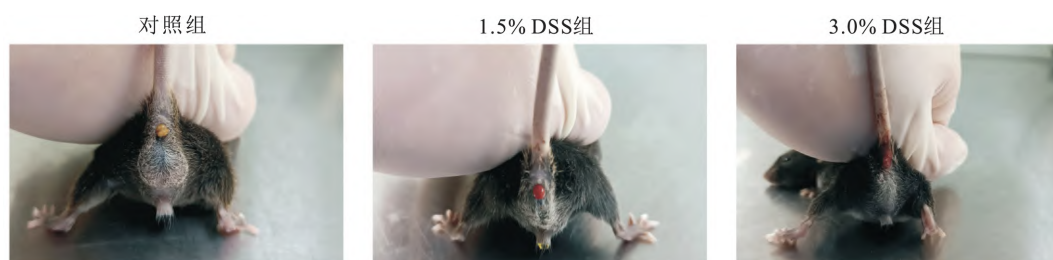


图4 小鼠第7天肛门便血情况

**2.5 小鼠结肠长度** 与对照组比较,1.5%与3.0% DSS 组小鼠结肠长度明显缩短,差异有统计学意义( $F = 34.89, P < 0.01$ ),但1.5%与3.0% DSS 两组之间差异无统计学意义,见图5。

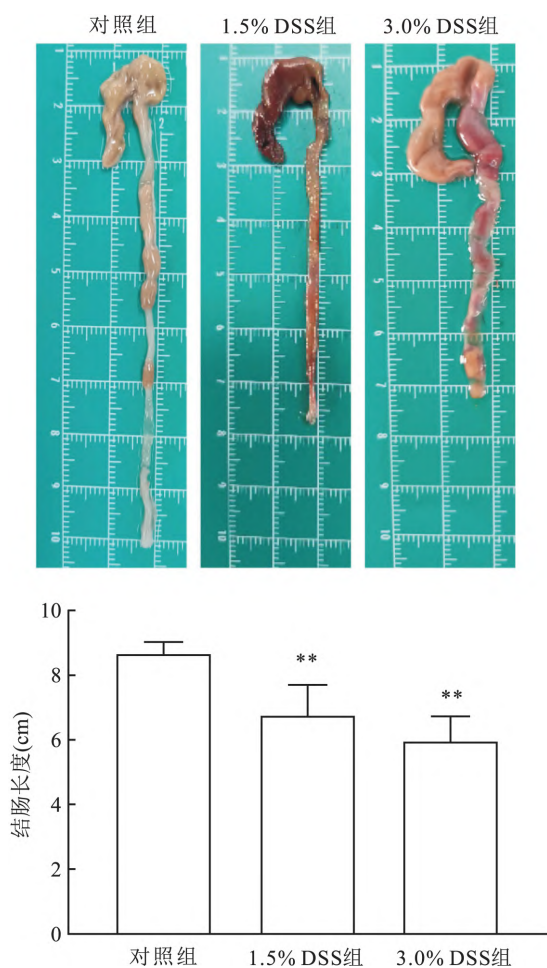


图5 小鼠结肠长度变化  
与对照组比较: \*\*  $P < 0.01$

**2.6 小鼠结肠组织病理变化** 对照组小鼠结肠上

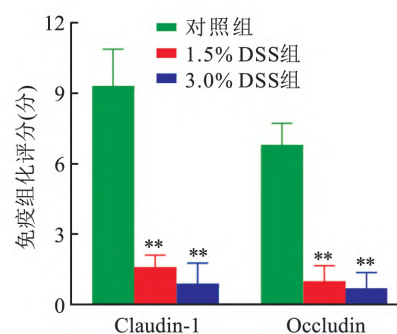
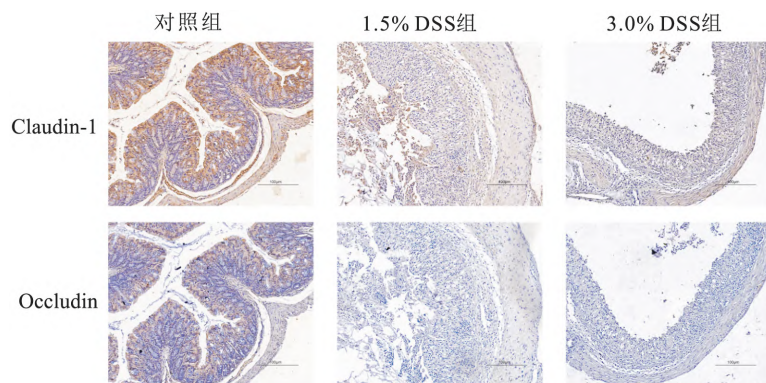


图7 小鼠结肠组织 Claudin-1 和 Occludin 的表达及评分 免疫组化法  $\times 100$   
与对照组比较: \*\*  $P < 0.01$

皮和固有层隐窝结构完整,未见炎性细胞浸润,但是DSS 两组小鼠结肠上皮和固有层隐窝结构均发生破坏且出现大量炎性细胞浸润。通过组织学评分发现,DSS 两组小鼠评分值均高于对照组( $F = 814.50, P < 0.01$ ),而DSS 两组之间差异无统计学意义,见图6。

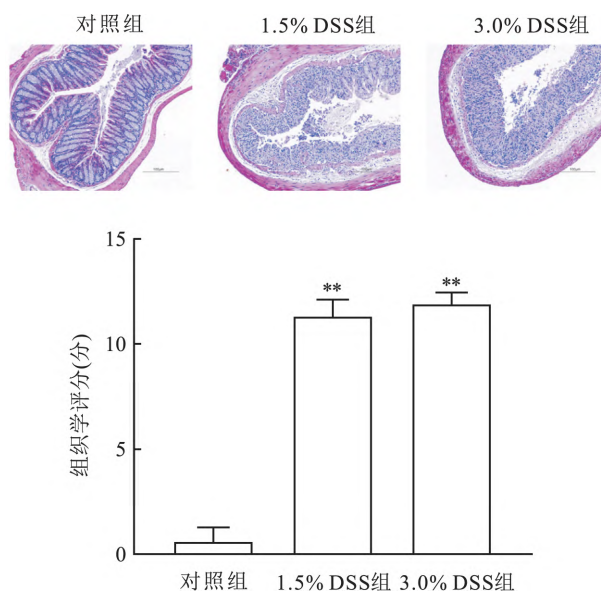


图6 小鼠结肠组织病理变化及评分 HE  $\times 100$   
与对照组比较: \*\*  $P < 0.01$

**2.7 小鼠结肠组织紧密连接蛋白 Claudin-1 和 Occludin 的表达** 免疫组化及其评分结果显示,对照组小鼠结肠组织紧密连接蛋白 Claudin-1 和 Occludin 表达较高。与对照组比较,DSS 两组小鼠结肠组织紧密连接蛋白 Claudin-1( $F = 186.80, P < 0.01$ )和 Occludin( $F = 203.30, P < 0.01$ )表达降低,但DSS 两组之间差异均无统计学意义,见图7。

**2.8 小鼠脾脏指数** DSS 两组小鼠脾脏均发生肿大,与对照组( $3.50 \pm 0.36$ )比较,1.5% DSS 组小鼠脾脏指数( $5.27 \pm 0.37$ )和3.0% DSS 组( $5.77 \pm 0.54$ )均升高( $F = 68.21$ ,  $P < 0.01$ ),但 DSS 两组之间差异无统计学意义,见图8。

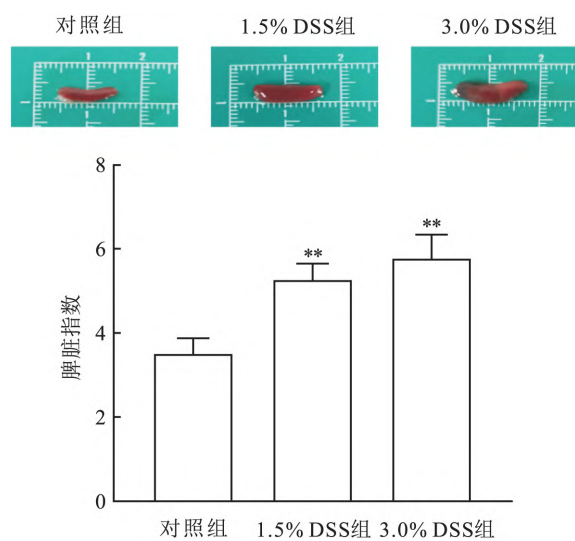


图8 小鼠脾脏大体形态及脾脏指数  
与对照组比较: \*\*  $P < 0.01$

**2.9 小鼠结肠组织巨噬细胞比例** 与对照组比较, DSS 两组小鼠结肠组织巨噬细胞比例均增高( $F = 38.66$ ,  $P < 0.01$ ), DSS 两组小鼠之间巨噬细胞比例差异无统计学意义,见图9。

**2.10 小鼠血清和结肠组织匀浆 TNF- $\alpha$  含量** ELISA 结果显示,与对照组比较, DSS 两组小鼠血清 TNF- $\alpha$  ( $F = 31.56$ ,  $P < 0.01$ ) 和结肠组织匀浆 TNF- $\alpha$  ( $F = 57.67$ ,  $P < 0.01$ ) 含量均升高,而 DSS 两组小鼠之间差异无统计学意义,见表3。

表3 小鼠血清和结肠组织匀浆 TNF- $\alpha$  含量( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 10$ ,  $\mu\text{g/ml}$ )

组别	血清	结肠组织匀浆
对照	$9.26 \pm 2.73$	$60.26 \pm 12.30$
1.5% DSS	$37.75 \pm 10.82^{**}$	$144.76 \pm 20.43^{**}$
3.0% DSS	$42.57 \pm 12.35^{**}$	$156.17 \pm 26.77^{**}$

与对照组比较: \*\*  $P < 0.01$

### 3 讨论

UC 是 IBD 的一种类型,其病因和发病机制尚未完全清楚。目前临床以改善病情、提高患者生存质量为诊疗方案,临床应用药物主要是糖皮质激素类、氨基水杨酸类、免疫抑制剂类等。建立合适的动

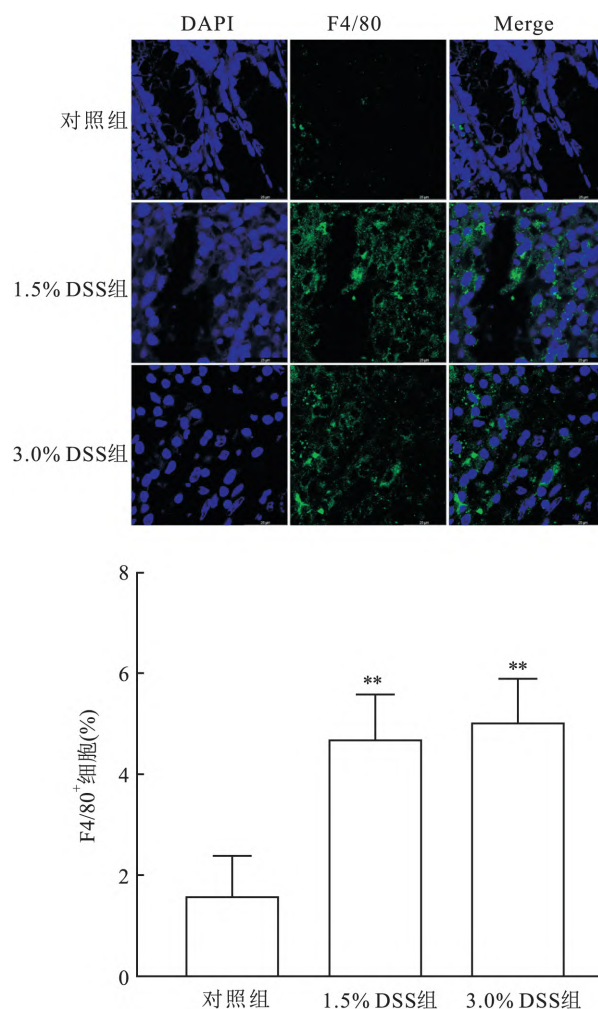


图9 小鼠结肠组织中巨噬细胞比例 免疫荧光法  $\times 200$   
与对照组比较: \*\*  $P < 0.01$

物模型是探究疾病发病机制以及新药开发与评价的重要手段。UC 动物模型的构建方式包括化学刺激法、免疫诱导法、复合法以及基因工程动物模型法。免疫诱导法多采用弗氏佐剂与结肠黏膜匀浆进行足垫内注射方式制备,该类方法临床相似性高,但制备复杂,造模周期长,复制性差<sup>[3]</sup>。复合法多采用 TN-BS/乙醇、异体抗原联合乙酸进行制备<sup>[4]</sup>,该类方法成模率高、重现性强,但操作复杂且周期长。基因工程动物模型法往往通过敲除或过表达特定靶基因来构建 UC 模型<sup>[9]</sup>,该类方法对揭示病因、阐明疾病病理机制具有重要意义,但造模成本高且无法全面模拟 UC 疾病。化学刺激法是利用 DSS、TNBS、乙酸、角叉菜胶等化学试剂损伤结肠黏膜,加大肠屏障渗透性,导致固有层免疫系统紊乱,进而诱导疾病发生,该类方法制备简单、成模率高,但模型维持周期短且存在自愈现象<sup>[3]</sup>。目前国内外多采用化学刺激法,其中 DSS 自由饮诱导的急性 UC 有着操作简

便、造模周期短、临床相似度和重现性高等特点广受研究<sup>[4,10]</sup>。

DAI 评分是衡量 UC 小鼠疾病表现的重要指标。本研究显示,DSS 两组小鼠 DAI 评分均高于对照组,于第 7 天达到最高。第 3~6 天,3.0% DSS 小鼠 DAI 评分均显著高于 1.5% DSS 小鼠,第 7 天时 1.5% 和 3.0% DSS 两组间差异无统计学意义。且造模后第 7 天体质量下降百分比和肉眼血便在 DSS 两组之间差异无统计学意义,提示 1.5% 和 3.0% DSS 均能造模成功。与对照组比较,第 8~14 天,DSS 两组小鼠 DAI 评分和体质量下降百分比有下降趋势,但差异仍有统计学意义。成模后 1.5% DSS 小鼠的存活率明显高于 3.0% DSS 组。第 8 天麻醉后处死小鼠,与对照组比较,DSS 两组小鼠结肠均严重缩短,HE 染色显示结肠上皮和隐窝结构均发生明显破坏,大量浸润炎性细胞,但 1.5% 和 3.0% DSS 两组之间差异无统计学意义。UC 患者结肠黏膜紧密连接蛋白 Claudin-1 和 Occludin 表达降低,反映肠黏膜屏障的破坏<sup>[11]</sup>。本研究结果表明,与对照组比较,DSS 两组小鼠结肠组织 Claudin-1 和 Occludin 的表达均降低。小鼠脾脏肿大间接反映体内炎症免疫紊乱<sup>[11]</sup>。本研究发现,DSS 两组小鼠脾脏均明显肿大,脾脏指数均高于对照组小鼠且 DSS 两组之间差异无统计学意义。

结肠组织巨噬细胞对肠道屏障稳态十分重要。在肠道屏障损伤情况下,外周单核细胞会被大量募集到结肠病变部位中,活化且分化成促炎型巨噬细胞,产生并分泌大量促炎细胞因子和趋化因子,促进 UC 病理进展<sup>[12]</sup>。在 UC 中,TNF- $\alpha$  主要由活化的结肠组织巨噬细胞产生,同时也可来源于结肠组织中活化固有淋巴样细胞及 T 细胞。TNF- $\alpha$  可促进中性粒细胞迁移和肠上皮细胞凋亡,同时诱导炎性细胞产生血小板激活因子、白三烯等,形成微血栓,导致黏膜微循环发生障碍,加重黏膜损伤<sup>[13]</sup>。而且靶向 TNF- $\alpha$  的生物制剂如英夫利昔单抗,在重度、急性和激素耐药性 UC 治疗中发挥重要作用<sup>[14]</sup>。研究表明<sup>[12,14]</sup>,UC 患者结肠组织中巨噬细胞增多,且活动期 UC 患者血清和结肠组织中 TNF- $\alpha$  大量分泌。本研究结果也显示,DSS 两组小鼠结肠组织巨噬细胞比例升高,血清和结肠组织匀浆 TNF- $\alpha$  均高于对照组,与文献报道一致,但 DSS 两组之间差异无统计学意义。

综上所述,1.5% 和 3.0% DSS 均可成功诱导急性 UC 模型,而 1.5% DSS 组小鼠的病死率明显降低,且符合实验动物伦理“3R 原则”中的减少动物使用的原则。根据本实验研究结果,给予 C57BL/6J 小鼠 1.5% DSS 溶液自由饮用 7 d 可高效经济地建立 UC 模型,为探究 UC 发病机制及开展药物治疗研究提供实验依据。

## 参考文献

- [1] Kobayashi T, Siegmund B, Le Berre C, et al. Ulcerative colitis [J]. Nat Rev Dis Primers 2020 6(1): 74.
- [2] Du L, Ha C. Epidemiology and pathogenesis of ulcerative colitis [J]. Gastroenterol Clin North Am 2020 49(4): 643–54.
- [3] 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): 423–33.
- [4] Katsandegwaza B, Horsnell W, Smith K. Inflammatory bowel disease: a review of pre-clinical murine models of human disease [J]. Int J Mol Sci 2022 23(16): 9344.
- [5] 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): 142–6.
- [6] Zhang Z, Li S, Cao H, et al. The protective role of phloretin against dextran sulfate sodium-induced ulcerative colitis in mice [J]. Food Funct 2019 10(1): 422–31.
- [7] 贾成艳,韩萍,王越业,等. 色氨酸-2,3-双加氧酶 2 上调介导犬尿酸代谢在大鼠佐剂性关节炎中的作用研究 [J]. 安徽医科大学学报 2022 57(9): 1374–9.
- [8] Li M, Huang T, Li X, et al. GDC-0575, a CHK1 inhibitor, impairs the development of colitis and colitis-associated cancer by inhibiting CCR2<sup>+</sup> macrophage infiltration in mice [J]. Onco Targets Ther 2021 14: 2661–72.
- [9] 赵述芳,龚建萍,李倩,等. 溃疡性结肠炎基因工程动物模型的研究进展 [J]. 现代中西医结合杂志 2022 31(1): 131–6.
- [10] 张晓梅,黄木圣,范春娇,等. 近十年溃疡性结肠炎动物模型的研究 [J]. 中国中医基础医学杂志 2022 28(1): 157–60.
- [11] Lin X, Guo X, Qu L, et al. Preventive effect of atracylodes rhizoma extract on DSS-induced acute ulcerative colitis through the regulation of the MAPK/NF- $\kappa$ B signals *in vivo* and *in vitro* [J]. J Ethnopharmacol 2022 292: 115–211.
- [12] Ai L, Ren Y, Zhu M, et al. Synbindin restrains proinflammatory macrophage activation against microbiota and mucosal inflammation during colitis [J]. Gut 2021 70(12): 2261–72.
- [13] Nakase H, Sato N, Mizuno N, et al. The influence of cytokines on the complex pathology of ulcerative colitis [J]. Autoimmun Rev 2022 21(3): 103017.
- [14] Kobayashi T, Motoya S, Nakamura S, et al. Discontinuation of infliximab in patients with ulcerative colitis in remission (HAYABUSA): a multicentre, open-label, randomised controlled trial [J]. Lancet Gastroenterol Hepatol 2021 6(6): 429–37.

## Evaluation of acute ulcerative colitis model induced by different concentrations of dextran sodium sulfate in mice

Xu Hepeng ,Dong Weibo ,Wei Wei ,Chang Yan

( *Institute of Clinical Pharmacology ,Anhui Medical University ,Key Laboratory of Anti-inflammatory and Immune Medicine ,Ministry of Education ,Rheumatoid Arthritis Research Center ,  
Anhui Medical University ,Hefei 230032*)

**Abstract** **Objective** To compare acute ulcerative colitis ( UC ) model induced by dextran sulfate sodium ( DSS ) at 1.5% and 3.0% concentrations and obtain a cost-effective modeling scheme with low mortality. **Methods** C57BL/6J mice were randomly divided into control group ,1.5% and 3.0% DSS group. The mice in control group drank sterilized water and the mice in each group of DSS drank the corresponding concentration of DSS solution ,all mice were treated for 7 days. And all mice drank sterilized water on day 8 to 14. The blood stool of mice was observed and the disease activity index ,the percentage of body weight loss and the percent of survival of mice were calculated on day 1 to 14. Mice were sacrificed on day 8. The spleen index was calculated and the length of colon was measured; HE staining was used to observe the histopathological changes of colon; The expressions of tight junction protein Claudin-1 and Occludin in colon tissue were detected by immunohistochemistry; Immunofluorescence detected the ratio of macrophage in colon tissue; Levels of tumor necrosis factor- $\alpha$  ( TNF- $\alpha$  ) in serum and colon tissue homogenates were detected by ELISA. **Results** Compared with the control group ,both mice of 1.5% DSS group and mice of 3.0% DSS group showed similar clinical and pathological features to human UC; The colon lengths were both shortened (  $P < 0.01$  ); The expressions of Claudin-1 and Occludin in colon tissue both decreased (  $P < 0.01$  ); Spleen index increased (  $P < 0.01$  ); The proportion of macrophages in colon tissue increased (  $P < 0.01$  ); Levels of TNF- $\alpha$  in serum and colon tissue homogenates both increased (  $P < 0.01$  ). The percent of survival of 1.5% DSS mice within 14 days was higher than that of 3.0% DSS mice. **Conclusion** The acute UC model can be established efficiently and economically by giving 1.5% concentration of DSS solution in mice for 7 days.

**Key words** dextran sodium sulfate; acute ulcerative colitis; model

( 上接第 1626 页 )

female offspring by constructing a murine model during pregnancy. **Methods** Female mice C57BL/6J were randomly divided into normal control group ( NC0 ) ,hypothyroidism complicated with pregnancy group ( PH0 ) and pregnancy complicated with hypothyroidism group ( GH0 ) . Firstly ,PH0 group was given 0.15% propylthiouracil diet for 28 days ,while NC0 and GH0 groups were given normal diet. After the successful modeling of PH0 was confirmed ,female mice in GH0 and PH0 groups were given 0.15% propylthiouracil diet during pregnancy ,and NC0 group was still given normal diet. After delivery ,the levels of free triiodothyronine ( FT3 ) ,free thyroxine ( FT4 ) , thyroid stimulating hormone ( TSH ) and total cholesterol ( TC ) ,triglyceride ( TG ) in each group were detected at 3 weeks of age for female offspring. The pathological changes of thyroid and liver were observed by HE staining. Western blot detected the levels of proteins associated with lipid metabolism. **Results** Compared with the NC0 group , the levels of serum FT3 and FT4 decreased ,the levels of serum TSH ,serum TC ,hepatic TC and TG increased in the female offspring of the PH0 and GH0 groups ,and lipid deposition was observed in their livers. The expression levels of HMGCR ,FAS and CD36 related to lipid metabolism in livers increased ,while the expressions of CPT1A and LDL-R were down-regulated. **Conclusion** Hypothyroidism during pregnancy may lead to the disturbance of lipid metabolism in the early life of female offspring mice.

**Key words** hypothyroidism; pregnancy; lipid metabolism; female offspring