

引用:梁巧俐,陈柏辉,陈映西,潘娜,黄晓燕.健脾愈疡汤对溃疡性结肠炎模型小鼠肠黏膜屏障修复作用的研究[J]. 中医导报,2025,31(2):24-29.

# 健脾愈疡汤对溃疡性结肠炎模型小鼠肠黏膜屏障修复作用的研究\*

梁巧俐<sup>1</sup>,陈柏辉<sup>1</sup>,陈映西<sup>1</sup>,潘娜<sup>1</sup>,黄晓燕<sup>2</sup>

(1.广西中医药大学,广西 南宁 530001;

2.广西中医药大学第一附属医院,广西 南宁 530023)

[摘要] 目的:探讨健脾愈疡汤对溃疡性结肠炎(UC)模型小鼠肠黏膜的修复作用。方法:43只SPF级雄性KM小鼠适应性喂养7 d后,随机选取10只作为正常组,其余为造模组。造模组小鼠自由饮用3%葡聚糖硫酸钠溶液,连续14 d,复制UC小鼠模型。造模完成后,随机选取3只评定模型。模型建立后,将30只小鼠随机分为模型组、西药组、中药组,每组10只。西药组予美沙拉秦肠溶片灌胃,中药组予健脾愈疡汤灌胃,正常组和模型组予等剂量的蒸馏水灌胃,连续14 d。观察小鼠一般情况、疾病活动指数(DAI)评分、组织病理学评分及肠黏膜通透性。采用Western blotting检测结肠组织中ZO-1蛋白、Tricellulin蛋白表达。结果:与正常组比较,模型组小鼠部分出现毛躁、懒动、黏液血便症状,DAI评分、肠黏膜通透性及组织学评分均显著升高( $P<0.05$ ),且ZO-1、Tricellulin蛋白相对表达量均显著下降( $P<0.05$ )。与模型组比较,西药组和中药组小鼠DAI评分、肠黏膜通透性、组织学评分均显著下降( $P<0.05$ ),西药组结肠ZO-1、Tricellulin蛋白相对表达量均显著升高( $P<0.05$ ),中药组结肠ZO-1蛋白相对表达量升高( $P<0.05$ )、Tricellulin蛋白相对表达量未见明显升高。结论:健脾愈疡汤对于UC小鼠肠黏膜具有一定的修复作用。

[关键词] 溃疡性结肠炎;健脾愈疡汤;肠黏膜屏障;紧密连接蛋白;小鼠

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] A [文章编号] 1672-951X(2025)02-0024-06

DOI: 10.13862/j.cn43-1446/r.2025.02.005

## The Effect of Jianpi Yuyang Decoction (健脾愈疡汤) on the Repair of Intestinal Mucosal Barrier in Mice with Ulcerative Colitis

LIANG Qiaoli<sup>1</sup>, CHEN Baihui<sup>1</sup>, CHEN Yingxi<sup>1</sup>, PAN Na<sup>1</sup>, HUANG Xiaoyan<sup>2</sup>

(1.Guangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanning Guangxi 530001, China; 2.The First Affiliated Hospital of Guangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanning Guangxi 530023, China)

[Abstract] Objective: To investigate the repair effect of Jianpi Yuyang decoction on the intestinal mucosa of ulcerative colitis (UC) model mice. Methods: After 7 days of adaptive feeding, 10 of the 43 SPF male KM mice were randomly selected as the normal group, and the rest were made of modules. The mice were copied with 3% dextran sodium sulfate solution for 14 consecutive days, to establish UC mouse model. After the modeling was completed, 3 evaluation models were randomly selected. After the model was established, 30 mice were randomly divided into model group, Western medicine group, and Chinese medicine group, with 10 mice in each group. The The mice were given mesalazine enteric-coated tablets by gavage in Western medicine group, while Jianpi Yuyang decoction in Chinese medicine group. And the normal group and model group were given the same dose of distilled water by gavage for 14 consecutive days. The general condition, disease activity index (DAI) score, histopathological score and intestinal mucosal permeability of the mice were observed. Western blotting was used to detect the protein expression of ZO-1 and Tricellulin in colon tissues.

\*基金项目:广西岐黄学者培养项目(2022015-003-01);“四象脾土和五脏”脾胃治未病创新团队(2021B001);广西科技厅自然科学基金面上项目(2020GXNSFAA238009)

通信作者:黄晓燕,女,主任医师,研究方向为中医药防治消化系统疾病

Results: Compared with the normal group, some mice showed symptoms of frizziness, laziness, mucus and blood in model group. The DAI score, intestinal mucosal permeability and histological scores were significantly increased in model group ( $P<0.05$ ), while the protein expressions of ZO-1 and Tricellulin were significantly decreased ( $P<0.05$ ). Compared with the model group, the DAI score, intestinal mucosal permeability and histology scores were significantly decreased in Western medicine group and Chinese medicine group ( $P<0.05$ ). The contents of ZO-1 and Tricellulin protein were significantly increased in Western medicine group ( $P<0.05$ ), and the expression of ZO-1 protein was increased in Chinese medicine group ( $P<0.05$ ), while the Tricellulin protein expression were not significantly increased in Chinese medicine group. Conclusion: Jianpi Yuyang decoction shows a certain repair effect on the intestinal mucosa of UC mice.

[Keywords] ulcerative colitis; Jianpi Yuyang decoction; intestinal mucosal barrier; tight junction proteins; mice

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)作为非特异性慢性黏膜炎症性肠病,发病率逐年升高<sup>[1]</sup>。因其难治的特点,严重影响患者生活质量。西医采用的治疗方法以水杨酸类、免疫抑制剂、糖皮质激素和粪菌移植等为主<sup>[2]</sup>。然而,这些药物存在依赖性,甚则导致严重副作用等问题。肠黏膜屏障功能受损为UC发病的关键因素<sup>[3]</sup>,因此,修复肠黏膜屏障将是治疗UC的重点方向。机械屏障作为肠黏膜屏障的第一道防线,其主要由肠上皮的紧密连接(tight junction, TJ)实现防御作用。紧密连接结构的破坏会增加肠黏膜通透性,影响黏膜屏障修复,成为UC发病的重要因素之一<sup>[4]</sup>。现有研究<sup>[5]</sup>表明,细胞间的紧密连接主要是由两种细胞间TJ(bicellular TJ, bTJ),如闭锁小带蛋白-1(Zonula occludens-1, ZO-1)、闭锁蛋白(occludin)、紧密连接蛋白1(Claudin-1),以及近年来受到越来越多关注的三种细胞间TJ(tricellular TJ, tTJ)组成的。ZO-1蛋白是维持TJ蛋白(如occludin、claudin-1蛋白)及结构稳定性的关键蛋白<sup>[6]</sup>。三细胞紧密连接蛋白(Tricellulin)是目前发现的代表性tTJ跨膜蛋白,其不仅可降低大分子的通透性,还可稳定bTJ结构,修复肠黏膜屏障<sup>[7]</sup>。杨靖源等<sup>[8]</sup>在UC相关实验中检测发现,上述紧密连接蛋白表达水平显著下降,肠道通透性显著增加,导致肠道屏障受损。

UC属中医学“肠癖”“痢疾”“泄泻”等范畴<sup>[9]</sup>。本课题组黄晓燕基于历代医家认识及总结多年临床实践,指出UC的发病核心病机为脾胃虚弱、湿热瘀毒。其根据核心病机提出本病应治以健脾益气为主,佐以清热解毒化瘀,并拟方健脾愈疡汤。本方可有效缓解UC患者临床症状。课题组前期实验证明了健脾愈疡汤的基础方——四君子汤能有效提高紧密连接蛋白occludin和claudin-1的表达水平,从而减轻肠黏膜的损害,有效改善UC小鼠的症状<sup>[10]</sup>。因此,本研究旨在观察健脾愈疡汤对UC小鼠肠黏膜屏障的修复作用,探索健脾愈疡汤发挥疗效的作用机制,为健脾愈疡汤治疗UC提供有力依据。

## 1 材 料

1.1 动物 43只8~10周龄SPF级雄性KM小鼠,体质量25~30 g,购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司,生产许可证号:SYXK(湘)2019-0004。饲养于广西中医药大学第一附属医院动物房,室温20~25℃,实验单位许可证:SYXK(桂)2020-0004。本

实验通过广西中医药大学实验动物福利伦理委员会审批,批准编号:DW20221120-233。

1.2 主要仪器 ChemiDoc™ Touch Imaging System、小型水平电泳套装、小型垂直电泳套装均购自美国Bio-Rad公司;Centrifuge 5810R台式高速离心机、Centrifuge 5418小型台式高速离心机均购自德国Eppendorf公司;Practum224-1CN电子分析天平(德国Sartoris公司);-86℃立式超低温冰箱(美国Thermo公司);病理切片机(上海徕卡仪器有限公司)。

1.3 主要试剂与药物 美沙拉秦肠溶片(规格:0.25 g×24片),购自葵花药业佳木斯鹿灵制药有限公司(批号:220103);健脾愈疡汤,购自广西中医药大学第一附属医院,组方为:党参15 g,白术12 g,茯苓15 g,炙甘草6 g,生黄芪30 g,败酱草15 g,桃仁10 g,炒薏苡仁30 g,木香6 g,生药共139 g。葡聚糖硫酸钠(Dextran sulfate sodium salt, DSS)(批号:S14047)购自上海源叶生物科技有限公司;荧光素异硫氰酸酯-葡聚糖(FITC-dextran)(批号:MS0904)购自上海懋康生物科技有限公司;Western一抗稀释液购自弗德生物科技有限公司(批号:FD1001);HE染液套装(批号:G1003)购自Servicebio公司。

## 2 主要试剂及药物的配制

3%DSS溶液:称取9 g DSS粉末溶于291 mL蒸馏水中,配制得到3%DSS溶液。西药的配制:美沙拉秦肠溶片(0.25 g/片)碾磨成粉末后,使1 g(4片)溶于10 mL蒸馏水中,制备为0.1 g/mL的药液,放置4℃冰箱保存。中药的配制:广西中医药大学第一附属医院药房将健脾愈疡汤煎煮浓缩为50 mL/剂,健脾愈疡汤中药液中生药含量2.78 g/mL。

## 3 实验方法

3.1 造模 43只SPF级雄性KM小鼠适应性喂养7 d后,随机选取10只作为正常组。其余小鼠参考WANG J等<sup>[11]</sup>造模方法予3%DSS溶液自由饮用14 d复制UC模型。造模结束后,随机选取3只评定模型是否建立。

3.2 模型评价 (1)一般情况评分:造模小鼠出现行为改变(包括懒动、拱背、厌食、大便次数增多、便软或稀、大便末端有黏液),1项行为改变计1分,无计0分,并累计总分。总分2分及以上即提示符合UC模型表征<sup>[13]</sup>。(2)结肠黏膜组织情况:造模后第15天,造模组随机抽取3只小鼠麻醉后迅速解剖,剪开

结肠腔,距肛缘约 1 cm 以上结肠出现溃疡及糜烂;病理切片 HE 染色下可见组织水肿、炎细胞浸润及结肠黏膜溃疡面形成等病理改变为造模成功<sup>[4]</sup>。如未观察到上述现象,则继续延长造模周期,直至模型成功建立。

3.3 分组 模型建立后,将 30 只小鼠随机分为模型组、西药组、中药组,每组 10 只。

3.4 干预方法 灌胃剂量换算参考《中药药理研究方法学》<sup>[22]</sup>进行剂量换算。西药组予美沙拉嗪 0.208 g/(kg·d)灌胃,中药组按 7.28 g/(kg·d)剂量灌胃,正常组与模型组小鼠予以等剂量生理盐水灌胃,1 次/d,连续 14 d。

3.5 标本采集 在末次给药后,小鼠禁食 12 h,然后予 FITC 灌胃,4 h 后以 2% 戊巴比妥钠深度麻醉。小鼠眼内眦采血,离心后取上层血清,将其放入干冰中冻存,供肠黏膜通透性检测。于小鼠腹腔中剪取盲肠末端至肛门处的完整结肠,拍摄并测量长度后,于病变最严重处,剪取一段结肠组织样本,沿肠壁径向剖开,并用生理盐水进行冲洗。将样品置于 4% 多聚甲醛中固定 30 min,用于 HE 染色;剪取另一部分病灶组织,放入液氮速冻后转移至 -86 ℃ 冰箱保存,用于 Western blotting 检测。

### 3.6 观察指标

3.6.1 一般状态 自造模日起,每日记录小鼠体质量变化,计算小鼠体质量变化率(小鼠每日体质量/初始体质量×100%),同时观察小鼠精神状态、粪便性状、有无便血、毛发及活动状态等,用疾病活动指数(disease activity index,DAI)进行评价,按如下评分标准执行<sup>[23]</sup>:DAI 评分=体质量下降分数+粪便黏稠度分数+便血分数。体质量按无明显下降、下降 1%~5%、下降 6%~10%、下降 11%~20%、下降超过 20% 分别计 0、1、2、3、4 分;粪便黏稠度按正常粪便、松软便、腹泻稀便分别计 0、2、4 分;便血情况按无出血、大便隐血阳性、粪便见血、肛门出血分别计 0、2、3、4 分。

3.6.2 结肠长度 取小鼠盲肠末端至肛门处的完整结肠,拍摄并测量长度。

3.6.3 肠黏膜通透性 取小鼠眼内眦血离心后上清液 100 μL,检测 FITC-dextran 的浓度,以此评估肠黏膜的通透性。

3.6.4 各组小鼠组织病理学形态(HE 染色)及组织病理学评分 小鼠结肠组织样本于 4% 多聚甲醛固定,固定状态良好后,进行修剪、脱水、包埋、切片、染色、封片,最后镜检。

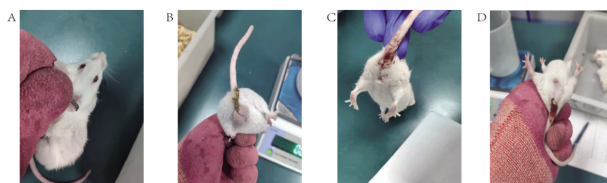
组织病理评分标准如下<sup>[24]</sup>。炎细胞浸润程度:无,计 0 分;至黏膜,计 1 分;黏膜及黏膜下层,计 2 分;透壁,计 3 分。组织损伤程度:无组织损伤,计 0 分;上皮组织病变,计 1 分;局部溃疡,计 2 分;黏膜损伤严重,计 3 分。

3.6.5 Western blotting 技术测定结肠组织 ZO-1、Tricellulin 蛋白表达 从每组小鼠结肠组织中提取样本,经混合均匀后,离心提取上清液,进行蛋白定量、变性、孵育、显影,并用 Image J 软件对条带进行灰度分析以检测相关蛋白表达水平。

3.7 统计学方法 运用 SPSS 28.0 软件分析数据,计量资料以“均数±标准差”(x̄±s)表示,符合正态分布的多样本间比较采用单因素方差分析,两两比较选择 LSD 法;不符合正态分布的使用 U 检验;计数资料以百分率表示,采用 χ<sup>2</sup> 检验。P<0.05 为差异有统计学意义。

## 4 结 果

4.1 一般状态 正常组小鼠精神良好,毛色光泽,动作迅速,粪便成形,无血便。造模期间模型组小鼠精神萎靡,毛躁(见图 1A),懒动,第 7 天开始出现大便次数增多、稀便(见图 1B),第 10~14 天可见部分小鼠出现黏液血便及鲜红血便(见图 1C、图 1D)。第 15 天,模型小鼠结肠组织病理结果提示:小鼠肠壁结构严重破坏,腺体变形甚至消失,可见大量炎症细胞浸润,表明成功复制 UC 小鼠模型。予美沙拉嗪和健脾愈疡汤治疗后,较模型组比较,两组小鼠动作迅速,精神转佳,毛色接近正常组,粪便成形,黏液血便症状较治疗前改善。



注:A毛躁,B稀便,C黏液血便,D血便。

图 1 模型小鼠一般状态观察

4.2 体质量 实验过程中模型组死亡小鼠 3 只,死亡率为 30%。故最终纳入研究的小鼠 37 只,其中正常组 10 只,模型组 7 只,西药组 10 只,中药组 10 只。治疗前,4 组小鼠体质量比较,差异无统计学意义(P>0.05)。治疗后,与正常组比较,模型组小鼠体质量明显降低(P<0.05);与模型组比较,西药组及中药组小鼠体质量均显著升高(P<0.05);中药组小鼠体质量与西药组比较,差异无统计学意义(P>0.05)。(见表 1)

表 1 各组小鼠治疗前后体质量比较 (x̄±s,g)

组别	n	治疗前	治疗后
正常组	10	31.34±4.76	44.39±5.62
模型组	7	34.64±6.76	32.07±9.88 <sup>a</sup>
西药组	10	32.62±2.16	41.29±3.56 <sup>b</sup>
中药组	10	32.72±4.81	40.26±4.36 <sup>b</sup>
F		14.310	6.189
P		0.000	0.002

注:与正常组比较,<sup>a</sup>P<0.05;与模型组比较,<sup>b</sup>P<0.05。

第 1~14 天(造模期间):模型组小鼠体质量呈下降趋势,体质量变化率明显低于正常组,且呈下降趋势。第 14~28 天(灌胃期间):模型组体质量变化幅度大,其余 3 组体质量及体质量变化率均呈上升趋势。(见图 2)

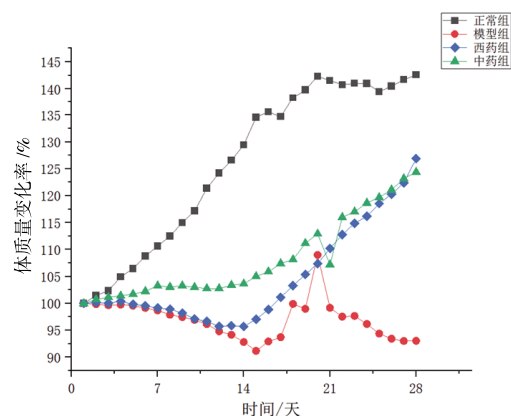


图 2 各组小鼠第 1~28 天体质量变化率

4.3 疾病活动指数(DAI)评分与结肠长度 与正常组比较,模型组小鼠DAI评分明显升高( $P<0.05$ ),结肠长度明显缩短( $P<0.05$ );与模型组比较,西药组和中药组的DAI评分明显下降( $P<0.05$ ),结肠长度增长( $P<0.05$ );中药组小鼠DAI评分及结肠长度与西药组比较,差异均无统计学意义( $P>0.05$ )。(见表2、图3)

表2 各组小鼠 DAI 评分及结肠长度比较 ( $\bar{x}\pm s$ )

组别	n	DAI评分/分	结肠长度/cm
正常组	10	0.80±1.03	12.04±0.83
模型组	7	6.00±1.00 <sup>a</sup>	9.64±0.42 <sup>a</sup>
西药组	10	2.50±2.42 <sup>b</sup>	10.99±0.53 <sup>b</sup>
中药组	10	2.70±1.70 <sup>b</sup>	11.52±0.92 <sup>b</sup>
F		13.150	16.022
P		0.000	0.000

注:与正常组比较,<sup>a</sup> $P<0.05$ ;与模型组比较,<sup>b</sup> $P<0.05$ 。



注:A.正常组,B.模型组,C.西药组,D.中药组。

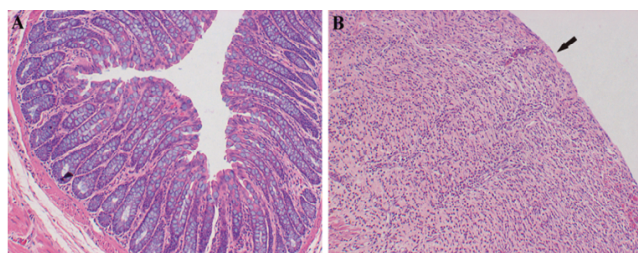
图3 各组小鼠结肠长度比较

4.4 肠黏膜通透性 与正常组比较,模型组小鼠结肠黏膜FITC-dextran渗透性显著升高( $P<0.05$ ),说明肠黏膜通透性增强;与模型组比较,西药组和中药组结肠黏膜FITC-dextran渗透性均显著下降( $P<0.05$ );中药组小鼠结肠黏膜FITC-dextran渗透性与西药组比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ )。(见表3)

表3 各组小鼠 FITC-dextran 检测 ( $\bar{x}\pm s, \mu\text{g/mL}$ )

组别	n	FITC-dextran
正常组	10	569.00±83.95
模型组	7	960.40±39.49 <sup>a</sup>
西药组	10	792.70±111.60 <sup>b</sup>
中药组	10	815.40±79.80 <sup>b</sup>
F		31.066
P		0.000

注:与正常组比较,<sup>a</sup> $P<0.05$ ;与模型组比较,<sup>b</sup> $P<0.05$ 。



注:A.正常组,B.模型组,C.西药组,D.中药组。

4.5 各组小鼠HE染色与组织病理学评分 正常组小鼠结肠黏膜层上皮细胞及腺体排列规则,未见明显缺损,黏膜肌层无明显缺损,未见中性粒细胞等炎症细胞浸润(见图4A);模型组小鼠绒毛结构破坏明显(见图4B,黑色箭头),伴有大量炎症细胞浸润;西药组小鼠结肠电子显微镜下可见腺体排列及上皮细胞排列规则度好转,黏膜下层及固有层的中性粒细胞等炎症细胞浸润明显好转(见图4C,黄色箭头),伴有少量水肿(见图4C,红色箭头);中药组小鼠结肠电子显微镜下可见上皮细胞排列规则,少量腺体缺失,伴有少量水肿(见图4D,红色箭头)和炎症细胞浸润(见图4D,黄色箭头)。

与正常组比较,模型组小鼠肠组织局部可见黏膜层与黏膜下层水肿,结缔组织排列疏松,伴有点状的淋巴细胞浸润,组织学评分显著升高( $P<0.05$ );与模型组比较,西药组及中药组结肠黏膜受损情况改善,黏膜水肿缓解,淋巴细胞浸润减少,组织学评分显著下降( $P<0.05$ );中药组小鼠结肠组织病理学评分与西药组比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ )。(见表4)

表4 各组小鼠结肠组织病理学评分比较 ( $\bar{x}\pm s$ ,分)

组别	n	组织病理评分
正常组	10	0.30±0.18
模型组	7	4.14±1.35 <sup>a</sup>
西药组	10	2.10±1.60 <sup>b</sup>
中药组	10	2.20±0.92 <sup>b</sup>
F		14.919
P		0.000

注:与正常组比较,<sup>a</sup> $P<0.05$ ;与模型组比较,<sup>b</sup> $P<0.05$ 。

4.6 各组小鼠结肠组织ZO-1、Tricellulin蛋白表达水平比较 与正常组比较,模型组小鼠结肠组织ZO-1、Tricellulin蛋白相对表达量显著下降( $P<0.05$ );与模型组比较,西药组结肠ZO-1、Tricellulin蛋白相对表达量均显著升高( $P<0.01$ ),中药组结肠ZO-1蛋白相对表达量明显升高( $P<0.01$ );而Tricellulin蛋白相对表达量未见明显升高( $P>0.05$ )。(见表5、图5)

表5 各组小鼠 ZO-1、Tricellulin 蛋白表达比较 ( $\bar{x}\pm s$ )

组别	n	ZO-1/GAPDH	Tricellulin/GAPDH
正常组	10	1.32±0.03	1.16±0.04
模型组	7	0.64±0.04 <sup>a</sup>	0.62±0.02 <sup>a</sup>
西药组	10	1.10±0.04 <sup>b</sup>	1.02±0.03 <sup>b</sup>
中药组	10	0.96±0.02 <sup>b</sup>	0.65±0.04
F		655.810	651.941
P		0.000	0.000

注:与正常组比较,<sup>a</sup> $P<0.01$ ;与模型组比较,<sup>b</sup> $P<0.01$ 。

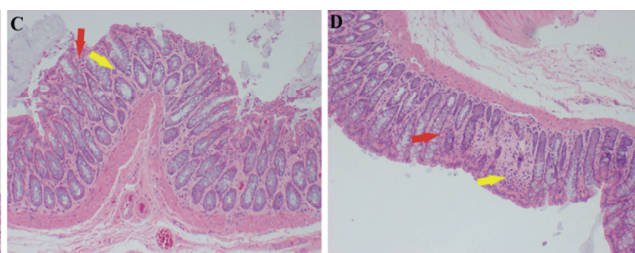


图4 各组小鼠结肠组织病理图 (HE 染色,×100)



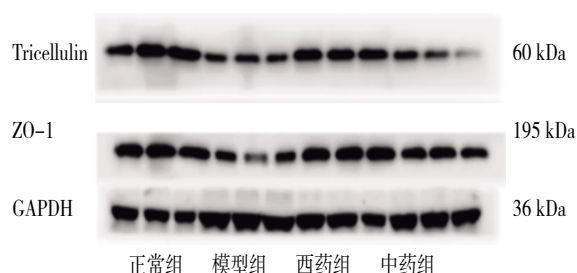


图5 Tricellulin、ZO-1蛋白Western blotting检测条带图

## 5 讨论

UC发病率在世界各地均呈上升趋势。探析UC安全有效的治疗方案是目前亟待解决的问题。肠黏膜屏障受损是UC常见的发病原因。因此,黏膜屏障的修复是治疗UC的重要方向及目标。

肠黏膜通透性增加是造成肠黏膜屏障受损的直接原因。UC患者肠黏膜细胞受损,导致肠黏膜萎缩,从而导致细胞间隙增大,肠黏膜通透性增加。FITC-D属于大分子物质,不能通过肠黏膜上皮屏障进入血液循环。因此,在研究过程中,FITC-D含量常作为评价结肠黏膜通透性的指标。本实验研究结果显示,模型组小鼠结肠黏膜FITC-dextran渗透性明显升高,说明小鼠结肠黏膜通透性明显增高,提示DSS溶液可诱导小鼠肠黏膜受损。而经美沙拉秦和健脾愈疡汤干预14 d后的小鼠结肠黏膜FITC-dextran渗透性均明显下降,但中、西药组间比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ )。由此可见,美沙拉秦和健脾愈疡汤均可改善UC小鼠肠黏膜通透性,有效缓解黏膜损伤,且两种药物疗效相当。

肠黏膜机械屏障功能受损致使肠黏膜通透性升高是UC根本的发病机制<sup>[7]</sup>。肠黏膜机械屏障主要由肠黏膜上皮细胞和其紧密连接(TJ)成分组成<sup>[18]</sup>。细胞间的紧密连接主要是由cTJ以及bTJ组成。肠黏膜屏障的保护作用得益于TJ蛋白与ZO-1相结合,封闭细胞间隙,稳定黏膜屏障,从而防止病原体透过肠壁进入血液及组织<sup>[9]</sup>。而Tricellulin可通过限制大分子物质的转运,有效降低肠黏膜通透性,并且对维持cTJ和bTJ结构的完整性至关重要。由此可见,紧密连接相关蛋白ZO-1、Tricellulin的产生和聚集与黏膜屏障防护作用呈正相关。

本实验研究结果显示,以健脾愈疡汤干预DSS诱导的UC小鼠后,其肠黏膜水肿缓解,淋巴细胞浸润减少,组织学评分显著下降,肠黏膜通透性下降,提示健脾愈疡汤可有效修复肠黏膜受损,且与美沙拉秦疗效相当。健脾愈疡汤和美沙拉秦对UC小鼠紧密连接相关的蛋白(ZO-1、Tricellulin)具有一定的影响。结果证实,ZO-1、Tricellulin蛋白在UC小鼠肠黏膜中低表达;经健脾愈疡汤及美沙拉秦干预后,结肠组织ZO-1蛋白表达明显升高,而两者对于Tricellulin蛋白的表达则未见明显调控作用。提示健脾愈疡汤可能通过增加ZO-1表达,增加肠紧密连接,从而修复和维护肠黏膜屏障,达到治疗UC的目的。

关于UC的中医学认识,本课题组黄晓燕基于历代医家认识及总结多年临床实践,指出先天因素、后天饮食不节或久病体弱等均可导致机体进入“脾虚”状态。脾胃虚弱,运化失常,水湿内停,湿属阴邪,损伤脾阳,脾失运化进一步加重,湿邪聚集于内。湿性重浊,趋向于下行,若渗入肠道,可能会导

致肠腑传导受阻,故临床易出现腹胀腹泻等不适。湿性黏滞,易阻碍气机,气不通则痛,故临床出现腹痛不适。气滞瘀血阻于肠,日久化而为热、为火,血败肉腐,内溃成疡,损伤肠络,则发脓血便。黄晓燕指出UC的核心病机为“脾胃虚弱、湿热瘀毒”,其根据核心病机提出治以健脾益气为主,佐以清热解毒化瘀,并拟方健脾愈疡汤(四君子汤化裁)。该方由党参、白术、茯苓、炙甘草、生黄芪、败酱草等药物共同组成,用以缓解UC患者临床症状。四君子汤源于《太平惠民和剂局方》,由人参、白术、茯苓和甘草4味药组成。四君子汤可通过增强脾胃功能,恢复其运化水湿的能力。正所谓“治湿不治脾,非所治也”。脾为气机升降之枢纽,脾气健运则气机通畅,气行则瘀血得消,肠道功能得以恢复。虽然党参的补益效果比人参稍弱,但功能基本相似。因此,在本方中将四君子汤的人参替换成党参。方中加入黄芪意在增强补益脾气之功;败酱草、桃仁、炒薏苡仁意在祛热、毒、瘀之实邪;行药者,气为血帅,自能为百药导引耳。本方加入木香作为引药。诸药合用,以健脾益气为主,清热化瘀解毒为辅,标本兼治。

健脾愈疡汤对于DSS诱导的UC小鼠肠黏膜损伤具有一定的修复作用,其机制可能是通过上调紧密连接ZO-1蛋白,降低肠黏膜通透性,修复肠黏膜屏障,促进黏膜愈合,从而降低DAI及组织学评分,缓解其稀便、血便症状,达到治疗UC的目的。该方在调控紧密连接蛋白ZO-1、修复DSS诱导的UC小鼠肠黏膜损伤中,疗效与美沙拉秦大致等同。

当然,实验过程仍存在着许多不足之处,如:(1)健脾愈疡汤的安全性和有效性仍需要进一步研究。缺乏药代动力学和毒理学研究,没有系统、大样本的临床试验佐证等。故而后期,团队将对药代动力学及毒理学进行深入研究,同时开展更多严格的随机、双盲、安慰临床试验,进一步探讨中药治疗疾病的机制。(2)本研究选取了与肠黏膜屏障修复相关的个别蛋白作为观察指标,探索健脾愈疡汤发挥疗效的可能相关靶点,但修复蛋白种类多,且存在互相影响。因此,健脾愈疡汤的具体有效靶点甚至是信号通路仍是后期需进一步阐明的内容。

## 参考文献

- [1] 中国中西医结合学会. 溃疡性结肠炎中西医结合诊疗专家共识[J]. 中国中西医结合杂志, 2023, 43(1): 5-11.
- [2] 叶雪珂, 单国顺, 付郁, 等. 溃疡性结肠炎发病机制及中西医结合治疗的研究进展[J]. 中华中医药学刊, 2022, 40(9): 158-162, 281.
- [3] 谢晶日, 陈善涛, 刘芝伟. 溃疡性结肠炎发病机制研究进展[J]. 海南医学院学报, 2022, 28(23): 1835-1840.
- [4] 杜小东, 罗利飞. 溃疡性结肠炎患者肠道菌群和肠黏膜屏障的变化及益生菌的干预作用[J]. 中国微生态学杂志, 2019, 31(2): 193-196.
- [5] 娄文静, 刘冬妍. 肠道紧密连接跨膜蛋白研究进展[J]. 实用药物与临床, 2019, 22(11): 1214-1219.
- [6] BUCKLEY A, TURNER J R. Cell biology of tight junction barrier regulation and mucosal disease[J]. Cold Spring

- Harb Perspect Biol, 2018, 10(1):a029314.
- [7] 毛祥娣, 杨泽希, 丛馨. 三细胞紧密连接蛋白tricellulin表达与功能调控的研究进展[J]. 中国病理生理杂志, 2020, 36(12): 2276–2282.
- [8] 杨靖源, 蒙俊, 杨堃. 肠紧密连接蛋白与肠道屏障功能[J]. 医学综述, 2022, 28(2): 235–239.
- [9] 崔世超, 柳越冬. 溃疡性结肠炎的中医治疗思路[J]. 辽宁中医杂志, 2017, 44(7): 1381–1384.
- [10] 黄晓燕, 郑超伟, 罗莉川, 等. 四君子汤对溃疡性结肠炎小鼠模型occludin和claudin-1表达的影响[J]. 现代生物医学进展, 2019, 19(5): 829–833.
- [11] WANG J, ZHANG C L, GUO C M, et al. Chitosan ameliorates DSS-induced ulcerative colitis mice by enhancing intestinal barrier function and improving microflora[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(22): 5751.
- [12] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 2版. 北京: 人民卫生出版社, 2006.
- [13] 惠毅, 闫曙光, 李京涛, 等. 大鼠慢性溃疡性结肠炎模型建立方法探讨[J]. 辽宁中医药大学学报, 2013, 15(10): 62–65.
- [14] 刘震宇. 芍药汤对UC大鼠免疫屏障的调节机制[D]. 长沙: 湖南中医药大学, 2020.
- [15] MURTHY S N, COOPER H S, SHIM H, et al. Treatment of dextran sulfate sodium-induced murine colitis by intracolonic cyclosporin[J]. Dig Dis Sci, 1993, 38(9): 1722–1734.
- [16] SCHMIDT N, GONZALEZ E, VISEKRUNA A, et al. Targeting the proteasome: Partial inhibition of the proteasome by bortezomib or deletion of the immunosubunit LMP7 attenuates experimental colitis[J]. Gut, 2010, 59(7): 896–906.
- [17] ROBERTS-THOMSON I C, BRYANT R V, COSTELLO S P. Uncovering the cause of ulcerative colitis[J]. JGH Open, 2019, 3(4): 274–276.
- [18] CHEN Y H, SHIN J Y, WEI H M, et al. Prevention of dextran sulfate sodium-induced mouse colitis by the fungal protein Ling Zhi-8 via promoting the barrier function of intestinal epithelial cells[J]. Food Funct, 2021, 12(4): 1639–1650.
- [19] 肖依, 彪雅宁, 王月, 等. 燮理汤对溃疡性结肠炎小鼠炎症因子及肠黏膜屏障损伤的影响[J]. 中药药理与临床, 2023, 39(4): 1–6.

(收稿日期: 2023-12-07 编辑: 罗英姣)

## (上接第6页)

- [22] OCHOA-DE LA PAZ L D, GULIAS-CANIZO R, D'ABRIL RUÍZ-LEYJA E, et al. The role of GABA neurotransmitter in the human central nervous system, physiology, and pathophysiology[J]. Rev Mex De Neurociencia, 2021, 22(2): 67.
- [23] KOSITZ C, SCHROECKSNADEL K, GRANDER G, et al. High serum tryptophan concentration in pollinosis patients is associated with unresponsiveness to pollen extract therapy[J]. Int Arch Allergy Immunol, 2008, 147(1): 35–40.
- [24] 吴昊, 闫彤彤, 朱宇琪, 等. 代谢组学在多环芳烃诱发儿童哮喘中的应用[J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2023, 43(7): 1004–1010.
- [25] 张若琳, 漆正堂, 刘微娜. 微生物-肠-脑轴视角下色氨酸代谢介导的运动抗抑郁机制研究进展[J]. 中国运动医学杂志, 2023, 42(3): 227–235.
- [26] STRASSER B, SPERNER-UNTERWEGER B, FUCHS D, et al. Mechanisms of inflammation-associated depression: Immune influences on tryptophan and phenylalanine metabolisms[J]. Curr Top Behav Neurosci, 2017, 31: 95–115.
- [27] WU W H, LI J N, CHEN S, et al. The airway neuro-immune axis as a therapeutic target in allergic airway diseases[J]. Respir Res, 2024, 25(1): 83.
- [28] CHEN Y, ZHANG Y, WANG J Y, et al. Anti-neuroinflammation effects of transcutaneous auricular vagus nerve stimulation against depression-like behaviors via hypothalamic  $\alpha 7$ nAChR/JAK2/STAT3/NF- $\kappa$ B pathway in rats exposed to chronic unpredictable mild stress [J]. CNS Neurosci Ther, 2023, 29(9): 2634–2644.

(收稿日期: 2024-05-28 编辑: 罗英姣)