

·针灸推拿·

本文引用: 胡晓妹, 田楚宁, 李 芊, 潘妍颖, 汤雅思, 陈兴宇, 张 泓, 易细芹. 电针对慢性溃疡性结肠炎小鼠 C3a/C3aR 通路相关蛋白的影响[J]. 湖南中医药大学学报, 2024, 44(12): 2227-2233.

电针对慢性溃疡性结肠炎小鼠 C3a/C3aR 通路相关蛋白的影响

胡晓妹^{1,2}, 田楚宁¹, 李 芊¹, 潘妍颖¹, 汤雅思¹, 陈兴宇², 张 泓^{1*}, 易细芹^{1*}

1. 湖南中医药大学针灸推拿与康复学院, 湖南 长沙 410208; 2. 湘南学院影像检验与康复学院, 湖南 郴州 423000

[摘要] 目的 观察电针对慢性溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)模型小鼠补体 C3 蛋白 3a(complement 3a, C3a)/补体 C3 蛋白 3a 受体(complement 3a receptor, C3aR)通路相关蛋白的影响。方法 将 48 只 BALB/c 小鼠采用随机数表法分为空白组(12 只)和造模组(36 只)。造模组采用 3%葡聚糖硫酸钠(dextran sodium sulfate, DSS)自由饮水(7 d 诱导+5 d 缓解)为 1 个周期,共 4 个周期构建慢性 UC 模型。造模成功后再二次随机分为模型组、电针组、柳氮磺胺嘧啶(sulfasalazine, SASP)组,每组 12 只。空白组不予处理,模型组仅捆绑,电针组针刺关元、天枢、足三里、上巨虚穴,每天 20 min, SASP 组每天灌胃 SASP 混悬液[500 mg/(kg·d)],连续 14 d。记录各组小鼠的疾病活动指数(disease activity index, DAI)、体质量、结肠长度和结肠指数;HE 染色观察结肠黏膜损伤指数(colonic mucosal damage index, CMDI)评分变化;Western blot 检测结肠组织中 C3aR 蛋白的表达量;免疫组织化学染色检测半胱氨酸蛋白酶-1(caspase-1)和消皮素 D(gasdermin D, GSDMD)蛋白水平;ELISA 检测结肠组织中 C3a 蛋白及血清中肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF- α)和白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)等炎症因子的表达情况。结果 与空白组相比,模型组小鼠的体质量显著下降,DAI 评分、结肠缩短、结肠指数和 CMDI 评分均显著增加($P<0.01$);结肠组织中 C3a、C3aR 蛋白的表达增加($P<0.05$);Caspase-1、GSDMD 蛋白的表达水平显著升高($P<0.01$);血清中的 IL-1 β 和 TNF- α 炎症因子的含量显著上升($P<0.01$)。与模型组相比,电针组和 SASP 组小鼠的体质量增加,DAI 和 CMDI 评分均降低($P<0.05$),结肠长度恢复、结肠指数评分显著降低($P<0.01$);结肠组织中 C3aR 蛋白的表达显著减少($P<0.01$),C3a 蛋白的表达减少($P<0.05$);Caspase-1 和 GSDMD 蛋白的表达水平降低($P<0.05$);血清中 IL-1 β 和 TNF- α 炎症因子的含量下降($P<0.05$)。结论 电针能够改善 UC 模型小鼠结肠组织细胞焦亡与慢性炎症,其机制可能与抑制 C3a/C3aR 通路蛋白的表达有关。

[关键词] 慢性溃疡性结肠炎;电针;补体;C3a/C3aR 通路;焦亡;慢性炎症

[中图分类号] R245

[文献标志码] A

[文章编号] doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2024.12.013

Effects of electroacupuncture on the C3a/C3aR pathway-related proteins in mice with chronic ulcerative colitis

HU Xiaomei^{1,2}, TIAN Chuning¹, LI Qian¹, PAN Yanying¹, TANG Yasi¹, CHEN Xingyu²,
ZHANG Hong^{1*}, YI Xiqin^{1*}

1. School of Acupuncture-moxibustion, Tuina and Rehabilitation, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China; 2. College of Medical Imaging Laboratory and Rehabilitation, Xiangnan University, Chenzhou, Hunan 423000, China

[Abstract] **Objective** To observe the effects of electroacupuncture on complement 3a (C3a)/complement 3a receptor (C3aR)

[收稿日期] 2024-08-23

[基金项目] 湖南省自然科学基金项目(2022JJ40316); 湖南中医药大学学科建设接榜挂帅项目(22JBZ013); 湖南省研究生科研创新一般项目(CX20230818); 湘南学院校级一流本科专业专项改革项目(2021-11)。

[通信作者] * 易细芹, 女, 硕士, 讲师, E-mail: 995010568@qq.com; 张 泓, 男, 博士, 二级教授, 博士研究生导师, E-mail: zh5381271@sina.com。

pathway-related proteins in a mouse model of chronic ulcerative colitis (UC). **Methods** A total of 48 BALB/c mice were divided into a blank group ($n=12$) and a modeling group ($n=36$) by a random number table method. With a regimen of 3% dextran sodium sulfate (DSS) administered through free water drinking (seven days of induction+five days of remission) as one cycle, the modeling group underwent a total of four cycles to establish a chronic UC model, and was then randomly subdivided into model, electroacupuncture, and sulfasalazine (SASP) groups after successful modeling, with 12 mice in each group. The blank group was not treated; the model group was only bundled; the electroacupuncture group was treated with electroacupuncture at Guanyuan (CV 4), Tianshu (ST 25), Zusanli (ST 36), and Shangjuxu (ST 37) for 20 minutes daily; the SASP group was given SASP suspension [500 mg/(kg·d)] by gavage daily. All intervention lasted for 14 consecutive days. The disease activity index (DAI), body weight, colon length, and colon index of each group of mice were recorded; the changes in colonic mucosal damage index (CMDI) were observed through HE staining; the expression of C3aR protein in colon tissues was examined through Western blot; the protein levels of Caspase-1 and gasdermin D (GSDMD) were checked through immunohistochemistry; the expressions of C3a protein in colon tissues and the inflammatory factors such as tumor necrosis factor (TNF- α) and interleukin-1 β (IL-1 β) in serum were determined through ELISA. **Results** Compared with the blank group, mice in the model group showed significant decreases in body weight and colon length, along with significant increases in DAI score, colon index, and CMDI score ($P<0.01$); the expression levels of C3a and C3aR proteins in colon tissues increased ($P<0.05$); the expression levels of Caspase-1 and GSDMD proteins increased significantly ($P<0.01$); the serum levels of IL-1 β and TNF- α increased significantly ($P<0.01$). Compared with the model group, mice in both electroacupuncture and SASP groups showed an increase in body weight, along with decreases in the DAI and CMDI scores ($P<0.05$); colon length was partially restored and the colon index score was significantly reduced in these groups ($P<0.01$); the expression of C3aR protein in colon tissues decreased significantly ($P<0.01$), and the expression of C3a protein decreased ($P<0.05$); the expression levels of Caspase-1 and GSDMD proteins decreased ($P<0.05$); the serum content of IL-1 β and TNF- α decreased ($P<0.05$). **Conclusion** Electroacupuncture can alleviate pyroptosis and chronic inflammation in colon tissues of UC model mice, and its mechanism may be related to the inhibition of the expressions of C3a/C3aR pathway-related proteins.

[**Keywords**] chronic ulcerative colitis; electroacupuncture; complement; C3a/C3aR pathway; pyroptosis; chronic inflammation

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)作为一种慢性自身免疫性肠道疾病,主要表现为腹痛、腹泻和血便^[1]。近年来,UC的发病率逐年增高,因其病程缠绵和易复发的特性,严重影响患者的生活质量^[2]。UC现有的治疗药物主要有5-氨基糖苷类、硫嘌呤类药物及生物制剂等^[3],但这些药物长期使用后常伴有肝脏损伤、肾功能代谢异常等毒副作用,亟须寻找新的治疗方式。电针作为临床上常见的补充替代疗法,结合了传统医学和现代康复的优点。在临床试验与动物实验中均证实了电针改善UC的优效性;JOOS等^[4]研究表明,电针可降低UC患者的疾病活动指数;陈正鑫^[5]研究表明,电针可以降低UC患者粪便钙卫蛋白、红细胞沉降率等炎症指标,提高内镜下黏膜愈合率。但其具体作用机制仍需进一步探索。

补体(complement, C)在UC的发生和发展中起重要作用,补体系统中的C1q、CD46等因子有助于保护肠道屏障,减少肠道炎症,而C3、C5和C5a则被证实会加剧肠道损伤,促进UC的发展^[6]。研究发现,在UC慢性阶段,C3通过裂解产生C3a,激活细

胞膜上的C3aR受体,从而激活C3a/C3aR通路,促进肠上皮细胞焦亡,进一步加剧肠道炎症反应^[7]。既往研究表明,紫锥菊提取物可通过下调C3a/C3aR信号通路发挥抗炎作用并改善UC症状^[8]。因此,抑制C3a/C3aR通路可能是治疗UC的关键分子途径。然而,电针是否可以通过调节C3a/C3aR通路治疗UC尚不明确。因此,本研究以慢性UC模型小鼠为观察目标,从补体角度探索电针对溃疡性结肠炎C3a/C3aR通路相关蛋白的影响,为电针治疗UC提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

健康SPF级BALB/c小鼠52只[湖南斯莱克景达实验动物公司,许可证号:XYXK 2019-0009],雌雄各半,8周龄,体质量(20 \pm 2)g。SPF级实验室适应性分笼饲养7d,培养温度20~25℃,相对湿度50%~70%,压力梯度20~50Pa,换气15~20次/h。本研究实验已通过湖南中医药大学伦理委员会审核

(伦理批号:LL2022112304)。

1.2 主要仪器和试剂

1.2.1 主要试剂 葡聚糖硫酸钠(美仑生物技术有限公司,批号:MB5535);柳氮磺吡啶肠溶片(华润双鹤药业股份有限公司,批号:国药准字H11020818);异氟烷(瑞沃德生命科技有限公司,批号:R510-22-16);HE染色试剂盒、免疫组织化学试剂盒(塞维尔生物科技有限公司,批号:G1076、G1216);白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、C3a ELISA试剂盒(伊莱瑞特生物科技有限公司,批号:E-EL-M0044、E-EL-M3063、E-EL-M0337c);半胱氨酸蛋白酶-1(Caspase-1)、消皮素D(gasdermin D, GSDMD)抗体(塞维尔生物科技有限公司,批号:GB15383、GB114198);C3aR抗体(正能生物科技有限公司,批号:822006)。

1.2.2 主要仪器 华佗牌电针治疗仪(型号:SDZ-V,苏州医疗用品厂有限公司);可孚一次性使用无菌平柄针灸针(规格:0.18 mm \times 13 mm,吴江市云龙器械有限公司);多功能微孔板读数仪(型号:Varioskan LUX,美国赛默飞世尔科技公司);数字切片扫描仪(型号:PannoramicMIDI,匈牙利3DHISTECH公司)。

1.3 UC模型小鼠的建立与分组干预

本研究参考改良的DSS造模方法进行造模^[9]。48只BABL/c小鼠按照随机数表法分为空白组12只与造模组36只。空白组予以蒸馏水自由饮用;造模组以3% DSS自由饮水(诱导)7 d+蒸馏水(缓解)5 d为1个周期,共4个周期。造模结束后,进行模型检测,以疾病活动指数(disease activity index, DAI)评分 \geq 2分为成模标准^[10]。将造模成功的小鼠再次随机分为模型组、电针组、柳氮磺胺吡啶(sulfasalazine, SASP)组,每组12只。

造模结束后,分组进行干预。空白组不予干预;模型组仅捆绑固定;电针组捆绑固定后,参照《实验针灸学》分别刺入小鼠双侧天枢、上巨虚、关元、足三里穴,直刺5 mm,电针参数选用疏密波(10 Hz/50 Hz),电流为1 mA,强度以肢体轻微抖动为度,每次留针20 min;SASP组参考《实验动物和动物实验技术》^[11]中的换算方法,小鼠给药剂量=人体给药剂量/人体体重 \times 9.1,即等效给药剂量约为500 mg/

(kg \cdot d)。均每天1次,连续治疗14 d。

1.4 检测指标及方法

1.4.1 DAI评定 造模结束后,记录体质量、大便性状。DAI评分=(体质量下降率积分+大便性状积分+便血情况积分)/3^[12],具体评分细则详见表1。

表1 DAI评分细则

Table 1 DAI scoring rules

积分情况	体质量下降率	大便性状	便血情况
0分	体质量不变	正常	阴性
1分	0<体质量 \leq 5%	软便	浅蓝
2分	5%<体质量 \leq 10%	软便且黏附肛门	蓝色
3分	10%<体质量 \leq 15%	粪便稀溏	深蓝
4分	>15%	粪便水样	肉眼血便

1.4.2 结肠指数测定 治疗结束后,异氟烷呼吸麻醉并处死小鼠,剖腹取结肠,冲洗结肠内容物,测量结肠袋到肛门口的结肠长度,并称取结肠重量,以重量/长度比值计算结肠指数,结肠指数数值越大表示炎症程度越高^[1]。

1.4.3 HE染色观察结肠组织病理变化 冰0.9%氯化钠溶液清洗结肠,取病变部位进行固定脱水,石蜡包埋,切片后进行HE染色,然后参照改良的结肠黏膜损伤指数(colonic mucosal damage index, CMDI)评分方法进行评价,CMDI评分=炎症细胞浸润评分+组织结构损伤评分^[13]。

1.4.4 免疫组织化学染色检测 Caspase-1、GSDMD蛋白水平 石蜡切片脱蜡水化,行抗原修复,洗涤后,用山羊血清封闭30 min,分别孵育Caspase-1、GSDMD(1:500)抗体过夜,阴性对照组用PBS孵育过夜,次日洗涤后孵育羊抗兔二抗(1:500)1 h,洗涤后复染50 μ L着色,避光孵育1 min,最后在显微镜下观察,以灰度值/面积计算平均光密度值。

1.4.5 ELISA检测结肠组织C3a蛋白及血清IL-1 β 、TNF- α 蛋白的表达 麻醉小鼠后,取结肠组织研磨,经心脏采血,离心机设置3 000 r/min、半径8 cm、温度4 $^{\circ}$ C,离心15 min后取上清,按C3a、IL-1 β 、TNF- α 的ELISA检测试剂盒说明书操作,使用酶标仪于450 nm波长测量光密度。

1.4.6 Western blot检测结肠组织C3aR蛋白的表达水平 取100 mg结肠组织,按照1:100的比例加入

RIPA 裂解液,组织破碎仪 90 Hz、45 s 循环 5 次,以破碎结肠组织。冰上裂解 20 min 后,12 000 r/min、半径 8 cm、温度 4 ℃离心 15 min,取上清。参照 BCA 试剂盒说明书测量蛋白浓度,随后在样品中加入上样缓冲液,水浴锅 100 ℃、15 min,将样品煮沸。用 12%PAGE 胶电泳分离不同分子量的蛋白后,将蛋白转印到 PVDF 膜上,5%脱脂牛奶封闭 1 h,分别加入 C3aR 抗体、 β -actin(1:1 500),4 ℃封闭过夜。TBST 洗膜 6 次后(5 min/次),加入 HRP 标记二抗,室温下孵育 60 min。采用化学发光法显影,以目的蛋白与内参蛋白灰度值的比值作为目的蛋白的相对表达量,实验重复 3 次。

1.5 统计学分析

所有数据均使用 SPSS 26.0 软件进行分析,计量资料以“ $\bar{x}\pm s$ ”表示。计量资料符合正态分布和方差齐性,采用单因素方差分析进行组间比较,并使用 LSD 检验进行后续的两两比较;不符合正态分布或方差不齐的数据,采用非参数检验进行分析。均以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 电针对 UC 模型小鼠体质量、结肠长度、DAI 评分、结肠指数的影响

空白组小鼠毛发柔顺、行动敏捷、粪便成形;模型组小鼠出现便血、粪便稀溏、蜷缩等症状,结肠长度明显缩短,结肠重量增加,体质量显著下降、DAI 评分和结肠指数明显增高($P<0.01$);电针组和 SASP 组干预后,小鼠一般情况改善、便血症状好转,行动能力提高,结肠长度均有所恢复,结肠重量下降,体

质量增加、DAI 评分降低($P<0.05$),结肠指数显著降低($P<0.01$);电针组和 SASP 组的体质量、DAI 评分和结肠指数比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。详见图 1。

2.2 电针对 UC 模型小鼠结肠组织病理改变的影响

HE 染色结果表明,空白组小鼠肠道绒毛及上皮结构完整,未见中性粒细胞浸润;模型组小鼠出现溃疡性结肠炎的典型改变,绒毛严重脱落坏死,结肠隐窝-绒毛结构破坏缺失,伴有严重中性粒细胞浸润;电针组与 SASP 组肠上皮形态基本正常,腺体结构形态改善,黏膜下层可见少量炎症浸润与轻微水肿。与空白组相比,模型组 CMDI 评分显著升高($P<0.01$);与模型组相比,电针组与 SASP 组的 CMDI 评分均降低($P<0.05$);但电针组和 SASP 组之间 CMDI 评分比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。详见图 2。

2.3 电针对 UC 模型小鼠结肠 C3a/C3aR 通路蛋白的影响

与空白组相比,模型组小鼠 C3a、C3aR 蛋白水平增加($P<0.05$);与模型组相比,电针组与 SASP 组 C3a、C3aR 蛋白水平降低($P<0.05, P<0.01$);电针组和 SASP 组 C3a、C3aR 蛋白表达水平比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。详见图 3。

2.4 电针对 UC 模型小鼠结肠细胞焦亡的影响

免疫组织化学结果表明,与空白组相比,模型组小鼠结肠组织 Caspase-1、GSDMD 蛋白表达显著增高($P<0.01$)。与模型组相比,电针组与 SASP 组小鼠结肠组织 Caspase-1、GSDMD 蛋白表达减少($P<0.05$);电针组和 SASP 组小鼠结肠组织 Caspase-1、GSDMD 蛋白比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。详见图 4。

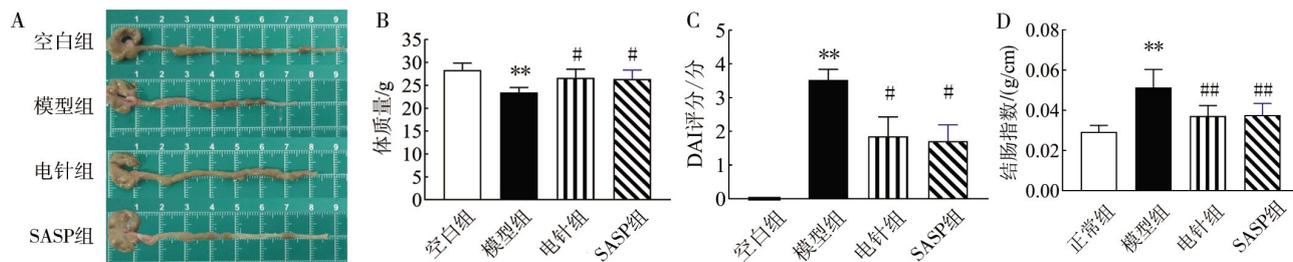


图 1 电针对 UC 模型小鼠体质量、结肠长度、DAI 评分、结肠指数的影响($\bar{x}\pm s, n=12$)

Fig.1 Effects of electroacupuncture on body weight, colon length, DAI score, and colon index in UC model mice ($\bar{x}\pm s, n=12$)

注:A.各组小鼠结肠直观图片对比;B.各组小鼠体质量对比;C.各组小鼠 DAI 评分对比;D.各组小鼠结肠指数对比。与空白组相比,** $P<0.01$;与模型组相比,# $P<0.05$,## $P<0.01$ 。

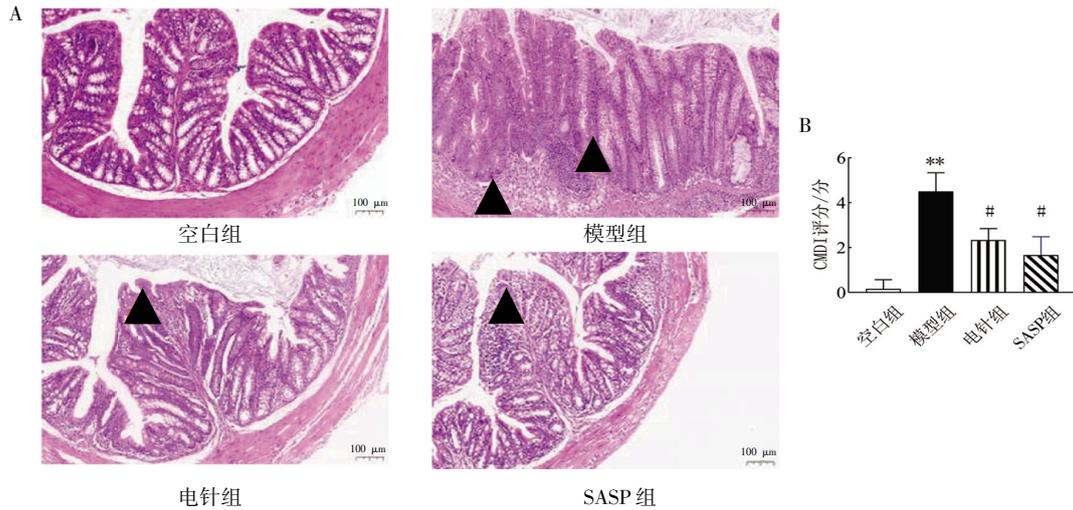


图 2 电针对 UC 模型小鼠结肠组织的病理改变($\bar{x}\pm s, n=6$)

Fig.2 Pathological changes of colon tissues by electroacupuncture in UC model mice ($\bar{x}\pm s, n=6$)

注:A.各组小鼠结肠 HE 图片对比(标尺=100 μm);B.各组小鼠 CMI 评分对比,▲代表炎症浸润;与空白组相比,** $P<0.01$;与模型组相比,# $P<0.05$ 。

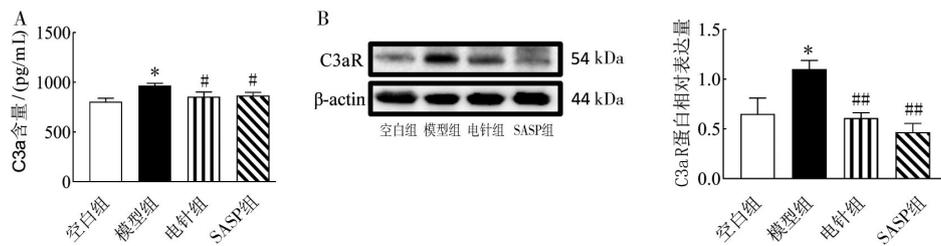


图 3 各组小鼠结肠组织中 C3a、C3aR 蛋白表达量比较($\bar{x}\pm s, n=6$)

Fig.3 Comparison of C3a and C3aR protein expression levels in mouse colon tissues among different groups ($\bar{x}\pm s, n=6$)

注:A.各组小鼠结肠中 C3a 含量对比;B.各组小鼠结肠中 C3aR 表达对比;与空白组相比,* $P<0.05$;与模型组相比,# $P<0.05$,## $P<0.01$ 。

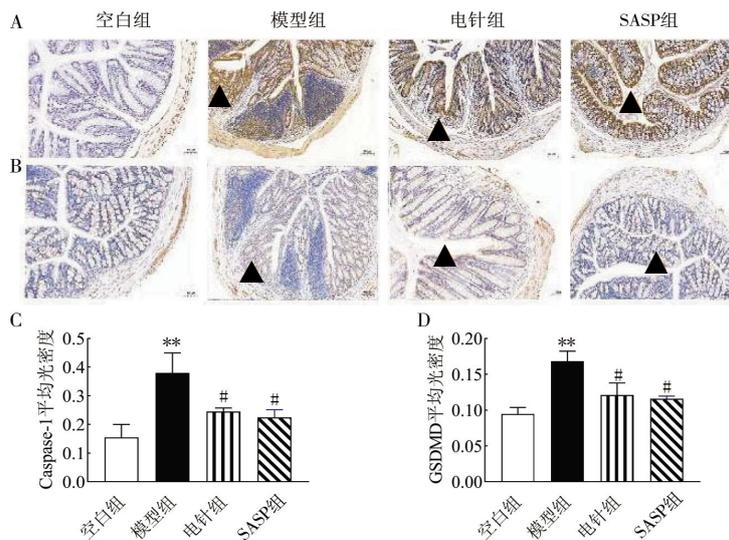


图 4 各组小鼠结肠组织中 Caspase-1、GSDMD 蛋白表达量比较($\bar{x}\pm s, n=6$)

Fig.4 Comparison of Caspase-1 and GSDMD protein expression levels in mouse colon tissues among different groups ($\bar{x}\pm s, n=6$)

注:A、C.各组小鼠结肠 Caspase-1 蛋白表达量(标尺=100 μm);B、D.各组小鼠结肠 GSDMD 蛋白表达量($\times 200$);▲代表阳性细胞;与空白组相比,** $P<0.01$,与模型组相比,# $P<0.05$ 。

2.5 电针对 UC 模型小鼠炎症因子的影响

与空白组相比,模型组小鼠血清中 TNF- α 、IL-1 β 的含量显著增高($P<0.01$);与模型组相比,电针组与 SASP 组 TNF- α 、IL-1 β 的含量均降低($P<0.05$);电针组和 SASP 组 TNF- α 、IL-1 β 的含量比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。详见图 5。

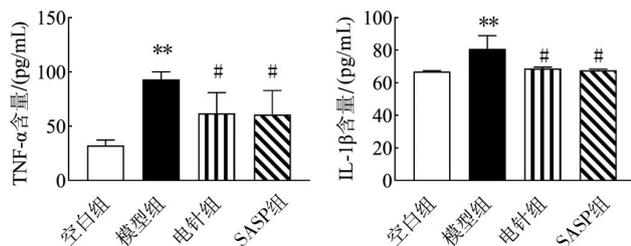


图 5 各组小鼠血清 TNF- α 、IL-1 β 含量比较($\bar{x}\pm s, n=6$)

Fig.5 Comparison of serum TNF- α and IL-1 β levels among different groups ($\bar{x}\pm s, n=6$)

注:与空白组相比,** $P<0.01$;与模型组相比,# $P<0.05$ 。

3 讨论

UC 是一种慢性、进行性和复发性的肠道疾病,据统计,我国 UC 发病率为 11.6/10 万,并有持续增加的趋势,已成为我国重要的公共卫生问题^[14]。临床治疗以水杨酸、类固醇激素等药物为主,虽有一定疗效,但存在毒副作用,限制了其长期应用。而电针作为一种传统医学与现代医学相结合的治疗手段,对 UC 的腹痛、便血等症候群改善方面具有明显作用^[15]。UC 归属于中医学“痢疾”“久痢”“肠癖”等范畴,其病机为脾肾虚弱、痰热湿瘀等邪气客于肠道^[16]。在电针治疗中,天枢、足三里、上巨虚、关元作为 UC 治疗的高频穴位^[17]。其中,天枢为大肠募穴,可厚肠理气;足三里为胃经合穴和胃腑下合穴,可健脾和胃;上巨虚为大肠下合穴,可通肠化滞。课题组前期研究表明,电针治疗可以显著抑制 Th17 相关特异性因子,调节异常免疫,从而保护肠黏膜屏障^[18]。关元为任脉与足三阴之会、小肠募穴,能培元固本、补益精血、调理冲任。在临床实践中,四穴共伍可调和肠腑气血、厚肠止泻,缓解病症。

本实验采用 DSS 构建 UC 模型,模拟 UC 发作期与缓解期的交替病理特点。造模后,UC 模型小鼠表现出体质量下降、大便稀溏、粪便隐血阳性等症

状,同时慢性炎症导致结肠缩短、水肿增加、结肠指数升高,均提示该模型制备成功。结果表明,与模型组相比,电针组与 SASP 组小鼠体质量增加、DAI 评分降低、结肠指数降低,提示电针与 SASP 疗效相当,均可显著改善 UC 症状。此外,HE 染色结果表明电针对 UC 具有保护作用,包括炎性细胞浸润减少、肠黏膜病理形态损伤修复,与课题组既往的研究结果一致^[19]。

C3a 是一种过敏毒素,由 C3 裂解产生,已被证实广泛表达于肺、肠等损伤的黏膜中,在肠道中 C3a 与肠上皮细胞上的 C3aR 受体结合,诱导肠上皮细胞焦亡,在慢性 UC 发生发展中起关键作用^[20]。研究表明,其内在机制可能与焦亡因子 Caspase-1、GSDMD 有关。当 C3a/C3aR 通路被激活后,首先诱导 Caspase-1 表达增加,然后将 GSDMD 蛋白裂解到 N 端片段发生结构域易位,从而形成细胞膜孔,这一过程最终造成肠道屏障损伤,并伴随 IL-1 β 、TNF- α 等炎症因子释放^[21-22]。而抑制 C3aR 后,以上损伤过程被逆转^[23]。上述研究表明,C3a/C3aR 通路可能是诱导 UC 结肠组织损伤的关键靶点。在本研究中,模型组的 C3a/C3aR 蛋白表达显著增加,同时诱导肠道中焦亡因子 Caspase-1、GSDMD 表达上调以及促进炎症因子 IL-1 β 、TNF- α 释放,表明 UC 模型小鼠处于焦亡和炎症激活状态;与模型组相比,电针组与 SASP 组均显著逆转了上述现象,提示电针可能在慢性 UC 小鼠中通过抑制 C3a/C3aR 通路介导的焦亡与炎症状态,改善 UC 肠道损伤,发挥保护作用。

本研究结果验证了临床经验要穴治疗 UC 的疗效机制,并丰富了电针改善 UC 慢性炎症的补体级联机制,为临床治疗 UC 提供了实验理论依据。但本实验仍存在不足之处,缺乏激动剂、抑制剂组以更全面地验证电针对 C3a/C3aR 通路的机制。此外,补体系统作为免疫的重要组成部分,与适应性免疫相互作用,促进 UC 的发生发展,电针对补体系统与适应性免疫的交互作用仍有待进一步研究。

参考文献

- [1] 赖慧敏,黄敏聪,楼招欢,等.天台乌药对 TNBS 诱导的溃疡性结肠炎模型大鼠的抗炎作用研究[J].中国比较医学杂志,2021,31(2):37-44.

- [2] 高 勇, 李克亚, 王真权, 等. 复方苓柏汤调控 ERK/JNK 信号通路治疗溃疡性结肠炎的效应及机制研究[J]. 湖南中医药大学学报, 2024, 44(5): 764-770.
- [3] ALBALAWI G A, ALBALAWI M Z, ALSUBAIE K T, et al. Curative effects of crocin in ulcerative colitis via modulating apoptosis and inflammation[J]. *International Immunopharmacology*, 2023, 118: 110138.
- [4] JOOS S, WILDAU N, KOHNEN R, et al. Acupuncture and moxibustion in the treatment of ulcerative colitis: A randomized controlled study[J]. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 2006, 41(9): 1056-1063.
- [5] 陈正鑫. 电针深刺八髎穴对脾肾阳虚型溃疡性结肠炎的治疗作用和机理研究[D]. 南京: 南京中医药大学, 2019.
- [6] MA Y J, ZHANG K C, WU Y Y, et al. Revisiting the relationship between complement and ulcerative colitis[J]. *Scandinavian Journal of Immunology*, 2023, 98(5): e13329.
- [7] SÜNDERHAUF A, SKIBBE K, PREISKER S, et al. Regulation of epithelial cell expressed C3 in the intestine: Relevance for the pathophysiology of inflammatory bowel disease?[J]. *Molecular Immunology*, 2017, 90: 227-238.
- [8] GU D X, WANG H T, YAN M G, et al. Echinacea purpurea (L.) Moench extract suppresses inflammation by inhibition of C3a/C3aR signaling pathway in TNBS-induced ulcerative colitis rats[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2023, 307: 116221.
- [9] DA SILVA WATANABE P, CAVICHIOLI A M, D'ARC DE LIMA MENDES J, et al. Colonic motility adjustments in acute and chronic DSS-induced colitis[J]. *Life Sciences*, 2023, 321: 121642.
- [10] 张冠林, 向 晶, 焦子远, 等. 基于天枢与上巨虚穴经皮神经电刺激观察对溃疡性结肠炎模型大鼠结肠组织 TLR9/MyD88/NF- κ B 蛋白表达的影响[J]. 湖南中医药大学学报, 2024, 44(1): 128-134.
- [11] 苗明三. 实验动物和动物实验技术[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2003: 142-143.
- [12] 何灏龙, 张国山, 肖山峰, 等. 艾灸“天枢”“上巨虚”对克罗恩病大鼠肠道菌群及血清炎症因子的影响[J]. 中华中医药杂志, 2023, 38(11): 5214-5219.
- [13] ALBUQUERQUE R M, PIZZITOLA M P, ARAÚJO E SILVA A C, et al. The proteolytic fraction from *Vasconcellea cundinamarcensis* latex displays anti-inflammatory effect in A mouse model of acute TNBS-induced colitis[J]. *Scientific Reports*, 2020, 10(1): 3074.
- [14] 李学锋, 彭 霞, 周明欢. 我国炎症性肠病流行病学研究进展[J]. 现代消化及介入诊疗, 2020, 25(9): 1265-1267.
- [15] 纪茜茜, 侯晓菲, 仲 颖, 等. 基于数据挖掘针灸治疗炎症性肠病的主穴运用规律分析[J]. 山西中医药大学学报, 2020, 21(3): 161-165.
- [16] 曹倩茹, 凌 晨, 刘梦君, 等. 电针“上巨虚”和“天枢”对溃疡性结肠炎大鼠核转录因子- κ B/NOD 样受体热蛋白结构域 3 信号通路相关蛋白表达的影响[J]. 针刺研究, 2022, 47(4): 314-320.
- [17] 易细芹, 张 泓, 凌 希, 等. 电针对溃疡性结肠炎大鼠结肠 IL-1 β 及 nAChR α 7mRNA 的影响[J]. 上海针灸杂志, 2016, 35(10): 1251-1255.
- [18] 周睿璇, 彭嘉颖, 向 晶, 等. 电针刺激上巨虚、天枢对溃疡性结肠炎模型大鼠 Th17 相关特异性因子及 Treg 的影响[J]. 湖南中医药大学学报, 2023, 43(5): 877-884.
- [19] 张 泓, 易细芹, 凌 希, 等. 电针下合穴对溃疡性结肠炎模型大鼠 IL-1 β 与 HMGB 1 等表达的影响(英文)[J]. 世界针灸杂志: 英文版, 2015, 25(4): 25-31.
- [20] MCCARTHY J D, CAO Q, WINSOR N, et al. The anaphylatoxin C3a primes model colonic epithelial cells for expression of inflammatory mediators through G α i[J]. *Molecular Immunology*, 2018, 103: 125-132.
- [21] LV D Y, JIANG S, ZHANG M C, et al. Treatment of membranous nephropathy by disulfiram through inhibition of podocyte pyroptosis[J]. *Kidney Diseases*, 2022, 8(4): 308-318.
- [22] LI J W, WU H H, ZHOU J L, et al. Ruscogenin attenuates ulcerative colitis in mice by inhibiting caspase-1-dependent pyroptosis via the TLR4/NF- κ B signaling pathway[J]. *Biomedicine*, 2024, 12(5): 989.
- [23] ELVINGTON M, BLICHMANN P, QIAO F, et al. A novel protocol allowing oral delivery of a protein complement inhibitor that subsequently targets to inflamed colon mucosa and ameliorates murine colitis[J]. *Clinical and Experimental Immunology*, 2014, 177(2): 500-508.

(本文编辑 匡静之)