

本文引用: 王晓燕, 肖超, 王真权, 肖佑. 复方芩柏颗粒通过调控 Claudin-1 表达及 JAK2/STAT3 信号通路缓解小鼠溃疡性结肠炎[J]. 湖南中医药大学学报, 2025, 45(3): 417-424.

## 复方芩柏颗粒通过调控 Claudin-1 表达及 JAK2/STAT3 信号通路缓解小鼠溃疡性结肠炎

王晓燕, 肖超, 王真权, 肖佑\*

湖南中医药大学第二附属医院, 湖南长沙 410005

**[摘要]** **目的** 探讨复方芩柏颗粒在溃疡性结肠炎(UC)治疗中的作用机制,研究其对炎症反应、氧化应激、肠道黏膜屏障功能及 Janus 激酶 2(JAK2)/信号转导与转录激活因子 3(STAT3)信号通路的调控作用。**方法** 采用 2,4,6 三硝基苯磺酸/乙醇灌肠法构建 C57B/L 小鼠 UC 模型,随机分为 UC 模型组、抑制剂组、奥沙拉嗪组和复方芩柏颗粒组;正常对照组小鼠灌肠等体积生理盐水,每组 6 只。通过 HE 染色法观察结肠组织病理损伤情况,免疫组织化学染色法检测密封蛋白-1(Claudin-1)蛋白表达水平,ELISA 法测定超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、丙二醛(MDA)等氧化应激相关因子以及肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素(interleukin, IL)-6,IL-10,IL-12,IL-4 和转化生长因子- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) 等炎症因子水平,RT-qPCR 和 Western blot 分别检测 Claudin-1、JAK2、STAT3 mRNA 与蛋白表达情况。**结果** 与正常对照组相比,UC 模型组 CMDI、DAI 值,MDA、TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-12 含量,JAK2、STAT3 mRNA 相对表达量,p-JAK2/JAK2、p-STAT3/STAT3 蛋白表达量均升高( $P<0.05$ );SOD 活性,CAT、GSH、IL-10、TGF- $\beta$ 、IL-4 含量,Claudin-1 表达水平均降低( $P<0.05$ )。与 UC 模型组相比,奥沙拉嗪组和复方芩柏颗粒组 CMDI、DAI 值,MDA、TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-12 含量,JAK2、STAT3 mRNA 相对表达量,p-JAK2/JAK2、p-STAT3/STAT3 蛋白表达量均降低( $P<0.05$ );SOD 活性,CAT、GSH、IL-10、TGF- $\beta$ 、IL-4 含量,Claudin-1 表达水平均升高( $P<0.05$ )。**结论** 复方芩柏颗粒通过调节氧化应激、炎症反应和肠道屏障功能,抑制 JAK2/STAT3 信号通路的激活,从而治疗 UC。

**[关键词]** 溃疡性结肠炎;JAK2/STAT3 信号通路;氧化应激;炎症;肠道黏膜屏障功能

**[中图分类号]**R285.5

**[文献标志码]**A

**[文章编号]**doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2025.03.004

## Compound Qinbai Granule relieving ulcerative colitis in mice by regulating Claudin-1 expression and JAK2/STAT3 signaling pathway

WANG Xiaoyan, XIAO Chao, WANG Zhenquan, XIAO You\*

The Second Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410005, China

**[Abstract]** **Objective** To explore the mechanism of action of Compound Qinbai Granule (CQBG) in treating ulcerative colitis (UC) and to study its regulatory effects on inflammatory response, oxidative stress, intestinal mucosal barrier function, and Janus kinase 2 (JAK2)/signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) signaling pathway. **Methods** The UC model of C57B/L mice was established by 2,4,6-trinitrobenzenesulfonic acid/ethanol enema method and the mice were randomly divided into normal control, UC model, inhibitor, olsalazine, and CQBG groups. Mice in the normal control group received an enema of saline of equal volume. Each group consisted of six mice. The pathological damage of colon tissue was observed by HE staining,

**[收稿日期]**2024-09-18

**[基金项目]**湖南省中医药管理局课题(B2023095,C2024017);湖南中医药大学校级课题(2022XYLH031)。

**[通信作者]**\* 肖佑,男,硕士,副主任医师,E-mail:441547015@qq.com。

the protein expression level of Claudin-1 was determined by immunohistochemical staining, and the levels of oxidative stress-related factors such as superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), and malondialdehyde (MDA), as well as inflammatory factors including tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleukin (IL)-6, IL-10, IL-12, and transforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ), were measured by ELISA. The mRNA and protein expression of Claudin-1, JAK2, and STAT3 were determined by RT-qPCR and Western blot, respectively. **Results** Compared with the normal control group, the CMDI and DAI scores, the levels of MDA, TNF- $\alpha$ , IL-6, and IL-12, the relative expression levels of JAK2 and STAT3 mRNA, and the protein expression levels of p-JAK2/JAK2 and p-STAT3/STAT3 in the UC model group increased ( $P<0.05$ ), while the SOD activity, the levels of CAT, GSH, IL-10, TGF- $\beta$ , and IL-4, the protein and mRNA expression levels of Claudin-1, and the protein expression level of Claudin-1 in the UC model group decreased ( $P<0.05$ ). Compared with the UC model group, the CMDI and DAI scores, the levels of MDA, TNF- $\alpha$ , IL-6, and IL-12, the relative expressions of JAK2 and STAT3 mRNA, and the protein expressions of p-JAK2/JAK2 and p-STAT3/STAT3 in the inhibitor, olsalazine, and CQBG groups decreased ( $P<0.05$ ), while the SOD activity, the levels of CAT, GSH, IL-10, TGF- $\beta$ , and IL-4, and the protein and mRNA expression levels of Claudin-1 increased ( $P<0.05$ ). **Conclusion** CQBG can treat UC by regulating oxidative stress, inflammatory response and intestinal barrier function, and inhibiting the activation of JAK2/STAT3 signaling pathway.

[**Keywords**] ulcerative colitis; Janus kinase 2/signal transducer and activator of transcription 3 signaling pathway; oxidative stress; inflammation; intestinal mucosal barrier function

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是一种顽固且易复发的慢性非特异性肠道炎症性疾病,其主要临床表现为局部溃疡和结肠慢性炎症<sup>[1]</sup>,治疗以促进黏膜愈合、改善患者生活质量、预防并发症为主<sup>[2]</sup>。目前,治疗方法包括 5-氨基水杨酸类药物、糖皮质激素、免疫抑制剂及生物制剂等<sup>[3]</sup>。然而,这些药物存在临床疗效有限、毒副作用显著和耐药性等问题。因此,具有较少毒副作用且能调节肠道平衡的中药逐渐引起关注<sup>[4]</sup>。

从中医学角度分析,UC 的病机特点为湿热、气滞、血瘀,这些病机在西医中分别对应肠道炎症反应、肠动力异常及局部血液循环障碍的病理过程<sup>[5]</sup>。现代研究表明,湿热病机对应于炎症反应的过度激活,包括免疫失衡和氧化应激增强等病理过程;气滞病机与肠神经递质分泌异常及肠动力障碍有关;血瘀病机则反映了肠道局部缺血缺氧状态及微循环功能紊乱<sup>[6]</sup>。上述病理机制最终可导致肠道屏障功能受损、肠道上皮组织通透性增加,并加重肠道细菌移位及炎症损伤。

复方芩柏颗粒由《医宗金鉴·外科心法要诀》中“止痛如神汤”化裁而来,由黄芩、黄柏、延胡索、槟榔、当归、桃仁、生地黄、防风、秦艽、泽泻、大黄 11 味中药组成。方中黄芩、黄柏味苦,性寒,入大肠经,功擅清热燥湿、泻火解毒,为君药;延胡索、槟榔行气活血止痛,当归、桃仁活血祛瘀,体现了“调气则后重自除,行血则便脓自愈”之义,配以生地黄凉血止血,防风、秦艽胜湿止痛,泽泻利水渗湿,合为臣药;大黄泻

火解毒,导热外出,归大肠经,并可凉血祛瘀,为佐使药。诸药合用,共奏清热燥湿、行气活血、止血镇痛之功,故下痢可愈。复方芩柏颗粒及其制备工艺已于 2000 年获得中华人民共和国国家知识产权专利(专利号 ZL941131149)<sup>[7]</sup>。药理学研究发现,复方芩柏颗粒具有抗炎、解毒、抗氧化作用<sup>[8]</sup>,且临床疗效显著<sup>[9-11]</sup>。然而,该药物的调节机制尚未完全阐明,尤其是其与肠道屏障修复的相互作用仍不明确。本研究聚焦于复方芩柏颗粒在 Janus 激酶 2(janus kinase 2, JAK2)/信号转导与转录激活因子 3(signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)通路调控中的作用,探索其在多机制协同改善 UC 方面的潜力,为开发更安全、高效的治疗方案提供新视角。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物

30 只 SPF 级 C57B/L 小鼠购自湖北省实验动物研究中心,体质量 200~250 g,雌雄各半,年龄为 6~8 周龄,实验动物生产许可证:CXK(鄂)2020-0018。本研究所用实验动物由课题组自行繁殖并鉴定后饲养。饲养温度控制在(22±2)℃,相对湿度 50%,自由摄取标准饲料及饮水,昼夜 12 h 交替光照。研究方案已获得湖南中医药大学伦理审查委员会批准(批号:LL2022110818)。

### 1.2 主要药物与试剂

复方芩柏颗粒由湖南中医药大学第二附属医院制备,按传统中药配方加工而成。其组方包括黄芩

10 g,黄柏 10 g,秦艽 6 g,桃仁 6 g,防风 6 g,泽泻 10 g,当归 8 g,大黄 6 g,延胡索 10 g,生地黄 12 g,槟榔 6 g。

AG490(上海雅吉生物科技有限公司,规格:60 g/4 g,批号:H20100253);奥沙拉嗪(MCE中国,规格:1 mg,批号:62106431);小鼠超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、小鼠丙二醛(malondialdehyde, MDA)、过氧化氢酶(catalase, CAT)、谷胱甘肽(glutathione, GSH)ELISA试剂盒、小鼠炎症因子检测试剂盒(北京索莱宝科技有限公司,批号:20231203、20231102、20231201、20240103、20231214);SynScript® III RT SuperMix for qPCR(含gDNA去除剂)(北京擎科生物科技股份有限公司,批号:TSP413);BCA蛋白浓度测定试剂盒、HE染色试剂盒(上海碧云天生物公司,批号:092221220307、232221220307)。抗密封蛋白-1(anti-claudin-1)抗体(批号:3436016-2),p-JAK2抗体(批号:3313371-2),JAK2抗体(批号:113430-1),p-STAT3抗体(批号:1265430-2),STAT3抗体(批号:26741571-1)均购自美国Abcam公司。

### 1.3 主要仪器

MULTISKAN MK3型酶标仪(上海Thermo Fisher Scientific公司);EnVision型多功能微孔板检测仪(美国珀金埃尔默仪器有限公司);QuantStudio™ 5型实时荧光定量PCR仪(上海Thermo Fisher Scientific公司)。

### 1.4 模型构建及分组

将30只小鼠随机分为5组,每组6只,分为正常对照组、UC模型组、抑制剂组、奥沙拉嗪组和复方苓柏颗粒组。抑制剂组在造模前0.5 h腹腔注射AG490(5 mg/kg,2次/d)。

参考MORRIS等<sup>[12]</sup>的方法,除正常对照组外,其他组的小鼠按100 mg/kg剂量灌肠给予2,4,6-三硝基苯磺酸(2,4,6-trinitrobenzenesulfonic acid, TNBS)/乙醇混合液(5~30 mg TNBS溶于0.25 mL 50%乙醇),正常对照组小鼠灌肠等体积生理盐水。灌肠后提起小鼠尾部倒置10 min,以确保造模剂充分渗透肠腔。随后将小鼠仰卧放回笼中,在保温灯下照射至苏醒,自由进食。造模剂量根据动物与人等效剂量换算后确定<sup>[12]</sup>。实验开始前,随机抽取2只造模小鼠,颈椎脱位处死,取其结肠组织进行病理检查。观察到充血、水肿及溃疡等典型UC病理变化,则视为造模成功<sup>[13]</sup>。造模成功后,正常对照组和UC模型组小鼠继续灌肠给予生理盐水。根据动物与临床用

药剂量的转换系数<sup>[14]</sup>,抑制剂组、复方苓柏颗粒组[4.8 g/(kg·d)]和奥沙拉嗪组[0.4 g/(kg·d)]小鼠按相应剂量给药,2次/d,持续干预3周。

### 1.5 一般行为学观察

每日监测小鼠的体色、活动状态、粪便形态及体质量变化。观察疾病活动指数(disease activity index, DAI),根据体质量变化、粪便外观、血便程度由轻至重分别赋0、1、2、3分<sup>[15]</sup>。DAI值为上述3项评分总和。

### 1.6 结肠黏膜病理学评估

将小鼠处死后,迅速打开腹腔,取出结肠,生理盐水冲洗,去除肠腔内容物。沿肠系膜一侧纵向剪开结肠,平铺于干净的操作台上,肉眼观察并记录结肠黏膜的外观变化。结肠黏膜损伤指数(colonic mucosa damage index, CMDI)按照结肠黏膜充血、水肿、溃疡、结肠损伤程度由轻至重分别赋0、1、2、3分<sup>[15]</sup>,CMDI为上述各项评分总和。

### 1.7 HE染色

从距肛门约3 cm处获取小鼠结肠组织样本,并固定于4%多聚甲醛溶液中以维持组织结构。样本经过乙醇溶液进行梯度脱水处理。脱水后,将组织包埋并切成5 μm厚的切片,使用HE染色进行组织学评估。具体步骤:苏木精染色,随后以伊红染色50 s;切片经95%和100%乙醇梯度脱水后,用二甲苯透明化;最后进行封片。染色完成后,切片在显微镜下观察并采集图像,用于进一步的组织学分析。

### 1.8 免疫组织化学染色

制备的组织切片先在二甲苯中脱蜡,随后经梯度乙醇系列重新水化。水化后的切片经高温抗原修复,冷却后用3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>溶液孵育以灭活内源性过氧化物酶。切片在室温下用5% BSA封闭40 min,以减少非特异性结合。将切片置于Claudin-1一抗溶液中(稀释比例为1:1 000),于4℃过夜孵育。一抗孵育后,切片经PBS冲洗,随后在室温下用二抗孵育1 h。切片显色完成后,采用盲法半定量分析免疫组织化学结果,并记录其表达水平。

### 1.9 ELISA法

将结肠组织按1:100比例制备匀浆,4℃以12 000 r/min离心20 min,收集上清液。依据ELISA试剂盒说明书操作,测定上清液中炎症因子[肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)、白细胞介素(interleukin, IL)-6、IL-4、IL-12、IL-10]及氧化应激相关因子(SOD、CAT、GSH、MDA)的浓度。结果以每组样本的平均值表示,用于后续分析。

### 1.10 RT-qPCR 检测

按照说明书,从结肠组织样本中提取总 RNA,使用 RNA 提取试剂盒完成操作。提取的 RNA 经质量检测后,使用 FastQuant RT 试剂盒将其逆转录为 cDNA。随后,采用 SYBR Green 染料的 RT-qPCR 技术检测目标基因的表达水平。引物序列详见表 1。扩增产物的相对表达量采用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  方法进行定量分析。

表 1 引物序列

Table 1 Premier sequences

引物	序列	长度/bp
GAPDH	正向:5'-ACTCCATTCTCCACCTTTG-3'	105
	反向:5'-CCCTGTTGCTGTAGCCATATT-3'	
Claudin-1	正向:5'-TGCAAAAGATGTGGATGGCT-3'	170
	反向:5'-CCAGCCAGTAAAGAGAGCCT-3'	
JAK2	正向:5'-CGAGCTTTGCTGTGGTTCTG-3'	233
	反向:5'-AGAGGGACGTTGGTTGACAT-3'	
STAT3	正向:5'-GGAAGGAGGGTCACTTTCA-3'	227
	反向:5'-TCTCGGGCCACAATACTTT-3'	

### 1.11 Western blot 检测

使用总蛋白提取试剂盒从样品中提取总蛋白,并使用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒进行定量分析。将 25  $\mu$ g 蛋白样品通过 10% SDS-PAGE 电泳分离。电泳完成后,将分离的蛋白转移至 PVDF 膜。在转膜后,使用 5% 脱脂奶粉溶液在 TBST 缓冲液中,于 37  $^{\circ}$ C 封闭 1.5 h 以阻断非特异性结合。将膜置于 Claudin-1 抗体、p-JAK2 抗体、JAK2 抗体、p-STAT3 抗体、STAT3 抗体(1:200)溶液中,于 4  $^{\circ}$ C 孵育过夜。使用 HRP 标记的二抗在室温下孵育 1.5 h。使用 ECL 化学发光试剂盒显影检测蛋白条带,并记录结果。

### 1.12 统计学分析

实验数据的分析和制图采用 SPSS 25.0 和 GraphPad Prism 6.0 软件。符合正态分布的计量资料以“ $\bar{x}\pm s$ ”表示。对于连续测量数据,采用重复测量方

差分析进行总体比较。对于多组间的差异分析,正态分布数据采用单因素方差分析,组间两两比较使用 LSD 和 Dunnett T3 检验;而偏态分布数据通过 Kruskal-Wallis H 检验进行分析。对于两组间数据的比较,正态分布数据采用独立样本 *t* 检验,而偏态分布数据则使用 Mann-Whitney U 检验。以  $P<0.05$  表示差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 各组小鼠一般情况比较

正常对照组的小鼠毛发光滑、精神状态良好、反应敏捷、饮食正常、粪便呈球状或长条状、体质量逐渐增加。UC 模型组小鼠从造模第 3 天开始出现稀薄粪便,并在隐血试验中呈阳性,部分小鼠伴有肉眼可见的血便、精神萎靡和体质量下降。抑制剂组小鼠在灌肠给药 12 d 后,精神状态有所改善,粪便由稀薄转为糊状,但体质量无增加。奥沙拉嗪组和复方芩柏颗粒组小鼠给药 5 d 后,粪便逐渐从稀薄变为糊状,精神状况明显改善,体质量有所增加,其中复方芩柏颗粒组的改善效果尤为显著。

### 2.2 各组小鼠结肠黏膜大体情况比较

正常对照组小鼠的结肠黏膜表面光滑,呈淡红色,无充血、水肿或糜烂溃疡的现象。UC 模型组小鼠的结肠黏膜出现明显充血和水肿,并伴有溃疡形成,溃疡大小不一,主要集中于黏膜层和黏膜下层。抑制剂组小鼠的结肠黏膜表现为充血、水肿,中度糜烂。奥沙拉嗪组和复方芩柏颗粒组小鼠的结肠黏膜未见明显充血、水肿和糜烂,表现接近正常状态。详见图 1。

与正常对照组相比,UC 模型组的 CMDI 和 DAI 评分升高( $P<0.05$ );与 UC 模型组相比,抑制剂组、奥沙拉嗪组和复方芩柏颗粒组的 CMDI 和 DAI 评分均降低( $P<0.05$ );与抑制剂组、奥沙拉嗪组比较,复方芩柏颗粒组 DAI 评分均降低( $P<0.05$ )。详见表 2。

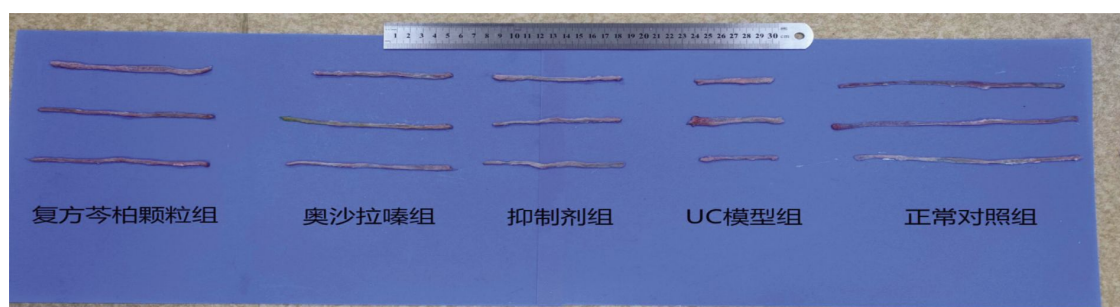


图 1 各组小鼠结肠黏膜大体观察

Fig.1 Gross observation of colonic mucosa in each group of mice

表2 各组小鼠 CMDI 和 DAI 评分比较( $n=6, \bar{x} \pm s$ , 分)Table 2 Comparison of CMDI and DAI scores in each group of mice ( $n=6, \bar{x} \pm s$ , score)

组别	CMDI	DAI
正常对照组	0.00±0.50	0.55±1.32
UC 模型组	3.20±1.50*	5.92±1.27*
抑制剂组	0.30±0.67**	4.03±1.56**
奥沙拉嗪组	0.32±0.96**	3.52±1.02**
复方芩柏颗粒组	0.29±0.84**	1.25±1.13** <sup>△</sup>

注:与正常对照组比较,\* $P<0.05$ ;与 UC 模型组比较,\*\* $P<0.05$ ;与抑制剂组比较,\*\* $P<0.05$ ;与奥沙拉嗪组比较,\*\* $P<0.05$ 。

### 2.3 各组小鼠结肠黏膜病理情况比较

正常对照组小鼠的结肠组织结构完整,黏膜层上皮保持完好,肠腺丰富且排列紧密,无明显的炎症反应或结构破坏。UC 模型组小鼠的结肠组织中可见大面积溃疡,表现为黏膜上皮细胞的大量丢失、肠腺结构消失、杯状细胞显著减少,并伴有结缔组织增生及少量血管充血,组织损伤深度达黏膜下层,并在黏膜层及黏膜下层观察到大量炎症细胞浸润。抑制剂组小鼠的结肠组织中虽然黏膜层受损,局部肠腺结构丢失且伴有结缔组织增生,但炎症细胞浸润明显减少,且组织损伤未侵及黏膜下层。奥沙拉嗪组和复方芩柏颗粒组的小鼠结肠组织结构完整,黏膜层上皮保持完好,肠腺丰富且排列紧密,细胞形态正常,无明显的炎症反应或结构破坏。详见图 2。

### 2.4 各组小鼠血清氧化应激相关因子比较

与正常对照组相比,UC 模型组的 SOD 活性、

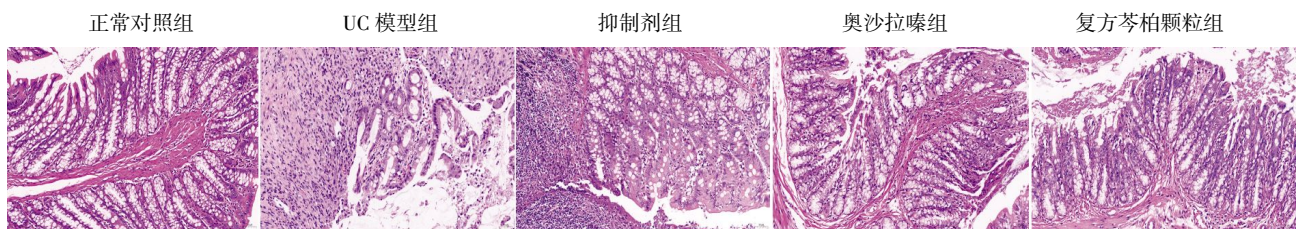
CAT 和 GSH 含量降低( $P<0.05$ ),而 MDA 含量升高( $P<0.05$ )。与 UC 模型组相比,奥沙拉嗪组和复方芩柏颗粒组的 SOD 活性、CAT 和 GSH 含量升高( $P<0.05$ ),MDA 含量降低( $P<0.05$ )。与抑制剂组相比,复方芩柏颗粒组 SOD 活性、CAT 和 GSH 含量升高( $P<0.05$ ),MDA 含量降低( $P<0.05$ )。详见表 3。

### 2.5 各组小鼠炎症因子水平比较

与正常对照组相比,UC 模型组 TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-12 含量升高( $P<0.05$ ),IL-10、TGF- $\beta$ 、IL-4 含量降低( $P<0.05$ );与 UC 模型组相比,抑制剂组、奥沙拉嗪组和复方芩柏颗粒组 TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-12 含量降低( $P<0.05$ ),IL-10、TGF- $\beta$ 、IL-4 含量升高( $P<0.05$ );与抑制剂组相比,奥沙拉嗪组和复方芩柏颗粒组 TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-12 含量降低( $P<0.05$ ),IL-10、TGF- $\beta$ 、IL-4 含量升高( $P<0.05$ );与奥沙拉嗪组相比,复方芩柏颗粒组 TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-12 含量降低( $P<0.05$ ),IL-10、TGF- $\beta$ 、IL-4 含量升高( $P<0.05$ )。详见表 4。

### 2.6 各组小鼠 Claudin-1 表达水平比较

与正常对照组相比,UC 模型组 Claudin-1 的蛋白及 mRNA 表达水平降低( $P<0.05$ );与 UC 模型组相比,抑制剂组、奥沙拉嗪组和复方芩柏颗粒组 Claudin-1 的蛋白及 mRNA 表达水平升高( $P<0.05$ );与抑制剂组相比,奥沙拉嗪组和复方芩柏颗粒组 Claudin-1 的蛋白表达水平升高( $P<0.05$ ),复方芩柏颗粒组 Claudin-1 mRNA 表达水平升高( $P<0.05$ )。详见图 3、表 5。

图2 复方芩柏颗粒对各组小鼠结肠黏膜病理 HE 染色影响( $\times 200$ )Fig.2 Effects of CQBG on pathological HE staining changes in colonic mucosa of mice in each group ( $\times 200$ )表3 各组小鼠血清中氧化应激相关因子水平比较( $n=6, \bar{x} \pm s$ )Table 3 Comparison of the levels of oxidative stress-related factors in serum of mice in each group ( $n=6, \bar{x} \pm s$ )

组别	SOD 活力/(U/mL)	CAT/(U/mL)	GSH/( $\mu$ g/mL)	MDA/(nmol/mL)
正常对照组	233.04±12.27	17.10±0.85	28.68±1.40	3.34±0.21
UC 模型组	158.67±2.99*	5.50±0.38*	17.93±1.70*	8.64±0.18*
抑制剂组	194.63±4.58*	9.71±0.40*	20.61±1.51*	7.37±0.47*
奥沙拉嗪组	215.87±11.50**	11.98±0.77**	22.35±1.48**	5.94±0.37**
复方芩柏颗粒组	221.44±12.09** <sup>△</sup>	15.75±0.63** <sup>△</sup>	25.75±1.33** <sup>△</sup>	4.08±0.44** <sup>△</sup>

注:与正常对照组比较,\* $P<0.05$ ;与 UC 模型组比较,\*\* $P<0.05$ ;与抑制剂组比较,\*\* $P<0.05$ 。

表 4 各组小鼠炎症因子水平比较( $n=6, \bar{x} \pm s, \text{pg/mL}$ )Table 4 Comparison of the levels of inflammatory factors of in each group mice ( $n=6, \bar{x} \pm s, \text{pg/mL}$ )

组别	TNF- $\alpha$	IL-6	IL-12	IL-10	TGF- $\beta$	IL-4
正常对照组	93.07 $\pm$ 24.00	51.45 $\pm$ 16.00	66.13 $\pm$ 6.00	347.92 $\pm$ 28.00	311.34 $\pm$ 5.00	245.23 $\pm$ 18.00
UC 模型组	552.71 $\pm$ 24.00*	246.66 $\pm$ 16.00*	285.04 $\pm$ 20.00*	76.97 $\pm$ 8.00*	71.80 $\pm$ 5.00*	104.74 $\pm$ 8.00*
抑制剂组	258.25 $\pm$ 4.00* <sup>#</sup>	168.83 $\pm$ 16.00* <sup>#</sup>	209.35 $\pm$ 20.00* <sup>#</sup>	200.93 $\pm$ 28.00* <sup>#</sup>	154.67 $\pm$ 15.00* <sup>#</sup>	187.02 $\pm$ 18.00* <sup>#</sup>
奥沙拉嗪组	190.40 $\pm$ 24.00* <sup>#</sup> $\Delta$	134.79 $\pm$ 16.00* <sup>#</sup> $\Delta$	163.37 $\pm$ 20.00* <sup>#</sup> $\Delta$	228.21 $\pm$ 28.00* <sup>#</sup> $\Delta$	229.05 $\pm$ 15.00* <sup>#</sup> $\Delta$	204.67 $\pm$ 18.00* <sup>#</sup> $\Delta$
复方芩柏颗粒组	140.40 $\pm$ 14.00* <sup>#</sup> $\Delta$ $\xi$	106.41 $\pm$ 16.00* <sup>#</sup> $\Delta$ $\xi$	151.86 $\pm$ 15.00* <sup>#</sup> $\Delta$ $\xi$	227.14 $\pm$ 22.00* <sup>#</sup> $\Delta$ $\xi$	273.29 $\pm$ 22.00* <sup>#</sup> $\Delta$ $\xi$	216.65 $\pm$ 21.00* <sup>#</sup> $\Delta$ $\xi$

注:与正常对照组比较,\* $P<0.05$ ;与 UC 模型组比较,<sup>#</sup> $P<0.05$ ;与抑制剂组比较, $\Delta$  $P<0.05$ ;与奥沙拉嗪组比较, $\xi$  $P<0.05$ 。

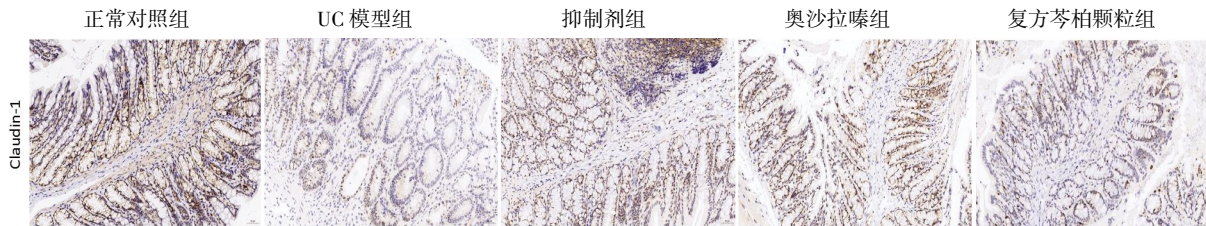


图 3 免疫组织化学分析各组小鼠结肠黏膜组织中 Claudin-1 表达

Fig.3 Immunohistochemical analysis of Claudin-1 expression in colon mucosal tissue of mice in each group

表 5 各组小鼠 Claudin-1 蛋白及 mRNA 表达水平比较( $n=6, \bar{x} \pm s$ )Table 5 Comparison of the protein and mRNA expression levels of Claudin-1 in colon mucosal tissue in each group of mice ( $n=6, \bar{x} \pm s$ )

组别	HIC 值	Claudin-1 mRNA 相对表达量
正常对照组	1.117 $\pm$ 0.167	1.002 $\pm$ 0.077
UC 模型组	0.329 $\pm$ 0.034*	0.233 $\pm$ 0.038*
抑制剂组	0.577 $\pm$ 0.033* <sup>#</sup>	0.440 $\pm$ 0.025* <sup>#</sup>
奥沙拉嗪组	0.834 $\pm$ 0.024* <sup>#</sup> $\Delta$	0.565 $\pm$ 0.082* <sup>#</sup> $\Delta$
复方芩柏颗粒组	1.002 $\pm$ 0.103* <sup>#</sup> $\Delta$ $\xi$	0.724 $\pm$ 0.029* <sup>#</sup> $\Delta$ $\xi$

注:与正常对照组比较,\* $P<0.05$ ;与 UC 模型组比较,<sup>#</sup> $P<0.05$ ;与抑制剂组比较, $\Delta$  $P<0.05$ 。

表 6 各组小鼠 JAK2/STAT3 mRNA 相对表达量比较( $n=6, \bar{x} \pm s$ )Table 6 Comparison of relative JAK2/STAT3 mRNA expression levels among different groups of mice ( $n=6, \bar{x} \pm s$ )

组别	JAK2 mRNA	STAT3 mRNA
正常对照组	1.007 $\pm$ 0.151	1.002 $\pm$ 0.081
UC 模型组	2.193 $\pm$ 0.076*	1.837 $\pm$ 0.070*
抑制剂组	1.701 $\pm$ 0.043* <sup>#</sup>	1.590 $\pm$ 0.100* <sup>#</sup>
奥沙拉嗪组	1.512 $\pm$ 0.085* <sup>#</sup> $\Delta$	1.413 $\pm$ 0.068* <sup>#</sup> $\Delta$
复方芩柏颗粒组	1.170 $\pm$ 0.058* <sup>#</sup> $\Delta$ $\xi$	1.170 $\pm$ 0.013* <sup>#</sup> $\Delta$ $\xi$

注:与正常对照组比较,\* $P<0.05$ ;与 UC 模型组比较,<sup>#</sup> $P<0.05$ ;与抑制剂组比较, $\Delta$  $P<0.05$ ;与奥沙拉嗪组比较, $\xi$  $P<0.05$ 。

## 2.7 各组小鼠 JAK2/STAT3 mRNA 相对表达水平比较

与正常对照组相比,UC 模型组 JAK2、STAT3 mRNA 相对表达量升高( $P<0.05$ );与 UC 模型组相比,抑制剂组、奥沙拉嗪组和复方芩柏颗粒组 JAK2、STAT3 mRNA 相对表达量降低( $P<0.05$ );与抑制剂组相比,奥沙拉嗪组和复方芩柏颗粒组 JAK2 mRNA 相对表达量降低( $P<0.05$ ),复方芩柏颗粒组 STAT3 mRNA 相对表达量降低( $P<0.05$ );与奥沙拉嗪组相比,复方芩柏颗粒组 JAK2、STAT3 mRNA 相对表达量降低( $P<0.05$ )。详见表 6。

## 2.8 各组小鼠 Claudin-1、p-JAK2/JAK2、p-STAT3/STAT3 蛋白表达水平比较

与正常对照组相比,UC 模型组 Claudin-1 蛋白表达量降低( $P<0.05$ ),p-JAK2/JAK2、p-STAT3/STAT3

蛋白表达量升高( $P<0.05$ );与 UC 模型组相比,抑制剂组、奥沙拉嗪组和复方芩柏颗粒组 Claudin-1 蛋白表达量升高( $P<0.05$ ),p-JAK2/JAK2、p-STAT3/STAT3 蛋白表达量降低( $P<0.05$ );与抑制剂组相比,奥沙拉嗪组和复方芩柏颗粒组 Claudin-1 蛋白表达量升高( $P<0.05$ ),p-JAK2/JAK2、p-STAT3/STAT3 蛋白表达量降低( $P<0.05$ );与奥沙拉嗪组相比,复方芩柏颗粒组 Claudin-1 蛋白表达量升高( $P<0.05$ ),p-JAK2/JAK2、p-STAT3/STAT3 蛋白表达量降低( $P<0.05$ )。详见图 4、表 7。

## 3 讨论

复方芩柏颗粒具有清热燥湿、行气活血、止血镇痛之效,临床和实验研究证实其可有效缓解 UC 症

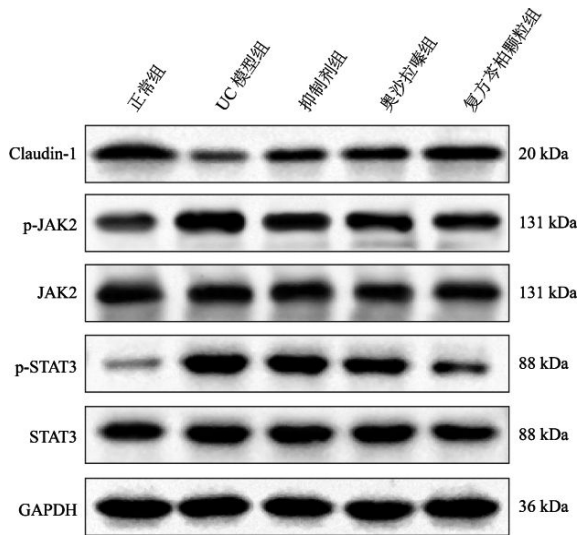


图 4 Western blot 检测各组小鼠 Claudin-1 及 JAK2/STAT3 关键分子表达

Fig.4 Key molecule expressions of Claudin-1 and JAK2/STAT3 in each group of mice measured by Western blot

表 7 各组小鼠 Claudin-1、p-JAK2/JAK2、p-STAT3/STAT3 蛋白表达水平比较 (n=6,  $\bar{x}\pm s$ )

Table 7 Comparison of the protein expression levels of Claudin-1, p-JAK2/JAK2, and p-STAT3/STAT3 in each group of mice (n=6,  $\bar{x}\pm s$ )

组别	Claudin-1	p-JAK2/JAK2	p-STAT3/STAT3
正常组	1.00±0.07	1.00±0.02	1.00±0.03
UC 模型组	0.39±0.05*	1.90±0.12*	3.68±0.03*
抑制剂组	0.60±0.09*#	1.71±0.02*#	3.08±0.03*#
奥沙拉嗪组	0.71±0.06*# $\Delta$	1.66±0.02*# $\Delta$	2.31±0.03*# $\Delta$
复方芩柏颗粒组	0.86±0.10*# $\Delta$ $\&$	1.40±0.02*# $\Delta$ $\&$	1.90±0.03*# $\Delta$

注:与正常对照组比较,\*P<0.05;与 UC 模型组比较,#P<0.05;与抑制剂组比较, $\Delta$ P<0.05;与奥沙拉嗪组比较, $\&$ P<0.05。

状<sup>[9-11]</sup>。在本研究中,复方芩柏颗粒组在改善 UC 模型小鼠的临床症状、结肠黏膜完整性以及病理损伤方面具有良好疗效,且优于奥沙拉嗪组和抑制剂组。BERG 等<sup>[16]</sup>发现黏液层的丧失使微生物群更容易附着在上皮细胞上,从而加速细菌移位。复方芩柏颗粒中的黄芩苷可有效抑制肠道细菌侵入及其向肠系膜淋巴结和脾脏的移位<sup>[17]</sup>,其可能通过减少细菌侵入和移位,从而显著改善肠道屏障功能。

从中医学角度分析,UC 的发病本质体现了正虚邪实并存的特点,湿热之邪损伤肠道黏膜,导致腑气不通、腑气失司,与现代医学中的炎症反应和氧化应激的协同作用机制相对应<sup>[18-19]</sup>。UC 发病过程中,炎症反应和氧化应激的正反馈环路,加重了 UC 病

程进展<sup>[20-21]</sup>。此外,炎症因子通过破坏紧密连接蛋白(如 Claudin-1、Occludin)的表达,增加肠道通透性,进一步导致细菌和内毒素的移位<sup>[22]</sup>。本研究中,复方芩柏颗粒抑制了 UC 模型小鼠中促炎因子(TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-12)的水平,上调抗炎因子(IL-10、TGF- $\beta$ 、IL-4)的表达。此外,复方芩柏颗粒还有效缓解了小鼠体内的氧化应激反应,并调控了肠道组织中 Claudin-1 的表达。这与复方芩柏颗粒清热燥湿、行气活血、止血镇痛的中医理论相一致,进一步验证了其通过多机制协同作用在缓解 UC 中的重要潜力。

JAK2/STAT3 信号通路是调控炎症的重要途径,负责调节细胞因子的产生、募集及激活<sup>[21]</sup>。巨噬细胞的极化状态与该通路密切相关,JAK2/STAT3 通过信号传导和转录调控功能,调节 M1 型和 M2 型巨噬细胞的分化<sup>[22-23]</sup>。作为该通路的核心调控因子,过度激活的 STAT3 不仅促进促炎因子的表达,还通过诱导 IL-6 的过量分泌形成正反馈循环,加剧慢性炎症状态<sup>[24]</sup>。在 UC 中,这一反馈机制可能进一步增强 JAK2/STAT3 信号强度,导致炎症失控<sup>[25]</sup>。阻断 JAK2/STAT3 通路能够有效调节免疫反应并减轻肠道慢性炎症<sup>[26]</sup>。本研究结果发现,复方芩柏颗粒能够通过调节 JAK2/STAT3 信号通路缓解 UC 引起的肠道损伤。贺荔枝等<sup>[27]</sup>研究表明,复方芩柏颗粒可通过上调结肠组织中水通道蛋白 4 和水通道蛋白 8 的表达,减轻肠道屏障受损。此外,复方芩柏颗粒还能够调控丝裂原激活蛋白激酶等信号通路,从而缓解肠道氧化应激和炎症反应<sup>[28]</sup>。同时,其能够降低 UC 大鼠血清中的 IL-2R 表达及 IgG 含量,改善免疫反应<sup>[29]</sup>。这些发现进一步支持了复方芩柏颗粒在 UC 治疗中的多靶点、多机制作用特点,为其临床应用提供了理论依据。

近年来,JAK 抑制剂(如托法替布和乌帕替布)作为 UC 治疗的靶向药,显示出抗炎效果,但其单一靶点机制导致了较高的不良反应风险,如感染、血脂异常和血栓形成<sup>[30]</sup>。本研究中,复方芩柏颗粒展现了多机制协同作用的独特优势,既抑制了 JAK2/STAT3 通路,又通过抗氧化和肠道屏障修复机制实现了更全面的治疗效果。与 JAK 抑制剂相比,复方芩柏颗粒的另一个重要特点是其较低的毒副作用风险。本研究和既往研究均未发现复方芩柏颗粒引起的不良反应(如感染或代谢紊乱)。其通过多组学、多靶点特性整体调节机体免疫平衡,减少特定靶点抑制剂可能导致的系统性不良反应<sup>[31]</sup>。尽管 JAK 抑制剂在中重度 UC 患者中表现出较好的疗效,但复方芩柏

颗粒通过多靶点、多机制的协同作用,可能成为 JAK 抑制剂的有益补充,尤其是对于无法耐受 JAK 抑制剂治疗的患者或需要联合治疗的复杂病例。

本研究表明,复方芩柏颗粒通过多机制缓解 UC 相关的肠道损伤。具体而言,其通过调节 Claudin-1 表达增强肠道屏障功能,并抑制 JAK2/STAT3 信号通路,降低炎症因子和氧化应激水平,从而改善 UC 小鼠的病理表现。故复方芩柏颗粒的多层次调控机制为开发更有效的 UC 治疗方案提供了新思路 and 依据。

## 参考文献

- [1] ADAMS S M, CLOSE E D, SHREENATH A P. Ulcerative colitis: Rapid evidence review[J]. *American Family Physician*, 2022, 105(4): 406-411.
- [2] SEGAL J P, LEBLANC J F, HART A L. Ulcerative colitis: An update[J]. *Clinical Medicine*, 2021, 21(2): 135-139.
- [3] KUCHARZIK T, KOLETZKO S, KANNENGIESSER K, et al. Ulcerative colitis—diagnostic and therapeutic algorithms[J]. *Deutsches Arzteblatt International*, 2020, 117(33/34): 564-574.
- [4] 王新月, 王建云. 溃疡性结肠炎中医药治疗的关键问题与优势对策[J]. *中华中医药杂志*, 2012, 27(2): 263-267.
- [5] 刘又前, 沈洪. 沈洪教授治疗溃疡性结肠炎的经验[C]//世界中医药学会联合会消化病专业委员会第六届消化病国际学术大会论文集, 上海: 世界中医药学会联合会消化病专业委员会, 2015.
- [6] 孙鹤. 中医药“异病同治”作用的分子生物学新解[J]. *中国药理学与毒理学杂志*, 2019, 33(9): 648.
- [7] 夏新华, 胡岚. 复方芩柏颗粒剂成型工艺的研究[J]. *中国中药杂志*, 2000, 25(9): 528-530.
- [8] 高勇, 李克亚, 王真权, 等. 复方芩柏汤调控 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.
- [9] 贺荔枝, 尹明, 王真权. 复方芩柏颗粒剂对溃疡性结肠炎大鼠结肠黏膜 AQP4、AQP8 表达的影响[J]. *湖南中医药大学学报*, 2015, 35(5): 13-16, 73.
- [10] 胡响当, 陈艳, 罗敏, 等. 复方芩柏颗粒剂保留灌肠治疗湿热下注型溃疡性结肠炎临床研究[J]. *亚太传统医药*, 2016, 12(6): 148-149.
- [11] 邓鹏, 王晓燕, 唐凯, 等. 复方芩柏颗粒剂口服配合保留灌肠治疗溃疡性结肠炎 36 例[J]. *湖南中医杂志*, 2015, 31(4): 54-55.
- [12] MORRIS G P, BECK P L, HERRIDGE M S, et al. Hapten-induced model of chronic inflammation and ulceration in the rat colon[J]. *Gastroenterology*, 1989, 96(3): 795-803.
- [13] XIAO M, WU S Y, CHENG Y F, et al. Colon-specific delivery of isoliquiritigenin by oral edible zein/caseate nano complex for ulcerative colitis treatment[J]. *Frontiers in Chemistry*, 2022, 10: 981055.
- [14] NAIR A B, JACOB S. A simple practice guide for dose conversion between animals and human[J]. *Journal of Basic and Clinical Pharmacy*, 2016, 7(2): 27-31.
- [15] XU G M, SUN Y J, HE H Q, et al. Effect of TrkB-PLC/IP3 pathway on intestinal inflammatory factors and enterocyte apoptosis in mice with colitis[J]. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, 2020, 52(6): 675-682.
- [16] BERG D, CLEMENTE J C, COLOMBEL J F. Can inflammatory bowel disease be permanently treated with short-term interventions on the microbiome?[J]. *Expert Review of Gastroenterology & Hepatology*, 2015, 9(6): 781-795.
- [17] ZHU L, XU L Z, ZHAO S, et al. Protective effect of baicalin on the regulation of Treg/Th17 balance, gut microbiota and short-chain fatty acids in rats with ulcerative colitis[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2020, 104(12): 5449-5460.
- [18] 郭榆西. 化浊解毒方对溃疡性结肠炎大鼠炎症及氧化应激调控机制的影响[D]. 石家庄: 河北中医学院, 2021.
- [19] 刘利荣, 邱克. 益气活血解毒方剂配合西药治疗活动期溃疡性结肠炎的疗效及对血管内皮细胞功能及氧化应激的影响[J]. *现代中西医结合杂志*, 2017, 26(25): 2802-2804.
- [20] MING S X, TIAN J, MA K, et al. Oxalate-induced apoptosis through ERS-ROS-NF- $\kappa$ B signalling pathway in renal tubular epithelial cell[J]. *Molecular Medicine*, 2022, 28(1): 88.
- [21] 黄小平, 刘欣, 王燕, 等. 肠易激综合征患者炎症因子与 claudin-1 的相关性[J]. *山西医科大学学报*, 2015, 46(9): 876-880.
- [22] 查瑞瑶, 李明, 汪悦. 益气解毒化痰方对溃疡性结肠炎大鼠 JAK2/STAT3 信号通路的影响[J]. *中国中医药信息杂志*, 2023, 30(10): 116-120.
- [23] 王玉娇, 韩艳珺, 夏红, 等. IL-6/JAK2/STAT3 信号通路在小儿轮状病毒性肠炎中的表达与机制[J]. *中华医院感染学杂志*, 2022, 32(19): 3021-3024.
- [24] NEURATH M F, FINOTTO S. IL-6 signaling in autoimmunity, chronic inflammation and inflammation-associated cancer[J]. *Cytokine & Growth Factor Reviews*, 2011, 22(2): 83-89.
- [25] 唐巧珍, 刘玉兰. 溃疡性结肠炎和肠易激综合征结肠黏膜 HBD-2、NF- $\kappa$ B、IL-6 和 IL-23 的表达[J]. *中国现代医生*, 2013, 51(22): 42-44.
- [26] 赵青春. 基于 IL-6/STAT3/SOCS3 通路研究清肠化湿方治疗溃疡性结肠炎作用机制[D]. 南京: 南京中医药大学, 2015.
- [27] 贺荔枝, 尹明, 王真权. 复方芩柏颗粒剂对溃疡性结肠炎大鼠结肠黏膜 AQP4、AQP8 表达的影响[J]. *湖南中医药大学学报*, 2015, 35(5): 13-16, 73.
- [28] 陆文洪, 罗雯鹏, 王真权. 复方芩柏颗粒剂对溃疡性结肠炎大鼠结肠黏膜 p-p38MAPK、CK2 表达的影响[J]. *湖南中医杂志*, 2018, 34(4): 136-137.
- [29] 陆文洪, 贺荔枝, 王真权. 复方芩柏颗粒剂保留灌肠治疗溃疡性结肠炎大鼠的实验研究[J]. *湖南中医杂志*, 2015, 31(2): 128-130.
- [30] 曹晗琪, 徐琦德, 翟蕾蕾, 等. JAK 抑制剂在溃疡性结肠炎中的应用进展[J]. *现代消化及介入诊疗*, 2022, 27(3): 391-394.
- [31] 徐萌, 范恒. 清热燥湿凉血方治疗溃疡性结肠炎 82 例临床分析[J]. *中西医结合研究*, 2015, 7(2): 79-80.