

本文引用: 刘晓娟, 王晋, 陈娜, 潘霞, 刘莎莎. 基于 Nrf2/AKR1B10 信号通路探讨姜黄素对吲哚美辛诱导的大鼠急性小肠损伤的保护效应[J]. 湖南中医药大学学报, 2026, 46(9): 1816–1824.

基于 Nrf2/AKR1B10 信号通路探讨姜黄素对吲哚美辛诱导的大鼠急性小肠损伤的保护效应

刘晓娟, 王晋, 陈娜, 潘霞, 刘莎莎*

湖南师范大学附属长沙市妇幼保健院, 湖南 长沙 410007

[摘要] **目的** 探讨姜黄素对吲哚美辛诱导的大鼠急性小肠损伤的保护作用及潜在作用机制。**方法** 将 40 只雄性 SD 大鼠采用完全随机分组法分为对照组、模型组、小檗碱组(小檗碱, 60 mg/kg)、姜黄素低剂量组(姜黄素, 50 mg/kg)和姜黄素高剂量组(姜黄素, 100 mg/kg), 每组 8 只; 对照组皮下注射生理盐水, 其余组大鼠均皮下注射吲哚美辛(7.5 mg/kg, 每日 1 次, 连续 2 d)以构建急性小肠损伤模型; 各组大鼠自造模前 3 天起连续灌胃给予相应药物或生理盐水 9 d, 每天 1 次。造模成功后, 每日监测各组大鼠体质量变化, 观察各组大鼠大小便状态。HE 染色观察各组大鼠病理形态学改变; ELISA 检测各组大鼠小肠组织中炎症因子肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-6(IL-6)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)水平以及血清中氧化应激相关因子超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性; 采用免疫荧光法和 Western blot 检测醛酮还原酶家族 1 成员 B10(AKR1B10)、紧密连接蛋白 3 (Claudin-3)、闭锁小带蛋白-1(ZO-1)、血红素加氧酶-1(HO-1)、核因子红细胞 2 相关因子 2(Nrf2)、Kelch 样环氧丙烷相关蛋白-1 (Keap1)蛋白的表达水平。**结果** HE 染色病理结果显示, 模型组大鼠小肠黏膜呈现典型损伤特征: 绒毛上皮细胞排列紊乱并伴有核固缩, 基底膜完整性破坏, 固有层可见弥漫性炎症细胞浸润, 符合肠黏膜损伤模型构建标准。姜黄素各剂量组大鼠小肠黏膜结构均改善, 主要表现为绒毛高度回升、炎症浸润程度减轻。与对照组相比, 模型组大鼠的 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 、MDA 水平显著升高($P < 0.001$), SOD、GSH-Px、AKR1B10、ZO-1、Claudin-3、Nrf2、HO-1、Keap1 水平显著降低($P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$)。与模型组相比, 姜黄素各剂量组大鼠的 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 、MDA 水平显著降低($P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$), SOD、GSH-Px、AKR1B10、ZO-1、Claudin-3、Nrf2、HO-1、Keap1 水平显著升高($P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$)。**结论** 姜黄素对吲哚美辛诱导的大鼠急性小肠损伤具有保护作用, 其作用机制可能与激活 Nrf2/AKR1B10 信号通路、上调紧密连接蛋白 ZO-1 和 Claudin-3 表达、减轻炎症反应与氧化应激有关。

[关键词] 急性小肠损伤; 姜黄素; 非甾体抗炎药; Nrf2/AKR1B10 信号通路

[中图分类号] R285.5

[文献标志码] A

[文章编号] doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2026.09.009

Protective effects of curcumin on indomethacin-induced acute small intestinal injury in rats based on the Nrf2/AKR1B10 signaling pathway

LIU Xiaojuan, WANG Jin, CHEN Na, PAN Xia, LIU Shasha*

Changsha Hospital for Maternal & Child Health Care Affiliated to Hunan Normal University, Changsha, Hunan 410007, China

[Abstract] **Objective** To investigate the protective effect and underlying mechanism of curcumin on indomethacin-induced acute small intestinal injury in rats. **Methods** Forty male SD rats were randomly divided into the control group, model group, berberine group (berberine, 60 mg/kg), low-dose curcumin group (curcumin, 50 mg/kg), and high-dose curcumin group (curcumin, 100 mg/kg), with eight rats in each group. Rats in the control group were subcutaneously injected with normal saline, while those in

[收稿日期] 2026-08-03

[基金项目] 湖南省自然科学基金项目(2026JJ82229, 2025JJ80514); 长沙市卫生健康委中医药科研计划项目(SB2024-077)。

[通信作者] * 刘莎莎, 女, 硕士, 主任药师, 硕士研究生导师, E-mail: 10188498@qq.com。

the other groups were subcutaneously injected with indomethacin (7.5 mg/kg, once daily for two consecutive days) to establish the acute small intestinal injury model. Starting three days before modeling, rats in each group were intragastrically treated with the corresponding drugs or normal saline once daily for nine consecutive days. After successful modeling, body mass changes and the state of urine and feces were monitored daily. HE staining was used to observe the pathomorphological changes in each group. ELISA was used to detect the levels of inflammatory cytokines including tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-6 (IL-6), and interleukin-1 β (IL-1 β) in small intestinal tissue, as well as the activity of superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GSH-Px), and the level of malondialdehyde (MDA) in serum. The protein expression levels of aldo-keto reductase family 1 member B10 (AKR1B10), Claudin-3, zonula occludens-1 (ZO-1), heme oxygenase-1 (HO-1), nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2), and Kelch-like ECH-associated protein 1 (Keap1) were detected by immunofluorescence and Western blot. **Results** HE staining showed that the small intestinal mucosa of the model group presented typical injury features: disordered arrangement of villous epithelial cells with nuclear pyknosis, disrupted basement membrane integrity, and diffuse inflammatory cell infiltration in the lamina propria, which met the criteria for establishing an intestinal mucosal injury model. The small intestinal mucosal structure was improved in all curcumin groups, mainly manifested as restored villous height and alleviated inflammatory infiltration. Compared with the control group, the levels of TNF- α , IL-6, IL-1 β , and MDA in the model group were significantly increased ($P<0.001$), while the levels of SOD, GSH-Px, AKR1B10, ZO-1, Claudin-3, Nrf2, HO-1, and Keap1 were significantly decreased ($P<0.05$, $P<0.01$, $P<0.001$). Compared with the model group, the levels of TNF- α , IL-6, IL-1 β , and MDA in all curcumin groups were significantly decreased ($P<0.05$, $P<0.01$, $P<0.001$), while the levels of SOD, GSH-Px, AKR1B10, ZO-1, Claudin-3, Nrf2, HO-1, and Keap1 were significantly increased ($P<0.05$, $P<0.01$, $P<0.001$). **Conclusion** Curcumin exerts a protective effect on indomethacin-induced acute small intestinal injury in rats, and its mechanism may be related to activating the Nrf2/AKR1B10 signaling pathway, up-regulating the expression of the tight junction proteins ZO-1 and Claudin-3, and alleviating inflammatory response and oxidative stress.

[**Keywords**] acute small intestinal injury; curcumin; nonsteroidal anti-inflammatory drugs; Nrf2/AKR1B10 signaling pathway

非甾体抗炎药(nonsteroidal anti-inflammatory drugs, NSAIDs),包括阿司匹林、吲哚美辛(indomethacin, Indo)等,是临床常用的解热镇痛抗炎药物,在风湿性疾病、急慢性疼痛及炎症相关疾病的治疗中发挥着不可替代的作用^[1]。然而,该类药物在带来确切疗效的同时,其胃肠道不良反应亦不容忽视,并已成为限制其临床安全使用的重要瓶颈^[2]。随着胶囊内镜检查^[3]和球囊辅助内镜检查^[4]等新方法的广泛应用,研究发现 NSAIDs 不仅会导致结肠炎,还会导致小肠病变,尤其是在十二指肠第二部分的远端,高达70%的服用 NSAIDs 的患者出现小肠黏膜损伤,包括糜烂、溃疡和黏膜出血^[5]。研究表明,NSAIDs 引起的肠炎病理变化涉及炎症和氧化应激,其机制是通过特异性拮抗环氧合酶(cyclooxygenase, COX)的催化活性,显著降低前列腺素(prostaglandins, PGs)的生物合成水平,破坏肠黏膜屏障完整性,引发氧化应激和炎症级联反应,进而导致上皮细胞凋亡和免疫细胞浸润^[6]。目前,针对 NSAIDs 肠病的防治主要集中在胃黏膜保护(如质子泵抑制剂),但对小肠损伤的干预手段仍极为有限。因此,控制小肠黏膜炎症

是减轻 NSAIDs 使用者肠道损伤的主要策略^[7],探索能够同时靶向炎症和氧化应激的天然产物,成为缓解 NSAIDs 肠病的新方向。

姜黄素是从姜黄根茎中提取的多酚类化合物,具有广泛的药理活性,包括抗氧化、抗炎、抗肿瘤等作用^[8]。Sivalingam 等^[9]发现,姜黄素可显著减轻吲哚美辛诱导的大鼠小肠损伤,降低丙二醛(malondialdehyde, MDA)和蛋白羰基等氧化应激指标,恢复过氧化氢酶和谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)活性。随后该团队进一步证实,姜黄素通过减轻氧化应激和线粒体功能障碍从而发挥对小肠的保护效应^[10]。近年来研究发现,姜黄素可显著拮抗吲哚美辛-环丙沙星联用所致的小肠损伤,降低炎症因子水平并恢复小肠组织结构^[11]。在分子机制层面,核因子 E2 相关因子 2(nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Nrf2)是介导机体抗氧化反应的核心转录因子,其活性受 Kelch 样环氧丙烷相关蛋白-1(Kelch-like ECH-associated protein 1, Keap1)蛋白调控^[12]。正常生理状态下,Keap1 可结合并抑制 Nrf2 活性,一旦发生氧化应激损伤,Nrf2 与

Keap1 解离并转运至细胞核内,激活 HO-1 等下游抗氧化靶基因的转录,以此对抗氧化损伤。此外,Nrf2 还参与调控醛酮还原酶家族 1 成员 B10(aldo-keto reductase family 1 member B10, AKR1B10)的基因表达,作为 Nrf2 信号通路下游的一个关键靶基因,AKR1B10 具备醛酮还原酶活性,主要参与羰基毒性物质解毒与脂质代谢调控,该蛋白在正常小肠组织中维持较高本底表达,参与肠道氧化稳态维持^[13]。此外,紧密连接蛋白作为维持肠道机械屏障稳定的核心载体,如闭锁小带蛋白 1(zonula occludens 1, ZO-1)、紧密连接蛋白-3(Claudin-3)等表达下调会直接引发上皮间隙通透性升高,诱发肠渗漏与黏膜炎症损伤,而姜黄素可靶向提升上述两种紧密连接蛋白的表达水平,减少细胞间隙渗漏,从物理屏障层面减轻肠道炎性损伤,为肠道黏膜提供直接保护^[14]。

基于上述研究背景,本研究拟建立吡喹酮诱导的大鼠急性小肠损伤模型,以 Nrf2/AKR1B10 信号通路为切入点,系统考察姜黄素对该模型肠道损伤的保护效应。通过检测小肠组织中炎症因子水平和血清中氧化应激指标的变化,并结合 Nrf2、AKR1B10、血红素氧合酶-1(heme oxygenase-1, HO-1)、Keap1 及紧密连接蛋白 ZO-1、Claudin-3 的表达情况,初步探讨其潜在的分子机制,以期为 NSAIDs 相关性小肠损伤的防治提供新的实验依据和理论参考。

1 材料

1.1 实验动物

40 只 SPF 级雄性 SD 大鼠,体质量 200~220 g,购自广东维通利华实验动物技术有限公司[许可证号:SCXK(粤)2022-0063],在湖南模式生物技术有限公司实验动物中心 SPF 级动物房中饲养,饲养温度(23±1)℃,湿度 60%~65%,普通饲料,自由饮水。实验通过湖南模式生物技术有限公司实验动物伦理审查委员会批准[湘模(动伦)审(2026)X014 号]。

1.2 主要药物与试剂

姜黄素(纯度≥98%)(批号:YCKZ240519-1,西安永昌康泽生物科技有限公司);吡喹酮(货号:HY-14397,美国 MedChemExpress 生物技术有限公司);小檗碱(货号:B21449,上海源叶生物科技有限公司);4%多聚甲醛(货号:BL539A,北京兰杰柯科技有限公司);0.1%Triton/PBS(货号:HFH10,赛默飞世尔科技公司);Nrf2 抗体(货号:ab62352)、HO-1 抗

体(货号:ab68477)购自美国 Abcam 公司;Claudin-3(货号:AF-0129)、 β -actin(货号:AF-7018)均购自美国 Affinity 公司;ZO-1(货号:21773-1-AP)、Keap1(货号:10503-2-AP)、 β -tubulin(货号:10094-1-AP)均购自武汉三鹰生物技术有限公司;AKR1B10(湖南莱拓福生物科技有限公司赠送);TBST 缓冲液(货号:E-BC-R335)、抗体稀释液(货号:E-IR-R106)、Marker(货号:E-IR-R331)、SDS-PAGE 凝胶配制试剂盒(货号:E-IR-R305)、过氧化物酶标记山羊抗小鼠 IgG(货号:E-AB-1001)以及大鼠肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)(货号:E-EL-R2856)、白细胞介素(interleukin, IL)-1 β (货号:E-EL-R0012)、IL-6(货号:E-EL-R0015)ELISA 试剂盒均购自武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司;Cy3 偶联山羊抗兔 IgG(H+L)(货号:GB21303)、Cy3 偶联驴抗兔 IgG(H+L)(货号:GB21403)均购自武汉赛维尔生物科技有限公司;超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)试剂盒(货号:A001-3-2)、MDA 试剂盒(货号:A001-1-2)、GSH-Px 试剂盒(货号:A005-1-2)均购自南京建成生物工程研究所。

1.3 主要仪器

离心机(TGL20M,长沙湘智离心机仪器有限公司);多功能酶标仪(Synergy HTX,美国 BioTek 公司);冷冻研磨仪(Retsch/MM 400,武汉赛维尔生物科技有限公司);凝胶电泳系统、凝胶成像分析系统(Bio-Rad 1658033、ChemiDoc™ XRS+,美国 BioRad 公司);振荡器(MS2,广州仪科有限公司);激光共聚焦显微镜(Nikon Eclipse Ti2,日本尼康公司)。

2 方法

2.1 造模、分组与给药

将 40 只 SD 大鼠,按完全随机法分为 5 组,每组 8 只;对照组(生理盐水,5 mL·kg⁻¹)、模型组、小檗碱组(小檗碱,60 mg·kg⁻¹)、姜黄素低剂量组(姜黄素,50 mg·kg⁻¹)和姜黄素高剂量组(姜黄素,100 mg·kg⁻¹)。大鼠适应性喂养 1 周后,除对照组外,其他组大鼠按 7.5 mg·kg⁻¹ 剂量皮下注射吡喹酮,每天 1 次,连续 2 d 以制备大鼠急性损伤模型,评判造模成功的依据为大鼠小肠黏膜出现病理形态学改变^[15]。造模前 3 d,各组大鼠开始相应药物或生理盐水预防治疗,每天 1 次,连续给药 9 d。

2.2 取材

连续给药 9 d 后,采用戊巴比妥钠麻醉大鼠,腹

主动脉采血,4℃静置4h,离心取上清,备用。同时取大鼠小肠组织,一部分小肠组织固定在4%多聚甲醛中,另一部分小肠组织冷冻保存。

2.3 HE染色

空肠样本经4%多聚甲醛固定后,实施常规石蜡包埋并制备切片。取出空肠样本,自来水冲洗15min后梯度乙醇脱水,二甲苯透明后石蜡包埋组织成蜡块,连续切片,切片在二甲苯、乙醇中脱蜡至水后,苏木素染色5min,分化、反蓝后梯度乙醇脱水,伊红染色5min;无水乙醇脱水、二甲苯透明、中性树胶封片后镜检,采集图像并分析。观察上皮层完整性破坏程度、溃疡灶垂直深度、淋巴细胞浸润情况、间质水肿指数及中性粒细胞/嗜酸性粒细胞浸润强度。

2.4 ELISA检测

取各组大鼠血清,按试剂盒说明书分别测定并计算血清中IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平。取各组大鼠小肠组织100mg,预冷的PBS清洗,匀浆2次,每次研磨45s,每次间隔20s,按照试剂盒说明书测定并计算SOD、MDA、GSH-Px水平。

2.5 免疫荧光染色

空肠组织4%多聚甲醛固定及石蜡包埋后,制备4 μ m切片。切片经二甲苯梯度脱蜡、乙醇梯度水化后,采用EDTA抗原修复液(pH 8.0~9.0)于微波加热条件下进行抗原表位修复。修复完成后,使用疏水性屏障笔圈定组织区域以防止试剂扩散,继以3%~5%牛血清白蛋白溶液室温下封闭30~60min。随后滴加稀释后的一抗工作液,4℃湿盒内孵育过夜。次日经PBS洗涤后,加入对应种属的荧光标记二抗(Cy3/FITC,1:500),避光室温孵育1h,DAPI复染细胞核5min。最后以抗荧光淬灭封片剂封固载玻片,于激光共聚焦显微镜下采集多通道荧光图像,并通过ImageJ软件进行定量分析。

2.6 Western blot检测

空肠组织样本(100mg)经预冷PBS漂洗后,加入含1%蛋白酶抑制剂的裂解缓冲液(100 μ L),采用冷冻研磨仪进行两次机械破碎(45s/次,间隔20s)。裂解产物经低温高速离心(16000 $\times$ g,15min)后收集上清液,使用BCA法蛋白定量试剂盒测定浓度并进行样本平衡。取等量蛋白样品与溴酚蓝指示剂按4:1比例混合,沸水浴变性处理10min。采用SDS-PAGE凝胶进行电泳分离,经半干转印系统将蛋白转移至PVDF膜。室温条件下采用5%脱脂奶粉-TBST封闭液处理60min,孵育以下一抗于4℃振

荡过夜:Nrf2(1:200稀释)、AKR1B10(1:1000稀释)、HO-1(1:1000稀释)、ZO-1(1:1000稀释)、Claudin-3(1:1000稀释)、Keap1(1:1000稀释)、 β -actin(1:1000稀释)、 β -tubulin(1:5000稀释)。次日经TBST缓冲液3次洗膜(5min/次),37℃孵育对应种属HRP标记二抗(1:20000稀释)60min,再次完成3次TBST洗膜。最后应用ECL化学发光系统显影,通过ImageJ 1.53t软件进行目标蛋白条带灰度值分析。

2.7 统计学分析

采用GraphPad Prism 8.0软件对数据进行统计学分析,符合正态分布的计量资料以“ $\bar{x}\pm s$ ”表示。两组间比较采用 t 检验;多组间比较采用单因素方差分析,并进行Dunnett's事后检验。当 $P<0.05$ 时,表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 姜黄素对大鼠一般情况的影响

实验期间,对照组大鼠昼夜节律未见异常,摄食、饮水及活动均正常;模型组大鼠体质量持续下降,日间活动减少,弓背,被毛凌乱,粪便颜色加深呈黑便;而小檗碱组及姜黄素低、高剂量组大鼠黑便较模型组有所减轻。对照组大鼠体质量呈稳定增长趋势,其余各组大鼠在皮下注射吡哆美辛后第4天体质量开始下降,至第6天,小檗碱组及姜黄素低、高剂量组大鼠体质量回升,模型组仍持续下降,至第7天才缓慢回升。与对照组相比,模型组大鼠体质量增长显著减缓($P<0.01$, $P<0.001$);与模型组相比,小檗碱组及姜黄素低、高剂量组大鼠体质量均显著升高($P<0.01$, $P<0.001$)。详见图1。

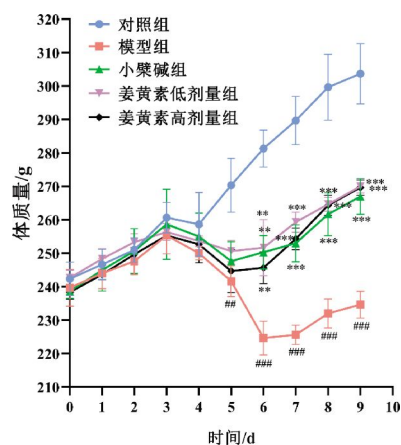


图1 姜黄素对大鼠体质量的影响($\bar{x}\pm s$, $n=8$)

Fig.1 Effects of curcumin on body weight of rats ($\bar{x}\pm s$, $n=8$)
注:与对照组相比,## $P<0.01$,### $P<0.001$;与模型组相比,** $P<0.01$,*** $P<0.001$ 。

3.2 姜黄素改善吡哌美辛所致大鼠的小肠黏膜屏障的损伤

HE 染色显示,对照组小肠组织绒毛与隐窝结构完整,绒毛细长且排列紧密,肠黏膜结构清晰。模型组小肠则出现显著的黏膜损伤和水肿,绒毛明显缩短甚至脱落,隐窝结构严重受损,伴有显著的萎缩现象,组织间可见大量炎性细胞浸润。而在各给药组中,吡哌美辛引起的小肠病理改变得到改善,黏膜损伤减轻,给药组黏膜较模型组绒毛完整且排列较紧密,肠黏膜结构更为完整。详见图 2。

3.3 姜黄素对吡哌美辛诱导的大鼠小肠组织炎症反应和血清氧化应激的影响

与对照组相比,模型组大鼠小肠中炎症因子TNF- α 、IL-6、IL-1 β 水平显著升高($P<0.001$)。与模型组相比,小檗碱组、姜黄素低剂量组、姜黄素高剂量组大鼠小肠中炎症因子 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 水平显著降低($P<0.05$, $P<0.01$, $P<0.001$)。详见表 1。

与对照组相比,模型组大鼠血清中的氧化应激相关因子 SOD、GSH-Px 水平显著降低($P<0.001$),而 MDA 水平则显著升高($P<0.001$)。与模型组相比,小檗碱组、姜黄素低剂量组、姜黄素高剂量组大鼠血清中的氧化应激相关因子 SOD、GSH-Px 水平显著升高($P<0.001$, $P<0.01$),而 MDA 水平则显著降低($P<$

0.001, $P<0.05$)。详见表 2。

3.4 姜黄素对大鼠小肠黏膜屏障及氧化应激相关蛋白表达的影响

3.4.1 对小肠组织中 AKR1B10 蛋白表达的影响 免疫荧光检测结果显示(图 3),与对照组相比,模型组大鼠小肠中 AKR1B10 蛋白表达水平显著降低($P<0.05$)。与模型组相比,小檗碱组和姜黄素低、高剂量组大鼠小肠中 AKR1B10 蛋白表达水平显著回升($P<0.01$, $P<0.05$)。Western blot 结果显示(图 4),与对照组相比,模型组大鼠小肠中 AKR1B10 蛋白表达水平显著降低($P<0.001$)。与模型组相比,小檗碱组和姜黄素低、高剂量组大鼠小肠中 AKR1B10 蛋白表达水平显著升高($P<0.001$)。

3.4.2 对小肠组织中 ZO-1 和 Claudin-3 蛋白表达的影响 免疫荧光检测结果显示(图 5),与对照组相比,模型组紧密连接蛋白 ZO-1 和 Claudin-3 的表达量均显著降低($P<0.01$, $P<0.05$)。与模型组相比,小檗碱组、姜黄素低剂量组和姜黄素高剂量组的 ZO-1 蛋白表达均显著恢复($P<0.001$),小檗碱组、姜黄素低剂量组的 Claudin-3 蛋白表达显著升高($P<0.01$, $P<0.05$)。Western blot 结果显示(图 6),与对照组相比,模型组 ZO-1 和 Claudin-3 的表达水平均显著降低($P<0.001$)。与模型组相比,小檗碱组、姜黄素低

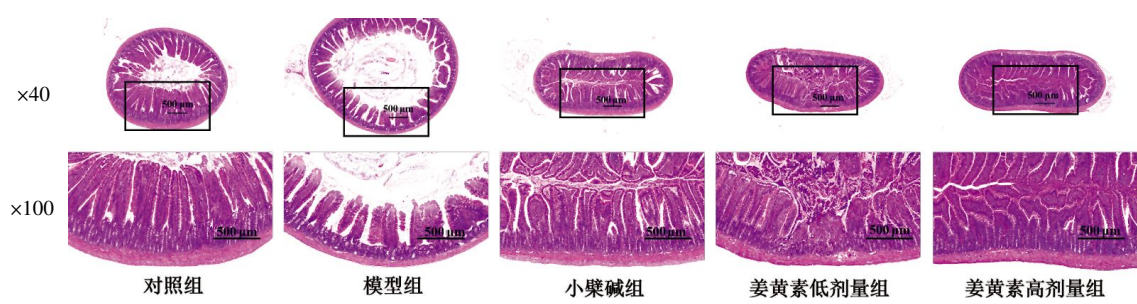


图 2 姜黄素对小肠组织病理改变的影响

Fig.2 Effects of curcumin on the pathological changes of small intestinal tissues

表 1 各组大鼠小肠组织中 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 的表达水平($\bar{x}\pm s$, $n=8$)

Table 1 Levels of TNF- α , IL-6, and IL-1 β in small intestinal tissue of rats ($\bar{x}\pm s$, $n=8$)

组别	TNF- α /(pg/mg prot)	IL-6/(pg/mg prot)	IL-1 β /(pg/mg prot)
对照组	75.33 $\pm$ 8.45	92.15 $\pm$ 10.31	68.21 $\pm$ 8.06
模型组	168.38 $\pm$ 18.59 ^{###}	183.57 $\pm$ 21.82 ^{###}	174.46 $\pm$ 18.71 ^{###}
小檗碱组	105.25 $\pm$ 11.24 ^{***}	127.35 $\pm$ 14.75 ^{***}	121.76 $\pm$ 16.32 ^{***}
姜黄素低剂量组	137.50 $\pm$ 15.17 [*]	150.21 $\pm$ 18.42 [*]	148.57 $\pm$ 15.63 [*]
姜黄素高剂量组	119.16 $\pm$ 13.94 ^{***}	135.70 $\pm$ 16.15 ^{**}	132.06 $\pm$ 15.73 ^{**}

注:与对照组相比, ^{###} $P<0.001$;与模型组相比, ^{*} $P<0.05$, ^{**} $P<0.01$, ^{***} $P<0.001$ 。

表 2 各组大鼠血清中 SOD、MDA、GSH-Px 的表达水平
($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 2 Levels of SOD, MDA, and GSH-Px in serum of rats ($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	SOD/(U/mL)	MDA/(nmol/mL)	GSH-Px/(U/L)
对照组	256.27±28.19	2.14±0.27	191.01±29.06
模型组	144.17±19.94 ^{###}	4.46±0.52 ^{###}	97.26±18.33 ^{###}
小檗碱组	243.76±9.52 ^{***}	3.17±0.36 ^{***}	153.97±22.05 ^{***}
姜黄素低剂量组	250.23±22.48 ^{***}	3.67±0.39 [*]	129.85±15.92 ^{**}
姜黄素高剂量组	280.22±26.79 ^{***}	3.35±0.41 ^{***}	142.37±5.66 ^{***}

注:与对照组相比,^{###} $P<0.001$;与模型组相比,^{*} $P<0.05$,^{**} $P<0.01$,
^{***} $P<0.001$ 。

剂量组和姜黄素高剂量组的 ZO-1、Claudin-3 蛋白表达水平均显著升高($P<0.05, P<0.001$)。

3.4.3 对小肠组织中 HO-1、Nrf2 和 Keap1 蛋白表达的影响 Western blot 检测发现,与对照组相比,模型组大鼠小肠中 Keap1、Nrf2、HO-1 蛋白表达均显著下调($P<0.01, P<0.001$);与模型组相比,小檗碱组、姜黄素低剂量组、姜黄素高剂量组的 HO-1、Nrf2 和 Keap1 蛋白表达水平显著升高($P<0.001$)。详见图7。

4 讨论

NSAIDs 所致小肠损伤因病变隐匿、临床表现不典型,其实际发生率远高于临床认知,已成为肠道药源性损伤的研究热点^[16-17]。与 NSAIDs 相关性胃损伤主要依赖质子泵抑制策略不同,小肠损伤涉及更为

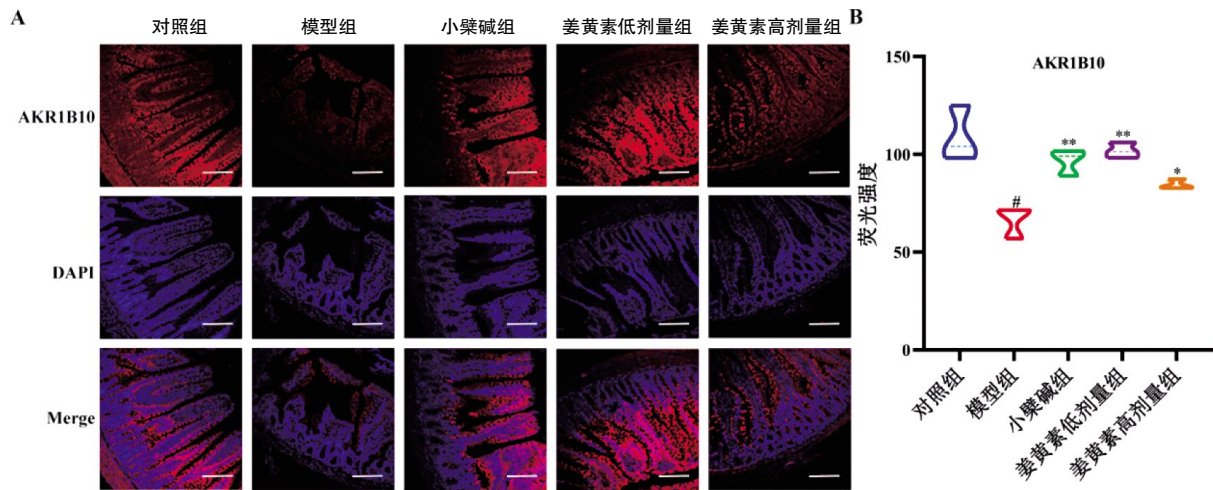


图 3 免疫荧光法检测姜黄素对小肠组织中 AKR1B10 蛋白表达的影响($n=3$, 标尺=200 μm , $\times 200$)

Fig.3 Effects of curcumin on AKR1B10 protein expression in small intestinal tissue detected by immunofluorescence ($n=3$, scale bar = 200 μm , $\times 200$)

注:A.各组大鼠小肠 AKR1B10 荧光信号图;B.各组大鼠小肠 AKR1B10 荧光强度统计图。与对照组相比,[#] $P<0.05$;
与模型组相比,^{*} $P<0.05$,^{**} $P<0.01$ 。

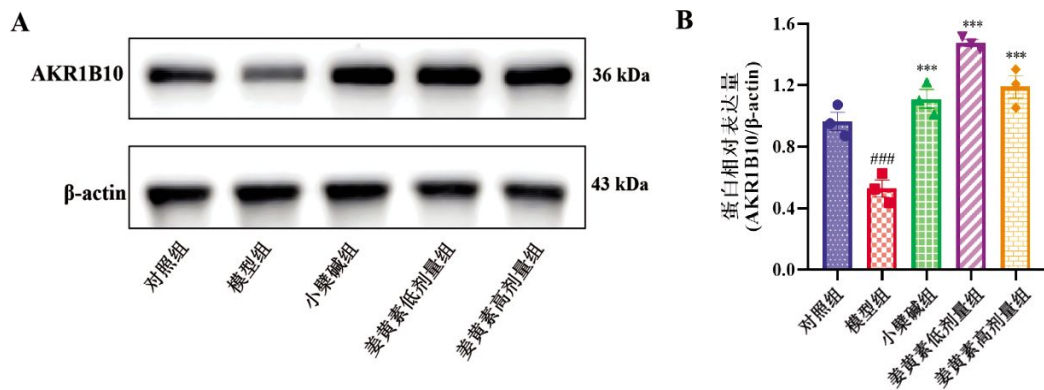


图 4 Western blot 检测姜黄素对小肠组织中 AKR1B10 蛋白表达的影响($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig.4 Effects of curcumin on AKR1B10 protein expression in small intestinal tissue detected by Western blot ($\bar{x} \pm s, n=3$)

注:A.各组大鼠小肠 AKR1B10 蛋白条带图;B.各组大鼠小肠 AKR1B10 蛋白灰度值统计图。与对照组相比,^{###} $P<0.001$;与模型组相比,^{***} $P<0.001$ 。

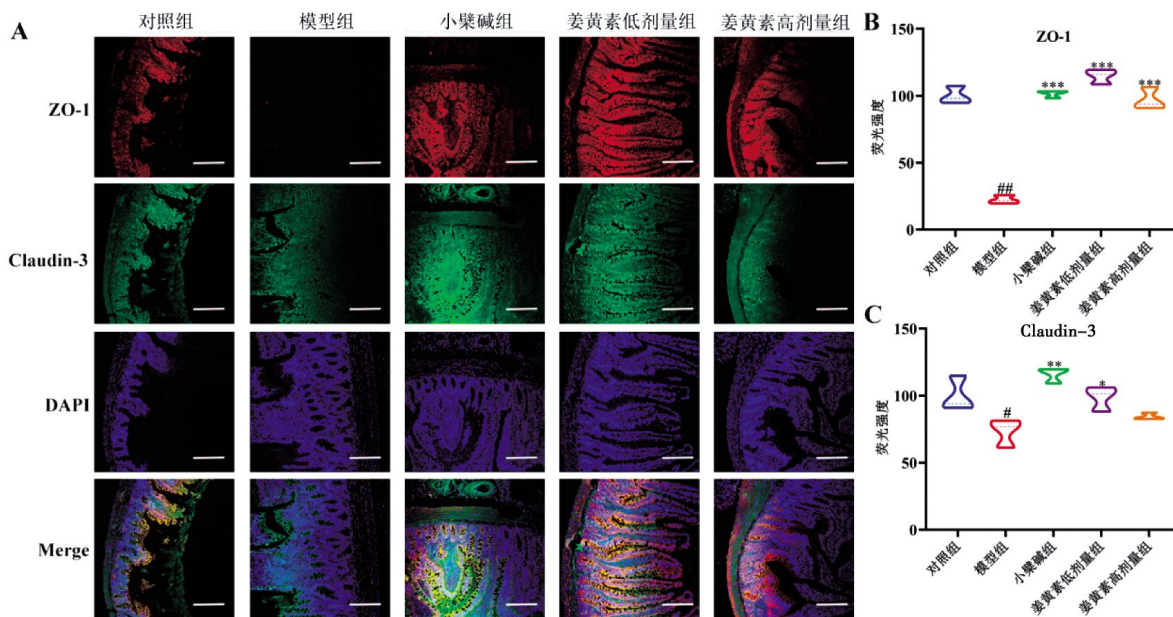


图 5 免疫荧光法检测姜黄素对小肠组织中 ZO-1 和 Claudin-3 蛋白表达的影响($n=3$, 标尺=200 μm , $\times 200$)

Fig.5 Effects of curcumin on the expression of ZO-1 and Claudin-3 proteins in small intestinal tissue detected by immunofluorescence ($n=3$, scale bar=200 μm , $\times 200$)

注:A.各组大鼠小肠 ZO-1 和 Claudin-3 荧光信号图;B.各组大鼠小肠 ZO-1 荧光强度统计图;C.各组大鼠小肠 Claudin-3 荧光强度统计图。与对照组相比, # $P<0.05$, ## $P<0.01$;与模型组相比, * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$ 。

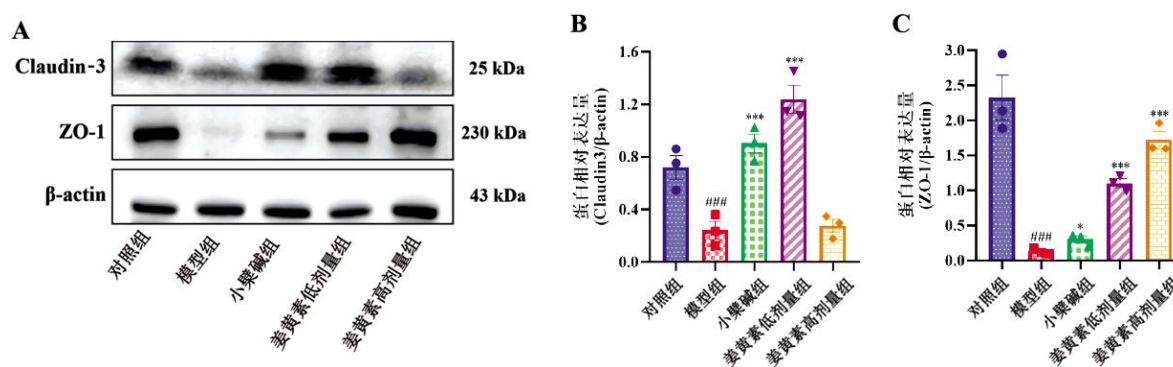


图 6 Western blot 检测姜黄素对小肠组织中 Claudin-3 和 ZO-1 蛋白的影响($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

Fig.6 Effects of curcumin on Claudin-3 and ZO-1 protein expression in small intestinal tissue detected by Western blot ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

注:A.各组大鼠小肠 ZO-1 和 Claudin-3 蛋白条带图;B.各组大鼠小肠 ZO-1 蛋白灰度值统计图;C.各组大鼠小肠 Claudin-3 蛋白灰度值统计图。与对照组相比, ### $P<0.001$;与模型组相比, * $P<0.05$, *** $P<0.001$ 。

复杂的氧化应激、炎症级联反应及肠黏膜屏障功能失调等多重病理机制,目前尚无特效防治手段^[17-18]。

本研究采用吡啶美辛皮下注射成功构建了急性小肠黏膜损伤模型,模型组大鼠体质量增长率显著下降,小肠组织出现绒毛缩短、上皮细胞脱落、炎性细胞浸润及紧密连接蛋白 ZO-1 和 Claudin-3 表达下调等典型损伤改变。同时,模型组小肠组织中 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 及血清 MDA 水平显著升高,血清 SOD 和 GSH-Px 活性明显降低,表明炎症反应与氧化应激共同参与了小肠损伤的病理进程。该结果与 Akita

等^[19]报道的富氢水通过抗氧化途径改善吡啶美辛小肠损伤的研究结果一致,进一步验证了氧化-炎症网络在 NSAIDs 肠病中的核心地位。本研究中,模型组粪便性状无明显改变,提示小肠损伤的亚临床特性,这也解释了为何此类损伤在临床中常被忽视^[20-21]。在明确模型建立成功及氧化-炎症网络激活的基础上,本研究进一步探究了姜黄素保护效应的潜在分子靶点。

本研究发现,姜黄素可剂量依赖性地激活 Nrf2/AKR1B10 信号通路,从而发挥肠黏膜保护效应。姜

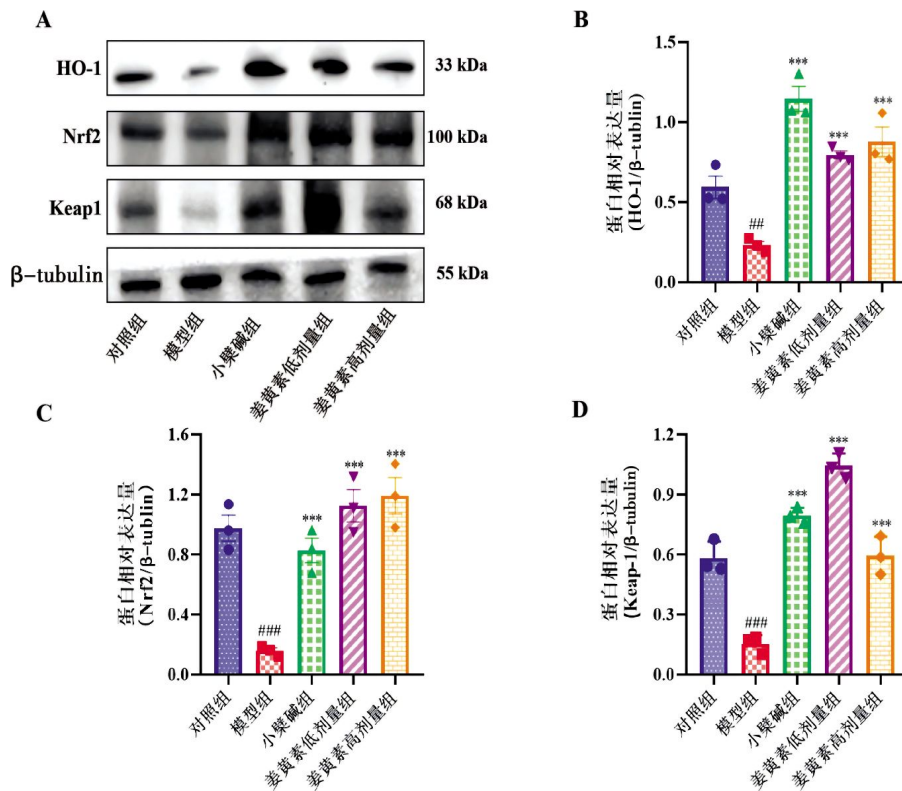


图 7 姜黄素对小肠组织中 HO-1、Nrf2 和 Keap1 蛋白的影响($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Fig.7 Effects of curcumin on HO-1, Nrf2, and Keap1 protein expression in small intestinal tissue ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

注:A.各组大鼠小肠 HO-1、Nrf2 和 Keap1 蛋白条带图;B.各组大鼠小肠 HO-1 蛋白灰度值统计图;C.各组大鼠小肠 Nrf2 蛋白灰度值统计图;D.各组大鼠小肠 Keap1 蛋白灰度值统计图。与对照组相比,### $P<0.01$,### $P<0.001$;与模型组相比,*** $P<0.001$ 。

黄素干预后,小肠组织中 Nrf2 核转位增加,其靶基因 AKR1B10 及 HO-1 表达上调,同时紧密连接蛋白 ZO-1 和 Claudin-3 表达恢复,小肠组织中 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 水平降低,血清 SOD、GSH-Px 活性升高,MDA 含量下降。AKR1B10 作为 Nrf2 的下游靶基因之一,在肠道中的生物学功能尚不明确。Shen 等^[2]研究发现,溃疡性结肠炎组织中 AKR1B10 表达显著降低,且其鼠同源基因 AKR1B8 缺陷会导致结肠氧化应激增加和上皮增殖受损,这与本研究的观察结果高度吻合,提示 AKR1B10 可能在维持肠道上皮稳态中发挥保守性保护作用。此外,紧密连接蛋白 ZO-1 和 Claudin-3 的表达恢复进一步表明,姜黄素可通过 Nrf2/AKR1B10 轴同时作用于氧化还原平衡和细胞间连接复合体的稳定性,从而修复肠黏膜功能。这一发现将 AKR1B10 的功能从肿瘤标志物拓展至肠道屏障调控领域,为阐明 NSAIDs 所致特异性小肠损伤的内在机制提供新的理论依据。

综上所述,本研究系统考察了姜黄素对吲哚美

辛诱导的大鼠急性小肠损伤的保护效应,并围绕 Nrf2/AKR1B10 信号通路,从抑制局部炎症、改善氧化应激、维护肠黏膜屏障稳态角度初步阐释相关分子机制。本研究的创新之处在于:一是首次在吲哚美辛诱导的小肠损伤模型中同步检测 Nrf2、AKR1B10、HO-1、Keap1 及紧密连接蛋白 ZO-1、Claudin-3 的表达变化,完整观察了 Nrf2/AKR1B10 信号通路及下游效应分子 HO-1 的活化特征;二是将 Nrf2/AKR1B10 信号通路与肠上皮紧密连接调控关联分析,从抗氧化、抗炎协同保护肠屏障的角度阐释姜黄素的保护效应,为 NSAIDs 相关性小肠损伤防治提供了新依据。然而,本研究仍存在一定局限性,后续实验可使用 Nrf2 基因敲除动物或特异性抑制剂进行机制验证,并联合肠道菌群分析以全面评估其功能,以进一步探究姜黄素在临床前模型中的长期疗效及具体分子互作机制,以期姜黄素在 NSAIDs 小肠损伤防治中的转化应用提供更坚实的理论基础。

参考文献

- [1] Cion R I A, Juyad I G A, Yasay E B. Efficacy of rebamipide in the prevention of nonsteroidal anti-inflammatory drug-induced gastrointestinal mucosal breaks: a systematic review and meta-analysis[J]. *The American Journal of Gastroenterology*, 2026, 121(2): 526–533.
- [2] Scally B, Emberson J R, Spata E, et al. Effects of gastroprotectant drugs for the prevention and treatment of peptic ulcer disease and its complications: a meta-analysis of randomised trials[J]. *The Lancet Gastroenterology & Hepatology*, 2018, 3(4): 231–241.
- [3] Tavakoli P, Vollmer-Conna U, Hadzi-Pavlovic D, et al. A review of inflammatory bowel disease: a model of microbial, immune and neuropsychological integration[J]. *Public Health Reviews*, 2021, 42: 1603990.
- [4] Lee S P, Lee J, Kae S H, et al. Effect of nonsteroidal anti-inflammatory agents on small intestinal injuries as evaluated by capsule endoscopy[J]. *Digestive Diseases and Sciences*, 2021, 66(8): 2724–2731.
- [5] Tai F W D, McAlindon M E. Non-steroidal anti-inflammatory drugs and the gastrointestinal tract[J]. *Clinical Medicine*, 2021, 21(2): 131–134.
- [6] 李沉纹. 炎症微环境调控性多肽纳米药物的构建及其防治炎症性肠病的作用与机制研究[D]. 重庆: 中国人民解放军陆军军医大学, 2019.
- [7] Moayyedi P, Eikelboom J W, Bosch J, et al. Pantoprazole to prevent gastroduodenal events in patients receiving rivaroxaban and/or aspirin in a randomized, double-blind, placebo-controlled trial[J]. *Gastroenterology*, 2019, 157(2): 403–412, e5.
- [8] 管红婷, 余成浩. 姜黄素抗肿瘤作用机制的研究进展[J]. *中华中医药学刊*, 2024, 42(4): 143–151.
- [9] Sivalingam N, Hanumantharaya R, Faith M, et al. Curcumin reduces indomethacin-induced damage in the rat small intestine[J]. *Journal of Applied Toxicology*, 2007, 27(6): 551–560.
- [10] Sivalingam N, Basivireddy J, Balasubramanian K A, et al. Curcumin attenuates indomethacin-induced oxidative stress and mitochondrial dysfunction[J]. *Archives of Toxicology*, 2008, 82(7): 471–481.
- [11] 陈代琦, 余静, 夏雨, 等. 姜黄素通过调节 Treg/Th17 平衡减轻吲哚美辛-环丙沙星联用所致小鼠小肠损伤并协同治疗严重创伤感染[J]. *陆军军医大学学报*, 2026, 48(2): 116–127.
- [12] Yamamoto M, Kensler T W, Motohashi H. The KEAP1-NRF2 system: a thiol-based sensor-effector apparatus for maintaining redox homeostasis[J]. *Physiological Reviews*, 2018, 98(3): 1169–1203.
- [13] Endo S, Matsunaga T, Nishinaka T. The role of AKR1B10 in physiology and pathophysiology[J]. *Metabolites*, 2021, 11(6): 332.
- [14] Zhou X X, Ren M T, Yang J P, et al. Curcumin improves epithelial barrier integrity of Caco-2 monolayers by inhibiting endoplasmic reticulum stress and subsequent apoptosis[J]. *Gastroenterology Research and Practice*, 2021, 2021: 5570796.
- [15] Secgin S, Zafar M, Khakimov M, et al. Thiamine pyrophosphate may protect indomethacin-induced small intestinal enteropathy in rats by inhibiting intestinal inflammation and oxidative stress[J]. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 2025, 398(10): 14441–14450.
- [16] Zhang M, Xia F, Xia S, et al. NSAID-associated small intestinal injury: an overview from animal model development to pathogenesis, treatment, and prevention[J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2022, 13: 818877.
- [17] Bjarnason I, Scarpignato C, Holmgren E, et al. Mechanisms of damage to the gastrointestinal tract from nonsteroidal anti-inflammatory drugs[J]. *Gastroenterology*, 2018, 154(3): 500–514.
- [18] 李雨宸, 潘子倩, 肖梦雪, 等. 非甾体类抗炎药致小肠损伤及药物防治的研究进展[J]. *中国药科大学学报*, 2023, 54(2): 150–158.
- [19] Akita Y, Higashiyama M, Kurihara C, et al. Ameliorating role of hydrogen-rich water against NSAID-induced enteropathy via reduction of ROS and production of short-chain fatty acids[J]. *Digestive Diseases and Sciences*, 2023, 68(5): 1824–1834.
- [20] Tai F W D, McAlindon M E. NSAIDs and the small bowel[J]. *Current Opinion in Gastroenterology*, 2018, 34(3): 175–182.
- [21] Srinivasan A, De Cruz P. Review article: a practical approach to the clinical management of NSAID enteropathy[J]. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 2017, 52(9): 941–947.
- [22] Shen Y, Ma J, Yan R L, et al. Impaired self-renewal and increased colitis and dysplastic lesions in colonic mucosa of AKR1B8-deficient mice[J]. *Clinical Cancer Research*, 2015, 21(6): 1466–1476.

(本文编辑 苏 维)