

本文引用: 杨宗亮, 赵亮, 何永恒. 白芍七物颗粒通过抑制 PI3K/Akt/NF- κ B 信号通路修复溃疡性结肠炎肠道屏障的机制研究[J]. 湖南中医药大学学报, 2026, 46(7): 1345–1354.

白芍七物颗粒通过抑制 PI3K/Akt/NF- κ B 信号通路修复溃疡性结肠炎肠道屏障的机制研究

杨宗亮¹, 赵亮², 何永恒^{2,3*}

1. 湖南中医药大学第二附属医院, 湖南 长沙 410005; 2. 湖南省中西医结合医院, 湖南 长沙 410006;

3. 湖南中医药大学, 湖南 长沙 410208

[摘要] **目的** 探讨白芍七物颗粒对溃疡性结肠炎(UC)小鼠肠道屏障的修复作用, 揭示其调控磷脂酰肌醇 3-激酶(PI3K)/蛋白激酶 B(Akt)/核因子 κ B(NF- κ B)信号通路的分子机制。**方法** 将 60 只 C57BL/6 小鼠随机分为正常组、模型组、LQ 组(70 mg/mL 白芍七物颗粒溶液)、HQ 组(140 mg/mL 白芍七物颗粒溶液)、阳性对照组(26 mg/mL 美沙拉嗪溶液)、HQ+阳性对照组(140 mg/mL 白芍七物颗粒溶液+26 mg/mL 美沙拉嗪溶液), 每组 10 只。除正常组外, 其余各组采用 3%葡聚糖硫酸钠(DSS)饮水 7 d 构建 UC 模型, 造模同时各干预组给予相应药物灌胃, 持续 14 d。将构建成功的 Caco-2 细胞屏障模型随机分为空白组、模型组、白芍七物颗粒含药血清(YQ)组、阳性对照组、YQ+阳性对照组, 各组给予相应培养基干预。通过疾病活动指数(DAI)评分、结肠长度及病理组织学评分评估小鼠疾病严重程度; 采用 Ussing Chamber 系统检测结肠黏膜跨上皮电阻(TEER), 荧光素钠渗透实验量化肠道屏障通透性; ELISA 检测结肠组织白细胞介素(IL)-1 β 、单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)、IL-22 水平; Western blot 与 RT-qPCR 检测结肠组织及 Caco-2 细胞中 PI3K/Akt/NF- κ B 通路关键分子(p-PI3K、PI3K、p-Akt、Akt、p-NF- κ B p65、NF- κ B p65)及紧密连接蛋白(Claudin-3、JAM-A、Cingulin)的蛋白与 mRNA 水平。**结果** 与模型组比较, LQ 组、HQ 组小鼠 DAI 评分、结肠黏膜病理评分、荧光素钠渗透量及结肠组织 IL-1 β 、MCP-1 水平降低($P<0.05$), 结肠长度延长($P<0.05$), TEER 值、结肠组织 IL-22 水平升高($P<0.05$); 结肠组织中 Claudin-3、JAM-A、Cingulin 的蛋白与 mRNA 表达上调($P<0.05$), p-PI3K、p-Akt、p-NF- κ B p65 的蛋白与 mRNA 表达下调($P<0.05$)。与模型组比较, YQ 组 Caco-2 细胞中 Claudin-3、JAM-A、Cingulin 的蛋白与 mRNA 表达上调($P<0.05$), p-PI3K、p-Akt、p-NF- κ B p65 的蛋白与 mRNA 表达下调($P<0.05$)。**结论** 白芍七物颗粒可能通过抑制 PI3K/Akt/NF- κ B 信号通路, 缓解肠道炎症, 修复肠道损伤。

[关键词] 溃疡性结肠炎; 白芍七物颗粒; PI3K/Akt/NF- κ B 信号通路; 肠道屏障; 屏障损伤

[中图分类号] R285.5

[文献标志码] A

[文章编号] doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2026.07.005

Mechanism of Baishao Qiwu Granule in repairing intestinal barrier of ulcerative colitis by inhibiting PI3K/Akt/NF- κ B signaling pathway

YANG Zongliang¹, ZHAO Liang², HE Yongheng^{2,3*}

1. The Second Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410005, China; 2. Hunan Provincial Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Changsha, Hunan 410006, China; 3. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China

[Abstract] **Objective** To investigate the reparative effects of Baishao Qiwu Granule (BSQWG) on intestinal barrier in mice with ulcerative colitis (UC), and to reveal its molecular mechanism by which it regulates the phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)/

[收稿日期] 2025-11-08

[基金项目] 湖南省自然科学基金项目(2026JJ81083); 长沙市自然科学基金项目(kq2403130)。

[通信作者] * 何永恒, 男, 硕士, 教授, 主任医师, E-mail: heyongheng1964@163.com。

protein kinase B (Akt)/nuclear factor- κ B (NF- κ B) signaling pathway. **Methods** Sixty C57BL/6 mice were randomly divided into normal group, model group, low-dose BSQWG group (LQ group) (70 mg/mL BSQWG solution), high-dose BSQWG group (HQ group) (140 mg/mL BSQWG solution), positive control group (26 mg/mL mesalazine solution), and HQ+positive control group (140 mg/mL BSQWG solution+26 mg/mL mesalazine solution), with 10 mice in each group. Except for the normal group, the other groups were given 3% dextran sodium sulfate (DSS) drinking water for 7 days to establish the UC model. Simultaneously with modeling, each intervention group received the corresponding drug by gavage for 14 consecutive days. A successfully established Caco-2 cell barrier model was randomly divided into blank group, model group, BSQWG containing serum group (YQ group), positive control group, and YQ+positive control group, each receiving the corresponding medium intervention. Disease severity of mice was assessed by disease activity index (DAI) score, colon length, and histopathological score. Transepithelial electrical resistance (TEER) of colonic mucosa was measured using an Ussing Chamber system, and intestinal barrier permeability was quantified by fluorescein sodium penetration assay. Levels of interleukin (IL)-1 β , monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1), and IL-22 in colon tissues were determined by ELISA. Protein and mRNA levels of key molecules in the PI3K/Akt/NF- κ B pathway (p-PI3K, PI3K, p-Akt, Akt, p-NF- κ B p65, NF- κ B p65) and tight junction proteins (Claudin-3, JAM-A, Cingulin) in colon tissues and Caco-2 cells were determined by Western blot and RT-qPCR. **Results** Compared with the model group, the LQ and HQ groups showed decreased DAI scores, colonic mucosal pathological scores, fluorescein sodium permeability, and colonic IL-1 β and MCP-1 levels ($P<0.05$), increased colon length ($P<0.05$), elevated TEER values, and IL-22 levels in colon tissues ($P<0.05$), upregulated protein and mRNA expression of Claudin-3, JAM-A, and Cingulin in colon tissues ($P<0.05$), and downregulated protein and mRNA expression of p-PI3K, p-Akt, and p-NF- κ B p65 ($P<0.05$). Compared with the model group, the YQ group exhibited upregulated protein and mRNA expression of Claudin-3, JAM-A, and Cingulin in Caco-2 cells ($P<0.05$), and downregulated protein and mRNA expression of p-PI3K, p-Akt, and p-NF- κ B p65 ($P<0.05$). **Conclusion** BSQWG may alleviate intestinal inflammation and repair intestinal injury by inhibiting the PI3K/Akt/NF- κ B signaling pathway.

[**Keywords**] ulcerative colitis; Baishao Qiwu Granule; PI3K/Akt/NF- κ B signaling pathway; intestinal barrier; barrier injury

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)的发病机制尚未完全明确,临床以腹痛、腹泻、黏液脓血便为主要表现,具有难治愈、易反复、病程长的特点^[1]。目前,UC 的西医治疗虽能有效缓解病情,但其疗效并不理想,病情常呈反复发作^[2],治疗难以打破肠道炎症加剧与屏障损伤的恶性循环。基于此,探索能同步实现炎症调控与屏障修复的治疗策略,是当前 UC 基础与临床研究的核心突破口。UC 的发病机制涉及黏膜免疫异常激活、肠道屏障结构破坏以及肠道菌群失调等多重因素,其功能完整性直接决定 UC 的病情转归^[3]。肠道屏障是维持肠道稳态的基础和前提^[4]。现有研究多聚焦于泛用性紧密连接(tight junction, TJ)标志物,但难以准确反映结肠上皮屏障的特异性损伤;扣带素(Cingulin)发挥着连接细胞骨架与胞浆蛋白的作用,在 TJ 整合中发挥重要作用^[5];紧密连接蛋白-3(claudin protein-3, Claudin-3)的高表达有助于恢复肠道屏障功能^[6],但上述蛋白的功能关联性以及对肠道屏障的修复机制尚未明确。UC 是“促炎-趋化-修复”多维度因子网络失衡的结果,从“损伤-浸润-修复”三维度完整解析药物对 UC 炎症网

络的调控效应,可有效弥补传统指标仅关注促炎因子的研究局限。磷脂酰肌醇 3-激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)/蛋白激酶 B(protein kinase B, Akt)/核因子 κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)信号通路是调控 UC 肠黏膜“炎症加剧-屏障损伤”恶性循环的核心枢纽^[7]。PI3K/Akt 激活后,活化的 Akt 能够增强 NF- κ B 抑制因子 α 激酶的磷酸化及降解,使 NF- κ B 活化,发挥转录和调节作用,NF- κ B 可调控炎症基因的转录,促进炎症反应的发生,加剧 UC 的发生、发展,是 UC 肠黏膜损伤难以逆转的关键分子机制^[8]。

白芍七物颗粒为《素问病机气宜保命集·泻痢论》所载芍药汤的临床化裁,由白芍、黄芩、黄连、黄柏、当归、木香、大腹皮 7 味中药组成,其组方遵循清热解毒、理气和血、燥湿止泻的原则^[9],在临床中已用于 UC 治疗 10 余年。前期临床研究证实,白芍七物颗粒可改善 UC 患者临床症状,提高中医证候疗效,降低 UC 患者的内镜评分,且毒副作用少^[10]。动物实验结果显示,其可降低 UC 小鼠的结肠炎症评分,下调白细胞介素(interleukin, IL)-1 β 的表达^[11]。但现有研究未涉及 Claudin-3、连接黏附分子-A(junction-

al adhesion molecule-A, JAM-A)、Cingulin 等特异性 TJ 蛋白及 IL-22 等修复型炎症因子,无法精准定位药物的屏障修复靶点;同时未阐明药物对 PI3K/Akt/NF- κ B 信号通路的调控作用,难以解释其抗炎与屏障修复的协同效应。基于此,本研究以 PI3K/Akt/NF- κ B 信号通路为核心,从结构与功能双维度解析屏障修复机制,揭示中药多靶点协同的分子基础,为 UC 的中西医结合治疗提供新的理论依据与实验支撑。

1 材料

1.1 实验动物

SPF 级 C57BL/6 小鼠 70 只,雄性,体质量 18~22 g,购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司,实验动物生产许可证号:SCXK(湘)2024-0009。小鼠饲养于湖南省中医药研究院动物中心 SPF 级动物房,温度 22~25 $^{\circ}\text{C}$,湿度 50%~60%,自由摄食。本研究动物实验方案经湖南省中医药研究院实验动物伦理委员会审批通过,伦理编号:SY2025-0037。

1.2 实验细胞株

人结肠腺癌细胞株 Caco-2 购自中国科学院上海细胞库,编号:TCHu130,使用代次为第 3~10 代。

1.3 主要药物

白芍七物颗粒由广东一方制药有限公司配方颗粒配制(批号:20230516),参考前期研究^[1]以煮沸纯净水溶解制备含生药量分别为 70、140 mg/mL 的溶液作为白芍七物颗粒低剂量组(人等效剂量)及高剂量组的灌胃剂,制备后于 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存备用。美沙拉嗪肠溶片(葵花药业集团佳木斯鹿灵制药有限公司,国药准字 H19980148,批号:20240915,规格:0.25 g $\times$ 36 片),用纯净水配制成 26 mg/mL 溶液。

1.4 主要试剂

葡聚糖硫酸钠(dextran sulfate sodium, DSS)(美国 MP Biomedicals LLC 公司,批号:D8011);脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)(美国 Sigma-Aldrich 公司,批号:L2630);p-PI3K、PI3K、p-Akt、Akt、p-NF- κ B p65、NF- κ B p65、Claudin-3、JAM-A、Cingulin、HRP 标记山羊抗兔二抗(英国 Abcam plc 公司,货号:ab182651、ab191606、ab38449、ab179463、ab86299、ab16502、ab15102、ab216880、ab216327、ab205718);IL-1 β 、单核细胞趋化蛋白-1(monocyte chemotactic

protein-1, MCP-1)、IL-22 ELISA 试剂盒(美国 R&D Systems 公司,货号:MLB002、MLB00C、MLB004);TRIzol、逆转录试剂盒、SYBR Green qPCR 试剂盒(美国 Thermo Fisher Scientific 公司,货号:15596026、4368814、4367659);DMEM 高糖培养基、胎牛血清、青霉素-链霉素双抗(美国 Gibco 公司,货号:11965118、10099141、15140122);Transwell 小室(美国 Corning Inc 公司,货号:3413)。

1.5 主要仪器

透射电子显微镜(日本电子株式会社,型号:JEM-1400Plus);尤斯灌流室系统(美国 Physiologic Instruments 公司,型号:VCC MC8);酶标仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司,型号:Multiskan FC);电泳仪、PCR 仪(美国 Bio-Rad Laboratories 公司,型号:PowerPac HC、CFX96);超净工作台(苏州净化设备有限公司,型号:SW-CJ-2FD);高速冷冻离心机(德国艾本德 Eppendorf AG 公司,型号:Centrifuge 5810R)。

2 方法

2.1 动物造模与分组干预

取 60 只 C57BL/6 小鼠,用 3%DSS 溶液灌胃制备 UC 动物模型,造模方法及给药剂量参考前期研究^[1]。模型成功判定标准^[2]:随机选取 6 只小鼠,若 DAI 评分 ≥ 2.0 ,且伴随体质量下降 $\geq 5\%$ 、粪便性状异常(软便/腹泻)、隐血/肉眼血便,结肠病理切片显示黏膜充血水肿、炎症细胞浸润、隐窝损伤,则可判定造模成功。造模后选取 50 只小鼠,采用随机数字表法分为 5 组,每组 10 只,具体为模型组、LQ 组、HQ 组、阳性对照组、HQ+阳性对照组,另取 10 只 C57BL/6 小鼠作为正常组。各组干预方法如下:正常组全程正常饮水,每日给予等体积生理盐水(0.9%NaCl)灌胃(灌胃体积按 20 mL/kg 计算),持续 14 d;模型组第 1~7 天饮用 3%DSS 溶液构建 UC 模型,第 8~14 天恢复正常饮水,全程每日给予等体积生理盐水灌胃;LQ 组第 1~14 天每日给予 70 mg/mL 白芍七物颗粒溶液灌胃;HQ 组第 1~14 天每日给予 140 mg/mL 白芍七物颗粒溶液灌胃;阳性对照组第 1~14 天每日给予 26 mg/mL 美沙拉嗪溶液灌胃;HQ+阳性对照组第 1~14 天每日给予 140 mg/mL 白芍七物颗粒溶液灌胃+26 mg/mL 美沙拉嗪溶液灌胃。

2.2 小鼠一般情况观察与疾病活动指数 (disease activity index, DAI) 评分

每日固定时间点观察并记录小鼠精神状态、体重、粪便及便血情况, 计算各组小鼠 DAI^[12], 分数越高提示疾病越严重。

2.3 结肠组织标本采集与处理

实验第 14 天, 小鼠禁食不禁水 12 h 后, 采用 1% 戊巴比妥钠 (50 mg/kg) 腹腔注射麻醉, 颈椎脱臼处死, 立即打开腹腔, 沿肠系膜根部分离完整结肠, 用预冷的无菌生理盐水轻轻冲洗肠腔内容物, 用滤纸吸干表面水分。结肠长度测量: 用游标卡尺测量结肠长度, 记录数据。组织固定: 取结肠中段组织置于 4% 多聚甲醛固定液中, 4 ℃ 固定 24 h。部分结肠组织装入无酶冻存管, 立即置于液氮中速冻 10 min, 随后转移至 -80 ℃ 超低温冰箱保存。

2.4 结肠组织病理学评分

4% 多聚甲醛固定结肠组织, 梯度脱水, 透明, 石蜡包埋, 切片机切取 4 μm 厚连续切片, 贴附于多聚赖氨酸包被的载玻片上, 60 ℃ 烤片 2 h。常规 HE 染色, 中性树胶封片。参照结肠组织病理学评分标准^[13], 对结肠黏膜损伤进行量化评估: 0 分表示无炎症或隐窝损伤; 1 分表示基底 1/3 隐窝轻度炎症及损伤; 2 分表示基底 2/3 隐窝中度炎症及损伤; 3 分表示严重炎症伴全部隐窝消失 (表面仍存在上皮细胞); 4 分表示严重炎症伴全部隐窝消失 (表面无上皮细胞)。

2.5 结肠黏膜屏障功能检测

2.5.1 跨上皮电阻 (trans-epithelial electrical resistance, TEER) 检测 取新鲜结肠组织, 切取 1 cm 长的结肠段, 剪开肠管, 固定于尤斯室的黏膜侧与浆膜侧小室之间; 加入预热至 37 ℃ 的 KRB 缓冲液, 通入 95% O₂+5% CO₂ 混合气体, 37 ℃ 恒温平衡 30 min,

使用 Ussing Chamber 配套电极测量 TEER 值, 每 5 min 测量 1 次, 连续测量 3 次, 取平均值, 单位以 “Ω·cm²” 表示。TEER=测量电阻值×有效接触面积。

2.5.2 荧光素钠渗透实验 将上述 TEER 检测后的结肠组织转移至扩散小室, 黏膜侧加入含 1 mg/mL 荧光素钠的 KRB 缓冲液, 浆膜侧加入不含荧光素钠的 KRB 缓冲液。37 ℃ 恒温孵育 2 h, 每隔 30 min 轻轻摇晃小室。孵育结束后, 取浆膜侧缓冲液 100 μL, 酶标仪检测荧光强度。绘制荧光素钠标准曲线, 根据标准曲线计算浆膜侧荧光素钠浓度, 进而计算渗透量。荧光素钠渗透量 [μg/(cm²·h)] = (浆膜侧浓度×浆膜侧体积)/(有效接触面积×孵育时间)。

2.6 结肠组织炎症因子水平检测

取 -80 ℃ 保存的结肠组织, 按 1:10 加入含蛋白酶抑制剂的 PBS, 匀浆后 4 ℃、12 000 r/min 离心 15 min (离心半径为 15 cm) 取上清液。参照 ELISA 试剂盒说明书检测各组小鼠结肠组织 IL-1β、MCP-1、IL-22 水平, 采用酶标仪读取 450 nm 吸光度值, 绘制标准曲线计算浓度。

2.7 Western blot 检测

将组织或细胞加入 RIPA 裂解液中冰上裂解 30 min, 4 ℃、12 000 r/min 离心 15 min (离心半径为 15 cm) 取上清液, BCA 法测蛋白浓度。取 50 μg 蛋白进行 SDS-PAGE 电泳, 转印至 PVDF 膜, 5% 脱脂牛奶封闭 2 h, 孵育一抗 (p-PI3K、PI3K、p-Akt、Akt、p-NF-κB p65、NF-κB p65、Claudin-3、JAM-A、Cingulin, 1:1 000 稀释) 4 ℃ 过夜, TBST 洗膜 3 次 (每次 10 min), 二抗 (1:5 000 稀释) 室温孵育 1 h, ECL 显影, ImageJ 软件分析条带灰度值 (以 GAPDH 为内参)。

2.8 RT-qPCR 检测

TRIzol 试剂提取组织或细胞总 RNA, 检测纯度 (A260/A280=1.8~2.0) 后, 逆转录合成 cDNA。qPCR

表 1 引物序列

Table 1 Primer sequences

基因名称	正向引物 (5'-3')	反向引物 (5'-3')	引物长度/bp
PI3K	GAGGGCTACGACATGGAGAA	CAGGGTCATAGCGGAAGAGA	186
Akt	TGGACGGCAACATCAAGAAG	CAGAGGGAGCGATGAGAGTG	212
NF-κB p65	GGACGGACGACATCTACGAC	GCTGCTGCTGTTCTTCTTGG	198
Claudin-3	TGGACGGCAACATCAAGAAG	CAGAGGGAGCGATGAGAGTG	189
JAM-A	GACGGCTACGACATGGAGAA	CAGGGTCATAGCGGAAGAGA	205
Cingulin	GGACGGACGACATCTACGAC	GCTGCTGCTGTTCTTCTTGG	221
β-actin	AGGTCGGTGTGAACGGATTTG	TGTAGACCATGTAGTTGAGGTCA	197

反应体系:2×SYBR Green Master Mix 10 μ L,正反向引物各 0.5 μ L,cDNA 2 μ L,双蒸水 7 μ L。反应条件:95 $^{\circ}$ C预变性 30 s;95 $^{\circ}$ C变性 10 s,60 $^{\circ}$ C退火 30 s,40 个循环。以 β -actin 为内参,2^{- $\Delta\Delta$ C_T}法计算 mRNA 相对表达水平。引物序列见表 1。

2.9 Caco-2 细胞培养与屏障模型构建

2.9.1 细胞常规培养 Caco-2 细胞接种于含 10% 胎牛血清、1%青霉素-链霉素的 DMEM 高糖培养基中,置于 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 培养箱中培养,每 2~3 d 更换 1 次培养基,当细胞融合度达 80%~90%时,用 0.25% 胰蛋白酶消化传代,传代比例为 1:3。

2.9.2 Caco-2 细胞屏障模型构建 取对数生长期 Caco-2 细胞,调整细胞浓度至 5×10^5 个/mL,每孔加入 0.5 mL 细胞悬液接种于 Transwell 小室上室,下室加入 1.5 mL 培养基。培养期间每日更换上、下室培养基,培养 21 d,其间每隔 3 d 用 MillicellERS-2 电阻仪检测 TEER 值,当 TEER 值连续 3 d 稳定在 $>500 \Omega\cdot\text{cm}^2$ 时,视为肠道屏障模型构建成功^[14]。

2.10 白芍七物颗粒含药血清制备

参照《中药药理实验方法学》^[15]的中药含药血清标准制备方法,取小鼠 10 只,适应性喂养 3 d 后,每天给予 70 mg/mL 白芍七物颗粒进行灌胃,每天 1 次,连续 14 d。末次灌胃后 1 h,麻醉,腹主动脉采血,室温静置 2 h,3 000 r/min 离心 15 min(离心半径为 15 cm),取上清液。血清经 56 $^{\circ}$ C 水浴灭活 30 min,0.22 μ m 滤膜过滤除菌,即为白芍七物颗粒含药血清,-20 $^{\circ}$ C 分装保存。

2.11 Caco-2 细胞分组与干预

将构建成功的 Caco-2 细胞屏障模型随机分为 5 组,分别是空白组、模型组、白芍七物颗粒含药血清(YQ)组、阳性对照组、YQ+阳性对照组,每组 6 个复孔。空白组上、下室均加入正常培养基,培养 24 h;模型组上室加入含 1 μ g/mL LPS 的培养基,下室加入正常培养基,培养 24 h;YQ 组上室加入含 1 μ g/mL LPS+10%白芍七物颗粒含药血清的培养基,下室加入正常培养基,培养 24 h;阳性对照组上室加入含 1 μ g/mL LPS+2 μ g/mL 美沙拉嗪的培养基,下室加入正常培养基,培养 24 h;YQ+阳性对照组上室加入含 1 μ g/mL LPS+10%含药血清+2 μ g/mL 美沙拉嗪的培养基,下室加入正常培养基,培养 24 h。

2.12 Caco-2 细胞屏障功能与分子检测

2.12.1 TEER 检测 干预结束后,使用电阻仪测量 TEER 值。

2.12.2 荧光素钠渗透实验 上室加入含 1 mg/mL 荧光素钠的培养基 0.5 mL,下室加入正常培养基 1.5 mL,37 $^{\circ}$ C 孵育 2 h 后,取下室培养基 100 μ L,酶标仪检测荧光强度(激发波长 485 nm,发射波长 525 nm),参照“2.5.2”公式计算荧光素钠渗透量。

2.12.3 蛋白与 mRNA 检测 干预结束后,参照“2.7”“2.8”方法提取细胞总蛋白与总 RNA,检测 PI3K/Akt/NF- κ B 通路分子及 Claudin-3、JAM-A、Cingulin 的蛋白与 mRNA 表达。

2.13 统计学方法

采用 SPSS 26.0 统计软件进行数据分析,用 GraphPad Prism 9.0 软件绘制图表。所有计量资料均进行正态性检验(*Shapiro-Wilk test*)与方差齐性检验(*Levene test*),符合正态分布且方差齐的资料以“ $\bar{x}\pm s$ ”表示;多组间比较采用单因素方差分析(*One-way ANOVA*),组间两两比较采用 *LSD-t* 检验(方差齐)或 *Dunnett's T3* 检验(方差不齐),以 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 白芍七物颗粒对 UC 小鼠一般情况及 DAI 评分的影响

正常组小鼠精神良好,体质量稳定增长,粪便成形,无便血。模型组小鼠从第 3 天开始精神萎靡、体质量下降,粪便呈稀水样并出现肉眼血便,与正常组比较,体质量变化率降低($P<0.05$),DAI 评分升高($P<0.05$)。与模型组比较,LQ 组、HQ 组、阳性对照组及 HQ+阳性对照组小鼠精神状态改善,体质量变化率升高($P<0.05$),粪便性状好转,便血延迟且减轻,DAI 评分降低($P<0.05$);与 LQ 组比较,HQ 组、HQ+阳性对照组小鼠精神状态改善,体质量变化率升高($P<0.05$),粪便性状好转,便血延迟且减轻,DAI 评分降低($P<0.05$)。与阳性对照组比较,HQ+阳性对照组体质量变化率升高($P<0.05$),DAI 评分降低($P<0.05$)。详见表 2。

3.2 白芍七物颗粒对 UC 小鼠结肠长度及病理的影响

正常组小鼠结肠黏膜光滑完整,无充血水肿。与正常组比较,模型组结肠长度缩短、病理评分升高($P<0.05$),黏膜充血水肿、糜烂溃疡,肠腔狭窄。与模

表 2 各组小鼠体质量变化率及 DAI 评分比较($\bar{x}\pm s, n=10$)

Table 2 Comparison of body weight change rate and DAI scores among different groups of mice ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	体质量变化率/%	DAI 评分/分
正常组	8.5±1.2	0.0±0.0
模型组	-10.2±1.8*	2.5±0.2*
LQ 组	-3.1±1.1* [#]	1.2±0.2* [#]
HQ 组	-1.2±0.8* ^{#△}	0.8±0.1* ^{#△}
阳性对照组	-2.8±1.0* [#]	1.3±0.2* [#]
HQ+阳性对照组	2.3±0.9* ^{#△▲} *	0.3±0.1* ^{#△▲} *

注:与正常组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,* $P<0.05$;与 LQ 组比较, $^{\Delta}P<0.05$;与 HQ 组比较, $^{\Delta}P<0.05$;与阳性对照组比较,* $P<0.05$ 。

型组比较,各干预组结肠长度变长、病理评分降低($P<0.05$)。与 LQ 组比较,HQ 组及 HQ 组+阳性对照组结肠长度变长、病理评分降低($P<0.05$)。与 HQ 组比较,阳性对照组病理评分升高($P<0.05$);HQ+阳性对照组结肠长度变长、病理评分降低($P<0.05$)。与阳性对照组比较,HQ+阳性对照组结肠长度变长、病理评分降低($P<0.05$)。详见表 3、图 1。

3.3 白芍七物颗粒对 UC 小鼠肠道屏障功能的影响

与正常组比较,模型组 TEER 值下降、荧光素钠渗透量升高($P<0.05$),提示屏障通透性增加。与模型组比较,各干预组 TEER 值升高、荧光素钠渗透量降低($P<0.05$);与 LQ 组比较,HQ 组、HQ+阳性对照组 TEER 值升高、荧光素钠渗透量降低($P<0.05$)。与 HQ 组比较,阳性对照组 TEER 值降低、荧光素钠渗透量升高($P<0.05$);HQ+阳性对照组 TEER 值升高、

表 3 各组小鼠结肠长度及病理评分比较($\bar{x}\pm s, n=10$)

Table 3 Comparison of colon length and pathological scores among different groups of mice ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	结肠长度/cm	病理评分/分
正常组	7.5±0.6	0.2±0.1
模型组	4.3±0.3*	10.8±1.2*
LQ 组	5.6±0.4* [#]	6.5±0.8* [#]
HQ 组	6.2±0.5* ^{#△}	4.2±0.6* ^{#△}
阳性对照组	5.9±0.3* [#]	6.8±0.7* ^{#▲}
HQ+阳性对照组	6.5±0.5* ^{#△▲} *	2.1±0.4* ^{#△▲} *

注:与正常组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,* $P<0.05$;与 LQ 组比较, $^{\Delta}P<0.05$;与 HQ 组比较,* $P<0.05$;与阳性对照组比较,* $P<0.05$ 。

荧光素钠渗透量降低($P<0.05$)。与阳性对照组比较,HQ+阳性对照组 TEER 值升高、荧光素钠渗透量降低($P<0.05$)。详见表 4。

表 4 各组小鼠结肠黏膜 TEER 值及荧光素钠渗透量比较($\bar{x}\pm s, n=10$)

Table 4 Comparison of colonic mucosal TEER values and fluorescein sodium permeability among different groups of mice ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	TEER 值/($\Omega\cdot\text{cm}^2$)	荧光素钠渗透量/[$\mu\text{g}/(\text{cm}^2\cdot\text{h})$]
正常组	385.6±25.3	0.8±0.2
模型组	152.3±18.5*	4.5±0.6*
LQ 组	248.5±20.1* [#]	2.8±0.4* [#]
HQ 组	312.6±22.4* ^{#△}	1.6±0.3* ^{#△}
阳性对照组	235.8±19.7* ^{#▲}	3.0±0.5* ^{#▲}
HQ+阳性对照组	368.9±24.7* ^{#△▲} *	1.0±0.2* ^{#△▲} *

注:与正常组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,* $P<0.05$;与 LQ 组比较, $^{\Delta}P<0.05$;与 HQ 组比较,* $P<0.05$;与阳性对照组比较,* $P<0.05$ 。

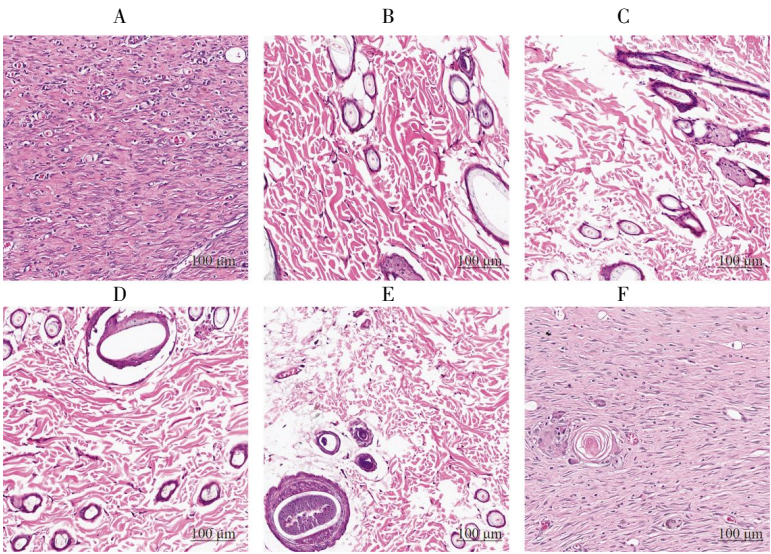


图 1 各组小鼠结肠组织 HE 染色结果(×200)

Fig.1 HE staining results of colon tissues of mice in each group (×200)

注:A.正常组;B.模型组;C.LQ 组;D.HQ 组;E.阳性对照组;F.HQ+阳性对照组。

3.4 白芍七物颗粒对 UC 小鼠结肠组织炎症因子水平的影响

与正常组比较,模型组 IL-1 β 、MCP-1 升高,IL-22 降低($P<0.05$)。与模型组比较,各干预组 IL-1 β 、MCP-1 降低,IL-22 升高($P<0.05$);与 LQ 组比较,HQ 组、HQ+阳性对照组 IL-1 β 、MCP-1 降低,IL-22 升高($P<0.05$);与 HQ 组比较,阳性对照组 IL-1 β 、MCP-1 升高,IL-22 降低($P<0.05$);HQ+阳性对照组 IL-1 β 、MCP-1 降低,IL-22 升高($P<0.05$)。与阳性对照组比较,HQ+阳性对照组 IL-1 β 、MCP-1 降低,IL-22 升高($P<0.05$)。详见表 5。

表 5 各组小鼠结肠组织炎症因子水平比较(pg/mg, $\bar{x}\pm s$, $n=10$)

Table 5 Comparison of inflammatory cytokine levels in colon tissues among different groups of mice (pg/mg, $\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	IL-1 β	MCP-1	IL-22
正常组	12.5 $\pm$ 2.1	8.3 $\pm$ 1.5	25.6 $\pm$ 3.2
模型组	68.9 $\pm$ 7.5*	45.2 $\pm$ 5.3*	8.9 $\pm$ 1.2*
LQ 组	42.3 $\pm$ 5.8**	28.5 $\pm$ 4.1**	16.8 $\pm$ 2.5**
HQ 组	25.6 $\pm$ 4.2** Δ	16.3 $\pm$ 3.2** Δ	21.5 $\pm$ 2.8** Δ
阳性对照组	45.8 $\pm$ 6.1** $\blacktriangle$	30.2 $\pm$ 4.5** $\blacktriangle$	15.6 $\pm$ 2.3** $\blacktriangle$
HQ+阳性对照组	15.8 $\pm$ 3.1 Δ $\blacktriangle$ $\ast$	10.2 $\pm$ 2.1 Δ $\blacktriangle$ $\ast$	24.3 $\pm$ 3.0 Δ $\blacktriangle$ $\ast$

注:与正常组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,** $P<0.05$;与 LQ 组比较, Δ $P<0.05$;与 HQ 组比较, $\blacktriangle$ $P<0.05$;与阳性对照组比较, $\ast$ $P<0.05$ 。

3.5 白芍七物颗粒对 UC 小鼠结肠组织通路分子及紧密连接蛋白表达的影响

3.5.1 各组小鼠结肠组织相关蛋白表达水平比较 与正常组比较,模型组结肠组织 Claudin-3、JAM-A、Cingulin 蛋白表达水平降低,p-PI3K、p-Akt、p-NF- κ B p65 蛋白表达水平升高($P<0.05$)。与模型组比较,各干预组 Claudin-3、JAM-A、Cingulin 表达水平升高,p-PI3K、p-Akt、p-NF- κ B p65 表达水平降低($P<$

0.05);与 LQ 组比较,HQ 组、HQ+阳性对照组 Claudin-3、JAM-A、Cingulin 表达水平升高,p-PI3K、p-Akt、p-NF- κ B p65 表达水平降低($P<0.05$)。与 HQ 组比较,阳性对照组 p-PI3K、JAM-A、Cingulin 表达水平降低,p-NF- κ B p65 表达水平升高($P<0.05$)。与阳性对照组比较,HQ+阳性对照组 p-PI3K、p-Akt、p-NF- κ B p65 蛋白表达水平降低,Claudin-3、JAM-A、Cingulin 蛋白表达水平升高($P<0.05$)。详见表 6、图 2。

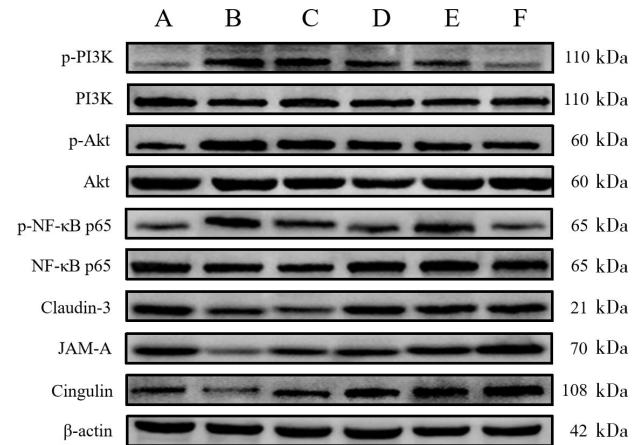


图 2 各组小鼠结肠组织相关蛋白条带图

Fig.2 Bands of related proteins in colon tissues in each group of mice

注:A.正常组;B.模型组;C.LQ 组;D.HQ 组;E.阳性对照组;F.HQ+阳性对照组。

3.5.2 各组小鼠结肠组织相关 mRNA 表达水平比较 与正常组比较,模型组结肠组织 NF- κ B p65 mRNA 表达水平升高,Claudin-3、JAM-A、Cingulin mRNA 表达水平降低($P<0.05$)。与模型组比较,各干预组 NF- κ B p65 mRNA 表达水平降低,Claudin-3、JAM-A、Cingulin mRNA 表达水平升高($P<0.05$);与 LQ 组比较,HQ 组、HQ+阳性对照组 NF- κ B p65 mRNA 表达水平降低,Claudin-3、JAM-A、Cingulin mRNA 表达水平升高($P<0.05$)。与 HQ 组比较,阳性

表 6 各组小鼠结肠组织相关蛋白表达水平比较($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

Table 6 Comparison of expression levels of related proteins in colon tissues among different groups of mice ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	p-PI3K/PI3K	p-Akt/Akt	p-NF- κ B p65/NF- κ B p65	Claudin-3/ β -actin	JAM-A/ β -actin	Cingulin/ β -actin
正常组	0.13 $\pm$ 0.01	0.24 $\pm$ 0.03	0.22 $\pm$ 0.04	0.92 $\pm$ 0.09	0.86 $\pm$ 0.07	0.87 $\pm$ 0.09
模型组	1.25 $\pm$ 0.09*	1.16 $\pm$ 0.10*	0.85 $\pm$ 0.09*	0.42 $\pm$ 0.05*	0.18 $\pm$ 0.04*	0.25 $\pm$ 0.04*
LQ 组	0.83 $\pm$ 0.05**	0.76 $\pm$ 0.05**	0.50 $\pm$ 0.07**	0.58 $\pm$ 0.07**	0.52 $\pm$ 0.09**	0.51 $\pm$ 0.06**
HQ 组	0.52 $\pm$ 0.04** Δ	0.64 $\pm$ 0.05** Δ	0.35 $\pm$ 0.05** Δ	0.75 $\pm$ 0.08** Δ	0.71 $\pm$ 0.07** Δ	0.71 $\pm$ 0.04** Δ
阳性对照组	0.37 $\pm$ 0.03** $\blacktriangle$	0.65 $\pm$ 0.06** $\blacktriangle$	0.47 $\pm$ 0.08** $\blacktriangle$	0.65 $\pm$ 0.06**	0.50 $\pm$ 0.05** $\blacktriangle$	0.48 $\pm$ 0.05** $\blacktriangle$
HQ+阳性对照组	0.19 $\pm$ 0.02 Δ $\blacktriangle$ $\ast$	0.37 $\pm$ 0.03 Δ $\blacktriangle$ $\ast$	0.27 $\pm$ 0.01 Δ $\blacktriangle$ $\ast$	0.88 $\pm$ 0.09 Δ $\blacktriangle$ $\ast$	0.84 $\pm$ 0.08 Δ $\blacktriangle$ $\ast$	0.85 $\pm$ 0.09 Δ $\blacktriangle$ $\ast$

注:与正常组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,** $P<0.05$;与 LQ 组比较, Δ $P<0.05$;与 HQ 组比较, $\blacktriangle$ $P<0.05$;与阳性对照组比较, $\ast$ $P<0.05$ 。

表 7 各组小鼠结肠组织相关 mRNA 相对表达水平比较($\bar{x}\pm s, n=10$)

Table 7 Comparison of relative expression levels of related mRNAs in colon tissues among different groups of mice ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	PI3K	Akt	NF-κB p65	Claudin-3	JAM-A	Cingulin
正常组	0.96±0.11	0.98±0.07	0.61±0.12	1.01±0.10	0.97±0.09	0.86±0.07
模型组	0.95±0.10	0.92±0.09	3.85±0.35*	0.35±0.05*	0.32±0.03*	0.28±0.02*
LQ 组	0.98±0.11	0.95±0.10	2.52±0.28* [#]	0.62±0.07* [#]	0.58±0.06* [#]	0.45±0.03* [#]
HQ 组	0.98±0.07	0.97±0.11	1.87±0.21* ^{#△}	0.83±0.09* ^{#△}	0.81±0.08* ^{#△}	0.61±0.05* ^{#△}
阳性对照组	0.96±0.10	0.93±0.09	2.65±0.30* ^{#▲}	0.58±0.06* ^{#▲}	0.55±0.05* ^{#▲}	0.59±0.04* [#]
HQ+阳性对照组	1.03±0.12	0.99±0.11	1.23±0.15* ^{#△▲} *	0.98±0.10* ^{#△▲} *	0.96±0.07* ^{#△▲} *	0.82±0.06* ^{#△▲} *

注:与正常组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,* $P<0.05$;与 LQ 组比较, $^{\Delta}P<0.05$;与 HQ 组比较, $^{\Delta}P<0.05$;与阳性对照组比较,* $P<0.05$ 。

对照组 NF-κB p65 mRNA 表达水平升高,Claudin-3、JAM-A 表达水平降低($P<0.05$);HQ+阳性对照组 NF-κB p65 mRNA 表达水平降低,Claudin-3、JAM-A、Cingulin 表达水平升高($P<0.05$)。与阳性对照组比较,HQ+阳性对照组 NF-κB p65 mRNA 表达水平降低,Claudin-3、JAM-A、Cingulin 表达水平升高($P<0.05$)。详见表 7。

3.6 白芍七物颗粒含药血清对 LPS 诱导 Caco-2 细胞屏障模型的影响

3.6.1 各组 Caco-2 细胞 TEER 值及荧光素钠渗透量比较 与空白组比较,模型组 TEER 值下降、荧光素钠渗透量上升($P<0.05$),提示细胞屏障损伤。与模型组比较,各干预组 TEER 值升高、荧光素钠渗透量降低($P<0.05$)。与 YQ 组比较,YQ+阳性对照组 TEER 值升高、荧光素钠渗透量降低($P<0.05$)。与阳性对照组比较,HQ+阳性对照组 TEER 值升高、荧光素钠渗透量降低($P<0.05$)。详见表 8。

表 8 各组 Caco-2 细胞 TEER 值及荧光素钠渗透量比较($\bar{x}\pm s, n=10$)

Table 8 Comparison of TEER values and fluorescein sodium permeability of Caco-2 cells among different groups ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	TEER 值/($\Omega\cdot\text{cm}^2$)	荧光素钠渗透量/[$\mu\text{g}/(\text{cm}^2\cdot\text{h})$]
正常组	585.6±35.2	0.5±0.1
模型组	212.3±25.6*	3.8±0.5*
YQ 组	385.6±32.4* [#]	1.8±0.3* [#]
阳性对照组	352.8±28.7* [#]	2.0±0.4* [#]
HQ+阳性对照组	558.9±34.7* ^{#△▲}	0.7±0.2* ^{#△▲}

注:与空白组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,* $P<0.05$;与 YQ 组比较, $^{\Delta}P<0.05$;与阳性对照组比较, $^{\Delta}P<0.05$ 。

3.6.2 各组 Caco-2 细胞相关蛋白及 mRNA 表达水平比较 与空白组比较,模型组 Caco-2 细胞 p-

PI3K、p-Akt、p-NF-κB p65 蛋白及 NF-κB p65 mRNA 表达水平升高($P<0.05$),Claudin-3、JAM-A、Cingulin 蛋白及 mRNA 表达水平降低($P<0.05$)。与模型组比较,YQ 组、阳性对照组、YQ+阳性对照组 p-PI3K、p-Akt、p-NF-κB p65 蛋白及 NF-κB p65 mRNA 表达水平降低($P<0.05$),Claudin-3、JAM-A、Cingulin 蛋白及 mRNA 表达水平升高($P<0.05$)。与 YQ 组比较,YQ+阳性对照组 p-PI3K、p-Akt、p-NF-κB p65 蛋白及 NF-κB p65 mRNA 表达水平降低($P<0.05$),Claudin-3、JAM-A、Cingulin 蛋白及 mRNA 表达水平升高($P<0.05$)。与阳性对照组比较,YQ+阳性对照组 p-PI3K、p-Akt、p-NF-κB p65 蛋白及 NF-κB p65 mRNA 表达水平降低($P<0.05$),Claudin-3、JAM-A、Cingulin 蛋白及 mRNA 表达水平升高($P<0.05$)。详见图 3、表 9—10。

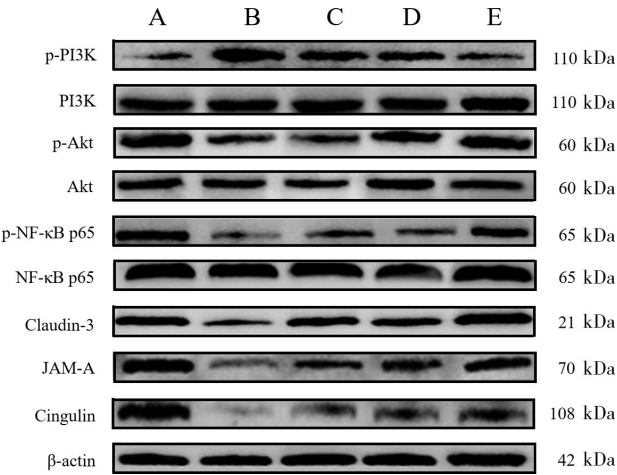


图 3 各组 Caco-2 细胞相关蛋白条带图

Fig.3 Bands of related proteins in Caco-2 cells in each group

注: A.空白组; B.模型组; C.YQ 组; D.阳性对照组; E.YQ+阳性对照组。

表 9 各组 Caco-2 细胞相关蛋白表达水平比较($\bar{x}\pm s, n=10$)

Table 9 Comparison of expression levels of related proteins of Caco-2 cells among different groups ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	p-PI3K/PI3K	p-Akt/Akt	p-NF-κB p65/NF-κB p65	Claudin-3/β-actin	JAM-A/β-actin	Cingulin/β-actin
正常组	0.25±0.04	0.74±0.06	0.23±0.03	0.95±0.10	0.90±0.09	0.92±0.10
模型组	0.88±0.09*	1.43±0.10*	0.88±0.10*	0.33±0.05*	0.29±0.02*	0.28±0.05*
YQ 组	0.62±0.07*#	1.12±0.09*#	0.61±0.05*#	0.72±0.06*#	0.68±0.07*#	0.70±0.08*#
阳性对照组	0.58±0.06*#	0.95±0.07*#	0.43±0.04*#△	0.68±0.07*#	0.65±0.06*#	0.66±0.07*#
HQ+阳性对照组	0.32±0.07*#△▲	0.77±0.06*#△▲	0.34±0.06*#△	0.91±0.06*#△▲	0.87±0.09*#△▲	0.89±0.10*#△▲

注:与正常组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,# $P<0.05$;与 YQ 组比较,△ $P<0.05$;与阳性对照组比较,▲ $P<0.05$ 。

表 10 各组 Caco-2 细胞相关 mRNA 表达水平比较($\bar{x}\pm s, n=10$)

Table 10 Comparison of expression levels of related mRNAs of Caco-2 cells among different groups ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	PI3K	Akt	NF-κB p65	Claudin-3	JAM-A	Cingulin
正常组	0.97±0.08	0.97±0.06	0.76±0.05	1.04±0.11	0.99±0.08	0.94±0.06
模型组	0.98±0.09	0.95±0.07	3.92±0.21*	0.38±0.06*	0.34±0.04*	0.31±0.04*
YQ 组	1.01±0.08	0.98±0.06	2.15±0.17*#	0.81±0.05*#	0.77±0.06*#	0.70±0.08*#
阳性对照组	0.99±0.11	0.96±0.09	2.32±0.15*#	0.78±0.08*#	0.75±0.07*#	0.68±0.05*#
HQ+阳性对照组	1.02±0.09	1.04±0.10	1.35±0.09*#△▲	0.97±0.09*#△▲	0.95±0.09*#△▲	0.81±0.03*#△▲

注:与正常组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,# $P<0.05$;与 YQ 组比较,△ $P<0.05$;与阳性对照组比较,▲ $P<0.05$ 。

4 讨论

UC 归属于中医学“泄泻”“肠澼”“休息痢”等范畴,湿热蕴结肠道为其核心病机之一,白芍七物颗粒是治疗 UC 的有效方剂^[10]。本研究通过体内实验证实,白芍七物颗粒可显著改善 UC 小鼠模型的一般状态、降低 DAI 评分、延长结肠长度、修复肠上皮组织损伤,同时提升肠道屏障 TEER 值、降低通透性,调控结肠特异性紧密连接蛋白 Claudin-3、JAM-A、Cingulin 与炎症因子 IL-1β、MCP-1、IL-22。从结构、功能、炎症多维度验证了白芍七物颗粒对 UC 肠道屏障的修复效应,提示白芍七物颗粒可同步调控炎症网络与结肠特异性紧密连接蛋白,多靶点协同作用,通过抑制 PI3K/Akt/NF-κB 通路,实现抗炎与肠道屏障修复的双重效应,契合 UC 的复杂病理特征。

在紧密连接修复层面,白芍七物颗粒干预后 UC 小鼠肠上皮 TEER 值显著升高,并与 Claudin-3、JAM-A、Cingulin 的表达上调同步。Claudin 是构成紧密连接的主要骨架蛋白^[16],其中 Claudin-3 具有屏障功能、栅栏功能和信号转导功能,紧密连接在细胞骨架的连接中起重要作用^[17];JAM 是一种完整的膜蛋白,位于上皮细胞和内皮细胞的细胞间连接处,能够有效阻止细菌内毒素、病原微生物等大分子物质通过上皮屏障,缺乏 JAM-A 可增加上皮细胞对大分子的通透性^[16,18];细胞骨架的正常与否在患者肠黏膜功能完整性方面具有重要意义,而 Cingulin 是一种可

以有效影响细胞骨架的关键蛋白^[19]。三者协同作用可实现从结构修复到功能恢复的屏障保护效应。在缓解肠道炎症方面,本研究在前期研究^[11]的基础上进一步探索炎症网络调控。NF-κB 作为免疫调节中的核心转录因子,其活化会增强 IL-1β 等促炎细胞因子的表达,进而推动 UC 的发生发展^[20];UC 中单核细胞以及内皮细胞在炎症因子的刺激下会产生大量的 MCP-1,促进免疫细胞聚集于肠黏膜组织,导致肠黏膜损伤^[21];IL-22 的升高则通过激活 STAT3 通路促进肠上皮细胞增殖,补充因炎症丢失的上皮细胞,为 TJ 修复提供细胞基础^[22]。“抑损伤-减浸润-促修复”的三维调控模式是药物打破 UC“炎症加剧-屏障损伤”恶性循环的关键,这与白芍七物颗粒“清热化湿以治因,行气调血以固本”的组方理念高度契合。

本研究发现,白芍七物颗粒含药血清可显著改善 LPS 诱导的细胞屏障损伤,且与美沙拉嗪联合使用时效果更佳,提示其对屏障与炎症的调控效应可能依赖于 PI3K/Akt 信号通路。白芍七物颗粒可通过磷酸化修饰抑制 PI3K/Akt 信号通路调控紧密连接蛋白及炎症因子网络,干预后 p-PI3K、p-Akt 的表达与 Claudin-3、JAM-A、Cingulin 的表达呈负相关,血清 IL-22 水平明显升高,且与美沙拉嗪联合应用后,血清 IL-22 水平进一步升高,提示特异性 TJ 蛋白及 IL-22 可能是促进 UC 肠黏膜修复的分子机制。NF-κB 通路过度活化是 UC 肠黏膜炎症与屏障损伤的

核心驱动因子,本研究中模型组 p-NF- κ B p65 的蛋白与 mRNA 表达显著升高,且与 IL-1 β 、MCP-1 水平呈正相关,证实 NF- κ B 在“炎症-屏障”中的关键作用。白芍七物颗粒对 PI3K/Akt/NF- κ B 信号通路的抑制作用可能主要通过两条途径实现:一是对 PI3K/Akt 的间接抑制,通过下调 PI3K、Akt 的磷酸化水平,抑制 PI3K/Akt/NF- κ B 信号通路的级联激活,进而抑制 IL-1 β 、MCP-1 等促炎因子的转录,发挥抗炎作用;二是通过 Cingulin 介导的间接抑制作用,Cingulin 表达与 p-NF- κ B p65 水平呈负相关,且 Cingulin 的 mRNA 表达上调与 NF- κ B p65 的 mRNA 表达下调同步,提示 Cingulin 具有抑炎的功能,进一步证实了白芍七物颗粒多靶点作用的治疗优势。相较于传统单一靶点西药,白芍七物颗粒可通过调控 PI3K/Akt/NF- κ B 信号通路发挥作用,减少炎症因子释放对紧密连接的损伤,加速紧密连接结构与功能的修复,弥补了前期研究^[23]对上下游炎性通路机制阐释的不足,也为 UC 的通路协同靶向治疗提供了新思路。

综上所述,白芍七物颗粒可通过抑制 PI3K/Akt/NF- κ B 信号通路,缓解肠道炎症,修复肠道损伤,打破 UC“炎症加剧-屏障损伤”的恶性循环,为 UC 的中西医结合靶向治疗提供实验依据与新的研究思路。但本研究仅采用雄性小鼠进行实验,未考虑性别差异对药物疗效及 PI3K/Akt/NF- κ B 通路调控的潜在影响;仅设置高低两个剂量组,未进一步细化剂量梯度,难以全面阐明药物的量效关系及最佳治疗剂量;研究结果均基于动物与细胞实验,缺乏 UC 患者临床样本验证,其临床转化价值仍需后续探索,仍需开展更深入的研究。

参考文献

- [1] 王一豪,刘朝霞.基于“微生物-肠-脑轴”浅析“脑肠同治”防治溃疡性结肠炎[J].湖南中医药大学学报,2025,45(7):1386-1393.
- [2] 张帆,刘森,刘娅欣,等.仙方活命饮加减治疗大肠湿热型溃疡性结肠炎的疗效观察[J].辽宁中医杂志,2025,52(12):114-117.
- [3] 刘东徽,任改艳,张蓓蓓,等.药根碱通过调控肠道菌群修复肠屏障损伤改善小鼠溃疡性结肠炎[J].上海中医药大学学报,2025,39(6):145-156.
- [4] 方晓洋,涂慧,周融融,等.多糖类物质调节肠道屏障功能的研究进展[J].中南药学,2025,23(9):2706-2712.
- [5] 马秀兰,王佳林,张兴艳,等.复方蜥蜴散凝胶对溃疡性结肠炎模型大鼠 Cingulin、Occludin、ZO-1 蛋白的表达影响[J].实用中医内科杂志,2022,36(8):7-10,146-147.
- [6] 龙茜,王宗奎,李长清,等.静注人免疫球蛋白对溃疡性结肠炎的治疗作用[J].中国输血杂志,2025,38(4):522-530.
- [7] El Mahdy R N, Nader M A, Helal M G, et al. Protective effect of Dulaglutide, a GLP1 agonist, on acetic acid-induced ulcerative colitis in rats: Involvement of GLP-1, TFF-3, and TGF- β /PI3K/NF- κ B signaling pathway[J]. Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology, 2025, 398(5): 5611-5628.
- [8] 詹心雨,徐慧妍,张海妹,等.加味芍药汤通过 PI3K/Akt/NF- κ B 通路抗溃疡性结肠炎大鼠肺气血屏障损伤的机制研究[J].中华中医药杂志,2025,40(7):3844-3850.
- [9] 潘渊,张磊,刘兆辉,等.白芍七物颗粒联合双歧杆菌三联活菌散对溃疡性结肠炎患者血清炎症因子及氧化应激指标的影响[J].新中医,2022,54(20):64-68.
- [10] 杨张琪.白芍七物颗粒治疗湿热蕴结证溃疡性结肠炎[D].长沙:湖南中医药大学,2023.
- [11] 杨芳.基于 TLR4/NF- κ B/NLRP3 炎症体信号研究白芍七物颗粒治疗 DSS 诱导小鼠溃疡性结肠炎模型[D].长沙:湖南中医药大学,2019.
- [12] Cooper H S, Murthy S N, Shah R S, et al. Clinicopathologic study of dextran sulfate sodium experimental murine colitis[J]. Laboratory Investigation, 1993, 69(2): 238-249.
- [13] Tolomeo A M, Castagliuolo I, Piccoli M, et al. Extracellular vesicles secreted by mesenchymal stromal cells exert opposite effects to their cells of origin in murine sodium dextran sulfate-induced colitis[J]. Frontiers in Immunology, 2021, 12: 627605.
- [14] Hidalgo I J, Raub T J, Borchardt R T. Characterization of the human colon carcinoma cell line (Caco-2) as a model system for intestinal epithelial permeability[J]. Gastroenterology, 1989, 96(3): 736-749.
- [15] 李仪奎.中药药理实验方法学[M].2版.上海:上海科学技术出版社,2006:36-40.
- [16] 杨巨如.白术多糖对吊尾大鼠肠道黏膜屏障的防护及机制研究[D].哈尔滨:哈尔滨工业大学,2021.
- [17] 李明航,刘海林,刁俊玲,等.紧密连接蛋白 Claudin-3 的研究进展[J].现代医药卫生,2022,38(11):1896-1899.
- [18] 郝彦伟.益火补土生肌法对脾肾虚型 UC 大鼠肠黏膜机械屏障损伤修复机制的研究[D].成都:成都中医药大学,2021.
- [19] 刘阳,徐纓龙.不同发病时期溃疡性结肠炎患者肠道菌群差异及对血清 TLRs/NF- κ B 和 SOCS-3 及 Cingulin 蛋白水平的影响[J].中国微生态学杂志,2020,32(11):1285-1288,1296.
- [20] 张曦文,马金玉,马华根,等.蒲黄炭纳米类成分对溃疡性结肠炎的治疗作用及机制研究[J].中草药,2025,56(24):9015-9026.
- [21] 周鑫,徐玲玲.香连化滞丸联合柳氮磺吡啶治疗溃疡性结肠炎的效果[J].中国药物经济学,2025,20(7):89-93.
- [22] 谢瑶,蒋海兵,何涛.5-氨基水杨酸联合粪菌移植对溃疡性结肠炎小鼠肠道 IL-22 水平的恢复作用[J].中国微生态学杂志,2025,37(8):906-913,923.
- [23] 曾于恒,杨芳,何永恒.白芍七物颗粒对 NLRP3 炎症体介导溃疡性结肠炎调控研究[J].时珍国医国药,2019,30(4):782-785.

(本文编辑 周旦)