

cancer and possible treatment approaches[J]. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*, 2020, 1873(1): 188314.

[7] 王其美, 王容容, 张迪, 等. 口服肝喜片配合三氧化二砷行肝动脉灌注化疗栓塞术治疗肝郁脾虚型原发性肝癌的临床研究[J]. *中华中医药杂志*, 2016, 31(3): 1121-1125.

[8] 傅剑锋, 潘博, 蔡美. 肝喜片配合介入治疗原发性肝癌 30 例疗效观察[J]. *湖南中医杂志*. 2012, 28(1): 10-11.

[9] Zheng Y Y, Li Y, Feng J, *et al.* Cellular based immunotherapy for primary liver cancer[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2021, 40(1): 250.

[10] 邓天好, 曾普华, 刘珍, 等. 基于“瘀、毒、虚”理论探析潘敏求论治肝癌的学术思想[J]. *中医肿瘤学杂志*, 2021, 3(6): 62-66.

[11] Ghafouri-Fard S, Aghabalazade A, Shooarei H, *et al.* The impact of lncRNAs and miRNAs on apoptosis in lung cancer[J]. *Front Oncol*, 2021, 11: 714795.

[12] Yang L Q, Li L, Chang P, *et al.* miR-25 regulates gastric cancer cell growth and apoptosis by targeting EGR2[J]. *Front Genet*, 2021, 12: 690196.

[13] Xiang Z, Miao Q, Zhang J, *et al.* AB4 inhibits Notch signaling and promotes cancer cell apoptosis in liver cancer[J]. *Oncol Rep*, 2021, 45(6): 112.

[14] Sheng S Q, Yu L Y, Zhou X W, *et al.* Paeonol prevents migration and invasion, and promotes apoptosis of cervical cancer cells by inhibiting 5-lipoxygenase[J]. *Mol Med Rep*, 2021, 23(6): 401.

[15] Tian X D, Wang Y D, Li S H, *et al.* ZHX2 inhibits proliferation and promotes apoptosis of human lung cancer cells through targeting p38MAPK pathway[J]. *Cancer Biomark*, 2020, 27(1): 75-84.

[16] Feng Y, Chen X L, Zheng Y, *et al.* Prognostic value and susceptibility of BAX rs4645878 polymorphism in cancer[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2018, 97(29): e11591.

[17] Clairefond S, Péant B, Ouellet V, *et al.* PUMA and NOXA expression in tumor-associated benign prostatic epithelial cells are predictive of prostate cancer biochemical recurrence[J]. *Cancers (Basel)*, 2020, 12(11): 3187.

[18] 秦莉花, 刘林, 成绍武, 等. 加味脑泰方对去势脑缺血大鼠海马 ATF4/CHOP/Puma 通路的影响[J]. *中国病理生理杂志*, 2019, 35(2): 365-369.

[19] 王蕴婷, 郑晓雅, 陈月, 等. 生长激素受体敲低状态下棕榈酸通过线粒体途径加重肝细胞凋亡[J]. *第三军医大学学报*, 2021, 43(21): 2366-2374.

[20] 黄智超, 李国峰, 郎一帆, 等. 中药诱导肺癌细胞凋亡机制的研究进展[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2021, 27(23): 226-236.

麸炒茅苍术水提物对 LPS 诱导人结肠上皮细胞炎症损伤的保护作用

于艳¹, 贾天柱², 吴振起³, 魏新智¹, 鞠业涛¹, 于永铎^{3*}
(1. 辽宁中医药大学附属医院中医药实验中心, 辽宁 沈阳 110847; 2. 辽宁中医药大学, 辽宁 沈阳 110847; 3. 辽宁中医药大学附属第二医院, 辽宁 沈阳 110034)

摘要: **目的** 考察麸炒茅苍术水提物对脂多糖 (LPS) 诱导正常人结肠上皮细胞 (HCoEpiC) 炎症损伤的保护作用。**方法** 以脂多糖复制人结肠上皮细胞炎症模型, MTT 法考察 HCoEpiC 细胞存活率, ELISA 法检测细胞上清液 IL-1 β 、IL-8、IL-12、IL-4、IL-6、TNF- α 水平, RT-qPCR 法检测细胞 *IKK α* 、*NF- κ B*、*TNF- α* 、*IL-4*、*IL-8*、*IL-6* mRNA 表达, Western blot 法检测 IL-8、IL-6、NF- κ B、IKK α 、p-IKK α 、p-IKK β 蛋白表达。**结果** 茅苍术生品和麸炒品水提物均能提高 HCoEpiC 细胞存活率 ($P<0.05$), 升高 IL-4 水平和 mRNA 表达 ($P<0.05$), 降低 IL-6、IL-8、IL-1 β 、IL-12、TNF- α 水平, 下调 *IL-6*、*IL-8*、*TNF- α* 、*NF- κ B* mRNA 表达及 IL-6、IL-8、p-IKK α 、p-IKK β 、NF- κ B 蛋白表达 ($P<0.05$), 并且麸炒品作用优于生品。**结论** 茅苍术水提物具有抗脂多糖诱导人结肠上皮细胞炎症损伤的作用, 其机制可能与调控 IKK/NF- κ B 信号通路有关, 麸炒后该作用有增强的趋势。

关键词: 茅苍术; 溃疡性结肠炎; 麸炒; 炎症; IKK/NF- κ B

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2023)04-1288-06

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2023.04.044

收稿日期: 2021-10-05
基金项目: 国家自然科学基金青年项目 (81803727); 辽宁省教育厅一般项目 (L201906, L202017); 辽宁省博士启动基金项目 (20180540125)
作者简介: 于艳 (1980—), 女, 博士, 主任中药师, 从事中药炮制研究。E-mail: 95142012@qq.com
***通信作者:** 于永铎 (1971—), 男 (满族), 博士, 教授, 主任医师, 从事中医药防治肛肠疾病研究

溃疡性结肠炎被世界卫生组织列为难治性疾病之一，属于慢性炎症性肠病，病程长，易复发，难以治愈^[1-3]，而且有诱发结肠癌的风险^[4-5]。中医将溃疡性结肠炎归为“肠癖”“久痢”“泄泻”等范畴，脾虚失运、肠失传导是其发病的主要原因，属本虚标实证^[6-7]。

茅苍术为菊科植物茅苍术 *Atractylodes lancea* Thunb. DC. 的根茎，药用历史悠久，被广泛用于消化系统疾病^[8]。中药炮制是我国特有的一项传统制药技术^[9]，“生熟异治”是中医药应用中的一大鲜明特色^[10]。关于茅苍术的炮制，历来有很多种方法，但最为常用的为麸炒法^[11]。文献对茅苍术炮制后健脾燥湿药理作用变化的研究相对较多，认为炮制降低了其燥性，增强了其健脾作用^[12-14]。茅苍术治疗溃疡性结肠炎的作用及机理研究的报道相对较少，而生品与麸炒茅苍术抗溃疡性结肠炎作用的比较更是未见相关报道。本研究以 LPS 诱导 HCoEpiC 炎症模型，比较生品和麸炒品茅苍术水提物抗溃疡性结肠炎的作用，并基于 IKK/NF-κB 信号通路探讨其作用机制，以期为茅苍术在临床的“生熟异治”提供参考依据，为临床合理应用奠定理论基础。

1 材料

1.1 细胞 人结肠上皮细胞 HCoEpiC，购自广州吉妮欧生物科技有限公司。

1.2 仪器 HERAcell 150i 型二氧化碳细胞培养箱（美国 Thermo Scientific 公司）；DU640 型核酸蛋白分析仪（美国 Beckman 公司）；Stratgene M3000 型荧光定量 PCR 仪（美国 Agilent 公司）；infinite M200 型多功能酶标仪（奥地利 Tecan 公司）。

1.3 试剂与药物 茅苍术产地江苏，经辽宁中医药大学药学院中药鉴定教研室翟延君教授鉴定为菊科植物茅苍术 *Atractylodes lancea* Thunb. DC. 的根茎，其麸炒品为课题组严格按照 2020 年版《中国药典》四部通则 0213（麸炒法）制成。DMEM 培养基（货号 SH30022.01，美国 HyClone 公司）；胎牛血清、胰蛋白酶（美国 Gibco 公司）；TRIzol 试剂（货号 15596018，美国 Invitrogen 公司）；荧光定量 PCR 试剂盒、反转录试剂盒 [货号 RR42LR、RR047A，宝生物工程（大连）有限公司]；ELISA 试剂盒（美国 Ameko 公司）；二甲基亚砜（DMSO）（货号 67-68-5，北京索莱宝科技有限公司）。

2 方法

2.1 细胞培养与传代 HCoEpiC 接种在含有 10% 胎牛血清的 DMEM 培养液中（含 100 μg/mL 青霉素和 100 U/mL 链霉素），37 ℃、5% CO₂ 培养、传代，选取对数生长期者用于后续实验。实验前吸去完全培养基，换为含有 0.5% 胎牛血清的 DMEM 培养基饥饿培养 12 h。

2.2 茅苍术水提物制备 取生品和麸炒品适量，置于圆底烧瓶中，加 10 倍量水加热回流提取 2 次，每次 1 h，合并 2 次提取液，浓缩成稠膏，于 50 ℃ 真空条件下干燥，粉碎，过 100 目筛，临用时用 DMEM 培养基溶解稀释，0.22 μm

微孔滤膜过滤除菌。

2.3 MTT 法考察茅苍术水提物对 HCoEpiC 细胞活性的影响 HCoEpiC 细胞分为正常组、模型组、生品及麸炒品水提物组（50、100、250、500、1 000 μg/mL），模型组与各给药组予以脂多糖（LPS，10 μg/mL）造模，分别培养 12、24、48、72 h，MTT 法测定 HCoEpiC 细胞存活率。

2.4 造模及分组给药 将 HCoEpiC 细胞分为 8 组，即正常组，模型组，生品及麸炒品低、中、高剂量组（100、250、500 μg/mL），除正常组以外，其余各组均以 LPS 造模，加入以上各药物分别培养 24、48、72 h。

2.5 ELISA 法检测细胞上清液中 IL-1β、IL-4、IL-6、IL-8、IL-12、TNF-α 水平 收集各组细胞培养上清液，按 ELISA 试剂盒说明书操作，多功能酶标仪在 450 nm 波长处检测吸光度，计算细胞上清液中 IL-1β、IL-4、IL-6、IL-8、IL-12、TNF-α 水平。

2.6 RT-qPCR 法检测细胞 *NF-κB*、*IKKα*、*IL-4*、*IL-8*、*IL-6*、*TNF-α* mRNA 表达 收集各组 HCoEpiC 细胞，加入 TRIzol 后匀浆，4 ℃、12 000×*g* 离心 10 min，取上清液，按照说明书操作，苯酚/三氯甲烷提取和异丙醇沉淀法分离总 RNA，核酸蛋白分析仪测定吸光度，计算总 RNA 浓度。将提取的 RNA 反转录为 cDNA（37 ℃ 15 min，85 ℃ 5 s），随后进行 DNA 扩增反应，条件为 95 ℃ 预变性 3 min；95 ℃ 变性 5 s，60 ℃ 退火 1 min，采集荧光信号，重复 40 个循环。以 *β-actin* 为内参，2^{-ΔΔCT} 法计算目的基因 mRNA 相对表达。引物序列见表 1。

表 1 引物序列

基因	引物序列(5'→3')	长度/bp
<i>IKKα</i>	正向 GAAGGTGCAGTAACCCCTCA	108
	反向 TGCTGAAGTCTCCCCATCTTG	
<i>NF-κB</i>	正向 CTTAGGAGGGAGAGCCAC	109
	反向 TGAAACATTTGTTTCAGGCCTTCC	
<i>IL-4</i>	正向 CTTTGCTGCCTCCAAGAACAC	97
	反向 GCGAGTGTCTTCTCATGGT	
<i>IL-6</i>	正向 ACCCCCAGGAGAAGATTCCA	129
	反向 TTACATGTCTCTTCTCTCAGGGC	
<i>IL-8</i>	正向 GAAGTTTTTGAAGAGGGCTGAGA	92
	反向 TTTTGCTGAAGTTTCACTGGCA	
<i>TNF-α</i>	正向 CCCATGTTGTAGCAAACCCCTC	96
	反向 TATCTCTCAGCTCCACGCCA	
<i>β-actin</i>	正向 GAGCACAGAGCCTCGCCTTT	70
	反向 TCATCATCCATGGTGAGCTGG	

2.7 Western blot 法检测细胞 IL-6、IL-8、IKKα、p-IKKα、p-IKKβ、NF-κB 蛋白表达 收集各组细胞，加适量 RIPA 裂解液裂解细胞，提取总蛋白，BCA 法测定总蛋白量。SDS-PAGE 凝胶每孔上样 30 μg，电泳分离后转膜，封闭，一抗 4 ℃ 孵育过夜，二抗室温孵育 1 h，ECL 发光显影，Image J 软件进行灰度值分析。以 *β-actin* 为内参，对 IL-6、IL-8、IKKα、p-IKKα、p-IKKβ、NF-κB 与 *β-actin* 的总灰度值比值进行统计分析。

2.8 统计学分析 通过 SPSS 20.0 软件进行处理，计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示，多组间比较采用单因素方差分析。

$P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 茅苍术水提物对 HCoEpiC 细胞存活率的影响 与正常组比较,模型组细胞存活率降低 ($P<0.05$);与模型组

比较,生品和麸炒品各剂量组细胞在培养 12、24、48、72 h后,存活率均升高 ($P<0.05$);与同剂量生品组比较,麸炒品组呈现更优的作用趋势 ($P<0.05$),见表 2。

表 2 茅苍术水提物对 HCoEpiC 细胞存活率的影响 ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	12 h	24 h	48 h	72 h
正常组	100.0±2.5 *	100.0±9.8 *	100.0±1.5 *	100.0±12.0 *
模型组	58.3±2.9	37.1±0.3	42.0±10.0	27.9±5.6
生品 50 μg/mL 组	64.0±3.1	40.1±4.0	49.3±2.5	43.8±6.0 *
生品 100 μg/mL 组	76.9±3.9 *	46.8±1.6 *	45.9±3.2	41.9±4.2 *
生品 250 μg/mL 组	64.5±4.3	53.9±6.3 *	63.5±6.5 *	52.3±8.3 *
生品 500 μg/mL 组	63.3±5.9	61.5±0.8 *	68.5±4.8 *	67.8±4.4 *
生品 1 000 μg/mL 组	73.7±0.3 *	74.3±12.5 *	77.8±8.5 *	74.8±8.7 *
麸炒品 50 μg/mL 组	75.3±1.8 **	40.9±3.1	48.9±2.2	42.2±3.6 *
麸炒品 100 μg/mL 组	72.2±4.0 *	44.6±2.3	50.3±2.3	48.9±1.4 *
麸炒品 250 μg/mL 组	68.1±5.2 *	63.7±1.4 **	69.0±5.7 *	58.2±7.0 *
麸炒品 500 μg/mL 组	72.2±2.7 **	71.3±0.4 **	80.7±1.9 **	72.3±7.5 *
麸炒品 1 000 μg/mL 组	68.5±4.5 *	77.8±8.8 *	76.7±4.5 *	70.8±9.2 *

注:与模型组比较,* $P<0.05$;与同剂量生品组比较,** $P<0.05$ 。

3.2 茅苍术水提物对 HCoEpiC 细胞上清液中 IL-1β、IL-4、IL-6、IL-8、IL-12、TNF-α 水平的影响 与正常组比较,模型组细胞上清液中 IL-4 水平降低 ($P<0.05$),IL-1β、IL-8、IL-6、TNF-α、IL-12 水平升高 ($P<0.05$);与模型组比较,生品和麸炒品各剂量组细胞在培养 24、48、72 h 后,上清液中 IL-4 水平升高 ($P<0.05$),IL-1β、IL-8、IL-6、TNF-α、IL-12 水平降低 ($P<0.05$),并呈现剂量依赖性;与同剂量生品组比较,麸炒品组呈现更优的作用趋势,见表 3~8。

表 3 各组细胞上清液中 IL-1β 水平比较 (ng/L, $\bar{x}\pm s, n=8$)

组别	24 h	48 h	72 h
正常组	6.17±0.14 *	7.04±0.77 *	6.14±0.21 *
模型组	16.90±0.44	17.95±0.42	17.78±0.23
生品低剂量组	14.10±0.49 *	14.66±0.23 *	14.44±0.61 *
生品中剂量组	12.27±0.32 *	12.73±0.24 *	12.47±0.21 *
生品高剂量组	8.01±0.62 *	8.24±0.27 *	7.32±0.47 *
麸炒品低剂量组	13.18±0.39 **	14.55±1.85 *	14.10±0.13 *
麸炒品中剂量组	7.76±0.25 **	7.99±0.67 **	7.57±0.49 **
麸炒品高剂量组	7.16±0.46 **	7.78±0.75 *	7.37±0.49 *

注:与模型组比较,* $P<0.05$;与同剂量生品组比较,** $P<0.05$ 。

表 4 各组细胞上清液中 IL-4 水平比较 (ng/L, $\bar{x}\pm s, n=8$)

组别	24 h	48 h	72 h
正常组	149.24±7.79 *	154.60±12.97 *	152.86±13.79 *
模型组	96.91±1.30	95.94±2.40	97.18±0.76
生品低剂量组	114.37±3.51 *	116.55±4.26 *	114.81±3.39 *
生品中剂量组	127.05±5.43 *	118.58±3.95 *	123.50±4.13 *
生品高剂量组	122.93±1.11 *	128.36±3.01 *	126.49±1.22 *
麸炒品低剂量组	115.08±2.06 *	116.73±2.79 *	120.28±1.50 *
麸炒品中剂量组	129.45±6.93 *	141.70±7.78 **	123.03±4.89 *
麸炒品高剂量组	127.25±9.19 *	146.08±8.91 **	130.76±7.35 *

注:与模型组比较,* $P<0.05$;与同剂量生品组比较,** $P<0.05$ 。

表 5 各组细胞上清液中 IL-6 水平比较 (ng/L, $\bar{x}\pm s, n=8$)

组别	24 h	48 h	72 h
正常组	2.83±0.07 *	2.82±0.07 *	2.73±0.04 *
模型组	7.34±0.32	6.30±0.26	6.36±0.24
生品低剂量组	5.26±0.16 *	5.39±0.12 *	5.45±0.13 *
生品中剂量组	4.90±0.23 *	4.69±0.38 *	4.46±0.13 *
生品高剂量组	4.55±0.70 *	4.48±0.03 *	4.73±0.10 *
麸炒品低剂量组	4.84±0.06 **	5.08±0.09 **	5.18±0.16 *
麸炒品中剂量组	4.16±0.11 **	4.50±0.31 *	4.39±0.34 *
麸炒品高剂量组	3.23±0.43 **	3.07±0.25 **	3.40±0.35 **

注:与模型组比较,* $P<0.05$;与同剂量生品组比较,** $P<0.05$ 。

表 6 各组细胞上清液中 IL-8 水平比较 (ng/L, $\bar{x}\pm s, n=8$)

组别	24 h	48 h	72 h
正常组	142.52±8.13 *	147.72±6.11 *	137.13±11.03 *
模型组	426.10±21.68	463.82±32.55	444.23±20.40
生品低剂量组	357.80±13.53 *	383.60±18.49 *	368.28±11.46
生品中剂量组	264.05±11.11 *	273.47±8.55 *	254.57±10.65 *
生品高剂量组	201.63±4.41 *	208.55±6.34 *	198.57±11.85 *
麸炒品低剂量组	302.15±11.94 **	317.68±11.92 **	301.27±18.59 **
麸炒品中剂量组	210.65±14.33 **	211.95±7.99 **	191.40±6.16 **
麸炒品高剂量组	190.53±14.41 *	178.12±13.91 **	167.52±8.08 **

注:与模型组比较,* $P<0.05$;与同剂量生品组比较,** $P<0.05$ 。

表 7 各组细胞上清液中 IL-12 水平比较 (ng/L, $\bar{x}\pm s, n=8$)

组别	24 h	48 h	72 h
正常组	56.53±7.62 *	59.28±5.66 *	66.25±4.51 *
模型组	165.04±3.30	178.56±1.60	181.66±1.27
生品低剂量组	150.52±3.33 *	155.83±2.69 *	153.84±5.49 *
生品中剂量组	123.56±3.36 *	136.93±1.45 *	121.28±9.02 *
生品高剂量组	78.59±1.81 *	83.76±1.11 *	76.57±4.14 *
麸炒品低剂量组	133.92±3.74 **	142.96±2.90 **	146.15±3.95 **
麸炒品中剂量组	78.44±4.47 **	76.92±4.77 **	77.93±4.78 **
麸炒品高剂量组	77.40±6.72 *	78.11±3.20 *	70.06±3.54 *

注:与模型组比较,* $P<0.05$;与同剂量生品组比较,** $P<0.05$ 。

表 8 各组细胞上清液中 TNF-α 水平比较 (ng/L, $\bar{x}\pm s$, $n=8$)

组别	24 h	48 h	72 h
正常组	41.58±1.82 [*]	35.49±2.49 [*]	35.70±2.77 [*]
模型组	134.12±5.58	122.48±2.26	130.84±3.05
生品低剂量组	97.27±1.72 [*]	102.80±3.55 [*]	97.91±1.32 [*]
生品中剂量组	87.55±2.96 [*]	84.99±2.22 [*]	82.27±1.97 [*]
生品高剂量组	69.05±1.25 [*]	71.53±3.45 [*]	70.85±2.54 [*]
麸炒品低剂量组	93.76±1.81 [*]	98.86±8.19 [*]	93.58±2.37 ^{*#}
麸炒品中剂量组	48.16±2.72 ^{*#}	44.83±1.74 ^{*#}	43.98±2.45 ^{*#}
麸炒品高剂量组	52.57±1.64 ^{*#}	48.45±1.75 ^{*#}	48.33±1.43 ^{*#}

注：与模型组比较，^{*} $P<0.05$ ；与同剂量生品组比较，[#] $P<0.05$ 。

3.3 茅苍术水提取物对细胞 *IL-4*、*IL-6*、*IL-8*、*TNF-α*、*IKKα*、*NF-κB* mRNA 表达的影响 与正常组比较，模型组细胞 *IL-4* mRNA 表达降低 ($P<0.05$)，*TNF-α*、*IL-6*、*IL-8*、*NF-κB* mRNA 表达升高 ($P<0.05$)，而 *IKKα* mRNA 表达无明显变化 ($P>0.05$)；与模型组比较，生品和麸炒品各剂量组细胞 *IL-4* mRNA 升高 ($P<0.05$)，*TNF-α*、*IL-6*、*IL-8*、*NF-κB* mRNA 表达降低 ($P<0.05$)，*IKKα* mRNA 表达无明显变化 ($P>0.05$)；与同剂量生品组比较，麸炒品组呈现更优的作用趋势 ($P<0.05$)，见表 9~14。

表 9 各组细胞 *IL-4* mRNA 表达比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	24 h	48 h	72 h
正常组	1.00±0.06 [*]	1.00±0.07 [*]	1.00±0.05 [*]
模型组	0.66±0.04	0.61±0.05	0.60±0.03
生品低剂量组	0.78±0.02 [*]	0.77±0.06 [*]	0.80±0.05 [*]
生品中剂量组	0.86±0.05 [*]	0.77±0.05 [*]	0.77±0.03 [*]
生品高剂量组	0.89±0.05 [*]	0.81±0.06 [*]	0.79±0.04 [*]
麸炒品低剂量组	0.84±0.06 [*]	0.82±0.05 [*]	0.80±0.02 [*]
麸炒品中剂量组	0.93±0.06 ^{*#}	0.85±0.04 ^{*#}	0.77±0.05 [*]
麸炒品高剂量组	0.93±0.07 [*]	0.88±0.04 ^{*#}	0.80±0.04 [*]

注：与模型组比较，^{*} $P<0.05$ ；与同剂量生品组比较，[#] $P<0.05$ 。

表 10 各组细胞 *IL-6* mRNA 表达比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	24 h	48 h	72 h
正常组	1.00±0.04 [*]	1.00±0.06 [*]	1.00±0.06 [*]
模型组	2.57±0.18	2.88±0.16	3.47±0.16
生品低剂量组	2.14±0.12 [*]	2.39±0.17 [*]	2.68±0.18 [*]
生品中剂量组	2.04±0.07 [*]	2.19±0.09 [*]	2.38±0.11 [*]
生品高剂量组	2.00±0.14 [*]	1.91±0.07 [*]	2.45±0.10 [*]
麸炒品低剂量组	2.03±0.12 [*]	2.34±0.16 [*]	2.74±0.08 [*]
麸炒品中剂量组	1.88±0.11 ^{*#}	2.02±0.10 ^{*#}	2.28±0.14 [*]
麸炒品高剂量组	1.80±0.08 ^{*#}	2.02±0.10 [*]	1.96±0.11 ^{*#}

注：与模型组比较，^{*} $P<0.05$ ；与同剂量生品组比较，[#] $P<0.05$ 。

3.4 茅苍术水提取物对细胞 *IL-6*、*IL-8*、*IKKα*、*p-IKKα*、*p-IKKβ*、*NF-κB* 蛋白表达的影响 与正常组比较，模型组细胞 *IL-6*、*IL-8*、*NF-κB*、*p-IKKα*、*p-IKKβ* 蛋白表达升高 ($P<0.05$)，*IKKα* 蛋白表达无明显变化 ($P>0.05$)；与模型

表 11 各组细胞 *IL-8* mRNA 表达比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	24 h	48 h	72 h
正常组	1.00±0.05 [*]	1.00±0.05	1.00±0.07 [*]
模型组	3.37±0.19	3.47±0.17	3.58±0.16
生品低剂量组	2.65±0.12 [*]	2.70±0.13 [*]	2.78±0.16 [*]
生品中剂量组	2.20±0.11 [*]	2.18±0.12 [*]	2.33±0.10 [*]
生品高剂量组	1.97±0.10 [*]	2.07±0.14 [*]	2.02±0.15 [*]
麸炒品低剂量组	2.57±0.14 [*]	2.48±0.12 ^{*#}	2.51±0.16 ^{*#}
麸炒品中剂量组	2.33±0.16 [*]	2.10±0.19 [*]	2.07±0.10 ^{*#}
麸炒品高剂量组	1.88±0.04 [*]	1.98±0.12 [*]	1.98±0.13 [*]

注：与模型组比较，^{*} $P<0.05$ ；与同剂量生品组比较，[#] $P<0.05$ 。

表 12 各组细胞 *TNF-α* mRNA 表达比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	24 h	48 h	72 h
正常组	1.00±0.04 [*]	1.00±0.05	1.00±0.03 [*]
模型组	4.11±0.28	4.53±0.24	4.73±0.30
生品低剂量组	3.02±0.23 [*]	3.49±0.24 [*]	3.24±0.20 [*]
生品中剂量组	2.83±0.10 [*]	2.88±0.13 [*]	2.96±0.12 [*]
生品高剂量组	2.48±0.11 [*]	2.64±0.12 [*]	2.59±0.15 [*]
麸炒品低剂量组	2.94±0.22 [*]	3.20±0.23 [*]	3.11±0.24 [*]
麸炒品中剂量组	2.08±0.13 ^{*#}	1.98±0.04 ^{*#}	2.17±0.14 ^{*#}
麸炒品高剂量组	2.09±0.11 ^{*#}	2.19±0.16 ^{*#}	2.06±0.12 ^{*#}

注：与模型组比较，^{*} $P<0.05$ ；与同剂量生品组比较，[#] $P<0.05$ 。

表 13 各组细胞 *IKKα* mRNA 表达比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	24 h	48 h	72 h
正常组	1.00±0.06	1.00±0.03	1.00±0.06
模型组	1.02±0.05	1.00±0.05	0.98±0.04
生品低剂量组	1.01±0.04	0.93±0.06	1.02±0.02
生品中剂量组	1.01±0.04	0.98±0.08	0.98±0.06
生品高剂量组	0.97±0.05	0.99±0.07	1.01±0.04
麸炒品低剂量组	1.05±0.08	1.00±0.04	1.01±0.05
麸炒品中剂量组	1.00±0.06	0.98±0.06	0.98±0.07
麸炒品高剂量组	0.99±0.07	0.98±0.08	1.00±0.07

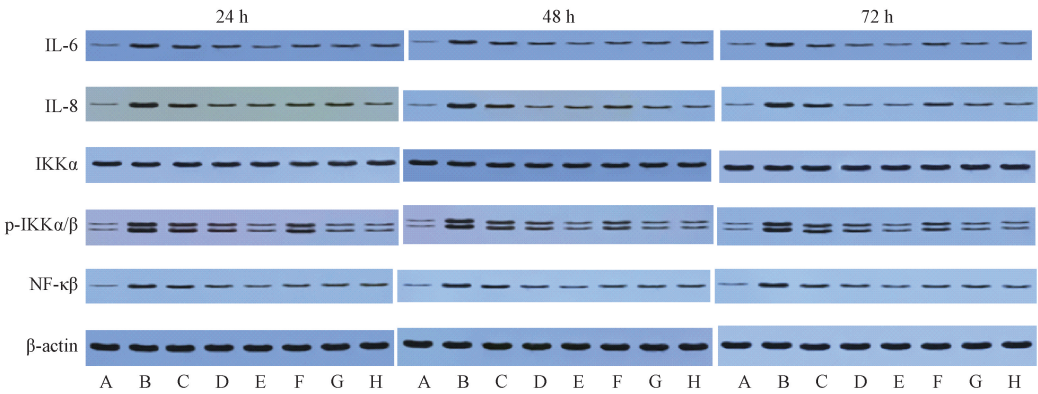
注：与模型组比较，^{*} $P<0.05$ ；与同剂量生品组比较，[#] $P<0.05$ 。

表 14 各组细胞 *NF-κB* mRNA 表达比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	24 h	48 h	72 h
正常组	1.00±0.06 [*]	1.00±0.05 [*]	1.00±0.07 [*]
模型组	2.55±0.18	2.59±0.15	2.70±0.15
生品低剂量组	2.12±0.14 [*]	2.23±0.14 [*]	2.21±0.09 [*]
生品中剂量组	2.05±0.09 [*]	2.16±0.09 [*]	2.14±0.08 [*]
生品高剂量组	2.01±0.13 [*]	2.08±0.04 [*]	2.08±0.13 [*]
麸炒品低剂量组	2.15±0.15 [*]	2.12±0.12 [*]	2.05±0.10 ^{*#}
麸炒品中剂量组	1.99±0.14 [*]	2.01±0.12 ^{*#}	1.87±0.11 ^{*#}
麸炒品高剂量组	1.89±0.12 [*]	1.83±0.11 ^{*#}	1.79±0.13 ^{*#}

注：与模型组比较，^{*} $P<0.05$ ；与同剂量生品组比较，[#] $P<0.05$ 。

组比较，生品和麸炒品各剂量组细胞 *IL-6*、*IL-8*、*NF-κB*、*p-IKKα*、*p-IKKβ* 蛋白表达降低 ($P<0.05$)，*IKKα* 蛋白表达无明显变化 ($P>0.05$)；与同剂量生品组比较，麸炒品组呈现更优的作用趋势，见图 1、表 15~20。



注：A 为正常组，B 为模型组，C~E 为生品低、中、高剂量组，F~H 为麸炒品低、中、高剂量组。

图 1 各组细胞 IL-6、IL-8、IKKα、p-IKKα、p-IKKβ、NF-κB 蛋白条带

表 15 各组细胞 IL-6 蛋白表达比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

组别	24 h	48 h	72 h
正常组	1.00±0.04 *	1.00±0.08 *	1.00±0.08 *
模型组	2.95±0.16	2.93±0.06	2.41±0.05
生品低剂量组	2.34±0.12 *	2.52±0.25 *	1.68±0.33 *
生品中剂量组	1.91±0.05 *	1.87±0.11 *	1.15±0.08 *
生品高剂量组	1.53±0.07 *	1.49±0.10 *	0.91±0.11 *
麸炒品低剂量组	1.73±0.17 *#	1.80±0.11 *#	1.68±0.04 *
麸炒品中剂量组	1.89±0.07 *	1.83±0.05 *	1.06±0.08 *
麸炒品高剂量组	1.60±0.16 *	1.55±0.21 *	0.96±0.07 *

注：与模型组比较，* $P<0.05$ ；与同剂量生品组比较，# $P<0.05$ 。

表 16 各组细胞 IL-8 蛋白表达比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

组别	24 h	48 h	72 h
正常组	1.00±0.15 *	1.00±0.03 *	1.00±0.13 *
模型组	3.78±0.21	3.70±0.08	3.76±0.05
生品低剂量组	2.83±0.06 *	2.81±0.11 *	2.87±0.04 *
生品中剂量组	1.75±0.09 *	1.51±0.06 *	1.27±0.02 *
生品高剂量组	1.66±0.04 *	1.82±0.13 *	1.51±0.06 *
麸炒品低剂量组	2.24±0.16 *#	2.39±0.20 *#	2.45±0.25 *#
麸炒品中剂量组	1.80±0.23 *	1.57±0.07 *	1.35±0.13 *
麸炒品高剂量组	1.34±0.03 *#	1.38±0.12 *#	1.39±0.02 *

注：与模型组比较，* $P<0.05$ ；与同剂量生品组比较，# $P<0.05$ 。

表 17 各组细胞 IKKα 蛋白表达比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

组别	24 h	48 h	72 h
正常组	1.00±0.07	1.00±0.01	1.00±0.01
模型组	1.04±0.01	0.96±0.00	0.99±0.01
生品低剂量组	1.04±0.05	1.01±0.04	1.03±0.04
生品中剂量组	1.01±0.06	0.98±0.06	1.00±0.01
生品高剂量组	1.04±0.02	1.00±0.03	1.05±0.06
麸炒品低剂量组	1.02±0.08	0.99±0.04	1.03±0.02
麸炒品中剂量组	1.05±0.02	0.95±0.02	1.04±0.04
麸炒品高剂量组	1.02±0.03	0.96±0.05	1.07±0.06

4 讨论

溃疡性结肠炎的发病机制与多种因素相关，其中被普遍认同的一个重要的发病机制为免疫失衡理论。该理论认为抗炎因子与促炎因子产生失衡，进而促使炎症发生^[15-17]。

表 18 各组细胞 p-IKKα 蛋白表达比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

组别	24 h	48 h	72 h
正常组	1.00±0.10 *	1.00±0.07 *	1.00±0.15 *
模型组	3.71±0.13	3.82±0.08	3.87±0.15
生品低剂量组	3.19±0.26	3.37±0.04 *	3.10±0.27 *
生品中剂量组	2.63±0.19 *	2.77±0.12 *	2.48±0.18 *
生品高剂量组	1.38±0.14 *	1.80±0.16 *	1.63±0.26 *
麸炒品低剂量组	3.14±0.11 *	2.66±0.12 *#	2.46±0.06 *#
麸炒品中剂量组	1.55±0.12 *#	1.77±0.18 *#	1.46±0.09 *#
麸炒品高剂量组	1.39±0.176 *	1.65±0.06 *	1.58±0.10 *

注：与模型组比较，* $P<0.05$ ；与同剂量生品组比较，# $P<0.05$ 。

表 19 各组细胞 p-IKKβ 蛋白表达比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

组别	24 h	48 h	72 h
正常组	1.00±0.08 *	1.00±0.03 *	1.00±0.12 *
模型组	3.81±0.09	3.72±0.10	3.89±0.04
生品低剂量组	3.30±0.31 *	3.27±0.09 *	3.44±0.36 *
生品中剂量组	2.68±0.25 *	2.65±0.11 *	2.69±0.18 *
生品高剂量组	1.58±0.08 *	1.71±0.13 *	1.55±0.15 *
麸炒品低剂量组	3.23±0.06 *	2.67±0.11 *#	2.60±0.03 *#
麸炒品中剂量组	1.57±0.21 *#	1.60±0.04 *#	1.55±0.10 *#
麸炒品高剂量组	1.44±0.20 *	1.35±0.14 *#	1.56±0.14 *

注：与模型组比较，* $P<0.05$ ；与同剂量生品组比较，# $P<0.05$ 。

表 20 各组细胞 NF-κB 蛋白表达比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

组别	24 h	48 h	72 h
正常组	1.00±0.18 *	1.00±0.16 *	1.00±0.04 *
模型组	2.56±0.06	2.87±0.06	3.06±0.07
生品低剂量组	2.10±0.06 *	2.37±0.20 *	2.52±0.30 *
生品中剂量组	1.62±0.08 *	1.80±0.23 *	1.85±0.09 *
生品高剂量组	1.36±0.25 *	1.32±0.15 *	1.57±0.07 *
麸炒品低剂量组	1.53±0.01 *#	1.79±0.25 *#	1.90±0.07 *#
麸炒品中剂量组	1.50±0.10 *	1.71±0.18 *	1.90±0.16 *
麸炒品高剂量组	1.43±0.21 *	1.39±0.09 *	1.49±0.08 *

注：与模型组比较，* $P<0.05$ ；与同剂量生品组比较，# $P<0.05$ 。

IL-1β、IL-8、TNF-α、IL-12、IL-6 等为细胞促炎因子，能够引发全身或局部的炎性反应，致使溃疡性结肠炎发生。IL-4 等抗炎因子能够起到抑制炎症反应的作用，维持胃肠

道系统的免疫平衡^[18-20]。本实验以脂多糖诱导 HCoEpiC 细胞炎症损伤，比较茅苍术生品和麸炒品水提物抗结肠炎的作用，结果表明茅苍术生品和麸炒品水提物均能提高细胞存活率。与正常组比较，模型组细胞抑炎因子 IL-4 水平降低，而 IL-1 β 、IL-8、TNF- α 、IL-12 及 IL-6 促炎因子水平升高；与模型组比较，茅苍术生品和麸炒品水提物均能升高 IL-4 水平，降低 IL-1 β 、IL-8、TNF- α 、IL-12 及 IL-6 水平，且麸炒品作用优于相同剂量茅苍术生品。

NF- κ B 信号通路是治疗炎症的重要靶点，在溃疡性结肠炎的治疗中通常被视作有价值的靶标^[21-23]。有研究表明，NF- κ B 在溃疡性结肠炎中被过度激活，从而导致炎症因子的过度表达。IKK/NF- κ B 信号通路的激活能够增加促炎细胞因子的释放，进而诱导炎症反应的产生^[24-25]。本研究结果显示，与正常组比较，模型组细胞 NF- κ B、p-IKK α 、p-IKK β 蛋白表达升高，IKK α 表达无明显变化；与模型组比较，给予茅苍术生品和麸炒品水提物后，细胞 NF- κ B、p-IKK α 和 p-IKK β 表达降低，且麸炒品作用优于相同剂量茅苍术生品。

综上所述，茅苍术生品和麸炒品水提物可以促进抑炎细胞因子的释放，抑制促炎细胞因子的分泌，恢复促炎因子和抑炎因子之间应有的平衡，进而起到体外抗溃疡性结肠炎的作用，其机制可能与抑制 IKK/NF- κ B 通路，抑制 IKK 磷酸化，从而下调 NF- κ B 表达相关，且麸炒品作用优于生品。课题组后续将进行体内动物实验的深入研究，以明确茅苍术抗溃疡性结肠炎的作用及麸炒后的作用变化。

参考文献：

[1] Pravda J. Can ulcerative colitis be cured? [J]. *Disco Med*, 2019, 27(149): 197-200.

[2] 何涛宏, 陈 敏, 郝亮亮, 等. 盐酸小檗碱对溃疡性结肠炎大鼠炎症的影响[J]. 中国临床药理学杂志, 2020, 36(21): 3461-3464.

[3] Ng S C, Shi H Y, Hamidi N, *et al.* Worldwide incidence and prevalence of inflammatory bowel disease in the 21st century: a systematic review of population-based studies [J]. *Lancet*, 2017, 390(10114): 197-200.

[4] 王鹏程, 赵 珊, 冯 健, 等. 基于 NF- κ B 信号通路的中草药抗溃疡性结肠炎研究进展[J]. 中草药, 2015, 46(10): 1556-1561.

[5] Che L, Li Y, Song R F, *et al.* Anti-inflammatory and anti-apoptosis activity of taraxasterol in ulcerative colitis *in vitro* and *in vivo*[J]. *Exp Ther Med*, 2019, 18(3): 1745-1751.

[6] 曾思敏, 林武红, 罗鹏基, 等. 溃疡性结肠炎的中医药治疗进展[J]. 辽宁中医杂志, 2020, 47(6): 209-212.

[7] 申 睿, 刘 苗, 朱向东, 等. 中医药治疗溃疡性结肠炎实验研究进展[J]. 中草药, 2018, 49(7): 1721-1725.

[8] Ouyang Z, Zhang L, Zhao M, *et al.* Identification and quantification of sesquiterpenes and polyacetylenes in *Atractylodes lancea* from various geographical origins using GC-

MS analysis [J]. *Rev Bras Farmacogn*, 2012, 22(5): 957-963.

[9] 贾天柱. 中药炮制化学与化学炮制学的提出及研究思路[J]. 世界科学技术 (中医药现代化), 2010, 12(3): 337-342.

[10] 钟凌云, 龚千锋, 杨 明, 等. 传统炮制技术流派特点及发展[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(19): 3405-3408.

[11] 于 欢, 刘德文, 龚鹏飞, 等. 苍术炮制方法及其饮片的质量控制、药效评价研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(23): 194-200.

[13] 季光琼, 肖 波, 刘艳菊, 等. 苍术麸炒前后正丁醇部位对湿阻中焦证大鼠的药效学研究[J]. 中成药, 2014, 36(7): 1527-1529.

[14] 刘艳菊, 陈雯雯, 曾 敏, 等. 苍术炮制前后水提物药效学研究[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(15): 2276-2279.

[15] 李姿慧, 王 键, 蔡荣林, 等. 参苓白术散对脾虚湿困型溃疡性结肠炎大鼠结肠组织 NF- κ B p65 蛋白表达及相关炎症因子的影响[J]. 北京中医药大学学报, 2015, 38(5): 315-317; 361.

[16] Scarpa M, Castagliuolo I, Castoro C, *et al.* Inflammatory colonic carcinogenesis: A review on pathogenesis and immunosurveillance mechanisms in ulcerative colitis[J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(22): 6774-6785.

[17] 陈韵之, 田 蕾. 秦皮甲素对溃疡性结肠炎小鼠肠黏膜的改善作用[J]. 中成药, 2020, 42(5): 1324-1328.

[18] Wu P, Guo Y G, Jia F Y, *et al.* The effects of armillarisin A on serum IL-1 β and IL-4 and in treating ulcerative colitis[J]. *Cell Biochem Biophys*, 2015, 72(1): 103-106.

[19] 李东阳, 李盼盼, 李 毅, 等. 白头翁煎剂对溃疡性结肠炎大鼠模型血清白细胞介素-17A、白细胞介素-10 水平的影响[J]. 辽宁中医杂志, 2020, 47(9): 170-172; 225.

[20] Mańkowska-Wierzbicka D, Swora-Cwynar E, Poniedziałek B, *et al.* Usefulness of selected laboratory markers in ulcerative colitis[J]. *Eur Cytokine Netw*, 2015, 26(2): 2637.

[21] 罗世英, 周 乐, 吕小华, 等. 白花蛇舌草总黄酮对实验性溃疡性结肠炎的作用及免疫学机制研究[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(5): 896-900.

[22] Yan Y X, Shao M J, Qi Q, *et al.* Artemisinin analogue SM934 ameliorates DSS-induced mouse ulcerative colitis *via* suppressing neutrophils and acrophages[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2018, 39(10): 1633-1644.

[23] Kumar S, Joos G, Boon L, *et al.* Role of tumor necrosis factor- α and its receptors in diesel exhaust particle-induced pulmonary inflammation[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 11508.

[24] Li R M, Shen Q W, Wu N, *et al.* MiR-145 improves macrophage-mediated inflammation through targeting Arf6[J]. *Endocrine*, 2018, 60(1): 73-82.

[25] Yuan C W, Sun X L, Qiao L C, *et al.* Non-SMC condensin I complex subunit D2 and non-SMC condensin II complex subunit D3 induces inflammation *via* the IKK/NF- κ B pathway in ulcerative colitis[J]. *World J Gastroenterol*, 2019, 25(47): 6813-6822.