

升麻水提物对溃疡性结肠炎小鼠肠黏膜的保护作用

李志华¹, 罗 青¹, 王曦旻¹, 郭舒楠¹, 戴卫波^{1,2*}
(1. 广州中医药大学附属中山中医院, 广东 中山 528400; 2. 国家中药现代化工程技术研究中心-医院制剂转化分中心, 广东 中山 528400)

摘要: **目的** 探讨升麻水提物对溃疡性结肠炎 (UC) 小鼠肠黏膜的保护作用及其机制。**方法** 采用葡聚糖硫酸钠诱导建立 UC 小鼠模型并分至各组, 灌胃给予柳氮磺吡啶 (200 mg/kg) 及升麻水提物 (3.9、7.8 g/kg), 观察各组小鼠体质量变化及排便情况、疾病活动指数、结肠长度; HE、AB-PAS 染色法分别检测结肠组织病理形态学变化、杯状细胞数目; ELISA 法检测结肠组织 ROS 水平; RT-qPCR 法检测结肠组织炎症因子、Nrf2/HO-1 及 NLRP3/Caspase-1/GSDMD 通路相关 mRNA 表达; 免疫组化法检测结肠组织 Nrf2/HO-1 及 NLRP3/Caspase-1/GSDMD 通路相关蛋白表达; Western blot 法检测结肠组织 ZO1、Occludin 蛋白表达。**结果** 与模型组比较, 升麻水提物高剂量组小鼠体质量、结肠长度及 DAI 评分升高 ($P<0.01$); 肠道黏膜屏障损伤减轻; 结肠组织氧化应激因子 ROS 水平降低 ($P<0.01$); 结肠组织促炎因子 $IL-1\beta$ 、 $IL-6$ 、 $TNF-\alpha$ mRNA 表达降低 ($P<0.01$); 结肠组织紧密连接蛋白 ZO1、Occludin 表达升高 ($P<0.05$); 结肠组织 Nrf2、NQO1、HO-1 mRNA、蛋白表达升高 ($P<0.05$, $P<0.01$), Keap1 mRNA、蛋白表达均降低 ($P<0.05$); 结肠组织 NLRP3、ASC、Caspase-1、GSDMD mRNA、蛋白表达降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)。**结论** 升麻水提物可通过激活 Nrf2/HO-1 通路降低 ROS 水平, 抑制 NLRP3 诱导细胞焦亡, 从而维持肠道黏膜屏障完整性, 缓解 UC 发展进程。

关键词: 升麻水提物; 溃疡性结肠炎; 细胞焦亡; 肠黏膜屏障; 炎症反应; Nrf2/HO-1 通路; NLRP3/Caspase-1/GSDMD 通路

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1001-1528(2025)07-2221-08
doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2025.07.013

Protective effects of aqueous extract of *Cimicifugae Rhizoma* on intestinal mucosa of ulcerative colitis mice

LI Zhi-hua¹, LUO Qing¹, WANG Xi-min¹, GUO Shu-nan¹, DAI Wei-bo^{1,2*}
(1. Zhongshan Hospital of Traditional Chinese Medicine Affiliated to Guangzhou University of Chinese Medicine, Zhongshan 528400, China; 2. National Engineering Research Center for Modernization of Traditional Chinese Medicines, Hospital Preparations Transformation Sub-Center, Zhongshan 528400, China)

ABSTRACT: **AIM** To investigate the protective effects and mechanisms of aqueous extract of *Cimicifugae Rhizoma* on intestinal mucosa in a mouse model of ulcerative colitis (UC). **METHODS** The UC mouse models established by sodium dextran sulfate were allocated into different groups and administered with sulfasalazine (200 mg/kg) or aqueous extract of *Cimicifugae Rhizoma* (3.9, 7.8 g/kg) by gavage, respectively. The mice had their changes of body weight, defecation patterns, disease activity index (DAI) and colon length recorded; their colon tissue pathological alterations and goblet cell quantification analyzed through HE and AB-PAS staining; their ROS levels in colon tissue measured via ELISA; their mRNA expressions of inflammatory cytokines, Nrf2/HO-1 signaling pathway components and NLRP3/Caspase-1/GSDMD pathway regulators in colon tissue assessed by RT-qPCR; their protein expressions of Nrf2/HO-1 and NLRP3/Caspase-1/GSDMD pathway verified by

收稿日期: 2024-07-22
基金项目: 广东省自然科学基金 (2023A1515011699); 广东省医学科研基金 (A2022479); 广东省中医药局科研项目 (20251432)
作者简介: 李志华 (2000—), 男, 硕士, 研究方向为中药药理与新制剂开发。Tel: 18718223658, E-mail: 1829903345@qq.com
* 通信作者: 戴卫波 (1984—), 男, 硕士, 主任中药师, 硕士生导师, 研究方向为中药药理与新制剂开发。Tel: (0760) 89980306, E-mail: daiweiibo007@163.com

immunohistochemistry; and their ZO1 and Occludin tight junction proteins in colon tissues quantified by Western blot analysis. **RESULTS** Compared to the model group, the high-dose *Cimicifugae Rhizoma* aqueous extract group demonstrated significantly increased body weight, colon length and DAI scores ($P<0.01$); mitigated intestinal mucosal barrier damage; reduced ROS levels in colon tissue ($P<0.01$); suppressed mRNA levels of pro-inflammatory factors *IL-1 β* , *IL-6* and *TNF- α* in colon ($P<0.01$); elevated expressions of tight junction protein ZO1 and Occludin in colon tissue ($P<0.05$); upregulated mRNA and protein expressions of Nrf2, NQO1 and HO-1 in colon tissue ($P<0.05$, $P<0.01$); downregulated mRNA and protein expressions of Keap1 ($P<0.05$); and reduced expressions of NLRP3 inflammasome components (ASC, Caspase-1, GSDMD) in mRNA and protein ($P<0.05$, $P<0.01$). **CONCLUSION** The aqueous extract of *Cimicifugae Rhizoma* exerts protective effects against UC through dual mechanisms involving redox regulation and pyroptosis inhibition by reducing ROS level *via* Nrf2/HO-1 pathway activation and attenuating NLRP3-mediated pyroptosis *via* Caspase-1/GSDMD pathway inhibition, and thereby synergistically preserves the structural and functional integrity of intestinal mucosal barrier and mitigates UC progression.

KEY WORDS: aqueous extract of *Cimicifugae Rhizoma*; ulcerative colitis; pyroptosis; intestinal mucosal barrier; inflammatory reaction; Nrf2/HO-1 pathway; NLRP3/Caspase-1/GSDMD pathway

溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 是一种慢性非特异性炎症性肠病, 以腹痛、腹泻、黏液脓血便为特征^[1], 本病发生机制复杂, 炎症反应贯穿起始, 可导致肠黏膜严重损伤, 肠道黏膜屏障破坏是其早期事件^[2]。大量研究表明, 氧化应激、细胞焦亡与 UC 发生发展关系密切, 可导致大量炎症因子释放, 病理性炎症产生, 从而破坏肠道黏膜屏障, 影响病情发展^[3-4]。

升麻味辛、微甘, 性微寒, 归肺、脾、胃、大肠经, 具有发表透疹、清热解毒、升举阳气功效^[5], 有着抗炎、抗氧化、调节胃肠、免疫抑制、抗肿瘤、抗病毒等药理作用^[6], 酚酸类、三萜及其苷类是其主要抗炎组分, 也是发挥清热解毒功效的有效物质。临床上采用加味升麻葛根汤治疗 UC^[7], 取升麻升阳举陷、清热解毒之功, 但其作用机制未见报道。因此, 本研究通过葡聚糖硫酸钠诱导小鼠 UC 模型, 探讨升麻水提物对本病的改善作用及对肠黏膜屏障的保护作用, 以期对相关临床应用和新药开发提供参考。

1 材料

1.1 动物 C57BL/6 雄性小鼠, 6~8 周龄, 购自广东省医学实验动物中心 [实验动物生产许可证号 SCXK (粤) 2022-0002, 实验动物使用许可证号 SYXK (粤) 2020-0109], 饲养于中山市中医院中药药理实验室屏障级动物饲养室, 12 h 光照/12 h 黑暗循环。动物实验经中山市中医院实验动物伦理委员会批准 (伦理号 2022063)。

1.2 药材 升麻 (批号 221201) 购自至信 (遵

义) 中药饮片有限公司, 经中山市中医院曾聪彦主任中药师鉴定为毛茛科植物兴安升麻 *Cimicifuga dahurica* (Turcz.) Maxim. 的根茎。

1.3 试剂 柳氮磺吡啶 (美国 MedChemExpress 生物科技公司, 批号 HY-14655); 葡聚糖硫酸钠 (dextran sulfate sodium salt, DSS) (美国 MP Biomedicals 公司, 批号 160110); 反转录试剂盒、定量 PCR 试剂盒 (日本 TaKaRa 公司, 批号 RR036A、RR420A); Mouse-ROS ELISA Kit (天津安诺瑞康生物技术有限公司, 批号 653240110); Affinity™ ECL 试剂盒 (飞克) [安诺伦 (北京) 生物技术有限公司, 批号 KF8003]; Trizol 试剂 [赛默飞世尔科技 (中国) 有限公司, 批号 15596018]; ZO1 抗体 (英国 Abcam 公司, 批号 ab276131); Occludin、 β -actin 抗体 (美国 Affinity 公司, 批号 DF7504、AF7018); anti-rabbit IgG 二抗 (美国 Cell Signaling Technology 公司, 批号 7074P2)。

1.4 仪器 Nanodrop One 核酸蛋白定量仪、QuantStudio 1 实时荧光定量 PCR 系统、Multiskan FC 多功能酶标仪 [赛默飞世尔科技 (中国) 有限公司]; ECLIPSE Ti2-A 倒置显微镜 [尼康仪器 (上海) 有限公司]; 5910Ri 高速冷冻离心机 [艾本德 (上海) 国际贸易有限公司]; LUKYM-1 样品冷冻研磨仪 (广州露卡测序仪器有限公司); Synergy UV 超纯水仪 (美国默克密理博公司); PowerPac™ HC 高电流电泳仪、ChemiDoc MP 化学发光成像系统 (美国 Bio-Rad 公司)。

2 方法

2.1 水提物制备 取干燥药材 1 kg，加入 10 L 水浸泡 2 h，加热煮沸，沸腾后文火煎煮 1 h，收集药液，重复 2 次，合并药液，过滤，浓缩至生药量为 1.17 g/mL，装瓶，即得，置于 4 ℃ 冰箱中保存。

2.2 分组、造模及给药 40 只小鼠适应性饲养 1 周后，随机分为正常组、模型组、柳氮磺吡啶组（200 mg/kg）和升麻水提物低、高剂量组（3.9、7.8 g/kg），每组 8 只，正常组小鼠给予正常饮用水，给药组分别给予相应剂量药物（预防性给药），连续 6 d。实验第 7 天开始，正常组小鼠继续给予正常饮用水，其余各组小鼠给予 2.25% DSS 溶液，同时继续灌胃给予相应剂量药物，连续 7 d。

2.3 疾病活动指数（DAI）评分、结肠长度测定 以小鼠体质量、粪便性状及便血情况为指标进行 DAI 评分，公式为 DAI 评分 =（体质量下降率评分+粪便稠度评分+便血情况评分）/3，标准见表 1。末次给药后，小鼠颈椎脱臼处死，取结肠，用直尺测量从肛门到回盲肠瓣的距离，记录并拍照，取部分结肠组织，在 4% 多聚甲醛中固定，剩余部位置于-80 ℃ 冰箱中保存。

2.4 HE 染色观察结肠组织病理学变化 将小鼠结肠组织固定于 4% 多聚甲醛 24 h 后，梯度乙醇脱水，石蜡包埋，制成切片，常规 HE 染色，于光学显微镜下观察病理变化^[8]。

2.5 AB-PAS 染色观察结肠组织中杯状细胞数目 取小鼠结肠组织石蜡切片，二甲苯脱蜡，梯度

表 1 DAI 评分标准

Tab. 1 DAI scoring criteria			
评分/分	体质量下降率/%	粪便稠度	便血情况
0	<1	正常	正常
1	1~5	—	—
2	6~10	稀便	轻微出血
3	11~15	—	—
4	>15	水样腹泻	严重出血

乙醇脱水，阿利新蓝染色液染色，过碘酸浸泡，加入 Schiff 试剂反应，梯度乙醇脱水，二甲苯透明，封片，于光学显微镜下观察，呈现蓝色的为酸性黏液质，呈现红色的为糖原和中性黏液质^[9]。

2.6 ELISA 检测结肠组织 ROS 水平 取小鼠结肠组织 20 mg，加入 200 μL 含蛋白酶抑制剂的 PBS 缓冲液，制成组织匀浆，4 ℃、12 000 r/min 离心 15 min，取上清液，按照试剂盒说明书检测活性氧（reac-tive oxygen species，ROS）水平。

2.7 RT-qPCR 法检测结肠组织各基因 mRNA 表达 利用 Trizol 法提取小鼠结肠组织总 RNA，测定浓度后将其逆转录成 cDNA，进行实时荧光定量 PCR 检测，总反应体积为 20 μL，包括 ROX Reference Dye 0.4 μL、正向引物 0.4 μL、反向引物 0.4 μL、ddH₂O 6.8 μL、TB Green Premix Ex Taq 10 μL、cDNA 模板 2 μL，反应条件为 95 ℃ 预变性 30 s，95 ℃ 变性 5 s，60 ℃ 退火延伸 30 s，共 40 个循环。以 β-actin 为内参，采用 2^{-ΔΔCT} 法计算目的基因 mRNA 相对表达，引物序列见表 2。

表 2 引物序列

Tab. 2 Primer sequences		
基因	正向序列	反向序列
ASC	5'-TGTCGTTAGACATGGGCTTACA-3'	5'-AAAGTGTCTGTTCTGGCTGTACT-3'
NLRP3	5'-GATCAACAGCGCAGACCTCTG-3'	5'-CCAGCAAACCCATCCACTCTT-3'
Caspase-1	5'-CTGCCAGGAATTCTGGAGCTT-3'	5'-AGTCAGTCTCGAAATGTGCC-3'
GSDMD	5'-CGGAAAGATTTTACAGGACCAGCC-3'	5'-AGAGTCAAGCACCAGACACTCAAG-3'
Nrf2	5'-TAGAGCAGGACATGGAGCAAGTTT-3'	5'-CATTTCTGTCTAGTGTGGCTTCTGG-3'
Keap1	5'-CACAGCAGCGTGGAGAGATATGAG-3'	5'-AGTAACATTTCTGCGGAGTTAAGCC-3'
HO-1	5'-CATTTCTGTCTAGTGTGGCTTCTGG-3'	5'-CACAGCAGCGTGGAGAGATATGAG-3'
NQO1	5'-TCTCTAGCATATAAGGAAGGACGCC-3'	5'-TATGTGTAGGCAAATCCTGTCTACGA-3'
IL-1β	5'-CCTTGGGCCTCAAAGGAAAGA-3'	5'-TTGCTTGGGATCCACACTCTC-3'
IL-6	5'-ACAGAGGATACCACTCCCAACA-3'	5'-GCCATTGCACAACCTCTTTTCTCA-3'
TNF-α	5'-CTTCTGTCTACTGAACTTCGGGG-3'	5'-ACAGGCTTGTCACTCGAATTTTG-3'
β-actin	5'-CAACGGCTCCGGCATGTG-3'	5'-AGTCCTTCTGACCCATTCCCA-3'

2.8 免疫组织化学法检测结肠组织 Nrf2/NLRP3 通路蛋白表达 取小鼠结肠组织石蜡切片，脱蜡，3% 双氧水甲醇孵育 10 min 以抑制内源性过氧化物酶活性，加入稀释后的一抗，孵育过夜，次日加入

二抗孵育 0.5 h，PBS 冲洗 3 次，每次 2 min，DAB 显色 10 min，蒸馏水冲洗，一抗、二抗分别用 PBS 代替作为空白对照。所有切片均在光学显微镜下观察和拍摄。

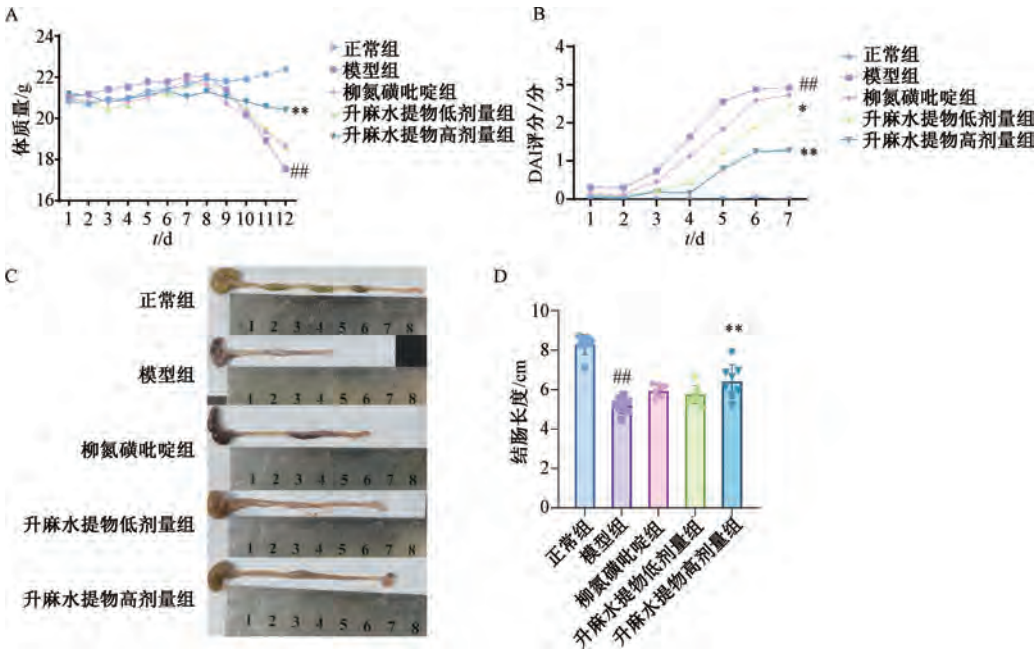
2.9 Western blot 法检测结肠组织 ZO1、Occludin 蛋白表达 取小鼠结肠组织 20 mg，加入 200 μ L 含蛋白酶抑制剂和磷酸酶抑制剂的 RIPA 裂解液，4 $^{\circ}$ C 研磨，冰上放置 30 min，12 000 r/min 离心 15 min，收集上清液，采用 BCA 法进行定量，加入上样缓冲液使蛋白浓度统一，金属浴加热 10 min 变性，瞬时离心后分装，于-80 $^{\circ}$ C 冰箱中保存。取变性后的蛋白样品适量，十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳分离，将凝胶上的蛋白转膜至 PVDF 膜上，快速封闭液封闭 15 min，加一抗，4 $^{\circ}$ C 孵育过夜，PBST 洗膜 5 min，重复 3 次，再加二抗，室温孵育 90 min，PBST 洗膜 5 min，重复 3 次，化学发光底物显色，置于化学发光成像系统下成像。以 β -actin 为内参，采用 Image J 软件分析目的蛋白条带灰度值，以目的蛋白、内参灰度值的比值表示目的蛋白表达。

2.10 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，组间比较采用单因

素方差分析。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 升麻水提取物对 UC 小鼠表型症状的影响 取材过程中发现，正常组小鼠肠道状况正常；模型组小鼠肠道与其他组小鼠肠道相比出血较明显，肠道内粪便呈稀样且异味明显，肠道弹性较差；升麻水提取物组和柳氮磺吡啶组小鼠肠道状况得到改善。由图 1A 所示，与正常组比较，模型组小鼠体质量下降 ($P<0.01$)；与模型组比较，升麻水提取物高剂量组小鼠体质量增加 ($P<0.01$)。由图 1B 所示，与正常组比较，模型组小鼠 DAI 评分升高 ($P<0.01$)；与模型组比较，升麻水提取物高剂量组和柳氮磺吡啶组小鼠 DAI 评分降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)。由图 1C~1D 所示，与正常组比较，模型组小鼠结肠长度缩短 ($P<0.01$)；与模型组比较，升麻水提取物高剂量组小鼠结肠长度增加 ($P<0.01$)。



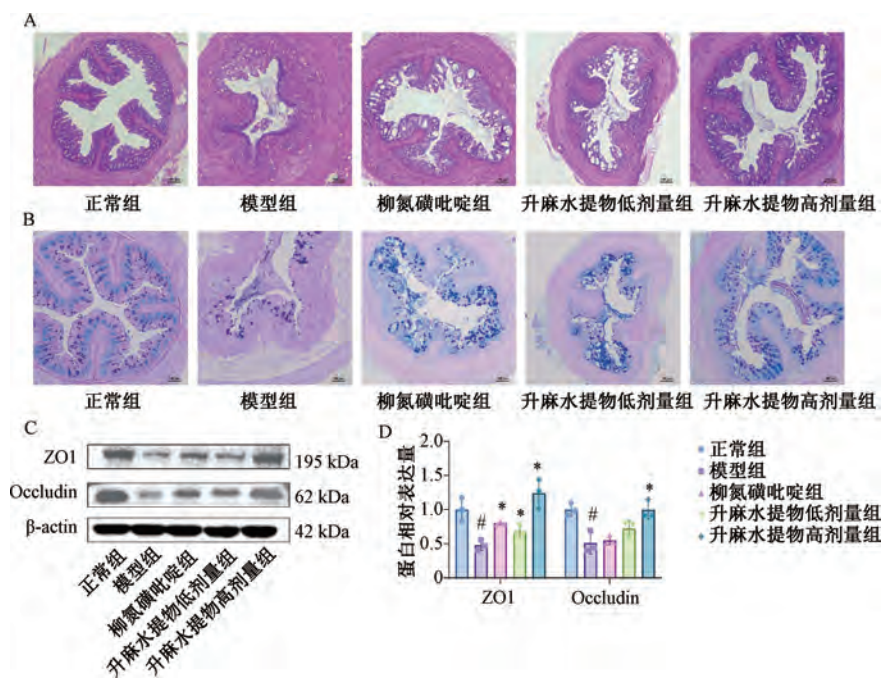
注：与正常组比较， $^{##}P<0.01$ ；与模型组比较， $^{*}P<0.05$ ， $^{**}P<0.01$ 。

图 1 升麻水提取物对 UC 小鼠表型症状的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=8$)

Fig. 1 Effect of aqueous extract of Cimicifugae Rhizoma on phenotypic symptoms of UC mice ($\bar{x}\pm s$, $n=8$)

3.2 升麻水提取物对 UC 小鼠肠道黏膜屏障的影响 如图 2A 所示，与正常组比较，模型组小鼠结肠组织破坏严重，隐窝结构异常，上皮细胞受损，炎症细胞浸润；与模型组比较，升麻水提取物各剂量组和柳氮磺吡啶组小鼠结肠组织病理状态得到改善，黏膜上皮细胞排列较为紧密，炎性浸润减轻。如图 2B 所示，与正常组比较，模型组小鼠结肠组

织中的杯状细胞减少；与模型组比较，升麻水提取物组和柳氮磺吡啶组小鼠结肠组织中杯状细胞增加。如图 2C~2D 所示，与正常组比较，模型组小鼠结肠紧密连接蛋白 ZO1、Occludin 表达降低 ($P<0.05$)，表明 DSS 破坏了肠道屏障；与模型组比较，升麻水提取物高剂量组 ZO1 和 Occludin 蛋白表达均升高 ($P<0.05$)。



注：与正常组比较，[#]*P*<0.05；与模型组比较，^{*}*P*<0.05。
图 2 升麻水提取物对 UC 小鼠肠道黏膜屏障的影响 ($\bar{x}\pm s$, *n*=3)

Fig. 2 Effect of aqueous extract of *Cimicifugae Rhizoma* on intestinal mucosal barrier in UC mice ($\bar{x}\pm s$, *n*=3)

3.3 升麻水提取物对 UC 小鼠结肠组织炎症因子的影响 如表 3 所示，与正常组比较，模型组小鼠结肠组织 *IL-1β*、*IL-6*、*TNF-α* mRNA 表达升高 (*P*<0.01)；与模型组比较，升麻水提取物各剂量组和柳氮磺吡啶组小鼠结肠组织 *IL-1β*、*IL-6*、*TNF-α* mRNA 表达降低 (*P*<0.05, *P*<0.01)。

表 3 各组小鼠结肠组织 *IL-1β*、*IL-6*、*TNF-α* mRNA 表达比较 ($\bar{x}\pm s$, *n*=5)

组别	<i>IL-1β</i> mRNA	<i>IL-6</i> mRNA	<i>TNF-α</i> mRNA
正常组	1.00±0.17	1.00±0.32	1.00±0.15
模型组	26.14±14.62 ^{##}	51.86±13.44 ^{##}	10.06±3.89 ^{##}
柳氮磺吡啶组	8.65±5.39 [*]	13.11±6.76 ^{**}	5.82±0.94 [*]
升麻水提取物低剂量组	7.54±2.16 ^{**}	9.78±6.91 ^{**}	4.99±1.81 [*]
升麻水提取物高剂量组	5.14±1.50 ^{**}	6.23±1.97 ^{**}	4.13±0.58 ^{**}

注：与正常组比较，^{##}*P*<0.01；与模型组比较，^{*}*P*<0.05，^{**}*P*<0.01。
3.4 升麻水提取物对 UC 小鼠结肠组织氧化应激的影响 如表 4 所示，与正常组比较，模型组小鼠结肠组织 ROS 水平升高 (*P*<0.01)；与模型组比较，升麻水提取物各剂量组和柳氮磺吡啶组小鼠结肠组织 ROS 水平降低 (*P*<0.01)。如表 5 所示，与正常组比较，模型组小鼠结肠组织 *Nrf2*、*HO-1*、*NQO1* mRNA 表达降低 (*P*<0.05, *P*<0.01)，*Keap1* mRNA 表达升高 (*P*<0.01)；与模型组比较，升麻水提取物各剂量组和柳氮磺吡啶组小鼠结肠组织 *Nrf2*、*HO-1*、*NQO1* mRNA 表达升高 (*P*<0.01)，升麻水提取物各剂量组小鼠结肠组织 *Keap1* mRNA 表达降低 (*P*<0.05)。如图 3 所示，与正常组比较，模型组小鼠结肠组织 *Nrf2*、*HO-1* 和 *NQO1* 蛋白表达降低 (*P*<0.05)，*Keap1* 蛋白表达升高 (*P*<0.05)；与模型组比较，升麻水提取物各剂量组和柳氮磺吡啶组小鼠结肠组织 *Nrf2* 蛋白表达升高 (*P*<0.05)，*Keap1* 蛋白表达降低 (*P*<0.05)，升麻水提取物高剂量组 *HO-1*、*NQO1* 蛋白表达升高 (*P*<0.05)。

表 4 各组小鼠结肠组织 ROS 水平比较 ($\bar{x}\pm s$, *n*=6)

Tab. 4 Comparison of ROS level in mouse colon tissue in each group ($\bar{x}\pm s$, *n*=6)

组别	ROS/(pg·mg ⁻¹)
正常组	1.70±0.12
模型组	2.14±0.27 ^{##}
柳氮磺吡啶组	1.54±0.05 ^{**}
升麻水提取物低剂量组	1.61±0.13 ^{**}
升麻水提取物高剂量组	1.47±0.19 ^{**}

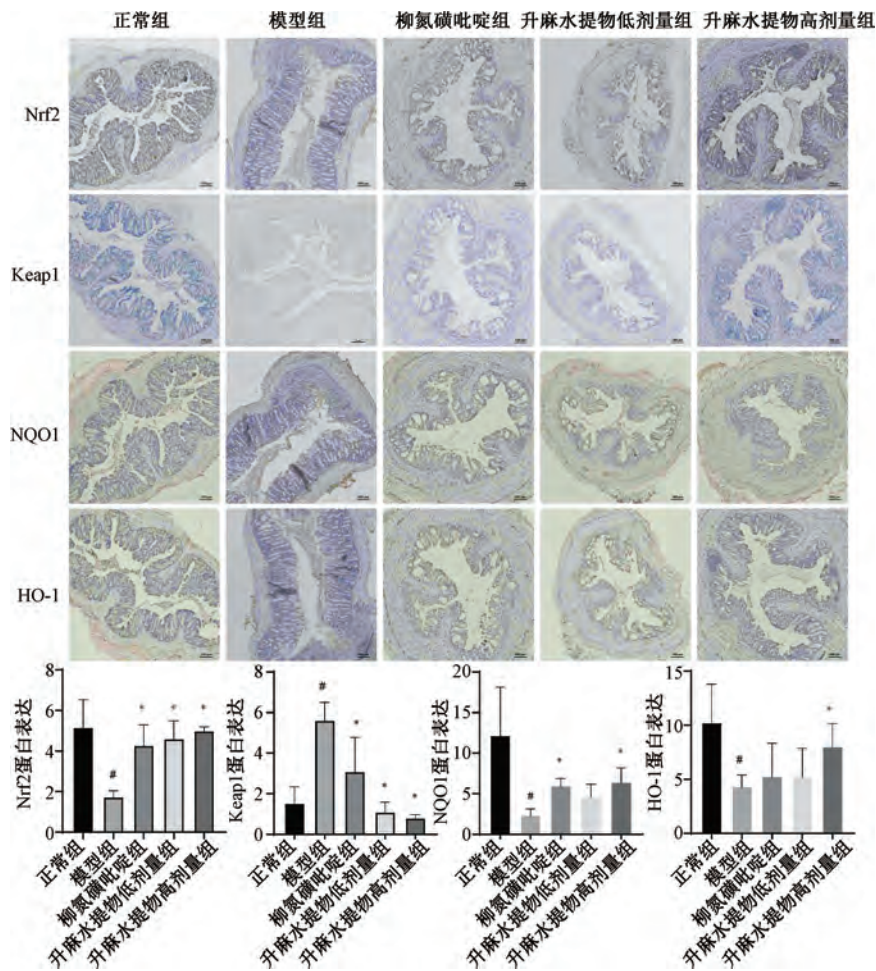
注：与正常组比较，^{##}*P*<0.01；与模型组比较，^{**}*P*<0.01。

表 5 各组小鼠结肠组织 *Nrf2*、*Keap1*、*HO-1*、*NQO1* mRNA 表达比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=5$)

Tab. 5 Comparison of mRNA expressions of *Nrf2*, *Keap1*, *HO-1* and *NQO1* in mouse colon tissue in each group ($\bar{x}\pm s$, $n=5$)

组别	<i>Nrf2</i> mRNA	<i>Keap1</i> mRNA	<i>HO-1</i> mRNA	<i>NQO1</i> mRNA
正常组	1.00±0.24	1.00±0.04	1.00±0.15	1.00±0.35
模型组	0.67±0.11 [#]	1.95±0.64 ^{##}	0.66±0.13 [#]	0.22±0.15 ^{##}
柳氮磺吡啶组	1.35±0.18 ^{**}	1.60±0.25	1.46±0.60 ^{**}	0.79±0.22 ^{**}
升麻水提物低剂量组	1.36±0.25 ^{**}	1.32±0.12 [*]	1.61±0.56 ^{**}	0.89±0.22 ^{**}
升麻水提物高剂量组	1.72±0.50 ^{**}	1.05±0.34 [*]	2.16±0.56 ^{**}	1.11±0.52 ^{**}

注：与正常组比较，[#] $P<0.05$ ，^{##} $P<0.01$ ；与模型组比较，^{*} $P<0.05$ ，^{**} $P<0.01$ 。



注：与正常组比较，[#] $P<0.05$ ；与模型组比较，^{*} $P<0.05$ 。

图 3 各组小鼠结肠组织 *Nrf2*、*Keap1*、*NQO1*、*HO-1* 蛋白表达比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

Fig. 3 Comparison of protein expressions of *Nrf2*, *Keap1*, *NQO1* and *HO-1* in mouse colon tissue in each group ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

3.5 升麻水提物对 UC 小鼠结肠组织细胞焦亡的影响 如表 6 所示，与正常组比较，模型组小鼠结肠组织 *ASC*、*Caspase-1*、*NLRP3* 和 *GSDMD* mRNA 表达升高 ($P<0.01$)；与模型组比较，升麻水提物各剂量组和柳氮磺吡啶组小鼠结肠组织 *ASC*、*NLRP3*、*GSDMD* mRNA 表达降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)，升麻水提物高剂量组 *Caspase-1* mRNA 表达

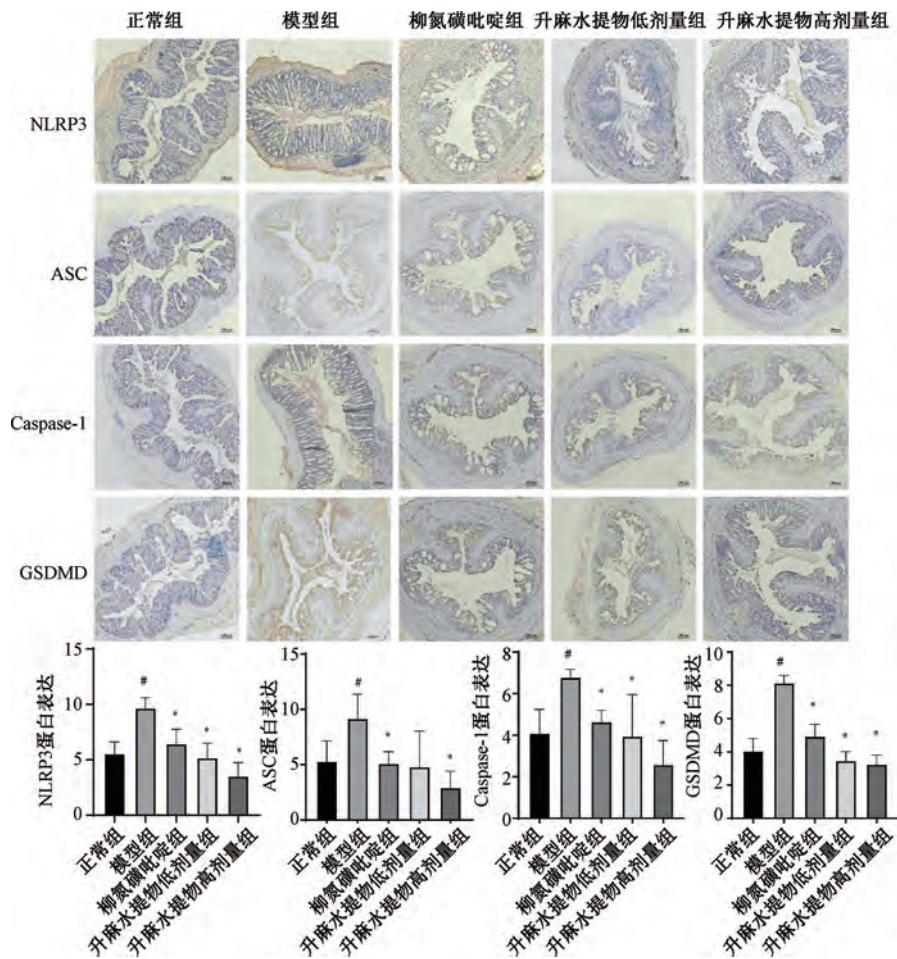
降低 ($P<0.05$)。如图 4 所示，与正常组比较，模型组小鼠结肠组织 *NLRP3*、*ASC*、*Caspase-1*、*GSDMD* 蛋白表达升高 ($P<0.05$)；与模型组比较，升麻水提物各剂量组和柳氮磺吡啶组小鼠结肠组织 *NLRP3*、*Caspase-1*、*GSDMD* 蛋白表达降低 ($P<0.05$)，升麻水提物高剂量组和柳氮磺吡啶组小鼠结肠组织 *ASC* 蛋白表达降低 ($P<0.05$)。

表 6 各组小鼠结肠组织 ASC、Caspase-1、NLRP3 和 GSDMD mRNA 表达比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=5$)

Tab.6 Comparison of mRNA expressions of ASC, Caspase-1, NLRP3 and GSDMD in mouse colon tissue in each group ($\bar{x}\pm s$, $n=5$)

组别	ASC mRNA	Caspase-1 mRNA	NLRP3 mRNA	GSDMD mRNA
正常组	1.00±0.09	1.00±0.41	1.00±0.13	1.00±0.16
模型组	8.57±3.20 ^{##}	4.59±1.59 ^{##}	14.58±7.72 ^{##}	8.88±2.81 ^{##}
柳氮磺吡啶组	7.57±1.64 ^{**}	3.24±0.74	2.41±0.88 [*]	4.51±0.94 [*]
升麻水提物低剂量组	6.46±1.61 ^{**}	2.78±0.94	2.91±1.25 [*]	4.83±0.48 ^{**}
升麻水提物高剂量组	4.69±1.44 ^{**}	2.38±0.77 [*]	1.70±0.22 ^{**}	3.83±1.05 ^{**}

注：与正常组比较，^{##} $P<0.01$ ；与模型组比较，^{*} $P<0.05$ ，^{**} $P<0.01$ 。



注：与正常组比较，[#] $P<0.05$ ；与模型组比较，^{*} $P<0.05$ 。

图 4 各组小鼠结肠组织 ASC、Caspase-1、NLRP3、GSDMD 蛋白表达比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

Fig. 4 Comparison protein expressions of ASC, Caspase-1, NLRP3 and GSDMD in mouse colon tissue in each group ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

4 讨论

UC 由结肠组织持续性炎症介导^[10]，肠黏膜屏障损伤是本病主要病理特征。研究表明，氧化应激与细胞焦亡存在密切关联，Nrf2/Keap1 信号通路是细胞防御氧化应激损伤的重要机制，而激活 Nrf2/HO-1 通路可抑制焦亡过程^[11]。目前，临床治疗 UC 的主要药物有氨基水杨酸制剂、糖皮质激素、免疫抑制剂等^[12]，虽然对缓解症状有一定疗

效，但靶点单一，价格昂贵，不良反应大，不能有效控制病情发作，故寻找其他治疗手段已成为医学界亟待解决的问题。近年来研究表明，具有多成分、多靶点的中药可通过多种途径缓解和治疗 UC，疗效可靠，副作用少，复发率低^[13]。

升麻具有抗炎、清热、解毒等作用，是治疗 UC 的潜在药物。本研究发现，升麻水提物可有效改善 DSS 诱导的小鼠 UC，减轻体质量下降、血

便、结肠组织损伤等症状；模型组小鼠结肠可见炎症细胞浸润、杯状细减少、紧密连接蛋白表达降低，肠道黏膜屏障完整性破坏，使肠通透性增加，肠道黏膜屏障功能减弱，使各种病原微生物进入机体，从而引起一系列炎症反应^[14]，而升麻水提物干预后，可降低促炎细胞因子水平，增加 ZO1、Occludin 蛋白表达，减轻结肠炎症反应和肠黏膜损伤。

氧化应激与肠屏障功能障碍有着密切的关系，一方面，过量的 ROS 可直接损伤肠上皮细胞和紧密连接蛋白，增加肠上皮细胞通透性^[15]；另一方面，ROS 诱导的氧化应激可促进炎症反应，破坏肠黏膜屏障的完整性^[16]。本研究发现，DSS 诱导的结肠炎小鼠结肠组织中 ROS 水平升高，Nrf2 及其下游抗氧化酶 NQO1、HO-1 mRNA、蛋白表达降低，而升麻水提物干预后，可激活 Nrf2 通路，上调 HO-1、NQO1 表达，抑制 ROS 生成，减轻氧化应激损伤。

临床研究发现，UC 患者结肠黏膜中 ROS 水平与疾病严重程度呈正相关^[17]，并且可介导 NLRP3 炎症小体组装，促进 Caspase-1 活化及 IL-1 β 、IL-18 等促炎因子成熟，而 Caspase-1 可激活 GSDMD 裂解，诱导细胞破裂，释放 IL-1 β 、IL-18 等炎性因子至细胞外，引发细胞焦亡，加重炎症反应和肠黏膜损伤^[18]。本研究发现，UC 小鼠结肠组织 NLRP3、ASC、Caspase-1、GSDMD、IL-1 β mRNA、蛋白表达升高，而升麻水提物可逆转上述现象，可能与其抑制 NLRP3/Caspase-1/GSDND 通路介导的细胞焦亡有关。

综上所述，升麻水提物可通过激活 Nrf2/HO-1 通路，进而降低 ROS 水平，减轻氧化应激损伤；通过抑制 NLRP3/Caspase-1/GSDND 通路介导的细胞焦亡，进而发挥减轻结肠炎症和修复肠黏膜屏障的作用。

参考文献：

[1] Ungaro R, Mehandru S, Allen P B, *et al.* Ulcerative colitis[J]. *Lancet*, 2017, 389(10080): 1756-1770.

[2] Chen K W, Shang S P, Yu S N, *et al.* Identification and exploration of pharmacological pyroptosis-related biomarkers of

ulcerative colitis[J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 998470.

[3] Wang Y F, Zhang J Q, Zhang B H, *et al.* Modified Gegen Qinlian decoction ameliorated ulcerative colitis by attenuating inflammation and oxidative stress and enhancing intestinal barrier function *in vivo* and *in vitro*[J]. *J Ethnopharmacol*, 2023, 313: 116538.

[4] Loveless R, Bloomquist R, Teng Y. Pyroptosis at the forefront of anticancer immunity[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2021, 40(1): 264.

[5] 李佳欣, 张美晴, 马丽萍, 等. 经典名方中升麻升降浮沉药性应用考证[J]. 天津中医药大学学报, 2023, 42(4): 498-505.

[6] 陈李乙, 李佳欣, 张美晴, 等. 升麻药材化学成分及药理作用研究进展[J]. 中草药, 2023, 54(5): 1685-1704.

[7] 张文义. 加味升麻葛根汤配养胃胶囊治疗溃疡性结肠炎[J]. 中国民间疗法, 2000, 8(7): 33-34.

[8] 胡流云, 周钰龙, 左 胜, 等. 3 种不同组分香菇多糖对溃疡性结肠炎小鼠的缓解作用[J]. 食品研究与开发, 2023, 44(23): 56-66.

[9] 余学成, 高增祥, 吴 斌, 等. 白术治疗溃疡性结肠炎作用机制的网络药理学分析及实验验证研究[J]. 世界科学技术 (中医药现代化), 2024, 26(1): 145-156.

[10] 毛叶勤, 陈 琳, 吴 育, 等. 蒲公英水提物对大鼠溃疡性结肠炎的作用[J]. 中成药, 2022, 44(3): 752-757.

[11] Chao L M, Lin J, Zhou J, *et al.* Polyphenol rich *Forsythia suspensa* extract alleviates DSS-induced ulcerative colitis in mice through the Nrf2-NLRP3 pathway[J]. *Antioxidants (Basel)*, 2022, 11(3): 475.

[12] Ahmad H, Kumar V L. Pharmacotherapy of ulcerative colitis—current status and emerging trends[J]. *J Basic Clin Physiol Pharmacol*, 2018, 29(6): 581-592.

[13] 钟焕英, 刘礼剑, 卫家润, 等. 中药有效成分治疗溃疡性结肠炎研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报, 2023, 25(12): 74-80.

[14] 孟凡艳, 任 聪, 孙苑妮, 等. 中药单体靶向 JAK/STAT 信号通路改善溃疡性结肠炎的作用机制研究进展[J]. 中国中医基础医学杂志, 2024, 30(9): 1620-1625.

[15] 戚 运, 陈苏宁. 大黄素改善肠屏障机制研究进展[J]. 中华中医药学刊, 2024, 42(11): 103-108.

[16] 周 华, 张 敏, 姜文涛. 水溶性蜂胶抑制溃疡性结肠炎大鼠氧化损伤的作用[J]. 海南医学院学报, 2023, 29(18): 1375-1382.

[17] 陈丽霏, 张世倡, 肖 林, 等. 炎症性肠病中活性氧及抗氧化的研究进展[J]. 中国当代医药, 2020, 27(9): 24-27.

[18] 袁 丽, 练卓诗, 罗柳婷, 等. 陈皮素素调节肠菌稳态及 Nrf2/NLRP3 通路修复肠黏膜改善小鼠急性溃疡性结肠炎[J]. 药学报, 2022, 57(12): 3513-3523.