

基于TLR4/NF- κ B信号通路探讨温通活血乳膏对糖尿病周围神经病变大鼠巨噬细胞极化的影响

古丽逊·买买提朱玛¹, 徐利娟², 严琦¹, 王先敏², 马静², 李惠², 王晶³, 马丽^{2*}

(1. 新疆医科大学第四临床医学院, 新疆乌鲁木齐 830000; 2. 新疆医科大学附属中医医院, 新疆乌鲁木齐 830000; 3. 新疆医科大学附属中医医院呼吸病研究重点实验室, 新疆乌鲁木齐 830000)

摘要: 目的 探讨温通活血乳膏对糖尿病周围神经病变(DPN)大鼠的影响。方法 采用高脂高糖饲料喂养联合腹腔注射链脲佐菌素(STZ)诱导建立DPN大鼠模型,造模周期12周。将造模成功的36只SD大鼠随机分成模型组和温通活血乳膏高、中、低剂量组,每组9只,另取9只正常大鼠作为对照组。对照组和模型组不给予药物干预,温通高、中、低剂量组分别涂抹2.52、1.26、0.63 mg/kg温通活血乳膏。给药结束后,采用热板实验和Von Frey纤维丝实验检测热痛觉阈值、机械痛觉阈值;HE染色观察神经组织分布;ELISA法检测血清M1型促炎因子TNF- α 、IL-1 β 水平;免疫荧光法检测坐骨神经CD86蛋白表达;RT-qPCR法和Western blot法检测坐骨神经组织NF- κ B、TLR4、IL-1 β 、TNF- α 、iNOS、CD86 mRNA和蛋白表达。结果 与对照组比较,模型组大鼠热痛觉阈值、机械痛觉阈值升高($P<0.05$, $P<0.01$);血清IL-1 β 、TNF- α 水平升高($P<0.01$);坐骨神经可见炎症细胞浸润,结构受损;坐骨神经M1标志物CD86蛋白表达升高($P<0.01$),NF- κ B、TLR4、IL-1 β 、TNF- α 、iNOS、CD86 mRNA和蛋白表达升高($P<0.05$, $P<0.01$)。与模型组比较,温通活血乳膏各剂量组大鼠热痛觉阈值降低($P<0.05$);血清IL-1 β 、TNF- α 水平降低($P<0.05$, $P<0.01$);坐骨神经中炎症细胞浸润、结构受损减轻;坐骨神经CD86蛋白表达降低($P<0.01$),NF- κ B、TLR4、IL-1 β 、TNF- α 、iNOS、CD86 mRNA和蛋白表达降低($P<0.05$, $P<0.01$)。结论 温通活血乳膏可能通过抑制TLR4/NF- κ B信号通路活化,抑制巨噬细胞M1型极化,起到促进神经修复的作用,进而延缓DPN的进展。

关键词: 温通活血乳膏;糖尿病周围神经病变;NF- κ B/TLR4信号通路;巨噬细胞;炎症

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2026)04-1333-07

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2026.04.038

糖尿病周围神经病变(diabetic peripheral neuropathy, DPN)是糖尿病常见的慢性并发症之一,主要表现为感觉异常、疼痛和运动功能障碍,严重影响患者的生活质量^[1]。DPN的发病机制涉及代谢紊乱、氧化应激、炎症反应等多种病理过程。低水平炎症反应是DPN发生发展的关键病理机制之一^[2-3],而巨噬细胞极化在炎症反应过程中起重要调控作用。最新研究发现,巨噬细胞对糖尿病神经病变感觉轴突变性有保护作用^[4]。在DPN的病理过程中,周围神经损伤的炎症主要由巨噬细胞介导,M1型巨噬细胞的过度极化被认为是导致神经炎症和神经损伤的重要因素。其中,Toll样受体4/核因子- κ B(Toll-like receptor 4/nuclear factor- κ B, TLR4/NF- κ B)信号通路是调节炎症反应的信

号通路,其激活可促进巨噬细胞向M1型极化,进而加剧炎症反应,抑制该信号通路有效抑制M1极化从而改善神经炎症^[5]。

温通活血乳膏(温通)是课题组使用十余年的治疗糖尿病神经病变的临床方剂,前期研究发现其改善患者临床症状的疗效显著^[6-7],机制研究表明其可以保护DPN大鼠的坐骨神经形态和功能,可能与炎症反应有关^[8-9],但其详细的机制尚未阐明。因此,本研究拟探讨温通活血乳膏通过抑制TLR4/NF- κ B信号通路介导的M1巨噬细胞极化治疗DPN的作用机制,以期为其临床应用提供科学依据。

1 材料

1.1 实验动物 45只SPF级雄性SD大鼠,8周

收稿日期: 2025-07-01

基金项目: 新疆维吾尔自治区重点研发计划项目(2023B03002-3);新疆维吾尔自治区“天山英才”培养计划项目(2024TSYCLJ0023)

作者简介: 古丽逊·买买提朱玛(1997—),女(柯尔克孜族),硕士在读,从事中西医结合防治糖尿病及其并发症的研究。E-mail: 3201780661@qq.com

*通信作者: 马丽(1974—),女(东乡族),博士,教授,主任医师,从事内分泌相关疾病研究。E-mail: malixj322122@163.com

龄, 体质量 210~240 g, 购自新疆医科大学动物实验中心 [实验动物生产许可证号 SCXK (新) 2003-0001], 饲养在新疆医科大学动物实验中心, 恒温恒湿, 温度 20~24 °C, 相对湿度 50%~65%, 给予普通饲料, 自由饮水。本实验已获得新疆医科大学动物实验管理中心伦理委员会批准 (批准号 IACUC-20210805-5)。

1.2 药物 温通活血乳膏, 棕黄色软膏, 批号 20130113, 每 1 mL 含生药 1.5 g, 其主要成分包括川穹、细辛、白芷等, 由新疆医科大学第四附属医院药学实验室提供。

1.3 试剂 苏木素-伊红 (HE) 试剂、苏木素染液 (北京雷根生物技术有限公司, 批号 DH0020、DH0020); BCA 试剂盒、总 RNA 提取试剂 (合肥白鲨生物科技有限公司, 批号 21328718、BS258A); 超敏 ECL 化学发光试剂盒、组化 DAB 显色剂试剂盒 (北京索莱宝科技有限公司, 货号 PE0010、DA1016); NF- κ B 抗体 [艾博抗 (上海) 贸易有限公司, 批号 ab32360]; HRP 标记山羊抗鼠 IgG (H+L)、山羊抗兔 IgG (H+L)、TLR4、 β -actin、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、诱导型一氧化氮合酶 (iNOS)、B7-2 共刺激分子 (CD86) 抗体 (武汉三鹰生物技术有限公司, 批号 SA00001-1、SA00001-2、19811-1-AP0、66009-1-Ig、60291-1-Ig、18985-1-AP、13395-1-AP); 白细胞介素-1 β (IL-1 β) 抗体 (武汉爱博泰克生物科技有限公司, 批号 A16288); TNF- α ELISA 检测试剂盒 (上海江莱生物科技有限公司, 批号 JL20884); TRIzol 试剂 (美国 Thermo Fisher Scientific 公司, 批号 15596026CN); 实时荧光定量逆转录聚合酶链反应 (RT-qPCR) 单链合成试剂盒 [宝日医生物技术 (北京) 有限公司, 批号 AO21375A]。

1.4 仪器 KZ-III-FP 研磨仪 (武汉赛维尔生物科技有限公司); MBY-1 酶标仪、7500 实时荧光定量 PCR 仪 (美国 Thermo Fisher Scientific 公司); O1900 全自动化学凝胶成像系统 (广州光仪生物科技有限公司); 龙方星钰 LF-2000T 电泳仪 (北京龙方科技有限公司)。

2 方法

2.1 造模 SD 大鼠适应性喂养 1 周后, 按随机数字表法随机分为对照组和糖尿病组, 对照组以普通饲料喂养, 糖尿病组以高糖高脂饲料 (70% 常规饲料、20% 蔗糖、10% 猪油) 喂养 4 周后, 在禁食 14 h 后腹腔注射 50 mg/mL 链脲佐菌素 (STZ, 溶

于 0.1 mol/L 柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液, 配制为 1% 的溶液), 对照组仅给予柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液。3 d 后尾静脉采血, 用血糖仪测定大鼠空腹血糖 (fasting blood sugar, FBG), 若 $FBG \geq 16.7$ mmol/L, 则视为糖尿病模型建立成功, 同时剔除造模失败的大鼠。糖尿病大鼠继续给予高糖高脂饲料饲养 8 周, 每组随机选取 1 只大鼠, 取坐骨神经进行 HE 染色, 病理结构发生相应改变即判定为 DPN 大鼠造模成功。

2.2 分组及给药 将 36 只造模成功的 DPN 大鼠按随机数字表法分为模型组和温通高、中、低剂量组, 每组 9 只, 参考《药理学实验》及课题组前期研究, 换算人与大鼠给药剂量, 温通高、中、低剂量组大鼠给药剂量分别为 2.52、1.26、0.63 g/kg 温通活血乳膏, 大鼠两后肢刺毛后皮肤外涂给药, 每天 1 次, 连续给药 8 周, 实验期间自由进食饮水, 对照组和模型组不给予药物干预。实验期间观察各组大鼠体质量及热痛觉、机械痛觉变化。

2.3 热板实验检测热痛觉阈值 将大鼠放置在热板上, 将热板温度调到 (55 ± 0.5) °C, 观察大鼠对热刺激的反应, 如舔爪、抬爪或跳跃, 记录从开始施加热刺激到大鼠出现痛觉反应的时间 (潜伏期), 即为热痛觉阈值, 每只大鼠测 3 次, 每次间隔 20 min, 取 3 次的平均值为最终阈值。

2.4 Von Frey 纤维丝实验检测机械痛觉阈值 将大鼠放置在网格平台上, 用不同强度的 Von Frey 纤维丝垂直刺激大鼠后爪的足底区域, 观察大鼠的反应, 如缩爪、舔爪或逃避行为, 记录引起大鼠明确缩爪反应的纤维丝强度, 即为机械痛觉阈值, 不同时间检测 3 次取平均值, 作为评价大鼠触觉异常性疼痛的指标。

2.5 ELISA 法检测血清 IL-1 β 、TNF- α 水平 给药结束后, 大鼠腹腔注射 3% 戊巴比妥钠 (0.3 mL/100 g) 进行麻醉, 尾静脉处采血, 全血 5 000 r/min 离心 5 min, 取上层血清, 根据 ELISA 试剂盒说明书操作, 依次进行加样、洗板、加底物、加终止液等, 采用酶标仪检测各孔吸光度 (A) 并绘制曲线, 计算 IL-1 β 、TNF- α 水平。

2.6 HE 染色观察坐骨神经病理学变化 每组随机选取 3 只大鼠, 取一侧坐骨神经后用甲醛固定, 取固定好的坐骨神经, 依次进行乙醇梯度脱水、二甲苯透明、石蜡包埋, 制备组织切片 (约 4 μ m), 行常规 HE 染色, 最后用中性树脂封片, 于显微镜下观察坐骨神经病理学变化。

2.7 免疫荧光法检测坐骨神经 CD86 表达 取坐骨神经切片，室温下进行透化处理，将石蜡切片脱蜡至水，抗原修复，阻断内源性过氧化物酶，滴加 5% 山羊血清覆盖组织，室温封闭 30 min，加一抗 (1:100 稀释) 4 °C 孵育过夜，次日复温 10 min 后加二抗 (1:200 稀释) 37 °C 孵育 30 min，PBST 洗涤 3 次后复染细胞核，封片，于荧光显微镜下观察，采集图像。

2.8 Western blot 法检测坐骨神经组织 NF-κB、TLR4、IL-1β、TNF-α、iNOS、CD86 蛋白表达 取坐骨神经组织，加 RIPA 提取蛋白，使用 BCA 试剂盒测定蛋白浓度，各组配制成同一浓度，进行变性处理，蛋白上样电泳，转至 PVDF 膜，无蛋白快速封闭液封闭 40 min，1% PBS 洗涤 2 次，加一抗 NF-κB (1:5 000)、TLR4 (1:4 000)、β-actin (1:5 000)、IL-1β (1:1 000)、TNF-α (1:3 000)、iNOS (1:1 000)、CD86 (1:1 000) 4 °C 摇床孵育过夜，次日加二抗 (1:10 000) 室温孵育 2 h，ECL 法显色，凝胶成像仪曝光，使用 Image J 1.44 软件分析条带灰度值。

2.9 RT-qPCR 法检测坐骨神经组织 NF-κB、TLR4、IL-1β、TNF-α、iNOS、CD86 mRNA 表达 取坐骨神经，使用 TRIzol 试剂裂解神经组织，提取总 RNA，测定 RNA 浓度，采用逆转录试剂盒将 RNA 反转录成 cDNA，按照试剂盒说明书配制反应体系，进行 PCR 扩增反应。引物由北京擎科生物科技股份有限公司合成，序列见表 1。

2.10 统计学分析 通过 GraphPad Prism10.0 和 SPSS 27.0 软件进行处理，计量资料以均数±标准差 ($\bar{x}\pm s$) 表示，满足方差齐性时，多组间比较采用单因素方差分析，组间比较采用 LSD 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 温通活血乳膏对 DPN 大鼠体质量的影响 对

照组大鼠体质量呈现自然增长趋势，表明在没有药物干预的情况下，大鼠体质量正常增长。与对照组比较，模型组大鼠体质量降低 ($P < 0.01$)；与模型组比较，温通各剂量组大鼠给药前后体质量无明显变化 ($P > 0.05$)，见表 2。

表 1 引物序列

基因	序列(5'→3')	产物长度/bp
NF-κB	正向 ACACCCACTCGTACACGTCTTG	103
	反向 AGGTGGATGATGGCTAAGTGTAGG	103
TLR4	正向 CATCAGTGTATCGGTGCTCACTG	94
	反向 ACAGCCAGCAATAAGTATCAGGTG	94
β-actin	正向 CGTAGGGCTTGCTGTGCTTCC	102
	反向 GTCTGACCTTGCTGCTACTGCTTG	102
IL-1β	正向 CTGCTCTTACTGGCTGGAGTGAAG	89
	反向 TGGGTCTGGCTGACTGGAAG	89
TNF-α	正向 CACGCTCTTCTGCTACTGAACCTTC	146
	反向 GGGCTACGGGCTTGCTCACTC	146
iNOS	正向 ACGCACAGGCAGAGGTTGG	120
	反向 AGCAGGCACAGCAATGATG	120
CD86	正向 TGTCTCTTTCTGCTGCTGCTCTAC	88
	反向 CACAAGTCTTTCTGCTGGGTCTG	88

表 2 各组大鼠体质量比较 (g, $\bar{x}\pm s$, n=9)

组别	给药前	给药后
对照组	522.67±53.77	557.83±65.92
模型组	416.64±31.54 ^{##}	421.16±59.10 ^{##}
温通高剂量组	419.97±35.45	432.88±28.18
温通中剂量组	418.92±21.66	434.98±27.96
温通低剂量组	418.68±37.04	428.62±64.48

注：与对照组比较，^{##} $P < 0.01$ 。

3.2 温通活血乳膏对 DPN 大鼠行为学的影响

3.2.1 热痛觉阈值 与对照组比较，模型组大鼠热痛觉阈值升高 ($P < 0.01$)；与模型组比较，温通各剂量组大鼠热痛觉阈值降低 ($P < 0.05$)，见表 3。

3.2.2 机械痛觉阈值 与对照组比较，模型组大鼠机械痛觉阈值升高 ($P < 0.05$)；与模型组比较，温通高剂量组大鼠机械痛觉阈值降低 ($P < 0.05$)，见表 3。

表 3 各组大鼠热痛觉阈值和机械痛觉阈值比较 ($\bar{x}\pm s$, n=9)

组别	热痛觉阈值/s		机械痛觉阈值/g	
	给药前	给药后	给药前	给药后
对照组	4.85±1.24	5.52±1.34	5.59±0.35	5.60±0.32
模型组	15.35±2.58 ^{##}	23.81±4.47 ^{##}	6.08±0.43 [#]	6.52±0.18 [#]
温通高剂量组	14.91±2.87	18.50±4.38 [*]	5.81±0.44	6.21±0.24 [*]
温通中剂量组	14.10±3.67	17.87±4.05 [*]	6.11±0.45	6.33±0.29
温通低剂量组	13.88±3.70	15.19±2.63 [*]	6.06±0.40	6.35±0.26

注：与对照组比较，[#] $P < 0.05$ ，^{##} $P < 0.01$ ；与模型组比较，^{*} $P < 0.05$ 。

3.3 温通活血乳膏对 DPN 大鼠坐骨神经病理学变化的影响 对照组大鼠坐骨神经有髓神经纤维排列

紧密整齐，形态正常，轴突及髓鞘结构清晰，未见水肿、炎症细胞浸润。与对照组比较，模型组大鼠

坐骨神经纤维紊乱，神经轴突固缩变性，髓鞘高度肿胀、变形、可见水肿、炎症细胞浸润。与模型组比较，温通各剂量组大鼠坐骨神经轴突结构变化不同程度减轻，神经束排列较紧密，局部轻度水肿，

血管周和神经髓鞘外炎症细胞浸润减轻；温通高剂量组大鼠部分神经纤维束的髓鞘结构大幅减薄，疑似有损伤再生。结果见图1。

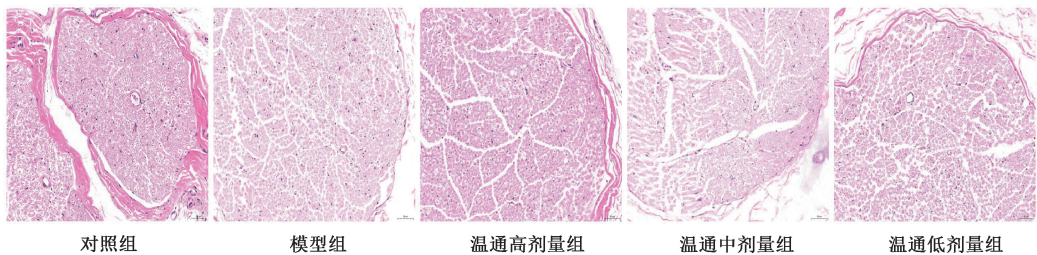
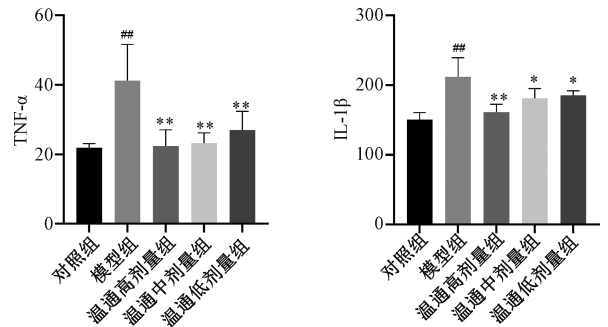


图1 各组大鼠神经组织形态学差异

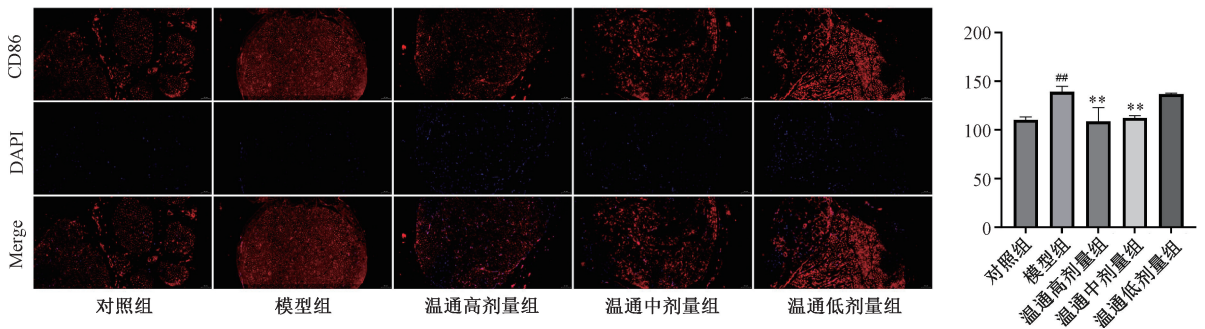
3.4 温通活血乳膏对 DPN 大鼠血清炎症因子水平影响 与对照组比较，模型组大鼠血清 IL-1 β 、TNF- α 水平升高 ($P < 0.01$)；与模型组比较，温通各剂量组大鼠血清 IL-1 β 、TNF- α 水平降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)，见图2。



注：与对照组比较， $##P < 0.01$ ；与模型组比较， $*P < 0.05$ ， $**P < 0.01$ 。

图2 各组大鼠 IL-1 β 、TNF- α 水平比较 ($\bar{x} \pm s$, $n = 9$)

3.5 温通活血乳膏对 DPN 大鼠坐骨神经 CD86 表达定位的影响 与对照组比较，模型组大鼠坐骨神经 CD86 蛋白表达升高 ($P < 0.01$)；与模型组比较，温通中、高剂量组大鼠坐骨神经 CD86 蛋白表达降低 ($P < 0.01$)，见图3。



注：与对照组比较， $##P < 0.01$ ；与模型组比较， $**P < 0.01$ 。

图3 各组大鼠坐骨神经 CD86 蛋白表达比较 ($\times 400$, $\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

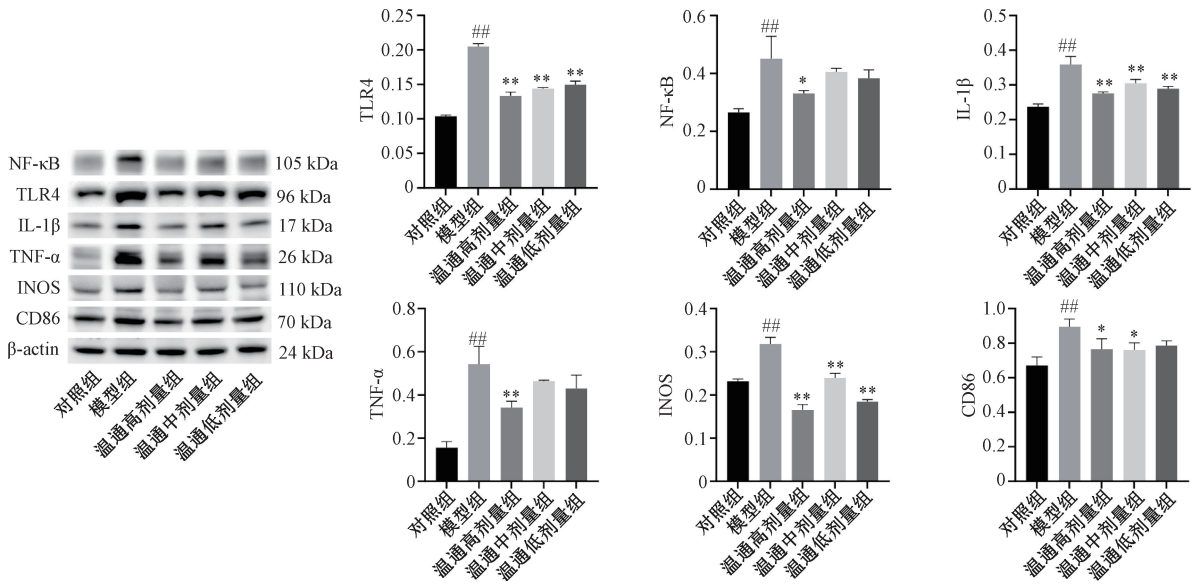
3.6 温通活血乳膏对 DPN 大鼠坐骨神经 NF- κ B、TLR4、IL-1 β 、TNF- α 、iNOS、CD86 蛋白表达的影响 与对照组比较，模型组大鼠坐骨神经 NF- κ B、TLR4、IL-1 β 、TNF- α 、iNOS、CD86 蛋白表达升高 ($P < 0.01$)；与模型组比较，温通各剂量组大鼠坐骨神经 TLR4、IL-1 β 、iNOS 蛋白表达降低 ($P < 0.01$)，温通高剂量组大鼠坐骨神经 NF- κ B、TNF- α 、CD86 蛋白表达降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)，见图4。

影响 与对照组比较，模型组大鼠坐骨神经 NF- κ B、TLR4、IL-1 β 、TNF- α 、iNOS、CD86 mRNA 表达升高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)；与模型组比较，温通各剂量组大鼠坐骨神经 NF- κ B、TLR4、IL-1 β mRNA 表达降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)，温通高剂量组大鼠坐骨神经 TNF- α 、iNOS、CD86 mRNA 表达降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)，见图5。

3.7 温通活血乳膏对 DPN 大鼠坐骨神经 NF- κ B、TLR4、IL-1 β 、TNF- α 、iNOS、CD86 mRNA 表达的

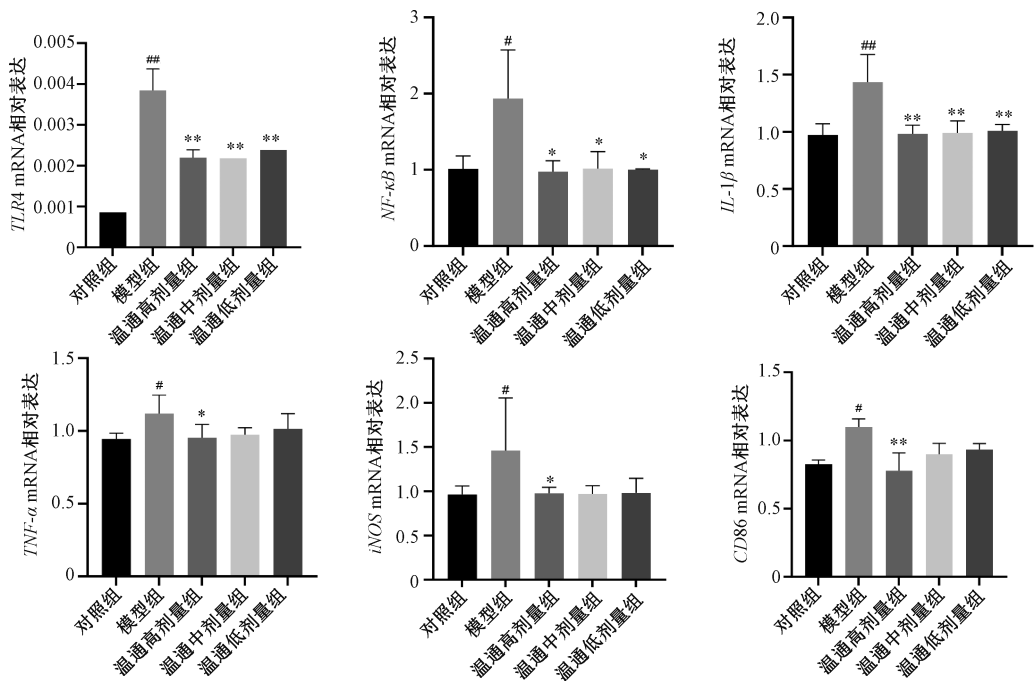
4 讨论

DPN 属中医学“血痹”“麻木”“痛证”“痿证”“痹证”等范畴。《王旭高医案》指出：“消渴日久，但见手足麻木，肢冷如冰。”“凉、麻、



注：与对照组比较，## $P < 0.01$ ；与模型组比较，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$ 。

图4 各组大鼠坐骨神经 NF-κB、TLR4、IL-1β、TNF-α、iNOS、CD86 蛋白表达比较 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)



注：与对照组比较，# $P < 0.05$ ，## $P < 0.01$ ；与模型组比较，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$ 。

图5 各组大鼠坐骨神经 NF-κB、TLR4、IL-1β、TNF-α、iNOS、CD86 mRNA 表达比较 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

痛、痿”为DPN的四大主症。温通活血乳膏由川芎、红花、桂枝等组成，具有活血化瘀、温经通络的功效，在治疗DPN上取得了显著成果^[10-11]。本研究结果发现，温通活血乳膏可降低DPN模型大鼠热刺激阈值及机械痛觉阈值，其中高剂量效果较佳，表明其对热痛觉过敏具有缓解作用，可恢复大鼠对温度和疼痛刺激的敏感性。

DPN病理过程中巨噬细胞浸润和极化是关键

因素之一，也是炎症发展过程的重要环节。巨噬细胞具有高度异质性，根据细胞表面标志物和细胞因子分泌情况，可以将其分为促炎M1表型和抗炎M2表型^[12-13]。M1型巨噬细胞主要分泌炎症细胞因子TNF-α、IL-1β、IL-6等，并参与抗原传递，表达分型标志物iNOS^[14-15]，主要发挥加剧炎症反应和促进组织损伤等作用，M1型巨噬细胞的增多不利于周围神经组织重建。有研究发现，

在 DPN 早期,坐骨神经内浸润的 M1 巨噬细胞数量明显增多,在进行性糖尿病神经病变患者的腓肠神经活检中,IL-1 β 、IL-6 水平均升高^[16],均可刺激伤害感受器放电^[17]。M1/M2 极化表型能够左右炎症发展的方向,并影响神经炎症和轴突损伤,调节此过程可以减轻高糖引起的 DPN^[18]。本研究结果显示,温通活血乳膏给药后,DPN 模型大鼠坐骨神经炎症细胞浸润减轻,神经结构损伤有所改善,巨噬细胞活化的数量减少,炎症标志物(CD86)蛋白表达降低,神经组织中炎症介质(TNF- α 、IL-1 β)的释放减少,提示其可能通过抑制 M1 型巨噬细胞的极化,进而减少促炎细胞因子的释放。

在巨噬细胞极化中,TLR4/NF- κ B 信号通路的作用正逐渐被揭示^[19],其活性的变化能够影响巨噬细胞的极化状态。有研究证实,抑制 TLR4/NF- κ B 信号通路能够抑制 M1 型巨噬细胞极化^[20-21],进而调节炎症反应和组织修复过程^[22]。TLR4 是 TLR 家族的重要成员,参与免疫应答,在高糖等因素刺激下,会使先天性免疫反应启动,TLR4 受体被激活^[23],细胞内信号的传导被细胞表面的模式识别受体 TLR4 触发,通过上下游信号传递激活 NF- κ B,释放炎症因子,进而促进巨噬细胞向 M1 表型极化^[24]。本研究结果显示,DPN 大鼠坐骨神经中 TLR4、NF- κ B 蛋白表达升高,温通活血乳膏可降低 TLR4、NF- κ B 蛋白表达,表明温通活血乳膏可能通过抑制 TLR4/NF- κ B 信号通路活化抑制炎症反应。进一步探究巨噬细胞标记基因 CD86 和 iNOS 在大鼠神经组织中的表达,结果显示,温通活血乳膏给药后 iNOS、CD86 mRNA 表达降低,下游因子 TNF- α 、IL-1 β 水平也降低,结果表明温通活血乳膏不仅调节了 TLR4/NF- κ B 信号通路,还影响了 M1 型巨噬细胞的极化状态及其相关炎症因子的分泌。

综上所述,温通活血乳膏可能通过抑制 TLR4/NF- κ B 信号通路,抑制 M1 巨噬细胞极化,减少炎症因子的分泌,从而改善 DPN,本研究为 DPN 的治疗提供了新的思路和理论依据。

参考文献:

[1] Xu Y, Lu J, Li M, et al. Diabetes in China part 1: epidemiology and risk factors[J]. *Lancet Public Health*, 2024, 9(12): e1089-e1097.
[2] Cheng Y, Chen Y, Li K, et al. How inflammation dictates diabetic peripheral neuropathy: An enlightening review[J].

CNS Neurosci Ther, 2024, 30(4): e14477.
[3] 陈瑞芳,牛 娣,庞欣欣,等.系统免疫炎症指数与糖尿病并发症的研究进展[J].*中国临床新医学*, 2024, 17(11): 1298-1301.
[4] Hakim S, Jain A, Adamson S S et al. Macrophages protect against sensory axon loss in peripheral neuropathy[J]. *Nature*, 2025, 640(8057): 212-220.
[5] Wang X L, Chen F, Shi H, et al. Oxymatrine inhibits neuroinflammation by regulating M1/M2 polarization in N9 microglia through the TLR4/NF- κ B pathway[J]. *Int Immunopharmacol*, 2021, 100: 108139.
[6] 鲍丹丹.温通活血乳膏对气虚血瘀型糖尿病周围神经病变患者生活质量改善的临床研究[D].乌鲁木齐:新疆医科大学,2021.
[7] 沈玉国,冯程程,马 静.温通活血乳膏治疗早期糖尿病下肢血管病变的疗效观察[J].*临床医药文献电子杂志*, 2016, 3(58): 11653-11654; 11656.
[8] 叶 婷,李 晶,徐利娟,等.温通活血乳膏皮肤给药可减轻糖尿病周围神经病变模型大鼠的炎症反应[J].*中国组织工程研究*, 2022, 26(32): 5091-5096.
[9] 严 琦,刘珊珊,古丽逊·买买提朱玛,等.基于 UPR/GRP78/IL-6 信号通路探讨温通活血乳膏治疗糖尿病周围神经病变的作用机制[J].*中南药学*, 2025, 23(2): 319-327.
[10] 徐利娟,冯程程,阿曼古丽·苏力唐,等.温通活血乳膏对 2 型糖尿病周围神经病变模型大鼠背根神经节 ERK1/2 及 p-ERK1/2 的影响[J].*中华中医药学刊*, 2019, 37(1): 112-115; 261.
[11] 马 丽,冯程程,徐利娟,等.温通活血乳膏对 LPS 诱导的 RAW264.7 巨噬细胞 TNF- α 、IL-6、NF- κ B 表达的影响[J].*中成药*, 2018, 40(9): 2058-2062.
[12] Murray P J, Wynn T A. Protective and pathogenic functions of macrophage subsets[J]. *Nat Rev Immunol*, 2011, 11(11): 723-737.
[13] Mercalli A, Calavita I, Dugnani E, et al. Rapamycin unbalances the polarization of human macrophages to M1[J]. *Immunology*, 2013, 140(2): 179-190.
[14] Li C, Song Y, Meng X. The role of macrophages in nerve regeneration: polarization and combination with tissue engineering[J]. *Tissue Eng Part B Rev*, 2025, 31(2): 162-173.
[15] Zajac E, Schweighofer B, Kupriyanova T A, et al. Angiogenic capacity of M1- and M2-polarized macrophages is determined by the levels of TIMP-1 complexed with their secreted proMMP-9 [J]. *Blood*, 2013, 122(25): 4054-4067.
[16] Black B J, Atmaramani R, Kumaraju R, et al. Adult mouse sensory neurons on microelectrode arrays exhibit increased spontaneous and stimulus-evoked activity in the presence of interleukin-6[J]. *J Neurophysiol*, 2018, 120(3): 1374-1385.
[17] Hotamisligil G S. Inflammation, metaflammation and immunometabolic disorders[J]. *Nature*, 2017, 542(7640): 177-185.

- [18] Ren W, Xi G, Li X, *et al.* Long non-coding RNA HCG18 promotes M1 macrophage polarization through regulating the miR-146a/TRAF6 axis, facilitating the progression of diabetic peripheral neuropathy[J]. *Mol Cell Biochem*, 2021, 476(1): 471-482.
- [19] Gong J, Li J, Dong H, *et al.* Inhibitory effects of berberine on proinflammatory M1 macrophage polarization through interfering with the interaction between TLR4 and MyD88[J]. *BMC Complement Altern Med*, 2019, 19(1): 314.
- [20] Zhou Y, Zhang T, Wang X, *et al.* Curcumin modulates macrophage polarization through the inhibition of the toll-like receptor 4 expression and its signaling pathways[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2015, 36(2): 631-641.
- [21] Sun J, Liao Z, Li Z, *et al.* Down-regulation miR-146a-5p in Schwann cell-derived exosomes induced macrophage M1 polarization by impairing the inhibition on TRAF6/NF- κ B pathway after peripheral nerve injury[J]. *Exp Neurol*, 2023, 362: 114295.
- [22] Zhu T, Meng Q, Ji J, *et al.* Toll-like receptor 4 and tumor necrosis factor-alpha as diagnostic biomarkers for diabetic peripheral neuropathy[J]. *Neurosci Lett*, 2015, 585: 28-32.
- [23] 王毅, 毛容秋, 陈青云, 等. 不同运动量对2型糖尿病大鼠肝脏 Toll 样受体 4 和核转录因子 κ -B 表达的影响[J]. *中华物理医学与康复杂志*, 2016, 38(8): 566-571.
- [24] Arnold C E, Whyte C S, Gordon P, *et al.* A critical role for suppressor of cytokine signalling 3 in promoting M1 macrophage activation and function *in vitro* and *in vivo*[J]. *Immunology*, 2014, 141(1): 96-110.

黄芩汤对 TNBS 诱导的小鼠克罗恩病样结肠炎的影响

徐速¹, 周子璇¹, 朱奥甸², 郭雨蓉³, 金胜男¹, 张懋祯¹, 郝艳萍^{4*}

(1. 南京中医药大学附属盐城中医院肛肠科, 江苏 盐城 224001; 2. 南京中医药大学附属盐城中医院中心实验室, 江苏 盐城 224001; 3. 南京中医药大学附属盐城中医院检验科, 江苏 盐城 224001; 4. 盐城市第一人民医院消化科, 徐州医科大学临床学院, 江苏 盐城 224001)

摘要: 目的 探究黄芩汤对三硝基苯磺酸 (TNBS) 诱导的小鼠克罗恩病样结肠炎的影响。方法 将 36 只 C57BL/6J 小鼠随机分为空白组、模型组、美沙拉嗪组 (0.68 g/kg) 和黄芩汤低、中、高剂量组 (5、10、20 g/kg), 每组 6 只。采用 TNBS 灌肠法造模, 连续给药 7 d 并记录小鼠体质量。末次给药后, 收集小鼠血清和结肠组织, ELISA 法检测血清炎症因子 (TNF- α 、IL-1 β) 水平; HE 染色观察结肠组织病理学; Western blot 法检测结肠组织 TLR4/NF- κ B、PI3K/Akt、MAPK 信号通路蛋白表达。结果 与空白组比较, 模型组小鼠体质量降低 ($P < 0.01$); 结肠肠壁增厚、黏膜糜烂溃疡、结肠长度缩短; 血液中白细胞、中性粒细胞和淋巴细胞数量增加 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 血清 TNF- α 、IL-1 β 水平升高 ($P < 0.01$); 结肠组织 TLR4、MyD88、p-IKK α / β 、p-I κ B α 、p-P65、p-ERK、p-JNK、p-P38、p-PI3K、p-Akt 蛋白表达升高 ($P < 0.01$)。与模型组比较, 黄芩汤各剂量组小鼠体质量升高 ($P < 0.01$); 结肠病变程度减轻, 结肠长度无明显缩短; 血液中白细胞、中性粒细胞和淋巴细胞数量减少 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 血清 TNF- α 、IL-1 β 水平降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); 结肠组织 TLR4、MyD88、p-IKK α / β 、p-I κ B α 、p-P65、p-ERK、p-JNK、p-P38、p-PI3K、p-Akt 蛋白表达降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。结论 黄芩汤对小鼠克罗恩病样结肠炎具有保护作用, 其可能通过调控 TLR4/NF- κ B、PI3K/Akt、MAPK 信号通路抑制炎症反应, 降低炎症因子水平。

关键词: 黄芩汤; 克罗恩病样结肠炎; 三硝基苯磺酸 (TNBS); 炎症因子; TLR4/NF- κ B 信号通路; MAPK 信号通路; PI3K/Akt 信号通路

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2026)04-1339-06

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2026.04.039

克罗恩病是一种慢性、复发性的炎症性肠病, 近年来我国发病率不断升高, 且呈低龄化趋势, 严重影响患者生活质量^[1-3]。该病因尚未完全明

确, 普遍认为是环境、微生物、遗传与免疫等多因素相互作用所致^[4]。临床治疗主要依赖氨基水杨酸类、免疫抑制剂和生物制剂等药物^[5], 虽可控

收稿日期: 2025-06-23

基金项目: 江苏省中医药科技发展计划项目 (MS2021071); 2024 年度盐城市卫生健康委员会医学科研项目 (YK2024134)

作者简介: 徐速 (1981—), 男, 博士, 主任医师, 从事中西医结合治疗炎症性肠病的临床和基础研究。E-mail: xstcm81@126.com

* 通信作者: 郝艳萍 (1983—), 女, 博士, 主任医师, 从事炎症性肠病的临床和基础研究。E-mail: haoyanping1983@163.com