

[药 理]

基于 NLRP3/Caspase-1/GSDMD 信号通路探讨首荟通便胶囊对便秘小鼠结肠组织损伤的影响

张齐猛¹, 梁 勇¹, 石 宇², 张 洋², 张虹玺^{2*}

(1. 辽宁中医药大学, 辽宁 沈阳 110847; 2. 辽宁中医药大学附属第三医院, 辽宁 沈阳 110003)

摘要: **目的** 探讨首荟通便胶囊对便秘小鼠结肠组织损伤的影响。**方法** 将 C57BL/6J 小鼠随机分为对照组、模型组、莫沙必利组 (3 mg/kg 枸橼酸莫沙必利分散片) 和首荟低、高剂量组 (150、300 mg/kg 首荟通便胶囊), 每组 12 只。除对照组外, 其余各组小鼠灌胃 10 mg/kg 盐酸洛哌丁胺 21 d 以诱导建立便秘模型, 造模 7 d 后连续灌胃给药 14 d。观察小鼠首粒黑便排出时间, 测定粪便含水率和肠道推进率; HE 染色观察结肠组织病理形态; ELISA 法检测血清 IL-1 β 、IL-18、TNF- α 水平; 免疫组织化学法检测结肠组织 IL-18、NLRP3 蛋白表达及肠道屏障蛋白 Claudin-1、Occludin 表达; Western blot 法检测结肠组织 p38、p-p38、NF- κ B、IL-1 β 、IL-6、IL-18、TNF- α 、cleaved-Caspase-1 (C-Caspase-1) +Caspase-1、GSDMD+N-GSDMD、NLRP3、ASC 蛋白表达; RT-qPCR 法检测结肠组织 p38、NF- κ B、IL-1 β 、TNF- α 、Caspase-1、GSDMD、NLRP3、ASC mRNA 表达。**结果** 与对照组比较, 模型组小鼠首粒黑便排出时间延长 ($P < 0.05$), 粪便含水率和肠道推进率降低 ($P < 0.05$); 结肠组织呈现炎性损伤和屏障受损状态; 血清 IL-1 β 、IL-18、TNF- α 水平升高 ($P < 0.05$); 结肠组织 p-p38/p38、NF- κ B、IL-1 β 、IL-6、IL-18、TNF- α 、C-Caspase-1/Caspase-1、N-GSDMD/GSDMD、NLRP3、ASC 蛋白表达升高 ($P < 0.05$), Claudin-1、Occludin 蛋白表达降低 ($P < 0.05$); 结肠组织 p38、NF- κ B、IL-1 β 、TNF- α 、Caspase-1、GSDMD、NLRP3、ASC mRNA 表达升高 ($P < 0.05$)。与模型组比较, 首荟高剂量组小鼠首粒黑便排出时间缩短 ($P < 0.05$), 粪便含水率和肠道推进率升高 ($P < 0.05$); 结肠组织炎性损伤和屏障受损情况恢复; 血清 IL-1 β 、IL-18、TNF- α 水平降低 ($P < 0.05$); 结肠组织 p-p38/p38、NF- κ B、IL-1 β 、IL-6、IL-18、TNF- α 、C-Caspase-1/Caspase-1、N-GSDMD/GSDMD、NLRP3、ASC 蛋白表达降低 ($P < 0.05$), Claudin-1、Occludin 蛋白表达升高 ($P < 0.05$); 结肠组织 p38、NF- κ B、IL-1 β 、TNF- α 、Caspase-1、GSDMD、NLRP3、ASC mRNA 表达降低 ($P < 0.05$)。**结论** 首荟通便胶囊能够改善便秘小鼠结肠组织的炎性损伤和屏障受损状态, 其作用可能与抗炎及抑制 NLRP3/Caspase-1/GSDMD 信号通路活化有关。

关键词: 首荟通便胶囊; 便秘; 肠道屏障; 炎症因子; 炎性损伤; NLRP3/Caspase-1/GSDMD 信号通路

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2026)04-1123-08

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2026.04.008

Effects of Shouhui Tongbian Capsules on colon tissue injury in constipation mice based on NLRP3/Caspase-1/GSDMD signaling pathway

ZHANG Qi-meng¹, LIANG Yong¹, SHI Yu², ZHANG Yang², ZHANG Hong-xi^{2*}

(1. Liaoning University of Chinese Medicine, Shenyang 110847, China; 2. The Third Affiliated Hospital of Liaoning University of Chinese Medicine, Shenyang 110003, China)

ABSTRACT: **AIM** To investigate the effects of Shouhui Tongbian Capsules on colon tissue injury in constipation mice. **METHODS** C57BL/6J mice were randomly divided into control group, model group, mosapride group (3 mg/kg mosapride citrate dispersible tablets) and Shouhui low-dose and high-dose groups (150, 300 mg/kg

收稿日期: 2025-06-18

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (82174371); 辽宁科学技术计划项目 (2022JH2/101300060); 沈阳市科技计划项目 (24-214-3-186, 24-214-3-188)

作者简介: 张齐猛 (1997—), 男, 博士在读, 从事中医药防治便秘的基础与临床研究。E-mail: zqm18955001873@163.com

* 通信作者: 张虹玺 (1973—), 男, 博士, 教授, 博士生导师, 从事中医药便秘的基础与临床研究。E-mail: zhanghongxi999@163.com

Shouhui Tongbian Capsules), with 12 mice in each group. Except for the control group, mice in other groups were given 10 mg/kg loperamide hydrochloride by gavage for 21 days to induce constipation models. After 7 days of modeling, they were given drugs by gavage continuously for 14 days. The excretion time of the first black stool in mice was observed, and the fecal moisture content and intestinal propulsion rate were measured. HE staining was used to observe the pathological morphology of colon tissue. Serum levels of IL-1 β , IL-18 and TNF- α were detected by ELISA. Immunohistochemistry was used to detect the protein expressions of IL-18 and NLRP3, and the intestinal barrier protein expressions of Claudin-1 and Occludin in colon tissue. Western blot was used to detect the protein expressions of p38, p-p38, NF- κ B, IL-1 β , IL-6, IL-18, TNF- α , cleaved-Caspase-1 (C-Caspase-1) +Caspase-1, GSDMD+N-GSDMD, NLRP3 and ASC in colon. RT-qPCR was used to detect the mRNA expressions of p38, NF- κ B, IL-1 β , TNF- α , Caspase-1, GSDMD, NLRP3 and ASC in colon tissue. **RESULTS** Compared with the control group, the excretion time of the first black stool in the model group was prolonged ($P<0.05$), and the fecal moisture content and intestinal propulsion rate were decreased ($P<0.05$). Colon tissue showed inflammatory injury and barrier damage. Serum levels of IL-1 β , IL-18 and TNF- α increased ($P<0.05$). The protein expressions of p-p38/p38, NF- κ B, IL-1 β , IL-6, IL-18, TNF- α , C-Caspase-1/Caspase-1, N-GSDMD/GSDMD, NLRP3 and ASC in colon tissue were increased ($P<0.05$), while the protein expressions of Claudin-1 and Occludin decreased ($P<0.05$). The mRNA expressions of p38, NF- κ B, IL-1 β , TNF- α , Caspase-1, GSDMD, NLRP3 and ASC in colon tissue increased ($P<0.05$). Compared with the model group, the excretion time of the first black stool in Shouhui high-dose group was shortened ($P<0.05$), and the fecal moisture content and intestinal propulsion rate were increased ($P<0.05$). Inflammatory injury and barrier damage of colon tissue recovered. Serum levels of IL-1 β , IL-18 and TNF- α decreased ($P<0.05$). The protein expressions of p-p38/p38, NF- κ B, IL-1 β , IL-6, IL-18, TNF- α , C-Caspase-1/Caspase-1, N-GSDMD/GSDMD, NLRP3 and ASC in colon tissue decreased ($P<0.05$), while the protein expressions of Claudin-1 and Occludin increased ($P<0.05$). The mRNA expressions of p38, NF- κ B, IL-1 β , TNF- α , Caspase-1, GSDMD, NLRP3 and ASC in colon tissue decreased ($P<0.05$). **CONCLUSION** Shouhui Tongbian Capsules can improve the inflammatory injury and barrier damage of colon tissue in constipation mice, and its effect may be related to anti-inflammation and inhibition of activation of NLRP3/Caspase-1/GSDMD signaling pathway.

KEY WORDS: Shouhui Tongbian Capsules; constipation; intestinal barrier; inflammatory factors; inflammatory injury; NLRP3/Caspase-1/GSDMD signaling pathway

便秘是临床常见的疾病,长期便秘的患者可能会诱发痔疮、肛裂、结肠癌等疾病^[1]。现代研究认为便秘与肠上皮屏障稳态失衡密切相关^[2],剧烈的炎症反应会导致肠上皮屏障稳态失衡^[3],二者相互作用,加重便秘状态。肠上皮细胞异常死亡致肠上皮细胞的增殖-凋亡动态平衡被打破,破坏肠道正常结构,肠上皮屏障稳态失衡,靶向逆转肠上皮细胞的异常死亡可能是治疗疾病的方向^[4]。细胞焦亡是一种溶解性、炎症性的程序性细胞死亡,通常由炎症小体触发^[5]。此过程会导致炎症因子IL-1 β 、IL-18前体的成熟^[6],诱发炎症,当过度的炎症小体激活会导致炎症性疾病的发展^[7]。

目前治疗便秘的药物过于单一,且部分患者对这些药物无应答^[8],而长时间使用泻药治疗便秘还会导致药物依赖,造成胃损伤等情况^[9]。因此,寻求中药的靶向治疗可能会成为新的出路。首荟通

便胶囊是治疗慢性传输型便秘的中药复方制剂,方中人参、白术补气健脾,阿胶、何首乌、枸杞子补血养阴,枳实消积通便,芦荟、决明子润肠通便,诸药合用共奏润肠通便、清热滋阴、益气养血、理气消导之效^[10-11]。有研究发现,首荟通便胶囊可降低便秘小鼠血清炎症因子水平,修复受损的肠道屏障^[12-13]。本实验拟探讨首荟通便胶囊对便秘小鼠结肠组织损伤的改善作用,并初步探索其对NLRP3/Caspase-1/GSDMD信号通路的影响。

1 材料

1.1 实验动物 健康的无特定病原体的C57BL/6J小鼠60只,雄性,5~6周龄,体质量18~22g,购于辽宁长生生物技术股份有限公司[实验动物生产许可证号SCXK(辽)2020-0001],饲养于辽宁中医药大学实验动物中心SPF级动物室[实验动物使用许可证号SYXK(辽)2019-0004],饲养

温度 22~25 ℃, 相对湿度 40%~60%, 常规颗粒饲料喂养, 食水自由, 12 h/12 h 昼夜节律活动。本实验方案经辽宁中医药大学医学伦理委员会批准(伦理批号 21000042024029)。

1.2 试剂与药物 首荟通便胶囊(鲁南厚普制药有限公司, 规格 0.35 g/粒, 批号 26220161); 枸橼酸莫沙必利分散片(成都康弘药业集团股份有限公司, 规格 5 mg/片, 批号 4B001); 盐酸洛哌丁胺胶囊(西安杨森制药有限公司, 批号 NHJ5102, 规格 2 mg/粒)。BCA 蛋白定量试剂盒、预染蛋白 Marker(上海雅酶生物医药科技有限公司, 批号 ZJ102、WJ103); Goat Anti-Rabbit 免疫球蛋白(Ig) G-辣根过氧化物酶(HRP)抗体[艾比玛特医药科技(上海)有限公司, 批号 M21003]; 磷酸化(p)-p38 抗体(北京义翘神州科技股份有限公司, 批号 110435-R0004); 含半胱天冬酶募集结构域的凋亡相关斑点样蛋白(ASC)、NOD 样受体家族含 pyrin 结构域蛋白 3(NLRP3)、白细胞介素(IL)-1 β 、核因子- κ B(NF- κ B)、IL-18、Claudin-1、Occludin 抗体(江苏亲科生物研究中心有限公司, 批号 DF6304、BF8029、BF8021、AF5006、DF6252、AF0127、DF7504); Gasdermin D 蛋白和 N-端 Gasdermin D 蛋白(GSDMD + N-GSDMD)、活化型和前体半胱天冬酶-1[cleaved-Caspase-1(C-Caspase-1)+Caspase-1]、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、IL-6、p38 丝裂原活化蛋白激酶(p38)、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)抗体(杭州华安生物技术有限公司, 批号 PD00-18、JE56-35、PS01-07、EM1701-45、PSH03-72、ET1601-4); DAB 显色试剂盒(北京索莱宝科技有限公司, 批号 DA1010); NovoScript[®] Plus All-in-one 1st Strand cDNA Synthesis SuperMix(苏州近岸蛋白科技股份有限公司, 批号 E047-01A); 苏木素-伊红(HE)染液、RNA 提取液(武汉赛维尔生物科技有限公司, 批号 G1005、G3013); 小鼠 IL-1 β 、IL-18、TNF- α ELISA 检测试剂盒(上海江莱生物科技有限公司, 批号 JL18442、JL20253、JL10484)。

1.3 仪器 Leica ASP 300 全自动脱水机、RM2016 病理切片机(德国 Leica 公司); 5200 全自动化学发光图像分析系统(上海天能科技有限公司); M8 数字扫描显微成像系统(德国 PreciPoint 公司); WIX-miniPRO4 迷你垂直电泳仪、WIX-mini BLOT 转膜仪[韦克斯科技(北京)有限公司]; T100[™] Thermal Cycler 梯度 PCR 仪

(美国 Bio-Rad 公司); QuantStudio[™] 3 实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)扩增仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司)。

2 方法

2.1 分组、造模及给药 小鼠适应性喂养 7 d 后, 随机选取 12 只作为对照组, 其余小鼠随机分为模型组、莫沙必利组和首荟低、高剂量组, 每组 12 只。除对照组外, 其余各组小鼠灌胃给予 10 mg/kg 盐酸洛哌丁胺混悬液建立便秘模型, 每天 2 次, 连续 21 d^[14]。造模第 8 天时, 莫沙必利组和首荟低、高剂量组小鼠在灌胃给予 10 mg/kg 盐酸洛哌丁胺 1 h 后, 分别灌胃给予 3 mg/kg 枸橼酸莫沙必利分散片混悬液及 150、300 mg/kg 首荟通便胶囊混悬液, 每天 1 次, 连续 14 d; 而模型组小鼠则灌胃给予等量生理盐水。首荟通便胶囊的临床给药剂量为每天 2.1 g, 正常成人平均体质量为 60 kg, 小鼠与人的等效剂量比为 8.65^[15], 首荟通便高剂量由临床等效剂量换算, 首荟高剂量 $\approx 2.1 \times 8.65/60$ 。

2.2 首粒黑便排出时间和粪便含水率测定 末次给药前, 小鼠禁食不禁水 12 h, 给药 30 min 后, 灌胃给予 0.2 mL 5% 活性炭混悬液, 恢复正常饮水和摄食, 单笼饲养, 记录首粒黑便排出时间。同时收集小鼠 6 h 内的粪便, 称定质量, 记录为粪便湿重; 真空冷冻干燥后封口称定质量, 记录为粪便干重, 计算粪便含水率, 公式为粪便含水率 = [(粪便湿重 - 粪便干重) / 粪便湿重] $\times 100\%$ 。

2.3 肠道推进率测定 所有小鼠在末次给药前禁食 12 h。末次给药 30 min 后, 灌胃给予 0.2 mL 5% 活性炭混悬液, 30 min 后将小鼠麻醉处死, 取出肠管, 测量幽门到回盲部的距离, 记录为小肠总长度, 测量幽门至炭末前沿的距离, 记录为炭末推进长度, 计算小肠推进率, 公式为小肠推进率 = (炭末推进长度 / 小肠总长度) $\times 100\%$ 。

2.4 HE 染色观察结肠组织病理形态 取小鼠结肠组织约 1 cm, 生理盐水冲洗后置于 4% 多聚甲醛中固定 24~48 h, 脱水后包埋制成蜡块。取蜡块, 制备 5 μ m 组织切片, 切片脱蜡复水后进行 HE 染色, 并于光学显微镜下观察结肠组织形态。

2.5 ELISA 法检测血清炎症因子水平 小鼠经麻醉后腹主动脉取血, 低温 3 500 r/min 离心 20 min 后取上清置于 EP 管中, 按照 ELISA 试剂盒说明书检测小鼠血清 IL-1 β 、TNF- α 和 IL-18 水平, 使用酶标仪测量吸光度, 并通过标准曲线计算抗原浓度。

2.6 免疫组织化学法检测结肠组织 IL-18、NLRP3、Claudin-1、Occludin 蛋白表达 取结肠组织石蜡切片，脱蜡后放入柠檬酸钠缓冲液中进行抗原热修复，用10%山羊血清蛋白封闭，PBST洗涤后滴加一抗4℃孵育过夜，次日滴加二抗室温孵育40 min，洗涤后DAB显色，苏木精染核2 min，脱蜡水化后用中性树脂封片，于光学显微镜下观察蛋白阳性表达并采集图像，采用Image J软件对免疫组化图片进行分析，计算上述蛋白的平均光密度值。

2.7 Western blot 法检测结肠组织相关蛋白表达 取适量小鼠结肠组织，加入蛋白裂解液和蛋白酶抑制剂，研磨，4℃、12 000 r/min 离心 15 min，离心半径 10 cm，收集上清液，BCA 法测定蛋白含量，加入蛋白上样缓冲液后加热变性，保存备用。蛋白样本上样后，经 SDS-PAGE 凝胶电泳进行分离，然后转移至 PVDF 膜上，封闭后加入 p38、p-p38、NF-κB、IL-1β、IL-6、IL-18、TNF-α、C-Caspase-1+ Caspase-1、GSDMD + N-GSDMD、NLRP3、ASC、GAPDH 一抗4℃孵育过夜，次日选择相应二抗进行免疫反应。洗膜后用 ECL 发光液浸泡条带，放置于显影成像仪中曝光，采用 Image J 软件分析条带灰度值。

2.8 RT-qPCR 检测结肠组织相关 mRNA 表达 取适量小鼠结肠组织，采用 Trizol 试剂提取总 RNA，测定在 RNA 浓度和纯度后，按照逆转录试剂盒说明书操作，合成 cDNA，并使用 NovoScript® Plus All-in-one 1st Strand cDNA Synthesis Super Mix 试剂盒进行 PCR 扩增。反应条件为 95℃ 预变性 30 s；95℃ 变性 5 s，60℃ 退火 30 s，循环 40~45 次。熔解曲线分析条件为 95℃ 15 s；60℃ 1 min；95℃ 15 s；50℃ 30 s。以 GAPDH 为内参，采用 2^{-ΔΔCT} 法计算各 mRNA 相对表达。引物由武汉赛维尔生物

科技有限公司设计合成，序列见表 1。

表 1 引物序列

Tab. 1 Primer sequences

基因	序列(5'→3')	产物长度/bp
NF-κB	正向 AACACTGCCGAGCTCAAGAT	163
	反向 CATCGGCTTGAGAAAAGGAG	
NLRP3	正向 ATTACCCGCCGAGAAAAGG	141
	反向 TCGCAGCAAAGATCCACACAG	
Caspase-1	正向 CCTTCCTTGATTATCATGTCTCA	152
	反向 GATAACCTTGGCCTTGTCTT	
GAPDH	正向 CAAGGCTGTGGGAAGGTCAT	153
	反向 GCCTGCTTACCACCTTCTTG	
ASC	正向 CAACAAGGAACCTTTGAACCC	84
	反向 TGGTCCCTCATTATTTGTG	
IL-1β	正向 AGTGTGGATCCAAGCAATACCCA	120
	反向 TGTCTGACCAGTGTGTTTCCCA	
TNF-α	正向 CCCTCACACTCAGATCATCTTCT	145
	反向 GCTACGACCTGGGCTACAG	
p38	正向 TGGACTCGGATAAGAGGAT	109
	反向 AAGACTGGTCATAAGGGT	
GSDMD	正向 CCATCGGCCTTTGAGAAAGTG	170
	反向 ACACATGAATAACGGGGTTTCC	

2.9 统计学分析 通过 SPSS 25.0 软件进行处理，计量资料以均数±标准差 ($\bar{x} \pm s$) 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 首荟通便胶囊对小鼠便秘相关指标的影响 与对照组比较，模型组小鼠首粒黑便排出时间延长 ($P < 0.05$)，粪便含水率和肠道推进率降低 ($P < 0.05$)；与模型组比较，莫沙必利组和首荟各剂量组小鼠首粒黑便排出时间均缩短 ($P < 0.05$)，首荟高剂量组小鼠粪便含水率和肠道推进率均升高 ($P < 0.05$)，莫沙必利组小鼠肠道推进率升高 ($P < 0.05$)，说明临床剂量的首荟通便胶囊可以很好地改善便秘小鼠的胃肠动力，见表 2。

表 2 各组小鼠首粒黑便排出时间、粪便含水率和肠道推进率比较 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Tab. 2 Comparison of excretion time of the first black stool, fecal moisture content and intestinal propulsion rate of mice in each group ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	首粒黑便排出时间/min	粪便含水率/%	肠道推进率/%
对照组	204.18±6.69	54.47±3.75	79.56±2.70
模型组	402.25±8.03*	41.83±3.94*	45.45±2.44*
莫沙必利组	307.42±7.76#	47.99±3.19	53.66±2.24#
首荟低剂量组	354.03±8.76#	45.44±1.15	50.90±2.66
首荟高剂量组	256.07±6.36#	53.12±3.42#	65.80±1.65#

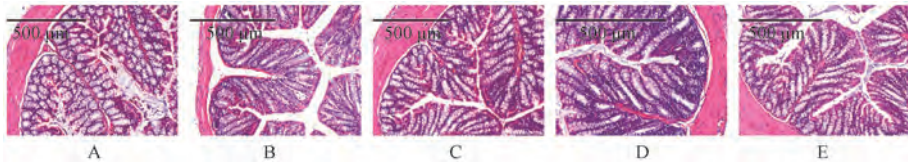
注：与对照组比较，* $P < 0.05$ ；与模型组比较，# $P < 0.05$ 。

3.2 首荟通便胶囊对便秘小鼠结肠组织病理形态的影响 正常组小鼠结肠组织上皮完整，杯状细胞

丰富，隐窝规则深长，黏膜肌层清晰，固有层免疫细胞稀少，黏膜下层无水肿，肌层厚薄均匀排列整

齐,无明显炎症或结构破坏;模型组小鼠结肠组织杯状细胞减少,固有层炎症细胞浸润增多,隐窝结构异常,黏膜及黏膜下层水肿充血,肌层增厚、紊

乱,且有纤维化倾向,整体呈现慢性炎症和组织结构损伤性改变;莫沙必利组和首荟各剂量组小鼠结肠组织炎症表现和结构损伤有所改善,见图1。



注: A 为对照组, B 为模型组, C 为莫沙必利组, D~E 分别为首荟低、高剂量组。

图1 各组小鼠结肠组织 HE 染色 (×200)

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

3.3 首荟通便胶囊对便秘小鼠血清 IL-1β、TNF-α 和 IL-18 水平的影响 与对照组比较,模型组小鼠血清 IL-1β、TNF-α 和 IL-18 水平升高 (P<0.05);

与模型组比较,莫沙必利组和首荟各剂量组小鼠血清 IL-1β 和 TNF-α 水平降低 (P<0.05),首荟高剂量组 IL-18 水平降低 (P<0.05),见表3。

表3 各组小鼠血清 IL-1β、TNF-α 和 IL-18 水平比较 (x̄±s, n=6)

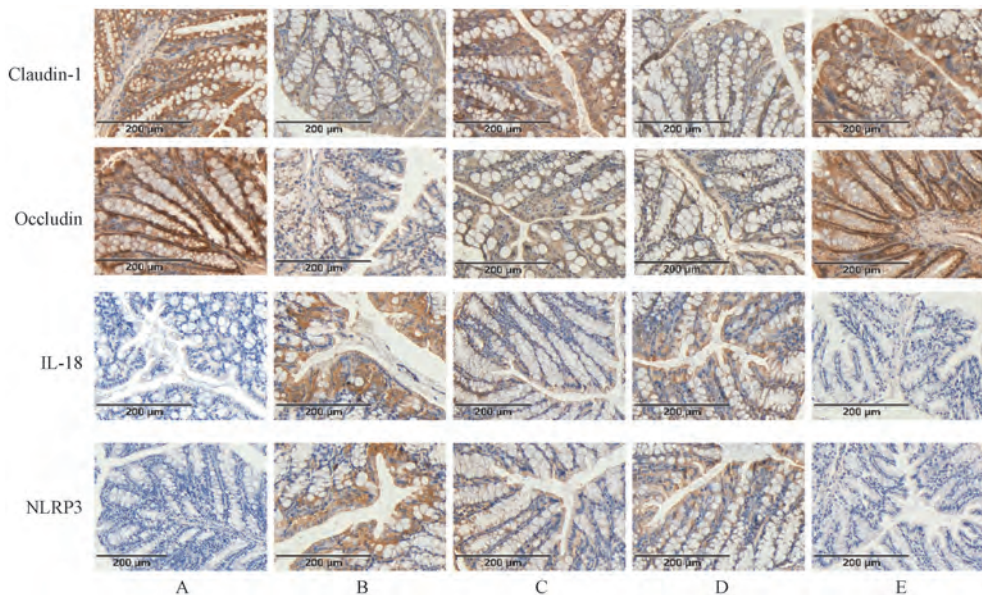
Tab. 3 Comparison of serum IL-1β, TNF-α and IL-18 levels in mice of each group (x̄±s, n=6)

组别	IL-18	IL-1β	TNF-α
对照组	88.16±16.01	69.79±10.66	86.36±18.66
模型组	184.86±51.01*	177.90±16.20*	270.36±26.86*
莫沙必利组	130.91±14.03	140.10±9.83#	197.50±18.44#
首荟低剂量组	151.67±14.52	144.21±10.59#	202.95±23.02#
首荟高剂量组	118.38±12.08#	116.26±14.73#	149.82±19.07#

注:与对照组比较,*P<0.05;与模型组比较,#P<0.05。

3.4 首荟通便胶囊对便秘小鼠结肠组织 Claudin-1、Occludin、IL-18、NLRP3 蛋白表达的影响 对照组小鼠结肠组织 IL-18、NLRP3 无着色或着色较弱, Claudin-1、Occludin 着色较深;与对照组比较,模型组小鼠结肠组织 IL-18、NLRP3 表达升高

(P<0.05), Claudin-1、Occludin 表达降低 (P<0.05);与模型组比较,莫沙必利组和首荟高剂量组 IL-18、NLRP3 表达降低 (P<0.05), Claudin-1、Occludin 表达升高 (P<0.05),见图2、表4。



注: A 为对照组, B 为模型组, C 为莫沙必利组, D~E 分别为首荟低、高剂量组。

图2 各组小鼠结肠组织 Claudin-1、Occludin、IL-18、NLRP3 免疫组织化学染色 (×200)

Fig. 2 Immunohistochemical staining of Claudin-1, Occludin, IL-18 and NLRP3 in colon tissue of mice in each group (×200)

表4 各组小鼠结肠组织 Claudin-1、Occludin、IL-18、NLRP3 蛋白表达比较 ($\bar{x}\pm s, n=3$)

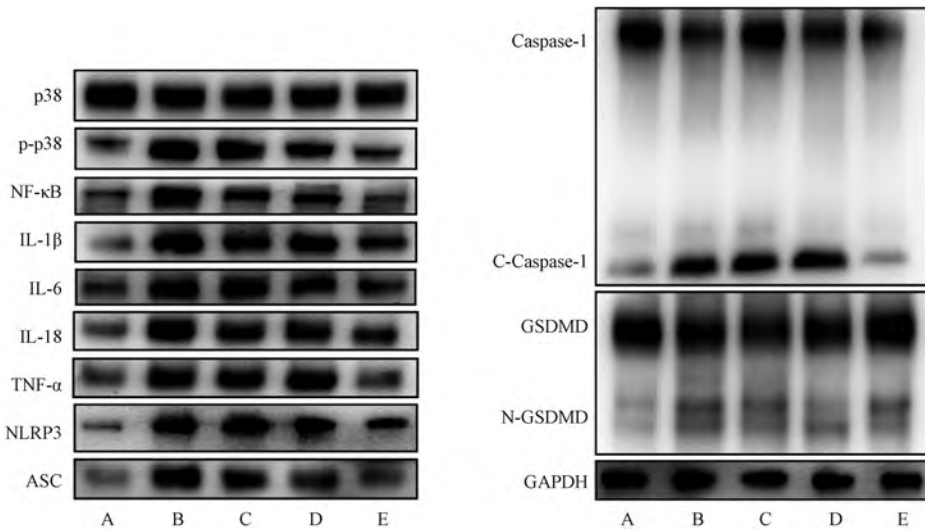
Tab.4 Comparison of the protein expressions of Claudin-1, Occludin, IL-18 and NLRP3 in colon tissue of mice in each group ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	Claudin-1	Occludin	IL-18	NLRP3
对照组	0.28±0.02	0.31±0.03	0.05±0.01	0.08±0.02
模型组	0.17±0.01*	0.11±0.02*	0.26±0.03*	0.20±0.01*
莫沙必利组	0.20±0.02 [#]	0.18±0.01 [#]	0.13±0.03 [#]	0.14±0.02 [#]
首荟低剂量组	0.19±0.01	0.13±0.01	0.18±0.01	0.17±0.01
首荟高剂量组	0.23±0.02 [#]	0.23±0.03 [#]	0.09±0.01 [#]	0.09±0.01 [#]

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

3.5 首荟通便胶囊对便秘小鼠炎症细胞焦亡相关功能蛋白表达的影响 与对照组比较,模型组小鼠结肠组织 p-p38/p38、NF- κ B、IL-1 β 、IL-6、IL-18、TNF- α 、C-Caspase-1/Caspase-1、N-GSDMD/GSDMD、NLRP3、ASC 蛋白表达升高 ($P<0.05$)；

与模型组比较,首荟高剂量组小鼠结肠组织 p-p38/p38、NF- κ B、IL-1 β 、IL-6、IL-18、TNF- α 、C-Caspase-1/Caspase-1、N-GSDMD/GSDMD、NLRP3、ASC 蛋白表达降低 ($P<0.05$),见图3、表5。



注：A为对照组, B为模型组, C为莫沙必利组, D~E分别为首荟低、高剂量组。

图3 各组小鼠结肠组织 p38、p-p38、NF- κ B、IL-1 β 、IL-6、IL-18、TNF- α 、NLRP3、ASC、Caspase-1、C-Caspase-1、GSDMD、N-GSDMD 蛋白条带图

Fig.3 Protein bands of p38, p-p38, NF- κ B, IL-1 β , IL-6, IL-18, TNF- α , NLRP3, ASC, Caspase-1, C-Caspase-1, GSDMD and N-GSDMD in colon tissue of mice in each group

表5 各组小鼠结肠组织 p-p38/p38、NF- κ B、IL-1 β 、IL-6、IL-18、TNF- α 、C-Caspase-1/Caspase-1、N-GSDMD/GSDMD、NLRP3、ASC 蛋白表达比较 ($\bar{x}\pm s, n=3$)

Tab.5 Comparison of the protein expressions of p-p38/p38, NF- κ B, IL-1 β , IL-6, IL-18, TNF- α , C-Caspase-1/Caspase-1, N-GSDMD/GSDMD, NLRP3 and ASC in colon tissue of mice in each group ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	p-p38/p38	NF- κ B	IL-1 β	IL-6	IL-18
对照组	1.00±0.03	1.00±0.02	1.00±0.07	1.00±0.11	1.00±0.02
模型组	1.82±0.07*	2.01±0.02*	2.21±0.03*	1.97±0.15*	1.69±0.07*
莫沙必利组	1.66±0.05	1.52±0.02 [#]	1.62±0.03 [#]	1.32±0.13 [#]	1.35±0.01 [#]
首荟低剂量组	1.56±0.05	1.53±0.04 [#]	1.58±0.05 [#]	1.42±0.04	1.41±0.01 [#]
首荟高剂量组	1.41±0.04 [#]	1.14±0.02 [#]	1.34±0.12 [#]	1.18±0.14 [#]	1.24±0.05 [#]
组别	TNF- α	C-Caspase-1/Caspase-1	N-GSDMD/GSDMD	NLRP3	ASC
对照组	1.00±0.06	1.00±0.05	1.00±0.09	1.00±0.07	1.00±0.09
模型组	1.59±0.02*	2.64±0.12*	2.44±0.03*	2.75±0.12*	2.06±0.16*
莫沙必利组	1.34±0.02 [#]	1.91±0.07 [#]	1.93±0.09	2.33±0.09	1.53±0.09
首荟低剂量组	1.36±0.04 [#]	1.98±0.06 [#]	1.60±0.15 [#]	2.30±0.12	1.53±0.01
首荟高剂量组	1.14±0.02 [#]	1.28±0.08 [#]	1.40±0.08 [#]	1.78±0.07 [#]	1.31±0.04 [#]

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

3.6 首荟通便胶囊对便秘小鼠结肠组织 *NF-κB*、*NLRP3*、*Caspase-1*、*ASC*、*IL-1β*、*TNF-α*、*p38*、*GSDMD* mRNA 表达的影响 与对照组比较, 模型组小鼠结肠组织 *NF-κB*、*NLRP3*、*Caspase-1*、*ASC*、*IL-1β*、*TNF-α*、*p38*、*GSDMD* mRNA 表达升高

($P < 0.05$); 与模型组比较, 首荟高剂量组小鼠结肠组织 *NF-κB*、*NLRP3*、*Caspase-1*、*ASC*、*IL-1β*、*TNF-α*、*p38*、*GSDMD* mRNA 表达降低 ($P < 0.05$), 见表6。

表6 各组小鼠结肠组织 *NF-κB*、*NLRP3*、*Caspase-1*、*ASC*、*IL-1β*、*TNF-α*、*p38*、*GSDMD* mRNA 表达比较 ($\bar{x} \pm s, n=3$)
Tab. 6 Comparison of the mRNA expressions of *NF-κB*, *NLRP3*, *Caspase-1*, *ASC*, *IL-1β*, *TNF-α*, *p38* and *GSDMD* mRNA colon tissue of mice in each group ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	<i>NF-κB</i>	<i>NLRP3</i>	<i>Caspase-1</i>	<i>ASC</i>
对照组	1.01±0.14	1.01±0.21	1.13±0.62	1.03±0.33
模型组	9.37±0.59*	10.36±1.46*	11.34±0.90*	10.20±0.39*
莫沙必利组	3.16±0.51	7.52±1.87#	7.75±1.33#	5.05±0.97
首荟低剂量组	3.96±1.10	8.36±1.01#	8.55±1.16#	5.22±2.40
首荟高剂量组	2.07±0.47#	1.39±0.32#	1.47±0.78#	2.45±0.32#
组别	<i>IL-1β</i>	<i>TNF-α</i>	<i>p38</i>	<i>GSDMD</i>
对照组	1.04±0.17	1.12±0.66	1.01±0.19	1.04±0.34
模型组	8.93±0.26*	8.88±2.13*	10.05±3.83*	6.01±1.62*
莫沙必利组	5.66±1.02	5.43±0.54	4.10±1.02	3.14±1.13
首荟低剂量组	6.03±3.12	7.83±2.19	4.97±1.71	4.60±1.18
首荟高剂量组	2.93±0.59#	1.80±0.46#	1.62±0.57#	2.24±0.27#

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

4 讨论

便秘是临床常见病症, 以大便排出困难、排便周期延长、便后不畅为主要表现^[16]。中医在《杂病源流犀烛》中首次提出“便秘”这一病名^[17]。中医认为, 便秘多是因为气血阴阳不足而导致肠道津液亏虚, 治疗以调理脏腑气血阴阳亏虚为主, 同时采用益气养阴、补血润肠、导滞通便的治疗方针^[18]。首荟通便胶囊据此立意, 以人参、芦荟为君, 臣以何首乌和阿胶, 佐以决明子、枸杞子、白术, 养阴益气, 补泻兼施, 标本兼治, 达到泻浊通便之功^[19]。于亚权^[20]研究发现, 首荟通便胶囊能够改变便秘患者体内的炎症指标, 提示其可能通过炎症途径干预疾病的发展。

本实验采用盐酸洛哌丁胺构建的便秘模型小鼠呈现典型的病理特征, 结肠组织出现慢性炎症和组织结构损伤性改变。现代研究发现, 炎症与便秘的发病有着相关性, 功能型便秘常常伴有肠道炎症及损伤, 同时, 肠道炎症会引发肠道动力减弱, 降低肠道传递功能^[21-22]。细胞焦亡是一种依赖 Gasdermin 家族蛋白的炎症性细胞死亡方式, 当宿主受刺激时, 大量炎症小体和 *Caspase-1* 共同作用, 使大量细胞内容物通过细胞膜上的孔隙分泌至细胞外, 造成细胞死亡^[23]。炎症小体是一种多分子复合物, 在炎症小体组装过程中 *Caspase-1* 被水解成活性状态, 活化的 *Caspase-1* 对 *GSDMD* 进行切割, 释放了 N 端结构域, 从而导致质膜穿孔^[24]。炎症

损伤状态和肠道屏障受损状态在便秘患者肠道内并存, 炎症损伤会加剧肠道屏障的不完整, 而肠道通透性的增加也会引起大量炎性细胞的浸润, 两者互相促进, 互相影响。当细胞焦亡途径被激活后, 大量炎症因子前体被合成, 会引起剧烈的炎症反应^[25]; 同时, 由于肠上皮细胞大量的异常死亡, 肠上皮屏障稳态急速失衡, 这两者都会促进便秘的发生。

本实验结果显示, 首荟通便胶囊高、低剂量均可以降低便秘小鼠炎症因子水平, 恢复便秘小鼠结肠炎症损伤, 提示其可能通过抑制炎症因子释放缓解便秘症状。HE 染色和免疫组化染色结果显示, 给予首荟通便胶囊后, 便秘小鼠炎症损伤和肠上皮屏障受损状态有所恢复, 炎症反应相关的 *p38* 信号通路、*NF-κB*、炎症因子 *IL-1β*、*IL-6*、*IL-18*、*TNF-α* 表达均降低, 细胞焦亡相关功能蛋白 *Caspase-1*、*NLRP3*、*GSDMD*、*ASC* 表达也降低, 提示首荟通便胶囊可能通过抑制炎症反应和下调 *NLRP3/Caspase-1/GSDMD* 信号通路相关蛋白表达以抑制过度细胞焦亡, 从而缓解便秘症状。

参考文献:

[1] 梁勇, 葛斌, 石宇, 等. 中药调控便秘相关信号通路的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2024, 30(20): 230-240.

[2] Wang L, Chai M, Wang J, et al. *Bifidobacterium longum*

- relieves constipation by regulating the intestinal barrier of mice[J]. *Food Funct*, 2022, 13(9): 5037-5049.
- [3] Zhang Y, Song F, Yang M, *et al.* Gastrointestinal dysmotility predisposes to colitis through regulation of gut microbial composition and linoleic acid metabolism[J]. *Adv Sci (Weinh)*, 2024, 11(20): e2306297.
- [4] 邹孟龙, 张 伟, 徐 寅, 等. 基于 Keap1/Nrf2 介导的铁死亡探讨溃结宁膏穴位敷贴治疗溃疡性结肠炎的作用[J/OL]. 海南医学院学报: 1-11 (2025-06-11) [2025-06-12]. <https://doi.org/10.13210/j.cnki.jhmu.20250611.001>.
- [5] Rao Z, Zhu Y, Yang P, *et al.* Pyroptosis in inflammatory diseases and cancer[J], *Theranostics*, 2022, 12 (9): 4310-4329.
- [6] Vasudevan S O, Behl B, Rathinam V A. Pyroptosis-induced inflammation and tissue damage[J] *Semin Immunol*, 2023, 69: 101781.
- [7] Hua Y, Xu W, Zhou R. NLRP3 inflammasome activation and cell death[J]. *Cell Mol Immunol*, 2021, 18(9): 2114-2127.
- [8] Wilkinson-Smith V, Bharucha A E, Emmanuel A, *et al.* When all seems lost: management of refractory constipation-Surgery, rectal irrigation, percutaneous endoscopic colostomy, and more[J]. *Neurogastroenterol Motil*, 2018, 30(5): e13352.
- [9] 梁 勇, 葛 斌, 石 宇, 等. 基于 5-HT 信号通路探讨中医药治疗便秘的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2024, 30(8): 271-279.
- [10] 梁 勇, 张齐猛, 葛 斌, 等. 基于生物信息学和实验验证探讨首荟通便胶囊治疗便秘的作用机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2025, 31(4): 150-157.
- [11] 费炳红, 边 猛, 付智慧, 等. 基于肠道菌群与血清代谢组学联用技术探讨首荟通便胶囊治疗慢性传输型便秘的机制[J]. 郑州大学学报(医学版), 2024, 59(4): 502-508.
- [12] 韦方娇, 张丛慧, 王秀文, 等. 基于代谢组学探讨首荟通便胶囊对脑缺血再灌注模型大鼠的保护作用及机制研究[J]. 中国中药杂志, 2024, 49(24): 6773-6783.
- [13] 李翔子, 李市荣, 杨田野, 等. 首荟通便胶囊对慢性传输性便秘小鼠肠道屏障的影响[J]. 中草药, 2022, 53(5): 1458-1462.
- [14] 单 艺, 王 旻, 杨玉菊, 等. 乳糖-N-新四糖对洛哌丁胺诱导小鼠便秘的保护作用的研究[J]. 食品与发酵工业, 2025, 51(10): 289-296.
- [15] Sun C H, Zhang Y, Liu M, *et al.* Shouhui Tongbian Capsules induce regression of inflammation to improve intestinal barrier in mice with constipation by targeted binding to Prkaa1: With no obvious toxicity[J]. *Biomed Pharmacother*, 2023, 161: 114495.
- [16] 冷 炎, 魏 玮, 唐旭东. 便秘中医诊疗专家共识(2024) [J]. 中医杂志, 2025, 66(3): 321-328.
- [17] 刘睿婷, 樊薛津, 金博文, 等. 中药治疗不同证候慢传输型便秘的研究进展[J]. 中草药, 2024, 55 (23): 8269-8277.
- [18] 颜克秋, 张晓雨, 肖文洁, 等. 首荟通便胶囊治疗便秘的疗效及安全性: 更新的 Meta 分析[J/OL]. 中国全科医学: 1-11 (2025-04-07) [2025-08-27]. <https://link.cnki.net/urlid/13.1222.R.20250403.1551.004>.
- [19] 龚立平, 郭 欣, 黄娜娜, 等. 首荟通便胶囊治疗功能性便秘的研究进展[J]. 中草药, 2022, 53(18): 5899-5907.
- [20] 于亚权. 首荟通便胶囊对便秘型结肠炎患者排便情况及 T 淋巴细胞水平的影响[J]. 现代医学与健康研究电子杂志, 2020, 4(17): 85-87.
- [21] 刘 萌, 徐青霞, 朱阳阳, 等. 四磨汤通过调节 TGR5/TRPA1 信号通路对慢传输型便秘大鼠肠道动力的影响[J]. 重庆医科大学学报, 2024, 49(12): 1566-1571.
- [22] 姚玉乔, 许淑珍, 杨沛月, 等. 枳术汤调控 AQP3、NF-κB 通路对功能性便秘大鼠的改善作用及机制[J]. 中国老年学杂志, 2024, 44(18): 4507-4511.
- [23] 杨艳娇, 高蔚娜. 中药有效成分调节细胞焦亡途径研究进展[J]. 军事医学, 2025, 49(4): 313-317.
- [24] Du T, Gao J, Li P, *et al.* Pyroptosis, metabolism, and tumor immune microenvironment[J]. *Clin Transl Med*, 2021, 11(8): e492.
- [25] Coll R C, Schroder K, Pelegrín P. NLRP3 and pyroptosis blockers for treating inflammatory diseases[J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2022, 43(8): 653-668.