

基于 TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路探讨蒲公英提取物对溃疡性结肠炎大鼠的改善作用

曹建华¹, 陈钟钰¹, 陈 刚¹, 蔡 艳¹, 彭 敏¹, 吴 育², 颜翠萍³, 刘 霖⁴

(1. 南京中医药大学南通附属医院药剂科, 江苏 南通 226000; 2. 南京中医药大学南通附属医院科教科, 江苏 南通 226000; 3. 泰州市药品检验院中药室, 江苏 泰州 225316; 4. 上海市徐汇区大华医院药剂科, 上海 200035)

摘要: **目的** 研究蒲公英提取物对溃疡性结肠炎 (UC) 大鼠的改善作用。**方法** 采用 2, 4-二硝基氯苯 (DNCB) 联合醋酸诱导建立 UC 大鼠模型, 灌胃给予柳氮磺胺吡啶 (SASP, 200 mg/kg) 和蒲公英提取物 (200、100、50 mg/kg), 测定大鼠疾病活动指数 (DAI)、结肠黏膜损伤指数 (CMDI)、病理组织学评分 (HS) 及结肠长度、宽度, 检测血清 IL-4、IL-10、TNF- α 、EGF 水平, Western blot 法检测结肠组织 p-TLR4、p-MyD88、p-NF- κ B p65、p-I κ B α 蛋白表达。**结果** 蒲公英提取物高剂量组可降低 UC 大鼠 DAI 评分、CMDI 评分、结肠指数 ($P<0.05$, $P<0.01$), 增加结肠长度、质量 ($P<0.05$, $P<0.01$); 改善结肠黏膜完整性, 降低结肠组织病理学评分 ($P<0.01$); 升高结肠组织 EGF 水平 ($P<0.01$), 降低 MPO、MDA 水平 ($P<0.01$); 下调结肠组织 p-TLR4、p-MyD88、p-NF- κ B p65、p-I κ B α 蛋白表达。**结论** 蒲公英提取物可改善 DNCB 联合醋酸诱导的大鼠溃疡性结肠炎, 其作用机制可能与抑制 TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路活化, 改善炎症因子、免疫因子释放, 恢复结肠组织氧化应激失衡相关。

关键词: 蒲公英提取物; 溃疡性结肠炎; 柳氮磺胺吡啶; 免疫因子; 氧化应激; TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路

中图分类号: R285.5

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2025)07-2406-06

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2025.07.045

溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 是一种影响直肠和结肠黏膜及黏膜下层的慢性非特异性炎症性疾病^[1-2]。临床治疗策略包括抗炎、抑制免疫等以控制症状, 一般采用氨基水杨酸类制剂、糖皮质激素、免疫调节剂等, 但该类药物临床疗效不能令人满意, 同时还伴随严重的不良反应, 如心脏衰竭、过敏等。天然植物中的活性物质, 如多糖、植物色素、植物多酚等对 UC 的潜在治疗作用受到越来越多的关注。

蒲公英味苦、甘, 性寒, 具有清热燥湿、泻火解毒功效, 有着抗炎、抗风湿、抗氧化、抗癌、利尿、利胆、泻药、降血糖等药理活性^[3], 常被用于治疗从消化系统疾病到复杂疾病 (口舌生疮、赤目肿痛、胃中灼热、热淋涩痛等) 的各种症状^[4-5]。现代药理研究表明, 蒲公英提取物具有抑制胃酸、促进胆汁分泌、调节肠道菌群的作用^[6-8]; 其水煎液还可改善 UC 大鼠的炎症状态^[9], 但其具体作用机制尚未见报道。因此, 本研究通过建立 DNCB 联合醋酸诱导的 UC 大鼠模型, 探讨蒲公英提取物对其改善作用及机制, 以期对相关应用提供参考。

1 材料

1.1 动物 SPF 级 SD 雄性大鼠 65 只, 体质量 180~220 g,

购于上海斯莱克实验动物有限公司 [实验动物生产许可证号 SCXK (沪) 2017-0005], 常规饲养于南通市中医院动物房。动物实验通过伦理委员会批准 (伦理批准号 180325), 并在指导原则上进行操作。

1.2 药材与药物 蒲公英购自河北省安国市药材市场, 经南京中医药大学巢建国教授鉴定为菊科植物蒙古蒲公英 *Taraxacum mongolicum* Hand-Mazz. 的干燥全草。柳氮磺胺吡啶 (SASP, 批号 D1210A) 购自大连美仑生物技术有限公司。

1.3 试剂 2, 4 二硝基氯苯 (2, 4-dinitrochlorobenzene, DNCB, 批号 521388) 购自德国 Merck 公司; 水合氯醛 (批号 20150203) 购自国药集团化学试剂有限公司; 无水乙醇 (分析纯, 批号 20181003) 购自福晨 (天津) 化学试剂有限公司; 隐血、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白介素 (interleukin, IL)-4、IL-10、超氧化物歧化酶 (super oxide dismutase, SOD)、总一氧化氮合酶 (total nitric oxide synthase, tNOS)、诱导型一氧化氮合酶 (inducible nitric oxide synthase, iNOS)、丙二醛 (malondialdehyde, MDA)、髓过氧化物酶 (myeloperoxidase, MPO)、表皮生长因子 (epidermal growth factor, EGF)

收稿日期: 2024-07-25

基金项目: 江苏省药学会-恒瑞医院药学基金科研项目 (H202118); 南通市科技局项目 (JCZ20166); 南通市卫健委项目 (MA2020005); 常州市四药项目 (NTYX2016)

作者简介: 曹建华 (1975—), 主任中药师, 从事中药制剂及其药效研究。Tel: 13606298609, E-mail: cjh1234561114@126.com

ELISA 试剂盒（批号 20180530、20181124、20181124、20181124、20181127、批号 20181127、20181127、20181127、20181127、20181124）均购自南京建成生物工程研究所；Toll 样受体 4（toll-like receptors 4, TLR4）、phospho-TLR4（Ser800）和 phospho-MyD88 抗体（批号 AF7017、AF7455、AF8490）均购自美国 Affinity 公司；髓样分化因子（myeloid differentiation primary response gene 88, MyD88）抗体（批号 ab219413）购自英国 Abcam 公司；核因子- κ B p65（nuclear factor kappa-B p65, NF- κ B p65）、Phospho-NF- κ B p65（Ser536）抗体（批号 8242、3031）均购自美国 Cell Signaling Technology 公司；I κ B α 、phospho-I κ B α （Ser32/36）抗体（批号 10268-1-AP、82349-1-RR）均购自武汉三鹰生物技术有限公司。

1.4 仪器 SpectraMax M2 多功能酶标仪（美国 Molecular Devices 公司）；CP214 先行者电子天平〔万分之一，奥豪斯仪器（上海）有限公司〕；BY-R20 高速冷冻离心机（北京白洋医疗器械有限公司）；Digitai Camera D7100 微距相机〔尼康映像仪器销售（中国）有限公司〕；自动曝光仪（美国 Thermo Fisher Scientific 公司）。

2 方法

2.1 提取物制备 称取蒲公英干燥全草 500 g，置于多功能提取罐中，加入 10 倍量水煮沸提取 3 次，每次 2 h，合并提取液，400 目滤布过滤，滤液用旋转蒸发仪浓缩至 1.12~1.15 g/mL，加入适量乙醇，搅拌均匀，静置过夜，过滤，滤液浓缩至干膏状，即得。

2.2 模型建立 取 55 只大鼠，参照文献〔10-11〕报道制备 UC 模型。大鼠先背部脱毛，再用 10% Na₂S 颈背部脱毛，2% DNCB 溶液滴于背部，每天 1 次，每次 5 滴，连续 14 d。第 15 天时，以 10% 水合氯醛溶液（3.0 mL/kg）麻醉大鼠，将直径 3 mm 的尼龙导管插入肛门 8 cm 处，注射 0.25 mL 0.04 mmol/L（0.1%）DNCB-50% 乙醇溶液，第 16 天注入 2 mL 8% 乙酸液，15 s 后用 5 mL 生理盐水冲洗；10 只正常组大鼠的造模方法同上，仅试剂由生理盐水代替。造模后第 1 天，参照 Hamamoto 等〔12〕报道，观察大鼠体重质量下降率、粪便性状、隐血情况，并进行疾病活动指数（disease activity index, DAI）评分，公式为 DAI 评分=体重质量下降率评分+粪便性状评分+隐血情况评分，标准见表 1，0~3 分为极轻度炎症，4~6 分为轻度炎症，7~9 分为中度炎症，10~12 分为重度炎症，剔除造模评分最低（2 只）、最高（3 只）者。

表 1 DAI 评分标准			
体重质量下降率/%	粪便性状	隐血情况	评分/分
<1	正常	隐血（-）	0
1~5	介于正常与稀便之间	隐血（+）	1
6~10	稀便	隐血（++）	2
11~15	介于稀便与腹泻之间	隐血（+++）	3
>15	腹泻	肉眼血便	4

注：正常粪便是指可成形的粪便，稀便是指不与肛门粘连的稀状粪便，腹泻是指粘于肛门的液化粪。

2.3 分组与给药 采用随机抽样法将造模成功的大鼠分为模型组、SASP 组和蒲公英提取物高、中、低剂量组，每组 10 只，于造模成功后第 7 天开始给药，正常组和模型组灌胃给予生理盐水，SASP 组灌胃给予 200 mg/kg SASP，蒲公英提取物高、中、低剂量组分别灌胃给予 200、100、50 mg/kg 蒲公英提取物，每天 1 次，连续 14 d。于造模后第 1、4、7、14、21 天对大鼠体重质量、粪便性状、隐血、DAI 评分情况进行记录。

2.4 血清 TNF- α 、IL-4、IL-10、tNOS、iNOS 水平检测 给药结束后，大鼠禁食不禁水 24 h，10% 水合氯醛溶液（3.0 mL/kg）麻醉，腹主动脉取血，全血 4 ℃ 放置 4 h，3 500 r/min 离心 15 min，取上层血清，按 ELISA 试剂盒说明书检测 TNF- α 、IL-4、IL-10、tNOS、iNOS 水平。

2.5 脏器指数、结肠黏膜损伤指数（CMDI）评分检测 取大鼠肝脏、脾脏、胸腺，称定质量，计算脏器指数，公式为脏器指数=（各脏器质量/体质量） $\times$ 100%。再沿肠系膜缘剪开肠腔，采用预冷的生理盐水冲洗净粪便，称量结肠湿重，参考 Tang 等〔13〕报道进行结肠黏膜损伤指数（colonmucosa damage index, CMDI）评分，无损伤，计 0 分；轻度充血水肿，表面光滑，无糜烂或溃疡，计 1 分；充血水肿，黏膜粗糙，呈颗粒感，有糜烂或肠粘连，计 2 分；高度充血水肿，表面有坏死及溃疡形成，面积<1 cm²，肠壁增厚或表面有坏死及炎性息肉，计 3 分；重度充血水肿，黏膜坏死及溃疡形成，面积>1 cm² 或全肠壁坏死，中毒性巨结肠导致死亡，计 4 分。

2.6 结肠组织 EGF、MDA、MPO 水平和 SOD 活性检测 取大鼠结肠组织，称定质量，加入 9 倍量预冷生理盐水匀浆，匀浆液 3 500 r/min 离心 15 min，取上清液，按试剂盒说明书检测 EGF、MDA、MPO 水平和 SOD 活性。

2.7 HE 染色观察结肠组织病理变化 取大鼠结肠组织，于 4% 甲醛中固定 24 h，梯度乙醇和二甲苯脱水，石蜡包埋，切片（厚度 5 μ m），二甲苯、乙醇脱蜡处理，苏木精、伊红分别染色，封片，于倒置显微镜下观察并采集图像。参考 Tang 等〔13〕报道进行病理组织学（histopathological score, HS）评分，公式为 HS 评分=上皮细胞评分+炎细胞浸润评分，评分标准见表 2。

表 2 HS 评分标准		
评分/分	上皮细胞	炎细胞浸润
0	正常形态	没有浸润
1	杯形细胞丢失	浸润在隐窝基底层
2	杯形细胞大面积丢失	浸润到达黏膜肌层
3	隐窝细胞丢失	浸润深入到黏膜肌层,伴随黏膜增厚和明显水肿
4	隐窝细胞大面积丢失	浸润到达黏膜下层

2.8 Western blot 法检测结肠组织 TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路相关蛋白表达 称取大鼠结肠组织约 25 mg，加入 RIPA 和 cocktail（100：1）配成的裂解液，提取蛋白，使用 BCA 试剂盒测定蛋白浓度，经 10% 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳，转至 PVDF 膜，加入 5% 脱脂牛奶室温

封闭 2 h，PBST 洗膜 3 次，每次 10 min，加入一抗 4 ℃ 孵育过夜，PBST 洗膜 3 次，加入二抗，在摇床上常温孵育 2 h，PBST 洗膜 3 次，加入 ECL 化学发光液后于自动曝光仪上检测，通过 Image J 软件进行半定量分析。

2.9 统计学分析 通过 SPSS Statistics 27.0 软件进行处理，数据以 ($\bar{x}\pm s$) 表示，若方差齐性，组间比较采用单因素方差分析和 LSD 检验；若方差不齐，则采用 Tamhamne’s T2 法。 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

表 3 各组大鼠 DAI 评分比较 (分, $\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	给药 1 d	给药 4 d	给药 7 d	给药 14 d	给药 21 d
正常组	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.60±0.70	0.90±0.57
模型组	8.80±1.14**	6.50±1.43**	5.10±1.60**	3.50±1.08**	2.50±1.08**
SASP 组	8.40±1.07	6.20±1.75	4.60±1.65	2.40±1.26 [#]	1.30±0.67 [#]
蒲公英低剂量组	8.10±0.74	6.40±1.51	4.10±1.52	2.90±1.29	2.30±1.16
蒲公英中剂量组	8.50±0.71	6.50±1.27	4.50±0.85	2.90±0.74	2.00±0.94
蒲公英高剂量组	8.40±0.97	5.60±1.65	4.10±1.45	2.50±1.18 [#]	1.40±1.26 [#]

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

3.2 蒲公英提取物对 UC 大鼠脏器指数的影响 由表 4 可知，与正常组比较，模型组大鼠肝脏、脾脏指数降低 ($P<0.01$)，胸腺指数无明显改变 ($P>0.05$)；与模型组比较，SASP 组肝脏指数、脾脏指数升高 ($P<0.05$)，胸腺指数无明显改变 ($P>0.05$)，蒲公英提取物各剂量组大鼠肝脏指数、胸腺指数、脾脏指数无明显变化 ($P>0.05$)。

3.3 蒲公英提取物对 UC 大鼠结肠相关指标的影响 由表 5 可知，与正常组比较，模型组大鼠结肠长度缩短 ($P<0.01$)，结肠质量降低 ($P<0.01$)，CMDI 评分和结肠指数升高 ($P<0.05$, $P<0.01$)，结肠长宽比降低，但无统计学差异 ($P>0.05$)；与模型组比较，SASP 组和蒲公英提取物

3 结果

3.1 蒲公英提取物对 UC 大鼠 DAI 评分的影响 由表 3 可知，造模后第 7 天 (给药 1 d)，与正常组比较，模型组大鼠 DAI 评分升高 ($P<0.01$)，提示造模成功；给药 14 d 后，与模型组比较，SASP 组和蒲公英提取物高剂量组大鼠 DAI 评分降低 ($P<0.05$)，蒲公英提取物中、低剂量组大鼠 DAI 评分呈下降趋势，但差异无统计学意义 ($P>0.05$)。

表 4 各组大鼠脏器指数比较 (mg/g, $\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	肝脏指数	胸腺指数	脾脏指数
正常组	28.00±2.95	1.25±0.36	2.48±0.42
模型组	22.87±2.83**	1.02±0.46	1.83±0.34**
SASP 组	25.83±1.19 [#]	1.08±0.59	2.38±0.59 [#]
蒲公英低剂量组	24.27±2.32	0.85±0.32	1.92±0.49
蒲公英中剂量组	23.08±2.64	1.22±0.74	1.96±0.42
蒲公英高剂量组	25.76±2.17	0.99±0.40	1.97±0.19

注：与正常组比较，** $P<0.01$ ；与模型组比较，[#] $P<0.05$ 。
高剂量组结肠长度、质量增加 ($P<0.05$, $P<0.01$)，CMDI 评分和结肠指数降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)，结肠长宽比升高，但差异无统计学意义 ($P>0.05$)。

表 5 各组大鼠结肠相关指标比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	结肠长度/cm	结肠长宽比	CMDI 评分/分	结肠指数/(mg·g ⁻¹)	结肠质量/mg
正常组	20.62±0.97	24.29±3.27	0.60±0.70	5.45±0.78	1 432.23±210.06
模型组	17.47±1.66**	21.28±2.88	2.90±0.88**	6.57±0.88 [*]	933.20±96.57**
SASP 组	20.48±2.00 ^{##}	24.42±3.12	1.30±0.48 ^{##}	5.26±1.15 [#]	1 238.40±177.54 ^{##}
蒲公英低剂量组	16.10±1.41	19.35±2.90	2.30±1.06	5.95±0.99	1 020.30±107.17
蒲公英中剂量组	16.11±1.03	21.34±2.71	1.70±0.48 ^{##}	5.60±0.76	1 131.20±174.64 ^{##}
蒲公英高剂量组	18.17±1.15 [#]	22.16±1.76	1.20±0.42 ^{##}	5.02±0.87 ^{##}	1 183.60±114.74 ^{##}

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

3.4 蒲公英提取物对 UC 大鼠血清炎症因子水平的影响 由表 6 可知，与正常组比较，模型组大鼠血清 TNF-α、tNOS、iNOS 水平升高 ($P<0.01$)，IL-10、IL-4 水平降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)；与模型组比较，蒲公英提取物高剂量

组大鼠血清 TNF-α、tNOS、iNOS 水平降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)，IL-10、IL-4 水平升高 ($P<0.01$)，SASP 组和蒲公英提取物中剂量组大鼠血清 TNF-α、tNOS 水平降低 ($P<0.01$)，IL-10 水平升高 ($P<0.05$, $P<0.01$)。

表 6 各组大鼠血清 TNF-α、tNOS、iNOS、IL-10、IL-4 水平比较 (ng/L, $\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	TNF-α	tNOS	iNOS	IL-4	IL-10
正常组	16.47±3.76	19.52±2.89	8.29±2.82	34.12±12.97	42.94±37.34
模型组	27.92±6.19**	36.94±4.79**	16.83±4.98**	15.16±7.25**	6.89±1.89 [*]
SASP 组	16.03±6.76 ^{##}	24.39±6.46 ^{##}	13.10±3.45	26.28±18.89	16.52±4.26 ^{##}
蒲公英低剂量组	23.80±15.00	32.43±5.90	19.74±8.22	25.00±6.62 [#]	5.94±2.03
蒲公英中剂量组	14.59±4.03 ^{##}	28.24±2.96 ^{##}	14.21±1.49	25.97±13.81	13.44±5.29 [#]
蒲公英高剂量组	11.07±4.94 ^{##}	27.24±2.14 ^{##}	11.90±3.72 [#]	39.76±10.90 ^{##}	18.38±7.24 ^{##}

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

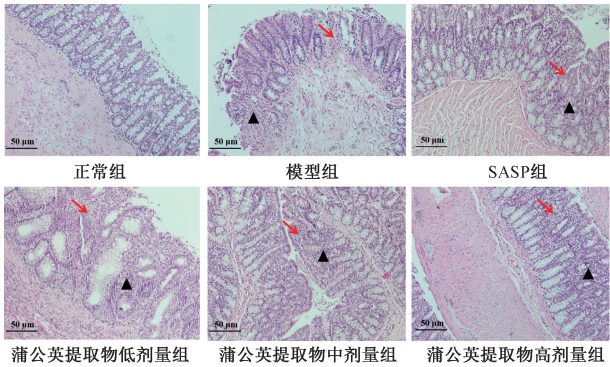
3.5 蒲公英提取物对 UC 大鼠结肠组织 EGF、MPO、MDA 水平和 SOD 活性的影响 由表 7 可知,与正常组比较,模型组大鼠结肠组织 MPO、MDA 水平升高 ($P<0.01$),EGF 水平和 SOD 活性降低 ($P<0.05$, $P<0.01$);与模型组比

表 7 各组大鼠结肠组织 EGF、MPO、MDA 水平和 SOD 活性比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	EGF/(ng·mg prot ⁻¹)	MPO/(ng·mg prot ⁻¹)	MDA/(nmol·mg prot ⁻¹)	SOD/(U·mg prot ⁻¹)
正常组	48.69±11.27	0.05±0.01	0.64±0.16	60.57±11.23
模型组	23.20±3.77**	0.23±0.03**	1.88±0.54**	52.16±10.26*
SASP 组	38.90±10.14##	0.11±0.04##	0.77±0.05##	57.86±9.09
蒲公英低剂量组	27.28±5.14	0.47±0.07	0.80±0.23##	119.57±25.32
蒲公英中剂量组	41.20±6.44##	0.33±0.05##	0.98±0.37##	122.33±22.56
蒲公英高剂量组	53.81±12.44##	0.23±0.02##	1.12±0.48##	129.03±24.35

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

3.6 蒲公英提取物对 UC 大鼠结肠组织病理损伤的影响 由图 1、表 8 可知,与正常组比较,模型组大鼠结肠组织严重损伤,隐窝结构受损,杯状细胞丢失,大量炎症细胞浸润,肌层变薄,上皮层破坏,HS 评分升高 ($P<0.01$);与模型组比较,蒲公英提取物中、高剂量组大鼠结肠组织溃疡改善,黏膜萎缩和黏膜下层水肿缓解,炎细胞浸润程度减轻,HS 评分降低 ($P<0.01$)。



注:箭头表示上皮细胞缺损,三角形表示炎症浸润。

图 1 各组大鼠结肠组织 HE 染色图 ($\times 200$)

表 8 各组大鼠结肠组织病理学评分比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	上皮细胞评分/分	炎细胞评分/分	HS 评分/分
正常组	0.40±0.52	0.60±0.52	1.00±0.82
模型组	3.40±0.52**	3.50±0.53**	6.90±0.57**
柳氮磺吡啶组	1.80±0.63##	2.00±0.767##	3.80±0.79##
蒲公英低剂量组	3.30±0.48	3.00±0.47	6.30±0.67
蒲公英中剂量组	2.40±0.52##	2.70±0.67##	5.10±0.88##
蒲公英高剂量组	1.90±0.74##	2.10±0.88##	4.00±1.49##

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

表 9 各组大鼠结肠组织 p-TLR4、p-MyD88、p-NF-κB p65、p-IκBα 蛋白表达比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=5$)

组别	p-TLR4/TLR4	p-MyD88/MyD88	p-NF-κB p65/NF-κB p65	p-IκBα/IκBα
正常组	1.00±0.25	1.00±0.11	1.00±0.24	1.00±0.32
模型组	2.34±0.43**	2.14±0.31**	2.53±0.15**	1.61±0.19*
柳氮磺吡啶组	1.67±0.31	1.94±0.15	2.26±0.17	1.66±0.24
蒲公英低剂量组	1.57±0.25#	1.43±0.13#	1.94±0.37	0.97±0.26##
蒲公英中剂量组	1.52±0.42#	1.42±0.24#	1.95±0.28	0.95±0.25##
蒲公英高剂量组	1.25±0.15##	1.39±0.36##	1.24±0.21##	0.87±0.28##

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

较,SASP 组和蒲公英提取物中、高剂量组大鼠结肠 MPO、MDA 水平降低 ($P<0.01$),EGF 水平升高 ($P<0.01$),SOD 活性有升高趋势,但差异无统计学意义 ($P>0.05$)。

3.7 蒲公英提取物对 UC 大鼠结肠组织 TLR4/MyD88/NF-κB 信号通路的影响 由图 2、表 9 可知,与正常组比较,模型组大鼠结肠组织 p-TLR4/TLR4、p-MyD88/MyD88、p-NF-κB p65/NF-κB p65、p-IκBα/IκBα 蛋白表达升高 ($P<0.05$, $P<0.01$);与模型组比较,蒲公英各剂量组大鼠结肠组织 p-TLR4/TLR4、p-MyD88/MyD88、p-IκBα/IκBα 蛋白表达降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)。

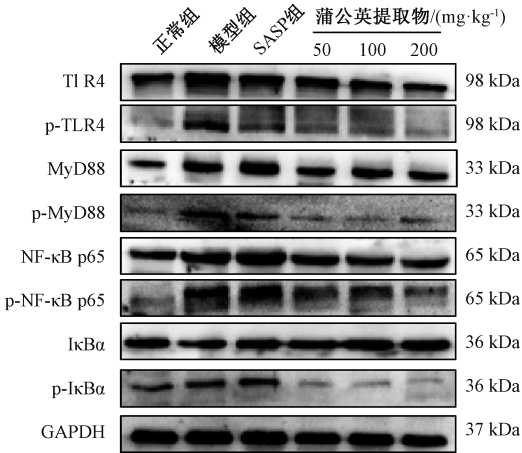


图 2 各组大鼠结肠组织 p-TLR4、p-MyD88、p-NF-κB p65、p-IκBα 蛋白印迹图

4 讨论

溃疡性结肠炎发病率呈逐年增加的趋势^[14],导致其发病的因素较多,涉及遗传、免疫失调、上皮屏障缺陷、环境等^[15],患者黏膜炎症始于直肠,可连续延伸至结肠近端,临床通常表现为血性腹泻、腹痛、大便紧迫和里急后重^[16]。蒲公英清热解毒的功效在临床上已用于治疗胃肠道

疾病^[17]，本研究通过 DNCB 联合乙酸法建立 UC 大鼠模型，证实蒲公英提取物（尤其是高剂量时）可改善其结肠损伤，调节炎症反应及氧化应激水平。

TNF- α 是一种常见的炎症因子^[18-19]，当机体出现炎症反应和氧化应激反应时其表达会升高。抗炎性细胞因子 IL-4、IL-10 由辅助性 T 细胞所分泌^[20]，能抑制炎症因子释放。本研究结果显示，模型组大鼠血清 TNF- α 水平升高，IL-4、IL-10 水平降低；蒲公英提取物干预后，TNF- α 水平降低，IL-4、IL-10 水平升高。氧化应激失衡也是 UC 发作的一个重要因素，MDA 是脂质过氧化反应的产物^[21-22]，其水平越高，氧自由基水平越高，组织损伤越严重，而 SOD 则是消除氧自由基的重要指标^[23]。本研究结果显示，模型组大鼠结肠组织 MDA 水平和血清 tNOS、iNOS 水平升高，结肠组织 SOD 活性降低；蒲公英干预后，大鼠结肠组织 MDA 水平和血清 tNOS、iNOS 水平降低，结肠组织 SOD 活性升高，表明它能改善大鼠氧化应激水平，增强清除氧自由基能力，减少氧自由基对肠黏膜的损伤。本研究还发现，蒲公英提取物干预后结肠组织 EGF 水平升高，提示它对大鼠黏膜损伤具有保护作用。免疫调节在 UC 治疗中也发挥了重大作用，MPO 是中性粒细胞功能活性状态的标志物^[24]，可反映 UC 的严重程度。本研究发现，模型组大鼠结肠组织 MPO 水平升高；蒲公英提取物干预后，结肠组织 MPO 水平降低。

UC 患者的肠黏膜过度免疫与 Toll 样受体 4（TLR4）等前炎症信号通路的激活相关^[25]。在 UC 发病过程中，常伴随有肠道菌群失调、感染等，导致机体炎症反应，从而诱发产生内毒素，激活 TLRs 信号通路，TLRs 经内毒素活化后会激活髓样分化因子 88（MyD88）进行信号转导，进一步活化核转录因子 κ B（NF- κ B）信号^[26]，促发下游炎症信号的级联反应，产生 TNF- α 、iNOS 等炎症介质，持续激活 NF- κ B 通路，形成恶性循环，导致黏膜损伤持续存在，因此，TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路被认为是调控 UC 发展的重要机制之一^[27]。本研究结果显示，蒲公英提取物可抑制 UC 大鼠结肠组织 p-TLR4、p-MyD88、p-NF- κ B p65、p-I κ B α 蛋白表达，抑制炎症级联反应，与其改善氧化应激和免疫失衡的作用相辅相成。

综上所述，蒲公英提取物可减轻 DNCB 联合醋酸诱导的大鼠 UC 炎症，其机制可能与抑制 TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路活化，从而抑制促炎细胞因子、介质释放，减轻肠道炎性损伤有关。

参考文献:

[1] 张声生. 溃疡性结肠炎中医诊疗共识意见[J]. 中华中医药杂志, 2010, 25(6): 891-895.

[2] Kobayashi T, Siegmund B, Le Berre C, *et al.* Ulcerative colitis[J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2020, 6(1): 74-94.

[3] 王兴华. 运用蒲公英治疗胃肠道疾病[J]. 中医杂志, 1992(6): 4-5.

[4] Schütz K, Carle R, Schieber A. Taraxacum—a review on its

phytochemical and pharmacological profile[J]. *J Ethnopharmacol*, 2006, 107(3): 313-323.

[5] 张玉立, 刘同亭, 贾爱芹. 中药蒲公英对消化系统疾病的作用进展[J]. 中华消化病与影像杂志 (电子版), 2018, 8(2): 83-86.

[6] 尤春来, 韩兆丰, 朱 丹, 等. 蒲公英对大鼠胃酸分泌的抑制作用及其及时胃酸刺激药的影响[J]. 中药药理与临床, 1994, 10(2): 23-26.

[7] 石 丹, 张 宇. 蒲公英多糖对小鼠肠道微生态的调节作用[J]. 微生物学免疫学进展, 2016, 44(3): 49-53.

[8] 周亚妮, 郭耀东, 刘成飞, 等. 蒲公英多糖对溃疡性结肠炎合并菌群失调小鼠肠道菌群调节及抗炎作用研究[J]. 生物医学工程与临床, 2022, 26(4): 414-419.

[9] 刘洪君, 孙雪美, 孙明强, 等. 蒲公英甾醇通过 TGF- β /Smad 通路对小鼠瘖疮模型炎症因子水平、胸腺组织形态的影响[J]. 河北医科大学学报, 2020, 41(7): 810-814; 869.

[10] 崔国宁, 刘喜平, 董俊刚, 等. 溃疡性结肠炎模型建立方法研究进展[J]. 今日药学, 2018, 28(4): 280-284.

[11] 曹明泽, 王旭荣, 王 磊, 等. 小鼠溃疡性结肠炎模型的建立与评价[J]. 中国畜牧兽医, 2016, 43(1): 171-175.

[12] Hamamoto N, Maemura K, Hirata I, *et al.* Inhibition of dextran sulphate sodium (DSS) -induced colitis in mice by intracolonicly administered antibodies against adhesion molecules (endothelial leucocyte adhesion molecule-1 (ELAM-1) or intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1)) [J]. *Clin Exp Immunol*, 1999, 117(3): 462-468.

[13] Tang M, Ni L L, Xu J L, *et al.* Kangfuxin liquid ameliorates dextran sulfate sodium (DSS) -induced acute ulcerative colitis in mice by modulating immune response and suppressing inflammation[J]. *Med Sci Monit Basic Res*, 2021, 11(27): e930887.

[14] Pabla B S, Schwartz D A. Assessing severity of disease in patients with ulcerative colitis[J]. *Gastroenterol Clin North Am*, 2020, 49(4): 671-688.

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

[16] Feuerstein J D, Moss A C, Farraye F A. Ulcerative colitis[J]. *Mayo Clin Pro*, 2019, 94(7): 1357-1373.

[17] 张振华, 马 青, 王艳艳, 等. 蒲公英药效物质基础研究进展[J]. 中华中医药学刊, 2022, 40(11): 148-152.

[18] 樊慧丽, 陈玉梅. 溃疡性结肠炎的发病机制和治疗进展[J]. 中国全科医学, 2012, 15(2): 228-230.

[19] Gupta R A, Motiwala M N, Mahahan U N, *et al.* Protective effect of *Sesbania grandiflora* on acetic acid induced ulcerative colitis in mice by inhibition of TNF- α and IL-6 [J]. *Ethnopharmacol*, 2018, 219: 222-232.

[20] 殷银霞, 刘永华, 刘香玉, 等. 久泻灵颗粒对脾肾阳虚型溃疡性结肠炎大鼠 IL-2、IL-4、IL-10 表达的影响[J]. 中国老年学杂志, 2017, 37(23): 5766-5768.

[21] 朱 娟, 刘志峰. 溃疡性结肠炎患儿血清炎症因子及氧化应激水平变化及意义[J]. 现代中西医结合杂志, 2016,

25(14): 1492-1494; 1498.

[22] 明 荷, 谢 寒, 何 可. 康复新液联合美沙拉嗪治疗溃疡性结肠炎的疗效及对患者炎症因子和氧化应激水平的影响[J]. 世界华人消化杂志, 2015, 23(4): 684-688.

[23] 刘胜帅, 王朋川, 徐雨生, 等. 美洲大蠊提取物 Ento-B 对 2, 4-二硝基氯苯联合醋酸诱导大鼠溃疡性结肠炎的作用及机制初探[J]. 时珍国医国药, 2018, 29(10): 2313-2316.

[24] 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.

[25] Zhang Z, Liu J, Shen P, et al. Zanthoxylum bungeanum pericarp extract prevents dextran sulfate sodium-induced experimental colitis in mice via the regulation of TLR4 and TLR4-related signaling pathways[J]. Int Immunopharmacol, 2016, 41: 127-135.

[26] Zhang H, Wu Z M, Yang Y P, et al. Catalpol ameliorates LPS-induced endometritis by inhibiting inflammation and TLR4/NF- κ B signaling[J]. J Zhejiang Univ Sci B, 2019, 20(10): 816-827.

[27] Hu L H, Liu J Y, Yin J B. Eriodictyol attenuates TNBS-induced ulcerative colitis through repressing TLR4/NF- κ B signaling pathway in rats[J]. Kaohsiung J Med Sci, 2021, 37(9): 812-818.

木犀草素对急性呼吸窘迫综合征大鼠肺纤维化及 JAK2/STAT3 信号通路的影响

蔡 君¹, 林振伟¹, 林晓文²
(1. 莆田市第一医院全科医学科, 福建 莆田 351199; 2. 莆田市第一医院重症医学科, 福建 莆田 351199)

摘要: **目的** 探讨木犀草素对急性呼吸窘迫综合征 (ARDS) 大鼠肺纤维化的作用。 **方法** 采用脂多糖诱导建立 ARDS 大鼠模型, 腹腔注射木犀草素 (5、10、15 mg/kg) 给药, 连续 3 周。给药结束后, 观察大鼠生存率; HE 染色和 Masson 染色观察肺组织病理变化; ELISA 法检测血清肿瘤坏死因子 (TNF- α 、TGF- β 1) 水平, 以及肺组织羟脯氨酸 (Hyp)、胶原酶 I (Col- I) 水平; Western blot 法检测肺组织细胞上皮型钙黏附素 (E-cadherin)、神经型钙黏附素 (N-cadherin)、 α 平滑肌肌动蛋白 (α -SMA)、Col- I、自噬效应蛋白 (Beclin-1)、微管相关蛋白轻链 3B (LC3B)、JAK2/STAT3 信号通路蛋白表达。 **结果** 与对照组比较, 模型组大鼠生存率降低; HE 染色评分和 Masson 染色评分升高 ($P<0.01$); 血清 TNF- α 、TGF- β 1 水平, 以及肺组织 HYP、Col- I 水平升高 ($P<0.01$); 肺组织 Beclin-1、LC3B、E-Cadherin 蛋白表达降低 ($P<0.01$), α -SMA、Col- I、N-Cadherin 蛋白表达, 以及 p-JAK2/JAK2、p-STAT3/STAT3 蛋白表达比值升高 ($P<0.01$)。与模型组比较, 木犀草素各剂量组大鼠生存率增加; HE 染色评分和 Masson 染色评分降低 ($P<0.01$); 血清 TNF- α 、TGF- β 1 水平, 以及肺组织 HYP、Col- I 水平降低 ($P<0.01$); 肺组织 Beclin-1、LC3B、E-Cadherin 蛋白表达升高 ($P<0.01$), α -SMA、Col- I、N-Cadherin 蛋白表达, 以及 p-JAK2/JAK2、p-STAT3/STAT3 蛋白表达比值降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)。 **结论** 木犀草素可能通过阻断 JAK2/STAT3 信号通路激活, 提高自噬相关蛋白表达, 降低炎症因子水平, 减轻肺组织病理损伤, 抑制上皮-间充质转化 (EMT) 过程, 从而对 ARDS 大鼠肺纤维化起到缓解作用。

关键词: 木犀草素; 急性呼吸窘迫综合征; 肺纤维化; 炎症; 上皮-间充质转化; JAK2/STAT3 信号通路
中图分类号: R285.5 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2025)07-2411-05
doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2025.07.046

急性呼吸窘迫综合征 (acute respiratory distress syndrome, ARDS) 是一种临床常见的急性肺部疾病, 其特征是肺泡、肺毛细血管内皮细胞损伤而引起严重的低氧血症和呼吸衰竭^[1]。ARDS 的发病机制复杂, 涉及多种炎症介质、细胞因子的异常激活, 以及细胞凋亡、氧化应激、免疫反应的紊乱^[2]。肺纤维化是 ARDS 后期常见的并发症, 其特点是肺泡结构的破坏和异常纤维组织的增生, 导致肺功能进行性下降^[3]。

Janus 激酶 2 (janus kinase 2, JAK2) /信号转导和转录激活因子 3 (signal transduction and transcription activator 3, STAT3) 信号通路是细胞内重要的传导途径之一^[4]。研究发现, 在纤维化疾病中阻断 JAK2/STAT3 信号传导途径能减轻炎症反应, 降低心肌纤维化程度, 从而提高急性心肌梗死大鼠心脏功能^[5]。

收稿日期: 2024-08-13
基金项目: 福建省 2022 年自然科学基金联合资金科技项目 (2022J011068)
作者简介: 蔡 君 (1986—), 女, 副主任医师, 从事重症医学、全科医学研究。Tel: 15860011563, E-mail: 19959511695@163.com