

## ● 实验研究 ●

引用:邱爱珠,徐晔青,欧阳翌国,王紫薇,李媛彬. 基于TLR4/NF- $\kappa$ B信号通路探讨荆芥连翘汤对溃疡性结肠炎大鼠的作用及机制[J]. 湖南中医杂志,2024,40(6):168-174.

## 基于TLR4/NF- $\kappa$ B信号通路 探讨荆芥连翘汤对溃疡性结肠炎大鼠的作用及机制

邱爱珠<sup>1</sup>,徐晔青<sup>2</sup>,欧阳翌国<sup>1</sup>,王紫薇<sup>1</sup>,李媛彬<sup>1</sup>

(1. 湖南中医药大学高等专科学校,湖南 株洲,412000;

2. 株洲市中心医院,湖南 株洲,412000)

[摘要] 目的:观察荆芥连翘汤对溃疡性结肠炎(UC)大肠湿热证大鼠的作用,并基于Toll样受体4/核因子 $\kappa$ B(TLR4/NF- $\kappa$ B)信号通路探索其机制。方法:将55只SPF级雄性SD大鼠随机分为5组(对照组、模型组、西药组、灌胃组、灌肠组),对除对照组外的其余组制备溃疡性结肠炎大鼠大肠湿热证大鼠模型。造模成功后,西药组予美沙拉嗪灌肠液(0.4 g/kg·d)灌肠,灌胃组、灌肠组分别予荆芥连翘汤(36.84 g/kg·d)灌胃(分2次给药)、灌肠;对照组、模型组均予0.9%氯化钠注射液灌肠。观察大鼠一般行为变化并进行疾病活动指数(DAI)评分,采用苏木精-伊红染色观察大鼠结肠病理改变情况,采用酶联免疫吸附法检测血清白细胞介素-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素-10(IL-10)的表达,免疫组化检测大鼠结肠黏膜中NF- $\kappa$ B、TLR4的蛋白表达情况,qRT-PCR检测TLR4 mRNA的表达,分析TLR4/NF- $\kappa$ B信号通路的活化情况。结果:与模型组相比,西药组、灌肠组、灌胃组的DAI评分降低( $P<0.05$ ),结肠组织炎细胞浸润情况改善,肠黏膜趋于正常;IL-10升高,TNF- $\alpha$ 、TLR4、NF- $\kappa$ B、TLR4 mRNA表达降低,差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。西药组、灌肠组IL-1 $\beta$ 较模型组降低( $P<0.05$ )。结论:荆芥连翘汤对溃疡性结肠炎大鼠大肠湿热证大鼠具有较好的改善症状及抑制炎症作用,其可能通过抑制TLR4/NF- $\kappa$ B信号通路而发挥作用。

[关键词] 溃疡性结肠炎;大肠湿热证;SD大鼠;荆芥连翘汤

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] A DOI:10.16808/j.cnki.issn1003-7705.2024.06.039

### Role and mechanism of Jingjie Lianqiao decoction in rats with ulcerative colitis based on the Toll-like receptor 4/nuclear factor- $\kappa$ B signaling pathway

QIU Aizhu<sup>1</sup>, XU Yeqing<sup>2</sup>, OUYANG Yiguo<sup>1</sup>, WANG Ziwei<sup>1</sup>, LI Yuanbin<sup>1</sup>

(1. Hunan Traditional Chinese Medical College, Zhuzhou 412000, Hunan, China;

2. Zhuzhou Central Hospital, Zhuzhou 412000, Hunan, China)

[Abstract] Objective: To investigate the role of Jingjie Lianqiao decoction on ulcerative colitis (UC) rats with large intestine damp-heat syndrome and its mechanism based on the Toll-like receptor 4 (TLR4)/nuclear factor- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) signaling pathway. Methods: A total of 55 specific pathogen-free male Sprague-Dawley rats were randomly divided into control group, model group, Western medicine group, gavage group, and enema group, and all rats except those in the control group were used to establish a rat model of UC with large intestine damp-heat syndrome. After successful modeling, the rats in the Western medicine group were given enema with mesalazine enema fluid (0.4 g/kg·d), those in the gavage group and the enema group were given intragastric admin-

基金项目:湖南省教育厅科研项目(19C1440);湖南省中医药科研计划项目(202148)

第一作者:邱爱珠,女,医学硕士,副教授,研究方向:中医药现代化

istration (in two divided doses) of Jingjie Lianqiao decoction or enema with Jingjie Lianqiao decoction at a dose of 36.84 g/kg·d, and those in the control group and the model group were given enema with 0.9% sodium chloride injection. The changes in general behaviors were observed, and disease activity index (DAI) was determined; HE staining was used to observe the pathological changes of the colon; ELISA was used to measure the expression levels of interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), and interleukin-10 (IL-10) in serum; immunohistochemistry was used to measure the protein expression levels of NF- $\kappa$ B and TLR4 in colonic mucosa, and qRT-PCR was used to measure the mRNA expression level of TLR4; the activation of the TLR4/NF- $\kappa$ B signaling pathway was analyzed. Results: Compared with the model group, the Western medicine group, the enema group, and the gavage group had a significant reduction in DAI score ( $P < 0.05$ ), with improvement in inflammatory cell infiltration in colonic tissue and basically normal intestinal mucosa, as well as a significant increase in IL-10 and significant reductions in the mRNA expression levels of TNF- $\alpha$ , TLR4, NF- $\kappa$ B, and TLR4 ( $P < 0.05$ ). The Western medicine group and the enema group had a significant reduction in IL-1 $\beta$  compared with the model group ( $P < 0.05$ ). Conclusion: Jingjie Lianqiao decoction can improve symptoms and inhibit inflammation in UC rats with large intestine damp-heat syndrome, possibly by inhibiting the TLR4/NF- $\kappa$ B signaling pathway.

[**Keywords**] ulcerative colitis; large intestine damp-heat syndrome; Sprague-Dawley rats; Jingjie Lianqiao decoction

溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 是一种慢性炎症性肠病, 其病理改变多见于大肠黏膜及黏膜下层, 呈连续弥漫性分布, 临床表现为腹痛、腹泻、直肠出血、里急后重等<sup>[1]</sup>。UC 的发病原因不明, 现多数观点认为其由遗传易感、免疫功能失调、失衡环境暴露、社会心理等多种因素共同作用而致病<sup>[1-2]</sup>。UC 具有慢性迁延性和易复发性的特点<sup>[3]</sup>, 严重影响患者的生存质量, 约有 20% 的慢性 UC 患者有通过炎症和增生发展成结直肠癌的风险<sup>[4]</sup>。

Toll 样受体 4/核因子  $\kappa$ B (TLR4/NF- $\kappa$ B) 信号通路是与机体抗炎、免疫等机制密切相关的信号转导通路, 其中 TLR4 是免疫细胞表面识别病原体相关分子的识别受体, 它激活后既可直接导致促炎细胞因子和趋化因子的分泌, 又可导致 NF- $\kappa$ B 的核移位; NF- $\kappa$ B 主要参与细胞内信息传递和相关炎症因子的表达, 并在炎症相关的连锁反应中发挥重要作用<sup>[5-6]</sup>。近年来, TLR4/NF- $\kappa$ B 信号通路在 UC 发生、发展过程中所发挥的作用逐渐明确<sup>[7-10]</sup>。

本研究主要观察荆芥连翘汤对大肠湿热型 UC 实验大鼠的作用, 并基于 TLR4/NF- $\kappa$ B 信号通路探讨其作用机制, 现将结果报告如下。

## 1 实验材料

1.1 动物 雄性 SPF 级 SD 大鼠 55 只, 6~8 周龄, 体质量 (160 $\pm$ 20) g, 购于北京华阜康生物科技有限公司 [许可证号 SCXK (京) 2019-0008]。大鼠在温度 (25 $\pm$ 1)  $^{\circ}$ C、相对湿度 60%~65%、12 h 明暗循环

照明条件下饲养, 无饮食限制。

1.2 药物及主要试剂 荆芥连翘汤组成: 荆芥 10 g, 连翘 10 g, 当归 10 g, 白芍 20 g, 防风 20 g, 川芎 12 g, 柴胡 10 g, 黄芩 10 g, 黄连 10 g, 黄柏 10 g, 枳壳 10 g, 山栀 10 g, 白芷 10 g, 桔梗 10 g, 生地黄 10 g, 薄荷 3 g, 甘草 10 g。将药物浸泡 30 min, 加水没过药面 5 cm, 火煎至沸腾后改文火, 继续煎煮 20 min, 取汁另置。继续加水, 煎煮沸腾后, 文火续煎 20 min, 取汁。2 次药汁合并后浓缩至每毫升含生药 2 g, 并用离心机去除药汁中残渣, 4 $^{\circ}$ C 保存备用。美沙拉嗪缓释颗粒 (上海爱的发制药有限公司, 批准文号: 国药准字 H20143164, 规格: 0.5 g/袋); 超纯 RNA 提取试剂盒 (CW0581M)、miRNA 提取试剂盒 (CW0627S) 均来自康为世纪生物科技有限公司; 大鼠白细胞介素-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) 试剂盒 (MM-0047R1)、大鼠肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 试剂盒 (MM-0180R1)、大鼠白细胞介素-10 (IL-10) 试剂盒 (MM-0195R1) 均购于江苏酶免实业有限公司。

1.3 主要仪器 -86 $^{\circ}$ C 冰箱 (BDF-86V348, BIOBASE); 医用低温保存箱 (DW-25L262, Haier); 常温离心机 (TD-4M, BIOBASE); 全自动样品快速研磨仪 (Tiss-12, 上海净信实业发展有限公司); 高速台式冷冻离心机 (H1750R, 湖南湘仪实验室仪器开发有限公司); 紫外分光光度仪 (NP80, NanoPhotometer); 微型离心机 (D1008E, SCJLOGEX); 电泳

仪(DYY-8C,北京六一生物科技有限公司);超灵敏度化学发光成像系统仪(Chemi Doc™ XRS+,伯乐生命医学产品(上海)有限公司);荧光PCR仪[CFX Connect实时,伯乐生命医学产品(上海)有限公司];普通PCR扩增仪(TC-EA,杭州博日科技有限公司)。

## 2 实验方法

**2.1 动物分组与造模** 将55只SD大鼠随机分为5组:对照组、模型组、西药组、灌胃组、灌肠组,每组各11只。实验大鼠适应性饲养7d,对除对照组外的其余组大鼠均采用环境因素+饮食因素+TNBS-乙醇灌肠的方法制备大肠湿热型UC模型。具体方法:造模动物放于温度(33±2)℃,湿度85%~90%的人工湿热箱中,给予高糖高脂饲料,自由饮水,持续10d。于第11天禁食不禁水24h后,采用10%水合氯醛进行腹腔注射麻醉。将50%乙醇和5%TNBS按1:1比例配制成混悬液,利用直径2mm的硅胶管将TNBS(100 mg/kg)混悬液缓慢注入大鼠结肠,深度约距肛门7~9 cm处,固定鼠尾,保持倒立10 min,使药液与结肠充分接触。麻醉清醒后正常喂养,每天观察大鼠进食、饮水、活动等一般情况,详细记录大鼠粪便性状和粪便隐血情况,2d后各组随机抽取2只进行HE染色。若大鼠出现腹泻、血便、体质量下降等症状,HE染色可见黏膜层及黏膜下层炎症浸润、溃疡形成,则说明造模成功<sup>[11]</sup>。

**2.2 给药方法** 西药组给予美沙拉嗪缓释颗粒(0.4 g/kg·d)灌肠,1次/d;灌胃组给予荆芥连翘汤(18.42 g/kg)进行灌胃,2次/d;灌肠组给予荆芥连翘汤(36.84 g/kg)灌肠,1次/d;对照组和模型组予等量0.9%氯化钠注射液灌胃,1次/d;均连续干预2周。以上给药浓度计算方法参照《药理实验方法学》<sup>[12]</sup>,按照实验动物与人体质量计算给药剂量。

**2.3 标本采集** 末次干预后所有大鼠禁食不禁水24h后,经腹主动脉采血,分离血清后,放入-20℃低温冰箱。采血后,脱颈椎法处死大鼠,取出全部结肠,并沿纵轴剖开,观察大鼠结肠黏膜的病变情况。取各组大鼠结肠组织进行HE染色,免疫组化检测TLR4、NF-κB的表达情况,qPCR检测TLR4 mRNA的表达。取血清采用ELISA检测IL-1β、IL-10、TNF-α的表达。

## 2.4 观察指标

**2.4.1 一般行为观察及疾病活动指数(DAI)评分** 给药期间,每天观察大鼠的一般情况,记录粪便性状、检测大便潜血、测量体质量,参照文献<sup>[13]</sup>进行DAI评分。DAI评分=(体质量下降评分+大便性状评分+大便隐血评分)/3。分数越高,提示炎症越重。体质量下降指数(%)=(给药前体质量-给药后体质量)/给药前体质量×100%。评分标准见表1。

表1 DAI评分标准

评分	体质量下降指数/%	大便性状	大便隐血
0分	0	正常	隐血试验(-)
1分	1~5	轻度松散	隐血试验(-)
2分	5~10	稀便	隐血试验(+)
3分	10~15	水样便	隐血试验(+)
4分	>15	严重腹泻	肉眼血便

**2.4.2 大鼠结肠黏膜组织HE染色** 取大鼠结肠黏膜组织样本,经70%、80%、90%各级乙醇溶液脱水,纯乙醇、二甲苯等量混合液15 min,二甲苯I 15 min、II 15 min(至透明为止)。放入石蜡和二甲苯各半的混合液15 min,再放入石蜡I、石蜡II透蜡各50~60 min。石蜡包埋,切片。石蜡切片进行烤片后,脱蜡、水化。将已入蒸馏水后的切片放入苏木精水溶液中染色3 min,盐酸乙醇分化液分化15 s,稍水洗,返蓝液返蓝15 s,流水冲洗,伊红染色3 min,流水冲洗,脱水,透明,封片,镜检。

**2.4.3 ELISA检测IL-1β、TNF-α、IL-10的表达** 根据ELISA试剂盒说明进行。

**2.4.4 免疫组织化学染色检测结肠组织TLR4、NF-κB的表达** 石蜡切片烤片后,加入抗原修复液,然后将切片移入湿盒中,采用新鲜配制的3%双氧水,去除内源性过氧化物酶封闭液,室温孵育10 min, PBS充分淋洗,进行非特异性封闭,敷一抗,敷二抗, DAB显色,苏木精复染,脱水透明,封片、镜检。

**2.4.5 荧光定量PCR检测TLR4 mRNA的表达** 采用RNA超纯提取试剂盒提取细胞RNA,利用紫外可见分光光度计测定RNA的浓度和纯度(OD260/OD280,通过RNA逆转录试剂盒分别合成cDNA,利用荧光PCR仪进行荧光定量PCR。引物序列见表2,反应体系如下:2×SYBR Green PCR Master Mix 10 μl、cDNA 1 μl、上游引物0.4 μl、下游引物0.4 μl、RNase Free dH<sub>2</sub>O 8.2 μl。反应步骤如下:预变性95℃,10 min;变性95℃,10 s;退火58℃,30 s;延伸72℃,30 s;40个循环。以GAPDH作为内



参,检测 TLR4 基因的相对表达量根据  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  计算。

表 2 引物序列

引物名称	引物序列(5'-3')	产物长度/bp	退火温度/℃
GAPDH F	GACAACTTTGGCATCCTGGA	133	58.0
GAPDH R	ATGCAGGGATGATGTTCTGC		
TLR4 F	AATCCCTGCATAGAGGTAAGTTC	121	57.8
TLR4 R	TCAAGGGCTTGAAGCTCAGA		

2.5 统计学方法 统计分析采用 SPSS 22.0 软件。所有实验重复 3 次,计量结果用均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示。2 组之间比较采用独立样本  $t$  检验,多组之间比较采用单因素方差分析,两两比较采用 S-N-K 法。检验水准为  $\alpha=0.05$ 。

3 实验结果

3.1 各组大鼠一般行为观察结果及 DAI 评分比较

对照组大鼠无异常情况,毛发柔顺有光泽,善食好动,精力充沛。与对照组相比,造模后各组大鼠均出现拱背聚群、精神不振、食欲差、毛发暗淡无光泽等现象,体质量不同程度下降,并伴有腹泻、便血等明显的肠道症状。给予美沙拉嗪和荆芥连翘汤干预后,相较模型组,大鼠精神状态、行动表现、毛发暗淡程度、肠道等症状均有不同程度减轻。与对照组比较,模型组 DAI 评分升高( $P<0.05$ );与模型组比较,西药组、灌肠组、灌胃组的 DAI 评分降低( $P<0.05$ );灌胃组 DAI 评分高于西药组( $P<0.05$ )。(见表 3)

表 3 各组大鼠 DAI 评分比较( $\bar{x}\pm s$ ,分)

组别	只数/只	DAI 评分
对照组	9	0
模型组	9	5.890 $\pm$ 0.211 <sup>a</sup>
西药组	9	2.453 $\pm$ 0.201 <sup>b</sup>
灌肠组	9	2.356 $\pm$ 0.180 <sup>b</sup>
灌胃组	9	3.511 $\pm$ 0.192 <sup>bc</sup>

注:与对照组比较,<sup>a</sup> $P<0.05$ ;与模型组比较,<sup>b</sup> $P<0.05$ ;与西药组比较,<sup>c</sup> $P<0.05$ 。

3.2 各组大鼠结肠黏膜组织 HE 染色结果比较

HE 染色结果显示,对照组结肠组织结构正常,肠黏膜杯状细胞丰富无损伤;与对照组相比,模型组结肠组织结构紊乱,黏膜下层大量炎性细胞浸润,毛细血管充血,肠黏膜变薄,亦可见炎性细胞浸润,杯状细胞数量明显减少;与模型组相比,西药组、灌肠组、灌胃组的结肠组织结构较完整,炎细胞浸润情况改善,肠黏膜趋于正常,杯状细胞增多。(见图 1)

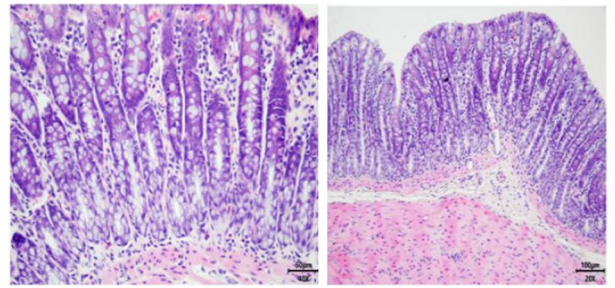


图 1-1 对照组

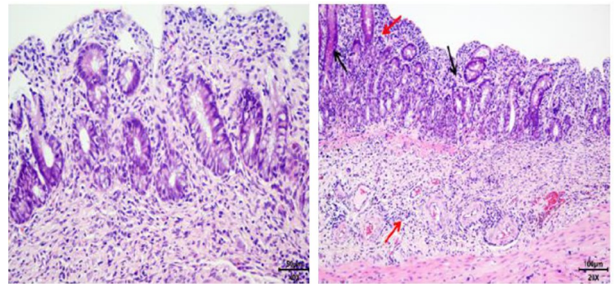


图 1-2 模型组

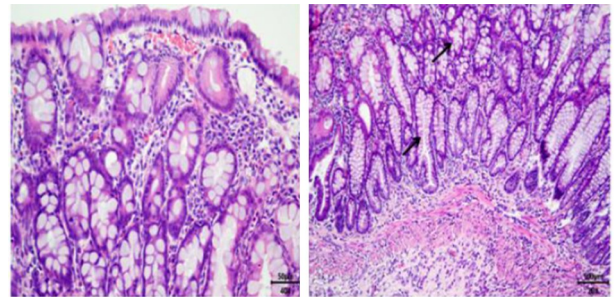


图 1-3 西药组

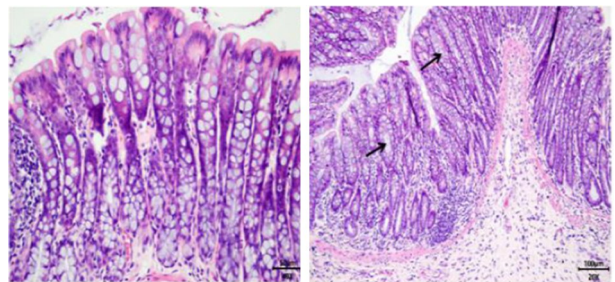


图 1-4 灌肠组

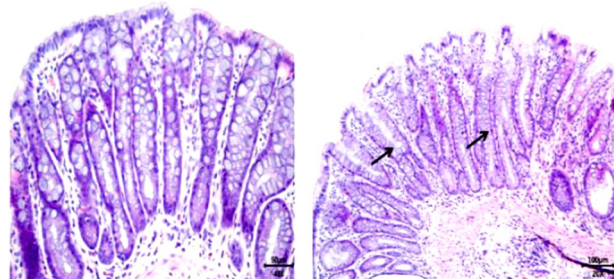


图 1-5 灌胃组

图 1 HE 染色结果( $\times 200$ 、 $\times 400$ )

3.3 各组大鼠 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-10 比较 与对照组相比,模型组 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  升高,IL-10 下降,差异有统计学意义( $P<0.05$ );与模型组相比,西药组、灌肠组 IL-1 $\beta$  下降,西药组、灌肠组、灌胃组 TNF- $\alpha$  降低、IL-10 升高,差异均有统计学意义

( $P<0.05$ )。对比西药组,灌肠组 IL-1 $\beta$  降低, TNF- $\alpha$  上升,灌胃组 IL-10 上升,差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。对比灌胃组,灌肠组 IL-1 $\beta$  下降,IL-10 上升,差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。(见图 2)

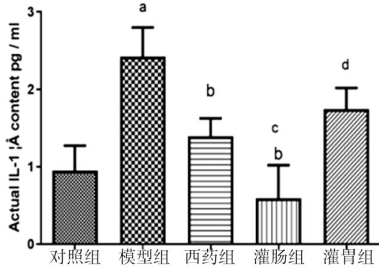


图 2-1 IL-1 $\beta$  表达水平

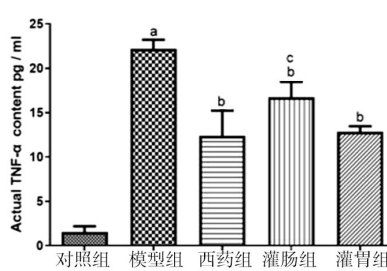


图 2-2 TNF- $\alpha$  表达水平

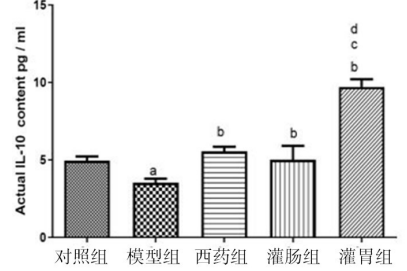


图 2-3 IL-10 表达水平

注:与对照组比较,<sup>a</sup> $P<0.05$ ;与模型组比较,<sup>b</sup> $P<0.05$ ;与西药组比较,<sup>c</sup> $P<0.05$ ;与灌肠组比较,<sup>d</sup> $P<0.05$ 。

图 2 各组大鼠 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-10 水平比较

3.4 各组大鼠结肠组织 NF- $\kappa$ B、TLR4 表达比较 免疫组化分析显示,与对照组相比,模型组 NF- $\kappa$ B、TLR4 的表达均上升;与模型组相比,西药组、灌肠组、灌胃组的 NF- $\kappa$ B、TLR4 表达均呈下降趋势,差

异均有统计学意义( $P<0.05$ )。灌肠组 NF- $\kappa$ B 表达高于西药组( $P<0.05$ )。灌胃组 NF- $\kappa$ B 表达低于灌肠组( $P<0.05$ )。西药组、灌肠组、灌胃组的 TLR4 表达差异无统计学意义( $P>0.05$ )。(见图 3~4)

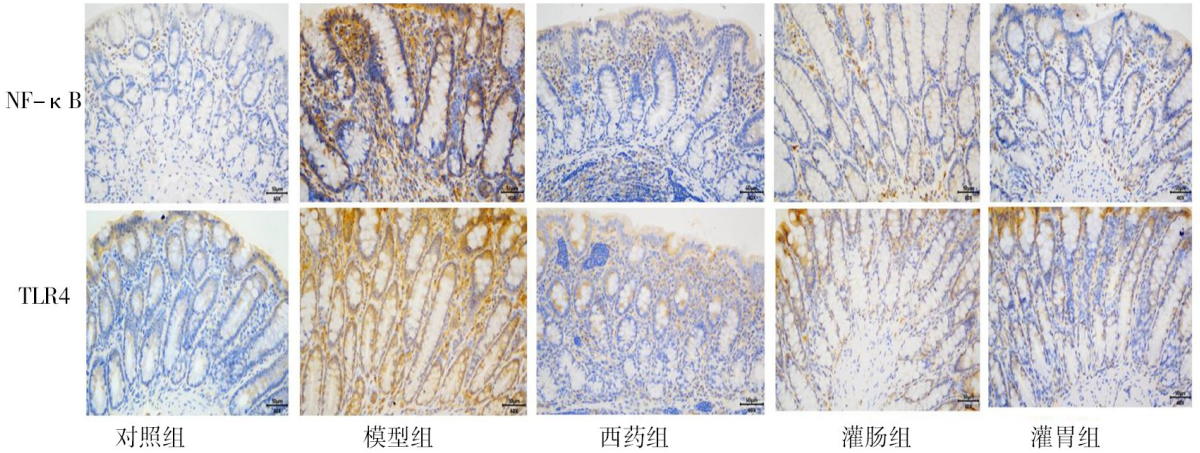


图 3 免疫组化染色结果( $\times 400$ )

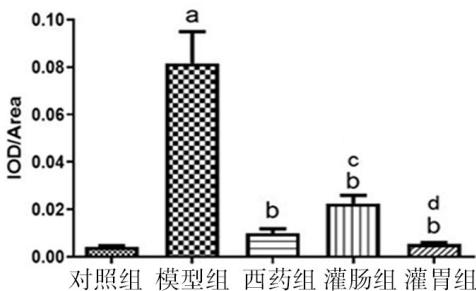


图 4-1 NF- $\kappa$ B

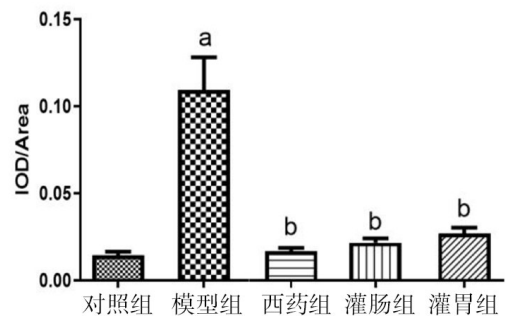


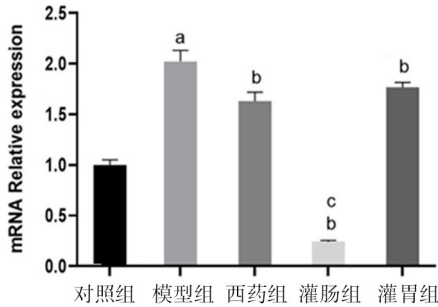
图 4-2 TLR4

注:与对照组比较,<sup>a</sup> $P<0.05$ ;与模型组比较,<sup>b</sup> $P<0.05$ ;与西药组比较,<sup>c</sup> $P<0.05$ ;与灌肠组比较,<sup>d</sup> $P<0.05$ 。

图 4 各组大鼠 NF- $\kappa$ B、TLR4 表达比较



3.5 各组大鼠 TLR4 mRNA 表达的比较 与对照组相比,模型组 TLR4 mRNA 表达升高( $P<0.05$ )。与模型组相比,西药组、灌胃组、灌肠组 TLR4 mRNA 表达下降( $P<0.05$ )。灌肠组 TLR4 mRNA 表达低于西药组,差异均于统计学意义( $P<0.05$ )。(见图5)



注:与对照组比较,<sup>a</sup> $P<0.05$ ;与模型组比较,<sup>b</sup> $P<0.05$ ;与西药组比较,<sup>c</sup> $P<0.05$ 。

图5 各组大鼠 TLR4 mRNA 表达比较

#### 4 讨论

UC 的现代治疗手段主要有药物治疗、高压氧治疗、粪菌移植、干细胞治疗等。药物治疗方面,以美沙拉嗪作为代表的5-氨基水杨酸药物是治疗 UC 的一线药物,但有 Meta 分析提出,美沙拉嗪诱导缓解的有效率仅 66.58%<sup>[14]</sup>,而且存在经济负担重、有一定的毒副作用、停药后易复发、患者依从性较差等问题。在 UC 的药物治疗中,抗菌药物使用广泛,但长期使用合成抗菌药物,容易导致细菌耐药。在5-氨基水杨酸治疗效果不理想或患者为重度 UC 情况下可考虑使用糖皮质激素。但长期使用糖皮质激素将导致一系列药物不良反应,减量易复发。免疫抑制剂、生物制剂的临床应用尚缺乏大量数据,有待考究。

中医药治疗 UC 历史悠久,中医学对“UC”并无确切称谓,常根据临床症状将其诊断为泄泻、痢疾、肠风和久痢泄等,证型以大肠湿热、脾气虚衰、脾肾阳虚、气滞血瘀、肝郁脾虚、营血虚弱、寒热错杂为主。目前中医药在防治 UC 方面进行了大量的临床研究,主要集中在单味中药、中药复方、中西医结合、灌肠治疗、中药栓剂纳肛、针灸治疗等方面。中医药内服外用相结合治疗 UC,具有用药灵活、毒副作用较小的特点,在诱导缓解、预防复发方面有独特的优势,中医药治疗 UC 有广阔的开发和应用前景。

荆芥连翘汤(荆芥、连翘、当归、白芍、防风、川芎、柴胡、枳壳、黄芩、山栀、白芷、桔梗、甘草)最早见于明代龚廷贤《万病回春》卷三的耳病门和鼻病

门,用于治疗肾经风热,两耳肿痛和移热于脑之鼻渊者。日本一贯堂森道伯翁在该方基础上增加黄柏、黄连、生地黄、薄荷四味,仍名荆芥连翘汤,用于治疗湿疹、皮肤浅黑色、腺病性体质、过敏性体质等。从组方上看,荆芥连翘汤由黄连解毒汤(《外台秘要》)、四物汤(《和剂局方》)、四逆散(《伤寒论》)等方组成,泻火解毒兼有理气和血、调和肝脾之效。黄连解毒汤是清热解毒名方,被广泛用于多种炎症相关疾病的治疗,用于 UC 多有报道<sup>[15]</sup>。现代药理研究发现,黄连解毒汤具有抗菌、抗炎、抗氧化、降脂降压、调节免疫、调节肠道菌群等作用。四物汤具有免疫调节及抗自由基作用,临床广泛,临床也有研究者将四物汤合用其他方剂用于 UC 治疗<sup>[16]</sup>。四逆散作为一种少阳调和剂,具有疏肝理脾、透邪解郁的功效,对治疗肝郁脾虚型疾病有较好效果,在临床上被广泛用于消化系统各类疾病治疗,包括 UC<sup>[17-18]</sup>。荆芥连翘汤合三方于一体,临床应用广泛,主要是各种皮肤、黏膜炎性疾病等,疗效显著<sup>[19-22]</sup>。近年来,随着研究的深入,荆芥连翘汤对皮肤及消化道黏膜性疾病效果也得到众多研究结果的支持,并被应用于 UC 的临床治疗中<sup>[23-26]</sup>,但多未深入研究其作用机制。明确荆芥连翘汤对 UC 的作用机制,加强对荆芥连翘汤的开发,提高 UC 的治疗效果,具有重要的意义。

本实验结果表明荆芥连翘汤对改善模型大鼠症状有显著作用,HE 染色结果提示荆芥连翘汤能明显减少结肠组织炎症及浸润;ELISA 检测结果显示抑炎因子 IL-10 显著上升,而致炎因子 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  显著降低,这说明荆芥连翘汤能明显抑制炎症反应,减少致炎物质产生,并可使 TLR4、NF- $\kappa$ B、TLR4 mRNA 表达均显著下降,因此,笔者认为荆芥连翘汤可能是通过抑制 TLR4/NF- $\kappa$ B 信号通路而产生药理作用。另外,从实验结果看,灌肠在降低炎症因子、抑制 TLR4 mRNA 表达方面优于灌胃给药,这可能与灌肠治疗,可以直达病位,从而提高疗效有关。

#### 参考文献

- [1] 张娇娇,张帆,余星星,等. 溃疡性结肠炎发病机制及中西医治疗研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报,2021,23(1):70-74.
- [2] 谢晶日,陈善涛,刘芝伟. 溃疡性结肠炎发病机制研究进展[J]. 海南医学院学报,2022,28(23):1835-1840.
- [3] 张声生,赵鲁卿. 中医药治疗溃疡性结肠炎的研究进展述评[J]. 北京中医药,2022,41(9):944-950.

- [4] 何碧霞,朱延涛. 中医药治疗溃疡性结肠炎研究进展[J]. 新中医,2020,52(13):21-23.
- [5] BOPANNA S, ANANTHAKRISHNAN A N, KEDIA S, et al. Risk of colorectal cancer in Asian patients with ulcerative colitis: A systematic review and metaanalysis[J]. Lancet Gastroenterol Hepatol,2017,2(4):269-276.
- [6] YUR,JIANG S,TAO Y, et al. Inhibition of HMGB1 improves necrotizing enterocolitis by inhibiting NLRP3 via TLR4 and NF- $\kappa$ B signaling pathways[J]. J Cell Physiol,2019,234(8):13431-13438.
- [7] CHEN X, LIU G, YUAN Y, et al. NEK7 interacts with NLRP3 to modulate the pyroptosis in inflammatory bowel disease via NF- $\kappa$ B signaling[J]. Cell Death Dis,2019,10(12):906.
- [8] 陈泰宇,唐学贵,蒋小东,等. 四逆汤对溃疡性结肠炎大鼠TLR4/NF- $\kappa$ B信号通路相关因子及肠道菌群的影响[J]. 中华中医药学刊,2023,41(10):83-87.
- [9] 黄星星,任晓芳,张聪伟,等. 中药复方干预TLR4/NF- $\kappa$ B相关通路治疗溃疡性结肠炎的研究进展[J]. 现代中西医结合杂志,2022,31(21):3031-3035.
- [10] 贾福运,高望. 基于Toll样受体4/核因子- $\kappa$ B信号通路中药干预溃疡性结肠炎作用机制的研究进展[J]. 环球中医药,2022,15(9):1729-1735.
- [11] 刘雯,侯晨辉,李江. 芩柏汤通过调节TLR2/NF- $\kappa$ B- $\alpha$ /IL-1 $\beta$ 通路保护溃疡性结肠炎大鼠肠黏膜的研究[J]. 中成药,2022,44(8):2659-2663.
- [12] 徐叔云,卞如濂,陈修. 药理学实验方法学[M]. 北京:人民卫生出版社,2022:202-203.
- [13] LIQ, CUIY, XUB, et al. Main active components of Jiawei Gegen Qinlian decoction protects against ulcerative colitis under different dietary environments in a gut microbiota-dependent manner[J]. Pharmacol Res,2021,170:105694.
- [14] XIN ZHAO, NAN LI, YI MING REN, et al. Efficacy and safety of beclomethasone dipropionate versus 5-A minos-alicyclic acid in the treatment of ulcerative colitis: A systematic review and meta-analysis[J]. PLo S One,2016,11(8):e0160500.
- [15] 靳瑾,周知然. 黄连解毒汤对溃疡性结肠炎患者肠道菌群的影响[J]. 中医学报,2020,35(7):1520-1523,1559.
- [16] 邹孟龙,宁芯,陈雅璐,等. 四君子汤介导肠道黏膜屏障防治溃疡性结肠炎的研究进展[J]. 中医药导报,2020,26(10):134-137.
- [17] 易文,覃鹏飞,石孟琼,等. 左金丸合四逆散治疗肝郁脾虚型溃疡性结肠炎疗效及其对血清促炎因子和抗炎因子水平的影响[J]. 中药药理与临床,2017,33(2):165-167.
- [18] 梁一男. 加味四逆散治疗溃疡性结肠炎探究[J]. 世界最新医学信息文摘,2017,17(98):110-111.
- [19] 陈宝田. 时方的临床应用[M]. 广州:广东科技出版社,1989:24-26.
- [20] 奚爱妮,胡晶晶,单洪强. 荆芥连翘汤辅助治疗青春期后湿寒型瘰疬的疗效观察[J]. 内蒙古中医药,2023,42(5):64-66.
- [21] 胡润湘,李晋平,阮懿泽,等. 基于《内经》“火郁发之”对荆芥连翘汤辨治皮肤病的思考[J]. 时珍国医国药,2022,33(12):2986-2987.
- [22] 黄瑞凝. 荆芥连翘汤的实验与临床研究进展[J]. 实用妇科内分泌电子杂志,2017,4(23):8-9.
- [23] 龚诚. 荆芥连翘汤对116例溃疡性结肠炎患者血清因子的影响[J]. 云南中医中药杂志,2017,38(3):39-41.
- [24] 张艳君,常玉洁. 荆芥连翘汤加减治疗溃疡性结肠炎32例疗效观察[J]. 中医药导报,2016,22(21):64-66.
- [25] 白鹏飞,张艳君,李敏. 荆芥连翘汤加减从肺论治溃疡性结肠炎疗效及对患者肠黏膜屏障功能、免疫调节、氧化应激指标的影响[J]. 陕西中医,2020,41(7):897-900.
- [26] 许莉嘉. 荆芥连翘汤加减治疗溃疡性结肠炎的疗效观察[J]. 中国现代药物应用,2021,15(8):205-207.
- (收稿日期:2023-12-06)
- [编辑:徐琦]
- 
- (上接第167页)
- [24] 李时珍. 本草纲目(校点本下册)[M]. 北京:人民卫生出版社,1982:2166.
- [25] 何银堂. 怀药志[M]. 郑州:河南科学技术出版社,2022:130.
- [26] 陈仁寿,刘训红. 江苏中药志(第一卷)[M]. 南京:江苏凤凰科学技术出版社,2020:467.
- [27] 陈斐. 广东中药志(第二卷)[M]. 广州:广东科技出版社,1996:488.
- [28] 钟国跃,瞿显友. 重庆中药志[M]. 北京:中医古籍出版社,2021:614.
- [29] 蔡光先. 湖南药物志(第三卷)[M]. 长沙:湖南科技出版社,2004:1730.
- [30] 朱梅,熊亮,王亚男,等. 慈竹茹中脂素类化学成分的研究[J]. 中国中药杂志,2012,37(13):1968-1972.
- [31] 龚金炎. 竹子外表皮中护肤功能因子的研究[D]. 杭州:浙江大学,2010.
- [32] 南充地区卫生局. 南充常用中草药[M]. 南充:南充地区卫生局,1974:79.
- [33] 赵佳琛,王艺涵,金艳,等. 经典名方中竹茹的本草考证[J]. 中国实验方剂学杂志,2022,28(10):238-246.
- [34] 史军义,周德群,张玉霄,等. 世界箬竹属栽培品种研究(I)[J]. 世界竹藤通讯,2019,17(2):57-63.
- [35] 李玉敏,冯鹏飞. 基于第九次全国森林资源清查的中国竹资源分析[J]. 世界竹藤通讯,2019,17(6):45-48.
- [36] 荣俊冬,张迎辉,蒋建立,等. 沿海沙地3种竹林土壤易氧化有机碳研究[J]. 世界竹藤通讯,2017,15(5):1-5.
- [37] 黄志龙. 湘潭市楠竹产业现状与发展建议[J]. 林业与生态,2021(11):12-13.
- [38] 杨哲,刘锦军. 洞庭湖生态经济区楠竹产业发展调查与思考:以湖南省岳阳县为例[J]. 岳阳职业技术学院学报,2016,31(2):57-60.
- [39] 金世元. 金世元中药材传统鉴别经验[M]. 北京:中国中医药出版社,2010:166.
- [40] 郑炳富. 对现用竹茹的看法[J]. 中药通报,1986(2):55-56.
- [41] 陆维承,陆维宏. 不可把毛竹作竹茹入药[J]. 中药材,1994(7):49-50.
- (收稿日期:2023-12-26)
- [编辑:徐琦]