

食品工业科技

SCIENCE AND TECHNOLOGY OF FOOD INDUSTRY

- 荷兰《文摘与引文数据库》(Scopus)
- 瑞典开放存取期刊目录 DOAJ
- 美国《化学文摘》CA
- 英国《食品科技文摘》FSTA
- 日本科学技术振兴机构数据库JST
- 世界期刊影响力指数(WJCI)报告
- 食品科学与工程领域高质量科技期刊分级目录第一方阵T1
- 北大核心期刊
- 中国精品科技期刊
- 中国科技核心期刊CSTPCD
- 中国核心学术期刊RCCSE
- 中国农林核心期刊A
- 中国生物医学Sino Med

半月刊 ISSN 1002-0306 CN 11-1759/TS

邮发代号: 2-399

蒿本内酯对葡聚糖硫酸钠诱导的溃疡性结肠炎小鼠的改善作用

马广礼, 夏晓培, 马金亮

Improving Effect of Ligustilide on Dextran Sodium Sulfate-induced Ulcerative Colitis

MA Guangli, XIA Xiaopei, and MA Jinliang

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2023040055>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

马广礼, 夏晓培, 马金亮. 蒿本内酯对葡聚糖硫酸钠诱导的溃疡性结肠炎小鼠的改善作用 [J]. 食品工业科技, 2024, 45(4): 321-327. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023040055

MA Guangli, XIA Xiaopei, MA Jinliang. Improving Effect of Ligustilide on Dextran Sodium Sulfate-induced Ulcerative Colitis[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(4): 321-327. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023040055

· 营养与保健 ·

蒿本内酯对葡聚糖硫酸钠诱导的溃疡性结肠炎小鼠的改善作用

马广礼^{1,*}, 夏晓培¹, 马金亮²

(1. 许昌职业技术学院医疗卫生学院, 河南许昌 461000;

2. 河南科技大学食品与生物工程学院, 河南洛阳 471000)

摘要:目的: 探究蒿本内酯 (ligustilide, Lig) 对葡聚糖硫酸钠 (dextran sodium sulfate, DSS) 诱导溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 小鼠的改善作用及机制。方法: 将 60 只雄性 SPF 级 C57BL/6 小鼠随机分成 6 组, 分别为空白组、DSS 组、阳性药柳氮磺吡啶 (sulfasalazine, SASP) 组、Lig 低、中、高剂量组。DSS 组小鼠自由饮用 3% DSS 水溶液 7 d 复制 UC 模型, 同时对 Lig 低、中、高剂量组小鼠灌胃给予药物干预治疗。通过记录小鼠每日体重和结肠长度, 检测疾病活动指数 (disease activity index, DAI) 评分, 采用酶联免疫吸附测定试剂盒定量检测血清中 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 的表达水平, 检测结肠中 TLR4/NF- κ B 蛋白表达水平, 并结合苏木素-伊红染色实验, 探究 Lig 对小鼠 UC 的作用及机制。结果: 与空白组比较, DSS 组小鼠体重显著减轻 ($P < 0.05$), 结肠长度显著缩短 ($P < 0.05$), DAI 评分显著升高 ($P < 0.05$), 肠道出现大量炎症性浸润现象, 且结肠组织中 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 表达水平显著升高 ($P < 0.05$); 与 DSS 组比较, Lig 中剂量组和高剂量组小鼠的肠道组织中 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 的表达以及 TLR4/NF- κ B 信号均被显著抑制 ($P < 0.05$), 表明 Lig 中剂量组和高剂量组小鼠肠道损伤得到显著改善。结论: Lig 能有效改善 DSS 诱导的小鼠 UC, 其机制可能是抑制 NF- κ B 信号通路的激活。

关键词: 蒿本内酯, 溃疡性结肠炎, 葡聚糖硫酸钠, 炎症因子

中图分类号: R459.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2024)04-0321-07

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2023040055



本文网刊:

Improving Effect of Ligustilide on Dextran Sodium Sulfate-induced Ulcerative Colitis

MA Guangli^{1,*}, XIA Xiaopei¹, MA Jinliang²

(1. College of Medical and Health, Xuchang Vocational Technical College, Xuchang 461000, China;

2. College of Food and Bioengineering, Henan University of Science and Technology, Luoyang 471000, China)

Abstract: Objective: To research the therapeutic effects and mechanisms of ligustilide (Lig) in improving dextran sodium sulfate (DSS)-induced ulcerative colitis (UC) in mice. Methods: Intervention of lig was delivered in sixty male SPF C57 BL/6 mice and the mice were differentiated in six groups according to the dose of lig as: Control group, DSS group, positive control group (treated with sulfasalazine, SASP), low-dose lig group, medium-dose lig group, and high-dose lig group. The UC in DSS mice was induced by a 3% DSS solution through oral administration for 7 days, in the meanwhile, the low, medium, and high-dose lig groups were received gavage feeding of lig and oral administration of 3% DSS solution. Before and after the intervention, the body weight, colon length, and the disease activity index (DAI) score were collected for assessment of UC. Furthermore, the expression levels of TLR4/NF- κ B proteins in colon and serum TNF- α , IL-6, and IL-1 β were quantitatively measured using enzyme-linked immunosorbent (ELISA) assays. Additionally, histological exam-

收稿日期: 2023-04-07

基金项目: 河南省高等教育教学改革研究与实践项目 (2019SJGLX716)。

作者简介/通信作者*: 马广礼 (1982-), 男, 硕士, 副教授, 研究方向: 生物医学, E-mail: mag@vip.qq.com。

ination was performed to investigate the effects and mechanisms of lig in improving UC in mice by hematoxylin-eosin staining. Results: Compared to the control group, significantly reduced body weight ($P<0.05$), shorter colon length ($P<0.05$), increased DAI score ($P<0.05$). And there was a large amount of inflammatory infiltration in the intestine, the expression level of TNF- α , IL-6, and IL-1 β in the colon significantly increased ($P<0.05$). Compared with DSS group, significant suppression of the TLR4/NF- κ B signaling pathway in the intestinal tissue, serum TNF- α , IL-6, and IL-1 β expression ($P<0.05$) were observed in the medium and high-dose lig groups, which indicated a significant improvement in intestinal damage. Conclusion: Lig would be able to effectively improve DSS-induced UC in mice. Moreover, the results showed that the mechanism of lig improving DSS-induced UC was possibly involved with the inhibition of the NF- κ B signaling pathway.

Key words: ligustilide; ulcerative colitis; dextran sodium sulfate; inflammatory factor

溃疡性结肠炎(Ulcerative colitis, UC)是一种病因尚不十分清楚的非特异性肠道炎症疾病,其主要临床表现是腹泻、脓血便、腹痛和里急后重等症状^[1]。它的发病率日益增高,是全球性消化内科常见的疑难病之一,在我国的发病率为 11.6/10万^[2]。UC 的发病机制目前尚不明确,主要与遗传、环境、感染、肠道菌群失调以及免疫应答等因素有关^[3]。我国西药治疗 UC 取得了一定的疗效,治疗药物主要包括类固醇、免疫调节剂等,但引起恶心、腹泻和腹痛等不良反应仍然存在,治疗方法也存在一定的局限性,比如部分患者后期需要手术干预^[4]。因此,开发有效药物治疗 UC 是一个亟待解决的重要问题。

随着我国中药现代化建设步伐的加快,传统中医药及其有效成分在新药研发领域中的研究成为当下的主要热点之一。藜本内酯(ligustilide, Lig),是从中草药川芎和当归中提取的有效成分之一,具有多种生物活性和药理作用,对心脑血管、循环系统及免疫功能均有较强的药理作用,有很强的解痉、平喘、镇静作用,能改善微循环、松弛平滑肌、抑菌、提高机体免疫调节等功能^[5-6]。除被广泛应用于医学领域外,Lig 还被用作食品添加剂,常用于饮料、酒类等食品中,以提高其香味及质感。此外,也有研究表明 Lig 对食品质量具有保护作用,如抑制食品的褐变、氧化等^[7-8]。因此,Lig 在食品工业中有着广泛的应用前景。大量的研究显示,Lig 因抑制 NF- κ B 的激活与减少炎症因子的释放表现出强大的抗炎药理活性,可治疗多种炎症相关疾病,如 Lig 通过介导 PI3K/AKT/mTOR 信号通路对脑缺血再灌注损伤大鼠模型的神经发挥保护作用^[9],Lig 通过抑制 NLRP3 炎症小体的激活改善阿霉素诱导的炎症心肌损伤^[10],Lig 对干扰素 α 诱导的人脑血管外膜成纤维细胞增殖及凋亡通过 lncRNA NKILA 来发挥改善作用^[11]。然而,还没有研究报道 Lig 可以通过激活 TLR4/NF- κ B 信号改善 UC。

本研究拟使用葡聚糖硫酸钠(dextran sodium sulfate, DSS)构建 UC 小鼠模型,探索 Lig 对 DSS 诱导 UC 小鼠的改善作用,并阐明其可能的分子机制,为 Lig 的临床开发和利用提供理论依据,为提高

UC 患者的生活质量提供新的治疗策略。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

60 只 C57 BL/6 小鼠,6~8 周龄,雄性,体重(22±2) g 购自上海市公共卫生临床中心,动物生产许可证号: SCXK(沪)2020-0002,常温环境饲养于温度(22±2) °C,湿度 40%~60%,12 h 光照/黑暗循环的条件下,动物福利伦理审查批文号为 SPF 2022049; Lig

纯度 98%,成都曼思特生物科技有限公司; DSS MW36000-50000 美国 MP Biomedicals 生物有限公司; 苏木素-伊红染色试剂盒 北京索莱宝科技有限公司生产; IL-6、TNF- α 、IL-1 β 试剂盒 上海朗顿生物技术有限公司。

EVOS M5000 型智能细胞成像系统 美国 Thermo Fisher Scientific 公司; ELX-800 型酶标仪 美国 BIO-TEK 公司; FSH-2 型可调高速电动匀浆器

江苏金坛市佳美仪器有限公司; Microfugu 20R 型高速冷冻离心机 美国 Beckman Coulter 公司; RE-5289 型数显恒温水浴锅 常州市国旺仪器制造有限公司; FA1004B 型电子天平 上海精密科学仪器有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 动物造模及给药方法 将 60 只雄性 C57BL/6 小鼠随机分为 6 组,每组 10 只,分别为空白组、DSS 组、阳性药柳氮磺吡啶(sulfasalazine, SASP)组和 Lig 低、中、高剂量组(低剂量组: 50 mg/kg; 中剂量组: 100 mg/kg; 高剂量组: 200 mg/kg^[12])。适应性饲养 1 周后,每日称量并记录小鼠体重,除空白组外,其余组小鼠连续 7 d 饮用 3% DSS 溶液诱导 UC 模型^[13],同时 Lig 低、中、高剂量组小鼠给予相应剂量药物,溶于 10% 生理盐水中灌胃干预治疗,空白组和 DSS 组小鼠以相同的方式给予等体积的生理盐水。

1.2.2 UC 小鼠取材及测量结肠长度和质量 第 8 d,腹腔注射适量戊巴比妥钠麻醉后,眶窦采血,解剖小鼠,测量结肠从直肠近端到回盲部的长度和质量,远端结肠组织立即用 4% 多聚甲醛溶液在 4 °C 冰箱固定过夜,第 2 d 用于做石蜡切片。

1.2.3 观察 UC 小鼠病理组织形态 取部分结肠用 4% 多聚甲醛固定, 石蜡包埋, 切片进行苏木素-伊红染色组织学评估。将石蜡切片脱蜡, 按照试剂盒说明书步骤对组织进行染色, 用中性树脂对切片封片, 在 100 倍光镜下以不同的视野在相同的设置下观察结肠组织的病理学改变。

1.2.4 UC 小鼠的相关指数评价 在整个实验过程中, 每天观察并记录小鼠的体重减轻、排便情况和直肠出血情况。参照文献 [14] 的方法, 对造模后大鼠体重下降率、大便性状及大便隐血情况进行疾病活动指数 (disease activity index, DAI) 评分, 以评估 UC 的严重程度 (表 1)。DAI=(体重+大便形态+大便出血)/3。小鼠麻醉取血后, 取结肠组织并剖开, 0.9% NaCl 冲洗干净, 观察结肠黏膜。根据文献 [15] 操作方法进行结肠损伤指数 (colon and mesentery injury, CMDI) 评分。按照文献 [16] 方法操作, 观察结肠组织病理学, 并进行结肠组织学指数 (histological, HS) 评分。结肠切片染色的组织学评价分级如下: 0 级: 无炎症迹象; 1 级: 低白细胞浸润; 2 级: 中度白细胞浸润; 3 级: 高白细胞浸润, 中度纤维化, 高血管密度, 结肠壁增厚, 中度杯状细胞丢失, 局灶性隐窝丢失; 4 级: 白细胞透壁浸润, 杯状细胞大量丢失, 广泛纤维化, 弥漫性隐窝丢失。

表 1 DAI 的评分标准
Table 1 Scoring criteria for DAI

评分	体重下降 (%)	大便性状	便血情况
0	<1	正常	阴性
1	≥1~5	软便	阴性
2	≥5~10	软便	隐血阳性
3	≥10~20	腹泻	隐血阳性
4	≥20	腹泻	血便

1.2.5 血清中炎症因子 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 水平的测定 在实验进行的第 8 d, 取小鼠静脉血放置于无菌离心管中, 室温静置 40 min, 于 4 °C、2500 r/min 条件下离心 15 min, 收集管中的上层血清, 使用酶联免疫吸附测定试剂盒测定血清液中的 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 水平, 多余血清置于 -80 °C 冰箱保存备用。

1.2.6 UC 小鼠结肠组织中蛋白免疫印迹分析 称取 100 mg 结肠组织, 用含有蛋白酶和磷酸酶抑制剂的十二烷基硫酸钠样品缓冲液匀浆, 收集上清, 测定蛋白浓度, 制备样品进行电泳、电转及 5% 脱脂奶粉封闭的过程后, 在 4 °C 下孵育一抗过夜, 第 2 天室温孵育二抗 1 h, 最后在凝胶成像仪下进行显影, 使用 Image J 分析软件对蛋白条带的灰度值进行分析。

1.3 数据处理

采用 GraphPad Prism 8.0.2 软件进行统计学分析, 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, 当数据满足正态分布和方差齐

性时, 两两比较用 LSD 检验, 当数据不满足正态分布或方差齐性时, 两两比较用 Dunnett's 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 Lig 对 UC 小鼠一般情况的影响

结肠炎是一种疾病, 其特征是慢性和反复发作的肠道炎症。通过使用小鼠模型模拟结肠炎, 可以更好地了解该疾病的发病机制, 以及治疗性药物的疗效。DSS 是一种常用的诱导结肠炎的化学品, 可以损伤肠道黏膜并引发炎症反应^[17]。在这项实验中, 其使用可使小鼠模型表现出与结肠炎患者相似的症状。如图 1 所示, 与空白组比较, DSS 组小鼠进食量明显减少, 造模第 3 d 个别小鼠便秘; 小鼠体重在第 4 d 显著降低 ($P<0.05$), 毛发失去光泽, 精神萎靡; 造模第 5 d 出现不同程度的腹泻、便血、肛门血染等现象。与 DSS 组比较, Lig 各剂量组小鼠状态均有所好转, 进食量逐渐增多, 大便性状逐渐开始好转, Lig 低剂量组小鼠体重显著升高 ($P<0.05$), Lig 中和高剂量组小鼠体重极显著升高, 差异具有统计学意义 ($P<0.01$), 与董晶等^[3] 研究结果一致, 充分说明 Lig 能够改善 UC 小鼠的病理状况。

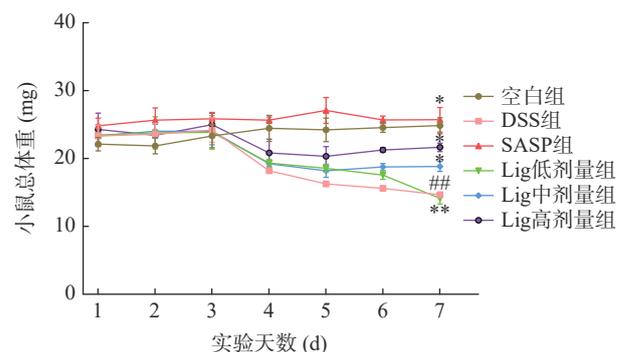


图 1 UC 小鼠的体重变化 (n=10)

Fig.1 Changes of body weight in UC mice (n=10)

注: 与空白组比较, $^{##}P<0.01$; 与 DSS 组比较, $^{*}P<0.05$, $^{**}P<0.01$ 。

2.2 Lig 对 UC 小鼠 DAI、CMDI 和 HS 的影响

DAI、CMDI 和 HS 是评价结肠炎症状严重程度和疗效的常用指标, 具有很高的临床应用价值。DAI 是结合患者的体重下降百分率、大便黏稠度和大便出血三种情况进行综合评分, 将 3 项结果的总分除以 3 即得到 DAI 值^[18]。CMDI 是结肠长度反映慢性炎症和损伤修复的间接指标^[19]。HS 主要通过结肠组织病理切片观察各组大鼠结肠病变情况评分^[20]。如图 2 所示, 与空白组比较, DSS 组小鼠的 DAI、CMDI 和 HS 三个指数评分均明显增加, 差异均有统计学意义 ($P<0.05$), 说明其处于较为严重的结肠炎状态。与 DSS 组比较, Lig 中、高剂量实验组的 DAI、CMDI 和 HS 三个指数评分显著降低, 差异均有统计学意义 ($P<0.05$), 提示 Lig 对结肠炎具有一定的治疗效果, 而 Lig 低剂量组的 DAI、CMDI 和 HS 三个指标无显著性差异, 说明 Lig 的作用剂量

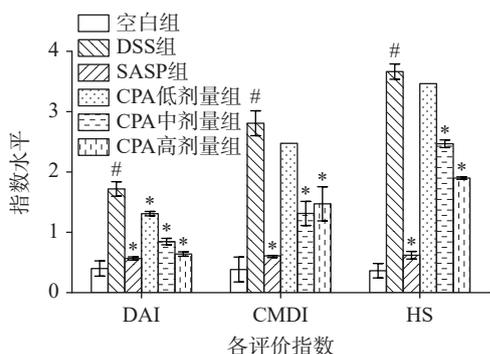


图2 Lig对UC小鼠DAI、CMDI和HS的影响(n=10)

Fig.2 Effect of lig on DAI, CMDI and HS in ulcerative colitis mice (n=10)

注:与空白组比较,# $P<0.05$;与DSS组比较,* $P<0.05$ 。

具有一定的关键性。与Wang等^[21]的研究结果一致,充分说明Lig对UC小鼠的结肠组织起到一定改善作用。

2.3 Lig对UC小鼠结肠长度重量比的影响

结肠长度的变化可以反映肠道炎症的程度和对肠道组织的损伤程度。在结肠炎模型中,由于炎症反应的存在,结肠黏膜会出现不同程度的缩短或者变形,导致结肠总长度的减小^[22]。肠道组织的重量变化可以反映结肠气肿和水肿等病理过程。在结肠炎模型中,由于炎症反应导致的组织水肿和充血会使得结肠重量显著增加,因此测量结肠重量可以反映结肠炎症的程度,并帮助评估治疗效果^[23]。如图3所示,与空白组比较,DSS组小鼠的结肠平均长度显著缩短,结肠重量明显增加,结肠长度重量比显著增加,差异具有统计学意义($P<0.05$);与DSS组比较,Lig中和高剂量组小鼠的结肠平均长度显著增长,结肠重量明显减少,结肠长度重量比显著降低,差异具有统计学意义($P<0.05$),与董晶等^[3]研究结果一致,说明显著改善了DSS作用引起的结肠长度缩短的病症,其中Lig各剂量组间相比,Lig高剂量组治疗效果优于其余两组。

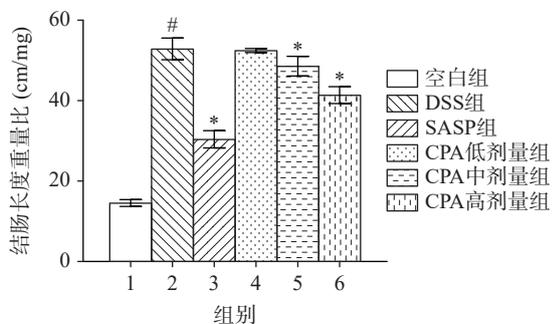


图3 Lig对UC小鼠结肠长度重量比的影响(n=10)

Fig.3 Effect of lig on length to weight ratio of colon in UC mice (n=10)

注:与空白组比较,# $P<0.05$;与DSS组比较,* $P<0.05$ 。

2.4 Lig对UC小鼠的结肠病理组织损伤的影响

炎性细胞浸润是大多数结肠炎的典型特征,以

白细胞的浸润为主。炎性细胞浸润可能导致肠壁增厚,肠道管腔受压迫并产生炎性假性息肉。肠壁增厚和肌肉层病理变化:在炎症的特定阶段,结肠黏膜下层间质细胞或炎性细胞的增生可能导致肠壁明显的增厚^[24]。如图4所示,与空白组比较,DSS组小鼠的结肠组织出现明显的上皮细胞损伤,包括隐窝结构弥漫性损伤、杯状细胞丢失和大量中性粒细胞浸润至固有层;与DSS组比较,Lig中、高剂量组小鼠具有相对完整的隐窝结构,上皮变形较少,炎症细胞浸润较少;Lig低剂量组小鼠则表现出较明显的组织损伤,隐窝结构部分损伤,炎症细胞浸润较多。与Nameer等^[25]的实验结果一致,表明Lig可以对UC小鼠的结肠病理组织损伤程度发挥一定改善作用。

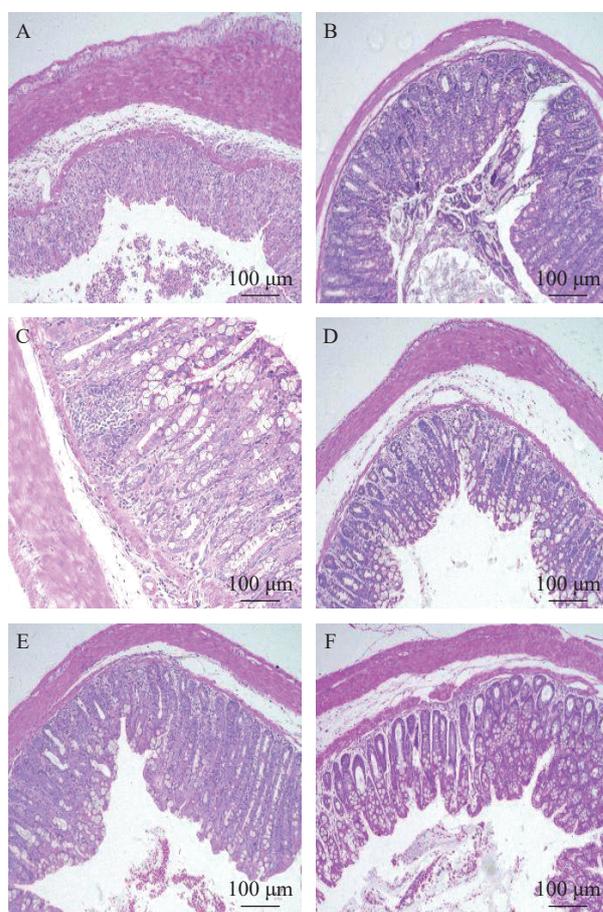


图4 Lig对UC小鼠结肠病理组织改变的影响(100×)

Fig.4 Effect of lig on the pathological changes of colonic tissue in UC mice (100×)

注:A:空白组;B:DSS组;C:SASP组;D:Lig低剂量组;E:Lig中剂量组;F:Lig高剂量组。

2.5 Lig对UC小鼠血清中TNF- α 、IL-6和IL-1 β 水平的影响

TNF- α 、IL-6和IL-1 β 是三种重要的炎症因子,它们在免疫系统中起到重要的作用。TNF- α 能够诱导炎症反应、增强免疫细胞的活性,是重要的调节剂,可以引起全身性症状和导致组织损伤^[26]。在炎症过程中,IL-6可以增加白细胞数量和活性,促进其他免疫因子的产生,参与身体的免疫应答^[27]。IL-1 β 可

以促进炎症细胞的增殖和释放^[28]。如图 5 所示, 与空白组比较, DSS 组小鼠结肠中促炎细胞因子 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 的表达显著升高 ($P<0.05$); 与 DSS 组相比, Lig 中、高剂量组小鼠结肠中 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 的表达水平显著降低 ($P<0.05$)。以上结果与董晶等^[3] 研究结果一致, 表明 Lig 可显著抑制 DSS 所致 UC 的炎症因子表达升高, 且 Lig 高剂量的治疗效果最佳。

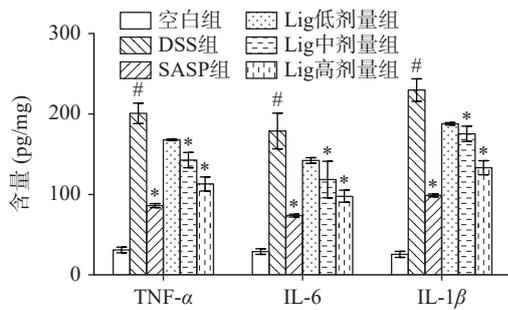


图 5 Lig 对 UC 小鼠血清中 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 水平的影响 (n=10)

Fig.5 Effect of lig on the levels of TNF- α , IL-6, and IL-1 β in the serum of UC mice (n=10)

注: 与空白组比较, [#] $P<0.05$; 与 DSS 组比较, ^{*} $P<0.05$ 。

2.6 Lig 对 UC 小鼠结肠中 TLR4/NF- κ B 信号通路的影响

TLR4/NF- κ B 信号通路与细胞因子的产生密切相关。各种外源性危险信号可激活 TLR4 受体并进一步诱导下游转录因子 NF- κ B 活化, 最终促进促炎因子和趋化因子的产生。如图 6 所示, 与空白组比较, DSS 组小鼠结肠 TLR4 蛋白的表达和 NF- κ B

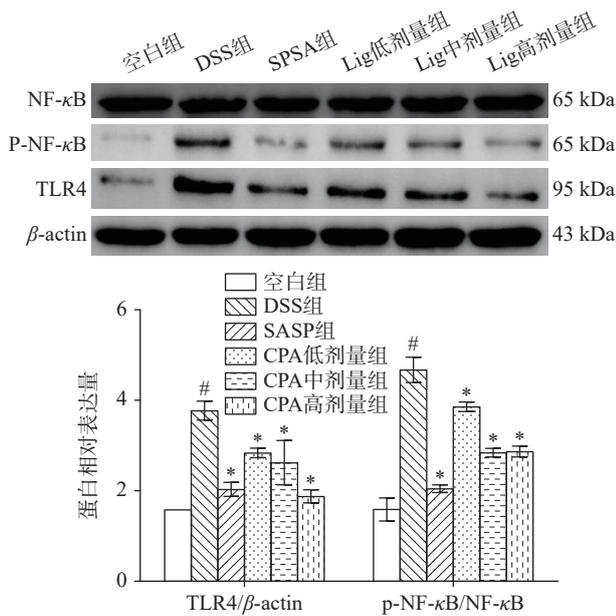


图 6 Lig 对 UC 小鼠结肠组织中的 TLR4/NF- κ B 信号通路的影响 (n=10)

Fig.6 Effect of lig on TLR4/NF- κ B signaling pathway in colonic tissue of mice with DSS-induced colitis (n=10)

注: 与空白组比较, [#] $P<0.05$; 与 DSS 组比较, ^{*} $P<0.05$ 。

蛋白的磷酸化显著升高 ($P<0.05$); 与 DSS 组比较, SASP 组和 Lig 高剂量组小鼠结肠 TLR4 蛋白的表达和 NF- κ B 蛋白的磷酸化显著降低 ($P<0.05$), 而 Lig 低和中剂量对 UC 小鼠结肠组织中蛋白表达无显著性区别。上述结果与 Ma 等^[29] 研究结果一致, 表明 Lig 治疗 UC 可能与抑制 NF- κ B 信号通路相关, 可抑制炎症因子释放, 减缓炎症反应的发生。

3 讨论与结论

UC 是一种反复发作的慢性肠道非特异性炎症反应, 常常会引发免疫系统失调, 在不同程度上可引起从直肠到近端结肠的连续黏膜炎症^[1]。Lig 作为中药当归的主要有效成分之一, 具有镇静、镇痛、解热及抗炎药理作用。本研究通过给予小鼠喂喝 3% DSS 水溶液复制 UC 模型, 小鼠若出现便血和体重下降, 结肠上皮细胞坏死、溃疡和炎症细胞浸润等情况, 说明建模成功。观察小鼠一般情况、体重及其结肠长度进行 DAI 等相关指数分析, 通过测定血清中各种细胞因子水平, 结合苏木素-伊红染色判断结肠损伤程度, 发现 Lig 对 UC 小鼠的改善作用机制可能与抑制 NF- κ B 信号通路相关。

DAI 是一种用于评估疾病活性的指标, 常用于评估慢性肠道炎症疾病, 如 UC 和克罗恩病的临床状况^[14]。CMDI 是结肠长度反映慢性炎症和损伤修复的间接指标^[15]。HS 主要通过结肠组织病理切片观察各组大鼠结肠病变情况评分^[16]。本试验结果表明, 与空白组相比, DSS 组小鼠的 DAI、CMDI 和 HS 指数水平显著升高 ($P<0.05$), 与 DSS 组相比, Lig 中和高剂量 DAI、CMDI 和 HS 三个指数水平显著降低 ($P<0.05$), 其中高剂量 Lig 的治疗效果最明显, 与 Wang 等^[21] 的研究结果一致, 充分说明 Lig 可以改善小鼠 UC 的病理情况。

TNF- α 是 TNF 超家族的原型成员, 主要由巨噬细胞和单核细胞分泌, 是炎症反应和相关疾病的产生和发展中的主要促炎细胞因子^[26]。IL-6 是一种具有 184 个氨基酸的四螺旋多效细胞因子, 该蛋白质由成纤维细胞、单核细胞、巨噬细胞、T 细胞和内皮细胞合成, 其合成和分泌在炎症条件下诱导, 在免疫反应、炎症和造血中起着重要作用^[27]。IL-1 β 是抗微生物免疫以及自身免疫炎症的关键介质、有效的促炎因子, 对于宿主反应和对病原体的抵抗至关重要, 还会加剧慢性疾病和急性组织损伤期间的损害^[28]。

本试验结果表明, 与空白组相比, DSS 组小鼠血清中 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 的表达水平显著升高 ($P<0.05$); 与 DSS 组相比, Lig 中和高剂量能有效抑制 UC 小鼠 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 的表达水平, 表明 Lig 治疗 UC 可能与抑制炎症因子释放, 达到炎症缓解。越来越多的证据表明 TLR4/NF- κ B 通路在结肠炎发病中发挥重要作用, 抑制 TLR4/NF- κ B 通路可以改善 DSS 所致的 UC^[30], 例如 MA 等^[29] 报道白头翁皂苷 B4 可通过抑制 TLR4/NF- κ B/MAPK 信号通路预

防小鼠 UC; JIANG 等^[31]也报道了黄芩苷可通过抑制 TLR4/NF- κ B 信号通路对大鼠 UC 发挥抗炎作用。因此,我们推测 Lig 的抗炎作用可能是通过抑制 TLR4 介导的 NF- κ B 通路的激活而实现的。本实验中,与空白组相比, DSS 组小鼠结肠组织 TLR4 蛋白表达量和 NF- κ B 磷酸化水平显著升高, Lig 干预能显著减少 DSS 引起的上述效应,这些体外结果表明,抑制 TLR4/NF- κ B 信号通路以减轻炎症反应发生可能是 Lig 发挥抗 UC 的重要机制。

本实验虽然存在未设定体内细胞实验论证以及给药治疗时间太短等缺陷,但是通过查阅文献 [12] 复制 UC 小鼠模型等系列实验充分说明 Lig 能有效缓解 DSS 诱导的小鼠 UC, 机制可能是通过抑制 NF- κ B 的表达及活化,进而抑制促炎因子 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 的释放。由此推断, Lig 缓解 UC 小鼠的机制可能与 NF- κ B 信号通路有关,有望成为预防和治疗 UC 的辅助药物。

参考文献

- [1] HENRY H R, STEPHANIE B, YU B, et al. Pharmacological inhibition of NPY receptors illustrates dissociable features of experimental colitis in the mouse DSS model: Implications for preclinical evaluation of efficacy in an inflammatory bowel disease model[J]. *Public Library of Science One*, 2019, 14(8): 1–22.
- [2] YE Y L, PANG Z, CHEN W C, et al. The epidemiology and risk factors of inflammatory bowel disease[J]. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*, 2019, 12(9): 1–12.
- [3] 董晶, 王帅珂, 吴革, 等. 鱼腥草多酚对葡聚糖硫酸钠(DSS)诱导小鼠溃疡性结肠炎的改善作用[J]. *现代食品科技*, 2021, 37(12): 7–13. [DONG J, WANG S K, WU P, et al. Effects of polygonum hydropiper polyphenols on the improvement of dextran sulfate sodium (DSS)-induced colitis in mice[J]. *Modern Food Science and Technology*, 2021, 37(12): 7–13.]
- [4] ZHONG W T, LU X L, SHI H T, et al. Distinct microbial populations exist in the mucosa-associated microbiota of diarrhea predominant irritable bowel syndrome and ulcerative colitis[J]. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 2019, 53(9): 660–672.
- [5] WANG H F, WU L J, ZHANG B, et al. Ligustilide ameliorates inflammatory pain and suppresses the NF- κ B pathway in rats[J]. *Inflammation Research*, 2021, 70(5): 513–522.
- [6] WU Q, MAO Z G, LIU J, et al. Ligustilide attenuates ischemia reperfusion-induced hippocampal neuronal apoptosis via activating the PI3K/Akt pathway[J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2020, 11(6): 979–989.
- [7] MA Q, CUI Y, DU H, et al. Ligustilide improves sensory and physicochemical qualities and inhibits microbial growth of chilled mutton[J]. *Meat Science*, 2019, 150: 37–44.
- [8] ZHANG X, SU X, WU N, et al. Ligustilide extends the shelf life of fresh-cut Chinese yam through inhibiting browning and microbial growth[J]. *Food Chemistry*, 2018, 248: 239–247.
- [9] 崔江波, 杨静, 王培福, 等. 蒿本内酯介导 PI3K/AKT/mTOR 信号通路对脑缺血再灌注损伤大鼠的神经保护机制研究[J]. *川北医学院学报*, 2021, 36(7): 826–831. [CUI J B, YANG J, WANG P F, et al. Protective mechanism of huperzine mediated PI3K/AKT/mTOR signaling pathway on neurological damage in rats with cerebral ischemia-reperfusion injury[J]. *Journal of North Sichuan*

Medical College, 2021, 36(7): 826–831.]

- [10] 孙嘉, 刘冰, 张陆勇. 蒿本内酯对阿霉素所致心肌损伤的保护作用[J]. *中药新药与临床药理*, 2021, 32(12): 1776–1784. [SUN J, LIU B, ZHANG L Y. Protective effects of gao ben neizun against doxorubicin-induced myocardial injury[J]. *Chinese Journal of New Drugs and Clinical Pharmacology*, 2021, 32(12): 1776–1784.]
- [11] ZHANG W Q, LI X, WANG Y, et al. Lig has a protective effect on interferon-alpha induced proliferation and apoptosis of human brain vascular adventitial fibroblasts primarily through lncRNA NKILA[J]. *Chinese Journal of New Drugs and Clinical Pharmacology*, 2021, 32(12): 1776–1784.
- [12] WANG X, MA J, PENG L, et al. Artemisinin mitigates experimental murine colitis via adjusting helper cell balance[J]. *International Immunopharmacology*, 2018, 64: 264–271.
- [13] QU C, YUAN Z W, YU X T, et al. Patchouli alcohol ameliorates dextran sodium sulfate-induced experimental colitis and suppresses tryptophan catabolism[J]. *Pharmacological Research*, 2017, 121: 70–82.
- [14] 吴铭, 宋家乐, 任源, 等. 芸薹属紫菜蔬乙醇提取物对葡聚糖硫酸钠致小鼠结肠炎的预防作用[J]. *现代食品科技*, 2019, 9: 159–168. [WU M, SONG J L, REN Y, et al. Preventive effect of ethanol extract from orphyra spinach on sodium polysulfate-induced colitis in mice[J]. *Modern Food Science and Technology*, 2019, 9: 159–168.]
- [15] WU G R, FAN L Q, LI Y, et al. Correlation of endoscopic findings with the colonic mucosal injury score and correlation of the colonic mucosal injury score with clinical indicators in patients with ulcerative colitis[J]. *World Journal of Gastroenterology*, 2019, 25(44): 6529–6542.
- [16] YU Y, GONG R, MU Y, et al. Galangin attenuates inflammation and preserves barrier integrity in mice with DSS-induced acute colitis[J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2021, 12: 621930.
- [17] MEHMET G, MUSTAFA C, HUSEYIN O, et al. Protective effects of tyrosol against DSS-Induced ulcerative colitis in rats[J]. *Inflammation*, 2019, 42(5): 1680–1691.
- [18] VERSTOCKT B, VERSTOCKT S, CREYNS B, et al. Monocytes from inflammatory bowel disease patients exhibit impaired interleukin-10 secretion and increased inflammatory cytokines expression and are targets of vitamin D[J]. *Clinical and Experimental Immunology*, 2020, 199(1): 55–65.
- [19] MOUSAVI S, KARKHANEH M, RAZZAGHI Z, et al. Zinc supplementation for the treatment of ulcerative colitis: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials[J]. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 2020, 60: 126484.
- [20] MASALHA M, ROSENZWEIG S, BASAR H, et al. The gut microbiota promotes hepatic fatty acid desaturation and elongation in mice[J]. *Nature Communications*, 2021, 12(1): 380.
- [21] WANG J, WANG M, ZHANG X, et al. The effect of β -carotene on acute ulcerative colitis induced by dextran sulfate sodium in mice[J]. *European Journal of Pharmacology*, 2020, 879: 173094.
- [22] YAN X, LIU F, LI X, et al. Prophylactic effect of *Bacillus coagulans* on colitis and its mechanisms in mice[J]. *Frontiers in Immunology*, 2021, 12: 657792.
- [23] CHI L, ZHANG J, TAN X, et al. Protective effect of hydrogen sulfide on dextran sulfate sodium-induced ulcerative colitis in mice[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2020, 532(3): 326–332.

- [24] NEURATH M F. Current and emerging therapeutic targets for IBD[J]. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 2019, 16(11): 713–738.
- [25] NAMEER K S, KUMAR, NIENKE Z, et al. Impaired fatty acid β -oxidation due to carnitine deficiency drives hepatic steatosis in celiac disease[J]. *Cell Reports*, 2021, 34(7): 108788.
- [26] LI Y H, LI Y C, LI X D, et al. Protein kinase type 2 is involved in lipopolysaccharide-Induced TNF- α production in macrophages through toll-like receptor 4[J]. *Mediators of Inflammation*, 2017, 2017: 3948062.
- [27] DIRKSA, STEFAN R J. IL-6 pathway in the liver: From physiopathology to therapy[J]. *Journal of Hepatology*, 2016, 64(6): 1403–1415.
- [28] QIN S, WEN J, BAI X C, et al. Asperlin inhibits lipopolysaccharide-induced inflammatory response by down-regulating MAPK and NF- κ B pathways in RAW 264.7 cells[J]. *Molecules*, 2019, 24(5): 861.
- [29] MA H M, ZHOU M J, DUAN W B, et al. Anemoside B4 prevents acute ulcerative colitis through inhibiting of TLR4/NF-kappaB/ MAPK signaling pathway[J]. *International Immunopharmacology*, 2020, 87: 106794.
- [30] DEJBAN P, NIKRAVANGOLSEFID N, CHAMANARA M, et al. The role of medicinal products in the treatment of inflammatory bowel diseases (IBD) through inhibition of TLR4/NF-kappaB pathway[J]. *Phytotherapy Research*, 2021, 35(2): 835–845.
- [31] JIANG J, CAO X, LU X, et al. Puerarin ameliorated experimental colitis via suppressing dendritic cell maturation and TLR4/MyD88/NF- κ B pathway[J]. *International Immunopharmacology*, 2020, 86: 106421.