

基于STAT3/NF- κ B/IL-6通路研究加味黄芩汤治疗溃疡性结肠炎的作用机制

王康¹, 缪志伟², 董筠³, 叶柏¹

¹南京中医药大学附属医院消化内科, 江苏 南京 210046; ²张家港市中医医院消化内科, 江苏 张家港 215600;

³江苏省中医院脾胃病科, 江苏 南京 210046

摘要:目的 探讨加味黄芩汤对溃疡性结肠炎的治疗效果及对STAT3/NF- κ B/IL-6通路的调控作用。方法 将48只小鼠随机分为空白组、模型组、阳性药物组(柳氮磺吡啶)、中药低剂量组、中药中剂量组、中药高剂量组, 8只/组, 按照3% DSS造模法对除空白组以外的5组小鼠进行溃疡性结肠炎造模, 造模7 d后, 空白组和模型组以生理盐水灌胃, 药物治疗组以相应的药物灌胃, 灌胃量均为10 ml/kg, 共持续1周。治疗结束后, 使用颈椎脱臼法处死小鼠, 测量结肠长度, 通过HE染色法观察各组小鼠结肠组织形态变化及结肠组织病理学评分变化, 通过RT-qPCR法和Western blot法检测各组小鼠结肠组织STAT3、NF- κ B、IL-6 mRNA及蛋白表达水平变化。结果 与空白组相比, 模型组、阳性药物组及中药各剂量组小鼠结肠长度明显缩短($P<0.05$), 结肠组织病理评分均明显升高($P<0.05$); 与模型组相比, 阳性药物组及中药各剂量组小鼠结肠长度明显延长($P<0.05$), 结肠组织病理评分均明显降低($P<0.05$); 与阳性药物组相比, 中药高剂量组小鼠结肠长度明显延长($P<0.05$), 结肠组织病理评分均明显降低($P<0.05$), 中药中剂量组结肠长度及结肠组织病理评分均无明显差异($P>0.05$), 中药低剂量组结肠长度明显缩短($P<0.05$), 结肠组织病理评分均明显增加($P<0.05$); 与中药高剂量组相比, 中药中、低剂量组小鼠结肠长度均明显缩短($P<0.05$), 结肠组织病理评分均明显增加($P<0.05$); 与中药中剂量组相比, 中药低剂量组小鼠结肠长度均明显缩短($P<0.05$), 结肠组织病理评分均明显增加($P<0.05$)。与空白组相比, 模型组结肠组织STAT3、NF- κ B、IL-6 mRNA及蛋白表达水平明显升高($P<0.01$), 与模型组相比, 阳性药物组及中药各剂量组结肠组织STAT3、NF- κ B、IL-6 mRNA及蛋白表达水平明显降低($P<0.01$), 其中中药高剂量组结肠组织STAT3、NF- κ B、IL-6 mRNA及蛋白表达水平明显低于阳性药物组及中药中、低剂量组($P<0.05$)。而中药中剂量组结肠组织STAT3、NF- κ B、IL-6 mRNA及蛋白表达水平与阳性药物组无明显差异($P>0.05$), 但明显低于中药低剂量组($P<0.05$)。结论 加味黄芩汤对溃疡性结肠炎具有一定的改善作用, 其作用机制可能与通过影响STAT3/NF- κ B/IL-6通路下调结肠组织STAT3、NF- κ B、IL-6表达有关。

关键词: 溃疡性结肠炎; 加味黄芩汤; STAT3; NF- κ B; IL-6

Mechanism of Jiawei Huangqin decoction for treating ulcerative colitis in mice: the role of STAT3/NF- κ B/IL-6 pathway

WANG Kang¹, MIAO Zhiwei², DONG Yun³, YE Bai¹

¹Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China; ²Department of Gastroenterology, Zhangjiagang Hospital of Chinese Medicine, Zhangjiagang 215600, China; ³Department of Spleen and Stomach Diseases, Jiangsu Provincial Hospital of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China

Abstract: Objective To investigate the therapeutic effect of Jiawei Huangqin (JWHQ) decoction on ulcerative colitis (UC) and the regulation of STAT3/NF- κ B/IL-6 pathway. **Methods** Forty-eight mice were randomized into blank control group, model group, positive control (Sulfasalazine) group, and low-, moderate- and high-dose JWHQ Decoction groups ($n=8$). In all but the blank control groups, the mice were given 3% DSS in drinking water to induce UC, followed 7 days later by treatment with saline (blank control and model groups) or JWHQ Decoction by gavage (10 mL/k) for 7 consecutive days. After the treatment, the mice were euthanized and the colon length was measured and the histopathological changes were observed with HE staining. The expression levels of STAT3, NF- κ B, and IL-6 in the colon tissues were detected with RT-qPCR and Western blotting. **Results** Compared with those in the blank control group, the colon length was significantly shortened and the pathological score of the colon tissue was significantly higher in all the other 5 groups ($P<0.05$). Compared with those in the model group, the colon length was significantly longer and the pathological scores were obviously reduced in all the 4 treatment groups ($P<0.05$). JWHQ Decoction at the high dose produced significantly better therapeutic effects than the positive drug in terms of the colon length ($P<0.05$) and the colon histopathological score ($P<0.05$); high-dose JWHQ Decoction also showed better effect than the other two doses ($P<0.05$), whose effects were comparable ($P>0.05$). The mouse models of UC

showed significantly increased expression levels of STAT3, NF- κ B, and IL-6 in the colon tissue ($P<0.01$), which were obviously lowered by the positive drug and JWHQ Decoction ($P<0.01$), especially at the high dose ($P<0.01$). JWHQ Decoction at the moderate dose produced similar effects with the positive drug on

收稿日期: 2019-10-06

基金项目: 国家重点研发计划项目(2018YFC1705400)

作者简介: 王康, 硕士, E-mail: kenwang886@126.com

通信作者: 叶柏, 主任中医师, 教授, 博士生导师, E-mail: yeb1961@163.com

com

STAT3, NF- κ B and IL-6 levels ($P>0.05$), and their effects were stronger than those of low-dose JWHQ Decoction ($P<0.05$).

Conclusion JWHQ Decoction can improve UC in mice possibly by down-regulating the expression of STAT3, NF- κ B and IL-6 in colonic tissue to affect the STAT3/NF- κ B/IL-6 pathway.

Keywords: ulcerative colitis; Jiawei Huangqin decoction; STAT3; nuclear factor- κ B; interleukin-6

溃疡性结肠炎是指侵及结肠黏膜的慢性非特异性炎症性疾病^[1],患者可仅有结肠症状,也可伴随全身症状,临床症状轻重不一,往往是发作与缓解交替出现,严重影响患者的生存质量^[2]。尽管溃疡性结肠炎的发病机制目前尚不完全清楚,但许多学者认为STAT3/NF- κ B/IL-6通路在溃疡性结肠炎的发生、发展及转归中发挥重要作用^[3-4]。加味黄芩汤是江苏省中医院脾胃病科主任医师叶柏教授的经验方,此方以黄芩汤为底方加减而成,叶师认为湿热凝结日久,可由肺下移大肠,亦可由大肠移肺,湿热郁于肺脏,肺之宣发肃降及治节之功失司,则气血运行阻滞,瘀滞内生,除了可以清肠化湿以外,同时可以清肺化湿,调和气血,此方中木香、炒当归行气和血,正合刘完素于《素问病机气宜保命集》中所言之“行血则便脓自愈,调气则后重自除”,同时配伍炒薏仁健脾化湿、清肺排脓,桔梗宣畅气机、托疮排脓,如此肺的宣降功能和主治节的功能恢复,气血调和,百脉皆通,则肠腑中腐疮可去,新肌可生^[5-6]。然而,目前有关加味黄芩汤对结肠组织IL-6表达影响的报道较少,且尚未见有关加味黄芩汤对STAT3/NF- κ B/IL-6通路影响的相关报道。因此,本研究旨在分析加味黄芩汤对溃疡性结肠炎的治疗效果及对STAT3/NF- κ B/IL-6通路的调节作用,以探究加味黄芩汤治疗溃疡性结肠炎的作用机制。

1 材料和方法

1.1 实验对象

实验动物由江苏省南京市江宁区青龙山动物繁殖中心提供,6~8周龄,雄性,SPF级,C57BL/6小鼠,共48只。本研究获得南京中医药大学实验动物伦理委员会审查批准。

1.2 主要实验试剂及仪器

本研究所用中药材均由江苏省中医院提供、葡聚糖硫酸钠(DSS)购自Sigma;兔抗STAT3抗体、兔抗NF- κ B抗体、小鼠抗IL-6抗体、辣根过氧化物酶(HRP)标记的山羊抗兔IgG和HRP标记的山羊抗小鼠IgG(Cell signaling);兔抗GAPDH抗体(Santa Cruz Biotechnology);化学发光底物增强检测试剂盒(ECL Kit)购自ROCHE;stat3、NF- κ B、IL-6引物由上海生工生物工程有限公合成;RNA提取试剂盒、逆转录试剂盒(ABI);SYBR Green II 荧光定量PCR试剂盒(TaKaRa);Nanodrop分子检测仪器(Thermo Fisher);实时定量聚合酶链反应(qPCR)仪(ABI)。

1.3 实验方法

1.3.1 分组 将48只小鼠随机分为空白组、模型组、阳性药物组(柳氮磺吡啶)、中药低剂量组、中药中剂量组、中药高剂量组(8只/组)。

1.3.2 造模 按照3%DSS法^[7]对除空白组以外的5组小鼠进行溃疡性结肠炎造模,即配制浓度为3% DSS水溶液,模型组、阳性药物组、中药高剂量组、中药中剂量组、中药低剂量组,自由饮用3% DSS水溶液,空白组自由饮用蒸馏水,常规饮食不变,连续饮用7 d。

1.3.3 治疗 成人体质量按60 kg估算,成人向小鼠的用药换算系数为6.25^[8],加味黄芩汤药方组成:黄芩10 g、白芍15 g、鱼腥草30 g、炒薏苡仁30 g、白头翁10 g、血见愁15 g、木香6 g、炒当归10 g、仙鹤草30 g、桔梗6 g,加味黄芩汤每剂含生药量162 g,加味黄芩汤按药方,常规煎煮,浓缩为灌胃液,以此换算出中药低剂量组小鼠生药用量为3.6 g·kg⁻¹·d⁻¹,相当于成人等效剂量的一半,中药中剂量组小鼠生药用量为7.2 g·kg⁻¹·d⁻¹,相当于成人等效剂量,中药高剂量组小鼠生药用量为14.4 g·kg⁻¹·d⁻¹,相当于成人等效剂量的两倍。成人柳氮磺吡啶的用药剂量4 g/d,换算出阳性药物组小鼠柳氮磺吡啶每日用量为0.4 g/kg质量。造模7 d后,空白组和模型组以生理盐水灌胃,药物治疗组以相应的药物灌胃,灌胃量均为10 ml/kg体质量,共持续1周。

1.3.4 取材 治疗1周后,使用颈椎脱臼法处死各组小鼠,分离距肛门2 cm以上的结肠组织,测量结肠长度,然后截取病变最明显的部位分别放入10%中性福尔马林及液氮中保存待用。

1.4 评价指标

1.4.1 结肠组织病理学评分 将置于福尔马林中的病变组织制作成病理组织切片,进行HE染色,使用显微镜观察染色结果,组织病理学评分参照Geboes标准,0分:结构改变;1分:慢性炎症;2分:固有层可见中性粒细胞;3分:上皮层可见中性粒细胞;4分:隐窝结构破坏;5分:糜烂或溃疡^[9]。

1.4.2 RT-qPCR 检测组织中STAT3、NF- κ B、IL-6 mRNA的表达水平 以cDNA为模板进行RT-qPCR检测:每个PCR反应体系内容如下:2×Talent qPCR PreMix 12.5 μ L,上、下游引物各0.75 μ L,ddH₂O 11 μ L。PCR反应条件:95 $^{\circ}$ C预变性15 s,95 $^{\circ}$ C变性10 s,60 $^{\circ}$ C退火20 s,72 $^{\circ}$ C延伸32 s,40个循环。PCR反应结束后进行熔解曲线分析以验证PCR扩增产物的特异性。反

应结束获得 IL-6、NF-κB 和 STAT3 mRNA 的循环阈值 (Ct), 采用 $\Delta\Delta Ct$ ($\Delta\Delta Ct = \Delta Ct - \Delta Ct_{\text{基础值}}$, $\Delta Ct =$

Ct 目的基因 - Ct 内参) 方法分析, 根据 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 公式计算基因的相对表达量(表 1)。

表1 引物序列
Tab.1 Primer sequence

| Gene | U-pstream primer | Down-stream primer |
|-------|--------------------------------|-------------------------------|
| STAT3 | 5'-CATATGCGGCCAGCAAAGAA-3' | 5'-ATACCTGCTCTGAAGAAACT-3' |
| NF-κB | 5'-CAUGCCAGUGAGAAUGUAUGCCAU-3' | 5'-ACGCAGGAGACGGAAGAAUAAAU-3' |
| IL-6 | 5'-CCACTCACCTCTTCAGAACG-3' | 5'-CCTCTTTGCTGCTTTCACAC-3' |
| GAPDH | 5'-TGAACGGGAAGCTCACT-3' | 5'-GCTTCACCACCTTCTTGATG-3' |

1.4.3 Western blot 检测组织中 STAT3、NF-κB、IL-6 蛋白的表达水平 严格按照蛋白提取试剂盒说明提取转染细胞中总蛋白, 采用二辛可宁酸(BCA)法测定蛋白浓度, 分别根据 STAT3、NF-κB、IL-6 蛋白相对分子质量, 用合适浓度的 SDS-PAGE 凝胶电泳分离, 并湿转至硝酸纤维素膜上, 5% 脱脂奶粉, 室温封闭 2 h, 加入稀释好的一抗, 4 °C 孵育过夜, TBS-T 洗涤 3 次, 加入适宜二抗, 室温孵育 2 h, TBS-T 洗涤 3 次, 化学发光后采集图像, 并用软件对反应条带进行灰度分析, 各蛋白相对表达量以各蛋白密度单位/ GAPDH 密度单位表示。

1.5 统计学分析

采用 SPSS20.00 处理数据, 计量资料用均数±标准差表示, 采用 t 检验或单因素方差分析, 计数资料采用 χ^2

检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组小鼠结肠组织形态、长度及结肠组织病理学评分的比较

HE 染色结果显示, 空白组结肠组织结构正常; 模型组结肠组织局部糜烂、溃疡, 组织水肿, 腺体结构破坏严重, 黏膜及黏膜下层可见肉芽组织形成; 阳性药物组结肠组织结构部分紊乱, 部分腺体遭到破坏, 可见少量炎性细胞; 中药各剂量组结肠组织水肿较轻, 部分黏膜表面糜烂, 仅少量腺体遭到破坏, 可见较少的炎症细胞, 较模型组有明显改善(图 1)。

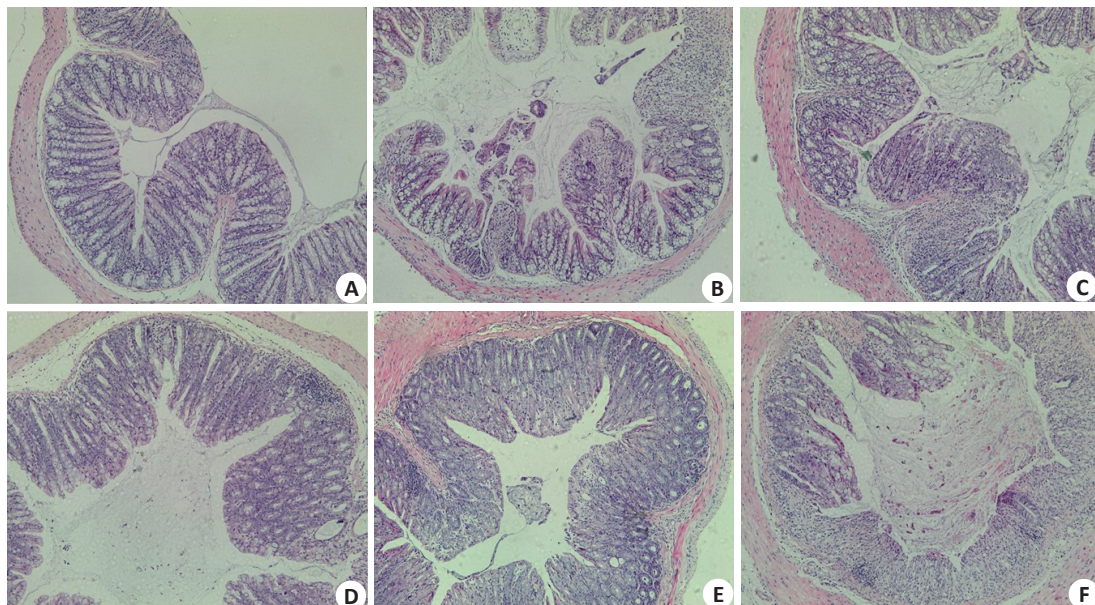


图1 各组小鼠结肠组织 HE 染色结果的比较

Fig.1 HE staining of the colon tissues in each group (Original magnification: $\times 200$). A: Blank group; B: Model group; C: Positive drug group; D, E, F: High-, moderate- and low-dose *Jiawei Huangqin* (JWHQ) decoction groups, respectively.

结肠长度及结肠组织病理学评分结果显示, 与空白组相比, 模型组、阳性药物组及中药各剂量组小鼠结肠

长度明显缩短 ($P < 0.05$), 结肠组织病理评分均明显升高 ($P < 0.05$); 与模型组相比, 阳性药物组及中药各剂量组

小鼠结肠长度明显延长($P<0.05$),结肠组织病理评分均明显降低($P<0.05$);与阳性药物组相比,中药高剂量组小鼠结肠长度明显延长($P<0.05$),结肠组织病理评分均明显降低($P<0.05$),中药中剂量组结肠长度及结肠组织病理评分均无明显差异($P>0.05$),中药低剂量组结肠长度明显缩短($P<0.05$),结肠组织病理评分均明显增加($P<0.05$);与中药高剂量组相比,中药中、低剂量组小鼠结肠长度均明显缩短($P<0.05$),结肠组织病理评分均明显增加($P<0.05$);与中药中剂量组相比,中药低剂量组小鼠结肠长度均明显缩短($P<0.05$),结肠组织病理评分均明显增加($P<0.05$,图2、表2)。

2.2 各组小鼠结肠组织 STAT3、NF- κ B、IL-6 mRNA 表达水平的比较

RT-qPCR 检测结果显示,与空白组相比,模型组结肠组织 STAT3、NF- κ B、IL-6 mRNA 表达水平明显升高($P<0.01$),与模型组相比,阳性药物组及中药各剂量组结肠组织 STAT3、NF- κ B、IL-6 mRNA 表达水平明显降



图2 各组小鼠结肠长度的比较

Fig.2 Comparison of colon length among the groups. A: Blank group; B: Model group; C: Positive drug group; D, E, F: High-, moderate- and low-dose JWHQ Decoction groups, respectively.

表2 各组小鼠结肠长度及结肠组织病理学评分的比较

Tab.2 Comparison of colon length and colonic histopathological scores among the groups (Mean \pm SD, n=8)

| Group | Colonic length (cm) | Histopathological score of colon (scores) |
|--|----------------------------------|---|
| Blank group | 8.14 \pm 0.29 | 0.12 \pm 0.07 |
| Model group | 5.71 \pm 0.52 ^a | 4.63 \pm 0.75 ^a |
| Positive drug group | 6.63 \pm 0.37 ^{ab} | 2.91 \pm 1.14 ^{ab} |
| High dose group of Jiawei Huangqin decoction | 7.74 \pm 0.49 ^{abc} | 2.34 \pm 1.57 ^{abc} |
| Middle dose group of Jiawei Huangqin decoction | 6.78 \pm 0.60 ^{abd} | 3.52 \pm 1.38 ^{abd} |
| Low dose group of Jiawei Huangqin decoction | 6.23 \pm 0.46 ^{abcde} | 4.07 \pm 1.62 ^{abcde} |

Compared with the blank group, ^a $P<0.05$; compared with the model group, ^b $P<0.05$; compared with the positive drug group, ^c $P<0.05$; compared with high dose group, ^d $P<0.05$; compared with high dose group, ^e $P<0.05$.

低($P<0.01$),其中中药高剂量组结肠组织 STAT3、NF- κ B、IL-6 mRNA 表达水平明显低于阳性药物组及中药中、低剂量组($P<0.05$),而中药中剂量组结肠组织 STAT3、NF- κ B、IL-6 mRNA 表达水平与阳性药物组无明显差异($P>0.05$),但明显低于中药低剂量组($P<0.05$,图3)。

2.3 各组小鼠结肠组织 STAT3、NF- κ B、IL-6 蛋白表达水平的比较

Western blot 检测结果显示,与空白组相比,模型组结肠组织 STAT3、NF- κ B、IL-6 蛋白表达水平明显升高($P<0.01$),与模型组相比,阳性药物组及中药各剂量组结肠组织 STAT3、NF- κ B、IL-6 蛋白表达水平明显降低($P<0.01$),其中中药高剂量组结肠组织 STAT3、NF- κ B、IL-6 蛋白表达水平明显低于阳性药物组及中药中、低剂量组($P<0.05$),而中药中剂量组结肠组织 STAT3、NF- κ B、IL-6 蛋白表达水平与阳性药物组无明显差异($P>$

0.05),但明显低于中药低剂量组($P<0.05$,图4)。

3 讨论

近年来,随着人们生活方式及饮食结构的逐渐改变,我国溃疡性结肠炎的发病率正呈逐年增加的趋势^[10],且该病治愈困难、易反复发作,并可能与结直肠癌的发生有关,严重影响患者的生活质量及生命安全^[11-12]。目前尚不清楚溃疡性结肠炎详细的发病机制,普遍认为与遗传因素^[13]、免疫功能异常^[14]及肠道菌群失调^[15]等因素有关。

现阶段,溃疡性结肠炎的临床治疗主要以氨基水杨酸制剂、免疫抑制剂、糖皮质激素等为主,但疗效并不十分理想^[16-17]。江苏省中医院脾胃病科主任医师叶柏教授认为溃疡性结肠炎活动期虽然以大肠湿热证为主,但大肠湿热证的形成与肺热移肠有关,叶师根据“肺合大肠”理论,提出从肺论治溃疡性结肠炎,肺为华盖,处人之上

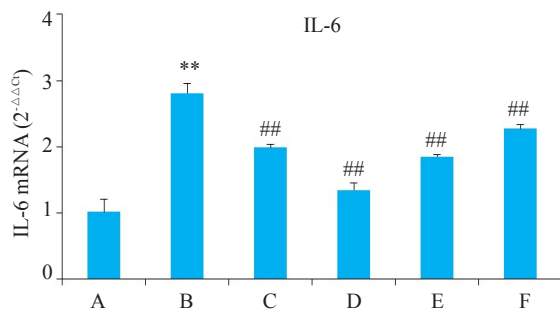
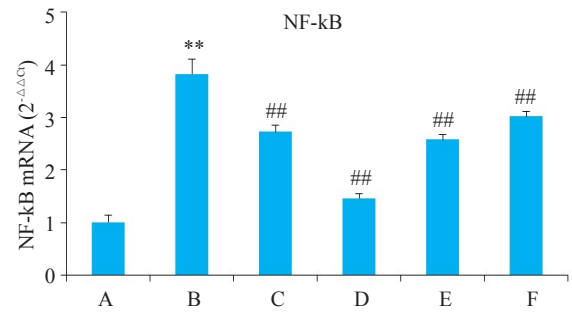
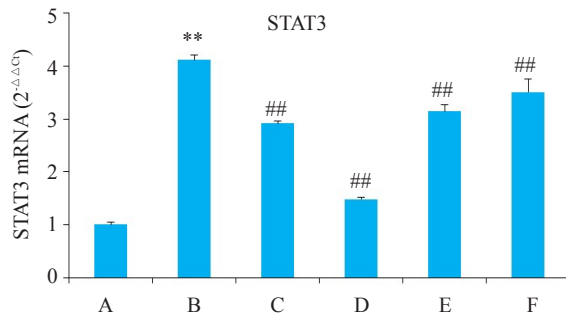


图3 各组小鼠结肠组织STAT3、NF-kB、IL-6 mRNA表达水平

Fig.3 Expression levels of STAT3, NF KB and IL-6 mRNA in the colon tissues of the mice. Compared with the blank group, **P<0.01; compared with the model group, ##P<0.01. A: Blank group; B: Model group; C: Positive drug group; D: High dose group of Jiawei Huangqin decoction; E: Middle dose group of Jiawei Huangqin decoction; F: Low dose group of Jiawei Huangqin decoction.

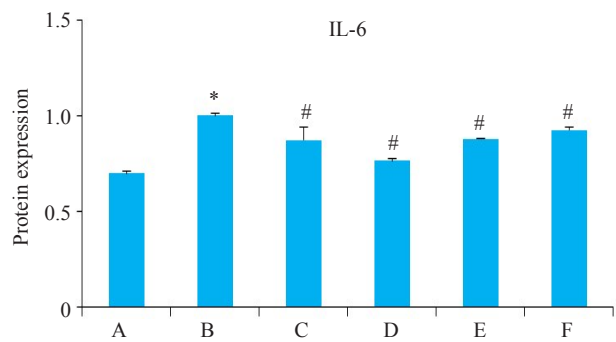
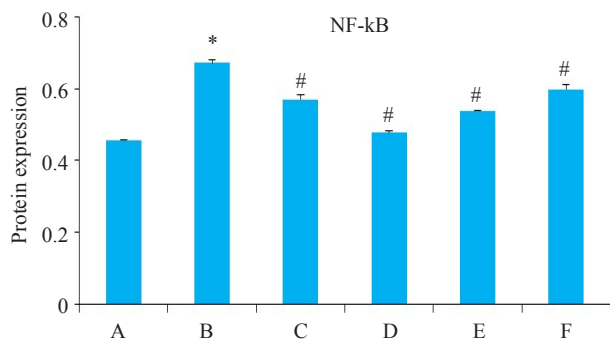
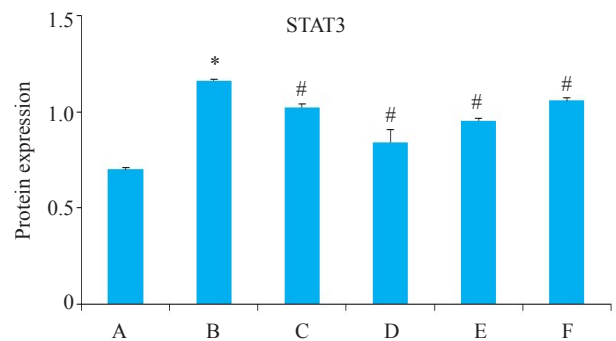
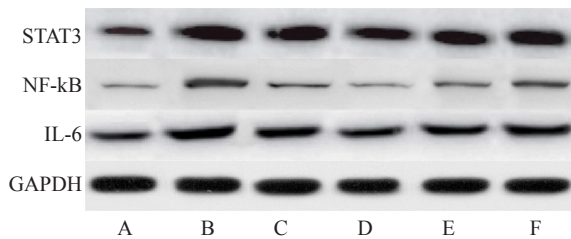


图4 各组小鼠结肠组织STAT3、NF-kB、IL-6 蛋白表达水平

Fig.4 Expression levels of STAT3, NF KB and IL-6 proteins in the colon tissues of the mice. Compared with the blank group, *P<0.01; compared with the model group, #P<0.01. A: Blank group; B: Model group; C: Positive drug group; D, E, F: High-, moderate- and low-dose Jiawei Huangqin decoction groups, respectively.

焦,主宣发肃降、主治节,大肠为传导之官,变化出焉,传导糟粕。肺与大肠相表里,大肠的传导依赖于肺气的宣发与肃降,而肺的宣降功能的调整亦会影响到大肠的传导,二者关系密切^[18-20]。叶师结合几十年临床及科研经验,在急性期采用加味黄芩汤(黄芩、白芍、鱼腥草、炒薏仁、白头翁、血见愁、木香、炒当归、仙鹤草、桔梗)治疗,

于临床上取得较好的疗效^[21-22]。加味黄芩汤是以黄芩汤为基本方进行加减而成,方中黄芩清热燥湿止利;白芍养阴缓急止痛;鱼腥草、白头翁凉血化痈;炒薏仁燥脾湿、祛肺热;血见愁又名铁苋菜,凉血散瘀止血;木香可除肺中滞气,调气止痛;炒当归活血散瘀;仙鹤草收敛止血止痢;桔梗宣肺托疮排脓,引药入经^[23-25]。本研究结果

显示,模型组小鼠结肠组织局部糜烂、溃疡,组织水肿,腺体结构破坏严重,结肠长度明显缩短,结肠组织病理评分均明显升高,而阳性药物组及中药各剂量组较模型组结肠炎症损伤程度及溃疡情况有明显改善,尽管各治疗组结肠长度短于空白组,但明显长于模型组,同时结肠组织病理评分均明显降低,上述结果表明加味黄芩汤对溃疡性结肠炎具有一定的改善作用,而且,柳氮磺吡啶是目前公认的治疗溃疡性结肠炎的有效药物^[26],通过对比分析发现,模型组小鼠经加味黄芩汤治疗后结肠组织病理学改变明显缓解,且高剂量组治疗效果疗效优于柳氮磺吡啶,中剂量组与柳氮磺吡啶相当,但低剂量组略差于柳氮磺吡啶。

尽管溃疡性结肠炎的发病机制目前尚不完全清楚,但许多学者认为STAT3/NF- κ B/IL-6通路在溃疡性结肠炎的发生、发展及转归中发挥重要作用^[27-28]。IL-6是一种由活化的T细胞和成纤维细胞产生的促炎性因子,在调节免疫反应、炎症反应等生物过程中发挥重要作用^[29]。据报道,IL-6发挥其生物学效应与多种信号通路有关,其中STAT3信号通路是IL-6发挥促炎性反应、促肿瘤血管新生的主要通路^[30]。STAT3是一种促癌因子,在多种肿瘤如结直肠癌、前列腺癌、乳腺癌等表达上调^[31],因此抑制STAT3表达有助于抑制肿瘤生长。NF- κ B也是一种促癌因子,同时也是调节免疫及炎症反应的重要因子,其在调节肿瘤生长、血管新生、细胞凋亡方面发挥重要作用^[32]。最近的研究表明,STAT3和NF- κ B通路间存在一定的交互作用,可能共同促进肿瘤发生或炎症反应^[33],因此,我们推测阻断炎症因子激活STAT3/NF- κ B通路可能对抑制局部炎症反应具有重要作用。

本结果显示,与空白组相比,模型组结肠组织STAT3、NF- κ B、IL-6 mRNA及蛋白表达水平明显升高($P < 0.01$),与模型组相比,阳性药物组及中药各剂量组结肠组织STAT3、NF- κ B、IL-6 mRNA及蛋白表达水平明显降低($P < 0.01$),其中中药高剂量组结肠组织STAT3、NF- κ B、IL-6 mRNA及蛋白表达水平明显低于阳性药物组及中药中、低剂量组($P < 0.05$),而中药中剂量组结肠组织STAT3、NF- κ B、IL-6 mRNA及蛋白表达水平与阳性药物组无明显差异($P > 0.05$),但明显低于中药低剂量组($P < 0.05$),这提示加味黄芩汤可通过调节STAT3/NF- κ B/IL-6通路而发挥对溃疡性结肠炎的治疗作用。

综上所述,加味黄芩汤对溃疡性结肠炎具有一定的改善作用,其作用机制可能与通过影响STAT3/NF- κ B/IL-6通路下调结肠组织STAT3、NF- κ B、IL-6表达有关。

参考文献:

[1] Guslandi M, Frego R, Viale E, et al. Distal ulcerative colitis

refractory to rectal mesalamine: role of transdermal nicotine versus oral mesalamine[J]. *Can J Gastroenterol*, 2002, 16(5): 293-6.

- [2] Spagnuolo R, Dattilo V, D'antona L, et al. Deregulation of SGK1 in ulcerative colitis: a paradoxical relationship between immune cells and colonic epithelial cells[J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2018, 24(9): e71-2.
- [3] Martincuks A, Andryka K, Küster A, et al. Nuclear translocation of STAT3 and NF- κ B are Independent of each other but NF- κ B supports expression and activation of STAT3[J]. *Cell Signal*, 2017, 32(19): 36-47.
- [4] 范文涛,王攀红,王倩. 马齿苋多糖对溃疡性结肠炎小鼠肠组织IL-6/STAT3及NF- κ B的影响[J]. *中国应用生理学杂志*, 2018, 34(3): 73-7.
- [5] Hao C, Duan WJ, Zhao HQ, et al. Comparison of the anti-inflammatory activity of Huangqin dispensing granules and Huangqin standard decoction [J]. *中国新药杂志*, 2018, 27(11): 1309-14.
- [6] 诸凡凡,叶柏治疗消化系统疾病验案解析[J]. *江苏中医药*, 2015, 47(2): 53-5.
- [7] 张祺嘉钰,孙毅,刘正君,等. TNBS/乙醇法建立溃疡性结肠炎大鼠模型的实验研究[J]. *中南药学*, 2015, 8(5): 493-6.
- [8] 杨晶晶. 晚期内皮祖细胞移植对肺动脉高压小鼠肺血流动力学的影响及相关机制的研究[D]. 河南中医药大学, 2017.
- [9] Zhang D, Ren YB, Wu HG, et al. Effect of different doses of herbal cake-partitioned moxibustion on histopathological changes of colon tissue in ulcerative colitis rats[J]. *Zhen Ci Yan Jiu*, 2018, 43(2): 68-74.
- [10] 唐梦凡,孙娜,李毅. 慢性非特异性溃疡性结肠炎中西医结合治疗研究进展[J]. *河北中医*, 2017, 39(4): 619-23.
- [11] Rossen NG, Fuentes S, van der Spek MJ, et al. Findings from a randomized controlled trial of fecal transplantation for patients with ulcerative colitis[J]. *Gastroenterology*, 2015, 149(1): 110-8.
- [12] Lu MJ, Qiu XY, Mao XQ, et al. Systematic review with meta-analysis: thiopurines decrease the risk of colorectal neoplasia in patients with inflammatory bowel disease [J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2018, 47(3): 318-31.
- [13] 李文彬,李景南. 肠道菌群与溃疡性结肠炎癌变的研究进展[J]. *中华消化杂志*, 2017, 37(5): 353-5.
- [14] Yadav P, Ellinghaus D, Rémy G, et al. Genetic factors interact with tobacco smoke to modify risk for inflammatory bowel disease in humans and mice[J]. *Gastroenterology*, 2017, 153(2): 550-65.
- [15] Yao P, Tan F, Gao H, et al. Effects of probiotics on Toll-like receptor expression in ulcerative colitis mice induced by 2,4,6-trinitrobenzene sulfonic acid[J]. *Mol Med Rep*, 2017, 15(4): 1973-80.
- [16] 刘冰,王维纲. 半夏泻心汤加减配合中药保留灌肠治疗溃疡性结肠炎疗效观察[J]. *中国地方病防治杂志*, 2017, 34(8): 888-9.
- [17] Dignass A, Akbar A, Baumgart DC, et al. Granulocyte/monocyte adsorptive apheresis for the treatment of therapy-refractory chronic active ulcerative colitis[J]. *Scand J Gastroenterol*, 2018, 53(4): 442-8.
- [18] 林燕萍,叶柏. 叶柏教授从脾肺论治溃疡性结肠炎(大肠湿热证)的经验[J]. *中国中医急症*, 2016, 25(4): 630-2.
- [19] 周敏红,叶柏. 叶柏教授从肺论治溃疡性结肠炎缓解期临床经验浅析[J]. *四川中医*, 2016, 7(2): 1-3.
- [20] 王志斌,陈晨,郭一,等. 清肠温中方治疗轻中度溃疡性结肠炎的临床研究[J]. *中国中西医结合杂志*, 2018, 38(1): 15-9.
- [21] 王倩,别玉龙,范文涛. 加味黄芩汤对TNBS诱导的结肠炎大鼠肠道

- 菌群结构及IL-6/STAT3信号通路的影响[J]. 陕西中医, 2017, 38(4): 528-30, 539.
- [22] 王敦方. 基于TLR4/MyD88通路和组学研究黄芩汤治疗溃疡性结肠炎的作用机制[D]. 中国中医科学院, 2017.
- [23] 林燕萍, 叶 柏, 宁丽琴. 叶柏运用古方治疗溃疡性结肠炎经验[J]. 辽宁中医杂志, 2016, 12(11): 2277-9.
- [24] 顾培青, 沈 洪, 朱 磊, 等. 清肠化湿方对溃疡性结肠炎大鼠结肠组织PPAR- γ , NF- κ B 及 MUC2, TFF3 的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 12(3): 79-85.
- [25] 王 新, 段佳蕊, 徐锦涛, 等. 黄芩汤对小鼠感染大肠杆菌血液细胞, 生化指标及促炎因子的影响[J]. 中国兽医杂志, 2019, 7(3): 138-41.
- [26] Shin MR, Kim KJ, Kim SH, et al. Comparative evaluation between sulfasalazine alone and in combination with herbal medicine on DSS-Induced ulcerative colitis mice[J]. Biomed Res Int, 2017(4): 6742652.
- [27] Wang Z, Wu X, Wang CL, et al. Tryptanthrin protects mice against dextran sulfate Sodium-Induced colitis through inhibition of TNF- α /NF- κ B and IL-6/STAT3 pathways[J]. Molecules, 2018, 23(5): 1062.
- [28] Zhang Z, Yang L, Wang B, et al. Protective role of liriiodendrin in mice with dextran sulphate sodium-induced ulcerative colitis[J]. Int Immunopharmacol, 2017, 52(11): 203-10.
- [29] Chung SS, Wu Y, Okobi Q, et al. Proinflammatory cytokines IL-6 and TNF-alpha increased telomerase activity through NF-kappa B/STAT1/STAT3 activation, and withaferin a inhibited the signaling in colorectal cancer cells[J]. Mediators Inflamm, 2017(4): 1-11.
- [30] Kim B, Kim HS, Kim S, et al. Adipose stromal cells from visceral and subcutaneous fat facilitate migration of ovarian cancer cells via IL-6/JAK2/STAT3 pathway[J]. Cancer Res Treat, 2017, 49(2): 338-49.
- [31] Ren D, Lin BH, Zhang X, et al. Maintenance of cancer stemness by miR-196b-5p contributes to chemoresistance of colorectal cancer cells via activating STAT3 signaling pathway[J]. Oncotarget, 2017, 8(30): 49807-23.
- [32] Müller HD, Cvikl BB, Lussi AA, et al. Salivary pellets induce a pro-inflammatory response involving the TLR4-NF- κ B pathway in gingival fibroblasts[J]. BMC Oral Health, 2016, 17(1): 15.
- [33] Alawdi SH, El-Denshary ES, Safar MM, et al. Neuroprotective effect of nanodiamond in alzheimer's disease rat model: a pivotal role for modulating NF- κ B and STAT3 signaling[J]. Mol Neurobiol, 2017, 54(3): 1906-18.

(编辑:孙昌朋)