

引用本文:汪敏,黄亚威,黄然.半夏泻心汤对葡聚糖硫酸钠诱导的小鼠溃疡性结肠炎影响及作用机制[J].安徽医药,2024,28(5):894-899.DOI:10.3969/j.issn.1009-6469.2024.05.010.



◇ 药学研究 ◇

半夏泻心汤对葡聚糖硫酸钠诱导的小鼠溃疡性结肠炎影响及作用机制

汪敏,黄亚威,黄然

作者单位:江苏省中医院、南京中医药大学附属医院药理学部,江苏 南京 210029

通信作者:黄然,女,副主任药师,研究方向为中药药效机制与炮制,Email:ertdfg345@126.com

基金项目:江苏省研究生科研实践计划项目(SJCX21-0717)

摘要 目的 研究半夏泻心汤对溃疡性结肠炎(UC)小鼠氧化应激损伤的影响,并探讨核转录因子E2相关因子(Nrf2)/血红素加氧酶-1(HO-1)通路在其中发挥的作用。**方法** 2023年1—5月,小鼠自由饮用3%葡聚糖硫酸钠(DSS)1周,建立溃疡性结肠炎模型。60只雄性C57BL/6J小鼠采用随机数字表法分为空白组、模型组、美沙拉嗪组(100 mg/kg)、半夏泻心汤高、中、低剂量组(32.76、16.38、8.19 g/kg)。造模同时灌胃给予相应药物,连续10 d。实验结束时称量小鼠体质量、测量结肠长度并观察结肠组织病理学改变。酶联免疫法检测血清中活性氧自由基(ROS)、丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-px)变化情况;RT-PCR和蛋白质印迹法分别检测Nrf2、HO-1、醌氧化还原酶-1(NQO-1)的mRNA和蛋白含量。**结果** 空白组小鼠结肠长度、ROS、MDA、SOD、GSH-px含量分别为(12.53±0.94)cm、(9.39±0.76)U/mL、(4.32±0.37)nmol/L、(124.79±11.27)U/mL、(1 102.92±87.20)U/mL;模型组小鼠结肠长度、ROS、MDA、SOD、GSH-px含量分别为(5.63±0.45)cm、(13.30±1.47)U/mL、(7.65±0.81)nmol/L、(80.31±8.98)U/mL、(823.00±89.63)U/mL。与空白组相比,模型组小鼠体质量和结肠长度明显降低,结肠黏膜组织隐窝结构被破坏、杯状细胞减少、炎性细胞浸润明显,血清中ROS、MDA含量明显增加,抗氧化酶SOD、GSH-px活性明显降低,Nrf2、HO-1、NQO-1 mRNA及蛋白含量显著下降。半夏泻心汤高剂量组小鼠结肠长度、ROS、MDA、SOD、GSH-px含量分别为(8.97±1.20)cm、(10.49±1.04)U/mL、5.72±0.57 nmol/L、112.24±10.85 U/mL、1032.20±117.66 U/mL;半夏泻心汤中剂量组小鼠结肠长度、ROS、MDA、SOD、GSH-px含量分别为(8.03±0.69)cm、(11.23±1.11)U/mL、(6.47±0.30)nmol/L、(93.20±11.47)U/mL、(993.96±96.72)U/mL;半夏泻心汤低剂量组小鼠结肠长度、ROS、MDA、SOD、GSH-px含量分别为(7.53±0.69)cm、(12.33±1.45)U/mL、(7.23±0.65)nmol/L、(84.89±9.07)U/mL、(891.06±86.61)U/mL。与模型组相比,半夏泻心汤干预后,小鼠体质量和结肠长度明显增加,结肠组织隐窝结构清晰且炎性细胞浸润减少,血清中ROS和MDA含量明显降低,SOD和GSH-px活性明显增加,结肠组织中Nrf2、HO-1、NQO-1 mRNA和蛋白表达亦显著提高。**结论** 半夏泻心汤可改善UC症状,通过调节Nrf2/HO-1相关蛋白表达水平,进而影响氧化应激指标ROS、MDA、SOD和GSH-px含量,减轻结肠病理损伤程度。为半夏泻心汤开发为防治UC药物奠定一定基础。

关键词 半夏泻心汤; 溃疡性结肠炎; 氧化应激; 核转录因子E2相关因子

Effect and mechanism of *Banxia Xiexin* decoction on ulcerative colitis induced by sodium dextran sulfate in mice

WANG Min, HUANG Yawei, HUANG Ran

Author Affiliation: Department of Pharmacy, Jiangsu Province Hospital of Chinese Medicine, Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing, Jiangsu 210029, China

Abstract Objective To study the effect of *Banxia Xiexin* decoction on oxidative stress injury in ulcerative colitis mice and explore the role of nuclear factor erythroid 2 related factor (Nrf2)/heme oxygenase-1 (HO-1) pathway. **Methods** From January to May 2023, Mice were given 3% dextran sulfate sodium (DSS) for a week to establish the ulcerative colitis model. Sixty male C57BL/6J mice were randomly divided into control group, model group, mesalazine group (100 mg/kg), *Banxia Xiexin* decoction high-dose, medium-dose and low-dose groups (32.76, 16.38 and 8.19 g/kg). At the same time, corresponding drugs were given by gavage for 10 consecutive days. At the end of the experiment, the body weight and colon length of mice were measured, and the pathological change of colon was observed. Serum reactive oxygen species (ROS), malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GSH-px) were detected by enzyme-linked immunosorbent assay. The mRNA and protein expressions of Nrf2, HO-1 and NADPH quinone oxidoreductase-1 (NQO-1) were detected by RT-PCR and Western blotting. **Results** The colon length, ROS, MDA, SOD, GSH-px content of mice in the control group was (12.53±0.94)cm, (9.39±0.76)U/mL, (4.32±0.37)nmol/L, (124.79±11.27)U/mL, and (1 102.92±87.20)U/mL, respectively. The colon length, ROS, MDA, SOD, GSH-px content of mice in the model group was (5.63±0.45)cm, (13.30±1.47)U/mL, (7.65±0.81)nmol/L, (80.31±8.98)U/mL, and (823.00±89.63)U/mL, respectively. Compared with the control group, the body weight and

colon length were significantly reduced in the model group, the crypt structure of colonic mucosal tissue was destroyed, goblet cells were reduced, inflammatory cell infiltration was obvious, the contents of ROS and MDA in serum were significantly increased, and the activities of antioxidant enzymes SOD and GSH-px were significantly decreased. The mRNA and protein expressions of Nrf2, HO-1 and NQO-1 were obviously reduced. The colon length, ROS, MDA, SOD, GSH-px content of mice in the high-dose of *Banxia Xiexin* decoction group was (8.97 ± 1.20) cm, (10.49 ± 1.04) U/mL, (5.72 ± 0.57) nmol/L, (112.24 ± 10.85) U/mL, and $(1\ 032.20 \pm 117.66)$ U/mL, respectively. The colon length, ROS, MDA, SOD, GSH-px content of mice in the medium-dose of *Banxia Xiexin* decoction group was (8.03 ± 0.69) cm, (11.23 ± 1.11) U/mL, (6.47 ± 0.30) nmol/L, (93.20 ± 11.47) U/mL, and (993.96 ± 96.72) U/mL, respectively. The colon length, ROS, MDA, SOD, GSH-px content of mice in the low-dose of *Banxia Xiexin* decoction group was (7.53 ± 0.69) cm, (12.33 ± 1.45) U/mL, (7.23 ± 0.65) nmol/L, (84.89 ± 9.07) U/mL, and (891.06 ± 86.61) U/mL, respectively. Compared with the model group, after the intervention of *Banxia Xiexin* decoction, the body weight and colon length of mice were significantly increased, the crypt structure of colon tissue was clear, the infiltration of inflammatory cell was reduced, the contents of ROS and MDA in serum were significantly decreased, and the activities of SOD and GSH-px were remarkably increased. The mRNA and protein expressions of Nrf2, HO-1 and NQO-1 in colon tissues were also significantly increased.

Conclusions *Banxia Xiexin* decoction could improve UC symptoms, regulate the expression level of Nrf2/HO-1 related proteins, then affect the contents of oxidative stress indicators, such as ROS, MDA, SOD and GSH-px, and finally reduce the degree of pathological damage of colon. This paper laid a foundation for the development of *Banxia Xiexin* decoction for the prevention and treatment of UC.

Keywords *Banxia Xiexin* decoction; Ulcerative colitis; Oxidative stress; Nuclear factor erythroid 2 Related factor

炎症性肠病 (inflammatory bowel disease, IBD) 是一种全球性的特发性肠道炎症性疾病, 包括溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC)^[1]。UC 的发病通常从结肠远端发展到整个结肠, 严重者甚至可扩散至回肠末端, 引起腹泻、腹痛和便血^[2]。尽管 UC 的发病机制尚未明确, 但是专家普遍认为氧化还原系统紊乱是 UC 发生发展的重要因素^[3]。细胞氧化应激存在于炎症发生和发展过程中, 并对炎症环境产生重要影响^[4]。核转录因子 E2 相关因子 (nuclear factor erythroid 2 Related factor, Nrf2) 是一种与细胞动态稳态相关的应激反应转录因子^[5], 与含有抗氧化反应元件 (ARE) 序列的基因结合, 调控下游多种抗氧化酶和 II 相解毒酶的表达, 包括血红素加氧酶 1 (heme oxygenase-1, HO-1)、醌氧化还原酶 -1 (NADPH quinone oxidoreductase-1, NQO-1)^[6]。相关研究利用 Nrf2 激活剂有效改善了 DSS 诱导的急性和慢性结肠炎, 对结肠炎治疗的研究有启发作用^[7-8]。调控 Nrf2/HO-1 信号通路介导的氧化应激、抗炎作用可有效治疗 UC。

半夏泻心汤 (*Banxia Xiexin* decoction, BXD) 出自张仲景的《伤寒杂病论》, 由半夏、黄芩、干姜、人参、黄连、炙甘草、大枣配伍组成, 具有辛开苦降、寒温并用的特点, 广泛用于治疗胃肠道疾病, 临床效果较好。半夏泻心汤治疗 UC 可明显减轻病人痛苦, 加速症状消失、降低复发率^[9-10]。药理研究表明, 半夏泻心汤对肠道具有保护作用, 与 NLRP3/Caspase-1 细胞焦亡通路^[11]、TLRs/NF- κ B 通路^[12]、肠道菌群^[13]等有关。半夏泻心汤是否作用于 Nrf2/HO-1 通路缓解 UC, 尚未见报道。本研究于 2023 年 1—5 月采用小鼠自由饮用 3% 葡聚糖硫酸钠 (dextran sulfate sodium salt, DSS) 建立 UC 模型, 明确半夏泻心

汤对 UC 小鼠 Nrf2/HO-1 通路的影响, 为半夏泻心汤缓解 UC 的推广应用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 药品与试剂 半夏、黄芩、干姜、人参、黄连、炙甘草、大枣等饮片均购自江苏省中医院中药房, 并由黄亚威副主任中药师鉴定均为真品。有毒药物半夏以最大剂量 9 g 为基准, 成人每日的用量为半夏 9 g、黄芩 10.8 g、干姜 10.8 g、人参 10.8 g、黄连 3.6 g、炙甘草 10.8 g、大枣 7.2 g。依据临床用药剂量, 根据体表面积法计算得出小鼠给药量为 8.19 g/kg。上述饮片煮沸浓缩后配成含生药 0.4、0.8、1.6 g/mL 药液, 保存于 4 °C 冰箱, 备用。葡聚糖硫酸钠 (DSS, 批号 S3045) 购自美国 MP 公司; 美沙拉嗪 (批号 SS0905CA24) 购自上海源叶生物科技有限公司。

活性氧自由基 (reactive oxide species, ROS) 测试盒 (批号 20210906)、丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 测试盒 (批号 20211104)、超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 测试盒 (批号 20211013)、谷胱甘肽过氧化物酶 (glutathione peroxidase, GSH-px) 测试盒 (批号 20211208) 均购自南京建成生物工程研究所; HE 染色试剂盒 (批号 C0215)、RIPA 组织裂解液 (批号 P1254)、ECL 发光检测试剂盒 (批号 P3258)、BCA 蛋白浓度测定试剂盒 (批号 P0147) 均购自上海碧云天生物技术有限公司; 一抗 Nrf2 (批号 ab43005)、HO-1 (批号 ab44125) 和 NQO-1 (批号 ab46732)、 β -actin (批号 ab45348) 均购自 Abcam 公司; TRIzol RNA 提取试剂 (批号 50175111) 购自美国 Invitrogen 公司; RT-qPCR 试剂盒 (批号 B31205-127) 购自美国 Bimake 公司。

1.2 仪器 显微镜 (IX71, 日本 Olympus 公司); 组织包埋机 (Arcadia, 德国 Leica 公司); 全自动生化分

析仪(AU-5800,美国 Beckman Coulter 公司);酶标仪(SpectraMax 190,美国 MD 公司);PCR 扩增仪(QuantStudio 3,美国 ABI 公司);凝胶电泳系统(1658033,美国 Bio-Rad 公司);凝胶成像仪(GelDoc Go,美国 Bio-Rad 公司)。

1.3 动物 C57BL/6J 雄性小鼠(20±2)g 购自南通大学,合格证号为 SCXK(苏)2019-0001, SPF 级,温度 25 °C,相对湿度 45%,自由摄食饮水。

1.4 造模与给药 60 只 C57BL/6J 小鼠适应性饲养 1 周后,采用随机数字表法分为 6 组:空白组、模型组、美沙拉嗪组(100 mg/kg)、半夏泻心汤低剂量组(8.19 g/kg)、中剂量组(16.38 g/kg)、高剂量组(32.76 g/kg),每组 10 只。除空白组外,其他各组小鼠自由饮用 3% DSS 连续 7 d 构建溃疡性结肠炎模型,各给药组造模同时灌胃相应药物治疗,每天 1 次,连续 10 d。末次给药后,禁食不禁水 24 h 后,摘眼球取血,3 000 r/min 离心 20 min,分离获得血清,置于 -20 °C 冰箱备用。然后,脱颈椎处死小鼠,取结肠组织,一部分用于病理切片,另一部分保存于 -80 °C 冰箱备用。

1.5 疾病活动指数评估 根据小鼠体质量、大便性状和便血情况,计算小鼠疾病活动性指数(disease activity index, DAI),DAI 评分标准见表 1。

表 1 小鼠疾病活动性指数评分标准

体质量下降/%	大便性状	便血情况	计分/分
0	正常	正常	0
1~5			1
6~10	半稀便	隐血(+)	2
10~15			3
>15	稀便	肉眼血便	4

1.6 结肠组织 HE 染色 结肠组织用 10% 福尔马林固定 24 h,依次经乙醇梯度脱水、石蜡包埋、切成 5 μm 厚度薄片后进行 HE 染色,采用中性树脂封片,光学显微镜下观察结肠组织病理学改变。

1.7 ELISA 法测炎症因子和氧化指标 摘眼球取血后离心得血清,参照 ELISA 试剂盒说明书,测定 ROS、MDA、SOD、GSH-px 水平。

1.8 蛋白质印迹法检测 Nrf2、HO-1 和 NQO-1 蛋白表达 提取结肠组织蛋白后,采用 BCA 法检测其浓度。取 50 μg 蛋白,按 1:4 比例与 loading buffer 混合均匀,煮沸 10 min 变性后上样至 12% SDS-PAGE 凝胶电泳进行分离,转膜,抗原封闭。分别与一抗 NRF2 (1: 1 000)、HO-1 (1: 1 000)、NQO-1 (1: 1 000) 4 °C 孵育过夜, TBST 洗膜 5 min×3 次。与二抗室温孵育 1 h, TBST 洗膜 5 min×3 次,加入 ECL 显

影液,采用凝胶成像系统进行拍照,并定量分析蛋白条带相对灰度值。

1.9 RT-PCR 法检测 Nrf2、HO-1 和 NQO-1 mRNA 表达 取小鼠结肠组织,提取 RNA 后采用酶标仪测定其浓度。按照 one-step reverse transcription PCR kit 实验过程进行扩增后检测 NRF2、HO-1 和 NQO-1 mRNA 表达,引物序列见表 2。

表 2 小鼠结肠组织 RNA 引物序列

mRNA 名称	序列(5'→3')
Nrf2	正向:CGCAGACATTCCCGTTTGTGTA
	反向:TCAGGTGACTGAGCCTGATT
HO-1	正向:ATCATGGCTTGGCCTACATTG
	反向:CACGGATGTGCACCTCCTT
NQO-1	正向:AGGATGGGAGCTACTCGAATC
	反向:AGGCGTCCTTCCTTATATGCTA
GAPDH	正向:TGGCCTCCAAGGAGTAAGAAAC
	反向:GGCCTCTCTTGTGCTCTCAGTATC

注:Nrf2 为核转录因子 E2 相关因子,HO-1 为血红素加氧酶-1, NQO-1 为醌氧化还原酶-1, GAPDH 为甘油醛-3-磷酸脱氢酶。

1.10 统计学方法 采用 SPSS 26.0 统计软件分析,符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA),总体有差异进一步采用 LSD-*t* 检验进行两两比较。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 小鼠体质量、结肠长度改变情况 与空白组相比,模型组小鼠体质量在第 5、6、7、8、9、10、11 天显著减轻($P=0.042、0.037、0.028、0.044、0.036、0.032、0.029$);与模型组比较,各给药组小鼠体质量呈上升趋势,其中半夏泻心汤高剂量组在第 6、7、8、9、10、11 天差异有统计学意义($P=0.033、0.025、0.034、0.041、0.035、0.027$),半夏泻心汤中剂量组、低剂量组在第 8、9、10、11 天差异有统计学意义($P=0.044、0.047、0.035、0.029$)。空白组、模型组、美沙拉嗪组、半夏泻心汤高、中、低剂量组结肠长度分别为(12.53±0.94)、(5.63±0.45)、(10.07±0.98)、(8.97±1.20)、(8.03±0.69)、(7.53±0.69) cm。与空白组相比,模型组小鼠结肠长度明显缩短($P=0.003$);与模型组相比,半夏泻心汤低、中、高剂量组小鼠结肠长度明显延长($P=0.047、0.035、0.025$),见图 1。

2.2 小鼠病理学观察与疾病活动指数 由 HE 染色结果可知,空白组小鼠结肠黏膜组织结构完整,杯状细胞排列紧密,未见炎症细胞浸润;模型组结肠黏膜组织、隐窝结构被破坏,杯状细胞大量消失,炎性细胞浸润,基底浆细胞增加;美沙拉嗪组小鼠结肠组织稍有受损,少量炎性细胞浸润;半夏泻心汤

高剂量组小鼠结肠组织结构清晰,仅有局部组织受损,少量炎性细胞浸润;半夏泻心汤中剂量组小鼠有部分完整的结肠组织结构;半夏泻心汤低剂量组小鼠结肠组织局部损伤比较严重,炎性细胞浸润程度较高。以上结果说明半夏泻心汤可改善UC小鼠病理损伤,且呈现明显的量效关系。与空白组比较,模型组病理组织学评分显著提高($P=0.003$)。与模型组比较,各给药组可降低病理组织学评分,其中美沙拉嗪组、半夏泻心汤高剂量组、中剂量组与模型组的差异有统计学意义($P=0.002$ 、 0.027 、 0.023)。与空白组比较,模型组疾病活动指数明显增加($P=0.004$)。与模型组比较,各给药组疾病活动指数均呈现降低趋势,其中美沙拉嗪组、半夏泻心汤高剂量组、中剂量组与模型组的差异有统计学意义($P=0.003$ 、 0.027 、 0.040),见图2;表3。

表3 小鼠结肠黏膜组织病理组织学评分和疾病活动指数 $\bar{x} \pm s$

组别	鼠数	病理组织学评分/分	疾病活动指数
空白组	10	0.00±0.00	0.00±0.00
模型组	10	11.00±0.82 ^①	4.23±0.37 ^①
美沙拉嗪组	10	3.33±0.47 ^②	1.82±0.18 ^②
半夏泻心汤高剂量组	10	5.00±0.82 ^②	2.00±0.16 ^②
半夏泻心汤中剂量组	10	6.67±0.94 ^②	2.40±0.16 ^②
半夏泻心汤低剂量组	10	8.67±0.94	3.60±0.33

注:①与空白组比较, $P<0.01$ 。②与模型组比较, $P<0.05$ 。

2.3 半夏泻心汤对UC小鼠血清中ROS、MDA、SOD和GSH-px的影响 与空白组比较,模型组小鼠血清中ROS和MDA水平显著升高($P=0.016$ 、 0.010),SOD和GSH-px活性显著降低($P=0.001$)。半夏泻心汤高、中剂量组ROS水平显著低于模型组($P=0.016$ 、 0.012);与模型组比较,半夏泻心汤高、中剂量组MDA水平显著降低($P=0.011$ 、 0.048);半夏泻心汤高剂量组、中剂量组的SOD含量与模型组的差异有统计学意义($P=0.002$ 、 0.049);半夏泻心汤高剂量组、中剂量组、低剂量组的GSH-px活性与模型组均差异有统计学意义($P=0.003$ 、 0.003 、 0.021)。

表4 半夏泻心汤改善UC小鼠的氧化应激 $\bar{x} \pm s$

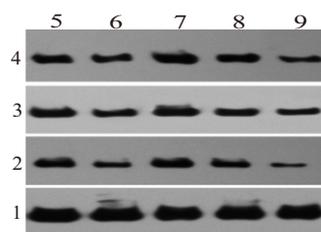
组别	鼠数	ROS/(U/mL)	MDA/(nmol/L)	SOD/(U/mL)	GSH-px/(U/mL)
空白组	10	9.39±0.76	4.32±0.37	124.79±11.27	1 102.92±87.20
模型组	10	13.30±1.47 ^①	7.65±0.81 ^①	80.31±8.98 ^①	823.00±89.63 ^①
半夏泻心汤高剂量组	10	10.49±1.04 ^②	5.72±0.57 ^②	112.24±10.85 ^②	1 032.20±117.66 ^②
半夏泻心汤中剂量组	10	11.23±1.11 ^②	6.47±0.30 ^②	93.20±11.47 ^②	993.96±96.72 ^②
半夏泻心汤低剂量组	10	12.33±1.45	7.23±0.65	84.89±9.07	891.06±86.61 ^②

注:UC为溃疡性结肠炎,ROS为活性氧自由基,MDA为丙二醛,SOD为超氧化物歧化酶,GSH-px为谷胱甘肽过氧化物酶。

①与空白组比较, $P<0.01$ 。②与模型组比较, $P<0.05$ 。

见表4。

2.4 半夏泻心汤对UC小鼠结肠组织中Nrf2、HO-1和NQO-1蛋白表达的影响 与空白组相比,模型组小鼠结肠组织中Nrf2、HO-1和NQO-1蛋白表达显著降低($P=0.010$ 、 0.016 、 0.004);与模型组相比,半夏泻心汤高、中剂量组明显增加Nrf2蛋白表达(均 $P=0.004$);半夏泻心汤高、中剂量组HO-1蛋白表达明显高于模型组(均 $P=0.011$);与模型组相比,半夏泻心汤高、中剂量组能够显著提高NQO-1蛋白表达($P=0.002$ 、 0.012),见图3;表5。



注:1-β肌动蛋白(β-actin);2-醌氧化还原酶-1(NQO-1);3-血红素加氧酶-1(HO-1);4-核转录因子E2相关因子(Nrf2);5-空白组;6-模型组;7-半夏泻心汤高剂量组;8-半夏泻心汤中剂量组;9-半夏泻心汤低剂量组。

图3 蛋白质印迹法检测Nrf2、HO-1和NQO-1蛋白表达

表5 半夏泻心汤对UC小鼠Nrf2、HO-1和NQO-1蛋白表达的影响 $\bar{x} \pm s$

组别	鼠数	Nrf2	HO-1	NQO-1
空白组	10	1.00±0.04	1.00±0.05	1.00±0.05
模型组	10	0.42±0.05 ^①	0.46±0.04 ^①	0.32±0.04 ^①
半夏泻心汤高剂量组	10	1.27±0.09 ^②	1.08±0.10 ^②	1.36±0.10 ^②
半夏泻心汤中剂量组	10	1.15±0.07 ^②	0.87±0.05 ^②	0.73±0.07 ^②
半夏泻心汤低剂量组	10	0.34±0.04	0.55±0.05	0.23±0.03

注:UC为溃疡性结肠炎,Nrf2为核转录因子E2相关因子,HO-1为血红素加氧酶-1,NQO-1为醌氧化还原酶-1。

①与空白组比较, $P<0.05$ 。②与模型组比较, $P<0.05$ 。

2.5 半夏泻心汤对UC小鼠结肠组织中Nrf2、HO-1和NQO-1 mRNA表达的影响 与空白组相比,模型组小鼠结肠组织中Nrf2、HO-1和NQO-1 mRNA表达明显降低($P=0.015$ 、 0.026 、 0.033);与模型组相比,半夏泻心汤各给药组小鼠Nrf2表达升高,其中半夏泻心汤高剂量组与模型组的差异有统计学意义($P=$

0.045);与模型组相比,半夏泻心汤各给药组小鼠HO-1表达升高,其中半夏泻心汤高剂量组、中剂量组与模型组相比差异有统计学意义($P=0.023$ 、 0.047);与模型组相比,半夏泻心汤各给药组小鼠NQO-1表达升高,其中半夏泻心汤高剂量组、中剂量组与模型组相比差异有统计学意义($P=0.017$ 、 0.021),见表6。

表6 半夏泻心汤对UC小鼠Nrf2、HO-1和NQO-1 mRNA表达的影响/ $\bar{x} \pm s$

组别	鼠数	Nrf2 mRNA	HO-1 mRNA	NQO-1 mRNA
空白组	10	1.00±0.07	1.00±0.07	1.00±0.05
模型组	10	0.59±0.09 ^①	0.70±0.08 ^①	0.55±0.05 ^①
半夏泻心汤高剂量组	10	1.11±0.07 ^②	1.51±0.11 ^②	1.30±0.09 ^②
半夏泻心汤中剂量组	10	0.80±0.06	1.29±0.11 ^②	1.20±0.08 ^②
半夏泻心汤低剂量组	10	0.65±0.08	0.81±0.07	0.70±0.06

注:UC为溃疡性结肠炎,Nrf2为核转录因子E2相关因子,HO-1为血红素加氧酶-1,NQO-1为醌氧化还原酶-1。

①与空白组比较, $P<0.05$ 。②与模型组比较, $P<0.05$ 。

3 讨论

目前,UC是一种全球性疾病,是结直肠癌的危险因素,但UC的确切病因还不完全清楚。UC的治疗非常复杂,主要是抗炎或免疫抑制剂。但是常用的治疗药物,比如氨基水杨酸、皮质类固醇和硫嘌呤经常导致严重的副作用^[14]。因此,亟需寻找安全高效的UC治疗药物。半夏泻心汤中半夏和胃降逆,消痞散结为君;干姜温中散寒,黄芩、黄连清泄里热为臣;人参、炙甘草、大枣益气健脾,和中补虚为佐。此方中药味有辛有苦,药性有寒有温,辛主升主开,苦主降主泄,寒清热,温祛寒,是调和脾胃阴阳的代表方剂。

UC的炎性环境促使ROS大量分泌,细胞启动抗氧化机制控制ROS含量。过量的ROS会引起细胞功能紊乱,导致氧化与抗氧化作用失衡^[15]。过剩的ROS引起脂质过氧化、蛋白质变性、致使基因突变,最后引起细胞氧化损伤^[16]。因此,氧化应激被认为是UC诱导和进展的潜在推动力。半夏泻心汤对UC有免疫调节、抗炎、调节肠道菌群^[13,17]等作用。半夏泻心汤可通过调节氧化应激治疗慢性萎缩性胃炎、糖尿病、脓毒症胃肠功能障碍等疾病^[18-20]。氧化应激失衡是UC的重要发病原因之一,本研究从抗氧化途径探讨半夏泻心汤治疗UC的作用机制。

Nrf2是一种细胞调控氧化应激反应的重要核转录因子,维持氧化还原动态平衡^[21]。Nrf2/HO-1是一条最重要的内源性抗氧化信号通路,参与机体肿瘤、炎症反应、黏膜修复、细胞凋亡等过程^[22]。激活

Nrf2/HO-1通路,可增强细胞抗氧化能力^[23]。黄芩汤、薏苡附子败酱散等通过Nrf2信号通路发挥抗氧化应激作用,从而达到治疗UC的目的^[24-25]。本研究发现,DSS明显降低模型组中Nrf2、HO-1和NQO-1蛋白和mRNA含量;半夏泻心汤干预后,UC小鼠结肠组织中Nrf2、HO-1和NQO-1蛋白和mRNA表达水平显著增加。半夏泻心汤亦能有效逆转DSS诱导的UC小鼠的氧化应激相关酶指标。

综上所述,半夏泻心汤能够缓解DSS诱导的UC,降低结肠损伤,可能是通过Nrf2/HO-1抗氧化通路发挥治疗作用的。

(本文图1,2见插图5-3)

参考文献

- [1] KIM KO, KIM EY, LEE YJ, et al. Efficacy, safety and tolerability of oral sulfate tablet for bowel preparation in patients with inflammatory bowel disease: multicenter randomized controlled study[J]. *J Crohns Colitis*, 2022, 16(11): 1706-1713.
- [2] LU PD, YUAN MC, QUAN XP, et al. Preclinical studies of licorice in ulcerative colitis: a systematic review with meta-analysis and network pharmacology [J]. *J Ethnopharmacol*, 2022, 296: 115444. DOI: 10.1016/j.jep.2022.115444.
- [3] 孙豪娟,孙贵香,邱丽婷,等.基于Nrf2/HO-1通路的中医药干预溃疡性结肠炎研究进展[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2023, 29(11): 224-230.
- [4] WU W, WANG SS, SHAN TH, et al. Cathelicidin-WA attenuates LPS-induced inflammation and redox imbalance through activation of AMPK signaling[J]. *Free Radic Biol Med*, 2018, 129: 338-353.
- [5] KOPACZ A, KLOSKA D, FORMAN HJ, et al. Beyond repression of Nrf2: an update on Keap1 [J]. *Free Radic Biol Med*, 2020, 157: 63-74.
- [6] LAL R, DHALI WAL J, DHALI WAL N, et al. Activation of the Nrf2/HO-1 signaling pathway by dimethyl fumarate ameliorates complete Freund's adjuvant-induced arthritis in rats [J]. *Eur J Pharmacol*, 2021, 899: 174044. DOI: 10.1016/j.ejphar.2021.174044.
- [7] WANG R, LUO YZ, LU YD, et al. Maggot extracts alleviate inflammation and oxidative stress in acute experimental colitis via the activation of Nrf2 [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2019, 2019: 4703253. DOI: 10.1155/2019/4703253.
- [8] KIM Y, WU AG, JAJA-CHIMEDZA A, et al. Isothiocyanate-enriched moringa seed extract alleviates ulcerative colitis symptoms in mice [J/OL]. *PLoS One*, 2017, 12(9): e0184709. DOI: 10.1371/journal.pone.0184709.
- [9] 司马彦.柳氮磺吡啶配合半夏泻心汤治疗溃疡性结肠炎50例疗效观察[J]. *中国肛肠病杂志*, 2020, 40(1): 32-33.
- [10] 张莉萍.半夏泻心汤加减治疗溃疡性结肠炎64例临床观察讨论[J]. *临床医药文献电子杂志*, 2019, 6(80): 157.
- [11] 赵卓,刘林,宋囡,等.半夏泻心汤对溃疡性结肠炎大鼠NLRP3/Caspase-1细胞焦亡通路的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2022, 18(16): 29-34.
- [12] 赵增强.半夏泻心汤对溃疡性结肠炎大鼠结肠组织中TLRs/NF-κB通路相关因子表达的影响[J]. *中国药房*, 2017, 28(22):