基础研究 DOI：10.13406/j.cnki.cyxb.003868

当归芍药散调控TLR4/MyD88/NF-κB信号通路减轻溃疡性结肠炎大鼠结肠损伤的机制研究

张文娓[1]，孟凡佳[1]，闫丽莉[1]，宋小雪[1]，都晓伟[2]
（1.黑龙江中医药大学实验实训中心，哈尔滨 150040；2.黑龙江中医药大学药学院，哈尔滨 150040）

【摘 要】**目的**：探究当归芍药散（Danggui Shaoyao powder，DGSYP）对溃疡性结肠炎（ulcerative colitis，UC）大鼠Toll样受体4（Toll-like receptor 4，TLR4）/髓样分化因子88（myeloid differentiation factor 88，MyD88）/核因子-κB（nuclear factor-κB，NF-κB）信号通路的影响。**方法**：将48只SD雄性大鼠随机分为6组，正常组、模型组、DGSYP低剂量组（11.61 g/kg）、中剂量组（23.22 g/kg）、高剂量组（46.44 g/kg）及柳氮磺吡啶组（0.36 g/kg），每组8只。除正常组外，其余各组用5%三硝基苯磺酸钠（sodium trinitrobenzene sulfonate，TNBS）诱导，构建UC大鼠模型。成功建模后，各治疗组持续给药14 d，正常组与模型组给予等量生理盐水。计算大鼠疾病活动指数（disease activity index，DAI）评分；苏木素-伊红（hematoxylin-eosin，HE）染色，对大鼠结肠组织病理学变化展开观察。酶联免疫吸附测定（enzyme-linked immunosorbent assay，ELISA）结肠中白细胞介素（interleukin，IL）-6、IL-1β、肿瘤坏死因子-α（tumor necrosis factor α，TNF-α）含量。借助实时荧光定量聚合酶链式反应（real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction，RT-qPCR）和蛋白免疫印迹（Western blot，WB）检测结肠组织中TLR4、MyD88、NF-κB p65的mRNA和蛋白表达水平。**结果**：对比正常组，模型组大鼠DAI评分上升，结肠缩短，组织病理变化明显，结肠组织中炎性因子IL-6、IL-1β、TNF-α水平明显升高（$P<0.01$），TLR4、MyD88、NF-κB p65的mRNA和蛋白表达也明显提高（$P<0.05$、$P<0.01$）。与模型组相比，DGSYP各治疗组大鼠上述疾病相关状况均得到改善，DAI分数明显下降（$P<0.05$），结肠增长，未见明显水肿或水肿程度减轻，结肠组织病理情况均有不同程度改善；炎性因子IL-6、IL-1β、TNF-α水平明显降低（$P<0.01$），TLR4、MyD88、NF-κB p65的mRNA和蛋白表达水平明显下降（$P<0.05$、$P<0.01$）。**结论**：DGSYP能够对TLR4/MyD88/NF-κB信号通路发挥调控作用，减少炎症因子释放量，缓解UC大鼠结肠炎性损伤程度。

【关键词】溃疡性结肠炎；当归芍药散；Toll样受体4/髓样分化因子88/核因子-κB信号通路；三硝基苯磺酸钠
【中图分类号】R285.5 【文献标志码】A 【收稿日期】2024-12-17

Mechanism of Danggui Shaoyao powder regulating TLR4/MyD88/NF-κB signaling pathway to reduce colonic injury in ulcerative colitis rats

Zhang Wenwei[1]，*Meng Fanjia*[1]，*Yan Lili*[1]，*Song Xiaoxue*[1]，*Du Xiaowei*[2]
（*1. Experimental and Practical Training Center Heilongjiang University of Chinese Medicine*；
2. School of Pharmacy，Heilongjiang University of Chinese Medicine）

【**Abstract**】***Objective***：To explore the effect of Danggui Shaoyao Powder（DGSYP）on the Toll-like receptor 4（TLR4）/Myeloid differentiation factor 88（MyD88）/Nuclear factor-κB（NF-κB）signaling pathway in ulcerative colitis（UC）rats. ***Methods***：Forty-eight male SD rats were randomly divided into 6 groups：normal group，model group，DGSYP low-dose group（11.61 g/kg），medium-dose group（23.22 g/kg），high-dose group（46.44 g/kg）and salazosulapyridine group（0.36 g/kg）. There were 8 rats in each group. In addition to the normal group，the rats in other groups were induced by 5% sodium trinitrobenzene sulfonate（TNBS）to establish a UC rat model. After successful modeling，each drug treatment group continued to administer the intervention for 14 days. At the same time，the rats in the normal group and the model group were given equal volume of normal saline. The disease activity index（DAI）score was calculated. hematoxylin-eosin（HE）staining was used to observe the histopathological changes in the colon of rats. The levels of interleukin-6（IL-6），IL-1β，and tumor necrosis factor α（TNF-α）in colon tissue were measured by enzyme-linked immunosorbent assay（ELISA）. Real-time fluorescence quantitative polymerase chain re-

作者介绍：张文娓，Email：wenwei0452@163.com，
研究方向：中药经典名方效应机制及新药创制研究。
通信作者：都晓伟，Email：xiaoweidu@hotmail.com。
基金项目：黑龙江省中医药管理局科研资助项目（编号：ZHY2023-194）。
优先出版：https://link.cnki.net/urlid/50.1046.R.20250527.1353.002（2025-05-28）

action（RT-qPCR）was used to detect the mRNA expression levels of TLR4, MyD88 and NF-κB p65 in colon tissues. The expression levels of TLR4, MyD88 and NF-κB in colon tissues were detected by Western blot（WB）. ***Results***: Compared with the normal group, the DAI score of the model group was increased, the colon was shortened, the histopathological changeswere obvious. The levels of inflammatory factors IL-6, IL-1β and TNF-α in colon tissue of model group were significantly increased（$P<0.01$）, the mRNA and protein expressions of TLR4, MyD88 and NF-κB p65 were also significantly increased（$P<0.05$, $P<0.01$）. Compared with the model group, the above disease-related conditions of rats in each treatment group of DGSYP were improved to varying degrees, DAI fraction decreased significantly（$P<0.05$）, colon growth, no obvious edema or edema degree decreased, the histopathological changes of colon were improved to varying degrees. The levels of inflammatory factors IL-6, IL-1β and TNF-α in colon tissues were significantly decreased（$P<0.01$）, and the mRNA and protein expressions of TLR4, MyD88 and NF-κB p65 were significantly decreased（$P<0.05$, $P<0.01$）. ***Conclusion***: DGSYP can regulate the TLR4/MyD88/NF-κB signaling pathway, thereby reducing the release of inflammatory factors, and then alleviating the degree of inflammatory damage in the colon of UC rats.

【Key words】ulcerative colitis; Danggui Shaoyao powder; eceptor 4/Myeloid differentiation factor 88/Nuclear factor-κB signaling pathway; sodium trinitrobenzene sulfonate

溃疡性结肠炎（ulcerative colitis, UC）属于非特异性慢性炎症疾病，主要表现为腹痛、腹泻，严重时便血。UC治愈率低，易复发，长期经受炎症刺激，还有进展为结肠癌的风险，故而被世界卫生组织列为现代难治疾病之一[1-2]。其病因复杂，涉及肠道免疫、遗传、饮食、情绪、微生态等多种因素，发病机制主要与异常激活的免疫应答导致的自身肠道组织损伤有关[3-4]。尤其是Toll样受体4（Toll-like receptor 4, TLR4）/髓样分化因子88（myeloid differentiation factor 88, MyD88）/核因子-κB（nuclear factor-κB, NF-κB）信号通路在UC病情发展中起关键作用[5-6]。现阶段，UC主要治疗药物涵盖5-氨基水杨酸类、糖皮质激素及免疫抑制剂等[7-8]。但这些药物治疗效果欠佳，长期服用可能引发严重不良反应，因此，UC的防治研究成为热点。中医药治疗UC具有独特优势，其多靶点、整体调节的特点为UC的治疗提供新思路。当归芍药散（Danggui Shaoyao powder, DGSYP）作为经典名方，在临床实践中被广泛应用于多种疾病的治疗，其在UC治疗方面的潜在价值也日益受到关注。

中医学认为，肝脾不调、血瘀气结、脾虚湿热、寒热错杂是UC主要病机[9]。DGSYP有疏肝健脾、活血化瘀、健脾利湿之效，临床治疗UC疗效突出[10-11]。不过，具体作用机制目前仍不明确。药理研究显示，该方能够治疗多种炎性疾病，关键作用机制在于免疫保护、对抗炎性因子[12-14]，可调控TLR4/NF-κB信号通路抑制炎症因子的产生，发挥抗炎作用[15-16]。基于此，本研究假设DGSYP可能通过调控TLR4/MyD88/NF-κB信号通路，影响UC的发生与发展过程，聚焦探究DGSYP对UC模型大鼠治疗效果，分析其是否借此干预UC进程，旨在为临床运用DGSYP治疗UC提供理论基础与实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物 48只健康SPF级SD雄性大鼠，体质量（180±20）g，由黑龙江中医药大学实验动物中心提供，动物许可证号SCXK（黑）2023-001。大鼠分笼饲养于温度21~25 ℃，相对湿度50%~60%，并12 h光照/12 h黑暗的循环照明，自由饮食、饮水，进行1周适应性饲养。本实验方案已通过黑龙江中医药大学动物实验伦理委员会审批（批准号：2024021311）。

1.1.2 主要药物 DGSYP（当归、白芍、川芎、泽泻、白术、茯苓）组成药材均购自哈尔滨世一堂中药饮片厂（批号：2312087S、2309028S、2312026S、2308017Ya、231001Ch、2311062S）由黑龙江中医药大学都晓伟教授鉴定为正品，柳氮磺吡啶肠溶片（sulfasalazine, SASP）（上海信谊天平药业有限公司，批号：09230306）。

1.1.3 主要试剂 三硝基苯磺酸钠（sodium trinitrobenzene sulfonate, TNBS）（大连美仑生物技术有限公司，批号：MB5523）；肿瘤坏死因子α（tumor necrosis factor α, TNF-α）、白细胞介素（interleukin, IL）-1β、IL-6酶联免疫吸附测定（enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA）试剂盒（Andygene，批号：AD202402）；DNase（批号：MPC2308027-6）；Proteinase K（批号：MPC2308027-5），均购自武汉赛维尔生物科

技有限公司；MyD88 antibody（Bs-1047R）；NF-κBp65 antibody（Bs-20355R），均购自北京博奥森生物技术有限公司。

1.1.4 主要仪器 PCR MICROPLATE（北京兰杰柯科技有限公司，PC-384-FS-0040-BW）；HPLAS系列彩色病理图文分析系统（华海电子有限公司）；Tanon-4600凝胶成像系统（上海天成）；DNM-9602酶标仪（北京普朗）；Tanon EPS-300电泳仪（上海天能）；3000显微摄影成像系统（美国Moticam）。

1.2 实验方法

1.2.1 药物制备 DGSYP由当归9 g、白芍48 g、川芎24 g、泽泻24 g、白术12 g、茯苓12 g组成。按比例称取3份药材，首次加10倍量水，煎煮1 h过滤；药渣再加8倍量水，煎煮30 min。合并2次滤液，浓缩成1.16、2.32、4.64 g/mL的药液，对应低、中、高剂量组，4 ℃冷藏保存。参照文献[17-18]测定芍药苷、阿魏酸含量，完成质量控制，SASP研磨成细粉加水制成0.036 g/mL混悬液。

1.2.2 模型建立 参照文献[19]构建UC大鼠模型，适应性饲养1周。2%戊巴比妥钠麻醉，导尿管插入肛门约8 cm至结肠，注入5% TNBS（100 mg/kg）乙醇液，捏紧肛门提尾倒立1 min，保持30~ 60°头低脚高位，保暖至大鼠苏醒，恢复正常饮食。造模3 d后，随机处死2只大鼠，解剖结肠，见红肿、溃疡，造模成功。

1.2.3 分组与给药 48只大鼠随机分6组：正常组（Normal）、模型组（Model）、DGSYP低剂量组（DGSYP-L）、中剂量组（DGSYP-M）、高剂量组（DGSYP-H）和SASP组，每组8只。造模成功后，各治疗组按成人与大鼠体质量系数等比换算（系数6.3），给药剂量依次为11.61、23.22、46.44、0.36 g/kg。量取1.2.1项下制备的药液，按给药体积10 mL/kg进行给药，Normal及Model组大鼠给予等体积的生理盐水，连续14 d。

1.2.4 样品采集 2%戊巴比妥钠麻醉，取结肠并测量，生理盐水冲洗，沿纵轴剪开，观察结肠损伤状况，剪下2段2 cm结肠，一部分经液氮快速冷冻后，置于-80 ℃冰箱内保存；另一部分固定在4%多聚甲醛溶液之中备用。

1.2.5 疾病活动指数评分（disease activity index，DAI） 治疗过程中，每日观察并记录大鼠一般状态，参考文献[20]中的DAI评分准则进行评分。

1.2.6 结肠组织病理学变化 取用甲醛固定的结肠组织，依次开展修块、梯度脱水、透明、浸蜡、包埋，切成厚度6 μm薄片，先后用二甲苯和乙醇各清洗2次，每次清洗5 min，再用苏木素-伊红（hematoxylin-eosin，HE）醇溶液染色，经乙醇梯度脱水、二甲苯透明处理，使用中性树胶对切片进行封片，100倍显微镜下，对结肠组织的病理学变化予以观察。

1.2.7 ELISA检测相关炎症因子含量 取结肠组织剪碎置玻璃匀浆器中，添加生理盐水，研磨制备成10%组织匀浆，置于超速冷冻离心机中，4 ℃环境下，3 000 r/min转离心10 min，收集上清液。严格依照ELISA试剂盒的操作说明，对大鼠组织中炎症因子IL-6、IL-1β、TNF-α的含量展开检测。

1.2.8 实时荧光定量聚合酶链式反应（real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction，RT-qPCR）检测结肠组织中相关mRNA表达 取结肠组织加入1 mL trizol试剂，充分匀浆，静置5 min。按照trizol总RNA提取试剂盒提取总RNA。紫外分光光度计测总RNA在260 nm和280 nm波长处的吸光度（absorbance，A）值，计算RNA浓度。利用2X universal SYBR Green Fast qPCR Mix试剂盒开展PCR反应，反应条件：95 ℃预变性3 min，1个循环；95 ℃变性5 s，60 ℃退火30 s，共40个循环。以β-actin作内参，采用$2^{-\Delta\Delta Ct}$法分析目的mRNA相对表达水平，引物序列见表1。

表1 引物序列

引物	序列（5'~3'）	长度（bp）
TLR4	上游 CCAGGTGTGAAATTGAGACAATTG	191
	下游 AAGCTGTCCAATATGGAAACCC	
MyD88	上游 TCGACGCCTTCATCTGCTAC	177
	下游 CCATGCGACGACACCTTTTC	
NF-κB p65	上游 CAGATACCACTAAGACGCACCC	227
	下游 CTCCAGGTCTCGCTTCTTCACA	

1.2.9 蛋白免疫印迹法（western blot，WB）检测结肠组织中相关蛋白表达 取结肠组织剪成小块，加入高效裂解液，于冰浴环境中裂解5 min，置于超速冷冻离心机内，4 ℃下，以10 000 r/min转速离心10 min，提取上清液，运用BCA试剂盒测定蛋白浓度。通过SDS-PAGE凝胶电泳技术对目的蛋白实施分离，转印，5%脱脂奶粉封闭1 h，将其与一抗（TLR4、MyD88、NF-κB p65，1∶1 000）在4 ℃环境下孵育过夜。二抗（1∶2 000）37 ℃下45 min，ECL底物发光，采用电泳凝胶成像分析系统对蛋白条带进行灰度面积扫描，以β-actin作内参蛋白，测定并计算TLR4、MyD88、NF-κB p65蛋白的相对表达量。

1.3 统计学方法

运用SPSS 22.0软件对数据展开分析处理。针对计量资料，以均数±标准差（$\bar{x}\pm s$）的形式呈现，多组间比较选用单因素方差分析，组间两两比较采用LSD-t法，检验水准α=0.05。

2 结 果

2.1 各组大鼠体质量、结肠长度检测和DAI评分结果

整个实验进程中，Normal组大鼠体质量逐步上升，与之相比，Model组大鼠体质量在7 d和14 d明显下滑，差异有统计学意义（t_D=7.877、6.706，均P<0.01）。治疗阶段，DGSYP各剂量组（DGSYP-L组、DGSYP-M组、DGSYP-H组）大鼠体质量相较于Model组，均呈现不同程度的上升，差异有统计学意义（7 d：t_D=2.564，P<0.05；t_D=3.675、4.235，均P<0.01；14 d：t_D=2.244、2.384，均P<0.05；t_D=3.203，P<0.01）。见表2。

表2　各组大鼠体质量测定结果（$\bar{x}\pm s$，n=8，g）

组别	0 d	7 d	14 d
Normal组	193.08 ± 13.26	245.78 ± 8.92	275.12 ± 7.80
Model组	178.88 ± 17.09	169.80 ± 19.63[a]	218.30 ± 17.27[a]
DGSYP-L组	181.94 ± 7.55	194.78 ± 9.44[b]	230.06 ± 3.89[b]
DGSYP-M组	184.62 ± 5.56	211.32 ± 15.90[c]	253.42 ± 28.05[b]
DGSYP-H组	190.38 ± 11.17	221.70 ± 19.11[c]	263.68 ± 26.56[c]
SASP组	188.86 ± 17.51	208.74 ± 17.57[c]	246.12 ± 15.62[b]
F值	0.887	13.199	5.786
P值	0.505	<0.001	0.001

注：a，与 Normal 组比较，P<0.01；b，与 Model 组比较，P<0.05；c，与 Model 组比较，P<0.01

相较于 Normal 组，Model 组大鼠出现便血情况，多数存在腹泻症状，其 DAI 评分随时间逐步升高。而 DGSYP 各治疗组与 Model 组相比，病情得到一定程度的改善，治疗 14 d，DGSYP 各治疗组（DGSYP-L 组、DGSYP-M 组、DGSYP-H 组）的 DAI 评分明显下降，差异有统计学意义（t_D=2.013、1.987、2.059，均 P<0.05）。这说明 DGSYP 对 UC 大鼠具有良好的治疗功效，见表3。

表3　各组大鼠 DAI 评分（$\bar{x}\pm s$，n=8，分）

组别	7 d	14 d
Normal组	–	–
Model组	3.38 ± 2.64	2.94 ± 2.36
DGSYP-L组	2.54 ± 1.23	0.82 ± 0.16[a]
DGSYP-M组	2.78 ± 0.84	0.80 ± 0.52[a]
DGSYP-H组	2.36 ± 0.48	0.72 ± 0.54[a]
SASP组	2.42 ± 1.76	0.34 ± 0.48[a]
F值	0.344	4.176
P值	0.845	0.013

注：a，与 Model 组比较，P<0.05

2.2　各组大鼠结肠长度检测结果

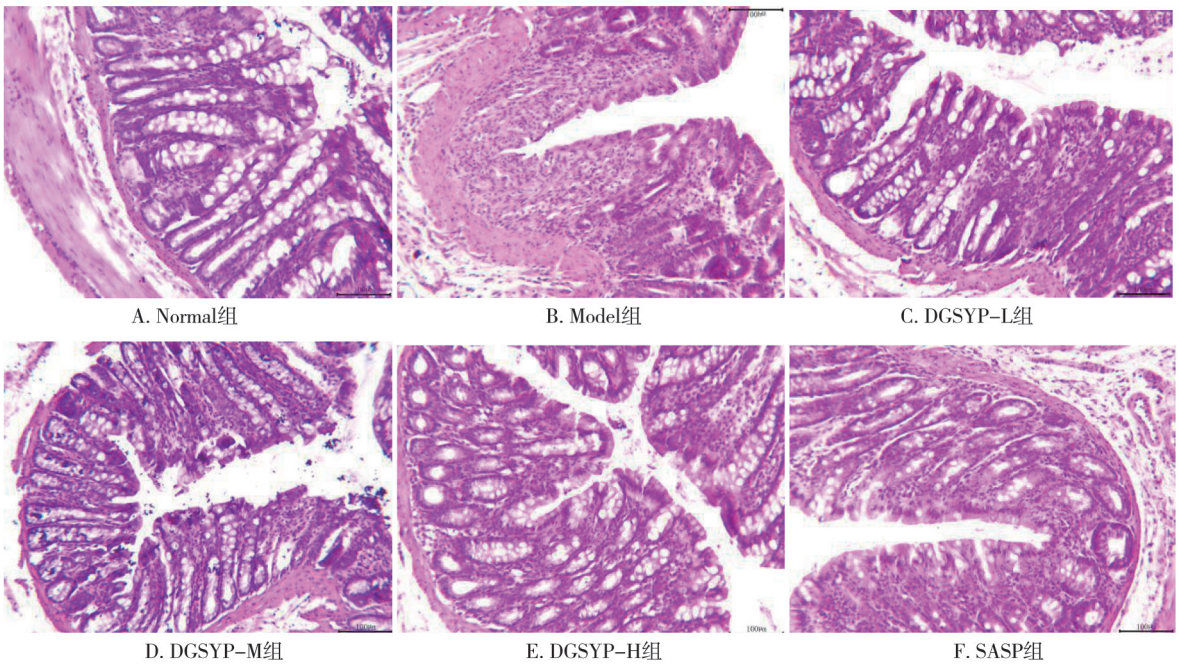
与 Normal 组相比，Model 组大鼠结肠长度明显缩短（t_D=5.323，P<0.01），组织水肿现象十分明显，病灶部位肠壁增厚，内部有异物增生，炎症反应较为严重。DGSYP 各治疗组（DGSYP-L 组、DGSYP-M 组、DGSYP-H 组）与 Model 组相比，结肠长度增长（t_D=3.561，P<0.01；t_D=2.424，P<0.05；t_D=3.571，P<0.01），且基本不见明显水肿或程度减轻。

2.3　各组大鼠结肠组织病理变化

显微镜下观察，Normal 组大鼠结肠黏膜状态良好，黏膜层细胞排列整齐有序，具体形态可见图 1A，Model 组大鼠结肠黏膜下层呈现组织水肿状态，结构较为疏松，能够清晰看到毛细血管充血，并有大量炎细胞浸润其中，此外，黏膜层细胞排列杂乱无章，胞质染色浓重，部分细胞发生脱落，杯状细胞数量大幅减少，视野中还可见大量红细胞，其微观形态详见图 1B。与 Model 组相比，各给药组上述病理改变均有不同程度的改善，表现为水肿和炎细胞明显减轻，杯状细胞数量增多，毛细血管充血减轻。其中以 DGSYP-H 组改善最为明显，见图 1E，DGSYP-M 组和 SASP 组次之，见图 1D、1F，DGSYP-L 组效果最为有限，见图 1C。

2.4　各组大鼠 IL-6、IL-1β 和 TNF-α 水平检测结果

与 Normal 组比较，TNBS 明显升高 IL-6、IL-1β 及 TNF-α 的水平（t_D=34.446、54.158、22.851，均 P<0.01）。相较于 Model 组，DGSYP 各治疗组（DGSYP-L 组、DGSYP-M 组、DGSYP-H 组）大鼠体内炎症因子水平均明显下降（IL-6：t_D=14.469、20.349、26.606，均 P<0.01；IL-1β：t_D=20.206、31.793、8.548，均 P<0.01；TNF-α：t_D=6.136、1.521、9.271，均 P<0.01），表明经这些治疗方案治疗后，炎症反应得到了有效的抑制，差异有



A. Normal组　B. Model组　C. DGSYP-L组

D. DGSYP-M组　E. DGSYP-H组　F. SASP组

图1　各组大鼠结肠组织病理变化（HE，100×）

统计学意义。见表4。

表4　各组大鼠结肠组织炎性因子水平（$\bar{x}\pm s$，n=8）

组别	IL-1β（ng/L）	IL-6（ng/L）	TNF-α（ng/L）
Normal组	30.19 ± 0.49	61.32 ± 2.85	60.68 ± 5.28
Model组	49.03 ± 0.69[a]	113.66 ± 2.39[a]	129.16 ± 5.10[a]
DGSYP-L组	41.24 ± 0.64[b]	95.79 ± 1.85[b]	111.13 ± 5.08[b]
DGSYP-M组	36.85 ± 0.63[b]	83.86 ± 2.67[b]	99.58 ± 3.68[b]
DGSYP-H组	32.72 ± 0.77[b]	74.79 ± 2.66[b]	67.67 ± 5.92[b]
SASP组	35.46 ± 0.66[b]	79.91 ± 2.05[b]	98.87 ± 5.11[b]
F值	639.196	328.267	157.924
P值	<0.001	<0.001	<0.001

注：a，与Normal组比较，P<0.01；b，与Model组比较，P<0.01

2.5　各组大鼠结肠组织TLR4、MyD88、NF-κB p65 mRNA表达的检测结果

与Normal组相比，Model组大鼠结肠组织中TLR4、MyD88、NF-κB p65的mRNA表达量明显上升（t_D=4.325，P<0.01；t_D=2.091、2.857，均P<0.05）。DGSYP各治疗组（DGSYP-L组、DGSYP-M组、DGSYP-H组）与Model组相比，mRNA表达量呈现明显的下降趋势（TLR4 mRNA：t_D=2.817，P<0.05；t_D=4.116、7.456，均P<0.01；MyD88 mRNA：t_D=2.111、2.127、2.363，均P<0.05；NF-κBp65 mRNA：t_D=2.726、2.832，均P<0.05；t_D=3.053，P<0.01）。结果显示，DGSYP可能是通过降低TLR4、MyD88、NF-κB p65的mRNA表达发挥其治疗功效，见表5。

表5　各组大鼠结肠组织中TLR4、MyD88、NF-κB p65 mRNA表达（$\bar{x}\pm s$，n=8）

组别	TLR4	MyD88	NF-κB p65
Normal组	0.76 ± 0.18	0.91 ± 0.10	0.93 ± 0.09
Model组	1.09 ± 0.03[b]	1.20 ± 0.33[a]	1.93 ± 0.85[a]
DGSYP-L组	0.98 ± 0.09[c]	0.91 ± 0.08[c]	0.98 ± 0.09[c]
DGSYP-M组	0.94 ± 0.08[d]	0.89 ± 0.13[c]	0.95 ± 0.06[c]
DGSYP-H组	0.88 ± 0.06[d]	0.87 ± 0.07[c]	0.84 ± 0.21[d]
SASP组	0.94 ± 0.04[d]	0.88 ± 0.19[c]	0.94 ± 0.04[d]
F值	15.031	4.472	7.759
P值	<0.001	0.004	<0.001

注：a，与Normal组比较，P<0.05；b，与Normal组比较，P<0.01；c，与Model组比较，P<0.05；d，与Model组比较，P<0.01

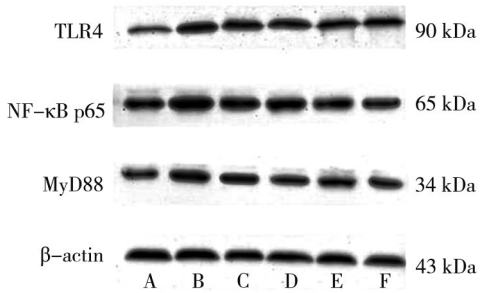
2.6　各组大鼠结肠组织TLR4、MyD88、NF-κBp65蛋白表达的检测结果

与Normal组相比，Model组大鼠结肠组织内TLR4、MyD88、NF-κB p65的蛋白表达水平明显提高（t_D=73.183、18.181、76.963，均P<0.01）。反观DGSYP各治疗组（DGSYP-L组、DGSYP-M组、DGSYP-H组），相较于Model组的蛋白表达水平明显降低（TLR4：t_D=12.893、11.721、27.025，均P<0.01；MyD88：t_D=4.425、12.783、17.729，均P<0.01；NF-κBp65：t_D=17.240、11.349、32.419，均P<0.01）。这些结果表明，DGSYP能够切实有效地抑制疾病状态下TLR4的过度表达，对MyD88、NF-κB p65蛋白的激活起到抑制作用，从而减少炎症因子的生成，发挥其治疗效果。见表6，图2。

表6　各组大鼠结肠组织中TLR4、MyD88、NF-κB p65蛋白表达（$\bar{x}\pm s$，n=8）

组别	TLR4	MyD88	NF-κBp65
Normal组	0.36 ± 0.01	0.67 ± 0.02	0.72 ± 0.01
Model组	0.88 ± 0.01[a]	1.00 ± 0.02[a]	1.15 ± 0.01[a]
DGSYP-L组	0.79 ± 0.01[b]	0.93 ± 0.02[b]	1.01 ± 0.01[b]
DGSYP-M组	0.72 ± 0.02[b]	0.83 ± 0.01[b]	0.94 ± 0.03[b]
DGSYP-H组	0.66 ± 0.01[b]	0.72 ± 0.02[b]	0.82 ± 0.02[b]
SASP组	0.70 ± 0.01[b]	0.78 ± 0.02[b]	0.86 ± 0.02[b]
F值	734.929	137.139	238.010
P值	<0.001	<0.001	<0.001

注：a，与Normal组比较，P<0.01；b，与Model组比较，P<0.01



注：A，Normal组；B，Model组；C，DGSYP-L组；D，DGSYP-M组；E，DGSYP-H组；F，SASP组

图2　各组大鼠结肠组织TLR4、MyD88、NF-κB p65蛋白表达

3　讨　论

TNBS诱导大鼠UC模型在病理特征呈现上，与人类溃疡性结肠炎相似度极高，能够稳定复现出溃疡性结肠炎的典型症状以及病理变化。本研究选用该方法进行造模，最终结果表明，大鼠出现体质量减轻、腹泻、便血等症状，这与人类UC患者的临床表现一致。同时，大鼠结肠长度缩短，结肠黏膜下层水肿，毛细血管充血及大量炎细胞浸润，杯状细胞数量锐减等表明肠道出现明显病理性变化。上述结果证实，此造模方法可行，为后续实验研究奠定基础。

依据中医学观点，肝脾不调、血瘀气结、脾虚湿热、寒热错杂等是UC主要发病机制[9]。DGSYP源自《金匮要略》，由当归、白芍、川芎、白术、泽泻及茯苓组成。方中重用芍药，养血柔肝，缓急止痛，为君药。当归养血活血，助芍药养肝血、止疼痛，防滋补滞气；川芎活血行气，协同当归，共为臣药。白术补

气健脾、燥湿利水，《本经》记载白术可治“死肌”，UC属体内痈疡病症，肠道局部类似“死肌”，因此白术适用；茯苓健脾渗湿，增强白术功效，泽泻利水化痰湿，泻除本病因痰湿瘀血积聚的内热，三药配伍，健脾渗湿，为佐药。全方配伍精妙，养血活血与健脾渗湿并用，肝脾同治，气血兼顾。临床证明，DGSYP治疗UC能有效缓解腹痛[10-11]。本研究发现，DGSYP干预UC大鼠可有效缓解病症，减轻炎性状态。结肠组织病理观察显示，DGSYP能减轻水肿和炎症细胞浸润，增多杯状细胞，减轻毛细血管充血，提示其可能通过促进黏膜屏障修复保护，降低炎症反应强度减轻组织损伤。

肠道炎性反应的发生及肠黏膜的破坏，与促炎细胞因子的过度分泌密切相关[21]。TNF-α、IL-1β及IL-6在引发上皮细胞损伤、削弱肠道屏障功能的过程中，起到直接作用[22]。其中，TNF-α在炎性反应中占据核心地位，能激活NF-κB信号通路，进一步诱导多种炎症基因的表达，促进炎症反应的放大和持续，还能激活各类免疫细胞，引发强烈的促炎反应[23]。本研究结果显示，DGSYP可明显降低UC大鼠结肠组织中促炎因子TNF-α、IL-6和IL-1β的含量，有效抑制炎症因子的释放，对UC起到积极的治疗作用。

MyD88介导的TLR4/MyD88/NF-κB信号通路在UC致病过程中处于核心地位。当UC发病时，肠黏膜上皮细胞及固有层免疫细胞表面的TLR4识别PAMPs等配体后构象改变，招募MyD88触发NF-κB参与的下游反应。MyD88作为TLR信号通路里至关重要的接头蛋白，负责精准传递上游信号，激活NF-κB转位入核，结合炎症因子基因启动子促进TNF-α、IL-1β及IL-6等转录，提升其表达水平。NF-κB作为关键转录因子，是多种信号转导通路的核心交汇点，调控炎症相关基因，在炎症黏膜中高表达[24]。这一现象表明，有效阻断MyD88或者对该信号通路中的任意一个环节加以干扰，有望抑制UC炎症反应，为临床治疗提供重要的干预靶点和思路[25-26]。本研究结果显示，与正常组比较，UC大鼠结肠组织中TLR4、MyD88、NF-κB p65蛋白及基因表达水平上升，表明所构建模型中TLR4/MyD88/NF-κB信号通路被激活，与模型组相比，DGSYP各剂量组中上述蛋白及对应基因表达水平不同程度降低，揭示DGSYP可通过抑制TLR4/MyD88/NF-κB信号通路的活化，减少炎症因子生成，抑制炎性细胞聚集，有效减轻肠道黏膜的炎症反应。

本研究结果为DGSYP治疗UC提供了关键实验依据，但鉴于治疗过程涉及多个作用靶点，且是多种机制协同起效，相关机制的复杂性和系统性仍有待后续开展更为深入的研究，进一步明晰其内在作用规律，为临床实际应用夯实理论根基，提供可靠性的理论支撑。

参 考 文 献

[1] Pandey A, Shen C, Man SM. Inflammasomes in colitis and colorectal cancer: mechanism of action and therapies[J]. Yale J Biol Med, 2019, 92(3): 481-498.

[2] 中华中医药学会《溃疡性结肠炎中医诊疗指南》项目组. 溃疡性结肠炎中医诊疗指南(2023)[J]. 中医杂志, 2024, 65(7): 763-768.
Chinese Association of Chinese Medicine “ulcerative Colitis TCM diagnosis and treatment guidelines” project team. Guidelines for the Diagnosis and Treatment of Ulcerative Colitis in Traditional Chinese Medicine (2023)[J]. J Tradit Chin Med, 2024, 65(7): 763-768.

[3] Du L, Ha C. Epidemiology and pathogenesis of ulcerative colitis[J]. Gastroenterol Clin North Am, 2020, 49(4): 643-654.

[4] Kaser A, Zeissig S, BlumbergRS. Inflammatory bowel disease[J]. AnnuRev Immunol, 2010, 28(3): 573-621.

[5] Hu LH, Liu JY, Yin JB. Eriodictyol attenuates TNBS-induced ulcerative colitis through repressing TLR4/NF-kB signaling pathway in rats[J]. Kaohsiung J Med Sci, 2021, 37(9): 812-818.

[6] Zhao J, Yan SS, Zhu XL, et al. PTPRO exaggerates inflammation in ulcerative colitis through TLR4/NF- κB pathway[J]. J Cell Biochem, 2020, 121(2): 1061-1071.

[7] Zhou XL, Yang J, Qu XJ, et al. M10, a myricetin-3-O-b-D-lactose sodium salt, prevents ulcerative colitis through inhibiting necroptosis in mice[J]. Front Pharmacol, 2020, 11: 557312.

[8] Peng J, Zheng TT, Li X, et al. Plant-derived alkaloids: the promising disease-modifying agents for inflammatory bowel disease[J]. Front Pharmacol, 2019, 10: 351.

[9] 李富震, 白玉宾. 当归芍药散治疗溃疡性结肠炎刍论[J]. 山东中医药大学学报, 2012, 36(4): 285-286.
Li FZ, Bai YB. Discussion on Danggui Shaoyao Powder in treating ulcerative colitis[J]. J Shandong Univ Tradit Chin Med, 2012, 36(4): 285-286.

[10] 曲玉梅, 王晓婷, 庄颖梅, 等. 当归芍药散治疗溃疡性结肠炎的临床研究[J]. 临床心身疾病杂志, 2015, 21: 256-257.
Qu YM, Wang XT, Zhuang YM, et al. Clinical study of Danggui Shaoyao Powder in the treatment of ulcerative colitis[J]. Journal of clinical psy-

chosomatic diseases，2015，21：256-257.

[11] 余婧萍，贺春香，成绍武，等. 当归芍药散通过调控NF-κB炎性通路改善H_2O_2诱导的SH-SY5Y细胞氧化损伤的作用[J]. 中国实验方剂学杂志，2020，26(10)：1-7.

Yu JP，He CX，Cheng SW，et al. Effect of Danggui Shaoyaosan ameliorates in alleviating H_2O_2-induced SH-SY5Y cells oxidative stress through modulation of NF-κB pathway[J]. Chin J Exp Tradit Med Formulae，2020，26(10)：1-7.

[12] 高 升，高 飞，闫亚楠，等. 当归芍药散对慢性盆腔炎大鼠外周血Th、Tc细胞和NO、IL-4、IL-10的影响[J]. 中药新药与临床药理，2016，27(4)：528-533.

Gao S，Gao F，Yan YN，et al. Effect of Danggui Shaoyao San on Th，Tc cells and nitric oxide，interleukin-4，interleukin-10 levels in peripheral blood of rats with chronic pelvic inflammatory disease[J]. Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol，2016，27(4)：528-533.

[13] 郭晓娜，黄 涛，陈文钰，等. 当归芍药散对糖尿病大鼠炎症水平的影响及肾脏保护作用[J]. 中国老年学杂志，2024，44(23)：5773-5776.

Guo XN，Huang T，Chen WY，et al. Effect of Danggui Shaoyao Powder on inflammation level and renal protection in diabetic rats[J]. Chin J Gerontol，2024，44(23)：5773-5776.

[14] 丁瑞瑞. 当归芍药散对激活的小胶质细胞TLR4/NF-κB信号通路及介导神经炎症反应的影响[D]. 广州：广东药科大学，2018.

Ding RR. The influence of DSS to avtivated microglia cells and neuroinflammation *via* TLR4/NF-κB pathway[D]. Guangzhou：Guangdong Pharmaceutical University，2018.

[15] 李易水，储心乔，彪雅宁，等. 当归芍药散对非酒精性脂肪肝大鼠TLR4/MyD88/JNK信号通路的影响[J]. 中国实验方剂学杂志，2021，27(17)：24-31.

Li YS，Chu XQ，Biao YN，et al. Effect of Danggui Shaoyaosan on TLR4/MyD88/JNK signaling pathway on rats with nonalcoholic fatty liver disease[J]. Chin J Exp Tradit Med Formulae，2021，27(17)：24-31.

[16] 李 平，夏小芳，于文静，等. 当归芍药散基于TLR4/MyD88/NF-κB信号通路对阿尔茨海默病模型大鼠神经炎症的影响研究[J]. 中药新药与临床药理，2023，34(4)：494-500.

Li P，Xia XF，Yu WJ，et al. Effect of Danggui Shaoyao San on aβ-induced neuroinflammation in Alzheimer's disease rat based on TLR4/MyD88/NF-κB signaling pathway[J]. Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol，2023，34(4)：494-500.

[17] 付 新，张洪财，张 贺，等. HPLC测定当归芍药散中的芍药苷和芍药内酯苷的含量[J]. 化学工程师，2020，34(1)：25-27.

Fu X，Zhang HC，Zhang H，et al. Simultaneous determination of peoniflorin and albiflorin content in Danggui-Shaoyao-San by HPLC[J]. Chem Eng，2020，34(1)：25-27.

[18] 陈有利. 当归芍药散中阿魏酸含量的测定及其药代动力学研究[D]. 广州：广州中医药大学，2014.

Chen YL. Quantitation of ferulic acid in Danggui-Shaoyao-San and pharmacokinetic study of ferulic acid after oral adminstration of Danggui-Shaoyao-San and pure ferulic acid[D]. Guangzhou：Guangzhou University of Chinese Medicine，2014.

[19] 马秀兰，王秀萍，王佳林，等. 大鼠溃疡性结肠炎模型的建立[J]. 中医药临床杂志，2021，33(9)：1754-1759.

Ma XL，Wang XP，Wang JL，et al. Establishment of ulcerative colitis model in rats[J]. Clin J Tradit Chin Med，2021，33(9)：1754-1759.

[20] Murano M，Maemura K，Hirata I，et al. Therapeutic effect of intracolonically administered nuclear factor kappa B(p65) antisense oligonucleotide on mouse dextran sulphate sodium(DSS)-induced colitis[J]. Clin Exp Immunol，2000，120(1)：51-58.

[21] Lin YL，Yang XG，Yue WJ，et al. Chemerin aggravates DSS-induced colitis by suppressing M2 macrophage polarization[J]. Cell Mol Immunol，2014，11(4)：355-366.

[22] 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.

[23] Kanmani P，Ansari A，Villena J，et al. Immunobiotics beneficially modulate TLR4 signaling triggered by lipopolysaccharide and reduce hepatic steatosis *in vitro*[J]. J Immunol Res，2019，2019：3876896.

[24] 徐明瑶，谢 胜，黎丽群，等. 基于TLR4信号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(21)：228-237.

Xu MY，Xie S，Li LQ，et al. Traditional Chinese medicine intervention in ulcerative colitis based on TLR4 signaling pathway: a rewiew[J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae，2023，29(21)：228-237.

[25] 张钰异，王 浩，王思琳，等. 中医药调控NF-κB相关信号通路干预溃疡性结肠炎相关性癌变的研究进展[J]. 中国中药杂志，2024，49(6)：1455-1466.

Zhang YY，Wang H，Wang SL，et al. Mechanism of traditional Chinese medicine in treating ulcerative colitis-related colorectal cancer by regulating NF-κB-related signaling pathways：a review[J]. China J Chin Mater Med，2024，49(6)：1455-1466.

[26] 黄佳琦，蒋青青，钟友宝，等. 四神丸挥发油对慢性溃疡性结肠炎小鼠TLR/MyD88信号通路的调控作用[J]. 中国实验方剂学杂志，2021，27(23)：19-25.

Huang JQ，Jiang QQ，Zhong YB，et al. Regulatory effect of volatile oil from sishenwan on TLR/MyD88 signaling pathway in mice with chronic ulcerative colitis[J]. Chin J Exp Tradit Med Formulae，2021，27(23)：19-25.

（责任编辑：曾 玲）

本文引用格式：

张文娓，孟凡佳，闫丽莉，等. 当归芍药散调控TLR4/MyD88/NF-κB信号通路减轻溃疡性结肠炎大鼠结肠损伤的机制研究[J]. 重庆医科大学学报，2025，50(8)：1064-1070.