doi:10.11659/jjssx.07E024040

·基础研究·

黄芩苷介导炎症性肠病大鼠炎症反应的机制研究

向宜品[1],简 辉[2],涂艳虹[1] (1.武汉市第六医院中西医结合科,湖北 武汉 430000;2.武汉市第六医院胃肠外科,湖北 武汉 430000)

[摘 要] **目的** 探究黄芩苷通过微小RNA(miR-21)/信号转导子和转录激活子3(STAT3)信号通路介导炎症性肠病大鼠炎症反应的作用机制。**方法** 选取60只SD大鼠采用三硝基苯磺酸(TNBS)结肠灌注法构建炎症性肠病大鼠模型,随机分为6组,每组10只,分别为模型组、低剂量组(灌胃20 mg/kg黄芩苷)、高剂量组(灌胃80 mg/kg黄芩苷)、高剂量+agomiR-NC组(灌胃80 mg/kg黄芩苷+尾静脉注射80 mg/kg miRNA阴性对照载体agomiR-NC)、高剂量+agomiR-21组(灌胃80 mg/kg黄芩苷+尾静脉注射80 mg/kg miR-21激动剂agomiR-21)、高剂量+agomiR-21+colivelin组(灌胃80 mg/kg黄芩苷+尾静脉注射80 mg/kg agomiR-21,同时腹腔注射1 mg/kg的STAT3激活剂colivelin)。另选取10只SD大鼠不作任何处理作为对照组。给药期间各组大鼠每2 d测量1次体质量,给药结束后观察各组大鼠状态;苏木精-伊红(HE)染色评估病理损伤;试剂盒检测髓过氧化物酶(MPO)活力、炎症因子及氧化应激指标;qRT-PCR检测miR-21、STAT3 mRNA水平;Western blot检测STAT3、p-STAT3蛋白表达。**结果** 与模型组相比,低剂量组及高剂量组大鼠炎症性肠病状态及结肠组织病理损伤程度显著改善,白细胞介素-13(IL-13)、超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH)水平升高($P<0.05$),肿瘤坏死因子-α(TNF-α)、白细胞介素-6(IL-6)、丙二醛(MDA)、活性氧(ROS)水平及miR-21 mRNA、STAT3 mRNA、p-STAT3/STAT3蛋白表达水平降低($P<0.05$),且呈剂量依赖性。与高剂量+agomiR-NC组相比,高剂量+agomiR-21组大鼠炎症性肠病状态及结肠组织病理损伤程度加重,IL-13、SOD、GSH水平降低($P<0.05$),TNF-α、IL-6、MDA、ROS水平及miR-21 mRNA、STAT3 mRNA、p-STAT3/STAT3蛋白表达水平明显升高($P<0.05$)。与高剂量+agomiR-21组相比,高剂量+agomiR-21+colivelin组大鼠炎症性肠病状态及结肠组织病理损伤程度加重,IL-13、SOD、GSH水平降低($P<0.05$),TNF-α、IL-6、MDA、ROS水平及miR-21 mRNA、STAT3 mRNA、p-STAT3/STAT3蛋白表达水平明显升高($P<0.05$)。**结论** 黄芩苷通过miR-21/STAT3信号通路降低炎症因子及氧化应激水平进而改善炎症性肠病大鼠结肠损伤。

[关键词] 炎症性肠病;黄芩苷;miR-21;信号转导子和转录激活子3;氧化应激;炎症
[中图分类号] R285.5 [文献标志码] A [收稿日期] 2024-07-08

Mechanism of baicalin mediated inflammatory response in rats with inflammatory bowel disease

XIANG Yi-pin[1], JIAN Hui[2], TU Yan-hong[1] (1.Department of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Wuhan Sixth Hospital, Wuhan Hubei 430000, China; 2.Department of Gastrointestinal Surgery, Wuhan Sixth Hospital, Wuhan Hubei 430000, China)

Abstract: Objective To explore the mechanism of baicalin mediating inflammatory response in rats with inflammatory bowel disease through microRNA (miR-21)/signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) signaling pathway. **Methods** A total of 60 SD rats were selected to construct inflammatory bowel disease rat model by trinitro-benzene-sulfonic acid (TNBS) colon perfusion method, and randomly divided into 6 groups, with 10 rats in each group. They were divided into model group, low-dose group (gavage of 20 mg/kg baicalin), high-dose group (gavage of 80 mg/kg baicalin), high-dose+agomiR-NC group (gavage of 80 mg/kg baicalin+tail vein injection of 80 mg/kg miRNA negative control vector agomiR-NC), high-dose+agomiR-21 group (gavage of 80 mg/kg baicalin+tail vein injection of 80 mg/kg miR-21 agonist agomiR-21) and high-dose+agomiR-21+colivelin group (gavage of 80 mg/kg baicalin+tail vein injection of 80 mg/kg agomiR-21, along with intraperitoneal injection of 1 mg/kg STAT3 activator colivelin). Another 10 SD rats were selected as control group without any treatment. The body mass of rats in each group was measured every two days during administration, and the status of rats in each group was observed after administration. Hematoxylin and eosin (HE) staining was used to evaluate the pathological damage. The myeloperoxidase (MPO) activity, inflammatory factors and oxidative stress indexes were detected by the test kit. The mRNA levels of miR-21, STAT3 were detected by qRT-PCR. The expression of STAT3 and p-STAT3 protein was detected by Western blot. **Results** Compared with model group, the status of inflammatory bowel disease and pathological damage degree of colon tissue in low-dose group and high-dose group were significantly improved, the levels of interleukin-13 (IL-13), superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GSH) were increased ($P<0.05$), while the levels of tumor necrosis factor-α (TNF-α), interleukin-6 (IL-6), malondialdehyde (MDA), reactive oxygen

[基金项目] 湖北省卫生健康委员会项目(WJ2023M136)
[通信作者] 涂艳虹,E-mail:dora930@126.com

species (ROS), and miR-21 mRNA, STAT3 mRNA, p-STAT3/STAT3 protein expression were decreased (P<0.05) in a dose-dependent manner. Compared with high-dose+agomiR-NC group, the status of inflammatory bowel disease and pathological damage degree of colon tissue were aggravated in high-dose+agomiR-21 group, the levels of IL-13, SOD and GSH were decreased (P<0.05), while the levels of TNF-α, IL-6, MDA, ROS, and miR-21 mRNA, STAT3 mRNA, P-STAT3/STAT3 protein expression were increased (P<0.05). Compared with high-dose+agomiR-NC group, the status of inflammatory bowel disease and pathological damage degree of colon tissue were aggravated in high-dose+agomiR-21+colivelin group, the levels of IL-13, SOD and GSH were decreased (P<0.05), while the levels of TNF-α, IL-6, MDA, ROS, and miR-21 mRNA, STAT3 mRNA and P-STAT3/STAT3 protein expression were increased (P<0.05). **Conclusion** Baicalin reduces inflammatory factors and oxidative stress levels through miR-21/STAT3 signaling pathway, and thereby ameliorates colonic injury in rats with inflammatory bowel disease.

Keywords: inflammatory bowel disease; baicalin; miR-21; signal transducer and activator of transcription 3; oxidative stress; inflammation

炎症性肠病包含溃疡性结肠炎和克罗恩病，临床常表现为慢性腹泻和腹痛，病程中也可出现关节损害等肠外表现[1]。氨基水杨酸盐、皮质类固醇和免疫抑制剂等炎症性肠病的常规治疗方法有公认的效果，但这些药物常导致患者出现食欲不振、情绪紊乱等不良反应。因此，迫切需要有效和安全的炎症性肠病治疗方法。黄芩苷是黄芩中提取的主要成分，已被证实具有多种药理活性，如抗炎、抗肿瘤、抗细胞凋亡和免疫调节。研究表明，黄芩苷可通过抑制PI3K/AKT通路激活缓解三硝基苯磺酸(trinitro-benzene-sulfonic acid，TNBS)诱导的结肠炎[2]。miR-21作为一种关键的microRNA，在众多生理和病理过程中扮演着极为重要的角色。一项荟萃分析表明，结肠组织中较高的miR-21表达与溃疡性结肠炎和克罗恩病的发生呈正相关[3]。在炎症反应和肿瘤发生发展过程中，miR-21的表达水平变化显著，并可通过靶向多个下游基因和信号通路来调控细胞的增殖、凋亡、迁移和侵袭等。研究证实，信号转导子和转录激活子3(signal transducer and activator of transcription 3，STAT3)是炎症性肠病发生的危险因素[4]。STAT3信号通路是细胞内一条重要的信号转导通路，在炎症与肿瘤的关联中处于核心地位，其异常激活与多种炎症相关肿瘤的发生、发展密切相关。STAT3已被广泛报道与miR-21存在复杂的相互调控关系，且抑制miR-21限制了STAT3依赖性胃腺瘤的生长[5]。有研究表明，黄芩苷可通过miR-21/第10号染色体缺失的磷酸酶张力蛋白同源物基因(phosphatase and tensin homology deleted on chromosome ten，PTEN)途径抑制氧化应激和炎症反应[6]。然而，黄芩苷是否可通过miR-21/STAT3信号通路介导炎症性肠病的炎症水平尚未可知。因此，本研究通过TNBS构建炎症性肠病大鼠模型，探究黄芩苷通过miR-21/STAT3信号通路介导炎症性肠病大鼠炎症反应的机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物

70只8周龄雄性SD大鼠(200~220 g)由长沙天勤生物科技有限公司提供[生产许可证号：SCXK(湘)2019-0014]。大鼠正常饮食水，饲养于温度(24±2)℃、湿度(45±10)%、光照12/12 h明暗循环的标准环境中。本研究经本院动物保护与福利委员会批准(伦理批号：2023014)。在预实验阶段，动物于实验室适应性喂养7 d。

1.2 试剂与仪器

黄芩苷(纯度95%，批号：21967-41-9)及TNBS(纯度98%，批号：127-68-4)均购自美国Sigma-Aldrich公司；miR-21激动剂agomiR-21及其阴性对照AgomiR-NC由上海吉玛生物科技有限公司制备；STAT3激活剂colivelin(纯度99.62%，批号：S9664)购自美国Selleck公司；苏木精-伊红(hematoxylin and eosin，HE)染色液(批号：C0105S)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase，SOD)试剂盒(批号：S010S)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathion peroxidase，GSH)试剂盒(批号：S0058)、丙二醛(malondialdehyde，MDA)试剂盒(批号：S0131S)、肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α，TNF-α)ELISA试剂盒(批号：PT516)、白细胞介素-6(interleukin-6，IL-6)ELISA试剂盒(批号：PI328)和活性氧(reactive oxygen，ROS)检测试剂盒(批号：S0033S)均购自上海碧云天生物技术有限公司；白细胞介素-13(interleukin-13，IL-13)ELISA试剂盒(批号：ab100766)购自美国Abcam公司；mirVana miRNA分离试剂盒(批号：AM1556)、TaqMan miRNA试剂盒(批号：4366596)、NanoDrop Eight分光光度计购自美国Thermo Fisher Scientific公司；QIAGEN mRNA提取试剂盒(批号：72251)购自澳大利亚QIAGEN公司；高容量cDNA反转录试剂盒(批号：4368814)购自美国Applied Biosystems公司。

1.3 动物模型制备及药物处理

大鼠禁食24 h,可自由饮用水,随机分为对照组(10只)和炎症性肠病组(60只)。参考文献[7]建立大鼠炎症性肠病模型。炎症性肠病组大鼠通过润滑的橡胶导管(距肛门8 cm)注入TNBS(40 mg/kg,由50%乙醇配制)后,头朝下5 min,以确保TNBS留在结肠内。对照组大鼠按照相同的步骤注入等量的生理盐水。造模完成后所有大鼠均可自由进食和饮水。造模3 d后观察大鼠,腹部肿大、采食量减少、粪便带血稀软且黏于肛门视为造模成功。

将造模成功的炎症性肠病组大鼠随机分为模型组、低剂量组、高剂量组、高剂量+agomiR-NC组、高剂量+agomiR-21组、高剂量+agomiR-21+colivelin组,每组10只。低剂量组、高剂量组大鼠分别灌胃20 mg/kg、80 mg/kg黄芩苷(分别取0.2 g黄芩苷溶于100 mL、25 mL超纯水中,配制成2 mg/mL、8 mg/mL溶液,每日灌胃10 mL/kg,连续7 d)[2];高剂量+agomiR-NC组、高剂量+agomiR-21组大鼠灌胃80 mg/kg黄芩苷(8 mg/mL的黄芩苷溶液灌胃10 mL/kg),分别尾静脉注射80 mg/kg agomiR-NC或agomiR-21,同时腹腔注射10 mL/kg生理盐水;高剂量+agomiR-21+colivelin组大鼠灌胃80 mg/kg黄芩苷,尾静脉注射80 mg/kg agomiR-21,同时腹腔注射1 mg/kg的STAT3激活剂colivelin(以10 mL/kg的剂量腹腔注射浓度为0.1 mg/mL的colivelin溶液)[8]。各组大鼠均处理7 d,每日1次。

1.4 炎症性肠病评估

体质量、粪便形态和血便的观察和评分由1名研究人员根据标准评分系统进行。炎症性肠病造模成功当天视为第0天,给药结束后24 h视为第8天。每2 d测量1次体质量。给药结束后24 h根据贾氏方法[9]估算疾病活动指数(disease activity index,DAI),见表1。

1.5 病理组织学检查

将远端结肠(约1 cm)固定在4%多聚甲醛溶液中,并用石蜡包埋。用HE溶液对5 μm厚的组织切片进行染色,光学显微镜下观察。根据结肠病理损伤评分标准[10]进行评估,见表2。

表1 DAI评分标准[9]

评分	体质量减轻(%)	粪便形态	血便
0分	无	正常	无
1分	1~5	正常	无出血或不明显
2分	5~10	松散、半成型	隐血便
3分	10~15	稀便	隐血便
4分	>15	腹泻	严重便血

表2 病理损伤评分标准[10]

评分	炎症严重程度	炎症范围	肠壁损坏
0分	无	无	无
1分	轻微	黏膜	基底三分之一损伤
2分	中等	黏膜下层	基底三分之二损伤
3分	严重	透壁	隐窝结构扭曲
4分	严重	透壁	表层上皮脱落

1.6 髓过氧化物酶(myeloperoxidase,MPO)活力测定

通过测量MPO活力来评估结肠中嗜中性粒细胞的浸润情况。通过二胍-H_2O_2试验在460 nm波长下测量结肠样本的MPO活力。数据以每mg结肠样本的MPO单位表示。

1.7 结肠组织氧化应激和炎症因子的检测

将结肠组织混合在冷PBS中,匀浆后的溶液在4 ℃下以1 186 g离心15 min。使用试剂盒测定酶抗氧化剂SOD、GSH和MDA水平。根据说明书,用ELISA试剂盒检测结肠组织中TNF-α、IL-6、IL-13、ROS水平。

1.8 qRT-PCR

使用mirVana miRNA分离试剂盒按照说明书从组织中提取miRNA,并使用特定的miRNA TaqMan引物合成micro-cDNA。使用QIAGEN mRNA提取试剂盒按照说明书提取培养细胞的mRNA。使用高容量cDNA反转录试剂盒合成cDNA,总共使用1 μg miRNA。qRT-PCR引物序列见表3。用$2^{-\Delta\Delta Ct}$法计算与U6、GAPDH基因归一化后的相对miRNA或mRNA表达水平。使用NanoDrop Eight分光光度计测量RNA的数量和质量。

表3 用于qRT-PCR分析的引物序列

基因	正向	反向
GAPDH	5′-GCAAGTTCAACGGCACAG-3′	5′-CGCCAGTAGACTCCACGAC-3′
U6	5′-CGCTTCGGCAGCACATATAC-3′	5′-TTCACGAATTTGCGTGTCAT-3′
miR-21	5′-UAGCUUAUCAGACUGAUGUUGA-3′	5′-CAGTGCGTGTCGTGGAGT-3′
STAT3	5′-GGGTGGAGAAGGACATCAGCGGTAA-3′	5′-GCCGACAATACTTTCCGAATCC-3′

1.9 Western blot

将结肠样品混合在含1%蛋白酶抑制剂的RIPA缓冲溶液中提取总蛋白。通过BCA蛋白测定试剂盒测定蛋白表达水平。变性蛋白经8% SDS-PAGE分离,电泳转移至PVDF膜上。用5%脱脂牛奶室温下封闭膜,然后与一抗STAT3、p-STAT3、GAPDH在4 ℃下共孵育过夜。洗涤后,与二抗在室温下孵育2 h。通过Image J对蛋白条带进行定量分析。

1.10 统计学分析

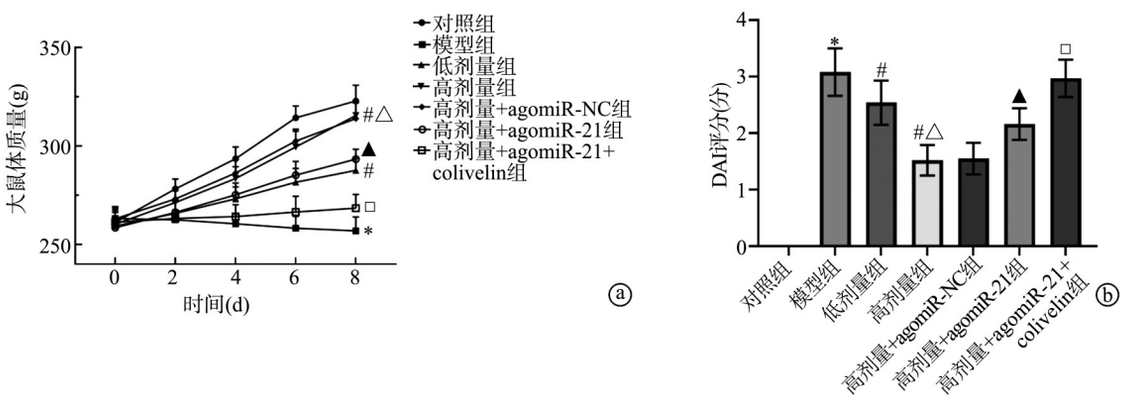
数据使用Graphpad prism 9.5进行分析。所有数

据均以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示。组间差异采用独立样本t检验和单因素方差分析。所有测量至少进行3次。P<0.05为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 黄芩苷治疗改善大鼠炎症性肠病状态

与对照组相比,模型组大鼠体质量降低(P<0.05),DAI评分升高(P<0.05);与模型组相比,低剂量组及高剂量组大鼠体质量升高(P<0.05),DAI评分降低(P<0.05);与低剂量组相比,高剂量组大鼠体质量升高(P<0.05),DAI评分降低(P<0.05);高剂量组与高剂量+agomiR-NC组大鼠体质量及DAI评分比较,差异无统计学意义(P>0.05);与高剂量+agomiR-NC组相比,高剂量+agomiR-21组大鼠体质量降低(P<0.05),DAI评分升高(P<0.05);与高剂量+agomiR-21组相比,高剂量+agomiR-21+colivelin组中体质量降低(P<0.05),DAI评分升高(P<0.05),见图1。



a:大鼠体质量;b:DAI评分 *:与对照组相比,P<0.05;#:与模型组相比,P<0.05;△:与低剂量组相比,P<0.05;▲:与高剂量+agomiR-NC组相比,P<0.05;□:与高剂量+agomiR-21组相比,P<0.05

图1 各组大鼠炎症性肠病状态比较

2.2 黄芩苷治疗改善大鼠结肠黏膜组织病理损伤

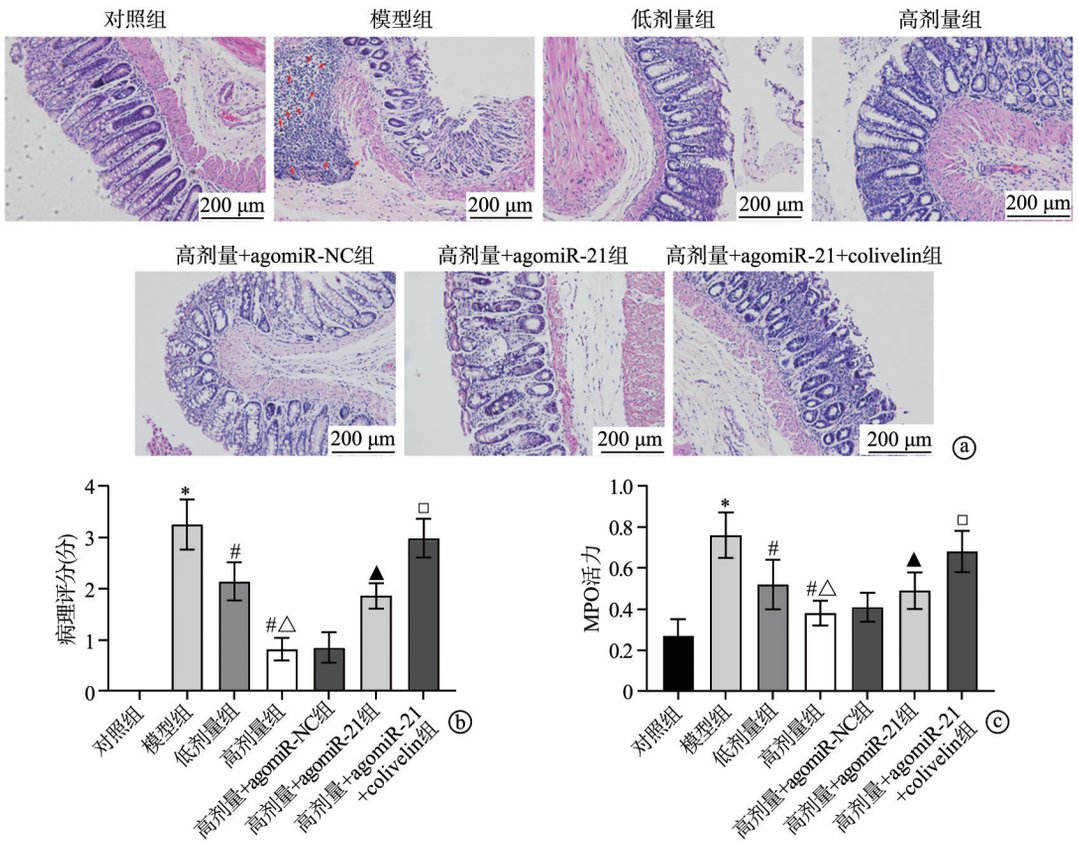
对照组大鼠结肠组织结构清晰,黏膜层、固有膜、肌层和浆膜层分布完整。与对照组相比,模型组大鼠经TNBS灌肠导致固有膜和肌层出现炎症浸润,黏膜层破坏,隐窝结构出现扭曲或缺失,病理评分、MPO活力升高(P<0.05)。与模型组相比,低剂量组及高剂量组大鼠以上病理损伤缓解,病理评分、MPO活力降低(P<0.05);高剂量组与高剂量+agomiR-NC组大鼠病理损伤、病理评分、MPO活力比较,差异均无统计学意义(P>0.05);与高剂量+agomiR-NC组相比,高剂量+agomiR-21组大鼠病理损伤加重,病理评分、MPO活力升高(P<0.05);与高剂量+agomiR-21组相比,高剂量+agomiR-21+colivelin组大鼠病理损伤加重,病理评分、MPO活力升高(P<0.05),见图2。

2.3 各组大鼠结肠组织炎症因子表达比较

与对照组相比,模型组大鼠结肠组织中IL-13水平降低(P<0.05),TNF-α、IL-6水平升高(P<0.05);与模型组相比,低剂量组及高剂量组大鼠结肠组织中IL-13水平升高(P<0.05),TNF-α、IL-6水平降低(P<0.05);与低剂量组相比,高剂量组大鼠结肠组织中IL-13水平升高(P<0.05),TNF-α、IL-6水平降低(P<0.05);高剂量组与高剂量+agomiR-NC组大鼠结肠组织中TNF-α、IL-6、IL-13水平比较,差异均无统计学意义(P>0.05);与高剂量+agomiR-NC组相比,高剂量+agomiR-21组大鼠结肠组织中IL-13水平降低(P<0.05),TNF-α、IL-6水平升高(P<0.05);与高剂量+ agomiR-21组相比,高剂量+agomiR-21+colivelin组中IL-13水平降低(P<0.05),TNF-α、IL-6水平升高(P<0.05),见图3。

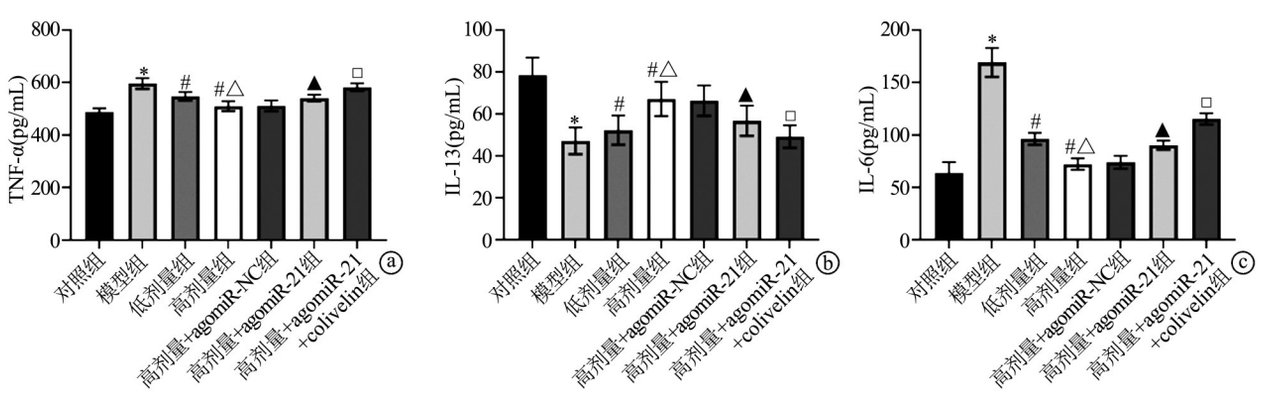
2.4 各组大鼠结肠组织氧化应激指标表达比较

与对照组相比,模型组大鼠结肠组织中SOD、GSH水平降低(P<0.05),MDA、ROS水平升高(P<0.05);与模型组相比,低剂量组及高剂量组大鼠结肠组织中SOD、GSH水平升高(P<0.05),MDA、ROS水平降低(P<0.05);与低剂量组相比,高剂量组大鼠结肠组织中SOD、GSH水平升高(P<0.05),MDA、ROS水平降低(P<0.05);高剂量组与高剂量+agomiR-NC组大鼠结肠组织SOD、GSH、MDA、ROS水平比较,差异均无统计学意义(P>0.05);与高剂量+agomiR-NC组相比,高剂量+agomiR-21组大鼠结肠组织中SOD、GSH水平降低(P<0.05),MDA、ROS水平升高(P<0.05);与高剂量+agomiR-21组相比,高剂量+agomiR-21+colivelin组大鼠结肠组织中SOD、GSH水平降低(P<0.05),MDA、ROS水平升高(P<0.05),见图4。



a:HE染色;b:病理评分;c:MPO活力 *:与对照组相比,$P<0.05$;#:与模型组相比,$P<0.05$;△:与低剂量组相比,$P<0.05$;▲:与高剂量+agomiR-NC组相比,$P<0.05$;□:与高剂量+agomiR-21组相比,$P<0.05$

图2 各组大鼠结肠黏膜组织病理学变化

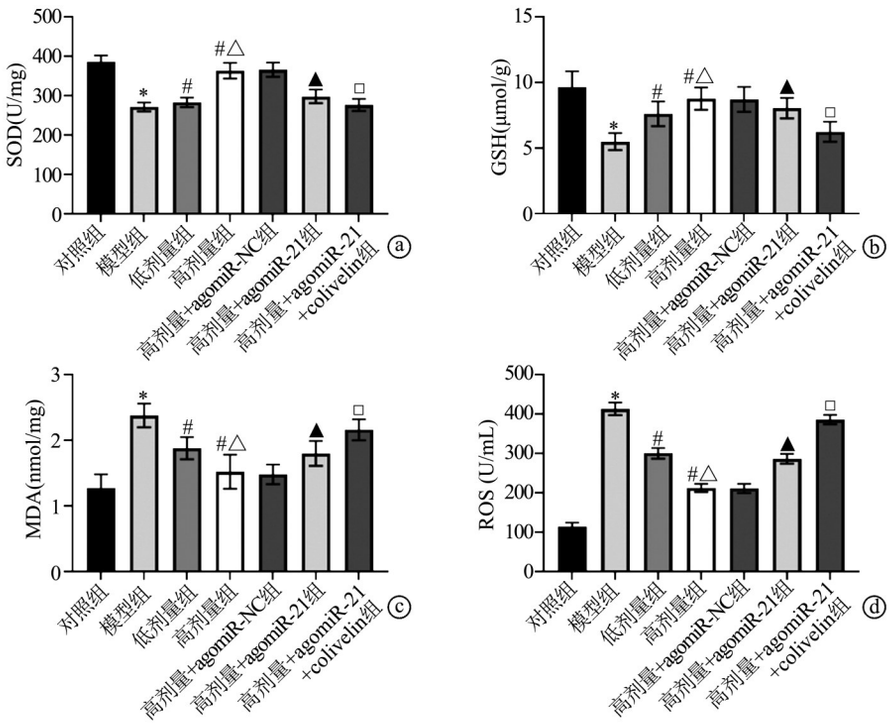


a:TNF-α水平;b:IL-13水平;c:IL-6水平 *:与对照组相比,$P<0.05$;#:与模型组相比,$P<0.05$;△:与低剂量组相比,$P<0.05$;▲:与高剂量+agomiR-NC组相比,$P<0.05$;□:与高剂量+agomiR-21组相比,$P<0.05$

图3 各组大鼠结肠组织炎症因子表达比较

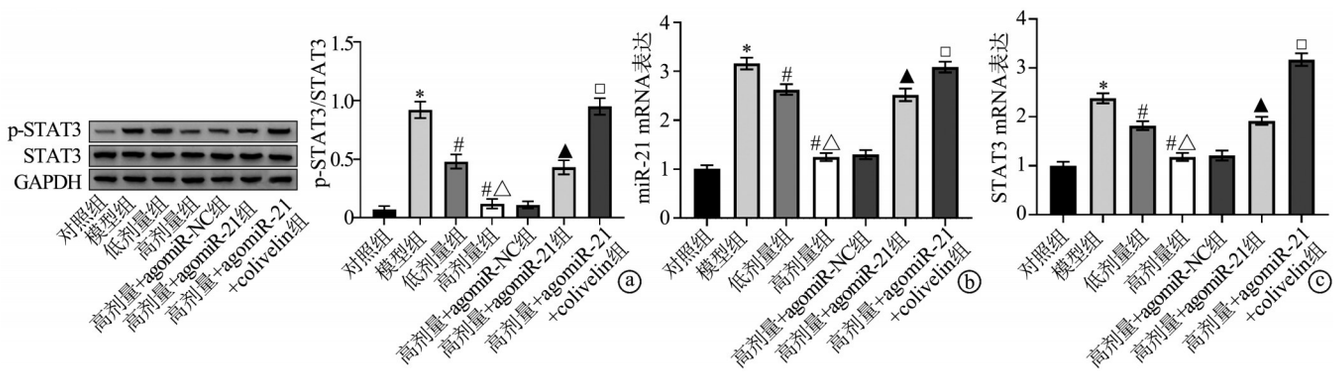
2.5 各组大鼠miR-21、STAT3表达比较

与对照组相比,模型组大鼠miR-21、STAT3 mRNA及p-STAT3/STAT3蛋白表达水平升高($P<0.05$);与模型组相比,低剂量组及高剂量组大鼠miR-21、STAT3 mRNA及p-STAT3/STAT3蛋白表达水平降低($P<0.05$);与低剂量组相比,高剂量组大鼠miR-21、STAT3 mRNA及p-STAT3/STAT3蛋白表达水平降低($P<0.05$);高剂量组与高剂量+agomiR-NC组大鼠miR-21、STAT3 mRNA及p-STAT3/STAT3蛋白表达水平比较,差异均无统计学意义($P>0.05$);与高剂量+agomiR-NC组相比,高剂量+agomiR-21组大鼠miR-21、STAT3 mRNA及p-STAT3/STAT3蛋白表达水平升高($P<0.05$);与高剂量+agomiR-21组相比,高剂量+agomiR-21+colivelin组大鼠miR-21、STAT3 mRNA及p-STAT3/STAT3蛋白表达水平升高($P<0.05$),见图5。



a:SOD水平;b:GSH水平;c:MDA水平;d:ROS水平 *:与对照组相比,$P<0.05$;#:与模型组相比,$P<0.05$;△:与低剂量组相比,$P<0.05$;▲:与高剂量+agomiR-NC组相比,$P<0.05$;□:与高剂量+agomiR-21组相比,$P<0.05$

图4 各组大鼠结肠组织氧化应激指标表达比较



a:Western blot检测p-STAT3、STAT3蛋白表达;b、c:qRT-PCR检测miR-21、STAT3 mRNA表达 *:与对照组相比,$P<0.05$;#:与模型组相比,$P<0.05$;△:与低剂量组相比,$P<0.05$;▲:与高剂量+agomiR-NC组相比,$P<0.05$;□:与高剂量+agomiR-21组相比,$P<0.05$

图5 各组大鼠p-STAT3/STAT3及miR-21、STAT3 mRNA表达

3 讨论

中草药被用来治疗疾病已有千年历史。目前,分离使用中药单体成为处理各种炎症性疾病的热门方法。由TNBS诱导的炎症性肠病大鼠模型是一种可重复且易于使用的动物模型,可以模拟人类炎症性肠病的临床症状[11]。因此,TNBS诱导的炎症性肠病大鼠已不断被用于评估治疗炎症性肠病的新策略的有效性。本研究观察到大鼠在TNBS灌肠后出现了炎症性肠病的临床症状,包括逐渐减轻的体质量、便血、结肠缩短和组织学损伤,而黄芩苷显著改善了炎症性肠病大鼠的症状、DAI评分和病理损伤。

结肠和肠道黏膜隐窝中的散在炎症细胞浸润会刺激产生过多的ROS,引起氧化应激损伤和肠道上皮细胞通透性增加,导致病原体入侵和炎症损伤加剧。黄芩苷具有较强的抗氧化活性,通过抑制细胞凋亡、调控抗氧化酶、激活抗氧化能力、形成金属离子配合物、消除ROS和活性氮等发挥抗氧化作用。Shen等[12]发现黄芩苷能够通过降低溃疡性结肠炎模型小鼠结肠组织中TNF-α、IL-1β、IL-6等炎症因子水平,同时抑制核因子-κB(nuclear factor-κB,NF-κB)信号通路来发挥抗炎作用。本研究结果显示,经黄芩苷治疗后,炎症性肠病模型大鼠IL-13水平上调,TNF-α和IL-6水平

及MPO活力降低,SOD和GSH水平升高,同时结肠组织中的MDA和ROS接近正常水平。这与Shen等[12]关于黄芩苷对溃疡性结肠炎大鼠的研究结果一致。表明在炎症性肠病模型大鼠中,黄芩苷调节了促炎和抗炎细胞因子之间的失衡,通过抑制炎症和氧化应激来治疗TNBS诱导的结肠损伤。

目前,miRNAs对黄芩苷的介导效应不断被报道。研究表明,黄芩苷能通过调节细胞异常自噬,干扰肠道急性移植物抗宿主病,抑制miR-191a的表达,增加紧密连接蛋白(zonula occludens-1,ZO-1)mRNA和蛋白表达水平,起到保护小肠黏膜免疫屏障的作用[13]。在动脉粥样硬化模型中,子苷(与黄芩苷结构相似的化合物)通过miR-21/PTEN途径抑制氧化应激和炎症反应[6]。本研究结果显示,TNBS处理使大鼠结肠组织中miR-21的表达显著升高,而黄芩苷治疗后大鼠结肠组织中miR-21的表达降低。表明黄芩苷通过抑制miR-21介导炎症和氧化应激来改善TNBS诱导的结肠黏膜损伤。

STAT3在溃疡性结肠炎患者中上调,且其表达随溃疡性结肠炎的严重程度增加而增加[14]。Lu等[15]研究表明,抑制miR-21-5p可能通过靶向STAT3调节降低IL-6、TNF-α、NF-κB、裂解半胱天冬酶-3、裂解半胱天冬酶-9和FasL的表达,以缓解溃疡性结肠炎中的炎症和细胞凋亡。本研究结果显示,经黄芩苷治疗后,炎症性肠病大鼠结肠组织中STAT3的表达降低,而过表达miR-21促进了STAT3的表达,与Lu等[15]研究结果相似。此外,Gryshkova等[16]发现miR-21-5p、STAT3与心脏损伤相关的炎症反应之间存在关联。在头颈部鳞状细胞癌中,STAT3是miR-21-5p的直接靶基因,并在上皮-间充质转化的激活中发挥重要作用[17]。表明黄芩苷可能通过抑制miR-21/STAT3信号通路介导炎症和氧化应激来改善TNBS诱导的结肠黏膜损伤。

综上所述,黄芩苷对TNBS引起的大鼠炎症性肠病具有良好的保护作用,其机制可能与抑制miR-21/STAT3信号通路、激发氧化应激保护性防御和抑制炎症反应有关。这些数据为黄芩苷预防及治疗炎症性肠病提供了新的见解。

[参考文献]

[1] Bruner LP, White AM, Proksell S. Inflammatory bowel disease[J]. Prim Care, 2023, 50(3): 411-427. doi: 10.1016/j.pop.2023.03.009.

[2] Zhu L, Shen H, Gu PQ, et al. Baicalin alleviates TNBS-induced colitis by inhibiting PI3K/AKT pathway activation[J]. Exp Ther Med, 2020, 20(1): 581-590. doi: 10.3892/etm.2020.8718.

[3] Yan H, Zhang X, Xu Y. Aberrant expression of miR-21 in patients with inflammatory bowel disease: a protocol for systematic review and meta analysis[J]. Medicine (Baltimore), 2020, 99(17): e19693. doi: 10.1097/MD.0000000000019693.

[4] Robinson P, Montoya K, Magness E, et al. Therapeutic potential of a small-molecule STAT3 inhibitor in a mouse model of colitis[J]. Cancers (Basel), 2023, 15(11): 2977. doi: 10.3390/cancers15112977.

[5] Tse J, Pierce T, Carli ALE, et al. Onco-miR-21 promotes STAT3-dependent gastric cancer progression[J]. Cancers (Basel), 2022, 14(2): 264. doi: 10.3390/cancers14020264.

[6] Zhou S, Sun Y, Zhao K, et al. miR-21/PTEN pathway mediates the cardioprotection of geniposide against oxidized low-density lipoprotein-induced endothelial injury via suppressing oxidative stress and inflammatory response[J]. Int J Mol Med, 2020, 45(5): 1305-1316. doi: 10.3892/ijmm.2020.4520.

[7] Yousefi-Ahmadipour A, Ebrahimi-Barough S, Niknia S, et al. Therapeutic effects of combination of platelet lysate and sulfasalazine administration in TNBS-induced colitis in rat[J]. Biomed Pharmacother, 2020, 125: 109949. doi: 10.1016/j.biopha.2020.109949.

[8] 孔冰慧,白龙洲,杨 丽. 苦参碱调节IL-6/STAT3信号通路对炎症性肠病大鼠肠黏膜损伤的影响[J]. 广州中医药大学学报,2024,41(5):1277-1284. doi:10.13359/j.cnki.gzxbtcm.2024.05.028.

[9] Jia K, Wang Y, Tong X, et al. KGF is delivered to inflammatory and induces the epithelial hyperplasia in trinitrobenzene sulfonic acid-induced ulcerative colitis rats[J]. Drug Des Devel Ther, 2020, 14: 217-231. doi: 10.2147/DDDT.S227651.

[10] Cui H, Cai Y, Wang L, et al. Berberine regulates Treg/Th17 balance to treat ulcerative colitis through modulating the gut microbiota in the colon[J]. Front Pharmacol, 2018, 9: 571. doi: 10.3389/fphar.2018.00571.

[11] Silva I, Solas J, Pinto R, et al. Chronic experimental model of TNBS-induced colitis to study inflammatory bowel disease[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(9): 4739. doi: 10.3390/ijms23094739.

[12] Shen J, Cheng J, Zhu S, et al. Regulating effect of baicalin on IKK/IKB/NF-κB signaling pathway and apoptosis-related proteins in rats with ulcerative colitis[J]. Int Immunopharmacol, 2019, 73: 193-200. doi: 10.1016/j.intimp.2019.04.052.

[13] Wang L, Zhang R, Chen J, et al. Baicalin protects against TNF-α-induced injury by down-regulating miR-191a that targets the tight junction protein ZO-1 in IEC-6 cells[J]. Biol Pharm Bull, 2017, 40(4): 435-443. doi: 10.1248/bpb.b16-00789.

[14] Li C, Xu Y, Gao T, et al. Ruxolitinib alleviates inflammation, apoptosis, and intestinal barrier leakage in ulcerative colitis via STAT3[J]. Inflamm Bowel Dis, 2023, 29(8): 1191-1201. doi: 10.1093/ibd/izad007.

[15] Lu X, Yu Y, Tan S. The role of the miR-21-5p-mediated inflammatory pathway in ulcerative colitis[J]. Exp Ther Med, 2020, 19(2): 981-989. doi: 10.3892/etm.2019.8277.

[16] Gryshkova V, Fleming A, McGhan P, et al. miR-21-5p as a potential biomarker of inflammatory infiltration in the heart upon acute drug-induced cardiac injury in rats[J]. Toxicol Lett, 2018, 286: 31-38. doi: 10.1016/j.toxlet.2018.01.013.

[17] Ma C, Shi T, Qu Z, et al. CircRNA_ACAP2 suppresses EMT in head and neck squamous cell carcinoma by targeting the miR-21-5p/STAT3 signaling axis[J]. Front Oncol, 2020, 10: 583682. doi: 10.3389/fonc.2020.583682.

(编辑:贺绍梅)