复方芩柏颗粒对溃疡性结肠炎大鼠的改善作用及机制研究Δ

贺守炎[1*]，罗雯鹏[2]，潘　燎[1]，肖金银[3]，王真权[1#]（1.湖南中医药大学第二附属医院肛肠三科，长沙　410005；2.湖南中医药大学第二附属医院肛肠二科，长沙　410005；3.湖南中医药大学研究生院，长沙　410036）

中图分类号　R965　　**文献标志码**　A　　**文章编号**　1001-0408（2025）06-0686-06
DOI　10.6039/j.issn.1001-0408.2025.06.08

摘　要　目的　基于短链脂肪酸（SCFA）及其作用靶点G蛋白偶联受体（GPR），探究复方芩柏颗粒对溃疡性结肠炎（UC）大鼠的改善作用及潜在机制。**方法**　将雄性SD大鼠随机分为正常组（12只）和模型制备组（30只），模型制备组大鼠通过饮用5%葡聚糖硫酸钠溶液构建UC模型。将造模成功的大鼠分为模型组、阳性对照组[美沙拉秦肠溶片270 mg/（kg·d）]、复方芩柏颗粒组[2.52 g/（kg·d）]，每组9只。各组大鼠每天分2次灌胃生理盐水或相应药液，连续3周。灌胃期间，观察各组大鼠一般情况，于末次给药后进行疾病活动性指数（DAI）评分，并检测其血清中促炎因子（肿瘤坏死因子α、白细胞介素6）和抑炎因子（转化生长因子β$_1$、白细胞介素10）水平，观察其结肠组织病理变化并进行病理学评分，检测其粪便中SCFA（乙酸、丙酸、丁酸）含量以及结肠组织中GPR41、GPR43、GPR109A蛋白及mRNA的表达情况。**结果**　与正常组比较，模型组大鼠精神萎靡，粪便带血明显，结肠组织结构受损严重，可见明显的腺体缺失、水肿、炎症细胞浸润等病理改变；其血清促炎因子水平、DAI评分、结肠病理学评分均显著升高，而抑炎因子水平，SCFA含量以及GPR41、GPR43、GPR109A蛋白及mRNA的表达均显著降低或下调（$P<0.01$）。与模型组比较，各药物组大鼠一般情况及结肠组织病理改变均有好转，上述定量指标均明显逆转（$P<0.05$或$P<0.01$）。**结论**　复方芩柏颗粒能减轻UC大鼠的肠道炎症及肠道黏膜病理损伤，上述作用可能与其恢复肠道SCFA的含量及其靶点GPR的表达有关。

关键词　复方芩柏颗粒；溃疡性结肠炎；短链脂肪酸；G蛋白偶联受体

Study on the improvement effects of Compound qinbai granules on ulcerative colitis in rats and its mechanism

HE Shouyan[1], LUO Wenpeng[2], PAN Liao[1], XIAO Jinyin[3], WANG Zhenquan[1]（1. The Third Department of Anal and Intestinal Medicine, the Second Affiliated Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410005, China; 2. The Second Department of Anal and Intestinal Medicine, the Second Affiliated Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410005, China; 3. Graduate School, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410036, China）

ABSTRACT　OBJECTIVE To investigate the improvement effects of Compound qinbai granules on ulcerative colitis (UC) in rats and its mechanism based on short-chain fatty acid (SCFA) and their targets G protein-coupled receptor (GPR). **METHODS** Male SD rats were randomly divided into normal group (12 rats) and model group (30 rats); the model group was given 5% dextran sulfate sodium solution to induce the UC model. Model rats were divided into the model group, positive control group [Mesalazine enteric-coated tablets 270 mg/(kg·d)] and Compound qinbai granules group [2.52 g/(kg·d)], with 9 rats in each group. Rats in each group were orally administered with normal saline or corresponding medication twice a day, for three consecutive weeks. During intragastric administration, the general conditions of rats in each group were observed, and the disease activity index (DAI) scores were assessed after the last administration. Serum levels of pro-inflammatory cytokines (tumor necrosis factor-α, interleukin-6) and anti-inflammatory cytokines (transforming growth factor-β$_1$, interleukin-10) were measured. Pathological changes in their colonic tissues were observed and scored. Additionally, the content of SCFA (acetic acid, propionic acid and butyric acid) in their feces as well as the protein and mRNA expressions of GPR41, GPR43 and GPR109A in colonic tissues were detected. **RESULTS** Compared with the normal group, rats in the model group exhibited lethargy and obvious blood in their feces; the colonic tissue structure was severely damaged, with pathological changes such as notable glandular loss, edema, and inflammatory cell infiltration visible; the serum levels of pro-inflammatory cytokines, DAI score and colonic pathology score were significantly increased, while the levels of anti-inflammatory cytokines, SCFA content, and protein and mRNA expressions of GPR41, GPR43 and GPR109A were significantly decreased or down-regulated ($P<0.01$). Compared with the model group, the general condition and pathological changes of colonic

Δ**基金项目**　湖南省自然科学基金项目（No.2023JJ60040）；湖南省中医药科研计划项目（No.2021020）；长沙市自然科学基金项目（No.kq2202482）

＊**第一作者**　硕士研究生。研究方向：中医药防治肛肠疾病。E-mail：20223238@stu.hnucm.edu.cn

\# **通信作者**　主任医师，教授，博士生导师，博士。研究方向：中医药防治肛肠疾病。E-mail：320035@hnucm.edu.cn

tissue in each administration group showed improvement, with significant reversal observed in the aforementioned quantitative indicators ($P<0.05$ or $P<0.01$). **CONCLUSIONS** Compound qinbai granules can alleviate intestinal inflammation and intestinal mucosal damage in UC rats. These effects may be related to its ability to restore intestinal SCFA levels and the expression of their target GPR.

KEYWORDS Compound qinbai granules; ulcerative colitis; short-chain fatty acid; G protein-coupled receptor

溃疡性结肠炎（ulcerative colitis，UC）是一种影响肠道下端黏膜及黏膜下层、累及结肠和直肠的炎症性肠病，具体发病机制尚不清楚。研究指出，短链脂肪酸（short-chain fatty acid，SCFA）是肠道有益菌消化膳食纤维的关键代谢产物，以乙酸、丁酸、丙酸为主。SCFA及其作用靶点G蛋白偶联受体（G protein-coupled receptor，GPR）对维持肠道菌群平衡、调节免疫系统、减少炎症和抑制肿瘤细胞生长至关重要，是目前UC治疗领域研究的重要方向[1-2]。

研究发现，中药可有效缓解UC症状，改善肠道菌群紊乱，并保持肠道微生态稳定，在UC治疗领域具有广阔的应用前景[3]。中医认为，UC属于“久痢”范畴，病机为肠道湿热积聚、气血运行不畅[4]。止痛如神汤出自《外科启玄》，以秦艽为君药，辅以桃仁、皂角刺、苍术、防风、黄柏、当归、泽泻、槟榔、熟大黄，兼顾“风、热、湿、燥”之邪，可改善UC患者腹痛、腹泻、黏液血便等症状[5]。复方芩柏颗粒是湖南中医药大学第二附属医院化裁于止痛如神汤的复方制剂，其在原方基础上去除辛温刺激之品苍术、皂角刺，加用延胡索、黄芩，以发挥更强的止痛止泻之功；同时，还加用生地黄，以滋阴补血，改善UC患者日久体虚或贫血的症状[6]。本课题组前期开展的临床观察和动物实验均证实，复方芩柏颗粒对UC具有明显的改善作用[6-7]，但具体机制尚不明确。为此，本研究基于肠道菌群及其代谢产物对UC的影响，以及中药方剂对肠道菌群的改善作用，从肠道中占比最大的SCFA——乙酸、丁酸、丙酸及其作用靶点出发，探讨该方对UC的影响及潜在机制，以期为复方芩柏颗粒的进一步利用提供参考。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器包括TRACE™ 1310 ISQLT型气质联用（GC-MS）仪（美国Thermo Fisher Scientific公司）、Epoch型酶标仪（美国BioTek公司）、BX53型生物显微镜（日本Olympus公司）、ChemiDoc™ XRS+型凝胶成像系统（美国Bio-Rad公司）、ArtGene™ A300型聚合酶链式反应（PCR）扩增仪（杭州朗基科学仪器有限公司）等。

1.2 主要药品与试剂

复方芩柏颗粒（湘药制字Z20080819，批号为20230912，规格为每袋6 g）由黄柏、黄芩、泽泻、当归、槟榔、秦艽、防风（炒炭）、熟大黄、延胡索、生地黄、桃仁11味中药按质量比4∶4∶4∶4∶3.5∶3.5∶3.5∶3.5∶3.5∶5∶2组成，为湖南中医药大学第二附属医院自制中成药。

美沙拉秦肠溶片（批号20190109，规格0.25 g）购自黑龙江天宏药业股份有限公司；葡聚糖硫酸钠（dextran sulfate sodium，DSS；批号PHL83846）购自美国Sigma公司；粪便隐血检测试剂（批号YM-TC0511）购自上海远慕生物科技有限公司；苏木素-伊红（HE）染液（批号B600020）购自武汉三鹰生物技术有限公司；白细胞介素6（interleukin-6，IL-6）、IL-10酶联免疫吸附测定（ELISA）试剂盒（批号分别为XK6156S、XK6154S）均购自上海晅科生物科技有限公司；肿瘤坏死因子α（tumor necrosis factor-α，TNF-α）ELISA试剂盒（批号J22405）购自武汉吉立德生物科技有限公司；转化生长因子β_1（transforming growth factor-β_1，TGF-β_1）ELISA试剂盒（批号EK981）购自杭州联科生物技术股份有限公司；乙酸、丙酸、丁酸、4-甲基戊酸（内标）对照品（批号分别为MKCM7198、SHBC7498V、STBF8413V、STBJ4764，纯度均大于99%）均购自广州顺研生物科技有限公司；RIPA裂解液、BCA蛋白定量试剂盒（批号分别为P0013B、P0009）均购自上海碧云天生物技术有限公司；兔抗GPR41、GPR43、GPR109A多克隆抗体（批号分别为MBS8580632、MBS541594、MBS9140387）均购自美国MyBioSource公司；兔抗β-肌动蛋白（β-actin）多克隆抗体（批号66009-1-Ig）购自美国Proteintech公司；辣根过氧化物酶标记的羊抗兔免疫球蛋白G二抗（批号为SA00001-2）购自武汉三鹰生物技术有限公司；TsingZol总RNA广谱型提取试剂、SynScript™ Ⅲ cDNA合成预混液、2×TSINGKE® Master qPCR混合液（SYBR Green Ⅰ）、dNTPs混合液（10 mmol/L）（批号分别为TSP401、TSK3225、TSK201、TSK2200）及扩增引物均由北京擎科生物科技有限公司提供。

1.3 实验动物

SPF级雄性SD大鼠42只，体重（230±15）g，购自湖北贝恩特生物科技有限公司，生产许可证号为SCXK（鄂）2021-0027。所有大鼠均饲养于温度约22 ℃、相对湿度约60%、每天光照12 h的环境里。本研究方案经湖北贝恩特生物科技有限公司实验动物伦理委员会批准，批准文号为LACUC（准）-BNT-2022-002。

2 方法

2.1 造模、分组与给药

按照SPF标准适应性喂养大鼠1周后，将其随机分为正常组（12只）和模型制备组（30只）。正常组大鼠每天自由饮水，模型制备组大鼠则饮用5%DSS溶液[8]。1周后，随机挑选正常组和模型制备组各3只大鼠处死，若模型制备组大鼠结肠组织可见溃疡、黏膜糜烂、炎症细胞浸润、腺体减少或消失等病理改变，而正常组大鼠结肠组织结构基本正常，则提示UC模型复制成功。

造模结束后，将模型制备组剩余的27只大鼠随机分为模型组、阳性对照组、复方芩柏颗粒组，每组9只。正常组（该组剩余的9只）和模型组大鼠灌胃生理盐水，各药物组大鼠每天行2次灌胃相应药液，灌胃总体积均为20 mL/（kg·d），连续3周。根据成年UC患者急性活动期美沙拉秦肠溶片的剂量（3 g/d），按《动物实验方法学》[9]的方法换算，得阳性对照组大鼠灌胃的等效总剂量为270 mg/（kg·d）；根据前期动物实验结果，复方芩柏颗粒的最佳有效总剂量为2.52 g/（kg·d）[10]，本研究继续使用该剂量。给药过程中，各组大鼠均自由饮水、摄食。

2.2 大鼠疾病活动性指数评分与取样

开始灌胃后，每天记录大鼠的体重变化、粪便性状及带血状况，并在末次给药完成后进行疾病活动性指数（disease activity index，DAI）评分（具体标准[11]见表1），以评估大鼠肠道疾病的严重程度。DAI评分＝（体重下降评分+粪便性状评分+血便评分）/3。

表1 DAI评分标准

分值	体重下降/%	粪便性状	血便
0	<1	正常	正常
1	1～5	偏软但成形	隐血实验阳性
2	6～10	半稀便	血便
3	>10	稀便	大量血便

DAI评分后，以腹部按摩法收集各组大鼠粪便，备测；随后，予大鼠禁食、不禁水24 h，将其固定，腹腔注射2%戊巴比妥使其深度麻醉，剖开胸腔并暴露心脏，将针头刺入心室，取血样适量，于－80 ℃下保存，备测；取血后，以颈椎脱臼法将其处死，剖开腹腔，取结肠组织，一部分以4%多聚甲醛溶液固定，另一部分冻存，备测。

2.3 大鼠血清炎症因子检测

取“2.2”项下各组大鼠血样适量，于4 ℃下以3 000 r/min离心20 min，取上层血清，按相应试剂盒说明书操作，采用ELISA法以酶标仪检测其血清促炎因子（TNF-α、IL-6）和抑炎因子（TGF-β_1、IL-10）水平。

2.4 大鼠结肠组织病理变化观察

取“2.2”项下各组大鼠固定24 h的结肠组织，制作石蜡切片；取切片，经脱水、脱蜡、HE染色、封片后，使用显微镜观测大鼠结肠组织的病理改变并进行病理学评分（具体标准[12]见表2），以评估其结肠组织的病理损伤程度。病理学评分＝（隐窝破坏程度评分+炎症细胞浸润累及范围评分+病变范围评分）/3。

表2 大鼠结肠组织的病理学评分标准

分值	隐窝破坏程度	炎症细胞浸润累及范围/%	病变范围
0	完整无破坏	0	无
1	1/3基底部隐窝破坏	1～25	黏膜层
2	2/3基底部隐窝破坏	26～50	肌层
3	仅表面上皮完整	51～75	浆膜层
4	全部隐窝和上皮破坏	76～100	全层

2.5 大鼠粪便中SCFA含量测定

取“2.2”项下各组大鼠的粪便样品0.2 g，置于1.5 mL离心管中，用水500 μL匀浆1 min后，再以3 000 r/min离心10 min；取上清液200 μL，分别加入15%磷酸溶液100 μL、375 μg/mL的内标溶液（以乙醇为溶剂）20 μL、乙醚280 μL，匀浆1 min，再于4 ℃下以12 000 r/min离心10 min，取乙醚层，即得供试品溶液。取上述供试品溶液，采用GC-MS技术以内标法检测其中乙酸、丙酸、丁酸的含量。GC-MS条件如下：色谱柱为Restek Rxi-5MS毛细管柱（30 m×0.32 mm，0.25 μm）；进样口温度为270 ℃；载气为氦气，流速为1.0 mL/min；顶空进样，进样量为1 μL；程序升温，45 ℃保持1 min，以20 ℃/min升至250 ℃并保持2 min。离子源为电子轰击离子源，电子轰击能量为70 eV；离子源温度为220 ℃；检测器温度为250 ℃；检测电压为1 450 V；质谱信息采集频率为每秒20次，扫描范围为m/z 38～550。以待测成分与内标的峰面积比值为纵坐标（y）、待测成分质量浓度为横坐标（x）绘制的乙酸、丙酸、丁酸回归方程分别为y＝0.015 8x+0.001 2、y＝0.010 8x+0.001 5、y＝0.030 2x+0.010 8（R^2＞0.999），三者检测质量浓度的线性范围分别为1～100、1～100、0.5～50 mg/L。该法精密度、重复性等方法学考察均符合2020年版《中国药典》（四部）的相关要求。

2.6 大鼠结肠组织中GPR41、GPR43、GPR109A蛋白表达检测

采用Western blot法检测。取“2.2”项下冻存的各组大鼠的结肠组织适量，用RIPA裂解液于冰上裂解，于4 ℃下以12 000 r/min离心4 min，取上清液，以BCA法检测总蛋白含量后，煮沸5 min使变性。取变性蛋白适量，进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳分离并转移到聚偏二氟乙烯膜上，于室温下以5%脱脂牛奶封闭1 h；洗膜2 min，加入GPR41、GPR43、GPR109A、β-actin一抗（稀释比例分别为1∶1 000、1∶1 000、1∶1 000、1∶20 000），于4 ℃下孵育过夜；洗膜10 min×3次，加入相应二抗（稀释比例为1∶1 000），于室温下孵育1 h；洗膜后，以发光试剂显色，并于凝胶成像系统下成像。以β-actin为内参，计算各目的蛋白的相对表达量（即目的蛋白与内参蛋白的条带灰度值比值）。

2.7 大鼠结肠组织中GPR41、GPR43、GPR109A mRNA表达检测

采用实时PCR（real-time PCR，RT-PCR）法检测。取“2.2”项下冻存的各组大鼠的结肠组织适量，以TsingZol总RNA广谱型提取试剂提取其中的总RNA，检测纯度、浓度后，将其逆转录成cDNA，再以此cDNA为模板进行扩增。PCR反应体系（共10 μL）包括cDNA模板1 μL、10 μmol/L正/反向引物（具体序列及产物长度见表3）各0.4 μL、2×TSINGKE® Master qPCR混合液（SYBR Green Ⅰ）5 μL、50×ROX参考染料Ⅱ 0.2 μL、ddH_2O 3 μL。反应条件为95 ℃预变性30 s；95 ℃变性10 s，60 ℃退火延伸30 s，共循环40次。以β-actin为内参，采用$2^{-\Delta\Delta Ct}$法计算GPR41、GPR43、GPR109A mRNA的相对表达量。

表3 PCR引物序列及产物长度

基因	序列（5′→3′）	扩增产物/bp
β-actin	正向：CTTCCTTCCTGGGTATGGAATC	102
	反向：CTGTGTTGGCATAGAGGTCTT	
GPR41	正向：ATAGTCAACCTGGCAGCCTT	188
	反向：TTGACATCTGACTGCTCCGT	
GPR43	正向：TCATGTCCTTTGGCCATTGC	186
	反向：AGATGGTGACTGTCATGGGG	
GPR109A	正向：GCATCATCCTGTTCTGCTCTG	201
	反向：AGATGTCACAGTTCCTCACGT	

2.8 统计学方法

采用SPSS 26.0软件对数据进行统计分析。结果以$\bar{x}\pm s$表示，多组间比较采用单因素方差分析，进一步两两比较采用LSD-t检验（方差齐时）或Dunnett's $T3$法（方差不齐时）。检验水准$\alpha=0.05$。

3 结果

3.1 复方芩柏颗粒对大鼠DAI评分的影响

实验期间，无大鼠死亡。正常组大鼠精神状态良好，饮食活动正常，隐血实验为阴性；模型组大鼠精神萎靡，嗜睡，进食/水量下降，粪便可见鲜红血液；阳性对照组和复方芩柏颗粒组大鼠精神状况、进食/水量、粪便带血情况明显好于模型组。与正常组[（0.07±0.05）分]比较，模型组大鼠的DAI评分[（3.14±0.29）分]显著升高（$P<0.01$）；与模型组比较，阳性对照组、复方芩柏颗粒组大鼠的DAI评分[（1.44±0.33）、（1.70±0.35）分]均显著降低（$P<0.01$）。

3.2 复方芩柏颗粒对大鼠血清炎症因子水平的影响

与正常组比较，模型组大鼠血清促炎因子TNF-α、IL-6水平均显著升高，抑炎因子TGF-β_1、IL-10水平均显著降低（$P<0.01$）；与模型组比较，各药物组大鼠血清促炎因子水平均显著降低，抑炎因子水平均显著升高（$P<0.01$）。结果见表4。

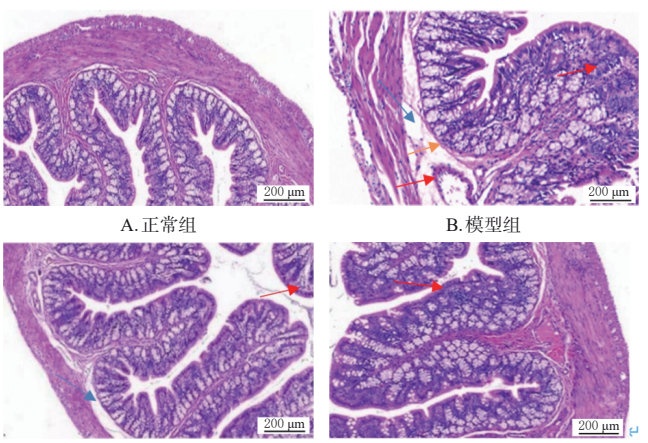
表4 各组大鼠血清TNF-α、IL-6、TGF-β_1、IL-10水平比较（$\bar{x}\pm s$，$n=9$，pg/mL）

组别	TNF-α	IL-6	TGF-β_1	IL-10
正常组	58.44±10.81	62.33±10.30	82.44±6.15	176.44±14.71
模型组	96.44±10.17[a]	109.22±14.42[a]	47.89±7.67[a]	123.00±8.29[a]
阳性对照组	70.67±7.30[b]	69.44±11.04[b]	61.11±6.27[b]	143.11±11.96[b]
复方芩柏颗粒组	77.22±10.41[b]	79.67±11.63[b]	57.00±7.65[b]	139.11±8.88[b]

a：与正常组比较，$P<0.01$；b：与模型组比较，$P<0.01$。

3.3 复方芩柏颗粒对大鼠结肠组织病理形态的影响

正常组大鼠结肠组织结构完整，腺体排列规整，隐窝正常，黏膜无损伤，无明显中性粒细胞等炎症细胞浸润和细胞损伤，其病理学评分为0分；模型组大鼠结肠组织结构受损严重，黏膜层变薄，腺体缺失或排列不整齐，隐窝畸形，杯状细胞明显减少，组织间隙水肿，可见炎症细胞弥散分布，溃疡侵及肌层，出现细胞水肿及坏死，其病理学评分[（3.67±0.50）分]较正常组显著升高（$P<0.01$）；阳性对照组和复方芩柏颗粒组大鼠结肠组织整体结构基本完整，腺体排列基本整齐，肠黏膜轻度水肿，可见较多正常杯状细胞及肠隐窝，炎症细胞明显减少，细胞损伤均好转，其病理学评分[（1.44±0.53）、（1.56±0.53）分]较模型组显著降低（$P<0.01$）。结果见图1。



A. 正常组　B. 模型组

C. 阳性对照组　D. 复方芩柏颗粒组

红色箭头：炎症细胞浸润；蓝色箭头：组织水肿；橙色箭头：腺体缺失。

图1 各组大鼠结肠组织病理形态观察显微图（HE染色）

3.4 复方芩柏颗粒对大鼠粪便中SCFA含量的影响

与正常组比较，模型组大鼠粪便中乙酸、丙酸、丁酸含量均显著降低（$P<0.01$）。与模型组比较，各药物组大鼠粪便中乙酸、丙酸、丁酸含量均显著升高（$P<0.05$或$P<0.01$）。结果见表5。

表5 各组大鼠粪便中SCFA含量比较（$\bar{x}\pm s$，$n=9$，μg/mL）

组别	乙酸	丙酸	丁酸
正常组	846.11±61.56	426.53±35.12	487.72±74.10
模型组	534.76±71.93[a]	247.10±42.43[a]	233.75±48.01[a]
阳性对照组	717.41±113.00[b]	351.25±49.77[b]	526.18±125.93[b]
复方芩柏颗粒组	635.29±109.12[c]	292.94±59.33[c]	388.82±154.62[b]

a：与正常组比较，$P<0.01$；b：与模型组比较，$P<0.01$；c：与模型组比较，$P<0.05$。

3.5 复方芩柏颗粒对大鼠结肠组织中GPR41、GPR43、GPR109A蛋白表达的影响

与正常组比较，模型组大鼠结肠组织中GPR41、GPR43、GPR109A蛋白的表达均显著下调（$P<0.01$）；与模型组比较，各药物组大鼠结肠组织中GPR41、GPR43、GPR109A蛋白的表达均显著上调（$P<0.01$）。结果见表6、图2。

表6 各组大鼠结肠组织中GPR41、GPR43、GPR109A蛋白表达比较（$\bar{x}\pm s$，$n=9$）

组别	GPR41	GPR43	GPR109A
正常组	1.157±0.082	0.966±0.022	0.998±0.085
模型组	0.281±0.046[a]	0.310±0.024[a]	0.311±0.042[a]
阳性对照组	0.773±0.070[b]	0.793±0.052[b]	0.720±0.030[b]
复方芩柏颗粒组	0.624±0.110[b]	0.543±0.055[b]	0.550±0.046[b]

a：与正常组比较，$P<0.01$；b：与模型组比较，$P<0.01$。

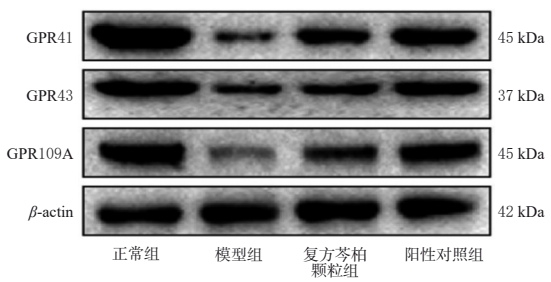


图2 各组大鼠结肠组织中GPR41、GPR43、GPR109A蛋白表达的电泳图

3.6 复方芩柏颗粒对大鼠结肠组织中GPR41、GPR43、GPR109A mRNA的表达影响

与正常组比较，模型组大鼠结肠组织中GPR41、GPR43、GPR109A mRNA的表达均显著下调（$P<0.01$）；与模型组比较，各药物组大鼠结肠组织中GPR41、GPR43、GPR109A mRNA的表达均显著上调（$P<0.01$）。结果见表7。

表7 各组大鼠结肠组织中GPR41、GPR43、GPR109A mRNA表达比较（$\bar{x}\pm s$，$n=9$）

组别	GPR41 mRNA	GPR43 mRNA	GPR109A mRNA
正常组	0.940±0.090	1.019±0.050	0.961±0.076
模型组	0.216±0.033[a]	0.362±0.020[a]	0.389±0.048[a]
阳性对照组	0.721±0.039[b]	0.750±0.062[b]	0.873±0.075[b]
复方芩柏颗粒组	0.471±0.048[b]	0.619±0.035[b]	0.699±0.029[b]

a：与正常组比较，$P<0.01$；b：与模型组比较，$P<0.01$。

4 讨论

UC是炎症性肠病的一种亚型，因肠道长期遭受炎症刺激而出现肠道屏障功能受损，导致TNF-α、IL-6等炎症介质释放增加，从而促进炎症细胞在肠道组织中的渗透，进一步加剧炎症反应，破坏肠黏膜，最终形成恶性循环[13]。本研究结果显示，复方芩柏颗粒可有效降低UC大鼠血清中促炎因子TNF-α、IL-6水平，升高抗炎因子TGF-β1、IL-10水平，从而缓解肠道炎症反应。

SCFA是肠道细菌消化膳食纤维而生成的产物，因具有较强的抗炎、抗癌作用而备受学者关注[14]。研究指出，乙酸、丙酸和丁酸是最重要的SCFA，在肠道总SCFA中的占比高达95%[15]。一项荟萃分析显示，与健康受试者相比，UC患者的总SCFA、乙酸、丙酸和戊酸含量均明显下降[16]。SCFA可诱导先天性淋巴细胞和$CD4^+$ T细胞分泌IL-22，对维持肠道黏膜免疫功能至关重要[17]；此外，SCFA还能上调紧密结合蛋白的表达，从而维持肠道屏障的完整性[18]。其中，乙酸可通过调控GPR43信号通路来介导抗炎作用的发挥；丙酸可通过抑制组蛋白脱乙酰酶的活性来抑制相关转录因子的表达，从而抑制树突状细胞的分化和功能[15]；丁酸是主要的四碳SCFA之一，是结肠细胞的主要能量来源，可通过抑制核因子κB途径和减少促炎基因表达来发挥抗炎作用[19]。研究证实，结肠组织中SCFA含量的降低与炎症性肠病、转移性结肠炎和抗生素相关性腹泻的发生关联密切[20]；同时，UC患者体内SCFA含量的变化还与疾病活动有关，缓解期患者体内的丁酸含量明显高于活动性疾病患者[16]。本研究结果显示，UC大鼠粪便样品中乙酸、丙酸和丁酸含量均显著低于正常组，而复方芩柏颗粒和美沙拉秦肠溶片均能明显回调其粪便样品中乙酸、丙酸和丁酸的含量。

GPR（如GPR41、GPR43、GPR109A）是SCFA的作用靶点，也是其受体，GPR可识别肠道中的SCFA，并通过与其结合而启动一系列信号通路，调节肠道功能。研究表明，SCFA/GPR信号通路与免疫细胞活性有关，其被激活后可抑制促炎因子（TNF-α、IL-6）的产生，并促进抗炎因子（TGF-β_1、IL-10）的分泌；同时，该通路可通过调节肠道上皮细胞的紧密连接蛋白来维持肠道屏障的完整性，并可促进肠黏膜分泌相关物质来抵御各类病原微生物的入侵[21]。本研究结果显示，与正常组比较，UC大鼠结肠组织中GPR41、GPR43、GPR109A蛋白及mRNA的表达均显著下调；而复方芩柏颗粒和美沙拉秦肠溶片均可显著上调UC大鼠结肠组织中GPR41、GPR43、GPR109A蛋白及mRNA的表达，提示复方芩柏颗粒抗UC作用的发挥可能与激活SCFA/GPR信号通路有关。

综上所述，复方芩柏颗粒能减轻UC大鼠的肠道炎症及肠道黏膜病理损伤，上述作用可能与恢复肠道SCFA的含量及其作用靶点GPR的表达有关，但关于该药的药效物质基础及具体机制仍有待进一步探索。

参考文献

[1] KRAUTKRAMER K A，FAN J，BÄCKHED F. Gut microbial metabolites as multi-kingdom intermediates[J]. Nat Rev Microbiol，2021，19（2）：77-94.

[2] GARRETT W S. Immune recognition of microbial metabolites[J]. Nat Rev Immunol，2020，20（2）：91-92.

[3] WANG M，FU R J，XU D Q，et al. Traditional Chinese medicine：a promising strategy to regulate the imbalance of bacterial flora，impaired intestinal barrier and immune function attributed to ulcerative colitis through intestinal microecology[J]. J Ethnopharmacol，2024，318（Pt. A）：

116879.
[4] ZHANG S S, ZHAO L Q, SHEN H, et al. International clinical practice guideline on the use of traditional Chinese medicine for ulcerative colitis by Board of Specialty Committee of Digestive System Disease of World Federation of Chinese Medicine Societies: 2023[J]. Phytother Res, 2024, 38(2): 970-999.
[5] 黄祚菊,李丽,洪志明,等. 止痛如神汤保留灌肠治疗慢性非特异性溃疡性直肠炎60例临床观察[J]. 中医杂志, 2010, 51(9): 804-807.
HUANG Z J, LI L, HONG Z M, et al. Retention enema with Zhitong rushen decoction for chronic non-specific ulcerative proctitis: clinical observation on 60 cases[J]. J Tradit Chin Med, 2010, 51(9): 804-807.
[6] 胡响当,陈艳,罗敏,等. 复方芩柏颗粒剂保留灌肠治疗湿热下注型溃疡性结肠炎临床研究[J]. 亚太传统医药, 2016, 12(6): 148-149.
HU X D, CHEN Y, LUO M, et al. Clinical research on Compound qinbai granules for retention enema in the treatment of ulcerative colitis with damp-heat descending syndrome[J]. Asia-Pac Tradit Med, 2016, 12(6): 148-149.
[7] 肖佑,肖超,肖戈,等. 复方芩柏颗粒剂通过靶向干预miR-199-3p对溃疡性结肠炎的改善作用[J]. 中国临床药理学杂志, 2020, 36(9): 1100-1103.
XIAO Y, XIAO C, XIAO G, et al. Improvement of ulcerative colitis by targeted intervention of miR-199-3p with Compound qinbai granule[J]. Chin J Clin Pharmacol, 2020, 36(9): 1100-1103.
[8] 茶亚飞,郭雪艳,李宝晶,等. 葡聚糖硫酸钠自由饮用与灌胃诱导小鼠溃疡性结肠炎模型的比较[J]. 中国药理学通报, 2021, 37(5): 735-740.
CHA Y F, GUO X Y, LI B J, et al. Comparison of murine models of ulcerative colitis induced by free drinking and intragastric administration of dextran sulfate sodium with different concentrations[J]. Chin Pharmacol Bull, 2021, 37(5): 735-740.
[9] 孙敬方. 动物实验方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2001: 116-125.
SUN J F. Methodology of animal experimentation[M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2001: 116-125.
[10] 李克亚,王真权,张佳敏. 复方芩柏颗粒剂对溃疡性结肠炎大鼠结肠组织中RORγt、Foxp3表达的影响[J]. 中成药, 2019, 41(6): 1411-1415.
LI K Y, WANG Z Q, ZHANG J M. Effect of Compound qinbai granule on the expression of RORγt and Foxp3 in colon tissue of ulcerative colitis rats[J]. Chin Tradit Pat Med, 2019, 41(6): 1411-1415.
[11] 洪译,王真权,罗雯鹏. 复方芩柏颗粒对溃疡性结肠炎大鼠Th1/Th2、Th17/Treg细胞稳态影响[J]. 环球中医药, 2024, 17(4): 565-571.
HONG Y, WANG Z Q, LUO W P. Effect of Fufang qinbai granules on Th1/Th2 and Th17/Treg cell homeostasis in rats with ulcerative colitis[J]. Glob Tradit Chin Med, 2024, 17(4): 565-571.
[12] 岑水梅,邹颖,曾家炀,等. 黄芩汤通过调节色氨酸代谢激活AhR修复溃疡性结肠炎肠道屏障的作用机制研究[J]. 中国中药杂志, 2024, 49(20): 5555-5565.
CEN S M, ZOU Y, ZENG J Y, et al. Mechanism of Huangqin decoction in repairing intestinal barrier of ulcerative colitis by regulating tryptophan metabolism and activating AhR[J]. Chin J Chin Mater Med, 2024, 49(20): 5555-5565.
[13] KONG C, YANG M F, YUE N N, et al. Restore intestinal barrier integrity: an approach for inflammatory bowel disease therapy[J]. J Inflamm Res, 2024, 17: 5389-5413.
[14] MARTIN-GALLAUSIAUX C, MARINELLI L, BLOTTIÈRE H M, et al. SCFA: mechanisms and functional importance in the gut[J]. Proc Nutr Soc, 2021, 80(1): 37-49.
[15] DU Y H, HE C H, AN Y C, et al. The role of short chain fatty acids in inflammation and body health[J]. Int J Mol Sci, 2024, 25(13): 7379.
[16] VENTURA I, CHOMON-GARCÍA M, TOMÁS-AGUIRRE F, et al. Therapeutic and immunologic effects of short-chain fatty acids in inflammatory bowel disease: a systematic review[J]. Int J Mol Sci, 2024, 25(20): 10879.
[17] 孟颖,张志华. 先天淋巴样细胞免疫及相关功能的研究进展[J]. 中国免疫学杂志, 2023, 39(3): 663-669.
MENG Y, ZHANG Z H. Advances in innate lymphoid cell immunity and related functions[J]. Chin J Immunol, 2023, 39(3): 663-669.
[18] WEI W, MU S C, HAN Y, et al. Gpr174 knockout alleviates DSS-induced colitis via regulating the immune function of dendritic cells[J]. Front Immunol, 2022, 13: 841254.
[19] PENG K X, XIAO S Q, XIA S H, et al. Butyrate inhibits the HDAC8/NF-κB pathway to enhance Slc26a3 expression and improve the intestinal epithelial barrier to relieve colitis[J]. J Agric Food Chem, 2024, 72(44): 24400-24416.
[20] NAEEM H, HASSAN H U, SHAHBAZ M, et al. Role of probiotics against human cancers, inflammatory diseases, and other complex malignancies[J]. J Food Biochem, 2024, 2024: 6632209.
[21] SUN M M, WU W, LIU Z J, et al. Microbiota metabolite short chain fatty acids, GPCR, and inflammatory bowel diseases[J]. J Gastroenterol, 2017, 52(1): 1-8.

（收稿日期：2024-08-12　修回日期：2025-01-03）
（编辑：张元媛）