

黄芪甲苷对 TNBS 诱导大鼠溃疡性结肠炎及
肝损伤的保护作用

Protective effects of astragaloside IV on TNBS - induced ulcerative colitis and liver injury in rats

吴采栋¹, 侯万熙¹, 臧凯宏^{1,2}

(1. 甘肃中医药大学, 甘肃 兰州 730000; 2. 甘肃省中药药理与毒理学重点实验室, 甘肃 兰州 730000)

WU Cai - dong¹, HOU Wan - xi¹,
ZANG Kai - hong^{1,2}

(1. Gansu University of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730000, Gansu Province, China; 2. Key Laboratory of TCM Pharmacology and Toxicology of Gansu Province, Lanzhou 730000, Gansu Province, China)

基金项目: 国家自然科学基金资助项目
(81860728)

作者简介: 吴采栋(1999 -), 男, 在读硕士研究生, 主要从事溃疡性结肠炎发病机制及中药治疗研究

通信作者: 臧凯宏, 副教授
MP: 13893443832

E - mail: zangkh@163. com

摘要:目的 探讨黄芪甲苷(AS-IV)对三硝基苯磺酸(TNBS)诱导的大鼠溃疡性结肠炎(UC)肠道损伤及继发性肝损伤的保护作用及其机制。方法 将Wistar大鼠随机分为正常对照组、UC模型组、低、中、高剂量组,每组10只。采用TNBS灌肠法制备UC大鼠模型,造模后第2天开始,低、中、高剂量组灌胃分别给予25、50、100 mg·kg⁻¹ AS-IV,连续6 d。检测大鼠一般情况、结肠组织病理学评分、肝功能,酶联免疫吸附实验(ELISA)法检测血清、结肠和肝组织炎症因子水平,蛋白印迹法(Western blot)检测结肠紧密连接蛋白(ZO-1、Occludin)和肝组织抗氧化酶相对表达水平。结果 正常组,模型组、低、中、高剂量实验组,血清肿瘤坏死因子-α(TNF-α)水平分别为(246.30±23.39)、(308.70±61.39)、(279.10±45.76)、(240.80±16.61)和(233.60±30.14)pg·mL⁻¹,血清IL-1β水平分别为(23.93±14.82)、(82.42±20.84)、(69.46±22.23)、(40.92±11.21)和(35.42±10.34)pg·mL⁻¹,肠道TNF-α水平分别为(101.60±11.18)、(158.70±23.47)、(146.40±17.90)、(115.70±21.06)和(91.84±21.57)pg·mL⁻¹,肠道IL-1β水平分别为(724.60±78.73)、(1043.00±106.32)、(836.35±103.35)、(774.60±133.68)和(694.50±40.84)pg·mL⁻¹,结肠组织中紧密连接蛋白ZO-1蛋白相对表达水平分别为1.01±0.01、0.48±0.01、0.46±0.01、0.61±0.09和1.15±0.10,结肠组织中紧密连接蛋白Occludin蛋白相对表达水平分别为1.00±0.01、0.64±0.11、0.57±0.13、0.73±0.10和1.02±0.13,肝脏组织中TNF-α水平分别为(1727.00±223.70)、(2008.00±220.40)、(1762.00±45.19)、(1723.00±49.45)和(1680.00±103.10)pg·mg⁻¹,肝脏组织中IL-1β水平分别为(1317.00±331.40)、(2158.00±730.90)、(1546.00±258.90)、(1806.00±523.40)和(1121.00±84.62)pg·mg⁻¹,肝脏组织中MDA水平分别为(0.98±0.15)、(1.51±0.29)、(1.29±0.30)、(1.15±0.12)和(1.06±0.21)nmol·mg⁻¹,肝脏组织中还原型谷胱甘肽(GSH)水平分别为(8.46±0.60)、(5.84±0.49)、(6.30±0.27)、(7.48±0.50)和(8.07±0.60)μmol·gProt⁻¹,肝脏组织中谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)水平分别为(666.90±68.39)、(481.00±19.16)、(562.80±45.61)、(620.20±12.13)和(658.80±18.11)U·mgProt⁻¹。中、高剂量实验组的上述指标与模型组比较,在统计学上差异均有统计学意义(均P<0.05)。结论 AS-IV能有效改善TNBS诱导的大鼠UC肠道和肝脏损伤,其机制可能与修复肠黏膜屏障、抑制炎症反应和改善肝脏抗氧化功能有关。

关键词:黄芪甲苷;溃疡性结肠炎;肠黏膜屏障;炎症;抗氧化;肝损伤

DOI: 10.13699/j.cnki.1001-6821.2025.16.012

中图分类号: R28 文献标志码: A

文章编号: 1001-6821(2025)16-2317-07

Abstract: Objective To investigate the protective effect and

mechanism of astragaloside IV (AS-IV) on intestinal injury and secondary liver injury in rats with ulcerative colitis (UC) induced by trinitrobenzene sulfonic acid (TNBS). **Methods** Wistar rats were randomly divided into normal control group, UC model group and AS-IV experimental low, medium and high dose groups, with 10 rats in each group. The UC rat model was prepared by TNBS enema. AS-IV (25, 50, 100 mg · kg⁻¹) or sulfasalazine (SASP, 300 mg · kg⁻¹) was administered intragastrically for 6 consecutive days starting from the second day after modeling. The general condition, colonic histopathological score, and liver function of the rats were examined. The levels of inflammatory factors in serum, colon and liver tissues were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The expressions of tight junction proteins (ZO-1, Occludin) in colon and antioxidant enzymes in liver tissues were detected by Western blot. **Results** In the normal group, model group, low, medium and high dose experimental groups, the serum TNF-α levels were (246.30 ± 23.39), (308.70 ± 61.39), (279.10 ± 45.76), (240.80 ± 16.61) and (233.60 ± 30.14) pg · mL⁻¹, and the serum IL-1β levels were (23.93 ± 14.82), (82.42 ± 20.84), (69.46 ± 22.23), (40.92 ± 11.21) and (35.42 ± 10.34) pg · mL⁻¹, respectively. The intestinal TNF-α levels were (101.60 ± 11.18), (158.70 ± 23.47), (146.40 ± 17.90), (115.70 ± 21.06) and (91.84 ± 21.57) pg · mL⁻¹, and the intestinal IL-1β levels were (724.60 ± 78.73), (1 043.00 ± 106.32), (836.35 ± 103.35), (774.60 ± 133.68) and (694.50 ± 40.84) pg · mL⁻¹, respectively. The relative expression levels of tight junction protein ZO-1 in colon tissue were 1.01 ± 0.01, 0.48 ± 0.01, 0.46 ± 0.01, 0.61 ± 0.09 and 1.15 ± 0.10, and the relative expression levels of tight junction protein Occludin in colon tissue were 1.00 ± 0.01, 0.64 ± 0.11, 0.57 ± 0.13, 0.73 ± 0.10 and 1.02 ± 0.13, respectively. The levels of TNF-α in liver tissues were (1 727.00 ± 223.70), (2 008.00 ± 220.40), (1 762.00 ± 45.19), (1 723.00 ± 49.45), and (1 680.00 ± 103.10) pg · mg⁻¹, and the levels of IL-1β in liver tissues were (1 317.00 ± 331.40), (2 158.00 ± 730.90), (1 546.00 ± 258.90), (1 806.00 ± 523.40), and (1 121.00 ± 84.62) pg · mg⁻¹. The MDA levels in liver tissues were (0.98 ± 0.15), (1.51 ± 0.29), (1.29 ± 0.30), (1.15 ± 0.12) and (1.06 ± 0.21) nmol · mg⁻¹, the reduced glutathione (GSH) levels in liver tissues were (8.46 ± 0.60), (5.84 ± 0.49), (6.30 ± 0.27), (7.48 ± 0.50) and (8.07 ± 0.60) μmol · gProt⁻¹, the glutathione peroxidase (GSH-PX) levels in liver tissues were (666.90 ± 68.39), (481.00 ± 19.16), (562.80 ± 45.61), (620.20 ± 12.13) and (658.80 ± 18.11) U · mgProt⁻¹. The above indicators in the medium and high dose experimental groups were statistically significant compared with the model group (all *P* < 0.05). **Conclusion** AS-IV can effectively improve intestinal and liver injury in rats with UC induced by TNBS. The mechanism may be related to repairing intestinal mucosal barrier, inhibiting inflammatory response and improving liver antioxidant function.

Key words: astragaloside IV; ulcerative colitis; intestinal mucosal barrier; inflammation; antioxidant; liver injury

溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 是一种慢性、复发性炎症性肠病, 发病率呈上升趋势, 严重影响患者生活质量^[1]。肠黏膜屏障受损和炎症反应与 UC 发病密切相关^[2-3]。UC 可引起肝等全身多系统损害, 继发性肝损伤机制与肠源性内毒素移位密切相关^[4]。修复肠黏膜屏障, 阻断肠肝轴信号传导可能是防治 UC 及其肝并发症的途径。黄芪甲苷 (astragaloside IV, AS-IV) 是黄芪主要活性成分, 具有抗炎、抗氧化和免疫调节等药理活性^[5]。AS-IV 能够减轻实验性结肠炎动物的肠道炎症和脂多糖引起的肝损伤^[6,7], 但其对 UC 肠道损伤及继发性肝损伤的协同保护作用尚未见报道。本研究采用 2,4,6-三硝基苯磺酸 (2,4,6-trinitrobenzenesulfonic acid, TNBS) 诱导

大鼠 UC 模型, 系统评估 AS-IV 对 UC 肠道损伤及继发性肝损伤的影响, 探讨其对肠黏膜屏障、炎症反应和氧化应激的调节机制, 旨在为 AS-IV 防治 UC 及并发症提供实验依据, 为中药现代化和创新药研发提供新思路。

材料与方 法

1 材料

动物 雄性 Wistar 大鼠, 体质量 200 ± 20 g, 购自北京华阜康生物科技股份有限公司, 生产许可证号: SCXK(京)2024-0003, 使用许可证号: SYXK(甘)2021-004, 动物饲养于 SPF 级环境, 温度 22 ± 2 °C, 相

对湿度(50 ± 10)% , 12 h 明暗交替, 自由进食和饮水。适应性饲养 7 d 后开始实验。所有动物实验操作均经兰州大学实验动物管理和使用委员会批准(伦理批号: 20231001), 并严格遵循相关操作规范。

药品与试剂 AS - IV, 纯度 > 98%, 批号: 20231012, 购自南京泽朗医药有限公司; 2,4,6 - 三硝基苯磺酸(trinitrobenzene sulfonic acid, TNBS), 编号: MB5547, 购自大连美仑生物技术有限公司; 大鼠肿瘤坏死因子 - α (tumor necrosis factor - α , TNF - α)、白介素 - 1 β (Interleukin - 1 β , IL - 1 β) 试剂盒购自 R&D Systems 公司; 大鼠谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶(catalase, CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH - Px) 活性以及还原型谷胱甘肽(glutathione, GSH) 和丙二醛(malondialdehyde, MDA) 试剂盒, 均购自南京建成生物工程研究所; 兔抗大鼠 ZO - 1、Occludin, 均购自英国 abcam 公司; BCA 蛋白定量试剂盒(P0009 - 1), 购自上海碧云天公司。

仪器 Multiskan FC 酶标仪, 美国赛默飞世尔科技公司生产, 1645050 基础电泳仪、Mini - PROTEAN Tetra 电泳槽和小型 Trans - Blot 转印槽, 均美国 Bio - Rad 公司生产。

2 实验方法

2.1 UC 模型建立与评估

参照 MORRIS 等^[8] 研究方法并稍作改进, 用 TNBS 灌肠法制备大鼠 UC 模型。禁食 24 h 后, 大鼠腹腔注射戊巴比妥钠(50 mg · kg⁻¹) 麻醉, 取直径 2 mm 聚乙烯管经肛门插入结肠约 8 cm, 缓慢注入 5% TNBS 乙醇溶液(TNBS 每只 2 mg), 保持头低尾高位 1 min 防止药液流出。正常对照组灌肠等体积 50% 乙醇溶液。TNBS 溶液经肛门灌肠给药后, 在动物麻醉苏醒前观察溶液保留情况, 若溶液未从肛门流出, 表明药物已完全滞留于结肠腔内并与肠壁充分接触, 此为造模技术成功的即时判定指标。结合造模后 48 h 疾病活动指数评分 ≥ 2 分作为生物学效应的验证标准, 2 项指标均符合者判定为造模成功, 该标准确保了化学性肠道损伤的一致性和实验结果的可重复性。每日评估大鼠疾病活动指数(disease activity index, DAI), 参照 COOPER 的标准^[9], 包括体重减轻(0 ~ 4 分)、粪便性状(0 ~ 4 分)和直肠出血(0 ~ 4 分) 3 项指标, 总分 0 ~ 12 分, 分值越高提示病情越重。

2.2 动物分组与处置方法

造模后, 将大鼠随机分为 UC 模型组和低、中、高剂量组, 每组 10 只。除正常对照组外, 其余各组均用 TNBS 灌肠法制备 UC 模型。造模次日, 低、中、高剂量组大鼠分别灌胃给予 25、50 和 100 mg · kg⁻¹ 的 AS - IV, 每日 1 次, 连续 6 天。正常对照组和 UC 模型组给予等体积的 0.5% 羧甲基纤维素钠溶液(sodium carboxymethyl cellulose, CMC - Na)。

2.3 标本采集与处理

给药结束禁食 12 h 后, 大鼠用 3% 戊巴比妥钠(50 mg · kg⁻¹, 腹腔注射) 麻醉, 经腹主动脉采血, 3000 rpm · min⁻¹ 离心 10 min, 分离血清, 置 - 80 °C 冰箱保存, 备用。剖腹迅速取出结肠和肝脏组织, 冰生理盐水冲洗。结肠组织分离断后, 取距肛门 5 cm 处结肠约 0.5 cm, 同时取肝脏组织, 4% 多聚甲醛固定 24 h 后梯度乙醇脱水, 二甲苯透明, 石蜡包埋, 制备 5 μ m 切片, 常规苏木精 - 伊红(hematoxylineosin, HE) 染色后光镜观察组织病理改变。取部分新鲜结肠和肝组织, 称重后按质量体积比 1:9 加入预冷磷酸盐缓冲液制备 10% 匀浆, 4 °C, 12 000 r · min⁻¹ 离心 10 min, 取上清分装, 置 - 80 °C 冰箱保存待测。

2.4 生化指标测定

用南京建成生物工程研究所生产的 ALT、AST 和 ALP 测定试剂盒, 严格按说明书操作, 测定血清 ALT、AST、ALP 水平。采用酶联免疫吸附试验(enzyme - linked immunosorbent assay, ELISA) 法检测血清及组织匀浆上清液中 TNF - α 和 IL - 1 β 含量, 实验操作严格遵循说明书进行。

2.5 组织病理学评估

HE 染色结肠及肝脏组织, 切片经二甲苯脱蜡, 梯度乙醇水化后, 于苏木素染液染核 10 min, 自来水冲洗 10 min, 1% 伊红染液复染 3 min。常规脱水透明后, 中性树脂胶封固, 光镜下观察。参照 MARCHAL 等标准进行结肠组织病理学评分(histopathological score, HPS)^[10], 包括炎症细胞浸润程度(0 分, 无; 1 分, 轻度; 2 分, 中度; 3 分, 重度)和组织损伤程度(0 分, 无; 1 分, 黏膜层; 2 分, 黏膜下层; 3 分, 肌层及以下) 2 项指标, 分值越高提示组织病理学改变越严重。

2.6 蛋白免疫印迹分析

提取结肠和肝脏组织总蛋白, 二喹啉甲酸法(bicinchoninic acid assay, BCA) 测定蛋白浓度。取 30 μ g 蛋白进行十二烷基硫酸铵 - 聚丙烯酰胺凝胶电泳(sodium dodecyl sulfate - polyacrylamide gel electro-

phoresis, SDS - PAGE), 恒流转印至聚偏氟乙烯膜 (polyvinylidene fluoride membrane, PVDF)。5% 脱脂奶粉室温封闭 1 h, 分别加入兔抗 ZO - 1 (1:1 000)、Occludin (1:1 000) 和 β - actin (1:5 000) 一抗, 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜。TBST 洗涤 3 次, 每次 5 min。加入辣根过氧化物酶标记羊抗兔二抗 (1:3 000), 室温孵育 1 h。TBST 洗涤 3 次, 每次 5 min。增强化学发光 (enhanced chemiluminescence, ECL) 试剂盒显影, 曝光和显影, 用 ImageJ 软件分析条带灰度值。

2.7 氧化应激指标检测

用南京建成生物工程研究所的试剂盒, 比色法测定肝组织匀浆上清液中 SOD、CAT 和 GSH - Px 活性以及 GSH 和 MDA 含量, 操作严格按试剂盒说明书进行。

3 统计学处理

采用 SPSS 13.0 软件进行统计分析, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间比较用单因素方差分析 (One - way ANOVA), 组间两两比较用 LSD - *t* 检验。

结 果

1 黄芪甲苷减轻 TNBS 诱导的大鼠结肠炎

与正常对照组相比, TNBS 灌肠导致 UC 模型组大鼠 DAI 明显升高 ($P < 0.05$), 提示结肠炎模型构建成功。与模型组相比, 实验组中、高剂量均能明显降低 DAI 评分 (均 $P < 0.05$)。结果见表 1。结肠组织病理学结果显示, 正常对照组大鼠结肠黏膜上皮完整, 腺窝结构规则, 无炎性细胞浸润, 而 UC 模型组可见严重的黏膜上皮损伤, 腺窝扭曲变形, 杯状细胞缺失, 黏膜固有层和黏膜下层有大量炎性细胞浸润。实验组中、高剂量与模型组相比, 组织病理学损伤明显减轻, 表现为黏膜结构较完整, 炎性细胞浸润减少。HPS 评分的结果表明, 模型组结肠组织 HPS 显著高于正常对照组 ($P < 0.05$), 中、高剂量组的评分均显著低于模型组 (均 $P < 0.05$), 且与剂量正相关 ($P < 0.05$), 结果见图 1, 表 1。

2 AS - IV 改善肠黏膜屏障功能

Western blot 分析结果显示: 与正常对照组相比, UC 模型组结肠组织紧密连接蛋白 ZO - 1 和 Occludin 的表达水平均显著降低 (均 $P < 0.05$), 提示肠黏膜屏障功能受损。中、高剂量 AS - IV 给药后, ZO - 1 和 Occludin 的表达均显著上调 (均 $P < 0.05$), 表明结肠黏膜完整性和屏障功能得到改善, 见表 2。

3 AS - IV 降低血清和结肠组织炎症因子水平

ELISA 结果显示: 与正常对照组比较, UC 模型组

血清 TNF - α 和 IL - 1 β 水平均显著升高 (均 $P < 0.05$)。AS - IV 给药后, 血清 TNF - α 和 IL - 1 β 浓度呈剂量依赖性降低 ($P < 0.05$)。结肠组织匀浆中 TNF - α 和 IL - 1 β 水平变化趋势与血清相一致, 模型组显著高于正常组 ($P < 0.05$), AS - IV 给药组剂量依赖性降低 ($P < 0.05$), 见表 3。

4 AS - IV 减轻 TNBS 诱导的肝损伤

生化指标检测结果显示: 与正常对照组相比, UC 模型组血清 ALT、AST 和 ALP 水平以及肝脏组织 TNF - α , IL - 1 β 均显著升高 (均 $P < 0.05$), 提示结肠炎引起继发性肝脏损伤。中、高剂量组血清 ALT、AST 和 ALP 水平以及肝脏组织 TNF - α 和 IL - 1 β 较模型组均显著降低 (均 $P < 0.05$)。肝组织病理学检查进一步证实, 正常组肝细胞索排列整齐, 细胞大小正常, 模型组肝细胞索排列发生紊乱, 可见大量炎细胞浸润及点灶状肝细胞坏死, AS - IV 给药后, 炎细胞浸润减少, 中、高剂量组未见明显炎细胞浸润。结果见表 4 及图 2。

表 1 黄芪甲苷 (AS - IV) 对溃疡性结肠炎 (UC) 大鼠疾病活动指数 (DAI) 及结肠组织病理学评分 (HPS) 的影响 ($n = 10, \bar{x} \pm s$)

Table 1 Effects of astragaloside IV (AS - IV) on disease activity index (DAI) and histopathological score (HPS) of colon tissue in rats with ulcerative colitis ($n = 10, \bar{x} \pm s$)

Groups	Dose (mg \cdot kg $^{-1}$)	DAI	HPS
Normal	-	0.02 \pm 0.01	0.04 \pm 0.01
Model	-	4.36 \pm 0.59*	3.80 \pm 0.79*
Experimental - L	25	3.96 \pm 0.64	3.40 \pm 0.51
Experimental - M	50	2.97 \pm 0.59 [#]	2.20 \pm 0.42 [#]
Experimental - H	100	2.69 \pm 0.40 [#]	1.90 \pm 0.32 [#]

Compared with normal group, * $P < 0.05$; Compared with model group, [#] $P < 0.05$

表 2 黄芪甲苷对 UC 大鼠结肠组织中紧密连接蛋白 ZO - 1 和 Occludin 蛋白相对表达水平的影响 ($n = 10, \bar{x} \pm s$)

Table 2 Effects of astragaloside IV on the relative expression levels of tight junction proteins ZO - 1 and occludin in colon tissue of UC rats ($n = 10, \bar{x} \pm s$)

Groups	Dose (mg \cdot kg $^{-1}$)	ZO - 1	Occludin
Normal	-	1.01 \pm 0.01	1.00 \pm 0.01
Model	-	0.48 \pm 0.01*	0.64 \pm 0.11*
Experimental - L	25	0.46 \pm 0.01	0.57 \pm 0.13
Experimental - M	50	0.61 \pm 0.09 [#]	0.73 \pm 0.10 [#]
Experimental - H	100	1.15 \pm 0.10 [#]	1.02 \pm 0.13 [#]

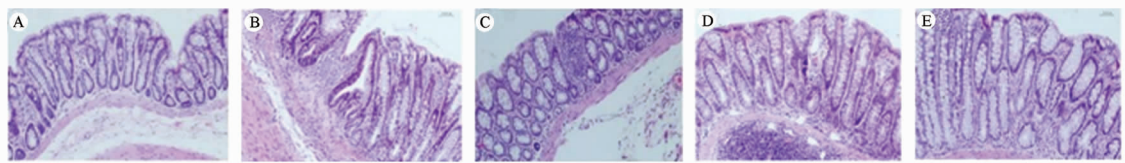
Compared with normal group, * $P < 0.05$; Compared with model group, [#] $P < 0.05$

表 3 黄芪甲苷IV对UC大鼠血清和结肠组织中肿瘤坏死因子- α (TNF- α)与白介素1 β (IL-1 β)水平影响的比较($\bar{x} \pm s$)**Table 3** Effects of astragaloside IV on the levels of tumor necrosis factor- α (TNF- α) and Interleukin-1 β (IL-1 β) in serum and colon tissue of UC rats ($n = 10, \bar{x} \pm s$)

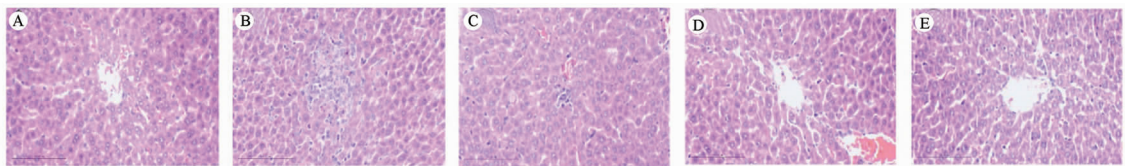
Groups	<i>n</i>	Dose (mg · kg ⁻¹)	TNF- α (pg · mL ⁻¹)	IL-1 β (pg · mL ⁻¹)	TNF- α (pg · mg ⁻¹)	IL-1 β (pg · mg ⁻¹)
			(serum)	(serum)	(gut)	(gut)
Normal	10	-	246.30 ± 23.39	23.93 ± 14.82	101.60 ± 11.18	724.60 ± 78.73
Model	10	-	308.70 ± 61.39*	82.42 ± 20.84*	158.70 ± 23.47*	1 043.00 ± 106.32*
Experimental - L	10	25	279.10 ± 45.76	69.46 ± 22.23	146.40 ± 17.90	836.35 ± 103.35*
Experimental - M	10	50	240.80 ± 16.61#	40.92 ± 11.21#	115.70 ± 21.06#	774.60 ± 133.68#
Experimental - H	10	100	233.60 ± 30.14#	35.42 ± 10.34#	91.84 ± 21.57#	694.50 ± 40.84#

Compared with normal group, * $P < 0.05$; Compared with model group, # $P < 0.05$ **表 4** 黄芪甲苷对UC大鼠血清谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、碱性磷酸酶(ALP)以及肝脏组织中肿瘤坏死因子- α (TNF- α)与白介素1 β (IL-1 β)水平的影响($\bar{x} \pm s$)**Table 4** Effects of astragaloside IV on serum levels of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), alkaline phosphatase (ALP), and levels of TNF- α and IL-1 β in liver tissue of UC rats ($n = 10, \bar{x} \pm s$)

Groups	ALT	AST	ALP	TNF- α	IL-1 β
	(U · L ⁻¹)	(U · L ⁻¹)	(U · 100 mL ⁻¹)	(pg · mg ⁻¹)	(pg · mg ⁻¹)
Normal	8.60 ± 0.98	22.18 ± 1.63	26.08 ± 5.29	1 727.00 ± 223.70	1 317.00 ± 331.40
Model	13.40 ± 0.56*	29.63 ± 1.77*	38.62 ± 4.34*	2 008.00 ± 220.40*	2 158.00 ± 730.90*
Experimental - L	11.22 ± 0.78	25.75 ± 1.60	33.01 ± 6.71	1 762.00 ± 45.19	1 546.00 ± 258.90#
Experimental - M	8.85 ± 0.75#	22.55 ± 2.13#	27.14 ± 1.27#	1 723.00 ± 49.45#	1 806.00 ± 523.40#
Experimental - H	8.27 ± 1.23#	21.00 ± 0.80#	25.28 ± 2.51#	1 680.00 ± 103.10#	1 121.00 ± 84.62#

Dose and *n* refer to tablet 1; Compared with normal group, * $P < 0.05$; Compared with model group, # $P < 0.05$ **图 1** AS-IV对UC大鼠结肠组织病理的影响($\times 100$)**Figure 1** The effect of AS-IV on the pathological changes of colonic tissue in UC rats ($\times 100$)

A: Normal group; B: Model group; C, D, E: Experimental - L, - M, - H group, respectively.

**图 2** AS-IV对UC大鼠肝脏组织病理的影响($\times 100$)**Figure 2** The effect of AS-IV on the pathological changes of liver tissue in UC rats ($\times 100$)

A: Normal group; B: Model group; C, D, E: Experimental - L, - M, - H group, respectively.

5 AS-IV对肝脏氧化应激状态的影响

与正常对照组相比,UC模型组大鼠肝组织匀浆中SOD、GSH、CAT和GSH-Px活性均显著降低(均 $P < 0.05$)。AS-IV给药后,与模型组相比,中、高剂量组的SOD、GSH、CAT和GSH-Px活性

均显著升高(均 $P < 0.05$),且与剂量呈正相关($P < 0.05$)。MDA在模型组大鼠肝脏中显著升高($P < 0.05$),而与模型组相比,中、高剂量组,MDA水平均显著下降(均 $P < 0.05$),且与剂量正相关(均 $P < 0.05$),见表3。

表 5 黄芪甲苷IV对UC大鼠肝脏组织超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)、还原型谷胱甘肽(GSH)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)、过氧化氢酶(CAT)水平的影响($n=10, \bar{x} \pm s$)

Table 5 Effects of astragaloside IV on the levels of superoxide dismutase (SOD), malondialdehyde (MDA), reduced glutathione (GSH), glutathione peroxidase (GSH-PX), and catalase (CAT) in liver tissue of UC rats ($n=10, \bar{x} \pm s$)

Groups	SOD ($U \cdot mg^{-1}$)	MDA ($nmol \cdot mg^{-1}$)	GSH ($umol \cdot gProt^{-1}$)	GSH-PX ($U \cdot mgProt^{-1}$)	CAT ($U \cdot gProt^{-1}$)
Normal	0.57 ± 0.04	0.98 ± 0.15	8.46 ± 0.60	666.90 ± 68.39	710.80 ± 153.60
Model	0.31 ± 0.02*	1.51 ± 0.29*	5.84 ± 0.49*	481.00 ± 19.16*	425.00 ± 104.10*
Experimental-L	0.38 ± 0.03	1.29 ± 0.03	6.30 ± 0.27	562.80 ± 45.61	511.10 ± 85.28
Experimental-M	0.46 ± 0.03 [#]	1.15 ± 0.12 [#]	7.48 ± 0.50 [#]	620.20 ± 12.13 [#]	573.20 ± 95.11 [#]
Experimental-H	0.49 ± 0.01 [#]	1.06 ± 0.21 [#]	8.07 ± 0.60 [#]	658.80 ± 18.11 [#]	669.50 ± 31.16 [#]

Compared with normal group, * $P < 0.05$; Compared with model group, [#] $P < 0.05$

讨 论

本研究用TNBS诱导的大鼠结肠炎模型,系统评估了AS-IV对UC肠道损伤及继发性肝损伤的保护作用,并探讨了其潜在的分子机制。结果表明,AS-IV能有效改善UC大鼠的临床症状、结肠组织病理学改变和肝功能异常,其作用机制与修复肠黏膜屏障、抑制炎症反应和改善氧化应激状态密切相关。

UC的发病机制复杂,目前认为异常的肠道炎症反应在其发生发展中起关键作用。TNBS诱导的结肠炎模型能较好地模拟UC的病理特征,因此广泛应用于药物作用机制的研究^[11]。本研究发现,TNBS灌肠后大鼠出现典型的UC临床表现如体重下降、腹泻和便血,DAI评分和结肠组织病理学评分均显著升高。给予AS-IV干预后,大鼠的临床症状均明显缓解,DAI评分和结肠组织病理学评分均显著降低,表明AS-IV对TNBS诱导的UC具有良好的治疗效果。这与既往研究结果相符,ZHANG等报道AS-IV通过抑制磷脂酰肌醇3-激酶(phosphatidylinositol3-kinase, PI3K)/蛋白激酶B(protein kinase B, AKT)信号通路减轻DSS诱导小鼠结肠炎^[12]。本研究进一步证实了AS-IV治疗UC的有效性,为其作为天然药物防治UC提供了实验依据。

肠黏膜屏障是机体防御外来病原体入侵的重要防线。UC时,紧密连接蛋白表达下调导致肠黏膜通透性增加是疾病发生的重要环节^[13]。ZO-1和Occludin是肠上皮细胞间紧密连接的关键结构蛋白,在维持肠黏膜完整性中发挥重要作用^[14]。本研究显示,TNBS诱导的UC大鼠结肠组织ZO-1和Occludin

表达均显著降低,给予AS-IV干预后,其表达均上调,提示AS-IV能通过增强紧密连接蛋白的表达,修复受损的肠黏膜屏障,减少肠道细菌和毒素的跨膜转运。这与LI等的研究结果一致,他们发现附子理中丸能通过上调Claudin-1、Occludin等紧密连接蛋白的表达,改善DSS小鼠肠黏膜屏障功能^[15]。因此,重建肠黏膜屏障完整性可能是AS-IV发挥肠道保护作用的重要机制。

炎症反应失控是UC发病的核心环节。TNBS处理后,结肠固有层大量炎细胞浸润并释放炎症介质,引起组织损伤。本研究发现,UC大鼠血清和结肠组织TNF- α 、IL-1 β 水平显著均升高,AS-IV给药后均明显降低,提示AS-IV能有效抑制促炎细胞因子的表达和分泌,从而减轻肠道炎症反应。UC时异常激活的炎症反应可引起肠黏膜屏障破坏,导致肠道内毒素等病原相关分子移位入血,刺激机体免疫系统,引发全身炎症反应。肝是肠源性毒素的主要清除器官,长期暴露于肠源性内毒素可诱发肝脏炎症损伤^[4]。本研究发现,TNBS诱导的UC大鼠出现明显的肝功能异常,表现为血清ALT、AST升高,肝组织病理可见炎症细胞浸润,提示UC可引起继发性肝损伤。AS-IV给药后,大鼠肝功能指标改善,肝组织病理学改变减轻。说明AS-IV不仅能改善肠道炎症,还能减轻继发性肝损伤。这可能与AS-IV修复肠黏膜屏障,减少肠源性内毒素的移位入血有关。

氧化应激在UC发病中的作用日益受到重视。大量活性氧刺激可引起脂质过氧化,导致细胞膜损伤和细胞凋亡,同时,抗氧化防御系统活性降低,清除活性氧的能力下降,加重组织氧化损伤。本研究表明,UC大鼠肝脏SOD、CAT和GSH-Px抗氧化酶活性降低,

脂质过氧化产物 MDA 含量升高。提示 UC 时氧化应激加重可能是肝脏损伤的重要原因之一。AS-IV 干预后,肝组织抗氧化酶活性升高,MDA 水平下降,氧化应激状态得到改善。因此,调节氧化/抗氧化平衡可能是 AS-IV 减轻 UC 及继发性肝损伤的另一重要机制。

本研究提示:AS-IV 能有效改善 TNBS 诱导的大鼠 UC 肠道损伤和继发性肝损伤,其作用机制可能与修复肠黏膜屏障、抑制炎症反应和改善氧化应激状态有关。AS-IV 作为天然活性成分,毒副作用小,有望成为治疗 UC 及并发症的理想药物。然而,本研究仍存在一些局限性,首先,实验观察周期较短,AS-IV 长期疗效和安全性有待进一步评估。其次,除本研究涉及的机制外,AS-IV 对 UC 的免疫调节、肠道菌群调节等作用还需深入探讨。

参考文献:

- [1] LIANG Y, LI Y, LEE C, *et al.* Ulcerative colitis: Molecular insights and intervention therapy [J]. *Mol Biomed*, 2024, 5(1): 42—74.
- [2] GE C, LU Y, SHEN H, *et al.* Monitoring of intestinal inflammation and prediction of recurrence in ulcerative colitis [J]. *Scand J Gastroenterol*, 2022, 57(5): 513—524.
- [3] MERGA Y, CAMPBELL B J, RHODES J M. Mucosal barrier, bacteria and inflammatory bowel disease: Possibilities for therapy [J]. *Dig Dis*, 2014, 32(4): 475—483.
- [4] Nolan J P: The role of intestinal endotoxin in liver injury: A long and evolving history [J]. *Hepatology*, 2010, 52(5): 1829—1835.
- [5] LIANG Y, CHEN B, LIANG D, *et al.* Pharmacological Effects of Astragaloside IV: A Review [J]. *Mol*, 2023, 28(16): 6118.
- [6] SUN Y, MA Y, SUN F, *et al.* Astragaloside IV attenuates lipopolysaccharide induced liver injury by modulating Nrf2 - mediated oxidative stress and NLRP3 - mediated inflammation [J/OL]. *Heliyon*, 2023, 9(4): e15436. 2023 - 04 - 01 [2025 - 03 - 15]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37024567/>.
- [7] WU S, CHEN Z. Astragaloside IV alleviates the symptoms of experimental ulcerative colitis *in vitro* and *in vivo* [J]. *Exp Ther Med*, 2019, 18(4): 2877—2884.
- [8] MORRIS G P, BECK P L, HERRIDGE M S, *et al.* Hapten - induced model of chronic inflammation and ulceration in the rat colon [J]. *Gastroenterology*, 1989, 96(3): 795—803.
- [9] COOPER H S, MURTHY S N, SHAH R S, *et al.* Clinicopathologic study of dextran sulfate sodium experimental murine colitis [J]. *Lab Invest*, 1993, 69(2): 238—249.
- [10] MARCHAL BRESSENOT A, RIDDELL RH, BOULAGNON - ROMBI C, *et al.* Review article: The histological assessment of disease activity in ulcerative colitis [J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2015, 42(8): 957—967.
- [11] KAWADA M, ARIHIRO A, MIZOGUCHI E. Insights from advances in research of chemically induced experimental models of human inflammatory bowel disease [J]. *World J Gastroenterol*, 2007, 13(42): 5581—5593.
- [12] ZHANG X, ZHANG F, LI Y, *et al.* Blockade of PI3K/AKT signaling pathway by Astragaloside IV attenuates ulcerative colitis via improving the intestinal epithelial barrier [J]. *J Transl Med*, 2024, 22(1): 406—423.
- [13] ZONG Y, MENG J, MAO T, *et al.* Repairing the intestinal mucosal barrier of traditional Chinese medicine for ulcerative colitis: A review [J/OL]. *Front Pharmacol*, 2023, 14: e1273407. 2023 - 10 - 24 [2025 - 03 - 15]. <https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1273407>
- [14] HAN S W, KIM J M, LHO Y, *et al.* DICAM attenuates experimental colitis *via* stabilizing junctional complex in mucosal barrier [J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2019, 25(5): 853—861.
- [15] LI Y, TIAN Y, ZHU L, *et al.* Fuzi Lizhong Pill inhibited inflammatory response and promoted colon mucosal healing in dextran sulfate sodium - induced ulcerative colitis mice by down - regulating PI3K/AKT/NF - κ B signaling pathway [J/OL]. *J Ethnopharmacol*, 2025, 343: e119483. 2025 - 01 - 10 [2025 - 03 - 15]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38182742/>.

(收稿日期 2025 - 03 - 24)