·实验研究·

基于 Nrf2/HO－1/HIF－1α 信号通路探讨虎地肠溶胶囊调控溃疡性结肠炎小鼠巨噬细胞极化的作用机制*

梁承涛[1]，毛堂友[1]，李军祥[1]，王木源[1]，袁亚利[2]，焦瑶[1]，李一桐[1]，胡佳艳[1]，卢心毓[1]，张文基[1]，林政道[1]，蔚伊童[1]，杨安琪[1]，王志斌[1]

1. 北京中医药大学东方医院，北京 100078；2. 河北北方学院，河北 张家口 075000

摘要：目的：观察虎地肠溶胶囊（HDCR）对溃疡性结肠炎（ulcerative colitis，UC）小鼠 M1/M2 巨噬细胞极化平衡的影响，并基于核因子 E2 相关因子 2（nuclear factor erythroid－2－related factor 2，Nrf2）/血红素氧合酶－1（heme oxygenase－1，HO－1）/缺氧诱导因子－1α（hypoxia－inducible factor－1α，HIF－1α）信号通路探讨相关作用机制。方法：将 25 只 C57BL/6 小鼠随机分为空白组（CON 组）、模型组（UC 组）、虎地肠溶胶囊低剂量组（HDCR－L 组，0.36 g·kg^{-1}）、虎地肠溶胶囊高剂量组（HDCR－H 组，0.72 g·kg^{-1}）、美沙拉秦组（MSLQ 组，0.6 g·kg^{-1}），每组 5 只。除空白组外，其余小鼠饮用 2.5% 葡聚糖硫酸钠溶液建立 UC 模型。各组小鼠以药物或去离子水灌胃，每日 1 次，连续 31 d。记录小鼠体质量，计算疾病活动指数（disease activity index，DAI）。采用 HE 染色检测小鼠结肠病理形态，流式细胞术检测脾脏 M1/M2 巨噬细胞比例，RT－qPCR 法检测结肠 *TNF－α*、*IL－6*、*TGF－β*、*IL－10*、*Nrf2*、*HO－1*、*HIF－1α* 基因表达水平。结果：与 CON 组比较，UC 组小鼠体质量降低（$P<0.01$）；与 UC 组比较，HDCR－H 组小鼠体质量升高（$P<0.05$）。与 CON 组比较，UC 组小鼠 DAI 评分升高（$P<0.01$）；与 UC 组比较，HDCR－L 组、HDCR－H 组、MSLQ 组小鼠 DAI 评分降低（$P<0.05$）。HE 染色显示，UC 组小鼠结肠黏膜明显水肿，肠上皮脱落，伴见局部糜烂出血和炎症细胞浸润。与 UC 组比较，HDCR－L 组、HDCR－H 组、MSLQ 组小鼠结肠水肿减轻，炎症细胞浸润改善。与 CON 组比较，UC 组小鼠结肠病理学评分升高（$P<0.01$）；与 UC 组比较，HDCR－L 组、HDCR－H 组、MSLQ 组小鼠结肠病理学评分降低（$P<0.05$）。与 CON 组比较，UC 组小鼠脾脏 M1 型巨噬细胞含量升高，M2 型巨噬细胞含量降低，M1/M2 巨噬细胞比例升高（$P<0.01$）；与 UC 组比较，HDCR－L 组、HDCR－H 组小鼠脾脏 M1 型巨噬细胞含量降低，M2 型巨噬细胞含量升高，M1/M2 巨噬细胞比例降低（$P<0.05$）。与 CON 组比较，UC 组小鼠结肠 *TNF－α* mRNA、*IL－6* mRNA 水平升高，*IL－10* mRNA 水平降低（$P<0.05$）；与 UC 组比较，HDCR－L 组、HDCR－H 组小鼠结肠 *TNF－α* mRNA、*IL－6* mRNA 水平降低（$P<0.05$）；与 UC 组比较，HDCR－H 组小鼠结肠 *TGF－β* mRNA、*IL－10* mRNA 水平升高（$P<0.01$）。与 CON 组比较，UC 组小鼠结肠 *Nrf2* mRNA、*HO－1* mRNA 水平降低，*HIF－1α* mRNA 水平升高（$P<0.05$）；与 UC 组比较，HDCR－L 组、HDCR－H 组小鼠结肠 *Nrf2* mRNA、*HO－1* mRNA 水平升高，*HIF－1α* mRNA 水平降低（$P<0.05$）。结论：虎地肠溶胶囊可恢复 UC 小鼠 M1/M2 巨噬细胞极化平衡，其作用机制可能与激活 Nrf2/HO－1/HIF－1α 信号通路有关。

关键词：溃疡性结肠炎；虎地肠溶胶囊；Nrf2/HO－1/HIF－1α 信号通路；巨噬细胞极化；M1/M2 巨噬细胞；流式细胞术
DOI：10.16368/j.issn.1674－8999.2025.07.248
中图分类号：R285.5　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1674－8999(2025)07－1530－08

Mechanism of Hudi Enteric Capsule in Regulating Macrophage Polarization in Ulcerative Colitis Mice Based on Nrf2/HO－1/HIF－1α Signaling Pathway

LIANG Chengtao[1]，MAO Tangyou[1]，LI Junxiang[1]，WANG Muyuan[1]，YUAN Yali[2]，JIAO Yao[1]，LI Yitong[1]，

*基金项目：国家自然科学基金项目（82374411）；国家中医药管理局高水平中医药重点学科中西医结合临床（消化病学）项目（zyyzdxk－2023271）；首都卫生发展科研专项项目（首发 2022－4－4205）；北京中医药大学揭榜挂帅项目（2023－JYB－JBQN－014）；北京中医药大学东方医院高水平能力建设医疗机构制剂研发项目（2024－DYZJ－003）；中华中医药学会青年人才托举工程项目（CACM－2022－QNRC2－A02）；北京中医药大学岐黄英才·优秀青年科技人才培育计划项目（K2023A01）；中华中医药学会雏鹰计划中医临床青年人才项目（CYJH2024057）；北京中医药大学东方医院高水平能力建设项目“卓远”工程——国家级人才精准培育计划项目（DFRCZY－2024GJRC010）

HU Jiayan[1], LU Xinyu[1], ZHANG Wenji[1], LIN Zhengdao[1], YU Yitong[1], YANG Anqi[1], WANG Zhibin[1]

1. Dongfang Hospital Affiliated to Beijing University of Chinese Medicine, Beijing China 100078; 2. Hebei North University, Zhangjiakou Hebei China 075000

Abstract: Objective: To observe the effect of Hudi Enteric C-coated Capsule (HDCR) on the polarization balance of M1/M2 macrophages in mice with ulcerative colitis (UC) based on nuclear factor erythroid-2-related factor 2 (Nrf2)/heme oxygenase-1 (HO-1)/hypoxia-inducible factor-1α (HIF-1α) signaling pathway was used to explore the mechanism of action. Methods: Twenty-five C57BL/6 mice were randomly divided into blank group (CON group), model group (UC group), low-dose group (HDCR-L group, 0.36 g·kg^{-1}), high-dose group (HDCR-H group, 0.72 g·kg^{-1}), and mesalazine group (MSLQ group, 0.6 g·kg^{-1}), with 5 mice in each group. Except for the blank group, the rest of the mice drank 2.5% dextran sodium sulfate solution to establish the UC model. Rats in each group were given drug or deionized water by gavage once a day for 31 days. The body weight of mice was recorded, and the disease activity index (DAI) was calculated. HE staining was used to detect the pathological morphology of the colon in mice, the ratio of M1/M2 macrophages in the Spleen was detected by flow cytometry, and the expression levels of *TNF-α*, *IL-6*, *TGF-β*, *IL-10*, *Nrf2*, *HO-1* and *HIF-1α* genes in the colon were detected by RT-qPCR. Results: Compared with the CON group, the body weight of the UC group decreased ($P<0.01$), and the body weight of the HDCR-H group increased compared with the UC group ($P<0.05$). Compared with the CON group, the DAI score of mice in the UC group increased ($P<0.01$), and compared with the UC group, the DAI score of mice in the HDCR-L group, HDCR-H group and MSLQ group decreased ($P<0.05$). HE staining showed that the colonic mucosa in the UC group was obviously edematous, and the intestinal epithelium was shed, accompanied by local erosion and bleeding and inflammatory cell infiltration. Compared with the UC group, the colon edema of the HDCR-L group, HDCR-H group and MSLQ group was reduced, and the infiltration of inflammatory cells was improved. Compared with the CON group, the colon pathology score of mice in the UC group increased ($P<0.01$), and compared with the UC group, the colon pathology score of mice in the HDCR-L group, HDCR-H group and MSLQ group decreased ($P<0.05$). Compared with the CON group, the content of M1 macrophages in the spleen of the UC group increased, the content of M2 macrophages decreased, and the ratio of M1/M2 macrophages increased ($P<0.01$). Compared with the UC group, the content of M1 macrophages in the spleen of the HDCR-L group and HDCR-H group decreased, the content of M2 macrophages increased, and the ratio of M1/M2 macrophages decreased ($P<0.05$). Compared with the CON group, the mRNA levels of *TNF-α* and *IL-6* mRNA in the UC group increased, and the mRNA levels of IL-10 decreased ($P<0.05$). Compared with the UC group, the mRNA levels of colon *TNF-α* and *IL-6* mRNA in the HDCR-L group and HDCR-H group were decreased ($P<0.05$). Compared with the UC group, the levels of colon *TGF-β* mRNA and *IL-10* mRNA in the HDCR-H group were increased ($P<0.01$). Compared with the CON group, the mRNA levels of *Nrf2* and *HO-1* mRNA in the colon of the UC group decreased, and the mRNA levels of HIF-1α increased ($P<0.05$). Compared with the UC group, the mRNA levels of *Nrf2* and *HO-1* mRNA in the colon of mice in the HDCR-L group and HDCR-H group increased, and the mRNA levels of HIF-1α decreased ($P<0.05$). Conclusion: Hudi Enteric Coated Capsule can restore the polarization balance of M1/M2 macrophages in UC mice, and its mechanism of action may be related to the activation of Nrf2/HO-1/HIF-1α signaling pathway.

Key words: ulcerative colitis; Hudi Enteric Coated Capsule; Nrf2/HO-1/HIF-1α signaling pathway; macrophage polarization; M1/M2 macrophage; flow cytometry

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是一种慢性复发性炎症性肠病,主要累及结肠和直肠的黏膜、黏膜下层,以腹痛、腹泻及黏液脓血便为主要临床表现[1]。鉴于本病病程迁延、复发率与恶化风险高,常导致患者生存质量显著下降,世界卫生组织将其列为全球难治性疾病之一[2]。目前认为,UC 的发病机制与基因多态性、肠黏膜屏障损伤、黏膜免疫稳态失衡及环境抗原暴露等多因素交互作用有关[3]。肠黏膜免疫微环境涉及树突状细胞抗原呈递、Th17/Treg 细胞亚群动态平衡及 IL-23/IL-17 轴信号传导等精密调控网络,其中巨噬细胞介导的免疫耐受机制失调被视为关键的病理环节[4]。巨噬细胞受到刺激,向促炎方向极化,是 UC 发生发展的重要机制之一,因此纠正巨噬细胞极化失衡可能是治疗 UC 的关键环节[5]。核因子 E2 相关因子 2(nuclear factor erythroid-2-related factor 2, Nrf2)/血红素氧合酶-1(heme oxygenase-1, HO-1)信号通路可通过减轻氧化应激,进而缓解肠道炎症和损伤[6]。其中,Nrf2 是机体抗氧化应激的重要调节因子,HO-1 是血红素加氧酶家族的成员,具有抗炎、抗氧化等作用。缺氧诱导因子-1α(hypoxia-inducible factor-1α, HIF-1α)与 M1 型巨噬细胞密切相关,受 Nrf2/HO-1 信号通路调控,并参与调控巨噬细胞 M1/M2 极化平衡。HIF-1α 过表达可导

致巨噬细胞极化失衡，促进 UC 的发生发展。

中医药在辨证论治及内外联合用药方面对 UC 展现出确切的疗效，因此深入研究中医药防治 UC 的作用机制，对于减轻病情、提高患者生活质量具有积极意义。UC 属于中医“肠澼”“痢疾”等范畴，在《溃疡性结肠炎中医诊疗指南（2023）》解读中，虎地肠溶胶囊被推荐用于治疗大肠湿热型 UC，并在临床实践中显示出良好疗效[7]。前期研究发现，虎地肠溶胶囊可有效改善 UC 小鼠的肠道炎症及黏膜损伤[8]，但具体作用机制尚未阐明。因此，本研究基于 Nrf2/HO－1/HIF－1α 信号通路探讨虎地肠溶胶囊通过调控巨噬细胞极化平衡治疗 UC 的分子机制，旨在为临床应用提供科学依据。

1　材料

1.1　实验动物　SPF 级健康雌性 C57BL/6 小鼠 25 只，6～8 周龄，体质量 18～20 g，购自斯贝福（北京）生物技术有限公司，实验动物许可证号：SCKK（京）2019－0010。小鼠饲养于北京迈德康纳生物技术有限公司 SPF 级动物房，温度 25 ℃，湿度 60%。本研究经北京迈德康纳生物技术有限公司实验动物福利伦理委员会批准，批号：MDKN－2024－027。

1.2　药物与试剂　虎地肠溶胶囊（安徽九方制药有限公司，国药准字 Z20020035，批号：240901）；美沙拉秦缓释颗粒（上海爱的发制药有限公司，药品准字号：H20143164，批号：230426）；葡聚糖硫酸钠（dextran sulfate sodium salt，DSS，MP Biomedicals 公司）；大便潜血试纸（珠海贝索生物技术有限公司）；苏木精－伊红染液套装、苏木精分化液、苏木精返蓝液（武汉赛维尔生物科技有限公司）；RPMI 1640 培养液（HyClone）；胎牛血清（Gibco）；牛血清白蛋白（北京拜尔迪生物技术有限公司）；红细胞裂解液（北京索莱宝科技有限公司）；F4/80 抗体、CD16/32 抗体、CD206 抗体（Biolegend，批号：123108、101326、141706）；Trizol（Invitrogen）；One Step TB Green ® PrimeScript™ RT－PCR Kit Ⅱ（Takara）。

1.3　仪器　7300 型实时荧光定量 PCR 仪（Applied Biosystems）；DP74 型显微镜（Olympus）；JB－P5 型包埋机（武汉俊杰电子有限公司）；GFL－230 型烤箱（天津市莱玻瑞仪器设备有限公司）；RM2016 型病理切片机（上海徕卡仪器有限公司）；5810R 型低速离心机（Eppendorf）；Mate－Cyte2L6C 型流式细胞仪（北京层浪生物科技有限公司）。

2　方法

2.1　造模及给药　25 只 C57BL/6 小鼠适应性喂养 7 d 后，根据体质量随机分为空白组（CON 组）、模型组（UC 组）、虎地肠溶胶囊低剂量组（HDCR－L 组，0.36 g·kg^{-1}）、虎地肠溶胶囊高剂量组（HDCR－H 组，0.72 g·kg^{-1}）、美沙拉秦组（MSLQ 组，0.6 g·kg^{-1}）[9]，每组 5 只。CON 组小鼠全程自由进食和饮水。除 CON 组外，其余小鼠采用改良型 DSS 循环诱导策略建立 UC 模型。该方法包括 3 个循环周期，每个周期由 5 d 诱导期（自主摄入 2.5% DSS 溶液）和 7 d 缓解期（摄入去离子水）构成。自首个缓解期第 2 日起，各组小鼠以药物或去离子水灌胃，每日 1 次，连续 31 d。

2.2　一般情况观察　定期观察并记录小鼠的体质量、活跃程度、精神状态、毛发情况、大便性状等。

2.3　疾病活动指数（disease activity index，DAI）评分　DAI 包括体质量下降指数、粪便性状、粪便潜血，评价标准见表 1，根据以下公式计算 DAI 评分。

表 1　DAI 评分标准

评分项目	0 分	1 分	2 分	3 分	4 分
体质量下降指数	无下降	>1%～5%	>5%～10%	>10%～15%	>15%
粪便性状	正常	/	松散	/	稀便
粪便潜血	无	/	阳性	/	肉眼血便

DAI 评分＝（体质量下降指数＋粪便性状＋粪便潜血）/3

2.4　HE 染色法检测小鼠结肠组织病理形态　小鼠取材时横切留取距肛门 1 cm 处的结肠组织，除去粪便，用 4 ℃ 预冷 PBS 漂洗，4% 多聚甲醛固定 24 h。梯度乙醇脱水，石蜡包埋，制备 5 μm 厚度切片，脱蜡后进行 HE 染色。在显微成像系统下观察小鼠结肠组织病理形态，并计算评分，评分标准见表 2。

表 2　结肠组织病理学评分标准

病理形态	0 分	1 分	2 分	3 分
炎症细胞浸润	无	轻微	中度	严重
结肠损伤程度	无	黏膜层	黏膜下层	黏膜肌层

2.5　流式细胞术测定小鼠脾脏 M1 型、M2 型巨噬细胞含量　小鼠经麻醉后行无血颈椎脱臼术，摘取脾脏组织并迅速置于预冷 RPMI 1640 完全培养基（含 10% FBS、1% 双抗）；经 70 μm 细胞滤网机械解

离后，采用梯度离心法富集单个核细胞，随后用 ACK 缓冲液室温裂解红细胞；以 3% BSA/PBS 溶液封闭，依次加入抗小鼠 F4/80 - FITC、CD16/32 - APC 及 CD206 - PE 单克隆抗体，避光孵育；采用含 0.1% Tween - 20 的 PBS 洗涤液 4 ℃清洗 2 次，每次 5 min，去除未结合抗体；离心后重悬细胞，使用流式细胞仪进行定量分析。

2.6　RT - qPCR 法检测小鼠结肠巨噬细胞因子及 *Nrf2*、*HO - 1*、*HIF - 1α* 基因表达量　使用 Trizol 法提取结肠组织总 RNA，紫外分光光度计检测 RNA 浓度及纯度，以 A260/A280 比值 1.8 ~ 2.1 为较高纯度，稀释配制上机液。按照 One Step TB Green ® PrimeScript™ RT - PCR Kit Ⅱ（Perfect Real Time）试剂盒说明书操作，通过 PCR 仪进行检测，设定程序为 42 ℃ 5 min，95 ℃ 10 s，随后在 95 ℃ 5 s、60 ℃ 31 s 条件下循环 40 次，在 95 ℃ 15 s、60 ℃ 1 min、95 ℃ 15 s 条件下进行熔融曲线分析。根据公式 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算目的基因的相对表达量。引物序列见表 3。

表 3　引物序列

基因	上游引物（5′ - 3′）	下游引物（5′ - 3′）
GAPDH	TGGAATCCTGTGGCATCCATGAAAC	TAAAACGCAGCTCAGTAACAGTCCG
IL - 6	TAGTCCTTCCTACCCCAATTTCC	TTGGTCCTTAGCCACTCCTTC
IL - 10	CCACAAAGCAGCCTTGCA	AGTAAGAGCAGGCAGCATAGCA
TNF - α	CCCTCACACTCAGATCATCTTCT	GCTACGACGTGGGCTACAG
TGF - β	CTCCCGTGGCTTCTAGTGC	GCCTTAGTTTGGACAGGATCTG
Nrf2	CTTTTGGCGCAGACATTCC	AAGACTGGGCTCTCGATGTG
HO - 1	CGCCTTCCTGCTCAACATT	TGTGTTCCTCTGTCAGCATCAC
HIF - 1α	GGGTACAAGAAACCACCCAT	GAGGCTGTGTCGACTGAGAA

2.7　统计学方法　采用 GraphPad Prism 9 软件分析数据，计量数据以均数 ± 标准差（$\bar{x} \pm s$）表示。所有数据经检验符合正态分布和方差齐性，多组间比较采用单因素方差分析，组间两两比较采用 *LSD* 多重检验。$P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3　结果

3.1　各组小鼠的一般情况　CON 组小鼠活跃度高，进食饮水正常，毛发浓密有光泽。与 CON 组比较，UC 组小鼠大便不成形、便血，伴随精神萎靡、活跃度降低、进食饮水变少、毛发欠光泽等表现；与 UC 组比较，HDCR - L 组、HDCR - H 组、MSLQ 组小鼠上述情况明显好转。

3.2　虎地肠溶胶囊对 UC 小鼠体质量的影响　与 CON 组比较，UC 组小鼠体质量降低（$P < 0.01$）；与 UC 组比较，HDCR - H 组小鼠体质量升高（$P < 0.05$），见表 4。

表 4　各组小鼠体质量比较　（$\bar{x} \pm s$，g）

组别	n	体质量
CON 组	5	21.66 ± 1.14
UC 组	5	19.26 ± 0.76$^{\#\#}$
HDCR - L 组	5	20.50 ± 0.75
HDCR - H 组	5	20.82 ± 0.90*
MSLQ 组	5	19.78 ± 0.42

注：与 CON 组比较，##$P < 0.01$；与 UC 组比较，*$P < 0.05$。

3.3　虎地肠溶胶囊对 UC 小鼠 DAI 评分的影响　与 CON 组比较，UC 组小鼠 DAI 评分升高（$P < 0.01$）；与 UC 组比较，HDCR - L 组、HDCR - H 组、MSLQ 组小鼠 DAI 评分降低（$P < 0.05$），见表 5。

表 5　各组小鼠 DAI 评分比较　（$\bar{x} \pm s$，分）

组别	n	DAI 评分
CON 组	5	0.00 ± 0.00
UC 组	5	1.40 ± 0.49$^{\#\#}$
HDCR - L 组	5	0.40 ± 0.37**
HDCR - H 组	5	0.27 ± 0.37**
MSLQ 组	5	0.53 ± 0.56*

注：与 CON 组比较，##$P < 0.01$；与 UC 组比较，*$P < 0.05$，**$P < 0.01$。

3.4　虎地肠溶胶囊对 UC 小鼠结肠病理形态的影响　HE 染色显示，与 CON 组比较，UC 组小鼠结肠黏膜明显水肿，肠上皮脱落，绒毛消失，腺体变形，伴见局部糜烂出血和炎症细胞浸润等。与 UC 组比较，HDCR - L 组、HDCR - H 组、MSLQ 组小鼠结肠腺体结构明显恢复，水肿程度减轻，炎症细胞浸润改善，未见明显糜烂及上皮细胞脱落。

与 CON 组比较，UC 组小鼠结肠病理学评分升高（$P < 0.01$）；与 UC 组比较，HDCR - L 组、HDCR - H 组、MSLQ 组小鼠结肠病理学评分降低（$P < 0.05$），见表 6、图 1。

3.5　虎地肠溶胶囊对 UC 小鼠脾脏 M1/M2 巨噬细胞极化平衡的影响　流式细胞术显示，与 CON 组比较，UC 组小鼠脾脏 M1 型巨噬细胞含量升高，M2

型巨噬细胞含量降低，M1/M2 巨噬细胞比例升高（$P<0.01$）。与 UC 组比较，HDCR－L 组、HDCR－H 组小鼠脾脏 M1 型巨噬细胞含量降低，M2 型巨噬细胞含量升高，M1/M2 巨噬细胞比例降低（$P<0.05$），见表 7、图 2、图 3。

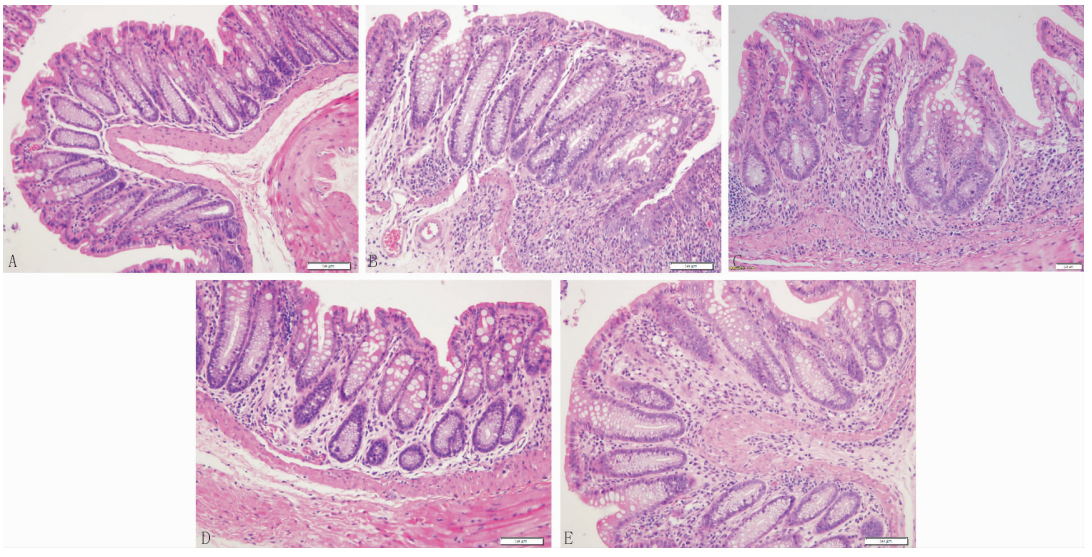
3.6　虎地肠溶胶囊对 UC 小鼠结肠 M1 型、M2 型巨噬细胞因子的影响　M1 型巨噬细胞因子：RT－qPCR 显示，与 CON 组比较，UC 组小鼠结肠 *TNF－α* mRNA、*IL－6* mRNA 水平升高（$P<0.05$）；与 UC 组比较，HDCR－L 组、HDCR－H 组小鼠结肠 *TNF－α* mRNA、*IL－6* mRNA 水平降低（$P<0.05$），见表 8。

M2 型巨噬细胞因子：RT－qPCR 显示，与 CON 组比较，UC 组小鼠结肠 *IL－10* mRNA 水平降低（$P<0.05$）；与 UC 组比较，HDCR－H 组小鼠结肠 *TGF－β* mRNA、*IL－10* mRNA 水平升高（$P<0.01$），见表 8。

表 6　各组小鼠结肠组织病理学评分比较　（$\bar{x}\pm s$，分）

组别	n	病理学评分
CON 组	5	0.60±0.55
UC 组	5	5.40±0.55$^{\#\#}$
HDCR－L 组	5	3.80±0.45*
HDCR－H 组	5	3.20±1.48**
MSLQ 组	5	3.80±0.84*

注：与 CON 组比较，##$P<0.01$；与 UC 组比较，$*P<0.05$，$**P<0.01$。



注：A：CON 组；B：UC 组；C：HDCR－L 组；D：HDCR－H 组；E：MSLQ 组。

图 1　各组小鼠结肠组织病理染色图（HE，×200）

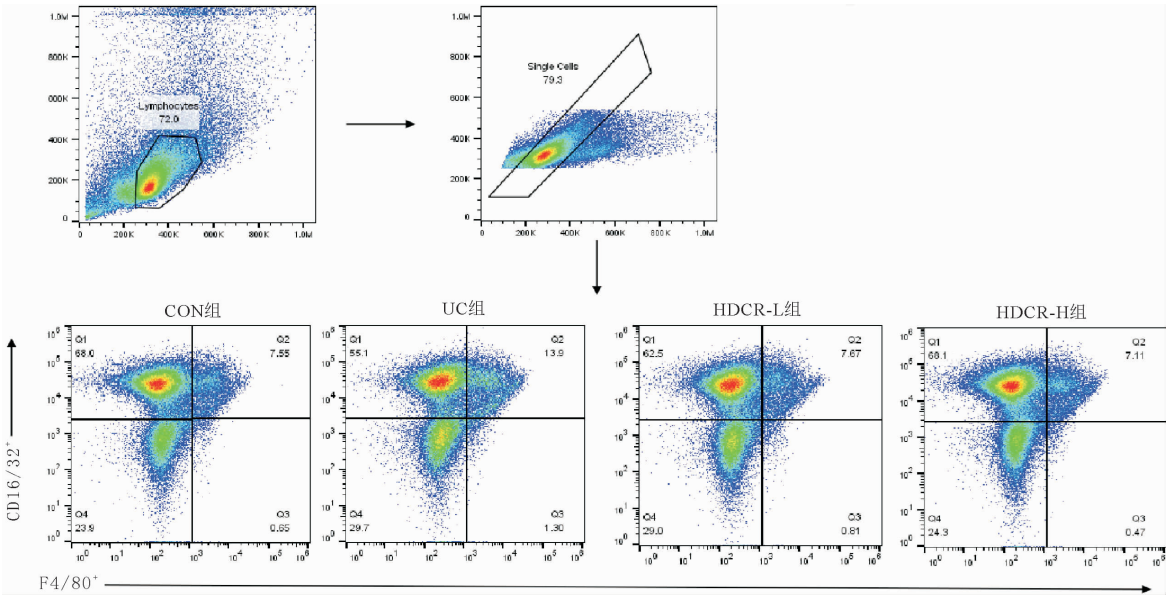


图 2　各组小鼠脾脏 M1 型巨噬细胞流式图

表 7　各组小鼠脾脏 M1、M2 巨噬细胞含量与比例比较　（$\bar{x} \pm s$）

组别	n	M1 型巨噬细胞含量/%	M2 型巨噬细胞含量/%	M1/M2 巨噬细胞比例
CON 组	5	8.57 ± 1.98	5.12 ± 0.70	1.66 ± 0.18
UC 组	5	12.88 ± 2.20$^{\#\#}$	3.82 ± 0.73$^{\#\#}$	3.57 ± 1.36$^{\#\#}$
HDCR－L 组	5	7.67 ± 0.75**	5.07 ± 0.42*	1.52 ± 0.18**
HDCR－H 组	5	7.36 ± 1.37**	6.10 ± 0.48**	1.21 ± 0.24**

注：与 CON 组比较，##P < 0.01；与 UC 组比较，$*P$ < 0.05，$**P$ < 0.01。

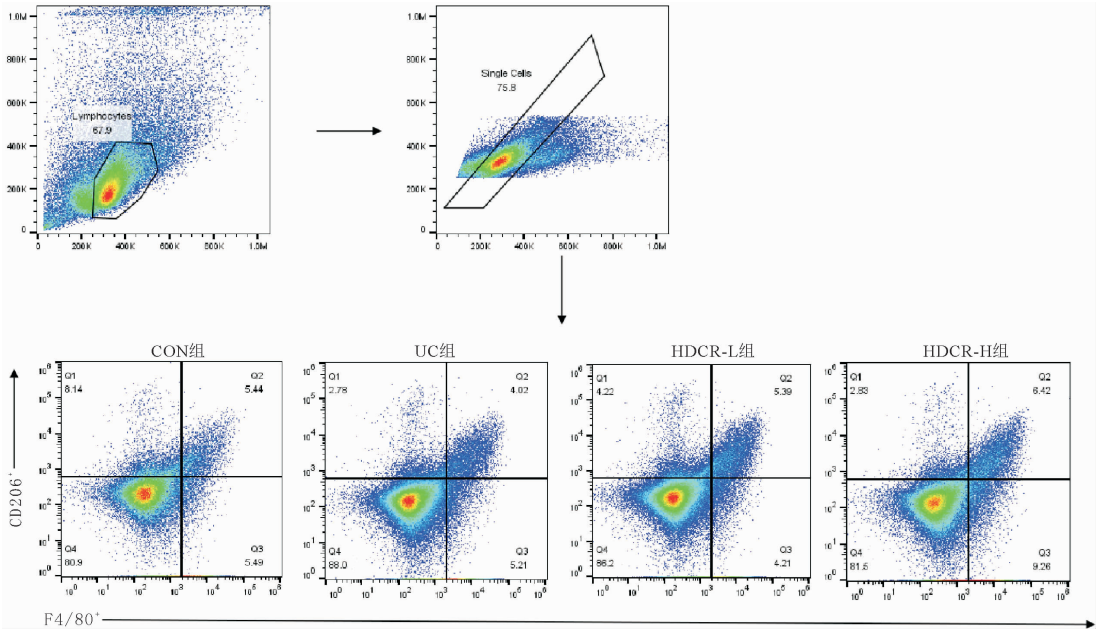


图 3　各组小鼠脾脏 M2 型巨噬细胞流式图

表 8　各组小鼠结肠 *TNF－α*、*IL－6*、*TGF－β*、*IL－10* 基因表达水平比较　（$\bar{x} \pm s$）

组别	n	*TNF－α* mRNA	*IL－6* mRNA	*TGF－β* mRNA	*IL－10* mRNA
CON 组	5	1.03 ± 0.29	1.03 ± 0.28	1.03 ± 0.27	1.03 ± 0.28
UC 组	5	1.94 ± 0.43$^{\#\#}$	1.61 ± 0.42$^{\#}$	0.54 ± 0.26	0.41 ± 0.10$^{\#}$
HDCR－L 组	5	1.18 ± 0.44*	0.76 ± 0.44**	0.89 ± 0.44	0.89 ± 0.46
HDCR－H 组	5	0.74 ± 0.20**	0.36 ± 0.06**	1.38 ± 0.20**	1.16 ± 0.30**

注：与 CON 组比较，#P < 0.05，##P < 0.01；与 UC 组比较，$*P$ < 0.05，$**P$ < 0.01。

3.7　虎地肠溶胶囊对 UC 小鼠结肠 Nrf2/HO－1/HIF－1α 通路的影响　RT－qPCR 显示，与 CON 组比较，UC 组小鼠结肠 *Nrf2* mRNA、*HO－1* mRNA 水平降低，*HIF－1α* mRNA 水平升高（P < 0.05）；与 UC 组比较，HDCR－L 组、HDCR－H 组小鼠结肠 *Nrf2* mRNA、*HO－1* mRNA 水平升高，*HIF－1α* mRNA 水平降低（P < 0.05），见表 9。

表 9　各组小鼠结肠 *Nrf2* mRNA、*HO－1* mRNA、*HIF－1α* mRNA 水平比较　（$\bar{x} \pm s$）

组别	n	*Nrf2* mRNA	*HO－1* mRNA	*HIF－1α* mRNA
CON 组	5	1.00 ± 0.12	1.01 ± 0.20	1.00 ± 0.08
UC 组	5	0.36 ± 0.22$^{\#}$	0.29 ± 0.12$^{\#}$	1.47 ± 0.34$^{\#}$
HDCR－L 组	5	1.18 ± 0.32*	0.66 ± 0.09**	0.79 ± 0.27**
HDCR－H 组	5	1.94 ± 0.91**	0.56 ± 0.05**	0.38 ± 0.10**

注：与 CON 组比较，#P < 0.05；与 UC 组比较，$*P$ < 0.05，$**P$ < 0.01。

4　讨论

UC 是一种慢性复发性炎症性肠病，病程较长，易于复发，且病理机制尚不明确，是目前临床治疗的难点之一。国内一项多中心队列研究显示，UC 患者在终止临床干预后呈现明显复发倾向，随访 6 个月时累积复发率呈现显著波动（17.9% ～70.0%），至 12 个月时复发风险攀升至 47.2% ～86.7%[10]。西医常用药物包括氨基水杨酸制剂、皮质类固醇、免疫抑制剂及生物制剂等，其疗效因人而异，且存在不良反应多、易复发等问题[11]。因此，制定全面的治疗策略已成为炎症性肠病管理的重要发展方向，旨在改善患者的长期预后。

研究发现，免疫功能紊乱是 UC 发病的重要因

素之一。巨噬细胞作为肠道固有层中的天然免疫细胞,具有强大的吞噬和杀菌特性,是抵御病原体的第一道防线,在调节肠道稳态和炎症反应中发挥重要作用[12]。在微环境信号的调控下,巨噬细胞可分化为促炎性的 M1 亚群与抗炎性的 M2 亚群。经典活化的 M1 型巨噬细胞通过特异性分泌 TNF－α、IL－6 及 IL－1β 等促炎细胞因子,介导炎症反应[13];M2 型巨噬细胞可分泌 TGF－β、IL－10 等抗炎细胞因子,发挥抗炎作用[14]。在 UC 的发展过程中,M1 型巨噬细胞可导致炎症的发生和加剧,而 M2 型巨噬细胞在炎症消退中发挥重要作用。在 DSS 诱导的 UC 模型中,巨噬细胞极化失衡可增加肠道屏障损伤[15]。通过靶向抑制 M1 型巨噬细胞极化并促进 M2 型巨噬细胞转化,可显著改善 DAI 和组织病理学评分[16]。因此,调节巨噬细胞表型,恢复 M1/M2 型巨噬细胞极化平衡,被认为是一种有效的治疗策略。

Nrf2 是一种转录因子,亦是 Cap－n－collar(CNC)碱性亮氨酸拉链转录因子家族成员[17]。在生理状态下,Nrf2 与 Kelch 样 ECH 关联蛋白 1(Kelch－like ECH－associated protein 1,Keap1)结合形成胞质复合物,维持 Nrf2 的泛素化降解平衡[18]。当活性氧积累触发氧化应激时,Keap1 的构象改变并丧失 E3 泛素连接酶活性,促使 Nrf2 磷酸化后入核。Nrf2 在核内特异性识别抗氧化反应元件(antioxidant response element,ARE),激活下游基因转录,从而促进细胞氧化还原稳态[19]。HO－1 作为 Nrf2 下游的关键靶基因,不仅催化血红素的分解代谢,而且具有显著的抗氧化和抗炎特性。在炎症微环境中,HO－1 的表达上调,促进 M2 型巨噬细胞极化,有效缓解肠黏膜氧化应激与炎症损伤[20]。研究显示,*HO－1* 基因敲除小鼠在 UC 模型中表现出严重的炎症损伤[21]。Nrf2/HO－1 信号通路可通过调控氧化应激途径,减轻肠道炎症和损伤,并维护肠道结构完整性[20]。HIF－1α 在巨噬细胞中的过量表达可导致 M1 型巨噬细胞标志物上调,破坏 M1/M2 极化平衡;而 Nrf2/HO－1 通路激活可抑制 HIF－1α 表达,恢复 M1/M2 极化平衡[22]。本研究中,虎地肠溶胶囊可显著升高 UC 小鼠体质量,降低 DAI 评分,并改善结肠病理损伤,证明其疗效确切。另外,虎地肠溶胶囊可显著下调 UC 小鼠脾脏 M1 型巨噬细胞比例,上调 M2 型巨噬细胞比例,恢复 M1/M2 极化平衡。

综上所述,虎地肠溶胶囊可能通过调控 Nrf2/HO－1/HIF－1α 信号通路,恢复巨噬细胞 M1/M2 极化平衡,从而治疗 UC。

参考文献:

[1]ORDAS I,ECKMANN L,TALAMINI M,et al. Ulcerative colitis[J]. Lancet,2012,380(9853):1606－1619.

[2]CUI G L,YUAN A P. A systematic review of epidemiology and risk factors associated with Chinese inflammatory bowel disease[J]. Front Med (Lausanne),2018,5:183.

[3]UNGARO R,MEHANDRU S,ALLEN P B,et al. Ulcerative colitis[J]. Lancet,2017,389(10080):1756－1770.

[4]卢心毓,毛堂友,袁亚利,等. 饮食“发物”羊肉对溃疡性结肠炎小鼠巨噬细胞极化的调控作用[J]. 中国中西医结合消化杂志,2024,32(1):23－29.

[5]靳丽媛,司艺玲,陈光辉. 巨噬细胞表型极化在糖尿病心肌病发生发展和修复过程中的作用[J]. 解放军医学院学报,2017,38(1):68－70,74.

[6]WANG X J,ZHANG D,YANG Y T,et al. Suppression of microRNA－222－3p ameliorates ulcerative colitis and colitis－associated colorectal cancer to protect against oxidative stress via targeting BRG1 to activate Nrf2/HO－1 signaling pathway[J]. Front Immunol,2023,14:1089809.

[7]王木源,韩啸,毛堂友,等.《溃疡性结肠炎中医诊疗指南(2023)》解读[J]. 中国中西医结合消化杂志,2024,32(12):1087－1092.

[8]潘智,邵赛丹,黄登,等. 虎地肠溶胶囊联合奥沙拉秦对慢性溃疡性结肠炎患者肠黏膜病变、血清炎性因子及 NGAL 和 MMP－9 表达影响[J]. 浙江医学,2021,43(21):2337－2340.

[9]丁庞华,史利卿,石磊,等. 虎地肠溶胶囊对葡聚糖硫酸钠诱导的溃疡性结肠炎小鼠黏液屏障损伤修复的作用研究[J]. 中国中医急症,2021,30(8):1336－1339,1381.

[10]刘应欢. 初发型溃疡性结肠炎复发因素的 Logistic 分析及护理干预对策[J]. 吉林医学,2020,41(2):492－494.

[11]李微,雷云霞. 溃疡性结肠炎的中医研究进展[J]. 新疆中医药,2024,42(5):136－139.

[12]LIU X,NAGY P,BONFINI A,et al. Microbes affect gut epithelial cell composition through immune－dependent regulation of intestinal stem cell differentiation[J]. Cell Rep,

2022,38(13):110572.

[13]KAINULAINEN K,TAKABE P,HEIKKINEN S,et al. M1 macrophages induce protumor inflammation in melanoma cells through TNFR - NF - κB signaling[J]. J Invest Dermatol,2022,142(11):3041 - 3051.

[14]HASSANSHAHI A,MORADZAD M,GHALAMKARI S,et al. Macrophage - mediated inflammation in skin wound healing[J]. Cells,2022,11(19):2953.

[15]QU F F,XU B Q,KANG H C,et al. The role of macrophage polarization in ulcerative colitis and its treatment [J]. Microb Pathog,2025,199:107227.

[16]KANG Z P,WANG M X,WU T T,et al. Curcumin alleviated dextran sulfate sodium - induced colitis by regulating M1/M2 macrophage polarization and TLRs signaling pathway[J]. Evid Based Complement Alternat Med,2021,2021:3334994.

[17]KOPACZ A,KLOSKA D,FORMAN H J,et al. Beyond repression of Nrf2:an update on Keap1[J]. Free Radic Biol Med,2020,157:63 - 74.

[18]TAGUCHI K,MOTOHASHI H,YAMAMOTO M. Molecular mechanisms of the Keap1 - Nrf2 pathway in stress response and cancer evolution[J]. Genes Cells,2011,16(2):123 - 140.

[19]RAJPUT S A,LIANG S J,WANG X Q,et al. Lycopene protects intestinal epithelium from deoxynivalenol - induced oxidative damage via regulating Keap1/Nrf2 signaling[J]. Antioxidants (Basel),2021,10(9):1493.

[20]SINGH R,CHANDRASHEKHARAPPA S,BODDULURI S R,et al. Enhancement of the gut barrier integrity by a microbial metabolite through the Nrf2 pathway[J]. Nat Commun,2019,10(1):89.

[21]杨静,史佳,关鑫,等. 血红素加氧酶 1(HO - 1)基因敲除影响小鼠肺脏免疫细胞组成平衡并加重脂多糖诱导的急性肺损伤[J]. 细胞与分子免疫学杂志,2024,40(4):296 - 302.

[22]KIM S R,SEONG K J,KIM W J,et al. Epigallocatechin gallate protects against hypoxia - induced inflammation in microglia via NF - κB suppression and nrf - 2/HO - 1 activation[J]. Int J Mol Sci,2022,23(7):4004.

收稿日期:2025 - 01 - 14

作者简介:梁承涛(2001 -),男,山东聊城人,硕士研究生,研究方向:中医药防治消化系统疾病。

通信作者:王志斌,男,河北唐山人,医学博士,主任医师,博士研究生导师,研究方向:中医药防治消化系统疾病。E - mail:wangsanger@126.com

编辑:刘凯歌