·实验研究·

广痛消水提物调控“微循环障碍－炎症介质释放－痛觉敏化”轴减轻大鼠肛门疼痛*

周静娜[1]，温彬宇[1]，肖婷婷[1]，苏思佳[1]，唐旭[1]，高俊峰[1]，邓志灏[2]✉

1. 北京中医药大学东方医院，北京 100078；2. 北京中医药大学东直门医院，北京 100700

摘要：目的：基于 Toll 样受体 4（Toll－like receptor 4，TLR4）/核因子－κB（nuclear factor－κB，NF－κB）/NOD 样受体蛋白 3（NOD－like receptor protein 3，NLRP3）信号通路探讨广痛消水提物调控“微循环障碍－炎症介质释放－痛觉敏化”轴减轻大鼠肛门疼痛的作用机制。方法：细胞实验：采用 CCK－8、Transwell、免疫荧光染色和 Western blot 法观察广痛消水提物含药血清（Guangtongxiao aqueous extract medicated serum，GTXAEMS）对血管内皮生长因子（vascular endothelial growth factor，VEGF）诱导的人脐静脉内皮细胞（human umbilical vein endothelial cells，HUVECs）活性、通透性及细胞连接蛋白表达的影响。动物实验：30 只 SD 大鼠随机分为正常组、模型组、广痛消水提物低剂量组（0.73 g·kg^{-1}）、广痛消水提物中剂量组（1.45 g·kg^{-1}）、广痛消水提物高剂量组（2.90 g·kg^{-1}）及硝酸甘油组（0.13 mg·kg^{-1}），每组 5 只。除正常组外，其余大鼠复制肛门损伤模型，连续干预 3 d。通过 HE 染色观察肛门损伤大鼠肛周组织病理变化；采用 ELISA 法检测血清、肛周组织和脊髓中白细胞介素－4（interleukin－4，IL－4）、白细胞介素－10（interleukin－10，IL－10）、白细胞介素－1β（interleukin－1β，IL－1β）、白细胞介素－6（interleukin－6，IL－6）、白细胞介素－18（interleukin－18，IL－18）、肿瘤坏死因子－α（tumor necrosis factor－α，TNF－α）及一氧化氮（nitric oxide，NO）含量；应用 RT－qPCR 与 Western blot 法测定脊髓小胶质细胞 M1/M2 极化标志蛋白及 TLR4/NF－κB/NLRP3 信号通路关键分子的基因和蛋白表达水平。结果：细胞实验：GTXAEMS 在实验浓度范围内对正常 HUVECs 无细胞毒性作用，可上调血管内皮钙黏蛋白（vascular endothelial－cadherin，VE－cadherin）、紧密连接蛋白 1（zonula occludens－1，ZO－1）、闭合蛋白（Occludin）及封闭蛋白 5（Claudin 5）表达水平，降低 VEGF 诱导的 HUVECs 通透性（$P<0.05$）。动物实验：HE 染色显示，广痛消水提物可显著改善大鼠肛周组织损伤状态。广痛消水提物可升高血清、肛周、脊髓中抗炎因子 IL－4、IL－10 含量，降低促炎因子 IL－1β、IL－6、IL－18、TNF－α 含量；增加血清、肛周组织 NO 含量，降低脊髓 NO 含量（$P<0.05$）。广痛消水提物可抑制 M1 极化标志物诱导型一氧化氮合酶（inducible nitric oxide synthase，iNOS）、CD86 表达，促进 M2 极化标志物精氨酸酶－1（arginase－1，Arg－1）、CD206 表达，并下调 TLR4、NF－κB、NLRP3、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶－1（cysteinyl aspartate specific proteinase－1，Caspase－1）、GSDMD－N 蛋白表达水平（$P<0.05$）。结论：广痛消水提物可能通过降低内皮细胞通透性、改善微循环，减少外周及中枢炎症介质释放，进而激活 TLR4/NF－κB/NLRP3 信号通路，缓解中枢敏化，最终减轻大鼠肛门疼痛。

关键词：广痛消水提物；肛门疼痛；TLR4/NF－κB/NLRP3 信号通路；炎症介质；痛觉敏化；大鼠

DOI：10.16368/j.issn.1674－8999.2026.10.344

中图分类号：R285.5　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1674－8999（2026）10－2221－12

---

*基金项目：国家自然科学基金项目（81704077）；北京中医药大学东直门医院临床研究和成果转化能力提升试点项目（DZMG－TZZX－24001）；北京市通州区科技创新人才项目（JCQN2024011）；北京中医药新时代 125 工程托举人才项目｛京中医药科字〔2025〕2 号｝

作者简介：周静娜（2002－），女，河北石家庄人，硕士研究生，主要从事中药药效物质基础研究。

✉通信作者：邓志灏，医学博士，副主任医师，硕士研究生导师，主要从事中医药防治肛肠疾病研究。E－mail：dengzhihaozyy@163.com

Guangtongxiao Aqueous Extract Regulating "Microcirculation Disorder – Inflammatory Mediator Release – Pain Sensitization" Axis to Alleviate Anal Pain in Rats

ZHOU Jingna[1], WEN Binyu[1], XIAO Tingting[1], SU Sijia[1], TANG Xu[1], GAO Junfeng[1], DENG Zhihao[2]

1. Dongfang Hospital, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing China 100078; 2. Dongzhimen Hospital, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing China 100700

Abstract: Objective: This study aimed to explore the mechanism by which Guangtongxiao Aqueous Extract regulates the "microcirculation disorder – inflammatory mediator release – pain sensitization" axis to relieve anal pain in rats based on the Toll – like receptor 4 (TLR4)/nuclear factor – κB (NF – κB)/NOD – like receptor protein 3 (NLRP3) signaling pathway. Methods: Cell experiments: CCK – 8, Transwell assay, immunofluorescence staining, and Western blot were used to observe the effects of Guangtongxiao Aqueous Extract medicated serum (GTXAEMS) on the activity, permeability, and cell junction protein expression of human umbilical vein endothelial cells (HUVECs) induced by vascular endothelial growth factor (VEGF). Animal experiments: After one week of adaptive feeding, 30 SD rats were randomly divided into a normal group, a model group, a low – dose Guangtongxiao Aqueous Extract group (0.73 g · kg^{-1}), a medium – dose Guangtongxiao Aqueous Extract group (1.45 g · kg^{-1}), a high – dose Guangtongxiao Aqueous Extract group (2.90 g · kg^{-1}), and a nitroglycerin group (0.13 mg · kg^{-1}), with 5 rats in each group. Except for the normal group, the rest of the rats were modeled for anal injury and continuously treated for 3 days. HE staining was used to observe pathological changes in the perianal tissues of rats with anal injury; ELISA was used to detect levels of interleukin – 4 (IL – 4), interleukin – 10 (IL – 10), interleukin – 1β (IL – 1β), interleukin – 6 (IL – 6), interleukin – 18 (IL – 18), tumor necrosis factor – α (TNF – α), and nitric oxide (NO) in serum, perianal tissue, and spinal cord; RT – qPCR and Western blot were used to analyze the gene and protein expression of M1/M2 polarization marker proteins in spinal microglia and key molecules of the TLR4/NF – κB/NLRP3 signaling pathway. Results: Cell experiments: GTXAEMS showed no cytotoxic effects on normal HUVECs within the tested concentration range and reduced VEGF – induced HUVEC permeability GTXAEMS upregulated the expression of vascular endothelial – cadherin (VE – cadherin), zonula occludens – 1 (ZO – 1), Occludin, and Claudin 5 ($P < 0.05$). Animal experiments: HE staining showed that the Guangtongxiao Aqueoud Extract significantly improved tissue damage in the perianal region of rats. The extract increased the levels of anti – inflammatory factors IL – 4 and IL – 10 in serum, perianal tissue, and spinal cord, while decreasing pro – inflammatory factors IL – 1β, IL – 6, IL – 18, and TNF – α. It also increased NO levels in serum and perianal tissue, while reducing NO levels in the spinal cord ($P < 0.05$). Guangtongxiao Aqueous Extract inhibited M1 polarization markers inducible nitric oxide synthase (iNOS) and CD86 expression, promoted M2 polarization markers arginase – 1 (Arg – 1) and CD206 expression, and downregulated TLR4, NF – κB, NLRP3, caspase – 1, and GSDMD – N protein expression levels ($P < 0.05$). Conclusion: Guangtongxiao Aqueous Extract may help reduce endothelial cell permeability, improve microcirculation, decrease the release of peripheral and central inflammatory mediators, thereby modulating the TLR4/NF – κB/NLRP3 signaling pathway, alleviating central sensitization, and ultimately reducing pain in rats′ anus.

Key words: Guangtongxiao Aqueous Extract; anal pain; TLR4/NF – κB/NLRP3 signaling pathway; inflammatory mediator; pain sensitization; rat

疼痛是肛肠疾病术后最常见的并发症，严重影响患者生活质量[1-2]。疼痛产生机制复杂，临床常用非甾体抗炎药、阿片类受体激动剂进行治疗，但容易出现药物不合理使用、肝肾损害等不良反应。中医认为，肛肠疾病术后疼痛的病机是湿热下注、气滞血瘀、经络阻滞，临床常采用中药熏洗、中药内服、针灸等方式治疗[3]，可显著缓解肛门疼痛。

广痛消是北京中医药大学东直门医院赵宝明教授在多年临床经验的基础上，选取延胡索、白芍、黄柏、厚朴、细辛、茜草、薄荷、当归 8 味中药提取制备而成。该方具有清热利湿、行气活血、祛瘀止痛的功效。多中心临床研究发现，广痛消能够安全有效地降低肛肠疾病术后肛管静息压，缓解肛门内括约肌痉挛[4]，减轻术后肛门疼痛，缓解创缘水肿[5]，促进创面愈合。中医认为“不通则痛”，广痛消能够缓解肛门疼痛，但其“通则不痛”的科学内涵尚不明确。基于此，本研究拟结合体内外实验探讨广痛消水提物能否通过降低血管内皮细胞通透性和炎症因子水

平，进而调节小胶质细胞活化，减轻痛觉敏化以缓解肛门疼痛。

1　材料

1.1　动物　SPF 级雄性 SD 大鼠 40 只，7～8 周龄，体质量 180～220 g，购自北京维通利华实验动物技术有限公司，动物生产许可证号：SCXK（京）2021－0011，饲养于北京中医药大学东方医院动物实验中心。本研究经北京中医药大学东方医院伦理委员会审核批准，批准编号：DFYY2025050702R。

1.2　细胞　人脐静脉内皮细胞（human umbilical vein endothelial cells，HUVECs）购自赛百慷（上海）生物技术股份有限公司，货号：iCell－h110，批号：250407。采用 10 代以内的细胞进行实验，细胞以 ECM 专用培养基（5% 胎牛血清、5% 青－链霉素、5% 生长因子）在 37 ℃、5% CO_2 培养箱中进行培养。

1.3　药物及制备　白芍、当归（北京盛世龙药业有限公司，批号：2508003、2510076）；延胡索、黄柏、厚朴、细辛、茜草（北京人卫中药饮片有限公司，批号：25072105、25092301、25061703、25070906、25030301）；上述药材经北京中医药大学东直门医院巩颖副主任药师鉴定，符合 2020 版《中华人民共和国药典》标准。

广痛消水提物制备：将除延胡索外的白芍、黄柏等药材混合，加入 8 倍体积双蒸水煎煮 3 次，每次 1 h，去渣过滤合并滤液，减压浓缩（相对密度 1.2～1.3，55～60 ℃），加入 95% 乙醇，使含醇量达 65%，静置 24 h，过滤，收集滤液并回收乙醇至无醇味，备用。另取延胡索，加 3 倍量 60% 乙醇浸泡 24 h 后加热回流提取 3 h，收集提取液；再加入 2 倍量 60% 乙醇加热回流提取 2 h，收集提取液，回收乙醇至无醇味。合并 2 次提取液并过滤，即得广痛消水提物（含生药 0.48 g·mL^{-1}）。

1.4　试剂　Transwell 小室（美国 Corning 公司，批号：01025026）；RIPA 裂解液、蛋白酶抑制剂混合物、BCA 蛋白浓度测定试剂盒（上海碧云天生物技术股份有限公司，批号：A297250430、063023231024、051023230608）；SDS－PAGE 预制胶套装试剂盒、DEPC 水（MDL 公司，批号：250307－4、241220－11）；三色预染蛋白质宽域分子量标准品（10～180 kDa）（北京中生奥邦生物科技有限公司，批号：250319）；兔抗 β－actin 抗体（Affinity 公司，批号：34i9522）；精氨酸酶－1（arginase－1，Arg－1）抗体、Toll 样受体 4（Toll－like receptor 4，TLR4）抗体、CD86 抗体（武汉三鹰生物技术有限公司，批号：10062756、10023998、00183873）；CD206 抗体、髓样分化因子 88（myeloid differentiation factor 88，MyD88）抗体、核因子 κB 抑制蛋白（inhibitor of NF－κB，IκB）抗体、p－IκB 抗体、p－NF－κBp65 抗体、NF－κBp65 抗体、NOD 样受体蛋白 3（NOD－like receptor protein 3，NLRP3）抗体、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶－1（cysteinyl aspartate specific proteinase－1，Caspase－1）抗体、GSDMD－N 抗体、离子化钙结合适配分子 1（ionized calcium－binding adapter molecule 1，Iba1）抗体（北京博奥龙生物科技有限公司，批号：8158、X0424P、8511、410#189、8442、8209、8024、8437、8489、8165）；CCK－8 检测试剂盒（江苏凯基生物技术股份有限公司，批号：20250415）；诱导型一氧化氮合酶（inducible nitric oxide synthase，iNOS）抗体（武汉三塔生物科技有限公司，批号：J2124）；一氧化氮（nitric oxide，NO）测定试剂盒（南京建成生物工程研究所，批号：20250318）；大鼠白细胞介素－1β（interleukin－1β，IL－1β）、白细胞介素－6（interleukin－6，IL－6）酶联免疫吸附测定试剂盒（上海江莱生物科技有限公司，批号：071727021208840717、071727021208960717）；异丙醇（北京化工厂，批号：20170801）。

1.5　仪器　N. 9548 型研磨机（北京赫德科技有限公司）；XC－CD 型超声波细胞破碎仪（先倡科技有限公司）；H203－H 型金属浴（COYOTE 公司）；ISEQ00010 型 NC 膜（孔径 0.22 μm，美国 GVS 公司）；3030861 型 3 mm 滤纸（英国 Whatman 公司）；TS－8 型摇床（海门市其林贝尔仪器制造有限公司）；JY－ZY6 型转膜槽、JY02S 型凝胶成像仪（北京君意东方电泳设备有限公司）；CF1524R 型低温离心机（SEILOGEX 公司）；MiniProGel™ 蛋白制胶、电泳与转膜系统（上海碧云天生物技术股份有限公司）；ChemiScope 6100 型化学发光成像仪（上海勤翔科学仪器有限公司）；CF1524R 型台式高速冷冻离心机（长沙兰杰柯生物技术有限公司）；Unano－1000 型分光光度计（优米仪器有限公司）；Q2000B 型荧光定量 PCR 仪（杭州朗基科学仪器有限公司）；EPS300 型电泳仪（美国 Bio－Rad 公司）。

2　方法

2.1　细胞实验

2.1.1　广痛消水提物含药血清（Guangtongxiao aqueous extract medicated serum，GTXAEMS）制备

10 只雄性 SD 大鼠适应性饲养 1 周后，随机分为空白组和广痛消水提物组（直肠给予广痛消水提物

20 g·kg^{-1})，每组 5 只，连续给药 3 d，每天 1 次，空白组给予等剂量蒸馏水。各组大鼠于末次给药后 2 h 经腹主动脉采血，离心取血清[6]，－80 ℃冰箱保存备用。

利用空白组血清和基础培养基将 GTXAEMS 稀释成体积分数：5%、10%、15%、20%[7]。如 10% GTXAEMS 由 10 μL GTXAEMS＋10 μL 空白血清＋80 μL 基础培养基配制而成；10% 空白血清由 20 μL 空白血清＋80 μL 基础培养基配制而成。

2.1.2　CCK－8 法检测 GTXAEMS 对 HUVECs 活力的影响　将对数生长期的 HUVECs 接种于 96 孔板，在 37 ℃、5% CO_2 培养箱中培养，待细胞贴壁且融合度为 80% 时，分为空白组与 GTXAEMS 组（5%、10%、15%、20%），每组 6 个复孔，分别给予相应培养基继续孵育 24 h，每孔加入 10 μL CCK－8 试剂，酶标仪 490 nm 波长处测定吸光度值。

另将对数生长期的 HUVECs 接种于 96 孔板，在 37 ℃、5% CO_2 培养箱中培养 24 h，分为空白组、模型组及 GTXAEMS 组（5%、10%、15%、20%），每组 6 个复孔；培养 1 h 后，除空白组外，每组加入终浓度 20 μg·L^{-1}的 VEGF 刺激细胞 24 h，每孔加入 10 μL CCK－8 试剂，酶标仪 490 nm 波长处测定吸光度值。

2.1.3　Transwell 实验检测血管通透性　将融合度为 80% 的 HUVECs 经不同浓度 GTXAEMS 预处理后，接种于 Transwell 小室上层，上室加入罗丹明 B 异硫氰酸酯－葡聚糖；随后于上室和下室同时加入等量相同浓度的 VEGF，每隔 30 min 从下室取出 10 μL 液体，持续 4 h，最后使用荧光酶标仪测量各时间点样品的荧光强度。

2.1.4　免疫荧光染色检测 HUVECs 中 VE－cadherin、ZO－1、Occluding、Claudin 5 蛋白表达水平　将各组细胞以 4% 多聚甲醛固定，0.3% Triton X－100 透膜，封闭，加入一抗、荧光二抗，室温孵育 2 h，DAPI 进行细胞核染色。荧光显微镜观察并拍照，每孔随机选取视野，用 Image J 软件分析荧光强度。

2.1.5　Western blot 检测 HUVECs 中 VE－cadherin、ZO－1、Occluding、Claudin 5 蛋白表达水平　各组 HUVECs 经相应处理后加入 RIPA 裂解液提取细胞总蛋白，BCA 法测定蛋白浓度，进行凝胶电泳和转膜。室温封闭 1 h，进行一抗、二抗孵育。ECL 法显影，使用 Image J 软件分析蛋白条带灰度值，计算目的蛋白和内参蛋白（β－actin）的灰度值之比，作为目的蛋白的相对表达水平。

2.2　动物实验

2.2.1　分组、造模及给药　30 只 SD 大鼠适应性饲养 1 周后，随机分为正常组、模型组、广痛消水提物低剂量组、广痛消水提物中剂量组、广痛消水提物高剂量组及硝酸甘油组，每组 5 只。除正常组外，其余大鼠复制肛门损伤模型：将大鼠麻醉后固定，碘伏消毒肛周皮肤，取肛门截石位 3、7、11 点各做一放射状梭形切口，深达皮下，长约 6 mm，最宽处约 2 mm，内达直肠与肛管交界，外达肛缘。

造模完成后 1 h 进行直肠给药，广痛消水提物给药剂量参照徐叔云主编《药理实验方法学》中的人鼠剂量换算公式，得到大鼠每日剂量为 1.45 g·kg^{-1}，定为中剂量；低、高剂量分别为中剂量的 0.5、2 倍，即 0.73、2.90 g·kg^{-1}。正常组和模型组大鼠经直肠给予蒸馏水（10 mL·kg^{-1}），硝酸甘油组给予 0.13 mg·kg^{-1}硝酸甘油软膏，连续 3 d，每天 1 次。末次给药后大鼠经腹腔注射麻醉，颈静脉取血，离心收集血清；同时取肛周组织、脊髓，－80 ℃冰箱保存备用。

2.2.2　HE 染色观察大鼠肛周组织病理变化　取 4% 多聚甲醛溶液固定的大鼠肛周组织，常规脱水，透明，石蜡包埋。切片常规脱蜡冲洗，苏木素染核，水洗，乙醇分化数秒，流水冲洗 1 h，梯度乙醇脱水各 10 min。镜下观察细胞核呈蓝色，伊红染色数秒，梯度乙醇脱水，二甲苯透明，中性树胶封片，光学显微镜下观察。

2.2.3　大鼠血清、肛周及脊髓组织 IL－4、IL－10、IL－1β、IL－6、IL－18、TNF－α、NO 含量检测　取大鼠血清、肛周组织及脊髓腰膨大组织（L4—L6），按照 ELISA 试剂盒说明书或 NO 测定试剂盒说明书操作，在酶标仪 450 nm 波长处测定吸光度值，根据标准曲线计算 IL－4、IL－10、IL－1β、IL－6、IL－18、TNF－α、NO 浓度。

2.2.4　RT－qPCR 法检测大鼠脊髓组织 *Iba1*、*iNOS*、*CD86*、*Arg－1*、*CD206* mRNA 表达水平　取适量大鼠脊髓腰膨大组织，加入液氮后研磨。采用 TRIzol 法提取总 RNA，核酸浓度测定仪检测 RNA 的浓度和纯度，之后使用逆转录试剂盒将其逆转录为 cDNA。RT－qPCR 扩增条件为：预变性 95 ℃ 5 min；循环变性 95 ℃ 变性 10 s，58 ℃ 退火 20 s，72 ℃ 延伸 20 s，循环 40 次。以 *β－actin* 为内参基因，运用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法计算目标基因的相对表达量。引物由北京百奥思科生物医学技术有限公司合成，引物序列见表 1。

表 1　引物序列

基因	引物序列
β – actin	上游:5′ – ACCCAGATCATGTTTGAGACCT – 3′
	下游:3′ – GACCAGAGGCATACAGGGACAAC – 5′
Iba1	上游:5′ – CTTCAGCTCTAGATGGGTCTTGG – 3′
	下游:3′ – AAGAGAGGTTGGATGGGATCAAC – 5′
iNOS	上游:5′ – CATTGGAAGTGAAGCGTTTCG – 3′
	下游:3′ – CAGCTGGGCTGTACAAACCTT – 5′
CD86	上游:5′ – GATTGCAGGTCCCAGTTCACTTC – 3′
	下游:3′ – CCACTGTCCTGCTTGGACTCAC – 5′
Arg – 1	上游:5′ – CTACCTGCTGGGAAGGAAG – 3′
	下游:3′ – GTCCTGAAAGTAGCCCTGTC – 5′
CD206	上游:5′ – CCCTCAGCAAGCGATGTGC – 3′
	下游:3′ – GGATACTTGCCAGGTCCCCA – 5′

2.2.5　Western blot 法检测大鼠脊髓组织 TLR4/NF – κB/NLRP3 信号通路及 M1/M2 极化标志蛋白表达水平　称取适量大鼠脊髓腰膨大组织,加入裂解液裂解,BCA 法测定蛋白浓度,其余步骤同 2.1.5,检测 TLR4/NF – κB/NLRP3 信号通路关键信号分子(TLR4、MyD88、IκB、p – IκB、p – NF – κB p65、NF – κB p65、NLRP3、Caspase – 1、GSDMD – N)及 M1/M2 极化标志蛋白(Iba1、iNOS、CD86、Arg – 1、CD206)表达水平。

2.3　统计学方法　采用 SPSS 26.0 软件进行统计分析,符合正态分布的计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)描述,不符合正态分布者以中位数(四分位数)[$M(Q_{25}, Q_{75})$] 描述。采用 *Shapiro – Wilk* 检验进行正态性检验,*Levene* 检验进行方差齐性检验。符合正态分布且方差齐者,多组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用 *Dunnett* 检验,方差不齐者采用 *Games – Howell* 检验;不符合正态分布者采用 *Kruskal – Wallis H* 检验。多时点数据采用重复测量方差分析。$P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

3　结果

3.1　GTXAEMS 对 VEGF 诱导的 HUVECs 功能完整性的影响

3.1.1　GTXAEMS 对 HUVECs 活力的影响　CCK – 8 检测结果显示,空白组与 GTXAEMS 组(5%、10%、15%、20%)HUVECs 的存活率比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),表明该体积分数范围的 GTXAEMS 对正常 HUVECs 无明显细胞毒性作用,见表 2。

与空白组比较,模型组 HUVECs 的存活率显著升高($P < 0.01$);与模型组比较,15%、20% GTXAEMS 组 HUVECs 的存活率显著降低($P < 0.05$),见表 3。

表 2　不同体积分数 GTXAEMS 对 HUVECs 细胞活力的影响　[$M(Q_{25}, Q_{75})$,%]

组别	n	存活率
空白组	3	96.3(95.9,102.3)
5% GTXAEMS 组	3	94.2(93.6,100.4)
10% GTXAEMS 组	3	104.9(104.5,108.4)
15% GTXAEMS 组	3	101.6(101.6,103.9)
20% GTXAEMS 组	3	91.7(91.2,92.2)
H 值		8.433
P 值		0.077

表 3　不同体积分数 GTXAEMS 对 VEGF 诱导的 HUVECs 细胞活力的影响　($\bar{x} \pm s$,%)

组别	n	存活率
空白组	3	100.000 ± 2.300
模型组	3	114.534 ± 1.307 **
5% GTXAEMS 组	3	117.072 ± 5.592
10% GTXAEMS 组	3	108.797 ± 2.881
15% GTXAEMS 组	3	101.704 ± 2.264 ##
20% GTXAEMS 组	3	105.633 ± 2.199 #
F 值		14.955
P 值		< 0.001

注:与空白组比较,** $P < 0.01$;与模型组比较,# $P < 0.05$,## $P < 0.01$。

3.1.2　GTXAEMS 对 VEGF 诱导的 HUVECs 通透性的影响　Transwell 实验结果显示,与空白组比较,模型组 HUVECs 各时间点荧光强度显著增加($P < 0.05$);与模型组比较,10%、15%、20% GTXAEMS 组 HUVECs 各时间点荧光强度显著减少($P < 0.01$),以 15% GTXAEMS 组降低最为明显,见表 4。重复测量方差分析结果显示,$F_{组别} = 1\,428.429$,$P < 0.001$;$F_{时间} = 1\,773.291$,$P < 0.001$;$F_{交互} = 76.351$,$P < 0.001$。

3.1.3　GTXAEMS 对 VEGF 诱导的 HUVECs 中 VE – cadherin、ZO – 1、Occludin、Claudin 5 蛋白表达的影响　免疫荧光结果显示,模型组与 GTXAEMS 组(5%、10%、15%、20%)HUVECs 的 VE – cadherin、ZO – 1、Occludin、Claudin 5 荧光强度比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),见图 1、表 5。

Western blot 结果显示,与模型组比较,GTXAEMS 组(5%、10%、15%、20%)HUVECs 的 VE – cadherin(5% GTXAEMS 组除外)、ZO – 1、Occludin 蛋白表达水平显著升高($P < 0.05$),见图 2、表 6。

表 4　VEGF 诱导的 HUVECs 经不同体积分数 GTXAEMS 处理后的荧光强度比较　($\bar{x} \pm s$)

组别	n	30 min	60 min	90 min	120 min
空白组	3	0.207 ± 0.015	0.180 ± 0.020	0.183 ± 0.031	0.190 ± 0.026
模型组	3	0.310 ± 0.020 *	0.510 ± 0.035 **	0.737 ± 0.076 **	0.873 ± 0.012 **
5% GTXAEMS 组	3	0.297 ± 0.047	0.483 ± 0.071	0.673 ± 0.015	0.830 ± 0.000
10% GTXAEMS 组	3	0.177 ± 0.042 ##	0.167 ± 0.040 ##	0.327 ± 0.059 ##	0.570 ± 0.044 ##
15% GTXAEMS 组	3	0.167 ± 0.035 ##	0.180 ± 0.017 ##	0.180 ± 0.017 ##	0.297 ± 0.012 ##
20% GTXAEMS 组	3	0.173 ± 0.038 ##	0.167 ± 0.046 ##	0.353 ± 0.012 ##	0.520 ± 0.087 ##
组别	n	150 min	180 min	210 min	240 min
空白组	3	0.167 ± 0.040	0.193 ± 0.029	0.190 ± 0.036	0.307 ± 0.047
模型组	3	1.090 ± 0.066 **	1.377 ± 0.021 **	1.577 ± 0.046 **	1.740 ± 0.010 **
5% GTXAEMS 组	3	1.060 ± 0.020	1.393 ± 0.040	1.553 ± 0.042	1.750 ± 0.020
10% GTXAEMS 组	3	0.713 ± 0.057 ##	0.853 ± 0.042 ##	1.070 ± 0.060 ##	1.403 ± 0.021 ##
15% GTXAEMS 组	3	0.520 ± 0.000 ##	0.733 ± 0.055 ##	0.850 ± 0.017 ##	1.050 ± 0.026 ##
20% GTXAEMS 组	3	0.757 ± 0.025 ##	0.857 ± 0.025 ##	1.143 ± 0.015 ##	1.377 ± 0.021 ##

注：与空白组比较，* $P < 0.05$，** $P < 0.01$；与模型组比较，## $P < 0.01$。

表 5　不同体积分数 GTXAEMS 对 HUVECs 中 E－cadherin、ZO－1、Occludin、Claudin 5 荧光强度的影响　[$\bar{x} \pm s / M(Q_{25}, Q_{75})$]

组别	n	VE－cadherin	ZO－1	Occludin	Claudin 5
模型组	3	0.054(0.045,0.055)	0.069(0.060,0.073)	0.041 ± 0.009	0.083(0.077,0.089)
5% GTXAEMS 组	3	0.047(0.046,0.055)	0.058(0.056,0.066)	0.042 ± 0.010	0.091(0.087,0.092)
10% GTXAEMS 组	3	0.070(0.070,0.081)	0.077(0.071,0.080)	0.052 ± 0.010	0.094(0.091,0.105)
15% GTXAEMS 组	3	0.065(0.058,0.073)	0.115(0.109,0.115)	0.062 ± 0.013	0.136(0.130,0.137)
20% GTXAEMS 组	3	0.070(0.060,0.071)	0.086(0.082,0.086)	0.065 ± 0.018	0.115(0.103,0.121)
F/H 值		7.033	11.367	2.368	8.467
P 值		0.134	0.023	0.123	0.076

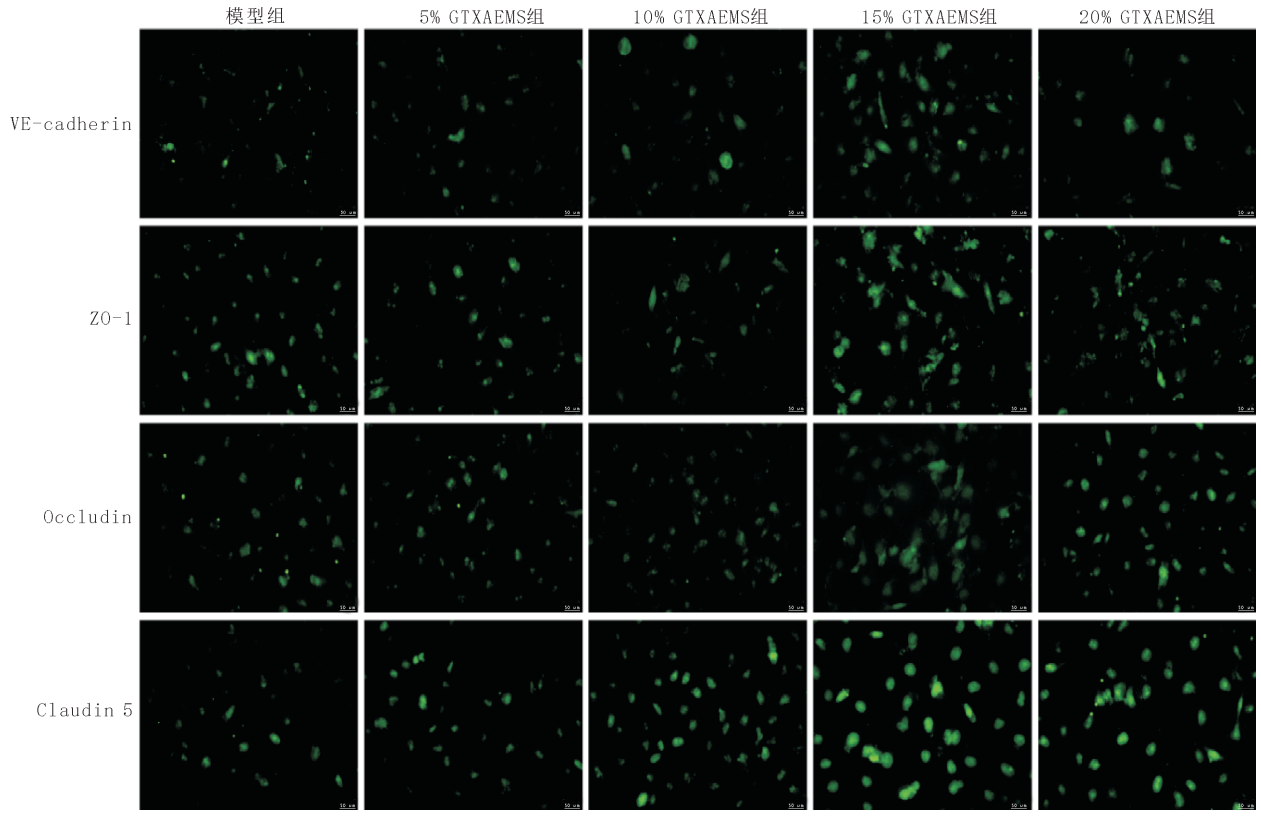


图 1　VEGF 诱导的 HUVECs 中 VE－cadherin、ZO－1、Occludin、Claudin 5 免疫荧光染色图

表 6　不同体积分数 GTXAEMS 对 HUVECs 中 VE－cadherin、ZO－1、Occludin、Claudin 5 蛋白表达水平的影响　[$\bar{x} \pm s/M(Q_{25}, Q_{75})$]

组别	n	VE－cadherin	ZO－1	Occludin	Claudin 5
模型组	3	0.188 ± 0.044	0.155 ± 0.032	0.146 ± 0.017	0.170(0.147,0.176)
5% GTXAEMS 组	3	0.183 ± 0.044	0.168 ± 0.003	0.144 ± 0.015	0.131(0.130,0.171)
10% GTXAEMS 组	3	0.301 ± 0.069	0.232 ± 0.010 *	0.247 ± 0.041 *	0.233(0.225,0.259)
15% GTXAEMS 组	3	0.572 ± 0.087 **	0.543 ± 0.042 **	0.506 ± 0.035 **	0.422(0.419,0.508)
20% GTXAEMS 组	3	0.440 ± 0.070 **	0.387 ± 0.032 **	0.347 ± 0.036 **	0.332(0.328,0.393)
F/H 值		20.117	105.306	73.985	12.367
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	0.015

注：与模型组比较，* $P<0.05$，** $P<0.01$。

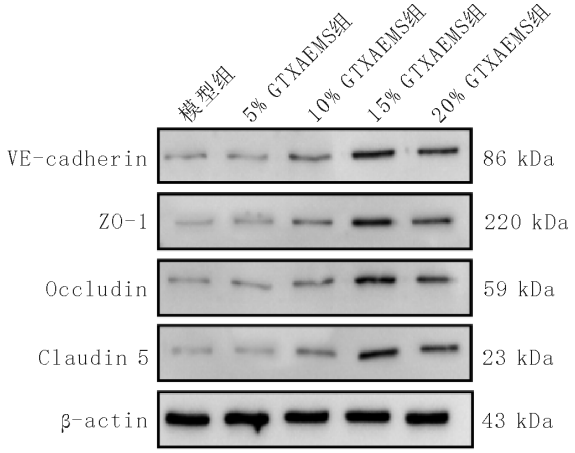
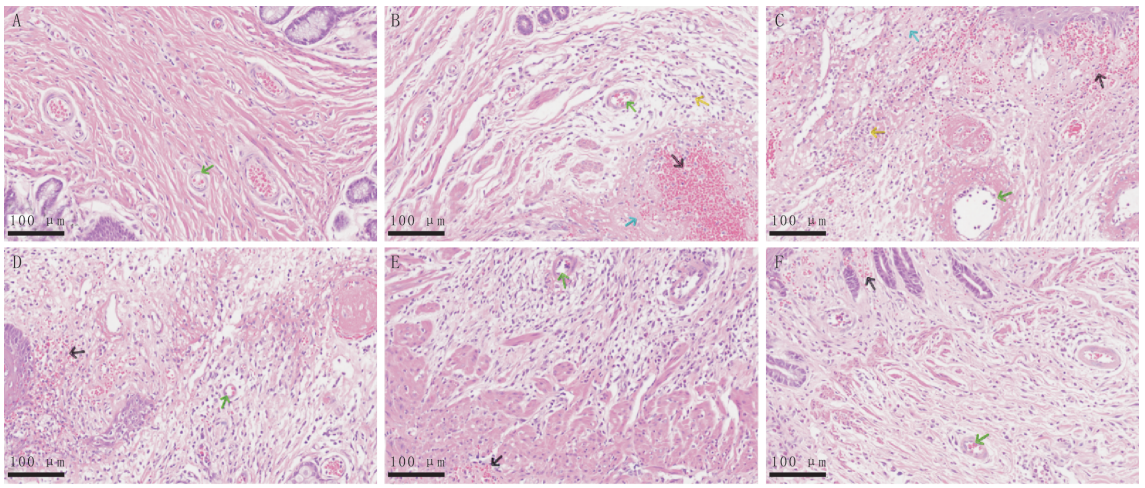


图 2　VEGF 诱导的 HUVECs 中 VE－cadherin、ZO－1、Occludin、Claudin 5 蛋白条带图

3.2　广痛消水提物对大鼠肛周组织病理变化的影响　HE 染色结果显示，正常组大鼠肛门局部组织结构清晰，形态正常，固有层可见散在纤维细胞核及丰富的毛细血管，未见明显炎症细胞聚集，血管内皮细胞形态正常（绿色箭头）；模型组大鼠肛门组织可见黏膜固有层浅层结缔组织坏死（蓝色箭头），伴周围出血（黑色箭头）及较多炎症细胞浸润（黄色箭头），区域内血管壁内皮细胞可见明显脱落，周围结缔组织亦可见坏死（绿色箭头）；与模型组比较，广痛消水提物低、中、高剂量组及硝酸甘油组大鼠肛周组织损伤显著改善，固有层出血减少，炎症细胞浸润有所减轻，血管内皮细胞坏死减少，其中广痛消水提物高剂量组和硝酸甘油组改善最明显，见图 3。



注：A：正常组；B：模型组；C：广痛消水提物低剂量组；D：广痛消水提物中剂量组；E：广痛消水提物高剂量组；F：硝酸甘油组。

图 3　各组大鼠肛周组织病理 HE 染色图（20 ×）

3.3　广痛消水提物对大鼠外周敏化的调控　血清：与正常组比较，模型组大鼠 IL－4、IL－10、NO 水平显著降低（$P<0.01$），IL－1β、IL－6、IL－18、TNF－α 水平显著升高（$P<0.01$）；与模型组比较，广痛消水提物低、中、高剂量组及硝酸甘油组大鼠 IL－4、IL－10 水平显著升高（$P<0.01$），IL－1β、IL－6、IL－18、TNF－α 水平显著降低（$P<0.05$），广痛消水提物高剂量组大鼠 NO 水平显著升高（$P<0.05$），见表 7。

肛周组织：与正常组比较，模型组大鼠 IL－4、IL－10、NO 水平显著降低（$P<0.01$），IL－1β、IL－6、IL－18、TNF－α 水平显著升高（$P<0.01$）；

与模型组比较，广痛消水提物低、中、高剂量组及硝酸甘油组大鼠 IL－4、IL－10（低剂量组与硝酸甘油组除外）、NO 水平显著升高（$P<0.01$），IL－6、IL－18、TNF－α（低剂量组与硝酸甘油组除外）水平显著降低（$P<0.05$），见表 8。

表 7　各组大鼠血清中炎症因子水平比较　［$\bar{x}\pm s/M(Q_{25},Q_{75})$］

组别	n	IL－4（ρ/ng·L^{-1}）	IL－10（ρ/ng·L^{-1}）	IL－1β（ρ/ng·L^{-1}）	IL－6（ρ/ng·L^{-1}）
正常组	5	35.740±2.883	84.060±4.901	15.710±2.745	33.080±6.190
模型组	5	8.681±0.922**	20.520±5.346**	57.770±3.603**	77.130±3.599**
广痛消水提物低剂量组	5	17.290±1.487##	40.610±4.973##	38.180±6.079##	57.550±6.070##
广痛消水提物中剂量组	5	27.090±2.524##	62.890±2.166##	23.040±4.317##	42.430±4.310##
广痛消水提物高剂量组	5	26.660±2.515##	62.960±2.121##	23.130±3.033##	41.110±5.789##
硝酸甘油组	5	17.340±1.663##	40.520±4.013##	39.930±5.141##	59.300±5.153##
F 值		19.893	94.110	52.372	40.773
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

组别	n	IL－18（ρ/μg·L^{-1}）	TNF－α（ρ/ng·L^{-1}）	NO（c/μmol·L^{-1}）
正常组	5	1.850±0.685	24.270±5.045	322.404（321.533，345.786）
模型组	5	13.350±0.855**	89.370±8.275**	123.162（116.317，124.088）**
广痛消水提物低剂量组	5	9.145±1.003##	70.070±7.417#	222.615（202.020，234.797）
广痛消水提物中剂量组	5	4.062±0.860##	39.780±11.750##	250.877（217.533，267.606）
广痛消水提物高剂量组	5	4.106±0.873##	41.200±6.514##	250.000（247.345，263.245）#
硝酸甘油组	5	9.142±0.621##	71.160±8.562#	222.826（201.031，238.095）
F/H 值		113.964	37.345	18.641
P 值		<0.001	<0.001	0.002

注：与正常组比较，** $P<0.01$；与模型组比较，#$P<0.05$，##$P<0.01$。

表 8　各组大鼠肛周组织中炎症因子水平比较　［$\bar{x}\pm s/M(Q_{25},Q_{75})$］

组别	n	IL－4（ρ/ng·L^{-1}）	IL－10（ρ/ng·L^{-1}）	IL－1β（ρ/ng·L^{-1}）	IL－6（ρ/ng·L^{-1}）
正常组	5	18.990±2.083	74.593（73.354，75.301）	9.786（8.625，10.679）	15.190±1.753
模型组	5	10.550±0.799**	25.478（23.531，26.186）**	33.357（31.839，35.143）**	53.230±4.137**
广痛消水提物低剂量组	5	16.730±0.604##	38.929（38.133，39.195）	21.482（20.321，21.839）	37.000±1.527##
广痛消水提物中剂量组	5	18.360±0.791##	64.504（57.336，65.743）#	14.518（14.250，15.143）	31.060±1.539##
广痛消水提物高剂量组	5	20.640±0.673##	66.053（63.266，69.062）#	11.527（10.098，12.911）	30.240±1.146##
硝酸甘油组	5	15.700±1.143##	41.673（38.841，48.575）	24.250（23.089，26.214）	38.890±1.411##
F/H 值		44.720	25.970	26.522	160.007
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

组别	n	IL－18（ρ/μg·L^{-1}）	TNF－α（ρ/ng·L^{-1}）	NO（c/μmol·L^{-1}）
正常组	5	1.844±0.467	22.349（21.406，23.104）	114.500±4.923
模型组	5	7.267±0.343**	70.557（64.991，70.745）**	21.520±4.712**
广痛消水提物低剂量组	5	5.733±0.372##	36.311（35.651，36.972）	61.620±14.270##
广痛消水提物中剂量组	5	4.453±0.412##	25.179（24.142，26.972）#	86.030±5.381##
广痛消水提物高剂量组	5	4.125±0.373##	23.009（21.547，25.651）##	85.650±13.080##
硝酸甘油组	5	5.525±0.309##	39.142（38.859，39.613）	63.020±8.161##
F/H 值		113.923	24.754	37.236
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

注：与正常组比较，** $P<0.01$；与模型组比较，#$P<0.05$，##$P<0.01$。

3.4　广痛消水提物对大鼠中枢敏化的调控

3.4.1　广痛消水提物对大鼠脊髓中炎症因子的影响　与正常组比较，模型组大鼠脊髓 IL－4、IL－10 水平显著降低（$P<0.01$），IL－1β、IL－6、IL－18、TNF－α、NO 水平显著升高（$P<0.01$）；与模型组比较，广痛消水提物低、中、高剂量组及硝酸甘油组大鼠脊髓 IL－4、IL－10（低剂量组与硝酸甘油组除外）水平显著升高，IL－6、IL－18、TNF－α 水平显著降低（$P<0.05$），见表 9。

表 9　各组大鼠脊髓中炎症因子水平比较　［$\bar{x}\pm s/M(Q_{25},Q_{75})$］

组别	n	IL－4（ρ/ng·L^{-1}）	IL－10（ρ/ng·L^{-1}）	IL－1β（ρ/ng·L^{-1}）	IL－6（ρ/ng·L^{-1}）
正常组	5	17.310±1.007	35.389(34.416,36.363)	2.911(2.732,3.089)	10.240±1.815
模型组	5	8.218±0.761**	12.381(11.407,13.620)**	12.911(11.839,15.946)**	36.750±1.628**
广痛消水提物低剂量组	5	10.660±0.835##	21.053(20.876,21.496)	5.946(5.321,6.036)	29.290±1.308##
广痛消水提物中剂量组	5	14.290±1.109##	30.345(29.991,32.469)#	4.161(3.714,4.607)	23.900±2.358##
广痛消水提物高剂量组	5	15.830±0.722##	34.239(30.345,35.035)##	3.268(2.911,3.268)##	20.620±2.062##
硝酸甘油组	5	10.380±0.742##	21.319(21.230,22.204)	7.107(6.214,8.179)	30.700±1.195##
F/H 值		26.814	24.935	25.337	135.552
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

组别	n	IL－18（ρ/μg·L^{-1}）	TNF－α（ρ/ng·L^{-1}）	NO（c/μmol·L^{-1}）
正常组	5	1.848±0.342	11.590±1.990	52.117(48.484,59.842)
模型组	5	6.876±0.267**	35.690±3.404**	166.915(157.926,167.035)**
广痛消水提物低剂量组	5	5.432±0.345##	23.140±1.510##	120.000(119.559,128.554)
广痛消水提物中剂量组	5	4.353±0.420##	18.240±0.748##	89.314(85.753,95.897)
广痛消水提物高剂量组	5	3.471±0.429##	15.390±2.869##	87.977(84.276,97.407)
硝酸甘油组	5	5.396±0.233##	23.410±2.623##	124.620(118.051,127.967)
F/H 值		128.201	63.290	15.643
P 值		<0.001	<0.001	0.008

注：与正常组比较，** $P<0.01$；与模型组比较，# $P<0.05$，## $P<0.01$。

3.4.2　广痛消水提物对脊髓 TLR4/NF－κB/NLRP3 信号通路及小胶质细胞 M1/M2 极化标志物的影响　RT－qPCR 结果显示，与正常组比较，模型组大鼠脊髓组织 *Iba1*、*iNOS*、*CD86* mRNA 表达水平显著升高（$P<0.01$），*Arg－1*、*CD206* mRNA 表达水平显著降低（$P<0.01$）；与模型组比较，广痛消水提物中、高剂量组大鼠脊髓组织 *Iba1*、*iNOS*（中剂量组除外）、*CD86*（中剂量组除外）mRNA 表达水平显著降低，*Arg－1*、*CD206* mRNA 表达水平显著升高（$P<0.01$），见表 10。

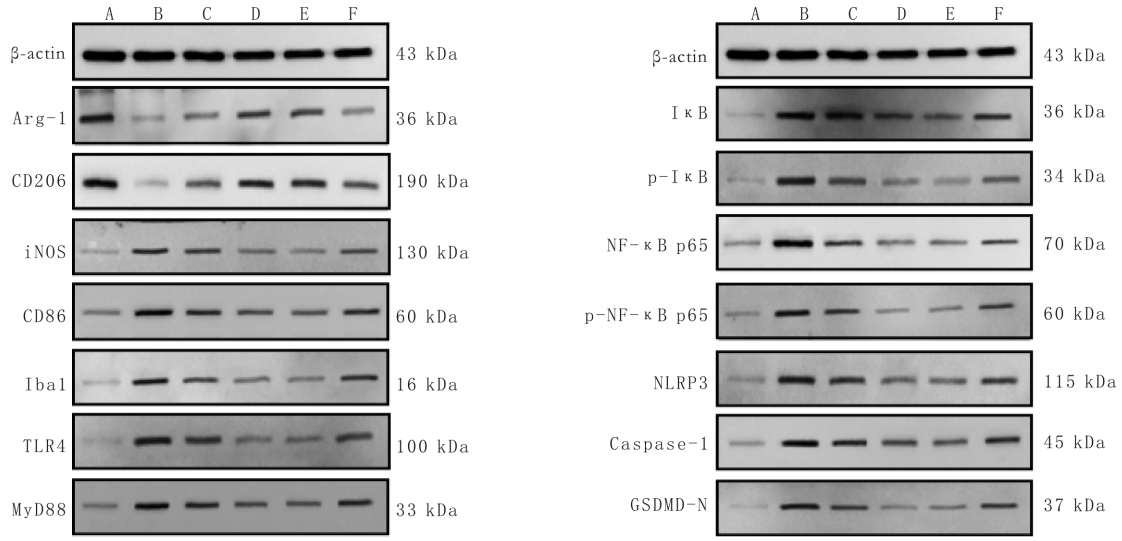
表 10　各组大鼠脊髓中 *Iba1*、*iNOS*、*CD86*、*Arg－1*、*CD206* mRNA 表达比较　［$\bar{x}\pm s/M(Q_{25},Q_{75})$］

组别	n	*Iba1* mRNA	*iNOS* mRNA	*CD86* mRNA	*Arg－1* mRNA	*CD206* mRNA
正常组	5	1.173±0.244	1.003±0.067	0.938(0.865,1.000)	0.972±0.103	0.935±0.121
模型组	5	1.657±0.321**	1.828±0.345**	1.688(1.683,1.714)**	0.349±0.089**	0.309±0.068**
广痛消水提物低剂量组	5	1.588±0.173	1.173±0.163	1.511(1.471,1.540)	0.430±0.167	0.623±0.095
广痛消水提物中剂量组	5	1.390±0.163#	1.206±0.122	1.217(1.205,1.245)	0.797±0.065##	0.882±0.156##
广痛消水提物高剂量组	5	1.268±0.118#	1.069±0.167##	1.005(0.968,1.298)#	0.848±0.112##	0.804±0.067##
硝酸甘油组	5	1.595±0.144	1.432±0.160	1.339(1.271,1.354)	0.566±0.093	0.596±0.119
F/H 值		4.637	12.639	22.099	25.802	22.606
P 值		0.004	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注：与正常组比较，** $P<0.01$；与模型组比较，# $P<0.05$，## $P<0.01$。

Western blot 结果显示，与正常组比较，模型组大鼠脊髓组织 Arg－1、CD206 蛋白表达水平显著降低（$P<0.01$），iNOS、CD86、Iba1、TLR4、MyD88、IκB、p－IκB、NF－κB p65、p－NF－κB p65、NLRP3、Caspase－1、GSDMD－N 蛋白表达水平显著升高（$P<0.05$）；与模型组比较，广痛消水提物低、中、高剂量组及硝酸甘油组大鼠脊髓组织 Arg－1、CD206 蛋白表达水平显著升高（$P<0.01$），iNOS、CD86、Iba1、TLR4、MyD88、IκB、p－IκB、NF－κB p65、p－NF－κB p65、NLRP3、GSDMD－N 蛋白表达水平

显著降低($P<0.01$),见图 4、表 11。



注:A:正常组;B:模型组;C:广痛消水提物低剂量组;D:广痛消水提物中剂量组;E:广痛消水提物高剂量组;F:硝酸甘油组。

图 4　各组大鼠脊髓组织 TLR4/NF－κB/NLRP3 信号通路关键分子及 M1/M2 极化标志物蛋白条带图

表 11　各组大鼠脊髓中 Arg－1、CD206、iNOS、CD86、Iba1、TLR4、MyD88、IκB、p－IκB、NF－κB p65、p－NF－κB p65、NLRP3、Caspase－1、GSDMD－N 蛋白表达比较　[$\bar{x}\pm s/M(Q_{25},Q_{75})$]

组别	n	Arg－1	CD206	iNOS	CD86	Iba1
正常组	3	0.419±0.003	0.352±0.006	0.246±0.000	0.260±0.001	0.159±0.001
模型组	3	0.234±0.002**	0.147±0.001**	0.538±0.002**	0.437±0.001**	0.355±0.004**
广痛消水提物低剂量组	3	0.269±0.001##	0.245±0.003##	0.474±0.008##	0.393±0.001##	0.300±0.001##
广痛消水提物中剂量组	3	0.358±0.001##	0.287±0.003##	0.399±0.003##	0.358±0.004##	0.245±0.002##
广痛消水提物高剂量组	3	0.346±0.003##	0.289±0.003##	0.383±0.001##	0.362±0.008##	0.242±0.003##
硝酸甘油组	3	0.257±0.002##	0.247±0.002##	0.478±0.002##	0.401±0.006##	0.292±0.000##
F 值		3 507.312	1 229.888	2 481.739	536.334	2 648.015
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

组别	n	TLR4	MyD88	IκB	p－IκB
正常组	3	0.316±0.003	0.266±0.003	0.235±0.002	0.306±0.009
模型组	3	0.588±0.004**	0.490±0.003**	0.622±0.002**	0.525±0.002**
广痛消水提物低剂量组	3	0.513±0.002##	0.440±0.002##	0.541±0.006##	0.478±0.002##
广痛消水提物中剂量组	3	0.478±0.002##	0.356±0.003##	0.484±0.005##	0.364±0.006##
广痛消水提物高剂量组	3	0.482±0.007##	0.365±0.001##	0.487±0.002##	0.369±0.001##
硝酸甘油组	3	0.521±0.005##	0.445±0.001##	0.540±0.005##	0.462±0.002##
F 值		1 418.046	4 173.326	3 342.695	899.833
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

组别	n	NF－κB p65	p－NF－κB p65	NLRP3	Caspase－1	GSDMD－N
正常组	3	0.211±0.001	0.189±0.003	0.298±0.001	0.188(0.187,0.188)	0.213±0.001
模型组	3	0.449±0.004**	0.381±0.002**	0.444±0.002**	0.429(0.429,0.429)*	0.463±0.003**
广痛消水提物低剂量组	3	0.336±0.003##	0.333±0.002##	0.396±0.001##	0.373(0.372,0.374)	0.420±0.001##
广痛消水提物中剂量组	3	0.272±0.003##	0.220±0.001##	0.355±0.004##	0.336(0.335,0.338)	0.339±0.003##
广痛消水提物高剂量组	3	0.267±0.001##	0.219±0.002##	0.345±0.001##	0.332(0.331,0.332)	0.350±0.004##
硝酸甘油组	3	0.308±0.002##	0.333±0.002##	0.405±0.003##	0.379(0.378,0.380)	0.424±0.005##
F/H 值		3 413.390	4 832.362	1 773.140	16.579	2 615.112
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	0.005	<0.001

注:与正常组比较,*$P<0.05$,**$P<0.01$;与模型组比较,##$P<0.01$。

4　讨论

中医学将肛门疼痛纳入“痛证”范畴[8]，证候有虚实之分，实证疼痛多因感受外邪或外伤，或气滞血瘀，或痰浊凝滞，使脏腑经络不通，气血运行不畅所致，即所谓“不通则痛”；虚证疼痛多因气血、阴阳亏虚，脏腑经脉失养所致，即所谓“不荣则痛”[9]。肛门疼痛为实证时，临床上往往采用清热利湿、行气活血、消肿止痛的中药缓解疼痛。广痛消作为治疗肛门疼痛的有效方剂，方中延胡索、白芍、茜草、当归补血活血止痛，黄柏、厚朴、薄荷、细辛清热利湿行气，全方气血同调，标本兼治。研究表明，微循环障碍与中医学的瘀证密切相关，活血中药可增大毛细血管直径，提高组织灌注水平，改善局部微循环障碍[9-11]。而微循环障碍可进一步导致炎症介质的释放，进而引起局部疼痛。

肛门疼痛原因复杂，炎症介质是导致术后疼痛的主要原因之一。当肛周组织损伤时，免疫系统被激活，释放多种炎症介质（如细胞因子）。炎症介质会导致内皮细胞损伤[12]，血管壁通透性增加，进而导致组织水肿，并进一步增加炎症介质的释放[13]，最终导致微循环障碍[14]。本研究发现，广痛消水提物可通过上调内皮细胞间连接蛋白 VE－cadherin、ZO－1、Occludin、Claudin 5 的表达水平，降低血管内皮细胞通透性，从而改善肛周局部微循环。同时广痛消水提物可显著改善肛周组织损伤，减少局部出血和炎症细胞浸润。此外，广痛消水提物可增加血清和肛周组织 NO 水平，舒张血管，从而提高组织灌注，改善局部微循环障碍以缓解疼痛[15]。

促炎细胞因子可直接或间接作用于伤害性感觉神经元上的受体，激活多种复杂的信号传导通路，从而降低周围神经元兴奋阈值，产生短期的外周敏化[16-18]。广痛消水提物可显著增加外周（血清、肛周组织）IL－4、IL－10 抗炎因子含量，降低 IL－1β、IL－6、IL－18、TNF－α 促炎因子水平，提示其可缓解机体炎症反应并改善外周痛觉敏化。手术损伤在导致外周伤害性感受器敏化的同时，将大量异常兴奋性电活动传导至脊髓后角神经元，使 IL－1β、IL－6、TNF－α 等细胞因子释放增加，促进小胶质细胞大量浸润，进一步释放 IL－1β 等炎症因子，进而介导众多促炎细胞因子（如 IL－6、TNF－α）的合成，导致中枢敏化[19-21]。本研究显示，广痛消水提物可增加脊髓中 IL－4、IL－10 抗炎因子含量，降低 IL－1β、IL－6、IL－18、TNF－α、NO 促炎因子含量；同时抑制小胶质细胞 M1 极化标志物（iNOS、CD86）表达[22]，促进 M2 极化标志物（Arg－1、CD206）表达，从而减轻中枢敏化以缓解肛门疼痛。研究发现，通过调控小胶质细胞向 M2 型转化，可降低炎症介质的产生，从而有效减轻神经炎症[23]。

Iba1 是小胶质细胞的表面标志物，当组织受到损伤后，炎症因子等被脊髓小胶质细胞表面的 Toll 样受体识别，TLR4 的激活可通过 MyD88 依赖和非依赖途径，磷酸化并降解 IκB 蛋白，继而激活 NF－κB 通路[24]，释放出磷酸化后 NF－κB p65[25-26]，产生促炎性细胞因子，进而上调 NLRP3 炎症小体相关因子表达。活化后的 NLRP3 激活 Caspase－1[27]，诱导炎症介质的释放（如 IL－1β、IL－18），并作用于 GSDMD 氨基末端生成 GSDMD－N 介导细胞焦亡，进一步促进炎症反应[25,28-30]。本研究发现，广痛消水提物可下调大鼠脊髓中 Iba1、TLR4、MyD88、IκB、p－IκB、p－NF－κB p65、NF－κB p65、NLRP3、Caspase－1、GSDMD－N 蛋白表达水平，表明其可通过调节 TLR4/NF－κB/NLRP3 信号通路减轻炎症反应，减少中枢痛觉敏化，缓解疼痛。

综上所述，广痛消水提物可通过改善微循环障碍，降低血管内皮细胞通透性，维持血管壁的完整性，治疗疼痛以求“本”；减少组织炎症因子释放，调节 TLR4/NF－κB/NLRP3 信号通路，减少小胶质细胞炎症因子的释放，抑制外周及中枢痛觉敏化，缓解疼痛以治“标”，最终对疼痛起到标本兼治的作用。本研究通过对“微循环障碍－炎症介质释放－痛觉敏化”轴进行交互作用的整合性研究，阐述了广痛消“通则不痛”的科学内涵。广痛消水提物在细胞和分子水平上展现出对内皮细胞和脊髓中小胶质细胞模型的保护效应，本研究为广痛消水提物的临床应用提供了重要的理论和基础依据。

参考文献：

[1] Gallo G, Goglia M, Trompetto M. Postoperative pain after haemorrhoidal disease treatment: a still unsolved problem [J]. Tech Coloproctol, 2023, 28(1): 6.

[2] Ceulemans A, De Looze D, van de Putte D, et al. High post－operative pain scores despite multimodal analgesia in ambulatory anorectal surgery: a prospective cohort study[J]. Acta Chir Belg, 2019, 119(4): 224－230.

[3] 艾孜艾尔江·艾尼瓦尔，宋昳星. 中医治疗肛周脓肿术后疼痛的临床研究进展[J]. 新疆中医药，2025，43(1)：149－152.

[4] 邓志灏，张书信，王锐，等. 广痛消泡沫气雾剂对痔术后

解痉止痛作用的临床研究[J]. 现代中医临床,2014,21(4):23 - 26.
[5]聂桂宽,李京向,王锐. 广痛消泡沫气雾剂治疗混合痔术后肛门疼痛的疗效观察[J]. 世界中西医结合杂志,2022,17(12):2492 - 2495.
[6]林陶秀,张文娟,张悦健,等. 最佳中药含药血清浓度的筛选方法研究现状[J]. 中国实验方剂学杂志,2023,29(2):195 - 202.
[7]Fei Y X,Zhao B,Yin Q Y,et al. Ma Xing Shi Gan decoction attenuates PM2. 5 induced lung injury via inhibiting HMGB1/TLR4/NFκB signal pathway in rat[J]. Front Pharmacol,2019,10:1361.
[8]张明庆,张勇丹,甘建琛. 肛周术后疼痛的中西医诊疗进展[J]. 中国中西医结合外科杂志,2025,31(5):665 - 669.
[9]黄进,汪庆明,叶丙林,等. 针灸疗法运用于肛肠术后镇痛研究进展[J]. 陕西中医药大学学报,2023,46(2):134 - 138.
[10]王阶,李军,董艳,等. 泛血管疾病的中医内涵及防治策略[J]. 中国实验方剂学杂志,2025,31(7):1 - 14.
[11]郝剑,邸研博,魏蔚. 血瘀证动物模型客观化评价方法概述[J]. 中华中医药杂志,2022,37(6):3323 - 3329.
[12]潘祥龙,郝二伟,谢金玲,等. 活血化瘀中药调节血瘀证的分子机制研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2018,24(24):227 - 234.
[13]Augustin H G,Koh G Y. A systems view of the vascular endothelium in health and disease[J]. Cell,2024,187(18):4833 - 4858.
[14]Zhang Y T,Zhang C H,Zhang H,et al. ZIPK mediates endothelial cell contraction through myosin light chain phosphorylation and is required for ischemic - reperfusion injury[J]. FASEB J,2019,33(8):9062 - 9074.
[15]Anderson S L,Singh B. Equine neutrophils and their role in ischemia reperfusion injury and lung inflammation[J]. Cell Tissue Res,2018,371(3):639 - 648.
[16]蒲晨,张志鑫,王国荣,等. 基于 Wnt/β - catenin 信号通路探讨黄芩苷对动脉粥样硬化大鼠模型炎症反应的影响[J]. 中草药,2025,56(13):4724 - 4731.
[17]兰岭,黄宇光,申乐. 术后慢性疼痛相关炎症反应与免疫调节机制研究进展[J]. 中国疼痛医学杂志,2017,23(3):161 - 164.
[18]时方圆,李亚男,贾若,等. 基于外周神经 - 免疫交互探讨针刺对抗炎性疼痛的作用[J]. 针灸临床杂志,2023,39(12):95 - 101.
[19]Jiang W,Zhang L X,Tan X Y,et al. Inflammation and histone modification in chronic pain[J]. Front Immunol,2022,13:1087648.
[20]Gabay E,Wolf G,Shavit Y,et al. Chronic blockade of interleukin - 1 (IL - 1) prevents and attenuates neuropathic pain behavior and spontaneous ectopic neuronal activity following nerve injury[J]. Eur J Pain,2011,15(3):242 - 248.
[21]Li Z,Li X,Liu J Q,et al. Molecular mechanisms of chronic pain and therapeutic interventions[J]. MedComm,2025,6(8):e70325.
[22]Zhao W J,Ma L L,Deng D L,et al. BDNF - VGF pathway aggravates incision induced acute postoperative pain via upregulating the neuroinflammation in dorsal root ganglia[J]. Mol Neurobiol,2025,62(1):169 - 183.
[23]Li L F,Mou J Y,Han Y W,et al. Calenduloside e modulates macrophage polarization via KLF2 - regulated glycolysis,contributing to attenuates atherosclerosis[J]. Int Immunopharmacol,2023,117:109730.
[24]陈晶晶,农章嵩,谭良源,等. 小胶质细胞极化在神经病理性疼痛中作用研究进展[J]. 天津医药,2024,52(9):1000 - 1003.
[25]Fisch D,Zhang T,Sun H,et al. Molecular definition of the endogenous Toll - like receptor signalling pathways[J]. Nature,2024,631(8021):635 - 644.
[26]Sharma B R,Kanneganti T D. NLRP3 inflammasome in cancer and metabolic diseases[J]. Nat Immunol,2021,22(5):550 - 559.
[27]Liu X H,Ye G Q,Zeng Y,et al. African swine fever virus pB318L suppresses inflammatory response by inhibiting NF - κB activation and NLRP3 inflammasome formation[J]. PLoS Pathog,2025,21(10):e1013558.
[28]Strowig T,Henao - Mejia J,Elinav E,et al. Inflammasomes in health and disease[J]. Nature,2012,481(7381):278 - 286.
[29]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.
[30]李学娟,杨萍,陈挺,等. 中医药调控 NF - κB 信号网干预类风湿关节炎的研究现状[J]. 中国实验方剂学杂志,2025,31(18):286 - 294.

收稿日期:2026 - 05 - 25
编辑:刘凯歌