

牡荆苷对溃疡性结肠炎小鼠炎症的改善作用及机制^Δ

周林^{1*}, 夏鹏飞^{2#}, 刘毓玲¹, 孟志超¹, 李耕¹, 喻媛媛²(1. 武汉市中医医院病理科, 武汉 430050; 2. 武汉市中医医院脾胃肝胆病科, 武汉 430050)

中图分类号 R965 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2026)06-0758-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2026.06.11



摘要 目的 探讨牡荆苷对溃疡性结肠炎(UC)小鼠炎症的改善作用及潜在机制。方法 以连续饮用3%葡聚糖硫酸钠溶液5 d的方式构建UC小鼠模型,并将造模成功的小鼠随机分为UC组,牡荆苷低、高剂量组(牡荆苷-L、牡荆苷-H组,40、80 mg/kg),美沙拉嗪组(400 mg/kg),牡荆苷-H+重组锯齿样典型Notch配体1(rJagged-1)组(牡荆苷-H+rJagged-1组,80 mg/kg 牡荆苷+1 mg/kg rJagged-1),每组12只;另取12只正常小鼠,作为对照(CK)组。各组小鼠灌胃并腹腔注射相应药液或相应药液和生理盐水,每天1次,连续7 d。观察各组小鼠实验期间的一般情况;末次给药24 h后,评价各组小鼠的疾病活动指数(DAI)评分,观察结肠组织病理形态并进行病理评分,检测脾脏和结肠组织中巨噬细胞极化水平以及结肠组织中白细胞介素6(IL-6)、IL-10、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、转化生长因子 β_1 (TGF- β_1)、Jagged-1、Notch1、Notch胞内域(NICD)蛋白的表达量。结果 与UC组比较,牡荆苷-L组、牡荆苷-H组、美沙拉嗪组小鼠摄食和饮水减少、毛发无光泽等症及上皮细胞脱落、炎症细胞浸润等病理改变均明显改善;其DAI评分,结肠组织病理评分,脾脏组织中M1型巨噬细胞含量、M1/M2型巨噬细胞比例,结肠组织中M1型巨噬细胞比例和IL-6、TNF- α 、Jagged-1、Notch1、NICD蛋白的表达量均显著降低;脾脏组织中M2型巨噬细胞含量以及结肠组织中M2型巨噬细胞比例和IL-10、TGF- β_1 蛋白的表达量均显著升高($P < 0.05$),且牡荆苷-H组、美沙拉嗪组的改善效果显著优于牡荆苷-L组($P < 0.05$)。与牡荆苷-H组比较,牡荆苷-H+rJagged-1组小鼠上述症状及病理改变均有所加重,各定量指标均显著逆转($P < 0.05$)。结论 牡荆苷对UC小鼠炎症具有改善作用,上述作用与其抑制Jagged-1/Notch1通路、调控巨噬细胞极化(抑制M1型极化、促进M2型极化)有关。**关键词** 牡荆苷;溃疡性结肠炎;炎症;巨噬细胞;极化;Jagged-1/Notch1通路

Ameliorative effect and mechanism of vitexin on inflammation in ulcerative colitis mice

ZHOU Lin¹, XIA Pengfei², LIU Yuling¹, MENG Zhichao¹, LI Geng¹, YU Yuanyuan²(1. Dept. of Pathology, Wuhan Hospital of Traditional Chinese Medicine, Wuhan 430050, China; 2. Dept. of Gastroenterology, Wuhan Hospital of Traditional Chinese Medicine, Wuhan 430050, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE** To explore the ameliorative effect and potential mechanism of vitexin on inflammation in ulcerative colitis (UC) mice. **METHODS** The UC mice model was established by continuous administration of 3% dextran sulfate sodium solution for 5 days. Mice with successful modeling were randomly divided into UC group, vitexin low- and high-dose groups (vitexin-L and vitexin-H groups, 40, 80 mg/kg), mesalazine group (400 mg/kg), and vitexin-H+recombinant Jagged canonical Notch ligand 1 (rJagged-1) group (vitexin-H+rJagged-1 group, 80 mg/kg vitexin+1 mg/kg rJagged-1), with 12 mice in each group. Another 12 normal mice were used as the control (CK) group. Mice in each group were administered the corresponding drugs or the corresponding drugs and normal saline by gavage and intraperitoneal injection once daily for 7 consecutive days. General conditions were observed during the experiment. At 24 h after the last administration, the disease activity index (DAI) score was evaluated. Colonic histopathological morphology was observed and scored. Macrophage polarization levels in the spleen and colon tissues were measured. The protein expressions of interleukin-6 (IL-6), IL-10, tumor necrosis factor- α (TNF- α), transforming growth factor- β_1 (TGF- β_1), Jagged-1, Notch1 and Notch intracellular domain (NICD) in colonic tissues were determined. **RESULTS** Compared with the UC group, the symptoms (reduced food and water intake, dull fur, etc.) and pathological changes (epithelial cell shedding, inflammatory cell infiltration, etc.) were significantly improved in the vitexin-L, vitexin-H and mesalazine groups. DAI scores, colonic histopathological scores, M1 macrophage contents in spleen tissue, M1/M2 macrophage ratios, M1 macrophage proportions in colon tissue, and protein expressions of IL-6, TNF- α , Jagged-1, Notch1 and NICD in colon tissue were significantly decreased ($P < 0.05$). Meanwhile, the M2 macrophage contents in spleen tissue, M2 macrophage proportions in colon tissue, and protein expressions of IL-10 and TGF- β_1 in colon tissue were significantly increased ($P < 0.05$). Moreover, the improvement effects in the vitexin-H and mesalazine groups were significantly superior to those in the

^Δ 基金项目 湖北省中医药管理局中医药科研项目(No. ZY2025L071)

* 第一作者 副主任医师,硕士。研究方向:病理诊断和分子诊断。E-mail:oltgob@163.com

通信作者 副主任医师。研究方向:炎症性肠病内镜诊疗及中西医结合诊疗。E-mail:jmdcp4@163.com

vitexin-L group ($P<0.05$). Compared with the vitexin-H group, the above symptoms and pathological changes were aggravated, and all quantitative indicators were significantly reversed in the vitexin-H+rJagged-1 group ($P<0.05$). **CONCLUSIONS** Vitexin can ameliorate the inflammation of UC mice, which is associated with its inhibition of the Jagged-1/Notch1 pathway and regulation of macrophage polarization (inhibition of M1-type polarization and promotion of M2-type polarization).

KEYWORDS vitexin; ulcerative colitis; inflammation; macrophages; polarization; Jagged-1/Notch1 pathway

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)属于慢性炎症性肠道疾病,以腹泻、便血等为临床主要表现。研究指出,长期的炎症状态可增加结肠恶性肿瘤的发生风险,严重危害患者健康^[1]。近年来,全球UC患病率持续上升,其发病与肠黏膜屏障功能受损、免疫调节异常及肠道菌群失调密切相关^[2]。巨噬细胞作为连接三者的核心枢纽,既能感知菌群信号,又能执行免疫应答,还能直接参与黏膜屏障的破坏与修复。该细胞可极化为促炎的M1型与抑炎的M2型^[3],故调节巨噬细胞极化方向,是改善UC炎症的有效途径。

牡荆苷属于天然黄酮类化合物,具有显著的抗炎作用^[4]。有研究表明,牡荆苷可通过抑制中性粒细胞浸润及减少炎症因子释放,进而缓解UC炎症反应^[5]。但其能否通过调控巨噬细胞极化来改善UC小鼠炎症尚不明确。Notch1通路是调控巨噬细胞极化的重要通路,其激活可促进M1型极化并抑制M2型极化^[6]。有研究表明,在UC小鼠中,联创止血灌肠液可通过抑制锯齿样典型Notch配体1(Jagged canonical Notch ligand 1, Jagged-1)/Notch1通路来促进巨噬细胞向M2型极化,从而减轻小鼠肠道损伤^[7]。但牡荆苷能否通过该通路调控巨噬细胞极化进而影响UC炎症反应,目前尚无定论。基于此,本研究从Jagged-1/Notch1通路调控巨噬细胞极化的角度出发,探讨牡荆苷对UC小鼠炎症反应的影响及潜在机制,以期UC的治疗提供参考。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器包括Axio Imager A2型显微镜(德国Zeiss公司)、Attune NxT型流式细胞仪(美国Thermo Fisher Scientific公司)、Pannoramic 250 Flash II型病理切片扫描仪(匈牙利3D HISTECH公司);Tanon 5200 Multi型凝胶成像系统(上海天能科技有限公司)等。

1.2 主要药品与试剂

牡荆苷原料药(货号SM2033,纯度 $\geq 98\%$)购自上海碧云天生物技术股份有限公司;重组Jagged-1(recombinant Jagged-1, rJagged-1;货号JN1088-ATF)购自北京百奥莱博科技有限公司;美沙拉嗪对照品(阳性对照,货号CP-100565,纯度 $\geq 99.90\%$)购自上海玉博生物科技有限公司;RPMI 1640培养基(货号XB003)购自广东环凯生物科技有限公司;别藻蓝蛋白(allophycocyanin, APC)标记的CD16/32(简称为“CD16/32-APC”)一抗(货号

bsm-30155A-APC)购自北京博奥森生物技术有限公司;藻红蛋白(phycoerythrin, PE)标记的CD206(简称为“CD206-PE”)一抗(货号61-2061-82)购自美国Thermo Fisher Scientific公司;兔抗CD86、CD206一抗(货号分别为HY-P80609、HY-P86350)均购自美国MedChem-Express公司;兔抗Notch胞内域(Notch intracellular domain, NICD)一抗(货号#4147)购自美国CST公司;异硫氰酸荧光素(fluorescein isothiocyanate, FITC)标记的F4/80(简称为“F4/80-FITC”)一抗,鼠抗CD68一抗,兔抗白细胞介素6(interleukin-6, IL-6)、IL-10、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、转化生长因子 β_1 (transforming growth factor- β_1 , TGF- β_1)、Jagged-1、Notch1一抗,鼠抗 β 肌动蛋白(β -actin)一抗,以及辣根过氧化物酶标记的羊抗鼠、羊抗兔免疫球蛋白G二抗(货号分别为ab60343、ab955、ab233551、ab310329、ab215188、ab315254、ab300561、ab52627、ab8227、ab6789、ab6721)均购自英国Abcam公司。

1.3 实验动物

SPF级6~8周龄的C57BL/6J雄性小鼠80只,体重18~22 g,由湖北贝恩特生物科技有限公司提供,生产许可证号为SCXK(鄂)2021-0027。所有小鼠均饲养于SPF级动物房(环境温度22~24℃,相对湿度50%~60%,12 h光照/12 h黑暗循环),自由摄食、饮水,适应性饲养1周后开始实验。本研究经湖北贝恩特生物科技有限公司动物伦理委员会批准(批号BNT-2024-1164)。

2 方法

2.1 UC小鼠模型构建

根据相关文献^[8-9]构建UC小鼠模型:取小鼠80只,除对照(control, CK)组12只正常饮水外,其余小鼠连续饮用3%葡聚糖硫酸钠溶液5 d。若小鼠出现黏液便、腹泻、粪便隐血、肉眼血便、活动减少、体重减轻、毛色变差等表现,则判定造模成功。最终,造模成功的小鼠共60只,用于后续实验。

2.2 小鼠分组与处理

将60只造模成功的UC小鼠随机分为UC组,牡荆苷低、高剂量(牡荆苷-L、牡荆苷-H)组,美沙拉嗪组,牡荆苷-H+rJagged-1组,每组12只。次日,牡荆苷-L组、牡荆苷-H组小鼠分别灌胃40、80 mg/kg牡荆苷^[4]+腹腔注射等体积生理盐水,美沙拉嗪组小鼠灌胃400 mg/kg美沙拉嗪^[8]+腹腔注射等体积生理盐水,牡荆苷-H+rJagged-1组小鼠灌胃80 mg/kg牡荆苷+腹腔注射1 mg/kg

rJagged-1^[10],CK组和UC组小鼠均灌胃和腹腔注射等体积生理盐水,每天1次,连续7 d。

2.3 小鼠一般情况观察

实验期间,每天定时对各组小鼠的体重、精神状态、大便性状、活跃程度等进行观察并记录。

2.4 小鼠疾病活动指数评分

末次给药24 h后,对每组小鼠的疾病活动指数(disease activity index,DAI)进行评分。评分标准涉及如下3个方面——(1)粪便性状:正常,记0分;松散,记2分;稀便,记4分。(2)体重:无下降,记0分;下降>1%~5%,记1分;下降>5%~10%,记2分;下降>10%~15%,记3分;下降>15%,记4分。(3)粪便隐血:无血,记0分;隐血阳性(粪便隐血实验),记2分;肉眼血便,记4分^[8-9]。按下式计算DAI评分:DAI评分=(粪便性状评分+体质量下降评分+粪便隐血评分)/3。

2.5 小鼠结肠组织病理形态观察

评分结束后,将各组小鼠麻醉,以颈椎脱臼法处死,在距肛门1 cm处取结肠组织,分成2份:一份于-80℃下保存;另一份用磷酸盐缓冲液(PBS)清洗后以多聚甲醛固定,经常规石蜡包埋后切片(厚度约5 μm),取部分进行苏木精-伊红(HE)染色,使用显微镜观察结肠组织病理形态,并进行病理评分。评分标准如下:结肠黏膜无损伤,无炎症细胞浸润,记0分;结肠损伤局限于黏膜层,炎症细胞浸润轻微,记1分;结肠损伤累及黏膜下层,炎症细胞浸润中度,记2分;结肠损伤达到黏膜肌层,炎症细胞浸润重度,记3分^[11]。

2.6 小鼠脾脏组织中M1、M2型巨噬细胞含量检测

采用流式细胞术检测。摘取各组小鼠脾脏组织,转至含1%青-链霉素双抗、10%胎牛血清的RPMI 1640培养基中,用70 μm滤网进行机械研磨解离,以梯度离心法富集单核细胞;加入氨-氯化钾缓冲液,于室温下裂解,再用含3%牛血清白蛋白的PBS封闭;加入F4/80-FITC、CD16/32-APC、CD206-PE一抗(稀释比例分别为1:100、1:200、1:150),于4℃下避光孵育30 min;用含0.1%吐温20的PBS洗涤5 min×2次,离心,再以含0.1%吐温20的PBS重悬,使用流式细胞仪分析M1、M2型巨噬细胞含量(以F4/80标记巨噬细胞谱,在F4/80⁺细胞群中,CD16/32⁺CD206⁻为M1型巨噬细胞,CD16/32⁻CD206⁺为M2型巨噬细胞),再按下式计算M1/M2型巨噬细胞比例:M1/M2型巨噬细胞比例=M1型巨噬细胞含量/M2型巨噬细胞含量。

2.7 小鼠结肠组织中M1、M2型巨噬细胞极化比例检测

采用免疫组化法检测。取“2.5”项下各组小鼠剩余结肠组织切片,依次行脱蜡、梯度乙醇水化、柠檬酸盐缓冲液抗原修复、3%过氧化氢阻断内源性过氧化物酶后,用5%牛血清白蛋白于室温下封闭30 min;加入CD68、

CD86、CD206一抗(稀释比例分别为1:200、1:150、1:100),于4℃下孵育过夜;加入相应二抗(稀释比例均为1:500),于室温下孵育1 h;经显色、苏木精复染、返蓝、脱水、封片后,采用病理切片扫描仪采集图像。以CD68、CD86、CD206阳性细胞(呈棕黄色)分别表示总巨噬细胞、M1型巨噬细胞、M2型巨噬细胞,按下式计算各型巨噬细胞极化比例:M1型巨噬细胞极化比例=CD86阳性细胞数/CD68阳性细胞数×100%,M2型巨噬细胞极化比例=CD206阳性细胞数/CD68阳性细胞数×100%。

2.8 小鼠结肠组织中巨噬细胞及Jagged-1/Notch1通路相关蛋白表达检测

采用Western blot法检测。取“2.5”项下各组小鼠冻存的结肠组织,经裂解、离心后取上清液,用二喹啉甲酸法进行蛋白定量后煮沸变性。取变性蛋白适量,经电泳分离、转膜后封闭1 h;加入IL-6、IL-10、TNF-α、TGF-β₁、Jagged-1、Notch1、NICD、β-actin一抗(稀释比例分别为1:1 000、1:1 000、1:1 000、1:1 000、1:1 000、1:1 000、1:1 000、1:2 000),于4℃下孵育过夜;洗膜后,加入相应二抗(稀释比例均为1:5 000),于室温下孵育2 h;洗膜后,经化学发光法显影后成像。使用Image J软件分析蛋白条带灰度值,以β-actin为内参,计算目的蛋白与内参蛋白的灰度值比值,以表示目的蛋白的表达量。

2.9 统计学方法

采用SPSS 25.0软件对数据进行统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 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SNK-*q*检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

3 结果

3.1 牡荆苷对小鼠一般情况的影响

CK组小鼠摄食、饮水正常,毛发有光泽,活跃度高,体重呈稳定增长趋势;与CK组比较,UC组小鼠摄食、饮水减少,毛发无光泽,活跃度下降,并可见大便不成形、便血,且体重降低;与UC组比较,牡荆苷-L组、牡荆苷-H组、美沙拉嗪组小鼠上述症状均明显好转;与牡荆苷-H组比较,牡荆苷-H+rJagged-1组小鼠上述症状均有所加重。

3.2 牡荆苷对小鼠DAI评分的影响

与CK组比较,UC组小鼠的DAI评分显著升高($P<0.05$);与UC组比较,牡荆苷-L组、牡荆苷-H组、美沙拉嗪组小鼠的DAI评分均显著降低($P<0.05$),且牡荆苷-H组、美沙拉嗪组均显著低于牡荆苷-L组($P<0.05$);与牡荆苷-H组比较,牡荆苷-H+rJagged-1组小鼠的DAI评分显著升高($P<0.05$)。结果见表1。

3.3 牡荆苷对小鼠结肠组织病理形态的影响

CK组小鼠结肠黏膜结构完整,上皮细胞排列规则,未见糜烂、出血及炎症细胞浸润;UC组小鼠结肠黏膜水肿明显,肠上皮细胞脱落,局部可见糜烂出血,伴大量炎

表1 各组小鼠DAI评分、结肠组织病理评分比较($\bar{x} \pm s, n=12$)

组别	DAI评分/分	结肠组织病理评分/分
CK组	0	0.53 ± 0.06
UC组	1.39 ± 0.14 ^a	5.17 ± 0.52 ^a
牡荆苷-L组	0.67 ± 0.07 ^b	3.66 ± 0.41 ^b
牡荆苷-H组	0.23 ± 0.04 ^{bc}	2.08 ± 0.22 ^{bc}
美沙拉嗪组	0.21 ± 0.03 ^{bc}	2.03 ± 0.21 ^{bc}
牡荆苷-H+rJagged-1组	0.77 ± 0.08 ^d	4.36 ± 0.47 ^d

a: 与CK组比较, $P < 0.05$; b: 与UC组比较, $P < 0.05$; c: 与牡荆苷-L组比较, $P < 0.05$; d: 与牡荆苷-H组比较, $P < 0.05$ 。

症细胞浸润, 病理评分显著高于CK组 ($P < 0.05$); 与UC组比较, 牡荆苷-L组、牡荆苷-H组、美沙拉嗪组小鼠结肠组织的上述病理改变均明显减轻, 病理评分均显著降低 ($P < 0.05$), 且牡荆苷-H组、美沙拉嗪组上述评分均显著低于牡荆苷-L组 ($P < 0.05$); 与牡荆苷-H组比较, 牡荆苷-H+rJagged-1组小鼠的上述病理改变有所加重, 病理评分显著升高 ($P < 0.05$)。各组小鼠相关显微图见图1, 评分结果见表1。

3.4 牡荆苷对小鼠脾脏组织中巨噬细胞极化的影响

与CK组比较, UC组小鼠脾脏组织中M1型巨噬细胞含量、M1/M2型巨噬细胞比例均显著升高, M2型巨噬细胞含量显著降低 ($P < 0.05$); 与UC组比较, 牡荆苷-L组、牡荆苷-H组、美沙拉嗪组小鼠脾脏组织中M1型巨噬细胞含量、M1/M2型巨噬细胞比例均显著降低, M2型

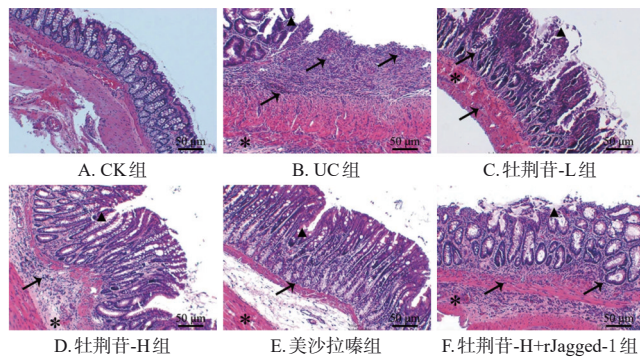


图1 各组小鼠结肠组织病理形态的显微图(HE染色)

巨噬细胞含量均显著升高 ($P < 0.05$), 且牡荆苷-H组、美沙拉嗪组上述指标的改善效果均显著优于牡荆苷-L组 ($P < 0.05$); 与牡荆苷-H组比较, 牡荆苷-H+rJagged-1组小鼠脾脏组织中M1型巨噬细胞含量、M1/M2型巨噬细胞比例均显著升高, M2型巨噬细胞含量显著降低 ($P < 0.05$)。结果见图2、表2。

3.5 牡荆苷对小鼠结肠组织中巨噬细胞极化的影响

与CK组比较, UC组小鼠结肠组织中M1型巨噬细胞比例显著升高, M2型巨噬细胞比例显著降低 ($P < 0.05$); 与UC组比较, 牡荆苷-L组、牡荆苷-H组、美沙拉嗪组小鼠结肠组织中M1型巨噬细胞比例均显著降低, M2型巨噬细胞比例均显著升高 ($P < 0.05$), 且牡荆苷-H

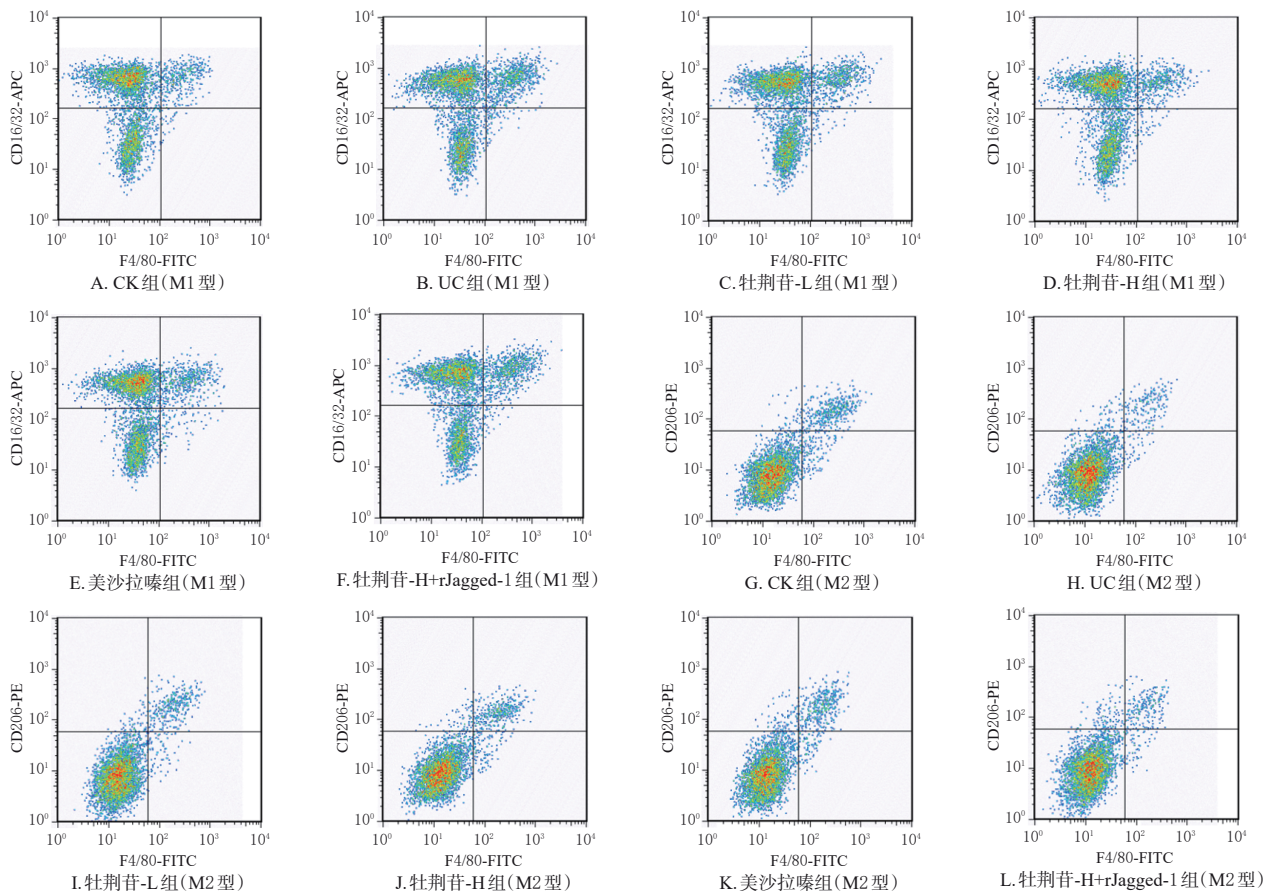


图2 各组小鼠脾脏中M1、M2型巨噬细胞的流式图

表2 各组小鼠脾脏组织中M1、M2型巨噬细胞含量及其比例比较($\bar{x} \pm s, n=12$)

组别	M1型巨噬细胞含量/%	M2型巨噬细胞含量/%	M1/M2型巨噬细胞比例
CK组	8.10±0.86	5.97±0.63	1.36±0.18
UC组	12.92±1.33 ^a	3.21±0.38 ^a	4.02±0.45 ^a
牡荆苷-L组	11.68±1.22 ^b	4.36±0.48 ^b	2.68±0.34 ^b
牡荆苷-H组	9.13±1.05 ^{bc}	5.75±0.59 ^{bc}	1.59±0.20 ^{bc}
美沙拉嗪组	9.09±1.02 ^{bc}	5.72±0.61 ^{bc}	1.59±0.22 ^{bc}
牡荆苷-H+rJagged-1组	12.53±1.28 ^d	3.87±0.42 ^d	3.24±0.37 ^d

a: 与CK组比较, $P<0.05$; b: 与UC组比较, $P<0.05$; c: 与牡荆苷-L组比较, $P<0.05$; d: 与牡荆苷-H组比较, $P<0.05$ 。

组、美沙拉嗪组上述指标的改善效果均显著优于牡荆苷-L组($P<0.05$); 与牡荆苷-H组比较, 牡荆苷-H+rJagged-1组小鼠结肠组织中M1型巨噬细胞比例显著升高, M2型巨噬细胞比例显著降低($P<0.05$)。结果见图3、表3。

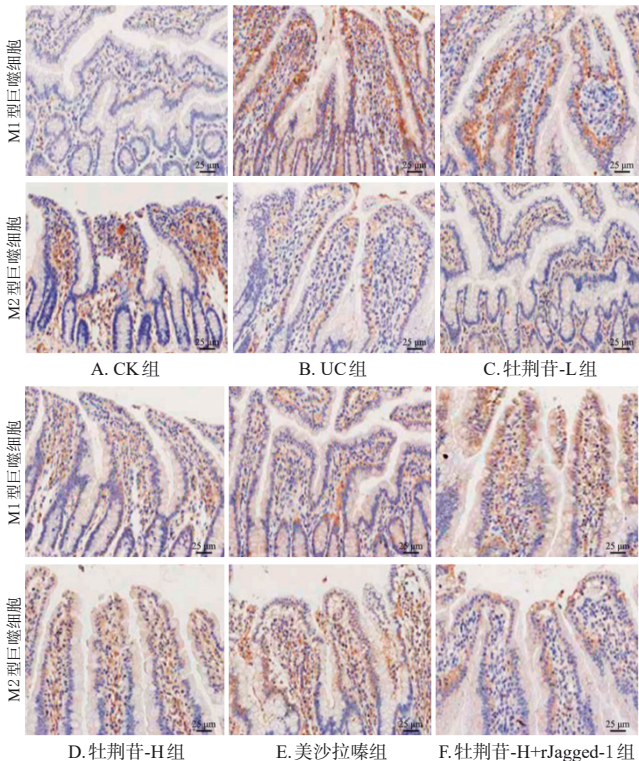


图3 各组小鼠结肠组织中M1、M2型巨噬细胞的显微图

表3 各组小鼠结肠组织中M1、M2型巨噬细胞比例比较($\bar{x} \pm s, n=12, \%$)

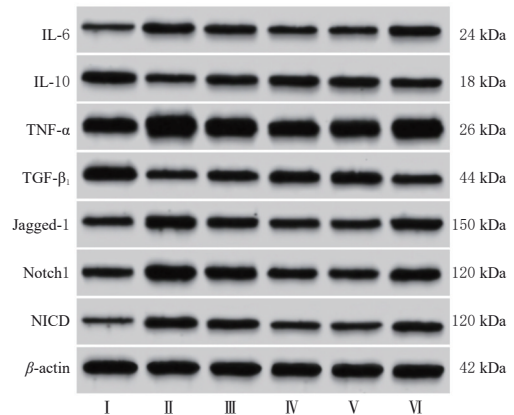
组别	M1型巨噬细胞比例	M2型巨噬细胞比例
CK组	12.56±3.98	34.28±3.52
UC组	46.13±4.71 ^a	10.33±2.77 ^a
牡荆苷-L组	32.61±4.30 ^b	18.96±3.14 ^b
牡荆苷-H组	20.83±4.09 ^{bc}	29.77±3.27 ^{bc}
美沙拉嗪组	20.85±4.12 ^{bc}	29.79±3.30 ^{bc}
牡荆苷-H+rJagged-1组	36.78±4.52 ^d	15.36±2.96 ^d

a: 与CK组比较, $P<0.05$; b: 与UC组比较, $P<0.05$; c: 与牡荆苷-L组比较, $P<0.05$; d: 与牡荆苷-H组比较, $P<0.05$ 。

3.6 牡荆苷对小鼠结肠组织中巨噬细胞及Jagged-1/Notch1通路相关蛋白表达的影响

与CK组比较, UC组小鼠结肠组织中IL-6、TNF- α 、Jagged-1、Notch1、NICD蛋白的表达量均显著升高, IL-

10、TGF- β_1 蛋白的表达量均显著降低($P<0.05$); 与UC组比较, 牡荆苷-L组、牡荆苷-H组、美沙拉嗪组小鼠结肠组织中IL-6、TNF- α 、Jagged-1、Notch1、NICD蛋白的表达量均显著降低, IL-10、TGF- β_1 蛋白的表达量均显著升高($P<0.05$), 且牡荆苷-H组、美沙拉嗪组上述指标的改善效果均显著优于牡荆苷-L组($P<0.05$); 与牡荆苷-H组比较, 牡荆苷-H+rJagged-1组小鼠结肠组织中IL-6、TNF- α 、Jagged-1、Notch1、NICD蛋白的表达量均显著升高, IL-10、TGF- β_1 蛋白的表达量均显著降低($P<0.05$)。结果见图4、表4。



I: CK组; II: UC组; III: 牡荆苷-L组; IV: 牡荆苷-H组; V: 美沙拉嗪组; VI: 牡荆苷-H+rJagged-1组。

图4 各组小鼠结肠组织中巨噬细胞及Jagged-1/Notch1通路相关蛋白表达的电泳图

表4 各组小鼠结肠组织中巨噬细胞及Jagged-1/Notch1通路相关蛋白表达量比较($\bar{x} \pm s, n=12$)

组别	IL-6	IL-10	TNF- α	TGF- β_1	Jagged-1	Notch1	NICD
CK组	0.27±0.03	1.02±0.11	1.12±0.12	1.19±0.14	0.64±0.07	0.77±0.08	0.32±0.04
UC组	0.70±0.08 ^a	0.61±0.07 ^b	1.68±0.17 ^a	0.71±0.08 ^b	1.04±0.11 ^a	1.18±0.12 ^a	0.89±0.09 ^a
牡荆苷-L组	0.56±0.06 ^b	0.80±0.09 ^b	1.41±0.15 ^a	0.93±0.10 ^b	0.87±0.09 ^b	1.05±0.11 ^a	0.65±0.07 ^b
牡荆苷-H组	0.33±0.04 ^{bc}	0.94±0.10 ^{bc}	1.27±0.14 ^{bc}	1.10±0.12 ^{bc}	0.69±0.08 ^{bc}	0.89±0.10 ^{bc}	0.41±0.05 ^{bc}
美沙拉嗪组	0.31±0.04 ^{bc}	0.96±0.10 ^{bc}	1.25±0.13 ^{bc}	1.12±0.13 ^{bc}	0.64±0.07 ^{bc}	0.87±0.09 ^{bc}	0.38±0.04 ^{bc}
牡荆苷-H+rJagged-1组	0.61±0.07 ^d	0.72±0.08 ^d	1.53±0.16 ^d	0.86±0.09 ^d	0.93±0.10 ^d	1.10±0.11 ^d	0.72±0.08 ^d

a: 与CK组比较, $P<0.05$; b: 与UC组比较, $P<0.05$; c: 与牡荆苷-L组比较, $P<0.05$; d: 与牡荆苷-H组比较, $P<0.05$ 。

4 讨论

UC作为高发的肠道黏膜炎症性疾病,其分子层面的发病机制尚未明确。巨噬细胞极化异常导致的免疫代谢失衡,可能是推动UC肠黏膜受损及炎症进展的重要原因,因此寻找调控巨噬细胞极化的药物对缓解UC至关重要^[12]。

牡荆苷毒性小、来源广泛,且具有明确的抗炎活性^[13]。作为肠道固有免疫系统的关键调控细胞,巨噬细胞M1、M2型极化异常可造成免疫代谢失衡。这种失衡状态,是诱发UC肠黏膜受损及炎症的重要原因之一^[14]。本研究结果显示,UC小鼠出现毛发无光泽、活跃度下

降、大便不成形及便血等症状,结肠组织可见上皮细胞脱落、黏膜明显水肿、局部糜烂出血及大量炎症细胞浸润,其DAI评分、结肠组织病理评分和脾脏组织中M1型巨噬细胞含量、M1/M2型巨噬细胞比例,以及结肠组织中M1型巨噬细胞比例和促炎细胞因子(IL-6、TNF- α)的表达量均较正常小鼠显著升高,而脾脏组织中M2型巨噬细胞含量、结肠组织中M2型巨噬细胞比例和抗炎细胞因子(IL-10、TGF- β_1)的表达量均较正常小鼠显著降低,提示UC小鼠疾病状态与巨噬细胞极化失衡、免疫炎症紊乱密切相关。经牡荆苷处理后,上述异常指标均显著改善,且牡荆苷-H组的改善效果接近美沙拉嗪组,提示牡荆苷可通过调控巨噬细胞极化、平衡促炎/抗炎细胞因子表达,从而减轻UC小鼠的炎症反应。

研究表明,抑制Jagged-1/Notch1通路可影响巨噬细胞极化,进而减轻关节炎大鼠的炎症反应^[15]。Jagged-1作为Notch1受体的关键配体,二者结合后启动信号转导,促使Notch1受体经酶切释放出具有转录活性的NICD,NICD进入细胞核调控下游靶基因表达,从而介导巨噬细胞向促炎表型极化,参与UC的肠道炎症进展^[7]。本研究结果显示,与UC组比较,牡荆苷-L组、牡荆苷-H组小鼠结肠组织中Jagged-1、Notch1、NICD蛋白的表达量均显著降低,且牡荆苷-H组的改善效果接近美沙拉嗪组,提示牡荆苷对UC小鼠的改善作用可能与抑制Jagged-1/Notch1通路有关。为了进一步验证上述推测,本研究以牡荆苷-H和rJagged-1联合干预UC小鼠,结果显示,牡荆苷-H对UC小鼠的改善作用被rJagged-1显著逆转,提示牡荆苷可通过抑制Jagged-1/Notch1通路来调控巨噬细胞极化(抑制M1型极化、促进M2型极化),进而改善UC小鼠的炎症反应。

综上所述,牡荆苷对UC小鼠炎症具有改善作用,上述作用与其抑制Jagged-1/Notch1通路、调控巨噬细胞极化(抑制M1型极化、促进M2型极化)有关。但本研究仅限于小鼠模型,牡荆苷的临床有效性及长期用药安全性亦有待进一步评估。

参考文献

[1] 徐超,谭小平,李杰,等.车叶草苷对溃疡性结肠炎大鼠肠上皮细胞焦亡的影响及机制[J].中国药房,2025,36(2):166-171.

[2] PARIKH K, ANTANAVICIUTE A, FAWKNER-CORBETT D, et al. Colonic epithelial cell diversity in health and inflammatory bowel disease[J]. Nature, 2019, 567(7746):49-55.

[3] LUO M, ZHAO F K, CHENG H, et al. Macrophage polariza-

tion: an important role in inflammatory diseases[J]. Front Immunol, 2024, 15:1352946.

[4] PENG Y, GAN R Y, LI H B, et al. Absorption, metabolism, and bioactivity of vitexin: recent advances in understanding the efficacy of an important nutraceutical[J]. Crit Rev Food Sci Nutr, 2021, 61(6):1049-1064.

[5] 孙阿宁,任改艳,邓超,等.牡荆素减轻小鼠溃疡性结肠炎的药效作用及机制研究[J].中国药理学通报,2014,30(12):1677-1681.

[6] PAGIE S, GÉRARD N, CHARREAU B. Notch signaling triggered via the ligand DLL4 impedes M2 macrophage differentiation and promotes their apoptosis[J]. Cell Commun Signal, 2018, 16(1):4.

[7] ZHANG Y L, LIU J L, ZHANG D, et al. Lianchuang zhixue liquid enema modulates the macrophage polarization of ulcerative colitis via inhibiting the Jagged-1/Notch1 signaling pathway[J]. Drug Des Devel Ther, 2025, 19:3253-3268.

[8] 孙洁,史肖华,李彩云,等.白头翁皂苷B₁基于调节巨噬细胞极化对小鼠溃疡性结肠炎的影响[J].中国医药导报,2023,20(7):27-31.

[9] LI Y, DONG J L, XIAO H W, et al. Gut commensal derived-valeric acid protects against radiation injuries[J]. Gut Microbes, 2020, 11(4):789-806.

[10] 赵兴艳,汤正珍,岳春,等.橙皮苷调控Jagged1/Notch1通路对巨噬细胞极化及细支气管炎小鼠肺损伤的影响[J].中国医学科学院学报,2022,44(5):777-784.

[11] 梁承涛,毛堂友,李军祥,等.基于Nrf2/HO-1/HIF-1 α 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[J].中医学报,2025,40(7):1530-1537.

[12] 范慧宁,张靖,朱金水.巨噬细胞在肠道稳态及炎性反应中的作用[J].国际消化病杂志,2019,39(1):21-25.

[13] ZHANG D J, NING T G, WANG H B. Vitexin alleviates inflammation and enhances apoptosis through the regulation of the JAK/STAT/SOCS signaling pathway in the arthritis rat model[J]. J Biochem Mol Toxicol, 2022, 36(12):e23201.

[14] KAINULAINEN K, TAKABE P, HEIKKINEN S, et al. M1 macrophages induce protumor inflammation in melanoma cells through TNFR-NF- κ B signaling[J]. J Investig Dermatol, 2022, 142(11):3041-3051.e10.

[15] 赵磊,万磊,刘健,等.基于Notch1/Jagged1/RBP-J κ /Hes1信号通路调控巨噬细胞极化探讨复方雷公藤制剂改善关节炎的机制[J].现代中西医结合杂志,2024,33(5):602-608.

(收稿日期:2025-09-25 修回日期:2026-03-04)

(编辑:邹丽娟)