

黄连粗多糖协同小檗碱改善溃疡性结肠炎 肠黏膜屏障损伤的作用

薛明松¹, 郑玉玉¹, 张宇峰¹, 陶全¹, 杨晔^{1,2*}, 尹登科^{1,2,3*}

(1. 安徽中医药大学药学院, 合肥 230012; 2. 安徽省中医药科学院药物制剂研究所, 合肥 230012;
3. 中药研究与开发安徽省重点实验室, 合肥 230012)

[摘要] 目的: 考察黄连粗多糖与小檗碱在溃疡性结肠炎小鼠治疗中的协同作用。方法: 采用雄性 BALB/c 小鼠 30 只随机分为 5 组, 除正常组 6 只外, 其余在小鼠日常饮水中给予 5% 葡聚糖硫酸钠建立结肠炎模型。建模成功后, 每组分别进行灌胃给药 4 d, 每日 1 次, 小檗碱组(100 mg·kg⁻¹ BBR)、小檗碱+低剂量粗多糖组(100 mg·kg⁻¹ BBR+22.8 mg·kg⁻¹ CCP)、小檗碱+高剂量粗多糖组(100 mg·kg⁻¹ BBR+45.6 mg·kg⁻¹ CCP), 模型组和正常组灌胃同体积生理盐水。实验结束后处死小鼠提取结肠, 通过蛋白免疫印迹法检测小鼠结肠组织紧密连接蛋白-1(ZO-1)、紧密连接蛋白-1(Claudin-1)和闭合蛋白(Occludin)蛋白的表达。以正常组为对照, 评价各治疗组模型小鼠疾病活动指数(DAI)评分、结肠长度、结肠组织形态和结肠紧密连接蛋白的表达水平。结果: 与正常组比较, 模型组小鼠 ZO-1、Claudin-1 和 Occludin 蛋白表达显著降低($P<0.01$); 与模型组比较, 小檗碱组 Claudin-1 蛋白表达无明显差异, ZO-1 和 Occludin 蛋白表达显著升高($P<0.01$), 黄连粗多糖联合小檗碱组 Claudin-1、ZO-1 和 Occludin 蛋白表达显著升高($P<0.01$); 与小檗碱组比较, 黄连粗多糖联合小檗碱组紧密连接蛋白表达明显强于小檗碱单独给药($P<0.05$)。结论: 黄连粗多糖协同小檗碱给药能有效改善溃疡性结肠炎小鼠肠黏膜屏障损伤。

[关键词] 黄连粗多糖; 小檗碱; 结肠炎; 紧密连接蛋白

[中图分类号] R2-0;R22;R285.5;R289;R33 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2022)13-0071-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20220702

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20220124.1052.004.html>

[网络出版日期] 2022-01-25 15:10

Coptidis Rhizoma Crude Polysaccharide and Berberine Synergistically Restore Intestinal Mucosal Barrier Damage in Ulcerative Colitis

XUE Mingsong¹, ZHENG Yuyu¹, ZHANG Yufeng¹, TAO Quan¹, YANG Ye^{1,2*}, YIN Dengke^{1,2,3*}

(1. School of Pharmacy, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230012, China;

2. Institute of Pharmaceutics, Anhui Academy of Chinese Medicine, Hefei 230012, China;

3. Anhui Provincial Key Laboratory of Research & Development of Chinese Medicine, Hefei 230012, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the synergistic effect of Coptidis Rhizoma crude polysaccharide (CCP) and berberine (BBR) in treating ulcerative colitis (UC) model mice. **Method:** Thirty male BALB/c mice were randomized into five groups. Except the 6 mice in the normal group, the rest were given 5% dextran sodium sulfate in their daily drinking water to establish the UC model. After modeling, the mice were administrated with corresponding agents by gavage once daily for 4 days: BBR (100 mg·kg⁻¹) group, BBR (100 mg·kg⁻¹) + low-dose (22.8 mg·kg⁻¹) CCP group, BBR (100 mg·kg⁻¹) + high-dose (45.6 mg·kg⁻¹) CCP

[收稿日期] 2021-10-25

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81874348);天然药物活性组分与药效国家重点实验室(中国药科大学)开放课题(SKLNMF202007)

[第一作者] 薛明松,在读硕士,从事中药多糖活性研究,E-mail:1512827472@qq.com

[通信作者] * 杨晔,教授,从事中药新剂型研究,E-mail:Y. Yang@ahtcm.edu.cn;

* 尹登科,博士,教授,博士生导师,从事中药活性成分研究,E-mail:yindengke@sina.com

group. The mice in the model group and normal group were administrated with the same volume of normal saline. At the end of the experiment, the mice were sacrificed for the collection of colon, and the expression of tight junction proteins zonula occluden-1 (ZO-1), Claudin-1, and Occludin in colon tissue was detected by Western blot. With the normal group as the control, the disease activity index (DAI) score, colon length, colon histomorphology, and expression levels of tight junction proteins in other groups were evaluated. **Result:** Compared with the normal group, the modeling down-regulated the protein levels of ZO-1, Claudin-1, and Occludin ($P<0.01$). Compared with the model group, BBR did not significantly change the protein level of Claudin-1 and up-regulated those of ZO-1 and occludin ($P<0.01$). The expression levels of Claudin-1, ZO-1, and Occludin were up-regulated in BBR + CCP groups ($P<0.01$). The expression levels of tight junction proteins in BBR + CCP groups were significantly higher than those in the BBR group ($P<0.05$). **Conclusion:** The administration of CCP combined with BBR can effectively ameliorate intestinal mucosal barrier damage in the mice with UC.

[Keywords] Coptidis Rhizoma crude polysaccharide; berberine; ulcerative colitis; tight junction proteins

溃疡性结肠炎(UC)是一种反复发作的慢性非特异性肠道炎症性疾病,患者通常表现为腹痛、腹泻及脓血便的症状^[1],易复发、久治不愈,还会导致结肠癌风险增加,现已被世界卫生组织列为世界难治病之一^[2-3]。目前,UC的治疗药物临床上主要有生物制剂、免疫抑制剂、糖皮质激素以及氨基水杨酸制剂几种类型,但临床发现他们多半存在疗效多变、个体差异大和不良反应多等方面的问题^[4-6]。传统中医药在UC治疗中的应用已有千余年的历史,其优势在于能降低复发率^[7]。

研究认为,UC发病机制与肠黏膜屏障功能的完整性密切相关,当肠黏膜屏障发生损失时,肠道内的抗原性物质和病菌等会易位并激活黏膜固有层的免疫系统,从而引起过度持续的免疫炎症反应的发生,导致肠道组织损伤致使UC的发生与发展^[8-10]。紧密连接主要由闭合小环蛋白闭锁连接蛋白-1(ZO-1)等外周胞浆蛋白和紧密连接蛋白-1(Claudin-1)、闭合蛋白(Occludin)等膜蛋白组成,是维持肠黏膜屏障的重要组成部分。因此,肠黏膜屏障结构与功能的修复是UC治疗中的重要靶点^[11-12]。

在中药治疗UC中,黄连及以黄连为主药的中药复方有着良好的治疗效果。中药及其复方通常以汤剂的形式供患者使用,而在汤剂的煎煮过程中多种有效成分会从药材中析出。黄连药材煎煮过程中,小檗碱和黄连粗多糖等多种成分共同溶解分散于汤剂中。小檗碱是黄连的主要活性成分之一,研究发现小檗碱治疗UC具有复发率低、不良反应小、疗效显著等特点^[13]。也有研究证实黄连以汤剂剂型给药,其疗效优于相应剂量的小檗碱单独口服给药^[14-15]。课题组前期研究发现黄连水煎液中的黄

连粗多糖可以调节肠黏膜屏障和肠道免疫功能^[16-17]。该作用提示在黄连抗炎症性肠炎过程中,黄连粗多糖可能与小檗碱协同发挥抗炎作用。

本研究拟建立UC小鼠模型,通过单独给予小檗碱及联合给予黄连粗多糖治疗UC小鼠,通过检测小鼠结肠组织中紧密连接蛋白的表达来评估黄连粗多糖协同小檗碱改善UC小鼠肠黏膜屏障的损伤作用。

1 材料

1.1 动物 雄性SPF级健康BALB/c小鼠,实验动物生产合格证号SCXK(浙)2019-0004,体质量(20±5)g,由合肥市安徽医科大学动物实验中心提供,实验环境为SPF级,环境温度为(24±2)℃,12h昼夜循环,饲养期间自由采食和饮水。均遵照动物实验原则进行研究,符合伦理学规定,动物伦理编号AHUCM-mouse-2021119。实验结束后将小鼠麻醉,采用小鼠颈椎脱臼法处死小鼠。

1.2 药物与试剂 黄连购买于安徽天河中药材公司,批号20190811,经安徽中医药大学刘守金教授鉴定正品;小檗碱原料药(纯度≥98%,上海源叶生物科技有限公司,批号YSBJ20140617);葡聚糖硫酸钠(DSS,美伦生物技术有限公司,批号DST190716-038);增强化学发光法(ECL)超敏试剂盒(美国Thermo Scientific公司,批号RF232184A);ZO-1兔源多克隆抗体(博士德生物工程有限公司,批号bs-1329R);Occludin、Claudin-1兔源多克隆抗体(成都正能生物技术有限责任公司,批号分别为502601、343203);β-肌动蛋白(β-actin)鼠源单克隆抗体、辣根过氧化物酶(HRP)山羊抗鼠抗体(美国Abbkine公司,批号分别为ATQAP1801、ATQ-MA2701);

HRP 山羊抗兔抗体(美国 Affinity 公司,批号 2847b43);苏木素(广州市欣源贸易有限公司,批号 20190224);伊红(北京索莱宝科技有限公司,批号 20191123);葡萄糖对照品(酷尔化学科技有限公司,批号 T166E314,纯度>99%);硫酸、苯酚(国药集团化学试剂有限公司,批号分别为 20190425、20190121)和其他常规化学试剂均为分析纯均购自国药集团化学试剂有限公司。

1.3 仪器 DM2000 型荧光倒置显微镜(德国 Lecia 公司);THZ-82A 型数显气浴恒温振荡器(常州普天仪器制造有限公司);FA1604 型电子天平(上海舜宇恒平科学仪器有限公司);FD-ID-50 型冷冻干燥机(北京博医康实验仪器有限公司);UV757CRT 型紫外-可见分光光度计(上海精科仪器有限公司);Milli-Q 型超纯水系统(美国 Millipore 公司)。

2 方法

2.1 黄连多糖的提取及含量测定 称取黄连粗粉 35 g 于蒸馏烧瓶中,加超纯水 490 mL 搅拌煎煮,水浴锅加热至 95 °C,1.5 h 后取趁热取滤液,重复 3 次合并滤液后旋蒸至少量。然后以 Sevage 法除蛋白,醇沉后洗涤冷冻干燥即可。采用硫酸-苯酚法测总糖含量:配制 5% 的苯酚溶液、对照品葡萄糖母液 100 mg·L⁻¹。精密量取母液 0.4、0.8、1.2、1.6、2.0 mL 加超纯水定容至 2 mL,配制成质量浓度分别为 20、40、60、80、100 mg·L⁻¹ 的葡萄糖系列标准液。向标准液中加入 5% 苯酚溶液 1 mL,充分摇匀,再沿壁缓慢加入浓硫酸 5 mL 混匀,置于沸水中加热 15 min。冷却至室温,用紫外分光光度计于 490 nm 波长处测各浓度葡萄糖的吸光度 *A*。

2.2 动物造模 30 只雄性 BALB/c 小鼠适应性饲养 1 周后,以 5% DSS 溶液作为饮用水 4 d 诱导 UC 模型^[18]。实验期间每天观察记录小鼠的体质量、腹泻、便血、活动状态和死亡情况。计算小鼠疾病活动指数(DAI)评分值。结肠炎小鼠的 DAI 评分标准见表 1。DAI 值为体质量丢失评分、腹泻评分和便血评分三者之和的均值,当小鼠 DAI 值达到 1 分及以上时,即可判定小鼠结肠炎造模成功^[19]。

2.3 分组与给药 将 UC 建模成功小鼠随机分为 4 组,分别为模型组、小檗碱组(BBR 组)、小檗碱+低剂量多糖组(BBR+CCP_L 组)和小檗碱+高剂量多糖组(BBR+CCP_H 组),以健康小鼠为正常组,每组 6 只。BBR 组灌胃 100 mg·kg⁻¹ 小檗碱溶液;BBR+CCP_L 组灌胃 100 mg·kg⁻¹ 小檗碱和 22.8 mg·kg⁻¹ 黄连粗多糖混合溶液;BBR+CCP_H 组灌胃 100 mg·kg⁻¹ 小

表 1 疾病活动指数 DAI 评分

Table 1 DAI score of disease activity index

评分/分	体质量下降/%	粪便性状	便血
0	无	正常	正常
1	1~5	软便	介于两者之间
2	5~10	松散	隐血
3	10~15	稀便	介于两者之间
4	>15	水样便	显性便血

檗碱和 45.6 mg·kg⁻¹ 黄连粗多糖混合溶液;模型组小鼠以相同的方式给予等体积的生理盐水,连续给药治疗 4 d。

2.4 小鼠生理状态观察 自开始造模之日起,每日观察并记录小鼠精神状态、进食、饮水和排便等一般情况,每日定时称量小鼠体质量,计算 DAI 评分。

2.5 苏木素-伊红(HE)观察结肠形态及组织结构变化 实验结束后处死小鼠,取出结肠并观察拍照。剪取各处理组小鼠结肠中段长度约为 1 cm 的肠组织,固定后石蜡包埋,切成 5 μm 切片,其余结肠组织冻存。切片用苏木素和伊红染色后显微镜下观察结肠形态及组织结构变化。

2.6 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测小鼠结肠组织紧密连接蛋白表达水平 将 2.5 项中取下的肠组织置于 2 mL 匀浆器中球杖部位,加强裂解液于冰上裂解 30 min,4 °C 下 12 000 r·min⁻¹ 离心 10 min(离心半径 4 cm)。取上清液以 4:1 体积加入上样缓冲液,煮沸 5 min。SDS-PAGE 电泳采用 5% 浓缩胶和 12% 分离胶,电泳 2 h,转膜 2 h。转膜结束后 5% 的脱脂奶粉 37 °C 封闭,再用 TBST 漂洗,分别使用 ZO-1、Occludin、Claudin-1 抗体(1:500)4 °C 过夜孵育。TBST 漂洗 3 次,然后分别使用 HRP 标记的二抗(1:5 000)在 37 °C 孵育 1 h,漂洗 3 次后使用 ECL 显色液进行曝光,将曝光结果用 Image J 软件进行解析,获得灰度值数据。

2.7 统计学分析 用 SPSS 统计软件包进行处理,计量资料均用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间检验采用方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义,采用 Graphpad 8.3.0 软件制作图表。

3 结果

3.1 黄连药材多糖含量 以硫酸-苯酚法建立多糖含量测定方法,以 *A* 为纵坐标、葡萄糖标准溶液浓度(*C*)为横坐标进行线性回归,得到回归方程为 $A = 0.001 5C + 0.001 3$ ($R^2 = 0.994 9$),说明在 20~100 mg·L⁻¹ 质量浓度所测得标曲呈良好的线性关

系。经过计算发现实验提取黄连粗多糖的提取率约为2.1%，黄连粗多糖的糖质量分数约为(75±3)%。经计算实验提取的黄连粗多糖在黄连中质量分数约为1.57%。目前临床应用黄连解毒汤治疗UC的用量为10 g·d⁻¹[20]，药典规定小檗碱在黄连中的含量不得低于5.5%，按人-小鼠体表面积可以算出小檗碱的量不低于71.5 mg·kg⁻¹，因此本研究选用100 mg·kg⁻¹剂量的小檗碱进行实验研究。本文使用的黄连粗多糖剂量为22.8 mg·kg⁻¹，该剂量符合黄连药材中小檗碱与黄连粗多糖的含量比。为明确黄连粗多糖在肠黏膜屏障修复中的作用，本研究增加了45.6 mg·kg⁻¹剂量的黄连粗多糖与100 mg·kg⁻¹剂量小檗碱合用组。

3.2 对UC小鼠DAI评分的影响 实验期间每日记录小鼠体质量，大便性状和便血情况，进行DAI评分。实验过程中各给药组无小鼠死亡现象，模型组小鼠于实验第7天死亡1只。各组小鼠DAI评分值，与正常组比较，模型组小鼠DAI评分显著升高($P<0.01$)；与模型组比较，各给药组DAI评分显著降低($P<0.01$)；小檗碱联合多糖给药后DAI评分低于BBR组，并且BBR+CCP_H组评分又低于BBR+CCP_L组($P<0.05$)。见表2。

3.3 对UC小鼠结肠长度的影响 与正常组比较，模型组小鼠结肠长度显著缩短($P<0.01$)；与模型组比较，各给药组结肠长度缩短现象显著改善($P<0.01$)；与BBR组比较，BBR+CCP_H组和BBR+CCP_L组结肠恢复程度明显升高，BBR+CCP_H组结肠长度

表2 黄连粗多糖协同小檗碱对UC小鼠DAI评分和结肠长度的影响($\bar{x}\pm s, n=6$)

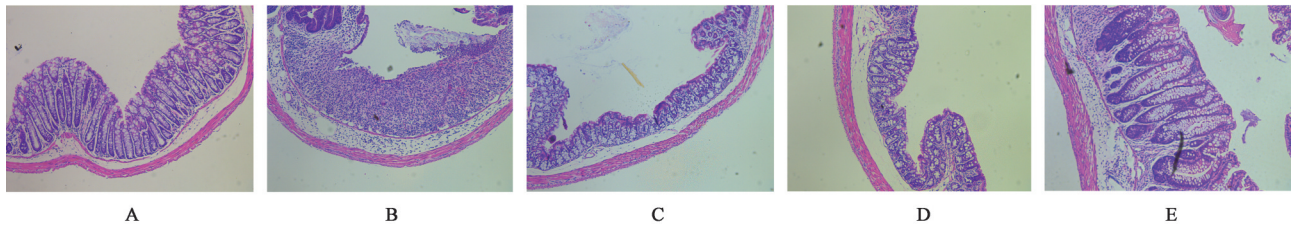
Table 2 Effect of Coptidis Rhizoma crude polysaccharide (CCP) combined with berberine on DAI score and colon length in UC mice ($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	DAI评分/分	结肠长度/cm
正常组		0.11±0.16	5.60±0.19
模型组		2.95±0.23 ¹⁾	3.68±0.12 ¹⁾
BBR组	100	2.06±0.30 ²⁾	4.20±0.13 ²⁾
BBR+CCP _L 组	100+22.8	1.56±0.25 ^{2,3)}	4.56±0.16 ^{2,3)}
BBR+CCP _H 组	100+45.6	1.00±0.27 ^{2,3,4)}	4.92±0.21 ^{2,3,4)}

注：与正常组比较¹⁾ $P<0.01$ ；与模型组比较²⁾ $P<0.01$ ；与BBR组比较³⁾ $P<0.05$ ；与BBR+CCP_L组比较⁴⁾ $P<0.05$ (表3同)

恢复程度明显高于BBR+CCP_L组($P<0.05$)。上述结果说明，黄连粗多糖可提高小檗碱修复结肠的疗效，并且较高剂量的黄连粗多糖效果更优。见表2。

3.4 对UC小鼠结肠组织形态的影响 正常组小鼠肠黏膜形态完整，腺体排列整齐、无溃疡，肠腺细胞排列规则，隐窝内无中性粒细胞浸润、无缩短，杯状细胞数目正常无减少。模型组小鼠结肠黏膜遭严重破坏，溃疡数目多且范围广，有炎症细胞浸润，隐窝排列紊乱甚至消失。经过给药治疗后，其结肠损伤均有不同程度的恢复。BBR组小鼠结肠黏膜有所恢复，但腺体的形态恢复不完全。BBR+CCP_L组腺体恢复情况优于BBR组，部分杯状细胞已接近正常形态。BBR+CCP_H组恢复情况最好，腺体已经接近正常形态，隐窝内多数浸润状态已恢复，杯状细胞排数目接近正常水平。见图1。



注：A. 正常组；B. 模型组；C. BBR组；D. BBR+CCP_L组；E. BBR+CCP_H组

图1 黄连粗多糖协同小檗碱对UC小鼠病理情况的改变(HE, ×100)

Fig. 1 Effect of CCP combined with berberine on pathological changes of UC mice (HE, ×100)

3.5 对UC小鼠结肠上皮组织紧密连接蛋白表达水平的影响 与正常组比较，模型组小鼠结肠组织中的ZO-1、Claudin-1和Occludin蛋白的表达量显著降低($P<0.01$)；与模型组比较，BBR组中ZO-1和Occludin蛋白表达显著升高($P<0.01$)，Claudin-1蛋白表达无明显变化；而小檗碱联合多糖给药后这3种蛋白表达明显升高，其中与BBR+CCP_H组比较，

BBR+CCP_L组蛋白表达增高($P<0.05$)，与BBR+CCP_L组比较，BBR组蛋白表达明显增高，差异有显著统计学意义($P<0.05$)，说明较高剂量的黄连粗多糖协同小檗碱对UC小鼠肠黏膜屏障的保护效果更佳。见表3、图2。

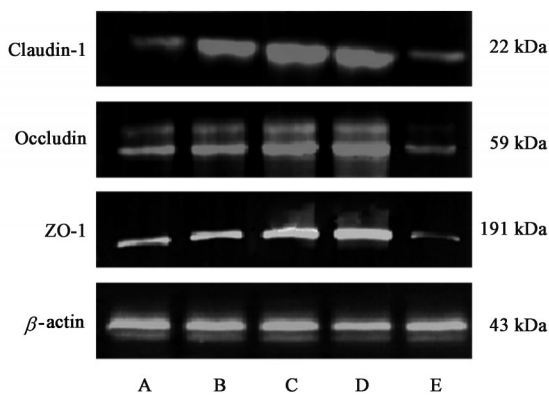
4 讨论

近年来，受多种因素的影响，UC发病人数日益

表3 黄连粗多糖协同小檗碱对UC小鼠紧密连接蛋白Claudin-1、Occludin和ZO-1表达影响($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 3 Effect of CCP combined with berberine on expression of tight junction proteins Claudin-1, Occludin and ZO-1 in UC mice ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	Claudin-1 /β-actin	Occludin /β-actin	ZO-1 /β-actin
正常组		2.47±0.11	3.05±0.39	2.33±0.12
模型组		0.78±0.04 ¹⁾	1.95±0.07 ¹⁾	0.38±0.01 ¹⁾
BBR组	100	0.73±0.05	2.36±0.08 ²⁾	0.87±0.02 ²⁾
BBR+CCP _L 组	100+22.8	2.01±0.09 ^{2,3)}	2.93±0.41 ^{2,3)}	1.02±0.06 ^{2,3)}
BBR+CCP _H 组	100+45.6	2.64±0.08 ^{2,3,4)}	3.65±0.09 ^{2,3,4)}	1.67±0.08 ^{2,3,4)}



注:A. BBR组;B. BBR+CCP_L组;C. BBR+CCP_H组;D. 正常组;E. 模型组

图2 结肠组织中ZO-1、Occludin和Claudin蛋白表达电泳

Fig. 2 Electrophoresis of ZO-1, Occludin and Claudin-1 protein expression level in colon

增加^[21]。由于其发病具有反复性、治疗周期长、难以治愈的特点,临床上治愈UC存在一定难度^[22]。UC严重危害人和动物的肠道健康,但其具体发病机制尚不清楚,UC的发生与多种致病因素有关。在UC的发展过程中各种致病因子均可以破坏肠屏障体系中的紧密连接结构,增加肠壁通透性从而使肠道屏障功能受损,导致肠道内各种抗原激活黏膜固有层的免疫系统,进而启动过度持续的免疫炎症反应,造成组织损伤,导致结肠炎。

肠黏膜是参与机体抵御外来病原微生物感染的一道重要防线,其完整性是保证肠道正常工作不可或缺的一部分。正常状态肠黏膜屏障能够维持肠道细菌的稳态,减轻肠道炎症和免疫反应。紧密连接是肠黏膜屏障的核心结构,它是一种由多种蛋白包括Claudin、Occludin、ZO共3种跨膜蛋白及分子构成的连接复合体,在肠道内普遍存在。其中Claudin-1与Occludin两种蛋白共同组成紧密连接主体,并通过ZO-1蛋白与细胞骨架蛋白连接形成完

整的紧密连接结构^[23]。UC状态下肠黏膜相关紧密连接蛋白ZO-1、Claudin-1、Occludin的表达有着明显的降低^[24]。这3种蛋白表达降低,意味着肠黏膜屏障遭到破坏,各种病原体与刺激因子更容易进入肠道内,引起肠道紊乱,加重UC的发展。这说明在UC的发展过程中提高紧密连接蛋白的表达可以改善肠黏膜屏障,从而减轻UC症状。

本实验研究证实,UC小鼠结肠组织中ZO-1、Claudin-1、Occludin的表达明显下降,小檗碱单独或联合黄连粗多糖可以有效降低小鼠的DAI评分,减轻结肠损伤,恢复结肠长度。单独给予小檗碱治疗时,UC小鼠结肠中ZO-1和Occludin蛋白表达升高,而Claudin-1蛋白表达无明显变化。而相比于小檗碱单独使用时黄连粗多糖与小檗碱合用不仅提高了UC小鼠结肠中紧密连接相关蛋白ZO-1和Occludin的表达,还提高了Claudin-1蛋白的表达。ZO-1蛋白存在于上皮细胞的闭锁小带中,可以和它的同源体ZO-2、ZO-3蛋白一起,作为紧密连接中各种跨膜蛋白以及胞质附着蛋白的支架,从而作为紧密连接的重要组成部分之一^[25]。Occludin蛋白能通过“拉链”的形式封闭细胞间隙,还能与ZO-1蛋白一起共同形成肠道紧密连接的基本结构,能够参与细胞间黏附、移动、具有调节肠道通透性以及改变细胞表型等功能^[26-28]。Claudin蛋白是组成紧密连接复合体的功能和结构基础,对于上皮组织跨上皮细胞电阻有直接影响,对紧密连接复合体的离子选择性具有决定作用,并对紧密连接复合体的通透性产生调节作用^[29]。这表明小檗碱可以通过调节ZO-1和Occludin蛋白表达从而改善UC小鼠肠黏膜屏障损伤,黄连粗多糖可以通过调节肠组织中Claudin-1蛋白的表达协同小檗碱改善UC小鼠结肠黏膜屏障损伤,从而减轻UC的发展,达到治疗结肠炎的效果。

综上所述,本实验成功建立了UC小鼠,通过联合给予黄连粗多糖与小檗碱治疗,证实了黄连粗多糖可以协同小檗碱提高UC小鼠结肠内紧密连接蛋白的表达,从而修复UC小鼠结肠黏膜屏障的损伤,并且高剂量的黄连粗多糖协同效果最佳。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

[1] 陈文华,黄国栋,方承康. 溃疡性结肠炎现代医学研究进展[J]. 中国医药科学,2011,1(7):51-53.
[2] DAPERNO M, ARMUZZI A, DANESE S, et al. Unmet medical needs in the management of ulcerative

- colitis: Results of an italian delphi consensus [J]. *Gastroenterol Res Pract*, 2019, 2019: 3108025.
- [3] 何琼,李建栋. 炎症性肠病流行病学研究进展[J]. 实用医学杂志, 2019, 35(18):2962-2966.
- [4] 吴笑,夏俊东,方珂,等. 溃疡性结肠炎中西医结合治疗临床研究进展[J]. 中西医结合研究, 2021, 13(2): 118-121.
- [5] ISKANDAR H N, DHERE T, FARRAYE F A. Ulcerative colitis: Update on medical management[J]. *Curr Gastroenterol Rep*, 2015, 17(11): 44
- [6] MALOY K J, POWRIE F. Intestinal homeostasis and its breakdown in inflammatory bowel disease [J]. *Nature*, 2011, 474(7351):298-306.
- [7] 郭玲珑,姜小艳,李娟娟,等. 溃疡性结肠炎的中医药治疗研究进展[J]. 中国当代医药, 2020, 27(34): 26-30.
- [8] 戴悦婷,唐志鹏. 溃疡性结肠炎肠黏膜损伤的研究进展[J]. 中国中西医结合消化杂志, 2018, 26(6): 545-549.
- [9] 宋亚芳,裴丽霞,赵婷婷. 溃疡性结肠炎免疫因素发病机制的研究进展[J]. 医学研究生学报, 2019, 32(4):432-436.
- [10] WANG K, WU L Y, DOU C Z, et al. Research advance in intestinal mucosal barrier and pathogenesis of crohn's disease [J]. *Gastroenterol Res Pract*, 2016, 2016: 9686238.
- [11] 赵红伟,岳月红,郎晓猛,等. Poly I : C对急性期溃疡性结肠炎小鼠肠黏膜屏障的影响[J]. 重庆医学, 2017, 46(3):299-301.
- [12] IMENSHAHIDI M, HOSSEINZADEH H. Berberine and barberry (*Berberis vulgaris*): A clinical review [J]. *Phytother Res*, 2019, 33(3):504-523.
- [13] 徐凤,毛艺纯,周淑芬,等. 半夏泻心汤对溃疡性结肠炎小鼠肠道黏膜屏障功能保护作用及 ZO-1 和 Occludin 表达的影响[J]. 中国中医基础医学杂志, 2019, 25(1):44-47, 51.
- [14] 靳瑾,周知然. 黄连解毒汤对溃疡性结肠炎患者肠道菌群的影响[J]. 中医学报, 2020, 35(7):1520-1523, 1559.
- [15] 肖尧生. 小檗碱对治疗溃疡性结肠炎疗效的临床观察[D]. 福州:福建中医药大学, 2018.
- [16] 焦放,侯子言,尹登科,等. 黄连水煎液中固体微粒对小檗碱在体肠吸收特性的影响研究[J]. 中草药, 2016, 47(8):1357-1360.
- [17] 吴晶晶,袁秀妍,杨晔. 基于小肠 M 细胞模型研究黄连多糖对小檗碱经小肠吸收的影响及相关机制[J]. 中南药学, 2020, 18(4):525-530.
- [18] 王长征,周中银,罗和生. 葡聚糖硫酸钠诱导小鼠实验性结肠炎的临床和组织病理学特征研究[J]. 胃肠病学和肝病学杂志, 2014, 23(6):629-631.
- [19] JEON Y D, BANG K S, SHIN M K, et al. Regulatory effects of glycyrrhizae radix extract on DSS-induced ulcerative colitis [J]. *BMC Complement Altern Med*, 2016, 16(1):459.
- [20] 赵明,王德芳,苏晓兰. 白头翁汤合黄连解毒汤加减对溃疡性结肠炎患者症状缓解及肠黏膜屏障功能的影响[J]. 世界中西医结合杂志, 2021, 16(2): 367-371.
- [21] 王阳,李艳丽,洪倩,等. 布拉氏酵母菌通过抑制 TLR-4/NF- κ B 炎症信号通路预防新生鼠坏死性小肠结肠炎[J]. 中国临床研究, 2019, 32(8):1009-1014.
- [22] 战晶玉,房莹莹,于卓,等. 连草泻痢胶囊对活动期溃疡性结肠炎患者血清炎症因子及肠道黏膜屏障的影响[J]. 中国中西医结合消化杂志, 2019, 27(7):509-513, 519.
- [23] 张冰,谢晶日,孙涛. 肠愈宁对溃疡性结肠炎模型大鼠结肠组织 claudin-1、ZO-1、occludin 蛋白表达的影响[J]. 中华全科医学, 2021, 19(9):1447-1450, 1577.
- [24] 孙健,高文艳,林一帆. 溃疡性结肠炎病因和发病机制研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报, 2017, 19(4): 94-97.
- [25] RINCON-CHOLES H, VASYLYEVA T L, PERGOLA P E, et al. ZO-1 expression and phosphorylation in diabetic nephropathy [J]. *Diabetes*, 2006, 55(4): 894-900.
- [26] VAN ITALLIE C M, ANDERSON J M. Architecture of tight junctions and principles of molecular composition [J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2014(36): 157-165.
- [27] NUSRAT A, CHEN J A, FOLEY C S, et al. The coiled-coil domain of occludin can act to organize structural and functional elements of the epithelial tight junction [J]. *J Biol Chem*, 2000, 275(38):29816-29822.
- [28] 张培培,杨欣,梁国强,等. 加味白头翁汤通过 p38 MAPK-MLCK 信号通路影响溃疡性结肠炎模型大鼠肠黏膜紧密连接蛋白[J]. 中国中药杂志, 2021, 46(21):5719-5726.
- [29] 武晓琳,赵春燕,江海洋,等. 实验性结肠炎大鼠结肠上皮 claudin-1、-2、-4 表达改变[J]. 胃肠病学, 2017, 22(10):599-603.

[责任编辑 周冰冰]