乳香及其炮制品对葡聚糖硫酸钠诱导小鼠炎症性肠病的保护作用

周宜[1]，刘晓琴[2]，吴学敏[2]，张浩[2]，王海琴[2]，王红亮[2]，孟祥龙[2*]

1. 湖南中医药大学第二附属医院，湖南 长沙 410005

2. 山西中医药大学 中药与食品工程学院，山西 晋中 030619

摘 要：目的 研究乳香及其炮制品对葡聚糖硫酸钠（DSS）诱导的小鼠炎症性肠病的保护作用。**方法** 采用 DSS 水溶液代替正常饮水建立炎症性肠病小鼠模型，将实验小鼠分为对照组、模型组、柳氮磺胺吡啶（300 mg/kg）组、生乳香（0.76 g/kg）组、醋乳香（0.76 g/kg）组、生乳香粪清液（0.2 mL）组、醋乳香粪清液（0.2 mL）组，分别进行给药治疗。观察和监测小鼠体质量、粪便性状、便血情况，进行疾病活动指数（DAI）评分；记录结肠长度；运用苏木精－伊红染色法（HE）观察炎症性肠病小鼠肠道组织的病理变化；酶联免疫吸附试验（ELISA）检测炎症性肠病小鼠血清中白细胞介素（IL）-4、IL-10、IL-6、IL-1β 的水平。采用蛋白质免疫印迹法（Western blotting）测定炎症性肠病小鼠肠道组织中肠黏膜机械屏障蛋白的表达情况。**结果** 生乳香、醋乳香、生乳香粪清液组和醋乳香粪清液组均可改善 DSS 造成的小鼠体质量下降、粪便性状评分和便血情况，显著降低 DAI 评分；改善炎症性肠病小鼠肠道组织的病理状态；调节血清中的炎症因子水平；显著升高炎症性肠病小鼠肠道组织中咬合蛋白（occludin）、紧密连接蛋白 1（claudin-1）、闭合小环蛋白 1（ZO-1）蛋白表达水平。**结论** 乳香及其炮制品可改善炎症性肠病小鼠炎症反应，对肠黏膜屏障具有一定的保护作用，且粪菌移植效果更佳。

关键词：乳香及其炮制品；炎症性肠病；粪菌移植；葡聚糖硫酸钠；白细胞介素；咬合蛋白；紧密连接蛋白 1；闭合小环蛋白 1

中图分类号：R285.1 **文献标志码：**A **文章编号：**1674 - 5515(2022)07 - 1432 - 07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2022.07.002

Protective effect of *Olibanum* and its processed products on inflammatory bowel disease induced by dextran sulfate sodium in mice

ZHOU Yi[1], LIU Xiao-qin[2], WU Xue-min[2], ZHANG Hao[2], WANG Hai-qin[2], WANG Hong-liang[2], MENG Xiang-long[2]

1. The Second Affiliated Hospital of Hunan University of Traditional Chinese Medcine, Changsha 410005, China

2. College of Chinese Medicine and Food Engineering, Shanxi University of Chinese Medicine, Jinzhong 030619, China

Abstract: Objective To investigate the protective effects of *Olibanum* and its processed products on inflammatory bowel disease induced by dextran sulfate sodium (DSS) in mice. **Methods** DSS solution was used instead of normal drinking to establish inflammatory bowel disease mice model, experimental mice were divided into control group, model group, sulfasalazine (300 mg/kg) group, raw *Olibanum* (0.76 g/kg) group, vinegar *Olibanum* (0.76 g/kg) group, raw *Olibanum* purified feces (0.2 mL) group, and vinegar *Olibanum* purified feces (0.2 mL) group. The body weight, fecal traits, and hematochezia of mice were observed and monitored, and disease activity index (DAI) was scored. Colon length was recorded. HE staining was used to observe the pathological changes of intestinal tissues in mice with inflammatory bowel disease. The levels of interleukin-4, IL-10, IL-6, and IL-1β in serum of mice with inflammatory bowel disease were determined by ELISA. Western blotting was used to detect the protein expression in intestinal tissues of inflammatory bowel disease mice. **Results** Raw *Olibanum*, vinegar *Olibanum*, raw *Olibanum* purified feces, and vinegar *Olibanum* purified feces group could improve the decrease of body weight, fecal traits score, and blood in stool caused by DSS, and significantly reduce DAI score. To improve the pathological state of intestinal tissue in mice with inflammatory bowel disease. Regulating the level of inflammatory factors in serum. The expression levels of occludin, claudin-1, and ZO-1 in intestinal tissues of inflammatory bowel disease mice were significantly increased. **Conclusion** *Olibanum* and its processed products can improve the inflammatory response

收稿日期：2022-04-20

基金项目：山西省卫生计生委科研课题计划项目（2019092）；山西中医药大学科技创新能力培育计划（2019PY-154）

作者简介：周宜，副主任药师，硕士，主要从事中药制剂新技术与新剂型研究。E-mail: 226405736@qq.com

***通信作者：**孟祥龙，实验师，博士，主要从事中药炮制现代研究。E-mail: sszywzh@126.com

of inflammatory bowel disease mice and have certain protective effect on intestinal mucosal barrier.

Key words: *Olibanum* and its processed products; inflammatory bowel disease; fecal microbiota transplantation; dextran sulfate sodium; interleukin; occluding; claudin-1;ZO-1

炎症性肠病是一种以腹泻、腹痛、黏液便血为临床症状的慢性、炎症性、自身免疫性疾病，分为克罗恩病和溃疡性结肠炎[1]。炎症性肠病与高脂肪、高蛋白和高糖饮食等生活方式密切相关，多见于西欧和北美地区。近 20 年来，中国出现炎症性肠病患者发病率快速增长，每年新发炎症性肠病患者约 3.5 万，居亚洲之首，且南方发病率高于北方，珠江三角洲和长江三角洲地区增长速度最快[2-3]。炎症性肠病不仅严重影响患者疾病转归和生活质量，还会给个人、家庭、社会带来沉重负担。目前，炎症性肠病的治疗主要应用英夫利西单抗和阿达木单抗等生物制剂，其可通过不同靶点和机制对炎症性肠病发挥治疗作用；然其虽能缓解炎症性肠病症状，但会产生皮疹、头痛等不良反应，如使用英夫利西单抗治疗可能会诱发或加重病毒性肝炎和肿瘤[4]。国内外学者对炎症性肠病进行了大量研究，但其具体病因和发病机制尚不明确，且其治疗药物多会引发不良反应，因此，亟需探明其发病机制并寻找安全有效的治疗药物。

乳香为橄榄科植物乳香属阿拉伯乳香 *Boswellia carterii* Birdw.及其同属植物鲍达乳香树 *B. bhaw-dajiana* Birdw.树皮渗出的树脂，分为索马里乳香和埃塞俄比亚乳香。乳香始载于《明医别录》，被列为上品，主要含挥发油、树脂类等成分，具有活血定痛、消肿生肌的功效，广泛应用于风湿、类风湿性关节炎和骨关节炎等炎性疾病[5-6]。乳香醋制后，活血行气止痛作用增强。已有研究表明，乳香醇提物及其有效成分挥发油有显著的镇痛、抗炎消肿、广谱抗菌、抗肿瘤和抗溃疡作用，醋炙后挥发油含量降低，乙酸辛酯含量明显升高，三萜类有机酸含量升高，提示乳香及其醋制品具有防治炎症性肠病的可能[7]。目前有关乳香药理作用研究较多，但关于其经炮制后药理作用变化方面的研究还相对较少，乳香炮制品相较生品在药理作用变化方面的研究是未来研究的新方向。

因此，本实验应用葡聚糖硫酸钠（DSS）建立炎症性肠病小鼠模型，评价生乳香水提取物、醋乳香水提取物及富集小鼠粪清液的治疗作用，观察其对炎症性肠病小鼠炎症因子及肠黏膜屏障的影响，以期为乳香及其炮制品防治炎症性肠病的作用机制和应用方案提供参考。

1　材料与方法

1.1　主要材料与试剂

乳香（批号 201023）购于河北安国药材市场，经湖南中医药大学第二附属医院周宜副主任药师认证为橄榄科植物阿拉伯乳香 *Bosivellia carterii* Birdw.及同属植物鲍达乳香树 *B. bhaiv-dajiana* Birdw.树皮渗出的树脂；DSS 购自安诺伦（北京）生物科技有限公司；白细胞介素（IL）-4、IL-10、IL-6、IL-1β（批号 2021080177、2021080123、2021090141、2021090189）购自上海酶联生物科技有限公司；RIPA 裂解液（批号 16D16B02）、SDS-PAGE 凝胶制备试剂盒（批号 16L14B46）购自博士德生物工程有限公司；β-肌动蛋白（β-actin）、咬合蛋白（occludin）、紧密连接蛋白-1（claudin-1）、闭合小环蛋白 1（ZO-1）（批号 AA121788088ZJ2、CN86557、BOS6273BP007、AA1003B114588ZJ7）购自博士德生物工程有限公司。RE-2000B 旋转蒸发器购自上海亚荣生化仪器厂；冷冻干燥机购自北京博医康实验仪器有限公司。

BALB/c 小鼠购自斯贝福（北京）生物技术有限公司，体质量（18±2）g，生产许可证号：SCXK（京）2019-0010，SPF 级，6～7 周龄，雄性。所有小鼠于动物房适应性饲养 1 周。本实验通过湖南中医药大学第二附属医院实验动物伦理委员会审查批准（2022YW012）。

1.2　实验方法

1.2.1　乳香炮制品的制备　将 500 g 生乳香置炒制容器内，加米醋拌匀（每 100 千克乳香用米醋 20 kg），闷透，文火炒至表面呈油亮光泽，迅速取出，摊开放凉[8]。

1.2.2　乳香及其炮制品水提液的制备　称取生乳香和醋乳香各 500 g，运用本课题组前期研究的提取、干燥方法，采用高效液相色谱法对提取物进行含量测定，生乳香和醋乳香提取液中乙酰基-11-酮基-β-乳香酸质量分数分别为（0.398 6±0.004 3）mg/g、（0.406 5±0.005 3）mg/g[9]。所得固体粉末加 5 倍量的聚山梨酯 80，在高温下完全溶解，涡旋仪混匀，于 4 ℃保存，备用。

1.2.3　动物分组及给药　适应性饲养 1 周后，随机

抽取 6 只作为对照组，饮用蒸馏水，其余 36 只小鼠饮用蒸馏水配制的 3% DSS 水溶液（每天现配现用），连续 7 d，诱导急性炎症性肠病模型。将造模成功小鼠随机分为 6 组，每组 6 只，即模型组、柳氮磺胺吡啶 300 mg/kg 组、生乳香 0.76 g/kg 组、醋乳香 0.76 g/kg 组、生乳香粪清液组（0.2 mL/只）、醋乳香粪清液组（0.2 mL/只）[10]，《中国药典》2020 年版[8]规定，乳香的最大人体用药量为 5 g/60 kg，根据人和小鼠体表面积折算系数确定给药剂量[11]。各组小鼠分别 ig 相应药物（对照组给予等体积生理盐水，模型组给予等体积聚山梨酯 80 水溶液），1 次/d，共 4 d。

粪菌制备：收集生乳香组、醋乳香组小鼠的新鲜粪便，加 10 mL 无菌 PBS 中充分混匀，分别用孔径为 2.0、1.0、0.5、0.25 mm 的不锈钢筛滤过，离心（3 500 r/min、20 min），得到粪菌液沉淀，−80 ℃保存备用[12]。

1.3 指标测定

1.3.1 日常观察指标 实验期间，每天更换饮用水，监测体质量，观察小鼠的活动状况、粪便性状以及便血情况，进行疾病活跃指数评分（DAI）评分[13]。体质量减轻评分：0 分，没有减轻；1 分，减轻 1%～5%；2 分，减轻 6%～10%；3 分，减轻 11%～20%；4 分，减轻 20%以上。粪便性状评分：0 分，正常粪便；1 分，粪便较软；2 分，粪便湿软；3 分，半稀便；4 分，稀便。便血评分：0 分，无血便；2 分，呈阳性；4 分，纯血便。测量实验第 7、9、11 天小鼠体质量，体质量减轻评分按第 1 天和观察时间点之间的体质量百分比计算。

DAI 评分＝（体质量减轻评分＋粪便性状评分＋便血评）/3

1.3.2 苏木精－伊红（HE）染色 小鼠注射 0.3% 戊巴比妥钠溶液麻醉，剖开腹部，取血，剪取结肠段，置于洁净白纸上，观察小鼠结肠有无水肿、黏连、溃疡、坏死等病理改变，量取结肠自肛门端至结肠－盲肠交汇处长度，记录并拍照[14]；随后剪去盲肠纵向剖开结肠，4 ℃预冷生理盐水清洗肠内粪便，吸干结肠表面水分，PBS 漂洗干净后，取近肛门端的 1 cm 肠道组织，置于 4 %甲醛中固定 24 h。取固定好的肠道组织经洗涤、脱水和透明、浸蜡、包埋处理后，制成 5 μm 厚的切片，转移至载玻片上，45 ℃干燥过夜；用二甲苯脱蜡、无水乙醇洗涤；将切片分别用 100%、95%、90%、85%、70% 乙醇浸泡，蒸馏水洗涤；苏木精染色 15 min，流水冲洗 15 min，0.1%伊红染色 5 min，再依次用 100%、95%、90%、85%、70%乙醇倒序梯度脱水，二甲苯透明，中性树胶封片。

1.3.3 酶联免疫吸附试验（ELISA）检测 IL-4、IL-10、IL-6、IL-1β 水平 另在 1.3.2 项中各组小鼠的取血后，3 000 r/min 离心 10 min 分离血清，按照试剂盒说明书，测定其中 IL-4、IL-10、IL-6、IL-1β 的表达水平。

1.3.4 蛋白质免疫印迹法（Western blotting）对肠黏膜机械屏障相关蛋白检测 取 1.3.2 项中其余肠道组织置于匀浆管中，加入 1～2 个 2 mm 的小磁珠，加入 10 倍体积组织裂解液置于匀浆机中匀浆，取出后冰浴 30 min，收集上清。Bradford 法测定蛋白含量，SDS-PAGE 法分离蛋白，5%脱脂牛奶封闭，与抗体 occludin、claudin-l、ZO-1 和 β-actin 于 4 ℃孵育过夜，用 Tris-HCl 缓冲盐溶液（TBST）洗膜 4 次，室温孵育二抗 4 h 后，用 TBST 洗 4 次。滴加显影液于 GeneGnome 成像系统曝光，Image J 软件分析其灰度值，计算蛋白相对表达量[15]。

1.4 统计学方法

数据均用 $\bar{x} \pm s$ 表示，应用 Graphpad Prism 6.0 软件制图，组间差异采用单因素方差分析，两两比较采用 LSD 法，以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 乳香及其炮制品对小鼠体质量、粪便性状、便血情况及 DAI 评分的影响

适应性饲养时期，小鼠的体质量增长较为稳定，大便正常，质地正常；造模 7 d 后，各组小鼠体质量明显下降，表现出肠道炎症反应，粪便变稀且出现明显的血丝，说明炎症性肠病小鼠造模成功，且各项评分指标组间无统计学差异。

经给药治疗后，小鼠体质量仍有下降趋势，但生、醋乳香粪清液组已显著改善（$P<0.001$）；各给药组粪便性状评分显著降低（$P<0.01$、0.001）；给药组便血情况评分均有所改善，各给药组 DAI 评分均显著降低（$P<0.05$、0.001），见表 1。

2.2 乳香及其炮制品对炎症性肠病小鼠结肠长度的影响

与对照组相比，模型组小鼠结肠长度显著变短（$P<0.01$）。与模型组相比，柳氮磺胺吡啶组和生、醋乳香粪清液组小鼠结肠长度均有不同程度的变长（$P<0.05$），见图 1。

表 1　乳香及其炮制品对 DSS 诱导的炎症性肠病小鼠体质量减轻评分、粪便性状评分、便血情况评分、DAI 的影响（$\bar{x}\pm s$，$n=6$）

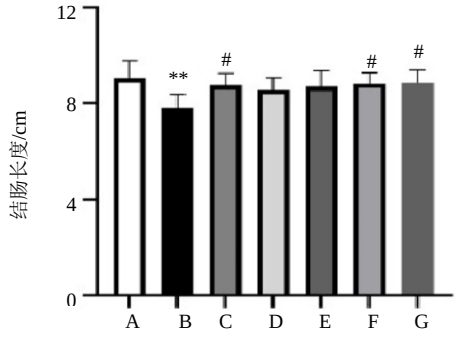
Table 1　Effects of *Olibanum* and its processed products on the weight loss score, fecal trait score, hematochezia score, DAI of inflammatory bowel disease mice induced by DSS ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	剂量	体质量减轻评分			粪便性状评分		
		第 7 天	第 9 天	第 11 天	第 7 天	第 9 天	第 11 天
对照	—	0.12±0.01	0.14±0.01	0.09±0.10	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
模型	—	0.43±0.01***	0.45±0.01***	0.79±0.03***	0.95±0.14***	1.33±0.15***	1.84±0.18***
柳氮磺胺吡啶	300 mg·kg^{-1}	0.43±0.04	0.50±0.07	0.78±0.08	0.93±0.15	0.83±0.18$^{\#\#\#}$	0.95±0.16$^{\#\#\#}$
生乳香	0.76 g·kg^{-1}	0.42±0.03	0.47±0.13	0.68±0.09	0.92±0.15	1.02±0.13$^{\#\#}$	1.28±0.16$^{\#\#\#}$
醋乳香	0.76 g·kg^{-1}	0.40±0.02	0.46±0.12	0.64±0.13	0.89±0.14	1.01±0.13$^{\#\#}$	0.83±0.14$^{\#\#\#}$
生乳香粪清液	0.2 mL	0.41±0.03	0.39±0.15	0.52±0.10$^{\#\#\#}$	0.85±0.16	0.89±0.12$^{\#\#\#\#}$	0.95±0.09$^{\#\#\#}$
醋乳香粪清液	0.2 mL	0.41±0.01	0.40±0.10	0.51±0.12$^{\#\#\#}$	0.90±0.13	0.93±0.14$^{\#\#\#\#}$	1.05±0.17$^{\#\#\#}$

组别	剂量	便血情况评分			DAI		
		第 7 天	第 9 天	第 11 天	第 7 天	第 9 天	第 11 天
对照	—	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
模型	—	0.23±0.01***	0.33±0.11***	0.33±0.13***	0.72±0.07***	1.33±0.08***	2.13±0.14***
柳氮磺胺吡啶	300 mg·kg^{-1}	0.23±0.01	0.25±0.09	0.31±0.10	0.75±0.19	0.97±0.19$^{\#\#\#}$	0.97±0.22$^{\#\#\#}$
生乳香	0.76 g·kg^{-1}	0.19±0.22	0.27±0.10	0.29±0.12	0.77±0.11	1.34±0.05	1.53±0.08$^{\#\#\#}$
醋乳香	0.76 g·kg^{-1}	0.18±0.41	0.23±0.10	0.22±0.09	0.74±0.15	1.23±0.11	1.13±0.11$^{\#\#\#}$
生乳香粪清液	0.2 mL	0.22±0.01	0.29±0.10	0.29±0.07	0.77±0.10	1.12±0.10$^{\#}$	1.03±0.16$^{\#\#\#}$
醋乳香粪清液	0.2 mL	0.18±0.34	0.26±0.09	0.21±0.07	0.69±0.14	0.99±0.18$^{\#\#\#}$	1.01±0.20$^{\#\#\#}$

与对照组比较：$^{***}P<0.001$；与模型组比较：$^{\#}P<0.05$　$^{\#\#}P<0.01$　$^{\#\#\#}P<0.001$

$^{***}P<0.001$ *vs* control group; $^{\#}P<0.05$　$^{\#\#}P<0.01$　$^{\#\#\#}P<0.001$ *vs* model group



A-对照　B-模型　C-柳氮磺胺吡啶 300 mg·kg^{-1}　D-生乳香 0.76 g·kg^{-1}　E-醋乳香 0.76 g·kg^{-1}　F-生乳香粪清液 0.2 mL　G-醋乳香粪清液 0.2 mL　与对照组比较：$^{**}P<0.01$；与模型组比较：$^{\#}P<0.05$

A-control　B-model　C-sulfasalazine 300 mg·kg^{-1}　D-raw *Olibanum* 0.76 g·kg^{-1}　E-vinegar *Olibanum* 0.76 g·kg^{-1}　F-raw *Olibanum* purified feces 0.2 mL　G-vinegar *Olibanum* purified feces 0.2 mL

$^{**}P<0.01$ *vs* control group; $^{\#}P<0.05$ *vs* model group

图 1　乳香及其炮制品对 DSS 诱导炎症性肠病小鼠结肠长度的影响（$\bar{x}\pm s$，$n=6$）

Fig. 1　Effects of *Olibanum* and its processed products on the length of the colon of inflammatory bowel disease mice induced by DSS ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

2.3　乳香及其炮制品对炎症性肠病小鼠肠道组织病理变化的影响

对照组小鼠肠道组织细胞饱满且排列整齐，杯状细胞明显，隐窝结构清晰可见；模型组小鼠肠道组织细胞出现上皮细胞破损且排列紊乱，肠道黏膜及隐窝有不同程度的损坏，存在有大量的炎性细胞浸润现象。HE 染色结果表明，柳氮磺胺吡啶组、生乳香组、醋乳香组、生乳香粪清液组、醋乳香粪清液组小鼠肠道组织损伤程度相对减轻，细胞基本完整且排列趋于正常，隐窝结构破损减轻，炎性细胞浸润现象减轻，见图 2。

2.4　乳香及其炮制品对炎症性肠病小鼠血清中炎症因子水平的影响

与对照组相比，模型组小鼠 IL-4、IL-10 水平显著降低（$P<0.01$、0.001），IL-6、IL-1β 水平显著升高（$P<0.001$）。与模型组相比，柳氮磺胺吡啶组、生乳香粪清液组、醋乳香粪清液组 IL-4 水平显著升高（$P<0.05$、0.01）；柳氮磺胺吡啶组、醋乳香粪清液组 IL-10 水平显著升高（$P<0.05$、0.01）。与模型组相比，各给药组 IL-6 水平均显著降低（$P<0.05$、0.01），而柳氮磺胺吡啶组、醋乳香组、生乳香粪清液组、醋乳香粪清液组 IL-1β 水平显著降低（$P<0.05$、0.01），见图 3。

2.5 乳香及其炮制品对炎症性肠病小鼠肠道组织中蛋白表达的影响

与对照组相比，模型组小鼠 occludin、claudin-l、ZO-1 表达均显著降低（P＜0.001）。与模型组相比，各给药组 occludin 和 claudinl-1 表达水平均显著升高（P＜0.05、0.01、0.001）；柳氮磺胺吡啶组、生乳香粪清液组、醋乳香粪清液组 ZO-1 表达显著升高（P＜0.05、0.01、0.001），见图 4。

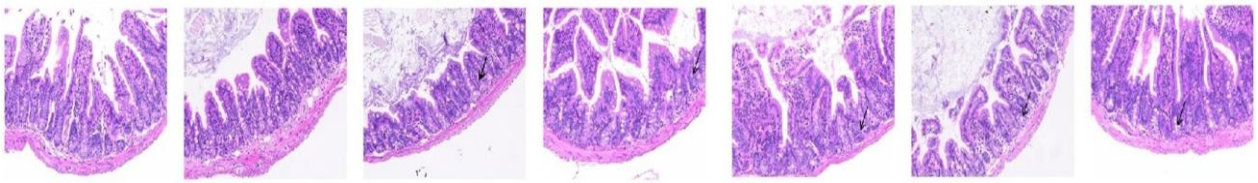
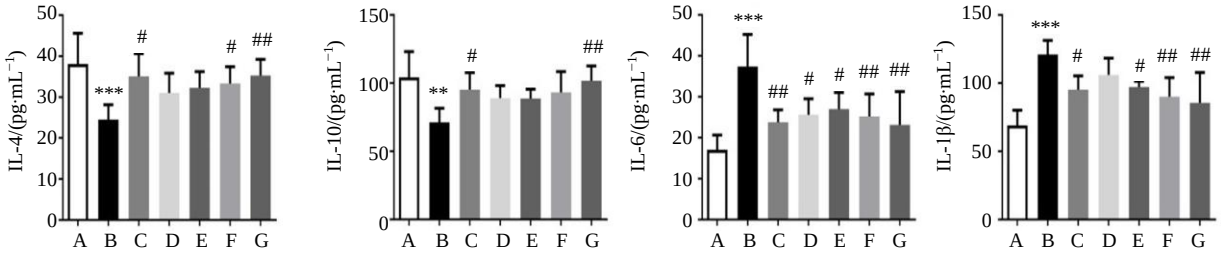


图 2 乳香及其炮制品对炎症性肠病小鼠肠道组织病理变化的影响（HE，×200）

Fig. 2 Effects of *Olibanum* and its processed products on histopathological changes of colon of inflammatory bowel disease mice induced by DSS (HE, ×200)



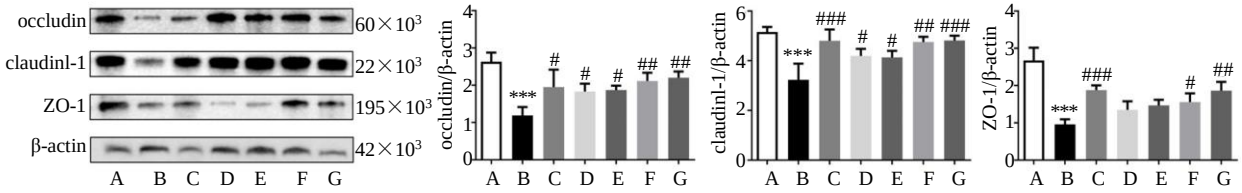
A-对照 B-模型 C-柳氮磺胺吡啶 300 mg·kg⁻¹ D-生乳香 0.76 g·kg⁻¹ E-醋乳香 0.76 g·kg⁻¹ F-生乳香粪清液 0.2 mL G-醋乳香粪清液 0.2 mL

与对照组比较：$^{**}P$＜0.01 $^{***}P$＜0.001；与模型组比较：$^{\#}P$＜0.05 $^{\#\#}P$＜0.01

A-control B-model C-sulfasalazine 300 mg·kg⁻¹ D-raw *Olibanum* 0.76 g·kg⁻¹ E-vinegar *Olibanum* 0.76 g·kg⁻¹ F-raw *Olibanum* purified feces 0.2 mL G-vinegar *Olibanum* purified feces 0.2 mL $^{**}P$ < 0.01 $^{***}P$ < 0.001 *vs* control group; $^{\#}P$ < 0.05 $^{\#\#}P$ < 0.01 *vs* model group

图 3 乳香及其炮制品对炎症性肠病小鼠血清中炎症因子水平的影响（$\bar{x} \pm s$，n = 6）

Fig. 3 Effects of *Olibanum* and its processed products on the levels of the inflammatory factor of inflammatory bowel disease mice induced by DSS ($\bar{x} \pm s$, n = 6)



A-对照 B-模型 C-柳氮磺胺吡啶 300 mg·kg⁻¹ D-生乳香 0.76 g·kg⁻¹ E-醋乳香 0.76 g·kg⁻¹ F-生乳香粪清液 0.2 mL G-醋乳香粪清液 0.2 mL

与对照组比较：$^{***}P$＜0.001；与模型组比较：$^{\#}P$＜0.05 $^{\#\#}P$＜0.01 $^{\#\#\#}P$＜0.001

A-control B-model C-sulfasalazine 300 mg·kg⁻¹ D-raw *Olibanum* 0.76 g·kg⁻¹ E-vinegar *Olibanum* 0.76 g·kg⁻¹ F-raw *Olibanum* purified feces 0.2 mL G-vinegar *Olibanum* purified feces 0.2 mL $^{***}P$ < 0.001 *vs* control group; $^{\#}P$ < 0.05 $^{\#\#}P$ < 0.01 $^{\#\#\#}P$ < 0.001 *vs* model group

图 4 乳香及其炮制品对炎症性肠病小鼠肠道组织中蛋白表达水平的影响（$\bar{x} \pm s$，n = 6）

Fig. 4 Effects of *Olibanum* and its processed products on protein expression levels in colon of inflammatory bowel disease mice induced by DSS ($\bar{x} \pm s$, n = 6)

3 讨论

目前，有研究认为炎症性肠病的发病机制与肠道黏膜屏障、共生菌群、免疫应答等功能异常以及遗传等因素有关[16-17]，但缺乏疗效佳、不良反应小

的治疗药物。《本草纲目》云：“乳香香窜，入心经，活血定痛，故为痈疽疮疡、心腹痛要药”。现代研究发现其药理作用主要有抗炎、抗肿瘤、抗纤维化、抗哮喘、抗菌等[18]。同时，乳香及其炮制品提取物还具有增强肠道组织修复、调节肠道微生物和抑制肠炎症等功能，在维护肠道健康方面具有良好的应用前景。

本实验中采用 DSS 水溶液代替正常饮水建立炎症性肠病小鼠模型，观察和监测小鼠体质量、粪便性状、便血情况，进行 DAI 评分；运用 HE 染色法观察炎症性肠病小鼠肠道组织的病理变化；ELISA 法检测炎症性肠病小鼠血清中 IL-4、IL-10、IL-6、IL-1β 的水平；采用 Western blotting 技术测定炎症性肠病小鼠肠道组织中蛋白的表达情况。结果显示，生乳香、醋乳香、生乳香粪清液组和醋乳香粪清液组均可改善 DSS 造成的小鼠体质量下降、粪便性状和便血情况，显著降低 DAI 评分；可改善炎症性肠病小鼠肠道组织的病理状态；升高炎症性肠病小鼠血清中 IL-4、IL-10 水平，降低 IL-6、IL-1β 水平，改善炎症反应；显著升高炎症性肠病小鼠肠道组织中 occludin、claudinl-1、ZO-1 蛋白的表达，对肠黏膜屏障具有一定的保护作用，且生乳香粪清液组和醋乳香粪清液组作用优于生乳香组和醋乳香组，但无显著差异。

炎症性肠病患者机体中存在黏膜炎症反应、肠道上皮屏障改变以及微生态失衡[19]。研究发现，炎症因子 IL-1β 可能是导致肠道炎症的重要因子[20]；在缺乏 IL-10 受体小鼠中发现严重的肠道炎症，表明 IL-10 对于抑制炎症反应可能起到重要作用[21]；IL-10 可减轻炎症性肠病的肠道炎症反应[22]，可能通过诱导结肠黏膜紧密连接蛋白上调或缺失来调节肠道屏障功能[23]；IL-4 表达水平的上调、IL-6 表达水平下调可改善肠道炎症[24-25]。本研究发现，乳香及其炮制品和粪菌移植均可升高炎症性肠病小鼠血清中 IL-4、IL-10 水平，降低 IL-6、IL-1β 水平，改善炎症反应。

粪菌移植可通过增加肠道微生物群的多样性及恢复保护性肠道微生物群来改善微生态失衡[26]。因此，粪菌移植应用于炎症性肠病的治疗具有广泛的应用前景。炎症性肠病发展过程中，肠黏膜产生大量炎症细胞因子、炎症介质等，上皮细胞间的紧密连接被破坏，黏蛋白的产生被抑制，黏液层被破坏，造成肠黏膜屏障障碍[27]。occludin、claudin-l、ZO-1 作为肠黏膜机械屏障中的紧密连接蛋白相关分子，上调其表达水平可修复肠黏膜屏障，可能是治疗炎症性肠病的潜在靶点[28-29]。故本研究设置生、醋乳香粪清液组，通过粪菌移植探究其疗效，结果显示，乳香及其炮制品和粪菌移植可升高炎症性肠病小鼠肠道组织中 occludin、caudinl-1、ZO-1 蛋白的表达，对肠黏膜屏障具有一定的保护作用，且生乳香粪清液组和醋乳香粪清液组作用优于生乳香组和醋乳香组，但无显著差异。

综上所述，本研究发现乳香及其炮制品对 DSS 诱导的炎症性肠病小鼠具有一定的预防及保护作用，且醋乳香效果优于生乳香，表明乳香及其炮制品治疗炎症性肠病可能是诸多功效成分的协同作用的结果，提示将乳香及其炮制品在治疗肠道疾病时需要考虑其不同成分的作用。此外，本研究发现小鼠给药后，其肠道菌群提取物能够通过抗炎、修复肠黏膜屏障等机制来缓解 DSS 诱导的炎症性肠病。然本实验未研究乳香炮制前后及粪菌移植前后对炎症性肠病小鼠肠道菌群结构的影响，更深入的作用机制还需在今后的实验进一步探讨。

利益冲突　所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] 焦谊, 张英琦, 鲁梦倩, 等. 中医外治法对炎症性肠病的免疫调节机制研究进展 [J]. 中国医药导报, 2021, 18(21): 38-41.

[2] 吴开春, 梁洁, 冉志华, 等. 炎症性肠病诊断与治疗的共识意见(2018 年 •北京) [J]. 中国实用内科杂志, 2018, 38(9): 796-813.

[3] 中国医药教育协会炎症性肠病专业委员会. 中国炎症性肠病生物制剂治疗专家建议（试行） [J]. 中华消化病与影像杂志: 电子版, 2021, 11(6): 244-256.

[4] 余雄杰, 向明. 炎症性肠病的药物治疗进展 [J]. 医药导报, 2014, 33(1): 72-75.

[5] 蔡红蝶, 宿树兰, 周卫, 等. 乳香属药用植物中乳香酸类化学成分、生物活性及其作用机制研究进展 [J]. 中草药, 2016, 47(12): 2175-2181.

[6] 杨玲, 林龙飞, 刘宇灵, 等. 熏鲁香与乳香研究进展 [J]. 中草药, 2021, 52(4): 1193-1205.

[7] 周宜, 邓蓝冰, 周游宇, 等. 基于网络药理学的乳香-没药药对药效机制研究 [J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2020, 22(7): 2338-2347.

[8] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 15.

[9] Meng X L, Liang Y L, LÜ C Z, *et al*. Effects of processing technology on essential oil and pharmacological action of frankincense [J]. *Tradit Med Res*, 2021, 6(3): 23.

[10] 高安, 徐玉静, 陆圣威, 等. 粪菌移植对慢加急性肝衰竭小鼠模型肠道菌群的影响 [J]. 临床肝胆病杂志, 2021, 37(6): 1379-1385.
[11] 陈奇. 中药药理研究方法学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2006: 1103.
[12] 李欢, 闫波, 王金坤, 等. APETx2 及粪菌移植对母婴分离诱导肠易激综合征大鼠内脏敏感性的影响及机制 [J]. 天津医药, 2021, 49(12): 1265-1270.
[13] 马晓飞, 胡家丽, 崔曼曼, 等. 粪菌移植对不同溃疡性结肠炎小鼠的疗效及其中药性味研究 [J]. 中国全科医学, 2022, 25(15): 1875-1882.
[14] 屈畅. 广藿香醇抗炎症性肠病的代谢组学和肠道菌群分析研究 [D]. 广州: 广州中医药大学, 2018.
[15] 孟祥龙, 刘晓琴, 宁晨旭, 等. 生、熟地黄通过 AMPK 介导 NF-κB/NLRP3 信号通路改善高脂饲料并链脲佐菌素诱导的糖尿病小鼠的作用机制差异性研究 [J]. 中国中药杂志, 2021, 46(21): 5627-5640.
[16] da Silva B C, Lyra A C, Rocha R, *et al*. Epidemiology, demographic characteristics and prognostic predictors of ulcerative colitis [J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(28): 9458-9467.
[17] 郑文浩, 白筱璐, 胡竟一, 等. 马甲子总三萜对大鼠炎症性肠病的干预作用及相关靶点/通路预测 [J]. 中药药理与临床, 2021, 37(5): 38-44.
[18] 刘迪, 张冰洋, 姚铁, 等. 乳香化学成分及药理作用研究进展 [J]. 中草药, 2020, 51(22): 5900-5914.
[19] Palm N W, de Zoete M R, Cullen T W, *et al*. Immunoglobulin a coating identifies colitogenic bacteria in inflammatory bowel disease [J]. *Cell*, 2014, 158(5): 1000-1010.
[20] Migliorini P, Italiani P, Pratesi F, *et al*. The IL-1 family cytokines and receptors in autoimmune diseases [J]. *Autoimmun Rev*, 2020, 19(9): 102617.
[21] Kühn R, Löhler J, Rennick D, *et al*. Interleukin-10-deficient mice develop chronic enterocolitis [J]. *Cell*, 1993, 75(2): 263-274.
[22] 朱凤, 刘星星, 范恒. 核苷酸结合寡聚化结构域样受体含 pyrin 结构域蛋白 6 在炎症性肠病中作用机制研究进展 [J]. 世界华人消化杂志, 2019, 27(17): 1076-1082.
[23] 焦娇, 江兴松, 赵圆圆, 等. 熊去氧胆酸联合双歧三联活菌对结肠炎小鼠炎症因子及肠道菌群影响 [J]. 中国微生态学杂志, 2021, 33(5): 524-530.
[24] 罗勇, 冯万锐. 美沙拉嗪口服联合灌肠对溃疡性结肠炎患者血小板参数、IFN-γ、IL-4 水平的影响 [J]. 血栓与止血学, 2022, 28(3): 825-826.
[25] 吴成成, 罗文兵, 肖慧荣, 等. 基于 TLR4/NF-κB 分析“金汁”粪菌移植干预溃疡性结肠炎小鼠的机制 [J]. 中国医学创新, 2021, 18(31): 1-5.
[26] 张维兰, 罗和生. 粪菌移植治疗炎症性肠病的研究进展 [J]. 疑难病杂志, 2019, 18(1): 101-106.
[27] 白爱平. 炎症性肠病肠黏膜屏障损伤机制 [J]. 世界华人消化杂志, 2008(28): 3187-3191.
[28] Meroni M, Longo M, Dongiovanni P. The role of probiotics in nonalcoholic fatty liver disease: A new insight into therapeutic strategies [J]. *Nutrients*, 2019, 11(11): 2642.
[29] 孙大娟, 王晗潞, 王帅, 等. 安肠愈疡汤对溃疡性结肠炎大鼠肠黏膜屏障的修复作用及机制研究 [J]. 天津中医药, 2021, 38(12): 1590-1596.

[责任编辑 高源]