

小檗碱与 6-姜烯酚配伍对溃疡性结肠炎小鼠结肠上皮细胞 Notch 信号通路的影响

惠 毅¹, 闫曙光¹, 李京涛², 魏海梁², 单宇鹏^{3*}

1. 陕西中医药大学基础医学院, 陕西 咸阳 712046

2. 陕西中医药大学附属医院, 陕西 咸阳 712000

3. 空军军医大学唐都医院 肿瘤科, 陕西 西安 710038

摘要: **目的** 探讨黄连、干姜有效成分小檗碱、6-姜烯酚单独和联合应用对溃疡性结肠炎小鼠结肠上皮细胞 Notch 信号通路的影响。**方法** 50 只昆明小鼠随机选取 10 只为对照组, 其余 40 只采用 2% 葡聚糖硫酸钠 (DSS) 诱导溃疡性结肠炎模型。成模后随机分为模型组、小檗碱组、6-姜烯酚组、小檗碱+6-姜烯酚组, ig 给予相应药物, 给药 20 d 后取结肠组织。免疫荧光法检测结肠上皮组织 Hes-1、Math-1、MUC2、人类嗅素蛋白 (olfm4) 的表达, 实时荧光定量 PCR (qRT-PCR)、Western blotting 法检测结肠上皮组织 Notch-1、Hes-1、Math-1 mRNA 和蛋白的表达。**结果** 与模型组比较, 6-姜烯酚组、小檗碱组、小檗碱+6-姜烯酚组小鼠结肠上皮组织 Notch-1、Hes-1 蛋白和 mRNA 表达水平显著降低, Math-1 蛋白和 mRNA 表达水平显著升高, olfm4 蛋白表达显著降低, MUC2 蛋白表达水平显著升高; 3 组间比较, 小檗碱+6-姜烯酚组作用最明显。**结论** 6-姜烯酚、小檗碱均能够有效修复受损结肠黏膜, 治疗溃疡性结肠炎, 小檗碱和 6-姜烯酚联合应用药效优于单独应用, 其机制与抑制 Notch 通路的过度活化进而调节结肠上皮细胞增殖和分化相关。

关键词: 溃疡性结肠炎; 6-姜烯酚; 小檗碱; 结肠上皮组织; Notch 信号通路

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2019)13-3147-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.13.022

Effect of berberine combined with 6-shogaol on notch signaling pathway in colon epithelial cells of ulcerative colitis mice

HUI Yi¹, YAN Shu-guang¹, LI Jing-tao², WEI Hai-liang², SHAN Yu-peng³

1. Basic Medical College of Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712046, China

2. The Hospital Affiliated to Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712000, China

3. Department of Oncology, Tangdu Hospital Affiliated to Air Force Military Medical University, Xi'an 710038, China

Abstract: **Objective** To investigate the effects of berberine and 6-shogaol on Notch signaling pathway in colonic epithelial cells of mice with ulcerative colitis. **Methods** A total of 50 Kunming mice were randomly selected as normal group, and the remaining 40 mice were treated with po 2% DSS to induce ulcerative colitis. The rats were randomly divided into model group, berberine group, 6-shogaol group, and berberine + 6-shogaol group. The corresponding drugs were given by ig administration. Colon tissues were taken after 20 d of administration. The protein expression of Hes-1, Math-1, MUC2, and olfm4 in colon epithelium was detected by immunofluorescence method, and the gene and protein expression of Notch-1, Hes-1, Math-1 in colon epithelium were detected by qRT-PCR and Western blotting. **Results** Compared with the model group, the protein and mRNA expression of Notch-1, Hes-1, and olfm4 in colon epithelium of mice in 6-shogaol group, berberine group, and berberine + 6-shogaol group were significantly decreased, while the expression of Math-1 and MUC2 were significantly increased. Among three groups, berberine + 6-shogaol group showed the best effect. **Conclusion** Both 6-shogaol and berberine can effectively repair damaged colonic mucosa and treat ulcerative colitis. The combined use of berberine and 6-shogaol is more effective than the single application. Its mechanism is related to inhibiting the over-activation of Notch pathway and regulating the proliferation and differentiation of colonic epithelium.

Key words: ulcerative colitis; 6-shogaol; berberine; colonic epithelial tissue; Notch signaling pathway

收稿日期: 2019-05-05

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81403320); 国家自然科学基金资助项目 (81873233); 陕西省科技厅项目 (2017SF-338); 陕西省科技厅项目 (2018SF-284); 陕西中医药大学学科创新团队建设项目 (2019-YL05)

作者简介: 惠 毅 (1982—), 女, 副教授, 博士, 研究方向为“肺与大肠相表里”理论的温病方药治疗肺肠疾病的基础与临床研究。

Tel: (029)38185122 E-mail: drhy1982@126.com

*通信作者 单宇鹏 (1980—), 男, 主治医师, 硕士, 研究方向为中西医结合防治消化系统肿瘤的基础与临床研究。

Tel: (029)84717605 E-mail: syup1980@126.com

溃疡性结肠炎(UC)是一种以结肠黏膜损伤为主要病理表现的肠道免疫炎症性疾病,结肠黏膜的持续损伤是导致该病反复发作、迁延难愈的主要原因,而长期的结肠炎症又是诱发结肠癌的重要高危因素,流行病学显示,我国结肠炎和结肠炎相关肠癌的发病率呈逐渐上升趋势^[1-2],因此促进受损结肠黏膜修复是治疗 UC 防止其癌变的关键。近年来研究表明 Notch 信号通路是参与胃肠道黏膜修复的经典细胞间信号通路,该通路主要具有调节结肠上皮细胞增殖和分化的作用,尤其是在肠道干细胞向杯状细胞的分化中起着决定性作用,而杯状细胞的减少是导致 UC 发生、发展的重要原因之一^[3]。

寒热并用法是中医药治疗 UC 临床常用治法^[4-6],干姜-黄连是体现寒热并用法的主要药对之一,该药对具有抑制黏膜损伤、治疗 UC 的作用^[7-9]。研究表明干姜的有效成分 6-姜烯酚具有修复受损胃肠道黏膜的作用^[10-11],黄连的有效成分小檗碱是抑制炎症反应的经典单体化合物^[12],为进一步明确 2 种单体配伍后修复受损结肠黏膜的作用和机制,本实验研究了小檗碱和 6-姜烯酚联合应用对溃疡性结肠炎小鼠结肠上皮细胞 Notch 信号通路的影响及作用机制,为寒热药物并用提供科学依据。

1 材料

1.1 实验动物

清洁级雄性昆明小鼠 50 只,体质量(20±5)g,购于西安交通大学医学院实验动物中心,许可证号 SCXK(陕)2012-003。

1.2 药品与试剂

6-姜烯酚(批号 17073001)、小檗碱(批号 17072601),购于宝鸡市辰光生物科技有限公司,质量分数均为 98%;葡聚糖硫酸钠(DSS,批号 160110,美国 MP Biomedicals 公司);RNA 提取试剂盒、cDNA 合成 SuperMix 试剂盒、PCRSuperMix 试剂盒(北京全式金生物技术有限公司);Notch-1、Hes-1、Math-1、人类嗅素蛋白(olfm4)、MUC2 抗体(博奥森生物技术有限公司);引物合成(南京金斯瑞生物科技有限公司)。

1.3 仪器

SuperMiro SM-100 超微量分光光度计(英国 Biochrom 有限公司);IANLONG Real Time PCR (qRT-PCR) 系统(西安天隆科技有限公司);4℃离心机(湖南恒诺仪器设备有限公司);DK-8D 型电热恒温水槽(上海一恒科技有限公司)。

2 方法

2.1 动物分组、造模及给药

50 只小鼠适应性饲养 1 周后随机分为对照组 10 只和造模组 40 只,DSS 诱导小鼠结肠炎模型。将 DSS 配制成 2% 的混悬液,造模组小鼠自由饮用,约 10 d 后小鼠逐渐出现腹泻、黏液脓血便、饮食量减少等症状,继续饮用至 15 d,模型复制成功。将 40 只造模小鼠随机分为模型组、6-姜烯酚组、小檗碱组、小檗碱+6-姜烯酚组。模型复制成功后 ig 给药,6-姜烯酚组及小檗碱组分别给予 100 mg/kg 6-姜烯酚、100 mg/kg 小檗碱^[13];小檗碱+6-姜烯酚组给予小檗碱和姜烯酚各 100 mg/kg,模型组和对照组均 ig 给予等量生理盐水,连续给药 20 d。

2.2 结肠病理学组织观察

取病变部位结肠组织,10%甲醛固定 24 h,梯度酒精脱水,浸蜡,组织切片,脱蜡,HE 染色,光镜下观测组织形态学改变。

2.3 免疫荧光双标法检测结肠组织 Hes-1、Math-1 蛋白表达

冰冻切片血清 1:20 室温封闭 20~30 min,加入 Hes-1、Math-1 一抗 4℃过夜。二抗分别为 FITC 和 CY3 标记的抗一抗种属来源抗体,37℃孵育 1 h;90%甘油封片,荧光显微镜下观察。

2.4 免疫荧光单标法检测结肠上皮组织 olfm4、MUC2 蛋白表达

普通石蜡切片 3% H₂O₂ 室温孵育 5~10 min,蒸馏水冲洗,PBS 浸泡 5 min×2,5%~10%山羊血清封闭,室温孵育 10 min,一抗 4℃过夜,荧光二抗 37℃孵育 10~30 min,冲洗、复染、脱水、透明、封片后荧光显微镜下观察。

2.5 qRT-PCR 方法检测 Notch-1、Hes-1、Math-1 mRNA 表达

取结肠上皮组织,按照 RNA 试剂盒说明书提取总 RNA,超微量分光光度计测定 RNA 浓度,琼脂糖凝胶电泳检测所提 RNA 纯度;根据 RNA 浓度进行以 Oligo(dT) 为引物将 RNA 反转录为 cDNA,并检测 cDNA 浓度,按照 qRT-PCR 试剂盒说明书条件(引物序列见表 1)检测 Notch-1、Hes-1、Math-1 mRNA 的表达量,相对定量法计算各指标 mRNA 的 ΔCt 值。

2.6 Western blotting 法检测结肠上皮组织 Notch-1、Hes-1、Math-1 蛋白表达

取结肠上皮组织,制备组织匀浆,裂解结肠组织标本,提取总蛋白,BCA 定量,SDS-PAGE 电泳

表 1 qRT-PCR 引物序列

Table 1 Primer sequences used for real time-polymerase chain reaction

基因	序列 (5'-3')	长度/bp
Notch-1	正向: GAGCTCCTGCTTCAATGGTG	20
	反向: CCTGTGGGCAGGTACACTTA	20
Hes-1	正向: AGAAAGATAGCTCCCGGCAT	20
	反向: GTCACCTCGTTCATGCACTC	20
Math-1	正向: GTGTCTAGCGGACCCAGAAT	20
	反向: AAAGTTGCTCTGCATTGGCA	20
β -actin	正向: ATTGGCAATGAGCGGTTTC	18
	反向: CAGCACTGTGTTGGCATACA	20

分离蛋白,电转移至尼龙膜,5%奶粉封膜 4 ℃ 过夜,一抗 4 ℃ 过夜,二抗常温孵育 1 h,化学发光法检测目的条带,压 X 光片曝光,Image J 软件分析相应蛋白条带的灰度值。

2.7 统计学方法

采用 SPSS 18.0 软件进行统计学分析,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用单因素方差分析,组间比较采用 t 检验。

3 结果

3.1 小檗碱与 6-姜烯酚配伍对结肠炎小鼠一般情况及结肠黏膜的影响

对照组小鼠一般情况良好,饮水量、饮水量均正常,肉眼观结肠黏膜表面光滑,富含黏液,组织纹理清晰。模型组小鼠饮水量、饮水量较对照组明显减少,形体消瘦,喜扎堆,弓背,毛色发黄无光泽,肛周污浊,可见红色血液样黏液分泌,肉眼可见结肠病变部位组织增厚,黏膜充血、水肿,出现糜烂或溃疡点。6-姜烯酚组小鼠饮水量、饮水量增多,肛周污浊仍可见红色黏液分泌、结肠肠壁的增厚程度、黏膜的充血水肿及糜烂、溃疡等情况均较模型组有所减轻。小檗碱组小鼠饮水量、饮水量未见明显变化,肛周红色黏液分泌减少,肉眼可见结

肠病变部位组织增厚,黏膜充血、水肿,糜烂或溃疡点明显减少。小檗碱+6-姜烯酚组小鼠饮水量、饮水量显著增加,肛周未见红色黏液分泌,肉眼可见结肠病变部位组织修复瘢痕形成,黏膜轻微水肿,未见明显糜烂或溃疡。

3.2 小檗碱与 6-姜烯酚配伍对结肠炎小鼠结肠组织形态学影响

HE 染色结果(图 1)显示,对照组小鼠结肠组织结构正常,腺体排列整齐,黏膜上皮组织完整,黏液层正常。模型组小鼠结肠组织结构异常,黏膜表面出现缺损,黏液层部分丢失,大量炎细胞聚集,浸润,腺体破坏甚至丢失。6-姜烯酚组小鼠结肠组织结构基本恢复正常,黏膜缺损明显减轻,受损部位可见少量炎性细胞。小檗碱组小鼠结肠组织结构基本正常,黏膜缺损减轻,炎症部位炎性细胞明显减少。小檗碱+6-姜烯酚组小鼠结肠组织结构基本恢复正常,未见明显黏膜缺损,未见明显炎性细胞浸润。

3.3 小檗碱与 6-姜烯酚配伍对结肠炎小鼠结肠上皮组织 Hes-1、Math-1 蛋白表达的影响

免疫荧光双标法染色结果(图 2)显示,对照组小鼠结肠组织 Hes-1(红色)、Math-1(绿色)蛋白均呈现低表达。与对照组比较,模型组小鼠结肠上皮 Hes-1 蛋白表达水平明显升高,Math-1 蛋白表达水平降低。与模型组比较,6-姜烯酚组、小檗碱组、小檗碱+6-姜烯酚组小鼠结肠组织 Hes-1 蛋白表达水平降低,Math-1 蛋白表达水平升高。其中小檗碱+6-姜烯酚变化最明显。

3.4 小檗碱与 6-姜烯酚配伍对结肠炎小鼠结肠上皮组织 MUC2 蛋白表达的影响

免疫荧光单标染色结果(图 3)显示,对照组小鼠结肠组织 MUC2 蛋白(红色)呈高表达。与对照组比较,模型组小鼠结肠组织 MUC2 蛋白表达水平明显降低。与模型组比较,6-姜烯酚组、小檗碱组、小檗碱+6-姜烯酚组小鼠结肠组织 MUC2 蛋白表达水平升高,其中小檗碱+6-姜烯酚组变化最明显。

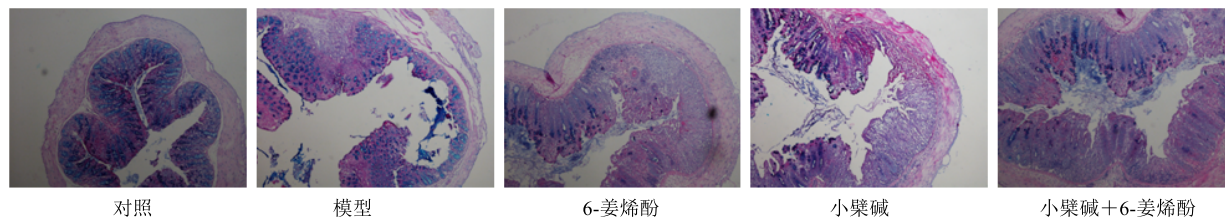


图 1 小檗碱与 6-姜烯酚配伍对结肠炎小鼠结肠组织形态学影响 (HE 染色, $\times 50$)

Fig. 1 Effects of berberine combined with 6-gingerol on colon tissue morphology in colitis mice (HE, $\times 50$)

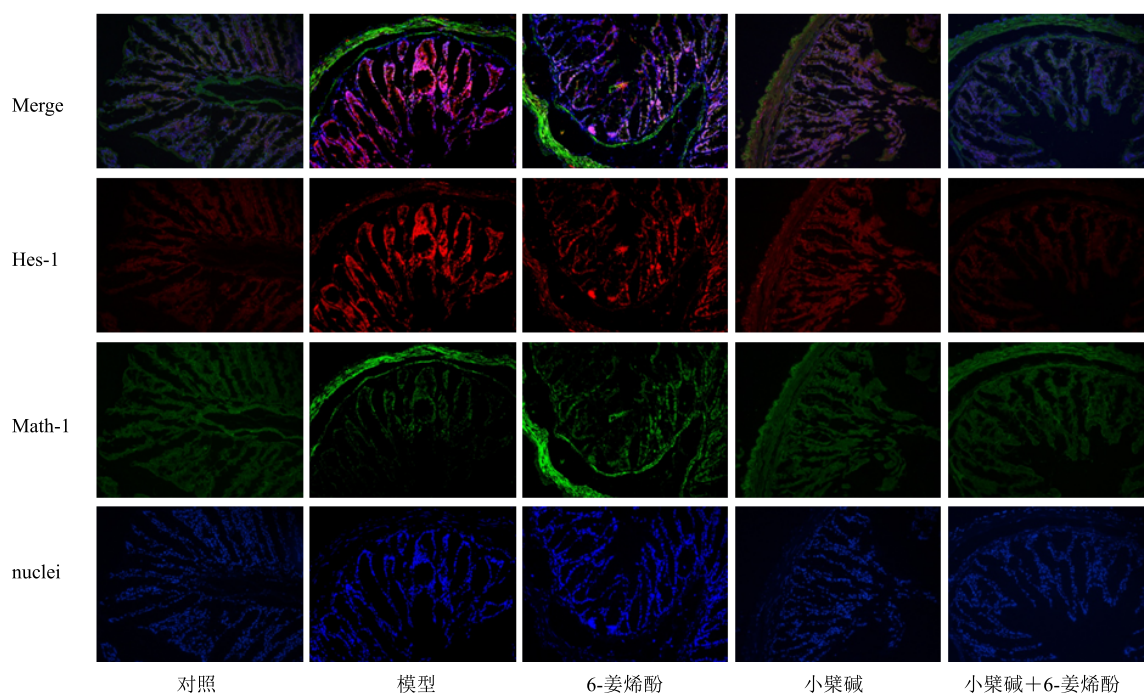


图 2 小檗碱与 6-姜烯酚配伍对结肠炎小鼠结肠上皮组织 Hes-1、Math-1 蛋白表达的影响 (免疫荧光双标, $\times 200$)

Fig. 2 Effects of berberine combined with 6-gingerol on proteins expression of Hes-1 and Math-1 in colonic epithelial tissues of colitis mice (immunofluorescence double labeling, $\times 200$)

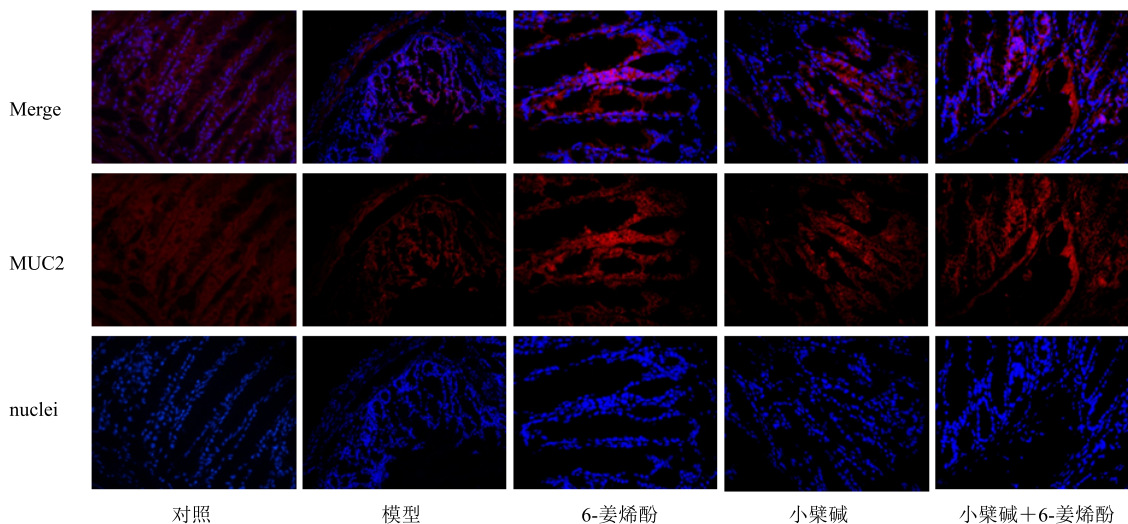


图 3 小檗碱与 6-姜烯酚配伍对结肠炎小鼠结肠上皮组织 MUC2 蛋白表达的影响 (免疫荧光单标, $\times 200$)

Fig. 3 Effects of berberine combined with 6-gingerol on protein expression of MUC2 in colonic epithelial tissues of colitis mice (immunofluorescence single labeling, $\times 200$)

3.5 小檗碱与 6-姜烯酚配伍对结肠炎小鼠结肠上皮组织 olf4 蛋白表达的影响

免疫荧光单标染色结果 (图 4) 显示, 对照组小鼠结肠组织 olf4 蛋白 (绿色) 呈低表达。模型组小鼠结肠组织 olf4 蛋白表达水平明显升高。与模型组比较, 6-姜烯酚组、小檗碱组、小檗碱+6-姜烯酚组小鼠结肠组织 olf4 蛋白表达水平降低,

其中小檗碱+6-姜烯酚组 olf4 蛋白表达水平降低最明显。

3.6 小檗碱与 6-姜烯酚配伍对结肠炎小鼠结肠上皮组织 Notch-1、Hes-1、Math-1 mRNA 表达的影响

qRT-PCR 结果 (表 2) 显示, 与对照组比较, 模型组小鼠结肠上皮组织 Notch-1、Hes-1 mRNA 表达水平显著升高 ($P < 0.01$)、Math-1 mRNA 表达水

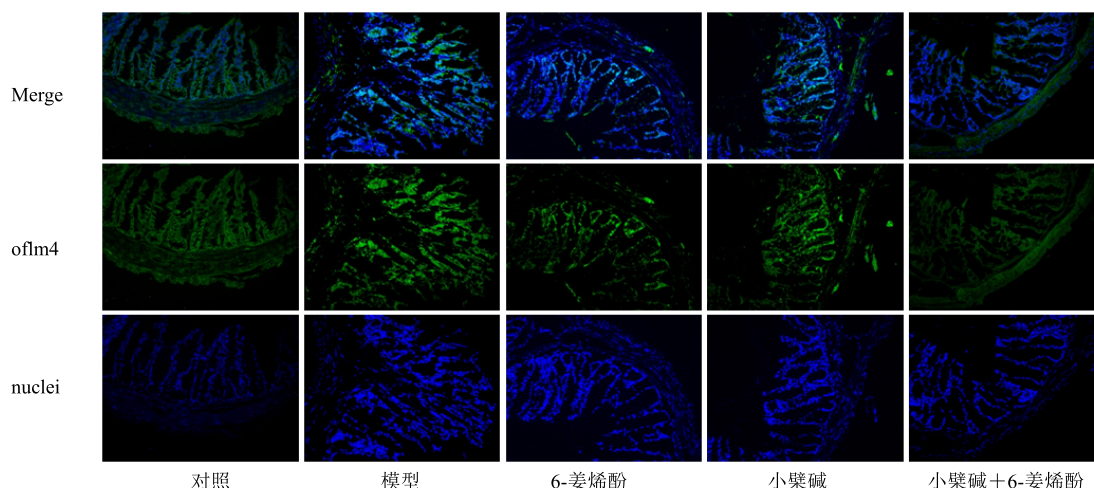


图 4 小檗碱与 6-姜烯酚配伍对结肠炎小鼠结肠上皮组织 *olfml4* 蛋白表达的影响 (免疫荧光单标, $\times 200$)

Fig. 4 Effects of berberine combined with 6-gingerol on protein expression of *olfml4* in colonic epithelial tissues of colitis mice (immunofluorescence single labeling, $\times 200$)

表 2 小檗碱与 6-姜烯酚配伍对结肠炎小鼠结肠上皮组织 Notch-1、Hes-1、Math-1 mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Effects of berberine combined with 6-gingerol on mRNA expression of Notch-1, Hes-1, and Math-1 in colonic epithelial tissues of colitis mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	mRNA 相对表达量		
		Notch-1	Hes-1	Math-1
对照	—	0.86 ± 0.01	1.25 ± 0.02	1.29 ± 0.03
模型	—	1.72 ± 0.03**	1.77 ± 0.03**	1.21 ± 0.04**
6-姜烯酚	100	1.14 ± 0.04###▲▲	1.23 ± 0.03###▲▲	1.58 ± 0.05###▲▲
小檗碱	100	1.32 ± 0.03###▲▲	1.51 ± 0.02###▲▲	1.42 ± 0.04###▲▲
小檗碱+6-姜烯酚	100+100	0.97 ± 0.02###	1.18 ± 0.02###	1.65 ± 0.02###

与对照组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: ### $P < 0.01$; 与小檗碱+6-姜烯酚组比较: ▲▲ $P < 0.01$, 下同

** $P < 0.01$ vs control group; ### $P < 0.01$ vs model group; ▲▲ $P < 0.01$ vs berberine + 6-shogaol group, same as below

平显著降低 ($P < 0.01$)。与模型组比较, 6-姜烯酚组、小檗碱组、小檗碱+6-姜烯酚组小鼠结肠上皮组织 Notch-1、Hes-1 mRNA 表达水平显著降低 ($P < 0.01$), Math-1 mRNA 表达水平显著升高 ($P < 0.01$); 与小檗碱+6-姜烯酚组比较, 6-姜烯酚组、小檗碱组小鼠结肠上皮组织 Notch-1、Hes-1 mRNA 表达水平显著升高 ($P < 0.01$); Math-1 mRNA 表达水平显著降低 ($P < 0.01$)。

3.7 小檗碱与 6-姜烯酚配伍对结肠炎小鼠结肠上皮组织 Notch-1、Hes-1、Math-1 蛋白表达的影响

Western blotting 结果 (图 5) 显示, 与对照组比较, 模型组小鼠结肠上皮组织 Notch-1、Hes-1 蛋白表达水平显著升高 ($P < 0.01$)、Math-1 蛋白表达水平显著降低 ($P < 0.01$)。与模型组比较, 6-姜烯酚组、小檗碱组、小檗碱+6-姜烯酚组小鼠结肠上皮组织 Notch-1、Hes-1 蛋白表达水平显著降低 ($P <$

0.01), Math-1 蛋白表达水平显著升高 ($P < 0.01$)。与小檗碱+6-姜烯酚组比较, 6-姜烯酚组、小檗碱组小鼠结肠上皮组织 Notch-1、Hes-1 mRNA 蛋白表达水平显著升高 ($P < 0.01$), Math-1 蛋白表达水平显著降低 ($P < 0.01$)。

4 讨论

免疫炎症导致的肠道黏膜持续性损伤是 UC 不断进展的主要原因^[14], 因此控制免疫炎症和促进黏膜修复是治疗 UC 的主要策略, 现代医学对 UC 的治疗主要以氨基水杨酸、激素、硫嘌呤类、生物制剂等控制免疫炎症的药物维持为主, 虽然抑制免疫炎症有利于促进黏膜组织的修复, 但其作用有限, 而临床尚无能够明确促进黏膜修复的药物, 目前 UC 的治疗目标是维持临床和内镜的无激素缓解^[15]。因此, 寻找既能有效抑制免疫炎症, 又能促进受损黏膜组织修复的药物是目前防治 UC 的重点和难点。

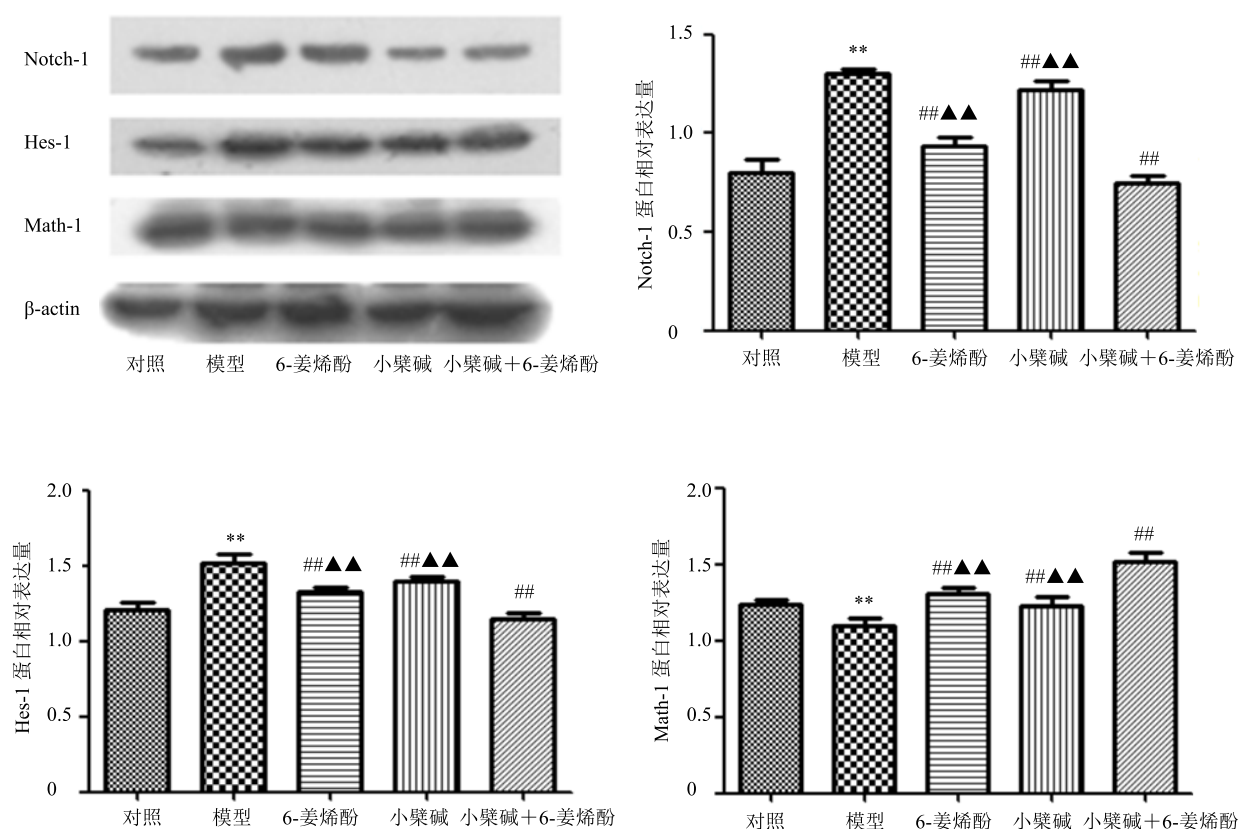


图 5 小檗碱与 6-姜烯酚配伍对结肠炎小鼠结肠上皮组织 Notch-1、Hes-1、Math-1 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Fig. 5 Effects of berberine combined with 6-gingerol on protein expression of Notch-1, Hes-1, and Math-1 in colonic epithelial tissues of colitis mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

研究表明 Notch 信号通路调控了细胞的增殖、分化和凋亡,而细胞的增殖、分化和凋亡的失常是导致组织损伤、炎症加剧、肿瘤细胞生长的重要原因,这一结果提示 Notch 信号通路参与了结肠上皮组织的修复以及炎症的持续性进展^[16]。Notch 信号通路由 Notch 受体、Notch 配体和 DNA 结合蛋白 3 部分组成,其主要作用是调控胚胎发育和细胞分化,保持组织器官体内稳态。在哺乳动物体内,有 4 种 Notch 受体 (Notch1~4),广泛的分布于人体的淋巴细胞、血管内皮细胞、肠上皮细胞中,其中 Notch-1 主要分布在肠道中^[17]。Notch 配体与受体结合后,释放出和 Notch 配体连接的胞外部分,随后在 γ -分泌酶的作用下,与转录抑制因子 RBP-J 结合,调节靶基因表达,发挥生物学效应。Notch-1 通过其下游的 Hes-1、Math-1、olm4 调控结肠上皮细胞的增殖和分化,决定着结肠上皮细胞特别是杯状细胞的命运^[18],其中 olm4 是促进结肠上皮细胞增殖的靶蛋白, Hes-1 是促进增殖的细胞向吸收细胞系转化

的靶蛋白, Math-1 促进增殖的细胞向分泌细胞转化的靶蛋白 (主要是杯状细胞),而杯状细胞的缺失不但会造成结肠上皮组织的缺损,其分泌的黏蛋白 MUC2、三叶因子多肽、抵抗素样因子等具有防御作用的物质减少,进一步引起黏膜屏障功能的减退^[19-20],造成疾病的反复发作、迁延难愈。Notch 信号通路不但能调控结肠上皮细胞的增殖和分化,还可作用于肠道巨噬细胞,抑制肠道非可控性炎症^[21-22],因此 Notch 被认为是促进受损结肠黏膜修复,治疗 UC 的潜在靶点。

干姜-黄连是中医药治疗 UC 临床常用的药对之一,实验研究表明干姜的有效成分 6-姜烯酚是其发挥药效的主要活性成分之一,具有抗肿瘤^[23]、抗氧化^[24]、抗炎^[25]、抑制幽门螺旋杆菌^[26]、抑制血管平滑肌增殖^[27]等多重效应,而最近的研究结果证实 6-姜烯酚还能促进肠道受损黏膜组织的修复^[13],小檗碱是已经应用于临床治疗肠道炎症性疾病的有效药物^[28],近年来研究发现其在能够调血脂、保护心血

管、通过影响大脑内神经递质发挥抗焦虑作用、增加胰岛素敏感性来治疗糖尿病,在预防和治疗心脑血管疾病、糖尿病、消化道疾病等重大疾病方面有着不可低估的应用前景^[29]。本实验研究表明,小檗碱、6-姜烯酚、小檗碱+6-姜烯酚均能有效调节肠道上皮组织 Notch 信号通路的过度活化,通过抑制 Notch-1 受体的表达进而抑制 Hes-1 蛋白的表达,最终作用于下游的 *olfm4* 靶蛋白,抑制结肠上皮细胞的过度增殖;促进 *Math-1* 的表达,从而促进增殖肠道上皮细胞向分泌细胞系(杯状细胞)分化,杯状细胞增多,促进结肠黏膜受损部位的修复,其分泌的 MUC2 黏蛋白亦逐渐增多,肠道黏膜屏障中的黏液屏障逐渐恢复,最终达到修复受损黏膜的药理作用,且小檗碱+6-姜烯酚的作用高于小檗碱、6-姜烯酚的单独应用。

综上所述,小檗碱、6-姜烯酚分别是黄连、干姜的治疗 UC 的有效成分之一,这 2 种有效成分具有调节结肠上皮细胞增殖和分化的作用,其药理机制与调节 Notch 信号通路的过度活化有关。这 2 种有效成分的联合应用药效显著优于单独应用。本研究只是从结肠黏膜修复的层次揭示了小檗碱联合 6-姜烯酚的作用机制,其是否在抑制免疫炎症方面也有相类似的作用,还需要进一步探索。

参考文献

- [1] Chen W, Zheng R, Baade P D, *et al.* Cancer statistics in China, 2015 [J]. *Ca A Cancer J Clinic*, 2016, doi: 10.3322/caac.21338.
- [2] 李 筱, 沈秀云, 高 昉, 等. 老年与非老年溃疡性结肠炎患者临床特征对比研究 [J]. *胃肠病学*, 2017, 22(7): 426-428.
- [3] Zheng X, Tsuchiya K, Okamoto R, *et al.* Suppression of *hath1* gene expression directly regulated by *hes1* via notch signaling is associated with goblet cell depletion in ulcerative colitis [J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2011, 17(11): 2251-2260.
- [4] 刘玉珠, 徐 芳, 熊腊根. “通调气血, 寒热并用”法结合西药治疗溃疡性结肠炎的疗效观察 [J]. *中国中西医结合消化杂志*, 2015, 23(7): 493-495.
- [5] 殷登辉. 基于知网文献研究中中药治疗 UC 的临床用药规律 [D]. 沈阳: 辽宁中医药大学, 2016.
- [6] 郭雁冰. 中医药抗溃疡性结肠炎复发的研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2006.
- [7] 陈 岩. 干姜黄芩黄连人参汤治疗慢性结肠炎 56 例疗效观察 [J]. *新中医*, 2010, 42(10): 38-39.
- [8] 李 阳, 郝艺照, 傅熠俊, 等. 黄连-干姜药对预防 DSS

- 诱导的小鼠结肠炎作用及其机制 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2017, 23(15): 162-167.
- [9] 王婷婷, 钟凌云. 不同姜汁制黄连抑制胃黏膜损伤方面的机制分析 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2017, 23(12): 26-30.
- [10] Zhang M, Xu C, Liu D, *et al.* Oral delivery of nanoparticles loaded with ginger active compound, 6-shogaol, attenuates ulcerative colitis and promotes wound healing in a murine model of ulcerative colitis [J]. *J Crohns Colitis*, 2017, 12(2): 217-229.
- [11] Zhang M, Viennois E, Prasad M, *et al.* Edible ginger-derived nanoparticles: A novel therapeutic approach for the prevention and treatment of inflammatory bowel disease and colitis-associated cancer [J]. *Biomaterials*, 2016, doi: 10.1016/j.biomaterials.2016.06.018.
- [12] Li Y H, Xiao H T, Hu D D, *et al.* Berberine ameliorates chronic relapsing dextran sulfate sodium induced colitis in C57BL/6 Mice by suppressing Th17 responses [J]. *Pharmacol Res*, 2016, doi: 10.1016/j.phrs.2016.02.010.
- [13] Wang J, Yao M, Wang Y, *et al.* 6-Shogaol ameliorates injury to the intestinal mucosa and increases survival after high-dose abdominal irradiation [J]. *J Funct Foods*, 2017, doi: 10.1016/j.jff.2017.06.054.
- [14] Lange K M D, Moutsianas L, Lee J C, *et al.* Genome-wide association study implicates immune activation of multiple integrin genes in inflammatory bowel disease [J]. *Nat Gene*, 2017, 49(2): 256-261.
- [15] 中华医学会消化病学分会炎症性肠病学组. 炎症性肠病诊断与治疗的共识意见 [J]. *中国实用内科杂志*, 2018, 38(9): 796-813.
- [16] Nandagopal N, Santat L A, Lebon L, *et al.* Dynamic ligand discrimination in the Notch signaling pathway [J]. *Cell*, doi: 10.1016/j.cell.2018.01.002.
- [17] Siebel C, Lendahl U. Notch signaling in development, tissue homeostasis, and disease [J]. *Physiol Rev*, 2017, 97(4): 1235-1294.
- [18] Zheng X, Tsuchiya K, Okamoto R, *et al.* Suppression of *hath1* gene expression directly regulated by *hes1* via notch signaling is associated with goblet cell depletion in ulcerative colitis [J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2011, 17(11): 2251-2260.
- [19] Hinoda Y, Akashi H, Suwa T, *et al.* Immunohistochemical detection of MUC2 mucin core protein in ulcerative colitis [J]. *J Clin Lab Anal*, 2015, 12(3): 150-153.
- [20] Jang H, Park S, Lee J, *et al.* Rebamipide alleviates radiation-induced colitis through improvement of goblet cell differentiation in mice [J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2018, 33(4): 876-886.

- [21] Radtke F, Macdonald H R, Tacchinicottier F. Regulation of innate and adaptive immunity by Notch [J]. *Nat Rev Immunol*, 2013, 13(6): 427-437.
- [22] Thomas A. Wynn, Kevin M. Vannella. Macrophages in Tissue Repair, Regeneration, and Fibrosis [J]. *Immunity*, 2016, 44(3): 450-462.
- [23] 周萍, 彭咏波, 李萍. 6-姜烯酚抗肿瘤机制研究进展 [J]. 中南药学, 2012, 10(7): 536-538.
- [24] Yun K W, Hong Y J, Yong H Y, *et al.* 6-Shogaol protects against oxidized LDL-induced endothelial injuries by inhibiting oxidized LDL-evoked LOX-1 signaling [J]. *Evid-Based Compl Alt*, 2013, doi: 10.1155/2013/503521.
- [25] Annamalai G, Suresh K. [6]-Shogaol attenuates inflammation, cell proliferation via modulate NF- κ B and AP-1 oncogenic signaling in 7,12-dimethylbenz[a]anthracene induced oral carcinogenesis [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, doi: 10.1016/j.biopha.2017.12.009.
- [26] Poorrostami A, Farokhi F, Heidari R. Effect of hydroalcoholic extract of ginger on the liver of epileptic female rats treated with lamotrigine [J]. *Avicenna J Phytomed*, 2014, 4(4): 276-286.
- [27] 陈磊, 胡子成, 周毅, 等. 6-姜烯酚通过下调 TLR4/NF- κ B 通路抑制血管平滑肌细胞增殖 [J]. 第三军医大学学报, 2016, 38(3): 245-250.
- [28] Yu X T, Xu Y F, Huang Y F, *et al.* Berberubine attenuates mucosal lesions and inflammation in dextran sodium sulfate-induced colitis in mice [J]. *PLoS One*, 2018, 13(3): e0194069.
- [29] 盖晓红, 刘素香, 任涛, 等. 黄连的化学成分及药理作用研究进展 [J]. 中草药, 2018, 49(20): 4919-4927.