

半夏泻心汤通过调控法尼醇 X 受体介导的胆汁酸代谢改善免疫微环境防治结直肠癌

崔婷婷¹, 乐音子², 黄玉明², 孙明明¹, 冯华夷¹, 苏联麟³, 颜 帅^{1*}

1. 南京中医药大学附属苏州市中医医院 肛肠科, 江苏 苏州 215009

2. 南京中医药大学附属苏州市中医医院 普外科, 江苏 苏州 215009

3. 南京中医药大学药学院, 江苏 南京 210023

摘要:目的 基于“法尼醇 X 受体 (farnesoid X receptor, FXR)-胆汁酸-免疫微环境”轴, 探讨半夏泻心汤对结直肠癌的防治作用与机制。方法 采用 ip 氧化偶氮甲烷 (azoxymethane, AOM) 联合自由饮用葡聚糖硫酸钠盐 (dextran sulfate sodium, DSS) 法制备小鼠结直肠癌 (colorectal cancer, CRC) 模型。设置为对照组、模型组及半夏泻心汤低、中、高剂量 (3.915、7.830、15.660 g/kg) 组和美沙拉嗪 (0.6 g/kg) 组, 每组 10 只。连续给药干预 8 周, 记录小鼠一般情况; 观察小鼠结肠组织病理学变化; 免疫荧光染色观察结肠组织中 CD11c、CD80、CD86 的分布及表达; 流式细胞术检测脾脏组织中 CD11b、CD11c、CD80、CD86 和 CD206 的表达; 靶向代谢组学分析小鼠粪便中胆汁酸水平; 检测血清中 γ 干扰素 (interferon- γ , IFN- γ)、白细胞介素-12 (interleukin-12, IL-12)、IL-18、总胆汁酸及胆汁总胆汁酸水平; qRT-PCR 检测结肠组织 FXR、成纤维细胞生长因子 (fibroblast growth factor 15, FGF15)、G 蛋白偶联受体 41 (G protein-coupled receptor 41, GPR41)、GPR43 和 GPR109A、组蛋白去乙酰化酶 3 (histone deacetylase 3, HDAC3)、HDAC7、诱导型一氧化氮合酶 (inducible nitric oxide synthase, iNOS)、IL-12、表皮生长因子 (epidermal growth factor, EGF) 和转化生长因子- β 1 (transforming growth factor- β 1, TGF- β 1) 的 mRNA 表达; Western blotting 检测结肠组织 FXR、iNOS、IL-12、EGF、TGF- β 1、FGF15、GPR41、GPR43 和 GPR109A 蛋白表达。结果 与对照组比较, 模型组小鼠体重明显减轻, 结肠瘤体数目增多、体积增大, 组织病理学可见模型组小鼠腺体结构严重紊乱, 出现不规则增生、扭曲, 甚至形成腺样或巢状结构, 同时伴随明显的炎症细胞浸润和组织破坏, PAS 阳性物质呈局灶性大量聚集, 分布紊乱且形态不规则; 结肠肿瘤组织中 CD11c⁺细胞大量聚集, CD80⁺细胞减少; 脾脏组织中 CD11b、CD11c 和 CD80 表达显著升高 ($P < 0.01$); 粪便中脱氧胆酸 (deoxycholic acid, DCA)、石胆酸 (lithocholic acid, LCA)、牛磺胆酸 (taurocholic acid, TCA) 水平显著升高 ($P < 0.01$); 结肠组织中 iNOS、IL-12、EGF、TGF- β 1、HDAC7 和 HDAC3 表达明显升高 ($P < 0.01$), FXR、FGF15、GPR41、GPR43、GPR109A 表达明显降低 ($P < 0.01$)。与模型组比较, 半夏泻心汤和美沙拉嗪组上述指标的变化均发生逆转, 且以半夏泻心汤高剂量组变化更为显著 ($P < 0.05$ 、 0.01)。结论 半夏泻心汤可能通过激活 FXR 信号通路, 调节胆汁酸代谢稳态, 进而重塑肿瘤免疫微环境, 最终发挥防治结直肠癌的作用。

关键词: 半夏泻心汤; 结直肠癌; 法尼醇 X 受体; 免疫; 肿瘤微环境; 小檗碱; 黄芩苷; 甘草酸; 黄连碱; 巴马汀

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2026)09-3399-15

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.09.013

Banxia Xiexin Decoction prevents and treats colorectal cancer by improving immune microenvironment via regulating farnesoid X receptor-mediated bile acid metabolism

CUI Tingting¹, YUE Yinzi², HUANG Yuming², SUN Mingming¹, FENG Huayi¹, SU Lianlin³, YAN Shuai¹

1. Department of Anorectal Surgery, Suzhou TCM Hospital Affiliated to Nanjing University of Chinese Medicine, Suzhou 215009, China

2. Department of General Surgery, Suzhou TCM Hospital Affiliated to Nanjing University of Chinese Medicine, Suzhou 215009,

收稿日期: 2025-11-19

基金项目: 江苏省自然科学基金青年基金资助项目 (BK20240385); 南京中医药大学自然科学基金重点项目 (XZR2024064); 姑苏卫生人才项目 (GSWS2024085); 苏州市科技发展计划 (基础研究-医学基础研究) 项目 (SKY2023216); 苏州市科教兴卫面上项目 (MSXM2024025); 江苏省中医药科技发展面上项目 (MS2025069)

作者简介: 崔婷婷 (2000—), 女, 硕士研究生, 从事中医药防治肛肠疾病的临床研究。E-mail: 15729904306@163.com

*通信作者: 颜 帅 (1986—), 男, 副主任中医师, 从事经典名方防治结直肠肿瘤的基础研究。E-mail: doctor_shuaiyan@njucm.edu.cn

China

3. School of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China

Abstract: Objective To investigate the preventive and therapeutic effects of Banxia Xiexin Decoction (半夏泻心汤, BXD) on colorectal cancer (CRC) and its underlying mechanism based on “farnesoid X receptor (FXR)-bile acid-immune microenvironment” axis. **Methods** A mouse CRC model was established by intraperitoneal injection of azoxymethane combined with oral administration of dextran sulfate sodium (DSS). Control group, model group, BXD low-, medium-, high-dose (3.915, 7.830, 15.660 g/kg) groups and mesalazine (0.6 g/kg) group were set up, with 10 mice in each group. Drugs were continuously given for eight weeks, general condition of mice was recorded. Histopathological changes in colon tissue were observed. Immunofluorescence staining was used to examine the distribution and expressions of CD11c, CD80 and CD86 in colon tissue. Flow cytometry was employed to detect the expressions of CD11b, CD11c, CD80, CD86 and CD206 in spleen tissue. Targeted metabolomics was used to analyze the levels of bile acids in feces of mice. Levels of interferon- γ (IFN- γ), interleukin-12 (IL-12), IL-18, total bile acids in serum and total bile acids in bile were detected. qRT-PCR was performed to measure the mRNA expressions of *FXR*, fibroblast growth factor 15 (*FGF15*), G protein-coupled receptor 41 (*GPR41*), *GPR43*, *GPR109A*, histone deacetylase 3 (*HDAC3*), *HDAC7*, inducible nitric oxide synthase (*iNOS*), *IL-12*, epidermal growth factor (*EGF*) and transforming growth factor- β 1 (*TGF- β 1*) in colon tissue. Western blotting was used to detect the protein expressions of FXR, *iNOS*, IL-12, EGF, TGF- β 1, FGF15, GPR41, GPR43 and GPR109A in colon tissue. **Results** Compared with control group, the model group showed significant weight loss, increased number and size of colon tumors, severe disruption of glandular structure, irregular hyperplasia and distortion, formation of gland-like or nest-like structures, accompanied by marked inflammatory cell infiltration and tissue damage. PAS-positive substances were focally aggregated, distributed disorderly with irregular morphology. CD11c⁺ cells were extensively aggregated in colon tumor tissue, while CD80⁺ cells showed almost no fluorescence. The expressions of CD11b, CD11c and CD80 in spleen tissue was significantly increased ($P < 0.01$). Levels of deoxycholic acid (DCA), lithocholic acid (LCA) and taurocholic acid (TCA) in fecal were significantly elevated ($P < 0.01$). Protein expressions of *iNOS*, IL-12, EGF, TGF- β 1, *HDAC7* and *HDAC3* in colon tissue were significantly increased ($P < 0.01$), while protein expressions of FXR, FGF15, GPR41, GPR43 and GPR109A were significantly decreased ($P < 0.01$). Compared with model group, the changes in the above indicators were reversed in both BXD and mesalazine groups, and the changes were more pronounced in BXD high-dose group ($P < 0.05, 0.01$). **Conclusion** BXD may exert its preventive and therapeutic effects on colorectal cancer by activating FXR signaling pathway, regulating bile acid metabolic homeostasis, and subsequently reshaping the tumor immune microenvironment.

Key words: Banxia Xiexin Decoction; colorectal cancer; farnesoid X receptor; immunity; tumor microenvironment; berberine; baicalin; glycyrrhizic acid; coptisine; palmatine

结直肠癌的发病率在所有恶性肿瘤中高居第3位，死亡率位列第2，是最常见的消化道恶性肿瘤之一^[1]，并且近年来不仅呈持续上升趋势，还呈现出年轻化的特点，对人类健康构成严重威胁。尤为值得关注的是，随着我国人口老龄化进程加快和不良生活方式的普遍存在，肿瘤相关的医疗负担将进一步加重^[2]。结直肠癌早期症状较为隐匿，往往是晚期诊断，预后不佳。目前，手术是结直肠癌的治疗主要手段，辅以化疗、放疗以及免疫治疗和靶向治疗^[3]，然而，患者术后易复发率高，且化疗常伴随着胃肠道、脱发、骨髓抑制等不良反应，患者对化疗药物的耐药不仅影响治疗效果，也同样加剧了对患者生活质量的影响^[4]。因此，深入探索结直肠癌的发病机制并拓展有效的治疗手段，已成为当前亟待解决的重要课题。

中医药在肿瘤的综合治疗中显示出独特价值，

尤其在减毒增效^[5]及癌前预防^[6-8]方面具有潜力，还能预防术后复发与转移，增强机体免疫监视和清除能力，降低肿瘤的复发率^[9]。从中医角度来讲，结直肠癌患者多有长期的饮食不节、情志不畅史，导致脾胃虚弱，气机不畅，湿浊内停。日久化热，形成湿热瘀毒互结的本虚标实之证，脏腑功能失调，正气虚损，外邪得乘虚而入导致肿瘤产生^[10]。半夏泻心汤出自《伤寒论》，组方严谨，深刻体现了中医“寒热并用、辛开苦降、补泻兼施”的治疗思想，方中半夏、干姜之辛“开”与黄连、黄芩之苦“降”巧妙结合，一寒一热、一升一降，恢复中焦的枢纽功能，破除气机痞塞、寒热错杂的病理状态；人参、大枣、甘草则能补益中焦脾胃之气，攻邪的同时扶正，不仅为机体正气的恢复提供了物质基础，还有助于水湿的运化，全方寒热并用、补泻兼施，旨在调和脾胃、消散痞结，直指结直肠癌“湿热瘀毒互

结、本虚标实”的核心病机，从而在肿瘤防治中发挥其独特作用。

结直肠癌的病理机制复杂，近年来研究表明法尼醇 X 受体 (farnesoid X receptor, FXR) 在结直肠癌的发生发展中扮演着重要角色，是胆汁酸稳态的关键调节因子，在胆汁酸合成、代谢和转运过程中发挥着核心作用^[11-12]。结直肠癌患者的癌组织中，FXR 的表达水平显著低于癌旁正常组织，导致胆汁酸稳态失衡，产生过量次级胆汁酸，通过诱导氧化应激、促进 DNA 损伤、触发慢性炎症反应等机制，创造有利于结直肠癌发生和发展的微环境^[13]；还会影响肠道屏障功能抑制免疫细胞功能，进一步塑造免疫抑制性的肿瘤微环境，助力肿瘤细胞的免疫逃逸^[14-15]。临床研究发现半夏泻心汤有提高患者免疫力及改善患者整体机能的作用^[16-18]。现代研究则表明半夏泻心汤具有调节免疫微环境以及改善肠道菌群的抗肿瘤作用^[19]。课题组前期研究也证实，半夏泻心汤可通过抑制芳香烃受体 (aryl hydrocarbon receptor, AhR) 通路激活抑制 NOD 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3 (NOD-like receptor thermal protein domain associated protein 3, NLRP3) 炎性小体活化炎症通路及高迁移率族蛋白 B1 (high mobility group box-1 protein, HMGB1) 信号通路介导的自噬来缓解肠道炎症与耐药^[20]。许趁意等^[21]发现半夏泻心汤能够通过调节 FXR 影响胆汁酸代谢治疗代谢类疾病，然而半夏泻心汤是否能通过调控 FXR 这一连接代谢、炎症与免疫的关键靶点来发挥抗结直肠癌作用，目前仍未见报道。因此，本研究旨在探究半夏泻心汤调节“FXR-胆汁酸-免疫微环境”轴防治结直肠癌发生发展的可能作用机制，为临床半夏泻心汤防治结直肠癌的应用提供理论依据。

1 材料

1.1 动物

SPF 级雄性 C57BL/6 小鼠 60 只，8~10 周龄，体质量 (20±2) g，购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司，合格证号 SCXK (湘) 2021-0002。动物于 SPF 级环境中适应性饲养 1 周，温度 (22±2) °C，相对湿度 40%~70%，12 h 光暗周期循环。动物实验经南京中医药大学附属苏州市中医医院动物伦理委员会批准 (批准号 2023 伦动批 042)。

1.2 药材

半夏泻心汤由法半夏 12 g (批号 YP24110501)、黄芩 9 g (批号 YP23111802)、黄连 3 g (批号

YP24112001)、干姜 9 g (批号 YP23102503)、人参 9 g (批号 YP23120101)、甘草 9 g (批号 YP24111502)、大枣 36 g (批号 YP23110801) 组成，以上饮片购自北京人卫中药饮片公司，由南京中医药大学炮制教研室陆兔林教授鉴定分别为天南星科植物半夏 *Pinellia ternata* (Thunb.) Breit. 的干燥块茎、唇形科植物黄芩 *Scutellaria baicalensis* Georgi 的干燥根、毛茛科植物黄连 *Coptis chinensis* Franch. 的干燥根茎、姜科植物姜 *Zingiber officinale* Roscoe 的干燥根茎、五加科植物人参 *Panax ginseng* C. A. Mey. 的干燥根、豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 的干燥根和根茎、鼠李科植物枣 *Ziziphus jujuba* Mill. 的干燥成熟果实。

1.3 药品与试剂

美沙拉嗪 (批号 H20143164) 购自上海爱的发制药有限公司；葡聚糖硫酸钠盐 (dextran sulfate sodium, DSS, 批号 160110)、氧化偶氮甲烷 (azoxymethane, AOM, 批号 183971) 购自美国 Mp Biomedicals 公司；FXR 抗体、G 蛋白偶联受体 41 (G protein-coupled receptor 41, GPR41) 抗体、GPR43 抗体、GPR109A 抗体、表皮生长因子 (epidermal growth factor, EGF) 抗体、HRP 标记的羊抗兔 IgG 二抗、DAPI 染色液、枸橼酸盐缓冲液修复液、缓冲甘油 (批号分别为 AWA49763、AWA40634、AWA40893、AWA52655、AWA10547、AWS0001、AWC0293a、AWI0113a、AWT0124a) 购自 Abiowell 公司；成纤维细胞生长因子 (fibroblast growth factor 15, FGF15)、诱导型一氧化氮合酶 (inducible nitric oxide synthase, iNOS)、白细胞介素-12 (interleukin-12, IL-12) 抗体 (批号分别为 ab229630、ab178945、ab131039) 购自英国 Abcam 公司；转化生长因子-β1 (transforming growth factor-β1, TGF-β1) 抗体 (批号 21898-1-Ap) 购自美国 Proteintech 公司；CD80、CD86、CD11b、CD11c、CD206 抗体 (批号分别为 11-0801-82、11-0862-82、12-0112-82、11-0114-82、17-2061-82) 购自 ebioscience 公司；Trizol 试剂 (批号 15596026) 购自美国 Thermo 公司；mRNA 逆转录试剂盒 (批号 CW2569) 购自北京康为世纪有限公司；γ 干扰素 (interferon-γ, IFN-γ)、IL-12、IL-18 ELISA 试剂盒 (货号分别为 98023ES48、98007ES96、98011ES96) 购自翌圣生物科技上海股份有限公司；总胆汁酸 (total bile acids, TBA) 检测试剂盒 (货号 E003-2-1) 购自南京建成生物工程

研究所。

1.4 仪器

MK-22LR 型台式高速冷冻离心机 (湖南迈尔实验仪器有限公司); HK-Q330 型切片机 (湖北孝感阔海医疗科技有限公司); BMJ-A 型组织包埋机 (常州中威电子仪器公司); CX33 型显微镜 (日本 Olympus 公司); 7500 型荧光定量 RCP 仪 (美国 ABI 公司); DYY-6D 型电泳仪 (北京六一生物科技有限公司); FC 型酶标仪、PIKOREAL96 型 qPCR 扩增仪、水平琼脂糖电泳槽 (北京好亿科技有限公司); SN-SJR-10C 型生物样品均质仪 (上海尚仪有限公司)。

2 方法

2.1 半夏泻心汤的制备

半夏泻心汤由法半夏 12 g、黄芩 9 g、黄连 3 g、干姜 9 g、人参 9 g、甘草 9 g、大枣 36 g 组成, 取上述饮片 80 倍量处方, 加 6 倍量水浸泡 0.5 h, 煎煮 1.5 h; 第 2 次加 4 倍量水, 煎煮 1 h, 趁热滤过; 合并 2 次滤液, 室温静置 24 h, 2 000 r/min 离心 10 min, 上清液滤过, 减压浓缩至含生药 1 g/mL, 密封后, 4 °C 保存备用, 经检测半夏泻心汤中小檗碱、黄芩苷、甘草酸、黄连碱和巴马汀质量浓度分别为 3.573、35.133、2.844、1.249、1.208 mg/mL。

2.2 炎症性结直肠癌小鼠模型制备、分组与给药

小鼠随机分为对照组、模型组及半夏泻心汤低、中、高剂量 (3.915、7.830、15.660 g/kg, 分别相当于临床等效剂量的 0.5、1、2 倍) 组和美沙拉嗪 (0.6 g/kg) 组, 每组 10 只。除对照组外, 其余组均构建 AOM/DSS 诱导的结直肠癌模型: 首先 ip AOM (10 mg/kg), 1 周后给予 2% DSS 饮水 7 d, 随后换为蒸馏水 14 d; 此后的第 2~4 个循环均改为给予 1.5% DSS 5 d, 并分别给予蒸馏水 16、16、9 d。对照组全程饮用蒸馏水并 ip 等体积生理盐水。自第 2 个循环起, 模型进入慢性炎症驱动的肿瘤促进阶段时^[22]各给药组 ig 相应药物, 对照组和模型组 ig 等体积的生理盐水 1 次/d, 连续给药 8 周。

2.3 小鼠一般情况、结肠长度、成瘤率及疾病活动指数 (disease activity index, DAI) 评分的测定

在实验过程中, 观察并记录小鼠的日常行为表现, 监测给药阶段的体质量变化、大便形态及便血情况。各循环饮用蒸馏水第 3 天及循环结束后每组随机选取不少于 5 只小鼠, 进行 DAI 评分 (表 1), 以辅助评估模型动物的整体状态。实验结束时, 小

表 1 DAI 评分标准

Table 1 DAI scoring criteria

体质量下降率 (x) /%	粪便性状	粪便隐血	评分
$x \leq 1$	正常	正常	0
$1 < x \leq 5$	介于两者之间	介于两者之间	1
$5 < x \leq 10$	稀便	隐血阳性	2
$10 < x \leq 15$	介于两者之间	介于两者之间	3
$x > 15$	水样腹泻	明显便血	4

DAI 评分为 3 项得分之和; 水样便且黏着肛门为稀便, 糊状大便但不黏着肛门为半稀便, 成型大便为正常便。

DAI score is the sum of three components; Watery stool adhering to the anus is considered loose stool, semiformed stool without adhesion to the anus is classified as semi-loose stool, and formed stool is considered normal stool.

鼠禁食 24 h, 采用颈椎脱臼法处死, 比较各组结肠长度差异及结肠肿瘤形成情况, 采集结肠组织样本保存, 用于后续指标检测。

2.4 小鼠结肠组织病理学改变

结肠组织样本经 10% 多聚甲醛固定 48 h 后, 进行常规脱水与石蜡包埋。其中, 实验组取材于肿瘤分布密集的结肠段, 从回盲部开始卷叠; 对照组则随机卷叠肠管。将包埋好的组织切成 4 μ m 薄片, 脱蜡水化后, 分别进行苏木素-伊红 (hematoxylin-eosin, HE) 和 PAS 染色, 在光学显微镜下观察其组织形态。

2.5 ELISA 检测小鼠血清中炎症因子水平

各组小鼠眼眶取血后静置 2 h, 4 °C、3 000 r/min 离心 15 min, 取上清, 按照试剂盒说明书检测 IFN- γ 、IL-12 和 IL-18 水平。

2.6 免疫荧光染色观察结肠组织中 CD11c、CD80、CD86 的分布及表达

结肠组织切片 60 °C 烤片 12 h, 二甲苯脱蜡 3 次, 每次 20 min; 梯度乙醇 (100% \rightarrow 95% \rightarrow 85% \rightarrow 75%) 各 5 min 水化, 蒸馏水清洗后, 加入 0.01 mol/L 柠檬酸钠抗原修复液 (pH 6.0), 微波沸腾后断续加热 20 min, 冷却至室温; 0.01 mol/L PBS (pH 7.2~7.6) 洗涤 3 次, 每次 3 min; 硼氢化钠溶液室温孵育 30 min, 水洗 5 min; 75% 乙醇室温孵育 5 min; 苏丹黑染液室温孵育 5 min, 水洗 3 min。加入 10% 正常血清/5% 牛血清白蛋白封闭 60 min; 滴加 CD11c (1:500)、CD80 (1:1 000)、CD86 (1:1 000) 一抗, 4 °C 避光孵育过夜。PBST 漂洗后, 滴加抗兔 IgG 荧光抗体, 37 °C 孵育 90 min, PBST 漂洗。DAPI 工作液 37 °C 染核 10 min, PBS 洗涤 3 次, 每次 5 min。缓冲甘油封片, 荧光显微镜观察拍照, Image

J 定量分析平均荧光强度。

2.7 流式细胞术观察脾脏组织中 CD11b、CD11c、CD80、CD86 和 CD206 的表达

取出脾脏研碎，1 500 r/min 离心 5min 得到细胞沉淀，去除上清液，加入 5 mL 红细胞裂解液，室温裂解 3 min 后 1 500 r/min 离心 5 min 得到细胞沉淀，去除上清液，用 6 mL PBS 重悬洗涤细胞，最后细胞沉淀用 1 mL 含 2% FBS 的 RPMI 重悬，100 μ L 基础培养基重悬，加入 CD11b、CD11c、CD80、CD86 和 CD206 抗体避光染色 30 min，染色缓冲液重悬细胞，上机检测。

2.8 靶向代谢组学分析小鼠粪便胆汁酸水平

2.8.1 对照品溶液及内标溶液的制备 称取胆汁酸对照品适量，用甲醇配制对照品母液。量取各母液适量配制成混合对照品储备液，用 50%乙腈稀释至合适浓度，制备成工作对照品溶液。精确称取同位素标准品 (CDCA-D4、CA-D4) 适量，用甲醇配制标准品母液。等量取同位素标准品各母液适量配制成混合同位素标准品，用甲醇稀释配制成质量浓度为 2 μ g/mL 的同位素内标工作液 1。

2.8.2 样品处理 准确称量 0.025 g 粪便样本后，依次加入 20 μ L 质量浓度为 2 μ g/mL 的内标工作液 1 和 380 μ L 甲醇-水 (4:1) 混合提取液。样本经冷冻研磨仪在 -10 $^{\circ}$ C、50 Hz 条件下处理 6 min，随后在 5 $^{\circ}$ C、40 kHz 条件下低温超声 30 min，-20 $^{\circ}$ C 静置 30 min。之后在 4 $^{\circ}$ C、13 000 r/min 离心 15 min，取 200 μ L 上清液使用 LC-ESI-MS/MS (UHPLC-Qtrap) 系统进行分析^[23]。

2.8.3 色谱条件 ExionLC AD system, Waters BEH C₁₈ 色谱柱 (150 mm \times 2.1 mm, 1.7 μ m)，柱温 50 $^{\circ}$ C，进样量 5 μ L。流动相为 0.1%甲酸水溶液-0.1%甲酸乙腈。

2.8.4 质谱条件 AB SCIEX QTRAP 6500+质谱仪，采用负离子模式检测，Curtain Gas (CUR) 为 35 psi (1 psi=6.895 kPa)，Collision Gas (CAD) 为 Medium，离子源电压为-4 500 V，温度为 550 $^{\circ}$ C，Ion Source Gas1 (GS1) 为 50 psi，Ion Source Gas2 (GS2) 压力为 50 psi。采用 AB Sciex OS 定量软件的默认参数自动完成离子碎片峰的识别与积分，并进行人工复核。以分析物质量浓度为横坐标、分析物与内标的峰面积比值为纵坐标，拟合线性回归标准曲线。将实测的峰面积比值代入标准曲线方程，计算得到样本中分析物的最终质量浓度。

2.9 小鼠血清及肝脏中总胆汁酸水平的测定

各组小鼠眼眶取血后静置 2 h，4 $^{\circ}$ C、3 000 r/min 离心 15 min，取上清。取 30 mg 肝脏组织，PBS 洗去血污，剪成小块放入匀浆管中，加入 0.3 mL PBS，磨成匀浆，置于 -20 $^{\circ}$ C 过夜；反复冻融 2 次破坏细胞膜后，于 2~8 $^{\circ}$ C、5 000 \times g 离心 5 min，取上清。按照试剂盒说明书检测血清及肝脏 TBA 水平。

2.10 qRT-PCR 检测结肠组织 FXR、FGF15、GPR41、GPR43、GPR109A、HDAC3、HDAC7、iNOS、IL-12、EGF、TGF- β 1 mRNA 表达

各组结肠组织的总 RNA 经 TRIzol 法提取并逆转录为 cDNA。qPCR 扩增以甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (glyceraldehyde-3-phosphatedehydrogenase, GAPDH) 为内参，所用引物由北京擎科技有限公司合成 (引物序列见表 2)。反应在以下程序下运行：95 $^{\circ}$ C 预变性 10 min，随后在 95 $^{\circ}$ C、15 s，60 $^{\circ}$ C、60 s 的条件下进行 40 个循环。采用 2^{- $\Delta\Delta$ Ct} 法计算目的基因的相对表达量。

2.11 Western blotting 检测结肠组织 FXR、FGF15、GPR41、GPR43、GPR109A、iNOS、IL-12、EGF 和 TGF- β 1 蛋白表达

剪取 25 mg 结肠组织，用预冷的 PBS 清洗，加入 300 μ L RIPA 裂解液于生物样品均质仪中充分研

表 2 引物序列

Table 2 Primer sequences

基因	引物序列 (5'-3')	产物长度/bp
FXR	F: GCATCTATGAACTCAGGCGAAT	138
	R: CAACACACAGCTCATCCCCTT	
iNOS	F: GTTCTCAGCCAACAATACAAGA	127
	R: GTGGACGGGTTCGATGTCAC	
IL12A	F: TGAAGACATCACACGGGACCA	117
	R: CAGCTCCCTCTTGTGTGGAA	
EGF	F: CAGGAGGTCCGCTAGAGAAA	101
	R: GGGCATGTGCAGTGATAGGA	
TGF β	F: CTCCCGTGGCTTCTAGTGC	133
	R: GCCTTAGTTTGGACAGGATCTG	
FGF15	F: ATGGCGAGAAAGTGGAAACGG	179
	R: GGACCAGCGGAGTACAGGT	
GPR41	F: CTTCTTTCTTGGCAATTACTGGC	158
	R: CCGAAATGGTCAGGTTTAGCAA	
GPR43	F: CTTGATCCTCACGGCTACAT	137
	R: CCAGGGTCAGATTAAGCAGGAG	
GPR109A	F: GGGCTGGAATTTGTGTTCCGGA	234
	R: CTGTTCGGTTCATAGCCAACAT	
HDAC3	F: CACCAAGAGCCTTGATGCCTT	230
	R: GCAGCTCCAGGATACCAATTACT	
HDAC7	F: TTCCTGGCAGGCTTACACC	225
	R: ATGGACTGTTCTCTCAAGGGC	
GAPDH	F: GCGACTTCAACAGCAACTCCC	122
	R: CACCCTGTTGCTGTAGCCGTA	

磨组织至匀浆状,于冰上裂解 10 min; 4 °C、12 000 r/min 离心 15 min,取上清。蛋白样品经十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳,转至 PVDF 膜,分别加入 FXR (1 : 500)、FGF15 (1 : 500)、GPR41 (1 : 1 000)、GPR43 (1 : 1 000)、GPR109A (1 : 500)、iNOS (1 : 1 000)、IL-12 (1 : 1 000)、EGF (1 : 500)、TGF-β1 (1 : 1 000)、β-actin (1 : 5 000) 一抗,4 °C 孵育过夜,PBST 洗膜 3 次,加入 HRP 标记的羊抗兔 IgG 二抗 (1 : 5 000) 孵育 90 min,再次洗涤,加入 ECL 发光液进行显影并成像。使用 Quantityone 专业灰度分析软件进行分析,以 β-actin 为内参计算目的蛋白的相对表达量。

2.12 统计学分析

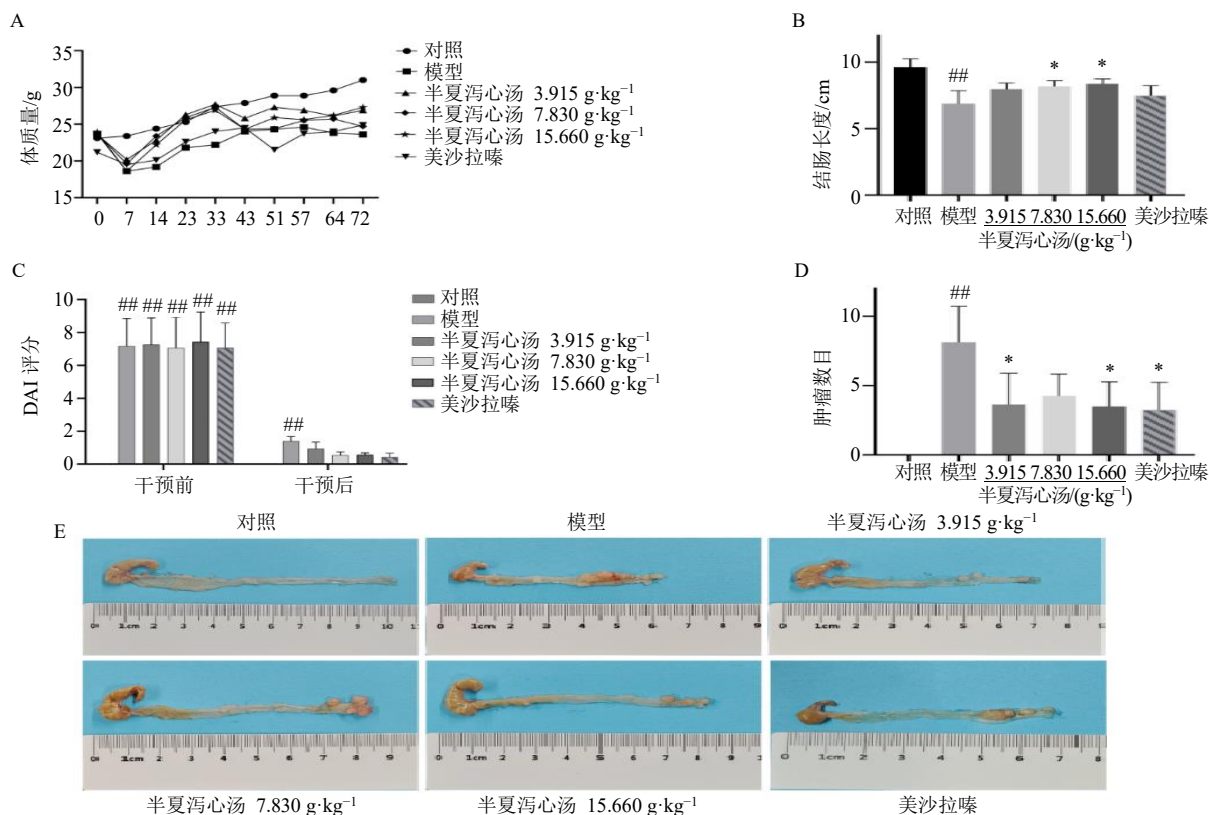
应用 GraphPad Prism 10.4.0 软件进行数据统计分析及作图,计量资料经 Shapiro-Wilk 检验证实符合正态分布,以 $\bar{x} \pm s$ 表示。多组间比较采用单因素方差分析 (One-way ANOVA),并预先进行方差齐性检验 (Brown-Forsythe 检验),明确两组间比较采

用 *t* 检验。

3 结果

3.1 各组小鼠一般情况、结肠长度、成瘤率及 DAI 评分情况

体质量变化是评价 AOM/DSS 诱导结直肠癌模型建立效果的重要依据之一。如图 1 所示,给予 DSS 1 周后,小鼠体质量出现显著降低。模型组及各给药组的 DAI 评分均明显高于对照组 ($P < 0.01$)。并且在造模期间,模型组多数动物呈现精神萎靡、腹泻乃至脱肛以及便血等不同程度的生理状态异常。经半夏泻心汤以及美沙拉嗪干预后,小鼠体质量较模型组均有所回升,腹泻、粪便隐血及便血等症状也得到改善。模型组小鼠结肠长度与对照组相比明显缩短 ($P < 0.01$);相比之下,中、高剂量的半夏泻心汤能够抑制结肠缩短的趋势 ($P < 0.05$)。此外,模型组结肠组织中肿瘤数量多 ($P < 0.01$),而半夏泻心汤低、高剂量组以及美沙拉嗪组均能减少结直肠癌小鼠结肠中的肿瘤数目 ($P < 0.05$)。



A-体质量; B-结肠长度; C-DAI 评分; D-结肠组织中肿瘤数量; E-结肠组织外观; 与对照组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$; 与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$, 下图同。

A-body weight; B-colon length; C-DAI score; D-number of tumors in colon tissue; E-external appearance of colon tissue; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ vs control group; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs model group, same as below figures.

图 1 各组小鼠体质量、结肠长度、DAI 评分及结肠组织肿瘤生长情况 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Fig. 1 Body weight, colonic length, DAI scores and tumor growth in colon tissue of mice in each group ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

3.2 各组小鼠结肠组织病理学变化

如图 2 所示, 对照组小鼠结肠组织的腺体排列规则、形态一致, 无明显异型性; 黏膜层结构完整, 无炎症细胞浸润。与对照组比较, 模型组小鼠腺体结构严重紊乱, 出现不规则增生、扭曲, 甚至形成腺样或巢状结构; 细胞核增大、形态不一、染色加深, 同时伴随明显的炎症细胞浸润和组织破坏, 符合肠癌模型的病理特征。造模期间分别给予低、中、高剂量半夏泻心汤以及美沙拉嗪治疗后, 可以观察到随着半夏泻心汤剂量升高, 小鼠结肠腺体形态、细胞异型性的改善更显著。肠道组织的 PAS 染色图中, 对照组小鼠结肠组织中 PAS 染色的阳性物质分布均匀, 体现肠道正常黏液分泌或糖原储备, 细胞外基质结构规整, 无异常聚集或缺失; 与对照组比较, 模型组小鼠 PAS 阳性物质呈局灶性大量聚集,

分布紊乱且形态不规则, 同时伴随组织架构破坏, 符合肠癌模型的病理特征; 造模期间分别给予低、中、高剂量半夏泻心汤以及美沙拉嗪治疗后, 可以观察到随着半夏泻心汤剂量升高, PAS 阳性物质的分布越接近正常, 美沙拉嗪组也展现出较好的调节效果。

3.3 各组小鼠结肠组织 CD11c、CD80、CD86 表达

如图 3 所示, 对照组小鼠结肠组织中 CD11c⁺细胞呈低水平、散在分布, CD80⁺细胞分布规整荧光较弱, CD86⁺细胞呈散在表达; 模型组小鼠结肠肿瘤组织中 CD11c⁺细胞大量聚集、荧光强度显著升高, CD80⁺在肿瘤组织中荧光极弱; 与模型组比较, 半夏泻心汤各剂量组和美沙拉嗪组小鼠结肠肿瘤组织中 CD11c⁺细胞显著减少 ($P < 0.01$), 半夏泻心汤高剂量组 CD86⁺表达显著增加 ($P < 0.01$)。

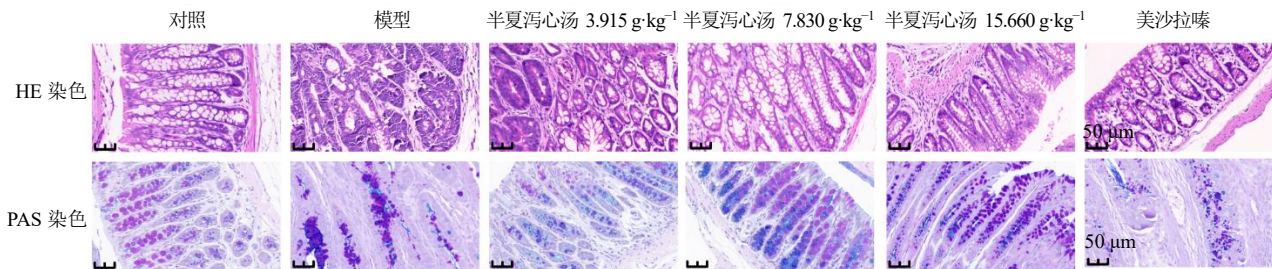


图 2 各组小鼠结肠组织病理学变化 (×400)

Fig. 2 Histopathological changes in colon tissues of mice in each group (× 400)

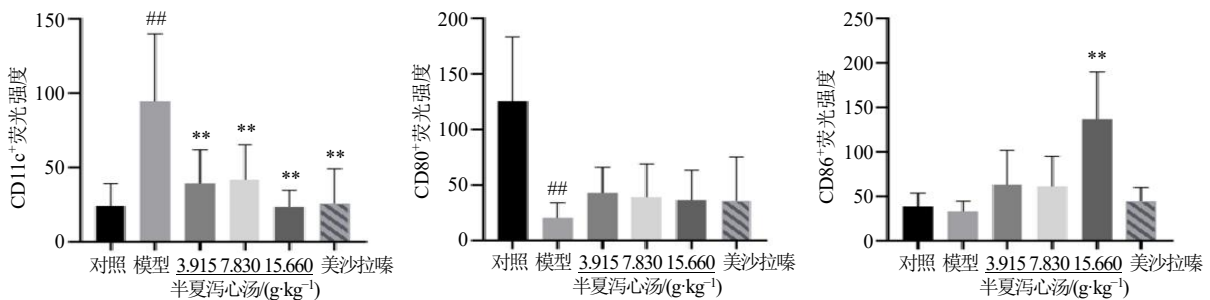
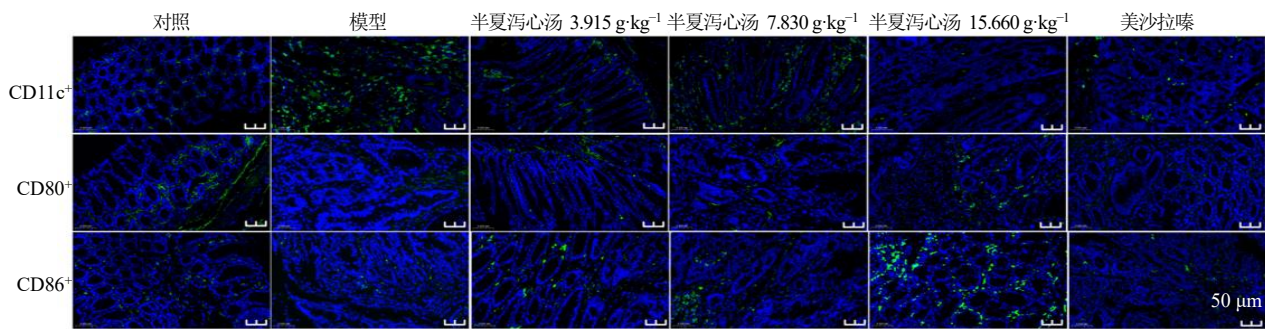


图 3 各组小鼠结肠组织 CD11c、CD80、CD86 表达 (×400; $\bar{x} \pm s, n = 8$)

Fig. 3 CD11c, CD80 and CD86 expressions in colon tissue of mice in each group (× 400; $\bar{x} \pm s, n = 8$)

3.4 各组小鼠脾脏组织中 CD11b、CD11c、CD80、CD86 和 CD206 表达

如图 4 所示,与对照组比较,模型组小鼠脾脏组织中 CD11b、CD11c、CD80、CD206 表达显著升高 ($P < 0.05$ 、 0.01);与模型组比较,半夏泻心汤各剂量组和美沙拉嗪组 CD11b、CD11c 和 CD80 表达显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01),半夏泻心汤中、高剂量组和美沙拉嗪组 CD206 表达进一步升高 ($P < 0.01$)。各组 CD86 表达无统计学差异。

3.5 各组小鼠粪便胆汁酸及血清、肝脏总胆汁酸水平

如图 5 和表 3 所示,与对照组比较,模型组小鼠粪便中脱氧胆酸 (deoxycholic acid, DCA)、牛磺胆酸 (taurocholic acid, TCA)、HDCA、石胆酸 (lithocholic acid, LCA) 水平显著升高 ($P < 0.05$ 、 0.01),熊去氧胆酸 (ursodeoxycholic acid, UDCA) 水平无明显变化,血清及肝脏总胆汁酸水平明显降低 ($P < 0.01$);与模型组比较,半夏泻心汤各剂量

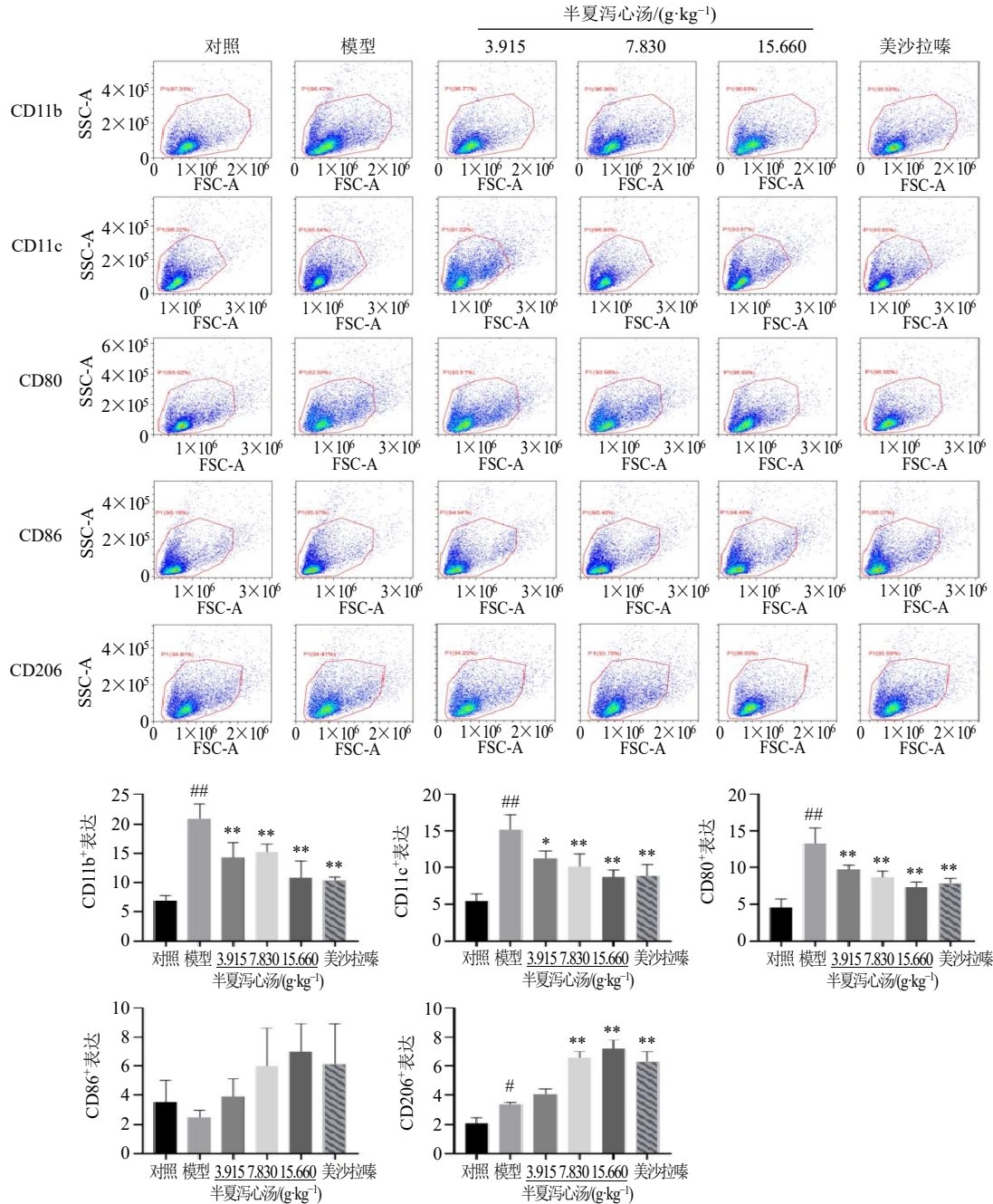


图 4 各组小鼠脾脏组织中 CD11b、CD11c、CD80、CD86 和 CD206 表达 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Fig. 4 CD11b, CD11c, CD80, CD86 and CD206 expressions in spleen tissues of mice in each group ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

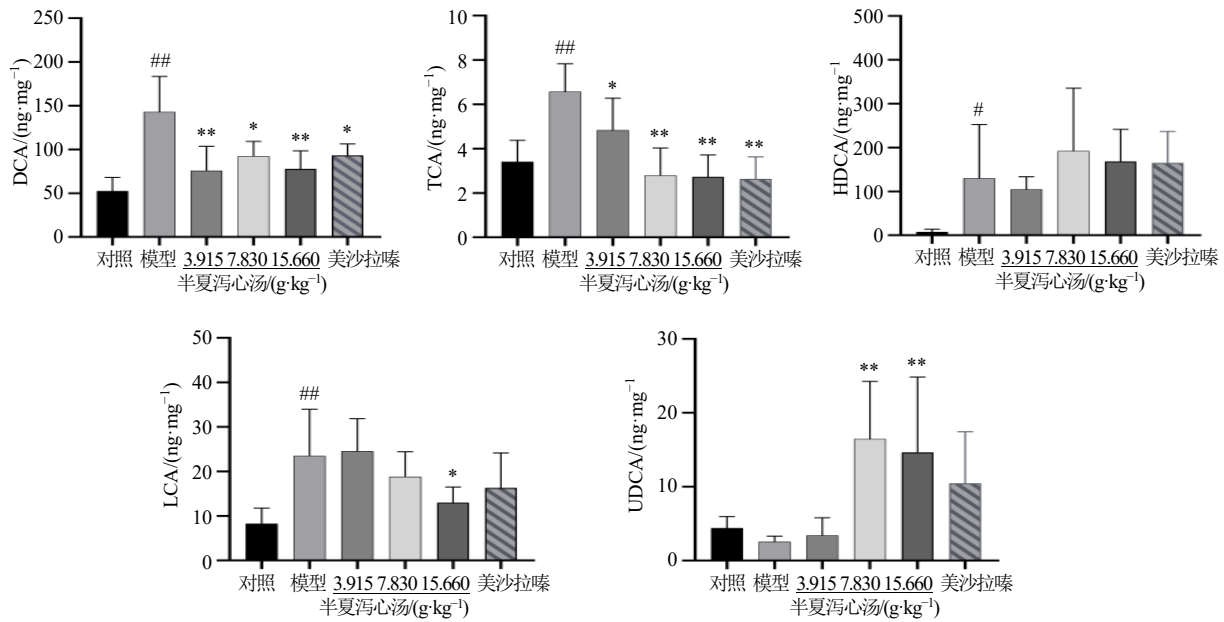


图5 各组小鼠粪便胆汁酸水平 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Fig. 5 Levels of bile acid in fecal of mice in each group ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

表3 各组小鼠血清及肝脏总胆汁酸水平 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 3 Levels of total bile acid in serum and liver of mice in each group ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	血清总胆汁酸/ ($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	肝脏总胆汁酸/ ($\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$)
对照	—	4.56 ± 0.17	2.74 ± 0.14
模型	—	1.70 ± 0.30 ^{##}	1.16 ± 0.27 ^{##}
半夏泻心汤	3.915	2.30 ± 0.39 ^{**}	1.92 ± 0.15 ^{**}
	7.830	2.67 ± 0.32 ^{**}	1.98 ± 0.33 ^{**}
	15.660	3.62 ± 0.31 ^{**}	2.02 ± 0.23 ^{**}
美沙拉嗪	0.6	2.60 ± 0.34 ^{**}	1.91 ± 0.18 ^{**}

与对照组比较: ^{##} $P < 0.01$; 与模型组比较: ^{**} $P < 0.01$, 表4同。

^{##} $P < 0.01$ vs control group; ^{**} $P < 0.01$ vs model group, same as table 4.

组和美沙拉嗪组小鼠粪便中 DCA、TCA 水平显著降低 ($P < 0.05, 0.01$), 血清及肝脏总胆汁酸水平显著升高 ($P < 0.01$); 半夏泻心汤高剂量组小鼠粪便中 LCA 水平显著降低 ($P < 0.05$); 半夏泻心汤中、

高剂量组小鼠粪便中 UDCA 水平显著升高 ($P < 0.01$)。

3.6 各组小鼠血清中细胞因子水平

如表4所示, 与对照组比较, 模型组小鼠血清中促炎因子 IFN- γ 、IL-12、IL-18 水平显著升高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 半夏泻心汤各剂量组和美沙拉嗪组小鼠血清中 IFN- γ 、IL-12 和 IL-18 水平均显著降低 ($P < 0.01$)。其中, 半夏泻心汤高剂量组对促炎因子的抑制作用最显著, 效果优于美沙拉嗪组 ($P < 0.01$)。

3.7 各组小鼠结肠组织 FXR、FGF15、GPR41、GPR43、GPR109A、HDAC3、HDAC7、iNOS、IL-12、EGF 和 TGF- β 1 mRNA 表达

如图6所示, 与对照组比较, 模型组小鼠结肠组织中 IL-12、TGF- β 1、HDAC7、HDAC3、iNOS、

表4 各组小鼠血清炎症细胞因子水平比较 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 4 Levels of inflammatory cytokine in serum of mice in each group ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	IFN- γ /(pg·mL ⁻¹)	IL-12/(pg·mL ⁻¹)	IL-18/(pg·mL ⁻¹)
对照	—	179.80 ± 34.95	6.91 ± 1.66	0.57 ± 0.17
模型	—	672.60 ± 65.73 ^{##}	36.96 ± 3.94 ^{##}	2.59 ± 0.21 ^{##}
半夏泻心汤	3.915	358.50 ± 28.57 ^{**}	25.15 ± 2.71 ^{**}	1.51 ± 0.24 ^{**}
	7.830	413.60 ± 23.67 ^{**}	17.46 ± 3.33 ^{**}	1.32 ± 0.38 ^{**}
	15.660	376.00 ± 31.73 ^{**▲▲}	14.01 ± 1.51 ^{**▲▲}	1.22 ± 0.26 ^{**▲▲}
美沙拉嗪	0.6	506.60 ± 20.95 ^{**}	30.40 ± 2.13 ^{**}	1.81 ± 0.30 ^{**}

与美沙拉嗪组比较: ^{▲▲} $P < 0.01$ 。

^{▲▲} $P < 0.01$ vs mesalazine group.

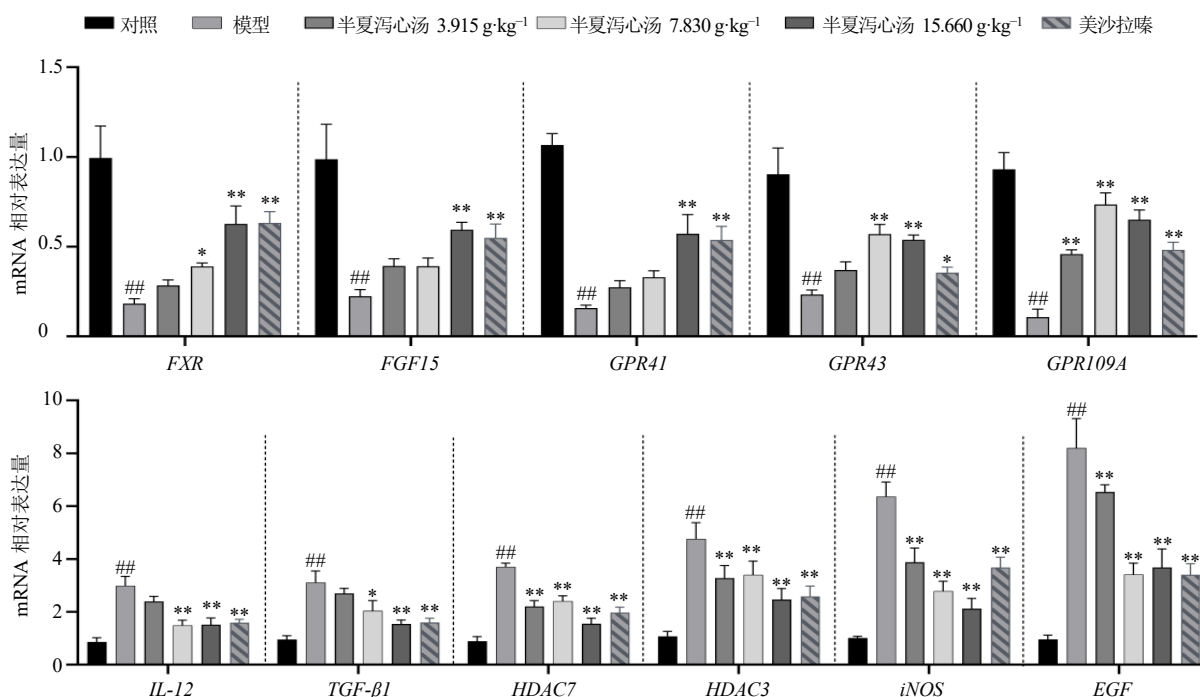


图6 各组小鼠结肠组织 *FXR*、*FGF15*、*GPR41*、*GPR43*、*GPR109A*、*HDAC3*、*HDAC7*、*iNOS*、*IL-12*、*EGF* 和 *TGF-β1* mRNA 表达 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Fig. 6 *FXR*, *FGF15*, *GPR41*, *GPR43*, *GPR109A*, *HDAC3*, *HDAC7*, *iNOS*, *IL-12*, *EGF* and *TGF-β1* mRNA expressions in colon tissues of mice in each group ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

EGF mRNA 表达水平显著升高 ($P < 0.01$), *FXR*、*FGF15*、*GPR41*、*GPR43* 和 *GPR109A* mRNA 表达水平显著降低 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 半夏泻心汤高剂量组和美沙拉啉组小鼠结肠组织中 *IL-12*、*TGF-β1*、*HDAC7*、*HDAC3*、*iNOS*、*EGF* mRNA 表达水平显著降低 ($P < 0.01$), *FXR*、*FGF15*、*GPR41*、*GPR43* 和 *GPR109A* mRNA 表达水平显著升高 ($P < 0.05, 0.01$); 半夏泻心汤中剂量小鼠结肠组织中 *IL-12*、*TGF-β1*、*HDAC7*、*HDAC3*、*iNOS*、*EGF* mRNA 表达水平显著降低 ($P < 0.05, 0.01$), *FXR*、*GPR43* 和 *GPR109A* mRNA 表达水平显著升高 ($P < 0.05, 0.01$); 半夏泻心汤低剂量组小鼠结肠组织中 *HDAC7*、*HDAC3*、*iNOS*、*EGF* mRNA 表达水平显著降低 ($P < 0.01$), *GPR109A* mRNA 表达水平显著升高 ($P < 0.01$)。

3.8 各组小鼠结肠组织 *FXR*、*FGF15*、*GPR41*、*GPR43*、*GPR109A*、*iNOS*、*IL-12*、*EGF* 和 *TGF-β1* 蛋白表达

如图7所示, 与对照组比较, 模型组小鼠结肠组织中 *iNOS*、*IL-12*、*EGF* 和 *TGF-β1* 蛋白表达水平明显升高 ($P < 0.01$), *FXR*、*FGF15*、*GPR41*、*GPR43* 和 *GPR109A* 蛋白表达水平明显降低 ($P <$

0.01); 与模型组比较, 半夏泻心汤各剂量组和美沙拉啉组小鼠结肠组织中 *iNOS*、*IL-12*、*EGF* 和 *TGF-β1* 蛋白表达水平明显降低 ($P < 0.01$), *FXR*、*FGF15*、*GPR41*、*GPR43* 和 *GPR109A* 蛋白表达水平明显升高 ($P < 0.01$)。

4 讨论

结直肠癌是严重威胁人类健康的恶性肿瘤, 早期诊断率低, 死亡率极高^[1]。中医将肠癌归于“肠蕈”“锁肛痔”“积聚”范畴, 核心病机在于“正气亏虚, 毒瘀互结”, 脏腑气机运动功能失衡致气血津液运转失常, 故湿聚为痰、血停为瘀, 产生痰、瘀、毒等病理产物蓄积于大肠, 进一步阻碍气机, 升降失常, 最终导致癌肿的发生^[24]。在此背景下, 中药因其多成分、多靶点的特点在结直肠癌治疗中展现出独特优势^[25-27]。中药能够整体调节机体功能, 在不同病程阶段发挥抗癌作用^[28-29]。

半夏泻心汤是出自《伤寒论》的经典方剂, 体现了“辛开苦降, 平调寒热”原则^[10]。临床观察到, 半夏泻心汤联合化疗不仅可以增强治疗效果^[30], 还能减轻术后和化疗后的不良反应、改善患者的生活质量^[31]。现代研究也表明半夏泻心汤能够多靶点抗炎^[32-33], 改善肠道菌群^[34-35]以及调节肿瘤微环境^[36]

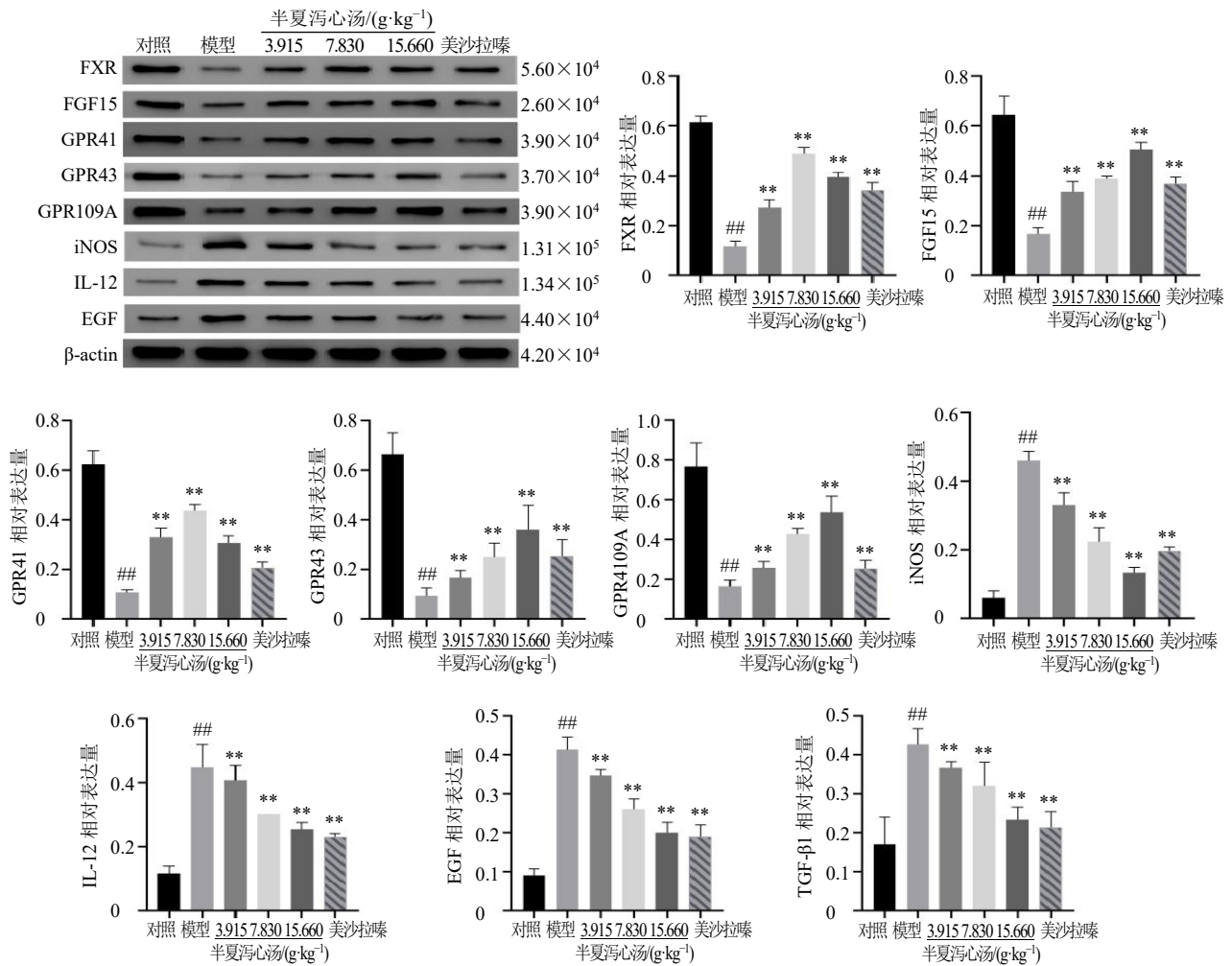


图7 各组小鼠结肠组织 FXR、FGF15、GPR41、GPR43、GPR109A、iNOS、IL-12、EGF 和 TGF-β1 蛋白表达 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Fig. 7 FXR, FGF15, GPR41, GPR43, GPR109A, iNOS, IL-12, EGF and TGF-β1 protein expressions in colon tissues of mice in each group ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

进而起到抗肿瘤的作用。具有寒凉药性的中药往往能够起到抗炎的作用，现代研究表明半夏泻心汤中的黄连、黄芩中有效的化学成分具有抗炎的作用^[37]。半夏泻心汤常能调节肠道菌群治疗消化道疾病，罗玉婷^[38]发现将半夏泻心汤治疗过的溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 小鼠粪菌移植给 UC 小鼠能起到治疗作用，且能恢复肠道菌群的物种丰富，增加有益菌的丰度。胆汁酸与肠道菌群关系密切，次级胆汁酸中的 DCA、LCA 通过调节 Wnt/β-catenin 信号通路诱导结肠上皮细胞中的癌症干细胞^[39]，中药中含有许多有效成分，能够多靶点、多通路的调节胆汁酸代谢，恢复肠道免疫稳态，在炎症性肠病的治疗中发挥独特的作用^[40]。FXR 作为胆汁酸核心受体，在维持胆汁酸稳态、抑制炎症及免疫调节中发挥保护作用，其功能紊乱会导致胆汁酸代谢异

常、炎症及免疫抑制性微环境，促进结肠癌发展，还通过维持菌群失调和屏障损伤来反馈加剧胆汁酸代谢紊乱^[18]。王丽娟^[41]、闫梦姚^[42]发现龙胆、重楼能上调 FXR 改善胆汁酸的合成与代谢治疗脂肪性肝病。FXR 的活化能够减少促炎因子的产生进而降低肠道炎症^[43]，还能诱导细胞周期阻滞和促进凋亡，抑制结肠癌细胞的增殖^[44-45]。结肠癌组织中 FXR 的表达水平与患者预后呈正相关，提示 FXR 可能作为结肠癌的保护性因子^[46]。许趁意等^[21]发现半夏泻心汤能上调回肠中 FXR 蛋白的表达，且半夏泻心汤具有调节机体免疫的作用，但尚无研究表明半夏泻心汤是否能通过调节 FXR-胆汁酸-肿瘤微环境的机制防治结肠癌。

在本研究中，整体动物层面随着造模剂诱导完成 AOM/DSS 组小鼠结肠长度明显缩短，成瘤数量

较对照组明显增加,且模型小鼠出现腹泻、便血、脱肛等症状;半夏泻心汤干预后,小鼠体质量得到显著恢复,腹泻、便血等临床症状明显缓解,结肠长度缩短趋势被有效抑制,同时结肠肿瘤的数量显著减少。此外,病理切片能够观察到半夏泻心汤干预后的结肠癌小鼠结肠组织能够明显改善小鼠结肠腺体形态,调节黏液异常增生并减少移行细胞的浸润。这些结果直接表明半夏泻心汤能够有效拮抗 AOM/DSS 引起的病理损伤。其次,模型小鼠粪便中次级胆汁酸 DCA、TCA、LCA 水平异常升高,而血清和肝脏总胆汁酸水平下降,提示胆汁酸代谢紊乱且肠肝循环失调。DCA、TCA 和 LCA 有促进癌细胞增殖与侵袭、诱导肿瘤相关炎症、抑制机体抗肿瘤免疫进而促癌的作用^[47];半夏泻心汤高剂量组能显著逆转这一趋势。而 UDCA 能够通过降解 TGF- β ,减轻肿瘤细胞的免疫逃逸^[48],本研究中半夏泻心汤中、高剂量组小鼠粪便中 UDCA 水平显著升高,提示半夏泻心汤可能通过升高 UDCA 水平恢复抗肿瘤免疫作用进而抑制肿瘤进展,这与半夏泻心汤的有效化学成分中人参皂苷升高 UDCA 水平进而抑制结肠癌的研究一致^[49]。恢复 AOM/DSS 诱导小鼠结肠癌模型中 FXR 表达可明显改善胆汁酸代谢^[50],且 FXR 激活后促使肠道细胞合成并分泌 FGF15 进而抑制肝脏中胆固醇 7 α -羟化酶的活性,减少肝脏内新的胆汁酸合成^[51],模型小鼠结肠组织中胆汁酸核心受体 FXR 及其下游因子 FGF15 的表达均受到显著抑制,本研究中半夏泻心汤高剂量干预后,不仅显著降低了粪便中有害次级胆汁酸水平,更同步上调了结肠组织 FXR、FGF15 以及 FXR 具有协同作用的 GPR41、GPR43、GPR109A 的蛋白以及 mRNA 表达。这一结果提示,半夏泻心汤可能通过激活肠道 FXR 信号,恢复 FGF15 介导的肝肠反馈调节,从而重塑胆汁酸代谢稳态,减少肠道内致癌胆汁酸的积累,增强机体抵御肿瘤的内在防线,进而提高机体的抗肿瘤能力。胆汁酸代谢紊乱与肠道炎症和肿瘤发生密切相关,因此,推测半夏泻心汤可能通过激活 FXR 通路重塑胆汁酸代谢稳态。

FXR 在树突状细胞和巨噬细胞中扮演着重要的免疫调节器角色^[52],不仅能上调外周调节性 T 细胞的产生来消灭癌细胞^[53],还能调节肠道巨噬细胞成熟和活化,在结肠癌进展的早期促炎阶段起到抗炎作用^[17]。有研究表明细胞从正常向肿瘤的转化

的过程中,FXR 的表达显著降低^[54],慢性炎症与肿瘤的发生、发展、侵袭和转移有着极为密切的关系^[55],M1 型巨噬细胞表达 CD80、CD86 以及 CD11b,树突状细胞则表达 CD11b 和 CD11c,而 CD206 是 M2 型标志物^[56-57],本研究检测脾脏组织免疫细胞表型与血清炎症因子水平,从细胞功能状态与效应分子 2 个相互关联的层面,综合评价了疾病模型的免疫紊乱特征及半夏泻心汤的干预作用。模型组小鼠脾脏中 CD11b⁺和 CD11c⁺细胞显著增加,提示树突状细胞和巨噬细胞在脾脏中大量聚集或活化,这类细胞是产生 IL-12、IL-18 等关键促炎因子的重要来源^[58]。本研究中模型组血清中 IL-12 与 IL-18 水平的同步显著升高,与细胞层面的变化相呼应。其次,模型组小鼠脾脏中 CD80⁺表达小鼠脾脏,标志着其免疫激活能力的增强,能够更有效地激活 T 淋巴细胞。活化的 T 细胞是产生 IFN- γ 的主要细胞,这与本研究中模型组小鼠血清 IFN- γ 水平的显著升高一致,但是 CD86 表达未见统计学差异,因此 CD80 介导的共刺激通路可能扮演了更主导的角色。上述结果共同提示该模型为促炎免疫状态。半夏泻心汤显著降低促炎表型标记物 CD11b、CD11c 和 CD80 的表达,同时促进 CD206 的表达,表明巨噬细胞向 M2 型极化,这与何玲等^[59]发现半夏泻心汤能抑制巨噬细胞 M2 型极化不一致,这可能与本研究自第 2 个循环起即开始干预,此时期肿瘤处于炎性浸润进展期相关^[22],CD206⁺细胞的增加通常与炎症消退和组织修复相关,并且本研究血清促炎因子 IFN- γ 、IL-12 和 IL-18 水平显著降低,进一步确认了半夏泻心汤的强大抗炎功能。其中,高剂量组对 IL-12 和 IL-18 的抑制效果尤为突出,这可能与其强力调控 CD11c⁺的活化状态密切相关。半夏泻心汤可能通过重塑脾脏免疫细胞组成与功能表型,促进其向抑炎表型转化,从而源头性地减少促炎因子的生成与释放,最终发挥其抗炎与免疫调节作用,这与病理切片中观察到的半夏泻心汤显著减少肠黏膜组织炎性细胞浸润一致。因此,半夏泻心汤抑制系统性炎症以及重塑肿瘤免疫微环境,以及纠正胆汁酸代谢紊乱的作用中 FXR 发挥了其桥梁作用,共同构成了半夏泻心汤缓解结肠癌进展的重要机制。

综上,半夏泻心汤的核心作用可能是激活肠道 FXR,FXR 的激活一方面通过上调 FGF15 等因子,恢复胆汁酸的肝肠循环稳态,纠正粪便中 DCA、

LCA 等次级胆汁酸的异常蓄积,恢复肝脏正常的胆汁酸代谢;另一方面,FXR 的激活直接或间接地通过改善胆汁酸谱和肠道屏障调节了树突状细胞和巨噬细胞的功能,不仅能够恢复胆汁酸代谢,还能重塑肿瘤免疫状态的同时改善机体整体免疫状态,并且改善肠黏膜屏障功能,通过多种作用起到抗肿瘤的作用。

结肠癌发病机制复杂,因此关于半夏泻心汤通过调节 FXR 恢复胆汁酸代谢与重塑肿瘤免疫还待于进一步探索,未来的工作可以通过体内联合体外的实验方法增设一组“半夏泻心汤+FXR 拮抗剂”,直接和间接地观察 FXR 被抑制后,半夏泻心汤的抗增殖及免疫调节作用是否被逆转,从而证明其疗效依赖于对 FXR 的激活作用,夯实 FXR 在该通路中的核心地位,并将胆汁酸代谢改变与免疫表型变化通过直接的实验证据连接起来。同时,未来研究可以向上下游延伸,深入研究 FXR 激活后,如何调控下游分子而影响癌细胞周期、凋亡。其次,关于半夏泻心汤重塑结肠癌小鼠免疫微环境,本研究主要通过结肠免疫荧光联合脾脏流式细胞术观察结肠癌小鼠外周以及结肠局部免疫环境,未来可以利用多色流式细胞术或单细胞 RNA 测序,更精细地刻画半夏泻心汤处理后肿瘤微环境中 T 细胞亚群、NK 细胞、髓源性抑制细胞的组成、空间分布和功能状态的变化,有助于半夏泻心汤治疗结肠癌提供更进一步的理论依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Bray F, Laversanne M, Sung H, *et al.* Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. *CA Cancer J Clin*, 2024, 74(3): 229-263.
- [2] Qiu H B, Cao S M, Xu R H. Cancer incidence, mortality, and burden in China: A time-trend analysis and comparison with the United States and United Kingdom based on the global epidemiological data released in 2020 [J]. *Cancer Commun*, 2021, 41(10): 1037-1048.
- [3] Dekker E, Tanis P J, Vleugels J L A, *et al.* Colorectal cancer [J]. *Lancet*, 2019, 394(10207): 1467-1480.
- [4] Diaz L A Jr, Williams R T, Wu J, *et al.* The molecular evolution of acquired resistance to targeted EGFR blockade in colorectal cancers [J]. *Nature*, 2012, 486(7404): 537-540.
- [5] 吴辉渊, 李芬芬, 徐婷. 乌梅丸治疗寒热错杂型结肠癌多药耐药患者的临床观察 [J]. *中国医药科学*, 2024, 14(17): 114-117.
- [6] 方俐晖. 120 例慢性复发型溃疡性结肠炎 (活动期) 的中医证素特点研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2022.
- [7] 郭玮妮, 罗雯鹏, 陆文洪, 等. 从湿痰瘀虚论菊藻丸防治结直肠腺瘤性息肉 [J]. *山西中医药大学学报*, 2023, 24(12): 1382-1385.
- [8] 刘方宇, 康健, 隋楠. 溃疡性结肠炎 (寒热错杂证) 炎癌转化的中医药防治 [J]. *湖南中医药大学学报*, 2025, 45(9): 1794-1800.
- [9] 郑世行. 补中调肝散干预结直肠癌术后肝转移发生率的随机对照试验 [D]. 太原: 山西省中医药研究院, 2023.
- [10] 陈雪. 花宝金教授防治肠癌经验总结及调气燥湿法治肠癌的效应机制 [D]. 北京: 中国中医科学院, 2024.
- [11] Song L T, Hou Y S, Xu D, *et al.* Hepatic FXR-FGF4 is required for bile acid homeostasis via an FGFR4-LRH-1 signal node under cholestatic stress [J]. *Cell Metab*, 2025, 37(1): 104-120.
- [12] Dong X C, Qi M, Cai C M, *et al.* Farnesoid X receptor mediates macrophage-intrinsic responses to suppress colitis-induced colon cancer progression [J]. *JCI Insight*, 2024, 9(2): e170428.
- [13] Baghban R, Roshangar L, Jahanban-Esfahlan R, *et al.* Tumor microenvironment complexity and therapeutic implications at a glance [J]. *Cell Commun Signal*, 2020, 18(1): 59.
- [14] O'Keefe S J D. Diet, microorganisms and their metabolites, and colon cancer [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2016, 13(12): 691-706.
- [15] Jia W, Xie G X, Jia W P. Bile acid-microbiota crosstalk in gastrointestinal inflammation and carcinogenesis [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2018, 15(2): 111-128.
- [16] 陈善明, 林俊, 吴共国, 等. 半夏泻心汤加减联合 mFOLFOX6 化疗治疗肝脾不和结肠癌 25 例 [J]. *浙江中医杂志*, 2020, 55(3): 205-206.
- [17] 廉坤, 刘可欣, 苏畅, 等. 半夏泻心汤的临床应用及作用机制探讨 [J]. *中草药*, 2025, 56(9): 3380-3389.
- [18] 李应杰, 邱曙光, 梁君. 半夏泻心汤治疗结肠癌术后肝脾不和证的临床研究 [J]. *世界中医药*, 2017, 12(7): 1523-1526.
- [19] Cui T T, Yue Y Z, Yan S. Current evidence for Banxia Xiexin Decoction in gastrointestinal tumors and future research perspectives [J]. *J Ethnopharmacol*, 2025, 351: 119972.
- [20] Yue Y Z, Chen M Y, Qin Y Y, *et al.* Synergistic mechanisms of Banxia Xiexin Decoction in overcoming chemoresistance and enhancing chemosensitivity in

- colorectal cancer [J]. *Fitoterapia*, 2025, 185: 106711.
- [21] 许趁意, 岳仁宋, 吕雪莲, 等. 基于胆汁酸代谢轮廓研究半夏泻心汤通过 FXR/GLP-1 途径调控 2 型糖尿病血糖稳态的机制 [J]. 中华中医药杂志, 2022, 37(8): 4394-4399.
- [22] Seal R, Schwab L S U, Chiarolla C M, *et al.* Delayed and limited administration of the JAKinib tofacitinib mitigates chronic DSS-induced colitis [J]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1179311.
- [23] Gómez C, Stücheli S, Kratschmar D V, *et al.* Development and validation of a 34 highly sensitive LC-MS/MS method for the analysis of bile acids in serum, plasma, and liver tissue samples [J]. *Metabolites*, 2020, 10(7): 282.
- [24] 张振华, 杨一玫, 花宝金. 花宝金运用半夏泻心汤治疗结肠癌经验 [J]. 中华中医药杂志, 2020, 35(12): 6135-6137.
- [25] 贺松其, 刘洋, 秦梦晨, 等. 中医药调控糖酵解重塑肿瘤免疫微环境的研究进展 [J]. 南方医科大学学报, 2025, 45(10): 2277-2284.
- [26] 王凯, 高宗跃, 左振魁, 等. 葫芦素 B 通过 ENPP2 影响铁死亡在结直肠癌耐药中的机制研究 [J]. 中草药, 2025, 56(6): 2009-2016.
- [27] 李真, 邓俊宏, 石小雨, 等. 黄芩汤及其活性成分干预结直肠癌的作用机制研究进展 [J]. 中草药, 2025, 56(16): 6058-6072.
- [28] 郑佳露, 郑金洲, 顾贤. 藤龙补中汤联合化疗治疗晚期结直肠癌疗效研究 [J]. 陕西中医, 2023, 44(8): 1042-1046.
- [29] 陈辉, 孙锋, 孙寒静, 等. 回顾性分析加减四君子汤对 II 期直肠癌患者 PNI 和 NLR 的影响 [J]. 广西中医药, 2020, 43(2): 7-10.
- [30] 施丽娟, 张艳美, 朱中博, 等. 半夏泻心汤不同有效部位对人胃癌耐药 AGS/DDP 细胞化疗敏感性的增敏作用 [J]. 中成药, 2025, 47(8): 2737-2741.
- [31] 周兰, 周己扬, 陈远虹, 等. 半夏泻心汤联合化疗对结肠癌根治术后患者免疫功能及毒副作用的影响 [J]. 河北中医, 2025, 47(7): 1080-1083.
- [32] 乐音子, 曾莉, 苏联麟, 等. 基于 NLRP3 炎症小体探讨半夏泻心汤对炎症性结肠癌小鼠的影响 [J]. 中国中医基础医学杂志, 2023, 29(12): 2014-2021.
- [33] 孙欣欣, 都基莎, 孙颖. 半夏泻心汤治疗溃疡性结肠炎有效性和安全性的 Meta 分析 [J]. 药物评价研究, 2023, 46(4): 878-884.
- [34] Jiang Y F, Huang Y Q, Hu Y E, *et al.* Banxia Xiexin Decoction delays colitis-to-cancer transition by inhibiting E-cadherin/ β -catenin pathway via *Fusobacterium nucleatum* FadA [J]. *J Ethnopharmacol*, 2024, 328: 117932.
- [35] Yue Y Z, Su L L, Wan Y H, *et al.* Banxia Xiexin Decoction inhibits colitis-associated colorectal cancer development by modulating STAT3 signaling and gut microbiota [J]. *Chin Herb Med*, 2025, 17(2): 380-391.
- [36] Wang Y, Zhao T, Huang C Y, *et al.* Effect and mechanism of Banxia Xiexin Decoction in colorectal cancer: A network pharmacology approach [J]. *Phytomedicine*, 2024, 123: 155174.
- [37] 曹单单, 邓长财, 杜彭, 等. 盐酸小檗碱联合缬沙坦治疗老年糖尿病肾病疗效及对患者肾脏功能、氧化应激和炎症反应的影响 [J]. 中国老年学杂志, 2025, 45(16): 3946-3949.
- [38] 罗玉婷. 基于“肠道菌群: 代谢: 炎症”探索半夏泻心汤治疗溃疡性结肠炎的作用机制 [D]. 北京: 中国中医科学院, 2024.
- [39] Farhana L, Nangia-Makker P, Arbit E, *et al.* Bile acid: A potential inducer of colon cancer stem cells [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2016, 7(1): 181.
- [40] 谢译萱, 魏雪梅, 杨洋, 等. 基于肠道菌群-胆汁酸轴探讨中药治疗炎症性肠病的研究进展 [J]. 中草药, 2025, 56(22): 8403-8413.
- [41] 王丽娟. 龙胆关键药效组分对酒精性和非酒精性肝胆系统损伤的保肝利胆作用及机制研究 [D]. 长春: 长春中医药大学, 2023.
- [42] 闫梦姚. 重楼皂苷缓解非酒精性脂肪性肝炎的作用机制及物质基础研究 [D]. 天津: 天津科技大学, 2023.
- [43] Dong X C, Cai C M, Fu T. FXR suppresses colorectal cancer by inhibiting the Wnt/ β -catenin pathway via activation of TLE3 [J]. *Genes Dis*, 2022, 10(3): 719-722.
- [44] 张超峰, 罗天航, 钮宏文, 等. GW4064 激活法尼酯 X 受体抑制结肠癌细胞生长浸润及基质细胞衍生因子 1 的表达 [J]. 第二军医大学学报, 2019, 40(2): 185-190.
- [45] Fu T, Coulter S, Yoshihara E, *et al.* FXR regulates intestinal cancer stem cell proliferation [J]. *Cell*, 2019, 176(5): 1098-1112.
- [46] 庄子彦, 谢元鸿, 房静远. 胆汁酸法尼醇 X 受体在结肠癌中的研究进展 [J]. 肿瘤, 2023, 43(7): 607-613.
- [47] Song X L, An Y P, Chen D F, *et al.* Microbial metabolite deoxycholic acid promotes vasculogenic mimicry formation in intestinal carcinogenesis [J]. *Cancer Sci*, 2022, 113(2): 459-477.
- [48] Shen Y Y, Lu C J, Song Z B, *et al.* Ursodeoxycholic acid reduces antitumor immunosuppression by inducing CHIP-mediated TGF- β degradation [J]. *Nat Commun*, 2022, 13(1): 3419.
- [49] Bai X, Duan Z G, Deng J J, *et al.* Ginsenoside Rh₄ inhibits colorectal cancer via the modulation of gut microbiota-mediated bile acid metabolism [J]. *J Adv Res*, 2025, 72:

- 37-52.
- [50] 李梦婷. FXR 通过 FAM98A 诱导铁死亡并调节 M1 巨噬细胞极化抑制结肠炎相关结肠癌的机制研究 [D]. 武汉: 武汉大学, 2024.
- [51] Chiang J Y L. Bile acid metabolism and signaling in liver disease and therapy [J]. *Liver Res*, 2017, 1(1): 3-9.
- [52] Gallo C, Barra G, Saponaro M, *et al.* A new bioassay platform design for the discovery of small molecules with anticancer immunotherapeutic activity [J]. *Mar Drugs*, 2020, 18(12): 604.
- [53] Campbell C, McKenney P T, Konstantinovsky D, *et al.* Bacterial metabolism of bile acids promotes generation of peripheral regulatory T cells [J]. *Nature*, 2020, 581(7809): 475-479.
- [54] Modica S, Gofflot F, Murzilli S, *et al.* The intestinal nuclear receptor signature with epithelial localization patterns and expression modulation in tumors [J]. *Gastroenterology*, 2010, 138(2): 636-648.
- [55] Coussens L M, Werb Z. Inflammation and cancer [J]. *Nature*, 2002, 420(6917): 860-867.
- [56] Nawaz A, Aminuddin A, Kado T, *et al.* CD206⁺ M2-like macrophages regulate systemic glucose metabolism by inhibiting proliferation of adipocyte progenitors [J]. *Nat Commun*, 2017, 8(1): 286.
- [57] Lança T, Ungerbäck J, Da Silva C, *et al.* IRF8 deficiency induces the transcriptional, functional, and epigenetic reprogramming of cDC1 into the cDC2 lineage [J]. *Immunity*, 2022, 55(8): 1431-1447.
- [58] Castelo-Branco C, Soveral I. The immune system and aging: A review [J]. *Gynecol Endocrinol*, 2014, 30(1): 16-22.
- [59] 何玲, 刘喜平, 陈光顺, 等. 半夏泻心汤抑制巨噬细胞 M2 型极化增敏 PD-1 单抗治疗肝细胞癌 [J]. *中药药理与临床*, 2025, 41(4): 21-28.

[责任编辑 李亚楠]