

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2023.11.005

参苓白术散联合针刺对溃疡性结肠炎大鼠内质网应激、炎症反应的作用机制*

芦希艳¹ 李琦² 赵卫锋³ 董春燕⁴ 安琦^{5Δ}

(1 空军军医大学第二附属医院门诊部 陕西 西安 710038; 2 西安市中医医院中医科 陕西 西安 710016;

3 西安市中医医院针灸科 陕西 西安 710016; 4 空军军医大学第二附属医院康复医学科 陕西 西安 710038;

5 空军军医大学第二附属医院中医科 陕西 西安 710038)

摘要 目的:探讨参苓白术散联合针刺对溃疡性结肠炎大鼠内质网应激、炎症反应的作用机制。**方法:**采用三硝基苯磺酸的方法构建溃疡性结肠炎大鼠模型。给予大鼠参苓白术散联合针刺干预。采用 ELISA 法检测大鼠病变结肠的炎症反应和氧化应激水平;采用肉眼观察各组结肠组织形态学评分;采用 Western blot 检测大鼠内质网应激相关蛋白的表达。**结果:**与空白组相比,模型组、针刺组、参苓白术散、参苓白术散组联合针刺组大鼠体质量更低($P<0.05$);与模型组相比,针刺组、参苓白术散、参苓白术散组联合针刺组溃疡指数评分和大鼠体质量更低($P<0.05$),且参苓白术散组联合针刺组明显低于针刺组和参苓白术散组;与空白组相比,模型组、针刺组、参苓白术散、参苓白术散组联合针刺组 ROS、GSH-Px、MDA 更高($P<0.05$);与模型组相比,针刺组、参苓白术散、参苓白术散组联合针刺组 ROS、GSH-Px、MDA 更低($P<0.05$),且参苓白术散组联合针刺组明显低于针刺组和参苓白术散组;与空白组相比,模型组、针刺组、参苓白术散、参苓白术散组联合针刺组 TNF- α 、IL-1 β 、IL-18 更高($P<0.05$);与模型组相比,针刺组、参苓白术散、参苓白术散组联合针刺组 TNF- α 、IL-1 β 、IL-18 更低($P<0.05$),且参苓白术散组联合针刺组低于针刺组和参苓白术散组;与空白组相比,模型组、针刺组、参苓白术散、参苓白术散组联合针刺组 GRP78、p-PERK、p-eIF2 α 更高($P<0.05$);与模型组相比,针刺组、参苓白术散、参苓白术散组联合针刺组 GRP78、p-PERK、p-eIF2 α 更低($P<0.05$),且参苓白术散组联合针刺组明显低于针刺组和参苓白术散组。**结论:**参苓白术散组联合针刺可有效抑制溃疡性结肠炎大鼠内质网应激,进而抑制炎症反应和氧化应激反应,并促进溃疡性结肠炎大鼠病变病情转归。

关键词:参苓白术散;针刺;溃疡性结肠炎;内质网应激;炎症反应

中图分类号:R-33;R574.62 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2023)11-2025-05

Mechanism of ShenlingBaizhu Powder Combined with Acupuncture on Endoplasmic Reticulum Stress and Inflammation in Ulcerative Colitis Rats*

LU Xi-yan¹, LI Qi², ZHAO Wei-feng³, DONG Chun-yan⁴, AN Qi^{5Δ}

(1 Department of Outpatient, The Second Affiliated Hospital of Air Force Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710038, China;

2 Department of Chinese Medicine, Xi'an Hospital of Traditional Chinese Medicine, Xi'an, Shaanxi, 710016, China;

3 Department of Acupuncture, Xi'an Hospital of Traditional Chinese Medicine, Xi'an, Shaanxi, 710016, China;

4 Department of Rehabilitation Medicine, The Second Affiliated Hospital of Air Force Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710038, China;

5 Department of Traditional Chinese Medicine, The Second Affiliated Hospital of Air Force Medical University,

Xi'an, Shaanxi, 710038, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the mechanism of ShenlingBaizhu Powder combined with acupuncture on endoplasmic reticulum stress and inflammation in ulcerative colitis rats. **Methods:** The rat model of ulcerative colitis was established by trinitrobenzene sulfonic acid method. The rats were treated with Shenling Baizhu Powder combined with acupuncture. The levels of inflammation and oxidative stress in the diseased colon of rats were detected by ELISA. The colonic histomorphological scores of each group were observed by naked eye. Western blot was used to detect the expression of endoplasmic reticulum stress related proteins. **Results:** Compared with blank group, the body weight of rats in model group, acupuncture group, Shenling Baizhu SAN group and Shenling Baizhu SAN combined acupuncture group were lower ($P<0.05$). Compared with model group, the ulcer index score and body weight of rats in acupuncture group, Shenling Baizhu SAN group and Shenling Baizhu SAN combined with acupuncture group were lower ($P<0.05$), and Shenling Baizhu SAN combined with acupuncture group was lower than acupuncture group and Shenling Baizhu SAN group ($P<0.05$). Compared with blank group, ROS, GSH-Px and MDA in model group, acupuncture group, Shenling Baizhu SAN group and Shenling Baizhu SAN combined with acupuncture group were higher ($P<0.05$). Compared with model group, ROS, GSH-Px and MDA of acupuncture group,

* 基金项目:2021 年陕西省教育厅重点科研计划项目(21JS011)

作者简介:芦希艳(1984-),女,本科,主治医师,研究方向:肿瘤疾病的中医药预防与治疗,E-mail:doctor_an12@163.com

Δ 通讯作者:安琦(1981-),女,硕士研究生,副主任医师,研究方向:消化系统疾病的中医药防治,E-mail:doctor_an12@163.com

(收稿日期:2022-11-11 接受日期:2022-12-06)

Shenling Baizhu SAN group and Shenling Baizhu SAN combined with acupuncture group were lower ($P<0.05$), and Shenling Baizhu SAN combined with acupuncture group was lower than acupuncture group and Shenling Baizhu SAN group. Compared with blank group, TNF- α , IL-1 β and IL-18 in model group, acupuncture group, ShenlingBaizhu SAN group and Shenling Baizhu SAN combined with acupuncture group were higher ($P<0.05$). Compared with model group, TNF- α , IL-1 β and IL-18 of acupuncture group, Shenling Baizhu SAN group and Shenling Baizhu SAN combined with acupuncture group were lower ($P<0.05$), and Shenling Baizhu SAN combined with acupuncture group was lower than acupuncture group and Shenling Baizhu SAN group. Compared with blank group, GRP78, P-PERK and P-EIF2 α in model group, acupuncture group, ShenlingBaizhu SAN group and Shenling Baizhu SAN combined acupuncture group were higher ($P<0.05$). Compared with model group, GRP78, P-PERK and P-EIF2 α were lower in acupuncture group, Shenling Baizhu SAN group and Shenling Baizhu SAN combined with acupuncture group ($P<0.05$), and Shenling Baizhu SAN combined with acupuncture group was lower than acupuncture group and Shenling Baizhu SAN group. **Conclusion:** Shenling Baizhu Powder group combined with acupuncture can effectively inhibit endoplasmic reticulum stress in ulcerative colitis rats, and then inhibit inflammation and oxidative stress, and promote the prognosis of ulcerative colitis rats.

Key words: Shenling Baizhu Powder; Acupuncture; Ulcerative colitis; Endoplasmic reticulum stress; The inflammatory response

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R574.62 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2023)11-2025-05

前言

溃疡性结肠炎(Ulcerative colitis, UC)是发于黏膜下层和结肠黏膜的慢性炎症性疾病,患者临床多表现为出血性腹泻^[1]。流行病学研究显示^[2],近来我国 UC 的发病率逐渐升高,且 UC 具有病情反复、迁延难愈的特点。随着 UC 的研究进入分子层面,炎症反应过度激活和结肠氧化应激水平升高被证实与 UC 的发生、发展密切相关^[3]。内质网作为细胞内最大的膜网络结构,其主要参与调节蛋白质的运输、组装、新生肽链的折叠等过程^[4]。近来有证据显示,UC 发生后内质网应激被显著激活,且内质网应激的激活是调控下游炎症反应和氧化应激的关键^[5]。故有观点认为,靶向抑制内质网应激可有效调节氧化应激和炎症反应进而促进 UC 病情转归^[6]。然而,现代医学尚缺乏针对 UC 内质网应激的靶向干预手段,那么针对性寻找更佳的治疗策略意义重大。中医将 UC 归于“肠癖”、“滞下”、“痢疾”等范畴。近来研究证实,针刺和参苓白术散组方在调节内质网应激和抑制炎症反应及氧化应激方面具有显著疗效^[7]。然而,针对 UC 的治疗采用针刺联合参苓白术散进行干预,是否可通过靶向调节内质网应激水平,进而控制炎症和氧化应激仍未见证据报道。基于此背景,本次课题拟通过构建 UC 大鼠模型,并给予参苓白术散联合针刺进行干预,以期明确联合治疗方案是否能通过调节内质网应激途径、改善氧化应激水平和抑制炎症反应,促进 UC 病情转归,进而为后续临床治疗开展和治疗方案的优化提供新思路。

1 材料与方法

1.1 研究对象

选取健康 SPF 级雄性 Wistar 大鼠, 体质量 $220 \text{ g} \pm 20 \text{ g}$, 8~10 周龄。动物购置后在标准环境下饲养,条件为:12 h/d,湿度 30%~60%,温度 $(23 \pm 5)^\circ\text{C}$,由大鼠选择自由进水。

1.2 药物

依据参苓白术散原方进行配伍,组方为:山药 15 g,桔梗 6 g,白扁豆 12 g,人参 15 g,砂仁 6 g,白术 15 g,莲子肉 9 g,茯苓 15 g,薏苡仁 9 g 和甘草 9 g。采用常规煎煮方法进行煎煮,煎煮完成后将药液滤出,并浓缩至 2.26 g/mL ,静置待药液自然冷却后置入 4°C 的冰箱备用。

1.3 分组和干预方法

采用随机数字表法 40 大鼠随机分为 5 组。空白对照组(8 只),模型组(8 只),参苓白术散组(8 只)、针刺组(8 只)、参苓白术散组联合针刺组(8 只)。

模型构建方法:大鼠适应性喂养 1 周后进行模型构建,首先将 50%等体积乙醇和 100 mg/kg 的三硝基苯磺酸混合后制备成 0.8 mL 的溶液,经石蜡油润滑后,对大鼠采用 7%水合氯醛进行麻醉,待麻醉起效后将药物推注至大鼠结肠部位,并灌入 0.5 mL 空气,注入操作完成后将大鼠头向下 45° 进行放置,待大鼠自然清醒。上述操作每周进行 1 次,连续进行 5 周。造模结束后通过观察大鼠结肠黏膜组织病理学变化情况对造模效果进行评估。在造模完成后进行治疗,治疗每日 1 次,连续进行 14 d。

参苓白术散:采用制备好的药液进行灌胃,每 200 g 大鼠给药 2 mL 。

针刺方法:选取“足三里”和“曲池”穴进行针刺。针刺前对大鼠进行麻醉,麻醉药物选取 3%戊巴比妥钠溶液进行麻醉,每次剂量为 37.5 mg/kg ,麻醉可维持 2 h。

1.4 观察指标

① 肉眼观察各组结肠组织形态学评分 干预结束后采用相同方法对大鼠进行麻醉,并采用脊柱脱臼法处死大鼠分离出结肠。沿肠系膜剪开并分离肠段,采用 PBS 对分离肠段进行清洗,清洗操作重复 2 次,完成后采用滤纸吸干。并参考下述标准对肠段进行肉眼评估^[8]:5 分:有直径 $>1 \text{ cm}$ 的溃疡,重度糜烂,水肿,黏膜充血;4 分:多处溃疡,高度糜烂,水肿,黏膜充血;3 分:单个溃疡,中度糜烂,水肿,黏膜充血;2 分:无溃疡,轻度糜烂,水肿,黏膜充血;1 分:未出现溃疡,水肿,黏膜充血;0 分:无损伤。

② 大鼠炎症指标的检测 大鼠经脊柱脱臼法处死后采集结肠组织 100 mg ,并滴入裂解液对采集组织进行裂解操作,待匀浆内无法观察到肉眼可见的固体时停止。并对匀浆离心 5 min ,离心条件为 1000 r/min ,温度为 4°C ,待离心完成后静置吸取上清,并在 -20°C 冰箱内保存。并在 Elisa 法检测 TNF- α 、IL-1 β 、IL-18 的表达水平。

③ 大鼠氧化应激指标的检测 剪取距离大鼠肛门处约

10 cm 处的结肠组织,预冷后采用相同方法进行冲洗,并吸干。再次采集 100 mg 结肠组织,以相同方法裂解并获取匀浆。在 4℃、12000 r/min 下离心 10 min,并参考 Elisa 试剂盒说明书在酶标仪上测定吸光度值,并使用 Excel 绘制标准曲线,并计算 ROS、GSH-Px、MDA 的表达水平。

④ Western blot 法检查内质网应激关键蛋白 GRP78、p-PERK 和 p-eIF2 α 的表达 首先提取结肠组织中总蛋白(提取液配置:V 组织裂解液:V 蛋白酶抑制剂=100:1),随后采用 BCA 法进行蛋白定量,并进行浓缩胶和分离胶的配置,配置操作完成后进行凝胶电泳(每孔滴入 40 μ g 蛋白),电泳操作完成后湿转到 PVDF 膜上,并进行封闭 2 h(环境为:5%脱脂奶粉),随后置于 4℃冰箱孵育过夜。次日采用 5%脱脂奶粉对一抗与二抗原液进行稀释(V 一抗原液:VTBST 溶液=1:1000)。取出样本后进行 1 h 复温,并采用 TBST 进行洗涤,每次 10 min,共洗 3 次。再次在室温下进行 1 h 孵育,并再次进行洗涤,15 min

每次,共 3 次。随后采用 ECL 化学发光法显色,并分析条带灰度值(软件为:Image J),计算 GRP78、p-PERK 和 p-eIF2 α 蛋白的相对表达水平。

1.5 统计学方法

本研究所得数据结果采用 SPSS 22.0 进行处理和分析,计量资料以(均数 $\pm$ 标准差)表示,多组间比较采用单因素方差分析进行检验,两组间比较采用 t 检验,检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 各组小鼠溃疡指数和出血点数比较

与空白组相比,模型组、针刺组、参苓白术散、参苓白术散组联合针刺组大鼠体重质量更低($P<0.05$);干预后 7 d 和 14 d 与模型组相比,针刺组、参苓白术散、参苓白术散组联合针刺组溃疡指数评分和大鼠体重质量更低($P<0.05$),且参苓白术散组联合针刺组低于针刺组和参苓白术散组,详情见表 1。

表 1 溃疡指数和出血点数比较(均数 $\pm$ 标准差)

Table 1 Comparison of ulcer index and bleeding points (mean $\pm$ standard deviation)

Groups	n	Score	Rat body mass (g)		
			Intervention 1 d	Intervention 7 d	Intervention 14 d
Blank control group	8	-	230.12 $\pm$ 12.21	250.12 $\pm$ 11.32	298.54 $\pm$ 10.23
Model group	8	3.87 $\pm$ 0.12	223.52 $\pm$ 11.54	225.54 $\pm$ 10.21	246.54 $\pm$ 10.21
Acupuncture group	8	2.32 $\pm$ 0.13 ^b	228.64 $\pm$ 10.24 ^{ab}	241.54 $\pm$ 10.54 ^{ab}	265.54 $\pm$ 9.54 ^{ab}
Shenling Baizhu SAN group	8	2.12 $\pm$ 0.14 ^b	227.54 $\pm$ 11.32 ^{ab}	243.65 $\pm$ 11.23 ^{ab}	271.23 $\pm$ 10.54 ^{ab}
Shenling Baizhu SAN combined with acupuncture group	8	1.25 $\pm$ 0.11 ^{bc}	228.65 $\pm$ 11.02 ^{abc}	249.54 $\pm$ 12.65 ^{abc}	279.56 $\pm$ 11.23 ^{abc}
F/P	-	483.836/ <0.001	0.395/ >0.05	6.299/ <0.001	6.299/ <0.001

Note: Compared with Blank control group, ^a $P<0.05$; Compared with Model group, ^b $P<0.05$; Compared with Acupuncture group Shenling and Baizhu SAN group, ^c $P<0.05$, the same below.

2.2 各组大鼠结肠组织中氧化应激指标含量比较

与空白组相比,模型组、针刺组、参苓白术散、参苓白术散组联合针刺组 ROS、GSH-Px、MDA 更高($P<0.05$);与模型组

相比,针刺组、参苓白术散、参苓白术散组联合针刺组 ROS、GSH-Px、MDA 更低($P<0.05$),且参苓白术散组联合针刺组低于针刺组和参苓白术散组,详情见表 2。

表 2 氧化应激指标含量比较(均数 $\pm$ 标准差)

Table 2 Comparison of oxidative stress index content (mean $\pm$ standard deviation)

Groups	n	ROS(U/mL)	GSH-Px(U/mL)	MDA(μ mol/L)
Blank control group	8	135.64 $\pm$ 7.12	142.65 $\pm$ 5.85	13.54 $\pm$ 1.54
Model group	8	235.54 $\pm$ 6.32 ^a	195.64 $\pm$ 4.35 ^a	19.54 $\pm$ 2.32 ^a
Acupuncture group	8	197.64 $\pm$ 7.21 ^{ab}	172.54 $\pm$ 10.32 ^{ab}	16.21 $\pm$ 3.64 ^{ab}
Shenling Baizhu SAN group	8	185.64 $\pm$ 6.32 ^{ab}	176.57 $\pm$ 10.56 ^{ab}	15.65 $\pm$ 3.12 ^{ab}
Shenling Baizhu SAN combined with acupuncture group	8	163.57 $\pm$ 8.57 ^{abc}	158.54 $\pm$ 5.31 ^{abc}	14.98 $\pm$ 4.32 ^{abc}
F/P		218.759/ <0.001	52.936/ <0.001	4.018/ <0.001

2.3 各组大鼠结肠组织中炎症因子比较

与空白组相比,模型组、针刺组、参苓白术散、参苓白术散组联合针刺组 TNF- α 、IL-1 β 、IL-18 更高($P<0.05$);与模型组相比,针刺组、参苓白术散、参苓白术散组联合针刺组 TNF- α 、IL-1 β 、IL-18 更低($P<0.05$),且参苓白术散组联合针刺组低于

针刺组和参苓白术散组,详情见表 3。

2.4 各组大鼠结肠组织中内质网应激相关蛋白的表达情况

与空白组相比,模型组、针刺组、参苓白术散、参苓白术散组联合针刺组 GRP78、p-PERK、p-eIF2 α 更高($P<0.05$);与模型组相比,针刺组、参苓白术散、参苓白术散组联合针刺组

GRP78、p-PERK、p-eIF2 α 更低($P<0.05$),且参苓白术散组联合 针刺组低于针刺组和参苓白术散组,详情见表 4。

表 3 炎症因子比较(均数 $\pm$ 标准差)

Table 3 Comparison of inflammatory cytokines (mean $\pm$ standard deviation)

Groups	n	TNF- α (ng/L)	IL-1 β (pg/mL)	IL-18/(pg/mL)
Blank control group	8	119.54 $\pm$ 13.25	22.85 $\pm$ 2.54	86.75 $\pm$ 12.35
Model group	8	210.21 $\pm$ 10.23 ^a	134.64 $\pm$ 8.54 ^a	265.45 $\pm$ 9.54 ^a
Acupuncture group	8	176.54 $\pm$ 11.21 ^{ab}	88.56 $\pm$ 6.13 ^{ab}	158.64 $\pm$ 9.57 ^{ab}
Shenling Baizhu SAN group	8	164.56 $\pm$ 10.23 ^{ab}	76.55 $\pm$ 6.31 ^{ab}	145.67 $\pm$ 10.12 ^{ab}
Shenling Baizhu SAN combined with acupuncture group	8	135.54 $\pm$ 11.23 ^{abc}	41.55 $\pm$ 6.23 ^{abc}	106.45 $\pm$ 10.23 ^{abc}
F/P		79.205/ <0.001	386.432/ <0.001	356.188/ <0.001

表 4 内质网应激相关蛋白的表达情况(均数 $\pm$ 标准差)

Table 4 Expression of ER stress-related proteins (mean $\pm$ standard deviation)

Groups	n	GRP78	p-PERK	p-eIF2 α
Blank control group	8	1.01 $\pm$ 0.12	1.03 $\pm$ 0.11	0.99 $\pm$ 0.12
Model group	8	6.37 $\pm$ 0.23 ^a	3.98 $\pm$ 0.15 ^a	4.97 $\pm$ 0.14 ^a
Acupuncture group	8	4.34 $\pm$ 0.15 ^{ab}	2.89 $\pm$ 0.21 ^{ab}	3.12 $\pm$ 0.25 ^{ab}
Shenling Baizhu SAN group	8	3.99 $\pm$ 0.31 ^{ab}	2.75 $\pm$ 0.18 ^{ab}	2.98 $\pm$ 0.31 ^{ab}
Shenling Baizhu SAN combined with acupuncture group	8	2.35 $\pm$ 0.15 ^{abc}	1.87 $\pm$ 0.14 ^{abc}	1.61 $\pm$ 0.24 ^{abc}
F/P		802.251/ <0.001	379.703/ <0.001	380.261/ <0.001

3 讨论

本研究参考文献^[9]方法采用 TNBS 灌肠法制备了 UC 大鼠模型,建模后观察到大鼠出现腹泻等症状进而判定本次模型构建成功。本次研究通过构建 UC 大鼠模型并采用不同方法干预后发现,参苓白术散联合针刺可有效促进 UC 大鼠病情转归,其机制是参苓白术散联合针刺治疗后可通过靶向调控内质网应激机制,进而抑制氧化应激反应和炎症反应,进而达到促进 UC 大鼠病情转归的目的。

UC 属常见炎症性肠病,机体炎症稳态的失衡是导致 UC 病情发生、发展的关键。巨噬细胞在炎症反应刺激下可被活化,并在结肠病变处募集且过量积累的巨噬细胞可分泌 TNF- α ,使 TNF- α 在结肠病变处过表达,进一步激活 NK- κ B 的表达^[10,11]。相关证据表明,靶向抑制 NK- κ B 的表达可减轻炎症性疾病的进展^[12]。一项动物实验发现^[13],靶向抑制 NK- κ B 和 TNF- α 的表达可抑制免疫炎症的过度激活进而缓解结肠的炎性损伤。研究证明,肠道固有免疫系统是针对细菌的第一道防线,而在 UC 的病情进展过程中肠道病原菌的过度积累扮演着尤为重要的角色。IL-1 β 、IL-18 作为参与 NLRP3 炎症小体介导的免疫-炎症机制中重要的桥梁,被证实免疫应答介导的炎症性肠病中发挥着尤为重要的作用^[14]。动物实验发现^[15],抑制 NLRP3 炎症小体的 caspase-1 的表达可靶向抑制下游 IL-1 β 、IL-18 的进而减轻结肠炎的病情。此外有研究证实,NLRP3 炎症小体介导的 IL-1 β 、IL-18 表达还与肠道病原菌稳态有关,故 IL-1 β 、IL-18 被证实参与 UC 复杂的疾病调控^[16]。ROS、GSH-Px、MDA 是反应机体氧化应激水平的重要血清标志物。ROS 主要由线粒体的有氧呼吸

产生,是一种具有自由基的活性分子^[17]。结肠部位 ROS 的过度积累可导致结肠上皮细胞膜通透性使细胞内炎症水平升高进而诱导凋亡发生^[18]。MDA 是组织和细胞氧化损伤的标志物,可反应细胞氧化应激损伤水平^[19]。研究证实^[20],氧化应激的过度激活可导致上皮细胞凋亡,而结肠部位上皮细胞凋亡可破坏肠道屏障完整性,使病原微生物向肠黏膜固有层中入侵,入侵的病原微生物可进一步激活病变处炎症级联反应进而促进病情进展。本次研究结果显示,UC 大鼠氧化应激和炎症反应被过度激活,采用参苓白术散联合针刺干预可有效抑制 UC 大鼠的氧化应激和炎症反应。施丽薇等^[21]研究发现,溃疡性结肠炎大鼠采用针刺干预,可有效抑制炎性细胞分泌,进而缓解病情。吴阳阳等^[22]证实,针刺可影响 UC 大鼠氧化应激水平,进而发挥缓解病情进展的目的。窦丹等^[23]采用网络药理学分析发现,参苓白术散可通过调控炎症反应和氧化应激等多条信号通路的表达进而发挥缓解 UC 病情的作用。

本文进一步结果显示,UC 大鼠的内质网应激被显著激活,采用参苓白术散联合针刺干预可有效抑制 UC 大鼠的内质网应激反应。未折叠蛋白反应(UPR)是内质网应激重要的机制之一,GRP78 是介导 UPR 过程的关键内质网腔内分子伴侣,p-PERK 和 p-eIF2 α 是 UPR 信号传导过程中最先被激活的信号通路^[24,25]。采用参苓白术散联合针刺干预后可显著抑制 GRP78、p-PERK 和 p-eIF2 α 的表达,进而减轻内质网应激。这与袁爱红^[26]和孙一萍^[27]等研究基本一致,其研究发现针刺可有效抑制内质网应激。此外本次研究新发现联合参苓白术散进行干预后可有效增强对内质网应激的抑制作用。总之内质网作为细胞内重要的膜网络结构,在 UC 起病后内质网应激水平升

高,且可靶向调控结肠病变处炎症反应和氧化应激反应,进而加剧结肠病变^[28,29]。采用参苓白术散联合针刺干预后,组方中活性成分联合穴位刺激可有效抑制内质网应激,进而对下游炎症反应和氧化应激反应发挥靶向抑制作用,最终达到促进病情转归的目的^[30]。

综上,氧化应激和炎症级联反应的激活是促进溃疡性结肠炎大鼠病变进行发展的核心靶点,内质网应激的激活是调控氧化应激和炎症级联反应的重要靶点,采用参苓白术散联合针刺干预可有效靶向干预内质网应激,进而抑制氧化应激和炎症级联反应,最终达到促进结肠病变病情转归的目的。

参考文献(References)

- [1] Ungaro R, Mehandru S, Allen PB, et al. Ulcerative colitis [J]. *Lancet*, 2017, 389(10080): 1756-1770
- [2] Du L, Ha C. Epidemiology and Pathogenesis of Ulcerative Colitis[J]. *Gastroenterol Clin North Am*, 2020, 49(4): 643-654
- [3] Feuerstein JD, Moss AC, Farraye FA. Ulcerative Colitis [J]. *Mayo Clin Proc*, 2019, 94(7): 1357-1373
- [4] Ren MT, Gu ML, Zhou XX, et al. Sirtuin 1 alleviates endoplasmic reticulum stress-mediated apoptosis of intestinal epithelial cells in ulcerative colitis[J]. *World J Gastroenterol*, 2019, 25(38): 5800-5813
- [5] Rodrigues BL, Dotti I, Pascoal LB, et al. Endoplasmic Reticulum Stress in Colonic Mucosa of Ulcerative Colitis Patients Is Mediated by PERK and IRE1 Pathway Activations [J]. *Mediators Inflamm*, 2022, 6(1): 6049500
- [6] Chen Q, Fang X, Yao N, et al. Suppression of miR-330-3p alleviates DSS-induced ulcerative colitis and apoptosis by upregulating the endoplasmic reticulum stress components XBP1s[J]. *Hereditas*, 2020, 157(1): 18
- [7] 胡涛, 马军, 蔡敬宙, 等. 参苓白术散对慢性阻塞性肺疾病稳定期脾两虚患者运动耐力及氧化应激水平的影响 [J]. *时珍国医国药*, 2019, 30(1): 75-78
- [8] 王欢, 朱莹. 穴位埋线对溃疡性结肠炎大鼠肠黏膜上皮紧密连接的影响[J]. *中国针灸*, 2021, 19(20): 96-101
- [9] Hu LH, Liu JY, Yin JB. Eriodictyol attenuates TNBS-induced ulcerative colitis through repressing TLR4/NF- κ B signaling pathway in rats[J]. *Kaohsiung J Med Sci*, 2021, 37(9): 812-818
- [10] Oliveira RG, Damazo AS, Antonielli LF, et al. Dilodendron bipinnatum Radlk. extract alleviates ulcerative colitis induced by TNBS in rats by reducing inflammatory cell infiltration, TNF- α and IL-1 β concentrations, IL-17 and COX-2 expressions, supporting mucus production and promotes an antioxidant effects [J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 269(11): 113735
- [11] Wang C, Li W, Wang H, et al. *Saccharomyces boulardii* alleviates ulcerative colitis carcinogenesis in mice by reducing TNF- α and IL-6 levels and functions and by rebalancing intestinal microbiotas [J]. *BMC Microbiol*, 2019, 19(1): 246
- [12] Dinallo V, Marafini I, Di Fusco D, et al. Neutrophil Extracellular Traps Sustain Inflammatory Signals in Ulcerative Colitis [J]. *J Crohns Colitis*, 2019, 13(6): 772-784
- [13] Murphy SF, Rhee L, Grimm WA, et al. Intestinal epithelial expression of TNFAIP3 results in microbial invasion of the inner mucus layer and induces colitis in IL-10-deficient mice [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2014, 307(9): G871-82
- [14] Lv Q, Xing Y, Liu J, et al. Lonicerin targets EZH2 to alleviate ulcerative colitis by autophagy-mediated NLRP3 inflammasome inactivations[J]. *Acta Pharm Sin B*, 2021, 11(9): 2880-2899
- [15] Wei YY, Fan YM, Ga Y, et al. Shaoyao decoction attenuates DSS-induced ulcerative colitis, macrophage and NLRP3 inflammasome activation through the MKP1/NF- κ B pathways [J]. *Phytomedicine*, 2021, 92(18): 153743
- [16] Zhen Y, Zhang H. NLRP3 Inflammasome and Inflammatory Bowel Diseases[J]. *Front Immunol*, 2019, 10(2): 276
- [17] Elmaksoud HAA, Motawea MH, Desoky AA, et al. Hydroxytyrosol alleviate intestinal inflammation, oxidative stress and apoptosis resulted in ulcerative colitis [J]. *Biomed Pharmacother*, 2021, 142(15): 112073
- [18] Zhou M, Xu W, Wang J, et al. Boosting mTOR-dependent autophagy via upstream TLR4-MyD88-MAPK signalling and downstream NF- κ B pathway quenches intestinal inflammation and oxidative stress injuries[J]. *EBioMedicine*, 2018, 35(7): 345-360
- [19] Shen J, Cheng J, Zhu S, et al. Regulating effect of baicalin on IKK/I κ B/NF- κ B signaling pathway and apoptosis-related proteins in rats with ulcerative colitis [J]. *Int Immunopharmacol*, 2019, 73(14): 193-200
- [20] Bai X, Gou X, Cai P, et al. Sesamin Enhances Nrf2-Mediated Protective Defense against Oxidative Stress and Inflammation in Colitis via AKT and ERK Activations [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2019, 15(2): 2432416
- [21] 施丽薇, 顾晗, 刘明江, 等. 针刺对溃疡性结肠炎大鼠结肠炎性细胞因子及细胞凋亡的影响[J]. *针刺研究*, 2017, 42(1): 72-75
- [22] 吴阳阳, 刘明江, 殷韶杰, 等. 针刺对溃疡性结肠炎大鼠氧化应激和内质网应激的影响[J]. *针刺研究*, 2020, 45(1): 67-71
- [23] 窦丹, 刘迪, 贾元萍, 等. 基于网络药理学探讨参苓白术散 " 异病同治 " 慢性阻塞性肺疾病和溃疡性结肠炎作用机制 [J]. *辽宁中医药大学学报*, 2021, 18(20): 95-100
- [24] Feng K, Ge Y, Chen Z, et al. Curcumin Inhibits the PERK-eIF2 α -CHOP Pathway through Promoting SIRT1 Expression in Oxidative Stress-induced Rat Chondrocytes and Ameliorates Osteoarthritis Progression in a Rat Models[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2019, 15(1): 8574386
- [25] Hu H, Wang C, Jin Y, et al. Catalpol Inhibits Homocysteine-induced Oxidation and Inflammation via Inhibiting Nox4/NF- κ B and GRP78/PERK Pathways in Human Aorta Endothelial Cells [J]. *Inflammation*, 2019, 42(1): 64-80
- [26] 袁爱红, 查必祥, 吴吉萍, 等. 针刺对糖尿病大鼠胰腺内质网应激 PERK-CHOP 途径与 Bax/Bcl-2 基因表达的影响[J]. *中华中医药杂志*, 2017, 15(3): 95-100
- [27] 孙一萍, 李晓艳, 邵瑞洁, 等. 针刺对创伤后应激障碍大鼠海马内质网应激相关分子的影响[J]. *针刺研究*, 2022, 47(3): 16-23
- [28] Qiao D, Zhang Z, Zhang Y, et al. Regulation of Endoplasmic Reticulum Stress-Autophagy: A Potential Therapeutic Target for Ulcerative Colitis[J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12(2): 697360
- [29] Solà Tapias N, Denadai-Souza A, Rolland-Fourcade C, et al. Colitis Linked to Endoplasmic Reticulum Stress Induces Trypsin Activity Affecting Epithelial Functions [J]. *J Crohns Colitis*, 2021, 15(9): 1528-1541
- [30] Yin S, Li L, Tao Y, et al. The Inhibitory Effect of Artesunate on Excessive Endoplasmic Reticulum Stress Alleviates Experimental Colitis in Mice[J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12(5): 629798