

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2023.08.005
文章编号: 1005-8982 (2023) 08-0024-07

实验研究·论著

白术多糖基于Wnt/ β -catenin信号通路 治疗溃疡性结肠炎小鼠的实验研究*

陈泰宇¹, 唐学贵¹, 蒋小东², 唐诗宇³, 陈思敏⁴, 张智彬¹, 王秋晓⁵

(川北医学院附属医院 1. 中西医结合肛肠科, 2. 泌尿外科, 四川 南充 637002; 川北医学院
3. 临床医学院, 4. 肛肠疾病研究所 5. 中西医临床医学系, 四川 南充 637000)

摘要: **目的** 探究白术多糖基于Wnt/ β -catenin信号通路对溃疡性结肠炎(UC)小鼠的影响。**方法** 将40只小鼠随机分为对照组、模型组、西药组和白术多糖组, 每组10只。使用葡聚糖硫酸钠(DSS)诱导UC, 西药组、白术多糖组分别使用美沙拉嗪、白术多糖灌胃。记录小鼠体质量、小肠推进率及结肠组织病理学评分。Western blotting检测Wnt1、 β -catenin、C-MYC、细胞周期素D1(CyclinD1)蛋白的表达; ELISA检测血清肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-6(IL-6)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)、胃动素(MTL)、胃泌素(GAS)水平; 流式细胞术检测调节性T细胞(Treg)、辅助性T细胞1(Th1)、辅助性T细胞2(Th2)、辅助性T细胞17(Th17)细胞百分比。**结果** 4组小鼠实验前及实验第1、2、3周的体质量比较, 结果: ①不同时间点体质量有差异($F=7.442, P=0.001$); ②4组体质量有差异($F=35.614, P=0.000$), 对照组、西药组和白术多糖组体质量高于模型组; ③4组体质量变化趋势有差异($F=22.375, P=0.000$)。模型组组织病理学评分高于对照组、西药组和白术多糖组($P<0.05$), 小肠推进率低于对照组、西药组和白术多糖组($P<0.05$)。对照组Wnt1、 β -catenin、C-MYC、CyclinD1蛋白相对表达量、TNF- α 、IL-6、IL-1 β 水平及Th1、Th2、Th17细胞百分比低于模型组、西药组、白术多糖组($P<0.05$), MTL、GAS水平、Treg细胞百分比高于模型组、西药组和白术多糖组($P<0.05$); 模型组Wnt1、 β -catenin、C-MYC、CyclinD1蛋白相对表达量, TNF- α 、IL-6、IL-1 β 水平, Th1、Th2、Th17细胞百分比高于西药组、白术多糖组($P<0.05$), MTL、GAS水平及Treg细胞百分比低于西药组和白术多糖组($P<0.05$)。**结论** 白术多糖能够抑制DSS诱导的UC, 其机制可能是通过下调Wnt/ β -catenin信号通路, 调节免疫功能, 减轻炎症反应, 促进受损肠道黏膜修复实现的。

关键词: 溃疡性结肠炎; Wnt/ β -catenin信号通路; 白术多糖; 小鼠

中图分类号: R574.62

文献标识码: A

Rhizoma Atractylodes macrocephala polysaccharide acts on ulcerative colitis mice via Wnt/ β -catenin signaling pathway*

Chen Tai-yu¹, Tang Xue-gui¹, Jiang Xiao-dong², Tang Shi-yu³, Chen Si-min⁴, Zhang Zhi-bin¹, Wang Qiu-xiao⁵
(1. Anorectal Department of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, 2. Department of Urology, Affiliated Hospital of North Sichuan Medical College, Nanchong, Sichuan 637002, China;
3. Clinical Medical College, 4. Institute of Anorectal Diseases, 5. Department of Clinical Medicine of Traditional Chinese and Western Medicine, North Sichuan Medical College,
Nanchong, Sichuan 637000, China)

Abstract: Objective To investigate the effect of Rhizoma Atractylodes macrocephala polysaccharide on ulcerative colitis (UC) mice by highlighting the Wnt/ β -catenin signaling pathway. **Methods** Forty mice were

收稿日期: 2022-08-30

* 基金项目: 国家自然科学基金面上项目(No: 82074429); 南充市科技局市校科技战略合作专项(No: 22SXQT0076)

[通信作者] 唐学贵, E-mail: txg668nc@sohu.com; Tel: 18989183808

randomly divided into control group, model group, Western medicine group and Rhizoma Atractylodes macrocephala polysaccharide group, with 10 mice in each group. UC was induced by dextran sodium sulfate (DSS), and mesalazine and Rhizoma Atractylodes macrocephala polysaccharide were administered by gavage to mice in the Western medicine group and Rhizoma Atractylodes macrocephala polysaccharide group, respectively. The body mass, intestinal propulsion rate and colon histopathological score were recorded. The expressions of Wnt1, β -catenin, C-MYC and cyclin D1 were detected via Western blotting. Serum levels of tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-6 (IL-6), interleukin-1 β (IL-1 β), motilin (MTL), and gastrin (GAS) were determined via ELISA. The percentages of regulatory T cells (Treg), T helper 1 cells (Th1), T helper 2 cells (Th2), and T helper 17 cells (Th17) were detected. **Results** The body mass of mice in the four groups before and 1 week, 2 weeks and 3 weeks after the experiment were compared, and the results revealed that the body mass was different among the time points ($F = 7.442, P = 0.001$) and the groups ($F = 35.614, P = 0.000$), and that the body mass in the control group, Western medicine group and Rhizoma Atractylodes macrocephala polysaccharide group was higher than that in the model group. Besides, the change trends of the body mass were different among the four groups ($F = 22.375, P = 0.000$). The histopathological score of the model group was higher than that of the control group, the Western medicine group and the Rhizoma Atractylodes macrocephala polysaccharide group ($P < 0.05$), while the intestinal propulsion rate of the model group was lower than that of the control group, the Western medicine group and the Rhizoma Atractylodes macrocephala polysaccharide group ($P < 0.05$). The protein expressions of Wnt1, β -catenin, C-MYC and cyclin D1, serum levels of TNF- α , IL-6 and IL-1 β , and percentages of Th1, Th2 and Th17 cells in the control group were lower than those in the model group, Western medicine group and Rhizoma Atractylodes macrocephala polysaccharide group ($P < 0.05$), whereas the expression of MTL, the serum level of GAS, and the percentage of Treg cells in the control group were higher than those in the rest groups ($P < 0.05$). The relative protein expression of Wnt1, β -catenin, C-MYC and cyclin D1, serum levels of TNF- α , IL-6 and IL-1 β , and percentages of Th1, Th2 and Th17 cells in the model group were higher than those in the Western medicine group and Rhizoma Atractylodes macrocephala polysaccharide group ($P < 0.05$), while the expression of MTL, the serum level of GAS, and the percentage of Treg cells in the model group were lower compared with the Western medicine group and Rhizoma Atractylodes macrocephala polysaccharide group ($P < 0.05$). **Conclusions** Rhizoma Atractylodes macrocephala polysaccharide can inhibit DSS-induced UC, which may be achieved through down-regulating the Wnt/ β -catenin signaling pathway to modulate immune function, mitigate inflammation, and promote the repair of damaged intestinal mucosa.

Keywords: ulcerative colitis; Wnt/ β -catenin signaling pathway; Rhizoma Atractylodes macrocephala polysaccharide; mice

溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 是一种非特异性炎症性肠病, 主要有腹痛、腹泻、里急后重、血便等症状, 目前病因未明且无特效疗法^[1]。手术切除、激素疗法、免疫抑制法等均为 UC 的治疗手段, 但临床实践表明这些方法效果有限, 难以根治 UC, 并且部分药物可导致严重副作用, 如柳氮磺胺吡啶可能引起溶血性贫血、厌食、呕吐等^[2-3]。随着枸杞多糖、黄芪多糖、白芨多糖等中药多糖在 UC 中的应用, 白术多糖的价值也逐渐受到关注^[4-5]。白术性甘、苦、温, 归脾、胃经, 常与其他中药材配伍作为补益中药, 广泛用于消化系统疾病、关节炎、水潴留等领域^[6-7]。白术多糖是其主要活性成分, 也是白术药效的重要来源^[8]。目前与白术多糖相关的研究多集中于 Toll 样受体 4 (Toll like receptor 4, TLR4)/核因子- κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 信号通路, 基于 Wnt/ β -catenin 信号通路的研究较少^[9-10]。本研究通

过复制 UC 小鼠模型, 基于 Wnt/ β -catenin 信号通路研究白术多糖治疗 UC 小鼠的作用机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 40 只小鼠购自川北医学院动物实验中心, 雌雄各半, 周龄 6~8 周, 平均 (7.12 \pm 0.65) 周; 体质量 18~24 g, 平均 (21.53 \pm 1.98) g。在实验动物中心饲养, 光照时间 6:30~18:30, 温度 23~25 $^{\circ}$ C, 相对湿度 35%~45%, 无特定病原体环境喂养。饲养过程严格遵循国家实验动物管理条例制定的标准, 本研究已获得本学院实验动物伦理委员会批准。实验动物生产许可证号: SCXK(川)2018-18, 实验动物使用许可证号: SYXK(川)2018-076。

1.1.2 主要药物、试剂及饲料 ①主要药物: 白术多糖 (纯度: 99%, 陕西斯诺特生物技术有限公司) 置

于干燥通风、阴凉防蛀、避强光的环境下保存待用,美沙拉嗪(纯度:99%,武汉欣欣佳丽生物科技有限公司),葡聚糖硫酸钠盐(dextran sodium sulfate, DSS)(纯度:98%,武汉维斯尔曼生物工程有限公司)置于避光、干燥处密封保存,羧甲基纤维素钠(carboxymethylcellulose sodium, CMC-Na)(纯度:99%,山东骄阳生物科技有限公司)。^②主要试剂:肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素-6(Interleukin-6, IL-6)、白细胞介素-1 β (Interleukin-1 β , IL-1 β)、胃动素(Motilin, MTL)、胃泌素(Gastrin, GAS)酶联免疫吸附试验(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)试剂盒购自上海菀试生物技术有限公司,红细胞裂解液(上海华雅思创生物科技有限公司),CD3、CD4、CD8抗体(上海信裕伊赫生物科技有限公司),CD4、CD25表面抗体(上海研生实业有限公司),磷酸盐缓冲液(phosphate buffer solution, PBS)(北京百奥莱博科技有限公司),Wnt1、C-MYC、CyclinD1、 β -catenin抗体(上海户实医药科技有限公司)。^③高铁饲料购自北京华阜康生物公司。

1.1.3 主要仪器 电热恒温培养箱(型号:303-1AB,济南创日新仪器设备有限公司),全自动洗板机(型号:BK-9622,济南欧莱博科学仪器有限公司),高速离心机(型号:TGL-16E,济南欧莱博科学仪器有限公司),酶标仪(型号:HBS-ScanY,南京德铁实验设备有限公司),流式细胞仪(型号:Cytek & trade,北京赛泰克生物科技有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 UC小鼠模型的复制及给药 实验开始前对所有小鼠进行称重和标记,40只小鼠随机分为对照组、模型组、西药组、白术多糖组,各10只。实验时间3周,期间饮水为无菌水或DSS,饲料为高铁饲料。对照组3周内饮用无菌水;模型组、西药组、白术多糖组首日饮水含1% DSS,每2天更换1次,第8天后更换为无菌水,下1周继续按照上述步骤喂养小鼠。最后1周4组小鼠灌胃,对照组和模型组小鼠每天使用0.5% CMC-Na 0.2 mL灌胃,西药组每天将20~30 mg/kg美沙拉嗪溶于0.2 mL 0.5% CMC-Na并灌胃,白术多糖组每天将8 mg/mL白术多糖溶于0.2 mL 0.5% CMC-Na并灌胃。研究期间每日对小鼠称重,并观察小鼠的粪便、活动等情况。

1.2.2 小肠推进率检测 小鼠安乐死后,摘取小

肠,使用生理盐水浸润小肠,在不施加外力牵引的情况下将小肠平铺在平板上,依次测量幽门括约肌至盲肠、色素最前端的距离,小肠推进率=小肠内色素推进距离/小肠总长度 \times 100%。

1.2.3 苏木精-伊红(hematoxylin-eosin, HE)染色观察病理组织学变化 结肠组织切片后行HE染色,使用显微镜观察并对结肠组织损伤程度评分,组织病理学评分包含隐窝损伤程度、炎症深度、炎症程度和炎症范围。^①隐窝损伤程度:全部隐窝及上皮破坏计4分,隐窝消失、仅表面上皮完整计3分,基底的2/3隐窝受损计2分,基底的1/3隐窝受损计1分,无损伤计0分。^②炎症深度:炎症达到浆膜层和黏膜、黏膜下层、黏膜或无分别计3、2、1、0分。^③炎症程度:重度、中度、轻度炎症或无分别计3、2、1、0分。^④炎症范围:>75%~100%计4分,>50%~75%计3分,>25%~50%计2分,>0%~25%计1分,0%计0分。组织病理学评分的计算方法为前3项相加的总分乘以炎症范围对应评分,该评分总分为0~40分。

1.2.4 Western blotting 检测 Wnt1、 β -catenin、C-MYC、CyclinD1蛋白的表达 将摘取的小肠剪切成小块组织,匀浆,充分裂解,12 000 r/min离心10 min,取上清液。将5 \times 蛋白质凝胶电泳上样缓冲液加入蛋白上清液,充分混合均匀,95 $^{\circ}$ C环境变性10 min,80 V电压电泳。在60 V电压下转膜,加入TBST封闭液(含5%脱脂奶粉),室温摇床封闭1 h,使用封闭液稀释一抗,在一抗工作液中放入封闭后的膜,4 $^{\circ}$ C反应过夜,TBST洗涤10 min,共3次;加入二抗工作液中,在避光、室温环境下孵育60 min,TBST洗涤10 min,共3次。使用电化学发光法显影、洗片,采用Image J软件分析灰度值。

1.2.5 ELISA检测血清学指标 严格遵循试剂盒说明书步骤,使用ELISA检测血清TNF- α 、IL-6、IL-1 β 、MTL、GAS水平。

1.2.6 流式细胞术检测 Treg、Th1、Th2、Th17细胞百分比 采集小鼠腹主动脉血2 mL,静置30 min,采用流式细胞术,以细胞核内染色法检测Treg细胞比例,以胞内染色法检测Th1、Th2、Th17细胞比例。

1.3 统计学方法

数据分析采用SPSS 24.0统计软件。计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,比较用单因素方差分析或重复测量设计的方差分析,进一步两两比较用LSD- t 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 4组小鼠不同时点的体质量的变化

对照组、模型组、西药组、白术多糖组小鼠实验前及实验第 1、2、3 周的体质量比较, 采用重复测量设计的方差分析, 结果: ①不同时间点体质量有差异 ($F=7.442, P=0.001$); ②4 组体质量有差异 ($F=35.614, P=0.000$), 实验第 1、2、3 周对照组、西药组和白术多糖组体质量高于模型组; ③4 组体质量变化趋势有差异 ($F=22.375, P=0.000$)。见表 1。

表 1 4 组小鼠不同时点的体质量比较 ($n=10, g, \bar{x} \pm s$)

组别	实验前	实验第 1 周	实验第 2 周	实验第 3 周
对照组	20.19 ± 1.74	21.58 ± 1.38 [†]	22.57 ± 1.62 [†]	23.86 ± 1.59 [†]
模型组	21.25 ± 1.82	20.21 ± 1.34	19.42 ± 1.18	18.26 ± 1.44
西药组	20.45 ± 1.96	21.74 ± 1.56 [†]	22.26 ± 1.48 [†]	22.65 ± 1.09 [†]
白术多糖组	20.63 ± 1.72	21.68 ± 1.35 [†]	22.43 ± 1.82 [†]	23.12 ± 1.17 [†]

注: †与模型组比较, $P<0.05$ 。

2.2 4组小鼠组织病理学评分及小肠推进率比较

对照组、模型组、西药组、白术多糖组小鼠组织病理学评分及小肠推进率比较, 经方差分析, 差异均有统计学意义 ($P<0.05$)。模型组组织病理学评

分高于对照组、西药组和白术多糖组 ($P<0.05$), 小肠推进率低于对照组、西药组和白术多糖组 ($P<0.05$); 对照组、西药组、白术多糖组组织病理学评分及小肠推进率比较, 差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。见表 2。

表 2 4 组小鼠组织病理学评分及小肠推进率比较 ($n=10, \bar{x} \pm s$)

组别	组织病理学评分	小肠推进率/%
对照组	1.19 ± 0.36 [†]	61.25 ± 7.59 [†]
模型组	12.39 ± 4.12	44.23 ± 6.74
西药组	1.32 ± 0.29 [†]	59.17 ± 7.58 [†]
白术多糖组	1.44 ± 0.43 [†]	58.66 ± 5.42 [†]
F 值	70.604	12.858
P 值	0.000	0.000

注: †与模型组比较, $P<0.05$ 。

HE 染色结果显示, 对照组小鼠结肠黏膜完整, 腺体和上皮细胞排列整齐; 模型组小鼠结肠黏膜被破坏, 杯状细胞减少, 腺体排列不整齐, 固有层存在大量炎症细胞浸润; 西药组和白术多糖组小鼠结肠黏膜破坏情况与模型组相比较轻, 杯状细胞轻微减少, 炎症细胞浸润程度较轻。见图 1。

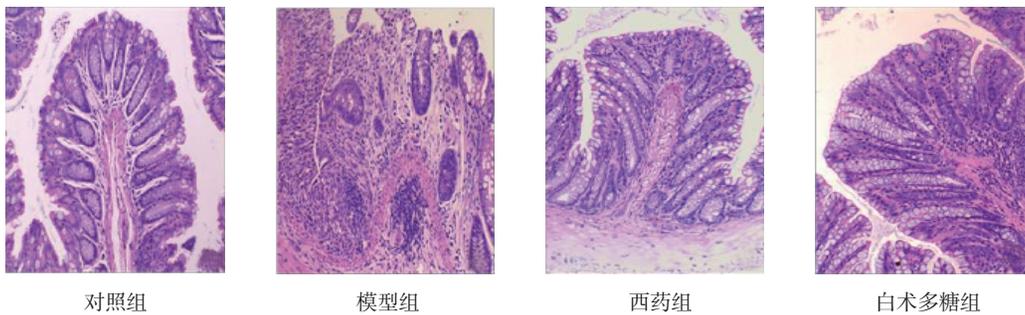


图 1 4 组小鼠结肠组织病理变化 (HE 染色 × 200)

2.3 4组小鼠 Wnt1、 β -catenin、C-MYC、CyclinD1 蛋白相对表达量比较

各组小鼠 Wnt1、 β -catenin、C-MYC、CyclinD1 蛋白相对表达量比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 ($P<0.05$)。对照组 Wnt1、 β -catenin、C-MYC、CyclinD1 蛋白相对表达量低于模型组、西药组、白术多糖组 ($P<0.05$); 模型组 Wnt1、 β -catenin、C-MYC、CyclinD1 蛋白相对表达量高于西药组、白术多糖组 ($P<0.05$); 西药组与白术多糖组 Wnt1、 β -catenin、C-MYC、CyclinD1 蛋白相对表达量比较, 差异均无统计

学意义 ($P>0.05$)。见表 3 和图 2。

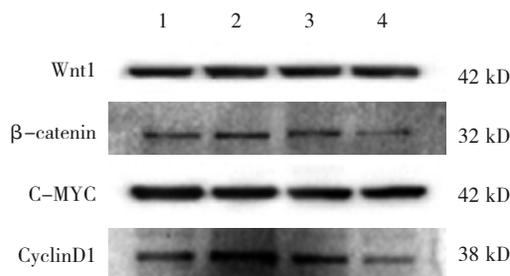
2.4 4组小鼠炎症因子水平比较

各组小鼠血清 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 水平比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 ($P<0.05$)。对照组 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 水平低于模型组、西药组和白术多糖组 ($P<0.05$); 模型组 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 水平高于西药组和白术多糖组 ($P<0.05$); 西药组与白术多糖组 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 水平比较, 差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。见表 4。

表 3 4 组小鼠 Wnt1、β-catenin、C-MYC、CyclinD1 蛋白相对表达量比较 (n=10, $\bar{x} \pm s$)

组别	Wnt1	β-catenin	C-MYC	Cyclin D1
对照组	0.42 ± 0.03	0.29 ± 0.04	0.45 ± 0.12	0.21 ± 0.06
模型组	1.26 ± 0.23 ^①	1.31 ± 0.18 ^①	1.24 ± 0.22 ^①	0.78 ± 0.11 ^①
西药组	0.61 ± 0.09 ^{①②}	0.54 ± 0.12 ^{①②}	0.64 ± 0.17 ^{①②}	0.44 ± 0.08 ^{①②}
白术多糖组	0.55 ± 0.14 ^{①②}	0.49 ± 0.15 ^{①②}	0.58 ± 0.15 ^{①②}	0.39 ± 0.09 ^{①②}
F 值	69.072	113.338	43.091	75.099
P 值	0.000	0.000	0.000	0.000

注：①与对照组比较, P<0.05; ②与模型组比较, P<0.05。



1: 对照组; 2: 模型组; 3: 西药组; 4: 白术多糖组。

图 2 4 组小鼠 Wnt1、β-catenin、C-MYC、Cyclin D1 凝胶电泳图

表 4 4 组小鼠炎症因子水平比较 (n=10, pg/mL, $\bar{x} \pm s$)

组别	TNF-α	IL-6	IL-1β
对照组	178.63 ± 14.82	34.26 ± 8.63	42.29 ± 6.73
模型组	384.29 ± 29.55 ^①	91.35 ± 11.27 ^①	88.62 ± 10.58 ^①
西药组	217.88 ± 20.36 ^{①②}	52.39 ± 7.62 ^{①②}	56.35 ± 8.12 ^{①②}
白术多糖组	208.36 ± 12.89 ^{①②}	48.17 ± 6.98 ^{①②}	51.06 ± 7.48 ^{①②}
F 值	206.063	77.654	58.532
P 值	0.000	0.000	0.000

注：①与对照组比较, P<0.05; ②与模型组比较, P<0.05。

2.5 4 组小鼠血清 MTL、GAS 水平比较

各组小鼠血清 MTL、GAS 水平比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 (P<0.05)。对照组 MTL、GAS 水平高于模型组、西药组和白术多糖组 (P<0.05);

模型组 MTL、GAS 水平低于西药组和白术多糖组 (P<0.05), 西药组与白术多糖组 MTL、GAS 水平比较, 差异均无统计学意义 (P>0.05)。见表 5。

表 5 4 组小鼠血清 MTL、GAS 水平比较 (n=10, pg/mL, $\bar{x} \pm s$)

组别	MTL	GAS
对照组	368.52 ± 49.37	87.26 ± 11.24
模型组	244.19 ± 36.25 ^①	52.17 ± 8.09 ^①
西药组	275.36 ± 42.17 ^{①②}	59.27 ± 7.45 ^{①②}
白术多糖组	285.27 ± 39.58 ^{①②}	63.16 ± 9.28 ^{①②}
F 值	15.888	27.813
P 值	0.000	0.000

注：①与对照组比较, P<0.05; ②与模型组比较, P<0.05。

2.6 4 组小鼠 Treg、Th1、Th2、Th17 细胞百分比比较

各组小鼠 Treg、Th1、Th2、Th17 细胞百分比比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 (P<0.05)。对照组 Treg 细胞百分比高于模型组、西药组和白术多糖组 (P<0.05), Th1、Th2、Th17 细胞百分比低于模型组、西药组和白术多糖组 (P<0.05); 模型组 Treg 细胞百分比低于西药组和白术多糖组 (P<0.05), Th1、Th2、Th17 细胞百分比高于西药组和白术多糖组 (P<0.05); 西药组与白术多糖组 Treg、Th1、Th2、Th17 细胞百分比比较, 差异无统计学意义 (P>0.05)。见表 6。

表 6 4 组小鼠 Treg、Th1、Th2、Th17 细胞百分比比较 (n=10, %, $\bar{x} \pm s$)

组别	Treg	Th1	Th2	Th17
对照组	4.85 ± 1.28	1.14 ± 0.32	3.26 ± 0.86	1.78 ± 0.59
模型组	1.79 ± 0.52 ^①	2.16 ± 0.62 ^①	6.85 ± 1.75 ^①	3.98 ± 0.83 ^①
西药组	3.74 ± 0.68 ^{①②}	1.59 ± 0.43 ^{①②}	4.56 ± 0.85 ^{①②}	2.32 ± 0.37 ^{①②}
白术多糖组	3.82 ± 0.73 ^{①②}	1.45 ± 0.27 ^{①②}	4.38 ± 0.72 ^{①②}	2.25 ± 0.52 ^{①②}
F 值	22.481	9.793	17.985	25.632
P 值	0.000	0.000	0.000	0.000

注：①与对照组比较, P<0.05; ②与模型组比较, P<0.05。

3 讨论

白术是聚科植物白术的干燥根茎,白术含有白术多糖、白术内酯、聚炔类化合物等成分,白术提取物有利于改善肠道菌群紊乱、减轻肠道痉挛,从而促进胃肠功能修复,此外在抑制脂质过氧化、下调炎症因子水平等方面也有较好的效果,因此白术常被用于治疗多种肠道炎症^[11-12]。白术同其他中药材配伍的多种化学制剂均有利于减轻UC症状,提示白术中的有效化学成分对治疗UC具有重要意义^[13-14]。目前,中药多糖在UC治疗中的应用越来越广泛,白术多糖既往在抗炎、免疫调节、抗肿瘤等方面表现出良好的药理价值^[15-16]。本研究旨在观察白术多糖基于Wnt/ β -catenin信号通路对UC小鼠的影响。

本研究通过复制UC小鼠模型,发现模型组UC小鼠Wnt1、 β -catenin、C-MYC、CyclinD1蛋白相对表达量明显升高,而白术多糖灌胃后Wnt1、 β -catenin、C-MYC、CyclinD1蛋白相对表达量明显降低,表明白术多糖对Wnt/ β -catenin信号通路有抑制作用,这一作用可能有利于防止UC恶变。 β -catenin的调控作用是影响Wnt的重要环节,如果不含Wnt配体,胞质 β -catenin可通过蛋白酶体降解的过程被去除,而激活Wnt受体后, β -catenin的破坏复合物受到明显抑制,确保胞质中 β -catenin逐渐积累,之后大量游离的 β -catenin向细胞核转移^[17-18]。在细胞核中, β -catenin与淋巴增强因子/T细胞因子家族转录因子结合,促使C-MYC、CyclinD1等靶基因表达,这些基因对于细胞的增殖和凋亡具有重要作用,能够诱导细胞发生炎症性、增生性甚至肿瘤性病变^[19-20]。Wnt信号通路能够驱动正常结肠黏膜上皮细胞周期更新,从而保护肠道黏膜屏障。若肠道出现炎症反应,TNF- α 等因子表达升高,同时肠道上皮中Wnt信号通路激活,促进上皮细胞增殖,修复损伤部位^[21-22]。虽然Wnt信号通路激活是黏膜上皮修复的重要前提,但由于UC患者肠上皮在慢性炎症的影响下出现多次受损和修复,这可能引起 β -catenin活性增强、上皮增生长期延长,导致UC相关结肠癌的发生、发展,因此防止UC患者Wnt信号通路过度激活有利于降低UC恶变的风险^[23-24]。

本研究中,使用白术多糖灌胃后,UC小鼠小肠推进率明显升高,MTL、GAS水平明显升高,提示白术多糖有利于修复肠黏膜屏障,改善肠道功能。模型

组UC小鼠MTL、GAS水平和小肠推进率较对照组明显降低,提示UC小鼠胃肠功能下降。作为脑肠肽激素,MTL有利于促进胃收缩和小肠分节运动,还有利于提高胃蛋白酶水平、促进胃液分泌,从而改善消化功能^[25]。HAN等^[26]研究显示,白术多糖有利于抑制血红素加氧酶-1等氧化应激诱导因子mRNA的表达,并抑制TNF- α 、IL-1 β 等炎症因子表达,从而减轻氧化应激和炎症反应对肠道造成的损伤。

本研究中,经白术多糖灌胃后,UC小鼠TNF- α 、IL-6、IL-1 β 水平明显降低,Treg细胞百分比明显升高,Th1、Th2、Th17细胞百分比明显降低,提示白术多糖能调节Th17/Treg平衡,减轻炎症反应。有研究显示,巨噬细胞膜上的Toll受体Dectin-1情况对巨噬细胞的活性具有决定作用,Dectin-1能够通过介导Wnt/ β -catenin信号通路的激活,降低巨噬细胞的促炎活性,从而下调TNF- α 、IL-1 β 等因子的表达^[27-28]。此外,Wnt信号通路还能调控T淋巴细胞亚群CD4⁺向Treg分化,抑制其向Th17方向分化,从而减轻Th17/Treg失衡引起的炎症反应^[29-30]。

综上所述,白术多糖治疗UC小鼠可能是通过下调Wnt/ β -catenin信号通路蛋白的表达,促进受损肠道黏膜修复,改善胃肠功能来实现;此外,Wnt信号通路还可通过抑制Th17分化、促进Treg分化以调节Th17/Treg平衡、减轻炎症反应。

参 考 文 献 :

- [1] KRUGLIAK CLEVELAND N, TORRES J, RUBIN D T. What does disease progression look like in ulcerative colitis, and how might it be prevented?[J]. *Gastroenterology*, 2022, 162(5): 1396-1408.
- [2] CABALLOL B, GUDIÑO V, PANES J, et al. Ulcerative colitis: shedding light on emerging agents and strategies in preclinical and early clinical development[J]. *Expert Opin Investig Drugs*, 2021, 30(9): 931-946.
- [3] SUN Y, ZHANG Z, ZHENG C Q, et al. Mucosal lesions of the upper gastrointestinal tract in patients with ulcerative colitis: a review[J]. *World J Gastroenterol*, 2021, 27(22): 2963-2978.
- [4] YAN X, LU Q G, ZENG L, et al. Synergistic protection of *Astragalus polysaccharides* and matrine against ulcerative colitis and associated lung injury in rats[J]. *World J Gastroenterol*, 2020, 26(1): 55-69.
- [5] 杨彬彬, 崔宁, 王世军. 基于Wnt/ β -catenin信号通路探讨黄芪多糖对脾虚湿困大鼠小肠黏膜损伤修复作用机制[J]. *南京中医药大学学报*, 2022, 38(1): 77-82.
- [6] RUQIAO L, YUELI C, XUELAN Z, et al. *Rhizoma atractylodis*

- macrocephalae: a review of photochemistry, pharmacokinetics and pharmacology[J]. *Pharmazie*, 2020, 75(2): 42-55.
- [7] 张世洋, 刘美辰, 唐飞, 等. 人参、白术有效组分群对慢性萎缩性胃炎大鼠口腔、肠道菌群的影响[J]. *中成药*, 2020, 42(1): 48-54.
- [8] MIAO Y F, GAO X N, XU D N, et al. Protective effect of the new prepared *Atractylodes macrocephala* koidz polysaccharide on fatty liver hemorrhagic syndrome in laying hens[J]. *Poult Sci*, 2021, 100(2): 938-948.
- [9] ZHENG Z J, WANG J Q. Bone marrow mesenchymal stem cells combined with *Atractylodes macrocephala* polysaccharide attenuate ulcerative colitis[J]. *Bioengineered*, 2022, 13(1): 824-833.
- [10] 李梅, 蒋锦梅, 欧大明, 等. 白术多糖对类风湿性关节炎大鼠的抗炎作用及TLR4/NF- κ B信号通路的影响[J]. *安徽医科大学学报*, 2022, 57(4): 552-557.
- [11] LI B X, LI W Y, TIAN Y B, et al. Polysaccharide of *Atractylodes macrocephala* koidz enhances cytokine secretion by stimulating the TLR4-MyD88-NF- κ B signaling pathway in the mouse spleen[J]. *J Med Food*, 2019, 22(9): 937-943.
- [12] 王海霞, 康显杰, 朱燕, 等. 基于网络药理学和分子对接技术探讨白术治疗溃疡性结肠炎的潜在分子机制[J]. *浙江中医药大学学报*, 2020, 44(9): 916-923.
- [13] 李姿慧, 蔡荣林, 孙娟, 等. 参苓白术散对溃疡性结肠炎脾虚湿困证大鼠结肠组织TLR2、MyD88、COX-2表达的影响[J]. *北京中医药大学学报*, 2021, 44(1): 45-53.
- [14] 徐洋洋, 蔡皓, 段煜, 等. 白术芍药散治疗溃疡性结肠炎研究进展[J]. *中国中药杂志*, 2017, 42(5): 856-862.
- [15] 宋艳, 何永恒, 杨芳, 等. 黄芪多糖通过激活脂联素信号通路减轻小鼠溃疡性结肠炎[J]. *中国病理生理杂志*, 2021, 37(2): 315-321.
- [16] 黎笑兰, 张新广, 尹少萍. 白芨多糖抑制溃疡性结肠炎大鼠炎症反应与氧化应激[J]. *基础医学与临床*, 2020, 40(2): 224-228.
- [17] DONG L N, WANG M, GUO J, et al. Influences of probiotics combined with sulfasalazine on rats with ulcerative colitis via the Wnt/ β -catenin signaling pathway[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23(14): 6371-6378.
- [18] QUANDT J, ARNOVITZ S, HAGHI L, et al. Wnt- β -catenin activation epigenetically reprograms T_{reg} cells in inflammatory bowel disease and dysplastic progression[J]. *Nat Immunol*, 2021, 22(4): 471-484.
- [19] 王姗姗, 徐月, 杨瑞勇. 基于Wnt/ β -catenin通路探讨针药联合治疗湿热型溃疡性结肠炎不典型增生的临床观察[J]. *中华中医药杂志*, 2019, 34(10): 4954-4956.
- [20] 夏国珍, 刘力, 梁艳妮, 等. 四神丸治疗溃疡性结肠炎分子机制研究进展[J]. *中国医药导报*, 2020, 17(33): 46-48.
- [21] AJAYI B O, ADEDARA I A, FAROMBI E O. Protective mechanisms of 6-gingerol in dextran sulfate sodium-induced chronic ulcerative colitis in mice[J]. *Hum Exp Toxicol*, 2018, 37(10): 1054-1068.
- [22] SUN X L, YAO L, LIANG H W, et al. Intestinal epithelial PKM2 serves as a safeguard against experimental colitis via activating β -catenin signaling[J]. *Mucosal Immunol*, 2019, 12(6): 1280-1290.
- [23] 刘鑫, 吴亚俐, 刘凯丽, 等. 白藜芦醇对小鼠溃疡性结肠炎的影响[J]. *中国应用生理学杂志*, 2019, 35(5): 447-453.
- [24] 朱凤, 范恒. miR-155通过Wnt/ β -catenin信号通路影响溃疡性结肠炎结肠组织E-cadherin及snail的表达[J]. *华中科技大学学报(医学版)*, 2019, 48(6): 631-636.
- [25] 李鸿泓, 于峥, 赵宏艳, 等. "脾肾相关"机理探讨补肾健脾方对脾胃两虚型骨质疏松症大鼠外周血中OPG、RANKL、VIP、MTL、GAS含量的影响[J]. *中国中医基础医学杂志*, 2014, 20(12): 1628-1631.
- [26] HAN K H, PARK J M, JEONG M, et al. Heme oxygenase-1 induction and anti-inflammatory actions of *Atractylodes macrocephala* and *Taraxacum herba* extracts prevented colitis and was more effective than sulfasalazine in preventing relapse[J]. *Gut Liver*, 2017, 11(5): 655-666.
- [27] 卡思木江·阿西木江, 库尔班乃木·卡合曼, 希林古丽·吾守尔, 等. 嗜酸乳杆菌与复方缓泻乐混悬剂灌胃对溃疡性结肠炎大鼠肠损伤的修复作用观察[J]. *山东医药*, 2021, 61(15): 15-20.
- [28] FUJITA M, MATSUBARA N, MATSUDA I, et al. Genomic landscape of colitis-associated cancer indicates the impact of chronic inflammation and its stratification by mutations in the Wnt signaling[J]. *Oncotarget*, 2018, 9(1): 969-981.
- [29] MAO J Y, CHEN X Q, WANG C S E, et al. Effects and mechanism of the bile acid (farnesoid X) receptor on the Wnt/ β -catenin signaling pathway in colon cancer[J]. *Oncol Lett*, 2020, 20(1): 337-345.
- [30] DONG Y L, FAN H, ZHANG Z, et al. Berberine ameliorates DSS-induced intestinal mucosal barrier dysfunction through microbiota-dependence and Wnt/ β -catenin pathway[J]. *Int J Biol Sci*, 2022, 18(4): 1381-1397.

(童颖丹 编辑)

本文引用格式: 陈泰宇, 唐学贵, 蒋小东, 等. 白术多糖基于Wnt/ β -catenin信号通路治疗溃疡性结肠炎小鼠的实验研究[J]. *中国现代医学杂志*, 2023, 33(8): 24-30.

Cite this article as: CHEN T Y, TANG X G, JIANG X D, et al. Rhizoma *Atractylodes macrocephala* polysaccharide acts on ulcerative colitis mice via Wnt/ β -catenin signaling pathway[J]. *China Journal of Modern Medicine*, 2023, 33(8): 24-30.