

【DOI】 10.3969 / j.issn.1671-6450.2024.02.020

论著 · 基础

姜黄素对 TNBS 诱导的大鼠结肠炎 IL-36 α 和 IL-36 γ 表达的影响

梁昌显, 吕晓丹, 范俊华, 李世权, 詹灵凌, 吕小平



基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81860104); 广西医疗卫生适宜技术开发与推广应用项目(S2018049); 广西壮族自治区卫生健康委员会自筹基金项目(Z20200398); 广西医科大学青年科学基金项目(GXMUYSF201913)

作者单位: 530021 南宁, 广西医科大学第一附属医院消化内科(梁昌显、范俊华、李世权、吕小平); 检验科(吕晓丹、詹灵凌)

通信作者: 吕小平, E-mail: 1612318241@qq.com

【摘要】 目的 研究姜黄素对三硝基苯磺酸(TNBS)诱导大鼠结肠炎 IL-36 α 和 IL-36 γ 表达的影响。方法 实验于 2022 年 5 月在广西医科大学医学实验动物中心进行。选取 40 只雄性 SD 大鼠随机分为正常对照组、模型组、姜黄素组、柳氮磺吡啶组, 每组 10 只。模型组、姜黄素组、柳氮磺吡啶组大鼠分别以 TNBS 乙醇溶液灌肠制备大鼠结肠炎模型, 正常对照组予等体积 0.9% 氯化钠溶液灌肠。姜黄素组、柳氮磺吡啶组自造模第 2 天起分别予姜黄素及柳氮磺吡啶溶液 100 mg · kg⁻¹ · d⁻¹ 灌胃, 正常对照组、模型组每日予等体积的 0.9% 氯化钠溶液灌胃; 给药 7 d 后处死, 采集血清及结肠黏膜, 比较各组大鼠体质量、疾病活动指数(DAI)、肠黏膜损伤指数(CMDI); ELISA 法检测大鼠血清 IL-36 α 、IL-36 γ 水平, 免疫组化方法测定肠黏膜组织 IL-36 α 和 IL-36 γ 蛋白表达。结果 与正常对照组比较, 模型组 DAI、CMDI 评分均升高, 差异有统计学意义(P 均 <0.01), 血清 IL-36 α 、IL-36 γ 水平均升高(P <0.01); 与模型组比较, 姜黄素组和柳氮磺吡啶组 DAI、CMDI 评分及血清 IL-36 α 、IL-36 γ 水平均降低, 且姜黄素组低于柳氮磺吡啶组, 差异有统计学意义($F=3.531, 3.842, 24.503, 36.435, P$ 均 <0.001)。与正常对照组比较, 模型组结肠组织 IL-36 α 、IL-36 γ 蛋白表达水平升高(P <0.05); 与模型组比较, 姜黄素组和柳氮磺吡啶组结肠黏膜 IL-36 α 、IL-36 γ 蛋白表达水平降低, 且姜黄素组低于柳氮磺吡啶组, 差异有统计学意义($F=3.461, 3.524, P$ 均 <0.001)。结论 姜黄素能够明显抑制实验性大鼠结肠炎血清及结肠黏膜 IL-36 α 、IL-36 γ 的表达。

【关键词】 炎性肠病; 姜黄素; 白介素-36 α ; 白介素-36 γ ; 大鼠

【中图分类号】 R574.62

【文献标识码】 A

The effect of curcumin on the expression of IL-36 α and IL-36 γ in TNBS induced colitis in rats Liang Changxian*, Lyu Xiaodan, Fan Junhua, Li Shiquan, Zhan Lingling, Lyu Xiaoping. * Department of Gastroenterology, First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Guangxi Province, Nanning 530021, China

Corresponding author: Lyu Xiaoping, E-mail: 1612318241@qq.com

Funding program: National Natural Science Foundation of China (81860104); Guangxi Medical and Health Appropriate Technology Development and Promotion Application Project (S2018049); Guangxi Zhuang Autonomous Region Health Commission Self raised Fund Project (Z20200398); Guangxi Medical University Youth Science Fund Project (GXMUYSF201913)

【Abstract】 Objective To investigate the effect of curcumin on the expression of IL-36 α and IL-36 γ in colitis induced by trinitrobenzenesulfonic acid (TNBS) in rats. **Methods** The experiment was conducted in May 2022 at the Medical Experimental Animal Center of Guangxi Medical University. Forty male SD rats were randomly divided into a normal control group, a model group, a curcumin group, and a sulfasalazine group, with 10 rats in each group. The model group, curcumin group, and sulfasalazine group of rats were prepared with TNBS ethanol solution enema to create rat colitis models, while the normal control group was given an equal volume of 0.9% sodium chloride solution enema. The curcumin group and sulfasalazine group were orally administered with curcumin and sulfasalazine solutions of 100 mg · kg⁻¹ · d⁻¹ from the second day of modeling. The normal control group and model group were orally administered with an equal volume of 0.9% sodium chloride solution daily; After 7 days of administration, the rats were euthanized and serum and colon mucosa were collected. The body weight, disease activity index (DAI), and intestinal mucosal injury index (CMDI) of each group of rats were com-

pared; ELISA method was used to detect the serum levels of IL-36 α and IL-36 γ in rats, and immunohistochemical method was used to measure the protein expression of IL-36 α and IL-36 γ in intestinal mucosal tissue. **Results** Compared with the normal control group, the DAI and CMDI scores of the model group increased significantly ($P<0.01$); The levels of serum IL-36 α and IL-37 both increased ($P<0.01$); Compared with the model group, the DAI, CMDI scores, and serum IL-36 α and IL-36 γ levels in both the curcumin group and the sulfasalazine group decreased, and the curcumin group was lower than the sulfasalazine group, with statistically significant differences ($F=3.531, 3.842, 24.503, 36.435, P<0.001$); Compared with the normal control group, the protein expression levels of IL-36 and IL-37 in the model group increased ($P<0.05$); Compared with the model group, the protein expression levels of IL-36 α and IL-36 γ in the colon mucosa of the curcumin group and the sulfasalazine group decreased, and the curcumin group was lower than the sulfasalazine group, with statistical significance ($F=3.461, 3.524, P<0.001$). **Conclusion** Curcumin can significantly inhibit the expression of IL-36 α and IL-36 γ in serum and colon mucosa of experimental colitis rats.

【Key words】 Inflammatory bowel disease; Curcumin; Interleukin-36 α ; Interleukin-36 γ ; Rats

炎性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)主要包括溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)和克罗恩病(Crohn's disease, CD)^[1]。IBD发生发展与促炎及抑炎因子相互作用失衡有关。有研究发现白介素36(interleukin 36, IL-36)通过IL-36R和IL-1受体辅助蛋白(IL-1 receptor accessory protein, IL-1RAcP)介导细胞内信号转导,诱发促炎细胞因子分泌^[2]。研究表明,在炎性肠病中IL-36 α 和IL-36 γ 表达升高,与炎性肠病的炎症反应发生发展密切相关^[3]。小鼠肠道炎症反应模型中IL-36 α 和IL-36 γ 表达上调,活动期IBD患者结肠黏膜IL-36 α 和IL-36 γ 蛋白水平升高,IL-36在慢性炎性肠病中起着促进肠壁纤维化作用^[4]。目前,批准上市治疗IBD的药物包括氨基水杨酸、甾体类激素、免疫抑制剂等,但这些药物治疗IBD过程中均存在不同的局限性和不良反应。姜黄素是从姜共根茎中提取的黄色天然活性结晶粉末,其可通过对多种信号分子进行调节,从而起到抗炎、抗肿瘤、抗纤维化等生物学作用^[5]。本研究采用姜黄素对实验性大鼠结肠炎模型进行干预,现将结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物:选择40只健康成年SPF级雄性SD大鼠,体质量(220 \pm 12)g,购自北京维通利华实验动物中心,质量合格证编号:SCXK(粤)2022-0063,生产许可证号:SCXK(京)2021-0006。在24℃、60%相对湿度的环境下适应性喂养,自由进食、饮水1周后造模。研究设计和实施过程符合动物福利和伦理原则(202205004)。

1.1.2 主要仪器:电子分析天平(型号PE504,瑞士梅特勒托利多有限公司);高速冷冻多用途离心机(型号180R,德国Eppendorf公司);全自动酶标仪(型号iMark型,美国Bio-Rad公司);电泳仪(型号DYCZ-

20G DNA,北京六一仪器厂);紫外分光光度计(型号nodrop2000,美国Thermo公司);凝胶成像分析系统(型号Gel doc2000,美国Bio-Rad公司);双色红外激光成像系统(型号Odyssey,美国LI-COR公司);病理显微镜(型号J150, CX33,日本Olympus公司)。

1.1.3 药物及试剂:三硝基苯磺酸(TNBS, Sigma-Aldrich公司,5%水溶液,批号S220507013);姜黄素(北京索莱宝生物科技有限公司,纯度95.0%,批号SL220513007);柳氮磺吡啶(北京索莱宝生物科技有限公司,纯度 \geq 98%,批号SL220519036);异氟烷(深圳市瑞沃德生命科技有限公司,批号W220501039);大鼠IL-36 α 及IL-36 γ ELISA试剂盒(上海将来实业股份有限公司,批号分别为:JL22050002、JL22040001);IL-36 α 抗体(United Kingdom,批号ab269274)和IL-36 γ 抗体(武汉云克隆科技股份有限公司,批号A20220531053);牛血清白蛋白BSA(武汉赛维尔生物科技有限公司,批号GM1106);HRP标记山羊抗大鼠IgG二抗(武汉赛维尔生物科技有限公司,批号GM1108)。

1.2 实验方法 实验于2022年5月在广西医科大学医学实验动物中心进行。

1.2.1 模型构建:将成年SPF级雄性SD大鼠40只适应性饲养1周后,按照随机方法分为正常对照组、模型组、柳氮磺吡啶治疗组、姜黄素治疗组,每组10只,分笼饲养(5只/笼),并用耳标作好标记。造模前禁食12h。模型组、姜黄素组、柳氮磺吡啶组大鼠分别以TNBS乙醇溶液灌肠制备大鼠结肠炎模型^[6]。大鼠异氟烷麻醉成功后,一次性结肠灌注TNBS乙醇溶液0.65ml(5%TNBS 0.4ml+50%乙醇0.25ml);正常对照组予等体积的生理盐水灌肠。提起大鼠尾部倒立3min后,放回笼内常规饲养。

1.2.2 给药方法:当大鼠出现活动及摄食减少、毛发

晦暗粗糙易脱落、体质量进行性下降,并伴腹泻、肉眼血便等,表明成功诱导出大鼠结肠炎模型。自造模第 2 天起,姜黄素组每日予姜黄素溶液 100 mg/kg 灌胃;柳氮磺吡啶组大鼠每日予柳氮磺吡啶(SASP)溶液 100 mg/kg 灌胃;正常对照组、模型组每日予等体积的生理盐水灌胃,4 组均连续给药 7 d。

1.3 观测指标与方法

1.3.1 疾病活动指数(DAI)评分评估:建模期间,每天在固定时间段内(09:00—10:00)称量大鼠体质量,观察大鼠粪便性状,取新鲜粪便进行粪便隐血实验(干化学法),评估 TNBS 对大鼠疾病活动指数(disease activity index, DAI)评分的影响,参照参考文献[7]标准,DAI 评分=(体质量改变评分+粪便隐血试验评分+大便性状评分)/3。

1.3.2 结肠组织大体形态损伤(colonmacroscopic damage index, CMDI)评分:建模成功 7 d 后处死大鼠,剪取肛门至盲肠的肠段,纵向剖开,PBS 冲洗肠内粪便,参照参考文献[8]标准进行 CMDI 评估,CMDI 评分标准:0 分(结肠组织正常大体形态),1 分(结肠组织充血,无溃疡),2 分(结肠黏膜溃疡、充血,肠黏膜粗糙),3 分(结肠黏膜溃疡面积直径 1 cm 左右),4 分(结肠黏膜溃疡面积直径 2 cm 左右,肠壁增厚,与周围组织轻度粘连),5 分(结肠黏膜溃疡面积直径 2 cm 左右,肠壁增厚,与周围组织重度粘连)。

1.3.3 ELISA 法检测血清 IL-36 α 和 IL-36 γ 水平:建模成功 7 d 后,大鼠异氟烷麻醉,采血 3 ml 静置 2 h,离心取血清,采用 ELISA 法检测血清 IL-36 α 和 IL-36 γ 。所有操作均严格按照 ELISA 试剂盒说明书进行。

1.3.4 大鼠结肠组织病理 HE 染色观察:建模成功 7 d 后处死大鼠,纵向剖开结肠,取炎症反应明显处结肠组织 0.5 cm,10%多聚甲醛固定 24 h,梯度乙醇脱水,二甲苯透明,常规石蜡包埋,4 μ m 厚连续切片。切片经二甲苯脱蜡、梯度乙醇水化,苏木素染色、盐酸乙醇分

化、氨水反蓝、伊红染色,然后梯度乙醇脱水、二甲苯透明、中性树胶封固。将已染色烘干的切片在光学显微镜下拍照观察。

1.3.5 免疫组化法检测结肠组织 IL-36 α 、IL-36 γ 蛋白表达:取石蜡包埋的结肠组织,连续切片厚 4 μ m,置于 60 $^{\circ}$ C 烤箱烘烤 1 h,然后经环保型脱蜡液脱蜡、梯度乙醇脱水,在 EDTA 抗原修复液(pH 9.0)微波以合适温度修复抗原,自然冷却至室温,滴加 3%过氧化氢阻断内源性过氧化物酶活性。3%BSA 封闭后,滴加 PBS 按一定比例配好的 IL-36 α / γ ,4 $^{\circ}$ C 孵育过夜。次日,滴加 HRP 标记山羊抗大鼠 IgG 二抗。DAB 显色、苏木素复染、盐酸酒精进行分化,梯度乙醇脱水、二甲苯透明,中性树胶封固,白光显微镜下拍照观察。每张切片随机选取 5 个不重叠的高倍镜视野(400 \times),采用 Image-Pro Plus 6.0 软件对阳性染色进行半定量分析,计算平均光密度(average optical density, AOD)。AOD = 积分光密度/阳性面积。以 AOD 值代表蛋白阳性表达量。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 23.0 软件统计分析数据。正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素 ANOVA 分析,两两比较采用 LSD-*t* 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠 DAI 评分、CMDI 评分比较 与正常对照组比较,模型组 DAI、CMDI 评分均升高,差异有统计学意义(P 均 < 0.01);与模型组比较,姜黄素组和柳氮磺吡啶组 DAI、CMDI 评分降低,且姜黄素组低于柳氮磺吡啶组,差异有统计学意义(P 均 < 0.01),见表 1。

2.2 各组大鼠血清 IL-36 α 、IL-36 γ 水平比较 与正常对照组比较,模型组血清 IL-36 α 、IL-36 γ 水平升高,差异有统计学意义(P 均 < 0.01);与模型组比较,姜黄素组、柳氮磺吡啶组血清 IL-36 α 、IL-36 γ 水平降低,且姜黄素组低于柳氮磺吡啶组,差异有统计学意义(P 均 < 0.01),见表 1。

表 1 各组大鼠 DAI、CMDI 评分和血清 IL-36 α 、IL-36 γ 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab.1 Comparison of DAI, CMDI scores, and serum IL-36 α , IL-36 γ in each group of rats

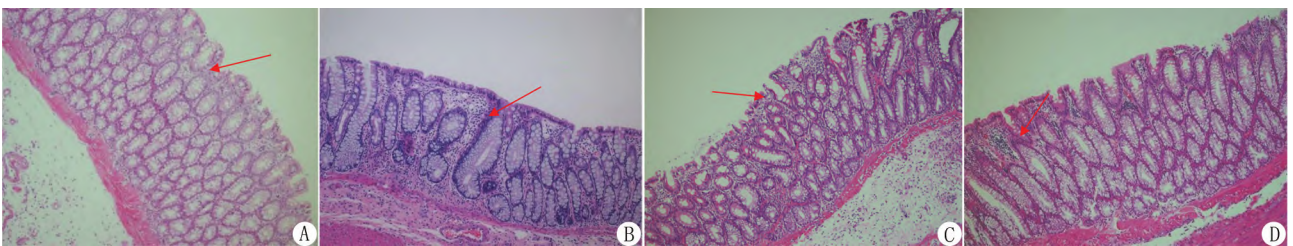
组别	<i>n</i>	DAI(分)	CMDI(分)	IL-36 α (ng/L)	IL-36 γ (ng/L)
正常对照组	10	0	0	18.11 \pm 1.69	30.42 \pm 5.87
模型组	10	3.69 \pm 1.20 ^a	4.67 \pm 0.92 ^a	146.08 \pm 5.84 ^a	271.88 \pm 12.52 ^a
柳氮磺吡啶组	10	1.97 \pm 1.17 ^b	2.30 \pm 0.51 ^b	84.45 \pm 4.80 ^b	105.65 \pm 4.60 ^b
姜黄素组	10	1.85 \pm 1.25 ^{bc}	2.23 \pm 0.65 ^{bc}	80.90 \pm 4.48 ^{bc}	101.13 \pm 7.03 ^{bc}
<i>F</i> 值		3.531	3.842	24.503	36.435
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与正常对照组比较,^a $P < 0.05$;与模型组比较,^b $P < 0.05$;与柳氮磺吡啶组比较,^c $P < 0.05$ 。

2.3 各组大鼠结肠组织病理学观察 正常对照组大鼠结肠镜下显示各层结构无异常,其黏膜上层上整齐分布着单层柱状上皮细胞,具有完整细胞以及清晰的肠腺结构,腺体上分布着正常完整的杯状细胞(GC)和吸收细胞,肌层薄厚均匀未见异常变化;模型组大鼠结肠炎性反应主要侵犯黏膜及其下层,多数大鼠结肠损伤范围至浆膜层,结肠黏膜失去完整性,可见多灶性浅溃疡,严重时见环壁性深溃疡,溃疡或炎症反应明显区域腺体结构异常,有坏死组织聚集形成的白色污秽苔膜样物质,可见大量淋巴细胞、中性粒细胞等炎性细胞弥漫性浸润;柳氮磺吡啶组与姜黄素组大鼠结肠镜下可见结肠各层组织结构大体正常,腺体被破坏程度

较轻,黏膜层、黏膜下层等部位中性粒细胞、淋巴细胞等炎性细胞浸润的数量及深度较模型组减轻,炎症反应程度较模型组明显缓解,见图 1。

2.4 各组大鼠结肠组织 IL-36 α 、IL-36 γ 蛋白表达水平比较 免疫组化检查结果显示,IL-36 α 、IL-36 γ 蛋白表达阳性染色主要定位于细胞质及细胞外基质,尤以柱状上皮间及黏膜下层疏松结缔组织间明显,为黄色或者棕黄色颗粒。与正常对照组比较,模型组 IL-36 α 、IL-36 γ 蛋白表达水平升高($P<0.05$);与模型组比较,姜黄素组、柳氮磺吡啶组 IL-36 α 、IL-36 γ 蛋白表达水平均降低,且姜黄素组低于柳氮磺吡啶组($P<0.05$),见表 2、图 2。

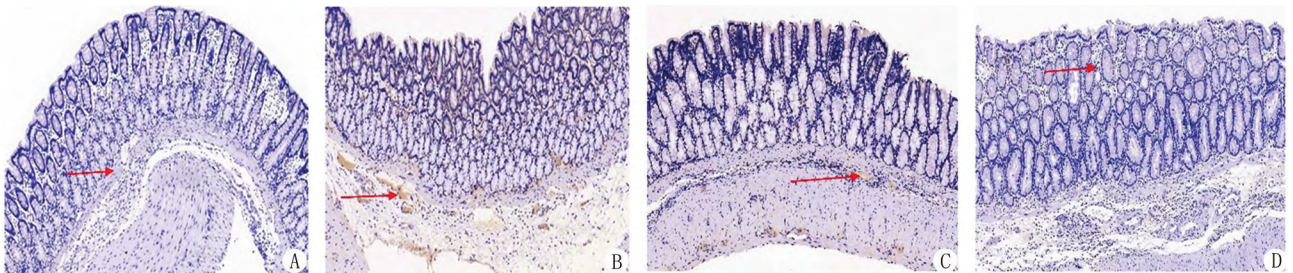


注:A.正常对照组,大鼠结肠上皮及腺体正常、完整;B.模型组,大量淋巴细胞、中性粒细胞等炎性细胞弥漫性浸润;C.柳氮磺吡啶组,结肠各层组织结构大体正常,腺体被破坏程度较轻;D.姜黄素组,黏膜层、黏膜下层等部位中性粒细胞、淋巴细胞等炎性细胞浸润的数量及深度较轻。

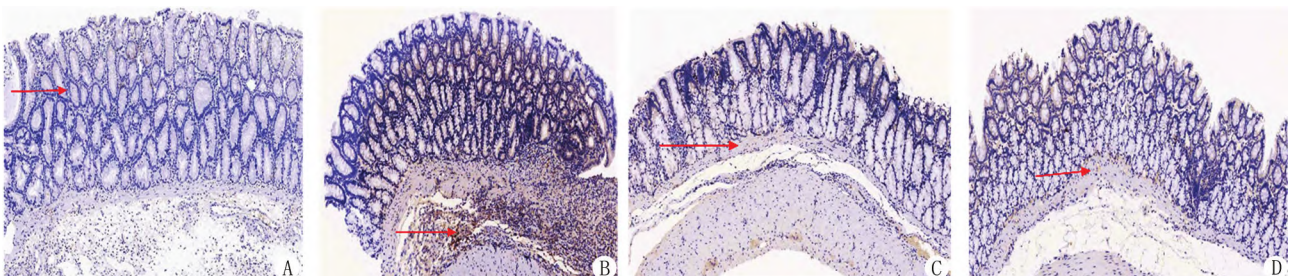
图 1 各组大鼠结肠黏膜病理组织光镜下观察(HE 染色,×100)

Fig.1 Observation of pathological tissue of colon mucosa in rats of each group under light microscopy (HE staining, × 100)

IL-36 α 表达



IL-36 γ 表达



注:A.正常对照组,细胞间及间质未见明显的阳性染色;B.模型组,黏膜下层疏松结缔组织 IL-36 α 、IL-36 γ 阳性表达明显;C、D.模型组及柳氮磺吡啶组:黏膜下层疏松结缔组织 IL-36 α 、IL-36 γ 阳性表达减少。

图 2 各组大鼠结肠组织 IL-36 α 、IL-36 γ 表达变化(免疫组化染色,×400)

Fig.2 IL-36 α , IL-36 γ expression changes in colon tissue of rats in each group (immunohistochemical staining, × 400)

表 2 各组大鼠的结肠组织 IL-36 α 、IL-36 γ 蛋白表达水平比较 ($\bar{x}\pm s$)

Tab.2 Comparison of IL-36 α , IL-36 γ protein expression levels in colon tissues of rats in each group

组别	n	IL-36 α	IL-36 γ
正常对照组	10	0.01 \pm 0.00	0.02 \pm 0.01
模型组	10	0.11 \pm 0.03 ^a	0.13 \pm 0.03 ^a
柳氮磺吡啶组	10	0.06 \pm 0.01 ^b	0.09 \pm 0.02 ^b
姜黄素组	10	0.03 \pm 0.01 ^{bc}	0.04 \pm 0.01 ^{bc}
F 值		3.461	3.524
P 值		<0.001	<0.001

注:与正常对照组比较,^a $P<0.001$;与模型组比较,^b $P<0.05$;与柳氮磺吡啶组比较,^c $P<0.05$ 。

3 讨论

IBD 是一种慢性非特异性肠道炎性疾病,临床虽然尚未明确 IBD 病理机制,但认为可能与肠道屏障、免疫系统失调以及个人体质等因素相互作用有关。

近年来,随着对 IBD 的研究深入,有研究发现 IL-36 在参与炎性因子的产生、免疫细胞活化、组织愈合和纤维化等过程中发挥着重要作用^[9]。IL-36 是 IL-1 大家族的一部分,为炎性疾病的重要介质,发挥了促炎作用。IL-36 在人体组织中广泛表达,尤其主要分布于皮肤、肺脏、关节、肠道、肾脏和大脑等,可由单核/巨噬细胞、角质细胞、结肠成纤维细胞、T 淋巴细胞等多种细胞产生,主要参与皮肤、肺、肠等组织的炎性反应。IL-36 在不同疾病中发挥着不同的免疫作用。在正常皮肤中,因 IL-36 激动剂与抑制剂维持着动态平衡,使其呈低水平结构性表达。有研究发现 IL-36 α 和 IL-36 γ 表达升高并促进结肠炎性反应发生发展,许多小鼠肠道炎性反应模型中 IL-36 α 和 IL-36 γ 表达上调^[10-11]。另外,有研究还发现银屑病患者 IL-36 α 、IL-36 γ 表达上调,与 IL-17、IL-23 等细胞因子表达一起维持炎性反应自我放大效应^[12-13]。在活动期 IBD 患者,尤其是 UC 患者结肠组织中 IL-36 α 和 IL-36 γ 的表达水平升高^[14-16]。Kanda 等^[17]发现培养的人结肠上皮肌成纤维细胞在 IL-36 α 和 IL-36 γ 的刺激下产生 IL-6、CXCL-1、CXCL-2 和 CXCL-8 等,而这些趋化因子导致周边的细胞反应具有一定的趋化能力,使得炎性细胞逐渐趋向炎性反应部位,维持机体炎性反应。IL-36 α 和 IL-36 γ 可诱导中性粒细胞向肠道炎性反应部位聚集,导致肠道黏膜炎性反应状态。Boutet 等^[18]在葡聚糖硫酸钠(DSS)诱导的结肠炎小鼠结肠中发现,IL-1 β 、IL-17A、IL-36 α 及 IL-36 γ 表达均上调,且其表达呈正相关,结肠炎病情程度与 IL-36 α 和 IL-36 γ 的表达水平有关,提示 IL-36 信号传导与肠道炎性免疫反

应存在一定的关联。

目前,IBD 临床治疗药物较多,如氨基水杨酸、糖皮质激素等,从临床实践来看,治疗效果并不理想,而且安全性仍有待进一步观察。随着生物制剂的价格逐渐下降和可获得性增加,其已成为临床上治疗炎性肠病的主要治疗药物^[19]。一方面,生物制剂起效迅速、治疗效果好,但免疫原性及长时间使用的疗效和可靠性仍有待进一步证实^[20-22]。姜黄素具有抗炎、免疫抑制、抗肿瘤等生物学作用^[23]。姜黄素作用机制主要包括通过抑制 TLR-4 受体和 MyD88 对 TNBS 诱导的实验性结肠炎发挥抑制作用^[24-25];通过激活 PPAR- γ 抑制 TNBS 诱导的结肠炎^[26];抑制 NF- κ B 的活化及细胞质 I κ B 蛋白的降解,抑制结肠黏膜促炎细胞因子的转录;降低 IL-1、IL-6、IL-8、IL-12、IL-23 等表达,提高 IL-4、IL-10 和 IL-13 抗炎细胞因子,从而降低大鼠结肠炎性反应,抑制组织纤维化^[27]。本研究结果显示,模型组大鼠精神差、毛色粗糙、排便便,体质量明显下降,至造模结束仍低于造模前水平,结肠 IL-36 α 、IL-36 γ 表达明显增高,表明 IL-36 α 、IL-36 γ 表达升高与大鼠 IBD 关系密切,与上述报道结论吻合。经治疗后,姜黄素组上述指标均明显改善,且体质量逐渐恢复至造模前的水平,大鼠的 DAI 评分降低,大体形态和组织学损伤均改善,血清及结肠 IL-36 α 、IL-36 γ 表达下降,提示姜黄素对实验性大鼠结肠炎 IL-36 α 、IL-36 γ 的表达有明显的抑制作用,分析原因在于姜黄素可能通过对中性粒细胞过度聚集抑制,降低了 IL-36 α 、IL-36 γ 表达,平衡抑炎和促炎分子,减轻炎性反应损伤程度及免疫异常反应,从而达到治疗实验性结肠炎的目的。但本研究不足之处在于未能明确姜黄素对 TNBS 诱导的大鼠结肠炎 IL-36 α 、IL-36 γ 表达抑制的作用机制,而且基因层次研究存在不足,对是否通过其他信号通路发挥其抗炎的作用需进一步研究。

综上所述,姜黄素对实验性大鼠结肠炎 IL-36 α 、IL-36 γ 的表达有明显的抑制作用,是 IBD 潜在的治疗药物。

利益冲突:所有作者均声明无利益冲突

作者贡献声明

梁昌显:实验材料准备,实验实施,论文撰写;吕晓丹:实验实施,数据采集;李世权:实验实施,数据采集,统计分析;范俊华、詹灵凌:论文审阅及指导;吕小平:确定选题,实验设计

参考文献

- [1] 王彦钧,张转红,高飞云,等.治疗炎症性肠病的中药炮制共性探讨[J/OL].中药药理与临床:1-12.DOI:10.13412/j.cnki.zyyj.20230307.001.

Wang YJ,Zhang ZH,Gao FY,et al. Discussion on the common char-

- acteristics of traditional chinese medicine processing in the treatment of inflammatory bowel disease [J/OL]. *Pharmacology and Clinical Application of Traditional Chinese Medicine*; 1-12. DOI: 10.13412/j.cnki.zyyl.20230307.001.
- [2] Yang L, Luo H, Tan D, et al. A recent update on the use of Chinese medicine in the treatment of inflammatory bowel disease[J]. *Phyto-medicine*, 2021, 92; 153709. DOI: 10.1016/j.phymed.2021.153709.
- [3] Sairenji T, Collins KL, Evans DV. An update on inflammatory bowel disease[J]. *Prim Care*, 2017, 44(4): 673-692. DOI: 10.1016/j.pop.2017.07.010.
- [4] Melton E, Qiu H. Interleukin-36 cytokine/receptor signaling: A new target for tissue fibrosis[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(18): 6458. DOI: 10.3390/ijms21186458.
- [5] 秦宇雯, 费程浩, 张伟, 等. 姜黄属中药活血化瘀功效关联物质研究进展[J]. *中国中药杂志*, 2022, 47(1): 24-35. DOI: 10.19540/j.cnki.cjmm.20210817.603.
- Qin YW, Fei CH, Zhang W, et al. Research progress on the related substances of curcuma traditional chinese medicine in promoting blood circulation and resolving stasis [J]. *Chi J Tra Chinese Med*, 2022, 47(1): 24-35. DOI: 10.19540/j.cnki.cjmm.20210817.603.
- [6] 尹园缘, 宾东华, 刘颖, 等. 溃疡性结肠炎病证结合动物模型的制备与评价[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2022, 28(15): 207-215. DOI: 10.13422/j.cnki.syfx.20221592.
- Yin YY, Bin DH, Liu Y, et al. Preparation and evaluation of a combined animal model of ulcerative colitis syndrome [J]. *Chi J Exp Prescriptions*, 2022, 28(15): 207-215. DOI: 10.13422/j.cnki.syfx.20221592.
- [7] You W, Xu Z, Di A, et al. Mechanism by which Tong Xie Yao Fang heals the intestinal mucosa of rats with ulcerative colitis through the hippo pathway [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2021, 2021; 5533914. DOI: 10.1155/2021/5533914.
- [8] 侯丽娟, 唐方, 王晓红, 等. 溃疡性结肠炎模型的建立及影响因素[J]. *世界华人消化杂志*, 2011, 19(31): 3242-3245.
- [9] Yuan ZC, Xu WD, Liu XY, et al. Biology of IL-36 signaling and its role in systemic inflammatory diseases[J]. *Front Immunol*, 2019, 10; 2532. DOI: 10.3389/fimmu.2019.02532.
- [10] Boraschi D, Italiani P, Weil S, et al. The family of the interleukin-1 receptors[J]. *Immunol Rev*, 2018, 281(1): 197-232. DOI: 10.1111/imr.12606.
- [11] 李明慧, 张军. IL-36 在炎症性肠病中的研究进展[J]. *胃肠病学和肝病学杂志*, 2022, 31(9): 1067-1070. DOI: 10.3969/j.issn.1006-709.2022.09.021.
- Li MH, Zhang J. Research progress of IL-36 in inflammatory bowel disease [J]. *J Gastroenterology and Hepatology*, 2022, 31(9): 1067-1070. DOI: 10.3969/j.issn.1006-709.2022.09.021.
- [12] 李超, 栗玉珍. IL-36 在银屑病皮肤和关节炎症中的研究进展[J/OL]. *中国皮肤性病学杂志*; 1-8. DOI: 10.13735/j.cjdv.1001-7089.202207060.
- Li C, Li YZ. Research progress of IL-36 in psoriasis skin and joint inflammation [J/OL]. *Chinese Journal of Dermatology and Venereology*; 1-8. DOI: 10.13735/j.cjdv.1001-7089.202207060.
- [13] 张娇, 柳柳君, 苏杭, 等. IL-36 γ 与 IL-38 的表达失衡可能与寻常型银屑病的炎症程度相关[J]. *皮肤性病诊疗学杂志*, 2023, 30(1): 6-12. DOI: 10.3969/j.issn1674-R46R_2023_01_002.
- [14] 刘慧泽, 吴本升, 王包晟, 等. 黄葵敛疡汤通过抑制炎症小体 NLRP3 改善葡聚糖硫酸钠诱导的小鼠溃疡性结肠炎[J]. *中华中医药学刊*, 2022, 40(2): 146-151. DOI: 10.13193/j.issn.1673-7717.2022.02.034.
- [15] 陈怡, 贾杰, 郑娟红. 重症溃疡性结肠炎患者外周血中髓样树突状细胞和 IL-17A 表达及预后研究[J]. *中华全科医学*, 2020, 18(5): 734-738. DOI: 10.16766/j.cnki.issn.1674-4152.001342.
- [16] Scheibe K, Backert I, Wirtz S, et al. IL-36R signalling activates intestinal epithelial cells and fibroblasts and promotes mucosal healing in vivo [J]. *Gut*, 2017, 66(5): 823-838. DOI: 10.1136/gutjnl-2015-310374.
- [17] Kanda T, Nishida A, Takahashi K, et al. Interleukin (IL)-36 α and IL-36 γ induce proinflammatory mediators from human colonic subepithelial myofibroblasts[J]. *Front Med (Lausanne)*, 2015, 2; 69. DOI: 10.3389/fmed.2015.00069.
- [18] Boutet MA, Bart G, Penhoat M, et al. Distinct expression of interleukin (IL)-36 α , β and γ , their antagonist IL-36Ra and IL-38 in psoriasis, rheumatoid arthritis and Crohn's disease[J]. *Clinical and Experimental Immunology*, 2016, 184(2): 159-173.
- [19] 苏晓兰, 国嵩, 张涛, 等. 炎症性肠病诊治现状及中医药治疗特色与优势[J]. *北京中医药*, 2020, 39(3): 211-215. DOI: 10.16025/j.1674-1307.2020.03.005.
- [20] 容加梅, 罗娟, 黄奇, 等. 炎症性肠病治疗中生物制剂的个体化选择[J]. *世界华人消化杂志*, 2021, 29(15): 893-900. DOI: 10.11569/wojcd.v29.i15.893.
- [21] Vermeire S, Gils A, Accossato P, et al. Immunogenicity of biologics in inflammatory bowel disease[J]. *Therapeutic Advances in Gastroenterology*, 2018, 11; 1756283x17750355. DOI: 10.1177/1756283X17750355.
- [22] Brandes A, Groth A, Gottschalk F, et al. Real-world biologic treatment and associated cost in patients with inflammatory bowel disease[J]. *Z Gastroenterol*, 2019, 57(7): 843-851. DOI: 10.1055/a-0903-2938.
- [23] 徐明瑶, 黎丽群, 刘鑫, 等. 中药通过 NF- κ B 信号通路干预结直肠癌的研究进展[J/OL]. *中国实验方剂学杂志*; 1-14. DOI: 10.13422/j.cnki.syfx.20231599.
- [24] 陈艺苒, 范斌. 姜黄素治疗银屑病的机制及其局部递送系统研究进展[J]. *世界临床药物*, 2022, 43(9): 1207-1213. DOI: 10.13683/j.wph.2022.09.021.
- [25] 余丽姝, 张仲林, 李莉, 等. 基于网络药理学探讨四氢姜黄素改善 KKAy 小鼠认知障碍的可能机制[J]. *中药药理与临床*, 2021, 37(3): 85-95. DOI: 10.13412/j.cnki.zyyl.20210603.001.
- [26] 朱立伟, 朱达坚. 姜黄素治疗溃疡性结肠炎的研究进展[J]. *医学理论与实践*, 2019, 32(5): 657-659. DOI: 10.19381/j.issn.1001-7585.2019.05.012.
- [27] 陈冬萍, 肖建民, 董志会, 等. 左旋聚乳酸对单核细胞来源巨噬细胞 M1/M2 极化的影响及姜黄素的干预作用[J]. *广东医学*, 2020, 41(11): 1139-1144. DOI: 10.13820/j.cnki.gdyx.20200269.

(收稿日期: 2023-04-09)