

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2020.22.013

## 实验研究

# 健脾补肾清肠方对溃疡性结肠炎模型大鼠结肠组织 IL-6/JAK2/STAT3 信号通路的影响

沈洪<sup>\*</sup>, 朱磊, 刘亚军, 张露, 邢敬, 顾培青

南京中医药大学附属医院 (江苏省中医院), 江苏省南京市汉中路 155 号, 210029

**摘要** **目的** 探讨健脾补肾清肠方治疗溃疡性结肠炎的可能作用机制。 **方法** 采用三硝基苯磺酸 + 乙醇灌肠法建立溃疡性结肠炎大鼠模型, 将造模成功的大鼠随机分为模型组和健脾补肾清肠方低、中、高剂量组, 另设正常组, 每组 10 只。造模后健脾补肾清肠方低、中、高剂量组分别给予健脾补肾清肠方混悬液 3.4、6.8、13.6 g/(kg·d) 灌胃, 正常组和模型组给予蒸馏水 1 ml/(100 g·d) 灌胃。10 天后取结肠组织进行病理学观察, ELISA 法检测血清和结肠组织白细胞介素 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ )、白细胞介素 6 (IL-6)、白细胞介素 8 (IL-8) 和肿瘤坏死因子  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 的含量, RT-qPCR 法检测结肠组织 IL-6 mRNA 表达, Western blot 法检测结肠组织 Janus 激酶 2 (JAK2)、信号转导及转录激活因子 3 (STAT3) 蛋白及其磷酸化蛋白的表达水平。 **结果** 病理结果显示, 正常组大鼠结肠组织黏膜结构完整, 腺体排列整齐; 模型组结肠黏膜结构破坏严重, 腺体排列紊乱或缺失, 可见大量炎性细胞浸润; 健脾补肾清肠方高剂量组结肠腺体破坏较轻, 结构基本恢复正常, 而健脾补肾清肠方中、低剂量组黏膜少量恢复, 有部分炎性细胞的浸润。与正常组比较, 模型组大鼠结肠组织及血清中 IL-6、IL-1 $\beta$ 、IL-8 和 TNF- $\alpha$  含量, 结肠组织 IL-6 mRNA 表达, p-JAK2/JAK2 和 p-STAT3/STAT3 值均显著增高 ( $P < 0.01$ ); 与模型组比较, 健脾补肾清肠方低、中、高剂量组上述指标均不同程度降低 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ), 且以健脾补肾清肠方高剂量组各指标改善最明显 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。 **结论** 健脾补肾清肠方能够减轻溃疡性结肠炎大鼠结肠组织炎症反应, 修复受损黏膜, 抑制结肠组织 IL-6/JAK2/STAT3 信号通路可能是其作用机制之一。

**关键词** 溃疡性结肠炎; 健脾补肾清肠方; 炎症因子; IL-6/JAK2/STAT3 信号通路

溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 是以结肠黏膜连续性、弥漫性炎症改变为特点的慢性非特异性结肠炎症性疾病, 呈慢性病程, 发病率逐年升高<sup>[1]</sup>。虽然其病因尚不十分明确, 但普遍认为与免疫、遗传、环境及肠道微生物等多因素有关。炎症的持续性发展导致疾病反复发作, 迁延难愈, 如何减轻疾病炎症反应, 促进黏膜修复进而改变疾病进程成为研究重点<sup>[2]</sup>。健脾补肾清肠方是我们临床用于治疗反复发作特别是激素依赖型难治性 UC 经验方, 前期研究<sup>[3]</sup>表明, 健脾补肾清肠方加减口服配合中药灌肠针对激素依赖型 UC 的治疗, 其疗效非劣效于硫唑嘌呤, 且不良反应低。本研究

旨在通过检测健脾补肾清肠方对 UC 模型大鼠结肠组织炎症因子及 IL-6/JAK2/STAT3 信号通路的影响, 探究其抗炎并修复结肠黏膜的可能机制。

## 1 材料和方法

### 1.1 动物

SPF 级雄性 SD 大鼠 50 只, 6~7 周龄, 体重 180~220 g, 由南京市江宁区青龙山动物繁殖场提供, 实验动物合格证号 SCXK (苏) 2017-0001。饲养条件: 温度 18~29℃, 相对湿度 40%~70%。

### 1.2 药品及制备

健脾补肾清肠方组成: 黄芪 15 g, 麸炒白术 10 g, 补骨脂 15 g, 益智仁 15 g, 黄芩 10 g, 黄连 3 g, 地榆 10 g, 木香 6 g, 炙甘草 3 g。按 60 kg 成人临床用量称取药物, 加水煎煮两次, 第 1 次加 10 倍量水, 浸泡 1 h, 加热煎煮 60 min, 滤过 (过 100 目

基金项目: 国家自然科学基金 (81673905); 国家重点研发计划 (2017YFC1700104)

<sup>\*</sup> 通讯作者: shenhong999@163.com, (025) 86617141 转 81603

筛网); 第 2 次加 10 倍量水, 加热煎煮 40 min, 滤过 (过 100 目筛网); 合并两次滤液, 浓缩制得浓度为 2 g/ml 的药液。

### 1.3 主要试剂与仪器

2, 4, 6-三硝基苯磺酸 (TNBS, 大连美伦生物技术有限公司, 批号: MB5547); 白细胞介素 6 (IL-6) ELISA 试剂盒 (批号: ab234570)、白细胞介素 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) ELISA 试剂盒 (批号: ab100768)、肿瘤坏死因子  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) ELISA 试剂盒 (批号: ab100785)、抗 Janus 激酶 2 (JAK2) 抗体 (批号: ab203611)、抗磷酸化 Janus 激酶 2 (p-JAK2) 抗体 (批号: ab32101)、抗信号转导及转录激活因子 3 (STAT3) 抗体 (批号: ab76315)、抗磷酸化信号转导及转录激活因子 3 (p-STAT3) 抗体 (批号: ab76315), 均为 Abcam 公司产品; 白细胞介素 8 (IL-8) ELISA 试剂盒 (Solarbio 公司, 批号: SEKR-0071); Trizol (Invitrogen 公司, 批号: 15596018); Real Time PCR 试剂盒 (诺唯赞公司, 批号: R222-01); 乙醇 (批号: 80176961)、水合氯醛 (批号: 300375193), 上海国药集团化学试剂有限公司; HE 染色试剂盒 (批号: C0105)、TBST 洗涤液 (批号: ST673)、二辛可宁酸 (BCA, 批号: P0012S), 碧云天生物技术研究。

生物倒置显微镜 (OLYMPUS 公司, 型号 IX51); 超净工作台 (苏州净化设备有限公司, 型号 SW-CJ-1D); qPCR 荧光定量系统 (杭州博日科技有限公司, 型号 FQD-96A); PCR 仪 (Eppendorf 公司, 型号 6311000070); 超微量紫外分光光度计 (Thermo Fish 公司, 型号 SMA2000); 酶标仪 (Kayto 公司, 型号 RT6000); 台式高速冷冻离心机 (Dragon Lab 公司, 型号 LR5K001727); 恒温金属浴 (上海一恒科技仪器有限公司, 型号 TU-100)。

### 1.4 模型制备

采用 TNBS + 乙醇灌肠法制作 UC 大鼠模型<sup>[4]</sup>。造模前禁食 24 h, 制备造模液 (100 mg/kg TNBS + 50% 乙醇 0.25 ml)。造模大鼠予 10% 水合氯醛 0.3 ml/100 g 腹腔注射麻醉, 用大鼠灌胃管由肛门轻柔插入约 8 cm, 缓慢推注造模液, 诱导 UC 形成。造模第 2 天, 大鼠出现稀便和黏液脓血便, 并采用随机数字表法选取 2 只大鼠处死, 清洗后观察结肠组织出现糜烂、溃疡表明模型成功<sup>[4]</sup>。

### 1.5 动物分组及给药方法

采用随机数字表法将 50 只大鼠分为正常组、模型组和健脾补肾清肠方低、中、高剂量组, 每组

10 只。除空白组外, 其余各组大鼠建立 UC 模型。造模后健脾补肾清肠方低、中、高剂量组分别予以 3.4、6.8、13.6 g/(kg · d) 混悬液灌胃, 其中 13.6 g/(kg · d) 为临床等效剂量; 正常组和模型组给予蒸馏水 1 ml/100 g 灌胃, 各组均灌胃 10 天。

### 1.6 观察指标和方法

1.6.1 结肠组织病理检测 10 天后取病变明显的结肠组织固定于 4% 多聚甲醛, 用于 HE 染色。常规包埋、切片, 厚度为 4  $\mu$ m, 进行 HE 染色, 高倍显微镜 (200 倍) 下选取视野, 观察溃疡大小、炎症浸润和结构损伤程度。

1.6.2 酶联免疫吸附法 (ELISA) 检测结肠组织和血清 IL-6、IL-1 $\beta$ 、IL-8 和 TNF- $\alpha$  含量 低温条件下取结肠组织称重后剪碎, 在匀浆器中加入 5 倍体积 pH 7.4 的 PBS 进行匀浆, 4  $^{\circ}$ C、2000 r/min 离心 5 min, 离心半径 15 cm, 收集结肠组织上清。眼眶取血 4  $^{\circ}$ C、2000 r/min 离心 5 min, 离心半径 15 cm, 收集血上清。按照 ELISA 试剂盒操作步骤酶标仪上进行检测, 取波长 450 nm, 空白孔校正后, 读取各孔 OD 值。

### 1.6.3 RT-qPCR 法检测结肠组织 IL-6 mRNA 表达

Trizol 法提取总 RNA, 超微量紫外分光光度计检测 RNA 浓度及纯度, 变性琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 完整性。每组各取 1  $\mu$ g RNA 进行逆转录反应, 按试剂盒说明书配制 RT 反应体系, 反应程序为 42  $^{\circ}$ C 30 min, 95  $^{\circ}$ C 5 min。以  $\beta$ -actin 为内参, 使用 PCR 仪进行实时定量 PCR 反应, 基因引物参照 GeneBank 基因序列设计。引物由上海生工生物技术有限公司合成,  $\beta$ -actin: 上游: 5'-TGTGATG-GTGGGAATGGGTCAG-3', 下游: 5'-TTTGATGT-CACGCACGATTTCC-3', 扩增长度: 185 bp; IL-6: 上游: 5'-TAGTCCTTCCTACCCCAATCC-3', 下游: 5'-TTGGTCCTTAGCCACTCCTTC-3', 扩增长度: 180 bp。相对基因表达量采用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  方法计算。

1.6.4 Western blot 法检测结肠组织 JAK2、STAT3 蛋白及其磷酸化蛋白相对表达量 提取细胞蛋白质, 利用 BCA 法测定蛋白浓度, 分别根据 JAK2、STAT3、p-JAK2 和 p-STAT3 蛋白相对分子质量, 进行 SDS-PAGE 凝胶电泳分离, 并湿转至硝酸纤维素膜上, 5% 脱脂奶粉, 室温封闭 2 h, 加入稀释好的一抗, 4  $^{\circ}$ C 孵育过夜, TBST 洗涤 3 次, 加入二抗, 室温孵育 2 h, TBST 洗涤 3 次, 化学发光后采集图像, 并用 Photoshop 6 对反应条带进行灰度分析, 以各蛋白密度单位/GAPDH 密度单位比值表示。蛋白磷酸化是蛋白翻译后修饰的过程, 可能会随样本处理或实验误差而发生改变, 因此以总蛋白

表达水平作为参照,通过计算磷酸化蛋白和总蛋白的比值,可以显示蛋白的活化情况,从而反应相关信号通路是否被激活或抑制,故采用 p-JAK2/JAK2 和 p-STAT3/STAT3 值进行比较。

### 1.7 统计学方法

采用 SPSS 23.0 统计软件进行数据分析。计量资料符合正态分布以均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示,多组间比较以单因素方差分析。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 各组大鼠结肠组织病理结果比较

图 1 示,正常组大鼠结肠组织黏膜结构完整,

腺体排列整齐,隐窝正常,未见黏膜糜烂、出血,未见炎性细胞浸润。模型组箭头所示,结肠黏膜结构破坏严重,腺体排列紊乱或缺失,腺腔不规则扩张,溃疡形成,可见大量炎性细胞浸润。健脾补肾清肠方高剂量组结肠腺体破坏较轻,结构基本恢复正常,炎性细胞浸润数量明显减少,而健脾补肾清肠方中、低剂量组箭头所示黏膜少量恢复,有部分炎性细胞的浸润。

### 2.2 各组大鼠血清及结肠组织中 IL-6、IL-1 $\beta$ 、IL-8 和 TNF- $\alpha$ 含量比较

图 2、图 3 示,与正常组相比,模型组大鼠结肠组织及血清中 IL-6、IL-1 $\beta$ 、IL-8 和 TNF- $\alpha$  含量

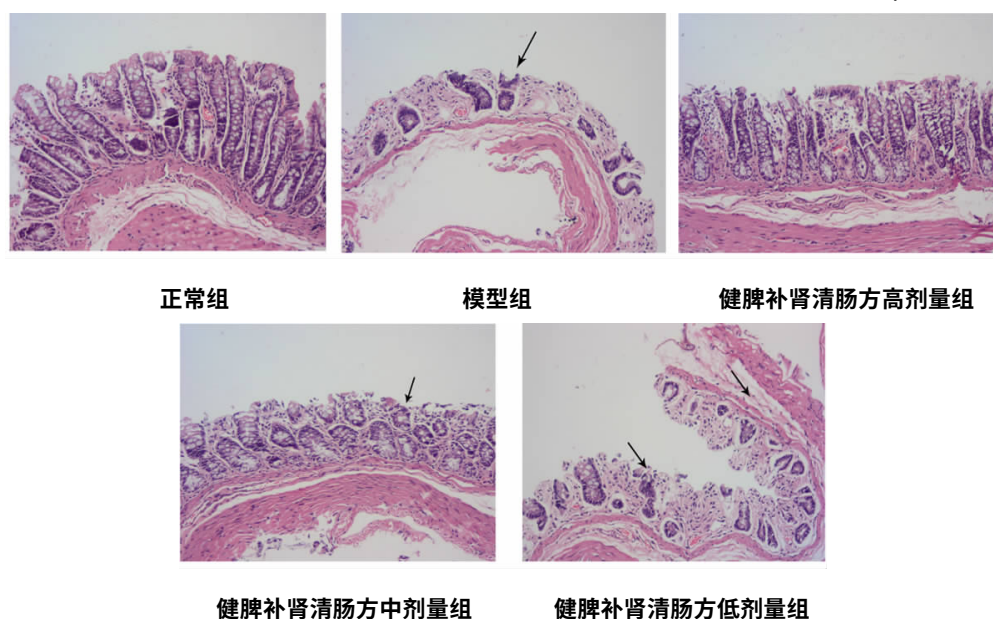
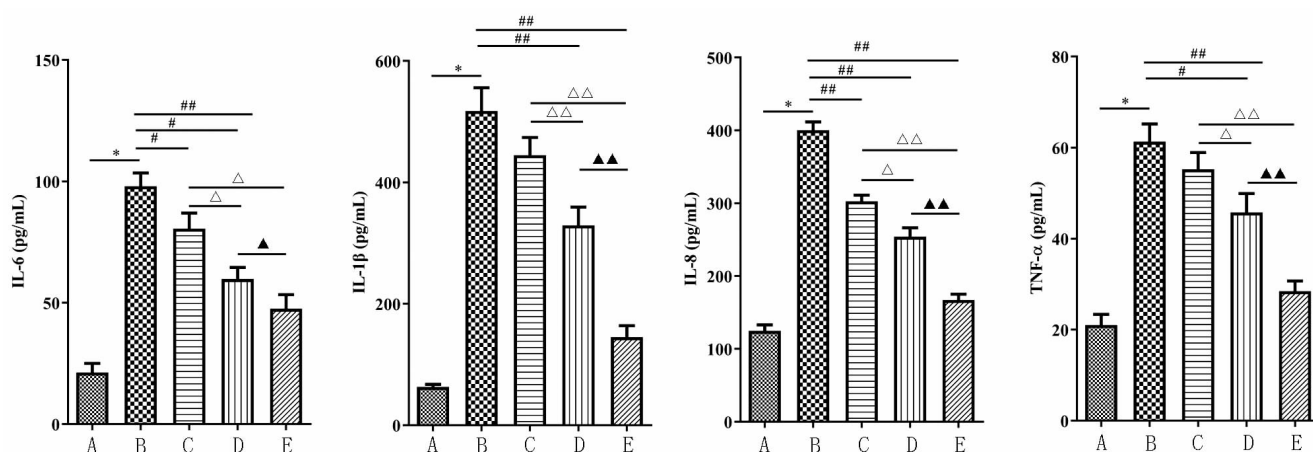
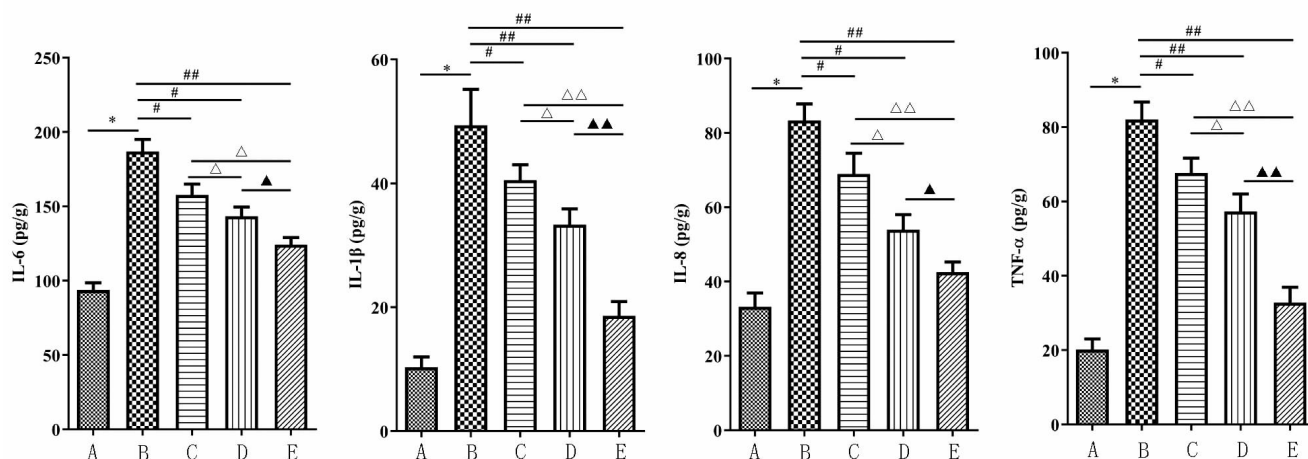


图 1 各组大鼠结肠组织病理结果 (HE 染色,  $\times 200$ )



注: A, 正常组; B, 模型组; C, 健脾补肾清肠方低剂量组; D, 健脾补肾清肠方中剂量组; E, 健脾补肾清肠方高剂量组; IL-6, 白细胞介素 6; IL-1 $\beta$ , 白细胞介素 1 $\beta$ ; IL-8, 白细胞介素 8; TNF- $\alpha$ , 肿瘤坏死因子  $\alpha$ ; 与正常组比较, \*  $P < 0.01$ ; 与模型组比较, #  $P < 0.05$ , ##  $P < 0.01$ ; 与健脾补肾清肠方低剂量组比较,  $\Delta P < 0.05$ ,  $\Delta\Delta P < 0.01$ ; 与健脾补肾清肠方中剂量组比较,  $\blacktriangle P < 0.05$ ,  $\blacktriangle\blacktriangle P < 0.01$

图 2 各组大鼠血清 IL-6、IL-1 $\beta$ 、IL-8 和 TNF- $\alpha$  含量比较



注: A, 正常组; B, 模型组; C, 健脾补肾清肠方低剂量组; D, 健脾补肾清肠方中剂量组; E, 健脾补肾清肠方高剂量组; IL-6, 白细胞介素 6; IL-1β, 白细胞介素 1β; IL-8, 白细胞介素 8; TNF-α, 肿瘤坏死因子 α; 与正常组比较, \*  $P < 0.01$ ; 与模型组比较, #  $P < 0.05$ , ##  $P < 0.01$ ; 与健脾补肾清肠方低剂量组比较, Δ  $P < 0.05$ , ΔΔ  $P < 0.01$ ; 与健脾补肾清肠方中剂量组比较, ▲  $P < 0.05$ , ▲▲  $P < 0.01$

图 3 各组大鼠结肠组织 IL-6、IL-1β、IL-8 和 TNF-α 含量比较

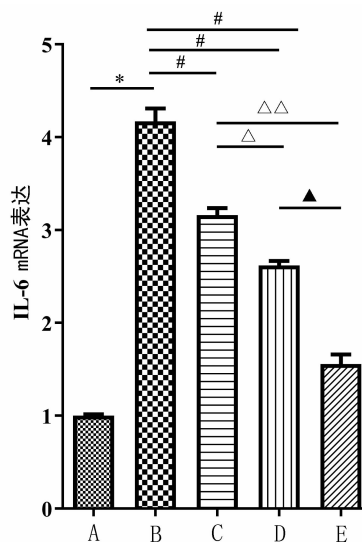
显著增高 ( $P < 0.01$ ); 与模型组相比, 健脾补肾清肠方中、高剂量组均能不同程度降低大鼠结肠组织及血清中 IL-6、IL-1β、IL-8 和 TNF-α 含量 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。健脾补肾清肠方低、中、高剂量组血清及结肠组织 IL-6、IL-1β、IL-8 和 TNF-α 含量呈剂量依赖性, 以高剂量效果最好 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。

### 2.3 各组大鼠结肠组织 IL-6 mRNA 表达比较

图 4 示, 与正常组相比, 模型组大鼠结肠组织 IL-6 mRNA 表达水平显著增高 ( $P < 0.01$ ); 与模型组组比较, 健脾补肾清肠方各剂量组大鼠结肠组织 IL-6 mRNA 表达显著降低 ( $P < 0.01$ ); 健脾补肾清肠方低、中、高剂量组结肠组织中 IL-6 mRNA 表达水平呈剂量依赖性, 以高剂量效果最好 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。

### 2.4 各组大鼠结肠组织 p-JAK2/JAK2 和 p-STAT3/STAT3 值比较

图 5 示, 与正常组相比, 模型组大鼠结肠组织 p-JAK2/JAK2 和 p-STAT3/STAT3 值升高 ( $P < 0.01$ )。与模型组相比, 健脾补肾清肠方各剂量组 p-JAK2/JAK2 和健脾补肾清肠方中、高剂量组 p-STAT3/STAT3 值降低 ( $P < 0.01$ )。健脾补肾清肠方中、高剂量组 p-JAK2/JAK2 和 p-STAT3/STAT3 值均低于健脾补肾清肠方低剂量组 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ); 而健脾补肾清肠方高剂量组 p-JAK3/JAK3 值明显低于健脾补肾清肠方中剂量组 ( $P < 0.05$ )。

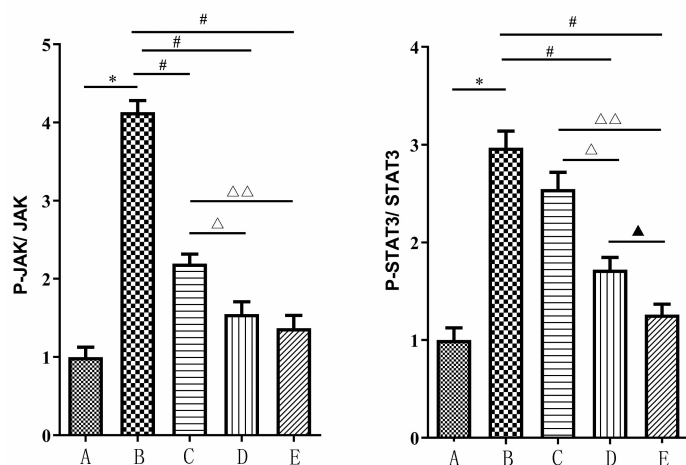


注: A, 正常组; B, 模型组; C, 健脾补肾清肠方低剂量组; D, 健脾补肾清肠方中剂量组; E, 健脾补肾清肠方高剂量组; IL-6, 白细胞介素 6; 与正常组比较, \*  $P < 0.01$ ; 与模型组比较, #  $P < 0.01$ ; 与健脾补肾清肠方低剂量组比较, Δ  $P < 0.05$ , ΔΔ  $P < 0.01$ ; 与健脾补肾清肠方中剂量组比较, ▲  $P < 0.01$

图 4 各组大鼠结肠组织中 IL-6 mRNA 表达比较

## 3 讨论

UC 作为结肠癌前病变, 常呈慢性迁延、反复发作。湿热蕴肠是本病发作的关键病机, 而脾肾不足则是病情迁延难愈的重要因素<sup>[9]</sup>。UC 存在先天肾气不足, 后天脾土失养, 湿浊内生, 蕴滞肠道, 气血不调, 瘀滞化热, 肠络受损成疡, 以致虚实并见, 反复发作, 缠绵难愈, 脾肾两虚, 气血同病,



注: A, 正常组; B, 模型组; C, 健脾补肾清肠方低剂量组; D, 健脾补肾清肠方中剂量组; E, 健脾补肾清肠方高剂量组; JAK2, Janus 激酶 2; p-JAK2, 磷酸化 Janus 激酶 2; STAT3, 信号转导及转录激活因子 3; p-STAT3, 磷酸化信号转导及转录激活因子 3; 与正常组比较, \*  $P < 0.01$ ; 与模型组比较, #  $P < 0.01$ ; 与健脾补肾清肠方低剂量组比较, Δ  $P < 0.05$ , Δ  $P < 0.01$ ; 与健脾补肾清肠方中剂量组比较, ▲  $P < 0.05$

图 5 各组大鼠结肠组织 p-JAK2/JAK2 和 p-STAT3/STAT3 值比较

寒热错杂, 治疗应标本兼顾, 气血同调, 治以健脾补肾、清肠化湿为主<sup>[4]</sup>。健脾补肾清肠方是我们结合多年临床实践总结而来, 方中黄芪归脾、肺经, 益气健脾, 生肌愈疡; 白术归脾、胃经, 运脾化湿; 补骨脂归肾、脾经, 补肾助阳, 温脾止泻; 益智仁入脾、肾经, 温脾暖肾; 黄连、黄芩清肠化湿, 以祛除病理因素, 地榆凉血止血, 宁络愈疡, 配伍木香行气导滞, 调气则后重自除。黄芩、黄连、地榆与健脾补肾药配伍, 寒温并用, 使下利止而不致恋邪, 祛邪而不伤正。

UC 病程中肠黏膜的损害与炎症细胞的大量浸润、炎症细胞因子的大量释放有密切关系, IL-6/JAK2/STAT3 信号通路参与 UC 的炎症反应, 也是 UC 非可控性炎症反应的重要通路, 参与细胞的增殖、分化、凋亡, 而且对免疫调节等许多重要的生物学过程起到重要作用<sup>[7-9]</sup>。JAK2 识别细胞外信号发生磷酸化激活后能够使下游 STAT3 发生磷酸化, p-STAT3 具有转录激活活性, 能够调节下游多种基因的表达并参与凋亡、炎症的调控<sup>[9-10]</sup>。IL-6 与靶细胞表面白细胞介素 6 受体 (sIL-6R) 识别并结合, 形成 sIL-6R/IL-6 复合物, 进一步活化细胞膜表面糖蛋白 130 (gp130), 从而激活 JAK2, 使受体酪氨酸激酶活化, 并与 STAT3 蛋白结合, STAT3 磷酸化, 激活下游转录因子, 调控炎症细胞

因子的表达, 如 IL-8、IL-1β 和 TNF-α。IL-6/JAK2/STAT3 通路已成为中药治疗溃疡性结肠炎的机制研究靶点<sup>[11]</sup>。

本实验结果显示, 健脾补肾清肠方各剂量组均能够改善结肠组织病理, 修复受损黏膜, 减少组织炎症细胞浸润数量, 并且能够降低 UC 模型大鼠血清及结肠组织促炎因子 IL-8、IL-1β 和 TNF-α 的含量。同时, 与正常组相比, 模型组大鼠 IL-6 血清含量和结肠组织 IL-6 mRNA 表达升高, p-JAK2/JAK2 和 p-STAT3/STAT3 值显著上调。与模型组相比, 健脾补肾清肠方各剂量组干预后能够降低上述指标, 且以高剂量组效果最明显。综上, 健脾补肾清肠方可能通过调节 IL-6/JAK2/STAT3 信号通路减轻炎症反应从而治疗 UC。但是, 本研究仅采用实验性 UC 大鼠模型开展研究, 具有一定的局限性, 在今后的研究中, 将通过体外研究和临床检测进一步探究健脾补肾清肠方对于 UC 的作用靶点及关键机制。

## 参考文献

- [1] NG SC, SHI HY, HAMIDI N, et al. Worldwide incidence and prevalence of inflammatory bowel disease in the 21st century: a systematic review of population-based studies [J]. Lancet, 2018, 390(10114): 2769-2778.
- [2] SJOBERG D, HOLMSTROM T, LARSSON M, et al. Incidence and natural history of ulcerative colitis in the Uppsala region of Sweden 2005-2009—results from the IBD cohort of the Uppsala Region [J]. J Crohns Colitis, 2013, 7(9): e351-e357.
- [3] 郑凯, 沈洪, 汪芳裕, 等. 健脾补肾、清肠敛毒方口服配合中药灌肠治疗激素依赖型溃疡性结肠炎临床研究 [J]. 河北中医, 2019, 41(6): 817-821.
- [4] MORRIS GP, BECK PL, HERRIDGE MS, et al. Hapten-induced model of chronic inflammation and ulceration in the rat colon [J]. Gastroenterology, 1989, 96(3): 795-803.
- [5] 张声生, 沈洪, 郑凯, 等. 溃疡性结肠炎中医诊疗专家共识意见(2017) [J]. 中华中医药杂志, 2017, 32(8): 3585-3589.
- [6] 沈洪, 邢敬, 朱磊, 等. 炎症性肠病中西医结合治疗策略的探索与实践 [J]. 北京中医药, 2020, 39(3): 191-195.
- [7] HERMANN H, WOHLFAHRT J, MAIS C, et al. Endocytosis of pro-inflammatory cytokine receptors and its relevance for signal transduction [J]. Biol Chem, 2016, 397(8): 695-708.
- [8] GARBERS C, HERMANN H, SCHAPER F, et al. Interleukin 6-type cytokines: cross-talk and dynamics of signal

transduction [1]. Cytokine Growth Factor Rev, 2012, 23 (3): 85–97.

[2] NGUYEN PM, PUTOCZKI TL, ERNST M. STAT3-activating cytokines: a therapeutic opportunity for inflammatory bowel disease? [J]. J Interferon Cytokine Res, 2015, 35 (5): 340–350.

[3] FU L, WEI LW, ZHAO MD, et al. Investigation of JAKs/STAT-3 in lipopolysaccharide-induced intestinal epithelial cells [J]. Clin Exp Immunol, 2016, 186(1): 75–85.

[4] 张天涵, 沈洪. 基于 IL-6/JAK2/STAT3 信号通路中药抗溃疡性结肠炎研究进展 [J]. 环球中医药, 2019, 12 (10): 1600–1605.

## Effects of *Jianpi Bushen Qingchang Formula* (健脾补肾清肠方) on IL-6/JAK2/STAT3 Signaling Pathway in Colon Tissue of Ulcerative Colitis Model Rats

SHEN Hong, ZHU Lei, LIU Yajun, ZHANG Lu, XING Jing, GU Peiqing

Affiliated Hospital of Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210029

**ABSTRACT Objective** To explore the possible mechanism of *Jianpi Bushen Qingchang Formula* (健脾补肾清肠方) in the treatment of ulcerative colitis. **Methods** A rat model of ulcerative colitis was established with trinitrobenzene sulfonic acid and ethanol enema. The rats that were successfully modeled were randomly divided into a model group, *Jianpi Bushen Qingchang Formula* low, medium and high dose group, and a normal group, with 10 rats in each group. After the model was established, *Jianpi Bushen Qingchang Formula* low, medium and high doses group were given *Jianpi Bushen Qingchang Formula* suspension 3.4, 6.8, 13.6 g/(kg·d) respectively by gavage, and the normal group and model group were given distilled water 1 ml/(100 g·d) by gavage. After 10 days, the colon tissue was taken for pathological observation. The serum and colon tissue interleukin 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), interleukin 6 (IL-6), interleukin 8 (IL-8) and tumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) were detected by ELISA. The expression of IL-6 mRNA in colon tissue was detected by RT-qPCR, and the Janus kinase 2 (JAK2), signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) protein and the expression level of phosphorylated protein were detected by Western blot.

**Results** The pathological results showed that the mucosal structure of the colon tissue of the normal group was complete, and the glands were arranged neatly; the colon mucosal structure of the model group was seriously damaged, the glands were arranged disorderly or missing, and a large number of inflammatory cell infiltrations were seen; the colonic glands were less damaged and the structure basically returned to normal in *Jianpi Bushen Qingchang Formula* high dose group, while the mucosa recovered a little, and some inflammatory cells were infiltrated in *Jianpi Bushen Qingchang Formula* low-dose and medium-dose group. Compared with the normal group, the contents of IL-6, IL-1 $\beta$ , IL-8 and TNF- $\alpha$  in the colon tissue and serum, the expression of IL-6 mRNA in the colon tissue, p-JAK2/JAK2 and p-STAT3/STAT3 values were significantly increased in the model group ( $P < 0.01$ ); compared with the model group, the above indicators of the low, medium, and high dose groups of *Jianpi Bushen Qingchang Formula* were reduced to varying degrees ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ), and the improvement of indexes of *Jianpi Bushen Qingchang Formula* high-dose group was most significant ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ). **Conclusion** *Jianpi Bushen Qingchang Formula* can alleviate the inflammation in the colon tissue of ulcerative colitis model rats, and repairing the damaged mucosa, and inhibiting the IL-6/JAK2/STAT3 signaling pathway in the colon tissue, and may be one of its mechanisms.

**Keywords** ulcerative colitis; *Jianpi Bushen Qingchang Formula* (健脾补肾清肠方); inflammatory factors; IL-6/JAK2/STAT3 signaling pathway

(收稿日期: 2020-06-20; 修回日期: 2020-07-27)

编辑: 邓 媛