

DOI:10.13288/j.11-2166/r.2025.09.012

实验研究

加味葛根芩连汤对溃疡性结肠炎模型小鼠肠黏液屏障和肠道干细胞增殖分化的影响

黄金科, 张佳琪, 王凤云, 唐旭东✉

中国中医科学院西苑医院脾胃病研究所, 北京市海淀区西苑操场1号, 100091

[摘要] 目的 基于肠黏液屏障探讨加味葛根芩连汤治疗溃疡性结肠炎的可能作用机制。方法 将30只C57BL/6小鼠随机分为对照组、模型组及加味葛根芩连汤组各10只。除对照组外,其余各组小鼠采用葡聚糖硫酸钠盐构建溃疡性结肠炎小鼠模型。造模同时加味葛根芩连汤组小鼠按体质量给予20g/kg的加味葛根芩连汤水煎剂灌胃,对照组和模型组按小鼠体重给予0.2 ml/20 g纯水灌胃,每日1次,连续7天。最后一次灌胃次日,比较各组小鼠体质量、疾病活动指数(DAI)评分、脾重、结肠长度;HE染色观察结肠组织的病理学改变;免疫荧光检测结肠组织黏蛋白2(MUC2)及富含亮氨酸重复G蛋白偶联受体5(Lgr5)表达水平;AB/PAS染色检测结肠组织的杯状细胞数量;免疫组化检测肠黏膜组织基尔67抗原(Ki67)水平。结果 HE染色结果显示,对照组小鼠结肠黏膜组织结构完整;模型组小鼠结肠黏膜上皮结构遭受破坏明显,黏膜固有层内可见大量炎性细胞浸润。加味葛根芩连汤组小鼠的黏膜组织结构部分缺失,可见少量炎性细胞浸润。与对照组比较,模型组小鼠体质量、结肠长度降低,DAI评分及脾重升高,MUC2、Ki67、Lgr5蛋白水平及杯状细胞数量均降低($P<0.01$);与模型组比较,加味葛根芩连汤组小鼠体质量、结肠长度升高,DAI评分及脾重降低,MUC2、Ki67、Lgr5蛋白水平及杯状细胞数量均升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。结论 加味葛根芩连汤对溃疡性结肠炎模型小鼠相关症状及病理组织损伤具有改善作用,其机制可能与恢复肠道干细胞增殖并分化为杯状细胞,进而促进肠黏液屏障修复相关。

[关键词] 溃疡性结肠炎;加味葛根芩连汤;黏液屏障;杯状细胞;干细胞增殖

随着人们饮食习惯、生活方式的改变及全球人口老龄化加剧,溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)的全球年发病率不断增长^[1]。反复发作,迁延难愈的腹痛、腹泻及黏液脓血便等临床不适严重影响UC患者生活质量^[2]。尽管新药的开发以及循证治疗方案的不断完善使得UC的临床疗效有了明显提升,但限于该病致病因素和病理机制尚未得到完全阐明,当前的治疗仍缺乏特异性,UC的治疗难、防复发难、长期管理难等问题仍未得到完全解决^[3]。完整的肠黏膜屏障是肠腔内病原微生物和生物体免疫系统之间的一道天然屏障^[4],而黏液屏障是肠黏膜屏障的第一道防线,其结构功能破坏是UC发生的早期事件^[5]。因此,靶向修复肠黏液屏

障被认为是防治UC的重点策略。

葛根芩连汤出自《伤寒论》,具有解表清里、升清降浊、清热利湿的功效,临床常应用于UC的治疗^[6]。本团队结合临床实践经验,改良形成加味葛根芩连汤,经研究可通过修复肠黏膜机械屏障缓解小鼠的结肠炎症^[7-8],但其具体作用机制尚未明确。因此,本研究基于肠黏液屏障对加味葛根芩连汤治疗UC的可能作用机制展开探索,为更好地明晰加味葛根芩连汤的作用机制以及拓展其临床应用提供依据。本研究方案由中国中医科学院西苑医院伦理委员会审查批准通过(2019XLC003-2)。

1 材料与方法

1.1 动物

30只雄性C57BL/6J小鼠,4~6周龄,体质量18~22 g,购自斯贝福(北京)生物技术有限公司,

基金项目:国家自然科学基金(82341233)

✉ 通讯作者:txdly@sina.com

实验动物生产许可证号 SCXK (京) 2019-0010。动物饲养于中国中医科学院西苑医院 SPF 级动物实验中心, 室温 22~25 ℃, 12 h 光照/黑暗交替, 相对湿度 60%, 动物自由进食进水。

1.2 药物

加味葛根芩连汤主要由葛根、黄芩、黄连、甘草、滑石按 8:3:3:2:3 配比组成, 中药饮片由中国中医科学院西苑医院中药房提供, 并由医院制剂室制备成浓度为 2 g/ml 的汤药液。

1.3 主要试剂与仪器

葡聚糖硫酸钠盐 (DSS, MP Biomedicals 公司, 货号: 160110); 基尔 67 抗原 (Kiel 67, Ki67) 抗体 (Proteintech 公司, 货号: 28074-1-AP); 富含亮氨酸重复 G 蛋白偶联受体 5 (Leucine-rich repeat-containing G-protein coupled receptor 5, Lgr5) 抗体 (北京博奥森生物技术有限公司, 货号: bs-20746R); 黏蛋白 2 (Mucin 2, MUC2) 抗体 (Proteintech 公司, 货号: 27675-1-AP); AB-PAS 染液套装 (货号: G1049)、HE 染色液 (货号: G1003)、DAB 显色试剂盒 (货号: G1212-200T); 磷酸盐缓冲液 (PBS, 货号: G4207-500ML)、组织固定液 (货号: G1101-500ML)、Alexa Fluor® 594 标记山羊抗兔 IgG (货号: GB28301), Servicebio 公司; 粪便隐血定性检测试剂盒 (珠海贝索生物技术有限公司, 货号: BA2020B)。

包埋机 (武汉俊杰电子有限公司, 型号: JB-P5); 病理切片机 (上海徕卡仪器有限公司, 型号: RM2016); 显微镜 (Nikon 公司, 型号: E100); 电子分析天平 (上海英衡电子秤有限公司, 型号: YH-B)。

1.4 动物分组与干预

小鼠适应性喂养 7 天后, 称重并标号, 应用 Excel 2021 的 Rand 函数将小鼠随机分为对照组、模型组、加味葛根芩连汤组, 每组 10 只。对照组小鼠全程饮用正常水, 其余两组小鼠则给予 3% DSS 水溶液连续自由饮用 7 天以诱导 UC 小鼠模型^[9]。造模第 8 天, 以小鼠出现体重减轻、稀便、便潜血阳性或肉眼血便, 疾病活动指数 (DAI) 升高评价为造模成功^[10]。本研究造模过程中模型组 4 只小鼠死亡, 其他 6 只造模成功。课题组前期研究^[7-8]结果显示, 低 (5 g/kg)、中 (10 g/kg)、高 (20 g/kg) 剂量组中, 以高剂量的加味葛根芩连汤对 UC 小鼠的干预作用最佳, 因此本实验采用 20 g/kg 的加味葛根芩连汤进行干预。在造模同期对加味葛根芩连汤组的小鼠给予 20 g/kg 加味葛根芩连汤水煎剂灌胃,

对照组和模型组给予 0.2 ml/20 g 纯水灌胃。各组均每日灌胃 1 次, 连续 7 天。

1.5 观察指标与方法

1.5.1 小鼠体质量及疾病活动指数 (DAI) 评分

模型组共 6 只小鼠, 其余各组采用随机数字表法选取 6 只小鼠, 自造模干预起, 每天观察并记录各组小鼠的精神状态、皮毛色泽、活动情况、体质量、大便性状、便血等一般情况的变化。造模干预结束后当日分别比较各组小鼠体质量、DAI 评分。DAI 评分 = (体质量下降分数 + 大便性状分数 + 大便隐血分数) / 3^[9]。

1.5.2 脾重及结肠长度 干预结束后禁食 24 h, 随后处死小鼠, 模型组共 6 只小鼠, 其余各组采用随机数字表法选取 6 只小鼠, 分离脾脏并采用高精度电子分析天平进行称重, 同时分离结肠组织, 用刻度尺测量并记录分离的结肠长度。

1.5.3 结肠组织病理观察 测量完结肠长度后, 沿纵轴剖开结肠组织, 用预冷的 PBS 清洗粪便, 将远端 1/4 结肠组织分离置于组织固定液中保存, 余下结肠组织置于液氮速冻, 随后转移到 -80 ℃ 冰箱保存备用。将收集的约 1 cm 长的结肠组织置于组织固定液中固定, 随后采用石蜡包埋, 制成厚度约 5 μm 的切片。使用 HE 染色液进行切片染色, 显微镜下观察小鼠结肠切片组织病理变化, 并根据炎症严重程度、炎症累及深度、炎症累及范围、隐窝损伤几方面进行组织病理学评价^[11]。

1.5.4 免疫荧光法检测结肠组织 MUC2、Lgr5 蛋白水平 采用随机数字表法每组选取 3 只小鼠, 结肠组织切片采用柠檬酸进行抗原修复, 按照说明书配置一抗并将一抗与切片于 4 ℃ 冰箱孵育过夜。PBS 洗涤后加入对应的二抗避光室温孵育, 再加 DAPI 复染细胞核 10 min, 荧光封片剂封片, 显微镜下采集图像, 使用 Image Pro Plus 6.0 进行定量。

1.5.5 AB/PAS 染色检测结肠组织杯状细胞 每组采用随机数字表法选取 3 只小鼠, 结肠组织切片分别入染液 C、染液 B 后流水冲洗。随后切片入染液 A 避光染色, 结束后脱水中性树胶封片, 显微镜下采集图像, 各组随机抽取等面积图像进行细胞计数。

1.5.6 免疫组化法检测结肠组织 Ki67 蛋白水平

采用随机数字表法每组选取 3 只小鼠, 结肠组织切片采用柠檬酸进行抗原修复, 按照说明书配置一抗并将一抗与切片于 4 ℃ 冰箱孵育过夜, PBS 洗涤后加对应的二抗避光室温孵育 1 小时, 再加 DAB 显色液复染细胞核, 脱水中性树胶封片, 显微镜下采

集图像，使用 Image Pro Plus 6.0 进行定量。

1.6 统计学方法

统计分析和作图分别使用 SPSS 26.0 和 GraphPad Prism 9.0 软件。计量数据均符合正态分布，以均数±标准差 ($\bar{x}\pm s$) 表示，方差齐的两组比较采用 *t* 检验，多组比较采用 One-way ANOVA 分析；方差不齐的两组比较采用 Welch *t'* test 检验，多组比较采用 Welch one-way ANOVA 分析。以 $P<0.05$ 为差异具有统计意义。

2 结果

2.1 各组小鼠体质量、DAI 评分、脾重、结肠长度比较

表 1 示，与对照组比较，模型组小鼠体质量、结肠长度减小，DAI 评分及脾重增加 ($P<0.01$)；与模型组比较，加味葛根芩连汤组小鼠体质量、结肠长度增加，DAI 评分及脾重减小 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。

2.2 各组小鼠结肠组织 HE 染色结果比较

图 1 示，对照组小鼠结肠黏膜组织结构完整，未见炎性细胞浸润。模型组小鼠结肠黏膜上皮结构遭受破坏明显，上皮细胞连接疏松，腺体变形、数量减少，隐窝结构破坏、排列不规则，黏膜固有层内可见大量炎性细胞浸润。加味葛根芩连汤组小鼠的黏膜组织结构部分缺失，同时可见少量炎性细胞浸润。

2.3 各组小鼠结肠组织 MUC2 蛋白水平及杯状细胞数量比较

表 2 示，与对照组比较，模型组小鼠结肠组织 MUC2 蛋白水平及杯状细胞数量均下降 ($P<0.01$)；与模型组比较，加味葛根芩连汤组小鼠结肠组织 MUC2 蛋白水平及杯状细胞数量均上升 ($P<0.05$)。免疫荧光图见图 2，结果提示对照组及加味葛根芩连汤组小鼠的 MUC2 蛋白主要储存在分泌颗粒中，且部分形成覆盖上皮的黏液层，而模型组小鼠分泌颗粒中的 MUC2 蛋白相对不足，黏液层变薄。各组小鼠结肠组织杯状细胞 AB/PAS 染色图见图 3，对照组小鼠黏液层持续完整，黏液（蓝色）较厚，杯状细胞（紫色）数量充足；模型组小鼠的黏液层基本缺失，杯状细胞数量较少；加味葛根芩连汤组的小鼠黏液层相对完整，杯状细胞较为充足。

表 2 各组小鼠结肠组织 MUC2 蛋白水平及杯状细胞数量比较

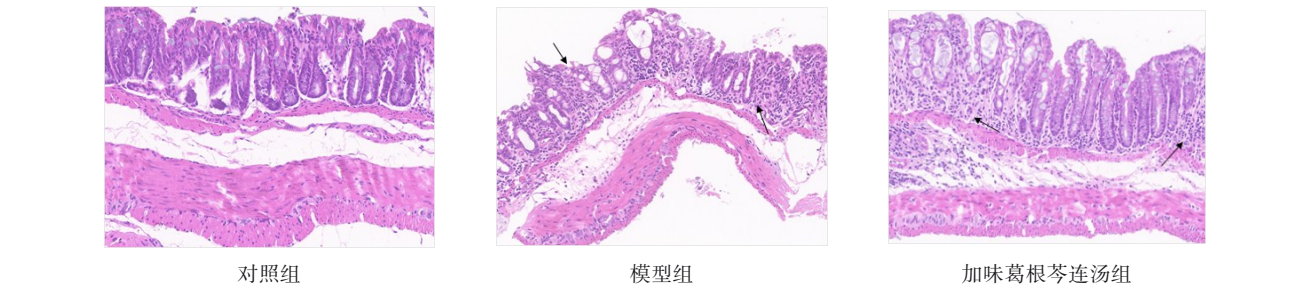
Table 2 Comparison of MUC2 prootein levels and goblet cell numbers in colon tissue of mice from each group ($\bar{x}\pm s$)			
组别	鼠数	MUC2 蛋白	杯状细胞数量/个
对照组	3	1.01±0.07	79.33±5.89
模型组	3	0.37±0.07 ^{a)}	43.67±7.90 ^{a)}
加味葛根芩连汤组	3	0.66±0.11 ^{b)}	68.47±4.78 ^{b)}

注：MUC2，黏蛋白 2。
a) 与对照组比较， $P<0.01$ ；b) 与模型组比较， $P<0.05$ 。

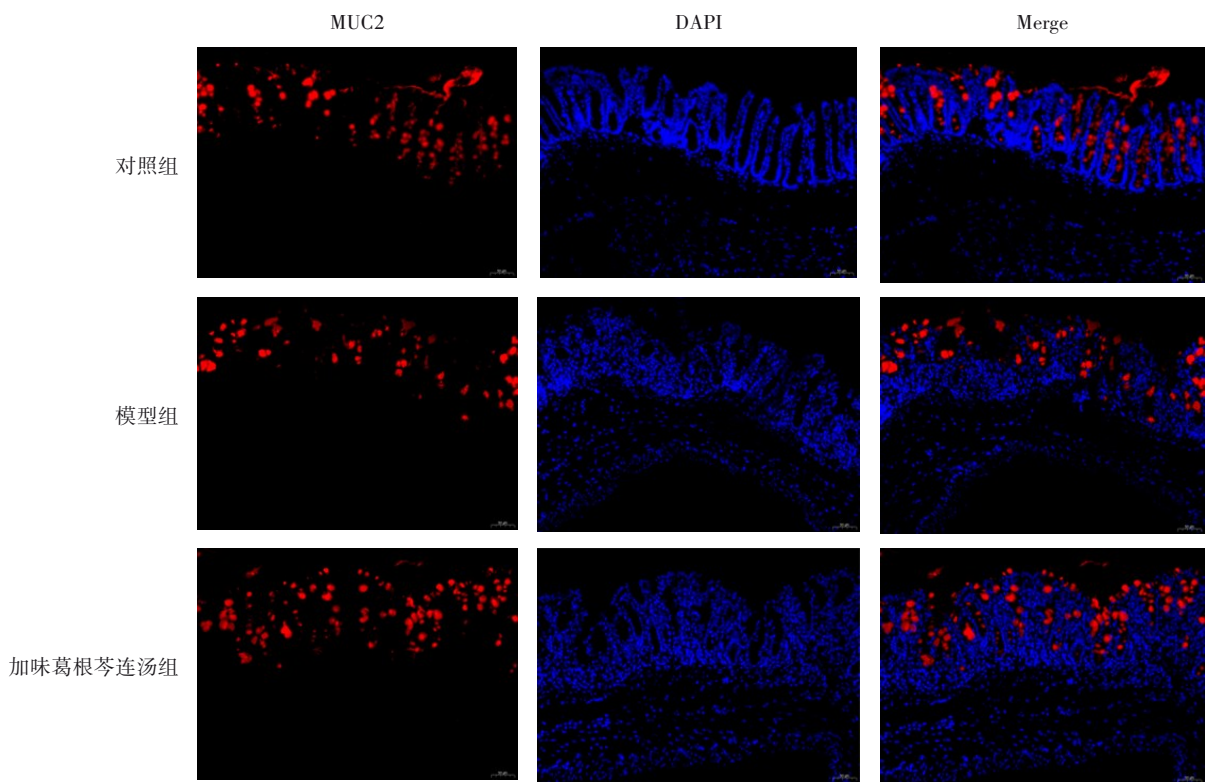
表 1 各组小鼠体质量、DAI 评分、脾重及结肠长度比较
Table 1 Comparison of body eeight, DAI score, spleen weight, and colon length in mice from each group ($\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	体质量/%	DAI 评分/分	脾重/g	结肠长度/cm
对照组	6	111.82±0.36	0	0.06±0.01	7.93±0.20
模型组	6	70.62±2.69 ^{a)}	3.48±0.01 ^{a)}	1.11±0.02 ^{a)}	4.03±0.40 ^{a)}
加味葛根芩连汤组	6	91.84±3.47 ^{b)}	1.53±0.17 ^{b)}	0.09±0.01 ^{c)}	6.27±0.10 ^{b)}

注：DAI，疾病活动指数。
a) 与对照组比较， $P<0.01$ ；b) 与模型组比较， $P<0.01$ ；c) 与模型组比较， $P<0.05$ 。

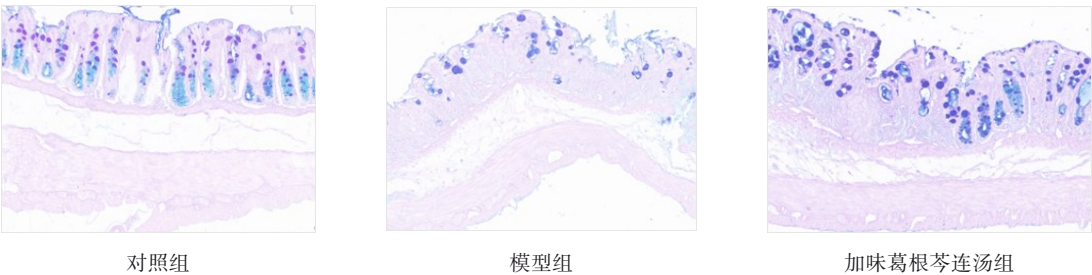


注：图中黑色箭头指示为腺体结构破坏、排列欠规则，炎症细胞浸润。
图 1 各组小鼠结肠组织病理图 (HE 染色，×200)
Figure 1 Pathological images of colon tissue in mice from each group (HE staining, ×200)



注：MUC2，黏蛋白2；图中红色为MUC2蛋白表达。
图2 各组小鼠结肠组织MUC2蛋白免疫荧光图（×200）

Figure 2 Immunofluorescence images of MUC2 protein in colon tissue of mice from each group (×200)



注：图中蓝色为黏液，紫色为杯状细胞。
图3 各组小鼠结肠组织杯状细胞AB/PAS染色图（×200）

Figure 3 AB/PAS staining images of goblet cells in colon tissue of mice from each group (×200)

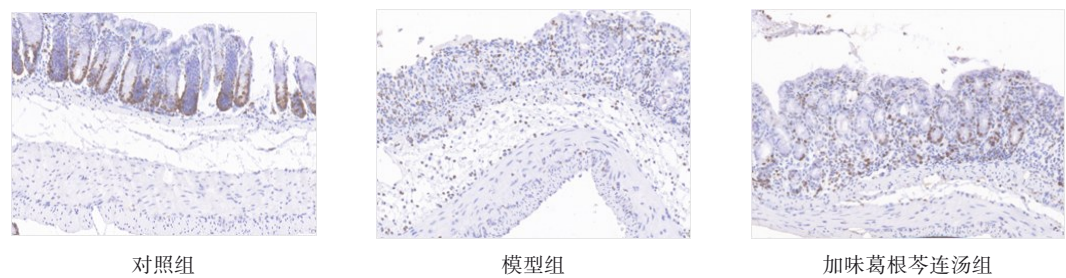
2.4 各组小鼠结肠组织Ki67及Lgr5蛋白水平比较
表3示，与对照组比较，模型组小鼠结肠组织Ki67、Lgr5蛋白水平均下降（ $P<0.01$ ）；与模型组比较，加味葛根芩连汤组小鼠结肠组织Ki67、Lgr5蛋白水平均上升（ $P<0.01$ ）。各组小鼠结肠组织Ki67免疫组化染色图见图4，对照组及加味葛根芩连汤组小鼠的Ki67主要分布于隐窝基底部，而模型组小鼠的Ki67分布范围扩大，甚至累及隐窝全长；Lgr5蛋白免疫荧光图见图5，对照组及加味葛根芩连汤组小鼠的Lgr5蛋白主要表达于隐窝基底部，而模型组小鼠的Lgr5蛋白由隐窝基底部向隐

窝中段或顶部迁移。

表3 各组小鼠结肠组织Ki67及Lgr5蛋白水平比较
Table 3 Comparison of Ki67 and Lgr5 protein levels in colon tissue of mice from each group ($\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	Ki67	Lgr5
对照组	3	0.20±0.02	1.00±0.16
模型组	3	0.09±0.01 ^{a)}	0.45±0.08 ^{a)}
加味葛根芩连汤组	3	0.15±0.01 ^{b)}	0.68±0.09 ^{b)}

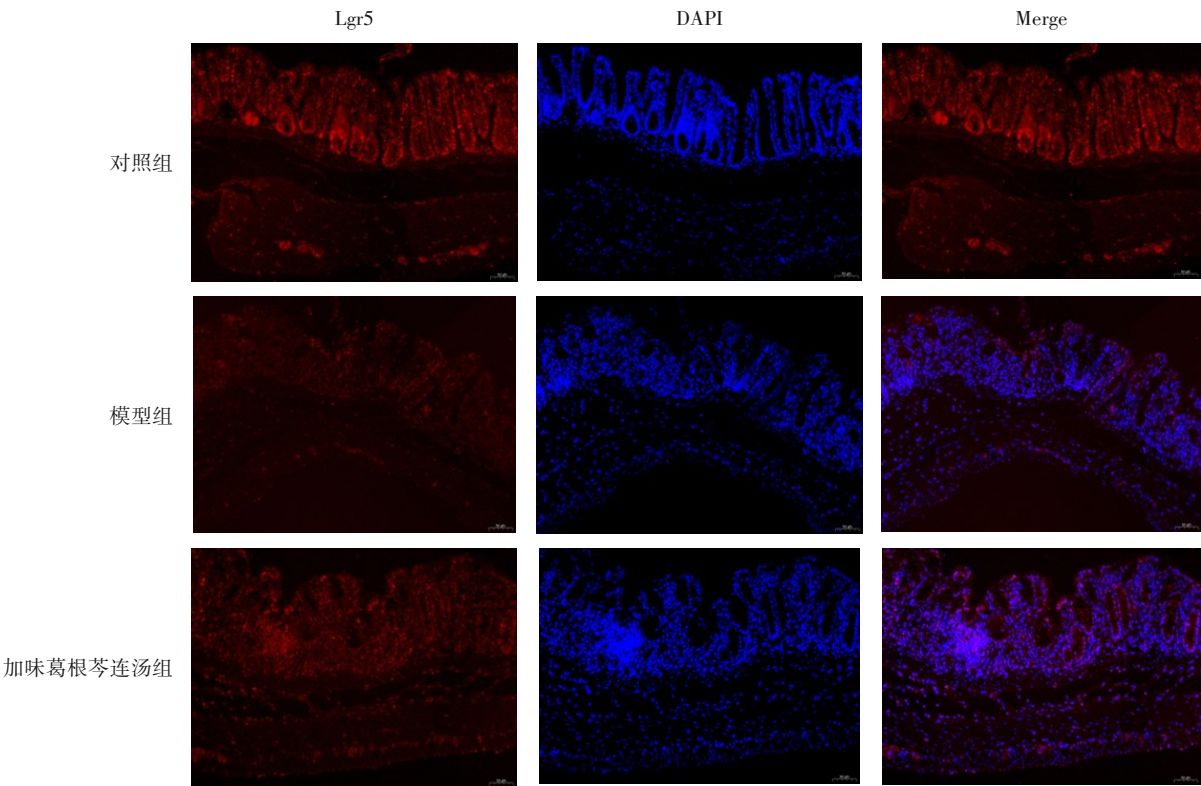
注：ki67，基尔67抗原；Lgr5，富含亮氨酸重复G蛋白偶联受体5。
a) 与对照组比较， $P<0.01$ ；b) 与模型组比较， $P<0.01$ 。



注：ki67，基尔 67 抗原；图中棕褐色为 Ki67 表达。

图4 各组小鼠结肠组织Ki67免疫组化染色图（×200）

Figure 4 Immunohistochemical staining images of Ki67 in colon tissue of mice from each group (×200)



注：Lgr5，富含亮氨酸重复 G 蛋白偶联受体 5；图中红光为 Lgr5 表达。

图5 各组小鼠结肠组织Lgr5蛋白免疫荧光图（×200）

Figure 5 Immunofluorescence images of Lgr5 protein in colon tissue of mice from each group (×200)

3 讨论

中医学认为，UC 病位在肠，与脾胃关系密切，多因外邪侵袭、饮食不节、情志失调及正气亏虚所致，其基本病理因素有湿热、痰浊、血瘀，其中又以湿热之邪作为发病的首要因素^[12]。首届国医大师徐景藩认为，UC 基本病机可归结为邪滞肠道、湿热壅盛、气血凝滞，故应以清热化湿法为其基本治疗大法^[13]。葛根芩连汤出自《伤寒论》，方中重用葛根解表清里，黄芩、黄连清热燥湿止痢，甘草和中，诸药相伍，全方具有解表清里、升清降浊、清热利湿的功效，契合 UC 的核心病机。本研究团

队基于 UC 核心病因病机及临床实践经验，在葛根芩连汤基础上添加滑石、甘草等药物，形成加味葛根芩连汤，更适合 UC 的临床实际应用。本研究结果也证实，加味葛根芩连汤可显著改善 UC 模型小鼠的结肠炎相关症状及结肠组织病理损伤。

黏液层是机体中对肠腔周围环境接触最为广泛的层面，也是肠黏膜屏障的第一道防线^[4]，以 MUC2 为主体的黏液屏障破坏是 UC 的早发事件^[5]。既往研究^[14-15]显示，UC 患者的黏液层较薄，在某些炎症区域甚至消失。在 UC 患者的肠黏膜中观察到 MUC2 表达的降低与杯状细胞的耗竭和结肠黏膜变薄相关^[16]。对 UC 临床样本黏液屏障的电子显微

镜观察结果也显示,部分合成或错误折叠的 MUC2 蛋白在内质网中积聚,表明 UC 患者肠道杯状细胞的内质网应激增加^[17]。此外,从缓解期 UC 患者的活检组织样本中发现隐窝间杯状细胞数量减少,而在活动性 UC 患者获得的组织标本中观察到前哨和隐窝间杯状细胞的可检测数量下降^[14, 18]。类似的,在 MUC2 基因缺陷小鼠中,研究人员没有观察到黏液层,并且发现细菌与结肠上皮直接接触并渗透到结肠组织,小鼠也自发性发展为结肠炎^[19-20]。因此,靶向修复肠黏液屏障可能是缓解 UC 的关键策略。本研究结果提示,UC 模型小鼠结肠组织 MUC2 蛋白水平较对照组小鼠降低,而给予加味葛根芩连汤治疗后的结肠组织中 MUC2 蛋白水平升高。此外,UC 模型小鼠的成熟杯状细胞严重缺失,黏液层破坏明显,杯状细胞数量较正常组小鼠降低,而给予加味葛根芩连汤治疗后的结肠组织中的成熟杯状细胞缺失情况得以改善,黏液层得到恢复,杯状细胞数量也较模型组明显升高,提示加味葛根芩连汤可通过维系杯状细胞的数量及合成分泌黏蛋白的功能来修复肠黏液屏障。

肠道杯状细胞由隐窝中的 Lgr5⁺ 肠道干细胞 (ISCs) 增殖分化而来,ISCs 的增殖活跃程度以 Ki67 为标志,在不同的结肠炎模型中,均观察到 Lgr5⁺ ISCs 的丢失现象^[21]。因此,ISCs 增殖及分化能力减弱致杯状细胞在耗竭的同时难以得到持续更新可能是肠黏液屏障遭受破损的机制之一。本研究结果提示,UC 模型小鼠结肠组织中 Ki67、Lgr5 水平较正常组小鼠降低,而给予加味葛根芩连汤干预后结肠组织中 Ki67、Lgr5 蛋白水平均升高,提示加味葛根芩连汤可能通过推动 ISCs 增殖分化为杯状细胞,进而发挥了修复肠黏液屏障的作用。

综上所述,加味葛根芩连汤对 UC 小鼠的结肠炎症相关症状及病理组织损伤具有较好的改善作用,其作用机制可能与恢复 ISCs 增殖及分化为杯状细胞,进而促进修复肠黏液屏障相关。然而,本研究仅探索了黏液屏障,对机械屏障、免疫屏障等未进行探索,无法完整说明加味葛根芩连汤对黏膜各层屏障的影响作用。今后将继续开展相关实验,深入探索加味葛根芩连汤对 UC 黏膜屏障的影响。

参考文献

[1] DU L, HA C. Epidemiology and pathogenesis of ulcerative colitis [J]. *Gastroenterol Clin North Am*, 2020, 49 (4):643-654.

[2] JO IH, LEE KM, KIM DB, et al. Quality of life in newly diagnosed moderate-to-severe ulcerative colitis: changes in the MOSAIC cohort over 1 year [J]. *Gut Liver*, 2022, 16(3):384-395.

[3] HIRTEN RP, SANDS BE. New therapeutics for ulcerative colitis [J]. *Annu Rev Med*, 2021, 72:199-213. doi: 10.1146/annurev-med-052919-120048.

[4] TURNER JR. Intestinal mucosal barrier function in health and disease [J]. *Nat Rev Immunol*, 2009, 9(11):799-809.

[5] POST S, JABBAR KS, BIRCHENOUGH G, et al. Structural weakening of the colonic mucus barrier is an early event in ulcerative colitis pathogenesis [J]. *Gut*, 2019, 68 (12):2142-2151.

[6] HUANG J, ZHANG J, WANG Y, et al. Scientific evidence of chinese herbal medicine (Gegen Qinlian Decoction) in the treatment of ulcerative colitis [J]. *Gastroenterol Res Pract*, 2022, 2022:7942845. doi: 10.1155/2022/7942845.

[7] 方俐晖, 张佳琪, 胡蓝烁, 等. 葛根芩连汤加味方对溃疡性结肠炎模型小鼠肠黏膜屏障及上皮间质转化的影响 [J]. *中医杂志*, 2024, 65(24):2580-2588.

[8] WANG Y, ZHANG J, XU L, et al. Modified Gegen Qinlian Decoction regulates Treg/Th17 balance to ameliorate DSS-induced acute experimental colitis in mice by altering the gut microbiota [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12:756978. doi: 10.3389/fphar.2021.756978.

[9] WIRTZ S, POPP V, KINDERMANN M, et al. Chemically induced mouse models of acute and chronic intestinal inflammation [J]. *Nat Protoc*, 2017, 12(7):1295-1309.

[10] MURTHY SN, COOPER HS, SHIM H, et al. Treatment of dextran sulfate sodium-induced murine colitis by intra-colonic cyclosporin [J]. *Dig Dis Sci*, 1993, 38(9):1722-1734.

[11] KIHARA N, FUENTE SG, FUJINO K, et al. Vanilloid receptor-1 containing primary sensory neurones mediate dextran sulphate sodium induced colitis in rats [J]. *Gut*, 2003, 52(5):713-719.

[12] 朱磊, 程成, 刘小娟, 等. 溃疡性结肠炎大肠湿热证研究现状与思考 [J]. *南京中医药大学学报*, 2023, 39 (2):188-193.

[13] 张良宇, 陆为民. 徐景藩治疗溃疡性结肠炎经验 [J]. *中医杂志*, 2018, 59(23):1993-1995.

[14] SWIDSINSKI A, LOENING-BAUCKE V, THEISSIG F, et al. Comparative study of the intestinal mucus barrier in normal and inflamed colon [J]. *Gut*, 2007, 56(3):343-350.

[15] PAONE P, CANI PD. Mucus barrier, mucins and gut microbiota: the expected slimy partners? [J]. *Gut*, 2020,

- 69(12):2232–2243.
- [16]TYTGAT KM, OPDAM FJ, EINERHAND AW, et al. MUC2 is the prominent colonic mucin expressed in ulcerative colitis [J]. Gut, 1996,38(4):554–563.
- [17]HEAZLEWOOD CK, COOK MC, ERI R, et al. Aberrant mucin assembly in mice causes endoplasmic reticulum stress and spontaneous inflammation resembling ulcerative colitis [J]. PLoS Med, 2008,5(3):e54.
- [18]NYSTROM EEL, MARTINEZ-ABAD B, ARIKE L, et al. An intercrypt subpopulation of goblet cells is essential for colonic mucus barrier function [J]. Science, 2021, 372(6539): eabb1590.
- [19]VAN DER SLUIS M, DE KONING BA, DE BRUIJN AC, et al. Muc2-deficient mice spontaneously develop colitis, indicating that MUC2 is critical for colonic protection [J]. Gastroenterology, 2006,131(1):117–129.
- [20]WENZEL UA, MAGNUSSON MK, RYDSTROM A, et al. Spontaneous colitis in Muc2-deficient mice reflects clinical and cellular features of active ulcerative colitis [J]. PLoS One, 2014,9(6):e100217.
- [21]GIRISH N, LIU CY, GADEOCK S, et al. Persistence of Lgr5+ colonic epithelial stem cells in mouse models of inflammatory bowel disease [J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2021,321(3):G308–G324.

Effect of *Modified Gegen Qinlian Decoction* (加味葛根芩连汤) on the Intestinal Mucus Barrier and Intestinal Stem Cell Proliferation and Differentiation in Ulcerative Colitis Model Mice

HUANG Jinke, ZHANG Jiaqi, WANG Fengyun, TANG Xudong

Xiyuan Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing, 100091

ABSTRACT **Objective** To explore the possible mechanism of *Modified Gegen Qinlian Decoction* (加味葛根芩连汤, MGQD) in the treatment of ulcerative colitis (UC) based on intestinal mucus barrier. **Methods** Thirty C57BL/6 mice were randomly divided into a control group, a model group and a MGQD group with 10 mice in each. Dextran Sulfate Sodium Salt (DSS) was used to construct the UC model in all groups except for the control group. Meanwhile, mice in the MGQD group were given 20 g/kg of MGQD decoction by gavage according to their body weight, while those in the control group and model group were given 0.2 ml/20 g of pure water by gavage, once a day for 7 consecutive days. On the day following the last gavage, the body weight, disease activity index (DAI) score, spleen weight, and colon length were compared. The pathological changes of the intestinal mucosal tissues were observed by HE staining; the protein expression levels of mucin 2 (MUC2) and leucine-rich repeat G protein-coupled receptor 5 (Lgr5) in the intestinal mucosal tissues were detected by immunofluorescence; the cuprocytes in the intestinal mucosal tissues were detected by AB/PAS staining; and the expression level of Ki67 in the intestinal mucosal tissues was detected by immunohistochemistry. **Results** HE staining showed that the colon mucosal tissue of the mice in the control group was intact. In the model group, the colon mucosal epithelial structure was severely damaged, with a large amount of inflammatory cell infiltration in the mucosal propria. In the MGQD group, the mucosal tissue structure was partially lost, with a small amount of inflammatory cell infiltration. The body weight and colon length of mice in the model group decreased significantly compared to those in the control group, while DAI scores and spleen weight increased, and the levels of MUC2, Ki67, Lgr5 proteins, and the number of goblet cells were significantly reduced ($P < 0.01$). Compared to the model group, the MGQD group had increased body weight of mice, colon length, and decreased DAI scores and spleen weight; the levels of MUC2, Ki67, Lgr5 proteins, and the number of goblet cells were increased ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). **Conclusion** MGQD has a favorable ameliorative effect on UC-related symptoms and pathological tissue damage, and its mechanism of action may be related to the restoration of the proliferation and differentiation of intestinal stem cells into goblet cells, thereby promoting the repair of the intestinal mucus barrier.

Keywords ulcerative colitis; *Modified Gegen Qinlian Decoction* (加味葛根芩连汤); mucus barrier; goblet cells; stem cell proliferation

(收稿日期: 2024-04-08; 修回日期: 2024-10-30)

[编辑: 叶晨]