

·基础研究·

黄芩多糖通过调节JAK2/STAT3通路和IL-23/IL-17炎症轴改善DSS诱导的UC模型小鼠的炎症

马杰¹, 陈韵之², 田蕾¹

(1. 锦州医科大学附属第一医院消化内科, 辽宁锦州121000; 2. 葫芦岛市中心医院消化内科, 辽宁葫芦岛125000)

摘要:【目的】研究黄芩多糖对溃疡性结肠炎小鼠(UC)肠道炎症的影响及其机制。【方法】选用C57BL/6小鼠随机分为正常组、模型组、美沙拉嗪组以及黄芩多糖低、中、高剂量组(10只/组)。观察小鼠日常状态并记录疾病活动指数(DAI)评分。酶联免疫吸附测定(ELISA)法检测血清中细胞因子白细胞介素-6、17、23(IL-6、IL-17、IL-23)的表达。处死小鼠, HE观察小鼠肠黏膜损伤情况记录结肠组织损伤指数(TDI)评分, Western blot法和免疫组化法检测Janus激酶2(JAK2)、信号转导因子和转录激活因子(STAT3)、p-JAK2、p-STAT3蛋白的表达水平。【结果】与空白组相比, 模型组小鼠DAI评分升高, 血清中IL-6、IL-17、IL-23含量升高, 结肠组织p-JAK2/JAK2、p-STAT3/STAT3比值升高, p-JAK2、p-STAT3表达量升高。与模型组相比, 各给药组小鼠DAI评分降低; 血清中IL-6、IL-17、IL-23含量降低, TDI评分降低, 结肠组织p-JAK2/JAK2、p-STAT3/STAT3比值降低, p-JAK2、p-STAT3表达量降低。【结论】黄芩多糖可能通过JAK2/STAT3通路和IL-23/IL-17炎症轴改善UC小鼠的炎症。

关键词:黄芩多糖; 溃疡性结肠炎; IL-17; IL-23; JAK2/STAT3通路

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1672-3554(2023)03-0423-07

DOI: 10.13471/j.cnki.j.sun.yat-sen.univ(med.sci).2023.0308

Scutellaria Baicalensis Polysaccharides Alleviates the Inflammation of DSS-induced UC Model Mice by Regulating JAK2/STAT3 Pathway and IL-23/IL-17 Inflammatory Axis

MA Jie¹, CHEN Yun-zhi², TIAN Lei¹

(1. Department of Gastroenterology, The First Affiliated Hospital of Jinzhou Medical University, Jinzhou 121000, China;

2. Department of Gastroenterology, Huludao Central Hospital, Huludao 125000, China)

Correspondence to: TIAN Lei, E-mail: tljinzhou@126.com

Abstract: 【Objective】 To investigate the effect and mechanism of Scutellaria Baicalensis polysaccharides on intestinal immunity in mice with ulcerative colitis (UC). 【Methods】 C57BL/6 mice were randomly assigned to blank group, model group, mesalazine group and Scutellaria Baicalensis polysaccharides low-dose, medium-dose and high-dose groups ($n=10$ mice/group). The daily status of mice was observed and the disease activity index (DAI) score was recorded. The expression of cytokines including IL-6, IL-17 and IL-23 in serum was detected by ELISA. After the mice were sacrificed, HE was used to observe the intestinal mucosal damage in mice, and the colonic tissue damage index (TDI) score was recorded. Western blot and immunohistochemistry were used to detect the expression levels of Janus kinase 2 (JAK2), signal transducer and activator of transcription (STAT3), p-JAK2 and p-STAT3 proteins. 【Results】 Compared with the blank group, the DAI score of the model group was significantly increased, the contents of IL-6, IL-17 and IL-23 in serum were significantly increased, the ratio of p-JAK2/JAK2 and p-STAT3/STAT3 in colon tissue was significantly in-

收稿日期: 2022-11-03

基金项目: 辽宁省科学技术基金(2020-MS-295)

作者简介: 马杰, 硕士生, 研究方向: 消化道肿瘤, E-mail: 1687245388@qq.com; 田蕾, 通信作者, 博士, 教授, 研究方向: 消化道肿瘤, E-mail: tljinzhou@126.com

creased, and the expression levels of p-JAK2 and p-STAT3 were significantly increased. Compared with the model group, the DAI score of mice in each administration group was significantly decreased. The contents of IL-6, IL-17 and IL-23 in serum were decreased, the TDI score was decreased, the ratio of p-JAK2/JAK2 and p-STAT3/STAT3 in colon tissue was decreased, and the expression of p-JAK2 and p-STAT3 was decreased.【Conclusion】 Scutellaria Baicalensis polysaccharides may improve the inflammatory effect of UC mice through JAK2/STAT3 pathway and IL-23/IL-17 inflammatory axis.

Key words: Scutellaria Baicalensis polysaccharide; ulcerative colitis; IL-17; IL-23; JAK2/STAT3 pathway

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2023, 44(3): 423-429]

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是一种发病机制尚未明确的慢性非特异性肠道炎症性疾病,始于直肠,并在不同程度上持续向结肠近端延伸。病变主要局限于粘膜层与粘膜下层,导致肠壁发生浅表性损伤,在临床上常表现为持续或者是反复发作的腹痛、腹泻、粘液脓血便、里急后重感以及消瘦、发热等全身症状^[1]。UC发病机制与环境因素、遗传倾向、肠屏障缺陷以及免疫平衡失调等多方面因素有关系,有研究表明,肠道免疫系统过度激活在诱导UC进展过程中发挥了重要的作用,而这种免疫失调是由炎症微环境中的细胞因子所介导的^[1-2]。研究表明,IL-23/IL-17炎性轴在UC的发生发展中发挥了关键作用,白细胞介素-23(interleukin-23, IL-23)作用于Th17细胞,刺激其释放白细胞介素-17(interleukin-17, IL-17)、进而促进白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor- α , TNF- α)等促炎因子的分泌,从而诱发局部炎症反应^[3]。JAK2/STAT3通路是一个重要的经典炎症通路,JAK2和STAT3蛋白是许多参与肠道炎症反应的基因诱导表达的关键调控因子,也参与了白细胞介素IL-23/IL-17级联^[4-5]。Raychaudhuri等^[6]研究报道,Th17细胞在银屑病关节炎的发病机制中起着关键作用,IL-17细胞的产生及其增殖受JAK-STAT信号系统调节,托法替尼作为JAK抑制剂,可通过阻断JAK-STAT信号通路抑制IL-23/IL-17炎性轴发挥作用。本研究将黄芩多糖用于治疗(dextran sulfate sodium salt, DSS)诱导的急性溃疡性结肠炎小鼠,并通过检测相关介质JAK2、p-JAK2、STAT3、p-STAT3和细胞因子IL-6、IL-17、IL-23来探究黄芩多糖是否通过JAK2/STAT3通路和IL-23/IL-17炎性轴来有效治疗UC,进一步探讨黄芩多糖治疗UC的作用机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 C57BL/6雄性小鼠60只,体质量18-22 g,6~8周龄,购于斯贝福(北京生物技术有限公司)生产许可证号:SCXK(京)2019-0010,实验前先适应性喂养7 d,饲养条件:温度23-27℃、湿度50%~60%、每日光照12 h,可自由摄食及饮水。所有动物实验经锦州医科大学动物伦理委员会审查批准,符合动物伦理学标准(IACUC-2021018)。

1.1.2 药品试剂和仪器 黄芩多糖(西安赛邦生物技术有限公司);美沙拉嗪(葵花药业);IL-6 Elisa试剂盒(厂家:CUSABIO,批号:CSB-E04639m);IL-17 Elisa试剂盒(厂家:CUSABIO,批号:CSB-E04608m);IL-23 Elisa试剂盒(厂家:CUSABIO,批号:CSB-E08463m);GAPDH抗体(厂家:Abcam,批号:ab9485);JAK2抗体(厂家:Absin,批号:abs131626);p-JAK2抗体(厂家:Abcam,批号:ab32101);STAT3抗体(厂家:Abcam,批号:ab68153);p-STAT3抗体(厂家:Abcam,批号:ab76315);生物素化第二抗体(厂家:武汉三鹰生物技术有限公司,批号:ab66151);辣根过氧化物酶(厂家:碧云天生物技术有限公司(南通分公司)批号:122115160419);高速低温离心机(厂家:Thermo Fisher Scientific,型号:MicroCL 17R);凝胶成像系统(厂家:上海天能科技有限公司,型号:5300)。

1.2 造模及分组

60只C57BL/6小鼠,按体质量随机分为正常组(Normal),模型组(DSS),美沙拉嗪组(5-ASA+DSS)给予100 mg/kg美沙拉嗪,黄芩多糖低剂量组(L-SBP+DSS)、中剂量组(M-SBP+DSS)、高剂量组(H-SBP+DSS),分别给予(H-SBP+DSS)分别给予50 mg/kg, 100 mg/kg, 200 mg/kg黄芩多糖,每组10

只。参照文献[7]造模,除正常组饮用蒸馏水外,其余小鼠均自由饮用3%DSS水溶液连续7 d,制备UC模型,造模开始即按上述分组灌胃给药,空白组及模型组给予等量生理盐水(20 mL/kg),每天1次,持续10 d。

1.3 标本采集

给药第11 d,禁食2 h后,从各组小鼠的眼眶后静脉采血,注意保持标本清洁,存放于1.5 mL EP管中,4 °C放置过夜。4 000 r/min($r=10$ cm)低温离心10 min得血清,置于-20 °C冰箱中保存待测。采用颈椎脱臼法处死小鼠,收集结肠组织,用预冷的PBS缓冲液冲洗后固定于40 g/L多聚甲醛溶液,用来包埋切片,剩余的结肠组织用预冷的PBS液冲洗后放于EP中,-80 °C冰箱保存。

1.4 指标的检测

1.4.1 小鼠的一般情况观察及疾病活动指数评分 从造模之日开始,每天观察并且记录小鼠的体质量、大便性状以及便血情况,进行疾病活动指数评分。 $DAI=(\text{体质量下降分数}+\text{大便性状分数}+\text{便血分数})/3$ 。

1.4.2 HE染色及结肠组织损伤指数评分 处死小鼠后切取结肠组织,用预冷的PBS缓冲液冲洗后于40 g/L多聚甲醛溶液进行固定,用于包埋切片,5 μm 厚连续切片,常规HE染色后于光镜下观察结肠组织病理学变化并进行结肠组织损伤指数(tissue damage index, TDI)评分。 $TDI=(\text{炎症}+\text{病变深度}+\text{隐窝破坏}+\text{病变范围})/4$ 。

1.4.3 酶联免疫吸附法测定炎症因子的表达 采用酶联免疫吸附法,按照试剂盒说明书检测小鼠血清中炎症因子IL-17,IL-23,IL-6的含量,使用酶标仪测定 OD_{450} 值,计算样品浓度。

1.4.4 Western blot 用10%SDS-PAGE凝胶分离蛋白裂解液,转移到PVDF膜上,5%脱脂牛奶封闭,再分别于一抗孵育过夜,TBST冲洗膜4次(10 min/次),加入二抗(辣根过氧化物酶标记抗体),室温下摇床中孵育1 h。加入化学发光试剂,进行X线胶片感光、显影以及定影,并利用Quantity One图像处理软件进行分析。

1.4.5 免疫组织化学分析 结肠组织石蜡切片脱蜡,3%双氧水甲醇溶液孵育10 min抑制内源性过氧化物酶活性;分别加入适当稀释的一抗孵育过夜;加入二抗孵育0.5 h;PBS冲洗3次,每次2 min;DAB显色10 min,蒸馏水冲洗。一抗、二抗分别用PBS代替作为空白对照。所有切片均在光学显微

镜下显示和拍摄。用IPP软件测定阳性表达,200倍视野进行拍照,对各蛋白的表达量进行半定量分析。

1.4.6 统计学分析 所有实验数据通过SPSS 25.0软件进行处理,计量资料以($\bar{x}\pm s$)表示,多组数据比较,呈正态分布及方差齐性后采用单因素方差分析,方差分析有统计学意义后采用Bonferroni法进行两两比较。所有统计学分析均为双侧检验, $P<0.05$ 表示为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 黄芩多糖抑制葡聚糖硫酸钠诱导的溃疡性结肠炎小鼠的炎症表现

单因素方差分析显示,6组小鼠DAI评分比较,差异有统计学意义($F=43.688, P<0.05$)。

组间两两比较显示:与正常组相比,模型组、美沙拉嗪组、黄芩多糖高剂量组、黄芩多糖中剂量组、黄芩多糖低剂量组小鼠DAI评分均升高,与模型组相比,美沙拉嗪组、黄芩多糖高剂量组、黄芩多糖中剂量组小鼠DAI评分均降低,与美沙拉嗪组相比,黄芩多糖低剂量组小鼠DAI评分升高,差异均有统计学意义($P<0.05$),黄芩多糖高、中剂量组小鼠DAI评分与美沙拉嗪组比较,差异均无统计学意义($P>0.05$;表1)。

2.2 黄芩多糖缓解葡聚糖硫酸钠诱导的小鼠结肠组织损伤

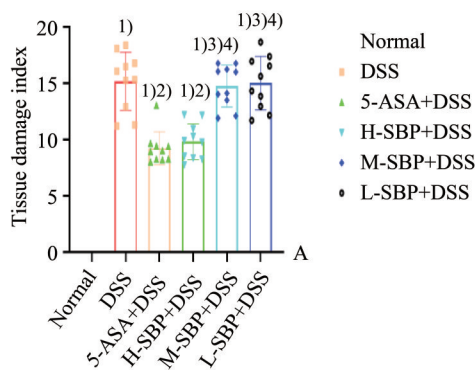
单因素方差分析显示,6组小鼠TDI评分比较,差异有统计学意义($F=101.414, P<0.05$),组间两两比较显示:与正常组相比,模型组、美沙拉嗪组、黄芩多糖高剂量组、黄芩多糖中剂量组、黄芩多糖低剂量组小鼠TDI评分均升高,与模型组相比,美沙拉嗪组、黄芩多糖高剂量组小鼠TDI评分均降低,与美沙拉嗪组相比,黄芩多糖中剂量组、黄芩多糖低剂量组小鼠TDI评分均升高,差异均有统计学意义($P<0.05$),黄芩多糖高剂量组小鼠TDI评分与美沙拉嗪组比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。HE染色后可见,正常组小鼠结肠黏膜上皮完整,隐窝结构没有坏死,腺体排列整齐,组织结构完整,未见炎性浸润;模型组小鼠结肠黏膜表层缺损严重,表面覆盖的上皮较少,隐窝结构破溃、坏死,累及各层肠壁,杯状细胞与正常组相比,明显减少,并伴有大量炎性细胞浸润;黄芩多糖低、中、高剂量组(50,

表1 不同组小鼠DAI评分情况比较

Table 1 Comparison of DAI scores of mice in different groups (n=10/group)

Group	DAI score
Normal	0.32±0.16
DSS	3.84±1.24 ¹⁾
5-ASA+DSS	2.79±0.87 ¹⁾²⁾
H-SBP+DSS	2.81±0.38 ¹⁾²⁾
M-SBP+DSS	3.26±0.54 ¹⁾²⁾
L-SBP+DSS	3.41±0.49 ¹⁾³⁾⁴⁾

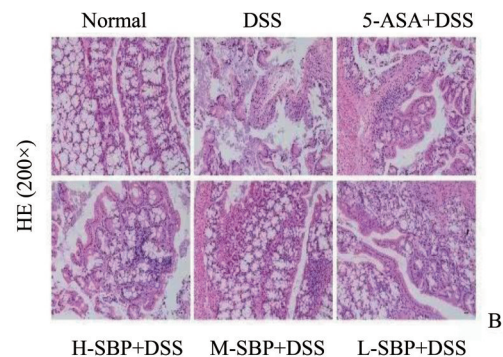
Normal (20 mL/kg 0.9%NaCl), DSS (20 mL/kg 0.9%NaCl), 5-ASA+DSS (100 mg/kg mesalazine), H-SBP+DSS (200 mg/kg scutellaria baicalensis polysaccharide), M-SBP+DSS (100 mg/kg scutellaria baicalensis polysaccharide), L-SBP+DSS (50 mg/kg scutellaria baicalensis polysaccharide), compared with the normal group, ¹⁾ $P<0.05$, compared with the model group, ²⁾ $P<0.05$, compared with the mesalazine group, ³⁾ $P<0.05$, compared with the high dosage group of baicalin, ⁴⁾ $P<0.05$, compared with the middle dosage group of baicalin, ⁵⁾ $P<0.05$.



100, 200 mg/kg)结肠组织形态逐渐改善,黏膜损伤逐渐减轻,炎性细胞浸润逐渐减少,杯状细胞逐渐增多,隐窝形态相对完整,并呈剂量依赖性(图1)。

2.3 黄芩多糖抑制葡聚糖硫酸钠诱导的小鼠血清中炎性细胞因子分泌

单因素方差分析显示,6组小鼠IL-6、IL-17、IL-23含量比较,差异有统计学意义($F=260.462, 673.709, 107.715$, 均 $P<0.05$),组间两两比较显示:与正常组相比,模型组、美沙拉嗪组、黄芩多糖高剂量组、黄芩多糖中剂量组、黄芩多糖低剂量组小鼠IL-6、IL-17、IL-23含量均升高,与模型组相比,美沙拉嗪组、黄芩多糖高剂量组、黄芩多糖中剂量组、黄芩多糖低剂量组小鼠IL-6、IL-17、IL-23含量均降低,与美沙拉嗪组相比,黄芩多糖高剂量组、黄芩多糖中剂量组、黄芩多糖低剂量组小鼠IL-6、IL-17、IL-23含量均升高,随着黄芩多糖剂量增加,小鼠IL-6、IL-17、IL-23含量呈降低趋势,差异均有统计学意义($P<0.05$),见图2。



A: The histological score of HE-stained colons, $n=10$, $F=101.414$, $P<0.05$, Normal (20 mL/kg 0.9% NaCl), DSS (20 mL/kg 0.9% NaCl), 5-ASA+DSS (100 mg/kg mesalazine), H-SBP+DSS (200 mg/kg scutellaria baicalensis polysaccharide), M-SBP+DSS (100 mg/kg scutellaria baicalensis polysaccharide), L-SBP+DSS (50 mg/kg scutellaria baicalensis polysaccharide), compared with the normal group, ¹⁾ $P<0.05$, compared with the model group, ²⁾ $P<0.05$, compared with the mesalazine group, ³⁾ $P<0.05$, compared with the high dosage group of baicalin, ⁴⁾ $P<0.05$, compared with the middle dosage group of baicalin, ⁵⁾ $P<0.05$. B: HE staining in colon tissues of mice in each group (HE staining $\times 200$).

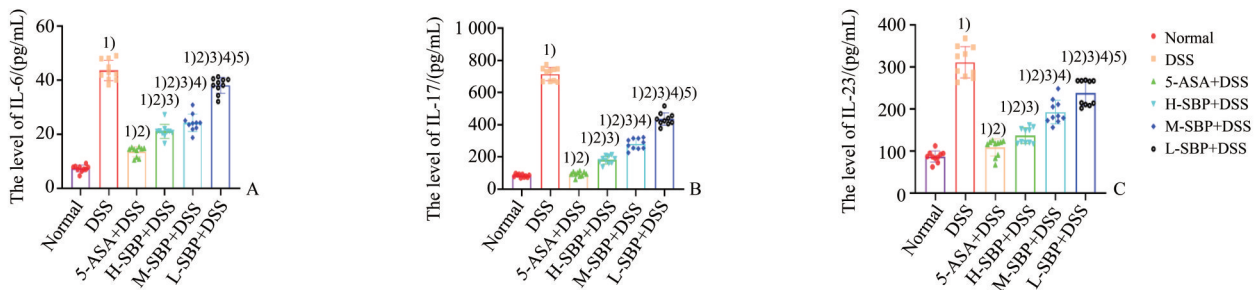
图1 结肠组织学损伤评分和结肠组织粘膜切片

Fig. 1 Colon histological injury score and mucosal section of colon tissue

2.4 黄芩多糖对葡聚糖硫酸钠诱导的小鼠结肠组织中JAK2、STAT3蛋白磷酸化水平的影响

单因素方差分析显示,6组小鼠p-JAK2/JAK2、p-STAT3/STAT3比值比较,差异均有统计学意义($F=107.914, 102.221$, 均 $P<0.05$),组间两两比较显示:与正常组相比,模型组、美沙拉嗪组、黄芩多糖

高剂量组、黄芩多糖中剂量组、黄芩多糖低剂量组小鼠p-JAK2/JAK2、p-STAT3/STAT3比值均升高,与模型组相比,美沙拉嗪组、黄芩多糖高剂量组、黄芩多糖中剂量组、黄芩多糖低剂量组小鼠p-JAK2/JAK2、p-STAT3/STAT3比值均降低,与美沙拉嗪组相比,黄芩多糖高剂量组、黄芩多糖中剂量组、黄芩



A-C: the level of IL-6, IL-17 and IL-23 in serum in each group, $n=10$, $F=260.462, 673.709, 107.715$, all $P<0.05$, Normal (20 mL/kg 0.9% NaCl), DSS (20 mL/kg 0.9% NaCl), 5-ASA+DSS (100 mg/kg mesalazine), H-SBP+DSS (200 mg/kg scutellaria baicalensis polysaccharide), M-SBP+DSS (100 mg/kg scutellaria baicalensis polysaccharide), L-SBP+DSS (50 mg/kg scutellaria baicalensis polysaccharide), compared with the normal group, ¹⁾ $P<0.05$, compared with the model group, ²⁾ $P<0.05$, compared with the mesalazine group, ³⁾ $P<0.05$, compared with the high dosage group of baicalin, ⁴⁾ $P<0.05$, compared with the middle dosage group of baicalin, ⁵⁾ $P<0.05$.

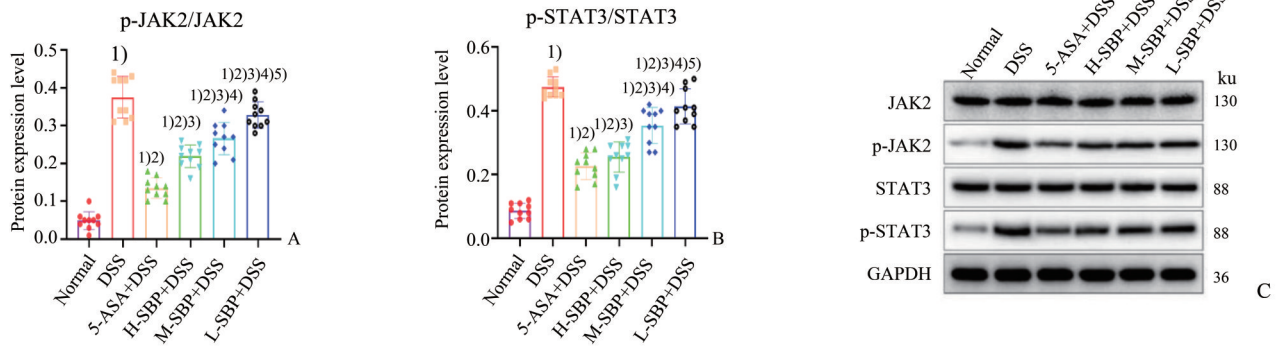
图2 小鼠血清IL-6、IL-17和IL-23含量比较
Fig. 2 Comparison of serum IL-6, IL-17 and IL-23 in mice

多糖低剂量组小鼠 p-JAK2/JAK2、p-STAT3/STAT3 比值均升高,随着黄芩多糖剂量增加,小鼠 p-JAK2/JAK2、p-STAT3/STAT3 比值呈降低趋势,差异均有统计学意义($P<0.05$;图3)。

2.5 黄芩多糖对葡聚糖硫酸钠诱导的小鼠结肠组织中 p-JAK2、p-STAT3 蛋白表达的影响

单因素方差分析显示,6组小鼠 p-JAK2/JAK2, p-STAT3/STAT3 比值比较,差异均有统计学意义($F=58.784, 57.198$, 均 $P<0.05$),组间两两比较

显示:与正常组相比,模型组、美沙拉嗪组、黄芩多糖高剂量组、黄芩多糖中剂量组、黄芩多糖低剂量组小鼠 p-JAK2/JAK2、p-STAT3/STAT3 比值均升高,与模型组相比,美沙拉嗪组、黄芩多糖高剂量组、黄芩多糖中剂量组、黄芩多糖低剂量组小鼠 p-JAK2/JAK2、p-STAT3/STAT3 比值均降低,随着黄芩多糖剂量增加,小鼠 p-JAK2/JAK2, p-STAT3/STAT3 比值呈降低趋势,差异均有统计学意义($P<0.05$;图4)。



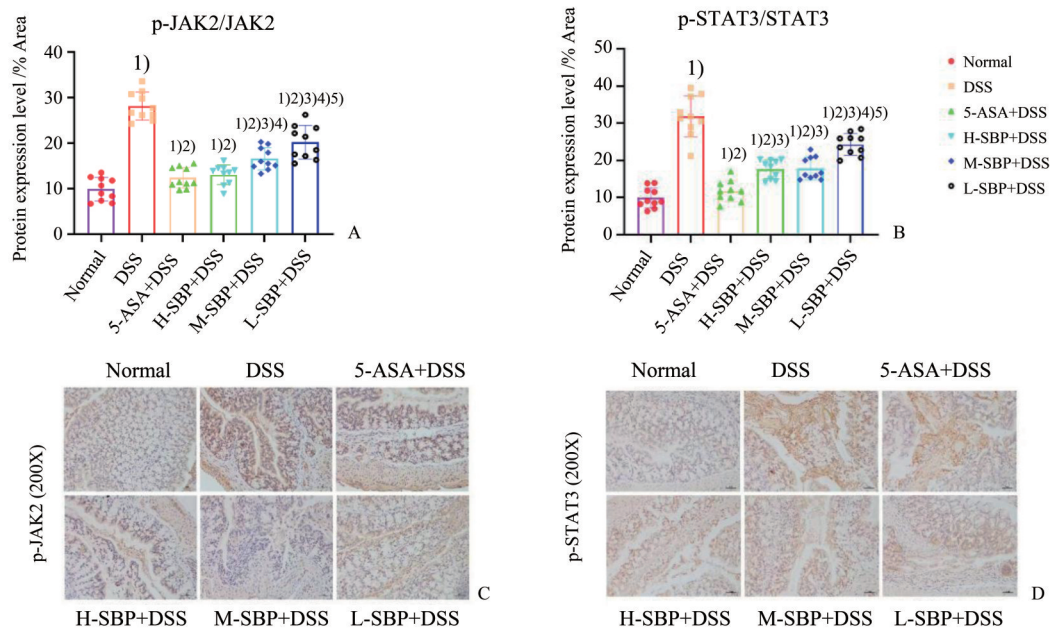
A, B: The ratios of p-JAK2/JAK2 and p-STAT3/STAT3 in colon of mice, $n=10$, $F=107.914, 102.221$, $P<0.05$, Normal (20 mL/kg 0.9%NaCl), DSS (20 mL/kg 0.9%NaCl), 5-ASA+DSS (100 mg/kg mesalazine), H-SBP+DSS (200 mg/kg scutellaria baicalensis polysaccharide), M-SBP+DSS (100 mg/kg scutellaria baicalensis polysaccharide), L-SBP+DSS (50 mg/kg scutellaria baicalensis polysaccharide), compared with the normal group, ¹⁾ $P<0.05$, compared with the model group, ²⁾ $P<0.05$, compared with the mesalazine group, ³⁾ $P<0.05$, compared with the high dosage group of baicalin, ⁴⁾ $P<0.05$, compared with the middle dosage group of baicalin, ⁵⁾ $P<0.05$; C: Western blot analysis was used.

图3 小鼠结肠组织 p-JAK2/JAK2、P-STAT3/STAT3 比值比较
Fig. 3 Comparison of p-JAK2/JAK2 and P-STAT3/STAT3 ratios in mouse colon tissue

3 讨论

本研究显示,黄芩多糖对DSS诱导的肠道炎症

具有明显的改善作用,降低DAI评分,减少促炎因子的释放,结肠组织形态也逐渐恢复,此外,黄芩多糖还可通过调节JAK2/STAT3通路发挥作用,且黄



A, B: Immunohistochemistry of p-JAK2 and p-STAT3 protein in colon tissue of mice in each group, $n=10$, $F=58.784, 57.198$, $P<0.05$, Normal (20 mL/kg 0.9%NaCl), DSS (20 mL/kg 0.9%NaCl), 5-ASA+DSS (100 mg/kg mesalazine), H-SBP+DSS (200 mg/kg scutellaria baicalensis polysaccharide), M-SBP+DSS (100 mg/kg scutellaria baicalensis polysaccharide), L-SBP+DSS (50 mg/kg scutellaria baicalensis polysaccharide), compared with the normal group, ¹⁾ $P<0.05$, compared with the model group, ²⁾ $P<0.05$, compared with the mesalazine group, ³⁾ $P<0.05$, compared with the high dosage group of baicalin, ⁴⁾ $P<0.05$, compared with the middle dosage group of baicalin, ⁵⁾ $P<0.05$; C-D: Immunohistochemical staining was performed ($\times 200$).

图4 小鼠结肠组织 p-JAK2、p-STAT3 表达比较

Fig. 4 Comparison of p-JAK2 and p-STAT3 expression in mouse colon tissue

芩多糖对肠道的炎症呈剂量依赖性改善。目前,国内外学者认为氨基水杨酸盐与低生物利用度皮质类固醇是轻中度 UC 治疗的主要选择用药,系统性皮质类固醇、免疫抑制剂以及单克隆抗体用于中度至重度 UC,但是这些药物的副作用比较大,容易发生耐药^[8]。迄今为止,越来越多的动物实验及临床研究证实中药复方及单体对炎症性疾病有明显的改善作用。综合国内外发表的文献来看,对黄芩多糖的研究远远落后于黄芩黄酮,且对黄芩多糖治疗溃疡性结肠炎的机制研究甚少。据报道,IL-23/IL-17 轴是关键的促炎信号通路之一,越来越多的人认为其是慢性肠道炎症与其他慢性自身免疫性炎症疾病的首要原因。此外,IL-23 和 IL-17 的水平已被报道与 UC 的疾病活动性相关。在 UC 中,IL-23 在受到特异性刺激后,可能诱发更多的 Th17 反应,产生多种细胞因子,比如 TNF- α 、INF- γ 、IL-6、IL-17、IL-21 和 IL-22^[9]。IL-17 分布广泛且由多种细胞类型产生,是一种有效的促炎细胞因子,通过维持其他炎症介质(如 TNF- α 、IL-6)的释放,参与炎症过程来放大炎症反应^[10]。JAK2/STAT3 通路

是一个重要的经典炎症通路,JAK2 和 STAT3 蛋白是许多参与肠道炎症反应的基因诱导表达的关键调控因子^[11-12]。JAK2/STAT3 通路的异常激活与关节炎、肝炎、肾炎、UC 等众多炎症疾病的进展密切相关^[13-15]。研究表明,IL-23 是 JAK2/STAT3 通路激活的主导因子。IL-23R 组成性地与 JAK2 结合,并以配体依赖的方式与 STAT3 结合^[16],JAK2/STAT3 信号通路是向 Th17 细胞分化的关键信号通路^[17],而 IL-17 的产生主要依赖于 JAK2^[18]。细胞水平研究证实,IL-23 调控 IL-17 表达与 JAK2/STAT3 通路激活有关,IL-23-JAK2/STAT3-IL-17 轴通过参与炎症反应、氧化应激以及促进心肌细胞凋亡等途径加重大鼠心肌细胞损伤^[19]。有研究报道,IL-23 可以促进活化的 Th17 细胞分泌 IL-17,在小鼠 CD4+T 细胞中敲除 IL-23 基因,则检测不到 IL-17 分泌,而 JAK2/STAT3 是 IL-23 主要信号转导途径,上调 p-JAK2 和 p-STAT3 表达水平,IL-17 表达增加,下调 p-JAK2 和 p-STAT3 表达水平,IL-17 表达则降低^[20]。因此,我们推测,黄芩多糖可通过 JAK2/STAT3 通路及 IL-23/IL-17 炎症轴发挥对 UC 的治疗作用。本研

究发现,UC模型组中IL-17、IL-23、IL-6等促炎因子,以及p-JAK2、p-STAT3蛋白水平升高,经过黄芩多糖治疗后,促炎因子及蛋白水平下降。因此,

我们证实黄芩多糖可能通过JAK2/STAT3通路及IL-23/IL-17炎症轴对DSS诱导的溃疡性结肠炎有治疗作用,且高剂量组治疗效果更佳。

参考文献

- [1] Zhu Q, Zheng P, Chen X, et al. Andrographolide presents therapeutic effect on ulcerative colitis through the inhibition of IL-23/IL-17 axis [J]. *Am J Transl Res*, 2018, 10(2):465-473.
- [2] Imam T, Park S, Kaplan MH, et al. Effector T helper cell subsets in inflammatory bowel diseases [J]. *Front Immunol*, 2018, 9:1212.
- [3] Noviello D, Mager R, Roda G, et al. The IL23-IL17 immune axis in the treatment of ulcerative colitis: successes, defeats, and ongoing challenges [J]. *Front Immunol*, 2021, 12:611256.
- [4] Lin H, Honglang L, Weifeng L, et al. The mechanism of alopolsaccharide protecting ulcerative colitis [J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 88:145-150.
- [5] Chu XQ, Wang J, Chen GX, et al. Overexpression of microRNA-495 improves the intestinal mucosal barrier function by targeting STAT3 via inhibition of the JAK/STAT3 signaling pathway in a mouse model of ulcerative colitis [J]. *Pathol Res Pract*, 2018, 214(1):151-162.
- [6] Raychaudhuri SK, Abria C, Raychaudhuri SP. Regulatory role of the JAK STAT kinase signalling system on the IL-23/IL-17 cytokine axis in psoriatic arthritis [J]. *Ann Rheum Dis*, 2017, 76(10):e36.
- [7] 崔莉,宁青,张润桐,等.黄芩多糖提取条件优化方法及其对溃疡性结肠炎小鼠的疗效研究[J]. *山东中医杂志*, 2020, 39(9):993-1000.
Cui L, Ning Q, Zhang RT, et al. Optimization of extraction conditions of Baicalin polysaccharide and its effect on mice with ulcerative colitis [J]. *Shandong J Tradit Chin Med*, 2020, 39(9):993-1000.
- [8] Ungaro R, Mehandru S, Allen PB, et al. Ulcerative colitis [J]. *Lancet*, 2017, 389(10080):1756-1770.
- [9] Moschen AR, Tilg H, Raine T. IL-12, IL-23 and IL-17 in IBD: immunobiology and therapeutic targeting [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2019, 16(3):185-196.
- [10] Maloy KJ, Kullberg MC. IL-23 and Th17 cytokines in intestinal homeostasis [J]. *Mucosal Immunol*, 2008, 1(5):339-349.
- [11] Lin H, Honglang L, Weifeng L, et al. The mechanism of alopolsaccharide protecting ulcerative colitis [J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 88:145-150.
- [12] Chu XQ, Wang J, Chen GX, et al. Overexpression of microRNA-495 improves the intestinal mucosal barrier function by targeting STAT3 via inhibition of the JAK/STAT3 signaling pathway in a mouse model of ulcerative colitis [J]. *Pathol Res Pract*, 2018, 214(1):151-162.
- [13] Liu C, Zhao Q, Zhong L, et al. Tibetan medicine Ershiwuwei Lvxue Pill attenuates collagen-induced arthritis via inhibition of JAK2/STAT3 signaling pathway [J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 270:113820.
- [14] Zhou GY, Yi YX, Jin LX, et al. The protective effect of juglanin on fructose-induced hepatitis by inhibiting inflammation and apoptosis through TLR4 and JAK2/STAT3 signaling pathways in fructose-fed rats [J]. *Biomed Pharmacother*, 2016, 81:318-328.
- [15] You G, Cao H, Yan L, et al. MicroRNA-10a-3P mediates Th17/Treg cell balance and improves renal injury by inhibiting REG3A in lupus nephritis [J]. *Int Immunopharmacol*, 2020, 88:106891.
- [16] Parham C, Chirica M, Timans J, et al. A receptor for the heterodimeric cytokine IL-23 is composed of IL-12Rbeta1 and a novel cytokine receptor subunit, IL-23R [J]. *J Immunol*, 2002, 168(11):5699-5708.
- [17] Zhang M, Xu M, Wang K, et al. Effect of inhibition of the JAK2/STAT3 signaling pathway on the Th17/IL-17 axis in acute cellular rejection after heart transplantation in mice [J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2021, 77(5):614-620.
- [18] Feng X, Yang Q, Wang C, et al. Punicalagin exerts protective effects against ankylosing spondylitis by regulating NF-κB-TH17/JAK2/STAT3 signaling and oxidative stress [J]. *Biomed Res Int*, 2020, 2020:4918239.
- [19] Ding P, Liu J, Li Q, et al. Investigation of the active ingredients and mechanism of hudi enteric-coated capsules in DSS-induced ulcerative colitis mice based on network pharmacology and experimental verification [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2021, 15:4259-4273.
- [20] Zhu J, Yang T, Tang M, et al. Studies on the anti-psoriasis effects and its mechanism of a dual JAK2/FLT3 inhibitor flonolitinib maleate [J]. *Biomed Pharmacother*, 2021, 137:111373.