

## 黄芩多糖对 COX-2/PGE2/Akt 通路及溃疡性结肠炎的影响

王素梅<sup>1</sup>, 袁云菲<sup>2</sup>, 张蔚玲<sup>3</sup>, 郭改莉<sup>1</sup>, 梁燕<sup>1</sup>, 徐超<sup>1</sup>, 李森<sup>2</sup>

1. 邯郸市中心医院消化一科, 河北邯郸 056001; 2. 邯郸市中心医院消化二科, 河北邯郸 056001;

3. 廊坊市中医医院内科, 河北邯郸 056001

**[摘要]** **目的** 基于环氧合酶-2 (COX-2)/前列腺素 E2 (PGE2)/蛋白激酶 B (Akt) 通路探究黄芩多糖对溃疡性结肠炎 (UC) 大鼠的影响。**方法** 将 30 只大鼠随机均分为对照组、UC 组、黄芩多糖组。HE 染色检测各组大鼠结肠组织的病理变化。Western blotting、qRT-PCR 分别检测各组结肠组织 COX-2、PGE2、Akt、闭合蛋白 (Occludin)、紧密连接蛋白-1 (ZO-1) 蛋白和 mRNA 水平。ELISA 试剂盒检测各组血清炎症因子水平。**结果** UC 组大鼠结肠黏膜结构破坏, 腺体丢失, 炎症细胞浸润, 黄芩多糖组大鼠结肠黏膜结构完整, 炎症细胞较 UC 组浸润减少。与对照组比较, UC 组大鼠结肠组织 COX-2、PGE2、Akt 蛋白及 mRNA 表达水平以及血清炎症因子水平升高 ( $P < 0.05$ ), Occludin, ZO-1 蛋白及 mRNA 表达水平降低 ( $P < 0.05$ )。与 UC 组比较, 黄芩多糖组大鼠结肠组织 COX-2、PGE2、Akt 蛋白及 mRNA 表达水平以及血清炎症因子水平降低 ( $P < 0.05$ ), Occludin, ZO-1 蛋白及 mRNA 表达水平升高 ( $P < 0.05$ )。**结论** 黄芩多糖可能通过抑制 COX-2/PGE2/Akt 信号通路, 改善了 UC 的肠道黏膜屏障功能, 减轻了炎性损伤。

**[关键词]** 溃疡性结肠炎; 黄芩多糖; COX-2/PGE2/Akt 通路

**[中图分类号]** R574.62; R211

**[文献标识码]** A

## Effects of scutellaria baicalensis polysaccharides on the COX-2/PGE2/Akt pathway and ulcerative colitis

WANG Sumei<sup>1</sup>, YUAN Yunfei<sup>2</sup>, ZHANG Weiling<sup>3</sup>, GUO Gaili<sup>1</sup>, LIANG Yan<sup>1</sup>, XU Chao<sup>1</sup>, LI Sen<sup>2</sup>

1. Department of Gastroenterology 1, Handan Central Hospital, Handan 056001, Hebei, China; 2. Department of Gastroenterology 2, Handan Central Hospital, Handan 056001, Hebei, China; 3. Department of Internal Medicine, Langfang Traditional Chinese Medicine Hospital, Handan 056001, Hebei, China

**[ABSTRACT]** **Aim** To explore the effects of scutellaria baicalensis polysaccharides on ulcerative colitis (UC) rats based on the mechanism of cyclooxygenase-2 (COX-2)/prostaglandin E2 (PGE2)/protein kinase B (Akt) pathway. **Methods** Thirty rats were randomly divided into the control group, the UC group and the scutellaria baicalensis polysaccharides group. HE staining was used to detect the pathological changes in the colon tissues of rats in each group. Western blotting and qRT-PCR were used to detect the protein and mRNA levels of COX-2, PGE2, Akt, Occludin, and zonula occludens-1 (ZO-1) in colon tissues of each group. ELISA kit was used to detect the levels of inflammatory factors.

**Results** The colonic mucosal structure of rats in the UC group was damaged, with glandular loss and infiltration of inflammatory cells. In contrast, rats in the scutellaria baicalensis polysaccharides group had intact colonic mucosal structure and reduced infiltration of inflammatory cells compared with the UC group. Compared with the control group, the expression levels of COX-2, PGE2, Akt protein and mRNA in the colon tissue of UC group rats, as well as the serum levels of inflammatory factors were increased ( $P < 0.05$ ), while the expression levels of Occludin and ZO-1 protein and mRNA were decreased ( $P < 0.05$ ). Compared with the UC group, the scutellaria baicalensis polysaccharides group showed a decrease in the expression levels of COX-2, PGE2, Akt protein and mRNA in the colon tissue of rats, as well as a reduction in the levels of inflammatory factors ( $P < 0.05$ ), while the expression levels of Occludin and ZO-1 protein and mRNA were increased ( $P < 0.05$ ).

**Conclusion** Scutellaria baicalensis polysaccharides may improve the intestinal mucosal barrier function and alleviate inflammatory damage in UC by inhibiting the COX-2/PGE2/Akt signaling pathway.

**[KEY WORDS]** ulcerative colitis; scutellaria baicalensis polysaccharides; COX-2/PGE2/Akt pathway

**[收稿日期]** 2024-12-24

**[修回日期]** 2025-09-12

**[基金项目]** 河北省医学科学研究课题计划项目 (20241263)

**[作者简介]** 王素梅, 主治医师, 研究方向为溃疡性结肠炎的诊治, E-mail 为 ijpu1846@163.com。

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是一种慢性、免疫介导的炎症性疾病,其发病率逐年持续上升<sup>[1]</sup>。研究显示,UC与肠道上皮屏障的缺陷、微生物群的失衡以及免疫反应的失调密切相关<sup>[2]</sup>。环氧合酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2)在炎症过程中发挥了关键作用。在正常生理条件下,COX-2几乎不表达,但在炎症等病理状态下,会被显著激活而呈现高表达<sup>[3]</sup>。研究表明,在UC组织中,COX-2与前列腺素E2(prostaglandin E2, PGE2)呈现高表达<sup>[4]</sup>。蛋白激酶B(protein kinase B, Akt)是COX-2/PGE2通路的下游分子之一,参与了包括肺癌、UC在内的多种疾病的病理过程<sup>[5-6]</sup>。黄芩多糖是黄芩中的一种重要药理活性成分,具有抗氧化、增强免疫力等多种功效<sup>[7]</sup>。研究显示,黄芩多糖可改善UC引起的肠道炎症损伤<sup>[8]</sup>。然而,目前关于黄芩多糖抗炎机制的了解尚不完全。本研究通过构建UC大鼠模型,旨在探究黄芩多糖对UC的潜在影响机制。

## 1 材料和方法

### 1.1 试剂与仪器

COX-2、PGE2、Akt、闭合蛋白(occludin protein, Occludin)、紧密连接蛋白-1(zonula occludens-1, ZO-1)抗体(美国Affinity生物技术公司);GAPDH抗体(美国Santa Cruz Biotech公司);HE染色试剂、全自动酶标仪(上海赛默飞世尔科技公司);肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、白细胞介素(interleukin, IL)-1 $\beta$ 、IL-17检测试剂盒(北京艾比根生物技术有限公司);黄芩多糖(西安赛邦生物技术有限公司)。

### 1.2 动物分组与处理

30只SPF级健康雄性SD大鼠(6~8周龄,180~230g)购自北京维通利华实验动物技术有限公司,生产许可证号:SCXK(京)-2020-0052。所有大鼠饲养于干燥舒适环境中,自由进食、进水,适应性喂养1周。将其随机分为对照组、UC组、黄芩多糖组,每组10只。UC组、黄芩多糖组大鼠自由饮用3%葡聚糖硫酸钠盐溶液,连续7天,建立UC大鼠模型。黄芩多糖组大鼠灌胃黄芩多糖200mg/kg,对照组、UC组大鼠灌胃等量生理盐水,连续7天。各组大鼠干预结束后禁食不禁水12h,腹腔注射3%戊巴比妥钠(40mg/kg),使用无菌手术刀沿腹部正中中线切开皮肤,暴露腹腔,摘取整个结肠组织。

### 1.3 HE染色检测大鼠结肠组织病理形态

将各组大鼠结肠组织切片(厚4 $\mu$ m)进行烘烤处理,依次浸入二甲苯溶液和梯度乙醇中进行脱蜡处理,再浸入蒸馏水中5min,苏木精染液对结肠组织中的细胞核进行染色。将结肠切片置于流水中返蓝处理,伊红染液染色,梯度乙醇和二甲苯溶液脱水,封片后在光镜下进行观察并拍照记录。

### 1.4 Western blotting检测相关蛋白表达水平

收集大鼠结肠组织,提取总蛋白。使用BCA试剂盒测定蛋白浓度并调整体系,100 $^{\circ}$ C变性后置于-20 $^{\circ}$ C备用。配制凝胶进行电泳(120V30min,80V1h)。预冷转膜液,将凝胶与PVDF膜置于转膜夹中(80V1h)。转膜后快速封闭,PBST洗膜3次(10min/次)。分别孵育一抗COX-2、PGE2、Akt、Occludin、ZO-1、GAPDH,PBST洗膜3次后,24 $^{\circ}$ C孵育对应二抗,再次PBST洗膜3次。使用发光液曝光,ImageJ软件分析蛋白条带灰度值。

### 1.5 qRT-PCR检测相关基因mRNA表达水平

提取各组大鼠结肠组织总RNA,反转录为cDNA。参照试剂盒说明书采用PCR仪扩增cDNA。设置反应程序:95 $^{\circ}$ C预变性10min,95 $^{\circ}$ C变性15s,60 $^{\circ}$ C退火20s,72 $^{\circ}$ C延伸40s,共28个循环。以GAPDH为内参,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法进行相对定量分析。引物序列COX-2正向为5'-GCCATCAAGCAGT GCGATGCAC-3',反向为5'-CGGTAAACCGCCTAGC AGTGCAA-3';PGE2正向为5'-CCAGTGCAAAACG TGCGTAGCG-3',反向为5'-AACTGCCAATGCAATG CAATGCG-3';Akt正向为5'-ACCATCCAGCGGTAA ACGTGCG-3',反向为5'-CCATTGCGTAGCGTGCAA TATGC-3';Occludin正向为5'-GCGAAATGCGTGAT TGCGATGA-3',反向为5'-CCTGCAAATGCGTAGCA ATGCCA-3';ZO-1正向为5'-AATCTCGCAAATGC GGTGCTG-3',反向为5'-ATTAGGCCATGCTGGAAT GCCAT-3';GAPDH正向为5'-CGCCTAGCGCATG CAGTGCCAT-3',反向为5'-GCGTGCGAAATGCAGT GCAGATG-3'。

### 1.6 ELISA试剂盒检测大鼠血清炎症因子水平

将IL-1 $\beta$ 、IL-17、TNF- $\alpha$ 试剂盒置于24 $^{\circ}$ C环境下,平衡30min,按照说明书上的实验步骤进行操作,将所得的数据参考说明书进行统计分析。

### 1.7 统计学处理

采用SPSS 23.0统计软件分析数据,GraphPad 9.0软件进行绘图。多组间比较采用One-way ANOVA检验。 $P < 0.05$ 为差异具有显著性。

## 2 结果

### 2.1 黄芩多糖对 UC 大鼠结肠组织病理形态的影响

UC 组大鼠结肠黏膜结构破坏,腺体丢失,炎症细胞浸润;黄芩多糖组较 UC 组大鼠结肠黏膜结构完整,炎症细胞浸润减少(图 1)。

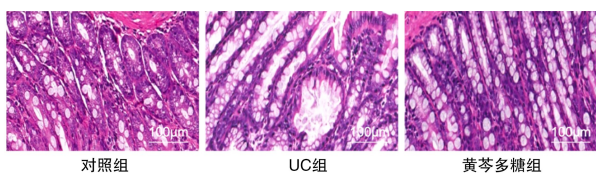


图 1 各组大鼠结肠组织病理学变化(HE 染色,100×)

### 2.2 各组大鼠结肠组织相关蛋白表达水平比较

与对照组比较,UC 组大鼠结肠组织 COX-2、PGE2、Akt 蛋白及其 mRNA 表达水平升高( $P < 0.05$ ),Occludin、ZO-1 蛋白及其 mRNA 表达水平降低( $P < 0.05$ );与 UC 组比较,黄芩多糖组大鼠结肠组织 COX-2、PGE2、Akt 蛋白及其 mRNA 表达水平降低( $P < 0.05$ ),Occludin、ZO-1 蛋白及其 mRNA 表达水平升高( $P < 0.05$ ;图 2)。

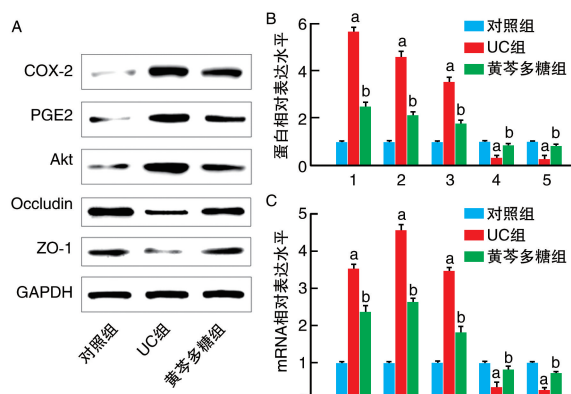


图 2 各组大鼠结肠组织相关蛋白(A 和 B)及其 mRNA(C)表达水平比较

1 为 COX-2;2 为 PGE2;3 为 Akt;4 为 Occludin;5 为 ZO-1。

a 为  $P < 0.05$ ,与对照组比较;b 为  $P < 0.05$ ,与 UC 组比较。

### 2.3 各组大鼠血清炎症因子水平比较

与对照组比较,UC 组大鼠血清炎症因子水平升高( $P < 0.05$ );与 UC 组比较,黄芩多糖组大鼠血清炎症因子水平降低( $P < 0.05$ ;表 1)。

## 3 讨论

UC 是一种慢性、复发性、非特异性炎症性肠病,

表 1 各组大鼠血清炎症因子水平比较( $n=5$ )

分组	ng/L		
	IL-17	IL-1 $\beta$	TNF- $\alpha$
对照组	1.01 $\pm$ 0.02	1.00 $\pm$ 0.02	1.01 $\pm$ 0.01
UC 组	3.24 $\pm$ 0.15 <sup>a</sup>	3.56 $\pm$ 0.21 <sup>a</sup>	3.11 $\pm$ 0.13 <sup>a</sup>
黄芩多糖组	1.56 $\pm$ 0.10 <sup>b</sup>	1.48 $\pm$ 0.11 <sup>b</sup>	1.38 $\pm$ 0.12 <sup>b</sup>

注:a 为  $P < 0.05$ ,与对照组比较;b 为  $P < 0.05$ ,与 UC 组比较。

以结直肠黏膜持续炎症为主要特征<sup>[9]</sup>。其发病涉及遗传易感性、环境因素、肠道菌群失调及黏膜免疫异常等多因素交互作用,病理过程复杂且难以预测<sup>[10]</sup>。在疾病早期,先天免疫防御激活导致促炎性细胞因子快速释放,启动炎症级联反应,进而加剧肠道黏膜屏障损伤,形成恶性循环<sup>[11]</sup>。Occludin 与 ZO-1 对维持肠上皮屏障完整性至关重要,其表达下调是黏膜屏障功能障碍的标志<sup>[12]</sup>。本研究结果显示,UC 模型大鼠结肠黏膜结构严重破坏,腺体大量丢失,炎症细胞显著浸润;血清促炎性细胞因子 IL-17、IL-1 $\beta$  及 TNF- $\alpha$  水平显著升高( $P < 0.05$ ),同时结肠组织 Occludin 与 ZO-1 蛋白及 mRNA 表达显著下调( $P < 0.05$ )。当前治疗手段虽能使多数患者症状缓解,但部分患者对常规药物治疗反应不佳或难以耐受不良反应<sup>[13]</sup>,因此开发新型治疗策略需求迫切。

黄芩多糖作为中药黄芩的核心活性成分之一,已被证实具有抗炎、抗氧化及免疫调节等多重生物学效应<sup>[14-15]</sup>。本研究结果显示,黄芩多糖可显著改善 UC 大鼠结肠组织病理损伤:恢复结肠黏膜结构完整性,减少炎症细胞浸润,并同步上调 Occludin 与 ZO-1 的表达( $P < 0.05$ )。然而,其分子机制尚待系统阐明。COX-2 是前列腺素生物合成的限速酶,在炎症反应中扮演核心角色<sup>[16]</sup>。COX-2 在肠道中适度表达对黏膜保护至关重要,而 COX-2 缺失反而会加速 UC 进展<sup>[17]</sup>。研究表明,COX-2 过度激活可催化花生四烯酸大量转化为 PGE2。PGE2 作为关键炎症介质,能显著增加血管通透性,促进血浆蛋白渗出与炎症细胞浸润;同时调控免疫细胞功能,募集并活化炎症细胞,从而放大炎症级联反应<sup>[18]</sup>,在肠道炎症失衡中发挥枢纽作用<sup>[19]</sup>。COX-2/PGE2 信号轴不仅参与炎症调控,还与肿瘤发生发展密切相关<sup>[20-22]</sup>。Akt 作为下游关键节点,其磷酸化激活可进一步放大炎症与促生存信号。COX-2/PGE2/Akt 通路已被证实参与多种癌症进程<sup>[5]</sup>,且在 UC 发病中具有重要作用<sup>[6]</sup>。本研究结果显示,UC 大鼠结肠组织中 COX-2、PGE2 及 Akt 蛋白与 mRNA 表

达均显著上调( $P < 0.05$ ),同时血清促炎性细胞因子水平同步升高( $P < 0.05$ ),提示该通路过度激活是UC炎症进展的关键环节。尽管黄芩苷(黄芩另一活性成分)的解热作用已被证实与调控PGE2相关<sup>[23]</sup>,但黄芩多糖是否靶向COX-2/PGE2/Akt通路及其在UC中的调控机制尚不明确。

综上所述,黄芩多糖通过抑制COX-2/PGE2/Akt信号通路,改善了UC的肠道黏膜屏障功能,减轻了炎性损伤。这为黄芩多糖在治疗UC方面的应用提供了理论和实验上的支持。尽管如此,COX-2/PGE2/Akt信号通路与肠道黏膜损伤之间的分子机制仍需进一步研究。

#### [参考文献]

- [1] KOBAYASHI T, SIEGMUND B, LE BERRE C, et al. Ulcerative colitis[J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2020, 6(1): 74.
- [2] BONESCHANSKER L, BURKE K E. Beyond the gut: the epidemiology of extraintestinal manifestations in inflammatory bowel disease[J]. *Clin Transl Gastroenterol*, 2023, 14(12): e00618.
- [3] WANG X, CHEN J, ZHENG J. The roles of COX-2 in protozoan infection[J]. *Front Immunol*, 2023, 14: 955616.
- [4] DENG L, HE S, LI Y, et al. Identification of lipocalin 2 as a potential ferroptosis-related gene in ulcerative colitis[J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2023, 29(9): 1446-1457.
- [5] MOSHKOVITZ N, EPSTEIN SHOCHET G, SHITRIT D. Prostaglandin E2 (PGE2) and roflumilast involvement in IPF progression[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(15): 12393.
- [6] MA Y, LANG X, YANG Q, et al. Paeoniflorin promotes intestinal stem cell-mediated epithelial regeneration and repair via PI3K-AKT-mTOR signalling in ulcerative colitis[J]. *Int Immunopharmacol*, 2023, 119: 110247.
- [7] 罗雅琴, 黄伟. 黄芩及其有效成分治疗溃疡性结肠炎机制研究进展[J]. *山东科学*, 2024, 37(2): 20-28.
- [8] 马杰, 陈韵之, 田蕾. 黄芩多糖通过调节 JAK2/STAT3 通路和 IL-23/IL-17 炎性轴改善 DSS 诱导的 UC 模型小鼠的炎症[J]. *中山大学学报(医学科学版)*, 2023, 44(3): 423-429.
- [9] ZHANG X, ZHANG X, YANG Y. Update of gut gas metabolism in ulcerative colitis[J]. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*, 2024, 18(7): 339-349.
- [10] NAKASE H, SATO N, MIZUNO N, et al. The influence of cytokines on the complex pathology of ulcerative colitis[J]. *Autoimmun Rev*, 2022, 21(3): 103017.
- [11] BRULAND T, ØSTVIK A E, SANDVIK A K, et al. Host-viral interactions in the pathogenesis of ulcerative colitis[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(19): 10851.
- [12] SCHOULTZ I, KEITA Å V. The intestinal barrier and current techniques for the assessment of gut permeability[J]. *Cells*, 2020, 9(8): 1909.
- [13] MARSOOL M D M, VORA N, MARSOOL A D M, et al. Ulcerative colitis: addressing the manifestations, the role of fecal microbiota transplantation as a novel treatment option and other therapeutic updates[J]. *Dis Mon*, 2023, 69(11): 101606.
- [14] 李平, 胡建燃, 史宝忠, 等. 黄芩多糖的提取及其抗氧化和抗肿瘤活性研究[J]. *生物技术通报*, 2021, 37(4): 155-163.
- [15] 张盼盼, 陈莹莹, 何玉霞. 黄芪多糖调控 Wnt/ $\beta$ -catenin 通路对结核杆菌感染小鼠的保护作用[J]. *中南医学科学杂志*, 2025, 53(1): 32-35.
- [16] 张仪霖, 杨树森, 刘禹杉, 等. 基于环氧合酶-2/ $\mu$ 53 轴防治溃疡性结肠炎异型增生的研究进展[J]. *中国医学科学院学报*, 2024, 46(6): 940-948.
- [17] GUO S, HUANG Z, ZHU J, et al. CBS-H<sub>2</sub>S axis preserves the intestinal barrier function by inhibiting COX-2 through sulfhydrating human antigen R in colitis[J]. *J Adv Res*, 2023, 44: 201-212.
- [18] LIU Y, ZHOU L, LV C, et al. PGE2 pathway mediates oxidative stress-induced ferroptosis in renal tubular epithelial cells[J]. *FEBS J*, 2023, 290(2): 533-549.
- [19] NA Y R, JUNG D, STAKENBORG M, et al. Prostaglandin E<sub>2</sub> receptor PTGER4-expressing macrophages promote intestinal epithelial barrier regeneration upon inflammation[J]. *Gut*, 2021, 70(12): 2249-2260.
- [20] ZHU Q, HAN Y, HE Y, et al. Kaempferol improves breast cancer-related depression through the COX-2/PGE2 pathway[J]. *Front Biosci (Landmark Ed)*, 2023, 28(11): 311.
- [21] SONG C, LIU L, CHEN J, et al. Evidence for the critical role of the PI3K signaling pathway in particulate matter-induced dysregulation of the inflammatory mediators COX-2/PGE2 and the associated epithelial barrier protein filaggrin in the bronchial epithelium[J]. *Cell Biol Toxicol*, 2020, 36(4): 301-313.
- [22] YU H, ZHANG S, LI R, et al. Berberine alleviates inflammation and suppresses PLA2-COX-2-PGE2-EP2 pathway through targeting gut microbiota in DSS-induced ulcerative colitis[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2024, 695: 149411.
- [23] 吴迪, 王清, 张殿文, 等. 黄芩苷对干酵母致热大鼠的解热作用及血清 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6、PGE2、cAMP 和脑组织 NF- $\kappa$ B 表达的影响[J]. *中国中医药科技*, 2024, 31(1): 37-41.

(此文编辑 蒋湘莲)