

基于TLR4/MyD88/NF- κ B信号通路探讨参苓白术散在治疗腹泻型肠易激综合征中的作用机制

张虹, 陈朝元*, 叶诚乾

福建中医药大学附属人民医院, 福建 福州

收稿日期: 2025年6月19日; 录用日期: 2025年8月18日; 发布日期: 2025年8月29日

摘要

背景: 腹泻型肠易激综合征(IBS-D)是一种以慢性腹痛和腹泻为特征的功能性胃肠道疾病, 炎症是其主要致病因素。参苓白术散(SLBZS)作为一种传统中药方剂, 在缓解IBS-D症状方面展现出潜力, 但其作用机制仍不完全明了。本研究通过TLR4/MyD88/NF- κ B信号通路探讨SLBZS治疗IBS-D的分子机制, 在大鼠模型中进行研究。方法: 采用束缚应激结合寒凉通便和不规则饮食的方法建立IBS-D大鼠模型, 随后使用低、中、高剂量的SLBZS进行治疗。评估一般行为、粪便含水量、布里斯托尔便形量表评分、小肠蠕动速率。通过苏木精-伊红(HE)染色评估结肠炎症。采用ELISA测定血清中CD4⁺、CD8⁺、IL-1 β 和IL-6水平。通过RT-qPCR和Western blot分别分析结肠组织中TLR4、MyD88和NF- κ B的mRNA和蛋白表达。结果: 与正常对照组相比, IBS-D大鼠表现为毛发凌乱、嗜睡和水样便, 粪便含水量显著增加($P < 0.0001$), 布里斯托尔评分升高($P < 0.0001$), 小肠蠕动速率加快($P < 0.0001$)。结肠组织表现为明显的炎性细胞浸润, 血清中CD4⁺、CD8⁺ ($P < 0.0001$)、IL-1 β 和IL-6水平升高($P < 0.001$ 或 $P < 0.0001$), TLR4、MyD88和NF- κ B的mRNA和蛋白表达上调($P < 0.0001$)。中剂量和高剂量SLBZS显著改善了大鼠的毛发状态、精神状态和便质, 减少了粪便含水量和布里斯托尔评分($P < 0.01$ 或 $P < 0.0001$), 减慢了小肠蠕动速率($P < 0.01$), 并缓解了结肠炎症。这些剂量还降低了血清中CD4⁺、CD8⁺ ($P < 0.01$ 至 $P < 0.0001$)、IL-1 β 和IL-6水平($P < 0.05$ 至 $P < 0.0001$), 并下调了TLR4、MyD88和NF- κ B的mRNA ($P < 0.05$ 至 $P < 0.0001$)和蛋白表达($P < 0.0001$ 或 $P < 0.001$)。低剂量SLBZS未显示出显著效果($P > 0.05$)。结论: SLBZS, 特别是中高剂量, 通过抑制TLR4/MyD88/NF- κ B信号通路、减少肠道炎症和调节免疫反应, 改善了IBS-D大鼠的症状。这些结果阐明了SLBZS的分子机制, 并支持其作为IBS-D治疗药物的潜力。

关键词

肠易激综合征, 参苓白术散, TLR4/MyD88/NF- κ B, 炎症, 免疫反应

*通讯作者。

The Mechanism of Shenling Baizhu San in the Treatment of Diarrhea-Predominant Irritable Bowel Syndrome Based on the TLR4/MyD88/NF- κ B Signaling Pathway

Hong Zhang, Chaoyuan Chen*, Chengqian Ye

The Affiliated People's Hospital of Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou Fujian

Received: Jun. 19th, 2025; accepted: Aug. 18th, 2025; published: Aug. 29th, 2025

Abstract

Background: Diarrhea-predominant irritable bowel syndrome (IBS-D) is a functional gastrointestinal disorder characterized by chronic abdominal pain and diarrhea, with inflammation as a key pathogenic factor. Shenling Baizhu San (SLBZS), a traditional Chinese herbal formula, shows promise in alleviating IBS-D symptoms, but its mechanisms remain incompletely understood. This study investigates the molecular mechanisms of SLBZS in treating IBS-D via the TLR4/MyD88/NF- κ B signaling pathway in a rat model. **Methods:** An IBS-D rat model was induced using restraint stress combined with cold-pungent purgation and irregular diet, followed by treatment with low, medium, and high doses of SLBZS. General behavior, fecal water content, Bristol stool form scale scores, and small intestinal transit rate were assessed. Colonic inflammation was evaluated using hematoxylin-eosin (HE) staining. Serum levels of CD4+, CD8+, IL-1 β , and IL-6 were measured by ELISA. mRNA and protein expression of TLR4, MyD88, and NF- κ B in colon tissue were analyzed using RT-qPCR and Western blot, respectively. **Results:** Compared to normal controls, IBS-D rats exhibited disheveled fur, lethargy, and watery stools, with significantly increased fecal water content ($P < 0.0001$), elevated Bristol scores ($P < 0.0001$), and accelerated small intestinal transit rate ($P < 0.0001$). Colonic tissue showed marked inflammatory cell infiltration, with elevated serum CD4+, CD8+ ($P < 0.0001$), IL-1 β , and IL-6 levels ($P < 0.001$ or $P < 0.0001$), and upregulated TLR4, MyD88, and NF- κ B mRNA and protein expression ($P < 0.0001$). Medium and high-dose SLBZS significantly improved fur condition, mental status, and stool consistency, reduced fecal water content and Bristol scores ($P < 0.01$ or $P < 0.0001$), slowed intestinal transit rate ($P < 0.01$), and alleviated colonic inflammation. These doses also decreased serum CD4, CD8 ($P < 0.01$ to $P < 0.0001$), IL-1 β , and IL-6 levels ($P < 0.05$ to $P < 0.0001$), and downregulated TLR4, MyD88, and NF- κ B mRNA ($P < 0.05$ to $P < 0.0001$) and protein expression ($P < 0.0001$ or $P < 0.001$). Low-dose SLBZS showed no significant effects ($P > 0.05$). **Conclusion:** SLBZS, particularly at medium and high doses, ameliorates IBS-D symptoms in rats by suppressing the TLR4/MyD88/NF- κ B signaling pathway, reducing intestinal inflammation, and modulating immune responses. These findings elucidate the molecular mechanisms of SLBZS and support its potential as a therapeutic agent for IBS-D.

Keywords

Irritable Bowel Syndrome, Shenling Baizhu San, TLR4/MyD88/NF- κ B, Inflammation, Immune Response



1. 引言

腹泻型肠易激综合征(Diarrhea-predominant Irritable Bowel Syndrome, IBS-D)是一种常见的功能性胃肠道疾病,其特点为慢性腹痛、腹泻以及排便频率或便质的变化,但没有明确的组织学或生化异常[1]。流行病学研究表明,IBS-D 的患病率存在显著的地区差异[2][3]。尽管 IBS-D 不会直接威胁生命,但其反复发作的特性严重影响患者的生活质量,并给医疗和经济带来巨大的负担[4]。

目前治疗 IBS-D 的方法包括促动力药物、解痉药、止泻药、益生菌和抗焦虑药物[5]。这些治疗主要针对症状缓解,但总体疗效有限,长期使用可能导致口干、视力模糊或头晕等副作用[6]。因此,越来越多的人开始关注补充性和替代性疗法,如传统中医[7]。参苓白术散(SLBZS)是一种常用于 IBS-D 的传统中药方剂,因其有健脾、化湿、调节胃肠功能的作用[8]。

研究表明,TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路在 IBS-D 相关的肠道炎症和黏膜屏障损伤中起着关键作用[9]。Toll 样受体 4 (Toll-like receptor 4, TLR4)是一个先天免疫受体,能够通过肠道微生物代谢物或炎症因子被激活,通过髓样分化原发应答基因 88 (Myeloid Differentiation Primary Response Gene 88, MyD88)依赖的信号通路激活核因子 κ B (nuclear factor kappa-B, NF- κ B),进而上调促炎细胞因子的表达,加重肠道炎症并降低紧密连接蛋白的表达[10]。动物研究表明,SLBZS 显著改善 IBS-D 模型大鼠的肠道功能,其活性成分能够抑制 TLR4 和 MyD88 的表达,抑制 NF- κ B p65 核转位,降低白介素-6 (Interleukin-6, IL-6)和肿瘤坏死因子 α (tumour necrosis factor, TNF- α)水平,并恢复肠道屏障功能[11]。进一步研究表明,SLBZS 通过调节肠道微生物群及其代谢物发挥作用。它促进有益菌的增殖,减少致病菌,恢复肠道微生物的平衡[12]。此外,SLBZS 还能提高短链脂肪酸的水平,增强肠上皮细胞的能量代谢,并减少肠道通透性[13]。2023 年的一项研究进一步表明,SLBZS 可能通过调节“肠道微生物群-色氨酸代谢”轴来抑制炎症并保护 IBS-D 大鼠的肠道黏膜屏障[14]。

本研究通过建立 IBS-D 大鼠模型,探讨 SLBZS 对 TLR4/MyD88/NF- κ B 通路的调节作用,考察炎症细胞因子的变化及其对肠道微生物群的影响,为 SLBZS 治疗 IBS-D 提供分子基础。

2. 材料与方法

2.1. 实验动物

本项目已获得福建中医药大学动物实验伦理委员会的批准。所有实验均按照相关的动物保护和使用指南进行。共购买 40 只 3 个月龄、体重(180 ± 20) g 的雄性 SPF 级 Wistar 大鼠,来自上海斯莱克实验动物有限公司(生产许可证号:SCXK(沪)2012-0011),并饲养于福建中医药大学实验动物中心(许可证号:SYXK(闽)2013-009)。大鼠在标准实验动物饲养条件下饲养。

2.2. 参苓白术散的制备

参苓白术散由福建中医药大学附属人民医院药学部统一制备。具体方剂组成包括人参 15 g、白术 15 g、茯苓 15 g、莲子 9 g、薏米 9 g、山药 15 g、沙仁 6 g、木香 12 g、桔梗 9 g、甘草(炙)9 g。上述药材与 600 mL 蒸馏水高温煮沸,然后转小火再煮 30 分钟。将煎液过滤,剩余药渣用 300 mL 蒸馏水高温煮沸,再转小火煮 30 分钟。过滤后,将两次滤液混合,最后用旋转蒸发器浓缩至原药材浓度为 0.6、1.2、2.4

g/mL。制备液储存于 4℃ 冰箱中备用(每三天制备一次)。

2.3. IBS-D 大鼠模型的建立

采用随机数字表法将大鼠分为空白组($n = 8$)和建模组($n = 32$)。IBS-D 大鼠模型通过束缚应激法结合寒凉通便法和不规则饮食法建立,具体方法参照文献[15][16]。操作步骤如下:所有动物每笼五只,笼底铺过滤纸。实验前大鼠禁食 10 小时,水自由饮用。建模组大鼠每日灌胃番泻叶煎液(0.4 g/mL),每次灌胃量为 20 mL/(kg·大鼠)。灌胃后 1 小时,用粗棉绳束缚大鼠后肢,限制活动并引起激动和应激,持续 2 小时。每隔一天给予大鼠正常食量的一半,水自由饮用。此建模过程持续 2 周。

2.4. IBS-D 大鼠模型的分组与干预

建模完成后,按照实验要求,采用随机数字表法将大鼠分为以下实验组:空白对照组(Control)、模型对照组(IBS-D)、低剂量治疗组(SLBZS-L)、中剂量治疗组(SLBZS-M)、高剂量治疗组(SLBZS-H),每组 8 只大鼠,共 40 只大鼠。治疗组大鼠连续灌胃不同剂量的参苓白术散,空白组和模型组大鼠则灌胃等体积的蒸馏水。剂量依据大鼠与 60 kg 成人的表面积换算因子(大约为成人剂量的 6 倍)计算。每只大鼠的灌胃量为 0.2 mL 每 10 g 体重,对应的参苓白术散剂量分别为低剂量 0.6 g/mL、中剂量 1.2 g/mL 和高剂量 2.4 g/mL,所有大鼠每天灌胃 20 mL/(kg·大鼠),连续 14 天。

2.5. 组织采样

14 天干预结束后,所有大鼠麻醉后从腹主动脉采集 3~5 mL 血液,血液离心 3000 rpm,离心 10 分钟,血清置于 EP 管中, -80℃ 保存。随后解剖大鼠,取结肠组织样本。用于组织病理学分析的样本固定于 4%多聚甲醛中。用于 Western Blot 和 RT-PCR 的样本存放于 -80℃,以备后续分析。

3. 指标检测

3.1. 大鼠的一般情况观察

每周称量一次各组大鼠体重,在建模和治疗期间,观察大鼠的精神状态、毛色、食量、水量、活动情况、粪便及肛周状态。

3.2. 粪便含水量测定

首先,将过滤纸放在大鼠笼底收集 24 小时内的大鼠粪便。收集后称量湿重为 A1,然后将粪便放入烘箱中干燥。干燥后再次称重并记录干重为 A2。根据公式计算粪便含水量(%): $(A1 - A2)/A1 \times 100\%$ 。

3.3. 布里斯托尔便形量表评分

建模和治疗结束后,观察各组大鼠的粪便特征,并根据布里斯托尔便形量表进行评分,具体评分标准见附录表 1。1 型和 2 型表示便秘;3 型和 4 型为理想便形,其中 4 型最易排出;5 型至 7 型表示腹泻。

3.4. 小肠推进率实验

操作开始时,先结扎幽门和回盲部,然后分离肠系膜。测量从幽门到回盲部的总小肠长度。然后灌服带有黑色染料的营养糊剂,之后测量营养糊剂从幽门到达的距离为小肠推进长度。小肠推进率计算公式为: $(D_{\text{prop}}/L_{\text{total}}) \times 100\%$ (D_{prop} = 营养糊剂推进距离(cm); L_{total} = 小肠总长度(cm))。

3.5. HE 染色

固定后的标本取出,流动水冲洗 4 小时,制备石蜡包埋标本。组织标本以横向和纵向切片,然后切

成 5 μm 厚的石蜡切片。组织切片放入 60℃烘箱中烘干 30 分钟，然后放入二甲苯中脱蜡 10 分钟。切片依次通过梯度乙醇溶液和蒸馏水处理，每次 5 分钟。组织切片用苏木精染色 20 分钟，再经过蓝化(在自来水中冲洗约 20 分钟)、分化(用 1%盐酸酒精处理约 1 分钟)、再次蓝化(在自来水中冲洗约 20 分钟)。然后组织用伊红染色 1 秒，染红细胞质。切片干燥后，依次在二甲苯(I)和二甲苯(II)中透明化 3 分钟。最后，用中性树胶封片，封片固化后拍照观察结肠组织中的炎症及细胞浸润情况。

3.6. ELISA 实验

从-80℃冰箱中取出各组大鼠的血清，解冻后按 ELISA 试剂盒说明书进行实验操作。实验结束后，使用酶标仪在 450 nm 波长下测定吸光度(OD 值)，根据读取值计算样本浓度。观察血清中炎症标志物 IL-1 β 和 IL-6 的表达水平，以及 CD4+和 CD8+的变化。

3.7. RT-PCR 实验

采用 Trizol 试剂提取 RNA，反转录为 cDNA。引物序列见表 1。进行荧光定量 PCR 扩增，PCR 条件如下：步骤 1 (预变性)：95℃ 1 分钟；步骤 2：95℃ 20 秒，60℃ 1 分钟，40 个循环。以 Gapdh 为内参，使用 2^{- $\Delta\Delta\text{Ct}$} 法计算相对 mRNA 表达水平。

Table 1. Primer sequence
表 1. 引物序列

基因名称	正向引物序列	反向引物序列	DNA 片段长度
TLR4	5'-ATGAGCCACAGTGGGAGAA-3'	5'-GAGGAGCCAGTAGAAGGTTG-3'	150
MyD88	5'-TGAGTCCACACGAGTTGGAC-3'	5'-GTAGAGACCCAGGTTCTCC-3'	180
NF- κ B	5'-GAGAGGAAGTTCAGAGGAGG-3'	5'-TGAGAGAGCAGGACGAGG-3'	200
GAPDH	5'-GAAGGTGAAGGTCGGAGTC-3'	5'-GAAGATGGTGATGGGATTTC-3'	150

3.8. Western Blot 实验

组织样本从-80℃冰箱中取出，取 1 g 组织混合 4 mL RIPA + PMSF 裂解缓冲液以提取蛋白。使用 BCA 法测定蛋白浓度，并计算上样量。加入 5X 上样缓冲液，以 1:4 的比例混合，然后在 95℃下加热 5 分钟使蛋白质变性。样品随后存放于-20℃。进行电泳时，根据测定的蛋白量加载样品，进行 60 V 电泳 30 分钟，接着 100 V 电泳 60 分钟，然后转膜 1.5 小时。膜在室温下封闭 1.5 小时，随后在 4℃下与一抗孵育过夜。膜用 TBST 洗涤三次，每次 10 分钟。用二抗孵育 2 小时，并轻轻摇晃，随后用 TBST 洗涤三次，每次 10 分钟。使用 ECL 化学发光法可视化蛋白条带，并通过 Bio-Image 分析系统进行成像和分析。观察结肠组织中 TLR4、MyD88、NF- κ B 的表达。

3.9. 统计分析

数据以均数 $\pm$ 标准误(means $\pm$ SEM)表示。统计分析使用 SPSS 22.0 软件进行。多组间比较使用单因素方差分析(one-way ANOVA)或 Kruskal-Wallis 检验。P 值 < 0.05 被认为具有统计学意义。

4. 结果

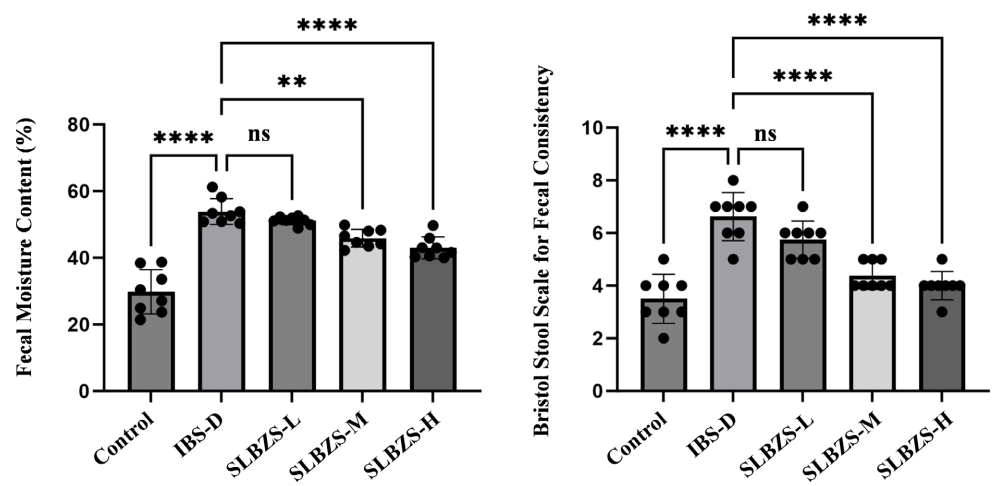
4.1. 各组大鼠的一般情况观察

正常组的大鼠毛发光滑有光泽，活力充沛，反应灵敏，粪便呈暗色、颗粒状，质地坚实，肛周区域清洁。相比之下，模型组和 SLBZS-L 组的大鼠毛发干燥发黄，精神萎靡，反应迟缓，粪便松散或水样，肛

周区域脏乱。干预后, SLBZS-M 及 SLBZS-H 组的大鼠毛发质量有所改善, 毛发更整洁, 精神状态显著改善, 粪便大多呈颗粒状且成形, 肛周区域较为清洁。

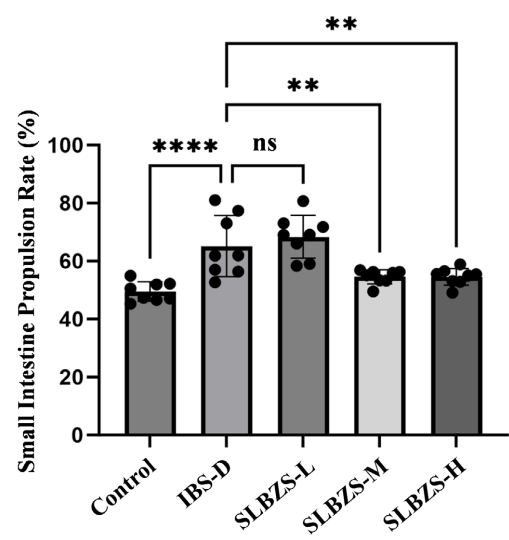
4.2. 各组大鼠粪便情况观察

如图 1 所示, 与空白组相比, IBS-D 组的粪便含水量显著增加($P < 0.0001$), 布里斯托尔便形量表评分显著升高($P < 0.0001$)。与模型组相比, SLBZS-L 组的粪便含水量和布里斯托尔便形量表评分无显著差异($P > 0.05$)。SLBZS-M 及 SLBZS-H 组的粪便含水量显著下降($P < 0.01$ 或 $P < 0.0001$), 布里斯托尔便形量表评分显著降低($P < 0.0001$)。



注 1: 与 IBS-D 组相比, **** $P < 0.0001$, ** $P < 0.01$ 。

Figure 1. Observation of fecal conditions of rats in each group (left figure shows fecal moisture content, right figure shows Bristol stool shape scale score)
图 1. 各组大鼠粪便情况观察(左图纵坐标为粪便含水量、右图纵坐标为布里斯托尔便形量表评分)



注: 与 IBS-D 组相比, **** $P < 0.0001$, ** $P < 0.01$ 。

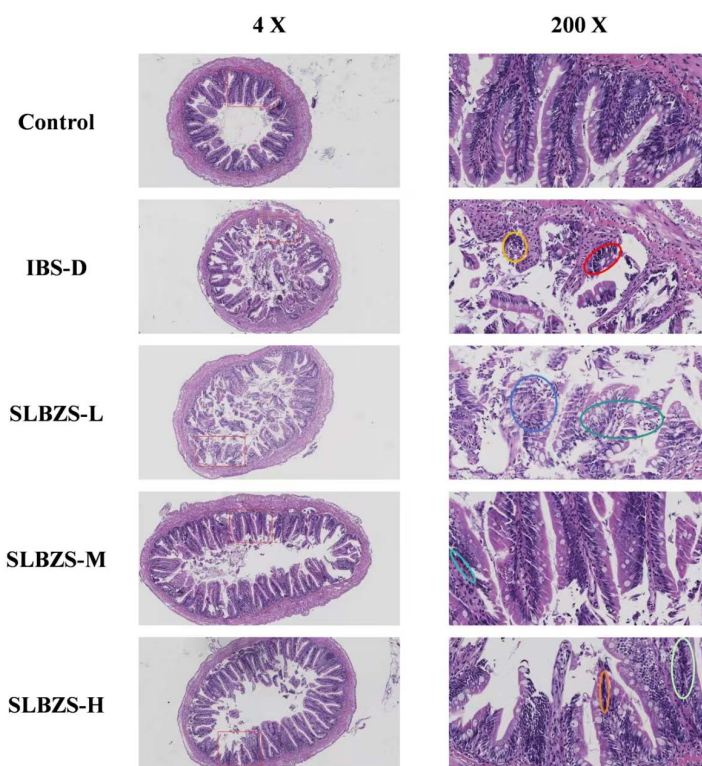
Figure 2. Comparison of small intestinal propulsion rates among different groups of rats
图 2. 各组大鼠小肠推进率比较

4.3. 各组大鼠小肠推进率比较

小肠推进率如图2所示,与空白组相比,模型组的小肠推进率显著增加($P < 0.0001$)。与IBS-D组相比,SLBZS-L组仅呈现轻微下降趋势($P > 0.05$),而SLBZS-M及SLBZS-H组的小肠推进率显著下降($P < 0.01$)。

4.4. 各组大鼠 HE 染色结果比较

如图3所示,与空白组相比,IBS-D组大鼠出现大量中性粒细胞聚集,导致肠绒毛脱落和破坏。与模型组相比,SLBZS-M及SLBZS-H组的炎症反应得到缓解。



注:黄色圆圈表示肠上皮细胞损伤,细胞形态发生明显变化。红色圆圈突出显示免疫细胞浸润区域和显著的炎症反应。绿色圆圈标记纤维组织增生伴随胶原沉积。蓝色圆圈显示肠绒毛丧失,导致肠道衬里结构破坏。

Figure 3. Comparison of HE staining results among different groups of rats
图3. 各组大鼠 HE 染色结果比较

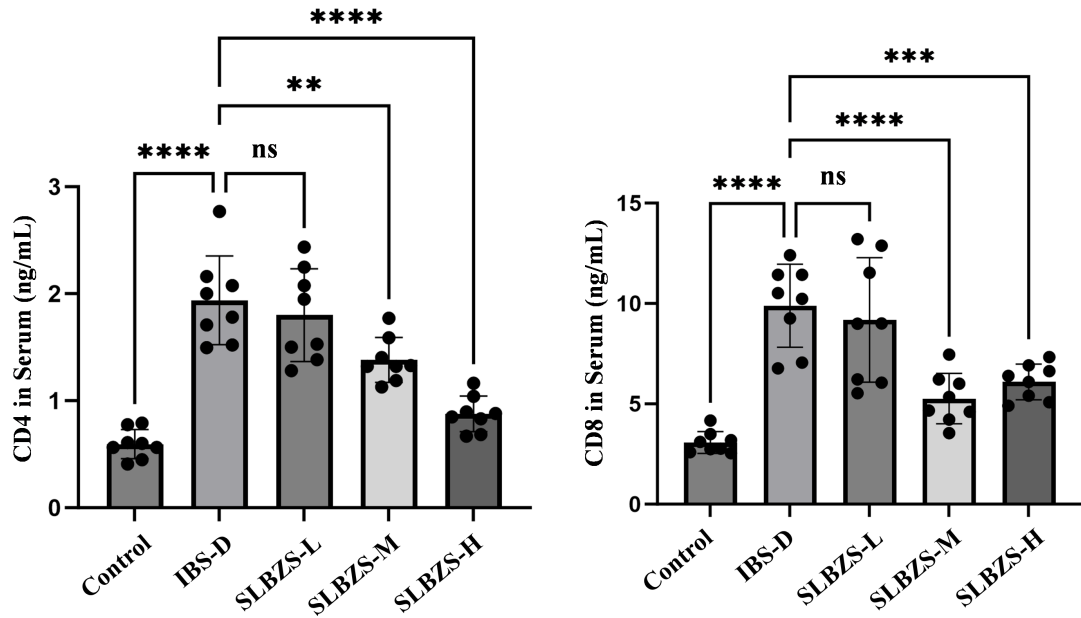
4.5. 各组大鼠血清中 CD4+和 CD8+的含量比较

如图4所示,与空白组相比,IBS-D组血清中CD4+和CD8+的水平显著升高($P < 0.0001$)。与模型组相比,SLBZS-L组的CD4+和CD8+水平仅呈现轻微下降趋势($P > 0.05$),而SLBZS-M及SLBZS-H组的CD4+和CD8+水平显著降低($P < 0.0001$ 或 $P < 0.001$ 或 $P < 0.01$)。

4.6. 各组大鼠血清中 IL-1 β 和 IL-6 的含量

如图5所示,与空白组相比,模型组血清中IL-1 β 和IL-6的水平显著升高($P < 0.001$ 或 $P < 0.0001$)。与IBS-D组相比,SLBZS-L组的IL-1 β 和IL-6水平仅呈现轻微下降趋势($P > 0.05$),而SLBZS-M及SLBZS-

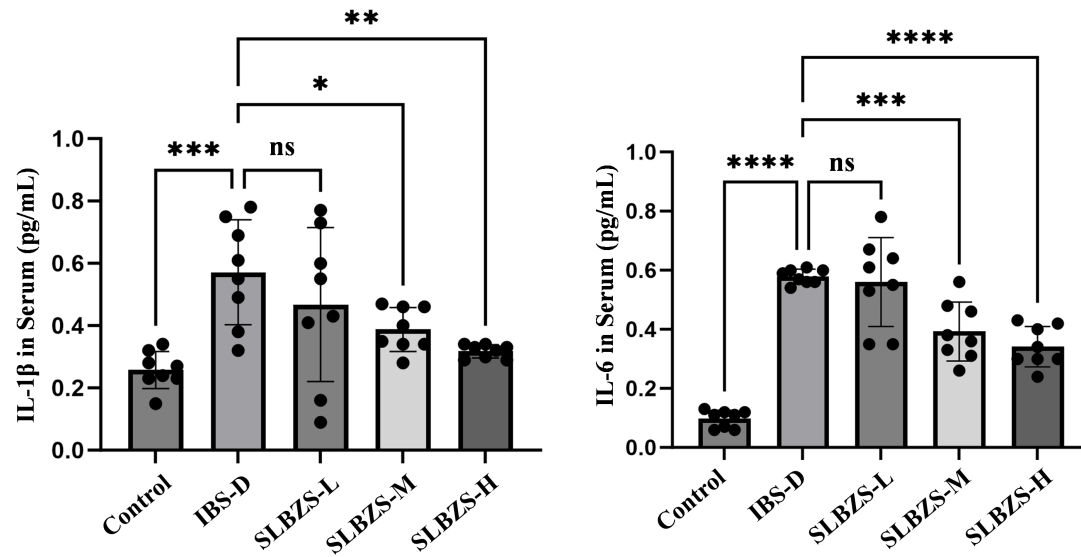
H 组的 IL-1 β 和 IL-6 水平显著降低($P < 0.0001$ 或 $P < 0.001$ 或 $P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。



注：与 IBS-D 组相比，**** $P < 0.0001$ ，** $P < 0.01$ 。

Figure 4. Comparison of CD4+ and CD8+ levels in serum of rats in different groups

图 4. 各组大鼠血清中 CD4+和 CD8+的含量比较



注：与 IBS-D 组相比，**** $P < 0.0001$ ，*** $P < 0.001$ ，** $P < 0.01$ ，* $P < 0.05$ 。

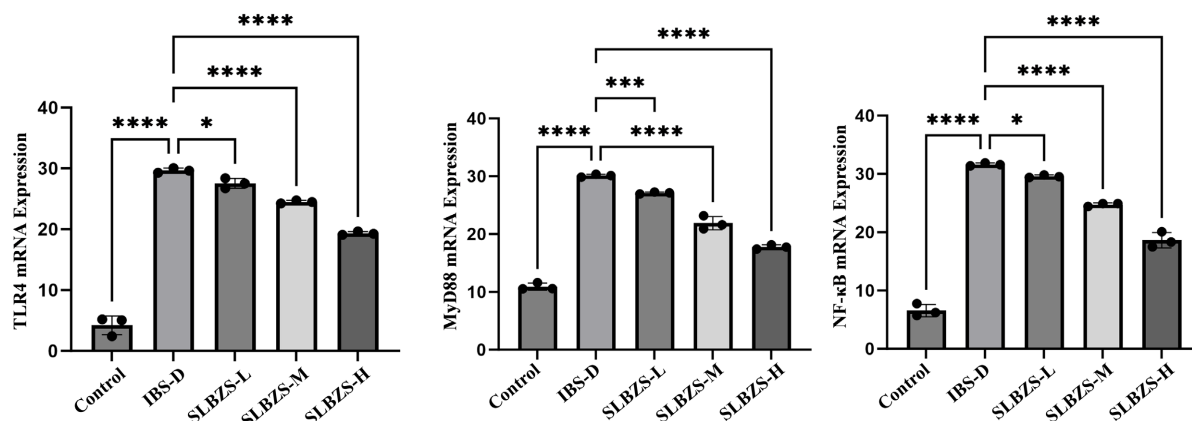
Figure 5. Comparison of IL-1 β and IL-6 levels in serum of rats in different groups

图 5. 各组大鼠血清中 IL-1 β 和 IL-6 的含量比较

4.7. 各组大鼠的 TLR4, MyD88 and NF- κ B mRNA 表达水平

如图 6 所示，与空白组相比，IBS-D 组中 TLR4、MyD88 和 NF- κ B 的 mRNA 表达水平显著升高($P < 0.0001$)。与模型组相比，SLBZS-L、SLBZS-M 及 SLBZS-H 组中 TLR4、MyD88 和 NF- κ B 的 mRNA 表达

水平显著降低($P < 0.0001$ 或 $P < 0.001$, 或 $P < 0.05$)。



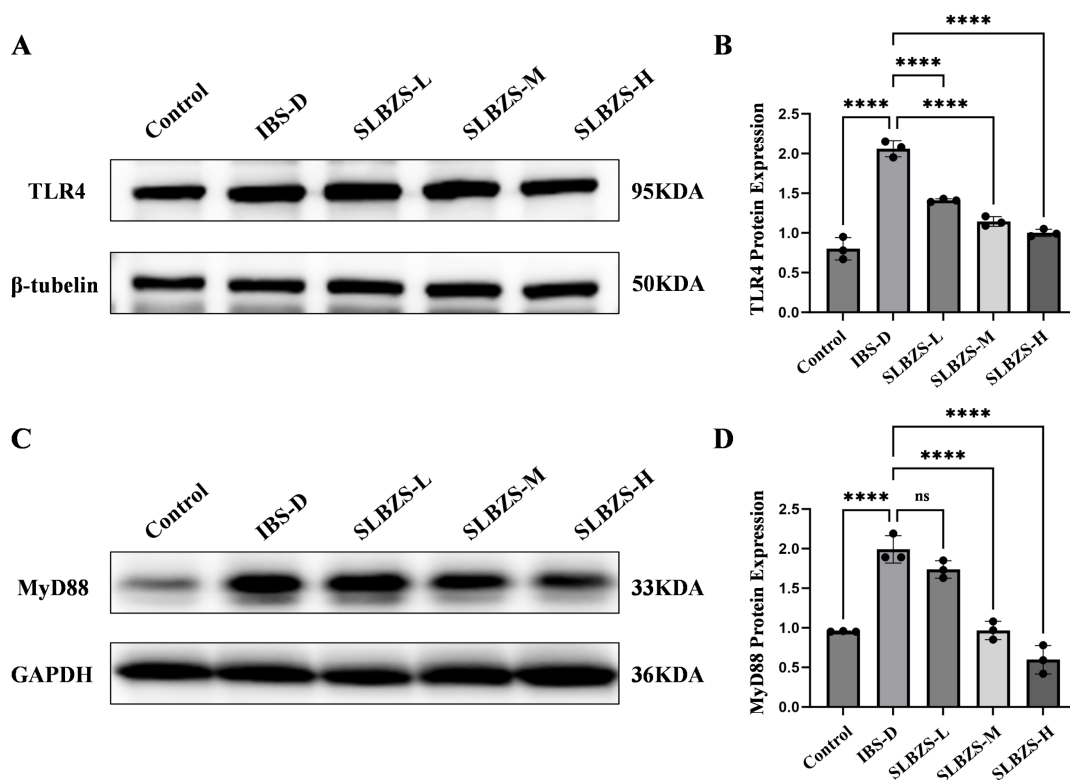
注：与 IBS-D 组相比，**** $P < 0.0001$ ，*** $P < 0.001$ ，* $P < 0.05$ 。

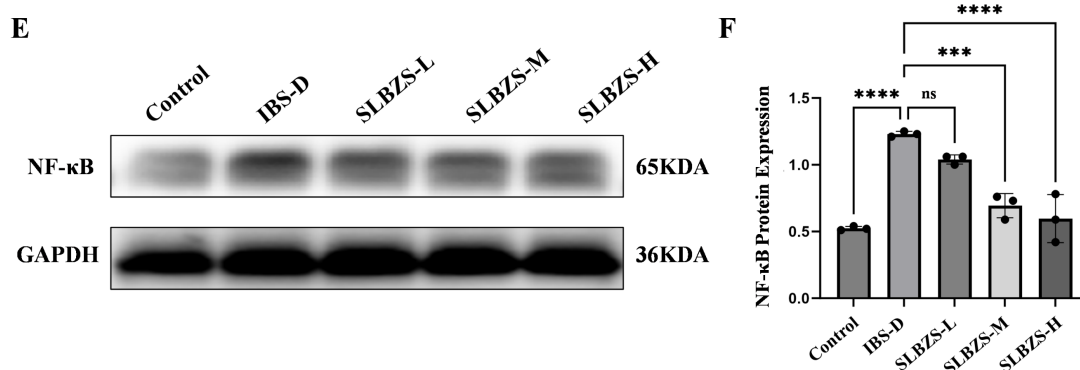
Figure 6. mRNA expression levels of TLR4, MyD88, and NF-κB in each group of rats

图 6. 各组大鼠的 TLR4, MyD88 和 NF-κB mRNA 表达水平

4.8. 各组大鼠的 TLR4, MyD88 和 NF-κB 蛋白表达水平

如图 7 所示，与空白组相比，IBS-D 组中 TLR4、MyD88 和 NF-κB 的蛋白表达水平显著增加($P < 0.0001$)。与模型组相比，SLBZS-L、SLBZS-M 及 SLBZS-H 组中 TLR4 的蛋白表达水平显著降低($P < 0.0001$)。SLBZS-L 组中 MyD88 和 NF-κB 的蛋白表达水平呈下降趋势($P > 0.05$)，而 SLBZS-M 及 SLBZS-H 组中 MyD88 和 NF-κB 的蛋白表达水平显著降低($P < 0.0001$ 或 $P < 0.001$)。





注：与 IBS-D 组相比，**** $P < 0.0001$ ，*** $P < 0.001$ 。

Figure 7. Expression levels of TLR4, MyD88, and NF- κ B proteins in each group of rats

图 7. 各组大鼠的 TLR4, MyD88 and NF- κ B 蛋白表达水平

5. 讨论

IBS-D 是一种功能性胃肠道疾病，以慢性腹痛和腹泻为特征，炎症在其发病机制中起着关键作用[1]。SLBZS 是一种传统的中药方剂，因其健脾化湿的功效，常用于治疗 IBS-D[17]。本研究采用由束缚应激、寒性泻下和不规律饮食联合诱导的 IBS-D 大鼠模型，系统地研究了 SLBZS 通过 TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路缓解 IBS-D 症状的分子机制，并结合行为学、病理学和免疫学证据支持其治疗效果。

研究观察到，IBS-D 模型大鼠表现出毛发蓬乱、嗜睡、反应迟钝和水样便，表明脾虚湿滞、肠道功能失调，与先前的研究结果一致[18]。SLBZS-M 及 SLBZS-H 组显著改善了毛发状况、精神状态和大便形态，展示了其整体调节作用。SLBZS 的健脾化湿特性可能通过调节肠道水分代谢和肠道蠕动来缓解腹泻[19]。研究表明，SLBZS 中的白术可以通过调节 5-羟色胺信号通路来减缓肠道蠕动并改善大便形态[20]。人参皂苷是其另一关键成分，可能通过增强脾胃功能、促进肠道吸收和减少粪便水分含量来改善肠道功能[21]。这些结果与先前的研究报告一致，表明 SLBZS 能够改善功能性腹泻症状[22]。此外，SLBZS-M 及 SLBZS-H 组显著减慢了小肠推进率，表明其在纠正肠道蠕动异常方面的作用。现有研究表明，SLBZS 通过调节肠道平滑肌收缩和神经递质释放来改善肠道过度蠕动[23]。本研究中观察到的 SLBZS 对肠道通行的影响进一步支持了其恢复肠道功能平衡的潜力。

HE 染色显示，IBS-D 大鼠结肠组织中炎症细胞浸润显著，与 IBS-D 的低级炎症特征一致[24] [25]。SLBZS-M 及 SLBZS-H 组显著减少了这种炎症反应，突显了其强大的抗炎作用。SLBZS 的抗炎特性可能源于其活性成分抑制促炎细胞因子表达的能力[11]。类似地，白术中的白术内酯已被报道可以下调促炎细胞因子，保护肠道黏膜屏障[26]。这些发现与我们的结果相符，表明 SLBZS 通过其成分的协同作用缓解 IBS-D 相关的炎症。

SLBZS 的抗炎作用可能与其调节 TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路密切相关。本研究发现，IBS-D 大鼠结肠组织中 TLR4、MyD88 和 NF- κ B 的 mRNA 和蛋白表达显著上调。TLR4 是一种先天免疫受体，可以通过肠道微生物代谢产物如脂多糖激活，触发通过 MyD88 依赖的信号通路激活 NF- κ B，从而诱导促炎细胞因子的表达[27] [28]。SLBZS-M 及 SLBZS-H 组显著下调了 TLR4、MyD88 和 NF- κ B 的表达，表明其通过抑制该通路来减轻炎症。研究表明，SLBZS 中的人参皂苷抑制 NF- κ B 的核转位，减少炎症细胞因子基因的转录[29]，而茯苓多糖则通过减少 TLR4-配体结合阻断下游信号传导[30]。这些机制与我们的发现一致，强调了 SLBZS 的多靶点作用是其抗炎效果的关键。研究还发现，IBS-D 大鼠血清中的 CD4⁺和 CD8⁺T 细胞显著升高，表明免疫系统过度激活。CD4⁺T 细胞作为辅助性 T 细胞，在炎症反应中起主导作

用,而 CD8⁺T 细胞的增加可能与肠道黏膜局部免疫反应有关[31]。SLBZS-M 及 SLBZS-H 组显著降低了 CD4⁺和 CD8⁺T 细胞水平,提示其通过抑制 T 细胞过度激活调节免疫反应。

IBS-D 大鼠血清中的 IL-1 β 和 IL-6 水平显著升高,反映出低级炎症。SLBZS-M 及 SLBZS-H 组显著降低了这些促炎细胞因子的水平,与其抑制 TLR4/MyD88/NF- κ B 通路一致。IL-1 β 和 IL-6 是 NF- κ B 的关键下游介质,与炎症反应高度相关[32]。通过下调这些细胞因子,参苓白术散缓解了炎症反应,可能改善 IBS-D 症状。研究表明,SLBZS 中的白术内酯通过抑制 NF- κ B 活性减少 IL-6 的分泌[33]。而 SLBZS-L 在行为学、炎症和 TLR4/MyD88/NF- κ B 通路参数上未表现出显著效果,这可能是由于药物浓度不足,未能有效调节炎症和免疫反应。相比之下,SLBZS-M 及 SLBZS-H 组显著改善了症状、炎症和通路抑制,表明其具有剂量依赖的治疗效果。

6. 结论

总之,SLBZS,特别是中高剂量,显著改善 IBS-D 大鼠的肠道功能,减少炎症,抑制 TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路,降低 IL-1 β 和 IL-6 的表达,并调节 CD4⁺和 CD8⁺T 细胞水平。其健脾化湿的作用与抗炎和免疫调节作用相辅相成,为其在临床应用中的科学依据提供了支持。该研究阐明了参苓白术散的分子机制,为开发功能性胃肠道疾病的新治疗方法提供了理论支持。

基金项目

福建省自然科学基金项目(2021J01906)。

参考文献

- [1] Drossman, D.A. and Hasler, W.L. (2016) Rome IV—Functional GI Disorders: Disorders of Gut-Brain Interaction. *Gastroenterology*, **150**, 1257-1261. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2016.03.035>
- [2] Sperber, A.D., Bangdiwala, S.I., Drossman, D.A., Ghoshal, U.C., Simren, M., Tack, J., et al. (2021) Worldwide Prevalence and Burden of Functional Gastrointestinal Disorders, Results of Rome Foundation Global Study. *Gastroenterology*, **160**, 99-114.e3. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2020.04.014>
- [3] Zhao, Y.F., Guo, X.J., Zhang, Z.S., et al. (2012) Epidemiology of Functional Diarrhea and Comparison with Diarrhea-Predominant Irritable Bowel Syndrome: A Population-Based Survey in China. *PLOS ONE*, **7**, e43749. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0043749>
- [4] Buono, J.L., Carson, R.T. and Flores, N.M. (2017) Health-Related Quality of Life, Work Productivity, and Indirect Costs among Patients with Irritable Bowel Syndrome with Diarrhea. *Health and Quality of Life Outcomes*, **15**, Article No. 35. <https://doi.org/10.1186/s12955-017-0611-2>
- [5] Lacy, B.E., Pimentel, M., Brenner, D.M., Chey, W.D., Keefer, L.A., Long, M.D., et al. (2021) ACG Clinical Guideline: Management of Irritable Bowel Syndrome. *American Journal of Gastroenterology*, **116**, 17-44. <https://doi.org/10.14309/ajg.0000000000001036>
- [6] Videlock, E.J. and Chang, L. (2007) Irritable Bowel Syndrome: Current Approach to Symptoms, Evaluation, and Treatment. *Gastroenterology Clinics of North America*, **36**, 665-685. <https://doi.org/10.1016/j.gtc.2007.07.002>
- [7] Deutsch, J.K., Levitt, J. and Hass, D.J. (2020) Complementary and Alternative Medicine for Functional Gastrointestinal Disorders. *American Journal of Gastroenterology*, **115**, 350-364. <https://doi.org/10.14309/ajg.0000000000000539>
- [8] Meng, M., Bai, C., Wan, B., Zhao, L., Li, Z., Li, D., et al. (2021) A Network Pharmacology-Based Study on Irritable Bowel Syndrome Prevention and Treatment Utilizing Shenling Baizhu Powder. *BioMed Research International*, **2021**, Article 4579850. <https://doi.org/10.1155/2021/4579850>
- [9] 鲍璐璐, 崔立红. TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路的研究进展[J]. 胃肠病学和肝病学杂志, 2019, 28(5): 568-572.
- [10] Kawai, T. and Akira, S. (2010) The Role of Pattern-Recognition Receptors in Innate Immunity: Update on Toll-Like Receptors. *Nature Immunology*, **11**, 373-384. <https://doi.org/10.1038/ni.1863>
- [11] Lv, W.J., Ma, Y.M., Huang, J.Y., et al. (2022) Polysaccharides Derived from Shenling Baizhu San Improve Colitis via Modulating Tryptophan Metabolism in Mice. *International Journal of Biological Macromolecules*, **222**, 1127-1136. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.09.246>

- [12] Ma, Q., Ouyang, Y., Meng, F., Noolvi, M.N., Avvaru, S.P., More, U.A., *et al.* (2019) A Review of Pharmacological and Clinical Studies on the Application of Shenling Baizhu San in Treatment of Ulcerative Colitis. *Journal of Ethnopharmacology*, **244**, Article 112105. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.112105>
- [13] 李晶, 王垂杰, 李玉锋, 等. 参苓白术颗粒对功能性腹泻大鼠结肠黏膜紧密连接蛋白表达的作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(12): 6.
- [14] Li, Y., Zhu, Z., He, S., Tang, J., Zhang, Y., Yang, Y., *et al.* (2024) Shenling Baizhu Decoction Treats Ulcerative Colitis of Spleen-Deficiency and Dampness Obstruction Types by Targeting “Gut Microbiota and Galactose Metabolism-Bone Marrow” Axis. *Journal of Ethnopharmacology*, **335**, Article 118599. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2024.118599>
- [15] 周天然, 张瑶, 逯晓旭, 等. 慢性束缚应激腹泻型肠易激综合征大鼠模型的改良与评价[J]. 广州中医药大学学报, 2018, 35(1): 163-168.
- [16] 曾梅艳, 陈雪莲, 宋厚盼, 等. 脾气虚证动物模型造模方法与模型评价的研究概述[J]. 湖南中医药大学学报, 2019, 39(2): 284-289.
- [17] 王思玉, 彭美哲, 李享, 等. 健脾化湿法治疗腹泻型肠易激综合征的临床研究[J]. 北京中医药, 2014, 33(4): 246-249.
- [18] 赵立波, 王迎寒, 刘玉玲, 等. 健脾化湿颗粒对 IBS-D 模型大鼠血清 P 物质及 ET 表达的影响[J]. 重庆医学, 2014, 43(10): 1206-1207+1210.
- [19] 俞月. 参苓白术散中医封包防治脾虚证功能性腹泻的实验研究[D]: [硕士学位论文]. 长沙: 湖南中医药大学, 2023.
- [20] Wang, H., Hou, Y.N., Yang, M., *et al.* (2022) Herbal Formula Shenling Baizhu San for Chronic Diarrhea in Adults: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Integrative Cancer Therapies*, **21**, 1-9. <https://doi.org/10.1177/15347354221081214>
- [21] 陈倩. 参苓白术散治疗腹泻病的有效性及其免疫调节机制研究[D]: [硕士学位论文]. 南昌: 江西中医药大学, 2023.
- [22] Chen, Q., Xiao, Z., He, Q.Y., *et al.* (2022) Effect of Shenling Baizhu Powder on Immunity to Diarrheal Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Frontiers in Pharmacology*, **13**, Article 938932. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.938932>
- [23] Sun, J., Jiang, X.J., Wang, Y.D., Ma, K.L., Li, Z.H., Wang, T.C., Wang, T.M., Shao, J. and Wang, C.Z. (2022) Mechanism of Shenling Baizhu Powder in Alleviation of Ulcerative Colitis in Mice Based on High-Throughput Transcriptome Sequencing. *China Journal of Chinese Materia Medica*, **47**, 6155-6163.
- [24] 胡瑞, 唐方. 胃肠安丸对 IBS-D 大鼠血清 NO, 5-HT 及结肠组织 SP, MC 的影响[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(23): 3073-3077.
- [25] 赵立波, 王迎寒, 刘玉玲, 等. 健脾化湿颗粒对实验性 IBS-D 大鼠结肠黏膜 5-HT 表达的影响[J]. 重庆医学, 2014, 43(14): 1713-1715.
- [26] Meng, M., Bai, C., Wan, B., Zhao, L., Li, Z., Li, D., *et al.* (2021) A Network Pharmacology-based Study on Irritable Bowel Syndrome Prevention and Treatment Utilizing Shenling Baizhu Powder. *BioMed Research International*, **2021**, Article 4579850. <https://doi.org/10.1155/2021/4579850>
- [27] 王权鹏, 黄崇杰, 曹伟兰, 等. 热休克蛋白 70 通过激活 TLR4/MyD88/NF- κ B 通路参与肠道炎症[J]. 中国中西医结合外科杂志, 2022, 28(6): 892-898.
- [28] Duan, T., Du, Y., Xing, C., Wang, H.Y. and Wang, R.F. (2022) Toll-Like Receptor Signaling and Its Role in Cell-Mediated Immunity. *Frontiers in Immunology*, **13**, Article 812774. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.812774>
- [29] Kim, J.H., Yi, Y.S., Kim, M.Y., *et al.* (2017) Role of Ginsenosides, the Main Active Components of Panax Ginseng, in Inflammatory Responses and Diseases. *Journal of Ginseng Research*, **41**, 435-443. <https://doi.org/10.1016/j.jgr.2016.08.004>
- [30] Wang, N., Zhang, D., Wang, Y., *et al.* (2021) Poria Cocos Polysaccharides Attenuate Chronic Nonbacterial Prostatitis by Targeting the Gut Microbiota: Comparative Study of Two Poria Cocos Polysaccharide Fractions. *International Journal of Biological Macromolecules*, **186**, 135-145.
- [31] 唐洪梅, 黄樱华, 李得堂, 等. 肠激安方对腹泻型肠易激综合征模型大鼠 T 淋巴细胞和 5-羟色胺的影响[J]. 广州中医药大学学报, 2009, 26(2): 164-168+200.
- [32] Bode, J.G., Fischer, R., Häussinger, D., Graeve, L., Heinrich, P.C. and Schaper, F. (2001) The Inhibitory Effect of IL-1 β on IL-6-Induced A2-Macroglobulin Expression Is Due to Activation of NF- κ B. *The Journal of Immunology*, **167**, 1469-1481. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.167.3.1469>
- [33] Wang, Y., Zhang, S., Zhou, Q., *et al.* (2021) Network Pharmacology-Based Prediction and Verification of the Active Components and Molecular Targets of Shenling Baizhu San in the Treatment of Ulcerative Colitis. *Evidenced Based Complementary and Alternative Medicine*, **2021**, Article 8858263.