

基于Nrf2/HO-1信号通路探讨 针药结合对吡啶美辛诱导的小鼠结肠损伤的影响

王雯¹, 侯雨君¹, 王楷², 叶江南¹, 孙路强¹, 姚俊鹏^{1,3}, 郑倩华¹, 石云舟¹, 万仁洪¹,
鄢香芸¹, 何昭璇¹, 李瑛¹

(¹成都中医药大学针灸推拿学院, 成都611137; ²成都中医药大学附属中西医结合医院治未病中心, 成都610499; ³成都中医药大学针灸防治老年疾病教育部重点实验室, 成都611137)

【摘要】 目的:探讨电针“足三里”联合奥美拉唑治疗吡啶美辛诱导的小鼠胃肠损伤的可能作用机制。方法:C57BL/6J小鼠随机分为空白组、模型组、奥美拉唑组、针药结合组及抑制剂组,每组6只。采用吡啶美辛(30 mg/kg)灌胃诱导胃肠损伤模型。奥美拉唑组、针药结合组及抑制剂组予奥美拉唑(10 mg/kg)灌胃。针药结合组及抑制剂组加用电针双侧“足三里”,20 min/次,共治疗2次。抑制剂组小鼠腹腔注射核因子E2相关因子2(Nrf2)抑制剂ML385(30 mg/kg)。HE染色法观察小鼠胃、肠黏膜组织形态学改变;比色法检测小鼠胃组织谷胱甘肽(GSH)、丙二醛(MDA)含量和超氧化物歧化酶(SOD)活性,结肠组织SOD和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)的活性;流式细胞术检测小鼠结肠组织活性氧(ROS)水平;PCR法和Western blot法分别检测小鼠结肠组织Nrf2/血红素加氧酶-1(HO-1)信号通路相关分子Kelch样环氧丙烷相关蛋白因子1(Keap1)、Nrf2、HO-1、NADPH氧化酶1(NOX1) mRNA及蛋白表达。结果:与空白组比较,模型组小鼠胃肠黏膜损伤严重,胃组织GSH含量和SOD活性降低($P<0.01$),MDA含量升高($P<0.01$),结肠组织ROS水平升高($P<0.01$),SOD和GSH-Px活性降低($P<0.01, P<0.05$),结肠组织Nrf2和HO-1 mRNA及蛋白表达降低($P<0.01$),Keap1和NOX1 mRNA及蛋白表达升高($P<0.01$)。与模型组比较,奥美拉唑组小鼠胃黏膜损伤改善,胃组织GSH含量和SOD活性升高($P<0.01, P<0.05$),MDA含量降低($P<0.05$),结肠黏膜损伤无明显改善,各指标与模型组比较差异无统计学意义;与模型组比较,针药结合组小鼠胃黏膜的损伤减轻,胃组织GSH含量和SOD活性升高($P<0.01$),MDA含量降低($P<0.01$);与模型组及奥美拉唑组比较,针药结合组结肠黏膜损伤改善,结肠组织ROS水平降低($P<0.01$),SOD和GSH-Px活性升高($P<0.05$),结肠组织Nrf2和HO-1 mRNA及蛋白表达上调($P<0.01$),Keap1和NOX1 mRNA及蛋白表达下调($P<0.01, P<0.05$)。抑制剂组小鼠注射Nrf2抑制剂后,针药结合对胃肠道氧化应激的改善趋势被逆转($P<0.01, P<0.05$)。结论:针药结合可有效改善吡啶美辛诱导的胃肠氧化应激损伤,且与单纯奥美拉唑相比,其对结肠氧化损伤的特异性改善作用可能与激活Nrf2/HO-1信号通路有关。

【关键词】 结肠损伤;针药结合;氧化应激;Nrf2/HO-1通路

Effect of acupuncture combined with medicine on indomethacin-induced colonic injury in mice based on the Nrf2/HO-1 signaling pathway

WANG Wen¹, HOU Yu-jun¹, WANG Kai², YE Jiang-nan¹, SUN Lu-qiang¹, YAO Jun-peng^{1,3}, ZHENG Qian-hua¹, SHI Yun-zhou¹, WAN Ren-hong¹, YAN Xiang-yun¹, HE Zhao-xuan¹, LI Ying¹ (¹College of Acupuncture-Moxibustion and Tuina, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China; ²Preventive Treatment Center, Affiliated Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610499; ³Key Laboratory of Acupuncture and Moxibustion for Senile Diseases, Ministry of Education, Chengdu

【DOI】10.13702/j.1000-0607.20250630

引用格式:王雯,侯雨君,王楷,等.基于Nrf2/HO-1信号通路探讨针药结合对吡啶美辛诱导的小鼠结肠损伤的影响[J].针刺研究,2026,51(6):710-719.

项目来源:国家重点研发计划项目(No.2022YFC3500604);四川省自然科学基金青年基金项目(No.2023NSFSC1820);成都中医药大学“杏林学者”团队专项(No.XKTD2022008)

通信作者:李瑛,E-mail:liyings@cdutcm.edu.cn

University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137)

【ABSTRACT】 Objective To explore the mechanism of electroacupuncture (EA) at “Zusanli” (ST36) in combination with omeprazole in treating gastrointestinal injury induced by indomethacin in mice. **Methods** Thirty C57BL/6J mice were randomly divided into normal control, model, omeprazole, EA combined with omeprazole (combination), and combination + nuclear factor E2-related factor 2 (Nrf2) inhibitor (inhibitor) groups, with 6 mice in each group. The gastrointestinal injury mouse model was established by intragastric administration of indomethacin (30 mg/kg). EA was applied to bilateral ST36 for 20 min, a total of 2 times. The omeprazole (10 mg/kg) was given by gavage. Mice in the inhibitor group were intraperitoneally injected with the Nrf2 inhibitor ML385 (30 mg/kg). HE staining was used to observe the morphological changes of the gastrointestinal mucosa. The contents of glutathione (GSH), malondialdehyde (MDA) and the activity of superoxide dismutase (SOD) in gastric tissue and the activities of SOD and glutathione peroxidase (GSH-Px) in colon tissue were detected by colorimetric method. The level of reactive oxygen species (ROS) in colon tissue was detected by flow cytometry. The mRNA and protein expressions of Nrf2/heme oxygenase-1 (HO-1) signaling pathway-related factors Kelch-like epichlorohydrin-related protein factor 1 (Keap1), Nrf2, HO-1 and NADPH oxidase 1 (NOX1) in colon tissue were detected by qPCR and Western blot, respectively. **Results** After modeling and compared with the normal control group, the mice of model group showed severe gastrointestinal mucosal damage, with decreased GSH content and SOD activity in gastric tissue ($P<0.01$), increased MDA content ($P<0.01$), elevated ROS levels, and increased Keap1 and NOX1 mRNA and protein expressions in colon tissue ($P<0.01$), reduced SOD and GSH-Px activities ($P<0.01$, $P<0.05$), decreased Nrf2 and HO-1 mRNA and protein levels in colon tissue ($P<0.01$). Compared with the model group, the gastric mucosal injury was improved, the content of GSH and the activity of SOD in the gastric tissue were increased ($P<0.01$, $P<0.05$), while the content of MDA was decreased ($P<0.05$, $P<0.01$) in both omeprazole and combination groups. In comparison with the model and the omeprazole groups, the combination group showed improved colonic mucosal injury, decreased ROS level ($P<0.01$), increased SOD and GSH-Px activities ($P<0.05$), up-regulated mRNA and protein expressions of Nrf2 and HO-1 ($P<0.01$), and down-regulated mRNA and protein expressions of Keap1 and NOX1 ($P<0.01$, $P<0.05$) in colon tissue. However, the improvement of gastrointestinal oxidative stress of combination treatment was reversed after the injection of Nrf2 inhibitor in the inhibitor group ($P<0.01$, $P<0.05$). **Conclusion** The integration of acupuncture and medication can effectively ameliorate indomethacin-induced gastrointestinal oxidative stress injury, which may be related to its function in activating the Nrf2/HO-1 signaling pathway.

【KEYWORDS】 Colonic injury; Integration of acupuncture and medication; Oxidative stress; Nrf2/HO-1 pathway

非甾体抗炎药(NSAIDs)是全球应用最广泛的抗炎镇痛药,但长期使用可引发黏膜水肿、炎性反应、溃疡出血甚至穿孔等严重胃肠不良反应^[1]。吲哚美辛作为最常用NSAIDs之一,可通过多种途径诱导活性氧(ROS)异常蓄积,造成胃肠黏膜氧化应激损伤^[2]。研究证实,短期或长期服用吲哚美辛均可诱发结肠炎或憩室炎,增加结肠憩室出血或穿孔风险^[3-4],严重影响患者生活质量并加重医疗负担。奥美拉唑等质子泵抑制剂(PPIs)是治疗NSAIDs所致胃黏膜损伤的一线药物,主要通过抑制胃酸保护黏膜^[5]。但抑酸仅能部分缓解损伤,且长期服用存在不良反应风险^[6]。同时,NSAIDs引起的下消化道损伤风险因缺乏保护措施而呈上升趋势^[7],现有PPIs非但无法有效控制此类损伤,甚至可能加剧NSAIDs相关肠道病变^[8]。因此,亟需寻找一种疗效确切、不良反应小、胃肠同治的疗法。

核因子E2相关因子2(Nrf2)/血红素加氧酶-1

(HO-1)信号通路是调控胃肠黏膜氧化应激稳态的核心通路。生理状态下,Nrf2与Kelch样环氧氯丙烷相关蛋白因子1(Keap1)结合滞留于胞质失活。当吲哚美辛诱导胃肠ROS异常蓄积触发氧化应激时,Nrf2与Keap1解离并入核,激活下游抗氧化因子HO-1转录和表达,促进谷胱甘肽(GSH)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、超氧化物歧化酶(SOD)等抗氧化分子的合成,同时抑制NADPH氧化酶1(NOX1)表达,从而阻断并清除ROS、丙二醛(MDA)等过氧化物,形成抗氧化级联反应^[9-10]。

针灸治疗胃肠道疾病疗效显著^[11-12]。研究^[13-14]已证实,针刺可通过调控Nrf2/HO-1途径清除过量ROS,缓解肠道氧化应激。近年来,针药结合疗法凭借其确切的疗效和协同互补的潜在优势在临床逐渐被重视和推广。本团队前期初步研究结果显示针刺联合奥美拉唑可同步改善吲哚美辛诱导的小鼠胃及结肠的损伤,但具体机制仍待解析。因

此,本研究拟观察电针联合奥美拉唑对吡啶美辛诱导的胃肠黏膜氧化损伤及结肠 Nrf2/HO-1 通路的影响,探讨其可能的机制,以期为针药结合胃肠同治的临床应用提供实验依据。

1 材料与方 法

1.1 实验动物及分组

6~8 周龄健康 SPF 级 C57BL/6J 雄性小鼠 30 只,体质量 20~25 g,购自达硕股份有限公司,生产许可证号:SCXK(川)2020-0030,饲养于成都中医药大学动物实验中心,使用许可证号:SYXK(川)2019-0049。饲养环境:温度(25.0±0.5)℃,相对湿度(55±5)%,每日明暗交替 12 h,摄食饮水自由,适应性喂养 1 周。本研究经成都中医药大学实验动物伦理委员会批准(批准号:2024037)。适应性喂养 1 周后,将小鼠按随机数字表法分为空白组、模型组、奥美拉唑组、针药结合组及抑制剂组,每组 6 只。

1.2 主要试剂和仪器

吡啶美辛、羧甲基纤维素(CMC)、苏木精染液(美国 Sigma),奥美拉唑(成都阿斯利康),ML385(美国 MedChemExpress),二甲基亚砷(DMSO,上海阿拉丁),异氟烷(深圳瑞沃德),ECL 发光液、多聚甲醛(北京兰杰柯),伊红染液(合肥博美),比色法 SOD、MDA、GSH、GSH-Px 检测试剂盒(南京建成生物),ROS 检测试剂盒、荧光探针 DCFH-DA、RIPA 裂解液、BCA 蛋白浓度测定试剂盒(上海碧云天),RNA 提取试剂盒(上海翊圣),RNA 反转录试剂盒、荧光定量 PCR 试剂盒(北京宝日生物),NOX1 抗体、Nrf2 抗体、Keap1 抗体、HO-1 抗体(成都正能),β-actin 抗体(武汉爱博泰克),HRP 标记的山羊抗兔 IgG 二抗(美国 Affinity)。

针灸针(0.18 mm × 13 mm,苏州华佗),韩氏电针仪(南京济生),小动物专用吸入麻醉机(深圳瑞沃德),转轮式切片机(德国徕卡),玻片扫描影像系统(深圳生强),酶标仪(上海美谷),高速低温组织研磨仪(武汉赛维尔),离心机(北京大龙兴创),流式细胞仪(美国 Beckman),实时荧光定量 PCR 仪(美国 ThermoFisher),垂直电泳槽(北京君意东方),垂直电泳转印槽(上海翊圣),超声波细胞粉碎机(宁波新芝),全自动化学发光图像分析系统(上海天能),光学显微镜(德国徕卡)。

1.3 造模及干预

采用吡啶美辛灌胃法^[15]构建小鼠胃肠损伤模型:造模前 24 h,小鼠禁食不禁水。将吡啶美辛溶于

1%(w/v)CMC 中,磁力搅拌溶解后混匀。除空白组外,所有小鼠均以 30 mg/kg 灌胃。空白组仅予等体积 0.9% 氯化钠溶液灌胃处理。评判造模成功的依据为小鼠胃肠黏膜病理形态学的改变^[15-16]。

造模后第 6、20 小时,奥美拉唑组、针药结合组及抑制剂组以 10 mg/kg 奥美拉唑(溶解于 1% CMC)灌胃。给药 30 min 后,抑制剂组腹腔注射 30 mg/kg Nrf2 抑制剂 ML385(溶解于 10% DMSO)^[17]。注射 30 min 后,针药结合组和抑制剂组实施电针干预。将小鼠固定于自制束缚架,参照文献^[18]定位双侧“足三里”,进针深度约为 2 mm,并在穴位点旁 2 mm 处放置辅助针,将同侧穴位针和辅助针连接到韩氏电针仪的正负极,采用疏密波、频率 2 Hz/100 Hz 进行电针刺激,强度 0.1 mA,20 min/次,共治疗 2 次。空白组、模型组及奥美拉唑组接受相同时长束缚处理,但不实施针刺干预。

1.4 观察指标与检测方法

取材方法:末次电针干预 3 h 后,以 1.5%~2% 异氟烷吸入麻醉小鼠,随后行颈椎脱臼处死,迅速取出胃及结肠组织。部分胃和结肠组织固定于 4% 多聚甲醛中,用于病理学观察;剩余胃组织经预冷 PBS 缓冲液均质化并 4℃ 离心 10 min,取上清-80℃ 冻存待测氧化应激指标;结肠组织分为两部分:一部分组织匀浆取上清检测 ROS 水平、GSH-Px 及 SOD 活性,剩余组织分装后分别进行 PCR 和 Western blot 检测。

HE 染色法观察小鼠胃、结肠黏膜组织形态:取经 4% 多聚甲醛固定的胃、结肠组织,依次完成梯度乙醇脱水、二甲苯透明及石蜡包埋,制备 4 μm 厚度切片,常规 HE 染色后,光学显微镜观察组织形态。

比色法检测小鼠胃组织 GSH、MDA 含量和 SOD 活性,结肠组织 SOD 和 GSH-Px 的活性:取每组 4 只小鼠上述-80℃ 冻存的胃、结肠组织上清液,严格按照比色法测定试剂盒说明书操作,用酶标仪分别读取 420、550、532、412 nm 处的吸光度值,并制作标准曲线,计算各指标的含量。

流式细胞术检测结肠组织 ROS 水平:取每组 4 只小鼠 1 cm 结肠组织置于预冷 PBS 缓冲液中匀浆,350×g 离心 5 min 后弃上清,加入 1 mL 荧光探针 DCFH-DA 孵育 20 min,采用流式细胞仪(激发波长 488 nm,发射波长 525 nm)测定平均荧光强度,使用软件 CytExpert 分析 ROS 水平。

实时荧光定量 PCR 法检测结肠组织 Keap1、Nrf2、HO-1、NOX1 mRNA 表达情况:取每组 4 只小鼠

10~20 mg 结肠组织,提取总RNA,并在以下条件下进行反转录:37 °C,15 min;85 °C,5 s,反应混合物包括:5× PrimerScript 缓冲液 4 μL,PrimerScript RT 酶 1 μL,RT 引物混合液 1 μL,RNA 样本 10 μL,无 RNA 酶水 4 μL。使用 TB Green Premix Ex Taq II 在以下条件下进行实时荧光定量 PCR:95 °C,30 s (预变性);95 °C 5 s (变性),55 °C 30 s (退火),72 °C 延伸 30 s,共 40 个循环。使用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算 mRNA 的相对表达量,引物序列见表 1。

表 1 引物序列
Table 1 Primer sequences

基因	序列(5'→3')	产物长度/bp
Keap1	上游 GACTGGGTCAAATACGACTGC	165
	下游 GAATATCTGCACCAGGTAGTCC	
Nrf2	上游 CAGCCATGACTGATTTAAGCAG	107
	下游 CAGCTGCTTGTTCGGTATTA	
HO-1	上游 TCCTTGACCATATCTACACGG	198
	下游 GAGACGCTTTACATAGTGCTGT	
NOX1	上游 GTATGAAGTGGCTGTACTGGTTGG	96
	下游 TTGTCGGCACGCTGGAATTTG	
β-actin	上游 CTACCTCATGAAGATCCTGACC	90
	下游 CACAGCTTCTCTTTGATGTCAC	

注:Keap1 为 Kelch 样环氧氯丙烷相关蛋白因子 1,Nrf2 为核因子 E2 相关因子 2,HO-1 为血红素加氧酶-1,NOX1 为 NADPH 氧化酶 1。

Western blot 法检测结肠组织 Keap1、Nrf2、HO-1、NOX1 蛋白表达情况:取每组 4 只小鼠 20 mg 结肠组织,在 RIPA 缓冲液中裂解,并使用 BCA 测定法测定蛋白质含量。蛋白质变性后通过 SDS-PAGE 分离,转印至 PVDF 膜,并用 5% 脱脂牛奶封闭 1 h。4 °C 条件下,将膜与 Keap1、Nrf2、HO-1、NOX1 (均 1:1 000) 及 β-actin (1:50 000) 一抗孵育过夜。洗膜后用 HRP 标记的二抗 (1:8 000) 孵育 2 h,洗膜后加入 ECL 溶液进行显影,并用 Image J 分析条带灰度值。以目的蛋白条带灰度值与内参条带灰度值的比值为目的蛋白的相对表达量。

1.5 统计学方法

使用 GraphPad Prism 9.5 进行统计分析,数据符合正态分布,采用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示。多组间比较采用单因素方差分析,再选用 Tukey 多重比较检验进行两两比较。以 $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义的标准。

2 结果

2.1 各组小鼠胃黏膜病理形态比较

空白组小鼠胃黏膜结构完整,上皮细胞排列整齐,腺体结构规则有序;模型组小鼠出现严重的黏膜损伤,包括柱状上皮脱落、腺体结构紊乱、显著的黏膜下层水肿及炎性细胞浸润;与模型组相比,奥美拉唑组部分黏膜结构完整,间质水肿及炎性浸润减轻;针药结合组黏膜结构基本完整,仅见微量炎性细胞浸润和极轻度水肿;抑制剂组胃黏膜柱状上皮脱落,固有层内部分管状胃腺变性坏死,见腺体萎缩,细胞脱落、崩解,黏膜下层可见水肿液渗出,伴炎性细胞浸润。见图 1。

2.2 各组小鼠结肠黏膜病理形态比较

空白组小鼠结肠黏膜上皮完整,固有层肠腺丰富且排列规则,无明显炎性细胞浸润;与空白组相比,模型组出现严重的结肠组织损伤,包括局部黏膜变性和坏死,坏死区域可见细胞碎片及炎性细胞的浸润;奥美拉唑组和抑制剂组结肠损伤程度与模型组相当;针药结合组未见明显病理损伤。见图 2。

2.3 各组小鼠胃组织 GSH、MDA 含量和 SOD 活性比较

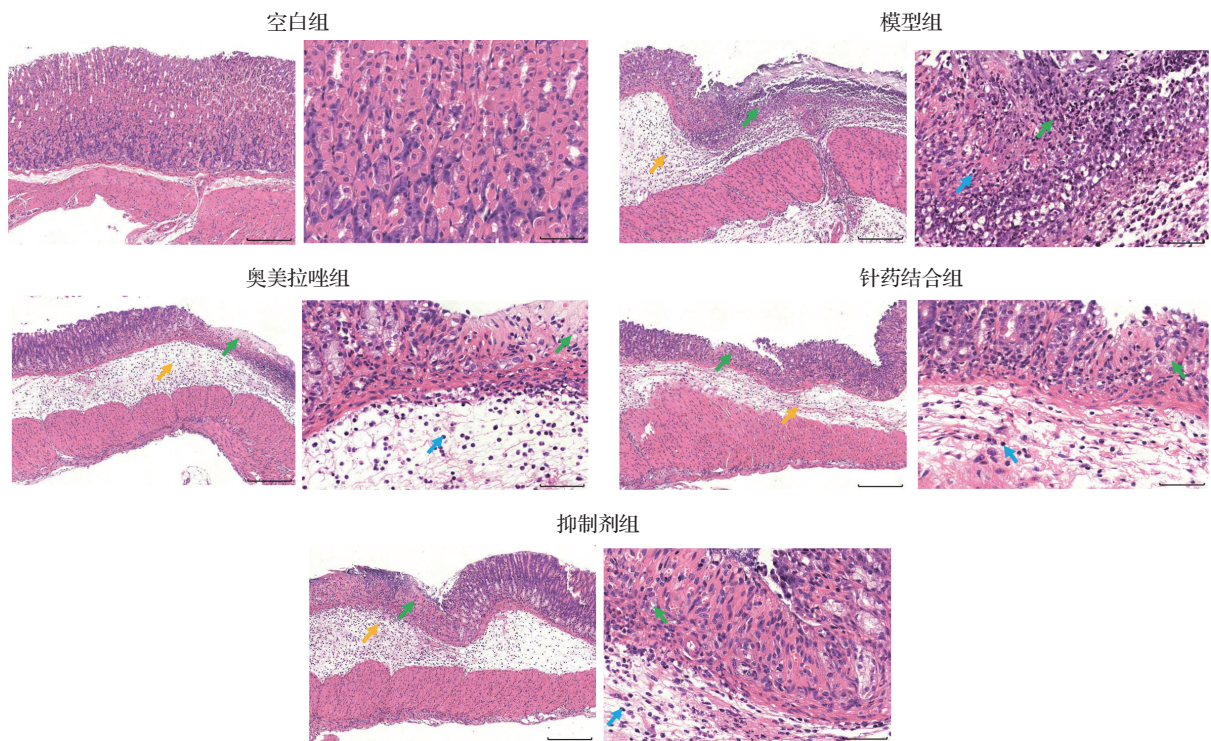
与空白组相比,模型组小鼠胃组织 GSH 含量和 SOD 活性降低 ($P < 0.01$),MDA 含量升高 ($P < 0.01$);与模型组相比,奥美拉唑组、针药结合组 GSH 含量和 SOD 活性升高 ($P < 0.01, P < 0.05$),MDA 含量降低 ($P < 0.05, P < 0.01$);与针药结合组相比,抑制剂组 GSH 含量和 SOD 活性降低 ($P < 0.01$),MDA 含量升高 ($P < 0.01$)。见图 3。

2.4 各组小鼠结肠组织 SOD 和 GSH-Px 活性比较

与空白组相比,模型组小鼠结肠组织 SOD 和 GSH-Px 活性降低 ($P < 0.01, P < 0.05$);与模型组相比,奥美拉唑组 SOD、GSH-Px 活性差异无统计学意义;与模型组及奥美拉唑组相比,针药结合组 SOD 和 GSH-Px 活性升高 ($P < 0.05$);与针药结合组相比,抑制剂组 SOD 和 GSH-Px 活性降低 ($P < 0.05$)。见图 4。

2.5 各组小鼠结肠组织 ROS 水平比较

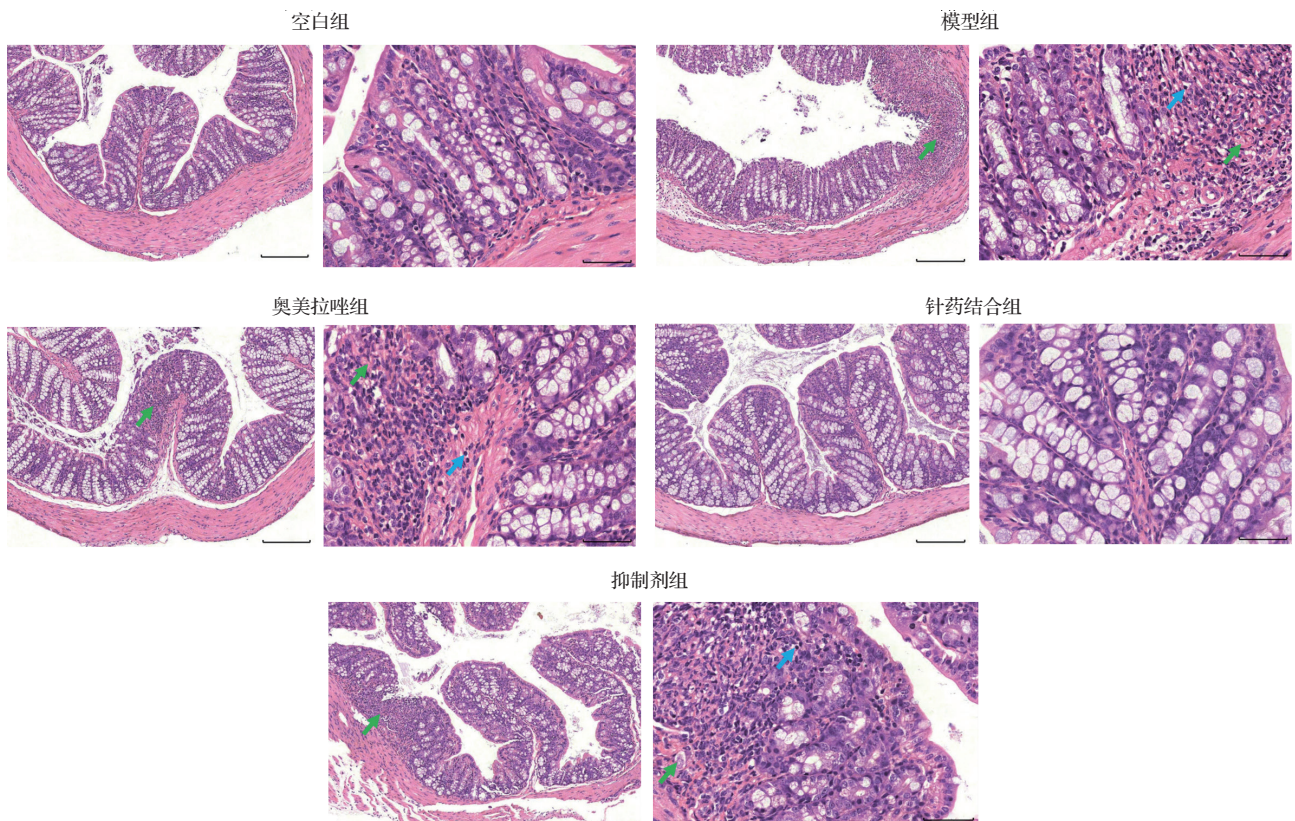
与空白组相比,模型组结肠组织 ROS 水平升高 ($P < 0.01$);与模型组相比,奥美拉唑组结肠组织 ROS 差异无统计学意义;与模型组及奥美拉唑组相比,针药结合组结肠组织 ROS 水平降低 ($P < 0.01$);与针药结合组相比,抑制剂组 ROS 水平升高 ($P < 0.01$)。见图 5。



注:右侧图片为左侧图片局部的放大图,左侧标尺=200 μm ,右侧标尺=50 μm 。绿色箭头示胃腺变性、坏死,黄色箭头示水肿,蓝色箭头示炎性细胞浸润。

图1 各组小鼠胃黏膜组织病理形态比较(HE染色)

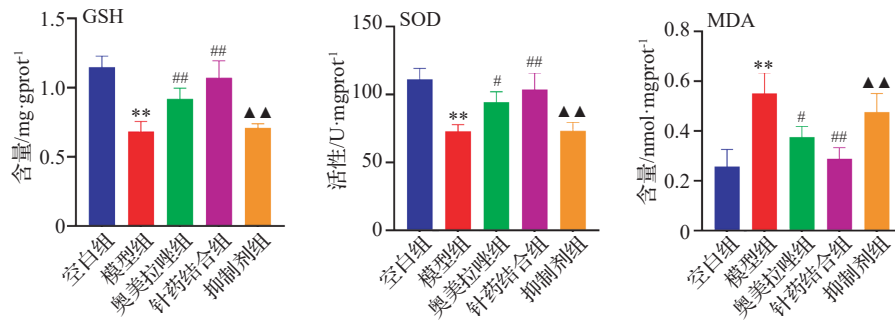
Fig. 1 Comparison of histopathological morphology of gastric mucosal tissue of mice in the 5 groups(HE staining)



注:右侧图片为左侧图片局部的放大图,左侧标尺=200 μm ,右侧标尺=50 μm 。绿色箭头示黏膜变性坏死,蓝色箭头示炎性细胞浸润。

图2 各组小鼠结肠黏膜组织病理形态比较(HE染色)

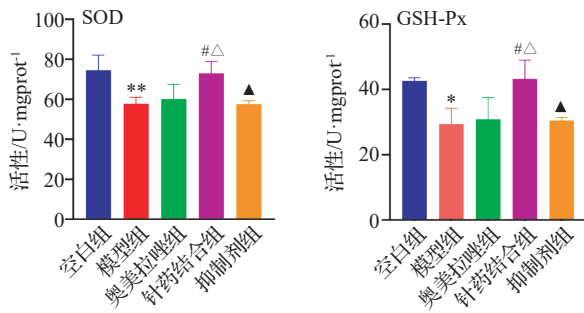
Fig. 2 Comparison of histopathological morphology of colon mucosal tissue of mice in the 5 groups(HE staining)



注:GSH为谷胱甘肽,SOD为超氧化物歧化酶,MDA为丙二醛。与空白组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,# $P<0.05$,## $P<0.01$;与针刺结合组比较,▲▲ $P<0.01$ 。

图3 各组小鼠胃组织GSH、MDA含量和SOD活性比较($\bar{x}\pm s$,4只鼠/组)

Fig. 3 Comparison of GSH, MDA contents and SOD activity in gastric tissue of mice in the 5 groups($\bar{x}\pm s$,4 mice/group)



注:SOD为超氧化物歧化酶,GSH-Px为谷胱甘肽过氧化物酶。与空白组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与模型组比较,# $P<0.05$;与奥美拉唑组比较,△ $P<0.05$;与针刺结合组比较,▲ $P<0.05$ 。

图4 各组小鼠结肠组织SOD和GSH-Px活性比较($\bar{x}\pm s$,4只鼠/组)

Fig. 4 Comparison of SOD and GSH-Px activities in colonic tissue of mice in the 5 groups ($\bar{x}\pm s$,4 mice/group)

2.6 各组小鼠结肠组织Keap1、Nrf2、HO-1 mRNA及蛋白表达比较

与空白组相比,模型组Keap1 mRNA及蛋白表达水平升高($P<0.01$),Nrf2和HO-1 mRNA及蛋白水平降低($P<0.01$);与模型组相比,奥美拉唑组差异无统计学意义;与模型组及奥美拉唑组相比,针刺结合组Keap1 mRNA及蛋白表达下降($P<0.01$),Nrf2和HO-1 mRNA及蛋白表达上升($P<0.01$);与针刺结合组相比,抑制剂组Keap1 mRNA表达水平升高($P<0.05$),Nrf2和HO-1 mRNA及蛋白表达水平降低($P<0.01$)。见图6。

2.7 各组小鼠结肠组织NOX1 mRNA及蛋白表达比较

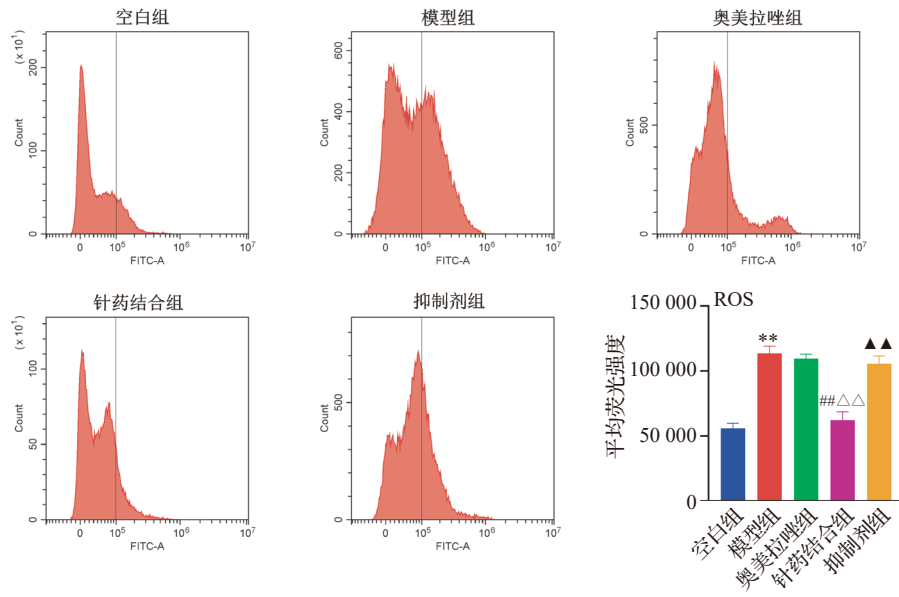
与空白组相比,模型组NOX1 mRNA及蛋白表达水平升高($P<0.01$);与模型组相比,奥美拉唑组mRNA和蛋白表达水平差异无统计学意义;与模型

组及奥美拉唑组相比,针刺结合组NOX1 mRNA及蛋白表达水平降低($P<0.05$, $P<0.01$);与针刺结合组比较,抑制剂组NOX1 mRNA及蛋白表达水平升高($P<0.05$, $P<0.01$)。见图7。

3 讨论

NSAIDs作为临床使用最广泛的镇痛抗炎药物,全球日用量逾3 000万人次^[19],其胃肠道不良反应发生率高达25%^[20]。PPIs虽能有效治疗NSAIDs所致胃黏膜损伤,但长期服用可能诱发高胃酸血症、心律失常及认知功能障碍等不良反应,使临床应用受到限制。此外,随着胃黏膜保护策略优化(如幽门螺杆菌防控加强、NSAIDs剂型改良等),NSAIDs引起的上消化道不良反应发生率显著降低,但下消化道(包括空肠、回肠和结肠)损伤风险却呈上升趋势^[7],现有PPIs治疗非但无法有效控制此类损伤,研究^[8]更表明其可能通过扰乱肠道菌群加剧NSAIDs相关肠道病变。

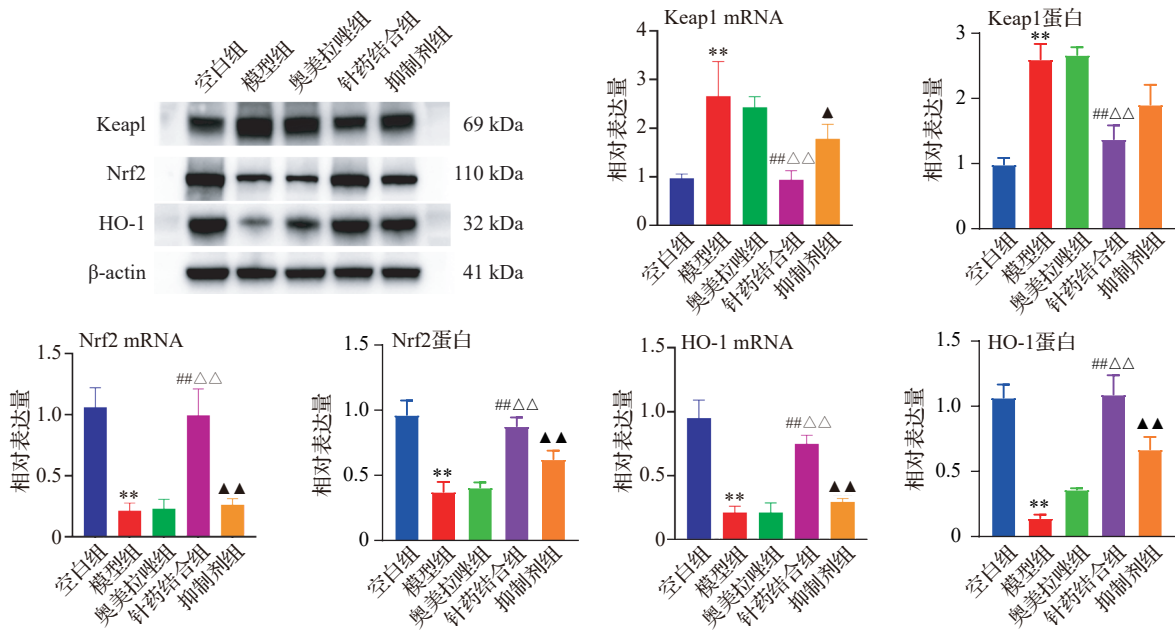
研究^[21]已证实,针刺治疗胃肠损伤有效。足三里属胃经之合穴及胃的下合穴,“合治内府”“腹中不便,取三里”“肚腹三里留”均强调该穴治疗肠腑病症之良效。此外,研究^[22]表明抗炎抗氧化应激是“足三里”发挥作用的最重要机制之一。针刺结合指同时施以针刺和药物2种措施,以达到提高疗效的治疗方法,与《黄帝内经》中“毒药治其内,针石治其外”“杂合以治,各得其所宜”的中医治疗理论一致。研究认为,针灸通过调节机体多系统发挥作用,而药物则基于化学成分作用于特定靶点发挥作用,两者结合,具有相得益彰之功效^[23]。Zhang等^[24]使用达利通颗粒联合电针治疗功能性消化不良,证实了针刺结合效果优于单纯疗法,且具有更好的安全性和长期效果;Wang等^[25]利用电针的肿瘤抑制和



注:ROS为活性氧。与空白组比较,** $P < 0.01$;与模型组比较,## $P < 0.01$;与奥美拉唑组比较,△△ $P < 0.01$;与针药结合组比较,▲▲ $P < 0.01$ 。

图5 各组小鼠结肠组织ROS水平比较($\bar{x} \pm s$,4只鼠/组)

Fig. 5 Comparison of ROS levels in colonic tissue of mice in the 5 groups ($\bar{x} \pm s$, 4 mice/group)



注:Keap1为Kelch样环氧丙烷相关蛋白因子1,Nrf2为核因子E2相关因子2,HO-1为血红素加氧酶1。与空白组比较,** $P < 0.01$;与模型组比较,## $P < 0.01$;与奥美拉唑组比较,△△ $P < 0.01$;与针药结合组比较,▲ $P < 0.05$,▲▲ $P < 0.01$ 。

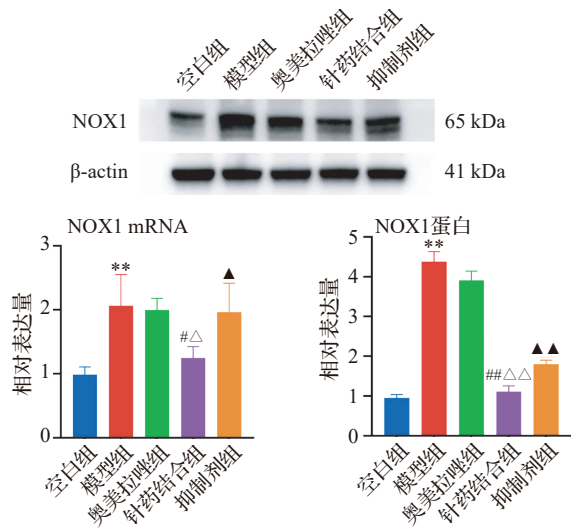
图6 各组小鼠结肠组织Keap1、Nrf2、HO-1 mRNA及蛋白表达比较($\bar{x} \pm s$,4只鼠/组)

Fig. 6 Comparison of Keap1, Nrf2, and HO-1 mRNA and protein expressions in the colon tissues of mice in the 5 groups ($\bar{x} \pm s$, 4 mice/group)

免疫调节特性,联合抗程序性死亡受体1治疗结肠癌,为针药结合提高药物临床疗效提供了机制理论依据;Lee等^[26]的研究表明,与单一治疗相比,中药和针灸的结合治疗可以更好地调节结肠的免疫功能和抑制炎症反应发生。因此,本研究选择“足三

里”作为针刺治疗穴位,联合奥美拉唑药物治疗,探究针药结合治疗NSAIDs诱导的胃肠黏膜损伤的效应及机制。

氧化应激是NSAIDs诱发胃肠损伤的关键因素。NSAIDs可通过解偶联线粒体氧化磷酸化、抑



注: NOX1为NADPH氧化酶1。与空白组比较, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$; 与奥美拉唑组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$; 与针刺药结合组比较, $\blacktriangle P < 0.05$, $\blacktriangle\blacktriangle P < 0.01$ 。

图7 各组小鼠结肠组织NOX1 mRNA及蛋白表达比较 ($\bar{x} \pm s$, 4只鼠/组)

Fig. 7 Comparison of NOX1 mRNA and protein expression in the colonic tissues of mice in the 5 groups ($\bar{x} \pm s$, 4 mice/group)

制ATP产生、GSH及NOX1介导的NAD(P)H耗竭、超氧阴离子增加等途径,引发线粒体ROS积累,加剧氧化应激,最终导致细胞凋亡^[2]及黏膜损伤。此外,中性粒细胞在损伤部位聚集,也会产生过量ROS并增加局部氧化负荷^[27]。内源性抗氧化系统(包括GSH、GSH-Px、SOD等抗氧化因子)可清除过量ROS,维持氧化还原稳态^[28]。以往研究证实,电针可增加胃肠损伤模型中SOD和GSH-Px水平,并降低MDA含量^[29]。本研究与上述研究结果一致,在胃组织中,吡哆美辛可显著降低SOD和GSH水平,增加MDA含量,奥美拉唑恢复了上述氧化标志物水平,而针刺药结合进一步缓解了氧化应激;在结肠组织中,吡哆美辛灌胃后ROS水平显著上升,SOD及GSH-Px活性显著下降,奥美拉唑无显著治疗作用,而针刺药结合恢复了上述氧化指标的水平。提示针刺药结合可增强奥美拉唑对胃的保护作用,且相较于单纯用药,针刺药结合可特异性缓解结肠的氧化损伤,达到胃肠同治的目的。

为进一步探究针刺药结合在结肠中发挥抗氧化应激的机制,本研究对结肠抗氧化应激关键通路Nrf2/HO-1相关分子mRNA及蛋白进行了检测。Nrf2/HO-1通路是胃肠细胞氧化应激防御的核心调

控轴。Nrf2是抗氧化应激的核心转录因子,可调控多种清除ROS的抗氧化因子(HO-1、GSH、GSH-Px、SOD)的表达;HO-1受Nrf2直接激活,催化血红素分解为胆绿素、一氧化碳和游离铁等,这些产物协同发挥抗氧化作用,直接中和ROS并诱导其他保护性蛋白,从而抵抗氧化损伤、抑制炎症反应并实现细胞保护作用;Keap1是Nrf2的负调控因子,作为E3泛素连接酶接头蛋白,介导Nrf2的泛素化降解,但在过量ROS的攻击下,Keap1的关键半胱氨酸残基发生修饰,导致其构象改变并释放Nrf2,使其能够进入细胞核激活抗氧化基因的表达,以清除过量的ROS并恢复细胞内的氧化还原平衡;NOX1作为膜结合氧化酶,可介导NAD(P)H氧化和超氧阴离子生成,是细胞内ROS的主要来源之一^[9-10]。既往研究已证实,针刺可通过调控Nrf2/HO-1,清除肠道过量的ROS,恢复肠道氧化平衡^[13-14]。在本研究中,针刺药结合显著上调结肠组织Nrf2、HO-1 mRNA及蛋白的表达,并下调Keap1、NOX1的表达,而这种效应在使用Nrf2抑制剂后消失,提示针刺药结合特异性修复结肠氧化损伤可能是通过激活Nrf2/HO-1信号通路实现的。

本研究中,奥美拉唑作为强效质子泵抑制剂,其作用靶点集中于胃壁细胞,对结肠氧化应激无显著改善作用,印证了结肠损伤修复独立于胃酸抑制机制,同时凸显药物作用的解剖学局限;与此同时,针灸可能缩短药物起效延迟效应^[30],并通过体表-内脏反射^[31]实现对结肠氧化损伤的远程靶向调控。针刺药联合由此形成独特优势:一方面,奥美拉唑精准快速抑制胃酸分泌,缓解胃黏膜损伤;另一方面,针灸突破药物分布局限,跨器官增强结肠抗氧化防御能力,实现“胃部局部抑酸和结肠全身调节”的多靶点协同模式。

本研究仍存在一定的局限性。由于未设立单纯针刺组,针刺药结合组在结肠中观察到的Nrf2通路激活及抗氧化效应,未能进一步明确究竟主要是由针刺干预,还是针刺药结合后所产生的协同作用所驱动。尽管归因机制尚需进一步验证,针灸与奥美拉唑在胃肠抗氧化损伤保护中具有显著协同优势已被证实,这为临床优化NSAIDs所致胃肠病防治策略提供了新思路。

利益冲突 所有作者声明不存在利益冲突。

参考文献

[1] CION R I A, JUYAD I G A, YASAY E B. Efficacy of rebamipide in the prevention of nonsteroidal anti-inflammatory

- drug-induced gastrointestinal mucosal breaks: a systematic review and meta-analysis[J]. *Am J Gastroenterol*, 2026, 121(2): 526-533.
- [2] SIVALINGAM N, BASIVIREDDY J, BALASUBRAMANIAN K A, et al. Curcumin attenuates indomethacin-induced oxidative stress and mitochondrial dysfunction[J]. *Arch Toxicol*, 2008, 82(7): 471-481.
- [3] COUTROT S, ROLAND D, BARBIER J, et al. Acute perforation of colonic diverticula associated with short-term indomethacin[J]. *Lancet*, 1978, 2(8098): 1055-1056.
- [4] STRATE L L, LIU Y L, HUANG E S, et al. Use of aspirin or nonsteroidal anti-inflammatory drugs increases risk for diverticulitis and diverticular bleeding [J]. *Gastroenterology*, 2011, 140(5): 1427-1433.
- [5] GAREGNANI L, OLTRA G, BURGOS M A, et al. Proton pump inhibitors for the prevention of non-steroidal anti-inflammatory drug-induced ulcers and dyspepsia[J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2025, 5(5): CD014585.
- [6] MARLICZ W, LONIEWSKI I, GRIMES D S, et al. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs, proton pump inhibitors, and gastrointestinal injury: contrasting interactions in the stomach and small intestine[J]. *Mayo Clin Proc*, 2014, 89(12): 1699-1709.
- [7] 李雨宸, 潘子倩, 肖梦雪, 等. 非甾体类抗炎药致小肠损伤及药物防治的研究进展[J]. *中国药科大学学报*, 2023, 54(2): 150-158.
- LI Y C, PAN Z Q, XIAO M X, et al. Advances in research on small intestinal injuries caused by nonsteroidal anti-inflammatory drugs and its prevention and treatment (in Chinese) [J]. *Journal of China Pharmaceutical University*, 2023, 54(2): 150-158.
- [8] WALLACE J L, SYER S, DENOUE E, et al. Proton pump inhibitors exacerbate NSAID-induced small intestinal injury by inducing dysbiosis [J]. *Gastroenterology*, 2011, 141(4): 1314-1322, 1322.e1-5.
- [9] SUN Y Y, ZHU H J, ZHAO R Y, et al. Remote ischemic conditioning attenuates oxidative stress and inflammation via the Nrf2/HO-1 pathway in MCAO mice [J]. *Redox Biol*, 2023, 66: 102852.
- [10] LIU M Q, LIU S, ZHANG Q, et al. Curculigoside attenuates oxidative stress and osteoclastogenesis via modulating Nrf2/NF- κ B signaling pathway in RAW264.7 cells [J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 275: 114129.
- [11] LIU Z S, YAN S Y, WU J N, et al. Acupuncture for chronic severe functional constipation: a randomized trial [J]. *Ann Intern Med*, 2016, 165(11): 761-769.
- [12] QI L Y, YANG J W, YAN S Y, et al. Acupuncture for the treatment of diarrhea-predominant irritable bowel syndrome: a pilot randomized clinical trial[J]. *JAMA Netw Open*, 2022, 5(12): e2248817.
- [13] YANG Y H, PANG F, ZHOU M, et al. Electroacupuncture reduces inflammatory bowel disease in obese mice by activating the Nrf2/HO-1 signaling pathways and repairing the intestinal barrier [J]. *Diabetes Metab Syndr Obes*, 2024, 17: 435-452.
- [14] 李湘力, 胡涛, 刘小宁, 等. 针刺疗法对腹泻型肠易激综合征大鼠 Nrf2-Keap1-ARE 信号通路的影响 [J]. *针灸临床杂志*, 2018, 34(5): 57-61.
- LI X L, HU T, LIU X N, et al. Effect of acupuncture on Nrf2-Keap1-ARE signaling pathway in rats with diarrhea-predominant IBS (in Chinese) [J]. *Journal of Clinical Acupuncture and Moxibustion*, 2018, 34(5): 57-61.
- [15] HOU Y J, WANG W, YE J N, et al. The crucial role of neutrophil extracellular traps and IL-17 signaling in indomethacin-induced gastric injury in mice [J]. *Sci Rep*, 2025, 15(1): 12109.
- [16] CHEN L S, WANG X, LI J Y, et al. Elucidation of the mechanism of berberine against gastric mucosa injury in a rat model with chronic atrophic gastritis based on a combined strategy of multi-omics and molecular biology [J]. *Front Pharmacol*, 2024, 15: 1499753.
- [17] 赵娜, 沈梦迪, 赵睿, 等. 血根碱通过调控 Nrf2/NF- κ B 通路缓解小鼠溃疡性结肠炎 [J]. *南方医科大学学报*, 2024, 44(8): 1467-1475.
- ZHAO N, SHEN M D, ZHAO R, et al. Sanguinarine alleviates ulcerative colitis in mice by regulating the Nrf2/NF- κ B pathway (in Chinese) [J]. *Journal of Southern Medical University*, 2024, 44(8): 1467-1475.
- [18] 中国针灸学会. 实验动物常用穴位名称与定位 第2部分: 大鼠 [J]. *针刺研究*, 2021, 46(4): 351-352.
- China Association of Acupuncture-Moxibustion. Nomenclature and location of acupoints commonly used in laboratory animals .Part 2: rats (in Chinese) [J]. *Acupuncture Research*, 2021, 46(4): 351-352.
- [19] BJARNASON I, SCARPIGNATO C, HOLMGREN E, et al. Mechanisms of damage to the gastrointestinal tract from nonsteroidal anti-inflammatory drugs [J]. *Gastroenterology*, 2018, 154(3): 500-514.
- [20] 刘睿, 郝云涛, 刘欣然, 等. 核桃低聚肽对吲哚美辛致大鼠胃溃疡的作用研究 [J]. *食品研究与开发*, 2021, 42(12): 72-77.
- LIU R, HAO Y T, LIU X R, et al. Effect of walnut oligopeptides against indomethacin-induced gastric ulcer in rats (in Chinese) [J]. *Food Research and Development*, 2021, 42

- (12): 72-77.
- [21] CHEN Y, ZHAO Y, LUO D N, et al. Electroacupuncture regulates disorders of gut-brain interaction by decreasing corticotropin-releasing factor in a rat model of IBS [J]. *Gastroenterol Res Pract*, 2019, 2019: 1759842.
- [22] LIU S B, WANG Z F, SU Y S, et al. A neuroanatomical basis for electroacupuncture to drive the vagal-adrenal axis[J]. *Nature*, 2021, 598(7882): 641-645.
- [23] 成泽东, 陈以国. 针药结合研究的现状与发展[J]. *中国针灸*, 2006, 26(4): 307.
CHENG Z D, CHEN Y G. Present situation and development of research on combination of acupuncture and medicine (in Chinese) [J]. *Chinese Acupuncture & Moxibustion*, 2006, 26(4): 307.
- [24] ZHANG C X, GUO L K. Dalitong granule combined with electroacupuncture in the treatment of functional dyspepsia: a randomized controlled trial[J]. *Chin J Integr Med*, 2015, 21(10): 743-750.
- [25] WANG Y, LIU F Y, DU X X, et al. Combination of anti-PD-1 and electroacupuncture induces a potent antitumor immune response in microsatellite-stable colorectal cancer[J]. *Cancer Immunol Res*, 2024, 12(1): 26-35.
- [26] LEE Y M, SEO S H, CHO S Y, et al. Herbal medicine and acupuncture combined treatment attenuates colitis in rats [J]. *Am J Chin Med*, 2021, 49(4): 965-982.
- [27] MUSUMBA C, PRITCHARD D M, PIRMOHAMED M. Review article: cellular and molecular mechanisms of NSAID-induced peptic ulcers[J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2009, 30(6): 517-531.
- [28] SINHA K, DAS J, PAL P B, et al. Oxidative stress: the mitochondria-dependent and mitochondria-independent pathways of apoptosis[J]. *Arch Toxicol*, 2013, 87(7): 1157-1180.
- [29] LI L, ZANG H, JIANG Y, et al. Acupuncture at back-Shu and front-Mu acupoints prevents gastric ulcer by regulating the TLR4/MyD88/NF- κ B signaling pathway [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2021, 2021: 8214052.
- [30] 胥琨, 李珊珊, 殷萱, 等. 针灸治疗抑郁症的临床作用特点及相关研究进展分析[J]. *世界科学技术-中医药现代化*, 2022, 24(6): 2179-2185.
XU K, LI S S, YIN X, et al. Analysis of clinical characteristics and related research progress of acupuncture in the treatment of depression (in Chinese) [J]. *World Science and Technology-Modernization of Traditional Chinese Medicine*, 2022, 24(6): 2179-2185.
- [31] NOGUCHI E. Acupuncture regulates gut motility and secretion via nerve reflexes [J]. *Auton Neurosci*, 2010, 156(1/2): 15-18.

收稿日期:2025-06-14 修回日期:2025-09-09

网络首发:2026-03-12 编辑:刘婉宁