

不同剂量槲皮素对脓毒症肠屏障的保护作用和安全性实验研究



冯明旨^{1,2}, 孙艳², 张骏^{1,3}

1. 杭州医学院基础医学院与法医学院 (杭州 310013)
2. 浙江省人民医院/杭州医学院附属人民医院消化内科 (杭州 310014)
3. 浙江省中医院/浙江中医药大学附属第一医院消化内科 (杭州 310003)

【摘要】目的 探讨槲皮素 (QCT) 对脂多糖所致小鼠体内脓毒症模型中肠道损伤的保护作用。方法 采用 C57BL/6 雄鼠, 构建脓毒症模型, 使用浓度为 20、40、80 mg·kg⁻¹ 的 QCT 提前 3 d 行小鼠灌胃, 第 4 天腹腔注射脂多糖 (LPS, 10mg·kg⁻¹), 构建脓毒症模型, 将小鼠分为对照组、Model (LPS) 组、LPS+20 mg·kg⁻¹、LPS+40 mg·kg⁻¹、LPS+80 mg·kg⁻¹ QCT 组以及 20、40、80 mg·kg⁻¹ 单 QCT 药物组共 8 组 (n=6)。苏木精-伊红 (HE) 染色分析单 QCT 药物组小鼠肝、脾、肺、肾组织病理, 验证 QCT 的药物安全性; 其余 5 组分析小肠组织病理, 判断药物效果。观察各组小鼠的体重变化; 酶联免疫吸附测定法检测炎症因子; 荧光染色法检测肠道活性氧 (ROS); 蛋白免疫印迹法 (Western blot) 检测肠上皮紧密连接蛋白的表达; 定时定量聚合酶链反应分析检测 COX-2、iNOS 的 mRNA 水平。结果 与 Model 组相比, LPS+QCT (20、40、80 mg·kg⁻¹) 组小鼠体重下降程度缓解, 小鼠血清中炎症因子水平下降, 小鼠肠道内 ROS 水平以及 COX-2 和 iNOS 的 mRNA 表达下降, 并且 HE 和 Western blot 结果显示, 小鼠肠绒毛恢复, 肠道屏障中紧密连接蛋白的表达升高, 其中 40 mg·kg⁻¹ QCT 的作用效果最为明显。结论 QCT 能够在脓毒症小鼠模型中发挥保护作用, 降低小鼠的炎症水平, 缓解小鼠的肠道损伤, 并且 40 mg·kg⁻¹ QCT 的药物疗效为本研究的最佳给药剂量。

【关键词】槲皮素; 脓毒症; 肠上皮屏障; 抗炎; 感染

【中图分类号】 R965 **【文献标志码】** A

Experimental study on the protective effect and safety of different doses of quercetin on the intestinal barrier in sepsis

FENG Mingzhi^{1,2}, SUN Yan², ZHANG Jun^{1,3}

1. School of Basic Medical Sciences and Forensic Medicine, Hangzhou Medical College, Hangzhou 310013, China

2. Department of Gastroenterology, Zhejiang Provincial People's Hospital, People's Hospital of Hangzhou Medical College, Hangzhou 310014, China

3. Department of Gastroenterology, Zhejiang Provincial Hospital of Chinese Medicine, The First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310003, China

Corresponding author: ZHANG Jun, Email: 19587372@qq.com

DOI: 10.12173/j.issn.1005-0698.202510069

基金项目: 浙江省中医药卫生科技计划 (2023ZL266、2026ZL0183、2026ZL0181)

通信作者: 张骏, 主任医师, 硕士研究生导师, Email: 19587372@qq.com

<https://ywlbxb.whuzhmedj.com/>

【Abstract】Objective To investigate the protective effect of quercetin (QCT) on intestinal injury in a mouse model of sepsis induced by lipopolysaccharide. **Methods** Male C57BL/6 mice were used to construct the sepsis model. Mice were gavaged with QCT at concentrations of 20, 40 and 80 mg·kg⁻¹ three days in advance, and then lipopolysaccharide (LPS, 10 mg·kg⁻¹) was injected intraperitoneally on the 4th day to establish the sepsis model. The mice were divided into eight groups (*n*=6): Control, Model (LPS), LPS+20 mg·kg⁻¹ QCT, LPS+40 mg·kg⁻¹ QCT, LPS+80 mg·kg⁻¹ QCT, and three single QCT groups (20, 40, 80 mg·kg⁻¹). Hematoxylin and eosin (HE) staining was used to analyze the histopathology of the liver, spleen, lung, and kidney tissues from the single QCT group of mice, to evaluate the drug safety of QCT. The remaining five groups analyzed the histological structure of the small intestine and evaluated the efficacy of the drugs. The weight changes of mice in each group were observed; inflammatory factors were detected using Enzyme-Linked Immunosorbent Assay; fluorescence staining method was used to detect reactive oxygen species (ROS) in the intestinal tract; and expression of intestinal epithelial tight junction proteins was determined by Western blot; reverse transcription-polymerase chain reaction analysis was performed to detect the mRNA levels of COX-2 and iNOS. **Results** Compared with the model group, the LPS + QCT (20, 40, and 80 mg·kg⁻¹) groups treatment led to a reduced weight loss in mice, significantly inhibited the levels of inflammatory factors in the serum of mice, decreased the ROS level in the intestinal tract of mice, and reduced the mRNA expression of COX-2 and iNOS. Moreover, the HE and Western blot results indicated that the intestinal villi of mice recovered, and the expression of tight junction proteins in the intestinal barrier increased. Among them, the effect of the group with 40 mg·kg⁻¹ QCT was the most significant. **Conclusion** QCT can exert protective effects in the sepsis mouse model, reducing the inflammatory levels of the mice, alleviating the intestinal damage of the mice, and the therapeutic effect of 40 mg·kg⁻¹ QCT is the optimal dose in this study.

【Keywords】 Quercetin; Sepsis; Intestinal epithelial barrier; Anti-inflammatory; Infection

脓毒症是机体对感染反应失调导致的器官功能障碍综合征，其病程进展迅速，发病率和病死率极高^[1]，任何感染性疾病都有可能诱发脓毒症。据不完全统计，全球每年有超过3 100万例脓毒症患者，其中因脓毒症及其并发症死亡的就500多万例^[2]，占全球死亡人数的20%^[3]。脓毒症胃肠损伤是脓毒症的重要靶器官损伤之一，以肠上皮屏障功能受损为主要表现，被认为是多脏器功能衰竭的先兆^[4]。据统计，全球脓毒症并发多器官功能障碍中胃肠功能损伤的发病率达78.8%，病死率高达61.7%^[5]。我国一项针对110例脓毒症患者的回顾性研究发现，约65.6%的患者存在肠道损伤，在ICU治疗期间的病死率为47.2%^[6]。由此可见，脓毒症肠道损伤具备高发病率和致死率。然而，目前临床上针对脓毒症的治疗措施仅包括控制感染，维持血流动力学稳定等^[7]，效果不甚理想。因此，了解脓毒症的异质性，早期识别、干预以及开发有效的治疗方式至关重要。

槲皮素 (quercetin, QCT) 是一种黄酮类化

合物，广泛存在于自然界中，例如水果（苹果、葡萄）以及蔬菜（西兰花、洋葱）等，是最重要的膳食抗氧化剂之一^[8]，有研究^[9]发现，它具有明显的抗炎、抗氧化、抗菌、抗病毒、抗肿瘤、扩张血管等药理作用，并且价格便宜，副作用少，自然界广泛存在且易获取，因此具有良好的临床应用潜力。迄今为止，较多研究认为QCT能够减轻脓毒症导致的各类脏器损伤，如脓毒症诱发的心肌损伤^[10]、脓毒症性急性肾损伤^[11]、脓毒症性急性肺损伤^[12]。同时有研究^[13]表明QCT可以抑制NLRP3炎症小体的激活以及中性粒细胞活性。但对于QCT治疗脓毒症相关肠道损伤的研究鲜有报道。仅刘晓辉等^[14]研究发现QCT通过抑制Hippo通路活性减少脓毒症小鼠炎症表达，增强肠道屏障功能。同时也有研究表明QCT能够增强肠道屏障功能，减轻氧化应激、乙醛、内毒素、肠道细菌等对肠道的损害^[15]。因此，本研究拟通过构建脓毒症小鼠模型，根据QCT的抗炎及其对肠道保护作用的特性对药物的最佳使用剂量和安全性进行初步探讨。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 药品与试剂

QCT (纯度>98%; Lot: 2541010001) 购买于北京索莱宝科技有限公司; 二甲基亚砜 (dimethyl sulfoxide, DMSO, Lot: 1121E0335) 购买于上海碧云天生物技术股份有限公司。来自大肠杆菌 0111: B4 的脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS, Lot: 0000153963) 购买于西格玛奥德里奇 (上海) 贸易有限公司。Tween80 (Lot: 318139) 和 PEG300 (Lot: 703685) 均购买于美国 MedChemExpress 生物科技公司。Evo M-ML V 反转录试剂预混液 (Lot: A7A1661) 和 SYBR Green Pro Taq HS 预混型 qPCR 试剂盒含 ROX (Lot: A7A2293), 均购买于湖南艾科瑞生物工程有限公司。鼠 IL-1 β (Lot: A201B40321)、IL-6 (Lot: A20650342) 和 TNF- α (Lot: A28250314) 酶联免疫吸附测定 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 试剂盒均购自杭州联科生物技术股份有限公司。Claudin (Lot: 1090259-4) 一抗购买于美国 Abcam 公司; GAPDH (Lot: 00103215)、Occludin (Lot: 00112798)、ZO-1 (Lot: 00106959) 一抗均购买于武汉三鹰生物技术有限公司, 抗兔 (Lot: A223250312) 和抗鼠 (Lot: A223250410) IgG 辣根过氧化物酶 (horseradish peroxidase, HRP) - 缀合的第二抗体购买于上海碧云天生物技术股份有限公司, PVDF 膜 (Lot: 0000345311) 购自德国 Merck Millipore 公司, 引物序列由北京擎科生物科技有限公司合成。

1.1.2 仪器

Gel Doc XR+ 多色荧光化学发光仪和 C1000 聚合酶链式反应分析仪购自伯乐生命医学产品有限公司、ABI 7500 荧光定量 PCR 购自赛默飞世尔科技公司、BIO-TEK Zoe 多功能细胞成像系统购自杭州生科仪器有限公司、BX53 荧光显微镜购自奥林巴斯有限公司、NIKON ECLIPSE E100 正置光学显微镜购自日本尼康、RM2016 石蜡切片机购自上海徕卡仪器有限公司。

1.2 实验动物

7~8 周龄 C57BL/6 雄鼠 (18~22 g) 购买自浙江省医学科学院动物实验中心 (许可证号:

20250304Abzz01000180019)。实验鼠放置有灭菌的木制刨花的塑料笼中, 动物室温度 20~25 °C, 光照周期 12 h, 自由饮水和摄取鼠粮, 饲养 1 周适应环境后进行实验。动物实验符合 ARRIVE 指南, 并严格按照实验动物护理和使用指南中的建议进行。研究计划得到了杭州医学院动物实验伦理委员会的批准 (批号: ZJCLA-IACUC-20011188)。

1.3 动物实验

1.3.1 动物分组

7~8 周龄 C57BL/6 雄鼠 (18~22 g) 随机分为 8 组, 每组 6 只, Control 组、Model (LPS) 组、LPS+20 mg·kg⁻¹、LPS+40 mg·kg⁻¹、LPS+80 mg·kg⁻¹ QCT 组以及 20、40、80 mg·kg⁻¹ 单 QCT 药物组, 自由生长一周。

1.3.2 动物造模

由于 LPS 造成的损伤不可逆, 因此在进行药物研究时通常在诱导败血症之前或者之后立即给药^[16], 因此本研究在腹腔注射 LPS 的前 3 d 分别给予小鼠不同剂量的 QCT 灌胃处理 (QCT 选择用 5% DMSO+20% PEG300+5% Tween80+70% ddH₂O 溶解), 第 4 天除 Control 组、20、40、80 mg·kg⁻¹ 单 QCT 药物组, 每组小鼠腹腔注射 LPS (LPS 用生理盐水配制成 1 mg·mL⁻¹ 的母液, 根据小鼠克重腹腔注射不同剂量, 使 LPS 在小鼠体内的终浓度为 10 mg·kg⁻¹) 以建立脓毒症小鼠模型, 注射 LPS 后禁食 24 h, 排空肠道, 随后获取小鼠血清、肝、脾、肺、肾和小肠组织, 为后续实验做准备。

1.4 检测指标

1.4.1 体重监测

小鼠自由生长 1 周后, 每天在同一时间称量小鼠体重同时进行灌胃以及腹腔注射处理, 保证时间统一, 共监测 5 d, 为后续实验做准备。

1.4.2 组织病理学分析

腹腔注射 LPS (10 mg·kg⁻¹) 24 h 后, 收集小鼠肝、脾、肺、肾和小肠组织; 用生理盐水轻轻涮洗, 固定于 10% 福尔马林中。然后, 用不同浓度的乙醇脱水并包埋在石蜡中, 使用切片机获得 5 μ m 厚度的切片; 切片后, 将染色的玻璃显微镜载玻片放在光学显微镜下观察组织切片中的组织病理学变化。小肠组织学结构变化根据 Chiu's 标准进行评分 (表 1)^[17]。

表1 小肠组织病理 Chiu's 评分标准
Table 1. Chiu's scoring system for small bowel histopathology

评分	病理描述
0	小肠黏膜及绒毛形态大体正常
1	绒毛中间位置出现肠黏膜上皮间隙，并伴有毛细血管充血
2	肠黏膜上皮间隙显著扩张，固有层黏膜上皮抬高
3	肠黏膜上皮间隙明显增宽，绒毛向两侧倒伏，部分绒毛顶端脱落
4	大量绒毛及固有层脱落，毛细血管出现扩张裸露
5	大多数固有层消失，出血或溃疡形成

1.4.3 ROS 检测

腹腔注射 LPS ($10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 24 h 后，收集小鼠肠组织；用生理盐水轻轻涮洗，放入 -80°C 冰箱保存，将组织复温至 -20°C 后，使用切片仪获得 $8 \mu\text{m}$ 厚度的切片；将切片恢复至室温，用 PBS 轻轻涮洗 5 min，之后滴加 $5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ DHE，避光， 37°C 条件下孵育 30 min。之后用 PBS 冲洗 3 次，DAPI 进行复染，然后荧光封片剂封片，在显微镜下观察。

1.4.4 细胞因子分析

根据试剂盒制造商说明书，通过 ELISA 分析测定小鼠血清中 IL-6、IL-1 β 和 TNF- α 因子的含量。用酶标仪读数，根据标准曲线计算各个细胞因子的含量，作图分析。

1.4.5 定时定量聚合酶链反应分析 (qRT-PCR)

使用 Trizol 从小肠组织中提取总 RNA，检测浓度，根据试剂商说明书随后用 cDNA 合成试剂盒对 RNA 进行逆转录，使用 2 \times SYBR Green qPCR 预混液进行 qRT-PCR。使用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 方法计算 mRNA 表达的相对倍数变化，其中与对照样品相比。测定每种基因的量并将其标准化为 GAPDH 的量。使用的引物序列见表 2。

表2 qRT-PCR 所用引物序列
Table 2. Sequence of primers used for qRT-PCR

基因	种属		5' -3' 序列
COX-2	Mouse	F	CCAGCACTCACCATCAG
		R	GATACACCTCCACCAATGAC
iNOS	Mouse	F	ACTACTGCTGCTGTTGACAA
		R	GAAGGTGTGTTGACTTCTCTAAG
GAPDH	Mouse	F	AAATGCTGAAGGTCGGTGTGAAC
		R	CAACAATCTCCACTTTGCCACTG

1.4.6 蛋白免疫印迹

用 4°C 的 RIPA 裂解缓冲液裂解肠组织，提取每个分组中小肠组织的全蛋白，将裂解液移至 EP 管中，在 4°C 下离心 15 min，取上清液，通过 BCA 蛋白测定试剂盒检测蛋白浓度并定量。用 4%~12% 的十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺梯度凝胶电泳分离 $20 \mu\text{g}$ 蛋白质，然后将凝胶转移到 $0.45 \mu\text{m}$ 的聚偏二氟乙烯膜上。用快速封闭液对膜封闭 20 min，将膜与一抗 [claudin (1:10 000)、GAPDH (1:5 000)、occludin (1:1 000)、ZO-1 (1:1 000)] 孵育 4°C 下过夜。然后用 TBST 洗涤膜 4 次 (每次 10 min)，再用辣根过氧化物酶标记的次级山羊抗兔 (1:1 000) 或山羊抗鼠 (1:1 000) 抗体在室温下孵育 1 h 后用 TBS-T 洗涤膜 4 次 (每次 10 min)。用增强型化学发光浸泡聚偏二氟乙烯膜并在显影仪上拍照。

1.5 统计学分析

采用 GraphPad Prism 9.5 软件将实验中所获得的数据 (重复 3 次) 进行分析并绘制图形。定量数据以均数 \pm 标准差 (mean \pm SD) 表示，正态分布的两组数据比较采用 *t* 检验，非正态分布的数据比较采用秩和检验。多组间比较采用单因素方差分析和最小显著性差异法。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 QCT 对小鼠肝、脾、肺、肾组织安全性的检测

为了检查不同剂量的 QCT 是否对小鼠各脏器脏器造成损伤，分别用 20、40、80 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的 QCT 连续 3 d 对小鼠进行灌胃处理，然后收集小鼠的肝、脾、肺和肾组织样本并进行 HE 染色，结果显示，与对照组相比，20、40、80 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 浓度的 QCT 均未对小鼠的各脏器造成损伤 (图 1)。

2.2 QCT 对 LPS 诱导的小鼠体重和血清中炎症因子变化的影响

本研究为了验证 QCT 能否降低 LPS 诱导的脓毒症小鼠血清中炎症因子 IL-6、IL-1 β 和 TNF- α 的表达以及维持小鼠体重，用 ELISA 对各组小鼠

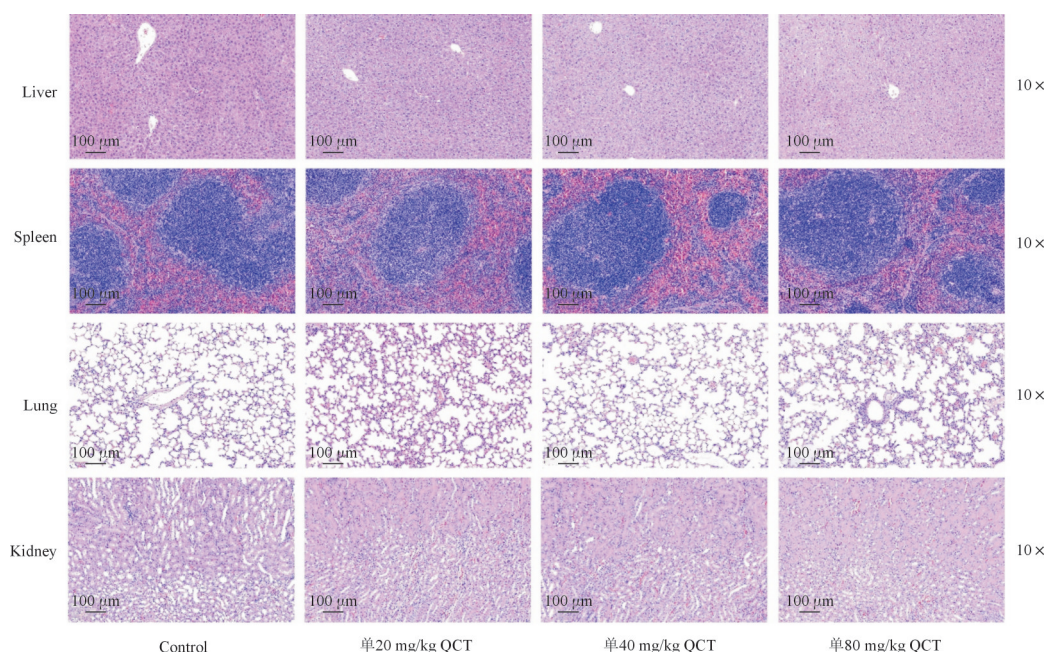


图1 各组小鼠肝组织、脾组织、肺组织、肾组织HE染色

Figure 1. HE staining of liver, spleen, lung, and kidney tissues in each group of mice

注：标尺:100 μm；放大比例:10×。

血清中炎症因子进行了检测。实验结果显示，与 Model 组相比，20、40、80 mg·kg⁻¹ QCT 处理后各组小鼠体重下降的程度有所缓解（图 2-A），血清中炎症因子的表达均有所降低（图 2-B 至图 2-D，*P*<0.000 1），并且 40 mg·kg⁻¹ QCT 组的保护作用效果最为明显（图 2）。

2.3 不同剂量的 QCT 对 LPS 诱导的小鼠小肠组织的影响

为了检查 QCT 对肠道损伤的保护作用，腹腔注射 LPS 24 h 后收集各组小鼠小肠组织并进行 HE 染色，结果显示，在 Model 组中，肠道绒毛界限不清，绒毛结构缺少，并有大量淋巴细胞和巨噬细胞浸润，杯状细胞减少，肠道隐窝距离减小，

Chiu's 评分降低，Control 组未见明显病变，而在经过 QCT 预处理后，肠绒毛都有不同程度的恢复，并且 40 mg·kg⁻¹ QCT 组的恢复效果最佳，Chiu's 评分相较于其他两组评分更低，肠道绒毛状态更好（图 3）。

2.4 QCT 对 LPS 诱导的小鼠模型中肠道氧化应激的影响

结果显示，与 Control 组相比，Model 组小鼠肠道内氧化应激反应增强，红色荧光增强，说明 LPS 诱导后增加了小鼠肠道内氧化应激的强度，而经过 QCT 预处理的小鼠，肠组织内氧化应激反应相对减弱，40 mg·kg⁻¹ QCT 组中氧化应激减弱的效果尤其明显（图 4）。

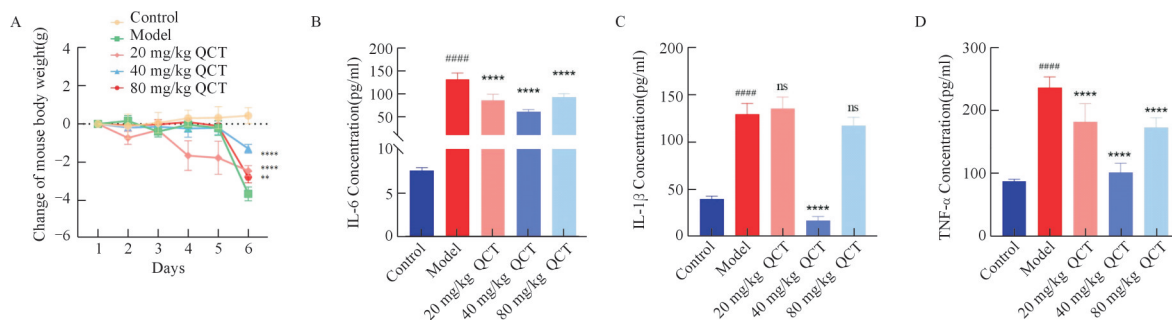


图2 各组小鼠的体重变化以及血清中炎症因子的表达 (n=6)

Figure 2. Changes in body weight and expression of serum inflammatory factors in each group of mice (n=6)

注：A. 体重变化 (n=6)；B. 血清中 IL-6 含量；C. 血清中 IL-1β 含量；D. 血清中 TNF-α 含量。与 Control 组相比，####*P*<0.000 1；与 Model 组相比，*****P*<0.000 1，***P*<0.01，ns 表示无统计学意义。

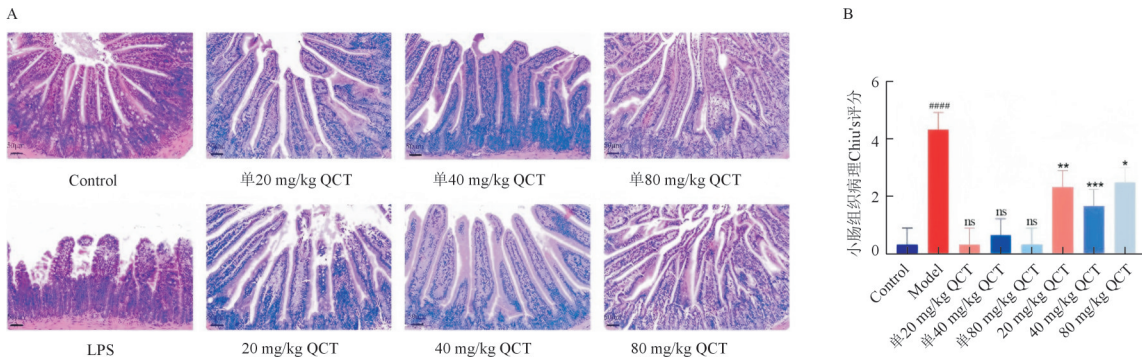


图3 各组小鼠肠组织HE染色 (n=3)

Figure 3. HE staining of intestinal tissues in each group of mice (n=3)

注: A.肠组织HE染色,标尺:50 μm;放大比例:20×;B.小肠组织病理Chiu's评分标准统计图。所有数据以mean±SD表示。与Control相比,####P<0.0001,ns表示无统计学意义;与Model组比较,***P<0.001,**P<0.01,*P<0.05。

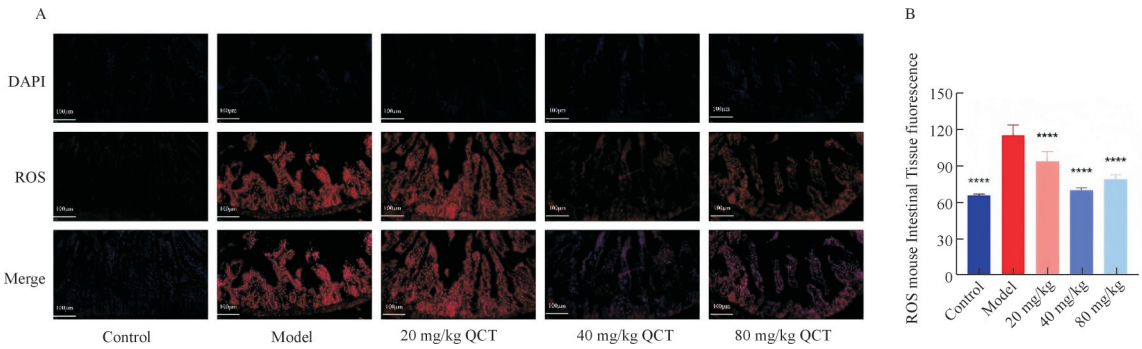


图4 各组小鼠肠组织DHE荧光染色 (n=3)

Figure 4. DHE fluorescence staining of intestinal tissues in each group of mice (n=3)

注: A.各组小鼠肠道ROS免疫荧光 (n=3),标尺:100 μm;放大比例:10×;B.ROS免疫荧光强度统计图,与Model组相比,****P<0.0001。

2.5 QCT对LPS诱导的小鼠模型中肠道屏障TJ蛋白表达的影响

Western blot结果显示,在LPS刺激后,Claudin、Occludin、ZO-1的表达水平显著降低,然而不同浓度的QCT处理后又分别增加了Claudin、Occludin、ZO-1的表达,40 mg·kg⁻¹ QCT的作用效果较20 mg·kg⁻¹ QCT和80 mg·kg⁻¹ QCT更加显著,TJ紧密连接蛋白的恢复更加明显,对肠屏障的恢复起

到了一定的保护作用(图5)。

2.6 QCT对LPS诱导的小鼠模型中iNOS以及COX-2表达的影响

结果显示,经过LPS诱导后,相较于Control组,模型组中iNOS以及COX-2表达水平显著增加,而QCT的处理抑制了小鼠肠道中iNOS和COX-2的产生,其中40 mg·kg⁻¹ QCT较20及80 mg·kg⁻¹ QCT降低iNOS和COX-2作用效果更加明显,缓解了小鼠

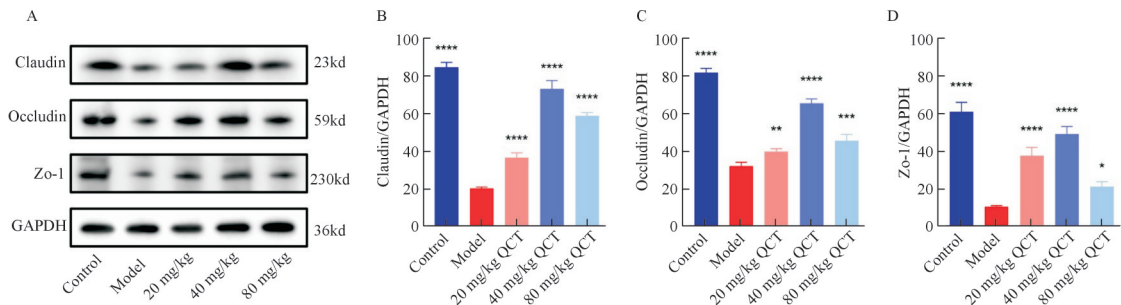


图5 各组小鼠肠组织中紧密连接蛋白的表达以及定量分析 (n=3)

Figure 5. Expression and quantitative analysis of tight junction proteins in intestinal tissues of mice from each group (n=3)

注: A.紧密连接蛋白WB图 (n=3); B.Claudin与GAPDH比值,即Claudin相对表达量; C.Occludin与GAPDH比值,即Occludin相对表达量; D.ZO-1与GAPDH比值,即ZO-1相对表达量。与Model组相比,****P<0.0001,***P<0.001,**P<0.01,*P<0.05。

体内的炎症以及氧化应激水平 (图6)。

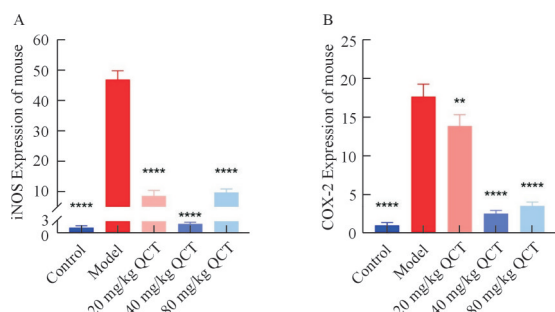


图 6 各组小鼠肠组织中 iNOS 和 COX-2 mRNA 的表达 (n=6)

Figure 6. Expression of iNOS and COX-2 mRNA in intestinal tissues of mice of each group (n=6)

注: A. 小鼠小肠组织中 iNOS mRNA 的表达情况; B. 小鼠小肠组织中 COX-2 mRNA 的表达情况。与 Model 组相比, **** $P < 0.0001$, ** $P < 0.01$ 。

3 讨论

脓毒症是一种危及生命的全身炎症反应, 由多种发病因素引起, 死亡率以及并发症的发生率极高^[18], 近年来, 越来越多的研究致力于探索天然产物及其活性成分来治疗脓毒症, 其中有研究^[19]发现 QCT 及其天然衍生物能够在一定程度上降低炎症同时缓解氧化应激。已有的研究显示: QCT 可以改善因卡拉胶^[20]和高脂饮食^[21]引起的炎症反应, 也可以减少肥胖 Zucker 大鼠内脏脂肪组织中 TNF- α 和 NO 的产生, 下调一氧化氮合酶 (NOS) 的表达^[22]。QCT 还可以抑制败血症诱导的心肌病大鼠体内氧化应激反应^[23]。本研究的结果证明 QCT 能够抑制 LPS 所诱导的小鼠体内 IL-6、TNF- α 和 IL-1 β 炎症因子水平, 并且降低小鼠肠道内的氧化应激。

iNOS 的产生与多种炎症性疾病都有一定的相关性, iNOS 产生的 NO 可以激活多种炎症通路, 促进炎症细胞分泌更多的炎症介质^[24], 高水平的 NO 和 iNOS 能够导致病理生理性炎症, 使炎症进一步加重。而本研究的结果发现, QCT 抑制了 LPS 诱导的模型小鼠肠道内 iNOS mRNA 的表达。

在脓毒症状态下, COX-2 的表达显著上调, COX-2 是炎症反应中的关键酶, 参与炎症介质的合成等过程^[25]。COX-2 的激活增加了 ROS 的产生, 而氧化应激与炎症反应相互促进, 加重了脓毒症导致的多器官损伤, 然而在本研究中可以得出, QCT 在一定程度上抑制了 LPS 诱导的模型小

鼠肠道内 COX-2 mRNA 的表达。

此外, 在验证 QCT 对 LPS 诱导的脓毒症模型小鼠的治疗效果前, 首先对不同剂量的 QCT 进行了安全性试验, 发现 20、40、80 mg·kg⁻¹ 的 QCT 均没有对小鼠的各脏器造成损伤。随后在脓毒症小鼠模型中, 检测了炎症因子 IL-6、TNF- α 和 IL-1 β 的表达, 它们作为脓毒症发生发展过程中关键的炎症介质, 抑制三者的产生对治疗脓毒症极其重要。

肠上皮紧密连接蛋白是肠道的一种物理屏障, 已经发现炎症细胞因子^[26]、活性氧以及病原菌均可损伤肠道紧密连接蛋白功能。本研究结果可以得出 QCT 能够维持肠道紧密连接蛋白屏障功能, 改善肠道损伤, 这一研究结果与已有研究 QCT 能够保护肠道屏障的结论^[27]相似。

本次实验结果显示 40 mg·kg⁻¹ 的 QCT 显著抑制了小鼠肠道的氧化应激反应、降低了炎症因子的表达同时还提高了肠道紧密连接蛋白的表达水平, 保护肠道屏障, 这与 RIVERA 等^[22]关于 QCT 给药剂量的研究结果相同, 但该研究使用大鼠作为研究对象, 与本研究中使用的 C57BL/6 小鼠有所不同, 同时 Gao 等^[27]关于溃疡性结肠炎的研究中选择了 30 mg·kg⁻¹ 的 QCT 作为给药剂量, 但本研究发现 40 mg·kg⁻¹ 的 QCT 对于小鼠的保护作用更好, 这可能是由于 QCT 来源以及制造的疾病模型不同导致的。同时本研究中 80 mg·kg⁻¹ QCT 的疗效差于 40 mg·kg⁻¹ QCT, 这可能是由于小鼠体内血药浓度较高, 使得药物清除率下降, 对机体的脏器造成了一定的负担^[28], 同时 QCT 的浓度升高, 还有可能会促进芬顿反应, 产生大量的羟自由基^[29], 进而激活炎症通路, 反而达不到良好的抑制炎症的效果。因此更加具体的给药浓度可能还需要根据不同种属和疾病模型进一步确定。

本研究仍有一定的局限性。首先, 本研究仅对 QCT 的最佳剂量进行了验证。其次, 本研究仅粗略探索了 QCT 的毒副作用, 而对 QCT 的具体保护机制没有进一步研究。因此, 未来的研究可通过多组学分析或者 AI 辅助筛选 QCT 对脓毒症肠损伤保护的分子机制和潜在的信号通路。

综上所述, 本研究发现 QCT 干预可减轻脓毒症小鼠的炎症反应和氧化应激, 保护肠道屏障功能, 且在本研究中 40 mg·kg⁻¹ 剂量的 QCT 具有最佳的肠道保护效应。由此可见, QCT 对脓毒症所

致的肠道损伤具有一定的治疗潜力，可能为治疗脓毒症提供新的思路。

利益冲突声明：作者声明本研究不存在任何经济或非经济利益冲突。

参考文献

- Angus DC, van der Poll T. Severe sepsis and septic shock[J]. *N Engl J Med*, 2013, 369(9): 840–851. DOI: [10.1056/NEJMra1208623](https://doi.org/10.1056/NEJMra1208623).
- Fleischmann C, Scherag A, Adhikari NK, et al. Assessment of global incidence and mortality of hospital-treated sepsis. current estimates and limitations[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2016, 193(3): 259–272. DOI: [10.1164/rccm.201504-0781OC](https://doi.org/10.1164/rccm.201504-0781OC).
- Rudd KE, Johnson SC, Agesa KM, et al. Global, regional, and national sepsis incidence and mortality, 1990–2017: analysis for the Global Burden of Disease Study[J]. *Lancet*, 2020, 395(10219): 200–211. DOI: [10.1016/s0140-6736\(19\)32989-7](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(19)32989-7).
- Deitch EA, Xu D, Kaise VL. Role of the gut in the development of injury- and shock induced SIRS and MODS: the gut-lymph hypothesis, a review[J]. *Front Biosci*, 2006, 11: 520–528. DOI: [10.2741/1816](https://doi.org/10.2741/1816).
- 王彤. 中医药治疗脓毒症胃肠功能障碍的Meta分析[D]. 南京: 南京中医药大学, 2020. [Wang T. A meta-analysis of traditional Chinese medicine in the treatment of gastrointestinal dysfunction in sepsis[D]. Nanjing: Nanjing University of Chinese Medicine, 2020.]
- 秦龙, 张颖萍, 刘秋旻, 等. 脓毒症并发胃肠道功能不全综合征的临床危险因素分析[J]. 感染、炎症、修复, 2013, 14(3): 150–154. [Qin L, Zhang YP, Liu QM, et al. Analysis on risk factors associated with gastrointestinal dysfunction syndrome in patients with sepsis[J]. *Infection Inflammation Repair*, 2013, 14(3): 150–154.] <https://kns.cnki.net/KCMS/detail/detail.aspx?dbcode=CJFD&filename=GRYX201303008>.
- Evans T. Diagnosis and management of sepsis[J]. *Clin Med (Lond)*, 2018, 18(2): 146–149. DOI: [10.7861/clinmedicine.18-2-146](https://doi.org/10.7861/clinmedicine.18-2-146).
- Li Y, Yao J, Han C, et al. Quercetin, inflammation and immunity[J]. *Nutrients*, 2016, 8(3): 167. DOI: [10.3390/nu8030167](https://doi.org/10.3390/nu8030167).
- Osonga FJ, Akgul A, Miller RM, et al. Antimicrobial activity of a new class of phosphorylated and modified flavonoids[J]. *ACS Omega*, 2019, 4(7): 12865–12871. DOI: [10.1021/acsomega.9b00077](https://doi.org/10.1021/acsomega.9b00077).
- Guan F, Du H, Li J, et al. Quercetin alleviates LPS-stimulated myocardial injury through regulating ALOX5/PI3K/AKT pathway in sepsis[J]. *Cardiovasc Toxicol*, 2024, 24(10): 1116–1124. DOI: [10.1007/s12012-024-09901-1](https://doi.org/10.1007/s12012-024-09901-1).
- Lu S, Zhou S, Chen J, et al. Quercetin nanoparticle ameliorates lipopolysaccharide-triggered renal inflammatory impairment by regulation of Sirt1/NF-KB pathway[J]. *J Biomed Nanotechnol*, 2021, 17(2): 230–241. DOI: [10.1166/jbn.2021.3031](https://doi.org/10.1166/jbn.2021.3031).
- Ding W, Zhang W, Chen J, et al. Protective mechanism of quercetin in alleviating sepsis-related acute respiratory distress syndrome based on network pharmacology and in vitro experiments[J]. *World J Emerg Med*, 2024, 15(2): 111–120. DOI: [10.5847/wjem.j.1920-8642.2024.030](https://doi.org/10.5847/wjem.j.1920-8642.2024.030).
- Wang G, Wang Y, Yao L, et al. Pharmacological activity of quercetin: an updated review[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2022, 2022: 3997190. DOI: [10.1155/2022/3997190](https://doi.org/10.1155/2022/3997190).
- 刘晓辉. 槲皮素在脓毒症小鼠肠粘膜屏障损伤中作用机制的研究[D]. 青岛: 青岛大学, 2024. [Liu XH. Study on the mechanism of quercetin in intestinal mucosal barrier injury in mice with sepsis[D]. Qingdao: Qingdao University, 2024.]
- Suzuki T, Hara H. Role of flavonoids in intestinal tight junction regulation[J]. *J Nutr Biochem*, 2011, 22(5): 401–408. DOI: [10.1016/j.jnutbio.2010.08.001](https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2010.08.001).
- Poli-de-Figueiredo LF, Garrido AG, Nakagawa N, et al. Experimental models of sepsis and their clinical relevance[J]. *Shock*, 2008, 30 Suppl 1: 53–59. DOI: [10.1097/SHK.0b013e318181a343](https://doi.org/10.1097/SHK.0b013e318181a343).
- Chiu CJ, McArdle AH, Brown R, et al. Intestinal mucosal lesion in low-flow states. I. A morphological, hemodynamic, and metabolic reappraisal[J]. *Arch Surg*, 1970, 101(4): 478–483. DOI: [10.1001/archsurg.1970.01340280030009](https://doi.org/10.1001/archsurg.1970.01340280030009).
- Abe T, Yamakawa K, Ogura H, et al. Epidemiology of sepsis and septic shock in intensive care units between sepsis-2 and sepsis-3 populations: sepsis prognostication in intensive care unit and emergency room (SPICE-ICU)[J]. *J Intensive Care*, 2020, 8: 44. DOI: [10.1186/s40560-020-00465-0](https://doi.org/10.1186/s40560-020-00465-0).
- Gansukh E, Nile A, Kim DH, et al. New insights into antiviral and cytotoxic potential of quercetin and its derivatives – A biochemical perspective[J]. *Food Chem*, 2020, 334: 127508. DOI: [10.1016/j.foodchem.2020.127508](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127508).
- Morikawa K, Nonaka M, Narahara M, et al. Inhibitory effect of quercetin on carrageenan-induced inflammation in rats[J]. *Life Sci*, 2003, 74(6): 709–721. DOI: [10.1016/j.lfs.2003.06.036](https://doi.org/10.1016/j.lfs.2003.06.036).
- Stewart LK, Soileau JL, Ribnicky D, et al. Quercetin transiently increases energy expenditure but persistently decreases circulating markers of inflammation in C57BL/6J mice fed a high-fat diet[J]. *Metabolism*, 2008, 57(7 Suppl 1): S39–46. DOI: [10.1016/j.metabol.2008.03.003](https://doi.org/10.1016/j.metabol.2008.03.003).
- Rivera L, Morón R, Sánchez M, et al. Quercetin ameliorates metabolic syndrome and improves the inflammatory status in obese Zucker rats[J]. *Obesity (Silver Spring)*, 2008, 16(9): 2081–2087. DOI: [10.1038/oby.2008.315](https://doi.org/10.1038/oby.2008.315).
- Lin X, Zhao X, Chen Q, et al. Quercetin ameliorates ferroptosis of rat cardiomyocytes via activation of the SIRT1/p53/SLC7A11 signaling pathway to alleviate sepsis-induced cardiomyopathy[J]. *Int J Mol Med*, 2023, 52(6): 116. DOI: [10.3892/ijmm.2023.5319](https://doi.org/10.3892/ijmm.2023.5319).
- Kobayashi Y. The regulatory role of nitric oxide in proinflammatory cytokine expression during the induction and resolution of inflammation[J]. *J Leukoc Biol*, 2010, 88(6): 1157–

1162. DOI: [10.1189/jlb.0310149](https://doi.org/10.1189/jlb.0310149).
- 25 Dadkhah A, Fatemi F, Rasooli A, et al. Assessing the effect of *Mentha longifolia* essential oils on COX-2 expression in animal model of sepsis induced by caecal ligation and puncture[J]. *Pharm Biol*, 2018, 56(1): 495-504. DOI: [10.1080/13880209.2018.1510972](https://doi.org/10.1080/13880209.2018.1510972).
- 26 Bruewer M, Luegering A, Kucharzik T, et al. Proinflammatory cytokines disrupt epithelial barrier function by apoptosis-independent mechanisms [J]. *J Immunol*, 2003, 171(11): 6164-6172. DOI: [10.4049/jimmunol.171.11.6164](https://doi.org/10.4049/jimmunol.171.11.6164).
- 27 Gao F, Zhu F, Shuai B, et al. Quercetin ameliorates ulcerative colitis by restoring the balance of M2/M1 and repairing the intestinal barrier via downregulating cGAS/STING pathway[J]. *Front Pharmacol*, 2024, 15: 1351538. DOI: [10.3389/fphar.2024.1351538](https://doi.org/10.3389/fphar.2024.1351538).
- 28 Schulz M, Schmoldt A, Andresen-Streichert H, et al. Revisited: Therapeutic and toxic blood concentrations of more than 1100 drugs and other xenobiotics[J]. *Crit Care*, 2020, 24(1): 195. DOI: [10.1186/s13054-020-02915-5](https://doi.org/10.1186/s13054-020-02915-5).
- 29 Jomova K, Alomar SY, Alwasel SH, et al. Several lines of antioxidant defense against oxidative stress: antioxidant enzymes, nanomaterials with multiple enzyme-mimicking activities, and low-molecular-weight antioxidants[J]. *Arch Toxicol*, 2024, 98(5): 1323-1367. DOI: [10.1007/s00204-024-03696-4](https://doi.org/10.1007/s00204-024-03696-4).

收稿日期: 2025 年 10 月 23 日 修回日期: 2026 年 01 月 09 日
 本文编辑: 李绪辉 桂裕亮