# 参苓控瘤方对小鼠结直肠腺瘤及TLR4/MyD88/NF-κB通路、巨噬细胞极化的影响Δ

王锦程[1,2*]，吴　培[1]，代　博[1]，王子涵[3]，周素芳[1#]（1.贵州中医药大学第一附属医院消化内科，贵阳　550001；2.上海中医药大学中医学博士后流动站，上海　201203；3.首都医科大学附属北京友谊医院消化内科，北京　100050）

**中图分类号**　R285.5　　**文献标志码**　A　　**文章编号**　1001-0408（2026）20-2667-06
**DOI**　10.6039/j.issn.1001-0408.2026.20.07

**摘　要　目的**　观察参苓控瘤方对结直肠腺瘤（CRA）小鼠的改善作用，以及对Toll样受体4（TLR4）/髓系分化初级反应蛋白88（MyD88）/核因子κB（NF-κB）信号通路和巨噬细胞极化的影响。**方法**　将30只雄性*Apc*$^{Min/+}$小鼠随机分为模型组、阿司匹林组[阳性对照，20.59 mg/（kg·d）]和参苓控瘤方低、中、高剂量组[2.06、4.11、8.22 g/（kg·d）]，每组6只；另取6只野生型雄性C57BL/6J小鼠，作为野生对照组。各组小鼠每天灌胃相应药液或生理盐水2次，连续12周。末次给药后，检测各组小鼠血清中白细胞介素10（IL-10）、肿瘤坏死因子α（TNF-α）水平，统计其全段结直肠中的腺瘤总数及平均最长径，观察其结直肠组织病理学改变，检测其结直肠组织中分化簇86（CD86）、CD206、诱导型一氧化氮合酶（iNOS）、精氨酸酶1（ARG-1）、TLR4、MyD88、NF-κB p65蛋白的表达情况。**结果**　与模型组相比，参苓控瘤方各剂量组小鼠结直肠组织腺瘤样病变、炎症细胞浸润等病理改变均有不同程度改善；其血清中IL-10、TNF-α水平，腺瘤总数及平均最长径（低剂量组除外），CD86阳性表达、CD206阳性表达（低剂量组除外），以及iNOS、TLR4、MyD88、NF-κB p65蛋白的表达均显著降低、减少、缩短或下调，而ARG-1蛋白的表达（低剂量组除外）均显著上调（$P<0.05$）。Jonckheere-Terpstra检验显示，随着参苓控瘤方剂量的增加，小鼠IL-10、TNF-α水平，腺瘤总数及平均最长径，CD86和CD206阳性表达及MyD88蛋白表达均呈递减趋势，而ARG-1蛋白表达则呈递增趋势（$P<0.05$）。**结论**　参苓控瘤方可减轻*Apc*$^{Min/+}$小鼠CRA负荷并改善腺瘤组织病理改变，其干预效应伴随TLR4/MyD88/NF-κB通路相关蛋白、炎症因子及巨噬细胞极化相关标志物的表达变化。

**关键词**　参苓控瘤方；结直肠腺瘤；巨噬细胞极化；TLR4/MyD88/NF-κB通路

## Effects of Shenling kongliu formula on colorectal adenoma in mice and on the TLR4/MyD88/NF-κB pathway and macrophage polarization

WANG Jincheng[1,2], WU Pei[1], DAI Bo[1], WANG Zihan[3], ZHOU Sufang[1]（1. Dept. of Gastroenterology, The First Affiliated Hospital of Guizhou University of TCM, Guiyang 550001, China; 2. Postdoctoral Research Station in Traditional Chinese Medicine, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China; 3. Dept. of Gastroenterology, Beijing Friendship Hospital, Capital Medical University, Beijing 100050, China）

**ABSTRACT　OBJECTIVE** To investigate the improvement effects of the Shenling kongliu formula (SLKLF) on mice with colorectal adenoma (CRA), as well as its impact on the Toll-like receptor 4 (TLR4)/myeloid differentiation primary response protein 88 (MyD88)/nuclear factor-κB (NF-κB) pathway and on the macrophage polarization. **METHODS** Thirty male *Apc*$^{Min/+}$ mice were randomly divided into a model group, an aspirin group [positive control, 20.59 mg/(kg·d)], and low-, medium- and high-dose SLKLF groups [2.06, 4.11 and 8.22 g/(kg·d)], with six mice in each group. Additionally, 6 wild-type male C57BL/6J mice were used as the wild-type control group. Mice in each group were gavaged twice daily with the corresponding drug solution or normal saline for 12 consecutive weeks. After the final administration, the levels of interleukin-10 (IL-10) and tumor necrosis factor-α (TNF-α) in the serum of mice in each group were measured, the total number of adenomas and the average longest diameter in the entire colon and rectum were counted, histopathological changes in colorectal tissues were observed, and the protein expressions of cluster of differentiation 86 (CD86), CD206, inducible nitric oxide synthase (iNOS), arginase-1 (ARG-1), TLR4, MyD88, and NF-κB p65 in the colorectal tissue were detected. **RESULTS** Compared with the model group, mice in all SLKLF dose groups showed varying degrees of improvement in pathological changes such as colorectal adenomatous lesions and inflammatory cell infiltration. Their serum levels of IL-10 and TNF-α, total

Δ **基金项目**　贵州省中医药、民族医药科学技术研究课题（No. QZYY-2026-198）；贵州省卫生健康委科学技术基金项目（No. gzwkj2026-083）；贵州中医药大学第一附属医院中医药肝病脾胃病防治传承创新人才团队项目（No.GZYYFY2025003）

＊**第一作者**　主治医师，博士。研究方向：中医药防治消化系统疾病。E-mail：wangjc970329@126.com

＃**通信作者**　主任医师，博士。研究方向：中医药防治消化系统疾病。E-mail：zhsfang2669@126.com

number of adenomas and their average longest diameter (except in the low-dose group), CD86-positive and CD206-positive (except in the low-dose group) expressions, as well as the protein expressions of iNOS, TLR4, MyD88, NF-κB p65 were all significantly reduced, decreased, shortened, or downregulated, while the protein expression of ARG-1 (except in the low-dose group) was significantly upregulated ($P<0.05$). The Jonckheere-Terpstra tests showed that, as the SLKLF dose increased, the levels of IL-10 and TNF-α, the total number of adenomas, the average longest diameter, CD86-positive and CD206-positive expressions, and the protein expression of MyD88 in mice all showed a decreasing trend, while the protein expression of ARG-1 showed an increasing trend ($P<0.05$). **CONCLUSIONS** SLKLF can reduce the CRA burden in *Apc*$^{Min/+}$ mice and improve histopathological changes in the adenomas. Its therapeutic effects are accompanied by changes in the expression of proteins associated with the TLR4/MyD88/NF-κB pathway, inflammatory factors, and markers related to macrophage polarization.
**KEYWORDS** Shenling kongliu formula; colorectal adenoma; macrophage polarization; TLR4/MyD88/NF-κB pathway

结直肠腺瘤（colorectal adenoma，CRA）是结直肠癌的重要癌前病变，对其进行早期干预具有重要的临床意义[1]。研究指出，慢性炎症及免疫微环境异常与CRA的发生发展密切相关，是研究肠道“炎-癌”转化的重要切入点[2-3]。巨噬细胞是肠道免疫微环境的重要组成部分，其M1、M2样表型及相关功能变化在炎症反应、组织修复和肿瘤免疫调节中具有重要作用[4-5]。Toll样受体4（Toll-like receptor 4，TLR4）/髓系分化初级反应蛋白88（myeloid differentiation primary response protein 88，MyD88）/核因子κB（nuclear factor-κB，NF-κB）信号通路参与炎症信号转导及巨噬细胞极化调控[6-7]。因此，从该通路入手考察药物对CRA的干预作用，有助于进一步认识药物抗CRA的生物学效应。

中医学认为，CRA多属“肠覃”“积聚”“大肠息肉”等范畴，以脾胃虚弱为本，湿热、痰浊、瘀毒蕴结肠腑为标[8-9]。中药及其活性成分对巨噬细胞极化、肠道炎症及免疫微环境的调节作用，为中药干预CRA提供了研究思路[10-11]。参苓控瘤方是本课题组结合多年临床经验创制的验方，具有健脾化湿、解毒散结之功。前期临床及基础研究提示，该方具有改善CRA相关症状及干预腺瘤生长的潜力[12-13]，但其对TLR4/MyD88/NF-κB通路及巨噬细胞极化的影响尚需进一步探讨。基于此，本研究以*Apc*$^{Min/+}$小鼠为对象，观察参苓控瘤方对其CRA负荷及组织病理改变的干预作用，并检测上述通路相关蛋白、巨噬细胞极化相关标志物及血清炎症因子的变化，以期为该方防治CRA提供实验依据。

## 1 材料

### 1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器包括SpectraMAX Plus384型酶标仪[美谷分子仪器（上海）有限公司]、SMZ-161型体视显微镜（麦克奥迪实业集团有限公司）、DM750型光学显微镜[徕卡测量系统（上海）有限公司]、5200 Multi型全自动化学发光图像分析系统（上海天能科技有限公司）、PHY-Ⅲ型病理组织漂烘仪（常州市中威电子仪器有限公司）、SQS-600P型玻片扫描影像系统（深圳市生强科技有限公司）等。

### 1.2 主要药品与试剂

炒白扁豆、党参、麸炒白术、茯苓、炙甘草、山药、薏苡仁、生砂仁、白花蛇舌草、半枝莲、醋莪术、生黄连的配方颗粒（批号分别为2504001C、2501005C、2502003C、2501001C、2412003C、2502004C、2412001C、2505001C、2503001C、2503005C、2504001C、2505003C，规格分别为0.90、3.00、2.50、2.50、2.50、1.25、1.00、0.67、2.83、3.00、0.90、0.67 g/袋，每1 g分别相当于饮片5.5、1.0、1.2、12.5、2.0、4.0、5.0、4.5、5.3、4.0、8.0、4.5 g），均由华润三九医药股份有限公司生产，符合国家药品监督管理局《中药配方颗粒质量控制与标准制定技术要求》。

阿司匹林肠溶片（阳性对照药，批号BJ81224，规格100 mg）由意大利Bayer HealthCare Manufacturing S.r.l.生产；苏木精染液购自西格玛奥德里奇（上海）贸易有限公司；伊红染液购自合肥博美生物科技有限责任公司；小鼠肿瘤坏死因子α（tumor necrosis factor-α，TNF-α）、白细胞介素10（interleukin-10，IL-10）酶联免疫吸附测定（ELISA）试剂盒（批号分别为ZC-39024、ZC-37962）均购自上海茁彩生物科技有限公司；兔抗分化簇86（cluster of differentiation 86，CD86）多克隆抗体（货号bs-1035R）购自北京博奥森生物技术有限公司；兔抗CD206单克隆抗体（货号HA722892）购自杭州华安生物技术有限公司；兔抗精氨酸酶1（arginase-1，ARG-1）、诱导型一氧化氮合酶（inducible nitric oxide synthase，iNOS）单克隆抗体（货号分别为93668T、13120T）均购自美国Cell Signaling Technology公司；兔抗TLR4多克隆抗体（货号WL00196）购自沈阳万类生物科技有限公司；兔抗MyD88单克隆抗体（ab133739）购自英国Abcam公司；兔抗NF-κB p65、β-肌动蛋白（β-actin）单克隆抗体及辣根过氧化物酶（HRP）标记的山羊抗兔免疫球蛋白G（IgG）（H+L）二抗（货号分别为A19653、AC026、AS014）均购自武汉爱博泰克生物科技有限公司；HRP标记的山羊抗兔IgG二抗（货号GB23303）购自武汉赛维尔生物科技有限公司。

### 1.3 实验动物

SPF级雄性*Apc*$^{Min/+}$小鼠30只和同窝野生型雄性C57BL/6J小鼠6只，4周龄，体重（18±2）g，均购自赛业

（苏州）生物科技有限公司，生产许可证号为SCXK（苏）2022-0016。所有动物均分笼饲养于贵州中医药大学动物研究所SPF级动物实验中心[温度为（22±2）℃，相对湿度为（55±5）%，每12 h明暗循环]，予标准饲料喂养，自由饮水，经适应性喂养2周后进行后续实验。本研究方案经贵州中医药大学实验动物伦理审查委员会批准（申请单号：20250721002）。

## 2 方法

### 2.1 药液的配制

（1）参苓控瘤方药液：取炒白扁豆、党参、麸炒白术、茯苓、炙甘草、山药、薏苡仁、生砂仁、白花蛇舌草、半枝莲、醋莪术、生黄连的配方颗粒，按质量比6∶3∶7.5∶6∶3∶13∶13∶1.5∶7.5∶7.5∶4.5∶1.5混合，研细；取粉末4.11 g，加水溶解，制得质量浓度为0.411 g/mL的混悬液，再同法制得质量浓度分别为0.206、0.103 g/mL的混悬液，备用。

（2）阿司匹林药液：取阿司匹林肠溶片，剥去肠衣，研细；取粉末103 mg，加生理盐水溶解，制成质量浓度为1.03 mg/mL的混悬液，备用。

### 2.2 分组与干预

*Apc*$^{Min/+}$小鼠携带腺瘤性息肉病抑癌基因*Apc*的无义突变，能自发产生肠道多发性腺瘤，是目前国际公认的模拟人类散发性CRA发生的理想动物模型，故无须使用任何化学诱导剂造模[14－15]。适应性喂养结束后，本研究采用随机数字序列法将*Apc*$^{Min/+}$小鼠分为模型组（Model组）、阿司匹林组（Aspirin组）和参苓控瘤方低、中、高剂量组（SLKLF-L、-M、-H组），每组6只。另取同窝野生型C57BL/6J小鼠6只，作为野生对照组（WT组）。

各组小鼠均采用灌胃方式干预，每天2次（早晚各1次，至少间隔6 h），单次灌胃体积均为10 mL/kg，连续干预12周。（1）WT组和Model组：这两组小鼠灌胃等体积生理盐水。（2）参苓控瘤方各剂量组：SLKLF-L、-M、-H组小鼠分别单次灌胃0.103、0.206、0.411 g/mL的参苓控瘤方混悬液。参考临床成人（60 kg）日剂量（20 g，以颗粒总量计），按体表面积折算系数（12.33）换算得小鼠等效剂量4.11 g/（kg·d），作为中剂量；再分别以上述剂量的1/2、2倍[2.06、8.22 g/（kg·d）]作为低、高剂量。（3）Aspirin组：该组小鼠单次灌胃1.03 mg/mL的阿司匹林混悬液。基于阿司匹林在CRA化学预防领域的临床研究基础及其临床成人（体重60 kg）剂量（约100 mg/d）[16－17]，按体表面积折算系数（12.33）换算得小鼠等效剂量20.59 mg/（kg·d）。

### 2.3 标本采集

末次给药后，令所有小鼠禁食、不禁水12 h，再经腹腔注射1%戊巴比妥钠（50 mg/kg）将其麻醉，摘眼球取血。血样于室温下静置至自然凝固后，于4 ℃下以3 500 r/min离心15 min，分离上层血清，分装后迅速置于－80 ℃下保存，用于后续ELISA检测。采血后，将各组小鼠处死，迅速分离其全段结直肠，纵向剖开并用预冷的磷酸盐缓冲液（PBS）冲洗，展平后观察其外观并拍照；随后，分别截取各腺瘤模型组（Model组和各药物组，下同）小鼠含典型腺瘤病变组织的结直肠肠段和WT组小鼠相应解剖部位的正常结直肠肠段，置于4%多聚甲醛中固定，用于苏木精-伊红（HE）染色和免疫组化（immunohistochemistry，IHC）检测；另分别截取各腺瘤模型组小鼠含腺瘤病变组织的结直肠肠段和WT组小鼠相应解剖部位的正常结直肠肠段，经液氮速冻后于－80 ℃下保存，用于Western blot检测。

### 2.4 小鼠血清中IL-10、TNF-α水平检测

取“2.3”项下各组小鼠血清适量，于4 ℃下以3 000 r/min离心5 min，取上清液，按相应ELISA试剂盒说明书方法操作，使用酶标仪于450 nm波长下检测吸光度值，并通过标准曲线计算血清中IL-10、TNF-α水平。

### 2.5 小鼠结直肠中腺瘤总数及最长径测量

取“2.3”项下各组小鼠的全段结直肠，使用体视显微镜观察，统计其腺瘤总数；同时，使用卡尺测量每枚腺瘤的最长径，将同一只小鼠所有腺瘤的最长径相加后除以其腺瘤总数，得到该小鼠的腺瘤平均最长径（以每只小鼠为统计单位进行组间比较）。

### 2.6 小鼠结直肠组织病理观察

取“2.3”项下各组小鼠经4%多聚甲醛固定的结直肠组织，经常规脱水、透明、石蜡包埋后切片（厚度4 μm）；取切片适量，经常规二甲苯脱蜡、梯度乙醇水化后，依次进行苏木精、伊红染色；再经常规脱水、封片后，使用光学显微镜观察其结直肠组织的病理形态学变化。

### 2.7 小鼠结直肠组织中CD86、CD206阳性表达检测

取“2.6”项下各组小鼠的结直肠组织石蜡切片（厚度4 μm），经常规脱蜡至水后，采用微波法进行抗原修复，以3%$H_2O_2$阻断内源性过氧化物酶，再以山羊血清于室温下封闭30 min；加入CD86、CD206一抗（稀释比例均为1∶200），于4 ℃下孵育过夜；以PBS洗涤后，加入HRP标记的山羊抗兔IgG二抗（稀释比例为1∶100），于室温下孵育30 min；以3，3′-二氨基联苯胺（DAB）显色、苏木精复染后脱水、封片，并置于显微镜下观察。使用Halo数据系统分析阳性表达区域（呈棕黄色）占总面积的百分比（阳性面积占比），用以表示CD86、CD206的阳性表达情况。

### 2.8 小鼠结直肠组织中巨噬细胞极化及TLR4/MyD88/NF-κB通路相关蛋白表达检测

取“2.3”项下各组小鼠冻存的结直肠组织，加入含蛋白酶抑制剂的RIPA裂解液，于冰上匀浆以提取总蛋白，并采用BCA法进行蛋白定量。蛋白经变性处理后，进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳分离，随后以湿转法转移至聚偏氟乙烯膜上，用5%脱脂牛奶于室温下封闭1.5 h；用TBST洗膜后，分别加入巨噬细胞极化相关标志蛋白（iNOS、ARG-1）、通路相关蛋白（TLR4、MyD88、NF-κB p65）及内参（β-actin）一抗（稀释比例分别

为1∶1 000、1∶1 000、1∶2 000、1∶5 000、1∶2 000、1∶50 000），于4 ℃下孵育过夜；用TBST洗膜后，加入HRP标记的山羊抗兔IgG（H+L）二抗（稀释比例为1∶8 000），于室温下孵育1 h；采用ECL超敏发光液显影、成像。使用Gel-Pro Analyzer 4软件，以目的蛋白与内参蛋白的条带灰度值比值表示目的蛋白的相对表达量，结果以WT组为参照进行归一化处理。

### 2.9 统计学方法

采用SPSS 26.0软件对数据进行统计分析。计量资料以$\bar{x}\pm s$表示，多组间比较采用单因素方差分析，进一步两两比较采用LSD-$t$检验（方差齐时）或Tamhane's $T^2$检验（方差不齐时）。采用Jonckheere-Terpstra非参数趋势检验，分析参苓控瘤方各剂量组的效应指标是否随剂量增加呈单调变化，以判断剂量-效应关系是否具有统计学意义，结果以J-T统计量和双尾$P$值表示。检验水准$\alpha=0.05$。

## 3 结果

### 3.1 各组小鼠血清中IL-10、TNF-α水平

与WT组相比，Model组小鼠血清中IL-10、TNF-α水平均显著升高（$P<0.05$）；与Model组相比，各药物组小鼠血清中IL-10、TNF-α水平均显著降低（$P<0.05$）。Jonckheere-Terpstra检验证实，小鼠血清中IL-10、TNF-α水平随参苓控瘤方剂量的增加而递减（IL-10：标准J-T统计量为−4.366，$P<0.001$；TNF-α：标准J-T统计量为−4.366，$P<0.001$）。结果见表1。

**表1 各组小鼠血清中炎症因子水平和结直肠中腺瘤总数、平均最长径的检测结果（$\bar{x}\pm s$，$n=6$）**

| 组别 | IL-10/（pg/mL） | TNF-α/（pg/mL） | 腺瘤总数/个 | 腺瘤平均最长径/mm |
|---|---|---|---|---|
| WT组 | 32.10±3.01 | 21.70±2.66 | 0 | 0 |
| Model组 | 154.00±11.40[a] | 125.65±11.17[a] | 3.17±0.75[a] | 3.11±0.47[a] |
| Aspirin组 | 54.30±4.64[b] | 44.43±4.34[b] | 1.83±0.75[b] | 1.71±0.19[b] |
| SLKLF-L组 | 103.77±6.19[b] | 84.28±5.40[b] | 2.67±0.52 | 2.90±0.35 |
| SLKLF-M组 | 78.68±5.03[b] | 64.40±4.39[b] | 2.00±0.63[b] | 1.77±0.16[b] |
| SLKLF-H组 | 54.25±3.81[b] | 43.77±3.30[b] | 1.00±0.63[b] | 0.75±0.39[b] |
| $F$ | 291.379 | 232.924 | 21.548 | 93.364 |
| $P$ | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 |

a：与WT组相比，$P<0.05$；b：与Model组相比，$P<0.05$。

### 3.2 各组小鼠结直肠中腺瘤总数及平均最长径

WT组小鼠全段结直肠未见明显腺瘤病灶；与WT组相比，Model组小鼠结直肠中腺瘤总数显著增多，腺瘤平均最长径显著延长（$P<0.05$）；与Model组相比，Aspirin组和SLKLF-M、SLKLF-H组小鼠结直肠中腺瘤总数均显著减少，腺瘤平均最长径均显著缩短（$P<0.05$）。Jonckheere-Terpstra检验证实，小鼠结直肠中腺瘤总数及平均最长径均随参苓控瘤方剂量的增加而递减（腺瘤总数：标准J-T统计量为−3.414，$P<0.001$；平均最长径：标准J-T统计量为−4.366，$P<0.001$）。结果见表1。

### 3.3 各组小鼠结直肠组织的病理形态

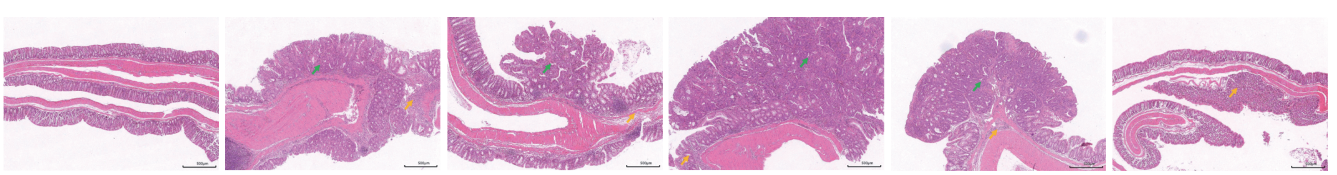
WT组小鼠肠黏膜结构完整，上皮细胞形态正常，腺体排列规则，未见明显上皮细胞非典型性增生及炎症反应。与WT组相比，Model组小鼠结直肠组织呈典型腺瘤样病变，表现为明显的上皮细胞非典型性增生、腺体结构紊乱及核分裂象，并伴有黏膜层变性坏死、炎症细胞浸润及纤维组织增生。与Model组相比，各药物组小鼠上述组织病理改变有不同程度改善：Aspirin组小鼠上皮细胞非典型性增生程度减轻，仍可见核分裂象、黏膜层变性坏死、炎症细胞浸润及纤维组织增生；SLKLF-L组小鼠病理改变较明显，可见上皮细胞非典型性增生，伴有较明显的黏膜层变性坏死及纤维组织增生；SLKLF-M组小鼠病理改变有所改善，但仍可见上皮细胞非典型性增生，黏膜层变性坏死及纤维组织增生程度较轻；SLKLF-H组小鼠结直肠组织形态改善较明显，未见明显的上皮细胞非典型性增生及核分裂象，局部仍可见轻微的黏膜层变性坏死、炎症细胞浸润及纤维组织增生。结果见图1。

### 3.4 各组小鼠结直肠组织中CD86、CD206阳性表达

CD86阳性表达主要定位于细胞膜，CD206阳性表达主要定位于细胞膜及细胞质。与WT组相比，Model组小鼠结直肠组织中CD86、CD206的阳性表达均显著上调（$P<0.05$）。与Model组相比，各药物组小鼠结直肠组织中CD86（Aspirin组除外）、CD206（SLKLF-L组除外）的阳性表达均显著下调（$P<0.05$）。Jonckheere-Terpstra检验证实，小鼠结直肠组织中CD86、CD206阳性表达水平均随参苓控瘤方剂量的增加而递减（CD86：标准J-T统计量为−3.153，$P=0.002$；CD206：标准J-T统计量为−3.638，$P<0.001$）。结果见表2（相关显微图可扫描本文首页二维码查看“增强出版”板块中的附图1）。

### 3.5 各组小鼠结直肠组织中巨噬细胞极化及TLR4/MyD88/NF-κB通路相关蛋白表达

与WT组相比，Model组小鼠结直肠组织中iNOS、TLR4、MyD88、NF-κB p65蛋白的表达均显著上调，ARG-1蛋白的表达显著下调（$P<0.05$）；与Model组相



A. WT组　B. Model组　C. Aspirin组　D. SLKLF-L组　E. SLKLF-M组　F. SLKLF-H组

绿色箭头：上皮细胞非典型性增生；黄色箭头：黏膜层变性坏死。

**图1 各组小鼠结直肠组织病理形态学观察的显微图（HE染色，标尺：500 μm）**

表2　各组小鼠结直肠组织中CD86、CD206阳性表达的检测结果（$\bar{x}\pm s$，$n=6$）

| 组别 | CD86阳性表达 | CD206阳性表达 |
|---|---|---|
| WT组 | 2.92±1.90 | 2.56±0.12 |
| Model组 | 16.18±2.26[a] | 4.99±1.08[a] |
| Aspirin组 | 11.90±3.88 | 1.89±0.78[b] |
| SLKLF-L组 | 6.65±4.00[b] | 3.81±0.63 |
| SLKLF-M组 | 4.64±1.98[b] | 2.34±0.52[b] |
| SLKLF-H组 | 1.26±0.42[b] | 1.82±0.66[b] |
| *F* | 26.780 | 19.488 |
| *P* | <0.001 | <0.001 |

a：与WT组相比，$P<0.05$；b：与Model组相比，$P<0.05$。

比，各药物组小鼠结直肠组织中iNOS、TLR4、MyD88、NF-κB p65蛋白的表达均显著下调，ARG-1蛋白的表达（SLKLF-L组除外）均显著上调（$P<0.05$）。Jonckheere-Terpstra检验证实，随参苓控瘤方剂量的增加，小鼠结直肠组织中ARG-1蛋白的表达逐渐上调（标准J-T统计量为2.183，$P=0.029$），MyD88蛋白的表达逐渐下调（标准J-T统计量为−2.506，$P=0.012$），而iNOS、TLR4、NF-κB p65蛋白表达的剂量趋势均无统计学意义（$P>0.05$）。结果见表3（相关电泳图可扫描本文首页二维码查看“增强出版”板块中的附图2）。

表3　各组小鼠结直肠组织中相关蛋白相对表达量的检测结果（$\bar{x}\pm s$，$n=6$）

| 组别 | iNOS/β-actin | ARG-1/β-actin | TLR4/β-actin | MyD88/β-actin | NF-κB p65/β-actin |
|---|---|---|---|---|---|
| WT组 | 0.99±0.20 | 1.00±0.15 | 1.03±0.35 | 1.00±0.31 | 1.00±0.19 |
| Model组 | 2.89±0.16[a] | 0.31±0.07[a] | 1.78±0.21[a] | 2.16±0.15[a] | 1.43±0.12[a] |
| Aspirin组 | 1.72±0.26[b] | 0.72±0.17[b] | 1.06±0.25[b] | 1.51±0.03[b] | 1.06±0.17[b] |
| SLKLF-L组 | 2.34±0.41[b] | 0.49±0.11 | 1.30±0.12[b] | 1.83±0.13[b] | 1.27±0.11[b] |
| SLKLF-M组 | 2.35±0.22[b] | 0.54±0.16[b] | 1.40±0.11[b] | 1.75±0.15[b] | 1.22±0.13[b] |
| SLKLF-H组 | 2.00±0.30[b] | 0.72±0.18[b] | 1.07±0.30[b] | 1.48±0.28[b] | 1.20±0.15[b] |
| *F* | 34.628 | 16.132 | 8.740 | 23.323 | 6.476 |
| *P* | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 | <0.001 |

a：与WT组相比，$P<0.05$；b：与Model组相比，$P<0.05$。

## 4　讨论

CRA是结直肠癌的癌前病变，其发生与肠黏膜持续存在的“炎-癌”转化微环境有关[2]。中医学认为，CRA以脾胃虚弱为本，湿热、痰浊、瘀毒蕴结肠腑为标[8—9]。参苓控瘤方以健脾化湿、解毒散结为组方原则，党参、白术、茯苓等健脾益气，白花蛇舌草、半枝莲、黄连等清热解毒，配伍莪术行气散结、砂仁醒脾和胃。本研究结果显示，Model组小鼠肠黏膜可见明显的上皮细胞非典型性增生及炎症细胞浸润，其腺瘤总数较WT组显著增多，腺瘤平均最长径较WT组显著延长；经参苓控瘤方干预后，参苓控瘤方各剂量组小鼠上述病理改变均有不同程度改善，SLKLF-M、SLKLF-H组小鼠腺瘤总数均较Model组显著减少，腺瘤平均最长径均较Model组显著缩短，其中腺瘤总数及平均最长径均随该方剂量的增加而递减。这提示，在参苓控瘤方作用下，小鼠结直肠组织病理形态改善与其腺瘤负荷降低相一致，组织学观察及病灶量化结果均提示该方对CRA具有改善作用。

TLR4/MyD88/NF-κB信号通路参与先天免疫识别及炎症反应调节，是联系微生物相关刺激与炎症相关基因表达的重要信号途径：TLR4识别相应刺激后，可经MyD88介导下游信号转导，最终诱导NF-κB参与炎症相关基因的转录调控[18]。既往肠道炎症相关肿瘤动物实验及结直肠癌临床组织研究结果证实，TLR4及MyD88与肠道肿瘤的发生发展关联密切[19—20]。本研究结果显示，Model组结直肠组织中TLR4、MyD88及NF-κB p65蛋白的表达均较WT组显著上调；经参苓控瘤方干预后，小鼠上述蛋白的表达均较Model组显著下调，与小鼠腺瘤负荷减轻相符。这些结果提示，参苓控瘤方对CRA的改善可能涉及TLR4/MyD88/NF-κB信号通路相关蛋白的表达调节。此外，Jonckheere-Terpstra检验证实，MyD88蛋白的表达随剂量增加而递减，但TLR4、NF-κB p65蛋白表达的剂量趋势均无统计学意义，可能与不同蛋白对药物的响应存在差异有关。

炎症因子的变化进一步反映了参苓控瘤方的干预特点。TNF-α参与促炎反应，而IL-10参与免疫调节[21]。本研究发现，与WT组比较，Model组小鼠血清中TNF-α、IL-10水平同步升高，提示腺瘤状态下小鼠体内促炎反应与调节性反应同时存在；经参苓控瘤方干预后，各剂量组小鼠血清中上述指标水平均显著降低，且均随剂量增加而递减。可见，血清炎症相关因子水平的下降与肠黏膜病理改变减轻一致，提示参苓控瘤方有助于改善CRA小鼠的炎症相关状态，为该方在“炎-癌”转化背景下干预作用的阐释提供了依据。

巨噬细胞活化具有可塑性，极化相关标志物（M1型：CD86、iNOS；M2型：CD206、ARG-1）的表达受微环境及细胞状态的综合影响[22—23]。本研究结果显示，与WT组比较，Model组小鼠结直肠组织中CD86、CD206阳性表达及iNOS蛋白表达均显著上调，ARG-1蛋白表达显著下调，各极化相关指标呈差异性变化。经参苓控瘤方干预后，各剂量组小鼠结直肠组织中CD86、CD206（SLKLF-L组除外）阳性表达及iNOS蛋白表达均显著下调，ARG-1蛋白（SLKLF-L组除外）表达均显著上调。其中，CD86、iNOS蛋白表达的下调与血清TNF-α水平的降低一致，从不同检测层面证实了小鼠体内促炎相关反应有所减弱；CD206与ARG-1的变化方向并不完全一致，提示极化相关标志物对药物的反应可能并不同步。Jonckheere-Terpstra检验结果显示，CD86、CD206阳性表达水平随剂量增加而递减，ARG-1蛋白表达水平随剂量增加而递增，但iNOS的剂量趋势并无统计学意义，进一步提示参苓控瘤方对不同极化相关标志物的影响具有差异性。结合通路相关蛋白及炎症因子的变化，本研究结果提示，参苓控瘤方对CRA的改善伴有炎症信号和极化相关标志物的同步变化。

但需要注意的是，本研究选用组方药材/饮片的配方颗粒，其虽属于临床实际应用方式之一，且有利于统一

药品来源、精准称量及连续给药过程中的药液配制，但既往比较研究提示，配方颗粒组方与药材/饮片共煎汤剂在化学成分及药效上可能存在差异[24]。因此，参苓控瘤方两种制备方式（药材/饮片、配方颗粒）的药效一致性仍待进一步评价。

综上所述，参苓控瘤方可减轻*Apc*$^{Min/+}$小鼠CRA负荷并改善腺瘤组织病理形态，其干预效应伴随TLR4/MyD88/NF-κB信号通路相关蛋白、炎症因子及巨噬细胞极化相关标志物的表达变化，为该方干预CRA提供了实验依据，也为该方系列研究补充了相关证据。后续可结合细胞共定位、流式分析及通路干预实验，进一步验证相关细胞表型与信号变化的具体关联。

**利益冲突**　本文所有作者声明不存在利益冲突

## 参考文献

[1] 中华医学会消化内镜学分会结直肠学组. 中国结直肠癌及癌前病变内镜诊治共识：2023，广州[J]. 中华消化内镜杂志，2023，40(7)：505-520.

[2] Borowczak J，Szczerbowski K，Maniewski M，et al. The role of inflammatory cytokines in the pathogenesis of colorectal carcinoma：recent findings and review[J]. Biomedicines，2022，10(7)：1670.

[3] Liu Y J，Yin J，Lu L，et al. The role of deoxycholic acid in macrophage polarization and remodeling of the tumor microenvironment during colorectal adenoma-carcinoma transition[J]. Cancer Metab，2025，13(1)：47.

[4] Wang S Y，Kuai Y H，Lin S M，et al. NF-κB activator 1 downregulation in macrophages activates STAT3 to promote adenoma-adenocarcinoma transition and immunosuppression in colorectal cancer[J]. BMC Med，2023，21(1)：115.

[5] Zhang M R，Li X P，Zhang Q，et al. Roles of macrophages on ulcerative colitis and colitis-associated colorectal cancer[J]. Front Immunol，2023，14：1103617.

[6] Xu Y Y，Cai Q Y，Zhao C Y，et al. Gegen Qinlian decoction attenuates colitis-associated colorectal cancer via suppressing TLR4 signaling pathway based on network pharmacology and *in vivo*/*in vitro* experimental validation[J]. Pharmaceuticals，2025，18(1)：12.

[7] Owen A M，Luan L M，Burelbach K R，et al. MyD88-dependent signaling drives Toll-like receptor-induced trained immunity in macrophages[J]. Front Immunol，2022，13：1044662.

[8] 惠逸帆，赵硕琪，凌亭生，等. 结直肠腺瘤中西医结合防治指南[J]. 中国中药杂志，2023，48(23)：6269-6277.

[9] 汤晓娟，任媛，贺敏，等. 中医药防治结直肠腺瘤-结直肠癌“炎-癌转化”疗效、优势评价及作用机制[J]. 中国中医药信息杂志，2025，32(2)：20-24.

[10] 刘艺，刘源，孙志其，等. 中药及有效成分靶向M1/M2巨噬细胞极化平衡治疗炎症性肠病的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志，2024，30(2)：276-286.

[11] Guo C L，Guo D D，Fang L，et al. *Ganoderma lucidum* polysaccharide modulates gut microbiota and immune cell function to inhibit inflammation and tumorigenesis in colon[J]. Carbohydr Polym，2021，267：118231.

[12] 王锦程，潘睿，白丽露，等. 参苓控瘤方对结直肠腺瘤术后患者疗效及肠道菌群影响分析[J]. 时珍国医国药，2026，37(3)：500-506.

[13] 王锦程，潘睿，白丽露，等. 参苓控瘤方对结直肠腺瘤小鼠炎症因子及肠道菌群的调控作用[J]. 中国微生态学杂志，2025，37(7)：752-760，769.

[14] Su L K，Kinzler K W，Vogelstein B，et al. Multiple intestinal neoplasia caused by a mutation in the murine homolog of the APC gene[J]. Science，1992，256(5057)：668-670.

[15] 王紫云，裴畅，屈银宗. 基于中西医临床病证特点的结直肠腺瘤动物模型分析[J]. 中医临床研究，2025，17(32)：14-22.

[16] Hoang K D，Chen J H，Huang T W，et al. Oral aspirin for preventing colorectal adenoma recurrence：a systematic review and network meta-analysis of randomized controlled trials[J]. PLoS One，2024，19(3)：e0279784.

[17] Ishikawa H，Mutoh M，Suzuki S，et al. The preventive effects of low-dose enteric-coated aspirin tablets on the development of colorectal tumours in Asian patients：a randomised trial[J]. Gut，2014，63(11)：1755-1759.

[18] Luo R Q，Yao Y X，Chen Z，et al. An examination of the LPS-TLR4 immune response through the analysis of molecular structures and protein-protein interactions[J]. Cell Commun Signal，2025，23(1)：142.

[19] Fukata M，Chen A L，Vamadevan A S，et al. Toll-like receptor-4 promotes the development of colitis-associated colorectal tumors[J]. Gastroenterology，2007，133(6)：1869-1881.

[20] Dang T T，Pham V N，Tran N D，et al. TLR4/MyD88 expression patterns and novel genetic variants：association with aggressive clinicopathological features in colorectal cancer[J]. Front Oncol，2025，15：1568729.

[21] Dong Y J，Yang Q L，Niu R Y，et al. Modulation of tumor-associated macrophages in colitis-associated colorectal cancer[J]. J Cell Physiol，2022，237(12)：4443-4459.

[22] Murray P J，Allen J E，Biswas S K，et al. Macrophage activation and polarization：nomenclature and experimental guidelines[J]. Immunity，2014，41(1)：14-20.

[23] Pavlov S，Ali E，Ambrozkiewicz F，et al. Macrophages in colorectal cancer：from normal mucosa to distant metastasis：beyond the M1/M2 paradigm[J]. J Cancer，2026，17(1)：157-176.

[24] Dong F Y，Xie M D，Xu M W，et al. Quality consistency evaluation of chemical composition and pharmacology of Shaoyao-Gancao decoction dispensing granules and traditional decoction[J]. Biomed Chromatogr，2023，37(12)：e5745.

（收稿日期：2026-05-22　修回日期：2026-10-11）

（本文责编：张元媛）