

基于色氨酸代谢的枸杞多糖抗慢性溃疡性结肠炎效应机制研究

宋健涛¹, 蒋 军¹, 张玖捌², 岳 琳¹, 位 芹¹, 宣建芬^{1*}

1. 常州市第一人民医院, 江苏 常州 213000

2. 南京中医药大学, 江苏 南京 210023

摘要: **目的** 探究枸杞多糖 (LBP) 对慢性溃疡性结肠炎 (UC) 小鼠的治疗作用及机制。**方法** 将 60 只 SPF 级 C57 BL/6 小鼠随机分为对照组、模型组、柳氮磺吡啶肠溶片 (阳性药, 200 mg·kg⁻¹) 组和 LBP 低、高剂量 (40、160 mg·kg⁻¹) 组, 通过自由饮用 2% 的葡聚糖硫酸钠 (DSS) 建立慢性 UC 小鼠模型。通过疾病活动指数 (DAI) 评估小鼠慢性 UC 的疾病严重程度, 测量结肠长度并计算结肠黏膜损伤指数 (CMDI) 判断结肠炎症程度。苏木精-伊红 (HE) 染色分析肠道黏膜的损伤状态; ELISA 法检测结肠及血清样本中的肿瘤坏死因子 (TNF)- α 、白细胞介素 (IL)-1 β 、IL-4、IL-10 水平; 采用非靶向代谢组学检测结肠组织内代谢水平的变化, 结合京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 数据库富集分析探究 LBP 治疗 UC 的潜在机制; Western blotting 法测定结肠组织中芳烃受体 (AHR)、Toll 样受体 (TLR4) 和核因子- κ B (NF- κ B) p-p65 的蛋白的表达水平。**结果** 与模型组相比, 经 LBP 干预后的慢性 UC 小鼠的 DAI 和 CMDI 评分显著下降 ($P < 0.05$ 、 0.01), 结肠长度显著增加 ($P < 0.05$); 结肠黏膜损伤状态得到改善; 促炎因子 TNF- α 和 IL-1 β 表达水平明显降低, 同时抗炎因子 IL-4 和 IL-10 表达水平明显升高 ($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001); 代谢组学结果表明, LBP 显著上调 164 个代谢物, 下调 151 个代谢物, 色氨酸代谢等途径显著改变; Western blotting 结果表明, LBP 通过调控色氨酸代谢下游的 AHR/TLR4/NF- κ B 信号通路缓解小鼠 UC。**结论** LBP 通过改变色氨酸代谢, 激活 AHR 受体, 抑制 TLR4/NF- κ B 通路, 调节炎症因子水平, 显著改善 UC。**关键词:** 枸杞多糖; 慢性溃疡性结肠炎; 代谢组学; 色氨酸代谢; 芳烃受体 (AHR)/Toll 样受体 (TLR4)/核因子- κ B (NF- κ B)
中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2025)07-1771-09
DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2025.07.007

Mechanism of anti-chronic ulcerative colitis effect of *Lycium barbarum* polysaccharide based on tryptophan metabolism

SONG Jiantao¹, JIANG Jun¹, ZHANG Jiuba², YUE Lin¹, WEI Qin¹, XUAN Jianfen¹

1. Changzhou First People's Hospital, Changzhou 213000, China

2. Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China

Abstract: Objective To explore the therapeutic effect and mechanism of *Lycium barbarum* polysaccharides (LBP) on chronic ulcerative colitis (UC) in mice. **Methods** Sixty SPF-grade C57 BL/6 mice were randomly divided into the control group, model group, sulfasalazine enteric-coated tablets (positive drug, 200 mg·kg⁻¹) group, and LBP low-dose (40 mg·kg⁻¹) and high-dose (160 mg·kg⁻¹) groups. A chronic UC mouse model was established by free drinking of 2% dextran sulfate sodium (DSS). The disease activity index (DAI) was used to evaluate the severity of chronic UC in mice, and the colon length was measured and the colon mucosal damage index (CMDI) was calculated to determine the degree of colonic inflammation. Hematoxylin-eosin (HE) staining was used to analyze the damage state of intestinal mucosa; ELISA was used to detect the levels of tumor necrosis factor (TNF)- α , interleukin (IL)-1 β , IL-4, and IL-10 in colon and serum samples; non-targeted metabolomics was used to detect changes in the metabolic levels of colon tissue, and the Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) database was used for enrichment analysis to explore the potential mechanism of LBP in treating colitis; Western blotting was used to detect the expression levels of aryl hydrocarbon receptor (AHR), Toll-like receptor (TLR4), and nuclear factor- κ B (NF- κ B) p-p65 proteins in intestinal tissue. **Results** Compared with the model group, the DAI and CMDI scores of chronic UC mice after LBP intervention were significantly decreased ($P < 0.05$, 0.01), and the colon

收稿日期: 2024-12-21

基金项目: 常州市医学创新人才培养项目 (KY201129)

作者简介: 宋健涛, 男, 硕士研究生, 主要从事中药炮制临床功效相关性研究。E-mail: 20200838@njucm.edu.cn

*通信作者: 宣建芬, 女, 副主任中药师, 主要从事中药炮制临床功效相关性研究。E-mail: 13915890955@163.com

length was significantly increased ($P < 0.05$); The damage state of colonic mucosa was improved; The expression levels of pro-inflammatory factors TNF- α and IL-1 β were significantly decreased, while the expression levels of anti-inflammatory factors IL-4 and IL-10 were significantly increased ($P < 0.05, 0.01, 0.001$); The metabolomics results showed that LBP significantly upregulated 164 metabolites and downregulated 151 metabolites, and the tryptophan metabolism pathway was significantly altered; The Western blotting results indicated that LBP alleviated colitis in mice by regulating the AHR/TLR4/NF- κ B signaling pathway downstream of tryptophan metabolism. **Conclusion** LBP significantly ameliorated UC by altering tryptophan metabolism, activating the AHR, inhibiting the TLR4/NF- κ B pathway, and modulating the levels of inflammatory factors, demonstrating its potential in the treatment of UC.

Key words: *Lycium barbarum* polysaccharide; chronic ulcerative colitis; metabolomics; tryptophan metabolism; aryl hydrocarbon receptor (AHR)/Toll-like receptor (TLR4)/nuclear factor- κ B (NF- κ B)

溃疡性结肠炎(UC)的全球发病率和患病率目前已呈逐年上升的趋势。作为一种慢性非特异性炎症肠道疾病,其临床症状通常表现为腹痛、腹泻及便血,部分患者在病情严重时甚至可能发展为癌症^[1]。目前,对于 UC 的发病机制尚无明确结论,研究显示其可能与多种因素相关,包括过度的炎症反应、免疫失调和肠道微生物群的失调等^[2]。而从传统中医的视角来看,UC 被归入“久痢”和“肠癖”之类,认为湿热困结和气血滞碍可导致腹泻与便血^[3-4]。

现代医学的治疗主要集中在缓解炎症和调节免疫系统,例如使用皮质类固醇药物泼尼松和氨基水杨酸类药物。然而,这些治疗方案的效果常常有限,且可能伴随不良反应,长期使用还可能导致药物依赖。相较之下,临床研究表明,中药在治疗 UC 方面展现出积极效果,不仅有助于缓解腹痛和腹泻,还能促进肠道黏膜愈合,有效降低炎症反应,且在减少复发及不良反应方面具备优势^[5]。这使得中药有望成为治疗 UC 的一种新选择。近年来,大量体内外研究发现中药多糖在治疗 UC 中表现出良好疗效,可以有效抑制肠道炎症^[6],并为肠道益生菌生长提供有利条件^[7-8]。如人参多糖^[9]、天麻多糖^[10]可通过调节肠道菌群平衡,产生抗炎作用,减缓结肠炎发展。黄芪多糖可通过抑制肠道中白细胞介素(IL)-6、肿瘤坏死因子(TNF)- α 、IL-1 β 等促炎因子水平,发挥结肠炎治疗作用^[11]。

枸杞 *Lycium barbarum* L. 为茄科多年生木本植物,性平,味甘;归肝、肾、肺经,具有补肾保肝、益精明目等作用。枸杞多糖(*Lycium barbarum* polysaccharide, LBP)是一种水溶性多糖,是枸杞中最主要的活性成分。然而,LBP 发挥临床功效的作用机制至今尚未明晰。本研究以葡聚糖硫酸钠(DSS)诱导的慢性 UC 小鼠模型为研究对象,探究 LBP 对肠道炎症的调控作用,为阐明枸杞临床功效

科学内涵提供参考。

1 材料

1.1 实验动物

SPF 级 C57BL/6 雄性小鼠,体质量为(20 $\pm$ 2)g,由江苏集萃药康生物科技股份有限公司提供,实验动物生产许可证号 SCXK(苏)2023-0009,小鼠饲养环境:温度(25 $\pm$ 2) $^{\circ}$ C、相对湿度(60 $\pm$ 10)%,动物实验经南京中医药大学伦理委员会批准,伦理批准号 202103A008。

1.2 药材与主要试剂

枸杞饮片(批号 210702)购自安徽亳州京皖中药饮片厂,经常州市第一人民医院副主任中药师宣建芬鉴定为茄科植物宁夏枸杞 *Lycium barbarum* L. 的干燥成熟果实;柳氮磺吡啶肠溶片(SASP,批号 09230704)购自上海信谊天平药业有限公司;DSS(批号 YD05012)购自 MP 生物医疗公司;邻联甲苯胺(批号 20231014)购自天津市光复科技发展有限公司;环保型脱蜡液(批号 G1128)、通用型组织固定液(批号 G1101)、磷酸化蛋白酶抑制剂(批号 G2007-1ML)、BCA 蛋白定量检测试剂盒(批号 G2026-200T)、RIPA 裂解液(批号 G2002-100ML)、聚偏二氟乙烯(PVDF)膜(0.45 μ m,批号 G6015-0.45)、 β -actin 抗体(批号 GB15003)、核因子- κ B(NF- κ B) p-p65 抗体(批号 GB113882)、Toll 样受体(TLR4)抗体(批号 GB11004)、HRP-山羊抗兔(批号 GB23303)均购自赛维爾生物科技有限公司;TNF- α 、IL-1 β 、IL-4、IL-10 ELISA 试剂盒(批号 AF2132-A、AF2040-A、AF2165-A、AF2176-A)均购自湖南艾方生物科技有限公司。

1.3 实验仪器

冷冻干燥机 FD-1A-50(上海利闻科学仪器有限公司);正置光学显微镜 Nikon Eclipse E100(日本尼康有限公司);酶标仪 RT-6100(深圳雷杜生命科

学股份有限公司); 台式高速冷冻离心机 TGL16M (上海卢湘仪离心机仪器有限公司); 涡旋混匀仪 SMV-3500、垂直电泳仪 SVE-2、化学发光成像系统 SCG-W2000、转印电泳仪 SVT-2 (赛维尔生物科技有限公司); 超高效液相色谱仪 LC-30A (日本 Shimadzu 公司); 串联飞行时间质谱仪 Triple TOF 5600⁺ (美国 AB SCIEX 公司)。

2 方法

2.1 LBP 提取与纯化

2.1.1 LBP 提取 称取枸杞子, 在 55 °C 烘箱中干燥 12 h 后粉碎, 过 60 目筛。取 50 g 枸杞干粉, 按照 1:20 的比例加入蒸馏水, 在 90 °C 水浴提取 2 h, 离心收集上清液。该提取过程重复 2 次, 之后将收集到的上清液合并, 采用真空浓缩将合并后的液体浓缩至原体积的 25%, 然后加入 4 倍体积的 95% 乙醇, 在 -4 °C 的冰箱中静置 12 h, 最后通过抽滤和离心分离得到枸杞粗多糖。

2.1.2 LBP 纯化 使用 Sevag 法除去蛋白质, Sevag 试剂由二氯甲烷: 正丁醇 (5:1) 组成。将枸杞粗制多糖溶于 600 mL 纯水中, 以多糖溶液: Sevag 试剂 (5:1) 的比例混合, 持续振摇, 使蛋白质变性。将混合液以 5 000 r·min⁻¹ 离心 10 min, 吸取上层多糖水溶液, 舍去析出的蛋白。多糖溶液继续按上述步骤进行脱蛋白处理, 至无蛋白层析出, 收集所得多糖水溶液, 置于培养皿中, 放于 -80 °C 冰箱预冻, 冷冻干燥 48 h, 得精制 LBP。

2.1.3 多糖质量控制分析 采用 BCA 蛋白定量试剂盒测定 LBP 中残留蛋白的含量, 测定 562 nm 处的吸光度 (*A*) 值, 结果显示所得多糖中蛋白残留量为 8.55%; 采用苯酚-硫酸法对 LBP 含量进行测定, 以葡萄糖为对照品, 在 490 nm 处测定 *A* 值, 总多糖质量分数为 89.72%。

2.2 造模、给药及取材

将小鼠随机分为 5 组, 每组 12 只, 分别为对照组、模型组、SASP (阳性药, 200 mg·kg⁻¹) 组和 LBP 低、高剂量 (40、160 mg·kg⁻¹) 组。在实验开始之前, 所有小鼠经过 1 周的适应性喂养, 随后进行造模。对照组的小鼠一直自由饮用纯水, 而其他各组小鼠在前 5 d 内则自由饮用 2% 的 DSS, 第 6~10 天则切换为纯水。整个造模过程 10 d 为 1 个周期, 共进行 4 个循环。

在造模的第 26 天, 开始对各组小鼠 ig 给药, 持续给药 2 周, 对照组和模型组小鼠则 ig 等量 0.9%

氯化钠溶液。

2.3 疾病活动指数 (DAI) 评分

DAI 是 UC 动物实验相关研究中常用的评价指标, 可用于判断 UC 的严重程度, 根据体质量下降率、粪便性状、粪便隐血 3 个方面进行综合评分, 并与 UC 的临床症状相对应。分数越高, 表明结肠炎症的程度越重。DAI 通过可实时观察的指标进行评价, 便于在实验过程中及时追踪小鼠给药前后的疾病程度变化。具体评价细则如下:

(1) 体质量下降率: 每 2 天称量 1 次体质量, 将体质量变化与前 1 次测量的体质量比较, 计算体质量下降率。体质量下降率 < 1%, 小鼠的体质量变化微小, 表明其健康状况良好, 记为 0 分; 1% ≤ 下降率 < 5%, 轻微体质量下降, 可能表明小鼠经历了一定程度的生理应激, 记为 1 分; 5% ≤ 下降率 < 10%, 中等程度的体质量下降, 可能与药物干预或模型状态有关, 记为 2 分; 10% ≤ 下降率 ≤ 20%, 显著的体质量下降, 提示小鼠的健康状况可能受到严重影响, 需要进一步观察, 记为 3 分; 下降率 > 20%: 极度体质量下降, 可能表示小鼠处于极大的生理压力下, 可能需要立即干预和处理, 记为 4 分。

(2) 粪便隐血: 采用邻联甲苯胺法检测粪便隐血: 称取 1 g 邻联甲苯胺粉末, 溶解于 100 mL 的冰醋酸与无水乙醇以 1:1 比例混合的溶液中。之后向该混合液中加入适量的纯水, 将其稀释至原液的 50 倍, 避光保存。进行检测时, 取少量新鲜小鼠的粪便样本, 分别滴加已制备好的邻联甲苯胺溶液和少量 3% 的过氧化氢溶液。混合后, 充分搅拌以确保完全反应, 观察混合液的颜色变化。

2 min 内溶液的颜色变为蓝褐色, 表明粪便中存在隐血, 评为 2 分, 提示可能存在消化道出血; 若无颜色变化, 则判断为阴性, 记为 0 分, 表示未检测到隐血, 粪便样本的健康状况良好; 若肉眼可见便血, 则根据实验标准, 直接评为 4 分。

(3) 粪便性状: 粪便硬且呈颗粒状、黑褐色则为正常便, 记 0 分; 粪便较软但呈颗粒状、颜色为黄褐色则为半稀便, 记 2 分; 粪便黄褐色, 呈液体状或黏住小鼠肛门则为稀便, 记 4 分。

给药期间每 2 天进行 1 次评分, 3 项评分总和的平均值为 DAI 评分。

2.4 结肠长度与结肠黏膜损伤指数 (CMDI) 评分

DSS 诱导的小鼠 UC 会伴有结肠长度缩短的病理特征。CMDI 评分反映小鼠肠道溃疡程度和肠道

黏膜受损程度，是 UC 的直观病理表征，常用于评价结肠炎症程度。颈椎脱臼法处死小鼠后，取出小鼠的结肠组织，测量各组小鼠的结肠长度并计算平均值；CMDI 评分标准见表 1。

表 1 结肠损伤程度评分标准
Table 1 Colon injury degree scoring criteria

结肠损伤程度	评分
正常结肠组织，未见充血、糜烂等病理损伤	0
结肠出现轻度充血	1
结肠出现轻度充血且伴有糜烂性溃疡	2
结肠出现溃疡糜烂且溃疡面纵径小于 1 cm	3
结肠出现多处糜烂性溃疡创口且溃疡面纵径大于 1 cm	4

2.5 组织病理学染色

用 4%多聚甲醛固定结肠 24 h 以上，标本脱水后石蜡包埋、切片并进行苏木精-伊红（HE）染色，在光学显微镜下观察、拍照并进行评分。评分标准见表 2。

表 2 结肠组织病理评分标准
Table 2 Histopathological scoring criteria of colonic tissue

病理学特征	评分
无炎症，黏膜未损伤	0
炎症细胞略增加，小部分杯状细胞丢失	1
黏膜层出现炎症细胞浸润，大面积杯状细胞丢失	2
黏膜肌肉层炎症细胞浸润，部分隐窝缺失	3
大量炎症细胞浸润，隐窝完全缺失	4

2.6 炎症因子检测^[12]

小鼠处死前眼内眦取血，3 000 r·min⁻¹ 离心 10 min 后吸取上清，分离血清；称取小鼠结肠组织 0.5 g，加入预冷的 0.9%氯化钠溶液制备组织匀浆，在 4 ℃、3 000 r·min⁻¹ 离心 10 min，吸取上清液备用。取处理后的各组小鼠结肠匀浆上清液及血清，按照 ELISA 试剂盒说明检测结肠组织与血清中 TNF-α、IL-1β、IL-4、IL-10 的水平。

2.7 结肠代谢组学分析

采用非靶向代谢组学分析对照组、模型组、LBP 高剂量组小鼠结肠代谢水平的变化。称取 50 mg 结肠组织，加入 450 μL 甲醇匀浆 10 min，4 ℃、12 000 r·min⁻¹ 离心 10 min。吸取 100 μL 上清，加入 400 μL 甲醇，涡旋 10 min，4 ℃、12 000 r·min⁻¹ 离心 10 min，收集上清，过 0.22 μm 滤膜。

色谱条件：采用 Agilent ZORBAX Extend-C₁₈ 色谱柱（100 mm×2.1 mm，1.8 μm）；流动相为 0.1%甲

酸溶液（A）-乙腈（B）；梯度洗脱（0~2 min，5%~29% B；2~10 min，29%~41% B；10~12 min，41%~60% B；12~20 min，60%~77% B；20~25 min，77%~95% B）；采集时间 20 min，体积流量 0.3 mL·min⁻¹，柱温 35 ℃，进样体积 1 μL。质谱条件：采用 ESI 离子源正离子模式全波长扫描，离子化电压 5 500.00 V/-4 500.00 V；去簇电压 60 V/-60 V；补偿电压 10 V/-10 V；雾化气 379.21 kPa；辅助加热气 379.21 kPa；气帘气 241.32 kPa；离子化温度 550.00 ℃；扫描范围 *m/z* 100~1 500。

采用 AB Sciex TripleTOF® 5600⁺液质联用仪对所有样本进行检测。采集完成后将数据文件导入 Markerview 1.3.1 进行分析处理，提取峰面积数据。采用 Biodeep 云平台（<https://www.biodeep.cn/home>）进行多元统计分析、火山图分析、KEGG 富集分析和代谢关系网络分析。

2.8 芳烃受体（AHR）/TLR4/NF-κB 炎症信号通路分析

代谢组学结果显示，色氨酸代谢途径可能是 LBP 发挥抗结肠炎作用的关键途径。最新研究证据表明，色氨酸代谢可通过激活下游 AHR，调控 TLR4/NF-κB 信号通路缓解结肠炎症^[13]。因此，通过 Western blotting 技术对结肠组织中 AHR、TLR4、NF-κB p-p65 的蛋白表达水平进行检测。

取 50 mg 小鼠结肠组织，向其中加入 1 mL RIPA 裂解液进行均匀化处理，在 4 ℃下以 12 000 r·min⁻¹ 离心 10 min，收集上清液。利用 BCA 蛋白定量试剂盒按照说明书的指导测定样品的总蛋白浓度。取适量上清液，添加 4 倍体积的 SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液，随后置于 100 ℃水浴中加热 10 min，以确保蛋白质完全变性。将电泳缓冲液加入电泳槽中，确保内槽液面高于外槽，拔去梳子后，将标准蛋白 Marker 及样品分别加入各自孔道，覆盖电泳盖。接着调整电压并启动电泳，直至目标蛋白分离。电泳结束后，使用 0.45 μm PVDF 膜进行湿转，在恒定电压 110 V 下转膜 90 min。使用 6%脱脂奶粉（用 TBST 稀释制备）在室温下进行封闭，持续 1 h 后用 TBST 洗涤。添加稀释至 1：1 500 的一抗，并在 4 ℃下于摇床上孵育过夜。孵育后，用 TBST 清洗，然后加入稀释至 1：2 000 的二抗，在 30 ℃下孵育 2 h。再次用 TBST 洗涤后，加入配制好的发光底物，然后在凝胶成像仪上显影并读取灰度值。

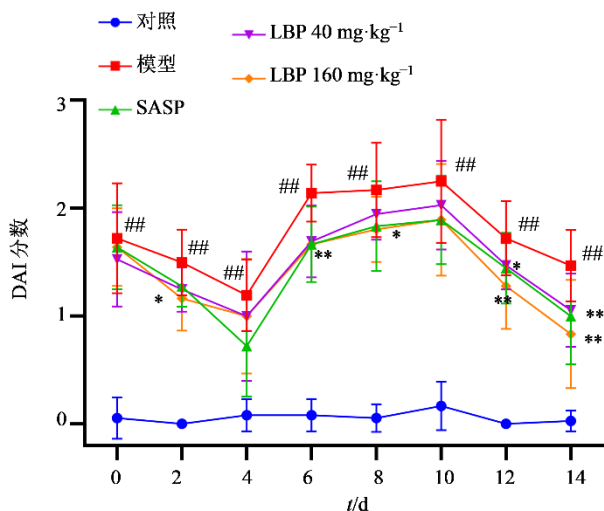
2.9 数据处理及分析

实验数据采用 GraphPad Prism 8.0 软件 (San Diego, USA) 进行分析, 用 $\bar{x} \pm s$ 表示。统计学分析采用单因素方差分析, 并采用事后 Tukey's 检验对多重比较进行校正, 检验组间差异。

3 结果

3.1 LBP 对小鼠 DAI 评分的影响

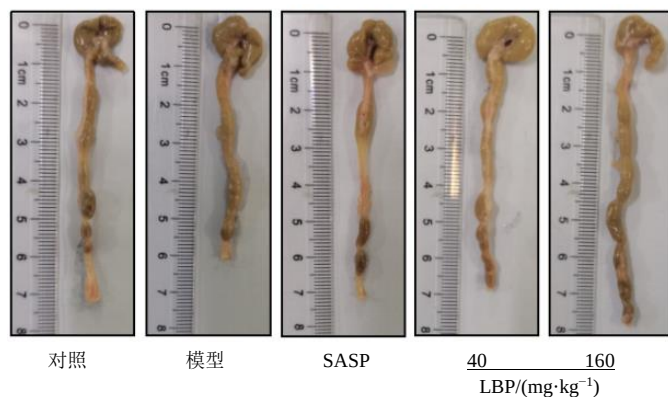
结果如图 1 所示, 对照组的 DAI 评分在实验过程中始终低于其余各组, 说明该组小鼠的健康状况稳定。与对照组比较, 模型组的 DAI 评分显著增加 ($P < 0.01$), 表明可能产生了严重的 UC, 提示该模型成功建立。



与对照组比较: $^{###}P < 0.01$; 与模型组比较: $^{*}P < 0.05$ $^{**}P < 0.01$ 。
 $^{###}P < 0.01$ vs control group; $^{*}P < 0.05$ $^{**}P < 0.01$ vs model group.

图 1 各组小鼠 DAI 评分变化情况 ($\bar{x} \pm s$, $n=12$)

Fig. 1 Changes of DAI score in each group of mice ($\bar{x} \pm s$, $n=12$)



与对照组比较: $^{###}P < 0.01$ $^{####}P < 0.001$; 与模型组比较: $^{*}P < 0.05$ $^{**}P < 0.01$ $^{***}P < 0.001$ 。
 $^{###}P < 0.01$ $^{####}P < 0.001$ vs control group; $^{*}P < 0.05$ $^{**}P < 0.01$ $^{***}P < 0.001$ vs model group.

图 2 LBP 对肠道的保护作用 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Fig. 2 Protective effect of LBP on intestine ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

与模型组比较, 在治疗的第 2、6、8、12、14 天, LBP 显著下调结肠炎小鼠的 DAI 分数 ($P < 0.05$ 、 0.01)。

3.2 LBP 对肠道的保护作用

结果如图 2 所示, 与对照组比较, 模型组小鼠的结肠长度明显缩短 ($P < 0.01$); 与模型组相比, LBP 组小鼠的结肠长度明显增加 ($P < 0.05$)。与对照组比较, 模型组小鼠的 CMDI 评分显著升高 ($P < 0.001$); 与模型组比较, LBP 组 CMDI 评分显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01)。

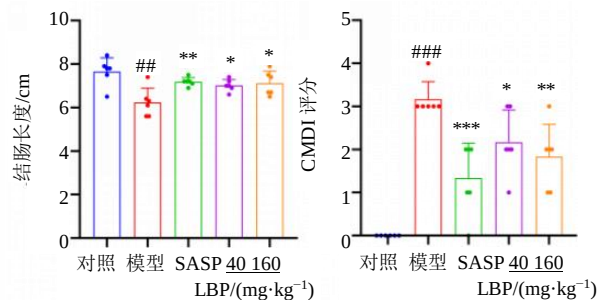
3.3 LBP 对小鼠结肠组织病理学的影响

如图 3 所示, DSS 处理后, 结肠出现严重溃疡、炎症细胞浸润、隐窝结构消失或变形, 以及杯状细胞缺失, 黏膜层的破坏是典型的结肠炎症状^[14]。LBP ig 给药后, 小鼠的结肠损伤明显改善, 具体表现为隐窝结构恢复、杯状细胞数量增加, 以及炎症细胞浸润减少。

与对照组比较, 模型组病理学评分显著增加 ($P < 0.001$); 与模型组比较, SASP 和 LBP 组病理学评分显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01)。

3.4 LBP 对肠道炎症因子的影响

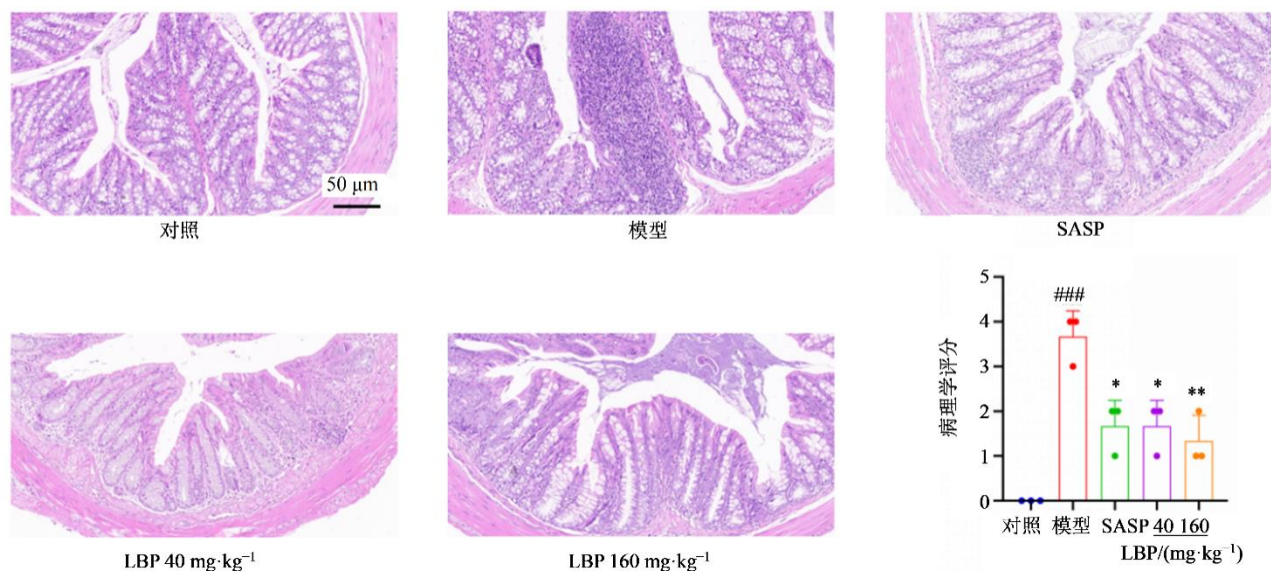
如图 4 所示, 在结肠和血清中, 与对照组相比, 模型组小鼠促炎因子 $\text{TNF-}\alpha$ 和 $\text{IL-1}\beta$ 水平显著增加 ($P < 0.01$ 、 0.001), 而抗炎因子 IL-4 和 IL-10 水平显著降低 ($P < 0.01$ 、 0.001)。与模型组相比, 各给药组的小鼠促炎因子水平显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001), 抗炎因子水平显著增加 ($P < 0.05$ 、 0.01)。结果表明 LBP 能够有效调节炎症因子水平, 缓解由 UC 引起的肠道炎症。



3.5 LBP 通过色氨酸代谢途径治疗 UC

为了探究 LBP 对结肠代谢物的影响,采用多元统计 PLS-DA 模型(图 5-A)进行可视化分析,结

果显示,对照组与模型组、LBP 组与模型组之间存在较好分离度,样本之间距离较远,表明 LBP 的干预在一定程度上改善了结肠代谢物的变化。通过火

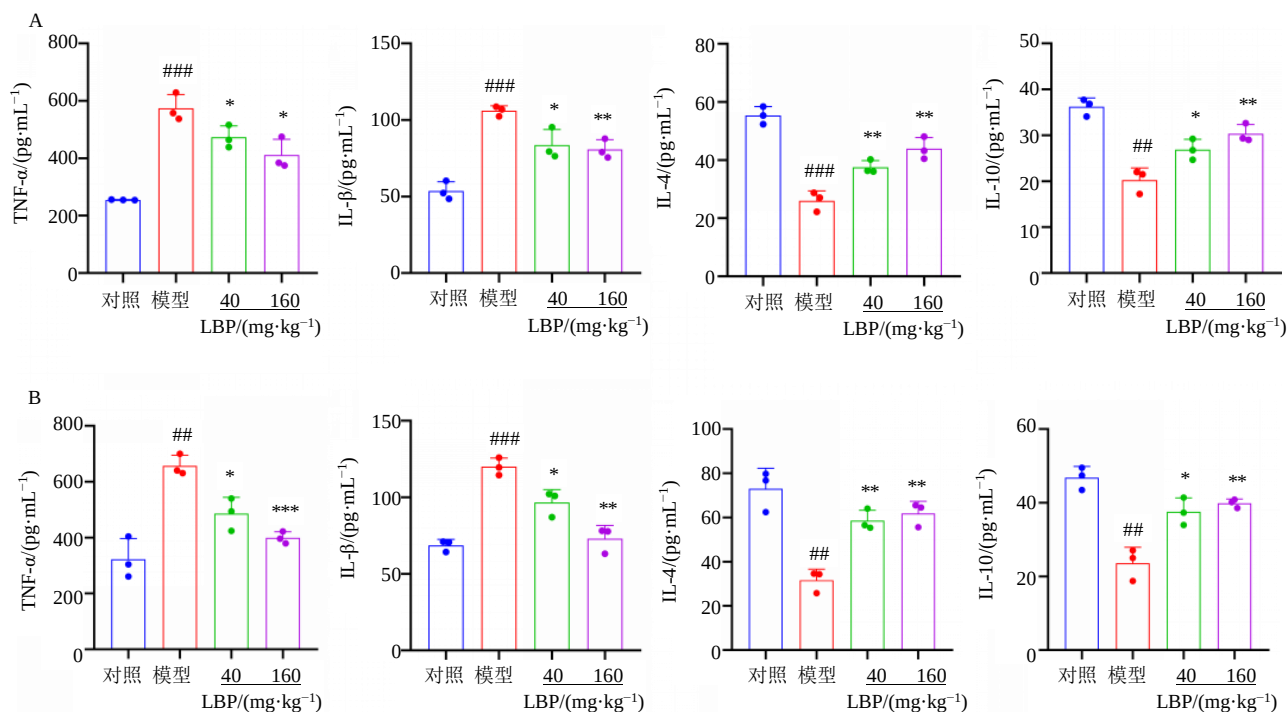


与对照组比较: ### $P < 0.001$; 与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ 。

$P < 0.001$ vs control group; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs model group.

图 3 病理组织形态观察及病理评分 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Fig. 3 Observation of pathological tissue morphology and pathological scoring ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

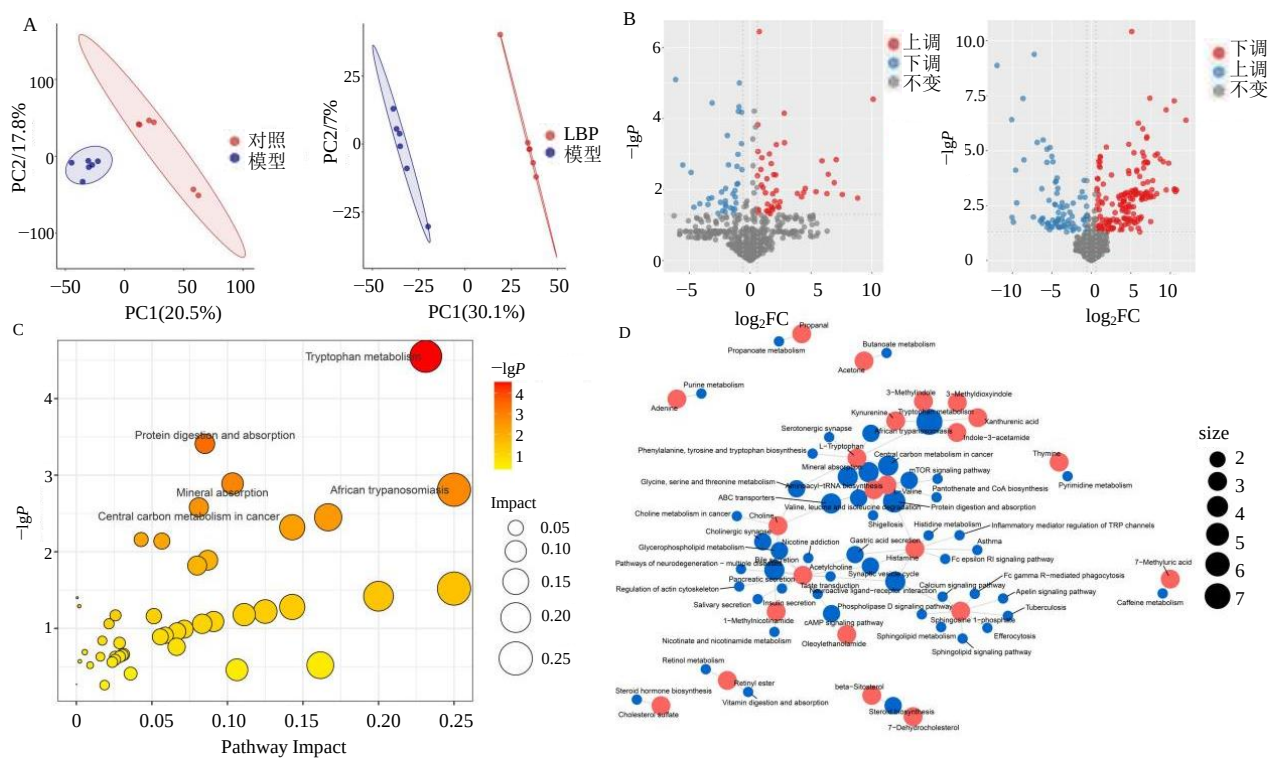


与对照组比较: ## $P < 0.01$ ### $P < 0.001$; 与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ 。

$P < 0.01$ ### $P < 0.001$ vs control group; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs model group.

图 4 结肠 (A) 和血清 (B) 中炎症因子水平 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Fig. 4 Levels of inflammatory factors in colon (A) and serum (B) ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)



A-PLS-DA 分析; B-火山图显示差异代谢物; C-KEGG 分析; D-差异代谢物网络关系。

A-PLS-DA analysis; B-Volcano plot showing differential metabolites; C-KEGG pathway analysis; D-network interaction diagram of differential metabolites.

图 5 LBP 通过色氨酸代谢途径改善 UC

Fig. 5 LBP ameliorate UC via tryptophan metabolic pathway

山图(图 5-B)分析显示,与对照组相比,模型组上调 40 个代谢物,下调 24 个代谢物;与模型组相比, LBP 给药后上调 164 个代谢物,下调 151 个代谢物。结果表明在结肠内, LBP 显著改善了代谢物变化。根据所筛选差异代谢物,通过京都基因与基因组百科全书(KEGG)数据库进行通路富集分析,结果如图 5-C、D 所示,色氨酸代谢等途径发生明显变化,提示其可能为 LBP 治疗 UC 的潜在机制。

色氨酸是必需氨基酸,其代谢主要通过以下 3 条途径进行:犬尿氨酸途径、5-羟色胺途径与吲哚途径。色氨酸代谢与肠道炎症及结肠炎的关系密切,其代谢产物通过多种途径调控免疫反应、肠道屏障功能和微生物稳态,在炎症性肠病的发生和发展中发挥关键作用。如肠道菌群可将色氨酸转化为吲哚类代谢物(吲哚-3-丙酸、吲哚丙烯酸等),激活 AHR 信号通路,从而减少促炎因子释放。因此,探究 LBP 调控色氨酸代谢治疗结肠炎的机制具有重要参考意义。

3.6 LBP 通过 AHR/TLR4/NF- κ B 信号通路调节肠道炎症

如图 6 所示,与对照组相比,模型组的 AHR

表达受到抑制($P < 0.001$), TLR4 及 NF- κ B p-p65 蛋白表达显著增加($P < 0.05$ 、 0.01),表明炎症信号通路被激活,从而导致炎症程度加重。相较于模型组, LBP 组中 AHR 的蛋白表达水平明显增加($P < 0.001$), TLR4 及 NF- κ B p-p65 的蛋白表达水平显著降低($P < 0.05$)。结果表明, LBP 在调节 AHR/TLR4/NF- κ B 炎症信号通路方面发挥了重要作用,进而有助于缓解肠道的炎症反应。

4 讨论

慢性 UC 作为一种多因素诱发的肠道慢性黏膜炎症,其致病因素是复杂且多变的,其中环境因素常占据主导作用。轻度患者临床多表现为腹痛及血性腹泻,但其患病过程经常处于缓解和恶化的反复变化中,最终导致肠道黏膜受损,直至严重恶化到癌变的程度。针对慢性 UC,一二线常用的药物如美沙拉嗪等,旨在诱导和缓解临床症状,加速肠黏膜的愈合,避免进行手术干预。

枸杞作为临床经典应用的药食同源植物,其根据现代植物学研究,含有 200 种以上化学成分,其中主要活性成分包括 LBP、甜菜碱和枸杞色素

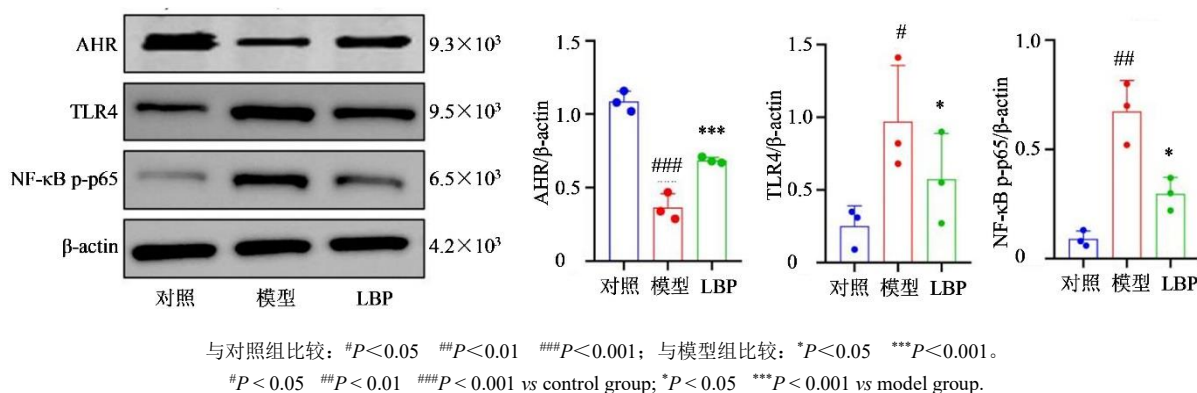


图 6 AHR/TLR4/NF-κB 信号通路调控分析 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Fig. 6 Analysis of AHR/TLR4/NF-κB signaling pathway regulation ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

等^[15-17]。研究表明, LBP 具有多种药理活性, 如抑制炎症反应、调节免疫系统和改善肠道菌群等^[18-19], 是枸杞中不可忽视的重要活性成分。

多糖作为中药中的常见药理活性成分, 通常被认为可以通过降低炎症因子水平、抑制炎症相关通路和调节肠道微生态来治疗 UC^[20]。UC 是一种炎症性肠病, 诱因多样, 治疗困难且易复发, 常常导致患者心理压力增大和情绪不佳。因此, 使用中药复方治疗 UC 是我国临床常用的治疗方法^[5], 而中药单体成分对该病的治疗作用及其机制也是研究的热点之一。

本研究以 LBP 为切入点, 探讨其对慢性 UC 小鼠的治疗作用及内在调控机制, 为枸杞的临床应用提供科学依据。实验结果显示, 给予 LBP 后, 慢性 UC 小鼠的 DAI 和 CMDI 明显下降, 说明小鼠的结肠炎症得到明显的缓解。通过这种分级方式, 能够评估不同实验组小鼠在药物干预后的生理变化, 从而分析 LBP 对小鼠体质量及整体健康的影响。这种方法不仅有助于识别潜在的不良反应, 还能根据体质量变化推测药物的有效性, 以及小鼠的适应情况。收集到的数据将为后续分析提供重要的基础, 为了解 LBP 的生理作用可能的机制及其应用提供重要依据。通过 HE 染色实验, 其病理评分结果表明, 结肠组织中的炎症细胞浸润减少, 隐窝结构有所恢复, 说明 LBP 能够有效改善结肠组织的病变状态, 减轻结肠炎症。ELISA 检测结果显示, 血清和结肠组织中的促炎因子 TNF- α 和 IL-1 β 水平显著下降, 而抗炎因子 IL-4 抗 IL-10 水平显著增加, 表明 LBP 具有可靠的抗炎作用。此外, 代谢组学与 Western blotting 分析结果表明, 枸杞在肠道菌群的生理屏障构建中发挥重要作用, 能够通过色氨酸代

谢途径调控 AHR/TLR4/NF-κB 信号通路, 进一步抑制炎症因子^[14, 21], 发挥抗炎作用。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 沈洪, 唐志鹏, 唐旭东, 等. 消化系统常见病溃疡性结肠炎中医诊疗指南(基层医生版) [J]. 中华中医药杂志, 2019, 34(9): 4155-4160.
Shen H, Tang Z P, Tang X D, et al. Clinical practice guideline of TCM for common digestive system diseases: Ulcerative colitis (Edition for primary physician) [J]. China J Tradit Chin Med Pharm, 2019, 34(9): 4155-4160.
- [2] 钟焕英, 刘礼剑, 卫家润, 等. 中药有效成分治疗溃疡性结肠炎研究进展 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2023, 25(12): 74-80.
Zhong H Y, Liu L J, Wei J R, et al. Research progress of effective ingredients of traditional Chinese medicine in the treatment of ulcerative colitis [J]. J Liaoning Univ Tradit Chin Med, 2023, 25(12): 74-80.
- [3] 张晓明, 柳越冬, 都静, 等. 中医学理论指导下的溃疡性结肠炎病因病机研究进展 [J]. 中华中医药学刊, 2023, 41(9): 46-52.
Zhang X M, Liu Y D, Du J, et al. Research progress on etiology and pathogenesis of ulcerative colitis under guidance of traditional Chinese medicine theory [J]. Chin Arch Tradit Chin Med, 2023, 41(9): 46-52.
- [4] 沈洪, 朱磊. 重视溃疡性结肠炎的中西医结合治疗 [J]. 中国中西医结合消化杂志, 2016, 24(8): 571-574.
Shen H, Zhu L. Attach importance to the treatment of ulcerative colitis with integrated traditional Chinese and western medicine [J]. Chin J Integr Tradit West Med Dig, 2016, 24(8): 571-574.
- [5] 王建成, 齐洪军, 郭洁洁. 溃疡性结肠炎的中医药治疗

- 研究进展 [J]. 实用中医内科杂志, 2024, 38(2): 106-109.
- Wang J C, Qi H J, Guo J J. Research progress in treatment of ulcerative colitis with traditional Chinese medicine [J]. J Pract Tradit Chin Intern Med, 2024, 38(2): 106-109.
- [6] Xu J, Chen H B, Li S L. Understanding the molecular mechanisms of the interplay between herbal medicines and gut microbiota [J]. Med Res Rev, 2017, 37(5): 1140-1185.
- [7] Guarino M P L, Altomare A, Emerenziani S, et al. Mechanisms of action of prebiotics and their effects on gastro-intestinal disorders in adults [J]. Nutrients, 2020, 12(4): 1037.
- [8] Hooper L V, Gordon J I. Commensal host-bacterial relationships in the gut [J]. Science, 2001, 292(5519): 1115-1118.
- [9] Zhou S S, Xu J, Zhu H, et al. Gut microbiota-involved mechanisms in enhancing systemic exposure of ginsenosides by coexisting polysaccharides in ginseng decoction [J]. Sci Rep, 2016, 6: 22474.
- [10] Huo J Y, Lei M, Zhou Y, et al. Structural characterization of two novel polysaccharides from *Gastrodia elata* and their effects on *Akkermansia muciniphila* [J]. Int J Biol Macromol, 2021, 186: 501-509.
- [11] 臧凯宏, 李应东, 朱丽娟, 等. 黄芪多糖对溃疡性结肠炎大鼠结肠黏膜的修复作用及其作用机制研究 [J]. 甘肃中医药大学学报, 2018, 35(3): 5-10.
- Zang K H, Li Y D, Zhu L J, et al. Study on the repair effect on colon mucosa and mechanism of *Astragalus* polysaccharides in rats with ulcerative colitis [J]. J Gansu Univ Chin Med, 2018, 35(3): 5-10.
- [12] Wise J. NICE calls for more research on ELISA tests for Crohn's disease [J]. BMJ, 2016, 352: i1019.
- [13] Barroso A, Mahler J V, Fonseca-Castro P H, et al. The aryl hydrocarbon receptor and the gut-brain axis [J]. Cell Mol Immunol, 2021, 18(2): 259-268.
- [14] Eisenstein M. Ulcerative colitis: Towards remission [J]. Nature, 2018, 563(7730): S33.
- [15] 张敏, 岳坤, 姜交华, 等. 枸杞子及其有效成分的药理作用研究进展 [J]. 药物评价研究, 2023, 46(7): 1611-1619.
- Zhang M, Yue K, Jiang J h, et al. Research progress on pharmacological effects of *Lycii Fructus* and its active ingredients [J]. Drug Eval Res, 2023, 46(7): 1611-1619.
- [16] Yao R, Wang B, Heinrich M, et al. Genetic diversity of food-medicinal *Lycium spp.* in China: Insights from chloroplast genome [J]. Chin Herb Med, 2024, 16(3): 401-411.
- [17] 张悦, 姜孟伶, 曹金丹, 等. 枸杞多糖通过 TLR4/Src 通路促进巨噬细胞吞噬金黄色葡萄球菌 [J]. 中草药, 2023, 54(22): 7466-7473.
- Lycium barbarum* polysaccharide promotes macrophage phagocytosis of *Staphylococcus aureus* through TLR4/Src pathway [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2023, 54(22): 7466-7473.
- [18] 王荣, 张玲莉, 刘莉. 五味子多糖通过 Traf3/NF- κ B 通路降低脂多糖对大鼠肝细胞的炎症反应 [J]. 中国现代应用药学, 2017, 34(12): 1699-1702.
- Wang R, Zhang L L, Liu L. Effects of schizandrace polysaccharide on inflammatory reaction of LPS-induced rat hepatocytes via Traf3/NF- κ B signaling pathway [J]. Chin J Mod Appl Pharm, 2017, 34(12): 1699-1702.
- [19] 王琳, 高辰哲, 崔石阳, 等. 五味子多糖的酶解辅助提取及其对小鼠肠道菌群的影响 [J]. 食品研究与开发, 2018, 39(20): 190-196.
- Wang L, Gao C Z, Cui S Y, et al. Enzyme supplemented extraction of polysaccharides from *Schisandra chinensis* and its effects on intestinal flora in mice [J]. Food Res Dev, 2018, 39(20): 190-196.
- [20] Arpaia N, Campbell C, Fan X Y, et al. Metabolites produced by commensal bacteria promote peripheral regulatory T-cell generation [J]. Nature, 2013, 504(7480): 451-455.
- [21] Rosenbaum D M, Rasmussen S G, Kobilka B K. The structure and function of G-protein-coupled receptors [J]. Nature, 2009, 459(7245): 356-363.

[责任编辑 兰新新]