

地龙来源短肽治疗溃疡性结肠炎的作用研究

刘兰玉¹, 年 华^{3#}, 李 雷², 章超凡⁴, 刘爱芬⁵, 董志颖^{1*}, 张 磊^{2*}

1. 上海中医药大学 中药学院, 上海 201203

2. 海军军医大学 药理学系, 上海 200433

3. 上海中医药大学附属岳阳中西医结合医院 药理学部, 上海 200437

4. 上海大学 医学院, 上海 200444

5. 南通大学 医学院, 江苏 南通 226019

摘要: **目的** 研究地龙来源短肽 (Leu-Leu-Ala-Pro-Pro, LLAPP) 对溃疡性结肠炎 (UC) 的治疗作用, 结合网络药理学及实验研究初步阐明其作用机制。**方法** 通过葡聚糖硫酸钠盐 (DSS) 自由饮水建立小鼠 UC 模型, 观察 LLAPP (12、6、3 mg·kg⁻¹) 对 UC 小鼠的体质量、结肠长度、疾病活动指数 (DAI) 评分、存活率、脾脏指数的影响, 通过苏木素-伊红 (HE) 染色观察结肠组织病理变化, 酶联免疫吸附试验 (ELISA) 检测血清中白细胞介素-6 (IL-6)、白细胞介素 1 β (IL-1 β)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 的水平。通过网络药理学预测 LLAPP 治疗 UC 的潜在靶点。采用脂多糖 (LPS) 刺激 RAW 264.7 巨噬细胞建立细胞炎症模型, 加入 LLAPP (100、200、400 μ mol·L⁻¹) 处理 24 h, 运用实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 检测 *TNF- α* 、*IL-6* mRNA 的表达水平, Western blotting 法检测 UC 小鼠结肠组织和 RAW 264.7 细胞中核因子 κ B (NF- κ B) P65 和 p-P65 的蛋白表达情况。**结果** 与模型组比较, LLAPP 治疗可以显著改善 UC 小鼠体质量降低、结肠缩短、DAI 评分下降、脾脏肿大 ($P < 0.01$), 降低死亡率; HE 染色结果显示 LLAPP 治疗减轻了结肠黏膜的炎症细胞浸润、隐窝结构破坏; ELISA 结果显示 LLAPP 降低了小鼠血清中 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 的水平 ($P < 0.01$)。网络药理学研究提示 LLAPP 治疗作用可能与调控 NF- κ B 信号通路有关。细胞实验中, 与模型组比较, LLAPP 浓度相关性地抑制细胞中 *TNF- α* 、*IL-6* 的 mRNA 表达 ($P < 0.01$), LLAPP 显著下调结肠组织和细胞中 p-P65 的蛋白表达 ($P < 0.01$)。**结论** LLAPP 能有效缓解 UC 症状, 其治疗作用可能与抑制 NF- κ B 信号通路活化, 减少 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 等促炎因子的释放有关。

关键词: 地龙来源短肽; Leu-Leu-Ala-Pro-Pro (LLAPP); 溃疡性结肠炎; 网络药理学; 核因子 (NF)- κ B 信号通路; 炎症
中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2026)02-0426-12

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2026.02.005

Therapeutic effect of earthworm-derived small molecular peptide on ulcerative colitis

LIU Lanyu¹, NIAN Hua³, LI Lei², ZHANG Yuefan⁴, LIU Aifen⁵, DONG Zhiying¹, ZHANG Lei²

1. School of Chinese Materia Medica, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China

2. Department of Pharmacy, Naval Medical University, Shanghai 200433, China

3. School of Pharmacy, Yueyang Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200437, China

4. School of Medicine, Shanghai University, Shanghai 200444, China

5. Medical School of Nantong University, Nantong 226019, China.

Abstract: Objective To investigate the therapeutic effect of earthworm-derived small molecular peptide (LLAPP) on ulcerative colitis (UC) and preliminarily elucidate its mechanism of action using network pharmacology. **Methods** A mouse model of UC was

收稿日期: 2025-10-15

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (82225047、82170274); 国家重点研发计划资助项目 (2022YFC3501703); 浙江省自然科学基金资助项目 (LZ24H280003)

作者简介: 刘兰玉, 硕士研究生, 研究方向为中药炮制理论及机制。E-mail: 15256915407@163.com

#共同第一作者: 年 华, 教授, 药剂科副主任, 研究方向为医院药学。E-mail: Jackynian@126.com

***通信作者:** 董志颖, 教授, 硕士生导师, 从事中药炮制理论及机制研究。E-mail: bdwmxx@163.com

张 磊, 教授, 博士生导师, 从事中药资源与生物技术研究。E-mail: leizhang100@163.com

established by administering dextran sulfate sodium (DSS) in drinking water. The effects of LLAPP on colon length, disease activity index (DAI) score, survival rate, and spleen index were evaluated. Pathological changes in colon tissue were observed via hematoxylin and eosin (HE) staining. Serum levels of interleukin-6 (IL-6), interleukin-1 β (IL-1 β), and tumor necrosis factor- α (TNF- α) were measured using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Potential targets of LLAPP in UC treatment were identified through network pharmacology. A cellular inflammation model was established by stimulating RAW 264.7 macrophages with lipopolysaccharide (LPS), and different doses of LLAPP were administered. The mRNA expression of *TNF- α* and *IL-6* was detected using real-time quantitative PCR (qRT-PCR), and the protein expression of P65, and phosphorylated P65 (p-P65) in colon tissues and RAW 264.7 cells was measured via Western blotting. **Results** LLAPP treatment ameliorated colon shortening ($P < 0.01$), reduced DAI scores, improved survival rates, and alleviated spleen enlargement ($P < 0.01$) in UC mice. HE staining showed that LLAPP reduced inflammatory cell infiltration and crypt structural damage in the colonic mucosa. ELISA results indicated that LLAPP decreased serum levels of IL-1 β , IL-6, and TNF- α ($P < 0.01$). Network pharmacology suggested that the therapeutic effect of LLAPP might be associated with the regulation of the nuclear factor kappa B (NF- κ B) signaling pathway. LLAPP concentration-dependently inhibited mRNA expression of *TNF- α* and *IL-6* in cells ($P < 0.01$). Western blotting analysis revealed that LLAPP downregulated p-P65 protein expression in colon tissues and cells ($P < 0.01$). **Conclusion** Earthworm-derived small molecular peptide (LLAPP) effectively alleviates symptoms of ulcerative colitis, potentially by inhibiting the activation of the NF- κ B signaling pathway and reducing the release of pro-inflammatory cytokines such as IL-1 β , IL-6, and TNF- α .

Key words: earthworm-derived small molecular peptide; Leu-Leu-Ala-Pro-Pro (LLAPP); ulcerative colitis; network pharmacology; nuclear factor (NF)- κ B signaling pathway; inflammation

溃疡性结肠炎(UC)是一种病因未明的慢性特发性炎症性肠病,病变主要累及结肠和直肠黏膜层,临床常表现为腹泻、腹痛、血便及黏液脓血便等^[1-2]。近年来中国 UC 患病率呈快速增长趋势,UC 发病率在 30 岁之前急剧增加,并在晚年(50~79 岁)趋于稳定,严重影响生活质量和劳动能力^[3-4]。目前 UC 的发病机制尚未完全阐明,发病后肠道黏膜屏障受损^[5],激活免疫系统,导致促炎信号通路^[6]持续活化,大量炎症介质释放^[7]。临床上常用治疗手段包括 5-氨基水杨酸类抗炎药^[8]、糖皮质激素等免疫抑制剂及抗肿瘤坏死因子(TNF)- α 单抗等生物制剂,但长期使用易引发感染、代谢紊乱及耐药性。因此,迫切需要开发新的 UC 治疗药物。

地龙具有活血化瘀、通络止痛的功效^[9-10]。现代药理学研究表明,地龙富含蛋白质、酶类及多种小分子活性肽,具有抗炎、抗氧化及免疫调节等药理活性^[11]。近年来,地龙中的活性肽类成分因高效、低毒的特性成为药物研发的新热点。有研究发现,于钜蚓科动物参环毛蚓 *Pheretima aspergillum* (E. Perrier) 中分离得到的一种短肽 LLAPP(氨基酸序列为 Leu-Leu-Ala-Pro-Pro)是活性肽之一,前期研究已初步证实了 LLAPP 在心血管领域展现出显著的抗血栓活性,其机制可能与抑制血小板聚集、干扰纤维蛋白原结合以及增强内源性纤溶系统功能有关,从而有效改善血液的高凝状态和微循环障碍^[12]; LLAPP

也能够有效抑制炎症反应,在炎症模型中可通过下调 TNF- α 、白细胞介素(IL)-6 促炎因子的表达,减轻组织炎症损伤,表现出良好的免疫调节潜力^[13]。UC 作为一种慢性、复发性炎症性肠病,其病理过程主要为持续的肠道黏膜炎症、氧化应激损伤以及伴随的微血栓形成^[2]。因此推测 LLAPP 可能通过多靶点机制在 UC 的治疗中发挥协同作用。然而,目前关于 LLAPP 在 UC 中的治疗潜力及其具体作用机制尚未见研究和报道。

本研究拟通过建立葡聚糖硫酸钠(DSS)诱导的小鼠 UC 模型^[14],并结合体外细胞实验,评价地龙来源的短肽 LLAPP 对 UC 的改善作用,网络药理学分析潜在的靶点,结合细胞实验探讨其作用机制,为进一步将地龙来源的短肽 LLAPP 开发成治疗 UC 的药物奠定基础。

1 材料

1.1 细胞和动物

小鼠巨噬细胞 RAW264.7 购自中国科学院细胞库。C57BL/6J 小鼠,雄性,SPF 级,体质量 20 g,购自杭州医学院,实验动物生产许可证号 SCXK(浙)2024-0004,饲养于南通大学实验动物中心,动物采用标准规范化饲养,明暗周期为 12 h/12 h,环境温度(23 $\pm$ 1.5) $^{\circ}$ C,相对湿度(60 $\pm$ 10)%,自由进食和饮水^[15]。动物实验方案获得南通大学动物伦理机构的批准(动物伦理号 IACUC20230315-

1005)。

1.2 主要试剂

LLAPP, 上海淘普生物科技有限公司(批号 TP-20080211, 质量分数 97.76%); 5-氨基水杨酸(5-ASA), 批号 P2509489, 泰坦科技探索平台; 脂多糖(LPS), Sigma 公司; TB Green®Premix Ex Taq™II FAST qPCR(引物序列见表 1), Takara 公司; 葡聚糖硫酸钠(DSS), 大连美仑生物技术有限公司; IL-1 β 、IL-6、TNF- α 试剂盒, 凯学生物科技(上海)有限公司; Anti-phospho-核因子(NF)- κ B p65 Rabbit、Anti-NF- κ B p65 Rabbit, Abcam 公司; Anti-GAPDH Rabbit mAb, 翌圣生物科技(上海)股份有限公司。

表 1 引物名称和序列

Table 1 Names and sequences of primers

引物名称	引物序列 (5'→3')
GAPDH-F	CACTCACGGCAAATTCAACGGCACA
GAPDH-R	GACTCCACGACATACTCAGCAC
IL-6-F	GCCTTCTTGGGACTGATGCT
IL-6-R	CTGCAAGTGCATCATCGTTGT
TNF- α -F	TGCCTATGTCTCAGCCTCTTC
TNF- α -R	GAGGCCATTTGGGAACCTTCT
IL-1 β -F	CAGGATGAGGACATGAGCACC
IL-1 β -R	CTCTGCAGACTAACTCCAC

1.3 主要仪器

SVT-2 转印电泳仪(武汉塞维尔生物科技有限公司); 7820AVL 气相色谱仪(安捷伦科技有限公司); YM80LD 高通量冷冻组织研磨仪(上海豫明仪器有限公司); PCR 仪(赛默飞科技有限公司); Q-PCR 仪器(上海朗基科技有限公司)。

2 方法

2.1 动物分组、造模及给药

根据前期药效学预试验及相关活性肽类药物的文献报道^[16-17], 本研究设置如下分组及给药剂量, 将 60 只小鼠适应性饲养 7 d 后随机分为 6 组(每组 10 只), 分别为: 对照组、模型组、5-ASA(阳性药, 50 mg·kg⁻¹)组和 LLAPP 高、中、低剂量(12、6、3 mg·kg⁻¹)^[18-19]组。

对照组自由饮用无菌水, 其余各组均以 3% DSS 溶液(每 2 天更换新鲜配制的 3% DSS 溶液)作为饮用水连续饮用 7 d, 建立 UC 模型^[20]。造模结束后, 各给药组分别 ig 给予相应浓度的 LLAPP 或 5-ASA 溶液 7 d(每天 1 次), 每天记录小鼠体质量, 并根据小鼠状态评估疾病活动指数(DAI)。

给药结束后处死小鼠, 取出结肠, 量取长度。摘取脾脏, 预冷的磷酸盐缓冲液(PBS)漂洗后称质量, 计算脾脏指数。

脾脏指数=脾脏湿质量/动物体质量

2.2 DAI 评分

每天固定时间记录小鼠的体质量, 采用粪便隐血定性检测试剂盒(邻联甲苯胺法)观察粪便性状与隐血情况。参照 Hamamoto 等^[21]建立的标准(表 2), 计算每只小鼠 DAI 的评分。

DAI 总分=体质量下降评分+粪便性状评分+粪便隐血评分

体质量下降=(造模后统一时间点体质量-造模前体质量)/造模前体质量

表 2 DAI 评分标准

Table 2 DAI scoring criteria

项目	评分标准
体质量下降	体质量下降<1%为0分 1%≤体质量下降≤5%为1分 5%<体质量下降≤10%为2分 10%<体质量下降≤15%为3分 体质量下降>15%为4分
粪便性状	粪便性状正常为0~1分 稀便为2~3分 腹泻为4分
隐血情况	3 min 后不显蓝绿色表示隐血(+)为0分 30~60 s 内显蓝色表示隐血(++)为1分 立即显蓝绿色表示隐血(+++)为2分 立即显深绿色表示隐血(++++)为3分 肉眼可见血便为4分

2.3 苏木精-伊红(HE)染色

结肠组织用福尔马林固定后进行常规石蜡包埋, 制备 3 μ m 厚切片, 用 HE 染色, 于光学显微镜下观察组织形态并采集图像。

2.4 血清细胞因子含量检测

小鼠末次给药后, 经眼眶采集小鼠血液, 4 $^{\circ}$ C 条件下静置 4 h 后在 4 $^{\circ}$ C、4 000 $\times$ g 离心 10 min 取上清, 按照 ELISA 试剂盒说明书操作, 检测血清中 IL-6、IL-1 β 及 TNF- α 的含量。

2.5 网络药理学

利用 Chimera 1.19 获得 LLAPP 的 SMILES 结构; 利用 Swiss Target Prediction (<http://www.swisstargetprediction.ch/>)数据库预测药物靶点, 筛选条件设置为物种“Homo sapiens”, 概率值大于 0.1 为显著性阈值构成药物靶点集。

前期研究已证实了 LLAPP 在心血管领域展现出显著的抗血栓活性^[12], UC 作为一种慢性、复发性炎症性肠病, 其病理过程主要为持续的肠道黏膜炎症、氧化应激损伤以及伴随的微血栓形成^[2]。鉴于 LLAPP 的确切抗血栓作用, 及血栓与 UC 的共同机制, 本研究从 GeneCards (<https://www.genecards.org/>)、OMIM (<https://www.omim.org/>) 和 TTD ([https://ttt.idrblab.cn/](https://ttd.idrblab.cn/)) 数据库中分别以“Ulcerative Colitis”和“Thrombosis”为关键词检索相关疾病靶点, 合并去重后获得疾病靶点集。

预测到的药物靶点与获取的疾病靶点集录入 Venny 2.1.0 绘制韦恩图, 取交集得关键靶点集, 导入 STRING 11.5 数据库 (<https://cn.string-db.org/>) (置信度 > 0.7), 物种设置为“*Homo sapiens*”, 构建蛋白质-蛋白质相互作用 (PPI) 网络; 将 STRING 分析结果以 TSV 格式导出, 运用 Cytoscape 3.10.3 软件进行网络可视化与拓扑属性分析。

使用 R 语言“clusterProfiler”包对共同靶点进行 GO 富集分析和 KEGG 通路分析。GO 分析涵盖生物过程 (BP)、细胞组分 (CC) 和分子功能 (MF) 3 个范畴; KEGG 通路分析 ($P < 0.05$) 则用于揭示靶点所参与的关键信号转导与代谢通路, 筛选疾病涉及关键通路。

2.6 细胞培养及给药

将处于对数生长期 RAW 264.7 细胞以每孔 1.5×10^5 个接种于 6 孔板, 于 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 5% CO_2 培养箱中进行培养, 分为对照组、模型组及 LLAPP 低、中、高浓度 (100 、 200 、 $400\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 组。除对照组外, 其余各组均加入 LPS (终质量浓度 $1\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)^[22] 刺激 4 h, 再给予不同浓度的 LLAPP, 孵育 24 h 收集细胞进行相关检测。

2.7 实时荧光定量 PCR (qRT-PCR)

采用 Trizol 法提取细胞总 RNA, 进行逆转录成为 cDNA, 使用 SYBR Green qPCR 试剂盒对 *TNF- α* 、*IL-6* 进行 qRT-PCR 分析。分析结果以 *GAPDH* 为内参基因, 采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 方法计算 *TNF- α* 和 *IL-6* 的 mRNA 的相对表达量。

2.8 蛋白质印迹法检测 P65 和 p-P65 的表达水平

用预冷 RIPA 裂解液裂解结肠组织 (对照组、模型组、LLAPP $12\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 和细胞 (对照组、模型组、LLAPP $400\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 获得总蛋白样品。BCA 法测蛋白浓度, 蛋白样品进行 SDS-PAGE 电泳分离, 并转印至预先活化的 PVDF 膜上。使用 5% 脱脂牛

奶对膜进行封闭, 一抗过夜孵育。经 TBST 洗涤, 孵育二抗, 采用 ECL 化学发光法显影, 运用 Image J 软件分析灰度值。

2.9 统计分析

所有实验均设置 3 个独立重复, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 样本间比较采用单因素方差分析 (ANOVA) 和最小显著差异 (LSD) 检验。

3 结果

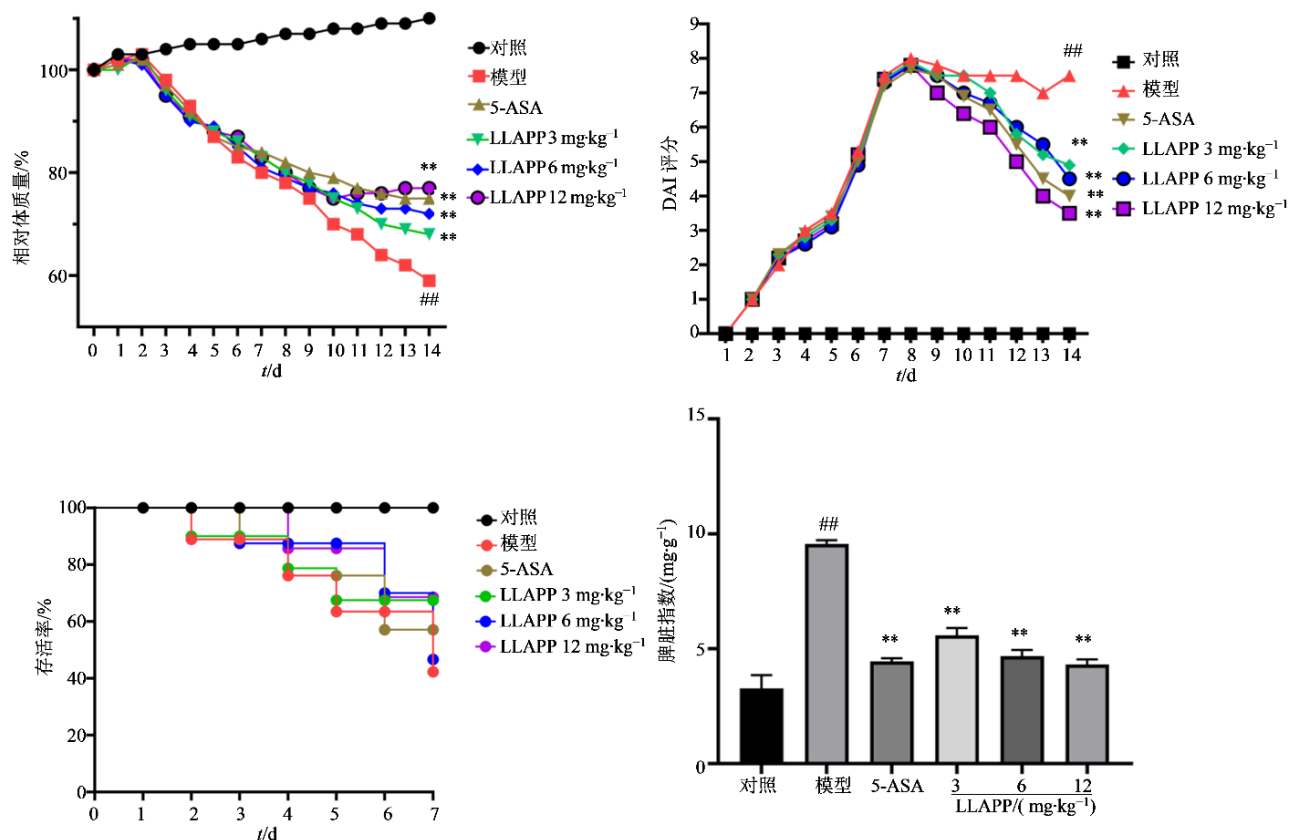
3.1 LLAPP 对 DSS 诱导 UC 小鼠的作用

DSS 诱导的结肠炎小鼠模型在症状表现上与人类 UC 高度相似, 包括活力低下、体质量减轻、腹泻和粪便隐血等^[23]。如图 1 所示, 与对照组比较, 模型组体质量显著下降 ($P < 0.01$); 与模型组相比, LLAPP 治疗后有效缓解小鼠体质量下降 ($P < 0.01$)。除对照组外, 其他各组小鼠均出现体质量减轻和便血症状, 与对照组比较, 模型组 DAI 评分显著升高 ($P < 0.01$); 与模型组相比, LLAPP 治疗组小鼠的 DAI 评分显著降低 ($P < 0.01$)。LLAPP 治疗组小鼠的生存率明显高于模型组。与对照组比较, 模型组脾脏指数显著升高 ($P < 0.01$); 与模型组相比, LLAPP 能够显著降低小鼠的脾脏指数 ($P < 0.01$)。因此, LLAPP 能缓解小鼠结肠炎症状, 并且高剂量的 LLAPP 效果更好。

结肠长度的变化可作为肠道炎症程度和组织损伤程度的指示^[24]。与对照组相比, 模型组小鼠的结肠长度显著缩短 ($P < 0.01$), 且结肠组织伴有明显的红肿、变形及糜烂等病理改变。相比之下, 经 LLAPP 治疗干预后, 小鼠结肠长度均较模型组显著恢复 ($P < 0.01$), 结肠黏膜红肿及出血等表现也明显减轻。结果表明, LLAPP 呈现剂量相关性改善 DSS 诱导的结肠组织损伤, 缓解肠道炎症 (图 2)。

3.2 HE 染色观察 LLAPP 对 DSS 诱导 UC 小鼠的结肠组织病理的影响

DSS 诱导的急性结肠炎模型导致结肠组织发生显著的病理损伤, 主要表现为表层上皮细胞和杯状细胞的破坏, 进而引发肠道屏障功能障碍和炎症反应加剧^[25]。如图 3 所示, 对照组小鼠的结肠组织隐窝结构完整, 杯状细胞数量丰富, 结肠黏膜和肌层排列规整, 未见炎症细胞浸润。与对照组相比, 模型组小鼠的结肠结构严重受损, 杯状细胞数量减少、隐窝结构破坏以及大量炎症细胞浸润。经 LLAPP 干预后小鼠的结肠组织隐窝结构和肠道完整性均得到恢复, 杯状细胞数量增多, 炎症细胞浸

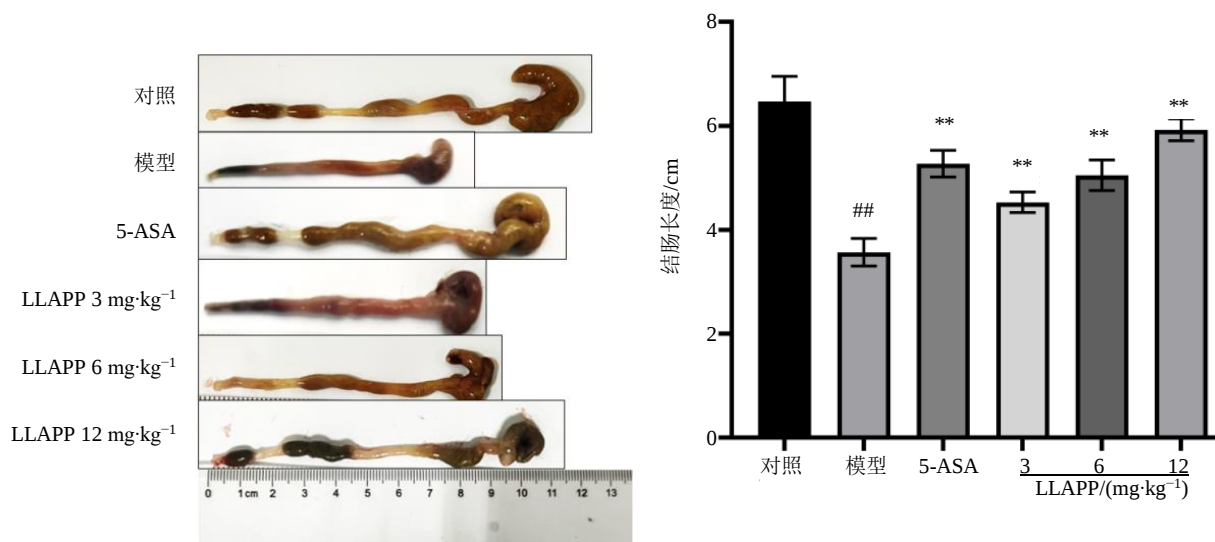


与对照组比较: ## $P < 0.01$; 与模型组比较: ** $P < 0.01$ 。

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

图 1 LLAPP 对 DSS 诱导 UC 小鼠体质量、DAI 评分、生存曲线和脾脏指数的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Fig. 1 Effects of LLAPP on body weight, DAI score, survival curve and spleen index of DSS-induced UC mice ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

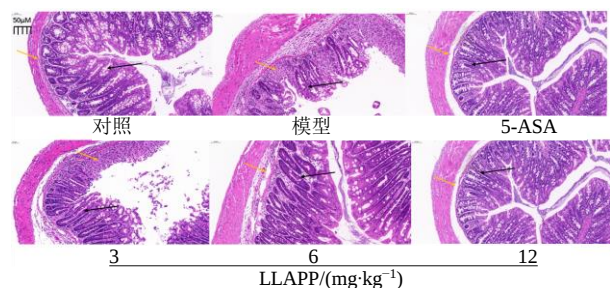


与对照组比较: ## $P < 0.01$; 与模型组比较: ** $P < 0.01$ 。

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

图 2 LLAPP 对 DSS 诱导 UC 小鼠结肠直肠长度的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Fig. 2 Effects of LLAPP on length of colon and rectum in DSS-induced UC mice ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

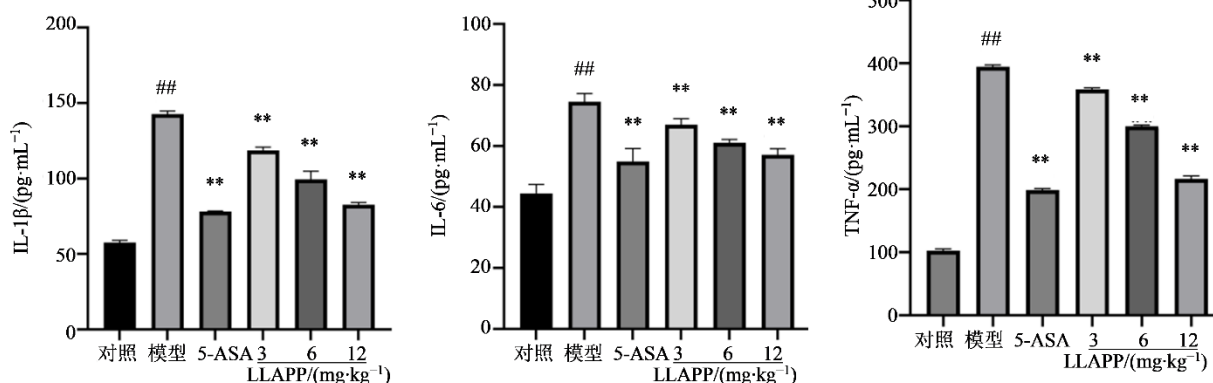


黑色箭头指示隐窝结构和杯状细胞；黄色箭头指示炎症细胞浸润区域。

Black arrow indicates the crypt structure and goblet cells; Yellow arrow indicates inflammatory cell infiltration area.

图 3 结肠 HE 染色 (×50)

Fig. 3 Colon HE staining (×50)



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

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

图 4 LLAPP 对 DSS 诱导 UC 小鼠血清中 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 含量的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

Fig. 4 Effects of LLAPP on IL-1 β , IL-6 and TNF- α levels in serum of DSS-induced UC mice ($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

靶点集。将 LLAPP 预测靶点与疾病靶点集绘制韦恩图 (图 5-A)，获得 77 个交集靶点。77 个靶点导入 STRING 数据库构建 PPI 网络，导入 Cytoscape 3.10.3 软件进行可视化处理 (图 5-B)。

GO 富集分析结果显示，77 个共同靶点显著富集于多项生物学功能。在 BP 中，主要涉及对细菌来源分子的反应、细胞对脂多糖的反应以及多种细胞调节过程；在 CC 中，靶点主要富集于膜微结构域、膜区等细胞膜特定区域以及囊泡腔；在 MF 中，则显著富集于细胞因子受体结合、磷酸酶结合等 (图 6-A)。

KEGG 通路分析表明，共同靶点显著富集于 118 条信号通路。选取富集程度最高的前 20 条通路进行展示 (图 6-B)，其中包括 NF- κ B 信号通路、TNF 信号通路、IL-17 信号通路、血管内皮生长因子 (VEGF) 信号通路以及 C 型凝集素受体信号通

润减少。

3.3 LLAPP 对 DSS 诱导 UC 小鼠血清中 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 含量的影响

小鼠血清中 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 含量，模型组与对照组相比显著升高 ($P < 0.01$)。经不同剂量 LLAPP 干预后，小鼠炎症因子的表达均较模型组显著下降 ($P < 0.01$)，表明 LLAPP 降低血清促炎细胞因子水平，抑制炎症反应 (图 4)。

3.4 网络药理学分析

获得 LLAPP 的 SMILES 结构，Swiss target Prediction 数据库中预测到 184 个药物靶点，从 GeneCards、OMIM 和 TTD 数据库获得 372 个疾病

路等与炎症及免疫反应密切相关的通路。此外，靶点亦富集于磷脂酰肌醇 3-激酶 (PI3K)-蛋白激酶 B (Akt) 信号通路、表皮生长因子受体 (EGFR) 酪氨酸激酶抑制剂耐药通路及黏着斑等与细胞存活、增殖及迁移相关的通路。结果提示，LLAPP 可能通过调控多靶点、多通路，在 UC 治疗中发挥抗炎、免疫调节及保护肠黏膜屏障的整合作用。

3.5 LLAPP 对 LPS 诱导的 RAW 264.7 细胞中 IL-6、TNF- α mRNA 表达的影响

巨噬细胞在 UC 发病过程中扮演关键角色，其分泌的 TNF- α 、IL-6 等炎症因子可显著加剧肠黏膜免疫反应及组织损伤^[26-27]。如图 7 所示，与对照组比较，模型组 IL-6 和 TNF- α mRNA 表达水平显著上升 ($P < 0.01$)；与模型组相比，各浓度 LLAPP 处理后均显著抑制了 RAW 264.7 细胞中 IL-6 和 TNF- α mRNA 表达 ($P < 0.01$)，且该抑制作用呈现明显

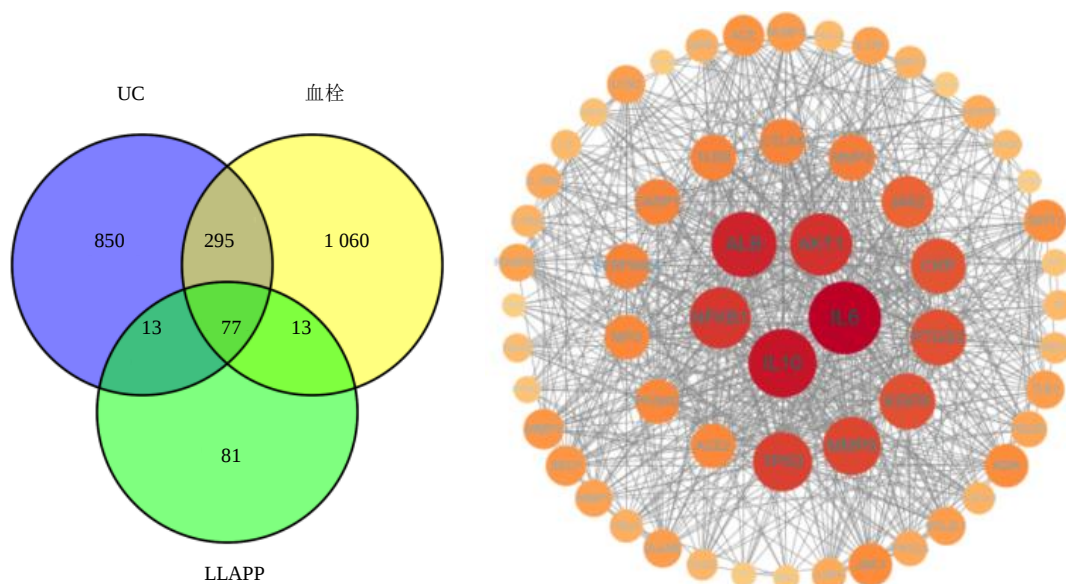


图 5 韦恩图 (A) 和 PPI 网络 (B)

Fig. 5 Venn diagram (A) and PPI network (B)

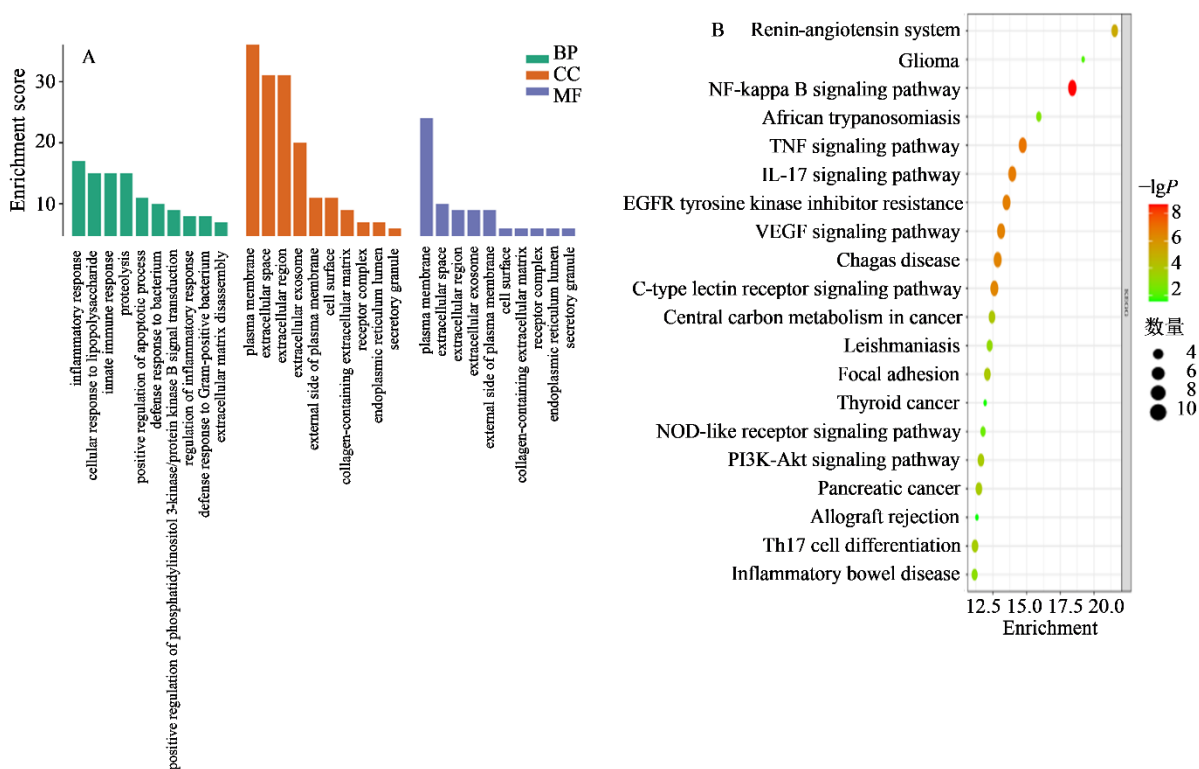


图 6 GO 功能 (A) 和 KEGG 富集分析 (B)

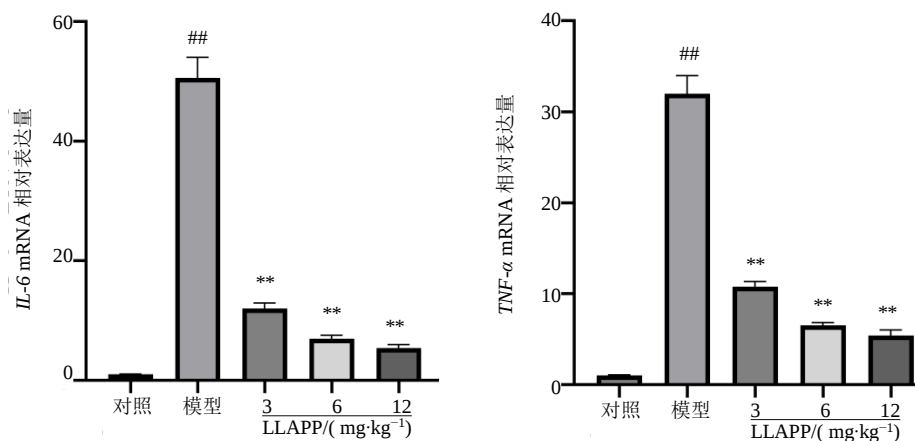
Fig. 6 GO function (A) and KEGG enrichment analysis (B)

的浓度相关性。

3.6 LLAPP 对 NF- κ B 通路蛋白表达的影响

3.6.1 LLAPP 对 DSS 诱导 UC 小鼠结肠组织 NF- κ B 通路蛋白表达的影响 NF- κ B 信号通路是 UC

发病机制中的关键调控通路,通过上调促炎因子(如 IL-6、TNF- α)的表达,导致肠黏膜损伤和炎症反应的加剧^[28-29]。如图 8 所示,结肠组织中 p-NF- κ B p65 蛋白在模型组的表达水平显著高于

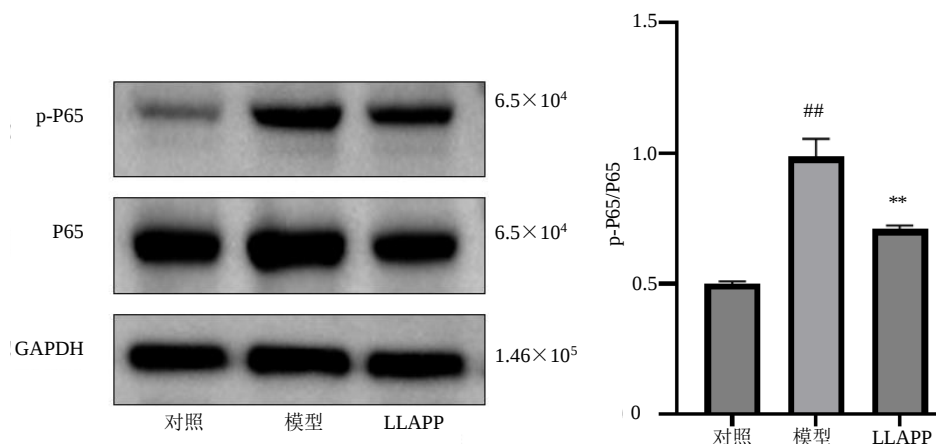


与对照组比较: ^{##} $P < 0.01$; 与模型组比较: ^{**} $P < 0.01$ 。

^{##} $P < 0.01$ vs control group; ^{**} $P < 0.01$ vs model group.

图 7 LLAPP 对 LPS 诱导的 RAW 264.7 细胞中 *IL-6* 和 *TNF-α* mRNA 相对表达量的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Fig.7 Effects of LLAPP on *IL-6* and *TNF-α* mRNA relative expression in LPS induced RAW 264.7 cells ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)



与对照组比较: ^{##} $P < 0.01$; 与模型组比较: ^{**} $P < 0.01$ 。

^{##} $P < 0.01$ vs control group; ^{**} $P < 0.01$ vs model group.

图 8 LLAPP 对 DSS 诱导 UC 小鼠结肠组织 NF-κB 通路蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Fig.8 Effect of LLAPP on expression of NF-κB pathway protein in colon tissue of DSS-induced UC mice ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

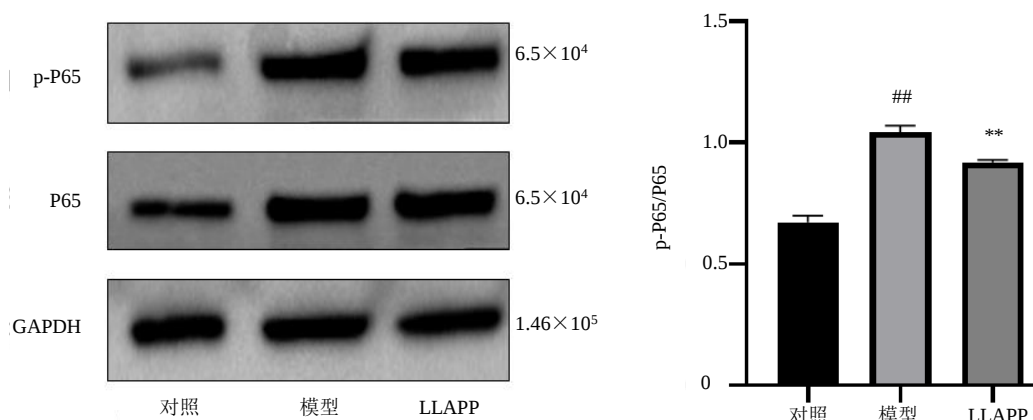
对照组 ($P < 0.01$), 表明 DSS 诱导的炎症反应激活了 NF-κB 通路; 与模型组比较, 经 LLAPP 治疗干预后, 下调了 NF-κB 蛋白的磷酸化 ($P < 0.01$)。

3.6.2 LLAPP 对 LPS 诱导的 RAW 264.7 细胞 NF-κB 信号通路的影响 NF-κB 通路与炎症反应的调节密切相关, 在 LPS 诱导的多种细胞因子合成的信号转导中起关键作用。因此, 分析了 P65、p-P65 蛋白的表达, 以进一步探索 LLAPP 抗炎的分子机制。与对照组比较, 模型组 p-P65 蛋白表达显著升高 ($P < 0.01$); 与模型组相比, LLAPP 显著下调了 p-P65 的表达水平 ($P < 0.01$) (图 9)。

4 讨论

作为传统中药, 地龙具有抗凝^[30]、抗纤维化^[31]、

抗肿瘤^[32]、降压^[33]、止咳平喘^[34]、促进创面愈合等^[35]作用。近年来研究报道显示, 地龙提取物及其活性成分对消化道溃疡及 UC 具有一定的改善作用^[36]。本实验的短肽 LLAPP, 能够减轻 UC 小鼠的 DAI 评分、改善结肠组织病理损伤、降低脾脏指数并提高生存率, 提示 LLAPP 对 UC 具有潜在的治疗作用, 可能是地龙发挥抗溃疡功效的重要物质基础之一。在 UC 疾病中, 炎症与溃疡形成关系密切, 发病过程中常伴随 TNF-α、IL-1β 和 IL-6 等促炎因子水平升高^[37]。同时, NF-κB 通路、NLR 家族 Pyrin 域蛋白 3 (NLRP3)/黑素瘤缺乏因子 2 (AIM2) 炎症小体、PI3K/Akt/VEGF 通路等^[38-39]炎症信号通路激活会进一步加剧炎症反应, 导致结肠上皮损伤、隐窝结构破坏和黏膜屏障不完整^[40], 因此控制炎症能有



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

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

图 9 LLAPP 对 LPS 诱导的 RAW 264.7 细胞 NF- κ B 信号通路的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Fig. 9 Effects of LLAPP on LPS-induced NF- κ B signaling pathway in RAW 264.7 cells ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

效改善结肠损伤, 治疗 UC。本实验结果证实地龙来源的短肽 LLAPP 能够显著降低细胞和结肠组织中 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 的表达, 并抑制 NF- κ B 通路的磷酸化水平, 从而减轻损伤改善溃疡严重程度。与现有药物的比较分析, LLAPP 展现出其独特优势。相较于传统生物制剂如抗 TNF- α 单抗 (如英夫利昔单抗), LLAPP 作为小分子肽具有生产成本更低、免疫原性更弱的潜力; 而与 5-ASA 类药物相比, 其在抑制 NF- κ B 这一核心炎症通路上表现出更强的机制针对性。基于此, LLAPP 在联合用药方面展现出广阔的探索空间。未来研究可重点关注 LLAPP 与现有标准疗法的协同效应。

值得注意的是, 除 NF- κ B 通路外, 网络药理学结果提示 LLAPP 可能通过其他关键炎症与免疫相关通路发挥协同抗溃疡作用。一方面, LLAPP 关键靶点显著富集于 TNF 信号通路与 IL-17 信号通路, 在 UC 发病中分别驱动中性粒细胞募集与激活、以及调节巨噬细胞免疫网络^[41]。另一方面, C 型凝集素受体信号通路的富集提示 LLAPP 可能参与调控肠道真菌等微生物抗原引发的免疫识别与炎症反应^[42], 这一机制在 UC 中的作用日益受到重视。此外, VEGF 信号通路和 PI3K-Akt 信号通路的协同富集与 UC 进程中血管通透性改变、紧连接蛋白的调控、肠道上皮细胞屏障功能的维持及炎症持续^[43-44]有关。因此, LLAPP 很可能通过同时干预 NF- κ B、TNF、IL-17、C 型凝集素受体以及 Akt-VEGF 等多条功能互补且相互交叉的信号轴, 在抑制过度免疫应答、维持屏障完整性及促进损伤修复等多个层面

发挥协同治疗效应。此外, 已有研究报道地龙提取物可以影响黏膜糖蛋白^[45], 降低单核细胞趋化蛋白 1 (MCP1)、巨噬细胞炎症蛋白 1 α (MIP-1 α) 和 MIP-1 β 等^[46]促炎细胞因子发挥溃疡保护和抗炎作用; 地龙还可作为治疗化疗后认知障碍的潜在药物, 通过抑制 NLRP3、TLR4 等炎症小体介导的细胞焦亡途径, 减少神经元死亡, 进而降低焦亡相关蛋白的表达水平, 从而增加大脑中成熟神经元细胞^[47]; 地龙提取物还可以通过抑制 MAPK/NF- κ B/NLRP3 信号通路活化, 调节凋亡相关蛋白表达 (促凋亡蛋白下调、抗凋亡蛋白上调) 和减少活性氧积累, 从而有效抑制炎症反应^[48]。因此, LLAPP 是否通过除 NF- κ B 通路外其他炎症相关通路发挥协同抗溃疡作用, 值得进一步探讨。

本研究表明, 地龙来源短肽 LLAPP 可能通过 NF- κ B 通路, 抑制肠道炎症, 改善 UC 小鼠的损伤。短肽 LLAPP 可能为地龙治疗 UC 的药效物质基础之一。本研究有助于更全面阐释地龙治疗溃疡类疾病的分子机制。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Du L, Ha C. Epidemiology and pathogenesis of ulcerative colitis [J]. Gastroenterol Clin North Am, 2020, 49(4): 643-654.
- [2] Miao Z X, Meng H, Wang J, et al. Autophagy in inflammatory bowel disease: Immunization, etiology, and therapeutic potential [J]. Front Immunol, 2025, 16: 1543040.

- [3] Xu L, He B J, Sun Y X, et al. Incidence of inflammatory bowel disease in urban China: A nationwide population-based study [J]. Clin Gastroenterol Hepatol, 2023, 21(13): 3379-3386.e29.
- [4] 滕宛辰, 宋远. 溃疡性结肠炎临床特征及病理学特征分析 [J]. 医药前沿, 2025, 15(6): 9-11.
Teng W C, Song Y. Clinical features and pathological characterization of ulcerative colitis [J]. J Front Med, 2025, 15(6): 9-11.
- [5] Godínez-Méndez L A, Vega-Magaña A N, Peña-Rodríguez M, et al. Galactooligosaccharides promote gut barrier integrity and exert anti-inflammatory effects in DSS-induced colitis through microbiota modulation [J]. Int J Mol Sci, 2025, 26(16): 7968.
- [6] Darlington K C, Shumway A J, Sona C, et al. Myeloid cell adhesion molecule 1 (CADM1) promotes proinflammatory signaling in human inflammatory bowel diseases [J]. Cell Mol Gastroenterol Hepatol, 2026, 20(1): 101618.
- [7] Zhang Y F, Shi T T, Lin Y L, et al. Macrophage metabolic reprogramming in inflammatory bowel diseases: From pathogenesis to therapy [J]. J Inflamm Res, 2025, 18: 11821-11839.
- [8] 谢梦欢. 山楂提取物对 DSS 诱导的小鼠急性结肠炎的预防性治疗作用研究 [D]. 南京: 南京农业大学, 2022.
Xie M H. Study on the preventive therapeutic effect of hawthorn extract on DSS-induced acute colitis in mice [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2022.
- [9] 中国药典 [S]. 一部. 2020.
Pharmacopoeia of the People's Republic of China [S]. Volume I. 2020.
- [10] 李雷, 史建伍, 刘兰玉, 等. 基于指纹图谱和化学计量学研究沪地龙基原间质量差异 [J]. 中草药, 2024, 55(21): 7462-7473.
Li L, Shi J W, Liu L Y, et al. Quality differences among Hudilong oringins based on fingerprint and chemometrics [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2024, 55(21): 7462-7473.
- [11] 王艳丽, 宁宇, 丁莹. 地龙的化学成分及药理作用研究进展 [J]. 中医药信息, 2022, 39(12): 86-89.
Wang Y L, Ning Y, Ding Y. Research progress on chemical constituents and pharmacological action of earthworm [J]. Inf Tradit Chin Med, 2022, 39(12): 86-89.
- [12] 何红, 车庆明, 孙启时. 地龙提取物的抗凝血作用 [J]. 中草药, 2007, 38(5): 733-735.
He H, Che Q M, Sun Q S. Anticoagulant effects of *Pheretima* extracts [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2007, 38(5): 733-735.
- [13] 魏玮. 地龙蛋白肽的分离纯化、结构鉴定及抗血栓活性研究 [D]. 镇江: 江苏大学, 2023.
Wei Wei. Separation, purification, structural identification, and antithrombotic activity study of earthworm protein peptides [D]. Zhenjiang: Jiangsu University, 2023.
- [14] 赵鑫, 陈旭涛, 鲁星妤, 等. 葛根素抑制巨噬细胞 NLRP3 炎症小体表达减轻溃疡性结肠炎及其初步机制分析 [J]. 中国免疫学杂志, 2025, 41(4): 775-782.
Zhao X, Chen X T, Lu X Y, et al. Puerarin inhibits expression of macrophage NLRP3 inflammasome to alleviate ulcerative colitis and preliminary analysis of its mechanism [J]. Chin J Immunol, 2025, 41(4): 775-782.
- [15] 朱云飞, 刘传国, 赵楠, 等. 基于 miR-130a/PPAR γ /Occludin 信号通路的参苓白术散对溃疡性结肠炎小鼠肠道屏障功能影响的探究 [J]. 时珍国医国药, 2025, 36(22): 4228-4234.
Zhu Y F, Liu C G, Zhao N, et al. Investigation on the effects of Shenling Baizhu Powder (参苓白术散) on intestinal barrier function in ulcerative colitis mice based on the miR-130a/PPAR γ /Occludin signaling pathway [J]. Lishizhen Med Mater Med Res, 2025, 36(22): 4228-4234.
- [16] 魏炳琦, 陈柳, 张剑平, 等. 活性肽复合物对慢性酒精性肝损伤小鼠的保护作用及机制 [J/OL]. 食品与发酵工业, 1-10 [2025-11-14]. <https://doi.org/10.13995/j.cnki.11-1802/ts.044047>
Wei B Q, Chen L, Zhang J P, et al. Protective effect and mechanism of active peptide complex on chronic alcoholic liver injury in mice [J/OL]. Food Ferment Indust, 1-10 [2025-11-14]. <https://doi.org/10.13995/j.cnki.11-1802/ts.044047>
- [17] 冯鑫, 刘金玉. 东北榛蘑活性肽对小鼠抗疲劳作用及其肠道微生物的影响 [J]. 粮食与油脂, 2025, 38(9): 133-140, 162.
Feng X, Liu J Y. Effects of Northeast *Armillaria mellea* active peptides on anti-fatigue and gut microbiota in mice [J]. Cereals Oils, 2025, 38(9): 133-140, 162.
- [18] 金丹莉. 橙足海参 (*Cucumaria frondosa*) 肽对溃疡性结肠炎小鼠的改善机制研究 [D]. 杭州: 浙江工商大学, 2024.
Jin D L. Study on the improvement mechanism of *Cucumaria Frondosa* peptides on ulcerative colitis mice [D]. Hangzhou: Zhejiang Gongshang University, 2024.
- [19] 杨娟, 王宏雨, 陈婕婷, 等. 珊瑚猴头菌粗多糖对 DSS 诱导的小鼠慢性结肠炎的预防作用 [J/OL]. 菌物学报, 1-15 [2025-11-14]. <https://doi.org/10.13346/j.mycosys.tema.250151>.
Yang J, Wang H Y, Chen J T, et al. Preventive effects of *Hericium coralloides* crude polysaccharides on DSS-induced chronic colitis in mice [J/OL]. Mycosystema, 1-

- 15 [2025-11-14]. <https://doi.org/10.13346/j.mycosystema.250151>.
- [20] 萧菲. 槐角苷对 DSS 诱导的小鼠溃疡性结肠炎模型的影响及其机制 [D]. 延边: 延边大学, 2024.
Xiao F. The Effects and Mechanisms of sophoricoside on DSS-induced ulcerative colitis model in mice [D]. Yanbian: Yanbian University, 2024.
- [21] Hamamoto N, Maemura K, Hirata I, et al. Inhibition of dextran sulphate sodium (DSS)-induced colitis in mice by intracolonicly administered antibodies against adhesion molecules (endothelial leucocyte adhesion molecule-1 (ELAM-1) or intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1)) [J]. Clin Exp Immunol, 1999, 117(3): 462-468.
- [22] Liu Y S, Wang Q C, Luo T T, et al. Baicalin ameliorates ulcerative colitis by regulating macrophage polarization through the JAK1/STAT1/SOCS1 pathway [J]. J Ethnopharmacol, 2025, 359121057.
- [23] Liu K J, Shi C, Yan C Q, et al. Fufangxiaopi for mula alleviates DSS-induced colitis in mice by inhibiting inflammatory reaction, protecting intestinal barrier and regulating intestinal microecology [J]. J Ethnopharmacol, 2024, 319(Pt 3): 117365.
- [24] 陈孜旋, 佟苗苗, 吴庆林, 等. 薏苡仁对葡聚糖硫酸钠诱导的溃疡性结肠炎小鼠肠道菌群的影响 [J]. 食品工业科技, 2025, 46(6): 369-376.
Chen Z X, Tong M M, Wu Q L, et al. Effects of Coix seed on intestinal flora dextran sulfate sodiuminduced ulcerative colitis in mice [J]. Sci Technol Food Ind, 2025, 46(6): 369-376.
- [25] Kim H, Jeong S, Kim S W, et al. indigo naturalis in inflammatory bowel disease: Mechanisms of action and insights from clinical trials [J]. J Pharmacopunct, 2024, 27(2): 59-69.
- [26] 郭媛媛, 朱志坤, 王飘, 等. 复方柏连制剂对小鼠抗炎镇痛作用及湿热型 UC 模型大鼠 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 表达的影响 [J]. 医药导报, 2023, 42(8): 1104-1109.
Guo Y Y, Zhu Z K, Wang P, et al. Anti-inflammatory and analgesic effects of compound Bailian preparation in mice and the expressions of TNF- α , IL-6 and IL-1 β in damp-heat ulcerative colitis model rats [J]. Her Med, 2023, 42(8): 1104-1109.
- [27] 杨爱龙, 阚成国, 韩雪, 等. 马勃灌肠液对溃疡性结肠炎模型小鼠 TNF- α /IL-6 细胞因子的影响及疗效研究 [J]. 中医药学报, 2022, 50(12): 32-37.
Yang A L, Kan C G, Han X, et al. Effect of *Mabo Enema* on cytokines of TNF- α and IL-6 in UC model mice [J]. Acta Chin Med Pharmacol, 2022, 50(12): 32-37.
- [28] Li S, Lu S Y, Xiong J H, et al. Hydroxyethyl starch-curcumin nanoparticles ameliorate DSS-induced ulcerative colitis in mice via synergistic TLR4/NF- κ B suppression, Nrf2 activation, intestinal barrier restoration, and gut microbiota modulation [J]. Front Pharmacol, 2025, 16: 1610711.
- [29] Cao L, Tang X Q, Wang X M, et al. Psoralen alleviates ulcerative colitis by suppressing inflammation, modulating oxidative stress, and regulating ferroptosis [J]. Eur J Pharmacol, 2025, 1005: 178081.
- [30] 商焯, 齐丽娜, 金华, 等. 地龙化学成分及药理活性研究进展 [J]. 药物评价研究, 2022, 45(5): 989-996.
Shang Y, Qi L N, Jin H, et al. Research development of *Pheretima* on chemical composition and pharmacological activity [J]. Drug Eval Res, 2022, 45(5): 989-996.
- [31] Luo F H, Zeng F F, Ren X, et al. *Pheretima*: A system review of zoology, traditional applications, processing technology, chemical composition, pharmacologic activities, quality control and toxicity [J]. J Ethnopharmacol, 2025, 351: 120093.
- [32] 赫悠然, 李梅信, 周艳, 等. 地龙化学成分、药理作用及质量标志物预测分析 [J]. 广西医学, 2025, 47(4): 619-622.
He Y R, Li M X, Zhou Y, et al. Prediction analysis of the chemical composition, pharmacological effects and quality markers of earthworm [J]. Guangxi Med J, 2025, 47(4): 619-622.
- [33] 刘凡敏, 殷佳, 吕明月, 等. 地龙炮制方法、药理作用及质量标志物预测分析的研究进展 [J]. 药学研究, 2025, 44(3): 275-281.
Liu F M, Yin J, Lü M Y, et al. Research progress on processing methods, pharmacological effects and predictive analysis of quality markers of earth-worm [J]. J Pharm Res, 2025, 44(3): 275-281.
- [34] 韩维维, 张彤, 夏光萍, 等. 地龙治疗呼吸系统疾病的机制研究进展 [J]. 四川中医, 2025, 43(1): 206-210.
Han W W, Zhang T, Xia G P, et al. Research progress on the mechanism of earthworm in treating respiratory diseases [J]. J Sichuan Tradit Chin Med, 2025, 43(1): 206-210.
- [35] Rajagopalan K, Selvan Christyraj J D, Selvan Christyraj J R S, et al. Enhancing the wound healing potential using earthworm clitellum factors and elucidating its molecular mechanism in an *in-vitro* and earthworm model [J]. Sci Rep, 2024, 14(1): 28086.
- [36] 武玲. 蚯蚓提取物对葡聚糖硫酸钠诱导小鼠溃疡性结肠炎的影响研究 [D]. 昆明: 云南农业大学, 2023.
Wu L. Study on the effects of earthworm extracts on

- ulcerative colitis induced by dextran sulfate sodium in mice [D]. Kunming: Yunnan Agricultural University, 2023.
- [37] 王彩平, 徐晓, 王晶磊, 等. 地衣芽孢杆菌活菌胶囊对溃疡性结肠炎的临床疗效及血清 TNF- α 、IL-6、IL-10 水平的影响 [J]. 浙江中西医结合杂志, 2025, 35(8): 720-723.
- Wang C P, Xu X, Wang J L, et al. Clinical efficacy of *Bacillus licheniformis* Capsules on ulcerative colitis and their effects on serum TNF- α , IL-6, and IL-10 levels [J]. Zhejiang J Integr Tradit Chin West Med, 2025, 35(8): 720-723.
- [38] Chao L M, Zhang W J, Feng Y C, et al. Qingqiao polyphenols improve DSS induced ulcerative colitis in mice by inhibiting NLRP3/AIM2 inflammasome mediated pyroptosis [J]. J Ethnopharmacol, 2026, 354: 120480.
- [39] Lee J, Ko I G, Lee M, et al. Adenosine A(2A) receptor agonist polydeoxyribonucleotide ameliorates acetic acid-induced ulcerative colitis via modulating PI3K/Akt/VEGF signaling pathway [J]. Eur J Pharmacol, 2025, 1005: 178072.
- [40] 武玲, 张航瑜, 杨卫星, 等. 蚯蚓提取物对葡聚糖硫酸钠诱导小鼠溃疡性结肠炎的影响 [J]. 云南农业大学学报, 2023, 38(11): 959-965.
- Wu L, Zhang H Y, Yang W X, et al. Effects of earthworm extracts on dextran sulfate sodium-induced ulcerative colitis in mice [J]. J Yunnan Agric Univ Soc Sci, 2023, 38(11): 959-965.
- [41] Li M X, Wu J Z, Li D, et al. Baicalin ameliorates dextran sulfate solidum-induced colitis by modulating Th17-macrophage immune network via JAK2/STAT3/IL-17/NF- κ B pathway [J]. Phytomedicine, 2025, 148: 157414.
- [42] Wolkamp S C S, Verstege M I, Vogels E W M, et al. Single nucleotide polymorphisms in C-type lectin genes, clustered in the IBD2 and IBD6 susceptibility loci, may play a role in the pathogenesis of inflammatory bowel diseases [J]. Eur J Gastroenterol Hepatol, 2012, 24(8): 965-970.
- [43] Li N, Zhao L, Geng X Y, et al. Stimulation by exosomes from hypoxia-preconditioned hair follicle mesenchymal stem cells facilitates mitophagy by inhibiting the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway to alleviate ulcerative colitis [J]. Theranostics, 2024, 14(11): 4278-4296.
- [44] Li C C, Wang L, Zhao J B, et al. *Lonicera rupicola* Hook.f. et Thoms flavonoids ameliorated dysregulated inflammatory responses, intestinal barrier, and gut microbiome in ulcerative colitis via PI3K/AKT pathway [J]. Phytomedicine, 2022, 104: 154284.
- [45] Prakash M, Gunasekaran G. Gastroprotective effect of earthworm paste (*Lampito mauritii*, Kinberg) on experimental gastric ulcer in rats [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2010, 14(3): 171-176.
- [46] Balamurugan M, Parthasarathi K, Cooper E L, et al. Anti-inflammatory and anti-pyretic activities of earthworm extract-*Lampito mauritii* (Kinberg) [J]. J Ethnopharmacol, 2009, 121(2): 330-332.
- [47] Cui Y Q, Liu Y S, Pan X L, et al. Dilong (Earthworm) alleviates cyclophosphamide-induced brain injury by reducing mitochondrial damage in neuronal cells [J]. Neuroscience, 2025, 567: 37-44.
- [48] Oh Y C, Jeong Y H, Yang H J, et al. Lumbricus extract prevents LPS-induced inflammatory activation of BV2 microglia and glutamate-induced hippocampal HT22 cell death by suppressing MAPK/NF- κ B/NLRP3 signaling and oxidative stress [J]. Curr Issues Mol Biol, 2023, 45(12): 9926-9942.