

长梗冬青苷对葡聚糖硫酸钠诱导的溃疡性结肠炎小鼠的治疗作用及机制

黄炎芬^{1,2,4}, 苏倩^{1,2#}, 邹先敏^{1,2}, 沈鹏飞^{1,2}, 廖莲婷^{1,2}, 肖琳钰³, 杨世林^{1,2}, 苑仁祎坤^{1,2*}, 高红伟^{1*}

1. 广西中医药大学中医药壮瑶医药研究院, 广西 南宁 530020
2. 广西中医药大学药学院, 广西 南宁 530020
3. 广西中医药大学基础医学院, 广西 南宁 530020
4. 广西中医药大学附属国际壮医医院, 广西 南宁 530020

摘要: 目的 探讨长梗冬青苷 (pedunculoside, PE) 对葡聚糖硫酸钠 (dextran sulfate sodium salt, DSS) 诱导溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 的治疗作用, 并从体内外模型阐明其分子机制。方法 采用 DSS 诱导建立小鼠 UC 模型, 联合转录组学分析, 评估 PE 对小鼠体质量变化、结肠长度、结肠组织病理、结肠组织中促炎因子水平以及紧密连接蛋白 (Occludin、E-cadherin、Claudin-1) 表达的影响。采用 Caco-2 单层细胞模型, 利用异硫氰酸荧光素-葡聚糖 (FITC-葡聚糖) 检测细胞通透性, 评估 PE 对肠黏膜基础屏障功能的影响; 通过 Western blotting、ELISA 等分子生物学实验进一步验证 PE 对磷脂酰肌醇 3-激酶 (phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K) /蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt) 信号通路、炎症因子及紧密连接蛋白表达与分布的调控作用。结果 体内实验结果显示, PE 能显著降低小鼠疾病活动指数 (disease activity index, DAI) 评分 ($P < 0.001$), 减轻结肠组织病理损伤, 降低促炎因子水平 ($P < 0.05$ 、 0.001), 上调结肠组织中紧密连接蛋白表达 ($P < 0.001$); 转录组测序发现 PE 对 UC 小鼠结肠组织中过度激活的 PI3K/Akt 信号通路具有显著的抑制作用 ($P < 0.001$)。体外实验结果显示, PE 能显著降低 Caco-2 单层细胞的通透性 ($P < 0.001$), 抑制 DSS 诱导的 Caco-2 细胞模型中 Akt、PI3K 的磷酸化 ($P < 0.01$ 、 0.001), 降低炎症因子水平 ($P < 0.01$ 、 0.001), 同时上调 Occludin、E-cadherin、Claudin-1 表达 ($P < 0.001$)。结论 PE 在体内外模型中均能通过抑制 PI3K/Akt 信号通路下调炎症反应并增强肠上皮屏障功能, 从而发挥对 DSS 诱导的 UC 的保护作用。

关键词: 溃疡性结肠炎; 长梗冬青苷; 转录组; PI3K/Akt 信号通路; 肠黏膜屏障; 炎症因子

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2026)11-4212-12

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.11.012

Therapeutic effect and mechanism of pedunculoside on dextran sulfate-induced ulcerative colitis in mice

HUANG Yanfen^{1,2,4}, SU Qian^{1,2}, ZOU Xianmin^{1,2}, SHEN Pengfei^{1,2}, LIAO Lianting^{1,2}, XIAO Linyu³, YANG Shilin^{1,2}, YUAN Renyikun^{1,2}, GAO Hongwei¹

1. Institute of Traditional Chinese Medicine and Zhuang-Yao Ethnic Medicine, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530020, China
2. College of Pharmacy, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530020, China
3. Basic Medical College, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530020, China
4. International Zhuang Medicine Hospital Afiliated to Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530020, China

Abstract: Objective To investigate the therapeutic effect of pedunculoside (PE) on dextran sulfate sodium salt (DSS)-induced ulcerative colitis (UC) and elucidate its molecular mechanism through *in vitro* and *in vivo* models. **Methods** DSS was used to establish a mouse UC model, combined with transcriptome analysis, the effect of PE on changes in body weight, colon length, colon tissue

收稿日期: 2026-01-14

基金项目: 广西青年岐黄学者培育项目 (GXQH202408); 广西青年科技人才托举工程 (GXYES2025031)

作者简介: 黄炎芬 (1992—), 女, 硕士研究生, 研究方向为药理学。E-mail: 874114286@qq.com

#共同第一作者: 苏倩 (1999—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中药药理学。E-mail: suqian7426@126.com

*通信作者: 苑仁祎坤 (1990—), 女, 博士, 副研究员, 主要从事中药抗肿瘤与免疫药理学机制研究。E-mail: yryk0808@163.com

高红伟 (1986—), 男, 博士, 研究员, 主要从事中药抗炎与免疫机制研究。E-mail: gaohongwei06@126.com

pathology, pro-inflammatory cytokine levels in colon tissue, and expressions of tight junction proteins (Occludin, E-cadherin, Claudin-1) were evaluated. Caco-2 monolayer cell model was established, the cell permeability was detected using fluorescein isothiocyanate-glucan (FITC-glucan) to evaluate the effect of PE on intestinal mucosal barrier function. Further validation of the regulatory effect of PE on phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)/protein kinase B (Akt) signaling pathway, inflammatory factors, and tight junction protein expression and distribution was achieved through molecular biology experiments such as Western blotting and ELISA. **Results** The results of *in vivo* experiments showed that PE could significantly reduce the disease activity index (DAI) score of mice ($P < 0.001$), alleviate pathological damage to colon tissue, reduce pro-inflammatory cytokine levels ($P < 0.05, 0.001$), and upregulate the expressions of tight junction proteins in colon tissue ($P < 0.001$). Transcriptome sequencing revealed that PE had a significant inhibitory effect on the overactivated PI3K/Akt signaling pathway in colon tissue of UC mice ($P < 0.001$). *In vitro* experimental results showed that PE could significantly reduce the permeability of Caco-2 monolayer cells ($P < 0.001$), inhibit the phosphorylation of Akt and PI3K in DSS-induced Caco-2 cell model ($P < 0.01, 0.001$), reduce the levels of inflammatory factors ($P < 0.01, 0.001$), and upregulate the expressions of Occludin, E-cadherin and Claudin-1 ($P < 0.001$). **Conclusion** PE could downregulate inflammatory response and enhance intestinal epithelial barrier function by inhibiting PI3K/Akt signaling pathway in both *in vivo* and *in vitro* models, thereby exerting a protective effect on DSS-induced UC.

Key words: ulcerative colitis; pedunculoid; transcriptome; PI3K/Akt signaling pathway; intestinal mucosal basal barrier; inflammatory factors

溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 作为一种慢性、间歇发作的肠道炎症性疾病^[1], 其病理特征主要表现为直肠与乙状结肠区域黏膜及黏膜下层的持续性炎症损伤, 且病变呈连续性分布^[2]。临床上, UC 常以腹痛、黏液脓血便、腹泻等症状反复发作, 并伴有因慢性炎症导致的进行性体质量下降、贫血及疲劳等全身性表现^[3]。UC 的发病机制涉及多因素、多层次的复杂网络, 现代研究普遍认为, UC 的发生是遗传易感性、环境、肠道微生态失调、黏膜屏障功能障碍及免疫应答异常等多重因素共同作用的结果^[4]。近年来, UC 的发病率逐年升高^[5]。当前研究数据显示, UC 在临床环境下的改善比例仅能达到 30%~60%, 并且有相当比例的患者仍需接受外科手术治疗^[6]。尽管当前针对 UC 的治疗方案已综合运用 5-氨基水杨酸 (5-aminosalicylic acid, 5-ASA)、糖皮质激素、免疫抑制剂以及靶向生物制剂等多种药物^[7], 但临床疗效有限, 患者缓解率低, 部分患者对药物反应差或依赖。治疗药物存在治疗窗窄、长期使用引发严重不良反应等问题, 如糖皮质激素可能引起库欣综合征、骨质疏松等, 免疫抑制剂易增加感染风险, 生物制剂虽靶向性强, 但成本高且存在其他风险, 且药物停用后复发率高, 疗效有限^[8]。因此, 鉴于 UC 的高患病率、高复发率特征以及现有治疗手段的局限性, 迫切需要开发一种能够多靶点调节肠道炎症反应、促进黏膜修复、重建肠道微生态平衡, 同时兼具高效性与安全性的新型治疗策略的天然药物。

救必应 *Ilex rotunda* Thunb. 作为传统中药, 用于

治疗湿热泻痢、风湿痹痛等^[9]。现代药理学研究证实, 救必应具有良好的抗炎、抗氧化、抗菌及胃黏膜保护作用^[10-11]。长梗冬青苷 (pedunculoid, PE) 是救必应中提取的五环三萜类皂苷成分, 是救必应的主要成分^[12]。现有研究表明, PE 可通过调控核因子- κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B)、丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 等多种关键信号通路, 显著抑制白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、IL-6 和肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 等促炎细胞因子的过度生成, 同时减少环氧合酶-2 (cyclooxygenase-2, COX-2) 和诱导型一氧化氮合酶 (inducible nitric oxide synthase, iNOS) 等促炎介质的表达, 从而在体内和体外炎症模型中展现出显著的抗炎效应^[13]。尽管 PE 的抗炎活性已得到初步证实, 但其在炎症性肠病, 特别是葡聚糖硫酸钠 (dextran sulfate sodium salt, DSS) 诱导的 UC 小鼠模型中的作用及相关分子机制尚未得到系统研究。磷脂酰肌醇 3-激酶 (phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)/蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt) 信号通路是细胞内关键的生存与增殖信号转导通路, 在调控炎症反应、细胞凋亡和肠黏膜屏障功能方面起重要作用^[14], 其异常活化和多种炎症性疾病的发生发展密切相关, 在 DSS 诱导的 UC 病理过程中, PI3K/Akt 信号通路过度激活常伴随炎症加剧、上皮细胞紧密连接蛋白丢失和肠黏膜通透性增加^[15]。因此, 研究 PE 能否通过调节 PI3K/Akt 信号通路干预 UC 病理进程, 对揭示其作用靶点和分子机制有重

要意义。本研究通过构建 DSS 诱导的 UC 小鼠模型并结合体外细胞实验,探讨 PE 对 UC 的治疗作用及潜在作用机制。

1 材料

1.1 动物

50 只 SPF 级雄性 C57BL/6J 小鼠,7 周龄,体质量 20~22 g,由广东维通利华实验动物技术有限公司提供,实验动物生产许可证号 SCXK(粤)2022-0063。动物饲养于室温 22~25 °C、相对湿度 45%~55%、12 h 昼夜循环照明的环境中,自由进食。动物实验经广西中医药大学伦理委员会批准(批准号 GXTCMU-ECKS20250000-298)。

1.2 细胞株

人结肠癌 Caco-2 细胞(货号 CBP60025)购自中国科学院细胞库。

1.3 药品与试剂

PE(批号 PS0747-0100,质量分数 \geq 98%)购自成都普什生物科技有限公司,结构式见图 1;5-ASA(批号 A129982-25 mg)、二甲基亚砜(批号 D821822)、DSS(批号 D808272)购自上海麦克林生化科技股份有限公司;BCA 蛋白浓度测定试剂盒(批号 A55864)购自 Thermo Fisher Scientific 公司;Omni-ECL 超灵敏化学发光检测试剂盒(批号 SQ201)购自上海雅酶生物医药科技有限公司;Western blot 细胞裂解液(批号 P0013)购自上海碧云天生物技术股份有限公司;E-cadherin 抗体(批号 8480S)、Akt 抗体(批号 4641S)、p-Akt 抗体(批号 4046S)、PI3K 抗体(批号 4249S)、p-PI3K 抗体(批号 4228S)购自美国 CST 公司;异硫氰酸荧光素-葡聚糖(FITC-葡聚糖,批号 46944)购自美国 Sigma 公司;人 TNF- α 试剂盒(批号 S0C3024-HL2)、人 IL-6 试剂盒(批号 S0C3004)、人 IL-1 β 试剂盒(批号 S0C3013)购自杭州斯达特生物科技有限公司;Occludin 抗体(批号 ET1701-76)、Claudin-1 抗体(批号 HA721999)、GAPDH 抗体(批号 SA30-

01)、二抗(批号 HA1012)、小鼠 TNF- α 试剂盒(批号 EM0010)、小鼠 IL-6 试剂盒(批号 EM0004)、小鼠 IL-1 β 试剂盒(批号 EM0029)购自杭州华安生物技术有限公司。

1.4 仪器

BX53 型荧光正置显微镜(日本 Olympus 公司);MLS-3751L-PC 型高压蒸汽灭菌锅(日本 Panasonic 公司);SYNERGYH1 型多功能微孔板检测仪(美国 Bio-Tek 公司);BLL-10B 型恒温金属浴(上海比朗仪器制造有限公司);PS-M3D 型多功能三维摇床(英国 Grant 公司);5430R 型高速冷冻离心机(德国 Eppendorf 公司);Milli-Q IQ 7000 型超纯水系统(美国 Millipore 公司);SB-800DTD 型超声波清洗机(宁波新芝科技有限公司);SP5II 型激光扫描共聚焦显微镜(美国 Leica 公司);BC-5000Vet 兽用全自动血液细胞分析仪(深圳迈瑞生物医疗电子有限公司)。

2 方法

2.1 体内实验

2.1.1 动物造模及给药 动物适应性饲养 7 d 后,随机对照组、模型组及 PE 低、高剂量(20、40 mg/kg^[12])组和 5-ASA(150 mg/kg)组,每组 10 只。对照组自由饮用纯净水,其余小鼠饮用 3% DSS 溶液诱导 UC 模型,每 2 d 更换 1 次 DSS 溶液。各给药组 ig 相应药物(10 mL/kg),对照组和模型组 ig 等体积的生理盐水,1 次/d,持续造模及给药 7 d。

2.1.2 疾病活动指数(disease activity index, DAI)评分测定 造模期间,每日给药前记录小鼠体质量,观察粪便状态,查看小鼠腹泻与出血情况,采用 DAI 评分量化炎症程度。DAI 评分标准见表 1。

2.1.3 血常规检测 末次给药 24 h 后,麻醉小鼠并采集眼眶外周血,采用血细胞计数仪检测血液中白细胞、中性粒细胞数量,并统计中性粒细胞与淋巴细胞的比值。

表 1 DAI 评分标准

Table 1 DAI scoring scale

| 体质量下降率(x)/% | 粪便形态 | 隐血分数 | 分数 |
|-------------|------------|------|----|
| 0<x≤1 | 正常 | 正常 | 0 |
| 1<x≤5 | 松散(不附着于肛门) | 较为正常 | 1 |
| 5<x≤10 | 松散(附着于肛门) | 轻微阳性 | 2 |
| 10<x≤15 | 腹泻 | 阳性 | 3 |
| 15<x≤20 | 严重腹泻 | 肉眼便血 | 4 |

DAI 评分=(体质量下降率分数+粪便形态分数+隐血分数)/3

DAI score=(body weight loss rate score + fecal morphology score + occult blood score)/3

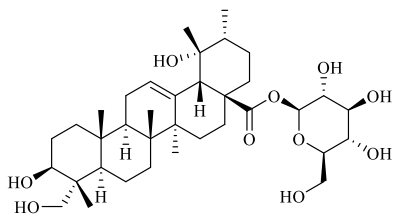


图 1 PE 的化学结构式

Fig. 1 Chemical structure of PE

2.1.4 苏木素-伊红 (hematoxylin-eosin, HE) 染色 观察结肠组织病理变化 采血结束后, 将小鼠安乐死, 迅速分离直肠, 记录长度后, 用生理盐水冲洗干净, 滤纸吸干水分, 采用 4%多聚甲醛固定, 经包埋、切片后进行 HE 染色, 于光学显微镜下观察组织病理学改变。

2.1.5 ELISA 检测结肠组织中炎症因子水平 取 20 mg 结肠组织, 加入 9 倍量预冷的生理盐水, 结合研磨磁珠经组织研磨机制备组织匀浆, 4 °C、3 000 r/min 离心 15 min, 分离上清。按照 ELISA 试剂盒说明书检测 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 水平。

2.1.6 免疫荧光检测结肠组织 FITC-葡聚糖及肠黏膜相关蛋白表达 取部分结肠组织, 经固定、包埋、切片、封闭后, 孵育一抗、二抗, 在荧光显微镜下观察目的蛋白分布情况。

2.1.7 Western blotting 检测结肠组织中肠黏膜相关蛋白、PI3K/Akt 信号通路相关蛋白的表达 取新鲜结肠组织, 加入强裂解液研磨, 4 °C、3 000 r/min 离心 15 min, 取上清, 采用 BCA 试剂盒测定蛋白浓度, 加入 5 \times SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液混匀后, 97 °C 金属浴 7 min 使蛋白变性。蛋白样品经 10%十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳, 转至 PVDF 膜, 加入脱脂牛奶封闭 2 h 后, 加入一抗(1:1 000), 4 °C 孵育过夜; TBST 洗涤后, 加入二抗(1:500), 室温孵育 2 h; TBST 洗涤后, 加入 ECL 化学发光试剂显影, 通过凝胶成像系统检测, 并分析条带灰度值。

2.1.8 转录组分析 按照试剂盒说明书提取结肠组织中总 RNA, 经 Nanodrop 2000 与琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 浓度、纯度及完整性, 并满足建库要求(总量 \geq 1 μ g, RQN $>$ 6.5, A_{260}/A_{280} 为 1.8~2.2)。利用 Oligo(dT)磁珠富集 mRNA, 并将其片段化至约 300 bp。以片段化 mRNA 为模板, 经反转录合成双链 cDNA, 末端修复后连接接头, 再经片段筛选与 PCR 富集, 完成文库构建。最终文库根据实验需求选择在 NovaSeq X Plus 平台(经桥式 PCR 生成簇)或 DNBSEQ 平台(通过环化制备 DNA 纳米球)进行高通量测序。

2.2 体外实验

2.2.1 细胞培养 Caco-2 细胞用含 10%胎牛血清、1%青霉素(100 IU/mL)和链霉素(100 μ g/mL)的 DMEM 培养基, 于 37 °C、5% CO₂ 细胞培养箱中培养。

2.2.2 MTT 法检测细胞活力

(1) PE 和 3% DSS 溶液对细胞活力的影响: 取对数生长期的 Caco-2 细胞, 以 8×10^3 个/孔接种于 96 孔板中, 培养 24 h。分别加入 10、20、40、80、100、200 μ mol/L PE 或 3% DSS 溶液^[6], 处理 24 h。另设置对照组加入不含药物的培养基。弃去培养基, 加入 MTT 试剂, 避光孵育 3~4 h; 3 000 r/min 离心 5 min, 弃去上清液, 每孔加入 100 μ L 二甲苯亚砷溶解甲瓚结晶, 采用酶标仪测定 490 nm 波长处的吸光度(A)值。

(2) PE 对 3% DSS 溶液诱导的细胞活力的影响: 取对数生长期的 Caco-2 细胞, 以 8×10^3 个/孔接种于 96 孔板中, 培养 24 h。设置对照组、模型组和 PE(10、20、40 μ mol/L)组。对照组加入不含药物的培养基, 模型组加入 3% DSS 溶液, 给药组加入 3% DSS 溶液和不同浓度的 PE, 处理 24 h。采用 MTT 法测定细胞活力。

2.2.3 ELISA 检测炎症因子水平 按“2.2.2 (2)”项下方法进行分组和给药, 收集细胞上清液, 按照试剂盒说明书测定 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 水平。

2.2.4 FITC-葡聚糖检测 Caco-2 细胞屏障渗透性 取对数生长期的 Caco-2 细胞, 用含 10%胎牛血清的 DMEM 培养基制备细胞悬液, 以 1×10^4 个/孔接种于 Transwell 上室(每孔 200 μ L), 下室加入 500 μ L 含 10%胎牛血清的 DMEM 培养基, 于 37 °C、5% CO₂ 培育箱中培养 14 d。待细胞形成细胞屏障层后, 按“2.2.2 (2)”项下方法进行分组和给药。上室加入 1 mg/mL FITC-葡聚糖, 下室加入培养基, 避光孵育 2 h。收集培养基, 采用酶标仪检测下室培养基荧光强度。

2.2.5 Western blotting 检测肠黏膜相关蛋白、PI3K/Akt 信号通路相关蛋白的表达 将 Caco-2 细胞接种于 6 cm 细胞培养皿中, 每皿 1×10^7 个, 培养 24 h。按“2.2.2 (2)”项下方法进行分组和给药, 弃去培养基, 用预冷的 PBS 缓冲液冲洗 2 次, 加入裂解液裂解 10 min 后, 刮除细胞, 收集于 1.5 mL EP 管中。4 °C、15 000 r/min 离心 15 min 后, 取上清液, 采用 BCA 试剂盒测定蛋白浓度。按“2.1.7”项下方法检测相关蛋白的表达。

2.3 统计学分析

通过 Graph Pad Prism 9.0 软件进行统计分析, 结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 数据经正态分布与对数正态性检测符合要求后, 采用单因素方差分析(One-way

ANOVA) 方法对各组数据进行差异性评估。

3 结果

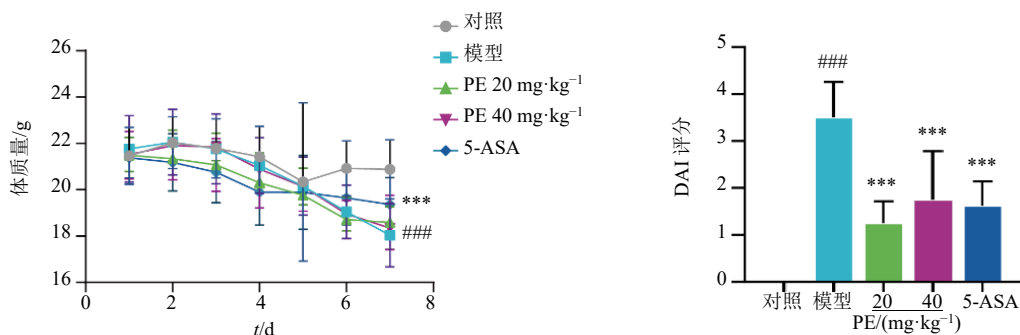
3.1 PE 对 DSS 诱导的 UC 小鼠体质量和 DAI 评分的影响

如图 2 所示, 与对照组比较, 模型组小鼠体质量显著降低 ($P < 0.001$); 给予 PE 和 5-ASA 干预后, 小鼠体质量有升高趋势, 其中 5-ASA 组有统计学差异 ($P < 0.001$)。与对照组比较, 模型组小鼠 DAI 评分显著升高 ($P < 0.001$); 给予 PE 和 5-ASA 干预

后小鼠 DAI 评分显著降低 ($P < 0.001$)。

3.2 PE 对 DSS 诱导的 UC 小鼠血常规及结肠组织炎症因子水平的影响

如图 3-A 所示, 与对照组比较, 模型组小鼠白细胞和中性粒细胞数量显著升高 ($P < 0.01$ 、 0.001), 中性粒细胞/淋巴细胞值显著升高 ($P < 0.001$); 与模型组比较, PE 低剂量组白细胞数量显著降低 ($P < 0.05$), PE 低、中剂量组中性粒细胞数量显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01), 各给药组中性粒细胞/淋巴细胞值



与对照组比较: ### $P < 0.01$ #### $P < 0.001$; 与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$, 下同。
$P < 0.01$ #### $P < 0.001$ vs control group; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs model group, same as below figures.

图 2 PE 对 DSS 诱导的 UC 小鼠体质量和 DAI 评分的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 2 Effect of PE on body weight and DAI score of DSS-induced UC mice ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

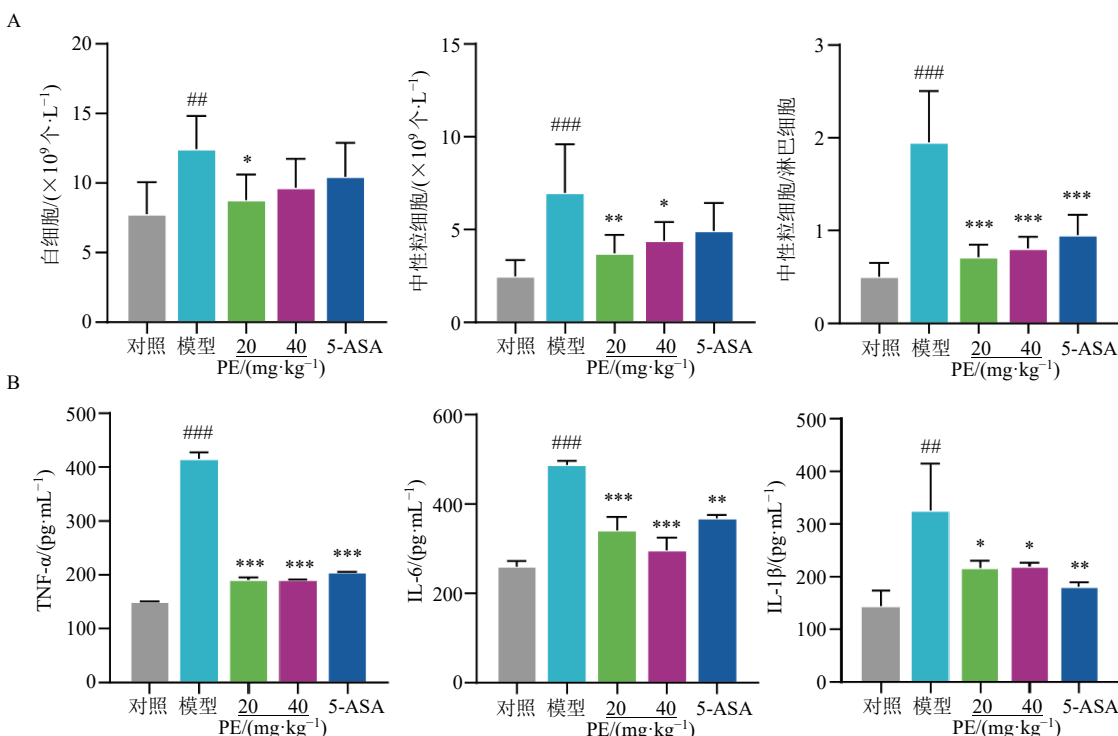


图 3 PE 对 DSS 诱导的 UC 小鼠血常规 (A) 及结肠组织中炎症因子水平 (B) 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 3 Effect of PE on blood routine (A) and levels of inflammatory cytokine in colon tissue (B) of DSS-induced UC mice ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

显著降低 ($P < 0.001$)。如图 3-B 所示, 与对照组比较, 模型组小鼠结肠组织中 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 水平显著升高 ($P < 0.01$ 、0.001); 与模型组比较, 各给药组小鼠结肠组织中 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 水平均显著降低 ($P < 0.05$ 、0.01、0.001)。以上结果表明, PE 能够有效抑制 DSS 诱导的 UC 小鼠结肠局部促炎细胞因子的过度产生。

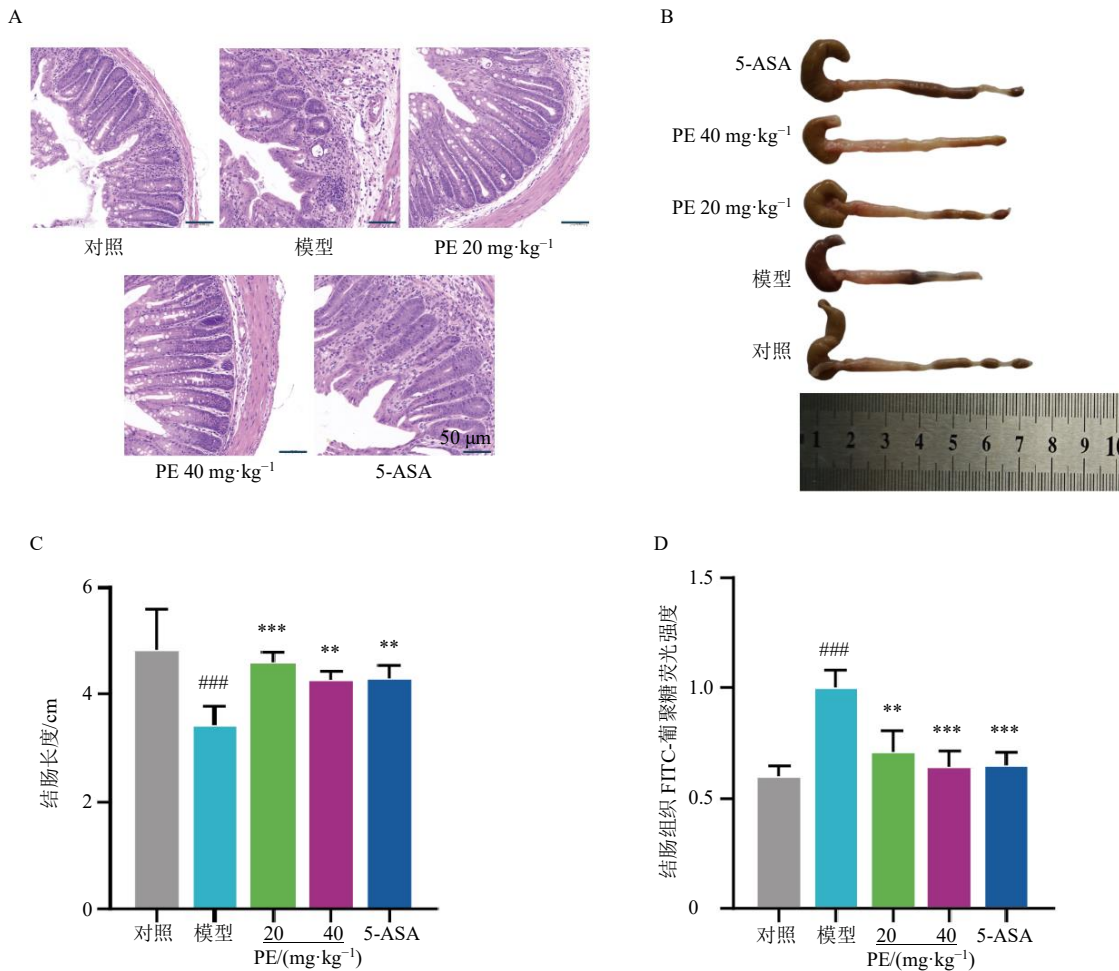
3.3 PE 对 DSS 诱导的 UC 小鼠结肠组织病理变化和肠道通透性的影响

如图 4-A 所示, 与模型组比较, PE 能够有效改善结肠组织的病理学改变, 明显减少炎症细胞浸润, 并加速隐窝上皮结构的重建。如图 4-B、C 所示, 与对照组比较, 模型组结肠长度明显缩短 ($P < 0.001$); 与模型组比较, 各给药组结肠长度明显增

加 ($P < 0.01$ 、0.001)。通过 FITC-葡聚糖检测肠道通透性, 如图 4-D 所示, 与对照组比较, 模型组 FITC-葡聚糖荧光强度显著升高 ($P < 0.001$); 与模型组比较, 各给药组 FITC-葡聚糖荧光强度显著降低 ($P < 0.01$ 、0.001), 表明 PE 能够显著强化肠道屏障功能, 降低其通透性。

3.4 PE 对 DSS 诱导的 UC 小鼠结肠组织中肠黏膜相关蛋白表达的影响

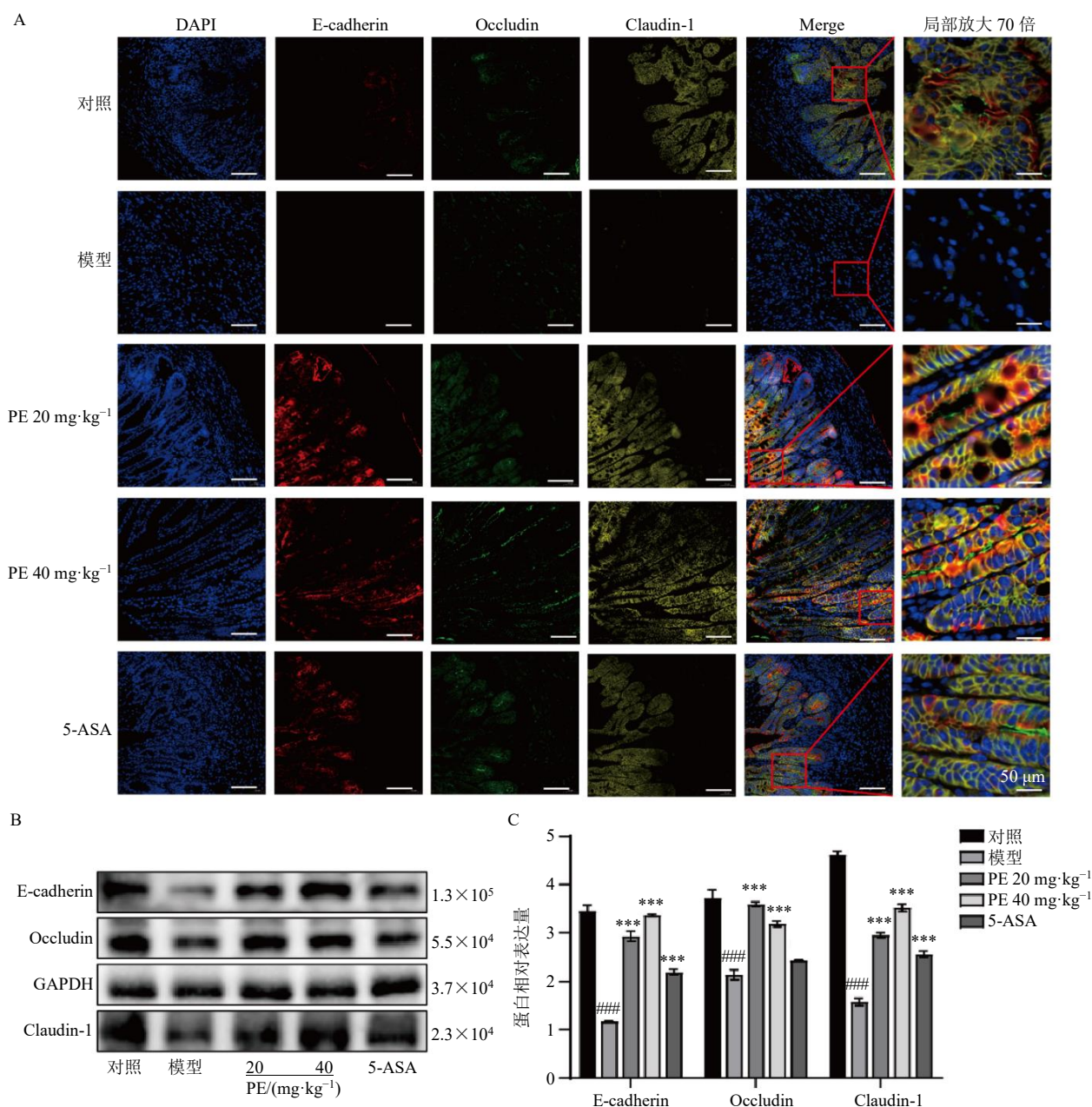
采用免疫荧光染色检测小鼠结肠组织中紧密连接蛋白 Occludin、黏附分子 E-cadherin 及屏障蛋白 Claudin-1 的表达, 结果如图 5-A 所示, 与对照组比较, 模型组小鼠结肠组织中 Occludin、E-cadherin 和 Claudin-1 的荧光强度明显降低, 表明 DSS 诱导的 UC 模型中肠道上皮屏障的结构完整性被破坏。与模



A-各组小鼠结肠组织 HE 染色 ($\times 20$); B-各组小鼠结肠组织形态; C-各组小鼠结肠长度; D-各组小鼠结肠组织 FITC-葡聚糖荧光强度。
A-HE staining of colon tissue in each group of mice ($\times 20$); B-colon tissue morphology of mice in each group; C-colon length of mice in each group; D-FITC dextran fluorescence intensity in colon tissue of mice in each group.

图 4 PE 对 DSS 诱导的 UC 小鼠结肠组织病理变化和肠道通透性的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 4 Effect of PE on pathological changes of colon tissue and intestinal permeability in DSS-induced UC mice ($\bar{x} \pm s, n = 6$)



A-免疫荧光染色检测各组小鼠结肠组织 Occludin、E-cadherin 和 Claudin-1 表达 ($\times 20$); B-Western blotting 检测各组小鼠结肠组织 Occludin、E-cadherin 和 Claudin-1 蛋白表达。

A-expressions of Occludin, E-cadherin and Claudin-1 in colon tissues of mice in each group detected by immunofluorescence staining ($\times 20$); B-expressions of Occludin, E-cadherin and Claudin-1 proteins in colon tissues of mice in each group detected by Western blotting.

图 5 PE 对 DSS 诱导的 UC 小鼠结肠组织中肠黏膜相关蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

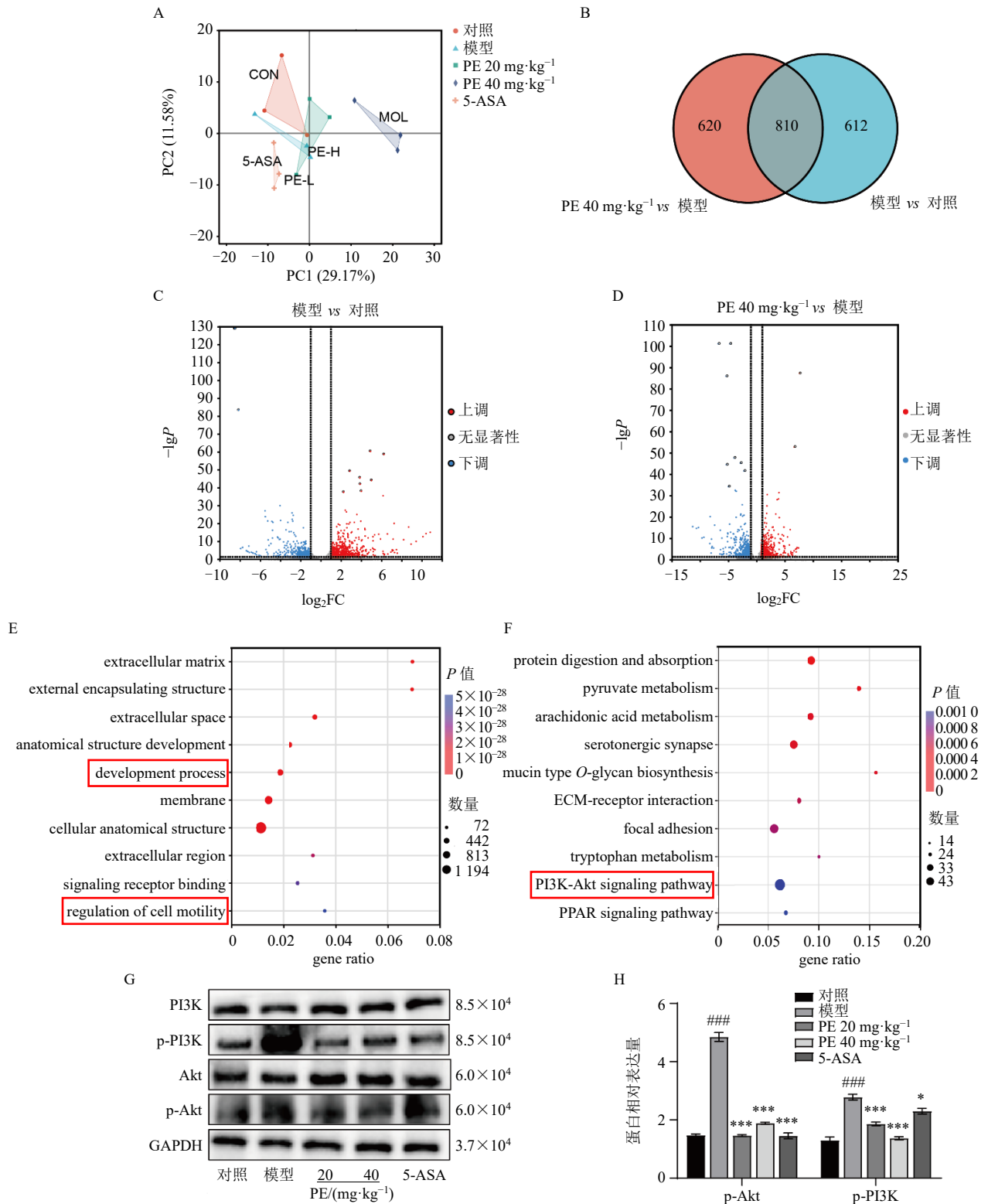
Fig. 5 Effect of PE on expressions of intestinal mucosa related proteins in colon tissue of DSS-induced UC mice ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

型组比较, 给予 PE 和 5-ASA 干预后小鼠结肠组织中 Occludin、E-cadherin 和 Claudin-1 的荧光强度均呈现不同程度增强。Western blotting 结果 (图 5-B) 显示, 与对照组比较, 模型组小鼠结肠组织中 Occludin、E-cadherin 和 Claudin-1 蛋白表达水平显著降低 ($P < 0.001$); 与模型组比较, 各给药组 E-cadherin 和 Claudin-1 蛋白表达水平显著升高 ($P <$

0.001), PE 低、高剂量组 Occludin 蛋白表达水平显著升高 ($P < 0.001$)。以上结果表明 PE 可有效上调 UC 小鼠结肠组织中屏障蛋白表达。

3.5 PE 对 DSS 诱导的 UC 小鼠结肠组织转录组测序结果的影响

主成分分析结果 (图 6-A) 显示, PE 和 5-ASA 处理后结肠组织的遗传特征显著区别于模型组小鼠。



A-主成分分析图; B-Venn图; C、D-差异基因表达火山图; E-GO富集分析结果; F-KEGG富集分析结果; G、H-各组小鼠结肠组织PI3K/Akt信号通路相关蛋白表达。

A-principal component analysis diagram; B-Venn diagram; C, D-volcano plots of differential gene expression; E-GO enrichment analysis results; F-KEGG enrichment analysis results; G, H-expressions of PI3K/Akt signaling pathway related proteins in colon tissues of mice in each group.

图6 PE对DSS诱导的UC小鼠结肠组织转录组测序结果的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 6 Effect of PE on transcriptome sequencing results in colon tissues of DSS-induced UC mice ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

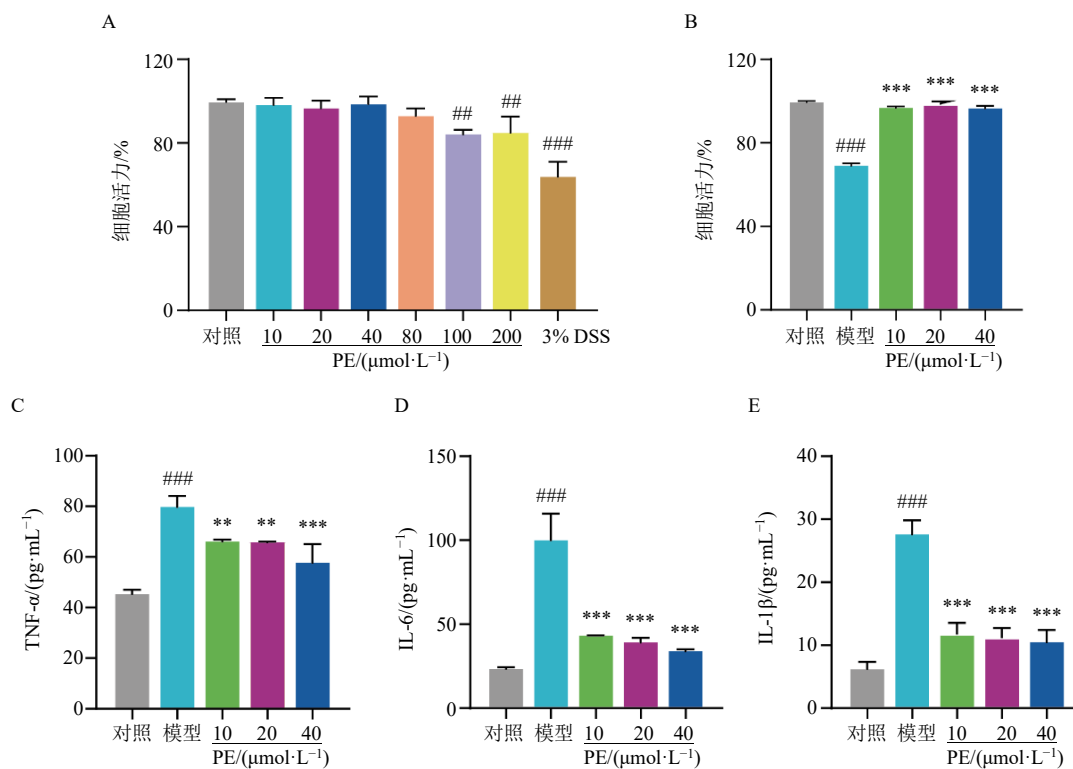
基于 Venn 图对不同组别比较 (图 6-B), 结果显示, 对照组和模型组之间存在 612 个差异表达基因, 模型组和 PE 高剂量组之间存在 620 个差异表达基因, 有 810 个共同表达基因。差异表达基因火山图 (图 6-C、D) 显示, DSS 诱导后 805 个基因表达上调, 617 个基因表达下调。同时, 经过 PE 处理后, 906 个基因上调, 524 个基因下调。对差异基因进行基因本体 (gene ontology, GO) 功能及京都基因与基因组百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 通路富集分析, GO 分析结果显示, PE 调控的基因主要定位于细胞的多种信号调控功能、细胞的迁移和增殖等 (图 6-E)。KEGG 通路分析显示, 差异表达基因与细胞的增殖、代谢和信号传导密切相关 (图 6-F)。

采用 Western blotting 检测 PI3K/Akt 信号通路蛋白表达 (图 6-G、H), 结果显示, 与对照组比较, 模型组小鼠结肠组织中 p-Akt 与 p-PI3K 蛋白表达水平显著升高 ($P < 0.001$); 与模型组比较, 各给药组 p-Akt 与 p-PI3K 蛋白表达水平显著降低 ($P <$

0.05、0.001), 表明 PE 对 DSS 诱导的 UC 小鼠结肠组织中过度激活的 PI3K/Akt 信号通路具有显著的抑制作用。以上结果说明 PE 可能通过抑制促炎信号、增强黏膜保护与紧密连接功能, 从而改善 UC 病理进程。

3.6 PE 对 DSS 诱导的 Caco-2 细胞活力及炎症因子分泌的影响

如图 7-A 所示, 与对照组比较, 10~80 $\mu\text{mol/L}$ 的 PE 对 Caco-2 细胞活力无明显影响, 3% DSS 可显著抑制 Caco-2 细胞活力 ($P < 0.001$), 因此, 选用 10、20、40 $\mu\text{mol/L}$ 的 PE 进行后续实验。如图 7-B 所示, 10、20、40 $\mu\text{mol/L}$ 的 PE 能够显著提高 3% DSS 诱导的 Caco-2 细胞活力 ($P < 0.001$)。如图 7-C~E 所示, 与对照组比较, 模型组细胞上清液中 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 水平显著升高 ($P < 0.001$); 与模型组比较, PE 各剂量组细胞上清液中 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 水平显著降低 ($P < 0.01$ 、0.001), 表明 PE 能够抑制 DSS 诱导的 Caco-2 细胞中炎症因子水平, 从而发挥抗炎作用。



A-不同浓度 PE 和 3% DSS 对 Caco-2 细胞活力的影响; B-PE 对 DSS 诱导的 Caco-2 细胞活力的影响; C~E-PE 对 DSS 诱导的 Caco-2 细胞上清液中 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 水平的影响。

A-effect of different concentrations of PE and 3% DSS on viability of Caco-2 cells; B-effect of PE on viability of DSS-induced Caco-2 cells; C-E-effect of PE on levels of TNF- α , IL-6 and IL-1 β in supernatant of DSS-induced Caco-2 cells.

图 7 PE 对 DSS 诱导的 Caco-2 细胞活力及炎症因子分泌的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 7 Effect of PE on cell viability and inflammatory cytokine secretion in DSS-induced Caco-2 cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

3.7 PE 对 DSS 诱导的 Caco-2 细胞屏障渗透率及肠黏膜相关蛋白表达的影响

在 Transwell 小室上室加入 FITC-葡聚糖, 分别检测空白初始渗透率 (P_c , 对照组下室荧光值/对照组上室荧光值) 和表观渗透率 (P_a , 给药组下室荧光值/对照组上室荧光值)。如图 8 所示, 与对照组比较, 模型组 P_a/P_c 值显著升高 ($P < 0.001$), 表明 Caco-2 细胞屏障被破坏, 通透性增加; 与模型组比较, PE 各剂量组 P_a/P_c 值显著降低 ($P < 0.001$)。如图 9 所示, 与对照组比较, 模型组 E-cadherin、Occludin 和 Claudin-1 蛋白表达水平显著降低 ($P < 0.001$); 与模型组比较, PE 各剂量组 E-cadherin 和 Claudin-1 蛋白表达水平显著升高 ($P < 0.001$), PE 低、中剂量组 Occludin 蛋白表达水平显著升高 ($P < 0.001$)。表明 PE 能够改善 DSS 诱导的 Caco-2 细胞屏障损伤。

3.8 PE 对 DSS 诱导的 Caco-2 细胞 PI3K/Akt 信号通路相关蛋白表达的影响

小鼠结肠组织转录组学提示, PI3K/Akt 信号通路在 PE 改善 DSS 诱导的 UC 小鼠模型中发挥重要

调节作用。采用 Western blotting 检测 PI3K/Akt 信号通路相关蛋白表达, 结果如图 10 所示, 与对照组比较, 模型组 p-Akt 与 p-PI3K 蛋白表达水平显著升高 ($P < 0.001$); 与模型组比较, PE 中、高剂量组 p-Akt 蛋白表达水平显著降低 ($P < 0.01$ 、 0.001), 各给药组 p-PI3K 蛋白表达水平显著降低 ($P < 0.001$)。

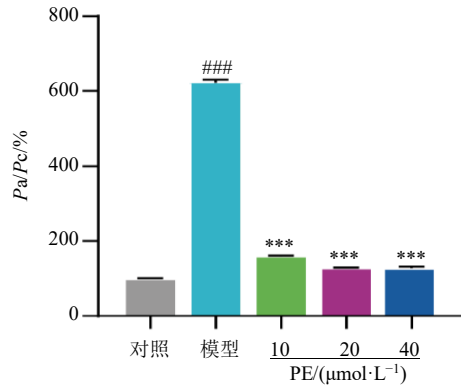


图 8 PE 对 DSS 诱导的 Caco-2 细胞屏障渗透率的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 8 Effect of PE on barrier permeability in DSS-induced Caco-2 cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

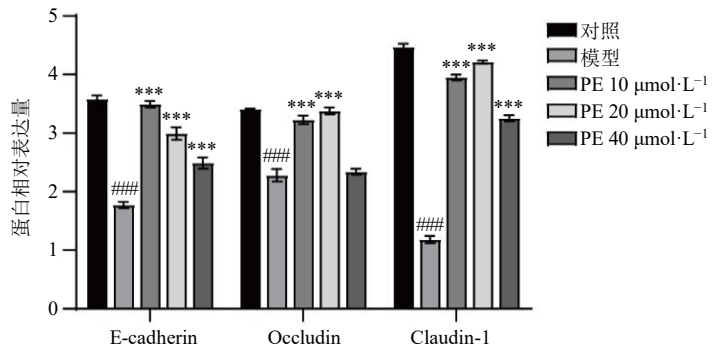
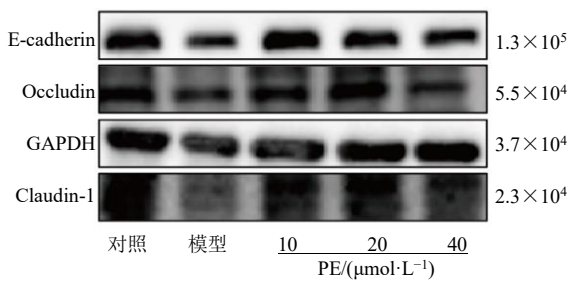


图 9 PE 对 DSS 诱导的 Caco-2 细胞肠黏膜相关蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 9 Effect of PE on intestinal mucosal associated protein expression in DSS-induced Caco-2 cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

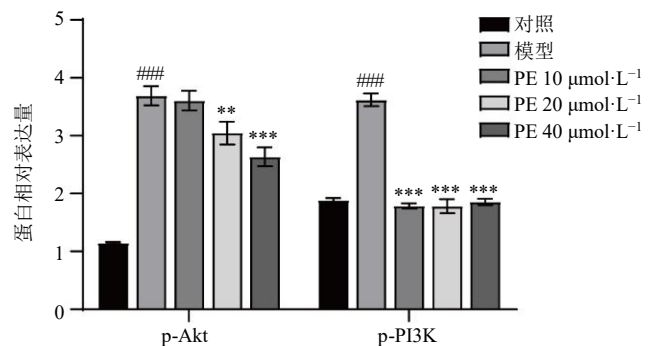
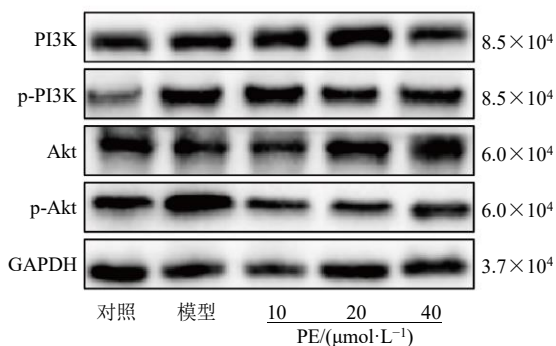


图 10 PE 对 DSS 诱导的 Caco-2 细胞 PI3K/Akt 信号通路相关蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 10 Effect of PE on PI3K-Akt signaling pathway related protein expressions in DSS-induced Caco-2 cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

4 讨论

UC 作为一种具有慢性化特征、易复发且病因不明的肠道炎症性疾病^[17]，其发病机制主要表现为肠黏膜屏障功能严重受损、免疫调节网络紊乱以及肠道微生态失衡等多重因素的复杂交互作用^[18]。本研究通过体内外实验系统证实了 PE 对 DSS 诱导的 UC 小鼠具有显著的治疗效果，且高剂量组在抑制炎症、修复屏障方面的综合作用优于常规阳性药物。PE 能够有效降低结肠组织中关键促炎因子水平，减轻组织炎症浸润与病理损伤，这一发现与目前关于 PE 在其他炎症模型中抑制炎症介质的报道一致^[19-20]。此外，PE 可有效缓解结肠缩短，并通过上调紧密连接蛋白 Occludin、E-cadherin 和 Claudin-1 的表达来改善肠道屏障通透性。Occludin 蛋白通过与其他紧密连接蛋白（如 ZO-1、Claudin 等）以及细胞骨架蛋白相互作用，形成复杂的紧密连接结构，在维持肠道屏障功能方面发挥着核心作用^[21]，其表达上调进一步证明了 PE 在促进上皮修复方面的独特优势。值得注意的是，PE 在多项指标上均展现出优于 5-ASA 的综合疗效，提示其可能通过多重协同机制发挥更全面的 UC 治疗效应。

从作用机制来看，转录组学分析及后续验证表明，PE 发挥抗 UC 作用的关键在于显著抑制 PI3K/Akt 信号通路的过度活化。PI3K/Akt 通路是调控细胞生存、增殖及炎症反应的核心信号通路，在炎症性肠病病理条件下常被异常激活，不仅促进促炎因子产生，还会导致上皮细胞凋亡增加和屏障功能破坏^[22-24]。本研究发现 PE 对 PI3K/Akt 信号通路的抑制作用优于阳性对照药，该通路作为炎症与屏障功能的关键节点，有效阻断其过度活化既能下调促炎因子，又可减少肠上皮细胞凋亡，从而为 PE 的双重优势提供了统一的分子解释。尽管本研究证实了 PE 对 DSS 诱导的急性 UC 具有显著疗效，但仍存在一定局限性。当前结论主要基于急性模型，与人类炎症性肠病慢性复发的复杂病理特征尚有差距。此外，PE 对 PI3K/Akt 通路的调控机制仍需深入挖掘，其直接作用靶点及与其他炎症通路的交互作用有待进一步阐明。对 PE 在急性和慢性 UC 的靶点调控机制还需进一步探究。

综上，本研究系统揭示了 PE 通过调控免疫-炎症反应、修复肠道屏障及抑制相关信号通路等多途径发挥 UC 治疗作用，为其后续开发为 UC 治疗药物提供了实验依据与机制参考。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Jairath V, Feagan B G. Global burden of inflammatory bowel disease [J]. *Lancet Gastroenterol Hepatol*, 2020, 5(1): 2-3.
- [2] Geboes K. Histopathology of Crohn's disease and ulcerative colitis [J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2003, 18: 255-276.
- [3] Wangchuk P, Yeshi K, Loukas A. Ulcerative colitis: Clinical biomarkers, therapeutic targets, and emerging treatments [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2024, 45(10): 892-903.
- [4] 谢晶日, 陈善涛, 刘芝伟. 溃疡性结肠炎发病机制研究进展 [J]. *海南医学院学报*, 2022, 28(23): 1835-1840.
- [5] Shao B, Yang W, Cao Q. Landscape and predictions of inflammatory bowel disease in China: China will enter the compounding prevalence stage around 2030 [J]. *Frontiers in Public Health*, 2022, 10: 1032679.
- [6] Le Berre C, Honap S, Peyrin-Biroulet L. Ulcerative colitis [J]. *Lancet*, 2023, 402(10401): 571-584.
- [7] 马也名, 王海, 丁玲芳, 等. 中医药修复肠道黏膜屏障治疗溃疡性结肠炎的研究进展 [J]. *中国民族民间医药*, 2025, 34(3): 71-75.
- [8] 曾雯, 周胜强, 黄佳, 等. 黄芪免疫调节活性成分及其药理作用进展 [J]. *上海中医药杂志*, 2025, 59(1): 80-88.
- [9] 黄诗萍, 吴焕, 吴文源, 等. 救必应药理作用及作用机制研究进展 [J]. *壮瑶药研究*, 2025(1): 184-186.
- [10] Le D D, Jang Y S, Truong V, et al. Anti-inflammatory effects and metabolomic analysis of *Ilex rotunda* extracted by supercritical fluid extraction [J]. *Int J Mol Sci*, 2024, 25(22): 11965.
- [11] 扈芷怡, 唐梅, 张谦华, 等. 救必应化学成分和药理作用研究进展 [J]. *长春师范大学学报*, 2018, 37(2): 69-74.
- [12] 谢晓芸, 苏倩, 宁玉洁, 等. 长梗冬青苷抑制铁死亡缓解阿霉素诱导小鼠心肌损伤的作用机制 [J]. *中草药*, 2025, 56(17): 6220-6230.
- [13] Kan X C, Hu G Q, Huang B X, et al. Pedunculoside protects against LPS-induced mastitis in mice by inhibiting inflammation and maintaining the integrity of blood-milk barrier [J]. *Aging*, 2021, 13(15): 19460-19474.
- [14] 马颖琪, 李佳丽, 冯梦枝, 等. 基于 PI3K/Akt 信号通路探讨中药单体及复方治疗多囊卵巢综合征的机制 [J]. *国际生殖健康/计划生育杂志*, 2025, 44(3): 220-226.
- [15] Shen D Y, Gong L, Yang W, et al. Anti-inflammatory mechanisms of selenium nanosheets in ulcerative colitis: Protein Corona, GP130 interaction, and transcriptomic profile [J]. *Adv Sci*, 2025, 12(36): e01832.

- [16] Zheng S M, Yin J B, Wang B B, *et al.* Polydatin protects against DSS-induced ulcerative colitis via Nrf2/SLC7A11/GPX4-dependent inhibition of ferroptosis signalling activation [J]. *Front Pharmacol*, 2025, 15: 1513020.
- [17] Zhu W J, Zhang Z J, Wang X Y. Network pharmacology analysis of lanatoside C: Molecular targets and mechanisms in the treatment of ulcerative colitis [J]. *Front Mol Biosci*, 2025, 12: 1552360.
- [18] 陶柱萍, 龙宇, 李灿委, 等. 肠道菌群在中草药抗溃疡性结肠炎中的作用 [J]. *药学学报*, 2021, 56(2): 391-402.
- [19] Liu K J, Li G F, Guo W J, *et al.* The protective effect and mechanism of pedunculoside on DSS (dextran sulfate sodium) induced ulcerative colitis in mice [J]. *Int Immunopharmacol*, 2020, 88: 107017.
- [20] Li X B, Xu R M, Zhou K G, *et al.* Ameliorative effect of pedunculoside on sepsis-induced acute lung injury, inflammation and pulmonary fibrosis in mice model via suppressing Akt/NF- κ B pathway [J]. *J Mol Histol*, 2024, 55(5): 687-698.
- [21] 覃蒙斌, 张金秀, 黄杰安. 细胞间紧密连接蛋白在结肠癌中的研究进展 [J]. *临床内科杂志*, 2023, 40(11): 791-792.
- [22] Liao Q, Wu S, Li X, *et al.* Danggui Niantong Decoction attenuates synovial fibrosis through regulating PI3K/Akt signaling pathway [J]. *J Ethnopharmacol*, 2025, 342: 119381.
- [23] 刘若男, 陈江, 周琴, 等. 基于PI3K/Akt信号通路探讨中医药干预炎症性肠病作用机制研究进展 [J]. *中国医药导报*, 2025, 22(17): 87-92.
- [24] 刘菲, 杨芳弟, 程泽芳, 等. 基于PI3K/Akt通路探讨仙鹤草酚 B 对溃疡性结肠炎的药效及机制研究 [J/OL]. *中国抗生素杂志*, (2025-09-29) [2026-01-14]. <https://doi.org/10.13461/j.cnki.cja.007957>.

[责任编辑 李亚楠]