



中国中药杂志
China Journal of Chinese Materia Medica
ISSN 1001-5302, CN 11-2272/R

《中国中药杂志》网络首发论文

题目： 基于肠道菌群及代谢组学探讨白芷多糖对溃疡性结肠炎小鼠的治疗及其作用机制
作者： 徐锋，朱磊，李亚楠，程成，崔媛，童依姮，胡静怡，沈洪
DOI： 10.19540/j.cnki.cjcmm.20241014.703
收稿日期： 2024-07-26
网络首发日期： 2024-10-15
引用格式： 徐锋，朱磊，李亚楠，程成，崔媛，童依姮，胡静怡，沈洪. 基于肠道菌群及代谢组学探讨白芷多糖对溃疡性结肠炎小鼠的治疗及其作用机制[J/OL]. 中国中药杂志. <https://doi.org/10.19540/j.cnki.cjcmm.20241014.703>



网络首发：在编辑部工作流程中，稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定，且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式（包括网络呈现版式）排版后的稿件，可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定；学术研究成果具有创新性、科学性和先进性，符合编辑部对刊文的录用要求，不存在学术不端行为及其他侵权行为；稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准，正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性，录用定稿一经发布，不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容，只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

出版确认：纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊（光盘版）》电子杂志社有限公司签约，在《中国学术期刊（网络版）》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版，以单篇或整期出版形式，在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊（网络版）》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物（ISSN 2096-4188，CN 11-6037/Z），所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

基于肠道菌群及代谢组学探讨白芷多糖对溃疡性结肠炎小鼠的治疗及其作用机制

徐锋^{1,3}, 朱磊^{1,2}, 李亚楠^{1,2}, 程成^{1,2}, 崔媛^{1,2}, 童依姮^{1,2},

胡静怡^{1,2}, 沈洪^{1,2}

(1.南京中医药大学附属医院 消化病研究所, 江苏 南京 210029; 2.江苏省中医院 消化科, 江苏 南京 210029; 3.浙江中医药大学附属第三医院 消化科, 浙江 杭州 310005)

*通信作者 沈洪, 主任中医师, 博士生导师, E-mail: shenhong999@njucm.edu.cn; 胡静怡, 助理研究员, E-mail: hjytc@163.com

摘要 通过 16S rRNA 高通量测序和代谢组学技术研究白芷多糖 (Angelicae Dahuricae Radix polysaccharides, RP) 治疗溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 的作用机制。采用 2.5%葡聚糖硫酸钠 (dextran sulfate sodium, DSS) 诱导小鼠 UC 模型。根据各组小鼠体质量变化、疾病活动指数 (disease activity index, DAI)、结肠长度和病理变化评估 RP 对 UC 小鼠的治疗效果。RT-qPCR 法检测小鼠结肠组织白细胞介素 (interleukin, IL)-6、IL-1 β 、肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF)- α 、髓过氧化物酶 (myeloperoxidase, MPO)、粘蛋白 2 (mucin 2, Muc2) 和紧密连接蛋白 Occludin、Claudin2 及 ZO-1 的 mRNA 表达。酶联免疫吸附测定 (ELISA) 法检测小鼠结肠组织 IL-1 β 、TNF- α 的蛋白表达。采用荧光素渗透法评估小鼠肠道通透性。通过免疫组化法检测小鼠结肠组织 Muc2 及 Occludin 的蛋白表达。通过 16S rRNA 测序和超高效液相色谱与四极杆-轨道阱 (UPLC-Q-Exactive Plus) 质谱联用技术检测小鼠肠道菌群及粪便代谢物的变化。结果表明, 白芷多糖低剂量组能够有效缓解 UC 小鼠一般症状, 改善结肠炎症, 降低肠道通透性, 促进 Muc2 分泌和紧密连接蛋白的表达。白芷多糖低剂量组能够增加 UC 小鼠肠道菌群多样性, 抑制 *Ochrobactrum*、*Streptococcus* 等有害菌的相对丰度。小鼠粪便中鉴定出 27 种差异代谢物, 白芷多糖低剂量组能够回调发生紊乱的代谢物水平。精氨酸和脯氨酸代谢是白芷多糖低剂量干预后差异最显著的氨基酸代谢途径。因此, 白芷多糖可以改善 UC 小鼠一般症状, 抑制结肠炎症, 维持肠黏膜屏障完整性, 其机制可能与调节肠道菌群结构和精氨酸和脯氨酸代谢密切相关。

关键词 白芷多糖; 溃疡性结肠炎; 肠道菌群; 代谢组学

DOI: 10.19540/j.cnki.cjcm.20241014.703

Angelicae Dahuricae Radix polysaccharides treat ulcerative colitis in mice by regulating gut microbiota and metabolism

XU Feng^{1,3}, ZHU Lei^{1,2}, LI Ya-nan^{1,2}, CHENG Cheng^{1,2}, CUI Yuan^{1,2}, TONG Yi-heng^{1,2}, HU Jing-yi^{1,2}, S

HEN Hong^{1,2}

(1. Institute of Digestive Diseases, Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, China; 2. Department of Gastroenterology, Jiangsu Province Hospital of Chinese Medicine, Nanjing 210029, China; 3. Department of Gastroenterology, the Third Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310005, China)

Abstract This study employed 16S rRNA gene high-throughput sequencing and metabolomics to explore the mechanism of Angelicae Dahuricae Radix polysaccharides (RP) in the treatment of ulcerative colitis (UC). A mouse model of UC was

收稿日期: 2024-07-26

基金项目: 国家中医药管理局高水平中医药重点学科项目 (中医脾胃病学) (国中医药人教函[2023]85 号); 全国名老中医药专家传承工作室项目 (国中医药人教函[2022]75 号); 国家自然科学基金面上项目 (82274483); 江苏省中医药管理局重点项目 (ZD202212); 江苏省研究生科研与实践创新计划项目 (KYCX22_1938)

作者简介: 徐锋, 博士研究生, E-mail: 897492486@qq.com

网络首发时间: 2024-10-15 16:53:48 网络首发地址: <https://link.cnki.net/urlid/11.2272.r.20241015.1251.006>

induced with 2.5% dextran sulfate sodium. The therapeutic effects of RP on UC in mice were evaluated based on changes in body weight, disease activity index (DAI), and colon length, as well as pathological changes. RT-qPCR was performed to assess the mRNA levels of interleukin (IL)-6, IL-1 β , tumor necrosis factor (TNF)- α , myeloperoxidase (MPO), mucin 2 (Muc2), occludin, claudin2, and ZO-1 in the mouse colon tissue. ELISA was employed to measure the expression of IL-1 β and TNF- α in the colon tissue. The intestinal permeability of mice was evaluated by the fluorescent dye permeability assay. Immunohistochemistry was employed to detect the expression of Muc2 and occludin in the colon tissue. Changes in gut microbiota and metabolites were analyzed by 16S rRNA sequencing and ultra-high-performance liquid chromatography coupled with quadrupole-orbitrap mass spectrometry (UPLC-Q-Exactive Plus Orbitrap MS), respectively. The results indicated that low-dose RP alleviated general symptoms, reduced colonic inflammation and intestinal permeability, and promoted Muc2 secretion and tight junction protein expression in UC mice. In addition, low-dose RP increased gut microbiota diversity in UC mice and decreased the relative abundance of harmful bacteria such as *Ochrobactrum* and *Streptococcus*. Twenty-seven differential metabolites were identified in feces, and low-dose RP restored the levels of disturbed metabolites. Notably, arginine and proline metabolism were the most significantly altered amino acid metabolic pathways following low-dose RP intervention. In conclusion, RP can ameliorate general symptoms, inhibit colonic inflammation, and maintain intestinal mucosal barrier integrity in UC mice by modulating gut microbiota composition and arginine and proline metabolism.

Key words Angelicae Dahuricae Radix polysaccharides; ulcerative colitis; gut microbiota; metabolomics

溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 是一种主要累及结直肠黏膜的慢性非特异性炎症性肠病, 其发病率在亚洲等地区仍保持增长趋势^[1]。本病以反复发作的腹痛、腹泻、脓血便为主要临床特征^[2]。生物制剂和 JAK 抑制剂、鞘氨醇-1-磷酸受体调节剂等小分子药物的研发应用使 UC 的治疗目标由维持疾病缓解的达标治疗转向组织学愈合和疾病清除^[3]。尽管如此, UC 患者的缓解率仍未突破 30% 的上限, 仍有必要寻找替代药物打破目前 UC 的治疗困境^[4]。

多糖是由 10 个以上单糖通过糖苷键相互连接形成的一种大分子物质^[5]。多糖具有调节免疫、抗肿瘤、抗病毒等多种药理活性^[6]。近年来, 多糖对 UC 的治疗作用成为研究的热点, 包括果胶、鼠李糖半乳糖醛酸、壳聚糖、果聚糖、糖胺聚糖、藻类多糖、真菌和中药多糖等, 其治疗 UC 具有疗效确切、安全、不良反应少等优点^[7]。研究表明, 多糖能够通过抗炎、修复肠黏膜屏障、调节肠道菌群等途径缓解 UC^[8]。

白芷是伞形科植物杭白芷的根, 具有祛风止痛, 消肿排脓之功, 是临床治疗 UC 的常用中药^[9]。欧前胡素、异欧前胡素、白芷乙素等白芷主要化学成分能够有效缓解 UC 小鼠的结肠炎症^[10-12]。白芷多糖 (Angelicae Dahuricae Radix polysaccharides, RP) 是白芷的有效成分之一。研究表明, 白芷多糖能够增强免疫低下小鼠的非特异性免疫与特异性免疫^[13]。目前尚未发现白芷多糖干预 UC 的机制研究。基于此, 本研究旨在通过 16S rRNA 高通量测序和代谢组学技术明确白芷多糖治疗对 UC 小鼠的药效及作用机制, 为临床治疗 UC 提供理论和实验基础。

1 材料

1.1 药品与试剂

白芷多糖 (货号 Wkq22072710, 四川维克奇生物科技有限公司); 葡聚糖硫酸钠 (dextran sodium sulfate, DSS, 货号 160110, 美国 MP Biomedicals 公司); 5-氨基水杨酸 (5-aminosalicylic acid, 5-ASA, 货号 A79809, 美国 Sigma-Aldrich 公司); 组织固定液 (货号 G1101, 武汉赛维尔生物科技有限公司); RNA 提取试剂盒、HiScript[®] III RT SuperMix、ChamQ SYBR Master Mix for qPCR (货号 R711、R323-01、Q311-02/03, 南京诺唯赞生物科技有限公司); 白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) (货号 EK201B、EK282, 杭州联科生物技术有限公司); 异硫氰酸荧光素-葡聚糖 (fluorescein isothiocyanate-dextran, FITC-dextran, 货号 46944, 美国 Sigma-Aldrich 公司); Occludin 抗体、粘蛋白 2 (mucin 2, Muc2) 抗体 (货号 GB111401、GB11344, 武汉赛维尔生物科技有限公司); 无水乙醇 (货号 100092683, 国药集团化学试剂有限公司)。

1.2 仪器

Centrifuge 5810R 台式高速冷冻离心机（德国 Eppendorf 公司）；Direct-Q 纯水仪（美国 Millipore 公司）；AF-103AS 制冰机（意大利 Scotsman 公司）；LightCycler® 96 实时荧光定量 PCR 仪（瑞士 Roche 公司）；NanoDrop2000 超微量分光光度计（美国 ThermoFisher 公司）；CKX41 倒置显微镜（日本 Olympus 公司）；JB-P5 包埋机（武汉俊杰电子有限公司）；RM2016 切片机（上海徠卡仪器有限公司）；Multiskan FC (IVD 型号) 多功能酶标仪（美国 ThermoFisher 公司）；Nexera X2 LC-30AD 超高压液相色谱仪（日本 Shimadzu 公司）；Q Exactive Plus 质谱仪（美国 ThermoFisher 公司）。

1.3 动物

48 只雄性 C57BL/6 小鼠（SPF 级，6~8 周龄），体质量（ 20 ± 2 ）g，购自浙江维通利华有限公司，许可证号 SCXK（浙）2021-0006，饲养于南京中医药大学附属医院动物实验中心，合格证号 SYXK（苏）2022-0070，温度 25 °C，相对湿度 55% ± 5%，每日光照/避光各 12 h，自由进食饮水。本实验经过南京中医药大学附属医院实验动物伦理委员会批准，动物伦理批件号 2022DW-61-01。

2 方法

2.1 造模及给药方法

适应性喂养 7 d 后，将 48 只小鼠随机分为对照（Ctrl, $n=8$ ）组、模型（DSS, $n=10$ ）组、5-氨基水杨酸（5-ASA, $n=10$ ）组、白芷多糖低剂量（RPL, $n=10$ ）组、白芷多糖高剂量（RPH, $n=10$ ）组，共 5 组。实验第 1~7 天对照组自由饮用蒸馏水，其余各组自由饮用 2.5% DSS 溶液，诱发肠炎。第 8~14 天各组小鼠自由饮用蒸馏水。从实验第 1 天开始，对照组和模型组每日给予等体积的蒸馏水灌胃，5-氨基水杨酸组每日给予 $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 5-ASA 灌胃，白芷多糖低剂量和高剂量组每日分别给予 200、 $400 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 白芷多糖灌胃，连续灌胃 14 d。白芷多糖给药剂量参照先前发表的文献[14]。

2.2 小鼠一般状况及 DAI 评分

每日观察小鼠体质量变化、腹泻程度及血便情况，进行综合评分并记录，三者平均分即为小鼠 DAI 评分^[15]。评分标准见表 1。

表1 DAI评分
Table 1 DAI scores

计分/分	体质量下降率/%	大便性状	便血情况
0	无	正常	正常
1	1~5	-	-
2	6~10	便溏	潜血
3	11~15	-	-
4	>15	腹泻	显性出血

2.3 苏木素-伊红（HE）染色

将结肠组织置于 4% 多聚甲醛溶液固定，乙醇梯度脱水后浸蜡包埋，脱蜡至水，蒸馏水冲洗，依次使用苏木素染液和伊红染液染色，脱水封片，显微镜镜检，获取病理扫描图像。

2.4 实时荧光定量 PCR (quantitative real-time PCR, RT-qPCR)

根据 FreeZol Reagent-R711 RNA 提取试剂盒说明书步骤进行结肠组织总 RNA 提取，使用 HiScript® III RT SuperMix 逆转录试剂盒进行逆转录。根据 ChamQ SYBR qPCR Master Mix PCR 检测试剂盒说明书配制 10 μL 反应体系，在 LightCycler® 96 实时荧光定量 PCR 仪上进行荧光定量分析。以 β -actin 为内参，应用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 计算各组基因相对表达量。引物序列见表 2。

表2 引物序列
Table 2 Sequences of primers

基因	引物序列 (5'-3')
mouse-IL-6	F: 5'-CCACTTCACAAGTCGGAGGCTTA-3' R: 5'-AGTGCATCATCGTTGTTTCATAC-3'
mouse-IL-1 β	F: 5'-AATGCCACCTTTTGACAGTGATG-3' R: 5'-GGAAGGTCCACGGGAAAGAC-3'
mouse-TNF- α	F: 5'-AAGGCCGGGGTGTCTGGAG-3' R: 5'-AGGCCAGGTGGGACAGCTC-3'
mouse-MPO	F: 5'-GAGTCCCACTCAGCAAGGTC-3' R: 5'-TCTGGCGATTGTTGGCT-3'
mouse-Muc2	F: 5'-TGTGTTTCAGGCTCCATCAC-3' R: 5'-TGCAGCCATTGTAGAAATC-3'
mouse-Occludin	F: 5'-ACAAAGAGCTCTCTCGTCTCG-3' R: 5'-CATAGTCTCCCACCATCCTC-3'
mouse-Claudin2	F: 5'-GTCAGCTTGCCAGAGACT-3' R: 5'-TGGCAGTGTCTCTCAAATCCG-3'
mouse-ZO-1	F: 5'-AGTTCTGCCCTCAGCTACCA-3' R: 5'-GCTTAAAGCTGGCAGTGTC-3'
mouse- β -actin	F: 5'-CTCATGAAGATCCTGACCGAG-3' R: 5'-AGTCTAGAGCAACATAGCACAG-3'

2.5 酶联免疫吸附测定 (enzyme-linked immunosorbent assays, ELISA) 实验

取结肠组织 30 mg, 加入 300 μ L PBS, 匀浆后 12 000 \times g, 4 $^{\circ}$ C 离心 10 min, 取上清 200 μ L 并分装, -80 $^{\circ}$ C 保存备用。IL-1 β 和 TNF- α 的 ELISA 检测参照试剂盒说明书进行。

2.6 肠道通透性实验

末次给药后禁食 4 h, 每只小鼠给予 FITC-dextran 400 mg \cdot kg $^{-1}$ 灌胃。4 h 后采血, 避光静置 1 h, 4 000 \times g, 4 $^{\circ}$ C 离心 10 min, 收集血清。酶标仪检测吸光度 (A) 并计算各组小鼠血清 FITC-dextran 含量。

2.7 免疫组化

石蜡切片脱蜡至水, 组织切片与 Occludin 和 Muc2 抗体 (1: 200) 在 4 $^{\circ}$ C 下孵育过夜, 滴加相应种属二抗, 室温孵育 50 min。苏木素复染 3 min, 分化、返蓝后流水冲洗, 脱蜡封片。显微镜镜检获取扫描图像。采用 ImageJ 软件对结果进行定量分析。

2.8 16S rRNA 高通量测序

将小鼠回盲瓣内容物送至上海拜谱生物科技有限公司进行 16S rRNA 测序。使用 DNA 提取试剂盒抽取微生物组总 DNA, 并通过 1.2% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 提取质量。使用特定引物对 16S rRNA 基因 V3~V4 可变区实施 PCR 扩增。采用 Vazyme VAHTSTM DNA Clean Beads 进行产物纯化, 并使用 Quant-iT PicoGreen dsDNA Assay Kit 进行定量分析。采用 Illumina 公司的 TruSeq Nano DNA LT Library Prep Kit 制备测序文库。使用 illumina NovaSeq 平台和 NovaSeq 6000 SP Reagent Kit 进行测序。

2.9 代谢组学

将小鼠回盲瓣内容物送至上海拜谱生物科技有限公司进行非靶代谢组学检测。粪便样品于 4 $^{\circ}$ C 解冻, 称取 50 mg 样品, 加入 400 μ L 预冷的甲醇-水 (4: 1, v/v) 溶液, 在组织破碎仪中低温匀浆破碎, 加入 600 μ L 预冷的甲醇-水 (4: 1, v/v) 溶液, 混匀, 冰浴中超声 20 min, -20 $^{\circ}$ C 静置 1 h, 16 000 \times g, 4 $^{\circ}$ C 离心 20 min, 取上清液, 上清液在高速真空浓缩离心机挥干。质谱检测时加入 100 μ L 预冷的甲醇-水 (1: 1, v/v) 溶液复溶, 20 000 \times g, 4 $^{\circ}$ C 离心 15 min。色谱分离采用带有 ACQUITY UPLC $^{\circ}$ HSS T3 (2.1 mm \times 100 mm, 1.8 μ m) 色谱柱的 SHIMADZU-LC30 超高效液相色谱系统。进样量 4 μ L, 柱温 40 $^{\circ}$ C, 流速 0.3 mL \cdot min $^{-1}$; 色谱流动相 A 为 0.1% 甲酸水溶液, B 为 0.1% 甲酸的乙腈溶液; 色谱梯度洗脱程序如下, 0~2 min, 0 B; 2~6 min, 0~48% B; 6~10 min, 48%~100% B; 10~12

min, 100% B; 12~12.1 min, 100%~0 B, 12.1~15 min, 0 B。采用电喷雾电离 (electrospray ionization, ESI) 对样品进行正、负离子模式检测。UPLC 分离后用 QE Plus 质谱仪对样品进行质谱分析。采用 MSDIAL v4.9 软件对数据进行峰提取。代谢物鉴定采用精确质量数匹配和二级谱图匹配的方式。检索 HMDB、MassBank、GNPS 等公共数据库及拜谱自建代谢物标准品库鉴定代谢物结构。使用 Python 软件对质谱数据进行多维统计分析。

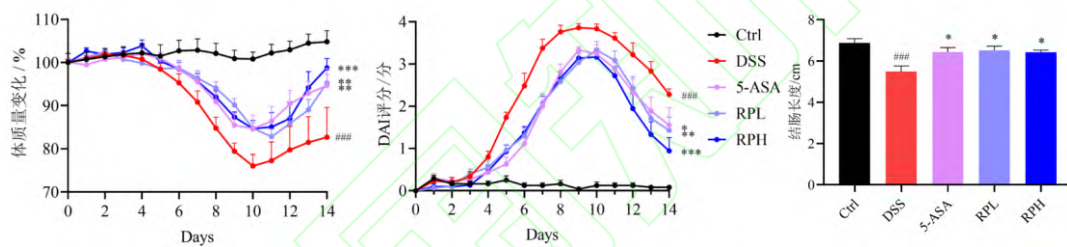
2.10 统计学分析

计量资料采用均数±标准误 ($\bar{x}\pm\text{SEM}$) 表示, 使用 GraphPad Prism 8.0.1 软件对各组数据进行单因素方差分析。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 白芷多糖对 UC 小鼠一般症状的影响

实验过程中, 对照组小鼠正常进食、饮水, 毛发有光泽, 反应灵敏, 大便正常, 体质量平稳增长。DSS 组小鼠从造模第 5 天开始出现明显的腹泻、血便等肠炎特征, 小鼠体质量持续下降至第 10 天, 第 10~14 天小鼠体质量恢复缓慢。与对照组相比, DSS 组小鼠体质量显著降低, DAI 评分显著升高, 结肠长度显著缩短; 与 DSS 组相比, RPL、RPH 和 5-ASA 治疗后小鼠体质量显著增加, DAI 评分显著降低, 结肠长度显著增加。结果表明, 白芷多糖可以显著缓解 UC 小鼠体质量减轻、结肠长度缩短, 并降低 DAI 评分, 见图 1。



Ctrl. 对照组; DSS. 模型组; 5-ASA. 5-氨基水杨酸组 ($100\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$); RPL/H. 白芷多糖低/高剂量组 (200 、 $400\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) (图 2~7、表 8 同); 与模型组相比* $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$, 与对照组相比# $P<0.05$, ## $P<0.01$, ### $P<0.001$ 。

图 1 白芷多糖对溃疡性结肠炎小鼠体质量、结肠长度和 DAI 评分的影响 ($\bar{x}\pm\text{SEM}$, $n=6\sim 8$)

Fig.1 Effects of Angelicae Dahuricae Radix polysaccharides on body weight, colon length and DAI in ulcerative colitis mice ($\bar{x}\pm\text{SEM}$, $n=6\sim 8$)

3.2 白芷多糖对 UC 小鼠结肠病理损伤的影响

HE 染色结果显示, 对照组小鼠结肠组织结构完整, 上皮细胞排列有序, 无充血水肿。DSS 组小鼠结肠出现上皮细胞坏死, 隐窝结构紊乱, 甚至消失, 黏膜及黏膜下层可见大量炎症细胞浸润。与 DSS 组相比, RPL、RPH 和 5-ASA 组小鼠结肠组织病理损伤显著减轻, 表现为上皮细胞排列有序, 隐窝结构相对完整, 炎症细胞浸润较少。结果表明, 白芷多糖能够减轻 UC 小鼠结肠组织病理损伤, 见图 2。

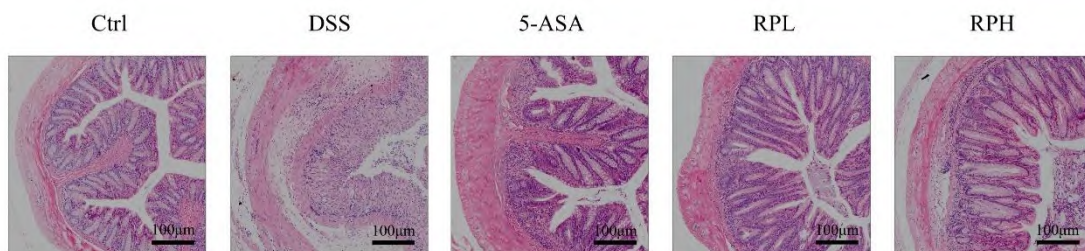


图 2 白芷多糖对溃疡性结肠炎小鼠结肠病理损伤的影响 (HE 染色, $\times 100$)

Fig.2 Effect of Angelicae Dahuricae Radix polysaccharides on colon pathological damage in ulcerative colitis mice (HE staining, $\times 100$)

3.3 白芷多糖对 UC 小鼠结肠炎症的影响

与对照组相比, DSS 组小鼠结肠组织 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 和 MPO 的 mRNA 表达水平显著上调; 与 DSS 组相比, RPL、RPH 和 5-ASA 组小鼠结肠组织 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 和 MPO 的 mRNA 水平显著下调。与对照组相比, DSS 组小鼠结肠组织 IL-1 β 和 TNF- α 的蛋白表达水平显著上调; 与 DSS 组相比, RPL、RPH 和 5-ASA 组小鼠结肠组织 IL-1 β 和 TNF- α 的蛋白表达水平显著下调。结果表明, 白芷多糖能够有效抑制 UC 小鼠结肠炎症因子的表达, 控制结肠炎症, 见表 3、4。

表3 白芷多糖对溃疡性结肠炎小鼠结肠组织IL-6、IL-1 β 、TNF- α 、MPO mRNA表达水平的影响 ($\bar{x}\pm\text{SEM}$, $n=6$)

Table 3 Effect of Angelicae Dahuricae Radix polysaccharides on mRNA expression levels of IL-6, IL-1 β , TNF- α and MPO in colon tissues of mice with ulcerative colitis ($\bar{x}\pm\text{SEM}$, $n=6$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹ ·d ⁻¹	IL-6 mRNA 表达	IL-1 β mRNA 表达	TNF- α mRNA 表达	MPO mRNA 表达
对照	-	1.000±0.329	1.000±0.196	1.000±0.137	1.000±0.219
模型	-	14.780±2.693 ³⁾	46.620±8.313 ³⁾	4.559±0.818 ³⁾	6.763±0.785 ³⁾
5-氨基水杨酸	100	0.502±0.122 ⁶⁾	2.343±0.403 ⁶⁾	0.783±0.059 ⁶⁾	0.824±0.181 ⁶⁾
白芷多糖	200	0.728±0.096 ⁶⁾	8.943±1.533 ⁶⁾	0.985±0.045 ⁶⁾	0.668±0.078 ⁶⁾
	400	2.043±0.543 ⁶⁾	17.580±4.859 ⁶⁾	1.231±0.093 ⁶⁾	0.880±0.167 ⁶⁾

注: 与对照组相比¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$, ³⁾ $P<0.001$, 与模型组相比⁴⁾ $P<0.05$, ⁵⁾ $P<0.01$, ⁶⁾ $P<0.001$ (表 4~8 同)。

表4 白芷多糖对溃疡性结肠炎小鼠结肠组织IL-1 β 、TNF- α 蛋白表达水平的影响 ($\bar{x}\pm\text{SEM}$, $n=6$)

Table 4 Effect of Angelicae Dahuricae Radix polysaccharides on protein expression levels of IL-1 β and TNF- α in colon tissues of mice with ulcerative colitis ($\bar{x}\pm\text{SEM}$, $n=6$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹ ·d ⁻¹	IL-1 β /pg·mg ⁻¹	TNF- α /pg·mg ⁻¹
对照	-	126.600±14.980	131.100±30.050
模型	-	410.300±76.430 ³⁾	679.200±139.900 ³⁾
5-氨基水杨酸	100	143.800±22.030 ⁵⁾	98.720±11.640 ⁶⁾
白芷多糖	200	215.300±43.510 ⁴⁾	94.790±19.270 ⁶⁾
	400	165.900±31.690 ⁵⁾	102.200±31.890 ⁶⁾

3.4 白芷多糖对 UC 小鼠肠黏膜屏障的影响

与对照组相比, DSS 组小鼠血清中肠道来源的 FITC-dextran 浓度显著升高; 与 DSS 组相比, RPL、RPH 组小鼠血清 FITC-dextran 浓度显著下调, 见表 5。与对照组相比, DSS 组小鼠结肠组织 Muc2、Occludin、ZO-1 mRNA 表达下调; RPL、RPH 和 5-ASA 治疗能够显著上调 Muc2、Occludin、ZO-1 mRNA 表达。与对照组相比, DSS 组小鼠结肠组织 Claudin2 的 mRNA 表达显著上调; RPL、RPH 和 5-ASA 治疗后能够显著下调 Claudin2 的 mRNA 表达, 见表 6。免疫组化结果显示, 各组小鼠结肠组织 Muc2 和 Occludin 的蛋白表达与 mRNA 表达水平一致, 见图 3、表 7。上述结果表明, 白芷多糖能够通过上调 UC 小鼠肠道紧密连接蛋白的表达, 增加黏蛋白的分泌, 从而促进肠黏膜屏障的修复。

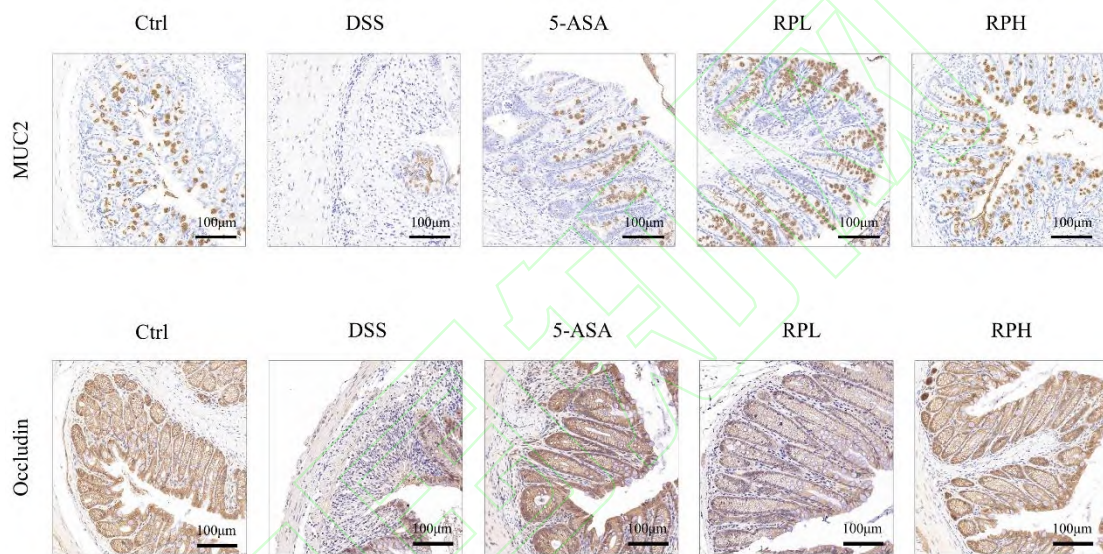
表5 白芷多糖对溃疡性结肠炎小鼠血清FITC-dextran的影响 ($\bar{x}\pm\text{SEM}$, $n=3$)

Table 5 Effect of Angelicae Dahuricae Radix polysaccharides on serum FITC-dextran content in mice with ulcerative colitis ($\bar{x}\pm\text{SEM}$, $n=3$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹ ·d ⁻¹	FITC-dextran/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$
对照	-	1.269±0.026
模型	-	2.909±0.407 ¹⁾
5-氨基水杨酸	100	2.708±0.400
白芷多糖	200	0.966±0.333 ⁴⁾
	400	1.177±0.059 ⁴⁾

表6 白芷多糖对溃疡性结肠炎小鼠结肠组织Muc2、Occludin、Claudin2、ZO-1 mRNA表达水平的影响 ($\bar{x}\pm\text{SEM}$, $n=6$)Table 6 Effect of Angelicae Dahuricae Radix polysaccharides on mRNA expression levels of Muc2, Occludin, Claudin2 and ZO-1 in colon tissues of mice with ulcerative colitis ($\bar{x}\pm\text{SEM}$, $n=6$)

组别	剂量/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$	Muc2 mRNA 水平	Occludin mRNA 水平	ZO-1 mRNA 水平	Claudin2 mRNA 水平
对照	-	1.000±0.137	1.000±0.123	1.000±0.100	1.000±0.161
模型	-	0.466±0.065	0.411±0.055 ²⁾	0.579±0.122 ²⁾	1.880±0.285 ¹⁾
5-氨基水杨酸	100	2.384±0.317 ⁵⁾	0.946±0.085 ⁵⁾	0.988±0.053 ⁶⁾	0.835±0.126 ⁵⁾
白芷多糖	200	3.449±0.111 ⁶⁾	1.139±0.130 ⁶⁾	0.945±0.028 ⁵⁾	0.832±0.055 ⁶⁾
	400	3.106±0.618 ⁶⁾	0.932±0.084 ⁵⁾	0.956±0.069 ⁵⁾	1.184±0.071 ⁴⁾

图3 白芷多糖对溃疡性结肠炎小鼠结肠组织 Muc2、Occludin 蛋白表达水平的影响 ($\bar{x}\pm\text{SEM}$, $n=6$)Fig.3 Effect of Angelicae Dahuricae Radix polysaccharides on protein expression levels of Muc2 and Occludin in colon tissues of mice with ulcerative colitis ($\bar{x}\pm\text{SEM}$, $n=6$)表7 白芷多糖对溃疡性结肠炎小鼠结肠组织Muc2、Occludin蛋白表达水平的影响 ($\bar{x}\pm\text{SEM}$, $n=6$)Table 7 Effect of Angelicae Dahuricae Radix polysaccharides on protein expression levels of Muc2 and Occludin in colon tissues of mice with ulcerative colitis ($\bar{x}\pm\text{SEM}$, $n=6$)

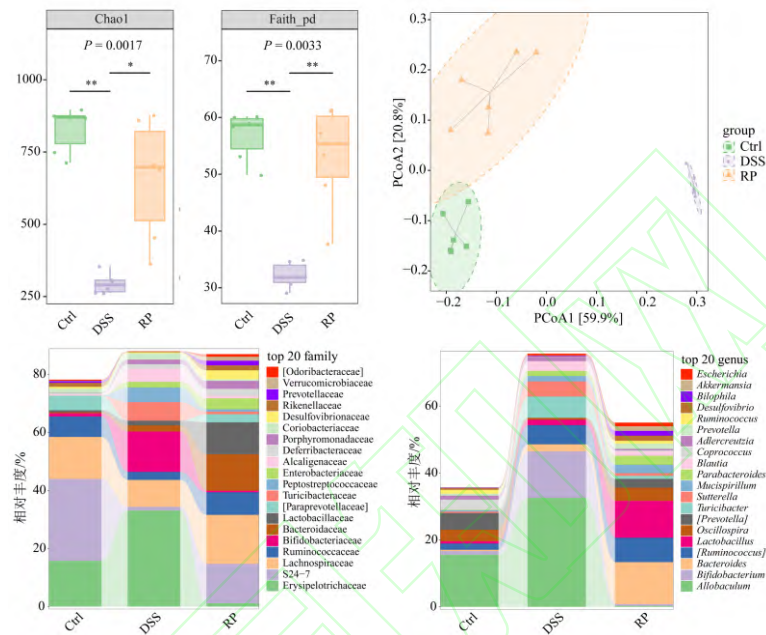
组别	剂量/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$	Muc2 阳性相对表达	Occludin 阳性相对表达
对照	-	0.149±0.024	0.270±0.022
模型	-	0.054±0.006 ¹⁾	0.120±0.022 ³⁾
5-氨基水杨酸	100	0.129±0.018 ⁴⁾	0.224±0.014 ⁵⁾
白芷多糖	200	0.140±0.016 ⁴⁾	0.252±0.012 ⁵⁾
	400	0.131±0.010 ⁴⁾	0.207±0.012 ⁴⁾

3.5 白芷多糖对 UC 小鼠肠道菌群结构的影响

3.5.1 菌群多样性分析

选取对照组、DSS 组和白芷多糖低剂量组小鼠回盲瓣内容物进行 16S rRNA 高通量测序。Chao 指数体现物种在群落中的丰富度, Faith 指数体现物种的谱系多样性, 常被用于肠道菌群的 α 多样性评

估。与对照组比较, DSS 组 Chao 指数和 Faith 指数显著降低; 与 DSS 组比较, 白芷多糖低剂量组 Chao 指数和 Faith 指数显著回调。基于 weighted_unifrac 距离算法绘制主坐标分析 (principal coordinates analysis, PCoA) 图, 研究各组样本之间菌群结构的差异 (β 多样性)。结果显示, 与对照组相比, DSS 组小鼠肠道菌群结构发生变化, DSS 组分布偏离了对照组, 而白芷多糖低剂量组分布趋向于对照组, 见图 4。上述结果表明, 白芷多糖低剂量干预能够恢复 UC 小鼠肠道菌群失调, 使 UC 小鼠肠道菌群 α 多样性和 β 多样性向对照组趋近。



Ctrl. 对照组; DSS. 模型组; RP. 白芷多糖低剂量组 ($200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) (图 5 同)

图 4 白芷多糖对溃疡性结肠炎小鼠肠道菌群多样性和组成的影响 ($\bar{x} \pm \text{SEM}$, $n=6$)

Fig.4 Effect of Angelicae Dahuricae Radix polysaccharides on intestinal microbiota diversity and composition in ulcerative colitis mice ($\bar{x} \pm \text{SEM}$, $n=6$)

3.5.2 菌群组成分析

在科水平上, 小鼠肠道菌群主要由 Erysipelotrichaceae、S24-7、Lachnospiraceae、Ruminococcaceae、Bifidobacteriaceae 等组成。在属水平上, 小鼠肠道菌群主要由 *Allobaculum*、*Bifidobacterium*、*Bacteroides*、*Ruminococcus*、*Lactobacillus* 等组成, 见图 4。

3.5.3 菌群物种差异分析及 KEGG 代谢通路分析

依据平均丰度前 50 位的属的菌群数据绘制聚类热图。结果显示, 与对照组相比, DSS 组 *Bifidobacterium*、*Sutterella*、*Streptococcus*、*Allobaculum*、*Ochrobactrum*、*Streptomyces* 等菌群的相对丰度显著上调, *Odoribacter*、*Coprococcus*、*Dorea*、*Oscillospira*、*Dehalobacterium* 等菌群的相对丰度显著下调。经过白芷多糖低剂量干预后, 上述菌群丰度均得到了回调。对白芷多糖低剂量组与 DSS 组的差异物种进行 KEGG 代谢通路预测分析, 结果显示, 预测的 KEGG 二级代谢通路主要涉及氨基酸代谢、碳水化合物代谢、辅因子和维生素代谢、萜类化合物、聚酮类化合物的代谢、脂类代谢和能量代谢, 见图 5。结果表明, 白芷多糖低剂量干预 UC 小鼠能够使小鼠肠道菌群相对丰度向对照组趋近, 其作用机制可能涉及氨基酸代谢途径。

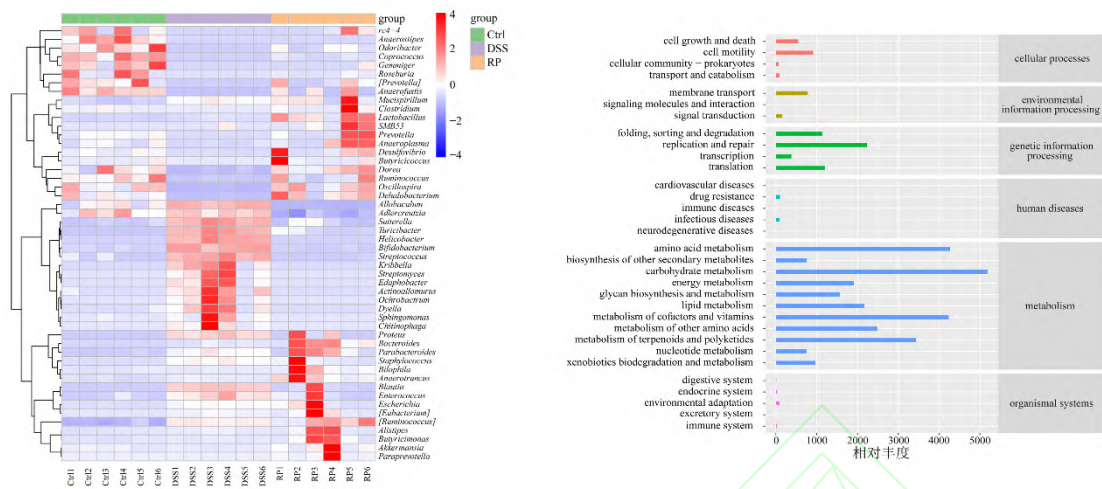


图5 各组小鼠肠道菌群物种差异分析及KEGG代谢通路分析
Fig.5 Species differences of intestinal microbiota and KEGG metabolic pathway analysis of mice in each group

3.6 白芷多糖对 UC 小鼠粪便代谢谱的影响

3.6.1 偏最小二乘判别分析 (partial least squares discriminant analysis, PLS-DA)

DSS 组与对照组的 PLS-DA 得分图完全分离, 该模型 $R^2Y=0.997$, $Q^2=0.799$, 表明模型预测能力较好。为防止模型出现过拟合, 进行 200 次置换检验对模型进行内部验证, R^2 与 Q^2 均与纵轴相交 ($R^2=0.974$, $Q^2=-0.760$), 且回归线斜率均大于 0。白芷多糖低剂量组与 DSS 组的 PLS-DA 得分图完全分离, 该模型 $R^2Y=0.985$, $Q^2=0.168$, 200 次置换检验结果显示, R^2 与 Q^2 均与纵轴相交 ($R^2=0.997$, $Q^2=-0.110$), 且回归线斜率均大于 0, 见图 6。上述结果表明该模型预测能力良好, 没有出现过拟合现象。

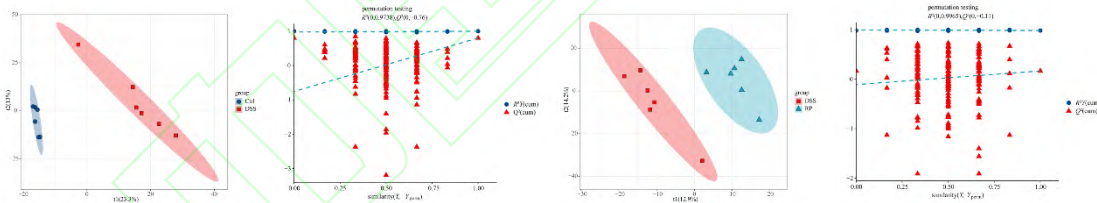


图6 各组间小鼠粪便代谢物的 PLS-DA 得分图及 200 次置换检验图
Fig.6 PLS-DA score plots and 200 iterations permutations test of fecal metabolites of mice among groups

3.6.2 差异代谢物鉴定

根据 $FC>1.50$ 或 <0.67 且 $P<0.05$ 的标准结合 $VIP>1.0$ 筛选差异代谢物, 结果显示, 各组小鼠粪便中鉴定出 27 种差异代谢物, 见表 8。为了直观地显示各组样本间代谢物变化的显著性, 筛选潜在的标志代谢物, 将上述代谢物作热图, 见中国知网本文增强出版附加材料。以上结果表明, 白芷多糖低剂量干预能够使 UC 小鼠粪便代谢物水平向对照组小鼠趋近。

表8 粪便中差异代谢物的鉴定分析

Table 8 Identification and analysis of differential metabolites in the feces

代谢物	t_R/min	分子式	离子模式	DSS vs Ctrl			RP vs DSS		
				VIP	P	FC	VIP	P	FC
methylpyrazine	2.02	$C_5H_6N_2$	$[M+H]^+$	2.04	0.00	5.45	2.48	0.00	0.39

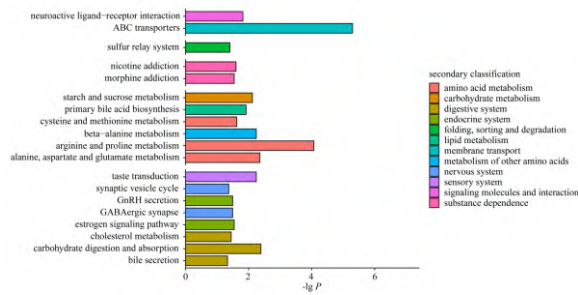
2-hydroxy-3-(2-hydroxyphenyl) propanoic acid	6.62	C ₉ H ₁₀ O ₄	[M-H] ⁻	1.94	0.00	6.97	2.03	0.02	0.52
imidazolepropionic acid	2.02	C ₆ H ₈ N ₂ O ₂	[M+H] ⁺	1.90	0.00	12.84	2.34	0.00	0.29
5-aminopentanoate	1.64	C ₅ H ₁₁ NO ₂	[M+H] ⁺	1.93	0.00	5.12	1.80	0.05	0.44
PC (20:4/20:4)	11.76	C ₄₈ H ₈₀ NO ₈ P	[M+H] ⁺	1.83	0.00	0.04	2.13	0.02	9.29
5-methylpyrazine-2-carboxylic acid	2.01	C ₆ H ₆ N ₂ O ₂	[M-H] ⁻	1.81	0.00	0.47	2.32	0.00	2.01
3-amino-2,2-dimethylpropanoic acid	1.41	C ₅ H ₁₁ NO ₂	[M+H] ⁺	1.74	0.00	5.91	2.23	0.01	0.31
gibberellin A110	9.21	C ₂₀ H ₂₈ O ₅	[M-H] ⁻	1.80	0.00	0.41	1.96	0.03	1.98
medicagenic acid	10.88	C ₃₀ H ₄₆ O ₆	[M-H] ⁻	1.65	0.00	4.72	1.98	0.02	0.38
oryzalic acid A	10.71	C ₂₀ H ₃₀ O ₅	[M-H] ⁻	1.71	0.00	0.20	2.27	0.01	4.51
ophthalmic acid	1.72	C ₁₁ H ₁₉ N ₅ O ₆	[M+H] ⁺	1.66	0.00	8.85	1.93	0.03	0.27
spermidine	1.12	C ₇ H ₁₉ N ₃	[M+H] ⁺	1.69	0.01	0.27	1.84	0.05	5.07
3-methylpentanoylcarnitine	8.12	C ₁₃ H ₂₅ NO ₄	[M+H] ⁺	1.59	0.01	3.47	1.87	0.04	0.44
3-methylnonanediolcarnitine	8.13	C ₁₇ H ₃₁ NO ₆	[M+H] ⁺	1.60	0.01	11.49	2.12	0.01	0.16
Oct-5-enediolcarnitine	6.87	C ₁₅ H ₂₅ NO ₆	[2M+H] ⁺	1.60	0.01	26.46	1.96	0.03	0.21
27-hydroxyisomangiferolic acid	12.67	C ₃₀ H ₄₈ O ₄	[M-H] ⁻	1.55	0.01	4.55	2.08	0.02	0.30
maltotriose	1.47	C ₁₈ H ₃₂ O ₁₆	[M+Na] ⁺	1.56	0.01	0.26	1.94	0.03	7.00
S-adenosylmethionine	1.38	C ₁₅ H ₂₂ N ₆ O ₅ S	[M+H] ⁺	1.57	0.02	0.30	1.88	0.04	4.85
Glu-CA	9.39	C ₂₉ H ₄₇ NO ₈	[M+H] ⁺	1.39	0.02	44.16	1.83	0.04	0.13
acetylucine	7.88	C ₈ H ₁₅ NO ₃	[M+H] ⁺	1.42	0.02	1.66	1.95	0.03	0.61
GABA	1.35	C ₄ H ₉ NO ₂	[M+H] ⁺	1.45	0.02	1.76	2.11	0.01	0.50
cellobiose	0.95	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	[M-H] ⁻	1.41	0.02	0.37	2.16	0.01	3.37
maltose	0.93	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	[M+Cl] ⁻	1.40	0.03	0.25	1.87	0.04	7.32
asiatic acid	11.57	C ₃₀ H ₄₈ O ₅	[M+H-H ₂ O] ⁺	1.37	0.03	4.81	1.83	0.04	0.25
ganolucidic acid E	11.64	C ₃₀ H ₄₄ O ₅	[M-H ₂ O-H] ⁻	1.35	0.03	6.16	1.80	0.05	0.23
biliverdin	10.60	C ₃₃ H ₃₄ N ₄ O ₆	[M+H] ⁺	1.42	0.03	4.74	1.86	0.04	0.27
taurine	1.23	C ₂ H ₇ NO ₃ S	[M-H+2Na] ⁺	1.29	0.04	1.91	1.89	0.03	0.46

注: VIP.变量重要性投影; FC.差异倍数。

3.6.3 代谢通路分析

进一步对获得的差异代谢物进行 KEGG 通路分析,以 $P<0.05$ 为标准筛选白芷多糖低剂量干预 UC 小鼠影响的代谢通路。结果显示,白芷多糖低剂量干预后影响最显著的 KEGG 二级代谢通路分类分别为 氨基酸代谢、碳水化合物代谢,脂类代谢等。KEGG 三级代谢通路分析结果显示,精氨酸和

脯氨酸代谢是白芷多糖低剂量干预后影响最显著的氨基酸代谢途径，见图 7。以上结果表明，白芷多糖低剂量干预可能通过影响 UC 小鼠粪便精氨酸和脯氨酸代谢途径发挥治疗 UC 的作用。



n 表示涉及相应代谢通路的差异代谢物数量；灰色框及中间的字母代表各 KEGG 二级代谢通路。

图 7 差异代谢物所涉及的 KEGG 代谢通路
Fig.7 KEGG metabolic pathways involved in differential metabolites

3.6.4 各组小鼠肠道差异菌群和差异氨基酸代谢物的相关性分析

对筛选的差异菌属和精氨酸和脯氨酸相关代谢物进行 spearman 相关性层次聚类分析，见图 8。*S*-腺苷甲硫氨酸 (*S*-adenosylmethionine) 及亚精胺 (spermidine) 与 *Bifidobacterium*、*Ochrobactrum*、*Streptococcus* 相对丰度呈显著负相关。 γ -氨基丁酸 (GABA) 与 *Ochrobactrum*、*Streptococcus*、*Sutterella*、*Allobaculum*、*Turicibacter* 相对丰度呈显著正相关。

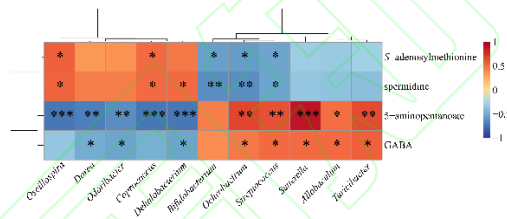


图 8 小鼠肠道差异菌群和粪便差异代谢物的关联分析
Fig.8 Correlation analysis between intestinal differential microbiota and fecal differential metabolites in mice

4 讨论

UC 是一种反复发作、易癌变的终生性、难治性消化病^[16]。免疫抑制剂、生物制剂、新型小分子药物以及微生态制剂的不断研发和推广为中重度、难治性 UC 患者提供了更多的治疗选择。尽管如此，沙利度胺对胎儿有严重的致畸性，硫唑嘌呤起效慢且存在骨髓抑制的风险，生物制剂易增加患者感染的风险，长期应用存在失应答可能，奥扎莫德初次使用常导致患慢型心律失常等^[17]。药物不良反应使治疗 UC 的各种药物的临床应用受到一定限制。

中医认为 UC 当属“泄泻”“肠痈”“久痢”等病范畴。白芷因其消痈排脓、祛风止痛之功效，常被列于 UC 的治疗方药，如治疗痰泻之炙肝散、消痈排脓之托里消毒散、托里透脓散等^[18]。本课题组前期研究结果表明，中药白芷能够改善 UC 小鼠结肠炎症，增加杯状细胞数量，维持肠黏膜屏障完整性^[19]。天然多糖因其安全有效的特点，有望被开发为治疗 UC 的替代药物，但 RP 对 UC 小鼠的治疗作用及相关机制尚不明确。

采用 2.5% 的 DSS 溶液自由饮用 7 d 是目前常用的诱导小鼠 UC 模型的方法^[20]。本文通过构建 UC 小鼠模型，研究 RP 干预对 UC 小鼠一般症状及结肠炎症的影响。实验结果表明，与对照组相比，DSS 组小鼠体质量显著下降，腹泻和血便明显，DAI 评分显著升高，结肠长度明显缩短。镜下结果显示，DSS 组小鼠结肠组织存在明显充血水肿，隐窝结构紊乱，伴有大量炎症细胞浸润，说明造模成功。RP 和 5-ASA 干预能够显著减少 UC 小鼠体质量下降和结肠缩短，降低 DAI 评分，并改善 UC 小鼠病理损伤。不仅如此，RP 和 5-ASA 干预显著减少了 UC 小鼠结肠组织 IL-1 β 、TNF- α 等炎症因子的

表达,表明 RP 和 5-ASA 干预可以显著缓解 UC 小鼠一般症状和结肠炎症。整体而言,RPL 组疗效优于 RPH 组,RP 组的疗效优于 5-ASA 组。

完整的肠黏膜屏障系统能够有效防止肠腔中的病原菌和有害物质接触和刺激肠上皮细胞,并维持机体内环境稳态。粘蛋白减少、黏液层变薄、紧密连接蛋白表达下调、肠上皮细胞功能障碍、结构破坏或固有层大量炎症细胞浸润均可导致肠黏膜屏障破坏,肠道免疫稳态失调,诱发或加重 UC^[21]。研究表明,活动期 UC 患者结肠组织杯状细胞数量显著下调,粘液层核心成分 Muc2 分泌减少,紧密连接蛋白表达下调,肠黏膜通透性增加^[22-24]。因此,维持肠黏膜屏障完整性,促进黏膜愈合在 UC 的治疗中至关重要。本实验结果显示,RP 和 5-ASA 干预能够促进 UC 小鼠肠上皮细胞 Muc2 分泌,显著上调 Occludin 蛋白表达水平,并降低结肠通透性,提示 RP 和 5-ASA 干预对 UC 小鼠肠黏膜屏障具有保护作用。

肠道菌群紊乱参与 UC 的发生发展。研究表明,UC 患者的肠道菌群 α 多样性较健康对照组显著降低^[25]。本实验结果显示,DSS 组的 α 多样性指数 Chao 指数及 Faith 指数较对照组显著降低,而 RP 低剂量干预能够显著上调 Chao 指数及 Faith 指数,与先前的研究结果一致。进一步分析对照组、DSS 组、RPL 组 3 组小鼠之间的差异物种,结果显示,与对照组相比,DSS 组小鼠 *Bifidobacterium*、*Sutterella*、*Streptococcus*、*Allobaculum*、*Ochrobactrum*、*Streptomyces* 等菌群的相对丰度显著上调,而 *Odoribacter*、*Coprococcus*、*Dorea*、*Oscillospira*、*Dehalobacterium* 等菌群的相对丰度显著下调。RP 低剂量干预能够回调相关菌群的相对丰度。研究表明,*Sutterella*、*Streptococcus*、*Allobaculum*、*Ochrobactrum*、*Streptomyces* 等菌群丰度在 UC 患者或小鼠中显著上调,被认为是结肠炎恶化的潜在因素^[26-30]。*Odoribacter*、*Coprococcus*、*Dorea*、*Oscillospira*、*Dehalobacterium* 等通常被认为是肠道有益菌,并能缓解结肠炎症^[31-34]。进一步对差异物种进行 KEGG 富集分析,预测的 KEGG 二级代谢通路主要涉及氨基酸代谢。以上研究结果表明 RP 低剂量干预能够调节肠道菌群结构,抑制致病菌的生长,促进有益菌的增殖,进而缓解 UC。

肠道菌群广泛参与宿主氨基酸代谢,影响宿主免疫平衡和肠黏膜完整性^[35]。粪便非靶代谢组学结果显示,RP 低剂量干预能够显著影响 UC 小鼠血清代谢谱。对 RP 干预后的差异代谢物进行 KEGG 富集分析,结果显示氨基酸代谢是差异最显著的代谢途径,包括精氨酸和脯氨酸代谢、丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢、 β -丙氨酸代谢、半胱氨酸和蛋氨酸代谢等。其中,精氨酸和脯氨酸代谢是 RP 低剂量干预后差异最显著的氨基酸代谢途径,涉及的相关代谢物有 5-氨基戊酸乙酯、S-腺苷甲硫氨酸、亚精胺、 γ -氨基丁酸等。

研究表明,S-腺苷甲硫氨酸和亚精胺能够缓解 UC 小鼠结肠炎症^[36-37]。而 γ -氨基丁酸能够增强小鼠对 DSS 诱导的结肠炎的易感性^[38]。本研究结果显示,RP 低剂量组能够通过影响小鼠粪便精氨酸和脯氨酸代谢改善 UC,表现为显著上调 UC 小鼠粪便 S-腺苷甲硫氨酸和亚精胺的浓度,同时显著下调 γ -氨基丁酸的浓度。表明白芷多糖低剂量干预可以恢复 UC 小鼠精氨酸和脯氨酸代谢平衡。

进一步分析 RP 低剂量干预后的差异肠道菌属与精氨酸和脯氨酸代谢相关代谢物的相关性,结果显示,S-腺苷甲硫氨酸和亚精胺与 *Ochrobactrum*、*Streptococcus* 等有害菌的相对丰度呈显著负相关,而 γ -氨基丁酸与 *Ochrobactrum*、*Streptococcus* 等有害菌的相对丰度呈显著正相关。上述结果表明 RP 能够恢复 UC 小鼠肠道菌群结构,下调肠道有害菌相对丰度,调节粪便精氨酸和脯氨酸代谢,进而缓解 UC。

综上所述,RP 能够通过抑制结肠炎症,促进肠黏膜屏障修复缓解 UC。其机制可能是通过增加肠道菌群多样性,抑制 *Ochrobactrum*、*Streptococcus* 等有害菌增殖,调节精氨酸和脯氨酸代谢实现的。本研究提示 RP 是一种安全、有效的替代药物,为 RP 的开发利用及 UC 的治疗提供了实验依据。

[参考文献]

- [1] 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]. *Front Public Health*, 2022, 10: 1032679.
- [2] LE BERRE C, HONAP S, PEYRIN-BIROULET L. Ulcerative colitis [J]. *Lancet (London, England)*, 2023, 402(10401): 571.
- [3] DAL BUONO A, RODA G, ARGOLLO M, et al. Treat to target or 'treat to clear' in inflammatory bowel diseases: one step further? [J]. *Expert Rev Gastroent*, 2020, 14(9): 807.

- [4] ALSOUD D, VERSTOCKT B, FIOCCHI C, et al. Breaking the therapeutic ceiling in drug development in ulcerative colitis [J]. *Lancet Gastroenterol*, 2021, 6(7): S89.
- [5] 汪文丽, 朱晓明, 刘小玲. 多糖生物活性影响因素研究进展[J]. *化学与生物工程*, 2024, 41(8): 9.
- [6] 姚安妮, 汤燕, 罗大英, 等. 药用植物资源多糖类成分相对分子质量与其功效关联性的分析与展望[J]. *中国中药杂志*, 2024, 49(5): 1186.
- [7] NIU W, CHEN X, XU R, et al. Polysaccharides from natural resources exhibit great potential in the treatment of ulcerative colitis: a review [J]. *Carbohydr Polym*, 2021, 254: 117189.
- [8] FENG J, GENG J, WU J, et al. A potential role of plant/macrofungi/algae-derived non-starch polysaccharide in colitis curing: review of possible mechanisms of action [J]. *Molecules*, 2022, 27(19): 6467.
- [9] 唐婕, 严建. 白芷治疗溃疡性结肠炎作用机制探讨[J]. *中医药临床杂志*, 2023, 35(5): 954.
- [10] LUO M, LUO Y. Imperatorin relieved ulcerative colitis by regulating the Nrf-2/ARE/HO-1 pathway in rats [J]. *Inflammation*, 2021, 44(2): 558.
- [11] ZHANG J, DONG L, PAN Y. Detection of the content of two coumarins, IM and ISOIM, and their mechanism of action on colitis rats in *angelica albicans* [J]. *Comput Math Method M*, 2022, 2022: 5475559.
- [12] 宋少华, 李海舰, 李莉娟, 等. 白芷乙素对溃疡性结肠炎小鼠的影响[J]. *广东药科大学学报*, 2021, 37(5): 100.
- [13] 刘红萍, 吴江, 王芬, 等. 白芷多糖对免疫低下模型小鼠免疫调节作用的研究[J]. *四川医学*, 2020, 41(11): 1126.
- [14] 王晴, 金圣柱, 李光耀, 等. 白芷多糖对2型糖尿病大鼠的降糖保肝作用[J]. *食品科学*, 2023, 44(7): 176.
- [15] LV Q, XING Y, LIU Y, et al. Didymin switches M1-like toward M2-like macrophage to ameliorate ulcerative colitis via fatty acid oxidation [J]. *Pharmacol Res*, 2021, 169: 105613.
- [16] 张玉雯, 王佳佳, 巴寅颖, 等. 中医药调节溃疡性结肠炎常见证候肠道菌群的研究进展[J]. *世界中医药*, 2022, 17(20): 2953.
- [17] GROS B, KAPLAN G G. Ulcerative colitis in adults: a review [J]. *J Am Med Assoc*, 2023, 330(10): 952.
- [18] 张永, 胡志鹏, 叶俏波. 托里透毒法在溃疡性结肠炎中的运用[J]. *辽宁中医杂志*, 2018, 45(2): 343.
- [19] HU J, HUANG H, CHE Y, et al. Qingchang huashi formula attenuates DSS-induced colitis in mice by restoring gut microbiota-metabolism homeostasis and goblet cell function [J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 266: 113394.
- [20] WIRTZ S, POPP V, KINDERMANN M, et al. Chemically induced mouse models of acute and chronic intestinal inflammation [J]. *Nat Protoc*, 2017, 12(7): 1298.
- [21] CHEN Y, CUI W, LI X, et al. Interaction between commensal bacteria, immune response and the intestinal barrier in inflammatory bowel disease [J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 761981.
- [22] VAN DER POST S, JABBAR K S, BIRCHENOUGH G, et al. Structural weakening of the colonic mucus barrier is an early event in ulcerative colitis pathogenesis [J]. *Gut*, 2019, 68(12): 2142.
- [23] KUO W-T, ZUO L, ODENWALD M A, et al. The tight junction protein ZO-1 is dispensable for barrier function but critical for effective mucosal repair [J]. *Gastroenterology*, 2021, 161(6): 1924.
- [24] CHANG J, LEONG R W, WASINGER V C, et al. Impaired intestinal permeability contributes to ongoing bowel symptoms in patients with inflammatory bowel disease and mucosal healing [J]. *Gastroenterology*, 2017, 153(3): 723.
- [25] LLOYD-PRICE J, ARZE C, ANANTHAKRISHNAN A N, et al. Multi-omics of the gut microbial ecosystem in inflammatory bowel diseases [J]. *Nature*, 2019, 569(7758): 655.
- [26] ZHANG S, SUN Y, NIE Q, et al. *In vitro* assessment of the effect of four polysaccharides on intestinal bacteria of mice with colitis [J]. *Food Front*, 2023, 4: 1467.
- [27] LU H, SHEN M, CHEN Y, et al. Alleviative effects of natural plant polysaccharides against DSS-induced ulcerative colitis via inhibiting inflammation and modulating gut microbiota [J]. *Food Res Int*, 2023, 167: 112630.
- [28] LIU J, GAO Y, ZHOU J, et al. Changes in serum inflammatory cytokine levels and intestinal flora in a self-healing dextran sodium sulfate-induced ulcerative colitis murine model [J]. *Life Sci*, 2020, 263: 118587.
- [29] YANG Y, HE J, WANG Y, et al. Whole intestinal microbiota transplantation is more effective than fecal microbiota transplantation in reducing the susceptibility of DSS-induced germ-free mice colitis [J]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1143526.
- [30] DENG J, YUN J, GU Y, et al. Evaluating the *in vitro* and *in vivo* prebiotic effects of different xylo-oligosaccharides obtained from bamboo shoots by hydrothermal pretreatment combined with endo-xylanase hydrolysis [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(17): 13422.
- [31] XIE W Y, JI Z H, REN W Z, et al. Wheat peptide alleviates DSS-induced colitis by activating the Keap1-Nrf2 signaling pathway and maintaining the integrity of the gut barrier [J]. *Food Funct*, 2024, 15(10): 5474.
- [32] CHEN X, HU J, YANG J, et al. Human milk oligosaccharide 2'-fucosyllactose alleviates DSS-induced ulcerative colitis via improving intestinal barrier function and regulating gut microbiota [J]. *Food Biosci*, 2024, 59: 104162.
- [33] ZHANG T, ZHANG W, FENG C, et al. Stronger gut microbiome modulatory effects by postbiotics than probiotics in a mouse colitis model [J]. *Npj Sci Food*, 2022, 6(1): 53.
- [34] CHEN S, WANG J, DONG N, et al. Polysaccharides from natural *cordyceps sinensis* attenuated dextran sodium sulfate-induced colitis in C57BL/6J mice [J]. *Food Funct*, 2023, 14(2): 720.
- [35] FU Y, LYU J, WANG S. The role of intestinal microbes on intestinal barrier function and host immunity from a metabolite perspective [J]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1277102.
- [36] OZ H S, CHEN T S, MCCLAIN C J, et al. Antioxidants as novel therapy in a murine model of colitis [J]. *J Nutr Biochem*, 2005, 16(5): 297.
- [37] NIECHCIAL A, SCHWARZFISCHER M, WAWRZYNIAK M, et al. Spermidine ameliorates colitis via induction of anti-inflammatory macrophages and prevention of intestinal dysbiosis [J]. *J Crohns Colitis*, 2023, 17(9): 1489.
- [38] ZHANG H, WANG Y, GAO F, et al. GABA increases susceptibility to DSS-induced colitis in mice [J]. *J Funct Foods*, 2022, 99: 105339.