

本文引用: 李葳, 王英杰, 王仁媛, 李积良. 基于肠道菌群和代谢组学探究升阳益胃汤抗溃疡性结肠炎的作用机制[J]. 湖南中医药大学学报, 2026, 46(8): 1548–1558.

基于肠道菌群和代谢组学探究升阳益胃汤 抗溃疡性结肠炎的作用机制

李葳¹, 王英杰^{1,2}, 王仁媛^{1,2*}, 李积良³

1. 青海大学医学院中医系, 青海 西宁 810016; 2. 青海省糖脂代谢疾病防控中医药重点实验室, 青海 西宁 810016;

3. 青海省中医院肛肠科, 青海 西宁 810016

〔摘要〕 目的 基于肠道菌群与血清代谢组学, 观察升阳益胃汤对三硝基苯磺酸(TNBS)诱导的溃疡性结肠炎(UC)模型大鼠的干预效果, 探究其改善肠道炎症与肠黏膜屏障的作用机制。方法 将 70 只 SPF 级雄性大鼠随机分为空白组、模型组、美沙拉秦组和升阳益胃汤低、中、高剂量组, 每组 10 只。采用 TNBS 灌肠法构建 UC 模型, 造模成功后, 美沙拉秦组予美沙拉秦药液灌胃(0.2 g/kg), 升阳益胃汤低、中、高剂量组分别予升阳益胃汤水煎液(6.3、12.6、25.2 g/kg)灌胃, 空白组、模型组予等量生理盐水灌胃。每日 1 次, 持续干预 7 d。干预期间监测各组大鼠的体质量、粪便性状及便隐血情况以计算疾病活动指数(DAI); ELISA 检测超氧化物歧化酶(SOD)、还原型谷胱甘肽(GSH)、一氧化氮(NO)、丙二醛(MDA); HE 染色和阿尔辛蓝-过碘酸希夫(AB-PAS)染色观察结肠组织病理变化; 16S rRNA 测序分析肠道菌群多样性与结构变化; 非靶向代谢组学分析血清差异代谢物及富集通路; Western blot 检测结肠组织 Occludin、Claudin-1 蛋白表达水平。结果 与空白组相比, 模型组 DAI 评分及血清 MDA、NO 水平升高($P<0.01$), 血清 SOD、GSH 水平及结肠组织中 Occludin、Claudin-1 蛋白表达水平均降低($P<0.05$, $P<0.01$)。与模型组相比, 升阳益胃汤高剂量组和美沙拉秦组 DAI 评分及血清 MDA、NO 水平降低($P<0.01$), 血清 SOD、GSH 水平及结肠组织中 Occludin 和 Claudin-1 蛋白表达水平升高($P<0.05$, $P<0.01$)。与升阳益胃汤低剂量组相比, 升阳益胃汤高剂量组和美沙拉秦组 DAI 评分及血清 MDA、NO 水平均降低($P<0.01$), SOD、GSH 水平和结肠组织 Occludin、Claudin-1 蛋白表达水平均升高($P<0.05$, $P<0.01$)。与空白组相比, 模型组结肠黏膜结构损伤、炎症细胞大量浸润、杯状细胞数量减少; 肠道菌群多样性紊乱, 芽孢杆菌门丰度下调、拟杆菌门及变形菌门丰度上调, 乳杆菌属等有益菌群丰度降低; 血清代谢轮廓改变, 影响 ABC 转运蛋白、生物素代谢、辅因子生物合成、胆汁分泌等通路。经过升阳益胃汤干预后, 结肠黏膜损伤、炎症浸润及杯状细胞损伤得到有效修复; 乳杆菌属、粘液乳杆菌属等丰度回升, 鼠杆菌科等丰度下降; 血清代谢紊乱得到调控, 筛选出 114 个药物干预相关差异代谢物, 主要影响胆碱代谢相关、甘油磷脂代谢、 α -亚麻酸代谢、酪氨酸代谢及胆汁分泌等通路。结论 升阳益胃汤可有效改善 UC 大鼠肠道炎症与氧化应激损伤, 修复肠黏膜屏障, 其干预效应可能与调节肠道菌群稳态、重塑血清代谢紊乱存在关联。

〔关键词〕 升阳益胃汤; 溃疡性结肠炎; 肠道菌群; 代谢组学; 氧化应激; 肠道屏障

〔中图分类号〕 R285.5

〔文献标志码〕 A

〔文章编号〕 doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2026.08.002

Mechanism of action of Shengyang Yiwei Decoction against ulcerative colitis based on gut microbiota and metabolomics

LI Wei¹, WANG Yingjie^{1,2}, WANG Ren'ai^{1,2*}, LI Jiliang³

1. Department of Traditional Chinese Medicine, Medical College, Qinghai University, Xining, Qinghai 810016, China; 2. Qinghai

〔收稿日期〕 2026-07-06

〔基金项目〕 青海省卫生健康系统指导性计划课题(2025-wjzdx-34)。

〔通信作者〕 * 王仁媛, 女, 硕士, 教授, 博士研究生导师, E-mail: 962532418@163.com。

Provincial Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine for Prevention and Control of Glucolipid Metabolic Diseases, Xining, Qinghai 810016, China; 3. Department of Proctology, Qinghai Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Xining, Qinghai 810016, China

[Abstract] Objective To observe the therapeutic effects of Shengyang Yiwei Decoction (SYWD) on trinitrobenzene sulfonic acid (TNBS)-induced ulcerative colitis (UC) model rats based on gut microbiota and serum metabolomics, and to explore its mechanism of action in alleviating intestinal inflammation and improving intestinal mucosal barrier function. **Methods** Seventy SPF male rats were randomly divided into a blank group, a model group, a mesalazine group, and low-, medium-, and high-dose SYWD groups, with 10 rats in each group. The UC model was established by TNBS enema. After successful modeling, the mesalazine group received mesalazine suspension (0.2 g/kg) by gavage, the low-, medium-, and high-dose SYWD groups received corresponding doses of SYWD (6.3, 12.6, and 25.2 g/kg, respectively) by gavage, and the blank and model groups were given equal volumes of normal saline. All treatments were administered once daily for 7 consecutive days. During the intervention period, body weight, fecal consistency, and fecal occult blood of rats in each group were monitored, and the disease activity index (DAI) was calculated. The levels of superoxide dismutase (SOD), reduced glutathione (GSH), nitric oxide (NO), and malondialdehyde (MDA) were detected by ELISA. Hematoxylin-eosin (HE) staining and Alcian blue-periodic acid-Schiff (AB-PAS) staining were performed to observe the histopathological changes of colonic tissue. The diversity and community structure of gut microbiota were analyzed by 16S rRNA gene sequencing. Untargeted metabolomics was performed to identify serum differential metabolites and enriched metabolic pathways. Western blot was used to detect the protein expression levels of Occludin and Claudin-1 in colonic tissue. **Results** Compared with the blank group, the model group showed elevated DAI scores and serum MDA and NO levels ($P < 0.01$), and reduced serum SOD and GSH levels as well as the protein expression levels of Occludin and Claudin-1 in colonic tissue ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Compared with the model group, the high-dose SYWD group and the mesalazine group showed decreased DAI scores and serum MDA and NO levels ($P < 0.01$), and increased serum SOD and GSH levels as well as Occludin and Claudin-1 protein expression in colonic tissue ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Compared with the low-dose SYWD group, the high-dose SYWD group and the mesalazine group also showed decreased DAI scores and serum MDA and NO levels ($P < 0.01$), and increased SOD and GSH levels as well as Occludin and Claudin-1 protein expression in colonic tissue ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Compared with the blank group, the model group exhibited disrupted colonic mucosal structure, extensive infiltration of inflammatory cells, and a reduced number of goblet cells. The gut microbiota showed dysbiosis, with downregulated abundance of Bacillota, upregulated abundance of Bacteroidetes and Proteobacteria, and decreased abundance of beneficial genera such as Lactobacillus. Serum metabolic profiles were altered, affecting pathways including ABC transporters, biotin metabolism, cofactor biosynthesis, and bile secretion. After intervention with SYWD, the colonic mucosal damage, inflammatory infiltration, and goblet cell injury were effectively restored. The abundance of genera such as Lactobacillus and Limosilactobacillus was increased, while the abundance of Muribaculaceae decreased. Serum metabolic disorders were modulated, with 114 drug intervention-related differential metabolites identified, mainly affecting pathways associated with choline metabolism, glycerophospholipid metabolism, α -linolenic acid metabolism, tyrosine metabolism, and bile secretion. **Conclusion** SYWD can effectively alleviate intestinal inflammation and oxidative stress injury in UC rats, repair the intestinal mucosal barrier, and its therapeutic effects may be associated with regulating gut microbiota homeostasis and ameliorating serum metabolic disorders.

[Keywords] Shengyang Yiwei Decoction; ulcerative colitis; gut microbiota; metabolomics; oxidative stress; intestinal barrier

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是一种病因尚未完全明确的炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD),以结直肠黏膜连续性弥漫性炎症改变为特征,病变主要累及大肠黏膜与黏膜下层,以黏液脓血便、腹痛、腹泻为主要临床表现^[1]。当前,UC

的治疗药物包括氨基水杨酸类、糖皮质激素、免疫抑制剂以及生物制剂等^[2]。传统西药与新型生物制剂虽可缓解临床症状,但均存在一定不良反应。研究证实,糖皮质激素可扰乱肠道微生态,增加肠道菌群失调的风险,还可导致耐药^[3]。临床研究发现,免

疫抑制剂疗效有限,且患者常因不良反应而停药^[4]。中医药可通过整体调控、辨证论治发挥治疗作用,同时具备多成分、多靶点、毒副作用小、疗效稳定的特点,在 UC 的治疗中展现出较大优势。

升阳益胃汤出自李东垣所著的《内外伤辨惑论·肺之脾胃虚方》,组方以升阳举陷、健脾祛湿为核心,兼具补气升阳、清热燥湿的功效。UC 的病机以脾虚湿盛为本,引发肠道黏膜损伤、气血运行不畅。在升阳益胃汤的组方配伍中,黄芪、人参可补益中气、顾护根本,白术健脾燥湿,黄连清热燥湿,诸药合用可协同改善脾虚失运、湿浊内蕴的病理状态,契合 UC 本虚标实的病机特点。升阳益胃汤治疗 UC 的机制复杂,包括抗炎、修复黏膜^[5],调节相关蛋白及细胞因子表达^[6]等。然而,其是否通过协同调节肠道菌群稳态、代谢重塑和肠黏膜屏障修复对 UC 发挥保护作用尚缺乏实验依据。本研究通过动物实验,结合血清代谢物分析、肠道菌群 16S rRNA 测序等方法,探究升阳益胃汤对三硝基苯磺酸(trinitrobenzene sulfonic acid, TNBS)诱导的 UC 模型大鼠的干预效应及作用机制。

1 材料

1.1 实验动物

SPF 级雄性 SD 大鼠 70 只,体质量(180 ± 20) g,购于西安交通大学医学部实验动物中心[许可证编号:SCXK(陕)2020-001]。于室温 $20 \sim 25$ °C,相对湿度 40%~70%,12 h 光照/12 h 黑暗昼夜循环的环境中用普通饲料喂养。动物实验经过青海大学医学院医学科学研究伦理委员会批准(批件号:2023-026)。

1.2 药物

升阳益胃汤组方:黄芪 30 g,法半夏 15 g,人参 15 g,炙甘草 15 g,独活 9 g,防风 9 g,白芍 9 g,羌活 9 g,陈皮 6 g,茯苓 5 g,北柴胡 5 g,泽泻 5 g,白术 5 g,黄连 1.5 g。所有中药饮片由青海大学医学院药理学系刘占后高级实验师依据《中华人民共和国药典》(2020 年版)进行鉴定,确认符合药典标准。美沙拉秦肠溶片(黑龙江天宏药业股份有限公司,国药准字:H20103359,批号:20230805,规格:0.25 g)。

1.3 主要试剂

兔抗鼠一抗抗体闭合蛋白(Occludin)、兔抗鼠一抗抗体闭锁蛋白 1(Claudin-1)(美国 ImmunoWay 生物技术公司,批号:YM8316、YM8199);兔抗鼠一抗抗体 β -actin(北京傲锐东源生物科技有限公司,批号:TA424441);TNBS(大连美仑生物技术有限公

司,批号:MB5523);蛋白分子量 Marker[和元李记(上海)生物技术有限公司,批号:BF06193S];辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔 IgG(H+L)(武汉三鹰生物技术有限公司,批号:SA00001-2);总蛋白裂解液(北京索莱宝科技有限公司,批号:BC3710);超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)试剂盒、丙二醛(malondialdehyde, MDA)试剂盒、一氧化氮(nitric oxide, NO)一步法试剂盒、还原型谷胱甘肽(reduced glutathione, GSH)试剂盒(南京建成生物工程研究所,货号:A001-3-2、A003-1-2、A006-2-1、A013-2-1);二喹啉甲酸(bicinchoninic acid, BCA)蛋白浓度检测试剂盒(上海圣尔生物科技有限公司,批号:SB-WB013)。

1.4 主要仪器

超高效液相色谱-四极杆静电场轨道阱质谱仪、NanoDrop 2000 微量核酸蛋白检测仪(美国赛默飞世尔科技公司,型号:UPLC-Q Exactive Plus-Orbitrap MS、ND-2000);PCR 热循环仪(美国 BIO-RAD 公司,型号:T100)。高通量测序由上海美吉生物医药科技有限公司完成。

2 实验方法

2.1 动物分组与造模

70 只大鼠中随机选取 10 只设为空白组,其余大鼠为造模组,适应性喂养 1 周后,大鼠 24 h 禁食不禁水后进行造模。造模方法^[7]:予 20%乌拉坦溶液腹腔注射,充分麻醉后进行固定;将 5%TNBS 和 50%乙醇按 1:1 的体积比混匀,备用;取一次性灌肠管,按 TNBS 80 mg/kg 计算用量^[8],将适量 TNBS/乙醇液通过灌肠管灌入肠内,取出灌肠管;将大鼠悬吊,头部向下姿势保持 5 min 后,再将其自然放平。空白组采用生理盐水灌肠,方法同造模组。各组大鼠均自然清醒。造模第 2 天采取随机抽样法进行抽样,在造模组中随机抽取 2 只,麻醉后处死,自肛门处向上取结肠组织(15 ± 2) cm,沿纵轴剪开,用生理盐水洗净。出现结肠肠壁增厚、黏膜充血水肿或有溃疡形成等病理变化,即为造模成功^[9]。将造模成功的大鼠随机分为模型组、美沙拉秦组和升阳益胃汤低、中、高剂量组,每组各 10 只。

2.2 药物制备及给药

升阳益胃汤制备:将上述中药材加 10 倍体积蒸馏水浸泡 2 h,煎煮 1 h,用纱布过滤药液;再用 8 倍体积蒸馏水煎煮 1 h,合并 2 次滤液,用旋转蒸发仪减压浓缩至 1.26 g/mL。

美沙拉秦溶液制备:给药前将美沙拉秦肠溶片研粉,将美沙拉秦肠溶片用蒸馏水溶解配制成 500 mg/mL 母液,按照灌胃浓度用蒸馏水稀释。

根据《中药药理研究方法学》^[10]中人与鼠体表面积等效剂量换算公式,折算成人临床等效剂量,升阳益胃汤低、中、高剂量组分别予 6.3、12.6、25.2 g/kg 升阳益胃汤水煎液灌胃;美沙拉秦组予 0.2 g/kg^[11] 美沙拉秦药液灌胃;空白组、模型组予等量生理盐水灌胃。每组每日灌胃 1 次,连续给药 7 d。

2.3 指标检测

2.3.1 计算疾病活动指数(disease activity index, DAI)评分 给药期间记录各组大鼠每日体质量、粪便性状及粪便潜血情况以计算 DAI 评分^[12]。0 分:体质量无变化、粪便正常、无便血;1 分:体质量下降 1%~5%、大便介于正常与糊状之间、正常与隐血阳性之间;2 分:体质量下降 6%~10%、糊状便、隐血阳性;3 分:体质量下降 11%~15%、半液体粪便、隐血强阳性;4 分:体质量下降>15%、水样粪便、可见肉眼血便。

2.3.2 ELISA 检测血清氧化应激指标 末次干预结束后,麻醉大鼠,腹主动脉采血,静置离心后分离血清,-20℃保存备用。对大鼠血清样本进行 SOD、NO、GSH、MDA 水平测定,按试剂盒说明书进行。

2.3.3 HE 染色和阿尔辛蓝-过碘酸希夫(alcian blue-periodic acid-schiff, AB-PAS)染色观察结肠组织病理变化 处死大鼠,取结肠组织,收集结肠内容物,置于-80℃冰箱冻存。取大鼠结肠组织约 1 cm,用 4%多聚甲醛固定,石蜡包埋,采用 HE 染色和 AB-PAS 染色方法进行染色,显微镜下观察结肠组织上皮黏膜损伤和炎症浸润程度。

2.3.4 16S rRNA 测序分析肠道菌群多样性与结构变化 将大鼠的粪便样本进行微生物群落总基因组 DNA 抽提,使用 1%琼脂糖凝胶电泳检测抽提的基因组 DNA 的完整性,使用 NanoDrop 2000 测定 DNA 浓度和纯度。以上述提取的 DNA 为模板,使用携带 Barcode 序列的上游引物 341F(5'-ACTCCTACGG-GAGGCAGCAG-3')和下游引物 806R(5'-GGACT-ACHVGGGTWTCTAAT-3')对 16S rRNA 基因 V3~V4 可变区进行 PCR 扩增。使用 NEXTFLEX Rapid DNA-Seq Kit 对纯化后的 PCR 产物进行建库,利用 Illumina Nextseq 2000 平台进行测序。根据扩增的 16S 区域特点,基于测序平台利用双末端测序的方法,构建小片段文库并进行双末端测序。通过对 Reads 拼接过滤、OTUs 聚类、物种注释及丰度分析可以揭示样品

物种构成,进一步挖掘样品之间的差异,筛选出差异常菌群。

2.3.5 非靶向代谢组学分析血清差异代谢物及富集通路 取 100 μL 血清,加入 400 μL 含内标的 20% 乙腈-甲醇提取液,涡旋 30 s,5℃、40 kHz 超声提取 30 min,-20℃静置 30 min 沉淀蛋白,以 4℃、13 000 r/min(离心半径:8.6 cm)离心 15 min。取上清氮吹干燥,以 100 μL 乙腈-水(1:1)复溶,同条件超声 5 min,再次离心 10 min,取上清待测。等量混合各样本制备 QC 样本,每 5~10 个样本插入 1 个。色谱分离采用 HSS T3 柱(100 mm×2.1 mm,1.8 μm),进样量 3 μL,流动相为 0.1%甲酸水溶液-乙腈(95:5),流速 0.40 mL/min,柱温 40℃。质谱正负离子扫描,m/z 70~1 050;正离子喷雾电压 3 500 V,负离子-3 000 V,鞘气 50 arb,辅助气 13 arb,离子源温度 450℃,循环碰撞能 20~40~60 eV。数据经 Progenesis Q1 处理,HMDB、Metlin 及自建谱库定性;R 语言 ropls 包进行 PCA 和 OPLS-DA,七折交叉验证,以 VIP>1 且 P<0.05 筛选差异代谢物,KEGG 注释通路。

2.3.6 Western blot 检测结肠组织 Occludin、Claudin-1 蛋白表达水平 称取 150 mg 结肠组织裂解研磨,以 4℃、12 000 r/min(离心半径 9.2 cm)离心 15 min,取上清,BCA 蛋白定量检测法定量并统一蛋白浓度,-80℃分装冻存。蛋白煮沸变性后 SDS-PAGE 电泳、转膜,5%脱脂牛奶室温封闭 2 h;一抗[Claudin-1 (1:10 000)、Occludin (1:10 000)] 4℃孵育过夜,TBST 洗膜后,二抗(1:10 000)室温孵育 1 h,再次洗膜后发光成像,以 β-actin 为内参,计算各目标条带的光密度值。

2.4 统计学分析

采用 SPSS 26.0 软件处理实验数据,可视化图谱采用 GraphPad Prism 9 绘制。计量资料结果以“ $\bar{x} \pm s$ ”表示。多组样本对比先行单因素方差分析,组内两两比较选用 LSD-t 检验,若数据方差不齐,则采用校正 t 检验或 Tamhane's T2 检验校正。以 P<0.05 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 各组大鼠 DAI 评分比较

与空白组相比,模型组 DAI 评分升高(P<0.01);与模型组和升阳益胃汤低、中剂量组相比,升阳益胃汤高剂量组和美沙拉秦组 DAI 评分降低(P<0.01)。详见表 1。

表 1 各组大鼠 DAI 评分比较($\bar{x}\pm s, n=10$)

Table 1 Comparison of DAI scores among groups ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	DAI 评分/分
空白组	0.00±0.00
模型组	2.55±0.25**
升阳益胃汤低剂量组	2.45±0.11
升阳益胃汤中剂量组	2.40±0.13
升阳益胃汤高剂量组	1.50±0.19 ^{###} ^{△△}
美沙拉秦组	1.45±0.16 ^{###} ^{△△}

注:与空白组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,^{###} $P<0.01$;与升阳益胃汤低剂量组比较,^{△△} $P<0.01$;与升阳益胃汤中剂量组比较,[△] $P<0.01$ 。

3.2 各组大鼠血清 SOD、GSH、NO、MDA 水平比较

与空白组相比,模型组大鼠血清 SOD、GSH 水平降低($P<0.01$),MDA、NO 水平升高($P<0.01$)。与模

型组相比,升阳益胃汤低、中、高剂量组和美沙拉秦组血清 SOD、GSH 水平升高($P<0.01$),MDA、NO 水平降低($P<0.01$)。与升阳益胃汤低、中剂量组比较,升阳益胃汤高剂量组和美沙拉秦组 SOD、GSH 水平升高($P<0.01$),MDA、NO 水平降低($P<0.01$)。详见表 2。

3.3 各组大鼠结肠组织病理形态学比较

HE 染色结果显示:模型组大鼠结肠的隐窝和黏膜层遭到破坏,并且有大量炎性细胞的浸润。不同剂量的升阳益胃汤处理后,黏膜损伤逐渐减轻,隐窝结构恢复,并减少了结肠组织中炎性细胞的浸润。AB-PAS 染色结果显示:模型组结肠组织中的杯状细胞含量减少,经过不同剂量的升阳益胃汤处理后杯状细胞的含量逐渐增多,结肠损伤得到改善。详见图 1。

表 2 各组大鼠血清 SOD、GSH、NO、MDA 水平比较($\bar{x}\pm s, n=10$)

Table 2 Comparison of serum SOD, GSH, NO, and MDA levels among groups ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	SOD/(U/mL)	MDA/(nmol/L)	GSH/(μ mol/L)	NO/(μ mol/L)
空白组	3.78±0.29	3.42±0.33	2.89±0.30	15.23±1.96
模型组	1.39±0.11**	8.72±0.52**	0.75±0.12**	28.64±2.23**
升阳益胃汤低剂量组	2.15±0.16 ^{###}	6.49±0.62 ^{###}	1.68±0.12 ^{###}	24.45±2.42 ^{###}
升阳益胃汤中剂量组	2.40±0.22 ^{###}	6.28±0.33 ^{###}	1.65±0.20 ^{###}	20.63±2.56 ^{###} [△]
升阳益胃汤高剂量组	2.95±0.25 ^{###} ^{△△}	5.30±0.41 ^{###} ^{△△}	2.12±0.22 ^{###} ^{△△}	16.44±1.73 ^{###} ^{△△}
美沙拉秦组	2.85±0.24 ^{###} ^{△△}	5.22±0.24 ^{###} ^{△△}	2.09±0.17 ^{###} ^{△△}	16.23±1.84 ^{###} ^{△△}

注:与空白组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,^{###} $P<0.01$;与升阳益胃汤低剂量组比较,^{△△} $P<0.01$;与升阳益胃汤中剂量组比较,[△] $P<0.01$ 。

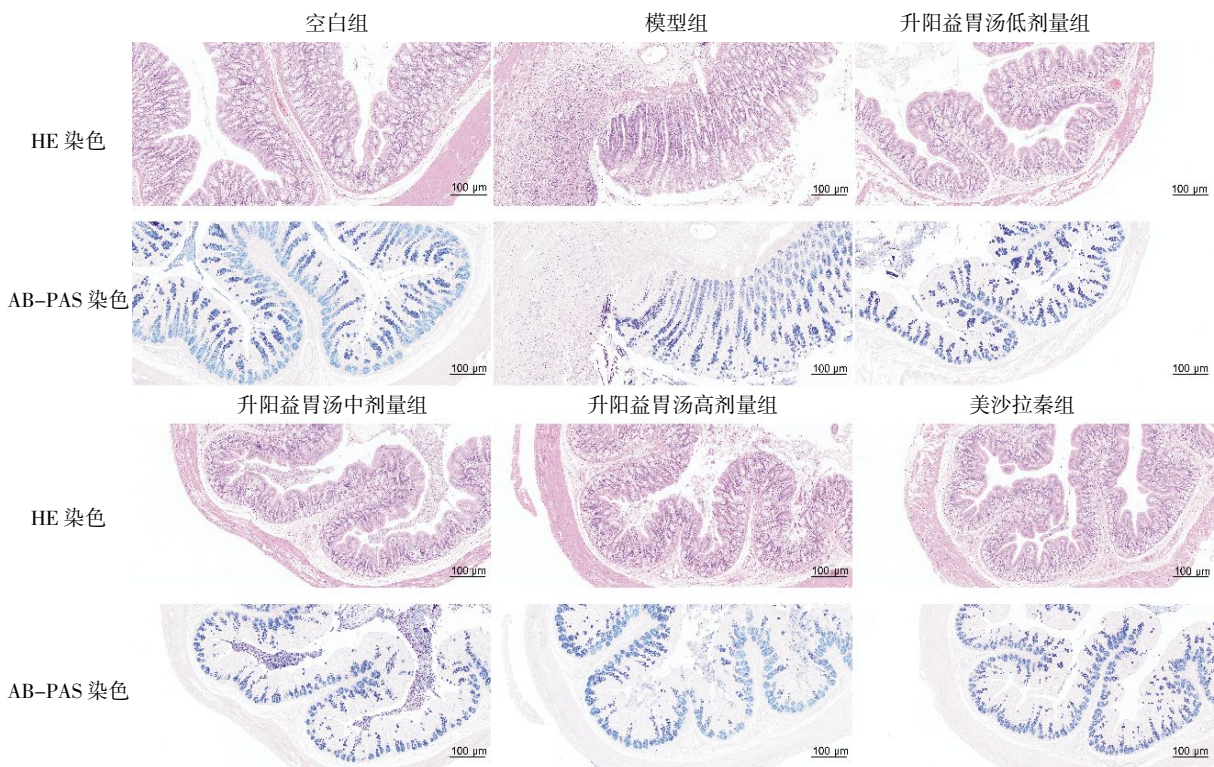


图 1 各组大鼠结肠组织病理形态学比较(×100)

Fig.1 Comparison of colonic histopathological morphology among groups (×100)

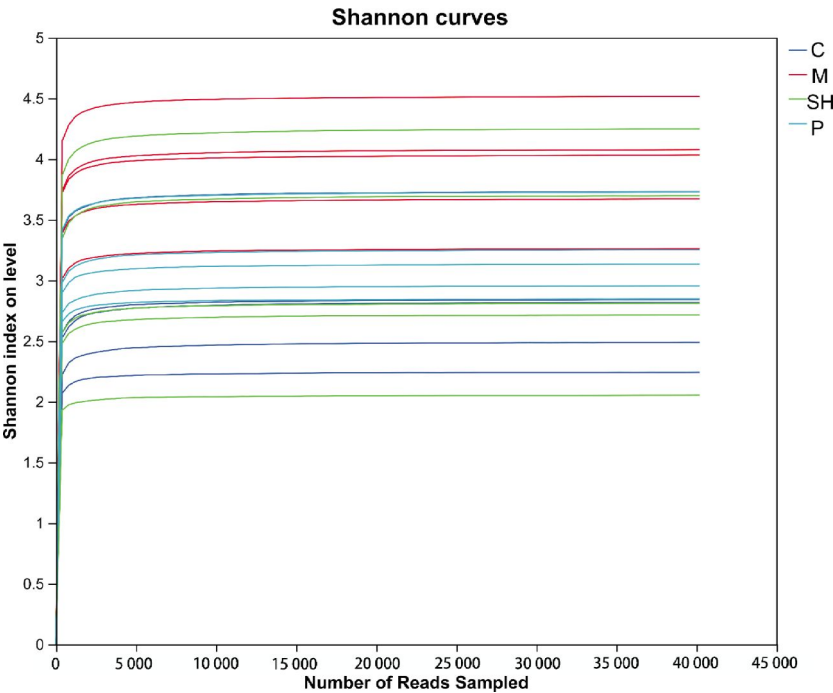


图 2 各组大鼠肠道菌群 Shannon 多样性指数稀释曲线($n=5$)

Fig.2 Rarefaction curves of Shannon diversity index of gut microbiota among groups ($n=5$)
注:C.空白组;M.模型组;SH.升阳益胃汤高剂量组;P.美沙拉秦组。

3.4 各组大鼠肠道菌群比较

3.4.1 稀释曲线分析 各样本曲线均趋于平缓,提示本次测序数据量充足,能完整覆盖样本内大部分微生物物种信息。详见图 2。

3.4.2 各组大鼠的肠道菌群韦恩图 全部组别共有 622 个共享操作分类单元;空白组、模型组、升阳益胃汤高剂量组、美沙拉秦组特有的操作分类单元数量分别为 77、84、89、71 个。详见图 3。

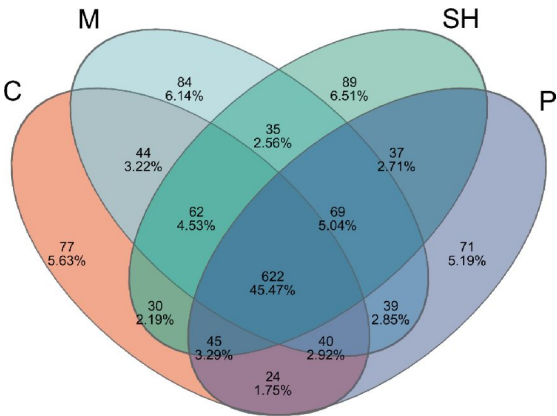


图 3 各组大鼠肠道菌群韦恩图

Fig.3 Venn diagram of gut microbiota among groups
注:C.空白组;M.模型组;SH.升阳益胃汤高剂量组;P.美沙拉秦组。

3.4.3 升阳益胃汤对 UC 大鼠肠道菌群多样性分析与空白组相比,模型组 Shannon 指数升高($P<0.05$)、

Simpson 指数降低($P<0.05$),提示造模后大鼠肠道菌群 α 多样性发生改变;升阳益胃汤高剂量组干预后,Shannon 和 Simpson 指数呈现向空白组恢复的趋势($P>0.05$);各组 Coverage 指数接近 1,测序覆盖率充足,提示数据能真实表征样本微生物群落特征。详见表 3。

表 3 各组大鼠 α 多样性比较($\bar{x}\pm s, n=5$)

Table 3 Comparison of alpha diversity among groups ($\bar{x}\pm s, n=5$)				
组别	Chao	Shannon	Simpson	Coverage
空白组	612.97 $\pm$ 85.07	2.82 $\pm$ 0.56	0.21 $\pm$ 0.07	0.997 $\pm$ 0.004
模型组	681.49 $\pm$ 70.96	3.91 $\pm$ 0.47*	0.11 $\pm$ 0.03*	0.997 $\pm$ 0.005
升阳益胃汤高剂量组	592.69 $\pm$ 155.07	3.10 $\pm$ 0.87	0.15 $\pm$ 0.07	0.997 $\pm$ 0.004

注:与空白组相比,* $P<0.05$ 。

基于 Bray-Curtis 距离矩阵的主坐标分析(principal coordinates analysis, PCoA)分析用于评估组间肠道菌群结构的整体差异(β 多样性),与模型组相比,升阳益胃汤高剂量组样本呈现向空白组分布区域偏移的趋势,提示升阳益胃汤高剂量干预后菌群结构具有一定回调趋势。详见图 4。

3.4.4 肠道菌群组成分析 门分类学水平上,大鼠肠道菌群物种组成主要包括芽孢杆菌门(Bacillota)、拟杆菌门(Bacteroidota)、变形菌门(Proteobacteria)、

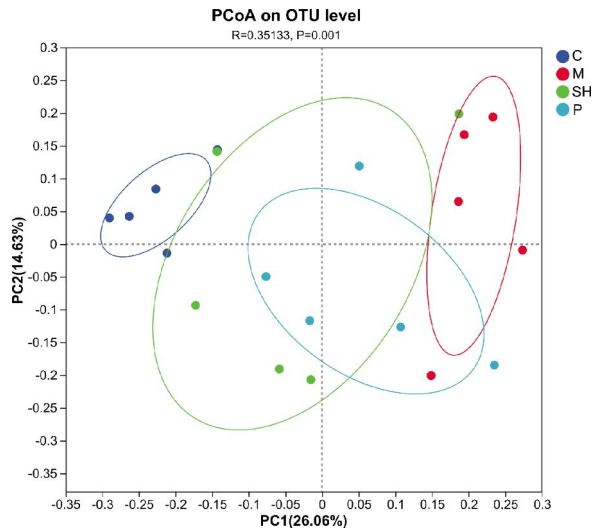


图4 各组大鼠肠道菌群PCoA分析图

Fig.4 PCoA plot of gut microbiota among groups

注:C.空白组;M.模型组;SH.升阳益胃汤高剂量组;P.美沙拉秦组。

放线菌门(Actinobacteriota)、热脱硫杆菌门(Thermodesulfobacteriota)、假单胞菌门(Pseudomonadota)、疣微菌门(Verrucomicrobiota)。其中相对丰度较高的两个门为芽孢杆菌门和拟杆菌门。与空白组相比,模型组大鼠肠道菌群中芽孢杆菌门的比例显著减少,而拟杆菌门的比例显著增加,变形菌门和放线菌门的比例也相对增加。与模型组相比,升阳益胃汤高剂量组芽孢杆菌门的比例增加,而拟杆菌门、变形菌门的比例减少。美沙拉秦组大鼠肠道细菌中芽孢杆菌门的比例增加,而拟杆菌门和放线菌门的比例减少。详见图5。

在属分类学水平上,大鼠肠道菌群物种组成主要包括乳杆菌属(*Lactobacillus*)、粘液乳杆菌属(*Limosilactobacillus*)、利加乳杆菌属(*Ligilactobacillus*)、鼠杆菌科(Muribaculaceae)、罗氏菌属(*Romboutsia*)、梭菌属未分类群 UCG-014(Clostridia_UCG-014)和其他。与空白组相比,模型组粘液乳杆菌属(*Limosilactobacillus*)、鼠杆菌科(Muribaculaceae)、罗氏菌属(*Romboutsia*)丰度升高,乳杆菌属(*Lactobacillus*)和利加乳杆菌属(*Ligilactobacillus*)丰度降低。与模型组相比,升阳益胃汤高剂量组乳杆菌属(*Lactobacillus*)、利加乳杆菌属(*Ligilactobacillus*)、罗氏菌属(*Romboutsia*)丰度升高,鼠杆菌科(Muribaculaceae)丰度降低。详见图6。

3.4.5 LEfSe 分析 在空白组中,乳杆菌目(Lactobacillales)、乳杆菌科(Lactobacillaceae)和芽孢杆菌纲(Bacilli)显著富集,反映了健康状态下肠道以乳酸菌等为优势的菌群结构特征。模型组中,毛螺菌科(Lachnospiraceae)、毛螺菌目(Lachnospirales)、丹毒丝菌目(Erysipelotrichales)、丹毒丝菌科(Erysipelotrichaceae)、梭菌属(*Clostridium*)、梭菌科(Clostridiaceae)、梭菌目(Clostridiales)、未分类群 UCG-005、立克次氏体目(Rickettsiales)和线粒体(Mitochondria)显著富集,呈现出致病菌/条件致病菌相关类群富集、宿主成分异常检出的特征,提示造模后小鼠肠道菌群结构发生紊乱,同时伴有肠道屏障损伤。升阳益胃

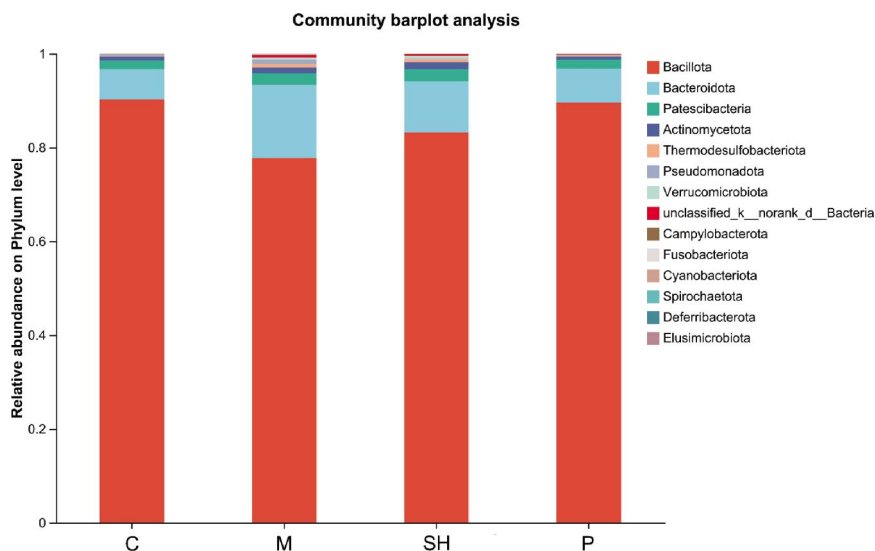


图5 门分类水平上的各组大鼠间的物种相对丰度

Fig.5 Relative abundance of species at the phylum level among groups

注:C.空白组;M.模型组;SH.升阳益胃汤高剂量组;P.美沙拉秦组。

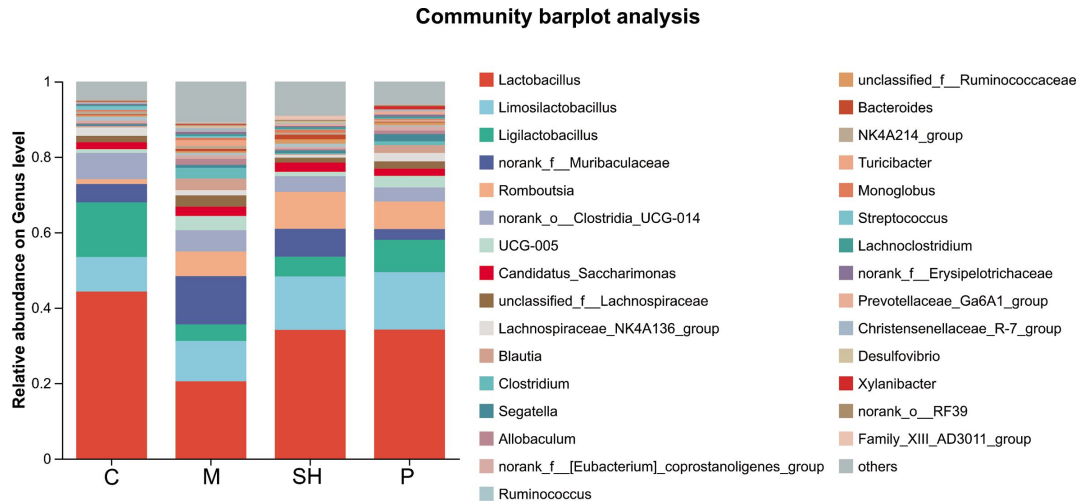


图 6 属分类水平上的各组大鼠间的物种相对丰度

Fig.6 Relative abundance of species at the genus level among groups

注: C.空白组; M.模型组; SH.升阳益胃汤高剂量组; P.美沙拉秦组。

汤高剂量组中,消化链球菌科(*Peptostreptococcaceae*)、罗姆布茨菌属(*Romboutsia*)、疣微菌纲(*Verrucomicrobiia*)、疣微菌目(*Verrucomicrobiales*)、阿克曼菌属(*Akkermansia*)、阿克曼菌科(*Akkermansiaceae*)和疣微菌门(*Verrucomicrobiota*)显著富集,提示高剂量的升阳益胃汤可能通过调节菌群结构,促进特定共生菌定植来缓解溃疡性结肠炎。美沙拉秦组中消化链球菌科(*Peptostreptococcaceae*)显著富集,表明美沙拉秦产生了一定的菌群调节作用。详见图 7。

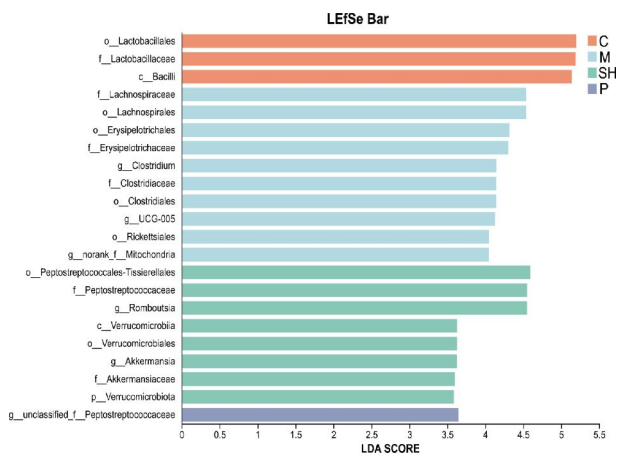


图 7 各组大鼠肠道菌群的 LEfSe 分析

Fig.7 LEfSe analysis of gut microbiota among groups

注: C.空白组; M.模型组; SH.升阳益胃汤高剂量组; P.美沙拉秦组。

3.5 升阳益胃汤对 UC 大鼠血清代谢组学的影响

3.5.1 总体样本主成分分析 将各组大鼠血清样本和 QC 样本进行总体样本主成分分析,详见图 8。结果显示, QC 样本紧密聚集在一起,表明实验的重复

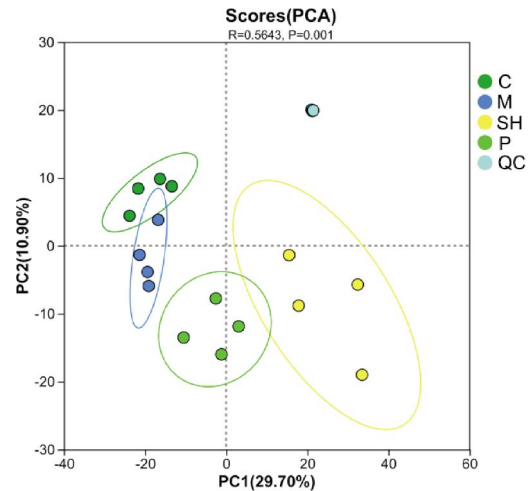


图 8 总体样本的总体样本主成分分析

Fig.8 PCA of all samples

注: C.空白组; M.模型组; SH.升阳益胃汤高剂量组; P.美沙拉秦组。

性好,而各组样本之间相互分离,表明组间存在差异。

3.5.2 差异代谢物筛选 基于 OPLS-DA 模型得到的变量权重值和 *t* 检验获得的 *P* 值,寻找显著性差异代谢物,以 $VIP > 1$ 且 $P < 0.05$ 作为筛选条件。模型组与空白组相比,表达的差异代谢物有 75 个,上调表达的差异代谢物有 38 个,下调表达的差异代谢物有 37 个(详见图 9A)。升阳益胃汤高剂量组与模型组相比,表达的差异代谢物有 114 个,上调表达的差异代谢物有 64 个,下调表达的差异代谢物有 50 个(详见图 9B)。KEGG 富集分析结果见图 9C、D,通过 $P < 0.05$ 来筛选显著富集通路,模型组与空白组相比,主要涉及的通路包括 ABC 转运蛋白、生物素代谢、辅因子生物合成、胆汁分泌、维生素消化与吸收、癌

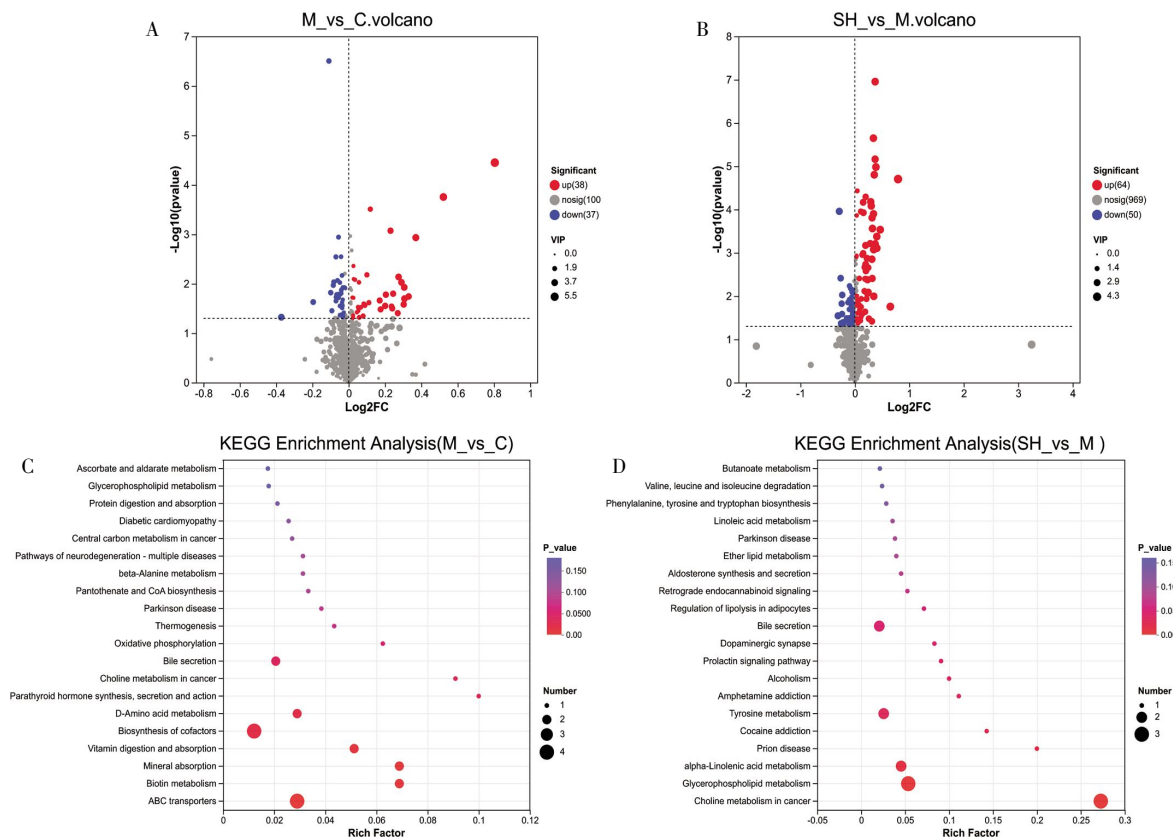


图 9 各组大鼠血清代谢差异代谢物筛选图

Fig 9 Screening plot of differential serum metabolites among groups

注:A.模型组与空白组比较的火山图;B.升阳益胃汤高剂量组与模型组比较的火山图;C.模型组与空白组比较的 KEGG 富集通路图;D.升阳益胃汤高剂量组与模型组比较的 KEGG 富集通路图。

症中的胆碱代谢、D-氨基酸代谢等。升阳益胃汤高剂量组与模型组相比,主要涉及的通路包括癌症中的胆碱代谢、甘油磷脂代谢、 α -亚麻酸代谢、酪氨酸代谢、胆汁分泌等。详见图 9C、D。

3.6 各组大鼠结肠组织 Occludin 和 Claudin-1 蛋白表达水平比较

与空白组相比,模型组大鼠结肠组织中Occludin 和 Claudin-1 蛋白表达水平降低($P<0.05$, $P<0.01$);与模型组、升阳益胃汤低剂量组相比,升阳益胃汤高剂量组和美沙拉秦组 Occludin 和 Claudin-1 蛋白表达升高($P<0.05$, $P<0.01$)。详见图 10、表 4。

表 4 升阳益胃汤对结肠组织相关蛋白表达水平的影响
($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

Table 4 Effects of SYWD on related protein expression levels in colonic tissue ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	Occludin	Claudin-1
空白组	0.94±0.17	1.17±0.13
模型组	0.54±0.12*	0.54±0.05**
升阳益胃汤低剂量组	0.57±0.16	0.56±0.11
升阳益胃汤中剂量组	0.79±0.03	0.74±0.08
升阳益胃汤高剂量组	0.95±0.10 ^{##}	0.99±0.17 ^{##}
美沙拉秦组	0.91±0.10 ^{##}	1.02±0.12 ^{##}

注:与空白组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与模型组比较,[#] $P<0.05$,^{##} $P<0.01$;与升阳益胃汤低剂量组比较,[&] $P<0.05$,^{&&} $P<0.01$ 。

4 讨论

中医学认为,UC 主要病机为脾虚湿蕴,治以健脾升清,常用升阳益胃汤加减^[13]。方中黄芪、人参等补气养胃,柴胡、防风等升清阳、祛风除湿,半夏、陈皮等燥湿清热。在本研究中,模型组大鼠 DAI 评分升高、结肠长度缩短、上皮破坏、溃疡形成及炎性细胞浸润,表明造模成功。升阳益胃汤治疗后,DAI 评

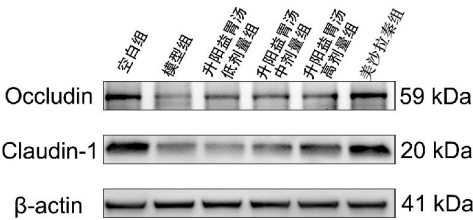


图 10 各组大鼠结肠组织 Occludin 和 Claudin-1 蛋白表达水平比较($n=3$)

Fig.10 Comparison of Occludin and Claudin-1 protein expression levels in colonic tissue among groups ($n=3$)

分降低且组织病理学损伤减轻,提示其对TNBS诱导的结肠损伤具有缓解效果。SOD在细胞抗氧化防御中发挥重要作用^[14]。MDA是脂质过氧化的主要终产物,其水平与氧化应激严重程度及组织损伤程度呈正相关^[15]。GSH是维持结肠黏膜防御功能的重要物质^[16]。NO在病理条件下发挥细胞毒性作用,参与UC发病^[17]。本研究中,模型组血清SOD、GSH水平降低,MDA、NO水平升高;升阳益胃汤治疗后,SOD、GSH水平升高,MDA、NO水平降低,提示其保护作用与恢复抗氧化防御能力、抑制脂质过氧化有关。

肠道菌群失调与IBD发病密切相关,其可降低细菌多样性、促进致病菌增殖,加剧肠道炎症^[18]。在UC动物模型中,肠道菌群结构发生改变,表现为共生菌与潜在致病菌之间的失衡^[19]。本研究中,模型组肠道微生物群落结构发生改变,经升阳益胃汤干预后,微生物谱向对照组偏移。乳杆菌属可抑制炎症因子并对IBD患者发挥保护作用^[20]。与空白组相比,模型组中粘液乳杆菌属等丰度升高,乳杆菌属丰度降低;经高剂量升阳益胃汤干预后,乳杆菌属丰度升高、鼠杆菌科丰度降低,提示升阳益胃汤可能通过调节肠道菌群,发挥对UC的保护作用。

血清代谢组学显示,升阳益胃汤与胆碱代谢、甘油磷脂代谢、 α -亚麻酸代谢、酪氨酸代谢、胆汁分泌等通路相关。研究通过大规模代谢建模证实,IBD患者血清中磷脂酰胆碱及胆碱水平在治疗应答者中升高,与疾病活动度呈负相关^[21]。甘油磷脂有助于保护肠道上皮屏障^[22], α -亚麻酸在实验性UC中发挥抗炎作用^[23]。研究表明,UC患者酪氨酸水平显著降低,其代谢紊乱与疾病活动度及黏膜愈合密切相关^[24]。胆汁酸参与肠道菌群调节、黏膜免疫和肠道炎症^[25]。本次研究结果提示,升阳益胃汤可能通过调节代谢以修复肠黏膜屏障,从而治疗UC。

肠黏膜屏障是抵御有害物质的第一道防线,炎症性肠病与肠黏膜屏障功能障碍相关。Occludin和Claudin-1是维持黏膜屏障完整性的关键紧密连接蛋白^[26]。临床证据表明,紧密连接蛋白表达改变与UC黏膜屏障功能障碍和黏膜愈合相关^[27]。本研究中,模型组结肠组织中Occludin和Claudin-1蛋白表达

水平显著降低,升阳益胃汤高剂量组和美沙拉秦组显著上调其表达,表明高剂量的升阳益胃汤可能通过恢复紧密连接蛋白表达来改善肠黏膜屏障功能。

本研究存在以下局限性:第一,仅停留于动物表型验证,未深入探究核心靶点调控机制,缺乏细胞实验与临床样本佐证;第二,缺乏长期观察;第三,未验证关键差异代谢物、核心菌群的因果效应。后续可延长实验时间,聚焦核心菌群、关键代谢通路与屏障蛋白的关联机制,进行粪菌移植、代谢物干预等验证。综上所述,升阳益胃汤可有效改善UC大鼠的肠道炎症与氧化应激损伤,修复肠黏膜屏障,其干预效应与调节肠道菌群稳态、重塑血清代谢紊乱存在关联。

参考文献

- [1] Le Berre C, Honap S, Peyrin-Biroulet L. Ulcerative colitis[J]. *The Lancet*, 2023, 402(10401): 571-584.
- [2] Wangchuk P, Yeshi K, Loukas A. Ulcerative colitis: Clinical biomarkers, therapeutic targets, and emerging treatments[J]. *Trends in Pharmacological Sciences*, 2024, 45(10): 892-903.
- [3] Kucharzik T. Living guideline on ulcerative colitis[J]. *Der Chirurg: Zeitschrift Fur Alle Gebiete der Operativen Medizin*, 2022, 93(3): 261-265.
- [4] Calafat M, Mañosa M, Cañete F, et al. Clinical considerations regarding the use of thiopurines in older patients with inflammatory bowel disease[J]. *Drugs & Aging*, 2021, 38(3): 193-203.
- [5] Souza R F, Caetano M A F, Magalhães H I R, et al. Study of tumor necrosis factor receptor in the inflammatory bowel disease[J]. *World Journal of Gastroenterology*, 2023, 29(18): 2733-2746.
- [6] 吕小燕, 张瑜, 尚可, 等. 从“扶正祛邪”角度探讨升阳益胃汤加减方治疗溃疡性结肠炎大鼠的效应机制[J]. *中国民间疗法*, 2024, 32(8): 96-98, 110, 129.
- [7] 王丹, 周静超, 宗景景, 等. 动物试验中麻醉药物的选择应用研究进展[J]. *畜牧与兽医*, 2021, 53(3): 134-137.
- [8] 杨丽, 李忠卓, 臧思源, 等. 肝肺并治方干预溃疡性结肠炎大鼠肠道菌群的研究[J]. *中华中医药学刊*, 2025, 43(5): 28-31, 8-14.
- [9] 周亚妮, 宋云. 2, 4, 6-三硝基苯磺酸诱导灌肠法建立炎症性肠病模型的实验研究[J]. *现代中西医结合杂志*, 2020, 29(22): 2420-2423, 2436.
- [10] 陈奇. 中药药理研究方法论[M]. 2版. 北京: 人民卫生出版社, 2006: 212.
- [11] 熊加彬, 李珍, 吴俊俊, 等. 五味苦参肠溶胶囊对溃疡性结肠

- 炎大鼠的疗效及作用机制研究[J]. 浙江医学, 2024, 46(5): 464–469.
- [12] Cooper H S, Murthy S N, Shah R S, et al. Clinicopathologic study of dextran sulfate sodium experimental murine colitis[J]. *Lab Invest*, 1993, 69(2): 238–249.
- [13] 张利兵. 升阳益胃汤加减治疗 26 例溃疡性结肠炎疗效观察[J]. 基层医学论坛, 2012, 16(5): 605.
- [14] Jing L, Sun Y M, Wang J, et al. Oxidative stress and endoplasmic reticulum stress contributed to hepatotoxicity of decabromodiphenyl ethane (DBDPE) in L-02 cells[J]. *Chemosphere*, 2022, 286: 131550.
- [15] Tratenšek A, Locatelli I, Grabnar I, et al. Oxidative stress-related biomarkers as promising indicators of inflammatory bowel disease activity: A systematic review and meta-analysis[J]. *Redox Biology*, 2024, 77: 103380.
- [16] Bonetti L, Horkova V, Grusdat M, et al. A Th17 cell-intrinsic glutathione/mitochondrial-IL-22 axis protects against intestinal inflammation[J]. *Cell Metabolism*, 2024, 36(8): 1726–1744.e10.
- [17] Bin Park S, Park G H, Kim H N, et al. Anti-inflammatory effect of the extracts from the branch of *Taxillus yadoriki* being parasitic in *Neolitsea sericea* in LPS-stimulated RAW264.7 cells[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2018, 104: 1–7.
- [18] Chang J T. Pathophysiology of inflammatory bowel diseases[J]. *New England Journal of Medicine*, 2020, 383(27): 2652–2664.
- [19] Niu S Q, Jing M Y, Wen J X, et al. Jatrorrhizine alleviates DSS-induced ulcerative colitis by regulating the intestinal barrier function and inhibiting TLR4/MyD88/NF- κ B signaling pathway[J]. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2022, 2022: 3498310.
- [20] Dempsey E, Corr S C. *Lactobacillus* spp. For gastrointestinal health: Current and future perspectives [J]. *Frontiers in Immunology*, 2022, 13: 840245.
- [21] Taubenheim J, Kadibalban A S, Zimmermann J, et al. Metabolic modeling reveals a multi-level deregulation of host-microbiome metabolic networks in IBD[J]. *Nature Communications*, 2025, 16: 5120.
- [22] Nicolson G L, Ash M E. Lipid Replacement Therapy: A natural medicine approach to replacing damaged lipids in cellular membranes and organelles and restoring function[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 2014, 1838(6): 1657–1679.
- [23] Yang J, Liu S H, Zhao Q, et al. Gut microbiota-related metabolite alpha-linolenic acid mitigates intestinal inflammation induced by oral infection with *Toxoplasma gondii* [J]. *Microbiome*, 2023, 11(1): 273.
- [24] Li F, Wang Z D, Tang T Y, et al. From serum metabolites to the gut: Revealing metabolic clues to susceptibility to subtypes of Crohn's disease and ulcerative colitis[J]. *Frontiers in Endocrinology*, 2024, 15: 1375896.
- [25] Sun R C, Xu C J, Feng B S, et al. Critical roles of bile acids in regulating intestinal mucosal immune responses[J]. *Therapeutic Advances in Gastroenterology*, 2021, 14: 1–19.
- [26] Schoultz I, Keita Å V. The intestinal barrier and current techniques for the assessment of gut permeability[J]. *Cells*, 2020, 9(8): 1909.
- [27] 谭悦, 郑长清. 紧密连接蛋白 occludin、ZO-1 在溃疡性结肠炎中的表达及其临床意义[J]. *现代药物与临床*, 2018, 33(7): 1803–1808.

(本文编辑 田梦妍)