基础研究 DOI：10.13406/j.cnki.cyxb.003894

大柴胡汤缓解葡聚糖硫酸钠诱导的溃疡性结肠炎及肝损伤并与其对小鼠肠道菌群的调控作用相关

项青青[1]，赖　凤[2]，肖　虹[1]，普正佳[3]，马灵莉[1]，刘祥云[1]，李施慧[1]，毛胜敏[1]，
范嘉瑞[1]，李昱辰[1]，李安康[1]，汪　洋[4]，白群华[1]
（1.重庆医科大学公共卫生学院，重庆　400016；2.九龙坡疾病预防控制中心微生物检验科，重庆　400039；
3.成都市疾病预防控制中心理化检验科，成都　610041；4.重庆医科大学实验教学管理中心，重庆　400016）

【摘　要】目的：探讨大柴胡汤（Dachaihu decoction，DCD）对葡聚糖硫酸钠（dextran sodium sulfate，DSS）诱导的溃疡性结肠炎（ulcerative colitis，UC）小鼠及其肝损伤的预防和治疗效果及潜在机制，并探究DCD的益处与肠道菌群调节之间的联系。**方法：**给小鼠施用DCD（20.10、10.05 g/kg）2周，第2周让小鼠自由摄取含3%DSS的饮用水诱导UC。通过组织病理学、RT-qPCR和16S rRNA测序评估DCD对UC小鼠的影响。**结果：**DCD预处理可明显缓解DSS诱导的UC小鼠体重下降、伴有黏液和血液的腹泻、结肠组织学异常和结肠缩短现象。此外，DCD预处理显著上调结肠组织中Occludin、ZO-1和MUC-2的水平，阻止UC小鼠肠屏障受损。DCD预处理减轻结肠组织和肝脏中炎性细胞浸润情况，同时显著降低IL-1β、IL-6、TNF-α、iNOS、COX-2和NLRP3相关促炎因子的表达水平，发挥其对UC小鼠及其肝损伤的保护作用。值得注意的是，DCD调节UC小鼠肠道微生物群失衡，显著富集了Lactobacillus和Bifidobacterium等有益菌属；减少有害菌属Norank_f_Desulfovibrionaceae和Escherichia-Shigella的丰度。**结论：**DCD可通过保护肠道屏障、抑制炎症和调节肠道菌群而缓解DSS诱导的UC，并发挥保肝作用。

【关键词】大柴胡汤；溃疡性结肠炎；肠屏障；肠道菌群；肝损伤
【中图分类号】R285.5　　**【文献标志码】**A　　**【收稿日期】**2025-01-28

Effect of Dachaihu decoction on dextran sodium sulfate-induced ulcerative colitis and liver injury and its association with gut microbiota modulation in mice

Xiang Qingqing[1], Lai Feng[2], Xiao Hong[1], Pu Zhengjia[3], Ma Lingli[1], Liu Xiangyun[1], Li Shihui[1], Mao Shengmin[1], Fan Jiarui[1], Li Yuchen[1], Li Ankang[1], Wang Yang[4], Bai Qunhua[1]
(1. School of Public Health, Chongqing Medical University; 2. Microbiology Laboratory, Jiulongpo Center for Disease Control and Prevention; 3. Department of Physical and Chemical Testing, Chengdu Center for Disease Control and Prevention; 4. Experimental Teaching and Management Center, Chongqing Medical University)

【Abstract】*Objective*: To investigate the preventive and therapeutic effects and mechanisms of Dachaihu decoction (DCD) on dextran sodium sulfate (DSS)-induced ulcerative colitis (UC) and liver injury in mice, as well as the association between DCD benefits and gut microbiota modulation. ***Methods*:** Mice were treated with DCD (20.10 and 10.05 g/kg) for 2 weeks, with free access to drinking water containing 3% DSS in the second week to induce UC. Histopathological examination, RT-qPCR and 16S rRNA sequencing were used to investigate the effect of DCD on UC mice. ***Results*:** DCD pretreatment significantly alleviated weight loss, bloody diarrhea with mucus, histopathological abnormalities of the colon, and colon shortening in mice with DSS-induced UC. In addition, DCD pretreatment significantly upregulated the levels of Occludin, ZO-1, and MUC-2 in the colon and protected the intestinal barrier of mice. DCD pretreatment also alleviated inflammatory cell infiltration in the colon and the liver and significantly reduced the expression levels of the proinflammatory factors such as IL-1β, IL-6, TNF-α, iNOS, COX-2, and NLRP3, thereby exerting a protective effect against UC and liver injury. It should be noted that DCD corrected gut microbiota imbalance in UC mice by enriching probiotic bacteria such as Lactobacillus and Bifidobacterium and reducing harmful bacteria such as Norank_f_Desulfovibrionaceae and Escherichia-Shigella. ***Conclusion*:** DCD can alleviate DSS-induced UC and exert a liver-protecting effect by protecting intestinal barrier, inhibiting inflam-

作者介绍：项青青，Email：2022110632@stu.cqmu.edu.cn，研究方向：肠道菌群。
通信作者：白群华，Email：100070@cqmu.edu.cn。
基金项目：重庆医科大学大学生科学研究与创新实验资助项目（编号：202320）；重庆市九龙坡区科技计划资助项目（编号：2023-03-007-Z）。
优先出版：https://link.cnki.net/urlid/50.1046.R.20250620.1528.004（2025-06-20）

mation, and regulating gut microbiota.

【Key words】Dachaihu decoction; ulcerative colitis; intestinal barrier; gut microbiota; liver injury

溃疡性结肠炎（ulcerative colitis，UC）是一种以黏膜上皮细胞损伤和肠道稳态失衡为特征的慢性复发性肠道炎症性疾病（inflammatory bowel disease，IBD），累及结肠和直肠[1-2]，被认为是一种现代难治性疾病[3]。其发病率和流行率在全球范围内不断上升，并已演变成一种全球性疾病[4-5]，给医疗系统和社会带来了沉重的负担[6]。

结肠炎模型小鼠和UC患者的结肠黏液层受损[7-8]，紧密连接蛋白（tight junction protein，TJP）丢失，导致肠道屏障功能障碍，肠道通透性增加，促使脂多糖（lipopolysaccharide，LPS）和微生物衍生代谢物流入肝脏，引发肝脏炎症；相关研究发现IBD患者常有肝损伤[9-10]。此外，肠微生态被打破和微生物及毒素突破肠屏障是很多疾病进展的一个重要环节，可能导致UC患者其他组织脏器的进一步损伤，出现各种并发症（内毒素血症、脓毒血症等）[11-13]，加剧治疗难度和健康风险。现今，UC的治疗药物包括氨基水杨酸盐、肾上腺皮质激素、免疫抑制剂和炎症介质抑制剂等，有其各自的局限性，而且治疗后容易复发[14-15]。因此，发掘更为全面有效的可替代或辅助性UC治疗药物非常重要。

中医药是东亚地区数千年来治疗疾病的有效方法，其药性温和、高效、不易引起耐药性且治疗作用的发挥是多途径、多靶点。目前，运用中医药手段进行UC的临床治疗效果良好，如在治疗UC炎性损伤和肝损伤的机制中，很多中医药或成分（如牡荆苷、黄芪甲苷、五味子乙醇提取物）通过葡聚糖硫酸钠（dextran sodium sulfate，DSS）诱导的UC小鼠模型，发现其对炎症的调节作用与AKT、FoxO、STAT、PPAR及MAPK等信号调节过程和抑制TLR4/NF-κB/NLRP3、TLR4/MyD88/NF-κB等信号通路的激活有关[16-18]。

大柴胡汤（Dachaihu decoction，DCD）是一种经典草药配方，记载于张仲景的中医方剂著作《伤寒论》中，在中国用于治疗肠道、肝脏和胆囊疾病已有1 800多年的历史。临床研究发现，DCD可提高柳氮磺胺吡啶肠溶片对UC的临床疗效，促进结肠黏膜恢复[19]。此外，在治疗肝胆系等相关疾病（非酒精性脂肪性肝病、高胆固醇血症、胆汁淤积、脓毒症性肠损伤、胰腺炎等）方面，DCD表现出有益影响，可通过调节肠道菌群、代谢及抑制NF-κB表达等途径发挥其对疾病小鼠肠道、肝脏、肾脏和肺等组织器官的保护作用[20-24]。然而，DCD对UC小鼠肠病理及其潜在肝损伤的疗效和可能机制还有待进一步探索。

本研究用3%DSS构建了UC小鼠伴随肝损伤模型，以研究DCD对UC小鼠病理病变和肝脏炎症损伤的潜在治疗作用。此外，还通过对小鼠粪便进行16S rRNA测序分析，以探讨DCD对肠道微生态的影响作用及这些影响与DCD的治疗效果之间的关联。本研究结果可揭示DCD对UC的抗炎效果及其潜在机制，为防治UC及其肝损伤提供进一步的证据。

1 材料与方法

1.1 DCD制备

方剂DCD（155 g）所用药材按照经典医学古籍《伤寒论》中所记载。所有中草药均购自重庆市中医骨伤科医院（北柴胡40 g、黄芩15 g、白芍15 g、半夏20 g、枳实20 g、大枣15 g、大黄10 g、生姜20 g），用量经过该院药剂师鉴定。DCD与甘露饮皆可行煎煮法使用，故而DCD水提物的制备参照其用于动物实验的中药制备流程[25]。将10倍纯水（体积/质量）加入配制好的药材中，浸泡1 h后煎煮30 min，离心（3 500 r/min，20 min），得到提取物。向药材中再加入10倍纯水，煮沸并再次离心，重复2次。合并3次提取物，过滤后，55 ℃减压浓缩到一定浓度（DCD水提物：1.55 g/mL）。提取物储存在-20 ℃备用。DCD的成分分析由迪鑫泰检测技术（北京）有限公司提供技术支持，采用超高效液相色谱法（UPLC：Nexera UHPLC LC-30A，日本岛津）和飞行时间质谱法（TOF-MS：TripleTOF5600，美国AB SCIEX™）。

1.2 动物实验

7周龄雄性C57BL/6J小鼠（20 ± 2）g购自重庆恩斯维尔生物科技有限公司[中国重庆，许可证号：SCXK（湘）2019-0004]。小鼠饲养在（25 ± 2）℃的特定无病原体（SPF）室中，光照/黑暗循环12 h，让其适应该环境1周，自由获取食物和水。本研究涉及的所有程序均经过重庆医科大学动物管理和使用委员会的仔细审查后批准（伦理审查编号：ACUC-CQMU-2023-09034）。

本实验将小鼠随机分为5组（每组 n=6）：正常对照组（CON）、模型对照组（DSS）、高剂量DCD处理组（DH，20.10 g/kg）、低剂量DCD处理组（DL，10.05 g/kg）和5-ASA处理组（5-ASA，200 mg/kg）。CON组和DSS组小鼠通过管饲法给予0.9% NaCl 14 d，而DH、DL和5-ASA组小鼠通过管饲法分别给予20.10 g/kg DCD、10.05 g/kg DCD和200 mg/kg 5-ASA混悬液14 d。第8~14天，除CON组外的小鼠接受含3%

DSS（meilunbio，中国）的饮用水构建UC疾病模型。实验期间，每日监测各组小鼠的排便情况并记录体重变化。

1.3 样本采集

实验第15天，无菌收集各组小鼠的粪便，并保存在-80 ℃待进一步实验用。终止时，所有小鼠均通过颈椎脱位实施安乐死。留取结肠、肝脏和脾脏。称取脾脏质量，测定结肠长度，固定部分结肠和肝组织。将剩余的结肠组织和肝放入液氮中速冻，并储存在-80 ℃待进一步研究用。

1.4 HE染色

固定后的结肠组织经脱水处理后嵌入石蜡。石蜡切片在二甲苯中脱蜡，并在梯度乙醇中进行脱水，然后进行HE染色。用光学生物显微镜（Olympus DP80，日本东京）拍摄图像。

1.5 AB-PAS染色

遵循生产商推荐方法，用AB-PAS（北京索拉生物科技有限公司，中国北京）进行染色，以观察杯状细胞。用光学生物显微镜（Olympus DP80，日本东京）采集图像。

1.6 逆转录定量聚合酶链式反应（reverse transcription quantitative polymerase chain reaction，RT-qPCR）

使用RNAiso Plus（Takara，中国大连）分离肝脏和结肠组织的总RNA，使用PrimeScript™ RT Master Mix（Perfect Real Time，Takara，中国大连）反转录获得cDNA。用CFX Connect™ Real-Time System（Bio-Rad，CA，USA）评估反应液中TB Green（TB Green® Premix Ex Taq™ Ⅱ，Takara，Dalian，China）的荧光强度。相对表达量与普遍表达的GAPDH进行归一化，并采用ΔΔCT法计算结果。本研究所使用引物序列如下：GAPDH（F：TGGCCTTCCGTGTTCCTAC；R：GAGTTGCTGTTGAAGTCGCA）、IL-1β（F：GAAATGCCACCTTTTGACAGTG；R：TGGATGCTCTCATCAGGACAG）、IL-6（F：CTGCAAGAGACTTCCATCCAG；R：AGTGGTATAGACAGGTCTGTTGG）、TNF-α（F：CATCTTCTCAAAATTCGAGTGACAA；R：TGGGAGTAGACAAGGTACAACCC）、IL-8（F：TTGTCAGCAAGGAGTTCT；R：TAGAGGGTAGTAGAGGTGTT）、IL-17（F：CTCCAGAAGGCCCTCAGACTAC；R：GGGTCTTCAGCGGTGG）、IFN-γ-（F：GCGGCTGACTGAACTCAGATT；R：CACTGCAGCTCTGAATGTTTCTTATT）、MCP-1（F：GCAGGTCCCTGTCATGCTTC；R：GTGGGGCGTTAACTGCATCT）、CD14（F：ACATCTTGAACCTCCGCAAC；R：AGGGTTCCTATCCAGCCTGT）、Occludin（F：AGCACTTAACCTGCCTGGAT；R：AGCCTGTGGAAGCAAGAGAT）、ZO-1（F：TCTTGCTGGCCCTAAACCTG；R：GTTGGGCTGGCTCTGAGAAT）、MUC-2（F：GCTATGTGCCTGGCTCTAATATGG；R：GTGGGCACTTCACAGAGCAGAC）、NLRP3（F：GCTGCGATCAACAGGCGAGAC；R：AAGGCTGTCCTCCTGGCATACC）、ASC（F：GGACGGAGTGCTGGATGCTTTG；R：CATCTTGTCTTGGCTGGTGGTCTC）、iNOS（F：CCACAGTCCTCTTTGCTA；R：GTAGTTGCTCCTCTTCCA）、CD86（F：TCAATGGGACTGCATATCTGCC；R：GCCAAAATACTACCAGCTCACT）、COX-2（F：CATCCCCTTCCTGCGAAGTT；R：CATGGGAGTTGGGCAGTCAT）。

1.7 肠道微生物群分析

小鼠粪便样本的肠道微生物群通过16S rRNA基因测序确定，由上海美吉生物医药科技有限公司提供技术支持。测序数据在美吉生物云平台的免费在线平台上（http://www.majorbio.com/）进行分析。

原始fastq文件通过一系列处理优化后分类为不同的扩增子序列变体（amplicon sequence variant，ASV）。使用Mothur软件（1.30版）通过辛普森指数（Simpson index）评估Alpha多样性。通过主成分分析（principal component analysis，PCA）评估各组门、属水平上的Beta多样性。采用LEfSe线性判别分析以发现多组样本中最能解释组间差异的物种特征及其对组间差异的影响程度。

1.8 统计学方法

数据分析采用GraphPad Prism 9（GraphPad软件公司，加利福尼亚州圣地亚哥）。根据需要，使用单因素方差分析、非参数Kruskal-Wallis检验或Wilcoxon检验来评估3组及以上数据间的潜在差异。采用Spearman相关性分析算法来检验结肠炎相关指标、肠道菌群和差异代谢物之间的相关性。实计量资料以均数±标准差（$\bar{x} \pm s$）表示。检验水准α=0.05。

2 结 果

2.1 HPLC-MS/MS鉴定DCD水提物主要生物活性化合物

应用HPLC-MS/MS技术在正离子和负离子模式下对DCD提取物进行了总离子流扫描（图1）。提取物中鉴定出的主要生物活性化合物种类包含了配方的主要有效成分，与前人所述基本相符[26]，包括丁二酸、芍药苷、柚皮苷、橙皮苷、黄芩素、柴胡皂苷A、大黄酸、6-姜酚、黄芩苷等，其保留时间（min）分别为1.17、3.40、3.97、4.75、7.05、7.93、8.15、8.55、11.48。

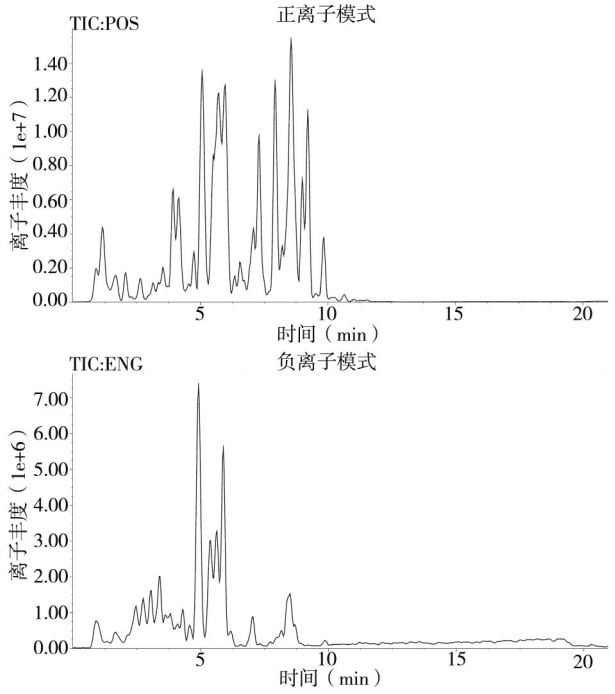


图1 正、负离子模式下DCD提取物的色谱图

2.2 DCD缓解UC小鼠的疾病症状

DSS常用于引发结肠炎小鼠模型，具有简单性、诱导结肠病变的可重复性以及模拟IBD（尤其是UC）的临床和组织学特征的能力[27-28]。因此，用3%DSS干预7 d建立UC小鼠模型以检验DCD对UC小鼠临床症状的改善情况。各组施加相应药物持续14 d，具体安排如图2A。实验过程中，每天记录各组小鼠的体质量变化、观测其排便情况。结果显示，相较于CON组，DSS组中观察到小鼠出现腹泻及黏液样血便，体质量明显下降（图2B），结肠长度严重缩短（图2C）且脾脏指数明显升高（图2D）。然而，DCD预处理可改善小鼠体重下降，以DH组效果最好；缓解结肠缩短方面，仅DH组呈现显著优势。相对地，临床常用药5-ASA未表现出明显的治疗优势。这些结果表明DCD预处理可缓解UC小鼠的疾病症状。

2.3 DCD改善UC小鼠肠屏障损伤

肠上皮结构的完整性对肠道健康至关重要，肠道屏障功能的障碍和破坏是UC的特征之一，与UC的发生发展密切相关[8]。因此，为更好地验证DCD对UC小鼠的保护作用，我们利用HE和AB-PAS染色和RT-qPCR以探讨DCD对UC小鼠结肠组织学变化和肠道屏障状态的影响。

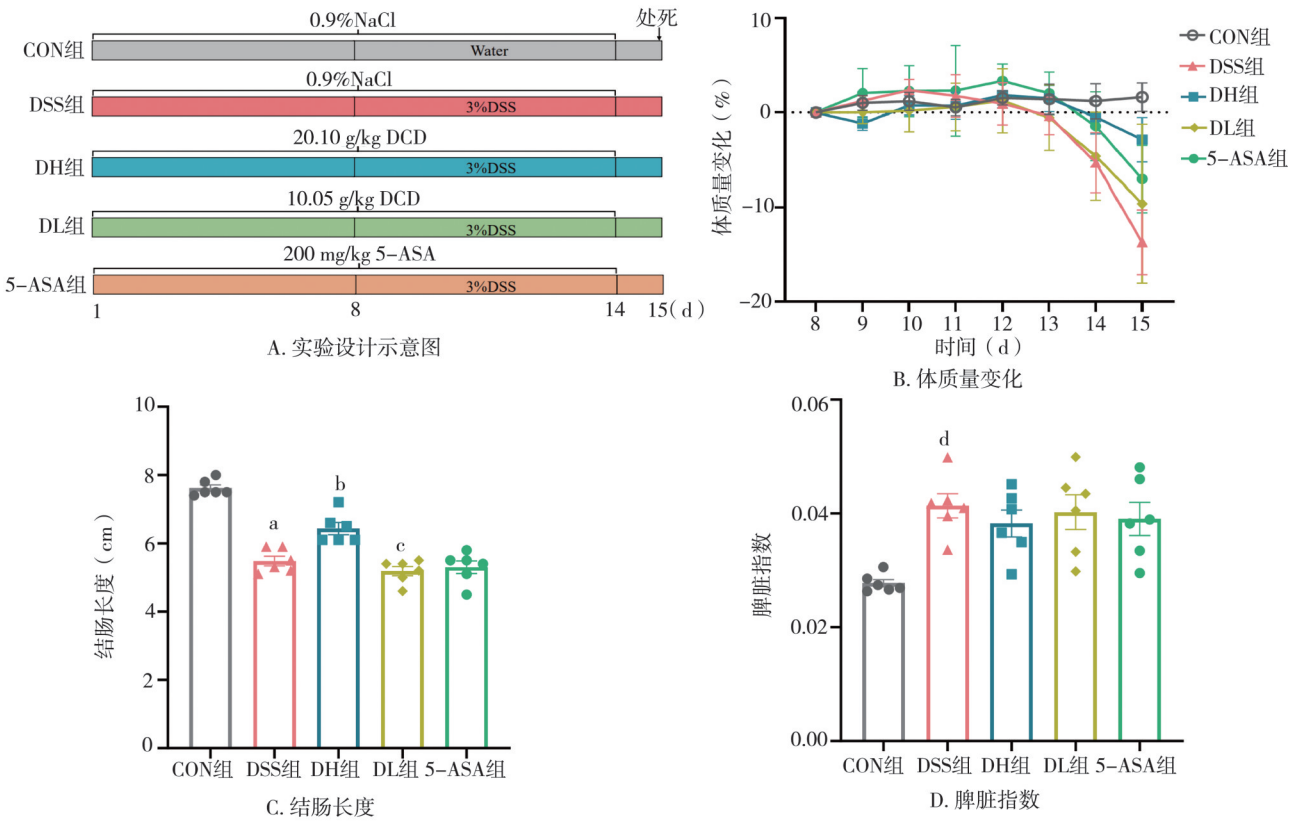
HE染色结果（图3A）显示，CON组小鼠结肠黏膜完整，隐窝正常，肠腺上皮细胞结构正常，无溃疡，无炎性细胞浸润。DSS诱导的小鼠结肠组织出现严重的黏膜缺损、隐窝损伤甚至消失、局部溃疡和炎性细胞浸润。DCD预处理可缓解上述情况，限制组织结构的进一步破坏，尽可能保护肠道屏障完整性。AB-PAS染色结果显示，DSS干预显著减少了杯状细胞的数量，而DCD处理则明显逆转了这一影响。

结肠组织中TJP的mRNA表达水平与组织病理学观察到的结果一致，DSS干预显著降低结肠Occludin（图3B）、ZO-1（图3C）和MUC-2（图3D）的表达水平，说明了肠上皮屏障被破坏。然而，DCD预处理可改善这一情况，以DH组效果最佳。这些数据表明，DCD对DSS诱导的UC小鼠的肠道屏障具有保护作用。

2.4 DCD抑制UC小鼠结肠异常炎症反应

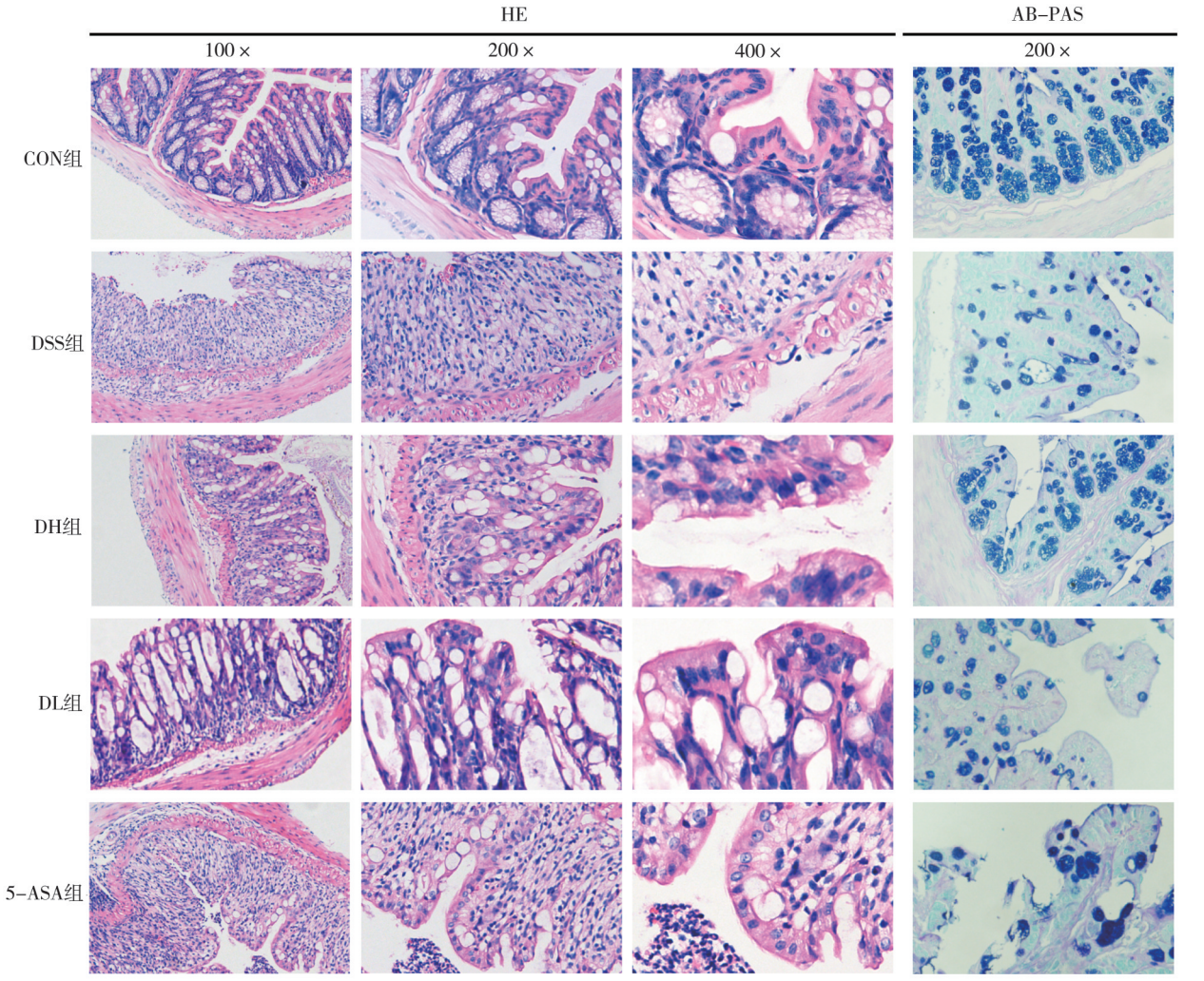
为检验DCD对UC小鼠结肠炎症的改善效果，本课题组进一步评估了结肠组织中相关炎症因子的表达水平。与CON组相比，DSS干预后IL-1β、IL-6、TNF-α、IL-17、IFN-γ、CD14和MCP-1的mRNA水平明显升高（图4A~G）。然而，DCD预处理以剂量依赖性方式明显逆转这一趋势。

NLRP3耗竭能够增加Occludin的表达，缓解组织损伤和减少炎症细胞浸润，从而明显减轻DSS诱导的结肠炎[29]。因此，通过RT-qPCR以了解NLRP3信号通路相关蛋白在UC小鼠结肠组织中的表达水平。结果（图4H~I）显示，DSS干预导致了NLRP3和ASC的过表达。DCD预处理明显缓解这

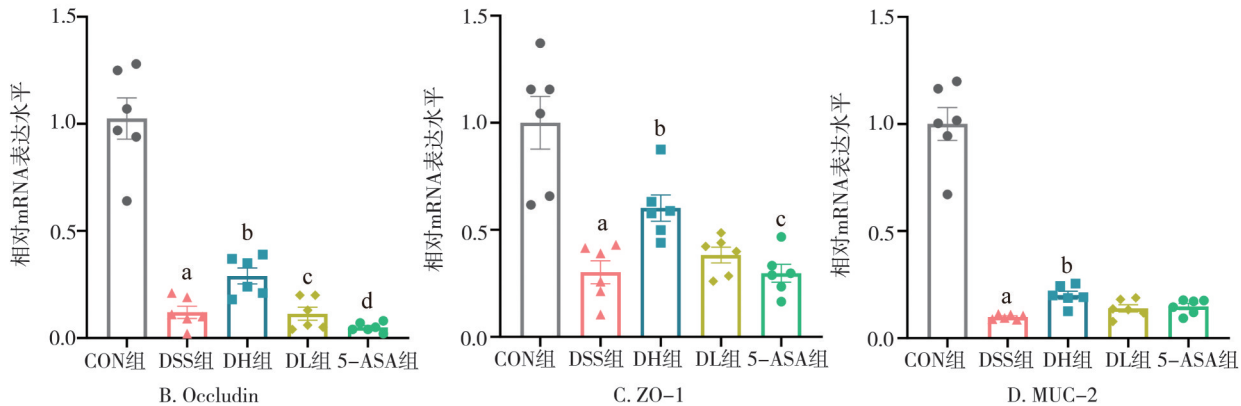


注：a，与CON组比较，$P<0.001$；b，与DSS组比较，$P<0.01$；c，与DH组比较，$P<0.001$；d，与CON组比较，$P<0.01$

图2 DCD缓解UC小鼠的疾病症状



A. 结肠HE和AB-PAS染色切片



B. Occludin　　C. ZO-1　　D. MUC-2

注：a，与CON组比较，$P<0.001$；b，与DSS组比较，$P<0.05$；c，与DH组比较，$P<0.05$；d，与DH组比较，$P<0.01$

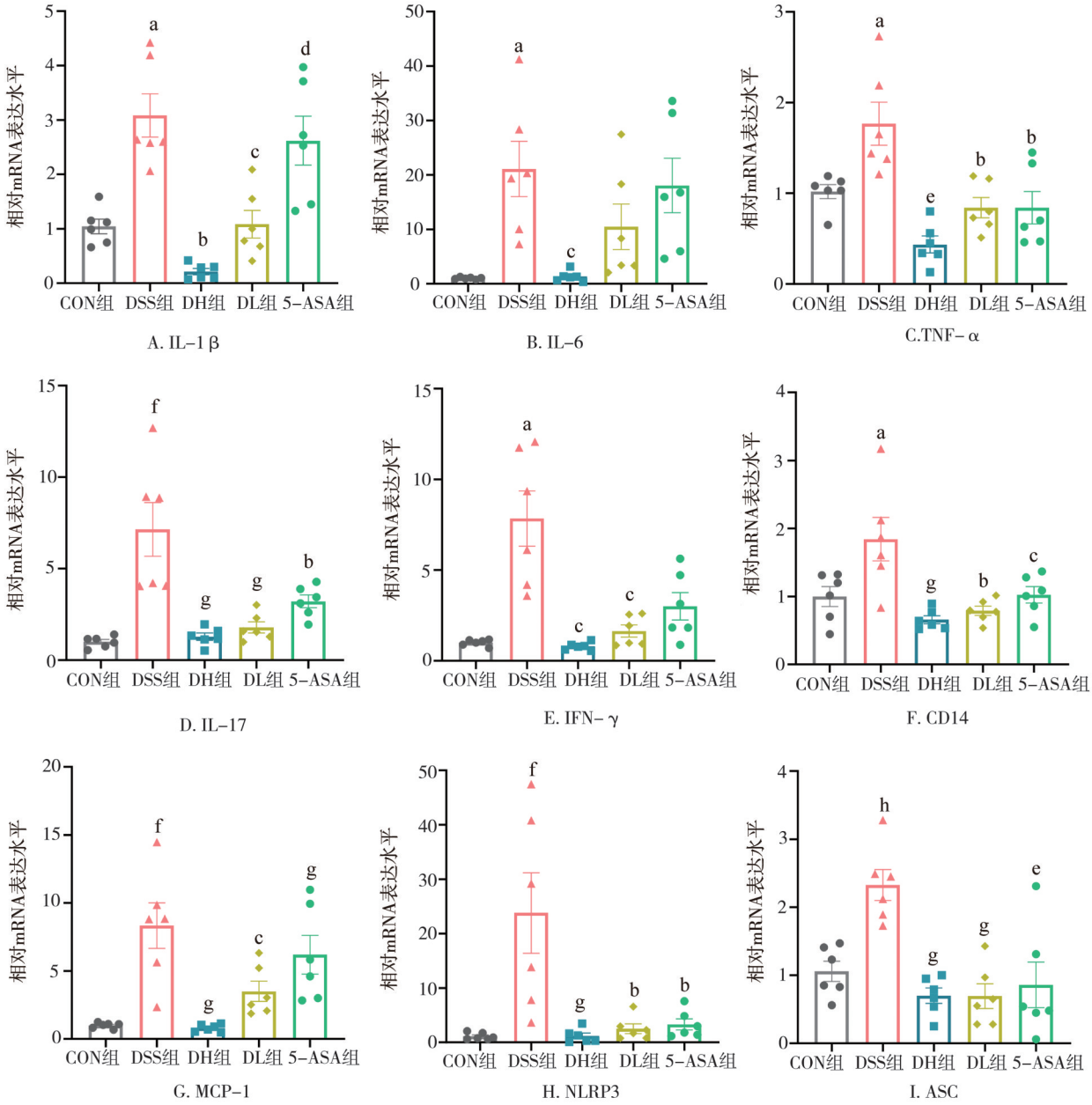
图3　DCD改善UC小鼠肠屏障损伤

一情况。这提示抑制NLRP3信号通路相关蛋白的过表达可能是DCD发挥对UC小鼠保护作用的潜在机制之一。确切的机制有待进一步实验验证。整体上，这些结果证实了DCD预处理对DSS诱导的小鼠溃疡性结肠炎具有出色的抗炎作用，以高剂量处理组（DH，20.10 g/kg）抗炎效果最为突出。

2.5　DCD减轻UC小鼠肝脏炎性损伤

IBD患者常有肝损伤，肝脏受到不同程度的损害[10,30]。本研究通过肝脏HE染色切片和RT-qPCR以了解UC小鼠模型肝脏的病理和炎症情况，及DCD对此有无改善作用。

HE染色结果（图5A）显示，DSS组肝脏出现局部炎性浸



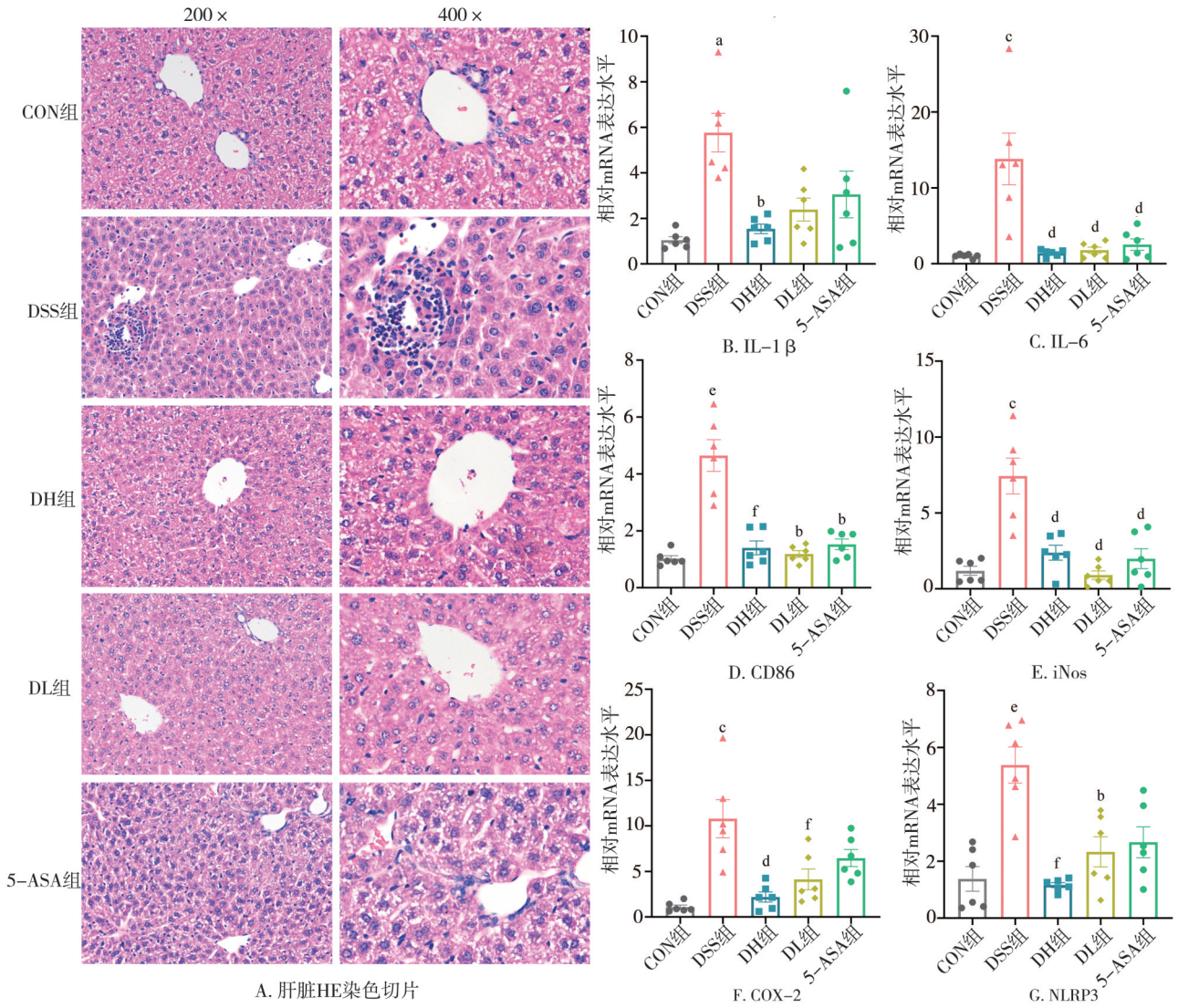
注：a，与CON组比较，$P<0.05$；b，与DSS组比较，$P<0.01$；c，与DSS组比较，$P<0.05$；d，与DH组比较，$P<0.05$；e，与DSS组比较，$P<0.001$；f，与CON组比较，$P<0.001$；g，与DH组比较，$P<0.01$；h，与CON组比较，$P<0.01$

图4　DCD抑制UC小鼠结肠异常炎症反应

润，部分肝细胞有肿胀现象。DCD预处理改善了UC小鼠的上述情况。RT-qPCR结果与肝切片观察到的结果相互佐证，其结果显示相较于CON组，DSS组炎症因子（IL-1β、IL-6）、促炎巨噬细胞表面标志物（CD86、iNOS）、氧化应激指标COX-2及炎症小体NLRP3的表达水平显著上升（图5B~G），表明本次疾病模型引起了肝脏炎症损伤。然而，DCD预处理显著抑制了上述炎症相关指标的mRNA水平，这证实了DCD对UC小鼠的肝损伤良好的抗炎效果及保护作用。总体上，依然是高剂量处理组（DH，20.10 g/kg）在发挥保护UC小鼠作用方面呈现显著优势。

2.6　DCD调节UC小鼠肠道菌群失衡

2.6.1　DCD对DSS小鼠肠道菌群多样性及组成的影响　微生物稳态失衡可导致机会性病原体在肠道中的定植和侵袭，从而增加了宿主免疫反应的风险，促进IBD的发展[31]。接下来，基于上述DH组的治疗优势，本课题组对CON、DSS和DH组小鼠粪便进行16S rRNA测序检测，以分析DCD预处理对UC小鼠肠道菌群的影响。Alpha多样性分析显示在门和属（图6A~B）水平上，DSS干预引起辛普森指数的急剧下降（$P<0.01$），DCD处理组未能上调辛普森指数。在Beta多样性方面，门和属水平的PCA分析（图6C~D）显示，DSS组与



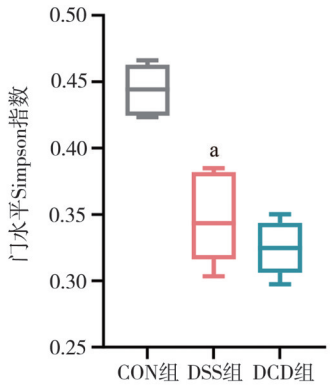
注：a，与CON组比较，$P<0.05$；b，与DSS组比较，$P<0.05$；c，与CON组比较，$P<0.001$；d，与DSS组比较，$P<0.001$；e，与CON组比较，$P<0.01$；f，与DSS组比较，$P<0.01$

图5　DCD减轻UC小鼠肝脏炎性损伤

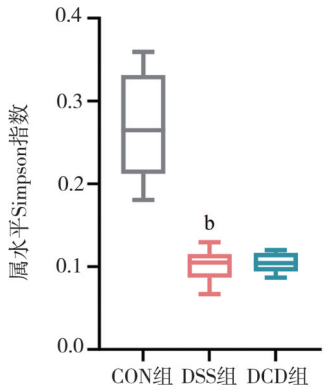
CON组肠道微生物组成谱明显分离。DCD预处理改变了UC小鼠的肠道微生物群落组成谱。

通过群落组成分析以了解DCD治疗对肠道微生物群落的针对性影响。在门水平方面（图6E），拟杆菌门（Bacteroidota）和厚壁菌门（Firmicutes）在3组中均是优势物种，各组间组成占比略有不同，但并无显著性差异。疣微菌门（Verrucomicrobiota）和变形菌门（Proteobacteria）在CON组中占比较少，DSS干预后，其相对丰度明显增加，DCD处理并未逆转这一趋势。在属水平方面（图6F），各组间群落组成的变化更具多样性，且优势物种在各组的富集程度明显不同。这些结果表明，DSS干预明显改变小鼠肠道微生物群落结构组成。DCD处理可修正相关肠道群落的占比。

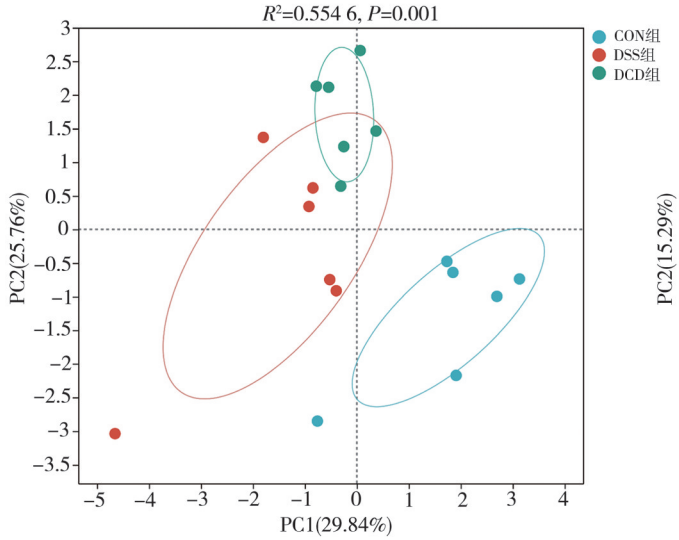
2.6.2　DCD恢复DSS诱导的肠道微生物群的组成变化　LEfSe分析（LDA>3）用以识别在属水平上产生明显性差异变化的群落或物种。如图7A所示，DSS干预导致Norank_f_Desulfovibrionaceae，Ruminococcus和Escherichia-Shigella等有害菌属的富集；DCD处理有助于Dubosiella，Faecalibaculum，Lactobacillus和Bifidobacterium等有益菌属的富集。随后对属级丰度排名前30的物种进行比较分析，发现有9个潜在标志物（图7B），它们在DSS和DCD处理后的变化趋势相反。相关性分析显示在结肠炎相关指标和肠道菌群水平之间（图7C），Norank_f_Desulfovibrionaceae，Ruminococcus和Escherichia-Shigella与紧密连接蛋白的表达水平呈负相关，而与IL-6等促炎细胞因子呈正相关。Dubosiella，Lactobacillus和Bifidobacterium的丰度与紧密连接蛋白表达水平呈显著正相关，而与相关促炎细胞因子呈负相关。数据表明，这些微生物可能与UC小鼠结肠损伤有关，而DCD有助于恢复UC小鼠中异常改变的肠道菌群。



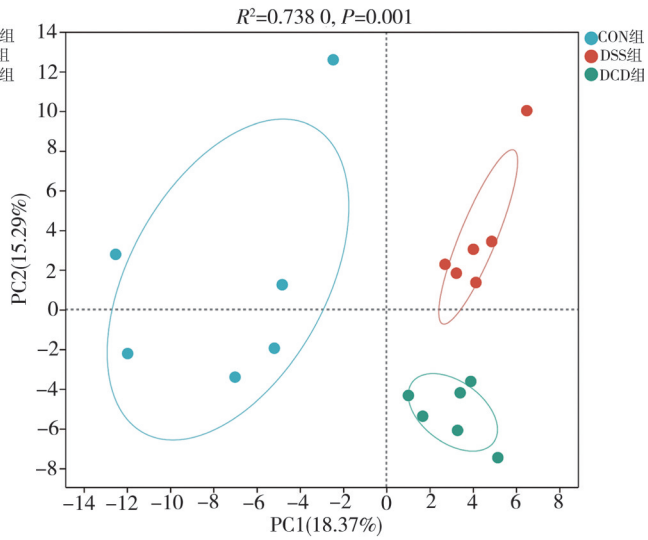
A. 门水平Simpson指数



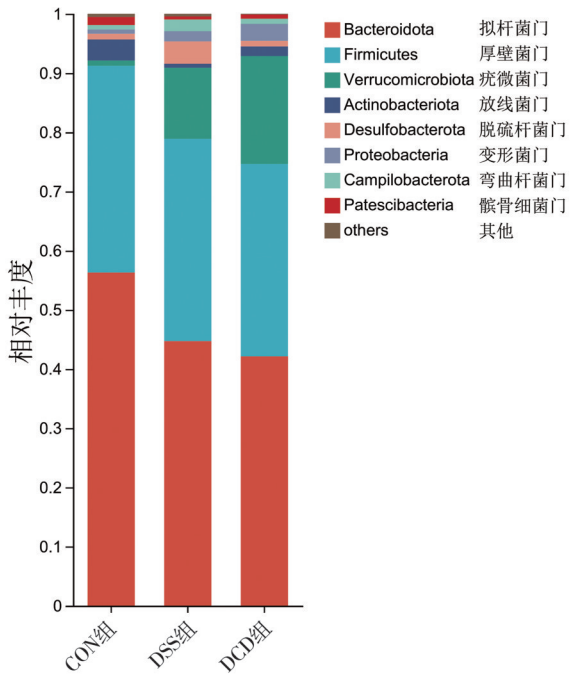
B. 属水平Simpson指数



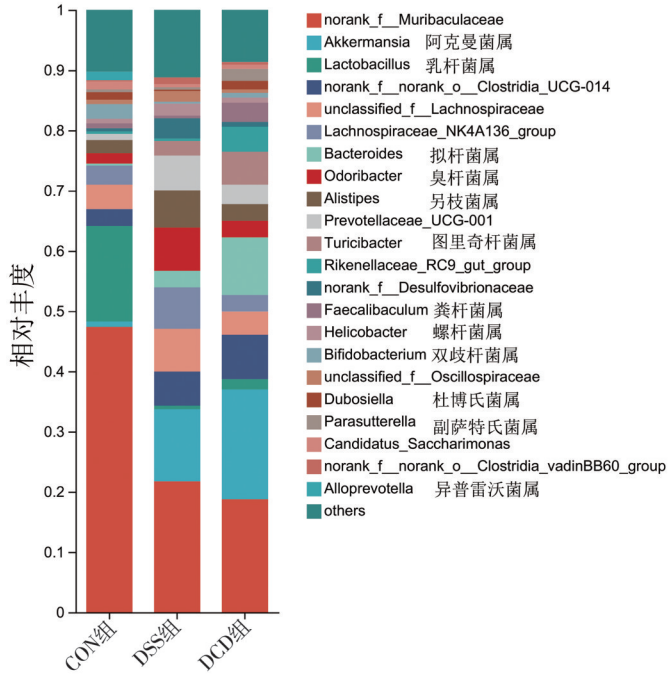
C. 门水平的主成分分析



D. 属水平的主成分分析



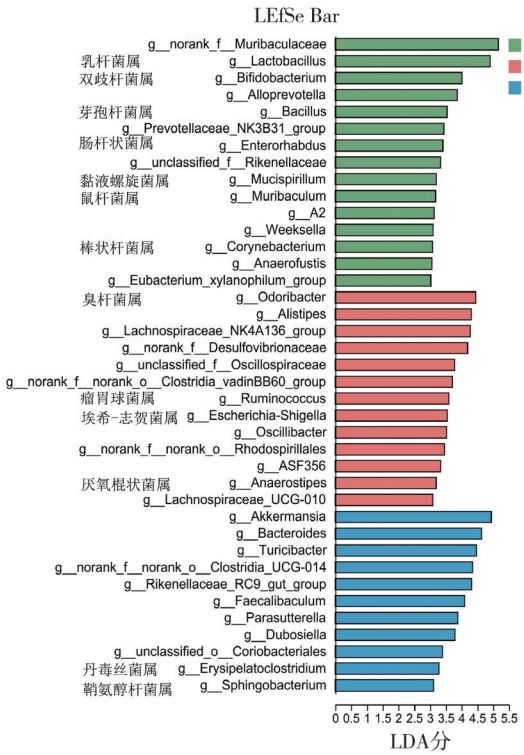
E. 门水平的群落组成分析



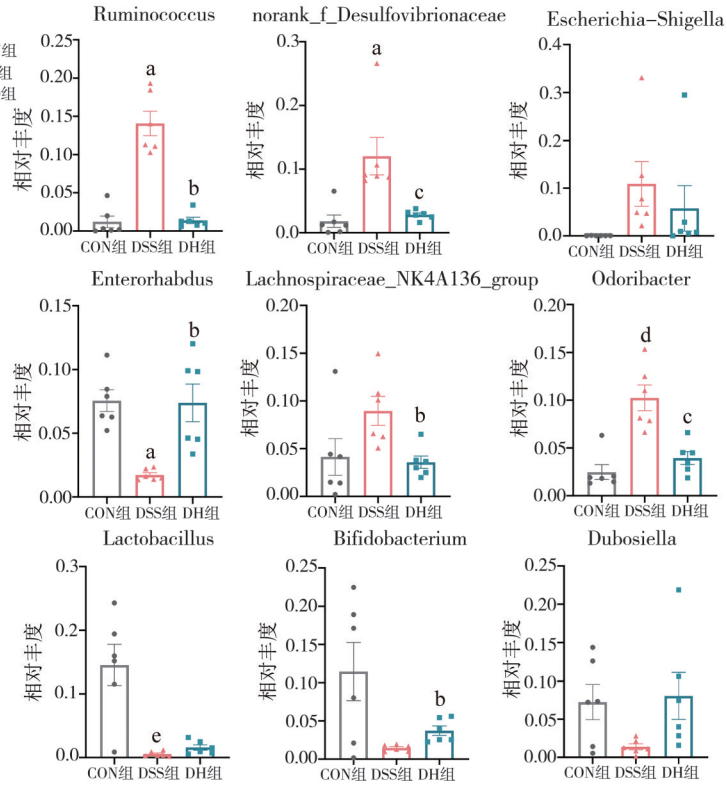
F. 属水平的群落组成分析

注：a，与CON组比较，$P<0.001$；b，与CON组比较，$P<0.01$

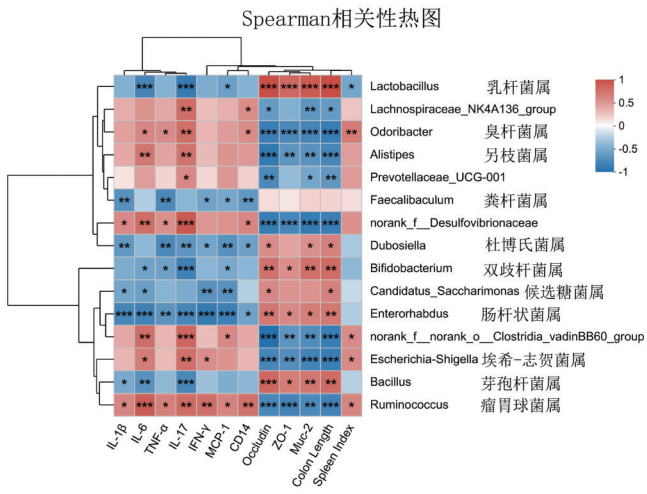
图6 DCD对UC小鼠肠道菌群多样性及组成的影响



A. 属水平3组的LDA评分（LDA评分>3）



B. 属水平菌落的相对丰度



C. 肠道菌群与结肠炎相关指标的相关性分析

注：a，与CON组比较，$P<0.01$；b，与DSS组比较，$P<0.05$；c，与DSS组比较，$P<0.01$；d，与CON组比较，$P<0.001$；e，与CON组比较，$P<0.05$

图7　DCD恢复UC小鼠肠道菌群的组成变化

3　讨　论

DCD作为传统中医药，常用于治疗胃肠道及肝胆系疾病，但其抗UC作用的现代医学机理有待探索。本研究使用3%DSS诱导急性UC小鼠模型，发现DCD能缓解UC小鼠的疾病症状（结肠缩短、炎性细胞浸润和肠屏障损伤）、肝脏炎性损伤并发挥肠道菌群调节作用；此外，相关性分析表明这些调节作用与其对UC的疗效密切相关。

本研究中DCD对DSS诱导的UC小鼠具有良好的肠屏障保护作用及出色的抗炎特性。众所周知，肠道屏障是肠道微生物和有害抗原的防御层，对于维持肠道稳态至关重要。在健康状态下，黏液层、紧密连接蛋白（tight junction protein，TJP）和上皮细胞维持肠屏障功能和完整性[32-33]。然而广泛用于引发小鼠结肠炎模型的DSS能够穿透黏液层，损害肠上皮细胞，影响肠道屏障完整性，使促炎细菌和相

关抗原渗透到组织中，引发炎症反应和巨噬细胞激活[27-28]。其中，促炎因子IL-6和TNF-α能够促进巨噬细胞活化，引发黏膜炎症[34-35]。而DCD可明显上调UC小鼠结肠组织中MUC-2、ZO-1和Occludin这3种TJP的表达，减少上皮细胞破坏，并以剂量依赖性方式显著抑制IL-6、TNF-α和IL-17等促炎因子过表达。本研究还发现DCD能抑制巨噬细胞激活相关的因子表达，包括CD14[36]和MCP-1[37]。据报道，DCD的成分之一黄芩苷可通过抑制CD14的表达来阻止LPS诱导的TLR4/NF-κB p65通路激活和小鼠炎症[38]，与本研究发现一致，但DCD抑制促炎因子分泌的潜在信号通路仍需研究。

NLRP3炎性小体是由NOD样受体形成的最具代表性的炎症相关复合物之一，由NLRP3、衔接蛋白ASC和蛋白酶caspase-1组成[39]。NLRP3激活诱导强烈的促炎反应，导致促炎因子IL-1β和IL-18的产生，这增加了UC的易感性和UC患者的炎症反应[40]。据报道，NLRP3在巨噬细胞中的激活与DSS诱导的炎症损伤相关[41]。本研究DCD显著降低了UC小鼠结肠组织中NLRP3、ASC和IL-1β的表达水平。这提示NLRP3炎性小体可能是DCD缓解UC炎症损伤的潜在作用靶点。因此，DCD对DSS诱导的UC小鼠的保护机制可能与抑制巨噬细胞激活，NLRP3炎性小体过表达和相关促炎因子的异常分泌有关。

DCD对肠道菌群的调节是抗UC的重要环节。肠道菌群是参与UC发病机制的重要因素。菌群失调可激活免疫细胞或NLRP3炎性小体，导致肠黏膜炎性浸润[42-44]，并与肠屏障损伤直接相关[45]。本研究中DCD纠正了UC小鼠肠道菌群失衡，明显富集了Dubosiella、Lactobacillu和Bifidobacterium等有益菌属。据报道，Dubosiella的富集有助于预防结肠炎[46]。Lactobacillus用于治疗UC[47]，可以减少促炎因子，提高乙酸盐水平，促进杯状细胞的增加和抗菌肽的分泌[47-48]。相关性分析显示Lactobacillus与促炎因子表达水平呈负相关。Bifidobacterium处理不仅调节UC小鼠肠黏膜免疫反应，同时上调肠屏障TJP水平[49-51]，还可产生丰富的乙酸盐抵达体循环[52]。丁酸盐和乙酸盐作为结肠中主要的SCFA[53]，可介导抗炎作用并维持肠屏障功能[54-55]。

此外，Norank_f_Desulfovibrionaceae和Ruminococcus在UC小鼠中显著富集。在患有非酒精性脂肪肝的小鼠中也观察到了Norank_f_Desulfovibrionaceae富集现象[56]，其丰度增加可能与肠道炎症有关。活动性IBD通常与Ruminococcus丰度的增加同时发生，利用黏液层的群落比例急剧增加影响了黏液层的微妙平衡，这种不平衡可导致肠道通透性增加[57]。然而，DCD处理有效逆转这两种菌的富集。相关性分析发现Norank_f_Desulfovibrionaceae和Ruminococcus与促炎因子呈正相关，而与TJP呈负相关。因此，DCD可能通过增加UC小鼠有益菌属丰度，降低有害菌属丰度，调节促炎因子的表达而减轻DSS诱导的肠道炎症和肠屏障损伤。

此外，DCD对DSS引发的肝损伤具有保护作用。据报道，IBD会增加多种并发症的风险[58-59]。肠道屏障的破坏是UC进展的一个关键因素。结肠炎小鼠和UC患者的结肠黏液层受损，肠道通透性增加，促使LPS和微生物衍生代谢物通过肠肝轴交流作用进入肝脏，引发肝脏炎症[11-12]。此外，相关炎性介质响应病原体相关分子模式或损伤相关分子模式而增强巨噬细胞等免疫细胞的募集和激活，可进一步放大肝内炎症[60]。而全身高水平的TNF可激活肝脏中的NLRP3炎性小体[61]，后者被证明可促进缺血再灌注后肝脏的炎症和肝细胞损伤[62]。本研究中，DSS组小鼠肝脏出现局部大量炎性浸润和高表达的促炎因子，Duan等人也报道了这一点[30,63]，表明UC小鼠肝脏健康受到损害。UC小鼠肝脏中还检测到M1型巨噬细胞特异性标志物CD86、iNOS及IL-1β、IL-6和NLRP3炎性小体的高表达，这提示肝脏炎症损伤与M1型巨噬细胞的过度活化密切联系，其促炎作用会加重肝组织损伤[64]。然而，DCD显著降低相关标志物及促炎因子的表达，并且缓解肝脏炎性浸润情况，表明DCD可能限制巨噬细胞过度激活，从而抑制肝脏炎症。DCD组成成分黄芩、大黄和柴胡具有抗炎抗氧化效应，有助于恢复肠道菌群失衡及免疫调节，对肠道和肝脏疾病具有良好保护作用。研究发现DCD可改善胆汁淤积性肝病的肝组织坏死和炎性浸润[22-23]。柴胡皂苷A作为DCD的活性成分之一，可改善氧化性肝损伤[65]。不排除DCD药效成分吸收到达肝组织产生直接保护作用。从UC小鼠肝损伤发生的机制来看，本研究中DCD对炎症反应的抑制和对肠屏障的良好保护作用，阻断了肠-肝轴的病理进展，这可能是DCD保护肝损伤的主要原因。

本研究亦存在一些局限性。DCD由8味中药组成，按照传统方法制成药液，成分复杂，尽管表现出抗UC和保肝作用，但其药物有效成分和关键效应物质有待明确。DCD作为经典中药方剂，多成分组合的效应可能是其发挥良好疗效的优势。

总之，本研究表明DCD对DSS诱导的小鼠溃疡性结肠炎具有明显防治作用，能够缓解肠屏障损伤、降低促炎因子水平、抑制NLRP3的激活和调节肠道微生物群。此外，DCD对UC所致肝损伤也有良好的保护作用，这一作用可能与其对肠道菌群的

调节和肠屏障的保护作用密切相关。由于DCD的多成分作用，未来将进一步研究产生菌群调节作用的关键成分和药物组合的协调作用机理，以及发挥作用的关键菌，为全面了解DCD对UC的关键作用机制和新型有效剂型的研发提供数据支撑。

参 考 文 献

[1] Wang L, Xie H, Xu L, et al. rSj16 Protects against DSS-Induced Colitis by Inhibiting thePPAR-alpha Signaling Pathway[J]. Theranostics, 2017, 7(14): 3446-3460.

[2] Ordás I, Eckmann L, Talamini M, et al. Ulcerative colitis[J]. Lancet, 2012, 380(9853): 1606-1619.

[3] Zhang X, Deng QH, Deng JH, et al. Lovastatin derivative dehydrolovastatin ameliorates ulcerative colitis in mice by suppressing NF-κB and inflammatory cytokine expression[J]. Korean J Physiol Pharmacol, 2020, 24(2): 137-147.

[4] Ng SC, Shi HY, Hamidi N, et al. Worldwide incidence and prevalence of inflammatory bowel disease in the 21st century: a systematic review of population-based studies[J]. Lancet, 2017, 390(10114): 2769-2778.

[5] Ford AC, Moayyedi P, Hanauer SB. Ulcerative colitis[J]. BMJ, 2013, 346: f432.

[6] Zhao M, Gönczi L, Lakatos PL, et al. The burden of inflammatory bowel disease in Europe in 2020[J]. J Crohns Colitis, 2021, 15(9): 1573-1587.

[7] Wu J, Wei Z, Cheng P, et al. Rhein modulates host purine metabolism in intestine through gut microbiota and ameliorates experimental colitis[J]. Theranostics, 2020, 10(23): 10665-10679.

[8] van der Post S, Jabbar KS, Birchenough G, et al. Structural weakening of the colonic mucus barrier is an early event in ulcerative colitis pathogenesis[J]. Gut, 2019, 68(12): 2142-2151.

[9] Zhang YZ, Li YY. Inflammatory bowel disease: pathogenesis[J]. World J Gastroenterol, 2014, 20(1): 91-99.

[10] Kim SH, Lee W, Kwon D, et al. Metabolomic analysis of the liver of a dextran sodium sulfate-induced acute colitis mouse model: implications of the gut-liver connection[J]. Cells, 2020, 9(2): 341.

[11] Tilg H, Moschen AR, Szabo G. Interleukin-1 and inflammasomes in alcoholic liver disease/acute alcoholic hepatitis and nonalcoholic fatty liver disease/nonalcoholic steatohepatitis[J]. Hepatology, 2016, 64(3): 955-965.

[12] Chen P, Stärkel P, Turner JR, et al. Dysbiosis-induced intestinal inflammation activates tumor necrosis factor receptor I and mediates alcoholic liver disease in mice[J]. Hepatology, 2015, 61(3): 883-894.

[13] Albillos A, de Gottardi A, Rescigno M. The gut-liver axis in liver disease: pathophysiological basis for therapy[J]. J Hepatol, 2020, 72(3): 558-577.

[14] Kobayashi T, Siegmund B, Le Berre C, et al. Ulcerative colitis[J]. Nat Rev Dis Primers, 2020, 6(1): 74.

[15] Wang Y, Shou Z, Fan H, et al. Protective effects of oxymatrine against DSS-induced acute intestinal inflammation in mice via blocking the RhoA/ROCK signaling pathway[J]. Biosci Rep, 2019, 39(7): BSR20182297.

[16] Li R, Chen Y, Shi M, et al. Gegen qinlian decoction alleviates experimental cColitis via suppressing TLR4/NF-κB signaling and enhancing antioxidant effect[J]. Phytomedicine, 2016, 23(10): 1012-1020.

[17] Zang KH, Liu LL, Wu JJ, et al. Molecular mechanism of astragaloside IV in the treatment of ulcerative colitis and liver injury comorbidity based on network pharmacology[J]. Chin J Pharmacovigil, 2022, 19(11): 1196-1201

[18] Bian Z, Qin Y, Li L, et al. Schisandra chinensis (Turcz.) Baill. Protects against DSS-induced colitis in mice: involvement of TLR4/NF-κB/NLRP3 inflammasome pathway and gut microbiota[J]. J Ethnopharmacol, 2022, 298: 115570.

[19] Chen BQ, Li Y. Effect of dachaihu decoction combined with sulfasalazine enteric-coated tablets in the treatment of ulcerative colitis[J]. Med Innov China, 2020, 17(15): 66-69.

[20] Cui H, Li Y, Wang Y, et al. Da-chai-hu decoction ameliorates high fat diet-induced nonalcoholic fatty liver disease through remodeling the gut microbiota and modulating the serum metabolism[J]. Front Pharmacol, 2020, 11: 584090.

[21] Iizuka A, Yoshie F, Amagaya S, et al. Effect of dai-saiko-to (da-chai-hu-tang) on LDL-receptor gene expression in human hepatoma cell line (HepG2)[J]. Am J Plant Sci, 2013, 4: 454-459

[22] Zhou Y, Zhou Y, Li Y, et al. Targeted bile acid profiles reveal the liver injury amelioration of Da-Chai-Hu decoction against ANIT- and BDL-induced cholestasis[J]. Front Pharmacol, 2022, 13: 959074.

[23] Huang N, Wei Y, Liu M, et al. Dachaihu decoction ameliorates septic intestinal injury via modulating the gut microbiota and glutathione metabolism as revealed by multi-omics[J]. J Ethnopharmacol, 2023, 312: 116505.

[24] Zhao G, Zhuo YZ, Cui LH, et al. Modified Da-chai-hu Decoction regulates the expression of occludin and NF-κB to alleviate organ injury in severe acute pancreatitis rats[J]. Chin J Nat Med, 2019, 17(5): 355-362.

[25] Xiong T, Zheng X, Zhang K, et al. Ganluyin ameliorates DSS-induced ulcerative colitis by inhibiting the enteric-origin LPS/TLR4/NF-κB pathway[J]. J Ethnopharmacol, 2022, 289: 115001.

[26] He JX, Ohno K, Tang J, et al. Da-Chaihu-Tang alters the pharmacokinetics of nifedipine in rats and a treatment regimen to avoid this [J]. J Pharm Pharmacol, 2014, 66(11): 1623-1630.

[27] Yan Y, Kolachala V, Dalmasso G, et al. Temporal and spatial analysis of clinical and molecular parameters in dextran sodium sulfate induced colitis[J]. PLoS One, 2009, 4(6): e6073.

[28] Yang C, Merlin D. Unveiling colitis: a journey through the dextran sodium sulfate-induced model[J]. Inflamm Bowel Dis, 2024, 30(5): 844-853.

[29] Wang L, Cai J, Zhao X, et al. Palmitoylation prevents sustained inflammation by limiting NLRP3 inflammasome activation through chaperone-mediated autophagy[J]. Mol Cell, 2023, 83(2): 281-297.e10.

[30] Zhu L, Zong X, Xiao X, et al. Multi-Omics analysis of the gut-Liver axis reveals the mechanism of liver injury in colitis mice[J]. Front Immunol, 2022, 12: 773070.

[31] Qiu P, Ishimoto T, Fu L, et al. The gut microbiota in inflammatory bowel disease[J]. Front Cell Infect Microbiol, 2022, 12: 733992.

[32] Ungaro R, Mehandru S, Allen PB, et al. Ulcerative colitis[J]. Lancet, 2017, 389(10080): 1756-1770.

[33] Dokladny K, Zuhl MN, Moseley PL. Intestinal epithelial barrier function and tight junction proteins with heat and exercise[J]. J Appl Physiol, 2016, 120(6): 692-701.

[34] Neurath MF. Cytokines in inflammatory bowel disease[J]. Nat Rev Immunol, 2014, 14(5): 329-342.

[35] Kim Y, Koh JH, Ahn YJ, et al. The synergic anti-inflammatory impact of gleditsia sinensis lam. and lactobacillus brevis KY21 on intestinal epithelial cells in a DSS-induced colitis model[J]. Korean J Food Sci Anim Resour, 2015, 35(5): 604-610.

[36] Sharygin D, Koniaris LG, Wells C, et al. Role of CD14 in human disease[J]. Immunology, 2023, 169(3): 260-270.

[37] Seki E, de Minicis S, Inokuchi S, et al. CCR2 promotes hepatic fibrosis in mice[J]. Hepatology, 2009, 50(1): 185-197.

[38] Fu YJ, Xu B, Huang SW, et al. Baicalin prevents LPS-induced activation of TLR4/NF-κB p65 pathway and inflammation in mice via inhibiting the expression of CD14[J]. Acta Pharmacol Sin, 2021, 42(1): 88-96.

[39] Hu Y, Tang J, Xie Y, et al. Gegen Qinlian decoction ameliorates TNBS-induced ulcerative colitis by regulating Th2/Th1 and Tregs/Th17 cells balance, inhibiting NLRP3 inflammasome activation and reshaping gut microbiota[J]. J Ethnopharmacol, 2024, 328: 117956.

[40] Ranson N, Veldhuis M, Mitchell B, et al. NLRP3-Dependent and -Independent Processing of Interleukin (IL)-1β in Active Ulcerative Colitis[J]. Int J Mol Sci, 2018, 20(1): 57.

[41] Zeng B, Huang Y, Chen S, et al. Dextran sodium sulfate potentiates NLRP3 inflammasome activation by modulating the KCa3.1 potassium channel in a mouse model of colitis[J]. Cell Mol Immunol, 2022, 19(8): 925-943.

[42] Leonardi I, Gao IH, Lin WY, et al. Mucosal fungi promote gut barrier function and social behavior via Type 17 immunity[J]. Cell, 2022, 185(5): 831-846.e14.

[43] Zhen Y, Zhang H. NLRP3 Inflammasome and inflammatory bowel disease[J]. Front Immunol, 2019, 10: 276.

[44] Li X, Wu X, Wang Q, et al. Sanguinarine ameliorates DSS induced ulcerative colitis by inhibiting NLRP3 inflammasome activation and modulating intestinal microbiota in C57BL/6 mice[J]. Phytomedicine, 2022, 106: 154394.

[45] Wan X, Bi J, Gao X, et al. Partial enteral nutrition preserves elements of gut barrier function, including innate immunity, intestinal alkaline phosphatase (IAP) level, and intestinal microbiota in mice[J]. Nutrients, 2015, 7(8): 6294-6312.

[46] Zhai Z, Zhang F, Cao R, et al. Cecropin A alleviates inflammation through modulating the gut microbiota of C57BL/6 mice with DSS-Induced IBD[J]. Front Microbiol, 2019, 10: 1595.

[47] Yun HF, Liu R, Han D, et al. Pingkui enema alleviates TNBS-induced ulcerative colitis by regulation of inflammatory factors, gut bifidobacterium, and intestinal mucosal barrier in rats[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2020, 2020: 3896948.

[48] Cervantes-Barragan L, Chai JN, Tianero MD, et al. Lactobacillus reuteri induces gut intraepithelial $CD4^+CD8\alpha\alpha^+$ T cells. Science, 2017, 357(6353): 806-810.

[49] Wang MX, Lin L, Chen YD, et al. Evodiamine has therapeutic efficacy in ulcerative colitis by increasing Lactobacillus acidophilus levels and acetate production[J]. Pharmacol Res, 2020, 159: 104978.

[50] Chen Y, Yang B, Stanton C, et al. Bifidobacterium pseudocatenulatum ameliorates DSS-induced colitis by maintaining intestinal mechanical barrier, blocking proinflammatory cytokines, inhibiting TLR4/NF-κB signaling, and altering gut microbiota[J]. J Agric Food Chem, 2021, 69(5): 1496-1512.

[51] Wang N, Wang S, Xu B, et al. Alleviation effects of bifidobacterium animalis subsp. lactis XLTG11 on dextran sulfate sodium-induced colitis in mice[J]. Microorganisms, 2021, 9(10): 2093.

[52] Chen Y, Jin Y, Stanton C, et al. Alleviation effects of bifidobacterium breve on DSS-induced colitis depends on intestinal tract barrier maintenance and gut microbiota modulation[J]. Eur J Nutr, 2021, E 60(1): 369-387.

[53] Vieira AT, Rocha VM, Tavares L, et al. Control of klebsiella pneumoniae pulmonary infection and immunomodulation by oral treatment with the commensal probiotic Bifidobacterium longum 5(1A)[J]. Microbes Infect, 2016, 18(3): 180-189.

[54] Russo E, Giudici F, Fiorindi C, et al. Immunomodulating activity and therapeutic effects of short chain fatty acids and tryptophan post-biotics in inflammatory bowel disease[J]. Front Immunol, 2019, 10: 2754.

[55] Parada Venegas D, De la Fuente MK, Landskron G, et al. Corrigendum: short chain fatty acids (SCFAs)-mediated gut epithelial and immune regulation and its relevance for inflammatory bowel diseases[J]. Front Immunol, 2019, 10: 1486.

[56] Yang S, Shang J, Liu L, et al. Strains producing different short-chain fatty acids alleviate DSS-induced ulcerative colitis by regulating intestinal microecology[J]. Food Funct, 2022, 13(23): 12156-12169.

[57] Wang R, Wang L, Wu H, et al. Noni (Morinda citrifolia L.) fruit phenolic extract supplementation ameliorates NAFLD by modulating insulin resistance, oxidative stress, inflammation, liver metabolism and gut microbiota[J]. Food Res Int, 2022, 160: 111732.

[58] Hall AB, Yassour M, Sauk J, et al. A novel ruminococcus gnavus clade enriched in inflammatory bowel disease patients[J]. Genome Med, 2017, 9(1): 103.

[59] Zezos P, Kouklakis G, Saibil F. Inflammatory bowel disease and thromboembolism[J]. World J Gastroenterol, 2014, 20(38): 13863-13878.

[60] Rieder F, Zimmermann EM, Remzi FH, et al. Crohn's disease complicated by strictures: a systematic review[J]. Gut, 2013, 62(7): 1072-1084.

[61] Zhong W, Rao Z, Rao J, et al. Aging aggravated liver ischemia and reperfusion injury by promoting STING-mediated NLRP3 activation in macrophages[J]. Aging Cell, 2020, 19(8): e13186.

[62] Bauernfeind F, Niepmann S, Knolle PA, et al. Aging-associated TNF production primes inflammasome activation and NLRP3-related metabolic disturbances[J]. J Immunol, 2016, 197(7): 2900-2908.

[63] Mohamadi Y, Mousavi M, Khanbabaei H, et al. The role of inflammasome complex in ischemia-reperfusion injury[J]. J Cell Biochem, 2023, 124(6): 755-764.

[64] Duan S, Du X, Chen S, et al. Effect of vitexin on alleviating liver inflammation in a dextran sulfate sodium (DSS)-induced colitis model[J]. Biomed Pharmacother, 2020, 121: 109683.

[65] Mantovani A, Biswas SK, Galdiero MR, et al. Macrophage plasticity and polarization in tissue repair and remodelling[J]. J Pathol, 2013, 229(2): 176-185.

[66] Bak SB, Song YR, Bae SJ, et al. Integrative approach to uncover antioxidant properties of bupleuri radix and its active compounds: multi-scale interactome-level analysis with experimental validation[J]. Free Radic Biol Med, 2023, 199: 141-153.

（责任编辑：李青颖）

本文引用格式：

项青青，赖　凤，肖　虹，等. 大柴胡汤缓解葡聚糖硫酸钠诱导的溃疡性结肠炎及肝损伤并与其对小鼠肠道菌群的调控作用相关[J]. 重庆医科大学学报，2025, 50(8): 1084-1095.