柠檬苦素对溃疡性结肠炎大鼠肠道损伤和肠道菌群紊乱的改善作用及机制Δ

张　霞[1*]，贾慧宇[2]，康金旺[1]，赵汉清[3]（1.河北北方学院附属第二医院消化内科，河北 张家口　075100；2.河北北方学院附属第二医院检验科，河北 张家口　075100；3.河北北方学院附属第二医院中医科，河北 张家口　075100）

中图分类号　R965　　**文献标志码**　A　　**文章编号**　1001-0408（2024）01-0051-06
DOI　10.6039/j.issn.1001-0408.2024.01.09

摘　要　目的　探究柠檬苦素对溃疡性结肠炎（UC）大鼠肠道损伤和肠道菌群紊乱的改善作用及机制。**方法**　构建UC大鼠模型，将建模成功的70只大鼠随机分为模型组和柠檬苦素低、中、高剂量组（12.5、25、50 mg/kg）以及柳氮磺胺吡啶组（阳性对照组，500 mg/kg），每组14只；另取14只大鼠作为对照组。各组大鼠灌胃相应药液或等量生理盐水，每天1次，连续2周。末次给药结束24 h后，观察大鼠一般情况并称重，取结肠组织进行结肠黏膜损伤指数（CMDI）评分；检测大鼠结肠组织中白细胞介素1β（IL-1β）、IL-6、肿瘤坏死因子α（TNF-α）水平；观察大鼠结肠组织病理学变化；检测大鼠结肠组织中紧密连接蛋白1（Claudin-1）、闭合蛋白（Occludin）、闭锁小带蛋白1（ZO-1）、高迁移率族蛋白B1（HMGB1）、晚期糖基化终末产物受体（RAGE）蛋白的表达水平；基于16S rRNA检测大鼠肠道菌群的相对丰度。**结果**　与对照组相比，模型组大鼠精神状态不佳、皮毛较暗、情绪烦躁易发怒，结肠组织腺体排列杂乱，出现炎症细胞浸润和细胞坏死、水肿现象；CMDI评分和结肠组织中IL-1β、IL-6、TNF-α水平，HMGB1、RAGE蛋白表达水平以及肠道变形菌门、拟杆菌门菌群的相对丰度均显著升高（$P<0.05$）；体重和结肠组织中Claudin-1、Occludin、ZO-1蛋白表达水平以及肠道厚壁菌门菌群的相对丰度均显著降低（$P<0.05$）。与模型组相比，柠檬苦素各剂量组大鼠一般情况和结肠组织病理损伤均改善，上述指标水平均显著逆转（$P<0.05$），且具有剂量依赖性（$P<0.05$）；柳氮磺胺吡啶组与柠檬苦素高剂量组大鼠各项指标比较，差异均无统计学意义（$P>0.05$）。**结论**　柠檬苦素可改善UC模型大鼠肠道损伤及肠道菌群紊乱，其作用机制可能与下调HMGB1/RAGE信号通路活性有关。

关键词　柠檬苦素；溃疡性结肠炎；肠道损伤；肠道菌群；高迁移率族蛋白B1/晚期糖基化终末产物受体信号通路

Improvement effects of limonin on intestinal injury and intestinal flora disturbance in rats with ulcerative colitis and its mechanism

ZHANG Xia[1], JIA Huiyu[2], KANG Jinwang[1], ZHAO Hanqing[3] (1. Dept. of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Hebei North University, Hebei Zhangjiakou 075100, China; 2. Dept. of Clinical Laboratory, the Second Affiliated Hospital of Hebei North University, Hebei Zhangjiakou 075100, China; 3. Dept. of Traditional Chinese Medicine, the Second Affiliated Hospital of Hebei North University, Hebei Zhangjiakou 075100, China)

ABSTRACT　OBJECTIVE To investigate the improvement effects of limonin on intestinal injury and intestinal flora disturbance in rats with ulcerative colitis (UC) and its mechanism. **METHODS** UC rat models were established, and 70 rats with successful modeling were randomly divided into model group, limonin low-, medium-, and high-dose groups (12.5, 25, 50 mg/kg), and sulfasalazine group (positive control group, 500 mg/kg), with 14 rats in each group. Another 14 rats were selected as the control group. After modeling, each group was given the corresponding drug or equal amount of normal saline, once a day, for 2 weeks. Twenty-four hours after the last administration, the general condition of rats was observed and the body weight was measured, and colon tissue was collected for colonic mucosal damage index (CMDI) scoring; the levels of interleukin-1β (IL-1β), IL-6 and tumor necrosis factor-α (TNF-α) in colon tissue were detected; the pathological changes of colon tissue were observed; the protein expressions of Claudin-1, Occludin, ZO-1, high mobility group protein B1 (HMGB1) and receptor for advanced glycation end products (RAGE) in colon tissue were detected; fecal 16S rRNA sequencing was used to detect the relative abundance of intestinal microbiota in rats. **RESULTS** Compared with the

Δ**基金项目** 河北省医学科学研究课题计划项目（No.20210853）

＊**第一作者** 副主任医师。研究方向：溃疡性结肠炎。E-mail：zhangxiaxia5287@163.com

control group, the rats in the model group were in poor mental state, with darker fur, irritable mood, disordered arrangement of colon glands, inflammatory cell infiltration, cell necrosis and edema; CMDI score, the levels of IL-1β, IL-6 and TNF-α, protein expressions of HMGB1 and RAGE in colon tissue, the relative abundance of Proteobacteria and Bacteroidetes were significantly increased ($P<0.05$); body weight, the protein expressions of Claudin-1, Occludin and ZO-1 in colon tissue, the relative abundance of Firmicutes in the intestine were significantly decreased ($P<0.05$). Compared with the model group, general situation and pathological damage of colonic tissue in limonin groups were improved, the levels of the above indicators were significantly reversed ($P<0.05$), and in a dose-dependent manner ($P<0.05$); there was no significant difference in various indexes between sulfasalazine group and limonin high-dose group ($P>0.05$). **CONCLUSIONS** Limonin can improve intestinal injury and intestinal flora disturbance in UC model rats, the mechanism of which may be associated with the down-regulation of HMGB1/RAGE signaling pathway.

KEYWORDS limonin; ulcerative colitis; intestinal injury; intestinal flora; HMGB1/RAGE signaling pathway

溃疡性结肠炎（ulcerative colitis，UC）是一种慢性炎症性结肠疾病，由宿主肠道菌群的免疫反应失衡引起，严重威胁公共健康[1]。尽管近年来在UC诊断和治疗方面取得了很大进展，但仍未获得有效的治疗药物[2]。肠道菌群紊乱和肠屏障损伤会加剧UC肠道损伤[3]，因此，寻找可改善肠道损伤和调节肠道菌群的药物对治疗UC具有重要意义。

柠檬苦素是苦参*Sophora flavescens* Ait.的活性成分之一，其可通过抑制结肠组织中内质网应激来改善由葡聚糖硫酸钠诱导的小鼠慢性结肠炎[4]。高迁移率族蛋白B1（high mobility group protein B1，HMGB1）/晚期糖基化终末产物受体（receptor for advanced glycation end products，RAGE）信号通路是研究UC发生发展过程中的常见通路，相关研究发现，抑制HMGB1/RAGE信号通路可以减轻实验性结肠炎小鼠肠道损伤[5]。另外，研究显示，UC患者血清中HMGB1水平与肠道菌群失衡存在相关性，提示HMGB1/RAGE信号通路活性与UC患者肠道菌群有关[6]。基于此，本研究基于HMGB1/RAGE信号通路，探究柠檬苦素对UC模型大鼠肠道菌群紊乱和肠屏障损伤的改善作用及机制，以期为UC治疗药物的开发提供理论依据。

1 材料

1.1 主要仪器

SpectraMax 190型酶标仪、LW200ET-A型显微镜、BOT-860SR型凝胶成像仪均购自广州健仑生物科技有限公司。

1.2 主要药品与试剂

柳氮磺胺吡啶肠溶片（批号20220614，规格0.25 g/片）购自上海福达制药有限公司；柠檬苦素原料药（纯度≥99.78%）和三硝基苯磺酸（trinitrobenzene sulfonic acid，TNBS）、白细胞介素1β（interleukin-1β，IL-1β）、IL-6、肿瘤坏死因子α（tumor necrosis factor-α，TNF-α）的酶联免疫吸附测定（ELISA）试剂盒以及BCA试剂盒（批号分别为ZQ38677、ZQ3-2744、ZQ2-1144、ZQ2-2204、ZQ2-6159、ZQ1-6658）均购自广州市智取生物科技有限公司；苏木精-伊红（HE）染色试剂盒、蛋白提取试剂盒、ECL试剂、大鼠粪便DNA提取试剂盒、Quant-iT™ dsDNA分析试剂盒（批号NY19845、NY46265、NY26877、NY55236、NY22708）均购自山东暖阳生物技术有限公司；兔源紧密连接蛋白1（Claudin-1）、闭合蛋白（Occludin）、闭锁小带蛋白1（ZO-1）、HMGB1、RAGE、GAPDH单克隆抗体和羊抗兔免疫球蛋白G二抗（批号分别为NT21984、NT47657、NT50421、NT46342、NT67221、NT65722、NT71104）均购自英国Abcam公司。

1.3 动物

本研究所用动物为SPF级雄性Wistar大鼠，8周龄，共88只，体重为251～269 g，购自广州纳特生物科技有限公司，动物生产许可证号为SCXK（粤）2022-0014。大鼠在温度24～26 ℃、湿度50%～60%、光照周期12 h的环境中饲养。本研究经河北北方学院附属第二医院伦理委员会批准，审批号为附二院（伦审）-2022-109。

2 方法

2.1 造模分组与给药

取74只大鼠，禁食不禁水1 d后进行麻醉，使用16号灌胃针在润滑油的作用下插入肛门8 cm，向大鼠肠腔内一次性缓缓注入5%TNBS（2 mL/kg）和50%乙醇溶液（0.3 mL）后，再注入0.3 mL空气，在大鼠腹部轻揉3 min，以复制UC模型[7]。大鼠出现稀便后，随机处死4只大鼠，若观察到其结肠黏膜上皮出现炎症浸润等病理损伤，则表明造模成功[7]。将造模成功的70只大鼠随机分为模型组和柠檬苦素低、中、高剂量组（12.5、25、50 mg/kg，剂量参考文献[8]设置，临用时以生理盐水溶解）以及柳

氮磺胺吡啶组（阳性对照组，500 mg/kg[9]，临用时以生理盐水溶解），每组14只。另取14只大鼠作为对照组（大鼠肠腔内使用相同方法注入等体积生理盐水）。除对照组、模型组灌胃等量生理盐水外，其余各组大鼠灌胃相应药液，灌胃体积为10 mL/kg，每天1次，连续2周。

2.2 大鼠一般情况观察、样本采集及结肠黏膜损伤指数评分

在末次给药1 h后，将大鼠置于无菌垫料笼内单独喂养，用灭菌镊子夹取大鼠粪便（约1 g/只）放入无菌EP管内，并立刻放入－80 ℃冰箱内保存。在末次给药结束24 h后记录大鼠的精神状态、行为活动、体重等一般情况。将大鼠麻醉处死后，取距肛门8 cm处的结肠组织进行结肠黏膜损伤指数（colonic mucosal damage index，CMDI）评分[黏膜无损伤为0分；黏膜存在水肿和充血且无溃疡为1分；黏膜存在水肿和充血且糜烂为2分；黏膜存在水肿和充血及单个溃疡（溃疡直径＜1 cm）为3分；黏膜存在水肿和充血及多个溃疡（溃疡直径＜1 cm）为4分；黏膜存在水肿和充血及直径＞1 cm的溃疡为5分][9]。CMDI评分完毕后将部分结肠组织固定在4%多聚甲醛中，用于HE染色；剩余结肠组织保存于－70 ℃条件下，用于ELISA和Western bolt检测。

2.3 大鼠结肠组织中炎症因子水平的检测

采用ELISA法检测。将－70 ℃条件下保存的结肠组织匀浆后，在4 ℃下以4 100 r/min离心12 min获得上清液，根据相关试剂盒说明书方法检测结肠组织中炎症因子IL-1β、IL-6、TNF-α的水平。

2.4 大鼠结肠组织病理形态观察

取固定在4%多聚甲醛中的大鼠结肠组织适量，制作石蜡切片，用二甲苯脱蜡，并通过梯度乙醇进行水合，经HE染色后用二甲苯使其透明，并以中性树脂密封，然后在显微镜下观察大鼠结肠组织病理变化。

2.5 大鼠结肠组织中肠道屏障功能相关蛋白及HMGB1、RAGE蛋白表达的检测

采用Western bolt法检测。取－70 ℃条件下保存的大鼠结肠组织适量，采用蛋白提取试剂盒提取总蛋白，采用BCA试剂盒定量蛋白浓度。蛋白变性后，取30 μg进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳和转膜，以5%脱脂奶粉封闭，加入Claudin-1（稀释度为1∶1 400）、Occludin（稀释度为1∶1 200）、ZO-1（稀释度为1∶1 200）、HMGB1（稀释度为1∶2 000）、RAGE（稀释度为1∶1 500）、GAPDH（稀释度为1∶1 800）一抗，4 ℃下孵育过夜；然后加入二抗（稀释度为1∶4 200），37 ℃下孵育2 h；经ECL试剂显色后，进行凝胶成像，采用Image J软件分析蛋白灰度值，以目的蛋白与内参蛋白（GAPDH）的灰度值比值表示其表达水平。

2.6 大鼠粪便的16S rRNA测序

根据粪便DNA提取试剂盒提取大鼠粪便微生物的总DNA，经凝胶电泳后根据Quant-iT™ dsDNA分析试剂盒对细菌16S rRNA V3-V4区序列进行扩增（正向引物为5′-GTGTCAGCGCCGCGGTAA-3′，反向引物为5′-CGACTACGGGTTCTAATG-3′）。收集扩增产物，通过上海美吉生物公司的Illumina MiSeq PE300测序平台测序，以97%的相似性聚类成操作分类单元（operational taxonomic units，OTU），以OTU为基本单位分析菌群组成。

2.7 统计学方法

采用SPSS 25.0软件进行统计分析。计量资料以$\bar{x}\pm s$表示，多组间比较采用单因素方差分析，进一步两组间比较采用*SNK-q*检验。检验水准$\alpha=0.05$。

3 结果

3.1 柠檬苦素对UC模型大鼠一般情况及CMDI评分的影响

与对照组相比，模型组大鼠精神状态不佳、皮毛较暗、情绪烦躁易发怒、活动较少，体重显著降低，CMDI评分显著升高（$P<0.05$）。与模型组相比，柠檬苦素各剂量组大鼠的精神状态、皮毛光泽以及活动量均改善，体重均显著升高，CMDI评分均显著降低（$P<0.05$），且具有剂量依赖性（$P<0.05$）；柳氮磺胺吡啶组大鼠精神状态、皮毛光泽以及活动量也均改善，体重显著升高，CMDI评分显著降低（$P<0.05$）。柳氮磺胺吡啶组与柠檬苦素高剂量组相比，大鼠体重和CMDI评分的差异无统计学意义（$P>0.05$）。结果见表1。

表1 各组大鼠体重和CMDI评分的比较结果（$\bar{x}\pm s$，$n=14$）

组别	体重/g	CMDI评分/分
对照组	340.01±37.34	0.00±0.00
模型组	235.93±23.38[a]	4.14±0.52[a]
柠檬苦素低剂量组	263.15±25.23[b]	3.28±0.41[b]
柠檬苦素中剂量组	291.21±29.01[bc]	2.55±0.36[bc]
柠檬苦素高剂量组	316.38±32.58[bcd]	1.91±0.23[bcd]
柳氮磺胺吡啶组	318.32±35.07[bcd]	1.93±0.27[bcd]

a：与对照组相比，$P<0.05$；b：与模型组相比，$P<0.05$；c：与柠檬苦素低剂量组相比，$P<0.05$；d：与柠檬苦素中剂量组相比，$P<0.05$。

3.2 柠檬苦素对UC模型大鼠结肠组织中炎症因子水平的影响

与对照组相比，模型组大鼠结肠组织中IL-1β、IL-6、TNF-α水平均显著升高（$P<0.05$）。与模型组相比，柠檬苦素各剂量组大鼠结肠组织中上述指标水平均显著

降低（$P<0.05$），且具有剂量依赖性（$P<0.05$）；柳氮磺胺吡啶组大鼠结肠组织中上述指标水平均显著降低（$P<0.05$）。柳氮磺胺吡啶组与柠檬苦素高剂量组相比，上述指标水平的差异无统计学意义（$P>0.05$）。结果见表2。

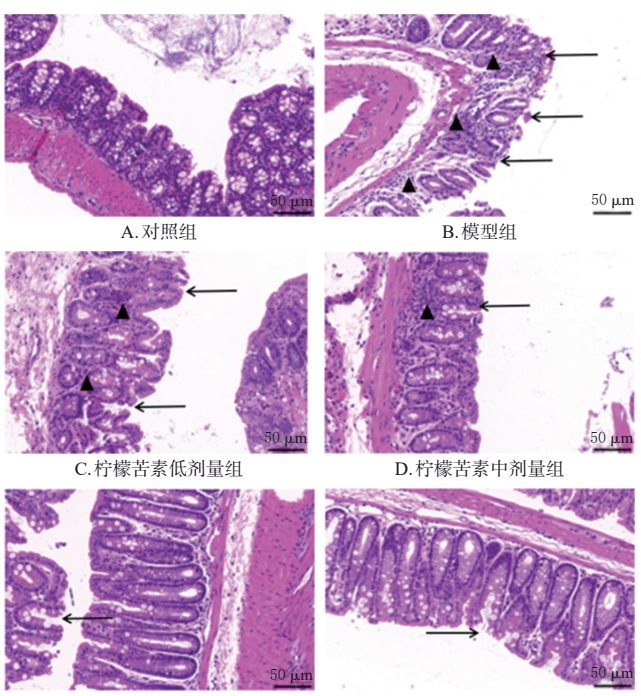
表2　各组大鼠结肠组织中IL-1β、IL-6、TNF-α水平的检测结果（$\bar{x}\pm s$，$n=14$，pg/mg）

组别	IL-1β	IL-6	TNF-α
对照组	22.43±3.53	86.36±10.74	74.54±9.15
模型组	62.54±8.34[a]	199.65±27.44[a]	175.73±22.85[a]
柠檬苦素低剂量组	51.46±6.75[b]	164.61±18.71[b]	142.53±18.96[b]
柠檬苦素中剂量组	39.33±5.38[bc]	125.57±14.43[bc]	116.75±15.26[bc]
柠檬苦素高剂量组	27.15±4.46[bcd]	92.74±11.46[bcd]	85.17±11.51[bcd]
柳氮磺胺吡啶组	28.63±5.02[bcd]	95.26±12.57[bcd]	83.68±12.47[bcd]

a：与对照组相比，$P<0.05$；b：与模型组相比，$P<0.05$；c：与柠檬苦素低剂量组相比，$P<0.05$；d：与柠檬苦素中剂量组相比，$P<0.05$。

3.3　柠檬苦素对UC模型大鼠结肠组织病理变化的影响

对照组大鼠结肠组织结构完整，腺体排列整齐有序，未见炎症细胞浸润和细胞坏死、水肿、糜烂、溃疡等现象。模型组大鼠结肠组织腺体排列杂乱，出现炎症细胞浸润和细胞坏死、水肿现象。与模型组相比，柠檬苦素各剂量组和柳氮磺胺吡啶组大鼠结肠组织腺体排列均较为整齐，炎症细胞浸润和细胞坏死、水肿现象均有所改善，且柳氮磺胺吡啶组和柠檬苦素高剂量组大鼠结肠组织结构相似。结果见图1。

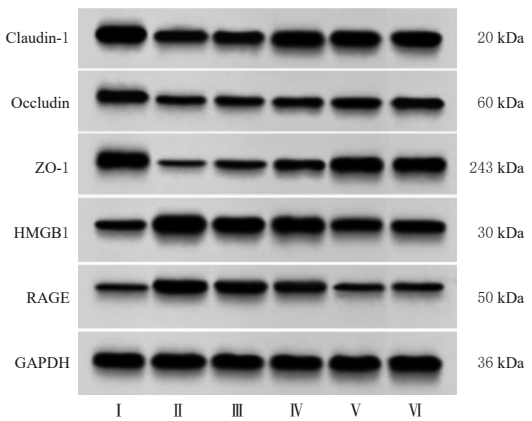


↑：杂乱排列的腺体；▲：炎症细胞浸润和细胞坏死、水肿。

图1　各组大鼠结肠组织病理变化的显微图（HE染色）

3.4　柠檬苦素对UC模型大鼠结肠组织中肠道屏障功能相关蛋白及HMGB1、RAGE蛋白表达的影响

与对照组相比，模型组大鼠结肠组织中Claudin-1、Occludin、ZO-1蛋白表达水平均显著降低，HMGB1、RAGE蛋白表达水平均显著升高（$P<0.05$）。与模型组相比，柠檬苦素各剂量组大鼠结肠组织中上述蛋白表达水平均显著逆转（$P<0.05$），且具有剂量依赖性（$P<0.05$）；柳氮磺胺吡啶组大鼠结肠组织中上述蛋白表达水平均显著逆转（$P<0.05$）。柳氮磺胺吡啶组与柠檬苦素高剂量组相比，上述蛋白表达水平的差异无统计学意义（$P>0.05$）。结果见图2、表3。



Ⅰ：对照组；Ⅱ：模型组；Ⅲ：柠檬苦素低剂量组；Ⅳ：柠檬苦素中剂量组；Ⅴ：柠檬苦素高剂量组；Ⅵ：柳氮磺胺吡啶组。

图2　各组大鼠结肠组织Claudin-1、Occludin、ZO-1、HMGB1和RAGE蛋白表达的电泳图

表3　各组大鼠结肠组织中Claudin-1、Occludin、ZO-1、HMGB1和RAGE蛋白表达水平的检测结果（$\bar{x}\pm s$，$n=14$）

组别	Claudin-1/GAPDH	Occludin/GAPDH	ZO-1/GAPDH	HMGB1/GAPDH	RAGE/GAPDH
对照组	1.58±0.19	0.95±0.15	1.10±0.17	0.63±0.07	0.23±0.03
模型组	0.73±0.07[a]	0.51±0.07[a]	0.30±0.05[a]	1.51±0.16[a]	0.91±0.10[a]
柠檬苦素低剂量组	0.91±0.10[b]	0.63±0.08[b]	0.44±0.07[b]	1.34±0.14[b]	0.74±0.08[b]
柠檬苦素中剂量组	1.19±0.12[bc]	0.72±0.09[bc]	0.74±0.09[bc]	1.15±0.14[bc]	0.61±0.07[bc]
柠檬苦素高剂量组	1.41±0.16[bcd]	0.89±0.11[bcd]	1.07±0.15[bcd]	0.78±0.09[bcd]	0.43±0.05[bcd]
柳氮磺胺吡啶组	1.40±0.15[bcd]	0.87±0.10[bcd]	1.05±0.14[bcd]	0.76±0.07[bcd]	0.40±0.04[bcd]

a：与对照组相比，$P<0.05$；b：与模型组相比，$P<0.05$；c：与柠檬苦素低剂量组相比，$P<0.05$；d：与柠檬苦素中剂量组相比，$P<0.05$。

3.5　柠檬苦素对UC模型大鼠肠道菌群的影响

与对照组相比，模型组大鼠肠道厚壁菌门菌群的相对丰度显著降低（$P<0.05$），变形菌门、拟杆菌门菌群的相对丰度均显著升高（$P<0.05$）。与模型组相比，柠檬苦素各剂量组大鼠肠道厚壁菌门菌群的相对丰度均显著升高（$P<0.05$），变形菌门、拟杆菌门菌群的相对丰度均显著降低（$P<0.05$），且具有剂量依赖性（$P<0.05$）；柳氮磺胺吡啶组大鼠肠道厚壁菌门菌群的相对丰度均显

著升高（$P<0.05$），变形菌门、拟杆菌门菌群的相对丰度均显著降低（$P<0.05$）。柳氮磺胺吡啶组与柠檬苦素高剂量组相比，上述指标的差异均无统计学意义（$P>0.05$）。结果见表4。

表4　各组大鼠肠道优势菌门相对丰度的检测结果（$\bar{x}\pm s$，$n=14$，%）

组别	厚壁菌门	变形菌门	拟杆菌门
对照组	75.81±10.35	8.53±2.76	4.01±0.38
模型组	43.03±4.03[a]	28.45±0.86[a]	26.86±0.53[a]
柠檬苦素低剂量组	55.98±6.50[b]	20.34±1.34[b]	20.31±0.47[b]
柠檬苦素中剂量组	63.56±6.87[bc]	15.74±2.13[bc]	12.87±0.29[bc]
柠檬苦素高剂量组	73.03±7.17[bcd]	9.02±1.10[bcd]	6.34±0.54[bcd]
柳氮磺胺吡啶组	70.35±7.36[bcd]	8.83±0.93[bcd]	6.14±0.68[bcd]

a：与对照组相比，$P<0.05$；b：与模型组相比，$P<0.05$；c：与柠檬苦素低剂量组相比，$P<0.05$；d：与柠檬苦素中剂量组相比，$P<0.05$。

4　讨论

UC是一种慢性非特异性炎症性肠病，复发率高，目前的治疗方法效果不佳[10]。相关研究表明，紊乱的肠道菌群与异常免疫反应之间的相互作用可能导致肠黏膜功能障碍，而肠黏膜屏障功能障碍可能是UC的触发因素[11]。柠檬苦素是炎症性肠病的候选药物，Gu等[12]研究发现，柠檬苦素可以改善小鼠肠道菌群，进而改善肠道功能。Liu等[13]研究表明，柠檬苦素可以抑制炎症因子产生，改善UC模型小鼠肠道损伤。由此可见，柠檬苦素可能是UC的潜在治疗药物。但是关于柠檬苦素对UC模型大鼠肠道微生物以及肠道损伤的具体作用机制却尚未见报道。本研究发现，UC模型大鼠经柠檬苦素干预后，精神状态较好、皮毛较光亮、活动量改善，结肠组织腺体排列整齐，且炎症细胞浸润、细胞坏死和水肿现象改善，与Gu等[12]和Liu等[13]研究结果一致。这表明柠檬苦素可改善UC模型大鼠肠道损伤。

研究显示，CMDI评分可用于评价结肠黏膜损伤程度，黏膜损伤越严重，CMDI评分越高[14]。研究报道称，TNBS可促进大鼠炎症因子（IL-1β、IL-6、TNF-α）释放，进而加重肠上皮炎症，导致炎症性肠病发生[15]。肠屏障功能是指肠上皮细胞将肠腔内的物质与外界隔离，阻止病原体侵入的功能。Occludin、Claudin-1、ZO-1在维持肠黏膜屏障功能、细胞间紧密连接的完整性和正常功能方面发挥着至关重要的作用[16]。厚壁菌门是常见的优势菌门，对维持肠道稳态起着积极作用[17]。有研究发现，UC模型小鼠体内厚壁菌门菌群显著减少，拟杆菌门和变形菌门菌群显著增加[18]。本研究发现，经柠檬苦素干预后，UC模型大鼠体重和结肠组织中Claudin-1、Occludin、ZO-1蛋白表达水平以及肠道厚壁菌门菌群的相对丰度均显著上调，CMDI评分和结肠组织中IL-1β、IL-6、TNF-α水平以及肠道拟杆菌门、变形菌门菌群的相对丰度均显著下调，这表明柠檬苦素可能通过抑制炎症因子的释放来改善肠道屏障，进而抑制有害菌的增殖，促进有益菌的增殖，改善结肠黏膜损伤及肠道功能。

HMGB1/RAGE信号通路可参与炎症性疾病的发生和进展过程。吴军城等[19]研究发现，抑制HMGB1/RAGE信号通路可以改善UC模型大鼠肠屏障损伤和肠道菌群失调。Arab等[20]研究报道，利格列汀可靶向抑制HMGB1/RAGE信号通路，减少氧化应激和炎症反应，从而治疗炎症性肠病。本研究结果表明，经柠檬苦素干预后，UC模型大鼠结肠组织中HMGB1、RAGE蛋白表达水平显著下调，这表明柠檬苦素可通过抑制HMGB1/RAGE信号通路活性，减轻UC模型大鼠的肠道损伤。

综上所述，柠檬苦素可改善UC模型大鼠肠道损伤及肠道菌群紊乱，其作用机制可能与下调HMGB1/RAGE信号通路活性有关。本研究的创新点是首次探究了柠檬苦素通过改善肠道屏障及肠道菌群减轻肠道损伤的潜在作用通路，不足之处是关于作用机制的研究较浅，未做回复实验，这将是下一步工作的重点。

参考文献

[1] BUIE M J，QUAN J，WINDSOR J W，et al. Global hospitalization trends for Crohn's disease and ulcerative colitis in the 21st century：a systematic review with temporal analyses[J]. Clin Gastroenterol Hepatol，2023，21（9）：2211-2221.

[2] 吴澎泞，熊帅，杨婉卿，等. 托法替尼治疗溃疡性结肠炎的研究进展[J]. 中国药房，2022，33（18）：2299-2304.
WU P N，XIONG S，YANG W Q，et al. Research advances of tofacitinib in the treatment of ulcerative colitis [J]. China Pharm，2022，33（18）：2299-2304.

[3] WANG R，CHEN T，WANG Q，et al. Total flavone of *Abelmoschus manihot* ameliorates stress-induced microbial alterations drive intestinal barrier injury in DSS colitis [J]. Drug Des Devel Ther，2021，15：2999-3016.

[4] SONG C Q，CHEN J X，LI X T，et al. Limonin ameliorates dextran sulfate sodium-induced chronic colitis in mice by inhibiting PERK-ATF4-CHOP pathway of ER stress and NF-κB signaling[J]. Int Immunopharmacol，2021，90：107161.

[5] ARAB H H，AL-SHORBAGY M Y，SAAD M A. Activation of autophagy and suppression of apoptosis by dapagliflozin attenuates experimental inflammatory bowel disease in rats：targeting AMPK/mTOR，HMGB1/RAGE and Nrf2/HO-1 pathways[J]. Chem Biol Interact，2021，

335:109368.

[6] 杜鹏程,韩璠,谷九莲. 溃疡性结肠炎患者血清单核细胞趋化蛋白-1、高迁移率族蛋白B1、肿瘤坏死因子-α、白细胞介素-6和白细胞介素-10水平与肠道菌群的相关性[J]. 新乡医学院学报,2021,38(4):370-373.
DU P C, HAN F, GU J L. Correlation between serum monocyte chemoattractant protein-1, high mobility group protein B1, tumor necrosis factor-α, interleukin-6, interleukin-10 levels and intestinal flora in patients with ulcerative colitis[J]. J Xinxiang Med Univ, 2021, 38(4): 370-373.

[7] 王钰嘉,于千惠,卢雨微,等. 穴位埋线联合艾灸对溃疡性结肠炎大鼠结肠组织IL-6/JAK/STAT3信号通路的影响[J]. 针刺研究,2022,47(6):525-530.
WANG Y J, YU Q H, LU Y W, et al. Effect of moxibustion combined with acupoint catgut embedding on IL-6/JAK/STAT3 signaling pathway in colonic mucosa of ulcerative colitis rats[J]. Acupunct Res, 2022, 47(6): 525-530.

[8] 黄爽,陈琛,黄波. 柠檬苦素对营养性肥胖大鼠脂质代谢和肠道菌群的影响[J]. 吉林大学学报(医学版),2022,48(4):858-865.
HUANG S, CHEN C, HUANG B. Effects of limonin on lipid metabolism and intestinal flora in nutritionally obese rats[J]. J Jilin Univ Med Ed, 2022, 48(4): 858-865.

[9] 陈泰宇,唐学贵,蒋小东,等. 基于Nrf2/ARE信号通路探讨硫氢化钠对溃疡性结肠炎大鼠肠黏膜损伤的影响[J]. 中国现代医学杂志,2022,32(19):38-43.
CHEN T Y, TANG X G, JIANG X D, et al. Effects of NaHS on intestinal mucosal injury in ulcerative colitis rats based on Nrf2/ARE signaling pathway[J]. China J Mod Med, 2022, 32(19): 38-43.

[10] 钟焕英,刘礼剑,卫家润,等. 中药对微小RNA调控溃疡性结肠炎相关信号通路的干预作用研究进展[J]. 中国药房,2023,34(17):2167-2171.
ZHONG H Y, LIU L J, WEI J R, et al. Research progress on the intervention effects of Chinese medicine on microRNA regulating the signaling pathway of ulcerative colitis[J]. China Pharm, 2023, 34(17): 2167-2171.

[11] LI Y Y, WANG X J, SU Y L, et al. Baicalein ameliorates ulcerative colitis by improving intestinal epithelial barrier via AhR/IL-22 pathway in ILC3s[J]. Acta Pharmacol Sin, 2022, 43(6): 1495-1507.

[12] GU M, SUN J, QI C, et al. The gastrointestinal fate of limonin and its effect on gut microbiota in mice[J]. Food Funct, 2019, 10(9): 5521-5530.

[13] LIU S J, ZHANG S F, LV X Y, et al. Limonin ameliorates ulcerative colitis by regulating STAT3/miR-214 signaling pathway[J]. Int Immunopharmacol, 2019, 75: 105768.

[14] 吴子俊,聂湘江,方文悠,等. 葛根芩连结肠定位胶囊对溃疡性结肠炎大鼠疾病活动指数和结肠黏膜损伤指数的影响[J]. 安徽中医药大学学报,2021,40(5):74-78.
WU Z J, NIE X J, FANG W Y, et al. Effect of Gegen qinlian colon-specific capsule on disease activity index and colonic mucosal damage index in rats with ulcerative colitis[J]. J Anhui Univ Chin Med, 2021, 40(5): 74-78.

[15] 朱锐,何灵,唐瑶,等. 奥曲肽治疗TNBS致大鼠溃疡性结肠炎及其机制研究[J]. 中国药理学通报,2020,36(9):1276-1281.
ZHU R, HE L, TANG Y, et al. Treatment of ulcerative colitis induced by TNBS with octreotide in rats and its mechanism[J]. Chin Pharmacol Bull, 2020, 36(9): 1276-1281.

[16] CHEN L, LI L, HAN Y, et al. Tong-fu-li-Fei decoction exerts a protective effect on intestinal barrier of sepsis in rats through upregulating ZO-1/occludin/claudin-1 expression[J]. J Pharmacol Sci, 2020, 143(2): 89-96.

[17] LEE J W, COWLEY E S, WOLF P G, et al. Formation of secondary allo-bile acids by novel enzymes from gut Firmicutes[J]. Gut Microbes, 2022, 14(1): 2132903.

[18] ZHANG W Y, ZOU G L, LI B, et al. Fecal microbiota transplantation (FMT) alleviates experimental colitis in mice by gut microbiota regulation[J]. J Microbiol Biotechnol, 2020, 30(8): 1132-1141.

[19] 吴军城,赵立国,张立文. 迷迭香酸调节HMGB1/RAGE信号轴对溃疡性结肠炎大鼠肠屏障损伤及肠道菌群失调的影响[J]. 中国病原生物学杂志,2023,18(11):1257-1263.
WU J C, ZHAO L G, ZHANG L W. Effect of rosmarinic acid on intestinal barrier damage and gut microbiota imbalance in rats with ulcerative colitis by regulating the HMGB1/RAGE signal axis[J]. J Pathog Biol, 2023, 18(11): 1257-1263.

[20] ARAB H H, EID A H, MAHMOUD A M, et al. Linagliptin mitigates experimental inflammatory bowel disease in rats by targeting inflammatory and redox signaling[J]. Life Sci, 2021, 273: 119295.

(收稿日期:2023-08-07 修回日期:2023-11-27)
(编辑:唐晓莲)