芒柄花素调节Hippo/YAP信号通路对炎症性肠病大鼠肠上皮细胞凋亡的影响Δ

谢　栋[1*]，刘媛媛[2]，李正翔[1]，袁恒杰[1]，曹晓沧[3#]（1.天津医科大学总医院药剂科，天津　300052；2.天津医科大学基础医学院遗传学系，天津　300070；3.天津医科大学总医院消化科，天津　300052）

中图分类号　R965　　**文献标志码**　A　　**文章编号**　1001-0408（2024）13-1564-06
DOI　10.6039/j.issn.1001-0408.2024.13.04

摘　要　目的　探究芒柄花素（FMN）对炎症性肠病（IBD）大鼠肠上皮细胞凋亡的影响及可能机制。**方法**　采用三硝基苯磺酸诱导的方法构建大鼠IBD模型。将造模成功的48只大鼠按照随机数字表法分为模型组（生理盐水），低、高剂量FMN组（20、40 mg/kg FMN）和高剂量FMN+YAP抑制剂Verteporfin（VTPF）组（40 mg/kg FMN+10 mg/kg VTPF），每组12只；另取12只大鼠设为正常组（生理盐水）；每天给药/生理盐水1次，连续7 d。末次给药后，对大鼠疾病活动指数（DAI）进行评分；测量大鼠结肠长度；观察大鼠结肠组织的病理学变化；检测大鼠血清中肿瘤坏死因子α（TNF-α）、白细胞介素6（IL-6）、IL-10水平；检测大鼠肠上皮细胞的凋亡情况；检测大鼠结肠组织中Yes相关蛋白（YAP）、切割型胱天蛋白酶3（cleaved-caspase-3）、B细胞淋巴瘤2（Bcl-2）、Bcl-2相关X蛋白（Bax）表达。**结果**　与正常组比较，模型组大鼠DAI评分，TNF-α、IL-6水平，肠上皮细胞凋亡率，cleaved-caspase-3、Bax蛋白表达水平均显著升高（$P<0.05$）；结肠长度显著变短（$P<0.05$）；IL-10水平和YAP、Bcl-2蛋白表达水平均显著降低（$P<0.05$）；结肠组织出现细胞形态异常、排列紊乱，炎症细胞浸润等病理学变化。与IBD组比较，低剂量FMN组、高剂量FMN组大鼠上述指标水平均显著改善（$P<0.05$），且具有剂量依赖性（$P<0.05$）；而加入VTPF后，显著逆转了FMN对IBD大鼠上述指标的改善作用（$P<0.05$）。**结论**　FMN可能是通过抑制Hippo/YAP信号通路，促进YAP的表达，进而抑制IBD大鼠肠上皮细胞凋亡。

关键词　芒柄花素；Hippo/YAP信号通路；炎症性肠病；肠上皮细胞；细胞凋亡

Effects of formononetin on the apoptosis of intestinal epithelial cells in rats with inflammatory bowel disease by regulating the Hippo/YAP signaling pathway

XIE Dong[1], LIU Yuanyuan[2], LI Zhengxiang[1], YUAN Hengjie[1], CAO Xiaocang[3]（1. Dept. of Pharmacy, Tianjin Medical University General Hospital, Tianjin 300052, China; 2. Dept. of Genetics, School of Basic Medical Sciences, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China; 3. Dept. of Gastroenterology, Tianjin Medical University General Hospital, Tianjin 300052, China）

ABSTRACT　OBJECTIVE To investigate the effects of formononetin (FMN) on the apoptosis of intestinal epithelial cells in inflammatory bowel disease (IBD) rats and its possible mechanism. **METHODS** IBD rat model was constructed by using trinitrobenzene sulfonic acid (TNBS) induction. Forty-eight rats with successful modeling were divided into model group (normal saline), low-dose and high-dose FMN groups (20 and 40 mg/kg FMN), and high-dose FMN+YAP inhibitor Verteporfin (VTPF) group (40 mg/kg FMN+10 mg/kg VTPF), with 12 rats in each group. Another 12 rats were set as the normal group (normal saline). They were given drug/normal saline, once a day, for 7 consecutive days. After the last administration, the disease activity index (DAI) of rats was calculated, and the colon length of rats in each group was measured. The pathological changes in the colon tissue of rats were observed. The levels of tumor necrosis factor-α (TNF-α), interleukin-6 (IL-6) and IL-10 in serum were detected, and the apoptosis of intestinal epithelial cells was detected. The expressions of Yes associated protein (YAP), cleaved cysteine-containing aspartate proteolytic enzyme 3 (cleaved-caspase-3), B-cell lymphoma-2 (Bcl-2) and Bcl-2 associated X protein (Bax) were detected in colon tissue of rats. **RESULTS** Compared with the normal group, DAI score, the levels of TNF-α and IL-6, the apoptotic rate of intestinal epithelial cells, and the expressions of cleaved-caspase-3 and Bax protein in the model group were increased greatly ($P<0.05$); the length of the colon was greatly decreased ($P<0.05$), and the serum level of IL-10 and the protein expressions of YAP and Bcl-2 were greatly reduced ($P<0.05$). The cell morphology of colon tissue was abnormal, with disordered arrangement and inflammatory cell

Δ**基金项目** 国家自然科学基金面上项目（No.82270565）

＊**第一作者** 主管药师，硕士。研究方向：消化系统疾病的临床药学。E-mail：xiedongsuper@163.com

＃**通信作者** 主任医师，博士生导师，博士。研究方向：炎症性肠病和消化道免疫疾病的诊断和治疗。E-mail：doccaoxc@163.com

infiltration. Compared with IBD group, the above indexes of rats were improved significantly in low-dose and high-dose FMN groups ($P<0.05$), in dose-dependent manner ($P<0.05$). VTPF significantly alleviated the effects of FMN on the above indexes of IBD rats ($P<0.05$). **CONCLUSIONS** FMN may promote the expression of YAP by inhibiting the Hippo/YAP signaling pathway, thereby inhibiting apoptosis of intestinal epithelial cells in IBD rats.

KEYWORDS formononetin; Hippo/YAP signaling pathway; inflammatory bowel disease; intestinal epithelial cells; cell apoptosis

炎症性肠病（inflammatory bowel disease，IBD）是一种慢性、炎症性的肠道疾病，发病原因不明且容易反复发作，主要有溃疡性结肠炎（ulcerative colitis，UC）和克罗恩病2种类型，患者的临床表现主要有反复发作的腹痛、腹泻或便血[1]。现阶段，IBD的发病机制研究还不完善，研究者们主要认为其发生与遗传、炎症反应、免疫、精神因素等的共同作用有关[2]。研究表明，肠上皮细胞的功能障碍与缺失、凋亡等加速了IBD的病理进程；另外，肠道免疫反应、炎症介质增加等也与IBD的发生发展密切相关[3]。因此，开发抑制肠上皮细胞凋亡、改善炎症反应的新药对IBD的治疗具有重要意义。

芒柄花素（formononetin，FMN）是源自黄芪、狼麻等植物根的一种天然异黄酮类化合物，又称刺芒柄花素。研究发现，FMN具有良好的抗氧化、抗炎、抗癌、降血脂、抗心律不齐等药理作用[4]，并可减轻右旋糖酐硫酸钠诱导的UC小鼠结肠炎症，改善其肠道菌群[5]。以上研究提示，FMN可能具有治疗IBD的作用。Hippo/Yes相关蛋白（Yes associated protein，YAP）信号通路是调控细胞增殖与凋亡、调控组织再生、促进组织自我更新与分化的经典信号通路，其关键分子YAP可在肠道再生时活化，当YAP缺失时肠道细胞的再生能力受损，进而影响IBD的发生发展[6]。基于此，本研究拟通过建立IBD大鼠模型，探究FMN是否可通过调控Hippo/YAP信号通路减轻IBD大鼠肠上皮细胞凋亡，为FMN应用于临床治疗IBD提供参考。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用的主要仪器包括Tanon 2500/2500R型凝胶图像处理系统（上海天能科技有限公司）、Synergy™ H1型酶标仪（美国Bio-Tek公司）、STELLARIS 5 Cryo型光学显微镜[徕卡显微系统（上海）贸易有限公司]等。

1.2 主要药品与试剂

FMN原料药（经高效液相色谱法检测其纯度≥98%，批号XIYU-BP39060）购自北京寰宇科创生物科技公司；YAP抑制剂Verteporfin对照品（VTPF，纯度99.26%，批号HY-B0146）购自美国MedChemExpress公司；三硝基苯磺酸（trinitrobenzene sulfonic acid，TNBS；批号P2297）购自美国Sigma公司；肿瘤坏死因子α（tumor necrosis factor-α，TNF-α）、白细胞介素6（interleukin-6，IL-6）、IL-10酶联免疫吸附测定（enzyme-linked immunosorbent assay，ELISA）试剂盒（批号分别为JEM-08、JER-04、JER-05）均购自上海中乔新舟生物科技有限公司；苏木精-伊红（HE）染色试剂盒、TUNEL试剂盒（批号分别为C0105S、C1086）均购自上海碧云天生物技术有限公司；兔源YAP、切割型胱天蛋白酶3（cleaved cysteine-containing aspartate proteolytic enzyme 3，cleaved-caspase-3）、B细胞淋巴瘤2（B-cell lymphoma-2，Bcl-2）、Bcl-2相关X蛋白（Bcl-2-associated X protein，Bax）、甘油醛-3-磷酸脱氢酶（glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase，GAPDH）一抗和辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔免疫球蛋白G（IgG）二抗（批号分别为4912S、abs132005、3498T、2772T、2118T、7074S）均购自上海优宁维生物科技股份有限公司。

1.3 动物

本研究所用动物为SPF级6～8周龄的雄性SD大鼠，共60只，体重180～220 g，购自北京智飞绿竹生物制药有限公司，动物使用许可证号为SYXK（京）2021-0070。所有大鼠均饲养在温度（22±2）℃、相对湿度40%～60%、昼夜交替间隔12 h、通风的SPF级动物房内，适应性饲养1周后用于实验。本研究对动物的操作均符合动物伦理学“3R”原则。

2 方法

2.1 大鼠IBD模型的建立

所有大鼠禁食不禁水24 h后，腹腔注射30 mg/kg戊巴比妥钠进行麻醉，然后随机选取48只大鼠，采用TNBS诱导的方式建立IBD大鼠模型[7]：以塑料软管（直径2 mm）从大鼠肛门处插入约8 cm，之后将TNBS缓冲液（20 mg/kg）与无水乙醇等体积混合，对大鼠进行灌肠。若灌肠3 d后出现腹泻、脓血便、厌食等现象，则说明大鼠IBD模型构建成功。剩余12只大鼠灌肠等量的生理盐水，设为正常组（Normal组）。

2.2 大鼠分组与给药

将造模成功的48只大鼠按照随机数字表法分为模型组（IBD组）、低剂量FMN组（FMN-L组）、高剂量FMN组（FMN-H组）和高剂量FMN+YAP抑制剂VTPF组（FMN-H+VTPF组），每组12只。FMN-L组、FMN-H组大鼠分别灌胃20、40 mg/kg FMN（以生理盐水为溶剂）[8]，并腹腔注射等体积生理盐水；FMN-H+VTPF组大

鼠除灌胃 40 mg/kg FMN 外，还需腹腔注射 10 mg/kg VTPF（以生理盐水为溶剂）[9]；IBD 组、Normal 组大鼠每天灌胃并腹腔注射等体积的生理盐水。每天 1 次，连续 7 d。

2.3 大鼠一般情况观察及疾病活动指数评分

末次给药 24 h 后，观察各组大鼠的一般情况、体重变化、大便情况以及肛周污染等，并对大鼠疾病活动指数（disease activity index，DAI）进行评分。DAI 的评分标准如下：1 分——体重下降 1%～5%，大便松散、隐血阳性；2 分——体重下降 6%～10%，大便松散、隐血阳性；3 分——体重下降 11%～15%，大便松散、隐血阳性；4 分——体重下降＞15%，出现稀便、肉眼可见血便。DAI 评分越高，说明大鼠的 IBD 病情越严重[4]。

2.4 取材及大鼠结肠长度测量

DAI 评分完成后，使用戊巴比妥钠将大鼠麻醉后进行腹主动脉取血，离心收集血清并进行分装。取血后脱颈处死大鼠，解剖取其结肠组织。每组选取 6 只大鼠，对其结肠的长度进行测量，之后冻存于－80 ℃冰箱中；将每组剩余 6 只大鼠的结肠组织浸泡于多聚甲醛中进行固定。

2.5 大鼠结肠组织病理学变化观察

取固定于多聚甲醛中的各组大鼠结肠组织适量，进行常规石蜡包埋、切片（厚 4 μm）后，行常规 HE 染色，然后在光镜下观察其病理学变化。

2.6 大鼠血清中 TNF-α、IL-6、IL-10 水平检测

采用 ELISA 法检测。取大鼠血清，根据 ELISA 试剂盒说明书进行操作，使用酶标仪检测各组大鼠血清中 TNF-α、IL-6、IL-10 水平。

2.7 大鼠肠上皮细胞的凋亡情况检测

采用 TUNEL 染色法检测。将“2.5”项下结肠组织切片进行脱蜡和水化后，按照 TUNEL 试剂盒方法进行操作和相关染色。在荧光显微镜下随机选取 6 个视野进行观察，阳性凋亡细胞呈绿色荧光，细胞核呈蓝色荧光。计算各组大鼠肠上皮细胞的凋亡率：凋亡率＝阳性凋亡细胞数/总细胞数×100%。结果以 6 个视野凋亡率的均值表示。

2.8 大鼠结肠组织中 Hippo/YAP 信号通路相关蛋白与凋亡相关蛋白表达检测

采用 Western blot 法检测。取冻存的大鼠结肠组织，加入 RIPA 裂解液提取组织中总蛋白。采用 BCA 法进行蛋白定量、热变性后，进行 12% 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳（电压 200 V，电泳时间 45 min）分离，将蛋白转膜（电流 200 mA，转膜时间 40 min）至聚偏二氟乙烯膜上，以 5% 脱脂奶粉封闭 2 h；加入 YAP、cleaved-caspase-3、Bax、Bcl-2、GAPDH 一抗（稀释比例均为 1∶1 000），4 ℃孵育过夜；洗膜后，加入相应山羊抗兔 IgG 二抗（稀释比例 1∶5 000），室温孵育 2 h；洗膜后，利用化学发光法显色，使用凝胶图像处理系统分析蛋白灰度值。以目标蛋白与内参蛋白（GAPDH）条带灰度值的比值表示目标蛋白的表达水平。

2.9 统计学方法

采用 GraphPad Prism 7.0 软件对数据进行统计分析。实验数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示，多组间比较采用单因素方差分析，组间两两比较行 LSD-t 检验。检验水准 $\alpha=0.05$。

3 结果

3.1 FMN 对大鼠一般情况及 DAI 评分的影响

Normal 组大鼠好动，毛发有光泽，食欲良好，大便正常；IBD 组大鼠精神萎靡，懒动，毛发无光泽，食欲下降，出现稀便、血便或隐血阳性；FMN-L 组、FMN-H 组大鼠精神、食欲逐渐恢复正常，毛发变得有光泽，大便也趋于正常，偶有稀便；FMN-H+VTPF 组大鼠的精神、食欲状态略差，毛发变得粗糙。与 Normal 组比较，IBD 组大鼠 DAI 评分显著升高（$P<0.05$）。与 IBD 组比较，FMN-L 组、FMN-H 组大鼠 DAI 评分均显著降低（$P<0.05$），且 FMN 的作用具有剂量依赖性（$P<0.05$）。与 FMN-H 组比较，FMN-H+VTPF 组大鼠 DAI 评分显著升高（$P<0.05$）。DAI 评分结果见表 1。

表 1 各组大鼠 DAI 评分和结肠长度比较（$\bar{x}\pm s$）

组别	DAI 评分（n=12）/分	结肠长度（n=6）/cm
Normal 组	0.12±0.02	11.24±0.82
IBD 组	3.65±0.24[a]	7.70±0.63[a]
FMN-L 组	2.42±0.19[b]	8.94±0.77[b]
FMN-H 组	1.23±0.15[bc]	10.50±0.89[bc]
FMN-H+VTPF 组	2.27±0.26[d]	8.73±0.80[d]

a：与 Normal 组比较，$P<0.05$；b：与 IBD 组比较，$P<0.05$；c：与 FMN-L 组比较，$P<0.05$；d：与 FMN-H 组比较，$P<0.05$。

3.2 FMN 对大鼠结肠长度的影响

与 Normal 组比较，IBD 组大鼠结肠长度显著变短（$P<0.05$）。与 IBD 组比较，FMN-L 组、FMN-H 组大鼠结肠长度均显著增长（$P<0.05$），且 FMN 的作用具有剂量依赖性（$P<0.05$）。与 FMN-H 组比较，FMN-H+VTPF 组大鼠结肠长度显著变短（$P<0.05$）。结果见表 1、图 1。

3.3 FMN 对大鼠结肠组织病理学变化的影响

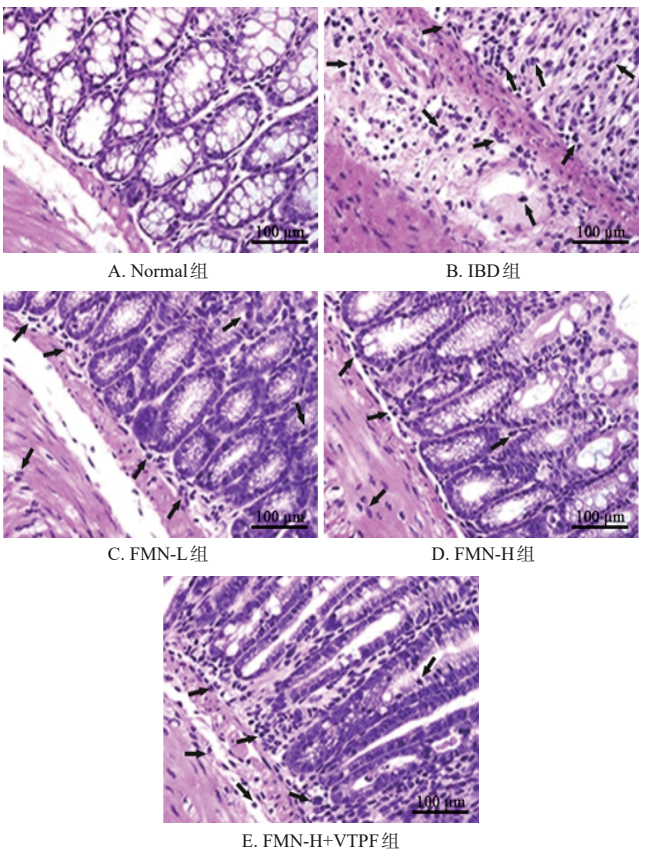
Normal 组大鼠结肠组织细胞形态正常、排列整齐，肠黏膜结构正常，未见溃疡、炎症细胞浸润。IBD 组大鼠结肠组织细胞形态异常、排列紊乱，出现水肿、溃疡、出血现象，有大量的炎症细胞浸润。FMN-L 组、FMN-H 组大鼠的结肠组织溃疡和水肿减轻，炎症细胞浸润减



A. Normal 组　B. IBD 组　C. FMN-L 组　D. FMN-H 组　E. FMN-H+VTPF 组

图 1 各组大鼠结肠外观示例图

少，细胞排列较为整齐，其中FMN-H组大鼠的结肠组织病理损伤减轻更为明显。与FMN-H组相比，FMN-H+VTPF组大鼠结肠组织细胞排列紊乱，溃疡与水肿明显，炎症细胞浸润加重。结果见图2。



A. Normal组　B. IBD组

C. FMN-L组　D. FMN-H组

E. FMN-H+VTPF组

注：黑色箭头所指为炎症细胞。

图2　各组大鼠结肠组织病理学变化观察的显微图（HE染色）

3.4　FMN对大鼠血清中TNF-α、IL-6、IL-10水平的影响

与Normal组比较，IBD组大鼠血清中TNF-α、IL-6水平均显著升高（$P<0.05$），IL-10水平显著降低（$P<0.05$）。与IBD组比较，FMN-L组、FMN-H组大鼠血清中TNF-α、IL-6水平均显著降低（$P<0.05$），IL-10水平均显著升高（$P<0.05$），且FMN的作用具有剂量依赖性（$P<0.05$）。与FMN-H组比较，FMN-H+VTPF组大鼠血清中TNF-α、IL-6水平均显著升高（$P<0.05$），IL-10水平均显著降低（$P<0.05$）。结果见表2。

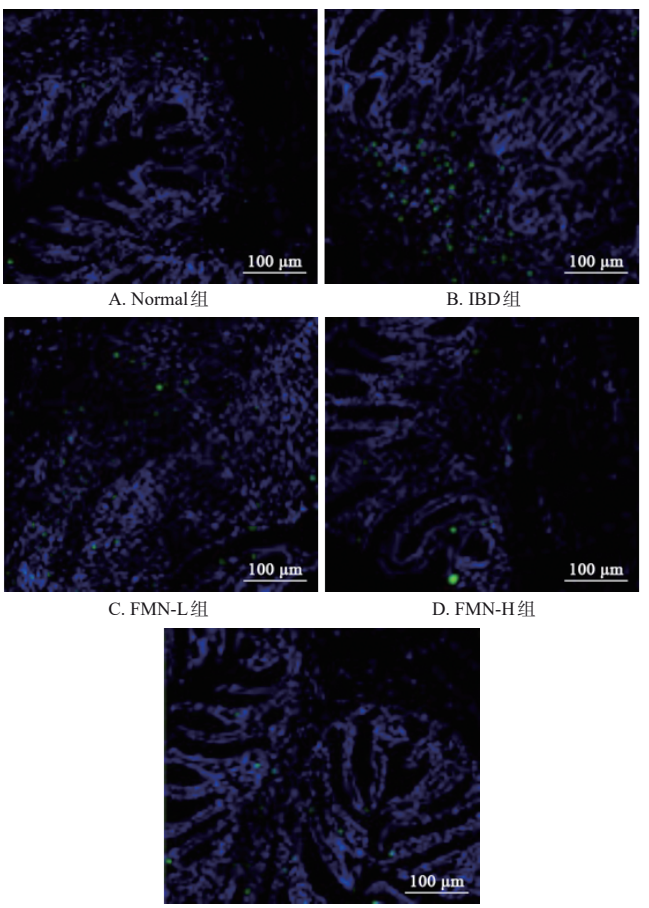
表2　各组大鼠血清中TNF-α、IL-6、IL-10水平比较（$\bar{x}\pm s$，$n=12$，pg/mL）

组别	TNF-α	IL-6	IL-10
Normal组	117.58±8.62	72.43±9.44	329.44±26.05
IBD组	353.26±19.06[a]	276.35±25.36[a]	86.73±10.25[a]
FMN-L组	273.30±23.84[b]	195.37±21.80[b]	157.88±17.42[b]
FMN-H组	160.28±17.39[bc]	101.27±13.65[bc]	280.36±21.67[bc]
FMN-H+VTPF组	255.49±21.15[d]	185.39±15.40[d]	173.45±19.89[d]

a：与Normal组比较，$P<0.05$；b：与IBD组比较，$P<0.05$；c：与FMN-L组比较，$P<0.05$；d：与FMN-H组比较，$P<0.05$。

3.5　FMN对大鼠肠上皮细胞凋亡的影响

与Normal组[(4.15±0.89)%，$n=6$]比较，IBD组大鼠肠上皮细胞凋亡率[(33.36±2.57)%，$n=6$]显著升高（$P<0.05$）。与IBD组比较，FMN-L组、FMN-H组大鼠肠上皮细胞凋亡率[分别为(24.21±2.40)%、(13.73±1.44)%，$n=6$]均显著降低（$P<0.05$），且FMN的作用具有剂量依赖性（$P<0.05$）。与FMN-H组比较，FMN-H+VTPF组大鼠肠上皮细胞凋亡率[(23.18±2.26)%，$n=6$]显著升高（$P<0.05$）。结果见图3。



A. Normal组　B. IBD组

C. FMN-L组　D. FMN-H组

E. FMN-H+VTPF组

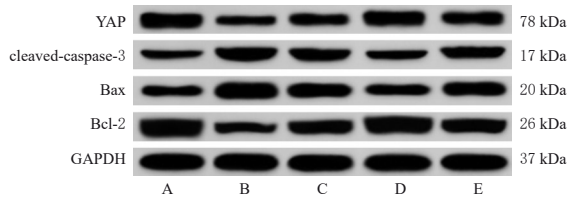
注：染成绿色的细胞为凋亡细胞。

图3　各组大鼠肠上皮细胞凋亡检测的显微图（TUNEL染色）

3.6　FMN对大鼠结肠组织中Hippo/YAP信号通路与凋亡相关蛋白表达的影响

与Normal组比较，IBD组大鼠结肠组织中cleaved-caspase-3、Bax蛋白表达水平均显著升高（$P<0.05$），YAP、Bcl-2蛋白表达水平均显著降低（$P<0.05$）。与IBD组比较，FMN-L组、FMN-H组大鼠结肠组织中cleaved-caspase-3、Bax蛋白表达水平均显著降低（$P<0.05$），YAP、Bcl-2蛋白表达水平均显著升高（$P<0.05$），且FMN的作用具有剂量依赖性（$P<0.05$）。与FMN-H组比较，FMN-H+VTPF组大鼠结肠组织中cleaved-caspase-3、Bax蛋白表达水平均显著升高（$P<0.05$），

YAP、Bcl-2蛋白表达水平均显著降低（$P<0.05$）。结果见图4、表3。



A：Normal组；B：IBD组；C：FMN-L组；D：FMN-H组；E：FMN-H+VTPF组。

图4　各组大鼠结肠组织中Hippo/YAP信号通路与凋亡相关蛋白表达的电泳图

表3　各组大鼠结肠组织中Hippo/YAP信号通路与凋亡相关蛋白表达水平比较（$\bar{x}\pm s$，$n=6$）

组别	YAP/GAPDH	cleaved-caspase-3/GAPDH	Bax/GAPDH	Bcl-2/GAPDH
Normal组	0.76±0.08	0.23±0.02	0.35±0.04	0.90±0.09
IBD组	0.24±0.02[a]	0.87±0.09[a]	0.93±0.09[a]	0.32±0.03[a]
FMN-L组	0.53±0.05[b]	0.60±0.06[b]	0.72±0.07[b]	0.58±0.06[b]
FMN-H组	0.70±0.07[bc]	0.31±0.03[bc]	0.43±0.04[bc]	0.83±0.08[bc]
FMN-H+VTPF组	0.58±0.06[d]	0.54±0.05[d]	0.66±0.07[d]	0.62±0.06[d]

a：与Normal组比较，$P<0.05$；b：与IBD组比较，$P<0.05$；c：与FMN-L组比较，$P<0.05$；d：与FMN-H组比较，$P<0.05$。

4　讨论

研究发现，IBD病情进展的中心环节是肠上皮屏障损伤，涉及肠上皮细胞的增殖与凋亡、肠黏膜的损伤与修复等重要过程[10]。在临床上，已有大量药物可用于缓解IBD的炎症反应，但由于使用现有药物后容易出现不良反应或者疗效不佳等问题，所以寻找副作用小、安全性好且疗效佳的天然药物仍是治疗IBD的关键[11]。

采用TNBS诱导IBD的产生是动物实验中常用的造模方法，所得模型能准确模拟人类IBD发病过程和机制[12]。TNF-α、IL-6、IL-10是常见的炎症因子，被广泛用于评估机体炎症水平的高低。在UC模型大鼠血清中，TNF-α、IL-6高表达，IL-10低表达，提示模型大鼠的结肠炎症反应强烈[13—14]。本研究利用TNBS建立大鼠IBD模型，结果显示，与Normal组比较，IBD组大鼠DAI评分，血清中TNF-α、IL-6水平，肠上皮细胞凋亡率，结肠组织中凋亡相关蛋白cleaved-caspase-3、Bax表达水平均升高；结肠长度变短；血清中IL-10水平和Bcl-2蛋白表达水平均降低；HE染色后发现，结肠组织细胞形态异常、排列紊乱，出现水肿、溃疡、出血现象，有大量的炎症细胞浸润。这说明经TNBS诱导后，大鼠出现了经典的IBD病理损伤和症状，进一步证实了IBD模型大鼠构建成功。

FMN是一种抗炎效果较好的异黄酮类天然化合物。如Wu等[15]研究发现，FMN能够通过抑制NLRP3炎症小体通路激活，对右旋糖酐硫酸钠诱导的小鼠急性结肠炎具有保护作用；Yang等[16]研究发现，FMN能够通过减少氧化应激反应，恢复肠道稳态，调节肠道屏障，对急性胰腺炎具有一定的治疗作用。然而，FMN对IBD的影响研究还鲜有报道。本研究采用低、高剂量FMN干预IBD大鼠后发现，IBD大鼠的DAI评分，血清中TNF-α、IL-6水平，肠上皮细胞凋亡率，结肠组织中cleaved-caspase-3、Bax蛋白表达水平均降低；结肠长度变长；血清中IL-10水平和结肠组织中Bcl-2表达水平均升高；HE染色后发现，结肠组织溃疡与水肿减轻，炎症细胞浸润减少，细胞排列较为整齐。这提示FMN可能是通过抑制肠上皮细胞凋亡、抗炎等途径来减轻IBD。

Hippo/YAP信号通路在机体器官发育、细胞增殖与凋亡、肿瘤进展中具有重要的调控作用，其中YAP是Hippo/YAP信号通路的核心因子，能够与细胞核中其他转录因子结合，而后启动靶基因的转录[17]。Hippo/YAP信号通路受到抑制会导致YAP活性增加。相关研究发现，Hippo/YAP信号通路在调节肠屏障功能、维持肠道稳态和上皮细胞再生过程中尤为关键，YAP蛋白能够介导肠上皮细胞的增殖[18]。Deng等[19]研究发现，YAP过表达能够增加右旋糖酐硫酸钠诱导的结肠炎小鼠上皮细胞的增殖和修复。在本研究中，IBD组大鼠结肠组织中YAP表达水平较Normal组下降，与Yan等[20]的研究一致；经FMN干预后，大鼠结肠组织中YAP表达水平升高。这说明FMN能够促进结肠组织中YAP表达，进而促进肠上皮细胞的增殖。为了验证FMN对YAP的促进作用，本研究使用YAP抑制剂VTPF与高剂量FMN联合干预IBD大鼠，结果显示，VTPF减轻了高剂量FMN对IBD大鼠肠上皮细胞凋亡的抑制作用，这提示FMN可能通过抑制Hippo/YAP信号通路减轻IBD大鼠肠上皮细胞凋亡。

综上所述，FMN可能通过抑制Hippo/YAP信号通路，促进YAP的表达，进而抑制IBD大鼠肠上皮细胞凋亡。本研究可为IBD的治疗提供新的靶点和参考。然而，本研究也存在一些不足：一是关于Hippo/YAP信号通路的研究不够深入，未检测其上、下游基因（如*LAST1/2*、*TAZ*等）的水平；二是FMN对IBD的影响可能还存在其他机制，本研究并未全面探索。未来笔者将通过Western blot法或高通量测序等技术继续深入研究。

参考文献

[1] GILLILAND A，CHAN J J，DE WOLFE T J，et al. Pathobionts in inflammatory bowel disease：origins，underlying mechanisms，and implications for clinical care[J]. Gastroenterology，2024，166(1)：44-58.

[2] BRUNER L P，WHITE A M，PROKSELL S. Inflammatory bowel disease[J]. Prim Care，2023，50(3)：411-427.

[3] ZHANG J，CEN L，ZHANG X F，et al. MPST deficiency promotes intestinal epithelial cell apoptosis and aggra-

vates inflammatory bowel disease via AKT[J]. Redox Biol,2022,56:102469.

[4] YU L,ZHANG Y Y,CHEN Q Q,et al. Formononetin protects against inflammation associated with cerebral ischemia-reperfusion injury in rats by targeting the JAK2/STAT3 signaling pathway[J]. Biomed Pharmacother,2022,149:112836.

[5] 李婷,邹秋萍,毛泽伟,等.三点金中黄酮类化合物对溃疡性结肠炎小鼠的干预作用及其对肠道菌群的影响[J].中国比较医学杂志,2022,32(4):29-38.
LI T,ZOU Q P,MAO Z W,et al. Therapeutic effect of flavonoids from *Desmodium triflorum* on an ulcerative colitis mouse model and the influence on intestinal flora[J]. Chin J Comp Med,2022,32(4):29-38.

[6] 尤雯丽,乔翠霞,张立,等.炎症性肠病中Hippo信号通路的研究进展[J].中华炎性肠病杂志,2020,6(2):150-153.
YOU W L,QIAO C X,ZHANG L,et al. Research progress of Hippo signaling pathway in inflammatory bowel disease[J]. Chin J Inflamm Bowel Dis,2020,6(2):150-153.

[7] 吴茸,王栋,王晶敏,等.苦参碱调节IL-6/STAT3/NF-κB信号通路对炎症性肠病大鼠Th17/Treg平衡的影响[J].西安交通大学学报(医学版),2023,44(5):809-816.
WU R,WANG D,WANG J M,et al. Influence of matrine on Th17/Treg balance in rats with inflammatory bowel disease by regulating IL-6/STAT3/NF-κB signaling pathway[J]. J Xi'an Jiaotong Univ Med Sci,2023,44(5):809-816.

[8] 卢迎宏,王丹,井海云,等.芒柄花素对大鼠心肌缺血再灌注损伤的影响及其机制[J].中国老年学杂志,2023,43(5):1147-1151.
LU Y H,WANG D,JING H Y,et al. Effect of formononetin on myocardial ischemia-reperfusion injury in rats and its mechanism[J]. Chin J Gerontol,2023,43(5):1147-1151.

[9] 邓新超,钱亮,邹曼.藏红花素调节Hippo-YAP信号通路抑制膝骨关节炎大鼠软骨细胞凋亡[J].中国骨质疏松杂志,2023,29(4):538-543,598.
DENG X C,QIAN L,ZOU M. Crocin regulates Hippo-YAP signal pathway and inhibits chondrocyte apoptosis in rats with knee osteoarthritis[J]. Chin J Osteoporos,2023,29(4):538-543,598.

[10] JERGENS A E,PARVINROO S,KOPPER J,et al. Rules of engagement:epithelial-microbe interactions and inflammatory bowel disease[J]. Front Med,2021,8:669913.

[11] HU K,YUAN X Z,HE H,et al. Pharmacological mechanisms of chitotriose as a redox regulator in the treatment of rat inflammatory bowel disease[J]. Biomed Pharmacother,2022,150:112988.

[12] SILVA I,SOLAS J,PINTO R,et al. Chronic experimental model of TNBS-induced colitis to study inflammatory bowel disease[J]. Int J Mol Sci,2022,23(9):4739.

[13] QIU J L,WU C X,GAO Q Y,et al. Effect of fecal microbiota transplantation on the TGF-β1/Smad signaling pathway in rats with TNBS-induced colitis[J]. Ann Transl Med,2022,10(15):825.

[14] ENGEVIK M A,HERRMANN B,RUAN W,et al. *Bifidobacterium dentium*-derived γ-glutamylcysteine suppresses ER-mediated goblet cell stress and reduces TNBS-driven colonic inflammation[J]. Gut Microbes,2021,13(1):1-21.

[15] WU D C,WU K Y,ZHU Q T,et al. Formononetin administration ameliorates dextran sulfate sodium-induced acute colitis by inhibiting NLRP3 inflammasome signaling pathway[J]. Mediators Inflamm,2018,2018:3048532.

[16] YANG J,SHA X W,WU D,et al. Formononetin alleviates acute pancreatitis by reducing oxidative stress and modulating intestinal barrier[J]. Chin Med,2023,18(1):78.

[17] ZHOU W,LIM A,EDDERKAOUI M,et al. Role of YAP signaling in regulation of programmed cell death and drug resistance in cancer[J]. Int J Biol Sci,2024,20(1):15-28.

[18] DENG F H,WU Z R,ZOU F,et al. The Hippo-YAP/TAZ signaling pathway in intestinal self-renewal and regeneration after injury[J]. Front Cell Dev Biol,2022,10:894737.

[19] DENG F H,WU Z R,XU M M,et al. YAP activates STAT3 signaling to promote colonic epithelial cell proliferation in DSS-induced colitis and colitis associated cancer[J]. J Inflamm Res,2022,15:5471-5482.

[20] YAN S G,WANG P,WEI H L,et al.Treatment of ulcerative colitis with Wumei wan by inhibiting intestinal inflammatory response and repairing damaged intestinal mucosa[J]. Phytomedicine,2022,105:154362.

(收稿日期:2024-03-26 修回日期:2024-05-22)
(编辑:林 静)