

# 地榆对急性溃疡性结肠炎大鼠肠道菌群的影响

李丽<sup>1\*</sup>, 冯壮壮<sup>1</sup>, 王慧<sup>1</sup>, 高晶淼<sup>2</sup>, 赵汗林<sup>2</sup>, 王艳炜<sup>3</sup>, 张睦清<sup>2,3\*</sup>

<sup>1</sup>河北医科大学药学院,石家庄 050017; <sup>2</sup>河北中医院,石家庄 050200; <sup>3</sup>河北省中医院,石家庄 050011

**摘要:**本实验旨在从肠道菌群角度探讨地榆对急性溃疡性结肠炎(UC)的保护作用及其初步机制。大鼠随机分为正常组、模型组及地榆低、高剂量组。采用3.5%葡聚糖硫酸钠(DSS)诱导急性UC模型,并予以灌胃给药。记录大鼠DAI疾病评分,HE染色观察组织形态变化,ELISA法检测炎症因子含量,高通量测序技术检测肠道菌群。结果显示,地榆可显著降低UC大鼠DAI疾病评分( $P < 0.05$ ),修复其结肠粘膜损伤,降低血清及结肠组织IL-6、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 含量( $P < 0.05$ );改善UC大鼠肠道菌群多样性,恢复菌群平衡。研究结果提示地榆可通过调节UC大鼠肠道菌群,修复结肠粘膜屏障,进而发挥治疗急性UC的作用。

**关键词:**地榆;溃疡性结肠炎;肠道菌群;肠粘膜

中图分类号:R285.5

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2021)8-1274-08

DOI:10.16333/j.1001-6880.2021.8.002

## Effect of Sanguisorbae Radix on gut microbiota in acute ulcerative colitis rats

LI Li<sup>1\*</sup>, FENG Zhuang-zhuang<sup>1</sup>, WANG Hui<sup>1</sup>,  
GAO Jing-miao<sup>2</sup>, ZHAO Han-lin<sup>2</sup>, WANG Yan-wei<sup>3</sup>, ZHANG Mu-qing<sup>2,3\*</sup>

<sup>1</sup>College of Pharmacy, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017, China; <sup>2</sup>School of Pharmacy, Hebei University of Chinese Medicine, Shijiazhuang 050200, China; <sup>3</sup>Hebei Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shijiazhuang 050011, China

**Abstract:** This study is aimed to explore the protective effects and mechanism of Sanguisorbae Radix (SR) in treating acute ulcerative colitis (UC) from the perspective of gut microbiota. Rats were divided into control group, UC model group, SR low dosage and high dosage group. Acute UC model was induced by 3.5% DSS for 7 days, and then the extract of SR was given to rats by intragastric administration. After 7 days of intervention, the body weight and DAI score of rats were recorded, pathological changes of colon tissue were observed by HE staining, contents of inflammatory factors were detected by ELISA, and the changes of gut microbiota in rats feces were detected by high-throughput sequencing technology. The results showed that SR could alleviate the weight loss and reduce the DAI score of UC rats ( $P < 0.05$ ); protect the morphological integrity of colon tissue and improve the colonic mucosal injury in UC rats; reduce the level of IL-6, IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$  in the serum and colon of rats ( $P < 0.05$ ). SR could regulate the gut microbiota diversity significantly and restore the balance of intestinal bacteria. The results indicated that SR might repair the colonic mucosal injury by regulating the gut microbiota of UC rats, which could play a positive role in UC treating.

**Key words:** Sanguisorbae Radix; ulcerative colitis; gut microbiota; colonic mucosa

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是一种伴有免疫异常的非特异性炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD),病程绵长易反复,主要表现为慢性结肠粘膜炎症导致的腹泻、腹痛、出血等症状,

收稿日期:2021-03-05 接受日期:2021-06-02

基金项目:国家自然科学基金(82003913);河北省自然科学基金(H2020206010);河北省中医药管理局项目(2021120, 2019054)

\*通信作者 Tel: 86-311-86265628; E-mail: lili\_flying@126.com, mqzhang@yeah.net

不仅影响患者生活质量,长期反复的粘膜损伤更易增加患者患结肠癌风险<sup>[1]</sup>。近年来,UC发病率逐年上升<sup>[2]</sup>,已成为影响人们生活和健康的一个全球性疾病。虽然目前UC的发病机制仍未完全阐明,但广泛认为其是多因素(如环境、遗传、免疫、感染等)共同引起的一种综合疾病反应<sup>[3]</sup>。肠道菌群作为肠道内部环境的主要组成部分,对肠道代谢、免疫、炎症等多方面生理病理过程发挥着重要调节作用。研究发现,肠道菌群结构的改变与UC的疾病

进程关系密切<sup>[4]</sup>,UC 患者的肠道菌群紊乱失衡,而移植正常菌群后肠炎症状可明显缓解<sup>[5]</sup>,说明肠道菌群对 UC 的发病和治疗有重要调节作用。

地榆(*Sanguisorba officinalis* L.)是薔薇科地榆属多年生草本植物,以根入药,具有止血凉血、解毒敛疮的功效,可用于便血,痔血,血痢,崩漏,水火烫伤及痈肿疮毒的治疗。近年来,地榆及其复方制剂,如地榆三白汤、冰及地榆汤等均显示出较好的 UC 临床治疗效果<sup>[6-8]</sup>,但是由于 UC 发病机制复杂,地榆治疗 UC 的机制尚不明确,有待进一步研究。

因此,鉴于肠道菌群在溃疡性结肠炎发病进程中的重要作用,本研究拟采用右旋葡聚糖硫酸钠(dextran sulfate sodium,DSS)诱导的大鼠急性肠炎模型,通过高通量测序技术,探讨地榆治疗 UC 过程中的肠道菌群变化,以期从微生态角度阐释地榆治疗 UC 肠道炎症的作用机制,为 UC 相关治疗药物的开发提供数据支持和方法参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物

SPF 级雄性 Wistar 大鼠,体质量 180~220 g,购自河北省实验动物中心,合格证号 SCXK(冀)2018-004。饲养环境温度 22 ± 1 ℃,相对湿度 45%~65%,12 h/12 h 明暗交替。所有动物实验遵循河北医科大学有关实验动物管理和使用的规定,均符合 3R 原则。

### 1.2 试剂与仪器

葡聚糖硫酸钠盐(dextran sulfate sodium salt,DSS,大连美仑生物技术有限公司);便隐血 OB 试剂盒(珠海贝索生物技术有限公司);苏木素-伊红(HE)染色试剂盒(碧云天生物技术研究所);大鼠 IL-6 ELISA 试剂盒、大鼠 IL-1 $\beta$  ELISA 试剂盒(杭州联科生物技术股份有限公司);大鼠 TNF- $\alpha$  ELISA 试剂盒(Thermo Fisher Scientific 公司);中药地榆(北京同仁堂股份有限公司)经河北医科大学药学院生药学教研室赵丽丽副教授鉴定为薔薇科地榆属植物地榆 *Sanguisorba officinalis* L. 的根。地榆称重,于 70 ℃、10 倍水提取 2 次,每次 1.5 h,过滤,合并滤液,60 ℃减压干燥得地榆提取物。

Centrifuge 5418 型台式高速离心机(德国 Eppendorf 公司);Epoch 酶标仪(美国 BioTeK 公司);Chemray 240 型全自动生化分析仪(深圳雷杜生命科学股份有限公司);PCR 仪(美国 Bio-rad 公司);Illumina Miseq 测序平台(美国 Illumina 公司)。

### 1.3 造模与给药

Wistar 大鼠进行适应性喂养 1 周后,随机分为正常对照组(control group,C)、模型组(model group,M)、地榆低剂量给药组(low dosage group of *Sanguisorbae Radix*, SR-L)及地榆高剂量给药组(high dosage group of *Sanguisorbae Radix*, SR-H),每组 6 只。正常对照组饮用双蒸水,模型组和地榆给药组自由饮用 3.5% DSS 溶液 7 天造模。自第 8 天起,地榆给药组每日灌胃给予地榆提取物,灌胃剂量以生药量计分别为 0.5 g/kg(SR-L)及 1.0 g/kg(SR-H),其他组灌胃给予同体积生理盐水。连续给药 7 天后,取材进行后续实验。

### 1.4 疾病活动指数(disease activity index,DAI)评分

观察并记录大鼠体质量、粪便性状及便血情况,并参照文献进行 DAI 评分<sup>[9,10]</sup>。DAI 评分由体质量评分、粪便性状评分、隐血评分组成。体质量下降率评分:无减轻,0 分;下降 1%~5%,1 分;下降 5%~10%,2 分;下降 10%~15%,3 分;下降 >15%,4 分。大便性状评分:正常,0 分;松散,2 分;稀便,4 分。便血评分:正常,0 分;隐血,2 分,肉眼可见血便,4 分。以“(体质量评分 + 粪便性状评分 + 隐血评分)/3”计算各组小鼠的 DAI 评分。

### 1.5 大鼠结肠组织形态 HE 染色

取结肠远端组织,经过固定、脱水、透明、浸蜡、包埋等步骤制成蜡块。使用轮转式切片机制作大鼠结肠组织切片,并进行苏木精-伊红染色(HE 染色),通过光学显微镜观察大鼠结肠组织形态。

### 1.6 大鼠血清及结肠组织炎症因子检测

腹主动脉取血,室温放置 30 min,4 ℃下 3 000 rpm 离心 10 min 得上层血清。取大鼠结肠组织,用冰生理盐水冲洗肠内容物,取结肠远端肠段 2 cm,精确称重,加入生理盐水在冰浴状态下制备 10% (m/V)的结肠组织匀浆液。将结肠组织匀浆液进行细胞粉碎后,离心取上清。血清及结肠组织匀浆液采用 ELISA 试剂盒检测炎症因子 IL-6、IL-1 $\beta$  及 TNF- $\alpha$  含量。

### 1.7 大鼠粪便取样与肠道菌群检测

给药结束后,采用腹部刺激法收集各组大鼠的新鲜粪便,并用无菌镊夹取放于无菌冻存管中,迅速置于液氮中保存,并送至上海欧易生物公司进行大鼠粪便总 DNA 提取建库、质检及测序,步骤如下。按照 DNA 抽提试剂盒说明书对样本的基因组 DNA 进行提取,采用特异引物 343F 和 806R 对 V3-V4 双

可变区进行扩增<sup>[11]</sup>。PCR 产物进行电泳检测、纯化及定量。根据 PCR 产物浓度进行等量混样,上机测序。测序数据质控后以 97% 的序列相似度进行操作分类单元(operational taxonomic units, OTU)划分,并进行多样性分析。

## 1.8 统计学分析

采用 SPSS 20.0 进行统计分析,实验数据采用均数  $\pm$  标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,采用单因素方差分析和 *t* 检验比较各组差异,以  $P < 0.05$  判断为有统计学差异。

表 1 地榆对溃疡性结肠炎大鼠体质量及 DAI 评分的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

Table 1 Effect of Sanguisorbae Radix on body weight and DAI score in ulcerative colitis rats ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

分组 Group	体质量 Body weight(g)	DAI 评分 DAI score
C	$214.80 \pm 11.20$	0
M	$169.88 \pm 9.86^{##}$	$3.72 \pm 0.36^{##}$
SR-L	$195.75 \pm 5.42^{**}$	$2.94 \pm 0.68^*$
SR-H	$213.27 \pm 21.43^{**}$	$2.11 \pm 0.37^{**}$

注:与正常组比较,<sup>#</sup> $P < 0.05$ ,<sup>##</sup> $P < 0.01$ ;与模型组比较,<sup>\*</sup> $P < 0.05$ ,<sup>\*\*</sup> $P < 0.01$ 。

Note: Compared with the control group, <sup>#</sup> $P < 0.05$ , <sup>##</sup> $P < 0.01$ ; Compared with the model group, <sup>\*</sup> $P < 0.05$ , <sup>\*\*</sup> $P < 0.01$ .

## 2.2 地榆对溃疡性结肠炎大鼠结肠组织形态的影响

如图 1 所示,正常组大鼠结肠粘膜上皮完整,腺体和杯状细胞排列整齐紧密,未见炎性细胞浸润。模型组大鼠肠粘膜受损,腺体部分坏死或消失,排列紊乱,隐窝和杯状细胞明显减少,有大量炎性细胞浸

## 2 结果

### 2.1 地榆对溃疡性结肠炎大鼠体质量及 DAI 指数的影响

如表 1 所示,与正常组比较,模型组大鼠体质量显著下降( $P < 0.01$ ),DAI 评分升高( $P < 0.01$ );给予地榆治疗后,低、高剂量组均可明显改善 DSS 致 UC 大鼠的体质量下降现象( $P < 0.01$ ),并降低 DAI 疾病评分( $P < 0.05$ )。以上结果说明,地榆对 UC 大鼠的疾病状态有较好的改善作用,为后续实验奠定基础。

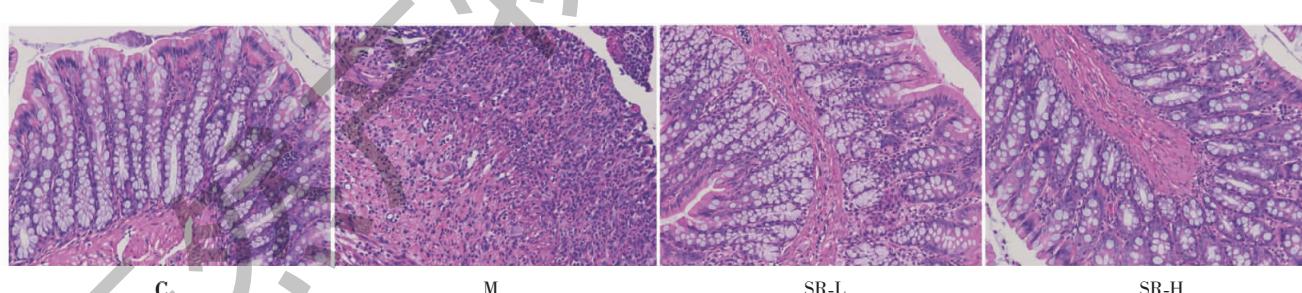


图 1 地榆对溃疡性结肠炎大鼠结肠组织形态的影响(HE 染色,  $\times 200$ )

Fig. 1 Effect of Sanguisorbae Radix on pathological changes of colon tissue in ulcerative colitis rats (HE staining,  $\times 200$ )

## 2.3 地榆对溃疡性结肠炎大鼠血清及结肠组织炎症因子的影响

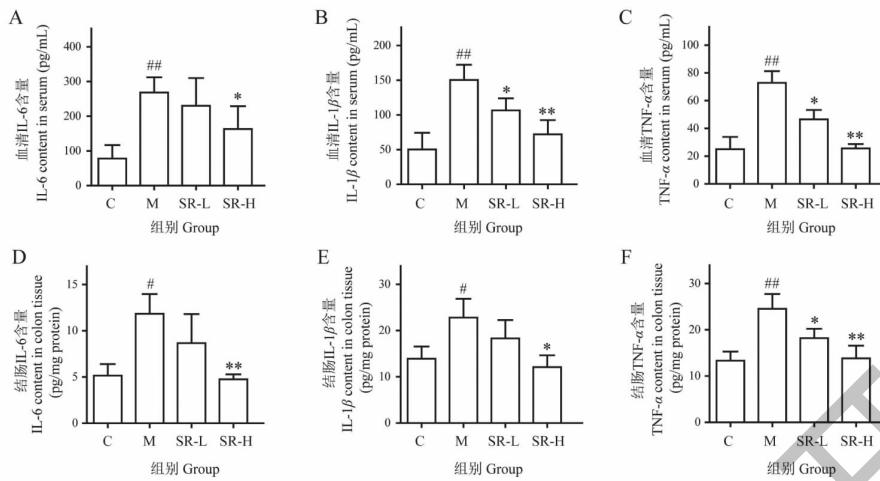
对各组大鼠血清及结肠组织中炎症因子进行检测,结果如图 2 所示,与正常组比较,DSS 模型组大鼠血清及结肠组织中 IL-6、IL-1 $\beta$  及 TNF- $\alpha$  含量均升高( $P < 0.05$ )。给予地榆治疗后,大鼠血清及结肠组织 IL-6、IL-1 $\beta$  及 TNF- $\alpha$  含量显著下降( $P < 0.05$ ),炎症减轻。UC 状态下,结肠上皮屏障功能

紊乱,可诱发炎症因子的释放<sup>[12]</sup>,而地榆可有效抑制炎症因子的过量累积,提示其对 UC 的结肠炎症有较好缓解作用。

## 2.4 地榆对溃疡性结肠炎大鼠肠道菌群结构的影响

### 2.4.1 地榆对溃疡性结肠炎大鼠肠道菌群 $\alpha$ 多样性的影响

基于 OTUs 序列进行菌群  $\alpha$  多样性分析,其中

图 2 地榆对溃疡性结肠炎大鼠血清及结肠组织炎症因子的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )Fig. 2 Effect of Sanguisorbae Radix on inflammatory factors of serum and colon in ulcerative colitis rats ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )注:与正常组比较,  $^{\#}P < 0.05$ ,  $^{##}P < 0.01$ ;与模型组比较,  $^{*}P < 0.05$ ,  $^{**}P < 0.01$ 。Note: Compared with the control group,  $^{\#}P < 0.05$ ,  $^{##}P < 0.01$ ; Compared with the model group,  $^{*}P < 0.05$ ,  $^{**}P < 0.01$ .

Shannon 指数和 Simpson 指数是衡量样本中微生物多样性的主要指标。Shannon 指数值越大, Simpson 指数值越小,说明群落的多样性越高<sup>[13,14]</sup>。各组多样性指数见表 2,结果显示,模型组大鼠肠道菌群 Shannon 指数显著降低( $P < 0.05$ ),Simpson 指数显

著升高( $P < 0.01$ ),菌群物种多样性下降。给予地榆治疗后,与模型组比较,地榆给药组 Shannon 指数显著提高( $P < 0.05$ ),Simpson 指数显著降低( $P < 0.05$ ),提示地榆对 UC 大鼠肠道菌群多样性有一定恢复作用。

表 2 肠道菌群  $\alpha$  多样性指数的变化 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )Table 2 The changes of  $\alpha$  diversity indexes of gut microbiota ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

组别 Group	Shannon 指数 Shannon index	Simpson 指数 Simpson index
C	$7.69 \pm 0.42$	$0.017 \pm 0.003$
M	$7.09 \pm 0.17 ^{\#}$	$0.040 \pm 0.008 ^{##}$
SR-L	$7.24 \pm 0.35$	$0.032 \pm 0.012$
SR-H	$7.85 \pm 0.47 ^{*}$	$0.024 \pm 0.007 ^{*}$

注:与正常组比较,  $^{\#}P < 0.05$ ,  $^{##}P < 0.01$ ;与模型组比较,  $^{*}P < 0.05$ ,  $^{**}P < 0.01$ 。Note: Compared with the control group,  $^{\#}P < 0.05$ ,  $^{##}P < 0.01$ ; Compared with the model group,  $^{*}P < 0.05$ ,  $^{**}P < 0.01$ .

#### 2.4.2 地榆对溃疡性结肠炎大鼠肠道菌群 $\beta$ 多样性的影响

在 OTUs 水平上基于未加权 UniFrac 距离进行主坐标分析,绘制 PCoA 图。主坐标分析法<sup>[11]</sup>(principal coordinates analysis, PCoA),是一种降维排序方法,通过主坐标分析可以实现多个样品的分类,进一步展示样品间物种多样性差异,两点之间距离越大表明两者的群落构成差异越大。由图 3 可知,模型组大鼠与正常组大鼠相对处于不同区域,表明其之间肠道菌群结构及多样性存在差异。与模型组比较,地榆低、高剂量给药组均距离正常组区域更

近,说明地榆给药后可减少模型组与正常组大鼠肠道菌群的差异。以上结果提示,UC 大鼠肠道菌群结构及多样性发生紊乱,给予地榆后,可一定程度调控并改善紊乱的肠道菌群,使其向正常方向改变。

#### 2.4.3 地榆对溃疡性结肠炎大鼠肠道菌群分布及差异比较

为进一步明确地榆对 UC 大鼠肠道菌群群落结构的影响,本研究对基于门水平和属水平的物种组成及差异进行了分析,结果如图 4 及图 5 所示,正常组、模型组及地榆给药组之间的菌群物种相对丰度,从门水平及属水平上均存在差异。

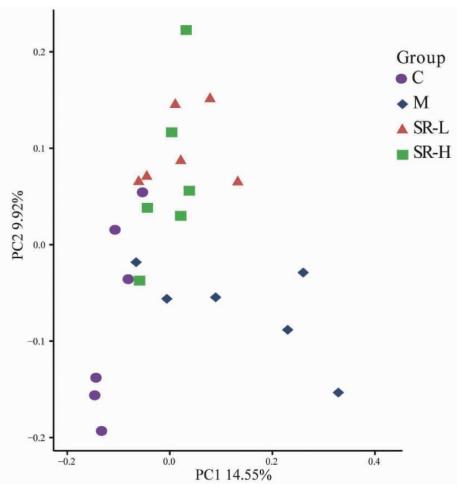
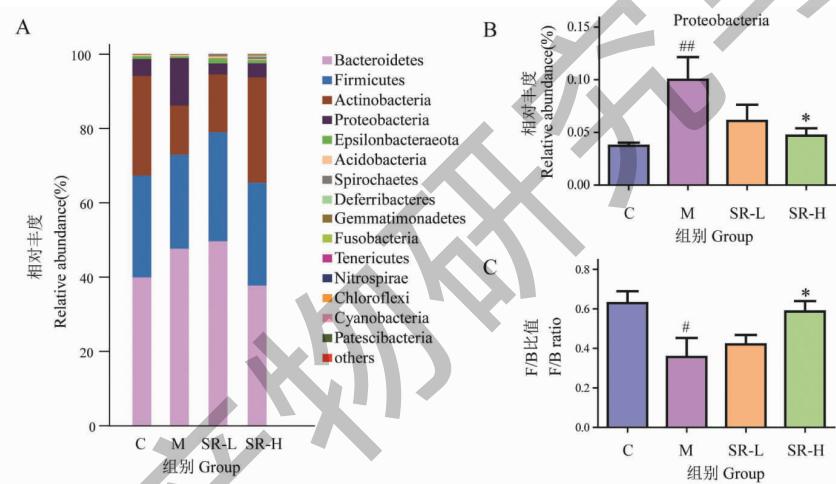
图 3 肠道菌群 $\beta$ 多样性的主坐标( PCoA )分析Fig. 3 Principal coordinate analysis ( PCoA ) based on  $\beta$  diversity of gut microbiota

图 4 门分类水平的肠道菌群分布(A)及差异比较(B,C)

Fig. 4 Composition ( A ) and differences ( B,C ) of gut microbiota at phylum level

注:与正常组比较,  $^{\#}P < 0.05$ ,  $^{##}P < 0.01$ ;与模型组比较,  $^{*}P < 0.05$ ,  $^{**}P < 0.01$ 。Note: Compared with the control group,  $^{\#}P < 0.05$ ,  $^{##}P < 0.01$ ; Compared with the model group,  $^{*}P < 0.05$ ,  $^{**}P < 0.01$ .

在门分类水平上(见图 4A),6 个主要优势菌门分别为拟杆菌门( Bacteroidetes )、厚壁菌门( Firmicutes )、放线菌门( Actinobacteria )、变形菌门( Proteobacteria )、 Epsilonbacteraeota 及酸杆菌门( Acidobacteria ),以上 6 种菌门占总菌丰度 99% 以上。其中,变形菌门( Proteobacteria )相对丰度在各组中变化显著(见图 4B),在模型组中变形菌门丰度显著上调( $P < 0.01$ ),给予地榆后,变形菌门相对丰度降低,其中高剂量给药组与模型组有显著性差异( $P < 0.05$ )。厚壁菌门及拟杆菌门是肠道菌群中的两个优势菌门,两者比值 F/B( Firmicutes/Bacteroidetes )

被证明与肠炎病程相关<sup>[15]</sup>。在 UC 模型组中 F/B 值显著降低( $P < 0.05$ ),给予地榆后 F/B 值有所回升,其中地榆高剂量给药组较模型组有显著性差异( $P < 0.05$ )(见图 4C)。

在属分类水平上(见图 5A),相对丰度较高的菌属为双歧杆菌属 *Bifidobacterium*、拟杆菌属 *Bacteroides*、 *Alloprevotella*、普雷沃氏菌属 *Prevotellaceae* UCG-003、 *Prevotella-9* 等。对各组数据进行差异分析,结果如图 5B 所示,模型组拟杆菌属 *Bacteroides*、脱硫弧菌属 *Desulfovibrio* 及 *Oscillibacter* 相对丰度显著升高( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ),普雷沃氏菌属 *Prevotel*

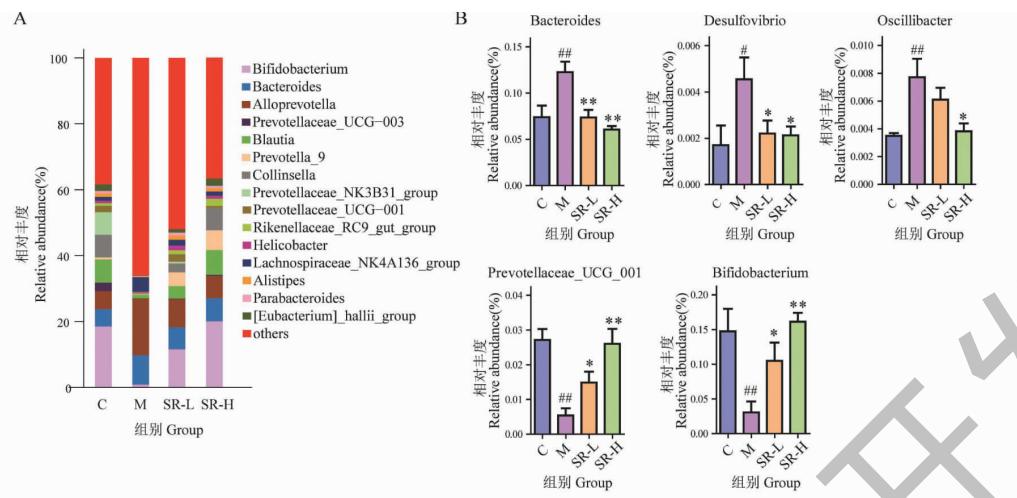


图 5 属分类水平的肠道菌群分布(A)及差异比较(B)

Fig. 5 Composition (A) and differences (B) of gut microbiota at genus level

注:与正常组比较,<sup>#</sup> $P < 0.05$ ,<sup>##</sup> $P < 0.01$ ;与模型组比较,<sup>\*</sup> $P < 0.05$ ,<sup>\*\*</sup> $P < 0.01$ 。Note: Compared with the control group, <sup>#</sup> $P < 0.05$ , <sup>##</sup> $P < 0.01$ ; Compared with the model group, <sup>\*</sup> $P < 0.05$ , <sup>\*\*</sup> $P < 0.01$ .

*lacea* UCG-001 和双歧杆菌属 *Bifidobacterium* 相对丰度显著降低( $P < 0.01$ )。给予地榆后,以上菌属相对丰度均可有效回调( $P < 0.05$ , $P < 0.01$ ),其中高剂量给药组可将以上菌属相对丰度调节回正常水平。以上结果表明,地榆可调节 UC 大鼠肠道菌群结构,改善菌群紊乱现象。通过促进有益菌生长,降低致病菌丰度,使疾病大鼠肠道菌群向正常水平调节,可以修复肠道粘膜屏障,缓解炎症<sup>[16]</sup>。

#### 2.4.4 肠道菌群与炎症因子关联性分析

通过 Pearson 相关系数分析各组大鼠结肠组织炎症因子 IL-6、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  与主要差异肠道菌群

的关联性。相关性系数如表 3 所示,变形菌门(Proteobacteria)、拟杆菌属 *Bacteroides*、脱硫弧菌属 *Desulfovibrio* 及 *Oscillibacter* 相对丰度与结肠 IL-6、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  含量呈正相关;普雷沃氏菌属 *Prevotellaceae* UCG-001 和双歧杆菌属 *Bifidobacterium* 相对丰度与结肠 IL-6、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  含量呈负相关。其中,普雷沃氏菌属、双歧杆菌属与 IL-6 相关性显著( $P < 0.05$ , $P < 0.01$ );变形菌门、拟杆菌属、双歧杆菌属与 IL-1 $\beta$  相关性显著( $P < 0.05$ , $P < 0.01$ );脱硫弧菌属与 TNF- $\alpha$  相关性显著( $P < 0.05$ )。以上结果显示,菌群变化与肠道炎症存在相关性。

表 3 肠道菌群与炎症因子的相关性分析

Table 3 The correlation analysis between gut microbiota and colon inflammatory factors

菌群 Microflora	IL-6	IL-1 $\beta$	TNF- $\alpha$
<i>Proteobacteria</i>	0.163	0.316 *	0.106
<i>Bacteroides</i>	0.246	0.558 * *	0.028
<i>Desulfovibrio</i>	0.111	0.003	0.557 *
<i>Oscillibacter</i>	0.246	0.196	0.318
<i>Prevotellaceae</i> UCG-001	-0.434 *	-0.033	-0.136
<i>Bifidobacterium</i>	-0.639 * *	-0.422 * *	-0.224

注:相关性分析,<sup>\*</sup> $P < 0.05$ ,<sup>\*\*</sup> $P < 0.01$ 。

Note: Correlation analysis, <sup>#</sup> $P < 0.05$ , <sup>##</sup> $P < 0.01$ .

### 3 讨论

溃疡性结肠炎是一种起因复杂的炎症性疾病,病情绵长易反复,需要长期有效的药物治疗。中药

经过千年的临床应用,具有安全、有效、毒副作用小等特点,在治疗 UC 等慢性病中具有独特优势<sup>[17,18]</sup>。中药地榆归大肠经,具有止血凉血、清热解毒、收敛

止泻等功效,显示出其对溃疡性结肠炎的潜在治疗作用。

本研究采用 3.5% DSS 自由饮用 7 天诱导建立大鼠急性 UC 模型,并从体质量、DAI 评分、组织形态学及炎症因子水平等方面探讨了地榆对 UC 大鼠肠道炎症的改善作用。结果显示,地榆可明显提高 UC 大鼠体质量,降低 DAI 疾病评分,并改善肠上皮粘膜损伤,恢复肠道腺体形态及紧密连接。IL-6、IL-1 $\beta$  及 TNF- $\alpha$  作为常见的促炎因子,其含量与 UC 的疾病进程密切相关<sup>[19]</sup>,因此本研究对大鼠血清及结肠组织 IL-6、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  含量进行检测,结果显示模型组大鼠血清及结肠组织 IL-6、IL-1 $\beta$  及 TNF- $\alpha$  显著升高,经地榆干预后其含量明显降低。上述研究结果表明,地榆对 DSS 诱导的大鼠 UC 有一定治疗作用,可改善 UC 的肠道炎症。

众多研究证明肠道菌群结构与 UC 疾病进程具有相关性<sup>[20]</sup>。在无菌环境下,DSS 或 TNBS 诱导的小鼠 UC 症状明显低于有菌环境<sup>[21]</sup>。此外,UC 患者肠道菌群丰度及多样性降低,厚壁菌门等菌群比例下降,丙型变形菌及肠杆菌等菌群比例增加,UC 患者的肠道失去了核心菌群的动态稳定性<sup>[22]</sup>。进一步向 UC 患者进行菌群移植,发现移植正常粪便菌群后患者 UC 症状有明显缓解<sup>[23]</sup>,说明肠道菌群结构在 UC 的发病及治疗中具有重要调节作用。传统中药多为水煎口服,不可避免要与肠道菌群接触,但地榆是否通过调节肠道菌群来发挥 UC 治疗作用,目前尚不清晰。因此,本研究采用高通量测序技术对 UC 大鼠在地榆干预下的肠道菌群组成变化进行了分析,旨在通过地榆对肠道菌群组成的影响,进一步探讨地榆治疗 UC 的肠道机制。研究表明,模型组大鼠与正常组大鼠相比肠道菌群发生紊乱,菌群多样性降低,经地榆干预后,肠道菌群结构一定程度得到恢复,肠道菌群多样性亦明显提高。与模型组比较,地榆可明显上调 *Prevotellaceae* UCG-001 和双歧杆菌属 *Bifidobacterium* 相对丰度( $P < 0.05, P < 0.01$ ),显著降低变形菌门(Proteobacteria)及拟杆菌属 *Bacteroides*、脱硫弧菌属 *Desulfovibrio* 相对丰度( $P < 0.05, P < 0.01$ )。通过相关性分析进一步发现,变形菌门(Proteobacteria)、拟杆菌属 *Bacteroides*、脱硫弧菌属 *Desulfovibrio* 及 *Oscillibacter* 相对丰度与结肠 IL-6、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  含量呈正相关。其中,变形菌门是产生内毒素的主要菌门之一,其相对丰度的增多易引起肠内内毒素增加,引发炎症<sup>[24]</sup>。拟杆菌属

*Bacteroides*、脱硫弧菌属 *Desulfovibrio* 及 *Oscillibacter* 均被认为与 UC 肠道炎症联系密切<sup>[12,25,26]</sup>,可破坏肠道上皮粘膜功能。普雷沃氏菌属 *Prevotellaceae* UCG-001 和双歧杆菌属 *Bifidobacterium* 相对丰度与结肠 IL-6、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  含量呈负相关,此与前期相关研究一致<sup>[27,28]</sup>,*Prevotellaceae* UCG-001 及双歧杆菌属 *Bifidobacterium* 等益生菌相对丰度的升高将有利于保护肠道粘膜屏障功能,减轻炎症反应。经地榆治疗后,以上菌群的相对丰度均向正常组方向回调,提示地榆可以通过调节 UC 大鼠的肠道菌群结构,加快菌群恢复,进而缓解 UC 大鼠肠道炎症症状。

综上所述,地榆可能通过改善 UC 大鼠肠道菌群结构组成,恢复菌群多样性,修复粘膜屏障,进而治疗急性 UC。本研究对地榆改善 UC 的肠道机制进行了初步探讨,可为地榆治疗 UC 的临床应用及药物开发提供一定数据参考。

## 参考文献

- Yashiro M. Ulcerative colitis-associated colorectal cancer [J]. World J Gastroenterol, 2014, 20: 16389-16397.
- Prideaux L, Kamm MA, De Cruz PP, et al. Inflammatory bowel disease in Asia: a systematic review [J]. J Gastroenterol Hepatol, 2012, 27: 1266-1280.
- Zhao M, Burisch J. Impact of genes and the environment on the pathogenesis and disease course of inflammatory bowel disease [J]. Dig Dis Sci, 2019, 64: 1759-1769.
- Sommer F, Anderson JM, Bharti R, et al. The resilience of the intestinal microbiota influences health and disease [J]. Nat Rev Microbiol, 2017, 15: 630-638.
- Moayyedi P, Surette MG, Kim PT, et al. Fecal microbiota transplantation induces remission in patients with active ulcerative colitis in a randomized controlled trial [J]. Gastroenterology, 2015, 149 (1): 102-109.
- Li W, Gao KL, Li JY. Clinical study on treatment of ulcerative colitis (left half colon) with Bingji Diyu decoction for enema [J]. J Liaoning Univ TCM (辽宁中医药大学学报), 2019, 21 (3): 25-28.
- Wang ZJ, Li HX, Liang J, et al. Influence of Xuejie (*Risina Draconis*) combining Diyu (*Radix Sanguisorbae*) on mucosal healing of ulcerative colitis [J]. J Beijing Univ TCM (北京中医药大学学报), 2013, 36: 426-428.
- Lei RF. Diyu Sanbai decoction enema with taking Chinese drugs for 34 patients with ulcerative colitis [J]. J TCM Univ Hunan (湖南中医药大学学报), 2010, 30 (7): 62-63.

- 9 Sun Z, Li J, Dai Y, et al. Indigo naturalis alleviates dextran sulfate sodium-induced colitis in rats via altering gut microbiota [J]. *Front Microbiol*, 2020, 11: 731.
- 10 Wu KN, Liang YN, Zhang DB, et al. Protective effects of cinnamaldehyde on DSS induced UC mice [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2021, 33: 1-7, 40.
- 11 Chen Y, Lu J, Zhu SM, et al. Effect of Gegen Qinlian Decoction and its different compatibility groups on gut microbiota in rats with acute enteritis based on high-throughput sequencing [J]. *Chin J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2020, 45: 1406-1417.
- 12 Zhao H, Cheng N, Zhou W, et al. Honey polyphenols ameliorate DSS-induced ulcerative colitis via modulating gut microbiota in rats [J]. *Mol Nutr Food Res*, 2019, 63 ( 23 ): e1900638.
- 13 Grice EA, Kong HH, Conlan S, et al. Topographical and temporal diversity of the human skin microbiome [J]. *Science*, 2009, 324: 1190-1192.
- 14 Wu H, Yu XH, Wang HJ, et al. Effect of *Tripterygium wilfordii* on intestinal flora in mice with ulcerative colitis induced by dextran sodium sulfate [J]. *Chin Tradit Herb Drug* (中草药), 2020, 51: 387-396.
- 15 Stojanov S, Berlec A, Štrukelj B. The Influence of probiotics on the Firmicutes/Bacteroidetes ratio in the treatment of obesity and inflammatory bowel disease [J]. *Microorganisms*, 2020, 8(11): 1715.
- 16 Tilg H, Zmora N, Adolph TE, et al. The intestinal microbiota fuelling metabolic inflammation [J]. *Nat Rev Immunol*, 2020, 20(1): 40-54.
- 17 Shi MJ, Li RY, Zhang YB. Progress in signaling pathways involved in the treatment of ulcerative colitis with traditional Chinese medicine [J]. *Prog Pharm Sci* (药学进展), 2016, 40: 610-618.
- 18 Liu B, Piao X, Niu W, et al. Kuijeyuan decoction improved intestinal barrier injury of ulcerative colitis by affecting TLR4-dependent PI3K/AKT/NF- $\kappa$ B oxidative and inflammatory signaling and gut microbiota [J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 1036.
- 19 Zhu L, Gu P, Shen H. Protective effects of berberine hydrochloride on DSS-induced ulcerative colitis in rats [J]. *Int Immunopharmacol*, 2019, 68: 242-251.
- 20 Shen ZH, Zhu CX, Quan YS, et al. Relationship between intestinal microbiota and ulcerative colitis: Mechanisms and clinical application of probiotics and fecal microbiota transplantation [J]. *World J Gastroenterol*, 2018, 24(1): 5-14.
- 21 Arrieta MC, Madsen K, Doyle J, et al. Reducing small intestinal permeability attenuates colitis in the IL10 gene-deficient mouse [J]. *Gut*, 2009, 58(1): 41-48.
- 22 Frank DN, St Amand AL, Feldman RA, et al. Molecular-phylogenetic characterization of microbial community imbalances in human inflammatory bowel diseases [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104: 13780-13785.
- 23 Moayyedi P, Surette MG, Kim PT, et al. Fecal microbiota transplantation induces remission in patients with active ulcerative colitis in a randomized controlled trial [J]. *Gastroenterology*, 2015, 149(1): 102-109.
- 24 Zhu L, Xu LZ, Zhao S, et al. Protective effect of baicalin on the regulation of Treg/Th17 balance, gut microbiota and short-chain fatty acids in rats with ulcerative colitis [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2020, 104: 5449-5460.
- 25 Cui H, Cai Y, Wang L, et al. Berberine regulates Treg/Th17 Balance to treat ulcerative colitis through modulating the gut microbiota in the colon [J]. *Front Pharmacol*, 2018, 9: 571.
- 26 Wu M, Li P, An Y, et al. Phloretin ameliorates dextran sulfate sodium-induced ulcerative colitis in mice by regulating the gut microbiota [J]. *Pharmacol Res*, 2019, 150: 104489.
- 27 Zou JF, Shen YM, Chen MJ, et al. Lizhong decoction ameliorates ulcerative colitis in mice via modulating gut microbiota and its metabolites [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2020, 104: 5999-6012.
- 28 Wang W, Chen L, Zhou R, et al. Increased proportions of *Bifidobacterium* and the *Lactobacillus* group and loss of butyrate-producing bacteria in inflammatory bowel disease [J]. *J Clin Microbiol*, 2014, 52: 398-406.