

桂皮醛对 DSS 诱导的溃疡性结肠炎小鼠的保护作用研究

吴柯楠,梁艳妮,张东博,任浪浪,李璐含,于金高,张 珍,唐志书*,王 征*

陕西中医药大学 陕西中药资源产业化省部共建协同创新中心 省部共建秦药特色资源研究开发国家重点实验室(培育) 陕西省创新药物研究中心,咸阳 712083

摘要:为探讨桂皮醛(CA)对实验性溃疡性结肠炎(UC)小鼠的保护作用及其初步机制,用柳氮磺胺吡啶(300 mg/kg)做为阳性对照,CA 分别以 150、250、500 mg/kg 的剂量对 3% 葡聚硫酸钠(DSS)诱导的 UC 小鼠进行灌胃治疗。观察小鼠给药前后状态的变化并进行 DAI 评分,HE 染色法观察小鼠结肠组织形态的变化并进行病理评估;ELISA 试剂盒、Western blot 技术分别检测小鼠血清中炎症因子及小鼠结肠上皮炎症相关蛋白表达水平的变化。结果显示,与模型组比较,CA 在实验剂量范围内可保护 UC 小鼠结肠组织形态完整,改善结肠黏膜损伤;升高血清中 IL-4、IL-10 含量($P < 0.01$),降低 IL-6、IL-8 及 TNF- α 含量($P < 0.01$);上调结肠组织 NF- κ B 在胞质内表达量,并抑制 STAT3 磷酸化水平。综上所述,CA 对 UC 小鼠具有保护作用,可减轻结肠组织损伤程度,抑制炎症反应,更深入的作用机制还有待进一步研究。

关键词:桂皮醛;溃疡性结肠炎;分子机制;疾病活动指数

中图分类号:R961.1

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2021)1-0001-08

DOI:10.16333/j.1001-6880.2021.1.001

Protective effects of cinnamaldehyde on DSS induced UC mice

WU Ke-nan, LIANG Yan-ni, ZHANG Dong-bo, REN Lang-lang,

LI Lu-han, YU Jin-gao, ZHANG Zhen, TANG Zhi-shu*, WANG Zheng*

Shaanxi Collaborative Innovation Center of Chinese Medicine Resources Industrialization, State Key Laboratory of Research & Development of Characteristic Qin Medicine Resources (Cultivation),

Shaanxi Innovative Drug Research Center, Xianyang 712083, China

Abstract: To explore the protective effects and its mechanism of cinnamaldehyde (CA) on ulcerative colitis (UC) mice. Sulphasalazine (300 mg/kg) was used as the positive control, and CA was administered to the UC mice which was induced by 3% dextran sodium sulfate (DSS) at 150,250,500 mg/kg doses. Observe the changes in the state of the mice before and after the administration and perform the DAI score, and the morphological changes of mice colon were observed by HE staining and pathological evaluation was performed;ELISA kit and Western blot technology were used to detect the changes of inflammatory factors in the serum of mice and the expression of inflammation-related proteins in the colonic epithelium of mice. The results showed that CA could protect the colonic tissue morphological integrity and improve colonic mucosal injury in UC mice within the experimental dose range;Increase the levels of IL-4, IL-10, reduce the levels of IL-6, IL-8 and TNF- α in serum;up-regulate the expression of NF- κ B in the cytoplasm, and inhibit the level of phosphorylated STAT3. In summary, CA has a protective effect on UC mice, which could reduce the degree of colon injury and inhibit inflammation. The more in-depth mechanism need to be further study.

Key words:cinnamaldehyde;ulcerative colitis;molecular mechanism;DAI

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是一种发

收稿日期:2020-07-03 接受日期:2020-11-13

基金项目:国家自然科学基金(81803951,81973687);陕西省重点
产业创新链项目(2018ZDCXL-SF-01-02-02);陕西省创
新人才推进计划-青年科技新星项目(2019KJXX-025)

*通信作者 Tel:86-29-38182201; E-mail: wazh0405@126.com, tzs6
565@163.com

展缓慢、非特异性炎症性肠病,主要临床症状为腹痛、腹泻、黏液血便等,或伴有体重减轻、里急后重感、呕吐等症状^[1]。主要是侵及结肠黏膜,破坏黏膜形成溃疡,常始自左半结肠,可由结肠近端发展至全结肠。UC 的病因与发病机制目前尚未明确,随着

近年来各学科的发展以及各学科间相互渗透,人们对UC的认识也在不断深入。研究表明UC的发生与患者肠道炎性因子的失衡和免疫反应的异常密切相关,炎症信号的激活导致促炎细胞因子和抗炎细胞因子分泌失衡,活性氧过度积累,进一步加速炎症的发展。而核转录因子(NF- κ B)和信号传导及转录激活因子3(STAT3)在介导这一异常的免疫反应中起着重要作用,肿瘤坏死因子- α (TNF- α)^[2]、白细胞介素-6(IL-6)^[3]、白细胞介素-8(IL-8)等多种促炎因子的过量分泌以及抗炎因子白细胞介素-4(IL-4)^[4]、白细胞介素-10(IL-10)^[5,6]等的释放减少导致UC患者肠道发生炎症反应,因此临床治疗UC可以从抑制促炎因子的释放和促进抗炎因子的分泌来实现。

桂皮醛(cinnamaldehyde, CA)又名肉桂醛、苯丙烯醛、桂醛,是从肉桂树中提取的烯醛类有机化合物,是其挥发油中主要成分^[7]。国内外对CA的大量药理研究表明,其具有抗炎^[8,9]、抗溃疡、解热镇痛^[10]、抗肿瘤^[11]、抗菌、降糖、抗肥胖、降血压、抗抑郁^[12]等多种药理活性。课题组前期对马齿苋-肉桂治疗UC的作用进行研究发现,两者联用可以显著改善UC小鼠的健康活动状况,且与肠道微生态平衡的改善密切相关^[13]。据报道,CA可以抑制巨噬细胞中促炎因子的表达,包括TNF- α 、IL-1 β 和一氧化氮(NO)^[14]。也有文献研究CA可以通过抑制NLRP3炎症小体的激活以及结肠和巨噬细胞中的miR-21和miR-155水平改善DSS诱导的结肠炎^[15],故本课题组对CA治疗UC的作用进行研究。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

TS100-F荧光倒置显微镜(日本Nikon公司);低温冷冻离心机(美国Thermo公司);低温保存箱(-80℃,美国Thermo公司);TGL-20B低速离心机(上海安亭科学仪器厂);CPA225D电子天平(北京赛多利斯科学仪器有限公司);BIO-RAD电泳槽(042BR16330,美国);GEL DocXR+伯乐凝胶成像系统(721BR11053,美国);Thermo热点MultiskanFC酶标仪(美国Thermo公司);微量冷冻离心机Micro 17R(赛默飞世尔科技有限公司)。

1.2 试剂

桂皮醛(四川省维克奇生物科技有限公司,批号:wkq19031207,纯度: $\geq 98\%$);葡聚糖硫酸钠(DSS, MP Biomedicals生物医学公司,批号:

160110);柳氮磺胺吡啶片(上海信谊嘉华药业,批号:09170611);无菌PBS(博士德生物有限公司,批号:0030319);小鼠IL-4(批号:M191028-003b)、IL-6(批号:M190322-004a)、IL-8(批号:M190322-104a)、IL-10(批号:M190322-003a)、TNF- α (批号:R200107-102a)ELISA试剂盒购自欣博盛生物科技有限公司;NF- κ B/P65 (#8242S)、I κ B α (#4812S)、STAT3 (#12460S)和p-STAT3 (#9145S)兔抗鼠单克隆抗体购自Cell Signaling Technology;辣根过氧化物酶(HRP)标记的山羊抗兔二抗(博士德生物有限公司);marker蛋白(Thermo Scientific);RIPA裂解液(博士德生物有限公司);BCA蛋白定量试剂盒(博士德生物有限公司);SDS-PAGE蛋白上样缓冲液(博士德生物有限公司);SDS-PAGE凝胶制备试剂盒(北京索莱宝生物有限公司);化学发光HRP底物ECL发光液(默克密理博)。

1.3 动物

SPF级雄性昆明种小鼠60只,4~6周龄,体重 20 ± 2 g,购于西安交通大学医学部实验动物中心,实验动物质量合格证许可证号:SCXK(陕)2017-003。

2 方法

2.1 动物实验

2.1.1 实验分组及给药方法

昆明种雄性小鼠60只,随机分6组,(每组小鼠体重进行方差分析, $P > 0.05$)适应性饲养一周。分为空白组、UC模型组、柳氮磺胺吡啶组^[16]、CA低、中、高剂量组(150、250、500 mg/kg)。空白组小鼠饮用纯净水,其他小鼠自饮3% DSS 9天诱导UC模型^[17],自第10天起空白组及模型组小鼠灌胃蒸馏水,其余组灌胃相应剂量的药物,灌胃体积均为10 mL/kg;连续灌胃7天,最后一天禁食不禁水16 h后,摘眼球取血,小鼠处死后,剪取结肠组织,4%多聚甲醛固定。造模第一天起记录小鼠的体重,大便质地,潜血或便血特征^[13,18,19],根据表1进行疾病活动指数(disease activity index, DAI)评分。

$$\text{DAI} = (\text{体重下降评分} + \text{大便性状评分} + \text{大便隐血情况评分})/3$$

2.1.2 石蜡包埋和H&E染色

将保存在4%多聚甲醛的结肠组织取出后在流水中冲洗1 h,后置入浓度梯度乙醇中脱水1 h,再用二甲苯透明,然后将透明后的标本放置在65℃熔解状态的石蜡中1 h,浸透取出放置于包埋模具内包埋

表 1 DAI 评分表

Table 1 DAI rating scale

体重下降率 Weight loss rate (%)	大便性状 Stool property	隐血/血便 Occult blood/Blood stool	计分 Score
0	正常大便	正常	0
1~5	软的,成型大便	介于两者	1
5~10	松散大便	隐血阳性	2
10~15	稀便	肉眼便	3
>15	腹泻	肉眼便	4

注:正常大便:成形大便;松散大便:不黏附于肛口的,糊状或半成形大便;稀便:可黏附于肛门的稀水样便。

Note: Normal stool; Shaped stool; Loose stool; Mushy or semi-shaped stool that does not adhere to the anal opening; Dilute stool; Watery stool that can adhere to the anus.

成蜡块,并放于病理冷冻台待其冷却固定于切片机切成 4 μm 切片,4 ℃冷藏备用。

病理 HE 染色,将切片用二甲苯脱蜡,再移入苏木精染色 5 min,然后用流水洗去苏木素染液终止染色,待其干后放入 1% 盐酸乙醇溶液分化,然后放入伊红液染色 2 min 并快速水洗以终止染色,最后将

切片放入梯度酒精中脱水 5 min 后,放入二甲苯透明处理,滴加中性树胶并盖玻片封片固定。在微镜下观察比较各组大鼠 HE 染色结肠组织损伤的病理变化,并给予评分^[20,21]比较(HAI = 上皮组织破坏分数 + 炎性浸润分数)(见表 2)。

表 2 大鼠结肠组织 HAI 病理变化评分标准

Table 2 HAI pathological change score criteria of colonic tissues of rats

计分 Score	上皮组织损伤破坏 Epithelial tissue damage and destruction	炎性浸润 Inflammatory infiltration
0	无	无
1	少量杯状细胞破坏	浸润至隐窝基底周围
2	大量杯状细胞破坏	浸润至黏膜肌层
3	少量腺体破坏	黏膜肌层广泛浸润并水肿增厚
4	大量腺体消失	浸润至黏膜下层

2.1.3 IL-6、IL-8、IL-4、IL-10、TNF-α 含量测定

对各组小鼠进行采取血液样本 1.5 mL,4 ℃ 下以 3 000 rpm 离心 10 min,收集上层血清。按照小鼠 ELISA 试剂盒说明书测定小鼠血清中 IL-4、IL-6、IL-8、IL-10、TNF-α 的含量。

2.1.4 Western blot 法检测结肠组织中 NF-κB/P65、STAT3 蛋白表达

在病变明显处取结肠组织放入 1.5 mL 的 EP 管中,加裂解液匀浆,离心后吸取上清,4 ℃保存备用;配制 BSA 浓度梯度标准液及 BCA 工作液,进行蛋白质定量分析;将提取的蛋白电泳(90 V,30 min 后转 120 V)、转膜(100 V,90 min)后,封闭 2 h,孵育一抗(4 ℃,过夜),辣根过氧化物酶标记的二抗与一抗结合(37 ℃,1 h);将 PVDF 膜平铺于保鲜膜上,加入 ECL 发光液避光反应 2 min,采用 BIO-RAD 凝胶成像系统对 PVDF 膜进行曝光。

2.2 统计学方法

实验数据采用 SPSS 19.0 软件进行处理,实验结果用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,各组间比较采用单因素方差分析(one-way ANOVA)进行两两比较, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 DAI 评分结果

根据表 1 小鼠 DAI 评分表,得出图 1 评分结果,小鼠以 3% DSS 饮水 9 天后各实验组 DAI 评分均升高,表明小鼠造模成功,第 10 天灌胃治疗开始,给药组小鼠 DAI 评分均逐渐下降,且随给药浓度的增大,小鼠 DAI 评分下降趋势更明显,表明 CA 对 UC 有疗效。

3.2 炎症因子的变化

由图 2 可知,模型组血清中抑炎因子 IL-4、IL-10 的含量较空白组明显降低,差异有统计学意义(P

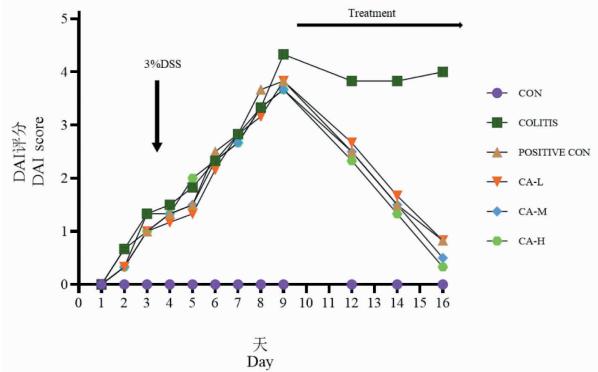


图 1 小鼠的 DAI 评分

Fig. 1 DAI of mice

注:CON:对照组;COLITIS:模型组;POSITIVE CON:柳氮磺胺吡啶组;CA-L:CA 低剂量组(150 mg/kg);CA-M:CA 中剂量组(250 mg/kg);CA-H:CA 高剂量组(500 mg/kg);下同。Note: CON: Control group; COLITIS: Model group; POSITIVE CON: Sulfasalazine group; CA-L: CA low-dose group (150 mg/kg); CA-M: CA middle-dose group (250 mg/kg); CA-H: CA high-dose group (500 mg/kg); the same below.

<0.01),促炎因子 IL-6、IL-8 及 TNF- α 含量较空白组明显升高,差异有统计学意义($P < 0.01$)。给药后,CA 低、中、高剂量组 IL-4、IL-10 的含量较模型组均明显升高,差异有统计学意义($P < 0.01$),且高于阳性对照组;CA 低、高剂量组 IL-6、IL-8 及 TNF- α 含量较模型组明显降低,差异有统计学意义($P < 0.01$),且高于阳性对照组;CA 中剂量组 IL-6、IL-8 及 TNF- α 含量较模型组降低,差异有统计学意义($P < 0.05$),较柳氮磺胺吡啶组差异无统计学意义($P > 0.05$)。结果表明 CA 能显著改变 UC 小鼠炎症因子的含量。

3.3 结肠组织观察

最后一次给药后,所有小鼠禁食 24 h 乙醚麻醉,处死小鼠,从肛门以上 5 cm 处取出小鼠结肠段约 1 cm,发现空白对照组小鼠结肠颜色为淡红色,肠管有部分成形粪便。DSS 模型组小鼠结肠肠壁充血肿胀,严重者结肠段为血性肠内容物。给药组小鼠肠管可见基本成型粪便,低剂量组肠壁有轻微充

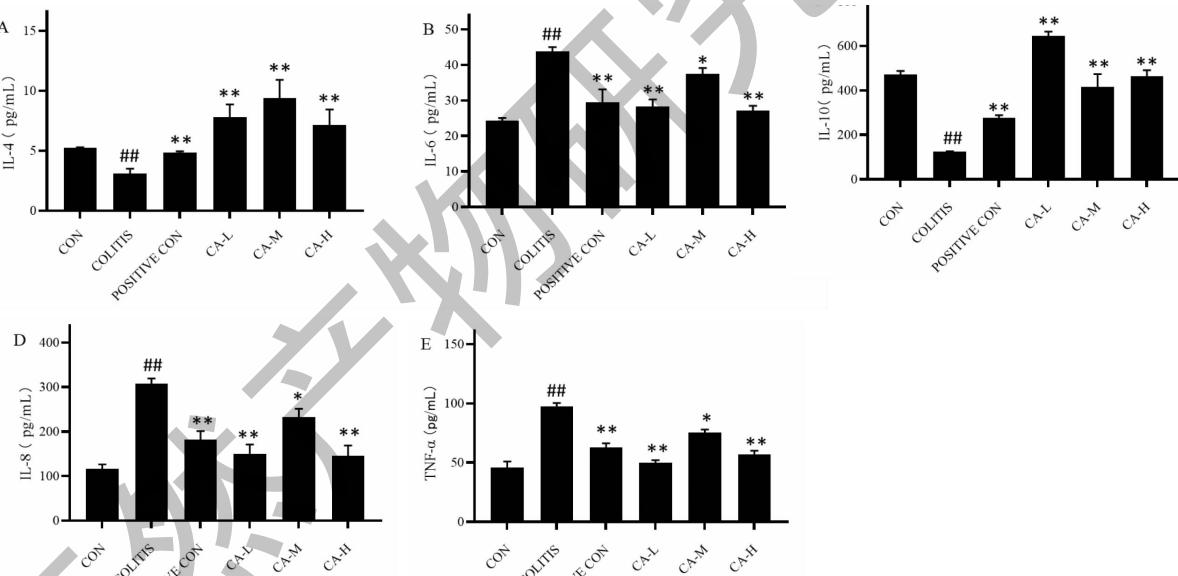


图 2 炎症因子的含量变化

Fig. 2 Changes in the levels of inflammatory cytokines

注:与 UC 模型组比较, ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$;与空白组比较, ## $P < 0.01$, # $P < 0.05$ 。Note: Compared with the model group, ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$. Compared with the control group, ## $P < 0.01$, # $P < 0.05$.

血。空白组镜下可见结肠组织完整,包括肠黏膜层、肌层,有明显的隐窝、杯状细胞,腺体排列整齐,无炎症细胞浸润(图 3A);模型组镜下可见肠黏膜组织细胞(黑色箭头)、腺体遭受不同程度破坏(黄色箭头),隐窝和杯状细胞明显减少(白色箭头),有大量

炎症因子(红圈),主要集中在黏膜层及黏膜下层(图 3B),HAI 评分明显高于空白组,表明 UC 模型诱导成功(图 3G);阳性对照组柳氮磺胺吡啶治疗后,结肠结构相对完整,有大量杯状细胞和隐窝出现,但黏膜层仍有少量炎症细胞(图 3C),HAI 评分

显著降低,表明磺胺吡啶 300 mg/kg 可改善 DSS 诱导的结肠炎症状,但炎症细胞浸润对结肠组织的损伤并没有完全消除;用浓度为 150、250、500 mg/kg 的 CA 溶液治疗,可见结肠组织结构完整,隐窝排布规范,杯状细胞清晰可见,但仍有少量炎症细胞浸

润,粘膜结构有不同程度修复(图 3D、3E、3F)。HAI 评分较模型组显著降低,高浓度组比阳性药的疗效更好(图 3G),表明 CA 可修复 UC 结肠组织,但是不能完全消除炎症因子对结肠组织的损伤($P < 0.01$)。

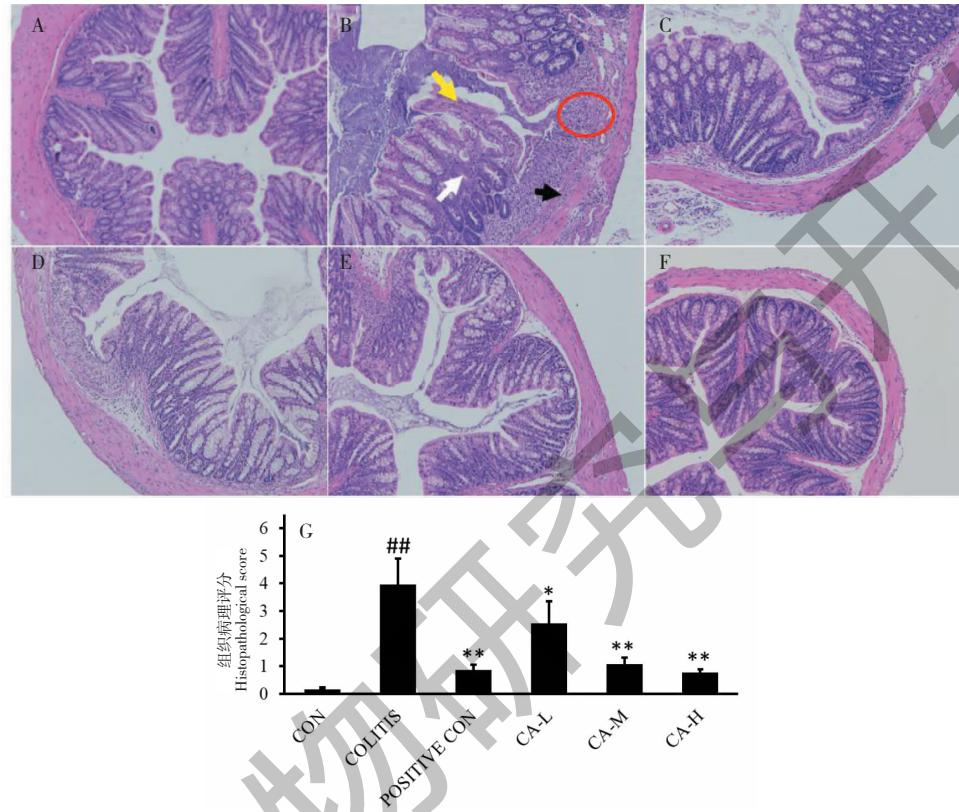


图 3 小鼠结肠组织 HE 染色图($\times 400$,横切)及结肠组织病理切片 HAI 评分

Fig. 3 HE staining of mouse colon tissue($\times 400$, crosscutting) and HAI in pathological sections of the colon

注:A:对照组;B:模型组;C:柳氮磺胺吡啶组;D:CA 低剂量组;E:CA 中剂量组;F:CA 高剂量组;G:HAI 评分;黑色箭头:肠黏膜组织;黄色箭头:腺体破坏;白色箭头:隐窝及杯状细胞;红圈:炎症因子;与 UC 模型组比较, ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$;与空白组比较, ## $P < 0.01$, # $P < 0.05$ 。Note: A: Control group; B: Model group; C: Sulfasalazine group; D: CA-L; E: CA-M; F: CA-H; G: HAI score; Black arrow: Intestinal mucosal tissue; Yellow arrow: Gland destruction; White arrow: Crypt and goblet cells; Red circle: Inflammatory factor; Compared with the model group, ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$. Compared with the control group, ## $P < 0.01$, # $P < 0.05$.

3.4 结肠组织中 NF- κ B/P65、STAT3 蛋白表达情况

从“3.1”、“3.2”、“3.3”的实验结果来看,药物改善不呈剂量依赖性,所以我们从药物的三个剂量对溃疡性结肠炎的效果综合分析,选择中剂量作为检测结肠组织中 NF- κ B/P65、STAT3 蛋白表达的实验剂量。

在炎症反应中,NF- κ B 的活化是一个中心环节,静息状态下,NF- κ B(p50/p65)与其抑制性蛋白 I κ B(I κ B α)结合形成三聚体稳定存在于胞质中,抑制 NF- κ B 向细胞核内转移。一旦胞外信号传递进胞

内,I κ B 在其激酶 IKK 和 ELKs 的作用下被磷酸化或泛素化降解,NF- κ B 以活化的形式进入细胞核内与靶基因结合。

由图 4 可知,与空白组相比,模型组 NF- κ B 和 I κ B α 在细胞质中的蛋白表达明显降低,表明 NF- κ B 被激活进入细胞核;与模型组相比,阳性对照组和 CA 组 NF- κ B 和 I κ B α 在细胞质中的蛋白水平显著升高,另外,CA 组的蛋白表达水平高于阳性对照组。总之,这些结果表明 CA 是通过抑制 I κ B α 的降解从而抑制 NF- κ B 进入细胞核来改善溃疡性结肠炎。

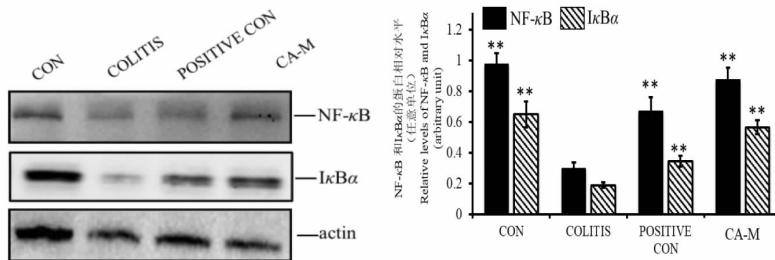


图 4 小鼠结肠组织中 NF-κB/p65 和 IκBα(细胞质)的蛋白表达

Fig. 4 Protein expression of NF-κB/p65 and IκBα in mice colon (in cytoplasm)

注:与 UC 模型组比较, ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$ 。Note: Compared with the model group, ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$.

IL-6 通过“反式传导信号”诱导 STAT3 磷酸化,STAT3 可诱导抗凋亡因子 Bcl-2 和 Bcl-xL, 抗凋亡因子阻止炎性细胞凋亡, 促进 T 淋巴细胞增殖、刺激细胞毒性 T 细胞反应, 导致慢性炎症的发生。IL-6/STAT3 信号通路也可激活造血干细胞从 G0 期进入 G1 期, 促进巨噬细胞和中性粒细胞分泌、增殖, 诱发 UC 发生并加重发展^[22]。

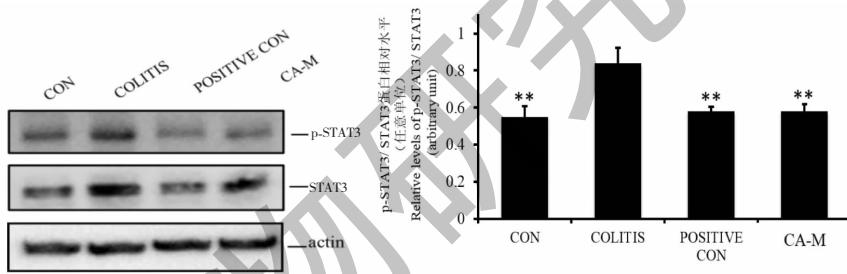


图 5 小鼠结肠组织中 p-STAT3/ STAT3 的蛋白表达

Fig. 5 Protein expression of p-STAT3/ STAT3 in mice colon

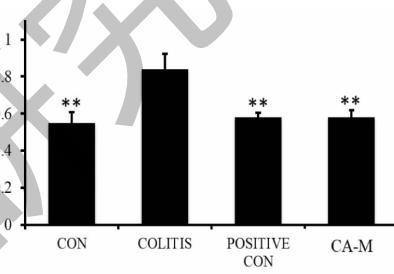
注:与 UC 模型组比较, ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$ 。Note: Compared with the model group, ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$.

4 讨论

溃疡性结肠炎(UC)常见于经济生活水平较好的欧美发达国家,发病率远高于亚洲国家。但近年随着亚洲国家经济水平的发展和生活水平的提高,UC 的发病率在我国逐年上升。UC 的发病机制至今尚未明确,已知肠道内菌群失衡、内环境紊乱将对肠黏膜免疫系统进行刺激,改变黏膜通透性,进而诱发免疫反应,促使 UC 发生。

桂皮醛(CA)是一种有效的抗炎抗菌的药物,能对肠道菌群进行调整并促使其稳定,有助于改善肠道屏障功能。本课题组在对马齿苋-肉桂的前期研究发现,两者联用对小鼠 UC 有显著效果。为了进一步明确肉桂在溃疡性结肠炎中发挥作用的主要成分,本研究通过建立 DSS 诱导 UC 小鼠模型,给予 CA 治疗,评估 CA 的治疗效果。DAI 评分结果显示

由图 5 可得,与空白组比较,模型组 p-STAT3/STAT3 的蛋白表达比值明显升高($P < 0.01$)。给药后,与模型组比较,阳性对照组和 CA 组的 p-STAT3/STAT3 表达比值明显降低($P < 0.01$)。这些结果表明,CA 可抑制 STAT3 的磷酸化来阻止 STAT3 在细胞核中的调控作用^[22]。



CA 可改善小鼠体重下降、腹泻、血便等症状;病理评分结果显示 CA 能够保护肠黏膜,减少隐窝细胞的损伤以及炎症细胞浸润,腺体紊乱和消失减轻,改善炎症。溃疡性结肠炎的发生很大程度与炎性因子的失衡和免疫反应的异常密切相关^[23], UC 患者结肠中促炎细胞因子水平升高,抗炎细胞因子水平降低,从而产生免疫功能紊乱,导致 UC 的发展。本研究中,CA 显著降低了结肠组织中促炎因子 IL-6、IL-8、TNF- α 含量($P < 0.01$),这可能与抑制 STAT3 信号通路的表达有关,同时 CA 还使小鼠结肠组织中抑炎因子 IL-4、IL-10 含量显著升高($P < 0.01$)。炎性因子的表达变化影响因素较多,由于动物的个体差异等因素影响,我们的实验结果没有呈现出剂量依赖性,而病理评分却呈剂量依赖性,这是由于炎性因子是微量指标,病理评分显示的是肠道整体情况,所

以应该主要依据动物疾病活动指数及病理评分来判断药物的作用效果。

促炎细胞因子都是由细胞内信号分子的复杂网络转录调控,核转录因子(NF- κ B)和信号传导及转录激活因子3(STAT3)在介导这一异常的免疫反应中起着重要作用。NF- κ B有明显的促炎特性,通过Western blot技术显示NF- κ B蛋白的表达条带,可以看到CA组NF- κ B蛋白在细胞质中的表达较模型组显著升高,且有显著性差异($P < 0.01$);从p-STAT3及STAT3蛋白的条带表达和灰度值得出,CA组较模型组p-STAT3/STAT3蛋白表达明显降低,且有显著性差异($P < 0.01$)。上述实验结果说明CA对DSS诱导的UC小鼠的保护作用与炎症关键蛋白NF- κ B和STAT3的激活密切相关。

综上所述,CA可以显著改善肠炎引发的体重减轻、肠炎疾病评分降低,和结肠组织炎性改变,减少促炎因子TNF- α 、IL-6和IL-8的分泌,促进抗炎因子IL-4、IL-10的表达,其减轻炎症的作用可能与抑制NF- κ B及STAT3的免疫炎症信号通路有关。本实验仅研究了其在动物水平的疗效,今后将研究其在细胞、分子和基因水平的治疗机制,为我国治疗UC提供更多选择。

参考文献

- Ko CW, Singh S, Feuerstein JD, et al. AGA Clinical practice guidelines on the management of mild-to-moderate ulcerative colitis [J]. Gastroenterology, 2019;156:748-764.
- Shen Y, Zang JH, Xu L, et al. Effects of berberine hydrochloride on the expression of TNF- α , IL-1 β and IL-10 of colon tissue in mice with ulcerative colitis [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2017,34:1094-1098.
- Wang Z, Wu X, Wang CL, et al. Tryptanthrin protects mice against dextran sulfate sodium-induced colitis through inhibition of TNF- α /NF- κ B and IL-6/STAT3 pathways [J]. Molecules, 2018,23(5):1062.
- Wang SX, Pu J, Liu CQ, et al. Expression and clinical significance of cytokine TNF- α , IL-6 and IL-4 in ulcerative colitis [J]. Chin J Gastroenter Hepatol(胃肠病学和肝病学杂志), 2015,14(1):104-106.
- Rogy MA, Beinhauer BG, Reinisch W, et al. Transfer of interleukin-4 and interleukin-10 in patients with severe inflammatory bowel disease of the rectum [J]. Hum Gene Ther, 2000, 11:1731-1741.
- Moran CJ, Walters TD, Guo CH, et al. IL-10R polymorphisms are associated with very-early-onset ulcerative colitis [J]. Inflamm Bowel Dis, 2013,19(1):115-123.
- Xu F, Wang JD, Zeng N. Review on chemical components of rimulus cinnamon essential oil [J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2017,29:532-541.
- Mateen S, Shahzad S, Ahmad S, et al. Cinnamaldehyde and eugenol attenuates collagen induced arthritis via reduction of free radicals and pro-inflammatory cytokines [J]. Phytomedicine, 2019,53:70-78.
- Pan T. Study on anti-inflammatory mechanism of cinnamaldehyde based on succinate/HIF-1 α /NLRP3 pathway [D]. Chengdu: Chengdu University of TCM(成都中医药大学), 2019.
- Ma YY, Li CH, Li LF, et al. Experimental study on antipyretic, analgesic and anti-inflammatory actions of cinnamaldehyde [J]. Chin J Clin Pharm Ther(中国临床药理学与治疗学), 2006,11:1336-1339.
- Zhang JH, Liu LQ, He YL, et al. Cytotoxic effect of traps-cinnamaldehyde on human leukemia K562 cells [J]. Acta Pharmacol Sin, 2010,31(7):861.
- Zhang LQ, Zhang ZG, Fu Y, et al. Research progress of trans-cinnamaldehyde pharmacological effects [J]. Chin J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2015,40:4568-4572.
- Ren LL, Tang ZS, Wang Z, et al. Study on extraction process of *Portulaca oleracea* combining with *Cinnamomum cassia* and its effect on ulcerative colitis induced by DSS [J]. Mod Chin Med(中国现代中药), 2019,21:182-187.
- Ka SM, Chao LK, Lin JC, et al. A low toxicity synthetic cinnamaldehyde derivative ameliorates renal inflammation in mice by inhibiting NLRP3 inflammasome and its related signaling pathways [J]. Free Radic Biol Med, 2016,91:10-24.
- Qu S, Shen Y, Wang M, et al. Suppression of miR-21 and miR-155 of macrophage by cinnamaldehyde ameliorates ulcerative colitis [J]. Int Immunopharmacol, 2019,67:22-34.
- Wei YK, Geng FN, Zhao W, et al. Therapeutic effects and immunization of mesalazine and SASP on active ulcerative colitis model of Balb/c mice induced by DSS [J]. Chin J Hosp Pharm(中国医院药学杂志), 2016,36:1190-1195.
- Heng Y, Li X, Sun T, et al. Comparison of ulcerative colitis models respectively induced by free drinking and intragastric administration of dextran sodium sulfate in mice [J]. China Pharm(中国药师), 2017,20:603-606.
- Ma S, Yeom J, Lim YH. Dairy *Propionibacterium freudenreichii* ameliorates acute colitis by stimulating MUC2 expression in intestinal goblet cell in a DSS-induced colitis rat model [J]. Sci Rep, 2020, 10:5523.

(下转第 40 页)