

姜黄素联合粪菌移植对 DSS 诱导的小鼠溃疡性结肠炎的改善作用

刘 扬, 路 明, 洪 文, 黄克林

(新疆医科大学第一附属医院肛肠外科, 新疆 乌鲁木齐 830054)

[摘 要] **目的:** 探讨姜黄素联合粪菌移植对葡聚糖硫酸钠 (DSS) 诱导的小鼠溃疡性结肠炎 (UC) 的改善作用, 并阐明其相关作用机制。**方法:** 50 只小鼠随机分为对照组、模型组、姜黄素组、粪菌移植组和联合组, 除对照组小鼠自由饮用纯净水外, 其余各组小鼠自由饮用含 2% DSS 的蒸馏水建立 UC 模型。姜黄素组小鼠灌胃给予 $60 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 姜黄素溶液 0.4 mL, 每日 1 次, 连续 10 d; 粪菌移植组小鼠灌肠粪菌液 0.2 mL, 每日 1 次, 持续 10 d; 联合组小鼠给予 0.2 mL 粪菌液灌肠后, 给予 $60 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 姜黄素溶液 0.4 mL 灌胃。实验结束后, 计算各组小鼠疾病活动指数 (DAI) 和结肠大体形态损伤指数 (CDMI), HE 染色观察各组小鼠结肠组织病理形态表现, 酶联免疫吸附试验 (ELISA) 法检测各组小鼠结肠组织中白细胞介素 (IL)- 1β 、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、IL-4 和 IL-10 水平, 实时荧光定量 PCR (RT-qPCR) 法和 Western blotting 法检测各组小鼠结肠组织中闭合蛋白 (occludin) 和闭锁小带蛋白 1 (ZO-1) mRNA 及蛋白表达水平。**结果:** 对照组小鼠结肠黏膜上皮结构完整且连续, 腺体排列规则, 无炎性细胞浸润和溃疡; 模型组小鼠结肠黏膜上皮脱落, 腺体排列紊乱, 杯状细胞减少, 黏膜和黏膜下层充血水肿, 大量炎性细胞浸润, 弥漫分布小溃疡; 姜黄素组、粪菌移植组和联合组小鼠结肠黏膜上皮结构相对完整, 炎性细胞浸润减少, 黏膜和黏膜下层充血水肿减轻。与对照组比较, 模型组小鼠 DAI 和 CDMI 升高 ($P < 0.05$), 结肠组织中 IL- 1β 和 TNF- α 水平升高 ($P < 0.05$), IL-4 和 IL-10 水平降低 ($P < 0.05$), occludin 和 ZO-1 mRNA 及蛋白表达水平降低 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 姜黄素组、粪菌移植组和联合组小鼠 DAI 和 CDMI 降低 ($P < 0.05$), 结肠组织中 IL- 1β 和 TNF- α 水平降低 ($P < 0.05$), IL-4 和 IL-10 水平升高 ($P < 0.05$), occludin 和 ZO-1 mRNA 及蛋白表达水平升高 ($P < 0.05$); 与姜黄素组和粪菌移植组比较, 联合组小鼠 DAI 和 CDMI 降低 ($P < 0.05$), 结肠组织中 IL- 1β 和 TNF- α 水平降低 ($P < 0.05$), IL-4 和 IL-10 水平升高 ($P < 0.05$), occludin 和 ZO-1 mRNA 及蛋白表达水平升高 ($P < 0.05$)。**结论:** 姜黄素联合粪菌移植可改善 UC 小鼠结肠组织病理损伤, 抑制炎症因子分泌, 促进肠黏膜修复。

[关键词] 溃疡性结肠炎; 炎症因子; 姜黄素; 粪菌移植; 葡聚糖硫酸钠

[中图分类号] R285.5; R574.62 **[文献标志码]** A

Improvement effect of curcumin combined with fecal bacteria transplantation on mice with ulcerative colities induced by DSS

LIU Yang, LU Ming, HONG Wen, HUANG Kelin

(Department of Anorectal Surgery, First Affiliated Hospital, Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, China)

[收稿日期] 2023-02-22

[基金项目] 新疆维吾尔自治区科技厅自然科学基金项目 (2021D01C332)

[作者简介] 刘 扬 (1988-), 男, 河北省衡水市人, 主治医师, 医学硕士, 主要从事结直肠肛肠外科方面的研究。

[通信作者] 路 明, 主任医师, 教授, 硕士研究生导师 (E-mail: zai51881074d@163.com)

ABSTRACT Objective: To discuss the improvement effect of curcumin combined with fecal bacteria transplantation on the mice with dextran sulfate sodium (DSS)-induced ulcerative colitis (UC), and to clarify the related mechanism. **Methods:** Fifty mice were randomly divided into control, model, curcumin, fecal bacteria transplantation, and combination groups. Except for the mice in control group (given distilled water), the mice in the other groups were given distilled water containing 2% DSS to establish the UC models. The mice in curcumin group were gavaged with 0.4 mL of $60 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ curcumin solution once per day for 10 d; the mice in fecal bacteria transplantation group underwent enema with 0.2 mL of fecal bacteria suspension once per day for 10 d; the mice in combination group received the enema of 0.2 mL fecal bacteria suspension and gavaged with 0.4 mL of $60 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ curcumin solution. At the end of the experiment, the disease activity index (DAI) and colon macroscopic damage index (CDMI) of the mice in various groups were calculated; the morphology of colon tissue of the mice in various groups was detected by HE staining; the levels of interleukin (IL)- 1β , tumor necrosis factor- α (TNF- α), IL-4, and IL-10 in colon tissue of the mice in various groups were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) method; the expression levels of occludin and zonula occludens-1 (ZO-1) mRNA and proteins in colon tissue of the mice in various groups were detected by real-time fluorescence quantitative (RT-qPCR) and Western blotting methods. **Results:** The intestinal mucosal epithelial structure of the mice in control group was intact and continuous with regular glandular arrangement and without inflammatory cell infiltration or ulceration; the intestinal mucosal epithelial structure of the mice in model group exhibited loss of colonic mucosal epithelium, disordered glandular arrangement, reduced goblet cells, congestion and edema in mucosal and submucosal layers, and extensive infiltration of inflammatory cells with widespread small ulcers; the intestinal mucosal epithelial structure of the mice in curcumin, fecal bacteria transplantation, and combination groups exhibited relatively intact colonic mucosal epithelial structures with reduced inflammatory cell infiltration and ameliorated mucosal and submucosal congestion and edema. Compared with control group, the DAI and CDMI of the mice in model group were increased ($P < 0.05$), the levels of IL- 1β and TNF- α were increased ($P < 0.05$), the levels of IL-4 and IL-10 were decreased ($P < 0.05$), and the expression levels of occludin and ZO-1 mRNA and proteins were decreased ($P < 0.05$); compared with model group, the DAI and CDMI of the mice in curcumin, fecal bacteria transplantation, and combination groups were decreased ($P < 0.05$), the levels of IL- 1β and TNF- α were decreased ($P < 0.05$), the levels of IL-4 and IL-10 were increased ($P < 0.05$), and the expression levels of occludin and ZO-1 mRNA and proteins were increased ($P < 0.05$). Compared with curcumin group and fecal bacteria transplantation group, the DAI and CDMI of the mice in combination group were decreased ($P < 0.05$), the levels of IL- 1β and TNF- α were decreased ($P < 0.05$), the levels of IL-4 and IL-10 were increased ($P < 0.05$), and the expression levels of occludin and ZO-1 mRNA and proteins were increased ($P < 0.05$). **Conclusion:** Curcumin combined with fecal bacteria transplantation can ameliorate the pathological damage in colonic tissue of the UC mice, inhibit the secretion of inflammatory factors, and promote the repairment of intestine mucosa.

KEYWORDS Ulcerative colitis; Inflammatory factor; Curcumin; Fecal bacteria transplantation; Dextran sulphate sodium

溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 是一种消化系统常见的慢性非特异性炎症性肠道疾病, 其临床表现为腹痛、腹泻和血便等。目前, UC 的发病机制尚不明确, 可能是环境、遗传、肠道微生物和免疫功能失调等多因素共同作用的结果^[1]。姜黄素是由姜黄中提取的多酚类物质, 具有抗炎、抗肿

瘤和抗微生物等多种生物活性。研究^[2]显示: 姜黄素联合阿托伐他汀可通过调节自噬相关蛋白表达水平, 降低氧化应激水平, 进而减轻 UC 小鼠临床症状。临床研究^[3]显示: 姜黄素联合美沙拉嗪治疗轻中度 UC 患者具有良好的疗效, 且不良反应少。粪菌移植是将健康人粪便中的功能菌群移植到

患者肠道内,以达到重建具有正常功能的肠道菌群目的,常用于治疗肠道或肠道外某些疾病^[4]。研究^[5]显示:将健康小鼠粪便菌群移植到UC小鼠肠道后,通过调节免疫细胞平衡可减轻UC小鼠症状。姜黄素或粪菌移植在UC中发挥的保护作用已多有报道,但是二者联合应用是否能够发挥更明显的保护作用目前尚未明确。本研究通过姜黄素和粪菌移植联合治疗UC小鼠,以探讨二者联合应用的效果,为UC的治疗提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物、主要试剂和仪器 SPF级雄性C57BL/6J小鼠50只,8周龄,体质量20~24 g,购自中国科学院动物研究所,动物使用许可证号:SYXK(京)2021-0063。姜黄素(纯度 $\geq 98\%$)购自四川维克奇生物科技有限公司。葡聚糖硫酸钠(dextran sulphate sodium, DSS)购自上海源叶生物科技有限公司,HE试剂盒购自上海碧云天生物科技有限公司,白细胞介素(interleukin, IL)-1 β 、IL-4、IL-10和肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)检测试剂盒购自南京建成生物工程研究所,实时荧光定量PCR(real-time fluorescence quantitative PCR, RT-qPCR)反转录试剂盒和SYBR-Green试剂盒购自美国Qiagen公司,闭合蛋白(occludin)和闭锁小带蛋白1(zonula occluden-1, ZO-1)抗体购自美国Abcam公司,occludin和ZO-1引物序列由广州锐博生物科技有限公司设计合成。多功能酶标仪购自美国Bio-Rad公司,电泳仪购自北京六一仪器厂,倒置显微镜购自日本奥林巴斯公司。

1.2 粪菌制备^[6] 取10只正常小鼠的新鲜晨便5 g,溶于10 mL无菌生理盐水中,分别经2.00、1.00、0.50和0.25 mm不锈钢筛过滤,6 000 g离心15 min,收集菌体,无菌生理盐水清洗3次,25 mL无菌生理盐水重悬,置于4℃冰箱中保存备用。

1.3 动物分组、模型制备和处理 所有小鼠适应性喂养3 d后,随机分为对照组、模型组、姜黄素组、粪菌移植组和联合组,每组10只,除对照组小鼠外,其余各组小鼠自由饮用含2% DSS的蒸馏水,建立UC模型,对照组小鼠继续饮用纯净水,连续饮用10 d。姜黄素组小鼠灌胃给予60 mg \cdot kg⁻¹姜黄素溶液0.4 mL,对照组、模型组和粪移植组小鼠灌胃给予等量生理盐水,每日1次,连续10 d;粪

菌移植组小鼠灌肠给予0.2 mL粪菌液,姜黄素组、对照组和模型组小鼠灌肠给予0.2 mL生理盐水,每日1次,持续10 d;联合组小鼠给予0.2 mL粪菌液灌肠后,再给予60 mg \cdot kg⁻¹姜黄素溶液0.4 mL灌胃,每日1次,连续10 d。

1.4 各组小鼠疾病活动指数(disease activity index, DAI)测定^[7] 各组小鼠自饮用含2% DSS蒸馏水之日起,每日记录小鼠体质量和粪便性状,根据大便隐血检测试纸进行大便隐血测试,计算DAI, DAI=(体质量下降率评分+粪便性状评分+粪便隐血评分)/3。体质量下降率评分:体质量未下降计0分,下降1%~5%计1分,下降6%~10%计2分,下降11%~15%计3分,下降 $>15\%$ 计4分。粪便性状评分:正常,0分;松散,2分;稀便,4分。粪便隐血评分:正常,0分;隐血阳性,2分;肉眼可见血便,4分。

1.5 各组小鼠结肠大体形态损伤指数(colon macroscopic damage index, CDMI)测定 末次给药结束后2 h,颈椎脱臼法处死小鼠,打开腹腔,取出病变结肠组织,沿肠系膜纵向切开,观察结肠黏膜溃疡、糜烂和增生情况。参照文献[8]进行CDMI测定。CDMI测定标准:黏膜无损伤计0分,黏膜充血计1分,溃疡面积 $<$ 受损面积的25%计2分,溃疡面积介于受损面积的26%~50%之间计3分,溃疡面积 $>$ 受损面积的50%计4分。

1.6 HE染色观察各组小鼠结肠组织病理形态表现 取部分病变结肠组织,置于4%多聚甲醛中固定24 h,经常规脱水、包埋和切片后,根据HE试剂盒说明书进行HE染色,中性树胶封片,显微镜下观察各组小鼠结肠组织病理形态表现。

1.7 酶联免疫吸附试验(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)法检测各组小鼠结肠组织中炎症因子水平 取小鼠部分病变结肠组织,加入生理盐水,匀浆机匀浆,4℃、3 000 r \cdot min⁻¹离心15 min,取上清液为待测样品。严格按照ELISA试剂盒说明书步骤进行操作,置于酶标仪上检测波长490 nm处吸光度(A)值,根据标准曲线计算IL-1 β 、TNF- α 、IL-4和IL-10水平。

1.8 RT-qPCR法检测各组小鼠结肠组织中occludin和ZO-1 mRNA表达水平 取各组小鼠病变结肠组织80 mg,加入TRIzol试剂提取组织中总RNA,取1 μ g总RNA进行逆转录反应,将RNA逆转录为cDNA,以cDNA为模板,SYBR Green

为荧光标记物, GAPDH为内参, 进行扩增。扩增条件: 95 °C、30 s, 95 °C、15 s, 62 °C、20 s, 共40个循环。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算目的基因相对表达水平。引物序列: occludin, F 5'-AGGTCGGTGTG-AACGGATTTG-3', R 5'-GGGGTCGTTGATG-GCAACA-3'; ZO-1, F 5'-ACCACCAACCCGA-GAAGAC-3', R 5'-CAGGAGTCATGGACGCA-CA-3'; GAPDH, F 5'-TGGCCTTCCGTGTTCTAC-3', R 5'-TGTAGACCATGTAGTTGAG-GTCA-3'。

1.9 Western blotting法检测各组小鼠结肠组织中occludin和ZO-1蛋白表达水平 取各组小鼠病变结肠组织100 mg, 剪碎, 研磨, RIPA裂解30 min, 4 °C、12 000 r·min⁻¹离心10 min, 收集上清液, BCA法测定蛋白浓度, 加入上样缓冲液, 煮沸变性。经120 V电泳、0.3 A湿转后, 5%脱脂奶粉封闭1 h, occludin和ZO-1抗体(1:1 000)4 °C孵育过夜, 二抗(1:5 000)室温孵育1 h, TBST缓冲液洗膜, ECL发光液显影, 采用Image J软件分析蛋白条带灰度值, 计算目的蛋白表达水平。目的蛋白表达水平=目的蛋白条带灰度值/GAPDH蛋白条带灰度值。

1.10 统计学分析 采用SPSS 21.0统计软件进行统计学分析。各组小鼠DAI和CDMI, 结肠组织中炎症因子水平及occludin和ZO-1 mRNA和蛋白表达水平均符合正态分布, 以 $\bar{x}\pm s$ 表示, 多组间样本均数比较采用单因素方差分析, 组间样本均数两两比较采用LSD-*t*检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计

学意义。

2 结果

2.1 各组小鼠DAI和CDMI 与对照组比较, 模型组小鼠DAI和CDMI升高($P<0.05$); 与模型组比较, 姜黄素组、粪菌移植组和联合组小鼠DAI和CDMI降低($P<0.05$); 分别与姜黄素组和粪菌移植组比较, 联合组小鼠DAI和CDMI降低($P<0.05$)。见表1。

表1 各组小鼠DAI和CDMI

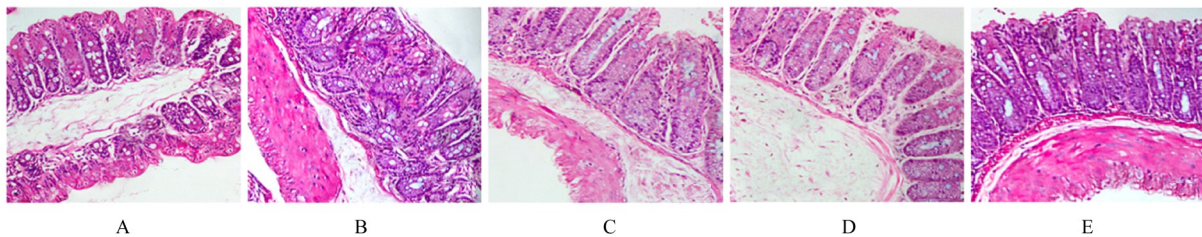
Tab. 1 DAI and CDMI of mice in various groups

($n=10, \bar{x}\pm s$)

Group	DAI	CDMI
Control	0.37±0.11	0.51±0.14
Model	4.03±0.79*	3.79±0.45*
Curcumin	3.62±0.75 [△]	3.22±0.50 [△]
Fecal bacteria transplantation	2.75±0.62 [△]	2.64±0.46 [△]
Combination	2.01±0.65 ^{△#○}	1.37±0.35 ^{△#○}

* $P<0.05$ vs control group; [△] $P<0.05$ vs model group; [#] $P<0.05$ vs curcumin group; [○] $P<0.05$ vs fecal bacteria transplantation group.

2.2 各组小鼠结肠组织病理形态表现 对照组小鼠结肠黏膜上皮结构完整、连续, 腺体排列规则, 无炎性细胞浸润和溃疡; 模型组小鼠结肠黏膜上皮脱落, 腺体排列紊乱, 杯状细胞减少, 黏膜和黏膜下层充血水肿, 大量炎性细胞浸润, 弥漫分布小溃疡; 姜黄素组、粪菌移植组和联合组小鼠结肠黏膜上皮结构相对完整, 炎性细胞浸润减少, 黏膜和黏膜下层充血水肿减轻。见图1。



A: Control group; B: Model group; C: Curcumin group; D: Fecal bacteria transplantation group; E: Combination group.

图1 各组小鼠结肠组织病理形态表现(HE, ×400)

Fig. 1 Pathomorphology of colon tissue of mice in various groups (HE, ×400)

2.3 各组小鼠结肠组织中炎症因子水平 与对照组比较, 模型组小鼠结肠组织中IL-1 β 和TNF- α 水平升高($P<0.05$), IL-4和IL-10水平降低($P<0.05$); 与模型组比较, 姜黄素组、粪菌移植组和

联合组小鼠结肠组织中IL-1 β 和TNF- α 水平降低($P<0.05$), IL-4和IL-10水平升高($P<0.05$); 分别与姜黄素组和粪菌移植组比较, 联合组小鼠结肠组织中IL-1 β 和TNF- α 水平降低($P<0.05$),

IL-4和IL-10水平升高($P<0.05$)。见表2。

2.4 各组小鼠结肠组织中occludin和ZO-1 mRNA及蛋白表达水平 与对照组比较,模型组小鼠结肠组织中occludin和ZO-1 mRNA及蛋白表达水平降低($P<0.05$);与模型组比较,姜黄素组、粪菌

移植组和联合组小鼠结肠组织中occludin和ZO-1 mRNA及蛋白表达水平升高($P<0.05$);分别与姜黄素组和粪菌移植组比较,联合组小鼠结肠组织中occludin和ZO-1 mRNA及蛋白表达水平升高($P<0.05$)。见表3和图2。

表2 各组小鼠结肠组织中炎症因子水平

Tab. 2 Levels of inflammatory cytokines in colon tissue of mice in various groups [$n=10, \bar{x} \pm s, \rho_B / (\text{ng} \cdot \text{L}^{-1})$]

Group	IL-1 β	TNF- α	IL-4	IL-10
Control	23.85 \pm 6.05	47.83 \pm 8.78	94.57 \pm 8.74	162.84 \pm 13.44
Model	184.77 \pm 12.92*	162.40 \pm 13.54*	11.25 \pm 2.59*	73.90 \pm 8.76*
Curcumin	151.62 \pm 13.05 Δ	131.28 \pm 13.94 Δ	38.66 \pm 6.08 Δ	128.47 \pm 11.76 Δ
Fecal bacteria transplantation	142.58 \pm 12.08 Δ	134.89 \pm 11.12 Δ	42.79 \pm 8.59 Δ	122.84 \pm 12.41 Δ
Combination	119.64 \pm 13.00 Δ # \circ	72.94 \pm 9.02 Δ # \circ	81.64 \pm 7.98 Δ # \circ	149.56 \pm 11.12 Δ # \circ

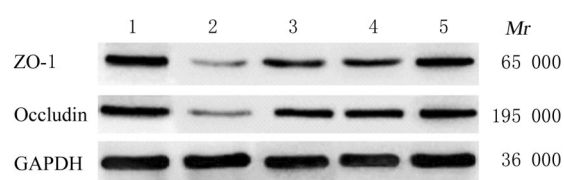
* $P<0.05$ vs control group; $\Delta P<0.05$ vs model group; # $P<0.05$ vs curcumin group; $\circ P<0.05$ vs fecal bacteria transplantation group.

表3 各组小鼠结肠组织中occludin和ZO-1 mRNA及蛋白表达水平

Tab. 3 Expression levels of occludin and ZO-1 mRNA and protein in colon tissue of mice in various groups ($n=10, \bar{x} \pm s$)

Group	Occludin		ZO-1	
	mRNA	Protein	mRNA	Protein
Control	1.09 \pm 0.04	0.83 \pm 0.03	0.94 \pm 0.07	0.73 \pm 0.02
Model	0.36 \pm 0.02*	0.10 \pm 0.01*	0.23 \pm 0.05*	0.06 \pm 0.01*
Curcumin	0.58 \pm 0.02 Δ	0.47 \pm 0.03 Δ	0.35 \pm 0.04 Δ	0.41 \pm 0.02 Δ
Fecal bacteria transplantation	0.75 \pm 0.03 Δ	0.50 \pm 0.02 Δ	0.55 \pm 0.06 Δ	0.38 \pm 0.02 Δ
Combination	0.86 \pm 0.05 Δ # \circ	0.67 \pm 0.03 Δ # \circ	0.79 \pm 0.07 Δ # \circ	0.66 \pm 0.02 Δ # \circ

* $P<0.05$ vs control group; $\Delta P<0.05$ vs model group; # $P<0.05$ vs curcumin group; $\circ P<0.05$ vs fecal bacteria transplantation group.



Lane 1: Control group; Lane 2: Model group; Lane 3: Curcumin group; Lane 4: Fecal bacteria transplantation group; Lane 5: Combination group.

图2 Western blotting法检测各组小鼠结肠组织中occludin和ZO-1蛋白表达电泳图

Fig. 2 Electrophoregram of expressions of occludin and ZO-1 proteins in colon tissue of mice in various groups detected by Western blotting method

3 讨论

UC患者肠道菌群失调并伴有肠屏障功能减弱,致使肠道“渗漏”增加,导致肠黏膜上皮直接暴露于大量肠道菌群中,从而引起组织损伤和炎症

反应^[9]。因此改善肠道菌群失调,维持菌群正常功能对治疗UC具有重要意义。DSS是一种人工合成的硫酸多糖,研究^[10-11]显示:DSS造成的结肠组织病理损伤接近于UC患者,通过引起肠道免疫失调、菌群失调、抑制上皮细胞增生和破坏肠黏膜屏障引起结肠损伤。因此本研究通过给予小鼠自由饮用含2% DSS的蒸馏水建立UC模型,探讨姜黄素和粪菌移植对UC小鼠的治疗作用。

一项双盲临床试验^[12]结果显示:70例轻中度UC患者经姜黄素治疗后DAI降低,炎症反应被抑制,患者生活质量明显提高。WANG等^[13]研究表明:姜黄素通过调节辅助性T淋巴细胞(T helper cells, Th),从而减轻UC小鼠免疫失衡,缓解DSS诱导的结肠炎。粪菌移植可使UC小鼠肠道菌群结构发生改变,增强有益菌群数量,抑制有害菌群生长^[14]。ZHANG等^[15]研究表明:粪便菌群移植能够通过调节肠道菌群改善免疫细胞失衡进而控

制实验性 UC。在本研究中姜黄素和粪菌移植对 UC 小鼠发挥的保护作用与以上相关报道具有一致性, 姜黄素组、粪菌移植组和联合组小鼠结肠黏膜上皮结构相对完整, 炎性细胞浸润减少, 黏膜及黏膜下层充血水肿减轻, 以联合组小鼠病变结肠组织病理形态改善最为明显。此外, 本研究中姜黄素和粪菌移植联合应用后 UC 小鼠 DAI 和 CDMI 明显降低, 表明姜黄素联合粪菌移植可有效减轻 UC 小鼠症状和结肠组织病理表现。UC 病变以肠道炎症和溃疡为主, 促炎因子和抗炎因子之间的平衡失调在病变过程中起重要作用^[16]。TNF- α 和 IL-1 β 是 UC 病变过程中主要的促炎细胞因子, 而 IL-10 和 IL-4 则发挥相反作用^[17]。研究^[18]证实: UC 小鼠结肠组织中 TNF- α 和 IL-1 β 水平升高, 二氢青蒿素可降低 TNF- α 和 IL-1 β 水平, 改善 UC 小鼠结肠病理改变。临床研究^[19]表明: IL-6、TNF- α 和 IL-10 水平变化可能与粪菌移植可缓解轻中度 UC 患者症状有关。本研究结果显示: UC 模型组小鼠病变结肠组织中 IL-1 β 和 TNF- α 水平升高, IL-4 和 IL-10 水平降低, 而姜黄素组、粪菌移植组和联合组小鼠结肠组织中 IL-1 β 和 TNF- α 水平降低, IL-4 和 IL-10 水平升高, 其中以联合组小鼠各指标改变最明显, 表明姜黄素联合粪菌移植可明显减轻 UC 小鼠结肠组织炎症反应。

肠黏膜结构和功能完整性是防御有害刺激的有利屏障, 由上皮细胞层和表面的黏液层构成, 可有效阻断肠腔内细菌、毒素和炎性介质的入侵及转运, 而肠黏膜上皮细胞间的紧密连接是实现保护作用的基础, 主要由紧密连接蛋白构成, 其中主要包括 occludin 和 ZO-1, 二者的表达水平在一定程度上提示了肠黏膜屏障功能的变化^[20-21]。occludin 和 ZO-1 表达水平升高可抑制溃疡性结肠炎小鼠肠上皮细胞凋亡^[22]。另有研究^[23]显示: 发酵糯米提取物通过上调 occludin 和 ZO-1 蛋白表达, 减轻肠道炎症反应, 具有保护肠道屏障功能完整性的作用。本研究结果显示: 模型组小鼠病变结肠组织中 occludin 和 ZO-1 mRNA 及蛋白表达水平降低, 姜黄素组、粪菌移植组和联合组小鼠病变结肠组织中 occludin 和 ZO-1 mRNA 及蛋白表达水平升高, 其中以联合组小鼠升高最明显, 表明姜黄素联合粪菌移植可促进 occludin 和 ZO-1 蛋白表达, 维护肠黏膜结构和功能完整性。

综上所述, 姜黄素联合粪菌移植可有效改善

UC 小鼠肠黏膜损伤, 减轻 UC 小鼠临床症状和结肠组织炎症反应, 本研究结果为临床治疗 UC 提供了理论依据。

利益冲突声明:

所有作者声明不存在利益冲突。

作者贡献声明:

刘扬参与研究方案设计和论文撰写, 路明参与论文审核, 洪文参与动物实验和数据收集整理, 黄克林参与动物模型制备。

[参考文献]

- [1] SHARARA A I, AWADHI S A, ALHARBI O, et al. Epidemiology, disease burden, and treatment challenges of ulcerative colitis in Africa and the Middle East [J]. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*, 2018, 12(9): 883-897.
- [2] 杨 坤, 孟 捷, 高 霞, 等. 姜黄素联合阿托伐他汀对溃疡性结肠炎小鼠的保护作用及机制研究 [J]. *世界中医药*, 2022, 17(2): 182-186.
- [3] 朱立伟, 朱达坚. 姜黄素联合美沙拉嗪治疗轻中度溃疡性结肠炎的临床观察 [J]. *广东医学*, 2019, 40(20): 2921-2924.
- [4] 林艺娟, 丁 健, 黄循铷, 等. 粪菌移植对小鼠实验性结肠炎 TLR4 信号通路及肠黏膜屏障的影响 [J]. *中国微生态学杂志*, 2021, 33(3): 256-263, 270.
- [5] 翁剑锋, 徐 佳, 刘 朋, 等. 粪菌移植干预治疗溃疡性结肠炎的免疫学机制研究 [J]. *中国全科医学*, 2022, 25(3): 298-304.
- [6] 代文洁, 张静阳, 曹平安. 粪菌移植对 DSS 诱导的实验性结肠炎小鼠影响 [J]. *中国保健营养*, 2019, 29(1): 7-8.
- [7] 李亚兰, 刘佳静, 马沛广, 等. 葛根芩连汤调控 MMP-9/p38 MARK 途径修复溃疡性结肠炎小鼠肠黏膜上皮屏障功能 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2021, 27(4): 8-15.
- [8] 徐 磊, 沈 雁, 钟继红, 等. 姜黄素对溃疡性结肠炎小鼠 Th17 细胞分化相关因子表达水平的影响 [J]. *中国现代应用药学*, 2020, 37(1): 14-18.
- [9] DU L, HA C. Epidemiology and pathogenesis of ulcerative colitis [J]. *Gastroenterol Clin North Am*, 2020, 49(4): 643-654.
- [10] YAN Y X, SHAO M J, QI Q, et al. Artemisinin analogue SM934 ameliorates DSS-induced mouse ulcerative colitis via suppressing neutrophils and macrophages [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2018, 39(10): 1633-1644.
- [11] 夏翩翩, 邓飞鸿. YAP 蛋白通过激活 STAT3 调控肠上

- 皮细胞增殖在DSS诱导肠炎及相关肠癌中的作用[J]. 中南大学学报(医学版), 2022, 47(12): 1637-1645.
- [12] SADEGHI N, MANSOORI A, SHAYESTEH A, et al. The effect of curcumin supplementation on clinical outcomes and inflammatory markers in patients with ulcerative colitis[J]. *Phytother Res*, 2020, 34(5): 1123-1133.
- [13] WANG H Y, GE W, LIU S Q, et al. Curcumin inhibits T follicular helper cell differentiation in mice with dextran sulfate sodium (DSS)-induced colitis[J]. *Am J Chin Med*, 2022, 50(1): 275-293.
- [14] PARAMSOTHY S, NIELSEN S, KAMM M A, et al. Specific bacteria and metabolites associated with response to fecal microbiota transplantation in patients with ulcerative colitis[J]. *Gastroenterology*, 2019, 156(5): 1440-1454.e2.
- [15] ZHANG L C, MA X F, LIU P, et al. Treatment and mechanism of fecal microbiota transplantation in mice with experimentally induced ulcerative colitis [J]. *Exp Biol Med*, 2021, 246(13): 1563-1575.
- [16] WANG S Y, GUO C, ZHANG T, et al. Tiaochang Xiaoyan extract tablets ameliorate chronic inflammation by activating macrophage lysosomes in chronic colitis rats[J]. *Ann Palliat Med*, 2021, 10(2): 2203-2216.
- [17] XU Y Y, FENG H Y, ZHANG Z Y, et al. The protective role of *Scorias spongiosa* polysaccharide-based microcapsules on intestinal barrier integrity in DSS-induced colitis in mice[J]. *Foods*, 2023, 12(3): 669.
- [18] JIANG M R, ZHONG G J, ZHU Y C, et al. Retardant effect of dihydroartemisinin on ulcerative colitis in a JAK2/STAT3-dependent manner [J]. *Acta Biochim Biophys Sin*, 2021, 53(9): 1113-1123.
- [19] HUANG C L, HUANG Z H, DING L, et al. Fecal microbiota transplantation versus glucocorticoids for the induction of remission in mild to moderate ulcerative colitis[J]. *J Transl Med*, 2022, 20(1): 354.
- [20] ZHU L, XU L Z, 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(12): 5449-5460.
- [21] WANG J, ZHANG C L, GUO C M, et al. Chitosan ameliorates DSS-induced ulcerative colitis mice by enhancing intestinal barrier function and improving microflora[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(22): 5751.
- [22] REN M T, GU M L, ZHOU X X, et al. Sirtuin 1 alleviates endoplasmic reticulum stress-mediated apoptosis of intestinal epithelial cells in ulcerative colitis[J]. *World J Gastroenterol*, 2019, 25(38): 5800-5813.
- [23] KIM K Y, SON J D, HWANG S J, et al. Fermented glutinous rice extract mitigates DSS-induced ulcerative colitis by alleviating intestinal barrier function and improving gut microbiota and inflammation [J]. *Antioxidants*, 2023, 12(2): 336.