

基于肠道菌群-色氨酸代谢-芳香烃受体轴探讨黄芩汤改善溃疡性结肠炎的作用机制^Δ

陈颖*,徐荣,何瑶,李英,张之雨,吴至久[#](川北医学院附属医院中西医结合肛肠科,四川南充637000)

中图分类号 R965;R285 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2026)09-1173-07

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2026.09.11



摘要 目的 探讨黄芩汤通过肠道菌群-色氨酸代谢-芳香烃受体(AhR)轴改善溃疡性结肠炎(UC)的机制。方法 将小鼠随机分为正常组(生理盐水)、模型组(生理盐水)、菌群消耗-模型组(生理盐水)、菌群消耗-黄芩汤组(9.1 g/kg,以生药量计;下同)、黄芩汤组及美沙拉嗪组(阳性对照组,0.4 g/kg),每组6只。通过自由饮用抗菌药物混合液10 d消耗菌群,自由饮用2.5%葡聚糖硫酸钠溶液7 d构建UC模型。造模成功后,各组小鼠灌胃相应药液/生理盐水,每天1次,连续10 d。末次给药后,测定小鼠体重变化比、疾病活动指数(DAI)评分、结肠长度,观察结肠病理学变化,检测血清中白细胞介素6(IL-6)、IL-10、IL-22、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)含量以及结肠组织中闭合蛋白(Occludin)、闭锁小带蛋白1(ZO-1)、AhR的表达,并对小鼠粪便进行高通量测序和色氨酸靶向代谢组学分析。结果 与模型组比较,黄芩汤组小鼠结肠组织炎症细胞浸润减少,肠黏膜结构恢复;体重变化比、结肠长度、血清中IL-10含量和结肠组织中Occludin、ZO-1、AhR表达水平以及色氨酸代谢物吲哚-3-丙酸(IPA)、*N*-乙酰-5-羟色胺(NAS)、吲哚-3-乙酸(IAA)含量均显著升高/增加($P<0.05$);DAI评分以及血清中IL-6、TNF- α 、IL-22含量和色氨酸代谢物吲哚-3-乙醇含量均显著降低($P<0.05$);肠道菌群结构改善,乳杆菌属等有益菌的相对丰度呈升高趋势,大肠埃希氏菌-志贺氏菌属等致病菌的相对丰度呈降低趋势。然而,抗菌药物消耗菌群后,黄芩汤虽能显著升高小鼠粪便中NAS含量,但结肠组织中AhR蛋白表达未同步显著回升。结论 黄芩汤可通过调控肠道菌群,促进IPA、IAA产生,从而激活AhR,进而修复UC小鼠肠黏膜屏障;完整肠道菌群是黄芩汤发挥AhR调控作用的重要前提。

关键词 黄芩汤;溃疡性结肠炎;肠道菌群;色氨酸代谢;芳香烃受体

Mechanism of Huangqin decoction in improving ulcerative colitis based on the gut microbiota-tryptophan metabolism-aryl hydrocarbon receptor axis

CHEN Ying, XU Rong, HE Yao, LI Ying, ZHANG Zhiyu, WU Zhijiu (Anorectal Department of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, the Affiliated Hospital of North Sichuan Medical College, Sichuan Nanchong 637000, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE** To investigate the mechanism of Huangqin decoction in improving ulcerative colitis (UC) through the gut microbiota-tryptophan metabolism-aryl hydrocarbon receptor (AhR) axis. **METHODS** Mice were randomly divided into normal group (normal saline), model group (normal saline), microbiota depletion-model group (normal saline), microbiota depletion-Huangqin decoction group (9.1 g/kg, by crude drug, similarly hereinafter), Huangqin decoction group and mesalazine group (positive control group, 0.4 g/kg), with 6 mice in each group. Microbiota depletion was achieved by providing free access to a mixed antibiotics for 10 days. The UC model was induced by administering 2.5% dextran sulfate sodium solution for 7 days. After successful modeling, each treatment group received corresponding drugs or normal saline intragastrically once daily for 10 days. After the final administration, body weight change ratio, disease activity index (DAI) score, and colon length were evaluated; colon pathological changes were observed; serum levels of interleukin-6 (IL-6), IL-10, IL-22, and tumor necrosis factor- α (TNF- α) were measured; the expressions of Occludin, zonula occluden-1 (ZO-1), and AhR in colon tissue were detected; fecal samples were subjected to high-throughput sequencing to analyze targeted tryptophan metabolomics. **RESULTS** Compared with the model group, Huangqin decoction group showed reduced infiltration of inflammatory cells in the colon tissue and restoration of the intestinal mucosal structure. Body weight change ratio, colon length, serum content of IL-10, the

^Δ 基金项目 四川省中医药管理局科学技术研究专项(No. 25MSZX567)

* 第一作者 硕士研究生。研究方向:中西医治疗肛肠疾病。
E-mail: yingchen9701@163.com

[#] 通信作者 教授,硕士生导师。研究方向:中西医治疗肛肠疾病。
E-mail: wzj549nc@126.com

expressions of Occludin, ZO-1 and AhR in colon tissue and the contents of tryptophan metabolites indole-3-propionic acid (IPA), *N*-acetylserotonin (NAS) and indole-3-acetic acid (IAA) were all significantly increased ($P<0.05$); DAI score, serum levels of IL-6, TNF- α , and IL-22 and the content of tryptophan metabolite indole-3-ethanol were significantly decreased ($P<0.05$); gut microbiota structure was improved, with increased relative abundances of beneficial bacteria such as *Lactobacillus*, and decreased relative abundances of pathogenic bacteria such as *Escherichia-Shigella*. However, after antibiotic-induced microbiota depletion, although Huangqin decoction significantly increased the content of NAS in the feces of mice, the expression of AhR protein in colon tissue did not increase concurrently. **CONCLUSIONS** Huangqin decoction can repair the intestinal mucosal barrier in UC mice by regulating the gut microbiota and promoting the production of IPA and IAA, thereby activating AhR. This suggests that an intact gut microbiota is an important prerequisite for Huangqin decoction to exert its AhR-regulating effects.

KEYWORDS Huangqin decoction; ulcerative colitis; gut microbiota; tryptophan metabolism; aryl hydrocarbon receptor

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是一种临床常见的慢性非特异性肠道炎症性疾病,以持续黏膜炎症为特征,以腹泻、黏液脓血便、腹痛等为典型表现^[1]。近年来,随着经济发展,人们生活水平提高、饮食结构改变,UC的发病率呈上升趋势^[2]。由于UC病因不明确、病情反复,现有治疗手段有限。目前,临床主要使用5-氨基水杨酸类药物、皮质类固醇、生物制剂等来缓解UC症状,但患者长期使用这些药物不良反应明显(如出现皮疹、骨质疏松、免疫力下降等),医疗负担较重^[3]。

UC发病机制尚不明确。有关研究表明,UC主要与遗传因素、环境因素及免疫异常有关^[4];此外,肠道菌群紊乱可打破肠道稳态,也是引发UC的原因之一^[5]。另有研究表明,UC患者结肠组织病理变化的基础特征之一是肠黏膜屏障破坏,而肠黏膜屏障是维持肠道内环境稳定的第一道屏障,在UC的病程进展中起关键作用^[6]。芳香烃受体(aryl hydrocarbon receptor, AhR)在维持肠道或皮肤等器官功能方面具有重要作用,肠道菌群可将部分色氨酸转化为吲哚-3-丙酸(indole-3-propionic acid, IPA)、吲哚-3-乙酸(indole-3-acetic acid, IAA)、吲哚-3-乙醇(indole-3-ethanol, IET)等AhR配体,这些配体物质可通过激活AhR保护肠道屏障,促进肠道免疫稳态^[7-8]。这提示肠道菌群-色氨酸代谢-AhR轴在UC的发生发展中具有重要作用。

黄芩汤源于张仲景的《伤寒论》,由黄芩、白芍、炙甘草、大枣组成,具有清热止利、和中止痛的功效,为治疗里热下痢之经典方剂。研究显示,黄芩汤具有抗炎、调节免疫、改善肠黏膜通透性等多种药理作用,对UC具有较好疗效^[9]。然而,黄芩汤是否通过调控肠道菌群影响色氨酸代谢,进而刺激AhR信号通路尚不清楚。鉴于此,本研究拟通过建立UC小鼠模型,并结合四联抗菌药物的菌群消耗干预,通过有效清除肠道菌群,从肠道菌群-色氨酸代谢-AhR轴的角度出发,探讨黄芩汤对UC小鼠肠道菌群及其色氨酸代谢产物的影响,为阐明黄芩汤治疗UC的作用及可能机制提供参考。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用的主要仪器包括:BX53型正置显微镜(日本Olympus公司),Sub-Cell GT型电泳仪、iMark型酶标仪、ChemIDoc XRS+型凝胶成像系统(美国Bio-Rad公司),RM2235型病理切片机(上海徕卡仪器有限公司)等。

1.2 主要药品与试剂

黄芩、白芍、炙甘草、大枣饮片(批号分别为240403、241010、241015、20241202)均购自川北医学院附属医院中药房,均经川北医学院药学院李生茂教授鉴定为真品。葡聚糖硫酸钠(dextran sulfate sodium, DSS;批号C16449578)、盐酸万古霉素(USP级,批号C16515590)、氨苄青霉素钠(USP级,批号C117048330)、硫酸新霉素(USP级,批号C16865077)、甲硝唑(纯度99%,批号C16808449)均购自上海麦克林生化科技股份有限公司;美沙拉嗪肠溶片(规格0.25 g/片,批号250113)购自葵花药业集团佳木斯鹿灵制药有限公司;小鼠白细胞介素6(interleukin-6, IL-6)、IL-10、IL-22和肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)酶联免疫吸附分析(ELISA)试剂盒(货号分别为ml063159、ml002095、ml037873、ml063138)均购自上海酶联生物科技有限公司;兔源闭合蛋白(Occludin)、闭锁小带蛋白1(zonula occluden-1, ZO-1)、AhR、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)抗体(货号分别为BM4832、PB9234、A00225-4、A00227-1)均购自武汉博士德生物工程有限公司;辣根过氧化物酶(HRP)标记的羊抗兔免疫球蛋白G(IgG)二抗(货号AS014)购自武汉爱博泰克生物科技有限公司。

1.3 实验动物

本研究所用动物为健康状态良好的SPF级雄性C57BL/6J小鼠,共42只,8周龄,体重20~22 g,购自川北医学院动物实验中心[动物生产许可证号为SCXK(川)2023-0076]。小鼠饲养于川北医学院动物实验中心清洁级动物房内。动物饲养环境温度(21 \pm 2) $^{\circ}$ C、相

对湿度为(50±15)%,12 h明/12 h暗循环。本研究动物实验已获川北医学院实验动物伦理委员会批准(动物伦理编号:NSMC伦理动物审[2025]036号)。

2 方法

2.1 药液制备

(1)黄芩汤:按照黄芩汤组方,取黄芩9 g、白芍6 g、炙甘草6 g、大枣49 g,加入10倍量水,经2次煎煮、过滤后,收集滤液并浓缩成质量浓度为9.1 g/mL的药液(以生药量计,下同)。(2)抗菌药物混悬液:取各抗菌药物适量,用生理盐水制备成每1 L含0.5 g万古霉素、1.0 g氨苄西林、1.0 g新霉素和1.0 g甲硝唑的抗菌药物混悬液^[10]。

2.2 分组、造模与给药

小鼠适应性饲养1周后,按体重随机分为正常组、模型组、菌群消耗-模型组、菌群消耗-黄芩汤组、黄芩汤组和美沙拉嗪组(阳性对照组),每组6只。菌群消耗-模型组、菌群消耗-黄芩汤组小鼠先饮用抗菌药物混悬液10 d以消耗肠道菌群^[11],其余各组小鼠饮用蒸馏水。实验第11天,除正常组外,其余各组小鼠均饮用2.5%DSS溶液7 d,制备UC模型[以疾病活动指数(disease activity index,DAI)评分>0.5分为造模成功的判断标准]^[12]。造模成功后,正常组、模型组、菌群消耗-模型组小鼠灌胃等体积生理盐水,菌群消耗-黄芩汤组、黄芩汤组小鼠灌胃黄芩汤(9.1 g/kg,按体表面积换算得到的临床等效剂量),美沙拉嗪组小鼠灌胃美沙拉嗪药液(0.4 g/kg,按体表面积换算得到的临床等效剂量),灌胃体积均为10 mL/kg;每天灌胃1次,连续10 d。

2.3 体重变化比和DAI评分测定

实验期间每天观察/测定小鼠大便、体重、活动情况等,并参照文献方法^[12]计算各组小鼠的DAI评分[DAI评分=(体重下降比例评分+大便性状评分+便血评分)/3],并计算各组小鼠的体重变化比[体重变化比=末次体重/初次体重]。

2.4 样本采集及结肠长度测定

末次给药后,所有小鼠禁食、不禁水12 h,称重后收集各组小鼠9:00—10:00时段的粪便,于-80℃下保存。小鼠以异氟烷麻醉后,采用摘眼球法取血,血样于4℃下保存,备用。取血后将小鼠处死,剖开腹腔,摘取结肠组织,留取盲肠至肛门间的肠段,测定其长度。截取部分结肠组织于-80℃下保存,用于分子生物学检测;其余肠段用4%多聚甲醛固定,用于病理学观察。

2.5 小鼠血清中炎症因子含量检测

取“2.4”项下各组小鼠的血液样品适量,离心后收集上层血清。按照相应ELISA试剂盒说明书方法操作,检测血清中炎症因子(IL-6、IL-10、TNF-α、IL-22)含量。

2.6 小鼠结肠组织病理学观察

取“2.4”项下经4%多聚甲醛固定的结肠组织适量,经组织包埋、切片(厚5 μm)后,常规进行HE染色,然后在显微镜下观察其病理学变化。

2.7 小鼠结肠组织中Occludin、ZO-1、AhR蛋白表达检测

采用Western blot法检测。取“2.4”项下冻存的结肠组织(每组取3只小鼠样本)适量,使用裂解液提取组织中总蛋白,经BCA法测定总蛋白浓度以及进行变性处理后,上样进行SDS-PAGE电泳分离、转膜,并以5%脱脂奶粉封闭;将膜与Occludin、ZO-1、AhR、GAPDH一抗(稀释度均为1:1 000)在4℃下孵育过夜;以TBST缓冲液洗膜后,加入二抗(稀释度为1:5 000),在室温下孵育1 h;显影后,采用Image J图像分析软件分析条带灰度值,以目的蛋白与内参蛋白(GAPDH)条带的灰度值比值表示目的蛋白的表达水平。

2.8 小鼠肠道菌群组成分析

取“2.4”项下除美沙拉嗪组外其余各组小鼠冻存的粪便样品,进行16S rRNA菌群测序。具体检测由成都思达钉生物科技有限公司完成,主要流程包括DNA提取与检测、对16S V3~V4区(以341F和806R为引物)进行PCR扩增、PCR产物的混样和纯化、测序文库构建和测序。对测序结果进行质控分析后,得到最终的有效数据,然后使用QIIME2软件进行肠道菌群生物信息学分析——(1)Alpha多样性分析:包括Chao1指数和Shannon指数分析;(2)Beta多样性分析:包括主坐标分析(principal coordinate analysis,PCoA)和非度量多维排列(non-metric multidimensional scaling,NMDS)分析;(3)从门、属水平分析各组小鼠肠道菌群的物种组成。

2.9 小鼠粪便色氨酸靶向代谢组学分析

取“2.4”项下除美沙拉嗪组外其余各组小鼠冻存的粪便样品,送至成都思达钉生物科技有限公司完成色氨酸靶向代谢组学检测,主要分析粪便中IPA、IAA、IEt、N-乙酰-5-羟色胺(N-acetylserotonin,NAS)含量。

2.10 统计学方法

采用SPSS 25.0软件进行数据分析。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,进一步组间两两比较采用LSD-*t*检验;不符合正态分布的计量资料以 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示,多组间比较采用非参数Kruskal-Wallis *H*检验,进一步组间两两比较采用Mann-Whitney *U*检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

3 结果

3.1 小鼠体重变化比、DAI评分及结肠长度测定结果

与正常组比较,模型组小鼠体重变化比显著降低

($P < 0.05$), DAI评分显著升高($P < 0.05$), 结肠长度显著缩短($P < 0.05$)。与模型组比较, 菌群消耗-模型组小鼠DAI评分显著降低($P < 0.05$); 黄芩汤组小鼠体重变化比显著升高($P < 0.05$); 黄芩汤组、美沙拉嗪组小鼠结肠长度均显著增加($P < 0.05$), DAI评分均显著降低($P < 0.05$)。与菌群消耗-模型组比较, 菌群消耗-黄芩汤组小鼠结肠长度显著增加($P < 0.05$)。结果见表1。

表1 各组小鼠体重变化比、DAI评分及结肠长度比较($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	体重变化比	DAI评分/分	结肠长度/cm
正常组	1.08 ± 0.05	0	8.07 ± 0.81
模型组	0.95 ± 0.03 ^a	1.17 ± 0.46 ^c	6.13 ± 0.44 ^b
菌群消耗-模型组	0.97 ± 0.01	0.61 ± 0.14 ^b	6.72 ± 0.82
黄芩汤组	0.99 ± 0.03 ^b	0.56 ± 0.54 ^a	7.13 ± 0.44 ^b
菌群消耗-黄芩汤组	0.99 ± 0.02	0.50 ± 0.28	7.48 ± 0.65 ^c
美沙拉嗪组	0.98 ± 0.02	0.61 ± 0.39 ^a	6.90 ± 0.51 ^b

a: 与正常组比较, $P < 0.05$; b: 与模型组比较, $P < 0.05$; c: 与菌群消耗-模型组比较, $P < 0.05$ 。

3.2 小鼠血清中炎症因子含量检测结果

与正常组比较, 模型组小鼠血清中IL-6、TNF- α 、IL-22含量均显著升高($P < 0.05$), IL-10含量显著降低($P < 0.05$)。与模型组比较, 菌群消耗-模型组小鼠血清中IL-22含量显著降低($P < 0.05$); 黄芩汤组、美沙拉嗪组小鼠血清中IL-6、TNF- α 、IL-22含量均显著降低($P < 0.05$), IL-10含量均显著升高($P < 0.05$)。与菌群消耗-模型组比较, 菌群消耗-黄芩汤组小鼠血清中TNF- α 、IL-22含量均显著降低($P < 0.05$), IL-10含量显著升高($P < 0.05$)。结果见表2。

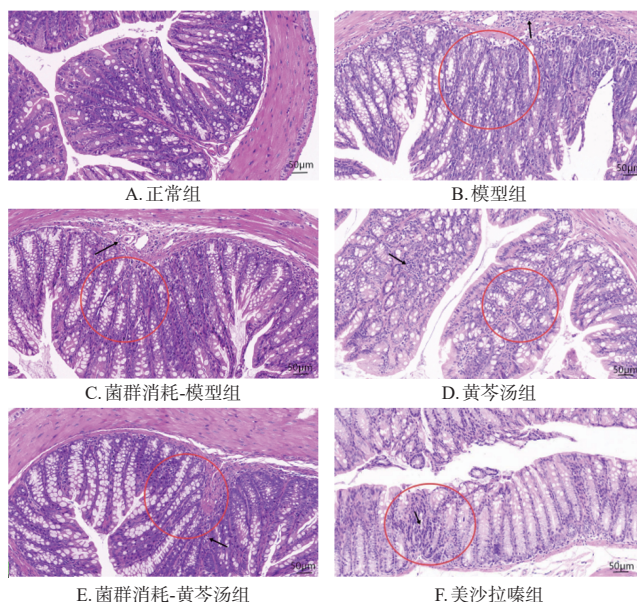
表2 各组小鼠血清中炎症因子含量比较($\bar{x} \pm s, n=6, \text{pg/mL}$)

组别	IL-6	TNF- α	IL-10	IL-22
正常组	91.26 ± 12.81	76.74 ± 19.47	141.99 ± 14.51	75.74 ± 10.61
模型组	162.59 ± 23.43 ^a	133.96 ± 17.96 ^c	74.21 ± 12.29 ^a	186.79 ± 2.41 ^b
菌群消耗-模型组	139.77 ± 31.70	128.55 ± 23.04	81.09 ± 16.35	161.27 ± 5.70 ^b
黄芩汤组	118.47 ± 38.52 ^b	94.75 ± 12.04 ^b	106.28 ± 20.57 ^b	143.87 ± 7.19 ^b
菌群消耗-黄芩汤组	108.94 ± 17.50	92.38 ± 9.37 ^a	104.10 ± 16.40 ^b	146.33 ± 6.73 ^b
美沙拉嗪组	116.79 ± 40.81 ^b	99.13 ± 14.22 ^b	109.80 ± 21.21 ^b	152.22 ± 5.59 ^b

a: 与正常组比较, $P < 0.05$; b: 与模型组比较, $P < 0.05$; c: 与菌群消耗-模型组比较, $P < 0.05$ 。

3.3 小鼠结肠组织病理学观察结果

正常组小鼠结肠组织结构完整, 黏膜纹理清楚, 腺体排列整齐。与正常组比较, 模型组小鼠结肠组织可见黏膜层变薄和炎症细胞浸润, 整体结构较为混乱。与模型组比较, 黄芩汤组、美沙拉嗪组小鼠结肠组织绒毛较完整, 炎症细胞浸润减少, 结构形态得到改善; 菌群消耗-模型组小鼠结肠组织仍存在黏膜损伤、结构紊乱, 但炎症细胞浸润程度较轻。与菌群消耗-模型组比较, 菌群消耗-黄芩汤组小鼠结肠组织炎症细胞浸润减少。结果见图1。

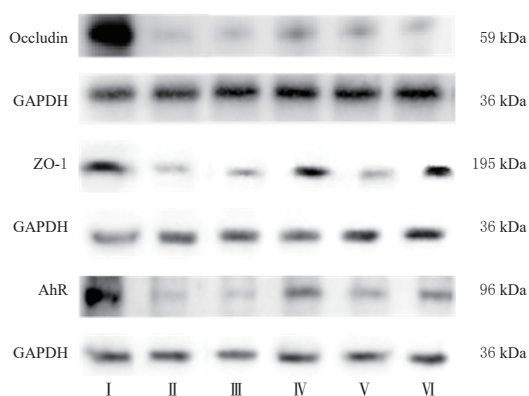


注: 红色圆圈圈出部分表示黏膜结构异常; 黑色箭头所指为炎症细胞浸润。

图1 各组小鼠结肠组织病理学观察的显微图(HE染色)

3.4 小鼠结肠组织中Occludin、ZO-1、AhR蛋白表达检测结果

与正常组比较, 模型组小鼠结肠组织中Occludin、ZO-1、AhR蛋白表达水平均显著降低($P < 0.05$)。与模型组比较, 黄芩汤组小鼠结肠组织中Occludin、ZO-1、AhR及美沙拉嗪组小鼠结肠组织中ZO-1、AhR蛋白表达水平均显著升高($P < 0.05$)。与菌群消耗-模型组比较, 菌群消耗-黄芩汤组小鼠结肠组织中ZO-1蛋白表达水平显著升高($P < 0.05$)。结果见图2、表3。



I: 正常组; II: 模型组; III: 菌群消耗-模型组; IV: 黄芩汤组; V: 菌群消耗-黄芩汤组; VI: 美沙拉嗪组。

图2 各组小鼠结肠组织中Occludin、ZO-1、AhR蛋白表达的电泳图

3.5 小鼠肠道菌群组成分析结果

3.5.1 Alpha多样性分析结果

与正常组比较, 模型组小鼠的Chao1指数、Shannon指数均显著降低($P < 0.05$)。与模型组比较, 黄芩汤组小鼠的Chao1指数、Shannon指数均有升高趋势, 但差异

表3 各组小鼠结肠组织中 Occludin、ZO-1、AhR 蛋白表达水平比较($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	Occludin/GAPDH	ZO-1/GAPDH	AhR/GAPDH
正常组	1.44 ± 0.21	0.99 ± 0.06	0.99 ± 0.02
模型组	0.30 ± 0.05 ^a	0.31 ± 0.04 ^a	0.33 ± 0.03 ^a
菌群消耗-模型组	0.32 ± 0.14	0.31 ± 0.03	0.35 ± 0.01
黄芩汤组	0.62 ± 0.14 ^a	0.68 ± 0.01 ^b	0.63 ± 0.05 ^b
菌群消耗-黄芩汤组	0.53 ± 0.10	0.39 ± 0.03 ^c	0.39 ± 0.03
美沙拉嗪组	0.53 ± 0.28	0.54 ± 0.04 ^b	0.58 ± 0.09 ^b

a: 与正常组比较, $P < 0.05$; b: 与模型组比较, $P < 0.05$; c: 与菌群消耗-模型组比较, $P < 0.05$ 。

无统计学意义 ($P > 0.05$) ; 菌群消耗-模型组小鼠的 Chao1 指数显著降低 ($P < 0.05$) 。与菌群消耗-模型组比较, 菌群消耗-黄芩汤组小鼠的 Chao1 指数、Shannon 指数均显著升高 ($P < 0.05$) 。结果见表 4。

表4 各组小鼠肠道菌群的 Alpha 多样性分析结果($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	Chao1 指数	Shannon 指数
正常组	397.80 ± 49.64	5.92 ± 0.36
模型组	254.74 ± 48.38 ^a	4.75 ± 0.42 ^a
菌群消耗-模型组	136.05 ± 74.46 ^b	4.32 ± 0.72
黄芩汤组	270.52 ± 48.07	5.18 ± 0.37
菌群消耗-黄芩汤组	267.59 ± 71.87 ^c	5.48 ± 0.48 ^c

a: 与正常组比较, $P < 0.05$; b: 与模型组比较, $P < 0.05$; c: 与菌群消耗-模型组比较, $P < 0.05$ 。

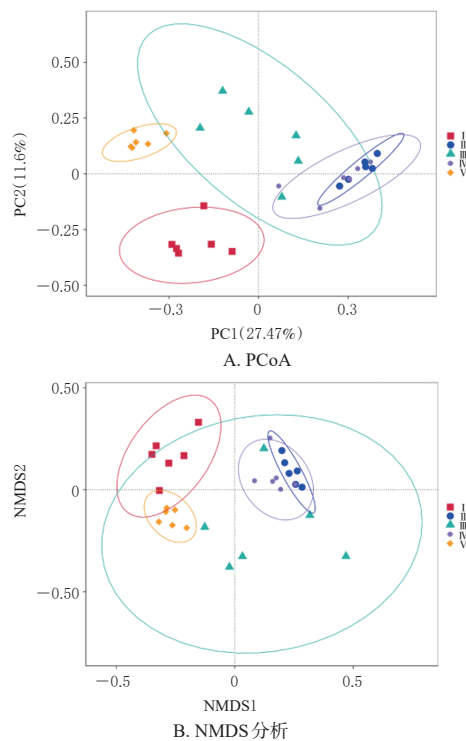
3.5.2 Beta 多样性分析结果

PCoA 与 NMDS 分析结果显示, 菌群消耗-模型组样本分布高度离散, 提示其肠道菌群结构紊乱, 结合其 Chao1 指数较模型组显著下降, 表明菌群消耗成功; 其余各组样本分布相对集中, 菌群结构较为稳定。模型组与正常组样本明显分离、无重叠, 表明 DSS 成功诱导小鼠肠道菌群结构发生改变。给药干预后, 黄芩汤组、菌群消耗-黄芩汤组样本分布均向正常组方向靠拢, 且组内聚集性良好, 提示黄芩汤可有效改善 UC 小鼠肠道菌群的群落结构与组成。结果见图 3。

3.5.3 肠道菌群物种组成结构分析结果

在门水平上, 与正常组比较, 模型组小鼠肠道变形菌门(Proteobacteria)的相对丰度显著升高 ($P < 0.05$) , 疣微菌门(Verrucomicrobiota)的相对丰度显著降低 ($P < 0.05$) , 厚壁菌门(Firmicutes)与拟杆菌门(Bacteroidota)的相对丰度比值(即 F/B 比值)下降。与模型组比较, 黄芩汤组小鼠肠道拟杆菌门的相对丰度呈下降趋势, 厚壁菌门的相对丰度呈升高趋势, F/B 比值回升; 菌群消耗-模型组小鼠肠道拟杆菌门与厚壁菌门的相对丰度均呈下降趋势。与菌群消耗-模型组比较, 菌群消耗-黄芩汤组小鼠肠道疣微菌门和拟杆菌门的相对丰度均显著升高 ($P < 0.05$) 。

在属水平上, 与正常组比较, 模型组小鼠肠道乳杆菌属(*Lactobacillus*)的相对丰度显著降低 ($P < 0.05$) , 拟



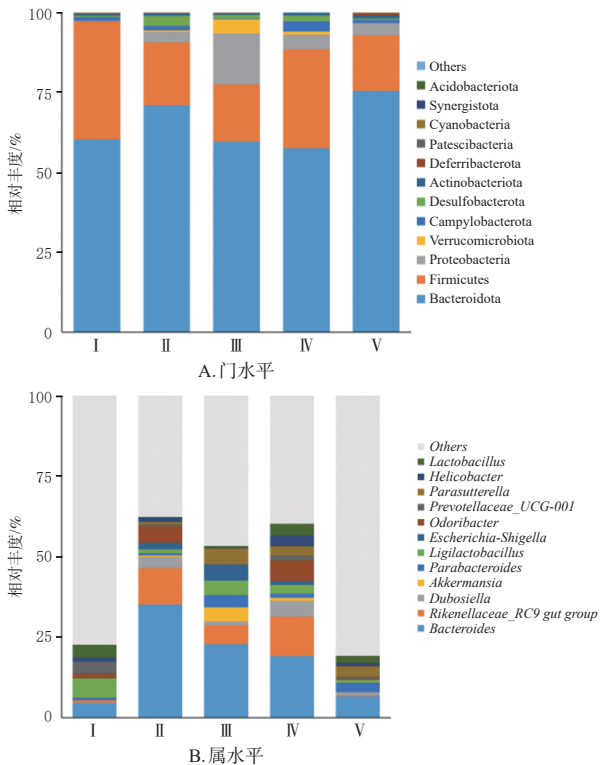
I : 正常组; II : 模型组; III : 菌群消耗-模型组; IV : 黄芩汤组; V : 菌群消耗-黄芩汤组。

图3 各组小鼠肠道菌群的 Beta 多样性分析结果 ($n=6$)

杆菌属(*Bacteroides*)和大肠埃希氏菌-志贺氏菌属(*Escherichia-Shigella*)的相对丰度均显著升高 ($P < 0.05$) 。与模型组比较, 黄芩汤组小鼠肠道拟杆菌属的相对丰度显著降低 ($P < 0.05$) , 乳杆菌属(*Lactobacillus*) (0.07%→3.68%)和普雷沃氏菌属(*Prevotellaceae_UCG-001*) (0.57%→1.50%)等有益菌的相对丰度呈升高趋势, 大肠埃希氏菌-志贺氏菌属(2.12%→1.23%)等致病菌的相对丰度呈下降趋势; 菌群消耗-模型组小鼠肠道普雷沃氏菌属和气味杆菌属(*Odoribacter*)的相对丰度均显著降低 ($P < 0.05$) 。与菌群消耗-模型组比较, 菌群消耗-黄芩汤组小鼠肠道普雷沃氏菌属和气味杆菌属的相对丰度均显著升高 ($P < 0.05$) , 拟杆菌属和大肠埃希氏菌-志贺氏菌属的相对丰度均显著降低 ($P < 0.05$) , 乳杆菌属(0.61%→2.14%)的相对丰度呈升高趋势。结果见图 4。

3.6 小鼠粪便色氨酸靶向代谢组学分析结果

与正常组比较, 模型组小鼠粪便中 IPA、NAS 含量均显著降低 ($P < 0.05$) , IEt 含量显著升高 ($P < 0.05$) 。与模型组比较, 黄芩汤组小鼠粪便中 IPA、NAS、IAA 含量均显著升高 ($P < 0.05$) , IEt 含量显著降低 ($P < 0.05$) ; 菌群消耗-模型组小鼠粪便中 NAS 含量显著升高 ($P < 0.05$) , IEt 含量显著降低 ($P < 0.05$) 。与菌群消耗-模型组比较, 菌群消耗-黄芩汤组小鼠粪便中 NAS 含量显著升高 ($P < 0.05$) 。结果见表 5。



I : 正常组; II : 模型组; III : 菌群消耗-模型组; IV : 黄芩汤组; V : 菌群消耗-黄芩汤组。

图4 各组小鼠肠道菌群物种差异分析结果 (n=6)

表5 各组小鼠粪便中色氨酸及吲哚类物质含量比较 [M(P₂₅, P₇₅) 或 $\bar{x} \pm s, n=6, \text{ng/g}$]

组别	IPA	NAS	IAA	IEt
正常组	239.50(181.24, 837.31)	48.24(35.73, 85.02)	3 299.21 ± 1 977.47	220.28 ± 187.78
模型组	17.80(10.04, 37.95) ^a	8.55(6.77, 13.02) ^a	2 715.85 ± 1 429.06	689.86 ± 788.20 ^a
菌群消耗-模型组	93.88(16.27, 256.83)	28.08(18.22, 91.03) ^b	1 820.76 ± 905.65	88.06 ± 49.99 ^b
黄芩汤组	250.03(137.81, 482.73) ^b	27.88(18.91, 36.78) ^b	5 152.34 ± 3 017.60 ^b	97.43 ± 67.14 ^b
菌群消耗-黄芩汤组	125.07(76.27, 229.14)	128.25(55.05, 142.76) ^c	1 090.72 ± 559.11	54.80 ± 19.71

a: 与正常组比较, $P < 0.05$; b: 与模型组比较, $P < 0.05$; c: 与菌群消耗-模型组比较, $P < 0.05$ 。

4 讨论

UC是炎症性肠病的主要类型之一,主要病机为湿热内蕴、肠络损伤。根据UC临床表现,中医多将其归属于“痢疾”“泄泻”等范畴^[13],以清热燥湿、调和气血为主要治则。本研究基于肠道菌群-色氨酸代谢-AhR轴,并结合抗菌药物消耗菌群等干预手段,探讨了黄芩汤改善UC的作用及机制。

DSS诱导结肠炎模型是UC研究中经典造模方法,其急性病理过程与人类UC发病过程相似,是探讨UC病机和评价药物疗效的理想病理模型^[14]。在本研究中,通过分析模型组小鼠的DAI评分和结肠病理学表现,可以发现UC模型制备成功。本研究中菌群消耗-模型组小鼠的DAI评分显著低于模型组,可能是因为抗菌药物处理后弱化了DSS诱导结肠炎的敏感性,减少了菌群来源的促炎信号,从而在一定程度上减轻了DSS诱导的炎症

反应。本研究结果还显示,黄芩汤干预可升高UC小鼠的体重变化比、增加结肠长度、降低DAI评分、改善结肠组织结构,表明黄芩汤能有效缓解UC小鼠症状。当肠道菌群受到干扰时,黄芩汤对上述指标的改善作用减弱,表明完整的肠道菌群是黄芩汤改善UC的重要基础。

在UC发展过程中,促炎因子TNF- α 、IL-6、IL-22与抗炎因子IL-10的失衡可导致肠道黏膜免疫失调和损伤^[15]。机械屏障是肠道上皮屏障的重要组成部分,其遭到破坏后,致病性物质可进入肠腔,诱发或加重炎症反应^[16]。本研究结果显示,经黄芩汤干预后,UC小鼠血清中IL-10含量及结肠组织中Occludin、ZO-1、AhR蛋白表达水平升高,血清中IL-6、IL-22和TNF- α 含量降低;此外,当肠道菌群受到干扰时,再经黄芩汤干预后,UC小鼠血清中IL-10、IL-22和TNF- α 含量及结肠组织中ZO-1蛋白表达水平也有所改善。这表明黄芩汤依然具有抗炎和修复肠黏膜屏障的功效,并提示其抗炎和黏膜修复作用不完全依赖于肠道菌群。

正常肠道菌群主要由拟杆菌门、厚壁菌门、变形菌门等组成,肠道微生物失衡是影响UC发生发展的重要因素^[17]。本研究发现,UC小鼠肠道菌群多样性降低,物种丰富度下降,提示肠道抵御环境变化的能力减弱。具体而言,在门水平上,UC小鼠粪便中变形菌门的相对丰度升高,疣微菌门的相对丰度降低,F/B比值下降;在属水平上,UC小鼠粪便中拟杆菌属、大肠埃希氏菌-志贺氏菌属的相对丰度升高,而乳杆菌属的相对丰度降低。有益菌减少、机会致病菌增多,可导致肠道屏障被破坏和炎症发生。经黄芩汤干预后,小鼠肠道菌群多样性提升、结构改善,乳杆菌属、普雷沃氏菌属等有益菌的相对丰度升高,F/B比值升高,而拟杆菌属、大肠埃希氏菌-志贺氏菌属等致病菌的相对丰度降低。在肠道菌群受到干扰后,黄芩汤干预可提高肠道菌群多样性,肠道中疣微菌门和拟杆菌门的相对丰度升高,乳杆菌属等有益菌相对丰度升高、大肠埃希氏菌-志贺氏菌属等致病菌的相对丰度降低,提示黄芩汤在肠道微生态紊乱时仍可发挥一定的调节作用,重塑菌群结构。

已有研究表明,IPA、IAA、IEt均可激活AhR^[8,18];源于宿主自身代谢的NAS可通过调节吲哚胺2,3-双加氧酶1的活性,促进犬尿氨酸产生来间接激活AhR^[19]。上述物质通过激活AhR来保护肠黏膜屏障,促进肠道免疫稳态。本研究结果显示,与正常组比较,模型组小鼠粪便中IPA和NAS含量显著降低,IEt含量呈代偿性升高,笔者推测UC状态下肠道菌群通过代偿性增加IEt含量,进而激活AhR,参与肠道黏膜修复并减轻炎症损伤。与模型组相比,黄芩汤组小鼠粪便中IPA、IAA和NAS含量

均显著升高,而IEt含量显著下降,这可能与乳杆菌属等有益菌相对丰度升高,进而改变色氨酸代谢流向有关。另外,在菌群被消耗后,黄芩汤仍能显著升高UC小鼠粪便中NAS含量,但UC小鼠结肠组织中AhR蛋白表达未同步显著回升。这提示NAS介导的犬尿氨酸间接激活AhR路径的效率有限,不足以恢复AhR的表达。以上结果表明,完整菌群状态下黄芩汤对色氨酸代谢的调节作用最为显著,表现为IPA、IAA等AhR配体的协同升高;而在菌群被消耗后,黄芩汤则依赖NAS发挥代偿性刺激作用,提示完整肠道菌群的存在有利于黄芩汤发挥更全面的AhR调控作用。

综上所述,本研究揭示了黄芩汤通过肠道菌群-色氨酸代谢-AhR轴修复肠黏膜屏障的机制:在完整肠道菌群下,黄芩汤可增加IPA、IAA等AhR配体含量,从而激活AhR,修复UC小鼠肠黏膜屏障;在菌群被消耗后,黄芩汤能升高宿主来源的NAS含量,但未能显著恢复AhR蛋白表达,提示NAS介导的犬尿氨酸间接激活AhR路径的效率有限,无法完全代偿菌群来源配体的缺失。这一结果为黄芩汤治疗UC提供了机制层面的新证据,也为中药复方研究提供了依据。

参考文献

- [1] 中国中西医结合学会. 溃疡性结肠炎中西医结合诊疗指南[J]. 中国中西医结合杂志, 2024, 44(9): 1029-1035.
- [2] 何琼, 李建栋. 炎症性肠病流行病学研究进展[J]. 实用医学杂志, 2019, 35(18): 2962-2966.
- [3] JAIRATH V, COHEN R D, LOFTUS E V, et al. Evaluating cost per remission and cost of serious adverse events of advanced therapies for ulcerative colitis[J]. BMC Gastroenterol, 2022, 22(1): 501.
- [4] WU J W, WEI Z H, CHENG P, et al. Rhein modulates host purine metabolism in intestine through gut microbiota and ameliorates experimental colitis[J]. Theranostics, 2020, 10(23): 10665-10679.
- [5] YU S Y, SUN Y B, SHAO X Y, et al. Leaky gut in IBD: intestinal barrier-gut microbiota interaction[J]. J Microbiol Biotechnol, 2022, 32(7): 825-834.
- [6] 刘雨翀, 刘同亭. 中医药修复湿热型溃疡性结肠炎肠道黏膜屏障的研究进展[J]. 光明中医, 2023(5): 856-859.
- [7] YU K, MA Y H, ZHANG Z C, et al. AhR activation protects intestinal epithelial barrier function through regulation of Par-6[J]. J Mol Histol, 2018, 49(5): 449-458.
- [8] PEI T C, LI W, ZHOU Z Y, et al. The relationship between tryptophan metabolism and gut microbiota: interaction mechanism and potential effects in infection treatment [J]. Microbiol Res, 2025, 298: 128211.
- [9] 姜洪宇, 陈萌, 关露春, 等. 从“肠道黏膜屏障完整性”角度探讨黄芩汤治疗溃疡性结肠炎的机制[J]. 中华中医药学刊, 2024, 42(3): 113-118.
- [10] 亓照耀, 刘金存, 许源慧, 等. 两种给药途径对联合抗生素建立伪无菌大鼠模型比较[J]. 中国微生态学杂志, 2023, 35(10): 1123-1129.
- [11] LIU X, QIU X, YANG Y, et al. Alteration of gut microbiome and metabolome by *Clostridium butyricum* can repair the intestinal dysbiosis caused by antibiotics in mice [J]. iScience, 2023, 26(3): 106190.
- [12] 何旭东, 宋成竹, 倪皓雨, 等. 苦参醇F调节肠道菌群及免疫应答对溃疡性结肠炎小鼠的改善作用机制研究[J]. 中国药房, 2024, 35(17): 2088-2095.
- [13] 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.
- [14] 马琳, 范荣珍, 李炜, 等. 溃疡性结肠炎动物模型及评价指标[J]. 神经药理学报, 2025, 15(4): 8-16.
- [15] 王小天, 彪雅宁, 张一听, 等. 基于“肠道菌-胆汁酸”轴探讨薤白汤治疗溃疡性结肠炎小鼠的作用机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2025, 31(1): 30-38.
- [16] 黄静, 廖艳花, 莫昕莹, 等. 紫云英苷调节肠道菌群缓解小鼠溃疡性结肠炎的作用机制[J]. 中国药房, 2025, 36(14): 1709-1716.
- [17] 潘思敏, 白晓辉, 陈雪如, 等. 基于肠道菌群和胆汁酸代谢探讨清肠消滞饮治疗葡聚糖硫酸钠诱导的溃疡性结肠炎小鼠模型的作用机制[J]. 中药新药与临床药理, 2024, 35(12): 1842-1850.
- [18] WU F, WANG Y, MAI Z P, et al. Human intestinal fungus *Clavispora lusitaniae* attenuates colitis through pyruvate decarboxylase-derived indole-3-ethanol[J]. Nat Commun, 2025, 16: 9980.
- [19] PROIETTI E, PAUWELS R W M, DE VRIES A C, et al. Modulation of indoleamine 2, 3-dioxygenase 1 during inflammatory bowel disease activity in humans and mice[J]. Int J Tryptophan Res, 2023, 16: 11786469231153109.

(收稿日期:2025-12-16 修回日期:2026-04-19)

(编辑:林 静)