

· 中医药防治炎症性肠病机制研究专题 ·

[编者按] 炎症性肠病(IBD)包括溃疡性结肠炎和克罗恩病,是一类慢性非特异性肠道炎症性疾病,以反复发作的腹泻、黏液脓血便、腹痛为主要表现,属中医“痢疾”“肠癖”“久痢”“泄泻”等范畴。其病因病机复杂,现代医学治疗手段有限,而中药多靶点、多层次整体调节为IBD防治提供了独特优势。北京中医药大学彭桂英教授团队围绕“方剂-单药-规律”的研究路径,逐步揭示中医药防治IBD的科学内涵。本专题系统展示了团队的系列成果:新乌梅丸可在湿热瘀阻证溃疡性结肠炎患者菌群人源化模型中改善受体小鼠肠道菌群失衡并恢复辅助性T细胞17(Th17)/调节性T细胞(Treg)免疫平衡;方中君药乌梅可激活丝裂原活化蛋白激酶激酶(MEK)/细胞外调节蛋白激酶(ERK)信号通路,促进肠黏膜上皮屏障修复;而佐药干姜则可通过Toll样受体4(TLR4)/丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)信号通路调控Ly6C^{hi}单核/巨噬细胞功能,减轻炎症反应;同时,基于数据挖掘还系统梳理了中医药治疗IBD的用药时机与演进规律,揭示了证候与药物干预的动态关联。上述研究从复方到单味药物、从基础机制到临床规律,全面阐释了中医药在“菌群-免疫-屏障”三位一体治疗网络中的作用模式,为优化IBD的中西医结合诊疗方案提供了循证依据与理论支撑。

干姜通过TLR4/MAPK信号通路调控Ly6C^{hi}单核/巨噬细胞改善炎症性肠病的作用机制

李亚兰¹, 张崇豪¹, 刘华琛¹, 苏佳龙¹, 李娜¹, 周梦宇², 彭桂英^{1*}

(1. 北京中医药大学生命科学学院, 北京 100029;

2. 广西医科大学第一附属医院, 南宁 530021)

[摘要] 目的:利用网络药理学技术结合体内外实验验证探究干姜治疗炎症性肠病(IBD)的潜在机制。方法:采用中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP)、中医药综合数据库(TCMID)数据库获取干姜的活性成分靶点;利用GeneCards数据库获取IBD相关靶点;采用生物学信息注释数据库(DAVID)对核心靶点进行基因本体(GO)功能富集和京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析;借助Cytoscape 3.10.2建立“药物有效成分-疾病靶点-信号通路”互作网络。将小鼠随机分为正常组、模型组、干姜组(400 mg·kg⁻¹)。采用葡聚糖硫酸钠(DSS)构建IBD小鼠模型,观察小鼠结肠组织形态学、Ly6C⁺单核/巨噬细胞、Toll样受体4(TLR4)及炎症因子mRNA的表达。检测干姜水提物对RAW264.7细胞活力的影响;检测100、10、1 mg·L⁻¹干姜对脂多糖(LPS)诱导RAW264.7细胞分化为Ly6C^{hi}单核/巨噬细胞、TLR4及炎症因子mRNA水平、TLR4及丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)信号通路关键蛋白表达情况。结果:筛选获得干姜作用靶点241个、IBD疾病靶点6787个,干姜、溃疡性结肠炎(UC)、克罗恩病(CD)共同靶点122个;获取GO富集297个,KEGG通路富集88条;干姜活性成分作用靶点与IBD靶点基因存在关联。动物实验:与正常组比较,模型组小鼠体质量和疾病活动指数(DAI)评分显著下降(P<0.01),结肠长度缩短,结肠上皮损伤和黏膜下层炎细胞浸润明显,病理评分升高(P<0.05),Ly6C^{hi}和Ly6C^{lo}单核/巨噬细胞明显增加(P<0.05),结肠组织表达TLR4、TNF-α、IL-1β、IL-6 mRNA水平明显上升(P<0.05),TLR4、磷酸化细胞外调节蛋白激酶1/2(p-ERK1/2)、磷酸化p38 MAPK(p-p38 MAPK)表达明显增加(P<0.05)。经干姜干预后,以上指标逆转,Ly6C^{hi}单核/巨噬细胞的数量显著减少(P<0.01)。细胞实验:与空白组比较,LPS组RAW264.7细胞分化为Ly6C^{hi}单核/巨噬细胞的比例和数量明显增加,且其表达TLR4、TNF-α、IL-1β、IL-6 mRNA水平上升(P<0.01),TLR4、p-ERK1/2、p-p38 MAPK表达增加(P<0.05)。经干姜干预后,Ly6C^{hi}单核/巨噬细胞明显减少(P<0.05),炎症因子转录明显降低(P<0.05),TLR4/MAPK信号通路被抑制(P<0.05)。结论:干姜通过抑制Ly6C^{hi}单核/巨噬细胞中的TLR4/ERK/p38 MAPK信号通路,降低炎症因子水平缓解IBD。

[关键词] 干姜; 炎症性肠病; 单核/巨噬细胞; Toll样受体4; 丝裂原活化蛋白激酶

[中图分类号] R259;R285;R242 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2025)20-0066-10

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20242435

[网络出版地址] <https://link.cnki.net/urlid/11.3495.R.20250116.1034.001>

[网络出版日期] 2025-01-16 13:48:08 [增强出版附件] 内容详见<http://www.syfjxzz.com>或<http://cnki.net>



[收稿日期] 2024-09-26

[基金项目] 国家自然科学基金青年基金项目(82204888);广西壮族自治区科技厅自然科学基金面上项目(2024JJA141469);北京中医药大学基本科研业务费项目(2019-JYB-TD014, 2023-JYB-JBQN-040)

[第一作者] 李亚兰,在读博士,从事中医药免疫调节作用研究,E-mail:liyalan@bucm.edu.cn

[通信作者] *彭桂英,博士,教授,从事中医药免疫调节作用研究,E-mail:penggy@bucm.edu.cn

Zingiberis Rhizoma Alleviates Inflammatory Bowel Disease Through Regulating TLR4/MAPK Signaling Pathway in Ly6C^{hi} Monocytes/Macrophages

LI Yalan¹, ZHANG Chonghao¹, LIU Huachen¹, SU Jialong¹, LI Na¹, ZHOU Mengyu², PENG Guiying^{1*}
(1. School of Life Sciences, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China;
2. The First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the potential mechanisms of Zingiberis Rhizoma in treating inflammatory bowel disease (IBD) by integrating network pharmacology with *in vitro* and *in vivo* experiments. **Methods:** Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database And Analysis Platform (TCMSP), Traditional Chinese Medicine Integrated Database (TCMID) Database were used to obtain the active component targets of Zingiberis Rhizoma. GeneCards was used to obtain the IBD targets. DAVID was used to perform Gene Ontology (GO) and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway enrichment analyses on core targets. Cytoscape 3.10.2 was used to establish the "active component-disease target-signaling pathway" interaction network. Mice were randomly assigned to control, model, and Zingiberis Rhizoma (400 mg·kg⁻¹) groups. An IBD model was induced via dextran sulfate sodium (DSS). The colonic tissue was collected post-treatment to assess histology, expression of Ly6C⁺ monocytes/macrophages, and mRNA levels of Toll-like receptor 4 (TLR4), and inflammatory cytokines. The effect of Zingiberis Rhizoma aqueous extract on RAW264.7 cell viability was evaluated. Furthermore, the effects of the extract at 100, 10, and 1 mg·L⁻¹ on LPS-induced differentiation of RAW264.7 cells into Ly6C^{hi} monocytes/macrophages, mRNA levels of TLR4 and inflammatory cytokines, and protein levels of factors in the TLR4/mitogen-activated protein kinase (MAPK) signaling pathway. **Results:** A total of 241 targets were identified for Zingiberis Rhizoma and 6 787 for IBD, with 122 shared targets among Zingiberis Rhizoma, ulcerative colitis (UC), and Crohn's disease (CD). The enrichment analyses yielded 297 GO terms and 88 KEGG pathways. Associations were noted between Zingiberis Rhizoma's active component targets and IBD targets. *In vivo* experiments: Compared with the control group, the model group showed decreased body weight and disease activity index (DAI) ($P<0.01$), shortened colon length, damaged mucosal epithelium with inflammatory cell infiltration, raised pathological scores ($P<0.05$), increased Ly6C^{hi} and Ly6C^{lo} monocytes/macrophages ($P<0.05$), and up-regulated mRNA levels of TLR4, TNF- α , IL-1 β , and IL-6 ($P<0.05$) and protein levels of TLR4, phosphorylated extracellular signal-regulated protein kinase 1/2 (p-ERK1/2), and phosphorylated p38 MAPK (p-p38 MAPK) ($P<0.05$). Zingiberis Rhizoma intervention reversed these changes and reduced Ly6C^{hi} monocytes/macrophages ($P<0.01$). *In vitro* experiments: compared with the control, LPS increased the proportion and number of Ly6C^{hi} monocytes/macrophages and mRNA levels of TLR4, TNF- α , IL-1 β , and IL-6 ($P<0.01$) and enhanced the expression of TLR4, p-ERK1/2, and p-p38 MAPK ($P<0.05$). Zingiberis Rhizoma reduced Ly6C^{hi} monocytes/macrophages ($P<0.05$), down-regulated the mRNA levels of inflammatory cytokines ($P<0.05$), and suppressed the TLR4/MAPK pathway ($P<0.05$). **Conclusion:** Zingiberis Rhizoma alleviates IBD by suppressing the TLR4/ERK/p38 MAPK signaling pathway and reducing inflammatory cytokine levels in Ly6C^{hi} monocytes/macrophages.

[Keywords] Zingiberis Rhizoma; inflammatory bowel disease; monocytes/macrophages; Toll-like receptor 4; mitogen-activated protein kinase

炎症性肠病 (IBD) 是一种以溃疡性结肠炎 (UC) 和克罗恩病 (CD) 为主要疾病类型的慢性、复发性、肠道的炎症性疾病, 临床多以腹泻、腹痛、便血、体质量下降等为主要特征, 严重时可出现肠穿孔、肠梗阻甚至诱发癌变^[1]。近 20 年来, 我国 IBD 的发病率呈上升趋势, 患病率和发病率在 35 岁以上的人群中更为普遍, 并且在 30~69 岁迅速增加, 且男性的患病率、发病率和死亡率均高于女性^[2]。因此, 寻找有效的治疗药物对于降低 IBD 的发病率、缓解我国公共卫生压力具有重要意义。

西医治疗 IBD 多采用 5-氨基水杨酸类药、皮质类固醇及磺胺药控制病情, 短期内疗效尚可, 但停

药后易复发且难以治愈^[3]。传统中医药以其用药灵活、不良反应小, 在诱导缓解和预防复发 IBD 方面优势明显。中医认为, IBD 属于“下利”“久痢”“泄泻”范畴。干姜最早记载于《神农本草经》, 为姜科植物姜的干燥根茎, 味辛, 性热。温中止血, 出汗, 逐风湿痹, 肠澼下利。干姜作为治疗 IBD 的经方——乌梅丸的臣药发挥温脏祛寒、回阳通脉作用, 协调苦寒药物达到散寒止泻的效果。现代研究表明, 干姜可以显著降低 UC 小鼠结肠组织中的炎症细胞因子水平, 如肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 和白细胞介素-6 (IL-6), 其活性成分 6-姜烯酚可以通过增强抗氧化因子核因子 E₂ 相关因子 2 (Nrf2) 和血红

素加氧酶-1(HO-1)的表达,减轻结肠炎并加速结肠炎伤口修复^[4-5]。然而干姜防治IBD的作用机制尚不明晰。

Ly6C⁺单核细胞起源于骨髓中的单核细胞前体,分为Ly6C^{hi}和Ly6C^{lo} 2个亚群,到达组织后分化为单核/巨噬细胞细胞发挥不同的效应功能。Ly6C^{lo}“巡逻”单核细胞已被证明黏附并沿着内皮细胞的管腔血管表面爬行发挥组织修复作用,而Ly6C^{hi}单核细胞在感染和其他炎症时被募集到损伤部位,一方面发挥促炎作用,一方面瞬时补充常驻巨噬细胞群^[6]。Toll样受体4(TLR4)作为一种模式识别受体,在识别脂多糖(LPS)刺激后激活下游的多种信号通路,包括细胞外调节蛋白激酶(ERK)和p38丝裂原活化蛋白激酶(p38 MAPK)等为代表的丝裂原活化蛋白激酶(MAPKs)^[7-8]。在急性结肠炎期间, Ly6C^{hi}单核细胞募集到炎症肠道并成为固有层中主要的单核细胞类型,而TLR4的过度激活可能导致ERK/p38 MAPK信号通路的异常激活,促进炎症因子的释放,从而加剧肠道炎症^[9-10]。本研究通过联合网络药理学分析与体内外实验验证,观察干姜对单核细胞转化为炎性单核/巨噬细胞及炎症信号通路的影响,旨在探讨干姜防治IBD的作用机制,为干姜的临床用药和后续药物靶点的筛选提供依据。

1 材料

1.1 细胞 小鼠巨噬细胞系RAW264.7(ATCC:TIB-71,第8代),由北京中医药大学郝钰教授捐赠。

1.2 动物 SPF级雄性C57BL/6J小鼠24只,6~8周龄,体质量20~22 g,购自于北京斯贝福生物技术有限公司,合格证号SCXK(京)2024-0001。饲养于北京中医药大学动物实验中心SPF级屏障环境中,恒温恒湿,自由饮水,适应性喂养7 d。动物实验经北京中医药大学实验动物伦理委员会批准通过(BUCM-2024042504-2064)。

1.3 药物与试剂 干姜水提物,购自黄山华绿园生物科技有限公司(批号231210,得率10%);葡聚糖硫酸钠(DSS,相对分子质量36~50 kDa,美国MP Biomedicals公司,批号S0433);邻联甲苯胺法粪便隐血定性检测试剂盒(上海源叶生物科技有限公司,批号L18S11G125170);苏木素-伊红(HE)染色试剂盒(中国Biosharp公司,批号70080020);RNA提取试剂盒、实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)反转录试剂盒、SYBR-Green试剂盒(湖南艾科瑞生物工程有限公司,批号分别为A6A0536、A5A3391、A6A1108);辣根过氧化物酶二抗(美国

CST公司,批号7076S);TLR4、ERK1/2、p38 MAPK单克隆抗体(北京博奥森公司,批号分别为BC03078334、BB05126905、BB08047081);磷酸化ERK1/2(p-ERK1/2)、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)、磷酸化p38 MAPK(p-p38 MAPK)抗体(美国CST公司,批号分别为9377S、5174T、4511T);胶原酶Ⅲ(美国Worthington公司,批号LS004197);小鼠流式荧光抗体PB-CD45、PE/Cy7-CD11b、FITC-CD11c、APC/Cy7-Ly6C、AF700-F4/80(美国BioLegend公司,批号分别为B319007、B316177、B370929、B393194、B371833)。

1.4 仪器 CytoFLEX型流式细胞仪(美国Beckman Coulter公司);Aperio VERSA型高分辨显微分析系统(德国Leca公司);SpectraMax QuickDrop型超微量分光光度计(上海美谷分子仪器有限公司);QuantStudio™6 Flex型Real-time PCR仪(美国Life Technologies公司);PowerPac型电泳仪及电转仪、GelDoc Go型凝胶成像系统(美国Bio-Rad公司);恒温振荡器(上海一恒科学仪器有限公司)。

2 方法

2.1 网络药理学分析

2.1.1 干姜活性成分及其作用靶点的筛选 利用中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP)(<http://lsp.nwu.edu.cn/>)和中医药综合数据库(TCMID)(<http://www.megabionet.org/tcmid/>)检索并筛选口服生物利用度(OB)>30%和类药性(DL)≥0.18的干姜活性成分,利用TCMSP平台检索活性化学成分对应的作用靶点,删除无作用靶点成分。在UniProt数据库(<https://www.uniprot.org/>)中限定物种为人类,转换标准基因名,汇总后去重。

2.1.2 IBD相关靶点的筛选 在GeneCards数据库(<https://www.genecards.org/>)检索以“Ulcerative Colitis”“Crohn's disease”为关键词的相关靶点,检索时间为建库至今。调整格式、转换标准基因名及删除重复的靶点,获得IBD的相关靶点。

2.1.3 功能富集分析与通路富集分析 将交集靶点上传至DAVID数据库(<https://david.ncifcrf.gov/>),限定物种为人类,分析干姜治疗IBD所涉及及基因本体论(GO)功能富集及京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集情况。根据Benjamini-Hochberg矫正法,按 $-\lg P$ 值由大到小对富集分析结果进行排序,筛选出 $P < 0.05$ 的排名前20的信号通路及排名前5的生物过程、分子功能、细胞组分。

2.1.4 干姜与IBD的“药物有效成分-疾病靶点-信号通路”网络构建 将2.1.3项所得20条KEGG信号通路相关靶点基因所对应的有效成分与中药、靶点基因、信号通路、疾病一同导入Cytoscape 3.10.2软件,构建“药物有效成分-疾病靶点-信号通路”网络图。黄色代表中药干姜及其主要活性成分,紫色为靶点基因,红色为疾病IBD及相关靶点通路。

2.2 动物实验

2.2.1 干姜对IBD小鼠疾病活动指数(DAI)的影响 雄性C57BL/6小鼠随机分为正常组、模型组、干姜组。干姜组小鼠提前灌胃干姜水提物1周,给药剂量参考文献[11-12],每天给予 $400\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。随后,除正常组外,模型组和干姜组小鼠予以2% DSS溶液连续自由饮水1周后,改为1% DSS自由饮水1周,隔天更换1次。造模期间,干姜组小鼠同时灌胃干姜水提物,正常组和模型组灌胃等剂量生理盐水。每天记录小鼠体质量变化、小鼠粪便性状改变,按照试剂盒说明检测便隐血情况。评分标准参考文献[11],DAI评分=(体质量评分+粪便性状评分+隐血评分)/3。

2.2.2 干姜对IBD小鼠结肠组织形态学变化的影响 末次给药后处死小鼠,取结肠组织用10%甲醛固定24 h后,脱水、石蜡包埋、切片、HE染色,显微镜下观察并计算结肠组织学评分。

2.2.3 干姜对IBD小鼠结肠组织Ly6C^{hi}单核/巨噬细胞的影响 将小鼠结肠组织剪成小块后,用含乙二胺四乙酸(EDTA)的D-Hank's平衡盐溶液洗涤2次,配置含胶原酶Ⅲ的RPMI 1640消化液放置恒温振荡器里消化细胞,振幅为20 mm,振荡条件为 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, $220\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$,40 min。利用40%聚乙烯吡咯烷酮包被硅胶颗粒(Percoll)分离液梯度离心,重悬于含0.5% BSA的磷酸盐缓冲液(PBS)中计数,取 1×10^6 个细胞用于后续流式细胞术检测。抗体阳性细胞为CD45⁺CD11b⁺F4/80⁺Ly6C⁺细胞。

2.2.4 Real-time PCR检测小鼠结肠组织细胞因子的表达 取冻存结肠组织50~100 mg,加入组织裂解液约1 mL制成组织匀浆,按照试剂盒说明书提取总RNA,用超微量分光光度计测定RNA的纯度和浓度,按照试剂盒说明书将其逆转录为cDNA。引物序列为TLR4上游引物5'-TCCCTGCATAGAGGTAGTTCC-3',下游引物5'-TCAAGGGGTTGAAGCTCAGA-3',片段长度119 bp; IL-6上游引物5'-TACCACTTACAAGTCGGAGGC-3',下游引物5'-CTGCAAGTGCATCATCGTTGTTTC-3',片段长度

116 bp; IL-1 β 上游引物5'-AATGCCACCTTTTGACAGTGATG-3',下游引物5'-CCTGCCTGAAGCTCTGTGTTG-3',片段长度158 bp; TNF- α 上游引物5'-CTGCAAAGGGAGAGTGGTCA-3',下游引物5'-TTGCACCTCAGGGAAGAATCTG-3',片段长度105 bp; GAPDH上游引物5'-GCACCACCAACTGCTTAG-3',下游引物5'-GGATGCAGGGATGATGTTTC-3',片段长度176 bp。引物由生工生物工程(上海)股份有限公司提供。反应条件为 $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ 预变性30 s,1个循环, $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ 变性5 s, $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 退火/延伸30 s,重复40个循环,溶解曲线参照仪器默认值。采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算mRNA相对表达量。

2.2.5 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测小鼠结肠组织TLR4、p-ERK1/2、ERK1/2、p-p38 MAPK、p38 MAPK蛋白的表达 分别取各组小鼠结肠组织,加入RIPA裂解液,用BCA法测定蛋白浓度。变性后的蛋白样本进行凝胶电泳,电转后封闭1 h,将PVDF膜放在含有TLR4(1:500),p-ERK1/2、ERK1/2、p-p38 MAPK、p38 MAPK(1:1 000)的一抗稀释液中, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜,第2天复温、加入二抗(1:5 000)室温孵育1 h,洗涤后加入增强型化学发光试剂(EDL),使用GelDoc Go凝胶成像系统进行曝光,利用Image J软件分析并计算蛋白条带的灰度值。

2.3 细胞实验

2.3.1 细胞增殖与活性检测试剂盒(CCK-8)检测干姜对RAW264.7细胞活性 将对数生长期的RAW264.7细胞接种于96孔板中,密度 1×10^4 个/孔, $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 孵育24 h,加入1 000、100、10、1、0.1 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的干姜水提物,继续培养24 h后,每孔加入CCK-8溶液10 μL , $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 继续培养2 h。检测450 nm波长处吸光度A,计算细胞存活率。

2.3.2 干姜对Ly6C^{hi}单核/巨噬细胞分化的影响 根据CCK-8法干姜水提物取100、10、1 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 作为给药剂量。对数生长期的RAW264.7细胞接种于6孔板中,调整细胞密度为 2×10^6 个/孔,分为空白组、LPS模型组、LPS+干姜组(100、10、1 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)。除空白组外,其余各组加入1 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的LPS, $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 孵育24 h后,LPS+干姜组加入不同浓度的含干姜水提物,24 h后,弃掉上清液,用PBS清洗2次后收集细胞,利用流式细胞术检测Ly6C^{hi}单核/巨噬细胞的比例和数量,流式荧光抗体与检测方法同2.2.3项。

2.3.3 Real-time PCR检测TLR4、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 mRNA表达 分别在各组RAW264.7细胞的6孔板中加入细胞裂解液约2 mL,方法同2.2.4项。

2.3.4 Western blot检测 TLR4、p-ERK1/2、ERK1/2、p-p38 MAPK、p38 MAPK 蛋白的表达 分别在各组 RAW246.7 细胞的 6 孔板中加入 RIPA 裂解液,用 BCA 法测定蛋白浓度,方法同 2.2.5 项。

2.4 统计学处理 用 GraphPad Prism 9 软件分析,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析 (One-way ANOVA), $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 网络药理学分析

3.1.1 干姜对 IBD 疾病作用靶点筛选 在 UniProt 数据库中检索到 241 个药物对应基因靶点,在 GeneCards 数据库中以“Ulcerative Colitis”“Crohn's disease”为关键词进行检索,得到 6 787 个靶点与 IBD 疾病相关。其中 5 401 个靶点与 UC 相关,4 984 个靶点与 CD 疾病相关。将药物与疾病相关靶点取交集后得到 122 个潜在靶点。见增强出版附加材料。

3.1.2 干姜治疗 IBD 关键靶点的 GO 和 KEGG 富集分析 对 122 个潜在靶点进行 GO 功能和 KEGG 通路富集分析,GO 分析得到 297 个条目,其中涉及生物学过程的有 265 个,主要包括对 LPS 的反应、细胞对 TNF 的反应、调节蛋白丝氨酸/苏氨酸激酶的活性、调节单核细胞增殖、调节 IL-6 的产生等;涉及分子生物学功能的有 27 个,主要包括丝氨酸水解酶活性、细胞因子受体结合、信号受体调节剂活性、受体配体活性、丝氨酸型内肽酶活性等;涉及细胞组成过程的有 5 个,主要包括转录调节复合物、RNA 聚合酶 II 转录调节复合物、细胞外基质、外部包裹结构、含胶原蛋白的细胞外基质。KEGG 信号通路 88 条,选取前 20 条进行可视化处理,涉及的通路主要有 TNF 信号通路、乙型肝炎、血脂和动脉粥样硬化、MAPK 信号通路、IBD、Toll 样受体信号通路、破骨细胞分化等。见增强出版附加材料。

3.1.3 干姜与 IBD 的“药物有效成分-疾病靶点-信号通路”网络构建 干姜通过多成分联合多靶点多通路共同发挥对 IBD 的调控作用,以槲皮素 (quercetin)、 β -谷甾醇 (beta-sitosterol)、六角苦素 (sexangularetin) 为代表的活性成分可能通过作用于 TLR、MAPK、NF- κ B、TNF、IL-17 等多个核心靶点及炎症信号,调控 IBD 相关的慢性炎症。干姜的活性成分的作用靶点与 IBD 靶点基因存在关联。见增强出版附加材料。

3.2 动物实验验证结果

3.2.1 对小鼠体质量变化、DAI 指数和结肠长度的影响 与正常组比较,模型组小鼠毛发光泽暗淡,

活动度下降,粪便带血且稀软,体质量下降率显著升高 ($P < 0.01$),DAI 评分显著升高 ($P < 0.01$),结肠长度显著缩短 ($P < 0.01$);与模型组比较,末次给药后,干姜组小鼠毛色黑亮,反应灵活,粪便成型较软但无便血,体质量下降率改善 ($P < 0.05$),DAI 评分下降 ($P < 0.01$),结肠长度明显恢复 ($P < 0.05$)。见表 1。

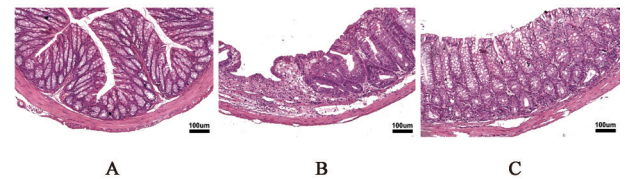
表 1 干姜对 IBD 小鼠体质量和 DAI 指数的影响 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 1 Effect of Zingiberis Rhizoma on weight and DAI score in IBD mice ($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	体质量下降率/%	DAI 评分/分	结肠长度/cm
正常组		0.00±0.00	0.00±0.00	8.22±0.65
模型组		23.94±3.88 ¹⁾	4.00±0.00 ¹⁾	5.61±0.61 ¹⁾
干姜组	0.4	17.52±2.19 ²⁾	2.50±0.33 ³⁾	6.73±0.59 ²⁾

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.01$;与模型组比较²⁾ $P < 0.05$,³⁾ $P < 0.01$ (表 6、表 7 同)

3.2.2 对小鼠结肠组织形态学的影响 正常组小鼠结肠黏膜上皮完整,黏膜下血管清晰,无充血和水肿,腺体和杯状细胞排列整齐,无溃疡形成,未见炎性细胞浸润;与正常组比较,模型组小鼠结肠肠黏膜上皮破损,腺体排列紊乱,部分坏死或消失,隐窝和杯状细胞明显减少,黏膜及黏膜下层大量炎性细胞浸润,溃疡形成;与模型组比较,干姜组小鼠结肠黏膜上皮大部分增生修复,腺体、杯状细胞增多,排列较为整齐,炎细胞明显减少。见图 1。



注:A.正常组;B.模型组;C.干姜组(图2同)

图 1 干姜对 IBD 小鼠结肠组织形态学的影响 (HE, ×200)

Fig. 1 Effect of Zingiberis Rhizoma on histomorphology of colon in IBD mice (HE, ×200)

3.2.3 各组小鼠结肠组织 Ly6C⁺ 细胞检测 与正常组比较,模型组小鼠结肠组织 Ly6C^{hi} 单核/巨噬细胞的比例和数量显著增加 ($P < 0.01$),Ly6C^{lo} 单核/巨噬细胞的比例和数量明显增加 ($P < 0.05$);与模型组比较,干姜组 Ly6C^{hi} 单核/巨噬细胞的数量显著降低 ($P < 0.01$)。见表 2 及增强出版附加材料。

3.2.4 对小鼠结肠组织 TLR4、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 mRNA 表达的影响 与正常组比较,模型组小鼠结肠组织 TLR4、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 mRNA 表达均明显升高 ($P < 0.05, P < 0.01$);与模型组比较,干姜组小

表2 干姜对IBD小鼠结肠组织Ly6C⁺单核/巨噬细胞的影响 ($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 2 Effect of Zingiberis Rhizoma on Ly6C⁺ monocytes/macrophages in colon of IBD mice ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	Ly6C ^{hi} 比例/%	Ly6C ^{hi} 数量/个	Ly6C ^{lo} 比例/%	Ly6C ^{lo} 数量/个
正常组		0.61±0.04	91 270.00±1 554.00	0.45±0.07	67 160.00±7 530.00
模型组		5.67±0.52 ²⁾	430 707.00±11 477.00 ²⁾	6.98±2.79 ¹⁾	541 443.00±251 032.00 ¹⁾
干姜组	0.4	4.49±0.55	294 351.00±4 018.00 ³⁾	4.58±4.46	308 255.00±246 754.00

注:与正常组比较¹⁾P<0.05,²⁾P<0.01;与模型组比较³⁾P<0.01

鼠结肠组织TLR4、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 mRNA的相对表达量均明显降低(P<0.05, P<0.01)。见表3。

表3 干姜对IBD小鼠结肠组织TLR4、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 mRNA相对表达量的影响 ($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 3 Effect of Zingiberis Rhizoma on relative expression of TLR4, TNF- α , IL-1 β , IL-6 mRNA in colon of IBD mice ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	TLR4	TNF- α	IL-1 β	IL-6
正常组		1.15±0.70	1.01±0.17	1.09±0.58	1.03±0.28
模型组		16.68±6.20 ²⁾	7.69±4.10 ¹⁾	12.00±4.23 ²⁾	14.10±4.95 ²⁾
干姜组	0.4	2.68±0.91 ⁴⁾	1.46±1.12 ³⁾	2.56±1.58 ³⁾	1.85±1.15 ⁴⁾

注:与正常组比较¹⁾P<0.05,²⁾P<0.01;与模型组比较³⁾P<0.05,⁴⁾P<0.01(表4、表8同)

3.2.5 对小鼠结肠组织TLR4、ERK、p-ERK、p38 MAPK、p-p38 MAPK蛋白表达的影响 与正常组比较,模型组结肠组织TLR4、p-ERK、p-p38 MAPK

蛋白的表达增加(P<0.05, P<0.01);与模型组比较,干姜组小鼠结肠组织中TLR4、p-ERK、p-p38 MAPK蛋白的表达降低(P<0.05, P<0.01)。见表4、图2。

表4 干姜对IBD小鼠结肠组织TLR4、ERK、p-ERK、p38 MAPK、p-p38 MAPK蛋白相对表达量的影响 ($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 4 Effect of Zingiberis Rhizoma on relative expression of TLR4, ERK, p-ERK, p38 MAPK, p-p38 MAPK protein in colon of IBD mice ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	TLR4/GAPDH	p-ERK/GAPDH	ERK/GAPDH	p-p38 MAPK/GAPDH	p38 MAPK/GAPDH
正常组		0.37±0.02	0.62±0.01	0.98±0.10	0.56±0.06	0.99±0.08
模型组		0.56±0.07 ¹⁾	0.87±0.04 ²⁾	1.00±0.02	0.96±0.05 ²⁾	0.96±0.05
干姜组	0.4	0.40±0.06 ³⁾	0.71±0.06 ⁴⁾	0.94±0.03	0.78±0.07 ³⁾	0.87±0.07

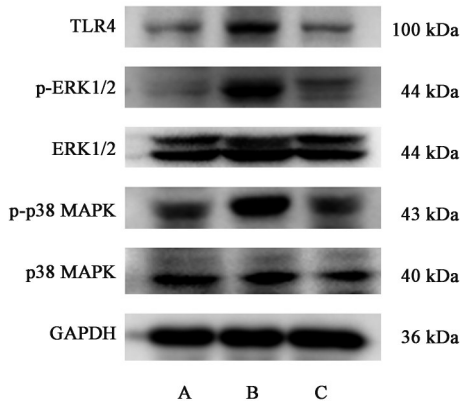


图2 各组IBD小鼠结肠组织中TLR4、ERK、p-ERK、p38 MAPK、p-p38 MAPK蛋白表达电泳

Fig. 2 Electrophoresis of TLR4, ERK, p-ERK, p38 MAPK, p-p38 MAPK protein expression in colon of each group of IBD mice

3.3 细胞实验验证结果

3.3.1 不同浓度的干姜水提取物对细胞活力的影响 与空白组比较,1 000、100、10、1、0.1 g·mL⁻¹的干姜水提取物与RAW264.7细胞培养24 h后,1 000 g·mL⁻¹

的干姜水提取物对巨噬细胞有明显的抑制作用,其他质量浓度对细胞的活力无明显影响,提示其他浓度对RAW264.7细胞无明显增殖抑制作用。见表5。

表5 干姜对RAW264.7细胞存活率的影响 ($\bar{x}\pm s, n=5$)

Table 5 Effect of Zingiberis Rhizoma on viability of RAW264.7 ($\bar{x}\pm s, n=5$)

组别	质量浓度/g·mL ⁻¹	细胞存活率/%
干姜组	1 000	89.47±3.80
	100	102.20±1.59
	10	102.60±0.86
	1	101.80±1.24
	0.1	101.10±0.65

3.3.2 对LPS诱导的RAW264.7细胞分化为Ly6C^{hi}单核/巨噬细胞的影响 与空白组比较,LPS组RAW264.7细胞分化为Ly6C^{hi}单核/巨噬细胞的比例和数量显著增加(P<0.01);与LPS组比较,各剂量干姜组RAW264.7细胞分化为Ly6C^{hi}单核/巨噬细胞的

比例和数量均明显降低($P<0.05, P<0.01$)。见表6及增强出版附加材料。

3.3.3 对RAW264.7细胞中TLR4、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 mRNA表达的影响 与空白组比较,LPS组RAW264.7细胞中的TLR4、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 mRNA表达均显著升高($P<0.01$);与LPS组比较,10 mg·L⁻¹干姜组RAW264.7细胞中TLR4、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 mRNA的相对表达量均明显降低($P<0.05, P<0.01$),100 mg·L⁻¹干姜组RAW264.7细胞中TLR4、IL-6 mRNA的相对表达量显著降低($P<0.01$),1 mg·L⁻¹干姜组RAW264.7细胞中TLR4 mRNA的相对表达量显著降低,差异具有统计学意义($P<0.01$)。见表7。

表7 干姜对RAW264.7细胞TLR4、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 mRNA相对表达量的影响($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 7 Effect of Zingiberis Rhizoma on relative expression of TLR4, TNF- α , IL-1 β , IL-6 mRNA in RAW264.7 cells ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	质量浓度/mg·L ⁻¹	TLR4	TNF- α	IL-1 β	IL-6
空白组		1.01±0.13	1.01±0.20	1.09±0.49	1.00±0.09
LPS组	1	1.91±0.34 ¹⁾	35.30±2.62 ¹⁾	1 660.00±203.90 ¹⁾	1 030.00±98.98 ¹⁾
干姜组	100	1.19±0.19 ³⁾	34.35±2.05	1 344.00±251.70	488.90±85.50 ³⁾
	10	1.03±0.12 ³⁾	27.55±5.32 ²⁾	894.60±390.80 ²⁾	764.00±142.00 ²⁾
	1	0.98±0.12 ³⁾	36.55±0.10	1 024.00±365.00	1 008.00±35.85

3.3.4 对RAW264.7细胞中TLR4、ERK、p-ERK、p38 MAPK、p-p38 MAPK蛋白表达的影响 与空白组比较,LPS组RAW264.7细胞中TLR4、p-ERK、p-p38 MAPK蛋白的表达明显增加($P<0.05, P<0.01$);与LPS组比较,100 mg·L⁻¹干姜组RAW264.7细胞中p-ERK、p-p38 MAPK蛋白的表达明显降低($P<0.05, P<0.01$),10 mg·L⁻¹干姜组RAW264.7细胞中TLR4、p-ERK、p-p38 MAPK蛋白的表达均显著降低($P<0.01$),1 mg·L⁻¹干姜组RAW264.7细胞中p-ERK蛋白表达显著降低($P<0.01$)。见图3、表8。

4 讨论

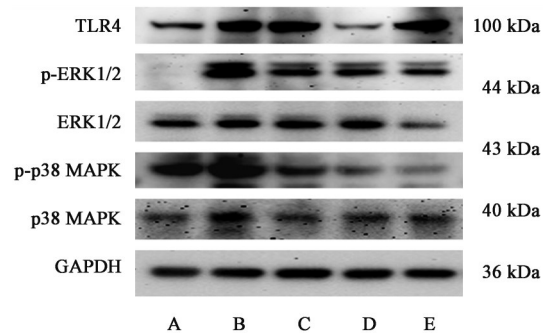
中医认为IBD的常见证型多为湿盛(66.42%)和脾虚(56.20%),其中,乌梅丸合芍药汤是用寒热

表6 干姜对LPS诱导的RAW264.7分化为Ly6C^{hi}单核/巨噬细胞的影响($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 6 Effect of Zingiberis Rhizoma on LPS-induced differentiation of RAW264.7 into Ly6C^{hi} monocytes/macrophages ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	质量浓度/mg·L ⁻¹	Ly6C ^{hi} 单核/巨噬细胞比例/%	Ly6C ^{hi} 单核/巨噬细胞数量/个
空白组		0.78±0.04	6 553.00±306.30
LPS组	1	4.47±0.23 ¹⁾	30 422.00±817.40 ¹⁾
干姜组	100	3.09±0.61 ³⁾	22 372.00±1 735.00 ²⁾
	10	2.99±0.66 ³⁾	21 767.00±4 468.00 ²⁾
	1	3.05±0.27 ³⁾	22 120.00±1 248.00 ²⁾

义($P<0.01$)。见表7。



注:A.空白组;B.LPS组;C.LPS+100 mg·L⁻¹干姜;D.LPS+10 mg·L⁻¹干姜;E.LPS+1 mg·L⁻¹干姜

图3 各组RAW264.7细胞中TLR4、ERK、p-ERK、p38 MAPK、p-p38 MAPK蛋白表达电泳

Fig. 3 Electrophoresis of TLR4, ERK, p-ERK, p38 MAPK, p-p38 MAPK protein expression of RAW264.7 cells in each group

表8 干姜对RAW264.7细胞TLR4、ERK、p-ERK、p38 MAPK、p-p38 MAPK蛋白相对表达量的影响($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 8 Effect of Zingiberis Rhizoma on relative expression of TLR4, ERK, p-ERK, p38 MAPK, p-p38 MAPK protein in RAW264.7 cells ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	质量浓度/mg·L ⁻¹	TLR4/GAPDH	p-ERK/GAPDH	ERK/GAPDH	p-p38 MAPK/GAPDH	p38 MAPK/GAPDH
空白组		0.39±0.09	0.34±0.13	0.96±0.09	0.65±0.10	1.02±0.16
LPS组	1	0.70±0.06 ²⁾	0.92±0.06 ²⁾	0.69±0.09	0.94±0.05 ¹⁾	0.93±0.12
干姜组	100	0.71±0.12	0.74±0.04 ³⁾	0.66±0.06	0.53±0.09 ⁴⁾	0.96±0.14
	10	0.35±0.06 ⁴⁾	0.67±0.01 ⁴⁾	0.68±0.06	0.54±0.10 ⁴⁾	1.00±0.14
	1	0.78±0.02	0.68±0.13 ³⁾	0.58±0.16	0.73±0.23	1.24±0.18

并调法治疗IBD的核心治法组合^[13]。研究表明,乌梅丸通过调节肠道菌群逆转免疫失衡治疗UC^[14]。乌梅作为君药酸收止泻,敛肠生津,对IBD小鼠的肠黏膜上皮屏障功能具有良好的修复作用^[15]。而干姜作为乌梅丸重要的臣药,既能够健脾化湿,减少肠道湿热,又能够温中散寒,缓解UC患者因脾胃虚寒引起的腹痛、腹泻等症状^[12-16]。干姜中的多种活性成分,如姜辣素、姜烯酚、姜黄素、槲皮素、 β -谷甾醇等,已被证实具有抗炎、抗氧化和免疫调节等生物活性。6-姜烯酚、姜烯酚和姜二酮等影响TLR4/NF- κ B和Notch信号通路,能与CYP7A1、BSEP和IBABP胆固醇代谢蛋白相互作用调节胆汁酸的合成和转运发挥抗炎作用^[11-12,17]。槲皮素调节cGAS/STING通路逆转巨噬细胞M1/M2极化,通过激活AhR增强UC小鼠紧密连接蛋白表达恢复肠屏障功能^[18-19]。 β -谷甾醇增加肠上皮细胞表达抗菌肽,降低细胞内鼠伤寒沙门氏菌的存活,通过抑制NLRP3/Caspase-1/GSDMD介导的焦亡和炎症反应缓解结肠炎^[20-21]。本研究的干姜与IBD的“药物有效成分-疾病靶点-信号通路”分析发现槲皮素、 β -谷甾醇、六角苦素等活性成分与Toll样受体、MAPK、NF- κ B、TNF、IL-17等多个核心靶点及炎症信号存在关联。前期研究结果表明Ly6C^{hi}单核/巨噬细胞在DSS诱导的实验性结肠炎中发挥致病作用^[22],GO分析提示干姜缓解IBD与调控单核细胞增殖有关,利用实验性结肠炎小鼠和LPS刺激RAW264.7单核细胞分析均证明了干姜能够减少Ly6C^{hi}单核/巨噬细胞分化。

Ly6C⁺单核细胞在血管中循环并在血管内皮中巡逻,在感染和其他炎症条件下通过血流渗入周围组织,分化Ly6C^{hi}和Ly6C^{lo}单核/巨噬细胞^[23]。Ly6C^{hi}和Ly6C^{lo}巨噬细胞表现出高度多样性的细胞表面标记、细胞因子释放和转录谱。Ly6C^{hi}单核/巨噬细胞表达M1型标记物,在急性炎症反应中更加丰富,通过释放包括TNF、IL-1 β 和TGF- β 等细胞因子来发挥促炎和促纤维化的功能^[24-25]。相比之下,Ly6C^{lo}单核/巨噬细胞在伤口愈合、抗炎和抗纤维化过程中起保护作用,有利于维持内皮稳定性、血管生成调节和离子运输^[26-27]。Ly6C^{hi}单核细胞具有较短的循环半衰期,随着时间的推移,CSF-1、IL-4、IL-10等因子启动Nr4a1、Cebpb等转录因子使Ly6C^{hi}向Ly6C^{lo}群体转换,补充组织常驻巨噬细胞^[6,28-29],但这一过程背后的精确调控机制尚不完全清楚。在IBD急性期,Ly6C⁺单核细胞会被招募并分化成CCR2⁺CX3

CR1^{low/int}Ly6C^{hi}炎症型巨噬细胞,通过释放炎症细胞因子破坏肠上皮屏障,促进肠道炎症反应^[23,30]。DSS造模是一个动态变化的过程,在急性发病阶段,结肠炎症明显且炎症因子分泌显著升高,慢性维持或停止造模炎症出现减轻,肠黏膜逐渐修复,但该阶段肠黏膜屏障功能较为低下,易于复发^[31]。本研究发现在DSS诱导的2周实验性结肠模型中,Ly6C^{hi}和Ly6C^{lo}单核/巨噬细胞表达均升高,这可能由于在低浓度DSS维持结肠炎造模期间,Ly6C^{hi}发生了向Ly6C^{lo}单核/巨噬细胞的转换过程,补充了常驻巨噬细胞以发挥肠道自愈功能。

TLR4作为模式识别受体(PRR)家族的重要成员,尤其针对革兰氏阴性菌壁上的LPS进行识别^[32]。LPS受LPS结合蛋白(LBP)调控被CD14识别后,形成LPS-LBP-CD14复合物激活TLR4,通过衔接蛋白MyD88和丝氨酸激酶IL-1R相关激酶4(IRAF4)及肿瘤坏死因子受体相关因子6(TRAF6)进行信号传导。该途径导致NF- κ B和MAPK的活化并触发细胞因子产生^[33]。在UC患者发炎和受损的肠黏膜中,TLR4⁺巨噬细胞大量聚集增强了对LPS的高反应性^[34]。前期研究发现,实验性结肠炎小鼠粪便革兰氏阴性菌普雷沃氏菌属、另枝菌属、副拟杆菌属等存在明显差异^[22],进一步提示LPS通过识别TLR4激活Ly6C^{hi}单核/巨噬细胞中信号转导是介导IBD发病的重要机制。ERK1/2和p38是MAPK家族的两个重要成员,在UC中,ERK1/2的激活参与了肠上皮细胞的修复和再生过程以维持肠黏膜的完整性^[35],但其异常激活也可能导致炎症介质的产生加剧炎症反应。前期研究证明通过抑制ERK1/2和p38的激活,可以减轻UC的炎症损伤^[36-37]。本研究证明干姜可通过抑制Ly6C^{hi}单核/巨噬细胞中TLR4/ERK/p38 MAPK信号转导减少炎症细胞因子释放来减轻炎症。

该研究从固有免疫角度探究干姜抑制Ly6C^{hi}单核/巨噬细胞缓解IBD的作用机制,多层次证明TLR4及其下游的ERK/p38 MAPK信号通路在IBD发病中扮演着重要角色,针对这些途径进行干预可能为治疗IBD提供新的策略。然而干姜具体哪些活性成分起关键作用,这种作用是直接作用亦或通过肠道菌群发挥间接作用,均值得后续深入探究。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

[1] HEMMER A, FOREST K, RATH J, et al. Inflammatory

- bowel disease: A concise review[J]. *S D Med*, 2023, 76(9): 416-423.
- [2] ZHANG Y, LIU J L, HAN X, et al. Long-term trends in the burden of inflammatory bowel disease in China over three decades: A joinpoint regression and age-period-cohort analysis based on GBD 2019[J]. *Front Public Health*, 2022, 10:994619.
- [3] 丁栋, 李佳妮, 齐冉, 等. 溃疡性结肠炎的研究进展[J]. *药学研究*, 2017, 36(7):404-408.
DING D, LI J N, QI R, et al. Research advances of the ulcerative colitis[J]. *J Pharm Res*, 2017, 36(7):404-408.
- [4] 陈灵, 高艳云, 姚昶, 等. 干姜提取物对溃疡性结肠炎小鼠的改善作用[J]. *中国食品添加剂*, 2023, 34(8):70-77.
CHEN L, GAO Y Y, YAO C, et al. Improvement effects of *Zingiberis Rhizoma* extract on mice with ulcerative colitis [J]. *China Food Addit*, 2023, 34(8):70-77.
- [5] HE Y X, LI Y Y, WU Y Q, et al. Huanglian Ganjiang decoction alleviates ulcerative colitis by restoring gut barrier via APOC1-JNK/p38 MAPK signal pathway based on proteomic analysis[J]. *J Ethnopharmacol*, 2024, 318 (Pt B): 116994.
- [6] ZIGMOND E, VAROL C, FARACHE J, et al. Ly6C hi monocytes in the inflamed colon give rise to proinflammatory effector cells and migratory antigen-presenting cells [J]. *Immunity*, 2012, 37(6):1076-1090.
- [7] HU T, ZHAO Y, LONG Y, et al. TLR4 promoted endoplasmic reticulum stress induced inflammatory bowel disease via the activation of p38 MAPK pathway[J]. *Biosci Rep*, 2022, 42(4):BSR20220307.
- [8] ROUX P P, BLENIS J. ERK and p38 MAPK-activated protein kinases: A family of protein kinases with diverse biological functions [J]. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2004, 68(2):320-344.
- [9] WANG J, LIU Y, GUO Y, et al. Function and inhibition of p38 MAP kinase signaling: Targeting multiple inflammation diseases[J]. *Biochem Pharmacol*, 2024, 220:115973.
- [10] FANG W S, BI D C, ZHENG R J, et al. Identification and activation of TLR4-mediated signalling pathways by alginate-derived guluronate oligosaccharide in RAW264.7 macrophages[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1):1663.
- [11] GENG J L, CHEN C, PAN D B, et al. Exploring the therapeutic effects of *Zingiberis Rhizoma Preparatum* (Pao-Jiang) against DSS-induced ulcerative colitis in mice by metabolomics-guided analysis [J]. *J Holist Integr Pharm*, 2023, 4(4):272-280.
- [12] 陈琛. 基于代谢组学方法的干姜和炮姜活性组分对溃疡性结肠炎干预作用的研究[D]. 广州: 广东药科大学, 2020.
CHEN C. Study on the intervention effect of the active components of dry Ginger and processed Ginger on ulcerative colitis based on metabolomics [D]. Guangzhou: Guangdong Pharmaceutical University, 2020.
- [13] 王辰, 曹小宇, 李亚兰, 等. 中医药治疗炎症性肠病的用药时期演进规律[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2025, doi: 10.13422/j.cnki.syfjx.20250935.
- WANG C, CAO X Y, LI Y L. et al. Evolution of medication patterns in traditional Chinese medicine for treating inflammatory bowel disease [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2025, doi: 10.13422/j.cnki.syfjx.20250935.
- [14] 张崇豪, 马沛广, 刘华琛, 等. 基于菌群人源化模型探究乌梅丸加减对湿热瘀阻证溃疡性结肠炎 Th17/Treg 平衡及肠道菌群的调节作用[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2025, doi: 10.13422/j.cnki.syfjx.20242337.
ZHANG C H, MA P G, LIU H C, et al. Regulatory effect of modified Wumeiwan on Th17/Treg balance and intestinal microbiota in ulcerative colitis with dampness-heat obstruction syndrome in human flora-associated model [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2025, doi: 10.13422/j.cnki.syfjx.20242337.
- [15] 刘华琛, 张崇豪, 李亚兰, 等. 乌梅通过 MEK/ERK 信号通路修复 IBD 小鼠肠黏膜上皮屏障功能[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2025, doi: 10.13422/j.cnki.syfjx.20250540.
LIU H C, ZHANG C H, LI Y L. et al. *Mume Fructus* restores intestinal mucosal epithelial barrier through MEK/ERK signaling pathway in mouse model of inflammatory bowel disease [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2025, doi: 10.13422/j.cnki.syfjx.20250540.
- [16] 史瑞, 李军祥, 沈洪, 等. 溃疡性结肠炎中医诊疗专家共识 (2023)[J]. *中华中医药杂志*, 2024, 39(1):288-296.
SHI R, LI J X, SHEN H, et al. Experts consensus on traditional Chinese medicine diagnosis and treatment of ulcerative colitis (2023) [J]. *China J Tradit Chin Med Pharm*, 2024, 39(1): 288-296.
- [17] 惠毅, 李京涛, 魏海梁, 等. 从 Notch 和 TLR4/NF- κ B 信号通路研究 6-姜烯酚治疗溃疡性结肠炎的作用机制[J]. *中国药理学杂志*, 2020, 55(16):1331-1338.
HUI Y, LI J T, WEI H L, et al. Study on the action mechanism of 6-shogaol in the treatment of ulcerative colitis from the signaling pathway of Notch and TLR4/NF- κ B [J]. *Chin Pharm J*, 2020, 55(16): 1331-1338.
- [18] WANG X J, XIE X T, LI Y Y, et al. Quercetin ameliorates ulcerative colitis by activating aryl hydrocarbon receptor to improve intestinal barrier integrity[J]. *Phytother Res*, 2024, 38(1):253-264.
- [19] GAO F, ZHU F, SHUAI B, et al. Quercetin ameliorates ulcerative colitis by restoring the balance of M2/M1 and repairing the intestinal barrier via downregulating cGAS-STING pathway[J]. *Front Pharmacol*, 2024, 15:1351538.
- [20] DING K, TAN Y Y, DING Y, et al. β -sitosterol improves experimental colitis in mice with a target against pathogenic bacteria[J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120(4):5687-5694.
- [21] ZHANG D, GE F, JI J, et al. β -sitosterol alleviates dextran sulfate sodium-induced experimental colitis via inhibition of NLRP3/Caspase-1/GSDMD-mediated pyroptosis [J]. *Front Pharmacol*, 2023, 14:1218477.

- [22] LI Y L, LI N, LIU J J, et al. Gegen Qinlian decoction alleviates experimental colitis and concurrent lung inflammation by inhibiting the recruitment of inflammatory myeloid cells and restoring microbial balance[J]. *J Inflamm Res*, 2022, 15: 1273-1291.
- [23] LI Y H, ZHANG Y, PAN G, et al. Occurrences and functions of Ly6C^{hi} and Ly6C^{lo} macrophages in health and disease[J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 901672.
- [24] NISHIZAWA N, ITO Y, ESHIMA K, et al. Inhibition of microsomal prostaglandin E synthase-1 facilitates liver repair after hepatic injury in mice[J]. *J Hepatol*, 2018, 69(1): 110-120.
- [25] KRENKEL O, TACKE F. Liver macrophages in tissue homeostasis and disease[J]. *Nat Rev Immunol*, 2017, 17(5): 306-321.
- [26] GIANNAKIS N, SANSBURY B E, PATSALOS A, et al. Dynamic changes to lipid mediators support transitions among macrophage subtypes during muscle regeneration[J]. *Nat Immunol*, 2019, 20(5): 626-636.
- [27] KIMBALL A, SCHALLER M, JOSHI A, et al. Ly6C^{hi} blood monocyte/macrophage drive chronic inflammation and impair wound healing in diabetes mellitus[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2018, 38(5): 1102-1114.
- [28] MILDNER A, SCHÖNHEIT J, GILADI A, et al. Genomic characterization of murine monocytes reveals C/EBP β transcription factor dependence of Ly6C-cells[J]. *Immunity*, 2017, 46(5): 849-862.
- [29] THOMAS G D, HANNA R N, VASUDEVAN N T, et al. Deleting an Nr4a1 super-enhancer subdomain ablates Ly6C (low) monocytes while preserving macrophage gene function[J]. *Immunity*, 2016, 45(5): 975-987.
- [30] 霍然, 傅小娟, 邓赛, 等. 脂多糖刺激下骨髓间充质干细胞分泌的外泌体对Ly6C单核巨噬细胞亚群的影响[J]. *中国药理学通报*, 2018, 34(7): 910-917.
- HUO R, FU X M, DENG S, et al. Exosomes from LPS treated mesenchymal stem cells regulate proportion of Ly6C monocyte population[J]. *Chin Pharmacol Bull*, 2018, 34(7): 910-917.
- [31] 李富凤, 王汝俊, 潘华新, 等. DSS诱导小鼠溃疡性结肠炎模型的动态评估[J]. *世界华人消化杂志*, 2015(11): 1721-1727.
- LI F F, WANG R J, PAN H X, et al. Dynamic assessment of dextran sulfate sodium (DSS)-induced ulcerative colitis model in mice[J]. *World Chin J Dig*, 2015(11): 1721-1727.
- [32] RYU J K, KIM S J, RAH S H, et al. Reconstruction of LPS transfer cascade reveals structural determinants within LBP, CD14, and TLR4-MD2 for efficient LPS recognition and transfer[J]. *Immunity*, 2017, 46(1): 38-50.
- [33] KORDJAZY N, HAJ-MIRZAIAN A, HAJ-MIRZAIAN A, et al. Role of Toll-like receptors in inflammatory bowel disease[J]. *Pharmacol Res*, 2018, 129: 204-215.
- [34] CANDELLI M, FRANZA L, PIGNATARO G, et al. Interaction between lipopolysaccharide and gut microbiota in inflammatory bowel diseases[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(12): 6242.
- [35] 黄盛琦, 卢爱妮, 王德龙, 等. 基于MAPK/ERK通路研究芍药汤对溃疡性结肠炎黏膜损伤修复作用机制[J]. *浙江中医药大学学报*, 2022, 46(12): 1301-1309, 1319.
- HUANG S Q, LU A N, WANG D L, et al. Study on the repair mechanism of Shaoyao decoction on mucosal barrier in ulcerative colitis based on MAPK/ERK pathway[J]. *J Zhejiang Chin Med Univ*, 2022, 46(12): 1301-1309, 1319.
- [36] 马沛广, 李秋逸, 刘佳静, 等. 驴食草酚调控ERK1/2和p38 MAPK信号通路防治溃疡性结肠炎的研究[J]. *现代中西医结合杂志*, 2022, 31(20): 2803-2807, 2889.
- MA P G, LI Q Y, LIU J J, et al. Vestitol prevents and treats for ulcerative colitis through regulating ERK1/2 and p38 MAPK signaling pathway[J]. *Mod J Integr Tradit Chin West Med*, 2022, 31(20): 2803-2807, 2889.
- [37] 李亚兰, 刘佳静, 马沛广, 等. 葛根苓连汤调控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.
- LI Y L, LIU J J, MA P G, et al. Gegen Qinliantang regulates MMP-9/p38 MARK pathway to repair intestinal mucosal barrier function in mice with ulcerative colitis[J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2021, 27(4): 8-15.

[责任编辑 孙丛丛]