

中药复方 YCNHF I / II 联合益生菌对溃疡性结肠炎大鼠的协同治疗作用研究

鲁兵晏^{1#}, 武文睿^{1#}, 司宁印¹, 毋莹¹, 吕玉红¹, 谷秀娟^{2*}, 岳昌武^{1*}

(1. 延安大学延安医学院微生物药物创新及转化延安市重点实验室, 陕西 延安 716000;
2. 延安大学附属医院东关分院检验科, 陕西 延安 716000)

摘要:目的 探讨中药复方 YCNHF I / II 联合混合益生菌(mixed probiotics, MP)对葡聚糖硫酸钠(dextran sulfate sodium, DSS)诱导溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)大鼠的协同治疗作用及潜在机制。方法 采用 UPLC-MS/MS 技术鉴定 YCNHF I / II 联合益生菌给药后大鼠的入血成分;建立 DSS 诱导的 UC 大鼠模型,设置正常对照组、模型组、YCNHF I / II 高剂量组、YCNHF I / II 联合益生菌组、益生菌组、美沙拉嗪(5-aminosalicylic acid, 5-ASA)组及丁酸钠(sodium butyrate, NaB)组;观察疾病活动指数(Disease Activity Index, DAI)、脏器指数及组织病理学变化,检测炎症因子、氧化应激指标及肠道代谢物水平,并结合 16S rRNA 测序与非靶向代谢组学分析肠道菌群及代谢特征。结果 YCNHF I -MP 组与 YCNHF II -MP 组分别检出 65 个和 64 个入血成分,其中甘草次酸、黄芩苷等核心活性物质稳定存在;联合干预可显著改善 UC 大鼠体重下降、DAI 升高、结肠缩短及脾肿大,修复结肠、肝和肾病理损伤,下调 IL-6、IL-1 β 、MPO、5-HT、5-HIAA 及总胆汁酸水平,上调 SOD、GSH 水平,整体疗效优于单方给药。多组学分析显示,YCNHF 联合益生菌可重塑 UC 大鼠肠道菌群多样性与结构,恢复 ABC 转运、淀粉蔗糖代谢等关键通路,逆转色胺、嘌呤代谢紊乱。结论 中药复方 YCNHF I / II 联合益生菌可通过优化入血成分、抑制炎症与氧化应激、修复肠黏膜与肝肾损伤、调控“肠道菌群-代谢轴”发挥协同抗 UC 作用,为临床治疗提供实验依据。

关键词: 溃疡性结肠炎;中药复方 YCNHF;混合益生菌;肠道菌群;代谢组学

中图分类号: R285.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1672-2639(2026)03-0019-11

Study on the synergistic therapeutic effect of traditional chinese medicine compound YCNHF I / II combined with probiotics on ulcerative colitis in rats

Lu Bingyan^{1#}, Wu Wenrui^{1#}, Si Ningyin¹, Wu Ying¹, Lyu Yuhong¹, Gu Xiujuan^{2*},
Yue Changwu^{1*}

(1. Yan'an Key Laboratory of Innovative & Translational Research for Microbial Medicines, Yan'an Medical College of Yan'an University, Yan'an 716000, China; 2. Department of Laboratory Medicine, Dongguan Branch, of Yan'an University Affiliated Hospital, Yan'an 716000, China)

基金项目: 延安市科技计划(2025-SFGG-080);大学生创新创业计划项目(202510719064);延安大学科技计划(2023KXJ-012, 2023CGZH-001)

作者简介: 鲁兵晏(2000—),女,陕西咸阳人,在读硕士研究生。研究方向:癌症相关机制研究。

武文睿(2005—),女,陕西宝鸡人,在读硕士研究生。研究方向:癌症相关机制研究。

通信作者: 岳昌武(1975—),男,河南商城人,博士,教授。研究方向:微生物天然活性产物开发。

E-mail: changwuyue@126.com

谷秀娟(1972—),女,陕西延安人,主任检验技师。研究方向:慢性退行性疾病及癌症相关机制研究。

E-mail: guxiujuan001@126.com

#共同第一作者,*共同通信作者

Abstract: Objective To investigate the synergistic therapeutic effect and underlying mechanism of the Chinese herbal compound YCNHF I/II combined with mixed probiotics (MP) on dextran sulfate sodium (DSS)-induced ulcerative colitis (UC) in rats. **Methods** UPLC-MS/MS was used to identify the absorbed components of YCNHF I/II in rat plasma after co-administration with mixed probiotics. A UC rat model was established using DSS, and animals were randomly divided into normal control, model, high-dose YCNHF I/II, YCNHF I/II combined with MP, MP alone, mesalazine (5-aminosalicylic acid, 5-ASA), and sodium butyrate (NaB) groups. The disease activity index (DAI), organ indexes, and histopathological changes were evaluated. Levels of inflammatory factors, oxidative stress markers, and intestinal metabolites were measured. Additionally, 16S rRNA sequencing and untargeted metabolomics were performed to analyze the characteristics of gut microbiota and host metabolism. **Results** A total of 65 and 64 absorbed components were identified in the YCNHF I-MP and YCNHF II-MP groups, respectively, with core active compounds such as glycyrrhetic acid and baicalin stably detected. Combined intervention significantly attenuated body weight loss, reduced DAI scores, alleviated colon shortening, and ameliorated splenomegaly in UC rats, and repaired pathological damage to the colon, liver, and kidney. The treatment downregulated the levels of IL-6, IL-1 β , MPO, 5-HT, 5-HIAA, and total bile acids, while upregulating SOD and GSH levels, showing superior efficacy compared with single-agent treatment. Multi-omics analysis revealed that YCNHF combined with MP could remodel the diversity and structure of gut microbiota in UC rats, restore key pathways such as ABC transporters and starch and sucrose metabolism, and reverse disturbances in tryptamine and purine metabolism. **Conclusion** The Chinese herbal compound YCNHF I/II combined with mixed probiotics exerts synergistic anti-UC effects by optimizing absorbed components, inhibiting inflammation and oxidative stress, repairing damage to the intestinal mucosa, liver, and kidneys, and regulating the “gut microbiota-metabolism axis”. This study provides experimental evidence for its potential clinical application.

Key words: Ulcerative colitis; Traditional Chinese medicine compound YCNHF; Mixed probiotics; Gut microbiota; Metabolomics

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是一类以肠道慢性非特异性炎症、黏膜损伤、菌群紊乱及代谢失衡为核心特征的炎症性肠病^[1],近年来发病率持续上升,显著影响患者生活质量^[2]。临床常规治疗药物疗效有限、不良反应较多,急需安全、高效的联合干预策略^[3]。中药复方可通过多成分、多靶点发挥抗炎、抗氧化及黏膜修复作用,益生菌则能调节肠道微生态平衡,二者联用有望实现协同增效^[4]。

YCNHF I/II为课题组前期基于古籍挖掘与网络药理学筛选获得的中药复方,前期研究证实其具有抗结肠炎活性^[5]。然而,单一复方对肠道微生态的调控作用有限,单独益生菌对炎症及黏膜损伤的修复效果也较弱^[6]。为此,本研究采用中药复方联合益生菌干预策略,通过超高效液相色谱—串联飞行时间质谱联用(UPLC-MS/MS)鉴定联合给药后的入血成分^[7],建立DSS诱导的UC大鼠模型,从疾病活动度、组织病理学改变、炎症因子、氧化应激及肠道代谢等层面评价YCNHF I/II联合益生菌的协同治疗效果,并结合16S rDNA高通量测序与非靶向代

谢组学探讨其潜在机制^[8],同时设置丁酸钠(sodium butyrate, NaB)作为辅助干预对照,旨在为中医药联合微生态制剂治疗UC提供实验依据与新策略^[9]。

1 材料与方法

1.1 动物与试剂

(180 $\pm$ 20)g雄性SD大鼠购自江苏华创信诺医药科技有限公司,许可证号为SCXK(苏)2020-0009;中药材购自金方千草药业有限公司,原产地位于安徽亳州,中药复方YCNHFI、YCNHFII自制;美沙拉嗪肠溶片购自葵花药业集团;植物乳杆菌、嗜酸乳杆菌、鼠李糖乳杆菌、肠膜明串珠菌肠膜亚种、戊糖片球菌混合益生菌菌包(mixed probiotics, MP)购自江苏新申奥生物科技有限公司;DSS购自上海麦克林生化科技股份有限公司;本实验获得延安大学附属医院医学伦理委员会批准(批准号:IIT-G-2025064)。

1.2 入血成分 UPLC-MS/MS 检测

将SD大鼠随机分为YCNHFI高剂量+MP组

(0.918 g/kg·d YCNHFI+0.5 g/kg·d MP)、YCNHFII高剂量+MP组(0.954 g/kg·d YCNHFII+0.5 g/kg·d MP)、NaB组(0.05 g/kg·d),每组5只,连续灌胃10 d后眼眶取血,分离含药血浆。采用UPLC-MS/MS技术,通过Waters ACQUITY UPLC HSS T3色谱柱(1.8 μ m, 2.1 mm×100 μ m)进行梯度洗脱(流动相A为0.1%甲酸/水,B为0.1%甲酸/乙腈),结合QExactive HF-X质谱仪在ESI+/-模式下检测。血浆样本经70%甲醇超声提取后,通过XCMS程序进行峰提取,保留时间校正和代谢物鉴定。

1.3 动物分组

SD大鼠适应性喂养7 d后随机分为:Control组(正常对照组)、DSS组(模型组)、YCNHFI-H组(YCNHFI高剂量组,0.918 g/kg·d)、YCNHFI-H-MP组(YCNHFI高剂量联合混合益生菌组,0.918 g/kg·d YCNHFI+0.5 g/kg·d MP)、YCNHFII-H组(YCNHFII高剂量组,0.954 g/kg·d)、YCNHFII-H-MP组(YCNHFII高剂量联合混合益生菌组,0.954 g/kg·d YCNHF II+0.5 g/kg·d MP)、MP组(混合益生菌组, g/kg·d)、5-ASA组(0.36 g/kg·d,美沙拉嗪肠溶片,为溃疡性结肠炎临床一线治疗药物,作为本研究阳性对照)、NaB组(0.05 g/kg·d,为肠道菌群关键代谢产物短链脂肪酸,作为菌群-代谢轴辅助干预对照),每组5只。对正常对照组以外的所有实验大鼠,给予含3% DSS的饮用水进行诱导造模,在第9天90%的动物出现便血或肛门处粘连血渍,判断模型构建成功。DSS诱导结束后,造模组更换为饮用去离子水,正常对照组每日灌胃等体积去离子水,阳性对照组及各治疗组均灌胃给药10 d。

1.4 疾病活动指数(DAI)评分

每日定时观察并记录大鼠一般状态与体重变化,依照DAI评分标准(表1)记录大便硬度和便血程度,DAI=(大便硬度分数+便血分数+体重下降分数)/3。

表1 疾病活动指数(DAI)评分标准^[10]

体重	便血	大便硬度	评分
未减轻或增加	无便血	成型良好质硬	0
体重减轻1%~5%	轻度便血	质软成型	1
体重减轻6%~10%	中度便血	质软不成型	2
体重减轻10%~15%	重度便血	水样便	3
体重减轻>15%	重度便血	水样便	4

1.5 样本采集与处理

给药结束后,所有SD大鼠禁食不禁水12 h,用1%戊巴比妥钠麻醉并解剖,收集脾及结肠组织,立

即测量结肠全长(盲肠至直肠末端)。分离脾脏进行称重,小鼠脾脏系数的计算公式为:脾脏质量(g)/体重(g)×10。测量结束后,将大鼠的远端结肠段用无菌PBS清洗,再于4%多聚甲醛中过夜固定,其余结肠组织及样本置于-80℃冰箱中保存备用。

1.6 HE染色

取各大鼠相同部位结肠组织,用4%多聚甲醛固定后,常规石蜡包埋切片。切片处理后,HE染色,于光学显微镜下观察结肠组织病理学变化。

1.7 大鼠血清IL-6与IL-1 β 炎症因子的测定

大鼠血液室温静置自然凝固,待血清充分析出后,于4℃、3 000 g离心15 min,吸取上层淡黄色血清,避免触碰下层红细胞与纤维蛋白层。严格按照ELISA试剂盒说明书操作,测定血清中IL-6、IL-1 β 炎症因子水平。

1.8 大鼠结肠组织各指标含量的测定

取大鼠结肠组织精确称重,按1:9(w/v)比例加入预冷PBS制备组织匀浆;4℃、5 000 g离心10 min,收集上清液。参照对应试剂盒说明书,采用ELISA法分别检测结肠组织中髓过氧化物酶(myeloperoxidase, MPO)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、还原型谷胱甘肽(glutathione, r-glutamyl cysteinyl+glycine, GSH)、5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)、5-羟基吲哚乙酸(5-hydroxyindole-3-acetic acid, 5-HIAA)、总胆汁酸(total bile acid, TBA)的含量,检测结果以每克结肠组织中各指标含量表示。

1.9 16S rDNA扩增子测序测定大鼠肠道微生物菌群

实验共纳入27例大鼠粪便样本,分为9组,每组设置3个生物学重复。委托上海中科新生命生物科技有限公司进行检测,采用Illumina NovaSeq 6000测序平台,针对细菌16S rDNA基因的V3-V4高变区进行扩增与测序;基于16S rDNA基因保守区设计通用引物完成PCR扩增,采用双末端测序(paired-end)策略构建小片段文库并完成测序^[11]。测序原始数据经序列拼接、质量过滤、降噪、物种注释与丰度统计分析,明确各组样本的肠道菌群物种组成特征;后续进一步通过组间差异分析,筛选与UC造模及药物治疗相关的差异菌群^[12]。

1.10 大鼠粪便非靶向代谢组学分析

采用高分辨非靶向代谢组学分析策略,委托上海中科新生命生物科技有限公司进行检测,通过UPLC-MS/MS对样本中的代谢物进行系统检测。

代谢物结构鉴定通过将检测所得的保留时间、精确分子质量(质量偏差严格控制在 10 ppm 以内)、二级碎裂谱图、碰撞能等核心信息,与本地标准代谢物数据库进行精准匹配完成;所有初步鉴定结果均经人工二次核对确认,以保证准确性。

1. 11 统计学方法

采用 Graph Pad Prism 10 进行数据分析,用($\bar{x}\pm s$)表示。使用单因素方差分析(One-way ANOVA)分析多组间数据的差异性,以 $P<0.05$ 表示组间差异具有统计学意义。

2 结果

2. 1 YCNHF 联合益生菌入血成分分析

采用 UPLC-MS/MS 对 YCNHF I / II 联合益生菌灌胃后大鼠血清进行定性分析。结果显示,YCNHF I-MP 组共检出 65 个入血成分,其中原型成分

11 个、代谢产物 54 个;YCNHF II-MP 组共检出 64 个入血成分,其中原型成分 9 个、代谢产物 55 个。两组均稳定保留甘草次酸等核心抗炎活性物质,YCNHF II-MP 组可检出黄芩苷;与单方给药相比,联合 MP 后可优化入血成分组成,补充黄酮类、有机酸类等关键活性成分,为协同增效提供物质基础。主要原型入血成分见表 2。

2. 2 中药复方 YCNHFI/II 联合混合益生菌对 UC 大鼠的体内作用研究

2. 2. 1 DSS 诱导的 UC 大鼠 DAI 评分分析 造模期间,与 Control 组比较,DSS 模型组及各给药组大鼠体重均显著降低,DAI 评分均显著升高($P<0.05$),表现出典型溃疡性结肠炎症状,提示模型构建成功(图 1A、1B)。给药后,与 DSS 模型组比较,各给药组体重下降趋势显著缓解,DAI 评分均显著降低($P<0.05$),治疗效果显著(图 1C、1D)。

表 2 YCNHFI/II 联合益生菌原型入血成分

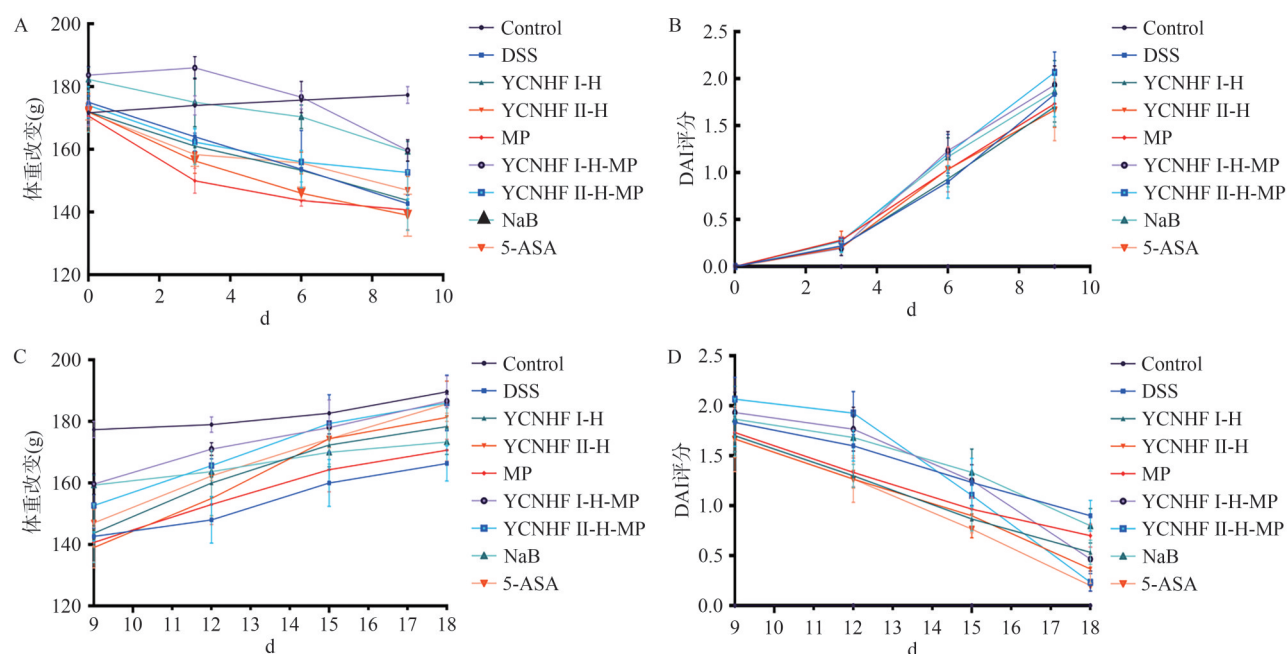
物质一级分类	活性成分	
	YCNHFI-MP	YCNHFII-MP
黄酮类	黄芩苷	黄芩苷
萜类	甘草次酸	甘草次酸
有机酸及其衍生物	D-3-羟基丁酸	3,4,5-三羟基-6-[[5-羟基-2-(3-羟基苯基)-7-甲氧基-4-氧代-4H-吡啶-3-基]氧基]氧烷-2-羧酸
杂环化合物	4-羟基肉桂酸	4-羟基肉桂酸
	丙硫氧嘧啶	丙硫氧嘧啶
	尿酸	
	1-甲基鸟嘌呤	2-氨基-1-甲基-6-苯基咪唑[4,5-b]吡啶
	3'-脱氧鸟苷	1-甲基鸟嘌呤
脂肪族醛类	二氢-2-甲氧基-2-甲基-3-(2H)-噻吩酮	二氢-2-甲氧基-2-甲基-3-(2H)-噻吩酮
	3-甲基-2-丁烯醛	/
芳香族胺类	N-甲基苄胺	/
氨基酸及其代谢物	/	邻-酪氨酸

与高剂量 YCNHF I 组对比,高剂量 YCNHF I 联合 MP 组体重回升及 DAI 降低均更显著,疗效优于 YCNHF 单方组。高剂量 YCNHF II 组对体重及 DAI 的改善效果优于高剂量 YCNHF I 组;高剂量 YCNHF II 联合 MP 组效果最优,体重与 DAI 恢复程度接近正常对照组及 5-ASA 组。此外,NaB 组可部分缓解相关症状。

2. 2. 2 结肠长度与脾脏指数检测 与模型组相比,高剂量 YCNHF I 组结肠长度略有回升,但恢复程度有限;联合益生菌干预后,结肠长度显著增加,保护作用增强。高剂量 YCNHF II 组结肠长度恢复效果优于高剂量 YCNHF I 组,联合 MP 后恢复最为显

著,与 5-ASA 组效果相当,接近正常组水平;提示联合干预可进一步减轻全身炎症反应与脾脏肿大(图 2A、2B)。与高剂量 YCNHF 组相比,高剂量 YCNHF 联合 MP 组脾脏指数降低更为明显(图 2C),提示联合干预可进一步减轻全身炎症反应与脾脏肿大。

与 DSS 模型组相比,高剂量 YCNHF I 组结肠黏膜水肿及炎症浸润程度降低,联合 MP 组结肠黏膜结构相对完整;高剂量 YCNHF II 组结肠黏膜炎症浸润减少,联合 MP 后结肠结构基本恢复正常,炎症浸润显著减轻,疗效与 5-ASA 组相当;NaB 组可减轻黏膜损伤,但整体效果弱于高剂量 YCNHF II 及联合用药组,仅表现出有限的辅助作用(图 2D)。



A: 造模期间的体重记录; B: 造模期间的 DAI 评分; C: 给药期间的体重记录; D: 给药期间的 DAI 评分。每组 $n=5$ 。与 Control 组相比, $P<0.05$; 与 DSS 组相比, $P<0.05$ 。

图1 DSS 诱导的 UC 大鼠日常行为学评分

2.2.3 YCNHF 联合益生菌改善 DSS 诱导的 UC 大鼠肝、肾组织病理性损伤 DSS 模型组中, 肝组织中央静脉边界模糊, 肝索排列紊乱, 失去放射状结构。肾组织囊腔扩大, 毛细血管袢受压、形态不规则。与 DSS 组相比, YCNHF I/II 组及 MP 组可明显改善肝、肾病理性损伤, 即中央静脉结构较清晰, 肝索排列明显改善, 肝细胞肿胀减轻, 炎性浸润减少; 肾小球形态更接近正常, 肾小管结构恢复更明显, 间质充血和炎症浸润进一步减轻(图3)。

2.2.4 YCNHF 联合益生菌降低 DSS 诱导的 UC 大鼠相关指标 在抗炎作用方面, 高剂量 YCNHF I 可显著降低血清 IL-6、IL-1 β 、组织 MPO 水平 ($P<0.0001$), 联合 MP 后其下调作用进一步增强; 高剂量 YCNHF II 的抗炎效果优于高剂量 YCNHF I, 联合 MP 后可使炎症因子水平接近正常。NaB 组虽能降低炎症因子, 但效果弱于 YCNHF II 组及各联合用药组(图4A-4C)。

在肠道代谢调控方面, 高剂量 YCNHF I 可显著下调组织 5-HT、5-HIAA、TBA 水平 ($P<0.0001$), 联合益生菌后调控作用进一步增强; 高剂量 YCNHF II 对肠道代谢的改善效果优于高剂量 YCNHF I, 联合益生菌后可使上述指标接近正常水平。NaB 组可调节肠道代谢, 但效果弱于各给药组。上述结果提示 YCNHF 联合 MP 可协同纠正 UC 肠道代谢紊乱, 其

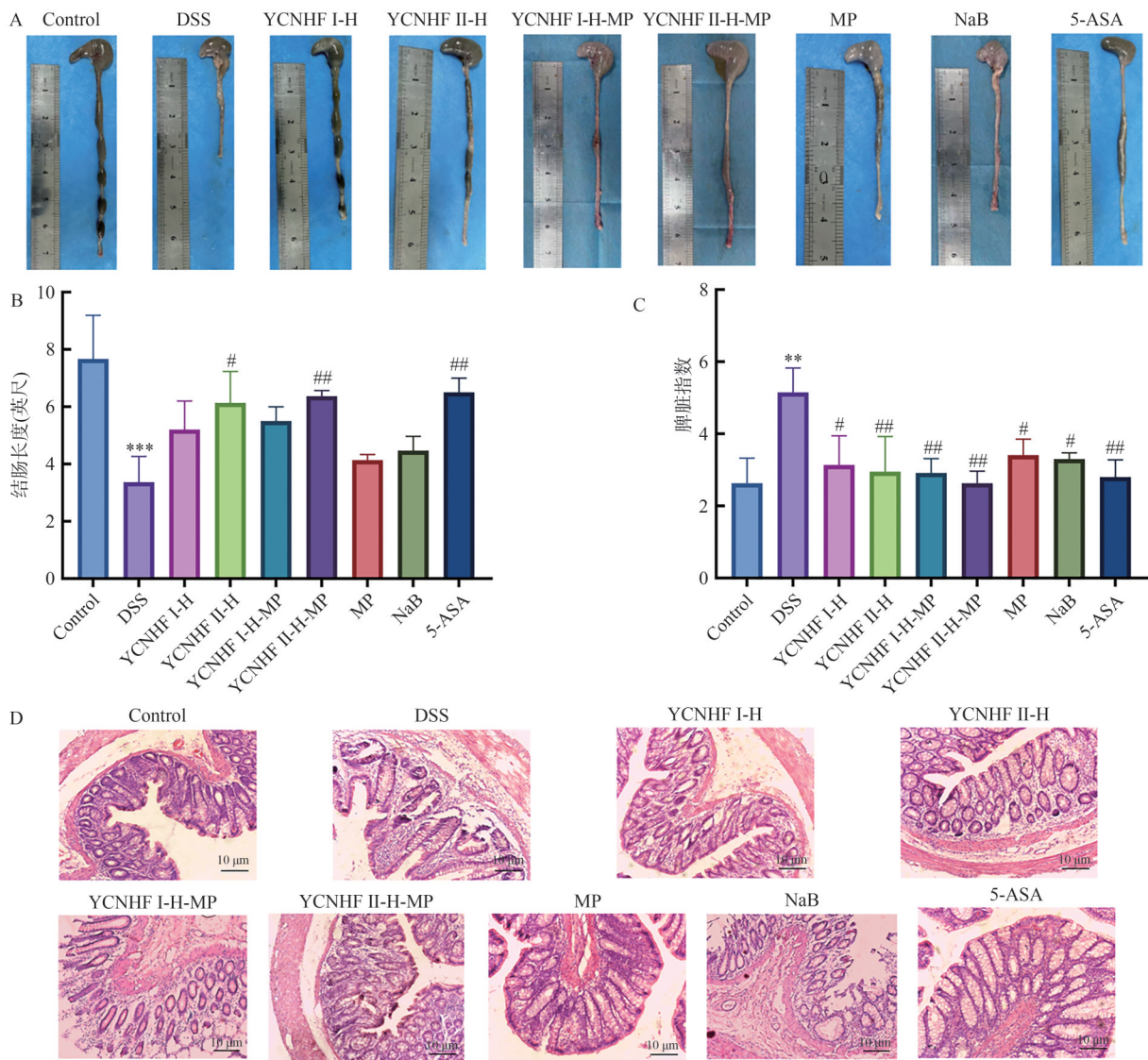
中 YCNHF II 联合 MP 的效果最为明显(图4D-F)。

在抗氧化作用方面, 高剂量 YCNHF II 上调组织 SOD、GSH 的作用显著优于高剂量 YCNHF I ($P<0.0001$), 联合 MP 后效果进一步提升, 可恢复至接近正常水平; NaB 组可上调组织 SOD、GSH, 但效果弱于 YCNHF II 组及各联合用药组。结果表明 YCNHF 联合益生菌可协同改善氧化应激失衡, 其中以 YCNHF II 联合 MP 的抗氧化作用最佳(图4G-4H)。

2.3 中药复方 YCNHF I/II 联合混合益生菌对 UC 大鼠的肠道菌群影响

2.3.1 高剂量 YCNHF 组单药及联合益生菌给药后各组大鼠间特有菌群(ASV)分析和肠道菌群多样性分析 基于 ASV 聚类花瓣图(图5A), 9 组样本共有核心 ASV 84 个。NaB 组、YCNHF II-H-MP 组及 MP 组特有 ASVs 数量较高, 提示其可显著重塑肠道微环境与宿主代谢。YCNHF I/II-H-MP 联合给药组特有 ASV 数量分别多于 YCNHF I/II 各单方组, 提示益生菌与 YCNHF 存在协同代谢调控作用。Rank-Abundance 曲线(图5B)显示, DSS 模型组优势菌结构破坏、菌群失衡; 与模型组相比, YCNHF II-H-MP 组曲线更接近正常, 提示其可有效提升 UC 大鼠肠道菌群的物种丰富度与均匀度, 修复紊乱的肠道微生态。Alpha 多样性分析(图5C-5F)显示, 与正常对照组相比, DSS 模型组的 Shannon 指数、ACE 指数及

Chao1 指数均显著升高($P<0.05$),提示造模引起了肠道菌群多样性与丰富度的显著改变。药物干预后,YCNHFI联合MP组的多样性指数相较于DSS模型组显著回升,提示联合给药可更有效地改善UC大鼠肠道菌群的多样性与丰富度,促进菌群微生态稳态的恢复。



A: 结肠长度;B: 结肠长度定量分析;C: 脾脏指数变化;D: UC 大鼠结肠组织病理学变化(HE 染色;标尺:10 μm)。每组 $n=5$ 。与 Control 组相比,**表示 $P<0.01$,***表示 $P<0.001$;与 DSS 组相比,#表示 $P<0.05$,##表示 $P<0.01$ 。

图2 各组大鼠造模及给药后结肠长度、病理性损伤及脾脏指数变化

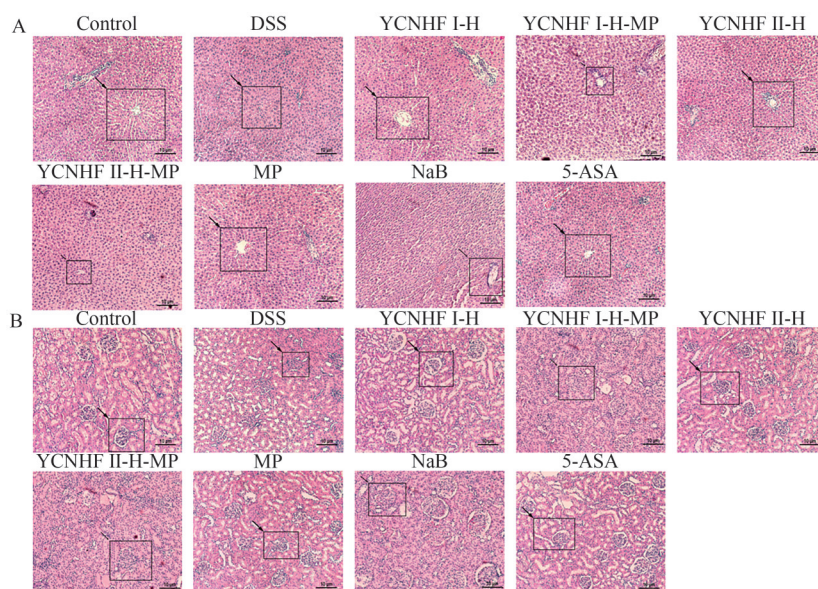
2.3.2 YCNHF 高剂量组单药及联合益生菌给药后对各组大鼠肠道菌群功能的影响 基于 16S rDNA 测序结果,采用 PICRUS2 软件对大鼠肠道菌群进行功能预测,结合 KEGG 数据库完成功能注释,分析 DSS 造模与 YCNHF 复方给药对大鼠肠道菌群功能的影响(图 6A),DSS 造模扰乱肠道菌群功能通路:模型组辅酶与维生素代谢、氨基酸代谢异常升高,膜转运功能显著降低。KEGG L3 水平核心通路的量化分析显示(图 6B),模型组中 ABC 转运、淀粉蔗

糖代谢等核心有益通路明显下调,同时模型组丙氨酸-天冬氨酸-谷氨酸代谢通路出现代偿性上调,是菌群应对结肠炎症的应激性响应。给药后,YCNHF II-H-MP 组仍表现出最优的靶向修复效果,可显著提升有益通路丰度,并将异常的氨基酸代谢通路回调至正常水平。

2.3.3 非靶向代谢组学差异代谢物分析 火山图结果(图 7A-7H)表明,DSS 模型组较对照组存在明显代谢紊乱,差异代谢物以显著下调为主。药物干

预后,尤其在 YCNHF II-H-MP 高剂量组与 NaB 组中,代谢谱发生显著改变,差异代谢物以上调为主,

提示药物可能通过逆转 DSS 对代谢通路的抑制发挥治疗效应。



A: 肝组织病理损伤; B: 肾组织病理损伤。每组 $n=5$ 。

图3 UC大鼠肝、肾组织病理学变化(HE染色;标尺:10 μm)

为进一步解析各组代谢谱的整体相似性,绘制差异代谢物的层次聚类热图(图7I)。与 Control 相比,DSS组显著下调了嘌呤类代谢物(guanine, 2'-deoxyguanosine)、色胺(tryptamine)等代谢物,反映炎症状态下肠道有益代谢功能受损。YCNHFII-H-MP组表现出最强的补偿性上调能力,表明联合处理通过补充 DSS 模型中缺失的关键代谢物,重塑代谢谱,进而发挥治疗效应。

3 讨论

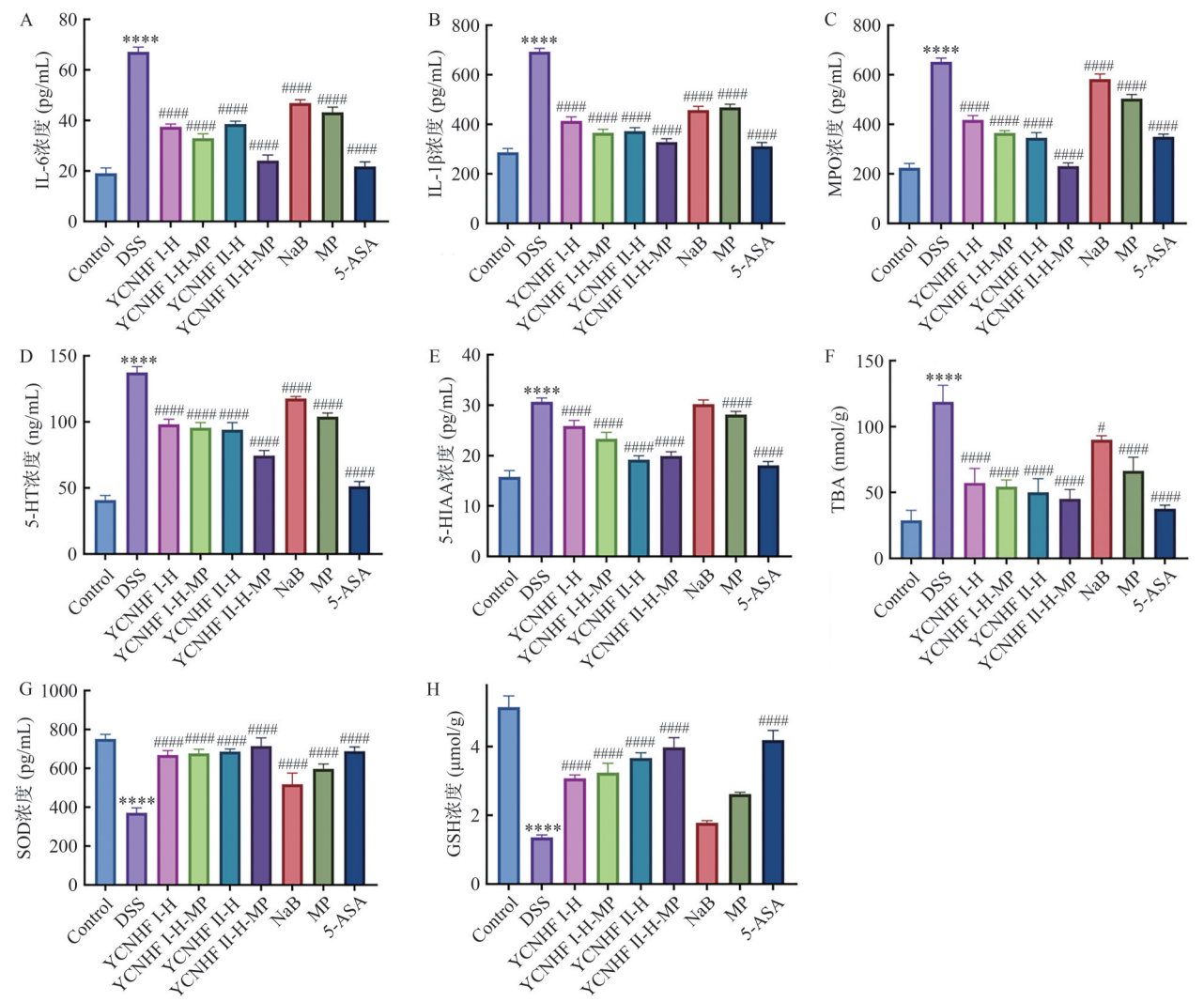
本研究基于 DSS 诱导的溃疡性结肠炎大鼠模型,系统评价中药复方 YCNHF I / II 联合 MP 的协同治疗效果并探讨其潜在机制。UC 作为慢性非特异性炎症性肠病,其发病与肠道菌群紊乱、代谢失衡、炎症-氧化应激环路异常激活密切相关^[13],临床仍缺乏安全高效的长期干预方案^[14]。

研究^[5]结果显示,中药复方 YCNHF I / II 与 MP 联用可产生显著协同效应,疗效明显优于单方给药,其中 YCNHF II 联合益生菌作用最为突出,为中医药联合微生态制剂治疗 UC 提供了实验依据与新策略。UPLC-MS/MS 结果表明,联合给药可优化入血成分组成,稳定保留甘草次酸、黄芩苷等核心抗炎活性物质,其中黄芩苷可通过抑制 NF- κ B、调控 JAK2/STAT3 通路发挥抗炎、抗氧化及肠屏障保护

作用^[15],甘草次酸则可减轻黏膜炎症、降低 MPO 活性并缓解组织损伤^[16]。益生菌通过改善肠道微环境提升中药有效成分的溶出与生物利用度,中药则为益生菌定植提供更适宜的肠道环境,二者形成成分优化、吸收增强与药效放大的正向循环^[17],构成协同增效的物质基础^[18]。在整体动物水平,联合干预可显著改善 UC 大鼠体重下降、疾病活动指数升高、结肠缩短及脾肿大等表型,修复结肠黏膜损伤并减轻肝肾功能异常,其机制与抑制 IL-6、IL-1 β 、MPO 等促炎因子释放、增强 SOD、GSH 等抗氧化能力密切相关。已有研究^[19]证实,UC 的核心病理学特征为炎症因子风暴与氧化应激相互放大,进而破坏肠屏障并诱发全身炎症反应,中药复方 YCNHF 可发挥多靶点抗炎与抗氧化作用,益生菌则可减少内毒素易位、降低系统性炎症水平,二者联用可实现抗炎、抗氧化与肠黏膜修复的三重作用,从源头阻断炎症级联反应。肠道菌群紊乱与代谢失衡是 UC 发生发展的核心环节^[20]。大量研究^[21-24]表明,菌群失调可导致短链脂肪酸合成不足、色氨酸及嘌呤代谢紊乱、ABC 转运与淀粉蔗糖代谢通路异常,进而加剧肠黏膜损伤与炎症持续。本研究 16S rDNA 测序与非靶向代谢组学联合分析证实,DSS 造模可导致大鼠肠道菌群结构破坏、多样性异常,ABC 转运、淀粉蔗糖代谢等关键通路显著下调,并伴随色

胺、嘌呤代谢紊乱。经 YCNHF 联合 MP 干预后,肠道菌群多样性与结构得到重塑,有益菌丰度回升、促炎菌被抑制,菌群功能向正常水平回调,同时可逆转 UC 相关特征代谢物异常,形成菌群稳态恢复、代谢平衡重建、炎症消退与黏膜修复的完整调控轴,提示调控“肠道菌群-代谢轴”是 YCNHF 联合 MP 发挥协同抗 UC 作用的核心机制,这与当前中医

药联合微生态干预 UC 的主流研究^[25-26]结论高度一致。本研究中 NaB 仅表现出一定的辅助治疗作用,整体疗效弱于联合用药组,原因在于 NaB 仅单一补充肠道代谢产物,而 YCNHF 联合 MP 可同时实现中药多靶点调控、益生菌微生态调节与内源性代谢重塑,作用更全面、更持久,更契合临床复杂疾病的干预需求。

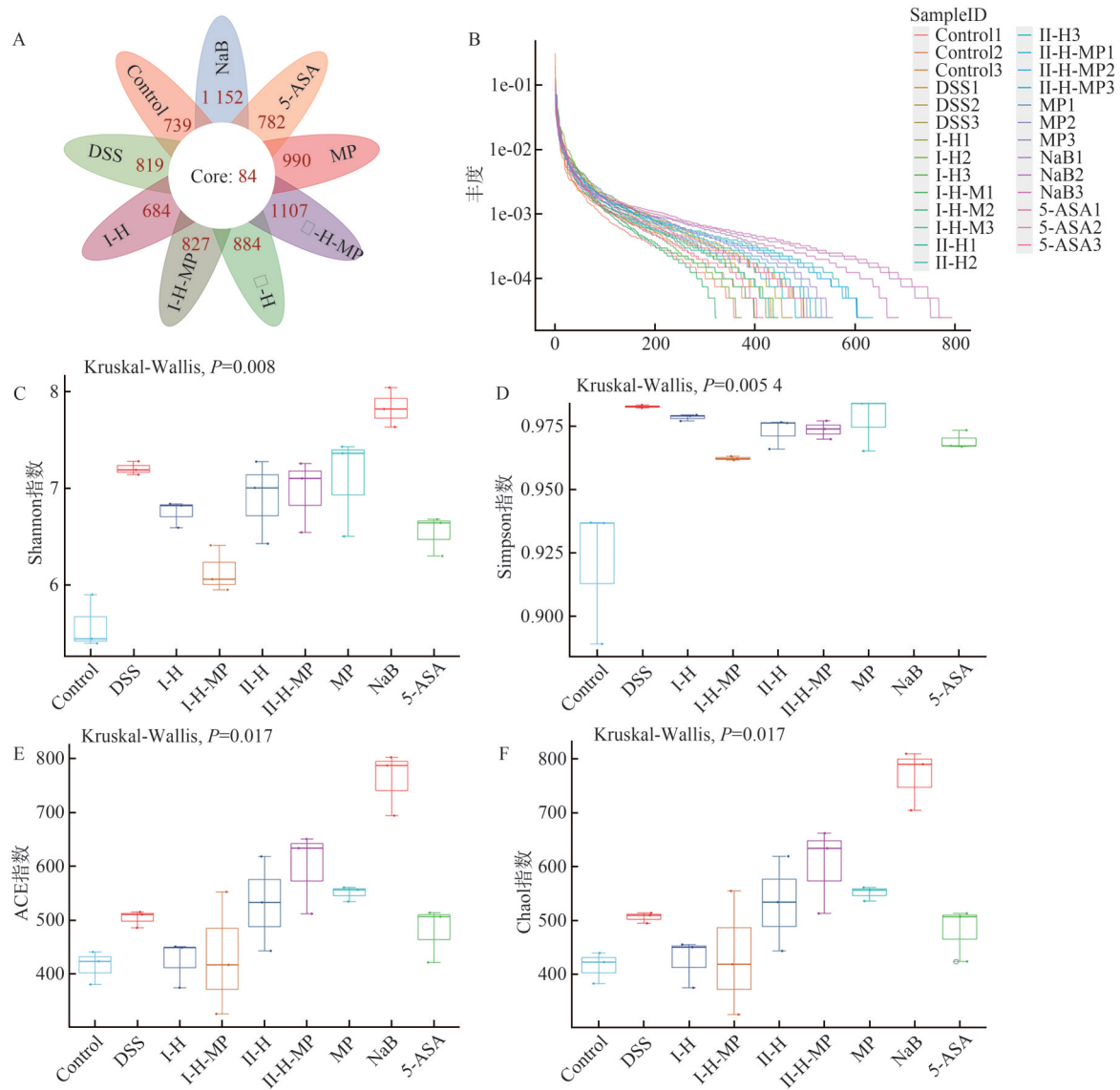


A-C: 炎症指标差异分析(A:IL-6;B:IL-1β;C:MPO);D-F:肠道代谢指标分析(D:5-HT;E:5-HIAA;F:TBA);G-H:抗氧化指标分析(G:SOD;H:GSH)。与 Control 组相比,****表示 $P<0.0001$;与 DSS 组相比,#表示 $P<0.05$,####表示 $P<0.0001$ 。

图4 YCNHF 高剂量单药与合并益生菌组对 UC 大鼠相关指标的影响

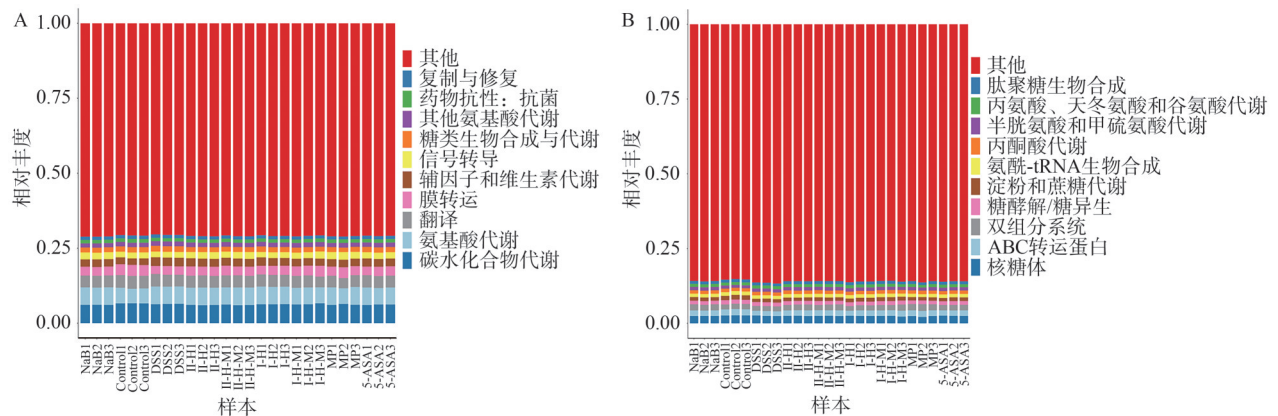
本研究存在一定局限性,如仅设置高剂量与固定疗程,未明确量效关系与最佳给药方案;采用 DSS 急性 UC 模型,与人类慢性复发性 UC 存在差异;机制研究以多组学关联分析为主,未对核心菌群、关键代谢物及药效成分开展因果验证。未来可通过设置多剂量与多疗程优化给药方案,结合菌群移植、代谢物回补与分子通路验证深入阐明机制,并筛选核心起效

成分、开发结肠靶向制剂以提升临床转化价值。综上,中药复方 YCNHF I / II 联合 MP 通过优化入血成分、抑制炎症-氧化应激恶性循环、修复肠黏膜及肝肾损伤、调控肠道菌群-代谢轴发挥协同抗 UC 作用,其中 YCNHF II 联合 MP 效果最显著,为中西医结合联合微生态制剂治疗炎症性肠病提供了可靠实验证据,也为后续机制研究与临床应用奠定基础。



A: 基于 ASVs 的分布情况(花瓣图); B: 16S rDNA 测序质控与物种分布特征图; C-F: 16S rDNA 测序 α 多样性分析(依次为: Shannon 指数; Simpson 指数; Ace 指数; Chao1 指数)。

图5 各组大鼠肠道菌群多样性分析



A: KEGG L2 水平; B: KEGG L3 水平。

图6 肠道菌群功能调控分析

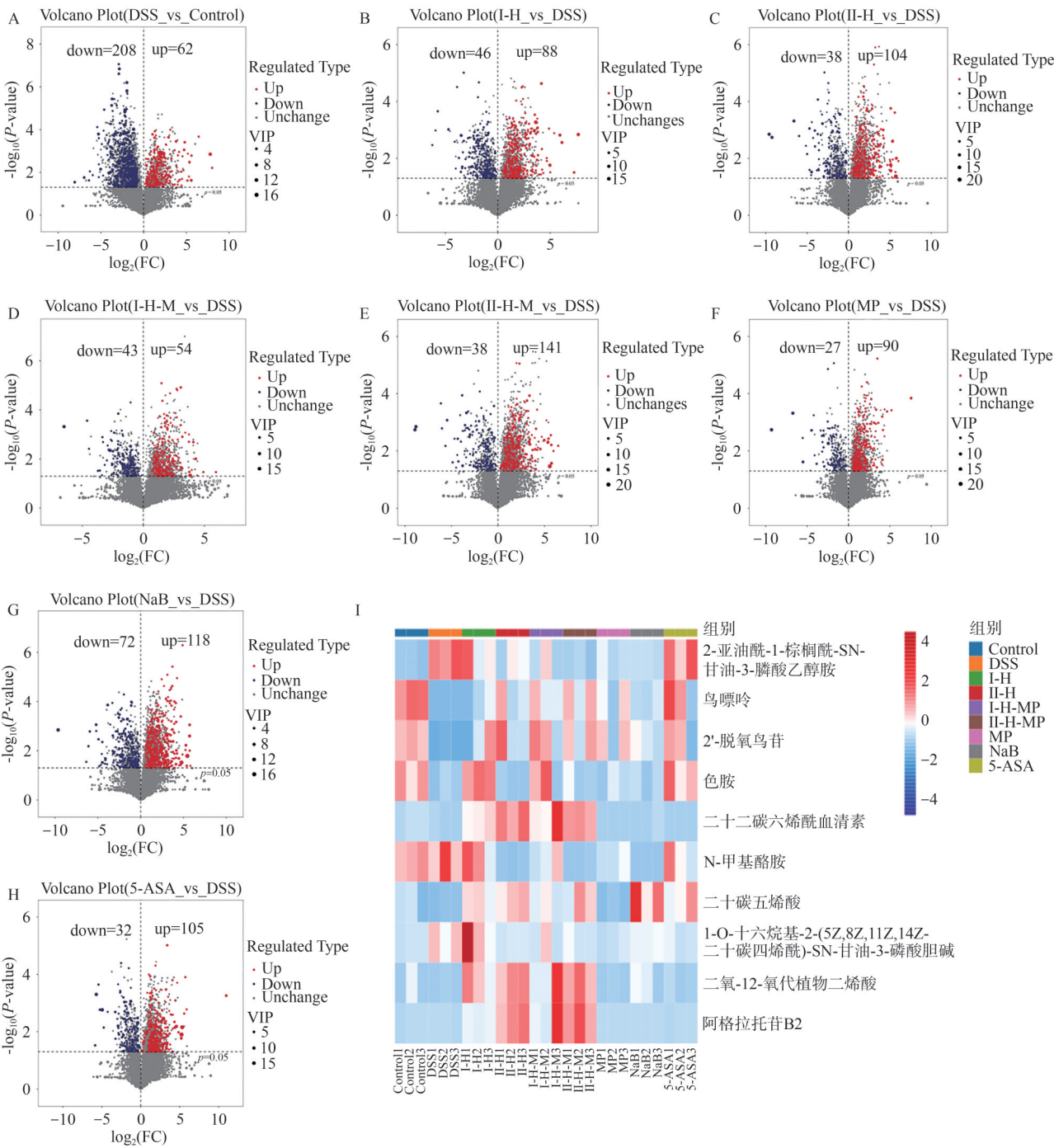


图7 DSS组间差异代谢物分析

参考文献:

[1]Buie M J,Quan J,Windsor J W ,et al. Global hospitalization trends for Crohn’s disease and ulcerative colitis in the 21st century: A systematic review with temporal analyses [J] . Clinical Gastroenterology and Hepatology, 2023, 21 (9) : 2211-2221.

[2]Gorospe J, Windsor J, Hracs L, et al. Trends in inflammatory bowel disease incidence and prevalence across epidemiologic stages: a global systematic review with meta-analysis [J]. Gastroenterology , 2024,166(3) : S56-S57.

[3]Hashash J G,Limdi J K,Shapiro J M ,et al. Medical management of inflammatory bowel diseases [J]. Bmj, 2025, 391: e079050.

[4]Feagan B G,Sands B E,Sandborn W J ,et al. Guselkumab plus golimumab combination therapy versus guselkumab or golimumab monotherapy in patients with ulcerative colitis

- (VEGA): A randomised, double-blind, controlled, phase 2, proof-of-concept trial [J]. The Lancet Gastroenterology & Hepatology, 2023, 8(4):307-320.
- [5] 毋莹, 田红英, 方兴艳, 等. 网络药理学-分子对接联合体内实验验证解析创新中药 YCNHF I / II 的炎症性肠病线粒体保护机制 [J]. 药学报, 2026, 61(3):813-823.
- [6] Wang X H, Yang Y N, Liang Y, et al. Structural modulation of gut microbiota during alleviation of experimental passive Heymann nephritis in rats by a traditional Chinese herbal formula [J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2022, 145: 112475.
- [7] Cheng C, Zhu L, Hu J Y, et al. Qing-Chang-Hua-Shi granule ameliorates experimental colitis by modulating *Lactobacillus gasseri*-mediated ferroptosis metabolic pathway [J]. Chinese Medicine, 2026, 21(1):52.
- [8] Xue Y T, Hu M Y, Cha S N, et al. Precision therapeutics for inflammatory bowel disease using engineered probiotics: Strategies and optimization [J]. Acta Biomaterialia, 2025, 207:495-514.
- [9] Wu J L, Wu L L, Liu R Y, et al. Fabrication of single-bacterium microgel with gas-shearing strategy for precision probiotic delivery in IBD therapy [J]. Research, 2025, 8: 0955.
- [10] 郝彦伟, 瞿正午, 淡丽娟, 等. 桂枝茯苓丸调控 JAK2/STAT3 信号通路干预结肠炎相关结直肠癌的研究 [J/OL]. 中药药理与临床, 2026-05-19. <https://doi.org/10.13412/j.cnki.zyyj.20260518.003>.
- [11] Klindworth A, Pruesse E, Schweer T, et al. Evaluation of general 16S ribosomal RNA gene PCR primers for classical and next-generation sequencing-based diversity studies [J]. Nucleic Acids Research, 2013, 41(1):e1.
- [12] Callahan B J, McMurdie P J, Rosen M J, et al. DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data [J]. Nature Methods, 2016, 13(7):581-583.
- [13] Scanu M, Toto F, Petit V, et al. An integrative multi-omic analysis defines gut microbiota, mycobiota, and metabolic fingerprints in ulcerative colitis patients [J]. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 2024, 14:1366192.
- [14] Cao T T, Wan R R, Li X R, et al. Tea-derived extracellular vesicles-mediated PDRN delivery activates cAMP-HIF-1 α to restore intestinal homeostasis in inflammatory bowel disease [J]. Materials Today Bio, 2025, 35:102408.
- [15] Li M X, Wu J Z, Li D, et al. Baicalin ameliorates dextran sulfate solidum-induced colitis by modulating Th17-macrophage immune network via JAK2/STAT3/IL-17/NF- κ B pathway [J]. Phytomedicine, 2025, 148:157414.
- [16] Peng X, Zhong R, Dong S, et al. 18 β -Glycyrrhetic acid from *Glycyrrhiza Uralensis* protects colonic epithelium in ulcerative colitis by activating Wnt/ β -catenin pathway to restore tight junction [J]. Phytomedicine, 2025, 143: 156830.
- [17] Guo F Y, Li C H, Dou J X, et al. Research progress on pharmacological properties and application of probiotics in the fermentation of *Scutellaria baicalensis* Georgi [J]. Frontiers in Nutrition, 2024, 11:1407182.
- [18] Hu Y, Ye Z, She Y Q, et al. Efficacy and safety of probiotics combined with traditional Chinese medicine for ulcerative colitis: A systematic review and meta-analysis [J]. Frontiers in Pharmacology, 2022, 13:844961.
- [19] Li Y F, Li Q, Zhu Y Y, et al. Medicinal plant-derived carbon dots nanozymes ameliorate ulcerative colitis via anti-inflammatory, antioxidant, and gut barrier-protective effects [J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2025, 17(30):42751-42766.
- [20] Hu Y J, Chen Z Z, Xu C C, et al. Disturbances of the gut microbiota and microbiota-derived metabolites in inflammatory bowel disease [J]. Nutrients, 2022, 14(23):5140.
- [21] Wang X L, Tang Q, Hou H Q, et al. Gut microbiota in NSAID enteropathy: New insights from inside [J]. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 2021, 11: 679396.
- [22] Parada Venegas D, de la Fuente M K, Landskron G, et al. Short chain fatty acids (SCFAs)-mediated gut epithelial and immune regulation and its relevance for inflammatory bowel diseases [J]. Frontiers in Immunology, 2019, 10:277.
- [23] Xie B, Wang M M, Xiao Y P, et al. Tryptophan metabolic gatekeeping in epithelial repair: GPR35-KLF5 circuitry Decodes mucosal damage signals for repair programming [J]. Cell Death & Disease, 2026, 17:25.
- [24] Zhang X J, Zhang B W, Peng B, et al. Different dose of sucrose consumption divergently influences gut microbiota and PPAR- γ /MAPK/NF- κ B pathway in DSS-induced colitis mice [J]. Nutrients, 2022, 14(13):2765.
- [25] Cai Y, Li S J, Zhang X J, et al. Integrated microbiome-metabolomics analysis reveals the potential therapeutic mechanism of Zuo-Jin-Wan in ulcerative colitis [J]. Phytomedicine, 2022, 98:153914.
- [26] Liang H, Liu Z Y, Zhao N, et al. Gut microbiota dysbiosis and metabolite imbalance mediate diabetic kidney disease inflammation: Mechanisms and intervention strategies targeting gut-kidney axis and NF- κ B/NLRP3 pathways [J]. Journal of Inflammation Research, 2026, 19:583563.
- [收稿日期 2026-04-19; 责任编辑 赵菊梅, 折建局]