

乌梅通过 MEK/ERK 信号通路修复炎症性肠病小鼠 肠黏膜上皮屏障功能

刘华琛¹, 张崇豪¹, 李亚兰¹, 刘洁¹, 苏佳龙¹, 李娜¹, 刘少帅², 王晴^{1*}, 彭桂英^{1*}

(1. 北京中医药大学 生命科学学院, 北京 100029;

2. 北京市健宫医院, 北京 100031)

[摘要] 目的:明确乌梅对炎症性肠病(IBD)小鼠肠黏膜上皮屏障的修复作用并探讨其作用机制。方法:将36只雄性C57BL/6小鼠随机分为6组,分别为正常组,模型组,乌梅低、中、高剂量组(200、400、800 mg·kg⁻¹)及柳氮磺吡啶组(300 mg·kg⁻¹)。除正常组外,其余均以2%葡聚糖硫酸钠(DSS)溶液自由饮水7 d构建IBD小鼠模型,造模后进行7 d的给药干预。记录小鼠体质量变化率和疾病活动指数(DAI),末次给药后收集结肠和脾脏组织以比较结肠长度与脾脏指数差异;苏木素-伊红(HE)染色观察结肠组织形态;血清二胺氧化酶(DAO)试剂盒检测小鼠DAO活性;免疫组化法(IHC)观察结肠组织紧密连接蛋白-1(Claudin-1)、闭合蛋白(Occludin)和闭锁小带蛋白-1(ZO-1)的表达,实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)检测结肠组织中肿瘤坏死因子- α (TNF- α)和白细胞介素-1 β (IL-1 β)mRNA的表达,蛋白免疫印迹法(Western blot)检测结肠组织中丝裂原活化蛋白激酶激酶(MEK)、细胞外调节蛋白激酶(ERK)、磷酸化(p)-MEK和p-ERK蛋白的表达。结果:与正常组比较,模型组小鼠体质量变化率显著下降($P<0.01$),结肠长度显著缩短($P<0.01$),DAI评分、脾脏指数、DAO水平均显著升高($P<0.01$),HE染色结果可见模型组结肠上皮与杯状细胞受损且有明显的炎性细胞浸润,TNF- α 和IL-1 β mRNA的表达量显著升高($P<0.01$),结肠组织Occludin、Claudin-1和ZO-1蛋白表达显著减少($P<0.01$),p-MEK和p-ERK蛋白表达明显升高($P<0.05$, $P<0.01$);与模型组比较,柳氮磺吡啶组与乌梅高、中、低量组给药后小鼠的体质量变化率和DAI评分均有明显改善($P<0.05$),结肠长度与脾脏指数也显著恢复,结肠组织损伤有明显修复,DAO水平显著降低($P<0.01$),TNF- α 和IL-1 β mRNA表达显著下降($P<0.01$),p-MEK和p-ERK蛋白表达明显下降($P<0.05$),柳氮磺吡啶组和乌梅低、中剂量组小鼠结肠组织Occludin、Claudin-1和ZO-1蛋白表达明显增多($P<0.05$, $P<0.01$),乌梅高剂量组小鼠结肠组织Occludin蛋白表达明显增多($P<0.05$)。结论:乌梅通过抑制MEK/ERK信号通路蛋白的磷酸化下调炎性细胞因子TNF- α 和IL-1 β 的水平,恢复肠上皮紧密连接蛋白的表达,进一步修复小鼠肠道黏膜的屏障功能。

[关键词] 乌梅; 炎症性肠病; 丝裂原活化蛋白激酶激酶(MEK); 细胞外调节蛋白激酶(ERK); 紧密连接蛋白

[中图分类号] R282;R285;R259 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2025)20-0076-10

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20250540

[网络出版地址] <https://link.cnki.net/urlid/11.3495.R.20250324.1143.005>

[网络出版日期] 2025-03-24 16:02:04



Mume Fructus Restores Intestinal Mucosal Epithelial Barrier Through MEK/ERK Signaling Pathway in Mouse Model of Inflammatory Bowel Disease

LIU Huachen¹, ZHANG Chonghao¹, LI Yalan¹, LIU Jie¹, SU Jialong¹, LI Na¹, LIU Shaoshuai²,

WANG Qing^{1*}, PENG Guiying^{1*}

(1. School of Life Sciences, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China;

2. Beijing Jiangong Hospital, Beijing 100031, China)

[收稿日期] 2024-12-26

[基金项目] 国家自然科学基金青年基金项目(82204888);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] 刘华琛,在读硕士,从事中医药免疫调节作用研究,E-mail:liuhuachen@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;

*王晴,博士,副教授,从事中医药免疫调节作用研究,E-mail:phd_qingw@foxmail.com

[Abstract] Objective: To clarify the repair effect of Mume Fructus on the intestinal mucosal epithelial barrier in the mouse model of inflammatory bowel disease (IBD) and explore the repair mechanism. **Methods:** Thirty-six male C57BL/6 mice were randomly assigned into six groups: normal, model, low-, medium-, and high-dose (200, 400, and 800 mg·kg⁻¹) Mume Fructus, and sulfasalazine (300 mg·kg⁻¹). Except the normal group, the rest groups had free access to 2% dextran sulfate sodium (DSS) solution for seven days to establish the IBD model, followed by a seven-day drug intervention. The body weight change and disease activity index (DAI) were recorded. After the last administration, spleen and colon tissue samples were collected to analyze the differences in colon length and spleen index. Hematoxylin-eosin staining was used to observe the morphology of the colon tissue. The level of diamine oxidase (DAO) in the serum was measured by the DAO assay kit. Immunohistochemistry was employed to determine the expression of tight junction proteins such as Claudin-1, Occludin, and zonula occludens-1 (ZO-1) in the colon tissue. Real-time PCR was performed to measure the mRNA levels of tumor necrosis factor- α (TNF- α) and interleukin-1 β (IL-1 β) in the colon tissue. Finally, Western blot was employed to determine the protein levels of mitogen-activated protein kinase kinase (MEK), extracellular signal-regulated kinase (ERK), phosphorylated (p)-MEK, and phosphorylated ERK in the colon tissue. **Results:** Compared with the normal group, the model group exhibited decreases in body weight and colon length ($P<0.01$), increases in DAI, spleen index, and serum DAO level ($P<0.01$), damaged colonic epithelium and goblet cells, and obvious infiltration of inflammatory cells. In addition, the model group exhibited higher positive expression of Claudin-1, Occludin, and ZO-1 ($P<0.01$), higher mRNA levels of TNF- α and IL-1 β ($P<0.01$), and higher protein levels of p-MEK and p-ERK ($P<0.05$, $P<0.01$) than the normal group. However, sulfasalazine and three doses of Mume Fructus markedly decreased the body weight and DAI ($P<0.05$), recovered the colon length and spleen index, alleviated colon tissue damage, lowered the level of DAO in the serum ($P<0.01$), and down-regulated the mRNA levels of TNF- α and IL-1 β ($P<0.01$) and the protein levels of p-MEK and p-ERK ($P<0.05$). Sulfasalazine and low- and medium-dose Mume Fructus increased the positive expression of Occludin, Claudin-1, and ZO-1 ($P<0.05$, $P<0.01$). Furthermore, high-dose Mume Fructus elevated the protein expression of Occludin ($P<0.05$). **Conclusion:** Mume Fructus can restore the expression of intestinal epithelial tight junction proteins by inhibiting the phosphorylation of proteins in the MEK/ERK signaling pathway and down-regulating the levels of TNF- α and IL-1 β , thus repairing the intestinal mucosal barrier in the mouse model of IBD.

[Keywords] Mume Fructus; inflammatory bowel disease; mitogen-activated protein kinase kinase (MEK); extracellular signal-regulated kinase (ERK); tight junction proteins

炎症性肠病(IBD)在临床定义中主要包含2种形式,即溃疡性结肠炎(UC)和克罗恩病(CD),前者影响结肠黏膜局部,后者则影响整个胃肠道,二者都可能进一步诱发导致结肠癌^[1]。其发病的机制可能与反复持续的肠道感染、肠道菌群、遗传背景与饮食习惯等多种复杂因素有关^[2]。目前肠黏膜屏障的损伤被认为是IBD发展过程中的重要环节,如何保持肠黏膜屏障的完整性对于维持肠道内的稳态及防止损伤和感染至关重要^[3]。丝裂原活化蛋白激酶激酶(MEK)/细胞外信号调节蛋白激酶(ERK)信号通路是经典丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)信号转导通路,该通路主要参与调节许多重要的生理过程,如增殖、分化、细胞周期、凋亡和发育^[4-5]。有研究表明,通过抑制MEK/ERK通路可以调节猪小肠上皮细胞紧密连接相关蛋白表达进一步增强上皮细胞屏障功能,此外MEK/ERK通路也可以通过调控细胞增殖作用增加上皮细胞数量,促进结肠黏膜修复^[6-7]。因此,通过干预MEK/ERK通路对肠上皮细胞进行有效调节可能对IBD患者肠黏膜恢复产生积极影响,相关机制值得进一步深入研究。

乌梅是蔷薇科植物梅 *Prunus mume* 的干燥近成熟果实,最早源于《神农本草经·卷中》,经中记载乌

梅性平,味属酸、涩,归肝、脾、肺、大肠经,主下气,临床常被用于治疗呕吐腹痛、久泻久痢等胃肠道疾病^[8-9]。临床研究中,由乌梅组成的方剂如乌梅丸、乌梅仙桔汤、乌梅败酱方、温清调肠方、乌梅汤、香连乌梅散、乌梅桃花汤等都具有治疗IBD的功效,其中以乌梅丸最为常用。魏玮教授关于临床辨治溃疡性肠炎用药规律的研究中,乌梅的用药频次位于前三,乌梅以其卓越的涩肠止泻功效,在治疗溃疡性肠炎方面展现出显著的疗效^[10-11]。网络药理学研究表明,乌梅的主要活性成分槲皮素、熊果酸、山柰酚和月桂酸与CD的靶点前列腺素内过氧化物合酶(PTGS2)、蛋白激酶B1(Akt1)、胱天蛋白酶-3(Caspase-3)和肿瘤坏死因子(TNF)有良好的结合能力,其中山柰酚与槲皮素已被证明可以通过降低肠组织髓过氧化物酶和炎性因子表达缓解小鼠肠道炎症^[12-13]。有关乌梅对IBD诱发的肠黏膜屏障损伤的保护作用的研究尚不充分,相关机制有待进一步阐明。因此,本研究旨在通过探讨MEK/ERK信号通路,阐明乌梅修复肠道黏膜损伤的具体机制。

1 材料

1.1 动物 36只6~8周龄的SPF级雄性C57BL/6J小鼠,合格证SYXK(京)2023-0011,购自北京斯

贝福生物技术有限公司,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。本研究已通过北京中医药大学动物伦理委员会批准(BUCM-2024062502-2208)。

1.2 药物与试剂 葡聚糖硫酸钠(DSS,相对分子质量 36~50 kDa,美国 MPBiomedicals 公司,批号 S0433);乌梅配方颗粒(北京康仁堂药业有限公司,批号 24003643);柳氮磺吡啶肠溶片(上海信宜天平药业有限公司,批号 H31020557),采用超纯水按浓度配置;便隐血试剂盒(珠海贝索生物技术有限公司,批号 BA-2020B);总 RNA 提取试剂盒(北京天根生化科技有限公司,批号 DP419);SYBR-Green 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(美国 Qiagen 公司,批号分别为 208054、205411);闭合蛋白(Occludin)、紧密连接蛋白-1(Claudin-1)、闭锁小带蛋白-1(ZO-1)单克隆抗体、辣根过氧化物酶(HRP)标记山羊抗兔二抗(武汉赛维尔生物科技有限公司,批号分别为 ab216327、GB152543、GB115686、GB23303);MEK、ERK、磷酸化 MEK(p-MEK)、磷酸化 ERK(p-ERK)、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)抗体、HRP 标记二抗(美国 CST 公司,批号分别为 8727T、4695T、9154T、4370T、5174T、7074S);苏木素-伊红(HE)染色液(武汉 Servicebio 公司,批号 CR2410015);血清二胺氧化酶(DAO)活性检测试剂盒、二胺氧化酶检测试剂盒(北京索莱宝公司,批号分别为 2504002003、BC1285)。

1.3 仪器 Aperio VERSA 型超分辨显微组织成像系统(德国 Leica Biosystems 公司);Donatello 型脱水机(意大利 DIPATH 公司),RM2016 型病理切片机(上海徠卡仪器有限公司);PowerPac 型电泳仪及电转仪、GelDoc Go 型凝胶成像系统(美国 Bio-Rad 公司);QuantStudio™6 Flex 型 Real-time PCR 仪(美国 Life Technologies 公司);SpectraMax QuickDrop 型微量分光光度计(上海美谷分子仪器有限公司)。

2 方法

2.1 乌梅配方颗粒的制备 取乌梅饮片 2 600 g,加水煎煮,滤过,滤液浓缩成清膏(干浸膏出膏率为 19%~29%),加辅料适量,干燥,粉碎,再加辅料适量,混匀,制粒,制成 1 000 g,每 1 g 配方颗粒相当于饮片 2.6 g。

2.2 分组与给药 36 只小鼠适应性饲养 7 d 后随机挑选 6 只作为正常组,剩余 30 只小鼠予以 2% DSS 溶液代替自由饮用水连续 7 d 进行造模,并在给药

期间给予 1% DSS 进行维持。造模结束后将 30 只小鼠随机分为 5 组,分别为模型组,柳氮磺吡啶组,乌梅低、中、高剂量组。同时,给药组灌胃给药,小鼠灌胃体积均为 10 mL·kg⁻¹,柳氮磺吡啶组给药量为 300 mg·kg⁻¹;乌梅给药根据 2020 年版《中华人民共和国药典》,临床用药量为 6~12 g,按产量换算和人体当量公式计算,小鼠每天 200、400、800 mg·kg⁻¹ 的生药剂量相当于人 65.147、130.293、260.586 mg·kg⁻¹ 剂量^[14]。以乌梅配方颗粒对应生药量换算小鼠给药剂量为每天 77、154、308 mg·kg⁻¹,正常组给予等量生理盐水,连续给药 7 d。

2.3 小鼠疾病活动指数(DAI)评分 观察小鼠存活情况、毛发状态并记录小鼠体质量、便隐血情况和粪便性状,进行 DAI 评分。评分标准见参考文献[15]。根据公式“DAI=(体质量评分+隐血评分+粪便性状评分)/3”计算小鼠 DAI 评分。

2.4 小鼠组织样本采集及病理学检测 小鼠给药干预结束后禁食 12 h,随后乙醚麻醉小鼠,迅速眼球取血,样品静置 6 h 后 4 °C、4 000 r·min⁻¹ 离心 20 min(离心半径 12 cm),取血清于 -80 °C 保存备用。取血后对小鼠实施安乐死,取出脾脏与盲肠到直肠段,测量脾脏质量及回盲肠和近端直肠间的长度;将靠近肛门端约 1~2 cm 结肠组织取出用通用型组织固定液固定,将修整好的蜡块置于石蜡切片机切片,厚 3~4 μm;切片完成后 HE 染色,封片,光学显微镜下拍照分析结肠组织形态变化。通过公式:脾脏指数=(脾脏质量/体质量)×100 计算。

2.5 DAO 活性检测 采用 DAO 活性检测试剂盒测定血清 DAO 水平,操作按试剂盒说明书进行,酶标仪预热 30 min 以上,调节波长至 505 nm 测定吸光度 A,根据说明书计算 DAO 活性。

2.6 免疫组化检测小鼠肠组织 Occludin、ZO-1、Claudin-1 水平 将切片放入环保型脱蜡液中脱蜡,无水乙醇脱水,抗原修复,3% 双氧水阻断内源性过氧化物酶,血清封闭,按比例加入一抗(Occludin, 1:200;ZO-1, 1:1 000;Claudin-1, 1:500),洗涤后加入 HRP 标记的二抗,DAB 显色,复染细胞核,脱水封片。调节光学显微镜至 10×20,镜下随机选取 5 个不重叠的视野,利用 Image J 软件分析目的蛋白的积分吸光度 IA,取其平均值。阴性为蓝色且无明显棕色或褐色,弱阳性为淡棕褐色,阳性为棕褐色,强阳性为明显棕褐色。

2.7 Real-time PCR 检测结肠组织中 TNF-α 和 IL-1β 的 mRNA 表达 取结肠组织约 80 mg 在液氮

中充分研磨,后收集至1.5 mL离心管中,按试剂盒说明书提取总RNA,并测定RNA的纯度和浓度。由生工生物工程(上海)股份有限公司设计合成PCR引物,引物信息见表1。采用Real-time PCR反转录试剂盒将RNA逆转录为cDNA,再采用SYBR-Green试剂盒进行PCR扩增。扩增条件为95℃预变性30 s,95℃变性5 s,60℃退火30s,重复40个循环。采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算目的基因的相对表达水平。

表1 引物序列

Table 1 Primer sequences

引物	序列(5'-3')	长度/bp
GAPDH	上游 TGTGTCCGTCGTGGATCTGA	150
	下游 TTGCTGTTGAAGTCGCAGGAG	
IL-1 β	上游 AATGCCACCTTTTGACAGTGATG	158
	下游 CCTGCCTGAAGCTCTTGTGG	
TNF- α	上游 GCCACCACGCTCTTCTGTCTAC	103
	下游 GGGTCTGGGCCATAGAAGTCTGAT	

2.8 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测结肠组织中p-MEK、MEK、p-ERK、ERK蛋白表达 称取适量小鼠结肠组织于1.5 mL无酶无菌离心管内,加入预冷的RIPA组织裂解液进行研磨提取蛋白,取上清用BCA法测定蛋白浓度,加PBS调节蛋白浓度一致后进行变性。按10 μ g/孔上样,进行电泳,电泳后电转至PVDF膜上,5%脱脂奶粉孵育盒中封闭2 h,封闭后TBST洗涤3次,每次5 min。加入一抗p-MEK、MEK、p-ERK、ERK(稀释倍数均为1:1 000),过夜孵育,洗涤后加入二抗(1:2 000),室温孵育2 h,凝胶

成像系统曝光拍照,采用Image J系统进行灰度值分析,以目标蛋白条带与内参条带的灰度值之比表示蛋白的相对表达水平。

2.9 统计学处理 采用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 对小鼠体质量变化、DAI评分和脏器指数的影响 造模及给药期间,正常组小鼠毛色呈黑灰明亮,灵活好动,饮食正常,无腹泻便血;其余组毛色变暗,饮食饮水减少,活动减少,出现腹泻便血现象,在给药后状态得到一定程度的恢复。与正常组比较,模型组小鼠体质量变化率显著下降($P < 0.01$),DAI评分显著升高($P < 0.01$),表明模型构建成功;与模型组比较,柳氮磺吡啶和乌梅低、中、高剂量给药后小鼠体质量变化率均明显升高($P < 0.05$, $P < 0.01$),DAI评分均明显下降($P < 0.05$, $P < 0.01$)。小鼠结肠上皮与黏膜在DSS诱导的肠炎模型中会出现不同程度的损伤变形,导致结肠长度缩短,因此结肠长度变化可以一定程度反映肠道炎症严重程度^[16]。与正常组比较,模型组小鼠结肠长度显著缩短($P < 0.01$);与模型组比较,柳氮磺吡啶组和乌梅低、中、高剂量组小鼠的结肠长度明显增长($P < 0.05$, $P < 0.01$)。此外,DSS诱导的模型组小鼠脾脏指数显著增加($P < 0.01$),经柳氮磺吡啶和乌梅治疗后小鼠的脾脏指数明显下降($P < 0.05$, $P < 0.01$)。以上结果表明,乌梅可以有效缓解小鼠的肠道炎症与脾脏异常增大。见表2。

表2 乌梅对IBD小鼠体质量变化、DAI评分、结肠长度和脾脏指数的影响($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Table 2 Effect of Mume Fructus on change of weight, DAI score, colonic length and spleen index in IBD mice ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

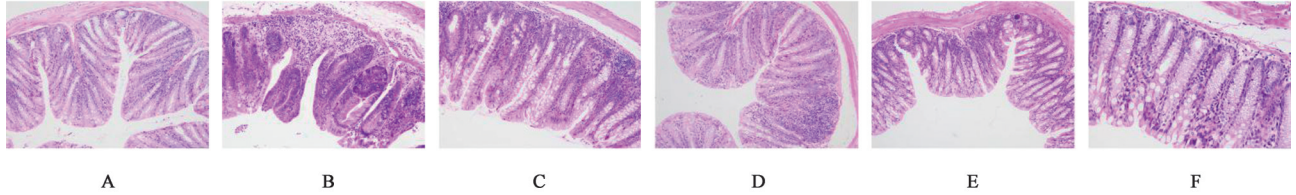
组别	剂量/mg·kg ⁻¹	体质量变化率/%	DAI评分/分	结肠长度/cm	脾脏指数
正常组		111.54 \pm 5.27	0.00 \pm 0.00	6.78 \pm 0.17	0.34 \pm 0.03
模型组		84.47 \pm 9.94 ¹⁾	2.72 \pm 1.24 ¹⁾	5.42 \pm 0.64 ¹⁾	0.70 \pm 0.16 ¹⁾
柳氮磺吡啶组	300	98.53 \pm 4.74 ³⁾	1.56 \pm 0.40 ²⁾	6.38 \pm 0.69 ³⁾	0.45 \pm 0.06 ³⁾
乌梅低剂量组	200	101.57 \pm 4.63 ³⁾	1.52 \pm 0.38 ³⁾	6.17 \pm 0.16 ²⁾	0.40 \pm 0.04 ³⁾
乌梅中剂量组	400	102.60 \pm 3.87 ³⁾	1.38 \pm 0.36 ³⁾	6.66 \pm 0.33 ³⁾	0.44 \pm 0.08 ³⁾
乌梅高剂量组	800	97.67 \pm 11.32 ²⁾	1.58 \pm 0.74 ²⁾	6.55 \pm 0.60 ³⁾	0.46 \pm 0.09 ³⁾

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3-表5同)

3.2 对小鼠结肠组织形态的影响 光学显微镜镜下观察可见,正常组小鼠结肠结构清晰紧密,黏膜下的腺体分布均匀,杯状细胞完整,无明显充血、水肿及炎性细胞浸润;模型组小鼠肠黏膜与上皮细胞受损,腺体分布紊乱,隐窝和杯状细胞明显减少,黏

膜及黏膜下层炎性细胞浸润明显;柳氮磺吡啶治疗后的小鼠结肠黏膜上皮呈现增生修复,腺体、杯状细胞数量增多形态恢复,排列较为整齐,炎性细胞浸润明显减少。在乌梅不同剂量给药组中,小鼠腺体、杯状细胞大部分得到恢复,但结肠隐窝结构仍

存在一定程度破坏,局部有少量炎性细胞浸润。见图1。



注:A.正常组;B.模型组;C.柳氮磺吡啶组;D-F.乌梅低、中、高剂量组(图2-图5同)

图1 乌梅对IBD小鼠结肠组织形态的影响(HE, ×200)

Fig. 1 Effect of Mume Fructus on colonic tissue in morphology of IBD mice (HE, ×200)

3.3 对小鼠DAO水平的影响 与正常组比较,造模7 d后小鼠的血清DAO水平显著升高($P<0.01$);与模型组比较,柳氮磺吡啶组与乌梅低、中、高剂量组血清DAO水平显著降低,差异有统计学意义($P<0.01$),提示乌梅对小鼠肠黏膜上皮屏障有一定恢复作用。见表3。

3.4 对小鼠结肠黏膜屏障相关紧密连接蛋白Occludin、Claudin-1和ZO-1表达的影响 组化结果显示,与正常组比较,模型组小鼠结肠组织Occludin、Claudin-1和ZO-1蛋白表达明显减少($P<0.05, P<0.01$);与模型组比较,柳氮磺吡啶组及乌梅低、中剂量组小鼠结肠组织Occludin、Claudin-1和ZO-1蛋白表达明显增多($P<0.05, P<0.01$),乌梅高

表3 乌梅对IBD小鼠DAD活性的影响($\bar{x}\pm s, n=6$)

Table 3 Effect of Mume Fructus on serum DAO activity in IBD mice ($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	剂量/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	DAO活性/ $\text{U}\cdot\text{mL}^{-1}$
正常组		2.31±0.95
模型组		5.10±1.07 ¹⁾
柳氮磺吡啶组	300	2.61±0.65 ³⁾
乌梅低剂量组	200	1.42±0.45 ³⁾
乌梅中剂量组	400	2.30±1.66 ³⁾
乌梅高剂量组	800	2.23±0.96 ³⁾

剂量组小鼠结肠组织Occludin蛋白表达明显增多($P<0.05$),Claudin-1和ZO-1蛋白表达差异无统计学意义。见图2-图4、表4。

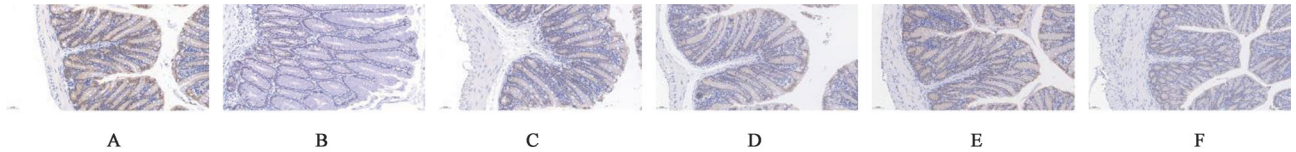


图2 乌梅对IBD小鼠结肠组织蛋白Occludin表达的影响(免疫组化, ×200)

Fig. 2 Effect of Mume Fructus on Occludin expression in colon of IBD mice (IHC, ×200)

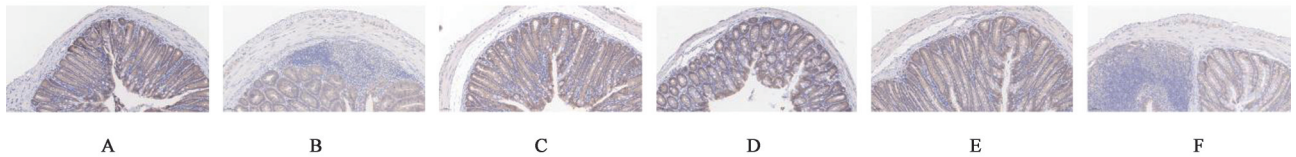


图3 乌梅对IBD小鼠结肠组织蛋白Claudin-1表达的影响(免疫组化, ×200)

Fig. 3 Effect of Mume Fructus on Claudin-1 expression in colon of IBD mice (IHC, ×200)

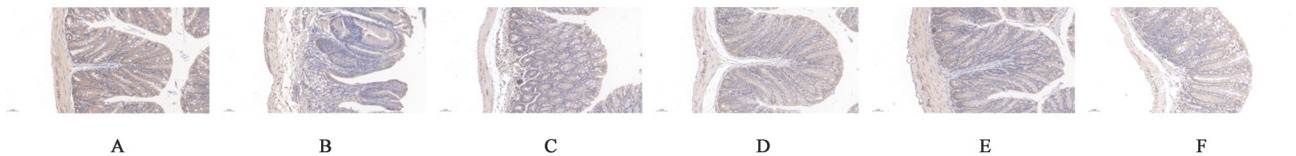


图4 乌梅对IBD小鼠结肠组织蛋白ZO-1表达的影响(免疫组化, ×200)

Fig. 4 Effect of Mume Fructus on ZO-1 expression in colon of IBD mice (IHC, ×200)

3.5 对小鼠结肠组织TNF- α 和IL-1 β 表达的影响 Real-time PCR结果显示,与正常组比较,给予

DSS造模后的小鼠结肠组织TNF- α 和IL-1 β 的mRNA表达均显著升高($P<0.01$);与模型组比较,柳

表4 乌梅对IBD小鼠结肠组织Occludin、Claudin-1和ZO-1表达的影响($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 4 Effect of Mume Fructus on expression of Occludin, Claudin-1 and ZO-1 in colon of IBD mice ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	Occludin($\times 10^{-2}$)	Claudin-1($\times 10^{-2}$)	ZO-1($\times 10^{-2}$)
正常组		23.41±0.73	17.55±2.50	18.37±0.61
模型组		13.69±1.52 ¹⁾	11.81±0.70 ¹⁾	10.74±1.22 ¹⁾
柳氮磺吡啶组	300	19.29±0.41 ³⁾	16.20±1.19 ²⁾	16.51±0.85 ³⁾
乌梅低剂量组	200	17.91±0.75 ³⁾	16.40±2.51 ²⁾	14.42±2.49 ²⁾
乌梅中剂量组	400	19.58±2.15 ³⁾	15.75±0.79 ²⁾	15.67±1.56 ³⁾
乌梅高剂量组	800	16.77±0.85 ²⁾	15.04±0.56	12.99±1.69

氮磺吡啶组与乌梅各给药组小鼠结肠组织TNF- α 和IL-1 β mRNA的相对表达量显著降低($P<0.01$)。见表5。

表5 乌梅对IBD小鼠结肠组织TNF- α 和IL-1 β 的mRNA表达影响($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 5 Effect of Mume Fructus on expression of TNF- α and IL-1 β mRNA in colon of IBD mice verified ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	TNF- α	IL-1 β
正常组		1.04±0.28	1.12±0.54
模型组		3.56±0.99 ¹⁾	2.83±1.01 ¹⁾
柳氮磺吡啶组	300	1.15±0.23 ³⁾	1.04±0.30 ³⁾
乌梅低剂量组	200	1.68±0.64 ³⁾	1.28±0.74 ³⁾
乌梅中剂量组	400	2.34±0.63 ³⁾	1.58±0.60 ³⁾
乌梅高剂量组	800	2.46±0.61 ³⁾	1.18±0.67 ³⁾

3.6 对小鼠结肠组织p-MEK、MEK、p-ERK、ERK蛋白表达的影响 Western blot结果显示,与正常组比较,模型组小鼠结肠组织中MEK和ERK蛋白表

达差异无统计学意义,但p-MEK和p-ERK蛋白表达量明显升高($P<0.05, P<0.01$);与模型组比较,经柳氮磺吡啶和不同剂量的乌梅治疗后,小鼠结肠组织中的MEK和ERK的蛋白表达差异无统计学意义,但p-MEK和p-ERK蛋白表达均明显降低($P<0.05$)。见图5、表6。

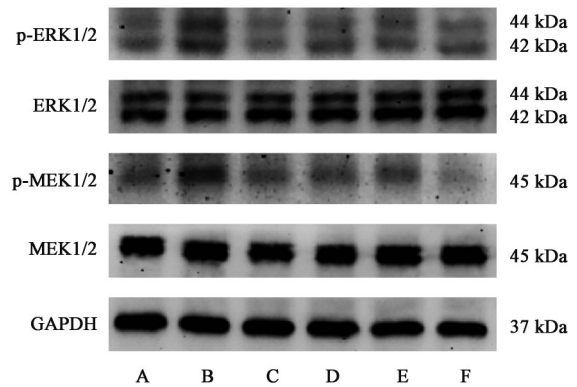


图5 各组小鼠结肠p-ERK、ERK、p-MEK、MEK蛋白表达电泳
Fig. 5 Electrophoresis of p-ERK, ERK, p-MEK, MEK protein expression in colon tissue of mice

表6 乌梅对IBD小鼠结肠p-ERK、ERK、p-MEK、MEK蛋白相对表达量的影响($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 6 Effect of Mume Fructus on relative expression of p-ERK, ERK, p-MEK, MEK protein in colon of IBD mice ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	p-ERK/GAPDH	ERK/GAPDH	p-MEK/GAPDH	MEK/GAPDH
正常组		0.59±0.14	0.93±0.14	0.64±0.13	0.92±0.17
模型组		1.12±0.07 ²⁾	0.94±0.09	1.05±0.09 ¹⁾	0.90±0.10
柳氮磺吡啶组	300	0.68±0.17 ³⁾	0.95±0.10	0.71±0.05 ³⁾	0.79±0.07
乌梅低剂量组	200	0.67±0.21 ³⁾	0.88±0.13	0.59±0.20 ⁴⁾	0.95±0.12
乌梅中剂量组	400	0.59±0.19 ⁴⁾	0.90±0.21	0.54±0.16 ⁴⁾	0.93±0.13
乌梅高剂量组	800	0.63±0.15 ³⁾	0.92±0.27	0.53±0.15 ⁴⁾	1.00±0.23

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⁾ $P<0.01$

4 讨论

IBD是一组慢性、复发型、全身性胃肠道疾病,其临床表现通常包括便血、腹痛和腹泻等胃肠道反应^[17]。现代医学临床治疗IBD主要使用皮质类固醇、免疫调节剂、5-氨基水杨酸等药物,存在靶点单一、费用高昂、个体差异大及药物不良反应多等问

题^[18]。依据IBD患者的症状特点,中医将其归于“久痢”“肠澼”“滞下”的范畴,症结在肠,临床中有清肝温脾、清肠温中、理气清肠、活血止血等多种疗法^[19]。临床中常用的药物乌梅丸已被证实在调节IBD患者肠道菌群与维持免疫细胞平衡中具有显著作用^[20]。其君药乌梅含有机酸类、黄酮类、萜类、多

糖类等多种有效成分,具有生津、敛肺、涩肠、安蛔等作用被众多治疗IBD的方剂所使用^[21]。已有研究表明,乌梅水提物可以通过抑制血清中炎症因子表达和提高结肠中CD4⁺与CD8⁺细胞比值来调节免疫,进一步缓解腹泻^[22],而临床上乌梅汤则能有效提升UC患者的免疫功能而起到治疗作用^[23]。但目前对于乌梅治疗IBD的具体分子机制相关研究甚少,尚不清楚其抗炎作用与肠黏膜屏障修复之间的关联。在本实验中,DSS诱导的模型组小鼠表现出与中度UC相似的表型,为了有效评估乌梅的治疗作用,选用了临床上已被证实能显著恢复UC患者肠黏膜屏障功能的柳氮磺吡啶作为阳性对照药物^[24-25]。在DSS诱导的小鼠结肠炎模型中,由于炎症损伤,结肠会出现不同程度的变形缩短,同时随着炎症水平升高,脾脏也会出现不同程度的增大,因此结肠长度与脾脏指数可以一定程度反映小鼠的炎症水平^[26]。实验中模型组小鼠表现出不同程度的腹泻便血、脾脏指数升高及结肠长度缩短,经乌梅治疗后小鼠的腹泻便血情况减少,脾脏指数与结肠长度指标得到明显改善,表明乌梅对IBD小鼠的临床症状有一定的保护和治疗作用。

肠黏膜屏障可阻止抗原、毒素和病原微生物等有害物质的通过,完整的肠黏膜屏障对于维护免疫系统的正常发育及维持肠道对膳食抗原和微生物群的耐受性十分必要^[27]。肠上皮细胞间连接对于维持肠道上皮屏障结构和渗透性至关重要,该连接主要分为紧密连接(TJ)和黏附连接(AJ)^[28]。其中,紧密连接主要行使调控物质转运、阻挡病原侵入、维持屏障结构等功能^[29]。TJ由跨膜蛋白如Claudins、MARVEL蛋白(Occludin、Tricellulin和MarvelD3)、连接黏附分子(JAM)和外周胞浆蛋白如闭合小环蛋白(ZO-1、ZO-2和ZO-3)、Cingulin等组成^[30]。其中紧密连接跨膜蛋白Occludin主要在调节相邻细胞的紧密度和紧密连接的屏障功能中发挥作用^[31]。Claudin-1则主要参与介导上皮间质转化和细胞迁移、侵袭增殖、凋亡等生物学过程^[32]。ZO家族分子,如ZO-1可以为TJ跨膜蛋白提供附着点使其与细胞内骨架蛋白相连,利于紧密连接结构的稳定与后续信号的传递^[33]。研究表明,作为构成肠道紧密连接的重要蛋白,Occludin、Claudin-1和ZO-1的表达在IBD患者中均出现了不同程度的下调,说明IBD引起的肠道炎症会降低特定TJ的表达^[34-35]。DAO是一种催化二胺类物质氧化的胞内酶,主要位于哺乳动物绒毛尖端肠上皮细胞中,其

在血清中含量的变化与三叶因子(ITF)、内毒素、组胺等物质水平有关^[36]。在临床研究中,单位体积血清中的DAO活性已被用于评估UC患者的病情严重程度与肠屏障功能,UC患者的血清中DAO水平往往高于健康人^[37-38]。本研究动物实验结果显示,乌梅可以恢复Occludin、Claudin-1和ZO-1蛋白在结肠中的表达,同时降低血清中DAO酶活性,以修复IBD小鼠肠黏膜屏障损伤。

网络药理学分析显示,乌梅通过多成分联合多靶点对IBD进行调控^[39]。通过对MAPK通路靶点富集分析可知,乌梅中的黄酮类化合物山柰酚(kaempferol)和槲皮素(querctetin)通过蛋白激酶A催化亚基 α (PRKACA)、RelA、Akt1、TNF- α 、Caspase-3、INSR等核心靶点调控MAPK通路, β -谷甾醇(beta-sitosterol)、豆甾醇(stigmasterol)和菜油甾醇(campest-5-en-3beta-ol)等甾醇类化合物可通过PRKACA、JUN、Caspase-3、TGF- β_1 等靶点调控MAPK通路,此外齐墩果酸和熊果酸等有机酸可通过Caspase-3靶点调控MAPK通路。已有研究表明,上述提到的2种黄酮类物质槲皮素和山柰酚对动物肠黏膜屏障具有调控作用,同时二者都可抑制MAPK通路,由此推测乌梅的部分有效成分可能通过抑制MAPK通路修复小鼠肠黏膜上皮屏障^[40-42]。MEK/ERK信号通路属于经典的MAPK通路,该通路经胞内外刺激激活,通过下游的磷酸化级联反应进一步调控细胞增殖、分化、发育等核心过程^[43]。已有研究表明,MEK/ERK信号通路可以通过增加肠上皮细胞数量、恢复肠黏膜通透性及调控肠上皮细胞紧密连接蛋白的表达来治疗UC^[7,44-45]。抑制MEK/ERK信号通路的激活可在一定程度降低UC患者肠上皮细胞中促炎因子的表达^[46]。在CD的治疗研究中,通过隔药灸下调CD大鼠结肠ERK蛋白的表达也可以改善炎症、促进肠道组织修复^[47]。因此,MEK/ERK信号通路在治疗IBD引起的肠道损伤方面具有重要作用。本研究动物实验结果表明,乌梅能够抑制IBD小鼠肠黏膜组织MEK与ERK蛋白的过度磷酸化,进而增加肠黏膜上皮细胞中Occludin、Claudin-1和ZO-1蛋白及TNF- α 和IL-1 β mRNA的表达,有效恢复肠黏膜损伤。这可能是乌梅减轻肠道炎症反应,并在治疗IBD中发挥重要作用的机制之一,进一步丰富了乌梅治疗IBD的科学内涵。

综上,乌梅通过抑制MEK/ERK信号通路的磷酸化及炎性细胞因子TNF- α 和IL-1 β 的表达,恢复

IBD小鼠肠黏膜上皮屏障功能,减少肠道病理损伤,发挥对IBD小鼠的治疗作用。然而,乌梅对肠黏膜屏障的保护是直接作用还是间接作用,以及MEK/ERK上游蛋白Ras和Raf与IBD的相关性等问题,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] ZHANG Y Z, LI Y Y. Inflammatory bowel disease: Pathogenesis[J]. World J Gastroenterol, 2014, 20 (1):91-99.

[2] YU Y R, RODRIGUEZ J R. Clinical presentation of Crohn's, ulcerative colitis, and indeterminate colitis: Symptoms, extraintestinal manifestations, and disease phenotypes [J]. Semin Pediatr Surg, 2017, 26 (6):349-355.

[3] OTTE M L, LAMA T R, PAPAPANAGIOTOU J, et al. Mucosal healing and inflammatory bowel disease: Therapeutic implications and new targets [J]. World J Gastroenterol, 2023, 29(7):1157-1172.

[4] ULLAH R, YIN Q, SNELL A H, et al. RAF-MEK-ERK pathway in cancer evolution and treatment[J]. Semin Cancer Biol, 2022, 85:123-154.

[5] 张明雨, 贾育新, 杨梦莹, 等. MEK/ERK通路参与溃疡性结肠炎发病机制的研究进展[J]. 中国医学创新, 2022, 19 (20):154-158.

ZHANG M Y, JIA Y X, YANG M Y, et al. Research progress of MEK/ERK pathway involved in the pathogenesis of ulcerative colitis[J]. Med Innovation China, 2022, 19 (20): 154-158.

[6] ZHAI Z, NI X, JIN C, et al. Cecropin A modulates tight junction-related protein expression and enhances the barrier function of porcine intestinal epithelial cells by suppressing the MEK/ERK pathway [J]. Int J Mol Sci, 2018, 19 (7) : 1941.

[7] 李楠, 柳越冬, 崔世超, 等. 溃结安康汤对溃疡性结肠炎模型大鼠结肠黏膜MEK/ERK信号通路调控作用[J]. 辽宁中医杂志, 2019, 46(7):1535-1537.

LI N, LIU Y D, CUI S C, et al. Effects of Kuijie Ankang formula on gene expression of MEK/ERK pathway in colonic mucosa of ulcerative colitis of rats[J]. Liaoning J Tradit Chin Med, 2019, 46(7):1535-1537.

[8] 文生, 王宝家, 杨宇. 论叶天士对乌梅药性的辨别及运用 [J]. 中国中医基础医学杂志, 2023, 29(6):996-998.

WEN S, WANG B J, YANG Y. On YE Tianshi's differentiation and application of the properties of Chinese plum [J]. Chin J Basic Med Tradit Chin Med 2023, 29(6) : 996-998.

[9] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 130.

Compiled by the National Pharmacopoeia Committee. Pharmacopoeia of the People's Republic of China: Volume I [M]. Beijing: China Medical Science and Technology Press,

2020: 130.

[10] 张格知. 溃疡性结肠炎中医证素分布特点及魏玮教授用药规律辨析[D]. 北京:中国中医科学院, 2023.

ZHANG G Z. Identification of the distribution characteristics of traditional Chinese medicine syndrome elements of ulcerative colitis and the medication pattern by Professor WEI Wei [D]. Beijing: China Academy of Chinese Medical Sciences, 2023.

[11] 孙英棉, 曾思静, 刘添文, 等. 乌梅方对比单用西药治疗溃疡性结肠炎的Meta分析[J]. 安徽中医药大学学报, 2016, 35(3):92-96.

SUN Y M, ZENG S J, LIU T W, et al. Clinical efficacy of Wumei prescription versus western medicine in treatment of ulcerative colitis: A Meta-analysis [J]. J Anhui Univ Chin Med, 2016, 35(3):92-96.

[12] 卞艺斐. 马齿苋对实验性肠炎大鼠的保护作用及其机制研究[D]. 北京:中国农业大学, 2018.

BIAN Y F. Protective effect and mechanisms of *Portulaca oleracea* L. on experimental enteritis in rats [D]. Beijing: China Agricultural University, 2018.

[13] 李丽, 李奕菲, 李芳赫, 等. 基于网络药理学和分子对接探讨乌梅治疗克罗恩病的相关分子机制[J]. 现代畜牧兽医, 2024(4):25-29.

LI L, LI Y F, LI F H, et al. Exploring molecular mechanism of dark plum in the treatment of Crohn's disease based on network pharmacology and molecular docking [J]. J Mod Anim Husb Vet Med, 2024(4):25-29.

[14] ZHANG J, LI Z, ZHANG Y, et al. Mume Fructus (*Prunus mume* Sieb. et Zucc.) extract accelerates colonic mucosal healing of mice with colitis induced by dextran sulfate sodium through potentiation of cPLA2-mediated lysophosphatidylcholine synthesis [J]. Phytomedicine, 2023, 119:154985.

[15] SUN Z, LI J, DAI Y, et al. Indigo naturalis alleviates dextran sulfate sodium-induced colitis in rats via altering gut microbiota[J]. Front Microbiol, 2020, 11:731.

[16] LIU Z, JIANG Z, ZHANG Z, et al. Bacillus coagulans in combination with chitooligosaccharides regulates gut microbiota and ameliorates the DSS-induced colitis in mice [J]. Microbiol Spectr, 2022, 10(4):e0064122.

[17] 李亚兰, 张崇豪, 刘华琛, 等. 干姜通过TLR4/MAPK信号通路调控Ly6Chi单核/巨噬细胞改善炎症性肠病的作用机制 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2025, doi: 10.13422/j.cnki.syfjx.20242435.

LI Y L, ZHANG C H, LIU H C. et al. Zingiberis Rhizoma alleviates inflammatory bowel disease through regulating TLR4/MAPK signaling pathway in Ly6Chi monocytes/macrophages[J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2025, doi:10.13422/j.cnki.syfjx.20242435.

[17] 耿英杰, 戚浩龙, 李园, 等. 益生菌治疗炎症性肠病的研究进展[J]. 中国医药工业杂志, 2024, 55(8):1069-1077.

GENG Y J, QI H L, LI Y, et al. Research progress of

- probiotics in the treatment of inflammatory bowel disease[J]. Chin J Pharm, 2024, 55(8):1069-1077.
- [19] 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.
- [20] 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.
- [21] 杨亚洁, 王瑞, 钱程程, 等. 乌梅化学成分、药理作用研究进展及质量标志物预测[J]. 中成药, 2023, 45(5):1583-1588.
- YANG Y T, WANG R, QIAN C C, et al. Research progress on the chemical composition, pharmacological effects, and quality markers of *Prunus mume* [J]. Chin Tradit Pat Med, 2023, 45(5):1583-1588.
- [22] 宋媛媛. 乌梅水提取物对伊立替康所致腹泻的作用及机制研究[D]. 武汉: 华中科技大学, 2020.
- SONG Y Y. Study on the effect and mechanism of water extract of *Mume Fructus* on diarrhea induced by irinotecan [D]. Wuhan: Huazhong University of Science and Technology, 2020.
- [23] 张学峰. 乌梅汤对溃疡性结肠炎患者Hgb、ESR、CRP及免疫功能的影响[J]. 内蒙古中医药, 2021, 40(8):66-67.
- ZHANG X F. Effects of *Prunus mume* decoction on Hgb, ESR, CRP and immune function in patients with ulcerative colitis[J]. Inner Mongolia J Tradit Chin Med, 2021, 40(8): 66-67.
- [24] 徐丽娜, 弓震琼, 朱翰宾. 布拉氏酵母菌联合柳氮磺吡啶对溃疡性结肠炎患者Baron内镜评分及肠黏膜屏障功能的影响[J]. 中国医院用药评价与分析, 2023, 23(6):657-660.
- XU L N, GONG Z Q, ZHU H B. Effects of *Saccharomyces Boulardii* combined with Sulfasalazine on baron endoscopy score and intestinal mucosal barrier function in patients with ulcerative colitis[J]. Eval Anal Drug Use Hosp China, 2023, 23(6):657-660.
- [25] 李斌, 孙宁, 谷松. 乌梅丸及其拆方对溃疡性结肠炎大鼠炎症因子及TLR9/MyD88/NF- κ B p65信号通路的影响[J]. 中华中医药杂志, 2016, 31(5):1901-1905.
- LI B, SUN N, GU S. Effects of Wumei pill and its separated prescription on inflammatory factors and TLR9/MyD88/NF- κ B p65 signaling pathway in ulcerative colitis rat[J]. China J Tradit Chin Med Pharm, 2016, 31(5):1901-1905.
- [26] 郑晓霞, 何小华, 李欣, 等. 2种诱导溃疡性结肠炎动物模型方法的比较[J]. 中国兽医杂志, 2024, 60(8):32-37.
- ZHENG X X, HE X H, LI X, et al. Comparison of two methods for inducing ulcerative colitis in animal models [J]. Chin J Vet Med, 2024, 60(8):32-37.
- [27] SALVO R E, ALONSO C C, PARDO C C, et al. The intestinal barrier function and its involvement in digestive disease[J]. Rev Esp Enferm Dig, 2015, 107(11):686-696.
- [28] ALLAM-NDOUL B, CASTONGUAY-PARADIS S, VEILLEUX A. Gut microbiota and intestinal trans-epithelial permeability[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(17):6402.
- [29] BUCKLEY A, TURNER J R. Cell biology of tight junction barrier regulation and mucosal disease[J]. Cold Spring Harb Perspect Biol, 2018, 10(1):a029314.
- [30] ZIHNI C, MILLS C, MATTER K, et al. Tight junctions: From simple barriers to multifunctional molecular gates [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2016, 17(9):564-580.
- [31] 丛馨, 张艳, 俞光岩, 等. 上皮细胞间紧密连接功能的研究进展[J]. 生理学报, 2016, 68(4):492-504.
- CONG X, ZHANG Y, YU G Y, et al. Research progress on the function of epithelial tight junction [J]. Acta Physiol Sin, 2016, 68(4):492-504.
- [32] 季蓉, 朱小娟, 郭海莲, 等. 紧密连接蛋白-1功能研究进展[J]. 中国细胞生物学报, 2020, 42(9):1617-1623.
- JI R, ZHU X J, GUO H L, et al. Research advances in the function of Claudin-1 [J]. Chin J Cell Biol, 2020, 42(9): 1617-1623.
- [33] TSUKITA S, FURUSE M, ITOH M. Multifunctional strands in tight junctions [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2001, 2(4): 285-293.
- [34] SHANG H X, WANG A Q, BAO C H, et al. Moxibustion combined with acupuncture increases tight junction protein expression in Crohn's disease patients [J]. World J Gastroenterol, 2015, 21(16):4986-4996.
- [35] TAN Y, GUAN Y, SUN Y, et al. Correlation of intestinal mucosal healing and tight junction protein expression in ulcerative colitis patients [J]. Am J Med Sci, 2019, 357(3): 195-204.
- [36] 侯玥, 宫平, 杨羽, 等. 血清二胺氧化酶测定的临床应用进展[J]. 中国实验诊断学, 2015, 19(11):1985-1987.
- HOU Y, GONG P, YANG Y, et al. Clinical application progress of serum diamine oxidase determination [J]. Chin J Lab Diagnosis, 2015, 19(11):1985-1987.
- [37] 周婷婷, 宋莎莎, 唐敏, 等. 溃疡性结肠炎患者肠黏膜屏障功能测定的临床意义[J]. 世界最新医学信息文摘, 2018, 18(61):3-4.
- ZHOU T T, SONG S S, TANG M, et al. Clinical significance of intestinal mucosal barrier function measurement in patients with ulcerative colitis [J]. World Latest Med In Abstr, 2018, 18(61): 3-4.
- [38] 全建军, 薛建波, 刘红巧, 等. 二胺氧化酶对溃疡性结肠炎

- 病情评估的价值研究[J]. 中国现代医生, 2023, 61(34): 34-36.
- TONG J J, ZHANG X B, LIU H Q, et al. Study on the value of diamine oxidase in the evaluation of ulcerative colitis [J]. Chin Mod Dr, 2023, 61(34): 34-36.
- [39] DUAN Z L, WANG Y J, LU Z H, et al. Wumei Wan attenuates angiogenesis and inflammation by modulating RAGE signaling pathway in IBD: Network pharmacology analysis and experimental evidence[J]. Phytomedicine, 2023, 111: 154658.
- [40] 张洁, 李康乐, 付馨乐, 等. 两种植物黄酮醇对动物肠道黏膜屏障的调控[J]. 福建农林大学学报: 自然科学版, 2025, 54(2): 230-237.
- ZHANG J, LI K L, FU X L, et al. Modulation of intestinal mucosal barrier in animals by 2 plant flavonols [J]. J Fujian Agricul Fores Univ: Nat Sci Ed, 2025, 54(2): 230-237.
- [41] 杨妮娟. 山柰酚通过抑制MAPK及NF- κ B信号通路保护碘酸钠诱导的视网膜色素上皮细胞及视网膜损伤[D]. 锦州: 锦州医科大学, 2020.
- YANG N J. Kaempferol protects against sodium iodiate-induced retinal pigment epithelial cells and retinal damage by inhibiting the MAPK and NF- κ B signaling pathways [D]. Jinzhou: Jinzhou Medical University, 2020.
- [42] 龙秀鹏, 陶顺, 阳绅, 等. 槲皮素通过抑制MAPK信号通路改善心力衰竭[J]. 南方医科大学学报, 2025, 45(1): 187-196.
- LONG X P, TAO S, YANG S, et al. Quercetin improves heart failure by inhibiting cardiomyocyte apoptosis via suppressing the MAPK signaling pathway [J]. J South Med Univ, 2025, 45(1): 187-196.
- [43] SHAUL Y D, SEGER R. The MEK/ERK cascade: From signaling specificity to diverse functions [J]. Biochim Biophys Acta, 2007, 1773 (8): 1213-1226.
- [44] 陈龙开, 万星阳, 罗绪, 等. 加味柴芍六君颗粒对溃疡性结肠炎模型大鼠肠黏膜屏障及MEK-ERK-MLCK通路的影响[J]. 中国老年学杂志, 2021, 41(6): 1265-1269.
- CHEN L K, WAN X Y, LUO X, et al. Effects of Jiawei Chaishao Liujun granule on intestinal mucosal barrier and MEK-ERK-MLCK pathway in rats with ulcerative colitis [J]. Chin J Gerontol, 2021, 41(6): 1265-1269.
- [45] 谢慧臣, 冉云, 张云, 等. 麸炒苍术对脾虚大鼠结肠组织MEK/ERK信号通路的影响[J]. 中药新药与临床药理, 2023, 34(10): 1363-1369.
- XIE H C, RAN Y, ZHANG Y, et al. Effects of Bran-Fried Atractylodis Rhizoma on MEK/ERK signaling pathway in colonic tissue of rats with spleen deficiency syndrome [J]. Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol, 2023, 34(10): 1363-1369.
- [46] SHI Y, ZHOU M, YAN J, et al. N-Acetyl-Seryl-Aspartyl-Lysyl-Proline mitigates experimental colitis through inhibition of intestinal mucosal inflammatory responses via MEK-ERK signaling [J]. Front Pharmacol, 2020, 11: 593.
- [47] 吴丽洁, 李茜莹, 杨延婷, 等. 隔药灸对克罗恩病大鼠结肠p38 MAPK、ERK1/2及c-fos调节作用的研究[J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2019, 21(8): 1583-1589.
- WU L J, LI X Y, YANG Y T, et al. Study on the regulation effect of herb-partitioned moxibustion on colonic p38 MAPK, ERK1/2 and c-fos in CD rats [J]. World Sci Technol-Mod Tradit Chin Med, 2019, 21(8): 1583-1589.

[责任编辑 孙丛丛]