

栀子苷通过 IL-6/JAK2/STAT3 信号通路 缓解小鼠溃疡性结肠炎

李柯汛¹, 赵宇翔², 曾 强³, 黄贵祥¹, 余洪涛¹

(四川省医学科学院·四川省人民医院¹ 急诊外科、² 急诊监护室、³ 急诊抢救室, 成都 610000)

摘要 **目的** 探讨栀子苷对溃疡性结肠炎(UC)的缓解作用及其潜在作用机制。**方法** 使用5%硫酸葡聚糖钠(DSS)诱导UC小鼠模型,并随机分为6组($n=8$):正常对照组、模型组、柳氮磺吡啶组[100 mg/(kg·d)]、栀子苷低剂量组[10 mg/(kg·d)]、栀子苷中剂量组[20 mg/(kg·d)]、栀子苷高剂量组[40 mg/(kg·d)],灌胃给药,持续10 d。测量结肠长度和小鼠体质量,评分结肠黏膜损伤指数(CMDI)和疾病活动指数(DAI);采用苏木精-伊红(HE)染色观察结肠组织病理变化;试剂盒检测结肠组织丙二醛(MDA)、髓过氧化物酶(MPO)、过氧化氢酶(CAT)和谷胱甘肽(GSH)水平;采用酶联免疫吸附试验(ELISA)分析结肠组织肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素(IL)-6和IL-1 β 表达水平;采用蛋白质印迹(Western blot)检测结肠组织黏蛋白1(MUC-1)、occludin、IL-6、p-JAK2、p-STAT3蛋白表达。**结果** 与正常对照组相比,模型组小鼠体质量、结肠长度下降($P<0.01$);MUC-1、occludin蛋白表达降低($P<0.01$);CAT、SOD活性降低($P<0.01$);DAI评分、CMDI评分升高($P<0.01$);TNF- α 、IL-6和IL-1 β 表达水平升高($P<0.01$);MPO、MDA含量升高($P<0.01$);IL-6、p-JAK2、p-STAT3蛋白表达升高($P<0.01$)。与模型组相比,柳氮磺吡啶组和栀子苷中、高剂量组小鼠体质量、结肠长度增加($P<0.05$ 或 $P<0.01$),MUC-1、occludin蛋白表达及CAT、SOD活性升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$),DAI评分、CMDI评分降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$),TNF- α 、IL-6和IL-1 β 表达水平减少($P<0.05$ 或 $P<0.01$),MPO、MDA含量降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$);IL-6、p-JAK2、p-STAT3蛋白表达降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。**结论** 栀子苷通过调节肠道菌群结构维持肠道稳态,并通过抑制IL-6/JAK2/STAT3通路激活,改善UC小鼠结肠炎损伤。

关键词 栀子苷;溃疡性结肠炎;结肠黏膜损伤;IL-6/JAK2/STAT3信号通路;肠道微生物群

中图分类号 R 574.1

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2025)11-2082-09

doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2025.11.013

2025-09-28 接收

基金项目:四川省科技计划项目(编号:2025YFS0188)

作者简介:李柯汛,男,硕士,住院医师;

赵宇翔,男,本科,住院医师,通信作者,E-mail:499570750

@qq.com

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是一种非特异性肠道疾病,其特征是结肠黏膜下层炎症,从直肠开始,向近端延伸到结肠。UC的临床症状多种多样,包括腹泻、腹痛、便血、大便急和里急后重^[1]。UC的发病机制至今尚未完全阐明,但被认为与遗

with sucrose density gradient centrifugation. Morphological characteristics, size distribution, and surface charge properties were analyzed by transmission electron microscopy (TEM), nanoparticle tracking analysis (NTA), and Zeta potential measurements. **Results** The purified *P. cuspidatum* exosomes exhibited characteristic cup-shaped or spherical bilayer morphology with a predominant size distribution of 100~200 nm, consistent with established plant exosome characteristics. The surface of these exosomes exhibits a negative charge, with the Zeta potential absolute value of root-derived exosomes being slightly higher than that of stem/leaf-derived counterparts. **Conclusion** The study successfully isolates and characterizes *P. cuspidatum* exosomes, with comprehensive analysis confirming their distinctive structural and biophysical properties. It lays a good material foundation for further exploration of its active ingredients and biological functions.

Key words *Polygonum cuspidatum*; exosomes; extraction; purification; identification

Fund programs Natural Science Research Project of Anhui Educational Committee (No. 2023AH040079); Health Research Project of Anhui Province (No. AHWJ2023A10095)

Corresponding author Zhang Hong, E-mail: ZhangHong20070703@163.com

传、环境、肠道微生态和免疫失衡因素有关^[2]。UC 不仅降低了患者的生活质量,还增加了患癌症的风险。因此,迫切需要开发治疗 UC 新靶点的药物。

白细胞介素(interleukin, IL)-6 负责调节炎症和免疫反应,激活下游蛋白酪氨酸激酶(janus kinase 2, JAK2),促进信号传导转录激活因子 3(signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)的磷酸化和核定位。阻断 JAK2/STAT3 通路可以调节先天性和获得性免疫反应,并减轻肠道的慢性炎症^[3]。此外,IL-6 与 UC 临床特征的严重程度密切相关,在 T 细胞增殖和分化中起着重要作用^[3]。因此,IL-6/JAK2/STAT3 通路可能是 UC 治疗的关键。梔子苷是从干燥成熟的梔子果实中提取的天然产物,具有抗炎和保肝等多种生物学作用。研究^[4]证实,梔子苷通过促进脾脏调节性 T 细胞分化缓解 UC 肠道炎症。此外,梔子苷可降低脓毒症小鼠^[5]中 IL-6 的表达,且抑制肿瘤细胞中 JAK2、STAT3 的磷酸化^[6]。但在 UC 模型中,梔子苷与 IL-6/JAK2/STAT3 信号通路的关系尚未见报道。该文利用 UC 小鼠模型观察梔子苷的保护作用,并探讨 IL-6/JAK2/STAT3 信号通路在此过程中的调控机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 主要物质和试剂 梔子苷、硫酸葡聚糖钠(dextran sulfate sodium, DSS)购自美国 Sigma-Aldrich 公司;柳氮磺吡啶购自美国 MCE 公司;肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、IL-6 和 IL-1 β ELISA 试剂盒购自美国 eBioscience 公司;丙二醛(malondialdehyde, MDA)、髓过氧化物酶(myeloperoxidase, MPO)、过氧化氢酶(catalase, CAT)和谷胱甘肽(glutathione, GSH)检测试剂盒购自南京建成生物公司;二辛可宁酸(bicinchoninic acid, BCA)试剂盒购自上海碧云天公司;放射免疫沉淀测定(radio-immunoprecipitation assay, RIPA)缓冲液、二氨基联苯胺(diaminobenzidine, DAB)显色试剂盒购自北京索莱宝公司;增强型化学发光(ECL)试剂购自美国 Thermo Scientific 公司;抗黏蛋白 1(mucin 1, MUC-1)、抗 occludin、抗 IL-6、抗 p-JAK2、抗 p-STAT3 抗体购自英国 Abcam 公司。

1.1.2 实验动物 48 只雄性 C57BL/6 小鼠(6~8 周龄,21 g $\pm$ 2 g)购自北京维通利华实验动物技术有限公司,使用许可证号:SYXK(京)2022-0052。小鼠被安置在 12 h/12 h 的光暗循环、24 $^{\circ}$ C $\pm$ 2 $^{\circ}$ C 的

清洁环境中,自由获得水和食物。该研究获得了四川省人民医院伦理委员会的批准(批号:2024-0243)。

1.2 方法

1.2.1 动物模型及分组处理 48 只小鼠被随机分为 6 组($n=8$):正常对照组、模型组、柳氮磺吡啶组[100 mg/(kg $\cdot$ d)]、梔子苷低剂量组[10 mg/(kg $\cdot$ d)]、梔子苷中剂量组[20 mg/(kg $\cdot$ d)]、梔子苷高剂量组[40 mg/(kg $\cdot$ d)]。将 DSS 溶解在蒸馏水中以制备 5% DSS 溶液,并允许小鼠自由饮用该溶液 7 d,然后饮用蒸馏水 14 d。小鼠出现体质量下降和便血视为造模成功。柳氮磺吡啶组小鼠通过灌胃给药 100 mg/(kg $\cdot$ d)柳氮磺吡啶^[7],持续 10 d。在梔子苷低、中、高剂量组中,小鼠通过胃内给药给予 5、10 和 20 mg/(kg $\cdot$ d)的梔子苷,持续 10 d。正常对照组和模型组小鼠灌胃相同体积的生理盐水。在此期间,对小鼠进行连续称重,并进行疾病活动指数(disease activity index, DAI)评分。对小鼠实施安乐死后,收集结肠组织,测量其长度并拍照记录。取 1~2 cm 的结肠组织样本,10%多聚甲醛固定,用于后续实验。

1.2.2 结肠黏膜损伤指数(colon mucosal damage index, CMDI)评分 CMDI 评价如下:0 分,正常;1 分,局灶性充血,无溃疡;2 分,溃疡无肠壁充血或增厚;3 分,1 处有炎性溃疡;4 分,溃疡和炎症部位 2 处;5 分,损伤主要部位沿结肠延伸 $\geq$ 1 cm;6~10 分,损伤沿结肠长度延伸 $\geq$ 2 cm;每增加 1 cm 伤害,得分增加 1 分。

1.2.3 结肠组织苏木精-伊红(hematoxylin-eosin, HE)染色 取 1.2.1 项中固定的组织样本置于 70%、80%、90%、95%和 100%的不同浓度乙醇中,二甲苯透明,浸蜡,包埋在蜡块中。每片切片 4 cm,脱蜡,苏木精染色 5 min,经 PBS 洗涤,用 1%盐酸乙醇稀释,伊红溶液染色 30 s,梯度乙醇脱水,透明处理,用中性胶密封,并在光学显微镜下观察病理变化。

1.2.4 ELISA 检测结肠组织炎症因子水平 取 1.2.1 项中收集的结肠组织,根据 ELISA 操作说明书,使用 ELISA 试剂盒检测 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 的表达水平。

1.2.5 结肠组织氧化应激检测 取 1.2.1 项中的结肠组织在 0.9%氯化钠溶液中匀浆,经 2 500 r/min 离心 15 min。使用商用试剂盒测定结肠组织中 CAT、SOD、MPO 和 MDA 水平。

1.2.6 蛋白质印迹 (Western blot) 检测结肠组织 MUC-1、occludin、IL-6、p-JAK2、p-STAT3 蛋白表达 用 RIPA 缓冲液处理小鼠结肠组织,BCA 蛋白质检测试剂盒检测蛋白浓度。使用 SDS-PAGE 分离蛋白样品,然后转移到 PVDF 膜上,并在 5% 的脱脂奶粉中封闭 1 h。在 4 ℃ 下将膜与 MUC-1 (1 : 2 000)、occludin (1 : 1 000)、IL-6 (1 : 2 000)、p-JAK2 (1 : 2 000)、p-STAT3 (1 : 2 000) 和 β -actin (1 : 500) 等一抗孵育过夜。在室温下经辣根酶标记的二抗 (1 : 10 000) 孵育 1 h。根据制造商的说明,使用 ECL 检测蛋白信号,采用 Bio-Rad 成像系统进行蛋白灰度分析。

1.2.7 肠道微生物群分析 收集正常对照组、模型组和栀子苷高剂量组小鼠粪便,并使用十六烷基三甲基溴化铵 (CTAB) 试剂提取每个样本的总 DNA。使用 2% 琼脂糖凝胶电泳测定 DNA 的纯度和浓度,最终在 1 ng/ μ L 的浓度下扩增。用通用基因引物 515F (5'-GTGCCAGCMGCGCGGTAA-3') 和 806R (5'-GGACTACHVGGTWTTCATAT-3') 扩增 V3 - V4 区的细菌 16S rDNA。使用 Mothur 方法和 SILVA138.1 的 SSUrRNA 数据库进行物种注释分析,并分别在门和属水平上计算每个样本的群落组成。

1.3 统计学处理 采用 GraphPad Prism v. 6.0.1 进行统计,实验结果数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。采用单因素方差分析 (ANOVA) 对数据进行分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 栀子苷对 UC 小鼠体质量、结肠长度下降、DAI 评分、CMDI 评分的影响 与正常对照组相

比,模型组小鼠体质量、结肠长度下降,DAI 评分、CMDI 评分升高 ($P < 0.01$)。与模型组相比,栀子苷低剂量组体质量、结肠长度、DAI 评分、CMDI 评分无明显差异;柳氮磺吡啶组和栀子苷中、高剂量组体质量、结肠长度上升,DAI 评分、CMDI 评分降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。见图 1、表 1。

2.2 栀子苷对 UC 小鼠结肠黏膜损伤的影响 与正常对照组相比,模型组 CMDI 评分升高,MUC-1、occludin 蛋白表达降低 ($P < 0.01$)。与模型组相比,栀子苷低剂量组 CMDI 评分,MUC-1、occludin 蛋白表达无明显差异,柳氮磺吡啶组和栀子苷中、高剂量组 CMDI 评分降低,MUC-1、occludin 蛋白表达升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。正常对照组小鼠隐窝排列整齐,杯状细胞完整,无炎症浸润。模型组出现黏膜上皮细胞变性、坏死和炎性细胞浸润。与模型组相比,栀子苷低剂量组黏膜损伤无明显改善,柳氮磺吡啶组和栀子苷中、高剂量组肠黏膜坏死和炎性细胞浸润减少。见表 1 和图 2、3。

2.3 栀子苷对 UC 小鼠结肠黏膜炎症的影响 与正常对照组相比,模型组结肠组织 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 表达水平升高 ($P < 0.01$)。与模型组相比,栀子苷低剂量组结肠组织 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 表达无明显差异,柳氮磺吡啶组和栀子苷中、高剂量组 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 表达水平降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。见图 4。

2.4 栀子苷对 UC 小鼠结肠黏膜氧化应激的影响 与正常对照组相比,模型组结肠组织 CAT、SOD 活性降低 ($P < 0.01$),MPO、MDA 含量升高 ($P < 0.01$)。与模型组相比,栀子苷低剂量组结肠组织 CAT、SOD 活性,MPO、MDA 含量差异无统计学意



图 1 各组小鼠结肠宏观图
Fig. 1 Macrograph of mice colon in each group

表 1 各组小鼠体重、结肠长度、DAI 评分和 CMDI 评分($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Tab.1 Body mass, colon length, DAI score and CMDI score of mice in each group ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Groups	Body mass (g)	Colon length (cm)	DAI score	CMDI score
Control	21.61 ± 0.42	7.56 ± 0.56	0.17 ± 0.55	0.26 ± 1.07
Model	14.89 ± 0.27 ^{**}	4.28 ± 0.42 ^{**}	3.71 ± 0.32 ^{**}	5.87 ± 2.23 ^{**}
Sulfasalazine	18.65 ± 0.25 ^{##}	6.91 ± 0.53 ^{##}	0.77 ± 0.08 ^{##}	1.89 ± 1.08 ^{##}
Low-dose geniposide	15.73 ± 0.16	4.25 ± 0.32	2.43 ± 0.45	5.23 ± 2.11
Medium-dose geniposide	17.05 ± 0.26 [#]	5.51 ± 0.25 [#]	1.46 ± 0.18 [#]	3.61 ± 2.10 [#]
High-dose geniposide	19.73 ± 0.25 ^{##}	5.98 ± 0.46 ^{##}	0.92 ± 0.37 ^{##}	2.06 ± 1.06 ^{##}
F value	334.70	76.50	102.40	12.82
P value	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

^{**} $P < 0.01$ vs Control group; [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$ vs Model group.

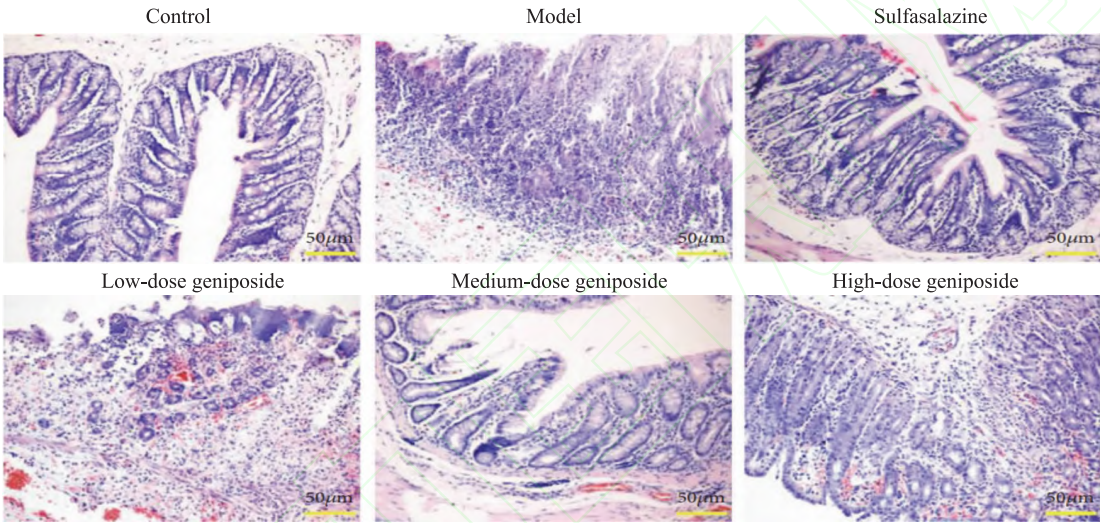


图 2 各组小鼠结肠组织 HE 染色结果 ×100

Fig.2 HE staining of mice colon tissues in each group ×100

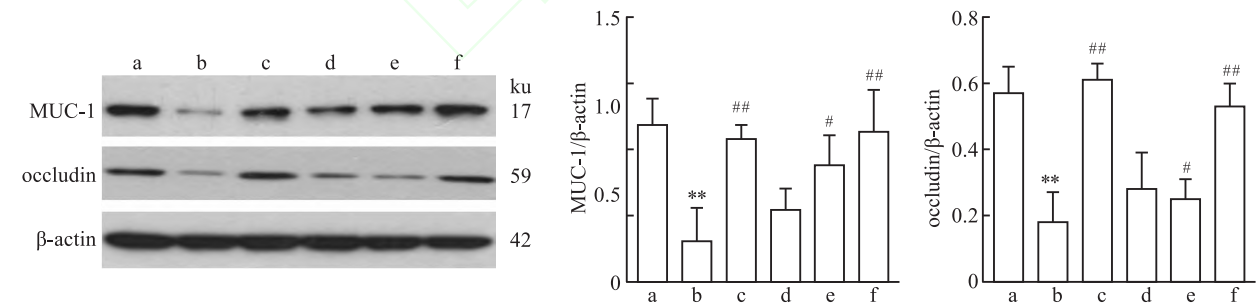


图 3 各组小鼠结肠组织 MUC-1、occludin 蛋白表达

Fig.3 The expression of MUC-1 and occludin protein in mice colon tissues in each group

a: Control group; b: Model group; c: Sulfasalazine group; d: Low-dose geniposide group; e: Medium-dose geniposide group; f: High-dose geniposide group; ^{**} $P < 0.01$ vs Control group; [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$ vs Model group.

义;柳氮磺吡啶组和栀子苷中、高剂量组 CAT、SOD 活性升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),MPO、MDA 含量降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。见图 5。

2.5 栀子苷对 IL-6/JAK2/STAT3 信号通路的影响 与正常对照组相比,模型组 IL-6、p-JAK2、p-

STAT3 蛋白表达升高 ($P < 0.01$)。与模型组相比,栀子苷低剂量组各蛋白表达差异无统计学意义,柳氮磺吡啶组和栀子苷中、高剂量组 IL-6、p-JAK2、p-STAT3 降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。见图 6。

2.6 栀子苷对 UC 小鼠肠道微生物群的影响 与

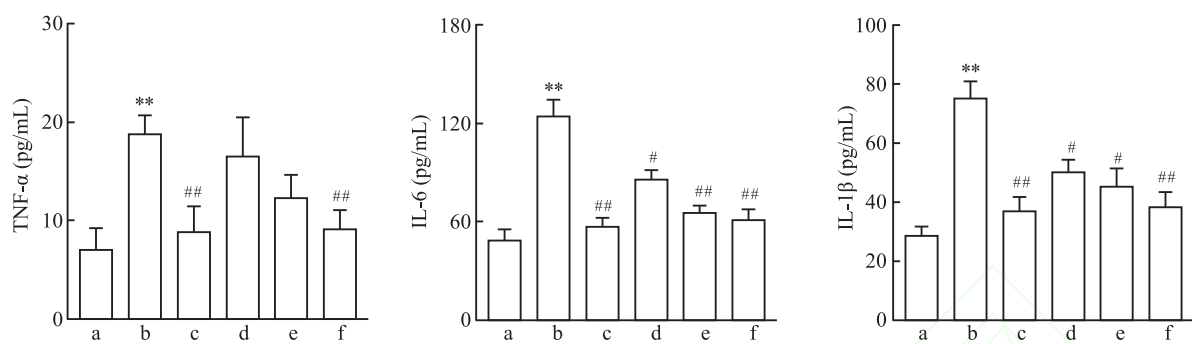


图4 各组小鼠结肠组织 TNF-α、IL-6 和 IL-1β 水平

Fig. 4 The levels of TNF-α, IL-6 and IL-1β in mice colon tissues in each group

a: Control group; b: Model group; c: Sulfasalazine group; d: Low-dose geniposide group; e: Medium-dose geniposide group; f: High-dose geniposide group; ** $P < 0.01$ vs Control group; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ vs Model group.

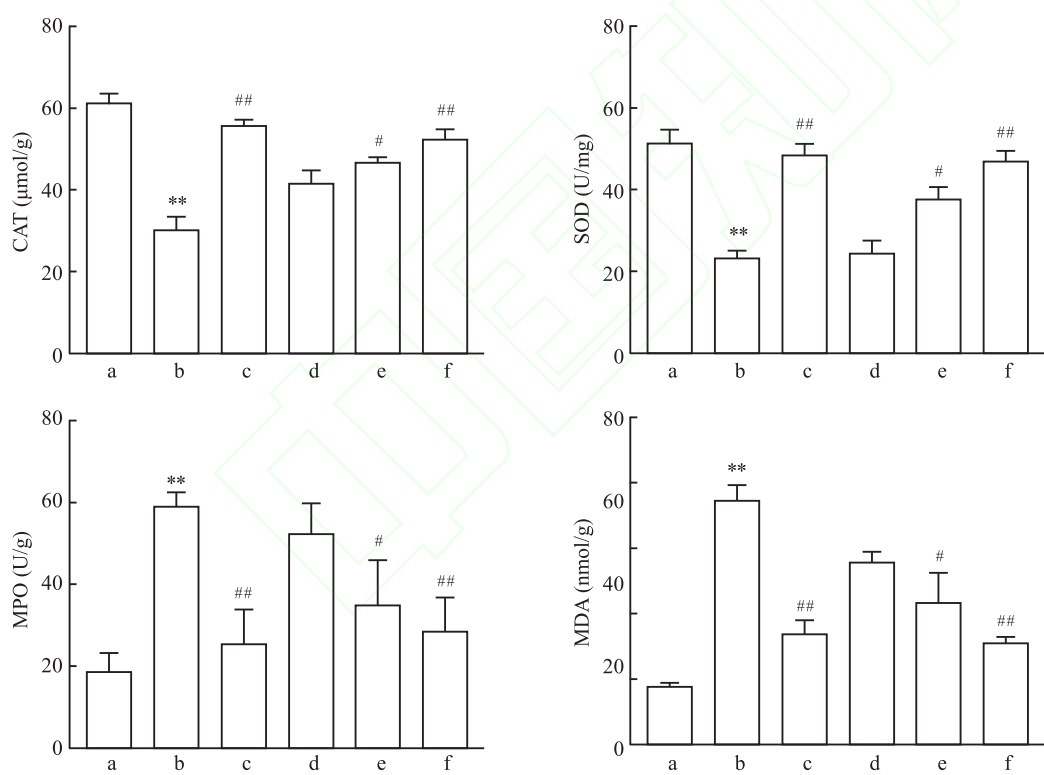


图5 各组小鼠结肠组织 CAT、SOD、MPO 和 MDA 水平

Fig. 5 The levels of CAT, SOD, MPO and MDA in mice colon tissues in each group

a: Control group; b: Model group; c: Sulfasalazine group; d: Low-dose geniposide; e: Medium-dose geniposide; f: High-dose geniposide; ** $P < 0.01$ vs Control group; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ vs Model group.

正常对照组相比,模型组小鼠肠道梭菌纲丰度增加,杆菌纲丰度减少。与模型组相比,栀子苷高剂量组梭菌纲丰度减少,杆菌纲丰度增加。与正常对照组相比,模型组有害细菌如雷沃氏菌属丰度增加,幽门螺杆菌、联合乳杆菌属丰度减少。与模型组相比,栀子苷高剂量组雷沃氏菌属丰度减少,幽门螺杆菌、联合乳杆菌属丰度增加。使用线性判别分析(LDA)识

别每组的优势种,模型组 UC 小鼠肠道微生物群的变化主要集中厚壁菌门、拟杆菌门,而栀子苷高剂量处理改变了肠道菌群的组成和种群结构。见图 7。

3 讨论

UC 的临床症状及其治疗相关的副作用严重影响了患者的生活质量,已成为全球公共卫生问题。

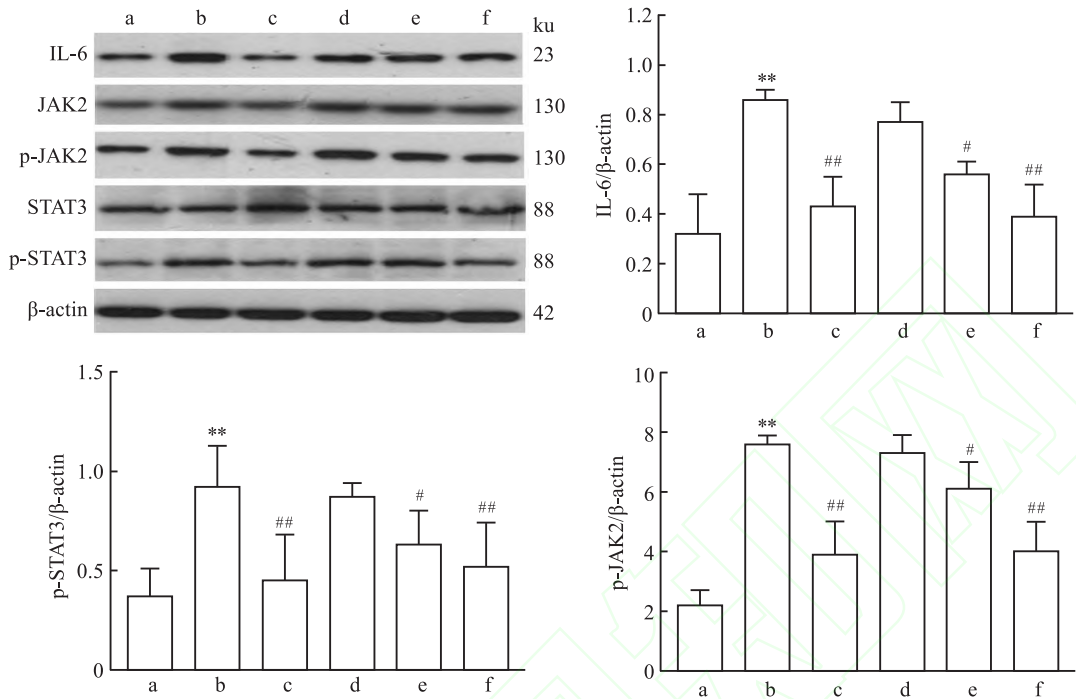


图6 各组小鼠结肠组织 IL-6、JAK2、p-JAK2、STAT3、p-STAT3 蛋白表达

Fig.6 The expression of IL-6、JAK2、p-JAK2、STAT3、p-STAT3 protein in mice colon tissues in each group

a: Control group; b: Model group; c: Sulfasalazine group; d: Low-dose geniposide group; e: Medium-dose geniposide group; f: High-dose geniposide group; * $P < 0.01$ vs Control group; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ vs Model group.

抗炎、抗氧化和调节肠道微生物群是治疗 UC 的主要策略。体外 UC 模型表明, 栀子苷可以保护结肠上皮细胞免受 LPS 引起的损伤^[4], 抑制肠道炎症^[8]。本研究通过建立 UC 小鼠模型, 探讨栀子苷对 UC 的保护作用, 并探讨其调控机制。结果显示, 栀子苷明显缓解 UC 引起的小鼠体质量下降、腹泻和血便症状、DAI 评分升高、结肠长度减少等。

UC 的主要致病特征是结肠黏膜屏障受损^[9], 而肠机械屏障是结肠黏膜屏障的重要组成部分, 由黏膜层、上皮细胞和紧密连接(TJ)组成。一旦屏障结构受损, 它将增加肠道通透性, 无法抵抗病原菌和有害物质的入侵, 从而引发肠道炎症。HE 结果显示, 栀子苷可以缓解 UC 小鼠结肠黏膜损伤, 保护结肠组织的正常结构, 减少炎症浸润。研究^[10]表明, 跨膜蛋白 occludin 和黏蛋白 MUC-1 分别是 TJ 和粘液层的重要组成部分, 它们共同维持肠道机械屏障, 其异常表达会增加肠道通透性并促进肠道炎症^[11]。在 UC 小鼠中, MUC-1 和 occludin 的蛋白表达显著降低, 而栀子苷治疗显著增加了 occludin 和 MUC1 的蛋白表达, 提示栀子苷可以通过保护肠道机械屏障在 UC 中发挥保护作用。

作为促炎细胞因子, IL-6 和 IL-1 β 在 UC 患者中的水平均显著升高, TNF- α 在 UC 模型中可以上调 IL-6 和 IL-1 β 的表达^[12]。通过抑制 TNF- α 活性, 可以减轻炎症反应和缓解 UC 的发生^[13]。本研究结果显示, 栀子苷能够显著抑制 UC 小鼠结肠组织中 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 的表达, 提示栀子苷可以通过抑制 TNF- α , 下调 IL-6 和 IL-1 β 的表达, 从而抑制 UC 小鼠肠道炎症反应。此外, 炎症会引发自由基的产生, 强烈的炎症将不可避免地破坏身体的氧化还原平衡。炎症和氧化应激相辅相成, 都会对肠道机械屏障造成损伤, 增加肠道通透性, 且氧化应激是促进 UC 发展的重要因素^[14]。本研究表明, 栀子苷治疗显著升高了 UC 小鼠结肠组织中 CAT、SOD 活性, 并降低 MPO、MDA 含量, 提示栀子苷可以抑制结肠炎症和氧化应激, 从而减少肠道通透性, 缓解 UC 小鼠肠道机械屏障损伤。

JAK/STAT 通路是自身免疫性疾病的关键信号通路之一, 参与多种细胞增殖、分化、凋亡和免疫调节^[15]。STAT-3 作为 JAK2 的底物被磷酸化, 调节炎性细胞因子的基因转录和表达, 促进进一步的炎症^[16]。JAK2/STAT3 信号通路的激活是通过 IL-6

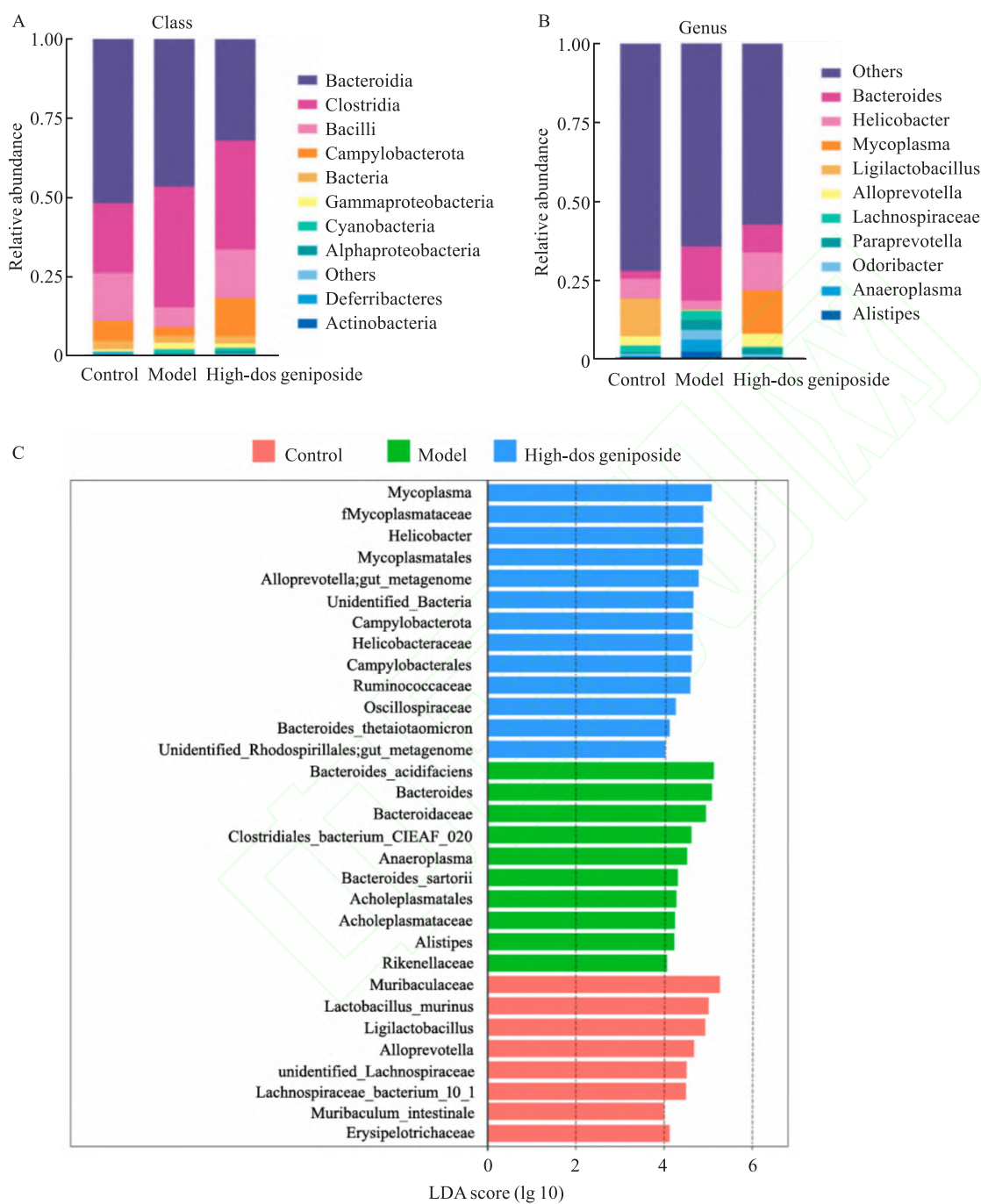


图 7 栀子苷对小鼠肠道微生物群的影响

Fig. 7 The effects of gardenoside on intestinal microbiota in mice

A: The relative abundance of microbiota components at class level in each group; B: The relative abundance of microbiota components at genus level in each group; C: LDA score of each group.

实现的,在 UC 过程中,IL-6 与受体结合形成复合物,激活细胞膜表面的糖蛋白 130,促进 JAK 与 STAT3 结合并使其磷酸化,从而激活 NF- κ B 进入细胞核调节炎症细胞因子的表达。研究发现,在 IL-6 基因缺失的小鼠中,STAT3 激活减少,DSS 诱导的 UC 发病过程减慢。临床试验也表明,通过影响 IL-

6/STAT3 信号通路增强肠道屏障功能可以减轻 UC 诱导的肠道损伤^[17]。本研究结果显示,栀子苷抑制了 JAK2 和 STAT3 的激活,并降低 IL-6 的表达,提示栀子苷的抗 UC 活性可能归因于其在炎症环境中抑制 IL-6/JAK2/STAT3 信号通路。

肠道微生物是肠道健康的关键因素,与肠道上

皮屏障层的完整性直接相关^[18]。本研究评估了栀子苷对肠道微生物群的影响。在纲和属水平上,UC 相关放线菌和拟杆菌物种的丰度增加,乳杆菌的相对减少。栀子苷处理增加了肠道中乳杆菌的丰度。乳杆菌通常被认为是有益的益生菌厚壁菌门微生物,其产物抑制炎症因子的产生,包括 IL- β 、IL-6 和 TNF- α 。乳杆菌也可能促进肠道菌群组成的有益转变,产生抗生素化合物,防止潜在致病菌在肠道占据^[19]。本研究结果提示,栀子苷可能通过减少肠道中有害菌群和增加有益菌种抑制炎症来稳定肠道稳态,这为栀子苷通过调节肠道菌群治疗 UC 提供了依据。

综上所述,栀子苷可减少 UC 小鼠的体质量和腹泻,改善肠道损伤。栀子苷抗 UC 活性的作用机制主要涉及抗氧化能力增强、炎症反应抑制、IL-6/JAK2/STAT3 信号通路抑制以及肠道微生物群调节。栀子苷可被用作缓解 UC 的药用植物,并可作为一种新型的抗 UC 候选药物。

参考文献

- [1] Xiang J, Hu R, Li Q, et al. Total glucosides of paeony attenuates ulcerative colitis *via* inhibiting TLR4/NF- κ B signaling pathway [J]. *Tohoku J Exp Med*, 2022, 258(3): 225–36. doi: 10.1620/tjem.2022.j073.
- [2] 许和鹏,董伟波,魏伟,等. 不同浓度葡聚糖硫酸钠诱导小鼠急性溃疡性结肠炎模型的评价[J]. *安徽医科大学学报*, 2023, 58(10): 1627–33. doi: 10.19405/j.cnki.issn1000–1492.2023.10.003.
- [2] Xu H P, Dong W B, Wei W, et al. Evaluation of acute ulcerative colitis model induced by different concentrations of dextran sodium sulfate in mice[J]. *Acta Univ Med Anhui*, 2023, 58(10): 1627–33. doi: 10.19405/j.cnki.issn1000–1492.2023.10.003.
- [3] Wang J, Wu Z, Huang Y, et al. IRF4 induces M1 macrophage polarization and aggravates ulcerative colitis progression by the Bcl6-dependent STAT3 pathway[J]. *Environ Toxicol*, 2024, 39(4): 2390–404. doi: 10.1002/tox.24106.
- [4] Yu Y, Bian Y, Shi J X, et al. Geniposide promotes splenic Treg differentiation to alleviate colonic inflammation and intestinal barrier injury in ulcerative colitis mice[J]. *Bioengineered*, 2022, 13(6): 14616–31. doi: 10.1080/21655979.2022.2092678.
- [5] 罗宁,陈贵兵,张腾,等. 栀子苷元通过抑制内质网应激改善脾细胞凋亡治疗脓毒症的机制研究[J]. *生物医学转化*, 2023, 4(1): 78–83, 100. doi: 10.12287/j.issn.2096–8965.20230110.
- [5] Luo N, Chen G B, Zhang T, et al. Genipin protects against sepsis *via* the inhibition of endoplasmic reticulum stress to attenuate splenocyte apoptosis[J]. *Biomed Transform*, 2023, 4(1): 78–83, 100. doi: 10.12287/j.issn.2096–8965.20230110.
- [6] 李海霞,苗存良,安志辉,等. 栀子苷调节 JAK2/STAT3/SOCS1 信号通路对骨肉瘤细胞恶性进展的影响[J]. *中国细胞生物学学报*, 2024, 46(6): 1144–53. doi: 10.11844/cjcb.2024.06.0004.
- [6] Li H X, Miao C L, An Z H, et al. Effect of geniposide on malignant progression of osteosarcoma cells by regulating the JAK2/STAT3/SOCS1 signaling pathway[J]. *Chin J Cell Bio*, 2024, 46(6): 1144–53. doi: 10.11844/cjcb.2024.06.0004.
- [7] Prakash T, Janadri S. Anti-inflammatory effect of wedelolactone on DSS induced colitis in rats: IL-6/STAT3 signaling pathway[J]. *J Ayurveda Integr Med*, 2023, 14(2): 100544. doi: 10.1016/j.jaim.2022.100544.
- [8] Lu Y, Chen J, He X, et al. Combined administration of vitamin D3 and geniposide is less effective than single use of vitamin D3 or geniposide in the treatment of ulcerative colitis[J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 714065. doi: 10.3389/fphar.2021.714065.
- [9] Kotla N G, Isa I L M, Rasala S, et al. Modulation of gut barrier functions in ulcerative colitis by hyaluronic acid system[J]. *Adv Sci (Weinh)*, 2022, 9(4): e2103189. doi: 10.1002/adv.202103189.
- [10] Shi J, Du P, Xie Q, et al. Protective effects of tryptophan-catabolizing *Lactobacillus plantarum* KLDS 1.0386 against dextran sodium sulfate-induced colitis in mice [J]. *Food Funct*, 2020, 11(12): 10736–47. doi: 10.1039/D0FO02622K.
- [11] Yue M, Huang J, Ma X, et al. Protopine alleviates dextran sodium sulfate-induced ulcerative colitis by improving intestinal barrier function and regulating intestinal microbiota [J]. *Molecules*, 2023, 28(13): 5277. doi: 10.3390/molecules28135277.
- [12] Asaad G F, Mostafa R E. Amelioration of acetic acid-induced ulcerative colitis in rats by cetirizine and loratadine *via* regulation of the PI3K/Akt/Nrf2 signalling pathway and pro-inflammatory cytokine release[J]. *Iran J Basic Med Sci*, 2024, 27(6): 761–7. doi: 10.22038/ijbms.2024.75889.16426.
- [13] Jiang S, Xu H, Zhao C, et al. Oyster polysaccharides relieve DSS-induced colitis *via* anti-inflammatory and maintaining the physiological hypoxia [J]. *Int J Biol Macromol*, 2023, 238: 124150. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2023.124150.
- [14] Tatiya-aphiradee N, Chatuphonprasert W, Jarukamjorn K. Oxidative stress exacerbates dextran sulfate sodium-induced ulcerative colitis in ICR mice [J]. *Biologia*, 2020, 75(11): 2063–71. doi: 10.2478/s11756–020–00524–9.
- [15] Zheng S, Xue T, Wang B, et al. Chinese medicine in the treatment of ulcerative colitis: The mechanisms of signaling pathway regulations[J]. *Am J Chin Med*, 2022, 50(7): 1781–98. doi: 10.1142/s0192415x22500756.
- [16] Qin W, Luo H, Yang L, et al. *Rubia cordifolia* L. ameliorates DSS-induced ulcerative colitis in mice through dual inhibition of NLRP3 inflammasome and IL-6/JAK2/STAT3 pathways[J]. *Heliyon*, 2022, 8(8): e10314. doi: 10.1016/j.heliyon.2022.e10314.
- [17] Li Y, Jia Y, Cui T, et al. IL-6/STAT3 signaling pathway regulates the proliferation and damage of intestinal epithelial cells in

patients with ulcerative colitis *via* H3K27ac[J]. *Exp Ther Med*, 2021, 22(2): 890. doi: 10.3892/etm.2021.10322.

- [18] Li F, Wang Z, Cao Y, et al. Intestinal mucosal immune barrier; a powerful firewall against severe acute pancreatitis-associated acute lung injury *via* the gut-lung axis[J]. *J Inflamm Res*, 2024, 17:

2173–93. doi: 10.2147/jir.s448819.

- [19] Qiu P, Ishimoto T, Fu L, et al. The gut microbiota in inflammatory bowel disease [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2022, 12: 733992.

Geniposide alleviates ulcerative colitis in mice through IL-6/JAK2/STAT3 signaling pathway

Li Kexun¹, Zhao Yuxiang², Zeng Qiang³, Huang Guixiang¹, Yu Hongtao¹

(¹Dept of Emergency Call Surgical, ²Dept of Critical Care Medicine, ³Dept of Emergency Room, Sichuan Academy of Medical Sciences & Sichuan Provincial People's Hospital, Chengdu 610000)

Abstract Objective To explore the alleviating effect of geniposide on ulcerative colitis (UC) and to investigate its potential mechanism. **Methods** A UC mouse model was induced using 5% dextran sulfate sodium (DSS). These mice were randomly divided into 6 groups ($n = 8$): control group, model group, sulfasalazine group [100 mg/(kg · d)], low-dose geniposide group [10 mg/(kg · d)], medium-dose geniposide group [20 mg/(kg · d)], and high-dose geniposide group [40 mg/(kg · d)]. The mice were orally administered for consecutive 10 days. The colon length and mouse body mass were measured, and the colon mucosal damage index (CMDI) and disease activity index (DAI) were scored. The pathological changes in colon tissue were observed using hematoxylin-eosin (HE) staining. The reagent kits were used to measure the levels of malondialdehyde (MDA), myeloperoxidase (MPO), catalase (CAT), and glutathione (GSH) in colon tissue. The enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) was used to analyze the expression levels of tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-6 (IL-6), and IL-1 β in colon tissue. Western blot was used to detect the protein expression of mucin 1 (MUC-1), occludin, IL-6, p-JAK2, and p-STAT3 in colon tissue. **Results** Compared with the normal control group, the body mass and colon length of the model group mice significantly decreased. The expression of MUC-1 and occludin proteins significantly reduced ($P < 0.01$). The activities of CAT and SOD significantly reduced. DAI score and CMDI score significantly increased ($P < 0.01$). The expression levels of TNF- α , IL-6, and IL-1 β significantly increased ($P < 0.01$). The content of MPO and MDA significantly increased ($P < 0.01$). The expression of IL-6, p-JAK2 and p-STAT3 proteins significantly increased ($P < 0.01$). Compared with the model group, the body mass and colon length of mice in sulfasalazine group and geniposide medium and high-dose groups significantly increased ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), the expression of MUC-1 and occludin proteins increased ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), as well as the activity of CAT and SOD ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). DAI score and CMDI score in Sulfasalazine group and geniposide medium and high-dose groups significantly reduced ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), as well as the expression levels of TNF- α , IL-6, and IL-1 β ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). MPO and MDA content in Sulfasalazine group and geniposide medium and high-dose groups significantly reduced ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), as well as the expression of IL-6, p-JAK2, and p-STAT3 proteins ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). **Conclusion** Geniposide maintains intestinal homeostasis by regulating the structure of the intestinal flora and improves colitis injury in UC mice by inhibiting the activation of the IL-6/JAK2/STAT3 pathway.

Key words geniposide; ulcerative colitis; colonic mucosal injury; IL-6/JAK2/STAT3 signaling pathway; gut microbiota

Fund program Science and Technology Plan Projects of Sichuan Province (No. 2025YFS0188)

Corresponding author Zhao Yuxiang, E-mail: 499570750@qq.com