周杰, 任旭霞, 苏岩, 等. 基于 AhR/IL-22 通路探讨黄芪甲苷对结肠炎小鼠肠道屏障功能的影响及机制 [J]. 食品工业科技, 2026, 47(4): 425−434. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025010184
ZHOU Jie, REN Xuxia, SU Yan, et al. Mechanistic Study of Astragaloside IV on Intestinal Barrier Function in Colitis Mice Through AhR/IL-22 Signaling Pathway[J]. Science and Technology of Food Industry, 2026, 47(4): 425−434. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025010184

· 营养与保健 ·

基于 AhR/IL-22 通路探讨黄芪甲苷对结肠炎小鼠肠道屏障功能的影响及机制

周　杰[1], 任旭霞[1], 苏　岩[1], 董右青[1], 龙飞扬[1], 牟　易[1], 余　畅[1,3,*], 袁在静[2,*]
（1.重庆中医药学院基础医学院, 重庆 402760;
2.云南省昭通市第一人民医院, 云南昭通 657000;
3.重庆医科大学, 重庆 400030）

摘　要: 目的：研究黄芪甲苷（Astragaloside IV，AS-IV）对溃疡性结肠炎（Ulcerative colitis，UC）小鼠肠道屏障功能的影响，并探讨其潜在机制。方法：使用 3% 葡聚糖硫酸钠（Dextran sulfate sodium，DSS）构建小鼠 UC 模型，建模成功后分为空白对照组、模型对照组、黄芪甲苷低、中、高剂量组（10、20、40 mg/kg），各组灌胃相应药物，每日 1 次，连续给药 10 d。Western blotting 检测 AhR/IL-22 通路的蛋白表达水平；荧光原位杂交技术检测结肠组织切片 DAPI 染色情况；流式细胞术检测细胞凋亡水平；qRT-PCR 检测 AHR、CYP1A1、IL-22 等 mRNA 表达水平。结果：AS-IV 可能通过促进 AhR/IL-22 通路改善结肠炎小鼠的肠道炎症状态，降低了肠道通透性，并促进了结肠紧密连接结构的修复。AhR 拮抗剂 CH223191 可部分阻断 AS-IV 的治疗效果，而 AhR 激动剂 FICZ 可改善结肠炎小鼠的症状和肠道屏障功能。进一步的体外机制研究发现，AS-IV 处理显著提高了 MNK-3 细胞中 AhR 下游靶蛋白 CYP1A1 的表达水平（P<0.01），并通过促进 AhR 核转位显著增强 IL-22 的分泌（P<0.01）。重要的是，在 AhR 基因沉默的 MNK-3 细胞（shAhR-MNK3）中，AS-IV 对 CYP1A1 表达和 IL-22 分泌的促进作用被显著抑制（P<0.05），表明 AS-IV 通过 AhR 依赖性机制调控 IL-22 的产生。结论：AS-IV 通过 ILC3 中的 AhR/IL-22 通路改善肠上皮屏障，改善结肠炎，从而为 UC 提供潜在的治疗方法。

关键词: AhR/IL-22, 黄芪甲苷, 溃疡性结肠炎, 肠道屏障
中图分类号: R151.3　　**文献标识码:** A　　**文章编号:** 1002−0306(2026)04−0425−10
DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2025010184
本文网刊:

Mechanistic Study of Astragaloside IV on Intestinal Barrier Function in Colitis Mice Through AhR/IL-22 Signaling Pathway

ZHOU Jie[1], REN Xuxia[1], SU Yan[1], DONG Youqing[1], LONG Feiyang[1], MU Yi[1], YU Chang[1,3,*], YUAN Zaijing[2,*]
（1.School of Basic Medicine Science, Chongqing University of Chinese Medicine, Chongqing 402760, China;
2.Zhaotong First People's Hospital, Yunnan Province, Zhaotong 657000, China;
3.Chongqing Medical University, Chongqing 400030, China）

Abstract: Objective: To investigate the effects of Astragaloside IV (AS-IV) on intestinal barrier function in mice with ulcerative colitis (UC) and to explore its underlying mechanisms. Methods: The UC mouse model was established using 3%

收稿日期: 2025−01−21
基金项目: 重庆市自然科学基金面上项目（CSTB2022NSCQ-MSX0088）; 重庆市教委科学技术研究计划项目青年项目（KJQN202415105）; 重庆中医药学院“三栖名师”科研提升计划自主创新专项（SQMS2024QNXM-005）。
作者简介: 周杰（1990−）, 女, 博士, 助理研究员, 研究方向: 膳食营养, E-mail: 282064683@qq.com。
*** 通信作者:** 余畅（1970−）, 女, 博士, 教授, 研究方向: 慢性代谢性疾病, E-mail: shanda752005@163.com。
袁在静（1989−）, 女, 本科, 主治医师, 研究方向: 炎症性肠病, E-mail: 523629903@qq.com。

dextran sulfate sodium (DSS). Upon successful model establishment, the animals were divided into control, DSS model, and AS-IV treatment groups (10, 20 and 40 mg/kg). All treatments were administered via oral gavage once daily for 10 days. The protein expression levels of the AhR/IL-22 pathway were analyzed by Western blotting. Fluorescence in situ hybridization (FISH) was performed to examine DAPI staining patterns in colon tissue sections. Apoptosis rates were measured by flow cytometry, and transcriptional levels of AHR, CYP1A1, and IL-22 were evaluated using qRT-PCR. Results: AS-IV ameliorated intestinal inflammation, reduced intestinal permeability, and promoted the restoration of colonic tight junction structures in colitis mice, potentially through activation of the AhR/IL-22 pathway. The therapeutic effects of AS-IV were partially attenuated by the AhR antagonist CH223191, whereas the AhR agonist FICZ exhibited comparable protective effects on colitis symptoms and intestinal barrier function. *In vitro* mechanistic investigations demonstrated that AS-IV treatment significantly upregulated the expression of CYP1A1 (P<0.01), a downstream target protein of AhR, in MNK-3 cells. Furthermore, AS-IV markedly enhanced IL-22 secretion (P<0.01) by facilitating AhR nuclear translocation. Notably, these regulatory effects were substantially diminished in AhR-silenced MNK-3 cells (shAhR-MNK3) (P>0.05), conclusively establishing that AS-IV modulates IL-22 production through an AhR-dependent mechanism. Conclusion: AS-IV ameliorated UC by activating the AhR/IL-22 pathway in ILC3 cells, thereby restoring intestinal barrier function. These findings highlight AS-IV as a potential therapeutic candidate for UC treatment.

Key words: AhR/IL-22; astragaloside IV; ulcerative colitis; intestinal barrier

溃疡性结肠炎(Ulcerative colitis, UC)是一种以直肠为起始点并向近端结肠连续性扩展的慢性非特异性肠道炎症性疾病,其特征性病理改变为黏膜层局限性炎症浸润及上皮屏障损伤[1]。肠道屏障功能是评估 UC 患者的敏感预后指标[2],当肠道屏障被破坏时,肠腔微生物可穿透上皮层迁移至固有层,进而激活异常免疫应答并加剧炎症级联反应。因此,在 UC 的治疗中,除了给予抗生素和抗炎治疗外,修复受损的肠黏膜也至关重要[3−4]。白细胞介素 22(Interleukin-22, IL-22)在肠上皮的再生和重建中发挥重要作用,主要通过促进肠道紧密连接来强化肠道屏障以及增加抗菌肽和粘蛋白来增强粘膜防御,因此上调 IL-22 表达对于上皮修复至关重要[5−6]。IL-22 主要由辅助性 T 细胞(Th1、Th17 和 Th22 细胞)、3 型固有淋巴样细胞(ILC3)等产生,其中 ILC3 是其主要来源,并受芳烃受体(Aryl hydrocarbon receptor, AhR)调节[7]。作为配体依赖性转录因子,AhR 在胞质中与分子伴侣蛋白形成复合体并保持非活性状态,当 AhR 与其激动剂结合后,AhR-配体复合体发生核转位,与外源性反应元件(Xenobiotic response elements, XRE)发生相互作用,进而启动对下游靶基因的转录调控过程。此外,AhR 还通过与视黄醇相关孤儿受体 γt(Retinoid-related orphan receptor γt, RORγt)相互协作,促进 IL-22 的基因表达,从而在肠黏膜修复过程中发挥核心调控作用[8]。

AhR 在炎症性肠病(Inflammatory bowel disease, IBD)发病机制中的关键调控作用已得到广泛证实[9−11],研究表明,IBD 患者炎症肠组织中的 ILC3 细胞的 AhR 表达显著降低。而 AhR 激动剂 6-甲酰吲哚并 [3,2-b] 咔唑(FICZ)能够直接激活肠上皮细胞(Intestinal epithelial cells, IEC)AhR 表达,有效降低肠道通透性,并发挥上皮细胞保护作用[12]。尽管 AhR 在调节肠道屏障功能方面扮演着至关重要的角色,然而,现有 AhR 激动剂普遍存在不同程度的毒性问题,严重制约其临床转化应用。因此,寻找安全有效的 AhR 激动剂已成为当前研究的迫切需求。黄芪甲苷(Astragaloside IV, AS-IV)作为传统中药黄芪的主要活性成分,具有抗炎、修复肠上皮等多种药理活性[13]。本研究通过体内 DSS 结肠炎模型结合 AhR 激动剂/拮抗剂干预、以及体外 AhR 基因沉默的 ILC3 细胞与肠上皮细胞共培养等实验,探究 AS-IV 在抵抗结肠炎方面的效果,并进一步分析 AhR/IL-22 信号通路是否以及如何参与 AS-IV 对肠道屏障的保护作用。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

雄性 C57BL/6 小鼠(6~8 周),体重 20~22 g 湖南斯莱克景达实验动物有限公司(许可证号:SCXK(湘)2021-0002);MNK-3 细胞 Bluefbio 生物科技发展有限公司;黄芪甲苷(98%, HPC) 上海源叶生物科技有限公司;AhR 激动剂 FICZ(HY-12451)、AhR 抑制剂的 CH223191(A8609) 北京百奥莱博科技有限公司;DMEM 培养基、胎牛血清(FBS, 42F2362K) 赛默飞世尔科技中国有限公司;核蛋白提取试剂盒(R0050)、Luria-Bertani 琼脂(L1015) 北京索莱宝科技有限公司;小鼠 IL-22 ELISA 试剂盒(EMC119) 深圳新生物科技公司;抗 β-肌动蛋白抗体(BM0627) 武汉博士德生物科技有限公司;Foxp3/转录因子染色缓冲液组(00-5523-00)、PE 抗小鼠 RORγt 抗体(2054914) 赛默飞世尔科技公司(美国);抗小鼠 IgG(Alexa Fluor ® 488 Conjugate, 4408) Cell Signaling Technology(美国);Cy3 标记的羊抗大鼠 IgG(A0507)、ZO-1、Occludin、AhR 和细胞色素 P450(CYP)1A1 的抗体 碧云天生物科技有限公司。

CO_2 培养箱 美国 Bio-Rad 公司;qTower2.2 荧光实时定量 PCR 仪 德国 Anakytik Jena 公司;

iMark 型酶标检测仪　德国 Eppendorf 公司；BD LSRFortessa 流式细胞仪　美国 BD 公司。

1.2　实验方法

1.2.1　实验对象及分组　MNK-3 细胞使用含有 10% 胎牛血清（FBS）和 1% 青霉素-链霉素混合物的 DMEM 培养基进行常规培养（5% CO_2，37 ℃）。MNK-3 细胞进行如下 5 组处理：包括对照组、高中低三个剂量（20、10 和 5 μmol/L）AS-IV 组及 FICZ 组（AhR 激动剂，400 nmol/L），处理 MNK-3 细胞 24 h。

雄性 C57BL/6 小鼠饲养在重庆中医药学院动物房，在标准温度（22±2 ℃）和湿度（55%±2%）下保持 12 h 光/暗循环。所有实验方案符合重庆中医药学院实验动物伦理委员会规定（动物福利伦理审查批文号：QT2024-01），并严格遵循动物伦理规定使用。将 C57BL/6 小鼠随机分组如下：空白对照组、模型组、AS-IV 组（10、20 和 40 mg/kg）、FICZ 组（1 μg/只）、CH223191（AhR 抑制剂组，10 mg/kg）+AS-IV（40 mg/kg）（CH+AS-IV 组）。除空白对照组外，其余各组小鼠自由饮用 3% DSS，连续 7 d。同时，空白对照组和模型组小鼠口服去离子水，AS-IV 组小鼠口服含有 AS-IV（10、20 和 40 mg/kg）的去离子水，FICZ 组小鼠腹腔注射 FICZ，CH+AS-IV 组小鼠腹腔注射 CH223191 并灌胃 AS-IV，连续 10 d。第 11 d，对所有小鼠实施安乐死。

1.2.2　菌落计数　小鼠处死后，分离小鼠的脾脏和肠系膜淋巴结（Mesenteric lymph nodes，MLN），于 4 ℃ 下机械研磨 1 min。将组织匀浆进行 10 倍系列梯度稀释，选取预期可产生 30~300 个孤立菌落的稀释度，取 50~100 μL 涂布于 Luria-Bertani 琼脂中，放入 37 ℃ 培养，12 h 后计算各组的细菌菌落数。

1.2.3　Western blotting 检测蛋白表达情况　采用 8%~12% SDS-PAGE 电泳分离各处理组蛋白质样品，随后转印至 PVDF 膜。经 5% BSA 封闭后，分别与特异性一抗 4 ℃ 孵育过夜（12 h），再与相应 HRP 标记的二抗（山羊抗鼠或兔抗山羊 IgG）室温孵育 1 h。使用 ECL 化学发光底物显色，β-actin 作为内参进行归一化处理。所有实验均独立重复三次，使用 Image J 软件对蛋白条带灰度值进行定量分析。

1.2.4　小动物成像　所有小鼠禁食 12 h 后口服 50 mg/kg FD4（4 kDa FITC-dextran），4 h 后通过小动物成像系统观察其体内分布。采集外周血经离心（3000 r/min，4 ℃，10 min）后，参考以往研究[14]，取 100 μL 血清使用荧光酶标仪（Ex/Em=480/520 nm）检测荧光强度。

1.2.5　免疫荧光　结肠冰冻切片经丙酮固定 20 min 后，10% 山羊血清封闭 1.5 h，4 ℃ 下与抗 ZO-1（1∶100）和抗 Occludin（1∶250）一抗孵育过夜。随后与相应二抗（抗小鼠/大鼠 IgG）避光室温孵育 60 min，DAPI 染核 10 min，共聚焦显微镜观察。

1.2.6　流式细胞术　参照以往研究[15] 提取结肠固有层淋巴细胞，简言之，将结肠组织样本使用含有 5%FBS、1 mmol/L DTT、5 mmmol/L EDTA 和 10 mmol/L HEPES 的 Hanks 缓冲液预处理，20 min/次处理 2 次，每次消化后使用振荡仪振荡 10 s 弃上清；每管加入 10 mL 含有 0.05% 胶原酶 II、10%FBS 和 100 μg/mL DNA 酶的固有层消化液消化 30 min；收集消化液，使用 70 μmol/L 细胞筛过滤后离心，使用 Percoll 缓冲液纯化后，收集细胞沉淀。结肠固有层淋巴细胞（1×10^5 cells/mL）于含 10% FBS 的 DMEM 中预培养 6 h 后，分别经不同浓度 AS-IV 处理 24 h（5% CO_2，37 ℃）。收集处理过的细胞并用预冷 PBS 洗涤后，然后将收集的细胞重新悬浮在结合缓冲液中，流式细胞术检测基因表达。

1.2.7　AhR 基因沉默细胞系的构建　MNK-3 细胞接种于含 10% FBS 的 DMEM 的 48 孔板。将不同浓度的 GFP 标记慢病毒与转染试剂混合转染 12 h 后继续培养 72 h，通过流式细胞术检测荧光强度优化转染条件。转染细胞在含有合适浓度嘌呤霉素（杀死正常 MNK-3 细胞的最低浓度）的 DMEM 中培养进行纯化。

1.2.8　实时荧光定量 PCR　使用 TRIzol 试剂提取细胞总 RNA。通过 AG RNAex Pro RNA 试剂提取 MNK-3 细胞的总 RNA。然后，去除与总 RNA 混合的 DNA，并通过 Evo M-MLV 反转录试剂盒Ⅱ将 RNA 反转录为 cDNA。最后，将 cDNA 与引物和 SYBR Green Pro Taq HS 预混型 qPCR 试剂盒混合，并使用 PCR 仪进行扩增，具体参数参照以往研究[16]。以 GAPDH 为基准，并用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法计算。用于 RT-qPCR 的引物如表 1 所示：

表 1　用于 qRT-PCR 的引物序列
Table 1　Primers used for qRT-PCR

引物	序列
AHR	
Forward sequence	ATGGAGAGGTGCTTCAGGTGCCG
Reverse sequence	ATGGAGGGGTGGCTGAAGTGGAGT
CYP1A1	
Forward sequence	TCTGTGCCATTTGCTTTGGC
Reverse sequence	AGGCATTCAGGGAAGGGTTG
IL-22	
Forward sequence	CATGCAGGAGGTGGTACCTT
Reverse sequence	CAGACGCAAGCATTTCTCAG
GAPDH	
Forward sequence	5′- GGTTGTCTCCTGCGACTTCA-3′
Reverse sequence	5′-TGGTCCAGGGTTTCTTACTCC-3′

1.3　数据处理

所有数据均由至少三次独立实验计算得出，并以 $\bar{x}\pm s$ 表示；使用 SPSS 20.0和 GraphPad Prism 18.0 分析实验数据；两组间比较采用 t 检验，多组间比较采用单因素方差分析；当 $P<0.05$ 说明有统计学意义；$P<0.01$ 说明具有显著统计学差异。

2 结果与分析

2.1 AS-IV 改善 DSS 诱导的小鼠结肠炎

为了验证 AS-IV 对 UC 的保护作用，对各处理组小鼠结肠进行病理学分析，结果如图 1 所示，与空白对照组相比，DSS 模型组结肠组织炎症细胞增多、绒毛及隐窝结构受损。对结肠上皮细胞脱落、炎性细胞浸润、肌层广泛水肿以及病理组织进行评分（图 1h），DSS 模型组病理评分增加（P<0.001）。与 DSS 模型组相比，AS-IV 干预能有效缓解结肠组织炎性状态、修复绒毛结构、降低病理学评分，而 AhR 抑制剂能显著逆转 AS-IV 的该效应。以上结果表明 AS-IV 能有效缓解 DSS 诱导结肠炎，且该效应与 AhR 有关。

2.2 AS-IV 改善结肠炎小鼠的肠道屏障结构和功能

细菌培养实验如图 2a 所示，与空白对照组相比，DSS 诱导的结肠炎小鼠的 MLN 中培养出大量细菌。与 DSS 模型组相比，AS-IV 干预后细菌复合显著降低。进一步使用免疫荧光检测小鼠结肠组织紧密连接蛋白的表达，结果如图 2b 所示，AS-IV 明显上调 DSS 引起的 ZO-1 和 occludin 表达降低，且 AS-IV 还可以预防 DSS 引起的血清 FITC-葡聚糖水平升高（图 2c）。而 AS-IV 的上述效应被 AhR 抑制剂明显阻断。这表明 AS-IV 可以降低肠道通透性保护结肠炎小鼠的肠道屏障。

2.3 AS-IV 通过上调 ILC3 中 AhR/IL-22 通路来减轻小鼠结肠炎

为深入探讨 AS-IV 对肠上皮保护作用的分子机制，本研究通过 Western blot 和 ELISA 技术检测了结肠炎小鼠模型肠道 AhR/IL-22 信号通路关键蛋白的表达水平。实验结果如图 3 所示，与对照组相比，结肠炎模型组小鼠 AhR 下游效应蛋白 CYP1A1 的表达水平及结肠组织 IL-22 含量均显著降低（P<0.05）。经 AS-IV 干预后，上述指标均呈现明显回升趋势（P<0.05）。这些结果表明，AS-IV 可能通过特异性激活 ILC3 细胞中的 AhR/IL-22 信号通路，进而发挥其对结肠炎的治疗作用。

2.4 AS-IV 体外激活 MNK-3 细胞中的 AhR/IL-22 通路

MNK-3 细胞系是一种表达与 ILC3 相同的信号转录因子和细胞因子的小鼠淋巴细胞系，用于体外评估 AS-IV 对 ILC3 细胞 AhR 信号通路的调控作用。通过 qRT-PCR 分析发现，AS-IV 处理虽未显著改变 *AhR* mRNA 的表达水平（P>0.05），但可显著上调 *AhR* 下游靶基因 *CYP1A1* 及 *IL-22* 的 mRNA 表达（P<0.05）（图 4a~图 4c）。且给予 AS-IV 后，AhR 蛋白在细胞核中的表达增加，而在细胞质中的表达减少，这表明 AS-IV 促进了 AhR 向细胞核的易位（图 4d）。此外，流式细胞术及 Western blot 检测结果证实，AS-IV 处理显著提高了 MNK-3 细胞中 CYP1A1 及 IL-22 的蛋白表达水平（图 4e~图 4g）。综合上述结果，AS-IV 可能通过激活 AhR 信号通路，促进其核转位，进而上调 CYP1A1 和 IL-22 的表达，表明 AS-IV 具有 AhR 激动剂样作用，并可调控 MNK-3 细胞中 AhR/IL-22 通路的活化。

2.5 AS-IV 以 AhR 依赖性方式诱导 MNK-3 细胞产生 IL-22

本研究采用 pLV shRNA 载体系统，通过慢病毒转染将靶向 AhR 的 shRNA 高效递送至 MNK-3 细胞中。Western blot 分析显示，携带 AhR 特异性序列 1 的慢病毒可显著抑制 AhR 蛋白表达（图 5a），并

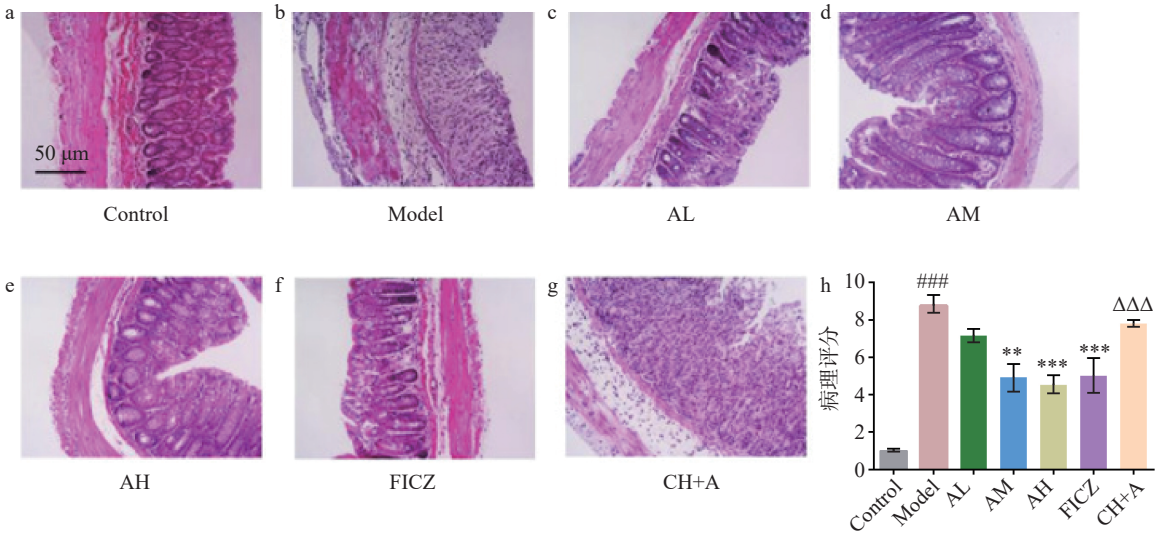


图 1 AS-IV 改善 DSS 诱导的小鼠结肠炎（n=6）

Fig.1 AS-IV ameliorates DSS-induced colitis in mice (n=6)

注：Control：空白对照组；Model：DSS 模型组；AL：AS-IV（10 mg/kg）组；AM：AS-IV（20 mg/kg）组；AH：AS-IV（40 mg/kg）组；CH+A：CH223191（AhR 抑制剂组，10 mg/kg）+AS-IV（40 mg/kg）组；###表示与空白对照组相比，P<0.001；*表示与模型组相比，P<0.05，**表示 P<0.01，***表示 P<0.001；ΔΔΔ 表示与 AH 组相比，P<0.001；图 2~图 6 同。

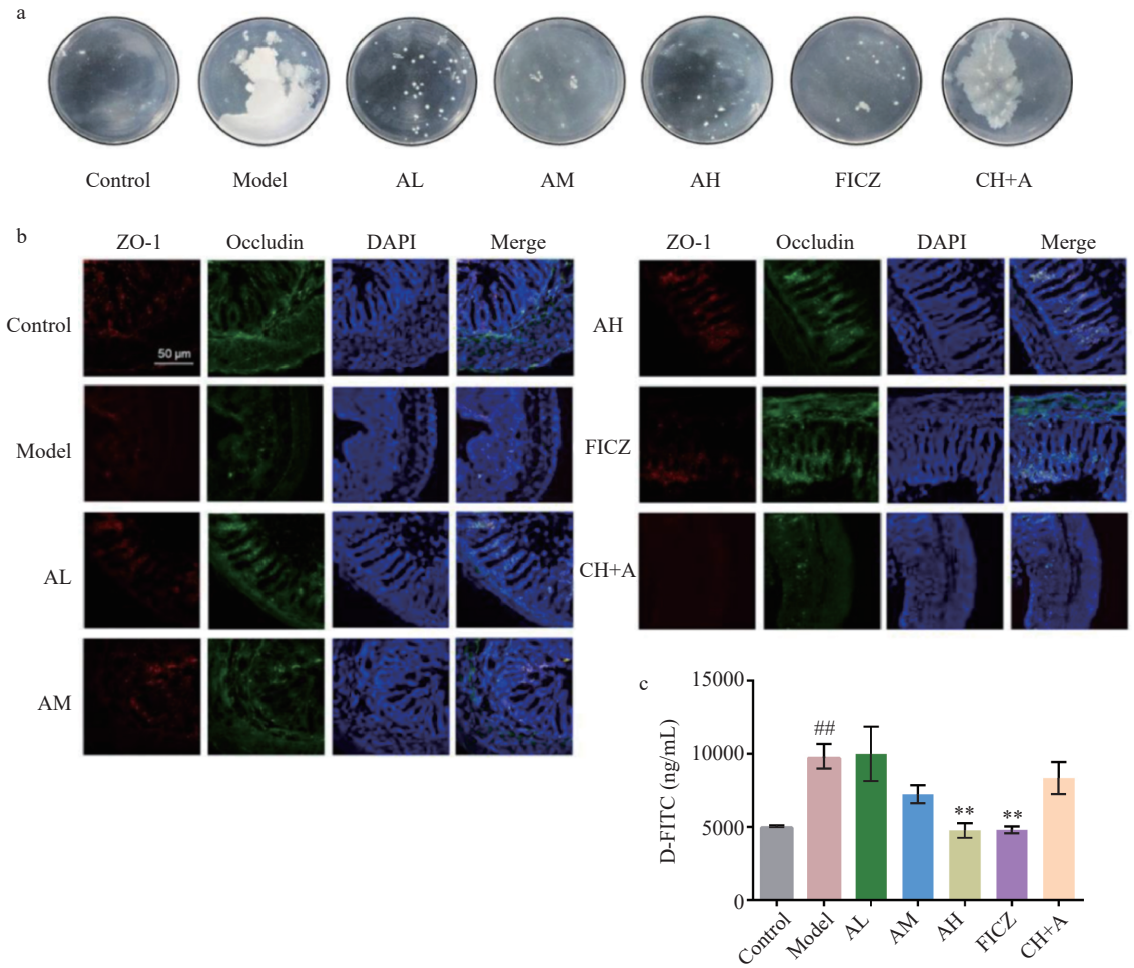


图 2　AS-IV 改善结肠炎小鼠的肠道屏障结构和功能

Fig.2　AS-IV improves intestinal barrier structure and function in colitis mice

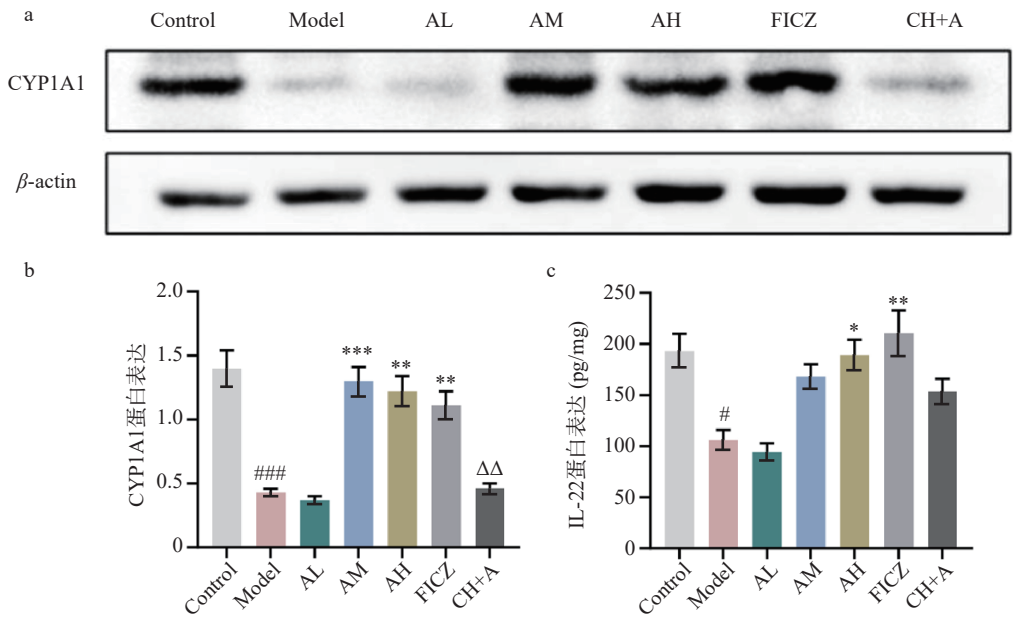


图 3　AS-IV 通过上调 AhR/IL-22 通路来减轻小鼠结肠炎（n=6）

Fig.3　AS-IV alleviates colitis in mice by upregulating the AhR/IL-22 pathway (n=6)

注：ΔΔ 表示与 AH 组相比，P<0.01。

成功构建了 shAhR-MNK-3 稳定转染细胞系。为进一步验证 AS-IV 激活的 AhR 是否主要促进 IL-22 的产生，使用 AS-IV 分别处理了 MNK-3 野生型细胞和 shAhR-MNK-3 细胞。Western blot 及免疫荧光结果

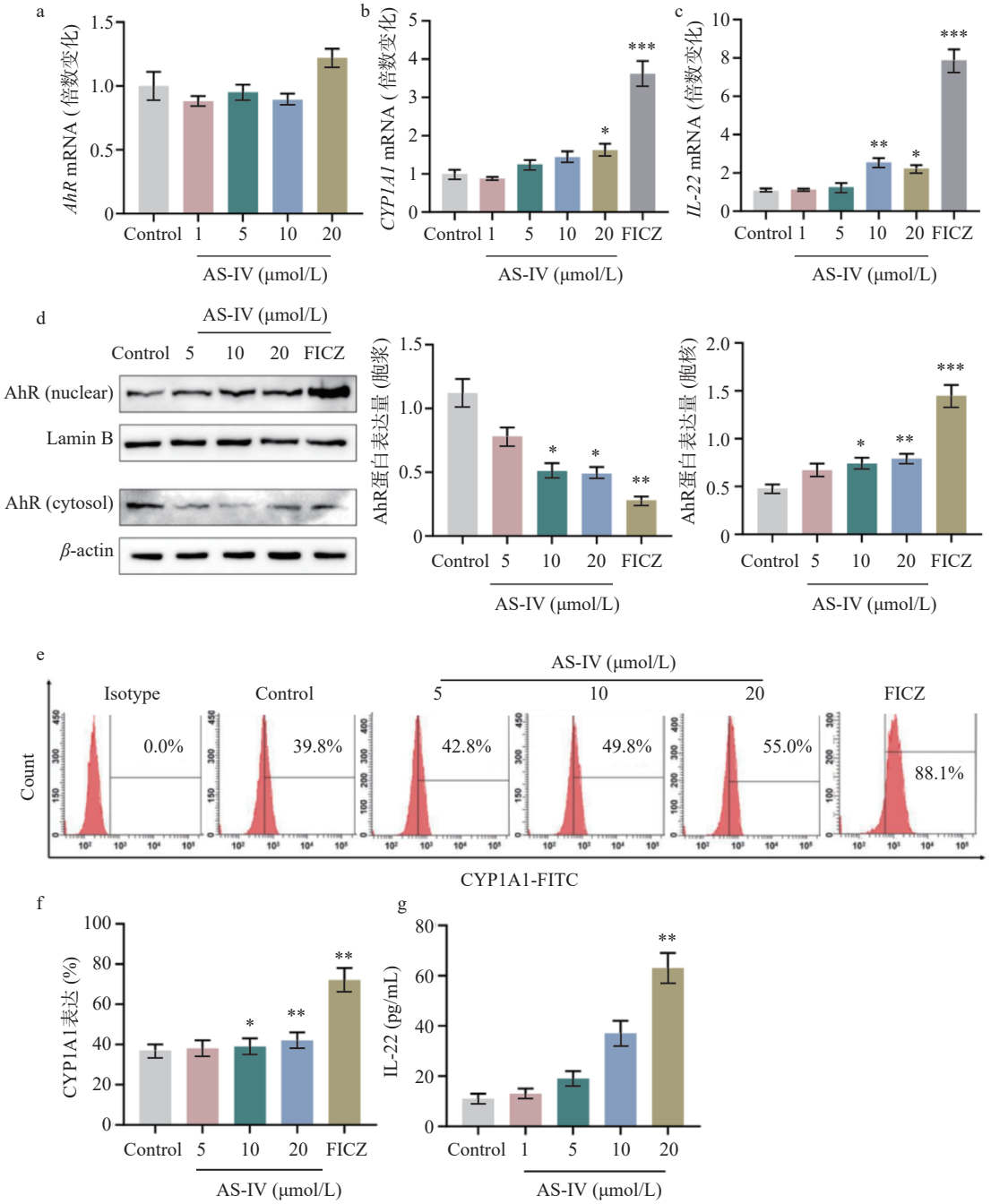


图 4　AS-IV 体外激活 MNK-3 细胞中的 AhR/IL-22 通路

Fig.4　AS-IV activates AhR/IL-22 pathway in MNK-3 cells *in vitro*

均显示，在野生型 MNK-3 细胞中，AS-IV 与 AhR 激动剂 FICZ 均显著促进 AhR 的核转位(图 5b、图 5c)，并促进 IL-22 分泌(图 5d)。然而，在 shAhR-MNK-3 细胞中，AS-IV 对 AhR 核转位及 IL-22 生成的促进作用被显著抑制。上述结果提示，AS-IV 诱导的 IL-22 上调依赖于 AhR 的激活，进一步证实 AhR 在 AS-IV 介导的 IL-22 调控中起关键作用。

2.6　AS-IV 通过 IL-22 发挥对 Caco-2 细胞的保护作用

为探究 ILC3 在 AS-IV 介导的肠道屏障保护中的作用机制，本研究建立了一个由 MNK-3(模拟 ILC3 功能)与 Caco-2 细胞共培养的体外肠道微环境模型。结果显示，40 μg/mL LPS 处理显著增加 Caco-2 单层细胞的 FITC-葡聚糖通透性(图 6a)，而 25 ng/mL IL-22 处理后显著降低 LPS 引起的通透性增加(图 6b)。值得注意的是，经 AS-IV 处理的 MNK-3 细胞条件培养基能够有效逆转 LPS 诱导的 Caco-2 细胞通透性增加(图 6c)。进一步分子机制研究表明，AS-IV 处理的 MNK-3 细胞条件培养基可显著上调 Caco-2 细胞中紧密连接蛋白 ZO-1 和 Occludin 的表达(图 6d)，其作用结果与 IL-22 处理组一致。这些结果表明，AS-IV 可能通过促进 MNK-3 细胞分泌 IL-22，进而增强肠道上皮细胞紧密连接蛋白的表达，最终改善 LPS 诱导的肠道屏障功能障碍。

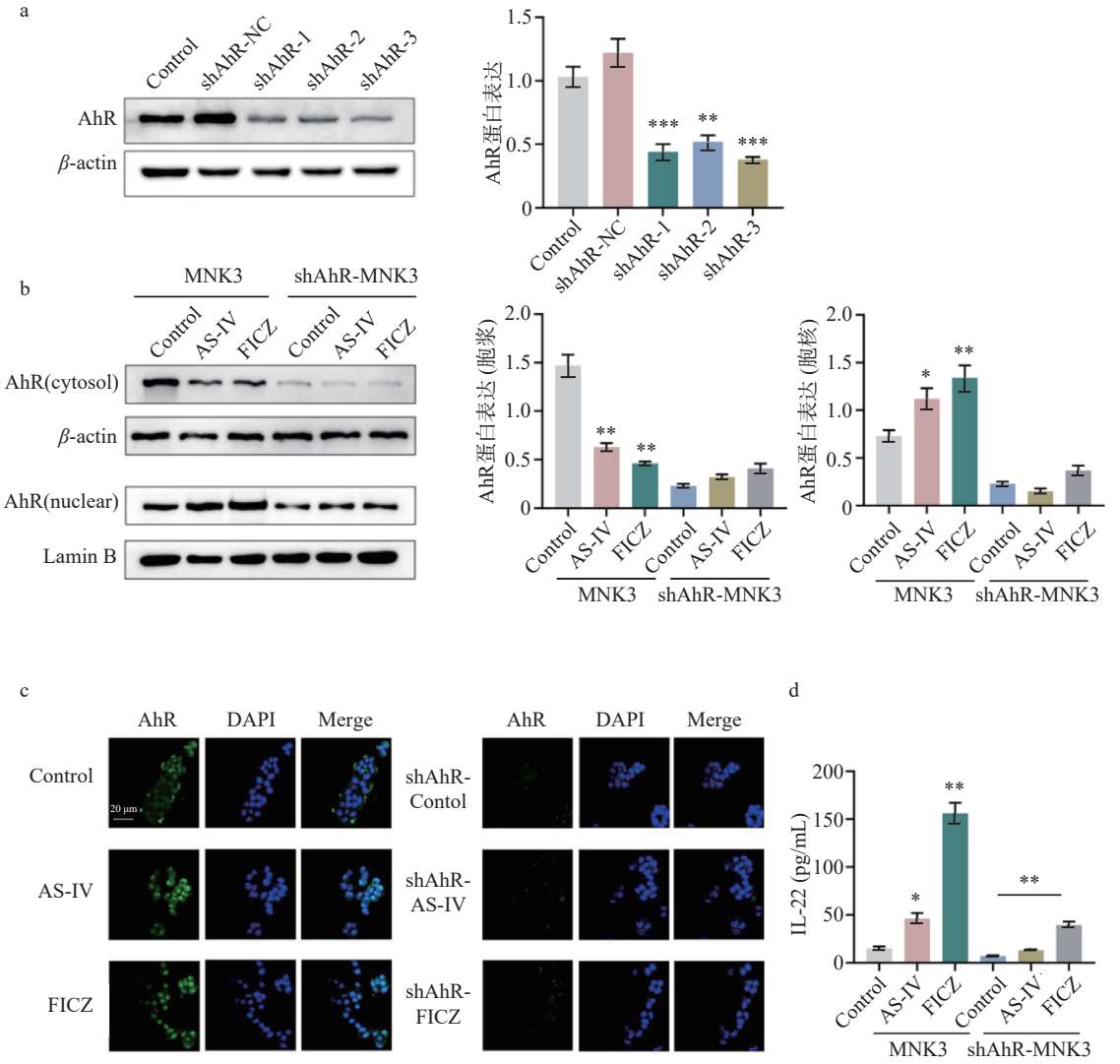
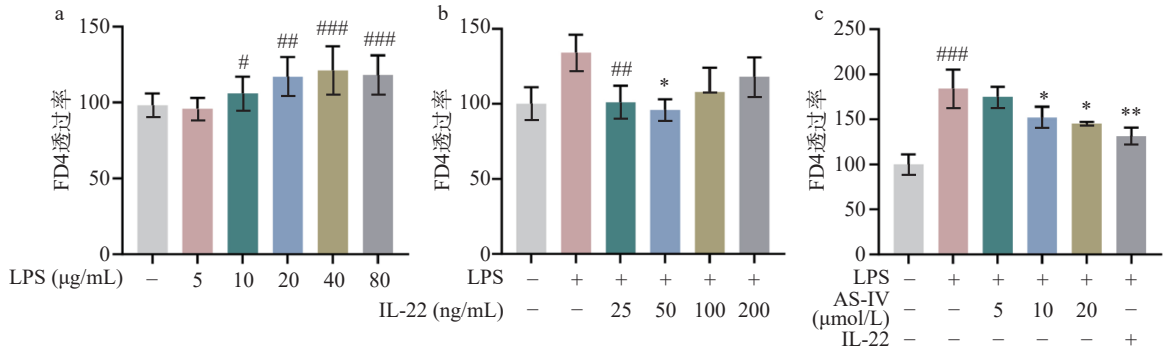
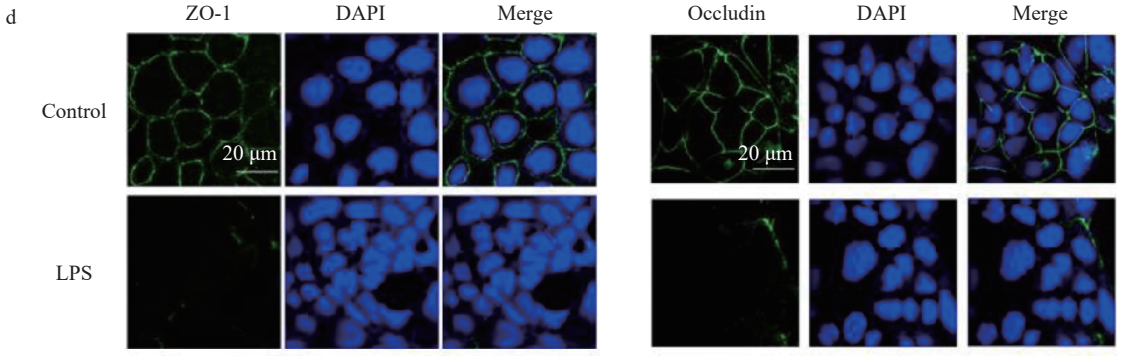


图 5　AS-IV 以 AhR 依赖性方式诱导 IL-22 产生

Fig.5　AS-IV induces IL-22 production in an AhR-dependent manner





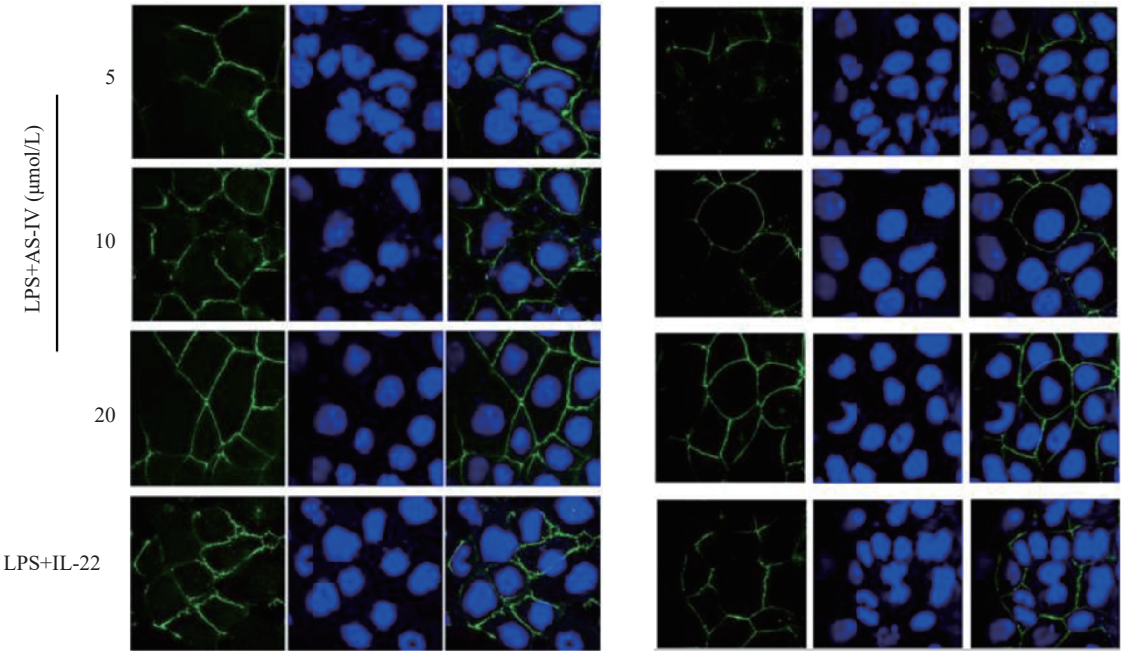


图 6 AS-IV 通过 IL-22 发挥对 Caco-2 细胞的保护作用

Fig.6 AS-IV exerts protective effect on Caco-2 cells via IL-22

3 讨论与结论

UC 被认为是一种“屏障器官疾病”, 目前临床上治疗 UC 的药物主要是 5-氨基水杨酸(5-ASA)或糖皮质激素[17], 但使用此类药物患者的复发率往往较高。因此亟需开发以改善肠道屏障为目的的新型药物[18]。在本研究中, 证明来源于黄芪的 AS-IV 通过激活肠道 ILC3 的 AhR/IL-22 通路发挥对肠上皮细胞的保护作用。细菌易位主要指肠道细菌穿过上皮层到达固有层, 然后迁移到其他组织的现象。在 IBD 患者中, 细菌易位更可能是由于肠道屏障受损所致[19]。Liu 等[20] 研究发现粘液层的损失会导致微生物群粘附在上皮上, 加速细菌易位的过程。由咬合蛋白(Occludin)和闭合蛋白(Claudin)组成的改变的紧密连接则会削弱屏障功能和上皮完整性[21]。本研究发现, AS-IV 可以通过改善肠道屏障来减轻细菌浸润和易位。结肠炎小鼠结肠中的细菌浸润以及向 MLN 和脾脏的移位增加, 而 AS-IV 减少了这种病理变化。此外, AS-IV 可以调节肠上皮的紧密连接蛋白并修复功能失调的肠道屏障。

大量研究发现, ILC3 和 IL-22 之间的相互作用对于肠道屏障功能和结构的调节至关重要, ILC3 是肠道中 IL-22 的主要来源[22−25]。进一步假设 AS-IV 对上皮屏障的保护作用可能与 ILC3、IL-22 有关, 结果发现 AS-IV 可以恢复结肠炎小鼠中 IL-22/ILC3 值和 IL-22 含量。Xiong 等[26] 研究发现 AhR 可能与 RORγt 结合促进 IL-22 基因转录。因此, 推测 AS-IV 可以通过激活 ILC3 中的 AhR 直接增加 IL-22 的产生。本研究中 AhR 核转位和 CYP1A1 上调表明了 AS-IV 对 AhR 的激活作用。体内实验结果表明, 结肠炎小鼠中 CYP1A1 蛋白表达显著降低。这可能是由于作为 AhR 配体的各种微生物来源的色氨酸代谢物, 例如吲哚-3-乙酸、吲哚丙烯酸、吲哚-3-丙酸和色氨酸, 在结肠炎的情况下受到损害。这些代谢物已被证明可以通过多种途径改善结肠炎[27]。进一步研究发现, AhR 激动剂 FICZ 保护小鼠免受结肠炎的影响, 而 AhR 拮抗剂 CH223191 则保留了 AS-IV 的积极作用, 说明 AS-IV 的抗结肠炎作用是 AhR 依赖性的。与体内实验情况一致, AS-IV 有效促进 MNK-3 细胞中 AhR 的核转位、增加 CYP1A1 表达并促进 IL-22 产生。相反, 在 shAhR-MNK3 细胞中没有观察到上述效果, 其中 AhR 表达被大幅降低, 这说明 AS-IV 诱导的 IL-22 产生是 AhR 依赖性的。

在 ILC3 中, IL-22 表达受到转录因子的共同调节, 包括 RORγt、AhR、信号转导子和转录激活子 STAT3 和 STAT5[28−29]。STAT3 和 STAT5 优先结合 IL-22 位点的 STAT 结合位点, 并独立于 AhR 启动 IL-22 基因转录[15]。Ahlers 等[30] 研究发现, FICZ 增强了 Naïve CD4+T 细胞中 STAT3 和 STAT5 的磷酸化。因此, 推测 FICZ 通过促进 STAT3 和 STAT5 磷酸化并促进它们与 IL-22 启动子的结合来增强 IL-22 的转录和翻译, 而不依赖于 AhR 途径。实验结果表明, FICZ 可以显著增强 shAhR-MNK3 细胞对 IL-22 的分泌, 这表明 FICZ 对 MNK-3 细胞的作用不仅仅由 AhR 介导。AhR 是一种配体激活的转录因子, 在各种免疫细胞中介导不同的作用。本研究发现, AS-IV 可恢复 ILC3 中 AhR 激活后的 IL-22 平衡并修复受损的肠道屏障。

综上所述, 本研究探讨了 AS-IV 可能通过 AhR/IL-22 通路改善肠道屏障功能的潜在机制。实验数

据显示，AS-IV 在 DSS 诱导的结肠炎模型中表现出缓解作用，其机制可能涉及促进 AhR 核转位、增强 ILC3 细胞 IL-22 分泌以及上调肠道上皮紧密连接蛋白表达等方面。这些发现与 AhR 激动剂在肠道保护方面的已有研究结果相呼应，并提示 ILC3-上皮细胞互作可能是 AS-IV 发挥作用的潜在途径之一。研究结果为探索肠道炎症治疗新策略提供了实验依据，同时也为天然药物 AS-IV 的潜在临床应用提供了参考。然而，AS-IV 与 AhR 的直接结合机制及其体内药效学特性仍需进一步验证。未来研究应着重于研究解析 AS-IV 与 AhR 的相互作用模式；AS-IV 与其他疗法的协同效应。这些工作将推动 AS-IV 向临床转化，为炎症性肠病治疗提供新思路。

© The Author(s) 2026. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

参考文献

[1] LE BERRE C, JAIRATH V, PANACCIONE R, et al. Artificial intelligence for clinical trial facilitation, lessons for inflammatory bowel disease: a scoping review[J]. Clinical Gastroenterology and Hepatology: the Official Clinical Practice Journal of the American Gastroenterological Association, 2025.

[2] 周家茗, 万健, 张浩, 等. 《中国溃疡性结肠炎诊治指南(2023 年·西安)》解读——治疗进展[Z]// 2024: 785−789. [ZHOU J M, WAN J, ZHANG H, et al. Interpretation of "Chinese Guidelines for the Diagnosis and treatment of ulcerative colitis (2023 Xi'an Edition)": Advances in treatment[Z]// 2024: 785−789.]

[3] PORTER R J, KALLA R, HO G T. Ulcerative colitis: Recent advances in the understanding of disease pathogenesis[J]. F1000Research, 2020, 9: 294.

[4] 钟敏, 李昕宇, 郝佳美, 等. 正北芪多糖对结肠炎小鼠的抗炎作用研究[J]. 食品工业科技, 2021, 42(16): 325−330. [ZHONG Min, LI Xinyu, HAO Jiamei, et al. Anti-inflammatory effect of astragali *Radix* polysaccharide on mice with ulcerative colitis[J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(16): 325−330.]

[5] WANG X T, OTA N, MANZANILLO P, et al. Interleukin-22 alleviates metabolic disorders and restores mucosal immunity in diabetes[J]. Nature, 2014, 514(7521): 237−241.

[6] LINDEMANS C A, CALAFIORE M, MERTELSMANN A M, et al. Interleukin-22 promotes intestinal-stem-cell-mediated epithelial regeneration[J]. Nature, 2015, 528(7583): 560−564.

[7] WANG Xiaojing, XIE Xuting, LI Yanyang, et al. Quercetin ameliorates ulcerative colitis by activating aryl hydrocarbon receptor to improve intestinal barrier integrity[J]. Phytotherapy Research, 2024, 38(1): 253−264.

[8] TRUJILLO-OCHOA J L, KAZEMIAN M, AFZALI B. The role of transcription factors in shaping regulatory T cell identity[J]. Nature Reviews Immunology, 2023, 23(12): 842−856.

[9] ALA M. Tryptophan metabolites modulate inflammatory bowel disease and colorectal cancer by affecting immune system[J]. International Reviews of Immunology, 2022, 41(3): 326−345.

[10] PANDA S K, PENG V, SUDAN R, et al. Repression of the aryl-hydrocarbon receptor prevents oxidative stress and ferroptosis of intestinal intraepithelial lymphocytes[J]. Immunity, 2023, 56(4): 797−812.

[11] RIEMSCHNEIDER S, HOFFMANN M, SLANINA U, et al. Indol-3-carbinol and quercetin ameliorate chronic DSS-induced colitis in C57BL/6 mice by AhR-mediated anti-inflammatory mechanisms[J]. International Journal of Environmental Research and Public Health, 2021, 18(5): 2262.

[12] KOU Rongwei, LI Zhiqing, WANG Jialin, et al. Ganoderic acid a mitigates inflammatory bowel disease through modulation of AhR activity by microbial tryptophan metabolism[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2024, 72(32): 17912−17923.

[13] 李军祥, 王化虹. 中成药治疗溃疡性结肠炎临床应用指南(精简版, 2022 年)[J]. 胃肠病学, 2023, 28(1): 17−26. [LI J X, WANG H H. Clinical practice guidelines for Chinese patent medicines in ulcerative colitis treatment (Concise Edition 2022)[J]. Chinese Journal of Gastroenterology, 2023, 28(1): 17−26.]

[14] CHEN Mengting, HUI Suocheng, LANG Hedong, et al. SIRT3 deficiency promotes high-fat diet-induced nonalcoholic fatty liver disease in correlation with impaired intestinal permeability through gut microbial dysbiosis[J]. Molecular Nutrition & Food Research, 2019, 63(4): 1800612.

[15] CHUN E, LAVOIE S, FONSECA-PEREIRA D, et al. Metabolite-sensing receptor Ffar2 regulates colonic group 3 innate lymphoid cells and gut immunity[J]. Immunity, 2019, 51(5): 871−884. e6.

[16] ZHOU Jie, HOU Pengfei, YAO Yu, et al. Dihydromyricetin improves high-fat diet-induced hyperglycemia through ILC3 activation via a SIRT3-dependent mechanism[J]. Molecular Nutrition & Food Research, 2022, 66(16): 2101093.

[17] MITSIALIS V, WALL S, LIU P, et al. Single-cell analyses of colon and blood reveal distinct immune cell signatures of ulcerative colitis and Crohn's disease[J]. Gastroenterology, 2020, 159(2): 591−608.

[18] WANG Xiaojing, HUANG Shaowei, ZHANG Meiling, et al. Gegen Qinlian decoction activates AhR/IL-22 to repair intestinal barrier by modulating gut microbiota-related tryptophan metabolism in ulcerative colitis mice[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2023, 302: 115919.

[19] YUAN Xiaomin, CHEN Biqing, DUAN Zhenglan, et al. Depression and anxiety in patients with active ulcerative colitis: Crosstalk of gut microbiota, metabolomics and proteomics[J]. Gut Microbes, 2021, 13(1): 1987779.

[20] LIU Jinglong, LIN Hao, CAO Man, et al. Shifts and importance of viable bacteria in treatment of DSS-induced ulcerative colitis mice with FMT[J]. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 2023, 13: 1124256.

[21] XIONG Taoxiu, ZHENG Xiang, ZHANG Ke, et al. Ganluyin ameliorates DSS-induced ulcerative colitis by inhibiting the enteric-origin LPS/TLR4/NF-κB pathway[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2022, 289: 115001.

[22] PENG V, CAO S Y, TRSAN T, et al. Ornithine decarboxylase supports ILC3 responses in infectious and autoimmune colitis through positive regulation of IL-22 transcription[J]. PNAS, 2022, 119(45): e2214900119.

[23] WANG P, KLJAVIN N, NGUYEN T T T, et al. Adrenergic nerves regulate intestinal regeneration through IL-22 signaling from type 3 innate lymphoid cells[J]. Cell Stem Cell, 2023, 30(9): 1166−1178.

[24] WATANABE-ASAKA T, HAYASHI M, MAEJIMA D, et al. From digestion and absorption to innate immunity and health

care: Water and food intake may contribute to IL-22 in ILC3-dependent mucosal immunity in the jejunum[J]. The Journal of Physiological Sciences, 2021, 71(1): 31.

[25] IBIZA S, GARCÍA-CASSANI B, RIBEIRO H, et al. Glial-cell-derived neuroregulators control type 3 innate lymphoid cells and gut defence[J]. Nature, 2016, 535(7612): 440−443.

[26] XIONG L F, DEAN J W, FU Z, et al. Ahr-Foxp3-RORγt axis controls gut homing of $CD4^+$ T cells by regulating GPR15[J]. Science Immunology, 2020, 5(48): eaaz7277.

[27] GUESDON A, BOURGUET W. A mechanism for ligand-dependent activation of AHR[J]. Trends in Pharmacological Sciences, 2025, 46(4): 295−297.

[28] ZHANG Wendi, ZHOU Qian, LIU Hongbin, et al. *Bacteroides fragilis* strain ZY-312 facilitates colonic mucosa regeneration in colitis via motivating STAT3 signaling pathway induced by IL-22 from ILC3 secretion[J]. Frontiers in Immunology, 2023, 14: 1156762.

[29] GUO X H, QIU J, TU T, et al. Induction of innate lymphoid cell-derived interleukin-22 by the transcription factor STAT3 mediates protection against intestinal infection[J]. Immunity, 2014, 40(1): 25−39.

[30] AHLERS J, MANTEI A, LOZZA L, et al. A Notch/STAT3-driven Blimp-1/c-Maf-dependent molecular switch induces IL-10 expression in human $CD4^+$ T cells and is defective in Crohn′s disease patients[J]. Mucosal Immunology, 2022, 15(3): 480−490.