DOI:10.13193/j.issn.1673-7717.2026.03.042

基于AMPK/mTOR信号通路介导的自噬探讨乌蔹莓对溃疡性结肠炎小鼠的保护作用

丁旭枫,蒋捷,季利江,黄华,卫军
(南京中医药大学附属常熟中医院肛肠中心,江苏 南京 215500)

摘要:目的 探究乌蔹莓提取物对葡聚糖硫酸钠(DSS)诱导的溃疡性结肠炎(UC)小鼠的治疗作用及机制。方法 雄性C57BL/6J小鼠随机分为空白组、DSS组、DSS+乌蔹莓低、高剂量组(50、100 mg/kg)和DSS+柳氮磺胺吡啶(SASP)组。每天记录小鼠体质量,进行小鼠疾病活动指数(DAI)评分;测量结肠长度;苏木素-伊红(HE)染色法观察小鼠结肠组织病理损伤;酶联免疫吸附试验(ELISA)检测小鼠血清肿瘤坏死因子(TNF)-α和白细胞介素(IL)-1β水平;葡聚糖-异硫氰酸荧光素(FITC)检测小鼠肠通透性;透射电子显微镜检测小鼠结肠组织的自噬体;免疫荧光染色检测微管相关蛋白轻链3(LC3)蛋白表达;Western blot实验检测小鼠结肠组织紧密连接蛋白和腺苷酸活化蛋白激酶(AMPK)/雷帕霉素靶蛋白(mTOR)信号通路相关蛋白表达。结果 与空白组对比,DSS组小鼠体质量降低($P<0.01$)、DAI评分增加($P<0.01$)、结肠组织表现出严重病理损伤;结肠组织紧密连接蛋白ZO-1($P<0.05$)、Occludin($P<0.01$)表达降低;血清TNF-α($P<0.01$)和IL-1β($P<0.01$)水平显著增加;LC3、p-AMPK/AMPK蛋白表达水平降低($P<0.01$),p-mTOR/mTOR蛋白表达水平增加($P<0.01$)。与DSS组相比,乌蔹莓治疗组小鼠体质量增加($P<0.01$)、DAI评分降低($P<0.01$)、结肠组织损伤减轻;血清TNF-α($P<0.01$)和IL-1β($P<0.05$)水平显著降低;自噬溶酶体数量增加且自噬体明显可见;LC3、p-AMPK/AMPK蛋白水平增加($P<0.01$),p-mTOR/mTOR蛋白表达水平降低($P<0.01$)。相较于DSS+乌蔹莓组,乌蔹莓和AMPK选择性抑制剂共同干预后,UC小鼠的结肠缩短、DAI评分增加,p-AMPK/AMPK蛋白水平降低($P<0.01$),p-mTOR/mTOR蛋白水平增加($P<0.01$)。结论 乌蔹莓通过激活AMPK/mTOR信号通路增强自噬,从而减轻小鼠UC症状。

关键词:溃疡性结肠炎;乌蔹莓;自噬;AMP依赖的蛋白激酶;哺乳动物雷帕霉素靶蛋白
中图分类号:R285.5 **文献标志码**:A **文章编号**:1673-7717(2026)03-0224-10

Study on Protective Effect of Mulianmei(*Causonis japonica*) for Ulcerative Colitis in Mice Based on Autophagy Mediating by AMPK/mTOR Signaling Pathway

DING Xufeng, JIANG Jie, JI Lijiang, HUANG Hua, WEI Jun
(Anal and Intestinal Centre, Changshu Hospital of Traditional Chinese Medicine Affiliated to Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, Jiangsu, China)

Abstract: *Objective* To investigate the therapeutic effects and potential mechanisms of Mulianmei(*Causonis japonica*) on ulcerative colitis(UC) induced by dextran sulfate sodium(DSS) in mice. *Methods* C57BL/6J male mice were randomly divided into blank group, DSS group, DSS+Mulianmei(*Causonis japonica*) low-dose group(50 mg/kg), DSS+Mulianmei(*Causonis japonica*) high-dose group(100 mg/kg) and DSS+sulfasalazine(SASP) group. Body weight and disease activity index(DAI) were recorded every day. The length of colon was measured. Hematoxylin-Eosin(H&E) staining was used to examine colon tissue structure. Enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA) was employed to measure the levels of tumor necrosis factor-alpha(TNF-α) and interleukin-1beta(IL-1β) in colon tissues. The intestinal permeability of mice was detected by fluorescein isothiocyanate(FITC). The autophagosomes in the colon tissues of the mice were detected by using transmission electron microscopy. The expression of microtubule-associated protein light chain 3(LC3) protein was detected by immunofluorescence staining. Western blot was used to detect the expressions of tight junction proteins and adenosine 5'-monophosphate-activated protein kinase(AMPK)/mammalian target of rapamycin(mTOR) signaling pathway related proteins in colon tissue of mice. *Results* DSS group, DSS+Mulianmei(*Causonis japonica*) low-dose group(50 mg/kg), DSS+Mulianmei(*Causonis japonica*) high-dose group(100 mg/kg) and DSS+sulfasalazine(SASP) group. Compared with those in the blank group, the body weight of mice in the DSS group was decreased($P<0.01$), the DAI score was increased($P<0.01$) and the colon tissue showed severe

基金项目:江苏省中医药科技发展计划面上项目(MS2021058,MS2023099);常熟市科技局指导项目(CSWS202224);常熟市科技计划项目(社会发展)(CS202440);苏州市科技局项目(SKY2023020,SKYD2023063,SYWD2024181)
作者简介:丁旭枫(1994-),男,江苏常熟人,主治中医师,硕士,研究方向:中医药防治肛肠病。
通讯作者:卫军(1981-),男,副主任医师,学士,研究方向:中医药防治肛肠病。E-mail:13915641200@163.com。

pathological damage. The expression levels of tight junction proteins ZO-1 ($P<0.05$) and Occludin ($P<0.01$) were reduced in the colon tissue and the expression levels of TNF-α and IL-1β in serum were significantly increased ($P<0.01$). The protein expression levels of LC3 and p-AMPK/AMPK were decreased ($P<0.01$) and mTOR/mTOR protein was increased ($P<0.01$) at the same time. Compared with those in the DSS group, the body weights of the mice in the DSS + Mulianmei (*Causonis japonica*) low-dose and high-dose groups were increased ($P<0.01$), the DAI scores were decreased ($P<0.01$), and the colon tissue damage was alleviated. The levels of TNF-α ($P<0.01$) and IL-1β ($P<0.05$) in serum were significantly decreased. The number of autolysosomes increased and the autophagosomes were clearly visible. The protein levels of LC3 and p-AMPK/AMPK were increased ($P<0.01$), and the expression of p-mTOR/mTOR was decreased ($P<0.01$). Compared with those in the DSS + Mulianmei (*Causonis japonica*) low-dose and high-dose groups, after the intervention of Mulianmei (*Causonis japonica*) and AMPK selective inhibitor, the colon of UC mice was shortened, the DAI score was increased, the protein levels of p-AMPK/AMPK were decreased ($P<0.01$), and the protein levels of p-mTOR/mTOR protein were increased ($P<0.01$). *Conclusion* Mulianmei (*Causonis japonica*) enhances autophagy by activating AMPK/mTOR signaling pathway to alleviate the symptoms of UC in mice.

Keywords: ulcerative colitis; Mulianmei (*Causonis japonica*); autophagy; adenosine 5'-monophosphate-activated protein kinase (AMPK); mammalian target of rapamycin (mTOR)

溃疡性结肠炎(UC)是一种以结肠和直肠黏膜弥漫性炎症为特征的慢性疾病,导致结肠内壁出现溃疡和炎症,从而引发腹痛、腹泻、便血和体质量减轻等症状[1-2]。近年来,UC的发病率在世界范围内有所增加,特别是在发展中国家[3]。现有的治疗药物效果有限,往往不能有效控制症状或预防疾病复发,同时长期使用免疫抑制剂和生物制剂等可能导致感染风险增加和其他不良反应[4]。因此,亟需开发更为安全有效治疗药物。

乌蔹莓 *Causonis japonica* (Thunb.) Raf. 出自《中药大辞典》,具有清热利湿、解毒消肿、利尿、止血等功能[5-6]。现代临床研究表明,乌蔹莓可用于治疗化脓性感染、缓解疼痛、降低肛瘘术后复发率,以及抑制创面细菌感染和炎症等[7-9]。本课题组前期研究已证实乌蔹莓具有抗UC的疗效,但其具体作用机制仍未完全阐明。本研究旨在通过建立UC模型小鼠,探究乌蔹莓提取物对小鼠结肠长度、组织病理损伤、炎症因子水平以及自噬信号通路相关蛋白表达的干预作用,阐明其在UC治疗中的作用机制,从而为其临床应用提供理论依据。

1 材料

1.1 *动物* 雄性C57BL/6J小鼠40只,6周龄,体质量18~22 g,购自南京中医药大学动物实验中心[实验动物许可证号:SYXK(苏)2023-0076]。小鼠饲养于温度20~26 ℃、相对湿度40%~70%的无病原体环境中,采用12 h光照/12 h黑暗的光照周期。给予无菌水和食物,适应性饲养1周。本实验经南京中医药大学实验动物管理与伦理委员会批准(伦理号:ACU240705)。

1.2 *试剂与药物* 乌蔹莓购自苏州天灵中药饮片有限公司(批号:200609),经南京中医药大学常熟附属医院吴晓明药师鉴定为正品。葡聚糖硫酸钠(DSS)(美国MP Biomedicals公司,批号0216011050);柳氮磺胺吡啶(SASP)(默克,批号S0883);多聚甲醛固定液(武汉塞维尔生物科技有限公司,批号G1101);Dorsomorphin(AMPK选择性抑制剂)(MedChemExpress,批号HY-13418A);BCA蛋白浓度测定试剂盒(翌圣生物,批号20200ES);苏木素-伊红(HE)染色试剂盒(上海碧云天生物技术股份有限公司,批号C0105S);增强型化学发光试剂(翌圣生物,批号36222E60);肿瘤坏死因子-α(TNF-α)、白细胞介素-1β(IL-1β)酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒(上海酶联生物科技有限公司,批号mIC50536、ml301814);微管相关蛋白1轻链3(LC3)抗体、GAPDH抗体、腺苷酸活化蛋白激酶(AMPK)抗体、p-雷帕霉素靶蛋白(p-mTOR)抗体,雷帕霉素靶蛋白(mTOR)(美国Cell Signaling Technology公司,批号#12741、#5174、#2535、#2532、#2971、#55250、#2972)。

1.3 *仪器* 1-14K型台式高速冷冻离心机(德国Sigma公司);1658001型电泳仪(美国Bio-Rad公司);4800型全自动化学发光凝胶成像系统(上海天能科技有限公司);LD-4080型冷冻切片机(山东莱恩德智能科技有限公司);BX53荧光显微镜(日本Olympus公司)。

2 方法

2.1 *药物制备* 乌蔹莓购自苏州天灵中药饮片有限公司(批号:200609)。冲洗干净后,烘干并压碎。取900 g乌蔹莓粉末加入9 L去离子水,回流提取2次,每次2 h,合并滤液,浓缩后干燥。样本置于4 ℃保存。

2.2 *分组、造模与给药* 40只C57BL/6J小鼠适应性饲养1周后,随机分为5组,每组8只:空白组、DSS组、DSS+乌蔹莓低剂量组(50 mg/kg)、DSS+乌蔹莓高剂量组(100 mg/kg)和DSS+SASP组。空白组小鼠给予正常饮水,其余各组小鼠给予含3% DSS饮水。DSS+乌蔹莓组小鼠分别灌胃给予乌蔹莓50 mg/kg和100 mg/kg,DSS+SASP组小鼠给予SASP 300 mg/kg,空白组和DSS组小鼠给予等量生理盐水,连续10 d。24只C57BL/6J小鼠适应性饲养1周后,随机分为4组,每组6只:空白组、DSS组、DSS+乌蔹莓高剂量组(100 mg/kg)和DSS+Dorsomorphin(25 mg/kg)+乌蔹莓高剂量组。造模方式同上。

2.3 *小鼠疾病活动指数(DAI)评分* 实验期间每天记录小鼠体质量、粪便形状和粪便隐血。依据疾病活动指数标准进行评分。

2.4 *小鼠肠通透性检测* 实验结束前一天,小鼠禁食过夜。次日灌胃葡聚糖-FITC(40 mg/100 g体质量),4 h后通过眼眶取血,以3000 r/min离心10 min获得血清。取各组小鼠血清加入96孔板中,酶标仪检测荧光强度(激发波长485 nm,发射波长538 nm)。通过对比标准曲线,计算血清中葡聚糖-FITC浓度,以反映肠通透性。

2.5 *HE染色观察肠组织病理损伤* 小鼠结肠组织经4%多聚甲醛固定后进行脱水处理,随后进行石蜡包埋。将组织切片制备成5 μm的厚度,常规脱蜡和水化后进行苏木素和伊红染色。脱水后封片,于显微镜下观察并记录组织切片图像。

2.6 *ELISA检测小鼠血清炎症因子水平* 按照ELISA试剂盒说明书,测定各组小鼠血清中TNF-α和IL-1β含量。

2.7 Western blot 检测结肠组织蛋白表达 小鼠结肠组织经匀浆后离心，取上清进行蛋白定量分析，采用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒。制备浓度为 20 mg/mL 的蛋白样本，95 ℃煮沸使蛋白变性。蛋白样本通过十二烷基硫酸钠－聚丙烯酰胺凝胶电泳分离，随后转移至聚偏二氟乙烯膜。使用5% 脱脂奶粉封闭后，与一抗（稀释 1∶200）在 4 ℃条件下孵育过夜。洗涤后，于相应二抗中孵育 1 h。随后使用增强型化学发光试剂在凝胶成像系统中显影，利用 Image J 软件进行蛋白条带灰度值统计。

2.8 免疫荧光染色 结肠组织样本常规切片、脱蜡、再水化后进行抗原修复。

用5% BSA 封闭，与一抗在 4 ℃条件下孵育过夜。洗涤后，加入荧光二抗，在室温条件下孵育 1 h。再次洗涤后，加入 DAPI 进行核染。显微镜下观察并记录组织切片图像。

2.9 透射电子显微镜 将结肠组织切割成 1 cm × 1 cm 的小块，并用戊二醛和四氧化钽固定。然后对组织样本进行乙醇脱水，通过丙烯酸氧化物处理，并嵌入 SPUR 树脂。随后，从嵌入的组织中切割出超薄切片（60 ~ 80 nm），用醋酸铀和铅的水溶液染色，然后通过透射电子显微镜观察结肠上皮的自噬。

2.10 统计学分析 采用 GraphPad Prism 9.0 软件进行统计学分析，采用单因素方差分析（One－way ANOVA）进行各组数据间比较，所有数据以均数 ± 标准差（$\bar{x} \pm s$）表示，$P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 乌蔹莓对 UC 小鼠体质量的影响 空白组小鼠毛发光泽，饮食和行为正常，体质量逐渐上升；DSS 组小鼠则出现精神萎靡、体质量逐渐下降。与 DSS 组比较，乌蔹莓低剂量和高剂量给药组的小鼠体质量显著升高（$P < 0.01$）。见插页LXⅦ图 1。

3.2 乌蔹莓对 UC 小鼠结肠长度、DAI 评分的影响 各组小鼠结肠长度统计显示，与空白组相比，DSS 组小鼠结肠显著缩短；而相较于 DSS 组，乌蔹莓处理组小鼠结肠显著增加（$P < 0.01$）。见插页LXⅦ图 2A。空白组小鼠的 DAI 评分未见变化，而 DSS 组小鼠 DAI 评分增加（$P < 0.01$）；乌蔹莓处理组小鼠的 DAI 评分较 DSS 组降低（$P < 0.01$）。见插页LXⅦ图 2B。

3.3 乌蔹莓对 UC 小鼠结肠组织形态学的影响 结肠组织 HE 染色结果显示，空白组小鼠结肠组织未见病理损伤，结构完整、细胞排列整齐、隐窝结构清晰；而 DSS 组小鼠结肠组织表现出严重的病理损伤，包括大量炎性细胞浸润和隐窝结构的缺失；乌蔹莓治疗组小鼠显示出恢复的结肠组织形态，少量炎性细胞浸润。见插页LXⅦ图 3。

3.4 乌蔹莓对 UC 小鼠肠屏障的影响 Western blot 结果显示，与空白组相比，DSS 组小鼠结肠组织 ZO－1 和 Occludin 蛋白表达显著降低（$P < 0.01$）；乌蔹莓给药组 ZO－1 和 Occludin 蛋白表达量较 DSS 组显著增加（$P < 0.05$，$P < 0.01$）。葡聚糖－FITC 检测小鼠肠通透性结果显示，DSS 组小鼠肠通透性较空白组显著增加（$P < 0.01$）；相较于 DSS 组，乌蔹莓给药组小鼠肠通透性显著降低（$P < 0.01$）。见插页LXⅦ图 4。

3.5 乌蔹莓对 UC 小鼠血清 TNF－α 和 IL－1β 表达水平的影响 ELISA 结果显示，与空白组相比，DSS 组小鼠血清中TNF－α 和 IL－1β 含量显著增加（$P < 0.01$）；与 DSS 组相比，乌蔹莓给药组小鼠血清中 TNF－α（$P < 0.01$）和 IL－1β 含量均显著降低（$P < 0.05$，$P < 0.01$）。见插页LXⅦ图 5。

3.6 乌蔹莓对 UC 小鼠肠组织自噬体的影响 透射电子显微镜结果显示，与对照组相比，模型组小鼠的结肠屏障受到了严重损害，自噬体明显缺失，自噬溶酶体数量也较少。在乌蔹莓治疗后，结肠屏障损伤减轻，同时自噬溶酶体数量增加，尤其是在高剂量的乌蔹莓给药组，自噬体明显可见。见插页LXⅦ图 6。

3.7 乌蔹莓对 UC 小鼠肠组织 LC3 蛋白表达的影响 免疫荧光染色结果显示，DSS 组小鼠结肠组织中 LC3 蛋白表达水平较空白组降低（$P < 0.01$），而乌蔹莓给药组小鼠结肠组织中 LC3 蛋白表达水平较 DSS 组增加（$P < 0.05$，$P < 0.01$）。见插页LXⅧ图 7。

3.8 乌蔹莓对 UC 小鼠肠组织 p－AMPK、AMPK、p－mTOR、mTOR 蛋白表达水平的影响 Western blot 实验结果显示，与空白组相比，DSS 组小鼠结肠组织中 p－AMPK/AMPK 蛋白表达水平显著降低（$P < 0.01$），p－mTOR/mTOR 蛋白表达水平显著增加（$P < 0.01$）。与模型组相比，乌蔹莓给药组小鼠结肠组织 p－AMPK/AMPK 蛋白表达水平显著增加（$P < 0.01$），p－mTOR/mTOR 蛋白表达水平显著降低（$P < 0.01$）。见插页LXX图 8。

3.9 乌蔹莓促进 UC 小鼠肠组织自噬激活依赖于 AMPK/mTOR 信号通路 各组小鼠结肠长度统计显示，相较于空白组，DSS 组小鼠结肠显著缩短（$P < 0.01$）；相较于 DSS＋乌蔹莓高剂量组，Dorsomorphin 处理组小鼠结肠显著缩短（$P < 0.01$）。见插页LXX图 9A。相较于空白组，DSS 组小鼠 DAI 评分增加（$P < 0.01$）；相较于 DSS＋乌蔹莓高剂量组，Dorsomorphin 处理组小鼠 DAI 评分增加（$P < 0.01$），见插页LXX图 9B。HE 结果显示，Dorsomorphin 处理组小鼠结肠组织结构损破坏、炎性浸润细胞存在，见插页LXX图 9C。Western blot 实验结果显示，相较于空白组，DSS 组小鼠结肠组织中 p－AMPK/AMPK 蛋白表达水平显著降低（$P < 0.01$），p－mTOR/mTOR 蛋白表达水平显著增加（$P < 0.01$）。与 DSS＋乌蔹莓高剂量组相比，Dorsomorphin 处理组小鼠结肠组织 p－AMPK/AMPK 蛋白表达水平显著降低（$P < 0.01$），p－mTOR/mTOR 蛋白表达水平显著增加（$P < 0.01$）。见插页LXX图 10。

4 讨论

UC 的治疗主要包括药物治疗和外科手术[10]。尽管现有疗法能在一定程度上缓解症状，但仍需开发更有效且不良反应更少的新药，并探索个性化治疗和替代疗法，以改善治疗效果和患者生活质量[11]。现代药理学研究发现，乌蔹莓含有多种生物活性成分，如黄酮类化合物、甾体皂苷和多糖等，具有抗炎、抗氧化和抗菌等作用[5,12]。此外，文献报道乌蔹莓有助于缓解血小板凝集，预防血栓形成；在临床上，乌蔹莓常用于治疗肛周脓肿和肛瘘术后创面愈合等感染性疾病[7]。本课题组前期通过网络药理学预测探讨了乌蔹莓对 UC 治疗的靶点，发现其通过多靶点、多通路的作用方式在治疗 UC 中发挥作用，机制可能涉及细胞凋亡、炎症反应及免疫调控等方面[13]。本课题构建 DSS 诱导的 UC 小鼠模型，发现乌蔹莓提取物对 UC 小鼠具有治疗作用，这与课题组前期研究一致，并进一步揭示其治疗作用可能通过调节 AMPK/mTOR 信号通路及自噬通路实现。

体质量减轻和结肠长度的变化是评估 UC 活动性的重要指标[14]。本研究发现，DSS 诱导的小鼠模型显示出显著体质量减轻和结肠长度缩短。HE 染色结果进一步发现，DSS 组小鼠的结肠组织结构严重破坏，并伴随大量炎性细胞浸润。然而，在乌蔹莓给药后，UC 模型小鼠的体质量减轻、结肠缩短以及肠组织病理损伤得到显著改善。初步验证了乌蔹莓对 UC 小鼠的治疗作用。UC 的发展伴随着肠屏障的破坏，导致肠紧密连接的缺失以及肠通透性改变[15]。本研究发现，乌蔹莓提取物能够有效减轻小鼠肠屏障损伤，恢复紧密连接蛋白的表达，并降低肠通透性。

UC 患者的肠道中存在大量促炎细胞因子，如 TNF－α、

IL-1、IL-6等，这些细胞因子通过激活核因子-κB(NF-κB)等信号通路，促进炎症反应的持续和放大[16-17]。本研究发现，与DSS组相比，乌蔹莓给药组小鼠的血清炎症因子水平显著降低。以上结果表明，乌蔹莓能够抑制UC小鼠炎症因子的产生，从而抑制UC的发展。

近年来，多项研究表明自噬与UC关系密切，凸显了自噬在维持肠道屏障正常功能方面的重要作用[18]。自噬参与降解聚集的蛋白质和受损的细胞器，将其转化为有用的物质进行再循环，并清除入侵的细菌，以维持内环境的平衡[19]。在活动性UC患者中，结肠黏膜内自噬相关蛋白水平显著降低，表明自噬在UC发病机制中受到抑制[20]。本研究发现，DSS诱导的小鼠自噬也受到了明显的抑制。LC3I转化为LC3Ⅱ是自噬体形成的一个关键指标，反映了自噬体与溶酶体融合的水平[21]。结果显示，乌蔹莓处理可显著增加自噬体和自溶酶体的数量，增加LC3的表达，促进自噬活性。

AMPK作为细胞内的能量传感器，通过调节细胞代谢以维持能量平衡和细胞存活；而mTOR则主要调节细胞生长、代谢和蛋白质合成，是细胞增殖和生长的重要调控因子[15]。研究表明，AMPK的异常表达在UC的发生和进展中起着关键作用[22]。例如，AMPK的调节能够影响细胞自噬，从而改善肠道黏膜免疫、缓解炎症、减轻氧化应激并调节肠道微生物群的平衡[23]。这一过程有助于维持肠道黏膜屏障的正常功能，因此，激活AMPK成为一种潜在的有效策略，用于预防和治疗UC。AMPK的作用通过多种蛋白质和信号通路的相互作用得以实现。当机体受到感染、炎症或内质网应激等因素的刺激时，AMPK被激活，进而抑制mTORC1，促进自噬的启动，具体机制是通过激活Unc-51样激酶(ULK)复合体[24-25]。为进一步探讨AMPK/mTOR信号通路在UC治疗中的作用，本研究通过Western blot实验和免疫荧光实验，发现乌蔹莓能够显著激活AMPK/mTOR信号通路。进一步验证乌蔹莓是否通过该信号通路增强自噬作用并缓解UC，我们使用AMPK选择性抑制剂Dorsomorphin处理UC小鼠。结果显示，与高剂量乌蔹莓联合处理的UC小鼠组相比，Dorsomorphin处理组的疗效被显著拮抗，表明AMPK/mTOR通路在乌蔹莓缓解UC的作用中具有重要作用。

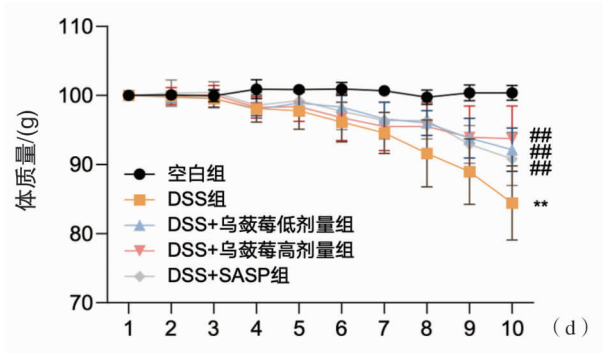
综上所述，乌蔹莓通过调节AMPK/mTOR信号通路，进而激活自噬，从而改善DSS诱导的小鼠UC。然而，尽管乌蔹莓在改善小鼠UC方面表现出潜力，但乌蔹莓内含多种复杂的生物活性成分，其详细的治疗机制和作用靶点尚需进一步深入探索。

参考文献

[1] VOELKER R. What is ulcerative colitis[J]. Jama, 2024, 331(8):716.
[2] 潘琦虹，刘洋，魏韶锋. 四神丸通过Th17/Treg信号通路调控免疫平衡及其分泌炎性细胞因子治疗溃疡性结肠炎的机制研究[J]. 中华中医药学刊，2025，43(7)：68-71.
[3] 梁梦迪，梁月润，程瑾，等. 基于JAK2/STAT3通路探讨丁香酸乙酯对溃疡性结肠炎的保护作用[J]. 中国中药杂志，2025，50(10)：2778-2786.
[4] DA SILVA B C, LYRA A C, ROCHA R, et al. Epidemiology, demographic characteristics and prognostic predictors of ulcerative colitis[J]. World J Gastroenterol, 2014, 20(28):9458-9467.
[5] 姚旺，彭伊玲，黄琼雪，等. 乌蔹莓属植物化学成分及药理活性的研究进展[J]. 华西药学杂志，2024，39(1)：103-109.
[6] FURUKAWA Y, TSUKAYA H, KAWAKUBO N. Oscillating flower colour changes of Causonis Japonica(Thunb.)Raf.(Vitaceae)linked to sexual phase changes[J]. Sci Rep, 2022, 12:19682.
[7] 王燕，石佳勇，郑雪平，等. 乌蔹莓软膏用于高位复杂性肛瘘术后创面的临床疗效研究[J]. 中华中医药杂志，2023，38(12)：6143-6146.
[8] 徐媚媚，郭亮，陈月月，等. 新型乌蔹莓水凝胶对湿热蕴结型痛风性关节炎的干预效果[J]. 实用临床医药杂志，2024，28(5)：25-30.
[9] 龙莉，秦慧真，林思，等. 乌蔹莓醇提物对LPS诱导RAW264.7细胞炎症模型的抗炎作用[J]. 中成药，2023，45(8)：2525-2531.
[10] ORDÁS I, ECKMANN L, TALAMINI M, et al. Ulcerative colitis[J]. Lancet, 2012, 380(9853):1606-1619.
[11] DU L, HA C. Epidemiology and pathogenesis of ulcerative colitis[J]. Gastroenterol Clin N Am, 2020, 49(4):643-654.
[12] HUANG H, JIANG J, FAN Y H, et al. Non-targeted metabolomics and pseudo-targeted lipidomics combined with gut microbes reveal the protective effects of Causonis Japonica(Thunb.)Raf. in ulcerative colitis mice[J]. Front Cell Infect Microbiol, 2024, 14:1397735.
[13] 黄华，丁旭枫，李芳，等. 乌蔹莓对溃疡性结肠炎治疗靶点及机制研究：网络药理学研究[J]. 临床消化病杂志，2022，34(5)：343-350.
[14] LI Y Y, WANG X J, SU Y L, et al. Baicalein ameliorates ulcerative colitis by improving intestinal epithelial barrier via AhR/IL-22 pathway in ILC3s[J]. Acta Pharmacol Sin, 2022, 43(6):1495-1507.
[15] LI M X, LI M Y, LEI J X, et al. Huangqin decoction ameliorates DSS-induced ulcerative colitis: Role of gut microbiota and amino acid metabolism, mTOR pathway and intestinal epithelial barrier[J]. Phytomedicine, 2022, 100:154052.
[16] WEI Y Y, FAN Y M, GA Y, et al. Shaoyao decoction attenuates DSS-induced ulcerative colitis, macrophage and NLRP3 inflammasome activation through the MKP1/NF-κB pathway[J]. Phytomedicine, 2021, 92:153743.
[17] NAKASE H, SATO N, MIZUNO N, et al. The influence of cytokines on the complex pathology of ulcerative colitis[J]. Autoimmun Rev, 2022, 21(3):103017.
[18] GLICK D, BARTH S, MACLEOD K F. Autophagy: cellular and molecular mechanisms[J]. J Pathol, 2010, 221(1):3-12.
[19] FOERSTER E G, MUKHERJEE T, CABRAL-FERNANDES L, et al. How autophagy controls the intestinal epithelial barrier[J]. Autophagy, 2022, 18(1):86-103.
[20] LARABI A, BARNICH N, NGUYEN H T T. New insights into the interplay between autophagy, gut microbiota and inflammatory responses in IBD[J]. Autophagy, 2020, 16(1):38-51.
[21] SHAO T, KE H N, LIU R, et al. Autophagy regulates differentiation of ovarian granulosa cells through degradation of WT1[J]. Autophagy, 2022, 18(8):1864-1878.
[22] YUAN Y Y, WANG F, LIU X X, et al. The role of AMPK signaling in ulcerative colitis[J]. Drug Des Dev Ther, 2023, 17:3855-3875.
[23] GOTO Y, KIYONO H. Epithelial barrier: an interface for the cross-communication between gut flora and immune system[J]. Immunol Rev, 2012, 245(1):147-163.
[24] LIU W, ZHAO Y C, WANG G F, et al. TRIM22 inhibits osteosarcoma progression through destabilizing NRF2 and thus activation of ROS/AMPK/mTOR/autophagy signaling[J]. Redox Biol, 2022, 53:102344.
[25] GUO H R, OUYANG Y J, YIN H, et al. Induction of autophagy via the ROS-dependent AMPK-mTOR pathway protects copper-induced spermatogenesis disorder[J]. Redox Biol, 2022, 49:102227.

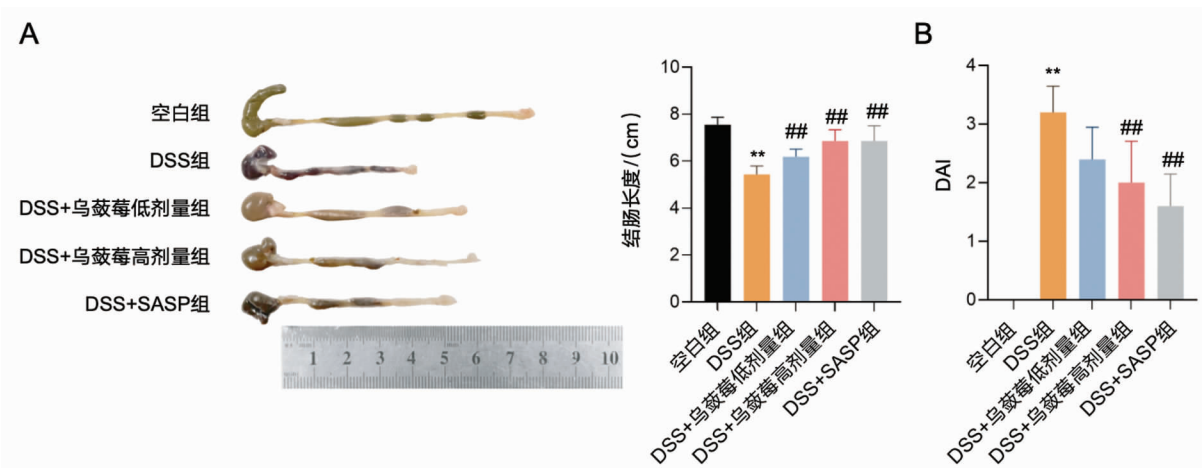
基于 AMPK/mTOR 信号通路介导的自噬探讨乌蔹莓对溃疡性结肠炎小鼠的保护作用

（正文见 224－227 页）



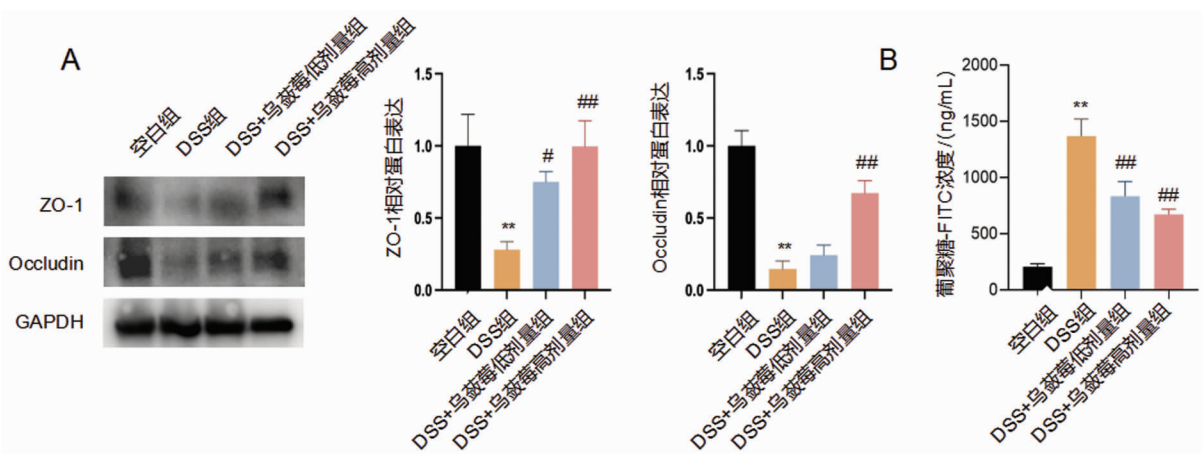
注：＊＊与空白组比较，$P<0.01$；##与 DSS 组比较，$P<0.01$。

图 1　乌蔹莓对 UC 小鼠体质量的影响（$n=8$，$\bar{x}\pm s$）



注：＊＊与空白组比较，$P<0.01$；##与 DSS 组比较，$P<0.01$。

图 2　乌蔹莓对 UC 小鼠结肠长度、DAI 评分的影响（$n=8$，$\bar{x}\pm s$）



注：＊＊与空白组比较，$P<0.01$；#与 DSS 组比较，$P<0.05$；##与 DSS 组比较，$P<0.01$。

图 4　乌蔹莓对 UC 小鼠肠通透性的影响（$n=3$，$\bar{x}\pm s$）

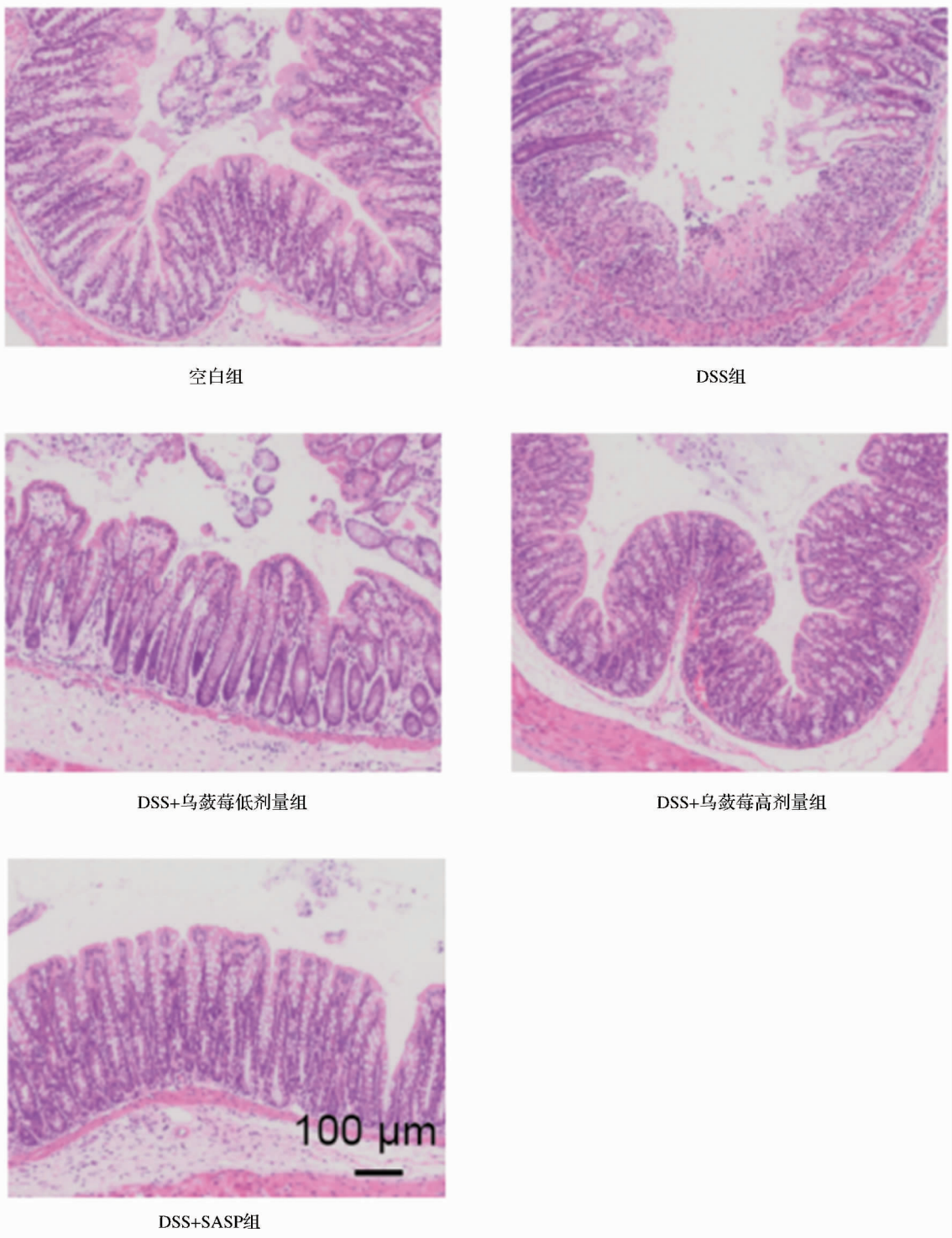
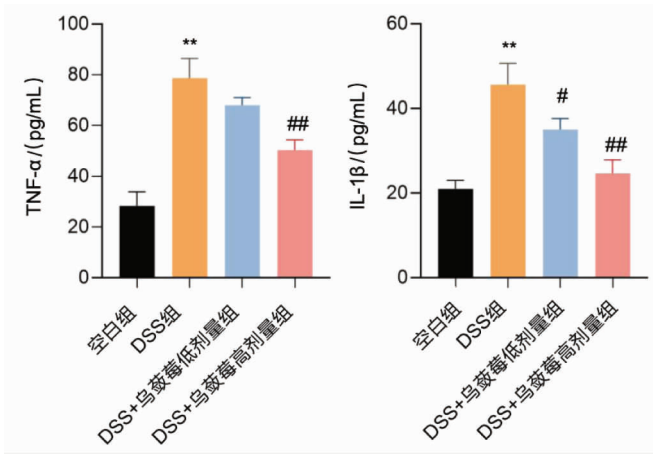


图 3 各组小鼠结肠组织 HE 染色情况(×100)



注：＊＊与空白组比较，$P<0.01$；#与 DSS 组比较，$P<0.05$；##与 DSS 组比较，$P<0.01$。

图 5　乌蔹莓对 UC 小鼠血清 TNF－α 和 IL－1β 表达水平的影响（$n=4$，$\bar{x}\pm s$）

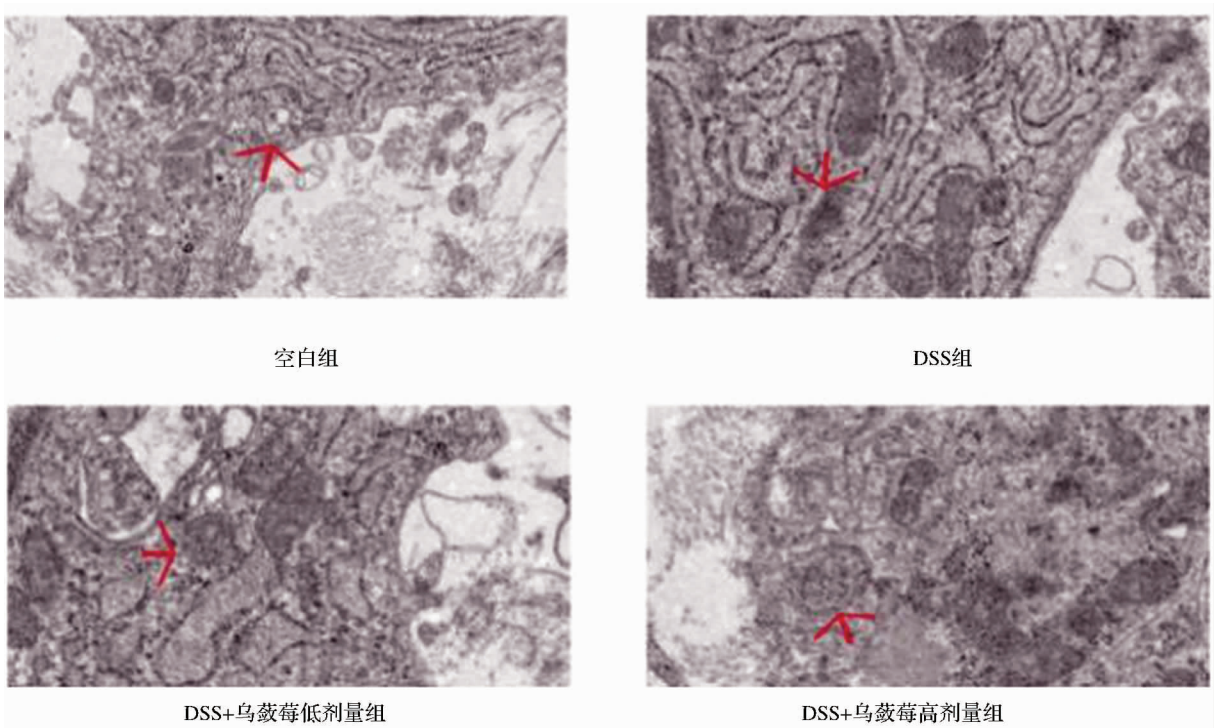
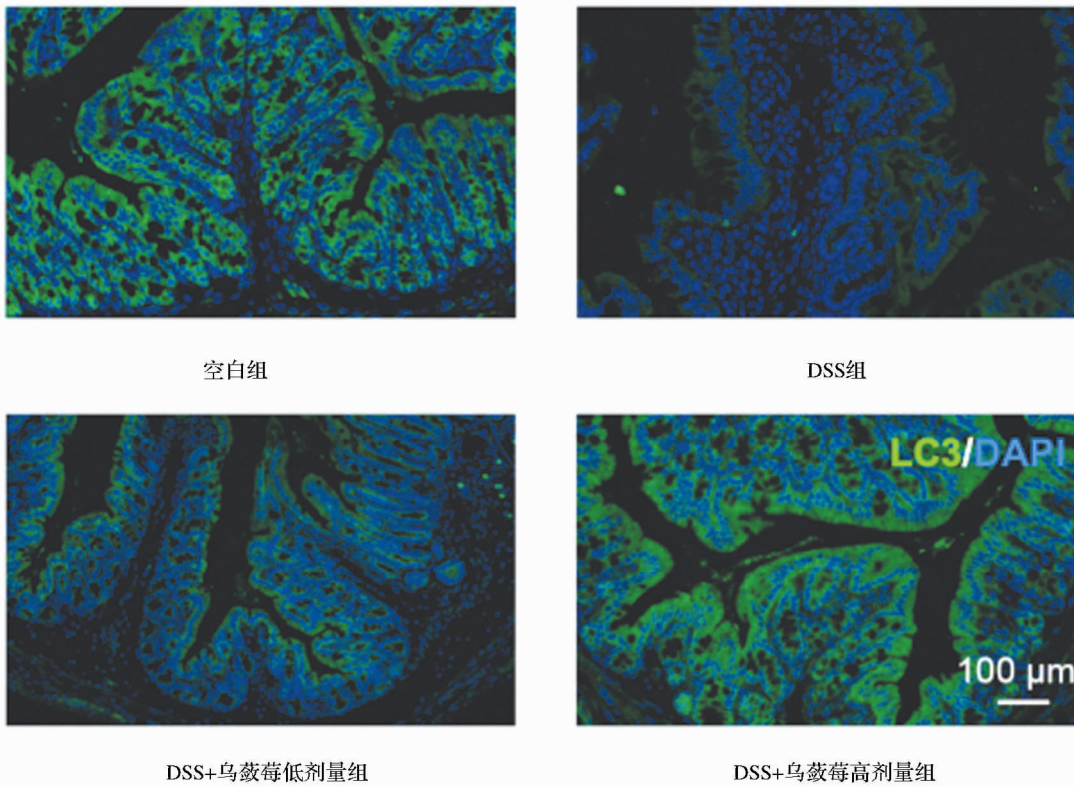
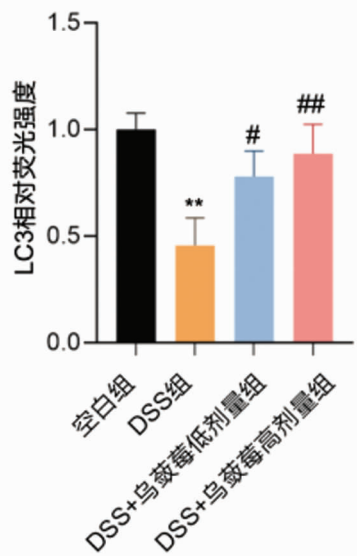


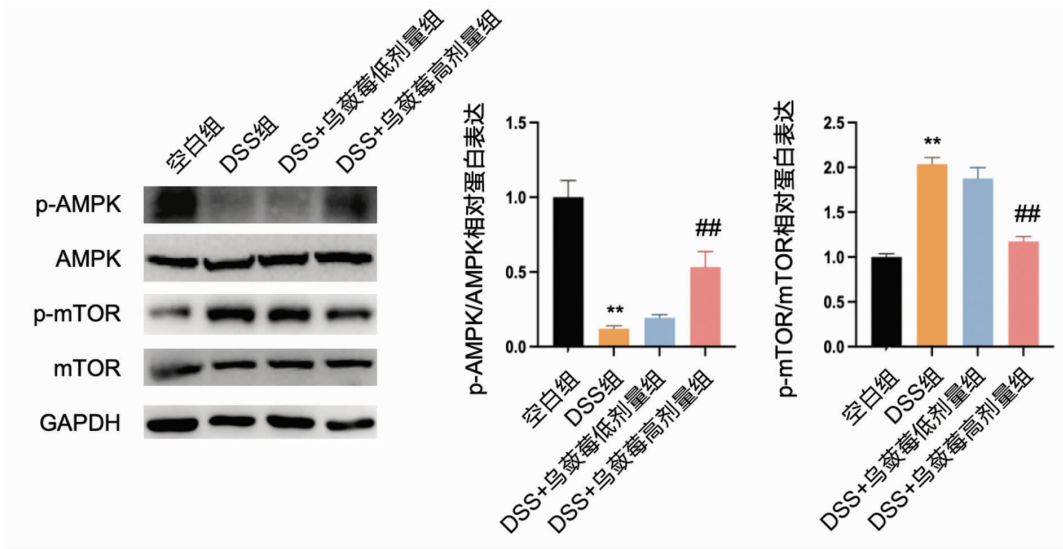
图 6　各组 UC 小鼠肠组织透射电子显微镜结果（$n=2$，$\bar{x}\pm s$，×1 μm）





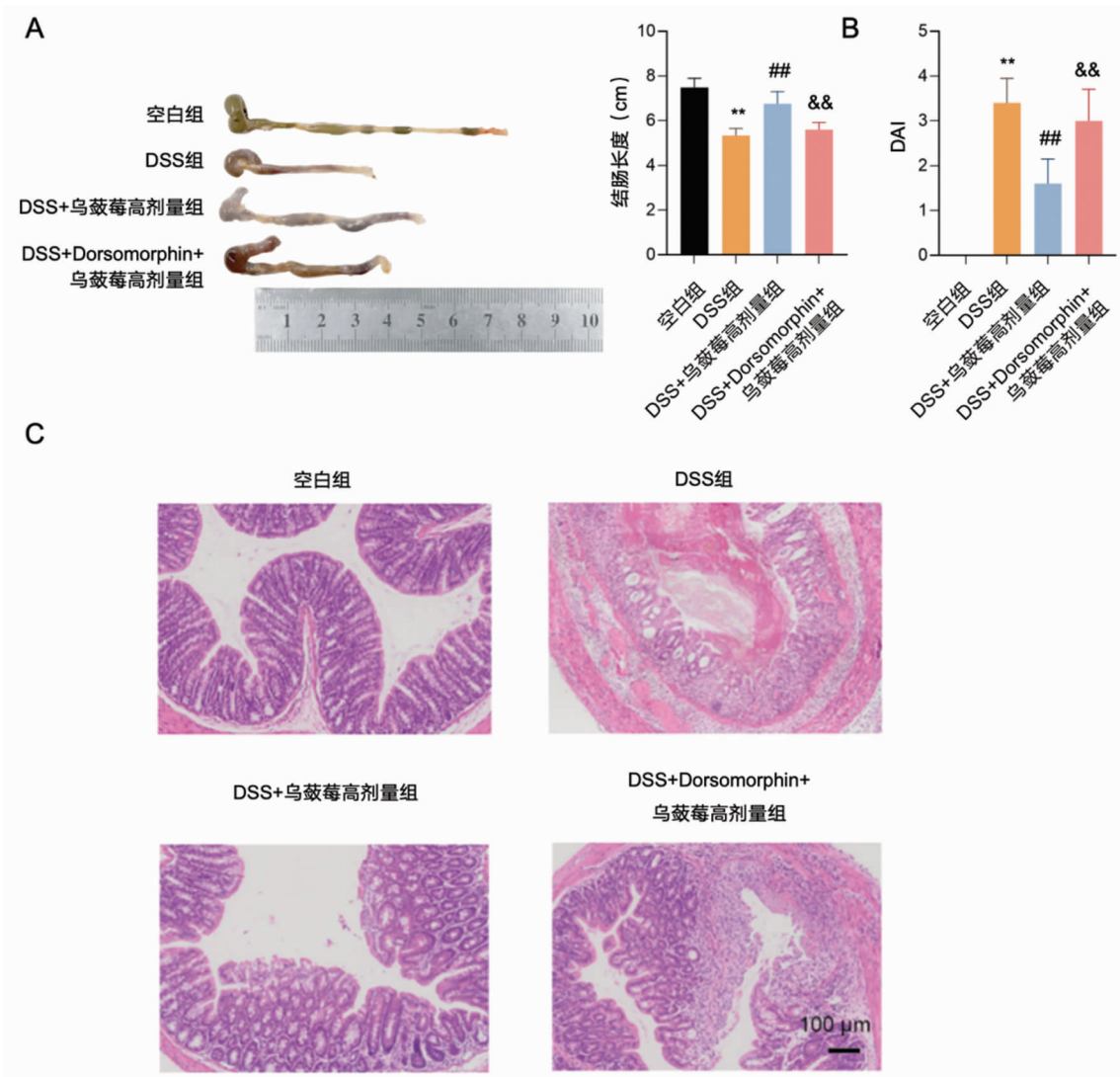
注：＊＊与空白组比较，$P<0.01$；#与 DSS 组比较，$P<0.05$；##与 DSS 组比较，$P<0.01$。

图 7 各组 UC 小鼠肠组织 LC3 蛋白免疫荧光染色结果（$n=4$，$\bar{x}\pm s$，×100）



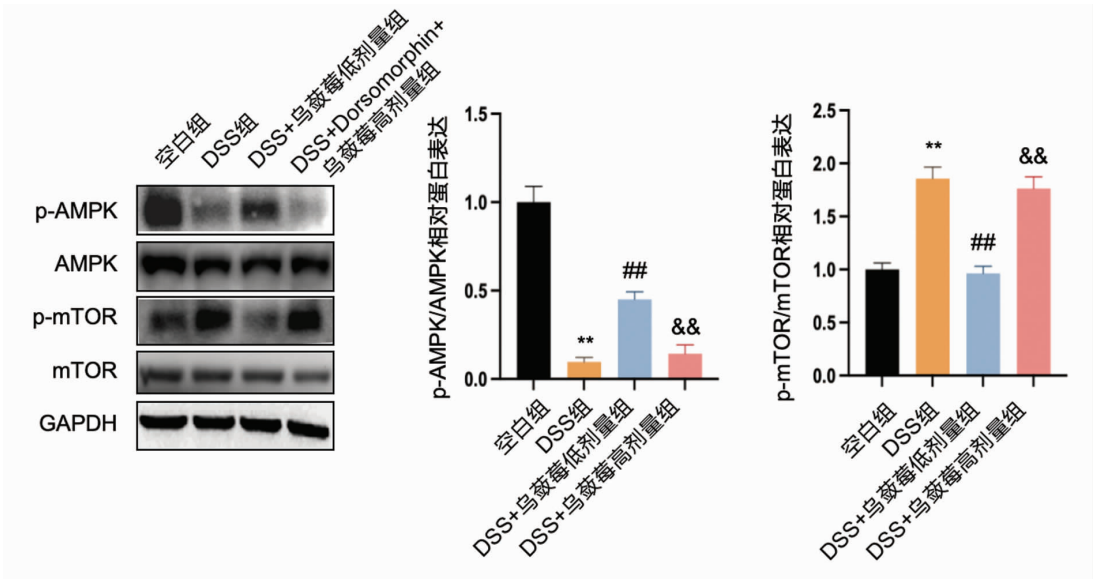
注：＊＊与空白组比较，$P<0.01$；##与 DSS 组比较，$P<0.01$。

图 8 乌蔹莓对 UC 小鼠肠组织 p－AMPK、AMPK、p－mTOR、mTOR 蛋白表达水平的影响（$n=3$，$\bar{x}\pm s$）



注：＊＊与空白组比较，$P<0.01$；##与 DSS 组比较，$P<0.01$；&&与 DSS＋乌蔹莓高剂量组比较，$P<0.01$。

图 9 乌蔹莓促进 UC 小鼠肠组织自噬激活依赖于 AMPK/mTOR 信号通路（$n=6$，$\bar{x}\pm s$，×100）



注：＊＊与空白组比较，$P<0.01$；##与 DSS 组比较，$P<0.01$；&&与 DSS＋乌蔹莓高剂量组比较，$P<0.01$。

图 10　Dorsomorphin 对 UC 小鼠肠组织 AMPK/mTOR 信号通路的影响（$n=3$，$\bar{x}\pm s$）

石斛多糖提取、分离纯化、结构鉴定和抗肿瘤机制研究进展

（正文见 164－168 页）

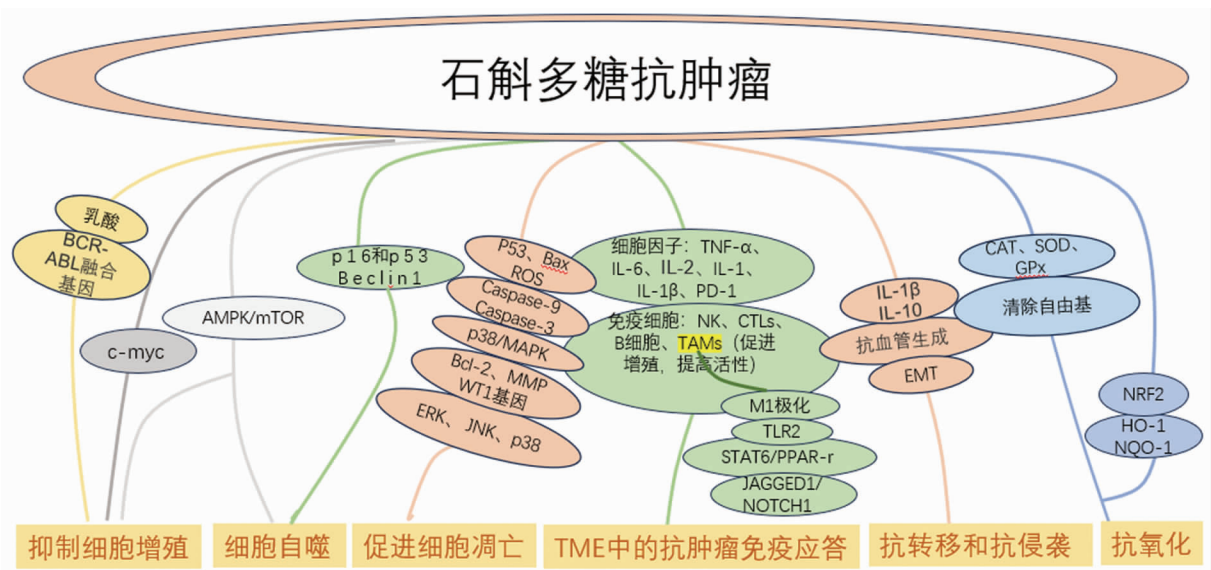


图 1　石斛多糖抗肿瘤的作用机制示意图