

青砖茶水提物对代谢相关脂肪性肝病 及溃疡性结肠炎的预防作用

尤程程^{1,2}, 向琨昱², 刘朝霞¹, 刘亚云², 何建刚³, 肖长义², 盛德乔^{2,*}, 黄益玲^{1,2,*}

(1. 天然产物研究与利用湖北省重点实验室, 三峡大学生物与制药学院, 湖北宜昌 443002)

(2. 肿瘤微环境与免疫治疗湖北省重点实验室(三峡大学), 三峡大学基础医学院病理学系, 湖北宜昌 443002)

(3. 湖北长盛川青砖茶研究所, 湖北宜昌 443002)

摘要: 探究青砖茶(Qing Brick Tea, QBT)水提物对代谢相关脂肪性肝病(Metabolic Dysfunction-Associated Fatty Liver Disease, MAFLD)及溃疡性结肠炎(Ulcerative Colitis, UC)的预防作用。将20只8周龄雌性C57BL/6小鼠随机分为对照组(Negative Control, NC)、模型组(Model Control, MC)、低剂量组(Low Dose, LD)和高剂量组(High Dose, HD)。高脂饲料喂养联合2.5%葡聚糖硫酸钠(Dextran Sulfate Sodium, DSS)自由饮水建立MAFLD及UC模型,检测小鼠体重、肝重、结肠长度、肝脏生化及血脂指标、组织病理、炎症因子的表达水平。与NC组相比,MC组小鼠肝脏指数显著增加,为0.06,呈现黄色油腻感,镜下可见大量脂质空泡;结肠长度明显缩短,为4.38 cm,且结构紊乱,腺体遭受破坏严重,大量炎性细胞浸润。与MC组相比,LD组和HD组小鼠肝脏指数明显降低,均为0.05,颜色更接近NC组,无油腻感,镜下脂质空泡明显减少;结肠长度显著增长,分别为5.04和5.28 cm,腺体结构恢复正常,炎性细胞的浸润显著减少。LD组丙氨酸转氨酶(Alanine Aminotransferase, ALT)、天门冬氨酸转氨酶(Aspartate Aminotransferase, AST)、低密度脂蛋白胆固醇(Low-Density Lipoprotein Cholesterol, LDL-C)、总胆固醇(Total Cholesterol, TC)、甘油三酯(Triglycerides, TG)分别为67.58、44.36、4.57、7.61、1.46 mmol/L, HD组分别为53.83、28.05、3.44、5.87、0.68 mmol/L,均显著降低。与MC组相比,LD组和HD组小鼠促炎因子的转录水平及炎症通路相关蛋白表达均显著降低($P<0.05$),表明青砖茶水提物能够有效预防MAFLD及UC,其机制可能与抑制炎症信号通路有关。

关键词: 青砖茶水提物; 代谢相关脂肪性肝病; 溃疡性结肠炎; 炎症

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2025.9.1036

The Preventive Effect of Qing Brick Tea Extract on Metabolic Dysfunction Associated Fatty Liver Disease and Ulcerative Colitis

YOU Chengcheng^{1,2}, XIANG Junyu², LIU Zhaoxia¹, LIU Yayun², HE Jiangang³, XIAO Changyi²,
SHENG Deqiao^{2,*}, HUANG Yiling^{1,2,*}

(1.Hubei Key Laboratory of Natural Products Research and Development, College of Biological and Pharmaceutical Sciences, China Three Gorges University, Yichang 443002, China) (2.Hubei Key Laboratory of Tumor Microenvironment and Immunotherapy, Department of Pathology, College of Basic Medical Science, China Three Gorges University, Yichang 443002, China) (3.Long Cheng Chuan Qing Brick Tea Research Institute of Hubei Province, Yichang 443002, China)

Abstract: In this study, the preventive effect of Qing Brick Tea (QBT) water extract on Metabolic Dysfunction-Associated Fatty Liver Disease (MAFLD) and Ulcerative Colitis (UC) in mice was investigated. 20 female C57BL/6 mice aged 8 weeks were randomly divided into 4 groups: Negative control group (NC), Model control group (MC), QBT extract Low dose (LD) and High dose (HD) groups. MAFLD and UC

收稿日期: 2024-07-18; 修回日期: 2024-09-08; 接收日期: 2024-09-13

基金项目: 湖北省科技计划项目(2020BGC015); 天然产物研究与利用湖北省重点实验室(三峡大学)开放研究基金项目(2022NPRD09)

作者简介: 尤程程(1984-), 女, 博士, 讲师, 研究方向: 天然产物开发及代谢性疾病防治, E-mail: yocncn@163.com; 共同第一作者: 向琨昱(1996-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 非酒精性脂肪肝药物筛选及机制研究, E-mail: 453322298@qq.com; 刘朝霞(1977-), 女, 副教授, 研究方向: 天然产物开发与利用, E-mail: 27976574@qq.com

通讯作者: 黄益玲(1978-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 代谢性疾病预防及治疗, E-mail: yilinghuang@ctgu.edu.cn; 共同通讯作者: 盛德乔, 男, 博士, 教授, 研究方向: 天然产物开发与利用, E-mail: shengdq@ctgu.edu.cn

models were established in mice fed with high-fat diet combined with 2.5% DSS (Dextran Sulfate Sodium) free drinking water. Body weight, liver weight, colon length, biochemical indices, blood lipid levels and inflammatory cytokine levels were examined. Histopathology of liver and colon were observed. Compared with the NC group, the liver index of the MC group was 0.06, which was significantly elevated. The livers of MC group were yellow and greasy which were filled with many large lipid vacuoles. And Colon glands were seriously damaged with a large number of inflammatory cells infiltration. Compared with the MC group, the liver index in the LD group and HD group were significantly decreased, both being 0.05. The color was closer to that of the NC group, and there was no greasy feeling, and the lipid vacuoles were significantly reduced under the microscope. Colon length were 5.04 and 5.28 cm, which were significantly elevated respectively. The glandular structure returned to normal and inflammatory cell infiltration was significantly reduced. The biochemical indices and blood lipid levels were also significantly decreased. The levels of ALT (Alanine aminotransferase), AST (Aspartate aminotransferase), LDL-C (Low-Density Lipoprotein Cholesterol), TC (Total Cholesterol), and TG (Triglycerides) in the LD group were 67.58 mmol/L, 44.36 mmol/L, 4.57 mmol/L, 7.61 mmol/L and 1.46 mmol/L, and the corresponding values in the HD group were 53.83 mmol/L, 28.05 mmol/L, 3.44 mmol/L, 5.87 mmol/L and 0.68 mmol/L. The transcription levels of pro-inflammatory cytokines and the protein expression inflammatory pathway were significantly reduced ($P<0.05$). In conclusion, MAFLD and UC in mice were effectively prevented by QBT extract, and its mechanism may be related with inhibiting TLR4 inflammatory signaling pathway.

Key words: qing brick tea extract; metabolic dysfunction-associated fatty liver disease; ulcerative Colitis; inflammation

2020 年亚太肝病学会 (Asian-Pacific Association for the Study of the Liver, APASL) 发布指南, 将非酒精性脂肪性肝病 (Non-alcoholic fatty liver disease, MAFLD) 更名为代谢相关脂肪性肝病 (Metabolic associated fatty liver disease, MAFLD)^[1], 这一更名强调了代谢因素在慢性肝病发病机制及诊治过程中的重要性。随着人们生活水平的日益提高以及饮食结构的改变, MAFLD 已经超过病毒性肝炎成为最常见的慢性肝脏疾病^[2]。MAFLD 不仅最终可进展为肝硬化、肝癌和肝衰竭, 还与多种肝外并发症如 2 型糖尿病、心血管疾病和慢性肾脏疾病的发生密切相关^[3]。逐年上升的 MAFLD 患者给医疗保健系统带来沉重的负担, 但暂无批准上市的有效药物^[4]。溃疡性结肠炎 (Ulcerative colitis, UC) 是一种主要侵及结肠黏膜的慢性非特异性炎症性疾病。近年来, 我国 UC 的发病率呈逐年上升趋势, 由于其具有高复发率的特点, 长期用药容易导致不良反应的发生, 并且有发展为结肠癌的风险, 被 WHO 列为难治型疾病之一^[5,6]。研究发现, 多达 40% 的炎症性肠病的患者同时患有 MAFLD^[7], 且“肝-肠轴”在 MAFLD 发病机制中发挥着重要的作用^[8]。因此, 研究可以预防 MAFLD 和 UC 发生发展的药物或天然产物具有重要的科学意义。

通过日常饮食途径预防 MAFLD 和 UC 的发生是减轻疾病负担的有效策略之一。Wang 等^[9]研究表明, 雅安藏茶可以通过增加小鼠肠道中的有益微生物改善小鼠的结肠炎症状。Wen 等^[10]研究发现, 柑橘茶可以通过减少脂质沉积和炎症浸润缓解小鼠的脂肪肝。青砖茶属于六大基本茶中黑茶的一种, 主要产自湖北省咸宁赤壁地区, 具有减肥、降脂、抗氧化等多种保健作用^[11,12]。本研究建立 MAFLD 合并 UC 的小鼠模型^[13], 探究青砖茶水提物对 MAFLD 及 UC 的预防作用, 以期对青砖茶的开发利用提供实验基础和理论依据。

1 材料与方法

1.1 原料

1.1.1 实验动物与饲料

SPF 级 C57BL/6 小鼠, 8 周龄, 雌性, 购于三峡大学实验动物中心, 动物生产许可证编号: SYXK(鄂)2022-0061, 小鼠实验伦理批准号: No.42010200007467。普通动物饲料购买于三峡大学实验动物中心, 高脂高糖饲料为自制饲料, 具体配方为按照普通饲料 (53.75%)、胆固醇 (5%)、猪油 (20%)、胆酸钠 (0.25%)、果糖 (20%)、食盐 (1%) 的重量比混合而成, 待饲料固定成型后送到湖北省农业科学院农产品加工与核农技术研究所辐照灭菌, 送至三峡大学实验动物中心储存和饲喂。每 kg 饲料具体营养成分见表 1 和表 2。

表 1 普通饲料营养成分表

Table 1 Nutritional composition of common feed

	含量/(g/kg)	能量值/KJ	占比/%
碳水化合物	553	2 212	61.5
脂肪	51	459	12.8
蛋白质	231	924	25.7
总能量	—	3 595	100

表 2 高脂饲料营养成分表

Table 2 Nutritional composition of high fat feed

	含量/(g/kg)	能量值/KJ	占比/%
碳水化合物	493.09	1 972.36	43.8
脂肪	227.03	2 043.27	45.4
蛋白质	122.43	489.72	10.8
总能量	—	4 505.35	100

1.1.2 药物与试剂

青砖茶水提物，由湖北省长盛川青砖茶研究所提供；葡聚糖硫酸钠（Dextran Sulfate Sodium，DSS），购于 YESEN 公司；ALT、AST、LDL-C、TC 和 TG 测定试剂盒，均购于南京建成生物工程研究所。逆转录试剂盒，购于赛默飞世尔科技有限公司；实时定量 PCR 试剂盒 SYBR Premix，购于诺唯赞生物科技有限公司；PVDF 膜，购于伊莱瑞特生物科技股份有限公司；RIPA 裂解液，购于北京索莱宝科技有限公司；BCA 蛋白定量试剂盒、 β -actin 抗体和 Western Blot 二抗，均购于武汉赛维尔生物科技有限公司；TLR4 和 NF- κ B p65（ser536）抗体，购于沈阳万类生物科技有限公司；ECL 显影液，购于南京诺唯赞生物科技股份有限公司。

1.2 主要仪器与设备

Microfuge 20R 高速冷冻离心机，美国 Beckman Coulter 公司；JM-850 多功能酶标仪，上海精密仪器仪表有限公司；Leico TP 1020 脱水机及 Leico EG 1150H 石蜡包埋机，上海徕卡仪器有限公司；904060 病理切片机，德国 Microm 公司；JJ 100 精密电子天平，上海升亮电子科技有限公司；Biometra TOne 96G 基因扩增仪，德国耶拿分析仪器有限公司；qTOWER 3G 实时荧光定量 PCR 仪，德国耶拿分析仪器有限公司；MP-8005 转膜仪，北京凯元信瑞仪器有限公司；ChemiScopemini 显影仪，上海勤翔科学仪器有限公司；PHS-3C PH 计，上海精密仪器仪表公司。

1.3 实验方法

1.3.1 青砖茶水提物的制备及浓度确定

每 50 g 青砖茶加入 120 ml 蒸馏水，沸腾后继续熬制 5 min，过滤得到 100 mL 浓缩液，于 4 ℃冰箱保存备用。刘云涛等^[14]研究中所用青砖茶的剂量为每人每天 10 g，湖北长盛川青砖茶研究所推荐每天饮用量按照推荐成人/60 kg 饮用量每天 10 g，即每人每日为 166.7 mg/kg；按体表面积折算的等效剂量系数折算法^[15]换算小鼠所用剂量为 1.52 g/kg d。本研究经预实验后确定青砖茶水提物低、高剂量分别为 0.25、0.5 g/kg d。将浓缩的青砖茶水提物用生理盐水配置成所需浓度，用注射器滤器过滤后进行灌胃。

1.3.2 HPLC 测定青砖茶水提物的主要成分

准备标准品和实验样品，过滤流动相，对抽滤后的流动相进行超声脱气 10~20 min，打开 HPLC 工作站，连接流动相管道和检测系统。色谱条件为：流动相：0.1%磷酸水/乙腈（CAN），梯度洗脱：5% ACN，5 min；30% ACN，40 min；45% ACN，45 min；90% ACN，50 min；90% CAN，60 min。检测波长：205 nm，280 nm；流速：1 mL/min；色谱柱填料：XB-C18；柱温：30 ℃，存贮实验数据。

1.3.3 实验动物分组及给药

实验小鼠饲养于 SPF 级独立通气笼盒中，温度（24.0±0.5）℃，相对湿度（50%~70%），昼夜光照节律。本研究中所用的高脂辐射饲料，于-20 ℃低温保存，短期使用于 4 ℃保存；空白对照组小鼠予以普通生长饲料（三

峡大学实验动物中心提供); 饲养密度为每笼 5 只小鼠, 饮水为III级水, 自由饮水; 垫料按照一周 3 次的频率予以更换, 定期对笼具和水瓶进行消毒。

随机将 20 只 8 周龄 C57BL/6 雌性小鼠分为以下 4 组: 对照组 (普通饲料+生理盐水灌胃, Negative Control, NC)、模型组 (高脂饲养+DSS 自由饮水, Model Control, MC)、青砖茶水提取物低剂量组 (高脂饲养+DSS 自由饮水+0.25 g/kg 青砖茶水提取物灌胃, Low Dose, LD)、高剂量组 (高脂饲养+DSS 自由饮水+0.5 g/kg 青砖茶灌胃, High Dose, HD), 每组 5 只, 造模过程见图 1。

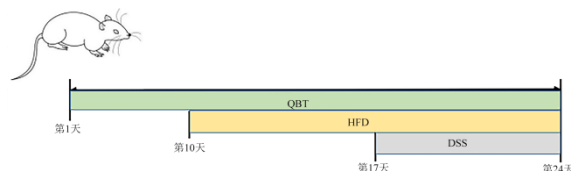


图 1 小鼠造模及给药模式图

Fig.1 Mouse modeling and treatment schema

注: QBT: 青砖茶水提取物灌胃; HFD: 高脂饮食饲养; DSS: 2.5% 葡聚糖硫酸钠自由饮水。

1.3.4 小鼠肝功能和血脂含量测定

各组小鼠末次青砖茶灌胃后 12 h, 禁食但不禁水 12 h, 各组小鼠腹腔麻醉后摘除眼球取血, 收集于 1.5 mL EP 管中, 室温静置 2 h 后 12 000×g、4℃离心 15 min, 移液器收集血清后分装于 EP 管中, 保存于-80℃。后参照试剂盒要求依次 ALT、AST、LDL-C、TC 和 TG 含量。

1.3.5 肝脏指数及结肠长度测定

取血后, 称小鼠质量后窒息法处死小鼠, 将小鼠放置于冰上操作取材, 腹腔打开暴露肝脏, 用眼科剪迅速剪掉整个肝脏, 放在袖珍型精密天平上称量肝脏重量, 并按公式 (1) 计算肝脏指数。剪取小鼠从肛门至盲肠的整段结肠测量其长度。

$$HI = \frac{W_1}{W_0} \times 100\% \quad (1)$$

式中:

HI——小鼠的肝脏指数, %;

W_1 ——小鼠的肝脏质量, g;

W_0 ——小鼠的体质量, g。

1.3.6 小鼠组织病理学观察

实验结束后, 预冷生理盐水漂洗肝组织和结肠组织后, 分别剪取部分肝组织和靠近肛门三分之一处的结肠固定于 4% (m/V) 多聚甲醛中, 48 h 之后再组织进行常规脱水包埋处理, 4 μm 厚度切片、HE 染色, 显微镜下观察拍照。

1.3.7 Western Blot 检测肝组织中 TLR4 和 NF-κB p65 的蛋白表达情况

用组织匀浆法收集小鼠肝组织中的总蛋白, 利用 BCA 法进行定量后行 SDS-PAGE 电泳, 湿转法转膜至 PVDF 膜, 5% 脱脂牛奶封闭 1 h, 一抗孵育 4℃过夜, TBST 洗膜 3 次, 每次 10 min, 孵育二抗 1 h 后, TBST 洗膜 3 次; ECL 试剂盒显影, 采集图像, 运用图像分析软件 Image J 分析目的蛋白和内参蛋白的灰度值。实验重复 3 次。

1.3.8 RT-PCR 检测肝组织和结肠组织中炎症因子的表达

组织匀浆后, 用 Trizol 法分别提取各组小鼠肝组织和结肠组织中总 RNA; 按照试剂盒操作说明书进行 RNA 逆转录得到 cDNA; 按照试剂盒操作说明书进行扩增反应, 反应程序如下: 95℃ 30 s; 95℃ 5 s, 60℃ 30 s (40 个循环); 再按 65℃ 5 s, 95℃ 60 s 的程序获得 PCR 产物的熔解曲线, 之后从 60℃ 缓慢加热到 95℃ (升降温速率为 0.05℃/s)。以 β-actin 为内参, 结果采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 进行定量分析, 计算目的基因的 mRNA 相对表达量。所用引物序列见表 3。

表 3 RT-PCR 所用的引物序列

Table 3 Primer sequences used for RT-PCR

基因名称	上游引物序列	下游引物序列
β -actin	TGCTGTCCCTGTATGCCTCT	TTTGATGTCACGCACGATTT
IL-1 β	TGTCCTGTGTAATGAAAGACGGC	GCTTGTGCTCTGCTTGTGAGG
TNF- α	TCAACCTCCTCTCTGCCGTC	GAGCAATGACTCCAAAGTAGACCT
IL-6	CAAAGCCAGAGTCCTTCAGAGAGA	TTGGATGGTCTTGGTCCTTAGC
IL-10	TTCTTTCAAACAAAGGACCAGC	GCAACCCAAGTAACCCTTAAAG

1.4 统计学处理

采用 GraphPad Prism 8.0.2 软件进行统计分析。实验数据采用均数±标准差 ($\bar{x} \pm SD$) 表示, 两组间的均数比较采用单因素方差分析, $P<0.05$ 表示差异显著, $P<0.01$ 表示差异极显著。

2 结果与讨论

2.1 青砖茶水提物的成分分析

通过高效液相分析, 我们发现本实验使用的青砖茶水提物 4 种主要活性成分为表儿茶素, 没食子酸, 表儿茶素没食子酸酯和儿茶素, 与何建刚等^[16]报道的结果一致。由表 4 可见, 该四种活性成分的生物利用度>20%、类药性指数>0.1; 参考李蕊等^[17]报道的评价食品质量的标准, 表明青砖茶水提物中的这些活性成分均可被人体吸收。

表 4 青砖茶水提物的成分分析

Table 4 Composition analysis of tea extracts from QBT

化合物代码	结构名称	生物利用度%	类药性指数
MOL006505	(-)-epicatechin	28.93	0.24
MOL006821	(-)-epigallocatechin-3-gallate	55.09	0.77
MOL002248	Gallic acid-4-O-(6'-O-galloyl)-glucoside	27.06	0.67
MOL000492	(+)-catechin	54.83	0.24

注: (-)-epicatechin: 表儿茶素; (-)-epigallocatechin-3-gallate: 表儿茶素没食子酸酯; Gallic acid-4-O-(6'-O-galloyl)-glucoside: 没食子酸; (+)-catechin: 儿茶素。

2.2 MAFLD 和 UC 双模型的成功构建

MAFLD 的动物模型可分为四类: 饮食诱导模型、化学物质诱导模型、基因编辑模型、复合模型^[18]。其中, 饮食诱导模型最为常见, 但通常需要 2 个月或更长时间, 时间成本较高^[19]。Bi 及万小雨等^[20,21]将高脂饮食联合 DSS 联合建模, 实验周期为 24 天。如图 2 结果所示, 模型组小鼠肝脏呈现黄色的油腻感, 其肝脏/体重比(肝脏指数)较对照组显著增大, 对照组的肝脏指数为 0.05, 模型组的肝脏指数为 0.06, 模型组的肝组织出现大量脂质空泡, 提示肝脏出现明显脂肪变性。图 3 可见对照组小鼠结肠长度为 5.72 cm, 而模型组明显缩短, 为 4.38 cm, 且结肠组织结构紊乱, 腺体破坏严重, 炎性细胞大量浸润。该方法与传统造模方式相比, 一方面可大幅缩短造模时间, 另一方面更符合 MAFLD 的多因素发病机制, 使 MAFLD 与 UC 的疾病表现高效的在同一只小鼠模型上呈现。

2.3 青砖茶水提物预防小鼠肝组织脂肪变性

如图 2A 和 2B 所示, 青砖茶水提物低剂量及高剂量组小鼠的肝脏颜色较模型组更接近正常对照组, 无油腻感, 肝脏指数与模型组相比显著下降, 均为 0.05。图 2C 为小鼠肝脏的 HE 染色图片, 结果显示, 青砖茶水提物低剂量及高剂量组小鼠肝脏脂肪脂质空泡明显少于模型组。这些结果表明青砖茶水提物能够有效预防高脂饮食和 DSS 联合诱导的小鼠肝脏脂肪变性。

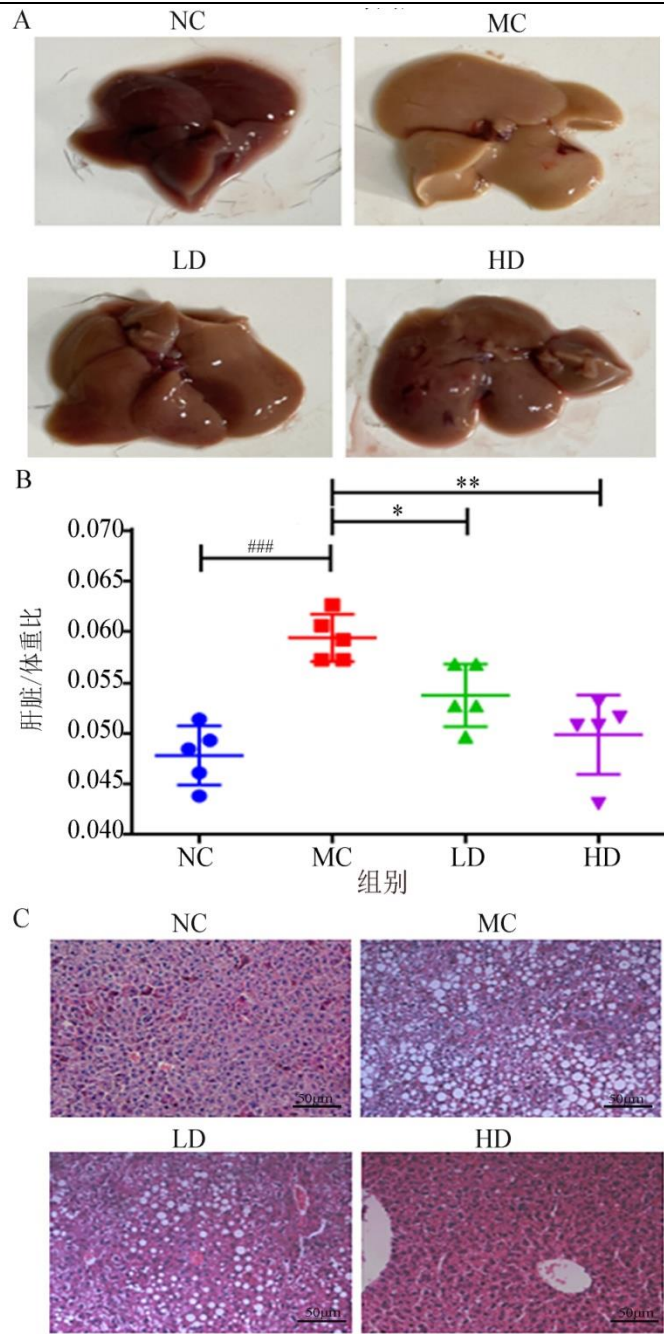


图2 青砖茶水提取物对各组小鼠体重、肝指数和肝组织脂肪变的影响

Fig.2 Effects of QBT on body weight, liver index and liver steatosis

注: NC: 正常对照组; MC: 模型组; LD: 青砖茶水提取物低剂量组; HD: 青砖茶水提取物高剂量组; 后边同。A.青砖茶水提取物对小鼠肝脏大体观的影响; B.青砖茶水提取物对小鼠肝体比的影响; 与 NC 组相比, ###*P*<0.001; 与 MC 组相比, **P*<0.05, ***P*<0.01; C. 小鼠肝脏 HE 染色图片 (×200)。

2.4 青砖茶水提取物减缓小鼠肝功能及血脂异常

青砖茶具有减肥、降脂、抗氧化等保健作用。毛绒等^[22]发现青砖茶能够显著降低肥胖大鼠体质量和脂肪系数, 具有明显减肥功效; 王伟等^[23]研究表明青砖茶水提取物能够通过增强核因子 E2 相关因子 2 (Nuclear Factor Erythroid-2 Related Factor 2, NRF2) 信号通路, 升高小鼠的抗氧化酶活性; 刘云涛等^[14]研究发现青砖茶能改善 2 型糖尿病患者的胰岛素抵抗和脂代谢。本实验检测不同组别的小鼠肝功能, 发现模型组小鼠血清中 ALT、AST、LDL-C、TC

和 TG 的含量较正常对照组显著上升，而青砖茶水提取物低剂量和高剂量组小鼠较模型组明显降低，结果如表 5 所示。这些结果表明，青砖茶水提取物能够有效减缓小鼠肝功能及血脂异常。

表 5 小鼠血清肝功能和血脂水平

	NC	MC	LD	HD
ALT(mmol/L)	27.57±5.25	83.08±6.67 ^{###}	67.58±2.07*	53.83±3.56**
AST(mmol/L)	24.37±1.55	64.85±10.77 ^{###}	44.36±6.50*	28.05±2.92**
LDL-C(mmol/L)	1.05±0.35	5.49±0.13 ^{###}	4.57±0.14*	3.44±0.22**
TC(mmol/L)	2.78±0.20	8.50±0.36 ^{####}	7.61±0.22*	5.87±0.40**
TG(mmol/L)	0.35±0.02	2.24±0.37 ^{###}	1.46±0.27*	0.68±0.07**

注：NC：正常对照组；MC：模型组；LD：青砖茶水提取物低剂量组；HD：青砖茶水提取物高剂量组；后同。与 NC 组比较，[#]*P*<0.01；^{###}*P*<0.001；^{####}*P*<0.0001；与 MC 组比较，**P*<0.05，***P*<0.01。

2.5 青砖茶水提取物预防小鼠结肠的组织损伤

组织病理切片 HE 染色是观察溃疡性结肠炎的重要指标^[24]。本实验研究发现，与模型组相比，青砖茶水提取物低剂量及高剂量组小鼠的结肠长度与模型组相比显著增长，分别为 5.04 和 5.28 cm。HE 染色结果显示，结肠腺体结构恢复正常，炎症细胞的浸润显著减少（图 3A~C）。这些结果表明，青砖茶水提取物能够有效预防高脂饮食加 DSS 诱导的小鼠结肠的组织损伤。

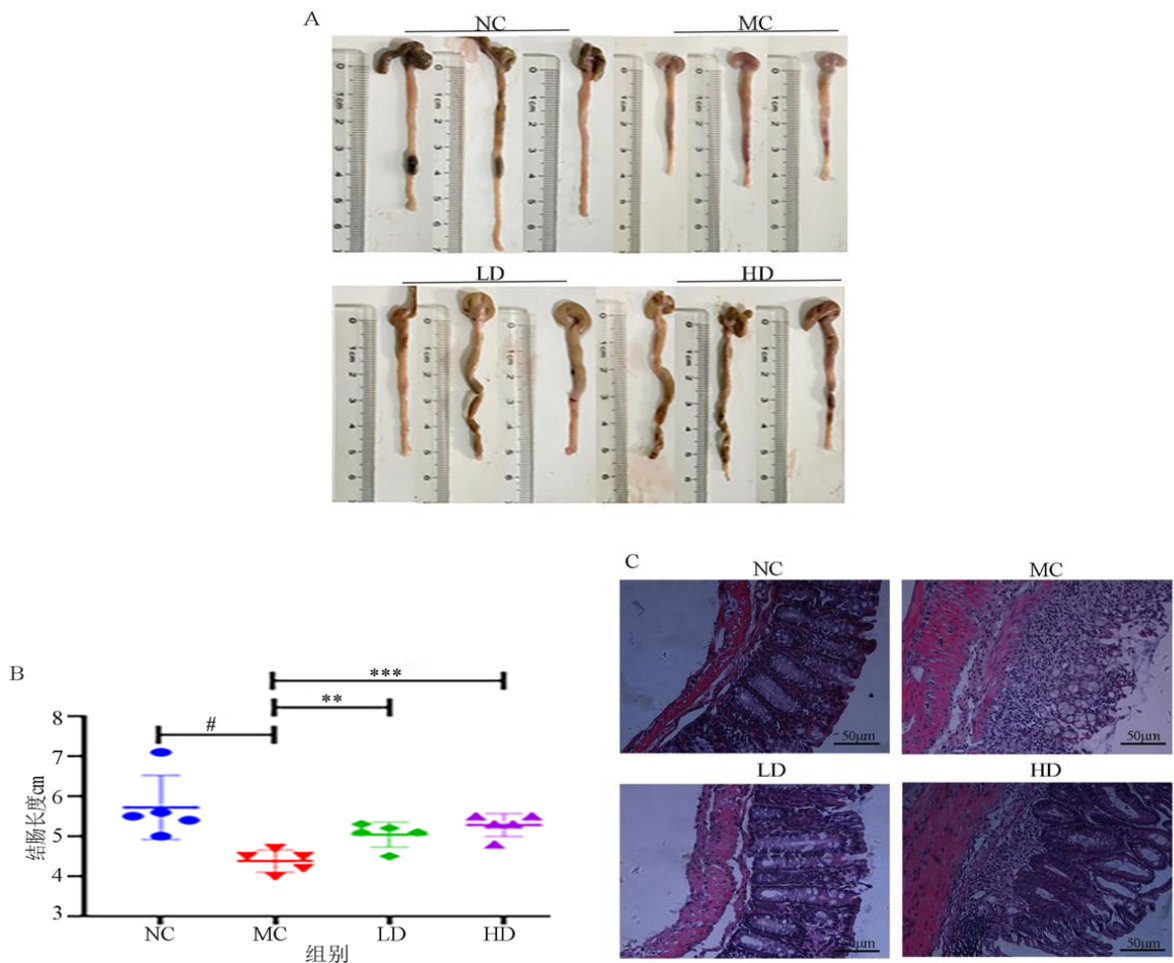


图 3 青砖茶水提取物对小鼠结肠长度的改变和对组织结构的影响

Fig.3 Changes of colon length and tissue structure of mice induced by QBT

注：A、B.小鼠结肠长度的改变，与 NC 组相比，[#]*P*<0.05；与 MC 组相比，***P*<0.01，****P*<0.001；C.小鼠结肠 HE 染色（X200）。

2.6 青砖茶水提物预防小鼠肝脏和结肠的炎症反应

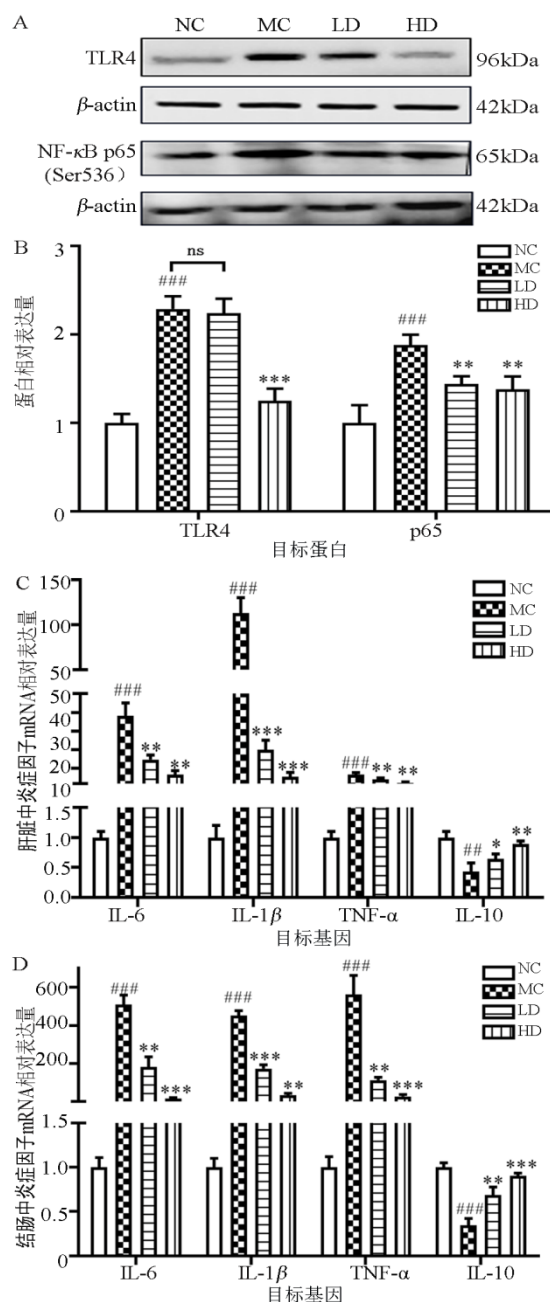


图4 青砖茶水提物对小鼠肝脏和结肠炎症相关蛋白及炎症因子 mRNA 水平的影响

Fig.4 Effects of QBT on inflammation related proteins and inflammatory factors in liver and colon

注: A: 小鼠肝脏 TLR4 及 NF-κB p65 的蛋白表达; B: 小鼠肝脏炎症因子 IL-6、IL-1β、TNF-α、IL-10 的 mRNA 水平; C: 小鼠结肠炎症因子 IL-6、IL-1β、TNF-α、IL-10 的 mRNA 水平; 与 NC 组比较, ^{###} $P < 0.01$; 与 MC 组比较, ^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$, ^{***} $P < 0.001$ 。

近年来越来越多的研究表明“肝-肠轴”与 MAFLD 的发病和进展密切相关^[25,26]。“肝-肠轴”是指肠道和肝脏之间的双向通讯,当肠道黏膜屏障受损时,大量致病菌或其毒素进入机体,一方面直接破坏肠道上皮细胞,另一方面会通过门静脉进入肝脏,释放促炎因子,从而促使 MAFLD 的发展^[27,28]。Toll 样受体 4 (Toll Like Receptor, 4TLR4) 是病原体相关分子模式的传感器,在引发炎症反应中发挥重要作用^[29]。Yu 等^[30]研究发现,三七皂苷能够抑制 TLR4 信号通路减轻高脂饮食诱导的小鼠肝脏脂肪变性。本研究结果发现,与 NC 组相比,MC 组小鼠肝脏的 TLR4 和 NF-κB p65 的蛋白表达量显著上调,肝脏和结肠中促炎因子 IL-6、IL-1β、TNF-α 的转录水平显著上调,抑炎因子 IL-10 的转录水平显著下调,表明 MAFLD 进展过程中 TLR4/NF-κB 炎症信号通路被激活 (图 4A~D); 而与 MC

组相比, HD 组中 TLR4 和 NF- κ B p65 蛋白的表达量均有所下降, 促炎因子表达量明显下调, 抑炎因子的表达量显著上调。这些结果表明, 青砖茶水提物能够抑制高脂饮食和 DSS 诱导的小鼠肝脏 TLR4/NF- κ B 信号通路的激活, 并且能够减少其下游的促炎因子的转录水平, 增强抑炎因子的转录水平, 从而有效预防小鼠肝脏和结肠的炎症反应 (图 5)。

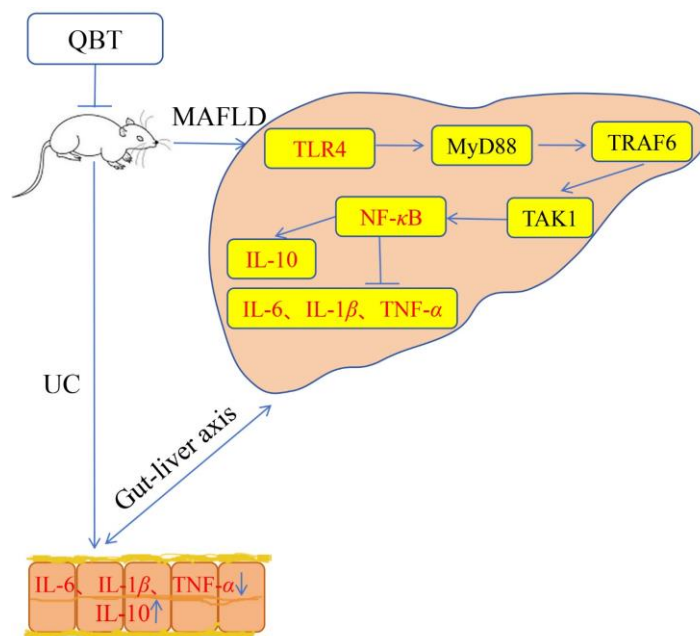


图 5 青砖茶水提物预防 MAFLD 及 UC 的分子机制图

Fig.5 Molecular mechanism diagram of preventing affections of MAFLD and UC by QBT

注: QBT: 青砖茶水提物灌胃; MAFLD: 代谢相关脂肪性肝病; UC: 溃疡性结肠炎; Gut-liver axis: 肠肝循环; TLR: Toll 样受体 4; IL: 白细胞介素; TNF: 肿瘤坏死因子; MyD88: 髓样分化初级应答基因 88; TRAF6: 肿瘤坏死因子受体相关蛋白 6; TAK1: 转化生长因子 β 激活激酶 1。

3 结论

综上所述, 本研究发现给予青砖茶水提物预防性灌胃后, 小鼠肝脏脂肪变性及结肠炎症被显著抑制, 表明青砖茶水提物能够有效地预防 MAFLD 和 UC 的发生。进一步研究发现青砖茶水提物能够通过抑制小鼠肝脏 TLR4/NF- κ B 信号通路, 进而抑制其下游的促炎因子和激活抑炎因子来实现对 MAFLD 预防作用。本研究探讨了从日常饮食途径预防 MAFLD 和 UC 的有效途径, 为临床研究提供坚实的理论基础和实验依据。

参考文献

- [1] ESLAM M, SANYAL A J, GEORGE J, et al. MAFLD: A consensus-driven proposed nomenclature for metabolic associated fatty liver disease [J]. *Gastroenterology*, 2020, 158(7): 1999-2014.
- [2] RIAZI K, AZHARI H, CHARETTE J H, et al. The prevalence and incidence of NAFLD worldwide: A systematic review and meta-analysis [J]. *Lancet Gastroenterology & Hepatology*. 2022, 7(9): 851-861.
- [3] TARGHER G, TILG H, BYRNE C D. Non-alcoholic fatty liver disease: a multisystem disease requiring a multidisciplinary and holistic approach [J]. *Lancet Gastroenterology & Hepatology* 2021, 6(7): 578-588.
- [4] FATIHA N. NAFLD: Mechanisms, treatments, and biomarkers [J]. *Biomolecules*, 2022, 12(6): 824-856.
- [5] CLEVELAND N K, TORRES J, RUBIN D T. What does disease progression look like in ulcerative colitis, and how might it be prevented? [J]. *Gastroenterology*, 2022, 162(5): 1396-1408.
- [6] LONG M D, SMITH T W, DIBONAVENTURA M, et al. Real-world effectiveness of advanced therapies among patients with moderate to severe ulcerative colitis in the United States [J]. *Inflammatory Bowel Diseases*, 2020, 26(6): 941-948.

- [7] PEZZINO S, SOFIA M, FALETRA G, et al. Gut-liver axis and non-alcoholic fatty liver disease: A vicious circle of dysfunctions orchestrated by the gut microbiome [J]. *Biology*, 2022, 11(11): 1622-1682.
- [8] TILG H, ADOLPH T E, TRAUNER M. Gut-liver axis: Pathophysiological concepts and clinical implications [J]. *Cell Metabolism*, 2022, 34(11): 1700-1718.
- [9] WANG N, WU T, DU D, et al. Transcriptome and gut microbiota profiling revealed the protective effect of Tibetan Tea on ulcerative colitis in mice [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2022, 12: 748594-748606.
- [10] WEN S, AN R, LI Z G, et al. Citrus maxima and tea regulate AMPK signaling pathway to retard the progress of nonalcoholic fatty liver disease [J]. *Food Nutrition Research*, 2022, 66: 1-29.
- [11] 卢素芳,郑鹏程,刘盼盼,等.青砖茶研究进展[J].*茶叶学报*,2018,59(3):162-167.
- [12] 许佳乐,汪聪,杨艳鸿,等.黑茶的药理作用研究进展[J].*茶叶通讯*,2022,49 (1):12-17.
- [13] 向琨昱.青砖茶水提取物对非酒精性脂肪性肝病的预防作用及机制探讨[D].宜昌:三峡大学,2023.
- [14] 刘云涛,何建刚,肖长义,等.湖北长盛川青砖茶对 2 型糖尿病合并血脂异常患者胰岛素抵抗、血脂的影响[J].*中国老年学杂志*,2019,39(6):1317-1320.
- [15] 徐叔云,卞如濂,陈修.药理学实验方法学[M].人民卫生出版社,2002.
- [16] 何建刚,黄玮,肖长义,等.青砖茶加工过程品质成分变化研究[J].*食品安全质量检测学报*,2017,8(12):4534-4538.
- [17] 李蕊,赵金伟,宁停波,等.基于网络药理学和分子对接方法研究山花晶颗粒抗视疲劳的作用机制[J].*中草药*, 2021,52(16):4921-4930.
- [18] 宋丽,熊伟,胡宇,等.非酒精性脂肪肝动物模型和疾病表型的研究进展[J].*中华中医药学刊*,2024,42(1):153-160.
- [19] JAMES M E, JENNIFER L E. Diet-induced models of non-alcoholic fatty liver disease: Food for thought on sugar, fat, and cholesterol [J]. *Cells*, 2021, 10(7): 1805-1821.
- [20] BIBI S, LUIS S M, LEBOW N, et al. Dietary green pea protects against DSS-induced colitis in mice challenged with high-fat diet [J]. *Nutrients*, 2017, 9(5): 509-531.
- [21] 万小雨,曾俊豪,张婉怡,等.非酒精性脂肪性肝炎小鼠模型的建立[J].*中国免疫学杂志*,2020,36(16):1925-1930.
- [22] 毛绒,张金玲,杜光.咸宁产青砖茶品质与降血脂作用的研究进展[J].*医药导报*,2018,37(S1):46-49.
- [23] 王伟,高雯琪,胡军,等.青砖茶水提取物对高脂饮食诱导的小鼠肥胖及氧化应激的作用及机制研究[J].*巴楚医学*,2019,2(2):9-15.
- [24] 焦鑫鑫,许敏,吴华,等.鼠尾草酸对葡聚糖硫酸钠诱导的小鼠溃疡性结肠炎的改善作用[J].*现代食品科技*,2024,40(3):18-27.
- [25] FIANCHI F, LIGUORI A, GASBARRINI A, et al. Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) as model of gut-liver axis interaction: From pathophysiology to potential target of treatment for personalized therapy [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(12): 6485-6550.
- [26] SHEN B, WANG J, GUO Y, et al. Dextran sulfate sodium salt-induced colitis aggravates gut microbiota dysbiosis and liver injury in mice with non-alcoholic steatohepatitis [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2021, 12(1): 299-335.
- [27] LI P, CHEN X, DONG M, et al. Gut inflammation exacerbates high-fat diet induced steatosis by suppressing VLDL-TG secretion through HNF4 α pathway [J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 2021, 172(1): 459-469.
- [28] LIU S, WU J, CHEN P, et al. TAK-242 ameliorates hepatic fibrosis by regulating the liver-gut axis [J]. *BioMed Research International*, 2022, 2022:1-12.
- [29] ZHANG P, YANG M, CHEN C, et al. Toll-like receptor 4 (TLR4)/opioid receptor pathway crosstalk and impact on opioid analgesia, immune function, and gastrointestinal motility [J]. *Frontiers in Immunology*, 2020, 11(1): 1455-1499.
- [30] XU Y, WANG N, TAN H, et al. Gut-liver axis modulation of Panax notoginseng saponins in nonalcoholic fatty liver disease [J]. *Hepatology International*, 2021, 5(2): 350-365.