

灵芝孢子油-姜黄素纳米乳的制备及其对溃疡性结肠炎的治疗作用

谢 佩¹, 夏梓东¹, 杨懋勋¹, 于丰彦^{2*}

1. 广东医科大学药学院, 广东东莞 523808

2. 广东医科大学第二临床医学院, 广东东莞 523808

摘要:目的 制备灵芝孢子油-姜黄素纳米乳(GLSO@CUR NEs),探讨其对溃疡性结肠炎(UC)的治疗作用。方法 以吐温80、无水乙醇、灵芝孢子油和姜黄素为主要原料,制备GLSO@CUR NEs。采用透射电镜(TEM)观察纳米颗粒的形貌尺寸,马尔文粒度分析仪测试粒径及Zeta电位,拉曼光谱表征纳米体系中灵芝孢子油特征化学结构,红外光谱表征纳米体系的化学成键,同时分析其在不同生理条件下的稳定性。建立5%葡聚糖硫酸钠(DSS)诱导的UC小鼠模型,从结肠长度、体质量、疾病活动指数(DAI)、结肠病理学组织改变、肠道屏障功能方面观察GLSO@CUR NEs对UC小鼠的治疗作用。结果 GLSO@CUR NEs具有流动性和良好的稳定性,液滴形状,大小均匀。在DSS所致的UC小鼠模型中,GLSO@CUR NEs可显著改善结肠损伤,包括缓解身体质量降低、降低DAI、恢复小鼠结肠长度、改善结肠组织病理学损伤($P<0.05$);还可抑制DSS诱导的肠道肿瘤坏死因子- α (TNF- α)产生,上调细胞因子白介素-4(IL-4)、白介素-10(IL-10)、转化生长因子- β 1(TGF- β 1)及分泌型免疫球蛋白A(SIgA)水平,降低血清D-乳酸水平($P<0.05$),改善肠道屏障功能。结论 成功制备GLSO@CUR NEs,其对DSS所致的UC具有明显的治疗作用。

关键词: 灵芝孢子油; 姜黄素; 纳米乳; 溃疡性结肠炎

DOI: 10.20227/j.cnki.2096-3610.2025.02.008

Preparation of Ganoderma lucidum spore oil curcumin nanoemulsions and its therapeutic effect on ulcerative colitis

XIE Pei¹, XIA Zidong¹, YANG Maoxun¹, YU Fengyan^{2*}

1. College of Pharmacy, Guangdong Medical University, Dongguan 523808, China

2. The Second Clinical College of Medicine, Guangdong Medical University, Dongguan 523808, China

Abstract: Objective Preparation of Ganoderma lucidum spore oil-curcumin nanoemulsions (GLSO@CUR NEs) and explore its therapeutic effect on ulcerative colitis (UC). Methods GLSO@CUR NEs were formulated, consisting of Tween 80, anhydrous ethanol, spore oil and curcumin were developed. The morphology and size of GLSO@CUR NEs were observed by using transmission electron microscope (TEM). Malvern particle size analyzer was used to test nanoparticles size and Zeta potential. The characteristic chemical structure of Ganoderma spore oil in nano systems was analyzed by using Raman spectroscopy. The chemical bonding in NEs was determined by infrared spectroscopy. And the stability of GLSO@CUR NEs was analyzed under different physiological conditions. The protective effect on UC was explored in mice with UC induced by 5% dextran sodium sulfate (DSS). The therapeutic effects of GLSO@CUR NEs on UC mice were observed from several aspects, including colon length, body weight, disease activity index (DAI), colon pathological tissue changes, and intestinal barrier function. Results The developed GLSO@CUR NEs had multiple beneficial properties, including fluidity and excellent stability, and the droplets were uniform in shape and size. In the DSS induced UC mice, GLSO@CUR NEs significantly ameliorated colon injury, including increasing body weight,

收稿日期: 2024-10-25

基金项目: 广东省基础与应用基础研究基金联合基金(2021A1515110858), 广东省中医药局项目(20221205), 湛江市科技计划(2020B01383), 广东医科大学博士科研启动基金(4SG20206P, GDMUB2021021)

作者简介: 谢 佩, 博士, 讲师, E-mail: xiepeiam@163.com

通信作者: 于丰彦, 博士后, 副主任医师, E-mail: yujoyce022@163.com

decreasing the DAI, restoring colon length, and improving histological damage ($P < 0.05$). In addition, GLSO@CUR NEs improved intestinal barrier function by inhibiting DSS induced TNF- α (tumor necrosis factor- α) production, upregulating IL-4 (interleukin-4), IL-10 (interleukin-10), TGF- β 1 (transforming growth factor- β 1) and SIgA (secretory IgA) levels, reducing serum D-lactate levels ($P < 0.05$). **Conclusion** A nanoparticle formulation, GLSO@CUR NEs, was successfully developed and shown to possess therapeutic efficacy against DSS-induced UC.

Key words: Ganoderma lucidum spore oil; curcumin; nanoemulsions; ulcerative colitis

溃疡性结肠炎(UC)是一种慢性、难治性、炎症性肠病,其发病率在全球范围内呈上升趋势^[1-2]。UC发病机制是多因素的,包括基因易感性、上皮屏障缺陷、肠道微生物群紊乱、免疫反应失衡和环境危害^[3-4]。研究表明,UC的发生伴随着小肠功能的显著变化^[5]。而葡聚糖硫酸钠(DSS)造成的损伤不仅局限于UC动物模型中的结肠部位,还会导致小肠的生化和形态学变化^[6]。目前,UC的临床治疗药物主要包括5-氨基水杨酸类药物、类固醇药物、免疫抑制剂等。5-氨基水杨酸药物是临床中治疗轻、中度UC的一线药物,本研究所使用的对照药物柳氮磺胺吡啶是一种常见的5-氨基水杨酸药物。类固醇药物因副作用风险和缺乏长期使用的疗效评价,不用于维持缓解性治疗^[7]。而免疫抑制剂的长期使用可能会导致严重不良反应和并发症。

传统中药灵芝因其多种药用活性而广为人知。研究表明,灵芝可以抑制醋酸性结肠炎大鼠的肠道炎症,减轻黏膜损伤^[8]。灵芝孢子油(GLSO)是一种从破壁的灵芝孢子中提取的油性脂质物质,研究报道其可以通过调节皮肤微生物群抑制炎症,加速皮肤伤口愈合,并通过缓解滑膜炎和中性粒细胞浸润抑制类风湿性关节炎^[9-10]。研究表明,从中药姜黄中提取的姜黄素具有抗氧化、抗炎、降脂、抗肿瘤和降血糖等多种药理活性,可以缓解轻中度UC,改善患者的生活质量^[11-13],但其水溶性差、化学不稳定、口服生物利用度有限且渗透性低^[14-16]。此外,姜黄素作为p-糖蛋白的底物,p-糖蛋白将其从肠膜中排出并限制其渗透性^[17]。Bilia等^[15]通过制备纳米制剂提高了姜黄素的口服生物利用率。Khursheed等^[18-19]亦制备出一种以灵芝提取物和益生菌为载体的固体姜黄素自纳米乳递送系统,提高了姜黄的生物利用度。本研究制备了一种新型的灵芝孢子油-姜黄素纳米乳(GLSO@CUR NEs),并证明了其对UC的保护作用,以期UC的治疗提供新思路。

1 材料和方法

1.1 试剂

灵芝孢子油(广州白云山汉方现代药业有限公司,货号18718);吐温80、无水乙醇、姜黄素、DSS和柳氮磺胺吡啶(上海麦克林生化科技股份有限公司,货号T796772、E809056、C805205、D806297、S838221);HE染液(武汉赛维尔生物科技有限公司,货号G1005);二甲苯(国药集团化学试剂有限公司,货号10023418);IL-2、IL-4、IL-10、TGF- β 1和D-乳酸ELISA试剂盒(睿信生物科技有限公司,货号RX203061M、RX203051M、RX203075M、RX202402M、JRX000036);TNF- α ELISA试剂盒(武汉博士德生物工程有限公司,货号EK0527);分泌型免疫球蛋白A(SIgA)ELISA试剂盒(上海酶联生物科技有限公司,货号ml001917)。

1.2 仪器

H-7650型TEM透射电子显微镜(日本Hitachi), Nano ZS型粒度仪(英国Malvern), Equinox 55型傅立叶变换红外光谱(美国Bruker), LaBRAM HR Evolution拉曼光谱仪(日本Horiba), IX73P2F型倒置光学显微镜(日本Olympus), epoch2型酶联免疫检测仪(美国Bio Tek), JJ-12J型脱水机(武汉俊杰电子有限公司), JB-P5型包埋机(武汉俊杰电子有限公司), RM2016型病理切片机(上海莱卡仪器有限公司), KD-P型组织摊片机(科迪仪器设备有限公司), A16K-R高速冷冻离心机(湖南安君研仪器有限公司)。

1.3 动物

雄性无特定病原体(SPF级)C57BL/6小鼠(8周龄)购于北京华阜康生物科技股份有限公司,饲养于广东医科大学实验动物中心SPF级屏障实验室,光照12 h/12 h明暗交替。本研究动物实验遵循ARRIVE(animal research: reporting in vivo experiments)指南,并通过广东医科大学动物实验伦理委

员会批准(编号GDY2104029)。

1.4 GLSO@CUR NEs的合成

将3 mL吐温80和0.15 mL无水乙醇在室温下搅拌5 min, 400 r/min进行物理交联形成复合凝聚膜。随后将5 mL GLSO缓慢注入复合凝聚膜中, 室温下800 r/min搅拌5 min, 去离子水定容至50 mL, 形成GLSO初乳混合物, 分别将不同质量的姜黄素(10、20、40 mg)溶解在无水乙醇中, 将姜黄素溶液加入到GLSO初乳混合物中, 搅拌15 min形成灵芝孢子油和姜黄素的初乳混合物, 随后转移到高压均质机中均质, 最后形成GLSO@CUR NEs。

1.5 GLSO@CUR NEs的表征

将纳米乳滴在覆盖有硝化纤维素膜的铜网板上, 干燥后使用1%磷钨酸溶液染色。然后采用TEM观察纳米颗粒等形貌尺寸; 马尔文粒度分析仪检测纳米乳液的粒径和Zeta电位(Zeta电位用于评价纳米乳体系的稳定性); 拉曼光谱分析纳米颗粒的特征化学结构; 红外光谱对纳米乳液化学成键进行表征。在蒸馏水和人血清不同条件下, 观察纳米乳液在不同生理条件下的稳定性。

1.6 实验分组和给药

将32只C57BL/6雄性小鼠随机分为4组, 每组8只。对照组小鼠自由饮用去离子水。DSS组小鼠自由饮用去离子水制备的5% DSS 7 d后, 饮用去离子水2 d。GLSO@CUR NEs组给予小鼠0.8 g/L GLSO@CUR NEs(每只小鼠200 μ L, 灌胃给药)和5% DSS(自由饮用), 连续7 d, 然后再单独给予0.8 g/L GLSO@CUR NEs 2 d。柳氮磺胺吡啶组给予小鼠50 g/L柳氮磺胺吡啶(每只小鼠200 μ L, 腹腔注射)和5% DSS(自由饮用), 连续7 d, 然后再单独给予柳氮磺胺吡啶2 d。

1.7 疾病活动指数(DAI)分析

每天记录小鼠身体质量、腹泻和出血情况, 同时DAI进行评分, 将每只小鼠的所有得分相加得到DAI总分^[20]。

1.8 结肠组织病理学观察

结肠组织室温浸泡于4%(w/v)多聚甲醛中过夜, 经梯度乙醇脱水, 石蜡包埋, 连续切片(每片4 μ m), 行苏木精和伊红染色, 最后脱水封片。使用光学显微镜观察结肠切片, 并进行组织病理学评分^[20]。

1.9 小肠组织中分泌型免疫球蛋白A(SIgA)水平

的测定

将小肠从胃十二指肠连接处到回肠—升结肠连接处迅速取出。用预冷PBS缓冲液洗涤小肠, 置于含有胰蛋白酶抑制剂、50 mmol/L EDTA的PBS溶液中。纵向切开肠组织并使用PBS缓冲液清洗, 使小肠内容物溶解在PBS溶液中, 在4 $^{\circ}$ C, 4 500 r/min离心20 min, 收集上清液。采用SIgA酶联免疫吸附测定试剂盒检测SIgA水平。

1.10 血清中D-乳酸水平的测定

采集血液, 在4 $^{\circ}$ C下, 5 600 r/min离心后取血清。采用ELISA试剂盒检查血清中D-乳酸浓度。

1.11 小肠细胞因子水平的测定

剪取接近胃部幽门处2~3 cm一段小肠组织, 称取0.2 g小肠组织样本, 置于蛋白裂解液中, 使用组织匀浆器匀浆完全, 4 $^{\circ}$ C、4 500 r/min离心10 min, 收集上清液。ELISA试剂盒检测上清液中肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白介素-4(IL-4)、白介素-10(IL-10)、转化生长因子- β 1(TGF- β 1)蛋白水平。

1.12 统计学处理

使用GraphPad Prism 7软件对数据进行分析, 所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用One-way ANOVA分析多组间差异, LSD检验用于组间两两比较。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 GLSO@CUR NEs的合成与表征

2.1.1 GLSO@CUR NEs的外观、微观形态、粒径和电位 GLSO@CUR NEs纳米体系总体为黄色, 且姜黄素质量浓度越高, 纳米体系的颜色越深(图1A)。TEM显示, 纳米乳液滴具有均匀的形状和大小(图1B)。马尔文粒度分析仪检测到GLSO@CUR NEs是约70 nm的球形纳米颗粒, 随着姜黄素质量浓度的增加, NEs的粒径没有明显变化(图1C)。姜黄素的Zeta电位约为-7.63 mV, GLSO的Zeta电位约为-5.17 mV, 均质后的GLSO@CUR NEs纳米乳Zeta电位约为-11.43 mV, 见图1D。

2.1.2 GLSO@CUR NEs的稳定性分析 对GLSO@CUR NEs纳米乳体系的稳定性进行监测和分析, 结果见图2。在144 h的监测期间, GLSO@CUR NEs的粒径保持在70~100 nm, 变化不明显。与人血清共孵育144~360 h, 纳米粒度变化相对明显, 颗粒大小从100 nm增大到170 nm左

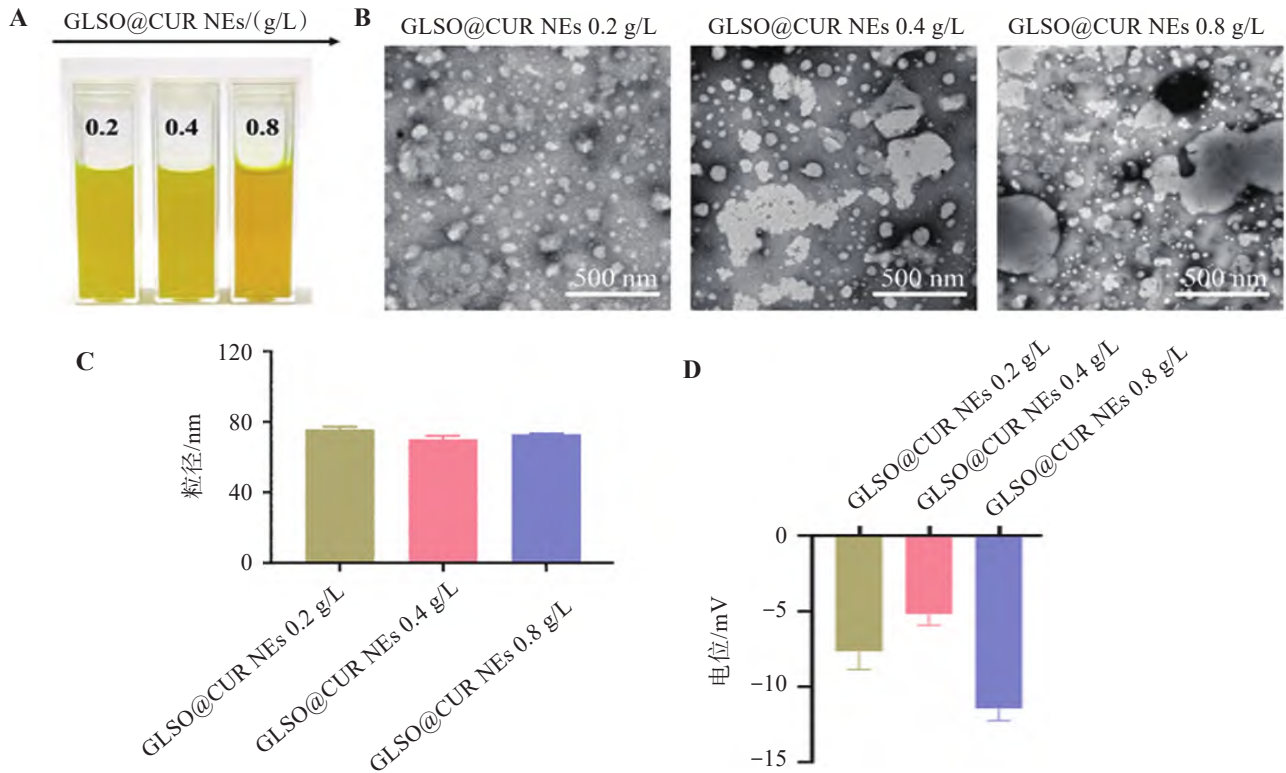


图1 GLSO@CUR NEs的外观、微观形态、粒径和电位

A. 纳米乳颜色; B. TEM图片; C. 粒径图; D. Zeta 电位图。

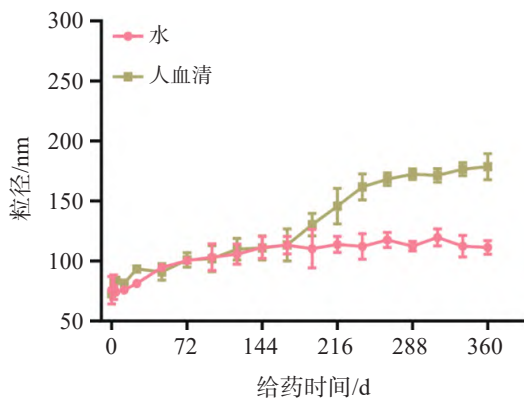


图2 GLSO@CUR NEs的稳定性分析

右。因此, GLSO@CUR NEs 在水环境和生理环境中均能在6 d内保持相对稳定。

2.2 GLSO@CUR NEs 改善 DSS 所致的 UC 小鼠结肠损伤

2.2.1 GLSO@CUR NEs 对 UC 小鼠身体质量的影响

使用柳氮磺胺吡啶作为阳性对照药物, GLSO@CUR NEs 治疗 UC 的疗效如图 3 所示, 5% DSS 诱导结肠炎的小鼠大约在 4 d 后开始出现身体质量减轻, 而服用 GLSO@CUR NEs 的小鼠身体质量减轻症状缓解 ($P < 0.001$)。

2.2.2 GLSO@CUR NEs 对 DSS 诱导 UC 小鼠 DAI

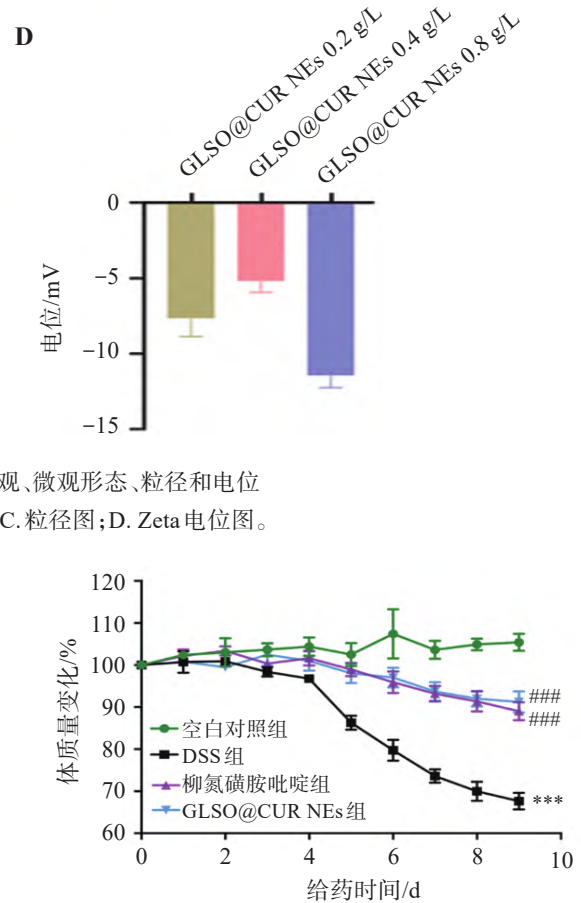


图3 GLSO@CUR NEs 对 UC 小鼠体质量的影响
与空白对照组比较: *** $P < 0.001$; 与 DSS 组比较: ### $P < 0.001$ 。

评分的影响 DAI 常用于评估结肠炎的严重程度, DAI 得分越高, 疾病越严重。DAI 评分结果表明, 与 DSS 组相比, GLSO@CUR NEs 和柳氮磺胺吡啶组小鼠的 DAI 显著降低 ($P < 0.001$ 或 0.01), 见图 4。

2.2.3 GLSO@CUR NEs 对 UC 小鼠结肠长度的影响

GLSO@CUR NEs 组较 DSS 组结肠长度明显增加 ($P < 0.05$), 见图 5。

2.2.4 GLSO@CUR NEs 对 UC 小鼠结肠病理组织学的影响

在 DSS 组小鼠中, 结肠组织出现明显的隐窝丢失, 黏膜溃疡, 杯状细胞数量减少, 炎症细胞浸润。而 GLSO@CUR NEs 和柳氮磺胺吡啶处理小鼠后

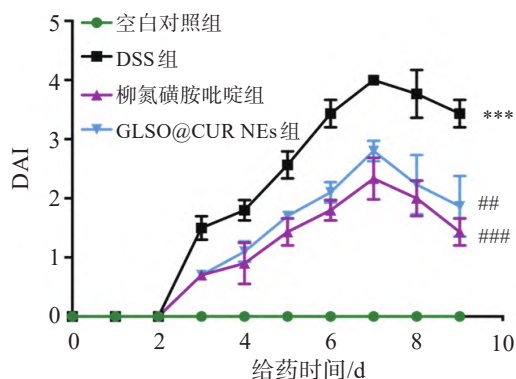


图4 GLSO@CUR NEs对DSS诱导UC小鼠DAI评分的影响与空白对照组比较:*** $P<0.001$;与DSS组比较:## $P<0.01$,### $P<0.001$ 。

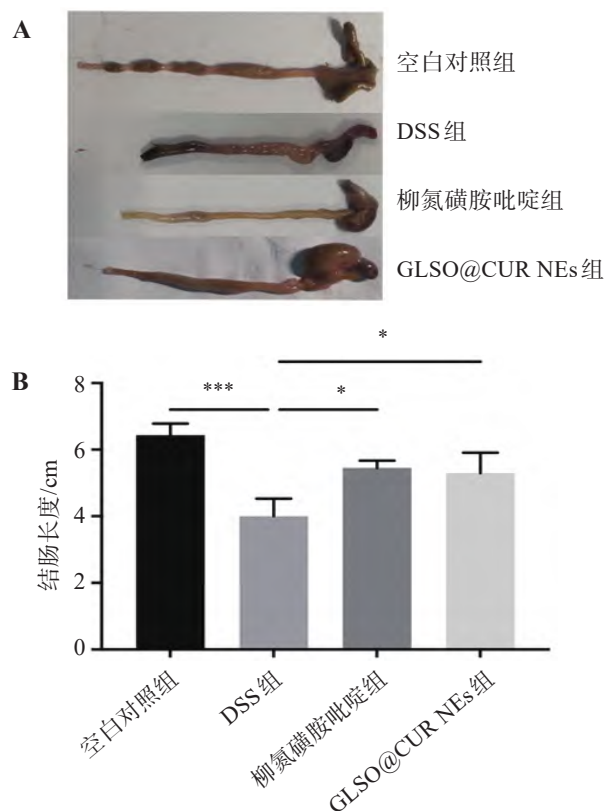


图5 GLSO@CUR NEs对UC小鼠结肠长度的影响 A. 各组结肠图;B. 结肠长度统计图(* $P<0.05$,*** $P<0.001$)。结肠组织的组织学损伤明显减轻($P<0.01$)。见图6。

2.3 GLSO@CUR NEs改善DSS诱导的UC小鼠肠道屏障损伤

2.3.1 GLSO@CUR NEs对UC小鼠炎症反应的影响

ELISA法检测小鼠小肠组织中细胞因子水平的变化,如图7所示,GLSO@CUR NEs处理小鼠后,肠道组织中促炎因子TNF- α 水平明显低于单独DSS处理组($P<0.001$)。此外,与DSS组相比,GLSO@CUR NEs组IL-10、IL-4和TGF- β 1的表达增加($P<0.01$ 或

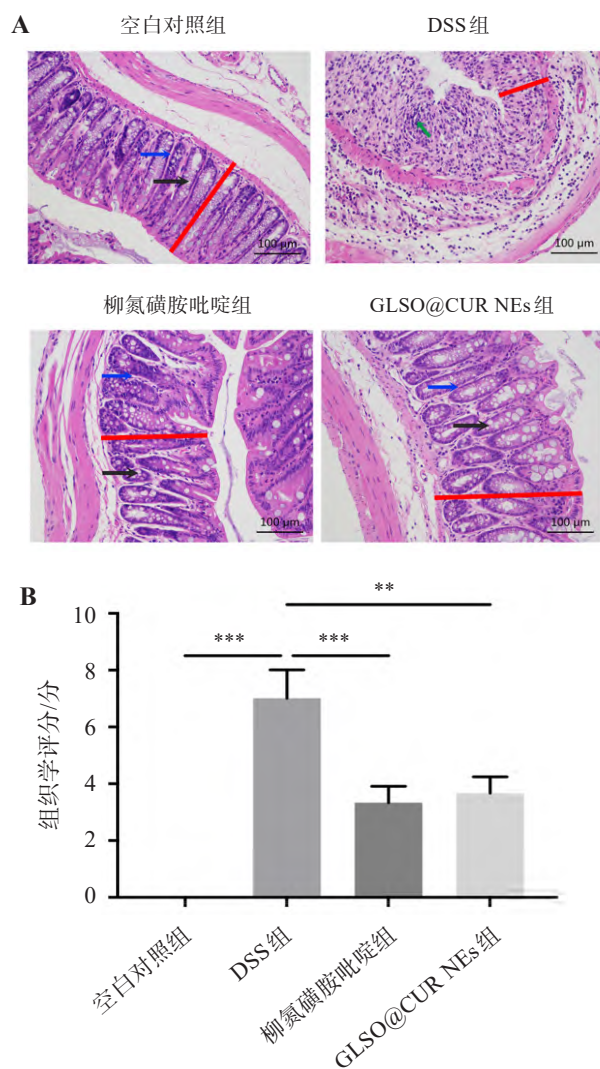


图6 GLSO@CUR NEs对UC小鼠结肠病理组织学的影响

A. H&E染色图($\times 200$);B. 组织学评分(蓝色箭头表示隐窝,绿色箭头表示溃疡,黑色箭头表示杯状细胞,红色线表示黏膜区域,** $P<0.01$,*** $P<0.001$)。

0.05)。结果表明GLSO@CUR NEs可调控DSS诱导UC小肠中细胞因子水平,提示GLSO@CUR NEs可抑制DSS所致小鼠肠道屏障损伤。

2.3.2 GLSO@CUR NEs对UC小鼠中D-乳酸和SIgA水平的影响 如图8A所示,GLSO@CUR NEs可显著降低DSS诱导的D-乳酸水平升高($P<0.05$)。GLSO@CUR NEs显著上调DSS诱导的小肠组织中SIgA的产生($P<0.001$),见图8B。

3 讨论

纳米乳是一种热力学稳定的胶体分散体系,由两种不混溶的液体与乳化剂混合而成^[21]。纳米给药系统具有多种优点,包括更好的药物治疗效果、更

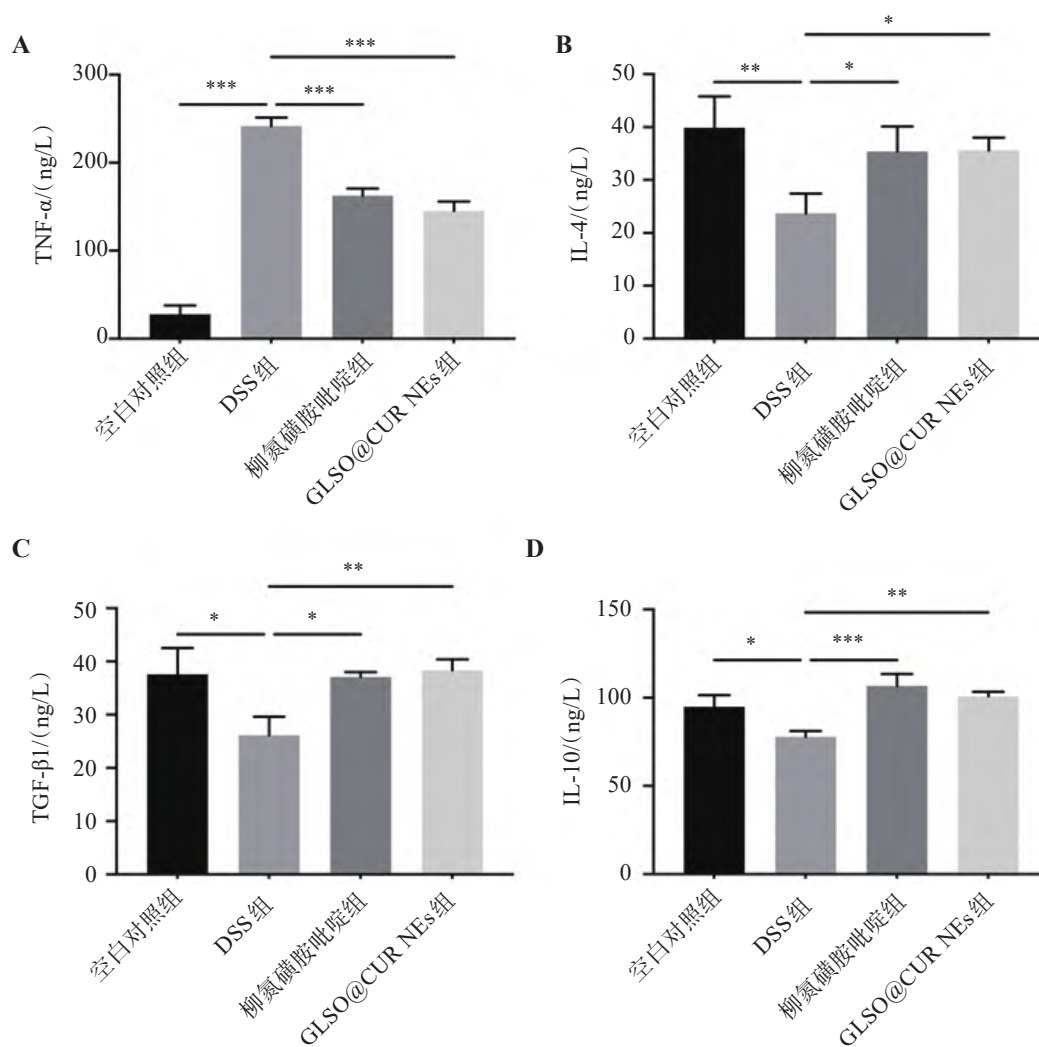


图7 GLSO@CUR NEs对UC小鼠炎症反应的影响

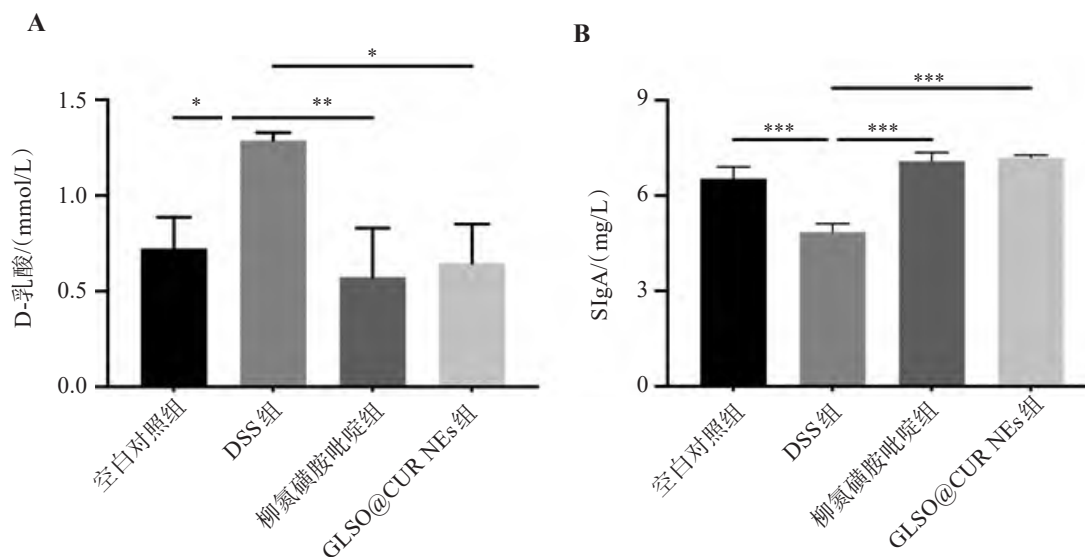
A. TNF- α 蛋白表达; B. IL-4 蛋白表达; C. IL-10 蛋白表达; D. TGF- β 1 蛋白表达; * P <0.05, ** P <0.01, *** P <0.001。

图8 GLSO@CUR NEs对UC小鼠中D-乳酸和SIgA水平的影响

A. D-乳酸蛋白表达; B. SIgA 蛋白表达; * P <0.05, ** P <0.01, *** P <0.001。

小的副作用和更高的生物利用度^[22]。纳米乳不仅能提高姜黄素在水中的溶解度、生物利用度等,而且能提高姜黄素的抗氧化、抗癌及抗炎作用^[23-24]。因此,纳米乳剂被认为是一种非常有前途的药物载体。研究证明,纳米药物能够缩短结肠长度、缓解身体质量降低DAI、减少结肠组织损伤和抑制炎症因子的产生,是治疗UC的一种很有前景的方法^[25-27]。

本研究合成了由吐温80、无水乙醇、灵芝孢子油和姜黄素组成的孢子油-姜黄素纳米乳,并对其进行了表征。液滴尺寸是表征纳米成型性能的重要参数。由液滴大小测定可知GLSO@CUR NEs的液滴大小约为70 nm。GLSO@CUR NEs的TEM图像显示其具有均匀的形状和大小。研究发现,评价纳米级给药体系的稀释稳定性和热力学稳定性具有重要的意义^[25]。本研究结果表明GLSO@CUR NEs在水环境或生理环境中6 d内均具有较好的稳定性,能够满足后续药物开发和应用的要求。

基于上述结果,研究进一步评估了GLSO@CUR NEs对UC的保护作用,发现GLSO@CUR NEs可以有效缓解DSS诱导的结肠炎小鼠身体质量的减轻、DAI评分的升高和结肠长度的缩短。此外,组织病理学观察进一步证实了GLSO@CUR NEs对UC的治疗作用:GLSO@CUR NEs可显著改善黏膜损伤和炎症细胞浸润。综上,GLSO@CUR NEs可以通过抑制结肠组织炎症防治DSS诱导的UC。

肠道屏障的破坏导致肠道微生物易位,促进促炎细胞因子的产生,从而促进黏膜免疫系统的高度激活,加重炎症性肠病的炎症反应^[28-29]。细胞因子IL-10、IL-4和TGF- β 1是免疫抑制和免疫调节因子,可有效抑制促炎细胞因子的合成和抗原递呈,从而减轻炎症反应^[30-32]。研究报道,在UC模型中,肠道免疫系统关键信号IL-10、IL-4和TGF- β 1细胞因子水平升高可抑制肠道黏膜的炎症和损伤^[33-34]。此外,TNF- α 等细胞因子的不平衡释放会加重炎症反应。因为TNF- α 水平在DSS诱导的UC中显著升高,所以抑制TNF- α 的产生可以有效改善溃疡性结肠炎^[35-36]。本研究中,GLSO@CUR NEs能够显著抑制5% DSS诱导的TNF- α 蛋白表达,并上调免疫调节介质IL-10、IL-4和TGF- β 1的产生。上述结果提示GLSO@CUR NEs对DSS诱导的结肠炎小鼠具有保护作用,其机制可能是通过降低促炎细胞因子和增加抗炎细胞因子重塑肠道屏障结构。

肠上皮细胞与先天免疫系统形成的肠屏障维

持着肠黏膜腔内容物的平衡^[37-38]。一旦肠屏障被破坏,D-乳酸就会通过受损的屏障进入血液,因此D-乳酸是评价肠屏障损伤程度的一个重要指标。本研究发现UC小鼠肠道中活性消化蛋白酶D-乳酸升高可破坏肠道组织结构,增加肠道通透性,结果证明GLSO@CUR NEs可以通过抑制DSS引起的D-乳酸水平升高保护肠道屏障。

SIgA是肠黏膜浆细胞分泌的一种免疫球蛋白,是肠黏膜的第一道防线,能中和病毒、细菌等有害抗原,在局部抗感染作用中起关键作用^[39-41]。有研究报道,DSS可抑制肠道SIgA的分泌,从而干扰免疫调节,加重肠黏膜损伤^[42]。本研究结果同样表明,DSS处理小鼠的肠道SIgA水平低于空白对照组;给予GLSO@CUR NEs后,小鼠肠道SIgA含量显著高于UC小鼠,表明GLSO@CUR NEs可上调小鼠肠黏膜SIgA的分泌。

综上所述,本研究成功合成了GLSO@CUR NEs,并对GLSO@CUR NEs在小鼠体内的抗UC作用进行了评价,结果表明GLSO@CUR NEs对小鼠UC具有明显的抗炎作用,可以减轻结肠损伤,保护肠道屏障功能。本研究为GLSO@CUR NEs治疗UC的临床应用提供了实验基础。

参考文献:

- [1] LI H, FAN C, FENG C, et al. Inhibition of phosphodiesterase-4 attenuates murine ulcerative colitis through interference with mucosal immunity [J]. *Br J Pharmacol*, 2019, 176(13): 2209-2226.
- [2] KUWADA T, SHIOKAWA M, KODAMA Y, et al. Identification of an anti-integrin α v β 6 autoantibody in patients with ulcerative colitis [J]. *Gastroenterology*, 2021, 160(7): 2383-2394.
- [3] SARTOR R B. Mechanisms of disease: pathogenesis of Crohn's disease and ulcerative colitis [J]. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol*, 2006, 3(7): 390-407.
- [4] SHEN Z H, ZHU C X, QUAN Y S, et al. Relationship between intestinal microbiota and ulcerative colitis: mechanisms and clinical application of probiotics and fecal microbiota transplantation [J]. *World J Gastroenterol*, 2018, 24(1): 5-14.
- [5] MOURAD F H, BARADA K A, SAADE N E. Impairment of small intestinal function in ulcerative colitis: role of enteric innervation [J]. *J Crohns Colitis*, 2017, 11(3): 369-377.
- [6] YAZBECK R, HOWARTH G S, BUTLER R N, et al. Biochemical and histological changes in the small intestine of mice with dextran sulfate sodium colitis [J]. *J Cell Physiol*, 2011, 226(12): 3219-3224.
- [7] BRESSLER B, MARSHALL J K, BERNSTEIN C N, et al.

- Clinical practice guidelines for the medical management of nonhospitalized ulcerative colitis: the Toronto consensus [J]. *Gastroenterology*, 2015, 148(5): 1035-1058.
- [8] ÖZDEN H, ŞAHİN Y, KILITÇI A, et al. Comparison of the healing effects of mesazaline and *Ganoderma lucidum* in acetic acid-induced colitis in rats[J]. *Ann Surg Treat Res*, 2022, 102(1): 29-35.
- [9] JIAO C, XIE Y, YUN H, et al. The effect of *Ganoderma lucidum* spore oil in early skin wound healing: interactions of skin microbiota and inflammation[J]. *Aging (Albany NY)*, 2020, 12(14): 14125-14140.
- [10] HEO Y, KIM M, SUMINDA G G D, et al. Inhibitory effects of *Ganoderma lucidum* spore oil on rheumatoid arthritis in a collagen-induced arthritis mouse model[J]. *Biomed Pharmacother*, 2023, 157: 114067.
- [11] GOULART R A, BARBALHO S M, RUBIRA C J, et al. Curcumin therapy for ulcerative colitis remission: systematic review and meta-analysis[J]. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*, 2020, 14(12): 1171-1179.
- [12] SADEGHI N, MANSOORI A, SHAYESTEH A, et al. The effect of curcumin supplementation on clinical outcomes and inflammatory markers in patients with ulcerative colitis[J]. *Phytother Res*, 2020, 34(5): 1123-1133.
- [13] LIN Y, LIU H, BU L, et al. Review of the effects and mechanism of curcumin in the treatment of inflammatory bowel disease[J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 908077.
- [14] IPAR V S, DSOUZA A, DEVARAJAN P V. Enhancing curcumin oral bioavailability through nanoformulations[J]. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet*, 2019, 44(4): 459-480.
- [15] BILIA A R, BERGONZI M C, ISACCHI B, et al. Curcumin nanoparticles potentiate therapeutic effectiveness of acitretin in moderate-to-severe psoriasis patients and control serum cholesterol levels[J]. *J Pharm Pharmacol*, 2018, 70(7): 919-928.
- [16] WANG Y, SUN R, XU X, et al. Mechanism of enhancing the water-solubility and stability of curcumin by using self-assembled cod protein nanoparticles at an alkaline pH [J]. *Food Funct*, 2021, 12(24): 12696-12705.
- [17] JOHN M K, XIE H, BELL E C, et al. Development and pharmacokinetic evaluation of a curcumin co-solvent formulation[J]. *Anticancer Res*, 2013, 33(10): 4285-4291.
- [18] KHURSHEED R, SINGH S K, WADHWA S, et al. Exploring role of probiotics and *Ganoderma lucidum* extract powder as solid carriers to solidify liquid self-nanoemulsifying delivery systems loaded with curcumin[J]. *Carbohydr Polym*, 2020, 250: 116996.
- [19] KHURSHEED R, SINGH S K, KUMAR B, et al. Self-nanoemulsifying composition containing curcumin, quercetin, *Ganoderma lucidum* extract powder and probiotics for effective treatment of type 2 diabetes mellitus in streptozotocin induced rats[J]. *Int J Pharm*, 2022, 612: 121306.
- [20] MA J, YIN G, LU Z, et al. Casticin prevents DSS induced ulcerative colitis in mice through inhibitions of NF- κ B pathway and ROS signaling [J]. *Phytother Res*, 2018, 32(9): 1770-1783.
- [21] SABJAN K B, MUNAWAR S M, RAJENDIRAN D, et al. Nanoemulsion as oral drug delivery - a review[J]. *Curr Drug Res Rev*, 2020, 12(1): 4-15.
- [22] MOHD ZAFFARIN A S, NG S F, NG M H, et al. Pharmacology and pharmacokinetics of vitamin E: nanoformulations to enhance bioavailability[J]. *Int J Nanomedicine*, 2020, 15: 9961-9974.
- [23] JIANG T, LIAO W, CHARCOSSET C. Recent advances in encapsulation of curcumin in nanoemulsions: a review of *Food Res Int*, 2020, 132: 109035.
- [24] HU Q, LUO Y. Chitosan-based nanocarriers for encapsulation and delivery of curcumin: a review [J]. *Int J Biol Macromol*, 2021, 179: 125-135.
- [25] DOU Y X, ZHOU J T, WANG T T, et al. Self-nanoemulsifying drug delivery system of bruceine D: a new approach for anti-ulcerative colitis[J]. *Int J Nanomedicine*, 2018, 13: 5887-5907.
- [26] WU Y, SUN M, WANG D, et al. A PepT1 mediated medicinal nano-system for targeted delivery of cyclosporine A to alleviate acute severe ulcerative colitis[J]. *Biomater Sci*, 2019, 7(10): 4299-4309.
- [27] LI Z, ZHANG X, LIU C, et al. Macrophage-biomimetic nanoparticles ameliorate ulcerative colitis through reducing inflammatory factors expression[J]. *J Innate Immun*, 2021: 1-13.
- [28] AMOROSO C, PERILLO F, STRATI F, et al. The role of gut microbiota biomodulators on mucosal immunity and intestinal inflammation[J]. *Cells*, 2020, 9(5): 1234.
- [29] WU Y, JHA R, LI A, et al. Probiotics (*Lactobacillus plantarum* HNU082) supplementation relieves ulcerative colitis by affecting intestinal barrier functions, immunity-related gene expression, gut microbiota, and metabolic pathways in mice[J]. *Microbiol Spectr*, 2022, 10(6): e0165122.
- [30] MOHAMED ELASHIRY M, TIAN F, ELASHIRY M, et al. *Enterococcus faecalis* shifts macrophage polarization toward M1-like phenotype with an altered cytokine profile [J]. *J Oral Microbiol*, 2021, 13(1): 1868152.
- [31] ZAYED M, ADAIR S, DHAR M. Effects of normal synovial fluid and interferon gamma on chondrogenic capability and immunomodulatory potential respectively on equine mesenchymal stem cells[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(12): 6391.
- [32] FAN L, QI Y, QU S, et al. *B. adolescentis* ameliorates

- chronic colitis by regulating Treg/Th2 response and gut microbiota remodeling[J]. Gut Microbes, 2021, 13(1): 1-17.
- [33] MAHMOUD T N, EL-MAADAWY W H, KANDIL Z A, et al. Canna x generalis L.H. Bailey rhizome extract ameliorates dextran sulfate sodium-induced colitis via modulating intestinal mucosal dysfunction, oxidative stress, inflammation, and TLR4/ NF- κ B and NLRP3 inflammasome pathways[J]. J Ethnopharmacol, 2021, 269: 113670.
- [34] ZHAO Y, LUAN H, JIANG H, et al. Gegen Qinlian decoction relieved DSS-induced ulcerative colitis in mice by modulating Th17/Treg cell homeostasis via suppressing IL-6/JAK2/STAT3 signaling[J]. Phytomedicine, 2021, 84: 153519.
- [35] 樊俐慧, 朱向东, 王志刚, 等. 痛泻要方对肝郁脾虚型溃疡性结肠炎大鼠肠黏膜的保护作用[J]. 中成药, 2024, 46(7): 2189-2195.
- [36] 张艳, 龚家顺, 梁景星. 美沙拉嗪联合益生菌对轻中度溃疡性结肠炎患者炎症因子及肠黏膜屏障功能的影响[J]. 临床消化病杂志, 2024, 36(1): 22-26.
- [37] RAMOS G P, PAPADAKIS K A. Mechanisms of disease: inflammatory bowel diseases[J]. Mayo Clin Proc, 2019, 94(1): 155-165.
- [38] ANTONI L, NUDING S, WEHKAMP J, et al. Intestinal barrier in inflammatory bowel disease[J]. World J Gastroenterol, 2014, 20(5): 1165-1179.
- [39] ZHOU X, LU Q, KANG X, et al. Protective role of a new polysaccharide extracted from *Lonicera japonica* thunb in mice with ulcerative colitis induced by dextran sulphate sodium[J]. Biomed Res Int, 2021, 2021: 8878633.
- [40] SALERNO-GONCALVES R, SAFAVIE F, FASANO A, et al. Free and complexed-secretory immunoglobulin A triggers distinct intestinal epithelial cell responses[J]. Clin Exp Immunol, 2016, 185(3): 338-347.
- [41] GREENBAUM E, ENGELHARD D, LEVY R, et al. Mucosal (SIgA) and serum (IgG) immunologic responses in young adults following intranasal administration of one or two doses of inactivated, trivalent anti-influenza vaccine[J]. Vaccine, 2004, 22(20): 2566-2577.
- [42] 孙中美, 李军祥, 路琼琼, 等. 清肠温中方联合粪菌移植对溃疡性结肠炎小鼠肠黏膜免疫的调控作用[J]. 西部中医药, 2024, 37(2): 9-13

(责任编辑:李 晓)