本文引用: 王浩, 丁佳丽, 蔡修成, 杨丽娟, 张心愿, 孙光军, 张晓雨, 肖文洁, 蔡易凡, 林爱珍. 基于Nrf2SLC7A11GPX4信号通路探究芩连燥湿汤通过抑制铁死亡治疗溃疡性结肠炎的作用机制[J]. 湖南中医药大学学报, 2026, 46(10): 1983-1990.

基于Nrf2/SLC7A11/GPX4信号通路探究芩连燥湿汤通过抑制铁死亡治疗溃疡性结肠炎的作用机制

王浩[1],丁佳丽[2],蔡修成[1],杨丽娟[1],张心愿[1],孙光军[3],张晓雨[3],肖文洁[3],蔡易凡[3],林爱珍[3,4,5]*

1.湖北中医药大学,湖北 武汉 430065;2.荆门市人民医院,湖北 荆门 448000;3.湖北省中医院,湖北中医药大学附属医院,湖北省中医药研究院,湖北 武汉 430074;4.湖北时珍实验室,湖北 武汉 430061;5.中医肝肾研究及应用湖北省重点实验室,湖北 武汉 430061

〔**摘要**〕**目的** 探讨芩连燥湿汤调节核因子E2相关因子2(Nrf2)/溶质载体家族7成员11(SLC7A11)/谷胱甘肽过氧化物酶4(GPX4)信号通路对溃疡性结肠炎(UC)小鼠铁死亡的影响。**方法** 将84只C57BL/6J小鼠随机分为正常组、模型组、铁死亡抑制剂(Fer-1,1 mg/kg)组、5-氨基水杨酸(5-ASA,0.52 g/kg)组以及芩连燥湿汤低(4.5 g/kg)、中(9 g/kg)、高(18 g/kg)剂量组,每组12只。采用HE染色观察结肠组织病理变化;ELISA检测血清肿瘤坏死因子α(TNF-α)、白细胞介素(IL)-1β及IL-6;微量法检测结肠组织亚铁离子(Fe^{2+})水平、超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)及谷胱甘肽(GSH);电镜观察结肠组织超微结构变化;Western blot检测紧密连接蛋白-1(ZO-1)、紧密连接蛋白(Occludin)、Nrf2、SLC7A11、GPX4、血红素加氧酶1(HO-1)、Kelch样ECH关联蛋白1(Keap1)和脂酰辅酶A合成酶长链家族成员4(ACSL4)蛋白表达水平。**结果** 与正常组相比,模型组小鼠结肠长度显著缩短($P<0.01$),DAI、组织病理学评分显著升高($P<0.01$);血清TNF-α、IL-1β、IL-6水平显著升高($P<0.01$);结肠组织Fe^{2+}、MDA、4-HNE显著升高($P<0.01$),SOD、GSH显著降低($P<0.01$);肠上皮线粒体肿胀、嵴结构消失,出现铁死亡形态损伤;ZO-1、Occludin、Nrf2、SLC7A11、GPX4、HO-1蛋白表达显著下调($P<0.01$),Keap1、ACSL4蛋白表达显著上调($P<0.01$)。与模型组相比,芩连燥湿汤低剂量组DAI评分、血清TNF-α及结肠组织Fe^{2+}、MDA水平降低($P<0.05$),其余指标未见明显改善($P>0.05$);芩连燥湿汤中、高剂量组及Fer-1组、5-ASA组小鼠结肠长度显著增加($P<0.01$)、DAI、组织病理学评分显著降低($P<0.01$)。芩连燥湿汤中剂量组血清TNF-α、IL-1β、IL-6水平显著降低($P<0.01$),线粒体铁死亡样损伤减轻,结肠组织Fe^{2+}、MDA、4-HNE降低($P<0.05$),SOD、GSH升高($P<0.05$),ZO-1、GPX4、SLC7A11蛋白表达水平上调($P<0.05$或$P<0.01$),Keap1蛋白表达水平显著下调($P<0.01$)。芩连燥湿汤高剂量组和Fer-1组血清TNF-α、IL-1β、IL-6水平显著降低($P<0.01$),线粒体铁死亡样损伤减轻,结肠组织Fe^{2+}、MDA、4-HNE显著降低($P<0.01$),SOD、GSH显著升高($P<0.01$),ZO-1、Occludin、Nrf2、SLC7A11、GPX4、HO-1蛋白表达显著上调($P<0.05$或$P<0.01$),Keap1、ACSL4蛋白表达显著下调($P<0.01$)。**结论** 芩连燥湿汤可改善UC小鼠结肠炎症反应,其机制可能与调控Nrf2/SLC7A11/GPX4信号通路有关。

〔**关键词**〕溃疡性结肠炎;肠黏膜屏障;芩连燥湿汤;Nrf2/SLC7A11/GPX4信号通路;铁死亡

〔**中图分类号**〕R285.5 〔**文献标志码**〕A 〔**文章编号**〕doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2026.10.003

Effects and mechanisms of Qinlian Zaoshi Decoction in treating ulcerative colitis by inhibiting ferroptosis via the Nrf2/SLC7A11/GPX4 signaling pathway

*WANG Hao[1], DING Jiali[2], CAI Xiucheng[1], YANG Lijuan[1], ZHANG Xinyuan[1], SUN Guangjun[3], ZHANG Xiaoyu[3], XIAO Wenjie[3], CAI Yifan[3], LIN Aizhen[3,4,5]**

1. Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan, Hubei 430065, China; 2. Jingmen People's Hospital, Jingmen, Hubei 448000, China; 3. Hubei Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Affiliated Hospital of Hubei University of Chinese Medicine, Hubei Provincial Academy of Traditional Chinese Medicine, Wuhan, Hubei 430074, China; 4. Hubei Shizhen Laboratory, Wuhan, Hubei 430061, China; 5. Hubei Provincial Key Laboratory of Liver and Kidney Research and Application of Traditional Chinese Medicine, Wuhan, Hubei 430061, China

〔**Abstract**〕**Objective** To investigate the effects of Qinlian Zaoshi Decoction (QLZSD) on ferroptosis in mice with ulcerative

〔**收稿日期**〕2026-08-06

〔**基金项目**〕湖北省重大疑难疾病中西医临床协作项目(鄂卫通〔2023〕52号);湖北省科技计划项目重点研发专项(2023BCB031);武汉市肛肠疾病中西医结合治疗临床医学研究中心项目(武科〔2023〕123号)。

〔**通信作者**〕* 林爱珍,女,博士,主任医师,E-mail:linaizhen2003@163.com。

colitis (UC) through regulation of the nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2)/solute carrier family 7 member 11 (SLC7A11)/glutathione peroxidase 4 (GPX4) signaling pathway. **Methods** A total of 84 C57BL/6J mice were randomly divided into normal group, model group, ferroptosis inhibitor group (Fer-1, 1 mg/kg), 5-aminosalicylic acid group (5-ASA, 0.52 g/kg), and low-, medium-, and high-dose QLZSD groups (4.5, 9, and 18 g/kg, respectively), with 12 mice in each group. HE staining was used to examine histopathological changes in colonic tissues. Serum levels of tumor necrosis factor-α (TNF-α), interleukin-1β (IL-1β), and interleukin-6 (IL-6) were measured by ELISA. Microassays were used to determine ferrous ion (Fe^{2+}) and malondialdehyde (MDA) levels, superoxide dismutase (SOD) activity, and glutathione (GSH) levels in colonic tissues. Electron microscopy was used to examine ultrastructural changes in colonic tissues. Western blot was used to detect the protein expression levels of zonula occludens-1 (ZO-1), occludin, Nrf2, SLC7A11, GPX4, heme oxygenase-1 (HO-1), Kelch-like ECH-associated protein 1 (Keap1), and acyl-CoA synthetase long-chain family member 4 (ACSL4). **Results** Compared with the normal group, the model group mice showed significantly shortened colon length ($P<0.01$), significantly increased DAI and histopathological scores ($P<0.01$); significantly elevated serum TNF-α, IL-1β, and IL-6 levels ($P<0.01$); significantly increased Fe^{2+}, MDA, and 4-HNE in colon tissue ($P<0.01$), and significantly decreased SOD and GSH ($P<0.01$); intestinal epithelial mitochondria were swollen with loss of cristae structure, showing morphological damage characteristic of ferroptosis; protein expression of ZO-1, Occludin, Nrf2, SLC7A11, GPX4, and HO-1 was significantly downregulated ($P<0.01$), while Keap1 and ACSL4 protein expression was significantly upregulated ($P<0.01$). Compared with the model group, the low-dose QLZSD group showed significantly reduced DAI scores, serum TNF-α, and colon tissue Fe^{2+} and MDA levels ($P<0.05$), with no significant improvement in other indicators ($P>0.05$); the medium- and high-dose QLZSD groups, the Fer-1 group, and the 5-ASA group showed significantly increased colon length ($P<0.01$) and significantly reduced DAI and histopathological scores ($P<0.01$). The medium-dose QLZSD group showed significantly reduced serum TNF-α, IL-1β, and IL-6 levels ($P<0.01$), alleviated mitochondrial ferroptosis-like damage, significantly decreased colon tissue Fe^{2+}, MDA, and 4-HNE ($P<0.05$), significantly increased SOD and GSH ($P<0.05$), significantly upregulated ZO-1, GPX4, and SLC7A11 protein expression ($P<0.05$ or $P<0.01$), and significantly downregulated Keap1 protein expression ($P<0.01$). The high-dose QLZSD group and the Fer-1 group showed significantly reduced serum TNF-α, IL-1β, and IL-6 levels ($P<0.01$), alleviated mitochondrial ferroptosis-like damage, significantly decreased colon tissue Fe^{2+}, MDA, and 4-HNE ($P<0.01$), significantly increased SOD and GSH ($P<0.01$), significantly upregulated ZO-1, Occludin, Nrf2, SLC7A11, GPX4, and HO-1 protein expression ($P<0.05$ or $P<0.01$), and significantly downregulated Keap1 and ACSL4 protein expression ($P<0.01$). **Conclusion** QLZSD can improve colonic inflammatory response in mice with UC, and its mechanism may involve regulation of the Nrf2/SLC7A11/GPX4 signaling pathway.

〔**Keywords**〕 ulcerative colitis; intestinal mucosal barrier; Qinlian Zaoshi Decoction; Nrf2/SLC7A11/GPX4 signaling pathway; ferroptosis

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是肠道炎症疾病,其特征主要是腹痛、腹泻、直肠出血和体重下降[1]。近年来,UC 在世界范围内的发病率持续上升,已成为一种常见的肠道疾病[2]。UC 的发病机制涉及遗传易感、免疫失调和肠道微生态失调等多种因素[3]。UC 的治疗主要针对免疫调节和微生物稳态[4]。氨基水杨酸、皮质类固醇和免疫制剂是目前临床常用药物[5]。尽管上述药物可在短期内缓解 UC 症状,但长期使用仍会引发多种不良反应[6]。因此,寻求更加安全有效的治疗策略迫在眉睫。

芩连燥湿汤为湖北省中医院的协定方,由 6 种等比例的中草药组成,包括黄芩、黄连、白芍、白术、甘草和大枣。药理学研究表明,芩连燥湿汤中的成分具有抗炎、抗氧化、改善肠道屏障等活性。黄芩苷是黄芩的主要成分,可提高超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、谷胱甘肽(glutathione, GSH)活性,增强受损肠组织抗氧化能力,并逆转肠道菌群失调以提升丁酸的产生,改善 UC 大鼠结肠炎症损伤[7]。黄连富含具有抗炎和抗氧化的生物碱,对肠上皮和黏膜屏障的修复作用显著[8]。芍药苷可靶向细胞分裂周期蛋白 42(cell division control protein 42 homolog, CDC42)/c-Jun 氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK)信号通路,抑制炎症、氧化应激和细胞凋亡,有效改善 UC 症状[9]。白术内酯Ⅲ可通过改善线粒体功能来抑制炎症和氧化应激,发挥对肠道屏障的保护作用[10]。尽管上述研究证明,芩连燥湿汤所富含的多种成分可抑制炎症及氧化损伤,改善 UC 肠黏膜损伤,但其机制尚不清楚。因此,有必要更深入地研究其治疗UC 的机制。

铁死亡是一种由铁稳态失衡和脂质过氧化共同导致的新型细胞死亡形式[11]。多项研究表明,抑制铁死亡可显著改善 UC 肠黏膜损伤[12-14]。靶向铁死亡有望成为治疗 UC 的新方法[15]。核因子 E2 相关因子 2(nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Nrf2)/溶质载体家族 7 成员 11(solute carrier family 7 member 11, SLC7A11)/谷胱甘肽过氧化物酶 4(glutathione peroxidase 4, GPX4)信号通路在铁死亡调控中起到至关重要的作用[16]。因此,本研究将围绕 Nrf2/SLC7A11/GPX4 信号通路,系统阐释芩连燥湿汤干预 UC 的分子机制,从而为该复方的临床推广应用奠定理论基础。

1 材料和方法

1.1 动物

84 只雄性 C57BL/6J 小鼠，6~8 周龄，体质量（20±2）g，购自湖北省疾病预防控制中心（动物生产许可证号：SYXK(鄂)2023-0067，使用许可证号：SCXK（鄂）2025-0018）。所有小鼠均饲养于动物实验室，相对湿度 50%±10%，温度（22±2）℃，明暗循环 12 h。湖北中医药大学伦理委员会已批准本实验（伦理批准：HUCMS69900021）。

1.2 实验药物与试剂

黄芩、黄连、白芍、白术、甘草、大枣均购自湖北省中医院（批号：2424090106、2424110117、2424120103、241219、202502013、20250101）。葡聚糖硫酸钠盐（dextran sulfate, DSS）（大连美仑生物技术有限公司，批号：MB5535）；铁死亡抑制剂（Ferrostatin-1, Fer-1）（美国 MedChemExpress 公司，批号：374576）；5-氨基水杨酸（5-aminosalicylic acid, 5-ASA）（上海爱的发制药有限公司，批号：H20143164）；白细胞介素（IL）-1β、IL-6、肿瘤坏死因子-α（tumor necrosis factor-α, TNF-α）、4-羟基壬烯醛（4-hydroxynonenal, 4-HNE）（泉州市睿信生物科技有限公司，批号：RXW203063M、RXW203049M、RXW202412M、JRX-W2004266）；亚铁离子（Fe^{2+}）（索莱宝科技有限公司，批号：BC5415）；GSH、丙二醛（malondialdehyde, MDA）、超氧化物歧化酶（superoxide dismutase, SOD）试剂盒（南京建成生物工程研究所，批号：A061-1、A003-1、A001-1）；紧密连接蛋白（Occludin）、紧密连接蛋白-1（zonula occludens-1, ZO-1）抗体（江苏亲科生物研究中心有限公司，批号：DF7504、AF5145）；GPX4、SLC7A11、Nrf2、血红素加氧酶 1（heme oxygenase-1, HO-1）、Kelch 样ECH 关联蛋白 1（Kelch-like ECH-associated protein 1, Keap1）抗体（杭州臻优品生物科技有限公司，批号：YP-mAb-07891、YP-mAb-17133、YP-mAb-01916、YP-mAb-1867、YP-mAb-04318）；脂酰辅酶 A 合成酶长链家族成员 4（Acyl-CoA synthetase long-chain family member 4, ACSL4）抗体（武汉三鹰生物技术有限公司，批号：22401-1-AP）。

1.3 主要仪器

PL203 天平（瑞士梅特勒托利多公司）；Eclipse Ci 显微镜（日本尼康仪器有限公司）；RT-6100 型酶标仪（深圳雷杜生命科学股份有限公司）；DYY-6C 电泳仪（北京六一生物科技有限公司）；HT7800 透射电子显微镜（日本日立公司）。

2 方法

2.1 芩连燥湿汤制备

芩连燥湿汤（黄芩 15 g、黄连 10 g、白芍 10 g、白术 15 g、甘草 10 g、大枣 10 g），浸泡在 10 倍于药材的蒸馏水中 30 min，煮沸 1 h，通过多层纱布滤取药液；向残余物中加入 8 倍量的蒸馏水，并将混合物再煮沸 1 h，从而提取出药液。将两次药液混匀后浓缩至 1 g/mL。

2.2 分组及给药

小鼠适应性饲养 1 周后，随机分为正常组、模型组、Fer-1（1 mg/kg）[17]组、5-ASA（0.52 g/kg）组以及芩连燥湿汤低（4.5 g/kg）、中（9 g/kg）、高（18 g/kg）剂量组，每组 12 只。除正常组小鼠外，其余小鼠均给予 3% DSS 自由饮用连续 7 d 诱导 UC[18]。造模成功的标准：小鼠出现体质量下降、腹泻、便血等表现，DAI 评分较正常组显著升高；解剖可见结肠长度显著缩短；HE 染色显示结肠黏膜上皮损伤、隐窝破坏及炎症细胞浸润等典型 UC 病理改变[19]。在服用 DSS 3 d 后给药，芩连燥湿汤低、中、高剂量组给予相应剂量药物灌胃，Fer-1 组给予铁死亡抑制剂腹腔注射，5-ASA 组给予 5-ASA 灌胃，连续给药 7 d。正常组和模型组小鼠给予等体积生理盐水灌胃。造模成功后，每组随机选取 6 只小鼠纳入统计分析，用于结肠长度测定、DAI 评分、HE 染色及生化指标检测；于上述 6 只小鼠中随机选取 3 只分离结肠黏膜组织，用于 Western blot 蛋白检测与透射电镜线粒体超微结构观察。上述蛋白及超微结构检测属于机制探索内容，重点观察芩连燥湿汤对铁死亡的调控作用，仅设置正常组、模型组、芩连燥湿汤各剂量组、Fer-1 组，未纳入 5-ASA 组。

2.3 疾病活动指数（disease activity index, DAI）评估

DAI 被用于评估 UC 严重程度，通过每日观察体质量变化、粪便性状和出血程度进行评分[20]。体质量下降率评分：体质量没有变化为 0 分；下降 1%~5%为 1 分；下降 6%~10%为 2 分；下降 11%~15%为 3 分；下降>15%为 4 分。大便性状评分：正常为 0 分；便软为 2 分；稀便为 4 分。大便隐血评分：正常为 0 分；隐血阳性为 2 分；血便为4 分。DAI=（体质量下降率评分+大便性状评分+大便隐血评分）/3。

2.4 HE 染色观察组织病理学变化

将固定于 4%多聚甲醛中的小鼠结肠组织脱水、石蜡包埋并切成 5 μm 厚的切片，随后进行苏木精-伊红染色。显微镜下观察组织学特征。根据病理学变化对切片进行组织病理学评分。

2.5 ELISA 检测血清 TNF-α、IL-1β、IL-6 水平

将适量血清离心（5 000×*g*，10 min）后取上清液待测。TNF-α、IL-1β 和 IL-6 水平依据配套试剂盒说明书进行测定。严格按照试剂盒说明书操作，于

450 nm 波长处测定各孔 OD 值，根据标准曲线计算各样本中炎症因子的浓度。

2.6 透射电子显微镜观察结肠组织超微结构变化

电镜下观察小鼠结肠组织线粒体变化。新鲜结肠组织经 PBS 漂洗后切为 1 mm^3 小块，4 ℃戊二醛固定过夜；PBS 洗涤 30 min 后以 1%锇酸后固定 2 h，乙醇梯度脱水，丙酮置换 2 次，环氧树脂包埋。切制 60 nm 超薄切片，经柠檬酸铅-醋酸铀双染色后透射电镜观察超微结构。于透射电镜下观察肠上皮细胞线粒体形态、嵴结构、微绒毛排列及紧密连接结构。

2.7 微量法检测 Fe^{2+}、SOD、MDA、GSH、4-HNE 水平

结肠组织按 1∶9(w/v)加入预冷生理盐水，冰浴匀浆。匀浆液于 4 ℃、10 000×*g* 离心 10 min，收集上清液。采用 Fe^{2+}检测试剂盒于 593 nm 处测定吸光度(OD 值)，计算上清中 Fe^{2+}含量。另取上清液，按试剂盒说明书测定 SOD 活性及 MDA、GSH、4-HNE 含量，并以 BCA 法测定蛋白浓度进行校正。

2.8 Western blot 检测结肠组织 Nrf2/SLC7A11/GPX4 信号通路相关蛋白水平

取结肠组织样本提取总蛋白。经电泳、转膜、TBST 封闭后与相应一抗进行孵育：ZO-1、Occludin、GPX4、Nrf2、HO-1、Keap1(1∶1 000)，SLC7A11(1∶500)，4 ℃孵育过夜，用二抗(1∶5 000)室温孵育 1 h。最后，使用化学凝胶成像系统获取图像，并进行蛋白表达分析。以 GAPDH 为内参，采用 ImageJ 软件对各蛋白条带灰度值进行定量分析。

2.9 统计学分析

所有数据用“$\bar{x}\pm s$”的方式表示。两组间比较满足正态分布及方差齐性时采用独立样本 *t* 检验；多组间比较采用单因素方差分析，若方差齐则选用 LSD 法进行两两比较，若方差不齐则采用非参数 *Kruskal-Wallis* 检验并基于该检验结果开展两两比较。采用 GraphPad Prism 10 进行统计学分析。均以 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 芩连燥湿汤对 UC 小鼠结肠长度、DAI 评分的影响

与正常组相比，模型组小鼠结肠长度显著缩短($P<0.01$)、DAI 评分显著升高($P<0.01$)。与模型组相比，芩连燥湿汤低剂量组 DAI 评分降低($P<0.05$)；芩连燥湿汤中、高剂量组及Fer-1 组、5-ASA 组小鼠结肠长度显著增加($P<0.01$)、DAI 评分显著降低($P<0.01$)。详见图 1 和表1。

表 1 芩连燥湿汤对 UC 小鼠结肠长度的影响($\bar{x}\pm s$，$n=6$)

Table 1 Effects of QLZSD on colon length in mice with UC ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

分组	结肠长度/cm
正常组	6.833±0.579
模型组	4.447±0.449##
芩连燥湿汤低剂量组	4.967±0.416
芩连燥湿汤中剂量组	6.323±0.375**
芩连燥湿汤高剂量组	6.687±0.459**
Fer-1 组	6.248±0.334**
5-ASA 组	6.283±0.343**

注：与正常组相比，##$P<0.01$；与模型组相比，**$P<0.01$。

3.2 芩连燥湿汤对 UC 小鼠组织病理学的影响

正常组小鼠结肠黏膜结构完好，上皮细胞排列规整，隐窝形态正常，固有层无明显炎症细胞浸润。与正常组相比，模型组肠组织病理学评分明显升高($P<0.01$)，其黏膜上皮细胞有明显损伤，部分上皮细胞脱落，隐窝结构严重破坏，减少甚至消失，固有层可见大量淋巴细胞、中性粒细胞等炎症细胞浸润。与模型组相比，芩连燥湿汤中、高剂量组及 Fer-1 组、5-ASA 组小鼠结肠组织病理学评分显著降低($P<0.01$)。详见图 2、表 2。

3.3 芩连燥湿汤对 UC 小鼠血清炎症因子的影响

与正常组相比，模型组小鼠血清炎症因子(TNF-

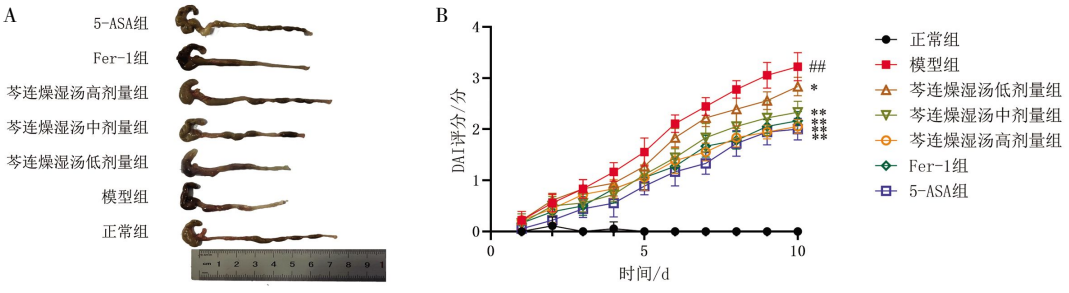


图 1 芩连燥湿汤对 UC 小鼠结肠长度、DAI 评分的影响($\bar{x}\pm s$，$n=6$)

Fig.1 Effects of QLZSD on colon length and DAI score in mice with UC ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

注：A.结肠长度；B.DAI 评分。与正常组相比，##$P<0.01$；与模型组相比，*$P<0.05$，**$P<0.01$。

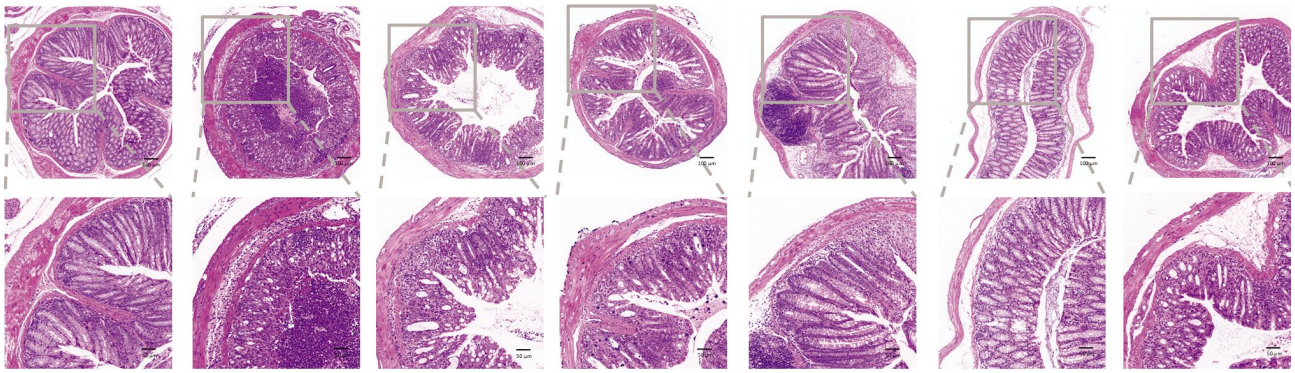


图 2　芩连燥湿汤对 UC 小鼠组织病理学的影响($\bar{x}\pm s$, n=6, 上图标尺 100 μm, 下图标尺 50 μm)

Fig.2　Effects of QLZSD on colonic histopathology in mice with UC ($\bar{x}\pm s$, n=6, scale bars: 100 μm-upper, 50 μm-lower)

表 2　芩连燥湿汤对 UC 小鼠组织病理学的影响($\bar{x}\pm s$, n=6)

Table 2　Effects of QLZSD on colonic histopathology in mice with UC ($\bar{x}\pm s$, n=6)

分组	结肠组织病理学评分/分
正常组	1.333±1.633
模型组	11.830±0.753##
芩连燥湿汤低剂量组	10.170±1.835
芩连燥湿汤中剂量组	6.667±0.817**
芩连燥湿汤高剂量组	5.167±1.169**
Fer-1 组	5.000±0.894**
5-ASA 组	4.667±0.817**

注：与正常组相比，##P<0.01；与模型组相比，**P<0.01。

α、IL-1β 和 IL-6)水平显著升高(P<0.01)。与模型组相比，芩连燥湿汤低剂量组小鼠血清 TNF-α 水平降低(P<0.05)，芩连燥湿汤中、高剂量组及 Fer-1 组、5-ASA 组小鼠血清 TNF-α、IL-1β 和 IL-6 水平均显著降低(P<0.01)。详见表 3。

3.4　芩连燥湿汤对 UC 小鼠肠黏膜屏障的影响

与正常组相比，模型组小鼠结肠组织 ZO-1、Occludin 蛋白表达水平显著降低(P<0.01)。与模型组相比，芩连燥湿汤中剂量组ZO-1 蛋白表达水平显著升高(P<0.01)，芩连燥湿汤高剂量组和 Fer-1 组 ZO-1、Occludin 蛋白表达水平均升高(P<0.05 或 P<0.01)。详见图 3 和表 4。

3.5　芩连燥湿汤对 UC 小鼠结肠组织线粒体超微结构的影响

正常组小鼠结肠组织微绒毛形态规则，排列整齐，线粒体形态正常，嵴结构清晰。与正常组相比，模型组小鼠结肠组织微绒毛稀疏，形态不规则，间隙连接破坏，线粒体肿胀、变形，嵴萎缩或消失。与模型组相比，芩连燥湿汤中、高剂量组和 Fer-1 组小鼠结肠组织线粒体超微结构损伤均有不同程度改善，其中高剂量组改善较明显。详见图 4。

3.6　芩连燥湿汤对 UC 小鼠结肠组织 Fe^{2+}、SOD、MDA、GSH、4-HNE 水平的影响

与正常组相比，模型组小鼠结肠组织 SOD 和 GSH 水平显著降低(P<0.01)，而 Fe^{2+}、MDA 和 4-HNE 水平显著上升(P<0.01)。与模型组相比，芩连燥湿汤低剂量组小鼠结肠组织Fe^{2+}、MDA 水平降低(P<0.05)；芩连燥湿汤中、高剂量组及 Fer-1 组 SOD、GSH 水平升高(P<0.05 或 P<0.01)，Fe^{2+}、MDA 和 4-HNE 水平降低(P<0.05 或 P<0.01)。详见表 5。

3.7　芩连燥湿汤对 UC 小鼠结肠组织 ACSL4、GPX4、SLC7A11、Nrf2、HO-1、Keap1 蛋白表达的影响

与正常组相比，模型组小鼠结肠组织 GPX4、SLC7A11、Nrf2 和 HO-1 蛋白表达水平显著降低(P<

表 3　芩连燥湿汤对 UC 小鼠血清炎症因子的影响(pg/mL, $\bar{x}\pm s$, n=6)

Table 3　Effects of QLZSD on serum inflammatory factors in mice with UC (pg/mL, $\bar{x}\pm s$, n=6)

分组	TNF-α	IL-1β	IL-6
正常组	261.200±52.630	39.440±11.510	28.660±8.393
模型组	505.600±34.010##	79.930±12.090##	74.720±13.250##
芩连燥湿汤低剂量组	432.800±44.970*	71.200±10.950	61.900±5.775
芩连燥湿汤中剂量组	363.800±40.690**	57.590±6.637**	43.960±3.356**
芩连燥湿汤高剂量组	286.100±42.130**	48.220±9.430**	40.200±6.151**
Fer-1 组	324.000±31.340**	45.510±5.607**	43.120±9.206**
5-ASA 组	282.100±28.690**	43.830±4.005**	37.350±3.898**

注：与正常组相比，##P<0.01；与模型组相比，*P<0.05，**P<0.01。

表 4 芩连燥湿汤对 UC 小鼠肠黏膜屏障的影响($\bar{x}\pm s$,n=3)

Table 4 Effects of QLZSD on the intestinal mucosal barrier in mice with UC ($\bar{x}\pm s$, n=3)

分组	ZO-1	Occludin
正常组	1.000±0.113	1.000±0.112
模型组	0.047±0.018##	0.268±0.057##
芩连燥湿汤低剂量组	0.187±0.073	0.328±0.090
芩连燥湿汤中剂量组	0.546±0.112**	0.562±0.046
芩连燥湿汤高剂量组	0.906±0.114**	0.862±0.181*
Fer-1 组	0.703±0.075**	0.750±0.195*

注:与正常组相比,##P<0.01;与模型组相比,*P<0.05,**P<0.01。

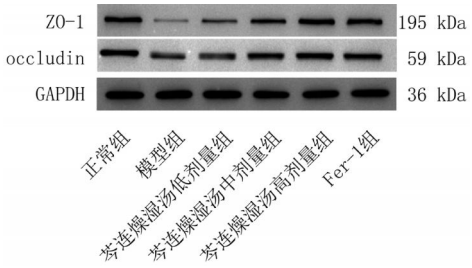


图 3 芩连燥湿汤对 UC 小鼠肠黏膜屏障的影响($\bar{x}\pm s$,n=3)

Fig.3 Effects of QLZSD on the intestinal mucosal barrier in mice with UC ($\bar{x}\pm s$, n=3)

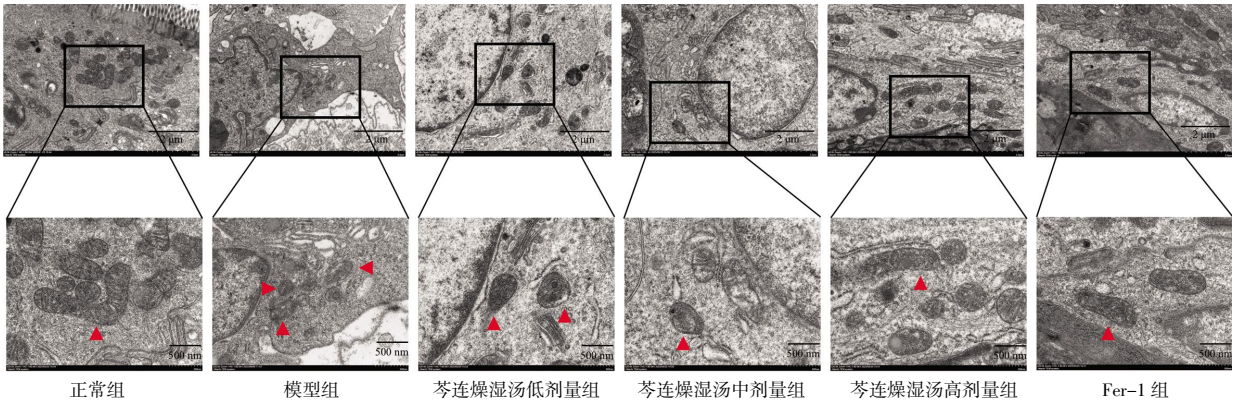


图 4 芩连燥湿汤对 UC 小鼠结肠组织线粒体超微结构的影响(n=3)

Fig.4 Effects of QLZSD on the mitochondrial ultrastructure of colonic tissues in mice with UC (n=3)

注:红色三角表示线粒体。

表 5 芩连燥湿汤对 UC 小鼠结肠组织 Fe^{2+}、SOD、MDA、GSH、4-HNE 水平的影响($\bar{x}\pm s$,n=3)

Table 5 Effects of QLZSD on Fe^{2+}, SOD, MDA, GSH, and 4-HNE levels in the colonic tissus of mice with UC ($\bar{x}\pm s$, n=3)

分组	Fe^{2+}/(μmol/mg prot)	SOD/(U/mg prot)	MDA/(nmol/mg prot)	GSH/(nmol/mg prot)	4-HNE/(ng/g)
正常组	0.005±0.001	81.500±9.801	3.164±0.697	11.170±0.479	16.710±1.349
模型组	0.011±0.013##	39.070±5.389##	14.090±1.675##	2.634±1.100##	26.980±7.412##
芩连燥湿汤低剂量组	0.008±0.001*	47.830±1.494	9.355±2.534*	3.126±1.108	25.980±4.698
芩连燥湿汤中剂量组	0.007±0.001*	54.740±3.634*	7.699±0.603*	9.496±2.058*	19.540±0.491*
芩连燥湿汤高剂量组	0.006±0.011**	66.260±2.343**	4.200±0.729**	10.520±1.617**	18.150±0.639**
Fer-1 组	0.006±0.001**	57.330±3.243**	3.890±0.791**	9.904±2.034**	17.630±1.136**

注:与正常组相比,##P<0.01;与模型组相比,*P<0.05,**P<0.01。

0.01),ACSL4、Keap1 蛋白表达水平显著升高(P<0.01)。与模型组相比,芩连燥湿汤中剂量组小鼠结肠组织 GPX4、SLC7A11 蛋白表达水平升高(P<0.05),Keap1 蛋白表达水平显著降低(P<0.01);芩连燥湿汤高剂量组、Fer-1 组小鼠结肠组织 GPX4、SLC7A11、Nrf2 和 HO-1 蛋白表达水平升高(P<0.05或 P<0.01),ACSL4、Keap1 蛋白表达水平降低(P<0.01)。详见图 5和表 6。

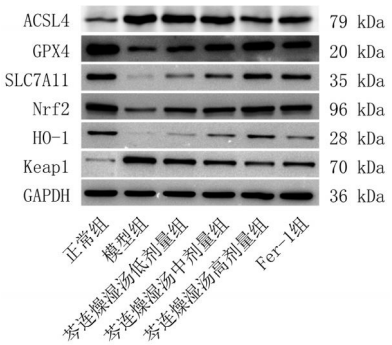


图 5 芩连燥湿汤对 UC 小鼠结肠组织 ACSL4、GPX4、SLC7A11、Nrf2、HO-1、Keap1 蛋白表达水平的影响($\bar{x}\pm s$,n=3)

Fig.5 Effects of QLZSD on the protein expression of ACSL4, GPX4, SLC7A11, Nrf2, HO-1, and Keap1 in the colonic tissues of mice with UC ($\bar{x}\pm s$, n=3)

4 讨论

截至目前,UC 的患病率在全球范围内仍在上升,已成为全球普遍关注的问题[21]。UC 的发生发展与肠道炎症反应、氧化应激及肠黏膜屏障功能受损

表 6　芩连燥湿汤对 UC 小鼠结肠组织 ACSL4、GPX4、SLC7A11、Nrf2、HO-1、Keap1 蛋白表达的影响($\bar{x}\pm s$, n=3)

Table 6　Effects of QLZSD on the protein expression of ACSL4, GPX4, SLC7A11, Nrf2, HO-1, and Keap1 in the colonic tissues of mice with UC ($\bar{x}\pm s$, n=3)

分组	ACSL4	GPX4	SLC7A11	Nrf2	HO-1	Keap1
正常组	1.000±0.104	1.000±0.119	1.000±0.155	1.000±0.186	1.000±0.187	1.000±0.258
模型组	2.340±0.064##	0.215±0.053##	0.045±0.035##	0.225±0.154##	0.035±0.020##	41.480±3.962##
芩连燥湿汤低剂量组	2.169±0.128	0.393±0.127	0.111±0.024	0.497±0.108	0.096±0.023	35.130±1.027
芩连燥湿汤中剂量组	2.052±0.121	0.568±0.124*	0.348±0.113*	0.615±0.134	0.301±0.153	27.890±1.346**
芩连燥湿汤高剂量组	1.518±0.101**	0.805±0.118**	0.841±0.036**	0.821±0.186*	0.694±0.089**	14.130±3.604**
Fer-1 组	1.671±0.145**	0.668±0.070**	0.581±0.096**	0.765±0.151*	0.402±0.099*	18.840±1.013**

注：与正常组相比，##P<0.01；与模型组相比，*P<0.05，**P<0.01。

密切相关[20]。芩连燥湿汤是湖北省中医院协定方，对 UC 疗效显著。现代研究表明，芩连燥湿汤的生物活性成分包括黄芩苷、小檗碱、芍药苷、黄连碱、巴马汀等，这些成分在 UC 中发挥良好的抗炎作用[22-25]。铁死亡是UC 发生发展过程中的关键病理环节，阻断该过程可有效缓解 DSS 诱导的 UC 模型小鼠结肠组织病理损伤[26]。因此，本研究围绕 Nrf2/SLC7A11/GPX4 信号通路，系统阐释芩连燥湿汤干预 UC 的分子机制。

DSS 诱导的 UC 小鼠模型与 UC 患者症状相似，该模型易于建立且可重复性高，得到了广泛应用[27]。因此，本研究通过该模型评估芩连燥湿汤对 UC 的治疗效果。UC 的关键特征是结肠病理损伤、炎症浸润和肠黏膜损伤。TNF-α、IL-1β 和 IL-6 是导致肠道屏障损伤的经典促炎因子[28]。肠道屏障的完整性破坏、通透性增加导致的病原体侵入和细菌移位及随后的免疫炎症反应加重，是 UC 的关键致病机制[29]。TJ 蛋白(ZO-1、Occludin)被认为是肠道物理屏障的关键指标，其异常表达可提示肠道屏障受损[30]。本实验结果显示，芩连燥湿汤可改善 UC 小鼠结肠病理损伤，降低 TNF-α、IL-1β 和 IL-6 等促炎因子水平，上调 ZO-1、Occludin 蛋白的表达水平。以上结果提示其可以有效控制 UC 炎症反应，修复肠黏膜屏障功能。

铁死亡是区别于凋亡、坏死的新型死亡模式，其主要特征是细胞内铁积累和脂质过氧化[31]。肠上皮细胞发生铁死亡会导致肠道屏障受损，从而加剧肠道炎症反应[32]。SOD、GSH 降低，MDA、4-HNE、Fe^{2+}升高是铁死亡的生化表现，常提示抗氧化系统失常[33]。线粒体萎缩、膜密度增加和嵴消失是铁死亡的典型形态学改变[34]。此外，ACSL4 作为脂质过氧化的关键驱动因子，其表达上调可促进铁死亡的发生[35]。本研究结果显示，芩连燥湿汤可上调 SOD、GSH 水平，下调 MDA、4-HNE、Fe^{2+}、ACSL4 水平，抑制脂质过氧化并逆转线粒体超微结构损伤。上述结果提示，芩连燥湿汤可通过调控抗氧化因子稳态、缓解氧化应激损伤，进而延缓 UC 病理进展。

Nrf2/SLC7A11/GPX4 信号通路是调控铁死亡的核心分子通路[36]。其中，GPX4 作为关键的抗氧化酶，可通过降解生物膜脂质过氧化物，阻断铁死亡的发生[37]。SLC7A11 是一种跨膜转运蛋白，通过摄取胞外胱氨酸促进胞内 GSH 合成，进而协助 GPX4 还原脂质过氧化物[38]。Nrf2 是抗氧化反应的“主开关”，可抑制铁死亡进程，调控 SLC7A11、GPX4 和 HO-1 等基因表达。Nrf2 表达受 Keap1 调控，当氧化应激发生时，Nrf2 与 Keap1 解离并激活，从而发挥抗氧化作用[39]。本研究结果显示，芩连燥湿汤可提高小鼠结肠组织 GPX4、SLC7A11、Nrf2、HO-1 等蛋白表达，降低 Keap1 蛋白表达。以上结果表明，芩连燥湿汤可缓解氧化应激损伤，其机制可能与调控 Nrf2/SLC7A11/GPX4信号通路有关。

综上所述，芩连燥湿汤可调节 Nrf2/SLC7A11/GPX4 信号通路，降低 MDA、Fe^{2+}的水平，升高 SOD、GSH 的水平，调节炎症因子水平，从而改善 UC 小鼠肠黏膜屏障损伤。后续可通过靶向抑制剂和回补实验进行更深入的探究。

参考文献

[1] Wangchuk P, Yeshi K, Loukas A. Ulcerative colitis: clinical biomarkers, therapeutic targets, and emerging treatments[J]. Trends in Pharmacological Sciences, 2024, 45(10): 892-903.

[2] Sun X, Huang Y, Zhang Y L, et al. Research advances of vasoactive intestinal peptide in the pathogenesis of ulcerative colitis by regulating interleukin-10 expression in regulatory B cells[J]. World Journal of Gastroenterology, 2020, 26(48): 7593-7602.

[3] Liang Y Q, Li Y, Lee C, et al. Ulcerative colitis: molecular insights and intervention therapy[J]. Molecular Biomedicine, 2024, 5(1): 42.

[4] Xu M Y, Tao J, Yang Y D, et al. Ferroptosis involves in intestinal epithelial cell death in ulcerative colitis[J]. Cell Death & Disease, 2020, 11: 86.

[5] Ribeiro D, Proenca C, Rocha S, et al. Immunomodulatory effects of flavonoids in the prophylaxis and treatment of inflammatory bowel diseases: a comprehensive review[J]. Current Medicinal Chemistry, 2018, 25(28): 3374-3412.

[6] Laharie D. Towards therapeutic choices in ulcerative colitis[J].

The Lancet, 2017, 390(10090): 98-99.

[7] Zhu L, Xu L Z, Zhao S, et al. Protective effect of baicalin on the regulation of Treg/Th17 balance, gut microbiota and short-chain fatty acids in rats with ulcerative colitis[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2020, 104(12): 5449-5460.

[8] Wang Y L, Chen Y, Zhang H J, et al. Colon-targeted self-assembled nanoparticles loaded with berberine double salt ameliorate ulcerative colitis by improving intestinal mucosal barrier and gut microbiota[J]. Colloids and Surfaces B, Biointerfaces, 2025, 245: 114353.

[9] Hu Q C, Xie J, Jiang T, et al. Paeoniflorin alleviates DSS-induced ulcerative colitis by suppressing inflammation, oxidative stress, and apoptosis via regulating serum metabolites and inhibiting CDC42/JNK signaling pathway[J]. International Immunopharmacology, 2024, 142: 113039.

[10] Han J R, Li W H, Shi G Y, et al. Atractylenolide Ⅲ improves mitochondrial function and protects against ulcerative colitis by activating AMPK/SIRT1/PGC-1α[J]. Mediators of Inflammation, 2022, 2022: 9129984.

[11] Jiang X J, Stockwell B R, Conrad M. Ferroptosis: mechanisms, biology and role in disease[J]. Nature Reviews Molecular Cell Biology, 2021, 22(4): 266-282.

[12] Ni J H, Zhang L J, Feng G Z, et al. Vanillic acid restores homeostasis of intestinal epithelium in colitis through inhibiting CA9/STIM1-mediated ferroptosis[J]. Pharmacological Research, 2024, 202: 107128.

[13] Lan J, Deng Z T, Wang Q Z, et al. Neuropeptide substance P attenuates colitis by suppressing inflammation and ferroptosis via the cGAS-STING signaling pathway[J]. International Journal of Biological Sciences, 2024, 20(7): 2507-2531.

[14] Hu W T, Cai Y L, Cai D X, et al. HIF-1α alleviates ferroptosis in ulcerative colitis by regulation of GPX4[J]. Cell Death & Disease, 2025, 16: 542.

[15] Xu J X, Liu S, Cui Z L, et al. Ferrostatin-1 alleviated TNBS induced colitis via the inhibition of ferroptosis[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2021, 573: 48-54.

[16] 邹孟龙, 朱莹, 张万佳, 等. 基于 Nrf2/SLC7A11/GPX4 信号通路介导的铁死亡探讨白头翁汤对溃疡性结肠炎小鼠的作用及机制[J]. 中药新药与临床药理, 2026, 37(3): 480-489.

[17] Chen Y R, Zhang P, Chen W R, et al. Ferroptosis mediated DSS-induced ulcerative colitis associated with Nrf2/HO-1 signaling pathway[J]. Immunology Letters, 2020, 225: 9-15.

[18] Lee H, Son Y S, Lee M O, et al. Low-dose interleukin-2 alleviates dextran sodium sulfate-induced colitis in mice by recovering intestinal integrity and inhibiting AKT-dependent pathways[J]. Theranostics, 2020, 10(11): 5048-5063.

[19] 王珠环, 张尔馨, 郑沁薇, 等. NLRP3 敲除小鼠溃疡性结肠炎模型的建立与分析[J]. 中国实验动物学报, 2024,32(2):168-176.

[20] 甘彩燕, 张银枚, 黄青燕, 等. 香连丸对葡聚糖硫酸钠诱导的溃疡性结肠炎小鼠的作用及机制[J]. 中药新药与临床药理, 2026, 37(3): 499-506.

[21] Gros B, Kaplan G G. Ulcerative colitis in adults: a review[J]. JAMA, 2023, 330(10): 951-965.

[22] Liu S Y, Wang C Q, Luo T T, et al. Baicalin ameliorates ulcerative colitis by regulating macrophage polarization through the JAK1/STAT1/SOCS1 pathway[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2026, 359: 121057.

[23] Meng G B, Li P Y, Du X M, et al. Berberine alleviates ulcerative colitis by inhibiting inflammation through targeting IRGM1[J]. Phytomedicine, 2024, 133: 155909.

[24] Zheng K, Jia J, Yan S H, et al. Paeoniflorin ameliorates ulcerative colitis by modulating the dendritic cell-mediated TH17/Treg balance[J]. Inflammopharmacology, 2020, 28(6): 1705-1716.

[25] Li C L, Deng L, Pu M, et al. Coptisine alleviates colitis through modulating gut microbiota and inhibiting TXNIP/NLRP3 inflammasome[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2024, 335: 118680.

[26] Zhang J Y, Tan B Y, Wu H, et al. Scutellaria baicalensis extracts restrict intestinal epithelial cell ferroptosis by regulating lipid peroxidation and GPX4/ACSL4 in colitis[J]. Phytomedicine, 2025, 141: 156708.

[27] Yang C H, Merlin D. Unveiling colitis: a journey through the dextran sodium sulfate-induced model[J]. Inflammatory Bowel Diseases, 2024, 30(5): 844-853.

[28] Yin Q, Pi X L, Jiang Y Y, et al. An immuno-blocking agent targeting IL-1β and IL-17A reduces the lesion of DSS-induced ulcerative colitis in mice[J]. Inflammation, 2021, 44(5): 1724-1736.

[29] van der Post S, Jabbar K S, Birchenough G, et al. Structural weakening of the colonic mucus barrier is an early event in ulcerative colitis pathogenesis[J]. Gut, 2019, 68(12): 2142-2151.

[30] Otani T, Furuse M. Tight junction structure and function revisited[J]. Trends in Cell Biology, 2020, 30(10): 805-817.

[31] 高猎防, 马俊远, 郑梦晓, 等. 基于 Nrf2/SLC7A11/GPX4 通路调控铁死亡探讨黄连厚朴汤对溃疡性结肠炎模型小鼠的影响[J]. 海南医科大学学报, 2025, 31(21): 1630-1638.

[32] Zhang X L, Ma Y M, Lv G Q, et al. Ferroptosis as a therapeutic target for inflammation-related intestinal diseases[J]. Frontiers in Pharmacology, 2023, 14: 1095366.

[33] 揣强, 翟文静, 贾苏杰, 等. 基于 Nrf2/SLC7A11/GPX4 信号通路探究泄浊解毒方通过抑制铁死亡和缓解肠黏膜损伤治疗溃疡性结肠炎的机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2026, 32(1): 160-169.

[34] Chen Y, Li X H, Yang M F, et al. Research progress on morphology and mechanism of programmed cell death[J]. Cell Death & Disease, 2024, 15: 327.

[35] Doll S, Proneth B, Tyurina Y Y, et al. ACSL4 dictates ferroptosis sensitivity by shaping cellular lipid composition[J]. Nature Chemical Biology, 2017, 13(1): 91-98.

[36] Bian W C, Wei L L, Wang K X. Carthamin yellow alleviates dextran sodium sulfate-induced ulcerative colitis by repairing the intestinal barrier and activating the Nrf2/GPX4 axis[J]. International Immunopharmacology, 2024, 141: 113020.

[37] Liu M, Kong X Y, Yao Y, et al. The critical role and molecular mechanisms of ferroptosis in antioxidant systems: a narrative review[J]. Annals of Translational Medicine, 2022, 10(6): 368.

[38] Forcina G C, Dixon S J. GPX4 at the crossroads of lipid homeostasis and ferroptosis[J]. Proteomics, 2019, 19(18): e1800311.

[39] Sun Z, Zhang S, Chan J Y, et al. Keap1 controls postinduction repression of the Nrf2-mediated antioxidant response by escorting nuclear export of Nrf2[J]. Molecular and Cellular Biology, 2007, 27(18): 6334-6349.

（本文编辑 苏 维）