

• XXXX •

芍药甘草汤调控 SLC7A11/GPX4 信号通路抑制铁死亡缓解 高脂饮食复合的小鼠结肠炎

师娟¹, 高连印¹, 张晓辉¹, 吉静², 马重阳¹, 王雪茜³, 程发峰³, 徐甜^{4*}

(1. 首都医科大学中医药学院, 北京 100069; 2. 安徽中医药大学中西医结合学院, 合肥 230013;
3. 北京中医药大学中医学院, 北京 100029; 4. 中国医学科学院北京协和医院, 北京 100730)

[摘要] 目的:探讨芍药甘草汤对高脂饮食复合葡聚糖硫酸钠(DSS)诱导的结肠炎小鼠的改善作用及潜在机制。方法:选取40只雄性C57BL/6J小鼠先喂食14 d HFD,随后给予2%的DSS 7 d构建高脂饮食复合结肠炎模型。小鼠随机分为正常组、高脂饮食复合结肠炎模型组、芍药甘草汤低剂量组($5.2\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)、芍药甘草汤高剂量组($10.4\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)和5-ASA阳性对照组($50\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)。记录并统计小鼠体重变化及疾病活动指数(DAI)评分;统计结肠长度;采用苏木素-伊红(HE)染色观察结肠组织中病理学变化;通过结肠组织转录组学分析差异基因;通过蛋白免疫印迹法(Western blot)检测肠组织中的闭合蛋白(Occludin)、紧密连接蛋白3(Claudin3)、溶质载体家族7成员11(SLC7A11)、谷胱甘肽过氧化物酶4(GPX4)和铁蛋白重链1(FTH1)蛋白表达水平。结果:与正常组比较,高脂饮食复合结肠炎模型组小鼠出现腹泻、便血等症状,DAI评分显著升高($P<0.01$),结肠长度显著缩短($P<0.01$),结肠组织病理损伤严重,肠道紧密连接蛋白Occludin和Claudin3表达明显减少($P<0.05$, $P<0.01$)。转录组学显示芍药甘草汤高剂量组与高脂饮食复合结肠炎模型组之间差异表达基因显著富集在铁死亡信号通路。与模型组比较,芍药甘草汤治疗后腹泻、便血等症状得到改善,DAI评分显著降低($P<0.01$),结肠长度显著增加($P<0.01$),结肠组织病理损伤减轻,肠道紧密连接蛋白Occludin和Claudin3表达显著升高($P<0.01$),铁死亡抑制性蛋白SLC7A11、GPX4和FTH1蛋白表达明显升高($P<0.05$)。结论:芍药甘草汤能明显改善高脂饮食复合DSS诱导的结肠炎,其机制可能与激活SLC7A11/GPX4信号通路抑制铁死亡相关。

[关键词] 结肠炎; 芍药甘草汤; 高脂饮食; 铁死亡; 转录组学

[中图分类号] R289;R259;R285 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(XXXX)XX-0001-07

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20251906

[网络出版地址]

[网络出版日期] XXXX-XX-XX **[增强出版附件]** 内容详见 <http://www.syfjxzz.com> 或 <http://cnki.net>



Shaoyao Gancaotang Alleviates High-fat Diet-aggravated Colitis in Mice by Suppressing Ferroptosis Through SLC7A11/GPX4 Signaling Pathway

SHI Juan¹, GAO Lianyin¹, ZHANG Xiaohui¹, JI Jing², MA Chongyang¹,
WANG Xueqian³, CHENG Fafeng³, XU Tian^{4*}

(1. School of Traditional Chinese Medicine, Capital Medical University, Beijing 100069, China;
2. School of Integrated Chinese and Western Medicine, Anhui University of Chinese Medicine,
Hefei 230013, China; 3. School of Traditional Chinese Medicine, Beijing University of
Chinese Medicine, Beijing 100029, China; 4. Peking Union Medical College Hospital,
Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100730, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the therapeutic effect of Shaoyao Gancaotang (SYGCT) on high-fat diet

[收稿日期] 2025-10-14

[基金项目] 国家自然科学基金项目(82405050,82374165,82004327);中央高校基本科研业务费项目(3332024017);北京市属高校基本科研业务费项目(XJJS202524)

[第一作者] 师娟,在读硕士,从事中医药防治消化系统疾病研究,E-mail:shijuan0115@163.com

[通信作者] *徐甜,博士,助理研究员,从事中医药防治消化系统疾病研究,E-mail:tiantianxu0717@163.com

(HFD)-aggravated colitis induced by dextran sulfate sodium (DSS) in mice and decipher the potential mechanism. **Methods:** Forty male C57BL/6J mice were fed an HFD for 14 days, followed by gavage of 2%DSS for 7 days for the modeling of HFD-aggravated colitis. The mice were randomly allocated into control, model (HFD-aggravated colitis), low-dose ($5.2\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$) SYGCT, high-dose ($10.4\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$) SYGCT, and 5-aminosalicylic acid (5-ASA, positive control, $50\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) groups. Body mass changes and disease activity index (DAI) scores were recorded. The colon length was measured. Pathological changes in the colon tissue were observed through hematoxylin-eosin (HE) staining. Transcriptomic analysis was performed to identify differentially expressed genes. Western blot was employed to quantify the protein levels of Occludin, Claudin3, solute carrier family 7 member 11 (SLC7A11), glutathione peroxidase 4 (GPX4), and ferritin heavy chain 1 (FTH1). **Results:** Compared with the control group, the model group exhibited diarrhea, bloody stools, increased DAI scores ($P<0.01$), colon shortening ($P<0.01$), severe colonic pathological damage, and reduced expression of tight junction proteins Occludin and Claudin3 ($P<0.05$, $P<0.01$). Transcriptomic analysis revealed that the differentially expressed genes between the high-dose SYGCT group and the model group were significantly enriched in the ferroptosis signaling pathway. Compared with the model group, SYGCT treatment alleviated diarrhea and bloody stools, reduced DAI scores ($P<0.01$), increased the colon length ($P<0.01$), mitigated colonic pathological damage, and upregulated the expression of Occludin and Claudin3 ($P<0.01$), as well as proteins (SLC7A11, GPX4, and FTH1) associated with the inhibition of ferroptosis ($P<0.05$). **Conclusion:** SYGCT significantly ameliorates HFD-aggravated DSS-induced colitis by suppressing ferroptosis via activation of the SLC7A11/GPX4 pathway.

[Keywords] colitis; Shaoyao Gancaotang; high-fat diet; ferroptosis; transcriptomics

溃疡性结肠炎(UC)是一种严重的慢性复发性非特异性炎症性肠病,其临床特征为加重期与缓解期交替出现,常伴有腹痛、腹泻、黏液脓血便等症状^[1]。该病全球发病率呈持续上升趋势^[2],病因与发病机制尚未完全明确,一般认为涉及遗传、免疫、环境及肠道微生物等多因素的复杂交互。此外,现代生活方式的转变,尤其是饮食结构的变化,增加了患炎症性肠病的风险^[3]。不良饮食结构,尤其是西式膳食模式下的高脂饮食(HFD),可导致肠道菌群失调,胆汁酸代谢异常,潘氏细胞功能障碍和肠道干细胞损伤^[4-5]。此外,短期高脂饮食能显著降低生物制剂英夫利昔单抗治疗UC的疗效^[6]。目前已明确高脂饮食会直接或间接地破坏肠道多层屏障系统^[7],导致肠屏障完整性受损,肠道通透性增加,从而加剧肠道炎症反应^[8-9]。因此,探索针对高脂饮食合并结肠炎的中医药干预策略及其药理机制,是推动中医药临床精准应用的重要命题。

芍药甘草汤出自《伤寒论》,原方主治肝阴不足所致筋脉失濡、腿脚挛急之证。《伤寒论》中有25首方剂包含芍药甘草的配伍,而《金匮要略》中有20首。后世在张仲景对芍药甘草应用的基础上,将芍药甘草汤视为腹痛的核心用药。例如《脾胃论》提出:“腹中痛者,加甘草、白芍药……此仲景妙法也。”《汤液本草》认为:“凡痢疾腹痛,必以白芍药、甘草为君。”《医学正传》用芍药甘草等分治疗四时腹痛。现代中医临床常用芍药甘草汤治疗UC、肠易激综合征等消化系统疾病^[10]。现代研究发现,白芍和甘草都具有较好的抗炎和免疫调节作用可通过调整炎症因子水平及相关信号通路,抑制炎症反

应^[11-12]。芍药甘草汤能抑制Toll样受体4(TLR4)/核转录因子- κ B(NF- κ B)信号通路修复UC的肠道屏障损伤^[13]。笔者在《黄帝内经》“饮食自倍,肠胃乃伤”病因病机理论的基础上,受到芍药甘草汤“调和肝脾、缓急止痛”功效的启发,提出“芍药甘草汤治疗高脂饮食合并结肠炎”的假设。本研究通过构建HFD复合葡聚糖硫酸钠(DSS)诱导的结肠炎小鼠模型,模拟临床长期不良饮食因素背景下的UC,研究芍药甘草汤对高脂饮食合并结肠炎的影响,并通过转录组和分子生物学实验,探讨其作用机制。

1 材料

1.1 动物 40只5周龄,体质量16~18 g,SPF级雄性C57BL/6J小鼠购自北京斯贝福生物技术有限公司,实验动物生产合格证号SCXK(京)2024-0001。实验动物均饲养在首都医科大学实验动物部屏障系统环境中,光照/黑暗周期为12 h,温度为(22 ± 1) $^{\circ}\text{C}$,湿度为(50 ± 15)%,可自由获取清洁水和食物。

1.2 伦理 本实验由首都医科大学实验动物福利与伦理委员会批准(AEEI-2025-193)。

1.3 药物 芍药甘草汤由白芍20 g、甘草20 g组成(中药配方颗粒,由康仁堂配制,批号分别为2308147302、2311134301);DSS(36000-50000 MW,美国MP Biomedicals公司,货号160110);美沙拉嗪(5-ASA,美国MCE公司,货号HY-15027);对照饲料(16%脂肪、20%蛋白质、64%碳水化合物;批号1025,北京华阜康生物科技股份有限公司),高脂饲料(60%脂肪、20%蛋白质、20%碳水化合物;批号H10060,北京华阜康生物科技股份有限公司)。

1.4 试剂 闭合蛋白(Occludin)、紧密连接蛋白3

(Claudin3)抗体(英国 Abcam 公司,批号分别为 ab216327、ab317319);谷胱甘肽过氧化物酶4(GPX4)、溶质载体家族7成员11(SLC7A11)、 β -肌动蛋白(β -actin)抗体、二抗山羊抗兔(武汉三鹰生物技术有限公司,批号分别为30388-1-AP、32384-1-AP、20536-1-AP、SA00001-2);铁蛋白重链1(FTH1,美国 Cell Signaling Technology 公司,批号4393);二喹啉甲酸(BCA)蛋白浓度测定试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司,批号P0012);苏木素-伊红(HE)染色试剂盒(北京索莱宝科技有限公司,批号G1120)。

1.5 仪器 SWE-FP型低温型组织研磨仪(武汉塞维尔生物科技有限公司);3K15型冷冻高速离心机(美国 Sigma 公司);Amersham ImageQuant 800型超灵敏多功能成像仪(瑞典 Cytiva 公司);PowerPac Basic型电泳仪(美国 Bio-Rad 公司);ECLIPSE Ti2型倒置荧光显微镜(日本 Nikon 公司)。

2 方法

2.1 高脂饮食复合DSS诱导的结肠炎模型构建

参照文献[14]报道,采用HFD和DSS联合构建高脂饮食复合结肠炎模型。小鼠喂食高脂饲料21 d,从第15天开始小鼠饮用水中加入2%的DSS,持续7 d。

2.2 分组与给药 40只C57BL/6J小鼠适应性喂养1周后,随机分为5组:正常组(Control),HFD复合结肠炎模型组(HFD+DSS),芍药甘草汤低(SYGCTL)、高(SYGCTH)剂量组及5-ASA阳性药组(Mes)。Control组小鼠喂食对照饲料(CD),而另外四组的小鼠则喂食HFD 21 d。从第15天开始,HFD+DSS、SYGCTL、SYGCTH和Mes组小鼠饮用水中加入2%的DSS,持续7 d,以建立结肠炎模型,而Control组的小鼠则继续饮用纯水。

本研究采用的芍药甘草汤临床剂量为芍药与甘草各20 g。按照《药理实验方法学》^[15]中体表面积法计算人与小鼠的剂量换算系数为9.1,折算小鼠的临床等效剂量为 $5.2\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$,作为SYGCTL组剂量,SYGCTH组为 $10.4\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。Mes组剂量为 $50\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。在实验期间(第15~21天),Control组和HFD+DSS组每天灌胃生理盐水,其余各组按相应剂量灌胃,连续灌胃7 d。小鼠饮用DSS及灌胃期间,每天对小鼠体质量、粪便性状、隐血、疾病活动指数(DAI)评分情况进行记录。

2.3 一般情况及DAI评分 实验期间每日观察各组小鼠精神状态、被毛光泽度、体质量、粪便性状及便血情况。根据小鼠的体质量下降程度、粪便性状及

便血情况三者计算DAI评分^[16]。体质量无下降记0分,下降1%~5%记1分,6%~10%记2分,11%~18%记3分,>18%记4分;粪便性状正常记0分,便软但成形记1分,软便记2分,重度软便记3分,稀水便记4分;粪便隐血阴性记0分,隐血弱阳性记1分,隐血强阳性记2分,粪便带血记3分,肛门带血记4分。

2.4 组织病理学分析 实验结束后处死小鼠,测量结肠长度,清除结肠内残留粪便,取近肛门端2 cm结肠组织在4%多聚甲醛溶液中固定。经固定、脱水和石蜡包埋后,切片用HE染色。

2.5 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测 使用放射免疫沉淀法(RIPA)裂解缓冲液从结肠组织中提取蛋白质,随后使用BCA法测定蛋白浓度。蛋白质经十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)分离,然后转移到聚偏二氟乙烯(PVDF)膜上,用5%的脱脂牛奶常温封闭2 h,加入一抗(1:1 000)在4℃孵育过夜,用TBST洗膜3次,然后用二抗(1:10 000)在室温下孵育膜2 h。最后使用增强化学发光法(ECL)曝光,并使用Image J软件进行量化。

2.6 转录组学分析 对HFD+DSS组和SYGCTH组($n=3$)的结肠组织进行转录组学分析。使用TRIzol提取总RNA,对所提RNA的浓度和纯度及RNA完整性进行检测后,在Illumina NovaSeq 6000平台上对RNA文库进行测序。采用DESeq2软件进行差异表达分析(筛选标准: $|\log_2\text{FC}| \geq 1$ 且 P 值 < 0.05),并对差异基因进行基因本体(GO)与京都基因与基因组百科全书(KEGG)富集分析。

2.7 统计学分析 使用SPSS进行统计分析,数值以 $\bar{x} \pm s$ 表示,分析数据时采用成组设计的多样本单因素方差分析(One-way ANOVA)和最小显著性差异法(LSD)检验,若数据不满足参数检验的前提假设,则进行Kruskal-Wallis检验,然后进行Dunn's多重比较, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 芍药甘草汤对高脂饮食复合结肠炎模型小鼠一般情况、DAI的影响 本研究观察结果显示,Control组小鼠一般状态良好,表现为精神活跃、反应敏捷、被毛光亮,粪便成形且呈颗粒状;与Control组比较,HFD+DSS组小鼠则表现出明显异常,包括精神萎靡、反应迟钝、被毛杂乱黯淡及脓血便或稀便等典型结肠炎症状。各给药组干预后,上述症状在不同程度上得到缓解。

与Control组比较,HFD+DSS组小鼠DAI评分显著升高($P < 0.01$),体质量下降但差异无统计学

义。而经芍药甘草汤治疗后,小鼠DAI较HFD+DSS组显著降低($P<0.01$),体质量增加但差异无统计学意义。上述结果表明,芍药甘草汤对高脂饮食复合结肠炎具有明显的保护作用。见表1。

表1 芍药甘草汤对高脂饮食复合结肠炎模型小鼠体质量、DAI的影响($\bar{x}\pm s, n=8$)

Table 1 Effect of Shaoyao Gancaotang on body weight and disease activity index in mice with high-fat diet-aggravated colitis ($\bar{x}\pm s, n=8$)

组别	剂量/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	体质量/g	DAI/分
Control组		20.88 $\pm$ 0.97	0.25 $\pm$ 0.46
HFD+DSS组		19.79 $\pm$ 1.83	3.75 $\pm$ 0.46 ²⁾
SYGCTL组	5.2	21.26 $\pm$ 1.10	2.88 $\pm$ 0.64 ⁴⁾
SYGCTH组	10.4	21.05 $\pm$ 1.94	2.38 $\pm$ 0.52 ⁴⁾
Mes组	0.05	19.46 $\pm$ 1.60	3.00 $\pm$ 0.53 ⁴⁾

注:与Control组比较¹⁾ $P<0.05$,²⁾ $P<0.01$;与HFD+DSS组比较³⁾ $P<0.05$,⁴⁾ $P<0.01$ (表2-表4同)

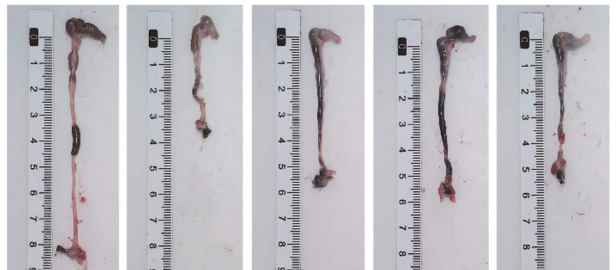
3.2 芍药甘草汤对高脂饮食复合结肠炎模型小鼠结肠损伤的影响 与Control组比较,HFD+DSS组小鼠的结肠长度显著缩短($P<0.01$)。与HFD+DSS组比较,芍药甘草汤干预后小鼠结肠长度显著增加($P<0.01$)。见表2、图1。

3.3 芍药甘草汤对高脂饮食复合结肠炎模型小鼠结肠组织病理损伤的影响 HE染色显示,与Control组比较,HFD+DSS组小鼠肠黏膜上皮细胞损伤明显,部分上皮细胞脱落,隐窝结构严重破坏,表现为隐窝

表2 芍药甘草汤对高脂饮食复合结肠炎模型小鼠结肠长度的影响($\bar{x}\pm s, n=8$)

Table 2 Effect of Shaoyao Gancaotang on colon length in mice with high-fat diet-aggravated colitis ($\bar{x}\pm s, n=8$)

组别	剂量/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	结肠长度/cm
Control组		7.99 $\pm$ 0.54
HFD+DSS组		4.61 $\pm$ 0.68 ²⁾
SYGCTL组	5.2	5.70 $\pm$ 0.36 ⁴⁾
SYGCTH组	10.4	5.78 $\pm$ 0.54 ⁴⁾
Mes组	0.05	5.39 $\pm$ 0.76 ³⁾



注:A.Control组;B.HFD+DSS组;C.SYGCTL组;D.SYGCTH组;E.Mes组(图2-图4同)

图1 芍药甘草汤对高脂饮食复合结肠炎模型小鼠结肠形态的影响

Fig. 1 Effect of Shaoyao Gancaotang on colon morphology in mice with high-fat diet-aggravated colitis

脓肿、数量减少甚至消失,固有层中可见大量炎症细胞浸润(图2)。经芍药甘草汤干预后小鼠肠黏膜结构完整性改善,上皮细胞排列整齐,隐窝形态较为规则,固有层炎症细胞浸润明显减少。见图2。

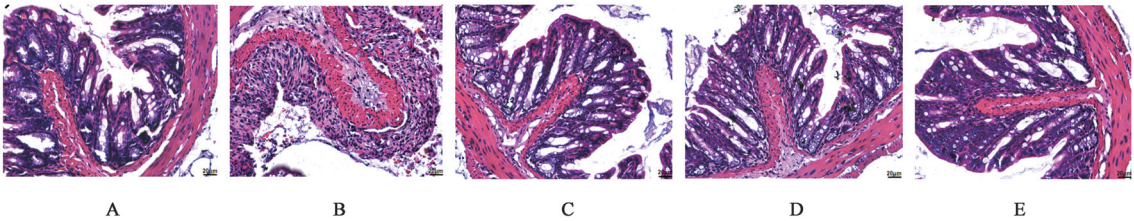


图2 芍药甘草汤对高脂饮食复合结肠炎模型小鼠结肠组织病理学的影响(HE, $\times 200$)

Fig. 2 Effect of Shaoyao Gancaotang on colon pathology in mice with high-fat diet-aggravated colitis (HE, $\times 200$)

3.4 芍药甘草汤对高脂饮食复合结肠炎模型小鼠肠道屏障功能的影响 紧密连接蛋白对于肠道屏障功能的维持至关重要。为确定芍药甘草汤是否能改善高脂饮食复合DSS诱导的结肠炎模型小鼠的肠道屏障功能,笔者采用Western blot检测结肠组织中闭合蛋白(Occludin)和紧密连接蛋白3(Claudin3)的表达变化。结果显示,与Control组比较,HFD+DSS组小鼠结肠组织Occludin和Claudin3的蛋白质表达明显降低($P<0.05$, $P<0.01$);而与HFD+DSS组比较,SYGCTH组两种蛋白的表达均显著上调($P<0.01$)。

见图3、表3。

3.5 转录组学探究芍药甘草汤治疗高脂饮食复合结

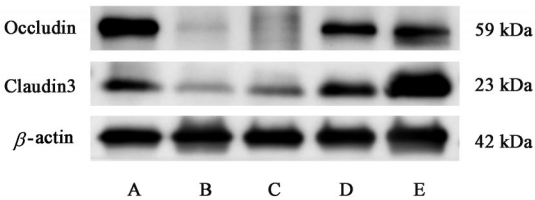


图3 结肠组织中紧密连接蛋白Occludin、Claudin3蛋白表达电泳

Fig. 3 Electrophoresis of tight junction Occludin and Claudin3 in colon tissue

表 3 芍药甘草汤对高脂饮食复合结肠炎模型小鼠 Occludin、Claudin3 蛋白表达水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 3 Effect of Shaoyao Gancaotang on Occludin and Claudin3 protein expression levels in mice with high-fat diet-aggravated colitis ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	Occludin/ β -actin	Claudin3/ β -actin
Control组		1.00±0.16	1.00±0.21
HFD+DSS组		0.13±0.11 ²⁾	0.32±0.23 ¹⁾
SYGCTL组	5.2	0.48±0.30 ³⁾	0.79±0.48
SYGCTH组	10.4	0.89±0.12 ⁴⁾	1.43±0.50 ⁴⁾
Mes组	0.05	0.87±0.17 ⁴⁾	1.67±0.33 ⁴⁾

肠炎的机制 为了研究芍药甘草汤治疗高脂饮食复合结肠炎的潜在机制,笔者对芍药甘草汤高剂量组和高脂饮食复合结肠炎 HFD+DSS 组的结肠组织样本进行了转录组学分析。火山图展示了两组之间的差异表达基因。对差异基因进行 GO 和 KEGG 富集分析,结果显示,芍药甘草汤调控的基因定位于炎症反应、细胞外基质组织化、白细胞迁移、消化和对趋化因子的反应等生物过程(BP);细胞外基质结构成分、钙离子结合、丝氨酸型内肽酶活性、纤维连接蛋白结合和趋化因子活性等分子功能(MF)。KEGG 通路分析显示,大多数差异表达基因显著富集在脂肪的消化和吸收、铁死亡、补体和凝血级联、花生四烯酸代谢、谷胱甘肽代谢等信号通路中。此外,还利用基因组富集分析(GSEA)对转录组测序结果进行了综合分析,阐明了基因表达水平的生物学变化。结果表明,与 HFD+DSS 组比较,SYGCTH 组与铁死亡信号通路相关的基因下调。见增强出版附加材料。

3.6 芍药甘草汤通过抑制铁死亡治疗高脂饮食复合结肠炎 根据转录组分析的结果,笔者对铁死亡相关蛋白 SLC7A11、GPX4 和 FTH1 表达量进行检测。结果显示,与 Control 组比较,HFD+DSS 组小鼠结肠组织 SLC7A11、GPX4 和 FTH1 的蛋白质表达降低;而与 HFD+DSS 组比较,经芍药甘草汤干预后,蛋白的表达均明显上调。见图 4、表 4。

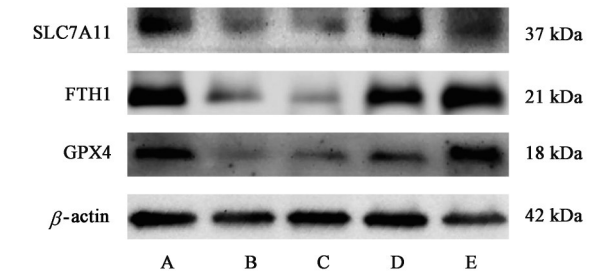


图 4 结肠组织中 SLC7A11、GPX4 和 FTH1 蛋白表达电泳
Fig. 4 Electrophoresis of SLC7A11, GPX4 and FTH1 in colon tissue

表 4 芍药甘草汤对高脂饮食复合结肠炎模型小鼠 SLC7A11、GPX4 和 FTH1 蛋白表达水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 4 Effect of Shaoyao Gancaotang on SLC7A11, GPX4 and FTH1 protein expression levels in mice with high-fat diet-aggravated colitis ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	SLC7A11/ β -actin	GPX4/ β -actin	FTH1/ β -actin
Control组		1.00±0.30	1.00±0.15	1.00±0.21
HFD+DSS组		0.29±0.16 ¹⁾	0.35±0.06 ²⁾	0.33±0.05 ¹⁾
SYGCTL组	5.2	0.64±0.48	0.46±0.21	0.84±0.56
SYGCTH组	10.4	1.20±0.11 ³⁾	0.66±0.25 ³⁾	1.02±0.37 ³⁾
Mes组	0.05	0.66±0.62	0.73±0.11 ³⁾	1.43±0.24 ⁴⁾

4 讨论

《黄帝内经·素问·痹论》言:“饮食自倍,肠胃乃伤”,饮食无规律、偏嗜肥甘厚味或者暴饮暴食等导致胃肠正常的腐熟运化功能受损,积滞腐败于肠间,就会出现“肠胃乃伤”的病理状态。芍药甘草汤出自《伤寒论》:“若厥愈足温者,更作芍药甘草汤与之,其脚即伸”。芍药甘草汤主要由白芍药和炙甘草两味药组成,其主要功效为滋阴养血、调和肝脾、缓急止痛,现代药理学认为其具有解痉、止痛和抗炎的作用^[17],对于痢疾腹痛具有良好治疗效果。《汤液本草》云:“凡痢疾腹痛,必以白芍药、甘草为君”。芍药酸敛入阴,能收敛胃气、调和血脉,化积通便,止腹痛,治泻利。甘草味甘性平,有调补之功,能补脾和中、甘缓止痛。二者合用,能够消饮食之积,补脾胃内伤,治痢疾腹痛。课题组前期研究表明,芍药甘草汤能够激活 Wnt/ β -连环蛋白(β -catenin)通路来抑制炎症和恢复肠道屏障功能,从而抑制 UC 的发生发展^[18]。现代药理学研究发现,芍药甘草汤中含有多种有效成分,能够发挥抗炎、抑制细胞凋亡与铁死亡、恢复免疫平衡、调控肠道菌群及促进黏膜修复等作用,对 UC 具有保护作用^[19-20]。芍药中的芍药苷能通过激活腺苷酸活化蛋白激酶(AMPK)/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)信号通路,增强自噬,减轻 UC 小鼠的炎症损伤^[21]。芍药内酯苷能抑制 UC 大鼠的炎症反应和结肠组织过氧化反应,减轻结肠组织病变^[22]。芍药和甘草的组合能促进甘草活性成分的吸收^[13],甘草能通过调节辅助性 T 细胞 17(Th17)/调节性 T 细胞(Treg)平衡和肠道微生态,改善结肠组织病理损伤^[23]。甘草中包含甘草酸、甘草苷等有效成分,可以激活核转录因子 E₂ 相关因子 2(Nrf2)/PTEN 诱导激酶 1(PINK1)信号调节自噬,进而修复线粒体损伤,改善 UC^[24]。本实验通过构建 HFD+DSS 诱导的结肠炎小鼠模型,结果表明

与HFD+DSS组比较,芍药甘草汤能缓解小鼠症状,减少小鼠体质量下降和结肠长度缩短,降低DAI评分,减轻小鼠结肠组织病理损伤,上调小鼠结直肠组织中紧密连接蛋白的表达,这些结果证实芍药甘草汤可改善高脂饮食复合DSS诱导的小鼠结肠炎肠道损伤,抑制结肠炎进展。

转录组学结果显示,与HFD+DSS组比较,芍药甘草汤下调了铁死亡信号通路相关的基因,并且铁死亡抑制性蛋白SLC7A11、GPX4和FTH1的表达经芍药甘草汤干预后显著上调。铁死亡是一种程序性细胞死亡形式,其特征是铁依赖性脂质过氧化。UC患者和结肠炎小鼠的肠上皮细胞中存在明显的铁死亡^[25],铁死亡能够破坏肠上皮细胞的抗氧化机制,损害肠黏膜,参与UC的病理过程^[26]。高脂饮食被认为是促炎性饮食,会导致肠道微生物的改变,增加炎症性肠病的风险并加重疾病活动度,并且高脂饮食促进结肠炎进展与铁死亡相关^[27]。研究发现高脂饮食会诱导Tregs脂质过氧化及铁死亡,从而打破免疫耐受平衡,促进结肠炎发展^[28]。临床研究发现,与单纯活动性UC患者比较,高脂肪饮食的活动性UC患者肠道病变更加严重,且饮食脂肪摄入量与UC患者的疾病活动呈正相关^[14]。除此之外,与饮食正常的UC患者比较,高脂肪饮食的UC患者结肠组织中铁死亡水平升高^[14]。GPX4和SLC7A11是铁死亡的重要调节因子,SLC7A11的活化有助于促进胱氨酸摄取/谷胱甘肽生物合成,增加GPX4的表达,并最终抑制上皮细胞中的铁死亡^[29]。FTH1是一种具有铁氧化酶活性的铁储存蛋白,在维持铁代谢稳态方面发挥着重要作用。因此,FTH1的表达水平是调节铁死亡的重要因素,其表达缺失会促进铁死亡^[30]。本实验的结果与先前的研究发现一致,芍药甘草汤能升高SLC7A11和GPX4表达,抑制铁死亡进程,发挥抗结肠炎作用^[31]。在探讨白芍-甘草药对干预UC的作用时发现,白芍-甘草药对具有清除过量的铁离子、调控铁死亡的作用,且整体效果强于两味药单独使用^[32]。此外,芍药甘草汤中的关键活性成分芍药苷和甘草素也被证实能够激活GPX4的转录活性、抑制肠上皮细胞铁死亡,缓解结肠炎症状^[33]。本研究结果显示,与HFD+DSS组比较,SYGCT组能上调SLC7A11、GPX4及FTH1的蛋白表达水平,抑制铁死亡,从而减轻小鼠结肠炎症反应、延缓疾病进展。

综上所述,芍药甘草汤可通过调节SLC7A11/GPX4信号通路抑制铁死亡,减轻高脂饮食复合型结

肠炎的炎症和肠道屏障损伤。然而,本研究仍存在一定的局限性。首先,高脂饮食复合DSS的动物模型与人类疾病的复杂性存在差距,后续研究需在临床样本或类器官中进一步验证该通路的有效性。其次,本实验仅证实了芍药甘草汤对部分铁死亡相关因子表达的影响,其关键的分子调控机制仍有待未来更深入的研究。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] GROS B, KAPLAN G G. Ulcerative colitis in adults: A review [J]. JAMA, 2023, 330(10): 951-965.
- [2] LE BERRE C, HONAP S, PEYRIN-BIROULET L. Ulcerative Colitis [J]. Lancet, 2023, 402(10401): 571-584.
- [3] MEYER A, CHAN S S M, TOUVIER M, et al. Inflammatory potential of the diet and risk of Crohn's disease and ulcerative colitis [J]. Aliment Pharmacol Ther, 2025, 61(6): 1032-1042.
- [4] CHEN L, JIAO T, LIU W, et al. Hepatic cytochrome P450 8B1 and cholic acid potentiate intestinal epithelial injury in colitis by suppressing intestinal stem cell renewal [J]. Cell Stem Cell, 2022, 29(9): 1366-1381.
- [5] LIU T C, KERN J T, JAIN U, et al. Western diet induces Paneth cell defects through microbiome alterations and farnesoid X receptor and type I interferon activation [J]. Cell Host Microbe, 2021, 29(6): 988-1001.
- [6] ZHENG M, ZHAI Y, YU Y, et al. TNF compromises intestinal bile-acid tolerance dictating colitis progression and limited infliximab response [J]. Cell Metab, 2024, 36(9): 2086-2103.
- [7] ROHR M W, NARASIMHULU C A, RUDESKI-ROHR T A, et al. Negative effects of a high-fat diet on intestinal permeability: A review [J]. Adv Nutr, 2020, 11(1): 77-91.
- [8] HUANG C, TAN H, SONG M, et al. Maternal Western diet mediates susceptibility of offspring to Crohn's-like colitis by deoxycholate generation [J]. Microbiome, 2023, 11(1): 96.
- [9] BOLTE L A, VILA A V, IMHANN F, et al. Long-term dietary patterns are associated with pro-inflammatory and anti-inflammatory features of the gut microbiome [J]. Gut, 2021, 70(7): 1287-1298.
- [10] 丁子涵, 王楠, 杨骏, 等. 芍药甘草汤在消化系统疾病中的应用及其作用机制研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2024, 49(23): 6311-6319.
- [11] DING Z H, WANG N, YANG J, et al. Shaoyao Gancao decoction in digestive system diseases: Applications and mechanisms [J]. China J Chin Mater Med, 2024, 49(23): 6311-6319.
- [12] 高广森, 杨玲玲, 杨秀娟, 等. 甘草有效成分及复方治疗溃疡性结肠炎的研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2023, 29(23): 264-274.
- [13] GAO G M, YANG L L, YANG X J, et al. Active components and compound prescriptions of Glycyrrhizae Radix et Rhizoma in treatment of ulcerative colitis: A review [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2023, 29(23): 264-274.
- [14] 王秋艳, 王世新, 隋方宇, 等. 白芍活性成分、药理作用及成分变化的影响因素研究进展 [J]. 中草药, 2025, 56(5): 1817-1829.
- [15] WANG Q Y, WANG S X, SUI F Y, et al. Research progress on

- active ingredients, pharmacological effects and influencing factors of component changes of *Paeoniae Radix Alba*[J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2025, 56(5): 1817-1829.
- [13] JIA N, MENG Y, LI J, et al. Pharmacodynamic and pharmacokinetic study of Shaoyao Gancao decoction for repairing intestinal barrier damage in ulcerative colitis[J]. *Mol Immunol*, 2024, 175: 132-142.
- [14] WANG C, CHU Q, DONG W, et al. Microbial metabolite deoxycholic acid-mediated ferroptosis exacerbates high-fat diet-induced colonic inflammation[J]. *Mol Metab*, 2024, 84: 101944.
- [15] 徐叔云, 卞如濂, 陈修, 等. 药理实验方法学[M]. 3版. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 1261-1266.
- XU S Y, BIAN R L, CHEN X, et al. Pharmacological Experimental Methodology [M]. 3rd ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 2002: 1261-1266.
- [16] WIRTZ S, POPP V, KINDERMANN M, et al. Chemically induced mouse models of acute and chronic intestinal inflammation[J]. *Nat Protoc*, 2017, 12(7): 1295-1309.
- [17] 肖焱焱, 朱菁, 刘心雨, 等. 芍药甘草汤化学成分、药理作用、临床应用的研究进展及其质量标志物(Q-Marker)的预测分析[J]. *中草药*, 2022, 53(24): 7960-7969.
- XIAO Y Y, ZHU J, LIU X Y, et al. Research progress on chemical constituents, pharmacological effects and clinical applications of Shaoyao Gancao decoction and predictive analysis of its Q-Marker[J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2022, 53(24): 7960-7969.
- [18] 师娟, 陈月, 杨佳璇, 等. 基于网络药理学及实验验证探究芍药甘草汤治疗溃疡性结肠炎的作用机制[J]. *中国中西医结合消化杂志*, 2025, 33(9): 842-848.
- SHI J, CHEN Y, YANG J X, et al. Exploring the mechanism of Shaoyao Gancao decoction in treatment of ulcerative colitis based on network pharmacology and experimental validation[J]. *Chin J Integr Tradit West Med Dig*, 2025, 33(9): 842-848.
- [19] 杨玲珑, 由智夫, 张杨. 芍药甘草汤及其活性成分干预溃疡性结肠炎作用机制研究进展[J]. *中成药*, 2025, doi: 31. 1368. R. 20250818. 1818. 002.
- YANG L L, YOU Z F, ZHANG Y. Research progress on the mechanism of Shaoyao Gancao decoction and its active components in the intervention of ulcerative colitis[J]. *Chin Tradit Pat Med*, 2025, doi: 31. 1368. R. 20250818. 1818. 002.
- [20] 吴玲芳, 李雨桐, 唐迎紫, 等. 芍药甘草汤化学成分及药理作用研究进展[J]. *药物评价研究*, 2021, 44(6): 1354-1360.
- WU L F, LI Y T, TANG Y Z, et al. Research progress on chemical constituents and pharmacological activities of Shaoyao Gancao decoction[J]. *Drug Eval Res*, 2021, 44(6): 1354-1360.
- [21] 代鑫, 李柔, 胡洋, 等. 基于 AMPK/mTOR 自噬通路探讨芍药苷保护溃疡性结肠炎小鼠的作用机制[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2024, 30(3): 45-53.
- DAI X, LI R, HU Y, et al. Protective mechanism of paeoniflorin on mice with ulcerative colitis based on AMPK/mTOR autophagy pathway[J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2024, 30(3): 45-53.
- [22] 黄梅, 颜景颖. 基于 NF- κ B/COX-2 信号通路探讨芍药内酯苷对溃疡性结肠炎模型大鼠的影响[J]. *中医学报*, 2022, 37(2): 365-370.
- HUANG M, YAN J Y. Effect of albiflorin on ulcerative colitis model rats based on NF- κ B/COX-2 signaling pathway[J]. *Acta Chin Med*, 2022, 37(2): 365-370.
- [23] 高广森, 杨玲玲, 杨秀娟, 等. 甘草及其内生菌通过调节肠道菌群和 Th17/Treg 细胞平衡改善三硝基苯磺酸诱导的溃疡性结肠炎[J]. *中国中药杂志*, 2025, 50(21): 6165-6175.
- GAO G M, YANG L L, YANG X J, et al. Glycyrrhizae Radix et Rhizoma and its endophytes ameliorate trinitrobenzene sulfonic acid-induced ulcerative colitis by modulating intestinal flora and Th17/Treg cell balance[J]. *China J Chin Mater Med*, 2025, 50(21): 6165-6175.
- [24] KONG J, XIANG Q, GE W, et al. Network pharmacology mechanisms and experimental verification of licorice in the treatment of ulcerative colitis[J]. *J Ethnopharmacol*, 2024, 324: 117691.
- [25] XU M, TAO J, YANG Y, et al. Ferroptosis involves in intestinal epithelial cell death in ulcerative colitis[J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(2): 86.
- [26] LONG D, MAO C, HUANG Y, et al. Ferroptosis in ulcerative colitis: Potential mechanisms and promising therapeutic targets[J]. *Biomed Pharmacother*, 2024, 175: 116722.
- [27] LIU C, LIU L, TIAN Z, et al. *Bacteroides uniformis* ameliorates pro-inflammatory diet-exacerbated colitis by targeting endoplasmic reticulum stress-mediated ferroptosis[J]. *J Adv Res*, 2025, 76: 481-499.
- [28] YAN J, ZENG Y, GUAN Z, et al. Inherent preference for polyunsaturated fatty acids instigates ferroptosis of Treg cells that aggravates high-fat-diet-related colitis[J]. *Cell Rep*, 2024, 43(8): 114636.
- [29] BI H, GUO S, WANG Y, et al. Pinobanksin ameliorated DSS-induced acute colitis mainly through modulation of SLC7A11/glutathione-mediated intestinal epithelial ferroptosis[J]. *Food Funct*, 2024, 15(9): 4970-4982.
- [30] FANG X, CAI Z, WANG H, et al. Loss of cardiac ferritin H facilitates cardiomyopathy via Slc7a11-mediated ferroptosis[J]. *Circ Res*, 2020, 127(4): 486-501.
- [31] HU S, LUO Y, YANG X, et al. Shaoyao Gancao decoction protects against dextran sulfate sodium-induced ulcerative colitis by down-regulating ferroptosis[J]. *J Pharm Pharmacol*, 2023, 75(8): 1111-1118.
- [32] 汤洋, 张曦月, 杨泽华, 等. 白芍-炙甘草配伍下调铁死亡的抗溃疡性结肠炎机制研究[J]. *时珍国医国药*, 2024, 35(8): 1810-1814.
- TANG Y, ZHANG X Y, YANG Z H, et al. Study on the anti-ulcerative colitis mechanism of Baishao and Zhigancao compatibility down-regulating ferroptosis[J]. *Lishizhen Med Mater Med Res*, 2024, 35(8): 1810-1814.
- [33] LI J, TIAN X, LIU J, et al. Therapeutic material basis and underlying mechanisms of Shaoyao decoction-exerted alleviation effects of colitis based on GPX4-regulated ferroptosis in epithelial cells[J]. *Chin Med*, 2022, 17(1): 96.

[责任编辑 周冰冰]