

• XXXX •

基于SLC7A11/GPX4信号通路探究四妙丸抑制肠上皮细胞铁死亡促进高尿酸血症大鼠肠道尿酸排泄的作用机制

张钟友^{1,2}, 冯慧琳^{1,2}, 段练^{1,2}, 范徐平^{1,2}, 董少昂^{1,2}, 王凌椿¹, 叶博闻¹, 戴号^{1*}

(1. 上海中医药大学附属光华医院, 上海 200052; 2. 上海中医药大学, 上海 201203)

[摘要] 目的: 基于溶质载体家族7成员11/谷胱甘肽过氧化物酶4(SLC7A11/GPX4)信号通路探究四妙丸通过抑制铁死亡改善高尿酸血症(HUA)大鼠肠道排泄尿酸功能的作用机制。方法: 将48只雄性SD大鼠随机分为正常组, 模型组, 四妙丸低、高剂量组(282.6、565.2 mg·kg⁻¹), 依托考昔组(5.4 mg·kg⁻¹), 铁死亡抑制剂(Fer-1)组(2 mg·kg⁻¹)。除正常组外, 其余各组大鼠予氧嗪酸钾(100 mg·kg⁻¹)腹腔注射联合次黄嘌呤(500 mg·kg⁻¹)灌胃处理建立HUA大鼠模型。21 d后, 各给药组灌胃相应剂量药物, Fer-1组腹腔注射Fer-1, 正常组、模型组给予等体积生理盐水灌胃。取材后, 生化法检测血清尿酸(SUA)、肌酐(Cr)、尿素氮(BUN)水平; 检测回肠组织亚铁离子(Fe²⁺)、还原型谷胱甘肽(GSH)、丙二醛(MDA)含量及超氧化物歧化酶(SOD)活性; 苏木素-伊红(HE)染色观察回肠组织病理学变化; 透射电镜观察回肠组织线粒体变化; 免疫组化法(IHC)及蛋白免疫印迹法(Western blot)检测回肠组织GPX4、铁蛋白重链1(FTH1)、酰基辅酶A合成酶长链家族成员4(ACSL4)、SLC7A11、三磷酸腺苷(ATP)结合盒转运蛋白G2(ABCG2)蛋白表达水平, 实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)检测回肠组织GPX4、FTH1、ACSL4、SLC7A11、ABCG2 mRNA表达。结果: 与正常组比较, 模型组大鼠SUA、Cr及BUN水平均显著升高($P < 0.01$), 回肠组织中MDA及Fe²⁺含量显著升高, GSH含量及SOD活性显著降低($P < 0.01$); HE染色结果显示, 回肠绒毛上皮大面积脱落, 绒毛结构破坏、排列紊乱, 局部组织结构不完整; 透射电镜观察可见线粒体体积缩小、嵴减少甚至消失, 呈现铁死亡相关超微结构特征; 分子水平检测及免疫组化结果表明, GPX4、FTH1、SLC7A11及ABCG2蛋白及mRNA表达显著下调, 而ACSL4蛋白及mRNA表达明显上调($P < 0.05$, $P < 0.01$)。与模型组比较, 四妙丸干预后, 各剂量组大鼠血清UA、Cr及BUN水平明显降低($P < 0.05$, $P < 0.01$), 回肠组织中MDA及Fe²⁺含量显著降低($P < 0.01$), GSH含量及SOD活性显著升高($P < 0.01$); HE染色结果显示, 回肠绒毛上皮脱落明显减轻, 绒毛结构较完整, 排列趋于规则, 局部组织损伤明显改善; 透射电镜观察可见线粒体损伤减轻, 线粒体体积缩小现象改善, 线粒体嵴部分恢复; 分子水平检测及免疫组化结果表明, 四妙丸可呈剂量依赖性地上调GPX4、FTH1、SLC7A11及ABCG2表达, 下调ACSL4表达($P < 0.05$, $P < 0.01$), 其中高剂量组各指标改善均具有统计学意义, 低剂量组FTH1 mRNA、SLC7A11 mRNA及ABCG2蛋白仅见改善趋势。结论: 四妙丸可能通过调控SLC7A11/GPX4信号通路抑制回肠上皮细胞铁死亡, 上调尿酸转运蛋白ABCG2表达, 从而促进肠道尿酸排泄, 改善HUA。

[关键词] 四妙丸; 高尿酸血症; 肠道尿酸排泄; 溶质载体家族7成员11/谷胱甘肽过氧化物酶4(SLC7A11/GPX4)信号通路; 铁死亡; 三磷酸腺苷结合盒转运蛋白G2(ABCG2)

[中图分类号] R242; R971+.1; R228 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(XXXX)XX-0001-11

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20260461

[网络出版地址]

[网络出版日期] XXXX-XX-XX



Investigation of Mechanism of Simiaowan in Promoting Intestinal Uric Acid Excretion in Hyperuricemic Rats by Inhibiting Ferroptosis of Intestinal Epithelial Cells via SLC7A11/GPX4 Signaling Pathway

ZHANG Zhongyou^{1,2}, FENG Huilin^{1,2}, DUAN Lian^{1,2}, FAN Xuping^{1,2}, DONG Shaoang^{1,2},
WANG Lingchun¹, YE Bowen¹, DAI Hao^{1*}

[收稿日期] 2026-02-27

[基金项目] 上海市长宁区医疗卫生科研专项基金项目(CNKW2024Y22); 上海市长宁区卫生健康委员会医学重点(特色)专科基金项目(20232003); 上海市卫生健康委员会面上项目(202140164)

[第一作者] 张钟友, 在读硕士, 从事高尿酸血症及痛风的中医药诊疗研究, E-mail: zhang_mwmb0214@163.com

[通信作者] *戴号, 硕士, 副主任医师, 从事高尿酸血症及痛风的中医药诊疗、足踝外科研究, E-mail: 13564799291@163.com

(1. Guanghua Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine (TCM),
Shanghai 200052, China; 2. Shanghai University of TCM, Shanghai 201203, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the mechanism by which Simiao Wan improve intestinal uric acid excretion in hyperuricemic (HUA) rats by inhibiting ferroptosis via the solute carrier family 7 member 11/glutathione peroxidase 4 (SLC7A11/GPX4) signaling pathway. **Methods:** Forty-eight male SD rats were randomly assigned to a normal group, a model group, a low-dose Simiao Wan group ($282.6 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), a high-dose Simiao Wan group ($565.2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), an etoricoxib group ($5.4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), and a ferroptosis inhibitor (Fer-1) group ($2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$). Except for the normal group, rats in all other groups were intraperitoneally injected with potassium oxonate ($100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) combined with intragastric administration of hypoxanthine ($500 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) to establish the HUA rat model. After 21 days, rats in each administration group received the corresponding dose of drug by gavage, rats in the Fer-1 group received intraperitoneal injection of Fer-1, and rats in the normal and model groups were given an equal volume of normal saline by gavage. After sampling, serum levels of uric acid (SUA), creatinine (Cr), and blood urea nitrogen (BUN) were measured using biochemical assays. The content of ferrous ion (Fe^{2+}), reduced glutathione (GSH), and malondialdehyde (MDA), as well as superoxide dismutase (SOD) activity in ileal tissues were determined. Hematoxylin and eosin (HE) staining was performed to observe the histopathological changes in the ileum, and transmission electron microscopy was used to observe mitochondrial alterations in the ileal tissue. Immunohistochemistry (IHC) and Western blot were used to detect the protein expression levels of GPX4, ferritin heavy chain 1 (FTH1), acyl-CoA synthetase long-chain family member 4 (ACSL4), SLC7A11, and ATP-binding cassette transporter G2 (ABCG2) in ileal tissue. Real-time quantitative polymerase chain reaction (Real-time PCR) was used to determine the mRNA expression of GPX4, FTH1, ACSL4, SLC7A11, and ABCG2 in the ileal tissue. **Results:** Compared with the normal group, the model group exhibited significantly elevated serum UA, Cr, and BUN levels ($P < 0.01$), significantly increased content of MDA and Fe^{2+} in ileal tissue, and significantly decreased GSH content and SOD activity ($P < 0.01$). HE staining showed extensive shedding of the ileal villous epithelium, disrupted and disorganized villous structure, and incomplete local tissue architecture. Transmission electron microscopy revealed reduced mitochondrial volume, decreased or even vanished cristae, indicating ultrastructural features characteristic of ferroptosis. Molecular and immunohistochemical results demonstrated that the protein and mRNA expression levels of GPX4, FTH1, SLC7A11, and ABCG2 were significantly downregulated, whereas those of ACSL4 were significantly upregulated ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Compared with the model group, after intervention with Simiao Wan, the serum UA, Cr, and BUN levels significantly decreased in all dose groups ($P < 0.05$, $P < 0.01$), the MDA and Fe^{2+} content in ileal tissues were significantly reduced ($P < 0.01$), and the GSH content and SOD activity significantly increased ($P < 0.01$). HE staining showed that the shedding of ileal villous epithelium was markedly alleviated, the villous structure became relatively intact and regularly arranged, and local tissue damage was obviously improved. Transmission electron microscopy showed attenuated mitochondrial damage, improvement in mitochondrial shrinkage, and partial restoration of mitochondrial cristae. Molecular and immunohistochemical results showed that Simiao Wan upregulated GPX4, FTH1, SLC7A11, and ABCG2, and downregulated ACSL4 in a dose-dependent manner. In the high-dose group, all indices improved significantly ($P < 0.05$, $P < 0.01$), whereas in the low-dose group, only improving trends were observed for FTH1 mRNA, SLC7A11 mRNA, and ABCG2 protein. **Conclusion:** Simiao Wan may inhibit ferroptosis of ileal epithelial cells by regulating the SLC7A11/GPX4 signaling pathway, and upregulate the expression of the uric acid transporter ABCG2, thereby promoting intestinal uric acid excretion and improving HUA.

[Keywords] Simiao Wan; hyperuricemia; intestinal uric acid excretion; solute carrier family 7 member 11/glutathione peroxidase 4 (SLC7A11/GPX4) signaling pathway; ferroptosis; adenosine triphosphate-binding cassette transporter G2 (ABCG2)

高尿酸血症(HUA)是由嘌呤代谢异常引起,以血尿酸(SUA)浓度升高超过饱和阈值为特征的代谢性疾病($\text{SUA} > 420 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)^[1],是痛风、代谢综合征、心血管疾病和慢性肾脏疾病等疾病的独立危险因素^[2]。近年来,随着我国社会经济发展,居民生活水平的提高和生活方式的改变,HUA的患病率逐年上升并成为仅次于糖尿病的第二大代谢性疾病^[3]。尿酸是人体嘌呤代谢的最终产物,其生成和排泄的动态平衡是机体维持尿酸稳态的关键因素。HUA分为尿酸合成过多和尿酸排泄不足2种类型,90%以上的HUA源于尿酸排泄不足。虽然肾脏是尿酸

排泄的主要途径,但仍有1/3的尿酸通过肠道排泄,肠道排泄障碍所导致的肾脏超载型HUA亦较为常见^[4]。目前治疗HUA的药物多以肾脏为靶点,通过促进尿酸肾脏排泄降低SUA水平,但会增加肾脏尿酸负荷,进而损伤肾脏功能^[5]。肠道表面积大,代偿能力强,促进肠道排泄尿酸已成为治疗HUA的新热点。

高浓度尿酸盐会诱发机体氧化应激,促使尿酸单钠晶体形成并激活NOD样受体蛋白3炎症小体,引发炎症级联反应^[6-7]。活性氧大量生成不仅会激活炎症反应,还会引发脂质过氧化、破坏细胞铁稳

态,进而诱发铁死亡^[8-10]。铁死亡是铁依赖性调控性细胞死亡,以线粒体形态异常为特征,其发生与脂质过氧化、铁稳态失衡及溶质载体家族7成员11/谷胱甘肽过氧化物酶4(SLC7A11/GPX4)抗氧化防御通路异常密切相关^[11]。研究表明,铁死亡在高尿酸相关组织损伤中发挥重要作用。在尿酸氧化酶敲除(UOX^{-/-})高尿酸小鼠模型中,肾组织出现铁沉积增加、脂质过氧化增强及GPX4和SLC7A11表达下降等铁死亡特征;应用铁死亡抑制剂(Fer-1)可显著减轻肾小管损伤、炎症反应及肾间质纤维化,并降低脂质过氧化和铁过载水平^[12]。研究表明,肠上皮细胞铁死亡可破坏肠道屏障结构与功能,而通过调控SLC7A11/GPX4通路抑制铁死亡有助于改善肠黏膜损伤。基于上述结果推测,铁死亡可能在高尿酸血症相关氧化应激与肠道尿酸排泄功能障碍之间发挥重要作用^[13-14]。

HUA在中医归属于“湿热”“湿浊”范畴,核心病机为脾失健运、湿浊内生、湿热蕴结^[15],四妙丸作为治疗湿热型HUA的经典方剂,由黄柏、苍术、牛膝、薏苡仁配伍而成,具有清热利湿、逐瘀通经之效,其单味药及有效成分均被证实具有抗氧化、促尿酸排泄的作用^[16-19]。课题组前期研究发现HUA模型大鼠肠上皮损伤伴三磷酸腺苷(ATP)结合盒转运蛋白G2(ABCG2)表达下降,四妙丸可修复肠上皮损伤并上调肠道尿酸转运蛋白ABCG2表达促进尿酸排泄^[20],但其是否通过调控铁死亡发挥作用尚未明确。基于此,本研究构建HUA大鼠模型,从多层面探讨四妙丸对回肠组织铁死亡的影响,围绕SLC7A11/GPX4通路揭示其改善肠道尿酸排泄的作用机制,为四妙丸的临床应用及中医药靶向肠道治疗HUA提供实验依据与新思路。

1 材料

1.1 仪器 ADVIA2400型全自动生化分析仪(德国西门子公司),MF-UBG-LED型正置显微镜荧光拍照系统(德国Lecia公司),TL-2010S型组织匀浆机(北京鼎昊源有限公司),TDL-5000CR型高速冷冻离心机(上海安亭科学仪器厂),Mutiskan TM GO型全波长酶标仪(美国赛默飞世尔科技公司),1045052型电泳仪、170-3930型小型Trans-Blot转印槽[伯乐生命医学产品(上海)有限公司],ChampChemi910PlusRG型全自动化学发光免疫分析仪(博科控股集团有限公司),Cobas Z 480型梯度聚合酶链式反应(PCR)仪[罗氏诊断产品(上海)有限公司],JEM-1400型透射电子显微镜(日本电子株

式会社)。

1.2 药物与试剂 苍术、黄柏、牛膝、薏苡仁(上海同济堂药业有限公司,批号分别为240212、231202、240121、240314)。中药饮片由上海中药制药技术有限公司、国家中药制药工程技术研究中心刘志远药物工程师、执业药师采购并鉴定。结果符合2025年版《中华人民共和国药典》要求。中药饮片加10倍水浸泡30 min,武火煎煮1 h,过滤收集滤液,将药渣再次加8倍水煎煮1 h,再次过滤收集滤液,合并混合2次滤液。将混合药液旋蒸浓缩,60℃真空干燥,粉碎,包装,得浸膏粉0.5 kg,药物提取率为33%, -20℃冰箱冷藏备用。

氧嗪酸钾、次黄嘌呤、Fer-1(上海麦克林生化科技股份有限公司,货号分别为P831461、H811076、F864515),依托考昔片(齐鲁制药有限公司,货号H20193272),苏木素-伊红(HE)染色试剂盒、动物RNA提取试剂盒(离心柱式)、Western封闭液(上海碧云天生物技术有限公司,货号分别为C0105S、R0026、P0023B),微量还原型谷胱甘肽(GSH)测定试剂盒、超氧化物歧化酶(SOD)测定试剂盒(南京建成生物工程研究所,货号分别为A006-2-1、A001-3-2),丙二醛(MDA)含量检测试剂盒(北京索莱宝科技有限公司,货号BC0025),亚铁离子(Fe²⁺)比色法测试盒(武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司,货号E-BC-K773-M),PrimeScript™ RT reagent Kit (Perfect Real Time)试剂盒、高特异性qPCR试剂TB Green® Premix Ex Taq™ II试剂盒[宝日生物技术有限公司(北京)有限公司,货号分别为RR037A、RR820A],GPX4单克隆抗体、SLC7A11单克隆抗体[艾比玛特医药科技(上海)有限公司,货号分别为T56959S、T57046S],β-肌动蛋白(β-actin)、铁蛋白重链1(FTH1)多克隆抗体、酰基辅酶A合成酶长链家族成员4(ACSL4)多克隆抗体、ABCG2多克隆抗体(武汉三鹰生物技术有限公司,货号分别为20536-1-AP、11682-1-AP、22401-1-AP、27286-1-AP),放射免疫沉淀法(RIPA)裂解液、蛋白酶抑制剂混合液、磷酸酶抑制剂混合液、Omni-Easy™即用型蛋白定量法(BCA蛋白定量试剂盒、免染聚丙烯酰胺凝胶电泳(PAGE)凝胶快速制备试剂盒、辣根过氧化物酶(HRP)标记的山羊抗兔免疫球蛋白(Ig)G、Omni-ECL™增强型化学发光检测试剂盒(上海雅酶生物医药科技有限公司,货号分别为PC101、GRF101、GRF102、ZJ102、PG123、LF102、SQ101)。

1.3 动物 SD雄性大鼠48只,体质量(190±10) g,

购自上海必凯科翼生物科技有限责任公司,合格证号SCXK(沪)2023-0009。饲养于上海中医药大学动物实验中心,温度22~25℃,湿度40%~70%,环境灯光明暗各12 h,自由进食饮水。

1.4 伦理 动物实验方案经上海中医药大学实验动物伦理委员会审查批准(伦理编号PZSHUTCM2501070004)。

2 方法

2.1 动物分组、造模及给药 将48只雄性SD大鼠随机分为正常组,模型组,四妙丸低、高剂量组(282.6、565.2 mg·kg⁻¹·d⁻¹),依托考昔组(5.4 mg·kg⁻¹·d⁻¹),Fer-1组(2 mg·kg⁻¹·d⁻¹),每组8只。除正常组外,其余各组参考文献[21]予以氧嗪酸钾(100 mg·kg⁻¹·d⁻¹)腹腔注射、次黄嘌呤(500 mg·kg⁻¹·d⁻¹)灌胃处理,持续21 d,第21天造模结束2 h后行眼内眦采血测定SUA水平,造模后大鼠SUA水平显著超过正常组大鼠SUA水平即可认为建立HUA大鼠模型。于第22天开始给药干预治疗,参考课题组前期研究及其他研究中的方法^[6,12,20]确定给药剂量,各给药组灌胃相应剂量药物,Fer-1组大鼠腹腔注射Fer-1,正常组、模型组给予等体积生理盐水灌胃,中药浸膏粉、依托考昔片及Fer-1均以生理盐水配制,连续给药28 d。

2.2 观察大鼠一般生命体征 观察实验大鼠毛发外观、精神状态、饮食饮水情况、体质量变化、排泄情况,并记录死亡及不良反应情况。

2.3 全自动生化分析仪检测SUA水平、肾功能指标 第21天行眼眶取血,第49天给药干预4 h后处死大鼠行腹主动脉取血。所取血样4℃保存,3 500 r·min⁻¹(离心半径9.5 cm,下同)离心10 min,取上清于全自动生化仪检测SUA、肌酐(Cr)、尿素氮(BUN)。

2.4 HE染色检测大鼠回肠病理组织形态 取材后组织立即置于4%多聚甲醛溶液中固定24 h。固定完成后,将组织置于包埋盒中,流动水冲洗1 h,依次经70%、80%、85%、90%、95%乙醇Ⅰ、95%乙醇Ⅱ、无水乙醇Ⅰ及无水乙醇Ⅱ脱水,每步30 min;随后置于二甲苯Ⅰ、Ⅱ中透明,各30 min。之后将组织置于56~62℃熔化石蜡中浸蜡2次,每次1 h,进行包埋并冷却制成蜡块。将蜡块切成4 μm厚切片,温水漂片后贴附于载玻片,75℃烤片30 min。

HE染色时,切片先于二甲苯Ⅰ、Ⅱ中脱蜡各10 min,再经无水乙醇Ⅰ、Ⅱ及梯度乙醇复水,各5 min,流水冲洗。随后以苏木素染色3~5 min,流水冲洗后以1%盐酸水溶液分化数秒,流水冲洗并进行

返蓝。再以伊红染液复染30 s~1 min。染色完成后,经95%乙醇及无水乙醇脱水,二甲苯Ⅰ、Ⅱ透明,中性树胶封片,于光学显微镜下观察并采集图像。

2.5 透射电镜观察大鼠回肠组织线粒体变化 样本置于2.5%戊二醛中室温固定24 h,经磷酸盐缓冲液(PBS)冲洗后以1%锇酸固定2 h。随后经梯度乙醇脱水、丙酮置换后进行包埋处理,37℃及60℃烘箱聚合。定位后使用超薄切片机制备60~80 nm超薄切片,铜网捞取。切片经醋酸双氧铀和柠檬酸铅双染后,采用透射电镜观察细胞器超微结构并采集图像。

2.6 试剂盒检测回肠组织MDA、Fe²⁺、GSH含量及SOD活性 取适量大鼠回肠组织,按照各试剂盒说明书要求加入相应提取液或生理盐水进行组织匀浆,离心取上清液备用。随后按照试剂盒说明书操作,分别测定回肠组织中MDA、Fe²⁺、GSH含量及SOD活性,并使用酶标仪测定吸光度值,根据标准曲线计算各指标含量或酶活性。

2.7 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测回肠组织GPX4、FTH1、ACSL4、ABCG2蛋白表达 称取等量大鼠回肠组织,剪碎后加入含蛋白酶抑制剂和磷酸酶抑制剂的RIPA裂解液进行裂解,加入研磨钢珠后使用组织研磨仪充分研磨至均匀匀浆状态,随后置于冰上裂解30 min。裂解结束后,在4℃条件下14 000 r·min⁻¹离心10 min,收集上清液用于后续实验。按照BCA蛋白定量试剂盒说明书操作,测定上清液蛋白浓度,加入上样缓冲液混匀后煮沸变性备用。根据目的蛋白分子量大小,分别采用7.5%和12.5%的十二烷基硫酸钠(SDS)-PAGE进行电泳分离,电泳结束后转移至聚偏二氟乙烯(PVDF)膜,室温封闭2 h。随后加入一抗GPX4(1:1 000)、ACSL4(1:10 000)、FTH1(1:4 000)、ABCG2(1:2 000)、β-actin(1:5 000),4℃孵育过夜,次日TBST洗涤3次,每次10 min,二抗HRP山羊抗兔IgG(1:5 000)室温孵育1 h,TBST洗涤3次,每次10 min,按增强化学发光法(ECL)化学发光试剂盒说明书配制显色液,使用化学发光成像系统显影,使用Image J软件分析条带灰度值。

2.8 免疫组化法检测回肠组织SLC7A11蛋白表达 石蜡切片经二甲苯Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ各15 min脱蜡后,依次经无水乙醇Ⅰ、Ⅱ、85%乙醇及75%乙醇各5 min处理并蒸馏水洗;随后置于pH 6.0的柠檬酸抗原修复缓冲液中进行抗原修复,自然冷却后用PBS(pH 7.4)洗涤3次,每次5 min。随后将切片置于3%过氧化氢溶液中室温避光孵育25 min以阻断内源

性过氧化物酶, PBS 洗涤后用 3% 牛血清白蛋白 (BSA) 室温封闭 30 min。弃去封闭液后加入一抗 SLC7A11(1:200), 置于湿盒内 4℃ 孵育过夜; 次日 PBS 洗涤后加入 HRP 标记二抗, 室温孵育 50 min。经 PBS 洗涤后加入新鲜配制的二氨基联苯胺 (DAB) 显色液进行显色反应, 显微镜下控制反应时间, 蒸馏水冲洗终止反应。随后用苏木素复染细胞核约 3 min, 经分化、返蓝及水洗处理后, 依次经 75% 乙醇、85% 乙醇、无水乙醇 I、II 及二甲苯脱水透明, 最后以中性树胶封片, 显微镜下观察结果。采用 Image J 软件分析阳性染色面积占比。

2.9 实时荧光定量 (Real-time) PCR 检测回肠组织 GPX4、FTH1、ACSL4、SLC7A11、ABCG2 mRNA 表达 取大鼠回肠组织, 按照 RNAeasy 动物 RNA 抽提试剂盒 (离心柱式) 说明书提取组织总 RNA, 并测定 RNA 浓度。随后依据 PrimeScript RT reagent Kit 试剂盒说明书进行反转录反应, 合成 cDNA。按照 TB Green® Premix Ex Taq II 试剂盒说明书进行扩增, 反应程序为 95℃ 预变性 30 s, 95℃ 变性 5 s, 60℃ 退火 30 s, 40 个循环。PCR 反应在 Light Cycler/LightCycler480 系统上完成, 以甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (GAPDH) 为内参采用 2^{-ΔΔC_t} 法计算相对表达水平。引物由上海冠泰生物科技有限公司 (BioTNT) 设计并合成, 引物序列见表 1。

2.10 统计学分析 使用 SPSS 27.0 软件对实验数据进行统计分析, 采用 GraphPad Prism 10.0 软件绘制图形。计量资料数据结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示。对数据进行正态性及方差齐性检验, 若符合正态分布且方

表 1 引物序列

Table 1 Primer sequences		
引物	引物序列 (5'-3')	长度/bp
GPX4	上游 TGATAAGAACGGCTGCGTGGT	107
	下游 GCAGGGGCACACACTTGTAGG	
FTH1	上游 AAGAAACCTGACCGTGATGAC	107
	下游 GCCAGTTTGTGAAGTTCCAGT	
ACSL4	上游 TCACGCATTGAATACAAGGTC	102
	下游 GATGAAAAGTCAGAGGGCAGT	
SLC7A11	上游 GGCTTCCTTATCACCTTGACT	87
	下游 TGACAATCGTCTGAACCACTT	
ABCG2	上游 CCTAGCAGCAAGGAAAGACCCAC	82
	下游 GCATTTGAAATTGGCAGGTTGAG	
GAPDH	上游 CATCAAGAAGGTGGTGAAGCA	87
	下游 AAGTCACAGGAGACAACCTGGTC	

差不齐, 多组间比较采用单因素方差分析, 两组间比较采用 LSD-*t* 检验; 若不符合正态分布, 则采用 Kruskal-Wallis 秩和检验。*P*<0.05 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 各组大鼠一般生命体征 实验期间对各组大鼠一般生命体征进行持续观察。与正常组大鼠比较, 模型组大鼠毛发光泽度降低, 精神状态欠佳, 行为倦怠, 饮食及饮水量减少, 大便溏薄, 体质量增长缓慢或出现下降。经药物干预后, 各给药组大鼠一般状态较模型组均有不同程度改善, 表现为毛发状态及精神状况逐渐恢复, 饮食饮水情况改善, 体质量下降趋势得到缓解, 排泄情况趋于正常。见表 2。

表 2 四妙丸对各组大鼠体质量水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 2 Effect of Simiao Wan on body weight in rats of each group ($\bar{x} \pm s, n=8$)					g
组别	剂量 mg·kg ⁻¹	造模 1 d	造模 21 d	治疗 28 d	
正常组		254.01±8.34	366.69±16.14	471.38±29.04	
模型组		252.39±8.73	319.79±15.65 ²⁾	401.04±21.90 ²⁾	
四妙丸低剂量组	282.6	252.50±4.35	326.19±22.00 ²⁾	414.24±34.66	
四妙丸高剂量组	565.2	255.63±11.23	331.43±10.82 ²⁾	417.39±18.98	
依托考昔组	5.4	248.55±8.83	322.89±15.43 ²⁾	409.38±38.53	
Fer-1 组	2	258.94±7.66	330.21±13.80 ²⁾	430.93±30.55	

注: 与正常组比较¹⁾*P*<0.05, ²⁾*P*<0.01; 与模型组比较³⁾*P*<0.05, ⁴⁾*P*<0.01; 与四妙丸低剂量组比较⁵⁾*P*<0.05, ⁶⁾*P*<0.01 (表 3-表 9 同)

3.2 四妙丸对 HUA 模型大鼠 SUA、Cr、BUN 水平的影响 造模 21 d 后, 与正常组比较, HUA 模型大鼠 SUA 水平显著升高 (*P*<0.01), 提示 HUA 模型建立成功。药物干预 28 d 后, 与模型组比较, 四妙丸各剂量组、依托考昔组、Fer-1 组大鼠 SUA 水平均显著降低 (*P*<0.01), 且四妙丸各给药组 SUA 降低幅度

呈一定剂量依赖性。造模 21 d 后, 与正常组比较, HUA 模型大鼠血清 Cr 及 BUN 水平均显著升高 (*P*<0.01)。药物干预 28 d 后, 与模型组比较, 四妙丸各剂量组及 Fer-1 组大鼠血清 Cr 水平均显著降低 (*P*<0.01), 四妙丸各剂量组大鼠血清 BUN 水平均明显降低, 差异有统计学意义 (*P*<0.05, *P*<0.01), Fer-1 组

大鼠血清BUN水平差异无统计学意义,依托考昔组大鼠血清Cr及BUN水平差异均无统计学意义。见表3、表4。

表3 四妙丸对各组大鼠SUA水平的影响 ($\bar{x}\pm s, n=8$)

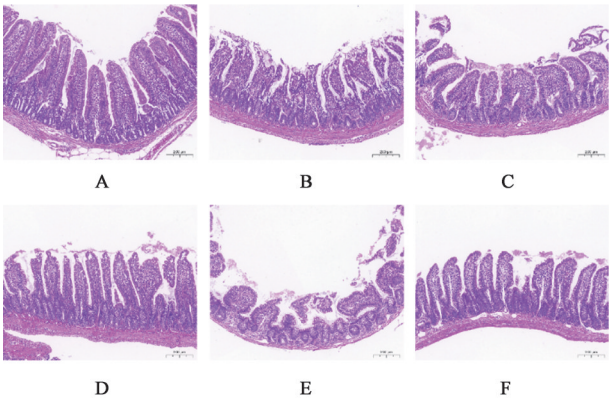
Table 3 Effect of Simiao Wan on SUA in rats of each group ($\bar{x}\pm s, n=8$)				
组别	剂量/mg·kg ⁻¹	造模 21 d	治疗 28 d	
正常组		90.85±4.97	89.30±5.39	
模型组		528.17±36.33 ²⁾	440.72±50.04 ²⁾	
四妙丸低剂量组	282.6	526.58±50.46 ²⁾	107.38±5.68 ⁴⁾	
四妙丸高剂量组	565.2	538.67±25.72 ²⁾	95.12±14.21 ⁴⁾	
依托考昔组	5.4	491.85±32.54 ²⁾	362.28±42.80 ^{4,6)}	
Fer-1 组	2	518.73±34.22 ²⁾	138.45±18.33 ⁴⁾	

3.3 四妙丸对HUA模型大鼠回肠组织形态的影响

HE染色结果显示,正常组大鼠回肠组织结构清晰,绒毛上皮完整连续,绒毛排列整齐规则,黏膜结构完整。与正常组比较,模型组大鼠回肠组织病理损伤明显,表现为绒毛上皮大面积脱落,绒毛结构破坏,排列紊乱,局部组织结构不完整,提示模型组回肠组织存在明显损伤。与模型组比较,四妙丸低剂量组回肠绒毛上皮损伤情况有所改善,绒毛结构破坏程度减轻,但仍可见部分上皮脱落及结构不完整;四妙丸高剂量组回肠组织结构明显改善,绒毛上皮连续性增强,结构较为完整,排列趋于规则,损伤程度显著减轻。依托考昔组回肠组织病理损伤未见明显改善,绒毛结构仍存在不同程度破坏;Fer-1组回肠组织损伤情况较模型组明显缓解,绒毛结构完整性提高,上皮脱落现象减少。见图1。

3.4 四妙丸对HUA模型大鼠回肠组织线粒体形态的影响

透射电镜观察结果显示,正常组大鼠回肠组织细胞内线粒体形态结构完整,双层膜结构清晰,线粒体嵴排列规则,未见明显超微结构异常。与正常组比较,模型组大鼠回肠组织细胞线粒体出现明显超微结构损伤,表现为线粒体体积缩小,线



注:A.正常组;B.模型组;C.四妙丸低剂量组;D.四妙丸高剂量组;E.依托考昔组;F.Fer-1组(图2-图5同)

图1 四妙丸对各组大鼠回肠组织病理学改变的影响(HE,×200)

Fig. 1 Effect of Simiao Wan on histopathological changes in ileal tissue of rats in each group (HE,×200)

粒体嵴明显减少甚至消失,线粒体膜密度增高并伴有膜皱缩等改变,呈现出典型的铁死亡相关线粒体形态学特征。与模型组比较,依托考昔组及四妙丸低剂量组线粒体超微结构损伤程度有所减轻,线粒体形态较为完整,嵴结构部分恢复;Fer-1组及四妙丸高剂量组改善更为明显,线粒体体积及嵴结构基本恢复正常,膜结构较为完整。见图2。

3.5 四妙丸对HUA模型大鼠回肠组织MDA、Fe²⁺、GSH含量及SOD活性的影响

与正常组比较,模型组大鼠回肠组织中GSH含量和SOD活性显著降低($P<0.01$),而Fe²⁺和MDA含量显著升高($P<0.01$),提示抗氧化防御能力减弱、脂质过氧化增强及铁稳态失衡。与模型组比较,四妙丸干预后上述指标均显著改善($P<0.01$),其中高剂量组改善更为明显,呈现一定的剂量依赖性。Fer-1组同样可显著逆转上述异常变化($P<0.01$)。依托考昔组对MDA有显著降低作用,差异有统计学意义($P<0.01$),对GSH和SOD仅呈升高趋势,对Fe²⁺无显著影响,差异无统计学意义。见表5。

表4 四妙丸对各组大鼠肌酐、尿素氮水平的影响 ($\bar{x}\pm s, n=8$)

Table 4 Effect of Simiao Wan on serum creatinine and blood urea nitrogen in rats of each group ($\bar{x}\pm s, n=8$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	造模 21 d		治疗 28 d	
		Cr/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	BUN/ $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$	Cr/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	BUN/ $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$
正常组		23.89±1.6	4.76±0.41	27.33±1.93	5.02±0.48
模型组		31.29±4.62 ²⁾	7.58±1.69 ²⁾	34.10±3.91 ²⁾	5.97±0.65 ¹⁾
四妙丸低剂量组	282.6	31.21±2.37 ²⁾	7.87±1.13 ²⁾	26.73±2.15 ⁴⁾	5.20±0.62 ³⁾
四妙丸高剂量组	565.2	30.54±1.80 ²⁾	7.43±0.68 ²⁾	24.40±1.86 ⁴⁾	4.92±0.29 ⁴⁾
依托考昔组	5.4	30.36±2.39 ²⁾	7.04±0.89 ²⁾	33.02±3.22 ⁶⁾	6.63±0.92 ⁶⁾
Fer-1 组	2	33.64±5.52 ²⁾	7.09±1.02 ²⁾	26.83±2.08 ⁴⁾	5.35±0.87

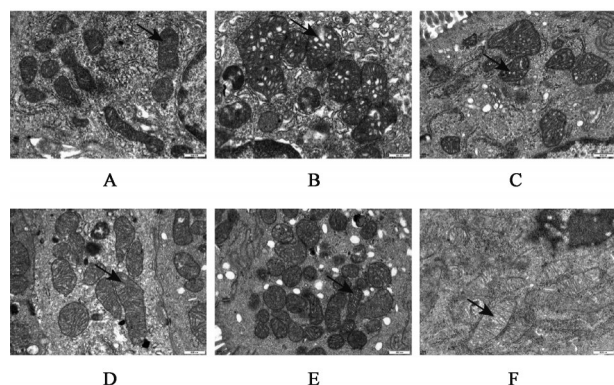


图2 四妙丸对各组大鼠回肠组织线粒体超微结构变化的影响(透射电镜,×500)

Fig. 2 Effect of Simiao Wan on mitochondrial ultrastructural changes in ileal tissue of rats in each group (TEM, ×500)

3.6 四妙丸对HUA大鼠回肠组织GPX4、FTH1、ACSL4、SLC7A11蛋白表达的影响 与正常组比较,模型组大鼠回肠组织中SLC7A11蛋白表达显著降低($P<0.01$)。与模型组比较,四妙丸低、高剂量组和Fer-1组SLC7A11蛋白表达显著升高($P<0.01$)。依托考昔组SLC7A11蛋白表达比较差异无统计学意义。见图3、表6。

与正常组比较,模型组大鼠回肠组织中GPX4、FTH1蛋白表达明显降低($P<0.05$, $P<0.01$),而ACSL4蛋白表达显著升高($P<0.01$)。与模型组比较,四妙丸低、高剂量组和Fer-1组GPX4、FTH1蛋白表达明显升高($P<0.05$, $P<0.01$),ACSL4蛋白表达显著降低($P<0.01$),其中高剂量组上述变化更为明显,呈现一定的剂量依赖性。依托考昔组GPX4、FTH1蛋白表达差异无统计学意义,ACSL4蛋白表达降低($P<0.05$)。见图4、表7。

3.7 四妙丸对HUA大鼠回肠组织GPX4、FTH1、

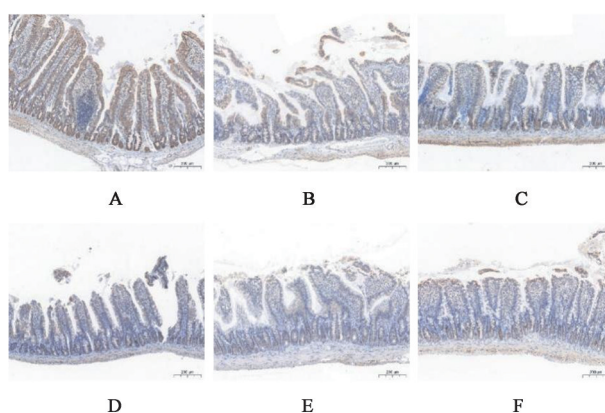


图3 四妙丸对各组大鼠回肠组织SLC7A11蛋白阳性表达的影响(免疫组化,×500)

Fig. 3 Effect of Simiao Wan on expression of SLC7A11 protein in ileal tissue of rats in each group (IHC, ×500)

ACSL4、SLC7A11 mRNA表达的影响 与正常组比较,HUA模型组大鼠回肠组织中GPX4、SLC7A11及FTH1 mRNA表达水平显著降低($P<0.01$),ACSL4 mRNA表达水平显著升高($P<0.01$)。与模型组比较,四妙丸干预后,各剂量组大鼠回肠组织中GPX4 mRNA表达显著上调($P<0.01$),ACSL4 mRNA表达显著下调($P<0.01$),低剂量组大鼠回肠组织中FTH1及SLC7A11 mRNA表达上调,差异无统计学意义,高剂量组大鼠回肠组织中FTH1及SLC7A11 mRNA表达显著上调($P<0.01$),各治疗组中高剂量组改善效果更为明显,呈现一定的剂量依赖性;Fer-1组GPX4、SLC7A11及FTH1 mRNA表达显著升高,ACSL4 mRNA表达显著降低($P<0.01$);依托考昔组GPX4、FTH1、ACSL4及SLC7A11 mRNA表达较模型组呈轻度变化,差异无统计学意义。见表8。

表5 四妙丸对各组大鼠回肠组织GSH、 Fe^{2+} 、MDA及SOD水平的影响($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

Table 5 Effect of Simiao Wan on GSH, Fe^{2+} , MDA and SOD levels in ileal tissue of rats in each group ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

组别	剂量/ $mg \cdot kg^{-1}$	GSH/ $\mu mol \cdot g^{-1}$	Fe^{2+} / $\mu mol \cdot kg^{-1}$	MDA/ $\mu mol \cdot g^{-1}$	SOD/ $U \cdot mg^{-1}$
正常组		3.58 ± 0.30	528.96 ± 78.96	5.12 ± 0.94	23.30 ± 1.05
模型组		$1.23 \pm 0.27^{2)}$	$1\ 138.58 \pm 110.66^{2)}$	$11.47 \pm 1.95^{2)}$	$16.54 \pm 1.05^{2)}$
四妙丸低剂量组	282.6	$2.44 \pm 0.42^{4)}$	$721.09 \pm 174.82^{4)}$	$3.80 \pm 1.23^{4)}$	$20.11 \pm 0.63^{4)}$
四妙丸高剂量组	565.2	$3.22 \pm 0.31^{4,6)}$	$423.64 \pm 157.47^{4,6)}$	$1.50 \pm 0.4^{4,6)}$	$23.10 \pm 1.15^{4,6)}$
依托考昔组	5.4	$1.58 \pm 0.54^{6)}$	$1\ 123.02 \pm 83.76^{6)}$	$5.15 \pm 1.36^{4)}$	18.83 ± 1.86
Fer-1组	2	$2.95 \pm 0.28^{4,5)}$	$783.62 \pm 166.89^{4)}$	$2.78 \pm 0.49^{4)}$	$21.83 \pm 0.71^{4)}$

3.8 四妙丸对HUA大鼠回肠组织ABCG2蛋白及mRNA表达的影响 与正常组比较,HUA模型组大鼠回肠组织中ABCG2蛋白及mRNA表达水平均显著降低($P<0.01$)。与模型组比较,四妙丸干预后

ABCG2表达整体呈上调趋势,低剂量组蛋白表达有所升高,差异无统计学意义,高剂量组蛋白表达显著升高($P<0.01$);各剂量组ABCG2 mRNA表达均显著升高($P<0.01$),其中高剂量组升高最为显著,呈

表 6 四妙丸对各组大鼠回肠组织 SLC7A11 蛋白阳性染色面积占
比的影响 ($\bar{x}\pm s, n=8$)

Table 6 Effect of Simiao Wan on percentage of SLC7A11-positive
staining area in ileal tissue of rats in each group ($\bar{x}\pm s, n=8$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	SLC7A11/%
正常组		7.63±0.64
模型组		1.50±0.54 ²⁾
四妙丸低剂量组	282.6	4.85±0.99 ⁴⁾
四妙丸高剂量组	565.2	7.28±2.38 ^{4,6)}
依托考昔组	5.4	1.08±0.20 ⁶⁾
Fer-1 组	2	3.30±1.27 ^{4,5)}

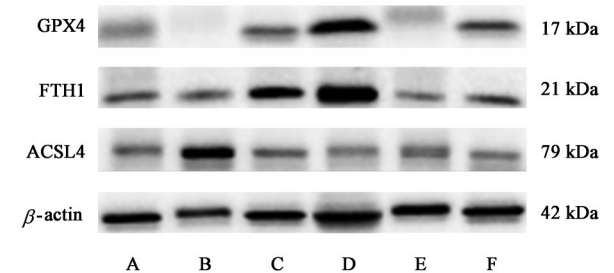


图 4 四妙丸对各组大鼠回肠组织 GPX4、FTH1、ACSL4 蛋白表达
水平的影响

Fig. 4 Effect of Simiao Wan on protein expression levels of
GPX4, FTH1 and ACSL4 in ileal tissue of rats in each group

表 7 四妙丸对各组大鼠回肠组织 GPX4、FTH1、ACSL4 蛋白表达
水平的影响 ($\bar{x}\pm s, n=8$)

Table 7 Effect of Simiao Wan on protein expression levels of GPX4,
FTH1 and ACSL4 in ileal tissue of rats in each group ($\bar{x}\pm s, n=8$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	GPX4 /β-actin	FTH1 /β-actin	ACSL4 /β-actin
正常组		1.85±0.17	1.15±0.15	0.75±0.08
模型组		0.77±0.53 ²⁾	0.47±0.09 ¹⁾	1.47±0.22 ²⁾
四妙丸低剂量组	282.6	1.69±0.17 ⁴⁾	1.08±0.40 ³⁾	0.76±0.09 ⁴⁾
四妙丸高剂量组	565.2	2.50±0.19 ^{4,6)}	1.81±0.47 ^{4,5)}	0.66±0.14 ⁴⁾
依托考昔组	5.4	1.15±0.06 ⁶⁾	0.64±0.15	1.09±0.25 ^{3,5)}
Fer-1 组	2	1.71±0.08 ⁴⁾	1.11±0.44 ³⁾	0.76±0.01 ⁴⁾

现一定的剂量依赖性; Fer-1 组 ABCG2 蛋白及 mRNA 表达亦明显上调($P<0.05, P<0.01$); 依托考昔组 ABCG2 蛋白及 mRNA 表达较模型组均无明显变

表 8 四妙丸对各组大鼠回肠组织 GPX4、FTH1、ACSL4、SLC7A11 mRNA 水平的影响 ($\bar{x}\pm s, n=8$)

Table 8 Effect of Simiao Wan on GPX4, FTH1, ACSL4 and SLC7A11 mRNA levels in ileal tissue of rats in each group ($\bar{x}\pm s, n=8$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	GPX4	FTH1	ACSL4	SLC7A11
正常组		1.07±0.09	1.07±0.05	0.95±0.08	1.05±0.15
模型组		0.48±0.31 ²⁾	0.51±0.10 ²⁾	1.41±0.14 ²⁾	0.60±0.07 ²⁾
四妙丸低剂量组	282.6	1.27±0.31 ⁴⁾	0.73±0.14	0.92±0.09 ⁴⁾	0.89±0.17
四妙丸高剂量组	565.2	1.39±0.25 ⁴⁾	1.05±0.16 ^{4,5)}	0.63±0.19 ⁴⁾	1.31±0.15 ^{4,5)}
依托考昔组	5.4	0.87±0.24	0.66±0.15	1.23±0.18	0.57±0.03
Fer-1 组	2	1.15±0.24 ⁴⁾	0.82±0.07 ⁴⁾	0.88±0.21 ⁴⁾	0.79±0.05 ⁴⁾

化, 差异无统计学意义。见图 5、表 9。

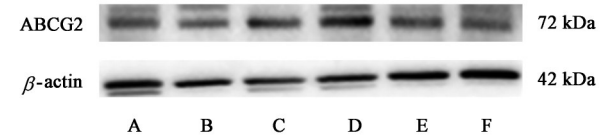


图 5 各组大鼠回肠组织 ABCG2 蛋白表达电泳
Fig. 5 Electrophoresis of protein expression levels of ABCG2 in
ileal tissue of rats in each group

4 讨论

HUA 的核心病理基础为尿酸生成与排泄失衡, 其中以尿酸排泄不足最为常见^[22]。近年来研究表明, 肠道作为肾外尿酸排泄的重要途径, 在维持尿酸稳态中发挥关键作用, 其排泄功能受损与 HUA 的发生发展密切相关^[4]。本研究发现, HUA 状态下回肠上皮细胞铁死亡被激活, 而四妙丸可通过调控 SLC7A11/GPX4 信号通路抑制铁死亡, 并上调尿酸转运蛋白 ABCG2 的表达, 从而促进肠道尿酸排泄, 降低 SUA 水平。上述作用呈一定剂量依赖性, 其中高剂量效果更为显著。上述结果提示, 靶向“铁死亡-肠道转运”轴可能是四妙丸干预 HUA 的重要作用机制之一。

既往研究表明, 高尿酸状态下肠上皮细胞易发生氧化应激损伤^[23]。高水平尿酸可诱导活性氧过度生成, 继而引发脂质过氧化和线粒体功能障碍, 破坏肠上皮细胞结构并损害肠屏障功能^[24-25]。上述报道与本研究 HUA 大鼠氧化应激相关指标的变化趋势一致。本研究进一步观察到, HUA 大鼠回肠组织结构明显受损, 并伴有线粒体体积缩小、线粒体嵴减少甚至消失等超微结构改变, 上述形态学特征与铁死亡的典型表现相符, 提示铁死亡可能是介导肠上皮损伤的重要机制。四妙丸干预后, 上述组织及超微结构异常均得到明显改善, 且整体变化趋势与铁死亡抑制剂 Fer-1 相似, 提示抑制铁死亡可能是四妙丸维持肠道结构完整性、发挥肠黏膜保护作用的重要途径。

表9 四妙丸对各组大鼠回肠组织 ABCG2 蛋白及 mRNA 表达水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 9 Effect of Simiao Wan on ABCG2 protein and mRNA expression levels in ileal tissue of rats in each group ($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	ABCG2/ β -actin	ABCG2 mRNA
正常组		0.61±0.09	1.65±0.20
模型组		0.31±0.07 ²⁾	0.57±0.08 ²⁾
四妙丸低剂量组	282.6	0.44±0.07	0.97±0.09 ⁴⁾
四妙丸高剂量组	565.2	0.59±0.12 ⁴⁾	1.63±0.27 ^{4,5)}
依托考昔组	5.4	0.38±0.08	0.62±0.16
Fer-1 组	2	0.50±0.09 ³⁾	1.29±0.20 ⁴⁾

铁死亡是一种由铁依赖性脂质过氧化驱动的程序性细胞死亡形式,其发生与铁稳态失衡、抗氧化防御通路异常及脂质过氧化加剧密切相关^[26]。SLC7A11/GPX4 信号轴通过调控谷胱甘肽合成及清除脂质过氧化物,在抑制铁死亡过程中发挥关键作用。其中,GPX4 活性降低被认为是铁死亡发生的关键环节,而 SLC7A11 通过调控半胱氨酸摄取维持谷胱甘肽水平,是其上游的重要调控因子^[27-28]。本研究发现,HUA 可诱导回肠组织抗氧化防御系统受损及铁稳态紊乱,并伴随 SLC7A11/GPX4 轴失活及 ACSL4 介导的脂质过氧化增强,提示铁死亡在肠道损伤中发挥重要作用。四妙丸干预后,可显著恢复该防御体系功能,抑制脂质过氧化反应并纠正铁稳态失衡,且呈现出明显的剂量依赖性,说明其可能通过重建“抗氧化—铁稳态—脂质过氧化”调控网络,有效阻断铁死亡进程。相比之下,依托考昔对上述通路影响相对有限,提示其可能主要通过抗炎作用发挥效应,而四妙丸在抗氧化及铁死亡调控方面表现出更为全面的干预优势。

肠道尿酸排泄依赖于转运蛋白的正常表达与功能。其中,ABCG2 是肠上皮细胞顶膜关键的尿酸外排转运蛋白,其表达下调是肠道尿酸排泄功能受损的主要分子机制^[29]。有研究表明,氧化应激及脂质过氧化水平升高可影响转运蛋白的表达及膜定位,这可能是铁死亡影响 ABCG2 表达的潜在机制之一^[30-31]。本研究结果显示,HUA 大鼠回肠组织中 ABCG2 蛋白及 mRNA 表达均降低,四妙丸干预后其表达明显恢复,并呈一定的剂量依赖性,高剂量组作用更为显著,该结果与课题组前期研究结果一致。同时,铁死亡抑制剂 Fer-1 同样可上调 ABCG2 表达,提示铁死亡过程可能参与肠道尿酸转运功能的调控。结合上述结果推测,HUA 诱导的回肠上皮细胞铁死亡可能通过破坏肠道上皮结构并抑制尿

酸转运蛋白表达,进而影响肠道尿酸排泄功能。四妙丸通过调控 SLC7A11/GPX4 通路抑制铁死亡,改善肠道上皮结构与功能,同时上调 ABCG2 表达,增强肠上皮细胞尿酸外排能力,从而促进肠道尿酸排泄并降低 SUA 水平。

从中医药理论角度分析,HUA 归属于“湿热”“湿浊”范畴,核心病机为脾失健运、湿浊内生、湿热蕴结、浊瘀阻络。四妙丸由黄柏、苍术、牛膝、薏苡仁配伍而成,诸药合用共奏清热利湿、逐瘀通经之效,与 HUA 的核心病机高度契合。现代药理研究表明,方中各药具有抗氧化、调节氧化应激及改善线粒体功能等作用,如黄柏可清除氧自由基、抑制脂质过氧化^[19],苍术及牛膝可改善氧化应激状态并减轻细胞损伤^[17-18],相关活性成分如槲皮素还可促进尿酸排泄^[32]。本研究结果显示,四妙丸可通过抑制铁死亡、改善氧化应激状态并上调 ABCG2 表达,从而促进肠道尿酸排泄。上述作用与其组方中各药的药理效应具有一致性,提示四妙丸通过多靶点、多环节协同调控发挥治疗作用,为中医“方证对应”的理论提供了实验依据。

本研究仍存在一定局限性:首先,本研究仅证实四妙丸可同时抑制铁死亡并上调 ABCG2 表达,但二者之间的具体调控关系尚不明确,SLC7A11/GPX4 通路在其中的关键作用仍需进一步探讨;其次,本研究基于动物模型开展,尚缺乏细胞水平的机制验证,对于 HUA 诱导铁死亡及其对 ABCG2 表达的直接调控过程仍有待深入研究;此外,四妙丸中调控 SLC7A11/GPX4 通路及 ABCG2 表达的活性成分尚未明确。后续研究可结合体外肠上皮细胞模型,从分子水平进一步阐明铁死亡与 ABCG2 表达之间的调控关系,并探讨 SLC7A11/GPX4 通路在其中的作用。同时,可通过网络药理学与实验验证相结合的方法筛选关键活性成分,为其临床应用及新药研发提供依据。

综上,本研究表明四妙丸可通过调控 SLC7A11/GPX4 信号通路抑制 HUA 大鼠回肠上皮细胞铁死亡,并上调尿酸转运蛋白 ABCG2 表达,从而改善肠道结构与功能,促进尿酸经肠道排泄并降低 SUA 水平。提示四妙丸可能通过“铁死亡—肠道转运”相关机制发挥作用,为中医药靶向肠道干预 HUA 提供了实验依据,并为开发低肾负荷的降尿酸药物提供参考。

【利益冲突】 本文不存在任何利益冲突。

【参考文献】

[1] 中华医学会内分泌学分会. 中国高尿酸血症与痛风诊疗指

- 南(2024)第一部分:对一般痛风患者的建议[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2025, 41(10): 806-817.
- Chinese Society of Endocrinology, Chinese Medical Association. 2024 update of Chinese guidelines for diagnosis and treatment of hyperuricemia and gout. Part I : Recommendations for general patients[J]. Chin J Endocrinol Metab, 2025, 41(10): 806-817.
- [2] 肖涟波, 黄慈波, 陈卫衡, 等. 痛风性关节炎/痛风石外科诊疗专家共识[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2026, 34(2): 1-11.
- XIAO L B, HUANG C B, CHEN W H, et al. Expert consensus on surgical management of gouty arthritis/tophi[J]. Chin J Tradit Med Traumatol Orthop, 2026, 34(2): 1-11.
- [3] 方宁远, 吕力为, 吕晓希, 等. 中国高尿酸血症相关疾病诊疗多学科专家共识(2023年版)[J]. 中国实用内科杂志, 2023, 43(6): 461-480.
- FANG N Y, LYU L W, LYU X X, et al. China multi-disciplinary expert consensus on diagnosis and treatment of hyperuricemia and related diseases(2023 edition)[J]. Chin J Pract Intern Med, 2023, 43(6): 461-480.
- [4] YIN H, LIU N, CHEN J. The role of the intestine in the development of hyperuricemia[J]. Front Immunol, 2022, 13: 845684.
- [5] 中华医学会内分泌学分会. 中国高尿酸血症与痛风诊疗指南(2019)[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2020, 36(1): 1-13.
- Chinese Society of Endocrinology, Chinese Medical Association. Guideline for the diagnosis and management of hyperuricemia and gout in China (2019) [J]. Chin J Endocrinol Metab, 2020, 36(1): 1-13.
- [6] 郝泽瀚, 张远, 张钟友, 等. 四妙丸抑制 IL-1 β /NF- κ B 通路上调肠道 ABCG2 表达促进肠道尿酸排泄的机制[J]. 上海中医药杂志, 2025, 59(3): 77-84.
- HAO Z H, ZHANG Y, ZHANG Z Y, et al. Mechanism of Simiao pill inhibiting IL-1 β /NF- κ B to up-regulate intestinal ABCG2 expression and promote uric acid excretion in intestine [J]. Shanghai J Tradit Chin Med, 2025, 59(3): 77-84.
- [7] DU L, ZONG Y, LI H, et al. Hyperuricemia and its related diseases: Mechanisms and advances in therapy [J]. Signal Transduct Target Ther, 2024, 9(1): 212.
- [8] CHEN Y S, TIAN H X, RONG D C, et al. ROS homeostasis in cell fate, pathophysiology, and therapeutic interventions [J]. Mol Biomed, 2025, 6(1): 89.
- [9] RU Q, LI Y, CHEN L, et al. Iron homeostasis and ferroptosis in human diseases: Mechanisms and therapeutic prospects[J]. Signal Transduct Target Ther, 2024, 9(1): 271.
- [10] ENDALE H T, TESFAYE W, MENGSTIE T A. ROS induced lipid peroxidation and their role in ferroptosis[J]. Front Cell Dev Biol, 2023, 11: 1226044.
- [11] STOCKWELL B R. Ferroptosis turns 10: Emerging mechanisms, physiological functions, and therapeutic applications[J]. Cell, 2022, 185(14): 2401-2421.
- [12] WANG Q, XI Y, ZHAO H, et al. Ferroptosis mediates the progression of hyperuricemic nephropathy by activating RAGE signaling[J]. Antioxid Redox Signal, 2025, 43(1/3): 56-74.
- [13] 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.
- GAO L F, MA J Y, ZHENG M X, et al. Effect of Huanglian Houpo decoction on regulating ferroptosis based on Nrf2/SLC7A11/GPX4 signal pathway in mice with ulcerative colitis [J]. J Hainan Med Univ, 2025, 31(21): 1630-1638.
- [14] 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.
- CHUAI Q, ZHAI W J, JIA S J, et al. Based on Nrf2/SLC7A11/GPX4 pathway, mechanism of Xiezhuo Jiedu prescription in treatment of ulcerative colitis by inhibiting ferroptosis and alleviating intestinal mucosal injury was studied [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2026, 32(1): 160-169.
- [15] 朱婉华, 顾冬梅, 蒋恬, 等. 浊瘀痹——痛风中医病名探讨[J]. 中医杂志, 2011, 52(17): 1521-1522.
- ZHU W H, GU D M, JIANG T, et al. Discussion on the traditional Chinese medicine disease name "Zhao Yu Bi" for gout[J]. J Tradit Chin Med, 2011, 52(17): 1521-1522.
- [16] 唐芳, 何姗, 欧琴. 槲皮素防治高尿酸血症的药理作用研究进展[J]. 现代药物与临床, 2024, 39(9): 2453-2456.
- TANG F, HE S, OU Q. Research progress on pharmacological effects of quercetin in preventing and treating hyperuricemia [J]. Drugs Clin, 2024, 39(9): 2453-2456.
- [17] 杨光, 惠越, 陈奎, 等. 苍术内酯 II 对骨关节炎大鼠软骨损伤、血清炎症因子和氧化应激的调节作用及机制研究[J]. 中医学报, 2021, 36(3): 601-607.
- YANG G, HUI Y, CHEN K, et al. Effects and mechanism of atractylolide II on cartilage injury, serum inflammatory factors and oxidative stress in osteoarthritis rats[J]. Acta Chin Med, 2021, 36(3): 601-607.
- [18] 苏华, 谢睿彬, 罗高湖, 等. 蛻皮甾酮减轻心肌细胞氧化应激损伤[J]. 中国病理生理杂志, 2016, 32(12): 2222-2227.
- SU H, XIE R B, LUO G H, et al. Protective effect of ecdysterone on H9c2 cells against oxidative stress[J]. Chin J Pathophysiol, 2016, 32(12): 2222-2227.
- [19] 孔令东, 杨澄, 仇熙, 等. 黄柏炮制品清除氧自由基和抗脂质过氧化作用[J]. 中国中药杂志, 2001, 26(4): 245-248.
- KONG L D, YANG C, QIU X, et al. Effects of processed Phellodendri Cortex on scavenging oxygen free radicals and anti-lipid peroxidation[J]. Chin J Chin Mater Med, 2001, 26(4): 245-248.
- [20] 张远, 张钟友, 冯慧琳, 等. 四妙丸通过调节肠道菌群改善大鼠肠道屏障功能并上调 ABCG2 表达促进回肠排泄尿酸[J]. 中国实验方剂学杂志, 2026, 32(1): 101-112.
- ZHANG Y, ZHANG Z Y, FENG H L, et al. Simiaowan modulates gut microbiota to improve intestinal barrier function and upregulate ABCG2 expression, promoting ileal

- uric acid excretion in rats[J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2026,32(1):101-112.
- [21] 冯学轩,刘月姝,饶子亮,等. 急、慢性高尿酸血症模型的建立[J]. 中国比较医学杂志,2020,30(1):74-80.
- FENG X X, LIU Y S, RAO Z L, et al. Establishment of mouse and rat models of acute and chronic experimental hyperuricemia[J]. Chin J Comp Med, 2020,30(1):74-80.
- [22] PETRESKI T, MARETIĆ T, MIKOLIĆ A, et al. Hyperuricemia, the heart, and the kidneys-to treat or not to treat?[J]. Ren Fail, 2020,42(1):978-986.
- [23] HE Y, CHEN X, MA Z, et al. Association of oxidative balance score with hyperuricemia and gout; NHANES 2009-2018[J]. Front Endocrinol, 2024,15:1402369.
- [24] YANG X, LIU D, ZHAO X, et al. Hyperuricemia drives intestinal barrier dysfunction by regulating gut microbiota[J]. Heliyon, 2024,10(16):e36024.
- [25] SÁNCHEZ-LOZADA LG, LANASPA MA, CRISTÓBAL-GARCÍA M, et al. Uric acid-induced endothelial dysfunction is associated with mitochondrial alterations and decreased intracellular ATP concentrations [J]. Nephron Exp Nephrol, 2012,121(3/4):e71-e78.
- [26] DIXON S J, LEMBERG K M, LAMPRECHT M R, et al. Ferroptosis: An iron-dependent form of nonapoptotic cell death[J]. Cell, 2012,149(5):1060-1072.
- [27] SEIBT T M, PRONETH B, CONRAD M. Role of GPX4 in ferroptosis and its pharmacological implication [J]. Free Radic Biol Med, 2019,133:144-152.
- [28] LI F J, LONG H Z, ZHOU Z W, et al. System xc-/GSH/GPX4 axis: An important antioxidant system for ferroptosis in drug-resistant solid tumor therapy[J]. Front Pharmacol, 2022,13:910292.
- [29] OHASHI Y, TOYODA M, SAITO N, et al. Evaluation of ABCG2-mediated extra-renal urate excretion in hemodialysis patients[J]. Sci Rep, 2023,13(1):93.
- [30] MARINO A, DOSSENA S, TAMMA G, et al. Oxidative stress and membrane transport systems [J]. Oxid Med Cell Longev, 2018:9625213.
- [31] YANG W S, STOCKWELL B R. Ferroptosis: Death by lipid peroxidation[J]. Trends Cell Biol, 2016,26(3):165-176.
- [32] ZHANG J, CHEN Z, QIAN H. The effect of quercetin supplementation on hyperuricemia-related biochemical and renal outcomes in animal models: A systematic review and Meta-analysis[J]. J Health Popul Nutr, 2026,45(1):49.
- [责任编辑 周冰冰]