

基于 IP3R2/GRP75/VDAC1 复合体介导线粒体凋亡途径探讨化浊解毒消痈方对溃疡性结肠炎小鼠的保护作用

高梦琪¹, 梁诗悦¹, 白米楠¹, 刘岩生¹, 信淑亚¹, 王振晖¹, 娄莹莹^{2,3*}
(1. 河北中医药大学研究生学院, 河北 石家庄 050200; 2. 河北中医药大学第一附属医院, 河北 石家庄 050011; 3. 河北省浊毒证重点实验室, 河北 石家庄 050011)

摘要: **目的** 探讨化浊解毒消痈方对溃疡性结肠炎 (UC) 小鼠的保护作用。**方法** 60 只小鼠随机分正常组, 模型组, 化浊解毒消痈方低、中、高剂量组 (7.17、14.34、28.68 g/kg), 美沙拉嗪组 (0.45 g/kg)。采用葡聚糖硫酸钠 (DSS) 制备 UC 小鼠模型, 造模成功后分别灌胃给予相应药物, 连续 7 d。记录各组小鼠一般情况, 计算 DAI 评分, HE 染色观察结肠组织病理学变化, 透射电镜观察结肠组织线粒体超微结构, ELISA 法检测血清 IL-1 β 、IL-18 水平, RT-qPCR 法和 Western blot 法检测结肠组织 IP3R2、GRP75、VDAC1、Bcl-2、Bax、Caspase-9 mRNA 及蛋白表达。**结果** 化浊解毒消痈方可缓解 DSS 诱导的 UC 小鼠症状, 有效改善结肠组织病理形态。与模型组比较, 各给药组小鼠 DAI 评分降低 ($P<0.05$), 血清 IL-1 β 、IL-18 水平, 结肠组织 IP3R2、GRP75、VDAC1、Bax、Caspase-9 mRNA、蛋白表达降低 ($P<0.05$), Bcl-2 mRNA、蛋白表达升高 ($P<0.05$)。**结论** 化浊解毒消痈方可能通过调节 IP3R2/GRP75/VDAC1 复合体所介导的线粒体凋亡途径, 从而缓解 UC 炎症反应, 促进结肠黏膜修复。**关键词:** 化浊解毒消痈方; 溃疡性结肠炎; IP3R2/GRP75/VDAC1 复合体; 线粒体凋亡

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2026)01-0244-06
doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2026.01.035

溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 是一种病因不明的慢性非特异性肠道疾病, 其主要病理特征是黏膜上皮损伤和肠道稳态破坏, 病情迁徙难治, 严重威胁患者生命健康^[1], 近年来其患病率逐年上升^[2], 造成了极大的经济负担及精神困扰。UC 的发生存在肠上皮细胞凋亡和持续的炎症反应^[3], 而线粒体作为执行细胞凋亡的关键场所, 其介导的凋亡过程可通过多种途径加速 UC 的疾病进展。位于线粒体相关内质网膜 (mitochondria-associated ER membranes, MAMs) 的钙释放通道 1, 4, 5-三磷酸肌醇受体 (inositol 1, 4, 5-trisphosphate receptor, IP3Rs) /分子伴侣蛋白葡萄糖调节蛋白 75 (glucose-regulated protein 75, GRP75) /电压依赖性阴离子选择性通道蛋白 1 (voltage dependent anion channel protein 1, VDAC1) 通道复合体异常表达会导致线粒体内质网之间的钙稳态失衡, 引起线粒体功能障碍, 最终激活细胞线粒体凋亡通路^[4-5]。因此, 通过调控 IP3R2/

GRP75/VDAC1 通道复合体表达来拮抗肠上皮细胞凋亡作用, 可能是 UC 的潜在治疗靶点。

化浊解毒消痈方是国医大师李佃贵教授基于化浊解毒之法创立的治疗 UC 方剂, 可通过影响 PERK/eIF2 α /ATF4/CHOP 信号通路表达, 抑制肠上皮细胞凋亡^[6]; 通过调控 SIRT1 表达, 抑制内质网过度应激, 阻止肠上皮细胞凋亡^[7], 但该方通过调控线粒体凋亡途径缓解 UC 的具体机制尚待阐明。本研究利用葡聚糖硫酸钠 (DSS) 诱导 UC 小鼠模型, 探讨化浊解毒消痈方通过 IP3R2/GRP75/VDAC1 复合体介导线粒体凋亡途径干预 UC 的具体作用机制, 以期为本病后续研究提供理论参考。

1 材料

1.1 动物 60 只 SPF 级雄性 C57BL/6 小鼠, 6~8 周龄, 体质量 18~22 g, 由斯贝福 (北京) 生物技术有限公司提供 [实验动物生产许可证号 SCXK (京) 2024-0001], 饲养于河北省中医院实验动物

收稿日期: 2025-10-13
基金项目: 国家自然科学基金 (82104774, 82574991); 国家中医药管理局第三届国医大师传承工作室项目 (国中医药办人教函 [2018] 119 号); 全国名老中医药专家传承工作室建设项目 (2018YFC1704100); 河北省自然科学基金 (H2023423053)
作者简介: 高梦琪 (1999—), 女, 硕士在读, 从事中西医结合临床脾胃病学研究。E-mail: 2676639353@qq.com
* 通信作者: 娄莹莹 (1984—), 女, 博士, 主任医师, 从事消化系统疾病中西医结合研究。E-mail: yingzi135823@sina.com

中心 [实验动物使用许可证号 SYXK (京) 2024-0010]。研究经河北中医药大学伦理委员会批准 (伦理审查号 DWLL202306029)。

1.2 药物 化浊解毒消痈方由白头翁 12 g、茵陈 15 g、藿香 12 g、佩兰 12 g、黄连 12 g、黄柏 9 g、当归 12 g、白芍 20 g、白花蛇舌草 15 g、半枝莲 12 g、半边莲 12 g、秦皮 15 g、茯苓 12 g、苦参 9 g、广木香 9 g 组成, 相关配方颗粒购自河北省中医院中药房。白头翁 (批号 230531F1)、藿香 (批号 24081171)、佩兰 (批号 230325K2)、茵陈 (批号 23101172)、黄连 (批号 230424B1)、黄柏 (批号 24091172)、当归 (批号 24090361)、白芍 (批号 24090672)、白花蛇舌草 (批号 230406K1)、半枝莲 (批号 230502C1)、半边莲 (批号 24071071)、秦皮 (批号 23110981)、苦参 (批号 230531F1)、广木香 (批号 24071162)、茯苓 (批号 230417B1), 均经河北省中医院相聪坤主任药师鉴定为正品。美沙拉嗪肠溶片 (葵花药业集团佳木斯鹿灵制药有限公司, 批号 230327); DSS (北京百诺威生物科技有限公司, 批号 S4140)。

1.3 试剂 IL-1 β 、IL-18 ELISA 试剂盒 (上海江莱生物科技有限公司, 货号 JL18442、JL20253); β -actin 抗体、HRP 偶联亲和纯化驴抗兔 IgG 二抗 (武汉博士德生物工程有限公司, 货号 BA2305、BA1061); IP3R2、GRP75、VDAC1、Bax、Bcl-2 抗体 (美国 Affinity Biosciences, 货号 DF13336、AF5464、DF6140、AF0120、AF6139)。

1.4 仪器 DYCZ-24DN 型垂直电泳装置 (北京六一生物科技有限公司); 高速组织研磨仪 (上海净信实业发展有限公司); 医用离心机 (海尔智家股份有限公司); 实时荧光定量 PCR 仪 (美国 Applied Biosystems 公司); 超微量分光光度计 (美国 Thermo Fisher Scientific 公司); VE-386 型转移电泳槽 (北京原平皓生物技术有限公司)。

2 方法

2.1 造模与给药 小鼠适应性喂养 7 d 后, 随机分为正常组、模型组、美沙拉嗪组和化浊解毒消痈方低、中、高剂量组, 每组 10 只, 正常组小鼠饮用纯净水 7 d, 其余各组小鼠自由饮用 2.5% DSS 溶液 7 d。其间小鼠出现便血、腹泻、体质量降低, 并且 HE 染色可见大量炎性细胞浸润, 杯状细胞数目减少, 隐窝结构大面积缺失且排列紊乱, 即为造模成功。

参照人和动物体表面积算法^[8]进行换算,

美沙拉嗪组小鼠灌胃给予 0.45 g/kg 美沙拉嗪混悬液 (蒸馏水溶解, 现配现用), 化浊解毒消痈方低、中、高剂量组小鼠分别灌胃给予 7.17、14.34、28.68 g/kg 化浊解毒消痈方颗粒混悬液 (颗粒剂加入生理盐水, 制成质量浓度分别为 0.72、1.43、2.87 g/mL 的混悬液, 现配现用), 其余各组小鼠灌胃给予等量生理盐水, 每天 1 次, 连续 7 d, 给药体积 10 mL/kg。

2.2 标本采集 给药 1 周后, 各组小鼠麻醉后眼球取血, 室温放置 1~2 h, 3 000 r/min 离心 10 min, 取上清, 置于超低温冰箱中保存。采血后处死小鼠, 开腹取肛门至回盲部结肠, 处理后进行病理组织学观察和分子生物学检测。

2.3 指标检测

2.3.1 一般情况观察 每天监测小鼠体质量、活动状态、摄食情况、粪便性状等指标, 记录体质量下降变化、大便性状、大便隐血或便血情况, 并测定疾病活动指数评分 (disease activity index, DAI)^[9], 评分标准见表 1, 公式为 DAI= (体质量下降评分+大便隐血或便血评分+大便性状评分) /3。

表 1 小鼠 DAI 评分标准

大便性状	大便隐血或便血	体质量下降率/%	评分/分
正常	阴性	0	0
软便	阴性	1~5	1
软便	隐血阳性	5~10	2
腹泻	隐血阳性	10~15	3
腹泻	肉眼血便	>15	4

2.3.2 HE 染色观察结肠组织病理变化 小鼠结肠组织经多聚甲醛固定后全自动组织脱水, 浸蜡, 石蜡包埋, 切取 4~5 μ m 切片, 进行常规脱蜡、水化、苏木素染色、返蓝、伊红染色、脱水、封片, 采用全景扫描和分析系统扫描病理切片图像分析病理变化。

2.3.3 透射电镜观察结肠组织线粒体超微结构 取小鼠结肠组织 1 mm³, 0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液固定 2 h, 乙醇梯度脱水, 丙酮浸透, 包埋, 切片, 2.6% 枸橼酸铅溶液染色, 干燥后在透射电子显微镜下观察形态。

2.3.4 ELISA 法检测血清 IL-1 β 、IL-18 水平 严格按照相关试剂盒说明书, 检测小鼠血清 IL-1 β 、IL-18 水平。

2.3.5 Western blot 法检测结肠组织 IP3R2、GRP75、VDAC1、Bcl-2、Bax、Caspase-9 蛋白表达 用含蛋白酶抑制剂混合物的 RIPA 缓冲液裂解

小鼠结肠组织，提取蛋白，BCA 法检测含量，取等量进行变性，加入蛋白上样缓冲液，冷冻保存。制备 SDS-PAGE 凝胶，上样，电泳，湿转法转移至 PVDF 膜，室温封闭，分别加入 IP3R2、GRP75、VDAC1、Bcl-2、Bax、Caspase-9 抗体（1：800），4℃ 孵育过夜，次日加入二抗（1：8 000），室温摇床孵育 1 h，ECL 显影。以 β -actin 为内参，通过 EPson Perfection V39 扫描仪扫描成像，计算目的蛋白相对表达量。

2.3.6 RT-qPCR 法检测结肠组织 *IP3R2*、*GRP75*、*VDAC1*、*Bcl-2*、*Bax*、*Caspase-9* mRNA 表达 采用 TRIzol 试剂提取小鼠结肠组织总 RNA，检测浓度，按照反转录试剂盒说明书进行逆转录反应，qPCR 试剂盒进行扩增反应，引物序列见表 2，反应条件为 95℃ 30 s，95℃ 15 s，60℃ 60 s，共 40 个循环。以 β -actin 为内参，采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法进行定量分析。

表 2 引物序列

基因	序列(5'→3')	长度/bp
<i>IP3R2</i>	正向 CGGGAATCCAAGTACCGAGTGT	164
	反向 AGTGAGATGTGCCTGGAGAACC	
<i>GRP75</i>	正向 AGACAGGGGTTGATTTGACCA	131
	反向 AGCATCCATGGTAAGGTATGGC	
<i>VDAC1</i>	正向 GATGTCTTCACCAAGGGCTACG	206
	反向 TCAGTGCCCAGGGTGTGTCTC	
<i>Bax</i>	正向 GCCTTTTGTCTACAGGGTTTCAT	151
	反向 TATTGCTGTCCAGTTCATCTCCA	
<i>Bcl-2</i>	正向 TGACTTCTCTCGTCGCTACCGT	112
	反向 CCTGAAGAGTTCCTCCACCACC	
<i>Caspase-9</i>	正向 GACCAATGGGACTCACAGCAA	281
	反向 GTTCACATTGTTGATGATGAGGCA	
β -actin	正向 GTGACGTTGACATCCGTAAGA	287
	反向 GTAACAGTCCGCCTAGAAGCAC	

2.4 统计学分析 通过 GraphPad Prism 8.0.2 软件进行处理，计量资料以 ($\bar{x}\pm s$) 表示，多组间比较采用单因素方差分析，不符合正态分布或方差不齐者采用非参数检验。 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

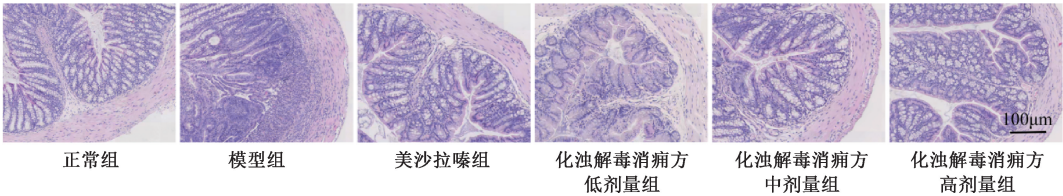


图 1 各组小鼠结肠组织 HE 染色图 (×100)

3 结果

3.1 化浊解毒消痢方对 UC 小鼠一般情况的影响 正常组小鼠毛色光亮，体质量渐增，大便正常，无异常情况；模型组小鼠皮毛枯槁，体质量降低，大便隐血或血便；相应药物干预 7 d 后，各给药组小鼠以上症状均有不同程度改善。

在实验过程中，共有 14 只小鼠死亡。其中，模型组有 3 只，死亡时间主要集中在造模后第 3~5 天，推测可能与 DSS 诱导的严重肠道炎症和脱水有关；美沙拉嗪组有 2 只；化浊解毒消痢方低、中、高剂量组分别有 4、3、2 只。

3.2 化浊解毒消痢方对 UC 小鼠 DAI 评分的影响 与正常组比较，模型组小鼠 DAI 评分升高 ($P<0.05$)；与模型组比较，美沙拉嗪组和化浊解毒消痢方中、高剂量组小鼠 DAI 评分降低 ($P<0.05$)；与美沙拉嗪组比较，化浊解毒消痢方中、高剂量组小鼠 DAI 评分无明显变化 ($P>0.05$)，见表 3。

表 3 各组小鼠 DAI 评分比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	动物数/只	DAI 评分/分
正常组	10	0
模型组	7	2.71±0.76*
美沙拉嗪组	8	1.67±0.50 [#]
化浊解毒消痢方低剂量组	6	2.50±0.41 [△]
化浊解毒消痢方中剂量组	7	1.90±0.32 [#]
化浊解毒消痢方高剂量组	8	1.71±0.38 [#]

注：与正常组比较，* $P<0.05$ ；与模型组比较，[#] $P<0.05$ ；与美沙拉嗪组比较，[△] $P<0.05$ 。

3.3 化浊解毒消痢方对 UC 小鼠结肠组织病理形态的影响 正常组小鼠结肠黏膜组织结构清晰，未见炎症细胞浸润；模型组小鼠结肠黏膜组织结构受损，黏膜层大量炎性细胞浸润，杯状细胞数目减少，隐窝结构大面积缺失且排列紊乱；与模型组比较，化浊解毒消痢方低、中剂量组小鼠结肠黏膜组织病理未显著缓解，而美沙拉嗪组和化浊解毒消痢方高剂量组小鼠结肠黏膜组织中仅有少量炎症细胞浸润，结肠杯状细胞发育较好，结肠炎症显著缓解，见图 1。

3.4 化浊解毒消痢方对 UC 小鼠结肠组织线粒体超微结构的影响 正常组小鼠结肠黏膜上皮细胞表面见大量绒毛,形态规则,排列整齐,大小无明显差异,细胞之间连接紧密且无明显间隙,内质网呈扁平囊状,膜结构光滑、连续,线粒体嵴结构正

常,细胞器丰富;模型组小鼠结肠黏膜细胞中线粒体高度肿胀,嵴断裂或消失,胞质内细胞器稀疏;与模型组比较,各给药组小鼠结肠黏膜细胞中线粒体肿胀、变形得到不同程度的减轻,见图 2。

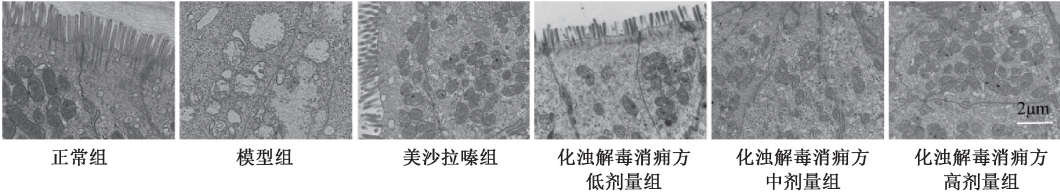


图 2 各组小鼠结肠组织线粒体透射电子显微镜图 (×6 000)

3.5 化浊解毒消痢方对 UC 小鼠血清 IL-1β、IL-18 水平的影响 与正常组比较,模型组小鼠血清 IL-1β、IL-18 水平升高 ($P<0.05$);与模型组比较,美沙拉嗪组和化浊解毒消痢方中、高剂量组小鼠血

清 IL-1β、IL-18 水平降低 ($P<0.05$);与美沙拉嗪组比较,化浊解毒消痢方中、高剂量组小鼠血清 IL-1β、IL-18 水平无明显变化 ($P>0.05$),见表 4。

表 4 各组小鼠血清 IL-1β、IL-18 水平比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	动物数/只	IL-1β/(pg·mL ⁻¹)	IL-18/(pg·mL ⁻¹)
正常组	10	5.68±3.37	20.49±1.93
模型组	7	27.22±6.19 [*]	73.64±10.43 [*]
美沙拉嗪组	8	11.35±3.77 [#]	28.17±4.88 [#]
化浊解毒消痢方低剂量组	6	22.93±1.83 [△]	56.83±1.94 ^{#△}
化浊解毒消痢方中剂量组	7	8.55±1.88 [#]	33.60±3.64 [#]
化浊解毒消痢方高剂量组	8	6.81±2.92 [#]	28.33±3.70 [#]

注:与正常组比较,^{*} $P<0.05$;与模型组比较,[#] $P<0.05$;与美沙拉嗪组比较,[△] $P<0.05$ 。

3.6 化浊解毒消痢方对 UC 小鼠结肠组织 IP3R2、GRP75、VDAC1、Bax、Bcl-2、Caspase-9 蛋白表达的影响 与正常组比较,模型组小鼠结肠组织 IP3R2、GRP75、VDAC1、Bax、Caspase-9 蛋白表达升高 ($P<0.05$),Bcl-2 蛋白表达降低 ($P<0.05$);与模型组比较,美沙拉嗪组和化浊解毒消

痢方高剂量组小鼠结肠组织 IP3R2、GRP75、VDAC1、Bax、Caspase-9 蛋白表达降低 ($P<0.05$),以美沙拉嗪组和化浊解毒消痢方高剂量更显著;与美沙拉嗪组比较,化浊解毒消痢方高剂量组 IP3R2、GRP75、VDAC1、Bax、Caspase-9 蛋白表达无明显变化 ($P>0.05$),见表 5、图 3。

表 5 各组小鼠结肠组织 IP3R2、GRP75、VDAC1、Bax、Bcl-2、Caspase-9 蛋白表达比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

组别	动物数/只	IP3R2	GRP75	VDAC1	Bax	Bcl-2	Caspase-9
正常组	10	1.02±0.09	1.01±0.06	1.01±0.16	0.99±0.20	1.01±0.12	1.00±0.04
模型组	7	4.17±0.28 [*]	2.76±0.24 [*]	3.33±0.59 [*]	3.37±0.12 [*]	0.22±0.04 [*]	3.65±0.47 [*]
美沙拉嗪组	8	1.59±0.34 [#]	1.54±0.10 [#]	1.58±0.09 [#]	1.26±0.27 [#]	0.78±0.10 [#]	1.25±0.08 [#]
化浊解毒消痢方低剂量组	6	3.16±0.27 [△]	2.42±0.18 [△]	2.73±0.58 [△]	2.39±0.17 ^{#△}	0.49±0.09 ^{#△}	2.60±0.40 ^{#△}
化浊解毒消痢方中剂量组	7	2.37±0.28 [#]	1.86±0.18 [#]	2.34±0.10	1.90±0.26 ^{#△}	0.60±0.09 [#]	1.95±0.24 [#]
化浊解毒消痢方高剂量组	8	1.40±0.19 [#]	1.49±0.06 [#]	1.59±0.36 [#]	1.45±0.04 [#]	0.77±0.10 [#]	1.26±0.09 [#]

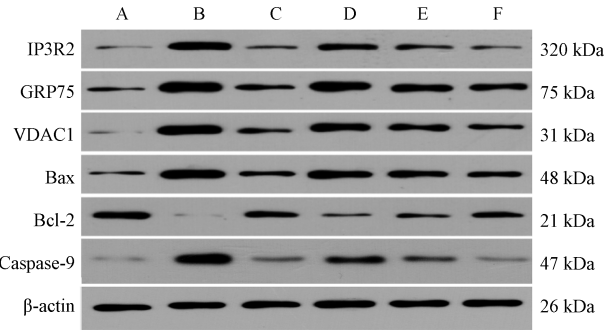
注:与正常组比较,^{*} $P<0.05$;与模型组比较,[#] $P<0.05$;与美沙拉嗪组比较,[△] $P<0.05$ 。

3.7 化浊解毒消痢方对 UC 小鼠结肠组织 IP3R2、GRP75、VDAC1、Bax、Bcl-2、Caspase-9 mRNA 表达的影响 与正常组比较,模型组小鼠结肠组织 IP3R2、GRP75、VDAC1、Bax、Caspase-9 mRNA 表达升高 ($P<0.05$),Bcl-2 mRNA 表达降低 ($P<0.05$);与模型组比较,各给药组小鼠结肠组织 IP3R2、GRP75、VDAC1、Bax、Caspase-9 mRNA

表达降低 ($P<0.05$),Bcl-2 mRNA 表达升高 ($P<0.05$);与美沙拉嗪组比较,化浊解毒消痢方高剂量组小鼠结肠组织 IP3R2、GRP75、VDAC1、Bax、Bcl-2 mRNA 表达无明显变化 ($P>0.05$),见表 6。

4 讨论

李佃贵教授首创“浊毒理论”,提出 UC 的特



注：A 为正常组，B 为模型组，C 为美沙拉嗪组，D~F 分别为化浊解毒消痢方低、中、高剂量组。

图 3 各组小鼠结肠组织 IP3R2、GRP75、VDAC1、Bax、Bcl-2、Caspase-9 蛋白条带

表 6 各组小鼠结肠组织 IP3R2、GRP75、VDAC1、Bax、Bcl-2、Caspase-9 mRNA 表达比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

组别	动物数/只	IP3R2	GRP75	VDAC1	Bax	Bcl-2	Caspase-9
正常组	10	1.00±0.04	1.00±0.01	1.00±0.02	0.99±0.20	1.00±0.07	0.99±0.18
模型组	7	3.03±0.19 [*]	3.28±0.14 [*]	3.26±0.06 [*]	3.37±0.12 [*]	0.44±0.02 [*]	3.60±0.36 [*]
美沙拉嗪组	8	1.42±0.06 [#]	1.65±0.10 [#]	1.42±0.02 [#]	1.26±0.27 [#]	0.90±0.01 [#]	1.33±0.11 [#]
化浊解毒消痢方低剂量组	6	2.12±0.14 ^{#△}	3.00±0.08 ^{#△}	2.53±0.05 ^{#△}	2.39±0.17 ^{#△}	0.62±0.04 ^{#△}	2.66±0.24 ^{#△}
化浊解毒消痢方中剂量组	7	1.73±0.07 ^{#△}	2.15±0.07 ^{#△}	1.99±0.12 ^{#△}	1.90±0.26 ^{#△}	0.70±0.02 ^{#△}	2.01±0.13 ^{#△}
化浊解毒消痢方高剂量组	8	1.40±0.10 [#]	1.65±0.10 [#]	1.51±0.09 [#]	1.45±0.04 [#]	0.90±0.00 [#]	1.39±0.26 [#]

注：与正常组比较，^{*} $P<0.05$ ；与模型组比较，[#] $P<0.05$ ；与美沙拉嗪组比较，[△] $P<0.05$ 。

研究发现，UC 患者炎症部位及结肠炎模型动物肠黏膜组织内均有肠上皮细胞的过度凋亡^[14-15]。线粒体是调控细胞凋亡、信号传导及钙稳态调节的关键细胞器，因此，本研究聚焦于线粒体功能障碍，深入探讨化浊解毒消痢方通过调控 IP3R2/GRP75/VDAC1 复合体介导线粒体凋亡途径发挥保护作用的分子机制^[16-17]。IP3Rs/GRP75/VDAC1 复合体由内质网膜上的 IP3Rs、VDAC1、GRP75 构成，其异常表达可引起内质网与线粒体之间的钙转运体系紊乱，诱导线粒体内膜通透性转换孔的不可逆开放，致使膜电位崩溃、细胞色素 C (cytochrome C, Cyt C) 渗漏，最终引起细胞凋亡^[18-20]。本研究通过透射电镜观察到，模型小鼠结肠黏膜上皮形态受损，间隙连接破坏，线粒体形态肿胀、变形，嵴断裂、融合或消失；给药后线粒体肿胀、变形得到不同程度的减轻。研究显示，在 DSS 诱导的结肠炎小鼠结肠组织中 IP3Rs、VDAC1 蛋白高表达，故抑制该复合体活性可减轻线粒体功能障碍，抑制细胞凋亡，改善小鼠结肠炎性病变^[21-22]。本研究证实，经化浊解毒消痢方干预后各给药组小鼠结肠组织 IP3R2、GRP75、VDAC1 mRNA、蛋白表达降低，表明该方可能通过下调 IP3R2/GRP75/VDAC1 复合体表达来恢复钙负荷小鼠结肠组织线粒体形态，改善线粒体功能。

色病机“浊毒损膜伤络”，认为浊毒之邪内蕴肠腑，导致细胞浊化，引起肠黏膜组织形态、结构改变，促使炎症、增生、凋亡、坏死甚至癌变发生^[10-11]，并创立化浊解毒消痢方，功效化浊解毒、凉血行瘀，疗效显著，课题组前期通过研究该方潜在作用机制、建立识别诊断模型及创新治疗策略方法^[12-13]，对防治 UC 有了新的认识。本研究通过 DSS 诱导 UC 小鼠模型，发现化浊解毒消痢方能显著改善小鼠一般状况，降低 DAI 评分，减轻结肠组织病理损伤，降低 IL-1 β 、IL-18 水平，表明该方可通过抑制炎症反应来恢复 UC 小鼠的肠道损伤。

Bcl-2 家族蛋白是线粒体凋亡途径的核心调控分子，其中 Bcl-2 属于抗凋亡蛋白，Bax 属于促凋亡蛋白^[23-24]，前者通过靶向抑制 IP3Rs 来影响 Ca²⁺ 动态平衡，进而对抗细胞凋亡^[25]；后者接受凋亡信号后形成寡聚体，诱导 Cyt C 释放到细胞质中，启动 Caspase 级联反应，激活 Caspase-9 表达，最终诱导细胞凋亡^[26]。本实验证实，模型组小鼠 Bcl-2 表达降低，Bax、Caspase-9 表达升高，提示 UC 发生时 IP3R2 的高表达可能抵抗 Bcl-2 的抑制作用并释放凋亡信号，后者激活 Bax，进而启动线粒体凋亡通路，而化浊解毒消痢方干预可提高 Bcl-2 蛋白表达，降低 Bax、Caspase-9 蛋白表达，恢复 Bcl-2 与 Bax 的动态平衡。

综上所述，化浊解毒消痢方可能通过调控 IP3R2/GRP75/VDAC1 复合体表达，抑制 UC 小鼠肠上皮细胞凋亡，减轻线粒体功能障碍，从而促进受损肠黏膜屏障的恢复。课题组后续将继续以“浊毒理论”为指导，深入探讨化浊解毒消痢方治疗 UC 的具体分子生物学机制，以期为相关治疗提供更全面的科学依据。

参考文献：

[1] 肖慧荣, 马慧群, 吴成成. 基于 ERK/p38 MAPK 信号通路探讨雷公藤多苷对溃疡性结肠炎大鼠的保护作用[J]. 中国中药杂志, 2024, 49(19): 5281-5287.

[2] Pereira F C, Wasmund K, Cobankovic I, *et al.* Rational design of a microbial consortium of mucosal sugar utilizers reduces clostridiodes difficile colonization[J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1):5104.

[3] Giorgi C, Marchi S, Pinton P. The machineries, regulation and cellular functions of mitochondrial calcium[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2018, 19(11): 713-730.

[4] Fazal L, Laudette M, Paula-Gomes S, *et al.* Multifunctional mitochondrial Epac1 controls myocardial cell death[J]. *Circ Res*, 2017, 120(4): 645-657.

[5] 李程飞, 潘益凯, 李 曦, 等. 线粒体相关内质网膜(MAMs) 在心血管疾病中的研究进展[J]. 心脏杂志, 2022, 34(1): 79-84.

[6] 娄莹莹, 李佃贵, 杨 倩, 等. 基于 PERK/eIF2 α /ATF4/CHOP 信号通路探讨化浊解毒消痢方对溃疡性结肠炎小鼠结肠黏膜的保护作用[J]. 中成药, 2023, 45 (10): 3415-3419.

[7] 娄莹莹, 李佃贵, 杨 倩, 等. 基于沉默信息调节因子 1 调控内质网应激探讨化浊解毒消痢方对溃疡性结肠炎小鼠的保护作用[J]. 中华中医药杂志, 2024, 39(7): 3675-3679.

[8] 黄继汉, 黄晓晖, 陈志扬, 等. 药理试验中动物间和动物与人体间的等效剂量换算[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2004, 9(9): 1069.

[9] 谢佳辰, 杨 艺, 李昆蔚, 等. 基于 UPLC-Q/TOF-MS 代谢组学技术探究药根碱治疗溃疡性结肠炎模型小鼠的作用机制[J]. 中草药, 2025, 56(5): 1617-1627.

[10] 张 纨, 孙建慧, 李 娅, 等. 国医大师李佃贵治疗溃疡性结肠炎经验[J]. 中华中医药杂志, 2019, 34 (4): 1504-1506.

[11] 娄莹莹, 李佃贵, 霍永利, 等. 溃疡性结肠炎特色病机“浊毒损膜伤络”及其意义[J]. 中国中西医结合杂志, 2022, 42(6): 749-753.

[12] 娄莹莹, 徐伟超, 李佃贵, 等. 化浊解毒消痢方治疗溃疡性结肠炎机制的网络药理学研究[J]. 中国中医急症, 2024, 33(1): 1-6; 56.

[13] 刘岩生, 于倩茹, 张 坤, 等. 基于 ResNet 的溃疡性结肠炎肠镜图像分类模型的建立及临床测试[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2024, 26(9): 2346-2354.

[14] Günther C, Neumann H, Neurath M F, *et al.* Apoptosis, necrosis and necroptosis: Cell death regulation in the intestinal epithelium[J]. *Gut*, 2013, 62(7): 1062-1071.

[15] Parikh K, Antanaviciute A, Fawcner-Corbett D, *et al.* Colonic epithelial cell diversity in health and inflammatory bowel disease[J]. *Nature*, 2019, 567(7746): 49-55.

[16] Ma T, Huang X, Zheng H, *et al.* SFRP2 improves mitochondrial dynamics and mitochondrial biogenesis, oxidative stress, and apoptosis in diabetic cardiomyopathy[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2021, 2021: 9265016.

[17] Kalkavan H, Green D R. MOMP, cell suicide as a BCL-2 family business[J]. *Cell Death Differ*, 2018, 25(1): 46-55.

[18] Parikh K, Antanaviciute A, Fawcner-Corbett D, *et al.* Colonic epithelial cell diversity in health and inflammatory bowel disease[J]. *Nature*, 2019, 567(7746): 49-55.

[19] Luan Y, Luan Y, Yuan R X, *et al.* Structure and function of mitochondria-associated endoplasmic reticulum membranes (MAMs) and their role in cardiovascular diseases[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2021, 2021: 4578809.

[20] Patergnani S, Danese A, Bouhamida E, *et al.* Various aspects of calcium signaling in the regulation of apoptosis, autophagy, cell proliferation, and cancer[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(21): 8323.

[21] Li Y Y, Zhang Q K, Liu X F, *et al.* Citrinin-induced intestinal onset of pyroptosis *via* the IP3R1-GRP75-VDAC1 complex-mediated mitochondrial oxidative stress[J]. *J Agric Food Chem*, 2025, 73(10): 5803-5815.

[22] Verma A, Pittala S, Alhozeel B, *et al.* The role of the mitochondrial protein VDAC1 in inflammatory bowel disease: a potential therapeutic target[J]. *Mol Ther*, 2022, 30 (2): 726-744.

[23] Yao J, Cao X, Zhang R, *et al.* Protective effect of baicalin against experimental colitis *via* suppression of oxidant stress and apoptosis[J]. *Pharmacogn Mag*, 2016, 12(47): 225-234.

[24] Edlich F. BCL-2 proteins and apoptosis: recent insights and unknowns[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 500(1): 26-34.

[25] Rosa N, Ivanova H, Wagner L E 2nd, *et al.* Bcl-xL acts as an inhibitor of IP₃R channels, thereby antagonizing Ca²⁺-driven apoptosis[J]. *Cell Death Differ*, 2022, 29(4): 788-805.

[26] Dadsena S, King L E, García-Sáez A J. Apoptosis regulation at the mitochondria membrane level [J]. *Biochim Biophys Acta Biomembr*, 2021, 1863(12): 183716.