

基于IP3R2/GRP75/VDAC1复合体介导线粒体凋亡途径探讨化浊解毒消痛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 探讨化浊解毒消痛方对溃疡性结肠炎(UC)小鼠的保护作用。方法 60只小鼠随机分正常组, 模型组, 化浊解毒消痛方低、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-1β、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 化浊解毒消痛方可缓解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-1β、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 化浊解毒消痛方可能通过调节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: 化浊解毒消痛方; 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。

化浊解毒消痛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/eIF2α/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, 探讨化浊解毒消痛方通过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批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计算法^[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

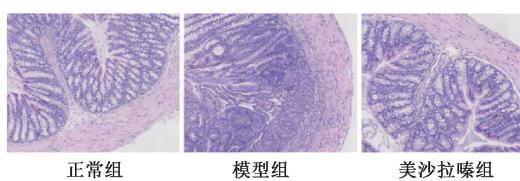
小鼠结肠组织，提取蛋白，BCA法检测含量，取等量进行变性，加入蛋白上样缓冲液，冷冻保存。制备SDS-PAGE凝胶，上样，电泳，湿转法转移至PVDF膜，室温封闭，分别加入IP3R2、GRP75、VDAC1、Bcl-2、Bax、Caspase-9抗体(1:800)，4℃孵育过夜，次日加入二抗(1:8000)，室温摇床孵育1h，ECL显影。以 β -actin为内参，通过EPSON Perfection V39扫描仪扫描成像，计算目的蛋白相对表达量。

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℃30s，95℃15s，60℃60s，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 AGTGAGATGTGCCTGGAGAACCC	
<i>GRP75</i>	正向 AGACAGGGTTGATTGACCA	131
	反向 AGCATCCATGGTAAGGTATGGC	
<i>VDAC1</i>	正向 GATGTCTTCACCAAGGGCTACG	206
	反向 TCAGTGCCCAGGGTGTGTC	
<i>Bax</i>	正向 GCCTTTTGCTACAGGGTTCTAT	151
	反向 TATTGCTGTCCAGTTCATCTCCA	
<i>Bcl-2</i>	正向 TGACTTCTCTCGTCGCTACCGT	112
	反向 CCTGAAGAGTTCCCTCCACCACC	
<i>Caspase-9</i>	正向 GACCAATGGGACTCACAGCAA	281
	反向 GTTCACATTGTGATGATGAGGCA	
β -actin	正向 GTGACGTTGACATCCGTAAGA	287
	反向 GTAACAGTCGGCTAGAACAC	

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。



3 结果

3.1 化浊解毒消痛方对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7d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；化浊解毒消痛方低、中、高剂量组分别有4、3、2只。

3.2 化浊解毒消痛方对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痛方中、高剂量组小鼠DAI评分降低($P<0.05$)；与美沙拉嗪组比较，化浊解毒消痛方中、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#
化浊解毒消痛方低剂量组	6	2.50±0.41△
化浊解毒消痛方中剂量组	7	1.90±0.32#
化浊解毒消痛方高剂量组	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 化浊解毒消痛方对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，化浊解毒消痛方低、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痛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。

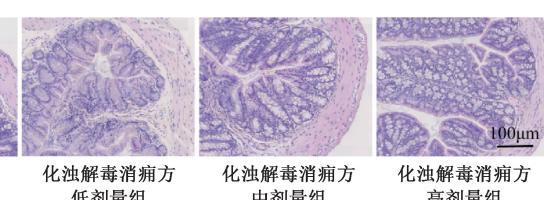


图1 各组小鼠结肠组织HE染色图(×100)

3.4 化浊解毒消痛方对 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

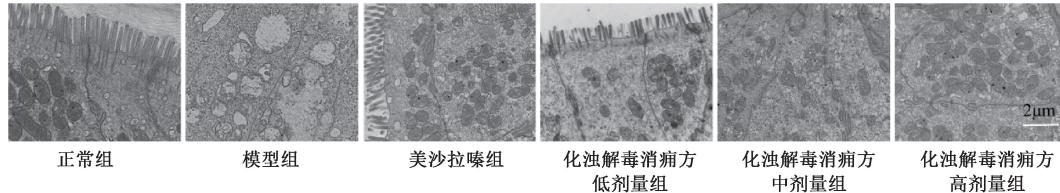


图 2 各组小鼠结肠组织线粒体透射电子显微镜图 ($\times 6000$)

3.5 化浊解毒消痛方对 UC 小鼠血清 IL-1 β 、IL-18 水平的影响 与正常组比较，模型组小鼠血清 IL-1 β 、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痛方中、高剂量组小鼠血

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

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

组别	动物数/只	IL-1 β /(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 [#]
化浊解毒消痛方低剂量组	6	22.93±1.83 [△]	56.83±1.94 ^{#△}
化浊解毒消痛方中剂量组	7	8.55±1.88 [#]	33.60±3.64 [#]
化浊解毒消痛方高剂量组	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 化浊解毒消痛方对 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

痛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痛方高剂量更显著；与美沙拉嗪组比较，化浊解毒消痛方高剂量组 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 [#]
化浊解毒消痛方低剂量组	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 ^{#△}
化浊解毒消痛方中剂量组	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 [#]
化浊解毒消痛方高剂量组	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 [#]

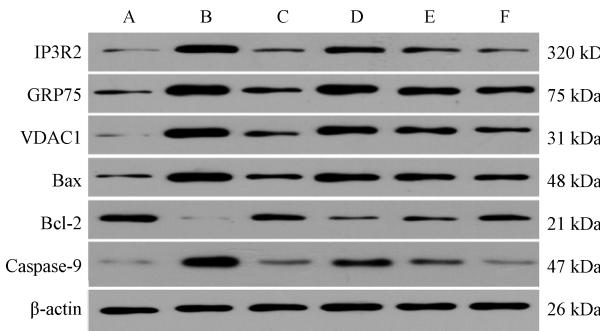
注：与正常组比较，^{*} $P < 0.05$ ；与模型组比较，[#] $P < 0.05$ ；与美沙拉嗪组比较，[△] $P < 0.05$ 。

3.7 化浊解毒消痛方对 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，化浊解毒消痛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 分别为化浊解毒消痛方低、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	<i>IP3R2</i>	<i>GRP75</i>	<i>VDAC1</i>	<i>Bax</i>	<i>Bcl-2</i>	<i>Caspase-9</i>
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#
化浊解毒消痛方低剂量组	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#△
化浊解毒消痛方中剂量组	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#△
化浊解毒消痛方高剂量组	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痛方通过调控 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, 峰断裂、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, 经化浊解毒消痛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], 并创立化浊解毒消痛方, 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, 发现化浊解毒消痛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-1β、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, 而化浊解毒消痛方干预可提高 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, 化浊解毒消痛方可能通过调控 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痛方治疗 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 *Clostridioides 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痈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痈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 纲, 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. 化浊解毒消痈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, Fawkner-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, Fawkner-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] Paterniani 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] Dadseha S, King L E, García-Sáez A J. Apoptosis regulation at the mitochondria membrane level [J]. *Biochim Biophys Acta Biomembr*, 2021, 1863(12): 183716.