DOI:10.13193/j.issn.1673-7717.2026.01.034

黄芩汤调控 Keap1/Nrf2 通路对溃疡性结肠炎铁死亡的影响

占彦雯[1],胡丽霞[2],徐伟鸿[1],谢昌营[3,4],曾娟[3,4],吴娜[3,4]
(1.江西中医药大学研究生院,江西 南昌 330004;2.江西中医药大学中医学院,江西 南昌 330004;
3.江西中医药大学临床医学院,江西 南昌 330004;4.江西中医药大学附属医院,江西 南昌 330006)

摘要:目的 基于 Kelch 样环氧氯丙烷相关蛋白 1(kelch-like ECH-associated protein 1,Keap1)/核因子-红细胞 2 相关因子 2(nuclear factor-erythroid 2 related factor 2,Nrf2)通路探讨黄芩汤(huangqin decoction,HQD)对溃疡性结肠炎(ulcerative colitis,UC)铁死亡的影响。方法 体内实验分正常组、模型组、黄芩汤组(HQD)及美沙拉嗪组,葡聚糖酸钠(dextran sulfate sodium,DSS)诱导小鼠实验性溃疡性结肠炎。HE 染色观察结肠组织病理情况,检测结肠组织铁含量,实时荧光定量 PCR(quantitative polymerase chain reaction,q-PCR)检测谷胱甘肽过氧化物酶 4(glutathione peroxidase 4,GPX4)、环氧合酶 2(prostaglandin-endoperoxide synthase 2,PTGS2)、Nrf2、Keap1 及血红素氧化酶 1(heme oxygenase,HO-1)的信使核糖核酸(messenger RNA,mRNA)表达水平。体外实验分正常组、模型组、黄芩汤组及抑制剂组(ML385),以 Erastin 构建细胞铁死亡模型。CCK-8 法检测细胞生长情况,检测细胞铁和乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase,LDH)含量,q-PCR 检测 GPX4、PTGS2、Nrf2、Keap1 及 HO-1 mRNA 表达水平,蛋白免疫印迹(Western Blot,WB)检测 GPX4、PTGS2、Nrf2、Keap1 及 HO-1 的蛋白表达水平。结果 体内实验中,与模型组相比,黄芩汤组与美沙拉嗪组在改善结肠损伤方面效果较好。与模型组相比,黄芩汤组及美沙拉嗪组铁含量明显降低。与模型组相比,黄芩汤组和美沙拉嗪组中的 PTGS2、Nrf2、Keap1 及 HO-1 的 mRNA 表达水平均有下降,GPX4 的 mRNA 表达水平上升。体外实验中,与模型组相比,黄芩汤组及抑制剂组的细胞活力明显上升,铁和 LDH 含量明显下降,PTGS2、HO-1、Nrf2、Keap1 的 mRNA 表达水平明显下降,GPX4 的 mRNA 的表达水平明显上升,PTGS2、Nrf2、Keap1、HO-1 的蛋白表达明显下降,GPX4 的蛋白表达水平明显上升。结论 黄芩汤抑制溃疡性结肠炎铁死亡的机制可能是调控 Keap1/Nrf2 通路从而减轻细胞铁死亡。

关键词:溃疡性结肠炎;黄芩汤;铁死亡;Keap1/Nrf2 通路;体内外实验
中图分类号:R289.5 **文献标志码**:A **文章编号**:1673-7717(2026)01-0171-07

Impact of Huangqin Decoction(黄芩汤) Regulating Keap1/Nrf2 Pathway on Ferroptosis in Ulcerative Colitis

ZHAN Yanwen[1],HU Lixia[2],XU Weihong[1],XIE Changying[3,4],ZENG Juan[3,4],WU Na[3,4]
(1. Graduate School of Jiangxi University of Chinese Medicine,Nanchang 330004,Jiangxi,China;
2. Institute of Traditional Chinese Medicine Jiangxi University of Chinese Medicine,Nanchang 330004,Jiangxi,China;
3. Clinical Medicine Jiangxi University of Chinese Medicine,Nanchang 330004,Jiangxi,China;
4. Affiliated Hospital of Jiangxi University of Chinese Medicine,Nanchang 330006,Jiangxi,China)

Abstract:*Objective* To investigate the effect of Huangqin Decoction(黄芩汤,HQD) on ferroptosis in ulcerative colitis based on kelch-like ECH-associated protein 1(Keap1)/nuclear factor-erythroid 2 related factor 2(Nrf2) pathway. *Methods* The mice in the in vivo experiment were divided into normal group,model group,traditional Chinese medicine group(HQD group) and mesalazine group. The ulcerative colitis mice were induced by dextran sulfate sodium. HE staining was used to observe the histopathology of colon. The contents of Fe in tissues were detected. The mRNA expression levels of glutathione peroxidase 4(GPX4),prostaglandin-endoperoxide synthase 2(PTGS2),Nrf2,Keap1 and heme oxygenase-1(HO-1) were detected by quantitative polymerase chain reaction(q-PCR). The cells in the vitro experiments were divided into normal group,model group,HQD group and inhibitor group(ML385),and the cell ferroptosis model was constructed with Erastin. The cell growth was detected by CCK-8. The contents of Fe and lactate dehydrogenase(LDH) were detected. The mRNA expression levels of GPX4,PTGS2,Nrf2,Keap1 and HO-1 were detected by q-PCR. The protein expression levels of GPX4,PTGS2,Nrf2,Keap1 and HO-1 were detected by Western Blot. *Results* In the in vivo experiments,compared with the model group,the HQD group and the mesalazine group obtained better results in ameliorating colon injury. In comparison to the model group,the Fe content was significantly decreased in the HQD group and the mesalazine group. In comparison to model group,the mRNA expression levels of PTGS2,HO-1,Nrf2 and Keap1 were decreased,the mRNA expression level of GPX4 was increased in both the HQD group and the mesalazine group. Compared with that of the model group,the cell vitality of the HQD group and the ML385 group were

基金项目:国家自然科学基金项目(82160903);江西省中医药管理局科技计划重点项目(2022Z005)
作者简介:占彦雯(1999-),女,江西上饶人,硕士在读,研究方向:中医药防治消化系统疾病。
通讯作者:吴娜(1989-),女,江西南昌人,副主任中医师,硕士研究生导师,博士,研究方向:中医药防治炎症性肠病。E-mail:wuna0791@163.com。

significantly increased. In comparison to the model group, the contents of Fe and LDH in the HQD group and the ML385 group were observably decreased. In comparison to that in the model group, the mRNA expression levels of PTGS2, HO-1, Nrf2 and Keap1 in the HQD group and the ML385 group were significantly decreased, while the level of GPX4 was increased visibly. In comparison to those in the model group, the protein expressions of PTGS2, Nrf2, Keap1 and HO-1 in the HQD group and the ML385 group were decreased, while the level of GPX4 was increased. *Conclusion* The mechanism of HQD inhibiting ferroptosis in ulcerative colitis may be the regulation of Keap1/Nrf2 pathway.

Keywords: ulcerative colitis; Huangqin Decoction(黄芩汤); ferroptosis; Keap1/Nrf2 pathway; in vivo and in vitro experiment

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis,UC)是一种非特异性慢性肠道炎症,目前病因尚不明确,难以治愈,易反复发作[1]。铁死亡是一种铁依赖的调节性细胞死亡类型,其标志是细胞膜上发生脂质过氧化,被认为是UC的负调节因子,各种铁死亡抑制剂对UC的恢复有积极的作用[2]。Kelch样环氧氯丙烷相关蛋白1(kelch-like ECH-associated protein 1,Keap1)/核因子-红细胞2相关因子2(nuclear factor-erythroid 2 related factor 2,Nrf2)通路是一种保护细胞免受氧化应激和炎症反应的信号系统,通过激活抗氧化防御系统和减少炎症反应来保护肠黏膜屏障,是治疗UC的重要防御机制[3]。在氧化应激反应中,Keap/Nrf2信号通路通过改善谷胱甘肽(glutathione,GSH)、谷胱甘肽过氧化物酶4(glutathione peroxidase4,GPX4)及活性氧(reactive oxygen species,ROS)等铁死亡相关因子水平从而调控铁死亡[4-5]。黄芩汤(huangqin decoction,HQD)出自张仲景的《伤寒论》,由黄芩、白芍、甘草、大枣4味药组成。此方药物组成精当,为治疗里热下痢之祖方。前期课题组研究发现HQD对UC铁死亡有抑制作用,且可能与氧化应激相关[6]。基于此,课题组拟从体内外实验两方面探讨。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 *动物与细胞* 雄性SPF级SD大鼠20只,6~8周龄,体质量(210±20)g及雄性SPF级BALB/c小鼠40只,6周龄,体质量(20±2)g,均购自斯贝福(北京)生物技术有限公司,动物合格证号:SCXK(京)2019-0010,实验动物使用许可证号:SYXK(赣)2022-0002。在室温20~25 ℃,相对湿度(50±20)%,12 h/12 h明暗周期的环境下分笼饲养于江西中医药大学动物实验中心,本实验已通过江西中医药大学伦理委员会审查(伦理号:JZLLSC20230735)。Caco-2细胞购自中国科学院细胞库(目录号SCSP-5027)。

1.1.2 *药物* HQD由黄芩(*Scutellariae Radix*)、白芍(*Paeonia lactiflora* Pall)、炙甘草(*Glycyrrhizae Radix* et Rhizoma Praeparata cum Melle)、大枣(*Jujubae Fructus*)4味药物组成。其中黄芩、大枣购自康美药业股份有限公司(批号分别为221201601、230201911),白芍、炙甘草购自江西江中中药饮片有限公司(批号分别为220724、220109)。葡聚糖酸钠(dextran sulfate sodium,DSS)(分子量:36 000~50 000)购自美仑(货号:MB5535-2),美沙拉嗪肠溶片(惠迪)购自葵花药业集团佳木斯鹿灵制药有限公司(批号:230324),Erastin购自上海源叶公司(货号S80804),ML385购自CSNpharm(货号CSN22320)。

1.1.3 *试剂与仪器* 铁含量测定试剂盒购自南京建成(货号A039-2-1、A039-1-1)。乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase,LDH)试剂盒购自江苏凯基生物技术股份有限公司(货号KGA7403)。GPX4、环氧合酶2(prostaglandin-endoperoxide synthase 2,PTGS2)、Nrf2、Keap1、血红素氧化酶1(heme oxygenase,HO-1)抗体均购自Affinity(货号分别为:DF6701、AF7003、AF0639、AF5266、AF5393)。TRIzol购自美国Invitrogen(货号15596-026)。One Step TB Green™ PrimeScript™ RT-PCR Kit Ⅱ(SYBR Green)购自日本TaKaRa(货号RR086B)。多功能酶标仪(瑞士TECAN SPARK);荧光定量PCR循环仪(美国ABI Step one plus Real time-PCR system);电泳仪(美国Bio-rad Power Supplies Basic);Trans-Blot Turbo全能型蛋白转印系统(美国Bio-rad 170-4150);凝胶成像系统(美国Bio-rad ChemiDoc MP Imaging System)。

1.2 方法

1.2.1 *分组与模型制备* (1)动物分组与模型制备:实验开始前对所有小鼠进行称重和标记,随后将40只小鼠适应性喂养7 d后,随机分为4组:正常组(Normal组)、模型组(Model组)、黄芩汤组(HQD组)、美沙拉嗪组,每组10只。将DSS溶于蒸馏水配制成5.5%溶液,除正常组外,其余各组小鼠均自由饮用DSS溶液7 d,其中每隔1天更换1次新鲜的DSS溶液。

(2)细胞分组与模型制备:将Caco-2细胞复苏传代后随机分为正常组(Normal组)、模型组(Model组)、黄芩汤组(HQD组,10%中药血清)、抑制剂组(ML385 2.5 μmol/L)。参考YANG X B等[7]的方法,使用Erastin(175 μmol/L)进行铁死亡模型构建。

1.2.2 *给药方法* (1)HQD溶液的制备:参考相关文献及课题组前期实验[8-10],将黄芩、白芍、炙甘草和大枣按照3∶2∶2∶2的比例取材煎煮过滤,浓缩成1 g/mL的药液。

(2)动物给药方法:造模同时给予灌胃,灌胃剂量根据相关文献及课题组前期实验[9-10],HQD组给予9.1 g/kg,美沙拉嗪组给予0.5 g/kg,其余组用等量蒸馏水灌胃,1次/d,连续给药7 d,第8天处死动物获取样本进行检测。

(3)中药血清的制备:HQD溶液制备按上述方法进行,浓缩成2 g/mL药液。SD大鼠以12.6 g/kg,每天灌胃2次,每次间隔12 h,连续灌胃7 d,第7天末次灌胃前24 h开始禁食,末次灌胃后1 h腹主动脉采血。取血后静置30 min,以3000 r/min离心15 min,取上清液即为血清。

(4)细胞给药方法:黄芩汤组及抑制剂组均先分别予以10%中药血清及ML385(2.5 μmol/L)处理24 h,之后更换新鲜培养基再加入Erastin造模,24 h后收集细胞进行检测

1.2.3 *检测指标与方法* (1)病理切片:将结肠组织在4%(w/v)多聚甲醛中固定24 h以上。按照梯度酒精进行脱水,浸蜡结束后包埋、切片、染色,中性树胶封片。显微镜镜检,图像采集分析。

(2)CCK-8法检测细胞生长情况:将收集的细胞按每孔100 μL加入96孔板中,放入37 ℃细胞培养箱24 h后每孔加入10 μL CCK-8溶液,并设置空白对照组,继续在37 ℃细胞培养箱中孵育2 h,使用酶标仪在450 nm波长下检测各孔吸光度值。

(3)铁含量检测:按照试剂盒操作说明书,分别取动物结

肠组织匀浆及细胞上清液1.0 mL进行铁含量测定。并设置空白管与标准管,在波长520 nm处测各管吸光度OD值。

(4)LDH含量检测:按照LDH试剂盒说明书,取细胞上清液进行LDH含量测定。并设置空白管、标准管与对照管,在440 nm处测定吸光值。

(5)实时荧光定量PCR(quantitative polymerase chain reaction,q-PCR)检测结肠组织及细胞中GPX4、PTGS2、Nrf2、Keap1、HO-1信使核糖核酸(messenger RNA,mRNA)表达水平:TRIzol试剂提取总RNA。在确定RNA浓度和纯度后,使互补脱氧核糖核酸(cDNA)第一链合成试剂盒用逆转录试剂盒合成cDNA,并使用One Step TB Green™ PrimeScript™ RT-PCR Kit Ⅱ(SYBR Green)在荧光定量PCR循环仪中进行定量实时PCR。qPCR反应条件:酶的预变性温度为95 ℃,所需时间30 s;变性温度95 ℃,所需时间5 s;退火温度60 ℃,所需时间30 s;循环次数通常设为40~45次;溶解曲线分析95 ℃所需时间15 s;60 ℃所需时间1 min;95 ℃所需15 s;50 ℃所需30 s。结肠组织引物序列,详见表1。细胞引物序列,详见表2。使用$2^{-\Delta\Delta Ct}$方法计算相对表达水平。

表1 动物实验引物序列

基因	序列(5′-3′)	产物长度/(bp)
GAPDH	F:GCCCAGAACATCATCCCTGCAT	188
	R:GCCTGCTTCACCACCTTCTTGA	
Nrf2	F:GGTAAGAATAAAGTCGCCGCCCA	85
	R:TTAAGTGGCCCAAGTCTTGCTCC	
Keap1	F:CAGAGAGGAATGAGTGGCGGATG	156
	R:AGGTCTCTGTCTCCACGTCGTAG	
HO-1	F:CCCCACCAAGTTCAAACAGCTCT	138
	R:ATCACCTGCAGCTCCTCAAACAG	
GPX4	F:ATTGATAAGAACGGCTGCGTGGT	80
	R:TAGCACGGCAGGTCCTTCTCTAT	
PTGS2	F:CTTCCTCCCGTAGCAGATGACT	243
	R:GTGATTTAAGTCCACTCCATGGC	

表2 细胞实验引物序列

基因	序列(5′-3′)	产物长度/(bp)
GPX4	F:CCAGTGAGGCAAGACCGAAGT	118
	R:TGGCTCCTGCTTCCCGAACT	
PTGS2	F:CTGGTGCCTGGTCTGATGATGT	120
	R:CCTGCTTGTCTGGAACAACTGC	
Nrf2	F:CCTTCAGCAGCATCCTCTCCA	82
	R:TCTGTGTTGACTGTGGCATCTG	
Keap1	F:GGCTGTCCTCAATCGTCTCCTT	104
	R:TCATTCGCCACTCGTTCCTCTC	
HO-1	F:ATTGCCAGTGCCACCAAGTTCA	118
	R:TGTTGAGCAGGAACGCAGTCTT	
GAPDH	F:AGATCATCAGCAATGCCTCCT	90
	R:TGAGTCCTTCCACGATACCAA	

(6)蛋白免疫印迹(Western Blot,WB)法检测细胞中GPX4、PTGS2、Nrf2、Keap1、HO-1蛋白的表达:BCA法测定蛋白质浓度。通过SDS-PAGE分离等量的总蛋白并转移至NC膜。加入5%脱脂奶粉,摇床振荡2 h。封闭结束后,将膜分别放入含GPX4、PTGS2、Nrf2、Keap1、HO-1一抗(稀释比例1∶500)的培养皿中,TBST洗涤3次,孵育4 ℃过夜。稀释二抗,室温摇床振荡反应2 h。TBST洗膜5 min×3,滴加适量工作液。使用ChemiDoc MP Imaging System成像,通过GEL-PRO32软件对显影的印迹进行灰度分析。

1.3 统计学方法

采用SPSS 25.0软件进行分析,多组间采用单因素方差分析,组间比较用LSD检验,使用Graphpad prism 9.0绘制统计分析图,计量资料以$\bar{x} \pm s$表示,$P<0.05$表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 结肠组织病理结果

与正常组相比,模型组中结肠腺体明显萎缩,杯状细胞严重缺失,有明显的炎性浸润;与模型组相比,黄芩汤组上皮损伤程度改善明显,炎性细胞减少;美沙拉嗪组结肠腺体结构基本恢复正常,杯状细胞丢失明显好转,炎性细胞浸润好转。详见插页XXⅣ图1。

2.2 结肠组织铁结果

与正常组相比,模型组铁含量明显升高;与模型组相比,黄芩汤组与美沙拉嗪组铁含量均明显降低。见插页XXⅣ图2。

2.3 结肠组织GPX4、PTGS2、Nrf2、Keap1、HO-1 mRNA表达水平结果

与正常组相比,模型组中Nrf2、PTGS2、Keap1、HO-1 mRNA表达水平均有明显上升,GPX4 mRNA明显下降。与模型组相比,黄芩汤组与美沙拉嗪组中Nrf2、PTGS2、Keap1、HO-1 mRNA表达水平明显下降,GPX4 mRNA表达水平明显上升,具有统计学差异。详见插页XXⅤ图3。

2.4 细胞实验CCK-8结果

与正常组相比,模型组细胞活力明显降低;与模型组相比,黄芩汤组与抑制剂组细胞活力明显升高。详见插页XXⅣ图4。

2.5 细胞实验铁、LDH结果

与正常组相比,模型组的铁和LDH含量明显升高;与模型组相比,黄芩汤组与抑制剂组铁含量和LDH含量明显降低。详见插页XXⅤ图5。

2.6 细胞实验GPX4、PTGS2、Nrf2、Keap1、HO-1 mRNA表达水平

与正常组相比,模型组中PTGS2、Nrf2、Keap1、HO-1 mRNA表达水平明显上升,GPX4 mRNA表达明显下降。与模型组相比,黄芩汤组与抑制剂组PTGS2、Nrf2、Keap1、HO-1 mRNA表达水平明显下降,GPX4 mRNA表达显著上升。详见插页XXⅥ图6。

2.7 细胞实验GPX4、PTGS2、Nrf2、Keap1、HO-1蛋白表达水平

与正常组相比,模型组中PTGS2、Nrf2、Keap1、HO-1蛋白表达水平显著上升,GPX4蛋白表达水平显著下降。与模型组相比,黄芩汤组与抑制剂组中PTGS2、Nrf2、Keap1、HO-1表达水平明显下降,GPX4明显上升。见插页XXⅥ图7。

3 讨论

UC属于中医病证中“痢疾”“泄泻”的范畴,其基本病机是湿热之邪蕴结于肠腑,气机不利、血行不畅、气血壅滞,脂膜血络受损,化为脓血,导致大肠传导失司[11]。湿邪致病特点为重浊、黏滞、趋下,故UC中会出现大便溏泄,里急后重,排便不爽,病情缠绵,反复易发;热邪易生风动血,损伤血络,迫血妄行,故常有赤白脓血便。湿热证治法为清肠化湿、调气和血。HQD为清热利湿之法代表方,有清热止痢、和中止痛之功效,其君药黄芩味苦性寒,可清阳明胃肠之热;芍药味酸性寒,能泄热敛阴和营、柔肝缓急止痛;炙甘草和大枣益气和中,调和诸

药,是湿热UC的常用方剂[12-13]。胡婕等[14]、杨梅等[15]、阎玲[16]通过临床试验发现HQD在联合美沙拉嗪治疗时,能明显降低UC肠道黏膜炎症因子水平,改善肠道菌群,并缓解腹痛、腹泻、肠道糜烂、出血等症状,且不良反应少。

铁死亡不同于一般的细胞凋亡、自噬及坏死,它是一种新型的细胞死亡模式,是由于ROS产生过多促进脂质过氧化所致[17]。GPX4是脂质过氧化物的主要防御者,其活性被抑制可导致脂质过氧化物积累,故该表达下调意味着细胞对铁死亡的敏感性过高,上调则意味对铁死亡有抑制作用[18]。PTGS2的表达通过细胞因子和生长因子诱导,在炎症期间上调,它的上调标志着铁死亡的开始,是判断细胞铁死亡的标志之一[19]。铁死亡调控途径主要分为三大轴:第一条主要以氨基酸代谢为主的包括GSH/GPX4通路,抑制系统XC^-、硫转移途径和p53调节轴,该通路中GSH作为抗氧化剂,常以还原和氧化两种形式存在,两者之间的比值表示细胞氧化应激程度;第二条主要以铁代谢为主;第三条主要以脂质代谢为主,其中膜脂质的氧化损伤是铁死亡发生的核心[20]。Keap1/Nrf2通路是抗氧化应激的重要机制之一[21]。Nrf2是一种细胞保护性转录因子,可以上调某些解毒和抗氧化基因,在协调抗氧化反应中起着至关重要的作用,Nrf2的活性主要受Keap1的调节[22]。正常情况下,Keap1是形成E3泛素连接酶复合物中的底物衔接子组分,其通过靶向结合转录因子Nrf2,并引导Nrf2通过26S蛋白酶体进行多聚泛素化和蛋白酶体依赖性降解调节其活性[21]。一旦发生氧化应激,Nrf2就会从Keap1结合中脱离出来,移位到细胞核,与一种小蛋白Maf异二聚化后再与Keap1-Nrf2抗氧化反应元件结合并启动HO-1依赖性基因表达[23-24]。HO-1是重要的铁死亡调节因子,在Nrf2的介导下HO-1上调,通过调节细胞铁含量和ROS含量来诱导铁死亡[25]。

本研究从动物及细胞两个层面进行研究,体内实验根据HE染色结果发现,给予DSS后结肠腺体萎缩破坏,大量炎性细胞浸润,表明造模成功。给予中药及西药治疗后,结肠腺体损坏及炎症浸润较前明显好转。为了进一步探讨UC小鼠模型中铁死亡发生的机制,我们分析了小鼠结肠组织铁死亡相关基因表达及细胞中GPX4、PTGS2、Nrf2、Keap1、HO-1蛋白和基因表达情况,结果显示:与正常组相比,模型组PTGS2、Nrf2、Keap1、HO-1的表达上升,而GPX4的表达下降。使用HQD后,可改善GPX4、PTGS2、Nrf2、Keap1、HO-1的表达,提示HQD通过抑制Keap1/Nrf2途径抑制铁死亡。综上所述,HQD治疗UC的作用机制可能是通过调节Keap1/Nrf2通路从而减轻细胞铁死亡。

参考文献

[1] ADAMS S M, BORNEMANN P H. Ulcerative colitis[J]. Am Fam Physician, 2013, 87(10): 699-705.
[2] STOCKWELL B R. Ferroptosis turns 10: Emerging mechanisms, physiological functions, and therapeutic applications[J]. Cell, 2022, 185(14): 2401-2421.
[3] ZHANG X, CUI K N, WANG X L, et al. Novel hydrogen sulfide hybrid derivatives of Keap1-Nrf2 protein-protein interaction inhibitor alleviate inflammation and oxidative stress in acute experimental colitis[J]. Antioxidants (Basel), 2023, 12(5): 1062.
[4] LI J, CAO F, YIN H L, et al. Ferroptosis: past, present and future[J]. Cell Death Dis, 2020, 11(2): 88.
[5] CHEN Y, WANG J, LI J, et al. Astragalus polysaccharide prevents ferroptosis in a murine model of experimental colitis and human Caco-2 cells via inhibiting NRF2/HO-1 pathway[J]. Eur J Pharmacol, 2021, 911: 174518.
[6] 吴娜,万治平,曾娟,等. 黄芩汤对溃疡性结肠炎小鼠氧化应激及铁死亡相关指标GSH-Px4,P53,SLC7A11的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2021,27(8):17-24.
[7] YANG X B, SUN X, ZHOU F, et al. Protocatechuic acid alleviates dextran-sulfate-sodium-induced ulcerative colitis in mice *via* the regulation of intestinal flora and ferroptosis[J]. Molecules, 2023, 28(9): 3775.
[8] 柯雪帆,赵章忠,张玉萍,等.《伤寒论》和《金匮要略》中的药物剂量问题[J]. 上海中医药杂志,1983(12):36-38.
[9] 刘滨,刘雅清,宋红新,等. 黄芩汤对溃疡性结肠炎小鼠Th17/Treg、Th1/Th2细胞平衡的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2022,28(22):7-15.
[10] 吴娜,万治平,韩玲,等. 黄芩汤对溃疡性结肠炎小鼠NLRP3/caspase-1细胞焦亡通路的影响[J]. 中国中药杂志,2021,46(5): 1191-1196.
[11] 吴东升,李嫣红,阳玉婷,等. 芍药汤通过PPARγ调控TGF-β1/Smads信号通路对溃疡性结肠炎湿热内蕴证肠纤维化上皮间质转化的影响[J]. 中国中医药信息杂志,2023,30(11): 94-99.
[12] 刘梦茹,李慧,魏兰福,等. 黄芩汤对溃疡性结肠炎模型小鼠NLRP3/Caspase-1通路的影响[J]. 中国中药杂志,2023,48(1): 226-233.
[13] 孙豪娴,孙贵香,朱莹. 黄芩汤治疗溃疡性结肠炎的研究现状[J]. 中国实验方剂学杂志,2022,28(23): 219-227.
[14] 胡婕,郭修田,周大成,等. 黄芩汤加减结合美沙拉嗪对溃疡性结肠炎(活动期)肠黏膜组织炎症因子的影响[J]. 中华中医药学刊,2021,39(1): 123-126.
[15] 杨梅,吴东. 黄芩汤颗粒剂联合美沙拉秦对溃疡性结肠炎的临床疗效研究[J]. 中国中西医结合消化杂志,2016,24(3): 221-223.
[16] 阎玲. 黄芩汤加减联合美沙拉嗪治疗溃疡性结肠炎临床观察[J]. 四川中医,2019,37(5): 101-103.
[17] HUANG J K, ZHANG J Q, MA J X, et al. Inhibiting ferroptosis: a novel approach for ulcerative colitis therapeutics[J]. Oxid Med Cell Longev, 2022, 2022: 9678625.
[18] XUE Q, YAN D, CHEN X, et al. Copper-dependent autophagic degradation of GPX4 drives ferroptosis[J]. Autophagy, 2023, 19(7): 1982-1996.
[19] FERRER M D, BUSQUETS-CORTÉS C, CAPÓ X, et al. Cyclooxygenase-2 inhibitors as a therapeutic target in inflammatory diseases[J]. Curr Med Chem, 2019, 26(18): 3225-3241.
[20] CAPELLETTI M M, MANCEAU H, PUY H, et al. Ferroptosis in liver diseases: an overview[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(14): 4908.
[21] BAIRD L, YAMAMOTO M. The molecular mechanisms regulating the KEAP1-NRF2 pathway[J]. Mol Cell Biol, 2020, 40(13): e00099-20.
[22] LU M C, JI J N, JIANG Y L, et al. An inhibitor of the Keap1-Nrf2 protein-protein interaction protects NCM460 colonic cells and alleviates experimental colitis[J]. Sci Rep, 2016, 6: 26585.
[23] ZHUGE X J, JIN X S, JI T T, et al. Geniposide ameliorates dextran sulfate sodium-induced ulcerative colitis *via* KEAP1-Nrf2 signaling pathway[J]. J Ethnopharmacol, 2023, 314: 116626.
[24] BELLEZZA I, GIAMBANCO I, MINELLI A, et al. Nrf2-Keap1 signaling in oxidative and reductive stress[J]. Biochim Biophys Acta Mol Cell Res, 2018, 1865(5): 721-733.
[25] WEI R R, ZHAO Y Q, WANG J, et al. Tagitinin C induces ferroptosis through PERK-Nrf2-HO-1 signaling pathway in colorectal cancer cells[J]. Int J Biol Sci, 2021, 17(11): 2703-2717.

黄芩汤调控 Keap1/Nrf2 通路对溃疡性结肠炎铁死亡的影响

(正文见 171 – 174 页)

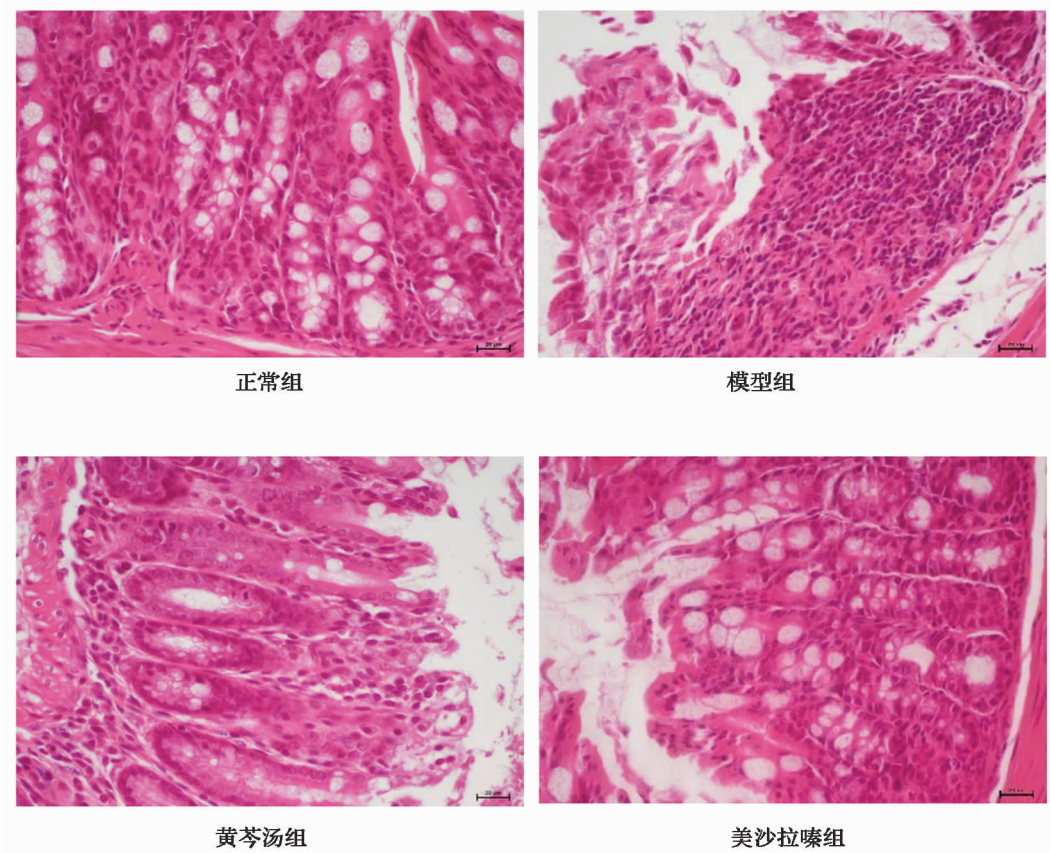
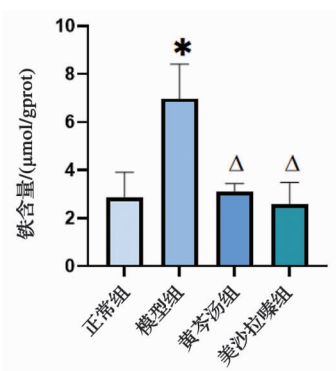
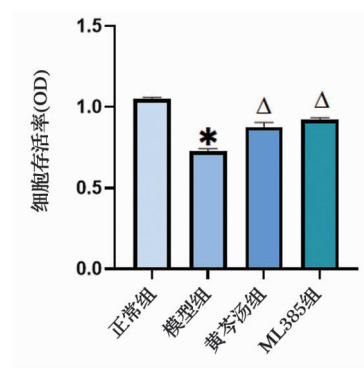


图 1 各组小鼠结肠组织病理形态学观察(HE 染色, ×400)



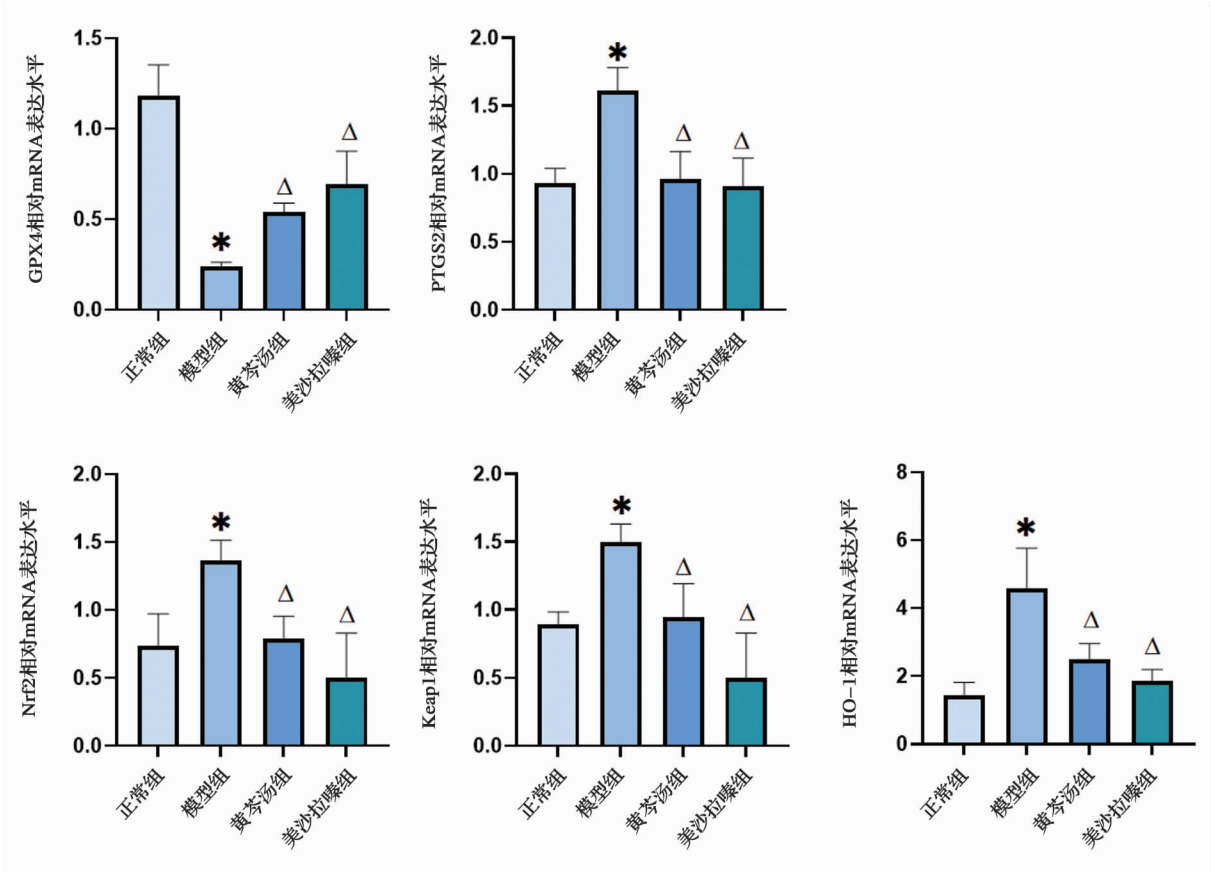
注: * 与正常组相比, $P<0.05$; Δ 与模型组相比, $P<0.05$。

图 2 各组小鼠结肠组织铁含量比较($n=6$, $\bar{x}\pm s$)



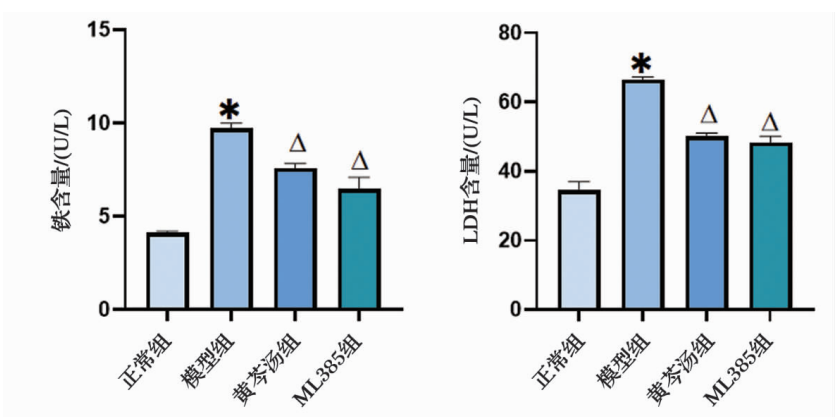
注: * 与正常组相比, $P<0.05$; Δ 与模型组相比, $P<0.05$。

图 4 各组细胞生长情况(CCK – 8)($n=3$, $\bar{x}\pm s$)



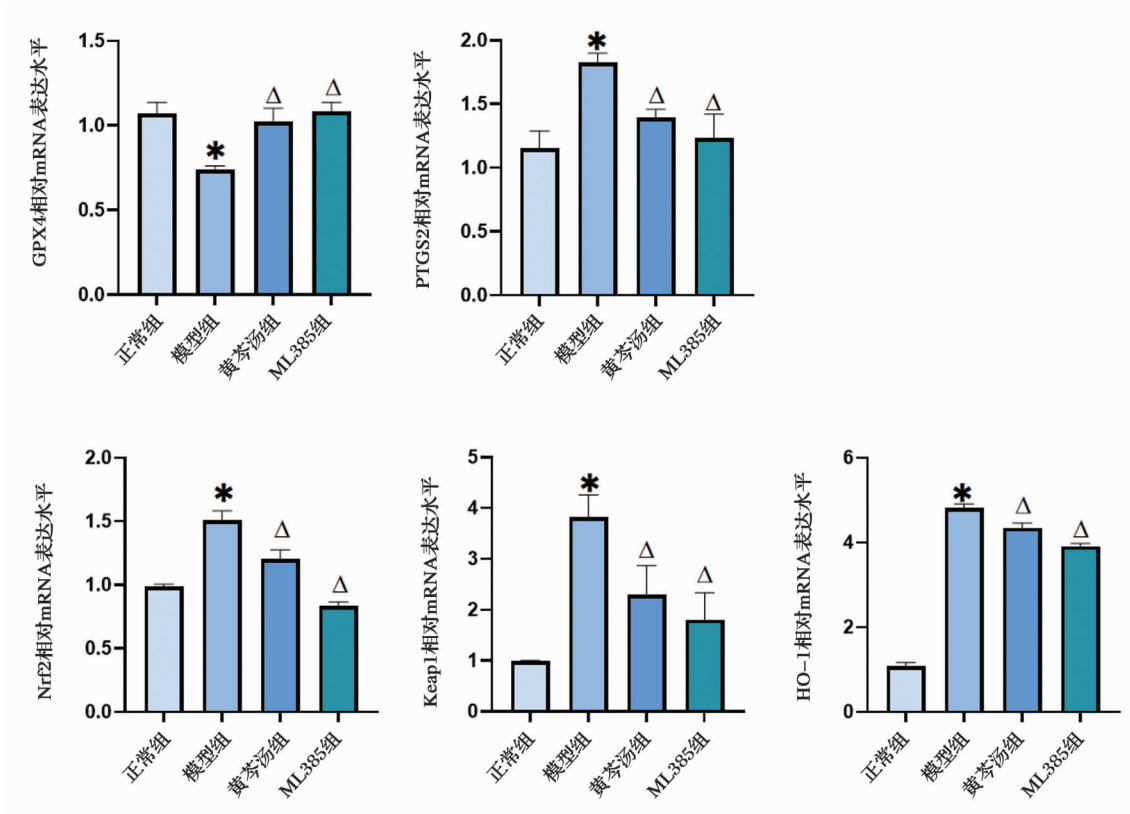
注：* 与正常组相比，$P<0.05$；Δ 与模型组相比，$P<0.05$。

图 3 各组小鼠结肠组织中 GPX4、PTGS2、Nrf2、Keap1、HO－1mRNA 表达水平（$n=3$，$\bar{x}\pm s$）



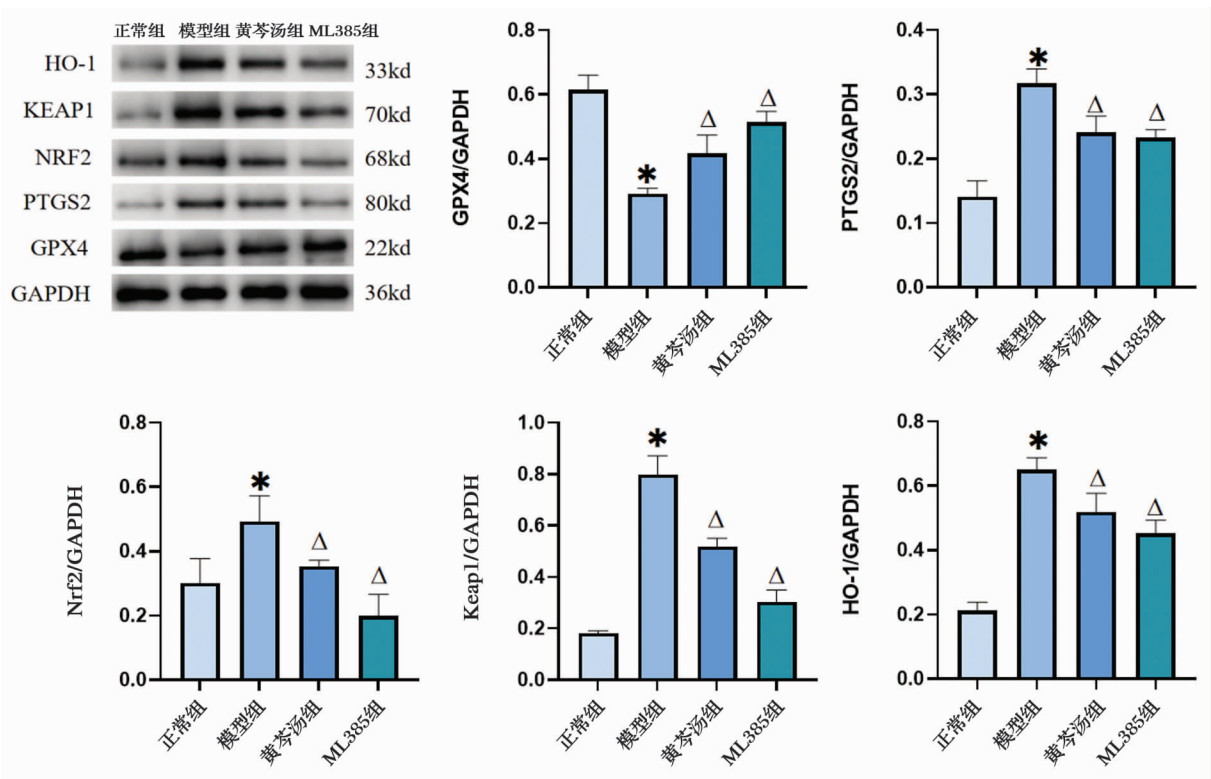
注：* 与正常组相比，$P<0.05$；Δ 与模型组相比，$P<0.05$。

图 5 各组铁、LDH 含量情况（$n=3$，$\bar{x}\pm s$）



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

图 6 各组中 GPX4、PTGS2、Nrf2、Keap1、HO－1mRNA 的表达水平（$n=3$，$\bar{x}\pm s$）



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

图 7 各组中 GPX4、PTGS2、Nrf2、Keap1、HO－1 蛋白表达水平（$n=3$，$\bar{x}\pm s$）