

基于细胞自噬调控 NLRP3/Caspase-1/GSDMD 信号通路探讨五味子乙素减轻溃疡性结肠炎大鼠上皮细胞焦亡的作用机制

李 欢^{1,2}, 史孟华^{1,3}, 王志欣^{1,2}, 杨青芸^{1,2}, 郭海霞^{1,3}, 王 杰⁴, 张双喜^{1,3}, 安永康^{1,3*}, 张相安^{1,3*}

1. 河南中医药大学第一附属医院 肛肠科, 河南 郑州 450000

2. 河南中医药大学第一临床医学院, 河南 郑州 450046

3. 河南中医药大学第一附属医院 肛肠诊疗中心, 河南 郑州 450000

4. 上海中医药大学, 上海 201203

摘要: 目的 研究五味子乙素 (schisandrin B, Sch B) 对 2,4,6-三硝基苯磺酸 (2,4,6-trinitrobenzenesulfonic acid solution, TNBS) 诱导的大鼠溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 的治疗作用, 探讨其通过调控细胞自噬相关蛋白及 NOD 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3 (NOD-like receptor thermal protein domain associated protein 3, NLRP3) /半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-1 (cystein-aspartate protease-1, Caspase-1) /消皮素 D (gasdermin D, GSDMD) 信号通路减轻结肠上皮细胞焦亡的分子机制。方法 SD 大鼠随机分为对照组、模型组、美沙拉嗪 (100 mg/kg) 组和 Sch B 低、中、高剂量 (10、20、50 mg/kg) 组, 每组 10 只, 雌雄各半。构建 TNBS 诱导的 UC 模型, 给药干预 14 d 后, 观察大鼠一般状态, 检测疾病活动指数 (disease activity index, DAI) 评分、结肠长度及结肠黏膜损伤指数 (colon mucosa damage index, CMDI) 评分; 苏木素-伊红 (hematoxylin-eosin, HE) 染色评估结肠组织病理损伤; ELISA 检测血清中肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6) 和 IL-1 β 水平; 免疫组化检测结肠组织自噬相关 16 样蛋白 1 (autophagy related protein 16 like protein 1, ATG16L1) 和 GSDMD 蛋白表达; Western blotting 检测结肠组织自噬相关蛋白 [Beclin-1、微管相关蛋白轻链 3B (microtubule-associated protein light chain 3B, LC3B)、ATG16L1、p62] 及焦亡通路相关蛋白 (NLRP3、Caspase-1、GSDMD) 的表达。结果 与模型组比较, Sch B 显著改善 UC 大鼠体质量下降、便血等症状, 降低 DAI 及 CMDI 评分 ($P < 0.05$ 、 0.01), 增加结肠长度 ($P < 0.05$ 、 0.01), 减轻结肠黏膜充血水肿、溃疡形成及炎症细胞浸润 ($P < 0.05$ 、 0.01), 降低血清 IL-6、TNF- α 和 IL-1 β 水平 ($P < 0.05$ 、 0.01), 上调结肠组织 Beclin-1 蛋白表达并升高 LC3-II/I 值 ($P < 0.01$), 下调 ATG16L1、p62、NLRP3、Caspase-1 和 GSDMD 蛋白表达 ($P < 0.05$ 、 0.01)。结论 Sch B 对 TNBS 诱导的 UC 大鼠具有显著治疗作用, 其机制可能与调节细胞自噬流稳态、抑制 NLRP3/Caspase-1/GSDMD 信号通路介导的结肠上皮细胞焦亡、减少促炎因子释放以减轻肠道炎症反应相关, 自噬流的正常化可能是 Sch B 抑制结肠上皮细胞焦亡的重要调控环节。

关键词: 五味子乙素; 溃疡性结肠炎; 细胞焦亡; 细胞自噬; 炎症反应; NLRP3/Caspase-1/GSDMD 信号通路

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2026)16-6401-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.16.015

Mechanism of schisandrin B in alleviating pyroptosis of epithelial cells in rats with ulcerative colitis based on regulation of NLRP3/Caspase-1/GSDMD signaling pathway by autophagy

LI Huan^{1,2}, SHI Menghua^{1,3}, WANG Zhixin^{1,2}, YANG Qingyun^{1,2}, GUO Haixia^{1,3}, WANG Jie⁴, ZHANG Shuangxi^{1,3}, AN Yongkang^{1,3}, ZHANG Xiangan^{1,3}

1. Department of Anorectology, the First Affiliated Hospital of Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450000, China

2. The First Clinical Medical College, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China

3. Anorectal Diagnosis and Treatment Center, the First Affiliated Hospital of Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou

收稿日期: 2026-01-27

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (81973625); 河南省科技研发计划联合基金资助项目 (242301420114); 河南省科技攻关项目 (232102311221, 262102311235); 河南省中医药科学研究专项 (2021JDZY066, 2024ZY2011)

作者简介: 李 欢, 男, 硕士研究生, 研究方向为中医药防治肛肠病研究。E-mail: 724359388@qq.com

***通信作者:** 安永康, 男, 医学博士, 硕士生导师, 副主任医师, 从事中医药防治肛肠病研究。E-mail: 785658421@qq.com

张相安, 男, 医学博士, 博士生导师, 主任医师, 从事中医药防治肛肠病研究。E-mail: zxa2105@163.com

450000, China

4. Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China

Abstract: Objective To investigate the therapeutic effect of schisandrin B (Sch B) on ulcerative colitis (UC) in rats induced by 2,4,6-trinitrobenzenesulfonic acid (TNBS), and explore its molecular mechanism in alleviating pyroptosis of colonic epithelial cells by regulating autophagy-related proteins as well as NOD-like receptor thermal protein domain associated protein 3 (NLRP3)/cysteine-aspartic protease-1 (Caspase-1)/gasdermin D (GSDMD) signaling pathway. **Methods** SD rats were randomly divided into control group, model group, mesalazine (100 mg/kg) group, Sch B low-, medium- and high-dose (10, 20, 50 mg/kg) groups, with 10 rats in each group, half male and half female. A TNBS-induced UC model was constructed, after 14 consecutive days of administration, the general conditions of rats were observed. The disease activity index (DAI) score, colon length and colon mucosa damage index (CMDI) score were detected. Histopathological injury of colonic tissue was evaluated by hematoxylin-eosin (HE) staining. Levels of tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-6 (IL-6) and IL-1 β in serum were measured by ELISA. The expressions of autophagy related protein 16 like protein 1 (ATG16L1) and GSDMD proteins in colonic tissue were detected by immunohistochemistry. Western blotting was performed to detect the expressions of autophagy-related proteins (Beclin-1, microtubule-associated protein light chain 3B (LC3B), ATG16L1, p62) and pyroptosis pathway-related proteins (NLRP3, Caspase-1, GSDMD) in colonic tissue. **Results** Compared with model group, Sch B significantly ameliorated body weight loss, hematochezia and other symptoms in UC rats, reduced DAI and CMDI scores ($P < 0.05, 0.01$), increased colon length ($P < 0.05, 0.01$), alleviated colonic mucosal congestion, edema, ulcer formation and inflammatory cell infiltration ($P < 0.05, 0.01$), decreased levels of IL-6, TNF- α and IL-1 β in serum ($P < 0.05, 0.01$), upregulated Beclin-1 protein expression and LC3-II/I ratio in colonic tissue ($P < 0.01$), and downregulated ATG16L1, p62, NLRP3, Caspase-1, GSDMD protein expressions ($P < 0.05, 0.01$). **Conclusion** Sch B exerts a remarkable therapeutic effect on TNBS-induced UC in rats. Its mechanism may be associated with maintaining autophagy flux homeostasis, inhibiting colonic epithelial cell pyroptosis mediated by NLRP3/Caspase-1/GSDMD signaling pathway, reducing the release of pro-inflammatory factors and thereby alleviating intestinal inflammatory response. Normalization of autophagy flux may be a key regulatory link for Sch B to inhibit colonic epithelial cell pyroptosis.

Key words: schisandrin B; ulcerative colitis; pyroptosis; autophagy; inflammatory response; NLRP3/Caspase-1/GSDMD signaling pathway

溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 是一种病因未明的慢性非特异性肠道炎症性疾病, 以结肠黏膜连续性、弥漫性炎症损伤为主要病理特征, 临床表现为腹痛、腹泻、黏液脓血便等症状, 严重时累及全身多个系统^[1]。近年来, 随着生活方式改变和环境因素变化, UC 的发病率在全球范围内呈持续上升趋势, 尤其在亚洲地区增长显著^[2-3]。UC 病程迁延反复, 不仅严重影响患者的生活质量, 还会增加肠道穿孔、癌变等严重并发症的发生风险, 给患者家庭和社会医疗带来沉重负担^[4-5]。目前, UC 的发病机制尚未完全阐明, 普遍认为与遗传易感性、肠道菌群失调、免疫功能紊乱及肠黏膜屏障损伤等多种因素密切相关^[6]。临床治疗以控制炎症、缓解症状、预防复发为主要目标, 常用药物包括 5-氨基水杨酸类、糖皮质激素、免疫抑制剂等。其中, 美沙拉嗪作为 5-氨基水杨酸类代表药物, 虽能有效缓解轻中度 UC 患者的炎症症状, 但长期使用易产生耐药性, 且可能引发恶心、呕吐、头痛等不良反应, 其治疗局限性逐渐显现。因此, 寻找安全有效、

作用机制明确的新型治疗药物, 已成为 UC 领域的研究热点。

传统中医药在治疗慢性炎症性疾病方面具有独特优势, 其多成分、多靶点、整体调节的特点与 UC 复杂的发病机制高度契合^[7-8]。五味子为木兰科植物五味子 *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. 的干燥成熟果实, 作为传统收涩类中药, 具有收敛固涩、益气生津、补肾宁心等功效, 在中医药临床中应用广泛^[9]。五味子乙素 (schisandrin B, Sch B) 是五味子的主要活性成分之一, 现代药理学研究证实其具有抗炎、抗氧化、调节免疫、保护肠道黏膜等多种药理作用, 在消化系统疾病的治疗中展现出潜在价值^[10]。然而, Sch B 对 UC 的治疗效果及其具体作用机制, 尤其是在细胞自噬与细胞焦亡调控方面的研究, 尚未系统开展。细胞自噬是细胞通过降解异常蛋白和受损细胞器以维持内环境稳态的重要生物学过程, 其功能异常与 UC 的发生发展密切相关^[11]。当自噬功能紊乱时, 肠道上皮细胞无法有效清除异常聚集的蛋白和损伤线粒体, 进而诱发炎症反应和

黏膜损伤^[12]。细胞焦亡是一种由炎症小体介导的程序性细胞死亡方式,其核心信号通路 NOD 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3 (NOD-like receptor thermal protein domain associated protein 3, NLRP3) / 半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-1 (cystein-aspartate protease-1, Caspase-1) / 消皮素 D (gasdermin D, GSDMD) 的过度激活可导致肠道上皮细胞破裂,释放白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6)、IL-1 β 、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 等促炎因子,加剧肠道炎症反应,形成“炎症-焦亡”恶性循环,最终破坏肠黏膜屏障完整性^[13]。研究发现,UC 大鼠结肠组织中 NLRP3、Caspase-1、GSDMD 等焦亡相关蛋白表达显著升高,且自噬通路存在明显异常,提示自噬与焦亡的失衡可能在 UC 的病理进程中发挥关键作用^[14]。基于此,本研究以 Sch B 为研究对象,系统探讨其对 2,4,6-三硝基苯磺酸 (2,4,6-trinitrobenzenesulfonic acid solution, TNBS) 诱导的 UC 大鼠的治疗作用,并聚焦于细胞自噬调控 NLRP3/Caspase-1/GSDMD 信号通路的分子机制,旨在明确 Sch B 治疗 UC 的作用靶点与通路,为其临床转化应用提供科学依据,同时为 UC 的中医药治疗提供新的思路和实验支撑。

1 材料

1.1 动物

SPF 级 SD 大鼠 60 只,雌雄各半,6~8 周龄,体质量 (180~200) g,购自辽宁长生生物技术有限公司,许可证号 SCXK (辽) 2020-0001。所有动物饲养于河南省中医药研究院动物实验中心,使用许可证号 SYXK (豫) 2022-0007,室温 (22.0 $\pm$ 0.5) $^{\circ}$ C,相对湿度 (55 $\pm$ 5)%,12 h 自然光照/黑暗循环。动物实验经河南省中医药研究院动物实验动物伦理委员会批准 (批准号 20230911)。

1.2 药品与试剂

Sch B (质量分数 $\geq$ 98%,批号 110765-201312) 购自中国食品药品检定研究院;美沙拉嗪肠溶片 (批号 220922) 购自黑龙江葵花药业集团股份有限公司;TNBS (批号 3LBD6811V) 购自美国 Sigma 公司;NLRP3 抗体 (批号 GB114320)、Caspase-1 抗体 (批号 GB11383)、GSDMD 抗体 (批号 GB114198)、 β -actin 抗体 (批号 GB15003)、Beclin-1 抗体 (批号 GB112053)、微管相关蛋白轻链 3B (microtubule-associated protein light chain 3B, LC3B) 抗体 (批号 GB113801)、p62 抗体 (批号

GB11531)、 β -actin 抗体 (批号 GB15003)、HRP 标记的山羊抗兔 IgG 二抗 (批号 B23303)、TBST 缓冲液 (批号 G2150-1L)、一抗稀释液 (批号 G2150-1L)、二抗稀释液 (批号 G2009-100ML)、一抗/二抗洗脱液 (批号 G2009-100ML)、IL-1 β ELISA 试剂盒 (批号 RRDC2306006)、IL-6 ELISA 试剂盒 (批号 RRDC2308019)、TNF- α ELISA 试剂盒 (批号 RRDC2308012) 均购自武汉赛维尔生物科技有限公司;自噬相关蛋白 16 样蛋白 1 (autophagy related protein 16 like protein 1, ATG16L1) 抗体 (批号 ab195242) 购自英国 Abcam 公司;伊红染液 (批号 716122)、苏木素染液 (批号 716113) 购自珠海贝索生物技术有限公司。

1.3 仪器

LAB-K224 型电子天平 (北京兰杰柯科技有限公司);Biofuge primo R 型高速离心机、HAAKE S30 型恒温水浴锅、FDE40086FV-ULTS 型超低温冰箱 (美国赛默飞世尔科技公司);Elx800NB 型酶标仪 (美国 BioTek 公司);ASP300S 型全自动组织脱水机、EG1150H 型生物组织包埋机、RM2235 型石蜡切片机、DM2500 型正置荧光显微镜及图文系统 (德国 Leica 公司);SVE-2 型垂直电泳仪、SVT-2 型转印电泳仪、KZ-III-FP 型低温研磨仪 (武汉赛维尔生物科技有限公司);JY92-11N 型超声波细胞破碎仪 (宁波新芝生物科技股份有限公司);6100 型化学发光仪 (上海勤翔科学仪器公司)。

2 方法

2.1 动物分组、造模与给药

大鼠适应性饲养 7 d 后,采用随机数字表法将 60 只大鼠分为对照组、模型组、美沙拉嗪 (100 mg/kg) 组和 Sch B 低、中、高剂量 (10、20、50 mg/kg)^[15-16]组,每组 10 只,雌雄各半。参照 UC 经典造模方法^[17]并稍加改进,采用 TNBS (100 mg/kg) 和 50%乙醇按 1:1 体积混合配制灌肠溶液。除对照组自由饮用水外,其余各组大鼠于灌肠造模前禁食不禁水 36 h,麻醉后将 TNBS/乙醇溶液于距肛门 6~8 cm 处缓慢注入肠道,并注入 0.2 mL 空气,然后捏紧肛门并提尾倒立 5 min 以防药液流出,随后放回笼中自然苏醒。造模结束后大鼠禁食不禁水 24 h,观察大鼠状况,有便溏、便血、精神萎靡、反应迟钝、毛色暗淡、蜷卧少动等行为学改变提示造模成功。随后各给药组大鼠 ig 相应药物 (10 mL/kg),对照组和模型组 ig 等体积的生理盐

水, 1 次/d, 连续给药 14 d。

2.2 样本采集

末次给药后, 所有大鼠禁食不禁水 24 h, 麻醉后腹主动脉取血, 4 ℃、3 500 r/min 离心 15 min, 吸取上层血清, 于-80 ℃冰箱保存。脱颈椎处死, 截取完整结肠测量长度并拍照, 于结肠后段 2~3 cm 处纵向剖开取材拍照, 剩余结肠组织分段保存于 4%多聚甲醛及-80 ℃冰箱备用。

2.3 大鼠一般状态观察

在实验周期内, 每日对各组大鼠的一般状态进行系统观察和记录, 主要包括精神状态、活动情况、毛发色泽、饮食饮水量以及粪便性状等。

2.4 疾病活动指数 (disease activity index, DAI) 评分

为量化评估 UC 的严重程度及 Sch B 的干预效果, 参照 Murthy 等^[18]方法每日对大鼠的体质量下降率、粪便性状和便血情况进行观察, 评分标准见表 1, 计算 DAI 评分。

DAI 评分=(体质量下降率分数+粪便性状分数+隐血分数)/3

表 1 DAI 评分标准
Table 1 DAI scoring criteria

分数	体质量下降率 (x) /%	粪便性状	便血情况
0	0	正常	正常
1	$0 < x \leq 5$	松散但有形	±
2	$5 < x \leq 10$	松散	+
3	$10 < x \leq 15$	非常松散、潮湿	++
4	$x > 15$	稀便	+++

2.5 结肠长度测量及结肠黏膜损伤指数 (colon mucosa damage index, CMDI) 评分

取各组大鼠完整结肠组织, 将其平置于冰生理盐水湿润的平板上, 避免过度牵拉, 使用直尺精确测量其长度并记录。取 2~3 cm 结肠段沿肠系膜缘纵行剖开, 用预冷的生理盐水轻柔冲洗, 以清除腔内残留的粪便和血液, 随后观察并评估结肠黏膜的宏观损伤情况, 参考 Mao 等^[19]方法进行 CMDI 评分。

CMDI 评分=损伤严重程度评分+组织黏连评分

2.6 苏木素-伊红 (hematoxylin-eosin, HE) 染色及病理学评分

取经 4%多聚甲醛固定后的结肠组织, 经梯度乙醇脱水、二甲苯透明后石蜡包埋, 制备 5 μm 厚度的连续切片。切片进行常规 HE 染色, 中性树脂胶封固后, 于光学显微镜下观察结肠黏膜至黏膜下层

的组织形态结构变化。参照刘丽君等^[20]方法进行病理组织学评分, 从炎症细胞浸润程度、组织组织结构损伤深度及范围等方面进行半定量评估, 评分标准见表 2。

表 2 病理组织学评分标准
Table 2 Pathological histology scoring criteria

评分	病变深度	炎症	隐窝损伤
0	无	无	无
1	黏膜层	轻度炎症和水肿	1/3隐窝消失
2	黏膜及黏膜下层	轻中度炎症	2/3隐窝消失
3	黏膜全层	轻中度炎症	隐窝基本消失, 上皮层尚完整
4	黏膜全层及肌层	重度炎症	隐窝及上皮层完全消失

2.7 ELISA 检测血清中 TNF-α、IL-6 和 IL-1β 水平

按照 ELISA 试剂盒说明书检测血清中 TNF-α、IL-6 和 IL-1β 水平。

2.8 免疫组化检测结肠组织中 ATG16L1 和 GSDMD 蛋白表达

取结肠组织石蜡切片, 经二甲苯脱蜡、梯度乙醇水化后, 采用柠檬酸钠抗原修复液 (pH 6.0) 进行高压热修复以暴露抗原表位。随后滴加 3%过氧化氢溶液以消除内源性过氧化物酶活性, 并经正常山羊血清工作液封闭非特异性结合位点。切片分别滴加与 ATG16L1 抗体 (1:200) 及 GSDMD 抗体 (1:200), 4 ℃孵育过夜。PBS 冲洗 3 次后, 滴加二抗, 37 ℃孵育 30 min, DAB 显色, 苏木素复染, 经脱水、透明后中性树脂胶封片, 于光学显微镜下观察, 阳性表达为棕黄色颗粒。采用 Image-Pro Plus 图像分析系统, 每张切片随机选取 5 个不重叠视野, 测定 ATG16L1 与 GSDMD 阳性表达区域的吸光度 (A) 值与面积, 进行半定量分析。

2.9 Western blotting 检测大鼠结肠组织中 LC3B、Beclin-1、ATG16L1、NLRP3、Caspase-1、GSDMD 和 p62 蛋白表达

取结肠组织 50 mg, 加入预冷的 RIPA 裂解液 (含 1%蛋白酶抑制剂与磷酸酶抑制剂) 进行机械匀浆。将组织匀浆于 4 ℃、12 000 r/min 离心 15 min, 收集上清液即为总蛋白提取物。采用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒定量蛋白浓度后, 加入 5×上样缓冲液, 于 100 ℃金属浴中煮沸 10 min 使蛋白变性。蛋白样品经 10%~12%十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳, 转至 PVDF 膜, 用含 5%脱脂牛奶的

TBST 溶液于室温封闭 2 h, 分别加入 LC3B、Beclin-1、ATG16L1、NLRP3、Caspase-1、GSDMD、p62 抗体 (1:1 000), 4 ℃ 孵育过夜; 洗涤后, 加入二抗 (1:3 000), 室温孵育 1 h, 使用 ECL 化学发光试剂盒显影, 通过化学发光成像系统采集图像, 以 Image J 软件分析各目的蛋白与内参 β -actin 条带的灰度值, 计算相对表达量。

2.10 统计学分析

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。采用 GraphPad Prism 10.6.0 软件进行图表绘制, 并使用 Image J 及 Image-Pro Plus 6.0 软件对 HE 染色、免疫组化及 Western blotting 结果进行图像分析。应用 IBM SPSS Statistics 27.0 软件进行统计学处理, 多组间比较采用单因素方差分析 (One-way ANOVA), 组间两两比较选用 LSD 检验。

3 结果

3.1 Sch B 对 UC 大鼠一般状态和 DAI 评分的影响

如图 1 所示, 与对照组比较, 模型组大鼠造模

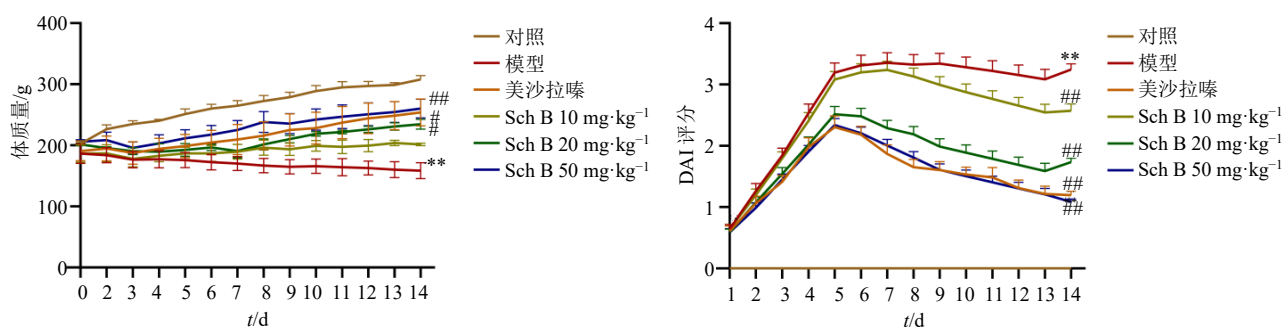
后出现体质量显著下降、稀便、便血等典型 UC 症状, DAI 评分显著升高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 美沙拉嗪组和 Sch B 中、高剂量组可显著减轻 UC 大鼠体质量下降 ($P < 0.05$ 、 0.01), 各给药组均可缓解 TNBS 导致的大鼠便血、稀便等症状, 并显著降低大鼠 DAI 评分 ($P < 0.01$), 其中 Sch B 高剂量组效果与美沙拉嗪相当。

3.2 Sch B 对 UC 大鼠结肠长度和 CMDI 评分的影响

如图 2 所示, 与对照组比较, 模型组大鼠结肠长度显著缩短 ($P < 0.01$), CMDI 评分显著升高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 各给药组大鼠结肠长度均显著增加 ($P < 0.05$ 、 0.01), CMDI 评分均显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01)。

3.3 Sch B 对 UC 大鼠结肠组织病理变化的影响

如图 3 所示, 对照组大鼠结肠组织黏膜结构完整, 腺体排列规则, 无充血、水肿及炎症细胞浸润; 与对照组比较, 模型组大鼠结肠组织黏膜严重充血



与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 与模型组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$, 下图同。
* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs control group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ vs model group, same as below figures.

图 1 Sch B 对 UC 大鼠体质量和 DAI 评分的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Fig. 1 Effect of Sch B on body weight and DAI score of UC rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

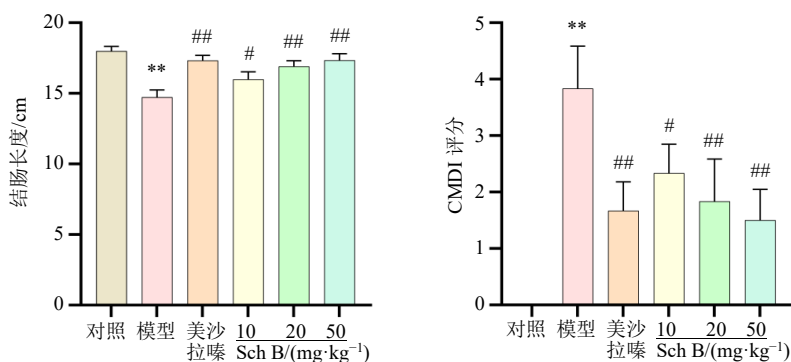
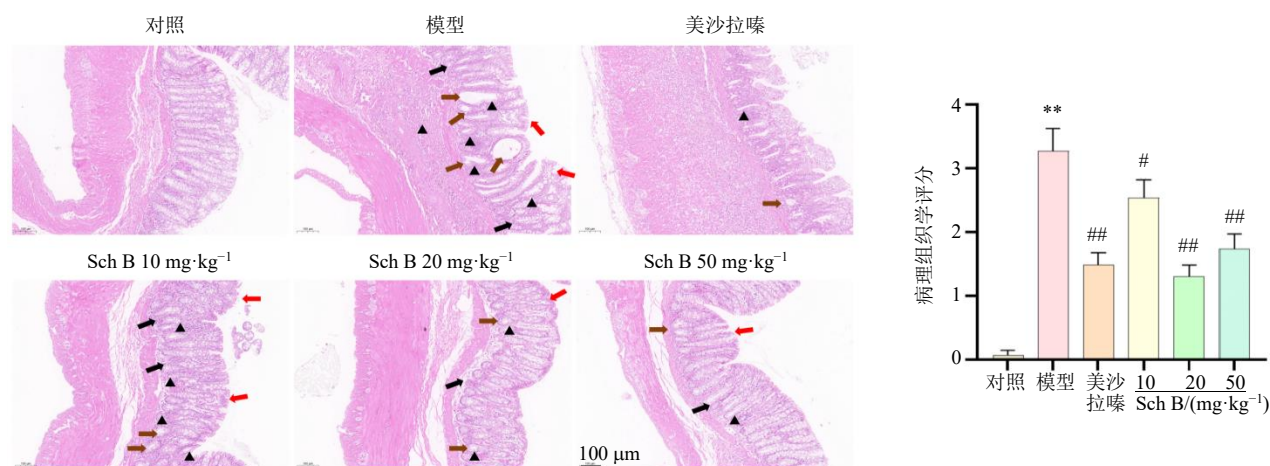


图 2 Sch B 对 UC 大鼠结肠长度和 CMDI 评分的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Fig. 2 Effect of Sch B on colonic length and CMDI score of UC rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)



黑色三角表示炎症浸润, 黑色箭头表示隐窝结构和绒毛损伤, 红色箭头表示上皮细胞死亡, 棕色箭头表示肠腺扩张、缺失。

Black triangles indicate inflammatory infiltration, black arrows represent the loss of crypt structures and villi, red arrows indicate the death of epithelial cells, and brown arrows represent the dilation and absence of intestinal glands.

图 3 Sch B 对 UC 大鼠结肠组织病理变化的影响 ($\times 200$; $\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Fig. 3 Effect of Sch B on pathological changes of colonic tissue in UC rats ($\times 200$; $\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

水肿, 腺体结构紊乱, 可见明显溃疡形成及大量炎症细胞浸润, 病理组织学评分显著升高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 各给药组大鼠结肠组织黏膜充血水肿程度减轻, 溃疡面积缩小, 炎症细胞浸润减少, 病理组织学评分均显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01)。

3.4 Sch B 对 UC 大鼠血清中炎症因子水平的影响

如图 4 所示, 与对照组比较, 模型组大鼠血清中炎症因子 IL-6、TNF- α 、IL-1 β 水平显著升高 ($P < 0.01$), 提示 UC 大鼠存在明显的炎症激活状态; 与模型组比较, 各给药组大鼠血清中 TNF- α 和 IL-1 β 水平显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01), 美沙拉嗪组和 Sch B 高剂量组大鼠血清中 IL-6 水平显著降低 ($P < 0.05$), Sch B 低、中剂量组 IL-6 水平呈下降趋势。表明 Sch B 可有效降低 UC 大鼠血清中 IL-6、TNF- α 、IL-1 β 等促炎因子的表达水平, 提示其可能通过

抑制炎症因子的过度释放, 发挥对 UC 大鼠的炎症缓解作用。

3.5 Sch B 对 UC 大鼠结肠组织自噬相关蛋白表达的影响

如图 5 所示, 与对照组比较, 模型组大鼠结肠组织中自噬启动相关蛋白 Beclin-1 表达水平显著降低 ($P < 0.01$), 自噬流标志物 LC3-II/I 值显著下降 ($P < 0.05$), 同时自噬底物 p62、自噬体形成相关蛋白 ATG16L1 表达水平显著升高 ($P < 0.01$), 提示 UC 模型大鼠结肠组织存在自噬启动不足、自噬流阻滞的自噬功能紊乱状态; 与模型组比较, 各给药组大鼠结肠组织中 Beclin-1 表达水平和 LC3-II/I 值均显著升高 ($P < 0.05$ 、 0.01), ATG16L1、p62 蛋白表达水平显著降低 ($P < 0.01$), 且 Sch B 高剂量组对各指标的调控效应与阳性对照药美沙拉嗪组相当。

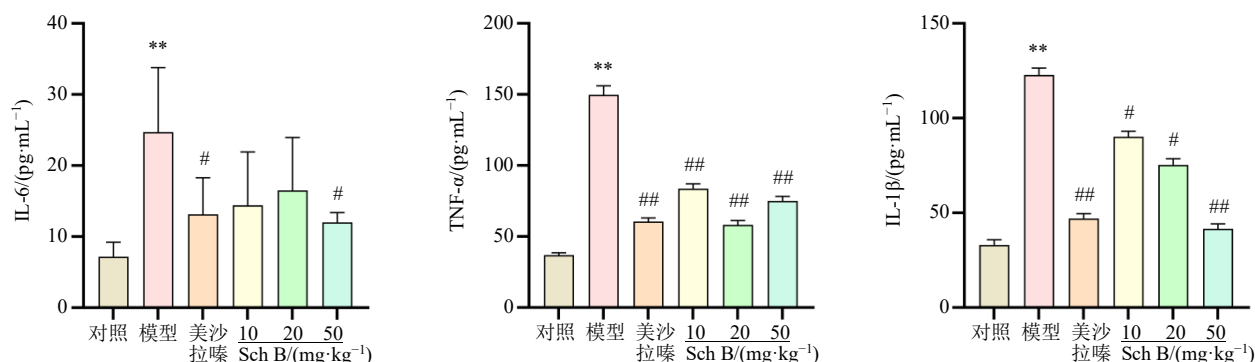


图 4 Sch B 对 UC 大鼠血清中 IL-6、TNF- α 和 IL-1 β 水平的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 5$)

Fig. 4 Effect of Sch B on levels of IL-6, TNF- α and IL-1 β in serum of UC rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 5$)

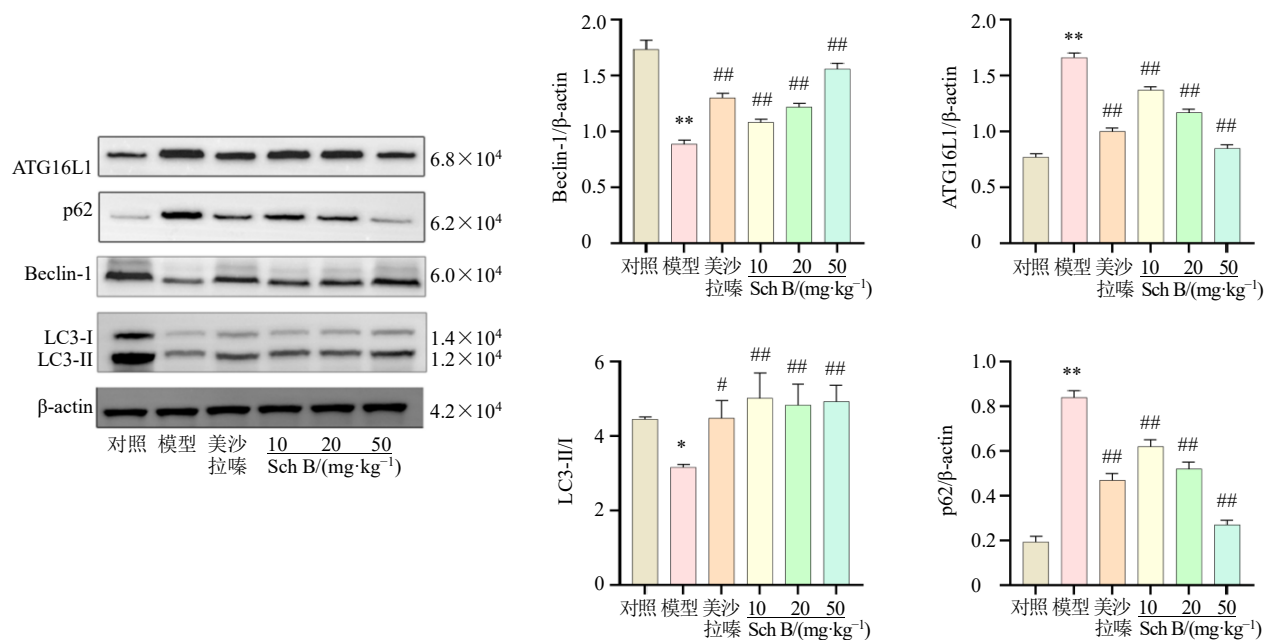


图 5 Sch B 对 UC 大鼠结肠组织中 Beclin-1、ATG16L1、LC3-II/I 和 p62 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Fig. 5 Effect of Sch B on Beclin-1, ATG16L1, LC3-II/I and p62 protein expressions in colonic tissues of UC rats ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

以上结果表明, Sch B 可显著上调 UC 大鼠结肠组织中 Beclin-1 的表达, 提升 LC3-II/I 值, 同时下调自噬底物 p62 及 ATG16L1 的异常高表达, 有效改善 UC 大鼠结肠组织的自噬启动障碍与自噬流阻滞, 恢复自噬稳态, 提示调控自噬通路是 Sch B 发

挥抗 UC 作用的重要机制之一。

3.6 Sch B 对 UC 大鼠结肠组织中 ATG16L1 和 GSDMD 表达的影响

如图 6 所示, ATG16L1 与 GSDMD 阳性表达呈棕黄色染色, 主要定位于结肠黏膜上皮细胞胞质

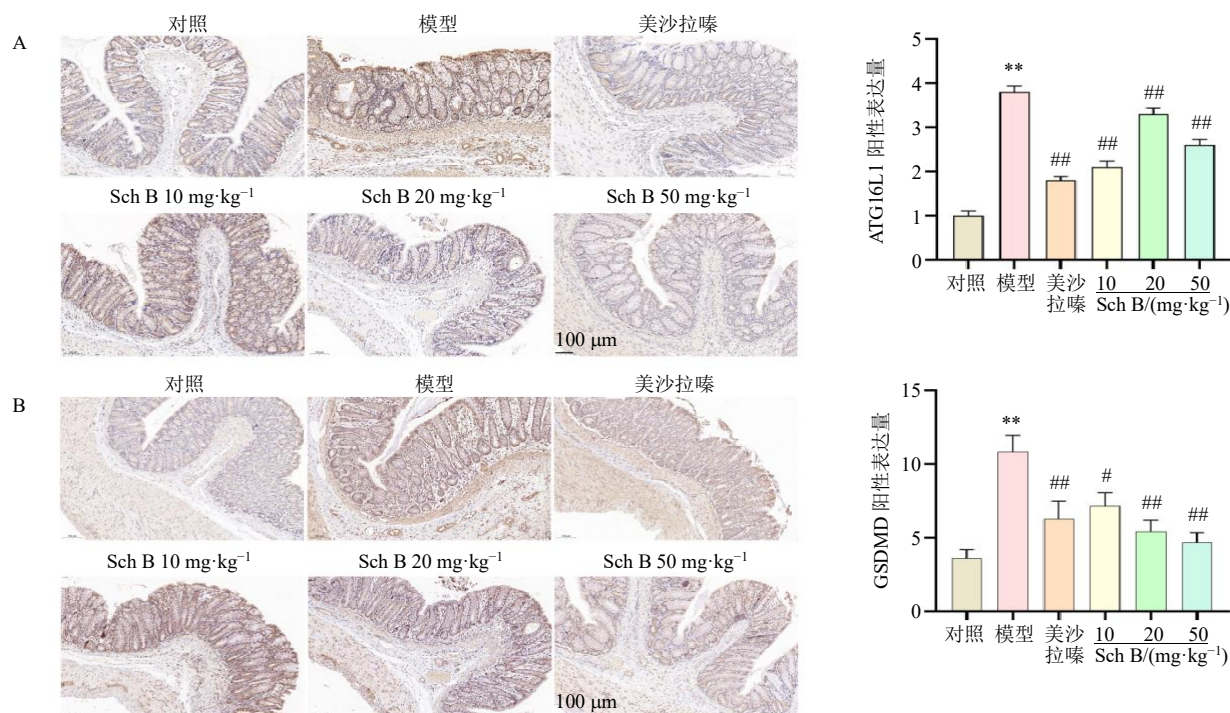


图 6 Sch B 对 UC 大鼠结肠组织 ATG16L1 (A) 和 GSDMD (B) 表达的影响 ($\times 200; \bar{x} \pm s, n = 5$)

Fig. 6 Effect of Sch B on expressions of ATG16L1 (A) and GSDMD (B) in colon tissues of UC rats ($\times 200; \bar{x} \pm s, n = 5$)

内。与对照组比较,模型组大鼠结肠组织中 ATG16L1、GSDMD 阳性表达显著升高 ($P<0.01$),提示 UC 模型大鼠结肠组织中自噬相关蛋白 ATG16L1、焦亡执行蛋白 GSDMD 呈异常高表达状态,肠道自噬紊乱与焦亡过度激活并存;与模型组比较,各给药组大鼠结肠组织中 ATG16L1、GSDMD 阳性表达均显著减少 ($P<0.05$ 、 0.01)。结合 Western blotting 结果, Sch B 可同时在蛋白表达与组织定位层面下调 ATG16L1、GSDMD 的水平,进一步印证其对 UC 大鼠自噬通路紊乱的纠正作用,以及对细胞焦亡的抑制效应,为 Sch B 通过调控自噬-焦亡轴

发挥抗 UC 作用提供了组织学层面的实验依据。

3.7 Sch B 对 UC 大鼠结肠组织 NLRP3/Caspase-1/GSDMD 焦亡通路相关蛋白表达的影响

如图 7 所示,与对照组比较,模型组大鼠结肠组织中焦亡通路核心蛋白 NLRP3、Caspase-1 及 GSDMD 表达水平显著升高 ($P<0.01$);与模型组比较,各给药组大鼠结肠组织中 NLRP3、Caspase-1 及 GSDMD 蛋白表达水平均显著降低 ($P<0.05$ 、 0.01),提示 Sch B 可通过抑制 UC 大鼠结肠组织中 NLRP3/Caspase-1/GSDMD 通路过度活化,从而抑制结肠组织焦亡过程。

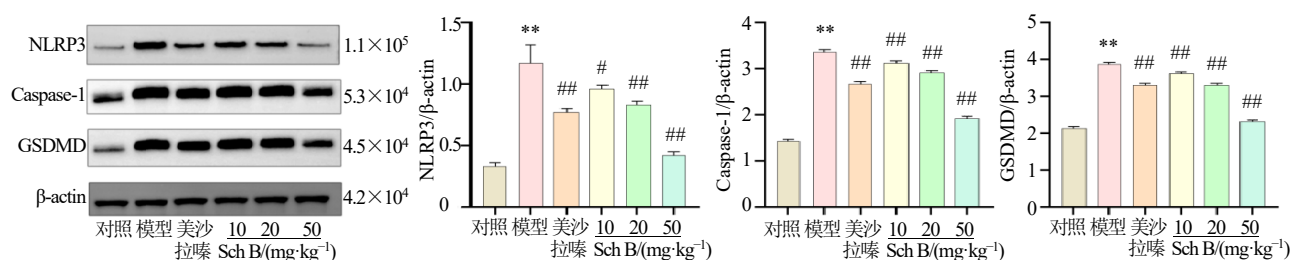


图 7 Sch B 对 UC 大鼠结肠组织 NLRP3/Caspase-1/GSDMD 焦亡通路相关蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

Fig. 7 Effect of Sch B on expressions of NLRP3/Caspase-1/GSDMD pyroptosis pathway related proteins in colon tissue of UC rats ($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

4 讨论

UC 作为一种慢性非特异性肠道炎症性疾病,其发病率在全球范围内持续攀升,给患者健康和医疗系统带来沉重负担。UC 的发病机制复杂,涉及遗传易感性、肠道菌群失调、免疫功能紊乱等多个方面,目前尚未完全阐明,这也导致临床治疗手段相对有限^[21]。美沙拉嗪作为临床治疗 UC 的一线药物,虽能在一定程度上缓解炎症症状,但长期使用易产生耐药性及胃肠道不良反应,其治疗局限性日益凸显。因此,从传统中医药中挖掘高效、低毒的治疗药物,探讨其作用机制,已成为 UC 治疗研究的重要方向。五味子作为传统收涩类中药,其主要活性成分 Sch B 具有抗炎、抗氧化、调节免疫等多种药理活性^[22]。现代药理学研究表明, Sch B 在消化系统疾病中具有潜在的治疗价值,可通过保护肠黏膜屏障、调节肠道菌群等方式改善肠道炎症,但其对 UC 的治疗作用及自噬-焦亡交互调控的相关机制尚未完全明确^[15-16,23]。

本研究通过动物实验系统探讨了 Sch B 治疗 UC 的作用及分子机制,为其临床应用提供了实验依据。研究发现 Sch B 能显著改善 TNBS 诱导的 UC

大鼠的一般状态,减轻体质量下降、便血、稀便等症状,降低 DAI 和 CMDI 评分,增加结肠长度,修复结肠黏膜病理损伤,且呈现一定的剂量相关性。肠黏膜屏障功能受损是 UC 发病的核心环节之一,肠道上皮细胞的完整性是维持黏膜屏障功能的基础^[24]。HE 染色结果显示, Sch B 可减轻 UC 大鼠结肠黏膜充血水肿、溃疡形成及炎症细胞浸润,维持肠道上皮结构完整性,提示其对肠黏膜屏障具有保护作用,这是 Sch B 改善 UC 大鼠病理表现的重要结构基础。炎症因子的过度释放是 UC 肠道炎症放大的关键环节, TNF- α 、IL-1 β 作为促炎核心因子,可直接诱导肠道上皮细胞损伤并激活炎症小体, IL-6 则可促进炎症反应的持续化和慢性化^[25]。本研究中, Sch B 各剂量组均可显著降低 TNF- α 、IL-1 β 水平,仅高剂量组可显著降低 IL-6 水平,提示 Sch B 对 UC 的抗炎作用可能具有靶点选择性。TNF- α 、IL-1 β 是 NLRP3 炎症小体激活的重要下游效应因子,同时也是焦亡发生后释放的核心促炎因子, Sch B 对这 2 种因子的显著抑制作用,提示其抗炎效应可能与抑制焦亡过程密切相关^[26];而 IL-6 的下调仅在高剂量下显现,可能因 IL-6 的调控通路更为复

杂,需更高浓度的 Sch B 才能发挥显著抑制作用,也进一步说明 Sch B 对 UC 的作用是多靶点、多通路综合效应,而非单一的抗炎或焦亡抑制作用。

细胞自噬的功能紊乱是 UC 肠黏膜屏障损伤的重要分子机制,自噬流的完整与否是评价自噬功能的核心指标,而非单一蛋白的表达变化^[27]。本研究结果显示,UC 模型大鼠结肠组织中自噬起始因子 Beclin-1 表达降低、LC3-II/I 值下降,自噬底物 p62 蓄积且 ATG16L1 异常高表达,这一结果充分表明 UC 状态下存在自噬启动不足、自噬体降解受阻的自噬流阻滞状态^[28]: Beclin-1 的低表达导致自噬起始过程受抑,LC3-II/I 值下降提示自噬体形成减少,而 p62 的蓄积则直接反映自噬流的降解环节阻滞,ATG16L1 的异常高表达可能是机体对自噬功能紊乱的代偿性上调,但这种代偿无法逆转自噬流的整体阻滞,最终导致异常蛋白和受损细胞器堆积,诱发肠道上皮细胞损伤和炎症反应。Sch B 干预后,可显著上调 Beclin-1 表达、升高 LC3-II/I 值,同时下调 ATG16L1 及 p62 表达,这一结果表明 Sch B 可从自噬起始、自噬体形成、自噬底物降解多个环节纠正 UC 大鼠结肠组织的自噬流紊乱,恢复自噬功能稳态,而自噬流的正常化可有效清除细胞内异常堆积物,减轻肠道上皮细胞的氧化应激和炎症损伤,这是 Sch B 保护肠黏膜屏障、缓解 UC 症状的重要分子机制之一^[29]。

细胞焦亡的过度激活是 UC 肠道上皮细胞死亡、黏膜屏障破坏的重要原因,NLRP3/Caspase-1/GSDMD 通路是介导肠道上皮细胞焦亡的核心通路,NLRP3 炎症小体的激活可进一步活化 Caspase-1,进而切割 GSDMD 形成活性片段,导致细胞穿孔破裂并释放促炎因子,形成“焦亡-炎症”的恶性循环^[30]。本研究中,模型组大鼠结肠组织中 NLRP3、Caspase-1、GSDMD 蛋白表达水平显著升高,提示 UC 大鼠结肠组织中细胞焦亡通路被异常激活;而 Sch B 干预后,可显著下调该通路各核心蛋白的表达,提示 Sch B 可有效抑制 NLRP3/Caspase-1/GSDMD 通路的过度活化,减少结肠上皮细胞焦亡。结合自噬相关结果分析,Sch B 对自噬流的正常化调控可能是其抑制焦亡过度激活的重要上游机制^[31]: 正常的自噬功能可通过清除受损线粒体、抑制活性氧生成来减少 NLRP3 炎症小体的激活,而自噬流的阻滞则会导致线粒体功能异常,进而触发 NLRP3/Caspase-1/GSDMD 通路的过度活化,Sch B

通过恢复自噬流稳态,从上游阻断了 NLRP3 炎症小体的激活,进而抑制了结肠上皮细胞的焦亡过程,同时减少了焦亡相关促炎因子的释放,最终实现减轻肠道炎症、修复肠黏膜屏障的治疗效果。本研究尚存在一定的局限性,仅在动物模型中探讨了 Sch B 对自噬-焦亡的调控作用,尚未在细胞水平进行机制验证,也未开展自噬流阻断后的挽救实验以进一步明确自噬与焦亡的因果关系;同时,Sch B 对 UC 的调控是否涉及肠道菌群、免疫细胞等其他环节,仍需后续深入研究。

综上,Sch B 能够显著改善 TNBS 诱导的 UC 大鼠的病理表现,减轻结肠黏膜炎症损伤,其作用机制与调节细胞自噬流稳态、抑制 NLRP3/Caspase-1/GSDMD 信号通路介导的结肠上皮细胞焦亡密切相关: Sch B 通过上调 Beclin-1、升高 LC3-II/I 值、下调 ATG16L1 及 p62,从多环节纠正 UC 大鼠结肠组织的自噬流阻滞,而自噬流的正常化可从上游抑制 NLRP3 炎症小体的激活,进而阻滞 Caspase-1/GSDMD 介导的焦亡过程,减少 TNF- α 、IL-1 β 等促炎因子的释放,最终打破“自噬紊乱-焦亡过度-炎症放大”的恶性循环,实现对 UC 的治疗作用。本研究为 Sch B 作为 UC 的潜在治疗药物提供了实验依据和理论支撑,也为 UC 的中医药治疗提供了新的思路。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Bisgaard T H, Allin K H, Keefer L, et al. Depression and anxiety in inflammatory bowel disease: Epidemiology, mechanisms and treatment [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2022, 19(11): 717-726.
- [2] Park S H, Park S H. Personalized medicine in inflammatory bowel disease: Perspectives on Asia [J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2022, 37(8): 1434-1445.
- [3] Xu L, He B J, Sun Y X, et al. Incidence of inflammatory bowel disease in urban China: A nationwide population-based study [J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2023, 21(13): 3379-3386.e29.
- [4] Rieder F, Mukherjee P K, Massey W J, et al. Fibrosis in IBD: From pathogenesis to therapeutic targets [J]. *Gut*, 2024, 73(5): 854-866.
- [5] Mak J W Y, Ng S C. Epidemiology of fibrostenosing inflammatory bowel disease [J]. *J Dig Dis*, 2020, 21(6): 332-335.
- [6] Latella G, Di Gregorio J, Flati V, et al. Mechanisms of initiation and progression of intestinal fibrosis in IBD [J].

- Scand J Gastroenterol*, 2015, 50(1): 53-65.
- [7] 沈洪, 胡静怡, 朱磊, 等. 中医药治疗溃疡性结肠炎的研究现状、挑战与策略 [J]. 南京中医药大学学报, 2025, 41(10): 1267-1273.
- [8] 岳诗棋, 张永宣, 王妍, 等. 中医药调控氨基酸代谢重编程治疗溃疡性结肠炎的研究进展 [J]. 中草药, 2025, 56(24): 9233-9245.
- [9] 刘继艳, 王冰, 李超宇, 等. 五味子非药用部位活性成分和药理作用研究进展 [J]. 中草药, 2024, 55(9): 3179-3189.
- [10] 马骏池, 赵晋彤, 高世勇, 等. 五味子乙素提纯工艺及药理作用研究进展 [J]. 中国现代中药, 2022, 24(3): 533-541.
- [11] Foerster E G, Mukherjee T, Cabral-Fernandes L, *et al*. How autophagy controls the intestinal epithelial barrier [J]. *Autophagy*, 2022, 18(1): 86-103.
- [12] Xu Y, Shen J, Ran Z H. Emerging views of mitophagy in immunity and autoimmune diseases [J]. *Autophagy*, 2020, 16(1): 3-17.
- [13] Zhang D, Ge F, Ji J, *et al*. β -Sitosterol alleviates dextran sulfate sodium-induced experimental colitis via inhibition of NLRP3/Caspase-1/GSDMD-mediated pyroptosis [J]. *Front Pharmacol*, 2023, 14: 1218477.
- [14] Ye Z, Li L Z, Li Y Z, *et al*. Tou Nong Powder obstructs ulcerative colitis through the regulation of NF- κ B/NLRP3/Caspase-1/GSDMD inflammasome pyroptotic pathway [J]. *J Ethnopharmacol*, 2023, 317: 116846.
- [15] 陈玲玲, 陈熔杰. 五味子乙素对溃疡性结肠炎模型大鼠的干预及作用机制研究 [J]. 中国药师, 2018, 21(11): 1941-1945.
- [16] Li W D, Liu Y, Wang Z, *et al*. Suppression of MAPK and NF- κ B pathways by schisandrin B contributes to attenuation of DSS-induced mice model of inflammatory bowel disease [J]. *Pharmazie*, 2015, 70(9): 598.
- [17] 洪晓娜, 蔡少卿, 孙祖凯. 胡黄连苷 II 调节 Notch/Hes1 信号通路对溃疡性结肠炎大鼠 Th1/Th2 细胞平衡的影响 [J]. 中国老年学杂志, 2025, 45(24): 6110-6114.
- [18] Murthy S N S, Cooper H S, Shim H, *et al*. Treatment of dextran sulfate sodium-induced murine colitis by intracolonic cyclosporin [J]. *Dig Dis Sci*, 1993, 38(9): 1722-1734.
- [19] Mao J W, Tang H Y, Wang Y D. Influence of rosiglitazone on the expression of PPAR γ , NF- κ B, and TNF- α in rat model of ulcerative colitis [J]. *Gastroenterol Res Pract*, 2012, 2012: 845672.
- [20] 刘丽君, 詹佳浩, 帅锦浩, 等. 栀子黄色素对葡聚糖硫酸钠诱导大鼠结肠炎的缓解作用及肠道菌群的影响 [J]. 食品工业科技, 2025, 46(5): 344-354.
- [21] Wangchuk P, Yeshi K, Loukas A. Ulcerative colitis: Clinical biomarkers, therapeutic targets, and emerging treatments [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2024, 45(10): 892-903.
- [22] 白文字, 王厚恩, 王冰瑶, 等. 五味子化学成分及其药理作用研究进展 [J]. 中成药, 2019, 41(9): 2177-2183.
- [23] 戴国梁, 贡涛, 李豫, 等. 五味子乙素通过 VEGF/PI3K/Akt 信号通路抑制人结肠癌细胞 SW620 的增殖和迁移 [J]. 中国药理学杂志, 2018, 53(14): 1186-1191.
- [24] Neurath M F, Artis D, Becker C. The intestinal barrier: A pivotal role in health, inflammation, and cancer [J]. *Lancet Gastroenterol Hepatol*, 2025, 10(6): 573-592.
- [25] Li X D, Wu X, Wang Q, *et al*. Sanguinarine ameliorates DSS induced ulcerative colitis by inhibiting NLRP3 inflammasome activation and modulating intestinal microbiota in C57BL/6 mice [J]. *Phytomedicine*, 2022, 104: 154321.
- [26] Xue J C, Yuan S, Hou X T, *et al*. Natural products modulate NLRP3 in ulcerative colitis [J]. *Front Pharmacol*, 2023, 14: 1265825.
- [27] Kong J R, Xiang Q Z, Ge W Y, *et al*. Network pharmacology mechanisms and experimental verification of licorice in the treatment of ulcerative colitis [J]. *J Ethnopharmacol*, 2024, 324: 117691.
- [28] Larabi A, Barnich N, Nguyen H T T. New insights into the interplay between autophagy, gut microbiota and inflammatory responses in IBD [J]. *Autophagy*, 2020, 16(1): 38-51.
- [29] Mauduit A, Mas E, Solà-Tapias N, *et al*. Main genetic factors associated with inflammatory bowel diseases and their consequences on intestinal permeability: Involvement in gut inflammation [J]. *J Gastroenterol*, 2025, 60(11): 1323-1338.
- [30] Jie F M, Xiao S T, Qiao Y, *et al*. Kujieling decoction suppresses NLRP3-Mediated pyroptosis to alleviate inflammation and experimental colitis *in vivo* and *in vitro* [J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 264: 113243.
- [31] Qiao D, Liu X Y, Zhang Y L, *et al*. Jianpi-Qingchang Decoction alleviates ulcerative colitis by modulating endoplasmic reticulum stress-related autophagy in intestinal epithelial cells [J]. *Biomed Pharmacother*, 2023, 158: 114133.

[责任编辑 李亚楠]