

· 基础研究 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2026.02.008

网络首发 [https://link.cnki.net/urlid/50.1097.R.20250910.1126.008\(2025-09-10\)](https://link.cnki.net/urlid/50.1097.R.20250910.1126.008(2025-09-10))

## 芦竹碱对溃疡性结肠炎小鼠的治疗作用及机制研究\*

杨冰茹<sup>1</sup> 朱子煊<sup>2</sup> 郭欣宇<sup>1</sup> 陈颖<sup>1</sup> 刘毅飞<sup>1</sup> 周燕红<sup>2△</sup>

(湖北科技学院:1. 生物医学工程与医学影像学院;2. 临床医学院,湖北咸宁 437100)

**[摘要]** **目的** 探讨芦竹碱(GRA)对葡聚糖硫酸钠(DSS)诱导的溃疡性结肠炎(UC)小鼠的治疗作用和机制。**方法** 将 36 只无特定病原体级 C57BL/6 小鼠随机分为对照组、模型组、5-氨基水杨酸(5-ASA)组(100 mg/kg)、GRA 低剂量组(25 mg/kg)、GRA 中剂量组(50 mg/kg)、GRA 高剂量组(100 mg/kg)6 组,每组 6 只。自由饮用 3% DSS 构建 UC 小鼠模型,各给药组于造模当天开始每天灌胃给药,连续 1 周,记录小鼠体重变化和便血情况,分离完整结肠并测量长度,HE 染色观察结肠组织病理变化并计算组织病理学(TDI)评分。ELISA 测定眼球血 IL-1 $\beta$ 、IL-18 水平。Western blot 检测结肠组织中核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3(NLRP3)、核因子  $\kappa$ B p65 亚基(NF- $\kappa$ B p65)、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-1(caspase-1)的表达情况。**结果** 与模型组比较,GRA 中、高剂量组小鼠体重下降得以减轻( $P < 0.05$ ),GRA 低剂量组差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。与模型组比较,GRA 中、高剂量组小鼠结肠缩短现象明显受到抑制( $P < 0.05$ ),GRA 低剂量组差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。HE 染色结果显示,与模型组比较,GRA 高剂量组小鼠结肠病理损伤程度明显减轻( $P < 0.05$ ),TDI 评分明显降低( $P < 0.05$ ),GRA 低、中剂量组 TDI 评分差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。ELISA 结果显示,与模型组比较,GRA 中、高剂量组血 IL-1 $\beta$ 、IL-18 表达水平明显降低( $P < 0.05$ ),GRA 低剂量组差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。Western blot 显示,与模型组比较,GRA 低、中、高剂量组小鼠 NLRP3、NF- $\kappa$ B p65、caspase-1 表达水平明显降低( $P < 0.05$ )。**结论** GRA 对 UC 小鼠具有治疗作用,其机制可能与降低 NLRP3、NF- $\kappa$ B p65、caspase-1 表达水平,抑制结肠上皮细胞焦亡有关。

**[关键词]** 芦竹碱;溃疡性结肠炎;核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3;核因子  $\kappa$ B p65 亚基;半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-1;细胞焦亡

**[中图分类号]** R965

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1671-8348(2026)02-0285-08

## Treatment effect and mechanism of gramine on ulcerative colitis mice through NLRP3 signaling pathway\*

YANG Bingru<sup>1</sup>, ZHU Zihuan<sup>2</sup>, GUO Xinyu<sup>1</sup>, CHEN Ying<sup>1</sup>, LIU Yifei<sup>1</sup>, ZHOU Yanhong<sup>2△</sup>

(1. School of Biomedical Engineering and Imaging; 2. School of Clinical Medicine, Hubei University of Science and Technology, Xianning, Hubei 437100, China)

**[Abstract]** **Objective** To investigate the effects and mechanisms of gramine (GRA) on dextran sulfate sodium (DSS)-induced ulcerative colitis (UC) in mice. **Methods** Thirty-six specific pathogen free (SPF) C57BL/6 mice were randomly divided into six groups: control group, model group, 5-aminosalicylic acid (5-ASA) group (100 mg/kg), GRA low dose group (25 mg/kg), GRA medium dose group (50 mg/kg) and GRA high dose group (100 mg/kg), 6 cases in each group. The UC mouse model was established by freely drinking 3% DSS. Each administration medication group received daily intragastric administration for 1 week. The change of the body weight and bloody stools were recorded daily. The entire colon was isolated and its length was measured. The colon histopathological changes were observed by hematoxylin and eosin (HE) staining. The IL-1 $\beta$  and IL-18 levels in eyeball blood were detected by ELISA. The expression levels of NF- $\kappa$ B p65, caspase-1, and nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor protein 3 (NLRP3) proteins in colon tissue were detected by Western blot. **Results** Compared with the model group, the weight loss of mice in the medium GRA group and high-dose GRA group was reduced ( $P < 0.05$ ). However, the difference in the low dose GRA group had no statistical significance ( $P > 0.05$ ). Compared to the model group, the colon shortening

\* 基金项目:国家级大学生创新训练项目(202310927011);湖北省卫生健康委员会 2023-2024 年度卫生健康面上项目(WJ2023M118)。

△ 通信作者, E-mail: yanhongzhou326@163.com。

phenomenon in the medium and high dose GRA groups was significantly inhibited ( $P < 0.05$ ), while the difference in the low dose GRA group had no statistical significance ( $P < 0.05$ ). The HE staining results revealed that compared to the model group, the expression levels of blood IL-1 $\beta$  and IL-18 in the medium and high doses GRA groups were significantly decreased ( $P < 0.05$ ), which in the low dose GRA group had no statistical difference ( $P < 0.05$ ). Western blot test showed that compared with the model group, the expression levels of NLRP3, NF- $\kappa$ B p65 and caspase-1 in the low, medium and high GRA doses groups were significantly decreased ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** GRA exerts the therapeutic effects on DSS-induced UC mice, its mechanism might be related to the decrease of NLRP3, NF- $\kappa$ B p65 and caspase-1 expression levels and inhibition of colonic epithelial cell pyroptosis.

**[Key words]** gramine; ulcerative colitis; nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor protein 3; NF- $\kappa$ B p65; caspase-1; pyroptosis

溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 是一种肠道黏膜的炎症性肠病, 全球发病率呈现出上升趋势<sup>[1]</sup>。目前, 发病机制尚未明确, 或许与遗传因素、环境因素、肠道屏障功能受损、肠道微生物群失衡、免疫系统异常及肠上皮细胞的焦亡等多方面因素有关。细胞焦亡在 UC 中因激活炎症反应的新型程序性死亡成为研究焦点, 其经典通路为核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3 (nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor protein 3, NLRP3) 信号通路, 研究显示通过抑制 NLRP3 信号通路可抑制 IL-18、IL-1 $\beta$  等炎症因子分泌, 抑制 UC 肠上皮黏膜细胞焦亡, 从而改善 UC 肠道黏膜损伤<sup>[2-3]</sup>。另外还可下调核因子- $\kappa$ B p65 亚基 (nuclear factor- $\kappa$ B p65 subunit, NF- $\kappa$ B p65), 亦可下调炎症因子 IL-1 $\beta$  和 IL-18 等的表达, 以及焦亡相关蛋白 NLRP3、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-1 (cysteiny aspartate specific proteinase-1, caspase-1) 的表达<sup>[4]</sup>。UC 的临床治疗手段以药物干预和外科手术为主, 其中治疗药物主要涉及抗炎制剂 (如氨基水杨酸类、皮质类固醇)、免疫调节药物及抗生素, 其中 5-氨基水杨酸 (5-Aminosalicylic Acid, 5-ASA) 常被选作首选及维持治疗用药<sup>[5]</sup>。UC 具有迁延难愈的特点, 治愈存在较大难度, 发病率逐年递增, 且具有癌变倾向, 而长期应用药物会使身体产生一系列不良反应, 为了减轻社会负担和提高患者生活质量, 新型药物亟待开发<sup>[6-7]</sup>。

芦竹碱 (gramine, GRA) 是一种从天然禾本科芦竹属植物芦竹中提取的吡啶类生物碱, 其因丰富的生物活性而受到关注, 并且已被广泛应用于医药开发。GRA 不仅具有抗病毒、抗菌、抗炎等多种药理作用, 它还在氨基酸代谢过程中起着十分重要的作用<sup>[8]</sup>。已有研究证明 GRA 能明显减少炎症细胞的浸润, 以及减少 IL-1 $\beta$  等炎症因子的表达<sup>[9]</sup>, 因此 GRA 在治疗 UC 中的应用潜力巨大。本课题组拟探讨 GRA 对 UC 小鼠结肠上皮细胞焦亡的影响及潜在机制, 为 GRA 应用于 UC 临床治疗提供新的思路。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

无特定病原体级雄性 C57BL/6J 小鼠 36 只, 6~7 周龄, 体重 18~22 g, 购自武汉鼠贝利生物科技有限公司。小鼠饲养于室温 (24 °C 左右), 环境湿度维持在 60% 左右, 12 h 明暗交替, 每笼 6 只, 适应性喂养 1 周, 期间自由饮水饮食。本研究已通过湖北科技学院伦理委员会批准 (审批号: 2024-03-105)。

GRA (批号 B20777-20 mg)、5-ASA (批号 S30083) 购自上海源叶生物科技有限公司。IL-18 (批号 ml002294)、IL-1 $\beta$  (批号 ml098416) ELISA 检测试剂盒购自上海酶联生物科技有限公司, 葡聚糖硫酸钠 (dextran sulfate sodium, DSS, 批号 MB5535, 相对分子质量  $36 \times 10^3 \sim 50 \times 10^3$ ) 购自大连美仑生物技术有限公司。NLRP3 抗体 (批号 A24294)、caspase-1 抗体 (批号 A0964)、辣根过氧化物酶偶联山羊抗小鼠 IgG (批号 AS003) 购自武汉爱博泰克生物科技有限公司, NF- $\kappa$ B p65 抗体 (批号 # AF5006) 购自北京华新康信生物科技有限公司, GAPDH 抗体 (批号 GB15004) 购自武汉赛维尔生物科技有限公司, RIPA 裂解液 (批号 BL504A)、HE 染色试剂盒 (批号 BL700B-1)、中性树脂 (批号 BL704A) 购自上海金畔生物科技有限公司, 优质切片石蜡购自上海寰宇化轻有限公司, 黏附性载玻片 (批号 80312-3161)、标准级显微镜盖玻片 (批号 80340-3610) 购自江苏世泰实验器材有限公司, BCA 蛋白浓度检测试剂盒 (批号 P0009) 购自上海碧云天生物技术股份有限公司。

石蜡切片机 (型号 77500111) 购自美国 Thermo Scientific 公司, 高速低温组织研磨仪 (型号 HK-48R) 购自湖南沪康离心机有限公司, 高速台式离心机 (型号 TGL-16G) 购自上海子期实验设备有限公司, EPS-600 数显式稳压稳流电泳仪购自上海天能科技有限公司, 实验室数显圆周脱色摇床 (型号 SLK-03000-S) 购自北京创誉科技有限公司, 真彩全电脑病理组织脱水机 (型号 ZT-1V1)、生物组织石蜡包埋机 (型号 VB-7LF) 购自孝感市亚光医用电子技术有限公司, 研究级倒置荧光显微镜购自日本 Olympus 公司。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 分组、造模与给药

36 只小鼠适应性饲养 1 周后,按照随机数字表法被分为对照组、模型组(DSS 组)、5-ASA 组(100 mg/kg)<sup>[10]</sup>和 GRA 低剂量组(25 mg/kg)、GRA 中剂量组(50 mg/kg)、GRA 高剂量组(100 mg/kg)<sup>[11]</sup>,每组 6 只。实验采用 3% DSS 自由饮水 1 周的方式诱导 UC 模型。5-ASA 组以 100 mg/kg 5-ASA, GRA 低、中、高剂量组分别以 25、50、100 mg/kg GRA 从造模当天开始灌胃,1 次/d,连续 1 周,对照组和 DSS 组以生理盐水 10 mg/kg 灌胃,1 次/d,连续 1 周。完成末次给药后,所有小鼠禁食 24 h,其间不禁水,随后麻醉小鼠,取眼球血,之后处死小鼠取出完整的结肠组织,保存于 4%多聚甲醛中备用。

**1.2.2 小鼠一般状态观察、疾病活动指数(disease activity index, DAI)评分及结肠长度测量**

每天严密监测小鼠生理状态,记录小鼠活动频率、饮水摄食、体重波动、大便性状及便血情况。随后,依据标准化的 DAI 评分体系,将小鼠的体重下降、大便性状异常及便血程度进行量化,计算得出 DAI 评分,具体为 DAI 评分=(体重下降率评分+大便性状评分+便血程度评分)/3,评分标准详见表 1。此外,在小鼠被处死取出结肠组织即刻就精确测量长度,计算结肠相对长度(%),并通过对比分析其缩短程度以

研究 GRA 对 UC 的影响,其中结肠相对长度=实验组小鼠结肠长度/对照组结肠长度×100%。

**表 1 小鼠体重下降、大便性状和便血程度评分标准**

评分	体重下降率	大便性状	便血程度
0 分	0	正常	正常(-)
1 分	>0~5%	较松散	隐血阳性(+)
2 分	>5%~10%	半稀便	肉眼血便(++)
3 分	>10%~20%	稀便	肉眼血便(+++)
4 分	>20%	较重稀便	肉眼血便(>+++)

**1.2.3 HE 染色观察小鼠结肠组织**

HE 染色检测采用标准方案。将选取的小鼠结肠组织用 4%多聚甲醛固定处理 24 h,随后脱水,进而开展石蜡包埋操作。然后将石蜡封住的标本在切片机上切成 4 μm 厚的切片,切片行 HE 染色,最后用中性树脂封片,在光镜下观察结肠组织病理改变。计算组织病理学(tissue damage index, TDI)评分,TDI 评分=(炎症程度评分+黏膜损伤深度评分+隐窝破坏评分+病变范围评分)/4,具体 TDI 评分标准<sup>[12]</sup>,见表 2。

**表 2 TDI 评分标准**

评分	炎症程度	黏膜损伤深度	隐窝破坏	病变范围
0 分	无炎症细胞浸润	无黏膜损伤	隐窝结构完整,无破坏	无病变区域
1 分	少量炎症细胞浸润,局限于黏膜层	损伤仅侵及黏膜上皮层	>0~25%的隐窝出现萎缩或变形	病变占结肠长度 0~25%
2 分	中等量炎症细胞浸润,累及黏膜下层	损伤侵及黏膜固有层	>25%~50%的隐窝破坏或缺失	病变占结肠长度 >25%~50%
3 分	大量炎症细胞浸润,累及肌层	损伤侵及黏膜下层或肌层	>50%~75%的隐窝破坏或缺失	病变占结肠长度 >50%~75%
4 分	重度炎症伴脓肿或肉芽肿形成	损伤侵及浆膜层,伴肠壁穿孔风险	>75%的隐窝完全破坏,仅残留少量隐窝	病变占结肠长度 >75%

**1.2.4 ELISA 检测小鼠眼球血中 IL-1β、IL-18 水平**

从 -20 °C 冰箱取出保存的小鼠眼球血,高速冷冻离心机 4 °C 2 500 r/min 离心 10 min,取上清液。严格按照 ELISA 试剂盒说明书步骤,检测小鼠眼球血中 IL-1β、IL-18 水平。

**1.2.5 Western blot 检测结肠组织 NLRP3、NF-κB p65 和 caspase-1 表达水平**

取 100 mg 结肠组织剪碎、研磨,使用 RIPA 裂解液裂解小鼠结肠组织,提取蛋白。蛋白浓度测定采用 BCA 试剂盒。用 10% 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)分离蛋白,电泳 120 min 后将分离的蛋白转移至聚偏氟乙烯膜上。将膜于室

温环境用 5%脱脂奶粉封闭处理 90 min, TBST 洗膜 3 次,将膜切割成不同印迹条带后分别与 NLRP3(1 : 1 000 稀释)、NF-κB p65(1 : 1 000 稀释)和 caspase-1(1 : 1 000 稀释)抗体 4 °C 孵育过夜,再用 TBST 清洗 3 次,加入二抗室温孵育 1 h。用电化学发光法观察目标蛋白,以 GAPDH 为内参。使用 ImageJ 软件对每组图片的灰度值进行分析。

**1.3 统计学处理**

采用 GraphPad Prism8.02 软件进行作图与数据统计分析,计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较采用单因素方差分析,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

**2 结 果**

**2.1 GRA 对 UC 小鼠一般状态及体重的影响**

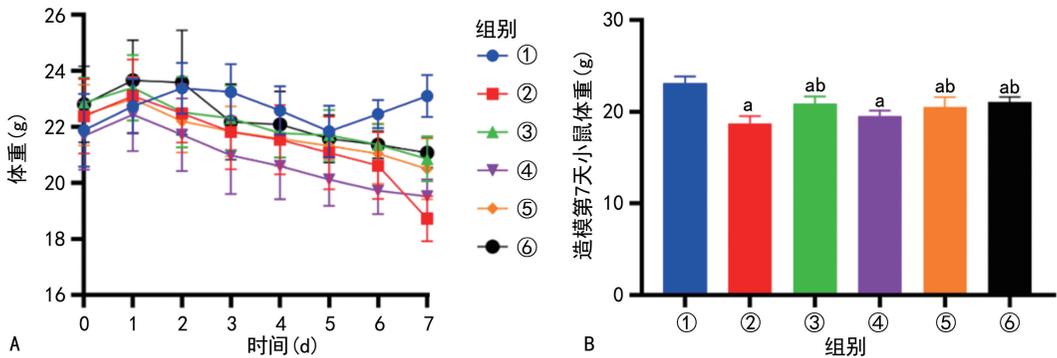
对照组小鼠活动正常且状态良好,皮毛顺滑,精神活跃,大便性状无异常。模型组小鼠大部分出现肉眼可见的黑便,但小鼠精神状态良好,随着时间的推移,小鼠开始出现体重减轻,活动频率下降并出现不同程度的便血。与模型组比较,从造模第 3 天起 5-ASA 组和 GRA 各剂量组小鼠精神状态逐渐改善,粪便逐渐成形,肉眼未见便血。

UC 小鼠体重在造模第 2 天开始下降。造模第 7 天,与对照组比较,模型组小鼠体重下降,差异有统计

学意义( $P < 0.05$ );与模型组比较,5-ASA 组及 GRA 中、高剂量组小鼠体重下降得以缓解( $P < 0.05$ ),GRA 低剂量组差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),见图 1。

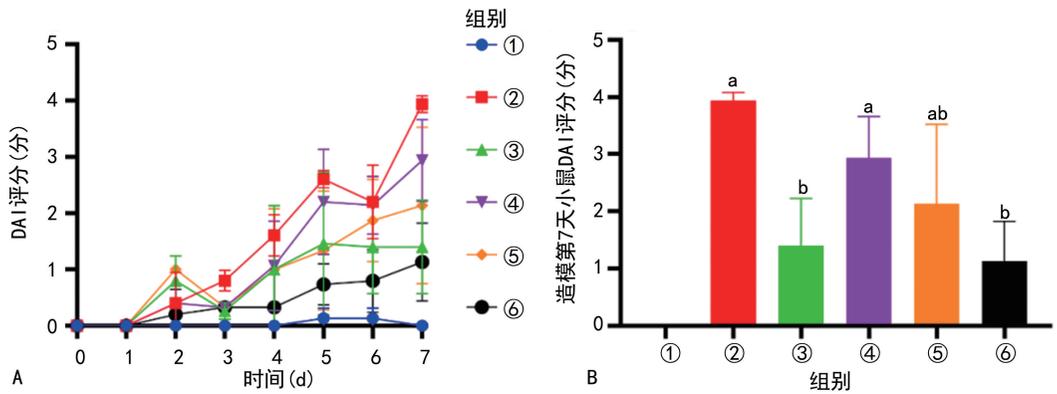
## 2.2 GRA 对 UC 小鼠 DAI 评分的影响

从造模第 2 天起,各组小鼠 DAI 评分开始上升。造模第 7 天,与对照组比较,模型组小鼠 DAI 评分升高,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );与模型组比较,5-ASA 组及 GRA 中、高剂量组小鼠 DAI 评分降低,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),见图 2。



A: 各组小鼠体重变化图; B: 各组小鼠造模第 7 天体重定量分析; ①: 对照组; ②: 模型组; ③: 5-ASA 组; ④: GRA 低剂量组; ⑤: GRA 中剂量组; ⑥: GRA 高剂量组; <sup>a</sup>:  $P < 0.05$ , 与对照组比较; <sup>b</sup>:  $P < 0.05$ , 与模型组比较。

图 1 GRA 对 UC 小鼠体重的影响



A: 各组小鼠 DAI 评分变化图; B: 各组小鼠造模第 7 天 DAI 评分定量分析; ①: 对照组; ②: 模型组; ③: 5-ASA 组; ④: GRA 低剂量组; ⑤: GRA 中剂量组; ⑥: GRA 高剂量组; <sup>a</sup>:  $P < 0.05$ , 与对照组比较; <sup>b</sup>:  $P < 0.05$ , 与模型组比较。

图 2 GRA 对 UC 小鼠 DAI 评分的影响

## 2.3 GRA 对 UC 小鼠结肠长度的影响

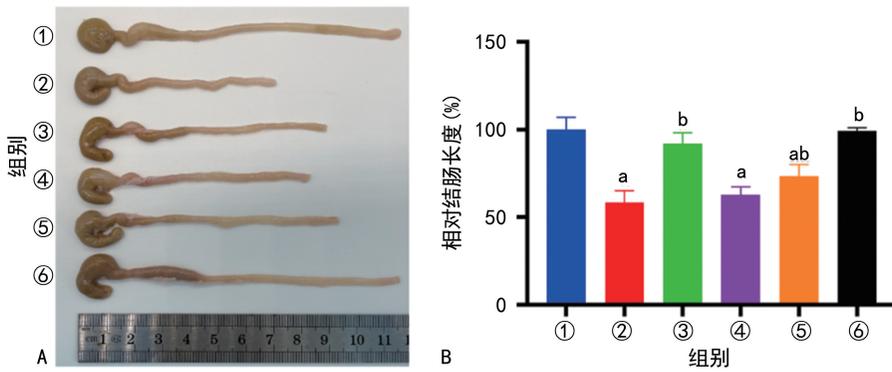
与对照组比较,模型组相对结肠长度明显缩短,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );与模型组比较,5-ASA 组及 GRA 中、高剂量组相对结肠长度均明显增加( $P < 0.05$ ),GRA 低剂量组差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),见图 3。

## 2.4 GRA 对 UC 小鼠结肠组织病理的影响

HE 染色结果显示,对照组的小鼠肠黏膜组织学状态良好,肠黏膜结构轮廓分明、清晰可辨,上皮细胞层紧密相连且完整,肌层与黏膜层连续性良好、完整未损,隐窝结构形态规则,细胞排列整齐有序,在显微镜下未观察到炎症细胞浸润的现象。模型组小鼠的

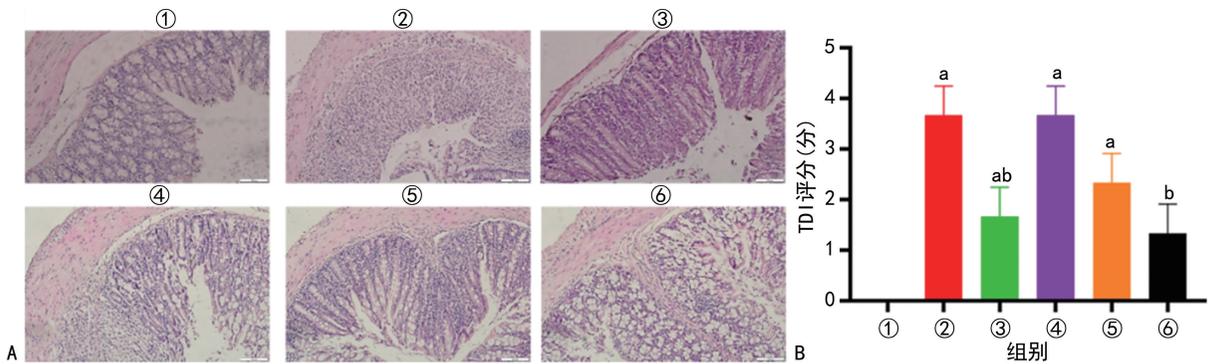
结肠黏膜则出现了明显的病理改变,结肠黏膜层有较为突出的细胞坏死和脱落情况,隐窝结构呈现出萎缩态势,杯状细胞数量明显减少甚至缺失,细胞排列杂乱无章、松散无序,黏膜及黏膜下层可见不同程度的炎症细胞呈弥漫性浸润;与模型组比较,5-ASA 组结肠损伤得以改善,隐窝结构排列变得更为规整,炎症细胞浸润的范围有所缩小,黏膜各层结构的完整性得到提升,细胞坏死的发生率降低。与模型组比较,GRA 低、中、高剂量组随着 GRA 的剂量增高,隐窝结构排列逐渐改善,炎症细胞浸润范围逐渐减小。与对照组比较,模型组 TDI 评分明显升高,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );与模型组比较,5-ASA 组和 GRA 高

剂量组 TDI 评分明显降低 ( $P < 0.05$ ), GRA 低、中剂量组差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 见图 4。



A: 各组小鼠结肠; B: 各组小鼠结肠长度定量分析; ①: 对照组; ②: 模型组; ③: 5-ASA 组; ④: GRA 低剂量组; ⑤: GRA 中剂量组; ⑥: GRA 高剂量组; <sup>a</sup>:  $P < 0.05$ , 与对照组比较; <sup>b</sup>:  $P < 0.05$ , 与模型组比较。

图 3 GRA 对 UC 小鼠结肠长度的影响



A: 各组小鼠结肠组织 HE 染色 (20×); B: 各组小鼠结肠 TDI 评分定量分析; ①: 对照组; ②: 模型组; ③: 5-ASA 组; ④: GRA 低剂量组; ⑤: GRA 中剂量组; ⑥: GRA 高剂量组; <sup>a</sup>:  $P < 0.05$ , 与对照组比较; <sup>b</sup>:  $P < 0.05$ , 与模型组比较。

图 4 GRA 对 UC 小鼠结肠组织病理变化的影响

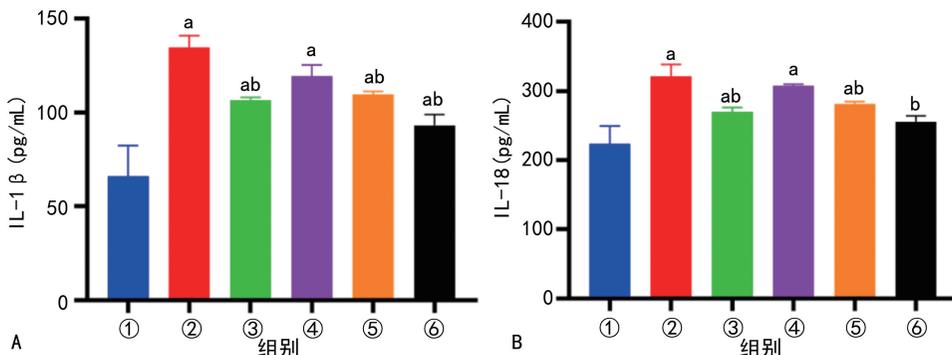
### 2.5 GRA 对 UC 小鼠细胞焦亡相关炎症因子 IL-1 $\beta$ 、IL-18 水平的影响

ELISA 结果显示, 与对照组比较, 模型组 IL-1 $\beta$ 、IL-18 水平明显升高, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 与模型组比较, 5-ASA 组及 GRA 中、高剂量组血 IL-18、IL-1 $\beta$  水平明显降低 ( $P < 0.05$ ), GRA 低剂量组差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 见图 5。

### 2.6 GRA 对 UC 小鼠结肠上皮细胞焦亡关键因子

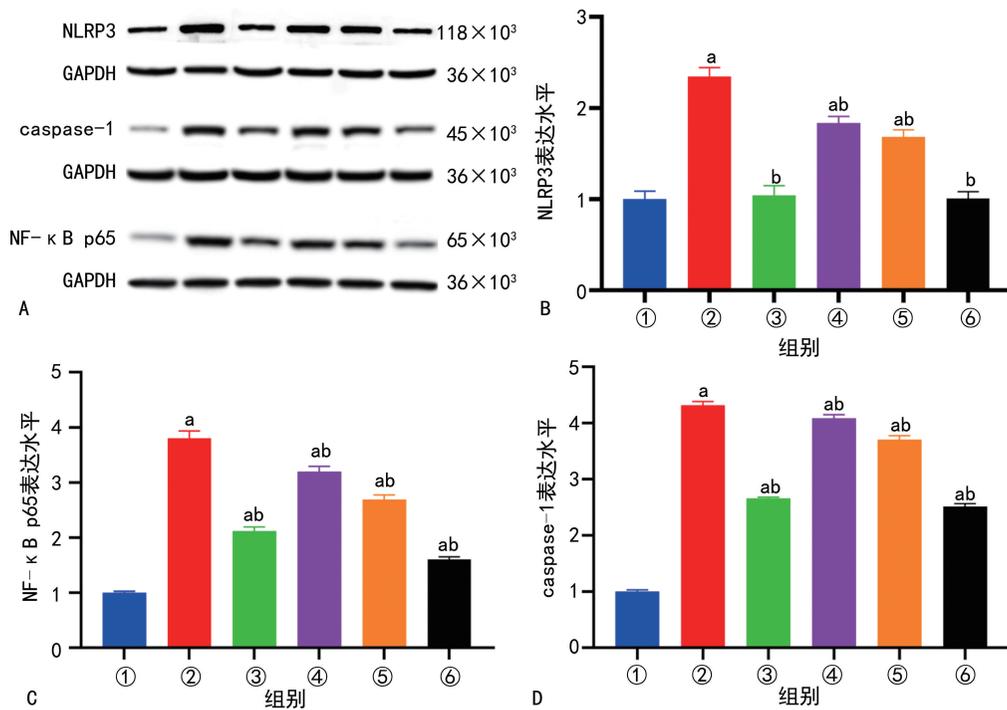
### NLRP3、NF- $\kappa$ B p65 和 caspase-1 表达水平的影响

Western blot 结果显示, 与对照组比较, 模型组结肠组织 NLRP3、NF- $\kappa$ B p65、caspase-1 表达水平明显升高, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 与模型组比较, 5-ASA 组及 GRA 低、中、高剂量组结肠组织 NLRP3、NF- $\kappa$ B p65、caspase-1 表达水平明显降低, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 见图 6。



A: ELISA 检测各组小鼠 IL-1 $\beta$  水平的定量分析; B: ELISA 检测各组小鼠 IL-18 水平的定量分析; ①: 对照组; ②: 模型组; ③: 5-ASA 组; ④: GRA 低剂量组; ⑤: GRA 中剂量组; ⑥: GRA 高剂量组; <sup>a</sup>:  $P < 0.05$ , 与对照组比较; <sup>b</sup>:  $P < 0.05$ , 与模型组比较。

图 5 GRA 对 UC 小鼠 IL-1 $\beta$  和 IL-18 的影响



A: Western blot 检测 NLRP3、NF- $\kappa$ B p65、caspase-1 的表达水平; B: NLRP3 表达水平的定量分析; C: NF- $\kappa$ B p65 表达水平的定量分析; D: caspase-1 表达水平的定量分析; ①: 对照组; ②: 模型组; ③: 5-ASA 组; ④: GRA 低剂量组; ⑤: GRA 中剂量组; ⑥: GRA 高剂量组; <sup>a</sup>:  $P < 0.05$ , 与对照组比较; <sup>b</sup>:  $P < 0.05$ , 与模型组比较。

图 6 GRA 对 UC 小鼠结肠组织 NLRP3、NF- $\kappa$ B p65、caspase-1 的影响

### 3 讨 论

UC 是全球难治性疾病,其病因与遗传、免疫、肠道微生态和环境因素有关,是一种非特异性慢性炎症,病变仅局限在结肠和直肠的黏膜及黏膜下层,其病理特点是活动期肠黏膜可见大量炎症细胞浸润,组织呈现出充血与水肿的病理状态,同时可见点状糜烂灶、溃疡创面形成,并且存在隐窝脓肿的情况<sup>[13]</sup>。慢性期时,隐窝正常结构出现紊乱,杯状细胞数量明显减少,还伴有息肉。临床上会出现腹泻、腹部疼痛、粪便带血、呕吐及体重降低等一系列症状。

目前利用中草药治疗 UC 已成为热点,研究显示,车叶草苷可通过调控 AMP 活化蛋白激酶(AMP-activated protein kinase, AMPK)/硫氧还蛋白相互作用蛋白(thioredoxin-interacting protein, TXNIP)/NLRP3 通路来抑制 UC 肠上皮细胞焦亡<sup>[14]</sup>,黄芩苷通过干预牛磺酸上调基因 1(taurine up-regulated gene 1, TUG1)蛋白/多聚嘧啶区结合蛋白 1(poly-pyrimidine tract-binding protein 1, PTBP1)/NLRP3 分子网络抑制巨噬细胞焦亡来治疗 UC<sup>[15]</sup>,马齿苋生物碱通过抑制 Toll 样受体 4(Toll-like receptor 4, TLR4)/NF- $\kappa$ B/NLRP3 通路的激活减轻炎症反应,修复肠上皮细胞并调节肠道稳态,从而减轻 UC 症状<sup>[16]</sup>,芦丁通过抗氧化应激间接抑制 NLRP3 信号通路从而改善了 UC<sup>[17]</sup>,另外还有关于中药复方治疗 UC 的研究<sup>[18]</sup>。随着 UC 中草药治疗研究的不断突破,GRA 凭借其独特的生物活性进入研究视野。与黄芩苷和芦丁比较,在结构方面,GRA 属于吡啶类化

合物,脂溶性更强,更易穿过细胞膜,而芦丁和黄芩苷均属于黄酮类化合物,水溶性更强;本研究表明 GRA 可抑制 caspase-1、IL-1 $\beta$  及 IL-18 水平,从而阻断 UC 进展,而芦丁和黄芩苷更多依赖间接抗氧化和网络调节作用<sup>[15,17]</sup>;另外,GRA 的吡啶环结构使其可同时作用于 NF- $\kappa$ B 和 NLRP3,相较于芦丁作用的单一 NLRP3 靶点和黄芩苷的侧重分子网络调控,其对炎症信号的阻断更直接且全面。作为天然中草药,GRA 具有多种生物活性,包括抗病毒、抗菌、抗炎、抗肿瘤等,这些活性使得 GRA 在医药领域具有广泛的应用前景<sup>[19]</sup>。本研究结果表明,与模型组比较,GRA 高剂量组 UC 小鼠 DAI 及 TDI 评分均明显降低( $P < 0.05$ ),结肠黏膜组织中炎症细胞的浸润程度明显减轻,这表明 GRA 能够有效缓解 UC 小鼠的结肠黏膜炎症反应。

在 UC 的发生、发展过程中,炎症反应发挥着至关重要的作用。临床试验表明,在 UC 患者中 NLRP3 被激活,且激活程度与 UC 的严重程度相关<sup>[20-21]</sup>。而其上游调控因子 NF- $\kappa$ B 的异常活化是关键驱动因素,NF- $\kappa$ B 可通过识别 NLRP3 基因启动子中的特定  $\kappa$ B 结合位点,直接激活其转录<sup>[22]</sup>。在 DSS 诱导的 UC 小鼠模型中,NLRP3 炎症小体被激活后会释放大促炎细胞因子 IL-1 $\beta$  和 IL-18,进而引起结肠黏膜组织炎症损伤<sup>[23-24]</sup>。本研究表明,中、高剂量 GRA 可减轻 UC 小鼠 IL-1 $\beta$  和 IL-18 水平( $P < 0.05$ ),且结肠组织中 NLRP3 表达水平也较模型组明显下调( $P < 0.05$ ),这一结果表明 GRA 可通过抑制 NF- $\kappa$ B p65 通

路与 NLRP3 炎症小体的激活,阻断 IL-1 $\beta$  和 IL-18 的释放,从而缓解由 DSS 诱导的 UC 炎症。

当前研究认为,UC 发病机制可能与肠道屏障功能受损相关,它可能会导致紧密连接蛋白表达水平下调,增加肠道的通透性,进而加重肠道炎症及自身免疫反应<sup>[25]</sup>。这一过程可能会促进炎症因子侵入肠黏膜,诱导细胞焦亡。细胞焦亡在维持肠黏膜屏障完整性过程中发挥着关键作用,其异常激活与 UC 的严重程度密切相关<sup>[26]</sup>。与细胞坏死、凋亡、自噬不同,细胞焦亡是细胞程序性死亡的一种新形式,过度焦亡可造成组织损伤,引发炎症、氧化应激反应,在 UC 的发展中具有重要作用<sup>[14]</sup>。焦亡是一种由 caspases 介导的坏死性和炎症性程序性细胞死亡形式,主要由经典 caspase-1 介导的通路或非经典 caspase-11/4/5 介导的炎症通路引发。caspases 的激活可以引发促炎细胞因子 IL-1 $\beta$  和 IL-18 的释放。此外,在实验性结肠炎中观察到结肠组织中焦亡相关蛋白的过表达,包括 NLRP3、凋亡相关斑点样蛋白 (apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD, ASC)、caspase-1 和消皮素 D 氮端结构域 (Gasdermin D N-terminal domain, GSDMD-N),抑制 NLRP3/caspase-1/GSDMD 通路介导的细胞焦亡可以减轻 UC<sup>[27]</sup>。在 UC 的发病过程中,细胞焦亡与肠上皮细胞的异常死亡密切相关,这还可能会引发炎症反应<sup>[28]</sup>。NLRP3 炎症小体作为触发细胞焦亡的关键因素<sup>[29-30]</sup>,其异常激活与 UC 的症状紧密相连。NLRP3 炎症小体是由 NLRP3、含有胱天蛋白酶募集结构域和 caspase-1 组成的蛋白复合物,是炎症免疫反应的关键,NLRP3 识别相应配体后,通过 ASC 募集 caspase-1 前体形成炎症小体,激活 caspase-1,激活后的 caspase-1 导致细胞炎症因子 IL-1 $\beta$  和 IL-18 的成熟和分泌,并通过切割 GSDMD 在细胞膜上形成孔隙,使细胞肿胀破裂并释放炎症因子 IL-1 $\beta$  和 IL-18,扩大炎症反应<sup>[29]</sup>。有研究表明,GSDMD-N 被切割是细胞焦亡执行的核心标志<sup>[31]</sup>。有研究表明,与健康组比较,在 DSS 诱导的 UC 模型小鼠中 NLRP3、ASC、GSDMD-N、IL-1 $\beta$ 、IL-18 表达水平升高,GSDMD-N 的免疫荧光染色分析显示 UC 模型小鼠肠组织阳性细胞明显增多,荧光信号密集且强度高于健康组,表明 UC 的发生与细胞焦亡密切相关<sup>[32]</sup>。已有研究使用 NF- $\kappa$ B p65 抑制剂 BAY 11-7082 (10  $\mu$ mol/L) 来确定 NF- $\kappa$ B 信号传导是否介导 NLRP3 炎症小体的激活,结果显示 NF- $\kappa$ B p65 抑制剂明显抑制了脂多糖诱导的 NLRP3 及促炎因子水平的上调<sup>[33]</sup>。抑制上游 NF- $\kappa$ B 信号通路可以下调 NLRP3 的表达水平,并减少炎症因子 IL-1 $\beta$  和 IL-18 及焦亡相关蛋白 caspase-1 表达水平<sup>[34]</sup>。本研究结果与上述研究结论一致,表明 GRA 可能通过抑制 NF- $\kappa$ B p65 信号通路在下调 NLRP3 表达水平的同时减少 caspase-1 的表达,同时改善肠道屏障功能,有效缓解了 UC 小鼠的炎症症状。

综上所述,本研究表明 GRA 可减轻 DSS 诱导的 UC 小鼠炎症反应,可能是通过抑制 NF- $\kappa$ B p65 及 NLRP3 信号通路的激活,降低 IL-1 $\beta$ 、IL-18 和 caspase-1 表达水平,抑制结肠上皮细胞焦亡实现的。本研究探讨了 GRA 治疗 UC 的潜力,可为 UC 的临床治疗提供新思路。

**利益冲突:**所有作者声明不存在利益冲突

## 参考文献

- [1] BERRE C L, MBCHB S H, PROF P B. Ulcerative colitis[J]. *Lancet*, 2023, 402(10401): 571-584.
- [2] RAO Z, ZHU Y, YANG P, et al. Pyroptosis in inflammatory diseases and cancer [J]. *Theranostics*, 2022, 12(9): 4310-4329.
- [3] ZHANG D, GE F, JI J, et al.  $\beta$ -sitosterol alleviates dextran sulfate sodium-induced experimental colitis via inhibition of NLRP3/caspase-1/GSDMD-mediated pyroptosis [J]. *Front Pharmacol*, 2023, 14: 1218477.
- [4] ZHENGHUA Z, JIANBIN J I, HONGXIA W, et al. Qingchi San treats ulcerative colitis in mice by inhibiting the nuclear factor-kappa B signaling pathway and Nucleotide-binding oligomerization domain, leucine-rich repeat and pyrin domain-containing 3 inflammasome formation [J]. *J Tradit Chin Med*, 2023, 43(1): 68-77.
- [5] LOUIS E, PARIDAENS K, AWADHI S A, et al. Modelling the benefits of an optimised treatment strategy for 5-ASA in mild-to-moderate ulcerative colitis [J]. *BMJ Open Gastroenterol*, 2022, 9(1): e000583.
- [6] LEE H Y, BAEK D H. Perimyocarditis in a patient with ulcerative colitis treated with 5-aminosalicylic acid [J]. *Korean J Gastroenterol*, 2024, 83(5): 197-199.
- [7] ZENG Q, ZHAO Z, NIE J, et al. Efficacy and safety of endoscopic submucosal dissection for dysplasia in ulcerative colitis patients: a systematic review and meta-analysis [J]. *Gastroenterol Res Pract*, 2022, 2022: 9556161.
- [8] ZHANG J, JIA Q, LI N, et al. Recent developments of gramine: chemistry and biological activity [J]. *Molecules*, 2023, 28(15): 5695.
- [9] 蒋森, 王家葵, 吴纯洁. 芦竹碱对 2,4-二硝基氯苯诱导的特应性皮炎小鼠模型的机制 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2022, 28(4): 19-25.
- [10] HUANG L, ZHENG J, SUN G, et al. 5-Aminosalicylic acid ameliorates dextran sulfate sodium-induced colitis in mice by modulating gut

- microbiota and bile acid metabolism [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2022, 79(8):460.
- [11] XU L, SU Y, YANG X, et al. Gramine protects against pressure overload-induced pathological cardiac hypertrophy through Runx1-TGFBR1 signaling [J]. *Phytomedicine*, 2023, 114:154779.
- [12] 陈韵之, 田蕾. 秦皮甲素对溃疡性结肠炎小鼠肠黏膜的改善作用 [J]. *中成药*, 2020, 42(5):1324-1328.
- [13] 滕宛辰, 宋远. 溃疡性结肠炎临床特征及病理学特征分析 [J]. *医药前沿*, 2025, 15(6):9-11.
- [14] 徐超, 谭小平, 李杰, 等. 车叶草苷对溃疡性结肠炎大鼠肠上皮细胞焦亡的影响及机制 [J]. *中国药房*, 2025, 36(2):166-171.
- [15] 李克亚, 肖金银, 罗雯鹏, 等. 黄芩苷调控 TUG1/PTBP1/NLRP3 分子网络抑制巨噬细胞焦亡治疗溃疡性结肠炎的机制 [J]. *中草药*, 2025, 56(5):1667-1681.
- [16] 宋英英, 郑佳慧, 艾金霞, 等. 基于 TLR4/NF- $\kappa$ B/NLRP3 信号通路的马齿苋生物碱对溃疡性结肠炎作用机制 [J]. *北华大学学报(自然科学版)*, 2025, 26(3):322-328.
- [17] ZHAO X, CHEN X, YUE C. Rutin ameliorates inflammation and oxidative stress in ulcerative colitis by inhibiting NLRP3 inflammasome signaling pathway [J]. *Cell Biochem Biophys*, 2024, 82(4):3715-3726.
- [18] 卡思木江·阿西木江, 穆凯代斯·艾合买提, 赵健锋, 等. 中药复方缓溃乐混悬剂对 UC 大鼠结肠黏膜中 MyD88-mTOR 轴的调控作用 [J]. *重庆医学*, 2023, 52(12):1769-1775.
- [19] LU X, LU F, YU J, et al. Gramine promotes functional recovery after spinal cord injury via ameliorating microglia activation [J]. *J Cell Mol Med*, 2021, 25(16):7980-7992.
- [20] FUSCO R, SIRACUSA R, GENOVESE T, et al. Focus on the role of NLRP3 inflammasome in diseases [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(12):4223.
- [21] XUE J, YUAN S, HOU X, et al. Natural products modulate NLRP3 in ulcerative colitis [J]. *Front Pharmacol*, 2023, 14:1265825.
- [22] 徐晓敏, 卢芳, 于栋华, 等. 基于 NF- $\kappa$ B/NLRP3/caspase-1 信号轴探究白藜芦醇对痛风性肾病模型大鼠肾脏的保护作用机制 [J]. *药物评价研究*, 2024, 47(3):496-504.
- [23] LI C, DENG L, PU M, et al. Coptisine alleviates colitis through modulating gut microbiota and inhibiting TXNIP/NLRP3 inflammasome [J]. *J Ethnopharmacol*, 2024, 335:118680.
- [24] YU T, FENG Y, KONG W, et al. Gallic acid ameliorates dextran sulfate sodium-induced ulcerative colitis in mice via inhibiting NLRP3 inflammasome [J]. *Front Pharmacol*, 2023, 14:1095721.
- [25] 赵培庄, 黄俊, 王珍, 等. 基于 ERK1/2 通路研究 CCL21 对 HT29 细胞紧密连接蛋白损伤的作用及机制 [J]. *基因组学与应用生物学*, 2023, 42(4):440-448.
- [26] 王彬彬, 吕亚娟, 陈红纲, 等. 细胞焦亡在肠黏膜屏障损伤机制中的作用 [J]. *中国免疫学杂志*, 2023, 39(4):893-897.
- [27] SUBRAMANIAN S, 耿华, 谭小弟. 肠道疾病中肠上皮细胞的死亡 (英文) [J]. *生理学报*, 2020, 72(3):308-324.
- [28] OH S, LEE J, OH J, et al. Integrated NLRP3, AIM2, NLRC4, Pyrin inflammasome activation and assembly drive PANoptosis [J]. *Cell Mol Immunol*, 2023, 20(12):1513-1526.
- [29] COLL R C, SCHRODER K, PELEGRIN P. NLRP3 and pyroptosis blockers for treating inflammatory diseases [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2022, 43(8):653-668.
- [30] 谭惠中, 刘竹暄, 唐洁, 等. 丹参多酚酸 B 通过 NLRP3/caspase-1/GSDMD 通路抑制 OGD 诱导海马神经元焦亡的分子机制研究 [J]. *湖南中医药大学学报*, 2025, 45(4):638-646.
- [31] DAI Z, LIU W, CHEN X, et al. Gasdermin D-mediated pyroptosis: mechanisms, diseases, and inhibitors [J]. *Front Immunol*, 2023, 14:1178662.
- [32] TAN C, XIANG Z, WANG S, et al. Diosmin alleviates colitis by inhibiting PANoptosis of intestinal epithelial cells and regulating gut microbiota and metabolites [J]. *Phytomedicine*, 2025, 141:156671.
- [33] CHE J, WANG H, DONG J, et al. Human umbilical cord mesenchymal stem cell-derived exosomes attenuate neuroinflammation and oxidative stress through the NRF2/NF- $\kappa$ B/NLRP3 pathway [J]. *CNS Neurosci Ther*, 2024, 30(3):e14454.
- [34] XIANG Y, YU Y, LI Q, et al. Chicken telomerase reverse transcriptase mediates LMH cell pyroptosis by regulating the nuclear factor- $\kappa$ B signaling pathway [J]. *Poult Sci*, 2022, 101(6):101826.