

基于铜死亡探讨麦粒灸改善溃疡性结肠炎的机制

崔耀辉^{1,2}, 常博雅³, 徐慧超³, 王海军³, 冀来喜^{1,3,4}

(¹成都中医药大学, 成都 610000; ²长治医学院附属和平医院, 山西长治 046000; ³山西中医药大学, 山西晋中 030619; ⁴晋派针灸山西省重点实验室, 太原 030006)

【摘要】 目的:探讨麦粒灸通过调控铜死亡信号通路改善溃疡性结肠炎(UC)小鼠结肠组织损伤的作用机制。**方法:**雄性C57BL/6小鼠按随机数字表随机分为空白组、模型组和麦粒灸组,每组10只。小鼠饮用3%葡聚糖硫酸钠溶液复制UC模型。麦粒灸组选择“中脘”和双侧“天枢”“上巨虚”进行麦粒灸治疗,每穴3壮,每日1次,连续7 d。对各组小鼠疾病活动指数(DAI)进行评分;检测粪便隐血情况;测量结肠长度;ELISA法检测血清肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、白细胞介素(IL)-1 β 、IL-10含量;HE染色观察结肠组织病理形态;透射电子显微镜观察结肠超微结构;JC-1染色检测结肠上皮细胞线粒体膜电位;流式细胞术检测结肠上皮细胞活性氧(ROS)水平;比色法检测结肠组织铜离子含量;荧光定量PCR法和Western blot法检测结肠铁氧还蛋白1(FDX1)、二氢硫辛酰胺乙酰转移酶(DLAT)、二氢硫辛酰胺琥珀酰转移酶(DLST)、硫辛酸合成酶(LIAS)及热休克蛋白70(HSP70)mRNA和蛋白表达;免疫荧光法检测结肠DLAT阳性表达。**结果:**与空白组相比,模型组小鼠DAI评分、血清TNF- α 和IL-1 β 含量升高($P<0.01$),粪便隐血实验呈阳性,结肠长度、血清IL-10含量降低($P<0.01$);结肠黏膜出现损伤,伴炎细胞浸润;结肠超微结构损伤,线粒体形态异常;结肠上皮细胞线粒体低膜电位率、ROS水平及结肠铜离子含量提高($P<0.01$);结肠组织FDX1、DLAT、DLST、LIAS mRNA和蛋白表达降低($P<0.01$),HSP70 mRNA和蛋白表达升高($P<0.01$);结肠DLAT蛋白阳性表达降低($P<0.01$)。与模型组相比,麦粒灸组DAI评分、血清TNF- α 和血清IL-1 β 含量降低($P<0.01$);粪便隐血实验为弱阳性;结肠长度、血清IL-10含量升高($P<0.01$);结肠黏膜病理损伤减轻,炎性浸润减少;结肠超微结构改善,线粒体肿胀和空泡化程度减轻;结肠上皮细胞线粒体低膜电位率和ROS水平及结肠铜离子含量降低($P<0.01$);结肠FDX1、DLAT、DLST、LIAS mRNA和蛋白表达升高($P<0.01$, $P<0.05$),HSP70 mRNA和蛋白表达降低($P<0.01$);结肠DLAT蛋白阳性表达升高($P<0.01$)。**结论:**麦粒灸可减轻UC小鼠的临床症状和结肠组织损伤,其作用机制可能与调控铜死亡相关基因表达,改善线粒体功能有关。

【关键词】 溃疡性结肠炎;麦粒灸;铜死亡;炎症反应

Research on mechanism of moxibustion with seed-sized moxa cones for improving ulcerative colitis based on cuproptosis

Cui Yaohui^{1,2}, Chang Boya³, Xu Huichao³, Wang Haijun³, Ji Laixi^{1,3,4} (¹Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610000, China; ²Heping Hospital Affiliated to Changzhi Medical College, Changzhi 046000, Shanxi Province; ³Shanxi University of Chinese Medicine, Jinzhong 030619, Shanxi Province; ⁴Shanxi Key Laboratory of Jinpai Acupuncture, Taiyuan 030006)

【ABSTRACT】 Objective To explore the mechanism by which moxibustion with seed-sized moxa cones improves colonic tissue damage by regulating the cuproptosis signaling pathway in mice with ulcerative colitis (UC). **Methods** Thirty male C57BL/6 mice were randomly and equally divided into a control group, a model group, and a seed-sized moxa cone moxibustion (moxibustion) group ($n=10$ per group) using a random number table. The UC model was established by feeding the mice with 3% dextran sulfate sodium (DSS) solution for 7 consecutive days. After successful

【DOI】10.13702/j.1000-0607.20260117

引用格式:崔耀辉,常博雅,徐慧超,等.基于铜死亡探讨麦粒灸改善溃疡性结肠炎的机制[J].针刺研究,2026,51(9):1156-1165.

项目来源:国家自然科学基金项目(No.82074549);山西省自然科学基金项目(No.202303021221156,202403021222286);山西省教育厅基金项目(No.2024L262)

通信作者:冀来喜, E-mail: jlx@sxtcm.edu.cn

establishment of the UC model, the mice of the moxibustion group received moxibustion at “Zhongwan” (CV12), bilateral “Tianshu” (ST25) and bilateral “Shangjuxu” (ST37) for 3 cones, once daily for 7 consecutive days. The disease activity index (DAI) was recorded, fecal occult blood assessed, colon length measured, and the serum contents of tumor necrosis factor α (TNF- α), interleukin (IL)-1 β , and IL-10 were determined by ELISA. Histopathological changes of the colon tissue were observed after HE staining, changes of colonic ultrastructure observed by using a transmission electron microscopy (TEM), and the mitochondrial membrane potential in the colonic epithelial cells measured after JC-1 staining. The reactive oxygen species (ROS) level was detected using flow cytometry, and the copper ion (Cu^{2+}) content in the colon tissue was detected by colorimetry. The mRNA and protein expression levels of ferredoxin 1 (FDX1), dihydrolipoamide acetyltransferase (DLAT), dihydrolipoamide succinyltransferase (DLST), lipoic acid synthetase (LIAS), and heat-shock protein 70 (HSP70) in the colon tissue were detected by using quantitative real-time PCR and Western blot, separately. The immunofluorescence intensity of DLAT in the colon tissue was evaluated by immunofluorescence staining. **Results** Compared with the control group, the model group showed a significant increase in the DAI score, serum TNF- α and IL-1 β contents, mitochondrial low-potential ratio, ROS level in colonic epithelial cells, Cu^{2+} content, and expressions of HSP70 mRNA and protein ($P < 0.01$), and a considerable decrease in the colon length, serum IL-10, expression levels of FDX1, DLAT, DLST and LIAS mRNAs and proteins and immunofluorescence intensity of DLAT immunoactivity ($P < 0.01$). In comparison with the model group, both the increased and decreased levels of the indexes mentioned above were all reversed in the moxibustion group ($P < 0.01$, $P < 0.05$). In addition, the fecal occult blood test was positive in the model group and weakly positive in the moxibustion group. Results of HE staining and TEM exhibited obvious damage of the intestinal mucosal epithelium with inflammatory cell infiltration, irregular mitochondrial morphology, varying degrees of swelling and vacuolization, and blurred or even broken and disappeared cristae structure in the model group; and alleviation in the pathological damage of colonic mucosal epithelium and inflammatory infiltration, improved internal structure of the colon epithelial cells, and reduction in the degree of mitochondrial swelling and vacuolization in the moxibustion group. **Conclusion** Moxibustion with seed-sized moxa cones can alleviate symptoms and colonic tissue injury in UC mice, which may be associated with its functions in up-regulating the expressions of cuproptosis-related proteins and genes and improving mitochondrial function and oxidative stress.

【KEYWORDS】 Ulcerative colitis; Moxibustion with seed-sized moxa cones; Cuproptosis; Inflammation

溃疡性结肠炎(UC)是一种慢性、反复发作的非特异性炎性肠病,主要累及结肠和直肠黏膜层,临床表现为腹痛、腹泻及黏液脓血便等^[1-2]。随着生活方式和饮食结构的变化,UC的发病率在全球范围内持续上升,我国的发病率虽相对较低,但近年来呈明显上升趋势,且患者人群逐渐年轻化^[3-5]。UC具有病程迁延、复发率高及癌变风险增加等特点,严重影响患者的生活质量。现有治疗主要依赖糖皮质激素、氨基水杨酸类及免疫抑制剂等药物,虽然可在一定程度上控制炎症反应,但长期应用不良反应显著且停药后易复发^[6-7]。麦粒灸作为传统直接灸法的一种,可通过温热与温和灼感有效调节经络气血、改善脏腑功能。多个研究^[8-10]表明,麦粒灸在缓解UC症状、降低疾病活动指数(DAI)评分、降低炎症因子水平及改善肠道黏膜损伤等方面具有显著疗效,但其作用机制尚需进一步阐明。

UC的发生发展与细胞死亡的异常调控密切相关^[11-12]。正常情况下,细胞死亡过程对于维持肠

道组织稳态具有重要意义,而在UC病理状态下,肠黏膜上皮细胞过度或异常死亡可导致屏障功能受损,促进炎症反应持续激活并加重组织损伤。近年来,新型细胞死亡形式不断被发现,铜死亡作为一种线粒体依赖性细胞死亡方式受到广泛关注,其机制主要表现为过量铜离子与脂酰化三羧酸循环酶结合,引起蛋白聚集、铁硫簇蛋白丢失及线粒体功能障碍,最终导致细胞死亡^[13]。研究^[14]表明,UC患者血清中铜离子水平异常升高,提示铜死亡在UC的病理进程中可能发挥重要作用,但麦粒灸是否可以通过调节铜死亡通路改善UC尚不明确。针灸科学研究行动计划^[15]指出,聚焦针灸对疾病病理环节的调控机制研究,是阐释针灸疗效科学内涵的关键方向。因此,本研究拟通过建立UC小鼠模型,探讨麦粒灸对结肠组织铜死亡相关分子的调节作用,揭示其改善UC病理损伤的潜在机制,以期为其临床应用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物与分组

7~8周龄体质量(18±2)g的C57BL/6雄性小鼠30只,由斯贝福(北京)生物技术有限公司提供,生产许可证号:SCXK(京)2019-0010。动物饲养与后续实验均在山西中医药大学科研楼动物房完成,实验动物自由摄食饮水,饲养环境为昼夜12 h/12 h明暗交替,温度(25±2)℃,湿度50%~60%。适应性饲养1周后,采用随机数字表法将小鼠分为空白组、模型组和麦粒灸组,每组10只。实验过程经山西中医药大学动物伦理委员会批准(No.2021DW256)。

1.2 主要试剂和仪器

葡聚糖硫酸钠(DSS,大连美仑),异氟烷(深圳瑞沃德),苏木精-伊红(HE)染液(北京雷根),肿瘤坏死因子α(TNF-α)、白细胞介素(IL)-1β、IL-10 ELISA试剂盒(武汉博士德),铜比色法测试盒(武汉伊莱瑞特),RNA提取液、反转录试剂盒、2×荧光定量PCR试剂、RIPA裂解液、蛋白定量试剂盒、硫辛酸合成酶(LIAS)抗体、热休克蛋白70(HSP70)抗体、GAPDH抗体、羊抗兔二抗、ECL增强化学发光试剂、JC-1线粒体膜电位检测试剂盒(武汉赛维尔),铁氧还蛋白1(FDX1)抗体、二氢硫辛酰胺乙酰转移酶(DLAT)抗体、二氢硫辛酰胺琥珀酰转移酶(DLST)抗体(武汉爱博泰克),2',7'-二氯荧光素二乙酸酯(DCFH-DA,德国Sigma),粪便隐血检测试剂盒(北京索莱宝),陈年艾绒(河南汉艾壹品)。

高速离心机(美国Thermo Scientific),荧光显微镜、石蜡切片机(德国Leica),基因扩增仪、荧光定量PCR仪、凝胶电泳仪、转膜仪、凝胶成像分析系统(美国Bio-Rad),透射电子显微镜(日本Hitachi),酶标仪(美国Molecular Devices),流式细胞仪(美国Becton Dickinson),小动物专用吸入麻醉仪(北京众实迪创)。

1.3 造模方法

模型组和麦粒灸组小鼠自由饮用3%DSS溶液,连续7 d;空白组小鼠正常饮水。如小鼠出现腹泻、便血及体质量降低等UC典型表现,则模型复制成功^[10, 16]。

1.4 干预方法

造模7 d后,麦粒灸组小鼠每日给予麦粒灸治疗^[10, 17]:仰卧位固定小鼠后,取小鼠的“中脘”及双侧“天枢”“上巨虚”处进行剃毛处理,然后取艾绒制成麦粒大小的艾炷,放置于涂有少量凡士林的穴位皮肤表面,线香引燃后,观察小鼠,待出现剧烈扭体反

应时,即刻移除残余艾绒,每穴3壮,每日1次,连续7 d。空白组与模型组需同时给予相同固定操作。

1.5 观察指标及检测方法

DAI评估:在造模及治疗期间,每日记录小鼠的体质量变化、粪便性状及是否出现肉眼可见或隐血性便血。根据体质量下降比例、粪便性状及出血情况分别进行评分,并取3项评分均值作为DAI值^[18]。评分标准见表1。

表 1 DAI评分标准
Table 1 DAI scoring criteria

评分	体质量降低分数/%	大便性状	便血情况
0	未下降	正常	无便血
1	>0且≤5	软便	—
2	>5且≤10	稀便	隐血阳性
3	>10且≤15	—	—
4	>15	腹泻	肉眼血便

注:DAI为疾病活动指数。“—”代表该评分等级下无此项表现。

粪便隐血实验:治疗后,取各组小鼠新鲜粪便,用镊子取0.1 g放置于洁净滤纸上,在粪便不同位点先后加入0.1 mL邻联甲苯胺试剂和过氧化氢溶液,观察2 min内的颜色变化。若出现蓝色,判定为隐血实验阳性;若未观察到明显显色,即为隐血实验阴性。

取材方法:治疗结束后,用3%异氟烷麻醉小鼠后眼球采血,然后处死小鼠,分离结肠组织,测量长度后分成4段,部分结肠进行流式细胞术检测,部分置于4%多聚甲醛固定液,部分置于电子显微镜固定液,部分置于-80℃冰箱,备用于后续检测。

结肠长度测量:处死小鼠后,沿腹正中切开腹腔,暴露结肠,自盲肠起至肛门端完整分离结肠组织,用PBS冲洗表面残留物及血液,将结肠平铺于洁净操作台上,在自然松弛状态下测量其全长。

ELISA法检测血清TNF-α、IL-1β、IL-10含量:将小鼠全血静置后离心10 min,分离血清,然后分别按不同试剂盒说明书操作,采用ELISA法进行检测,最后使用酶标仪在450 nm波长处测定各孔吸光度(OD)值,根据标准品浓度与OD值绘制标准曲线,通过标准曲线计算出样本中TNF-α、IL-1β、IL-10的含量。

HE染色观察结肠组织病理形态:取结肠组织,经常规脱水、石蜡包埋、切片(厚度约5 μm)后行HE

染色。切片先经苏木精染色 5 min,流水冲洗;再用 1% 盐酸乙醇分化 5 s,流水冲洗,伊红染色 5 min,流水冲洗;最后经梯度乙醇脱水,二甲苯透明,中性树胶封片,在显微镜下观察结肠组织病理形态。

透射电子显微镜检测结肠组织超微结构:取各组小鼠结肠组织约 1 mm×1 mm×1 mm,置于 2.5% 戊二醛中 4 ℃固定过夜,经 PBS 漂洗后,用 1% 锇酸固定,依次经乙醇梯度脱水、丙酮置换后包埋于环氧树脂中;超薄切片(厚度 70 nm)经醋酸铀和柠檬酸铅双重染色后,最后在透射电子显微镜下观察其超微结构。

JC-1 染色检测结肠上皮细胞线粒体膜电位:取各组 5 只小鼠结肠组织,分离结肠上皮细胞并调整细胞浓度至适宜水平,接种于培养板中孵育。按 JC-1 染色试剂盒说明书,加入适量 JC-1 染色工作液,37 ℃避光孵育 20 min;孵育结束后,用预冷的细胞洗涤液洗涤 3 次,加入适量细胞培养液重悬细胞,用流式细胞仪检测线粒体膜电位,并使用 FlowJo 软件分析。

流式细胞术检测结肠上皮细胞 ROS 水平:取上述分离获得的结肠上皮细胞制备成单细胞悬液后,使用 DCFH-DA 荧光探针标记细胞 ROS,处理后的细胞经适当洗涤重悬,随后通过流式细胞仪进行检测,并使用 FlowJo 软件进行定量分析。

比色法检测结肠组织铜离子含量:取各组 5 只小鼠结肠组织制备匀浆,离心取上清,按试剂盒说明稀释样本后,将样本加入酶标孔,再加入现配的显色剂工作液,37 ℃孵育 5 min,在 580 nm 波长处测定各孔 OD 值,根据标准曲线拟合方程,计算结肠组织中铜离子含量。

荧光定量 PCR 法检测结肠 FDX1、DLAT、DLST、LIAS、HSP70 mRNA 表达:取各组 5 只小鼠结肠组织 50 mg,提取总 RNA,按反转录试剂盒说明将 RNA 反转录为 cDNA;以 cDNA 为模板,加入特异性引物与荧光定量 PCR 混合液,设置反应程序:95 ℃预变性 30 s,随后进行 40 个循环(95 ℃变性 15 s、60 ℃退火延伸 25 s)扩增,通过荧光定量 PCR 仪采集荧光信号,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算各目标基因的相对表达量。引物由武汉赛维尔合成,引物序列见表 2。

Western blot 法检测结肠 FDX1、DLAT、DLST、LIAS、HSP70 蛋白表达:提取各组 3 只小鼠结肠组织总蛋白各 50 μg,测定蛋白浓度后标准化上样量;经 SDS-PAGE 凝胶电泳分离蛋白后,将蛋白

表 2 引物序列
Table 2 Primer sequences

基因	序列(5'→3')	产物长度/bp
FDX1	上游 TTTGGTGCGTGTGAGGGAAC	190
	下游 GCACAGTCATATTGTCCATAGCC	
DLAT	上游 GACCAGCTTAAAGCCACAGG	135
	下游 AGAGGACTAACGAACACCCTT	
DLST	上游 CAGCCTCCTTCTAGCAAACC	188
	下游 ACCTCATTGAAAGTCGTCAGC	
LIAS	上游 CATGCACAAGAGGTTGCAGAT	124
	下游 AGGACAACATAATCCAGACCCC	
HSP70	上游 CCGACAAGGAGGAGTTCGTG	249
	下游 ACAGTAATCGGTGCCCAAGC	
GAPDH	上游 CCTCGTCCCGTAGACAAAATG	133
	下游 TGAGGTCAATGAAGGGGTCGT	

注:FDX1 为铁氧还蛋白 1,DLAT 为二氢硫辛酰胺乙酐转移酶,DLST 为二氢硫辛酰胺琥珀酐转移酶,LIAS 为硫辛酸合成酶,HSP70 为热休克蛋白 70。

转移至 PVDF 膜,5% 脱脂奶粉室温封闭 2 h;分别加入 FDX1、DLAT、DLST、LIAS、HSP70 一抗及内参抗体(稀释比:FDX1、DLAT、DLST、LIAS、HSP70 为 1:1 000,GAPDH 为 1:5 000),4 ℃孵育过夜,次日 TBST 缓冲液洗涤后,加入二抗(稀释比 1:5 000)室温孵育 2 h,再次洗涤后滴加发光液,通过凝胶成像系统检测蛋白条带,使用 Image J 软件定量分析条带灰度值,以目的蛋白与内参蛋白条带灰度值的比值反映目的蛋白相对表达水平。

免疫荧光法检测结肠 DLAT 的表达:取各组 5 只小鼠结肠组织石蜡切片,经脱蜡至水、抗原修复及破膜处理后,用封闭液室温封闭 1 h;滴加 DLAT 一抗(1:1 000)4 ℃孵育过夜,PBST 缓冲液洗涤 3 次后,加入荧光标记二抗室温避光孵育 1 h(1:500);再次洗涤后用 DAPI 染液复染细胞核,封片后置于荧光显微镜下观察拍照,并通过 Image J 软件进行分析。

1.6 统计学处理

统计分析使用 GraphPad Prism 8 软件完成。计量资料采用均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较采用单因素方差分析,进一步两两比较时,方差齐采用 LSD 检验,方差不齐选用 Dunnett's t_3 检验。以 $P\leq 0.05$ 为差异有统计学意义的标准。

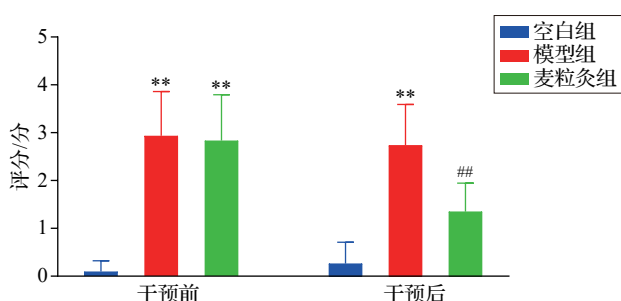
2 结果

2.1 各组小鼠DAI评分比较

干预前,与空白组相比,模型组和麦粒灸组小鼠DAI评分升高($P<0.01$)。干预后,与空白组相比,模型组小鼠DAI评分升高($P<0.01$);与模型组相比,麦粒灸组DAI评分下降($P<0.01$)。见图1。

2.2 各组小鼠粪便隐血情况比较

与空白组相比,模型组小鼠粪便周围呈深蓝色,粪便隐血实验呈阳性;与模型组相比,麦粒灸组小鼠粪便周围呈浅蓝色,粪便隐血实验为弱阳性。



注:DAI为疾病活动指数。与同时点空白组比较,** $P<0.01$;
与同时点模型组比较,## $P<0.01$ 。

图1 各组小鼠DAI评分比较($\bar{x}\pm s$, 10只鼠/组)

Fig. 1 Comparison of DAI scores of mice in the 3 groups ($\bar{x}\pm s$, 10 mice/group)

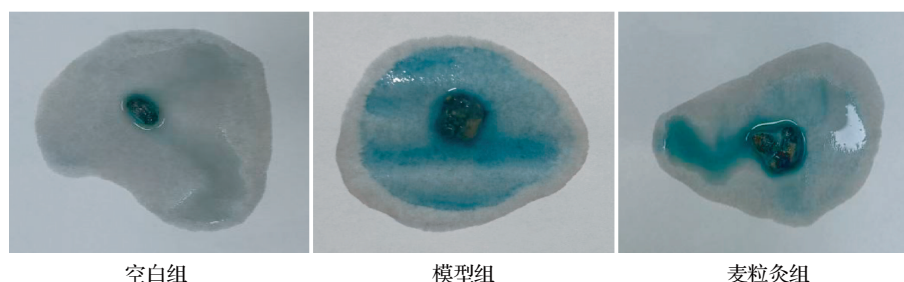
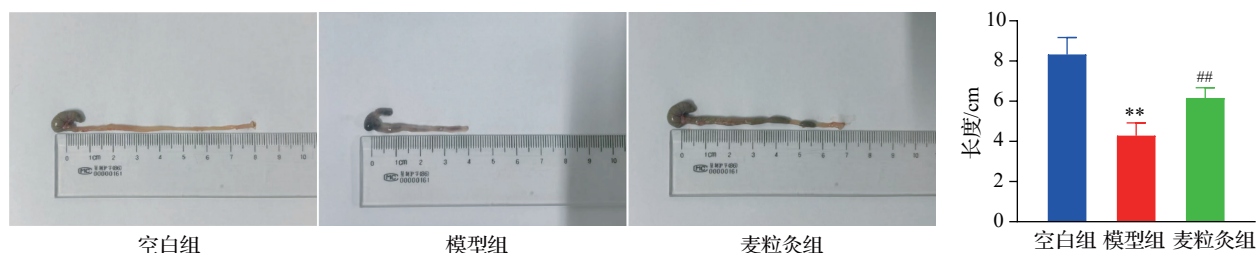


图2 各组小鼠粪便隐血情况比较(邻联甲苯胺法染色)

Fig. 2 Comparison of fecal occult blood of mice in the 3 groups (orthotoluidine staining)



注:与空白组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,## $P<0.01$ 。

图3 各组小鼠结肠长度比较($\bar{x}\pm s$, 10只鼠/组)

Fig. 3 Comparison of colon length of mice in the 3 groups ($\bar{x}\pm s$, 10 mice/group)

见图2。

2.3 各组小鼠结肠长度比较

与空白组相比,模型组小鼠结肠长度减少($P<0.01$);与模型组相比,麦粒灸组小鼠结肠长度增加($P<0.01$)。见图3。

2.4 各组小鼠血清TNF- α 、IL-1 β 、IL-10含量比较

与空白组比较,模型组小鼠血清TNF- α 和IL-1 β 含量升高($P<0.01$),IL-10含量降低($P<0.01$);与模型组相比,麦粒灸组小鼠血清TNF- α 和IL-1 β 含量降低($P<0.01$),IL-10含量升高($P<0.01$)。见图4。

2.5 各组小鼠结肠病理形态比较

空白组小鼠结肠黏膜结构完整,上皮细胞排列整齐,腺体结构正常,无明显炎性细胞浸润;模型组结肠黏膜上皮破损,腺体结构紊乱,出现明显损伤,伴炎性细胞浸润,组织完整性被破坏;麦粒灸组结肠黏膜上皮病理损伤减轻,炎性浸润减少。见图5。

2.6 各组小鼠结肠超微结构比较

空白组结肠上皮细胞内线粒体结构清晰,无明显损伤;模型组结肠上皮细胞内结构损伤显著,线粒体形态不规则,出现不同程度的肿胀、空泡化,嵴结构模糊甚至断裂、消失;麦粒灸组结肠上皮细胞内结构不同程度改善,线粒体肿胀和空泡化程度减轻。见图6。

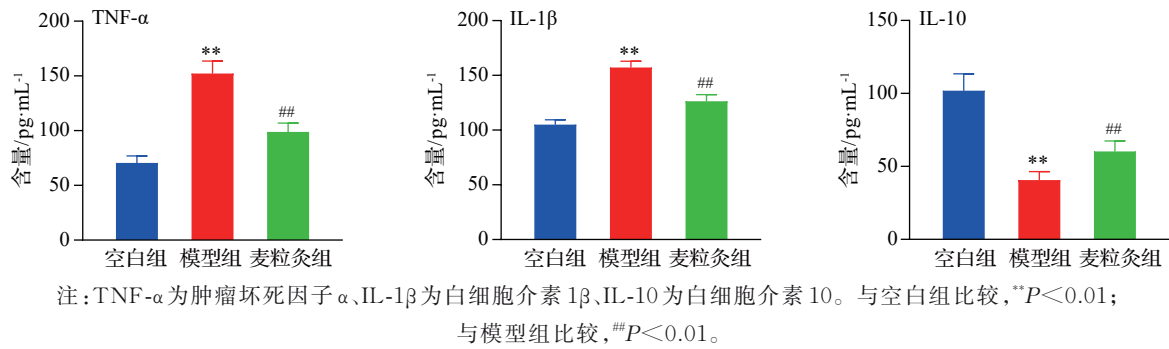


图 4 各组小鼠血清 TNF- α 、IL-1 β 、IL-10 含量比较($\bar{x} \pm s$, 10 只鼠/组)

Fig. 4 Comparison of serum TNF- α , IL-1 β , and IL-10 contents of mice in the 3 groups ($\bar{x} \pm s$, 10 mice/group)

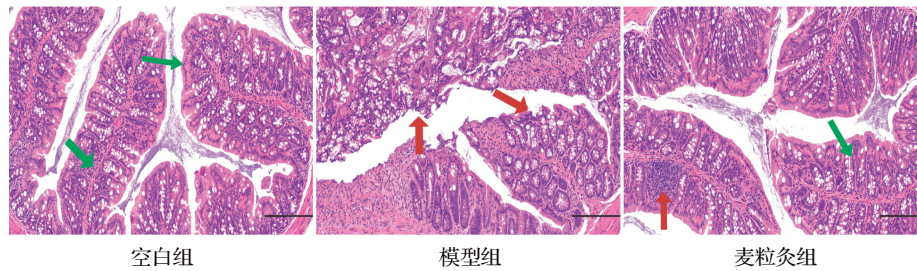


图 5 各组小鼠结肠病理形态比较(HE 染色)

Fig. 5 Comparison of colonic histopathology of mice in the 3 groups (HE staining)

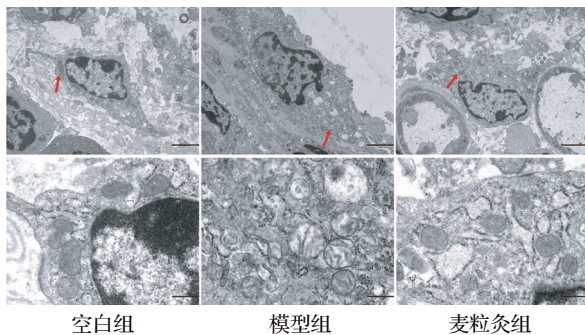


图 6 各组小鼠结肠组织超微结构比较(透射电子显微镜)
Fig. 6 Comparison of colonic ultrastructure of mice in the 3 groups (transmission electron microscope)

2.7 各组小鼠结肠上皮细胞线粒体膜电位比较

图中右下象限的数字代表低膜电位细胞的比例。与空白组相比, 模型组结肠上皮细胞线粒体低膜电位率升高($P < 0.01$); 与模型组比较, 麦粒灸组结肠上皮细胞线粒体低膜电位率降低($P < 0.01$)。见图 7。

2.8 各组小鼠结肠上皮细胞 ROS 水平比较

与空白组比较, 模型组结肠上皮细胞 ROS 水平升高($P < 0.01$); 与模型组比较, 麦粒灸组结肠上皮细胞 ROS 水平降低($P < 0.01$)。见图 8。

2.9 各组小鼠结肠铜离子含量比较

与空白组比较, 模型组结肠铜离子含量升高($P < 0.01$); 与模型组比较, 麦粒灸组结肠铜离子含量降低($P < 0.01$)。见图 9。

2.10 各组小鼠结肠 FDX1、DLAT、DLST、LIAS、HSP70 mRNA 表达比较

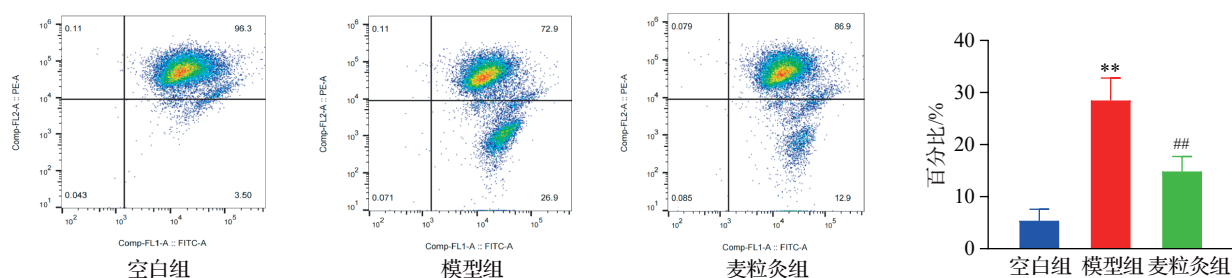
与空白组比较, 模型组结肠 FDX1、DLAT、DLST、LIAS mRNA 表达降低($P < 0.01$), HSP70 mRNA 表达升高($P < 0.01$); 与模型组比较, 麦粒灸组结肠 FDX1、DLAT、DLST、LIAS mRNA 表达升高($P < 0.01$, $P < 0.05$), HSP70 mRNA 表达降低($P < 0.01$)。见图 10。

2.11 各组小鼠结肠 FDX1、DLAT、DLST、LIAS、HSP70 蛋白表达比较

与空白组比较, 模型组结肠 FDX1、DLAT、DLST、LIAS 蛋白表达降低($P < 0.01$), HSP70 蛋白表达升高($P < 0.01$); 与模型组比较, 麦粒灸组结肠 FDX1、DLAT、DLST、LIAS 蛋白表达升高($P < 0.01$, $P < 0.05$), HSP70 蛋白表达降低($P < 0.01$)。见图 11。

2.12 各组小鼠结肠 DLAT 阳性表达比较

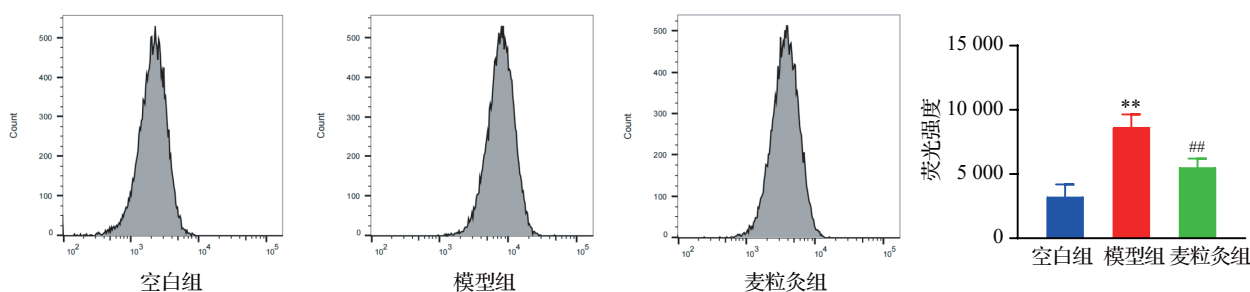
图中 DLAT 阳性表达为绿色荧光, 主要分布在结肠上皮细胞周围。与空白组比较, 模型组结肠



注:与空白组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,## $P<0.01$ 。

图7 各组小鼠结肠上皮细胞线粒体低膜电位比较($\bar{x}\pm s$,5只鼠/组)

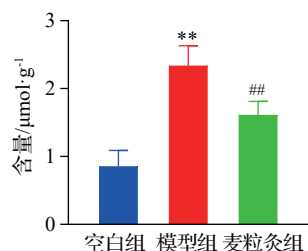
Fig. 7 Comparison of mitochondrial membrane potential of colonic epithelial cells of mice in the 3 groups ($\bar{x}\pm s$, 5 mice/group)



注:ROS为活性氧。与空白组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,## $P<0.01$ 。

图8 各组小鼠结肠上皮细胞ROS水平比较($\bar{x}\pm s$,5只鼠/组)

Fig. 8 Comparison of ROS levels of colonic epithelial cells of mice in the 3 groups ($\bar{x}\pm s$, 5 mice/group)



注:与空白组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,## $P<0.01$ 。

图9 各组小鼠结肠铜离子含量比较($\bar{x}\pm s$,5只鼠/组)

Fig. 9 Comparison of copper ion content in the colon of mice in the 3 groups ($\bar{x}\pm s$, 5 mice/group)

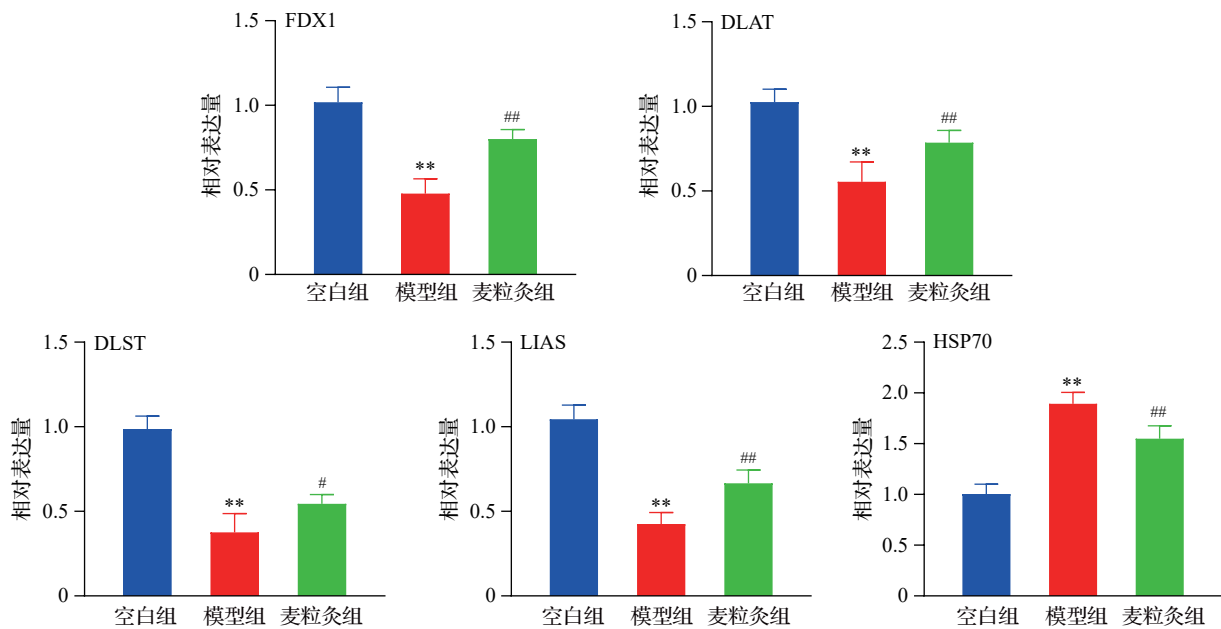
DLAT阳性表达降低($P<0.01$);与模型组比较,麦粒灸组结肠DLAT阳性表达升高($P<0.01$)。见图12。

3 讨论

UC是一种以结肠黏膜慢性炎症反应反复发作作为特征的疾病,其临床表现以腹痛、腹泻、黏液脓血便为主要特征,患者可伴有体质量下降及血清炎症因子失衡等表现^[19]。本研究采用DSS诱导小鼠UC模型,造模后模型小鼠出现粪便稀烂及血便等症状,DAI评分升高,与临床患者症状表现相似;同时结肠明显缩短,提示肠道炎症反应活跃、组织水肿及纤维化改变加重;粪便隐血实验呈阳性,反映出

结肠黏膜屏障破坏、毛细血管通透性增强;HE染色结果显示,模型组结肠黏膜上皮结构紊乱、隐窝破坏、腺体排列不整齐,并可见大量炎性细胞浸润及组织坏死,与人类UC组织学改变相似^[20];血清促炎因子TNF- α 、IL-1 β 含量升高,抗炎因子IL-10含量下降,提示体内免疫反应失衡、炎症反应持续激活。综上提示UC模型成功复制。

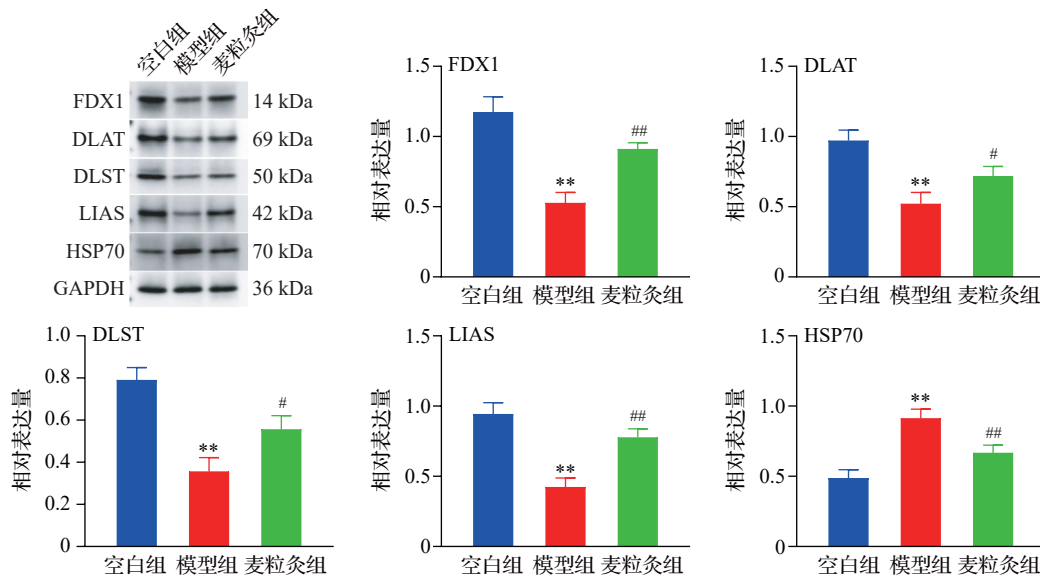
中医认为,UC症状属“泄泻”“痢疾”等范畴,其病机主要为脾虚湿盛、气滞血瘀、肠络受损。治疗上应遵循“健脾化湿、调气活血、和中止泻”之法^[21]。麦粒灸作为传统灸法的重要形式,通过温热激发经络气血、调节脏腑功能,在改善肠腑失调与炎症反应方面具有独特优势。本研究选取“中脘”“天枢”“上巨虚”三穴进行麦粒灸干预。中脘属任脉,为胃之募穴,具有健脾和胃、调理中焦之功;天枢为大肠募穴,可以通调肠腑气机、和中止泻;上巨虚属足阳明胃经,为大肠下合穴,具有疏通腑气、化湿消滞之效。三穴合用可调理脾胃、畅通肠络,进而改善肠道功能^[22-23]。本研究显示,麦粒灸干预后UC小鼠腹泻及血便等症状改善,DAI评分下降,结肠长度增加;HE染色可见黏膜结构较为完整、炎性细胞浸润减少;血清TNF- α 、IL-1 β 含量下降,IL-10含量上



注:FDX1为铁氧还蛋白1,DLAT为二氢硫辛酰胺乙酰转移酶,DLST为二氢硫辛酰胺琥珀酰转移酶,LIAS为硫辛酸合成酶,HSP70为热休克蛋白70。与空白组比较,** $P < 0.01$;与模型组比较,# $P < 0.05$,## $P < 0.01$ 。

图 10 各组小鼠结肠 FDX1、DLAT、DLST、LIAS、HSP70 mRNA 表达比较($\bar{x} \pm s$, 5 只鼠/组)

Fig. 10 Comparison of FDX1, DLAT, DLST, LIAS and HSP70 mRNA expressions in the colon of mice in the 3 groups ($\bar{x} \pm s$, 5 mice/group)



注:FDX1为铁氧还蛋白1,DLAT为二氢硫辛酰胺乙酰转移酶,DLST为二氢硫辛酰胺琥珀酰转移酶,LIAS为硫辛酸合成酶,HSP70为热休克蛋白70。与空白组比较,** $P < 0.01$;与模型组比较,# $P < 0.05$,## $P < 0.01$ 。

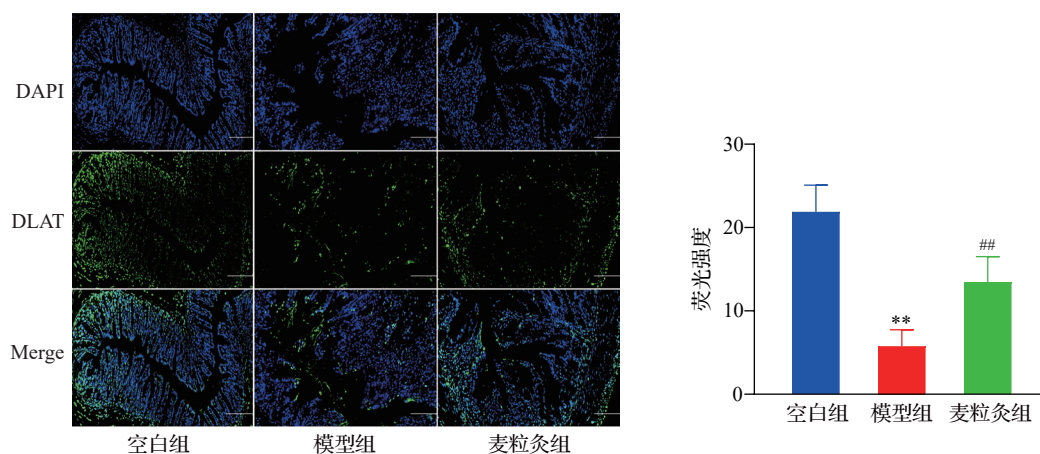
图 11 各组小鼠结肠 FDX1、DLAT、DLST、LIAS、HSP70 蛋白表达比较($\bar{x} \pm s$, 3 只鼠/组)

Fig. 11 Comparison of FDX1, DLAT, DLST, LIAS and HSP70 protein expressions in the colon of mice in the 3 groups ($\bar{x} \pm s$, 3 mice/group)

升。提示麦粒灸可有效抑制炎症反应,改善 UC 小鼠的结肠黏膜损伤。

近年来,随着细胞程序性死亡研究的不断深入,铜死亡作为一种新型的铜离子依赖性细胞死亡方式,逐渐受到关注,并被认为是与 UC 等炎症疾病的

发生发展密切相关^[24-25]。与凋亡等经典细胞死亡方式不同,铜死亡主要发生于线粒体三羧酸循环活跃的细胞,其核心过程与细胞内铜离子异常积累及脂酰化蛋白稳态失衡密切相关。过量铜可与脂酰化三羧酸循环蛋白结合,诱导相关蛋白异常聚集,并



注:DLAT为二氢硫辛酰胺乙酰转移酶。标尺=50 μm。与空白组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,## $P<0.01$ 。

图12 各组小鼠结肠DLAT免疫荧光阳性表达比较($\bar{x}\pm s$,5只鼠/组)

Fig. 12 Comparison of DLAT immunofluorescence positive expression in the colon of mice in the 3 groups ($\bar{x}\pm s$, 5 mice/group)

导致铁硫簇蛋白丢失,最终引发蛋白毒性应激和细胞死亡^[13-14,26]。其中,FDX1是参与铜死亡的重要调控分子,可介导铜离子还原及脂酰化蛋白相关的铜毒性过程;DLAT和DLST是三羧酸循环相关蛋白,也是过量铜作用的重要靶点,其脂酰化状态及蛋白聚集异常与铜死亡密切相关;LIAS参与蛋白脂酰化修饰,对铜死亡敏感性具有重要影响。需要注意的是,铜离子异常积累及持续性病理损伤可导致上述分子相关蛋白脂酰化状态及蛋白稳态发生异常,但其表达水平并不一定随铜死亡程度同步升高。与此同时,HSP70作为重要的应激保护蛋白,在细胞遭受铜毒性及蛋白毒性应激时可被诱导上调,通过分子伴侣功能参与受损蛋白稳态维持,从而发挥一定的细胞保护作用。已有研究^[27]表明,UC患者存在铜代谢异常,其外周血铜水平发生异常改变,提示铜稳态紊乱可能参与UC的发生发展;同时,铜作为维持细胞正常生理功能的重要微量元素,其异常积累可能进一步影响线粒体功能和细胞损伤,造成肠黏膜屏障破坏和炎症反应加重。多项研究^[25,28-29]结果显示,实验性结肠炎小鼠和UC患者中,结肠组织铜含量升高,FDX1和LIAS的mRNA及蛋白表达均降低,并伴随DLAT、DLST脂酰化水平降低。上述研究提示,UC的发生发展过程中可能存在铜稳态紊乱及铜死亡相关分子异常,并可能与结肠细胞损伤及线粒体功能障碍有关。本研究结果显示,与空白组相比,DSS诱导的UC模型小鼠结肠组织铜离子水平明显升高,同时FDX1、DLAT、DLST及LIAS表达降低,HSP70表达升高;此外,结肠组织线粒体结构受损,结肠细胞ROS

水平升高,低线粒体膜电位率增加。上述结果提示,DSS诱导UC过程中铜稳态异常与铜死亡相关分子改变并存,并伴随线粒体功能损伤和氧化应激增强。麦粒灸干预后,结肠组织铜离子异常积累减少,FDX1、DLAT、DLST及LIAS表达升高,HSP70表达降低,同时线粒体结构损伤得到改善,低线粒体膜电位率及ROS水平下降。综合上述结果,提示麦粒灸可能通过改善结肠铜稳态及铜死亡相关分子异常,减轻线粒体功能损伤和氧化应激,从而保护结肠上皮细胞及肠黏膜屏障,发挥改善UC的作用。

综上,麦粒灸干预可改善UC小鼠的症状,减轻结肠组织损伤,降低炎症因子水平,其作用机制可能与调控铜死亡信号通路,改善上皮细胞线粒体功能相关,该研究为麦粒灸治疗UC的临床推广提供了新的实验依据。但仍存在一定局限性,本研究主要从整体水平观察了麦粒灸对铜死亡相关分子表达的影响,尚未进一步探讨各指标之间的相互作用及其内在调控机制。未来我们将结合铜死亡相关通路的特异性抑制剂或激动剂,对关键分子进行干预验证,以进一步阐明麦粒灸调控铜死亡信号通路改善UC的分子机制。

利益冲突 所有作者声明不存在利益冲突。作者冀来喜为本刊编委,但未参与本文的审理。

参考文献

- [1] Gros B, Kaplan G G. Ulcerative colitis in adults: a review[J]. JAMA, 2023, 330(10): 951.
- [2] Gajendran M, Loganathan P, Jimenez G, et al. A comprehensive review and update on ulcerative colitis[J]. Dis Mon, 2019, 65(12): 100851.

- [3] da Silva B C, Lyra A C, Rocha R, et al. Epidemiology, demographic characteristics and prognostic predictors of ulcerative colitis[J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(28): 9458-9467.
- [4] Cui G L, Yuan A P. A systematic review of epidemiology and risk factors associated with Chinese inflammatory bowel disease[J]. *Front Med*, 2018, 5: 183.
- [5] Du L, Ha C. Epidemiology and pathogenesis of ulcerative colitis[J]. *Gastroenterol Clin N Am*, 2020, 49(4): 643-654.
- [6] Spinelli A, Bonovas S, Burisch J, et al. ECCO guidelines on therapeutics in ulcerative colitis: surgical treatment [J]. *J Crohns Colitis*, 2022, 16(2): 179-189.
- [7] Ferretti F, Cannatelli R, Monico M C, et al. An update on current pharmacotherapeutic options for the treatment of ulcerative colitis[J]. *J Clin Med*, 2022, 11(9): 2302.
- [8] Zhu T, Sun S Y, Yang S X, et al. Wheat-grain moxibustion ameliorates ulcerative colitis: suppressing intestinal inflammation, modulating gut microbiota, and restoring mucosal barrier integrity [J]. *J Inflamm Res*, 2025, 18: 12619-12636.
- [9] 李桂君, 柳越冬. 麦粒灸联合美沙拉嗪治疗脾肾阳虚型溃疡性结肠炎30例[J]. *中医外治杂志*, 2018, 27(6): 16-17.
Li G J, Liu Y D. 30 cases of ulcerative colitis with type of spleen & kidney yang-deficiency treated by moxibustion with seed-sized moxa cone and mesalazine (in Chinese)[J]. *Journal of External Therapy of Traditional Chinese Medicine*, 2018, 27(6): 16-17.
- [10] 朱涛, 李洁, 尹浩, 等. 麦粒灸对溃疡性结肠炎模型小鼠结肠组织 JAK2/STAT3 信号通路的影响[J]. *中医杂志*, 2024, 65(18): 1925-1933.
Zhu T, Li J, Yin H, et al. Effect of grain-sized moxibustion on JAK2/STAT3 signaling pathway in colon tissue of ulcerative colitis mice (in Chinese)[J]. *Journal of Traditional Chinese Medicine*, 2024, 65(18): 1925-1933.
- [11] Wu B H, Su S Y, Li Y W, et al. Dysregulated programmed cell death of intestinal epithelial cells in ulcerative colitis: molecular mechanisms and novel therapeutic interventions (review)[J]. *Int J Mol Med*, 2025, 56(6): 230.
- [12] Patankar J V, Becker C. Cell death in the gut epithelium and implications for chronic inflammation [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2020, 17(9): 543-556.
- [13] Tang D L, Chen X, Kroemer G. Cuproptosis: a copper-triggered modality of mitochondrial cell death[J]. *Cell Res*, 2022, 32(5): 417-418.
- [14] Ringstad J, Kildebo S, Thomassen Y. Serum selenium, copper, and zinc concentrations in Crohn's disease and ulcerative colitis [J]. *Scand J Gastroenterol*, 1993, 28(7): 605-608.
- [15] 针灸科学研究联盟. 针灸科学研究行动计划[J]. *针刺研究*, 2025, 50(1): 1-2.
Acupuncture Scientific Research Alliance. A plan for acupuncture-moxibustion scientific research (in Chinese)[J]. *Acupuncture Research*, 2025, 50(1): 1-2.
- [16] 方俐晖, 张佳琪, 胡蓝烁, 等. 葛根芩连汤加味方对溃疡性结肠炎模型小鼠肠黏膜屏障及上皮间质转化的影响[J]. *中医杂志*, 2024, 65(24): 2580-2588.
Fang L H, Zhang J Q, Hu L S, et al. Effects of modified Gegen Qinlian decoction (葛根芩连汤) on intestinal mucosal barrier and epithelial mesenchymal transition in ulcerative colitis model mice (in Chinese) [J]. *Journal of Traditional Chinese Medicine*, 2024, 65(24): 2580-2588.
- [17] 中国针灸学会. 实验动物常用穴位名称与定位 第3部分: 小鼠[J]. *针刺研究*, 2021, 46(5): 445-446.
China Association of Acupuncture-Moxibustion. Nomenclature and location of acupoints commonly used in laboratory animals. Part 3: mice (in Chinese)[J]. *Acupuncture Research*, 2021, 46(5): 445-446.
- [18] Murthy S N, 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] Segal J P, LeBlanc J F, Hart A L. Ulcerative colitis: an update[J]. *Clin Med (Lond)*, 2021, 21(2): 135-139.
- [20] DeRoche T C, Xiao S Y, Liu X. Histological evaluation in ulcerative colitis [J]. *Gastroenterol Rep*, 2014, 2(3): 178-192.
- [21] 李军祥, 唐旭东, 王化虹, 等. 溃疡性结肠炎中医诊疗指南(2023)[J]. *中医杂志*, 2024, 65(7): 763-768.
Li J X, Tang X D, Wang H H, et al. Guideline for diagnosis and treatment of ulcerative colitis with Chinese medicine (in Chinese)[J]. *Journal of Traditional Chinese Medicine*, 2024, 65(7): 763-768.
- [22] 徐慧超, 武荣林, 蒋子文, 等. 电针调节巨噬细胞极化改善大鼠溃疡性结肠炎的机制研究[J]. *针刺研究*, 2023, 48(10): 1033-1040.
Xu H C, Wu R L, Jiang Z W, et al. Study on the mechanism of electroacupuncture regulating macrophage polarization to improve ulcerative colitis in rats (in Chinese) [J]. *Acupuncture Research*, 2023, 48(10): 1033-1040.
- [23] 朱涛, 冀来喜, 任佳, 等. 麦粒灸调控 TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路减轻溃疡性结肠炎小鼠结肠损伤的机制研究[J]. *针刺研究*, 2024, 49(8): 836-844.
Zhu T, Ji L X, Ren J, et al. Moxibustion with seed-size moxa cones alleviates colonic injury in mice with ulcerative colitis by regulating TLR4/MyD88/NF- κ B signaling pathway (in Chinese)[J]. *Acupuncture Research*, 2024, 49(8): 836-844.
- [24] Chen Y, Li X F, Sun R, et al. A broad cuproptosis landscape in inflammatory bowel disease[J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 1031539.
- [25] Huang J K, Zhang J Q, Wang F Y, et al. Comprehensive analysis of cuproptosis-related genes in immune infiltration and diagnosis in ulcerative colitis[J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 1008146.
- [26] Chen L Y, Min J X, Wang F D. Copper homeostasis and cuproptosis in health and disease [J]. *Sig Transduct Target Ther*, 2022, 7(1): 378.
- [27] Dalekos G N, Ringstad J, Savaidis I, et al. Zinc, copper and immunological markers in the circulation of well nourished patients with ulcerative colitis [J]. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 1998, 10(4): 331-337.
- [28] Ma J Z, Ma Y M, Wang S S, et al. Penicillamine ameliorates intestinal barrier damage in dextran sulfate sodium-induced experimental colitis mice by inhibiting cuproptosis [J]. *Front Immunol*, 2025, 16: 1580963.
- [29] Bai X, Zhang F, Zhou C, et al. Identification of cuproptosis-related molecular classification and characteristic genes in ulcerative colitis[J]. *Heliyon*, 2024, 10(2): e24875.

收稿日期: 2026-01-29 修回日期: 2026-03-30
网络首发: 2026-06-10 编辑: 刘婉宁