

苯乙醇苷通过 JNK 通路调控脓毒症肠道损伤中铁死亡的机制研究

马涛¹ 周立博¹ 嵇召鑫¹ 李志华¹ 王毅¹ 高晓明² 于湘友¹

¹新疆医科大学第一附属医院重症医学中心,新疆维吾尔自治区乌鲁木齐 830054; ²新疆医学动物模型研究重点实验室,新疆维吾尔自治区乌鲁木齐 830054

通信作者:于湘友, Email: yu2796@163.com

【摘要】 目的 探讨管花肉苁蓉活性成分苯乙醇苷(PhGs)对脓毒症大鼠肠道屏障的保护作用及其是否通过调控 c-Jun 氨基末端激酶(JNK)信号通路抑制铁死亡。**方法** 选择 72 只 SPF 级雄性 SD 大鼠,按随机数字表法分为假手术组、脓毒症模型组、PhGs 组、PhGs+Erastin 组、铁死亡抑制剂去铁胺(DFO)组、铁死亡激活剂 Erastin 组,每组 12 只。假手术组仅行开腹缝合,其余各组以盲肠结扎穿孔术(CLP)制备脓毒症模型。PhGs 组制模后给予 200 mg/kg PhGs 灌胃,PhGs+Erastin 组同时给予 PhGs 灌胃(200 mg/kg)和 Erastin 腹腔注射(20 mg/kg),DFO 组皮下注射 DFO(20 mg/kg),Erastin 组腹腔注射 Erastin(20 mg/kg)。制模 24 h 后取血及小肠组织,采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测血中肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素(IL-1 β 、IL-4、IL-10)水平;采用比色法检测 D-乳酸脱氢酶(D-LDH)、丙二醛(MDA)、Fe²⁺含量;采用蛋白质免疫印迹试验(Western blotting)检测磷酸化 JNK(p-JNK)/JNK、谷胱甘肽过氧化物酶 4(GPX4)、酰基辅酶 A 合成酶长链家族成员 4(ACSL4)、紧密连接蛋白-1(Claudin-1)、二胺氧化酶(DAO)的蛋白表达水平;采用苏木素-伊红(HE)染色评估肠黏膜病理学损伤并行 Chiu 评分;采用免疫组化检测 GPX4、DAO、JNK 的阳性表达面积;在透射电镜下观察线粒体超微结构。**结果** PhGs 组 24 h 大鼠生存数量较脓毒症模型组明显提高(只:8 比 6, $P < 0.05$),TNF- α (ng/L: 30.30 $\pm$ 5.06 比 62.20 $\pm$ 3.41)、IL-1 β (ng/L: 273.90 $\pm$ 7.99 比 433.30 $\pm$ 8.42)、IL-4 (ng/L: 15.24 $\pm$ 1.86 比 26.40 $\pm$ 1.57)、IL-10 (ng/L: 28.07 $\pm$ 1.62 比 53.07 $\pm$ 3.36)、MDA (μ mol/L: 4.13 $\pm$ 0.41 比 6.67 $\pm$ 0.51)、D-LDH (kU/L: 6.77 $\pm$ 0.55 比 18.12 $\pm$ 1.03)、Fe²⁺ (μ mol/L: 16.13 $\pm$ 0.45 比 19.20 $\pm$ 0.56)水平均较脓毒症模型组明显下降(均 $P < 0.05$),且上述指标与 DFO 组比较差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$)。Western blotting 检测结果显示,PhGs 组 p-JNK/JNK 蛋白表达[(p-JNK/JNK)/ β -actin: 2.31 $\pm$ 0.13 比 3.41 $\pm$ 0.11]和 ACSL4 蛋白表达(0.44 $\pm$ 0.02 比 0.86 $\pm$ 0.13)均较脓毒症模型组明显降低,GPX4 蛋白表达(GPX4/ β -actin: 0.48 $\pm$ 0.03 比 0.31 $\pm$ 0.01)、Claudin-1 蛋白表达(Claudin-1/ β -actin: 0.97 $\pm$ 0.03 比 0.69 $\pm$ 0.03)、DAO 蛋白表达(DAO/ β -actin: 0.68 $\pm$ 0.04 比 0.32 $\pm$ 0.03)均较脓毒症模型组明显回升(均 $P < 0.05$)。HE 染色结果显示,PhGs 组 Chiu 评分较脓毒症模型组明显降低(分:1.75 $\pm$ 0.71 比 3.17 $\pm$ 0.41, $P < 0.05$)。免疫组化结果显示,PhGs 组 GPX4 阳性表达面积百分比[(24.29 $\pm$ 2.53)% 比 (16.55 $\pm$ 2.64)%]和 DAO 阳性表达面积百分比[(16.99 $\pm$ 2.34)% 比 (5.64 $\pm$ 0.35)%]均较脓毒症模型组明显升高,JNK 阳性表达面积百分比[(14.32 $\pm$ 0.77)% 比 (38.06 $\pm$ 1.72)%]较脓毒症模型组明显下降(均 $P < 0.05$)。透射电镜下观察显示,PhGs 组线粒体结构基本完整,损伤程度较脓毒症模型组明显减轻。**结论** PhGs 对 CLP 诱导的脓毒症大鼠肠道屏障具有保护作用,其机制可能与抑制 JNK 信号通路活化、上调 GPX4 并下调 ACSL4 表达从而抑制铁死亡有关。

【关键词】 脓毒症相关性肠损伤; 苯乙醇苷; c-Jun 氨基末端激酶; 铁死亡

基金项目: 国家自然科学基金(82572455)

DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2026.04.007

Mechanistic study of phenylethanoid glycosides regulating ferroptosis in septic intestinal injury via the c-Jun N-terminal kinase pathway

Ma Tao¹, Zhou Libo¹, Zhuo Zhaoxin¹, Li Zhihua¹, Wang Yi¹, Gao Xiaoming², Yu Xiangyou¹

¹Intensive Care Medicine Center, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China; ²Xinjiang Key Laboratory of Medical Animal Model Research, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Corresponding author: Yu Xiangyou, Email: yu2796@163.com

【Abstract】 Objective To investigate the protective effect of phenylethanoid glycosides (PhGs), the active constituents of Cistanche tubulosa, on the intestinal barrier in septic rats and to determine whether this effect is mediated through regulation of the c-Jun N-terminal kinase (JNK) signaling pathway to inhibit ferroptosis. **Methods** Seventy-two specific pathogen-free (SPF) male Sprague-Dawley (SD) rats were randomly assigned to six groups, 12 rats in each group, using a random number table: sham operation group, sepsis model group, PhGs group, PhGs+Erastin

group, ferroptosis inhibitor deferoxamine (DFO) group, and ferroptosis activator Erastin group. The sham operation group underwent laparotomy with closure only, while sepsis was induced in the remaining groups by cecal ligation and puncture (CLP). The PhGs group received intragastric administration of PhGs at 200 mg/kg after modeling; the PhGs+Erastin group received both intragastric PhGs (200 mg/kg) and intraperitoneal Erastin (20 mg/kg); the DFO group received subcutaneous DFO (20 mg/kg); and the Erastin group received intraperitoneal Erastin (20 mg/kg). Blood and small intestinal tissues were collected 24 hours after modeling. Serum levels of tumor necrosis factor- α (TNF- α) and interleukins (IL-1 β , IL-4, IL-10) were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Colorimetric assays were performed to determine D-lactate dehydrogenase (D-LDH), malondialdehyde (MDA), and Fe²⁺ levels. Western blotting was used to detect the protein expression levels of phosphorylated JNK (p-JNK)/JNK, glutathione peroxidase 4 (GPX4), acyl-CoA synthetase long-chain family member 4 (ACSL4), Claudin-1, and diamine oxidase (DAO). Hematoxylin-eosin (HE) staining was performed to evaluate intestinal mucosal pathological damage, and Chiu scoring was applied. Immunohistochemistry was used to assess the percentage of positive expression areas for GPX4, DAO, and JNK. Transmission electron microscopy (TEM) was employed to observe mitochondrial ultrastructure. **Results** The number of surviving rats at 24 hours in the PhGs group was significantly higher than that in the sepsis model group (8 vs. 6, $P < 0.05$). Serum levels of TNF- α (ng/L: 30.30 ± 5.06 vs. 62.20 ± 3.41), IL-1 β (ng/L: 273.90 ± 7.99 vs. 433.30 ± 8.42), IL-4 (ng/L: 15.24 ± 1.86 vs. 26.40 ± 1.57), IL-10 (ng/L: 28.07 ± 1.62 vs. 53.07 ± 3.36), MDA ($\mu\text{mol/L}$: 4.13 ± 0.41 vs. 6.67 ± 0.51), D-LDH (kU/L: 6.77 ± 0.55 vs. 18.12 ± 1.03), and Fe²⁺ ($\mu\text{mol/L}$: 16.13 ± 0.45 vs. 19.20 ± 0.56) were all significantly decreased in the PhGs group compared with the sepsis model group (all $P < 0.05$). Among the above indicators, no statistically significant differences were observed between the PhGs group and the DFO group for all parameters (all $P > 0.05$). Western blotting results showed that the p-JNK/JNK protein expression [(p-JNK/JNK)/ β -actin: 2.31 ± 0.13 vs. 3.41 ± 0.11] and ACSL4 protein expression (0.44 ± 0.02 vs. 0.86 ± 0.13) in the PhGs group were significantly lower than those in the sepsis model group, while GPX4 protein expression (GPX4/ β -actin: 0.48 ± 0.03 vs. 0.31 ± 0.01), Claudin-1 protein expression (Claudin-1/ β -actin: 0.97 ± 0.03 vs. 0.69 ± 0.03), and DAO protein expression (DAO/ β -actin: 0.68 ± 0.04 vs. 0.32 ± 0.03) were all significantly restored compared with the sepsis model group (all $P < 0.05$). HE staining demonstrated that the Chiu score in the PhGs group was significantly lower than that in the sepsis model group (1.75 ± 0.71 vs. 3.17 ± 0.41 , $P < 0.05$). Immunohistochemical results revealed that the percentages of GPX4-positive expression area [(24.29 $\pm$ 2.53)% vs. (16.55 $\pm$ 2.64)%] and DAO-positive expression area [(16.99 $\pm$ 2.34)% vs. (5.64 $\pm$ 0.35)%] in the PhGs group were significantly higher than those in the sepsis model group, while the percentage of JNK-positive expression area [(14.32 $\pm$ 0.77)% vs. (38.06 $\pm$ 1.72)%] was significantly lower (all $P < 0.05$). Transmission electron microscopy observation showed that the mitochondrial structure in the PhGs group was largely intact, with markedly attenuated damage compared with the sepsis model group. **Conclusions** PhGs exert a protective effect on the intestinal barrier in CLP-induced septic rats. The underlying mechanism may be associated with the inhibition of JNK signaling pathway activation, upregulation of GPX4, and downregulation of ACSL4 expression, thereby suppressing ferroptosis.

【Key words】 Sepsis-associated intestinal injury; Phenylethanoid glycosides; c-Jun N-terminal kinase; Ferroptosis

Fund program: National Natural Science Foundation of China (82572455)

DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2026.04.007

脓毒症是一种由感染引起宿主炎症反应失调继而危及生命的器官功能障碍综合征,最新一项全球性调查报告显示,每年约有 1 300 万例患者因脓毒症死亡^[1],这一数据占全球全因病死率的 19.7%,是同期全球早发癌症病死率的 10 倍^[2],可见脓毒症给人类健康带来的损失比癌症更加严重。而肠道作为与各个器官交互的“枢纽”,其功能不仅是消化吸收,更在免疫防御中发挥着重要作用^[3]。因脓毒症肠损伤发生时间较早而临床症状出现较晚,常易被忽视,肠屏障受损后会导致炎症级联放大和多器官功能障碍^[4],此时患者出现腹泻、腹腔高压、肠麻痹、胃潴留等症状,治疗复杂度显著增加,故早期关注并保护肠道屏障,对脓毒症的治疗和转归至关重要。

既往研究显示,脓毒症肠上皮细胞损伤主要与凋亡和焦亡有关^[5],鲜见与铁死亡相关的研究报告。但脓毒症相关的其他器官(肺^[6]、肝^[7]、心^[8]、肾^[9]、脑^[10])中的铁死亡研究已开展多年,这为脓毒症肠道的铁死亡研究提供了丰富依据。铁死亡主要是细胞受到炎症刺激,大量活性氧在胞内聚集,加速消耗和破坏了抗氧化系统^[11],使细胞膜中的多不饱和脂肪酸发生脂质过氧化,出现了细胞膜变硬、流动性变差,最终导致细胞膜破裂、生理功能消失的一个过程,属于可调控的细胞程序性死亡。c-Jun 氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK)通路在脓毒症背景下对肺、肠、肝、脑等多个器官有调控作用^[12],而且与铁死亡和细胞氧化应激反应密切相

关^[13-14]。既往研究证实, JNK 作为丝裂素活化蛋白激酶(mitogen activated protein kinase, MAPK)下游经典的炎症信号通路^[15-17], 在脓毒症和铁死亡发生过程中发挥着重要作用^[18], 该通路“级联放大”的特征与脓毒症“炎症瀑布”效应密切相关^[19], 故积极寻找经 JNK 通路调控铁死亡且有临床转化价值的活性物质, 对脓毒症的预后和早期干预有现实意义。

管花肉苁蓉作为荒漠肉苁蓉的良好替代品, 有着更高的药用价值, 同时也具备“药食同源”的潜在属性^[20]。现代药理学研究证实, 管花肉苁蓉的活性成分苯乙醇苷(phenylethanoid glycosides, PhGs)具有抗氧化、抗炎、抗应激、调节免疫、抗衰老等作用^[21], 并且中医学理论认为 PhGs 有补肾益精、润肠通便的功效^[22-23], 这与脓毒症肠道损伤的防治需求高度契合, 因此, 本研究以临床实际困难为导向, 通过构建 SD 雄性大鼠脓毒症肠道损伤模型, 验证 PhGs 经 JNK 信号通路调控铁死亡核心蛋白, 如谷胱甘肽过氧化物酶 4(glutathione peroxidase 4, GPX4)、酰基辅酶 A 合成酶长链家族成员 4(acyl-CoA synthetase long-chain family member 4, ACSL4)来实现保护大鼠肠道屏障及抑制炎症的作用, 从而为靶向肠道保护、铁死亡抑制剂的研发及临床转化提供实验依据和理论支撑。

1 材料和方法

1.1 实验动物: 选择 72 只 8~12 周龄、体质量(200±20)g 的 SPF 级雄性 SD 大鼠适应性饲养 3 d (环境温度 24℃、环境湿度 40%、光照/黑暗各 12 h、自由进食水), 制模前 12 h 禁食不禁饮。实验动物生产许可证: SCXK(新)2023-0001, 实验动物使用许可证号: SYXK(新)2023-0004。

1.2 实验动物分组及处理: 将大鼠按随机数字表法分为假手术组、脓毒症模型组、PhGs 组、PhGs+铁死亡激活剂 Erastin 组、铁死亡抑制剂去铁胺(deferoxamine, DFO)组、Erastin 组。其中假手术组仅在左下腹行切开缝合术[切口长度(1.5±0.3)cm]; 脓毒症模型组[采用盲肠结扎穿孔术(cecal ligation and puncture, CLP)制备脓毒症大鼠模型。具体操作: 结扎盲肠近心端 1 cm 处(第一切迹), 并用 20G 的针头穿刺 2 次, 挤出芝麻粒大小的粪便后还纳至腹腔, 缝合腹壁]; PhGs 组于制模后, 在大鼠完全复苏清醒后给予 200 mg/kg PhGs 灌胃(药物容积控制在 2 mL 内); PhGs+Erastin 组于制模复苏后

给予大鼠 PhGs 灌胃(200 mg/kg)和腹腔注射 Erastin(20 mg/kg); 铁死亡抑制剂 DFO 组于制模后皮下注射 DFO(20 mg/kg); Erastin 组于制模后腹腔注射 Erastin(20 mg/kg)作为阳性对照。

1.3 伦理学: 本研究符合医学伦理学标准, 并经新疆医科大学动物伦理委员会批准(审批号: IACUC-JT-20250527-08), 实验过程中动物处置方法遵循 3R 原则。

1.4 检测指标及方法: 采用异氟烷吸入麻醉(诱导条件: 氧气流速 2 L/min, 异氟烷浓度 4%, 3~5 min; 维持条件: 氧气流速 1.2 L/min, 异氟烷浓度 2%), 各组大鼠麻醉满意后先进行腹主动脉采血, 室温静置 30 min, 3 600 r/min(离心半径 8.7 cm)离心 15 min 后用 1.5 mL EP 管分装冻存于 -80℃ 冰箱, 以备后期检测血中 D-乳酸脱氢酶(D-lactate dehydrogenase, D-LDH)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)、Fe²⁺、白细胞介素(interleukins, IL-1β、IL-4、IL-10)、肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)水平。采血后取全段小肠, 截成若干份, 分别保存至 4% 的多聚甲醛、液氮、2.5% 戊二醛, 其中多聚甲醛固定标本用于苏木素-伊红(hematoxylin-eosin, HE)染色观察肠道机械屏障的完整度和免疫组化染色检测靶标蛋白的阳性表达面积; 液氮冻存的标本用于蛋白质免疫印迹试验(Western blotting)检测靶标蛋白的表达水平; 戊二醛固定的标本用于透射电镜观察各组小肠平滑肌内线粒体的铁死亡情况。

1.5 各组大鼠 24 h 存活率统计: 制模后 24 h 内动态观察各组大鼠存活情况, 统计 24 h 存活率。

1.6 各组大鼠血浆中 D-LDH、MDA、Fe²⁺、IL-1β、IL-4、IL-10、TNF-α 水平测定: 取冻存的血浆, 采用酶联免疫吸附试验(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)的双抗体夹心法测定促炎因子 IL-1β、TNF-α 和抑炎因子 IL-4、IL-10 水平, 操作严格按试剂盒说明书步骤进行。将各组大鼠血浆按预实验比例稀释 3 倍加入 96 孔板, 37℃ 孵育 2 h 后洗板 5 次, 再加入检测抗体继续孵育 1 h, 显色反应终止后于 450 nm 波长处测定吸光度(absorbance, A)值; 采用比色法测定上清液中 D-LDH、MDA 及 Fe²⁺ 含量, 操作按试剂盒说明书进行。通过酶标仪采集 A 值, 其中 D-LDH 在 450 nm 下采集 A 值, MDA 在 532 nm 和 600 nm 处检测两组数据后以二者的差值表示最终的 A 值, 最后根据标准曲线方程换算成实际浓度; Fe²⁺ 在 593 nm 处采集 A 值, 各指标检测均设置标准

品孔与空白对照孔,所有样本设立 2 个副孔,取平均值进行统计分析。

1.7 采用 Western blotting 测定各组大鼠肠组织中 JNK、磷酸化 JNK (phosphorylated, p-JNK)、GPX4、ACSL4、紧密连接蛋白-1 (Claudin-1)、二胺氧化酶 (diamine oxidase, DAO) 的蛋白表达水平:提取各组大鼠肠组织蛋白,所有实验操作均在冰上完成,尽可能减少蛋白降解,在组织裂解液中提前加入新鲜的蛋白酶抑制剂和磷酸酶抑制剂,用二喹啉甲酸 (bicinchoninic acid, BCA) 法定量后,将各组蛋白统一调整为 2 g/L 浓度,跑胶时每组上样 5 μ L,用 10% 的十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE) 分离,用孔径为 0.45 μ m 的聚偏二氟乙烯 (polyvinylidene difluoride, PVDF) 膜转膜,5% 脱脂牛奶封闭 2 h (快速封闭液 15 min),分别加入 JNK (1:2 000)、p-JNK (1:2 000)、GPX4 (1:1 500)、ACSL4 (1:2 000)、Claudin-1 (1:2 000)、DAO (1:1 000) 及 β -肌动蛋白 (β -actin, 1:10 000) 等一抗,4 $^{\circ}$ C 摇床孵育过夜,含吐温的 Tris 缓冲盐溶液 (Tris-buffered saline solution with Tween 20, TBST) 洗膜 5 次,每次 7 min,加入辣根过氧化物酶 (horseradish peroxidase, HRP) 标记的二抗 (1:10 000) 室温孵育 35 min,再次洗膜 5 次,每次 7 min,之后电化学发光 (electrochemiluminescent immunoassay, ECL) 显色,凝胶成像系统采集条带,用 Image J 软件分析目标蛋白灰度值,以 β -actin 为内参,计算相对表达量,评估铁死亡、肠道损伤及炎症通路相关蛋白在不同组别间丰度的变化。

1.8 采用 HE 染色观察肠组织机械屏障的病理学改变:将各组大鼠小肠组织在冰板上切割成 3 cm 左右的片段,迅速分装在有 4% 多聚甲醛水溶液的离心管中,固定 7 d 后进行石蜡包埋、切片、HE 染色,于光学显微镜下观察肠黏膜结构完整性、炎症细胞浸润情况,以及绒毛形态、上皮连续性和固有层炎症程度。参照 Chiu 评分标准对肠道损伤情况进行分级,0 分为正常黏膜,5 分为严重坏死脱落,最终取每组均值作为该样本的肠组织病理学评分。

1.9 采用免疫组化法检测各组大鼠 GPX4、DAO、JNK 蛋白的阳性表达面积:前期处理过程与 HE 染色相同,每组肠组织进行石蜡包埋后连续切片,厚度为 4 μ m,60 $^{\circ}$ C 烤箱烤片 2 h 后进行常规脱蜡至水,后将切片浸泡在柠檬酸盐缓冲液中用微波炉加

热 100 $^{\circ}$ C、8 min 进行抗原修复,再用 3% 过氧化氢溶液室温孵育 20 min 消除内源性过氧化物酶活性,滴加山羊血清室温封闭 30 min,去除多余液体后加入 GPX4、DAO、JNK 蛋白一抗,4 $^{\circ}$ C 湿盒避光孵育过夜;次日室温复温 1 h 后用 TBST 洗涤 3 次,每次 5 min,加 HRP 标记的二抗室温孵育 1 h,3,3'-二氨基联苯胺 (3,3'-diaminobenzidine, DAB) 显色,苏木素复染,脱水透明,中性树脂封片。每张切片在光学显微镜下随机选取 5 个视野,采用 Image J 软件分析各组 GPX4、DAO、JNK 蛋白的平均阳性面积,然后用阳性面积占总面积的百分比来表示目标蛋白在肠组织中的实际表达量。

1.10 透射电镜下观察小肠平滑肌细胞内线粒体形态:将新鲜的小肠组织切割成 1 mm $\times$ 1 mm $\times$ 3 mm 的条状,立即放入提前 4 $^{\circ}$ C 预冷的 2.5% 戊二醛中,避光固定 24 h,再经 1% 四氧化锇固定 2 h,梯度丙酮脱水,环氧树脂包埋,用超薄切片机切片后再次用醋酸铀-柠檬酸铅染色,置于透射电镜下观察线粒体结构变化,重点观察线粒体双膜结构的完整性、嵴的排列密度、颜色及大小等情况,从亚细胞形态观察 PhGs 对炎症通路及铁死亡的调控作用。

1.11 统计学方法及样本量估算:使用 GraphPad Prism 10.0 软件进行统计分析,符合正态分布的计量数据以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x}\pm s$) 表示,两组间比较采用两独立样本 t 检验,多组间比较采用单因素方差分析,所有数据均进行正态性和方差齐性检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。本研究样本量计算使用 G*Power 3.1 软件进行,基于前期文献调阅,设定检验效能 $1-\beta=0.8$, $\alpha=0.05$,预期效应量 $f=0.4$,针对 6 组单因素方差分析,计算出每组至少需要 10 只,考虑到脓毒症模型动物病死率约 20%,最终确定每组 12 只,以确保最终获得足够的有效数据,故后期每组大鼠的统计数量由制模、干预后的实际数量为主。

2 结果

2.1 各组大鼠制模后 24 h 死亡率统计:各组大鼠在制模后进行存活统计,动态观察 24 h,各组每 2 h 统计一次,存活状态记“0”,死亡记“1”,之后将数据汇总,输入 GraphPad Prism 10.0 软件生存模块进行分析,假手术组无死亡 (12 只),PhGs 组于制模后 24 h 内存活数量较脓毒症模型组提高 (只:8 比 6),与 DFO 组 (8 只) 比较差异无统计学意义 ($P>0.05$),较 Erastin 组 (5 只) 亦明显提高,差异有统计学意义

($P<0.05$)。提示 PhGs 可提高脓毒症大鼠的存活率,并且这种效果与铁死亡抑制剂类似。

2.2 各组大鼠血中炎症因子含量比较:因 SD 大鼠的 24 h 脓毒症模型属于中晚期脓毒症,大多数炎症因子血中含量会在此时达峰,故在此刻收集血样检测,不但能评估药物干预的效果,还能判断模型的稳定性。为了使结论更客观,故选择了促炎因子 TNF- α 、IL-1 β 和抗炎因子 IL-4 和 IL-10,从两个方向综合判断炎症峰值时各组炎症因子的表达水平(表 1)。6 组大鼠中假手术组各指标均为最低值,代表生理状态下炎症指标的基线水平,Erastin 组各炎症指标水平最高,代表脓毒症状态下铁死亡激发后的阳性对照。现将各组数据进行综合分析,与脓毒症模型组比较,PhGs 组、PhGs+Erastin 组、DFO 组的“TNF- α 、IL-1 β 、IL-4、IL-10”均有不同程度的下降(均 $P<0.05$);与 PhGs 组比较,DFO 组的上述指标与其均无统计学差异(均 $P>0.05$),而 PhGs+Erastin 组和 Erastin 组的上述指标与其均有统计学差异(均 $P<0.05$),提示 PhGs 在脓毒症背景下的抗炎、抗氧化效果与 DFO 相当,且具有一定的抗铁死亡属性,具体作用机制会在本实验后半部分进一步验证。

表 1 各组大鼠血中炎症因子水平比较($\bar{x} \pm s$)				
组别	动物数 (只)	TNF- α (ng/L)	IL-1 β (ng/L)	
假手术组	12	7.90 $\pm$ 1.34	11.09 $\pm$ 0.38	
脓毒症模型组	6	62.20 $\pm$ 3.41 ^a	433.30 $\pm$ 8.42 ^a	
PhGs 组	8	30.30 $\pm$ 5.06 ^b	273.90 $\pm$ 7.99 ^b	
PhGs+Erastin 组	7	38.02 $\pm$ 1.07 ^{bc}	373.00 $\pm$ 9.75 ^{bc}	
DFO 组	8	30.56 $\pm$ 2.98 ^b	234.20 $\pm$ 16.04 ^b	
Erastin 组	5	91.37 $\pm$ 3.35 ^{bc}	547.50 $\pm$ 20.60 ^{bc}	
F 值		634.80	1 823.00	
P 值		<0.05	<0.05	
组别	动物数 (只)	IL-4 (ng/L)	IL-10 (ng/L)	
假手术组	12	6.81 $\pm$ 1.99	14.20 $\pm$ 2.88	
脓毒症模型组	6	26.40 $\pm$ 1.57 ^a	53.07 $\pm$ 3.36 ^a	
PhGs 组	8	15.24 $\pm$ 1.86 ^b	28.07 $\pm$ 1.62 ^b	
PhGs+Erastin 组	7	21.64 $\pm$ 2.39 ^{bc}	35.81 $\pm$ 2.09 ^{bc}	
DFO 组	8	15.91 $\pm$ 1.31 ^b	23.87 $\pm$ 1.73 ^b	
Erastin 组	5	42.01 $\pm$ 0.15 ^{bc}	121.10 $\pm$ 6.49 ^{bc}	
F 值		308.60	983.40	
P 值		<0.05	<0.05	

注:与假手术组比较,^a $P<0.05$;与脓毒症模型组比较,^b $P<0.05$;与 PhGs 组比较,^c $P<0.05$

2.3 各组大鼠血浆中铁死亡及肠道损伤指标比较(表 2):与假手术组比较,脓毒症模型组的 MDA、

D-LDH 及 Fe²⁺ 水平均明显升高(均 $P<0.05$);各药物干预组与脓毒症模型组比较,除了 PhGs+Erastin 组的 MDA 差异无统计学意义($P>0.05$),其余各组的 MDA、D-LDH、Fe²⁺ 水平差异均有统计学意义(均 $P<0.05$);与 PhGs 组比较,DFO 组各指标差异均无统计学意义(均 $P>0.05$),PhGs+Erastin 组中除 D-LDH 外,MDA 和 Fe²⁺ 差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)。

表 2 各组大鼠血中铁死亡及肠道损伤指标比较($\bar{x} \pm s$)				
组别	动物数 (只)	MDA (μ mol/L)	D-LDH (kU/L)	Fe ²⁺ (μ mol/L)
假手术组	12	3.14 $\pm$ 0.09	2.01 $\pm$ 1.79	14.15 $\pm$ 0.88
脓毒症模型组	6	6.67 $\pm$ 0.51 ^a	18.12 $\pm$ 1.03 ^a	19.20 $\pm$ 0.56 ^a
PhGs 组	8	4.13 $\pm$ 0.41 ^b	6.77 $\pm$ 0.55 ^b	16.13 $\pm$ 0.45 ^b
PhGs+Erastin 组	7	5.95 $\pm$ 0.14 ^c	7.87 $\pm$ 1.05 ^b	17.89 $\pm$ 0.36 ^{bc}
DFO 组	8	3.55 $\pm$ 0.18 ^b	5.49 $\pm$ 1.05 ^b	15.35 $\pm$ 0.68 ^b
Erastin 组	5	8.02 $\pm$ 0.48 ^{bc}	36.34 $\pm$ 1.08 ^{bc}	27.22 $\pm$ 1.40 ^{bc}
F 值		210.20	635.10	231.90
P 值		<0.05	<0.05	<0.05

注:与假手术组比较,^a $P<0.05$;与脓毒症模型组比较,^b $P<0.05$;与 PhGs 组比较,^c $P<0.05$ 。

2.4 各组大鼠肠组织中 JNK、p-JNK、GPX4、ACSL4、Claudin-1、DAO 蛋白表达水平比较(图 1;表 3):与假手术组比较,脓毒症模型组中的 p-JNK/JNK 和 ACSL4 蛋白表达量明显升高(均 $P<0.05$),GPX4、Claudin-1、DAO 蛋白表达量明显下降(均 $P<0.05$),提示炎症通路激活、铁死亡被触发;与脓毒症模型组比较,PhGs 组、PhGs+Erastin 组、DFO 组的 p-JNK/JNK 和 ACSL4 蛋白表达量明显下降(均 $P<0.05$),GPX4、Claudin-1、DAO 蛋白表达量明显升高(均 $P<0.05$),而 Erastin 组的上述指标水平较脓毒症模型组进一步恶化(均 $P<0.05$),提示各组干预有效且铁死亡阳性激发组设立成功。与 PhGs 组比较,DFO 组各指标比较差异均无统计学意义(均 $P>0.05$),而 PhGs+Erastin 组 p-JNK/JNK 和 ACSL4 的蛋白表达水平进一步升高(均 $P<0.05$),GPX4、Claudin-1、DAO 的蛋白表达水平进一步下降(均 $P<0.05$),提示 Erastin 可在一定程度上减弱 PhGs 的抗炎和肠道保护作用。上述指标综合分析可知,“炎症-铁死亡”双循环是构成脓毒症肠屏障损伤的主要“驱动”因素,而 PhGs 可以同步参与抗炎、抗氧化、铁死亡调控机制,较单靶点干预更具系统稳定性。

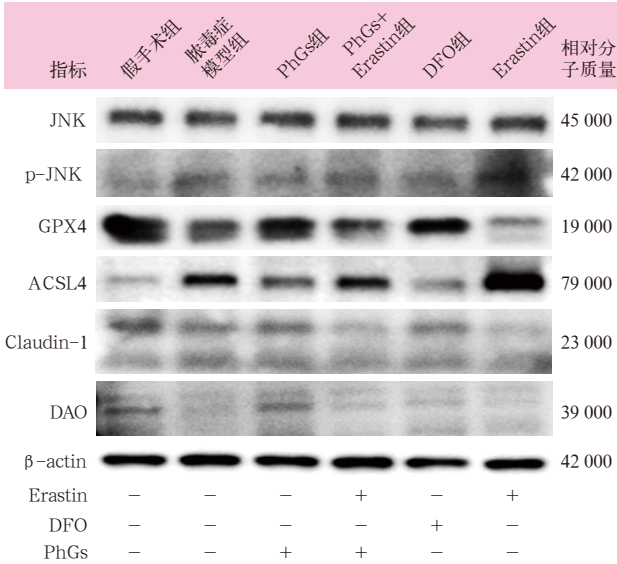
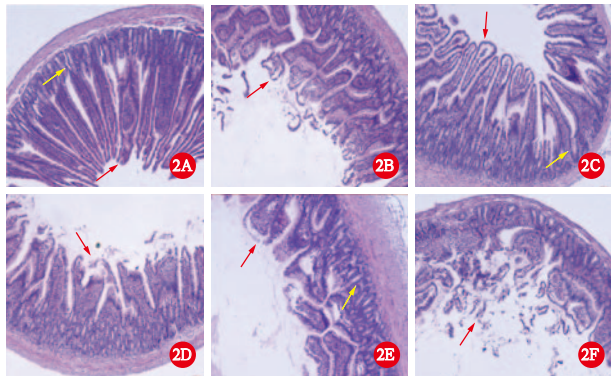


图 1 Western blotting 检测各组大鼠肠组织中 JNK、p-JNK、GPX4、ACSL4、Claudin-1、DAO 的蛋白表达水平

2.5 各组大鼠肠组织病理学观察及 Chiu 评分比较 (图 2; 表 4): 光镜下观察显示,假手术组小肠绒毛细长、规整,绒毛顶端无破损、溶解现象,小肠隐窝排列紧密,毛细血管未扩张充血,小肠隐窝丰富、上皮完整;脓毒症模型组肠道绒毛变短、变宽,顶端出现绒毛破裂,绒毛内部及基底层炎症细胞浸润明显;PhGs 组较脓毒症模型组绒毛顶端崩解现象减轻;PhGs+Erastin 组绒毛顶端崩解现象较脓毒症模型组有所缓解,但小肠隐窝仍大部分消失。DFO 组小肠绒毛顶端虽有破裂、崩解,但较脓毒症模型组、PhGs+Erastin 组明显缓解;Erastin 组小肠绒毛大量溶解、脱落,黏膜肌层与黏膜下层出现分离,毛细血管扩张,炎症细胞浸润明显。对各组 HE 切片进行肠道 Chiu 评分,与假手术组比较,脓毒症模型组的评分明显升高 ($P<0.05$),提示造模成功;与脓毒症模型组比较,PhGs 组、PhGs+Erastin 组、DFO 组的

分值均有不同程度的下降,且差异均有统计学意义 (均 $P<0.05$)。与 PhGs 组比较,除 Erastin 组分值进一步升高外 ($P<0.05$),PhGs+Erastin 组、DFO 组分值差异无统计学意义 (均 $P>0.05$)。



注: A 为假手术组, B 为脓毒症模型组, C 为 PhGs 组, D 为 PhGs+Erastin 组, E 为 DFO 组, F 为 Erastin 组; 黄色箭头代表小肠隐窝,红色箭头代表小肠绒毛

图 2 光镜下观察各组大鼠肠组织的病理学改变 HE 染色 低倍放大

表 4 各组大鼠肠组织 Chiu 评分比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数 (只)	Chiu 评分 (分)
假手术组	12	0.58 ± 0.51
脓毒症模型组	6	3.17 ± 0.41 ^a
PhGs 组	8	1.75 ± 0.71 ^b
PhGs+Erastin 组	7	1.78 ± 0.83 ^b
DFO 组	8	1.88 ± 0.84 ^b
Erastin 组	5	4.60 ± 0.55 ^{bc}
F 值		29.820
P 值		0.001

注: 与假手术组比较, ^a $P<0.05$; 与脓毒症模型组比较, ^b $P<0.05$; 与 PhGs 组比较, ^c $P<0.05$

2.6 各组大鼠肠道损伤中线粒体形态及铁死亡相关指标阳性表达情况比较 (图 3~4; 表 5): 与脓毒症模型组比较, PhGs 组、PhGs+Erastin 组、DFO 组中 GPX4 和 DAO 的阳性面积百分比均有不同程度

表 3 各组大鼠肠组织中相关蛋白的表达情况 ($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数 (只)	(p-JNK/JNK)/β-actin	GPX4 蛋白表达 (GPX4/β-actin)	ACSL4 蛋白表达 (ACSL4/β-actin)	Claudin-1 蛋白表达 (Claudin-1/β-actin)	DAO 蛋白表达 (DAO/β-actin)
假手术组	12	2.04 ± 0.07	0.63 ± 0.03	0.22 ± 0.02	1.27 ± 0.01	0.89 ± 0.03
脓毒症模型组	6	3.41 ± 0.11 ^a	0.31 ± 0.01 ^a	0.86 ± 0.13 ^a	0.69 ± 0.03 ^a	0.32 ± 0.03 ^a
PhGs 组	8	2.31 ± 0.13 ^b	0.48 ± 0.03 ^b	0.44 ± 0.02 ^b	0.97 ± 0.03 ^b	0.68 ± 0.04 ^b
PhGs+Erastin 组	7	2.46 ± 0.13 ^{bc}	0.41 ± 0.01 ^{bc}	0.64 ± 0.02 ^{bc}	0.90 ± 0.04 ^{bc}	0.52 ± 0.05 ^{bc}
DFO 组	8	2.58 ± 0.10 ^b	0.51 ± 0.02 ^b	0.45 ± 0.02 ^b	1.11 ± 0.07 ^b	0.67 ± 0.02 ^b
Erastin 组	5	3.83 ± 0.15 ^{bc}	0.22 ± 0.03 ^{bc}	1.21 ± 0.09 ^{bc}	0.56 ± 0.03 ^{bc}	0.21 ± 0.02 ^{bc}
F 值		107.200	111.800	79.940	126.700	169.100
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注: 与假手术组比较, ^a $P<0.05$; 与脓毒症模型组比较, ^b $P<0.05$; 与 PhGs 组比较, ^c $P<0.05$

的升高,且差异均有统计学意义(均 $P<0.05$),而 JNK 的阳性面积百分比则出现回落($P<0.05$);与 PhGs 组比较,PhGs+Erastin 组中的上述指标阳性面积百分比差异均无统计学意义(均 $P>0.05$);提示 PhGs 在肠道保护、炎症抑制方面存在积极意义,并且与铁死亡激动剂存在拮抗作用。为了进一步确定铁死亡在各组中作用,本研究在透射电镜下观察线粒体结构变更,结果显示,假手术组线粒体形态规整、双膜结构存在、线粒体嵴丰富,脓毒症模型组线粒体膜部分溶解、线粒体嵴消失,PhGs 组线粒体存在损伤,但与脓毒症模型组比较,形态及基础结构均较好。PhGs+Erastin 组线粒体水肿明显,尤其是线粒体嵴出现空泡现象,但未出现崩解,线粒体的主要结构得到了一定程度的保留。DFO 组线粒体形态也较脓毒症模型组有所恢复,主要体现在双膜结构的修复和线粒体嵴的完整度方面。而 Erastin 组出现线粒体体积变小、嵴消失、颜色加深,部分线粒体膜溶解,这是铁死亡在线粒体上的典型表现,综合来看,PhGs 组线粒体结构被很大程度保留,其效果较 PhGs+Erastin 组好,与 DFO 组类似,进一步说明 PhGs 可通过抑制铁死亡实现对线粒体结构的保护作用。

表 5 各组大鼠肠组织中 GPX4、DAO 以及 JNK 的阳性面积百分比比较($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数 (只)	GPX4 (%)	DAO (%)	JNK (%)
假手术组	12	45.06 $\pm$ 3.37	18.47 $\pm$ 4.34	7.41 $\pm$ 0.45
脓毒症模型组	6	16.55 $\pm$ 2.64 ^a	5.64 $\pm$ 0.35 ^a	38.06 $\pm$ 1.72 ^a
PhGs 组	8	24.29 $\pm$ 2.53 ^b	16.99 $\pm$ 2.34 ^b	14.32 $\pm$ 0.77 ^b
PhGs+Erastin 组	7	21.78 $\pm$ 3.53 ^b	13.90 $\pm$ 1.95 ^b	15.56 $\pm$ 1.05 ^b
DFO 组	8	31.68 $\pm$ 2.95 ^{bc}	18.38 $\pm$ 3.17 ^b	12.19 $\pm$ 1.57 ^{bc}
Erastin 组	5	6.82 $\pm$ 1.14 ^{bc}	2.22 $\pm$ 0.11 ^c	48.53 $\pm$ 1.95 ^{bc}
F 值		162.500	52.480	916.600
P 值		0.001	0.001	0.001

注:与假手术组比较,^a $P<0.05$;与脓毒症模型组比较,^b $P<0.05$;与 PhGs 组比较,^c $P<0.05$

3 讨论

脓毒症的发病机制复杂、治疗困难与诱发炎症的通路较多、个体差异大、炎症级联放大的时间窗口较短、免疫功能紊乱有关^[24],因常伴多器官功能障碍,单一器官、单一靶点的干预难以扭转病情进展,故积极保护炎症“枢纽”器官-肠道屏障的完整性对其他器官的恢复有积极意义。铁死亡的研究已有十几年的发展历程^[25],近几年来,在脓毒症背景下的研究日益受到关注^[26],但在脓毒症肠道损伤的领域中,铁死亡的报告仍较少,肠道作为与外界相

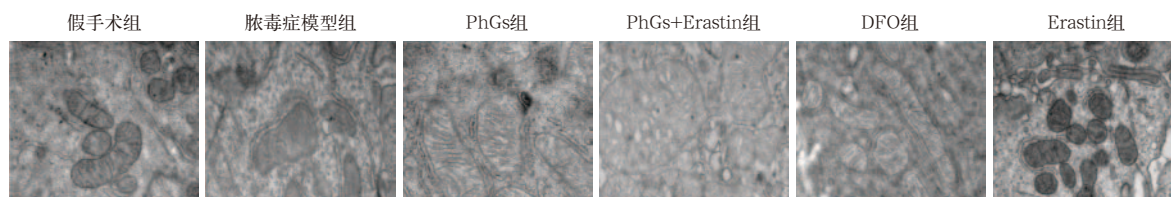


图 3 透射电镜下观察各组大鼠肠组织线粒体结构改变 醋酸铀-柠檬酸铅染色 低倍放大

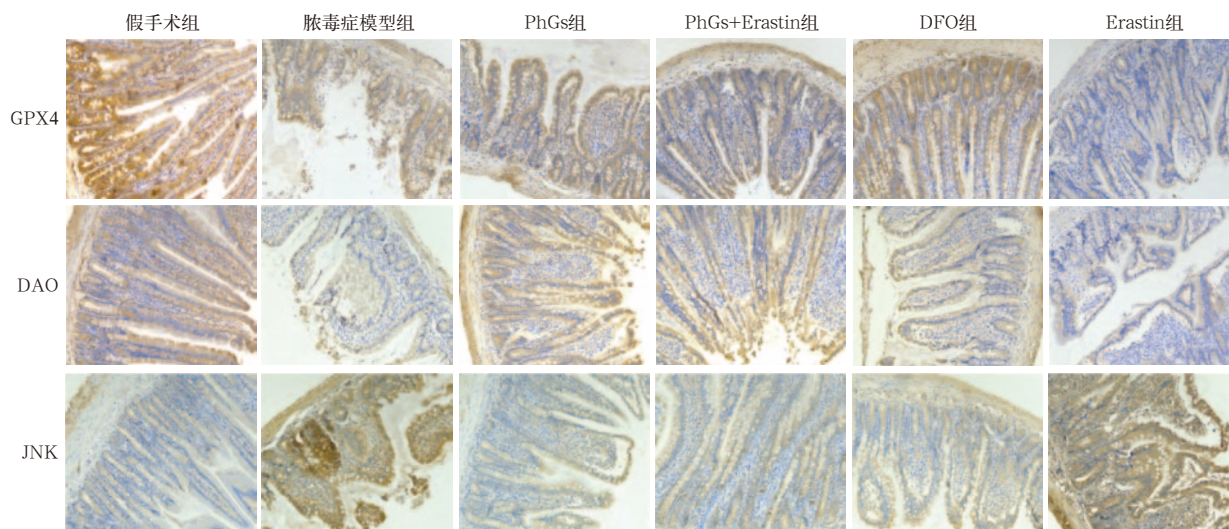


图 4 免疫组化观察各组大鼠肠组织中 GPX4、DAO、JNK 的阳性面积表达 免疫组化染色 低倍放大

通、体内最大的消化和排泄器官,除了吸收营养物质和水分外,还参与免疫调节和代谢重编程^[27]。肠道内数以亿计的神经能独立完成蠕动、吸收、分泌等功能^[28],并且通过负向调控与大脑进行沟通,调整神经递质的释放,从而对情绪、认知行为产生影响。此外,肠道菌群通过对物质的分解、合成来保持机体的生理平衡,同时与各个器官存在关联^[29],如“脑-肠轴^[30]”“心-肠轴^[31]”“肺-肠轴^[32]”“肾-肠轴^[33]”“肝-肠轴^[34]”等,所以在脓毒症背景下,保护肠道功能非常重要。从生理发育的角度看,肠道拥有的“机械屏障”“化学屏障”“免疫屏障”“生物屏障”多重屏障保护,也说明肠道在维护机体健康中发挥着不可替代的作用。

JNK 是 MAPK 信号通路的下游靶点,是真核生物中调控增殖、凋亡、应激、炎症的关键通路^[35],主要通过 MAPK 激酶的激酶—MAPK 激酶—MAPK (MAP3K—MAP2K—MAPK) 3 层级联放大效应,将细胞外的信号转移到细胞内,该通路包括细胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinase, ERK1/2/3/4)、p38 MAPK、JNK1/2/3、ERK5 几个亚族,其中与炎症应激和免疫调节最相关的是 JNK 亚族^[36],当细胞膜接收到 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 等炎症因子刺激或 Toll 样受体 4/ 髓样分化因子 88(Toll-like receptor 4/myeloid differentiation factor 88, TLR4/MyD88) 等通路活化的信号后, JNK1/2/3 会进一步被激活,上调核转录因子- κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 等通路实现炎症的指数级放大效应,若能有效抑制该通路,会对脓毒症的炎症“瀑布”反应起到很好的抑制作用^[37]。既往研究显示,PhGs 通过改善肠道菌群丰度可增强肠道屏障功能、提升抗氧化能力^[38],这为后期进行肠道菌群和相关代谢产物的研究提供了线索。本研究结果显示,PhGs 除了能增加 GPX4 在肠道组织中的表达量、减少铁死亡代谢产物 MDA 的生成、保护线粒体物理结构的完整性外,还能抑制炎症放大的 JNK 信号通路,从抗炎和抑制铁死亡 2 个角度实现对肠道屏障的保护作用。从 PhGs 组、PhGs+Erastin、Erastin 组各项数据中可以看出,采用 PhGs 干预后,Erastin 的药效被显著削弱,提示二者存在拮抗作用;从脓毒症模型组、PhGs 组、Erastin 组线粒体形态的改变程度上,再次验证了 PhGs 有修复线粒体膜结构和抵抗铁死亡的功能。又因管花肉苁蓉有“药食同源”的潜在特性,在向大众普及应

用中有天然优势,其安全性高、不良反应小^[23],与现代医学倡导的“治未病”理念高度契合,为开发脓毒症肠道保护药物提供了初步的实验依据。

本研究结果显示,脓毒症背景下肠屏障损伤与 JNK 通路的激活高度关联,而 PhGs 干预后不仅能显著抑制铁死亡相关线粒体损伤,更能通过调控 JNK 信号通路抑制炎症因子的级联放大,减轻肠道上皮细胞损伤及紧密连接蛋白降解,从而有效维持肠道屏障的完整性。本研究的局限性:① 本研究涉及的药物安全性依据由文献获得^[39],所使用的药物浓度属于安全范围,但未进行“量效关系”的探索。② 因实验条件限制,未进行靶向 JNK 通路的抑制或激发实验,主要依据文献^[5-19]阐明 JNK 参与铁死亡路径,本实验是通过 PhGs 和 Erastin 对 JNK 通路进行双向调节,来同步观察炎症指标和铁死亡指标的变化。③ 未在细胞实验中验证上述通路的表达和铁死亡的干预情况;故该研究结果仅代表 PhGs 对脓毒症大鼠肠道屏障有保护作用,人体的应用目前仅停留在保健品阶段,达到急救应用和重病预防的层面还需后期严格的临床研究。

4 结 论

本研究在 SD 大鼠 CLP 模型中探讨管花肉苁蓉活性成分 PhGs 对 JNK 信号通路及铁死亡的调控作用,观察肠道屏障损伤是否与二者存在关联。研究组别上本研究设置了铁死亡激动剂和抑制剂的“拯救实验”及“药物互作”验证,旨在说明 PhGs 具有阻断“炎症-铁死亡”循环、保护肠道屏障的潜在作用。故本研究初步得出以下结论:① 苯乙醇苷可显著提高脓毒症大鼠 24 h 存活率(PhGs 组 8 只较脓毒症模型组 6 只存活率提升 17%)。② 苯乙醇苷能抑制 JNK 通路的活化、降低血中有关炎症、铁死亡及肠道损伤指标水平。③ 苯乙醇苷通过上调 GPX4、下调 ACSL4 表达,减轻肠黏膜病理损伤并维持线粒体结构完整。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Prescott HC, Antonelli M, Alhazzani W, et al. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of sepsis and septic shock 2026 [J]. Crit Care Med, 2026, 54 (4): 725–812. DOI: 10.1097/CCM.0000000000007075.
- [2] Yan WX, Liu M, Jing WZ, et al. Disparities in the incidence, mortality and disability-adjusted life years of 33 early-onset cancer groups globally, 2012–2021: a systematic analysis [J]. Exp Hematol Oncol, 2025, 14 (1): 38. DOI: 10.1186/s40164-025-00634-7.
- [3] Neurath MF, Artis D, Becker C. The intestinal barrier: a pivotal role in health, inflammation, and cancer [J]. Lancet Gastroenterol Hepatol, 2025, 10 (6): 573–592. DOI: 10.1016/S2468-1253(24)

- 00390-X.
- [4] Liu L, Yue Q, Chen JH, et al. Intestinal injury signaling pathway in sepsis [J]. *Front Immunol*, 2025, 16: 1620965. DOI: 10.3389/fimmu.2025.1620965.
 - [5] Zhao CX, Lin S. PANoptosis in intestinal epithelium: its significance in inflammatory bowel disease and a potential novel therapeutic target for natural products [J]. *Front Immunol*, 2024, 15: 1507065. DOI: 10.3389/fimmu.2024.1507065.
 - [6] Xiao F, Li DH, Yu M, et al. Ferrostatin-1 protects against early sepsis-induced acute lung injury by suppressing lipid peroxidation-driven NINJ1-mediated DAMP release and neutrophil activation [J]. *Redox Biol*, 2026, 90: 104004. DOI: 10.1016/j.redox.2026.104004.
 - [7] Yin YP, Mu F, Zhang LL, et al. Wedelolactone activates the PI3K/AKT/NRF2 and SLC7A11/GPX4 signalling pathways to alleviate oxidative stress and ferroptosis and improve sepsis-induced liver injury [J]. *J Ethnopharmacol*, 2025, 344: 119557. DOI: 10.1016/j.jep.2025.119557.
 - [8] Chen Z, Cao Z, Gui F, et al. TMEM43 protects against sepsis-induced cardiac injury via inhibiting ferroptosis in mice [J]. *Cells*, 2022, 11 (19): 2992. DOI: 10.3390/cells11192992.
 - [9] Xiao Z, Zhang J, Qiu ZM, et al. Ferroptosis and inflammation are modulated by the NFIL3-ACSL4 axis in sepsis associated-acute kidney injury [J]. *Cell Death Discov*, 2024, 10 (1): 349. DOI: 10.1038/s41420-024-02113-0.
 - [10] Yang X, Duan HF, Li SR, et al. Yap1 alleviates sepsis associated encephalopathy by inhibiting hippocampus ferroptosis via maintaining mitochondrial dynamic homeostasis [J]. *J Cell Mol Med*, 2024, 28 (19): e70156. DOI: 10.1111/jcmm.70156.
 - [11] Gomar S, Bou R, Puertas FJ, et al. Current insights into glutathione depletion in adult septic patients [J]. *Antioxidants (Basel)*, 2025, 14 (9): 1033. DOI: 10.3390/antiox14091033.
 - [12] Gagnani R, Srivastava M, Suri M, et al. A focus on c-Jun-N-terminal kinase signaling in sepsis-associated multiple organ dysfunction: mechanisms and therapeutic strategies [J]. *Int Immunopharmacol*, 2024, 143 (Pt 3): 113552. DOI: 10.1016/j.intimp.2024.113552.
 - [13] Qin JH, Ma S, Wang JY, et al. FAK/SRC-JNK axis promotes ferroptosis via upregulating ACSL4 expression [J]. *Cell Death Dis*, 2026, 17 (1): 328. DOI: 10.1038/s41419-026-08570-y.
 - [14] Lee A, Gentzler A, Fitzpatrick D, et al. Mutually exclusive alternative pre-mRNA splicing promotes adaptive metabolic stress signaling by JNK [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2026, 123 (12): e2527162123. DOI: 10.1073/pnas.2527162123.
 - [15] Jiang CX, Shi QZ, Yang J, et al. Ceria nanozyme coordination with curcumin for treatment of sepsis-induced cardiac injury by inhibiting ferroptosis and inflammation [J]. *J Adv Res*, 2024, 63: 159-170. DOI: 10.1016/j.jare.2023.10.011.
 - [16] Ling XY, Wei SY, Ling DD, et al. Irf7 regulates the expression of Srg3 and ferroptosis axis aggravated sepsis-induced acute lung injury [J]. *Cell Mol Biol Lett*, 2023, 28 (1): 91. DOI: 10.1186/s11658-023-00495-0.
 - [17] Zheng Q, Xing JH, Li XZ, et al. PRDM16 suppresses ferroptosis to protect against sepsis-associated acute kidney injury by targeting the NRF2/GPX4 axis [J]. *Redox Biol*, 2024, 78: 103417. DOI: 10.1016/j.redox.2024.103417.
 - [18] Wang XY, Tan X, Zhang JP, et al. The emerging roles of MAPK-AMPK in ferroptosis regulatory network [J]. *Cell Commun Signal*, 2023, 21 (1): 200. DOI: 10.1186/s12964-023-01170-9.
 - [19] Li JX, Liu H, Shan ZT, et al. Molecular mechanisms and potential implications of ferroptosis, cuproptosis, and disulfidoptosis in septic lung injury [J]. *Front Med (Lausanne)*, 2025, 12: 1615264. DOI: 10.3389/fmed.2025.1615264.
 - [20] Zhang XY, Yan KQ, Bao XK, et al. Cistanche deserticola-derived exosome-like nanovesicles target the microbiota-GABA signaling axis to ameliorate loperamide-induced constipation [J]. *Front Pharmacol*, 2025, 16: 1693366. DOI: 10.3389/fphar.2025.1693366.
 - [21] Zhang SG, Ma YW, Chen J, et al. Chemical composition, pharmacological effects, and parasitic mechanisms of Cistanche deserticola: an update [J]. *Phytomedicine*, 2024, 132: 155808. DOI: 10.1016/j.phymed.2024.155808.
 - [22] Delicato A, Masi M, de Lara F, et al. *In vitro* characterization of iridoid and phenylethanoid glycosides from Cistanche phelypaea for nutraceutical and pharmacological applications [J]. *Phytother Res*, 2022, 36 (11): 4155-4166. DOI: 10.1002/ptr.7548.
 - [23] Zhou SQ, Feng D, Zhou YX, et al. Analysis of the active ingredients and health applications of cistanche [J]. *Front Nutr*, 2023, 10: 1101182. DOI: 10.3389/fnut.2023.1101182.
 - [24] Tang LX, Zhang WZ, Liao Y, et al. Decoding sepsis: unraveling key signaling pathways for targeted therapies [J]. *Research (Wash D C)*, 2025, 8: 0811. DOI: 10.34133/research.0811.
 - [25] Dixon SJ, Lemberg KM, Lamprecht MR, et al. Ferroptosis: an iron-dependent form of nonapoptotic cell death [J]. *Cell*, 2012, 149 (5): 1060-1072. DOI: 10.1016/j.cell.2012.03.042.
 - [26] Zeng ZR, Deng J, Wang G, et al. Ferroptosis-related protein biomarkers for diagnosis, differential diagnosis, and short-term mortality in patients with sepsis in the intensive care unit [J]. *Front Immunol*, 2025, 16: 1528986. DOI: 10.3389/fimmu.2025.1528986.
 - [27] Li Y, Liu YH, Wei XB, et al. Probiotic extracellular vesicles reprogram macrophage immunometabolism: from gut crosstalk to host health [J]. *Gut Microbes*, 2026, 18 (1): 2614115. DOI: 10.1080/19490976.2026.2614115.
 - [28] Duan HY, Cai XQ, Luan YY, et al. Regulation of the autonomic nervous system on intestine [J]. *Front Physiol*, 2021, 12: 700129. DOI: 10.3389/fphys.2021.700129.
 - [29] Zhang ZL, Qin HW. Crosstalk mechanisms among gut microbiota, novel programmed cell death, and macrophage polarization [J]. *Pharmacol Res*, 2026, 224: 108091. DOI: 10.1016/j.phrs.2026.108091.
 - [30] Zhao LN, Zhang Z, Wang P, et al. NHH promotes sepsis-associated encephalopathy with the expression of AQP4 in astrocytes through the gut-brain axis [J]. *J Neuroinflammation*, 2024, 21 (1): 138. DOI: 10.1186/s12974-024-03135-2.
 - [31] Wu R, Xu JM, Zeng H, et al. Golden bifid treatment regulates gut microbiota and serum metabolites to improve myocardial dysfunction in cecal ligation and puncture-induced sepsis mice [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2024, 1870 (3): 167049. DOI: 10.1016/j.bbdis.2024.167049.
 - [32] Xie B, Wang MY, Zhang XY, et al. Gut-derived memory $\gamma\delta$ T17 cells exacerbate sepsis-induced acute lung injury in mice [J]. *Nat Commun*, 2024, 15 (1): 6737. DOI: 10.1038/s41467-024-51209-9.
 - [33] Zhang JX, Ankawi G, Sun J, et al. Gut-kidney crosstalk in septic acute kidney injury [J]. *Crit Care*, 2018, 22 (1): 117. DOI: 10.1186/s13054-018-2040-y.
 - [34] Fan XQ, Mai CT, Zuo L, et al. Herbal formula BaWeiBaiDuSan alleviates polymicrobial sepsis-induced liver injury via increasing the gut microbiota *Lactobacillus johnsonii* and regulating macrophage anti-inflammatory activity in mice [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2023, 13 (3): 1164-1179. DOI: 10.1016/j.apsb.2022.10.016.
 - [35] Centeno F. Editorial for the special issue "mapk in health and disease" [J]. *Int J Mol Sci*, 2024, 25 (12): 6663. DOI: 10.3390/ijms25126663.
 - [36] Sun JY, Wang YH, Du YL, et al. Involvement of the JNK/HO-1/ FTH1 signaling pathway in nanoplastic-induced inflammation and ferroptosis of BV2 microglia cells [J]. *Int J Mol Med*, 2023, 52 (1): 61. DOI: 10.3892/ijmm.2023.5264.
 - [37] Miao YS, Niu D, Wang Z, et al. Methylsulfonylmethane ameliorates inflammation via NF- κ B and ERK/JNK-MAPK signaling pathway in chicken trachea and HD11 cells during mycoplasma gallisepticum infection [J]. *Poult Sci*, 2022, 101 (4): 101706. DOI: 10.1016/j.psj.2022.101706.
 - [38] Li YL, Zhang YL, Su XM, et al. Effects of two kinds of extracts of cistanche deserticola on intestinal microbiota and its metabolism [J]. *Foods*, 2022, 11 (18): 2897. DOI: 10.3390/foods11182897.
 - [39] Liao PL, Li CH, Tse LS, et al. Safety assessment of the Cistanche tubulosa health food product Memoregain®: genotoxicity and 28-day repeated dose toxicity test [J]. *Food Chem Toxicol*, 2018, 118: 581-588. DOI: 10.1016/j.fct.2018.06.012.

(收稿日期: 2026-04-30)

(责任编辑: 邸美仙)