

DOI:10.13350/j.cjpb.250703

• 论著 •

青蒿琥酯调节 TXNIP/NLRP3 信号通路对呼吸道合胞病毒肺炎大鼠炎症反应的影响

王文欣, 魏迪*

(中国医科大学附属盛京医院综合急诊科, 辽宁沈阳 110000)

【摘要】 目的 探究青蒿琥酯(ART)调节硫氧还蛋白相互作用蛋白(TXNIP)/NOD样受体热蛋白结构域相关蛋白3(NLRP3)信号通路对呼吸道合胞病毒(RSV)肺炎大鼠炎症反应的影响。**方法** 通过RSV感染方法构建RSV大鼠模型。将大鼠随机分为对照组、模型组、ART-L组(腹腔注射15 mg/kg ART)、ART-H组(腹腔注射30 mg/kg ART)、ART-H+pcDNA-NC组(腹腔注射30 mg/kg ART+尾静脉注射2.5 μ L pcDNA-NC)、ART-H+pcDNA-TXNIP组(腹腔注射30 mg/kg ART+尾静脉注射2.5 μ L pcDNA-TXNIP)。检测肺指数及肺组织湿/干比(W/D);采用HE染色法观察肺组织病理学形态;qRT-PCR法检测组织中RSV病毒载量、TXNIP、NLRP3 mRNA表达;采用TUNEL法测定大鼠肺组织细胞的凋亡率;ELISA法检测肺组织中IL-6、TNF- α 、IL-17的表达;Western blot检测肺组织中TXNIP、NLRP3蛋白的表达。**结果** 正常组大鼠肺泡上皮完整,支气管等结构完好;模型组大鼠肺泡壁明显增厚、上皮细胞损伤,肺间质周围存在大量淋巴细胞浸润;ART-L组、ART-H组、ART-H+pcDNA-NC组大鼠肺泡壁上皮细胞轻微受损,肺间质有少量淋巴细胞浸润;ART-H+pcDNA-TXNIP组大鼠肺泡壁轻中度增厚,肺间质见中等量淋巴细胞浸润。与对照组相比,模型组大鼠肺指数及肺组织W/D、病毒相对载量、TXNIP、NLRP3 mRNA及蛋白表达、细胞凋亡率、IL-6、TNF- α 、IL-17表达升高($P<0.05$);与模型组相比,ART-L组、ART-H组大鼠肺指数及肺组织W/D、病毒相对载量、TXNIP、NLRP3 mRNA及蛋白表达、细胞凋亡率、IL-6、TNF- α 、IL-17表达降低($P<0.05$);与ART-H组、ART-H+pcDNA-NC组相比,ART-H+pcDNA-TXNIP组大鼠肺指数及肺组织W/D、病毒相对载量、TXNIP、NLRP3 mRNA及蛋白表达、细胞凋亡率、IL-6、TNF- α 、IL-17表达升高($P<0.05$)。**结论** ART可能是通过抑制TXNIP/NLRP3信号通路,抑制炎症反应,进而抑制RSV肺炎发展。

【关键词】 肺炎;青蒿琥酯;呼吸道合胞病毒;硫氧还蛋白相互作用蛋白;NOD样受体热蛋白结构域相关蛋白3;炎症反应

【文献标识码】 A **【文章编号】** 1673-5234(2025)07-0841-05

[Journal of Pathogen Biology. 2025 Jul.;20(07):841-845, 850.]

Effect of artesunate on the inflammatory response of respiratory syncytial virus pneumonia rats by adjusting TXNIP/NLRP3 signaling pathway

WANG Wenxin, WEI Di (Department of General Emergency Department, Shengjing Hospital Affiliated to China Medical University, Shenyang 110000, China)*

【Abstract】 Objective To explore the effect of artesunate (ART) on the inflammatory response of respiratory syncytial virus (RSV) pneumonia rats by adjusting thioredoxin interacting protein (TXNIP)/NOD-like receptor thermal protein domain associated protein 3 (NLRP3) signaling pathway. **Methods** The RSV rat model was constructed using RSV infection method. Rats were randomly assigned into control group, model group, ART-L group (intraperitoneal injection of 15 mg/kg ART), ART-H group (intraperitoneal injection of 30 mg/kg ART), ART-H+pcDNA-NC group (intraperitoneal injection of 30 mg/kg ART+tail vein injection of 2.5 μ L pcDNA-NC), and ART-H+pcDNA-TXNIP group (intraperitoneal injection of 30 mg/kg ART+tail vein injection of 2.5 μ L pcDNA-TXNIP). The lung index and lung tissue wet/dry ratio (W/D) were measured. HE staining method was performed to observe the pathological morphology of lung tissue. QRT-PCR was used to detect RSV viral load, TXNIP, and NLRP3 mRNA expression in tissues. TUNEL method was used to determine the apoptosis rate of lung tissue cells. ELISA method was performed to detect IL-6, TNF- α , and IL-17 in lung tissue. Western blot was performed to measure TXNIP and NLRP3 proteins in lung tissue. **Results** The alveolar epithelium and bronchial structures of rats in the normal group were intact. The alveolar walls of rats in the model group showed obvious thickening, epithelial cell damage, and extensive lymphocyte infiltration

* **【通信作者】** 魏迪, E-mail: 625532848@qq.com

【作者简介】 王文欣(1990-)女, 辽宁盘锦人, 本科, 从事急诊医学方面工作研究。E-mail: wx7854@126.com

around the lung interstitium. The alveolar wall epithelial cells of rats in the ART-L group, ART-H group, and ART-H+pcDNA-NC group were slightly damaged, and there was a small amount of lymphocyte infiltration in the lung interstitium. The alveolar walls of rats in the ART-H+pcDNA-TXNIP group showed mild to moderate thickening, and moderate lymphocyte infiltration was observed in the lung interstitium. For control group, the model group had higher lung index, lung tissue W/D, relative viral load, TXNIP, NLRP3 mRNA and protein expression, apoptosis rate, and IL-6, TNF- α , and IL-17 ($P < 0.05$). For the model group, the ART-L group and ART-H group had lower lung index, lung tissue W/D, relative viral load, TXNIP, NLRP3 mRNA and protein expression, cell apoptosis rate, IL-6, TNF- α , IL-17 ($P < 0.05$). For the ART-H group and ART-H+pcDNA-NC group, the ART-H+pcDNA-TXNIP group had higher lung index, lung tissue W/D, relative viral load, TXNIP, NLRP3 mRNA and protein expression, apoptosis rate, IL-6, TNF- α , IL-17 ($P < 0.05$). **Conclusion** ART may inhibit the inflammatory response by suppressing TXNIP/NLRP3 signaling pathway, thereby suppressing the development of RSV pneumonia.

【Keywords】 Pneumonia; Artesunate; Respiratory syncytial virus; Thioredoxin interacting protein; NOD-like receptor thermal protein domain associated protein 3; Inflammatory response

呼吸道合胞病毒(RSV)是引发下呼吸道感染的重要病因,是一种单股负链RNA病毒,具有非片段性,易引发婴幼儿严重下呼吸道感染,进而导致患儿住院^[1]。RSV肺炎多发于2岁以下儿童,具有发病急、死亡率高特点,若不及时治疗,易引发心力衰竭等并发症,严重危害患儿的生命健康^[2]。目前,临床治疗该疾病多采用对症治疗的方式,通过药物干扰病毒DNA多聚酶的抑制作用,进而缓解病情发展,能有效治疗病毒感染,但是仍缺乏抗RSV的特效药物,治疗效果受限^[3-4]。因此,寻求协助药物提高治疗效果尤为重要。青蒿琥酯(ART)是一种青蒿素衍生物,在炎症相关疾病中发挥重要作用,可调控机体糖代谢、脂质代谢等过程,保护细胞受到损伤,但是其在RSV肺炎中的作用尚未可知^[5]。研究表明,硫氧还蛋白相互作用蛋白(TXNIP)可抑制硫氧还蛋白的表达及活性,促进活性氧化物生成,进而诱导细胞损伤,此外,NOD样受体热蛋白结构域相关蛋白3(NLRP3)作为一种炎症小体,可促进炎症因子释放,导致炎症反应加剧, TXNIP/NLRP3信号通路是引发炎症反应的重要通路^[6-7]。但是ART是否通过调控TXNIP/NLRP3信号通路影响RSV肺炎的发生发展,因此,本研究通过构建RSV大鼠模型,探究ART治疗RSV肺炎的分子调控机制,为临床治疗提供一定的实验基础。

材料与方法

1 实验动物

SPF级雄性SD大鼠购自南湖脑机交叉研究院,生产许可证号为SCXK(浙)2024-0005。饲养湿度40%~70%,温度21~25℃,12h光照/12h黑暗。本实验经实验动物中心伦理委员会审批。

2 材料

ART(货号:YG11066,上海韵泰信息公司);RSV购自广东固康生物公司;过表达TXNIP慢病毒

(pcDNA-TXNIP)及空载慢病毒(pcDNA-NC)购自上海禾午生物公司;TUNEL细胞凋亡检测试剂盒(货号:E-CK-A321,武汉益普生物公司);IL-6、TNF- α 、IL-17 ELISA试剂盒(货号:SY-H8750、SY-00641、SY-H00412,上海双赢生物公司);RIPA裂解液、BCA蛋白定量试剂盒、SDS-PAGE凝胶配制试剂盒(货号:RC21236、RC21250-250T、AMEKO2023,上海鹿森生物公司);ECL化学发光试剂盒(货号:FWP323-100,上海孚可思生物公司);抗体TXNIP、NLRP3及羊抗兔二抗、GAPDH(货号:ab215366、ab283819、ab205718、ab181602,英国Abcam公司);倒置显微镜(型号:Ti2-U,南京迈科尼仪器公司);多功能酶标仪(型号:MB-580,深圳汇松科技公司);凝胶成像系统(型号:BDAdigital,上海一贝科技公司)。

3 方法

3.1 动物建模及分组构建 RSV大鼠模型^[8],大鼠通过乙醚轻度麻醉,将TCID₅₀为 $10^{-3.5}$ 的RSV悬液100 μ L,进行滴鼻,连续3d。将建模成功大鼠随机分为模型组、ART-L组、ART-H组、ART-H+pcDNA-NC组、ART-H+pcDNA-TXNIP组,每组6只。另取6只大鼠给予等量盐水滴鼻刺激,作为对照组。建模成功后给药,ART-L组、ART-H组分别进行腹腔注射15、30 mg/kg ART^[9];ART-H+pcDNA-NC组、ART-H+pcDNA-TXNIP组腹腔注射30 mg/kg ART,并且尾静脉分别注射2.5 μ L pcDNA-NC、pcDNA-TXNIP^[10]。对照组和模型组注射等量生理盐水。以上腹腔注射药物1次/d,尾静脉注射药物1次/周,共4周。

3.2 肺指数及肺组织湿/干比(W/D)检测对各组大鼠体质量(b)称重,处死大鼠后取分离肺脏,取左肺组织进行称重(a),肺指数=(a/b)×100%。新鲜肺组织称重(湿质量W)后,烘烤(80℃)至恒重(干质量D),计算W/D值。

3.3 肺组织病理学形态 采用无菌生理盐水冲洗,取部分右肺组织用4%多聚甲醛固定,制作切片,采用HE染色并在显微镜下观察。

3.4 qRT-PCR 法检测 组织中RSV病毒载量、TXNIP、NLRP3 mRNA表达取部分右肺组织进行总RNA提取(Trizol试剂盒),逆转录得到cDNA,并进行扩增,采取qRT-PCR系统检测目标基因转录本,RSV、TXNIP、NLRP3以 β -actin为内参,反应条件:95℃ 30 s,95℃ 15 s,60℃ 30 s,40个循环。采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法计算相对表达量,引物序列见表1。

表 1 引物序列 Table 1 Primer Sequence		
基因	上游引物(5'-3')	下游引物(5'-3')
RSV	TCCATTGATFTCTTFACCA	ACGGAGCACAGGAGATA
TXNIP	AAGCGTTGAGTAGTACAGATGAG	ATGGCGTGCCAAGAGGTA
NLRP3	AGCCTCAGGGCACAAA	GGGATGAAGAACATAGTAAACA
β -actin	GGAAATCGTGCGTGACATTAAAG	CGGCAGTGCCCATCTCTT

3.5 大鼠肺组织细胞凋亡 采用TUNEL法测定大鼠肺组织细胞凋亡情况,取肺组织切片用TUNEL反应混合液、DAPI染色并封片,荧光显微镜观察并拍照。凋亡细胞核呈绿色荧光,通过Image J软件计算凋亡率。

3.6 ELISA 法检测 肺组织中IL-6、TNF- α 、IL-17的表达取部分右肺组织,严格按照ELISA试剂盒说明书操作,在酶标仪450 nm处检测IL-6、TNF- α 、IL-17的水平。

3.7 Western blot 检测 蛋白表达取剩余右肺组织并获取总蛋白(RIPA裂解液)并定量,SDS-PAGE凝胶电泳分离,转至PVDF膜上,5%脱脂奶粉室温封闭1 h,与一抗TXNIP(1:1000)、NLRP3(1:1000)孵育过夜(4℃)。室温下二抗(1:2000)孵育1 h。ECL显色,凝胶成像系统曝光、拍照。采用Image J软件分析蛋白表达(以GAPDH为内参)。

4 统计学分析

用SPSS25.0软件分析数据,计量数据均符合正态分布,以($\bar{x} \pm s$)描述,多组比较采用单因素方差分析,进一步两两比较用SNK-q检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 大鼠肺指数、肺组织 W/D 及病毒相对载量

与对照组相比,模型组大鼠肺指数、肺组织 W/D 及病毒相对载量升高($P < 0.05$);与模型组相比,ART-L组、ART-H组大鼠肺指数、肺组织 W/D 及病毒相对载量降低($P < 0.05$);与 ART-H 组、ART-H + pcDNA-NC 组相比,ART-H + pcDNA-TXNIP 组大鼠肺指数、肺组织 W/D 及病毒相对载量升高($P <$

0.05)。见表2。

表 2 大鼠肺指数、肺组织 W/D 及病毒相对载量 Table 2 Rat lung index, lung tissue W/D, and relative viral load			
组别	肺指数(%)	W/D	病毒相对载量
对照组	0.55±0.07	3.06±0.38	1.00±0.03
模型组	1.67±0.22 ^a	6.22±0.74 ^a	13.46±1.65 ^a
ART-L 组	1.13±0.17 ^b	4.78±0.56 ^b	7.53±1.02 ^b
ART-H 组	0.64±0.11 ^{bc}	3.49±0.45 ^{bc}	3.44±0.56 ^{bc}
ART-H+pcDNA-NC 组	0.65±0.13	3.52±0.48	3.47±0.58
ART-H+pcDNA-TXNIP 组	1.54±0.19 ^{de}	5.89±0.69 ^{de}	9.27±1.21 ^{de}

注:与对照组比较,^a $P < 0.05$;与模型组比较,^b $P < 0.05$;与 ART-L 组比较,^c $P < 0.05$;与 ART-H 组比较,^d $P < 0.05$;与 ART-H + pcDNA-NC 组比较,^e $P < 0.05$ 。

2 肺组织病理学形态

正常组大鼠肺泡上皮完整,支气管等结构完好;模型组大鼠肺泡壁明显增厚、上皮细胞损伤,肺间质周围存在大量淋巴细胞浸润;ART-L组、ART-H组、ART-H + pcDNA-NC 组大鼠肺泡壁上皮细胞轻微受损,肺间质有少量淋巴细胞浸润;ART-H + pcDNA-TXNIP 组大鼠肺泡壁轻中度增厚,肺间质见中等量淋巴细胞浸润。见图1。

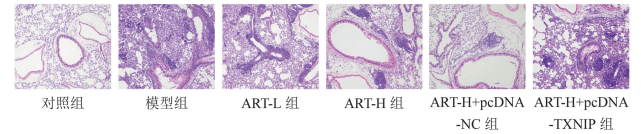


图 1 肺组织 HE 染色图(100×)
Fig. 1 HE staining image of lung tissue (100×)

3 肺组织中 TXNIP、NLRP3 mRNA 表达

与对照组相比,模型组大鼠肺组织 TXNIP、NLRP3 mRNA 表达升高($P < 0.05$);与模型组相比,ART-L组、ART-H组大鼠肺组织 TXNIP、NLRP3 mRNA 表达降低($P < 0.05$);与 ART-H 组、ART-H + pcDNA-NC 组相比,ART-H + pcDNA-TXNIP 组大鼠肺组织 TXNIP、NLRP3 mRNA 表达升高($P < 0.05$)。见表3。

表 3 肺组织中 TXNIP、NLRP3 mRNA 表达($\bar{x} \pm s, n = 6$) Table 3 mRNA expression of TXNIP and NLRP3 in lung tissue		
组别	TXNIP	NLRP3
对照组	1.02±0.03	1.05±0.04
模型组	2.36±0.28 ^a	2.27±0.26 ^a
ART-L 组	1.85±0.20 ^b	1.69±0.19 ^b
ART-H 组	1.37±0.16 ^{bc}	1.24±0.15 ^{bc}
ART-H+pcDNA-NC 组	1.35±0.18	1.21±0.17
ART-H+pcDNA-TXNIP 组	2.09±0.22 ^{de}	1.83±0.21 ^{de}

注:与对照组比较,^a $P < 0.05$;与模型组比较,^b $P < 0.05$;与 ART-L 组比较,^c $P < 0.05$;与 ART-H 组比较,^d $P < 0.05$;与 ART-H + pcDNA-NC 组比较,^e $P < 0.05$ 。

4 肺组织细胞凋亡情况

与对照组相比,模型组大鼠肺组织细胞凋亡率升

高($P<0.05$);与模型组相比,ART-L 组、ART-H 组大鼠肺组织细胞凋亡率降低($P<0.05$);与 ART-H 组、ART-H+pcDNA-NC 组相比,ART-H+pcDNA-TXNIP 组大鼠肺组织细胞凋亡率升高($P<0.05$)。见图 2,表 4。

表 4 肺组织细胞凋亡情况($\bar{x}\pm s,n=6$)
Table 4 Apoptosis of lung tissue cells

组别	凋亡率(%)
对照组	1.33±0.26
模型组	33.62±5.27 ^a
ART-L 组	18.48±3.39 ^b
ART-H 组	7.27±1.22 ^{bc}
ART-H+pcDNA-NC 组	7.33±1.26
ART-H+pcDNA-TXNIP 组	25.38±3.82 ^{de}

注:与对照组比较,^a $P<0.05$;与模型组比较,^b $P<0.05$;与 ART-L 组比较,^c $P<0.05$;与 ART-H 组比较,^d $P<0.05$;与 ART-H+pcDNA-NC 组比较,^e $P<0.05$ 。

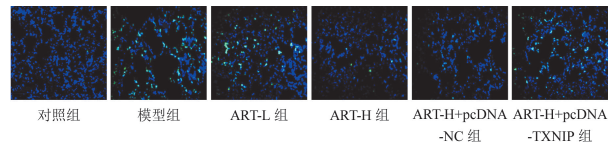


图 2 肺组织细胞凋亡的 TUNEL 染色图(200×)

Fig. 2 TUNEL staining of apoptosis in lung tissue cells (200×)

5 肺组织中炎症因子 IL-6、TNF-α、IL-17 的表达

与对照组相比,模型组大鼠肺组织 IL-6、TNF-α、IL-17 表达升高($P<0.05$);与模型组相比,ART-L 组、ART-H 组大鼠肺组织 IL-6、TNF-α、IL-17 表达降低($P<0.05$);与 ART-H 组、ART-H+pcDNA-NC 组相比,ART-H+pcDNA-TXNIP 组大鼠肺组织 IL-6、TNF-α、IL-17 表达升高($P<0.05$)。见表 5。

表 5 肺组织中炎症因子 IL-6、TNF-α、IL-17 的表达($\bar{x}\pm s,n=6$)
Table 5 Expression of inflammatory factors IL-6, TNF-α, and IL-17 in lung tissue

组别	IL-6(pg/mL)	TNF-α(pg/mL)	IL-17(pg/mL)
对照组	4.65±0.79	3.68±0.44	8.29±1.13
模型组	26.09±3.38 ^a	23.64±3.07 ^a	46.85±6.62 ^a
ART-L 组	17.42±2.53 ^b	14.26±2.15 ^b	32.59±4.47 ^b
ART-H 组	10.56±1.34 ^{bc}	8.29±1.03 ^{bc}	21.33±3.28 ^{bc}
ART-H+pcDNA-NC 组	10.45±1.26	8.27±1.11	21.54±3.34
ART-H+pcDNA-TXNIP 组	23.08±2.89 ^{de}	17.72±0.83 ^{de}	41.76±4.82 ^{de}

注:与对照组比较,^a $P<0.05$;与模型组比较,^b $P<0.05$;与 ART-L 组比较,^c $P<0.05$;与 ART-H 组比较,^d $P<0.05$;与 ART-H+pcDNA-NC 组比较,^e $P<0.05$ 。

6 ART 对肺组织中 TXNIP、NLRP3 蛋白表达的影响

与对照组相比,模型组大鼠肺组织 TXNIP、NLRP3 蛋白表达升高($P<0.05$);与模型组相比,ART-L 组、ART-H 组大鼠肺组织 TXNIP、NLRP3 蛋白表达降低($P<0.05$);与 ART-H 组、ART-H+pcDNA-NC 组相比,ART-H+pcDNA-TXNIP 组大鼠肺组织 TXNIP、NLRP3 蛋白表达升高($P<0.05$)。

见图 3,表 6。

表 6 RFTN 对肺组织中 TXNIP、NLRP3 蛋白表达的影响($\bar{x}\pm s,n=6$)
Table 6 Effects of RFTN on the expression of TXNIP and NLRP3 proteins in lung tissue

组别	TXNIP	NLRP3
对照组	0.36±0.07	0.52±0.11
模型组	1.89±0.31 ^a	2.06±0.37 ^a
ART-L 组	1.15±0.22 ^b	1.53±0.26 ^b
ART-H 组	0.67±0.13 ^{bc}	0.89±0.18 ^{bc}
ART-H+pcDNA-NC 组	0.64±0.12	0.85±0.16
ART-H+pcDNA-TXNIP 组	1.49±0.26 ^{de}	1.73±0.29 ^{de}

注:与对照组比较,^a $P<0.05$;与模型组比较,^b $P<0.05$;与 ART-L 组比较,^c $P<0.05$;与 ART-H 组比较,^d $P<0.05$;与 ART-H+pcDNA-NC 组比较,^e $P<0.05$ 。

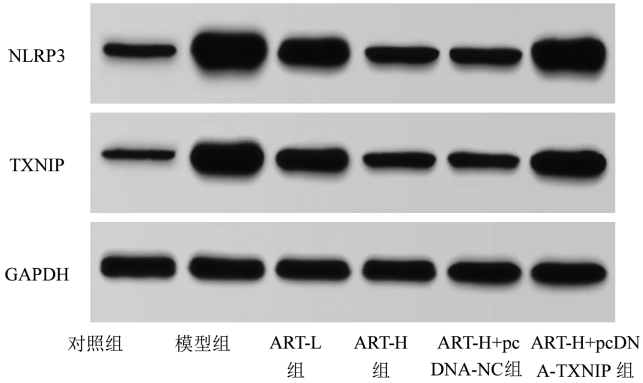


图 3 WB 检测肺组织中 TXNIP、NLRP3 蛋白表达

Fig. 3 WB detection of TXNIP and NLRP3 protein expression in lung tissue

讨论

RSV 属于 RNA 病毒,RSV 感染是引发儿童病毒性肺炎的重要原因,该疾病易造成呼吸道黏膜上皮细胞受损,炎性因子活化,严重时会引起死亡,给患儿生命安全造成较大威胁^[11]。据报道,RSV 肺炎临床缺乏特异性治疗手段,西医多应用抗病毒药物进行治疗,但是治疗效果不理想,现有研究发现,中医在抗病毒方面具有一定优势,治疗效果良好,可通过口服或者输液等方式服药,此外,对于调节患者免疫力也具有一定功效^[12-13]。目前,临床已有 300 多种药物应用于抗病毒,其中包括单味中药,也有复方中药,在抗病毒治疗中发挥重要作用^[14]。但是关于治疗 RSV 肺炎的相关药物较少,仍缺乏有效的特异性药物及疫苗。因此,通过探究 RSV 肺炎的病理机制,寻求新型治疗靶点,为开发特异性药物及疫苗提供一定参考依据。

近年来研究发现,ART 不仅可抗疟疾,在抗炎症中同样发挥重要作用,如呼吸系统炎症、结肠炎、皮炎等,均具有良好的疗效^[15]。研究表明,ART 作为倍半萜内酯类青蒿素衍生物,具有多种药理作用,并且在呼吸系统疾病中表现出治疗潜力,其可能通过调控炎症反应、凋亡信号转导等过程,发挥抗炎、抗细胞死亡、逆

转气道重塑等作用^[16]。Jiang 等^[17]发现,在肺炎中,ART 单药可降低溶血素表达,通过与甲氧西林联合用药,可有效抑制细胞死亡率,降低溶血素、白细胞介素-1 以及炎症因子的释放,进而有效控制病情。Hu 等^[18]发现,ART 对于治疗新型冠状病毒感染病具有一定的疗效,通过初步证实,ART 可用于临床治疗病毒性感染病,为新型药物的开发提供一定参考。周永君等^[19]表明,ART 对甲型流感病毒性肺炎具有一定疗效,进一步分析发现,可能是通过抑制 TLR4/p65 信号通路激活,进而抑制炎症因子表达,起到抗炎的作用。本研究结果显示,通过使用不同浓度的 ART 处理 RSV 大鼠模型,可降低肺组织细胞凋亡能力及炎症因子 IL-6、TNF- α 、IL-17 表达,提示 ART 可通过抑制细胞凋亡及炎症反应,有效缓解肺组织细胞损伤及炎症浸润,进而抑制病情的发展,具有治疗 RSV 感染肺炎的潜能。

TXNIP 具有抑制抗氧化的作用,可介导细胞凋亡,参与机体内质网应激,介导 NLRP3 合成并结合,进而促使炎症因子分泌,引发细胞凋亡、焦亡等,可调控多种炎症相关疾病的发生发展^[20]。既往研究发现,TXNIP/NLRP3 信号通路可调控机体炎症反应,通过抑制 TXNIP/NLRP3 通路表达,可抑制炎症反应,降低细胞凋亡能力,缓解组织细胞损伤^[21]。Zhang 等^[22]发现,在胰腺炎小鼠的胰腺细胞中,TXNIP、NLRP3 表达上调,通过药物治疗,可下调 TXNIP、NLRP3 表达,可能通过抑制 TXNIP/NLRP3 通路,激活 AMPK 通路,起到抑制炎症反应的作用。Si 等^[23]发现, TXNIP/NLRP3 通路在急性肾损伤发生发展中发挥重要作用,受到对乙酰氨基酚(APAP)的调控,通过抑制 TXNIP/NLRP3 通路相关分子的表达,进而减轻氧化应激及炎症反应,可作为潜在治疗靶点用于临床防治中。Xu 等^[24]研究表明,经 LPS 诱导的急性肺损伤小鼠,血清中 IL6、TNF- α 的表达明显升高,经化橘红治疗,可通过抑制 TXNIP/NLRP3 通路介导的炎症小体活化,进而调控炎症反应。本研究结果中,ART 可抑制 TXNIP/NLRP3 通路相关蛋白的表达,进一步通过加入过表达 TXNIP 发现,可部分逆转 ART 对肺组织形态、细胞凋亡、炎症因子以及通路相关蛋白 TXNIP、NLRP3 表达的影响,提示 ART 可能是通过抑制 TXNIP/NLRP3 通路激活,进而抑制炎症反应,起到控制 RSV 肺炎发展的作用。

综上所述,ART 可抑制 RSV 大鼠肺炎发展,可能是通过抑制 TXNIP/NLRP3 信号通路实现的。本研究也存在一些不足之处,ART 对 RSV 肺炎的具体调控机制尚未明确,此外,还可能涉及其他分子机制,仍

需进一步的探究和分析。

【参考文献】

- [1] Bianchini S, Silvestri E, Argentiero A, et al. Role of respiratory syncytial virus in pediatric pneumonia[J]. Microorganisms, 2020, 8(12):2048-2062.
- [2] Yang M, Zhang X, Liu Q, et al. Network pharmacology, molecular docking, and untargeted metabolomics reveal molecular mechanisms of multi-targets effects of Qingfei Tongluo Plaster improving respiratory syncytial virus pneumonia[J]. Chin Herb Med, 2024, 16(4):638-655.
- [3] Abreo A, Wu P, Donovan BM, et al. Infant respiratory syncytial virus bronchiolitis and subsequent risk of pneumonia, otitis media, and antibiotic utilization[J]. Clin Infect Dis, 2020, 71(1): 211-214.
- [4] Ginsburg AS, Srikantiah P. Respiratory syncytial virus: promising progress against a leading cause of pneumonia[J]. Lancet Glob Health, 2021, 9(12):1644-1645.
- [5] Chen L, Wang J, Ren Y, et al. Artesunate improves glucose and lipid metabolism in db/db mice by regulating the metabolic profile and the MAPK/PI3K/Akt signalling pathway [J]. Phytomedicine, 2024, 126(16):5382-5396.
- [6] An X, Zhang Y, Cao Y, et al. Punicalagin Protects Diabetic Nephropathy by Inhibiting Pyroptosis Based on TXNIP/NLRP3 Pathway[J]. Nutrients, 2020, 12(5):1516-1529.
- [7] Xie WM, Su W, Liu XY, et al. FTO deficiency alleviates LPS-induced acute lung injury by TXNIP/NLRP3-mediated alveolar epithelial cell pyroptosis[J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2024, 70(5):351-363.
- [8] 赵航宇, 张秀英, 王雪峰, 等. 清肺通络开玄法对呼吸道合胞病毒诱发幼龄大鼠肺炎性损伤肺组织 HMGB1/RAGE 轴的影响[J]. 现代中西医结合杂志, 2023, 32(5):585-589, 625.
- [9] 王元元, 李鼎, 李传贵, 等. 青蒿琥酯调节 PI3 K/Akt 信号通路对肾草酸结石形成的影响[J]. 医学研究杂志, 2024, 53(10):149-156, 173.
- [10] 周红, 张佩佩, 刘会雪, 等. 橘皮素调节 TXNIP/NLRP3 信号通路对重症肺炎大鼠细胞焦亡的影响[J]. 河北医学, 2024, 30(8): 1279-1284.
- [11] Chien RC, Sorensen NJ, Payton ME, et al. Comparative histopathology of bovine acute interstitial pneumonia and bovine respiratory syncytial virus-associated interstitial pneumonia[J]. J Comp Pathol, 2022, 192(24):23-32.
- [12] 吕明珠, 陈全景, 庞永琴, 等. 呼吸道合胞病毒感染的毛细支气管炎患儿血清半胱氨酰白三烯、嗜酸性粒细胞阳离子蛋白、免疫球蛋白 E 及血清炎症因子检测的临床价值[J]. 安徽医药, 2022, 26(2):365-368.
- [13] 张辉, 李虹媛, 张建明. 匹多莫德联合重组人干扰素 α 1b 及更昔洛韦治疗 EB 病毒相关性传染性单核细胞增多症患儿的效果[J]. 中国医药导报, 2022, 19(3):99-102.
- [14] 王玉君, 韩波妮, 史艳平, 等. 毛蕊异黄酮对呼吸道合胞病毒感染致肺炎模型小鼠的保护作用及机制研究[J]. 中药材, 2022, 45(3):715-719.

(下转 850 页)

对 A549 细胞系的编辑。流感 B 型病毒与 VSV 病毒感染后镜下观察,发现敲降 FHL2 的细胞系病变明显而未敲降的细胞系没有明显变化,在 B 型流感病毒的增殖实验中 FHL2 基因敲降的细胞系病毒增殖明显高于野生型细胞。表明 FHL2 基因缺失降低了细胞抗 B 型流感病毒感染和增殖能力。IRF-3 的 Western blot 结果也表明 FHL2 是通过调控 IRF3 蛋白的表达发挥其抑制病毒复制的功能的调控。

本研究利用 CRISPR/Cas9 技术构建了 FHL2 基因敲降的 A549 细胞,筛选并获得 FHL2 基因敲降后的 A549 细胞单克隆细胞株。发现了 FHL2 基因敲降后使流感病毒的复制能力增强,为后面继续研究 FHL2 基因对细胞免疫的机制提供细胞模型。

【参考文献】

- [1] Bachi B. The LIM domain: regulation by association[J]. Mech Dev, 2000, 91(1-2): 5-17.
- [2] Martin B, Schneider R, Janetky S, et al. The LIM-only protein FHL2 interacts with beta-catenin and promotes differentiation of mouse myoblasts[J]. J Cell Biol, 2002, 159(1): 113-122.
- [3] Van Soolingen D, De Haas P, Hermans PW, et al. Comparison of various repetitive DNA elements as genetic markers for strain differentiation and epidemiology of *Mycobacterium tuberculosis* [J]. J Clin Microb, 1993, 31(8): 1987-1995.
- [4] Makarov, VK, Grishin, NV, Shabalin, AS, et al. A putative RNA-interference-based immune system in prokaryotes: computational analysis of the predicted enzymatic machinery, functional analogies with eukaryotic RNAi, and hypothetical mechanisms of action[J]. Biol Direct, 2006, 1(13): 7.
- [5] Barrangou R, Fremaux C, Deveau H, et al. CRISPR provides acquired resistance against viruses in prokaryotes[J]. Science, 2007, 315(5819): 1709-1712.
- [6] Cong L, Ran F, Cox D, et al. Multiplex genome engineering using CRISPR/Cas systems[J]. Science, 2013, 339(6121): 819-823.
- [7] Jinek M, East A, Cheng A, et al. RNA-programmed genome editing in human cells[J]. eLife, 2013, 2: e00471.
- [8] Mali P, Yan L, Esvelt KM, et al. RNA-guided human genome engineering via Cas9[J]. Science, 2013, 339(6121): 823-826.
- [9] Gajt G, Gersbach CA, Barbas CF, et al. ZFN, TALEN, and CRISPR/Cas-based methods for genome engineering[J]. Tren Biotechnol, 2013, 31(7): 397-405.
- [10] Gross A, Schoendube J, Zimmermann S, et al. Technologies for Single-Cell Isolation[J]. Int J Mol Sci, 2015, 16(8): 16897-16919.
- [11] Dattas M, Malhotra L, Dickerson R, et al. Laser capture microdissection: Big data from small samples [J]. Histol Histopath, 2015, 30(11): 1255-1269.
- [12] Miltenyi S, Muller W, Weichel W, et al. High gradient magnetic cell separation with MACS[J]. Cytometry, 1990, 11(2): 231-238.
- [13] McFarland DC. Preparation of pure cell cultures by cloning[J]. Method Cell Sci, 2000, 22(1): 63-66.
- [14] Chmielewska AM, Gmez-Herranz M, Gach P, et al. The role of IFITM proteins in tick-borne encephalitis virus infection[J]. J Virol, 2022, 96(1): e0113021.
- [15] Vangheluwe, M. The multifunctional roles of the four-and-a-half-LIM only protein FHL2[J]. Cell Mol Life Sci, 2006, 63(3): 268-284.
- [16] 史馨瑾, 王俊, 刘英楠, 等. Cullin-2 基因敲除 A549 细胞系构建及其对 A 型流感病毒复制的影响[J]. 中国动物传染病学报, 2022, 30(5): 29-35.
- [17] Masemann D, Dantas RL, Sitnick S, et al. The four-and-a-half LIM domain protein 2 supports influenza A virus-induced lung inflammation by restricting the host adaptive immune response [J]. Am J Pathol, 2018, 188(5): 1236-1245.
- [18] Xu, Z, Tian, M, Tan, Q, et al. Fhl2 inhibits SARS-CoV-2 replication by enhancing IFN- β expression through regulating IRF-3[J]. Int J Mol Sci, 2024, 25: 353-353.

【收稿日期】 2024-12-21 【修回日期】 2025-03-10

(上接 845 页)

- [15] Zhu M, Wang Y, Han J, et al. Artesunate exerts organ- and tissue-protective effects by regulating oxidative stress, inflammation, autophagy, apoptosis, and fibrosis: a review of evidence and mechanisms[J]. Antioxidants (Basel), 2024, 13(6): 686-701.
- [16] Zhang J, Li Y, Wan J, et al. Artesunate: A review of its therapeutic insights in respiratory diseases[J]. Phytomedicine, 2022, 104(36): 1259-1271.
- [17] Jiang W, Luo W, Zhang Z, et al. Hla protein expression and artesunate prevented mice from further damage caused by *Staphylococcus aureus* pneumonia [J]. Int J Biol Macromol, 2024, 277(1): 1340-1356.
- [18] Hu Y, Liu M, Qin H, et al. Artemether, artesunate, arteannuin b, echinatin, licochalcone b and andrographolide effectively inhibit SARS-CoV-2 and related viruses in vitro[J]. Front Cell Infect Microbiol, 2021, 11(14): 6827-6839.
- [19] 周永君, 张静, 巫波, 等. 青蒿琥酯对甲型流感病毒肺炎的治疗作用研究[J]. 四川大学学报(医学版), 2022, 53(6): 1055-1060.
- [20] Lian L, Le Z, Wang Z, et al. SIRT1 inhibits high glucose-induced TXNIP/NLRP3 inflammasome activation and cataract formation [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2023, 64(3): 16-29.
- [21] Wang L, Zhao H, Xu H, et al. Targeting the TXNIP-NLRP3 interaction with PSSM1443 to suppress inflammation in sepsis-induced myocardial dysfunction[J]. J Cell Physiol, 2021, 236(6): 4625-4639.
- [22] Zhang Y, Aisker G, Dong H, et al. Urolithin A suppresses glucolipotoxicity-induced ER stress and TXNIP/NLRP3/IL-1 β inflammation signal in pancreatic β cells by regulating AMPK and autophagy[J]. Phytomedicine, 2021, 93(45): 1537-1549.
- [23] Si Y, Liu L, Zhang Y, et al. Magnesium hydride protects against acetaminophen-induced acute kidney injury by inhibiting TXNIP/NLRP3/nf- κ b pathway[J]. Ren Fail, 2024, 46(1): 2336-2351.
- [24] Xu Z, Li J, Zhou K, et al. Exocarpium Citri Grandis ameliorates LPS-induced acute lung injury by suppressing inflammation, NLRP3 inflammasome, and ferroptosis[J]. J Ethnopharmacol, 2024, 329(17): 1181-1194.

【收稿日期】 2025-02-27 【修回日期】 2025-05-06