

DOI:10.13350/j.cjpb.250705

• 论著 •

# 隐丹参酮调节 TXNIP/NLRP3 信号通路对肺炎克雷伯菌肺炎大鼠炎症反应的影响<sup>\*</sup>

王雪莹, 李晓龙, 王禹, 程越, 温明圆<sup>\*\*</sup>

(黑龙江中医药大学附属第一医院药剂科, 黑龙江哈尔滨 150040)

**【摘要】 目的** 探究隐丹参酮(Cryp)调节 TXNIP/NLRP3 信号通路对肺炎克雷伯菌肺炎大鼠炎症反应的影响。**方法** 将大鼠随机分为 NC 组、Model 组、Cryp-L 组、Cryp-H 组、Cryp-H+氧化三甲胺(TMAO)(NLRP3 激活剂)组和左氧氟沙星组。血气分析仪检测 PaO<sub>2</sub> 和 PaCO<sub>2</sub>; 计算肺组织湿/干(W/D)比; 观察肺组织形态; 检测肺组织细胞凋亡、IL-1β、IL-6、IL-18、TNF-α 水平、MDA 含量、MPO 和 SOD 活性、SP-A、SP-D、TXNIP、NLRP3 和 caspase-1 蛋白表达水平。**结果** 与 NC 组比较, Model 组大鼠肺组织有明显损伤, PaO<sub>2</sub> 和 OI 水平、SOD 活性、SP-A 和 SP-D 蛋白表达水平降低, PaCO<sub>2</sub> 水平、肺组织病理评分、IL-1β、IL-6、IL-18 和 TNF-α 水平、W/D 值、MDA 含量和 MPO 活性、TXNIP、NLRP3 和 caspase-1 蛋白表达水平升高( $P < 0.05$ ); 与 Model 组比较, Cryp-L 组、Cryp-H 组和左氧氟沙星组大鼠肺组织损伤程度减轻, PaO<sub>2</sub> 和 OI 水平、SOD 活性、SP-A 和 SP-D 蛋白表达水平升高, PaCO<sub>2</sub> 水平、肺组织病理评分、IL-1β、IL-6、IL-18 和 TNF-α 水平、W/D 值、MDA 含量和 MPO 活性、TXNIP、NLRP3 和 caspase-1 蛋白表达水平降低( $P < 0.05$ ); TMAO 可降低 Cryp 对 Kp 肺炎大鼠的改善作用( $P < 0.05$ ); Cryp-H 组和左氧氟沙星组上述各指标处于同一水平( $P > 0.05$ )。**结论** Cryp 可降低 Kp 肺炎大鼠炎症和肺损伤, 可能与抑制 TXNIP/NLRP3 信号通路有关。

**【关键词】** 隐丹参酮; TXNIP/NLRP3 信号通路; 肺炎克雷伯菌; 肺炎; 大鼠; 炎症反应

**【文献标识码】** A **【文章编号】** 1673-5234(2025)07-0851-05

[Journal of Pathogen Biology. 2025 Jul.; 20(07):851-855.]

## The effect of cryptotanshinone on the inflammatory response of *Klebsiella pneumoniae* pneumonia rats by regulating the TXNIP/NLRP3 signaling pathway

WANG Xueying, LI Xiaolong, WANG Yu, CHENG Yue, WEN Mingyuan (Pharmacy Department, the First Affiliated Hospital of Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China)<sup>\*\*</sup>

**【Abstract】 Objective** To discuss the effect of cryptotanshinone (Cryp) on the inflammatory response of *Klebsiella pneumoniae* pneumonia rats by regulating the TXNIP/NLRP3 signaling pathway. **Methods** Rats were stochastically separated into NC group, Model group, Cryp-L group, Cryp-H group, Cryp-H + trimethylamineoxide (TMAO) (NLRP3 activator) group, and levofloxacin group. Blood gas analyzer was used to detect PaO<sub>2</sub> and PaCO<sub>2</sub>. The wet/dry (W/D) ratio of lung tissue was calculated. The morphology of lung tissue as observed. The apoptosis of lung tissue cells, the IL-1β, IL-6, IL-18, TNF-α levels, MDA content, MPO and SOD activities, SP-A, SP-D, TXNIP, NLRP3, and caspase-1 proteins were measured. **Results** Compared with the NC group, the Model group showed prominent injury to rat lung tissue. The PaO<sub>2</sub> and OI levels, SOD activity, SP-A and SP-D proteins decreased, while the PaCO<sub>2</sub> level, lung tissue pathological score, IL-1β, IL-6, IL-18 and TNF-α levels, W/D value, MDA content, MPO activity, TXNIP, NLRP3 and caspase-1 proteins increased ( $P < 0.05$ ). Compared with the Model group, the Cryp-L group, Cryp-H group, and levofloxacin group showed a reduction in the degree of lung tissue injury in rats. The PaO<sub>2</sub> and OI levels, SOD activity, SP-A and SP-D proteins increased, while the PaCO<sub>2</sub> level, lung tissue pathological score, IL-1β, IL-6, IL-18 and TNF-α levels, W/D value, MDA content, MPO activity, TXNIP, NLRP3 and caspase-1 proteins decreased ( $P < 0.05$ ). TMAO could reduce the improvement effect of Cryp on Kp pneumonia rats ( $P < 0.05$ ). The above indicators of Cryp-H group and levofloxacin group were at the same level ( $P > 0.05$ ). **Conclusion** Cryp can reduce inflammation and lung injury in Kp pneumonia rats, which may be related to the inhibition of TXNIP/NLRP3 signaling pathway.

**【Keywords】** cryptotanshinone; TXNIP/NLRP3 signaling pathway; *Klebsiella pneumoniae*; pneumonia; rats;

<sup>\*</sup> **【基金项目】** 黑龙江省中医药管理局项目(No. ZHY2020-112)。

<sup>\*\*</sup> **【通信作者】** 温明圆, E-mail: 641894205@qq.com

**【作者简介】** 王雪莹(1982-), 女, 黑龙江大庆人, 硕士研究生, 主管药师, 从事药物新剂型及新药研发方面工作研究。E-mail: wangxueyingn89006@163.com

inflammatory response

肺炎主要由多种微生物和病原体引发,包括病毒、细菌和真菌。肺炎克雷伯菌(Kp)是一种革兰阴性菌,属于肠杆菌科,Kp进入宿主会触发一系列免疫反应,引发肺炎<sup>[1]</sup>。Kp感染导致的肺炎具有较高的死亡率,临床治疗主要依赖于激素或抗生素,但存在治疗后细菌未被根除和耐药性带来的缺点<sup>[2]</sup>。因此开发针对Kp引起的肺炎的有效治疗方法是临床研究的重要课题。隐丹参酮(Cryp)是一种从丹参中提取的二萜醌类化合物,具有抗炎、抗菌和抗氧化等多种药理作用<sup>[3]</sup>。研究显示,Cryp可降低特发性肺纤维化大鼠胶原蛋白表达,改善肺组织纤维化<sup>[4]</sup>。Cryp可减轻LPS诱导的急性呼吸窘迫综合征小鼠炎症、肺组织损伤和纤维化<sup>[5]</sup>。Cryp可减轻肺组织炎性损伤和纤维化,推测其可能对肺炎也具有一定疗效。TXNIP/NLRP3信号通路是细胞内一条与炎症反应、氧化应激等相关的信号传导通路,在多种生理和病理过程中发挥着重要作用<sup>[6]</sup>。研究显示抑制该通路可减轻重症肺炎大鼠炎症反应、肺组织损伤和肺泡上皮细胞焦亡<sup>[7]</sup>。抑制NLRP3信号通路可降低Kp肺炎小鼠炎症反应,减轻肺组织损伤<sup>[8]</sup>。提示NLRP3信号通路参与肺炎进展。Cryp可抑制NLRP3信号通路,降低炎症反应<sup>[9]</sup>。基于此,本研究探讨Cryp是否可通过调控TXNIP/NLRP3信号通路来减轻肺炎克雷伯菌肺炎大鼠炎症反应。

## 材料与方法

### 1 材料

**1.1 动物** 雄性SD大鼠60只,SPF级,190~210 g,广州明迅生物科技有限公司,生产许可证号SCXK(粤)2024-0070。本研究符合动物伦理要求。

**1.2 主要试剂与仪器** Cryp(成都普瑞法科技开发有限公司,纯度 $\geq 98\%$ );NLRP3激活剂-氧化三甲胺(TMAO)(MCE公司);IL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-18、TNF- $\alpha$  ELISA试剂盒(上海联祖生物科技有限公司);HE试剂、MDA、MPO、SOD、TUNEL和蛋白提取试剂盒(北京索莱宝科技有限公司);SP-A、SP-D、TXNIP、NLRP3、caspase-1和 $\beta$ -actin一抗及二抗IGG(英国Abcam公司);GEM3500全自动血气分析仪(南京汉誉医疗科技有限公司);TS40-BD显微镜(上海台硕检测仪器有限公司);LD-ZQP-86组织切片机(山东海卓尔光电科技有限公司)。

### 2 方法

**2.1 分组与造模** 将大鼠按照随机数字表法分为6组,分别记为NC组、Model组、Cryp-L组、Cryp-H

组、Cryp-H+TMAO组(NLRP3激活剂),左氧氟沙星组,每组10只。造模:将大鼠麻醉后颈部剃毛消毒并切开一小口,暴露气管,采用气管插管的方法将克雷伯菌菌液( $1.2 \times 10^9$  CFU/mL)滴入大鼠气管,每只0.15 mL<sup>[10]</sup>,NC组大鼠同方式滴入等体积无菌生理盐水。肺炎克雷伯菌肺炎造模成功标志:大鼠活动度、体质量及采食量明显下降,有明显的呼吸喘鸣声。

**2.2 给药** Cryp-L组和Cryp-H组大鼠分别腹腔注射14 mg/kg和28 mg/kg的Cryp<sup>[11]</sup>,Cryp-H+TMAO组腹腔注射28 mg/kg的Cryp并灌胃110 mg/kg的TMAO<sup>[7]</sup>。左氧氟沙星大鼠灌胃10 mg/kg的左氧氟沙星<sup>[12]</sup>,1 d/次,持续7 d。

**2.3 样本采集** 将大鼠麻醉后腹主动脉取血2 mL,备测,颈椎脱臼法处死大鼠,开腔取出大鼠完整肺组织,备测。

**2.4 血液氧合指数测定** 将新鲜血液置于血气分析仪中快速测定,分析动脉血中氧分压(PaO<sub>2</sub>)和二氧化碳分压(PaCO<sub>2</sub>),并计算氧合指数(OI), $OI = PaO_2 / FiO_2$ 。

**2.5 HE染色** 将大鼠右肺组织置于4%多聚甲醛中固定,从低到高浓度乙醇脱水,二甲苯透明透明,置于融化石蜡中包埋、切片4  $\mu$ m,HE染色,观察肺组织形态,参照文献<sup>[11]</sup>进行肺组织损伤评分。

**2.6 TUNEL染色** 切片脱蜡水化后进行通透处理,滴加TUNEL反应混合液染色60 min,清洗,再滴加DAPI进行染色,荧光显微镜观察,凋亡率=TUNEL阳性细胞数/总细胞数 $\times 100\%$ 。

**2.7 肺组织炎症因子水平分析** 取新鲜部分右肺组织冰浴研磨,制备组织匀浆,离心后取上清液,按照ELISA试剂盒说明书检测IL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-18和TNF- $\alpha$ 水平。

**2.8 检测肺组织湿/干(W/D)比、MDA含量、SOD和MPO活性** 取大鼠左肺组织,清除多余水分后称重,记录为湿重(W),然后其置于80℃烘箱中烘干至恒重,称重记录为干重(D),计算W/D值。

取部分大鼠右肺上叶组织,冰浴研磨匀浆,4 000 r/min离心10 min,取上清加入1.5 mL离心管,再加入试剂盒中预先配制的反应试剂,反应终止后测定吸光值,根据标准品计算MDA含量、SOD和MPO活性。

**2.9 蛋白表达分析** 提取肺组织总蛋白,BCA法分析蛋白浓度,100℃水浴5 min,电泳分离并转移至PVDF膜上,5%脱脂奶粉封闭2 h,加入SP-A、SP-D、TXNIP、NLRP3、caspase-1和 $\beta$ -actin一抗4℃孵育过

夜,室温二抗孵育 2 h,置于 ECL 溶液中显色,曝光后以  $\beta$ -actin 为内参分析蛋白灰度值。

3 统计分析

Graphpad Prism 8.0.1 分析数据;数据用( $\bar{x} \pm s$ )表示;多组间比较和组内两两差异比较分别用单因素方差分析和 SNK-*q* 检验; $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

结 果

1 Cryp 对各组大鼠血气指标的影响

与 NC 组比较,Model 组大鼠 PaO<sub>2</sub> 和 OI 水平降低,PaCO<sub>2</sub> 水平升高( $P < 0.05$ );与 Model 组相比,Cryp-L 组、Cryp-H 组和左氧氟沙星组大鼠 PaO<sub>2</sub> 和 OI 水平升高,PaCO<sub>2</sub> 水平降低( $P < 0.05$ );与 Cryp-H 组相比,Cryp-H+TMAO 组大鼠 PaO<sub>2</sub> 和 OI 水平降低,PaCO<sub>2</sub> 水平升高( $P < 0.05$ ),Cryp-H 组和左氧氟沙星组上述指标水平无统计学意义( $P > 0.05$ ),见表 1。

表 1 Cryp 对各组大鼠血气指标的影响( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

Table 1 Effects of cryp on blood gas parameters of rats in each group

| 分组            | PaO <sub>2</sub> /mmHg   | PaCO <sub>2</sub> /mmHg  | OI(mmHg)                   |
|---------------|--------------------------|--------------------------|----------------------------|
| NC 组          | 92.64±7.51               | 29.83±3.76               | 441.14±53.67               |
| Model 组       | 47.85±5.68 <sup>a</sup>  | 61.52±7.29 <sup>a</sup>  | 227.86±26.43 <sup>a</sup>  |
| Cryp-L 组      | 61.43±6.27 <sup>b</sup>  | 53.46±6.18 <sup>b</sup>  | 292.52±37.81 <sup>b</sup>  |
| Cryp-H 组      | 76.58±7.49 <sup>bc</sup> | 42.74±3.87 <sup>bc</sup> | 364.67±41.58 <sup>bc</sup> |
| Cryp-H+TMAO 组 | 57.36±6.83 <sup>d</sup>  | 56.37±6.63 <sup>d</sup>  | 282.76±34.19 <sup>d</sup>  |
| 左氧氟沙星组        | 78.21±8.14 <sup>bc</sup> | 41.95±5.32 <sup>bc</sup> | 372.43±42.76 <sup>bc</sup> |

注:与 NC 组对比,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与 Model 组对比,<sup>b</sup> $P < 0.05$ ;与 Cryp-L 组对比,<sup>c</sup> $P < 0.05$ ;与 Cryp-L 组对比,<sup>d</sup> $P < 0.05$ 。

2 Cryp 对大鼠肺组织形态变化的影响

如图 1 所示,NC 组大鼠肺组织结构正常;Model 组大鼠肺泡间隔和细支气管壁明显增厚,肺组织细胞排列杂乱,有明显间质水肿现象,伴有大量炎性细胞浸润;与 Model 组相比,Cryp-L 组、Cryp-H 组和左氧氟沙星组大鼠肺组织损伤程度有所减轻;与 Cryp-H 组相比,Cryp-H+TMAO 组大鼠肺组织损伤明显加重。

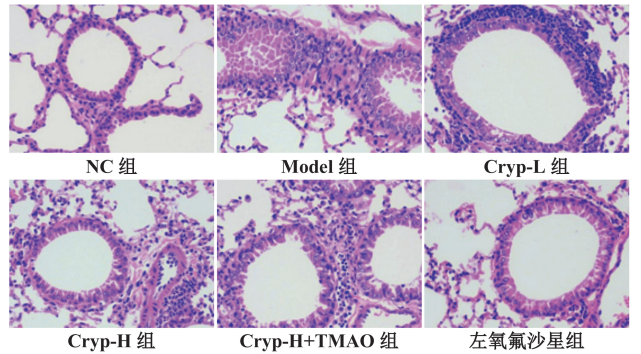


图 1 肺组织形态(HE 染色,400×)  
Fig. 1 Morphology of lung tissue (HE staining,400×)

NC 组、Model 组、Cryp-L 组、Cryp-H 组、Cryp-H+TMAO 组、左氧氟沙星组大鼠肺组织病理评分分别为(0.20±0.03)、(4.30±0.52)、(3.10±0.38)、(1.50±0.19)、(3.40±0.41)、(1.60±0.22)分。Model 组大鼠高于 NC 组( $P < 0.05$ ),Cryp-L 组、Cryp-H 组和左氧氟沙星组低于 Model 组( $P < 0.05$ ),Cryp-H+TMAO 组高于 Cryp-H 组( $P < 0.05$ ),Cryp-H 组和左氧氟沙星组差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

3 Cryp 对大鼠肺组织细胞凋亡的影响

NC 组、Model 组、Cryp-L 组、Cryp-H 组、Cryp-H+TMAO 组、左氧氟沙星组大鼠肺组织细胞凋亡率分别为(2.85±0.43)%、(31.62±4.29)%、(23.48±3.16)%、(14.27±1.98)%、(25.34±3.72)%、(13.76±1.84)%。肺组织细胞凋亡率,Model 组大鼠高于 NC 组( $P < 0.05$ ),Cryp-L 组、Cryp-H 组和左氧氟沙星组大鼠低于 Model 组( $P < 0.05$ ),Cryp-H+TMAO 组大鼠高于 Cryp-H 组( $P < 0.05$ ),Cryp-H 组和左氧氟沙星组差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),见图 2。

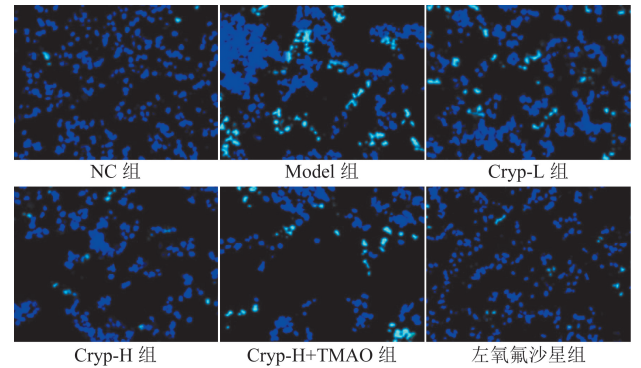


图 2 肺组织细胞凋亡(TUNEL 染色,200×)  
Fig. 2 Apoptosis of lung tissue cells (TUNEL staining,200×)

4 Cryp 对大鼠肺组织炎症因子水平的影响

IL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-18 和 TNF- $\alpha$  水平比较,Model 组大鼠高于 NC 组( $P < 0.05$ ),Cryp-L 组、Cryp-H 组和左氧氟沙星组大低于 Model 组( $P < 0.05$ ),Cryp-H+TMAO 组高于 Cryp-H 组( $P < 0.05$ ),Cryp-H 组和左氧氟沙星组无统计学意义( $P > 0.05$ ),见表 2。

表 2 各组大鼠肺组织 IL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-18 和 TNF- $\alpha$  水平比较  
(pg/mL, $\bar{x} \pm s, n=10$ )

Table 2 Comparison of IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-18 and TNF- $\alpha$  levels  
in lung tissues of rats in each group

| 组别            | IL-1 $\beta$              | IL-6                      | IL-18                      | TNF- $\alpha$             |
|---------------|---------------------------|---------------------------|----------------------------|---------------------------|
| NC 组          | 39.52±5.18                | 28.64±4.73                | 45.73±6.82                 | 53.81±7.92                |
| Model 组       | 174.36±23.94 <sup>a</sup> | 137.53±18.24 <sup>a</sup> | 276.42±35.93 <sup>a</sup>  | 225.36±31.74 <sup>a</sup> |
| Cryp-L 组      | 126.83±17.52 <sup>b</sup> | 98.69±13.58 <sup>b</sup>  | 192.84±26.51 <sup>b</sup>  | 162.47±21.38 <sup>b</sup> |
| Cryp-H 组      | 75.48±9.61 <sup>bc</sup>  | 59.37±8.46 <sup>bc</sup>  | 104.67±15.78 <sup>bc</sup> | 91.54±13.63 <sup>bc</sup> |
| Cryp-H+TMAO 组 | 138.71±17.45 <sup>d</sup> | 112.82±15.31 <sup>d</sup> | 218.31±27.45 <sup>d</sup>  | 176.62±23.41 <sup>d</sup> |
| 左氧氟沙星组        | 71.63±8.96 <sup>bc</sup>  | 56.48±8.17 <sup>bc</sup>  | 97.76±14.64 <sup>bc</sup>  | 87.25±12.89 <sup>bc</sup> |

注:与 NC 组对比,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与 Model 组对比,<sup>b</sup> $P < 0.05$ ;与 Cryp-L 组对比,<sup>c</sup> $P < 0.05$ ;与 Cryp-L 组对比,<sup>d</sup> $P < 0.05$ 。



5 Cryp 对大鼠肺组织 W/D、MDA 含量、SOD 和 MPO 活性的影响

与 NC 组比较,Model 组大鼠 SOD 活性降低,W/D 值、MDA 含量和 MPO 活性升高( $P<0.05$ );与 Model 组相比,Cryp-L 组、Cryp-H 组和左氧氟沙星组大鼠 SOD 活性升高,W/D 值、MDA 含量和 MPO 活性降低( $P<0.05$ );与 Cryp-H 组相比,Cryp-H+TMAO 组大鼠 SOD 活性降低,W/D 值、MDA 含量和 MPO 活性升高( $P<0.05$ ),Cryp-H 组左氧氟沙星组上述指标水平无统计学意义( $P>0.05$ ),见表 3。

表 3 Cryp 对大鼠肺组织 W/D、MDA 含量、SOD 和 MPO 活性的影响( $\bar{x}\pm s, n=10$ )  
Table 3 Effects of Cryp on W/D,MDA content,SOD and MPO activity in rat lung tissue

| 组别            | W/D                           | MDA( $\mu\text{mol/g}$ )       | SOD(U/mg)                      | MPO(U/g)                       |
|---------------|-------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| NC 组          | 4.18 $\pm$ 0.39               | 7.28 $\pm$ 1.16                | 95.68 $\pm$ 13.27              | 12.43 $\pm$ 1.76               |
| Model 组       | 6.32 $\pm$ 0.54 <sup>a</sup>  | 43.61 $\pm$ 5.74 <sup>a</sup>  | 36.47 $\pm$ 4.82 <sup>a</sup>  | 37.68 $\pm$ 4.93 <sup>a</sup>  |
| Cryp-L 组      | 5.67 $\pm$ 0.48 <sup>b</sup>  | 32.85 $\pm$ 4.69 <sup>b</sup>  | 52.93 $\pm$ 6.78 <sup>b</sup>  | 29.32 $\pm$ 3.58 <sup>b</sup>  |
| Cryp-H 组      | 4.83 $\pm$ 0.41 <sup>bc</sup> | 18.51 $\pm$ 2.43 <sup>bc</sup> | 71.86 $\pm$ 9.34 <sup>bc</sup> | 20.74 $\pm$ 2.61 <sup>bc</sup> |
| Cryp-H+TMAO 组 | 5.91 $\pm$ 0.52 <sup>d</sup>  | 37.21 $\pm$ 4.83 <sup>d</sup>  | 47.52 $\pm$ 5.96 <sup>d</sup>  | 32.16 $\pm$ 4.35 <sup>d</sup>  |
| 左氧氟沙星组        | 4.75 $\pm$ 0.43 <sup>bc</sup> | 18.32 $\pm$ 2.47 <sup>bc</sup> | 69.35 $\pm$ 8.51 <sup>bc</sup> | 19.87 $\pm$ 2.49 <sup>bc</sup> |

注:与 NC 组对比,<sup>a</sup> $P<0.05$ ;与 Model 组对比,<sup>b</sup> $P<0.05$ ;与 Cryp-L 组对比,<sup>c</sup> $P<0.05$ ;与 Cryp-L 组对比,<sup>d</sup> $P<0.05$ 。

6 Cryp 对大鼠肺组织中相关蛋白表达的影响

与 NC 组比较,Model 组大鼠 SP-A 和 SP-D 蛋白表达水平降低,TXNIP、NLRP3 和 caspase-1 蛋白表达水平升高( $P<0.05$ );与 Model 组相比,Cryp-L 组、Cryp-H 组和左氧氟沙星组大鼠 SP-A 和 SP-D 蛋白表达水平升高,TXNIP、NLRP3 和 caspase-1 蛋白表达水平降低( $P<0.05$ );与 Cryp-H 组相比,Cryp-H+TMAO 组大鼠 SP-A 和 SP-D 蛋白表达水平降低,TXNIP、NLRP3 和 caspase-1 蛋白表达水平升高( $P<0.05$ ),Cryp-H 组左氧氟沙星组上述蛋白表达水平无统计学意义( $P>0.05$ ),见图 3 和表 4。

表 4 Cryp 对大鼠肺组织中相关蛋白表达的影响( $\bar{x}\pm s, n=10$ )  
Table 4 Effects of cryp on the expression of related proteins in rat lung tissue

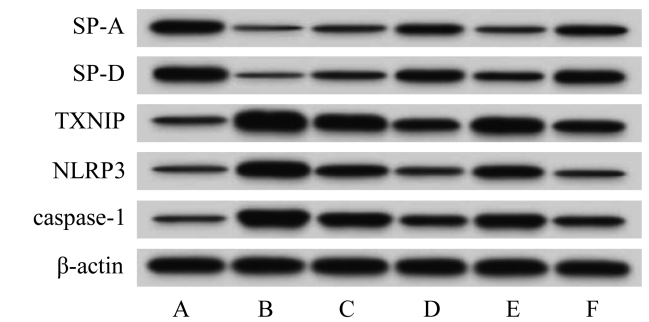
| 组别            | SP-A                          | SP-D                          | TXNIP                         | NLRP3                         | caspase-1                     |
|---------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| NC 组          | 0.76 $\pm$ 0.10               | 0.87 $\pm$ 0.11               | 0.37 $\pm$ 0.05               | 0.27 $\pm$ 0.04               | 0.31 $\pm$ 0.05               |
| Model 组       | 0.18 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>  | 0.23 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>  | 1.28 $\pm$ 0.16 <sup>a</sup>  | 0.93 $\pm$ 0.13 <sup>a</sup>  | 1.09 $\pm$ 0.14 <sup>a</sup>  |
| Cryp-L 组      | 0.35 $\pm$ 0.05 <sup>b</sup>  | 0.45 $\pm$ 0.06 <sup>b</sup>  | 0.99 $\pm$ 0.13 <sup>b</sup>  | 0.68 $\pm$ 0.09 <sup>b</sup>  | 0.84 $\pm$ 0.12 <sup>b</sup>  |
| Cryp-H 组      | 0.57 $\pm$ 0.08 <sup>bc</sup> | 0.66 $\pm$ 0.08 <sup>bc</sup> | 0.71 $\pm$ 0.09 <sup>bc</sup> | 0.43 $\pm$ 0.06 <sup>bc</sup> | 0.63 $\pm$ 0.08 <sup>bc</sup> |
| Cryp-H+TMAO 组 | 0.32 $\pm$ 0.05 <sup>d</sup>  | 0.41 $\pm$ 0.06 <sup>d</sup>  | 1.04 $\pm$ 0.13 <sup>d</sup>  | 0.75 $\pm$ 0.10 <sup>d</sup>  | 0.89 $\pm$ 0.11 <sup>d</sup>  |
| 左氧氟沙星组        | 0.59 $\pm$ 0.08 <sup>bc</sup> | 0.68 $\pm$ 0.09 <sup>bc</sup> | 0.73 $\pm$ 0.09 <sup>bc</sup> | 0.40 $\pm$ 0.06 <sup>bc</sup> | 0.61 $\pm$ 0.08 <sup>bc</sup> |

注:与 NC 组对比,<sup>a</sup> $P<0.05$ ;与 Model 组对比,<sup>b</sup> $P<0.05$ ;与 Cryp-L 组对比,<sup>c</sup> $P<0.05$ ;与 Cryp-L 组对比,<sup>d</sup> $P<0.05$ 。

讨 论

Kp 是一种属于肠杆菌科的革兰阴性菌,是正常人体微生物群的组成部分,定植在口腔咽部、鼻咽部和胃肠道粘膜表面<sup>[13]</sup>。在正常情况下,Kp 可以与其他

正常菌群保持平衡,不会发病,当宿主防御力低或有易感因素时,可以引起感染,是医院获得性肺炎的常见的原因,具有较高发病率和死亡率<sup>[14]</sup>。目前,临床治疗 Kp 肺炎效果不理想,因此,深入探究 Kp 肺炎致病机制,并寻找有效的防控与治疗手段是当前临床与科研领域亟待解决的关键问题。Cryp 是一种从丹参中提取的天然化合物,具有抗菌、抗炎等功效。Song 等<sup>[15]</sup>研究表明 Cryp 可降低脂多糖和香烟烟雾诱导的慢性阻塞性肺病小鼠炎症反应和肺气肿,减轻肺组织损伤,改善肺功能。Huang 等<sup>[16]</sup>研究表明 Cryp 可有效抑制猪呼吸综合征病毒对猪肺泡巨噬细胞的感染。推测 Cryp 对 Kp 肺炎也具有一定改善作用。



A NC 组 B Model 组 C Cryp-L 组 D Cryp-H 组 E Cryp-H+TMAO 组 F 左氧氟沙星组

图 3 SP-A、SP-D、TXNIP、NLRP3 和 caspase-1 蛋白表达

Fig. 3 Expression of SP-A,SP-D, TXNIP, NLRP3 and caspase-1 proteins

肺炎发生时,可造成肺部炎症和肺组织损伤,进而导致肺部气体交换障碍,导致血液中 PaO<sub>2</sub> 含量降低,PaCO<sub>2</sub> 含量升高,引起通气功能障碍和氧合不足<sup>[17]</sup>。本研究中,Cryp 干预后提高大鼠 PaO<sub>2</sub> 和 OI 水平,可降低 PaCO<sub>2</sub> 水平和肺组织病理评分,改善肺组织形态和肺功能,减轻肺组织损伤。当 Kp 浸染肺部后会激活巨噬细胞,释放一系列炎症因子,炎症因子可招募免疫细胞到感染部位以清除病原体,但炎症因子大量产生并持续存在会造成肺部组织炎性损伤,引起肺水肿、肺出血等病变,进而影响气体交换功能。李柏新等<sup>[12]</sup>研究显示抑制炎症因子 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  和 IL-6 水平可降低 Kp 肺炎大鼠肺损伤,改善病情。本研究中,Cryp 干预后可降低大鼠肺组织炎症因子 IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$ 、IL-18 水平和 W/D 值,降低炎性损伤和肺水肿。MPO 为髓过氧化物酶,在肺炎患者体内水平升高,与肺炎严重程度有关,常用于肺炎诊断和病情评估,MPO 水平下降表明肺炎病情趋向好转<sup>[18]</sup>;SP-A 和 SP-D 是肺表面活性物质相关蛋白,可识别肺炎相关病原体,启动免疫反应,促进对病原体的杀伤。还可抑制过度炎症反应,抑制炎症因子对肺组织的损伤<sup>[19]</sup>。本研究中,Cryp 干预后可降低 MPO 水平,提高 SP-A 和

SP-D 蛋白表达。氧化应激在肺炎发生发展过程中发挥重要作用,肺炎发生后免疫细胞被激活,产生大量活性氧,诱发氧化应激,对肺组织造成氧化损伤,促进细胞凋亡<sup>[20]</sup>。本研究中,Cryp 干预后可提高 SOD 活性,降低氧化损伤产物 MDA 含量和肺组织细胞凋亡,减轻氧化损伤。Cryp-H 组与左氧氟沙星组大鼠上述各指标处于同一水平。提示 Cryp 可减轻 Kp 诱导的肺炎大鼠肺损伤,降低炎症、氧化损伤和细胞凋亡,改善肺功能。

TXNIP/NLRP3 信号通路是一条炎症相关通路,在炎症刺激下,TXNIP 被激活,并与 NLRP3 结合,将 Caspase-1 前体切割成成熟的 Caspase-1,促进 IL-1 $\beta$  和 IL-18 等炎症因子成熟和释放,引发炎症反应<sup>[6]</sup>。周红等<sup>[21]</sup>研究表明抑制该通路可降低重症肺炎大鼠炎症反应、肺组织损伤和细胞焦亡。王亚静等<sup>[22]</sup>研究表明抑制该通路可减轻重症肺炎大鼠肺损伤、炎症反应和氧化应激,改善肺功能。本研究中,Cryp 干预后可降低 TXNIP、NLRP3 和 caspase-1 蛋白表达水平,抑制该通路。本研究同时用 Cryp 和 TMAO 干预大鼠,结果发现,TMAO 可降低 Cryp 对 Kp 肺炎大鼠炎症反应的减轻作用。提示 Cryp 减轻 Kp 肺炎大鼠炎症反应可能与抑制 TXNIP/NLRP3 信号通路有关。

综上所述,Cryp 可能通过抑制 TXNIP/NLRP3 信号通路来降低 Kp 肺炎炎症反应和肺损伤。Cryp 在大鼠体内可能还存在其他靶点,具体作用机制还需进一步探究。

#### 【参考文献】

- [1] Zhang Y, Zhu C, Zhao H, et al. Anti-inflammatory effect of chlorogenic acid in *Klebsiella pneumoniae*-induced pneumonia by inactivating the p38MAPK pathway[J]. Int J Med Microbiol, 2023,313(2):151576-151589.
- [2] Tao Z, Li X, Yu H, et al. Photodynamic therapy of LD4-photosensitizer attenuates the acute pneumonia induced by *Klebsiella pneumoniae*[J]. ACS Pharmacol Transl Sci, 2024,7(4):1101-1113.
- [3] Ye Z, Wang P, Feng G, et al. Cryptotanshinone attenuates LPS-induced acute lung injury by regulating metabolic reprogramming of macrophage[J]. Front Med (Lausanne), 2023,9(1):1075465-1075476.
- [4] Zhang Q, Gan C, Liu H, et al. Cryptotanshinone reverses the epithelial-mesenchymal transformation process and attenuates bleomycin-induced pulmonary fibrosis[J]. Phytother Res, 2020,34(10):2685-2696.
- [5] 张人子,李晟,王导新. 隐丹参酮减轻 LPS 诱导的 ARDS 小鼠早期肺纤维化及机制研究[J]. 陆军军医大学学报, 2022,44(18):1819-1825,1834.
- [6] 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.
- [7] 陈旭,陆光兵,田良东. 胡黄连苷 II 调节 TXNIP/NLRP3 信号通路对重症肺炎大鼠肺泡上皮细胞焦亡的影响[J]. 中国呼吸与危重监护杂志, 2024,23(11):791-796.
- [8] Jing XH, Zhao GY, Wang GB, et al. Naringin alleviates pneumonia caused by *Klebsiella pneumoniae* infection by suppressing NLRP3 inflammasome[J]. Biomed Pharmacother, 2024,170(3):116028-116039.
- [9] Liu H, Zhan X, Xu G, et al. Cryptotanshinone specifically suppresses NLRP3 inflammasome activation and protects against inflammasome-mediated diseases[J]. Pharmacol Res, 2021,164(3):105384-105396.
- [10] 胡颖嵩,卫明,唐晶,等. 红景天苷对克雷伯菌感染肺炎大鼠 AMPK/SIRT1 通路及肺功能的影响[J]. 联勤军事医学, 2025,39(01):1-5,10.
- [11] 张树柳,刘瑞瑞,陈玉刚,等. 隐丹参酮调节 Rac1/AKT/NF- $\kappa$ B 信号通路对脓毒症大鼠肺损伤的影响[J]. 河北医学, 2024,30(10):1597-1603.
- [12] 李柏新,冷晓雪,陈之光. 蓝萼甲素调节 HMGB1/TLR4/NF- $\kappa$ B 信号通路对克雷伯菌肺炎大鼠炎性损伤的影响[J]. 中国病原生物学杂志, 2022,17(12):1387-1391.
- [13] Li N, Han J, Dong Y, et al. Treatment of multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* pneumonia in rats with the Wen Run Fei Ning formula: A preliminary study[J]. J Vector Borne Dis, 2023,60(3):317-323.
- [14] Hu JJ, Lin YS, Zhang JC, et al. Vitamin D improves *Klebsiella*-induced severe pneumonia in rats by regulating intestinal microbiota[J]. Infect Drug Resist, 2024,17(3):475-484.
- [15] Song H, Jiang L, Yang W, et al. Cryptotanshinone alleviates lipopolysaccharide and cigarette smoke-induced chronic obstructive pulmonary disease in mice via the Keap1/Nrf2 axis[J]. Biomed Pharmacother, 2023,165(2):115105-115116.
- [16] Huang C, Zhu J, Wang L, et al. Cryptotanshinone protects porcine alveolar macrophages from infection with porcine reproductive and respiratory syndrome virus[J]. Antiviral Res, 2020,183(1):104937-104948.
- [17] 宋晓萍,刘萍萍,刘晓琳,等. 大黄素调节 SIRT1/AMPK 信号通路对肺炎克雷伯菌致重症肺炎大鼠细胞自噬和凋亡的影响[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2025,30(1):42-50.
- [18] Wang R, Gan C, Mao R, et al. Rat models of postintracerebral hemorrhage pneumonia induced by nasal inoculation with *Klebsiella pneumoniae* or intratracheal inoculation with LPS[J]. Front Immunol, 2025,15(3):1477902-1477913.
- [19] Ostermann L, Maus R, Stolper J, et al. Alpha-1 antitrypsin deficiency impairs lung antibacterial immunity in mice[J]. JCI Insight, 2021,6(3):e140816-e140827.
- [20] Hassanen EI, Hassan NH, Hussien AM, et al. Betaine alleviates methomyl-triggered oxidative stress-mediated cardiopulmonary inflammation in rats through iNOS/Cox2 and Nrf2/HO1/Keap1 signaling pathway[J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2025,495(3):117223-117234.
- [21] 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.
- [22] 王亚静,张静,宋卫卫,等. 大黄素通过调控 ROS/TXNIP/NLRP3 轴介导的细胞焦亡途径减轻重症肺炎大鼠肺损伤[J]. 中国病理生理杂志, 2021,37(7):1240-1245.

【收稿日期】 2025-02-12 【修回日期】 2025-05-04