

凤尾草水提物对 LPS 致小鼠炎症及 PI3K/Akt/NF- κ B 信号通路的影响

龙 莉¹, 林 思², 秦慧真³, 许立拔⁴, 陆峥嵘¹, 马 艳^{1*}

(1. 广西国际壮医医院, 广西 南宁 530201; 2. 广西医科大学第二附属医院, 广西 南宁 530007; 3. 广西民族大学相思湖学院, 广西 南宁 530225; 4. 广西中医药大学壮瑶药重点实验室, 广西 南宁 530200)

摘要: **目的** 研究凤尾草水提物对 LPS 所致小鼠急性炎症的作用。**方法** 24 只 C57BL/6 小鼠随机分为正常组、模型组、凤尾草水提物组 (5 g/kg) 和地塞米松组 (5 mg/kg), 每组 6 只, 灌胃给予相应药物, 持续 21 d, 末次给药 1 h 后, 除正常组外, 其余各组小鼠腹腔注射 15 mg/kg LPS 建立炎症模型, 12 h 后取材。采用 Griess 法检测小鼠血清 NO 水平; ELISA 法检测小鼠血清 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平; HE 染色观察小鼠肠、脾组织病理变化; RT-qPCR 法检测小鼠肠、脾组织 IL-1 β 、IL-6、TNF- α mRNA 表达; Western blot 法检测小鼠肠、脾组织 iNOS、COX-2、PI3K、p-PI3K、Akt、p-Akt、p65、p-p65 蛋白表达; 免疫组化法检测小鼠脾组织 IL-1 β 、CXCR3 蛋白表达。**结果** 与正常组比较, 模型组小鼠血清 NO、IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平升高 ($P<0.01$), 肠、脾组织均可见炎性细胞浸润, 肠、脾组织 IL-1 β 、IL-6、TNF- α mRNA 表达升高 ($P<0.01$), 肠、脾组织 iNOS、COX-2、p-PI3K、p-Akt、p-p65 蛋白表达和脾组织 IL-1 β 、CXCR3 蛋白表达升高 ($P<0.01$); 与模型组比较, 凤尾草水提物组小鼠血清 NO、IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平降低 ($P<0.01$), 肠、脾组织病理损伤明显改善, 肠、脾组织 IL-1 β 、IL-6、TNF- α mRNA 表达降低 ($P<0.05$, $P<0.01$), 肠、脾组织 iNOS、COX-2、p-PI3K、p-Akt、p-p65 蛋白表达和脾组织 IL-1 β 、CXCR3 蛋白表达降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)。**结论** 凤尾草水提取物具有良好的抗炎效应, 能够改善 LPS 所致小鼠急性炎症, 其作用机制可能与抑制 PI3K/Akt/NF- κ B 信号通路有关。

关键词: 凤尾草水提物; 脂多糖 (LPS); 炎症; PI3K/Akt/NF- κ B 信号通路

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2026)07-2205-08

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2026.07.011

Effects of aqueous extract from *Pteris multifida* on LPS-induced inflammatory and PI3K/Akt/NF- κ B signaling pathway in mice

LONG Li¹, LIN Si², QIN Hui-zhen³, XU Li-ba⁴, LU Zheng-lin¹, MA Yan^{1*}

(1. Guangxi International Zhuang Medicine Hospital, Nanning 530201, China; 2. The Second Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530007, China; 3. Xiangsihu College of Guangxi Minzu University, Nanning 530225, China; 4. Guangxi Key Laboratory of Zhuang and Yao Ethnic Medicine, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530200, China)

ABSTRACT: **AIM** To study the effect of aqueous extract from *Pteris multifida* Poir. (*P. multifida*) on LPS-induced acute inflammation model in mice. **METHODS** Twenty-four C57BL/6 mice were randomly divided into normal group, model group, *P. multifida* aqueous extract group (5 g/kg) and dexamethasone group (5 mg/kg), with 6 mice in each group. The corresponding drugs were given intragastric administration for 21 days. One hour after the last administration, except for the normal group, the mice in the other groups were intraperitoneally injected with 15 mg/kg LPS to establish an inflammatory mouse model, and the samples were collected 12 h later.

收稿日期: 2025-05-23

基金项目: 广西高校中青年教师科研基础能力提升项目 (2024KY0332); 钟文全国老药工传承工作室项目 (国中医药人教函 [2024] 255 号); 国家中医药管理局高水平中医药重点学科建设项目 (zyzdxk-2023165); 黄瑞松全国名老中医药专家传承工作室 (国中医药人教函 [2022] 75 号); 广西自然科学基金青年科学基金项目 (2023GXNSFBA026072)

作者简介: 龙 莉, 女, 硕士, 助理研究员, 从事中药品种、质量及资源开发研究。E-mail: 1573277279@qq.com

* **通信作者:** 马 艳, 女, 硕士, 主治医师, 从事中医、民族医药的基础与临床研究。E-mail: 395837523@qq.com

网络出版日期: 2025-08-20

网络出版地址: <https://link.cnki.net/urlid/31.1368.R.20250820.0917.002>.

The level of NO in serum of mice was detected by Griess method, and the levels of IL-1 β , IL-6 and TNF- α in serum of mice were detected by ELISA. HE staining was used to observe the pathological changes of intestinal tissue and spleen tissue in mice. The expressions of IL-1 β , IL-6 and TNF- α mRNA in intestinal tissue and spleen tissue of mice were detected by RT-qPCR. Western blot was used to detect the expressions of iNOS, COX-2, PI3K, p-PI3K, Akt, p-Akt, p65 and p-p65 in intestinal tissue and spleen tissue of mice. The expressions of IL-1 β and CXCR3 proteins in spleen tissue of mice were detected by immunohistochemistry. **RESULTS** Compared with the normal group, the levels of serum NO, IL-1 β , IL-6 and TNF- α in the model group were increased ($P<0.01$). Inflammatory cell infiltration were observed in the intestine and liver tissues. The mRNA expressions of IL-1 β , IL-6 and TNF- α in the intestine and spleen tissues were increased ($P<0.01$). The expressions of iNOS, COX-2, p-PI3K, p-Akt and p-p65 proteins in the intestine and spleen tissues and the expressions of IL-1 β and CXCR3 proteins in the spleen tissues were increased ($P<0.01$). Compared with the model group, the levels of NO, IL-1 β , IL-6 and TNF- α in serum of mice in the aqueous extract from *P. multifida* group were decreased ($P<0.01$), the pathological damage of intestine and spleen tissues were significantly improved, the expressions of IL-1 β , IL-6 and TNF- α mRNA in intestine and spleen tissues were decreased ($P<0.05$, $P<0.01$), the expressions of iNOS, COX-2, p-PI3K, p-Akt and p-p65 proteins in intestine and spleen tissues and the expressions of IL-1 β and CXCR3 proteins in spleen tissues were decreased ($P<0.05$, $P<0.01$). **CONCLUSION** The aqueous extract from *P. multifida* has a good anti-inflammatory effect and can improve LPS-induced acute inflammation in mice, and the mechanism may be related to the inhibition of PI3K/Akt/NF- κ B signaling pathway.

KEY WORDS: aqueous extract from *Pteris multifida*; lipopolysaccharide (LPS); inflammatory; PI3K/Akt/NF- κ B signaling pathway

炎症是机体受到外界病原性刺激时，免疫系统产生的一种保护性反应，然而过度的炎症会损伤机体，引发许多急、慢性疾病^[1-2]。现代药理学研究表明，许多疾病的发展都与炎症密切相关，如动脉粥样硬化、哮喘、癌症、关节炎、糖尿病以及神经退行性疾病等^[3-5]。因此，调控炎症的发生发展对防控疾病有着重要作用。

在机体中产生的炎症反应、氧化应激等病理反应，都与脂多糖（lipopolysaccharide, LPS）所致的炎症损伤密切相关^[6-7]。LPS 诱导的急性炎症模型是筛选抗炎药物的经典模型，备受广大研究者的青睐^[8]。凤尾草为凤尾蕨科凤尾蕨属植物凤尾草 *Pteris multifida* Poir. 的干燥全草，又名井栏边草，具有清热解毒、消肿、利湿、止血等功效，临床上用于治疗肝胆疾病、泌尿系统疾病、扁桃体炎、急性乳腺炎等^[9-10]。研究表明，凤尾草具有抗肿瘤、抗菌、抗氧化等药理活性^[11]。课题组前期研究发现，凤尾草对 LPS 所致 RAW264.7 细胞炎症具有良好的抗炎作用，其分子机制可能与抑制核转录因子- κ B（nuclear factor- κ B, NF- κ B）/磷脂酰肌醇 3-激酶（phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K）/蛋白激酶 B（protein kinase B, Akt）信号通路活化有关^[12]。但凤尾草在体内的抗炎作用及机制未知，

基于此，本研究利用 LPS 诱导小鼠急性炎症模型，探究凤尾草体内抗炎作用及机制，以期凤尾草作为抗炎药物的开发利用提供更多的实验依据。

1 材料

1.1 仪器

HD 325C 型轮转式切片机病理切片机（湖北慧达仪器有限公司）；IX71 型倒置显微镜（日本 Olympus 公司）；Epoch2 型全波长酶标仪（美国 BioTek 公司）；JY300C 型垂直电泳仪（北京君意东方电泳设备有限公司）；SelectCycler II 梯度 PCR 仪（美国 SelectBioProducts 公司）；ChemiScope5300 一体式化学发光成像系统（上海寰熙医疗器械有限公司）。

1.2 试剂与药物

凤尾草购自广西仙荣中药科技有限公司，经广西国际壮医医院陆峥琳主任中药师鉴定为凤尾蕨科植物凤尾草 *Pteris multifida* Poir. 的干燥全草饮片。地塞米松、脂多糖（北京索莱宝科技有限公司，货号 SD9530、L8880）；苏木素（美国 Sigma 公司，货号 H9627）；伊红（国药集团化学试剂有限公司，货号 71014544）；一氧化氮（nitric oxide, NO）含量检测试剂盒（北京盒子生物科技有限公司，货号 AKNM005M）；白细胞介素（interleukin, IL）-1 β 、IL-6、肿瘤坏死因子- α （tumor necrosis factor- α , TNF- α ）酶联免疫吸附测

定法 (ELISA) 试剂盒 (江苏酶免实业有限公司, 货号 MM-0040M1、MM-0163M1、MM-0132M1); BCA 蛋白定量试剂盒、5% BSA (北京兰杰柯科技有限公司, 货号 BL521A、A9647); GAPDH、诱导型一氧化氮合酶 (inducible nitric oxide synthase, iNOS)、环氧合酶-2 (cyclooxygenase-2, COX-2)、PI3K、Akt、磷酸化 (phosphorylate, p) -Akt、p65、p-p65 (武汉三鹰生物技术有限公司, 货号 60004-1-Ig、18985-1-AP、66351-1-Ig、20584-1-AP、60203-2-Ig、66444-1-Ig、80979-1-RR、10745-1-AP); p-PI3K、CXC 趋化因子受体 3 (CXC chemokine receptor 3, CXCR3) 抗体 (北京博奥森生物技术有限公司, 货号 BS-6417R、BS-0341R); CD68、IL-1 β 抗体 (英国 Abcam 公司, 货号 ab213096、ab8320)。

1.3 动物 24 只 C57BL/6 雄性小鼠, 体质量 20~22 g, 购自斯贝福 (苏州) 生物技术有限公司 [实验动物生产许可证号 SCXK (苏) 2022-0006, 动物生产合格证号 202351688], 饲养于广西中医药大学 SPF 级动物房 [实验动物使用许可证号 SYXK (桂) 2019-0001], 实验室温度 (22 $\pm$ 3) $^{\circ}$ C, 相对湿度 50%~60%。本实验经广西中医药大学伦理委员会审核批准 (伦理批准号 DW20240603-172)。

2 方法

2.1 造模、分组及给药 小鼠适应性饲养 1 周后, 随机分为正常组、模型组、凤尾草水提取物组 (5 g/kg) 和地塞米松组 (5 mg/kg), 每组 6 只。各给药组灌胃给予相应药物, 正常组和模型组灌胃给予等体积水, 连续 21 d。末次给药后 1 h, 腹腔注射 LPS 15 mg/kg 建立炎症小鼠模型^[13], 12 h 后取材。

2.2 ELISA 法检测小鼠血清 NO、IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平 小鼠采血后, 全血于 4 $^{\circ}$ C 下静置 4 h, 3 000 r/min 离心 10 min, 取上清, 按相关试剂盒说明操作检测小鼠血清 NO、IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平。

2.3 HE 染色观察小鼠肠、脾组织病理学变化 小鼠肠、脾组织经组织固定液固定后, 组织脱水浸蜡, 石蜡包埋, 切取 6 μ m 切片; 常规脱蜡、水化、苏木素染色、返蓝、伊红染色、脱水封片, 于显微镜下观察小鼠肠、脾组织的病理损伤情况。

2.4 RT-qPCR 法检测小鼠肠、脾组织 IL-1 β 、IL-6、TNF- α mRNA 表达 用 TRIzol 试剂提取小鼠肠、脾组织总 RNA, 检测总 RNA 浓度, 按照反转录试剂盒进行逆转录反应, qPCR 试剂盒进行扩增反

应, 反应条件为 95 $^{\circ}$ C 预变性 10 min; 95 $^{\circ}$ C 变性 20 s, 55 $^{\circ}$ C 退火 60 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 20 s, 95 $^{\circ}$ C 延伸 15 s, 40 个循环。以 GAPDH 为内参, 使用 2^{- $\Delta\Delta$ CT} 法计算目的基因 mRNA 相对表达。引物由通用生物 (安徽) 股份有限公司合成, 引物序列见表 1。

表 1 引物序列

Tab. 1 Primer sequences

基因	引物序列 (5'→3')	产物长度/bp
IL-1 β	正向 CATTGTGGCTGTGGAGAAG	89
	反向 TGAAGGAAAAGAAGGTGCT	
IL-6	正向 ACAACCACGGCCTTCCTACTT	140
	反向 TTTCTCATTTCCACGATTCCG	
TNF- α	正向 CCAGACCCTCACACTCAGA	187
	反向 GACAAGGTACAACCCATCG	
GAPDH	正向 GGTGAAGGTCGGTGTGAACG	233
	反向 CTCGCTCCTGGAAGATGCTG	

2.5 Western blot 法检测小鼠肠、脾组织 iNOS、COX-2、PI3K、p-PI3K、Akt、p-Akt、p65、p-p65 蛋白表达 用含蛋白酶和磷酸酶抑制剂的 RIPA 缓冲液裂解小鼠肠、脾组织, 提取蛋白, BCA 法检测蛋白含量, 取等质量蛋白进行变性, 加入蛋白上样缓冲液后冷冻保存备用。制备 SDS-PAGE 凝胶, 上样, 电泳, 湿转法转移至 PVDF 膜, 5% BSA 室温封闭 1 h, 分别加入 iNOS、COX-2、PI3K、p-PI3K、Akt、p-Akt、p65、p-p65 抗体 (稀释比均为 1:1 000), 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜, 次日加入二抗 (1:5 000) 室温孵育 1 h, 使用 ECL 发光仪显影, 以 GAPDH 为内参, 通过 Image J 软件计算目的蛋白相对表达量。

2.6 免疫组化法检测小鼠脾组织 IL-1 β 、CXCR3 蛋白表达 将小鼠脾组织切片常规脱蜡至水, 用抗原修复液修复 15 min, 加入 H₂O₂, 室温孵育 10 min, 加入 5% BSA, 37 $^{\circ}$ C 封闭 15 min, 加入 IL-1 β 、CXCR3 抗体 (1:50), 37 $^{\circ}$ C 下孵育 2 h, 加入二抗, 37 $^{\circ}$ C 孵育 20 min, PBS 洗涤后 DAB 显色, 苏木素染核, 乙醇脱水, 中性树脂封片。于倒置显微镜下随机选取每张切片 3 个视野, 通过 Image J 软件分析阳性面积比。

2.7 统计学分析 通过 SPSS 27.0 软件进行处理, 计量资料以 ($\bar{x}\pm s$) 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 方差齐性采用 LSD 检验, 方差不齐则采用 Tamhane's T2 检验。P<0.05 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 凤尾草水提取物对炎症小鼠血清 NO、IL-1 β 、

IL-6、TNF-α 水平的影响 与正常组比较,模型组小鼠血清 NO、IL-1β、IL-6、TNF-α 水平升高 ($P<0.01$);与模型组比较,凤尾草水提物组和地塞米松组小鼠血清 NO、IL-1β、IL-6、TNF-α 水平降低 ($P<0.01$),见表 2。

3.2 凤尾草水提物对炎症小鼠肠组织病理学的影响 正常组小鼠肠腺数目正常,黏膜上皮结构完

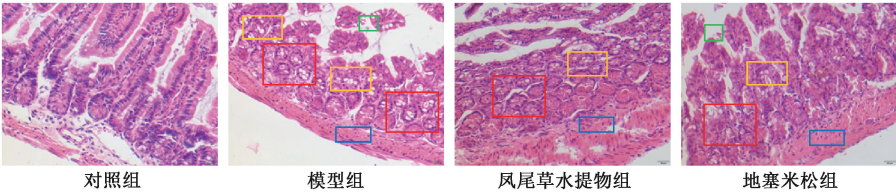
整,黏膜下层排列正常,无明显炎性细胞浸润;与正常组比较,模型组肠腺数目增加,黏膜上皮细胞脱落明显,黏膜下层增厚,固有层伴有炎性浸润;与模型组比较,凤尾草水提物组和地塞米松组炎性细胞浸润减少,病变状态改善明显,见图 1。结果表明,凤尾草可以减轻 LPS 所致炎症模型小鼠的肠组织损伤和炎症反应。

表 2 各组小鼠血清 NO、IL-1β、IL-6、TNF-α 水平比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

Tab. 2 Comparison of serum levels of NO, IL-1β, IL-6 and TNF-α in mice of each group ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	NO / (μmol·mL ⁻¹)	IL-1β / (ng·L ⁻¹)	IL-6 / (ng·L ⁻¹)	TNF-α / (ng·L ⁻¹)
正常组	0.26±0.02	12.83±2.96	14.29±2.33	22.86±3.70
模型组	0.44±0.03**	46.10±3.83**	67.67±7.33**	302.70±74.82**
凤尾草水提物组	0.34±0.03##	19.05±6.26##	20.63±7.05##	115.00±32.79##
地塞米松组	0.30±0.02##	20.03±5.28##	15.35±3.49##	113.93±5.91##

注:与正常组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,## $P<0.01$ 。



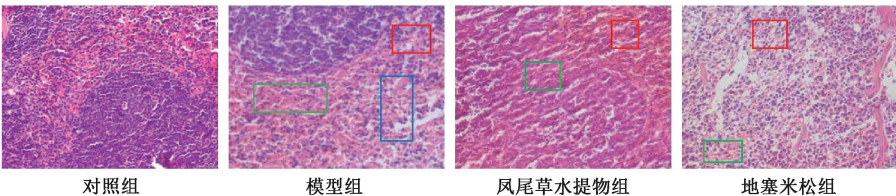
注:红色区域为肠腺数目增加,绿色区域为黏膜上皮细胞脱落,蓝色区域为黏膜下层增厚,蓝色区域为炎性细胞浸润。

图 1 各组小鼠肠组织病理形态变化 (HE, ×400)

Fig. 1 Pathological changes of intestinal tissue in mice in each group (HE, ×400)

3.3 凤尾草水提物对炎症小鼠脾组织病理学的影响 正常组小鼠白髓红髓界限清晰,脾组织被膜完整,白髓中淋巴细胞数量正常,无明显减少,无明显炎性细胞浸润;与正常组比较,模型组小鼠白髓红髓界限模糊,白髓体积缩小,红髓有大量淋巴

细胞增生和红细胞渗出;与模型组比较,凤尾草水提物组和地塞米松组小鼠白髓中淋巴细胞数量增多,白髓红髓界限清晰,炎性细胞浸润减少,病变程度减轻,见图 2。结果表明,凤尾草能够减轻 LPS 所致炎症模型小鼠的脾脏损伤和炎症反应。



注:红色区域为白红髓界限模糊,绿色区域为白髓体积缩小,蓝色区域为淋巴细胞浸润。

图 2 各组小鼠脾组织病理形态变化 (HE, ×400)

Fig. 2 Pathological changes of spleen tissue in each group of mice (HE, ×400)

3.4 凤尾草水提物对炎症小鼠肠组织 IL-1β、IL-6、TNF-α mRNA 表达的影响 与正常组比较,模型组小鼠肠组织 IL-1β、IL-6、TNF-α mRNA 表达升高 ($P<0.01$);与模型组比较,凤尾草水提物组和地塞米松组小鼠肠组织 IL-1β、IL-6、TNF-α mRNA 表达降低 ($P<0.05$, $P<0.01$),见表 3。

3.5 凤尾草水提物对炎症小鼠脾组织 IL-1β、IL-6、TNF-α mRNA 表达的影响 与正常组比较,模

型组小鼠脾组织 IL-1β、IL-6、TNF-α mRNA 表达升高 ($P<0.01$);与模型组比较,凤尾草水提物组和地塞米松组小鼠脾组织 IL-1β、IL-6、TNF-α mRNA 表达降低 ($P<0.05$, $P<0.01$),见表 4。

3.6 凤尾草水提物对炎症小鼠肠组织 iNOS、COX-2、PI3K、p-PI3K、Akt、p-Akt、p65、p-p65 蛋白表达的影响 与正常组比较,模型组小鼠肠组织 iNOS、COX-2、p-PI3K、p-Akt、p-P65 蛋白表达

表 3 各组小鼠肠组织 *IL-1β*、*IL-6*、*TNF-α* mRNA 表达比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

Tab. 3 Comparison of the mRNA expressions of *IL-1β*, *IL-6* and *TNF-α* in intestinal tissue of mice in each group ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	<i>IL-1β</i>	<i>IL-6</i>	<i>TNF-α</i>
正常组	1.03±0.31	1.02±0.30	1.07±0.48
模型组	18.60±0.46**	4.25±0.68**	17.83±2.34**
凤尾草水提物组	10.62±0.39##	2.51±0.36#	4.67±0.41##
地塞米松组	1.78±0.38##	1.77±0.16##	2.41±0.37##

注：与正常组比较，** $P<0.01$ ；与模型组比较，# $P<0.05$ ，## $P<0.01$ 。
升高 ($P<0.01$)；与模型组比较，凤尾草水提物组和地塞米松组小鼠肠组织 iNOS、COX-2、p-PI3K、

表 5 各组小鼠肠组织 iNOS、COX-2、PI3K、p-PI3K、Akt、p-Akt、p65、p-p65 蛋白表达比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

Tab. 5 Comparison of the protein expressions of iNOS, COX-2, PI3K, p-PI3K, Akt, p-Akt, p65 and p-p65 in intestinal tissue of mice in each group ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	iNOS/GAPDH	COX-2/GAPDH	p-PI3K/PI3K	p-Akt/Akt	p-p65/p65
正常组	1.00±0.02	1.00±0.06	1.00±0.04	1.00±0.07	1.00±0.12
模型组	3.52±0.24**	1.71±0.16**	3.93±0.14**	7.46±0.26**	4.78±0.37**
凤尾草水提物组	1.85±0.09##	0.55±0.01##	3.51±0.16#	6.46±0.59#	2.55±0.13##
地塞米松组	1.29±0.07##	0.46±0.01##	2.14±0.13##	2.66±0.14##	1.83±0.31##

注：与正常组比较，** $P<0.01$ ；与模型组比较，# $P<0.05$ ，## $P<0.01$ 。

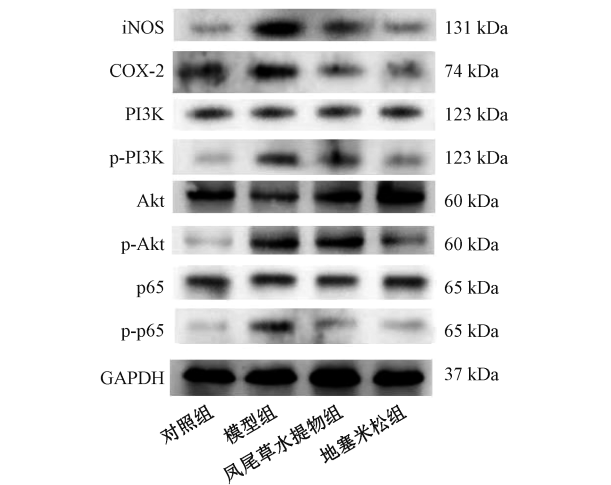


图 3 各组小鼠肠组织 iNOS、COX-2、PI3K、p-PI3K、Akt、p-Akt、p65、p-p65 蛋白条带图

Fig. 3 Protein bands of iNOS, COX-2, PI3K, p-PI3K, Akt, p-Akt, p65, p-p65 in intestinal tissue of mice in each group

表 6 各组小鼠脾组织 iNOS、COX-2、PI3K、p-PI3K、Akt、p-Akt、p65、p-p65 蛋白表达比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

Tab. 6 Comparison of the protein expressions of iNOS, COX-2, PI3K, p-PI3K, Akt, p-Akt, p65, p-p65 in spleen tissue of mice in each group ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	iNOS/GAPDH	COX-2/GAPDH	p-PI3K/PI3K	p-Akt/Akt	p-p65/p65
正常组	1.00±0.07	1.00±0.05	1.00±0.04	1.00±0.14	1.00±0.07
模型组	1.71±0.21**	2.09±0.17**	3.04±0.02**	3.54±0.34**	2.37±0.12**
凤尾草水提物组	1.13±0.09##	1.62±0.05##	1.67±0.09##	1.93±0.15##	1.44±0.05##
地塞米松组	1.00±0.03##	1.77±0.10#	1.21±0.16##	0.48±0.02##	1.58±0.10##

注：与正常组比较，** $P<0.01$ ；与模型组比较，# $P<0.05$ ，## $P<0.01$ 。

p-Akt、p-P65 蛋白表达降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)，见表 5、图 3。

表 4 各组小鼠脾组织 *IL-1β*、*IL-6*、*TNF-α* mRNA 表达比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

Tab. 4 Comparison of the mRNA expressions of *IL-1β*, *IL-6* and *TNF-α* in spleen tissue of mice in each group ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	<i>IL-1β</i>	<i>IL-6</i>	<i>TNF-α</i>
正常组	1.03±0.32	1.00±0.07	1.01±0.16
模型组	2.93±0.36**	2.14±0.24**	10.97±2.55**
凤尾草水提物组	1.29±0.16##	1.53±0.13##	6.69±0.45#
地塞米松组	1.80±0.22##	1.70±0.02#	4.03±0.96##

注：与正常组比较，** $P<0.01$ ；与模型组比较，# $P<0.05$ ，## $P<0.01$ 。

3.7 凤尾草水提物对炎症小鼠脾组织 iNOS、COX-2、PI3K、p-PI3K、Akt、p-Akt、p65、p-p65 蛋白表达的影响 与正常组比较，模型组小鼠脾组织 iNOS、COX-2、p-PI3K、p-Akt、p-P65 蛋白表达升高 ($P<0.01$)；与模型组比较，凤尾草水提物组和地塞米松组小鼠脾组织 iNOS、COX-2、p-PI3K、p-Akt、p-P65 蛋白表达降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)，见表 6、图 4。

3.8 凤尾草水提物对炎症小鼠脾组织 *IL-1β*、CXCR3 蛋白表达的影响 与正常组比较，模型组小鼠脾组织 *IL-1β*、CXCR3 蛋白表达升高 ($P<0.01$)，表达分布红骨髓内；与模型组比较，凤尾草水提物组和地塞米松组小鼠脾组织 *IL-1β*、CXCR3 蛋白表达降低 ($P<0.01$)，见表 7、图 5。

4 讨论

炎症作为机体对各种有害刺激的正常防御反应，常表现为红、热、肿、痛及部分功能障碍^[14]。



图 4 各组小鼠脾组织 iNOS、COX-2、PI3K、p-PI3K、Akt、p-Akt、p65、p-p65 蛋白条带图

Fig. 4 Protein bands of iNOS, COX-2, PI3K, p-PI3K, Akt, p-Akt, p65 and p-p65 in spleen tissue of mice in each group

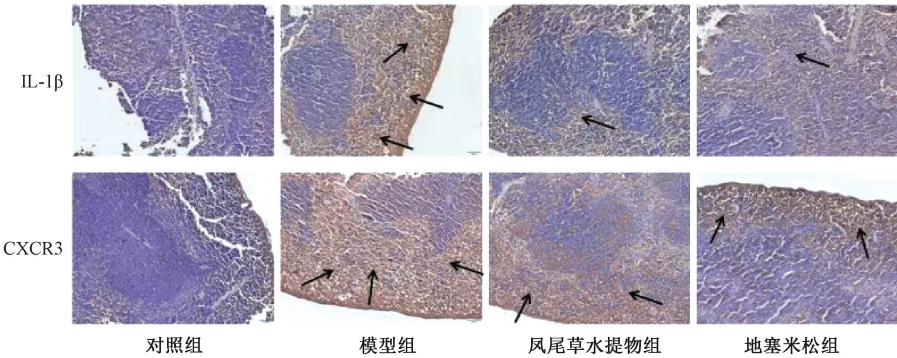
表 7 各组小鼠脾组织 IL-1β、CXCR3 蛋白表达比较 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

Tab. 7 Comparison of the protein expressions of IL-1β and CXCR3 in spleen tissue of mice in each group ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

组别	IL-1β	CXCR3
正常组	0.16±0.01	0.14±0.01
模型组	0.28±0.01**	0.33±0.01**
凤尾草水提取物组	0.23±0.01##	0.26±0.02##
地塞米松组	0.19±0.01##	0.21±0.01##

注：与正常组比较，** $P < 0.01$ ；与模型组比较，## $P < 0.01$ 。

目前，LPS 作为关键致炎因子，其诱导的炎症被认为是最常见、对机体危害最严重的炎症反应^[15]，能够导致机体出现急性肺损伤、多器官功能衰竭等^[13]。NO 是 iNOS 产生的一种重要细胞信号分子，同时也是一种经典的促炎介质，机体过度产生 NO 所导致的炎症对于炎症疾病的发生发展及发病机制有着重要影响^[16-17]。在炎症发展过程中，IL-1β、



注：黑色箭头处为棕黄色阳性表达。

图 5 各组小鼠脾组织 IL-1β、CXCR3 免疫组化染色图 (×400)

Fig. 5 Immunohistochemical staining of IL-1β and CXCR3 in spleen tissue of mice in each group (×400)

IL-6、TNF-α 等炎症因子能够激活机体免疫系统，诱导免疫细胞聚集、活化及炎症介质释放，进而干预炎症进展^[18-19]。

TNF-α 能够导致全身炎性反应，并诱导 IL-6、IL-1β 等其他炎症因子的释放，扩大炎性级联效应，从而进一步加剧全身炎症反应^[20-21]。本研究采用 LPS 诱导小鼠急性炎症模型，以肠、脾组织为靶器官，用凤尾草水提取物预防给药，探究其抗炎作用机制。研究表明，凤尾草水提物能够改善炎症小鼠肠、脾组织病理损伤，降低炎症小鼠血清中 NO、IL-1β、IL-6、TNF-α 水平，肠、脾组织 IL-1β、IL-6 和 TNF-α mRNA 表达，以及脾组织 IL-1β 蛋白表达，以上结果提示，凤尾草水提物能够通过降低炎症因子表达改善模型小鼠炎症。

研究表明，在 LPS 诱导的炎症反应中，都伴

2210

随着 NF-κB 信号通路的活化，该信号通路对炎症的调控起着重要作用^[22-23]。同时，促炎症酶 COX-2 在炎症反应中也起着关键作用，其催化产物可分泌大量 NO，加剧炎症反应进展，是炎症反应检测的重要指标^[24]。PI3K/Akt/NF-κB 信号通路是调节机体炎症反应的重要通路，同时也是 LPS 发挥作用的关键途径^[25]，该通路多种肠道炎症性疾病的细胞增殖、分化、迁移和凋亡等行为密切相关，在炎症性肠病中具有特殊作用机制^[26]，当该通路被激活，可以通过 NF-κB 转录因子调节 IL-6、IL-1β 和 TNF-α 等多种炎症因子的表达^[27-28]，进而介导炎症的发展进程。CXCR3 属于 CXC 家族 α 趋化因子，CXCR3 具有抑制自噬、促进炎症的作用^[29]。相关研究证实，CXCR3 及其配体在关节炎^[30]、肾炎^[31]等疾病的发生发展中均呈现升高的现象。本

研究表明, 凤尾草水提物能够降低炎症小鼠肠、脾组织 iNOS、COX2、p-p65、p-PI3K、p-Akt 蛋白表达, 脾脏组织 CXCR3 蛋白表达, 提示凤尾草水提物抗炎作用机制可能是通过抑制 PI3K/Akt/NF-κB 信号通路实现。

综上所述, 凤尾草水提物能够通过降低炎症因子表达, 减轻 LPS 诱的急性炎症反应, 其作用机制可能与失活 PI3K/Akt/NF-κB 信号通路有关, 与前期体外研究结果一致。但凤尾草水提物中抗炎具体有效成分还未明确, 且未通过基因敲除等实验反证凤尾草水提物抗炎作用与 PI3K/Akt/NF-κB 信号通路的直接关系。因此, 后续研究应对凤尾草水提物中发挥抗炎作用的有效物质进行确定, 同时对该提取物与 PI3K/Akt/NF-κB 信号通路的关系进行深入研究, 以期凤尾草的抗炎应用提供更多的药理学依据。

参考文献:

[1] Megha K B, Joseph X, Akhil V, *et al.* Cascade of immune mechanism and consequences of inflammatory disorders[J]. *Phytomedicine*, 2021, 91: 153712.

[2] Leon M M, Jaba I M, Cozma C D, *et al.* Resolution of inflammation—pharmacological aspects[J]. *Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi*, 2011, 115(2): 470-476.

[3] Ko E Y, Heo S J, Cho S H, *et al.* 3-Bromo-5-(ethoxymethyl)-1, 2-benzenediol inhibits LPS-induced pro-inflammatory responses by preventing ROS production and downregulating NF-κB *in vitro* and in a zebrafish model[J]. *Int Immunopharmacol*, 2019, 67: 98-105.

[4] Medzhitov R. Origin and physiological roles of inflammation[J]. *Nature*, 2008, 454(7203): 428-435.

[5] Qin J J, Wang W, Zhang R W. Novel natural product therapeutics targeting both inflammation and cancer[J]. *Chin J Nat Med*, 2017, 15(6): 401-416.

[6] Lelubre C, Vincent J L. Mechanisms and treatment of organ failure in sepsis[J]. *Nat Rev Nephrol*, 2018, 14 (7): 417-427.

[7] Su L J, Zhang J H, Gomez H, *et al.* Reactive oxygen species-induced lipid peroxidation in apoptosis, autophagy, and ferroptosis[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2019, 2019: 5080843.

[8] 陈 晗, 周 静, 许洪玲, 等. 黄连乌梅提取物对 LPS 所致炎症小鼠的影响及机制研究[J]. *中药药理与临床*, 2023, 39(5): 46-51.

[9] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999.

[10] 黄瑞松. 壮药选编 (下册) [M]. 南宁: 广西科学技术出版社, 2019.

[11] 高燕萍, 吴 强, 张亚梅, 等. 凤尾草化学成分及药理活性研究进展[J]. *安徽农业科学*, 2017, 45(29): 126-130.

[12] 龙 莉, 林 思, 秦慧真, 等. 凤尾草水提物对脂多糖诱导 RAW264.7 细胞炎症的抑制作用[J]. *中药材*, 2024, 47 (3): 730-734.

[13] 刘 淇, 高 铭, 吕红君, 等. 防风乙醇提取物对 LPS 所致小鼠炎症模型的抗炎作用及机制研究[J]. *中国中药杂志*, 2021, 46(18): 4800-4807.

[14] 闫 珊, 王晓坤, 杨林燕, 等. 昇鼠李素的抗炎作用研究进展[J]. *甘肃科技*, 2020, 36(13): 115-118.

[15] 王凤侠, 崔 莹, 姚 峻. 益母草碱对 LPS 诱导小鼠腹腔巨噬细胞炎症反应的调控作用[J]. *免疫学杂志*, 2020, 36(11): 970-975.

[16] Fioranelli M, Bottaccioli A G, Bottaccioli F, *et al.* Stress and inflammation in coronary artery disease: a review psychoneuroendocrineimmunology-based [J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 2031.

[17] Amirshahrokhi K. Febuxostat attenuates ulcerative colitis by the inhibition of NF-κB, proinflammatory cytokines, and oxidative stress in mice[J]. *Int Immunopharmacol*, 2019, 76: 105884.

[18] 李丹倩, 梁嘉怡, 钟晓晴, 等. 火龙果皮发酵物对脂多糖诱导 RAW264.7 细胞炎症的缓解作用[J]. *现代食品科技*, 2021, 37(5): 23-30; 16.

[19] 周淑棉, 刘梦倩, 樊丹阳, 等. 柴桂口服液体外抗炎作用的研究[J]. *动物医学进展*, 2021, 42(5): 80-84.

[20] Vargas-Maya N I, Padilla-Vaca F, Romero-González O E, *et al.* Refinement of the Griess method for measuring nitrite in biological samples[J]. *J Microbiol Methods*, 2021, 187: 106260.

[21] 王筱婧, 左艳敏, 王东兴, 等. 一氧化氮介导的中药及其活性成分的抗炎作用研究进展[J]. *免疫学杂志*, 2015, 31(5): 435-440.

[22] 李玉婷, 雷志强, 游 宇, 等. 基于 TLR4/NF-κB/NLRP3 通路探讨补阳还五汤调控巨噬细胞极化的作用机制[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2023, 29(19): 18-25.

[23] Fu Y J, Xu B, Huang S W, *et al.* Baicalin prevents LPS-induced activation of TLR4/NF-κB p65 pathway and inflammation in mice *via* inhibiting the expression of CD14[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2021, 42(1): 88-96.

[24] Ran X, Li Y H, Chen G X, *et al.* Farrerol ameliorates TNBS-induced colonic inflammation by inhibiting ERK1/2, JNK1/2, and NF-κB signaling pathway[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(7): 2037.

[25] An J, Chen B, Kang X, *et al.* Neuroprotective effects of natural compounds on LPS-induced inflammatory responses in microglia[J]. *Am J Transl Res*, 2020, 12(6): 2353-2378.

[26] 嵇莹莹, 龚国清. PI3K/Akt/mTOR 通路在炎症相关疾病中分子机制研究进展[J]. *药学研究*, 2018, 37(4): 226-229.

[27] Vergadi E, Ieronymaki E, Lyroni K, *et al.* Akt signaling pathway in macrophage activation and M1/M2 polarization[J]. *J Immunol*, 2017, 198(3): 1006-1014.

[28] Zeng J N, Pei H Y, Wu H, *et al.* Palmatine attenuates LPS-induced neuroinflammation through the PI3K/Akt/NF-κB pathway[J]. *J Biochem Mol Toxicol*, 2024, 38(1): e23544.

[29] Lee B, Moon K M, Kim C Y. Tight junction in the intestinal

epithelium; its association with diseases and regulation by phytochemicals[J]. *J Immunol Res*, 2018, 2018; 2645465.

[30] Henneken M, Dörner T, Burmester G R, *et al.* Differential expression of chemokine receptors on peripheral blood B cells from patients with rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus[J]. *Arthritis Res Ther*, 2005, 7 (5); R1001-R1013.

[31] Enghard P, Humrich J Y, Rudolph B, *et al.* CXCR3⁺CD4⁺T cells are enriched in inflamed kidneys and urine and provide a new biomarker for acute nephritis flares in systemic lupus erythematosus patients[J]. *Arthritis Rheum*, 2009, 60 (1); 199-206.

基于 NLRP3/Caspase-1/GSDMD 信号通路探讨芪龙胶囊对缺血性脑卒中大鼠脑内神经元焦亡的影响

徐敬娅, 李沂霖, 赵 曼, 余英杰, 赵炜明*
(黑龙江中医药大学, 黑龙江 哈尔滨 150040)

摘要: **目的** 探讨芪龙胶囊对缺血性脑卒中 (IS) 大鼠神经元焦亡的影响。**方法** 90 只 SPF 级雄性 SD 大鼠随机分为假手术组、模型组、阿司匹林 (27 mg/kg) 组和芪龙胶囊低、中、高剂量 (0.06、0.12、0.24 g/kg) 组, 采用线栓法建立右侧大脑中动脉阻塞 (MCAO) 模型, 假手术组仅分离神经动脉, 不插线栓。造模成功后, 给药干预 14 d。给药结束后, 测量各组神经功能评分、脑含水量以判断脑损伤程度; TTC 染色检测脑梗死面积; HE、尼氏染色观察脑组织病理学改变、神经元病变与恢复情况; 免疫组化法检测脑组织 NLRP3、cleaved Caspase-1 及 GSDMD-N 蛋白定位与表达; Western blot 法检测脑组织 NLRP3、Caspase-1、cleaved Caspase-1、GSDMD 及 GSDMD-N 蛋白表达; ELISA 法检测脑组织炎症因子 (IL-1 β 、IL-18、TNF- α) 水平。**结果** 与假手术组比较, 模型组大鼠神经功能损伤评分升高 ($P<0.01$), 脑梗死面积百分比和脑水肿率增大 ($P<0.01$), 神经元胞质内尼氏小体数量减少, 神经元受损数量减少 ($P<0.01$), 大脑皮层有大量炎性细胞浸润, 脑皮层组织 NLRP3、cleaved Caspase-1 及 GSDMD-N 蛋白表达升高 ($P<0.01$), IL-1 β 、IL-18、TNF- α 水平升高 ($P<0.01$)。与模型组比较, 芪龙胶囊中、高剂量组大鼠神经功能损伤评分降低 ($P<0.05$), 脑水肿率降低 ($P<0.05$); 芪龙胶囊各剂量组脑梗死面积百分比降低 ($P<0.01$), 神经元存活数量增加 ($P<0.01$), 大脑皮层炎症减轻, NLRP3、cleaved Caspase-1 及 GSDMD-N 蛋白表达降低 ($P<0.05$, $P<0.01$), IL-1 β 、IL-18、TNF- α 水平降低 ($P<0.01$)。**结论** 芪龙胶囊可通过下调 NLRP3/Caspase-1/GSDMD 信号通路抑制神经细胞焦亡发生, 从而起到神经保护作用, 减轻 IS 大鼠脑损伤程度。

关键词: 芪龙胶囊; 缺血性脑卒中; 细胞焦亡; NLRP3/Caspase-1/GSDMD 信号通路

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1001-1528(2026)07-2212-08

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2026.07.012

Effects of Qilong Capsule on neuronal pyroptosis in ischemic stroke rats based on the NLRP3/Caspase-1/GSDMD signaling pathway

XU Jing-ya, LI Yi-lin, ZHAO Man, YU Ying-jie, ZHAO Wei-ming*
(Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China)

ABSTRACT: AIM To investigate the effects of Qilong Capsule on neuronal pyroptosis in rats with ischemic stroke (IS). **METHODS** Ninety SPF-grade male SD rats were randomly divided into a sham operation group, a model group, an aspirin group (27 mg/kg), and low-, medium-, and high-dose Qilong Capsule groups (0.06,

收稿日期: 2025-12-12

基金项目: 中央支持地方高校发展改革资金人才培养支持计划项目 (财函字〔2020〕2 号); 黑龙江中医药大学研究生创新科研项目 (2024yjscx109)

作者简介: 徐敬娅 (1994—), 女, 博士在读, 研究方向为中医药防治脑血管。E-mail: 931475589@qq.com

* **通信作者:** 赵炜明 (1969—), 博士, 教授, 研究方向为中医药防治脑血管病及肿瘤。E-mail: zhaowm1969@126.com