基于 Notch 信号通路探讨蒲金口服液对早产仔鼠脑白质损伤的保护作用

马丙祥[1]， 陈瑜明[2]， 王怡珍[1]， 李华伟[1]， 张建奎[1]， 李瑞星[1]， 孔亚敏[1]， 龚兴若[3]
（1. 河南中医药大学第一附属医院，河南 郑州 450000；2. 河南中医药大学，河南 郑州 450000；3. 河北中医学院，河北 石家庄 050200）

摘要：目的 探讨蒲金口服液对宫内感染/炎症致早产仔鼠脑白质损伤的保护机制。**方法** LPS 诱导建立宫内感染致脑损伤（PVL）仔鼠模型。造模成功后选取 PVL 仔鼠 48 只，随机分为模型组、DAPT 组、蒲金口服液组、DAPT+蒲金口服液组，每组 12 只，另选取正常仔鼠 12 只作为正常组，于 1 日龄开始给药，连续干预 7 d，于 21 日龄取材。观察 NG2、DYNC1H1 阳性表达，Jagged-1、RBP-Jκ、NICD 蛋白表达及 *HES*-1、*HES*-5、*TLR*4 mRNA 表达。**结果** 与正常组比较，模型组仔鼠 NG2、DYNC1H1 阳性表达均降低（$P<0.05$），Jagged-1、RBP-Jκ、NICD 蛋白表达及 *HES*-1、*HES*-5、*TLR*4 mRNA 表达均升高（$P<0.05$）；与模型组比较，各给药组仔鼠 NG2、DYNC1H1 阳性表达均升高（$P<0.05$），Jagged-1、RBP-Jκ、NICD 蛋白表达及 *HES*-1、*HES*-5、*TLR*4 mRNA 表达均降低（$P<0.05$）。**结论** 蒲金口服液可以通过抑制 Notch 信号及减轻炎症因子释放而促进少突胶质细胞的分化与成熟，对改善宫内感染/炎症造成的早产 PVL 有显著作用。

关键词：蒲金口服液；脑损伤；宫内感染/炎症；Notch 信号通路
中图分类号：R285.5 **文献标志码**：B **文章编号**：1001-1528(2023)01-0213-05
doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2023.01.039

脑性瘫痪是一种持续存在的导致活动受限的运动和姿势发育障碍综合征，是早产儿脑损伤最常见、最严重的神经系统后遗症。脑室周围白质软化（PVL）是脑性瘫痪主要病理改变，我国早产儿 PVL 发生率为 8%～26%[1]，宫内感染/炎症反应是目前已明确的导致脑白质损伤的重要因素，目前尚缺少有效的防治措施，由于其发病率高、危害大，给家庭和社会带来沉重的负担，因此探讨脑瘫的发病机制，对脑瘫的预防和治疗进行深入研究，具有重要的意义。

马丙祥教授依据临床经验创建蒲金口服液，由石菖蒲、郁金、丹参、红花 4 味中药组成，疗效明确。前期大量实验研究结果显示，蒲金口服液能够改善病变部位脑组织结构，恢复髓鞘厚度，具有明显的抗自由基作用[2-3]，下调炎性细胞因子肿瘤坏死因子-α（TNF-α）及白细胞介素-6（IL-6）水平，减少神经生长抑制因子 A（*Nogo-A*）、少突胶质细胞髓磷脂糖蛋白（*OMgp*）及神经生长抑制因子受体（*NgR*）、p75 神经营养因子受体（*p75NTR*）mRNA 表达，改善少突胶质细胞及其前体凋亡，促进神经功能的恢复和重组[4-8]。而蒲金口服液减少炎症因子释放及促进髓鞘化再生的作用机制是如何完成的，仍需进一步的实验研究探索。基于此，本研究就 Notch 信号通路探讨蒲金口服液对宫内感染/炎症致早产大鼠脑白质损伤保护机制，以期为化痰开窍、活血化瘀药物作用治疗早产脑损伤提供新的理论依据。

1 材料

1.1 *动物* SPF 级成年雄性 SD 大鼠 25 只，体质量约 300 g；SPF 级成年雌性 SD 大鼠 75 只，体质量约 250 g，均购自济南朋悦实验动物繁育有限公司，由山东省动物实验中心检测并提供动物质量合格证［生产许可证号 SCXK（鲁）2014-0007、SCXK（鲁）2019-003］。大鼠分笼喂养，自由进食饮水，饲养于河南省中医药研究院，温度 20～27 ℃，相对湿度 40%～70%，定期更换垫料，清洗笼具，消毒，保持动物房环境安静，实验单位使用许可证号 SYXK（豫）2019-0001，实验过程中严格遵守实验动物管理规范及实验动物伦理。

1.2 *试剂与仪器* γ 分泌酶抑制剂 DAPT、DSMO、玉米油（北京索莱宝科技有限公司，货号 ID0080、D8371-50、C7030）；脂多糖 LPS（美国 Sigma-Aldrich 公司，货号 L2880-10MG）；LFB 髓鞘染液套装（武汉赛维尔生物科技有限公司，货号 G1030）。Morris 水迷宫装置、SuperMaze 系统动物行为学视频分析系统（上海欣软信息科技有限公司，型号 XR-XM101-Z、XR-Xmaze）。

1.3 *药物配制*

收稿日期：2022-04-19
基金项目：国家自然科学基金面上项目（81973904）；河南省中医药科学研究专项课题（2018ZYZD07）
作者简介：马丙祥（1963—），男，博士，教授，博士生导师，从事中医药防治儿童精神神经系统疾病临床及研究。Tel：13592601575，E-mail：mbx1963@126.com

1.3.1 蒲金口服液 蒲金口服液由石菖蒲 10 g、郁金10 g、丹参 20 g、红花 10 g 组成，其 2.4 g/mL 成品药液由河南省中医药研究院制剂室提供。

1.3.2 脂多糖溶液 1 mL LPS 加入 9 mL 生理盐水中，制成 25 μg/mL LPS 溶液。

1.3.3 DAPT 溶液 先将 4.32 mg DAPT 粉末溶于 100 μL 10% DMSO 中，再加入 9.99 mL 玉米油，制成 DSMO 少于 1% 的 DAPT 抑制剂。

2 方法

2.1 模型鉴定 应用 LPS 诱导建立宫内感染/炎症致早产大鼠 PVL 模型。大鼠于实验开始下午 5：00 按雌雄 2∶1 比例合笼饲养，5 d 为 1 个周期。次日上午 8：00 查阴道拭子，观察脱落细胞涂片，若观察到角质细胞及精子（图 1）判为孕 0 d，孕鼠另笼饲养。孕鼠孕期 16、17 d 分别腹腔注射 LPS 溶液 250 μg/kg，孕期≤21 d 分娩的仔鼠为早产鼠，观察孕鼠胎盘及仔鼠脑白质情况。

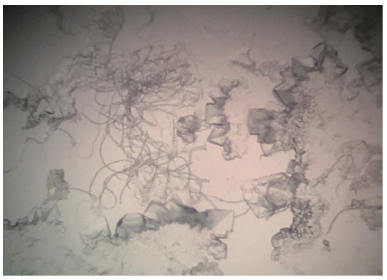

图 1 精子的阴道脱落细胞抹片

孕鼠胎盘及子宫切片显微镜观察可见组织充血、水肿，均可见到大量中性粒细胞浸润，说明宫内有炎性反应。仔鼠脑室周围白质病理改变明显，出现细胞排列结构疏松、神经纤维排列紊乱、凝固性坏死等病理变化，表明仔鼠出现 PVL 病理表现，提示造模成功，见图 2~3。

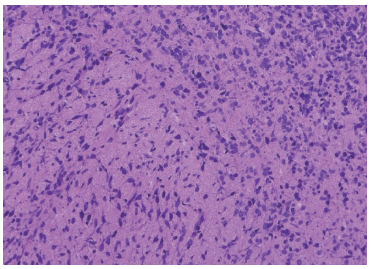

图 2 1 日龄仔鼠脑白质形态（HE，×200）

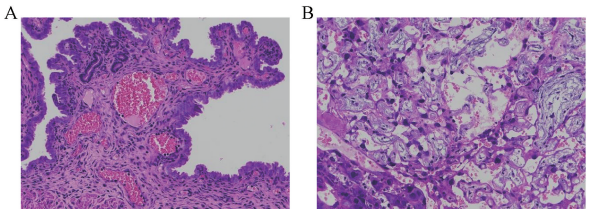

图 3 模型组孕鼠子宫(A)和胎盘(B)形态(HE，×200)

2.2 分组及给药 按随机数字表法将 PVL 模型仔鼠分为模型组、DAPT 组、蒲金口服液组、DAPT+蒲金口服液组，每组 12 只，另取正常新生仔鼠 12 只作为正常组。蒲金口服液组仔鼠于生后第 1 天起灌胃给予 2.4 g/kg 蒲金口服液，脑后皮下注射生理盐水；DAPT 组仔鼠于生后第 1 天起灌胃给予等量生理盐水，脑后皮下注射 5 mg/kg DAPT；蒲金口服液+DAPT 组仔鼠于生后第 1 天起灌胃给予 2.4 g/kg 蒲金口服液，脑后皮下注射 5 mg/kg DAPT；模型组仔鼠于生后第 1 天起灌胃给予等量生理盐水，脑后皮下注射等量生理盐水；正常组仔鼠不予任何干预措施，连续 7 d，干预后同条件喂养至 21 日龄。

2.3 免疫荧光法检测髓鞘标记物 NG2、DYNC1H1 表达 仔鼠腹腔注射 5% 戊巴比妥钠（50 mg/kg）进行麻醉，于左心室尖剪开一小口，将灌注针插入心室，需固定使之不能退出，夹闭腹主动脉并开始灌注生理盐水，灌流量约 20 mL/min，剪开右心耳，开放静脉血，见到仔鼠两前肢及两肺变白，便可改灌注多聚甲醛（生理盐水及多聚甲醛灌注量约 1 000 mL），于冰盒上断头后，剪开颅顶部皮肤，沿自枕骨大孔中线及两旁剪开颅顶骨，分离脑干和嗅球、视束，轻取下大脑，此时若脑组织呈白色而硬的状态，视为灌注成功；剥离去除粗大血管，冰冷生理盐水冲洗，滤纸吸干，取脑组织于耳间线前 2 mm 水平行冠状切片，大小约 1.5 cm×1.5 cm，厚约 2~3 mm，置于 4% 多聚甲醛中固定。

脑组织灌注后经抗原修复、一抗二抗孵育、DAPI 复染细胞核后，切片于荧光显微镜下观察并采集图像，DAPI 染的细胞核紫外线激发波长为 330~380 nm，发射波长为 420 nm，呈现出蓝色光表达；阳性表达为相应荧光素标记的红色或者绿色。

2.4 Western blot 法检测脑组织 Jagged-1、RBP-Jκ、NICD 蛋白表达 采用颈椎脱臼法处理仔鼠，于冰盒上断头，分离去除后颈部肌肉，用弯钳剔除颅骨，取出全脑放置于 5 mL冻存管中，于液氮中冻存，后转至-80 ℃冰箱保存备用。提取脑组织中总蛋白，测定其浓度，经电泳、转膜、封闭后，孵育一抗、二抗，化学发光显影，定影，将胶片进行扫描或拍照，用凝胶图象处理系统分析目标条带的净光密度值，计算相对表达量。

2.5 RT-qPCR 法检测脑组织 *HES*-1、*HES*-5、*TLR*4 mRNA 表达 取材方法同“2.4”项，提取脑组织总 RNA，在 PCR、基因扩增仪上进行 PCR 扩增反应，琼脂糖电泳，在 YLN-2000 凝胶成像分析系统上观察照相并分析处理，以检测指标产物积分光密度（IOD）与内参 *β-actin* 产物的比值代表各指标 mRNA 相对表达。引物序列见表 1。

表 1 引物序列

引物	序列	长度/bp
Hes-1	正向 CAACACGACACCGGACAAAC	159
	反向 TTGGAATGCCGGGAGCTATC	
Hes-5	正向 CATCAACAGCAGCATTGAGCA	134
	反向 CGAAGGCTTTGCTGTGCTTC	
*TLR*4	正向 TCCACAAGAGCCGGAAAGTT	166
	反向 TGAAGATGATGCCAGAGCGG	

2.6 统计学分析 通过 SPSS 26.0 软件进行处理，计量资料以（$\bar{x}\pm s$）表示，若满足正态分布、方差齐性的，2 组间均数比较采用独立样本 t 检验；若不满足方差齐性，可采用校正 t 检验。多组间均数比较采用单因素 ANOVA 方差分析，若方差齐，多样本组间两两比较使用 LSD 检验；若方差不齐，多样本组间两两比较采用 Dunnett's T3 检验。$P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 LPS 对雌性大鼠孕产的影响 模型组孕鼠分娩天数为（20.600±0.547）d，无流产死亡，共得活产 PVL 模型仔鼠 230 只；正常组孕鼠分娩天数为（22.200±0.447）d，共分娩出正常新生仔鼠 64 只，无流产或死产。

3.2 蒲金口服液对新生仔鼠的影响 与正常组比较，模型组仔鼠出生时赤裸无毛，全身紫暗，纹理稍多，大部分可见瘀斑、瘀点，反应迟钝，活动较少，见图 4。21 日龄时，正常组仔鼠断乳，可独立生活；模型组仔鼠体型偏小，未能断乳，独立生活能力差；各给药组仔鼠部分断乳后可独立生活。给药干预过程中，模型组共 2 只仔鼠体弱死亡，各给药组分别均有 1 只仔鼠死亡。

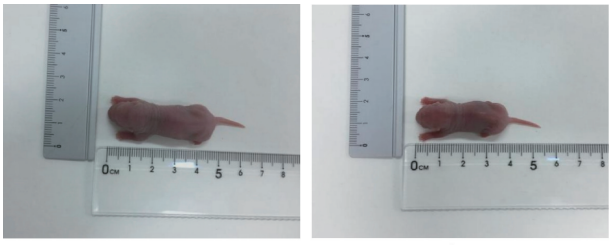

图 4 各组早产新生仔鼠外观

3.3 蒲金口服液对 PVL 仔鼠脑白质 NG2、DYNC1H1 表达的影响 与正常组比较，模型组和各给药组仔鼠 NG2、DYNC1H1 阳性表达均降低（$P<0.05$），见图 5、表 2。

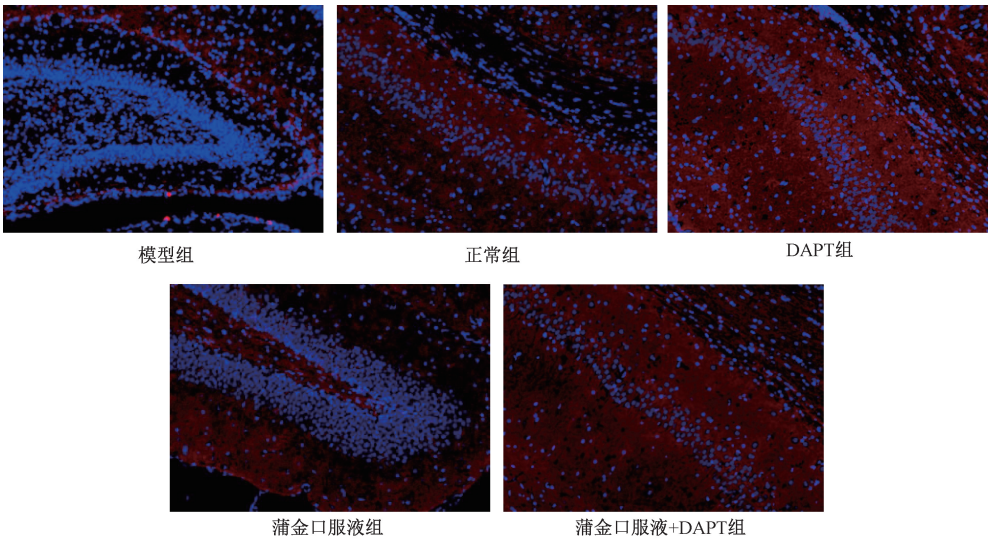

图 5 各组仔鼠脑白质 DYNC1H1 表达（免疫荧光染色，×200）

表 2 各组仔鼠脑白质 NG2、DYNC1H1 阳性表达比较（$\bar{x}\pm s$，$n=3$）

组别	NG2	DYNC1H1
正常组	3 142.845±237.871	1 247.161±94.393
模型组	1 083.197±287.620#	429.840±114.135#
DAPT 组	2 226.601±249.619#	883.572±99.055#
蒲金口服液组	1 857.671±568.182#	737.171±225.469
蒲金口服液+DAPT 组	2 638.129±512.238#	1 180.474±319.782

注：与正常组比较，#$P<0.05$。

3.4 蒲金口服液对 PVL 仔鼠脑组织 Jagged-1、RBP-Jκ、NICD 蛋白表达的影响 与正常组比较，模型组仔鼠脑组织 Jagged-1、RBP-Jκ、NICD 蛋白表达均升高（$P<0.05$）；与模型组比较，各给药组仔鼠脑组织 Jagged-1、RBP-Jκ、NICD 蛋白表达均降低（$P<0.05$），见图 6、表 3。

3.5 蒲金口服液对 PVL 仔鼠脑组织 *HES*-1、*HES*-5、*TLR*4 mRNA 表达的影响 与正常组比较，模型组仔鼠脑组织 *HES*-1、*HES*-5、*TLR*4 mRNA 表达升高（$P<0.05$）；与模型组比较，各给药组脑组织 *HES*-1、*HES*-5、*TLR*4 mRNA 表达降低（$P<0.05$），见表 4。

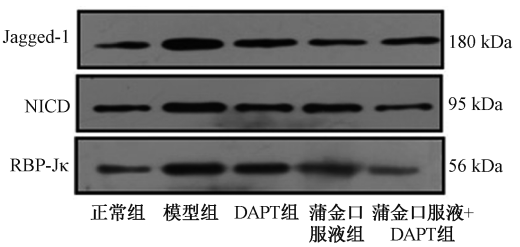

图 6 各组仔鼠脑白质 Jagged-1、NICD、RBP-Jκ 蛋白条带图

4 讨论

脑白质损伤是早产儿最常见的脑损伤形式，脑室旁白质软化是早产儿群体中最具代表性的脑损伤，早产儿脑白质的少突胶质细胞（OLs）对缺血、感染具有高度的易损性；内毒素、细胞因子过度增加可直接导致血管内皮细胞

表 3 各组仔鼠脑白质 Jagged-1、RBP-Jκ、NICD 蛋白表达比较（$\bar{x}\pm s$，$n=3$）

组别	Jagged-1	RBP-Jκ	NICD
正常组	0.216±0.096	0.319±0.120	0.261±0.047
模型组	0.743±0.182#	0.936±0.124#	0.891±0.102#
DAPT 组	0.321±0.101*	0.358±0.116*	0.376±0.098*
蒲金口服液组	0.466±0.136*	0.404±0.142*	0.525±0.105*
蒲金口服液+DAPT 组	0.314±0.133*	0.202±0.100*	0.281±0.101*

注：与正常组比较，#$P<0.05$；与模型组比较，*$P<0.05$。

表 4 各组仔鼠脑白质 *HES*-1、*HES*-5、*TLR*4 mRNA 表达比较（$\bar{x}\pm s$，$n=3$）

组别	*Hes*-1	*Hes*-5	*TLR*4
正常组	0.955±0.220	0.938±0.210	1.171±0.386
模型组	1.739±0.308#	1.574±0.180#	1.803±0.149#
DAPT 组	1.409±0.325*	1.188±0.201*	1.262±0.170*
蒲金口服液组	1.342±0.444*	1.116±0.231*	1.324±0.220*
蒲金口服液+DAPT 组	0.947±0.108*	1.074±0.220*	1.139±0.237*

注：与正常组比较，#$P<0.05$；与模型组比较，*$P<0.05$。

受累或诱导细胞凋亡[9]。宫内感染/炎性反应正是通过激活胶质细胞和释放细胞因子致 OLs 及其前体死亡。

LPS 可与 $CD14^+$结合活化 Toll 样受体 4（TLR4）[10-11]，引起促炎细胞因子合成增加，细胞外 Ca^{2+}快速进入未成熟的少突胶质细胞，对少突胶质前体细胞（OPCs）产生毒性作用。Notch 信号通路通过核内重组信号结合蛋白（RBP-J）作用于 TLR4，放大由 TLR4 引起的 M1 型巨噬细胞活化的关键分子表达[12]。研究表明，OPCs 与表达 Jagged1 的神经元细胞共培养时不能分化成为成髓鞘 OLs[13]。

Notch 信号通路配体 Jagged 可以激活抑制性 bHLH 转录因子 Hes-1 和 Hes-5 的表达，抑制 OPCs 的成熟。当胞内 Notch 通路未激活时，RBP-J 与 Hes-1、Hes-5 基因启动子结合，通过共抑制因子抑制 Hes-1、Hes-5 表达。Delta、Jagged 激活 Notch 膜蛋白后，NICD 从膜上解离转入核内与 RBP-J 结合，形成转录促进复合体，促进 Hes-1、Hes-5 表达[14]。研究发现，Hes-5 与 Notch 通路分子表达发生于相同时间，表明 Hes-5 表达的启动依赖于 Notch 通路[15]。Hes-5 基因敲除小鼠 CNS 中髓磷脂基因表达增加，说明 Hes-5 作为 Notch 信号的下游效应分子能够阻止 OPCs 早熟[16]。

本实验发现，蒲金口服液可下调早产 PVL 仔鼠脑组织中 Jagged-1、NICD、Hes-1、Hes-5 表达，并同时下调炎性信号通路因子 TLR4 表达，促进 OLs 分化与成熟，提示蒲金口服液对 Notch 信号通路有着一定的调控作用。

NG2 胶质细胞广泛分布于中枢神经系统白质和灰质，主要功能是分化为少突胶质细胞，使轴突再髓鞘化。Zhang 等[17]发现 NG2 胶质细胞通过 TGF-β2/ TGFBR2 通路抑制 LPS 引起的小胶质细胞过度激活，因而具有抑制炎症的功能。DYNC1H1 定位于染色体 14q32，编码细胞质动力蛋白（Dynein）的重链部分[18]。Dynein 是轴索内唯一能进行逆行性运输的动力蛋白，负责将轴浆内神经营养因子等从轴突末端运输到神经元胞体。Yang、Herbert 等[19-20]研究证明髓鞘化需要 Dynein，DYNC1H1 缺陷可导致髓鞘形成缺乏。

综上所述，蒲金口服液能够上调早产 PVL 仔鼠脑组织中 DYNC1H1 的表达，并增加 NG2 胶质细胞数量，提示蒲金口服液减少炎性细胞因子释放可能与提高中枢神经系统中 NG2 胶质细胞数量有关。前期实验证实蒲金口服液能够恢复 PVL 仔鼠髓鞘厚度，考虑与上调 DYNC1H1 表达，进而促进 MBP 转运并形成髓鞘包裹轴突有关。

参考文献：

[1] 章 乐，曹敏恺，蒋 犁. 中国人群早产儿脑室周围白质软化危险因素的 meta 分析[J]. 临床儿科杂志，2011，29(1)：81-85.
[2] 马丙祥，陈娇阳，雷 爽. 丹参酮ⅡA 对脑室周围白质软化新生大鼠白细胞介素-1β、白细胞介素-6 表达的影响[J]. 中华实用儿科临床杂志，2013，28(24)：1868-1870.
[3] 马丙祥，赵 向，琚 玮，等. 蒲金口服液对缺氧缺血性脑损伤大鼠自由基的影响研究[J]. 河南中医学院学报，2004，19(2)：25-27.
[4] 马丙祥，陈恬恬，欧阳俊辉. 蒲金口服液对宫内感染/炎症致早产脑损伤大鼠脑组织 IL-6 和 TNF-α 表达的影响[J]. 辽宁中医杂志，2018，45(5)：1069-1072；1120.
[5] 欧阳俊辉. 蒲金口服液对宫内感染/炎症致早产脑损伤大鼠脑组织 IL-6 和 TNF-α 表达影响[D]. 郑州：河南中医药大学，2016.
[6] 陈恬恬. 蒲金口服液对宫内感染/炎症致早产脑损伤大鼠脑组织 Nogo-A、OMgp mRNA 表达的影响[D]. 郑州：河南中医药大学，2016.
[7] 张 晰. 蒲金口服液对宫内感染/炎症致早产脑损伤大鼠脑组织 NgR、p75NTR 表达的影响[D]. 郑州：河南中医药大学，2017.
[8] 谢克功. 蒲金口服液对宫内感染/炎症致早产脑损伤大鼠脑组织 OL 和 OPC 细胞凋亡的影响[D]. 郑州：河南中医药大学，2016.
[9] Motavaf M，Piao X H. Oligodendrocyte development and implication in perinatal white matter injury[J]. *Front Cell Neurosci*，2021，15：764486.
[10] Hwangbo H，Ji S Y，Min Y K，*et al*. Anti-inflammatory effect of *Auranofin* on palmitic acid and LPS-induced inflammatory response by modulating TLR4 and NOX4-mediated NF-κB signaling pathway in RAW264.7 macrophages[J]. *Int J Mol Sci*，2021，22(11)：5920.
[11] Ciesielska A，Matyjek M，Kwiatkowska K. TLR4 and CD14 trafficking and its influence on LPS-induced pro-inflammatory signaling[J]. *Cell Mol Life Sci*，2021，78(4)：1233-1261.
[12] Jin G L，Hong L M，Liu H P，*et al*. Koumine modulates spinal microglial M1 polarization and the inflammatory response through the Notch-RBP-Jκ signaling pathway，ameliorating diabetic neuropathic pain in rats[J]. *Phytomedicine*，2021，90：153640.
[13] Wang M Z，Kleele T，Xiao Y，*et al*. Completion of neuronal remodeling prompts myelination along developing motor axon branches[J]. *J Cell Biol*，2021，220(4)：e201911114.
[14] Yao Y Y，Li R，Guo Y J，*et al*. Gastrodin attenuates

lipopolysaccharide-induced inflammatory response and migration *via the Notch*-1 signaling pathway in activated microglia[J]. *Neuromolecular Med*, 2022, 24(2): 139-154.

[15] Dong C M, Wang X L, Sun L X, *et al*. ATM modulates subventricular zone neural stem cell maintenance and senescence through Notch signaling pathway[J]. *Stem Cell Res*, 2022, 58: 102618.

[16] Weiss M, Anderluh M, Gobec M. Inhibition of *O*-GlcNAc transferase alters the differentiation and maturation process of human monocyte derived dendritic cells[J]. *Cells*, 2021, 10(12): 3312.

[17] Zhang S Z, Wang Q Q, Yang Q Q, *et al*. Ng2 glia regulate brain innate immunity *via* TGF-β2/TGFBR2 axis[J]. *BMC Med*, 2019, 17(1): 204.

[18] Dahl T M, Reed M, Gerstner C D, *et al*. Effect of conditional deletion of cytoplasmic dynein heavy chain DYNC1H1 on postnatal photoreceptors[J]. *PLoS One*, 2021, 16(3): e0248354.

[19] Yang M L, Shin J, Kearns C A, *et al*. CNS myelination requires cytoplasmic dynein function[J]. *Dev Dyn*, 2015, 244(2): 134-145.

[20] Herbert A L, Fu M M, Drerup C M, *et al*. Dynein/dynactin is necessary for anterograde transport of *Mbp* mRNA in oligodendrocytes and for myelination *in vivo*[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, 114(43): E9153-E9162.

基于毒力因子 *FimH* 探讨尿感方抗尿道致病性大肠杆菌的作用机制

朱盼盼, 蒋 健, 陈君灏, 乔 昀, 元唯安, 梁群梅, 贺 敏*
(上海中医药大学附属曙光医院, 上海 201203)

摘要: 目的 观察尿感方对尿道致病性大肠杆菌 (UPEC) 毒力因子 *FimH* 的作用和 UPEC 侵袭力的影响, 并探讨其作用机制。**方法** UPEC 分别经含空白尿液、尿感方含药尿液的培养基和空白培养基预处理后, 观察 UPEC 毒力因子 *FimH* 表达的情况, 并通过 UPEC 感染细胞模型, 评价其侵袭力, 同时采用 Western blot、ELISA、RT-qPCR 法检测整合素 α3 (integrin α3)、integrin β1、p-FAK、p-Src、p-PI3K、p-αPAK 蛋白表达, Rc1、Cdc42 活性和三磷酸肌醇 (IP3) 水平, *integrin* α3、*integrin* β1 和细胞骨架蛋白 [纽蛋白 (*vinculin*)、踝蛋白 (*talin*)、桩蛋白 (*paxillin*)、F-肌动蛋白 (*F-actin*)、α-辅助肌动蛋白 (*α-actinin*)] mRNA 表达。**结果** 大鼠空白尿液和健康人空白尿液对 UPEC *FimH* mRNA 表达和 UPEC 入侵率无明显影响 ($P>0.05$), 对 integrin α3、integrin β1 mRNA 和蛋白表达, p-FAK、p-Src、p-PI3K、p-αPAK 蛋白表达, Rc1、Cdc42 活性, IP3 水平, 细胞骨架蛋白 mRNA 表达均无明显影响 ($P>0.05$)。大鼠含药尿液和健康人含药尿液降低了 *FimH* mRNA 表达, UPEC 入侵率, integrin α3、integrin β1 mRNA 和蛋白表达, p-FAK、p-Src、p-PI3K、p-αPAK 蛋白表达, Rc1、Cdc42 活性, IP3 水平, 细胞骨架蛋白 mRNA 表达 ($P<0.05$, $P<0.01$)。**结论** 尿感方能影响 UPEC *FimH* 表达, 减弱 UPEC 侵袭力, 其作用机制与 *FimH*/integrin α3、β1/FAK 信号传导通路有关。

关键词: 尿感方; 尿道致病性大肠杆菌; *FimH*; 整合素 α3 (integrin α3); 整合素 β1 (integrin β1); 粘附斑激酶 (FAK); 细胞骨架蛋白
中图分类号: R285.5 **文献标志码**: B **文章编号**: 1001-1528(2023)01-0217-06
doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2023.01.040

反复发作是防治尿路感染面临的难点[1], 其最常见的致病菌是尿道致病性大肠杆菌 (UPEC)。UPEC 侵入宿主细胞后, 在胞内繁殖所形成的细胞内菌落群是尿路感染再燃或复发的主要病灶源[2-3]。尿路感染是细菌与宿主相互作用的病理过程, UPEC 通过影响宿主细胞自身的信号传导来实现对其的侵入[2-3]。UPEC 的毒力因子 *FimH* 是其进入膀胱上皮细胞 (BECs) 的关键, 缺少 *FimH* 的 UPEC 不能侵入 BECs[2-5]。UPEC 通过 *FimH* 与宿主细胞的整合素 (integrin) α3、β1 结合, 激活粘附斑激酶 (FAK) 引发宿主细胞信号级联反应, 导致局部细胞骨架重排, UPEC 由此进入宿主细胞内[5-9]

尿感方 (授权专利号 ZL200910201845.6) 具有抗菌、

收稿日期: 2022-01-25
基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81874362)
作者简介: 朱盼盼 (1996—), 女, 硕士生, 从事中医药防治感染性疾病的临床基础研究。Tel: (021) 20256053, E-mail: zpp1650083130@163.com
*通信作者: 贺 敏 (1977—), 女, 博士, 副研究员, 从事中医药防治感染性疾病的临床基础研究。Tel: (021) 20256053, E-mail: heminmiao@163.com