

紫草素对慢性鼻窦炎小鼠鼻黏膜组织炎症反应及 SIRT1/Nrf2 信号通路的影响

吴勇, 徐小鸿, 曾丽霞

自贡市第一人民医院 耳鼻咽喉头颈外科, 四川 自贡 643000

摘要: **目的** 研究紫草素对慢性鼻窦炎小鼠鼻黏膜组织炎症反应及沉默信息调控因子 1 (SIRT1)/核因子 E2 相关因子 2 (Nrf2) 信号通路的影响。**方法** 选取 80 只小鼠建立慢性鼻窦炎模型后随机分为模型组, 紫草素 12.5、50.0 mg/kg 组, 克拉霉素组, 每组 20 只。另取正常饲养的 20 只小鼠设为假手术组。各组小鼠分别 ig 给予相应药物, 1 次/d, 共 14 d。采用苏木素-伊红 (HE) 染色观察小鼠鼻黏膜组织病理形态学; Masson 染色观察小鼠鼻黏膜组织胶原沉积情况; ELISA 法检测小鼠血清中炎症因子水平; Western blotting 实验检测小鼠鼻黏膜组织中 SIRT1/Nrf2 信号通路相关蛋白表达。**结果** 与模型组比较, 紫草素 12.5、50.0 mg/kg 组小鼠鼻黏膜慢性炎症表现和蓝色胶原沉积明显改善; 血清中肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-32 (IL-32)、 γ 干扰素 (IFN- γ) 水平显著降低; 鼻黏膜组织中 SIRT1、Nrf2、血红素氧合酶-1 (HO-1)、NADPH 氧化还原酶 1 (NQO-1) 蛋白表达水平显著升高 ($P < 0.05$)。且紫草素 50.0 mg/kg 组小鼠上述指标均显著优于紫草素 12.5 mg/kg 组 ($P < 0.05$)。**结论** 紫草素能够改善慢性鼻窦炎小鼠鼻黏膜组织重塑和炎症反应, 其作用机制可能与激活 SIRT1/Nrf2 信号通路有关。

关键词: 紫草素; 慢性鼻窦炎; 组织重塑; 炎症反应; 沉默信息调控因子 1/核因子 E2 相关因子 2 信号通路

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2023)02-0263-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2023.02.003

Effects of shikonin on inflammatory response and SIRT1/Nrf2 signaling pathway of nasal mucosa in mice with chronic rhinosinusitis

WU Yong, XU Xiao-hong, ZENG Li-xia

Department of Otolaryngology Head and Neck Surgery, Zigong First People's Hospital, Zigong 643000, China

Abstract: Objective To study the effects of shikonin on the inflammatory response of nasal mucosa and silent information regulator 1 (SIRT1)/nuclear factor E2-related factor 2 (Nrf2) signaling pathway in mice with chronic rhinosinusitis. **Methods** Eighty mice were selected to establish chronic sinusitis model and were randomly divided into model group, shikonin 12.5, 50.0 mg/kg group, and clarithromycin group, with 20 mice in each group. Another 20 mice in normal feeding were selected as sham operation group. Each group was given the corresponding drug intragastrically, once daily, for 14 days. The pathological morphology of mice nasal mucosa was observed by HE staining, collagen deposition in mice nasal mucosa was observed by Masson staining, the level of inflammatory factors in mice serum were detected by ELISA method, and the expression of SIRT1/Nrf2 signaling pathway related proteins in mice nasal mucosa were detected by Western blotting. **Results** Compared with model group, the chronic inflammation and blue collagen deposition of nasal sinuses mucosa in shikonin 12.5 and 50.0 mg/kg group were significantly improved, the levels of TNF- α , IL-32, and IFN- γ in serum were decreased, and the expression levels of SIRT1, Nrf2, HO-1, and NQO-1 protein in nasal mucosa were increased ($P < 0.05$). The above indexes of mice in shikonin 50.0 mg/kg group were significantly better than those in shikonin 12.5 mg/kg group ($P < 0.05$). **Conclusion** Shikonin can improve the tissue remodeling and inflammatory response of nasal mucosa in chronic rhinosinusitis, and its mechanism may be related to the activation of SIRT1/Nrf2 signaling pathway.

Key words: shikonin; chronic rhinosinusitis; tissue remodeling; inflammatory response; SIRT1/Nrf2 signaling pathway

慢性鼻窦炎是一种以慢性鼻塞、嗅觉功能减退和面部疼痛为特征的慢性炎症性疾病^[1]。慢性鼻窦

炎的患病率约为 8.0%, 以变应性鼻炎和哮喘患者为高发人群^[2]。慢性鼻窦炎发病多由环境因素、常年

收稿日期: 2022-11-08

基金项目: 四川省卫生健康科研课题资助项目 (19PJ067)

作者简介: 吴勇, 男, 研究方向为鼻科。E-mail: xr58518@163.com

性过敏性鼻炎和胃食管反流等引起,会导致患者出现睡眠减少、认知功能下降、焦虑和抑郁等,严重影响患者生活质量^[3]。当前慢性鼻窦炎的治疗策略主要旨在缓解黏膜炎症、预防感染和清除鼻窦内的黏液,治疗方式包括口服抗组胺药、抗生素以及手术治疗等^[4]。然而,由于持续性炎症可导致鼻黏膜组织重塑,引发鼻息肉出现,导致慢性鼻窦炎预后较差^[5]。因此,迫切需要寻找更为安全有效的治疗方式以改善慢性鼻窦炎预后。紫草素是从紫草根中分离得到的天然产物,已被报道具有抗氧化、抗炎、镇痛、抗菌和抗肿瘤等多种活性^[6-8]。既往研究发现紫草素对脂多糖诱导的巨噬细胞中炎症相关基因表达具有调控作用^[9]。在骨关节炎动物模型中,紫草素通过抑制肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素(IL)-6、IL-12 等促炎细胞因子和诱导 IL-4、IL-10 等介质发挥抗炎或免疫调节作用^[10-11]。Lee 等^[12]和 Wang 等^[13]报道,紫草素可抑制哮喘小鼠模型中的过敏性气道炎症并缓解过敏性气道重塑。这些研究表明,紫草素可调节气道炎症和重塑,保护呼吸道。而紫草素对慢性鼻窦炎的影响作用仍然未知,因此,本研究旨在探讨紫草素对慢性鼻窦炎的改善作用及其相关机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物

SPF 级 6~8 周龄的健康雄性 C57BL/6J 小鼠,体质量 18~22 g,购自成都药康生物科技有限公司,生产许可证号: SCXK (川) 2020-034。小鼠在室温 18~24 °C、相对湿度 50%~70%、12 h 光暗交替的动物房饲养,标准饲料喂养,自由饮水、进食。本实验经本院伦理委员会审批,动物实验伦理批号: 2021-03-046。

1.2 实验试剂

紫草素(质量分数 $\geq$ 98%,规格: 20 mg/支,批号 PCS0365)购自成都植化纯生物技术有限公司;克拉霉素胶囊(规格: 0.25 g,批号 210316,国药准字 H20020670)购自大连胜光药业集团股份有限公司;肺炎链球菌液(批号 B80921)购自宁波明舟生物科技有限公司;苏木素-伊红(HE)染色试剂盒(批号 M027)购自上海歌凡生物科技有限公司;Masson 染色试剂盒(批号 BP-DL023)购自南京森贝伽生物科技有限公司;TNF- α 、IL-32、 γ 干扰素(IFN- γ) ELISA 试剂盒(批号分别为 EKMO50、EKMO1898、EKMO1787)购自迪信泰检测科技(北

京)有限公司;甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)、沉默信息调控因子 1(SIRT1)、核因子 E2 相关因子 2(Nrf2)、血红素氧合酶-1(HO-1)、NADPH 醌氧化还原酶 1(NQO-1)兔单克隆抗体(货号分别为 ab8245、ab110304、ab137550、ab305290、ab80588)、辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔 IgG 二抗(货号 ab6721)均购自艾博抗(上海)贸易有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 慢性鼻窦炎小鼠模型建立 小鼠正常饲养 1 周后,参照朱鑫等^[14]的实验方法建立小鼠慢性鼻窦炎模型。ip 3%戊巴比妥钠(40 mg/kg)麻醉小鼠并固定于实验台,消毒后,在小鼠鼻-双耳线正中前 1/3 鼻背处做一个约 3 mm 的横行切口,钝性分离皮下组织及肌肉,避开鼻部血管,用微型打磨机在小鼠鼻背左右两侧上颌窦腔处各磨开一直径约 1 mm 的小孔,将含 1 μ L 肺炎链球菌液(浓度为 6×10^8 CFU/mL)的医用膨胀海绵塞入小鼠上颌窦腔内,迅速缝合皮肤切口。手术后正常饲养小鼠,观察小鼠一般情况,包括鼻腔分泌物、鼻塞、打喷嚏、搔抓鼻部等情况。造模 8 周后,HE 染色观察小鼠鼻黏膜组织呈慢性炎症表现,纤毛脱落,部分黏膜上皮细胞坏死、脱落,黏膜下层腺体增生,可见大量炎症细胞浸润,表示慢性鼻窦炎小鼠模型建立成功。

1.3.2 实验分组和药物干预 将造模成功的 80 只小鼠随机分为模型组,紫草素低、高剂量组,克拉霉素组,每组 20 只。另取正常饲养的 20 只小鼠设为假手术组,假手术组小鼠进行同样的手术步骤,但上颌窦腔内不植入海绵、肺炎链球菌。造模成功后第 2 天开始,结合文献报道^[15-16]和预试验确定给药剂量开始给药干预,紫草素低、高剂量小鼠每天分别 ig 紫草素 12.5、50.0 mg/kg;克拉霉素组小鼠每天 ig 克拉霉素 103.0 mg/kg;模型组和假手术组小鼠 ig 同等体积生理盐水。各组小鼠给药 1 次/d,共给药 14 d。

1.3.3 样本采集 末次给药后小鼠禁食 12 h,麻醉小鼠后,经眼静脉丛采血,于 4 °C、35 000 r/min 离心收集上清,小鼠血清保存备用。处死小鼠,取小鼠鼻黏膜组织,用含 0.2%焦碳酸二乙酯(DEPC)的生理盐水冲洗,平均分成 2 份,1 份置于冻存管保存于液氮中备用,1 份置于 4%多聚甲醛固定。

1.3.4 小鼠鼻黏膜组织病理形态观察 将固定的鼻黏膜组织常规脱水,石蜡包埋,切成 4 μ m 连续切片在 60 °C烘箱中干燥 1 h,根据 HE 染色试剂盒

说明书进行 HE 染色,在 400 倍光学显微镜下观察。

1.3.5 Masson 染色观察小鼠鼻黏膜组织胶原沉积情况 取小鼠鼻黏膜组织切片,按照 Masson 染色试剂盒说明书进行 Masson 染色,400 倍光学显微镜下观察,其中肌纤维呈红色,胶原纤维呈蓝色。

1.3.6 ELISA 法检测小鼠血清炎症因子水平 取各组小鼠血清,按照 ELISA 试剂盒说明书检测血清中 TNF- α 、IL-32、IFN- γ 水平。

1.3.7 Western blotting 法检测小鼠鼻黏膜组织中 SIRT1/Nrf2 信号通路相关蛋白表达 采用 RIPA 裂解液提取小鼠鼻黏膜组织中总蛋白,使用 BCA 蛋白质定量试剂盒测定蛋白质浓度。通过 SDS-PAGE 分离蛋白质样品,转移到 PVDF 膜上。使用 5%脱脂牛奶封闭膜 1 h,将膜与 GAPDH (1:1 000)、SIRT1 (1:1 000)、Nrf2 (1:800)、HO-1 (1:500)、NQO-1 (1:500) 一抗在 4 °C 下孵育过夜,洗膜,将膜与辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔 IgG 二抗 (1:2 000) 在 37 °C 一起孵育 1 h,洗膜,将膜浸入增强化学发光溶液中显影,用凝胶图像处理系统分析目标条带,以 GAPDH 作为内部参照对目的蛋白进行量化处理。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 25.0 软件进行统计学分析,实验结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,数据满足方差齐性和正态分布,多组间比较采用单因素方差分析,进一步两两比较

采用 LSD- t 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组小鼠一般情况比较

造模前各组小鼠正常进食饮水,毛色光泽,精神状态良好,无鼻塞、流鼻涕、打喷嚏的症状。造模后 1 周内各组小鼠进食和活动均减少。假手术组小鼠出现抓鼻、挠鼻,但无流涕、鼻塞现象,术后第 1 周小鼠抓鼻、挠鼻现象逐渐减轻,至术后第 8 周抓鼻、挠鼻现象均不明显;模型组小鼠出现抓鼻、挠鼻、流涕、打喷嚏、鼻塞等症状,鼻腔见少量分泌物,伴不同程度结膜水肿、眼角溢泪等现象,在造模后第 5 天上述症状最为明显,之后有所减轻,但至术后 8 周仍存在上述症状。

2.2 各组小鼠鼻黏膜组织病理形态学比较

假手术组小鼠鼻黏膜上皮细胞及纤毛结构完整,排列整齐,黏膜下层偶见少量的散在分布的杯状细胞;模型组小鼠鼻窦黏膜呈慢性炎症表现,黏膜上皮细胞排列紊乱,纤毛脱落,部分细胞坏死、脱落,黏膜下层腺体、纤维组织增生,可见大量淋巴细胞、浆细胞浸润;紫草素 12.5 mg/kg 组小鼠部分鼻黏膜有坏死脱落,黏膜下层存在少量淋巴细胞等炎症细胞浸润和腺体增生,较模型组明显减轻;紫草素 50.0 mg/kg 组和克拉霉素组小鼠鼻黏膜结构与假手术组相似,黏膜及纤毛结构较完整,黏膜下层淋巴细胞少见,见图 1。

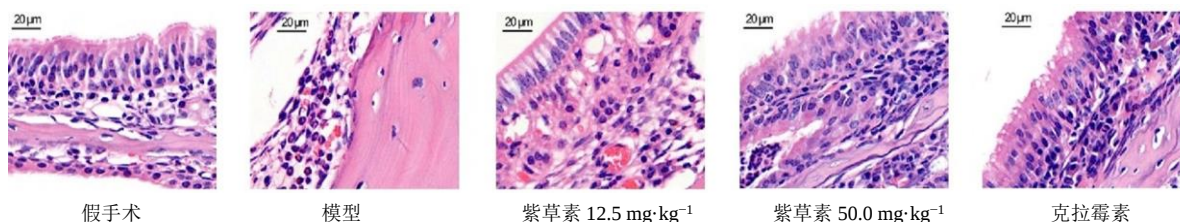


图 1 各组小鼠鼻黏膜组织病理形态学比较 (HE 染色, $\times 400$)

Fig. 1 Comparison of histopathology of nasal mucosa of mice in each group (HE staining, $\times 400$)

2.3 各组小鼠鼻黏膜组织胶原沉积情况比较

假手术组小鼠鼻黏膜组织上皮层、固有层、腺体及血管周围蓝色胶原少;模型组小鼠鼻黏膜组织可见大量蓝色胶原沉积于上皮层、固有层、腺体及血管周围;紫草素 12.5、50.0 mg/kg 组和克拉霉素组小鼠鼻黏膜组织蓝色胶原沉积明显减少,且紫草素 50.0 mg/kg 组和克拉霉素组小鼠鼻窦黏膜组织蓝色胶原沉积减少更为显著,见图 2。

2.4 各组小鼠血清中炎症因子水平比较

与假手术组比较,模型组小鼠血清中 TNF- α 、IL-32、IFN- γ 水平均显著升高 ($P < 0.05$);与模型组比较,紫草素 12.5、50.0 mg/kg 组和克拉霉素组小鼠血清中 TNF- α 、IL-32、IFN- γ 水平均显著降低 ($P < 0.05$),且紫草素 50.0 mg/kg 组和克拉霉素组小鼠血清中 TNF- α 、IL-32、IFN- γ 水平显著低于紫草素 12.5 mg/kg 组 ($P < 0.05$),见表 1。

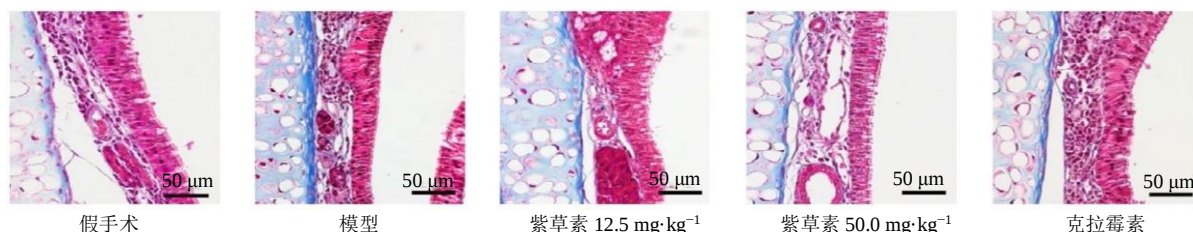


图 2 各组小鼠鼻黏膜组织胶原沉积情况比较 (Masson 染色, ×400)

Fig. 2 Comparison of collagen deposition in nasal mucosa of mice in each group (Masson staining, ×400)

表 1 各组小鼠血清中炎症因子水平比较 ($\bar{x} \pm s$, $n = 20$)

Table 1 Comparison of levels of inflammatory factors in serum of mice in each group ($\bar{x} \pm s$, $n = 20$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	TNF- α /(pg·mL ⁻¹)	IL-32/(pg·mL ⁻¹)	IFN- γ /(pg·mL ⁻¹)
假手术	—	13.19 ± 1.75	23.49 ± 2.30	25.22 ± 2.13
模型	—	48.56 ± 3.15*	120.37 ± 6.43*	56.28 ± 3.71*
紫草素	12.5	37.02 ± 2.61 [#]	87.25 ± 3.86 [#]	49.51 ± 3.16 [#]
	50.0	21.83 ± 2.73 ^{#▲}	43.42 ± 3.27 ^{#▲}	32.81 ± 2.52 ^{#▲}
克拉霉素	103.0	20.72 ± 2.67 ^{#▲}	42.91 ± 3.20 ^{#▲}	32.04 ± 2.16 ^{#▲}

与假手术组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: [#] $P < 0.05$; 与紫草素 12.5 mg·kg⁻¹ 组比较: [▲] $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs sham operation group; [#] $P < 0.05$ vs model group; [▲] $P < 0.05$ vs shikonin 12.5 mg·kg⁻¹ group

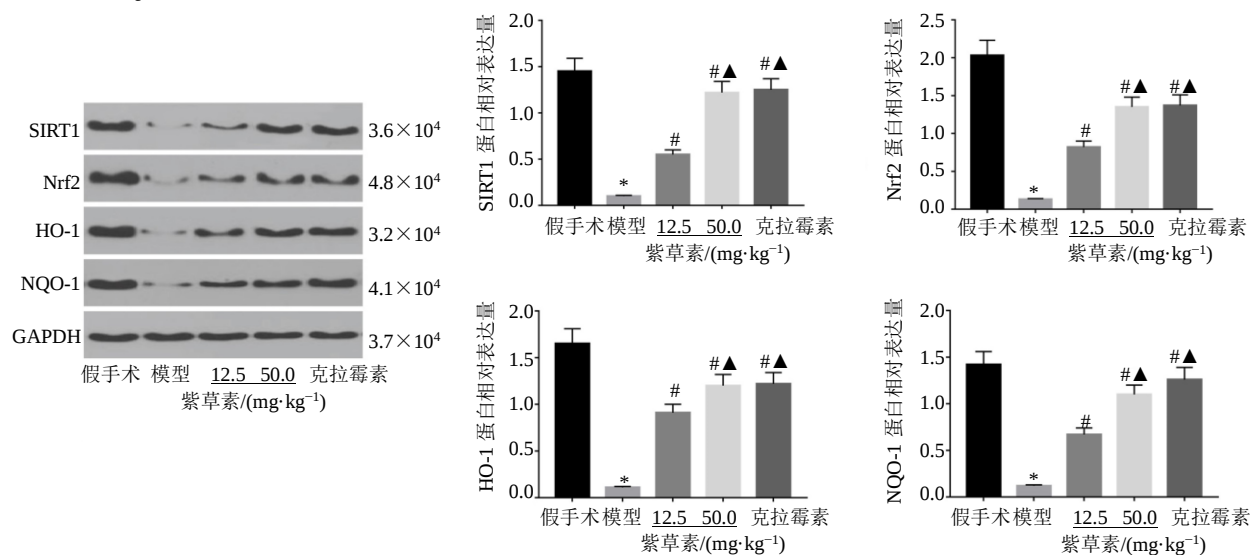
2.5 各组小鼠鼻黏膜组织中 SIRT1/Nrf2 信号通路相关蛋白表达水平比较

与假手术组比较, 模型组小鼠鼻黏膜组织中 SIRT1、Nrf2、HO-1、NQO-1 蛋白表达水平显著降低 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 紫草素 12.5、50.0 mg/kg 组和克拉霉素组鼻黏膜组织中 SIRT1、Nrf2、HO-1、NQO-1 蛋白表达水平显著升高 ($P < 0.05$),

且紫草素 50.0 mg/kg 组和克拉霉素组小鼠鼻黏膜组织中 SIRT1、Nrf2、HO-1、NQO-1 蛋白表达水平显著高于紫草素 12.5 mg/kg 组 ($P < 0.05$), 见图 3。

3 讨论

紫草素长期以来, 被用于治疗多种炎症和传染性疾病, 其通过免疫调节、抗凋亡和抗氧化活性对溃疡性结肠炎^[17]、骨关节炎^[18]、动脉粥样硬化^[19]等



与假手术组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: [#] $P < 0.05$; 与紫草素 12.5 mg·kg⁻¹ 组比较: [▲] $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs sham operation group; [#] $P < 0.05$ vs model group; [▲] $P < 0.05$ vs shikonin 12.5 mg·kg⁻¹ group

图 3 各组小鼠鼻黏膜组织中 SIRT1/Nrf2 信号通路相关蛋白表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$, $n = 20$)

Fig. 3 Comparison of expression level of SIRT1/Nrf2 signaling pathway related proteins in nasal mucosa of mice in each group ($\bar{x} \pm s$, $n = 20$)

多种炎症性疾病发挥治疗作用。此外,紫草素还对脓毒症诱导的急性肺损伤^[20]、异丙肾上腺素诱导的心肌损伤^[21]、对乙酰氨基酚诱导的急性肝损伤^[22]等具有保护作用。这些研究提示紫草素除抗炎、抗氧化等活性外还具有组织器官保护作用。Zhao 等^[23]发现,紫草素可减轻肺炎链球菌肺溶血素产生的生物毒性。本研究以肺炎链球菌液诱导的慢性鼻窦炎小鼠模型为研究对象开展实验,探索紫草素对慢性鼻窦炎的作用,结果发现紫草素干预能够有效改善慢性鼻窦炎小鼠鼻塞、打喷嚏、眼角溢泪等症状,并减轻慢性鼻窦炎小鼠鼻窦黏膜组织慢性炎症表现。为进一步明确紫草素治疗慢性鼻窦炎的效果是否与药物剂量有关系,本研究参照已有文献和预试验结果,设立高、低剂量紫草素组以观察不同剂量紫草素干预慢性鼻窦炎的效果,结果显示高剂量紫草素改善慢性鼻窦炎小鼠临床症状和鼻窦黏膜组织慢性炎症的效果显著优于低剂量紫草素。上述结果表明紫草素可能是一种可行的治疗慢性鼻窦炎的藥物,且其治疗效果与药物剂量具有一定相关性。

组织重塑是指发生在受损组织中的结构变化,已被证明在慢性鼻窦炎的发展中起重要作用^[24]。呼吸道上皮的慢性炎症可导致组织重塑,导致上、下呼吸道的黏膜功能丧失,上皮纤维化以及上皮腺体增生是慢性鼻窦炎组织重塑的标准特征,鼻窦黏膜组织重塑会影响黏膜纤毛功能,导致黏膜功能障碍,增加慢性鼻窦炎的治疗难度^[25-26]。文献报道,糖皮质激素通过抑制组织重塑发挥对慢性鼻窦炎的治疗作用^[27]。本研究检测慢性鼻窦炎小鼠鼻黏膜组织形态学和胶原沉积情况,结果显示,慢性鼻窦炎小鼠鼻窦黏膜下层腺体、纤维组织增生,可见大量蓝色胶原沉积于鼻黏膜组织上皮下层、固有层、腺体及血管周围;紫草素和克拉霉素干预后,慢性鼻窦炎小鼠鼻窦黏膜下层腺体、纤维组织增生和蓝色胶原沉积面积均明显减少,并且高剂量紫草素对慢性鼻窦炎小鼠鼻黏膜组织重塑的改善效果显著优于低剂量紫草素。该结果表明紫草素能够有效改善慢性鼻窦炎鼻黏膜组织重塑,且其作用效果与剂量具有一定相关性。

已有研究证据表明,炎症细胞因子大量分泌诱发过度炎症反应是慢性鼻窦炎发生进展的主要原因之一,因此调控炎症细胞因子表达抑制炎症反应是慢性鼻窦炎的有效治疗方向之一^[28]。TNF- α 是由单核巨噬细胞和嗜酸性粒细胞产生的一种广谱促

炎细胞因子,可诱导 IL-6、IL-10 和 IFN- γ 释放,调节免疫反应。据报道, TNF- α 在慢性鼻窦炎伴鼻息肉患者的鼻黏膜组织中表达明显升高^[29]。IFN- γ 是由自然杀伤细胞和自然杀伤 T 细胞分泌的效应因子,在免疫防御和炎症中发挥重要作用, IFN- γ 被证明参与慢性鼻窦炎伴鼻息肉鼻上皮细胞黏液纤毛分化^[30]。IL-32 是最近发现的一种细胞因子,已被证明参与多种炎症性疾病发生、发展,其表达与疾病严重程度相关^[31]。Soyka 等^[32]研究表明,慢性鼻窦炎患者鼻活检中 IL-32 mRNA 和蛋白表达增加,并与 TNF- α 和 IFN- γ 表达相关, IL-32 可能参与了慢性鼻窦炎的发病机制。本研究结果表明,慢性鼻窦炎小鼠血清中 TNF- α 、IL-32、IFN- γ 水平显著升高,紫草素和克拉霉素有效降低了慢性鼻窦炎小鼠血清中 TNF- α 、IL-32、IFN- γ 水平,并且高剂量紫草素的作用效果与克拉霉素相当。该结果提示,紫草素能够通过调控 TNF- α 、IL-32、IFN- γ 等促炎细胞因子表达缓解慢性鼻窦炎炎症反应。

SIRT1 是一种 NAD 依赖性蛋白去乙酰化酶,可调节特定转录因子和蛋白质的乙酰化,并参与大量细胞过程,包括能量代谢、应激反应、炎症和氧化还原稳态等^[33]。研究表明, SIRT1 在慢性鼻窦炎患者鼻黏膜组织中表达降低,并且 SIRT1 表达与 IL-5、IFN- γ 等炎症因子水平呈负相关,异常表达的 SIRT1 可能影响鼻黏膜上皮细胞的形态和结构,在鼻黏膜生理过程和慢性鼻窦炎病理过程中起着至关重要的作用^[34]。Nrf2 是调节氧化还原反应的主要转录因子,亦是 SIRT1 的关键下游靶基因之一,已成为炎症性疾病的潜在治疗靶点。Nrf2 失调导致抗氧化剂和解毒酶的减少,可引起鼻屏障功能的破坏,这与慢性鼻窦炎的发病机制有关^[35]。HO-1 和 NQO-1 是 Nrf2 的关键下游靶应激诱导蛋白,也具有抗氧化应激和抗炎作用。本研究检测结果显示,慢性鼻窦炎小鼠鼻黏膜组织中 SIRT1、Nrf2、HO-1、NQO-1 蛋白表达水平明显降低,紫草素和克拉霉素均能够显著增加慢性鼻窦炎小鼠鼻黏膜组织中 SIRT1、Nrf2、HO-1、NQO-1 蛋白表达。既往研究报道,长期低浓度克拉霉素治疗通过增加 Nrf2 表达来改善人小气道上皮细胞中过氧化氢诱导的氧化剂/抗氧化剂失衡^[36]。紫草素可通过激活 SIRT1 和 Nrf2 信号传导通路发挥作用^[37-38]。本研究结果亦表明,紫草素和克拉霉素可能通过上调 SIRT1 表达继而激活 Nrf2 信号通路发挥改善慢性鼻窦炎的作用。

综上所述,紫草素能够显著改善慢性鼻窦炎鼻黏膜组织重塑和炎症反应,其作用机制可能与激活 SIRT1/Nrf2 信号通路有关。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Sedaghat A R. Chronic rhinosinusitis [J]. *Am Fam Physician*, 2017, 96(8): 500-506.
- [2] McCormick J P, Thompson H M, Cho D Y, et al. Phenotypes in chronic rhinosinusitis [J]. *Curr Allergy Asthma Rep*, 2020, 20(7): 20.
- [3] Xu X, Reitsma S, Wang D Y, et al. Highlights in the advances of chronic rhinosinusitis [J]. *Allergy*, 2021, 76(11): 3349-3358.
- [4] Ghogomu N, Kern R. Chronic rhinosinusitis: The rationale for current treatments [J]. *Expert Rev Clin Immunol*, 2017, 13(3): 259-270.
- [5] Zhong Y, Li Y, Zhang H. Silencing TBX1 exerts suppressive effects on epithelial-mesenchymal transition and inflammation of chronic rhinosinusitis through inhibition of the TGF β -Smad2/3 signaling pathway in mice [J]. *Am J Rhinol Allergy*, 2020, 34(1): 16-25.
- [6] Sun Q, Gong T, Liu M, et al. Shikonin, a naphthalene ingredient: Therapeutic actions, pharmacokinetics, toxicology, clinical trials and pharmaceutical researches [J]. *Phytomedicine*, 2022, 94: 153805.
- [7] Kaur K, Shrama R, Singh A, et al. Pharmacological and analytical aspects of alkannin/shikonin and their derivatives: An update from 2008 to 2022 [J]. *Chin Herb Med*, 2022, 14(4): 511-527.
- [8] 吴飞莹, 卢丹. 紫草素抑制卵巢癌作用机制的研究进展 [J]. *中草药*, 2021, 52(23): 7358-7363.
- [9] Yoshida L S, Kakegawa T, Yuda Y, et al. Shikonin changes the lipopolysaccharide-induced expression of inflammation-related genes in macrophages [J]. *J Nat Med*, 2017, 71(4): 723-734.
- [10] Fu D, Shang X, Ni Z, et al. Shikonin inhibits inflammation and chondrocyte apoptosis by regulation of the PI3K/Akt signaling pathway in a rat model of osteoarthritis [J]. *Exp Ther Med*, 2016, 12(4): 2735-2740.
- [11] Dai Q, Fang J, Zhang F S. Dual role of shikonin in early and late stages of collagen type II arthritis [J]. *Mol Biol Rep*, 2009, 36(6): 1597-1604.
- [12] Lee C C, Wang C N, Lai Y T, et al. Shikonin inhibits maturation of bone marrow-derived dendritic cells and suppresses allergic airway inflammation in a murine model of asthma [J]. *Br J Pharmacol*, 2010, 161(7): 1496-1511.
- [13] Wang T Y, Zhou Q L, Li M, et al. Shikonin alleviates allergic airway remodeling by inhibiting the ERK-NF- κ B signaling pathway [J]. *Int Immunopharmacol*, 2017, 48: 169-179.
- [14] 朱鑫, 李辉, 朱天民, 等. 针刺结合无烟/有烟艾灸调节慢性鼻-鼻窦炎小鼠免疫功能的研究 [J]. *针刺研究*, 2021, 46(9): 757-762.
- [15] 卫丽, 刘虹, 闫鲜鹏. 紫草素对肺炎链球菌引起的肺炎小鼠细胞外信号调节激酶/p38 丝裂素活化蛋白激酶/核苷酸结合寡聚化结构域样蛋白 3 信号通路及肺血管通透性的影响 [J]. *安徽医药*, 2021, 25(11): 2159-2164.
- [16] 付译节, 李辉, 朱天民, 等. 鼻渊舒口服液对 CRS 模型小鼠鼻窦黏膜 IFN- γ 及免疫检查点 B7-H1/PD-1 mRNA 表达的影响研究 [J]. *中国药房*, 2020, 31(17): 2076-2081.
- [17] Han H, Sun W, Feng L, et al. Differential relieving effects of shikonin and its derivatives on inflammation and mucosal barrier damage caused by ulcerative colitis [J]. *PeerJ*, 2021, 9: e10675.
- [18] Lohberger B, Kaltenegger H, Eck N, et al. Shikonin derivatives inhibit inflammation processes and modulate MAPK signaling in human healthy and osteoarthritis chondrocytes [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(6): 3396.
- [19] Lü S L, Dang G H, Deng J C, et al. Shikonin attenuates hyperhomocysteinemia-induced CD4⁺ T cell inflammatory activation and atherosclerosis in ApoE^{-/-} mice by metabolic suppression [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2020, 41(1): 47-55.
- [20] Zhang Y Y, Liu X, Zhang X, et al. Shikonin improve sepsis-induced lung injury via regulation of miRNA-140-5p/TLR4-a *vitro* and *vivo* study [J]. *J Cell Biochem*, 2020, 121(3): 2103-2117.
- [21] Yang J, Wang Z, Chen D L. Shikonin ameliorates isoproterenol (ISO)-induced myocardial damage through suppressing fibrosis, inflammation, apoptosis and ER stress [J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 93: 1343-1357.
- [22] Guo H, Sun J, Li D, et al. Shikonin attenuates acetaminophen-induced acute liver injury via inhibition of oxidative stress and inflammation [J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 112: 108704.
- [23] Zhao X, Zhou Y, Wang L, et al. Shikonin alleviates the biotoxicity produced by pneumococcal pneumolysin [J]. *Life Sci*, 2017, 177: 1-7.
- [24] Amirapu S, Biswas K, Radcliff F J, et al. Sinonasal tissue remodelling during chronic rhinosinusitis [J]. *Int J Otolaryngol*, 2021, 2021: 7428955.
- [25] Lee H Y, Pyo J S, Kim S J. Distinct patterns of tissue remodeling and their prognostic role in chronic rhinosinusitis [J]. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec*, 2021, 83(6): 457-463.
- [26] Pyo J S, Kim S J. Relationship between histologic changes

- and inflammatory markers in chronic rhinosinusitis [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2021, 14(4): 501-507.
- [27] Yang H W, Park J H, Shin J M, *et al.* Glucocorticoids ameliorate periostin-induced tissue remodeling in chronic rhinosinusitis with nasal polyps [J]. *Clin Exp Allergy*, 2018, 7(1): 136-139.
- [28] Orb Q, Pulsipher A, Smith K A, *et al.* Correlation between systemic inflammatory response and quality of life in patients with chronic rhinosinusitis [J]. *Int Forum Allergy Rhinol*, 2019, 9(5): 458-465.
- [29] Qing X, Zhang Y, Peng Y, *et al.* Mir-142-3p regulates inflammatory response by contributing to increased TNF- α in chronic rhinosinusitis with nasal polyposis [J]. *Ear Nose Throat J*, 2021, 100(1): NP50-NP56.
- [30] Jiao J, Duan S, Meng N, *et al.* Role of IFN- γ , IL-13, and IL-17 on mucociliary differentiation of nasal epithelial cells in chronic rhinosinusitis with nasal polyps [J]. *Clin Exp Allergy*, 2016, 46(3): 449-460.
- [31] Khawar M B, Abbasi M H, Sheikh N. IL-32: A novel pluripotent inflammatory interleukin, towards gastric inflammation, gastric cancer, and chronic rhino sinusitis [J]. *Mediators Inflamm*, 2016, 2016: 8413768.
- [32] Soyka M B, Treis A, Eiwegger T, *et al.* Regulation and expression of IL-32 in chronic rhinosinusitis [J]. *Allergy*, 2012, 67(6): 790-798.
- [33] Shen P, Deng X, Chen Z, *et al.* SIRT1: A potential therapeutic target in autoimmune diseases [J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 779177.
- [34] Gong J, Qi W, Wang W. Expression of silent information regulator 1 in chronic rhinosinusitis and regulatory effects of inflammatory factors [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2021, 14(2): 170-178.
- [35] London N R Jr, Tharakan A, Mendiola M, *et al.* Deletion of Nrf2 enhances susceptibility to eosinophilic sinonasal inflammation in a murine model of rhinosinusitis [J]. *Int Forum Allergy Rhinol*, 2019, 9(1): 114-119.
- [36] Iwayama K, Kusakabe A, Ohtsu K, *et al.* Long-term treatment of clarithromycin at a low concentration improves hydrogen peroxide-induced oxidant/antioxidant imbalance in human small airway epithelial cells by increasing Nrf2 mRNA expression [J]. *BMC Pharmacol Toxicol*, 2017, 18(1): 15-23.
- [37] Guo T, Jiang Z B, Tong Z Y, *et al.* Shikonin ameliorates LPS-induced cardiac dysfunction by SIRT1-dependent inhibition of NLRP3 inflammasome [J]. *Front Physiol*, 2020, 11: 570441.
- [38] Du H, Zhou X, Shi L, *et al.* Shikonin attenuates cochlear spiral ganglion neuron degeneration by activating Nrf2-ARE signaling pathway [J]. *Front Mol Neurosci*, 2022, 15: 829642.

【责任编辑 高源】