

基于 NLRP3 炎症通路探讨滨蒿提取物对急性肺损伤小鼠的保护作用机制

刘 燕, 徐 磊, 史玉柱, 王 雪*

新疆维吾尔自治区药物研究院, 新疆 乌鲁木齐 830011

摘 要:目的 基于 NOD 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3 (NOD-like receptor thermal protein domain associated protein 3, NLRP3) 炎症通路探讨滨蒿提取物 (*Artemisia scoparia* extract, ASE) 对急性肺损伤 (acute lung injury, ALI) 小鼠的保护作用及机制。方法 将 ICR 小鼠随机分为对照组、模型组及 ASE 低、中、高剂量 (100、200、400 mg/kg) 组和地塞米松 (2.5 mg/kg) 组, 给予药物干预 5 d。除对照组外, 其余小鼠采用鼻腔内给予脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 构建 ALI 模型, 16 h 后收集血清和肺组织。测定小鼠肺组织湿干质量比; 采用苏木素-伊红 (hematoxylin-eosin, HE) 染色观察肺组织病理学变化; 采用 ELISA 法测定血清中前列腺素 E₂ (prostaglandin E₂, PGE₂)、白三烯 B₄ (leukotriene B₄, LTB₄) 以及肺组织中肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、单核细胞趋化蛋白-1 (monocyte chemotactic protein-1, MCP-1)、白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β) 含量; 采用 qRT-PCR 检测肺组织 TNF- α 、MCP-1、IL-1 β 、NLRP3、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-1 (cystein-aspartate protease-1, Caspase-1)、消皮素 D (gasdermin D, GSDMD) 的 mRNA 表达; 采用 Western blotting 检测肺组织 NLRP3、凋亡相关斑点样蛋白 (apoptosis-associated speck, ASC)、Caspase-1、GSDMD 蛋白表达。结果 与对照组比较, 模型组小鼠肺组织结构异常, 肺泡壁增厚, 肺泡腔出血, 肺泡周围炎性细胞增多, 血清中 PGE₂ 和 LTB₄ 水平显著升高 ($P < 0.05$), 肺组织中 TNF- α 、MCP-1、IL-1 β 水平和 mRNA 表达水平显著升高 ($P < 0.01$), 肺组织中 NLRP3、Caspase-1、GSDMD mRNA 和蛋白表达水平显著上调 ($P < 0.01$)。给予 ASE 干预后, 上述指标明显改善 ($P < 0.05$ 、0.01), 且呈剂量相关性。结论 ASE 对 LPS 诱导的小鼠 ALI 具有明显的保护作用, 其作用机制可能为通过抑制 NLRP3 炎症小体信号通路减轻炎症反应, 从而发挥抗 ALI 的作用。

关键词: 滨蒿提取物; NLRP3 炎症小体; 脂多糖; 急性肺损伤; 炎症反应

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2025)16-5837-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.16.013

Protective mechanism of *Artemisia scoparia* extract on acute lung injury in mice based on NLRP3 inflammasome

LIU Yan, XU Lei, SHI Yuzhu, WANG Xue

Xinjiang Institute of Materia Medica, Urumqi 830011, China

Abstract: Objective To investigate the mechanism of *Artemisia scoparia* extract (ASE) on acute lung injury (ALI) in mice based on NOD-like receptor thermal protein domain associated protein 3 (NLRP3) inflammasome signaling pathway. **Methods** ICR mice were randomly divided into control group, model group, ASE low-, medium-, high-dose (100, 200, 400 mg/kg) groups and dexamethasone (2.5 mg/kg) group. Drugs were given for intervention of 5 d. Except for the control group, the remaining mice were induced with ALI model by intranasal administration of lipopolysaccharides (LPS), serum and lung tissue were collected 16 h later. Lung weight wet/dry ratio was measured. The pathological changes of lung tissue were observed by hematoxylin-eosin (HE) staining. The contents of prostaglandin E₂ (PGE₂) and leukotriene B₄ (LTB₄) in serum, and the contents and mRNA expression levels of tumor necrosis factor- α (TNF- α), monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1), and interleukin-1 β (IL-1 β) in lung tissues were determined by ELISA. The mRNA expression levels of TNF- α , MCP-1, IL-1 β , NLRP3, cystein-aspartate protease-1 (Caspase-1) and gasdermin D (GSDMD) in lung tissues were detected by qRT-PCR. The protein expression levels of NLRP3, apoptosis-associated speck (ASC), Caspase-1, and GSDMD in lung tissues were detected by Western blotting. **Results** Compared with control group, model group showed abnormal

收稿日期: 2025-03-28

基金项目: 新疆维吾尔自治区创新环境 (人才、基地) 建设专项 (PT2305); 新疆维吾尔自治区自然科学基金项目 (2021D01A163)

作者简介: 刘 燕, 副研究员, 主要从事中药民族药新药研发及药效学研究。E-mail: lwlyer@163.com

*通信作者: 王 雪, 研究员, 主要从事中药民族药新药研发及药效学研究。E-mail: axtwx2005@126.com

lung tissue structure, thickened alveolar wall, bleeding alveolar cavity, inflammatory cell around the alveolar significantly increased. The levels of PGE₂ and LTB₄ in serum were significantly increased ($P < 0.05$), the levels and mRNA expression levels of TNF- α , MCP-1, IL-1 β in lung tissue were significantly increased ($P < 0.01$), and the mRNA and protein expression levels of NLRP3, Caspase-1, and GSDMD in lung tissue were significantly up-regulated ($P < 0.01$). After ASE intervention, the above indicators were significantly improved ($P < 0.05, 0.01$) and showed a dose-dependent relationship. **Conclusion** ASE has a significant protective effect on LPS-induced ALI in mice, which may be related to reduce inflammatory response by inhibiting NLRP3 inflammasome signaling pathway.

Key words: *Artemisia scoparia* extract; NLRP3 inflammasome; lipopolysaccharide; acute lung injury; inflammatory response

急性肺损伤 (acute lung injury, ALI) 是一种由多种病因导致的临床综合征, 其严重形式称为急性呼吸窘迫综合征 (acute respiratory distress syndrome, ARDS)。感染、创伤、脓毒血症等多种病因均可诱发 ALI/ARDS, 其中细菌感染是最常见且最主要的原因。炎症反应、肺泡上皮和血管内皮的损伤, 导致肺水肿和气体交换障碍为其主要病理过程。ALI/ARDS 是临床上常见的呼吸系统急危重症之一, 死亡率高达 30%~50%^[1-2]。因此, ALI 仍然是严重危害人类健康的一类重要疾病, 尽管 ALI 的治疗取得了巨大的进步, 但考虑到其在全球范围内的高发病率和死亡率, 其防治药物的研究和开发受到科研工作者的广泛关注。ALI 的发病机制涉及多个复杂因素, 至今尚未完全阐明。炎症反应是 ALI 的重要病理机制, ALI 发生时大量炎症细胞如中性粒细胞等在肺组织内弥散性浸润, 肺内炎症因子过度释放, 促炎抗炎系统和氧化/抗氧化系统平衡失调, 进而诱发炎症“瀑布”样级联反应, 加剧肺损伤, 是 ALI/ARDS 患者高死亡率的重要原因^[3]。因此, 调控机体失控性炎症反应是预防和治疗 ALI/ARDS 的关键机制之一。大量研究表明, NOD 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3 (NOD-like receptor thermal protein domain associated protein 3, NLRP3) 炎症小体作为固有免疫系统的重要模式识别与效应复合体, 在 ALI 的炎症级联放大及组织损伤中扮演重要角色^[4-5]。当宿主细胞受到外源性刺激或内源性损伤时, NLRP3 与凋亡相关斑点样蛋白 (apoptosis-associated speck, ASC) 及半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-1 前体 (pro-cystein-aspartate protease-1, pro-Caspase-1) 组装形成 NLRP3 炎症小体复合物。该复合物的形成可激活 Caspase-1, 进而促进白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β) 和 IL-18 等炎症细胞因子的成熟和分泌, 同时诱导消皮素 D (gasdermin D, GSDMD) 的裂解, 介导细胞焦亡, 从而引发炎症反应。这一炎症小体激活机制与多种

炎症性疾病的发生发展密切相关。近年来, 研究发现许多中药及其有效成分通过调节 NLRP3 炎症小体对 ALI 具有一定的防治作用^[6-8]。

滨蒿 *Artemisia scoparia* Waldst. et Kit. 为菊科植物, 与茵陈蒿 *A. capillaris* Thunb. 同为茵陈的来源, 药用部位为干燥地上部分。茵陈分为春季采收的“绵茵陈”和秋季采割的“茵陈蒿”。《中国药典》2020 年版中记载茵陈味苦、辛, 微寒, 归脾、胃、肝、胆经, 具有清利湿热、利胆退黄的功效, 用于治疗黄疸尿少、湿温暑湿、湿疮瘙痒^[9]。滨蒿化学成分主要包括酚酸类、黄酮类、香豆素类、挥发油类、有机酸类等。现代药理学研究表明, 滨蒿有利胆保肝、抗炎、抗氧化、抗病毒等作用^[10-12]。课题组前期研究发现, 滨蒿提取物在体外和体内均具有良好的抗炎活性, 可显著抑制脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 诱导的 RAW264.7 巨噬细胞炎症模型中炎症介质一氧化氮 (nitric oxide, NO)、前列腺素 E₂ (prostaglandin E₂, PGE₂) 和促炎因子肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、IL-6、单核细胞趋化蛋白-1 (monocyte chemotactic protein-1, MCP-1) 的产生, 抑制核因子- κ B p65 (nuclear factor- κ B p65, NF- κ B p65) 蛋白的表达^[13], 还可显著抑制二甲苯致小鼠耳廓炎性肿胀和冰醋酸致小鼠腹腔毛细血管通透性升高^[14]。此外, 滨蒿提取物对流感病毒鼠肺适应株 A/PR/8/34 (H1N1) 诱导的肺炎模型具有保护作用, 可改善流感病毒感染小鼠肺部炎症, 明显降低流感病毒性肺炎小鼠的肺指数和死亡率, 延长生存期, 抑制血清和肺组织中 IL-6 和 γ 干扰素 (interferon- γ , IFN- γ) 等炎症因子的高表达^[15]。课题组最近的研究发现滨蒿提取物可以减轻 LPS 诱导的 ALI 小鼠肺组织病理损伤^[16], 但其具体作用机制尚不明确。因此, 本研究在前期研究的基础上, 基于 NLRP3 炎症小体信号通路探讨滨蒿提取物改善 ALI 的作用机制, 为滨蒿药用植物资源的开发利用和滨蒿临床用于防

治 ALI 提供理论依据。

1 材料

1.1 动物

SPF 级 ICR 小鼠,雌雄各半,6~8 周龄,体重 18~20 g,购自新疆医科大学动物实验中心,生产许可证号 SCXK(新)2018-0002。动物饲养于新疆药物研究所实验动物中心,使用许可证号 SYXJ(新)2017-0002。本研究经新疆药物研究所动物伦理审查委员会审查,符合国家实验动物福利伦理的相关规定,动物伦理审批号 XJIMM-20211208。

1.2 药材

滨蒿地上部分采自新疆乌鲁木齐八道湾,经新疆药物研究所何江研究员鉴定为菊科蒿属植物滨蒿 *A. scoparia* Waldst. et Kit. 的干燥地上部分。

1.3 药品与试剂

地塞米松(批号 611003)购自重庆科瑞制药集团有限公司;LPS(批号 L8880)、高效 RIPA 裂解液(批号 20230309)、苯甲基黄酰氟(phenylmethanesulfonyl fluoride, PMSF, 批号 20230311)购自北京索莱宝科技有限公司;乙醚(批号 20201110145)购自天津市致远化学试剂有限公司;甲醛溶液(批号 170913)购自西陇科学股份有限公司;小鼠 TNF- α 试剂盒(批号 218445-005)、IL-1 β 试剂盒(批号 209760-007)、MCP-1 试剂盒(批号 281921-002)购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司;小鼠白三烯 B₄(leukotriene B₄, LTB₄)试剂盒(批号 5ACPTHT4UF)、PGE₂ 试剂盒(批号 9CY6DZ5RV2)、超敏化学发光(ECL)底物液(批号 AK10325)购自武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司;TransZol Up 强化 RNA 提取试剂盒(批号 Q20509)购自北京全式金生物技术股份有限公司;Fastking 一步法除基因组 cDNA 第一链合成预混试剂(批号 W9318)、SuperReal 荧光定量预混试剂增强版(批号 W9308)购自天根生化科技京有限公司;广谱磷酸酶抑制剂混合物(批号 18C17B83)购自武汉博士德生物工程有限公司;BCA 蛋白浓度测定试剂盒(批号 111922230206)、SDS-PAGE 凝胶快速配制试剂盒(批号 052123230525)购自碧云天生物技术有限公司;HRP 标记的山羊抗兔 IgG 二抗(批号 231400310)购自北京中杉金桥生物技术有限公司;NLRP3 抗体(批号 1007080-6)购自英国 Abcam 公司;甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)抗体(批号

2118)、Caspase-1 抗体(批号 83383)、ASC 抗体(批号 67824)购自美国 CST 公司;GSDMD 抗体(批号 55h2355)购自 Affinity 公司。

1.4 仪器

Ultimate 3000 型高效液相色谱仪、LTQ Orbitrap XL 型高分辨质谱仪、ST8R 型高速低温离心机(美国 Thermo Fisher Scientific 公司);QuantStudio3 型实时荧光定量 PCR 仪(美国 ABI 公司);SpectraMax M2 型多功能酶标仪(Molecular Devices 公司);NanoPhotometer-NP80 型超微量分光光度计(Implen 公司);ABI OSE-DB-01 型加热型五段程控金属浴(天根生化科技有限公司);153BR132856 型小型垂直电泳仪、552BR292061 型转膜仪(美国 Bio-Rad 公司);Amersham Image 680 型化学发光成像仪(GE 公司)。

2 方法

2.1 滨蒿提取物的制备及成分分析

2.1.1 滨蒿提取物的制备 取滨蒿药材,加入 10 倍量水回流提取 2 次,每次 2 h,合并提取液,减压浓缩至相对密度为 1.20~1.25。加入 2 倍量无水乙醇,放置 24 h,滤过去除沉淀,取上清液浓缩后上 AB-8 大孔树脂和聚酰胺树脂,60 °C 真空干燥,得到滨蒿提取物。

2.1.2 滨蒿提取物的成分分析 采用高效液相色谱-高分辨质谱/质谱(high performance liquid chromatography-high resolution tandem mass spectrometry, HPLC-HRMS/MS)对滨蒿提取物的成分进行分析。

(1) 样品溶液的制备:取滨蒿提取物 50 mg 置于具塞锥形瓶中,加入 10 mL 50%甲醇,超声溶解,冷却至室温,用 0.22 μ m 微孔滤膜滤过,得到样品溶液,待进样分析。

(2) 色谱条件: AQ-C₁₈ 色谱柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 3 μ m);流动相为 0.1%甲酸水溶液(A)-乙腈(B),梯度洗脱: 0~5 min, 100% A; 5~40 min, 100%~50% A; 40~85 min, 50%~10% A; 85~90 min, 10%~100% A。体积流量 1.0 mL/min;柱温 30 °C;检测波长 254 nm;进样量 10 μ L。

(3) 质谱条件: 电喷雾离子源(electrospray ionization, ESI),负离子模式扫描,高分辨数据采集,分辨率 30 000,离子传输管温度 370 °C,喷雾电压 4.5 kV,离子传输管电压 60 V,套管镜头电压 80 V,鞘气体积流量 30 arb,辅助气体流量 10 arb,

吹扫气体积流量 0 arb, 全扫描模式 (Full Scan), 扫描范围为 m/z 50~1 000; 二级离子采用数据依赖性扫描, 碰撞诱导解离 (collision induced dissociation, CID) 数据采集, CID 归一化能量 35%。

2.2 动物分组、造模及给药

ICR 小鼠按体质量、性别随机分为对照组、模型组、地塞米松 (2.5 mg/kg) 组和滨蒿提取物低、中、高剂量组。根据本课题组前期研究^[13-16]及预实验结果, 滨蒿提取物的给药剂量分别为 100、200、400 mg/kg。各给药组 ig 相应药物 (20 mL/kg), 对照组和模型组 ig 等体积的 0.5% 羧甲基纤维素钠溶液, 1 次/d, 连续给药 5 d。末次给药后 1.5 h, 除对照组外, 其余各组小鼠用乙醚麻醉, 采用鼻腔滴入 LPS 50 μ L (10 mg/kg) 的方法制备 ALI 小鼠模型^[16-17], 对照组给予等体积的生理盐水。

2.3 样本采集

各组小鼠于造模后 16 h, 摘取眼球采血, 2 500 r/min 离心 10 min, 收集血清。取肺组织, 用于炎症因子检测、病理组织学检查、qRT-PCR 及 Western blotting 分析。

2.4 肺组织湿干质量比检测

称取小鼠左肺质量计为肺组织湿质量, 置于恒温鼓风干燥箱中, 80 $^{\circ}$ C 烘烤 24 h 至恒定质量, 称定肺组织干质量, 计算肺组织湿干质量比。

2.5 血清中 PGE₂、LTB₄ 水平测定

取各组小鼠血清, 按照 ELISA 试剂盒说明书检测血清中 PGE₂、LTB₄ 水平。

2.6 肺组织中 TNF- α 、MCP-1 和 IL-1 β 水平测定

称取各组小鼠相同部位肺组织, 称定质量后剪碎, 按照组织质量 (mg) 与生理盐水 (μ L) 1:9 的比例制备肺组织匀浆。4 $^{\circ}$ C、1 500 r/min 离心 10 min, 取上清液, 按照试剂盒说明书测定肺组织中 TNF- α 、MCP-1 和 IL-1 β 水平。

2.7 肺组织病理学观察

取各组小鼠相同部位肺组织固定于 4% 多聚甲醛溶液中, 经固定、取材、梯度乙醇脱水、二甲苯透明、石蜡包埋、切片, 制得 5 μ m 石蜡切片, 采用苏木素-伊红 (hematoxylin-eosin, HE) 染色, 中性树胶封片, 置于光学显微镜下观察各组小鼠肺组织病理变化。

2.8 qRT-PCR 检测肺组织中相关基因表达

取适量肺组织, 液氮研磨, 采用 Trizol 法提取总 RNA, 测定 RNA 纯度和浓度。按照反转录试剂

盒说明书步骤合成 cDNA。使用实时荧光定量 PCR 仪进行扩增。反应条件: 95 $^{\circ}$ C 预变性 15 min; 95 $^{\circ}$ C 变性 10 s, 60 $^{\circ}$ C 退火/延伸 32 s, 共 40 个循环。以 GAPDH 为内参基因, 采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算 mRNA 的相对表达。引物序列由生工生物工程 (上海) 股份有限公司合成, 引物序列见表 1。

表 1 引物序列

Table 1 Primer sequences

基因	引物序列 (5'-3')
<i>TNF-α</i>	F: ACGGCATGGATCTCAAAGACA R: GTGAGGAGCACGTAGTCGG
<i>MCP-1</i>	F: TTA AAAACCTGGATCGGAACCAA R: GCATTAGCTTCAGATTTACGGGT
<i>IL-1β</i>	F: CAACTGCACTACAGGCTCCG R: GTGGGTGTGCCGTCTTTCAT
<i>NLRP3</i>	F: GCTGCGATCAACAGGCGAGAC R: CCATCCACTCTTCTTCAAGGCTGTC
<i>Caspase-1</i>	F: ATACAACCACTCGTACACGTCTTGC R: TCCTCCAGCAGCAACTTCATTTCTC
<i>GSDMD</i>	F: ACTGAGGTCCACAGCCAAGAGG R: GCCACTCGGAATGCCAGGATG
<i>GAPDH</i>	F: GGCAAATTC AACGGCACAGTCAAG R: TCGCTCCTGGAAGATGGTGATGG

2.9 Western blotting 检测肺组织中相关蛋白表达

称取适量肺组织, 加入 RIPA 裂解液在冰上充分研磨, 离心分离上清液, 采用 BCA 法测定蛋白浓度, 调整蛋白浓度并加入上样缓冲液, 95 $^{\circ}$ C 加热 5 min 使蛋白变性。20 μ g 蛋白样品经 10% 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳, 转至 PVDF 膜, 于 5% 脱脂牛奶中封闭 2 h, TBST 洗膜后, 加入相应一抗 (1:1 000), 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜。次日, 回收抗体, TBST 洗涤 3 次, 每次 10 min, 加入 HRP 标记的二抗 (1:10 000), 室温下摇床孵育 2 h; TBST 洗涤 3 次, 每次 10 min, ECL 法显色后曝光, 采用 Image J 1.8.0 软件分析条带灰度值。以 GAPDH 为内参, 计算目的蛋白相对表达量。

2.10 统计学分析

采用 SPSS 22.0 软件进行统计分析, GraphPad Prism 8 软件绘图, 结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用单因素方差分析, 两组间比较采用 LSD 检验。

3 结果

3.1 滨蒿提取物的成分分析

滨蒿提取物通过 HPLC-HRMS/MS 分析, 得到总离子流图 (图 1)。根据保留时间、一级质谱和二级质谱数据与文献数据进行比较, 初步确定了滨蒿提取物中的 13 个化学成分, 具体信息见表 2。

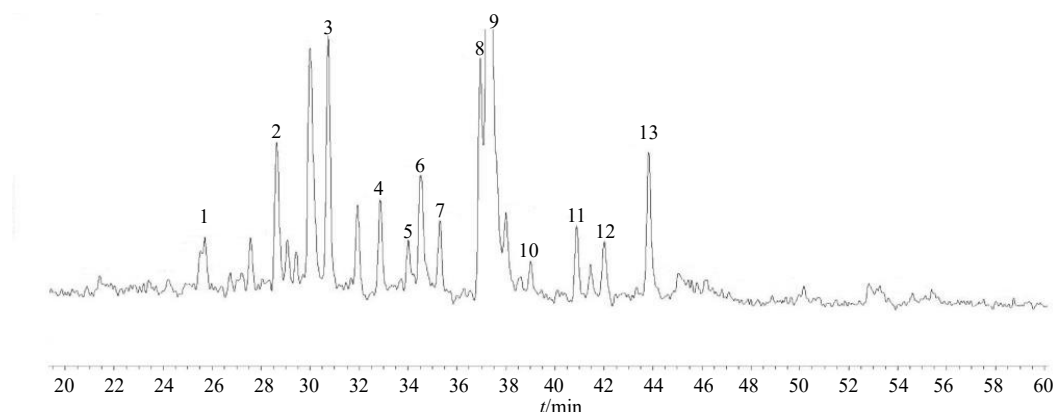


图 1 滨蒿提取物的总离子流图

Fig. 1 Total ion chromatogram of *A. scoparia* extract

表 2 滨蒿提取物中化学成分的鉴定

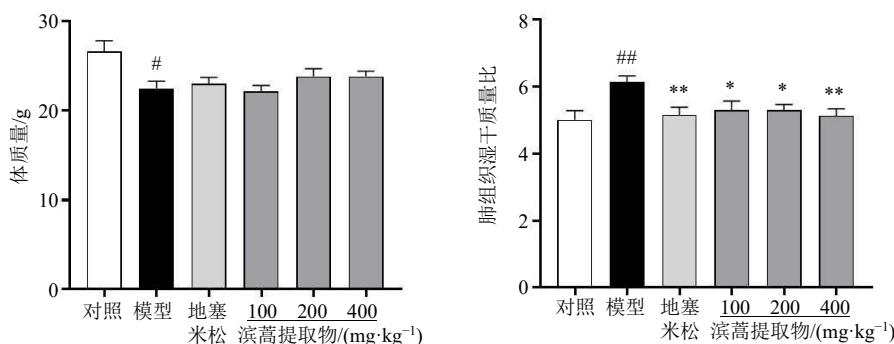
Table 2 Identification of compounds in *A. scoparia* extract

峰号	t_R/min	加和离子	m/z	误差 ($\times 10^{-6}$)	分子式	二级质谱碎片 (m/z)	化合物
1	25.52	$[\text{M}-\text{H}]^-$	367.100 4	3.81	$\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{O}_9$	172.90	阿魏酰奎宁酸
2	28.43	$[\text{M}-\text{H}]^-$	515.115 2	3.03	$\text{C}_{25}\text{H}_{24}\text{O}_{12}$	378.92, 353.07, 335.09, 172.99	1,3-二咖啡酰奎宁酸 (1,5-二咖啡酰奎宁酸)
3	30.54	$[\text{M}-\text{H}]^-$	261.111 0	2.05	$\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{N}_6\text{O}_2$	217.05	6,6-dimethyl-1-(3-nitrophenyl)-1,6-dihydro-1,3,5-triazine-2,4-diamine
4	32.64	$[\text{M}-\text{H}]^-$	207.064 5	3.90	$\text{C}_7\text{H}_8\text{N}_6\text{O}_2$	178.94, 160.93, 134.96, 133.96	<i>N</i> -(2-amino-3 <i>H</i> -purin-6-yl)glycine
5	33.81	$[\text{M}-\text{H}]^-$	285.038 1	3.54	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_6$	261.57	山柰酚
6	34.30	$[\text{M}-\text{H}]^-$	345.058 8	3.16	$\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{O}_8$	329.99	3,3',4',5'-四羟基-6,7-二甲氧基黄酮
7	35.02	$[\text{M}-\text{H}]^-$	327.214 9	-0.42	$\text{C}_{14}\text{H}_{28}\text{N}_6\text{O}_3$	309.24, 291.20, 229.03, 212.87, 171.11	<i>N</i> -2-acetyl- <i>N</i> -[(2 <i>S</i>)-5-carbamimidamido-1-oxo-2-pentanyl]- <i>L</i> -lysineamide
8	36.74	$[\text{M}-\text{H}]^-$	269.043 1	3.34	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_5$	250.90, 225.01, 201.00, 182.93, 148.88	芹菜素
9	37.10	$[\text{M}-\text{H}]^-$	299.053 5	2.78	$\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_6$	283.96	鸢尾黄素
10	38.80	$[\text{M}-\text{H}]^-$	359.074 1	2.97	$\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{O}_8$	344.07, 329.01, 315.01	茵陈黄酮
11	40.68	$[\text{M}-\text{H}]^-$	313.069 0	3.26	$\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{O}_6$	298.06, 283.06, 269.02	柳穿鱼黄素
12	41.81	$[\text{M}-\text{H}]^-$	343.079 2	2.69	$\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{O}_7$	328.00, 313.18, 299.14	甲基条叶蓟素
13	43.78	$[\text{M}-\text{H}]^-$	283.058 7	3.09	$\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_5$	267.96, 238.95, 214.84	芫花素

3.2 滨蒿提取物对 ALI 小鼠体质量和肺组织湿干质量比的影响

如图 2 所示, 与对照组比较, 模型组小鼠体质量显著降低 ($P<0.05$), 肺组织湿干质量比显著升

高 ($P<0.01$); 与模型组比较, 滨蒿提取物中、高剂量组小鼠体质量有升高的趋势, 但无统计学差异, 各给药组小鼠肺组织湿干质量比显著降低 ($P<0.05$ 、 0.01)。



与对照组比较: $\#P<0.05$ $\#\#P<0.01$; 与模型组比较: $*P<0.05$ $**P<0.01$, 下图同。

$\#P<0.05$ $\#\#P<0.01$ vs control group; $*P<0.05$ $**P<0.01$ vs model group, same as below figures.

图 2 滨蒿提取物对 ALI 小鼠体质量和肺组织湿干质量比的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Fig. 2 Effect of *A. scoparia* extract on body weight and wet dry weight ratio of lung tissue in ALI mice ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

3.3 滨蒿提取物对 ALI 小鼠血清中 PGE₂、LTB₄ 水平的影响

如图 3 所示,与对照组比较,模型组小鼠血清中 PGE₂ 和 LTB₄ 水平显著升高 ($P<0.05$);与模型组比较,滨蒿提取物高剂量组和地塞米松组小鼠血清中 PGE₂ 和 LTB₄ 水平显著降低 ($P<0.05$)。

3.4 滨蒿提取物对 ALI 小鼠肺组织 TNF- α 、MCP-1、IL-1 β 水平和 mRNA 表达的影响

如图 4 所示,与对照组比较,模型组小鼠肺组织 TNF- α 、MCP-1、IL-1 β 水平和 mRNA 表达水平显著升高 ($P<0.01$);与模型组比较,滨蒿提取物高剂量组肺组织中 TNF- α 和 MCP-1 水平显著降低

($P<0.05$),滨蒿提取物中、高剂量组和地塞米松组肺组织中 IL-1 β 水平显著降低 ($P<0.05$ 、 0.01),各给药组肺组织中 TNF- α 、MCP-1 和 IL-1 β mRNA 表达水平均显著降低 ($P<0.05$ 、 0.01)。

3.5 滨蒿提取物对 ALI 小鼠肺组织病理学变化的影响

如图 5 所示,对照组小鼠肺组织结构清晰,肺泡壁无增厚,肺泡腔内无明显的炎性细胞浸润,无充血,肺泡上皮细胞无明显病理改变。与对照组比较,模型组小鼠肺泡壁增厚,肺泡腔出血,肺泡周围炎性细胞增多。与模型组比较,各给药组肺组织损伤程度和范围均有不同程度的减轻。

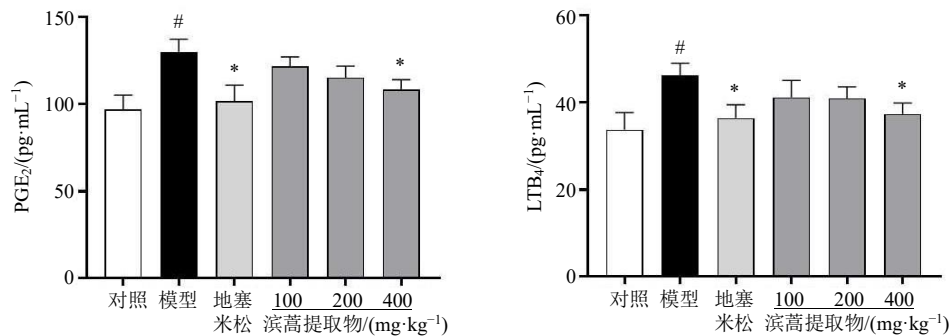


图 3 滨蒿提取物对 ALI 小鼠血清中 PGE₂、LTB₄ 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Fig. 3 Effect of *A. scoparia* extract on levels of PGE₂ and LTB₄ in serum of ALI mice ($\bar{x} \pm s, n=6$)

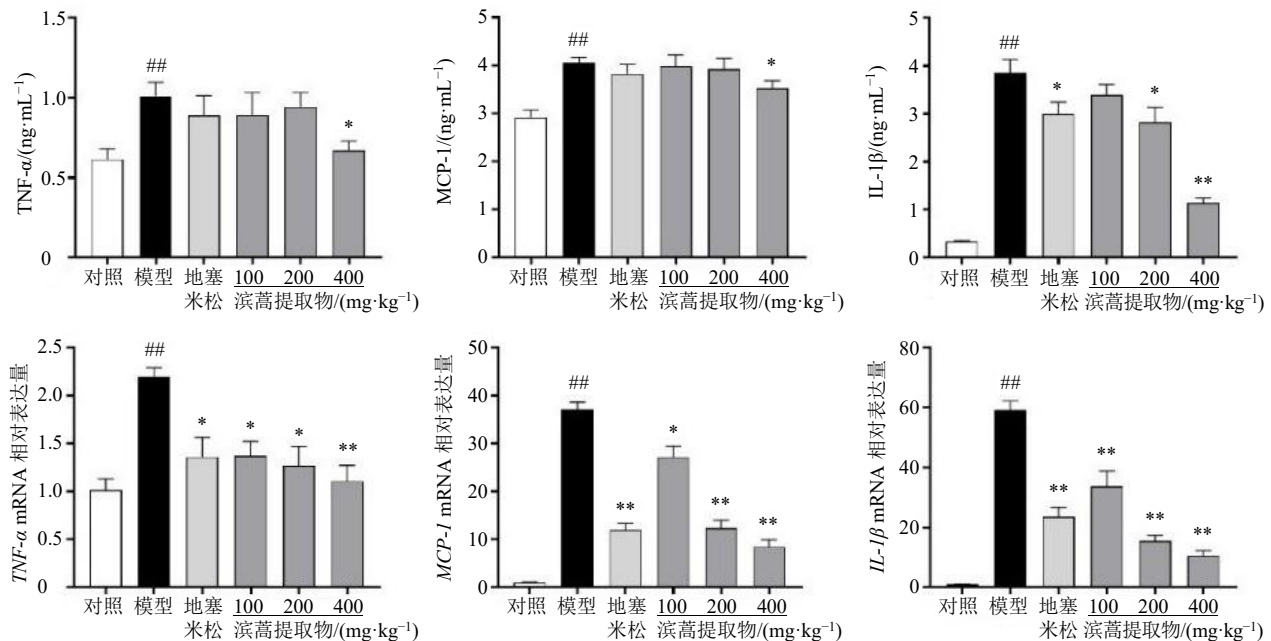


图 4 滨蒿提取物对 ALI 小鼠肺组织 TNF- α 、MCP-1、IL-1 β 水平和 mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 4 Effect of *A. scoparia* extract on levels and mRNA expressions of TNF- α , MCP-1 and IL-1 β in lung tissue of ALI mice ($\bar{x} \pm s, n=3$)

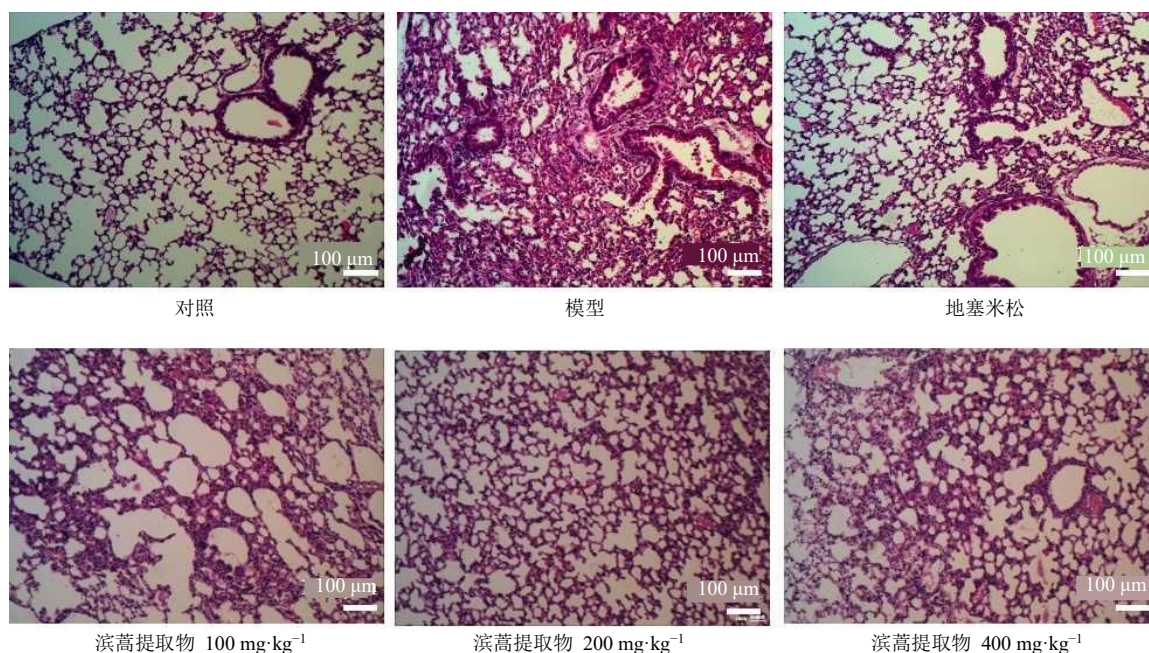


图 5 滨蒿提取物对 ALI 小鼠肺组织病理学变化的影响 (HE, $\times 100$)

Fig. 5 Effect of *A. scoparia* extract on pathological changes in lung tissue of ALI mice (HE, $\times 100$)

3.6 滨蒿提取物对 ALI 小鼠肺组织中 *NLRP3*、*Caspase-1*、*GSDMD* mRNA 表达的影响

如图 6 所示,与对照组比较,模型组小鼠肺组织中 *NLRP3*、*Caspase-1*、*GSDMD* mRNA 表达水平显著升高 ($P < 0.01$);与模型组比较,各给药组肺组织中 *NLRP3*、*GSDMD* mRNA 表达水平显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01),滨蒿提取物中、高剂量组和地塞米松组肺组织中 *Caspase-1* mRNA 表达水平显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01)。

3.7 滨蒿提取物对 ALI 小鼠肺组织中 *NLRP3*、*ASC*、*Caspase-1*、*GSDMD* 蛋白表达水平的影响

如图 7 所示,与对照组比较,模型组小鼠肺组织中 *NLRP3*、*ASC*、*Caspase-1*、*GSDMD* 蛋白表达水平显著升高 ($P < 0.01$);与模型组比较,各给药组肺组织中 *ASC*、*Caspase-1* 蛋白表达水平显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01),滨蒿提取物高剂量组和地塞米松组肺组织中 *NLRP3*、*GSDMD* 蛋白表达水平显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01)。

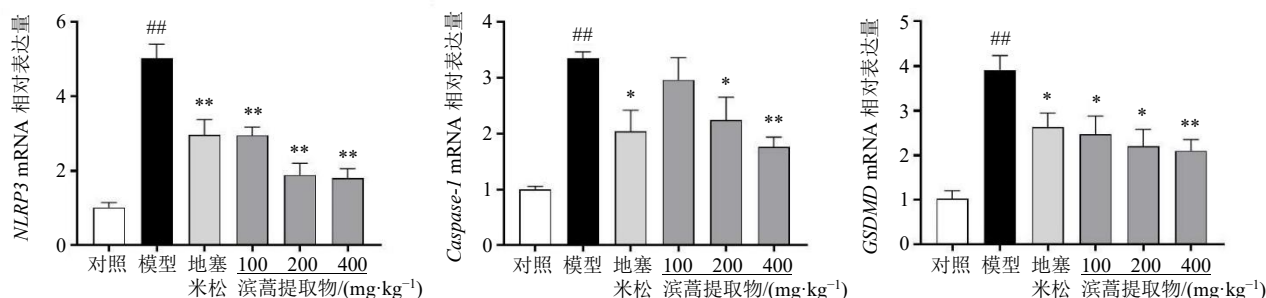


图 6 滨蒿提取物对 ALI 小鼠肺组织中 *NLRP3*、*Caspase-1*、*GSDMD* mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

Fig. 6 Effect of *A. scoparia* extract on expressions of *NLRP3*, *Caspase-1* and *GSDMD* mRNA in lung tissue of ALI mice ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

4 讨论

ALI 作为呼吸系统常见的急危综合征,其典型病理特征包括肺泡上皮细胞和内皮细胞损伤、肺部炎症细胞浸润以及充血水肿等病理改变,常进展为

低氧血症性呼吸衰竭甚至 ARDS^[18]。尽管近年来对 ALI/ARDS 的研究不断深入,但其发病机制仍错综复杂,且病死率居高不下,严重威胁患者的生命健康^[19]。研究显示, LPS 诱导的小鼠 ALI 模型是筛选

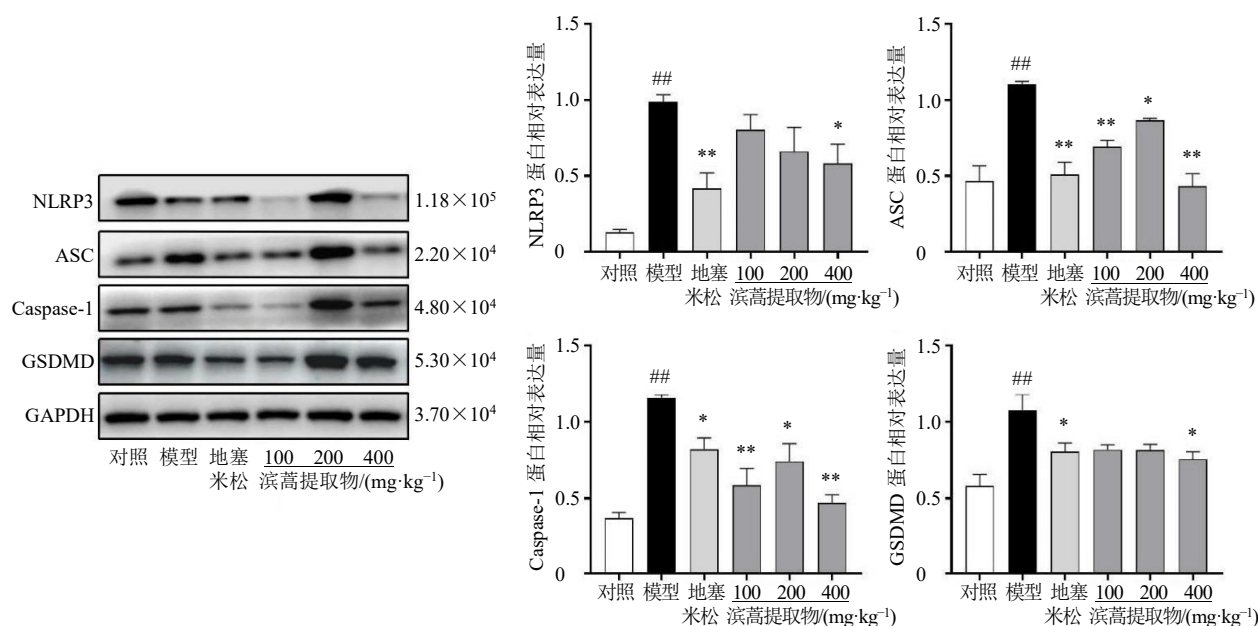


图 7 滨蒿提取物对 ALI 小鼠肺组织中 NLRP3、ASC、Caspase-1、GSDMD 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 7 Effect of *A. scoparia* extract on expressions of NLRP3, ASC, Caspase-1 and GSDMD proteins in lung tissue of ALI mice ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

和研究 ALI 治疗药物的经典动物模型。LPS 作为革兰阴性菌细胞壁的外膜成分，具有致病性，进入机体后与细胞表面受体结合，刺激巨噬细胞活化，并促进中性粒细胞等炎症细胞募集和浸润在肺组织，使炎症介质合成释放增加，进而引起炎症级联反应，导致肺组织结构及功能损伤^[20-21]。近年来，中药及其活性成分因其活性多样、不良反应少、安全性高等特点，在预防和治疗 ALI 方面展现出独特优势^[22-24]。前期研究显示，滨蒿提取物不仅能显著降低流感病毒肺炎小鼠血清和肺组织中 IL-6、IFN- γ 等炎症因子水平，改善肺部炎症病理改变，还对 LPS 诱导的 ALI 小鼠具有明显的保护作用。为深入探究其作用机制，本研究通过 LPS 滴鼻成功建立 ALI 小鼠模型，结果显示模型组小鼠肺组织湿干质量比显著升高，HE 染色观察到肺泡壁增厚，肺泡腔出血及炎性细胞浸润等病理特征。而给予滨蒿提取物干预后，肺组织湿干质量比显著降低，肺组织损伤明显减轻，表明滨蒿提取物能够明显缓解肺水肿，改善肺组织病理损伤，进而发挥对 ALI 的保护作用。

炎症反应在 ALI 发生发展过程中起到了关键作用。ALI 发生时肺内过度活化的巨噬细胞和中性粒细胞等炎症细胞通过分泌大量促炎因子，与效应细胞相互作用并激活导致 ALI 不断发展，同时炎症反应机制失调，肺内促炎与抗炎介质失衡，导致肺损伤加重，因此治疗 ALI 首要关键是抑制炎症反应。

已有文献报道，主要来源于活化的巨噬细胞和中性粒细胞的促炎细胞因子如 TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 等，在 LPS 诱导下显著上调^[25-27]。本研究结果显示，模型组小鼠血清中 PGE₂ 和 LTB₄ 水平显著增加，肺组织中 TNF- α 、IL-1 β 、MCP-1 水平及其 mRNA 表达水平均显著上调，与既往的研究结果一致，进一步证实 ALI 小鼠模型中存在典型的炎症级联反应。而给予滨蒿提取物干预后，上述指标均得到明显改善，提示滨蒿提取物可能通过多种炎症介质的释放，发挥抗炎作用，从而缓解肺组织损伤。

NLRP3 炎症小体是一种多聚体蛋白复合物，作为先天免疫系统的重要组成部分，通过识别外源性的病原相关分子模式或内源性的损伤相关分子模式，继而触发炎症级联反应，促进 IL-1 β 和 IL-18 等炎症因子的释放，并诱导细胞焦亡，进而加重肺组织损伤^[28-30]。据报道，抑制 NLRP3 炎症小体激活可有效减轻 ALI 模型中的炎症反应，缓解肺组织损伤^[31]。本研究发现，NLRP3 炎症小体信号通路在 ALI 小鼠模型中被激活，表现为肺组织中 NLRP3、Caspase-1 和 GSDMD 的 mRNA 和蛋白表达水平显著上调，这一发现与既往的研究结果一致^[32-35]，进一步证实了 NLRP3 炎症小体在 ALI 发病机制中的关键作用。给予滨蒿提取物干预后能显著抑制 NLRP3 炎症小体信号通路的激活，下调 NLRP3、Caspase-1、GSDMD mRNA 和蛋白表达水平，提示

滨蒿提取物可能通过抑制 NLRP3 炎症小体信号通路,调控细胞焦亡,从而发挥对 ALI 小鼠肺组织损伤的保护作用。

综上,滨蒿提取物可以抑制 ALI 小鼠肺部炎症因子的释放,减轻炎症反应,缓解肺组织水肿,其作用机制可能为通过抑制 NLRP3 炎症小体的激活改善 LPS 所致 ALI。本研究为滨蒿预防和治疗炎症相关疾病,特别是 ALI 中的应用提供了有益的实验依据。但本研究仅对其中的 NLRP3 炎症小体信号通路进行了初步的研究,关于 NLRP3 炎症小体通路上游及其更深层次的作用机制尚未得到全面揭示,因此仍需进行更多的实验研究来完善滨蒿防治 ALI 的相关理论基础,以期为其临床治疗提供新的策略。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Butt Y, Kurdowska A, Allen T C. Acute lung injury: A clinical and molecular review [J]. *Arch Pathol Lab Med*, 2016, 140(4): 345-350.
- [2] 李蓉蓉, 赵冰, 陈丹丹, 等. 中医药通过“肠-肺轴”治疗急性肺损伤的研究进展 [J]. *中草药*, 2025, 56(9): 3305-3315.
- [3] 沈陶冶, 郭剑浩, 王小娟, 等. 急性肺损伤治疗的研究进展 [J]. *中国现代应用药学*, 2021, 38(3): 366-370.
- [4] Gu W J, Zeng Q, Wang X, *et al.* Acute lung injury and the NLRP3 inflammasome [J]. *J Inflamm Res*, 2024, 17: 3801-3813.
- [5] 张茂福, 张志明, 宋忠阳, 等. 中药调控氧化应激防治急性肺损伤的研究进展 [J]. *中草药*, 2024, 55(9): 3190-3201.
- [6] Liu Q M, Ci X X, Wen Z M, *et al.* Diosmetin alleviates lipopolysaccharide-induced acute lung injury through activating the Nrf2 pathway and inhibiting the NLRP3 inflammasome [J]. *Biomol Ther*, 2018, 26(2): 157-166.
- [7] Wang J M, Ren C X, Bi W H, *et al.* Glycyrrhizin mitigates acute lung injury by inhibiting the NLRP3 inflammasome *in vitro* and *in vivo* [J]. *J Ethnopharmacol*, 2023, 303: 115948.
- [8] Liu Y H, Shang L R, Zhou J B, *et al.* Emodin attenuates LPS-induced acute lung injury by inhibiting NLRP3 inflammasome-dependent pyroptosis signaling pathway *in vitro* and *in vivo* [J]. *Inflammation*, 2022, 45(2): 753-767.
- [9] 中国药典 [S]. 一部. 2025: 258.
- [10] 李敏, 乔旭, 魏建和, 等. 基于 UPLC 多指标测定和指纹图谱对不同来源茵陈药材质量评价 [J]. *中草药*, 2025, 56(1): 282-292.
- [11] 黄丽平, 许远航, 邓敏贞, 等. 茵陈的化学成分、药理作用机制与临床应用研究进展 [J]. *天然产物研究与开发*, 2021, 33(4): 676-690.
- [12] 阿如汗, 斯日古冷, 辛颖. 滨蒿的化学成分、药理作用及质量标准研究概况 [J]. *中国民族医药杂志*, 2020, 26(8): 48-52.
- [13] Wang X, Huang H, Ma X P, *et al.* Anti-inflammatory effects and mechanism of the total flavonoids from *Artemisia scoparia* Waldst. et Kit. *in vitro* and *in vivo* [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 104: 390-403.
- [14] 史银基, 司丽君, 刘燕, 等. 滨蒿总黄酮抗炎、镇咳、解热作用的实验研究 [J]. *新疆医科大学学报*, 2015, 38(5): 574-577.
- [15] 刘燕, 王林林, 姚华, 等. 滨蒿总黄酮对流感病毒 PR8 株感染小鼠的保护作用 [J]. *中药药理与临床*, 2016, 32(1): 85-87.
- [16] 刘燕, 马雪萍, 史玉柱, 等. 滨蒿提取物对脂多糖诱导小鼠急性肺损伤的保护作用及抗氧化活性 [J]. *中药药理与临床*, 2024, 40(4): 78-82.
- [17] 刘霞, 初英杰, 张美琦, 等. 汉黄芩素抑制 NLRP3 炎症小体活化改善脂多糖诱导小鼠急性肺损伤作用 [J]. *药物评价研究*, 2025, 48(5): 1114-1123.
- [18] 兰悦嘉, 孟宪丽, 吴嘉思. 黄芩素调控 NLRP3/Caspase-1/GSDMD 通路介导的焦亡减轻小鼠急性肺损伤作用 [J]. *中草药*, 2023, 54(20): 6694-6703.
- [19] He Y Q, Zhou C C, Yu L Y, *et al.* Natural product derived phytochemicals in managing acute lung injury by multiple mechanisms [J]. *Pharmacol Res*, 2021, 163: 105224.
- [20] Li Z H, Pan H T, Yang J H, *et al.* Xuanfei Baidu Formula alleviates impaired mitochondrial dynamics and activated NLRP3 inflammasome by repressing NF- κ B and MAPK pathways in LPS-induced ALI and inflammation models [J]. *Phytomedicine*, 2023, 108: 154545.
- [21] 付静怡, 汪雷, 杨昇. 急性肺损伤动物模型建立的研究进展 [J]. *上海交通大学学报: 医学版*, 2021, 41(5): 690-694.
- [22] Mo M, Li S Y, Dong Z H, *et al.* S-allylmercaptocysteine ameliorates lipopolysaccharide-induced acute lung injury in mice by inhibiting inflammation and oxidative stress via nuclear factor kappa B and Keap1/Nrf2 pathways [J]. *Int Immunopharmacol*, 2020, 81: 106273.
- [23] Feng T, Zhou L Y, Gai S C, *et al.* *Acacia catechu* (L. f.) Willd and *Scutellaria baicalensis* Georgi extracts suppress LPS-induced pro-inflammatory responses through NF- κ B, MAPK, and PI3K-Akt signaling pathways in alveolar epithelial type II cells [J]. *Phytother Res*, 2019, 33(12): 3251-3260.
- [24] Ding Z H, Zhong R X, Xia T Y, *et al.* Advances in research into the mechanisms of Chinese materia medica against

- acute lung injury [J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 122: 109706.
- [25] Shi K, Xiao Y X, Dong Y, *et al*. Protective effects of *Atractylodes lancea* rhizoma on lipopolysaccharide-induced acute lung injury via TLR4/NF- κ B and Keap1/Nrf2 signaling pathways *in vitro* and *in vivo* [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(24): 16134.
- [26] 杨静容, 翁丽丽, 方晶, 等. 基于网络药理学和实验验证探讨升降散治疗急性肺损伤作用及机制 [J]. *药物评价研究*, 2024, 47(4): 687-700.
- [27] Palipoch S, Punsawad C, Koomhin P, *et al*. Aqueous *Thunbergia laurifolia* leaf extract alleviates paraquat-induced lung injury in rats by inhibiting oxidative stress and inflammation [J]. *BMC Complement Med Ther*, 2022, 22(1): 83.
- [28] Lu Y, Wang T, Yu B, *et al*. Mechanism of action of the nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor protein 3 inflammasome and its regulation in liver injury [J]. *Chin Med J: Engl*, 2025, 138(9): 1061-1071.
- [29] Luo L, Zhuang X L, Fu L, *et al*. The role of the interplay between macrophage glycolytic reprogramming and NLRP3 inflammasome activation in acute lung injury/acute respiratory distress syndrome [J]. *Clin Transl Med*, 2024, 14(12): e70098.
- [30] 杨金伟, 周毅, 肖凡, 等. 左归降糖舒心方含药血浆对脂多糖诱导巨噬细胞损伤及焦亡的影响 [J]. *中药新药与临床药理*, 2025, 36(2): 206-213.
- [31] Kang J Y, Xu M M, Sun Y, *et al*. Melatonin attenuates LPS-induced pyroptosis in acute lung injury by inhibiting NLRP3-GSDMD pathway via activating Nrf2/HO-1 signaling axis [J]. *Int Immunopharmacol*, 2022, 109: 108782.
- [32] Pu Z C, Sui B Z, Wang X W, *et al*. The effects and mechanisms of the anti-COVID-19 traditional Chinese medicine, dehydroandrographolide from *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Wall, on acute lung injury by the inhibition of NLRP3-mediated pyroptosis [J]. *Phytomedicine*, 2023, 114: 154753.
- [33] Liu Y H, Zhou J B, Luo Y Y, *et al*. Honokiol alleviates LPS-induced acute lung injury by inhibiting NLRP3 inflammasome-mediated pyroptosis via Nrf2 activation *in vitro* and *in vivo* [J]. *Chin Med*, 2021, 16(1): 127.
- [34] Ma H J, Shu Q, Li Z M, *et al*. Formaldehyde aggravates allergic contact dermatitis by facilitating NLRP3 inflammasome activation in macrophages [J]. *Int Immunopharmacol*, 2023, 117: 109904.
- [35] Kim M J, Bae S H, Ryu J C, *et al*. SESN2/sestrin2 suppresses sepsis by inducing mitophagy and inhibiting NLRP3 activation in macrophages [J]. *Autophagy*, 2016, 12(8): 1272-1291.

[责任编辑 李亚楠]