

香茅醇通过抑制 NLRP3 炎症小体通路促进耐甲氧西林金黄色葡萄球菌感染小鼠伤口愈合

宁溢潇¹, 蒲忠慧^{1,2,3#}, 廖新云¹, 王雨珍¹, 蒋卓廷¹, 代敏^{1,2,3*}

1. 成都医学院检验医学院, 四川 成都 610500

2. 成都医学院 四川省动物源性食品兽药残留防控技术工程实验室, 四川 成都 610500

3. 成都医学院 四川省中医药管理局血管衰老与中医药干预中医药重点实验室, 四川 成都 610500

摘要: 目的 基于 NOD 样受体热蛋白结构域 3 (NOD like receptor family pyrin domain containing 3, NLRP3) 炎症小体通路探讨香茅醇对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA) 诱导小鼠皮肤感染的治疗作用及相关机制。方法 采用微量肉汤稀释法测定香茅醇对标准 MRSA 菌株的最低抑菌浓度 (minimum inhibitory concentration, MIC); 建立 C57BL/6 雌性小鼠背部全层皮肤 MRSA 感染模型, 设置对照组、模型组、阳性对照 (2%莫匹罗星) 组和香茅醇低、中、高剂量 (0.75%、1.50%、3.00%香茅醇凝胶) 组, 局部给药 7 d。动态检测伤口愈合率, 苏木素-伊红 (hematoxylin-eosin, HE) 染色观察皮肤组织病理变化, ELISA 法检测皮肤组织中白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 和丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 水平, Masson 染色观察皮肤组织胶原纤维沉积; 通过 RNA-seq 转录组测序、qRT-PCR 及 Western blotting 检测皮肤组织中 NLRP3 炎症小体通路相关基因及蛋白表达, 分子对接预测香茅醇与相关炎症靶点的结合能力。乳酸脱氢酶 (lactate dehydrogenase, LDH) 释放实验检测香茅醇对 MRSA 感染的人永生角质形成细胞焦亡的影响。结果 香茅醇对 MRSA 具有显著的抗菌活性, MIC 为 0.312 5~0.625 0 mg/mL。体内实验中, 与模型组比较, 香茅醇能显著加快伤口愈合, 减轻炎症细胞浸润及组织水肿, 降低皮肤组织 IL-1 β 、TNF- α 水平 ($P<0.05$ 、 0.01 、 0.001), 显著增加伤口部位胶原纤维沉积 ($P<0.05$ 、 0.01), 并抑制 NLRP3 炎症小体-细胞焦亡通路激活 ($P<0.05$ 、 0.01 、 0.001)。分子对接结果显示, 香茅醇可与 IL-1 β 等靶蛋白结合。体外实验中, 香茅醇显著抑制 MRSA 感染的 HaCaT 细胞 LDH 释放 ($P<0.05$ 、 0.01)。结论 香茅醇对 MRSA 诱导的小鼠皮肤感染具有显著的抗菌、抗炎及促修复作用, 其机制可能与抑制 NLRP3 炎症小体-细胞焦亡通路、减少促炎细胞因子释放、改善局部免疫微环境及促进胶原沉积相关。

关键词: 香茅醇; 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌; 皮肤感染; NLRP3 炎症小体; 细胞焦亡

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2026)12-4721-13

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.12.017

Citronellol promotes wound healing in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*-infected mice by inhibiting NLRP3 inflammasome pathway

NING Yixiao¹, PU Zhonghui^{1,2,3}, LIAO Xinyun¹, WANG Yuzhen¹, JIANG Zhuoting¹, DAI Min^{1,2,3}

1. School of Laboratory Medicine, Chengdu Medical College, Chengdu 610500, China

2. Sichuan Provincial Engineering Laboratory for Veterinary Drug Residue Control in Animal-Derived Food, Chengdu Medical College, Chengdu 610500, China

3. Sichuan Provincial Administration of Traditional Chinese Medicine Key Laboratory of Vascular Aging and Traditional Chinese Medicine Qianwei Traditional Chinese Medicine, Chengdu Medical College, Chengdu 610500, China

Abstract: Objective To explore the therapeutic effect and related mechanism of citronellol on methicillin-resistant *Staphylococcus*

收稿日期: 2026-02-03

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (82204601); 国家自然科学基金资助项目 (82472328); 四川省重点研发计划项目 (2024YFFK0090); “成医英才” 登峰计划人才项目 (2024qnGzn14); 临床科学研究基金资助项目 (2024GJQY23, 24LHBBYY1-04, 23LHPDZYB21)

作者简介: 宁溢潇 (1999—), 男, 硕士研究生, 研究方向为中药抗菌活性及作用机制。E-mail: 1483554822@qq.com

#共同第一作者: 蒲忠慧 (1982—), 女, 教授, 研究方向为天然产物抗菌活性及作用机制。E-mail: zhonghui.pu@163.com

*通信作者: 代敏 (1974—), 女, 教授, 从事中药生物活性及作用机制研究。E-mail: daimin1015@cmc.edu.cn

aureus (MRSA)-induced skin infections in mice via NOD-like receptor family pyrin domain-containing 3 (NLRP3) inflammasome pathway. **Methods** The minimum inhibitory concentration (MIC) of citronellol against standard MRSA strains was determined using the microbroth dilution method. A full-thickness skin MRSA infection model was established in female C57BL/6 mice, control group, model group, positive control (2% mupirocin) group, citronellol low-, medium- and high-dose (0.75%, 1.50%, 3.00% citronellol gel) groups were set up. Local administration was performed for 7 d. Wound healing rates were dynamically monitored, hematoxylin-eosin (HE) staining was used to observe histopathological changes in skin tissues, and ELISA was used to detect levels of interleukin-1 β (IL-1 β), tumor necrosis factor- α (TNF- α), superoxide dismutase (SOD) and malondialdehyde (MDA) in skin tissues. Masson staining was used to observe collagen fiber deposition in skin tissues. RNA-seq transcriptome sequencing, qRT-PCR and Western blotting were employed to analyze the expressions of NLRP3 inflammasome pathway-related genes and proteins in skin tissues, while molecular docking was used to predict the binding affinity of citronellol to relevant inflammatory targets. The lactate dehydrogenase (LDH) release assay was used to evaluate the effect of citronellol on pyroptosis in MRSA-infected immortalized keratinocytes. **Results** Citronellol exhibited significant antibacterial activity against MRSA, with an MIC ranging from 0.312 5—0.625 0 mg/mL. *In vivo* experiments revealed that compared with model group, citronellol significantly accelerated wound healing, reduced inflammatory cell infiltration and tissue edema, decreased IL-1 β and TNF- α levels in skin tissues ($P < 0.05, 0.01, 0.001$), markedly increased collagen fiber deposition at wound sites ($P < 0.05, 0.01$), and inhibited the activation of NLRP3 inflammasome-cell pyroptosis pathway ($P < 0.05, 0.01, 0.001$). Molecular docking results indicated that citronellol could bind to target proteins such as IL-1 β . *In vitro* experiments demonstrated that citronellol significantly suppressed LDH release in MRSA-infected HaCaT cells ($P < 0.05, 0.01$). **Conclusion** Citronellol exerts significant antibacterial, anti-inflammatory and wound repair-promoting effects on MRSA-induced skin infections in mice. Its mechanism may be related to inhibiting NLRP3 inflammasome-cell pyroptosis pathway, reducing the release of pro-inflammatory cytokines, improving the local immune microenvironment, and promoting collagen deposition.

Key words: citronellol; methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*; skin infection; NLRP3 inflammasome; cell pyroptosis

耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA) 是皮肤及软组织感染的主要致病菌。全球范围内, 超过 75% 的社区获得性 MRSA (community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, CA-MRSA) 感染表现为皮肤损伤, 其中 68% 为脓疱病、蜂窝织炎等表浅感染, 严重坏死性筋膜炎患者死亡率高达 22%~35%^[1]。MRSA 携带的 *mecA* 基因不仅使其对 β -内酰胺类抗生素产生耐药性, 还关联 α -溶血素、酚溶性调节蛋白等毒力因子, 破坏皮肤上皮屏障并诱导中性粒细胞过度浸润, 导致常规治疗后复发率超过 28%^[2]。2020—2024 年多中心临床监测显示, MRSA 皮肤感染分离株对克林霉素、甲氧苄啶-磺胺甲噁唑的耐药率分别升高至 34%、21%, 万古霉素中间型金黄色葡萄球菌检出率较近 10 年增加 40%, 已成为基层及社区医疗机构的重大诊疗负担^[3]。

当前 MRSA 皮肤感染疗法存在诸多局限, 如局部用药 (如莫匹罗星) 对深部感染疗效不足 50%, 万古霉素、利奈唑胺等全身一线用药受药动学限制, 存在肾毒性风险且需静脉给药, 增加门诊治疗难度, 其耐药性上升进一步限制临床应用^[4-5]。传统抗生素仅聚焦杀菌或抑菌, 无法调控慢性伤口失调

的免疫微环境。MRSA 感染皮肤中持续炎症会扰乱巨噬细胞极化、延缓组织修复, 导致伤口愈合延迟及疤痕形成, 这也是 MRSA 感染患者恢复期长于甲氧西林敏感菌株感染者的原因之一^[6]。因此, 开发兼具强效杀菌、局部安全性及抗炎作用的新型疗法, 已成为传染性皮肤病领域的核心需求。

天然产物具有良好皮肤相容性及多样作用靶点, 是开发局部抗 MRSA 药物的重要来源^[7]。研究表明, 薄荷醇衍生物可破坏 MRSA 细胞膜完整性、抑制群体感应途径, 双重阻断其皮肤定植, 且皮肤角质层渗透性为莫匹罗星的 3.2 倍^[8]。天然产物还具有低耐药性、低不良反应的优势, 植物来源单萜类化合物可下调 MRSA 致病因子编码基因表达, 同时激活角质细胞白细胞介素-10 (interleukin-10, IL-10) 抗炎通路以减轻组织损伤^[9-10]。香茅醇又称香草醇, 是一种重要的无环单萜类化合物, 主要存在于玫瑰、柠檬草、天竺葵等多种植物中, 高等级生姜精油中亦有少量分布, 已有研究证实它具有抗菌活性^[10-11]。但在单萜醇类化合物中, 关于香茅醇针对 MRSA 皮肤感染的特异性抗菌机制、对宿主皮肤炎症通路的调控作用及局部应用的剂量-反应关系, 仍缺乏系统性研究。本研究旨在探究香茅醇治疗 MRSA 诱导小鼠皮肤感染的作用机制, 从“药物-细

菌-生物体”综合视角揭示其治疗效果及分子生物学机制;通过建立 C57BL/6 小鼠背部全层皮肤 MRSA 感染模型,系统研究局部应用香茅醇的体内抗 MRSA 作用及伤口修复效果,重点分析其对感染皮肤炎症轴的调控作用,为新型植物源性单体抗 MRSA 药物制剂的研发提供实验依据。

1 材料

1.1 动物与细胞

SPF 级雌性 C57BL/6 小鼠,6~8 周龄,体质量 18~22 g,购自斯贝福(北京)生物技术有限公司,动物质量合格证号 SCXK(京)2024-0001。动物实验经成都医学院动物伦理委员会批准(批准号 IACUC-25-085)。

人永生角质形成细胞 HaCaT 细胞株(货号 CL-0090,批号 20241105)购自武汉普诺赛生命科技有限公司。

1.2 菌株

MRSA ATCC43300、ATCC25923 菌株由四川省动物源性食品兽药残留防控技术工程实验室保存。实验前,冷冻菌株经 37 °C 水浴快速解冻,接种于营养琼脂平板,37 °C 培养 18~24 h 活化;挑取营养琼脂平板上单菌落接种至 5 mL MH 肉汤培养基,37 °C 培养 4~12 h,制备对数生长期细菌悬液。

1.3 药品与试剂

香茅醇(质量分数 \geq 98%,批号 MKCJ1234)购自美国 Sigma-Aldrich 公司;卡波姆 980(批号 240523)、HRP 标记的二抗(批号 240526)、乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)细胞毒性检测试剂盒(批号 251021)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)检测试剂盒(批号 0324A76)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)检测试剂盒(批号 0224B31)购自上海碧云天生物技术股份有限公司;无水乙醇(批号 250625D1)购自广东省高纯化学试剂工程技术研究中心;三乙醇胺(批号 MB25B05J01)购自上海东虎实业有限公司;2%莫匹罗星(批号 20240315)、BCA 蛋白定量试剂盒(批号 20241105)购自北京索莱宝科技有限公司;营养琼脂(批号 3509214)、MH 肉汤培养基(批号 4125678)、MH 琼脂(批号 E241105-1)购自美国 Oxoid 公司;苏木素-伊红(hematoxylin-eosin, HE)染色试剂盒(批号 20240315)、Masson 染色试剂盒(批号 20240408)购自武汉赛维尔生物科技有限公司;IL-1 β 、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor-

α , TNF- α) ELISA 试剂盒(批号分别为 E241108-6、E241105-8)购自武汉华美生物工程有限公司;NOD 样受体热蛋白结构域 3(NOD like receptor family pyrin domain containing 3, NLRP3)抗体(批号 240315)、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-1(cystein-aspartate protease-1, Caspase-1) p20 抗体(批号 240508)购自美国 AdipoGen Life Sciences 公司;消皮素 D-N 端片段(N-terminal fragment of gasdermin D, GSDMD-N)抗体(批号 BD02192871)、IL-1 β p19 抗体(批号 BE07038958)、 β -actin 抗体(批号 BE12183869)购自北京博奥森生物技术有限公司;总 IL-1 β 抗体(批号 CCL047)购自美国 R&D Systems 公司;TRIzol 试剂(批号 Y2206)购自天根生化科技(北京)有限公司。

1.4 仪器

Multiskan GO 1510 型酶标仪(美国赛默飞世尔科技公司);CFX96 型 PCR 仪(美国 Bio-Rad 公司);3DHISTECH Pannoramic 250 型数字切片扫描仪(匈牙利 3DHISTECH 公司);Tanon 5200 型化学发光成像系统(上海天能科技有限公司);SW-CJ-2FD 型高速冷冻离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司);超净工作台(苏州安泰空气技术有限公司);SPX-150B 型恒温培养箱(上海森信实验仪器有限公司)。

2 方法

2.1 香茅醇抗菌活性的测定

将 ATCC43300 和 ATCC25923 菌株接种于营养琼脂平板,37 °C 培养 18~24 h,取单个菌落,用无菌生理盐水调整至 0.5 麦氏单位浓度(1.5×10^8 CFU/mL),用 MH 肉汤培养基稀释 100 倍备用。采用微量肉汤稀释法将香茅醇用 MH 肉汤培养基配制成 2.500、1.250、0.625 mg/mL 质量浓度梯度,测定其对试验菌株的最低抑菌浓度(minimum inhibitory concentration, MIC)。以单纯 MH 肉汤培养基为对照,不含药物的菌悬液为阳性对照,不含药物的菌悬液为阴性对照。37 °C 培养 18~24 h 后, MIC 定义为微孔板孔内无可见细菌生长的最低药物浓度。根据测定的 MIC 值,将无明显生长的菌悬液接种于 MH 琼脂平板,37 °C 培养 18~24 h;最低杀菌浓度(minimum bactericidal concentration, MBC)定义为无菌落生长的最低药物浓度。

2.2 香茅醇抑制 MRSA 生长曲线的测定

用质量浓度分别为 0.078、0.156、0.313 mg/mL

的香茅醇处理 MRSA 悬液,以不含香茅醇的 MRSA 悬液作为阳性对照,每组设 3 个重复孔。将混合物振荡(37 °C、200 r/min)培养 24 h,使用酶标仪每 2 h 测定各悬浮液在 600 nm 处的吸光度(A)值。实验重复 3 次。以培养时间为横坐标、 A_{600} 值为纵坐标,采用 Graphpad Prism 10.0 软件绘制生长曲线。

2.3 香茅醇凝胶制备

称取 0.8 g 卡波姆 980 均匀撒于 80 mL 纯化水中,静置溶胀 30 min,加入 5.0 g 甘油搅匀,滴加三乙醇胺调 pH 至 6.5~7.0,即得透明空白凝胶基质。另取 0.75 g、1.50 g、3.00 g 香茅醇加 2 倍量无水乙醇溶解,在搅拌下缓慢滴入空白基质中,加纯化水补足至 100 g,继续搅拌 5 min 混匀,即得不同质量分数的香茅醇凝胶。

2.4 小鼠皮肤感染模型的建立、分组与给药

使用 2%异氟烷吸入麻醉小鼠,并将其固定在手术台上。用脱毛膏去除小鼠背部皮肤(约 2 cm×2 cm)的毛发,75%乙醇消毒后,使用直径为 8 mm 的皮开孔器在背部皮肤上制造 1 个圆形的全层皮肤缺损(深度达到真皮层)。将 100 mL 的 MRSA 43300 悬液(1×10^8 CFU/mL)均匀滴在伤口上,并轻轻涂抹以确保完全覆盖。用无菌纱布覆盖伤口,并用透气胶带固定,将小鼠单独饲养。24 h 后确认感染情况,表现为伤口发红、渗出和脓性分泌物。

将感染的小鼠随机分为模型组、阳性对照(2%莫匹罗星)组和香茅醇低、中、高剂量(0.75%、1.50%、3.00%香茅醇凝胶)组,每组 6 只。另取 6 只未感染的小鼠作为对照组,仅进行备皮。各给药组局部涂抹相应药物,对照组和模型组给予等体积空白凝胶基质,1 次/d,连续给药 7 d。

2.5 伤口愈合观察与分析

在第 0、1、3、5 和 7 天,对每组小鼠的伤口进行拍照。相机保持与伤口垂直且保持固定距离,以确保照片的一致性。使用 Image J 软件对照片进行分析,通过设定阈值来勾勒伤口边界并量化伤口面积。记录每个时间点的愈合率,并绘制伤口愈合曲线以分析各组伤口愈合的动态变化。

伤口愈合率=(初始伤口面积-各时间点伤口面积)/初始伤口面积

2.6 HE 染色观察皮肤组织病理学变化

于给药第 1、3、5、7 天,每组随机取 1 只小鼠,收集伤口组织,经 4%多聚甲醛固定 24 h 后,采用全自动组织脱水器处理,石蜡包埋并制备 4 μm

连续切片。切片经梯度脱蜡复水:脱蜡液 I~II 各 30 min,无水乙醇 I~II、95%乙醇、85%乙醇、75%乙醇各 5 min,流动自来水冲洗 5 min。随后进行 HE 染色,切片经梯度乙醇脱水(每步 3 min)、透明剂透明、中性凡士林封片,采用数字切片扫描仪扫描。低倍镜(×40)观察切片整体形态后,随机选取 3 个炎症细胞密集且不重叠区域,拍摄高倍镜(×400)显微图像,观察并记录炎症细胞浸润、组织水肿及表皮细胞增生情况,评估皮肤组织病理变化。

2.7 Masson 染色观察皮肤组织中胶原纤维变化

于给药第 7 天,采集伤口组织,经固定、梯度乙醇脱水、透明化及石蜡包埋后,制备 4 μm 切片,进行 Masson 染色,经脱水、封片后,采用切片扫描仪获取数字图像。每个切片随机选取 3 个区域,放大(×400)拍摄,采用 Image-Pro Plus 6.0 软件测量胶原纤维面积。

2.8 皮肤组织中炎症因子和氧化应激水平的检测

在感染后第 1、3、5 和 7 天,采集皮肤组织,切碎后加入适量组织裂解缓冲液充分研磨,4 °C、12 000 r/min 离心 15 min,收集上清液,按照试剂盒说明书检测 IL-1β、TNF-α、MDA 水平和 SOD 活性。

2.9 转录组分析

18 只 6~8 周龄 C57BL/6 小鼠随机分为模型组和香茅醇组,每组 9 只。按“2.4”项下方法构建 MRSA 皮肤感染模型,造模后小鼠局部涂抹 2%香茅醇或空白凝胶基质,给药第 3 天收集小鼠皮肤组织,采用 TRIzol 法提取总 RNA,经质量检测合格后构建测序文库,通过 Illumina NovaSeq 6000 平台进行 PE150 双端测序;对原始测序数据进行过滤后,采用 HISAT2 软件完成序列比对,并以 FPKM 法进行基因表达量定量。借助 DESeq2 软件包进行差异表达基因(differentially expressed genes, DEGs)分析,筛选标准为 $|\log_2$ 差异倍数(fold change, FC)|>1 且校正后 P 值(P_{adjust})<0.05。进一步对 DEG 开展基因本体(gene ontology, GO)功能注释及京都基因与基因组百科全书(Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)通路富集分析,富集显著性阈值设为 P_{adjust} <0.05;上述所有富集分析均基于 R 语言环境,通过 ClusterProfiler 包完成。

2.10 分子对接分析

采用分子对接技术探究香茅醇与 Caspase-1 p20、GSDMD、NLRP3 及 IL-1β 蛋白的结合作用。首先从 PubChem 数据库获取香茅醇二维结构(sdf),

经银福云工具基于 MMFF94 力场加氢、分配电荷并进行能量最小化，获得其稳定三维结构；同时从 UniProt 数据库检索上述靶蛋白的预测三维结构 (pdb)，去除冗余链与残基后完成蛋白预处理。随后通过 DeepSite 与银福云工具联合预测靶蛋白结合口袋，在银福云平台利用 DOCK 6.9 软件，以预测口袋中心为基准构建对接盒子并生成能量网格，采用配体柔性对接模式将香茅醇与靶蛋白进行分子对接。最后提取 grid Score 值进行数据分析，并对分

子对接结果进行可视化处理。

2.11 qRT-PCR 检测皮肤组织 NLRP3 通路相关基因表达

感染后第 3 天，取各组小鼠皮肤组织并提取总 RNA，经逆转录试剂盒逆转录为 cDNA。按照试剂盒说明书进行 qRT-PCR 分析。引物序列见表 1，将甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH) 作为内参基因，采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算各目的基因的相对表达量。

表 1 引物序列

Table 1 Primer sequences

基因	上游引物序列 (5'-3')	下游引物序列 (5'-3')
NLRP3	AGACCAGCCTACCAGAGCAA	CTGCAGGTAGAAGCCGAAGT
Caspase-1 p20	ACAAGGCACGGGACCTATG	TCCAGTCAGTCTGGAAATG
GSDMD	TGTGTCTGGGAGGACTTCGT	TGGTACAGCCCACTCGTAGA
IL-1 β	GCAACTGTTCTGAACTCAACT	ATCTTTTGGGGTCCGTCAACT
IL-1 β p19	CAGCAGCTCTCTCGGAATCT	TGGATACGGGGCACATTATT
GAPDH	GGCTGTATTCCCCTCCATCG	CCAGTTGGTAACAATGCCATGT

2.12 Western blotting 检测皮肤组织 NLRP3 通路相关蛋白表达

感染后第 3 天，取各组小鼠皮肤组织，切碎后加入适量组织裂解缓冲液充分研磨，4 °C、12 000 r/min 离心 15 min，收集上清液，采用 BCA 法测定蛋白浓度。蛋白样品经十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳，转至 PVDF 膜，经 5% 脱脂牛奶封闭 1~2 h，加入 NLRP3、Caspase-1 p20、GSDMD-N、IL-1 β p19、总 IL-1 β 、 β -actin 抗体，4 °C 孵育过夜；TBST 洗涤后，加入二抗，室温孵育 1 h。采用 ECL 化学发光试剂显影，通过化学发光成像系统采集图像，Image J 软件分析目标条带灰度值。

2.13 LDH 释放实验检测香茅醇对 HaCaT 细胞焦亡的影响

取对数生长期的 HaCaT 细胞，以 1×10^5 个/孔接种于 96 孔板，培养 24 h 至融合度为 80%。弃上清，PBS 洗涤 2 次，每孔加入含 ATCC43300 悬液 (MOI=10) 及不同质量浓度 (2、4、8 μ g/mL) 香茅醇的 DMEM 培养基 100 μ L，另设细胞对照孔、最大释放孔 (含细胞及试剂盒提供的 LDH 释放试剂) 及空白调零孔，每组设 3 个复孔。培养 6 h 后，按照试剂盒说明书检测 LDH 释放率。

$$\text{LDH 释放率} = \frac{A_{\text{最大释放}} - A_{\text{细胞对照}}}{A_{\text{实验}} - A_{\text{细胞对照}}}$$

2.14 统计学分析

数据采用 GraphPad Prism 10.0 软件进行统计分析，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 (One-way ANOVA)。

3 结果

3.1 香茅醇的抗菌活性

采用微量肉汤稀释法测定香茅醇对不同 MRSA 标准菌株的 MIC 和 MBC，结果见表 2，香茅醇对 ATCC25923 亚株的 MIC 为 0.312 5~0.625 0 mg/mL，MBC 为 0.312 5~0.625 0 mg/mL；对 ATCC43300 亚株的 MIC 为 0.312 5~0.625 0 mg/mL，MBC 为 0.625 0~1.250 0 mg/mL。表明香茅醇对供试菌株具有抗菌活性。

如图 1 所示，亚抑菌浓度的香茅醇对 ATCC43300 的生长呈剂量相关性的抑制作用。0.078 mg/mL 香茅醇可延长细菌生长滞后期，同时降低最终生物量，提示其对细菌增殖具有一定抑制作用；

表 2 香茅醇对不同 MRSA 标准菌株的 MIC 和 MBC 测定结果

Table 2 MIC and MBC determination results of citronellol against different MRSA standard strains

菌株编号	MIC/(mg·mL ⁻¹)	MBC/(mg·mL ⁻¹)
ATCC25923-1	0.312 5	0.625 0
ATCC25923-2	0.312 5	0.625 0
ATCC25923-3	0.312 5	0.312 5
ATCC25923-4	0.625 0	0.625 0
ATCC43300-1	0.312 5	0.625 0
ATCC43300-2	0.625 0	0.625 0
ATCC43300-3	0.625 0	1.250 0
ATCC43300-4	0.312 5	0.625 0

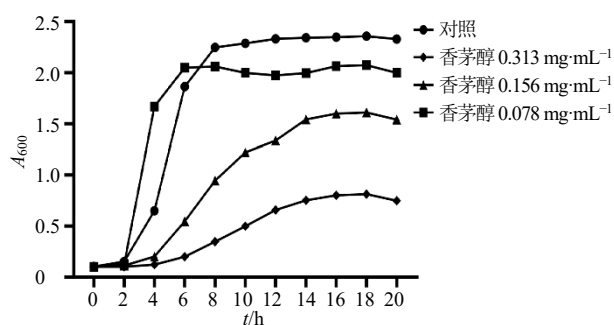


图1 亚抑菌浓度香茅醇对 ATCC43300 生长曲线的影响
Fig. 1 Effect of sub-inhibitory concentrations of citronellol on growth curve of ATCC43300

当香茅醇质量浓度为 0.156 mg/mL 时, 抑制作用显著增强, 细菌生长滞后期被显著延长, 指数生长期启动时间明显延迟, 稳定期生物量亦显著下降, 表明细菌的生长进程及关键生理过程受到强烈抑制; 0.313 mg/mL 香茅醇可在 24 h 内使细菌完全生长停滞, 未观察到明显的生长阶段特征, 推测其可能通过破坏细菌细胞膜或抑制关键酶活性发挥作用。

综上, 香茅醇可有效抑制 MRSA 标准菌株的生长与增殖, 在一定浓度下具备杀菌效果; 同时对 MRSA 的生长呈现剂量相关性的抑制作用, 低质量浓度下主要延长细菌适应期、降低生长速率, 高质量浓度则可显著抑制甚至完全阻断其生长。

3.2 香茅醇对 MRSA 皮肤感染模型小鼠伤口愈合和组织病理学变化的影响

创面动态愈合结果 (图 2-A、C) 显示, MRSA 感染模型建立后第 1 天, 各组小鼠初始创面面积无统计学差异, 证实各组起始条件一致, 排除了初始创面大小对后续愈合结果的混杂影响。随治疗进程推进, 各组创面愈合差异逐渐显现: 模型组未予有效干预, 创面愈合进程最慢, 至第 7 天其创面面积仍为初始面积的 (79.2±20.7)%, 提示小鼠自身自然愈合能力无法有效抵御 MRSA 感染, 显著阻碍创面愈合进程。莫匹罗星组创面愈合效果显著, 治疗第 5 天创面面积较模型组明显缩小 ($P<0.05$), 第 7 天创面面积降至初始面积的 (31.0±16.4)%, 与模型组相比差异具有极显著统计学意义 ($P<0.01$), 验证了临床常用抗菌药物莫匹罗星对 MRSA 感染创面的治疗有效性, 证实其可稳定促进感染创面的愈合。3.00% 香茅醇组治疗第 7 天创面面积降至初始面积的 (36.8±5.4)%, 与模型组相比差异有统计学意义 ($P<0.05$), 与阳性对照组无统计学差异,

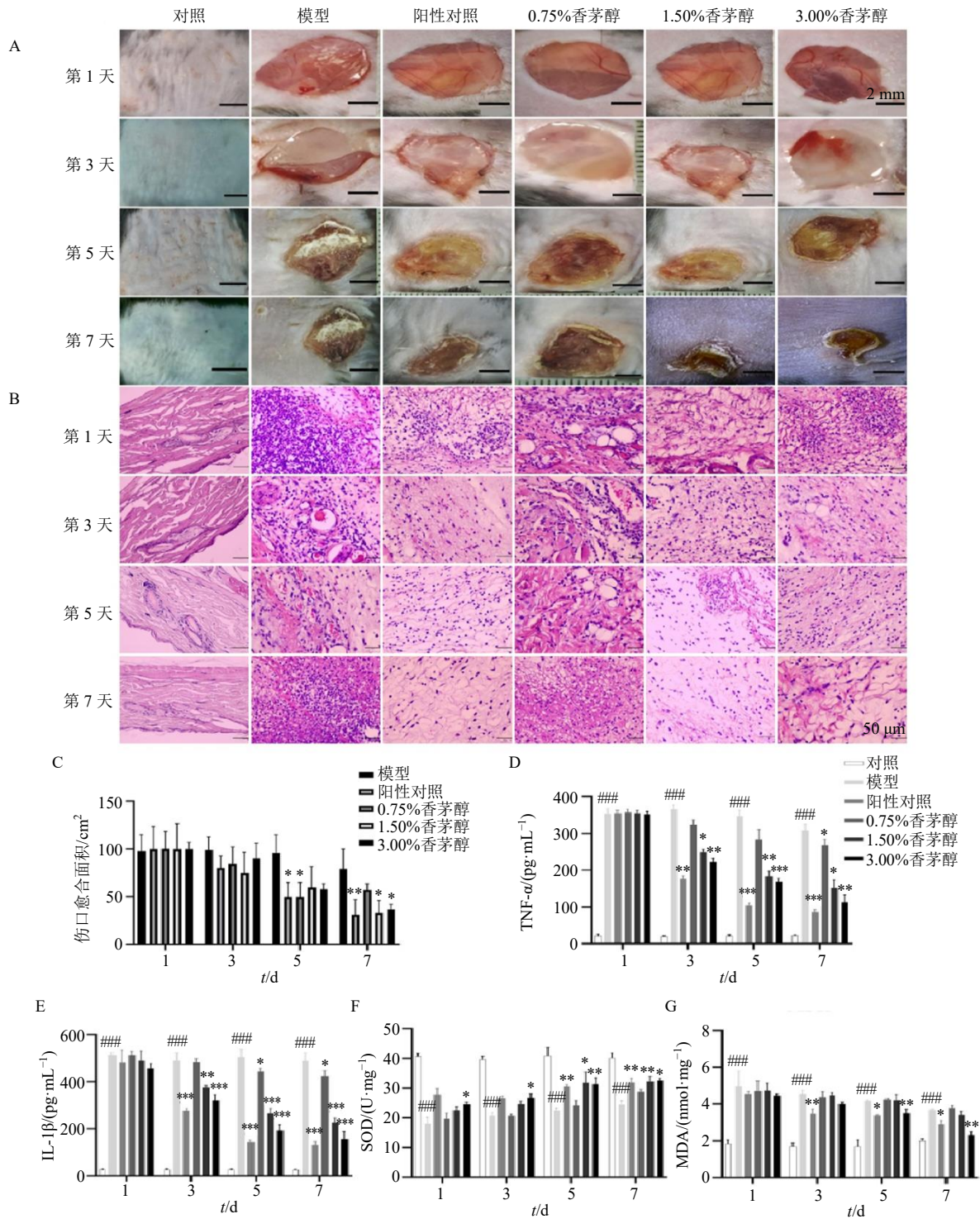
提示 3.00% 香茅醇促创面愈合效果与莫匹罗星相当, 可显著加速 MRSA 感染创面愈合。1.50% 香茅醇组伤口愈合略缓, 但第 7 天创面面积仍显著小于模型组 ($P<0.05$), 亦具促愈合作用。

HE 染色结果 (图 2-B) 显示, 对照组表皮结构完整、真皮胶原纤维排列规则, 无异常病理表现; 感染第 1 天, 各组均出现真皮水肿、胶原纤维断裂紊乱, 与既往 MRSA 皮肤感染病理特征一致, 证实模型构建成功。感染第 3 天, 模型组真皮可见广泛中性粒细胞浸润及组织水肿, 提示 MRSA 感染引发严重炎症及组织损伤; 3.00% 香茅醇组与阳性对照组均出现修复迹象, 炎症细胞浸润减少、水肿减轻且表皮细胞初步增殖, 表明二者可有效抑制炎症、启动修复。感染第 5 天, 3.00% 香茅醇组与阳性对照组表皮近乎完全再生, 模型组则出现修复停滞及纤维化趋势。感染第 7 天, 3.00% 香茅醇组皮肤结构 (表皮、真皮及附属器) 接近正常; 1.50% 香茅醇组形态基本正常, 仅残留少量组织学改变; 模型组和 0.75% 香茅醇组仍表现为真皮结构紊乱、慢性炎症细胞持续浸润。

3.3 香茅醇对 MRSA 皮肤感染模型小鼠皮肤组织炎症反应和氧化应激水平的影响

香茅醇可加速 MRSA 感染所致皮肤损伤修复, 推测其可能通过调节慢性创面失调的免疫微环境发挥作用。为明确其对感染局部免疫微环境的调控效应, 动态监测了关键炎症细胞因子及氧化应激相关指标的变化。如图 2-D、E 所示, 与对照组比较, 模型组小鼠皮肤组织中 TNF- α 和 IL-1 β 水平显著升高 ($P<0.001$), 表明 MRSA 感染引发强烈炎症反应; 与模型组比较, 给药第 3 天 1.50%、3.00% 香茅醇组 TNF- α 和 IL-1 β 水平显著降低 ($P<0.05$ 、0.01、0.001), 给药第 5 天 1.50%、3.00% 香茅醇组 TNF- α 水平显著降低 ($P<0.01$ 、0.001), 给药第 5 天 0.75%、1.50%、3.00% 香茅醇组 IL-1 β 水平显著降低 ($P<0.05$ 、0.001), 给药第 7 天 0.75%、1.50%、3.00% 香茅醇组 TNF- α 和 IL-1 β 水平显著降低 ($P<0.05$ 、0.01、0.001), 且给药第 7 天 3.00% 香茅醇作用与莫匹罗星相当, 表明香茅醇能够显著抑制 MRSA 感染所致的皮肤组织炎症级联反应。

氧化应激是皮肤损伤与修复的关键调控因素, 动态监测 MDA 含量及 SOD 活性可量化损伤程度并预判愈合速度。如图 2-F、G 所示, 与对照组比较, 模型组小鼠皮肤组织中 SOD 活性显著降低 ($P<$



A-各组伤口动态照片；B-皮肤组织的 HE 染色结果 (×400)；C-各组伤口愈合面积的统计分析 (n=3)；D~G-皮肤组织中炎症因子和氧化应激因子的水平 (n=6)；与对照组比较：*P<0.05 ##P<0.01 ###P<0.001；与模型组比较：*P<0.05 **P<0.01 ***P<0.001，下同。
A-dynamic photographs of wounds in each group; B-HE staining results of skin tissues (×400); C-statistical analysis of wound healing area (n=3); D~G-levels of inflammatory factors and oxidative stress factors in skin tissue (n=6); #P<0.05 ##P<0.01 ###P<0.001 vs control group; *P<0.05 **P<0.01 ***P<0.001 vs model group, same as below figures.

图 2 香茅醇对 MRSA 皮肤感染模型小鼠伤口愈合、组织病理学、炎症反应和氧化应激水平的影响 (x̄ ± s, n = 3)
Fig. 2 Effect of citronellol on wound healing, histopathology, inflammatory response and oxidative stress levels in MRSA skin infection model mice (x̄ ± s, n = 3)

0.001), MDA 水平显著升高 ($P < 0.001$), 提示 MRSA 感染损害机体抗氧化能力; 与模型组比较, 给药第 5、7 天 1.50%、3.00% 香茅醇组 SOD 活性显著升高 ($P < 0.05$ 、 0.01), 3.00% 香茅醇组 MDA 水平显著降低 ($P < 0.01$), 表明香茅醇能够缓解 MRSA 感染所致的皮肤组织氧化损伤。

3.4 香茅醇对 MRSA 皮肤感染模型小鼠皮肤组织胶原纤维变化的影响

Masson 染色结果如图 3 所示, 胶原纤维阳性

表达呈蓝色, 与对照组比较, 模型组小鼠皮肤组织胶原纤维表达显著降低 ($P < 0.001$), 表明 MRSA 感染导致胶原纤维损伤、纤维组织表达减少、皮肤结构与功能破坏; 与模型组比较, 1.50%、3.00% 香茅醇组小鼠皮肤组织胶原纤维表达显著升高 ($P < 0.05$ 、 0.01), 表明香茅醇可有效促进 MRSA 感染小鼠皮肤的纤维修复, 推测其可能通过调控细胞外基质合成与降解、促进成纤维细胞增殖及胶原合成, 增加胶原纤维含量, 提升皮肤修复与再生能力。

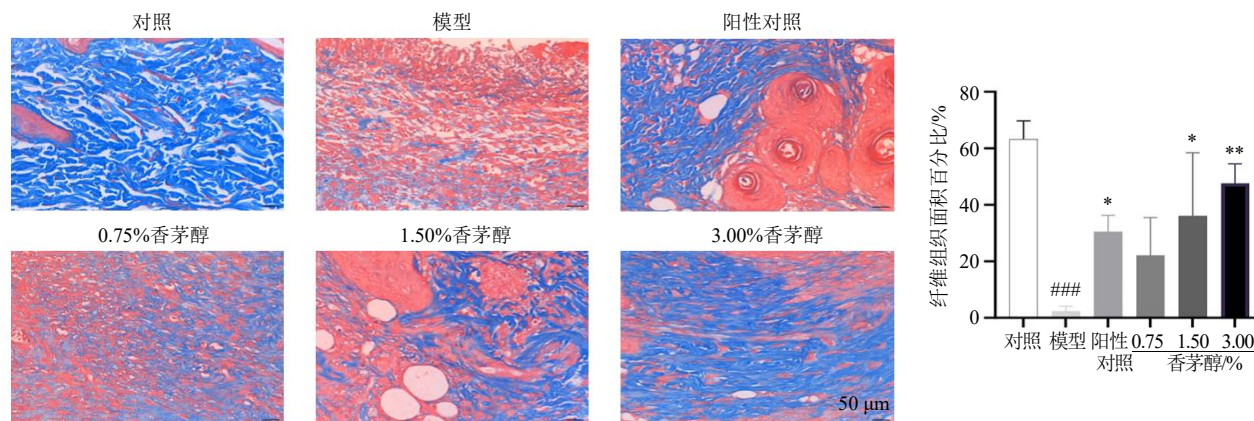


图 3 香茅醇对 MRSA 皮肤感染模型小鼠皮肤组织胶原纤维变化的影响 ($\times 400$; $\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 3 Effect of citroneol on changes of collagen fibers in shin tissue of MRSA skin infection model mice ($\times 400$; $\bar{x} \pm s, n = 3$)

3.5 香茅醇对 MRSA 皮肤感染模型小鼠皮肤组织转录组的影响

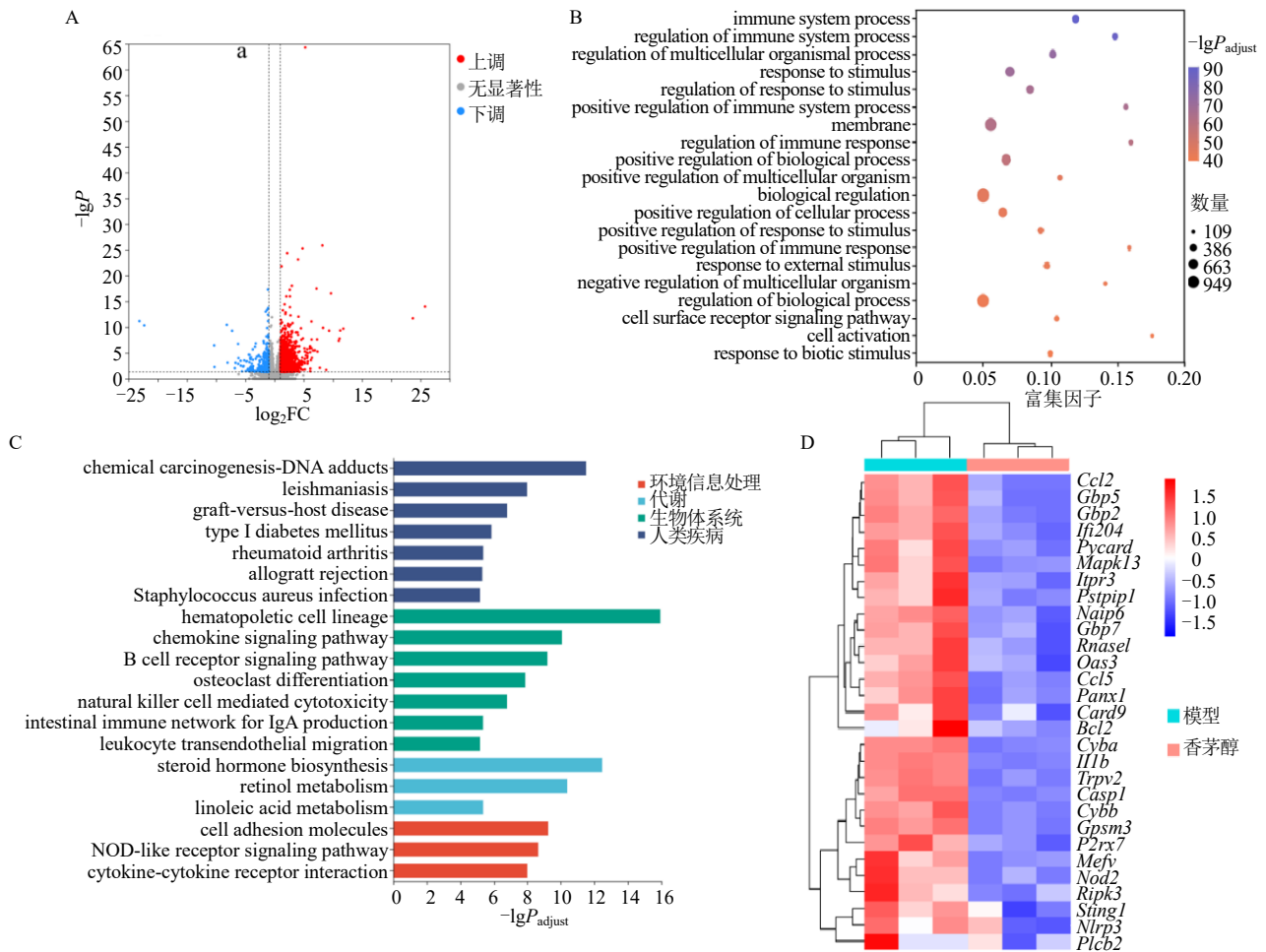
为探究香茅醇对 MRSA 诱导小鼠皮肤损伤的转录组调控机制, 对模型组与香茅醇组皮肤组织进行 RNA-seq 转录组分析, 共鉴定出 1 753 个 DEGs, 其中上调 1 482 个、下调 271 个, 火山图 (图 4-A) 清晰呈现组间基因表达差异及上下调基因分布特征。GO 富集分析结果 (图 4-B) 显示, DEGs 显著富集于免疫系统过程、多细胞生物过程调控、刺激反应等免疫相关生物过程, 提示香茅醇可能通过调控这些过程影响宿主对 MRSA 感染的免疫应答。KEGG 通路分析结果 (图 4-C) 显示, DEGs 显著富集于多个免疫相关通路, 其中细胞因子-细胞因子受体相互作用、趋化因子信号通路富集基因较多, 提示香茅醇可通过调控细胞因子与趋化因子的表达及相互作用, 影响炎症反应与免疫细胞募集活化, 发挥抗炎调控作用。

NOD 样受体信号通路富集大量 DEGs, 该通路作为免疫前哨与炎症调控核心, 可识别感染并精准调控炎症水平, 兼具抗菌与抗炎功能^[12]。结合前期

香茅醇与氧化应激相关的结果, 对该通路进一步分析, 聚类热图 (图 4-D) 显示, 通路内关键 DEGs 在香茅醇组呈明确表达聚类模式, *Casp1*、*Nlrp3* 等基因表达下调, *Oas3*、*Gbps*、*Sting* 等基因表达亦显著改变。这些基因与 NLRP3 炎症小体核心成分及活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 系统蛋白的表达、裂解密切相关, 可减少 IL-1 β 成熟及 GSDMD 孔形成, 进而抑制角质形成细胞焦亡与局部过度炎症^[13-14]。

3.6 分子对接结果

将香茅醇小分子结构与 4 个靶蛋白进行分子对接, 采用 PyMOL 软件绘制其与核心靶蛋白的三维结合模式图。如图 5 所示, IL-1 β 与 NLRP3 蛋白对香茅醇均具有中等结合活性, 其中 IL-1 β 结合亲和力最高 (-4.55 kcal/mol, 1 kcal/mol = 4.182 kJ/mol); 香茅醇的羟基可与 IL-1 β 的 TYR-24、LEU-82 形成氢键, 提示香茅醇的抗炎作用可能与 IL-1 β 密切相关, 且对 IL-1 β 的调控受 NLRP3 炎症小体通路调控。结合转录组与分子对接结果, 香茅醇治疗 MRSA 感染小鼠皮肤损伤的作用与 NLRP3 炎症小体通路相关。



A-DEGs 火山图; B-GO 功能富集分析气泡图; C-KEGG 通路富集分析; D-NOD 样受体信号通路中 DEGs 的聚类热图。

A-volcano plot of DEGs; B-bubble plot of GO functional enrichment analysis; C-KEGG pathway enrichment analysis; D-clustering heatmap of DEGs in NOD-like receptor signaling pathway.

图 4 香茅醇对 MRSA 皮肤感染模型小鼠皮肤组织转录组的影响

Fig. 4 Effect of citronellol on transcriptome in shin tissue of MRSA skin infection model mice

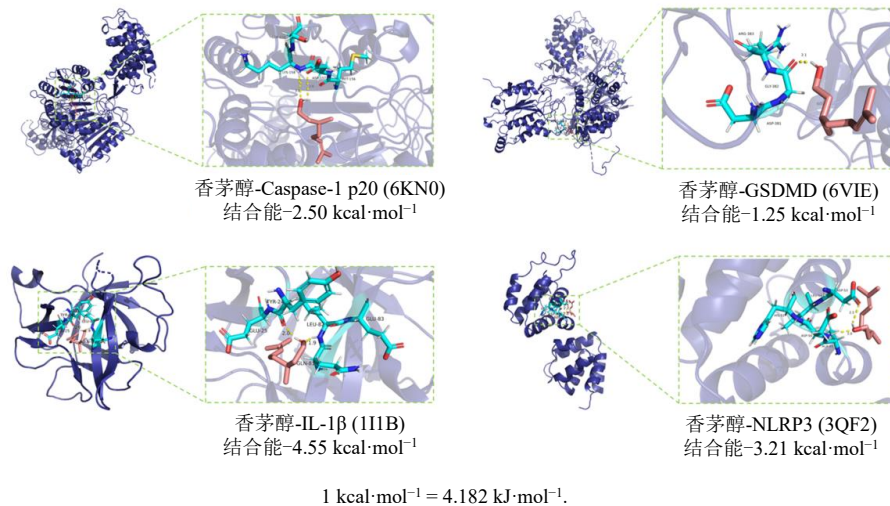


图 5 香茅醇与 Caspase-1 p20、GSDMD、IL-1 β 、NLRP3 蛋白对接的三维模型结果

Fig. 5 3D model results of molecular docking of citronellol and Caspase-1 p20, GSDMD, IL-1 β , NLRP3 proteins

3.7 香茅醇对 MRSA 皮肤感染模型小鼠皮肤组织中 NLRP3 通路相关基因及蛋白表达的影响

qRT-PCR 结果如图 6-A 所示, 与对照组比较, 模型组小鼠皮肤组织中 *NLRP3*、*IL-1β*、*IL-1β p19*、*Caspase-1 p20* 和 *GSDMD* 基因表达水平显著升高 ($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001), 表明 NLRP3 炎症小体通路被激活, 炎症模型构建成功; 与模型组比较, 1.50%、3.00%香茅醇组 *NLRP3*、*IL-1β* 和 *IL-1β p19* 基因表达水平显著降低 ($P < 0.05$), 0.75%、1.50%、3.00%香茅醇组 *Caspase-1 p20* 基因表达水平显著降低 ($P < 0.01$ 、 0.001), 3.00%香茅醇组 *GSDMD* 基因表达水平显著降低 ($P < 0.01$)。

Western blotting 结果如图 6-B 所示, 与对照组比较, 模型组小鼠皮肤组织中 NLRP3、IL-1β、IL-

1β p19、Caspase-1 p20 和 GSDMD-N 蛋白表达水平显著升高 ($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001); 与模型组比较, 1.50%、3.00%香茅醇组 NLRP3、IL-1β p19、Caspase-1 p20 和 GSDMD-N 蛋白表达水平显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001), IL-1β 蛋白表达水平呈降低趋势。值得注意的是, 香茅醇在下调 IL-1β 总蛋白表达的同时, 对其成熟活性形式 IL-1β p19 的抑制作用更强, 提示其作用靶点可能集中于 NLRP3 炎症小体激活及 Caspase-1 介导的 IL-1β 裂解成熟过程。基因-蛋白水平的同步调控结果, 进一步证实香茅醇可调控 MRSA 感染后宿主免疫细胞的应答过程, 即抑制病原体相关分子模式诱导的 NLRP3 炎症小体激活、Caspase-1 募集活化, 进而阻断级联炎症反应及 IL-1β 成熟释放, 最终抑制细胞焦亡。

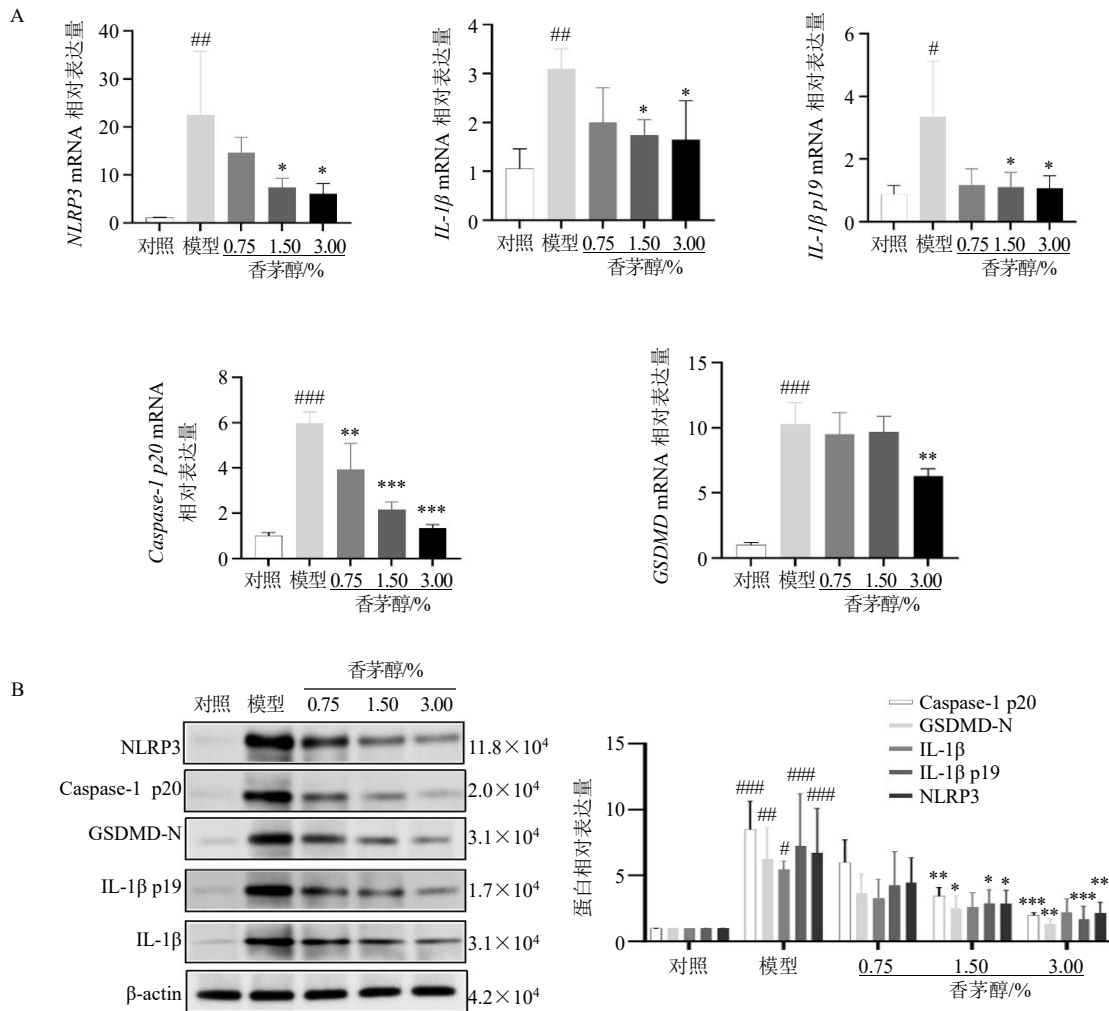


图 6 香茅醇对 MRSA 皮肤感染模型小鼠皮肤组织中 NLRP3 通路相关基因 (A) 及蛋白 (B) 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)
 Fig. 6 Effect of citronellol on expressions of NLRP3 pathway related genes (A) and proteins (B) in skin tissues of MRSA skin infection model mice ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

3.8 香茅醇对 MRSA 诱导的 HaCaT 细胞焦亡的抑制作用

如图 7 所示,与对照组比较,模型组细胞上清中 LDH 释放率显著升高($P < 0.001$);与模型组比较,2、4、8 $\mu\text{g/mL}$ 香茅醇显著降低 LDH 释放率($P < 0.05$ 、0.01),且呈剂量相关性,表明香茅醇可有效抑制 MRSA 感染所致 HaCaT 细胞焦亡以及对细胞膜造成的破坏。

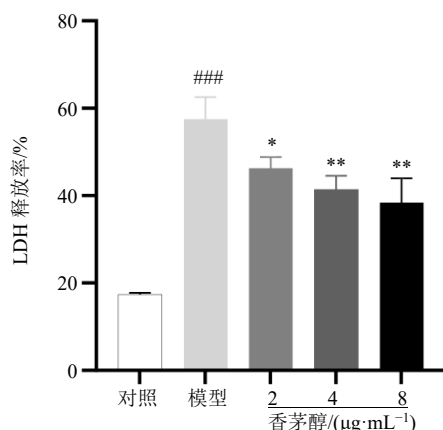


图 7 香茅醇对 MRSA 感染的 HaCaT 细胞 LDH 释放率的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 7 Effect of citronellol on LDH release rate in HaCaT cells infected with MRSA ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

4 讨论

本研究结果证实,香茅醇对 MRSA 具有显著的抗菌活性,其中对 MRSA 标准菌株 ATCC43300 的作用尤为突出。香茅醇可呈剂量相关性地逆转 NLRP3 炎症小体-细胞焦亡通路的异常激活,其中 3.00% 香茅醇能显著下调 NLRP3、Caspase-1 p20、GSDMD-N 及 IL-1 β p19 的表达,提示香茅醇可能通过抑制 NLRP3 的激活,减少 Caspase-1 的活化与 GSDMD 的切割,进而降低活性 IL-1 β 的生成,最终实现对炎症反应的抑制作用。MIC 与 MBC 测定结果显示,香茅醇在特定质量浓度下可有效抑制 MRSA 的生长增殖,甚至发挥杀菌效应;生长曲线检测结果表明,香茅醇对 ATCC43300 的生长抑制作用呈明显的剂量相关性,低质量浓度的香茅醇主要表现为延长细菌生长滞后期、降低生长速率,高质量浓度的香茅醇则可更显著地抑制甚至完全阻断细菌生长。作为亲脂性化合物,香茅醇可插入细菌细胞膜脂质双分子层,改变膜的流动性与通透性,进而破坏细胞膜完整性并引发胞内物质渗漏,影响细菌正常代谢与存活。此外,香茅醇可增加细

菌细胞膜通透性,导致胞内钾离子等物质外流并最终造成细菌死亡,提示其抗菌作用可能与该机制密切相关^[15]。

相较于传统抗菌药物,香茅醇具备独特优势。作为植物精油来源的天然抗菌物质,其安全性较高、不良反应轻微,且兼具多种生物活性,可在抑制细菌增殖的同时发挥额外有益作用,助力感染部位的组织修复^[16-17]。本研究证实,香茅醇对 MRSA 诱导的皮肤炎症具有显著调控作用,其下调炎症因子水平的效应可能与抑制 NLRP3 炎症小体通路密切相关。NLRP3 炎症小体是炎症反应的关键调控元件,可识别病原体相关分子模式并激活 Caspase-1,进而促进 IL-1 β 等炎症因子的成熟与释放^[18-19]。qRT-PCR 与 Western blotting 结果显示,与对照组比较,模型组 NLRP3、Caspase-1 p20、GSDMD-N、总 IL-1 β 及其活性形式 IL-1 β p19 的基因与蛋白表达水平均显著上调,证实 MRSA 感染可成功激活宿主皮肤组织中的 NLRP3 炎症小体-细胞焦亡通路。而香茅醇干预可呈剂量相关性地逆转该通路的异常激活,其中高剂量组能显著下调 NLRP3、Caspase-1 p20、GSDMD-N 及 IL-1 β p19 的表达水平。上述结果表明,香茅醇可通过抑制 NLRP3 炎症小体与细胞焦亡通路的活化,下调 NLRP3 炎症小体-细胞焦亡通路相关蛋白表达,从而抑制炎症反应。此外,氧化应激作为 NLRP3 炎症小体激活的上游关键驱动因素,在 MRSA 感染所致皮肤损伤中发挥核心调控作用。研究表明,过量 ROS 产生是触发 NLRP3 炎症小体组装与活化的经典信号之一,而炎症小体激活后 Caspase-1 介导的细胞焦亡又会进一步破坏线粒体功能,释放线粒体 ROS 及氧化线粒体 DNA,形成“氧化应激-炎症小体激活-细胞损伤”的恶性循环^[20-21]。本研究中,模型组小鼠皮肤组织 SOD 活性显著降低、MDA 水平显著升高,提示感染引发了严重的氧化应激损伤;而香茅醇干预后 SOD 活性回升、MDA 水平下降,表明香茅醇具有显著的抗氧化应激效应。

细胞焦亡是金黄色葡萄球菌感染引发的程序性细胞死亡,其核心特征为 GSDMD-N 介导的细胞膜孔形成,该过程可导致细胞裂解,并释放 IL-1 β 等胞内促炎介质,进一步放大炎症反应^[22]。皮肤感染中,角质形成细胞既是表皮物理屏障的主体,也是 MRSA 攻击的直接靶点。MRSA 分泌的 α -溶血素与酚溶性调节蛋白可激活 NLRP3 炎症小体,触发

Caspase-1 特异性切割 GSDMD, 释放具有成孔活性的 GSDMD-N 片段; 该片段在角质形成细胞膜上寡聚化形成直径 10~20 nm 的跨膜孔道, 既会导致细胞肿胀、膜破裂及 LDH 外泄, 也会介导成熟 IL-1 β 和 IL-18 胞外释放, 形成“感染-焦亡-炎症-屏障破坏”的正反馈循环^[23]。本研究结果显示, 香茅醇可有效降低 MRSA 感染的 HaCaT 细胞 LDH 释放率, 减轻 MRSA 诱导的细胞焦亡对细胞膜的损伤。

Lian 等^[24]构建角质形成细胞特异性 GSDMD 条件敲除小鼠模型证实, GSDMD 缺失可显著减轻咪喹莫特诱导的银屑病样皮肤炎症, 表现为表皮变薄、Ki67 表达及炎症细胞浸润减少, 其保护作用与焦亡细胞数量减少、IL-1 β 水平降低及表皮细胞存活率升高直接相关。此外, 单细胞转录组测序显示, MRSA 感染皮肤中 GSDMD 高表达的角质形成细胞亚群存在明显炎症信号激活^[25], 本研究结果与上述研究一致。香茅醇干预可剂量相关性地下调 GSDMD-N 表达及 LDH 释放, 表明其可抑制角质形成细胞 GSDMD 依赖性焦亡, 该机制与 GSDMD 抑制剂双硫仑通过共价修饰 Cys191 阻断 GSDMD 成孔活性、减轻脓毒症多器官损伤的作用一致^[24]。

MRSA 感染引发的持续性炎症会破坏皮肤组织的修复微环境, 过量的促炎因子会抑制成纤维细胞增殖与胶原纤维合成, 最终导致伤口愈合延迟; 而减少细胞焦亡可有效保留皮肤组织中的上皮细胞、成纤维细胞等修复相关细胞, 为胶原纤维的合成提供充足的功能性细胞基础^[26]。本研究中 Masson 染色结果显示, 香茅醇处理可显著加速感染小鼠皮肤组织中胶原纤维的生成, 其通过“先控炎、再护细胞、最终促修复”的调控逻辑, 与“控制感染性炎症是伤口愈合的前提”这一临床治疗原则高度契合^[27]。上述结果表明, 香茅醇可通过多途径调控小鼠机体的病理生理过程, 发挥抗炎、细胞保护与促组织修复的综合保护作用。

香茅醇在 MRSA 皮肤感染的治疗中展现出显著的潜在临床应用价值, 其核心优势体现在天然安全性与胶原修复促进作用 2 方面。本研究阐明了香茅醇抗 MRSA 皮肤感染的分子机制, 发现香茅醇可通过抑制 NLRP3 炎症小体通路降低 IL-1 β 等炎症因子水平, 同时促进胶原纤维生成以加速创面愈合, 且对 MRSA 具有直接的抑制作用; 其可特异性改善 MRSA 皮肤感染引发的炎症失调、组织损伤、愈合延迟等多个病理环节, 与临床中抑菌、控炎、

促修复同步干预的治疗需求高度契合^[28]。相较于化学合成抗菌药物, 香茅醇作为天然化合物, 具有不良反应少、机体耐受性高的特点, 契合当前临床对安全抗感染药物的需求; 同时其来源广泛、制备成本相对低廉, 为后续的规模化生产与初步临床转化奠定了物质基础。尤其在多重耐药菌感染日趋严重、传统抗生素应用受限的临床背景下, 香茅醇这类以宿主为导向的治疗药物, 有望成为 MRSA 皮肤感染临床治疗的重要补充方案。

本研究仍存在一定局限性: ①研究基于 C57BL/6J 小鼠皮肤感染模型开展, 而小鼠与人类皮肤生理结构差异显著, 故现有结果在人体临床应用中的有效性、安全性及剂量仍需进一步验证。②靶点验证方面, 香茅醇与 NLRP3 炎症小体核心组分的直接物理相互作用及精确结合位点尚需深入。后续研究将聚焦香茅醇作用于 NLRP3 炎症小体通路的具体分子机制, 构建 NLRP3 基因敲除/敲入细胞模型以确证其作用靶点特异性, 并探索其与其他药物联合应用增强治疗效果的可行性。

综上, 香茅醇对 MRSA 具有良好的抑菌活性, 针对 MRSA 诱导的小鼠皮肤感染, 其可呈剂量相关性抑制 NLRP3 炎症小体-细胞焦亡通路, 下调通路关键分子表达并减少促炎因子释放, 同时促进胶原纤维修复, 进而实现抗炎、细胞保护与组织修复的协同调控效应。香茅醇在 MRSA 皮肤感染中可同时发挥抑菌与抗炎修复作用, 是抗 MRSA 药物研发中具有潜力的候选方向。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Olaniyi R, Pozzi C, Grimaldi L, *et al.* Staphylococcus aureus-associated skin and soft tissue infections: Anatomical localization, epidemiology, therapy and potential prophylaxis [J]. *Curr Top Microbiol Immunol*, 2017, 409: 199-227.
- [2] Blake K J, Baral P, Voisin T, *et al.* Staphylococcus aureus produces pain through pore-forming toxins and neuronal TRPV1 that is silenced by QX-314 [J]. *Nat Commun*, 2018, 9: 37.
- [3] Zhang X L, Liu J, Fu P, *et al.* Epidemiological profile and antimicrobial resistance trends of Staphylococcus aureus in Chinese pediatric intensive care units from 2016 to 2022: A multi-center retrospective study [J]. *BMC Infect Dis*, 2025, 25(1): 298.
- [4] 张悦, 姜孟伶, 曹金丹, 等. 枸杞多糖通过 TLR4/Src 通

- 路促进巨噬细胞吞噬金黄色葡萄球菌 [J]. 中草药, 2023, 54(22): 7466-7473.
- [5] Lin J Y, Lai J K, Chen J Y, *et al.* Global insights into MRSA bacteremia: A bibliometric analysis and future outlook [J]. *Front Microbiol*, 2024, 15: 1516584.
- [6] Lin C C, Lin F Q, Wang J, *et al.* Mupirocin-piperine microemulsion hydrogels accelerate healing of infected wounds through deep penetration and biofilm disruption [J]. *Mol Pharm*, 2025, 22(7): 4230-4244.
- [7] Morguette A E B, Bartolomeu-Gonçalves G, Andriani G M, *et al.* The antibacterial and wound healing properties of natural products: A review on plant species with therapeutic potential against *Staphylococcus aureus* wound infections [J]. *Plants*, 2023, 12(11): 2147.
- [8] Sharafutdinov I S, Trizna E Y, Baidamshina D R, *et al.* Antimicrobial effects of sulfonyl derivative of 2(5H)-furanone against planktonic and biofilm associated methicillin-resistant and-susceptible *Staphylococcus aureus* [J]. *Front Microbiol*, 2017, 8: 2246.
- [9] Xu Y S, Wang L, Guo D B, *et al.* Baohuoside I targets SaeR as an antivirulence strategy to disrupt MRSA biofilm formation and pathogenicity [J]. *NPJ Biofilms Microbiomes*, 2025, 11: 45.
- [10] Alexpandi R, Abirami G, Balaji M, *et al.* Proteomic insights into the multi-target mechanism and therapeutic application of citronellol-loaded carboxymethyl chitosan-based hydrogel for wound infection treatment [J]. *Int J Biol Macromol*, 2025, 323: 147179.
- [11] 杨佳佳, 韦世权, 张科, 等. 香茅醇自乳化递送系统的制备及其体外抗肿瘤活性评价 [J]. 中草药, 2020, 51(5): 1196-1204.
- [12] Tall A R, Bornfeldt K E. Inflammasomes and atherosclerosis: A mixed picture [J]. *Circ Res*, 2023, 132(11): 1505-1520.
- [13] Zhang W F, Li G C, Luo R J, *et al.* Cytosolic escape of mitochondrial DNA triggers cGAS-STING-NLRP3 axis-dependent nucleus pulposus cell pyroptosis [J]. *Exp Mol Med*, 2022, 54(2): 129-142.
- [14] Cai J J, Shi J R, Chen C, *et al.* Structural-activity relationship-inspired the discovery of saturated fatty acids as novel colistin enhancers [J]. *Adv Sci*, 2023, 10(29): 2302182.
- [15] Li Y M, Sun R Y, Kong Y J, *et al.* Antibacterial effect of ultrasound and β -citronellol against *Listeria monocytogenes* and its application in carrot preservation [J]. *Ultrason Sonochem*, 2024, 102: 106752.
- [16] 梁小雪, 高鸣乡, 邱敏, 等. 丁香挥发油联合喹诺酮类抗生素抗耐甲氧西林金黄色葡萄球菌作用研究 [J]. 中草药, 2020, 51(23): 5998-6005.
- [17] 邱敏, 龙娜娜, 高鸣乡, 等. 丁香油联用 β -内酰胺类抗生素体外抗耐甲氧西林金黄色葡萄球菌作用研究 [J]. 中草药, 2019, 50(7): 1629-1635.
- [18] Khadour F A, Khadour Y A, Xu T. NLRP3 overexpression exacerbated synovium tissue degeneration in juvenile collagen-induced arthritis [J]. *Sci Rep*, 2025, 15: 7024.
- [19] Wang D, Zhan X, Wu R, *et al.* Assessment of pyroptosis-related indicators as potential biomarkers and their association with severity in patients with liver cirrhosis [J]. *J Inflamm Res*, 2021, 14: 3185-3196.
- [20] Choi J Q, Zheng M, Kim J L, *et al.* Inhibition of Nrf2/HO-1 signaling leads to increased activation of the NLRP3 inflammasome in osteoarthritis [J]. *J Inflamm Res*, 2021, 14: 4749-4764.
- [21] De Santis S, Martini C, Ferraro E, *et al.* ER-mitochondria association negatively affects wound healing by regulating NLRP3 activation [J]. *Cell Death Dis*, 2024, 15(6): 462.
- [22] Chen Y H, Li Y, Guo L M, *et al.* Bibliometric analysis of the inflammasome and pyroptosis in brain [J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 626502.
- [23] Craven R R, Gao X, Allen I C, *et al.* *Staphylococcus aureus* alpha-hemolysin activates the NLRP3-inflammasome in human and mouse monocytic cells [J]. *PLoS One*, 2009, 4(10): e7446.
- [24] Lian N, Chen Y J, Chen S H, *et al.* Gasdermin D-mediated keratinocyte pyroptosis as a key step in psoriasis pathogenesis [J]. *Cell Death Dis*, 2023, 14: 595.
- [25] Messingham K N, Cahill M P, Kilgore S H, *et al.* TSST-1+ *Staphylococcus aureus* in bullous pemphigoid [J]. *J Invest Dermatol*, 2022, 142(4): 1032-1039.
- [26] Hu J J, Liu X, Xia S Y, *et al.* FDA-approved disulfiram inhibits pyroptosis by blocking gasdermin D pore formation [J]. *Nat Immunol*, 2020, 21(7): 736-745.
- [27] del Mar Ferrà-Cañellas M, Garcia-Sureda L. Exploring the potential of micro-immunotherapy in the treatment of periodontitis [J]. *Life*, 2024, 14(5): 552.
- [28] Bora P K, Borah G, Kalita D, *et al.* Mushroom-mediated reductive bioconversion of aldehyde-rich essential oils for aroma alteration: A rose-like floral bioflavor from *Citronella* oil [J]. *J Agric Food Chem*, 2023, 71(3): 1690-1700.