

# 黄连素液通过影响 NF- $\kappa$ B 信号通路修复小鼠细菌感染皮肤创面的作用机制研究

钱英明, 徐进, 陈靓, 黄李明

**【摘要】目的** 探讨黄连素液通过影响核因子(NF)- $\kappa$ B 信号通路修复小鼠细菌感染皮肤创面的作用机制。**方法** 选取 60 只 SPF 级 9 周龄雄性 C57BL/6J 小鼠构建耐 MRSA 皮肤创面感染模型, 将造模成功的 50 只小鼠随机分为模型组、阳性对照组以及黄连素液低、中、高剂量组, 每组 10 只。分别于给药第 3、7、14 天计算各组小鼠创面愈合率并测定创面菌落数。给药结束后观察各组小鼠创面组织病理变化; 检测各组小鼠创面组织白细胞介素-6 (IL-6)、肿瘤坏死因子 $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、基质金属蛋白酶-2 (MMP-2) 及血管内皮生长因子 (VEGF) 的表达。检测 Toll 样受体 2 (TLR2)、转化生长因子- $\beta$ 活化激酶结合蛋白 1 (TAB1)、NF- $\kappa$ B p65 的 mRNA 及蛋白表达。**结果** 随黄连素剂量增加, 模型组创面愈合率逐渐提升 (均  $P < 0.05$ ); 菌落数逐渐减少 ( $P < 0.05$ )。模型组淋巴细胞、中性粒细胞丰富, 肉芽增生显著; 低剂量组肉芽轻度增生, 炎细胞轻度浸润; 中剂量组无肉芽增生, 炎细胞少量; 高剂量组仅见少量中性粒细胞。随黄连素剂量增加, IL-6、TNF- $\alpha$ 、MMP-2 水平下降, VEGF 水平上升, TLR2、TAB1 及 NF- $\kappa$ B p65 的 mRNA 及蛋白表达逐渐降低 (均  $P < 0.05$ )。**结论** 黄连素液可能通过抑制 TLR2/NF- $\kappa$ B 信号通路激活, 减轻小鼠 MRSA 感染皮肤创面组织炎症反应, 进而促进创面愈合。

**【关键词】** 创面感染; 黄连素液; 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌; NF- $\kappa$ B 信号通路

doi:10.3969/j.issn.1671-0800.2024.10.004

**【中图分类号】** R285.5 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1671-0800(2024)10-1275-06

## Study on the mechanism of Berberine liquid in repairing bacterial infected skin wounds in mice by influencing the NF- $\kappa$ B signaling pathway

QIAN Yingming, XU Jin, CHEN Liang, HUANG Liming (Ningbo Hospital of Traditional Chinese Medicine, Ningbo 315010, Zhejiang, China)

**【Abstract】Objective** To explore the mechanism of Berberine liquid in repairing bacterial infected skin wounds in mice by affecting the nuclear factor(NF)- $\kappa$ B signaling pathway. **Methods** Sixty nine-week-old male SPF C57BL/6J mice were selected to construct a methicillin-resistant *staphylococcus aureus* (MRSA) model. Fifty mice were randomly divided into model group, positive control group and Berberine liquid low (1.25%), medium (2.5%) and high dose groups (5%), with ten mice in each group. The healing rate and the number of colonies were calculated on the 3rd, 7th and 14th day of administration, respectively. The pathological changes of wound tissue were observed after administration. The levels of interleukin-6 (IL-6), tumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) and vascular endothelial growth factor (VEGF) were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The mRNA expressions of toll-like receptor 2 (TLR2), transforming growth factor- $\beta$ -activated kinase-binding protein 1 (TAB1) and NF- $\kappa$ B p65 were detected by RT-qPCR. The protein expressions of TLR2, TAB1 and NF- $\kappa$ B p65 were detected by Western blot. **Results** With the duration of administration, the wound healing rate of mice in model groups gradually increased ( $P < 0.05$ ), the number of colonies gradually decreased ( $P < 0.05$ ). HE staining showed that the model group had significant granulation and more inflammatory cells. The low dose group had a mild granulation and inflammatory cells; The medium dose group had no granulomatous tissue hyperplasia and slight inflammatory cells. A few neutrophils were found in the high dose group. With the increase of administration, the ex-

基金项目: 宁波市科技计划项目(202003N4207)

作者单位: 315000 宁波, 宁波市中医院

通信作者: 钱英明, Email: 1547158189@qq.com

pression of IL-6, TNF- $\alpha$  and MMP-2 were decreased, and VEGF level was increased (all  $P < 0.05$ ); the expressions of TLR2, TAB1, NF- $\kappa$ B p65 mRNA and protein were decreased (all  $P < 0.05$ ). **Conclusions** Berberine liquid may attenuate the tissue inflammatory response of MRSA-infected skin wounds in mice by inhibiting the activation of the TLR2/NF- $\kappa$ B signaling pathway, and promote wound healing.

**【Key words】** Wound infection; Berberine liquid; Methicillin-resistant *staphylococcus aureus*; NF- $\kappa$ B signaling pathway  
[Modern Practical Medicine, 2024, 36(10):1275-1280]

皮肤创面感染多由金黄葡萄球菌等病原体引发, 激活 Toll 样受体 (TLR)、核因子 (NF)- $\kappa$ B 通路, 释放促炎因子, 或致全身炎症, 严重感染可致组织坏死, 经血传播危及生命<sup>[1]</sup>。耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 (MRSA) 为多重耐药菌, 是院内感染的首因, 病死率高<sup>[2]</sup>。西医治疗软组织感染以局部处理、热敷为主, 脓肿则手术引流加抗生素, 但手术创伤大、恢复慢, 且抗生素滥用加剧耐药菌如 MRSA 问题, 影响疗效<sup>[3]</sup>。有研究发现, 中药治疗创面不增加细菌耐药性, 避免抗生素耐药循环, 为解决高耐药菌感染提供新途径<sup>[4]</sup>。黄连素源自黄连, 为天然抗菌剂, 亦称小檗碱<sup>[5]</sup>。本研究探索不同浓度黄连素液对小鼠 MRSA 感染皮肤修复的影响及机制, 现报道如下。

## 1 资料与方法

**1.1 实验动物** 60 只 SPF 级 9 周龄雄性 C57BL/6J 小鼠, 体质量 20 ~ 30 g, 平均 (25 $\pm$ 5)g, 购自上海南方模式生物科技股份有限公司, 实验动物生产许可: SCXK (沪) 2019-0002; 实验动物使用许可: SYXK (沪) 2023-0005。小鼠在动物房内进行适应性饲养 1 周, 室温 20 ~ 25  $^{\circ}$ C, 湿度 50% ~ 65%, 并在 12 h 光照和 12 h 黑暗的循环环境中自由取食和饮水。本研究动物实验在天津中医院大学实验动物中心完成, 获得天津中医院大学实验动物伦理委员会批准。

**1.2 实验菌株及药物** MRSA USA300 (北京百欧博伟生物技术有限公司)。黄连素液 (纯度  $\geq$  98%, 北京索莱宝科技有限公司); 莫匹罗星软膏 (河北九正药业有限公司, 规格: 5 g/支, 国药准字 H20183001)。

**1.3 试剂与仪器** 试剂: MRSA 显色培养基、MH 琼脂 (法国科玛嘉微生物技术有限公司); HE 染色试剂盒、白介素 6 (IL-6)、肿瘤坏死因子 (TNF- $\alpha$ ) 及基质金属蛋白酶 2 (MMP-2)、血管内皮生长因子 (VEGF) 酶联免疫吸附检测试剂盒 (上海酶联生物科技有限

公司); RT-qPCR 试剂盒、反转录试剂盒 (北京百奥莱博科技有限公司); 羊抗鼠 TLR2、转化生长因子- $\beta$  活化激酶结合蛋白 1 (TAB1)、NF- $\kappa$ B p65 抗体及  $\beta$ -actin 多克隆抗体 (武汉博士德生物技术有限公司); 蛋白提取试剂盒、蛋白 marker、SDS-Page 凝胶、PVDF 膜 (碧云天生物技术研究); ECL 化学发光试剂盒 (上海翌圣生物科技股份有限公司)。其他试剂均为分析纯 (国药集团化学试剂有限公司)。

**仪器:** Optima MAX-XP 台式超速离心机 (苏州贝克曼库尔特生物科技股份有限公司); SORVALL Strat-os 冷冻型高速台式离心机、MK3 酶标仪 (美国 Thermo Scientific 公司); 奥林巴斯 CX43 生物显微镜 (日本奥林巴斯株式会社); LightCycler 480 高通量实时荧光定量 PCR 仪 (美国罗氏公司); ChemIDOC XRS+ 凝胶成像分析系统 (美国 Bio-Rad 公司)。

## 1.4 方法

**1.4.1 细菌悬液制备** 取出 -80  $^{\circ}$ C 冰箱中的 MRSA 冻存管, 以无菌 1  $\mu$ l 接种环取菌种涂布于抗药性筛选平板上, 置于 37  $^{\circ}$ C 的培养箱中孵化 24 h。培养后, 用同一接种环收集 MRSA, 并将其溶解于无菌 PBS 制备 MRSA 菌悬液。

**1.4.2 动物模型建立与给药方法** 参照 Malachowa 等<sup>[6]</sup>的方法, 对小鼠进行模型制备。在小鼠背部近颈部、以脊柱为中心的 2 cm $\times$ 2 cm 区域内脱毛, 皮下注射 1 ml MRSA 菌悬液 (细菌浓度  $6 \times 10^8$  CFU/ml)。当脱毛区出现脓性感染灶时, 即判定建模成功。将建模成功的 50 只小鼠采用随机数字表法分为模型组、阳性对照组及黄连素液低、中、高剂量组, 每组 10 只。模型构建成功后次日开始给药, 给药前碘伏常规消毒创面。模型组给予 0.9% 氯化钠注射液外敷, 阳性对照组给予 0.5 g 莫匹罗星软膏外敷, 黄连素液低、中、高剂量组分别给予等量的 1.25%、2.5%、5% 黄连素液外敷。2 次/d, 连续给药 14 d。

**1.4.3 创面愈合率计算** 分别于给药第 3、7、14 天

计算各组小鼠创面愈合率,创面愈合率=(给药前创面面积-给药后创面面积)/给药前创面面积×100%。

1.4.4 创面菌落数测定 分别于给药第3、7、14天取小鼠创面组织,剪碎后与1 ml 无菌 PBS 混合,依次进行匀浆、离心、稀释处理,取 10 μl 菌液分别接种于 MH 血平板和 MRSA 显色平板上,于 35 °C 培养 48 h 后进行计数和拍照。

1.4.5 创面组织病理观察 给药结束后,将各组小鼠置入二氧化碳箱进行安乐死,分离创面组织,清洗后分装冻存管,并置于液氮中。取部分组织固定,进行乙醇脱水、透明、石蜡包埋,制备 6 μm 厚的连续切片。切片脱蜡、水化后进行 HE 染色,二甲苯透明,中性树胶封片,最后在光学显微镜下观察并记录组织病理变化。

1.4.6 创面组织炎症因子及血管生成因子检测 取部分液氮中冻存备用的各组小鼠创面组织,制备组织匀浆,并以 3 000 r/min 的转速离心 10 min,收集上清液,分别采用 ELISA 试剂盒于酶标仪波长 450 nm 处测定吸光度,计算 IL-6、TNF-α、MMP-2 和 VEGF 含量。实验操作严格按照试剂盒说明书进行。

1.4.7 RT-qPCR 检测创面组织各 mRNA 表达 取部分液氮中冻存备用的各组小鼠创面组织,采用 Trizol 法提取总 RNA,并进行反转录,合成 cDNA 后,利用 RT-qPCR 试剂盒在 PCR 仪上扩增,遵循试剂盒说明书设定反应条件和参数。以 β-actin 为内参,2<sup>-ΔΔCt</sup> 法计算 TLR2、TAB1、NF-κB p65 mRNA 相对表达量。引物序列由上海生工生物工程有限公司合成,引物序列见表 1。

1.4.8 Western blot 检测创面组织各蛋白表达 取液氮中冻存备用的剩余各组小鼠创面组织,剪碎后加入裂解液提取总蛋白,采用 BCA 蛋白试剂盒测定其浓度与纯度,电泳分离、转膜后,使用 5% 脱脂奶粉在室温下封闭 2 h。分别加入 TBST 稀释的羊抗鼠 TLR2(1:500)、TAB1(1:1500)、NF-κB p65(1:1000) 和 β-actin(1:2500) 一抗,4 °C 孵育过夜后加入 HRP

标记的羊抗鼠二抗(1:1000),室温下继续孵育 2 h, TBST 洗膜 3 次, ECL 显色、显影,以目标蛋白条带灰度与内参条带灰度比值计算各蛋白相对表达量。

1.5 统计方法 采用 SPSS 26.0 统计软件进行分析,计量资料以均数±标准差表示,多组比较采用单因素方差或重复测量方差分析,组间两两比较采用 LSD-*t* 检验。*P* < 0.05 表示差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 造模成功率 本实验用于造模的小鼠共 60 只,最终只有 50 只造模成功,造模成功率 83.33%。

2.2 各组小鼠创面愈合率比较 给药第 3、7、14 天,各治疗组小鼠创面愈合率均高于模型组(均 *P* < 0.05),其中,低、中剂量组愈合率均低于阳性对照组(均 *P* < 0.05),而高剂量组与阳性对照组差异无统计学意义(*P* > 0.05)。随黄连素剂量增加,创面愈合率逐渐提升(*P* < 0.05),见表 2 及图 1。

2.3 各组小鼠创面菌落数比较 随给药时间延长,模型组小鼠创面菌落数递增,其他组递减(均 *P* < 0.05);各治疗组菌落数均低于模型组(均 *P* < 0.05),但低、中剂量组均高于阳性对照组(均 *P* < 0.05);高剂量组与阳性对照组菌落数差异无统计学意义(*P* > 0.05)。随黄连素剂量增加,菌落数逐渐减少(*P* < 0.05),见表 3。

2.4 各组小鼠创面组织病理变化 模型组淋巴细胞、中性粒细胞丰富,肉芽增生显著;阳性对照组中性粒细胞少;低剂量组肉芽轻度增生,炎细胞轻度浸润;中剂量组无肉芽增生,炎细胞少量;高剂量组仅见少量中性粒细胞,见图 2。

2.5 各组小鼠创面组织炎症因子及血管生成因子比较 随黄连素剂量增加,IL-6、TNF-α、MMP-2 水平下降,VEGF 水平上升(均 *P* < 0.05);各治疗组小鼠创面 IL-6、TNF-α、MMP-2 水平均低于模型组,VEGF 水平高于模型组(*P* < 0.05);其中,低、中剂量组 IL-6、TNF-α、MMP-2 高于阳性对照组,VEGF 低

表 1 各引物序列及长度

引物	上游序列	下游序列	引物长度(bp)
TLR2	5'-CTCTTCAGCAAACGCTGTTCT-3'	5'-GGCGTCTCCCTCTATTGTATTG-3'	492
TAB1	5'-TCCAACCGCAGCTACTCTG-3'	5'-CCCTACAGGAAGCAGTTATTTT-3'	368
NF-κB p65	5'-TCTTCGACTACCGCGTTACGG-3'	5'-CTCACGAGCTGAGCATGAAGG-3'	133
β-actin	5'-GGAGATTACTGCCCTGGCTCCTA-3'	5'-GACTCATCGTACTCCTGCTTGCTG-3'	207

表 2 各组小鼠创面愈合率比较

组别	只数	第 3 天	第 7 天	第 14 天	F 值	P 值
模型组	10	7.15±1.82	10.23±2.52 <sup>c</sup>	24.48±3.37 <sup>ef</sup>	122.00	< 0.05
阳性对照组	10	12.56±2.48 <sup>a</sup>	20.69±3.15 <sup>ac</sup>	37.36±4.52 <sup>def</sup>	131.36	< 0.05
低剂量组	10	8.63±1.02 <sup>ab</sup>	13.37±1.16 <sup>abc</sup>	28.24±2.06 <sup>abef</sup>	473.74	< 0.05
中剂量组	10	10.26±1.37 <sup>abc</sup>	16.18±1.65 <sup>abcc</sup>	31.25±3.24 <sup>abccf</sup>	232.74	< 0.05
高剂量组	10	12.14±2.19 <sup>acd</sup>	19.89±2.61 <sup>acdc</sup>	36.67±3.68 <sup>acdef</sup>	187.54	< 0.05
F 值		15.35	35.61	25.17		
P 值		< 0.05	< 0.05	< 0.05		

注:与模型组比较, aP < 0.05; 与阳性对照组比较, bP < 0.05; 与低剂量组比较, cP < 0.05; 与中剂量组比较, dP < 0.05; 与本组第 3 天比较, eP < 0.05; 与本组第 7 天比较, fP < 0.05。

于阳性对照组(P < 0.05), 见表 4。

2.6 各组小鼠创面组织 TLR2、TAB1、NF-κB p65 mRNA 相对表达量比较 各治疗组小鼠创面 TLR2、TAB1、NF-κB p65 mRNA 表达均低于模型组(均 P < 0.05), 低、中剂量组表达均高于阳性对照组(均 P < 0.05), 随黄连素剂量增加, mRNA 表达逐渐降低(均 P < 0.05), 见表 5。

2.7 各组小鼠创面组织 TLR2、TAB1、NF-κB p65 蛋白相对表达量比较 各治疗组小鼠创面 TLR2、TAB1、NF-κB 蛋白表达均低于模型组(均 P < 0.05), 低、中剂量组各蛋白表达均高于阳性对照组(均 P < 0.05), 随黄连素剂量增加, 蛋白表达逐渐降低(均 P < 0.05), 见表 6。

### 3 讨论

临床常用的中药黄连, 具有显著抑制包括金黄色葡萄球菌在内的多种微生物的效果, 其主要活性成分为黄连素等生物碱, 后者具备多重药理作用<sup>[7]</sup>。有研究表明, 黄连素具有广谱抗菌能力, 且其抗菌强度随药物浓度增加而增强<sup>[8]</sup>。本研究通过制作 MRSA 感染小鼠皮肤创面模型, 发现黄连素液在低、中、高剂量下均能提升小鼠的创面愈合率, 减少创面 MRSA 菌落数量, 且此效果与剂量呈正相关。

影响创面愈合的因素主要分为两类: 炎症期间免疫细胞的异常活动导致创面长期炎症, 以及营养不足或蛋白酶异常激活引起的生长因子缺失, 限制成纤维细胞和表皮细胞的增殖, 最终导致伤口不愈合<sup>[9]</sup>。有研究发现, 在严重创伤或细菌感染后, 机体通过 TLR/NF-κB 通路产生免疫应答和炎症反应, 此时, 大量 TNF-α 释放, 并与 TLR 结合, 激活肿瘤坏死因子受体相关因子 6 (TRAF6), 进而降解 IκB, 释放



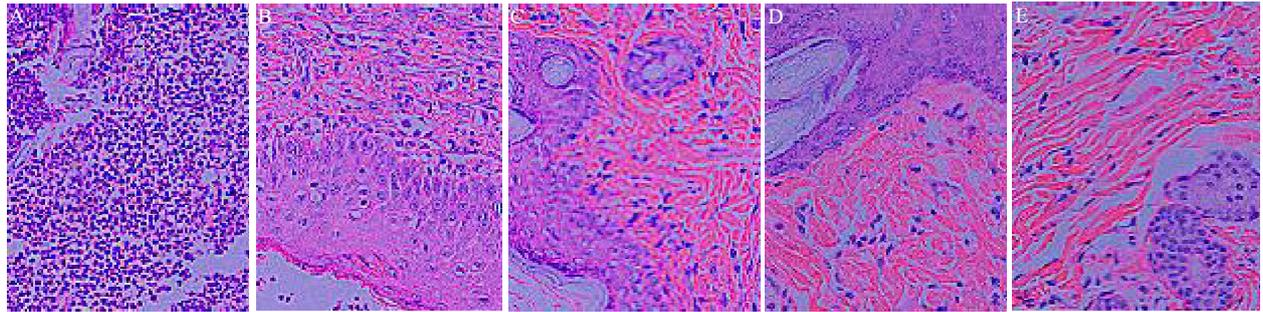
图 1 小鼠创面愈合面积的典型图

NF-κB 进入细胞核, 诱导炎症基因表达, 而活化的 NF-κB 促进 TNF-α、IL-6 等细胞因子的转录, 增加其产生和释放, 形成正反馈循环, 引发炎症级联反应, 导致炎症持续存在, 进而阻碍创面愈合<sup>[10-11]</sup>。本研究

表3 各组小鼠创面菌落数比较

组别	只数	第3天	第7天	第14天	F值	P值
模型组	10	10.83±1.68	12.86±1.32 <sup>e</sup>	15.34±1.65 <sup>ef</sup>	21.00	< 0.05
阳性对照组	10	7.11±0.83 <sup>a</sup>	5.49±0.65 <sup>ac</sup>	4.10±0.52 <sup>acf</sup>	49.27	< 0.05
低剂量组	10	9.22±1.01 <sup>ab</sup>	6.95±0.77 <sup>abc</sup>	5.28±0.46 <sup>abef</sup>	64.30	< 0.05
中剂量组	10	8.26±0.78 <sup>abc</sup>	6.18±0.72 <sup>abcc</sup>	4.66±0.54 <sup>abccf</sup>	69.08	< 0.05
高剂量组	10	7.15±0.65 <sup>acd</sup>	5.51±0.62 <sup>acde</sup>	4.11±0.38 <sup>acdef</sup>	73.01	< 0.05
F值		21.93	132.23	323.77		
P值		< 0.05	< 0.05	< 0.05		

注:与模型组比较, aP < 0.05; 与阳性对照组比较, bP < 0.05; 与低剂量组比较, cP < 0.05; 与中剂量组比较, dP < 0.05; 与本组第3天比较, eP < 0.05; 与本组第7天比较, fP < 0.05



注:A为模型组,B为阳性对照组,C为低剂量组,D为中剂量组,E为高剂量组

图2 各组小鼠创面组织病理图(HE染色,×200)

表4 各组小鼠创面组织炎症因子及血管生成因子比较

组别	只数	IL-6(pg/ml)	TNF-α(pg/ml)	MMP-2(ng/ml)	VEGF(ng/ml)
模型组	10	125.56±15.43	101.56±12.82	30.59±3.42	20.26±2.29
阳性对照组	10	80.38±9.12 <sup>a</sup>	61.25±7.48 <sup>a</sup>	16.78±1.75 <sup>a</sup>	35.89±4.42 <sup>a</sup>
低剂量组	10	112.24±13.67 <sup>ab</sup>	88.84±9.97 <sup>ab</sup>	27.11±2.89 <sup>ab</sup>	23.49±2.58 <sup>ab</sup>
中剂量组	10	101.37±11.62 <sup>abc</sup>	72.69±8.46 <sup>abc</sup>	23.39±3.05 <sup>abc</sup>	28.84±3.15 <sup>ac</sup>
高剂量组	10	82.29±9.96 <sup>acd</sup>	63.37±7.19 <sup>acd</sup>	17.26±1.82 <sup>acd</sup>	33.97±3.86 <sup>acd</sup>
F值		25.31	33.70	51.18	39.47
P值		< 0.05	< 0.05	< 0.05	< 0.05

注:与模型组比较, aP < 0.05; 与阳性对照组比较, bP < 0.05; 与低剂量组比较, cP < 0.05; 与中剂量组比较, dP < 0.05; IL-6为白介素6, TNF-α为肿瘤坏死因子, MMP-2为基质金属蛋白酶2, VEGF为血管内皮生长因子

表5 各组小鼠创面组织 TLR2、TAB1、

NF-κB p65 mRNA 相对表达量比较

组别	只数	TLR2	TAB1	NF-κB
模型组	10	1.71±0.18	1.52±0.16	1.50±0.17
阳性对照组	10	1.29±0.15 <sup>a</sup>	1.15±0.13 <sup>a</sup>	1.18±0.13 <sup>a</sup>
低剂量组	10	1.62±0.17 <sup>ab</sup>	1.45±0.16 <sup>ab</sup>	1.41±0.16 <sup>ab</sup>
中剂量组	10	1.51±0.16 <sup>abc</sup>	1.33±0.15 <sup>abc</sup>	1.32±0.15 <sup>abc</sup>
高剂量组	10	1.30±0.14 <sup>acd</sup>	1.16±0.12 <sup>acd</sup>	1.20±0.15 <sup>acd</sup>
F值		13.73	13.67	8.00
P值		< 0.05	< 0.05	< 0.05

注:与模型组比较, aP < 0.05; 与阳性对照组比较, bP < 0.05; 与低剂量组比较, cP < 0.05; 与中剂量组比较, dP < 0.05; TLR2为Toll样受体2, TAB1为转化生长因子-β活化激酶结合蛋白1, NF-κB为核因子-κB

结果显示,在黄连素液作用下,可减少小鼠MRSA感染创面组织的IL-6和TNF-α水平,效果与剂量相关,证实了其抗炎作用。HE染色结果进一步验证了这一发现。此外,黄连素液还可降低MMP-2水平,提

表6 各组小鼠创面组织 TLR2、TAB1、

NF-κB p65 蛋白相对表达量比较

组别	只数	TLR2	TAB1	NF-κB
模型组	10	0.94±0.13	0.70±0.10	0.98±0.12
阳性对照组	10	0.53±0.08 <sup>a</sup>	0.48±0.06 <sup>a</sup>	0.59±0.09 <sup>a</sup>
低剂量组	10	0.81±0.10 <sup>ab</sup>	0.62±0.09 <sup>ab</sup>	0.90±0.10 <sup>ab</sup>
中剂量组	10	0.63±0.08 <sup>abc</sup>	0.56±0.07 <sup>abc</sup>	0.67±0.09 <sup>abc</sup>
高剂量组	10	0.52±0.09 <sup>acd</sup>	0.49±0.08 <sup>acd</sup>	0.58±0.08 <sup>acd</sup>
F值		35.28	12.88	36.20
P值		< 0.05	< 0.05	< 0.05

注:与模型组比较, aP < 0.05; 与阳性对照组比较, bP < 0.05; 与低剂量组比较, cP < 0.05; 与中剂量组比较, dP < 0.05; TLR2为Toll样受体2, TAB1为转化生长因子-β活化激酶结合蛋白1, NF-κB为核因子-κB

高VEGF水平,这些作用同样随剂量增加而增强,有助于促进创面修复。

在天然免疫系统中,TLR2和TLR4是主要针对细菌感染发挥核心作用的TLRs家族成员。TLR2

主要识别革兰阳性细菌脂蛋白的受体,与 TLR1 或 TLR6 形成异二聚体,以识别葡萄球菌细胞膜上的脂蛋白等物质<sup>[12]</sup>。与 TAK1 的 N 端激酶结构域相关联的关键接头蛋白 TAB1,有助于 TAK1 的持续激活<sup>[13]</sup>。在病原体刺激下,TLR2 招募 MD-2,触发细胞内信号传递链,TAK1 与 TAB1 结合激活 I $\kappa$ B 激酶,进而导致 NF- $\kappa$ B 转位并促进炎症因子的释放<sup>[14]</sup>。Kim 等<sup>[15]</sup>研究发现,TLR2 缺失的巨噬细胞对金黄色葡萄球菌肽聚糖的反应受损,在一定程度上增加宿主对葡萄球菌的易感性。本研究结果显示,与模型组比较,黄连素液低、中、高剂量组小鼠创面组织 TLR2、TAB1、NF- $\kappa$ B p65 mRNA 及其蛋白相对表达量均降低;这提示黄连素液可通过抑制 TLR2/NF- $\kappa$ B 信号通路激活减轻 MRSA 感染皮肤创面组织炎症,进而促进创面愈合。本研究通过揭示黄连素液对 NF- $\kappa$ B 信号通路的调控作用,进一步证实了其在细菌感染皮肤创面修复中的潜力。这一发现为临床上治疗复杂、难愈的皮肤感染提供了新的选择,尤其是对于那些对传统抗生素产生耐药性的感染,如 MRSA 感染,黄连素可能成为一种有效的替代治疗方案。

**利益冲突** 所有作者声明无利益冲突

**作者贡献声明** 钱英明:实验指导、论文撰写、经费支持;徐进:数据整理、统计学分析;黄李明:实验操作;陈靓:实验记录

## 参 考 文 献

- [1] YANG X, MA W, LIN H, et al. Molecular mechanisms of the antibacterial activity of polyimide fibers in a skin-wound model with Gram-positive and Gram-negative bacterial infection in vivo[J]. *Nanoscale Adv*, 2022, 4(14): 3043-3053.
- [2] RADDAOUI A, CHEBBI Y, BOUCHAMI O, et al. Dissemination of epidemic ST239/ST241-t037-agrI-SCCmecIII methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a Tunisian trauma burn intensive care unit[J]. *Acta Microbiol Immunol Hung*, 2023, 70(1): 52-60.
- [3] GU F, HE W, ZHU D, et al. A 10-year retrospective study of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from burn wound infection in southeast China from 2013 to 2022[J]. *Front Microbiol*, 2023, 14: 1301744.
- [4] SAMI AWAYID H, QASSIM MOHAMMAD S. Prevalence and antibiotic resistance pattern of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from Iraqi hospitals[J]. *Arch Razi Inst*, 2022, 77(3): 1147-1156.
- [5] YANG W, CUI K, TONG Q, et al. Traditional Chinese medicine tanreqing targets both cell division and virulence in *Staphylococcus aureus*[J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2022, 12: 884045.
- [6] MALACHOWA N, KOBAYASHI S D, LOVAGLIO J, et al. Mouse model of *Staphylococcus aureus* skin infection[J]. *Methods Mol Biol*, 2019, 1960: 139-147.
- [7] GASMI A, ASGHAR F, ZAFAR S, et al. Berberine: Pharmacological features in health, disease and aging[J]. *Curr Med Chem*, 2024, 31(10): 1214-1234.
- [8] XIA S, MA L, WANG G, et al. In vitro antimicrobial activity and the mechanism of berberine against Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from bloodstream infection patients[J]. *Infect Drug Resist*, 2022, 15: 1933-1944.
- [9] AL-MASAWA M E, ALSHAWSH M A, NG C Y, et al. Efficacy and safety of small extracellular vesicle interventions in wound healing and skin regeneration: A systematic review and meta-analysis of animal studies[J]. *Theranostics*, 2022, 12(15): 6455-6508.
- [10] EL-EMAM M M A, EL-DEMERDASH A S, ABDO S A, et al. The ameliorative role of Aloe vera-loaded chitosan nanoparticles on *Staphylococcus aureus* induced acute lung injury: Targeting TLR/NF- $\kappa$ B signaling pathways[J]. *Open Vet J*, 2024, 14(1): 416-427.
- [11] ZHOU Q, ZHANG L, LIN Q, et al. Pseudorabies virus infection activates the TLR-NF- $\kappa$ B axis and AIM2 inflammasome to enhance inflammatory responses in mice[J]. *J Virol*, 2023, 97(3): e0000323.
- [12] HU Z, KOPPARAPU P K, DESHMUKH M, et al. The impact of a ging and toll-like receptor 2 deficiency on the clinical outcomes of *Staphylococcus aureus* bacteremia[J]. *J Infect Dis*, 2023, 228(3): 332-342.
- [13] CHEN M, YU S, GAO Y, et al. TRAF6-TAK1-IKK $\beta$  pathway mediates TLR2 agonists activating "one-step" NLRP3 inflammasome in human monocytes[J]. *Cytokine*, 2023, 169: 156302.
- [14] WANG X, PENG Z, WANG L, et al. Cordyceps militaris solid medium extract alleviates lipoteichoic acid-induced MH-S inflammation by inhibiting TLR2/NF- $\kappa$ B/NLRP3 pathways[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(21): 15519.
- [15] KIM N H, SUNG J Y, CHOI Y J, et al. Toll-like receptor 2 downregulation and cytokine dysregulation predict mortality in patients with *Staphylococcus aureus* bacteremia[J]. *BMC Infect Dis*, 2020, 20(1): 901.

收稿日期:2024-07-09

(本文编辑:陈志翔)