

· 论 著 ·

红景天苷抑制腺泡细胞焦亡减轻大鼠急性胰腺炎的机制研究

刘 焯¹, 张 韬², 李 莉¹, 朱芳丽¹, 张晓云³, 张利利^{1*}

(1.河北省秦皇岛市第一医院消化内科,河北 秦皇岛 066000;2.北京大学第三医院秦皇岛医院运动医学科,河北 秦皇岛 066001;3.河北中医药大学中西医结合学院,河北 石家庄 050091)

[摘要] 目的 探讨红景天苷对急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)大鼠的治疗作用及其潜在机制。方法 将30只Wistar大鼠随机分为对照组、AP组和AP+红景天苷组,每组10只。AP组与AP+红景天苷组通过胆胰管逆行注射2%牛磺胆酸钠建立AP模型。AP+红景天苷组在造模后立即腹腔注射红景天苷溶液(4.0 mg/kg),2次/d,对照组及AP组注射等体积生理盐水。造模24 h后,采集血液,处死大鼠,收集胰腺组织。采用酶联免疫吸附试验(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)检测血清中淀粉酶(amyase, AMY)、白细胞介素1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)和白细胞介素18(interleukin-18, IL-18)水平;苏木素-伊红(hematoxlin-eosin, HE)染色观察胰腺组织病理学改变;免疫荧光与Western blot检测焦亡相关蛋白、沉默信息调节因子1(silent information regulator 1, SIRT1)和核因子红细胞2相关因子2(nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Nrf2)表达水平。采用牛磺胆酸3-硫酸盐(taurolithocholic acid 3-sulfate, TLC-S)处理大鼠胰腺腺泡细胞AR42J,构建AP体外模型,以进一步探讨红景天苷的作用机制。采用Western blot检测AR42J细胞中焦亡相关蛋白、SIRT1及Nrf2的表达水平;使用LDH试剂盒评估AR42J细胞中LDH释放情况。使用SIRT1/Nrf2通路抑制剂EX527进行挽救实验。结果 与对照组相比,AP组大鼠血清中AMY、IL-1 β 和IL-18水平显著增加,胰腺组织出现大量炎性细胞浸润,可见片状坏死及出血现象,胰腺组织中焦亡相关的蛋白表达显著增加,SIRT1与Nrf2的蛋白表达水平明显降低($P < 0.05$);与AP组相比,AP+红景天苷组大鼠血清中AMY、IL-1 β 和IL-18水平显著降低,并减轻胰腺组织的病理损伤。胰腺组织中焦亡相关蛋白的表达水平显著降低,SIRT1与Nrf2的表达显著增加($P < 0.05$)。体外实验结果显示,与TLC-S组相比,红景天苷显著降低AR42J细胞中焦亡相关蛋白的表达,增加SIRT1和Nrf2的表达,并减少LDH的释放($P < 0.05$)。挽救实验结果表明,SIRT1/Nrf2通路抑制剂EX527可显著逆转红景天苷对AR42J细胞焦亡的抑制作用($P < 0.05$)。结论 红景天苷可通过激活SIRT1/Nrf2信号通路,抑制胰腺腺泡细胞焦亡,从而减轻AP病理损伤。

[关键词] 胰腺炎;红景天苷;腺泡细胞;细胞焦亡 doi:10.3969/j.issn.1007-3205.2025.10.008

[中图分类号] R576 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1007-3205(2025)10-1168-09

Mechanisms of salidroside in inhibiting acinar cell pyroptosis and alleviating acute pancreatitis in rats

LIU Ye¹, ZHANG Tao², LI Li¹, ZHU Fang-li¹, ZHANG Xiao-yun³, ZHANG Li-li^{1*}

(1. Department of Gastroenterology, the First Hospital of Qinhuangdao City, Hebei Province, Qinhuangdao 066000 China; 2. Department of Sports Medicine, Qinhuangdao Hospital of Peking University Third Hospital, Hebei Province, Qinhuangdao 066001, China; 3. College of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Hebei University of Chinese Medicine, Shijiazhuang 050091, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the therapeutic effect of salidroside on acute

[收稿日期]2025-05-28

[基金项目]秦皇岛市科学技术研究与发展计划(202101A080)

[作者简介]刘焯(1989-),女,河北石家庄人,河北省秦皇岛市

第一医院主治医师,医学硕士,从事消化内科疾病诊治研究。

* 通信作者。E-mail:zhangll0059@163.com

pancreatitis (AP) in rats and its potential mechanisms. **Methods** Thirty Wistar rats were randomly divided into control group, AP group, and AP+salidroside group, with 10 rats in each group. The AP model was established in the AP group and AP+salidroside group by retrograde injection of 2% sodium taurocholate into the bile and pancreatic duct. Rats in the AP+salidroside group received intraperitoneal injection of salidroside solution (4.0 mg/kg) immediately after modeling twice daily, while those in the control and AP groups were injected with an equal volume of normal saline. At 24 h after modeling, blood samples were collected, rats were sacrificed, and pancreatic tissues were harvested. Serum levels of amylase (AMY), interleukin-1 β (IL-1 β), and interleukin-18 (IL-18) were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Histopathological changes of the pancreas were observed by hematoxylin-eosin (HE) staining. Expression levels of pyroptosis-related proteins, silent information regulator 1 (SIRT1), and nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2) were detected by immunofluorescence and Western blot. An *in vitro* AP model was constructed by treating rat pancreatic acinar AR42J cells with taurochenodeoxycholic acid 3-sulfate (TLC-S) to further explore the mechanism of salidroside. Western blot was used to detect the expression levels of pyroptosis-related proteins, SIRT1, and Nrf2 in AR42J cells, while LDH release was assessed using an LDH assay kit. Rescue experiments were performed using the SIRT1/Nrf2 pathway inhibitor EX527. **Results** Compared with the control group, serum levels of AMY, IL-1 β , and IL-18 were significantly increased in the AP group, accompanied by extensive inflammatory cell infiltration, patchy necrosis, and hemorrhage in pancreatic tissues. The expression of pyroptosis-related proteins was markedly upregulated, while SIRT1 in pancreatic tissues and Nrf2 expression was significantly downregulated ($P < 0.05$). Compared with the AP group, the AP + salidroside group showed significantly decreased serum AMY, IL-1 β , and IL-18 levels, with alleviated pancreatic pathological injury. Expression of pyroptosis-related proteins in pancreatic tissues was significantly reduced, while SIRT1 and Nrf2 expression was markedly increased ($P < 0.05$). *In vitro* experiments demonstrated that, compared with the TLC-S group, salidroside significantly decreased the expression of pyroptosis-related proteins, upregulated SIRT1 and Nrf2 expression, and reduced LDH release in AR42J cells ($P < 0.05$). Rescue experiments revealed that the SIRT1/Nrf2 pathway inhibitor EX527 significantly reversed the inhibitory effect of salidroside on AR42J cell pyroptosis ($P < 0.05$). **Conclusion** Salidroside attenuates pathological injury in AP by activating the SIRT1/Nrf2 signaling pathway and inhibiting acinar cell pyroptosis.

[Key words] pancreatitis; salidroside; acinar cells; pyroptosis

急性胰腺炎 (acute pancreatitis, AP) 是一种以胰腺水肿、出血及坏死为主要特征的炎症性疾病,临床上表现为突发性持续腹痛,常伴有恶心、呕吐、发热及腹胀等症状^[1]。作为消化系统中常见的疾病之一,AP在全球范围内的发病率为 13~45/10 万^[2]。多数患者病情较轻,可在短期内恢复,但约 20% 的患者可进展为重症急性胰腺炎 (severe acute pancreatitis, SAP),继而引发全身炎症反应综合征、多器官功能障碍,甚至危及生命^[3]。尽管近年来 AP 的治疗策略不断发展,但由于其发病机制复杂,临床治疗效果仍不理想^[4]。腺泡细胞损伤及炎症级联反应是 AP 的重要病理学特征^[5]。焦亡是由

gasdermins(一个成孔蛋白家族)执行的程序性坏死细胞死亡^[6]。该过程通常由病原体感染或细胞内促炎因子的激活触发,继而引发炎性小体形成、半胱天冬酶活化,最终导致细胞膜破裂及细胞内容物释放^[7]。已有研究^[8]证实,焦亡在 AP 的发生发展中发挥关键作用,抑制腺泡细胞焦亡可显著减轻病情。然而,目前关于调控腺泡细胞焦亡的分子机制仍不明确。红景天苷是从中药红景天中提取到的主要活性成分之一,具有多种药理学作用^[9]。近年来研究^[10]表明,红景天苷在调控炎症反应及细胞焦亡过程中具有重要作用。例如,其可通过抑制 NOD 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3(NOD-like receptor

family pyrin domain containing 3, NLRP3) 炎性小体介导的焦亡通路, 改善自闭症大鼠的神经炎症从而发挥神经保护作用^[11]。在糖尿病患者中, 红景天苷能保护胰腺 β 细胞并抑制 NLRP3 相关的细胞焦亡^[12]。然而, 红景天苷是否可通过调控腺泡细胞焦亡途径发挥缓解 AP 的作用, 目前尚缺乏相关研究报道。因此, 本研究旨在探讨红景天苷对 AP 的潜在干预作用及其可能的分子机制, 以期为其临床应用提供理论依据与实验支持。报告如下。

1 材料与方 法

1.1 细胞与动物 大鼠胰腺腺泡细胞 AR42J 购自中国科学院细胞库。30 只 SPF 级雄性 Wistar 大鼠 [8 周龄, (250±30) g], 由河北子楨生物科技有限公司提供, 许可证号: SCXK(冀)2025-001。动物饲养环境为 12 h 光/暗交替循环, 给予自由摄食及饮水。

1.2 主要药品与试剂 红景天苷(纯度 $\geq 98\%$)购自于上海阿拉丁公司; 牛胆黄酸钠购自于上海源叶生物科技有限公司; HE 染色试剂盒购自于上海碧云天生物技术有限公司; 大鼠酶联免疫吸附试验 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 检测试剂盒购自于美国 MyBioSource 公司; 罗斯威尔帕克纪念研究所-1640 (Roswell Park Memorial Institute-1640, RPMI-1640) 培养基和胎牛血清购自美国 Gibco 公司; 牛磺酸石胆酸 3-硫酸盐 (aurothiocholic acid 3-sulfate, TLC-S) 购自于美国 Sigma 公司; LDH 试剂盒购自于美国 Promega 公司; NLRP3、消皮素 D (Gasdermin D, GSDMD)、消皮素 D-N 端片段 (Gasdermin D, N-terminal fragment, GSDMD-N)、半胱天冬酶 1 (cysteiny l aspartate specific proteinase-1, caspase-1)、前体半胱天冬酶 1 (pro-cysteiny l aspartate specific proteinase-1, pro-caspase-1)、沉默信息调节因子 1 (silent information regulator 1, SIRT1) 和核因子红 细胞 2 相关因子 2 (nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Nrf2) 兔抗一抗及羊抗兔二抗均购自美国 Abcam 公司。

1.3 方 法

1.3.1 动物分组及给药方式 将 30 只 Wistar 大鼠随机分为对照组、AP 组及 AP+红景天苷组, 每组 10 只。AP 组与 AP+红景天苷组大鼠通过胆胰管逆行注射 2% 牛磺胆酸钠建立 AP 模型^[13]。对照组大鼠接受相同的手术操作但改为注射生理盐水。建模完成后, AP+红景天苷组大鼠立即腹腔注射红景

天苷溶液 (4.0 mg/kg), 2 次/d; 对照组与 AP 组则腹腔注射等体积生理盐水。术后 24 h 后, 所有大鼠进行麻醉, 经右心室穿刺采集血液后处死, 随后收集胰腺组织。

1.3.2 大鼠血清淀粉酶 (amylase, AMY) 及白细胞介素 1 β (interleukin-1 β , IL-1 β) 和白细胞介素 18 (interleukin-18, IL-18) 水平检测 将采集的血液于室温静置 30 min, 随后以 3 000 r/min 离心 10 min, 分离血清。收集上清液后, 采用大鼠胰淀粉酶 ELISA 试剂盒测定血清中 AMY 水平, 大鼠 IL-1 β 和 IL-18 ELISA 试剂盒检测大鼠血清中 IL-1 β 和 IL-18 水平, 根据试剂盒说明书操作。

1.3.3 大鼠胰腺组织 HE 染色 将大鼠胰腺组织包埋于石蜡中, 并切成 3 μ m 厚的切片。切片经脱蜡、水化后, 按照 HE 染色试剂盒说明书进行 HE 染色。染色完成后, 在光学显微镜下观察组织形态并拍照记录。

1.3.4 免疫荧光 胰腺组织切片脱蜡后进行抗原修复, 并用磷酸盐缓冲盐水 (phosphate-buffered saline, PBS) 清洗 3 次, 每次 5 min。随后进行血清封闭处理, 加入 GSDMD、SIRT1 和 Nrf2 一抗, 在 4 $^{\circ}$ C 条件下孵育过夜。次日, PBS 清洗 3 次, 每次 5 min, 接着加入稀释后的荧光标记二抗, 在室温下孵育 50 min。再次以 PBS 清洗 3 次。随后使用 4', 6-二脒基-2-苯基吲哚 (4', 6-diamidino-2-phenylindole, DAPI) 对细胞核进行染色, 滴加抗荧光淬灭剂并用盖玻片封片。最终在荧光显微镜下观察切片染色结果并拍照记录。

1.3.5 细胞培养及药物处理 AR42J 细胞接种于含 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养基中, 置于 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 培养箱中培养。药物处理前, 将处于对数生长期的细胞按 1×10^5 个/mL 的密度接种于 96 孔板中, 培养 48 h 后分为 4 组: 对照组、TLC-S 组、TLC-S+红景天苷组及 TLC-S+红景天苷+EX527 组 (SIRT1/Nrf2 通路抑制剂干预)。对照组细胞继续培养 24 h; TLC-S 组细胞用 200 μ mol/L TLC-S 处理 20 min 后更换培养基, 继续孵育 24 h; TLC-S+红景天苷组细胞经 200 μ mol/L TLC-S 处理 20 min、更换培养基后, 加入 666 μ mol/L 红景天苷处理 24 h; TLC-S+红景天苷+EX527 组在更换培养基后, 同时加入 666 μ mol/L 红景天苷与 20 μ mol/L EX527 处理 24 h。

1.3.6 Western blot 检测蛋白表达 实验结束后, 采用含有苯甲基磺酰氟 (phenylmethylsulfonyl fluoride, PMSF) 的放射性免疫沉淀分析裂解缓冲液

(radioimmunoprecipitation assay lysis buffer, RIPA)提取大鼠胰腺组织及 AR42J 细胞的总蛋白。经二喹啉甲酸检测法 (bicinchoninic acid assay, BCA)法测定蛋白浓度后,等量蛋白经十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)电泳分离后转移至聚偏二氟乙烯 (Polyvinylidene fluoride, PVDF)膜上。用脱脂牛奶封膜后,加入稀释的一抗,在 4 °C 条件下孵育过夜。次日洗膜后,加入相应的二抗,在室温下孵育 2 h。随后将膜置于增强化学发光 (enhanced chemiluminescence, ECL)发光液中显色,使用化学发光成像系统检测蛋白条带。采用 Image J 软件对蛋白条带灰度值进行定量分析。

1.4 统计学方法 应用 GraphPad Prism 9.0 统计

表 1 各组大鼠 AMY、IL-1 β 、IL-18 水平

Table 1 Levels of AMY, IL-1 β and IL-18 in rats in each group

($n=10, \bar{x} \pm s$)

| 组别 | AMY(U/L) | IL-1 β (ng/L) | IL-18(ng/L) |
|----------|-------------------------|---------------------|----------------------|
| 对照组 | 41.48 \pm 13.95 | 58.38 \pm 9.90 | 100.60 \pm 4.73 |
| AP 组 | 3 265.00 \pm 245.00* | 172.60 \pm 13.10* | 739.30 \pm 50.52* |
| AP+红景天苷组 | 1 699.00 \pm 200.10*# | 92.08 \pm 10.69*# | 433.90 \pm 36.37*# |
| F 值 | 466.493 | 161.515 | 471.345 |
| P 值 | <0.001 | <0.001 | <0.001 |

* P 值<0.05 与对照组比较 # P 值<0.05 与 AP 组比较(SNK- q 检验)

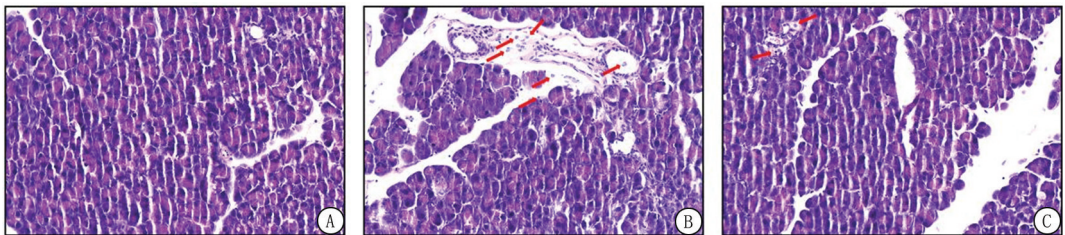


图 1 各组大鼠胰腺组织结构形态(HE \times 100)

A.对照组;B.AP 组;C.AP+红景天苷组

Figure 1 Morphology of pancreatic tissue of rats in each group(HE \times 100)

2.2 红景天苷降低大鼠胰腺组织焦亡水平 免疫荧光结果显示,与对照组相比,AP 组大鼠胰腺组织中 GSDMD 的荧光信号强度显著增强;而与 AP 组相比,AP+红景天苷组中 GSDMD 的荧光信号强度则明显减弱,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 2、图 2。Western blot 结果显示,与对照组相比,AP 组大鼠胰腺组织中 NLRP3 的表达水平、GSDMD-N/GSDMD 及 caspase-1/pro-caspase-1 的比值显著升高;与 AP 组相比,AP+红景天苷组中 NLRP3 的表达水平、GSDMD-N/GSDMD 及 caspase-1/pro-caspase-1 的比值则明显降低,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 3、图 3。

软件分析数据。计量资料比较采用单因素方差分析和 SNK- q 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 红景天苷改善大鼠 AP 的严重程度 与对照组相比,AP 组大鼠血清中 AMY、IL-1 β 和 IL-18 水平显著升高;与 AP 组相比,AP+红景天苷组中 AMY、IL-1 β 和 IL-18 水平则明显降低,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。HE 染色结果显示,与对照组相比,AP 组胰腺组织腺泡细胞间隙显著增宽,细胞排列紊乱,伴有大量炎性细胞浸润,可见片状坏死;而与 AP 组相比,AP+红景天苷组胰腺组织水肿程度减轻,炎性细胞浸润减少,腺泡细胞坏死明显改善(图 1)。

表 2 各组大鼠胰腺组织 GSDMD 荧光强度

Table 2 GSDMD fluorescence intensity in pancreatic tissue of rats in each group

($n=10, \bar{x} \pm s$)

| 组别 | GSDMD |
|----------|-------------------|
| 对照组 | 3.76 \pm 1.23 |
| AP 组 | 14.02 \pm 0.92* |
| AP+红景天苷组 | 7.76 \pm 0.74*# |
| F 值 | 137.727 |
| P 值 | <0.001 |

* P 值<0.05 与对照组比较 # P 值<0.05 与 AP 组比较(SNK- q 检验)

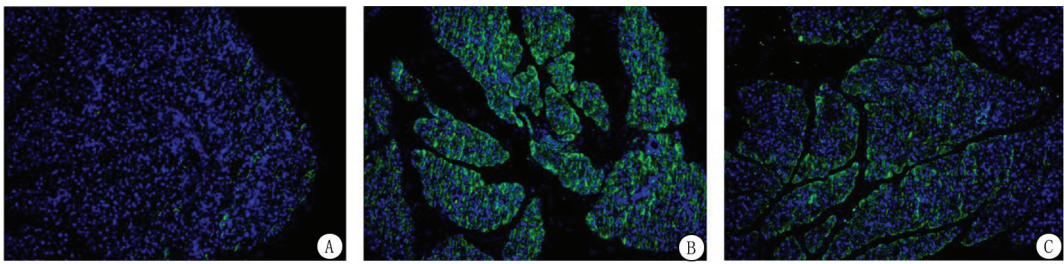


图2 各组大鼠胰腺组织 GSDMD 荧光染色强度(免疫荧光染色 × 100)

A.对照组;B.AP组;C.AP+红景天苷组

Figure 2 Fluorescence staining intensity of GSDMD in pancreatic tissue of rats in each group(Immunofluorescence × 100)

表3 各组大鼠胰腺组织焦亡相关蛋白表达量

Table 3 Expression of pyroptosis-related proteins in pancreatic tissue of rats in each group

(n=10, $\bar{x} \pm s$)

| 组别 | NLRP3 | GSDMD-N/GSDMD | caspase-1/pro-caspase-1 |
|----------|-------------|---------------|-------------------------|
| 对照组 | 1.00±0.01 | 1.00±0.01 | 1.00±0.01 |
| AP组 | 4.72±0.30* | 2.78±0.15* | 2.85±0.11* |
| AP+红景天苷组 | 2.32±0.17*# | 1.71±0.13*# | 1.52±0.10*# |
| F值 | 29.716 | 73.783 | 434.583 |
| P值 | <0.001 | <0.001 | <0.001 |

* P值<0.05与对照组比较 #P值<0.05与AP组比较(SNK-q检验)

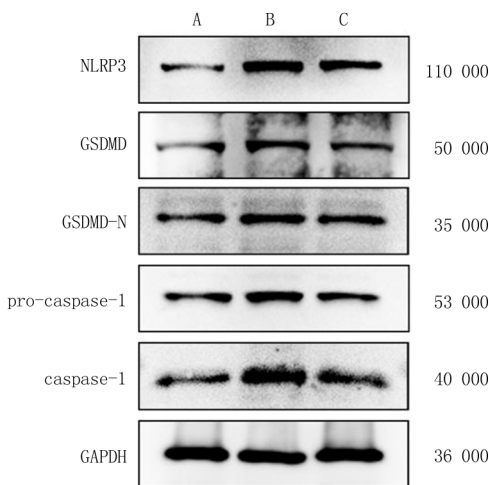


图3 各组大鼠胰腺组织焦亡相关蛋白表达

A.对照组;B.AP组;C.AP+红景天苷组

Figure 3 Expression of pyroptosis-related proteins in pancreatic tissue of rats in each group

2.3 红景天苷促进大鼠胰腺组织中 SIRT1/Nrf2 通路激活 免疫荧光结果显示,与对照组相比,AP组大鼠胰腺组织中 SIRT1 和 Nrf2 的荧光信号强度

显著降低;而与 AP 组相比,AP+红景天苷组中 SIRT1 和 Nrf2 的荧光信号强度则明显增加,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 4、图 4。Western blot 结果显示,与对照组相比,AP 组大鼠胰腺组织中 SIRT1 和 Nrf2 的表达水平显著减少;与 AP 组相比,AP+红景天苷组中 SIRT1 和 Nrf2 的表达水平则明显增加,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 5、图 5。

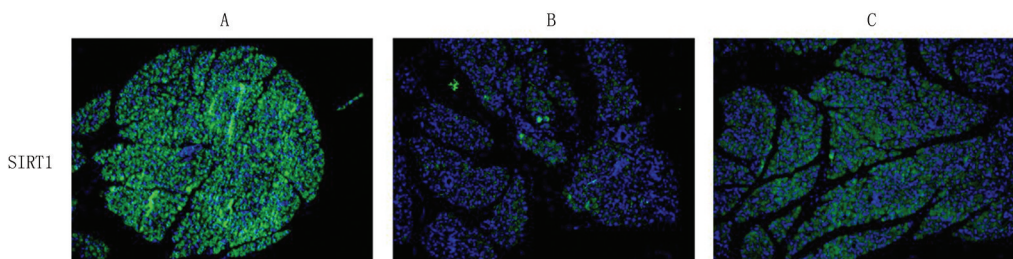
表4 各组大鼠胰腺组织 SIRT1 以及 Nrf2 荧光强度

Table 4 Fluorescence intensity of SIRT1 and Nrf2 in pancreatic tissues of rats in each group

(n=10, $\bar{x} \pm s$)

| 组别 | SIRT1 | Nrf2 |
|----------|-------------|-------------|
| 对照组 | 14.33±0.91 | 13.50±0.87 |
| AP组 | 4.20±0.66* | 3.67±0.35* |
| AP+红景天苷组 | 9.10±0.56*# | 8.17±0.71*# |
| F值 | 141.495 | 307.892 |
| P值 | <0.001 | <0.001 |

* P值<0.05与对照组比较 #P值<0.05与AP组比较(SNK-q检验)



SIRT1

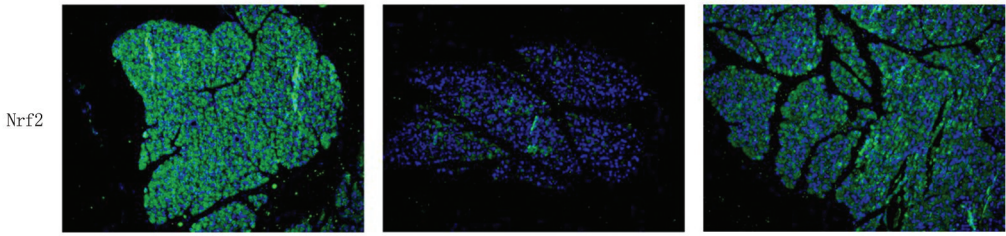


图4 各组大鼠胰腺组织 SIRT1 以及 Nrf2 荧光染色强度(免疫荧光染色 ×100)

A.对照组;B.AP组;C.AP+红景天苷组

Figure 4 Fluorescence staining intensity of SIRT1 and Nrf2 in pancreatic tissues of rats in each group(Immunofluorescence ×100)

表5 各组大鼠胰腺组织 SIRT1 以及 Nrf2 蛋白表达

Table 5 Expression of SIRT1 and Nrf2 proteins in pancreatic tissues of rats in each group

| 组别 | (n=10, $\bar{x} \pm s$) | |
|----------|--------------------------|-------------|
| | SIRT1 | Nrf2 |
| 对照组 | 1.00±0.01 | 1.00±0.01 |
| AP组 | 0.41±0.04* | 0.35±0.07* |
| AP+红景天苷组 | 0.75±0.06*# | 0.73±0.04*# |
| F值 | 141.523 | 307.914 |
| P值 | <0.001 | <0.001 |

* P值<0.05 与对照组比较 # P值<0.05 与 AP组比较(SNK-q 检验)

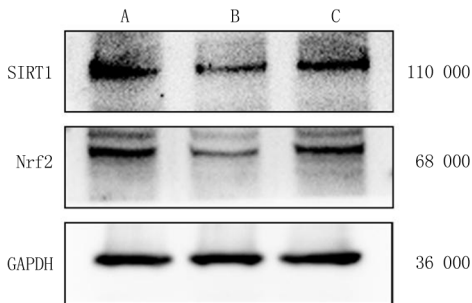


图5 各组大鼠胰腺组织 SIRT1 和 Nrf2 蛋白表达

A.对照组;B.AP组;C.AP+红景天苷组

Figure 5 Expression of SIRT1 and Nrf2 proteins in pancreatic tissues of rats in each group

2.4 红景天苷在促进大鼠胰腺腺泡细胞 AR42J 中 SIRT1/Nrf2 通路激活 Western blot 结果显示,与对照组相比, TLC-S 组 AR42J 细胞中 SIRT1 和 Nrf2 的表达水平显著减少;与 TLC-S 组相比, TLC-S+红景天苷组中 SIRT1 和 Nrf2 的表达水平则明显增加,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 6、图 6。

2.5 红景天苷通过激活 SIRT1/Nrf2 通路来减少大鼠胰腺腺泡细胞 AR42J 的焦亡水平 LDH 检测结果显示,与对照组相比, TLC-S 组 AR42J 细胞中 LDH 释放显著增加;与 TLC-S 组相比, TLC-S+红景天苷组中 LDH 释放明显减少,与 TLC-S+红景

天苷组相比, TLC-S+红景天苷+EX527 组中 LDH 释放增加,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 7。Western blot 结果显示,与对照组相比, TLC-S 组 AR42J 细胞中 NLRP3 的表达水平、GSDMD-N/GSDMD 及 caspase-1/pro-caspase-1 的比值显著升高;与 TLC-S 组相比, TLC-S+红景天苷组中 NLRP3 的表达水平、GSDMD-N/GSDMD 及 caspase-1/pro-caspase-1 的比值则明显降低,与 TLC-S+红景天苷组相比, TLC-S+红景天苷+EX527 组中 NLRP3 的表达水平、GSDMD-N/GSDMD 及 caspase-1/pro-caspase-1 的比值均显著增加,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 8、图 7。

表6 各组 AR42J 细胞中 SIRT1 和 Nrf2 蛋白表达

Table 6 Expression of SIRT1 and Nrf2 proteins in AR42J cells in each group

| 组别 | (n=3, $\bar{x} \pm s$) | |
|-------------|-------------------------|-------------|
| | SIRT1 | Nrf2 |
| 对照组 | 1.00±0.01 | 1.00±0.01 |
| TLC-S 组 | 0.36±0.03* | 0.43±0.02* |
| TLC-S+红景天苷组 | 0.85±0.03*# | 0.76±0.03*# |
| F值 | 141.486 | 307.867 |
| P值 | <0.001 | <0.001 |

* P值<0.05 与对照组比较 # P值<0.05 与 TLC-S 组比较(SNK-q 检验)

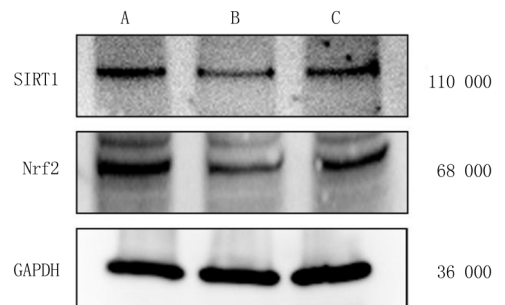


图6 各组 AR42J 细胞中 SIRT1 以及 Nrf2 蛋白表达

A.对照组;B.TLC-S组;C.TLC-S+红景天苷组

Figure 6 Expression of SIRT1 and Nrf2 proteins in AR42J cells in each group

表7 各组 AR42J 细胞中 LDH 含量

Table 7 LDH content in AR42J cells in each group
($n=3, \bar{x} \pm s$)

| 组别 | LDH |
|--------------------|-----------------|
| 对照组 | 2.98±1.55 |
| TLC-S 组 | 28.73±1.80 * |
| TLC-S+红景天苷组 | 16.71±1.64 * # |
| TLC-S+红景天苷+EX527 组 | 22.74±0.86 * #△ |
| F 值 | 161.586 |
| P 值 | <0.001 |

* P 值<0.05 与对照组比较 # P 值<0.05 与 TLC-S 组比较
△P 值<0.05 与 TLC-S+红景天苷组(SNK-q 检验)

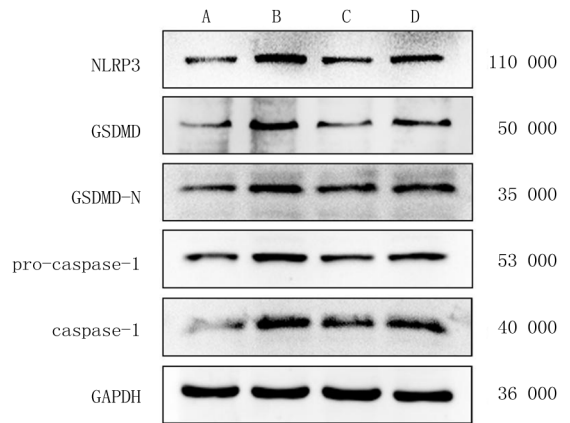


图7 各组 AR42J 细胞中焦亡相关蛋白表达

A.对照组;B.TLC-S 组;C.TLC-S+红景天苷组;D.TLC-S+红景天苷+EX527 组

Figure 7 Expression of pyroptosis-related proteins in AR42J cells in each group

表8 各组 AR42J 细胞焦亡相关蛋白表达

Table 8 Expression of pyroptosis-related proteins in AR42J cells in each group

($n=3, \bar{x} \pm s$)

| 组别 | NLRP3 | GSDMD-N/GSDMD | caspase-1/pro-caspase-1 |
|--------------------|----------------|----------------|-------------------------|
| 对照组 | 1.00±0.01 | 1.00±0.01 | 1.00±0.01 |
| TLC-S 组 | 3.75±0.33 * | 2.87±0.11 * | 2.66±0.28 * |
| TLC-S+红景天苷组 | 2.14±0.12 * # | 1.37±0.09 # | 1.46±0.09 * # |
| TLC-S+红景天苷+EX527 组 | 3.13±0.25 * #△ | 1.96±0.08 * #△ | 2.38±0.13 * #△ |
| F 值 | 10.534 | 60.267 | 276.578 |
| P 值 | <0.001 | <0.001 | <0.001 |

* P 值<0.05 与对照组比较 # P 值<0.05 与 TLC-S 组比较 △P 值<0.05 与 TLC-S+红景天苷组(SNK-q 检验)

3 讨 论

AP 是一种常见的消化系统炎症性疾病,起病急骤,病情进展迅速,且具有较高的病死率^[14]。根据疾病严重程度,AP 可分为轻度急性胰腺炎(mild acute pancreatitis, MAP)、中度重度急性胰腺炎(moderately severe acute pancreatitis, MSAP)和 SAP^[15]。其中,SAP 是最为严重的类型,不仅会导致胰腺组织坏死、还会导致全身炎症反应综合征和多器官功能衰竭,严重危及患者生命健康^[16]。尽管近年来对 AP 的研究不断深入,但目前尚缺乏有效的靶向治疗手段。胰腺腺泡细胞的死亡是 AP 早期发病的重要病理生理基础,因此腺泡细胞死亡方式逐渐成为研究关注的重点之一^[17]。焦亡作为一种新型程序性炎症性细胞死亡方式,在 AP 发生发展中受到广泛关注。在病原体相关信号刺激下,细胞内的模式识别受体(pattern recognition receptors, PRRs)被激活,并与 pro-caspase-1 结合形成炎性小体。炎性小体的组装是诱导焦亡的关键步骤之一,可促进 pro-caspase-1 二聚化及自我剪切,生成具有

活性的 caspase-1。活化的 caspase-1 在焦亡过程中发挥双重作用:一方面,其可将 GSDMD 裂解产生约 32 000 的 GSDMD-N,该片段可靶向定位至细胞膜并形成孔洞,导致细胞膨胀、膜结构破裂及胞内成分释放;另一方面,caspase-1 还促使炎性细胞因子如 IL-1β 和 IL-18 前体蛋白的剪切成熟,并介导其分泌,进一步加剧炎症反应^[18]。已有研究^[19]表明,腺泡细胞焦亡与 AP 的发病密切相关。Gao 等^[20]发现特异性敲除小鼠腺泡细胞中的 GSDMD 可显著减轻 AP 的病理程度,提示靶向抑制腺泡细胞焦亡可能为 AP 的治疗提供新的方向。

红景天是一种多年生草本植物,属于红景天科红景天属。红景天苷是红景天的主要活性成分,具有抗炎、抗氧化、抗纤维化、抗肿瘤等多种药理作用。近年来,众多动物实验证实,红景天苷在 AP 中具有一定的治疗潜力。例如,红景天苷可通过抑制转化生长因子 β1/Smad 家族成员 3 (transforming growth factor-beta 1/SMAD family member 3, TGF-β1/Smad3) 信号通路的活化,减轻 AP 大鼠胰腺腺损伤^[13]。TGF-β1 是一种关键的细胞因子,可通

过其特异性受体介导 Smad 信号通路的激活,从而调控多种与组织纤维化密切相关的基因表达^[21]。研究表明,TGF- β 1/Smad3 通路在胰腺纤维化的发生和进展中发挥核心调控作用。例如,在酒精性慢性胰腺炎中,胰腺星状细胞可分泌白细胞介素 6,进一步激活 TGF- β 1/Smad3 信号通路,促进 α -平滑肌肌动蛋白(alpha-smooth muscle actin, α -SMA)和胶原蛋白 I 型 α 1 链(collagen type I alpha 1 chain, Col1a1)的转过抑制细胞焦亡表达,从而加速胰腺组织纤维化进程^[22]。鉴于 TGF- β 1/Smad3 轴在器官纤维化中的关键地位,相关机制已被广泛研究,重复开展类似研究的价值有限。基于此,本研究重点探讨红景天苷改善 AP 所致胰腺组织损伤的潜在机制,结果显示,红景天苷能显著降低 AP 模型大鼠血清中 AMY(AP 生化检测指标之一)水平,并有效缓解胰腺组织的病理损伤。为进一步探讨其是否通过抑制细胞焦亡发挥保护作用,采用免疫组织化学染色及 Western blot 检测胰腺组织中焦亡相关分子表达。结果显示,红景天苷可显著下调 NLRP3、GSDMD、GSDMD-N、pro-caspase-1 及 caspase-1 的表达水平。此外,红景天苷还明显降低 AP 模型大鼠血清中 IL-1 β 和 IL-18 的水平。上述结果提示,红景天苷可能通过抑制胰腺组织细胞焦亡,从而减轻 AP 导致的炎症反应和组织损伤。

SIRT1 为 sirtuin 家族成员之一,是一种依赖烟酰胺腺嘌呤二核苷酸的去乙酰化酶。SIRT1 通过去乙酰化作用调控多种转录因子的活性,广泛参与能量代谢、氧化应激、炎症反应及细胞衰老等生理过程^[23-25]。Nrf2 是机体抗氧化防御系统中的关键转录因子,在细胞抵御氧化损伤中发挥重要作用。正常情况下,Nrf2 与 Kelch 样 ECH 相关蛋白 1 (kelch-like ECH-associated protein,Keap1)结合形成稳定复合物。当细胞暴露于氧化应激环境时,Keap1 的半胱氨酸残基发生修饰,其与 Nrf2 的结合能力减弱,使 Nrf2 得以释放并迁移至细胞核内。进入细胞核后的 Nrf2 与肌腱膜纤维肉瘤癌基因同源物 (musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene homolog,Maf)蛋白形成异二聚体,并结合抗氧化反应元件(antioxidant response element,ARE),激活下游抗氧化基因的转录,从而增强细胞的抗氧化能力^[26]。既往研究^[27]表明,SIRT1 可上调 Nrf2 表达,促进血红素加氧酶 1(heme oxygenase-1,HO-1)转录,进而抑制氧化应激反应并减轻炎症,从而改善 AP 的病理进程。本研究显示,红景天苷可激活大鼠胰腺腺泡细胞 AR42J 中的 SIRT1/Nrf2 信号通

路。进一步采用 SIRT1/Nrf2 信号抑制剂 EX527 处理大鼠胰腺腺泡细胞 AR42J 后发现,EX527 显著削弱了红景天苷对细胞焦亡的抑制效应,提示 SIRT1/Nrf2 通路在调控腺泡细胞焦亡过程中具有重要作用。

本研究相较于既往文献,具有以下创新点。第一,发现红景天苷可显著减轻 AP 大鼠胰腺组织中的焦亡水平,同时在大鼠胰腺细胞中有效缓解 TLC-S 诱导的细胞焦亡。第二,进一步证实,红景天苷在体内外实验中均可激活 SIRT1/Nrf2 信号通路。第三,还证实,红景天苷通过激活 SIRT1/Nrf2 通路抑制细胞焦亡,从而减轻 AP 所致的胰腺组织损伤,揭示了其潜在的干预机制。

综上所述,红景天苷可通过激活 SIRT1/Nrf2 信号通路,抑制胰腺腺泡细胞焦亡,进而减轻 AP 的损伤程度。为红景天苷在 AP 治疗中的潜在应用提供了新的理论依据与实验支持。

[参考文献]

- [1] Sohail Z, Shaikh H, Iqbal N, et al. Acute pancreatitis-a narrative review[J]. J Pak Med Assoc, 2024, 74(5): 953-958.
- [2] Iannuzzi JP, King JA, Leong JH, et al. Global incidence of acute pancreatitis is increasing over time: A systematic review and meta-analysis[J]. Gastroenterology, 2022, 162(1): 122-134.
- [3] Hamesch K, Hollenbach M, Guilbert L, et al. Practical management of severe acute pancreatitis[J]. Eur J Intern Med, 2025, 133: 1-13.
- [4] Zerem E, Kurtcehajic A, Kunosić S, et al. Current trends in acute pancreatitis: Diagnostic and therapeutic challenges[J]. World J Gastroenterol, 2023, 29(18): 2747.
- [5] Lee PJ, Papachristou GI, Speake C, et al. Immune markers of severe acute pancreatitis[J]. Curr Opin Gastroenterol, 2024, 40(5): 389.
- [6] Vasudevan SO, Behl B, Rathinam VA. Pyroptosis-induced inflammation and tissue damage[J]. Semin Immunol, 2023, 69: 101781.
- [7] Fu Q, Wu J, Zhou XY, et al. NLRP3/Caspase-1 pathway-induced pyroptosis mediated cognitive deficits in a mouse model of sepsis-associated encephalopathy[J]. Inflammation, 2019, 42(1): 306-318.
- [8] Ma N, Yuan C, Shi J, et al. Interleukin-37 protects against acinar cell pyroptosis in acute pancreatitis[J]. JCI Insight, 2022, 7(21): e161244.
- [9] 李茜.红景天苷抗炎机制研究进展[J].中兽医学杂志, 2022, 9(1): 95-96.
- [10] Liu X, Zhou M, Dai Z, et al. Salidroside alleviates ulcerative colitis via inhibiting macrophage pyroptosis and repairing the dysbacteriosis-associated Th17/Treg imbalance [J]. Phytother Res, 2023, 37(2): 367-382.

- [11] Wu Q, Shan X, Li X, et al. Salidroside ameliorates neuroinflammation in autistic rats by inhibiting NLRP3/Caspase-1/GSDMD signal pathway [J]. *Brain Res Bulls*, 2025,220:111132.
- [12] Zhou J, Yan S, Guo X, et al. Salidroside protects pancreatic β -cells against pyroptosis by regulating the NLRP3/GSDMD pathway in diabetic conditions [J]. *Int Immunopharmacol*, 2023,114:109543.
- [13] 张莹, 潘诗翰, 康亮, 等. 红景天苷调控 NF- κ B/NALP3 信号通路对重症急性胰腺炎大鼠肠黏膜屏障损伤的保护作用 [J]. *河北医药*, 2023,45(21):3221-3225.
- [14] Szatmary P, Grammatikopoulos T, Cai W, et al. Acute pancreatitis: Diagnosis and treatment [J]. *Drugs*, 2022, 82(12):1251-1276.
- [15] Huang Y, Badurdeen DS. Acute pancreatitis review [J]. *Turk J Gastroenterol*, 2023,34(8):795.
- [16] Valverde-López F, Martínez-Cara JG, Redondo-Cerezo E. Acute pancreatitis [J]. *Med Clin (Barc)*, 2022,158(11):556-563.
- [17] Aney KJ, Jeong WJ, Vallejo AF, et al. Novel approach for pancreas transcriptomics reveals the cellular landscape in homeostasis and acute pancreatitis [J]. *Gastroenterology*, 2024,166(6):1100-1113.
- [18] 龚梦元, 张博, 朱泽恩, 等. 槐耳清膏通过抑制 ROS 介导的腺泡细胞焦亡减轻小鼠急性胰腺炎的严重程度 [J]. *西安交通大学学报(医学版)*, 2024,45(2):183-191.
- [19] Ma N, Yuan C, Shi J, et al. Interleukin-37 protects against acinar cell pyroptosis in acute pancreatitis [J]. *JCI Insight*, 2022,7(21):e161244.
- [20] Gao L, Dong X, Gong W, et al. Acinar cell NLRP3 inflammasome and gasdermin D (GSDMD) activation mediates pyroptosis and systemic inflammation in acute pancreatitis [J]. *Br J Pharmacol*, 2021,178(17):3533-3552.
- [21] Wu M, Yang F, Huang D, et al. Tanshinone I attenuates fibrosis in fibrotic kidneys through down-regulation of inhibin Beta-A [J]. *BMC Complement Med Ther*, 2022,22(1):110.
- [22] Zheng M, Li H, Sun L, et al. Interleukin-6 participates in human pancreatic stellate cell activation and collagen I production via TGF- β 1/Smad pathway [J]. *Cytokine*, 2021, 143:155536.
- [23] Yang Y, Liu Y, Wang Y, et al. Regulation of SIRT1 and its roles in inflammation [J]. *Front Immunol*, 2022,13:831168.
- [24] Wu QJ, Zhang TN, Chen HH, et al. The sirtuin family in health and disease [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2022,7(1):402.
- [25] Zhang W, Wang X, Tang Y, et al. Melatonin alleviates doxorubicin-induced cardiotoxicity via inhibiting oxidative stress, pyroptosis and apoptosis by activating Sirt1/Nrf2 pathway [J]. *Biomed Pharmacother*, 2023,162:114591.
- [26] Ulasov AV, Rosenkranz AA, Georgiev GP, et al. Nrf2/Keap1/ARE signaling: Towards specific regulation [J]. *Life Sci*, 2021,291:120111.
- [27] Ali BM, Al-Mokaddem AK, Selim HMRM, et al. Pinocembrin's protective effect against acute pancreatitis in a rat model: The correlation between TLR4/NF- κ B/NLRP3 and miR-34a-5p/SIRT1/Nrf2/HO-1 pathways [J]. *Biomed Pharmacother*, 2024,176:116854.

(本文编辑:赵丽洁)