

DCA调控NF- κ B/NLRP3信号通路在急性乳腺炎发生过程中的作用机制研究

赵婷 赵楠*

(西安存济妇产医院产科, 西安 710000)

摘要 该研究旨在探究脱氧胆酸(deoxycholic acid, DCA)介导NF- κ B/NLRP3信号通路在急性乳腺炎发生过程中的调控机制, 为急性乳腺炎的预防和治疗提供理论依据。通过脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)刺激人乳腺上皮细胞株DU4475建立炎症模型, 实验分为对照组、模型组、DCA低浓度组(DCA-L, 50 μ mol/L)、DCA中浓度组(DCA-M, 100 μ mol/L)和DCA高浓度组(DCA-H, 200 μ mol/L)。通过细胞计数试剂盒-8(cell counting kit-8, CCK-8)筛选LPS刺激DU4475细胞产生炎症反应的最佳浓度和DCA符合预期的浓度, 并采用CCK-8法检测各组细胞活力; 荧光染色法检测各组细胞内活性氧(reactive oxygen species, ROS)的产生水平; Western blot检测NF- κ B/NLRP3通路相关蛋白及焦亡通路相关蛋白的表达情况; 酶联免疫吸附测定法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)检测各组细胞肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、IL-6(interleukin-6, IL-6)和IL-18(interleukin-18, IL-18)炎症因子分泌水平。研究发现, 相较于对照组, 模型组细胞活力明显下降, TNF- α 、IL-1 β 、IL-6和IL-18炎症因子水平明显提高, 说明DU4575细胞在50 μ g/mL LPS处理下炎症模型构建成功。各DCA处理组细胞活力较模型组有明显上升趋势, ROS产生量明显下降, I κ B- α 、NF- κ B p65蛋白磷酸化水平下降, NLRP3、GSDMD、Caspase-1、NLRC4等焦亡通路蛋白的表达量也有明显下降趋势。另外各组细胞TNF- α 、IL-1 β 、IL-6和IL-18等炎症因子水平也显著下降。其中DCA-M组和DCA-H组改善细胞活力、抗氧化应激以及降低炎症水平效果最为明显。DCA可通过抑制NF- κ B信号通路的活化, 降低下游ROS产生水平, 以及TNF- α 、IL-1 β 、IL-6和IL-18等炎症因子的表达量, 起到抗炎作用。此外, NF- κ B通过抑制NLRP3炎症小体的活性, 降低炎症因子的表达水平。因此, DCA对急性乳腺炎具有潜在的治疗作用。

关键词 脱氧胆酸; NF- κ B/NLRP3信号通路; NLRP3炎症小体; 炎症反应, 急性乳腺炎

The Mechanism of DCA Regulation of NF- κ B/NLRP3 Signaling Pathway in the Occurrence of Acute Mastitis

ZHAO Ting, ZHAO Nan*

(Obstetrics Department, Xi'an Cunji Maternity Hospital, Xi'an 710000, China)

Abstract The aim of this study was to investigate the regulatory mechanism of DCA-mediated NF- κ B/NLRP3 signaling pathway in the development of acute mastitis, and to provide theoretical basis for the prevention and treatment of acute mastitis. Inflammation model was established by LPS stimulation of human mammary epithelial cell line DU4475, and the experiment was divided into a control group, a model group, a DCA low-concentration group (DCA-L, 50 μ mol/L), a DCA-medium-concentration group (DCA-M, 100 μ mol/L), and a DCA-high-concentration

收稿日期: 2024-09-09

接受日期: 2024-11-08

*通信作者: Tel: 13572524357, E-mail: nan72524357@163.com

Received: September 9, 2024

Accepted: November 8, 2024

*Corresponding author. Tel: +86-13572524357, E-mail: nan72524357@163.com

group (DCA-H, 200 μ mol/L). The optimal concentration of LPS to stimulate DU4475 cells to produce inflammatory response and the concentration of DCA that met the expectation were screened by CCK-8 (cell counting kit-8), and the viability of each group was determined by CCK-8 assay; the level of intracellular ROS (reactive oxygen species) production in cells was detected by fluorescence staining in each group; and Western blot was performed to detect the NF- κ B/NLRP3 pathway-related proteins and apoptosis pathway-related proteins; ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) was used to detect TNF- α (tumor necrosis factor- α), IL-1 β (interleukin-1 β), IL-6 (interleukin-6), and IL-18 (interleukin-18) levels in the cells of each group. It was found that compared with the control group, the cell viability of the model group was significantly decreased, and the levels of TNF- α , IL-1 β , IL-6 and IL-18 were significantly increased, indicating that the inflammation model of DU4575 cells was successfully constructed under the treatment of 50 μ g/mL LPS. The cell viability of each DCA-treated group showed a significant upward trend compared with that of the model group, with a decrease in ROS production and a decrease in the phosphorylation levels of I κ B- α and NF- κ B p65 proteins, and a significant downward trend in the expression of pyroptosis pathway proteins, such as NLRP3, GSDMD, Caspase-1, and NLRC4, was also observed. In addition, the levels of inflammatory factors such as TNF- α , IL-1 β , IL-6, and IL-18 in each group also significantly decreased. The DCA-M and DCA-H groups showed the most significant effects in improving cell viability, antioxidant stress, and reducing inflammation levels. DCA can play an anti-inflammatory role by inhibiting the activation of the NF- κ B signaling pathway, reducing downstream ROS production, and the expression of inflammatory factors such as TNF- α , IL-1 β , IL-6, and IL-18. In addition, NF- κ B inhibits the activity of NLRP3 inflammatory vesicles, which reduces the expression of inflammatory factors at another level. Therefore, DCA has potential therapeutic effects on acute mastitis.

Keywords deoxycholic acid; NF- κ B/NLRP3 signaling pathway; TLRP3 inflammatory vesicles; inflammatory response; acute mastitis

急性乳腺炎是一种常见的乳腺急性炎症, 主要由细菌(如金黄色葡萄球菌和链球菌)感染引起。它在哺乳期妇女中最常见, 尤其是初产妇, 通常在产后3到4周内发病。症状包括乳房红肿、疼痛, 以及全身性症状(如发热和乏力等)^[1-2]。如果不及时处理, 可能会发展为乳腺脓肿, 导致治疗复杂化, 影响哺乳和婴儿健康^[3]。

过去认为乳汁滞留是急性乳腺炎的主要原因, 但现代研究显示炎症过程在急性乳腺炎发展中扮演关键角色^[3]。有相关研究报道, 乳腺炎严重程度并不与病原体数量相关, 而是与血清和乳汁中炎症因子水平密切相关^[4]。先天免疫中炎症介质释放导致乳腺肿胀和疼痛, 而系统性免疫反应导致全身性症状, 如全身发热等^[5-6]。在哺乳期乳腺炎的发展中, 特定的免疫信号通路起着关键作用。微生物相关模式分子可与乳腺上皮细胞或免疫细胞上的模式识别受体, 如Toll样受体(Toll-like receptors, TLRs)相结合, 相继激活TLR信号通路及其下游核因子 κ B(nuclear factor-kappa B, NF- κ B)信号通路, 这对于疾病的形成和发展至关重要^[7-8]。脱氧胆酸(deoxycholic acid,

DCA)是一种次级胆汁酸, 由肠道微生物从初级胆汁酸转化而来^[9]。它通过与FXR、VDR、TGR5等受体结合, 调节糖脂代谢和炎症反应^[10-12]。在肠炎和非酒精性脂肪肝等炎症性疾病中, DCA通过抑制NLRP3炎症小体的活化, 显示出显著的抗炎效果^[13-15]。

本研究旨在探究DCA在乳腺上皮细胞炎症模型中的潜在作用机制, 以及其如何通过调节NF- κ B/NLRP3信号通路影响急性乳腺炎的发生。这可能为急性乳腺炎的预防和治疗提供新的理论依据和治疗策略。

1 材料与方法

1.1 主要仪器与试剂

1.1.1 细胞株 人乳腺上皮细胞 DU4475(ZY-C6093H)购于上海泽叶生物科技有限公司。

1.1.2 试剂 人乳腺上皮细胞 DU4475专用完全培养基(货号ZY-CM6093H)购于上海泽叶生物科技有限公司; DCA(货号YRT007)购于成都仪睿生物科技有限公司; 脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)(货号L118716)购于上海阿拉丁生化科技股份有限公司; CCK-8试剂盒(货号CA1210)、活性氧(reac-

tive oxygen species, ROS)检测试剂盒(货号CA1410)购于北京索莱宝科技有限公司; I κ B- α 抗体(货号ab32518)、p-I κ B- α 抗体(货号ab92700)、NF- κ B抗体(货号ab16502)、p-NF- κ B p65抗体(货号ab76302)、GSDMD抗体(货号ab209845)、NLRP3抗体(货号ab263899)、Caspase-1抗体(货号ab138483)、NLRC4抗体(货号ab201792)购于英国Abcam公司; 人类白介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β) ELISA检测试剂盒(货号ml028595)、人类白介素-18(interleukin-18, IL-18) ELISA检测试剂盒(货号ml058055)、人类白介素-6(interleukin-6, IL-6) ELISA检测试剂盒(货号ml058097)、人类肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) ELISA检测试剂盒(货号ml077385)购于上海酶联生物科技有限公司; 荧光分光光度计购于ThermoFisher Scientific公司; 多功能酶标仪购于瑞士TECAN公司; 恒温细胞培养箱购于天津泰斯特仪器有限公司; 超速离心机购于湖南湘仪实验室仪器开发有限公司; 超净工作台购于苏净安泰空气技术有限公司。

1.2 DCA对细胞活性的影响

DU4475选用DU4475细胞专用完全培养基(RPMI-1640+10%胎牛血清+1%青霉素-链霉素溶液)常规培养。取对数生长期的细胞以 1×10^5 个/孔的细胞数量接种于24孔板中, 并分别加入0 μ mol/L、10 μ mol/L、50 μ mol/L、100 μ mol/L、200 μ mol/L、300 μ mol/L、500 μ mol/L、1 000 μ mol/L的DCA与细胞共培养, 置于37 $^{\circ}$ C、5% CO $_2$ 恒温培养箱中培养24 h。收集各组细胞, 检测每组细胞活力。

1.3 造模与分组

取对数生长期的细胞以 1×10^5 个/孔的细胞数量接种于24孔板中, 分成对照组、模型组、DCA高浓度组(DCA-H组)、中浓度组(DCA-M组)和低浓度组(DCA-L组)。各组细胞均置于恒温培养箱(37 $^{\circ}$ C、5% CO $_2$)中培养24 h后, 模型组、DCA各浓度处理组给予50 μ g/mL LPS刺激, 建立炎症模型。建模完成后, 各实验组(DCA-L、DCA-M、DCA-H)分别给予浓度为50 μ mol/L、100 μ mol/L、200 μ mol/L DCA处理, 对照组和模型组给予等量完全培养基代替处理, 各组继续于恒温培养箱培养24 h后, 进行后续相应实验。

1.4 CCK-8法检测细胞活力

DU4475细胞以 4×10^3 个/孔的细胞数量接种于96

孔板, 并设置空白对照组, 每组包含5个重复孔。每孔200 μ L。培养24 h后, 向每个孔中添加10 μ L的CCK-8试剂, 并将96孔板置于37 $^{\circ}$ C培养箱中培养2 h, 在波长为450 nm处用分光光度计测量每孔吸光度(D)值, 计算细胞的相对活力。

1.5 荧光染色法检测细胞内ROS的产生

收集各组细胞, 以 1×10^7 个/孔的细胞数量接种至6孔板中, 向每孔加入10 μ mol/L的DCFH-DA荧光探针, 于37 $^{\circ}$ C细胞培养箱内孵育20 min后, 用无血清培养基洗涤3次。用荧光分光光度计在525 nm波长处检测各组细胞的荧光强度。

1.6 ELISA法检测细胞炎症因子分泌水平

收集各组细胞并将其移至无菌离心管中, 在4 $^{\circ}$ C条件下3 000 r/min离心10 min, 收集上清液。按照ELISA试剂盒检测各组细胞中TNF- α 、IL-1 β 、IL-6和IL-18水平。

1.7 Western blot检测细胞中NF- κ B/NLRP3通路及焦亡相关蛋白的表达情况

收集各组细胞加入1 mL RIPA裂解液, 于4 $^{\circ}$ C中裂解30 min, 4 $^{\circ}$ C下12 000 r/min离心30 min收集总蛋白。经SDS-PAGE分离蛋白, 湿转法将目的蛋白转移到PVDF上, 室温下用10% BSA封闭2 h, 将特异性一抗I κ B- α (1:1 000稀释)、p-I κ B- α (1:1 000稀释)、NF- κ B p65(1:1 000稀释)、p-NF- κ B p65(1:1 000稀释)、NLRP3(1:1 000稀释)、GSDMD(1:1 000稀释)、Caspase-1(1:1 000稀释)、NLRC4(1:1 000稀释)与PVDF膜4 $^{\circ}$ C孵育12 h。洗去一抗, 二抗(山羊抗兔IgG, 1:3 000)室温孵育1 h, 洗去二抗。化学发光显色法成像, β -actin作为内参, 以目的蛋白与内参蛋白的灰度值之比作为目的蛋白相对表达量。

1.8 统计学方法

采用Graphpad prism 9软件进行统计学分析, 数据以均值 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。两组间比较采用独立样本 t 检验, 两组以上采用单因素方差分析。独立实验至少重复3次。当 $P < 0.05$ 时, 认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 DCA对DU4475细胞的影响

CCK-8法检测不同浓度DCA对DU4475细胞活力的影响, 结果显示, DCA浓度在300 μ mol/L以上时显著抑制细胞生长($P < 0.05$), 故DCA-L、DCA-M和DCA-H

浓度分别设为 50 $\mu\text{mol/L}$ 、100 $\mu\text{mol/L}$ 和 200 $\mu\text{mol/L}$, 见图1。

2.2 各组细胞活力检测

CCK-8法检测DCA对LPS诱导DU4475细胞活力的影响,结果显示:与对照组相比,模型组细胞活力明显下降($P<0.05$);与模型组相比,DCA处理组细胞活力均呈上升趋势,其中DCA-H组活力上升最为明显($P<0.05$)(图2)。

2.3 各组细胞ROS水平检测

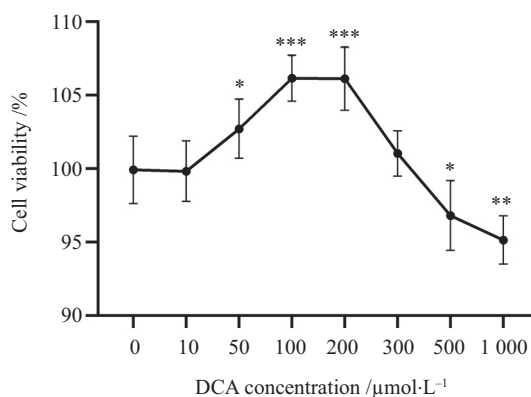
荧光染色法检测DCA对LPS诱导细胞ROS产生的影响,结果显示:与对照组相比,模型组细胞内ROS含量显著提升($P<0.05$);与模型组比较,DCA处理组细胞内ROS含量降低,其中DCA-H组降低最为明显,DCA-M组次之($P<0.05$)(图3)。

2.4 各组细胞炎症因子水平检测

ELISA法检测DCA对LPS诱导细胞炎症因子分泌水平的影响,结果显示:与对照组相比,模型组细胞中TNF- α 、IL-1 β 、IL-6和IL-18含量显著升高($P<0.05$);与模型组比较,DCA处理组细胞中TNF- α 、IL-1 β 、IL-6和IL-18含量均降低,其中DCA-M组和DCA-H组下降最为明显($P<0.05$)(表1)。

2.5 各组细胞NF- κ B/NLRP3通路及焦亡相关蛋白的表达情况

Western blot检测DCA对LPS诱导细胞NF- κ B/NLRP3通路及焦亡相关蛋白表达的影响,结果显示与对照组相比,模型组细胞中p-I κ B- α 、p-NF- κ B p65、NLRP3、GSDMD、Caspase-1、NLRC4蛋白表达水平及I κ B- α 、NF- κ B p65磷酸化水平均明显

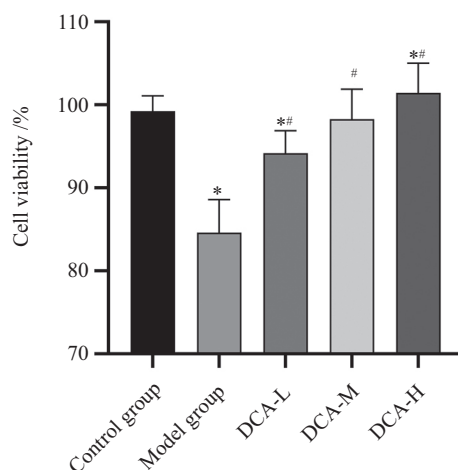


* $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$, 与0 $\mu\text{mol/L}$ 组相比。

* $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$ compared with the 0 $\mu\text{mol/L}$ group.

图1 不同DCA浓度对DU4475细胞活力的影响

Fig.1 Effect of different DCA concentrations on DU4475 cell viability

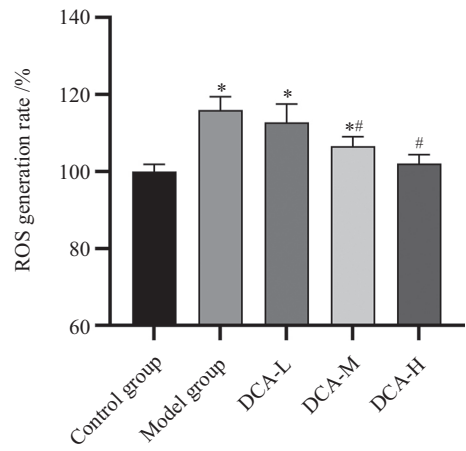


* $P<0.05$, 与对照组相比; # $P<0.05$, 与模型组相比。

* $P<0.05$ compared with the control group; # $P<0.05$ compared with the model group.

图2 各组细胞活力比较

Fig.2 Comparison of cell viability in each group



* $P<0.05$, 与对照组相比; # $P<0.05$, 与模型组相比。
* $P<0.05$ compared with the control group; # $P<0.05$ compared with the model group.

图3 各组细胞ROS产生情况
Fig.3 ROS production of cells in each group

表 1 各组细胞TNF- α 、IL-1 β 、IL-6和IL-18水平
Table 1 Levels of TNF- α , IL-1 β , IL-6, and IL-18 in the cells of each group

组别 Groups	TNF- α /pg·mL ⁻¹	IL-1 β /pg·mL ⁻¹	IL-6 /pg·mL ⁻¹	IL-18 /pg·mL ⁻¹
Control group	5.17±0.42	21.45±1.98	127.52±17.23	40.84±3.52
Model group	12.54±1.65*	33.74±2.73*	201.16±25.64*	65.53±6.29*
DCA-L	10.75±1.12*	28.27±2.42**	174.26±15.87*	52.18±4.61**
DCA-M	7.79±0.46**	24.59±2.67**	138.35±15.39#	45.72±5.03#
DCA-H	7.53±0.68**	25.16±1.96**	144.25±13.82#	44.91±4.26#

* $P<0.05$, 与对照组相比; # $P<0.05$, 与模型组相比。
* $P<0.05$ compared with the control group; # $P<0.05$ compared with the model group.

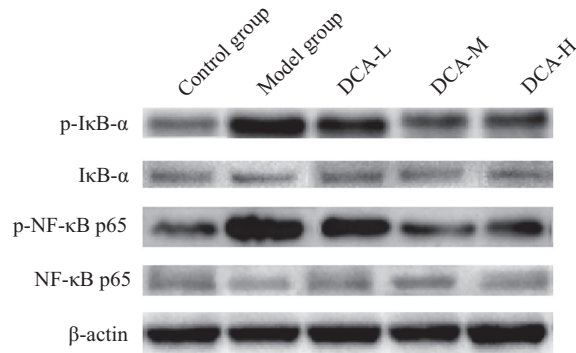
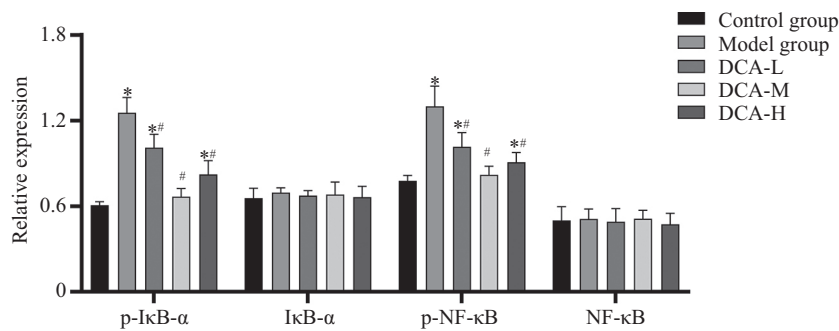
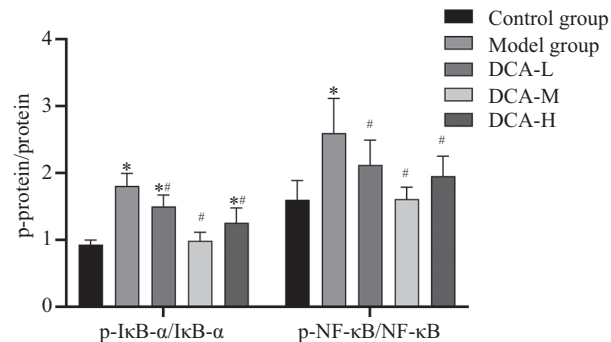
升高($P<0.05$)(图4~图8)。与模型组细胞相比, DCA处理组p-I κ B- α 、p-NF- κ B p65、NLRP3、GSDMD、Caspase-1、NLRC4蛋白表达水平及I κ B- α 、NF- κ B p65磷酸化水平均明显下降($P<0.05$)(图4~图8)。DCA-M组p-I κ B- α 、p-NF- κ B p65、NLRP3、GSDMD、Caspase-1、NLRC4蛋白表达水平及I κ B- α 、NF- κ B p65磷酸化水平均明显下降($P<0.05$), 其中p-I κ B- α 、p-NF- κ B p65、Caspase-1蛋白表达水平及I κ B- α 、NF- κ B p65磷酸化水平趋近于对照组水平, 差异无明显统计学意义($P>0.05$)(图4~图8)。

3 讨论

急性乳腺炎常见于产后3至4周的哺乳期女性, 发病年龄主要集中在21至35岁之间。其症状从乳房局部硬块和红肿开始, 严重时可能发展为乳房脓肿, 甚至引发败血症^[16-17]。由于对疾病认知的局限性, 部分初产妇可能会错失最佳治疗时机。当前, 现代医

学主要依赖抗生素疗法, 然而, 此疗法涉及安全性和母乳喂养中断的问题, 甚至可能对婴儿健康产生影响^[18]。因此, 寻求新的方法来有效控制病情, 避免发展为脓肿, 对母婴健康至关重要。

脱氧胆酸是初级胆汁酸在肠道厌氧菌作用下, 经胆汁酸水解酶和7 α -脱羟基酶作用形成的次级胆汁酸, 有助于胆汁分泌、食物消化吸收和缓解胆汁淤积^[9]。研究显示, DCA在多种疾病中起着关键作用, 包括作为肿瘤促进因子, 引发炎症、肠上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)、癌症进展和细胞死亡, 与胃、肠道和食管等部位疾病的发展紧密相关^[19-21]。既往研究表明, DCA能够抑制NLRP3炎症小体的激活, 在非酒精性脂肪肝炎病理状态下缓解细胞和组织中的炎症反应^[13]。DCA可调控TGR5-cAMP-PKA信号通路, 有效抑制小鼠肠道中NLRP3炎症小体的活化, 并减轻炎症反应^[22]。尽管DCA在其他组织中的抗炎作用已经引起了广泛关

图4 各组细胞p-I κ B- α 、I κ B- α 、p-NF- κ B p65、NF- κ B p65蛋白表达Fig.4 Protein expression of p-I κ B- α , I κ B- α , p-NF- κ B p65, and NF- κ B p65 in the cells of each group* $P < 0.05$, 与对照组相比; # $P < 0.05$, 与模型组相比。* $P < 0.05$ compared with the control group; # $P < 0.05$ compared with the model group.图5 各组细胞p-I κ B- α 、I κ B- α 、p-NF- κ B p65、NF- κ B p65蛋白表达水平Fig.5 Protein expression levels of p-I κ B- α , I κ B- α , p-NF- κ B p65, and NF- κ B p65 in the cells of each group* $P < 0.05$, 与对照组相比; # $P < 0.05$, 与模型组相比。* $P < 0.05$ compared with the control group; # $P < 0.05$ compared with the model group.图6 各组细胞I κ B- α 、NF- κ B p65磷酸化水平Fig.6 Phosphorylation levels of I κ B- α and NF- κ B p65 in cells of each group

注,但其在乳腺组织中的功能和作用机制尚待进一步研究。基于此,本研究以人乳腺上皮细胞构建乳腺上皮细胞炎症模型,探究DCA对急性乳腺炎的潜在影响,并深入探讨NF- κ B/NLRP3信号通路在其中的重要作用。

在缺氧条件下,LPS可诱导心肌细胞中NF- κ B信号通路上调及炎症因子IL-1 β 的表达,引起细胞氧

化应激与炎症反应^[12]。急性乳腺炎作为一种炎症反应,NF- κ B通路在其中同样发挥重要作用。NF- κ B是一种细胞内重要的核转录因子,参与机体的炎症反应和免疫应答。在未激活状态下,I κ B- α 与NF- κ B的p50和p65亚基结合,形成异源三聚体,NF- κ B稳定在细胞质中。当细胞受到相应刺激后,I κ B α 发生磷酸化并降解,p50和p65形成异源二聚体移动到细胞核

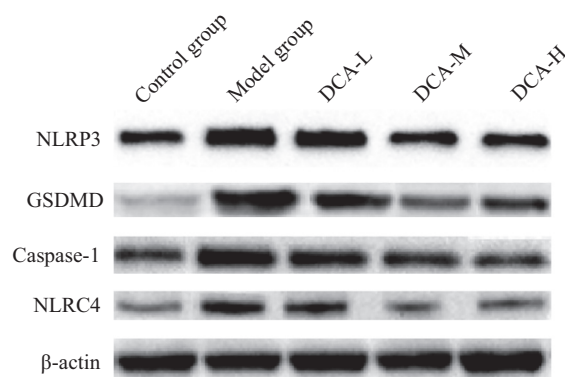
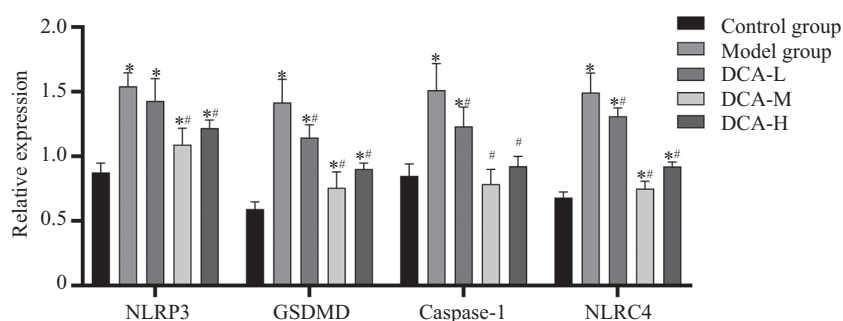


图7 各组细胞NLRP3、GSDMD、Caspase-1、NLRC4蛋白表达

Fig.7 Protein expression of NLRP 3, GSDMD, Caspase-1, and NLRC4 in the cells of each group



* $P < 0.05$, 与对照组相比; # $P < 0.05$, 与模型组相比。

* $P < 0.05$ compared with the control group; # $P < 0.05$ compared with the model group.

图8 各组细胞NLRP3、GSDMD、Caspase-1、NLRC4蛋白表达水平

Fig.8 Protein expression levels of NLRP3, GSDMD, Caspase-1, and NLRC4 in the cells of each group

内, 激活目标基因的表达^[23], 如促进TNF- α 、IL-1 β 和IL-6等炎症因子在mRNA及蛋白质水平上的表达^[24]。在急性乳腺炎患者血清和乳汁样本中常检测到细胞因子IL-1、IL-6、IL-8及TNF- α 的升高, 这可能与NF- κ B通路在宿主体内的激活有关^[25]。当生物体发生感染时, 先天免疫系统迅速响应, 触发炎症反应的级联过程, 炎症小体在这一过程中起着至关重要的作用^[26]。炎症小体的激活引发Caspase-1的裂解, 激活形式的Caspase-1进一步促进促炎细胞因子IL-1 β 和IL-18的成熟释放, 还涉及到GSDMD的分裂, 从而引起细胞焦亡^[27-28]。NF- κ B可以作为上游分子, 调控NLRP3等炎症小体相关信号通路蛋白的表达, 从而引起细胞焦亡^[29]。TNF- α 和IL-1 β 作为关键的促炎细胞因子, 是最早响应并参与炎症过程的主要内源性介质。TNF- α 和IL-1 β 水平的升高可作为早期炎症发生的判定标准^[30]。本研究结果表明, LPS可引起人乳腺上皮细胞活性降低、ROS水平上升, 并诱导TNF- α 、IL-1 β 、IL-6及IL-18等炎症因子的表达

上调, 同时激活NF- κ B/NLRP3信号通路和焦亡相关蛋白的表达。给予DCA处理能够在一定程度上逆转LPS诱导的细胞活性降低和氧化应激增加, 减轻恶性细胞生物学效应, 并降低TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-18等炎症因子以及NF- κ B/NLRP3通路相关蛋白的表达水平。GAO等^[15]研究发现, DCA可通过介导线粒体自噬和NLRP3炎症小体来调控HepG2干细胞焦亡过程。ZHAO等^[22]报道, DCA可作为上游分子调节TGR5/PKA/NF- κ B信号通路, 从而对金黄色葡萄球菌诱导的子宫内膜炎起到抑制作用。DCA能够抑制肺炎克雷伯菌诱导的肝脓肿和菌血症的炎症反应, 从而保护肝脏, 其机制也与DCA下调NF- κ B炎症信号通路相关^[31]。ZHOU等^[32]也证实了DCA可抑制NF- κ B和STAT3的磷酸化。这提示NF- κ B信号通路活化很可能是急性乳腺炎发生的一种机制, 而DCA通过下调NF- κ B炎症信号通路, 从而对乳腺细胞起到保护作用。

本研究为急性乳腺炎治疗领域提供了创新的

视角。然而,研究也存在一些局限性。首先,虽然使用了体外细胞模型,但这些模型可能无法完全反映体内的复杂环境。其次,尽管提出了DCA的抗炎作用,但具体的分子机制和信号转导途径仍需深入研究。未来的研究应包括在动物模型中验证DCA的治疗效果和机制,以及通过临床样本分析探索DCA与急性乳腺炎的相关性,深入解析DCA作用的分子机制,评估其治疗的安全性和潜在副作用。

综上所述,本研究通过人乳腺上皮细胞建立炎症模型,深入探讨了DCA对急性乳腺炎的潜在治疗作用。结果表明,DCA能够通过抑制NF- κ B/NLRP3信号通路的活化,显著降低炎症因子的表达水平,减少ROS的产生,并抑制细胞焦亡通路的激活。这些发现表明,DCA可能成为预防和治疗急性乳腺炎的新治疗手段。

参考文献 (References)

- [1] 胡慧文, 韩钦瑜, 任传鑫, 等. 中医药治疗急性乳腺炎的研究进展[J]. 中国中医急症(HU H W, HAN Q Y, REN C X, et al. Research progress on traditional Chinese medicine treatment of acute mastitis [J]. Chinese Traditional Chinese Medicine Emergency), 2023, 32(12): 2237-40.
- [2] 韩悦, 李晓曦, 文萃. 哺乳期急性乳腺炎中西医护理干预研究进展[J]. 循证护理(HAN Y, LI X X, WEN P. Research progress on nursing interventions of traditional Chinese and Western medicine for acute mastitis during lactation [J]. Evidence Based Nursing), 2024, 10(5): 821-5.
- [3] 陶颖娜, 万华. 哺乳期乳腺炎免疫发病机制的研究进展[J]. 医学综述(TAO Y N, WAN H. Research progress on the immunopathogenic mechanism of lactational mastitis [J]. Medical Review), 2017, 23(12): 2333-8.
- [4] KVIST L J, LARSSON B W, HALL-LORD M L, et al. The role of bacteria in lactational mastitis and some considerations of the use of antibiotic treatment [J]. Int Breastfeed J, 2008, 3: 6.
- [5] GLYNN D J, HUTCHINSON M R, INGMAN W V. Toll-like receptor 4 regulates lipopolysaccharide-induced inflammation and lactation insufficiency in a mouse model of mastitis [J]. Biol Reprod, 2014, 90(5): 91.
- [6] 裘佳颖, 刘剑刚, 张晓军. 炎症因子和免疫相关蛋白通路在浆细胞性乳腺炎病因学中的机制[J]. 中国现代普通外科进展(QIU J Y, LIU J G, ZHANG X J. The mechanism of inflammatory factors and immune related protein pathways in the etiology of plasma cell mastitis [J]. Progress in Modern General Surgery in China), 2021, 24(11): 888-92.
- [7] INGMAN W V, GLYNN D J, HUTCHINSON M R. Inflammatory mediators in mastitis and lactation insufficiency [J]. J Mammary Gland Biol Neoplasia, 2014, 19(2): 161-7.
- [8] BOUGARN S, CUNHA P, HARMACHE A, et al. Muramyl dipeptide synergizes with *Staphylococcus aureus* lipoteichoic acid to recruit neutrophils in the mammary gland and to stimulate mammary epithelial cells [J]. Clin Vaccine Immunol, 2010, 17(11): 1797-809.
- [9] 刘玉碟, 秦雪梅, 刘月涛. 脱氧胆酸靶点参与多种疾病发病机制的研究进展[J]. 药物评价研究(LIU Y D, QIN X M, LIU Y T. Research progress on the involvement of deoxycholic acid targets in the pathogenesis of various diseases [J]. Drug Evaluation Study), 2023, 46(4): 905-10.
- [10] 赵会君, 孔炫, 房静远. 脱氧胆酸在人结肠癌细胞株HCT116迁移和侵袭中的作用及其机制研究[J]. 胃肠病学(ZHAO H J, KONG X, FANG J Y. The role and mechanism of deoxycholic acid in the migration and invasion of human colon cancer cell line HCT116 [J]. Gastroenterology), 2014, 19(6): 324-7.
- [11] 岑蒙莎, 朱宇斌, 沈玉钦, 等. 脱氧胆酸介导的肠道菌群失衡和胆汁酸代谢异常促进肠炎发生发展的机制研究[J]. 中华炎性肠病杂志(CEN M S, ZHU Y B, SHEN Y Q, et al. The mechanism of deoxycholic acid mediated imbalance of gut microbiota and abnormal bile acid metabolism promoting the occurrence and development of enteritis [J]. Chinese Journal of Inflammatory Bowel Disease), 2021, 5(1): 77-83.
- [12] WANG J, ZHANG J, LIN X, et al. DCA-TGR5 signaling activation alleviates inflammatory response and improves cardiac function in myocardial infarction [J]. J Mol Cell Cardiol, 2021, 151: 3-14.
- [13] MAI M, WANG Y, LUO M, et al. Silibinin ameliorates deoxycholic acid-induced pyroptosis in steatotic HepG2 cells by inhibiting NLRP3 inflammasome activation [J]. Biochem Biophys Rep, 2023, 35: 101545.
- [14] ZHAO S, GONG Z, ZHOU J, et al. Deoxycholic acid triggers NLRP3 inflammasome activation and aggravates DSS-induced colitis in mice [J]. Front Immunol, 2016, 7: 536.
- [15] GAO X, RUAN Y, ZHU X, et al. Deoxycholic acid promotes pyroptosis in free fatty acid-induced steatotic hepatocytes by inhibiting PINK1-mediated mitophagy [J]. Inflammation, 2022, 45(2): 639-50.
- [16] HU H, MARTIN M, DIPLOCK H, et al. Community management of lactational mastitis and/or breast abscess: a retrospective audit [J]. Pract Midwife, 2017, 20(4): 21-4.
- [17] 张海琼. 哺乳期急性乳腺炎病原菌分布及耐药性分析[J]. 现代中西医结合杂志(ZHANG H Q. Analysis of pathogen distribution and drug resistance in acute mastitis during lactation [J]. Journal of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine), 2010, 19(1): 101-2.
- [18] 汤凯莉. 哺乳期乳腺炎治疗现状研究[J]. 世界最新医学信息文摘(TANG K L. Research on the current status of treatment for lactational mastitis [J]. World Latest Medical Information Digest), 2019, 19(59): 105-6.
- [19] 李雪, 南琼. 脱氧胆酸在大肠癌形成过程中的作用[J]. 重庆医学(LI X, NAN Q. The role of deoxycholic acid in the formation of colorectal cancer [J]. Chongqing Medical), 2017, 46(22): 3141-4.
- [20] 王岭玉, 田春艳, 吴瑾. 脱氧胆酸诱导小鼠肠上皮细胞MCP-1表达的作用及机制研究[J]. 军事医学(WANG L Y, TIAN C Y, WU J. The role and mechanism of deoxycholic acid induced MCP-1 expression in mouse intestinal epithelial cells [J]. Military Medicine), 2019, 43(12): 897-901.
- [21] 伍志伟, 张录梅, 薛娜, 等. 脱氧胆酸钠诱导型慢性胃炎大鼠肠道菌群结构分析[J]. 中国微生态学杂志(WU Z W, ZHANG

- L M, XUE N, et al. Analysis of gut microbiota structure in rats with sodium deoxycholate induced chronic gastritis [J]. *Chinese Journal of Microbiology*, 2022, 34(2): 125-33.
- [22] ZHAO W, WANG J, LI X, et al. Deoxycholic acid inhibits *Staphylococcus aureus*-induced endometritis through regulating TGR5/PKA/NF- κ B signaling pathway [J]. *Int Immunopharmacol*, 2023, 118: 110004.
- [23] 章瑶, 汪芳裕. 脱氧胆酸促进结直肠癌发生发展的相关机制[J]. *医学研究生学报*(ZHANG Y, WANG F Y. The mechanism of deoxycholic acid promoting the occurrence and development of colorectal cancer [J]. *Journal of Medical Graduate Students*), 2018, 31(8): 878-81.
- [24] GUO Y F, XU N N, SUN W, et al. Luteolin reduces inflammation in *Staphylococcus aureus*-induced mastitis by inhibiting NF- κ B activation and MMPs expression [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(17): 28481-93.
- [25] 陈府芳, 张方璐. 杵针联合手法通乳在哺乳期急性乳腺炎中的应用效果分析[J]. *中国妇幼保健*(CHEN F F, ZHANG F L. Analysis of the application effect of pestle needle combined with manual lactation in acute mastitis during lactation [J]. *China Maternal and Child Health Care*), 2022, 37(15): 2905-8.
- [26] 王金山, 宋韶鹤, 苗晋鑫. NLRP3炎症小体对肿瘤发生发展的影响及中医药的干预作用[J]. *中药药理与临床*(WANG J J, SONG S H, MIAO J X. The impact of NLRP3 inflammasome on tumor development and the intervention effect of traditional Chinese medicine [J]. *Pharmacology and Clinical Practice of Traditional Chinese Medicine*), 2024: 1-14.
- [27] 苏依曼, 叶嘉莉, 邱文粤, 等. 积雪草酸通过抑制 HMGB1/TLR4/NF- κ B 通路减轻脂多糖诱导肉鸡肾细胞焦亡[J]. *畜牧兽医学报*(SU Y M, YE J L, QIU W Y, et al. Asiatic acid alleviates lipopolysaccharide induced pyroptosis in broiler kidney cells by inhibiting the HMGB1/TLR4/NF- κ B pathway [J]. *Animal Husbandry and Veterinary Medicine*), 2024, 55(4): 1777-86.
- [28] JULIANA C, FERNANDES-ALNEMRI T, KANG S, et al. Non-transcriptional priming and deubiquitination regulate NLRP3 inflammasome activation [J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(43): 36617-22.
- [29] 李琪, 浦东, 王思思, 等. 羟基积雪草苷通过抑制 NF- κ B/NLRP3 细胞焦亡通路缓解间质性膀胱炎[J]. *中南药学*(LI Q, PU D, WANG S S, et al. Hydroxycyclopentadiene glycoside alleviates interstitial cystitis by inhibiting the NF- κ B/NLRP3 cell apoptosis pathway [J]. *Zhongnan Pharmacy*), 2024, 22(6): 1571-6.
- [30] WEI Z, YAO M, LI Y, et al. Inhibition of lipopolysaccharide (LPS)-induced inflammatory responses by selenium in bovine mammary epithelial cells in primary culture [J]. *Inflammation*, 2015, 38(1): 152-8.
- [31] ZHENG Y, YUE C, ZHANG H, et al. Deoxycholic acid and lithocholic acid alleviate liver injury and inflammation in mice with *klebsiella pneumoniae*-induced liver abscess and bacteremia [J]. *J Inflamm Res*, 2021, 14: 777-89.
- [32] ZHOU Y, XU C, GU S, et al. Integrated metabolomic and transcriptomic analyses reveal deoxycholic acid promotes transmissible gastroenteritis virus infection by inhibiting phosphorylation of NF- κ B and STAT3 [J]. *BMC Genomics*, 2024, 25(1): 239.