

· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2025.02.004

## hucMSC-Exo 对溃疡性结肠炎小鼠结肠组织和巨噬细胞中 NLRP3 炎症小体、炎症因子和巨噬细胞极化的影响\*

陈 晖, 王 艳, 洪 凯, 董丹阳, 邵 平<sup>△</sup>

江苏省宜兴市中医医院脾胃病科, 江苏宜兴 214200

**摘要:**目的 探讨人脐带间充质干细胞(hucMSC)来源的外泌体(hucMSC-Exo)对溃疡性结肠炎小鼠结肠组织和巨噬细胞中核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3(NLRP3)炎症小体、炎症因子和巨噬细胞极化的影响。方法 收集 hucMSC 培养上清液,采用超速离心法提取 hucMSC-Exo。将 30 只小鼠分为正常组、葡聚糖硫酸钠(DSS)模型组和 hucMSC-Exo 修复组,每组 10 只。DSS 模型组和 hucMSC-Exo 修复组小鼠均饮用 3% DSS 溶液构建溃疡性结肠炎模型,hucMSC-Exo 修复组小鼠在建模期间经尾静脉注射蛋白总量为 1 mg 的 hucMSC-Exo 进行损伤干预。比较各组小鼠疾病活动指数(DAI)评分。采用苏木精-伊红染色法评估各组小鼠结肠组织病理学变化。采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测结肠组织匀浆液中肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素(IL)-6 和 IL-10 水平。提取小鼠腹腔巨噬细胞(MPMs),将其分为对照组、LPS 诱导组(100 ng/mL LPS 诱导)和 hucMSC-Exo 组(100 ng/mL LPS 诱导+200  $\mu$ g/mL 的 hucMSC-Exo 干预)。采用蛋白质印迹法(WB)检测结肠组织和 MPMs 中 NLRP3 炎症小体相关蛋白[NLRP3、凋亡相关斑点样蛋白(ASC)、半胱氨酸天冬氨酸特异蛋白酶 1(Caspase-1)]的蛋白表达水平。采用流式细胞术检测各组小鼠结肠组织和 MPMs 中 M1、M2 型巨噬细胞极化情况。**结果** DSS 模型组 DAI 评分高于正常组( $P < 0.05$ ),hucMSC-Exo 修复组 DAI 评分低于 DSS 模型组( $P < 0.05$ )。正常组结肠黏膜上皮结构完整,细胞排列规律,无炎症细胞浸润和溃疡;DSS 模型组结肠黏膜上皮脱落,细胞排列紊乱,黏膜和黏膜下层充血水肿,大量炎症细胞浸润,弥漫分布小溃疡;hucMSC-Exo 修复组结肠组织损伤明显改善。与正常组相比,DSS 模型组结肠组织中 IL-6、TNF- $\alpha$  水平及 NLRP3、ASC、Caspase-1 蛋白水平升高,IL-10 水平降低,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。与 DSS 模型组相比,hucMSC-Exo 修复组结肠组织中 IL-6、TNF- $\alpha$  水平及 NLRP3、ASC、Caspase-1 蛋白水平降低,IL-10 水平升高,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。与正常组相比,DSS 模型组 M1 型巨噬细胞比例升高,M2 型巨噬细胞比例降低,M1/M2 型巨噬细胞比值升高,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。与 DSS 模型组相比,hucMSC-Exo 修复组 M1 型巨噬细胞比例降低,M2 型巨噬细胞比例升高,M1/M2 型巨噬细胞比值降低,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。与对照组相比,LPS 诱导组 MPMs 中 NLRP3、ASC、Caspase-1 蛋白水平升高( $P < 0.05$ )。与 LPS 诱导组相比,hucMSC-Exo 组 MPMs 中 NLRP3、ASC、Caspase-1 蛋白水平下降( $P < 0.05$ )。与对照组相比,LPS 诱导组 MPMs 中 M1 型巨噬细胞比例升高,M2 型巨噬细胞比例降低,M1/M2 型巨噬细胞比值升高,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。与 LPS 诱导组相比,hucMSC-Exo 组 MPMs 中 M1 型巨噬细胞比例降低,M2 型巨噬细胞比例升高,M1/M2 型巨噬细胞比值降低,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。**结论** hucMSC-Exo 通过抑制结肠组织和巨噬细胞中 NLRP3 炎症小体的激活,减少促炎性细胞因子的释放,调控 M1/M2 型巨噬细胞极化,从而延缓小鼠结肠炎症。

**关键词:**人脐带间充质干细胞来源的外泌体; 巨噬细胞; 核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3 炎症小体; 溃疡性结肠炎; 半胱氨酸天冬氨酸特异蛋白酶 1

中图分类号:R392.5

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2025)02-0166-07

## Effect of hucMSC-Exo on NLRP3 inflammasome, inflammatory factors and macrophage polarization in colon tissue and macrophages of ulcerative colitis mice\*

CHEN Hui, WANG Yan, FU Kai, DONG Danyang, SHAO Ping<sup>△</sup>

Department of Gastroenterology, Yixing Municipal Hospital of Traditional Chinese Medicine, Yixing, Jiangsu 214200, China

**Abstract: Objective** To investigate the effects of human umbilical cord mesenchymal stem cell (hucMSC)-derived exosomes (hucMSC-Exo) on nucleotide-binding oligomerized domain-like receptor protein 3 (NLRP3) inflammasome, inflammatory factors and macrophage polarization in colon tissue and macrophages of ul-

\* 基金项目:江苏省无锡市卫生健康委员会科研项目(Q202243)。

作者简介:陈晖,女,主治医师,主要从事炎症性肠病方向的研究。 <sup>△</sup> 通信作者, E-mail:578328863@qq.com。

cerative colitis mice. **Methods** The supernatant of hucMSC culture was collected, and hucMSC-Exo was extracted by ultracentrifugation. Thirty mice were divided into the normal group, dextran sulfate sodium (DSS) model group and hucMSC-Exo repair group, 10 cases in each group. The mice in the DSS model group and hucMSC-Exo repair group all drank 3% DSS solution to establish the ulcerative colitis model. The mice in the hucMSC-Exo repair group were injected with hucMSC-Exo with a total protein amount of 1 mg through the tail vein during the modeling period for conducting the injury intervention. The disease activity index (DAI) score of mice was compared among the groups. The histopathological changes of colon tissue in each group were evaluated by hematoxylin-eosin staining. The levels of tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleukin (IL)-6 and IL-10 in colon tissue homogenate were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The peritoneal macrophages (MPMs) of mice were extracted and divided into the control group, LPS-induced group (induced by 100 ng/mL LPS) and hucMSC-Exo group (induced by 100 ng/mL LPS+200  $\mu$ g/mL hucMSC-Exo intervention). Western blotting (WB) was used to detect the protein expression levels of NLRP3 inflammasome associated proteins [NLRP3, apoptosis-associated speck-like protein (ASC) and cysteine aspartic acid-specific protease 1 (Caspase-1)] in colon tissue and MPMs. The flow cytometry was used to detect the polarization of M1 and M2 type macrophages in colon tissue and MPMs of mice in each group. **Results** The DAI score of the DSS model group was higher than that of the normal group ( $P < 0.05$ ), and the DAI score of the hucMSC-Exo repair group was lower than that of the DSS model group ( $P < 0.05$ ). The colonic mucosal epithelial structure of the normal group was intact, the cells were arranged regularly, and there was no inflammatory cell infiltration and ulcer; the colonic mucosal epithelium of the DSS model group was lost, the cells were disorderly arranged, the mucosa and submucosa were hyperemic and edematous, a large number of inflammatory cells infiltrated, and small ulcers were diffusely distributed; the colonic tissue damage of the hucMSC-Exo repair group was significantly improved. Compared with the normal group, the levels of IL-6, TNF- $\alpha$  and the protein levels of NLRP3, ASC and Caspase-1 in the colon tissue of the DSS model group were increased, the level of IL-10 was decreased, and the differences were statistically significant ( $P < 0.05$ ). Compared with the DSS model group, the levels of IL-6 and TNF- $\alpha$ , protein levels of NLRP3, ASC and Caspase-1 in the colon tissue of the hucMSC-Exo repair group were decreased, the IL-10 level was increased, and the differences were statistically significant ( $P < 0.05$ ). Compared with the normal group, the proportion of M1 type macrophages in the DSS model group was increased, the proportion of M2 type macrophages was decreased, the ratio of M1/M2 type macrophages was increased, and the differences were statistically significant ( $P < 0.05$ ). Compared with the DSS model group, the proportion of M1 type macrophages in the hucMSC-Exo repair group was decreased, the proportion of M2 type macrophages was increased, the ratio of M1/M2 type macrophages was decreased, and the differences were statistically significant ( $P < 0.05$ ). Compared with the control group, the protein levels of NLRP3, ASC and Caspase-1 in the LPS induced group were increased ( $P < 0.05$ ). Compared with the LPS induced group, the protein levels of NLRP3, ASC and Caspase-1 in the hucMSC-Exo group were decreased ( $P < 0.05$ ). Compared with the control group, the proportion of M1 type macrophages in the LPS induced group was increased, the proportion of M2 type macrophages was decreased, the ratio of M1/M2 type macrophages was increased, and the differences were statistically significant ( $P < 0.05$ ). Compared with the LPS-induced group, the proportion of M1 type macrophages in the hucMSC-Exo group was decreased, the proportion of M2 type macrophages was increased, the ratio of M1/M2 type macrophages was decreased, and the differences were statistically significant ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** hucMSC-Exo delays the colonic inflammation in mice by inhibiting the activation of NLRP3 inflammasome in colon tissue and macrophages, reducing the release of pro-inflammatory cytokine levels, and regulating the polarization level of M1/M2 type macrophages.

**Key words:** human umbilical cord mesenchymal stem cell-derived exosome; macrophage; nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor protein 3 inflammasome; ulcerative colitis; cysteine aspartic acid-specific protease 1

溃疡性结肠炎是侵及结肠黏膜的慢性非特异性炎症疾病,已成为全球较难治愈的现代疾病之一<sup>[1]</sup>。

本病发病机制尚未完全阐明,目前认为主要与环境、遗传、感染和免疫因素等有关,但仍缺乏有效治疗手

段。有研究显示,巨噬细胞在溃疡性结肠炎发病过程中发挥重要作用,可通过分泌促炎性细胞因子抵抗病原体入侵<sup>[2-3]</sup>。炎症小体是细胞内的蛋白复合体,主要存在于固有免疫细胞中,在宿主防御感染性病原体、自身炎症等发展进程中扮演重要角色,其中针对核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3(NLRP3)炎症小体的研究最广泛<sup>[4]</sup>。NLRP3 炎症小体由 NLRP3、凋亡相关斑点样蛋白(ASC)、半胱氨酸天冬氨酸特异蛋白酶 1(Caspase-1)组成,是经典细胞内固有免疫的感受器,可感知外源性和内源性的“危险信号”;此外,其也可作为识别肠道寄生虫、维持肠道稳态的重要调节因子。人脐带间充质干细胞来源的外泌体(hucMSC-Exo)能够避免干细胞异常分化、肿瘤发生和细胞复苏的问题,且拥有低免疫原性、易于获得储存等优点,其作为药物和天然化合物的运载工具是目前研究的热点<sup>[5]</sup>。本研究旨在研究 hucMSC-Exo 对溃疡性结肠炎小鼠结肠组织和巨噬细胞中 NLRP3 炎症小体、炎症因子和巨噬细胞极化的影响,探讨 hucMSC-Exo 缓解溃疡性结肠炎小鼠的可能作用机制,以期为临床诊治溃疡性结肠炎提供科学依据。

## 1 材料与方法

**1.1 主要仪器与试剂** CO<sub>2</sub> 培养箱购于常州金坛良友仪器有限公司;流式细胞仪购于杭州菲跃仪器有限公司;BCA 测定试剂盒购自北京鼎国昌盛生物技术有限公司;低速离心机购自安徽中科中佳科学仪器有限公司;多功能酶标仪购自郑州中道生物技术有限公司;倒置显微镜购自上海蔡康光学仪器有限公司。葡聚糖硫酸钠(DSS)购自湖北鑫宇宏生物医药技术有限公司;脂多糖(LPS)购自山东西亚化学有限公司;苏木精-伊红(HE)染色试剂盒购自武汉卡诺斯科技有限公司;白细胞介素(IL)-6、IL-10 和肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )酶联免疫吸附试验(ELISA)检测试剂盒购自广州易锦生物技术有限公司;NLRP3、ASC、Caspase-1 单克隆抗体和 HRP 标记的山羊抗兔 IgG 购自武汉艾美捷科技有限公司。

**1.2 细胞来源** hucMSC 来源于本院新生儿脐带(已获得监护人知情同意书)。

**1.3 hucMSC-Exo 的提取** 将 hucMSC 细胞培养后收集第 4 代培养的上清液,采用超速离心法提取 hucMSC-Exo,采用 BCA 蛋白质定量试剂盒对外泌体中的蛋白质进行定量,于-80℃冰箱保存备用。

**1.4 实验动物** 30 只无特定病原体(SPF)C57BL/6J 雌鼠,6~8 周龄,购自山东艾茂达康生命科学有限公司,许可证号:SCXK(鲁)20230010。小鼠均饲养于标准实验室中,室温 23~25℃,相对湿度 50%~60%,光/暗循环 12 h。给予自由饮水和自由饮食适应 1 周。在整个实验过程中对动物的处置均符合医学伦理学标准,经本院实验动物伦理委员会批准[2022916(6)]。

## 1.5 方法

**1.5.1 动物分组与处理** 将小鼠分为正常组、DSS 模型组和 hucMSC-Exo 修复组,每组 10 只。正常组小鼠自由饮用蒸馏水及进食基础饲料,不做任何处理。DSS 模型组小鼠每日自由饮用 3% DSS 溶液,自由进食基础饲料。hucMSC-Exo 修复组小鼠每日自由饮用 3% DSS 溶液,每隔 3 d 对 hucMSC-Exo 组小鼠尾静脉注射蛋白总量为 1 mg 的 hucMSC-Exo 进行损伤干预。3 组小鼠均连续处理 11 d。

**1.5.2 小鼠疾病活动指数(DAI)评分** 在建模期间每日记录小鼠体质量和粪便性状,根据大便隐血检测试纸进行大便隐血测试,计算 DAI,DAI=(体质量下降率评分+粪便性状评分+粪便隐血评分)/3。其评分标准参考文献[6]。

**1.5.3 病理组织观察** 第 11 天灌胃结束后 2 h,颈椎脱臼法处死各组小鼠,打开腹腔,取病变结肠组织分为两份,一份结肠组织用于病理组织观察,另一份结肠组织保存于冰箱中用于后续实验。然后,用 75% 的乙醇浸泡片刻,置于超净台,无菌条件下剪开肚皮,腹腔注射冰生理盐水 5 mL,灌洗,并收回于离心管,1 300 r/min 离心 5 min,弃上清液,用含 10% FBS 和 1% 青-链霉素溶液的 RPMI-1640 培养基将细胞量调至  $2 \times 10^6 \sim 3 \times 10^6$  个/mL,接种于 6 孔板,于 37℃、5% CO<sub>2</sub> 培养箱中培养,获得腹腔巨噬细胞(MPMs)用于后续实验。

**1.5.4 ELISA 检测小鼠结肠组织中炎症因子水平** 取小鼠结肠组织,制备匀浆液,BCA 法对蛋白浓度进行定量,按照 ELISA 试剂盒说明书分别测定结肠组织匀浆液中 TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-10 水平。

**1.5.5 蛋白质印迹法(WB)检测小鼠结肠组织中 NLRP3 炎症小体相关蛋白(NLRP3、ASC、Caspase-1)的蛋白水平** 取小鼠结肠组织匀浆后加入 RIPA 裂解液提取细胞总蛋白,BCA 法测定蛋白浓度。沸水浴中煮沸 10 min,电泳后转膜,用 5% 脱脂牛奶室温封闭 1 h。加入 NLRP3、ASC 及 Caspase-1 一抗(1:5 000),4℃ 孵育过夜。次日 PBS 洗涤 3 次,然后加入 HRP 标记的山羊抗兔 IgG 二抗(1:1 000),室温孵育 1 h,磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤 3 次,采用发光液进行显色,选择  $\beta$ -肌动蛋白( $\beta$ -actin)作为内参。

**1.5.6 流式细胞术检测小鼠结肠组织中 M1、M2 型巨噬细胞极化水平** 取各组小鼠结肠组织充分研磨,离心分离获得单核细胞悬液,PBS 缓冲液重悬,1 500 r/min 离心 5 min,PBS 清洗细胞 2 次,采用完全培养基进行培养。采用流式细胞仪检测各组结肠组织中 M1 型巨噬细胞(CD11b<sup>+</sup> F4/80<sup>+</sup> CD86<sup>+</sup> CD206<sup>-</sup>)、M2 型巨噬细胞(CD11b<sup>+</sup> F4/80<sup>+</sup> CD86<sup>-</sup> CD206<sup>+</sup>)比例及 M1/M2 型巨噬细胞比值。

**1.5.7 MPMs 分组与诱导** 取 MPMs 将其分为对照组、LPS 诱导组和 hucMSC-Exo 组。LPS 诱导组和



hucMSC-Exo 组细胞采用 100 ng/mL LPS 诱导 4 h, 同时 hucMSC-Exo 组加入 200 μg/mL 的 hucMSC-Exo 干预, 于 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 孵箱培养 12 h 完成对 NLRP3 炎症小体的诱导及巨噬细胞极性的转变。

**1.5.8 WB 检测** 各组 MPMs 中 NLRP3、ASC、Caspase-1 蛋白的水平 收集各组 MPMs 培养上清液, 利用甲醇氯仿法提取上清液中的蛋白, 采用 WB 检测各组 MPMs 中 NLRP3、ASC、Caspase-1 蛋白的水平。平行进行 3 次实验, 具体检测方法同 1.5.5。

**1.5.9 流式细胞术** 检测各组 MPMs 中 M1、M2 型巨噬细胞极化水平 收集各组 MPMs 培养上清液, 采用流式细胞仪检测各组 MPMs 中 M1、M2 型巨噬细胞比例及 M1/M2 型巨噬细胞比值。具体检测方法同 1.5.6。

**1.6 统计学处理** 运用 SPSS 25.0 统计软件进行数据分析。呈正态分布的计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 多组间两两比较采用

LSD-*t* 检验, 以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

**2 结果**

**2.1 各组小鼠 DAI 评分比较** DSS 诱导小鼠后均出现腹泻、体质量减轻、结肠出血等临床症状。正常组 DAI 评分为 (0.56 ± 0.06) 分, DSS 模型组 DAI 评分为 (4.67 ± 0.42) 分, hucMSC-Exo 修复组 DAI 评分为 (1.82 ± 0.20) 分, 3 组间 DAI 评分比较, 差异有统计学意义 ( $F = 725.515, P < 0.05$ ), 其中 DSS 模型组 DAI 评分高于正常组 ( $P < 0.05$ ), hucMSC-Exo 修复组 DAI 评分低于 DSS 模型组 ( $P < 0.05$ )。

**2.2 各组小鼠结肠组织病理形态学表现** 正常组结肠黏膜上皮结构完整, 细胞排列规律, 无炎症细胞浸润和溃疡; DSS 模型组结肠黏膜上皮脱落, 细胞排列紊乱, 黏膜和黏膜下层充血水肿, 大量炎症细胞浸润, 弥漫分布小溃疡; hucMSC-Exo 修复组结肠组织损伤明显改善。见图 1。

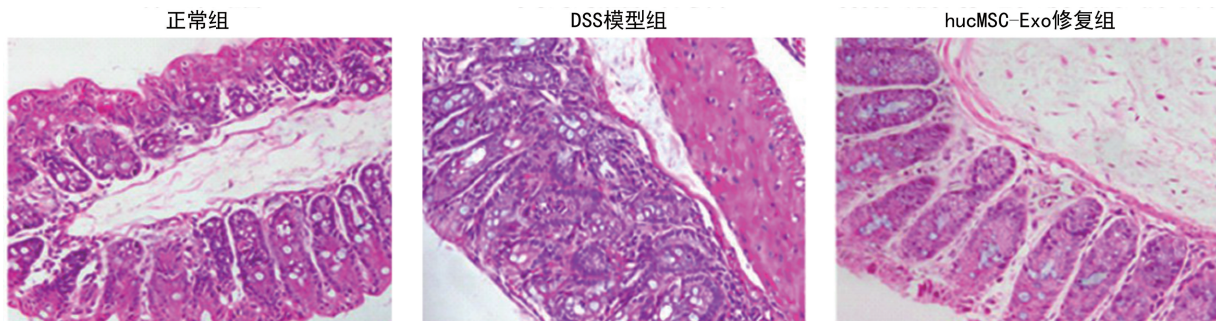


图 1 各组小鼠结肠组织病理形态学表现 (HE 染色, 400×)

**2.3 各组小鼠结肠组织中炎症因子水平比较** 与正常组相比, DSS 模型组结肠组织中 IL-6 和 TNF-α 水平升高, IL-10 水平降低, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。与 DSS 模型组相比, hucMSC-Exo 修复组结肠组织中 IL-6 和 TNF-α 水平降低, IL-10 水平升高, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见表 1。

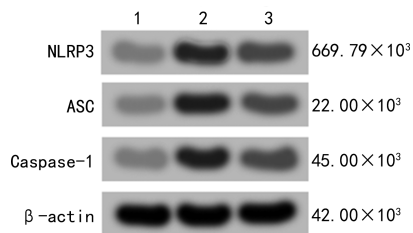
表 1 各组小鼠结肠组织中炎症因子水平比较 ( $n = 10, \bar{x} \pm s$ )

组别	IL-6 (pg/mL)	TNF-α (pg/mL)	IL-10 (ng/L)
正常组	35.68 ± 4.88	4.35 ± 0.52	175.49 ± 20.34
DSS 模型组	89.48 ± 9.46*	10.36 ± 1.13*	86.53 ± 9.11*
hucMSC-Exo 修复组	38.45 ± 5.12#	4.51 ± 0.65#	164.25 ± 17.22#
<i>F</i>	236.790	214.341	106.505
<i>P</i>	<0.001	<0.001	<0.001

注: 与正常组相比, \*  $P < 0.05$ ; 与 DSS 模型组相比, #  $P < 0.05$ 。

**2.4 各组小鼠结肠组织中 NLRP3、ASC、Caspase-1 蛋白水平比较** 与正常组相比, DSS 模型组结肠组织中 NLRP3、ASC、Caspase-1 蛋白水平明显升高, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。与 DSS 模型组相比,

hucMSC-Exo 修复组结肠组织中 NLRP3、ASC、Caspase-1 蛋白水平明显降低, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见图 2 和表 2。



注: 1 为正常组; 2 为 DSS 模型组; 3 为 hucMSC-Exo 修复组。

图 2 各组小鼠结肠组织中 NLRP3、ASC、Caspase-1 蛋白表达 WB 图

表 2 各组小鼠结肠组织中 NLRP3、ASC、Caspase-1 的蛋白水平比较 ( $n = 10, \bar{x} \pm s$ )

组别	NLRP3	ASC	Caspase-1
正常组	0.51 ± 0.05	0.48 ± 0.05	0.49 ± 0.05
DSS 模型组	1.78 ± 0.18*	1.59 ± 0.16*	1.63 ± 0.16*
hucMSC-Exo 修复组	0.85 ± 0.08#	0.79 ± 0.08#	1.05 ± 0.11#
<i>F</i>	376.765	342.296	290.985
<i>P</i>	<0.001	<0.001	<0.001

注: 与正常组相比, \*  $P < 0.05$ ; 与 DSS 模型组相比, #  $P < 0.05$ 。

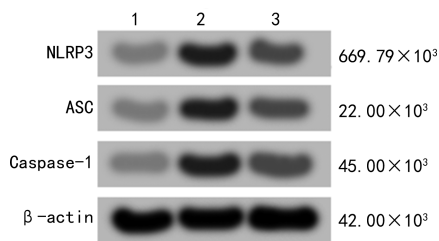
**2.5 各组小鼠结肠组织中 M1、M2 型巨噬细胞比例及 M1/M2 型巨噬细胞比值比较** 与正常组相比, DSS 模型组 M1 型巨噬细胞比例升高, M2 型巨噬细胞比例降低, M1/M2 型巨噬细胞比值升高, 差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。与 DSS 模型组相比, hucMSC-Exo 修复组 M1 型巨噬细胞比例降低, M2 型巨噬细胞比例升高, M1/M2 型巨噬细胞比值降低, 差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 3。

**表 3 各组小鼠结肠组织中 M1、M2 型巨噬细胞比例及 M1/M2 型巨噬细胞比值比较 ( $n = 10, \bar{x} \pm s$ )**

组别	M1 型巨噬细胞(%)	M2 型巨噬细胞(%)	M1/M2 型巨噬细胞比值
正常组	6.03±0.65	6.87±0.71	0.94±0.11
DSS 模型组	11.68±1.23*	1.02±0.19*	11.57±1.23*
hucMSC-Exo 修复组	7.52±0.78 <sup>#</sup>	7.31±0.77 <sup>#</sup>	1.13±0.15 <sup>#</sup>
F	158.505	391.741	860.846
P	<0.001	<0.001	<0.001

注:与正常组相比, \*  $P < 0.05$ ; 与 DSS 模型组相比, <sup>#</sup>  $P < 0.05$ 。

**2.6 各组 MPMs 中 NLRP3、ASC、Caspase-1 蛋白水平比较** 与对照组相比, LPS 诱导组 NLRP3、ASC、Caspase-1 蛋白水平升高, 差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。与 LPS 诱导组相比, hucMSC-Exo 组 NLRP3、ASC、Caspase-1 蛋白水平降低, 差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。见图 3 和表 4。



注:1 为对照组;2 为 LPS 诱导组;3 为 hucMSC-Exo 组。

**图 3 各组 MPMs 中 NLRP3、ASC、Caspase-1 蛋白表达 WB 图**

**表 4 各组 MPMs 中 NLRP3、ASC、Caspase-1 蛋白水平对比结果 ( $\bar{x} \pm s$ )**

组别	NLRP3	ASC	Caspase-1
对照组	0.47±0.05	0.50±0.05	0.49±0.05
LPS 诱导组	1.67±0.17*	1.57±0.16*	1.63±0.16*
hucMSC-Exo 组	0.79±0.08 <sup>#</sup>	0.74±0.07 <sup>#</sup>	0.68±0.07 <sup>#</sup>
F	367.746	343.891	406.945
P	<0.001	<0.001	<0.001

注:与对照组相比, \*  $P < 0.05$ ; 与 LPS 诱导组相比, <sup>#</sup>  $P < 0.05$ 。

**2.7 各组 MPMs 中 M1 和 M2 型巨噬细胞比例及 M1/M2 型巨噬细胞比值比较** 与对照组相比, LPS 诱导组 M1 型巨噬细胞比例升高, M2 型巨噬细胞比例降低, M1/M2 型巨噬细胞比值升高, 差异均有统计

学意义( $P < 0.05$ )。与 LPS 诱导组相比, hucMSC-Exo 组 M1 型巨噬细胞比例降低, M2 型巨噬细胞比例升高, M1/M2 型巨噬细胞比值降低, 差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 5。

**表 5 各组 MPMs 中 M1、M2 型巨噬细胞比例及 M1/M2 型巨噬细胞比值比较 ( $\bar{x} \pm s$ )**

组别	M1 型巨噬细胞(%)	M2 型巨噬细胞(%)	M1/M2 型巨噬细胞比值
对照组	5.67±0.57	5.91±0.62	0.93±0.09
LPS 诱导组	12.67±1.31*	1.02±0.11*	12.36±1.34*
hucMSC-Exo 组	7.89±0.83* <sup>#</sup>	6.77±0.72* <sup>#</sup>	1.17±0.15* <sup>#</sup>
F	168.746	378.495	840.823
P	<0.001	<0.001	<0.001

注:与对照组相比, \*  $P < 0.05$ ; 与 LPS 诱导组相比, <sup>#</sup>  $P < 0.05$ 。

### 3 讨 论

溃疡性结肠炎是一种直肠和结肠慢性非特异性炎症性疾病, 多见于 20~40 岁, 临床主要表现为腹泻、黏液脓血便、腹痛<sup>[7-8]</sup>。溃疡性结肠炎是由于长期炎症刺激, 导致结肠黏膜出现浅表的溃疡性病变, 该病也是结肠癌风险增加的重要因素。目前临床治疗多以缓解溃疡性结肠炎患者临床症状为主, 尚无有效治愈方式。临床亟需选择合适、有效的新方法治愈溃疡性结肠炎。

DSS 是一种人工合成、高度聚合的硫酸多糖, 主要由葡糖醛酸单位通过硫酸酯键连接而成, 用作化学致炎剂。研究显示, DSS 造成的结肠组织病理改变接近人类溃疡性结肠炎, 往往出现以血便、肠道黏膜溃疡和粒细胞浸润为特征的结肠炎症<sup>[9-10]</sup>。基于此, 本研究采用 3% DSS 溶液构建溃疡性结肠炎小鼠模型进行分析。本研究中, DSS 诱导小鼠后出现腹泻、体质量减轻、结肠出血等临床特征, 表明溃疡性结肠炎小鼠模型构建成功。病理组织学检查结果显示, DSS 诱导小鼠经尾静脉注射 hucMSC-Exo 后, 受损的结肠组织得到明显的修复; 同时 DSS 诱导小鼠注射 hucMSC-Exo 后, 小鼠体质量减轻、腹泻、血便等临床症状得到明显缓解, DAI 评分明显降低。本研究结果表明 hucMSC-Exo 可明显缓解 DSS 对小鼠结肠组织造成的损伤。本研究中, DSS 诱导小鼠经尾静脉注射 hucMSC-Exo 后, 结肠组织中 IL-6 和 TNF- $\alpha$  水平降低, IL-10 水平升高。溃疡性结肠炎属于炎症性肠病, 是以结肠黏膜连续性、弥漫性炎症分布为特点的慢性非特异性肠道炎症性疾病<sup>[11]</sup>。IL-6 和 TNF- $\alpha$  是溃疡性结肠炎病变过程中主要的促炎性细胞因子, 而 IL-10 是抑制炎症的细胞因子。既往研究显示, 溃疡性结肠炎小鼠结肠组织中 IL-6 和 TNF- $\alpha$  水平升高, IL-10 水平降低; 溃疡性结肠炎小鼠经治疗后, IL-6 和 TNF- $\alpha$  水平明显下降<sup>[12]</sup>。本研究结果表明, hucMSC-Exo

干预后,可明显减轻 DSS 诱导的溃疡性结肠炎小鼠的结肠组织炎症反应。

NLRP3 不参与炎症介质的转录激活,但是参与细胞焦亡,同时也是调节 Caspase-1 激活的炎症小体的组成部分<sup>[13]</sup>。NLRP3 炎症小体和促炎性细胞因子在炎症启动中发挥重要作用,其水平升高是溃疡性结肠炎主要的病理机制<sup>[14]</sup>。本研究中,与正常组相比,DSS 模型组结肠组织中 NLRP3、ASC、Caspase-1 蛋白水平明显升高;与 DSS 模型组相比,hucMSC-Exo 修复组结肠组织中 NLRP3、ASC、Caspase-1 蛋白水平明显降低。NLRP3 炎症小体是目前研究最多的炎症小体,它是一种细胞质中的多蛋白复合物,主要由 NLRP3、ASC 和 Caspase-1 组成,在先天性免疫中发挥着关键作用,也是人体抵御病原体的第一道防线。既往研究显示,溃疡性结肠炎大鼠结肠组织中 Caspase-1、ASC、NLRP3 蛋白水平明显升高,模型大鼠经穴位埋线治疗后结肠组织中 Caspase-1、ASC、NLRP3 蛋白水平明显降低<sup>[15]</sup>,这与本研究结果有异曲同工之妙。本研究结果表明 hucMSC-Exo 干预后,可抑制 DSS 诱导的溃疡性结肠炎小鼠的 NLRP3 炎症小体激活,进而减缓 DSS 对结肠黏膜的损伤。

巨噬细胞是人体固有免疫系统中非常重要的一类免疫细胞,具有强大的识别、吞噬、清除细菌及外来异物、处理并提呈抗原、介导特异性免疫应答、清除衰老细胞、修复损伤及维持自身代谢稳定的功能<sup>[16-17]</sup>。巨噬细胞极化是指成熟巨噬细胞在特殊微环境刺激下,产生不同功能表型的过程,巨噬细胞的极化表型可以在生理和病理条件下逆转。本研究中,hucMSC-Exo 干预后,DSS 诱导的溃疡性结肠炎小鼠结肠组织中 M1 型巨噬细胞比例降低,M2 型巨噬细胞比例升高,M1/M2 型巨噬细胞比值降低。既往研究显示,姜黄素可抑制巨噬细胞活化并调节 M1/M2 型巨噬细胞极化和效应功能,从而抑制促炎性细胞因子的释放,改善溃疡性结肠炎的症状<sup>[18]</sup>。本研究表明 hucMSC-Exo 可通过抑制溃疡性结肠炎小鼠巨噬细胞中 NLRP3 炎症小体的激活,将巨噬细胞的极化从促炎的 M1 型转化为抗炎的 M2 型,恢复溃疡性结肠炎小鼠 M1、M2 型巨噬细胞极化平衡,进而修复结肠黏膜屏障功能。本研究通过 MPMs 验证 hucMSC-Exo 能否体外调控巨噬细胞 NLRP3 炎症小体,研究结果显示 LPS 诱导的 MPMs 经 hucMSC-Exo 干预后,NLRP3、ASC、Caspase-1 蛋白水平明显降低,M1 型巨噬细胞比例降低,M2 型巨噬细胞比例升高,M1/M2 型巨噬细胞比值下降。细胞体外实验进一步证明 hucMSC-Exo 可抑制 MPMs 中 NLRP3 炎症小体表达,恢复巨噬细胞 M1/M2 极化平衡。

综上所述,本研究表明 hucMSC-Exo 干预 DSS 诱导的溃疡性结肠炎小鼠可明显改善临床症状,降低机体炎症水平,抑制结肠组织中 NLRP3 炎症小体表

达,诱导巨噬细胞向 M2 型转化;同时,体外研究证实 hucMSC-Exo 可抑制 MPMs 中 NLRP3 炎症小体水平。本研究只进行了细胞实验和动物实验研究,尚未进行临床研究分析,未来需继续深入研究进行验证。

## 参考文献

- [1] KOBAYASHI T, SIEGMUND B, LE BERRE C, et al. Ulcerative colitis[J]. Nat Rev Dis Primers, 2020, 6(1): 74.
- [2] DHARMASIRI S, GARRIDO-MARTIN E M, HARRIS R J, et al. Human intestinal macrophages are involved in the pathology of both ulcerative colitis and crohn disease [J]. Inflamm Bowel Dis, 2021, 27(10): 1641-1652.
- [3] WANG J, WU Z, HUANG Y, et al. IRF4 induces M1 macrophage polarization and aggravates ulcerative colitis progression by the Bcl6-dependent STAT3 pathway[J]. Environ Toxicol, 2024, 39(4): 2390-2404.
- [4] MA Q. Pharmacological inhibition of the NLRP3 inflammasome: structure, molecular activation, and Inhibitor-NLRP3 interaction[J]. Pharmacol Rev, 2023, 75(3): 487-520.
- [5] LIU L, LIANG C L, FAN W, et al. Effect of human umbilical cord mesenchymal stem cell exosomes on aerobic metabolism of human retinal pigment epithelial cells[J]. Int Ophthalmol, 2023, 43(4): 1325-1335.
- [6] 李亚兰, 刘佳静, 马沛广, 等. 葛根苓连汤调控 MMP-9/p38 MARK 途径修复溃疡性结肠炎小鼠肠黏膜上皮屏障功能[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(4): 8-15.
- [7] JORDAN A A, HIGGINS P D. The role of upadacitinib in the treatment of ulcerative colitis [J]. Immunotherapy, 2023, 15(10): 713-727.
- [8] CALMÉJANE L, LAHARIE D, KIRCHGESNER J, et al. Review article: updated management of acute severe ulcerative colitis: from steroids to novel medical strategies[J]. United European Gastroenterol J, 2023, 11(8): 722-732.
- [9] 卞中博, 张秋玉, 秦勇, 等. 丁酸钠对 DSS 诱导小鼠炎症性肠病的作用及对 Nrf2/NF-κB 表达影响[J]. 营养学报, 2022, 44(1): 72-78.
- [10] YAN Y X, SHAO M J, QI Q, et al. Artemisinin analogue SM934 ameliorates DSS-induced mouse ulcerative colitis via suppressing neutrophils and macrophages [J]. Acta Pharmacol Sin, 2018, 39(10): 1633-1644.
- [11] ANTONELLI E K, DEL S R, MORELLI O, et al. Update on ozanimod for ulcerative colitis [J]. Drugs Today (Barc), 2022, 58(7): 351-367.
- [12] 肖秋萍, 黄佳琦, 万琪, 等. 补脾益肠丸通过抑制溃疡性结肠炎模型小鼠糖酵解代谢途径发挥抗炎作用的机制研究 [J]. 中药新药与临床药理, 2024, 35(1): 1-9.
- [13] DI Q, ZHAO X B, TANG H M, et al. USP22 suppresses the NLRP3 inflammasome by degrading NLRP3 via ATG5-dependent autophagy [J]. Autophagy, 2023, 19(3): 873-885.



• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2025.02.005

# 血清 Ang1-7、ALBI 评分与急性失代偿性心力衰竭患者 心功能及短期预后的关系\*

柏玉顺,高发林,祁兴平

安徽省滁州市中西医结合医院心血管内科,安徽滁州 239000

**摘要:**目的 探讨血清血管紧张素 1-7(Ang1-7)、清蛋白-胆红素(ALBI)评分与急性失代偿性心力衰竭(ADHF)患者心功能及短期预后的关系。**方法** 选择 2020 年 10 月至 2023 年 10 月该院心血管内科收治的 128 例 ADHF 患者作为 ADHF 组,选择同期于该院体检中心体检的 79 例健康志愿者作为对照组。检测所有研究对象血清 Ang1-7 水平,根据基线清蛋白和胆红素水平计算 ALBI 评分;ADHF 患者出院后随访 6 个月,记录随访期间 ADHF 患者全因死亡以及不良心血管事件的发生情况。分析 ADHF 患者血清 Ang1-7 水平和 ALBI 评分与心功能参数[左心室射血分数(LVEF)、左心房内径(LAD)、左心室舒张末期内径(LVDd)]的相关性,采用多因素 Logistic 回归分析影响 ADHF 患者短期预后的因素,绘制受试者工作特征(ROC)曲线分析血清 Ang1-7 联合 ALBI 评分预测 ADHF 患者短期预后的价值。**结果** ADHF 组血清 Ang1-7 水平低于对照组( $P < 0.05$ ),ALBI 评分高于对照组( $P < 0.05$ )。随访期间 1 例失访,54 例预后不良,73 例预后良好。预后不良组血清 Ang1-7 水平低于预后良好组( $P < 0.05$ ),ALBI 评分高于预后良好组( $P < 0.05$ )。ADHF 患者血清 Ang1-7 水平与 LAD、LVDd 呈负相关( $P < 0.05$ ),与 LVEF 呈正相关( $P < 0.05$ );ALBI 评分与 LVEF 呈负相关( $P < 0.05$ ),与 LAD、LVDd 呈正相关( $P < 0.05$ )。高 ALBI 评分、NYHA 分级 IV 级、BNP 水平高均是 ADHF 患者短期预后不良的危险因素( $P < 0.05$ ),Ang1-7 水平高是 ADHF 患者短期预后不良的保护因素( $P < 0.05$ )。ROC 曲线分析结果显示,血清 Ang1-7 联合 ALBI 评分预测 ADHF 患者短期预后不良的曲线下面积(AUC)为 0.911(95%CI:0.848~0.954),高于血清 Ang1-7、ALBI 评分单独预测的 AUC[0.814(95%CI:0.735~0.878)、0.819(95%CI:0.741~0.882)],差异均有统计学意义( $Z = 3.003, 2.553, P = 0.01, 0.019$ )。**结论** ADHF 短期预后不良患者 ALBI 评分较高,血清 Ang1-7 水平偏低,与患者心功能减退和短期预后不良有关,血清 Ang1-7 联合 ALBI 评分对 ADHF 短期预后具有较高的预测价值。

**关键词:**急性失代偿性心力衰竭; 短期预后; 清蛋白-胆红素评分; 血管紧张素 1-7; 诊断

中图分类号:R446.1;R541.6+1

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2025)02-0172-06

## Relationship between serum Ang1-7 and ALBI score with cardiac function and short-term prognosis in patients with acute decompensated heart failure\*

BAI Yushun, GAO Falin, QI Xingping

Department of Cardiovascular Medicine, Chuzhou Municipal Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Chuzhou, Anhui 239000, China

**Abstract: Objective** To investigate the relationship between angiotensin 1-7 (Ang1-7) and albumin-bilirubin (ALBI) score with the cardiac function and short-term prognosis in the patients with acute decompensated heart failure (ADHF). **Methods** A total of 128 ADHF patients admitted and treated in the Cardiovascular Medicine Department of this hospital from October 2020 to October 2023 were selected as the ADHF group, and 79 healthy volunteers undergoing the physical examination at the Physical Examination Center of this hospital during the same period were selected as the control group. The serum Ang1-7 level of all study subjects was detected, and the ALBI score was calculated based on the baseline albumin and bilirubin levels. The occurrence of all-cause death and adverse cardiovascular events was recorded within 6 months follow up after discharge. The correlation of serum Ang1-7 level and ALBI score with the cardiac function parameters [left ventricular ejection fraction (LVEF), left atrial diameter (LAD), left ventricular end-diastolic diameter (LVDd)] in DHF patients was analyzed. The multivariate Logistic regression analysis was used to analyze the factors influencing the short-term prognosis of ADHF patients, and the receiver operating characteristic (ROC) curve was drawn to analyze the value of serum Ang1-7 combined with ALBI score in predicting the

\* 基金项目:安徽省卫生健康委员会科研项目(AHWJ2021b0116)。

作者简介:柏玉顺,男,主治医师,主要从事心力衰竭方向的研究。