

# 黄芩苷通过抗炎机制降低猪源肠外致病性大肠杆菌感染损伤

刘微<sup>1</sup>, 任明星<sup>1</sup>, 王培懿<sup>1</sup>, 肖涌<sup>1</sup>, 吴爱华<sup>1</sup>, 张焱焱<sup>1,2,3</sup>, 付书林<sup>1,2,3</sup>, 邱银生<sup>1,2,3</sup>, 宗冰冰<sup>1,2,3\*</sup>

- 1 武汉轻工大学 动物科学与营养工程学院, 湖北 武汉
- 2 农业农村部畜禽细菌病防治制剂创制重点实验室, 湖北 武汉
- 3 畜禽病原微生物学湖北省重点实验室, 湖北 武汉

刘微, 任明星, 王培懿, 肖涌, 吴爱华, 张焱焱, 付书林, 邱银生, 宗冰冰. 黄芩苷通过抗炎机制降低猪源肠外致病性大肠杆菌感染损伤[J]. 微生物学报, 2025, 65(11): 4951-4960.

LIU Wei, REN Mingxing, WANG Peiyi, XIAO Yong, WU Aihua, ZHANG Yanyan, FU Shulin, QIU Yinsheng, ZONG Bingbing. Baicalin protects mice from infection with porcine extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* via alleviating the inflammatory response[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2025, 65(11): 4951-4960.

**摘要:** 【目的】探讨黄芩苷对感染猪源肠外致病性大肠杆菌(extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*, ExPEC) PCN033 株小鼠的保护作用及其机制。【方法】采用小鼠感染模型和免疫印迹等实验检测感染组和药物治疗组小鼠的临床特征、存活率、组织载菌量、病理变化, 以及小鼠体内 P65、I $\kappa$ B $\alpha$ 、NLRP3、ASC、Caspase-1 等蛋白的表达水平。【结果】黄芩苷处理后, 药物治疗组小鼠的精神状态明显优于感染组小鼠; 药物治疗组小鼠的存活率高于感染组小鼠, 且 PCN033 株在药物治疗组小鼠血液、脑和肺中的定殖能力弱于在感染组小鼠中的定殖能力。进一步研究发现黄芩苷抑制了 PCN033 株感染导致的小鼠体内 P65、I $\kappa$ B $\alpha$  等蛋白磷酸化水平的激活, 降低了 NLRP3、ASC、Caspase-1 等蛋白的表达。【结论】黄芩苷通过抑制 NF- $\kappa$ B 信号通路和阻断 NLRP3 炎性小体的激活减轻猪源 ExPEC 感染导致的小鼠炎性反应, 进而通过减弱猪源 ExPEC 感染小鼠的临床症状和组织损伤等发挥保护作用, 提示黄芩苷可能是一种通过调节炎症反应防治猪源 ExPEC 感染的潜在药物。

**关键词:** 猪源肠外致病性大肠杆菌; 黄芩苷; 存活率; 组织载菌量; 炎症反应

资助项目: 国家自然科学基金(32202814); 湖北省重点研发计划(2023BBB069)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (32202814) and the Hubei Province Key Research and Development Plan (2023BBB069).

\*Corresponding author. E-mail: zongbingbing@whpu.edu.cn

Received: 2025-04-07; Accepted: 2025-05-19; Published online: 2025-06-20

# Baicalin protects mice from infection with porcine extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* via alleviating the inflammatory response

LIU Wei<sup>1</sup>, REN Mingxing<sup>1</sup>, WANG Peiyi<sup>1</sup>, XIAO Yong<sup>1</sup>, WU Aihua<sup>1</sup>, ZHANG Yanyan<sup>1,2,3</sup>, FU Shulin<sup>1,2,3</sup>, QIU Yinsheng<sup>1,2,3</sup>, ZONG Bingbing<sup>1,2,3\*</sup>

1 School of Animal Science and Nutritional Engineering, Wuhan Polytechnic University, Wuhan, Hubei, China

2 Key Laboratory of Prevention and Control Agents for Animal Bacteriosis (Ministry of Agriculture and Rural Affairs), Wuhan, Hubei, China

3 Hubei Provincial Key Laboratory of Animal Pathogenic Microbiology, Wuhan, Hubei, China

**Abstract:** [Objective] To study the protective effect of baicalin on mice infected by porcine extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* (ExPEC) PCN033 strain and explore the underlying mechanism. [Methods] The mouse infection model and Western blotting were employed to determine the clinical features, survival rate, bacterial loads in different tissue samples, pathological changes, and expression levels of P65, I $\kappa$ B $\alpha$ , NLRP3, ASC, and Caspase-1 of mice in the infection group and the baicalin treatment group. [Results] After baicalin treatment, the mental state of mice in the baicalin treatment group was obviously better than that in the infection group. The survival rate of mice in the baicalin treatment group was higher than that in the infection group, and the colonization ability of PCN033 in the blood, brain, and lung of mice in the baicalin treatment group was lower than that in the infection group. Further studies showed that baicalin inhibited the PCN033 infection-induced activation of phosphorylation of P65 and I $\kappa$ B $\alpha$  and down-regulated the expression levels of NLRP3, ASC, and Caspase-1 in mice. [Conclusion] Baicalin alleviated the inflammatory response caused by porcine ExPEC infection by inhibiting NF- $\kappa$ B signaling pathway and blocking the activation of NLRP3 inflammasome, thereby reducing the clinical symptoms and tissue damage in mice. It is suggested that baicalin may be a potential drug to prevent and treat porcine ExPEC infection by regulating the inflammatory response.

**Keywords:** porcine extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*; baicalin; survival rate; bacterial load in tissue; inflammatory response

肠外致病性大肠杆菌(extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*, ExPEC)是近年来发现的一种人畜共患病原菌。ExPEC 含有特殊的毒力因子, 能够使其在宿主的血液、组织中存活并增殖<sup>[1]</sup>, 主要引发人和动物免疫系统的损伤<sup>[2]</sup>。ExPEC 可在肠道以外的组织器官定殖并导致疾病, 如脑膜炎、新生儿败血症, 以及多种动物的尿路

感染或全身性疾病<sup>[3]</sup>。从肠道外感染组织中分离出的大肠杆菌菌株根据宿主及感染部位的不同可分为尿道致病性大肠杆菌(uropathogenic *Escherichia coli*, UPEC)、新生儿脑膜炎大肠杆菌(newborn meningitis *Escherichia coli*, NMEC)、败血症相关大肠杆菌(septicemic *Escherichia coli*, SEPEC)、禽致病性大肠杆菌(avian pathogenic

*Escherichia coli*, APEC)、乳腺致病性大肠杆菌 (mammary pathogenic *Escherichia coli*, MPEC) 等类型<sup>[4-5]</sup>。目前, 有关肠外致病性大肠杆菌的研究主要集中于人源和禽源肠外致病性大肠杆菌, 而对猪源 ExPEC 的研究相对较少。近年来, 我国 19 个省养猪业中感染猪源 ExPEC 的猪群发病率从 2004 年的 3.1% 上升至 2007 年的 14.6%<sup>[4]</sup>。在我国, 猪源 ExPEC 在猪群中的感染呈上升趋势, 且具有分离率逐年升高、耐药谱广、人畜共患潜力大等特点, 这很可能是由于抗生素的广泛使用或免疫抑制疾病大规模流行所导致<sup>[6]</sup>。

猪源 ExPEC 对传统抗生素(如  $\beta$ -内酰胺类、氟喹诺酮类)的耐药率高达 60%–90%, 现有防控手段效果欠佳<sup>[7]</sup>。在“减抗/禁抗”政策背景下, 中兽药通过直接抑菌、调控炎症通路(如 TLR/NF- $\kappa$ B)以及增强宿主免疫等机制发挥替抗和抑炎作用<sup>[8]</sup>。黄芩苷(baicalin, BA)是从黄芩中提取的有效成分之一, 属于黄酮类化合物, 是黄芩发挥药理活性的基础, 具有抗病毒、抗菌、抗过敏、清除自由基、免疫调节等多种药理作用<sup>[9]</sup>。以黄芩苷为主要成分的药物剂型在临床应用多年, 主要有黄芩片、黄芩苷片及黄芩苷注射剂等, 黄芩苷类注射剂具有较好的安全性和临床实用性<sup>[10]</sup>。黄芩苷对多种细菌具有较强的抗炎作用, 但其抗猪源 ExPEC 的作用尚不明确<sup>[11]</sup>。

ExPEC 已被报道可激活 NF- $\kappa$ B 和 NLRP3 等多种炎症信号通路<sup>[12-13]</sup>。本研究通过建立猪源 PCN033 株小鼠感染模型比较了小鼠存的活率、临床特征、组织载菌量及组织病理变化等指标, 结合 Western blotting 及免疫荧光技术探究了黄芩苷对猪源 ExPEC PCN033 株诱导的 NF- $\kappa$ B 及 NLRP3/ASC/Caspase-1 炎症小体信号通路的调控机制, 以期黄芩苷用于治疗猪源 ExPEC 感染提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要试剂和培养基

黄芩苷( $\geq 98\%$ ), 四川协力制药股份有限公司; 磷酸缓冲盐溶液(PBS), 大连美仑生物技术有限公司; 肝素钠、4% 多聚甲醛, 北京索莱宝科技有限公司; 氯化钠, 上海国药集团试剂有限公司上海试验公司; 胰蛋白胨、酵母浸粉, 赛默飞世尔科技公司。

LB 液体培养基(g/L): 氯化钠 10.0, 胰蛋白胨 10.0, 酵母浸粉 5.0。

### 1.2 菌株和生长条件

猪源 ExPEC PCN033 菌株, D 群, 血清型 O11, 由华中农业大学谭臣教授惠赠, 本实验室保存。

PCN033 菌株已被证实为强毒株, 可在含有相应浓度抗生素的 LB 肉汤或 LB 琼脂板上生长。

### 1.3 实验动物的分组和处理

动物实验经武汉轻工大学动物伦理委员会批准, 编号为 WPU202206005。选取 69 只 4 周龄雌性昆明小鼠, 购自湖北省疾病预防控制中心。购买的实验小鼠在动物房中饲养 3 d, 以防止小鼠应激, 期间按时更换垫料, 保证充足饲料和饮水。

#### 1.3.1 试验分组

三种试验均分为 3 组, 即空白对照组(不感染不给药)、感染组(感染不给药)和药物治疗组(感染给药)。

保护率试验: 将 30 只小鼠随机分成 3 组, 每组 10 只。观察并记录感染后小鼠的临床状态、体重变化及存活情况。

组织载菌量和组织病理学观察试验: 将 15 只小鼠随机分成 3 组, 每组 5 只。感染 6 h 后麻醉小鼠取心、肝、脾、肺、肾、脑、血液, 充分研磨并稀释后涂布于平板上, 次日记录菌量; 同时取灌流后的各组织, 浸泡于 4% 多聚甲醛中

固定，用于后续病理切片制作及观察。

**蛋白检测试验：**将 24 只小鼠随机分成 3 组，每组 8 只，感染 72 h 后解剖采集组织样品。

### 1.3.2 攻毒及给药处理

攻毒采用腹腔注射方式。保护率试验、组织载菌量和组织病理试验的攻毒剂量为  $1 \times 10^7$  CFU/只，蛋白检测试验的攻毒剂量为  $5 \times 10^6$  CFU/只，分别接种感染组和药物治疗组小鼠，同时给空白对照组接种相同剂量的 PBS 溶液。药物治疗组小鼠颈背部皮下多点注射 50 mg/kg 黄芩苷，空白对照组和感染组注射相同剂量的 PBS。首次给药在攻毒后进行，每天给药 2 次，直至剖检当天。

### 1.4 小鼠临床特征、体重变化和存活情况的测定

攻毒后开始观察并记录各组小鼠的临床状态及存活情况，每 24 h 称量小鼠体重并记录。

### 1.5 组织载菌量的测定

攻毒 6 h 后麻醉小鼠，打开胸腔，心脏采血 150–200  $\mu$ L 放入含有肝素钠的 EP 管中。再对心脏进行灌流，充分去除血管中的血液，取小鼠的肺、脑组织放入含有 1 mL PBS 溶液和灭菌钢珠的 EP 管中。将取出的器官组织称重，充分研磨后稀释，取合适稀释度均匀涂布于 LB 平板上，37  $^{\circ}$ C 培养 12 h，次日计算菌株在血液 (CFU/mL) 和脏器中的含菌量 (CFU/g) 并记录。

### 1.6 组织器官病理变化观察

将 1.5 节中小鼠解剖后的器官完整分离出，拍照并观察感染组和药物治疗组与空白对照组之间的器官差异。分离出脏器后，取部分组织浸泡于 4% 多聚甲醛溶液中固定，用乙醇梯度洗脱，之后用石蜡包埋切片 (5  $\mu$ m)，采用苏木精-伊红染色，最后在高倍光学显微镜下观察。

### 1.7 体内 NF- $\kappa$ B 及 NLRP3 炎性小体信号通路的测定

感染 72 h 后解剖小鼠，采集组织样品，提

取全蛋白以便后续试验。采用蛋白质免疫印迹 (Western blotting) 试验测定小鼠感染猪源 ExPEC PCN033 株 72 h 后组织中 NF- $\kappa$ B 信号通路相关蛋白 (P65、p-P65、I $\kappa$ B $\alpha$ 、p-I $\kappa$ B $\alpha$ ) 和 NLRP3 炎性小体相关蛋白 (NLRP3、ASC、Caspase-1) 的表达量。

### 1.8 统计分析

用 SPSS Statistics 23 软件进行单因素 one-way ANOVA 检验。用  $P < 0.05$  表示差异显著， $P < 0.01$  和  $P < 0.001$  表示差异极显著。

## 2 结果与分析

### 2.1 黄芩苷对 PCN033 株感染小鼠临床状态的影响

空白对照组小鼠精神状态良好，活泼好动，采食量和饮水量正常，体重数据平稳且呈上升趋势。感染组和药物治疗组小鼠在感染猪源 ExPEC PCN033 株后的 12 h 内均存活，但精神状态萎靡，采食量和饮水量异常，被毛暗淡无光泽，活动减少，蜷缩无力。在后续感染周期内称量小鼠体重时发现，2 组小鼠体重均大幅下降，且感染组和药物治疗组均出现小鼠死亡情况。感染后期，感染组和药物治疗组小鼠的精神状态有所恢复，开始恢复采食和饮水等活动，体重也开始回升。

### 2.2 黄芩苷对 PCN033 株感染小鼠体重变化的影响

空白对照组小鼠体重平稳上升。感染组和药物治疗组小鼠在感染第 1 天采食、饮水活动基本停止，精神萎靡，体重大幅下降。对比发现，感染组和药物治疗组的体重下降程度不一致，药物治疗组的体重下降程度较感染组有所缓解。感染 2 d 后，2 组剩余存活的小鼠体重不再下降，且开始缓慢回升 (图 1)。

### 2.3 黄芩苷对 PCN033 株感染小鼠存活率的影响

空白对照组小鼠未出现死亡情况。如图 2 所示, 感染后 24 h 内, 感染组和药物治疗组小鼠开始出现死亡; 24 h 后, 感染组有小鼠死亡, 药物治疗组未发现小鼠死亡; 96 h 后, 药物治

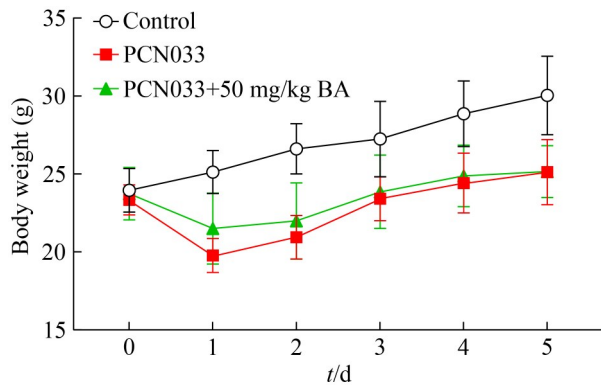


图1 各组小鼠感染猪源ExPEC PCN033株后的体重变化。Control: 空白对照组; PCN033: 感染组; PCN033+50 mg/kg BA: 药物处理组, 下同。

Figure 1 Changes in body weight of mice in each group after porcine ExPEC PCN033 infection. Control: The blank control group; PCN033: The infection group; PCN033+50 mg/kg BA: The drug treatment group, the same below.

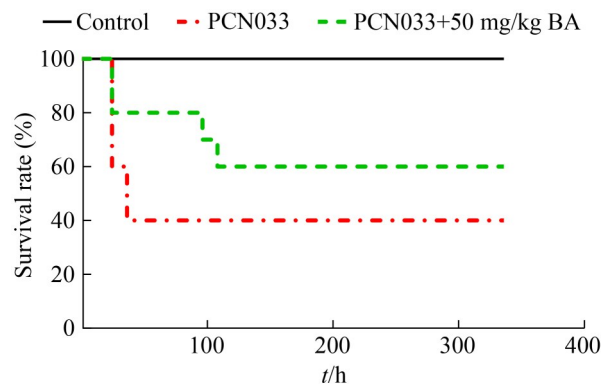


图2 各组小鼠感染猪源ExPEC PCN033株后的生存曲线

Figure 2 Survival curves of mice in each group after porcine ExPEC PCN033 infection.

疗组有小鼠死亡, 感染组未发现小鼠死亡。在后续试验周期内各组小鼠均未出现死亡。空白对照组小鼠存活率为 100%, 感染组小鼠存活率为 40%, 药物治疗组小鼠存活率为 60%。

### 2.4 黄芩苷对 PCN033 株感染小鼠组织载菌量的影响

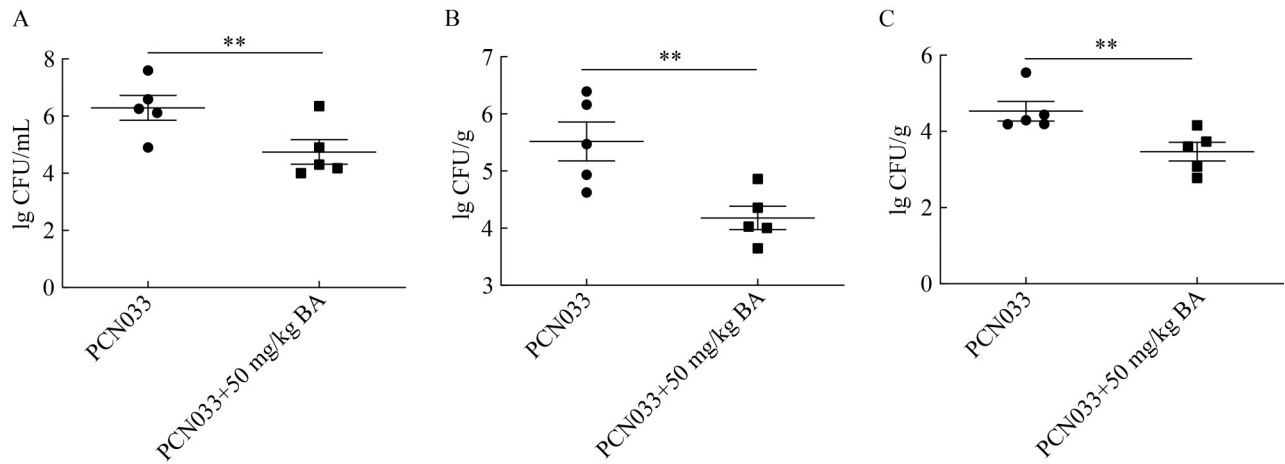
对从小鼠体内分离出的肺、脑以及血液进行的细菌载菌量测定结果如图 3 所示, 药物治疗组小鼠血液及各组织载菌量与感染组相比显著减少。试验结果表明, 黄芩苷可显著降低猪源 ExPEC PCN033 株在血液、肺、脑中的定殖能力。

### 2.5 黄芩苷对 PCN033 株感染小鼠组织病理学改变的影响

组织病理切片在光学显微镜下的图像如图 4 所示。肺脏病理切片显示: 空白对照组肺泡结构清晰, 肺泡内无渗出物; 感染组肺泡结构遭到破坏, 肺泡腔内可见出血和炎性细胞浸润; 药物治疗组肺泡壁较为完整, 肺泡腔内未见明显的炎性细胞和红细胞。脑病理切片显示: 空白对照组小鼠脑组织结构紧密, 未见明显损伤; 感染组小鼠脑组织间炎性细胞浸润增多; 药物治疗组小鼠脑组织的病理损伤较感染模型组轻。由此可见, 经黄芩苷治疗后的小鼠肺脏及脑组织病变情况明显减轻。

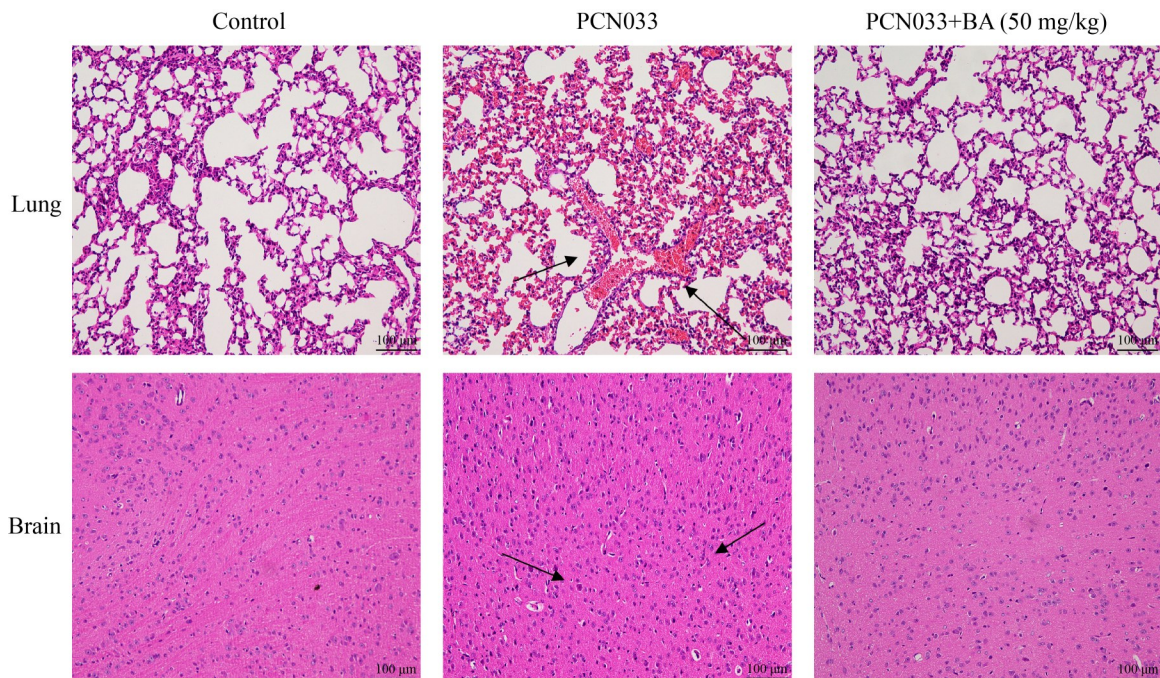
### 2.6 黄芩苷对 PCN033 株感染小鼠 p-P65 和 p-IκBα 蛋白表达的影响

对猪源 ExPEC PCN033 株感染 72 h 后的小鼠组织进行 Western blotting 试验, 结果见图 5。经分析可知, 猪源 ExPEC PCN033 株感染小鼠 72 h 后显著诱导 p-P65 蛋白的表达 ( $P<0.05$ ), 极显著诱导 p-IκBα 蛋白的表达 ( $P<0.01$ ); 黄芩苷药物处理后极显著下调 p-P65 蛋白的表达 ( $P<0.01$ ), 显著下调 p-IκBα 蛋白的表达 ( $P<0.05$ )。



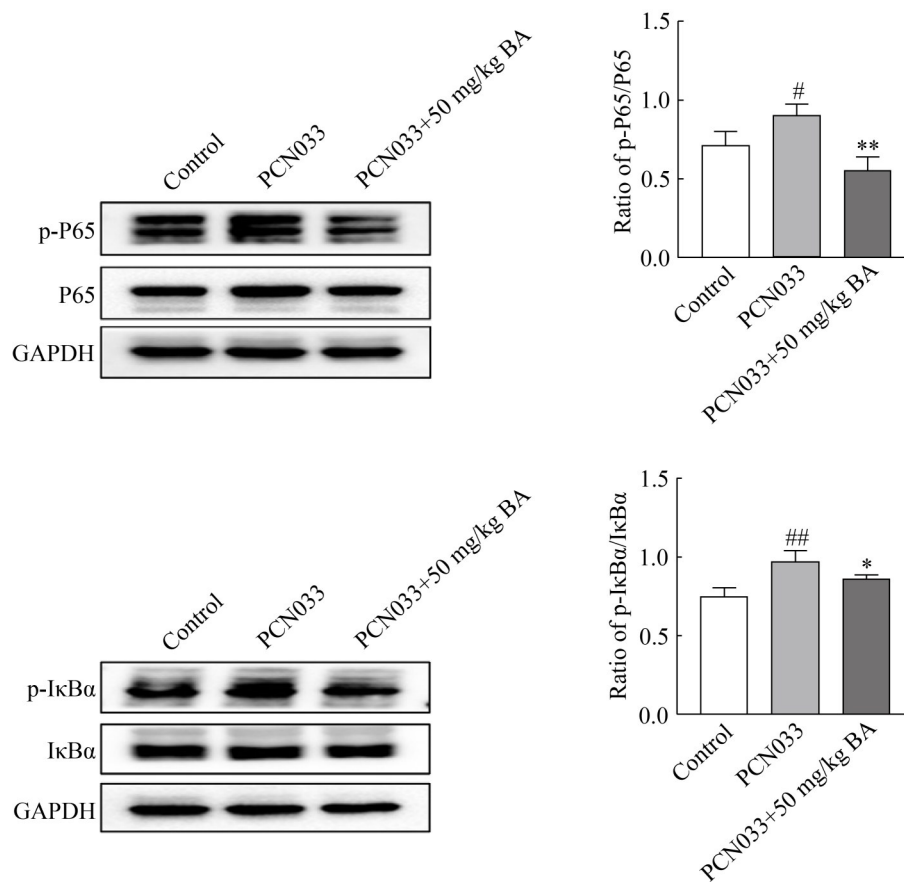
**图3** 黄芩苷对猪源ExPEC PCN033株感染小鼠组织载菌量的影响。A: 血液中的组织载菌量; B: 肺脏的组织载菌量; C: 脑的组织载菌量。\*\*表示黄芩苷药物治疗组与PCN033感染模型组相比, 2组之间差异极显著( $P<0.01$ )。

Figure 3 Effect of baicalin on the colonization in the blood and organs after porcine ExPEC PCN033 infected mice. A: The bacterial load in the blood; B: The bacterial load in the lung tissue; C: The bacterial load in the brain tissue. \*\*: Indicates the difference between the drug treatment group and the infection group ( $P<0.01$ ).



**图4** 黄芩苷对猪源ExPEC PCN033株感染小鼠后病理变化的影响。放大倍数: 200×; 标尺: 100 μm。肺泡组织中箭头示出血和炎性细胞浸润; 脑组织中箭头示炎性细胞浸润。

Figure 4 Effect of baicalin on pathological changes of mice infected with porcine ExPEC PCN033. Magnification: 200×; Scale: 100 μm. In the lung tissue, the arrows indicate bleeding and inflammatory cell infiltration; in the brain tissue, the arrows indicate inflammatory cell infiltration.



**图5** 黄芩苷对猪源ExPEC PCN033株诱导小鼠P65、p-P65、IκBα和p-IκBα蛋白表达的影响。Control为空白对照组，PCN033为感染组，PCN033+50 mg/kg BA为药物治疗组，下同；#表示感染组与空白对照组相比， $P<0.05$ ，2组之间差异显著；##表示感染组与空白对照组相比， $P<0.01$ ，2组之间差异极显著；\*表示药物治疗组与感染组相比， $P<0.05$ ，2组之间差异显著；\*\*表示药物治疗组与感染组相比， $P<0.01$ ，2组之间差异极显著。

Figure 5 Effect of baicalin on the expression of P65, p-P65, IκBα and p-IκBα in porcine ExPEC PCN033-induced mice. Control is the blank control group, PCN033 is the infection group, and PCN033+50 mg/kg BA is the drug treatment group, the same below. #: Indicates that compared with the blank control group,  $P<0.05$  in the infection group, and the difference between the two groups was significant. ##: Indicates that compared with the blank control group,  $P<0.01$  in the infection group, and the difference between the two groups was extremely significant; \*: Indicates that compared with the infection group,  $P<0.05$  in the drug treatment group, and the difference between the two groups was significant; \*\*: Indicates that compared with the infection group,  $P<0.01$  in the drug treatment group, and the difference between the two groups is extremely significant.

## 2.7 黄芩苷对PCN033株感染小鼠NLRP3、ASC和Caspase-1蛋白表达的影响

对猪源 ExPEC PCN033 株感染 72 h 后的小鼠组织进行 Western blotting 试验，结果见图 6。猪源 ExPEC PCN033 株感染小鼠 72 h 后，极显

著诱导 NLRP3 蛋白的表达( $P<0.001$ )，极显著诱导 ASC 和 Caspase-1 蛋白的表达( $P<0.01$ )；黄芩苷药物治疗后极显著下调 NLRP3 蛋白的表达( $P<0.001$ )，极显著下调 ASC 和 Caspase-1 蛋白的表达( $P<0.01$ )。

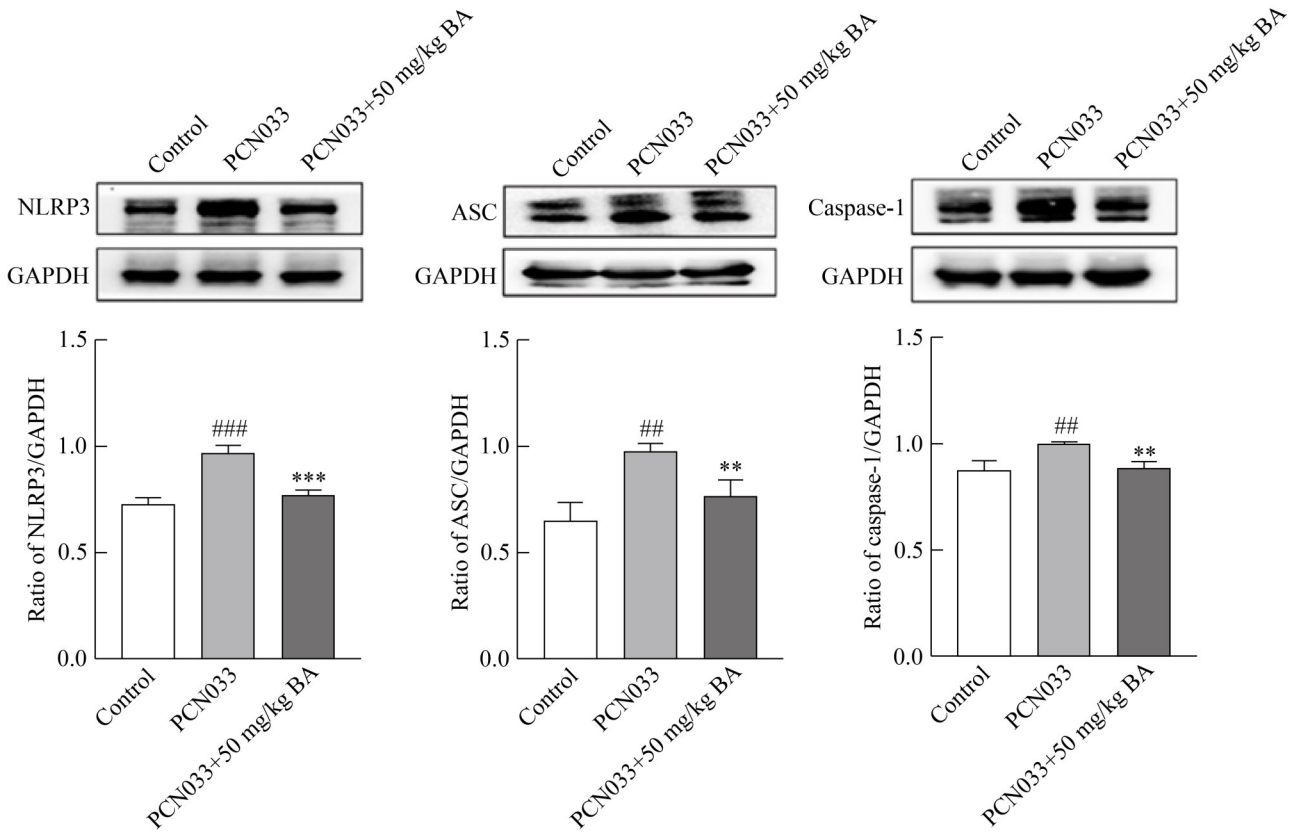


图6 黄芩苷对猪源ExPEC PCN033株诱导小鼠NLRP3、ASC和Caspase-1蛋白表达的影响。###表示感染组与空白对照组相比,  $P < 0.001$ , 2组之间差异极显著; \*\*\*表示药物治疗组与感染组相比,  $P < 0.001$ , 2组之间差异极显著。

Figure 6 Effect of baicalin on the expression of NLRP3, ASC and Caspase-1 in porcine ExPEC PCN033-induced mice. ###: Indicates that compared with the blank control group,  $P < 0.001$  in the infection group, and the difference between the two groups is extremely significant; \*\*\*: Indicates that compared with the infection group,  $P < 0.001$  in the drug treatment group, and the difference between the two groups is extremely significant.

### 3 讨论与结论

ExPEC 近年来已成为我国猪场中的主要病原体, 其分离株多为耐药菌株, 对抗生素的耐药性不断提高。然而, 我国目前治疗 ExPEC 感染的主要方法仍是抗生素治疗, 且治疗结果并不理想<sup>[4]</sup>。普通抗生素可通过抑制细菌生长发挥治疗作用, 但随着抗生素的使用菌株会产生耐药性, 导致治疗效果降低, 给我国养猪业造成了巨大经济损失<sup>[14]</sup>。为解决这一问题, 研究人员开展了抗生素替代疗法研究, 例如对猪  $\beta$  防

御素 2、抗菌肽 PMAP-36 联合四环素、黄芩苷等对猪源 ExPEC 感染的影响进行了研究<sup>[15-17]</sup>。

黄芩苷是黄芩中的主要活性成分之一, 对大部分病原菌具有抗菌作用<sup>[8]</sup>。前期研究发现, 黄芩苷能够抑制脂多糖诱导的仔猪外周血单核细胞 NF- $\kappa$ B 及 NLRP3 炎性信号通路的激活, 从而发挥抗炎作用<sup>[18]</sup>; 黄芩苷能够抑制副猪嗜血杆菌诱导的 TLRs/NF- $\kappa$ B 及 NLRP3/Caspase-1 信号通路的激活, 发挥抗炎作用<sup>[19]</sup>; 黄芩苷能抑制 ExPEC PCN033 株黏附和入侵宿主细胞的过程, 降低其对宿主细胞的损伤, 且对猪源

ExPEC PCN033 株的生长无影响<sup>[6]</sup>。黄芩苷可在不影响细菌生长的同时对猪源 ExPEC PCN033 株引发的致病反应发挥作用, 因此提示黄芩苷可能作为猪源 ExPEC PCN033 株的潜在替抗治疗药物。

当机体受到毒素或细菌感染时会发生炎症反应, 炎症反应是一种正常的自我保护的免疫防御机制, 通常情况下对人体有利, 但过度的炎症反应会对机体产生危害<sup>[20]</sup>。猪源 ExPEC PCN033 株可感染猪和小鼠, 感染后会导致其体内多种组织器官发生炎症病变, 引发强烈的炎症反应<sup>[21]</sup>。在本研究中小鼠感染猪源 ExPEC PCN033 株后表现出明显体重减轻、精神萎靡、存活率下降等症状。组织载菌量结果显示猪源 ExPEC PCN033 株在小鼠体内各组织定殖, 组织病理学观察发现脏器存在明显病理损伤。这表明小鼠感染猪源 ExPEC PCN033 株后可引发机体产生强烈的炎症反应, 而经过黄芩苷治疗后, 情况得以改善。

已知 ExPEC 能够通过激活 NF- $\kappa$ B 和 NLRP3 信号通路介导炎症反应<sup>[12]</sup>。因此, 本研究通过构建小鼠感染模型、检测炎症相关通路探究黄芩苷减弱猪源 ExPEC PCN033 株感染宿主引起炎症反应的作用机制。NF- $\kappa$ B 是核转录因子  $\kappa$ B, 几乎在所有动物细胞中都能发现 NF- $\kappa$ B, 在细胞的炎症反应、免疫应答等过程中起关键作用; 在正常细胞中, NF- $\kappa$ B 的抑制蛋白(I $\kappa$ B)组成复合物存在于细胞质中, 当受到 I $\kappa$ B 激酶(IKK)的激活时 I $\kappa$ B 发生降解, NF- $\kappa$ B 随之释放并活化, 导致 I $\kappa$ B 磷酸化, 使 NF- $\kappa$ B 释放出 P65/P50 两个亚单位, 转移到细胞核与相应炎症基因结合, 启动靶基因的转录, 引起炎症反应<sup>[22]</sup>。在本研究中, 小鼠感染猪源 ExPEC PCN033 株后 p-P65 及 p-I $\kappa$ B $\alpha$  蛋白高度表达, 表明 PCN033 株感染小鼠可引起小鼠的炎症反应, 而这一情况在黄芩苷治疗后得到了一定程度的缓解。

炎性小体有 5 种类型, 其中 NLRP3 炎性小体参与机体内免疫反应, NLRP3 与 ASC、

Caspase 家族一起在炎症反应中起重要作用, NLRP3 炎性小体在正常细胞中表达较低, 可被多种刺激物激活; NLRP3 炎性小体被激活后, NLRP3 与 ASC、Caspase-1 协同作用引发机体炎症反应和细胞焦亡<sup>[23]</sup>。在本研究中, 小鼠感染猪源 ExPEC PCN033 株后 ASC 和 Caspase-1 蛋白高度表达, 表明 PCN033 株感染小鼠后可激活机体 NLRP3 信号通路, 从而引起炎症反应, 且观察到黄芩苷治疗后炎性小体激活程度得到了一定的缓解。

综上所述, 黄芩苷通过抑制 NF- $\kappa$ B 和 NLRP3 炎性信号通路的激活减轻猪源 ExPEC 感染导致的小鼠炎性反应, 从而减弱猪源 ExPEC 感染小鼠的临床症状和组织损伤, 对小鼠起保护作用。本研究为猪源肠外致病性大肠杆菌的防治提供了新的思路, 提示黄芩苷可能作为一种潜在药物通过调节炎症反应来治疗猪源 ExPEC 的致病作用。

## 作者贡献声明

刘微: 实验操作、数据处理与分析、文稿写作及编辑; 任明星: 实验操作、数据记录、处理与分析; 王培懿: 数据分析、验证; 肖涌: 执行调研、实验操作; 吴爱华: 实验操作; 张焱焱: 提供资源、方法论; 付书林: 项目管理、审阅; 邱银生: 监督管理、方法论; 宗冰冰: 实验方案设计、监督指导、文稿审查及编辑。

## 作者利益冲突公开声明

作者声明不存在任何可能会影响本文所报告工作的已知经济利益或个人关系。

## 参考文献

- [1] RON EZ. Host specificity of septicemic *Escherichia coli*: human and avian pathogens[J]. *Current Opinion in Microbiology*, 2006, 9(1): 28-32.
- [2] 吴桐忠, 张倩, 张星星, 钟发刚, 何延华, 韩猛立, 黄新. 肠外致病性大肠杆菌研究[J]. *湖北农业科学*, 2022, 61(16): 147-150, 168.

WU TZ, ZHANG Q, ZHANG XX, ZHONG FG, HE YH,

- HAN ML, HUANG X. Research on extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*[J]. Hubei Agricultural Sciences, 2022, 61(16): 147-150, 168 (in Chinese).
- [3] KÖHLER CD, DOBRINDT U. What defines extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*[J]. International Journal of Medical Microbiology, 2011, 301(8): 642-647.
- [4] TAN C, TANG XB, ZHANG X, DING Y, ZHAO ZQ, WU B, CAI XW, LIU ZF, HE QG, CHEN HC. Serotypes and virulence genes of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* isolates from diseased pigs in China[J]. The Veterinary Journal, 2012, 192(3): 483-488.
- [5] DEZFULIAN H, BATHISSON I, FAIRBROTHER JM, LAU PCK, NASSAR A, SZATMARI G, HAREL J. Presence and characterization of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* virulence genes in F165-positive *E. coli* strains isolated from diseased calves and pigs[J]. Journal of Clinical Microbiology, 2003, 41(4): 1375-1385.
- [6] ZONG BB, XIAO Y, REN MX, WANG PY, FU SL, QIU YS. Baicalin weakens the porcine ExPEC-induced inflammatory response in 3D4/21 cells by inhibiting the expression of NF- $\kappa$ B/MAPK signaling pathways and reducing NLRP3 inflammasome activation[J]. Microorganisms, 2023, 11(8): 2126.
- [7] TANG XB, TAN C, ZHANG X, ZHAO ZQ, XIA X, WU B, GUO AZ, ZHOU R, CHEN HC. Antimicrobial resistances of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* isolates from swine in China[J]. Microbial Pathogenesis, 2011, 50(5): 207-212.
- [8] KARIMOV AM, BOTIROV EK. Structural diversity and state of knowledge of flavonoids of the *Scutellaria* L. genus[J]. Russian Journal of Bioorganic Chemistry, 2017, 43(7): 691-711.
- [9] 张喜平, 田华, 程琪辉. 黄芩苷的药理作用研究现状[J]. 中国药理学通报, 2003, 19(11): 1212-1215.  
ZHANG XP, TIAN H, CHENG QH. The current situation in pharmacological study on baicalin[J]. Chinese Pharmacological Bulletin, 2003, 19(11): 1212-1215 (in Chinese).
- [10] 张喜平, 程琪辉, 沈培红, 严伟, 李晴宇, 王飞, 何勤. 黄芩苷类注射剂安全性与急性毒性实验研究[J]. 医学研究杂志, 2007, 36(7): 15-21.  
ZHANG XP, CHENG QH, SHEN PH, YAN W, LI QY, WANG F, HE Q. Empirical study on safety and acute toxicity of baicalin injection[J]. Journal of Medical Research, 2007, 36(7): 15-21 (in Chinese).
- [11] 马焱嘉, 陈海宁, 徐博聪, 王蕊, 陈迪, 李翔国. 黄芩有效成分及其抑菌作用研究现状[J]. 人参研究, 2023, 35(4): 56-58.
- [12] PENG LY, YUAN M, SONG K, YU JL, LI JH, HUANG JN, YI PF, FU BD, SHEN HQ. Baicalin alleviated APEC-induced acute lung injury in chicken by inhibiting NF- $\kappa$ B pathway activation[J]. International Immunopharmacology, 2019, 72: 467-472.
- [13] DEMIREL I, PERSSON A, BRAUNER A, SÄRNDAHL E, KRUSE R, PERSSON K. Activation of the NLRP3 inflammasome pathway by uropathogenic *Escherichia coli* is virulence factor-dependent and influences colonization of bladder epithelial cells[J]. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 2018, 8: 81.
- [14] LIU CY, CHEN ZH, TAN C, LIU WG, XU ZF, ZHOU R, CHEN HC. Immunogenic characterization of outer membrane porins OmpC and OmpF of porcine extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*[J]. FEMS Microbiology Letters, 2012, 337(2): 104-111.
- [15] 王安田, 黄靖, 孙瑜凡, 宋炳晓, 谭臣, 黄琦, 周锐, 黎璐. 猪 $\beta$ 防御素-2对猪源肠外致病性大肠杆菌的体内外抑菌活性研究[J]. 中国畜牧兽医, 2021, 48(2): 726-735.  
WANG AT, HUANG J, SUN YF, SONG BX, TAN C, HUANG Q, ZHOU R, LI L. Antibacterial activity of porcine beta defensin-2 against porcine extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* in vivo and in vitro[J]. China Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2021, 48(2): 726-735 (in Chinese).
- [16] 陶旗. 抗菌肽PMAP-36联合四环素对猪源肠外致病性大肠杆菌的体内外抗菌活性研究[D]. 重庆: 西南大学, 2023.  
TAO Q. Antibacterial activity of antimicrobial peptide PMAP-36 combined with tetracycline against porcine extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* in vitro and in vivo[D]. Chongqing: Southwest University, 2023 (in Chinese).
- [17] 任明星, 肖涌, 付书林, 宗冰冰, 邱银生. 黄芩苷对猪源肠外致病性大肠杆菌的体内保护作用[J]. 湖北农业科学, 2023, 62(5): 124-128.  
REN MX, XIAO Y, FU SL, ZONG BB, QIU YS. Protective effect of baicalin on porcine extra-intestinal pathogenic *Escherichia coli* in vivo[J]. Hubei Agricultural Sciences, 2023, 62(5): 124-128 (in Chinese).
- [18] 徐磊. 黄芩苷对副猪嗜血杆菌感染后猪血管内皮细胞TLRs/NF- $\kappa$ B和NLRP3/caspase-1信号通路的影响[D]. 武汉: 武汉轻工大学, 2017.  
XU L. The effects of baicalin on TLRs/NF- $\kappa$ B and NLRP3/caspase-1 signal pathways in porcine aortic vascular endothelial cells after *Haemophilus parasuis* infection[D]. Wuhan: Wuhan Polytechnic University, 2017 (in Chinese).
- [19] LIU T, ZHANG LY, JOO D, SUN SC. NF- $\kappa$ B signaling in inflammation[J]. Signal Transduction and Targeted Therapy, 2017, 2: 17023.
- [20] NATHAN C, DING AH. Nonresolving inflammation[J]. Cell, 2010, 140(6): 871-882.
- [21] 宗冰冰. 猪源肠外致病性大肠杆菌PCN033六型分泌系统VgrG蛋白的功能及其引发炎症的机制研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2019.  
ZONG BB. Function of protein VgrG in type 6 secretion system (T6SS) of porcine extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* PCN033 and mechanism of inflammation induced by T6SS in PCN033[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2019 (in Chinese).
- [22] 毛开睿, 孙兵. NLRP3炎症小体研究进展[J]. 现代免疫学, 2011, 31(1): 1-4.
- [23] PENG Y, WANG XR, SHOU J, ZONG BB, ZHANG YY, TAN J, CHEN J, HU LL, ZHU YW, CHEN HC, TAN C. Roles of Hcp family proteins in the pathogenesis of the porcine extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* type VI secretion system[J]. Scientific Reports, 2016, 6: 26816.