

• 论 著 •

基于转录组测序分析芹菜素抑制巨噬
细胞焦亡的潜在作用机制*

白勒谢¹, 吴帅凯², 叶利经², 潘玉芝³, 吴丹媚³, 赵国军^{2△}

(1. 大理大学药学院, 云南 大理 671000; 2. 广州医科大学附属清远医院/清远市人民医院, 广东 清远 511518; 3. 桂林医学院智能医学与生物技术学院, 广西 桂林 541199)

[摘 要] **目的** 探讨芹菜素对巨噬细胞焦亡的影响及机制。**方法** 体外培养 THP-1 细胞, 应用佛波酯将其诱导分化为巨噬细胞, 以脂多糖(LPS)和尼日利亚菌素联合刺激诱导巨噬细胞焦亡。通过光学显微镜观察细胞形态, 采用 Western blot 检测 Gasdermin D-N(GSDMD-N)蛋白的表达, 应用实时荧光定量聚合酶链反应(qRT-PCR)检测 NLRP3、IL-1 β 和 TNF- α mRNA 的表达, 探讨芹菜素对巨噬细胞焦亡的影响。进一步使用转录组测序方法筛选差异表达基因和信号通路。最后应用 qRT-PCR 验证 5.8S rRNA、18S rRNA、28S rRNA、Pre-45S rRNA 及 POP1、NAT10、RCL1 和 GAR1 相关基因的表达, 探讨核糖体生物合成信号通路在芹菜素抑制巨噬细胞焦亡中的作用。**结果** 芹菜素预处理能够抑制巨噬细胞焦亡中气泡状突出物的形成, 减少 GSDMD-N 蛋白和 NLRP3、IL-1 β 、TNF- α mRNA 的表达。基因本体(GO)富集分析结果显示芹菜素主要参与核酸代谢过程、RNA 代谢过程和转录调节活性等功能, 京都基因与基因组百科全书(KEGG)富集分析结果显示芹菜素主要参与核糖体生物合成、NOD 样受体和 Toll 样受体等细胞焦亡相关信号通路。qRT-PCR 验证显示, 芹菜素预处理能够显著减少 5.8S rRNA、18S rRNA、28S rRNA、Pre-45S rRNA 及 RCL1、GAR1、POP1 和 NAT10 相关基因的表达。**结论** 芹菜素对巨噬细胞焦亡具有抑制作用, 其机制可能与抑制核糖体生物合成信号通路有关。

[关键词] 巨噬细胞; 细胞焦亡; 芹菜素; 转录组测序; 核糖体生物合成信号通路

DOI:10.3969/j.issn.1009-5519.2025.04.003 中图法分类号:R285.5

文章编号:1009-5519(2025)04-0828-08 文献标识码:A

The potential mechanism of apigenin inhibits macrophage
pyroptosis based on transcriptome sequencing*

BAI Lexie¹, WU Shuaikai², YE Lijing², PAN Yuzhi³, WU Danmei³, ZHAO Guojun^{2△}

(1. College of Pharmacy, Dali University, Dali, Yunnan 671000, China; 2. Affiliated Qingyuan Hospital, Guangzhou Medical University/Qingyuan People's Hospital, Qingyuan, Guangdong 511518, China; 3. School of Intelligent Medicine and Biotechnology, Guilin Medical University, Guilin, Guangxi 541199, China)

[Abstract] **Objective** To explore the effect and mechanism of apigenin on macrophage pyroptosis. **Methods** THP-1 cells were cultured in vitro and induced to differentiate into macrophages by phorbol ester, and the macrophages were induced to pyroptosis by lipopolysaccharide(LPS) and nigericin. The cell morphology was observed by optical microscope. Western blot was used to detect the Gasdermin D-N(GSDMD-N). The mRNA expressions of NLRP3, IL-1 β and TNF- α were detected by real-time fluorescent quantitative polymerase chain reaction(qRT-PCR) to investigate the effect of apigenin on macrophage pyroptosis. Transcriptome sequencing was further used to screen differentially expressed genes and signaling pathways. Finally, qRT-PCR was used to verify the expression of 5.8S rRNA, 18S rRNA, 28S rRNA, Pre-45S rRNA and POP1, NAT10, RCL1 and GAR1 related genes, and to explore the role of ribosome biosynthesis signaling pathway in apigenin inhibiting macrophage pyroptosis. **Results** Apigenin pretreatment inhibited the formation of bubble-like protrusions during macrophage pyroptosis, and reduced the expression of GSDMD-N protein and the mRNA expression of NLRP3, IL-1 β , and TNF- α . Gene ontology(GO) enrichment analysis showed that apigenin was mainly involved in nucleic acid metabolic process, RNA metabolic process and transcription regulator ac-

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81870337);广东省自然科学基金面上项目(2024A1515012850)。
作者简介:白勒谢(1999—),硕士研究生在读,主要从事心血管疾病预防与临床研究。△ 通信作者, E-mail: zhaoguojun@gzhu.edu.cn。
网络首发 [https://link.cnki.net/urlid/50.1129.R.20250320.1144.002\(2025-03-20\)](https://link.cnki.net/urlid/50.1129.R.20250320.1144.002(2025-03-20))

tivity. Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes(KEGG) enrichment analysis showed that apigenin mainly participates in ribosome biogenesis, NOD-like receptor signaling pathway and Toll-like receptor signaling pathway related to pyroptosis. qRT-PCR showed that apigenin pretreatment significantly reduced the expression of 5S rRNA, 18S rRNA, 28S rRNA, Pre-45S rRNA, RCL1, GAR1, POP1 and NAT10. **Conclusion** Apigenin has an inhibitory effect on macrophage pyroptosis, and its mechanism may be related to the regulation of the ribosome biogenesis signaling pathway.

[Key words] Macrophage; Pyroptosis; Apigenin; Transcriptome sequencing; Ribosome biogenesis signaling pathway

细胞焦亡是一种程序性细胞死亡方式,以细胞肿胀、质膜破裂及细胞内容物释放为特征^[1]。在正常生理状态下,适度焦亡在宿主防御病原微生物中起着重要作用,然而,过度焦亡引起的炎症反应失调和细胞死亡可导致各种疾病的发生^[2-4]。巨噬细胞作为先天免疫细胞,可以吞噬、清除病原体 and 异物,在平衡免疫反应、组织稳态和抵抗炎症及病原菌感染中发挥重要作用^[5]。有研究表明,巨噬细胞焦亡与临床多种炎症性疾病的发生及其病理进展密切相关^[6-7]。因此,基于细胞焦亡调控机制的研究和靶向治疗对防治相关炎症性疾病具有重要意义。

天然化合物为科学研究和药物开发提供了丰富的来源,在各种天然化合物中,黄酮类化合物具有多种生物活性^[8],其可能对多种健康问题产生积极影响。芹菜素又称洋芹素,是一种黄酮类化合物,主要以糖基化的形式存在于蔬菜和水果中,在芹菜中含量最高。国内外大量研究发现,芹菜素具有抗炎、抗氧化、抗菌和抗病毒等多种生物活性,特别是抗炎活性在多项研究中已得到证实^[9-11]。目前, WENG 等^[12]发现芹菜素能够抑制巨噬细胞焦亡,减缓动脉粥样硬化的进展,然而其作用机制尚不完全清楚。因此,本研究旨在基于转录组测序探讨芹菜素对巨噬细胞焦亡的影响及可能的作用机制。

1 材料与方法

1.1 细胞 人源性 THP-1 细胞用含 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养基置于 37 °C、5% 二氧化碳(5% CO₂)的细胞培养箱中培养。

1.2 主要试剂 RPMI-1640 培养基(C11875500BT, 美国 Gibco 公司);胎牛血清(10270-106, 美国 Gibco 公司);佛波酯(HY-18739, 美国 MCE 公司);芹菜素(B20981, 上海源叶生物科技有限公司);尼日利亚菌素(HY-100381, 美国 MCE 公司);脂多糖(LPS, HY-D1065, 美国 MCE 公司);CCK-8 试剂(C0038, 上海 Beyotime 公司);磷酸盐缓冲液(PBS, C10010500BT, 美国 Gibco 公司);RIPA 裂解液(HY-K1001, 美国 MCE 公司);BCA 蛋白浓度测定试剂盒(P0011, 上海 Beyotime 公司);SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液(P0015, 上海 Beyotime 公司);GAPDH 抗体(AF7021, 美国 Affinity 公司);GSDMD 抗体(AF4012, 美国 Affinity 公司);逆转录试剂(AG11728, 湖南 AG 公司)、

SYBR Green Pro Taq HS 预混型 qPCR 试剂盒(AG11701, 湖南 AG 公司);PAGE 凝胶快速制备试剂盒(PG112, 上海 Yamay 公司)。

1.3 方法

1.3.1 细胞培养 将 THP-1 细胞培养于含 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 完全培养基中,并置于 37 °C、5%CO₂ 的培养箱中培养,待长至对数生长期时传代,调整细胞密度为 1×10⁶ 个/mL。

1.3.2 THP-1 巨噬细胞诱导、焦亡体外模型建立及药物处理 用终浓度为 100 μg/L 的佛波酯刺激细胞 48 h 使 THP-1 单核细胞分化为巨噬细胞。以终浓度 1 μg/mL 的 LPS 作为预刺激(第一信号),终浓度为 4 μmol/L 的尼日利亚菌素作为激活刺激(第二信号)建立巨噬细胞焦亡模型。THP-1 巨噬细胞诱导成功后各组药物处理方法如下:空白对照组在无血清 1640 培养基中培养 7 h, LPS 联合尼日利亚菌素组先用无血清 1640 培养基培养 2 h,随后加入 LPS 处理 4 h,最后加入尼日利亚菌素溶液处理 1 h。芹菜素预处理组用含芹菜素(终浓度为 10 μmol/L)的无血清 1640 培养基处理细胞 2 h,接着加入 LPS 处理 4 h,最后用尼日利亚菌素溶液处理 1 h。

1.3.3 光学显微镜检测细胞形态 用含佛波酯的 1640 完全培养基将 THP-1 细胞以 5×10⁵ 个/孔接种至 12 孔板中,48 h 后按照 1.3.2 项进行分组和药物处理。药物处理结束后弃去培养基,加入 PBS 1 mL/孔,使用长时间活细胞监测仪拍摄细胞形态。

1.3.4 Western blot 检测巨噬细胞中蛋白表达 用含佛波酯的 1640 完全培养基将 THP-1 细胞以 8×10⁶ 个/孔接种至 100 mm 细胞培养皿中处理 48 h。随后按照 1.3.2 项进行分组和药物处理(5、10、20 μmol/L)。待药物处理结束后弃去培养基,加入裂解液在冰上裂解细胞 15 min,之后离心收集上清液。接着使用 BCA 试剂盒定量蛋白浓度,并加入上样缓冲液于 100 °C 的金属浴中加热 10 min,使蛋白变性。电泳(75 V 30 min, 120 V 60 min)、转膜(60 V 90 min)、5%脱脂牛奶封闭膜 2 h,后加入一抗于 4 °C 下孵育过夜, TBST 洗膜后加入二抗室温孵育 1 h,再洗膜后显影。最后,通过 Image J 软件进行蛋白条带灰度分析。

1.3.5 转录组测序及测序数据处理分析

1.3.5.1 总 RNA 提取和文库构建 用含佛波酯的

1640 完全培养基将 THP-1 细胞以 1×10^6 个/孔接种至 6 孔板中,并将细胞随机分为空白对照组、LPS 联合尼日利亚菌素组和芹菜素(终浓度为 $10 \mu\text{mol/L}$)预处理组,每组 3 个样本重复。48 h 后按照 1.3.2 项进行药物处理,随后用 Trizol 提取总 RNA,用带有 Oligo(dT)的磁珠富集 mRNA,接着经片段化缓冲液打断后依次进行 cDNA 合成、末端修复、A 碱基添加及连接测序接头等过程构建文库,最后在 Illumina 平台上对双末端文库进行测序。

1.3.5.2 测序数据质量评估和序列比对 为保证测序数据可靠性,去除原始测序序列(Raw reads)中的接头序列,过滤掉低质量(碱基平均质量值小于 20)和 N(无法确定的碱基)数量大于 5 的 Reads,获得可用于后续分析的 Clean reads。随后使用 HISAT2 软件将 Clean reads 与指定的基因组进行序列比对,获取其在参考基因组上的位置信息。

1.3.6 筛选差异表达基因(DEGs)与功能富集分析 以 $P < 0.05$ 和 $|\log_2\text{FoldChange}| > 1$ ($|\log_2\text{FC}| > 1$) 为筛选标准,采用 DESeq2 进行基因的差异表达分析。随后对基因本体(GO)和京都基因和基因组百科全书(KEGG)进行富集分析。

1.3.7 实时荧光定量聚合酶链反应(qRT-PCR)检测 焦亡相关基因表达 用含佛波酯的 1640 完全培养基将 THP-1 细胞以 1×10^6 个/孔接种至 6 孔板中处理 48 h。随后按照 1.3.2 项进行分组和药物处理后使用 Trizol 试剂提取总 RNA,使用上海 AG 公司的 Evo M-MLV 逆转录预混型试剂盒将 RNA 逆转录为 cDNA。接着以 cDNA 为模板,使用上海 AG 公司的 SYBR Green Pro Taq HS 预混型 qPCR 试剂盒在 Bio-Rad Real Time PCR System 上进行 PCR 扩增和检测(反应体系: $2 \times \text{SYBR Green Pro Taq HS Premix } 10 \mu\text{L}$, RNase-free ddH₂O $7.2 \mu\text{L}$, PCR Forward Primer $0.4 \mu\text{L}$, PCR Reverse Primer $0.4 \mu\text{L}$, cDNA $2 \mu\text{L}$ 。反应程序: 95°C 预变性 10 min 进行 1 个循环; 95°C 变性 10 s, 60°C 退火 45 s, 40 个循环^[13])。最后用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法计算目的基因相对表达量。PCR 引物由天一辉远基因科技有限公司合成(表 1)。

表 1 引物序列	
基因名称	引物序列(5'-3')
GAPDH	F:ACATCATCCCTGCCTCTACTGG R:TCCGACGCCTGCTTCACC
NLRP3	F:CCACAAGATCGTGAGAAAACCC R:CGGTCTATGTGCTCGTCA
TNF-α	F:GAGGCCAAGCCCTGGTATG R:CGGGCCGATTGATCTCAGC
IL-1β	F:ATGATGGCTTATTACAGTGGCAA R:GTCGGAGATTCGTAGCTGGA
β-actin	F:CTTAGTTGCGTTACACCCTTCT R:TGCTGTCACTTCACCGTTC

续表 1 引物序列	
基因名称	引物序列(5'-3')
5.8S rRNA	F:ACTCTTAGCGGTGGATCACTC R:AAGCGACGCTCAGACAGG
18S rRNA	F:CGGCTACCACATCCAAGG R:TACAGGGCCTCGAAAGAGTC
28S rRNA	F:AGTCGGGTTGCTTGGAATGC R:CCCTTACGGTACTTGTGACT
Pre-45S rRNA	F:GATCTGAGAGGCCTTCTCTAGC R:CTTAGTTGCGTTACACCCTTCT
POP1	F:CATGCGACGAAGAGCCATGA R:TTTCTGATGTACGGCTTTCTCC
NAT10	F:ATAGCAGCCACAAACATTTCGC R:ACACACATGCCGAAGGTATTG
RCL1	F:AAGGCAACAGCACTCCCTTT R:CCCGTCGCACAATCTTCAGTT
GAR1	F:CGTGGAGGCTTTAATCGAGGT R:GACTACACGTTCTGGAGGTCC

1.4 统计学处理 用 GraphPad Prism9.0 软件对数据进行统计学分析,所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,2 组间比较采用 *t* 检验,多组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

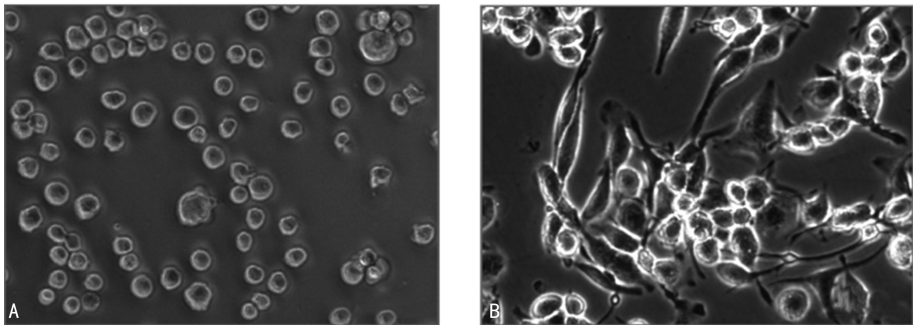
2 结 果

2.1 THP-1 单核细胞诱导分化为巨噬细胞 在光学显微镜下观察,THP-1 单核细胞在常规培养条件呈圆形悬浮状态(图 1A)。用佛波酯刺激 48 h 后,可以观察到细胞呈梭形贴壁生长,且多数细胞伸出伪足(图 1B),说明 THP-1 巨噬细胞构建成功。

2.2 芹菜素对 LPS 联合尼日利亚菌素处理的巨噬细胞形态的影响 通过长时间活细胞检测仪拍摄细胞形态,结果显示,空白对照组细胞无皱褶和气泡状突出物,细胞形态正常。LPS 联合尼日利亚菌素组中巨噬细胞皱褶,出现了大量明显的气泡状突出物,而芹菜素预处理明显抑制了气泡状突出物的形成,但细胞皱褶。见图 2。

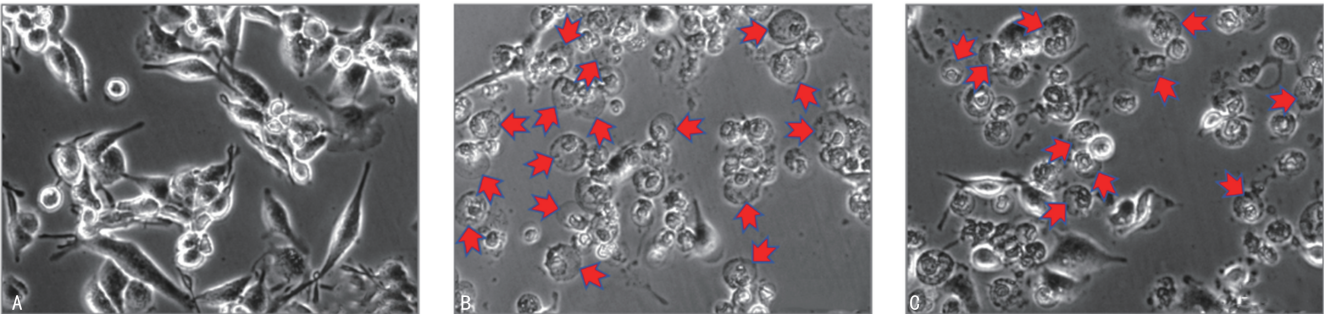
2.3 芹菜素对 LPS 联合尼日利亚菌素处理的 THP-1 巨噬细胞中 Gasdermin D-N(GSDMD-N)蛋白表达的影响 Western blot 结果显示,与空白对照组相比,GSDMD-N 蛋白的表达在 LPS 联合尼日利亚菌素组中明显增加。与 LPS 联合尼日利亚菌素组比较,5、10、20 $\mu\text{mol/L}$ 芹菜素预处理巨噬细胞后,GSDMD-N 蛋白表达水平显著下调。见图 3。

2.4 芹菜素对 LPS 联合尼日利亚菌素处理的 THP-1 巨噬细胞中 NLRP3、IL-1β 和 TNF-α mRNA 表达的影响 qRT-PCR 结果显示,与空白对照组相比,NLRP3、IL-1β 和 TNF-α mRNA 的表达在 LPS 联合尼日利亚菌素组中显著升高,而芹菜素预处理巨噬细胞后,NLRP3、IL-1β 和 TNF-α mRNA 的表达明显减少。见图 4。



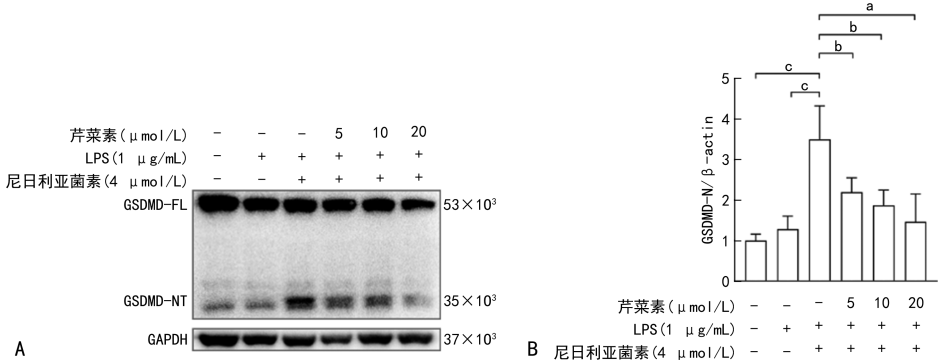
注:A. 诱导前的 THP-1 单核细胞形态;B. THP-1 单核细胞经佛波酯处理 48 h 后的巨噬细胞形态。比例尺为 100 μm 。

图 1 THP-1 细胞形态



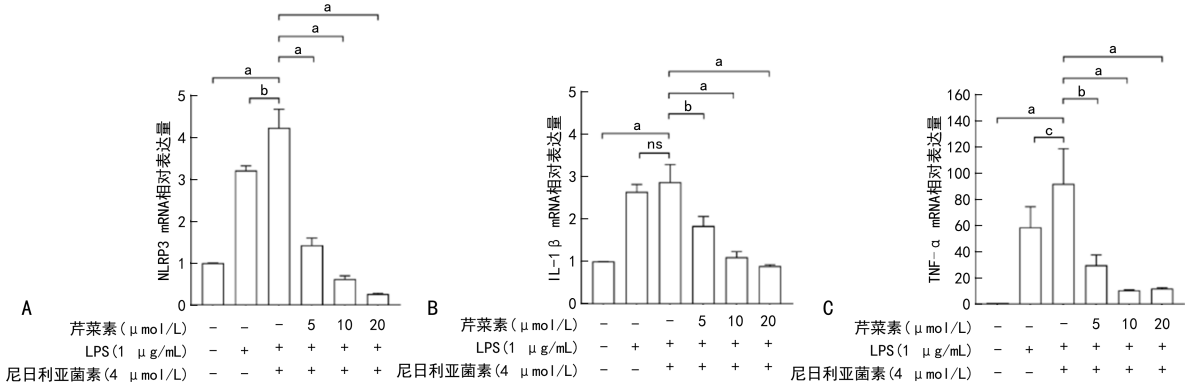
注:A. 空白对照组;B. LPS 联合尼日利亚菌素组;C. 10 $\mu\text{mol/L}$ 芹菜素预处理组。比例尺为 100 μm 。

图 2 芹菜素对 LPS 联合尼日利亚菌素处理的 THP-1 巨噬细胞形态的影响



注:A. 蛋白质表达条带;B. 蛋白相对表达量统计结果。^a $P < 0.01$, ^b $P < 0.05$, ^c $P < 0.001$ 。

图 3 芹菜素对 LPS 联合尼日利亚菌素处理的 THP-1 巨噬细胞中 GSDMD-N 蛋白表达的影响



注:A. NLRP3 mRNA 的相对表达量;B. IL-1 β mRNA 的相对表达量;C. TNF- α mRNA 的相对表达量。^a $P < 0.0001$, ^b $P < 0.001$, ^c $P < 0.05$ 。

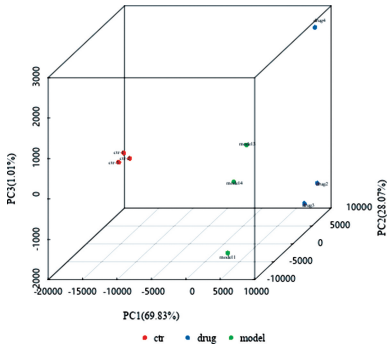
图 4 芹菜素对 LPS 联合尼日利亚菌素处理的 THP-1 巨噬细胞中 NLRP3、IL-1 β 和 TNF- α mRNA 表达的影响

2.5 转录组测序样本质量评估 对转录组测序样本进行质量评估,主成分分析(PCA)结果显示,组间样本分布散开,组内样本可以聚集在一起,说明组内样本生物学重复性较好(图 5)。相关性分析结果显示,

组内样本相关系数大于 0.8,说明样本合格,可用于后续分析(图 6)。

2.6 GO 富集分析 GO 分析显示,DEGs 主要富集的生物过程(BP)有核酸代谢过程、RNA 代谢过程、基

因表达等;主要富集的分子功能(MF)有核酸结合、DNA 结合、转录调节活性等;主要富集的细胞组分(CC)为核仁、核内腔、核浆等。见图 7。

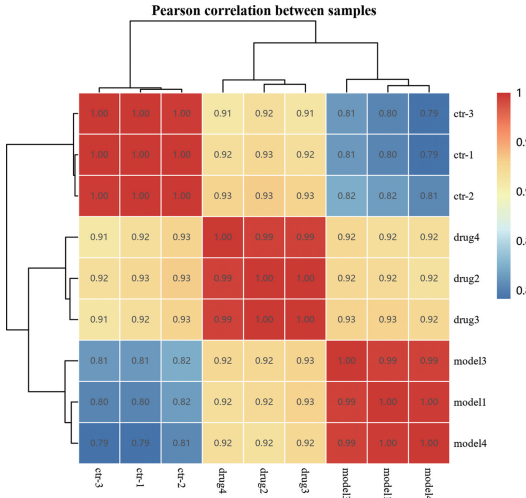


注:图中同一颜色的点表示组内的各个生物学重复,点与点之间的距离代表样本的整体表达差异。PC1、PC2 等代表不同主成分,括号内数字代表主成分解释度,主成分解释度越高,样本点与点之间在该主成分向量维度的距离所代表的整体基因表达差异就越大。

图 5 各组样本的 PCA

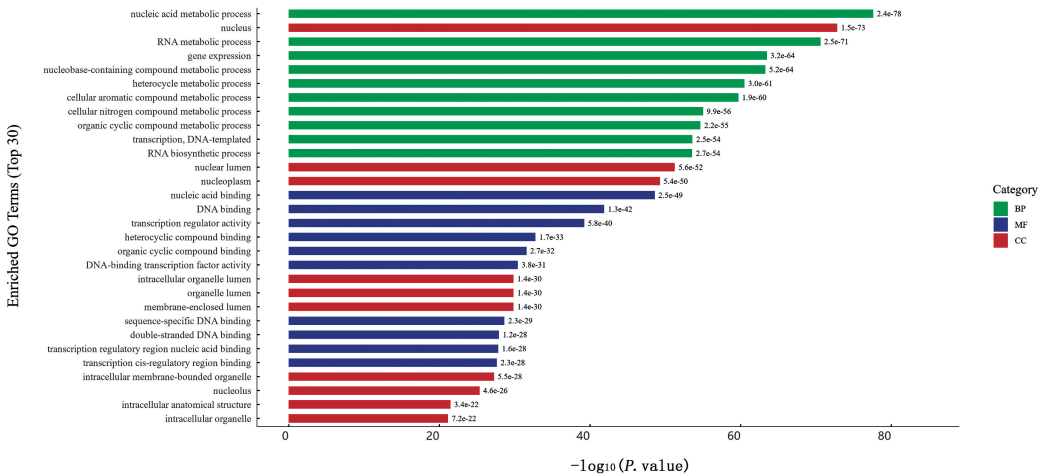
2.7 KEGG 富集分析 KEGG 分析显示,DEGs 主要在核糖体生物合成、NOD 样受体和 Toll 样受体等细胞焦亡相关信号通路方面显著富集,见图 8。此外,

核糖体生物合成信号通路中的 DEGs 包括 UTP15、POP1、IMP3、RNA5-8SN3 和 RNA5-8SN1 等基因,见表 2。



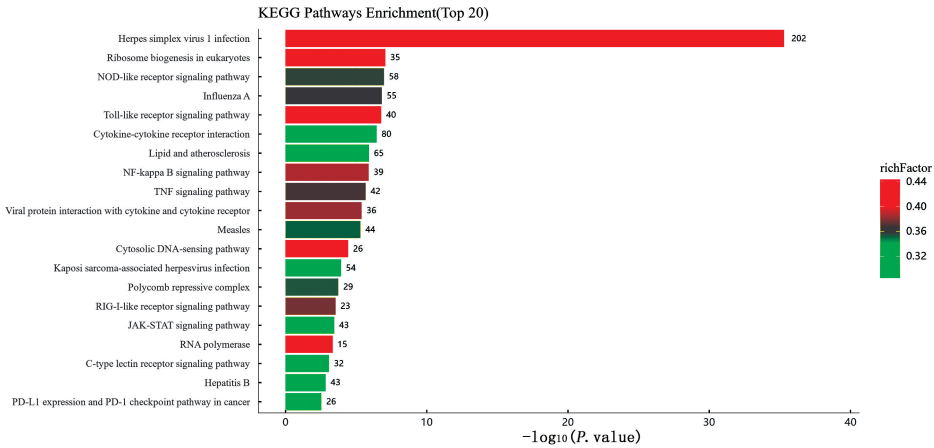
注:图中横坐标、纵坐标表示样本,方框中数字代表 2 个样本的相关系数,相关系数越接近 1,代表相关性越高。

图 6 相关性分析



注:横坐标为 $-\log_{10}$ 处理后的 P 值,纵坐标为富集的 GO 项。GO 三大类分类用不同颜色柱子表示,绿色表示 BP,蓝色表示 MF,红色表示 CC。

图 7 GO 分析 DEGs 富集条目



注:横坐标为 $-\log_{10}$ 处理后的 P 值,纵坐标表示通路名称。柱状的颜色表示富集因子的大小,柱子右边的数字表示每个通路下包含的 DEG 的个数。

图 8 KEGG 分析 DEGs 富集通路

2.8 芹菜素对 LPS 联合尼日利亚菌素处理的 THP-1 巨噬细胞中 rRNA 表达的影响 qRT-PCR 结果显示,与空白对照组比较,LPS 联合尼日利亚菌素组中 5.8S rRNA、18S rRNA、28S rRNA、Pre-45S rRNA 水平均显著升高。与 LPS 联合尼日利亚菌素组相比,芹菜素预处理显著下调了这些 rRNA 在巨噬细胞中的表达,见图 9。

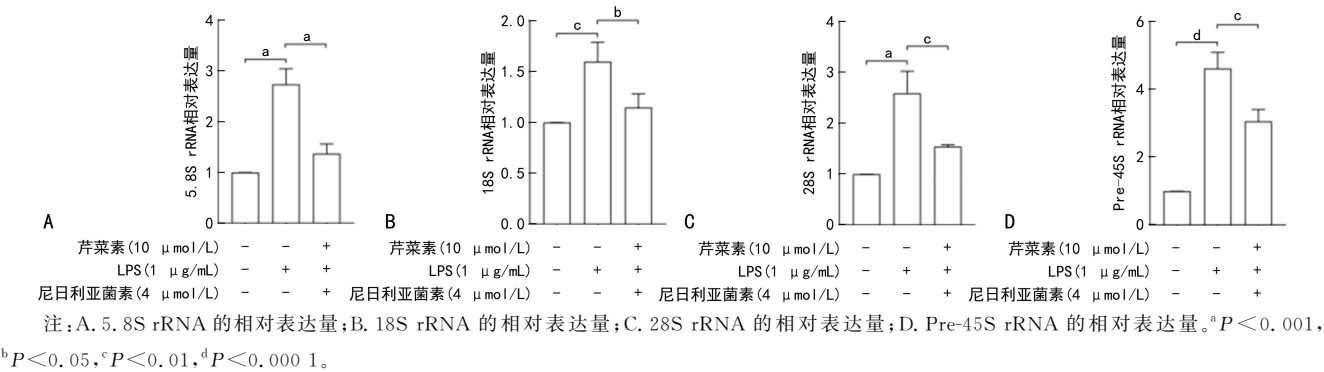


图 9 芹菜素对 LPS 联合尼日利亚菌素处理的 THP-1 巨噬细胞中 4 种 rRNA 表达的影响

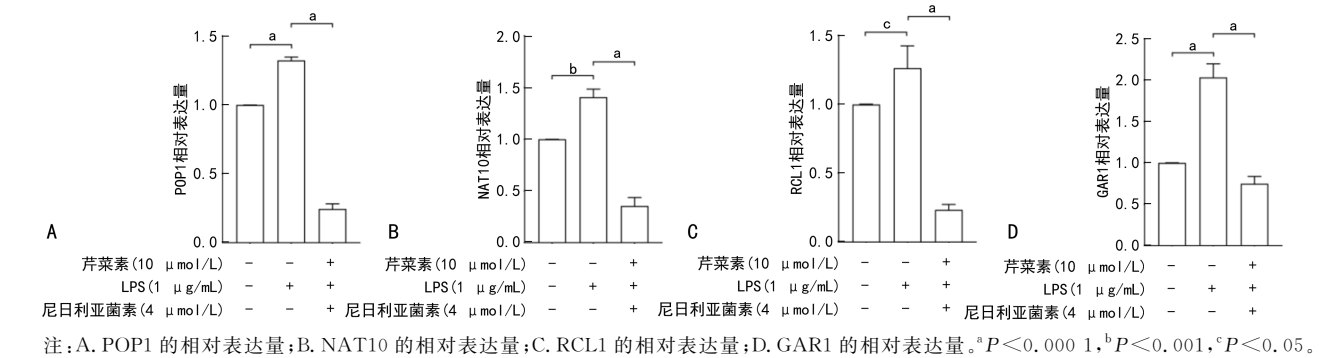


图 10 转录组测序中 4 种基因的 qRT-PCR 验证

表 2 核糖体生物合成信号通路中的 DEGs	
基因名称	log2FC
UTP15	-3.03
POP1	-3.02
IMP3	-2.72
RCL1	-2.69
RPP38	-2.60
NOB1	-2.55
RIOK1	-2.13
AK6	-1.99
GAR1	-1.95
NAT10	-1.29
RNA5-8SN3	7.32
RNA5-8SN1	8.21
FBLL1	3.27

注:10 μmol/L 芹菜素预处理组与 LPS 联合尼日利亚菌素组 DEGs,log2FC 数值为正值表示基因表达量上调,负值则表示基因表达量下调。

3 讨 论

芹菜素作为一种天然存在的黄酮类化合物,具有良好的生物安全性和较高的药用价值。近年来有研

2.9 转录组测序数据的 qRT-PCR 验证 利用 qRT-PCR 验证核糖体生物合成信号通路中与细胞焦亡相关的 DEGs,结果显示,与空白对照组比较,LPS 联合尼日利亚菌素组中 POP1、NAT10、RCL1 和 GAR1 表达水平显著升高,而芹菜素预处理后,这些基因在巨噬细胞中表达显著降低。见图 10。

究显示,芹菜素通过调节多个信号通路的关键分子靶点,参与改善炎症、心血管疾病和糖尿病等多种疾病的病理进程^[14]。本研究探讨了芹菜素对巨噬细胞焦亡的影响及机制,发现芹菜素能够抑制巨噬细胞焦亡,其机制可能与核糖体生物合成信号通路有关。

细胞焦亡作为一种高度促炎性的程序性细胞死亡方式,现已被证实是临床多种疾病的关键诱导因素。GSDMD 蛋白是执行焦亡的关键因子,在焦亡过程中 NLRP3 可激活 caspase-1,进而将 GSDMD 切割成 GSDMD-N,GSDMD-N 在细胞膜打孔,导致细胞焦亡^[15-17];同时,NLRP3 可促进 IL-1β 和 TNF-α 等炎症因子的分泌,引发炎症级联反应^[18-19]。在本研究中,使用芹菜素对巨噬细胞焦亡进行干预,发现芹菜素预处理后,巨噬细胞中气泡状突出物的形成明显减少,GSDMD-N 蛋白表达显著下降,同时 NLRP3、IL-β 和 TNF-α mRNA 的表达量显著下降。这些结果表明,芹菜素可抑制巨噬细胞焦亡。

为了探讨芹菜素调控细胞焦亡的作用机制,使用转录组测序方法整体观察芹菜素对巨噬细胞焦亡的

影响。通过 PCA 及相关性分析,评估了组间差异及组内样本生物学重复性,结果显示,转录组样本各处理的重复之间相似度较好,进行后续分析的可靠性较高。GO 分析提示,芹菜素可能通过参与核酸代谢过程、基因表达和转录调节活性等抑制巨噬细胞的焦亡。KEGG 分析提示,芹菜素可能通过核糖体生物合成、NOD 样受体和 Toll 样受体等相关信号通路抑制巨噬细胞焦亡。

核糖体生物合成紊乱引起的核糖体应激可引发细胞焦亡^[20]。NLRP3 炎性小体作为细胞焦亡的关键因子,其激活与钾外流、核糖体生物合成及线粒体应激或损伤均有关^[21-22]。最新的研究发现,使用强力霉素可以特异性靶向抑制核糖体翻译,可降低 NLRP3 表达,进而减少 IL-1 β 分泌^[23],这些结果提示核糖体生物合成可能影响细胞焦亡。RNA Pol I 介导的转录过程是核糖体生物合成的关键步骤, RNA Pol I 将核仁中的 rDNA 转录为 Pre-45S rRNA,随后 Pre-45S rRNA 被加工成 28S rRNA、18S rRNA、5.8S rRNA,并在核仁中组装成核糖体^[24]。5.8S rRNA、18S rRNA、28S rRNA 和 Pre-45S rRNA 是真核生物的 4 种 rRNA,18S rRNA 和 28S rRNA 在程序性细胞死亡细胞凋亡过程中表达异常^[25-27]。由于细胞焦亡也是一种程序性细胞死亡,故本研究推测 5.8S rRNA、18S rRNA、28S rRNA 和 Pre-45S rRNA 与细胞焦亡可能相关,在细胞焦亡过程中,它们的表达也可能发生异常。因此,本研究通过 qRT-PCR 检测了这些 rRNA 在巨噬细胞中的表达,发现 5.8S rRNA、18S rRNA、28S rRNA 和 Pre-45S rRNA 在 LPS 联合尼日利亚菌素处理的巨噬细胞中表达明显上调,而芹菜素预处理显著下调了它们在巨噬细胞中的表达。以上结果表明,核糖体生物合成与细胞焦亡密切相关,在细胞焦亡过程中,5.8S rRNA、18S rRNA、28S rRNA 和 Pre-45S rRNA 的表达异常增加,这可能影响了 RNA Pol I 介导的转录过程,引起核糖体生物合成紊乱,进而导致了细胞焦亡。芹菜素预处理能够减少这些 rRNA 在巨噬细胞中的异常表达,这可能有助于缓解细胞焦亡。

为了验证转录组测序数据和进一步探讨芹菜素抑制巨噬细胞焦亡的机制,本研究通过 qRT-PCR 检测了核糖体生物合成信号通路中的 DEGs,结果显示芹菜素显著下调巨噬细胞中 POP1、NAT10、RCL1 和 GAR1 基因的表达。4 个基因表达量的 qRT-PCR 检测结果均与转录组测序结果一致,表明本研究转录组测序数据的可靠性。STEHLIK 等^[28]发现,POP1 通过诱导 ASC-pro-caspase-1 复合物的寡聚激活 pro-caspase-1 并促进 IL-1 β 的分泌。WANG 等^[29]发现,使用 NAT10 抑制剂氢溴酸盐可显著下调 C2C12 细胞和脓毒症小鼠中 GSDMD-N、IL-1 β 和 IL-18 的表达。据报道,RCL1 和 GAR1 与细胞焦亡也可能相

关^[30-31]。因此,本研究推测,芹菜素可能通过靶向抑制核糖体生物合成信号通路调控细胞焦亡相关基因和蛋白的表达,进而抑制细胞焦亡。

综上所述,本研究发现芹菜素对巨噬细胞焦亡有缓解作用,并通过转录组测序发现其作用机制可能部分是通过靶向抑制核糖体生物合成信号通路实现,这将为细胞焦亡相关疾病的防治提供新策略。本研究首次从核糖体生物合成信号通路探讨芹菜素对巨噬细胞焦亡的抑制作用,然而,本研究仅从细胞实验验证了芹菜素对细胞焦亡的抑制作用,未来研究应在动物模型上进行进一步的验证,芹菜素对其他通路的调控机制也需要未来深入的探索。

参考文献

- [1] PANGANIBAN R A, NADEAU K C, LU Q. Pyroptosis, gasdermins and allergic diseases[J]. *Allergy*, 2024, 79(9): 2380-2395.
- [2] WEN R, YANG Y H, ZHANG T N, et al. Targeting epigenetic and post-translational modifications regulating pyroptosis for the treatment of inflammatory diseases[J]. *Pharmacol Res*, 2024, 203: 107182.
- [3] WEI S, FENG M, ZHANG S. Molecular characteristics of cell pyroptosis and its inhibitors: a review of activation, regulation, and inhibitors[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(24): 16115.
- [4] LIANG F, ZHANG F, ZHANG L, et al. The advances in pyroptosis initiated by inflammasome in inflammatory and immune diseases[J]. *Inflamm Res*, 2020, 69(2): 159-166.
- [5] MAKUCH M, STEPANECHKO M, BZOWSKA M. The dance of macrophage death: the interplay between the inevitable and the microenvironment[J]. *Front Immunol*, 2024, 15: 1330461.
- [6] HSU C G, CHÁVEZ C L, ZHANG C, et al. The lipid peroxidation product 4-hydroxynonenal inhibits NLRP3 inflammasome activation and macrophage pyroptosis[J]. *Cell Death Differ*, 2022, 29(9): 1790-1803.
- [7] YANG W, TAO K, ZHANG P, et al. Maresin 1 protects against lipopolysaccharide/D-galactosamine-induced acute liver injury by inhibiting macrophage pyroptosis and inflammatory response[J]. *Biochem Pharmacol*, 2022, 195: 114863.
- [8] SHEN N, WANG T, GAN Q, et al. Plant flavonoids: classification, distribution, biosynthesis, and antioxidant activity[J]. *Food Chem*, 2022, 383: 132531.
- [9] XU Y, LI X, WANG H. Protective roles of apigenin against cardiometabolic diseases: a systematic review[J]. *Front Nutr*, 2022, 9: 875826.
- [10] SINGH A, SINGH J, PARWEEN G, et al. A comprehensive review of apigenin a dietary flavonoid: biological sources, nutraceutical prospects, chemistry and pharmacological insights and health benefits[J]. *Crit Rev Food Sci*

Nutr,2024,17;1-37.

[11] THOMAS S D,JHA N K,JHA S K,et al. Pharmacological and molecular insight on the cardioprotective role of apigenin[J]. *Nutrients*,2023,15(2):385.

[12] WENG X,LUO X,DAI X,et al. Apigenin inhibits macrophage pyroptosis through regulation of oxidative stress and the NF-κB pathway and ameliorates atherosclerosis [J]. *Phytother Res*,2023,37(11):5300-5314.

[13] 廉振颖,阎星羽,朱霞琳,等. 黄柏酮对肺癌细胞核糖体合成、增殖的影响及机制[J]. *山东医药*,2021,61(31):22-25.

[14] ALLEMAILEM K S,ALMATROUDI A,ALHARBI H O A,et al. Apigenin:a bioflavonoid with a promising role in disease prevention and treatment [J]. *Biomedicines*, 2024,12(6):1353.

[15] BALASUBRAMANIAN A,HSU A Y,GHIMIRE L,et al. The palmitoylation of gasdermin D directs its membrane translocation and pore formation during pyroptosis [J]. *Sci Immunol*,2024,9(94):eadn1452.

[16] CAI W,WU Z,LAI J,et al. LDC7559 inhibits microglial activation and GSDMD-dependent pyroptosis after subarachnoid hemorrhage[J]. *Front Immunol*,2023,14:1117310.

[17] TAN Y,LIU Q,LI Z,et al. Pyroptosis-triggered pathogenesis:new insights on antiphospholipid syndrome[J]. *Front Immunol*,2023,14:1155222.

[18] 雷紫琴,栾飞,高铭,等. 细胞焦亡与心血管疾病的关系及中医药防治研究进展[J]. *中国中药杂志*,2023,48(7):1779-1791.

[19] LI H,YANG D H,ZHANG Y,et al. Geniposide suppresses NLRP3 inflammasome-mediated pyroptosis via the AMPK signaling pathway to mitigate myocardial ischemia/reperfusion injury[J]. *Chin Med*,2022,17(1):73.

[20] ROBINSON K S,TOH G A,ROZARIO P,et al. ZAKα-driven ribotoxic stress response activates the human NLRP1 inflammasome [J]. *Science*,2022,377(6603):328-335.

[21] SWANSON K V,DENG M,TING J P. The NLRP3 inflammasome:molecular activation and regulation to therapeutics[J]. *Nat Rev Immunol*,2019,19(8):477-489.

[22] ZHANG Z,VENDITTI R,RAN L,et al. Distinct changes in endosomal composition promote NLRP3 inflammasome activation[J]. *Nat Immunol*,2023,24(1):30-41.

[23] LIU S,TAN M,CAI J,et al. Ribosome-targeting antibiotic control NLRP3-mediated inflammation by inhibiting mitochondrial DNA synthesis[J]. *Free Radic Biol Med*, 2024,210:75-84.

[24] WATT K E,MACINTOSH J,BERNARD G,et al. RNA Polymerases I and III in development and disease[J]. *Semin Cell Dev Biol*,2023,136:49-63.

[25] LAFARGA M,LERGA A,ANDRES M A,et al. Apoptosis induced by methylazoxymethanol in developing rat cerebellum:organization of the cell nucleus and its relationship to DNA and rRNA degradation[J]. *Cell Tissue Res*,1997,289(1):25-38.

[26] SAMALI A,GILJE B,DØSKELAND S O,et al. The ability to cleave 28S ribosomal RNA during apoptosis is a cell-type dependent trait unrelated to DNA fragmentation [J]. *Cell Death Differ*,1997,4(4):289-293.

[27] DEGEN W G,PRUIJN G J,RAATS J M,et al. Caspase-dependent cleavage of nucleic acids[J]. *Cell Death Differ*, 2000,7(7):616-627.

[28] STEHLIK C,KRAJEWSKA M,WELSH K,et al. The PAAD/PYRIN-only protein POP1/ASC2 is a modulator of ASC-mediated nuclear-factor-kappa B and pro-caspase-1 regulation[J]. *Biochem J*,2003,373(Pt 1):101-113.

[29] WANG C,LIU Y,ZHANG Y,et al. Targeting NAT10 protects against sepsis-induced skeletal muscle atrophy by inhibiting ROS/NLRP3[J]. *Life Sci*,2023,330:121948.

[30] ZHANG X,CHAO P,JIANG H,et al. Integration of three machine learning algorithms identifies characteristic RNA binding proteins linked with diagnosis,immunity and pyroptosis of IgA nephropathy[J]. *Front Genet*, 2022,13:975521.

[31] ZHOU C,YANG T,CHEN H,et al. Prognostic value of different radiation-related cell death genes in patients with lung adenocarcinoma [J]. *Radiother Oncol*, 2024, 195:110259.

(收稿日期:2024-11-18 修回日期:2025-01-28)

(上接第 827 页)

[24] KÖHLER C A,FREITAS T H,MAES M,et al. Peripheral cytokine and chemokine alterations in depression:a meta-analysis of 82 studies [J]. *Acta Psychiatr Scand*, 2017,135(5):373-387.

[25] ZOU W,FENG R J,YANG Y. Changes in the serum levels of inflammatory cytokines in antidepressant drug-naïve patients with major depression [J]. *PLoS One*, 2018,13(6):e0197267.

[26] MAŁUJŁO-BALCERSKA E,KUMOR-KISIELEWSKA A,SZEMRAJ J,et al. Chemokine (C-C motif) ligand 5 (RANTES) concentrations in the peripheral blood of patients with a depressive disorder [J]. *Pharmacol Rep*, 2022,74(4):759-768.

[27] LEE H,SONG M,LEE J,et al. Prospective study on cytokine levels in medication-naïve adolescents with first-episode major depressive disorder [J]. *J Affect Disord*, 2020,266(4):57-62.

[28] MIN X,WANG G W,CUI Y L,et al. Association between inflammatory cytokines and symptoms of major depressive disorder in adults[J]. *Front Immunol*,2023,14 (2):1110775.

(收稿日期:2024-04-29 修回日期:2024-11-28)