

中图分类号: R932; R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2025)15-0058-05
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2025.15.010



薯蓣皂苷对脓毒症模型大鼠肾功能损伤的作用及其机制*

何益平¹, 尹进军¹, 余 颢², 张 林¹, 孙 勇^{1△}

(1. 重庆市巴南区中医院, 重庆 400055; 2. 重庆市中医院, 重庆 400021)

摘要:目的 探讨薯蓣皂苷对脓毒症模型大鼠肾功能损伤的作用及作用机制。方法 通过结扎盲肠和穿刺方法复制脓毒症模型大鼠, 将建模成功的40只大鼠随机分为模型组[B组, 等量0.5%羧甲基纤维素钠(CMC-Na)], 薯蓣皂苷低、中、高剂量组(C₁组、C₂组、C₃组, 20, 40, 80 mg/kg), 地塞米松组(D组, 10 mg/kg), 各8只; 另选取8只大鼠作为假手术组(A组, 等量0.5% CMC-Na), 除不结扎盲肠和不用针头穿刺外, 其余操作相同。建模15 min后, 各组大鼠分别肌肉注射相应药物或0.5% CMC-Na。苏木精-伊红(HE)染色, 观察肾脏组织形态; 采用全自动生化分析仪检测血肌酐(Scr)和尿素氮(BUN)水平; 采用酶联免疫吸附试验(ELISA)法检测中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(NGAL)、肾损伤分子1(KIM-1)、白细胞介素6(IL-6)、白细胞介素1β(IL-1β)、肿瘤坏死因子-α(TNF-α)水平; 采用硫代巴比妥酸比色法检测肾脏组织丙二醛(MDA)浓度, 采用黄嘌呤氧化酶法检测肾脏组织超氧化物歧化酶(SOD)活性; 采用免疫印迹(Western blot)法检测肾脏组织核转录因子红系2相关因子2(Nrf2)、血红素加氧酶-1(HO-1)、核苷酸结合结构域富含亮氨酸重复序列和含热蛋白结构域受体3(NLRP3)蛋白表达水平。结果 B组大鼠系膜增生, 肾小管萎缩, 大量炎性细胞浸润肾小管; C₁组大鼠系膜增生, 大量炎性细胞浸润肾小管; C₂组大鼠炎性细胞浸润现象缓解; C₃组大鼠可观察到正常肾小管。与B组比较, C₁组、C₂组、C₃组大鼠血清Scr, BUN, KIM-1, IL-6, IL-1β, TNF-α水平和肾脏组织NLRP3蛋白表达水平均显著降低($P < 0.05$), 肾脏组织HO-1蛋白表达水平均显著升高($P < 0.05$); C₂组、C₃组大鼠血清NGAL水平均显著降低($P < 0.05$), 肾脏组织SOD活性均显著增强($P < 0.05$), Nrf2蛋白表达水平均显著升高($P < 0.05$); C₃组大鼠肾脏组织MDA浓度显著降低($P < 0.05$)。结论 薯蓣皂苷可能通过激活Nrf2/HO-1信号通路而抑制NLRP3炎性小体表达, 减轻炎症反应和氧化应激反应, 从而减轻脓毒症肾功能损伤。

关键词:薯蓣皂苷; 脓毒症; 肾功能损伤; 核转录因子红系2相关因子2/血红素加氧酶-1信号通路; 核苷酸结合结构域富含亮氨酸重复序列和含热蛋白结构域受体3; 作用机制

Effect and Mechanism of Diosgenin on Renal Function Injury in Sepsis Model Rats

HE Yiping¹, YIN Jinjun¹, YU Xie², ZHANG Lin¹, SUN Yong¹

(1. Banan District Traditional Chinese Medicine Hospital, Chongqing, China 400055; 2. Chongqing Traditional Chinese Medicine Hospital, Chongqing, China 400021)

Abstract:Objective To investigate the effect and mechanism of diosgenin on renal function injury in sepsis model rats. **Methods** Sepsis rat models were replicated by cecal ligation and puncture. Forty successfully modeled rats were randomly divided into the model group [group B, equal volume of 0.5% carboxymethyl cellulose sodium (CMC-Na)], the low-, medium-, and high-dose groups of diosgenin (groups C₁, C₂, and C₃; 20, 40, and 80 mg/kg), and the dexamethasone group (group D, 10 mg/kg), with eight rats in each group. Another eight rats were selected as the sham-operation group (group A, equal volume of 0.5% CMC-Na), with the same procedures except for not ligating the cecum or puncturing with a needle. After 15 min of modeling, rats in each group were injected with the corresponding drug or 0.5% CMC-Na intramuscularly. Hematoxylin-eosin (HE) staining was used to observe the morphology of kidney tissue. The automatic biochemical analyzer was used to detect the levels of serum creatinine (Scr) and blood urea nitrogen (BUN). Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect the levels of serum neutrophil gelatinase associated lipocalin (NGAL), kidney injury molecule-1 (KIM-1), interleukin-6 (IL-6), interleukin-1β (IL-1β), and tumor necrosis factor-α (TNF-α). The thiobarbituric acid (TBA) colorimetric assay was used to detect the concentration of malondialdehyde (MDA) in the renal tissue, and xanthine oxidase method was used to detect the activity of superoxide dismutase (SOD) in the renal tissue. Western blot was used to detect the expression levels of nuclear transcription factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2), hemeoxygenase-1 (HO-1), NOD-like receptor thermal protein domain-associated protein 3 (NLRP3) proteins in renal tissue. **Results** Mesangial proliferation, renal tubular atrophy, and a large number of inflammatory cells infiltrating renal tubules were observed in group B; mesangial proliferation and a large number of inflammatory cells infiltrating renal tubules were observed in group C₁; infiltration of inflammatory cells was alleviated in group C₂; normal renal tubules were observed in group C₃. Compared with those in group B, the serum levels of Scr, BUN, KIM-1, IL-6, IL-1β, TNF-α, and the expression level of NLRP3 protein in renal tissue in groups C₁, C₂, and C₃ significantly decreased ($P < 0.05$), while the expression level of HO-1 protein in renal tissue in groups C₁, C₂, and C₃ significantly increased ($P < 0.05$). Compared

*基金项目: 重庆市科研机构绩效激励引导专项项目[cstc2018jxj1130075]。

第一作者: 何益平, 男, 博士研究生, 副主任医师, 研究方向为脓毒症的诊治, (电子信箱)394907665@qq.com。

△通信作者: 孙勇, 男, 大学本科, 副主任医师, 研究方向为肝胆外科相关脓毒性休克的诊治, (电子信箱)404818126@qq.com。

with those in group B, the serum level on NGAL in the renal tissue in groups C_2 and C_3 significantly decreased ($P < 0.05$), the SOD activity and Nrf2 protein expression levels in the renal tissues in groups C_2 and C_3 significantly increased ($P < 0.05$), while the MDA concentration in renal tissue in group C_3 significantly decreased ($P < 0.05$). **Conclusion** Diosgenin may inhibit the expression of NLRP3 inflammasome by activating the Nrf2 / HO - 1 signaling pathway, alleviate inflammatory and oxidative stress responses, in order to alleviate sepsis - induced renal injury.

Key words: diosgenin; sepsis; renal injury; Nrf2 / HO - 1 signal pathway; NLRP3; mechanism

脓毒症是机体对炎症反应失控而出现的危及生命的器官功能障碍,已成为临床重症患者的主要死亡原因之一^[1]。脓毒症合并肾功能损伤患者高达50%,此类患者的治疗预后差,死亡率高,目前尚无有效治疗方法^[2]。薯蓣皂苷为穿龙薯蓣根提取物,具有抗肿瘤、抗感染、抗炎、抗病毒等多种药理学作用,可减轻脓毒症肾功能损伤^[3],但目前尚不清楚其具体作用机制。核转录因子红系2相关因子2/血红素加氧酶-1(Nrf2/HO-1)信号通路具有调节细胞氧化-抗氧化、减轻炎症反应等多种生物学活性,是机体调节氧化应激的关键因子^[4],且可抑制核苷酸结合结构域富含亮氨酸重复序列和含热蛋白结构域受体3(NLRP3),缓解脓毒症相关肾功能损伤^[5]。目前,尚不清楚薯蓣皂苷是否通过影响Nrf2/HO-1信号通路而缓解脓毒症肾功能损伤。本研究中探讨了薯蓣皂苷对脓毒症模型大鼠肾功能损伤的作用及作用机制。现报道如下。

1 材料与方法

1.1 仪器、试剂与动物

仪器:AU400型全自动生化分析仪、UIS2型光学显微镜(日本Olympus公司);5200型蛋白凝胶成像仪(美国Invitrogen公司)。

试剂:薯蓣皂苷[货号为YS-(usp)-0701,纯度为95%],白细胞介素6(IL-6)酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒(货号为RAB0311-1KT),白细胞介素1 β (IL-1 β)ELISA试剂盒(货号为RAB0277-1KT),均购自美国Sigma-Aldrich公司;羧甲基纤维素钠(CMC-Na,广东欧斯曼生物科技有限公司,货号为27290);地塞米松(上海麦克林生化科技有限公司,货号为D829854);肾损伤分子-1(KIM-1)ELISA试剂盒(上海禹绍生物科技有限公司,货号为YS-B55569);肿瘤坏死因子- α (TNF- α)ELISA试剂盒(武汉赛培生物科技有限公司,货号为SP10205);丙二醛(MDA)试剂盒(武汉伊莱瑞特生物科技有限公司,货号为E-BC-K025-M);超氧化物歧化酶(SOD)试剂盒(合肥莱尔生物科技有限公司,货号为LE-1-062);Nrf2一抗(货号为ab137550),HO-1一抗(货号为ab146522),NLRP3一抗(货号为ab152347),均购自英国Abcam公司;甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)一抗(货号为ZB15004-HRP-100),GAPDH二抗(货号为GB15002-100),辣根过氧化物酶(HRP,货号为GB23302),均购自武汉塞维尔生物科技

有限公司;大鼠中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(NGAL)ELISA试剂盒(货号为PN758),Nrf2二抗(货号为AF1609),HO-1二抗(货号为AF1333),均购自上海碧云天生物技术股份有限公司;NLRP3(美国Cell Signaling Technology公司,货号为15101S);苏木精-伊红(HE)染色试剂盒(北京索莱宝科技有限公司,货号为G1120)。

动物:SPF级健康SD雄性大鼠56只,8~10周龄,体重(230 $\pm$ 10)g,均购自北京维通利华实验动物技术有限公司,生产许可证号为SCXK(京)2016-0006。饲养于温度(25 $\pm$ 0.5) $^{\circ}$ C、相对湿度(50 $\pm$ 5)%、12 h/12 h明暗交替条件下,自由进食、饮水,定期通风和更换草垫。实验动物符合3R原则,本研究方案经重庆市巴南区中医院动物伦理学委员会审批。

1.2 方法

造模、分组与给药:采用盲肠结扎和穿刺法构建脓毒症模型大鼠^[6]。取48只大鼠,用1%戊巴比妥钠(0.04 g/kg)麻醉大鼠,前腹部正中切口3 cm,露出盲肠,将粪便推挤至盲肠处,用5/0丙纶线结扎,并固定于回盲部连接杆下方,用18号针头穿刺该盲肠处,直至稍挤压即可滴出粪便,将盲肠置腹腔中,逐层缝合切口。大鼠死亡8只,将剩余的40只大鼠随机分为模型组(B组),薯蓣皂苷低、中、高剂量组(C_1 组、 C_2 组、 C_3 组),地塞米松组(D组),各8只。另取8只大鼠设为假手术组(A组),除不用丙纶线结扎盲肠和不用针头穿刺外,其余步骤相同。薯蓣皂苷溶于水,用0.5% CMC-Na稀释成相应浓度,现配现用。造模15 min后,D组大鼠肌肉注射10 mg/kg地塞米松^[7], C_1 组、 C_2 组、 C_3 组大鼠分别肌肉注射20,40,80 mg/kg薯蓣皂苷,A组、B组大鼠肌肉注射等量0.5% CMC-Na。

样本收集:给药后24 h,心脏穿刺取血,室温静置2 h,离心(转速为3 000 r/min)10 min,收集血清,置-20 $^{\circ}$ C冰箱保存,备用;脱颈椎处死大鼠,取肾脏,部分组织置10%甲醛中固定,部分组织置-80 $^{\circ}$ C冰箱保存。

血肌酐(SCr)和尿素氮(BUN)水平检测:取血清,采用全自动生化分析仪检测血清SCr和BUN水平,操作步骤参照使用说明书。

ELISA法检测细胞因子水平:取血清,采用ELISA法检测血清NGAL,KIM-1,IL-6,IL-1 β ,TNF- α 水平,操作步骤参照试剂盒使用说明书。

HE染色法观察肾脏组织形态:取固定于10%甲醛

中的肾脏组织,过夜后置乙醇中脱水,置二甲苯中透明,石蜡包埋固定后切片(厚度 6 μm),切片后用苏木精染色,1%盐酸乙醇分化,返蓝,用乙醇-伊红复染,置乙醇中脱水,置二甲苯中透明,用中性树胶封片,采用光学显微镜拍照,观察肾脏组织形态。

肾脏组织中 MDA 浓度、SOD 活性检测:取置-80℃冰箱的肾脏组织 30 mg,采用硫代巴比妥酸比色法检测 MDA 浓度,采用黄嘌呤氧化酶法检测 SOD 活性。

免疫印迹(Western blot)法检测 Nrf2, HO-1, NLRP3 蛋白表达水平:按总蛋白提取试剂盒使用说明书提取蛋白,采用 BCA 法测定蛋白浓度,蛋白变性后,取 40 μg 加入上样孔进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE),至溴酚蓝燃料到达分离胶的底部,将凝胶内的蛋白恒流(250 mA)转移至聚偏二氟乙烯(PVDF)膜上,用 5% 脱脂奶粉室温摇床封闭 1 h,加 Nrf2, HO-1, NLRP3, GAPDH 一抗(1:1 000, V/V),4℃孵育过夜,用 PBST 清洗 3 次,每次 5 min,加 Nrf2, HO-1, NLRP3 二抗(1:8 000, V/V)及用 HRP 标记的 GAPDH 二抗(1:8 000, V/V),室温摇床孵育 1 h,用 PBST 清洗 3 次,每次 5 min,采用化学发光法显色,用蛋白凝胶成像分析仪对显色条带进行光密度分析。

1.3 统计学处理

采用 GraphPad Prism 8.0 统计学软件分析。计量资料用 $\bar{X} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,存在差异者组间两两比较采用 SNK-*q* 检验。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 对血清 SCr, BUN, NGAL, KIM-1 水平的影响

与 A 组比较, B 组大鼠血清 SCr, BUN, NGAL, KIM-1 水平均显著升高(*P* < 0.05);与 B 组比较, C₂ 组、C₃ 组、D 组大鼠血清 SCr, BUN, NGAL, KIM-1 水平均显著降低, C₁ 组大鼠血清 SCr, BUN, KIM-1 水平均显著降低(*P* < 0.05),且 C₁ 组、C₂ 组、C₃ 组呈剂量依赖性降低(*P* < 0.05)。详见表 1。

2.2 对血清 IL-6, IL-1β, TNF-α 水平的影响

与 A 组比较, B 组大鼠血清 IL-6, IL-1β, TNF-α 水平均显著升高(*P* < 0.05);与 B 组比较, C₁ 组、C₂ 组、C₃ 组、D 组大鼠血清 IL-6, IL-1β, TNF-α 水平均显著降低(*P* < 0.05),且 C₁ 组、C₂ 组、C₃ 组呈剂量依赖性降低(*P* < 0.05);与 C₃ 组比较, D 组大鼠血清 TNF-α 水平显著升高(*P* < 0.05)。详见表 2。

2.3 对肾脏组织形态的影响

A 组大鼠肾脏组织形态正常,肾小球、肾小管结构清晰;B 组大鼠系膜增生,肾小管萎缩,大量炎性细胞浸润肾小管间质;C₁ 组大鼠系膜增生,大量炎性细胞浸润肾小管;C₂ 组大鼠炎性细胞浸润现象缓解;C₃ 组、D 组大

表 1 各组大鼠血清 SCr, BUN, NGAL, KIM-1 水平比较
($\bar{X} \pm s, n = 8$)

Tab. 1 Comparison of serum SCr, BUN, NGAL and KIM-1 levels in each group ($\bar{X} \pm s, n = 8$)

组别	剂量(mg/kg)	SCr(mmol/L)	BUN(μmol/L)	NGAL(ng/L)	KIM-1(ng/L)
A 组		5.41 ± 0.73	36.45 ± 2.16	16.16 ± 3.15	26.46 ± 3.15
B 组		12.85 ± 1.25 [*]	68.47 ± 4.38 [*]	34.25 ± 3.48 [*]	96.45 ± 5.89 [*]
C ₁ 组	20	9.56 ± 1.02 [#]	60.25 ± 3.44 [#]	30.56 ± 4.15	86.48 ± 7.15 [#]
C ₂ 组	40	7.48 ± 0.86 ^Δ	50.65 ± 4.52 ^Δ	24.19 ± 3.01 ^Δ	68.76 ± 5.88 ^Δ
C ₃ 组	80	6.19 ± 0.73 ^Δ	44.58 ± 3.58 ^{Δ▲}	19.55 ± 2.76 ^{Δ▲}	57.43 ± 4.96 ^{Δ▲}
D 组	10	7.18 ± 1.16 ^Δ	48.48 ± 3.87 ^Δ	21.33 ± 2.42 ^Δ	54.49 ± 8.14 ^{Δ▲}
F 值		61.412	74.227	36.641	135.325
P 值		0.000	0.000	0.000	0.000

注:与 A 组比较, ^{*}*P* < 0.05;与 B 组比较, [#]*P* < 0.05;与 C₁ 组比较, ^Δ*P* < 0.05;与 C₂ 组比较, [▲]*P* < 0.05。表 2 至表 4 同。

Note: Compared with those in group A, ^{*}*P* < 0.05; compared with those in group B, [#]*P* < 0.05; compared with those in group C₁, ^Δ*P* < 0.05; compared with those in the group C₂, [▲]*P* < 0.05 (for Tab. 1 - 4).

表 2 各组大鼠血清 IL-6, IL-1β, TNF-α 水平比较
($\bar{X} \pm s, ng/mL, n = 8$)

Tab. 2 Comparison of serum IL-6, IL-1β and TNF-α levels in each group ($\bar{X} \pm s, ng/mL, n = 8$)

组别	剂量(mg/kg)	IL-6	IL-1β	TNF-α
A 组		9.12 ± 0.82	42.16 ± 3.15	51.35 ± 6.77
B 组		16.46 ± 1.04 [*]	203.16 ± 21.05 [*]	141.36 ± 8.49 [*]
C ₁ 组	20	14.56 ± 1.13 [#]	178.45 ± 16.47 [#]	123.48 ± 10.18 [#]
C ₂ 组	40	12.35 ± 1.41 ^Δ	159.48 ± 13.56 ^Δ	103.95 ± 10.41 ^Δ
C ₃ 组	80	11.37 ± 1.26 ^Δ	86.15 ± 6.15 ^{Δ▲}	86.15 ± 8.47 ^{Δ▲}
D 组	10	12.49 ± 1.08 ^Δ	103.46 ± 10.14 ^{Δ▲}	98.48 ± 6.48 ^{Δ□}
F 值		39.947	173.029	104.618
P 值		0.000	0.000	0.000

注:与 C₃ 组比较, [□]*P* < 0.05。表 4 同。

Note: Compared with those in group C₃, [□]*P* < 0.05 (for Tab. 2 and Tab. 4).

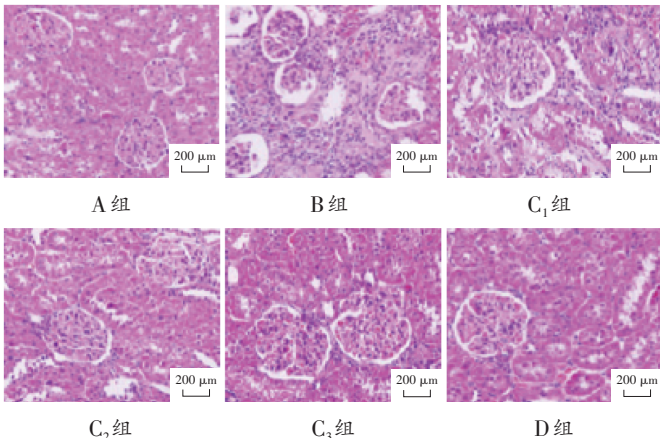


图 1 各组大鼠肾脏组织 HE 染色形态(×100, n = 8)

Fig. 1 HE staining morphology of renal tissue in each group
(×100, n = 8)

鼠可观察到正常的肾小管。详见图 1。

2.4 对肾脏组织MDA浓度、SOD活性的影响

与A组比较,B组大鼠肾脏组织MDA浓度显著升高($P < 0.05$),SOD活性显著减弱($P < 0.05$);与B组比较,C₃组、D组大鼠肾脏组织MDA浓度均显著降低($P < 0.05$),C₂组、C₃组、D组大鼠肾脏组织SOD活性均显著增强($P < 0.05$);与C₁组比较,C₃组大鼠肾脏组织MDA浓度显著降低($P < 0.05$),C₃组、D组大鼠肾脏组织SOD活性均显著增强($P < 0.05$)。详见表3。

表3 各组大鼠肾脏组织MDA浓度与SOD活性比较($\bar{X} \pm s, n = 8$)

Tab.3 Comparison of MDA concentration and SOD activity in renal tissue in each group ($\bar{X} \pm s, n = 8$)			
组别	剂量(mg/kg)	MDA[(nmol/mg)·pro]	SOD[(U/mg)·pro]
A组		1.46 ± 0.36	19.15 ± 2.56
B组		3.08 ± 0.86 [*]	8.48 ± 1.45 [*]
C ₁ 组	20	2.75 ± 0.55	10.46 ± 1.39
C ₂ 组	40	2.46 ± 0.38	12.09 ± 2.02 [#]
C ₃ 组	80	1.73 ± 0.42 ^{#△▲}	15.38 ± 1.02 ^{#△▲}
D组	10	2.34 ± 0.51 [#]	15.15 ± 1.51 ^{#△▲}
F值		10.235	39.808
P值		0.000	0.000

2.5 对肾脏组织Nrf2,HO-1,NLRP3蛋白表达水平的影响

与A组比较,B组大鼠肾脏组织Nrf2和HO-1蛋白表达水平均显著降低($P < 0.05$),NLRP3蛋白表达水平显著升高($P < 0.05$);与B组比较,C₁组、C₂组、C₃组、D组大鼠肾脏组织HO-1蛋白表达水平均显著升高($P < 0.05$),NLRP3蛋白表达水平均显著降低($P < 0.05$),C₂组、C₃组、D组大鼠肾脏组织Nrf2蛋白表达水平均显著升高($P < 0.05$),且C₁组、C₂组、C₃组呈剂量依赖性降低/升高($P < 0.05$);与C₃组比较,D组大鼠肾脏组织HO-1蛋白表达水平显著降低($P < 0.05$)。详见图2和表4。

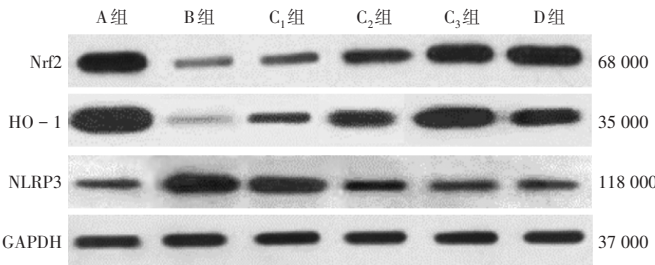


图2 各组大鼠肾脏组织Nrf2,HO-1,NLRP3蛋白表达水平
Fig.2 Expression levels of Nrf2,HO-1,and NLRP3 proteins in renal tissue in each group

3 讨论

肾脏对于维持机体的水电解质、酸碱平衡、排泄代谢、内环境稳定等极其重要。当出现肾功能损伤后,肾小球滤过功能逐渐降低,SCr和BUN在体内蓄积,严重危害机体健康^[8],而脓毒症为肾功能损伤的常见诱因。NGAL在正常情况下可促进肾祖细胞向肾小管上皮细胞分化,维持肾脏的正常功能,在肾功能损伤中的灵敏

表4 各组大鼠肾脏组织Nrf2,HO-1,NLRP3蛋白表达水平比较($\bar{X} \pm s, n = 8$)

Tab.4 Comparison of the expression levels of Nrf2,HO-1,and NLRP3 proteins in renal tissue in each group ($\bar{X} \pm s, n = 8$)

组别	剂量(mg/kg)	Nrf2	HO-1	NLRP3
A组		1.95 ± 0.15	2.76 ± 0.38	0.41 ± 0.06
B组		0.23 ± 0.08 [*]	0.09 ± 0.01 [*]	1.68 ± 0.21 [*]
C ₁ 组	20	0.36 ± 0.05	0.37 ± 0.05 [#]	1.37 ± 0.15 [#]
C ₂ 组	40	1.02 ± 0.12 ^{#△}	1.13 ± 0.13 ^{#△}	0.98 ± 0.08 ^{#△}
C ₃ 组	80	1.57 ± 0.16 ^{#△▲}	1.76 ± 0.16 ^{#△▲}	0.87 ± 0.07 ^{#△}
D组	10	1.73 ± 0.19 ^{#△▲}	1.37 ± 0.13 ^{#△□}	0.76 ± 0.05 ^{#△▲}
F值		235.751	218.090	116.741
P值		0.000	0.000	0.000

性和特异性都很强^[9]。KIM-1在肾脏近曲小管细胞中呈低表达,在肾功能损伤中呈高表达,可促进上皮细胞黏附^[10]。本研究结果显示,B组大鼠血清SCr,BUN,NGAL,KIM-1水平均呈高表达,表明脓毒症后导致肾功能损伤严重,机体功能紊乱。薯蓣皂苷为薯蓣科植物穿山龙根部提取物,具有调节免疫、抗感染、抗炎等功效。本研究结果显示,与B组比较,C₂组、C₃组大鼠血清SCr,BUN,NGAL,KIM-1水平均显著降低($P < 0.05$),表明薯蓣皂苷可能对脓毒症肾功能损伤有缓解作用,但其作用机制尚需进一步研究。

脓毒症通过多种途径引发肾功能损伤,而炎症因子过度释放与脓毒症肾功能损伤的发生、发展关系密切。据报道,脓毒症肾功能损伤患者的IL-6,IL-1 β ,TNF- α 均呈高表达^[11],MDA浓度升高,SOD活性减弱,产生过度氧化应激^[12]。本研究结果显示,与A组比较,B组大鼠血清IL-6,IL-1 β ,TNF- α 水平均显著升高($P < 0.05$),肾脏组织MDA浓度显著升高($P < 0.05$),SOD活性显著减弱($P < 0.05$),肾组织经HE染色可见系膜增生,肾小管萎缩严重,出现大量炎性细胞浸润肾小管间质现象,表明脓毒症模型大鼠肾功能损伤严重,炎症因子、氧化应激指标均出现异常,肾功能出现紊乱;与B组比较,C₃组大鼠血清IL-6,IL-1 β ,TNF- α 水平均显著降低($P < 0.05$),肾脏组织MDA浓度显著降低($P < 0.05$),SOD活性显著增强($P < 0.05$),表明薯蓣皂苷能缓解脓毒症导致的炎症因子、氧化应激指标异常现象,从而保护肾脏。

Nrf2是调节细胞对抗外来异物和氧化损伤的关键转录因子,参与炎症修复,对抗氧化应激,抑制肿瘤形成等多种生理过程^[13]。正常情况下,与抗氧化反应元件相互作用,调节机体的氧化还原平衡;细胞处于应激状态时,Nrf2入核启动抗氧化基因HO-1的表达,实现对机体的保护^[14]。研究发现,上调HO-1后可增强SOD的活性^[15];激活Nrf2/HO-1信号通路可抑制IL-6,IL-1 β ,

TNF- α 的表达^[16-17]。Nrf2和HO-1蛋白在脓毒症肾功能损伤中均呈低表达,机体严重损伤导致Nrf2/HO-1通路功能降低,对肾脏的保护作用减弱^[18-19]。NLRP3作为炎性小体,在细胞损伤的炎性细胞浸润中的表达水平升高,促进炎性因子释放^[20]。本研究结果显示,与A组比较,B组大鼠肾脏组织Nrf2和HO-1蛋白表达水平显著降低($P < 0.05$),NLRP3蛋白表达水平显著升高($P < 0.05$),表明脓毒症肾功能损伤中Nrf2/HO-1信号通路的抗氧化性受机体紊乱的影响,处于抑制状态,对机体的抗氧化能力降低,导致机体的炎性因子、氧化应激指标紊乱;与B组比较,C₂组、C₃组大鼠肾脏组织Nrf2和HO-1蛋白表达水平均显著升高($P < 0.05$),NLRP3蛋白表达水平均显著降低($P < 0.05$),表明薯蓣皂苷可能通过激活Nrf2/HO-1信号通路发挥抗氧化作用,抑制炎性小体,降低炎性因子水平,增强SOD活性,从而减轻肾脏组织因脓毒症导致的炎性细胞浸润、过度氧化应激现象,实现缓解脓毒症肾功能损伤。

综上所述,薯蓣皂苷可能通过激活Nrf2/HO-1信号通路而抑制NLRP3炎性小体表达,减轻炎症反应和氧化应激反应,从而减轻脓毒症肾功能损伤,保护肾脏。但本研究中仅初步探讨薯蓣皂苷对脓毒症肾功能损伤的影响,Nrf2/HO-1信号通路是否是其唯一作用靶点尚需进一步研究。

参考文献

- [1] BEER AJ, HERTZ D, SEEMANN E, et al. Reduced Mrp2 surface availability as PI3K γ -mediated hepatocytic dysfunction reflecting a hallmark of cholestasis in sepsis[J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1):13110-13119.
- [2] YOSHIMOTO K, KOMARU Y, IWAGAMI M, et al. Acute kidney injury in sepsis: evidence from asia[J]. *Semin Nephrol*, 2020, 40(5):489-497.
- [3] 许丽娜,卫永丽,彭金咏.天然产物薯蓣皂苷的研究进展[J]. *中国中药杂志*, 2015, 6(1):36-41.
- [4] SEDIGHI M, BALUCHNEJADMOJARAD T, AFSHIN-MAJDS, et al. Anti-aging klotho protects SH-SY5Y cells against amyloid β 1-42 neurotoxicity: Involvement of Wnt1/pCREB/Nrf2/HO-1 signaling[J]. *J Mol Neurosci*, 2021, 71(2):1-9.
- [5] GAO ZM, SUI JD, FAN R, et al. Emodin protects against acute pancreatitis-associated lung injury by inhibiting NLRP3 Inflammasome activation via Nrf2/HO-1 signaling[J]. *Drug Des Devel Ther*, 2020, 14:1971-1982.
- [6] 兰戴天,何力,李茂德,等.松果菊苷改善脓毒症大鼠的肝损伤和炎症反应与激活Nrf通路相关[J]. *中国免疫学杂志*, 2020, 36(4):428-432.
- [7] 韦庄怡,任小鹏,张泳,等.清腹通肠冲剂对急性肺损伤大鼠TNF- α , NF- κ B p65的影响[J]. *现代中医药*, 2020, 236(6):24-28.
- [8] ROJAS-VALVERDE D, SANCHEZ-UREA B, OLCINA G, et al. Muscle damage and acute kidney injury in endurance mountain running: 2597 Board #58 May 29 10:30 AM-12:00 PM[J]. *Med Sci Sport Exer*, 2020, 52(7S):706.
- [9] CAI HD, WANG J, LUO YY, et al. Linderaggregata intervenes adenine-induced chronic kidney disease by mediating metabolism and TGF- β /Smad signaling pathway[J]. *Biomed Pharmacother*, 2021, 134:111098.
- [10] KANUKOEV KY, SERGEEVA NS, KARMAKOVA TA, et al. KIM-1 (kidney injury molecule 1) in the urine of renal cell carcinoma patients[J]. *Can Urol*, 2020, 16(3):21-28.
- [11] HUANG YY, ZHOU F, SHEN C, et al. LBP reduces the inflammatory injury of kidney in septic rat and regulates the Keap1-Nrf2/ARE signaling pathway[J]. *Acta Cir Bras*, 2019, 34(1):e20190010000003.
- [12] WAN F, DU XQ, LIU H, et al. Protective effect of anisodamine hydrobromide on lipopolysaccharide-induced acute kidney injury[J]. *Biosci Rep*, 2020, 40(7):BSR20201812.
- [13] ABDELZAHER WY, ALI AB, EL-TAHAWY NFG. Mast cell stabilizer modulates Sirt1/Nrf2/TNF pathway and inhibits oxidative stress, inflammation, and apoptosis in rat model of cyclophosphamide hepatotoxicity[J]. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 2020, 42(2):101-109.
- [14] MAHMOUD AM, HUSSEIN OE, HOZAYEN WG, et al. Ferulic acid prevents oxidative stress, inflammation, and liver injury via upregulation of Nrf2/HO-1 signaling in methotrexate-induced rats[J]. *Environ Sci Pollut Res Int*, 2020, 27(8):7910-7921.
- [15] WANG JY, ZHANG XY, ZHANG LX, et al. Silychristin A activates Nrf2-HO-1/SOD2 pathway to reduce apoptosis and improve GLP-1 production through upregulation of estrogen receptor α in GLUTag cells[J]. *Eur J Pharmacol*, 2020, 881:173236.
- [16] NGUYEN TV, PIAO CH, FAN YJ, et al. Anti-allergic rhinitis activity of α -lipoic acid via balancing Th17/Treg expression and enhancing Nrf2/HO-1 pathway signaling[J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1):12528-12538.
- [17] YIN J, LI WC, YAO WD. Effects of Xinjiekang on Nrf2/HO-1 expression in viral myocarditis mice models[J]. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*, 2020, 66(5):137-141.
- [18] CAI ZY, SHENG ZX, YAO H. Pachymic acid ameliorates sepsis-induced acute kidney injury by suppressing inflammation and activating the Nrf2/HO-1 pathway in rats[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2017, 21(8):1924-1931.
- [19] YU Y, YANG YY, YANG M, et al. Hydrogen gas reduces HMGB1 release in lung tissues of septic mice in an Nrf2/HO-1-dependent pathway[J]. *Int Immunopharmacol*, 2019, 69:11-18.
- [20] KHODIR AE, SAMRA YA, SAID E. A novel role of nifuroxazide in attenuation of sepsis-associated acute lung and myocardial injuries; role of TLR4/NLRP3/IL-1 β signaling interruption[J]. *Life Sci*, 2020, 256:117907.

(收稿日期:2024-11-04;修回日期:2025-04-23)