

赵哲,陈光顺,白敏,等. 基于 NLRP3/ASC/Caspase-1 通路探讨真武汤改善脾肾阳虚型糖尿病肾病炎症损伤的机制 [J]. 中国实验动物学报, 2023, 31(7): 853-863.

Zhao Z, Chen GS, Bai M, et al. Mechanism of Zhenwu Decoction in improving renal inflammatory injury in diabetes with spleen-kidney yang deficiency based on NLRP3/ASC/Caspase-1 pathway [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2023, 31(7): 853-863.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2023.07.003

基于 NLRP3/ASC/Caspase-1 通路探讨真武汤改善脾肾阳虚型糖尿病肾病炎症损伤的机制

赵哲^{1,2}, 陈光顺¹, 白敏^{1,2}, 靳玉秋¹, 田萌媛¹, 张延英^{1,2}, 刘臻华^{1*}, 宋冰^{1,2*}

(1. 甘肃中医药大学, 兰州 730000; 2. 甘肃省实验动物行业技术中心, 兰州 730000)

【摘要】 目的 研究真武汤对脾肾阳虚型糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)小鼠肾组织炎症损伤的改善作用及可能机制。**方法** 除空白对照组(db/m 小鼠),其余各组均使用灌服生大黄溶液和氢化可的松制备 db/db 小鼠脾肾阳虚证模型,造模成功后随机分为模型对照组、厄贝沙坦组(25 mg/kg)、真武汤高、中、低剂量(33.8、16.9、8.45 g/kg)组,每组 15 只。除空白对照组和模型对照组给予生理盐水灌胃,其余各组给予相应药物灌胃,连续灌胃 8 周。测定各组小鼠中医证候评分;检测各组小鼠空腹血糖(fasting blood glucose, FBG)、尿肌酐(urine creatinine, Ucr)以及 24 h 尿蛋白(24 hour urinary protein, 24 h UTP);酶免疫吸附测定法(ELISA)检测肾组织中睾酮(testosterone, T)、三碘甲状腺原氨酸(triiodothyronine, T3)、四碘甲状腺原氨酸(tetraiodothyronine, T4)、雌二醇(estradiol, E2)、白介素-1 β (interleukin-1, IL-1 β)、白介素-18(interleukin-18, IL-18)含量;苏木精-伊红染色法(hematoxylin-eosin staining, HE)观察各组肾组织病理学改变;以实时荧光定量 PCR(Real-time quantitative PCR, RT-qPCR)和蛋白免疫印迹法(Western Blot)检测各组小鼠肾组织中 NLRP3、ASC、Caspase-1 mRNA 和蛋白表达水平。**结果** 与空白对照组相比,模型对照组小鼠出现少食、倦卧、便溏下降等脾肾阳虚症状,FBG、24 h UTP、IL-1 β 、IL-18、E2 含量均显著升高($P < 0.05$),T、T3、T4、Ucr 含量显著降低($P < 0.05$),肾组织病理显示肾小球肥大,肾小球系膜和基底增厚明显,且肾组织 NLRP3、ASC、Caspase-1 mRNA 及蛋白表达水平显著上升($P < 0.05$);与模型对照组相比,真武汤高、中、低剂量组小鼠精神状态改善、活动增加、便质成型,T、T3、T4、Ucr 含量明显增加($P < 0.05$),24 h UTP、IL-1 β 、IL-18、E2 含量均显著降低($P < 0.05$);各给药组小鼠肾组织病理损伤明显改善,肾组织中 NLRP3、ASC、Caspase-1 mRNA 及蛋白表达水平显著降低($P < 0.05$)。**结论** 真武汤能够显著改善脾肾阳虚型 db/db 小鼠一般状态、肾功能,降低炎症反应、减轻肾病理损伤,其作用机制可能与真武汤抑制肾组织中 NLRP3/ASC/Caspase-1 通路表达有关。

【关键词】 真武汤;脾肾阳虚;糖尿病肾病;NLRP3/ASC/Caspase-1 通路;炎症损伤

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1005-4847 (2023) 07-0853-11

Mechanism of Zhenwu Decoction in improving renal inflammatory injury in diabetes with spleen-kidney yang deficiency based on NLRP3/ASC/Caspase-1 pathway

【基金项目】 国家自然科学基金(82160865),甘肃省优秀研究生“创新之星”基金(2022CXZX-769),甘肃省自然科学基金(23JRRA1227)。Funded by National Natural Science Foundation of China (82160865), Gansu Province Excellent Graduate Student “Star of Innovation” Fund (2022CXZX-769), Natural Science Foundation of Gansu Province(23JRRA1227)。

【作者简介】 赵哲(1996—),男,在读硕士研究生,研究方向:经方证治规律及临床常见病多发病运用研究。Email:335434256@qq.com

【通信作者】 刘臻华(1979—),女,副主任医师,博士,研究方向:经方证治规律及临床常见病多发病运用研究。Email:23848992@qq.com;

宋冰(1982—),男,博士,研究方向:实验动物学相关研究。Email:2055067566@qq.com。

* 共同通信作者

ZHAO Zhe^{1,2}, CHEN Guangshun¹, BAI Min^{1,2}, JIN Yuqiu¹, TIAN Mengyuan¹,
ZHANG Yanying^{1,2}, LIU Zhenhua^{1*}, SONG Bing^{1,2*}

(1. Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China.

2. Technical Center of Gansu Provincial Laboratory Animal Industry, Lanzhou 730000)

Corresponding author: LIU Zhenhua. E-mail: 23848992@qq.com; SONG Bing. E-mail: 2055067566@qq.com

[Abstract] Objective To study the effect and possible mechanism of Zhenwu Decoction on renal inflammatory injury in mice with spleen-kidney yang deficiency-type diabetic nephropathy. **Methods** Mice (db/m mice) were treated with rhubarb solution and hydrocortisone to induce a db/db mouse spleen and kidney yang deficiency syndrome model. Mice in the blank control group were untreated. After successful modeling, the db/db mice were divided randomly into a model control group, irbesartan group (25 mg/kg), and high-, medium-, and low-dose Zhenwu Decoction groups (33.8, 16.9, 8.45 g/kg, respectively) ($n = 15$ per group). Mice in all groups except the blank control and model control groups were given the corresponding drugs by gavage once a day for 8 weeks. Mice in the blank control and model control groups received the same volume of normal saline. Traditional Chinese medicine syndrome scores were measured in each group. Fasting blood glucose (FBG), urinary creatinine (Ucr), and 24 h urinary protein (24 h UTP) were measured. Testosterone (T), triiodothyronine (T3), tetraiodothyronine (T4), estradiol (E2), interleukin (IL)-1 β , and IL-18 levels in renal tissues were measured by enzyme-linked immunosorbent assay. Histopathological changes in the kidneys were observed by hematoxylin/eosin staining. NOD-like receptor thermal protein domain associated protein 3 (NLRP3), Apoptosis-associated speckle-like protein (ASC), Cysteinyl aspartate specific proteinase-1 (Caspase-1) mRNA and protein expression levels in renal tissues were detected by Real-time quantitative PCR (RT-qPCR) and Western Blot. **Results** Mice in the model control group showed symptoms of spleen-kidney yang deficiency, such as anorexia, fatigue, and decreased, loose stools compared with the blank control group, while FBG, 24 h UTP, IL-1 β , IL-18, and E2 were significantly increased ($P < 0.05$) and T, T3, T4, and Ucr were significantly decreased ($P < 0.05$). Renal pathology showed glomerular hypertrophy, and glomerular mesangial and basal thickening. Protein and mRNA levels of NLRP3, ASC, and caspase-1 in renal tissue were significantly increased ($P < 0.05$). In contrast, mice in the high-, medium-, and low-dose Zhenwu Decoction groups had increased body weight, activity, and stool molding compared with the model control group, as well as significantly increased levels of T, T3, T4, and Ucr ($P < 0.05$) and significantly decreased levels of 24 h UTP, IL-1 β , IL-18, and E2 ($P < 0.05$). In addition, pathological damage to the renal tissue was significantly improved and the protein and mRNA expression levels of NLRP3, ASC, and Caspase-1 were significantly decreased in all treatment groups ($P < 0.05$). **Conclusions** Zhenwu Decoction can improve the general condition and renal function, and reduce the inflammatory reaction and renal pathological injury in db/db mice with spleen-kidney yang deficiency, via a mechanism possibly related to inhibition of the NLRP3/ASC/Caspase-1 pathway.

[Keywords] Zhenwu Decoction; spleen and kidney yang deficiency; diabetic nephropathy; NLRP3/ASC/Caspase-1 pathway; inflammatory injury

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

糖尿病肾病 (diabetic nephropathy, DN) 为现代医学病名, 临床表现主要为蛋白尿以及肾小球滤过率进行性降低, 流行病学调查统计, 全球糖尿病肾病患病率逐年上升, 预计 2030 年增加到 5.78 亿, 同时也是全球终末期肾病最主要的病因^[1-3]。然而 DN 发病机制复杂, 其中炎症反应是目前 DN 发病机制以及防治机制研究的重点领域^[4]。Nod 样受体蛋白 3 (nod-like receptor protein 3, NLRP3) 是一种重要的炎症调节剂, NLRP3/ASC/Caspase-1 信号通路被激活后加剧了促炎性细胞因子成熟和分泌, 放大炎

症反应, 进而肾小管上皮细胞与肾小球足细胞发生损伤与焦亡, 导致肾功能下降, 加重肾组织的病理损伤^[5-6]。截至目前, 现代医学针对 DN 中的临床治疗方法正处于瓶颈阶段^[7-8]。中医药在治疗 DN 具有多组分、多靶点协同的优势, 在改善 DN 的肾损伤中发挥着非常重要的作用, 具有较好的疗效和安全性^[9-11]。

真武汤出自张仲景的《伤寒论》, 由附子、白术、茯苓、芍药、生姜五味药组成, 具有培土制水、温阳利水等功效。现在临床研究表明真武汤可以抑制

DN 患者机体炎症反应以及肾损害^[12],网络药理学研究发现真武汤改善 DN 与其调控炎性通路有关^[13]。因此本研究在评价真武汤干预脾肾阳虚证 DN 小鼠模型药效学的基础上进一步探讨真武汤调控 NLRP3/ASC/Caspase-1 信号通路的作用,从分子水平方面揭示其治疗 DN 的机制,为其临床应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

25 只 SPF 级健康雄性 db/m 小鼠,7 周龄,体重约为 17 g,95 只 SPF 级健康雄性 db/db 小鼠,7 周龄,体重约为 39 g,购自斯贝福(北京)生物技术有限公司【SCXK(京)2019-0010】。动物饲养于甘肃中医药大学实验动物中心【SYXK(甘)2020-0009】。饲养期间自由饮水,昼夜各半循环照明,相对湿度 50% ~ 60%,温度 21 ~ 25℃。所有操作均经甘肃中医药大学动物实验伦理审查审批(2021-245)。

1.1.2 药物

真武汤组方:参考全国高等中医药院校规划教材《伤寒论选读》(第十一版)即:制附片 15 g、茯苓 45 g、白术 30 g、白芍 45 g、生姜 45 g,购自甘肃中医药大学附属医院,经甘肃中医药大学李越峰教授鉴定为正品。厄贝沙坦片(批号 220226JA)购自江苏恒瑞医药股份有限公司。

1.1.3 主要试剂与仪器

氢化可的松注射液(国药集团容生制药有限公司,2008202);T(江苏菲亚生物科技有限公司,2205M78);T3(江苏菲亚生物科技有限公司,2205M91);T4(江苏菲亚生物科技有限公司,2205M97);E2(江苏菲亚生物科技有限公司,2205M81);IL-1β(江苏菲亚生物科技有限公司,

2208M21);IL-18(江苏菲亚生物科技有限公司,2209M65);尿蛋白定量试剂盒(南京建成生物工程研究所,A035-2-1);NLRP3 多克隆一抗(Abcam,GR3425661-4);ASC 多克隆一抗(GeneTex,822204975);Caspase-1 多克隆一抗(Abcam,#J2021);GAPDH 内参(ImmunoWay,B1501);山羊抗兔 IgG 抗体(博士德生物工程有限公司,BST13C23C54)。

酶标检测仪(BioTek,CYTATION1,美国);高通量组织研磨器(宁波新芝生物科技股份有限公司,SCIENTZ-48,中国);高速低温离心机(上海天美科学仪器有限公司,CT14RD,中国)。

1.2 方法

1.2.1 模型复制

将 25 只 db/m 雄性小鼠作为空白对照组,95 只雄性 db/db 小鼠参考文献^[14-15]采用生大黄水煎液以及灌服氢化可的松注射液复制脾肾阳虚证模型,持续造模 14 d,并进行模型评价。将造模成功脾肾阳虚型糖尿病肾病小鼠分为:模型对照组,真武汤高、中、低剂量组,厄贝沙坦组,每组至少 15 只。

1.2.2 药物制备与给药

先将制附片置于陶瓷中药煎锅内煎煮 90 min,再将其余药物置于锅内混合煎煮 30 min(煎煮两次),合并两次药液浓缩至相当于生药 4.625 g/mL,灭菌后-20℃冰箱保存备用。根据人和小鼠体表面积系数计算^[16],真武汤高、中、低剂量组给药剂量分别为 33.8、16.9、8.45 g/(kg·d),厄贝沙坦灌胃 25 mg/(kg·d),持续治疗 8 周。

1.2.3 一般状况和中医证候积分

于给药结束后观察各组小鼠中医证候。参照文献^[17]拟定脾肾阳虚型小鼠证候积分评量表(表 1),从小鼠精神状态、毛发、粪便等项目评价各组小鼠给药后对脾肾阳虚证候的改善情况。

表 1 脾肾阳虚型 DN 观察及评分标准

Table 1 Observation and scoring criteria for DN with spleen-kidney yang deficiency type	
评分 Score	脾肾阳虚型 DN 评判标准 Criteria for DN of spleen-kidney yang deficiency type
0	精神状态良好;活泼好动;毛发光亮柔顺;粪便干、成型 Good mental state; lively and active; shiny and pliable hair; dry and formed feces
1	精神状态稍差;自主活动减少;毛发暗淡无光泽;大便变软有形 Poor mental status; decreased spontaneous activity; dull fur; soft and tangible stools
2	精神不振、倦怠乏力、出现抱团;毛发干燥;大便不成形、软便 Lack of energy, fatigue, clumping; dry hair; unformed stools, soft stools
3	精神萎靡,明显嗜睡;攻击、对抗性行为消失,倦卧抱团;毛发稀疏脱落;垫料潮湿,大便稀溏 Aspiration, obvious drowsiness; loss of aggression and confrontation behavior, tiredness and recumbency; sparse hair loss; wet bedding, loose stools

1.2.4 采集及标本提取

于给药末次,将各组小鼠分别置于代谢笼中,自由饮水,收集 24 h 尿液,并记录尿量,并将收集好的尿液离心后,分离上清液,冻存以备后续检测。

于末次给药后,各组小鼠禁食不禁水 12 h,常规消毒后,将小鼠麻醉后进行股动脉取血,静置 30 min,进行低温离心(4℃、3000 r/min,15 min),冻存以备后续血清检测。取血后,迅速取下肾组织,称量肾组织,取单侧肾组织置于 4%多聚甲醛溶液内,用于 HE 染色;剩余组织置于超低温冰箱(−80℃)冻存,以备后续检测。

1.2.5 指标检测

(1)Ucr、FBG 的检测

甘肃中医药大学生理实验室全自动生化仪检验 Ucr 的含量,给药末次使用全自动电子血糖仪检测各组小鼠尾静脉 FBG。

(2)尿蛋白定量检测

取出各组小鼠末次尿液离心后,收集上清,严格按照生化试剂盒说明书检测各组小鼠尿液中尿蛋白的浓度,根据各组小鼠尿蛋白浓度乘以相对应的尿量,计算出各组小鼠 24 h UTP 含量。公式:尿蛋白定量 = 24 h 浓度 × 24 h 尿量。

(3)肾组织 T、T3、T4、E2、IL-1β、IL-18 的含量测定

各组小鼠肾组织匀浆后,离心(3000 r/min,

20 min),取离心上清。采用 ELISA 法检测各组小鼠肾组织 T、T3、T4、E2 和炎症细胞因子 IL-1β、IL-18 的含量,在 450 nm 波长依序测量各孔 OD 值。

(4)肾组织 HE 染色

将浸泡在 4%多聚甲醛溶液的肾组织取出,进行 HE 染色,在光学显微镜下采集图像。

(5)肾组织 NLRP3、ASC、Caspase-1 蛋白表达水平测定

提取小鼠肾组织总蛋白,用 BCA 法检测蛋白浓度,加入适量 Buffer,在 95℃金属浴煮 10 min 变性备用。每空加入等量蛋白样品进行电泳,转移至 PVDF 膜上,封闭,加入对应的 NLRP3(1:1000)、ASC(1:1000)、Caspase-1(1:1000)一抗,4℃孵育摇床过夜,用 TBST 充分漂洗后加入二抗,室温孵育,ECL 法显色,使用 Image J 软件分析条带灰度值。

(6)肾组织 NLRP3、ASC、Caspase-1 mRNA 表达水平测定

取适量小鼠肾组织,提取总 RNA,检测 RNA 浓度,以 GAPDH 作为内参基因进行 PCR 扩增。扩增条件:95℃预变性,三步循环法反应(95℃ 10 s,60℃ 20 s,72℃ 20 s),45 个循环。得到实验所需 Ct 值,以 2^{−ΔΔCt}法计算目的基因相对表达量。引物序列由宝生物工程(大连)有限公司设计合成,各引物序列见表 2。

表 2 引物序列

Table 2 Primer sequences		
引物名称 Primer name	引物序列(5'−3') Primer sequences(5'−3')	长度 Length
NOD 样受体蛋白 3 NLRP3	F:TTTATTTGTACCAAGGCTGCTATC R:CAACGGACACTCGTCATCTTCA	148 bp
凋亡相关斑点样蛋白 ASC	F:CAGTTCTGTCAGAGACCACCA R:CTGCTCCAGGTCCATCACCA	140 bp
半胱氨酸天冬氨酸蛋白水解酶-1 Caspase-1	F:TCCGAGGGTTGGAGCTCAAG R:CTGGGCAGGCAGCAAATTC	137 bp
甘油醛-3-磷酸脱氢酶 GAPDH	F:AAATGCTGAAGGTCGGTGTGAAC R:CAACAATCTCCACTTTGCCACTG	90 bp

1.3 统计学分析

采用 SPSS 26.0 统计软件进行统计分析。若实验数据符合正态分布,则计量资料用平均值 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,各组间比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA),方差齐时各组间比较采用 LSD 法进行事后检验,方差不齐时各组间比较采用塔姆黑尼 T2 法进行事后检验;若实验数据不符合正态分布,则选择使用中位数和四分位数间距表

示,组间比较采用秩和检验, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 真武汤对脾肾阳虚型 DN 小鼠一般状态与证候积分的影响

空白对照组小鼠精神状态良好,皮毛光洁、色泽正常,进食正常,体重稳步增长,二便调畅,垫料

干燥。模型对照组小鼠毛发枯槁稀疏,灰暗无光,精神倦怠,反应迟钝,活动迟缓,扎堆倦卧,大便稀溏呈糊状,与空白对照组相比,模型对照组小鼠证候积分显著性升高($P < 0.05$)。与模型对照组相比,真武汤高、中剂量组小鼠精神活动明显好转,垫料轻度潮湿,蜷缩现象较少。其中,以真武汤高剂量组证候积分显著下降($P < 0.05$),见表 3。

2.2 真武汤对脾肾阳虚型 DN 小鼠脾肾阳虚相关指标的影响

与空白对照组相比,模型对照组 T、T3、T4 含量明显降低,具有显著性差异性($P < 0.05$),E2 含量明显升高,具有显著性差异($P < 0.05$);与模型对照组相比,真武汤高、中、低剂量组小鼠肾组织中 T、T3、T4 含量明显升高,具有显著性差异($P < 0.05$);真武汤高、中、低剂量组小鼠肾组织中 E2 显著降低($P < 0.05$),见表 4。

2.3 真武汤对脾肾阳虚型 DN 小鼠 FBG、Ucr、24 h UTP 的影响

与空白对照组相比较,模型对照组小鼠 FBG、24 h UTP 含量显著升高($P < 0.05$),Ucr 含量显著下降($P < 0.05$)。与模型对照组相比较,真武汤高、

表 3 真武汤对各组小鼠中医证候积分评价的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 Effect of Zhenwu Decoction on the evaluation of TCM evidence points in each group of mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别 Groups	剂量(g/kg) Dose (g/kg)	证候积分 Syndrome score
空白对照组 Blank control group	—	0.30 ± 0.48
模型对照组 Model control group	—	2.20 ± 0.79 [*]
真武汤高剂量组 Zhenwu Decoction high dose group	33.8	1.10 ± 0.74 [#]
真武汤中剂量组 Zhenwu Decoction medium dose group	16.9	1.20 ± 0.79 [#]
真武汤低剂量组 Zhenwu Decoction low dose group	8.45	1.50 ± 0.95 [#]
厄贝沙坦组 Irbesartan group	2.5 × 10 ⁻²	1.90 ± 0.88

注:与空白对照组相比, ^{*} $P < 0.05$;与模型对照组相比, [#] $P < 0.05$ 。(下表同)
Note. Compared with blank control group, ^{*} $P < 0.05$. Compared with model control group, [#] $P < 0.05$. (The same in the following tables)

中、低剂量组及厄贝沙坦组 24 h UTP 含量显著降低($P < 0.05$),Ucr 含量显著升高($P < 0.05$),见表 5。

表 4 真武汤对各组小鼠脾肾阳虚相关指标的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 4 Effect of Zhenwu Decoction the indexes related to spleen and kidney yang deficiency in each group of mice ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别 Groups	剂量(g/kg) Dose (g/kg)	脾肾阳虚相关指标 Spleen and kidney yang deficiency related index			
		T(nmol/L)	T3(pmol/L)	T4(pmol/L)	E2(pmol/L)
空白对照组 Blank control group	—	169.36 ± 12.84	28.41 ± 3.31	1428.21 ± 169.03	88.47 ± 12.33
模型对照组 Model control group	—	121.27 ± 8.42 [*]	13.41 ± 1.96 [*]	973.04 ± 94.40 [*]	149.18 ± 18.42 [*]
真武汤高剂量组 Zhenwu Decoction high dose group	33.8	164.98 ± 9.99 [#]	25.04 ± 3.55 [#]	1352.12 ± 125.88 [#]	107.35 ± 13.97 [#]
真武汤中剂量组 Zhenwu Decoction medium dose group	16.9	155.84 ± 14.31 [#]	22.70 ± 2.55 [#]	1239.35 ± 106.66 [#]	115.26 ± 12.17 [#]
真武汤低剂量组 Zhenwu Decoction low dose group	8.45	144.69 ± 11.60 [#]	17.46 ± 3.10 [#]	1153.75 ± 93.67 [#]	117.30 ± 18.40 [#]
厄贝沙坦组 Irbesartan group	2.5 × 10 ⁻²	129.28 ± 6.19	15.86 ± 2.76	1040.98 ± 104.86	134.13 ± 16.60

2.4 真武汤对脾肾阳虚型 DN 小鼠肾组织 HE 染色观察结果

各组小鼠肾组织 HE 染色(800 倍镜下)结果显示,空白对照组小鼠肾组织表面被膜由厚薄均匀的致密结缔组织构成,皮质髓质分界明显;皮质中肾小球分布均匀,肾小管上皮细胞排列整齐规则,髓质未见明显异常;未见明显的炎性改变。与空白对

照组小鼠肾结构相比,模型对照组小鼠肾小球体积增大,系膜区弥漫性增宽,肾小囊部分粘连,肾组织可见多量肾小管上皮细胞水样变性,胞质疏松淡染;偶见肾小管上皮细胞胞质空泡化。各治疗组小鼠均明显可见胞质疏松淡染,肾小球轻度肥大,少见或不见肾小管上皮细胞水样变性,病理检测结果显著优于模型对照组,见图 1。

表 5 真武汤对各组小鼠 FBG、Ucr、24 h UTP 的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别 Groups	剂量(g/kg) Dose(g/kg)	FBG (mmol/L)	Ucr (μmol/L)	UTP (mg/24 h)
空白对照组 Blank control group	—	7.21 ± 0.95	1512.42 ± 212.20	0.32 ± 0.09
模型对照组 Model control group	—	31.67 ± 1.12 [*]	504.27 ± 115.85 [*]	2.41 ± 0.36 [*]
真武汤高剂量组 Zhenwu Decoction high dose group	33.8	30.08 ± 1.58	771.79 ± 80.45 [#]	0.72 ± 0.09 [#]
真武汤中剂量组 Zhenwu Decoction medium dose group	16.9	30.22 ± 2.92	738.17 ± 103.94 [#]	1.08 ± 0.15 [#]
真武汤低剂量组 Zhenwu Decoction low dose group	8.45	31.06 ± 1.90	633.02 ± 61.26 [#]	1.74 ± 0.34 [#]
厄贝沙坦组 Irbesartan group	2.5 × 10 ⁻²	30.66 ± 1.58	817.61 ± 160.75 [#]	0.87 ± 0.19 [#]

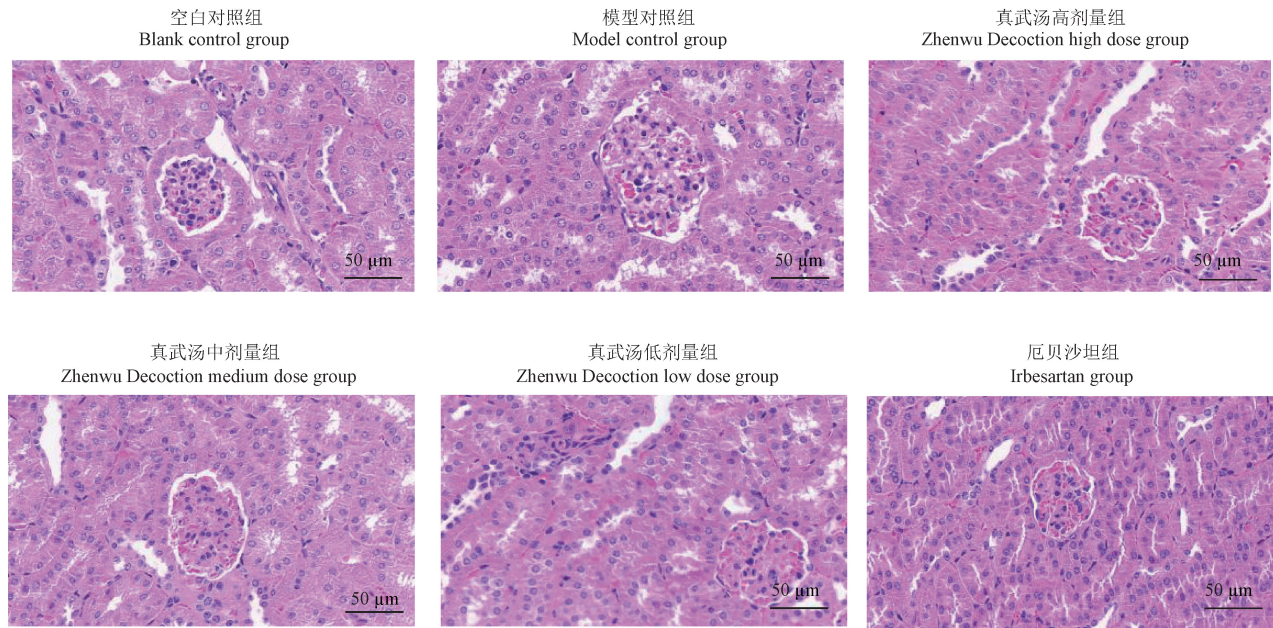


图 1 真武汤对各组小鼠肾组织病理变化的影响(HE 染色)

Figure 1 Effect of Zhenwu Decoction on the histopathological changes of kidney in each group of mice (HE staining)

2.5 真武汤对脾肾阳虚型 DN 小鼠肾组织 IL-1β、IL-18 含量的影响

空白对照组相比,模型对照组小鼠肾组织 IL-1β、IL-18 的含量显著升高($P < 0.05$)。与模型对照组相比,真武汤高、中剂量组及厄贝沙坦组小鼠肾组织 IL-1β、IL-18 含量显著降低($P < 0.05$),结果见表 6。

2.6 真武汤对脾肾阳虚型 DN 小鼠肾组织 NLRP3、ASC 及 Caspase-1 mRNA 表达水平的影响

与正常对照组比较,模型对照组小鼠肾组织中 NLRP3、ASC 及 Caspase-1 mRNA 表达显著升高($P <$

0.05);与模型对照组比较,真武汤高、中、低剂量组小鼠 NLRP3、ASC 及 Caspase-1 mRNA 表达显著降低($P < 0.05$),见表 7。

2.7 真武汤对脾肾阳虚型 DN 小鼠肾组织 NLRP3、ASC 及 Caspase-1 蛋白表达水平的影响

与空白对照组相比,模型对照组小鼠肾组织 NLRP3、ASC、Caspase-1 蛋白表达显著上调($P < 0.05$);与模型对照组相比,真武汤高中低剂量组 NLRP3、ASC、Caspase-1 蛋白表达水平显著下调($P < 0.05$),见图 2,表 8。

表 6 真武汤对各组小鼠 IL-1β、IL-18 的影响($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 6 Effect of Zhenwu Decoction on IL-1β and IL-18 in each group of mice($\bar{x} \pm s, n = 6$)			
组别 Groups	剂量(g/kg) Dose(g/kg)	IL-1β(ng/L)	IL-18(ng/L)
空白对照组 Blank control group	—	25.98 ± 2.15	22.46 ± 2.33
模型对照组 Model control group	—	33.67 ± 2.73 *	28.81 ± 2.83 *
真武汤高剂量组 Zhenwu Decoction high dose group	33.8	27.12 ± 3.91 #	23.46 ± 2.34 #
真武汤中剂量组 Zhenwu Decoction medium dose group	16.9	28.65 ± 3.58 #	24.47 ± 2.59 #
真武汤低剂量组 Zhenwu Decoction low dose group	8.45	30.80 ± 2.72	25.63 ± 2.56 #
厄贝沙坦组 Irbesartan group	2.5 × 10 ⁻²	27.60 ± 3.74 #	24.14 ± 1.58 #

表 7 真武汤对各组小鼠肾组织 NLRP3/ASC/Caspase-1 信号通路 mRNA 表达的影响($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 7 Effect of Zhenwu Decoction on mRNA expression of NLRP3/ASC/Caspase-1 signaling pathway in kidney tissues of various groups of mice($\bar{x} \pm s, n = 3$)				
组别 Groups	剂量(g/kg) Dose(g/kg)	NLRP3 mRNA	ASC mRNA	Caspase-1 mRNA
空白对照组 Blank control group	—	1.01 ± 0.15	1.00 ± 0.04	1.00 ± 0.12
模型对照组 Model control group	—	2.62 ± 0.40 *	2.78 ± 0.40 *	2.64 ± 0.55 *
真武汤高剂量组 Zhen Wu Tang high dose group	33.8	1.33 ± 0.19 #	1.43 ± 0.19 #	1.39 ± 0.18 #
真武汤中剂量组 Zhenwu Decoction medium dose group	16.9	1.63 ± 0.32 #	1.97 ± 0.24 #	1.83 ± 0.33 #
真武汤低剂量组 Zhenwu Decoction low dose group	8.45	2.09 ± 0.28 #	2.28 ± 0.30 #	2.09 ± 0.43 #
厄贝沙坦组 Irbesartan group	2.5 × 10 ⁻²	1.41 ± 0.22 #	1.88 ± 0.50 #	1.55 ± 0.33 #

表 8 真武汤对各组小鼠肾组织 NLRP3/ASC/Caspase-1 信号通路关键蛋白表达的影响($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 8 Effect of Zhenwu Decoction on the expression of key proteins of NLRP3/ASC/Caspase-1 signaling pathway in kidney tissues of various groups of mice($\bar{x} \pm s, n = 3$)				
组别 Groups	剂量(g/kg) Dose(g/kg)	NLRP3/GAPDH	ASC/GAPDH	Caspase-1/GAPDH
空白对照组 Blank control group	—	1.05 ± 0.06	0.81 ± 0.07	1.09 ± 0.08
模型对照组 Model control group	—	1.53 ± 0.08 *	1.37 ± 0.10 *	1.67 ± 0.05 *
真武汤高剂量组 Zhen Wu Tang high dose group	33.8	1.26 ± 0.06 #	1.02 ± 0.08 #	1.36 ± 0.11 #
真武汤中剂量组 Zhenwu Decoction medium dose group	16.9	1.38 ± 0.06 #	1.15 ± 0.11 #	1.45 ± 0.07 #
真武汤低剂量组 Zhenwu Decoction low dose group	8.45	1.41 ± 0.06 #	1.21 ± 0.10 #	1.52 ± 0.03 #
厄贝沙坦组 Irbesartan group	2.5 × 10 ⁻²	1.35 ± 0.08 #	1.12 ± 0.10 #	1.45 ± 0.09 #

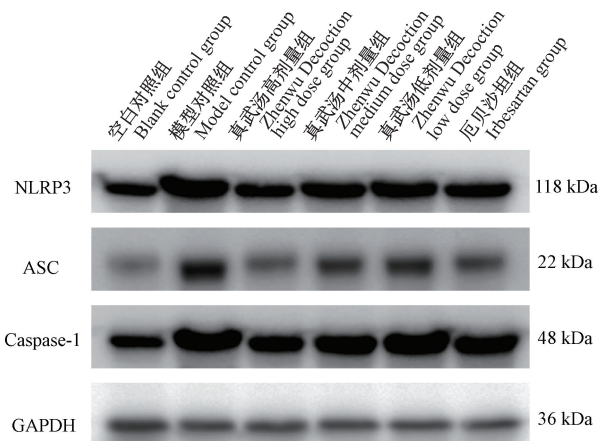


图2 真武汤对各组小鼠肾组织 NLRP3、ASC、Caspase-1 蛋白相对表达量的影响

Figure 2 Effect of Zhenwu Decoction on the relative expression of NLRP3, ASC and Caspase-1 protein in kidney tissues of mice in each group

3 讨论

DN 是糖尿病 (diabetes mellitus, DM) 临床常见的慢性并发症之一,多无明显症状,临床以持续性蛋白尿和肾小球滤过率 (glomerular filtration rate, GFR) 进行性下降进行诊断,中医并无“糖尿病肾病”病名,根据其临床症状将其归属于“水肿”“尿浊”以及“虚劳”等范畴,主要病机为本虚标实。随着 DN 的发展,正气渐耗,脏腑功能衰退,气血阴阳虚衰,致使 DN 的发病后期多发展至脾肾阳虚^[18-19]。本实验采用 db/db 小鼠 (自发糖尿病肾病模型) 为研究对象,采用苦寒泻下法 + 氢化可的松灌胃复制脾肾阳虚型 DN 动物模型,大黄苦寒泄降,重在泄热导滞,作用强烈,素有将军之称,泻下作用强,能耗伤脾胃;氢化可的松作为外源性皮质激素类药物,正在短期干预后可以抑制肾上腺胆固醇转化为激素过程中的相关蛋白表达,进而降低肾上腺皮质激素释放,减少皮质醇、皮质酮的产生和分泌,出现中医学“肾阳虚”的表现^[20]。雄性动物中 T、T3、T4、E2 的含量的变化可作为肾阳虚动物模型常用的微观指标^[21-22],反应“下丘脑-垂体-甲状腺”轴和“下丘脑-垂体-性腺”轴的功能,在肾阳虚动物模型中 T、T3、T4 有不同程度的降低^[23]。db/db 小鼠是由于瘦素受体基因突变引起的 T2DM 小鼠,并是当前 T2 DN 研究中应用较为广泛的动物模型^[24],并在 16 ~ 20 周龄时出现精神萎靡、大便稀溏、体表温度下降等表现,符合脾肾阳虚的症候特点^[25]。

根据 DN 的临床特点,国医大师严倩华认为 DN

的病机之本为脾肾亏虚,在治疗时以健脾补肾为主^[26];国医大师张琪教授认为难治性肾病出现脾肾亏虚者,以振奋少阴肾阳以祛水散霾方为治本之法,方选用真武汤加减以治疗^[27],大量临床研究表明真武汤能显著改善 DN 患者肾功能,延缓 DN 病理进展^[28-31]。现代研究发现真武汤活性有效成分能够有效抑制 DN 肾组织炎症反应,改善 DN 肾功能损伤,如:芍药中的白芍总苷可以减少 DN 患者的白蛋白尿以及降低患者血清 MCP-1 和 TNF- α 等水平,抑制炎症反应,并且 TGP 与氯沙坦联合治疗比单用氯沙坦更有效地改善了 DKD 患者的尿蛋白排泄率、血肌酐和血脂^[32]。茯苓酸可以降低急性肾损伤小鼠的血清肌酐和血尿素氮,并改善肾病理损伤^[33]。亦有研究表明茯苓有效成分可以通过抑制氧化应激,从而减轻肾纤维化和足细胞的损伤^[34]。姜黄素具有多种生物学特性,其中可以调节足细胞凋亡和自噬功能障碍来抑制 DN 小鼠肾细胞凋亡减缓 DN 的进展^[35]。白术多糖可改善高糖诱导的肾小球足细胞凋亡^[36]。本实验通过给予不同剂量真武汤干预脾肾阳虚型 db/db 小鼠模型,结果发现,模型对照组小鼠出现毛发枯槁稀疏,灰暗无光,证候评分升高。且与空白对照组相比,模型对照组小鼠血清中 T、T3、T4 的含量显著下降, E2 含量显著上升,模型对照组小鼠 FBG、24 h UTP 较空白对照组均显著升高, Ucr 显著降低, HE 染色出现肾小球肥大,肾小球系膜和基底增厚明显。经过给药后,各组小鼠精神活动明显好转,证候积分减少,血清 T、T3、T4 的含量均有不同程度的上升, E2 含量有不同程度的下降,且各给药组小鼠 24 h UTP 显著降低, Ucr 显著升高,肾组织病理可见胞质疏松淡染,少量肾小管上皮细胞水样变性。以上结果提示,真武汤可以减轻脾肾阳虚证 DN 小鼠肾功能损伤,改善肾病理改变。

糖尿病肾病的发生、发展与炎症细胞因子的产生失调密切相关, NLRP3 炎症小体可通过 NLRP3/ASC/Caspase-1 通路促进炎症细胞因子的释放及活化并对免疫做出反应^[37-39]。NLRP3 炎症小体作为高水平葡萄糖、尿酸、游离脂肪酸 (free fatty acids, FFA) 等代谢危险信号的传感器^[40],当机体糖脂代谢紊乱时触发 NLRP3 蛋白酶体活化, NLRP3 炎症小体被激活时促进接头蛋白-凋亡相关斑点样蛋白 (apoptosis-associated speck-like protein, ASC) 表达,调节水解 pro-caspase-1 产生 Caspase-1 (cysteinyl

aspartatespecific protease-1, Caspase-1), 进而将细胞因子前体 pro-IL-1 β 、pro-IL-18 分别转化成 IL-1 β 和 IL-18, 从而扩大炎症反应和免疫细胞的激活, 诱导机体引起过度炎症反应和组织损伤, 加重 DN 的病理进程^[41-44], 并通过抑制 NLRP3 的表达, 可以减少 IL-1 β 和 IL-18 的释放, 从而减轻高糖诱导的小鼠足细胞损伤和 DN 小鼠肾损伤^[45]。本研究发现, 与空白对照组小鼠相比, 模型对照组小鼠肾组织 NLRP3/ASC/Caspase-1 信号通路 mRNA 及相关蛋白表达量显著升高, 小鼠肾组织中 IL-1 β 、IL-18 的含量显著升高; 与模型对照组相比, 真武汤高、中、低剂量组对上述蛋白的表达有明显的改善作用, 并且各给药组小鼠肾组织中 IL-1 β 和 IL-18 的含量显著降低。以上结果提示, 真武汤能够抑制 NLRP3/ASC/Caspase-1 信号通路的激活以及改善 DN 小鼠炎症, 从而减轻肾病理损害。

综上所述, 本研究基于脾肾阳虚证 db/db 模型小鼠, 发现真武汤能明显改善模型小鼠一般情况及肾组织的病理学变化, 其作用机制可能与降低 NLRP3 炎症小体的表达, 抑制机体炎症反应和 NLRP3/ASC/Caspase-1 信号通路活化有关, 为真武汤的临床应用提供了科学依据。但因炎症反应受多条通路的影响, 其机制尚不完全明确, 仍需进一步研究。

参 考 文 献 (References)

- [1] DeFronzo RA, Reeves WB, Awad AS. Pathophysiology of diabetic kidney disease: impact of SGLT2 inhibitors [J]. Nat Rev Nephrol, 2021, 17(5): 319-334.
- [2] Saeedi P, Petersohn I, Salpea P, et al. Global and regional diabetes prevalence estimates for 2019 and projections for 2030 and 2045: results from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas, 9th edition [J]. Diabetes Res Clin Pract, 2019, 157: 107843.
- [3] Carracher AM, Marathe PH, Close KL. International diabetes federation 2017 [J]. J Diabetes, 2018, 10(5): 353-356.
- [4] Liu P, Zhang Z, Li Y. Relevance of the pyroptosis-related inflammasome pathway in the pathogenesis of diabetic kidney disease [J]. Front Immunol, 2021, 12: 603416.
- [5] Zhao W, Zhou L, Novák P, et al. Metabolic dysfunction in the regulation of the NLRP3 inflammasome activation: a potential target for diabetic nephropathy [J]. J Diabetes Res, 2022, 2022: 2193768.
- [6] Williams BM, Cliff CL, Lee K, et al. The role of the NLRP3 inflammasome in mediating glomerular and tubular injury in diabetic nephropathy [J]. Front Physiol, 2022, 13: 907504.
- [7] Samsu N. Diabetic nephropathy: challenges in pathogenesis, diagnosis, and treatment [J]. Biomed Res Int, 2021, 2021: 1497449.
- [8] Arora MK, Singh UK. Molecular mechanisms in the pathogenesis of diabetic nephropathy: an update [J]. Vascu Pharmacol, 2013, 58(4): 259-271.
- [9] Tang G, Li S, Zhang C, et al. Clinical efficacies, underlying mechanisms and molecular targets of Chinese medicines for diabetic nephropathy treatment and management [J]. Acta Pharm Sin B, 2021, 11(9): 2749-2767.
- [10] 杨榆青, 陈滢, 陈学秋, 等. TGF- β /Smads 信号通路在川陈皮素治疗糖尿病肾病大鼠中的变化特点研究 [J]. 长春中医药大学学报, 2020, 36(4): 666-669.
Yang YQ, Chen Y, Chen XQ, et al. Study on the changes of TGF- β /Smads signaling pathway in the treatment of diabetic nephropathy rats with nobiletin [J]. J Changchun Univ Tradit Chin Med, 2020, 36(4): 666-669.
- [11] 张敏, 林碧莹, 林小莹. 参芪地黄汤联合缬沙坦治疗早期糖尿病肾病(气阴两虚型)临床观察 [J]. 中华中医药杂志, 2018, 33(7): 3206-3208.
Zhang M, Lin BY, Lin XK. Clinical observation on Shenqi Dihuang decoction combined with valsartan treating early diabetic nephropathy (syndrome of deficiency of both qi and Yin) [J]. Chin J Tradit Chin Med Pharm, 2018, 33(7): 3206-3208.
- [12] 王淑兰, 邹艳萍, 杨华. 加味真武汤治疗 IV 期脾肾阳虚型糖尿病肾病临床研究 [J]. 南京中医药大学学报, 2016, 32(3): 220-223.
Wang SL, Zou YP, Yang H. Clinical study on the treatment of stage IV diabetic nephropathy with spleen-kidney yang deficiency by addition of Zhenwu Tang [J]. J Nanjing Univ Tradit Chin Med, 2016, 32(3): 220-223.
- [13] 钟建, 陈虹彤, 熊冲, 等. 基于网络药理学的真武汤治疗糖尿病肾病的潜在机制探索 [J]. 中药药理与临床, 2020, 36(3): 77-84, 276.
Zhong J, Chen HT, Xiong C, et al. Exploration of the potential mechanism of Zhenwu decoction on treating diabetic nephropathy based on network pharmacology [J]. Pharmacol Clin Chin Mater Med, 2020, 36(3): 77-84, 276.
- [14] 吴玉泓, 许雅清, 李海龙, 等. 脾肾阳虚型溃疡性结肠炎大鼠模型的建立 [J]. 中国实验动物学报, 2016, 24(2): 116-119.
Wu YH, Xu YQ, Li HL, et al. Preparation of a rat model of ulcerative colitis with spleen and kidney Yang deficiency [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2016, 24(2): 116-119.
- [15] 戴冰, 张嘉妮, 杨梦琳, 等. 氢化可的松致肾虚证小鼠模型的建立及相关指标的评价 [J]. 中国实验动物学报, 2017, 25(1): 70-73.
Dai B, Zhang JN, Yang ML, et al. Establishment of a mouse model of kidney deficiency induced by oral administration of hydrocortisone and evaluation of related factors [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2017, 25(1): 70-73.

- [16] 徐叔云, 卞如镰, 陈修. 药理实验方法学 第三版 [M]. 北京: 人民卫生出版社; 2002.
- Xu SY, Bian RK, Chen X. Pharmacological experimental methodology, third edition [M]. Beijing: People's Health Publishing House; 2002.
- [17] 王婷, 刘志勇, 罗黎明, 等. 当归生姜羊肉汤对脾肾阳虚型 IBS-D 大鼠中医证候的影响 [J]. 中国比较医学杂志, 2022, 32(12): 37-48.
- Wang T, Liu ZY, Luo LM, et al. Effects of decoction of *Angelica sinensis*, *Zingiberis Rhizoma* Recens, and mutton on traditional Chinese medicine symptoms of IBS-D female rats with spleen-kidney Yang deficiency [J]. Chin J Comp Med, 2022, 32(12): 37-48.
- [18] 马锋锋, 范增慧. 糖尿病肾病中医病因病机研究进展 [J]. 中国中医基础医学杂志, 2022, 28(8): 1373-1377.
- Ma FF, Fan ZH. Research progress on etiology and pathogenesis of diabetic nephropathy in Chinese medicine [J]. J Basic Chin Med, 2022, 28(8): 1373-1377.
- [19] 吴倩, 黄帅, 杨静静. 糖尿病肾病中医证型及相关危险因素分析 [J]. 蚌埠医学院学报, 2022, 47(7): 901-904.
- Wu Q, Huang S, Yang JJ. Analysis of TCM syndrome types and related risk factors of diabetic nephropathy [J]. J Bengbu Med College, 2022, 47(7): 901-904.
- [20] 潘志强, 钱宏梁, 王晓敏, 等. 不同剂量氢化可的松诱发小鼠药源性脾肾虚证的评价研究 [J]. 中国中西医结合杂志, 2019, 39(4): 480-485.
- Pan ZQ, Qian HL, Wang XM, et al. Study on drug-induced pi and Shen deficiency syndrome of mice induced by different doses of hydrocortisone [J]. Chin J Integr Tradit West Med, 2019, 39(4): 480-485.
- [21] Zhao L, Zhao A, Chen T, et al. Global and targeted metabolomics evidence of the protective effect of Chinese patent medicine Jinkui Shenqi pill on adrenal insufficiency after acute glucocorticoid withdrawal in rats [J]. J Proteome Res, 2016, 15(7): 2327-2336.
- [22] 唐维我, 张会永, 李芹, 等. 肾阳虚证动物模型造模方法及模型评价 [J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2021, 23(4): 1317-1324.
- Tang WW, Zhang HY, Li Q, et al. Modeling methods and model evaluation of animal models for kidney Yang deficiency syndrome [J]. Modern Tradit Chin Med Mater Med World Sci Technol, 2021, 23(4): 1317-1324.
- [23] 马小娟, 马文礼, 王丽新. 不同造模周期对羟基脲致肾阳虚动物模型的影响 [J]. 中国实验动物学报, 2023, 31(1): 64-74.
- Ma XJ, Ma WL, Wang LX. Effects of different modeling periods on animal model of kidney-Yang deficiency induced by hydroxyurea [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2023, 31(1): 64-74.
- [24] Tesch GH, Lim AK. Recent insights into diabetic renal injury from the db/db mouse model of type 2 diabetic nephropathy [J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2011, 300(2): F301-F310.
- [25] 冯慧, 朱晓云, 付守强, 等. 2 型糖尿病肾病 db/db 小鼠的中医证候演变分析 [J]. 山东中医药大学学报, 2022, 46(2): 242-251.
- Feng H, Zhu XY, Fu SQ, et al. Evolution of traditional Chinese medicine syndrome of db/db mice with type 2 diabetic nephropathy [J]. J Shandong Univ Tradit Chin Med, 2022, 46(2): 242-251.
- [26] 严倩华, 邹燕勤. 国医大师邹燕勤教授从脾肾论治糖尿病肾病 [J]. 南京中医药大学学报, 2018, 34(2): 109-111.
- Yan QH, Zou YQ. The treatment of diabetic nephropathy by national Chinese medicine master Zou yanqin from spleen and kidney [J]. J Nanjing Univ Tradit Chin Med, 2018, 34(2): 109-111.
- [27] 高燕翔, 张佩青, 张琪. 张琪教授以“通”为用治疗难治性肾病综合征水肿经验 [J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2014, 15(8): 663-664.
- Gao YX, Zhang PQ, Zhang Q. Professor Zhang qi's experience in treating refractory nephrotic syndrome edema with "Tong" [J]. Chin J Integr Tradit West Nephrol, 2014, 15(8): 663-664.
- [28] 张曦旭, 张珊珊, 代玉, 等. 真武汤加减治疗痰瘀互结型 2 型糖尿病肾病患者的疗效及对血管内皮生长因子的影响 [J]. 辽宁中医杂志, 2021, 48(6): 99-102.
- Zhang XX, Zhang SS, Dai Y, et al. Effect of modified Zhenwu Decoction in treatment of type 2 diabetic nephropathy with phlegm and blood stasis and influence on VEGF [J]. Liaoning J Tradit Chin Med, 2021, 48(6): 99-102.
- [29] 王柳芸, 张庚良, 和欢, 等. 真武汤合四君子汤治疗脾肾阳虚型糖尿病肾病的疗效及对血糖、肾功能的影响 [J]. 现代中西医结合杂志, 2021, 30(18): 1949-1953.
- Wang LY, Zhang GL, He H, et al. Curative effect of Zhenwu Decoction plus Sijunzi Decoction on diabetic nephropathy of type of spleen and kidney Yang deficiency and its effect on blood sugar and renal function [J]. Modern J Integr Tradit Chin West Med, 2021, 30(18): 1949-1953.
- [30] 樊晓明. 真武汤治疗脾肾阳虚型糖尿病肾病 70 例 [J]. 西部中医药, 2018, 31(10): 56-58.
- Fan XM. Zhenwu Decoction in treating 70 cases of diabetic nephropathy of spleen-kidney Yang deficiency pattern [J]. West J Tradit Chin Med, 2018, 31(10): 56-58.
- [31] 陈雨露, 宋道飞, 张静, 等. 真武汤合苓桂术甘汤联合达格列净治疗脾肾阳虚型糖尿病肾病患者的疗效及对血糖控制、炎症因子和细胞免疫的影响 [J]. 疑难病杂志, 2022, 21(12): 1253-1258.
- Chen YL, Song DF, Zhang J, et al. Effect of Zhenwu decoction and Lingguizhugan decoction combining dagelin in the treatment of diabetes nephropathy with spleen and kidney yang deficiency and influence on blood glucose control, inflammatory factors and

cellular immunity [J]. Chin J Difficult Complicat Cases, 2022, 21(12): 1253–1258.

[32] Zhu Q, Qi X, Wu Y, et al. Clinical study of total glucosides of paeony for the treatment of diabetic kidney disease in patients with diabetes mellitus [J]. Int Urol Nephrol, 2016, 48(11): 1873–1880.

[33] Jiang GP, Liao YJ, Huang LL, et al. Effects and molecular mechanism of pachymic acid on ferroptosis in renal ischemia reperfusion injury [J]. Mol Med Rep, 2021, 23(1): 63.

[34] Nie A, Chao Y, Zhang X, et al. Phytochemistry and pharmacological activities of *Wolfiporia cocos* (F. A. wolf) ryvariden & gilb [J]. Front Pharmacol, 2020, 11: 505249.

[35] Zhu X, Xu X, Du C, et al. An examination of the protective effects and molecular mechanisms of curcumin, a polyphenol curcuminoid in diabetic nephropathy [J]. Biomed Pharmacother, 2022, 153: 113438.

[36] Chao CL, Huang HC, Lin HC, et al. Sesquiterpenes from *Baizhu* stimulate glucose uptake by activating AMPK and PI3K [J]. Am J Chin Med, 2016, 44(5): 963–979.

[37] Yang M, Wang X, Han Y, et al. Targeting the NLRP3 inflammasome in diabetic nephropathy [J]. Curr Med Chem, 2021, 28(42): 8810–8824.

[38] Qiu YY, Tang LQ. Roles of the NLRP3 inflammasome in the pathogenesis of diabetic nephropathy [J]. Pharmacol Res, 2016, 114: 251–264.

[39] Fu Y, Wu N, Zhao D. Function of NLRP3 in the pathogenesis and development of diabetic nephropathy [J]. Med Sci Monit, 2017, 23: 3878–3884.

[40] Jiang D, Chen S, Sun R, et al. The NLRP3 inflammasome: role in metabolic disorders and regulation by metabolic pathways [J]. Cancer Lett, 2018, 419: 8–19.

[41] Ma Q. Pharmacological inhibition of the NLRP3 inflammasome: structure, molecular activation, and inhibitor-NLRP3 interaction [J]. Pharmacol Rev, 2023, 75(3): 487–520.

[42] Shen Y, Xu Y, Shen P, et al. A bifunctional fusion protein protected against diabetic nephropathy by suppressing NLRP3 activation [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2023, 107(7-8): 2561–2576.

[43] Chen F, Wei G, Xu J, et al. Naringin ameliorates the high glucose-induced rat mesangial cell inflammatory reaction by modulating the NLRP3 Inflammasome [J]. BMC Complement Altern Med, 2018, 18(1): 192.

[44] Wang L, Hauenstein AV. The NLRP3 inflammasome: mechanism of action, role in disease and therapies [J]. Mol Aspects Med, 2020, 76: 100889.

[45] Dong W, Jia C, Li J, et al. Fisetin attenuates diabetic nephropathy-induced podocyte injury by inhibiting NLRP3 inflammasome [J]. Front Pharmacol, 2022, 13: 783706.

[收稿日期] 2023-04-11