

宋金婉,任献青,邢琼琼,等. 基于 ROS 介导 NLRP3 炎症小体活化探讨凉血退紫方治疗过敏性紫癜大鼠作用机制研究[J]. 中国比较医学杂志, 2025, 35(4): 21-30.

Song JW, Ren XQ, Xing QQ, et al. Mechanism of Liangxue Tuizi Formula in the treatment of Henoch-Schönlein purpura rats via reactive oxygen species-mediated activation of NLRP3 inflammasome [J]. Chin J Comp Med, 2025, 35(4): 21-30.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2025.04.003

基于 ROS 介导 NLRP3 炎症小体活化探讨凉血退紫方治疗过敏性紫癜大鼠作用机制研究

宋金婉^{1,2}, 任献青^{1,2*}, 邢琼琼^{1,2}, 李一凡^{1,2}, 杨满翔^{1,2}

(1.河南中医药大学第一附属医院儿科医院,郑州 450000;2.河南中医药大学儿科医学院,郑州 450046)

【摘要】 目的 研究凉血退紫方(Liangxue Tuizi Formula, LXTZF)对过敏性紫癜大鼠活性氧(reactive oxygen species, ROS)介导的核苷酸结构寡聚化域(nucleotide-binding oligomerization domain, NOD)样受体热蛋白结构域相关蛋白 3(nod-like receptor protein 3, NLRP3)炎症小体活化的影响,探讨其治疗过敏性紫癜的可能作用机制。**方法** 将 24 只大鼠随机分为 4 组:空白组、模型组、LXTZF 组、复方甘草酸苷(compound glycyrrhizin, CG)组,除空白组外,其余各组采用热性药物联合卵白蛋白(ovalbumin, OVA)建立过敏性紫癜大鼠模型。造模成功后,LXTZF 组予 LXTZF 溶液 7.47 g/kg 灌胃,CG 组予 CG 溶液 13.5 mg/kg 灌胃,空白组和模型组给予生理盐水灌胃,每天 1 次,连续 4 周。末次灌胃 8 h 后取材,苏木素-伊红(HE)染色法观察各组大鼠皮肤组织形态学变化;酶联免疫吸附法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)检测血清中白介素-18(interleukin-18, IL-18)、白介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)水平;免疫荧光检测大鼠皮肤组织中 ROS 水平变化;逆转录聚合酶链式反应(reverse transcription polymerase chain reaction, RT-PCR)法、免疫组化法及蛋白免疫印迹法(Western blot)检测大鼠皮肤组织中凋亡相关点样蛋白(apoptosis-associated speckle-like protein, ASC)、NLRP3、半胱氨酸蛋白酶-1(cysteine-specific protease-1, Caspase-1)基因信使核糖核酸(messenger RNA, mRNA)及蛋白表达。**结果** 与空白组相比,模型组大鼠皮肤组织病理可见明显炎症细胞浸润;血清中 IL-18、IL-1 β 含量均明显升高($P<0.05$),皮肤组织中 ROS 水平显著升高($P<0.05$),皮肤组织中 ASC、NLRP3、Caspase-1 mRNA 及蛋白表达水平显著升高($P<0.05$)。与模型组相比,LXTZF 组和 CG 组大鼠皮肤组织病理可见炎症细胞浸润减轻;血清中 IL-18、IL-1 β 水平显著降低($P<0.05$);皮肤组织中 ROS 水平显著降低($P<0.05$),皮肤组织中 ASC、NLRP3、Caspase-1 mRNA 及蛋白表达水平显著降低($P<0.05$)。**结论** 凉血退紫方治疗过敏性紫癜发挥作用的机制可能与抑制 ROS 介导的 NLRP3 炎症小体活化相关。

【关键词】 过敏性紫癜;凉血退紫方;ROS;NLRP3 炎症小体

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2025) 04-0021-10

【基金项目】 国家自然科学基金(82374519);河南省省级科技研发计划联合基金项目(222301420022);2023 年度河南省中医学“双一流”创建科学研究专项课题(HSRP-DFCTCM-2023-8-41);河南中医药大学 2023 年度研究生科研创新类项目(2023KYCX005)。

【作者简介】 宋金婉(1991—),女,在读硕士研究生,主治医师,研究方向:中医药防治小儿肾病及风湿免疫性疾病。

E-mail:1126568611@qq.com

【通信作者】 任献青(1973—),男,博士,主任医师,教授,研究方向:中医药防治小儿肾病及风湿免疫性疾病。

E-mail:renxq723@163.com

Mechanism of Liangxue Tuizi Formula in the treatment of Henoch-Schönlein purpura rats via reactive oxygen species-mediated activation of NLRP3 inflammasome

SONG Jinwan^{1,2}, REN Xianqing^{1,2*}, XING Qiongqiong^{1,2}, LI Yifan^{1,2}, YANG Manxiang^{1,2}

(1. Pediatrics Hospital, the First Affiliated Hospital of Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450000, China.

2. College of Pediatrics, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046)

【Abstract】 Objective To study the effect of Liangxue Tuizi Formula (LXTZF) on reactive oxygen species (ROS)-mediated NOD-like receptor thermal protein domain associated protein 3 (NLRP3) inflammasome activation in Henoch-Schönlein purpura (HSP) rats, and to explore its possible mechanism in the treatment of HSP. **Methods** Twenty-four rats were divided randomly into four groups: control, model, LXTZF, and compound glycyrrhizin (CG) groups. Except for the control group, a model of HSP was established in the other groups by heat drugs combined with egg albumin. After successful modeling, rats in the LXTZF group were given LXTZF solution 7.47 g/kg, rats in the CG group were given CG solution 13.5 mg/kg by gavage, and rats in the control and model groups were given normal saline solution by gavage once a day for 4 weeks. Samples were collected 8 hours after the last gavage. Skin histopathology changes were observed by hematoxylin and eosin (HE) staining. Serum interleukin (IL)-18 and IL-1 β levels were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Changes in ROS levels in the skin were detected by immunofluorescence. Apoptosis-associated speckle-like protein (ASC), NLRP3, cysteinyl aspartate-specific protease-1 (Caspase-1) mRNA and protein expression levels in rat skin were detected by real-time quantitative polymerase chain reaction (RT-PCR) and immunohistochemistry and Western blot, respectively. **Results** The skin pathology in the model group showed obvious inflammatory cell infiltration compared with the control group. Serum IL-18 and IL-1 β levels were significantly increased ($P<0.05$), skin ROS levels were significantly increased ($P<0.05$), and skin ASC, NLRP3, Caspase-1 mRNA and protein expression levels were significantly increased ($P<0.05$). Inflammatory cell infiltration in the skin tissues of rats was alleviated in the LXTZF and CG groups compared with the model group, while serum levels of IL-18 and IL-1 β were significantly decreased ($P<0.05$). ROS levels in the skin were significantly decreased ($P<0.05$), and mRNA and protein levels of ASC, NLRP3, and Caspase-1 in the skin were significantly decreased ($P<0.05$). **Conclusions** The mechanism of LXTZF in HSP may be related to the inhibition of ROS-mediated NLRP3 inflammasome activation.

【Keywords】 Henoch-Schönlein purpura; Liangxue Tuizi Formula; ROS; NLRP3 inflammasome

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

过敏性紫癜 (Henoch-Schönlein purpura, HSP), 临床定义为免疫球蛋白 A 相关性血管炎 (immunoglobulin A-associated vasculitis, IgAV), 是儿童期高发的急性小血管炎症性疾病, 其典型临床特征包括皮肤紫癜、关节肿痛、消化道症状 (腹痛) 及肾受累 (肾炎), 病理表现为白细胞碎裂性血管炎^[1]。HSP 的发病率为 8~22 例每 10 万儿童, 呈逐年上升趋势^[2]。本病在中医学中归属于“紫癜”“血证”“肌衄”“紫斑”等范畴。HSP 病程较长, 易反复发作, 病邪可由表入里损伤肾^[3]。西医治疗除了对症治疗外, 常首选激素及免疫抑制剂, 可以缓解临床症状, 但不能降低复发率及

肾损伤率^[4]。中医药在提高 HSP 缓解率、降低复发率、预防肾损伤、副作用少等方面具有明显的优势^[2]。任献青教授在传承国医大师丁樱教授经验的基础上, 创制了治疗 HSP 血热妄行证的基础方—凉血退紫方^[5]。该方具清热凉血、活血消斑功效, 经临床长期实践证实该方疗效确切, 能够明显降低 HSP 复发率。

HSP 是一种全身血管炎症性疾病^[6], 研究提示 NLRP3 炎症小体激活存在于肾型 HSP 大鼠模型中^[7]。NLRP3 炎症小体普遍存在于免疫细胞中, 由 NOD 样受体家族中 NLRP3、接头蛋白 ASC 和效应蛋白 Caspase-1 前体组成的一类多聚蛋白

复合物,ROS 能够激活 NLRP3 炎症小体,促进炎症细胞因子 IL-18、IL-1 β 的分泌,从而介导炎症反应^[8]。前期课题组研究发现凉血退紫合剂能减少 HSP 模型大鼠血清中炎症因子如白介素 6 (interleukin-6, IL-6)、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 等表达,另外通过网络药理学技术预测该方可能通过调节 NOD 样受体信号通路发挥治疗 HSP 的作用^[9]。因此本研究通过建立 HSP 大鼠模型,拟从 ROS 介导的 NLRP3 炎症小体活化探究凉血退紫方治疗 HSP 的作用机制,为其临床应用提供依据。

1 材料和方法

1.1 实验动物

选用 SPF 级雄性 Wistar 大鼠 (*Rattus norvegicus*) 24 只,周龄 3~5 周,体质量 75~95 g,由浙江维通利华实验动物技术有限公司桐乡分公司提供[SCXK(浙)2021-0006]。动物实验在河南中医药大学屏障环境动物实验中心进行标准化饲养管理[SYXK(豫)2021-0015]。环境参数:温度(26 ± 1) $^{\circ}\text{C}$ 、相对湿度(65 ± 5)%、12 h/12 h 明暗周期循环,全程自由摄食饮水并定期更换垫料。本研究严格遵循实验动物伦理要求,实验方案经河南中医药大学实验动物福利伦理审查委员会审核批准(IACUC-202311029)。本实验全过程遵守动物实验 3R 原则。

1.2 主要试剂与仪器

萆薢饮片(安徽普仁中药饮片有限公司,批号:2210271);干姜饮片(云南民顺堂中药饮片有限公司,批号:220401);胡椒饮片(安徽普仁中药饮片有限公司,批号:2210251);复方甘草酸苷片(乐普药业股份有限公司,批号:211001B1);凉血退紫方(颗粒剂):生地 10 g、丹皮 10 g、紫草 10 g、白芍 10 g、络石藤 12 g、忍冬藤 15 g、川芎 10 g、炙甘草 6 g(四川新绿色药业科技发展有限公司)。卵白蛋白、完全弗氏佐剂(美国 Sigma 公司,货号:A5503-10 g、F5881-10 mL);TRIzolTM Reagent(美国 Invitrogen 公司,货号:15596-026);逆转录试剂盒(莫纳生物,货号:MR05001);IL-18、IL-1 β ELISA 试剂盒(武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司,货号:E-EL-R0567c、E-EL-R0012c);ASC 抗体(Immunoway,货号:YT0365);Caspase-1 抗体

(proteintech, 货号:22915-1-AP);NLRP3 抗体(Affinity, 货号:DF7438);HRP 标记的山羊抗兔 IgG(Servicebio, 货号:GB23303);高效 RIPA 裂解液(北京索莱宝,货号:R0010);BCA 蛋白浓度测定试剂盒(北京索莱宝,货号:PC0020);SDS-PAGE 凝胶制备试剂盒(上海雅酶,货号:PG112);彩虹 245plus 广谱蛋白 Marker(北京索莱宝,货号:PR1930);ECL Plus 超敏发光液(北京索莱宝,货号:PE0010)。

电热恒温培养箱(CIMO, GNP-9080BS-III);核酸蛋白浓度微量测定仪(Thermo, Nanodrop 2000);荧光定量 PCR 仪(TIANLONG, TL-988);高速低温组织研磨仪(Servicebio, KZ-III-FP);高速离心机(DLAB, D3024);全波长酶标仪(Thermo, Multiskan GO);组化笔(武汉赛维尔生物科技有限公司, G6100);显微镜(尼康仪器有限公司, E100);正置荧光显微镜(日本尼康, NIKON ECLIPSE C1);扫描仪(3DHISTECH, Panoramic MIDI);电泳转印仪(Bio-Rad, Mini Trans-Blot);化学发光成像系统(武汉莫纳, QuickChemi 5200)。

1.3 实验方法

1.3.1 模型建立及分组给药

24 只 Wistar 大鼠按随机数字表法分为空白组、模型组、LXTZF 组、CG 组,参考李彦红等^[10]造模方法复制过敏性紫癜大鼠模型。预处理阶段:适应性饲养 7 d 后,除空白组外,其余各组经胃灌注含胡椒、萆薢、干姜(质量比 1:1:1)的水煎剂(0.15 g/mL),剂量为 1 mL/100 g 体质量,每天 1 次 $\times$ 3 周。免疫诱导:继以卵白蛋白-完全弗氏佐剂乳化液(每只 0.5 mL),每周 1 次 $\times$ 3 周。强化激发:第 7 周尾静脉注射 10 g/L 的卵白蛋白(1 次,每只 0.5 mL),同时背部皮肤脱毛区域 5 点皮内/皮下注射 0.3% 卵白蛋白生理盐水溶液 2 mL(每点 0.4 mL),每 3 d 1 次,共进行 5 次,空白组同步给予等体积生理盐水。药物干预:模型验证成功后,按体表面积法换算临床等效剂量给药, LXTZF 组:凉血退紫方 7.47 g/kg、CG 组:复方甘草酸苷 13.5 mg/kg,空白组及模型组:等体积生理盐水灌胃,每天 1 次,共进行 4 周。样本采集:末次给药后禁食 12 h(自由饮水),2% 戊巴比妥钠腹腔麻醉,腹主动脉采血分离血清,处死后背部皮肤组织冻存待检。

1.3.2 ELISA 法检测大鼠血清中 IL-18 及 IL-1β 表达

取大鼠血清,解冻,根据试剂盒说明书步骤进行测定。

1.3.3 ROS 染色检测大鼠皮肤组织中 ROS 的表达

用最佳切割温度复合物 (optimal cutting temperature compound, OCT) 将组织包埋后冰冻切片机切片,画圈,淬灭组织自发荧光后 ROS 染液染色,4',6-二脒基-2-苯基吲哚 (4',6-diamidino-2-phenylindole, DAPI) 复染细胞核后用抗荧光淬灭封片剂封片,采集图像。用 Image Pro Plus 6.0 软件测定免疫荧光强度值,以免疫荧光强度值来表述 ROS 的表达量。

1.3.4 RT-PCR 法检测大鼠皮肤组织中 ASC、NLRP3、Caspase-1 mRNA 表达

取 90 mg 大鼠皮肤组织研磨,按照试剂盒说明书提取皮肤组织总 RNA,检测其纯度及浓度后将 RNA 逆转录合成 cDNA,选择 ASC、NLRP3、Caspase-1 对应的引物,以 β-actin 为内参,扩增条件:95 ℃ 3 min 预变性;95 ℃ 5 s,60 ℃ 30 s,40 个循环。数据采用 $RQ = 2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算相对表达量。具体引物序列如表 1。

1.3.5 免疫组化法检测大鼠皮肤组织中 ASC、NLRP3、Caspase-1 蛋白表达

取各组大鼠皮肤组织石蜡,脱蜡及水化后柠檬酸高压热修复抗原;3% H₂O₂ 孵育阻断内源性过氧化物酶,常规洗涤吸干后,加入兔血清封闭 30 min;甩干封闭液后滴加 ASC、NLRP3、Caspase-1 抗体(稀释比例均为 1:200),4 ℃ 孵育过夜;常规洗涤后滴加二抗(稀释比例为 1:200)室温孵

育 50 min;常规洗涤吸干后滴加 3,3'-二氨基联苯胺(3,3'-diaminobenzidine, DAB) 工作液显色,阳性为棕黄色,终止显色后复染细胞核,脱水封片。置于白光显微镜下进行结果判读。

1.3.6 蛋白免疫印迹法测大鼠皮肤组织中 ASC、NLRP3、Caspase-1 蛋白表达

组织裂解后 BCA 法测蛋白浓度;制胶后每孔上样蛋白样品 30 μg;200 V 电泳 30 min;电泳后 300 mA 电转 30 min;转膜后无蛋白快速封闭液室温振摇封闭 10 min;一抗 4 ℃ 孵育过夜(GAPDH 抗体浓度为 1:10 000,指标抗体浓度为 1:1000);次日洗膜后二抗室温震荡孵育 30 min(二抗浓度均为 1:10 000)洗膜后发光液浸泡曝光照相。使用 Image Pro Plus 6.0 软件进行灰度值比值分析。

1.4 统计学方法

本研究采用 SPSS Statistics 26.0 软件进行数据处理。计量数据资料以平均数±标准差($\bar{x} \pm s$)描述,多组间差异的比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA),若方差齐性满足时采用 LSD 法进行事后比较,方差不齐时采用 Kruskal-Wallis 非参数检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠皮肤病理改变

病理结果显示,与空白组相比,模型组大鼠皮肤皮层呈小血管周围中性粒细胞破碎性炎症表现,符合临床皮肤型 HSP 表现,提示 HSP 造模成功。与模型组相比,LXTZF 组及 CG 组大鼠皮肤病理显示真皮层小血管周围中性粒细胞明显减少。见图 1。

表 1 引物序列
Table 1 Primers sequence

基因 Gene	引物序列(5'-3') Primer sequence(5'-3')	基因 ID Gene ID	扩增子长度/bp Amplicon length
ASC	F:CTGCAGATGGACCCCATAGAC R:GTGAGCTCCAAGCCATACCC	282 817	74
NLRP3	F:CTCACCTCACACTCCTGCTG R:AGAACCTCACAGAGCGTCAC	287 362	122
Caspase-1	F:GACCGAGTGGTTCCTCAAG R:GACGTGTACGACTGGGTGTT	25 166	108
β-actin	F:ACCCGCGACTACAACCTTCTT R:TCGTCATCCATGCGGAAGTGG	81 822	74

2.2 各组大鼠血清中 IL-18、IL-1β 表达量

模型组炎症因子水平:模型组大鼠血清 IL-18 及 IL-1β 表达量较空白组显著上调($P<0.05$);药物干预效应:LXTZF 组与 CG 组干预后,上述指标均较模型组呈现统计学意义的下调($P<0.05$)。见表 2。

2.3 各组大鼠皮肤组织中 ROS 表达水平

如图 2 所示,模型组 ROS 的水平变化:模型组大鼠皮肤组织 ROS 的表达水平较空白组均呈显著性上调($P<0.05$)。药物干预效应:LXTZF 组与 CG 组干预后,两组 ROS 的表达水平均显著下调($P<0.05$)。

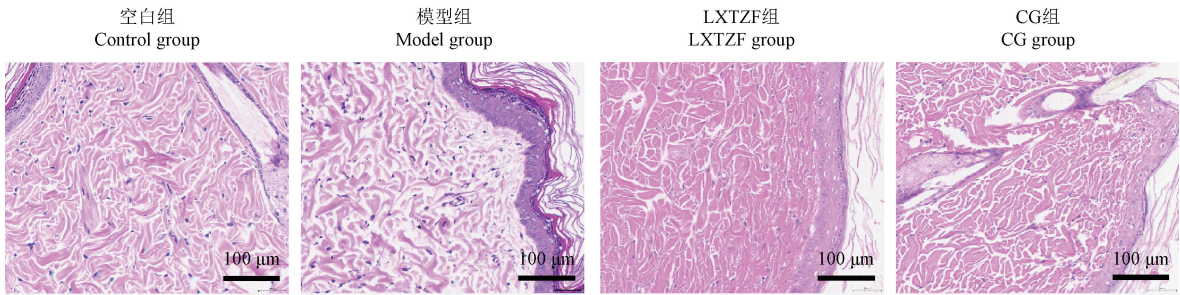
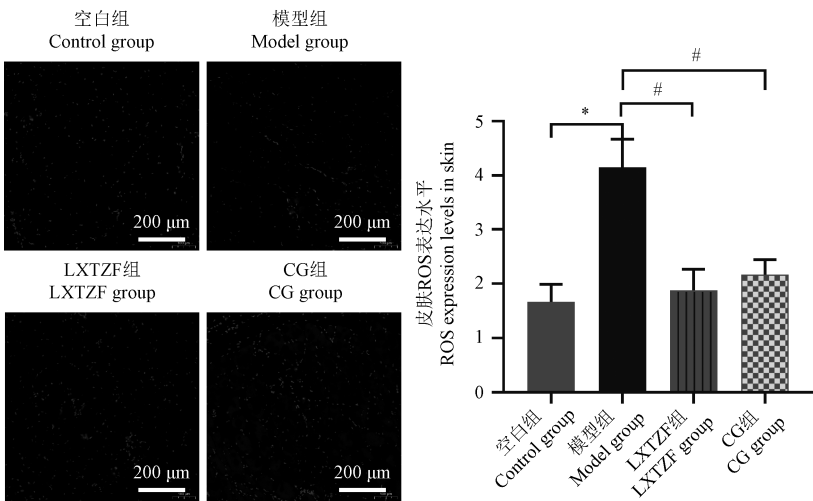


图 1 各组大鼠皮肤病理图(HE)
Figure 1 Skin pathology of rats in each group (HE)

表 2 各组大鼠血清中 IL-18、IL-1β 表达量($\bar{x}\pm s, n=6, \text{pg/mL}$)
Table 2 Expression levels of IL-18 and IL-1β in the serum of each group of rats($\bar{x}\pm s, n=6, \text{pg/mL}$)

分组 Groups	IL-18	IL-1β
空白组 Control group	122.48±10.29	22.59±6.56
模型组 Model group	142.51±12.45*	61.66±14.21*
LXTZF 组 LXTZF group	127.75±14.63 [#]	26.54±7.05 [#]
CG 组 CG group	123.79±6.81 [#]	25.11±7.27 [#]

注:与空白组相比,* $P<0.05$;与模型组相比,[#] $P<0.05$ 。
Note. Compared with control group,* $P<0.05$. Compared with model group,[#] $P<0.05$.



注:与空白组相比,* $P<0.05$;与模型组相比,[#] $P<0.05$ 。
图 2 各组大鼠皮肤组织 ROS 表达水平比较($\bar{x}\pm s, n=5$)

Note. Compared with control group,* $P<0.05$. Compared with model group,[#] $P<0.05$.
Figure 2 Comparison of ROS expression levels in skin tissues of rats in each group($\bar{x}\pm s, n=5$)

2.4 各组大鼠皮肤组织中 ASC、NLRP3、Caspase-1 mRNA 表达水平

模型组基因转录水平:模型组大鼠皮肤组织中 ASC、NLRP3 及 Caspase-1 mRNA 相对表达量较空白组显著上调($P<0.05$)。药物干预效果:LXTZF 组与 CG 组干预后,炎症小体 ASC、NLRP3、Caspase-1 mRNA 丰度较模型组均显著下调($P<0.05$)。见图 3。

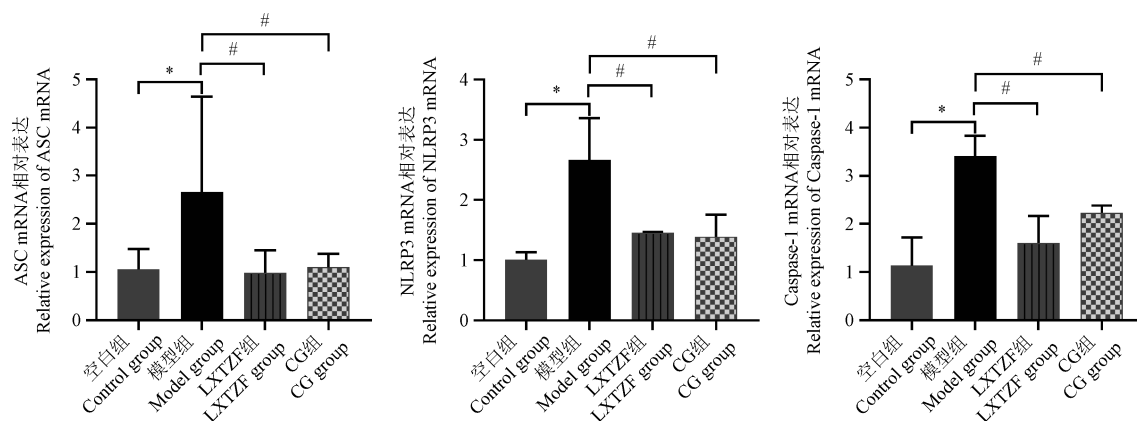
2.5 免疫组化检测皮肤组织中 ASC、NLRP3、Caspase-1 蛋白表达水平

模型组蛋白表达特征:模型组大鼠皮肤组织中炎症小体 ASC、NLRP3、Caspase-1 蛋白表达较

空白组升高。药物干预效应:LXTZF 组与 CG 组干预后,上述蛋白在皮肤组织中的表达丰度较模型组均降低。见图 4。

2.6 Western blot 检测皮肤组织中 ASC、NLRP3、Caspase-1 蛋白表达水平

模型组蛋白表达特征:模型组大鼠的皮肤组织中炎症小体 ASC、NLRP3、Caspase-1 蛋白表达水平较空白组均呈现显著性上调($P<0.05$)。药物干预效应:LXTZF 组与 CG 组干预后,ASC、NLRP3、Caspase-1 蛋白在皮肤组织中的表达丰度较模型组均呈现显著性下调($P<0.05$)。见图 5。



注:与空白组相比,* $P<0.05$;与模型组相比,# $P<0.05$ 。

图 3 各组大鼠皮肤 ASC、NLRP3、Caspase-1 mRNA 表达水平($\bar{x}\pm s, n=3$)

Note. Compared with control group, * $P<0.05$. Compared with model group, # $P<0.05$.

Figure 3 Expression levels of ASC, NLRP3 and Caspase-1 mRNA in the skin of rats in each group($\bar{x}\pm s, n=3$)

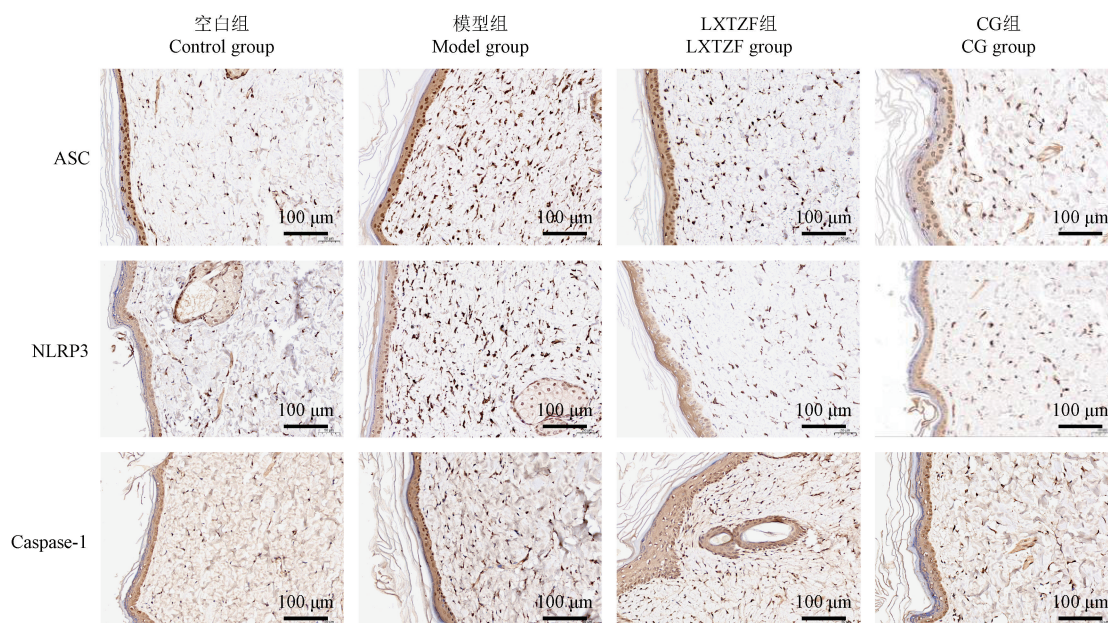
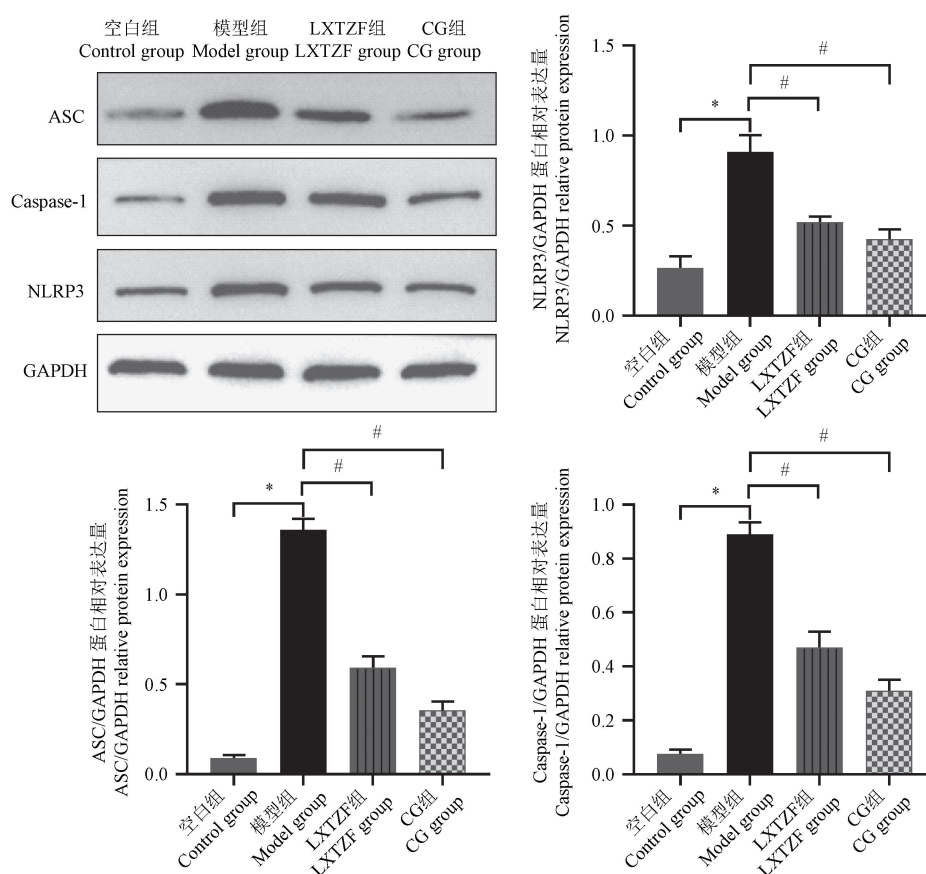


图 4 各组大鼠皮肤组织中 ASC、NLRP3、Caspase-1 蛋白表达

Figure 4 Expression of ASC, NLRP3, Caspase-1 protein in skin tissue of rats in each group



注:与空白组相比,* $P<0.05$;与模型组相比,# $P<0.05$ 。

图5 各组大鼠皮肤组织中ASC、NLRP3、Caspase-1蛋白表达水平($\bar{x} \pm s, n=3$)

Note. Compared with control group, * $P<0.05$. Compared with model group, # $P<0.05$.

Figure 5 Expression levels of ASC, NLRP3 and Caspase-1 in skin tissues of rats in each group($\bar{x} \pm s, n=3$)

3 讨论

HSP是临床上最常见的儿童血管炎^[11],通常以可触及紫癜(100%)、关节炎或关节痛(66%~74%)、胃肠道受累(51%~56%)和肾受累(30%~54%)为主要症状表现^[12]。西医治疗以休息调养、抗感染、抗过敏、激素干预、免疫调节及对症支持等为主^[13]。激素及免疫调节剂长期应用会增加感染风险、影响代谢等。中医药治疗HSP具有明显优势,如能够明显减少复发率、减轻肾损伤等,并且尚未发现有明显的副作用。因此,越来越多的学者聚焦中医药治疗HSP的临床与基础研究^[14]。国医大师丁樱教授认为伏热之邪是儿童HSP的发病基础,HSP病机主要包括热、虚、瘀,疾病早期尤以热、瘀为重^[3]。任献青教授基于此理论创制了凉血退紫方,方中生地黄和牡丹皮清热凉血,活血化瘀共为君药,紫草、络石藤、

忍冬藤清热凉血,活血通络共为臣药,白芍、川芎为佐药,炙甘草调和诸药为使药,诸药共奏清热凉血,活血消斑的功效,临床应用多年,效果显著。

HSP是免疫复合物介导的系统性小血管炎,发病机制与炎症反应、氧化应激反应有关^[15]。NLRP3炎症小体,由NLRP3、ASC和pro-Caspase-1组成,其激活是炎症反应的发生和发展的重要环节^[16-17]。激活的NLRP3炎症小体促使pro-Caspase-1自剪切和活化,进而剪切pro-IL-1 β 和pro-IL-18,生成成熟的IL-1 β 和IL-18^[18]。这些细胞因子能促进炎症反应。ROS是生物体内一类重要的氧分子^[19]。在病理条件下,ROS的产生和清除失衡会导致氧化应激,进而损伤细胞和组织^[20]。此外,过高的ROS水平会导致持续性炎症^[21]。研究表明,ROS可直接或间接参与NLRP3的激活过程^[17-18,22],因此,调节ROS的产生和清除,可能为治疗NLRP3相关疾病提供新的

治疗策略^[22-25]。多项研究表明,中医药可能通过抑制 ROS/NLRP3 相关通路改善心血管系统疾病、关节炎、糖尿病等多种炎症性疾病的病理状态^[26-32]。此外,有研究指出,NLRP3 炎症小体在调控 HSP 血管炎症反应中发挥重要作用,可能是中医药治疗 HSP 的潜在靶点^[33]。

本研究以 HSP 大鼠为研究对象,结果显示,与空白组相比,HSP 大鼠皮肤病理炎症反应明显;血清中细胞因子 IL-18、IL-1 β 水平显著升高;皮肤组织中 ROS 表达水平、NLRP3、Caspase-1、ASC 基因及蛋白表达水平均显著增加,提示 HSP 大鼠体内存在 ROS 介导的 NLRP3 炎症小体激活。既往研究表明,生地黄可以降低 ROS 及 NLRP3 炎症小体活化相关基因和蛋白表达水平^[34]。紫草的提取物紫草素可以降低 ROS、IL-1 β 、NLRP3 水平^[35]。白芍提取物可以降低炎症细胞中 ROS 水平及 NLRP3、Caspase-1、IL-1 β 、IL-18 表达^[36-37]。川芎也可以降低 ROS 水平^[38]。药理学研究发现,复方甘草酸苷具有抗炎作用^[39],临床上用于治疗 HSP^[40]。本研究结果显示,经凉血退紫方及复方甘草酸苷干预后,与模型组相比,LXTZF 组及 CG 组大鼠皮肤病理炎症反应明显减轻;血清中细胞因子 IL-18、IL-1 β 水平显著降低;皮肤组织中 ROS 表达水平、NLRP3、Caspase-1、ASC 基因及蛋白表达均水平显著降低。以上结果提示凉血退紫方可减轻 HSP 大鼠皮肤炎症反应,降低血清中 IL-18、IL-1 β 水平,抑制皮肤中 ROS 的表达及 NLRP3 炎症小体活化相关蛋白的基因和表达水平。这些数据表明,凉血退紫方可能通过抑制 ROS 介导 NLRP3 炎症小体活化,有效减轻 HSP 的皮肤炎症。

本研究探讨了凉血退紫方对 ROS 介导 NLRP3 炎症小体活化的调控治疗 HSP 的潜在机制。然而,本研究仍存在一定的局限性,未设置不同中药剂量组及抑制剂组。未来研究将增加中药组的不同剂量梯度及抑制剂组,体内、体外实验进一步围绕 ROS 介导的 NLRP3 炎症小体活化验证凉血退紫方的作用机制。尽管存在上述不足,但本研究仍为中医药治疗 HSP 的机制研究提供了新的思路和实验依据。

参考文献:

[1] NIKOLAISHVILI M, PAZHAVA A, DI LERNIA V. Viral

infections may be associated with henoch-schönlein *Purpura* [J]. *J Clin Med*, 2023, 12(2): 697.

[2] 苏杭,张淑孜,任献青. 中医药治疗过敏性紫癜的动物实验研究进展 [J]. *中国比较医学杂志*, 2024, 34(6): 135-143.

SU H, ZHANG S Z, REN X Q. Progress of animal experimental research into treatment of Henoch-Schonlein *Purpura* with traditional Chinese medicine [J]. *Chin J Comp Med*, 2024, 34(6): 135-143.

[3] 张博,高敏,任献青,等. 国医大师丁樱治疗过敏性紫癜用药规律研究 [J]. *中国中医药信息杂志*, 2024, 31(6): 47-53.

ZHANG B, GAO M, REN X Q, et al. Study on the medication law of national TCM master ding Ying in the treatment of henoch-schönlein *Purpura* [J]. *Chin J Inf Tradit Chin Med*, 2024, 31(6): 47-53.

[4] CASTAÑEDA S, QUIROGA-COLINA P, FLORANES P, et al. IgA vasculitis (henoch-schönlein *Purpura*): an update on treatment [J]. *J Clin Med*, 2024, 13(21): 6621.

[5] 蔡明阳,苏杭,张博,等. 基于 DNA 甲基化探讨凉血退紫方治疗过敏性紫癜血热妄行证的作用机制 [J]. *中华中医药杂志*, 2023, 38(8): 3795-3798.

CAI M Y, SU H, ZHANG B, et al. Exploring the mechanism of Liangxue Tuizi Decoction in treating allergic purpura with blood heat and excessive flow syndrome based on DNA methylation [J]. *China J Tradit Chin Med Pharm*, 2023, 38(8): 3795-3798.

[6] 蔡浩,王强,赵风云. 过敏性紫癜患儿血浆 C₃、C₄、IgA 水平变化及其与肾损伤的关系 [J]. *山东医药*, 2021, 61(14): 82-84.

CAI H, WANG Q, ZHAO F Y. Changes of plasma C₃, C₄ and IgA levels in children with henoch-schonlein *Purpura* and their relationship with renal injury [J]. *Shandong Med J*, 2021, 61(14): 82-84.

[7] 王龙,丁樱,徐闪闪,等. 基于 PERK/eIF2 α 通路探讨清热止血方联合雷公藤多苷治疗紫癜性肾炎大鼠的疗效机制 [J]. *中华中医药杂志*, 2024, 39(7): 3424-3429.

WANG L, DING Y, XU S S, et al. Therapeutic mechanism of Qingre Zhixue Formula combined with *Tripterygium wilfordii* polyglycosides in the treatment of Henoch-Schönlein *Purpura* nephritis rats based on PERK/eIF2 α pathway [J]. *China J Tradit Chin Med Pharm*, 2024, 39(7): 3424-3429.

[8] WANG L, HAUENSTEIN A V. The NLRP3 inflammasome: Mechanism of action, role in disease and therapies [J]. *Mol Aspects Med*, 2020, 76: 100889.

[9] 吴静静,任献青,唐进法,等. 基于网络药理学和实验验证探究凉血退紫合剂治疗过敏性紫癜的机制 [J]. *中药药理与临床*, 2022, 38(5): 92-101.

- WU J J, REN X Q, TANG J F, et al. Mechanism of Liangxue tuizi mixture in treating henoch-schönlein *Purpura* based on network pharmacology and experimental verification [J]. *Pharmacol Clin Chin Mater Med*, 2022, 38(5): 92–101.
- [10] 李彦红, 朱华, 徐艳峰, 等. 过敏性紫癜兔模型的免疫学改变及机制初探 [J]. *中国实验动物学报*, 2013, 21(6): 65–69, 11–12.
- LI Y H, ZHU H, XU Y F, et al. Preliminary observation of immunological changes and mechanism in the rabbit models of Henoch-Schönlein *Purpura* [J]. *Acta Lab Anim Sci Sin*, 2013, 21(6): 65–69, 11–12.
- [11] 周伟, 张晨星, 吴凤岐, 等. 中国儿童血管炎诊断与治疗系列专家共识之一——总论 [J]. *中国实用儿科杂志*, 2023, 38(4): 241–247.
- ZHOU W, ZHANG C X, WU F Q, et al. Consensus on diagnosis and treatment of childhood vasculitis in China: General [J]. *Chin J Pract Pediatr*, 2023, 38(4): 241–247.
- [12] 傅桐, 杜悦. 儿童 IgA 血管炎诊断与治疗 [J]. *中国实用儿科杂志*, 2022, 37(1): 17–21.
- FU T, DU Y. Diagnosis and treatment of IgA vasculitis in children [J]. *Chin J Pract Pediatr*, 2022, 37(1): 17–21.
- [13] 胡艳, 袁昕, 曹童童, 等. 儿童过敏性紫癜、紫癜性肾炎的中西医结合诊疗方案 [J]. *北京中医药*, 2024, 43(2): 109–113.
- HU Y, YUAN X, CAO T T, et al. Diagnosis and treatment plan of integrated Chinese and western medicine for children with allergic *Purpura* and *Purpura* nephritis [J]. *Beijing J Tradit Chin Med*, 2024, 43(2): 109–113.
- [14] 杨文, 宋纯东, 宋丹, 等. 不同疗程中医干预对皮肤型过敏性紫癜患儿皮疹反复及肾损害的影响 [J]. *时珍国医国药*, 2024, 35(4): 917–920.
- YANG W, SONG C D, SONG D, et al. Effects of different courses of TCM intervention on skin rash recurrence and renal damage in children with cutaneous allergic *Purpura* [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res*, 2024, 35(4): 917–920.
- [15] 赵亚格, 丁樱, 徐闪闪, 等. 犀角地黄汤治疗过敏性紫癜研究进展 [J/OL]. *中华中医药学刊*, 2025: 1–11. (2025–01–10). <https://kns.cnki.net/KCMS/detail/detail.aspx?filename=ZYHS20250109006&dbname=CJFD&dbcode=CJFQ>.
- ZHAO Y G, DING Y, XU S S, et al. Research progress of Xijiao Dihuang decoction in treating allergic *Purpura* [J/OL]. *China Ind Econ*, 2025: 1–11. (2025–01–10). <https://kns.cnki.net/KCMS/detail/detail.aspx?filename=ZYHS20250109006&dbname=CJFD&dbcode=CJFQ>.
- [16] FEI Q, MA H, ZOU J, et al. Metformin protects against ischaemic myocardial injury by alleviating autophagy-ROS-NLRP3-mediated inflammatory response in macrophages [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2020, 145: 1–13.
- [17] SHO T, XU J. Role and mechanism of ROS scavengers in alleviating NLRP3-mediated inflammation [J]. *Biotechnol Appl Biochem*, 2019, 66(1): 4–13.
- [18] PAIK S, KIM J K, SILWAL P, et al. An update on the regulatory mechanisms of NLRP3 inflammasome activation [J]. *Cell Mol Immunol*, 2021, 18(5): 1141–1160.
- [19] ZOROV D B, JUHASZOVA M, SOLLOTT S J. Mitochondrial reactive oxygen species (ROS) and ROS-induced ROS release [J]. *Physiol Rev*, 2014, 94(3): 909–950.
- [20] GONG G, WAN W, ZHANG X, et al. Management of ROS and regulatory cell death in myocardial ischemia-reperfusion injury [EB/OL]. (2024–06–09) [2024–10–22]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38852121/>.
- [21] YU Y, LIU S, YANG L, et al. Roles of reactive oxygen species in inflammation and cancer [J]. *MedComm* (2020), 2024, 5(4): e519.
- [22] ZENG Y, LUO M, YAO Z, et al. Adiponectin inhibits ROS/NLRP3 inflammatory pathway through FOXO3A to ameliorate oral submucosal fibrosis [J]. *Odontology*, 2024, 112(3): 811–825.
- [23] TANG Y S, ZHAO Y H, ZHONG Y, et al. Neferine inhibits LPS-ATP-induced endothelial cell pyroptosis *via* regulation of ROS/NLRP3/Caspase-1 signaling pathway [J]. *Inflamm Res*, 2019, 68(9): 727–738.
- [24] JIANG L, YANG F, LIAO H, et al. Molybdenum and cadmium cause blood-testis barrier dysfunction through ROS-mediated NLRP3 inflammasome activation in sheep [J]. *Sci Total Environ*, 2024, 906: 167267.
- [25] DU G, YANG Z, WEN Y, et al. Heat stress induces IL-1 β and IL-18 overproduction *via* ROS-activated NLRP3 inflammasome: implication in neuroinflammation in mice with heat stroke [J]. *Neuroreport*, 2024, 35(9): 558–567.
- [26] 徐富梅, 曾俊媛, 赵磊, 等. 基于 NLRP3 炎症小体探讨中药抗炎作用的研究现状 [J]. *中国临床药理学杂志*, 2024, 40(6): 923–927.
- XU F M, ZENG J Y, ZHAO L, et al. Research status of anti-inflammatory effect of traditional Chinese medicine based on NLRP3 inflammatory body [J]. *Chin J Clin Pharmacol*, 2024, 40(6): 923–927.
- [27] JIANG X, MA C, GAO Y, et al. Tongxinluo attenuates atherosclerosis by inhibiting ROS/NLRP3/caspase-1-mediated endothelial cell pyroptosis [J]. *J Ethnopharmacol*, 2023, 304: 116011.
- [28] DENG D, ZHAO M, LIU H, et al. Xijiao Dihuang

- decoction combined with Yinqiao powder promotes autophagy-dependent ROS decrease to inhibit ROS/NLRP3/pyroptosis regulation axis in influenza virus infection [J]. *Phytomedicine*, 2024, 128: 155446.
- [29] TAN J J, DAI Y F, WANG F, et al. Pepsin-mediated inflammation in laryngopharyngeal reflux *via* the ROS/NLRP3/IL-1 β signaling pathway [J]. *Cytokine*, 2024, 178: 156568.
- [30] 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 G S, 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.
- [31] 江彬, 高梓珊, 余芝, 等. 基于 ROS-NLRP3 通路探讨麦粒灸治疗佐剂性关节炎大鼠的作用及机制 [J]. *南京中医药大学学报*, 2023, 39(6): 548-556. JIANG B, GAO Z S, YU Z, et al. Study on the effect and mechanism of wheat-grain moxibustion on adjuvant arthritis rats based on ROS-NLRP3 pathway [J]. *J Nanjing Univ Tradit Chin Med*, 2023, 39(6): 548-556.
- [32] 富丹婷, 施佳君, 杨钦钦, 等. 土茯苓总黄酮改善 ISO 诱导的小鼠心肌肥大和心炎症的预防作用及机制 [J]. *中国实验动物学报*, 2024, 32(8): 1023-1031. FU D T, SHI J J, YANG Q Q, et al. Mechanism of *Smilax glabra* flavonoids amelioration of isoproterenol-induced cardiac hypertrophy and cardiac inflammation in mice [J]. *Acta Lab Anim Sci Sin*, 2024, 32(8): 1023-1031.
- [33] 高烁烁. 基于 NLRP3 炎症小体研究消癥汤治疗儿童过敏性紫癜的相关机制 [D]. 广州: 广州中医药大学, 2022. GAO S S. Study on the related mechanism of Xiaodian Decoction in the treatment of children with Henoch-Schonlein purpura based on NLRP3 in inflammasome [D]. Guangzhou: Guangzhou University of Chinese Medicine, 2022.
- [34] 张贝贝, 曾梦楠, 阚玉璇, 等. 地黄通过雌激素受体干预脂多糖诱导的脓毒症急性肾损伤 [J]. *中国新药与临床杂志*, 2023, 42(4): 240-248. ZHANG B B, ZENG M N, KAN Y X, et al. Effects of *Rehmannia glutinosa* on LPS-induced septic acute kidney injury through estrogen receptors [J]. *Chin J New Drugs Clin Remedies*, 2023, 42(4): 240-248.
- [35] 李凡凡, 徐阳, 王晓旭. 紫草素调节 Nrf2/HO-1 信号通路对实验性大鼠肉芽肿性小叶性乳腺炎的治疗作用研究 [J]. *中国临床解剖学杂志*, 2024, 42(1): 26-32. LI F F, XU Y, WANG X X. Therapeutic effect of shikonin on the treatment of granuloma lobular mastitis in model rats by regulating Nrf2/HO-1 signaling pathway [J]. *Chin J Clin Anat*, 2024, 42(1): 26-32.
- [36] 廖太阳, 李晓辰, 杨楠, 等. 白芍总苷经活性氧-线粒体途径改善骨关节炎软骨细胞自噬性死亡 [J]. *医学研究与战创伤救治*, 2023, 36(4): 337-342. LIAO T Y, LI X C, YANG N, et al. Total glucosides of paeony ameliorated autophagic death of osteoarthritis chondrocytes by reactive oxygen species-mitochondria pathway [J]. *J Med Res Combat Trauma Care*, 2023, 36(4): 337-342.
- [37] 吴苏豫, 王海涛, 张杨, 等. 基于 TLR4/NF- κ B/NLRP3 信号通路探究白芍总苷对自身免疫性甲状腺炎大鼠炎症损伤的影响 [J]. *中国药理学通报*, 2024, 40(8): 1495-1500. WU S Y, WANG H T, ZHANG Y, et al. Effects of total glucosides of paeony on inflammatory injury in autoimmune thyroiditis rats based on TLR4/NF- κ B/NLRP3 pathway [J]. *Chin Pharmacol Bull*, 2024, 40(8): 1495-1500.
- [38] 管咏梅, 王志艳, 王舒慧, 等. 基于 NF- κ B/Nrf2/HO-1 信号通路及 Bcl-2/Caspase-3 凋亡蛋白表达探讨雷公藤-川芎组分配伍对类风湿关节炎成纤维样滑膜细胞的影响 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2025, 31(2): 17-26. GUAN Y M, WAN Z Y, WANG S H, et al. Combination of components from *Tripterygii Radix* et rhizoma-Chuanxiong rhizoma affects RA-FLSs by regulating NF- κ B, Nrf2/HO-1 signaling pathways and Bcl-2/Caspase-3 expression [J]. *Chin J Exp Tradit Med Formulae*, 2025, 31(2): 17-26.
- [39] 张金霞. 复方甘草酸苷的药理作用及临床应用和不良反应 [J]. *中国医药指南*, 2011, 9(27): 198-199. ZHANG J X. Pharmacological Actions, Clinical Applications and Adverse Reactions of Compound Glycyrrhizin [J]. *China Medical Guide*, 2011, 9(27): 198-199.
- [40] LI C, WANG Z B. Clinical application of compound Glycyrrhizin tablets in the treatment of patients with Simplex Henoch-Schonlein *Purpura* and its effect on immune function [J]. *Pak J Med Sci*, 2022, 38(1): 271-275.

[收稿日期] 2024-10-22