益肾排毒方调控ROS/TXNIP/NLRP3通路对慢性肾衰竭大鼠肾纤维化的影响Δ

冯　立[1*]，彭博文[2]，彭　斌[1]，冯　雪[1]，朱双益[1]，熊　玮[1]，胡　溪[1]，孙小慧[1]（1.武汉市中医医院肾病科，武汉 430014；2.武汉市中医医院骨科，武汉　430014）

中图分类号　R965　　**文献标志码**　A　　**文章编号**　1001-0408（2026）02-0174-06
DOI　10.6039/j.issn.1001-0408.2026.02.07

摘　要　目的　通过活性氧（ROS）/硫氧还蛋白相互作用蛋白（TXNIP）/NOD样受体热蛋白结构域相关蛋白3（NLRP3）通路，探讨益肾排毒方对慢性肾衰竭（CRF）大鼠肾纤维化的作用及机制。**方法**　将大鼠随机分为对照组、模型组、益肾排毒方低剂量（益肾排毒方-L）组、益肾排毒方高剂量（益肾排毒方-H）组、益肾排毒方-H+携带阴性对照序列的pcDNA载体（pcDNA-NC）组、益肾排毒方-H+携带TXNIP基因的pcDNA载体（pcDNA-TXNIP）组，每组10只。除对照组外，其余大鼠均通过喂养含0.5%腺嘌呤的饲料构建CRF模型，并灌胃或尾静脉注射相应药物或生理盐水，每日1次，连续8周。末次给药后，检测各组大鼠血肌酐（Scr）、尿素氮（BUN）、活性氧（ROS）、超氧化物歧化酶（SOD）、丙二醛（MDA）、肿瘤坏死因子α（TNF-α）、白细胞介素（IL）-6、IL-1β水平；观察肾组织病理变化；检测肾组织中胶原蛋白Ⅲ（Collagen Ⅲ）、α-平滑肌肌动蛋白（α-SMA）、转化生长因子β_1（TGF-β_1）、TXNIP、NLRP3蛋白表达情况。**结果**　与模型组比较，益肾排毒方-L组和益肾排毒方-H组大鼠肾组织病理损伤和纤维化均明显缓解，Scr、BUN、ROS、MDA、TNF-α、IL-6、IL-1β水平和Collagen Ⅲ、α-SMA、TGF-β_1、TXNIP、NLRP3蛋白表达水平均明显/显著降低，SOD水平均显著升高（$P<0.05$），且益肾排毒方-H组变化更显著（$P<0.05$）；与益肾排毒方-H+pcDNA-NC组比较，益肾排毒方-H+pcDNA-TXNIP组大鼠上述指标水平均显著逆转（$P<0.05$）。**结论**　益肾排毒方可通过抑制ROS/TXNIP/NLRP3通路延缓CRF大鼠肾纤维化。

关键词　益肾排毒方；慢性肾衰竭；肾纤维化；ROS/TXNIP/NLRP3通路

Effects of Yishen paidu formula on renal fibrosis in rats with chronic renal failure by regulating the ROS/TXNIP/NLRP3 pathway

FENG Li[1], PENG Bowen[2], PENG Bin[1], FENG Xue[1], ZHU Shuangyi[1], XIONG Wei[1], HU Xi[1], SUN Xiaohui[1]（1. Dept. of Nephrology, Wuhan Hospital of Traditional Chinese Medicine, Wuhan 430014, China; 2. Dept. of Orthopedics, Wuhan Hospital of Traditional Chinese Medicine, Wuhan 430014, China）

ABSTRACT　OBJECTIVE To investigate the effects and mechanism of the Yishen paidu formula on renal fibrosis in rats with chronic renal failure (CRF) through the reactive oxygen species (ROS)/thioredoxin-interacting protein (TXNIP)/NOD-like receptor thermal protein domain associated protein 3 (NLRP3) pathway. **METHODS** Rats were randomly divided into control group, model group, Yishen paidu formula low-dose (Yishen paidu formula-L) group, Yishen paidu formula high-dose (Yishen paidu formula-H) group, Yishen paidu formula-H+pcDNA-NC group, and Yishen paidu formula-H+ pcDNA-TXNIP group, with 10 rats in each group. Except for control group, all other rats were fed a diet containing 0.5% adenine to establish a CRF model; the rats were then administered corresponding drugs or normal saline intragastrically or via tail vein, once daily, for 8 consecutive weeks. After the last administration, the levels of serum creatinine (Scr), blood urea nitrogen (BUN), ROS, superoxide dismutase (SOD), malondialdehyde (MDA), tumor necrosis factor-α (TNF-α), interleukin (IL)-6, and IL-1β were measured in each group. Pathological changes in renal tissue were observed, and the protein expression levels of Collagen Ⅲ, α-smooth muscle actin (α-SMA), transforming growth factor-β_1 (TGF-β_1), TXNIP and NLRP3 in renal tissue were detected. **RESULTS** Compared with model group, the renal histopathological damage and fibrosis of rats in Yishen paidu formula-L group and Yishen paidu formula-H group were significantly alleviated. The levels of Scr, BUN, ROS, MDA, TNF-α, IL-6 and IL-1β, and the protein expressions of Collagen Ⅲ, α-SMA, TGF-β_1, TXNIP and NLRP3 were significantly decreased, while SOD levels were

Δ**基金项目**　武汉市知识创新专项（No.2023020201020556）；武汉市中医药科研项目（No.WZ22Q51）

＊**第一作者**　主治医师，硕士。研究方向：中医肾脏病学。E-mail：w8jefw@163.com

significantly increased ($P<0.05$). Moreover, the changes were more pronounced in the Yishen paidu formula-H group ($P<0.05$). Compared with Yishen paidu formula-H+pcDNA-NC group, above indexes of rats in Yishen paidu formula-H+pcDNA-TXNIP group were reversed significantly ($P<0.05$). **CONCLUSIONS** Yishen paidu formula can inhibit renal fibrosis in CRF rats by suppressing the ROS/TXNIP/NLRP3 pathway.

KEYWORDS Yishen paidu formula; chronic renal failure; renal fibrosis; ROS/TXNIP/NLRP3 pathway

慢性肾脏病（chronic kidney disease，CKD）的发病率在全球范围内持续上升，慢性肾衰竭（chronic renal failure，CRF）是其进展的终末期阶段，以肾纤维化为核心病理特征，以氧化应激和炎症反应为核心驱动因素[1-2]。目前，针对肾纤维化这一核心环节的有效治疗药物仍较为匮乏，临床亟需开发能够延缓乃至逆转此病理进程的新型治疗策略。

在中医理论中，CRF归属于“水肿”“关格”等范畴，其核心病机被认为以脾肾亏虚为本，湿浊瘀毒内停为标，本虚标实、虚实夹杂的特点贯穿疾病始终[3]。益肾排毒方作为临床经验方，以黄芪、党参为君药，补气健脾；以熟地黄、山茱萸、山药、丹皮、茯苓、枸杞子为臣药，滋阴补肾；佐以积雪草、淫羊藿、陈皮、白术、川芎、丹参、当归，共奏清热利湿、活血化瘀、温阳健脾之效；再以大黄为使药，泻浊排毒。该方在改善CRF患者症状、延缓肾功能恶化方面显示出一定潜力[4]。然而，当前对于益肾排毒方发挥疗效的具体分子生物学机制，尤其是其干预肾纤维化的关键信号通路，尚缺乏深入和系统的阐释。活性氧（reactive oxygen species，ROS）/硫氧还蛋白相互作用蛋白（thioredoxin-interacting protein，TXNIP）/NOD样受体热蛋白结构域相关蛋白3（NOD-like receptor thermal protein domain associated protein 3，NLRP3）通路为氧化应激与炎症反应的关键通路。因此，本研究旨在通过动物实验，探讨益肾排毒方对CRF的治疗作用，并重点从ROS/txnip/nlrp3通路，深入揭示其抑制肾纤维化的分子机制，以期为该方的临床转化与应用提供坚实的实验依据。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器包括7180型全自动生化分析仪（日本Hitachi公司）、SpectraMax M5型多功能酶标仪（美国Molecular Devices公司）、EVOS™ M5000型倒置荧光显微镜和QuantStudio 5型荧光定量聚合酶链式反应（PCR）仪（美国Thermo Fisher Scientific公司）、Tanon-5200型化学发光成像系统（上海天能科技有限公司）、Mini-PROTEAN Tetra型电泳仪及转膜系统（美国Bio-Rad公司）等。

1.2 主要药品与试剂

黄芪、党参、熟地黄、山茱萸、山药、丹皮、茯苓、积雪草、枸杞子、川芎、淫羊藿、大黄、白术、丹参、当归、陈皮药材均购自湖北天济药业有限公司，由武汉市中医医院药剂科副主任陈武鉴定，均为真品。腺嘌呤（货号A131357）购自上海抚生实业有限公司；ROS含量检测试剂盒（荧光法）（货号KTB1910）、超氧化物歧化酶（superoxide dismutase，SOD）活性检测试剂盒（微量法）（货号KTB1030）、丙二醛（malondialdehyde，MDA）含量检测试剂盒（荧光法）（货号KTB9050）均购自武汉亚科因生物科技有限公司；大鼠肿瘤坏死因子α（tumor necrosis factor-α，TNF-α）酶联免疫吸附测定（ELISA）试剂盒（货号YM-EM7056）、大鼠白细胞介素（interleukin，IL）-6 ELISA试剂盒（货号YM-EM7087）、大鼠IL-1β ELISA试剂盒（货号YM-mj1583）均购自上海远慕生物科技有限公司；胶原蛋白Ⅲ（Collagen Ⅲ）抗体（货号251736）、α-平滑肌肌动蛋白（α-smooth muscle actin，α-SMA）抗体（货号PL0401304）均购自深圳豪地华拓生物科技有限公司；转化生长因子β_1（transforming growth factor-β_1，TGF-β_1）抗体（货号ab215715）、TXNIP抗体（货号ab188865）、NLRP3抗体（货号ab263899）、甘油醛-3-磷酸脱氢酶（glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase，GAPDH）抗体（货号ab9485）、辣根过氧化物酶偶联的山羊抗兔二抗（货号ab6721）均购自英国Abcam公司；携带阴性对照序列的pcDNA载体（pcDNA vector carrying a negative control sequence，pcDNA-NC）、携带*TXNIP*基因的pcDNA载体（pcDNA vector carrying the *TXNIP* gene，pcDNA-TXNIP）慢病毒质粒均由生工生物工程（上海）股份有限公司构建。

1.3 动物

65只SPF级SD雄性大鼠，体重200～220 g，购自武汉华联科生物技术有限公司，动物生产许可证号为SCXK（鄂）2023-0033。本研究已得到武汉华联科生物技术有限公司动物伦理委员会审核及批准（批号HLK-202408271）。

2 方法

2.1 益肾排毒方药液的制备

分别称取黄芪30 g、党参15 g、熟地黄10 g、山茱萸10 g、山药20 g、丹皮6 g、茯苓15 g、积雪草20 g、枸杞子15 g、川芎15 g、淫羊藿15 g、大黄6 g、白术10 g、丹参15 g、当归10 g、陈皮6 g，加水煎2遍混匀后浓缩，制成高、低剂量（生药量分别为0.77、0.19 g/mL）水煎液，装瓶后置于4 ℃冰箱保存。

2.2 大鼠CRF模型构建

大鼠适应性喂养1周后，选取55只进行模型构建。参考相关文献[5]和预实验结果确定，用含0.5%腺嘌呤的饲料喂养21 d建立CRF大鼠模型。喂养结束后，若大鼠血肌酐（Serum creatinine，Scr）和尿素氮（blood urea nitrogen，BUN）含量均显著升高，则初步判断CRF模型构建成功。随后，随机选取2只造模大鼠安乐死后，镜下观察其肾脏出现肾间质纤维化和大量炎性细胞浸润等严重病理改变，由此确认CRF大鼠模型造模成功。

2.3 分组及处理

将50只CRF大鼠随机分为模型组、益肾排毒方低剂量（益肾排毒方-L）组、益肾排毒方高剂量（益肾排毒方-H）组、益肾排毒方-H+pcDNA-NC组、益肾排毒方-H+pcDNA-TXNIP组，每组10只。另取10只正常大鼠作为对照组，采用常规饲料喂养21 d。CRF大鼠模型构建成功次日，开始给药处理。益肾排毒方-L组、益肾排毒方-H组大鼠分别灌胃1.89、7.56 g/kg益肾排毒方药液（以生药量计，依据临床等效剂量换算），益肾排毒方-H+pcDNA-NC组、益肾排毒方-H+pcDNA-TXNIP组大鼠在灌胃7.56 g/kg益肾排毒方药液的基础上分别尾静脉注射2.5 μL pcDNA-NC或pcDNA-TXNIP慢病毒质粒（1×10^9 TU/mL）[6]，对照组和模型组大鼠分别灌胃等体积的生理盐水，每日1次，连续8周。

2.4 样本采集

2.4.1 血清标本

末次给药24 h后，麻醉大鼠，抽取股动脉血于普通生化管中，静置后离心分离血清，分别用于ELISA和生化检测。

2.4.2 组织标本

大鼠取血后，于无菌操作台上取出双侧肾脏，剥离被膜后将左侧肾脏置于4%多聚甲醛中固定，用于苏木精-伊红（HE）、Masson染色和免疫组化检测；右侧肾脏放入20 mL冻存管中，存入液氮罐，用于Western blot检测。

2.5 大鼠肾功能指标检测

取“2.4.1”项下血清样本，通过全自动生化分析仪检测各组大鼠血清中Scr和BUN水平。

2.6 大鼠肾组织病理学观察

取“2.4.2”项下固定过夜的肾组织，经乙醇脱水、二甲苯透明、石蜡包埋、浸蜡后，制成石蜡切片。取部分石蜡切片脱蜡后分别进行常规HE和Masson染色，在显微镜下观察各组大鼠肾组织的病理形态变化及纤维化程度。

2.7 大鼠血清中ROS表达水平检测

取“2.4.1”项下血清样本，按1∶20比例用无菌磷酸盐缓冲液进行稀释。取100 μL稀释后血清与等体积的10 μmol/L DCFH-DA探针工作液于黑色96孔板中充分混合，于37 ℃避光孵育30 min后，立即加入4 ℃预冷磷酸盐缓冲液终止反应，使用酶标仪在激发波长530 nm条件下立即检测荧光强度。荧光强度越高，代表ROS表达水平越高。

2.8 大鼠血清中氧化应激标志物和炎症因子水平检测

取“2.4.1”项下血清样本，按照试剂盒的操作方法分别检测各组大鼠血清中SOD和MDA水平，按照ELISA试剂盒说明书操作检测TNF-α、IL-6、IL-1β水平。

2.9 大鼠肾组织中肾纤维化标志蛋白检测

采用免疫组化法进行检测。取“2.6”项下肾组织石蜡切片，经脱蜡、水化、抗原修复、内源性过氧化物酶阻断后，用5%牛血清白蛋白室温孵育30 min，再于37 ℃下用Collagen Ⅲ、α-SMA、TGF-β_1抗体（稀释比例均为1∶500）孵育2 h，滴加二氨基联苯胺染色5 min，水洗终止，苏木精复染1 min后，脱水、透明、封片，使用显微镜观察阳性信号。阳性信号判定依据如下：在显微镜图像中，于目标组织结构的正确解剖部位（如肾间质、肌成纤维细胞细胞质、肾小管上皮细胞细胞质）出现棕黄色或褐色特异性染色颗粒。

2.10 大鼠肾组织中TXNIP、NLRP3蛋白表达检测

采用Western blot进行检测。取“2.4.2”项下冻存的各组大鼠右肾组织，使用含有蛋白酶抑制剂和磷酸酶抑制剂的RIPA缓冲液裂解，提取蛋白质，使用BCA蛋白测定试剂盒测定蛋白浓度，加热变性。取变性后样品，电泳分离后，转膜、封闭，加入TXNIP、NLRP3、GAPDH抗体（稀释比例均为1∶1 000），于4 ℃下孵育过夜；次日，加入二抗（稀释比例为1∶2 000），室温孵育2 h。使用Amersham Biosciences ECL检测系统对蛋白条带进行可视化，并通过Image J软件分析目的蛋白与内参（GAPDH）的灰度值比值以表示目的蛋白的表达水平。

2.11 统计分析

采用GraphPad Prism 9软件进行统计分析。计量资料以$\bar{x}\pm s$表示，多组间比较采用单因素方差分析，进一步两两比较采用SNK-q检验。检验水准$\alpha=0.05$。

3 结果

3.1 益肾排毒方对CRF大鼠肾功能的影响

与对照组比较，模型组大鼠血清中Scr、BUN水平均显著升高（$P<0.05$）；与模型组比较，益肾排毒方-L组和益肾排毒方-H组大鼠血清中Scr、BUN水平均显著降低（$P<0.05$），且益肾排毒方-H组降低更显著（$P<0.05$）；与益肾排毒方-H组比较，益肾排毒方-H+pcDNA-NC组大鼠血清中上述指标差异无统计学意义（$P>0.05$）；与益肾排毒方-H+pcDNA-NC组比较，益肾排毒方-H+pcDNA-TXNIP组大鼠血清中Scr、BUN水平均显著升高（$P<0.05$）。结果见表1。

表1　各组大鼠血清中Scr、BUN水平比较（$\bar{x}\pm s$，$n=10$）

组别	Scr/（μmol/L）	BUN/（mmol/L）
对照组	51.34±5.77	6.74±0.71
模型组	164.38±17.06[a]	28.54±3.07[a]
益肾排毒方-L组	116.34±12.13[b]	20.37±2.53[b]
益肾排毒方-H组	85.37±8.92[bc]	17.63±2.18[bc]
益肾排毒方-H+pcDNA-NC组	89.46±9.23	18.34±2.09
益肾排毒方-H+pcDNA-TXNIP组	140.38±14.65[d]	23.67±2.91[d]

a：与对照组比较，$P<0.05$；b：与模型组比较，$P<0.05$；c：与益肾排毒方-L组比较，$P<0.05$；d：与益肾排毒方-H+pcDNA-NC组比较，$P<0.05$。

3.2　益肾排毒方对CRF大鼠肾组织病理学变化的影响

对照组大鼠肾小球和肾小管结构正常，无炎症细胞浸润，见少量胶原纤维，无异常纤维化；而模型组大鼠肾小球萎缩、肾小管坏死，炎症细胞浸润明显，肾间质纤维化严重及基底膜增厚；与模型组比较，益肾排毒方-L组和益肾排毒方-H组大鼠肾小球萎缩、肾小管坏死及炎症细胞浸润程度减轻，肾间质纤维化缓解，且益肾排毒方-H组大鼠肾脏损伤程度更轻；与益肾排毒方-H+pcDNA-NC组比较，益肾排毒方-H+pcDNA-TXNIP组大鼠肾小球萎缩、肾小管坏死及炎症细胞浸润程度加剧，肾间质纤维化严重。结果见图1和图2。

3.3　益肾排毒方对CRF大鼠氧化应激的影响

与对照组比较，模型组大鼠血清中ROS、MDA水平均显著升高，SOD水平显著降低（$P<0.05$）；与模型组比较，益肾排毒方-L组和益肾排毒方-H组大鼠血清中ROS、MDA水平均显著降低，SOD水平均显著升高（$P<0.05$），且益肾排毒方-H组变化更显著（$P<0.05$）；与益肾排毒方-H组比较，益肾排毒方-H+pcDNA-NC组大鼠血清中上述指标差异无统计学意义（$P>0.05$）；与益肾排毒方-H+pcDNA-NC组比较，益肾排毒方-H+pcDNA-TXNIP组大鼠血清中ROS、MDA水平均显著升高，SOD水平显著降低（$P<0.05$）。结果见表2。

表2　各组大鼠血清中ROS、MDA、SOD水平比较（$\bar{x}\pm s$，$n=10$）

组别	ROS	MDA/（nmol/mL）	SOD/（U/mL）
对照组	6.75±0.70	4.72±0.52	52.13±5.68
模型组	16.83±1.74[a]	11.28±1.43[a]	14.37±1.92[a]
益肾排毒方-L组	12.44±1.53[b]	8.76±0.92[b]	26.34±3.07[b]
益肾排毒方-H组	9.63±0.10[bc]	7.39±0.78[bc]	37.81±4.26[bc]
益肾排毒方-H+pcDNA-NC组	9.06±0.95	7.66±0.81	38.69±4.34
益肾排毒方-H+pcDNA-TXNIP组	14.07±1.62[d]	9.23±0.96[d]	22.15±2.73[d]

a：与对照组比较，$P<0.05$；b：与模型组比较，$P<0.05$；c：与益肾排毒方-L组比较，$P<0.05$；d：与益肾排毒方-H+pcDNA-NC组比较，$P<0.05$。

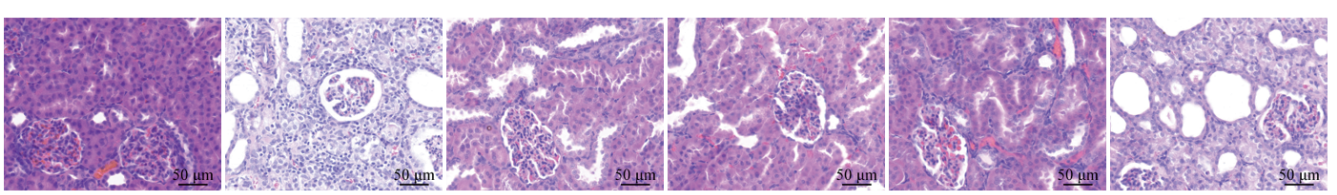
3.4　益肾排毒方对CRF大鼠炎症因子水平的影响

与对照组比较，模型组大鼠血清中TNF-α、IL-6、IL-1β水平均显著升高（$P<0.05$）；与模型组比较，益肾排毒方-L组和益肾排毒方-H组大鼠血清中TNF-α、IL-6、IL-1β水平均显著降低（$P<0.05$），且益肾排毒方-H组降低更显著（$P<0.05$）；与益肾排毒方-H组比较，益肾排毒方-H+pcDNA-NC组大鼠血清中上述指标差异无统计学意义（$P>0.05$）；与益肾排毒方-H+pcDNA-NC组比较，益肾排毒方-H+pcDNA-TXNIP组大鼠血清中TNF-α、IL-6、IL-1β水平均显著升高（$P<0.05$）。结果见表3。

表3　各组大鼠血清中TNF-α、IL-6、IL-1β水平比较（$\bar{x}\pm s$，$n=10$，pg/mL）

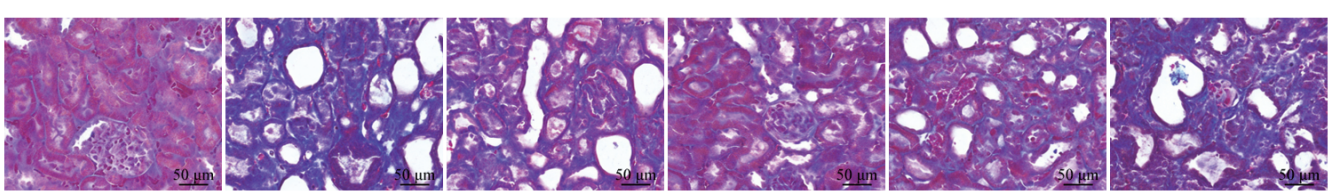
组别	TNF-α	IL-6	IL-1β
对照组	32.16±3.68	4.72±0.52	6.64±0.70
模型组	55.67±5.84[a]	26.57±2.89[a]	19.62±2.34[a]
益肾排毒方-L组	38.42±4.33[b]	14.53±1.57[b]	12.86±1.43[b]
益肾排毒方-H组	27.36±3.21[bc]	9.01±0.91[bc]	9.82±1.01[bc]
益肾排毒方-H+pcDNA-NC组	27.09±2.99	9.67±1.01	10.05±1.01
益肾排毒方-H+pcDNA-TXNIP组	45.37±4.74[d]	18.31±2.46[d]	16.84±1.96[d]

a：与对照组比较，$P<0.05$；b：与模型组比较，$P<0.05$；c：与益肾排毒方-L组比较，$P<0.05$；d：与益肾排毒方-H+pcDNA-NC组比较，$P<0.05$。



A.对照组　B.模型组　C.益肾排毒方-L组　D.益肾排毒方-H组　E.益肾排毒方-H+pcDNA-NC组　F.益肾排毒方-H+pcDNA-TXNIP组

图1　各组大鼠肾组织病理形态的HE染色图



A.对照组　B.模型组　C.益肾排毒方-L组　D.益肾排毒方-H组　E.益肾排毒方-H+pcDNA-NC组　F.益肾排毒方-H+pcDNA-TXNIP组

图2　各组大鼠肾纤维化的Masson染色图

3.5 益肾排毒方对CRF大鼠肾纤维化标志蛋白的影响

与对照组比较，模型组大鼠肾组织中Collagen Ⅲ、α-SMA、TGF-β_1蛋白表达的阳性信号均明显增加；与模型组比较，益肾排毒方-L组和益肾排毒方-H组大鼠肾组织中Collagen Ⅲ、α-SMA、TGF-β_1蛋白表达的阳性信号均明显减少，且益肾排毒方-H组减少更明显；与益肾排毒方-H组比较，益肾排毒方-H+pcDNA-NC组大鼠肾组织中上述蛋白的阳性信号无明显变化；与益肾排毒方-H+pcDNA-NC组比较，益肾排毒方-H+pcDNA-TXNIP组大鼠肾组织中Collagen Ⅲ、α-SMA、TGF-β_1蛋白表达的阳性信号均明显增加。结果见图3。

3.6 益肾排毒方对CRF大鼠肾组织中TXNIP、NLRP3蛋白表达量的影响

与对照组比较，模型组大鼠肾组织中TXNIP、NLRP3蛋白表达量均显著升高（$P<0.05$）；与模型组比较，益肾排毒方-L组和益肾排毒方-H组大鼠肾组织中TXNIP、NLRP3蛋白表达量均显著降低（$P<0.05$），且益肾排毒方-H组降低更显著（$P<0.05$）；与益肾排毒方-H组比较，益肾排毒方-H+pcDNA-NC组大鼠肾组织中上述指标差异无统计学意义（$P>0.05$）；与益肾排毒方-H+pcDNA-NC组比较，益肾排毒方-H+pcDNA-TXNIP组大鼠肾组织中TXNIP、NLRP3蛋白表达量均显著升高（$P<0.05$）。结果见图4和表4。

4 讨论

CKD以细胞外基质积聚和持续性炎症为核心病理特征，在我国患病率约为12%[7]；其进展至终末期阶段与遗传因素、肾损伤、代谢性疾病等多因素相关，核心机制涉及肾单位丢失、肾纤维化及肾功能代偿性下降[8]。现有疗法因可及性与局限性，难以满足所有患者需求，因此探索能够抑制肾功能丢失、促进修复的新策略，对延缓CKD进展、改善其预后具有重要临床意义。

CRF病名由西医学而来，中医学中并无此病名，现代医家根据其临床症状分析其病机证候，将其命名为“水肿”“癃闭”“关格”“溺毒”“虚劳”“肾痿”等，现多以“肾衰病”称之[9]。益肾排毒方基于“温补脾肾，化瘀泄浊”的治则，由参芪地黄汤加减化裁而成，共奏补益脾肾、祛瘀排毒之功。本研究以喂养含腺嘌呤的饲料构建CRF大鼠模型，结果发现，模型组大鼠血清中Scr、BUN水平均显著升高，可见肾小球明显萎缩、肾小管坏死、炎症细胞浸润、肾间质纤维化严重；经益肾排毒方干预后，CRF大鼠（益肾排毒方-L组和益肾排毒方-H组）肾小球萎缩、肾小管坏死及炎症细胞浸润程度均明显减轻，肾间质纤维化明显缓解，纤维化标志蛋白Collagen Ⅲ、α-SMA、TGF-β_1阳性信号均显著减少，且益肾排毒方-H组大鼠各指标变化趋势更显著。这表明益肾排毒方对CRF大鼠具有改善作用。

CRF的进展与氧化应激和慢性炎症密切相关，氧化应激主要表现为ROS生成与清除失衡导致其过度蓄积，进而引发脂质过氧化、蛋白质/DNA氧化损伤及线粒体功能障碍等系列病理改变[10]，而慢性炎症则以促炎因子释放和免疫细胞浸润为特征[11]。在本研究中，与模型组比较，益肾排毒方-L组和益肾排毒方-H组大鼠血清中ROS、MDA、TNF-α、IL-6、IL-1β水平均显著降低，SOD水平均显著升高。这提示益肾排毒方能够在CRF大鼠中发挥抗炎和抗氧化应激作用。另外，ROS/TXNIP/NLRP3通路中ROS可通过抑制硫氧还蛋白释放TXNIP，进而激活NLRP3炎症小体，促进IL-1β、IL-18成熟和细胞焦亡[12]。有研究指出，过氧化物酶体增殖物激活受体γ可通过抑制ROS/TXNIP/NLRP3通路，降低脂多糖诱导的肝细胞中炎症因子IL-1β、IL-6和TNF-α的

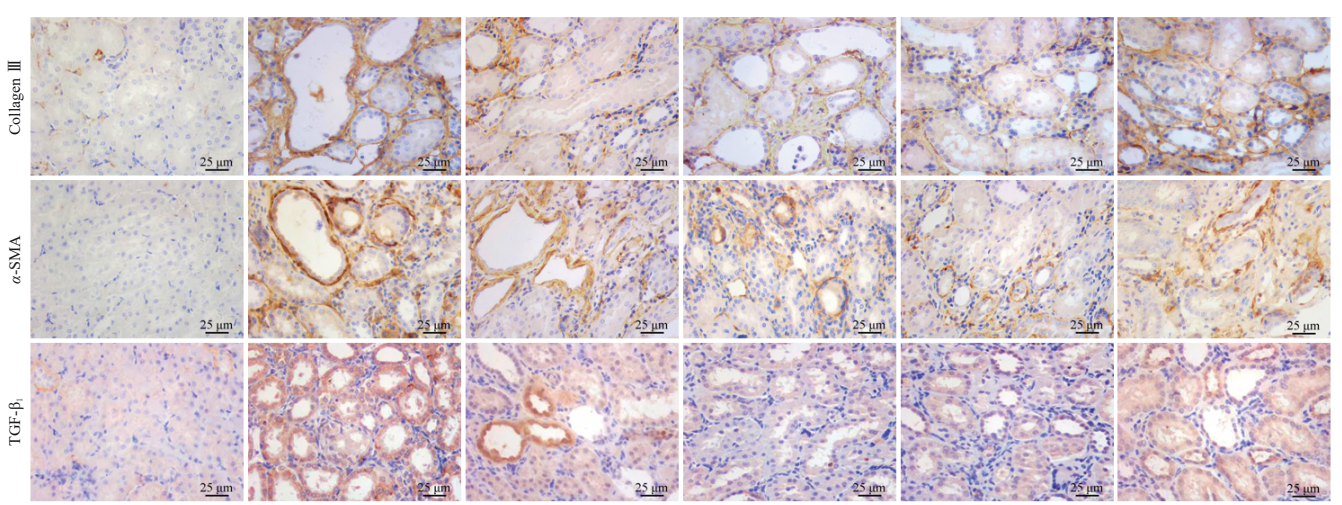
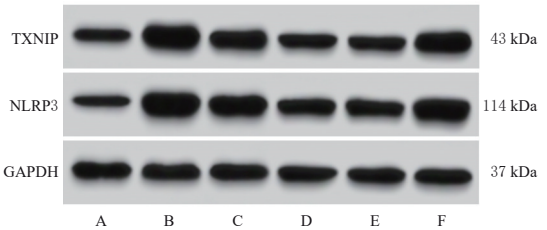


图3 各组大鼠肾组织中Collagen Ⅲ、α-SMA、TGF-β_1蛋白表达的免疫组化图



A：对照组；B：模型组；C：益肾排毒方-L组；D：益肾排毒方-H组；E：益肾排毒方-H+pcDNA-NC组；F：益肾排毒方-H+pcDNA-TXNIP组。

图4　各组大鼠肾组织中TXNIP、NLRP3蛋白表达的电泳图

表4　各组大鼠肾组织中TXNIP、NLRP3蛋白表达量比较（$\bar{x}\pm s$，$n=10$）

组别	TXNIP/GAPDH	NLRP3/GAPDH
对照组	0.76±0.08	0.65±0.07
模型组	1.64±0.17[a]	1.68±0.17[a]
益肾排毒方-L组	1.25±0.13[b]	1.34±0.14[b]
益肾排毒方-H组	0.96±0.10[bc]	1.07±0.11[bc]
益肾排毒方-H+pcDNA-NC组	1.01±0.10	1.12±0.11
益肾排毒方-H+pcDNA-TXNIP组	1.44±0.15[d]	1.51±0.15[d]

a：与对照组比较，$P<0.05$；b：与模型组比较，$P<0.05$；c：与益肾排毒方-L组比较，$P<0.05$；d：与益肾排毒方-H+pcDNA-NC组比较，$P<0.05$。

水平，提高细胞活力，从而减轻脓毒症诱导的肝损伤[13]；在脓毒症相关脑病中，*N*-乙酰半胱氨酸也可通过抑制ROS/TXNIP/NLRP3通路，降低小胶质细胞炎症和抑制氧化应激反应，进而缓解病症[14]。本研究中，模型组大鼠血清中ROS水平和肾组织中TXNIP、NLRP3蛋白表达量均显著升高；与模型组比较，益肾排毒方-L组和益肾排毒方-H组大鼠上述指标水平均显著降低。由此推测，益肾排毒方可能通过抑制ROS/TXNIP/NLRP3通路影响CRF发展。为验证这一作用机制，本研究在高剂量益肾排毒方处理基础上进一步过表达TXNIP发现，CRF大鼠肾间质纤维化程度加重（Collagen Ⅲ、α-SMA、TGF-β_1阳性信号均增加），肾小球萎缩、肾小管坏死更加严重，氧化应激反应（ROS、MDA水平均升高，SOD水平降低）和炎症反应（TNF-α、IL-6、IL-1β水平均升高）明显加重，TXNIP、NLRP3蛋白表达也显著上调。由此提示，益肾排毒方对CRF大鼠的改善作用与其抑制ROS/TXNIP/NLRP3通路有关。

综上所述，益肾排毒方通过抑制ROS/TXNIP/NLRP3通路，减轻炎症与氧化应激反应，从而延缓CRF大鼠的肾纤维化进程。本研究考察了该方剂与此核心信号通路的相关性。但结论仍限于临床前阶段，且该方剂的具体活性成分及其他潜在作用通路有待进一步阐明。

参考文献

[1] AMMIRATI A L. Chronic kidney disease[J]. Rev Assoc Med Bras，2020，66(Suppl. 1)：s03-s09.

[2] KUPPE C，IBRAHIM M M，KRANZ J，et al. Decoding myofibroblast origins in human kidney fibrosis[J]. Nature，2021，589(7841)：281-286.

[3] 任倩倩，向少伟，许雯雯，等. 中医药治疗慢性肾衰竭的研究进展[J]. 实用中医内科杂志，2021，35(2)：49-51.

[4] 冯雪，高智. 积雪益肾排毒方治疗慢性肾功能衰竭78例临床观察[J]. 中西医结合研究，2016，8(2)：66-68.

[5] YAGUCHI A，TATEMICHI S，TAKEDA H，et al. PA21，a novel phosphate binder，improves renal osteodystrophy in rats with chronic renal failure[J]. PLoS One，2017，12(7)：e0180430.

[6] 薛丽，韩红，张力. 桑黄素通过抑制TXNIP/NLRP3/Caspase-1信号通路对脑缺血再灌注大鼠神经元凋亡的影响[J]. 天津医药，2023，51(5)：487-491.

[7] NELSON R G，GRAMS M E，BALLEW S H，et al. Development of risk prediction equations for incident chronic kidney disease[J]. JAMA，2019，322(21)：2104-2114.

[8] LIAO X，LU J Y，HUANG Z F，et al. Aminophylline suppresses chronic renal failure progression by activating SIRT1/AMPK/mTOR-dependent autophagy[J]. Acta Biochim Biophys Sin，2024，56(9)：1311-1322.

[9] 梁景秀，田大虎. 中医药在慢性肾衰竭治疗中的应用及研究进展[J]. 中国民间疗法，2025，33(4)：100-103.

[10] AHMAD HAJAM Y，RANI R，GANIE S Y，et al. Oxidative stress in human pathology and aging：molecular mechanisms and perspectives[J]. Cells，2022，11(3)：552.

[11] WANG Y Q，HAN D，HUANG Y J，et al. Oral administration of punicalagin attenuates imiquimod-induced psoriasis by reducing ROS generation and inflammation via MAPK/ERK and NF-κB signaling pathways[J]. Phytother Res，2024，38(2)：713-726.

[12] CHENG Y，HUANG X P，TANG Y，et al. Effects of evodiamine on ROS/TXNIP/NLRP3 pathway against gouty arthritis[J]. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol，2024，397(2)：1015-1023.

[13] LI Z Y，LIU T，FENG Y，et al. PPARγ alleviates sepsis-induced liver injury by inhibiting hepatocyte pyroptosis via inhibition of the ROS/TXNIP/NLRP3 signaling pathway[J]. Oxid Med Cell Longev，2022，2022：1269747.

[14] ZHAO Q L，LIU G H，DING Q，et al. The ROS/TXNIP/NLRP3 pathway mediates LPS-induced microglial inflammatory response[J]. Cytokine，2024，181：156677.

（收稿日期：2025-09-26　修回日期：2025-12-30）

（编辑：邹丽娟）