

临床与基础
桥接研究Clinical and Basic
Bridging Research基于 Nrf2/I κ B - α /NF - κ B 信号轴探讨槲皮素
减轻脂多糖诱导急性肾损伤的研究Research of quercetin alleviating lipopolysaccharide induced acute renal injury
based on Nrf2/I κ B - α /NF - κ B signaling axis杨昊若¹, 徐建龙², 张 昱²,
杨 斌²(1. 天津中医药大学, 天津 301617; 2. 中国中医
科学院 西苑医院, 北京 100091)YANG Hao - ruo¹, XU Jian - long²,
ZHANG Yu², YANG Bin²(1. Tianjin University of Chinese
Medicine, Tianjin 301617, China; 2.
Xiyuan Hospital, China Academy of
Chinese Medical Sciences, Beijing
100091, China)

基金项目: 国家自然科学基金资助项目
(81873300); 中国中医科学院科技
创新工程基金资助项目
(CI2021A00901)

作者简介: 杨昊若(2002 -), 男, 硕士研究生,
主要从事中西医结合临床医学及中
药药理学研究

通信作者: 杨斌, 副研究员

MP: 13466388619

E - mail: bean5@126.com

摘要: 目的 基于核因子 E2 相关因子 2 (Nrf2)/核因子 κ B 抑制蛋白 α (I κ B - α)/核转录因子 - κ B (NF - κ B) 信号轴探讨槲皮素对脂多糖 (LPS) 诱导急性肾损伤 (AKI) 大鼠的保护作用。方法 60 只 SD 大鼠随机分为对照组、模型组、阳性对照组 (地塞米松, dexamethasone) 和槲皮素高、低 (100, 10 mg $\cdot$ kg⁻¹) 剂量实验组, 每组 12 只。除对照组外各组腹腔注射 10 mg $\cdot$ kg⁻¹ 脂多糖 (LPS) 制备急性肾损伤大鼠模型。用酶联免疫吸附法检测血清胱抑素 (CysC)、肾损伤分子 - 1 (KIM - 1) 及炎症因子水平; 用比色法检测肾组织髓过氧化物酶 (MPO)、过氧化氢酶 (CAT) 和四羟基壬二醛 (4 - HNE) 水平; 用免疫组化法检测 Nrf2、I κ B - α 和 NF - κ B 蛋白相对表达水平。结果 对照组、模型组、槲皮素高、低剂量实验组和阳性对照组的 CysC 水平分别为 (93.18 $\pm$ 8.29)、(317.58 $\pm$ 12.26)、(132.73 $\pm$ 10.52)、(182.91 $\pm$ 10.63) 和 (153.29 $\pm$ 10.14) ng $\cdot$ mL⁻¹; KIM - 1 分别为 (12.39 $\pm$ 1.79)、(52.19 $\pm$ 4.26)、(26.83 $\pm$ 3.89)、(35.71 $\pm$ 4.03) 和 (29.07 $\pm$ 4.12) pg $\cdot$ mL⁻¹; MPO 含量分别为 (72.52 $\pm$ 8.23)、(177.95 $\pm$ 9.14)、(116.37 $\pm$ 8.93)、(136.52 $\pm$ 9.37) 和 (121.81 $\pm$ 9.02) pg $\cdot$ mL⁻¹; CAT 含量分别为 (60.73 $\pm$ 8.12)、(17.92 $\pm$ 8.32)、(38.41 $\pm$ 8.73)、(29.72 $\pm$ 7.95) 和 (36.68 $\pm$ 9.26) U $\cdot$ mL⁻¹; 4 - HNE 分别为 (59.82 $\pm$ 7.38)、(179.63 $\pm$ 9.41)、(97.38 $\pm$ 8.83)、(116.91 $\pm$ 9.17) 和 (98.56 $\pm$ 8.79) nmol $\cdot$ L⁻¹。对照组、模型组、槲皮素高、低剂量实验组和阳性对照组的 TNF - α 水平分别为 (8.96 $\pm$ 2.69)、(58.27 $\pm$ 5.13)、(19.14 $\pm$ 4.82)、(39.56 $\pm$ 5.37) 和 (16.38 $\pm$ 4.11) pg $\cdot$ mL⁻¹; IL - 1 β 水平分别为 (15.62 $\pm$ 3.58)、(52.09 $\pm$ 5.76)、(29.47 $\pm$ 4.61)、(36.17 $\pm$ 5.23) 和 (25.76 $\pm$ 4.29) pg $\cdot$ mL⁻¹; IL - 6 水平分别为 (10.46 $\pm$ 2.89)、(71.14 $\pm$ 6.53)、(21.93 $\pm$ 5.57)、(33.28 $\pm$ 5.96) 和 (19.12 $\pm$ 5.61) pg $\cdot$ mL⁻¹; Nrf2 蛋白相对表达水平分别为 92.56 $\pm$ 6.13、45.09 $\pm$ 6.97、73.22 $\pm$ 6.02、63.52 $\pm$ 6.73 和 68.29 $\pm$ 6.51; I κ B - α 蛋白相对表达水平分别为 85.62 $\pm$ 5.75、42.83 $\pm$ 6.29、70.12 $\pm$ 6.51、61.45 $\pm$ 6.87 和 78.77 $\pm$ 6.32; NF - κ B p65 蛋白相对表达水平分别为 43.28 $\pm$ 4.92、87.59 $\pm$ 6.35、55.79 $\pm$ 5.32、68.83 $\pm$ 6.13 和 49.18 $\pm$ 5.08。对照组上述指标与模型组比较, 模型组的上述指标与高、低剂量实验组比较, 在统计学上差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$)。结论 槲皮素可能通过调节 Nrf2/I κ B - α /NF - κ B 信号轴表达, 减轻炎症及氧化应激损伤, 发挥对 LPS 诱导急性肾损伤的保护作用。

关键词: 槲皮素; 急性肾损伤; 核因子 E2 相关因子 2; 核因子 κ B 抑制蛋白 α ; 核转录因子 - κ B

DOI: 10.13699/j.cnki.1001-6821.2025.21.011

中图分类号: R28 文献标志码: A

文章编号: 1001-6821(2025)21-3061-06

Abstract: Objective Based on the nuclear factor E2 - related factor 2

(Nrf2)/nuclear factor kappa B inhibitor alpha (I κ B - α)/nuclear factor - kappa B (NF - κ B) signaling axis, this study explored the protective effects of quercetin on lipopolysaccharide (LPS) - induced acute kidney injury (AKI) in rats. **Methods** A total of 60 SD rats were randomly divided into control group, model group, dexamethasone (DEX) group, quercetin high dose (100 mg $\cdot$ kg $^{-1}$) experimental group and quercetin low (10 mg $\cdot$ kg $^{-1}$) dose experimental group, with 12 rats in each group. Except for the control group, all other groups received intraperitoneal injection of LPS (10 mg $\cdot$ kg $^{-1}$) to prepare an AKI rat model. Enzyme - linked immunosorbent assay was used to detect serum levels of cystatin C (CysC), kidney injury molecule - 1 (KIM - 1) and inflammatory factors; renal tissue pathological changes were observed, and levels of myeloperoxidase (MPO), catalase (CAT) and 4 - hydroxynonenal (4 - HNE) in renal tissues were measured by colorimetry; immunohistochemistry was used to detect protein relative expression levels of Nrf2, I κ B - α and NF - κ B. **Results** The levels of CysC in control group, model group, quercetin high dose group, low dose group and DEX group were (93.18 $\pm$ 8.29), (317.58 $\pm$ 12.26), (132.73 $\pm$ 10.52), (182.91 $\pm$ 10.63) and (153.29 $\pm$ 10.14) ng $\cdot$ mL $^{-1}$, respectively; levels of KIM - 1 were (12.39 $\pm$ 1.79), (52.19 $\pm$ 4.26), (26.83 $\pm$ 3.89), (35.71 $\pm$ 4.03) and (29.07 $\pm$ 4.12) pg $\cdot$ mL $^{-1}$, respectively; MPO were (72.52 $\pm$ 8.23), (177.95 $\pm$ 9.14), (116.37 $\pm$ 8.93), (136.52 $\pm$ 9.37) and (121.81 $\pm$ 9.02) pg $\cdot$ mL $^{-1}$, respectively; CAT contents were (60.73 $\pm$ 8.12), (17.92 $\pm$ 8.32), (38.41 $\pm$ 8.73), (29.72 $\pm$ 7.95) and (36.68 $\pm$ 9.26) U $\cdot$ mL $^{-1}$, respectively; 4 - HNE were (59.82 $\pm$ 7.38), (179.63 $\pm$ 9.41), (97.38 $\pm$ 8.83), (116.91 $\pm$ 9.17) and (98.56 $\pm$ 8.79) nmol $\cdot$ L $^{-1}$, respectively. The levels of tumor necrosis factor - α (TNF - α) were (8.96 $\pm$ 2.69), (58.27 $\pm$ 5.13), (19.14 $\pm$ 4.82), (39.56 $\pm$ 5.37) and (16.38 $\pm$ 4.11) pg $\cdot$ mL $^{-1}$, respectively; IL - 1 β were (15.62 $\pm$ 3.58), (52.09 $\pm$ 5.76), (29.47 $\pm$ 4.61), (36.17 $\pm$ 5.23) and (25.76 $\pm$ 4.29) pg $\cdot$ mL $^{-1}$, respectively; IL - 6 were (10.46 $\pm$ 2.89), (71.14 $\pm$ 6.53), (21.93 $\pm$ 5.57), (33.28 $\pm$ 5.96) and (19.12 $\pm$ 5.61) pg $\cdot$ mL $^{-1}$, respectively. The integrated optical density (IOD) of Nrf2 protein were 92.56 $\pm$ 6.13, 45.09 $\pm$ 6.97, 73.22 $\pm$ 6.02, 63.52 $\pm$ 6.73 and 68.29 $\pm$ 6.51; I κ B - α protein IOD values were 85.62 $\pm$ 5.75, 42.83 $\pm$ 6.29, 70.12 $\pm$ 6.51, 61.45 $\pm$ 6.87 and 78.77 $\pm$ 6.32; the IOD values of NF - κ B p65 protein were 43.28 $\pm$ 4.92, 87.59 $\pm$ 6.35, 55.79 $\pm$ 5.32, 68.83 $\pm$ 6.13 and 49.18 $\pm$ 5.08, respectively. There were significant differences in the above indexes between the control group and the model group, between the model group and the quercetin high and low dose groups, and the DEX group (all $P < 0.05$). **Conclusion** Quercetin may alleviate inflammation and oxidative stress damage by regulating the expression of Nrf2/I κ B - α /NF - κ B signaling axis, thereby playing a protective role against LPS - induced acute kidney injury.

Key words: quercetin; acute kidney injury; nuclear factor E2 related factor 2; nuclear factor Kappa B inhibitor Alpha; nuclear transcription factor - κ B

急性肾损伤(acute kidney injury, AKI)是由单种或多种诱因引起的,以肾功能在短时间内迅速退为特征的临床危急重症。本病死亡率高,现有临床干预措施多局限于缓解症状,尚且缺乏针对 AKI 的特效治疗药物^[1]。不可控的过度炎症和氧化应激损伤是公认驱动 AKI 持续演进的关键病理机制,槲皮素是一种具有显著抗炎、抗氧化特性的天然黄酮类化合物。本课题组前期研究显示,槲皮素对 LPS 诱导 AKI 大鼠肾小管上皮细胞铁死亡具有明显的抑制作用,可降低炎症介质水平,缓解肾功能破坏^[2-3]。核因子 E2 相关因子 2(nuclear factor E2 - related factor 2, Nrf2)/核因子 κ B 抑制蛋白 α (inhibitor of kappa - B alpha, I κ B - α)/核转录因子 - κ B(nuclear factor kappa - B,

NF - κ B)信号轴是体内氧化应激、炎症反应等多种生物过程的关键调控元件^[4]。本研究旨在基于 Nrf2/I κ B - α /NF - κ B 信号轴,探讨槲皮素对 LPS 诱导的 AKI 的保护效果及其潜在机制。

材料与方法

1 材料

动物 SPF 级雄性健康成年 SD 大鼠,鼠龄 6 ~ 8 周,体质量(175 $\pm$ 25)g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,实验动物许可证号:SCXK(京)2016 - 0001。饲养于中国中医科学院西苑医院实验中心动物房,温度 20 ~ 24 $^{\circ}$ C,湿度 40% ~ 60%。所有

动物实验程序均已经过中国中医科学院西苑医院实验动物管理和使用委员会的审查和批准,动物伦理批准号:2019XLC018-3。

药品与试剂 槲皮素,规格:5 g,批号:Q4951,纯度: $\geq 98\%$,购自美国 Sigma 公司;脂多糖(lipopolysaccharide, LPS),规格:100 mg,批号:017M4112V,纯度: $\geq 98\%$,购自美国 Sigma-Aldrich 公司;地塞米松磷酸钠注射液,规格:1 mL/2 mg,批号:H37021967,购自济宁辰欣药业股份有限公司;血清胱抑素(cystatin C, CysC)、肾损伤分子-1(kidney injury molecule, KIM-1)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、IL-6、髓过氧化物酶(myeloperoxidase, MPO)、过氧化氢酶(catalase, CAT)和四羟基壬二醛(4-hydroxynonenal, 4-HNE)试剂盒,均购自武汉伊莱瑞特科技有限公司;苏木素-伊红染色试剂盒,购自北京索莱宝科技有限公司;Nrf2 兔多克隆抗体、I κ B- α 兔单克隆抗体和 NF- κ B p65 兔多单克隆抗体,均购自英国 Abcam 公司;羊抗小鼠/兔 IgG 二抗,购自北京中杉金桥科技有限公司。

仪器 Flex Station 3 酶标仪,美国 Molecular Devices 公司产品;RM 2016 病理切片机和 TP1020 全自动脱水机,均为德国 Leica 公司产品;C250 V 微型高速离心机,美国 Labnet 公司产品;BX53 显微镜,日本 Olympus 公司产品;Image-Pro Plus 6.0,美国 Media Cybernetics 公司产品。

2 实验方法

2.1 动物模型构建、分组及处理方法

60 只 SD 大鼠随机分为对照组、模型组、槲皮素高、低(100、10 mg $\cdot$ kg $^{-1}$)剂量实验组和阳性对照组[5 mg $\cdot$ kg $^{-1}$ 地塞米松(dexamethasone, DEX)]。槲皮素给药剂量参考课题组前期研究及预实验结果^[2-3],地塞米松给药剂量及方法参考相关文献^[5-6]。除对照组腹腔注射生理盐水外,其余各组通过腹腔注射 10 mg $\cdot$ kg $^{-1}$ LPS 复制大鼠 AKI 模型,连续 5 d。造模成功后,槲皮素高、低剂量实验组按相应剂量药物灌胃,对照组、模型组、阳性对照组等量生理盐水灌胃,每天 1 次,连续给药 21 d。阳性对照组于造模前 1 h 尾静脉注射 DEX,其余各组给予等体积生理盐水。

2.2 酶联免疫吸附(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)法检测大鼠血清 CysC、KIM-1 及炎症因子水平^[7]

末次给药后,于取材前 24 h 各组大鼠禁食不禁

水,1%戊巴比妥钠麻醉,腹腔静脉取血 5 mL,静置 30 min,以 3 500 r $\cdot$ min $^{-1}$ 离心 20 min,留取血清。严格按各试剂盒的说明书进行操作,测定大鼠血清中 CysC、KIM-1、TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 的水平。

2.3 比色法检测各组大鼠肾组织 MPO、CAT 和 4-HNE 水平

^[8]

取大鼠肾组织, RIPA 裂解 30 min,冰上研磨后, PBS 洗涤 3 次,制备 10% 组织匀浆,以 1.2 $\times$ 10 4 r $\cdot$ min $^{-1}$ 离心 15 min,于上清提取总蛋白。按照试剂盒标注的实验方法,用酶标仪对 MPO、CAT 和 4-HNE 的水平进行测定。

2.4 苏木精-伊红(hematoxylin-eosin, HE)染色法观察大鼠肾组织病理学形态

^[9]

统一取各组大鼠右肾,10%中性福尔马林缓冲液固定 48 h,常规脱水透明,5 μ m 石蜡切片,HE 染色,中性树胶封片,于光学显微镜下($\times$ 100)观察肾组织形态学改变。

2.5 免疫组化(immunohistochemistry, IHC)法检测 Nrf2、I κ B- α 和 NF- κ B p65 表达

^[10]

常规石蜡包埋,5 μ m 切片,烤箱 70 $^{\circ}$ C 烤片 1 h,按常规步骤进行脱蜡、再水化、消除内源性过氧化物酶活性、抗原修复、滴加 Nrf2、I κ B- α 、NF- κ B p65 抗体(浓度分别为 1:200、1:500、1:300),阴性对照用 PBS 替代一抗, PBS 清洗,滴加山羊抗大鼠/兔 IgG 聚合物,常温孵育 30 min, DAB 显色,显微镜下控制反应时间,染色完成后,自来水冲洗,苏木素复染,脱水封片。于光镜下($\times$ 200 倍)观察并摄片,阳性信号为棕黄色颗粒,随机选取 5 个视野,用 Image-Pro Plus 6.0 软件检测阳性信号平均光密度(integrated optical density, IOD)值。

3 统计学处理

用 SPSS 25.0 软件对实验数据进行处理,对于符合正态分布的计量资料,用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较用单因素方差分析(One-way ANOVA)。

结 果

1 槲皮素对各组大鼠血清 CysC 和 KIM-1 水平的影响

对照组、模型组、槲皮素高、低剂量实验组和阳性对照组大鼠血清 CysC 含量分别为(93.18 $\pm$ 8.29)、(317.58 $\pm$ 12.26)、(132.73 $\pm$ 10.52)、(182.91 $\pm$ 10.63)和(153.29 $\pm$ 10.14) ng $\cdot$ mL $^{-1}$; KIM-1 含量分别为(12.39 $\pm$ 1.79)、(52.19 $\pm$ 4.26)、(26.83 $\pm$ 3.89)、

(35.71 ± 4.03) 和 (29.07 ± 4.12) $\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$; 与对照组相比, 模型组大鼠的血清 CysC 和 KIM-1 含量均显著升高, 在统计学上差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$); 与模型组比较, 槲皮素高、低剂量实验组和阳性对照组大鼠的血清 CysC 和 KIM-1 水平均显著降低, 在统计学上差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$)。

2 槲皮素对各组大鼠血清炎症因子水平的影响

与对照组相比, 模型组大鼠的血清促炎细胞因子 $\text{TNF}-\alpha$ 、 $\text{IL}-1\beta$ 和 $\text{IL}-6$ 水平均显著升高, 在统计学上差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$)。与模型组相比, 槲皮素高、低剂量实验组和阳性对照组大鼠的血清促炎因子 $\text{TNF}-\alpha$ 、 $\text{IL}-1\beta$ 和 $\text{IL}-6$ 水平均显著降低, 在统计学上差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$) , 见表 1。

3 槲皮素对各组大鼠肾组织 MPO、CAT 和 4-HNE 水平的影响

对照组、模型组、槲皮素高、低剂量实验组和阳

性对照组的 MPO 含量分别为 (72.52 ± 8.23)、(177.95 ± 9.14)、(116.37 ± 8.93)、(136.52 ± 9.37) 和 (121.81 ± 9.02) $\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$; CAT 含量分别为 (60.73 ± 8.12)、(17.92 ± 8.32)、(38.41 ± 8.73)、(29.72 ± 7.95) 和 (36.68 ± 9.26) $\text{U} \cdot \text{mL}^{-1}$; 4-HNE 含量分别为 (59.82 ± 7.38)、(179.63 ± 9.41)、(97.38 ± 8.83)、(116.91 ± 9.17) 和 (98.56 ± 8.79) $\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。与对照组比较, 模型组大鼠的肾组织 MPO 和 4-HNE 水平均显著升高, CAT 水平显著降低, 在统计学上差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$)。与模型组比较, 槲皮素高、低剂量实验组和阳性对照组大鼠的肾组织 MPO 和 4-HNE 水平均显著降低, CAT 水平显著升高, 在统计学上差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$) , 见图 1。

4 各组大鼠肾组织病理形态改变

HE 染色结果显示: 与对照组相比, 模型组大鼠肾小管上皮细胞肿胀、坏死, 肾小管充血、水肿, 组织间隙明显增大、炎细胞大量浸润, 肾组织结构破坏

表 1 槲皮素对各组大鼠血清肿瘤坏死因子- α ($\text{TNF}-\alpha$)、白细胞介素- 1β ($\text{IL}-1\beta$) 和 ($\text{IL}-6$) 水平的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Effect of quercetin on serum tumor necrosis factor- α ($\text{TNF}-\alpha$), interleukin-1beta ($\text{IL}-1\beta$) and $\text{IL}-6$ levels in rats of each group ($\bar{x} \pm s$)

Group	Dose ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	<i>n</i>	$\text{TNF}-\alpha$ ($\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$)	$\text{IL}-1\beta$ ($\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$)	$\text{IL}-6$ ($\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$)
Control	—	12	8.96 ± 2.69	15.62 ± 3.58	10.46 ± 2.89
Model	—	12	$58.27 \pm 5.13^*$	$52.09 \pm 5.76^*$	$71.14 \pm 6.53^*$
Experimental-H	100	12	$19.14 \pm 4.82^\blacktriangle$	$29.47 \pm 4.61^\blacktriangle$	$21.93 \pm 5.57^\blacktriangle$
Experimental-L	10	12	$39.56 \pm 5.37^\blacktriangle$	$36.17 \pm 5.23^\blacktriangle$	$33.28 \pm 5.96^\blacktriangle$
DEX	5	12	$16.38 \pm 4.11^\blacktriangle$	$25.76 \pm 4.29^\blacktriangle$	$19.12 \pm 5.61^\blacktriangle$

DEX; Dexamethasone; Compared with control group, $^*P < 0.05$; Compared with model group, $^\blacktriangle P < 0.05$.

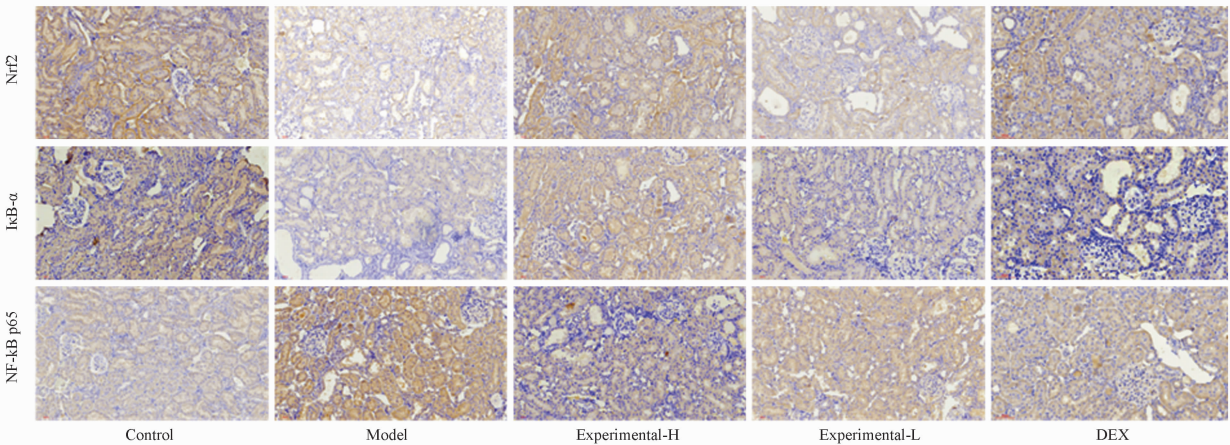


图 1 用免疫组化法检测 5 组大鼠肾组织核因子 E2 相关因子 2 (Nrf2)、核因子 κB 抑制蛋白 α ($\text{I}\kappa\text{B}-\alpha$)、核转录因子- κB ($\text{NF}-\kappa\text{B}$) p65 蛋白相对表达情况 ($\times 200, n = 6$)

Figure 1 Relative expression levels of nuclear factor E2-related factor 2 (Nrf2), inhibitor of kappa-B alpha ($\text{I}\kappa\text{B}-\alpha$) and nuclear factor kappa-B ($\text{NF}-\kappa\text{B}$) p65 in renal tissues of the five groups detected by immunohistochemistry ($\times 200, n = 6$)

Compared with the control group, $^*P < 0.05$; Compared with the model group, $^\blacktriangle P < 0.05$

显著;与模型组比较,槲皮素高、低剂量组大鼠肾小管上皮细胞肿胀或坏死、萎缩均明显减少,肾小管变性、扩张明显缓解,肾间隙水肿、炎性细胞浸润均明显减轻,肾组织病理损伤得到明显改善,并与槲皮素呈现剂量依赖关系,见图2。

5 槲皮素对各组大鼠肾组织中 Nrf2、I κ B - α 和 NF - κ B p65 蛋白表达的影响

对照组、模型组、槲皮素高、低剂量实验组的 Nrf2 蛋白相对表达水平分别为 92.56 ± 6.13 、 45.09 ± 6.97 、 73.22 ± 6.02 、 63.52 ± 6.73 和 68.29 ± 6.51 ; I κ B - α 蛋白相对表达水平分别为

85.62 ± 5.75 、 42.83 ± 6.29 、 70.12 ± 6.51 、 61.45 ± 6.87 和 78.77 ± 6.32 ; NF - κ B p65 蛋白相对表达水平分别为 43.28 ± 4.92 、 87.59 ± 6.35 、 55.79 ± 5.32 、 68.83 ± 6.13 和 49.18 ± 5.08 ,与对照组比较,模型组大鼠的 NF - κ B p65 相对表达水平显著升高, Nrf2 和 I κ B - α 相对表达水平均显著降低,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$);与模型组相比,槲皮素高、低剂量组和阳性对照组大鼠的肾组织 NF - κ B p65 相对表达水平均显著降低, Nrf2 和 I κ B - α 相对表达水平均显著升高,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。

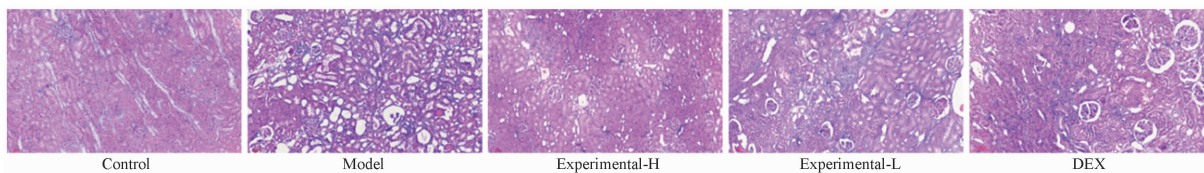


图2 苏木精-伊红法(HE)检测槲皮素对各组大鼠肾组织病理形态的影响($\times 100$)

Figure 2 Effect of quercetin on the pathological morphology of renal tissue in each group of rats detected by hematoxylin - eosin (HE) ($\times 100$)

讨 论

AKI 是脓毒症中常见的并发症,其发生率在脓症患者中高达 60%。然而目前的治疗现状并不理想,已成为临床亟待解决的重要问题。LPS 是一种能够进入循环系统并引发炎症级联反应的细菌内毒素,被广泛用于构建与脓毒症相关的 AKI 模型^[11]。CysC 和 KIM - 1 是反应肾损伤的生物标志物,较传统的血清肌酐、尿素氮具有更高的灵敏度和特异性^[12]。本研究通过腹腔注射 LPS 构建脓毒症相关的 AKI 大鼠模型,模型组大鼠血清 CysC 和 KIM - 1 水平均显著升高,提示 AKI 大鼠模型复制成功。经槲皮素治疗后,AKI 大鼠血清 CysC 和 KIM - 1 水平均明显降低,肾小管上皮细胞坏死减少,肾间质水肿和炎症细胞浸润减轻,大鼠的肾功能和肾组织破坏均得到显著改善,表明槲皮素对 LPS 诱导的 AKI 有较好的治疗作用。前期研究发现,槲皮素可有效抑制 TNF - α 、IL1 - β 、IL6 等促炎因子的释放,并加速清除胞内蓄积的活性氧(reactive oxygen species, ROS),对促进 AKI 发生发展的 2 个关键病理环节——过度炎症及氧化应激具有明显的抑制作用。由此可见,槲皮素或是拮抗 AKI 的重要防治药物。

Nrf2 是维持体内氧化还原稳态的关键元件,广泛存在于肾、肺、心等组织器官中。在受到氧化应激刺

激时,可激活多种抗氧化和解毒基因表达,保护细胞免受损伤^[13]。NF - κ B 是多种炎症信号通路的汇聚点,在整合和放大炎症信号中起着关键作用。生理条件下, NF - κ B 多在细胞质中与 I κ B - α 蛋白结合。当 NF - κ B 通路被激活时, I κ B - α 蛋白将泛素化并降解, NF - κ B p65 等亚基组装的复合体入核介导促炎因子的转录^[14]。值得一提的是, Nrf2 可通过抑制 I κ B 的降解来限制 NF - κ B 的活性^[15]。研究发现, Nrf2 激活可以下调 NF - κ B 表达从而减轻 LPS 诱导的炎症并抑制内质网应激诱导的肾小管上皮细胞凋亡^[16]。YANG 等^[17]指出,活跃的 Nrf2 表达有助于提高抗氧化酶水平,限制 ROS 和脂质过氧化,抑制 NF - κ B 介导的促炎介质分泌,减轻顺铂引起的 AKI。因此,本课题组推测 Nrf2/I κ B - α /NF - κ B 信号轴可能是槲皮素改善 AKI 大鼠肾损伤的关键靶点。MPO 是中性粒细胞聚集的特征性酶,而中性粒细胞是参与 AKI 炎症的主要细胞之一,此外还介导氧化自由基的过度生成,是炎症和氧化应激的重要标志物^[18]。CAT 作为抗氧化酶,对于胞内过氧化氢的清除具有不可忽视的作用^[19]。4 - HNE 是自由基介导的脂质过氧化过程中形成的终产物,高水平的 4 - HNE 通常与氧化还原失衡和炎性状态相关^[20]。结果显示,较对照组,模型组大鼠肾组织 NF - κ B 表达, MPO、4 - HNE 含量均明显升高, Nrf2、I κ B - α 表达, CAT 水平均显著降低,血清促炎因子 TNF - α 、IL - 1 β 和 IL - 6 水平均明显升

高。提示 AKI 大鼠存在过度炎症和氧化应激并与 Nrf2/I κ B - α /NF - κ B 信号轴表达失衡密切相关。较模型组,槲皮素各剂量组及 DEX 组大鼠肾组织 NF - κ B 表达, MPO、4 - HNE 含量及血清促炎因子水平均明显降低, Nrf2、I κ B - α 表达, CAT 含量均明显升高。表明槲皮素对 AKI 大鼠的保护作用, 或通过上调 Nrf2 表达, 抑制 I κ B - α 降解阻断 NF - κ B 激活, 从而减轻的炎症及氧化应激实现。

本研究提示: 槲皮素能够明显减轻 LPS 诱导的 AKI 大鼠肾功能障碍和组织损伤, 降低促炎因子 TNF - α 、IL - 1 β 和 IL - 6 水平, 改善氧化应激状态, 其机制可能与调控 Nrf2/I κ B - α /NF - κ B 信号轴表达有关。本研究或为临床 AKI 治疗提供新的视角, 槲皮素对 AKI 的其他分子机制仍需进一步探讨。

参考文献:

- [1] 刘秀梅, 都丽萍. PCI 术后急性肾损伤合并 VTE 和 HIT 的透析患者抗栓治疗的药学监护[J]. 中国临床药理学杂志, 2024, 40(8): 1222—1225.
- [2] 杨昊若, 任军华, 张昱, 等. 槲皮素通过激活 Keap1/Nrf2 信号通路减轻脂多糖诱导的大鼠急性肾损伤[J]. 中国临床药理学杂志, 2023, 39(21): 3134—3138.
- [3] 杨昊若, 于大君, 张昱, 等. 基于 Keap1/Nrf2/ARE 通路探讨槲皮素对脂多糖诱导的急性肾损伤大鼠铁死亡影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2025, 31(5): 65—75.
- [4] CHU T, WANG Y, WANG S, *et al.* Kaempferol regulating macrophage foaming and atherosclerosis through Piezo1 - mediated MAPK/NF - κ B and Nrf2/HO - 1 signaling pathway [J/OL]. *J Adv Res*, 2024, 75 (11): e635—e650. 2024 - 11 - 17 [2025 - 05 - 28]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39561922/>.
- [5] WU S W, LEE C Y, LEE S S, *et al.* Visnagin mitigates acute kidney injury caused by lipopolysaccharide administration by inhibiting the NF - κ B and pyroptosis pathways [J/OL]. *Biomed Pharmacother*, 2025, 192 (9): 118—131. 2025 - 09 - 23 [2025 - 10 - 17]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/40991986/>.
- [6] 李冀, 崔言坤, 高博文, 等. 尖叶假龙胆对脂多糖诱导小鼠脓毒症性急性肾损伤的保护作用及机制研究[J]. 辽宁中医药大学学报, 2020, 22(1): 1—4.
- [7] 雷承泳, 李丽, 罗朝霞, 等. 大豆异黄酮通过调节 miR - 29a - 3p/IGF1 分子轴缓解大鼠多囊卵巢综合征的研究[J]. 中国临床药理学杂志, 2025, 41(6): 840—845.
- [8] 卢晓航, 高媛媛, 李晓娟, 等. 白藜芦醇介导 miR - 155 调控 SIRT1 抑制脓毒症大鼠心肌损伤的研究[J]. 中国临床药理学杂志, 2025, 41(2): 209—214.
- [9] 李艳玲, 汪海刚, 李跃兵, 等. 右美托咪定对糖尿病肾病大鼠肾功能以及脂质代谢功能的影响[J]. 中国临床药理学杂志, 2025, 41(10): 1432—1437.
- [10] 周文杰, 张楠, 杨海荣, 等. 右美托咪定对脓毒症急性肾损伤大鼠肾功能保护作用机制研究[J]. 中国临床药理学杂志, 2022, 38(13): 1481—1485.
- [11] 陈效, 何志红, 罗子云, 等. 甘草甜素对脂多糖诱导急性肾损伤小鼠的作用及机制研究[J]. 中国临床药理学杂志, 2023, 39(4): 533—537.
- [12] WEN Y, PARIKH C R. Current concepts and advances in biomarkers of acute kidney injury [J]. *Crit Rev Clin Lab Sci*, 2021, 58(5): 354—368.
- [13] 李彦青, 杨智超, 宋丽娟, 等. 灵孢多糖通过调控 Nrf2/HO - 1 信号途径减轻 H₂O₂ 诱导小鼠海马神经元细胞铁死亡的研究[J]. 中国临床药理学杂志, 2025, 41(6): 805—810.
- [14] 刘泽萱, 韩易言, 关雪峰, 等. 基于 NF - κ B/NLRP3/caspase - 1 信号轴探讨牛膝皂苷 I 抑制软骨细胞焦亡的研究[J]. 中国临床药理学杂志, 2025, 41(2): 198—202.
- [15] DONG M, YANG Z, GAO Q, *et al.* Protective effects of isoliquiritigenin and licochalcone B on the immunotoxicity of BDE - 47: Antioxidant effects based on the activation of the Nrf2 pathway and inhibition of the NF - κ B pathway [J]. *Antioxidants (Basel)*, 2024, 13(4): 445—464.
- [16] CHEN F, ZHU J, WANG W. Ulinastatin attenuates lps - induced inflammation and inhibits endoplasmic reticulum stress - induced apoptosis in renal tubular epithelial cells *via* regulation of the TLR4/NF - κ B and Nrf2/HO - 1 Pathways [J]. *Inflammation*, 2021, 44(6): 2323—2332.
- [17] YANG X, XIN Y, GU Y, *et al.* Total alkaloids of *Aconitum carmichaelii* Debx alleviate cisplatin - induced acute renal injury by inhibiting inflammation and oxidative stress related to gut microbiota metabolism [J]. *Phytomedicine*, 2024, 135(20): 156—172.
- [18] 包璇, 王丹, 刘莲, 等. 基于 Toll 样受体 4/髓样分化蛋白 88 通路研究马齿苋多糖对小鼠急性肺损伤的保护作用[J]. 中国临床药理学杂志, 2023, 39(4): 523—527.
- [19] 杜丽东, 王颖, 辛蕊华, 等. 乌梅丸调控 Keap - 1 - Nrf2/HO - 1 信号通路抑制溃疡性结肠炎小鼠氧化应激损伤[J]. 中国临床药理学杂志, 2024, 40(14): 2088—2092.
- [20] 郑琳琳, 郭登洲. 补阳还五汤对糖尿病肾病小鼠铁死亡的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2023, 29(17): 34—41.

(收稿日期 2025 - 07 - 15)