

·实验研究·

## 基于肠 HMGB1/NF- $\kappa$ B/NLRP3 通路探讨桃核承气汤改善慢性肾衰竭大鼠微炎症状态的作用机制

朱为坤<sup>1</sup>,张喜奎<sup>2\*</sup>,黄孟珂<sup>1</sup>,熊宇美<sup>1</sup>,李灵辉<sup>3</sup>,黄国芳<sup>4</sup>,叶金连<sup>2</sup>

(1.福建中医药大学中医学院,福建 福州 350122;

2.福建中医药大学附属第二人民医院,福建 福州 350003;

3.福建中医药大学图书馆,福建 福州 350122;

4.福建中医药大学附属康复医院,福建 福州 350003)

**摘要:** 目的 基于肠 HMGB1/NF- $\kappa$ B/NLRP3 通路探讨桃核承气汤改善慢性肾衰竭(CRF)大鼠微炎症状态的作用机制。方法 将80只Wistar大鼠按照随机数字表法分为正常组15只、假手术组15只和造模组50只。造模组通过2次手术完成5/6肾切除,假手术组同期进行2次手术,仅剥离双肾被膜及分离肾蒂,不切除肾实质,正常组不做处理。第2次术后第3周,各组大鼠行尾静脉采血,检测血清肌酐(Scr)和尿素氮(BUN)水平。与正常组和假手术组比较,造模组血清Scr和BUN含量均升高( $P<0.01$ ),提示造模成功。造模组造模成功38只,死亡12只。将造模组大鼠按照随机数字表法分为模型组19只和桃核承气汤组19只。第2次术后4周开始干预,桃核承气汤组按10 mL/(kg·d)予以含生药浓度为0.42 g/mL桃核承气汤灌胃,正常组、假手术组和模型组分别予以等剂量生理盐水灌胃,连续干预8周。采用全自动生化分析仪检测血清Scr和BUN含量;采用酶联免疫吸附测定(ELISA)法检测血清相关炎症因子[白细胞介素(IL)-6、IL-12、IL-1 $\beta$ 、IL-18和肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )]含量;HE染色及光学显微镜观察肾、肠组织形态;Western blot和实时荧光定量(qPCR)法分别检测4组肠组织高迁移率族蛋白B1(HMGB1)、Toll样受体4(TLR4)、髓样分化因子88(MyD88)、核转录因子- $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)和核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白3(NLRP3)的蛋白表达量及其mRNA相对表达水平。结果 与正常组和假手术组比较,模型组血清Scr和BUN含量均升高( $P<0.01$ ),血清IL-6、IL-12、IL-1 $\beta$ 、IL-18和TNF- $\alpha$ 含量均升高( $P<0.01$ ),光学显微镜下可见肾组织纤维化及炎性损伤明显,肠黏膜结构破坏严重,肠组织HMGB1、TLR4、MyD88、NF- $\kappa$ B和NLRP3的蛋白表达量及mRNA相对表达水平均升高( $P<0.01$ );与模型组比较,桃核承气汤组血清Scr和BUN含量均下降( $P<0.01$ ),血清IL-6、IL-12、IL-1 $\beta$ 、IL-18和TNF- $\alpha$ 的含量均下降( $P<0.01$ ),光学显微镜下可见肾、肠组织病理损伤较模型组明显改善,肠组织HMGB1、TLR4、MyD88、NF- $\kappa$ B和NLRP3的蛋白表达量及mRNA相对表达水平均下降( $P<0.01$ )。结论 桃核承气汤可修复CRF大鼠肠黏膜屏障,改善微炎症状态,减轻肾损害,其机制与调控肠道HMGB1/NF- $\kappa$ B/NLRP3信号通路密切相关。

**关键词:**慢性肾衰竭;桃核承气汤;肠-肾轴;HMGB1/NF- $\kappa$ B/NLRP3;微炎症状态

慢性肾衰竭(chronic renal failure, CRF)是各种慢性肾脏疾病(chronic kidney disease, CKD)持续进展至某一特定阶段的最终结果,其临床表现呈现为一系列综合征,主要以体内代谢产物蓄积、水电解质失衡、体液酸碱平衡异常及肾脏内分泌功能严重失调为特征<sup>[1]</sup>。目前西医治疗CRF以肾脏替代治疗为主,但受限于其高昂的卫生经济学负担及医疗资源分布不均,导致全球范围内每年超过130万人死亡<sup>[2]</sup>。中医药在延缓CRF进展、改善临床症状、提高生存质量等方面具有独特优势。CRF病属下焦,长期正气损耗,脏腑阴阳衰败,浊毒瘀血胶结于络脉,此与桃核承气汤证下焦蓄血之病机相符。近

年发现的“肠-肾轴”相关理论有望为CRF的治疗提供新靶点、新思路<sup>[3-4]</sup>。课题组前期研究证实,桃核承气汤能显著减轻CRF大鼠肾脏微炎症状态,其机制涉及对肾脏局部相关信号通路的调控<sup>[5-7]</sup>;然而,桃核承气汤是否通过干预肠道信号通路进而发挥肾保护作用,目前尚缺乏深入研究。鉴于此,本研究基于“肠-肾轴”理论,探讨桃核承气汤通过调控肠黏膜屏障HMGB1/NF- $\kappa$ B/NLRP3信号通路,改善CRF微炎症状态的具体作用机制。

### 1 实验材料

**1.1 实验动物** SPF级7周龄健康雄性Wistar大鼠80只,初始体质量(200 $\pm$ 20)g,购自上海斯莱克实验动物有限责任公司,实验动物生产许可证号:SCXK(沪)2022-0004,实验动物使用许可证号:SYXK(闽)2020-0002,饲养于福建中医药大学实验动物中心。大鼠按每日常规标准供给饮水和饲料,饲养环境温度(24 $\pm$ 2) $^{\circ}$ C,相对湿度40%~70%,昼夜周期12 h/12 h。本研究已通过福建中医药大学

收稿日期:2025-11-13;接受日期:2025-12-06

基金项目:福建省自然科学基金面上项目(2023J01867);福建省直属单位教育科研专项资金资助项目(X2023009-财政专项,X2024001-财政专项);福建中医药大学基础类学科科研提升计划项目(XJC2022002)

通信作者:张喜奎, E-mail:zhxk1963@aliyun.com

DOI:10.13260/j.cnki.fjtc.2026.02003

实验动物伦理委员会审批(审批号:FJTCM IACUC 2023075)。

**1.2 实验药物** 桃核承气汤组成:桃仁 12 g,桂枝 6 g,炙甘草 6 g,生大黄 12 g,芒硝(冲服)6 g。中药饮片从福建中医药大学附属第三人民医院购入,用密封袋密封后,保存于 4 °C 冰箱中。注射用青霉素钠(重庆新吉亨药业股份有限公司,产品批号:01603823,规格:160 万 U/支)。

**1.3 实验试剂** 白细胞介素(IL)-6 酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒(货号:JL20896)、IL-12 ELISA 试剂盒(货号:JL20874)、IL-1 $\beta$  ELISA 试剂盒(货号:JL20884)、IL-18 ELISA 试剂盒(货号:JL20882)、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ ) ELISA 试剂盒(货号:JL10484)均购自上海将来实业股份有限公司;高迁移率族蛋白 B1(HMGB1)抗体(货号:10829-1-AP)、 $\beta$ -肌动蛋白( $\beta$ -actin)抗体(货号:66009-1-Ig)、鼠二抗(货号:PR30009)均购自武汉三鹰生物技术有限公司;核转录因子- $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)抗体(货号:YM8209)、Toll 样受体 4(TLR4)抗体(货号:YN5450)、髓样分化因子 88(MyD88)抗体(货号:YT2928)、核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3(NLRP3)抗体(货号:YM8024)均购自美国 Immunoway 苏州分公司;极超敏化学发光试剂盒(货号:ED0015-A)、BCA 蛋白浓度测定试剂盒(货号:EC0001-A)、RIPA 裂解液(货号:EA0002)、SDS-PAGE 凝胶配制试剂盒(货号:EC0003)、PVDF 膜(货号:ED0004)、预染蛋白 marker(货号:AJ0101)均购自山东思科捷生物技术有限公司;通用型彩色示踪染料法 SYBR Green qPCR 预混液(2 $\times$ )(货号:G3326-01)、耐高温全预混第一链 cDNA 合成试剂盒(一步法去除 gDNA)(货号:G3337-100)、组织 RNA 稳定保存液(货号:G3019-1.2 mL)、10% PAGE 彩色(红色)凝胶超快速配制试剂盒(货号:G2043-50T)均购自武汉赛维尔生物科技有限公司。

**1.4 实验设备** 高速冷冻离心机(德国 Eppendorf 公司,型号:5417R);石蜡切片机(德国 Leica 公司,型号:RM2235);正置荧光显微镜[日本尼康映像仪器销售(中国)有限公司,型号:Nikon Eclipse C1];电泳仪(美国 Bio-Rad 公司,型号:PowerPac Basic);凝胶成像分析系统(美国 Bio-Rad 公司,型号:721BR04812);实时荧光定量 PCR 仪(美国 Applied Biosystems 公司,型号:ABI7500);RNA 逆转录仪(中国亚光医用公司,型号:S1000 Thermal Cycler)。

## 2 实验方法

### 2.1 药物制备

**2.1.1 桃核承气汤药液制备** 将桃核承气汤中桃仁、桂枝、炙甘草、生大黄放入陶瓷煎药锅中,加入 8 倍量纯水(288 mL),室温浸泡 30 min,浸泡后加热

至沸腾,保持微沸 30 min,纱布过滤,保存药液;于药渣中再加入 6 倍量纯水(216 mL),煮沸后微沸 20 min,同法过滤;合并 2 次药液,再次过滤,将滤液转移至旋转蒸发器浓缩至约 85 mL,取芒硝 6 g 加入总药液溶解混匀,再次过滤后,补加纯水至总药液 100 mL,搅拌均匀,制备成含生药浓度为 0.42 g/mL 的桃核承气汤水煎液,4 °C 冷藏保存备用。

**2.1.2 注射用青霉素钠制备** 在造模期间,根据实际需要量现场制备青霉素钠注射液。使用生理盐水进行调配,使其最终浓度达到  $1.6 \times 10^4$  U/mL。

**2.2 分组、造模与鉴定** 经 1 周标准化环境适应后,80 只雄性 Wistar 大鼠按照随机数字表法分为正常组 15 只、假手术组 15 只和造模组 50 只。正常组常规饲养,不做任何手术干预。造模组遵循《医药实验动物模型:制作与应用》<sup>[8]</sup>制备方法,采用分阶段 5/6 肾实质切除法。大鼠经腹腔注射 1% 戊巴比妥钠 4 mL/kg 完成麻醉,密切监测呼吸状态,取俯卧位固定,切除 2/3 左肾实质;术后按照 5 mL/kg 剂量,连续 3 天腹腔注射青霉素钠预防感染;术后第 7 天,同法麻醉后切除全右肾,术后抗感染处理同前。假手术组同期进行 2 次手术操作,仅剥离双肾被膜及分离肾蒂,不切除肾实质。第 2 次术后第 3 周,各组大鼠行尾静脉采血,检测血清肌酐(Scr)和尿素氮(BUN)水平,判断造模情况。见表 1。与正常组和假手术组比较,造模组血清 Scr 和 BUN 含量均升高( $P < 0.01$ ),提示造模成功。造模过程中,造模组共剔除死亡大鼠 12 只(麻醉过量 2 只,大出血 1 只,术后感染 1 只,严重创伤未愈 8 只)。第 2 次术后第 4 周,将造模组大鼠 38 只再次按照随机数字表法分为模型组 19 只和桃核承气汤组 19 只。

表 1 3 组造模后血清 Scr 和 BUN 含量比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	Scr/( $\mu$ mol/L)	BUN/(mmol/L)
正常组	15	41.14 $\pm$ 1.69	6.03 $\pm$ 0.27
假手术组	15	40.81 $\pm$ 3.14	5.34 $\pm$ 0.07
造模组	38	85.30 $\pm$ 6.47 <sup>1)2)</sup>	10.76 $\pm$ 1.83 <sup>1)2)</sup>

注:与正常组比较,1)  $P < 0.01$ ;与假手术组比较,2)  $P < 0.01$ 。

**2.3 给药干预** 第 2 次术后第 4 周开始给药干预,桃核承气汤组按 10 mL/(kg $\cdot$ d)予以含生药浓度为 0.42 g/mL 桃核承气汤灌胃,正常组、假手术组和模型组均予以等剂量生理盐水灌胃,每日 9:00 单次给药,持续干预 8 周。每周对大鼠进行称重 1 次,根据最新的体质量调整灌胃体积。干预过程中共有 6 只大鼠死亡。其中,灌胃不当导致死亡 2 只(正常组、假手术组各 1 只),因肾衰竭死亡 4 只(模型组 1 只、桃核承气汤组 3 只)。

**2.4 取材** 灌胃 8 周后,按大鼠体质量给予腹腔注射 1% 戊巴比妥钠 4 mL/kg 麻醉,麻醉后采集腹主动脉血液,取 3 mL 全血样本置于普通血清试管,在 20 °C 恒温环境静置,在 4 °C、3 000 r/min 下离心 10 min,吸取上层血清,于 -80 °C 冰箱保存,分别用于肾功能及 ELISA 检测。采血后立即采集大鼠左肾组织(模型组和桃核承气汤组为左残肾,正常组和假手术组取左肾对应部位),沿肾脏长轴纵切,取约 1 cm×1 cm×0.5 cm 大小肾组织 1 份,于 4% 多聚甲醛溶液固定,用于光镜观察。肾组织采集结束,立即收集大鼠回肠末端和结肠近端组织各 3 份,每份长度 1 cm,用生理盐水冲洗肠腔至冲洗液无杂质,其中 2 份标本分装于 2 个冻存管中,并于 -80 °C 冰箱保存,分别用于 Western blot 和 qPCR 检测;另 1 份于 4% 多聚甲醛固定,用于光镜观察。

**2.5 观察指标**

**2.5.1 一般情况** 从给药第 1 天开始,每日观察记录大鼠神经行为学指征、排泄功能、被毛情况及摄食量变化,每周进行 1 次体质量检测。

**2.5.2 肾功能检测** 采用全自动生化分析仪检测血清 Scr 和 BUN 含量。

**2.5.3 ELISA 检测血清相关炎症因子含量** 严格按照试剂盒说明书,采用 ELISA 法检测大鼠血清中 IL-6、IL-12、IL-1β、IL-18 和 TNF-α 含量。

**2.5.4 肠、肾组织 HE 染色及光学显微镜观察** 将固定于 4% 多聚甲醛的肠、肾组织修整后,分别置于自动脱水系统,按梯度依次乙醇溶液脱水、二甲苯透明与石蜡包埋。用石蜡切片机,切成每片厚度 2 μm 的薄片,贴附于载玻片上,放于 60 °C 恒温烘箱

中烘干 4 h,进行 HE 染色,中性树胶封片,采用光学显微镜观察组织形态病理学变化(肠组织×200,肾组织×400),并采集典型视野图像。

**2.5.5 Western blot 检测肠道组织通路相关蛋白表达量** 提取各组肠组织总蛋白,BCA 法测定蛋白浓度,经蛋白变性、SDS-PAGE 电泳,转移至 PVDF 膜上后 TBST 溶液清洗,室温下用快速封闭液封闭 1 h。弃去封闭液后立即加入一抗, HMGB1(1:1 000)、TLR4(1:1 000)、MyD88(1:1 000)、NF-κB(1:1 000)、NLRP3(1:1 000)和 β-actin(1:10 000),于 4 °C 水平摇床孵育 12 h。TBST 溶液清洗,加入二抗(TBST 1:5 000 稀释),室温振荡孵育(25 °C,30 min,40 r/min)。TBST 溶液清洗,暗室中滴加 ECL 发光剂于膜上,经曝光、显影与定影,采用 Quantity One 图像分析系统检测各目的蛋白光密度值,以 β-actin 为内参,对比分析各目的蛋白表达量。

**2.5.6 qPCR 检测肠组织通路相关因子的 mRNA 相对表达水平** 提取肠组织总 RNA,分光光度计法检测 RNA 浓度与纯度,选取 OD<sub>260</sub>/OD<sub>280</sub> 在 1.8~2.0 之间的样本。配制逆转录反应液,进行逆转录合成 cDNA。采用 SYBR Green 法进行 HMGB1、TLR4、MyD88、NF-κB、NLRP3 mRNA 扩增,反应体系 20 μL (其中 SYBR qPCR 预混液 10 μL,前引物 0.5 μL,后引物 0.5 μL,cDNA 1 μL,超纯水 8 μL),扩增反应条件如下:① 95 °C 预变性 30 s;② 95 °C 变性 5 min,60 °C 退火 10 s,循环 40 次;③ 60 °C 延伸 30 s。相关基因引物序列由福州尚亚生物技术有限公司设计。见表 2。以 β-actin 为内参,采用 2<sup>-ΔΔCT</sup> 法计算目的基因的相对表达量。

表 2 相关基因引物序列

基因名称	引物序列	产物长度/bp
HMGB1	F:5'-TACAGAGCGGAGAGAGTGAGG-3'	102
	R:5'-CATGTTTAGTTGATTTTCTCCGC-3'	
TLR4	F:5'-GGCAGCAGGTCGAATGTAT-3'	160
	R:5'-GCTTCTGTCTTCTCTGATGT-3'	
NF-κB	F:5'-AGAGAAGCACAGATACCACTAAGA-3'	165
	R:5'-GTTCAGCCTCATAGAAGCCATC-3'	
NLRP3	F:5'-TGTTGTGAGGATCTCGCATTG-3'	179
	R:5'-GAGCAGCACAGTGAAGTAAGG-3'	
β-actin	F:5'-CGCGAGTACAACCTTCTTGC-3'	211
	R:5'-CCTTCTGACCCATACCCACC-3'	

**2.6 统计学方法** 采用 SPSS 26.0 软件进行数据分析。计量资料符合正态分布以 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示,组间比较采用单因素方差分析,两两比较方差齐采用 LSD-t 法,方差不齐采用 Games-Howell 法。P<0.01 为差异有统计学意义。

**3 实验结果**

**3.1 4 组一般情况比较** 正常组及假手术组大鼠

精神状态正常,肢体活动灵敏,反应迅速,被毛茂密润泽,爪甲外周颜色淡红,饮食及饮水量稳定,排便规律且粪质成形,体质量稳定增长;模型组大鼠精神萎靡,四肢倦怠乏力,活动减少,弓背姿势,反应迟缓,被毛稀疏易脱、枯槁少泽,爪甲外周颜色暗淡,饮食较少,饮水量增加,尿量增多,部分大鼠出现尿血,大便稀溏,甚至体质量下降,伤口恢复较

慢;桃核承气汤组大鼠精神欠佳,反应一般,活动自如,少部分呈弓背姿势,被毛蓬松,爪甲色淡,饮食尚可,部分大鼠尿量增多,大便偏稀,体质量略增加,伤口恢复较快。

3.2 4组血清Scr和BUN含量比较 见表3。

表3 4组血清Scr和BUN含量比较( $\bar{x}\pm s$ )

组别	例数	Scr/( $\mu\text{mol/L}$ )	BUN/( $\text{mmol/L}$ )
正常组	14	40.31 $\pm$ 2.22	6.86 $\pm$ 0.30
假手术组	14	39.29 $\pm$ 2.56	6.65 $\pm$ 0.25
模型组	18	99.66 $\pm$ 14.89 <sup>1)2)</sup>	13.07 $\pm$ 1.01 <sup>1)2)</sup>
桃核承气汤组	16	75.40 $\pm$ 6.00 <sup>3)</sup>	9.46 $\pm$ 0.54 <sup>3)</sup>

注:与正常组比较,1)  $P < 0.01$ ;与假手术组比较,2)  $P < 0.01$ ;与模型组比较,3)  $P < 0.01$ 。

3.3 4组血清相关炎症因子含量比较 见表4。

表4 4组血清相关炎症因子含量比较( $\bar{x}\pm s$ )

组别	例数	IL-6	IL-12	IL-1 $\beta$	IL-18	TNF- $\alpha$
正常组	14	11.02 $\pm$ 1.37	57.78 $\pm$ 5.44	32.33 $\pm$ 2.34	54.01 $\pm$ 6.01	71.19 $\pm$ 6.41
假手术组	14	10.43 $\pm$ 1.38	59.01 $\pm$ 6.16	31.40 $\pm$ 5.26	53.98 $\pm$ 6.50	69.38 $\pm$ 7.52
模型组	18	57.85 $\pm$ 12.33 <sup>1)2)</sup>	114.12 $\pm$ 9.15 <sup>1)2)</sup>	75.15 $\pm$ 6.65 <sup>1)2)</sup>	123.36 $\pm$ 11.57 <sup>1)2)</sup>	137.53 $\pm$ 12.21 <sup>1)2)</sup>
桃核承气汤组	16	25.63 $\pm$ 3.33 <sup>3)</sup>	86.91 $\pm$ 5.16 <sup>3)</sup>	56.06 $\pm$ 3.62 <sup>3)</sup>	86.33 $\pm$ 6.03 <sup>3)</sup>	99.07 $\pm$ 6.94 <sup>3)</sup>

注:与正常组比较,1)  $P < 0.01$ ;与假手术组比较,2)  $P < 0.01$ ;与模型组比较,3)  $P < 0.01$ 。

3.4 4组肾、肠组织形态比较

3.4.1 4组肾组织形态比较 正常组和假手术组肾小球结构完整,毛细血管丛结构清晰,内皮细胞、系膜细胞与足细胞分布均匀,无明显系膜基质增生,肾小管上皮细胞排列整齐,管腔形态规则,未见扩张、萎缩或蛋白管型,肾间质未见水肿、纤维化及炎性细胞浸润;模型组出现显著的肾小球固缩特征,表现为系膜基质沉积增加,基底膜增厚,毛细血管丛结构不清,肾小管扩张明显,肾间质纤维增生和密集的炎性细胞浸润;与模型组比较,桃核承气汤组肾小球轻度固缩,肾小球系膜基质增生和基底膜增厚幅度均明显降低,肾小管轻微扩张,偶见肾间质纤维增生,少量炎症细胞浸润。见图1。

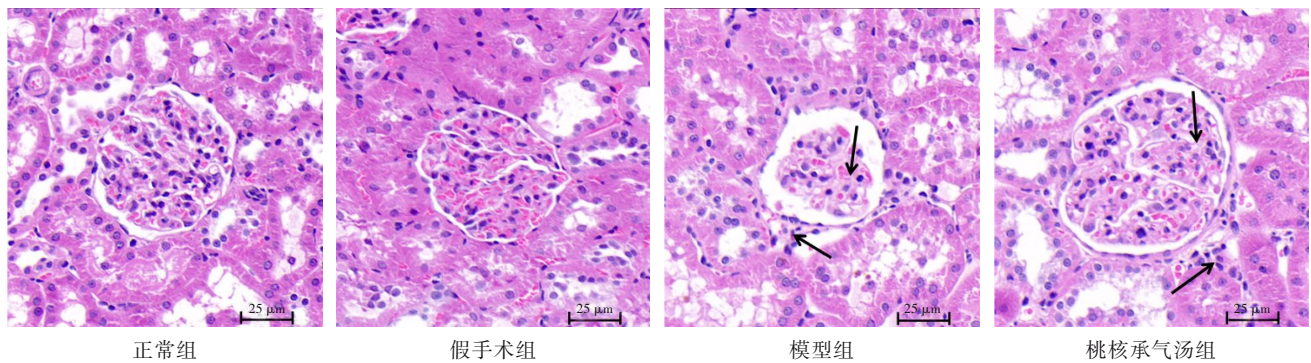


图1 4组肾组织形态HE染色图( $\times 400$ )

3.4.2 4组回肠组织形态比较 正常组与假手术组回肠黏膜绒毛致密紧凑,无脱落、倒伏,黏膜结构完整,层次清晰;模型组可见绒毛脱落倒伏,黏膜上皮细胞破坏,杯状细胞减少,腺体排列紊乱,黏膜及黏

膜下层有大量炎症细胞浸润;与模型组比较,桃核承气汤组绒毛脱落倒伏均有改善,黏膜层次结构基本清晰,炎症细胞浸润减少,杯状细胞与腺体基本正常。见图2。

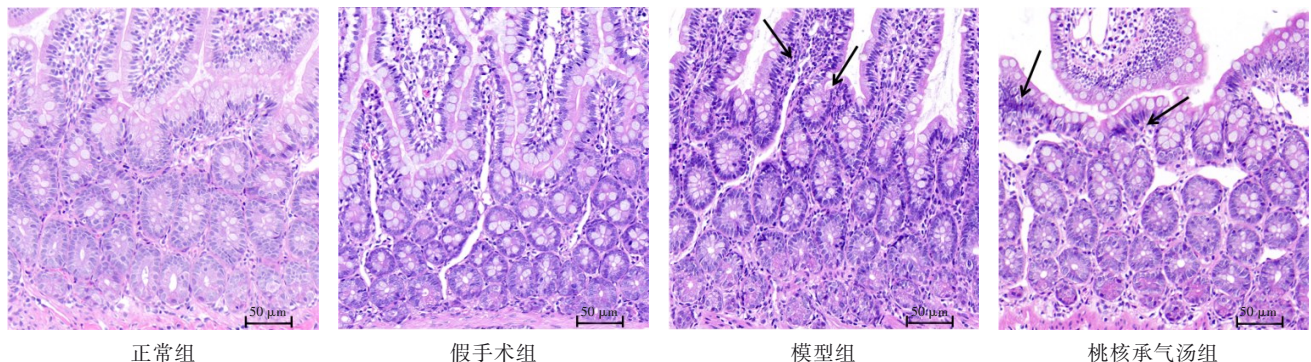


图2 4组回肠组织形态HE染色图( $\times 200$ )

**3.4.3 4组结肠组织形态比较** 正常组与假手术组结肠黏膜完整,层次分明,上皮层、固有层、黏膜肌层分布均匀、结构清晰,无水肿,炎症细胞浸润少,杯状细胞排列整齐,腺体数目正常;模型组可见黏膜及黏膜下层水肿,大量炎症细胞浸润,上皮细胞脱落,杯状细胞和腺体数目减少,黏膜隐窝变形,潘

氏细胞化生;与模型组比较,桃核承气汤组上皮细胞、杯状细胞、腺体排列均较规整,炎症细胞浸润减少,上皮细胞偶见脱落,黏膜隐窝偶有变形,偶见潘氏细胞化生。见图3。

**3.5 4组肠组织通路相关蛋白表达量比较** 见图4和图5。

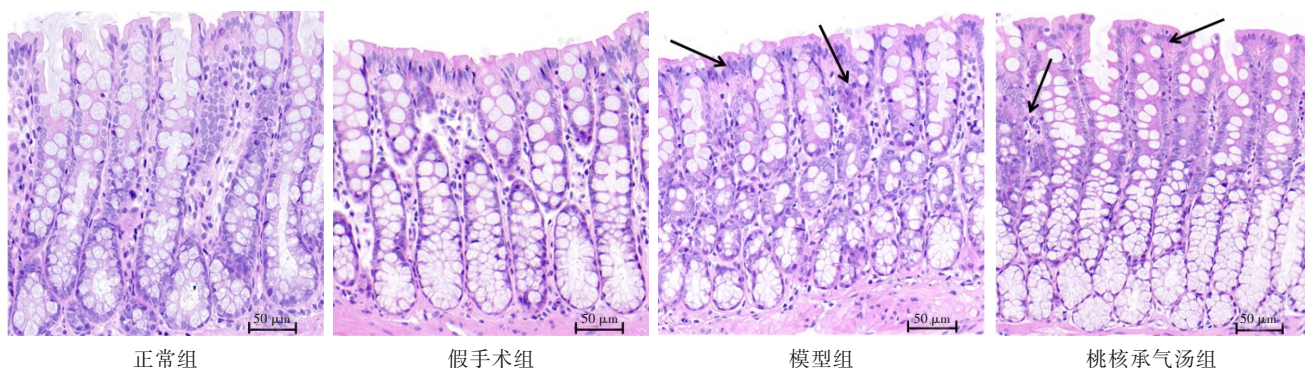
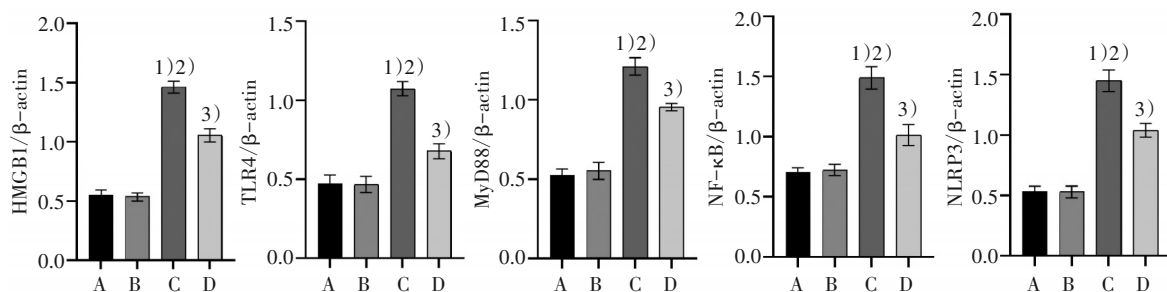


图3 4组结肠组织形态HE染色图(×200)



注: A 正常组; B 假手术组; C 模型组; D 桃核承气汤组。与正常组比较, 1)  $P < 0.01$ ; 与假手术组比较, 2)  $P < 0.01$ ; 与模型组比较, 3)  $P < 0.01$ 。

图4 4组肠组织通路相关蛋白灰度分析柱状图

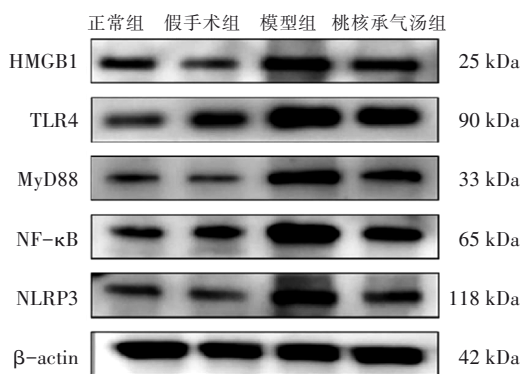


图5 4组肠组织通路相关蛋白条带图

**3.6 4组肠组织通路相关因子mRNA相对表达水平比较** 见表5。

## 4 讨论

CRF的进展机制复杂,近年“肠-肾轴”理论的提出为理解CRF并发症及系统性炎症提供了新视角。BHARGAVA等<sup>[9]</sup>研究证实,肠道微生态失衡与肾功能恶化之间存在双向恶性循环。本研究基于这一前沿发现,结合中医“从肠治肾”理论,深入探讨了桃核承气汤通过调控肠道HMGB1/NF-κB/NLRP3信号通路干预CRF微炎症状态的作用机制。

表5 4组肠组织通路相关因子mRNA相对表达水平比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	HMGB1	TLR4	MyD88	NF-κB	NLRP3
正常组	14	1.04 ± 0.34	1.01 ± 0.14	1.09 ± 0.42	1.05 ± 0.43	1.27 ± 0.45
假手术组	14	0.99 ± 0.12	0.91 ± 0.12	0.98 ± 0.17	1.04 ± 0.19	1.28 ± 0.93
模型组	18	2.74 ± 0.02 <sup>1)2)</sup>	2.71 ± 0.70 <sup>1)2)</sup>	2.67 ± 0.73 <sup>1)2)</sup>	2.69 ± 0.68 <sup>1)2)</sup>	7.48 ± 2.38 <sup>1)2)</sup>
桃核承气汤组	16	1.60 ± 0.04 <sup>3)</sup>	1.48 ± 0.32 <sup>3)</sup>	1.39 ± 0.38 <sup>3)</sup>	1.48 ± 0.41 <sup>3)</sup>	4.64 ± 0.85 <sup>3)</sup>

注: 与正常组比较, 1)  $P < 0.01$ ; 与假手术组比较, 2)  $P < 0.01$ ; 与模型组比较, 3)  $P < 0.01$ 。

**4.1 “肠-肾轴”与中医“从肠治肾”理论契合** 中医理论认为,津液的生成与输布需要肾与肠腑共同参与。生理状态下,肾阴濡润肠道以助传导,肾阳温煦脏腑以促运化,二者共司水液代谢。CRF 病机关键在于肾元亏虚致气化失司,湿浊毒邪不得下行而滞留体内。若肠腑通降失常,则浊毒内伏,进一步耗伤肾气,这与现代医学的“肠屏障受损致肠源性毒素入血”高度一致<sup>[10]</sup>。有临床研究发现,从肠治肾能降低 CKD 患者肠源性毒素,改善微炎症状态,修复肠道黏膜免疫损伤,进而延缓肾功能进展<sup>[11-12]</sup>。因此,“从肠治肾”不仅符合“六腑以通为用”的传统治则,更契合临床实际。

课题组前期研究发现:桃核承气汤能减轻 CRF 大鼠肾微炎症状态,改善肾纤维化,延缓 CRF 发展进程<sup>[13]</sup>,其机制可能与调控肾 TGF- $\beta$ 1/Smad、Wnt/ $\beta$ -catenin 及 NLRP3/Caspase-1 通路有关<sup>[5-7]</sup>。本研究将治疗靶点聚焦于肠腑,基于肠-肾轴理论,探索桃核承气汤干预 CRF 的肠道途径。前期大量研究均证实桃核承气汤有明确的治疗 CRF 作用。因此,本研究未设置阳性对照组,主要进行该方的疗效机制探讨。另外,本研究在药物干预阶段,桃核承气汤组因肾衰竭死亡 3 只,这是在以往实验中未出现过的,考虑主要与动物的个体差异相关<sup>[5-7,13]</sup>。

**4.2 HMGB1/NF- $\kappa$ B/NLRP3 通路影响 CRF 微炎症状态** 微炎症状态在 CRF 患者中普遍存在,以循环系统中炎症因子水平升高为主要表现,可导致 CRF 病情加速进展。HMGB1/NF- $\kappa$ B/NLRP3 通路作为炎症反应调控途径中的重要一环,维持了 CRF 微炎症的持续状态<sup>[14-16]</sup>。

本研究发现,模型组回肠组织绒毛脱落倒伏,黏膜上皮细胞破坏,杯状细胞减少,腺体排列紊乱,黏膜及黏膜下层有大量炎症细胞浸润;结肠组织黏膜及黏膜下层水肿,大量炎症细胞浸润,上皮细胞脱落,杯状细胞和腺体数目减少,黏膜隐窝变形,潘氏细胞化生,说明 CRF 导致了肠道黏膜屏障损伤。与正常组和假手术组比较,模型组肠组织 HMGB1、TLR4、MyD88、NF- $\kappa$ B 和 NLRP3 的蛋白表达量及其 mRNA 相对表达水平均升高,说明肠组织的损伤,可能引起坏死细胞释放 HMGB1,与 TLR4 相结合,激活 MyD88,从而触发下游的 NF- $\kappa$ B 通路,导致 NLRP3 炎症小体活化。模型组血清 IL-6、IL-12、IL-1 $\beta$ 、IL-18 和 TNF- $\alpha$  等炎症因子的含量,相较正常组和假手术组均升高,说明肠道 HMGB1/NF- $\kappa$ B/NLRP3 通路的激活,引起了促炎细胞的成熟,导致大量炎症因子分泌。这些炎症因子释放入血,加重了肾的微炎症状态,是导致肾功能损伤和肾组织形态结构改变的重要原因。模型组血清 Scr 和 BUN 含量较正常组和假手术组升高,模型组肾组织出现

肾小球固缩、基底膜增厚、肾小管扩张明显、间质纤维增生和密集的炎症细胞浸润等病理改变,均说明“肠-肾轴”存在双向关联作用。一方面,CRF 造成肠道黏膜损伤,激活肠 HMGB1/NF- $\kappa$ B/NLRP3 通路,释放大量炎症因子;另一方面,这些炎症因子又可加重肾微炎症状态,促进肾损害,从而加速 CRF 进程。

**4.3 桃核承气汤对 CRF 大鼠肠道 HMGB1/NF- $\kappa$ B/NLRP3 通路的影响** 桃核承气汤出自《伤寒论》,由桃仁、桂枝、炙甘草、生大黄、芒硝组成。方中大黄、桃仁可抗炎、抗纤维化<sup>[17-18]</sup>;大黄、芒硝合用可修复肠黏膜屏障,改善肠道微循环<sup>[19]</sup>;桂枝、甘草亦可抗炎杀菌<sup>[20-22]</sup>。本研究旨在通过桃核承气汤通腑泄浊、逐瘀通经的功能,使浊毒、瘀血之邪有出路,以到达保护肠道、改善肾纤维化的作用。

本研究发现,与模型组相比,桃核承气汤组血清 Scr 与 BUN 含量及相关炎症因子含量均下降,说明桃核承气汤能改善 CRF 大鼠肾功能,其机制与降低血清炎症因子水平、减轻机体微炎症状态有关。光学显微镜观察发现,与模型组相比,桃核承气汤组肾小球结构及肠组织黏膜屏障的损伤均减轻,说明桃核承气汤的疗效机制可能与肠肾双靶点相关。此外,与模型组比较,桃核承气汤组肠组织 HMGB1、TLR4、MyD88、NF- $\kappa$ B 和 NLRP3 的蛋白表达量及其 mRNA 相对表达水平均降低,提示桃核承气汤可能通过修复肠黏膜屏障,减少坏死细胞释放 HMGB1,从而抑制肠道 HMGB1/NF- $\kappa$ B/NLRP3 通路,使得该通路相关因子的激活和释放均减少,在一定程度上阻滞促炎细胞成熟,从而减少 IL-6、IL-12、IL-1 $\beta$ 、IL-18 和 TNF- $\alpha$  等炎症因子释放入血,进而减轻肾微炎症状态,改善肾功能,减轻肾纤维化,延缓 CRF 进程。

综上,桃核承气汤可修复 CRF 大鼠肠黏膜屏障,改善微炎症状态,降低血清 Scr 和 BUN 水平,有效减少循环中的炎症介质,减轻肾损害,延缓 CRF 病程,其机制与调控肠道 HMGB1/NF- $\kappa$ B/NLRP3 信号通路密切相关。未来研究可采用通路抑制剂或者干预验证,进一步揭示该通路的内在机制。

#### 参考文献

- [1] 孙海玲,庄绪栋,牛翠芳,等.现代内科疾病临床诊治[M].长春:吉林科学技术出版社,2017:192.
- [2] GBD Chronic Kidney Disease Collaboration. Global, regional, and national burden of chronic kidney disease, 1990-2017: a systematic analysis for the global burden of disease study 2017 [J]. *Lancet*, 2020, 395(10225): 709-733.
- [3] RITZ E. Intestinal-renal syndrome: mirage or reality [J]. *Blood Purif*, 2011, 31(1/2/3): 70-76.
- [4] MEIJERS B K I, EVENEPOEL P. The gut-kidney axis: indoxyl sulfate, p-cresyl sulfate and CKD progression [J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2011, 26(3): 759-761.

- [5] 张喜奎,林艳蓝,林雅银,等.桃核承气汤对 CRF 大鼠 TGF- $\beta$ 1/Smad3 信号调控的 miR-29 表达的影响[J].时珍国医国药,2018,29(11):2591-2593.
- [6] 张喜奎,陈全文,林艳蓝,等.桃核承气汤对慢性肾衰竭大鼠肾组织中 Wnt 系列因子影响的研究[J].时珍国医国药,2019,30(5):1032-1035.
- [7] 朱为坤,张喜奎,宋昱娇,等.基于 NLRP3/Caspase-1 和 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路探讨桃核承气汤延缓慢性肾衰竭大鼠肾纤维化的机制[J].福建中医药,2023,54(11):20-24.
- [8] 黄国钧,黄勤挽.医药实验动物模型:制作与应用[M].北京:化学工业出版社,2008:389.
- [9] BHARGAVA S, MERCKELBACH E, NOELS H, et al. Homeostasis in the gut microbiota in chronic kidney disease [J]. Toxins, 2022, 14(10):648.
- [10] RYSZ J, FRANCZYK B, ŁAWIŃSKI J, et al. The impact of CKD on uremic toxins and gut microbiota [J]. Toxins, 2021, 13(4):252.
- [11] 赵智全,张宁,石凯峰,等.基于“肠-肾轴”理论探讨肾衰灌肠方对慢性肾脏病 3~5 期非透析患者肾功能及微炎症状态的影响[J].中华中医药杂志,2025,40(7):3828-3832.
- [12] 于亚萍,许照,周志伟,等.基于“肠-肾轴”理论探讨益肾汤灌肠改善慢性肾脏病 3~5 期患者肠道免疫屏障的临床研究[J].中国中西医结合肾病杂志,2025,26(5):444-447.
- [13] 张喜奎,苏美玲,危美红,等.桃核承气汤对慢性肾功能衰竭大鼠微炎症状态的影响[J].云南中医学院学报,2016,39(3):5-9.
- [14] 韩蕊,叶志斌.高迁移率族蛋白 1 与肾脏疾病[J].肾脏病与透析肾移植杂志,2013,22(3):262-267.
- [15] CHEN Q J, GUAN X F, ZUO X C, et al. The role of high mobility group box 1 (HMGB1) in the pathogenesis of kidney diseases [J]. Acta Pharm Sin B, 2016, 6(3):183-188.
- [16] JIANG H S, YANG X Y, WANG Y Z, et al. Vitamin D protects against traumatic brain injury via modulating TLR4/MyD88/NF- $\kappa$ B pathway-mediated microglial polarization and neuroinflammation [J]. Biomed Res Int, 2022, 2022:3363036.
- [17] 周雅萍,贺怡宁,汪兰慧,等.大黄调节“肠-肾轴”治疗慢性肾脏病的研究进展[J].中国医药导报,2024,21(29):53-56.
- [18] 周国铭,王玺,何成峙,等.桃仁现代研究进展和炮制方法历史沿革[J].中草药,2024,55(13):4565-4574.
- [19] 徐力,谢丹,陈晖,等.虎杖汤灌肠联合大黄芒硝散脐周外敷对轻中度急性脂源性胰腺炎患者脂联素及肠功能恢复的影响[J].辽宁中医杂志,2024,51(12):123-127.
- [20] 李雪,赵婧含,吴文轩,等.桂枝的化学成分和药理作用研究进展[J].中医药学报,2023,51(5):111-114.
- [21] 梁璐.桂枝的药理作用分析及其临床应用研究[J].中国医药指南,2016,14(25):190-191.
- [22] 杜焯湘,罗敏,冯敏,等.甘草素通过抗炎发挥对阿尔茨海默病的保护作用[J].免疫学杂志,2019,35(4):327-333.

(上接第 3 页)

质转化为特征的动态分析框架。这一理论不仅更贴合慢性病的临床实际,也深刻体现了中医“以人为本”“治病求本”的核心思想。

未来研究可沿以下路径深入。其一,开展大样本临床流行病学研究,探索不同体质人群慢性病“痰气从化”的具体规律与生物标志物;其二,利用系统生物学、代谢组学等方法,揭示“痰气从化”的现代生物学内涵,特别是与慢性炎症、免疫微环境重塑、细胞外基质代谢等过程的关联;其三,基于“从化”理论开发中医智能辅助诊疗系统,整合体质、证候、病程信息,实现对疾病演变趋势的动态评估与预警。通过深化“从化”理论的研究与实践,有望推动中医慢性病诊疗向个性化与预见性的新范式迈进,为慢性病的长期防治提供更契合生命本质的诊疗方案。

#### 参考文献

- [1] 张登本,李翠娟,陈霖霖.《黄帝内经》“三阴三阳”六气致病“从化”机理内涵及其意义的研究[J].中医药通报,2022,21(4):1-5.
- [2] 吴谦.医宗金鉴上册[M].郑金生,整理.北京:人民卫生出版社,2006:170.
- [3] 滑晟,何明.从虚、痰、气、瘀论治慢性阻塞性肺病经验[J].环球中医药,2017,10(7):853-855.
- [4] 贺娟.《黄帝内经》基于经络系统的疾病传变模式及其临床实践价值[J].中医杂志,2025,66(16):1635-1639,1655.
- [5] 张仲景.伤寒论[M].王叔和,撰次.钱超尘,郝万山,整理.北京:人民卫生出版社,2005:20.
- [6] 黄帝内经素问[M].田代华,整理.北京:人民卫生出版社,2005:39.
- [7] 谭滢,韩宝瑾,钟毅薇,等.基于湿浊三焦传变探讨肺癌胸腔积液的治疗思路[J].中医杂志,2025,66(21):2287-2291.
- [8] 郭逸文,桑希生.中医病机传变体系新论[J].山东中医杂志,2025,44(10):1111-1115,1162.
- [9] 梁峻铭,郭子宜,李炜,等.基于体质从化理论辨治儿童反复呼吸道感染[J].现代中医临床,2024,31(6):95-99.