

基于 TXNIP/NLRP3/GSDMD 信号通路探讨苁归益肾胶囊对糖尿病肾脏疾病大鼠的干预机制

周鑫鑫¹, 朱梦燕¹, 尹祥祥¹, 张银玉¹, 王胜茂¹, 李瑜璿¹, 方朝晖^{2*}

(1. 安徽中医药大学第一临床医学院, 安徽 合肥 230031;

2. 安徽中医药大学第一附属医院, 安徽 合肥 230031)

【摘要】目的 探讨苁归益肾胶囊对糖尿病肾脏疾病(DKD)大鼠足细胞的保护作用机制。**方法** 将SD大鼠随机分为空白组及造模组,诱导DKD大鼠模型。造模成功后随机分为模型组、厄贝沙坦组、苁归益肾胶囊组,每日分别予以0.9% NaCl溶液5ml/kg、厄贝沙坦15mg/kg、苁归益肾胶囊540mg/kg进行灌胃,为期8周。分别记录各组大鼠在药物灌胃前后的一般情况、体重,检测大鼠空腹血糖(FBG)、血尿素氮(BUN)、血清肌酐(Scr)以及24小时尿蛋白定量(24hUP),ELISA法检测血清白细胞介素-18(IL-18)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)水平,HE染色观察肾脏组织病理改变情况,Western blot法检测大鼠肾组织TXNIP、Caspase-1、NLRP3、GSDMD及Synaptopodin表达水平。**结果** 苁归益肾胶囊组大鼠FBG、BUN、Scr、24hUP、IL-18、IL-1 β 水平明显下降($P < 0.05$),肾脏病理变化改善,TXNIP、NLRP3、Caspase-1、GSDMD的蛋白表达水平降低($P < 0.05$),Synaptopodin蛋白表达水平升高($P < 0.01$)。**结论** 苁归益肾胶囊可能通过调控TXNIP/NLRP3/GSDMD信号通路,对大鼠足细胞起到保护作用,进而减轻肾损伤,延缓DKD病情发展。

【关键词】 糖尿病肾脏疾病; 苁归益肾胶囊; TXNIP/NLRP3/GSDMD信号通路; 大鼠足细胞; 肾损伤

DOI:10.70976/j.1008-0805.SZGYGY-2025-1105

CSTR:32392.14.j.1008-0805.SZGYGY-2025-1105

【中图分类号】R285.5 【文献标识码】A 【文章编号】1008-0805(2025)11-2029-06

糖尿病肾脏疾病(diabetes kidney disease, DKD)作为糖尿病最为多发的一种并发症,也是导致慢性肾病及终末期肾病的重要因素^[1]。DKD的病理机制复杂多样,氧化应激及炎症反应在DKD发展进程中发挥着重要作用。细胞焦亡作为最新发现的一种促进炎症反应发生的程序性细胞死亡形式^[2],促进DKD的发生发展。在此过程中,硫氧还蛋白结合蛋白(TXNIP)与核苷酸结合域样受体蛋白3(NLRP3)相结合,生成NLRP3炎症小体,从而激活半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-1(Caspase-1),消皮素D(GSDMD)裂解释放N端诱导细胞焦亡^[3]。因此通过调控TXNIP/NLRP3/GSDMD信号通路可能为防治DKD提供新思路。

大量研究表明,中医药对于DKD的防治方面具有多途径、多靶点、安全有效等优点^[4]。中药复方制剂苁归益肾胶囊是方朝晖教授研制的安徽省中医院院内制剂,方药成分为肉苁蓉、桂枝、当归、山茱萸、泽泻、丹皮。前期研究^[5]表明苁归益肾胶囊可通过抑制TGF- β 1介导的MEK/ERK信号通路活化,缓解肾脏纤维化程度,进一步对肾脏起到保护作用。本实验将在前期

研究基础上,研究苁归益肾胶囊对DKD大鼠TXNIP/NLRP3/GSDMD通路的影响,探讨苁归益肾胶囊保护DKD大鼠足细胞的干预作用,针对DKD的预防及治疗方面应用中医药提供有利的证据支撑。

1 材料

1.1 动物及饲料

60只体重在200~250g的雄性6周龄SPF级SD大鼠,于浙江维通利华实验动物技术有限公司购入,动物合格证号:SCXK(浙)2019-0001。饲养地点:中国科学技术大学附属医院动物实验中心,饲养环境:温度、湿度适宜。高糖高脂饲料及普通饲料均由中国科学技术大学附属医院动物实验中心加工配置。动物实验经安徽中医药大学第一附属医院动物伦理委员会批准,伦理审查编号AZYFY-2024-1001。

1.2 药物与试剂

厄贝沙坦片,规格:75mg/片(浙江华海药业股份有限公司,国药准字H20030016);苁归益肾胶囊,规格:0.4g/粒(安徽省中医院药物制剂中心,批号

收稿日期:2024-08-23; 修订日期:2025-01-22

基金项目:国家自然科学基金(82174153);安徽省自然科学基金(1708085QH213);安徽省高校协同创新项目(GXKT-2020-025);

方朝晖安徽省名中医工作室(2019-8-515);合肥综合性国家科学中心大健康研究院“揭榜挂帅”项目(2023CXMMTCM003)

作者简介:周鑫鑫(1997-),女(汉族),安徽合肥人,安徽中医药大学硕士研究生,硕士学位,主要从事中医药防治内分泌及代谢疾病研究工作。

*通讯作者简介:方朝晖(1967-),男(汉族),安徽宁国人,安徽中医药大学第一附属医院教授,博士研究生导师,博士学位,主要从事中医药防治内分泌及代谢疾病研究工作。

BZ20120029);STZ(美国 Sigma);柠檬酸-柠檬酸钠(北京索莱宝);大鼠白介素 18(IL-18)ELISA 试剂盒、大鼠白介素 1 β (IL-1 β)ELISA 试剂盒(科顺生物);抗 NLRP3 抗体、抗 Caspase 1/p20/p10 抗体、抗 GSDMD 抗体(Proteintech);兔抗 β -Actin 抗体、兔抗 TXNIP 抗体(ABclonal)。

1.3 主要仪器

血糖仪(美国强生公司);RM2016 型病理切片机(德国 Leica 公司);台式高速冷冻离心机(Eppendorf);全自动生化分析仪(德国拜尔公司);BX53 型光学显微镜(日本 Olympus 公司);HT7800 型透射电子显微镜(日本 Hitach 公司);电泳仪及蛋白转膜仪(北京君意);Infinite 200 型酶标仪(瑞士 Tecan 公司);尿液分析仪(爱威科技)。

2 方法

2.1 DKD 大鼠造模

本研究参考团队既往 DKD 大鼠造模方案^[6]。60 只雄性 SD 大鼠予以普通饲料进行适应性喂养 1 周后,从中随机挑选 10 只组成空白组继续予以普通饲料进行喂养,剩下 50 只组成造模组予以高糖高脂饲料进行喂养,4 周后进行造模。经过禁食一晚后,对造模组 50 只大鼠按照 40mg/kg 的剂量予以 1% STZ 一次性腹腔注射。在 72h 后检测大鼠尾尖血糖,若数值 ≥ 16.7 mmol/L,说明成功构建 DM 大鼠模型。未能成功造模的大鼠予以少量 STZ 追加注射,再次禁食后复测尾尖血糖,如果数值仍未符合标准,予以剔除。针对血糖值达标的大鼠继续使用高糖高脂饲料进行喂养 2 周后,如果 24hUP 数值 > 30 mg,说明已经成功诱导 DKD 大鼠模型。

2.2 分组及给药方法

进行 STZ 溶液腹腔注射时有 3 只大鼠死亡,因血糖值未达标、造模未成功大鼠有 4 只,另有 1 只大鼠可能因血糖水平异常偏高致死。对成功造模并存活 42 只大鼠进行随机分配,分别为模型组、苁归益肾胶囊组、厄贝沙坦组(每组各 14 只)。给药剂量按照《药理实验方法学》^[7]进行计算。大鼠的等效剂量是人的 6.3 倍,故得出苁归益肾胶囊 540mg/kg、厄贝沙坦 15mg/kg 进行灌胃,空白组和模型组大鼠每日给予 0.9% NaCl 溶液 5ml/kg 进行灌胃。大鼠灌胃周期为 8 周,每日需进行灌胃 1 次。

2.3 标本采集及处理

对大鼠体重进行测量,尾尖处取血检测血糖值,然后用 3% 戊巴比妥钠 1ml/kg 麻醉各组大鼠,经腹主动脉进行采血,随即标记编号,将大鼠的血液标本放置于台式离心机中进行分离,分离出的大鼠血清存放在 EP

管中,标记后放于 -80°C 冰箱内冻存。摘除大鼠肾脏,分离肾脏表面的被膜,将其中一部分肾脏组织剪碎置于 EP 管内,并标记编号后,放入液氮罐进行冻存;另一部分使用 4% 多聚甲醛溶液进行固定。

2.4 一般情况及血液、尿液指标的测定

2.4.1 一般情况

分别观察并记录每组大鼠的饮食、饮水情况,同时观察其精神状态、毛色、活动状况、大小便排泄量以及体重改变情况。

2.4.2 血糖测定

在药物干预前及药物干预后分别测定并记录每组大鼠经禁食一晚后,从尾尖取血检测的空腹血糖(FBG)数值。

2.4.3 血尿素氮(BUN)、血清肌酐(Scr)

进行药物灌胃 8 周后,各组大鼠予以禁食一晚后,从腹主动脉抽取血液,将大鼠的血液标本放置于台式离心机中进行分离,分离出的大鼠血清存放在 EP 管中,使用全自动生化分析仪进行 BUN、Scr 的数值测定。

2.4.4 24 h 尿蛋白定量(24h UP)

在药物干预前及药物干预后,分别使用代谢笼收集每组大鼠 24h 尿液,使用尿液分析仪进行 24h UP 的数值测定。

2.4.5 血清 IL-18、IL-1 β 水平

进行药物灌胃 8 周后,采用 ELISA 法对每组大鼠的血清 IL-18、IL-1 β 含量进行测定,使用说明参照试剂盒。

2.5 肾脏病理组织切片 HE 染色

将存放在 4% 多聚甲醛中的肾脏组织取出,流水冲洗半小时后放入脱水盒;将其按顺序依次放置于各种不同浓度乙醇溶液中进行脱水处理,随后放入二甲苯透明 10min 左右,重复 1 次上述步骤;将肾脏组织浸蜡后放入包埋机进行石蜡包埋,随后切成厚约 4 μm 的切片;最后把所有切片放置于 60°C 恒温箱中进行烤片,时长约 30min,烤干后常温环境中保存。使用二甲苯将石蜡切片进行脱蜡,随后依次按照顺序使用不同浓度的酒精进行脱水处理,最后使用蒸馏水冲洗 30min 后进行 HE 染色,将染色完成后的切片再依次按照顺序使用不同浓度的酒精进行脱水处理,随后放入二甲苯透明,重复两次,每次时长约 5min,采用中性树脂胶进行封片,用显微镜进行切片观察并且拍片留存以待分析。

2.6 Western blot 检测蛋白含量

将大鼠肾组织剪碎,称取 0.1g 放于玻璃匀浆器中,向匀浆器内加入 1ml 含有 PMSF 的 RIPA 裂解液,用玻璃匀浆器匀浆或液氮研磨,充分裂解后,使用预冷至 4°C 的台式离心机(10000 ~ 14000r/min)进行离心

5min,取上清液。依序进行 SDS - PAGE 电泳、凝胶转膜、封闭、一抗孵育、二抗孵育、ECL 法显色成像。

2.7 统计学处理

运用 SPSS 27.0 软件包处理数据,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,符合正态分布采用单因素方差分析;不符合采用 LSD 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

经过药物灌胃 8 周后,空白组 10 只大鼠里有 2 只因为相互打架斗殴死亡 2 只,剩余 8 只。模型组 14 只大鼠里有 2 只大鼠可能因为血糖水平异常偏高导致死亡,剩余 12 只。厄贝沙坦组 14 只大鼠里有 1 只因为灌胃操作不当死亡、1 只因被撕咬死亡,剩余 12 只。苁归益肾胶囊组 14 只大鼠里有 2 只因为灌胃操作不当死亡,有 1 只因被撕咬致死,剩余 11 只。

3.1 对大鼠一般情况的影响

空白组大鼠的饮食饮水量、精神状态、毛发色泽、大小便排泄量均正常。造模组大鼠出现明显多饮多食多尿、消瘦等症状,并伴有不同程度的活动减少,精神不振,毛发干枯发黄。经过药物灌胃 8 周后,大鼠的上述情况较之模型组有所缓解。

3.2 对大鼠体重的影响

与空白组相比,模型组大鼠体重下降($P < 0.05$),与模型组相比,使用药物干预的各组大鼠体重有所升高($P < 0.05$),与厄贝沙坦组相比,苁归益肾胶囊组大鼠体重上升($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 各组药物干预前后对大鼠体重的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	n	体重/g	
		干预前	干预后
空白组	8	248.63 ± 5.50	340.38 ± 5.71
模型组	12	358.75 ± 15.04 [*]	232.92 ± 6.02 [*]
厄贝沙坦组	12	359.58 ± 14.86 [*]	273.08 ± 9.14 ^{**}
苁归益肾胶囊组	11	358.45 ± 13.92 [*]	304.09 ± 6.36 ^{**△}

与空白组比较,^{*} $P < 0.05$;与模型组比较,^{*} $P < 0.05$;与厄贝沙坦组比较,[△] $P < 0.05$

3.3 对大鼠 FBG 的影响

与空白组相比,模型组大鼠 FBG 水平升高($P < 0.05$);与模型组大鼠相比,使用药物干预的各组大鼠 FBG 水平有不同程度的下降($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 各组药物干预前后对大鼠 FBG 水平的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	n	FBG/mm $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	
		干预前	干预后
空白组	8	5.43 ± 0.46	5.62 ± 0.45
模型组	12	23.01 ± 2.89 [*]	25.70 ± 2.17 [*]
厄贝沙坦组	12	23.32 ± 2.19 [*]	24.62 ± 2.77 ^{**}
苁归益肾胶囊组	11	23.40 ± 2.46 [*]	21.16 ± 2.82 ^{**}

与空白组比较,^{*} $P < 0.05$;与模型组比较,^{*} $P < 0.05$

3.4 对大鼠 BUN、Scr 的影响

与空白组相比,模型组大鼠 BUN、Scr 水平明显升高($P < 0.05$),与模型组相比,使用药物干预的各组大鼠 BUN、Scr 水平均有不同程度的下降($P < 0.05$),与厄贝沙坦组作比较,苁归益肾胶囊组的 Scr 水平上升,BUN 水平下降,但无显著性差异($P > 0.05$)。见表 3。

表 3 各组药物干预前后对大鼠 BUN、Scr 的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	n	BUN /mmol · L ⁻¹	Scr /μmol · L ⁻¹
空白组	8	5.61 ± 0.64	28.88 ± 4.36
模型组	12	12.18 ± 1.91 [*]	70.36 ± 8.52 [*]
厄贝沙坦组	12	10.35 ± 1.18 ^{**}	47.01 ± 8.62 ^{**}
苁归益肾胶囊组	11	9.23 ± 1.26 ^{**}	48.53 ± 6.31 ^{**}

与空白组比较,^{*} $P < 0.05$;与模型组比较,^{*} $P < 0.05$

3.5 对大鼠 24h UP 的影响

与空白组相比,模型组大鼠的 24h UP 水平明显升高($P < 0.05$),与模型组相比,使用药物干预的各组大鼠 24h UP 水平有不同程度的下降($P < 0.05$),与厄贝沙坦组比较,苁归益肾胶囊组的 24h UP 水平下降但无统计学意义($P > 0.05$)。见表 4。

表 4 各组药物干预前后对大鼠 24h UP 的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	n	24h UP/mg	
		药物干预前	药物干预后
空白组	8	9.08 ± 0.98	8.82 ± 1.28
模型组	12	45.53 ± 5.07 [*]	46.74 ± 5.47 [*]
厄贝沙坦组	12	45.92 ± 5.71 [*]	37.91 ± 5.31 ^{**}
苁归益肾胶囊组	11	45.82 ± 4.21 [*]	37.35 ± 4.42 ^{**}

与空白组比较,^{*} $P < 0.05$;与模型组比较,^{*} $P < 0.05$

3.6 各组药物干预前后对大鼠血清 IL-18、IL-1β 水平的影响

与空白组相比,模型组大鼠血清 IL-18、IL-1β 水平明显升高($P < 0.05$),与模型组相比,使用药物干预的各组大鼠血清 IL-18、IL-1β 水平均有不同程度的下降($P < 0.05$),与厄贝沙坦组比较,苁归益肾胶囊组的血清 IL-18、IL-1β 水平下降幅度更大,但无明显差异($P > 0.05$)。见表 5。

表 5 各组药物干预前后对大鼠血清 IL-18、IL-1β 水平的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	n	IL-18 /pg · ml ⁻¹	IL-1β /pg · ml ⁻¹
空白组	8	53.53 ± 14.10	54.59 ± 7.90
模型组	12	111.34 ± 8.37 [*]	103.98 ± 7.53 [*]
厄贝沙坦组	12	73.96 ± 7.69 ^{**}	69.71 ± 4.74 ^{**}
苁归益肾胶囊组	11	68.62 ± 10.42 ^{**}	67.98 ± 6.88 ^{**}

与空白组比较,^{*} $P < 0.05$;与模型组比较,^{*} $P < 0.05$

3.7 对大鼠肾脏组织病理形态的影响

分别对每组大鼠肾脏组织 HE 染色切片进行镜下

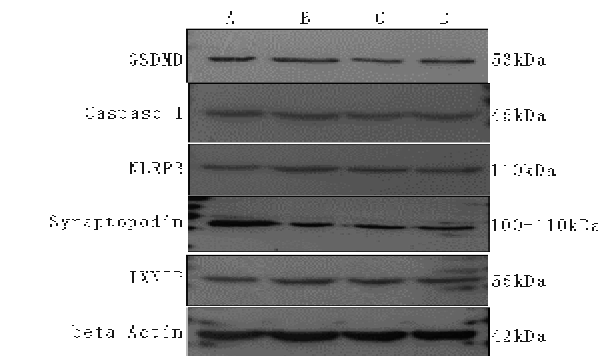
观察,空白组大鼠的肾小球基底膜正常,未发现异常增生增殖,肾小管结构未见异常,上皮细胞未见肿胀。相比之下,模型组大鼠可见肾小球基底膜增生增厚,上皮细胞肿胀肥大甚至呈现空泡样改变,细胞外基质增多,出现间质纤维化。与模型组大鼠作比较,使用药物干预的各组大鼠肾脏组织病理形态均有不同程度的改善,其中苁归益肾胶囊组更为显著。见图 1。

3.8 对大鼠肾组织 Synaptopodin、TXNIP、NLRP3、Caspase-1、GSDMD 蛋白表达的影响

Western blot 测定大鼠肾组织 Synaptopodin、TXNIP、NLRP3、Caspase-1、GSDMD 蛋白结果显示,与空白组比较,模型组大鼠 Synaptopodin 的表达下降($P < 0.01$),TXNIP、NLRP3、Caspase-1、GSDMD 的表达增多($P < 0.01$)。与模型组比较,厄贝沙坦组、苁归益肾胶囊组大鼠 TXNIP、NLRP3、Caspase-1、GSDMD 的表达均下降($P < 0.05$),Synaptopodin 的表达上升($P < 0.01$)。见表 6。

表 6 各组药物干预前后对大鼠肾组织 Synaptopodin、TXNIP、NLRP3、Caspase-1、GSDMD 蛋白表达的影响($\bar{x} \pm s$)						
组别	n	Synaptopodin	TXNIP	NLRP3	Caspase-1	GSDMD
空白组	8	1.00 ± 0.01	1.00 ± 0.02	1.00 ± 0.01	1.00 ± 0.01	1.00 ± 0.02
模型组	12	0.46 ± 0.04 [△]	1.92 ± 0.09 [△]	1.80 ± 0.07 [△]	1.83 ± 0.10 [△]	1.64 ± 0.06 [△]
厄贝沙坦组	12	0.69 ± 0.00 ^{**}	1.38 ± 0.11 ^{**}	1.29 ± 0.05 ^{**}	1.42 ± 0.06 ^{**}	1.21 ± 0.07 ^{**}
苁归益肾胶囊组	11	0.72 ± 0.00 ^{**}	1.53 ± 0.20 [*]	1.34 ± 0.05 ^{**}	1.48 ± 0.02 [*]	1.42 ± 0.06 ^{**}

与空白组比较,[△] $P < 0.01$;与模型组比较,^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$



A. 空白组 B. 模型组 C. 苁归益肾胶囊组 D. 厄贝沙坦组
图 2 对大鼠肾组织 Synaptopodin、TXNIP、NLRP3、Caspase-1、GSDMD 蛋白表达的影响

4 讨论

糖尿病不仅引起机体血糖水平上升,另因其发病机制复杂,并发症种类繁多,已成为导致全球人类过早死亡的三大危险因素之一^[8]。长期高血糖的状态可以导致多种并发症的产生,可引发眼睛、肾脏、神经、血管等组织器官病变,而肾脏病变则是其主要并发症之一^[9]。现代医学治疗 DKD 主要是在维持血糖稳定的基础上,通过抗炎、抗氧化应激等来保护肾脏,但尚缺

图 2。

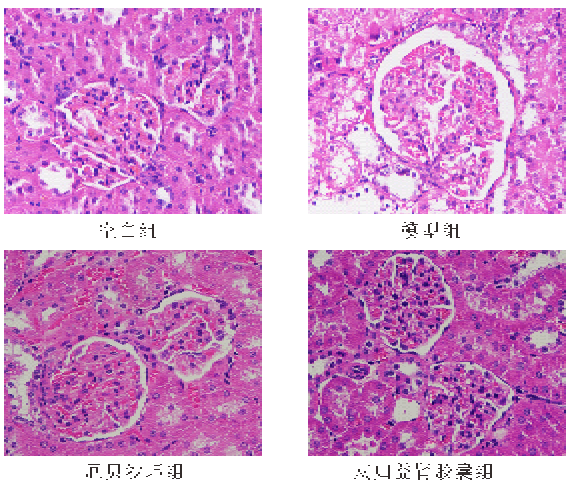


图 1 各组大鼠肾组织切片图(HE,400 ×)

乏针对 DKD 的特异性治疗手段,临床疗效不理想^[10]。多年来,祖国医学对 DKD 病因病机及中医治法进行不断探索,在此方面发挥中医药长处,逐渐显露出良好成效^[11]。

DKD 是现代医学病名,祖国医学无此称谓,在祖国医学中属“消渴”“水肿”“虚劳”“关格”“下消”“肾消”等范畴^[12]。现代有医家认为,DKD 在中医证型方面分为实证和虚证,其中实证常见为血瘀,虚证则为肾虚^[13]。苁归益肾胶囊药物组成为肉苁蓉、当归、桂枝、山茱萸、泽泻、丹皮。方中肉苁蓉益肾温阳、补益肾精,当归与之共为君药,起到补血活血的作用。桂枝助阳化气,温通经络,山茱萸补益肝肾,又可助当归活血,助肉苁蓉益气升阳,二者共为臣药。取泽泻、丹皮寒凉之药性,对前四味药性之温热起制约作用,显佐药之效。诸药相伍,温而不燥,补而不滞。全方共奏温阳益肾活血化瘀之功。

DKD 的发病机制十分复杂,其中最为关键并且贯穿疾病发生发展始终的病理机制则是氧化应激及炎症反应,它们也是导致 DKD 中足细胞损伤的关键因素^[14]。机体处于高血糖水平时,肾间质细胞和内皮细胞中的活性氧自由基水平明显升高,导致活性氧(ROS)过量产生并积累,机体处于氧化应激状态^[15]。硫氧还蛋白(TRX)系统在此状态下通过还原反应大量

消耗 ROS 和氮,起到关键抗氧化应激作用^[16]。与此同时,大量的 ROS 使得 TXNIP 和 TRX 分离,随即同 NLRP3 产生结合,此过程的发生可以导致 NLRP3 炎性小体发生活化^[17]。NLRP3 炎性小体的产生使得 Caspase-1 发生活化,从而进一步导致炎症细胞因子 IL-18 和 IL-1 β 的成熟及分泌,活性结构域 GSDMD-N 通过裂解蛋白 GSDMD 释放,N 端诱导细胞焦亡^[18]。细胞焦亡是最新发现的一种促进炎症反应发生的程序性细胞死亡形式。最新研究表明,细胞焦亡可以通过诱发炎症反应从而加重肾脏组织受损,导致肾脏组织出现肾小球和肾小管上皮细胞肥大、基底膜增厚,肾小球硬化以及肾小管间质纤维化等一系列病理表现^[19,20]。本实验中,模型组大鼠 IL-1 β 、IL-18 水平明显升高, TXNIP/NLRP3/Caspase-1/GSDMD 蛋白表达水平显著升高;使用苁归益肾胶囊干预后血清 IL-1 β 、IL-18 水平降低, TXNIP/NLRP3/Caspase-1/GSDMD 蛋白表达均降低,提示苁归益肾胶囊可能通过 TXNIP/NLRP3/GSDMD 信号通路抑制足细胞焦亡。

综上所述,苁归益肾胶囊能够明显改善 DKD 大鼠的一般情况,使 DKD 大鼠的血糖以及肾功能相关指标水平下降,减少肾脏受损,其机制可能与通过调控 TXNIP/NLRP3/GSDMD 信号通路,减少 NLRP3 炎症小体合成,进而抑制细胞焦亡通路相关标志分子的表达及炎症因子的释放有关。

参考文献:

- [1] TSAI J L, CHEN C H, WU M J, et al. New approaches to diabetic nephropathy from bed to bench[J]. *Biomedicines*, 2022, 10(4): 876.
- [2] GAO Z, HUANG D, TANG C, et al. Pyroptosis in diabetes and diabetic nephropathy[J]. *Clin Chim Acta*, 2022, 531: 188.
- [3] 靳贺超, 梁胜然, 张冠文, 等. 基于 TXNIP/NLRP3/GSDMD 信号通路探讨当归补血汤对糖尿病肾病大鼠足细胞焦亡的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2022, 28(3): 49.
- [4] 周婧雅, 吕仁和, 陶经纬, 等. 基于数据挖掘和网络药理分析目仁和教授治疗 2 型糖尿病的用药规律与作用机制[J]. *现代中医临床*, 2024, 31(2): 109.
- [5] 阮诺冰, 李金菊, 林逸轩, 等. 苁归益肾胶囊对糖尿病肾病大鼠肾纤维化及 MEK/ERK 信号通路的影响[J]. *陕西中医*, 2023, 44(2): 139.
- [6] 汪四海, 方朝晖, 倪英群, 等. 丹蛭降糖胶囊对糖尿病肾病大鼠肾脏 TGF- β 1/Smad3 信号通路和 AGEs/RAGE 水平的影响[J]. *中华中医药杂志*, 2021, 36(4): 2019.
- [7] 徐叔云. 药理实验方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 192.
- [8] HENNEBELLE ALAIN, ISMAIL I, MATERWALA H, et al. Secure and privacy-preserving automated machine learning operations into end-to-end integrated IoT-edge-artificial intelligence-blockchain monitoring system for diabetes mellitus prediction[J]. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 2024, 23: 212.
- [9] ZHANG J, WU T, LI C, et al. A Glycopolymersome strategy for drug-free treatment of diabetic nephropathy[J]. *Journal of controlled release: official journal of the Controlled Release Society*, 2024, 372: 347.
- [10] 贺璞玉, 倪青. 倪青治疗糖尿病肾病的思路与方法[J]. *中医药导报*, 2022, 28(2): 184.
- [11] 全小林, 黄一珊. 糖尿病肾脏疾病中医药防治研究现状及发展对策[J]. *北京中医药大学学报*, 2022, 45(12): 1189.
- [12] 崔玉枝, 孙新宇. 糖尿病肾病中医病名及病因病机浅谈[J]. *中医临床研究*, 2014, 6(29): 49.
- [13] 谢桂权, 雷天香, 钟云良, 等. 糖尿病肾病患者中医证候及证型特点研究[J]. *广州中医药大学学报*, 2008(4): 362.
- [14] 乔琳, 金艳, 郭兆安. 中医药调控 NLRP3 炎症小体缓解糖尿病肾病肾间质纤维化的机制研究进展[J]. *中国中药杂志*, 2024, 49(05): 1164.
- [15] 刘懿翔, 李佳琪, 黄鹭铭, 等. 积雪草抑制 TXNIP/NLRP3 信号通路改善小鼠糖尿病肾病的机制研究[J]. *中药新药与临床药理*, 2022, 33(12): 1614.
- [16] DU Y X, WU M, SONG S, et al. TXNIP deficiency attenuates renal fibrosis by modulating mTORC1/TFEB-mediated autophagy in diabetic kidney disease. [J]. *Renal failure*, 2024, 46(1): 2338933.
- [17] 王兴红, 张福华, 孙静, 等. 基于 TXNIP/NLRP3 信号通路研究根皮素对糖尿病肾病小鼠肾脏自噬和纤维化的影响[J]. *中药药理与临床*, 2023, 39(9): 31.
- [18] 宋纯东, 宋丹, 贾平平, 等. 雷公藤多苷通过 NLRP3/caspase-1/GSDMD 细胞焦亡通路对糖尿病肾病大鼠肾损伤的影响[J]. *中国中药杂志*, 2023, 48(10): 2639.
- [19] 乔琳, 金艳, 郭兆安. 细胞焦亡与糖尿病肾病肾间质纤维化[J]. *生命的化学*, 2024, 44(2): 191.
- [20] SHEN Y L, CHEN W, LIN K, et al. Notoginsenoside Ic, a novel renoprotective agent, ameliorates glomerular endothelial cells pyroptosis and mitochondrial dysfunction in diabetic nephropathy through regulating HMGCs2 pathway[J]. *Phytomedicine*, 2024, 126: 155445.

The mechanism of *Conggui Yishen Capsule*(苁归益肾胶囊) in intervening diabetic kidney disease rats based on the TXNIP/NLRP3/GSDMD signaling pathway

ZHOU Xinxin¹, ZHU Mengyan¹, YIN Yangyang¹, ZHANG Yinyu¹, WANG Shengmao¹, LI Yufan¹, FANG Zhaoxue^{2*}

(1. *Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 30031, China*; 2. *First Affiliated Hospital of Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230031, China*)

Abstract: Objective To explore the protective effects of *Conggui Yishen Capsule* (苁归益肾胶囊, CGYSC) on rats' podocytes after diabetic kidney disease (DKD). **Methods** SD rats were randomly divided into the blank group and the model group to establish the DKD

model. After successful modeling, the rats were randomly assigned to the model group, irbesartan group, and CGYSC group. The model group received 5 ml/kg of 0.9% NaCl solution, the irbesartan group received 15 mg/kg of irbesartan, and the CGYSC group received 540 mg/kg of CGYSC by gavage daily for 8 weeks. General conditions and body weight were recorded before and after the intervention. Fasting blood glucose (FBG), blood urea nitrogen (BUN), serum creatinine (Scr), and 24-hour urine protein (24h UP) levels were measured. Serum levels of IL-18 and IL-1 β were detected using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Renal tissue pathological changes were observed with hematoxylin-eosin (HE) staining. The protein expression levels of TXNIP, Caspase-1, NLRP3, GSDMD, and Synaptopodin in the renal tissues were assessed by Western blot (WB). **Results** After obtaining these results, FBG, BUN, Scr, 24h UP, IL-18 and IL-1 β levels of rats in CGYSC group were decreased significantly ($P < 0.05$), the renal pathological changes were alleviated, and the protein expression levels of TXNIP, NLRP3, Caspase-1 and GSDMD were decreased ($P < 0.05$). The expression level of Synaptopodin was increased ($P < 0.01$). **Conclusion** CGYSC protects rat podocytes through regulating the TXNIP/NLRP3/GSDMD signaling pathway, thereby reducing kidney injury and delaying the development of DKD.

Key words: Diabetic kidney disease; *Conggui Yishen Capsule* (从归益肾胶囊); TXNIP/NLRP3/GSDMD signaling pathway; Rat podocytes; Renal injury

(责任编辑:程文锋)