

基于 TLR4/NF- κ B/NLRP3 信号通路探讨柴胡皂苷 B2 对单侧输尿管梗阻大鼠肾间质纤维化的影响

高海洋, 张金存, 陈 曦, 关晓海, 曹凤宏, 康绍参, 张立国*
(华北理工大学附属医院泌尿外科, 河北 唐山 063000)

摘要: **目的** 探讨柴胡皂苷 B2 对单侧输尿管梗阻大鼠肾间质纤维化的影响。**方法** 大鼠按随机数字表法分为假手术组、模型组、依那普利 (10 mg/kg) 组和柴胡皂苷 B2 低、中、高剂量组 (5、10、20 mg/kg), 每组 12 只。除假手术组外, 其余 5 组建立单侧输尿管梗阻 (UO) 模型, 各组灌胃给予相应药物, 每天 1 次, 连续给药 2 周。全自动生化分析仪检测大鼠血清中血尿素氮 (BUN)、血肌酐 (Scr) 水平, ELISA 法检测大鼠血清 TNF- α 、IL-1 β 水平, Masson 染色观察大鼠肾组织病理学变化, 试剂盒检测大鼠肾组织中肾上腺髓质素 (ADM) 水平, 免疫组化法检测大鼠肾组织中 E-钙黏蛋白 (E-cadherin)、转化生长因子- β 1 (TGF- β 1) 阳性表达, Western blot 法检测大鼠肾组织中 TLR4、NF- κ B、p-NF- κ B、NLRP3 蛋白表达。**结果** 与假手术组比较, 模型组大鼠肾组织可见肾小管扩张, 上皮细胞出现部分空泡化, 肾间质内大量炎性细胞浸润、纤维细胞生成及胶原纤维沉积, 血清 BUN、Scr、TNF- α 、IL-1 β 水平、肾组织 TGF- β 1 阳性表达、TLR4、p-NF- κ B/NF- κ B、NLRP3 蛋白表达升高 ($P < 0.05$), 肾组织 ADM 水平、E-cadherin 阳性表达降低 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 柴胡皂苷 B2 各剂量组大鼠肾脏病变逐渐减轻, 血清 BUN、Scr、TNF- α 、IL-1 β 水平、肾组织 TGF- β 1 阳性表达, TLR4、p-NF- κ B/NF- κ B、NLRP3 蛋白表达均降低 ($P < 0.05$), 肾组织 ADM 水平、E-cadherin 阳性表达均升高 ($P < 0.05$); 与柴胡皂苷 B2 高剂量组比较, 依那普利组上述指标无明显变化 ($P > 0.05$)。**结论** 柴胡皂苷 B2 能够缓解 UO 大鼠肾间质纤维化, 改善肾功能和炎症反应, 可能与抑制 TLR4/NF- κ B/NLRP3 信号通路的表达有关。

关键词: 柴胡皂苷 B2; 单侧输尿管梗阻; 肾间质纤维化; TLR4/NF- κ B/NLRP3 信号通路

中图分类号: R285.5

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2024)06-2053-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2024.06.047

肾间质纤维化是多种慢性肾脏疾病的常见病理特征, 其主要病理表现为炎症反应、肾小管上皮细胞外基质沉积、上皮-间质转化等^[1-2]。目前研究认为, 肾脏纤维化过程是不可逆的^[3], 因此, 寻找缓解肾间质纤维化的特效药物是临床治疗慢性肾脏疾病的关键。柴胡皂苷是柴胡的主要生物活性化合物, 具有抗菌、抗炎、抗肿瘤等作用^[4]。柴胡皂苷 B2 是从柴胡中提取的单体化合物, 研究发现其可以减轻单侧输尿管梗阻 (unilateral ureteral obstruction, UO) 小鼠肾小管损伤, 缓解肾间质纤维化, 消除细胞外基质沉积^[5]。Toll 样受体 4 (TLR4)/核因子- κ B (NF- κ B)/核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3 (NLRP3) 信号通路是体内关键的炎症反应调控通路^[6]。研究表明, 抑制 TLR4/NLRP3 通路表达可降低体内肾脏损伤和炎症细胞因子水平^[7], NF- κ B 通路被激活后, 可调控 NLRP3 炎性小体的生成与分泌; 敲除 NLRP3 后, 机体炎症反应、NF- κ B 活性以

及肾损伤均有所降低^[8]。UO 模型是研究肾间质纤维化的常用实验动物模型, 本研究通过建立 UO 大鼠模型, 探讨柴胡皂苷 B2 对 UO 大鼠肾间质纤维化的影响以及对 TLR4/NF- κ B/NLRP3 信号通路的调控作用。

1 材料

1.1 动物 SPF 级雄性 SD 大鼠 72 只, 8~9 周龄, 体质量 314~337 g, 购自青岛蔚蓝生物制品有限公司 [实验动物生产许可证号 SCXK (鲁) 2021-0011], 于本院动物实验室 [实验动物使用许可证号 SYXK (冀) 2020-0014] 适应性饲养 1 周, 期间自由采食、饮水。本研究经本院伦理委员会批准 (伦理号 2022LSZ-131)。

1.2 药物与试剂 依那普利片 (批号 20211219, 江苏扬子江药业集团制药股份有限公司); 柴胡皂苷 B2 原料药 (批号 BP1238, 纯度 $\geq 99\%$, 南通飞宇生物科技有限公司); 肾上腺髓质素 (ADM) 检测试剂盒、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-1 β (IL-1 β) ELISA 试剂盒 (批

收稿日期: 2023-05-07

基金项目: 河北省医学科学研究课题计划项目 (20210159)

作者简介: 高海洋 (1986—), 男, 硕士, 主治医师, 从事泌尿外科疾病基础与临床研究。Tel: 13403159886, E-mail: gaohaiyang672@163.com

*通信作者: 张立国 (1974—), 男, 硕士, 副主任医师, 从事泌尿外科疾病基础与临床研究。Tel: 13832873177, E-mail: zhangliguomiwai@sina.com

号 H052-1、H178-3、H172-9, 南京诺唯赞生物科技股份有限公司); Masson 染色试剂盒、RIPA 蛋白裂解液 (批号 G13463、G24099, 合肥正阳生物科技有限公司); 兔源 E-钙黏蛋白 (E-cadherin)、转化生长因子- β 1 (TGF- β 1)、TLR4、NF- κ B、磷酸化 NF- κ B (p-NF- κ B)、NLRP3、GAPDH 一抗、羊抗兔二抗 (批号 DM23844、DM24091、DM54902、DM34900、DM59389、DM50200、DM34998、DM19480, 北京盛世中方生物科技有限公司); DAB 显色试剂盒、ECL 发光液、苏木精染色试剂盒 (批号 NC2387、NC4928、NC3498, 西安壮志生物科技有限公司)。

1.3 仪器 DG-302 全自动生化分析仪、CX41 显微镜 (江苏英诺华医疗技术有限公司); EMax Plus 酶标仪、OI200 凝胶成像系统 (南京希尔健医疗器械有限公司)。

2 方法

2.1 分组、造模及给药 72 只雄性 SD 大鼠禁食不禁水 12 h, 按照随机数字表法分为假手术组、模型组、依那普利 (10 mg/kg) 组^[9]和柴胡皂苷 B2 低、中、高剂量组 (5、10、20 mg/kg, 按照课题组前期预实验结果确定剂量^[10]), 每组 12 只。除假手术组外, 其余 5 组参考文献 [11] 建立大鼠 UUO 模型, 腹腔注射戊巴比妥钠麻醉大鼠, 仰卧位固定, 腹部备毛消毒, 于背部距左侧肋脊角 1.5 cm 处切一 2 cm 斜切口, 游离左侧肾脏近肾盂处输尿管, 分别于肾盂处约 1 cm 的肾下极处和输尿管 1/3 处进行双重结扎, 剪断两结扎部位之间输尿管, 逐层关腹。假手术组只游离输尿管, 不结扎。

造模结束后当天开始灌胃给药。依那普利组大鼠灌胃给予 10 mg/kg 依那普利^[9] (依那普利片加蒸馏水制成质量浓度为 1 mg/mL 的混悬液, 灌胃体积 10 mL/kg); 柴胡皂苷 B2 低、中、高剂量组分别灌胃给予 5、10、20 mg/kg 柴胡皂苷 B2^[10] (柴胡皂苷 B2 加蒸馏水制成质量浓度分别为 0.5、1、2 mg/mL 的混悬液, 灌胃体积 10 mL/kg); 假手术组、模型组大鼠灌胃给予等体积蒸馏水。每天 1 次, 连续给药 2 周。

2.2 全自动生化分析仪检测肾功能指标 末次给药后 12 h, 麻醉大鼠, 腹主动脉取血 3 mL, 5 000 r/min 离心 14 min, 取上清液, 保存于 -20 ℃ 冰箱中。采用全自动生化分析仪检测血清尿素氮 (BUN) 和肌酐 (Scr) 水平。

2.3 ELISA 法检测血清炎性因子水平 取“2.2”项下血清, 按照 ELISA 试剂盒说明书, 检测各组大鼠血清 TNF- α 、IL-1 β 水平。

2.4 Masson 染色观察肾组织病理学变化 处死大鼠, 分

离左侧肾脏, 剥除肾包膜。在相同部位取部分肾组织约 0.5 g, 加入 4% 多聚甲醛固定 24 h, 石蜡包埋后切片, 采用 Masson 染色, 于光学显微镜下观察肾组织病理学变化。

2.5 肾组织 ADM 水平检测 取“2.4”项下分离后的各组大鼠左侧肾组织约 1 g, 研磨制备匀浆, 11 000 r/min 离心 7 min 后取上清液, 按照 ADM 检测试剂盒说明书检测肾组织 ADM 水平。

2.6 免疫组化法检测肾组织中 E-cadherin、TGF- β 1 阳性表达 取“2.4”项下石蜡切片, 常规脱蜡、水化, 加入柠檬酸缓冲液煮沸, 14 min 后加入 H₂O₂ 灭活, 3% BSA 室温封闭 1.5 h; 加入稀释好的兔源 E-cadherin (1 : 1 300)、TGF- β 1 (1 : 1 100) 一抗, 4 ℃ 孵育过夜; 加入羊抗兔二抗 (1 : 2 200), 室温孵育 2.5 h, 按照 DAB 显色试剂盒说明书进行显色反应, 清洗后加入苏木精复染, 常规脱水、封片, 于光学显微镜下观察并拍照, 阳性表达呈棕色, 采用 Image pro plus 8.0 软件定量分析阳性表达的平均光密度值。

2.7 Western blot 法检测肾组织中 TLR4、NF- κ B、p-NF- κ B、NLRP3 蛋白表达 取“2.4”项下左侧肾组织约 0.5 g, 加入 RIPA 蛋白裂解液提取总蛋白, BCA 法检测蛋白浓度, 每孔上样 30 μ g 进行电泳、转膜, 脱脂牛奶封闭后加入稀释好的兔源 TLR4 (1 : 620)、NF- κ B (1 : 1 100)、p-NF- κ B (1 : 1 200)、NLRP3 (1 : 750)、GAPDH (1 : 1 290) 一抗 4 ℃ 孵育过夜; 洗膜后加入羊抗兔二抗 (1 : 2 200) 室温孵育 1.5 h, 洗膜后采用 ECL 发光试剂显色, 使用凝胶成像系统拍照, 以 GAPDH 为内参, 分析灰度值。

2.8 统计学分析 通过 SPSS 24.0 软件进行处理, 符合正态分布、方差齐的计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用 SNK-*q* 检验。 *P* < 0.05 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 柴胡皂苷 B2 对 UUO 大鼠血清 BUN、Scr 水平的影响 与假手术组比较, 模型组大鼠血清 BUN、Scr 水平升高 (*P* < 0.05); 与模型组比较, 依那普利组、柴胡皂苷 B2 各剂量组大鼠血清 BUN、Scr 水平降低 (*P* < 0.05), 柴胡皂苷 B2 作用呈剂量依赖性; 与依那普利组比较, 柴胡皂苷 B2 低、中剂量组大鼠血清 BUN、Scr 水平升高 (*P* < 0.05), 柴胡皂苷 B2 高剂量组大鼠血清 BUN、Scr 水平无明显变化 (*P* > 0.05), 见表 1。

表 1 各组大鼠血清 BUN、Scr 水平比较 ($\bar{x} \pm s$, *n* = 12)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	BUN/(mmol·L ⁻¹)	Scr/(μ mol·L ⁻¹)
假手术组	—	4.47±0.40	45.78±2.12
模型组	—	19.23±3.28 *	104.39±8.34 *
依那普利组	10	6.38±0.51 [#]	59.53±2.23 [#]
柴胡皂苷 B2 低剂量组	5	14.35±2.91 ^{#△}	86.18±6.67 ^{#△}
柴胡皂苷 B2 中剂量组	10	10.41±1.89 ^{#△}	73.40±4.84 ^{#△}
柴胡皂苷 B2 高剂量组	20	6.25±0.47 [#]	58.87±2.13 [#]

注: 与假手术组比较, * *P* < 0.05; 与模型组比较, [#] *P* < 0.05; 与依那普利组比较, [△] *P* < 0.05。

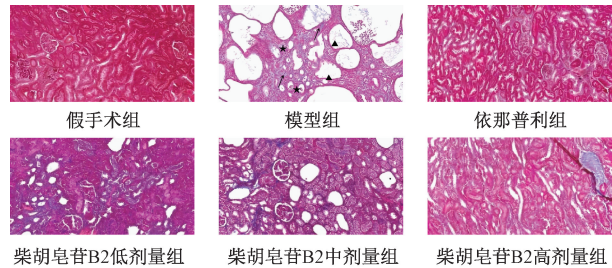
3.2 柴胡皂苷 B2 对 UUO 大鼠血清 TNF- α 、IL-1 β 水平的影响 与假手术组比较,模型组大鼠血清 TNF- α 、IL-1 β 水平升高 ($P<0.05$);与模型组比较,依那普利组、柴胡皂苷 B2 各剂量组大鼠血清 TNF- α 、IL-1 β 水平降低

表 2 各组大鼠血清 TNF- α 、IL-1 β 水平比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=12$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	TNF- α /(pg·mL ⁻¹)	IL-1 β /(pg·mL ⁻¹)
假手术组	—	34.10 $\pm$ 3.17	15.10 $\pm$ 2.15
模型组	—	116.43 $\pm$ 11.29 [*]	88.34 $\pm$ 9.80 [*]
依那普利组	10	50.02 $\pm$ 4.31 [#]	35.37 $\pm$ 3.32 [#]
柴胡皂苷 B2 低剂量组	5	91.85 $\pm$ 8.34 ^{#Δ}	66.67 $\pm$ 6.72 ^{#Δ}
柴胡皂苷 B2 中剂量组	10	78.49 $\pm$ 6.36 ^{#Δ}	52.84 $\pm$ 4.45 ^{#Δ}
柴胡皂苷 B2 高剂量组	20	48.47 $\pm$ 4.28 [#]	38.13 $\pm$ 2.78 [#]

注:与假手术组比较,^{*} $P<0.05$;与模型组比较,[#] $P<0.05$;与依那普利组比较, ^{Δ} $P<0.05$ 。

3.3 柴胡皂苷 B2 对 UUO 大鼠肾组织病理变化的影响 假手术组大鼠肾组织未见明显病变;模型组大鼠肾组织可见肾小管扩张,上皮细胞出现部分空泡化,肾间质内大量炎性细胞浸润、纤维细胞生成及胶原纤维沉积;柴胡皂苷 B2 各剂量组随着剂量升高,肾脏病变逐渐减轻;依那普利组上述病变较轻,见图 1。



注:星号表示上皮细胞空泡化;箭头表示肾间质炎性细胞浸润、纤维细胞生成及胶原纤维沉积;三角形表示肾小管扩张。

图 1 各组大鼠肾组织形态学 (Masson 染色, $\times 200$)

3.4 柴胡皂苷 B2 对 UUO 大鼠肾组织 ADM 水平的影响 与假手术组比较,模型组大鼠肾组织 ADM 水平降低 ($P<0.05$);与模型组比较,依那普利组、柴胡皂苷 B2 各剂量组大鼠肾组织 ADM 水平升高 ($P<0.05$),柴胡皂苷 B2 作用呈剂量依赖性;与依那普利组比较,柴胡皂苷 B2 低、中剂量组大鼠肾组织 ADM 水平降低 ($P<0.05$),柴胡皂苷 B2 高剂量组大鼠肾组织 ADM 水平无明显变化 ($P>0.05$),见表 3。

表 3 各组大鼠肾组织 ADM 水平比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=12$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	ADM/(pg·mg ⁻¹)
假手术组	—	8.61 $\pm$ 0.41
模型组	—	4.03 $\pm$ 0.12 [*]
依那普利组	10	7.05 $\pm$ 0.30 [#]
柴胡皂苷 B2 低剂量组	5	5.14 $\pm$ 0.17 ^{#Δ}
柴胡皂苷 B2 中剂量组	10	6.07 $\pm$ 0.23 ^{#Δ}
柴胡皂苷 B2 高剂量组	20	7.01 $\pm$ 0.28 [#]

注:与假手术组比较,^{*} $P<0.05$;与模型组比较,[#] $P<0.05$;与依那普利组比较, ^{Δ} $P<0.05$ 。

3.5 柴胡皂苷 B2 对 UUO 大鼠肾组织 E-cadherin、TGF- β 1 阳性表达的影响 与假手术组比较,模型组大鼠肾组织

($P<0.05$),柴胡皂苷 B2 作用呈剂量依赖性;与依那普利组比较,柴胡皂苷 B2 低、中剂量组大鼠血清 TNF- α 、IL-1 β 水平升高 ($P<0.05$),柴胡皂苷 B2 高剂量组大鼠血清 TNF- α 、IL-1 β 水平无明显变化 ($P>0.05$),见表 2。

E-cadherin 阳性表达降低 ($P<0.05$),TGF- β 1 阳性表达升高 ($P<0.05$);与模型组比较,依那普利组、柴胡皂苷 B2 各剂量组大鼠肾组织 E-cadherin 阳性表达升高 ($P<0.05$),TGF- β 1 阳性表达降低 ($P<0.05$),柴胡皂苷 B2 作用呈剂量依赖性;与依那普利组比较,柴胡皂苷 B2 低、中剂量组大鼠肾组织 E-cadherin 阳性表达降低 ($P<0.05$),TGF- β 1 阳性表达升高 ($P<0.05$),柴胡皂苷 B2 高剂量组大鼠肾组织 E-cadherin 和 TGF- β 1 阳性表达无明显变化 ($P>0.05$),见图 2~3、表 4。

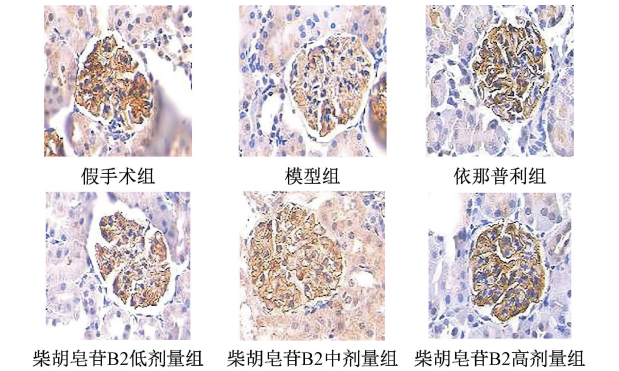


图 2 各组大鼠肾组织 E-cadherin 免疫组化染色图 ($\times 400$)

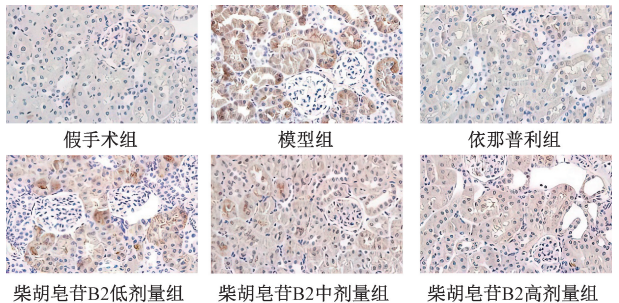


图 3 各组大鼠肾组织中 TGF- β 1 免疫组化染色图 ($\times 200$)

3.6 柴胡皂苷 B2 对 UUO 大鼠肾组织 TLR4、NF- κ B、p-NF- κ B、NLRP3 蛋白表达的影响 与假手术组比较,模型组大鼠肾组织 TLR4、p-NF- κ B/NF- κ B、NLRP3 蛋白表达升高 ($P<0.05$);与模型组比较,依那普利组、柴胡皂苷 B2 各剂量组大鼠肾组织 TLR4、p-NF- κ B/NF- κ B、NLRP3 蛋白

表达降低 ($P<0.05$)，柴胡皂苷 B2 作用呈剂量依赖性；与依那普利组比较，柴胡皂苷 B2 低、中剂量组大鼠肾组织 TLR4、p-NF-κB/NF-κB、NLRP3 蛋白表达升高 ($P<0.05$)，

柴胡皂苷 B2 高剂量组大鼠肾组织 TLR4、p-NF-κB/NF-κB、NLRP3 蛋白表达无明显变化 ($P>0.05$)，见表 5、图 4。

表 4 各组大鼠肾组织 E-cadherin、TGF-β1 阳性表达比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=12$)

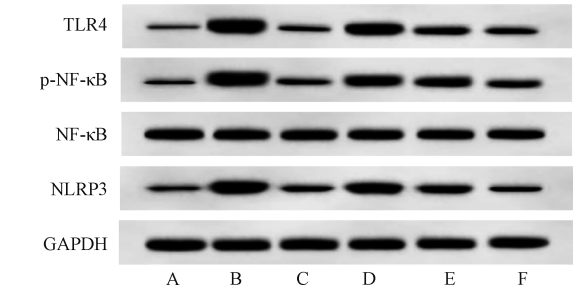
组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	E-cadherin 平均光密度	TGF-β1 平均光密度
假手术组	—	17.64±1.68	0.71±0.09
模型组	—	5.12±0.51 [*]	3.51±0.38 [*]
依那普利组	10	13.79±1.29 [#]	0.99±0.10 [#]
柴胡皂苷 B2 低剂量组	5	8.64±0.88 ^{#Δ}	2.32±0.27 ^{#Δ}
柴胡皂苷 B2 中剂量组	10	10.57±1.04 ^{#Δ}	1.73±0.19 ^{#Δ}
柴胡皂苷 B2 高剂量组	20	13.51±1.22 [#]	1.03±0.12 [#]

注：与假手术组比较，^{*} $P<0.05$ ；与模型组比较，[#] $P<0.05$ ；与依那普利组比较，^Δ $P<0.05$ 。

表 5 各组大鼠肾组织 TLR4、p-NF-κB/NF-κB、NLRP3 蛋白表达比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=12$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	TLR4/GAPDH	p-NF-κB/NF-κB	NLRP3/GAPDH
假手术组	—	0.22±0.02	0.21±0.02	0.26±0.03
模型组	—	1.56±0.17 [*]	1.58±0.16 [*]	1.42±0.13 [*]
依那普利组	10	0.35±0.03 [#]	0.49±0.04 [#]	0.41±0.04 [#]
柴胡皂苷 B2 低剂量组	5	1.23±0.11 ^{#Δ}	1.09±0.12 ^{#Δ}	1.09±0.11 ^{#Δ}
柴胡皂苷 B2 中剂量组	10	0.75±0.06 ^{#Δ}	0.82±0.07 ^{#Δ}	0.79±0.08 ^{#Δ}
柴胡皂苷 B2 高剂量组	20	0.39±0.04 [#]	0.54±0.05 [#]	0.44±0.03 [#]

注：与假手术组比较，^{*} $P<0.05$ ；与模型组比较，[#] $P<0.05$ ；与依那普利组比较，^Δ $P<0.05$ 。



注：A 为假手术组，B 为模型组，C 为依那普利组，D~F 分别为柴胡皂苷 B2 低、中、高剂量组。

图 4 各组大鼠肾组织 TLR4、p-NF-κB、NF-κB、NLRP3 蛋白条带图

4 讨论

肾间质纤维化的病理表现主要有炎症反应过度、纤维细胞增生、胶原蛋白等各种细胞外基质大量沉积、上皮-间质转化的发生发展等^[12]。柴胡皂苷 B2 是一种类固醇皂苷，具有抗炎、抗氧化、抗纤维化活性^[13-14]。

E-cadherin 表达降低可激活上皮-间质转化^[15]。沈金峰等^[16]通过肾衰方干预 UUO 模型大鼠发现，上调 E-cadherin 表达能改善肾间质纤维化。TGF-β1 是机体最主要的致纤维化因子，能够促进上皮-间质转化合成并抑制其降解，还能募集大量炎症细胞浸润，介导肾脏免疫调节来诱导肾小管上皮细胞转分化^[17]。下调 TGF-β1 表达具有抗肾间质纤维化作用^[18-19]。ADM 作为一种血管活性多肽，主要在肾脏中表达，具有扩张血管、降血压等作用^[20]。研究表明，ADM 能够通过下调 TGF-β1 表达，抑制肾小管上皮细胞迁移，抵抗肾间质纤维化发生发展^[21]。

本研究结果显示，UUO 大鼠血清 BUN、Scr 水平升高，提示大鼠肾功能受损。此外，UUO 大鼠血清 TNF-α、IL-1β

水平升高，肾组织 ADM 和 E-cadherin 表达降低，TGF-β1 表达升高，肾组织可见肾小管扩张，肾间质大量炎症细胞浸润、纤维细胞生成及胶原纤维沉积，表明 TGF-β1 激活，促进胶原纤维生成，招募大量炎症细胞，炎症反应加剧；ADM 和 E-cadherin 表达被抑制，肾小管上皮细胞迁移和上皮-间质转化发生加剧。以上结果共同作用，导致肾间质纤维化的发生。本研究结果显示，不同剂量（5、10、20 mg/kg）柴胡皂苷 B2 干预后，UUO 大鼠血清 BUN、Scr、TNF-α、IL-1β 水平降低，肾组织 ADM 和 E-cadherin 表达升高，TGF-β1 表达降低，且肾脏病变减轻，提示柴胡皂苷 B2 能减少细胞外基质沉积，减轻炎症反应，从而抑制肾间质纤维化。依那普利在临床实验中常被用作治疗肾病的药物^[22]，本研究结果证明其与柴胡皂苷 B2 在肾间质纤维化的治疗中效果一致。

TLR4/NF-κB/NLRP3 通路是介导炎症反应的重要通路。TLR4 与其配体结合被激活，诱导 NF-κB 活化以启动炎症反应以及 NLRP3 炎性小体表达，进而诱导炎症因子产生^[23]。抑制 TLR4/NF-κB/NLRP3 通路可减少肾间质炎症细胞浸润，改善高血压早期肾损伤^[24]。另有研究表明，抑制肾组织中 NLRP3 炎性小体的活化可降低肾脏炎症反应，减少免疫细胞募集，抑制纤维化^[25]。本研究结果显示，UUO 大鼠肾组织 TLR4、p-NF-κB/NF-κB、NLRP3 表达升高；经柴胡皂苷 B2 干预后，大鼠肾组织 TLR4、p-NF-κB/NF-κB、NLRP3 表达降低，且呈剂量依赖性，提示柴胡皂苷 B2 能抑制 TLR4/NF-κB/NLRP3 通路激活。

综上所述，柴胡皂苷 B2 可能通过抑制 TLR4/NF-κB/NLRP3 通路，抑制 UUO 大鼠肾小管上皮细胞转分化和炎症反应，缓解肾间质纤维化。但柴胡皂苷 B2 能否通过其他通路改善 UUO 大鼠肾间质纤维化有待进一步研究。此外，还

需进一步探究柴胡皂苷 B2 发挥作用的有效剂量，为其临床应用提供参考。

参考文献：

[1] Li D R, Yu K P, Feng F, *et al.* Hydroxychloroquine alleviates renal interstitial fibrosis by inhibiting the PI3K/Akt signaling pathway [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2022, 610: 154-161.

[2] Zhou Y, Wei M M, Zhang M K, *et al.* Adefovir accumulation in the renal interstitium triggers mast cell degranulation and promotes renal interstitial fibrosis [J]. *Toxicol Lett*, 2022, 359: 10-21.

[3] 李艺文, 唐志书, 张 珍, 等. 沙棘总黄酮抗单侧输尿管梗阻大鼠肾脏纤维化作用及机制 [J]. 中南药学, 2021, 19 (5): 845-850.

[4] Sui C, Han W J, Zhu C R, *et al.* Recent progress in saikosaponin biosynthesis in *Bupleurum* [J]. *Curr Pharm Biotechnol*, 2021, 22 (3): 329-340.

[5] Ren D D, Luo J, Li Y X, *et al.* Saikosaponin B2 attenuates kidney fibrosis *via* inhibiting the hedgehog pathway [J]. *Phytomedicine*, 2020, 67: 153163.

[6] Luo M, Yan D S, Sun Q S, *et al.* Ginsenoside Rg1 attenuates cardiomyocyte apoptosis and inflammation *via* the TLR4/NF- κ B/NLRP3 pathway [J]. *J Cell Biochem*, 2020, 121 (4): 2994-3004.

[7] Zhu J X, Yang H Y, Hu W Q, *et al.* Active components from *Lagotis brachystachya* maintain uric acid homeostasis by inhibiting renal TLR4-NLRP3 signaling in hyperuricemic mice [J]. *Inflammopharmacology*, 2021, 29 (4): 1187-1200.

[8] Cai B S, Zhao J, Zhang Y L, *et al.* USP5 attenuates NLRP3 inflammasome activation by promoting autophagic degradation of NLRP3 [J]. *Autophagy*, 2022, 18 (5): 990-1004.

[9] 刘春燕, 梁承谦, 谷依红, 等. 金匱肾气汤对单侧输尿管梗阻大鼠肾纤维化缺氧的影响及作用机制 [J]. 北京中医药大学学报, 2019, 42 (9): 753-759.

[10] 余莉萍, 余淑菁, 李旭成, 等. 柴胡皂苷 B2 对 LPS 诱导的脓毒症肺损伤氧化应激和炎症反应的影响研究 [J]. 中国中医急症, 2022, 31 (5): 773-776.

[11] 刘 丽, 黄燕萍, 刘海玲, 等. 吡咯烷二硫代氨基甲酸酯通过抑制核因子- κ B 信号通路改善 UUO 模型大鼠肾纤维化 [J]. 宁夏医科大学学报, 2020, 42 (8): 765-769.

[12] Jiang Z H, Tang Y Z, Song H N, *et al.* miRNA-342 suppresses renal interstitial fibrosis in diabetic nephropathy by targeting SOX6 [J]. *Int J Mol Med*, 2020, 45 (1): 45-52.

[13] 有 曼, 李瑞芳, 高子涵, 等. 柴胡皂苷 b2 对 LPS/GalN 诱导的小鼠急性肝损伤炎症和能量代谢的影响 [J]. 中国中药杂志, 2019, 44 (14): 2966-2971.

[14] Ma Q, Gao F F, He X, *et al.* Antitumor effects of saikosaponin b2 on breast cancer cell proliferation and migration [J]. *Mol Med Rep*, 2019, 20 (2): 1943-1951.

[15] Canever H, Carollo P S, Fleurisson R, *et al.* Molecular tension microscopy of E-cadherin during epithelial-mesenchymal transition [J]. *Methods Mol Biol*, 2021, 2179: 289-299.

[16] 沈金峰, 罗富里, 黄 伟, 等. 肾衰方及其拆方对单侧输尿管梗阻大鼠肾组织 PAI-1、E-cadherin 表达的影响 [J]. 中华中医药杂志, 2020, 35 (4): 1980-1984.

[17] Liu R G, Wang Q Q, Ding Z Y, *et al.* Silibinin augments the antifibrotic effect of valsartan through inactivation of TGF- β 1 signaling in kidney [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2020, 14: 603-611.

[18] Gwon M G, An H J, Gu H, *et al.* Apamin inhibits renal fibrosis *via* suppressing TGF- β 1 and STAT3 signaling *in vivo* and *in vitro* [J]. *J Mol Med (Berl)*, 2021, 99 (9): 1265-1277.

[19] Wang H, Jiang Q T, Zhang L Z. Baicalin protects against renal interstitial fibrosis in mice by inhibiting the TGF- β /Smad signalling pathway [J]. *Pharm Biol*, 2022, 60 (1): 1407-1416.

[20] Potier L, Mohammadi K, Saulnier P J, *et al.* Plasma adrenomedullin, allelic variations in the ADM gene, and risk for lower-limb amputation in people with type 2 diabetes [J]. *Diabetes Care*, 2022, 45 (7): 1631-1639.

[21] 李 冰, 韩 琳, 韩佳丽, 等. 通络益肾方对单侧输尿管结扎大鼠肾纤维化及肾上腺髓质素表达的影响 [J]. 世界中医药, 2021, 16 (20): 3018-3022.

[22] Chen Y J, Weng W C, Zhang H Y, *et al.* Combination therapy with artemether and enalapril improves type 1 diabetic nephropathy through enhancing antioxidant defense [J]. *Am J Transl Res*, 2022, 14 (1): 211-222.

[23] Yang F M, Fan D, Yang X Q, *et al.* The artemisinin analog SM934 alleviates dry eye disease in rodent models by regulating TLR4/NF- κ B/NLRP3 signaling [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2021, 42 (4): 593-603.

[24] Zhao J H, Zhang L, Liu Y, *et al.* Effect of Shexiang Baoxin pill () in alleviating early hypertensive renal injury in rats [J]. *Chin J Integr Med*, 2021, 27 (1): 47-53.

[25] Hsu W H, Hua K F, Tuan L H, *et al.* Compound K inhibits priming and mitochondria-associated activating signals of NLRP3 inflammasome in renal tubulointerstitial lesions [J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2020, 35 (1): 74-85.