

[药 理]

基于 TLR4/MAPK 信号通路探讨健脾滋肾方对 MRL/lpr 小鼠肾损害的改善作用

汤忠富¹, 黄传兵^{1,2*}, 程丽丽¹, 李 明^{1,2}
(1. 安徽中医药大学第一附属医院, 安徽 合肥 230031; 2. 新安医学与中医药现代化研究所, 安徽 合肥 230012)

摘要: **目的** 探讨健脾滋肾方对系统性红斑狼疮 (SLE) 小鼠肾损害的作用。**方法** 将 40 只 MRL/lpr 小鼠随机分成模型组、泼尼松组 (5 mg/kg) 和健脾滋肾方低、中、高剂量组 (13、26、52 g/kg), 每组 8 只; 另取 8 只 C57BL/6 小鼠作为对照组。对照组和模型组灌胃予以生理盐水, 各组均持续干预 8 周。采用苏木素-伊红 (HE)、过碘酸-雪夫 (PAS)、马松三色 (Masson) 染色观察肾组织病理变化; 透射电镜观察肾脏超微结构, 并计算肾小球评分、血管壁周围评分和足突融合率; 免疫荧光检测肾脏免疫球蛋白 G (IgG)、补体 3 (C3) 表达; Western blot、免疫组化和 RT-qPCR 法分别检测 TLR4/MAPK 通路相关指标 [TLR4、p38 丝裂原活化蛋白激酶 (p38)、c-Jun 氨基末端激酶 (JNK)、细胞外信号调节激酶 1 (ERK1)、激活蛋白 1 (AP-1)] 蛋白和 mRNA 表达。**结果** 与对照组比较, 模型组小鼠肾脏损害程度严重, IgG 和 C3 沉积明显, 肾小球评分、血管壁周围评分和足突融合率均升高 ($P<0.01$), TLR4、p38、JNK、ERK1、AP-1 蛋白和 mRNA 表达升高 ($P<0.01$); 与模型组比较, 健脾滋肾方各剂量组及泼尼松组小鼠肾脏病理改变减轻, 肾小球评分、血管壁周围评分和足突融合率均降低 ($P<0.01$), IgG 和 C3 沉积减轻 ($P<0.01$), TLR4、p38、JNK、ERK1、AP-1 蛋白和 mRNA 表达降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)。**结论** 健脾滋肾方可能通过抑制 TLR4/MAPK 通路, 调节免疫紊乱, 减轻免疫复合物沉积, 从而改善 SLE 肾损害。

关键词: 健脾滋肾方; 系统性红斑狼疮; 肾损害; MRL/lpr 小鼠; 免疫复合物

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1001-1528(2026)08-2552-09

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2026.08.008

Effect of Jianpi Zishen Decoction on renal damage in MRL/lpr mice based on the TLR4/MAPK signaling pathway

TANG Zhong-fu¹, HUANG Chuan-bing^{1,2*}, CHENG Li-li¹, LI Ming^{1,2}

(1. The First Affiliated Hospital of Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230031, China; 2. Institute of Xin'an Medicine and Modernization of Traditional Chinese Medicine, Hefei 230012, China)

ABSTRACT: **AIM** To investigate the effects of Jianpi Zishen Decoction (JZD) on renal damage in mice with systemic lupus erythematosus (SLE). **METHODS** Forty MRL/lpr mice were randomly divided into model group, prednisone group (5 mg/kg), and JZD low-, medium- and high-dose (13, 26, 52 g/kg) groups, with 8 in each group. Eight C57BL/6 mice served as the normal control group. Mice in the control and model groups received normal saline by intragastric gavage. All interventions were administered continuously for 8 weeks. The pathological changes of the kidney tissues were observed using hematoxylin-eosin (HE), periodic acid-Schiff (PAS), and Masson staining. The ultrastructure of the kidney was observed under transmission electron microscopy, and the glomerular score, vascular wall surrounding score, and foot process fusion rate were

收稿日期: 2025-08-13

基金项目: 国家自然科学基金项目 (82104782); 安徽省临床医学研究转化专项项目 (202304295107020114, 202304295107020115); 大健康研究院新安医学与中医药现代化研究所专项资金 (2023CXMMTCM004, 2023CXMMTCM015)

作者简介: 汤忠富 (1997—), 男, 博士, 住院医师, 从事中医药治疗风湿免疫疾病的研究。E-mail: 2835192721@qq.com

* 通信作者: 黄传兵 (1971—), 男, 博士, 主任医师, 博士生导师, 从事中医药治疗风湿免疫疾病的研究。E-mail: chuanbinh@163.com

calculated. The expressions of immunoglobulin G (IgG) and complement 3 (C3) in the kidneys were detected by immunofluorescence. Western blot, immunohistochemistry and RT-qPCR were used to detect the protein and mRNA expressions of TLR4/MAPK pathway-related indicators [TLR4, p38 mitogen-activated protein kinase (p38), c-Jun N-terminal kinase (JNK), extracellular signal-regulated kinase 1 (ERK1), activating protein 1 (AP-1)].

RESULTS Compared with the control group, the MRL/lpr group showed more severe kidney damage, with significant IgG and C3 deposition, increased glomerular score, perivascular score, and foot process fusion rate ($P<0.01$), and elevated protein and mRNA expressions of TLR4, p38, JNK, ERK1, AP-1 ($P<0.01$). Compared with the MRL/lpr group, all dosage groups of JZD and the prednisone group showed reduced renal pathological changes, significantly lower glomerular score, perivascular score, and foot process fusion rate ($P<0.01$), reduced IgG and C3 deposition ($P<0.01$), and decreased protein and mRNA expressions of TLR4, p38, JNK, ERK1, AP-1 ($P<0.05$, $P<0.01$).

CONCLUSION JZD may improve SLE kidney damage by inhibiting the TLR4/MAPK pathway, regulating immune disorders, and reducing immune complex deposition.

KEY WORDS: Jianpi Zishen Decoction; systemic lupus erythematosus; renal damage; MRL/lpr mice; immune complexes

系统性红斑狼疮 (systemic lupus erythematosus, SLE) 是一种慢性自身免疫性疾病, 其中肾脏受累是导致患者预后不良的主要原因^[1]。在 SLE 中, 免疫复合物沉积于肾小球基底膜, 激活补体系统和局部炎症反应, 引起肾小球肾炎, 导致肾损害^[2]。调查显示, 我国城市 SLE 患病率为 (41.77 ~ 53.83) /10 万, 女性患病率是男性的 5.27 倍^[3]。约 50% 的 SLE 患者出现肾脏受累, 进展为狼疮性肾炎, 也有可能导致终末期肾病^[4], 这也是 SLE 致残致死的主要诱因^[5]。既往研究发现, Toll 样受体 4 (toll-like receptor 4, TLR4) /丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 通路在 SLE 相关的肾损害中扮演着核心角色, 是连接先天免疫激活、炎症反应与肾脏损伤的关键分子桥梁^[6]。

目前临床证据表明, 中医药在调节 SLE 免疫稳态方面具有“多成分、多靶点”协同作用的独特优势^[7-8]。一项纳入 10 462 例 SLE 回顾性研究结果显示, 中医药与常规治疗结合可显著降低蛋白尿和死亡风险^[9]。健脾滋肾方广泛应用于 SLE 患者蛋白尿、血尿等症状。前期研究证实, 健脾滋肾方具有改善 SLE 免疫功能和保护肾脏的作用^[10-11]。但健脾滋肾方具体的作用机制尚不明确。MRL/lpr 小鼠是研究 SLE 的经典自发动物模型^[12]。课题组前期研究发现, 健脾滋肾方可调控 TLR4 通路介导足细胞自噬, 改善 SLE 肾损害^[13]。因此, 本研究基于 TLR4/MAPK 信号通路探讨健脾滋肾方改善 MRL/lpr 小鼠肾损害的可能作用机制, 为临床治疗 SLE 提供有效的理论依据。

1 材料

1.1 实验动物 雌性 MRL/lpr 小鼠和 C57BL/6 小鼠, 7 周龄, 体质量 18 ~ 22 g, 均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], 饲养在合肥综合性国家科学中心人工智能研究院动物实验平台 SPF 级条件, 饲养温度 (25±2)℃, 相对湿度 (50±10)%, 自由饮水和食物, 保持 12 h 光照。本实验通过安徽中医药大学动物伦理委员会审核批准 (伦理批号 AHUCM-mouse-2022130)。

1.2 药物 健脾滋肾方由黄芪 (批号 240823) 15 g、熟地黄 (批号 240712) 10 g、茯苓 (批号 240914) 10 g、白术 (批号 240417) 10 g、山药 (批号 240515) 10 g、菟丝子 (批号 240712) 15 g、覆盆子 (批号 240902) 10 g、金樱子 (批号 240825) 10 g 组成, 饮片由安徽普仁中药饮片有限公司生产, 购自安徽中医药大学第一附属医院中药房。先加入药材 8 倍体积的蒸馏水, 浸泡, 煎煮 30 min, 过滤药液, 再加入药材 5 倍体积的蒸馏水, 继续煎煮 30 min, 过滤药液, 合并 2 次滤液, 浓缩成生药量 1.8 g/mL 的药液, 4℃ 保存备用。泼尼松 (批号 20240318) 购自津药药业股份有限公司。

1.3 试剂 苏木素染液、醇溶伊红染液、PAS 染色试剂盒 (批号 10222410、11132415、11272408) 均购自西安齐岳生物科技有限公司; 双标三色多重免疫荧光试剂盒 (批号 D1003plus-03RM) 购自安徽中抗生物有限公司; 免疫球蛋白 G (IgG)、补体 3 (C3) 抗体 (批号 22228-1-AP、30000-0-AP) 均购自武汉三鹰生物科技有限公司; TRIzol 试剂 (批

号 99939401) 购自美国 Life Technologies 公司; 反转录试剂盒 (批号 ANG0818A) 购自日本 TaKaRa 公司; TLR4、p38、c-Jun 氨基末端激酶 (JNK)、细胞外信号调节激酶 1 (ERK1)、激活蛋白 1(AP-1) 抗体 (批号 AF19201162、AH10520134、AD19870462、AG19287106、AG18207920) 均购自北京博奥森生物技术有限公司; GAPDH 抗体 (批号 230040220) 购自中生北控生物科技股份有限公司。

1.4 仪器 ZT-12M 型生物组织自动脱水机、YB-7LF 型生物组织包埋机 (湖北亚光生物科技有限公司); CX41 型显微镜 (日本 Olympus 公司); Talos F200X 型透射电子显微镜、PIKOREAL 96 型荧光定量 PCR 仪 (美国 Thermo Fisher Scientific 公司); JW-3021HR 型高速台式冷冻离心机 (安徽嘉文仪器装备有限公司); EPS300 型电泳仪 (上海天能科技有限公司)。

2 方法

2.1 分组及给药 将 40 只 MRL/lpr 小鼠随机分成模型组、泼尼松组和健脾滋肾方低、中、高剂量组, 每组 8 只。另取 8 只 C57BL/6 小鼠作为对照组。健脾滋肾方临床推荐剂量为 70 kg 成年人每天 100 g, 根据小鼠与人体表面积计算出小鼠的等效剂量为 13 g/kg。泼尼松组灌胃予以 5 mg/kg 泼尼松混悬液, 健脾滋肾方低、中、高剂量组分别灌胃予以 13、26、52 g/kg 健脾滋肾方药液, 对照组和模型组灌胃予以等体积生理盐水, 每天 1 次, 持续 8 周。在干预期间, 收集小鼠尿液并称定体质量。干预结束后, 摘眼球取血, 收集血液后, 处死小鼠, 并迅速收取小鼠肾脏。

2.2 HE、PAS 染色、Masson 染色观察肾组织病理变化并计算肾小球和血管壁周围评分 肾组织于 4% 多聚甲醛中固定 48 h 后用流水冲洗, 乙醇脱水, 二甲苯透明, 石蜡包埋, 切片, 脱蜡, 分别进行苏木素-伊红 (HE)、过碘酸-雪夫 (PAS) 染色、马松三色 (Masson) 染色, 在光学显微镜下进行观察和记录。从系膜增生、内皮下细胞增生、节段性硬化、新月体形成和肾小管萎缩/间质纤维化方面进行评分, 计算肾小球评分^[14]。从炎症细胞浸润、纤维化方面进行评分, 以无、轻度、中度、重度分别计为 0、1、2、3 分, 计算血管壁周围评分^[15]。

2.3 透射电镜观察肾组织超微结构 将肾组织进行一次固定 (2.5% 戊二醛)、二次固定 (1% 四氧化锇溶液)、梯度乙醇脱水、树脂渗透、包埋, 制

备超薄切片。用醋酸铀酰水溶液染色 30 min, 枸橼酸铅染色 5 min, 后用蒸馏水彻底漂洗, 避免染色剂结晶, 通过透射电镜观察超微结构并记录。计算足突融合率^[16], 公式为足突融合率 = [融合足突数量 / (正常足突数量 + 融合足突数量)] × 100%。足突融合率越高, 肾小球足细胞损伤越严重。

2.4 免疫荧光染色检测肾组织 IgG 和 C3 沉积情况 肾组织切片放入二甲苯中进行脱蜡, 后进行抗原修复, 加入 0.3% Triton X-100, 室温透化与封闭, 滴加一抗 IgG 抗体 (1 : 500)、抗体 C3 (1 : 200) 37 ℃ 孵育 60 min, 滴加 HRP 标记的二抗 37 ℃ 孵育 30 min, 滴加 TSA 荧光染料室温避光孵育 10 min, 滴加适量 DAPI 染液复染切片, 室温孵育 5 min, 用抗荧光淬灭封片剂封片, 在荧光显微镜下观察并采集图像。

2.5 免疫组化法检测肾组织 TLR4、p38 和 JNK 阳性表达情况 肾组织切片放入 3% H₂O₂ 中室温孵育 10 min, 滴加 5% BSA 封闭, 滴加一抗 TLR4 抗体 (1 : 200)、p38 抗体 (1 : 200)、JNK 抗体 (1 : 100) 37 ℃ 孵育 60 min, 滴加 HRP 标记的 IgG 二抗 37 ℃ 孵育 30 min, 滴加 DAB 显色液, 苏木素复染 2 min, 中性树胶封片, 在显微镜下观察结果。

2.6 RT-qPCR 法检测肾组织 TLR4/MAPK 通路相关指标 mRNA 表达 肾组织加液氮研磨成粉末状, 加入 TRIzol 裂解, 进行分层和 RNA 沉淀, 完成 RNA 提取。进行 RT 反应, 反应程序为 65 ℃ 5 min (RNA 变性), 冷却 2 min, 42 ℃ 30 min (逆转录), 70 ℃ 5 min (灭活酶), 获取 cDNA, 于 -80 ℃ 保存备用。利用 PCR 仪进行 RT-qPCR 反应, mRNA 相对表达量使用 2^{-ΔΔCT} 法进行计算, 以 GAPDH 作为内参。引物均由安徽欣乐生物科技公司合成, 序列见表 1。

表 1 引物序列

Tab. 1 Primer sequences

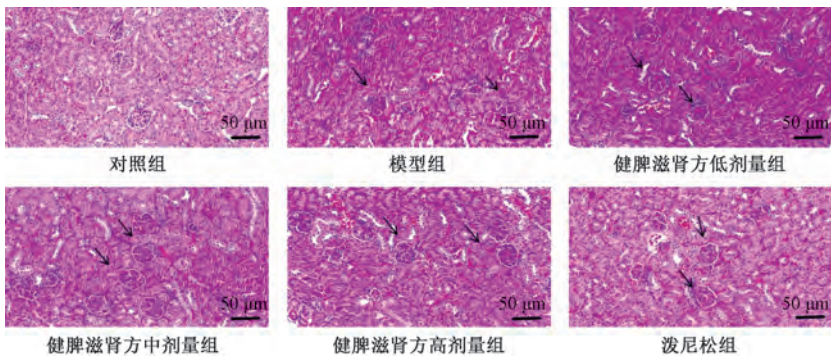
基因	序列 (5'→3')	产物长度/bp
TLR4	正向 GCCACATGTCAGGCCTTATG	123
	反向 TTGGTTGAAATGCCACCTG	
p38	正向 CTCATTAACAGGATGCCAAGC	173
	反向 CTTGGGCCGCTGTAATTCTC	
JNK	正向 GGCAGCGTCTCTGTTACTCA	20
	反向 CAGCGAACGGCAACAGAAAA	
AP-1	正向 GCTGAGCCTACAGATGAACT	173
	反向 GGCAGGATACCCAAACAAAC	
ERK1	正向 TCAACACCACCTGCGACCT	22
	反向 CGTAGCCACCTGCGACCT	
GAPDH	正向 TTCCACCCATGGCAAATTCC	169
	反向 ATCTCGCTCTGGAAGATGG	

2.7 Western blot 法检测肾组织 TLR4/MAPK 通路相关蛋白表达 肾组织加 RIPA 裂解液进行裂解, 12 000 r/min 离心 15 min 后得到组织总蛋白。加入 5×SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液, 沸水浴加热 15 min 进行变性, 蛋白样品放入 SDS-PAGE 凝胶加样孔内, 电泳, 转膜, 加一抗 TLR4 (1 : 1 500)、p38 (1 : 2 000)、JNK (1 : 2 500)、ERK1 (1 : 2 000) AP-1 (1 : 1 500) 及 GAPDH (1 : 2 000) 4 ℃ 缓慢摇动孵育过夜, TBST 漂洗 3 次, 加入 HRP 标记的二抗 (1 : 20 000) 室温孵育 2 h, 使用 ECL 发光试剂盒进行显影, 通过化学发光成像系统拍照留存, 使用 Image J 软件进行灰度分析。

2.8 统计学分析 采用 GraphPad Prism 9.0 软件进行处理, 计量资料以均数±标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间比较符合正态分布的采用单因素方差分析, 不符合正态分布的采用非参数检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

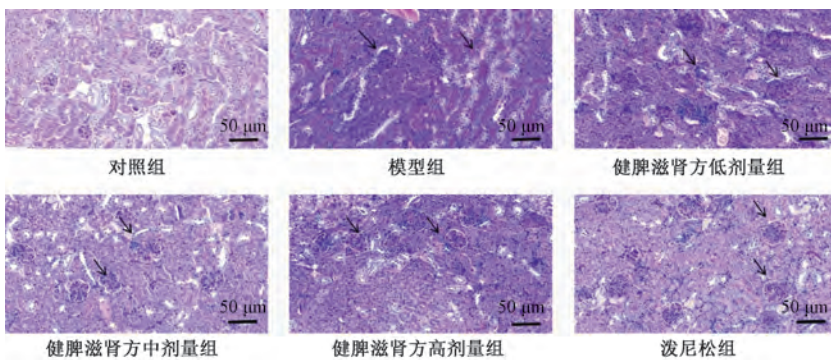
3.1 健脾滋肾方对 MRL/lpr 小鼠肾组织病理变化



注：黑色箭头表示肾小球系膜增生或毛细血管内细胞增多。

图 1 各组小鼠肾组织 HE 染色 (×400)

Fig. 1 HE staining of kidney tissue of mice in each group (×400)



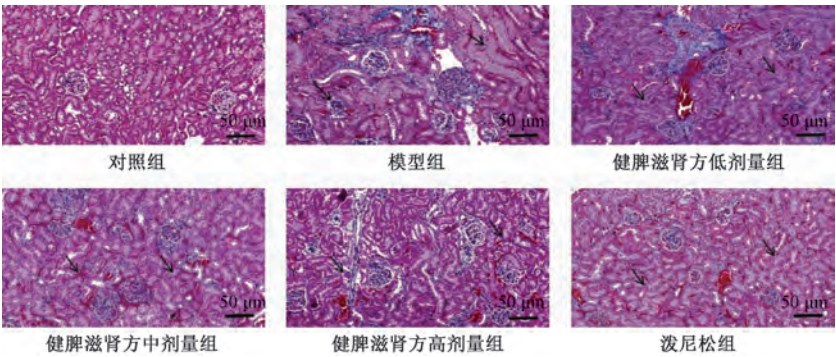
注：黑色箭头指示新月体或基底膜增厚。

图 2 各组小鼠肾组织 PAS 染色 (×400)

Fig. 2 PAS staining in renal tissue of mice in each group (×400)

的影响 HE 染色显示, 模型组出现明显的毛细血管内细胞增生和系膜增生, 基底膜增厚, 伴有淋巴细胞大量浸润; 而健脾滋肾方各剂量组和泼尼松组细胞增生、系膜增厚较模型组减轻, 淋巴细胞浸润减少, 见图 1。PAS 染色显示, 模型组出现明显的基底膜增厚和较多新月体的形成; 而健脾滋肾方各剂量组和泼尼松组基底膜增厚较模型组减轻, 新月体分布减少, 见图 2。Masson 染色显示, 模型组肾小球毛细血管腔出现明显的纤维化样表现, 基底膜增厚明显, 部分出现球性硬化; 而健脾滋肾方各剂量组和泼尼松组纤维化情况较模型组减轻, 泼尼松组纤维化情况最轻, 见图 3。

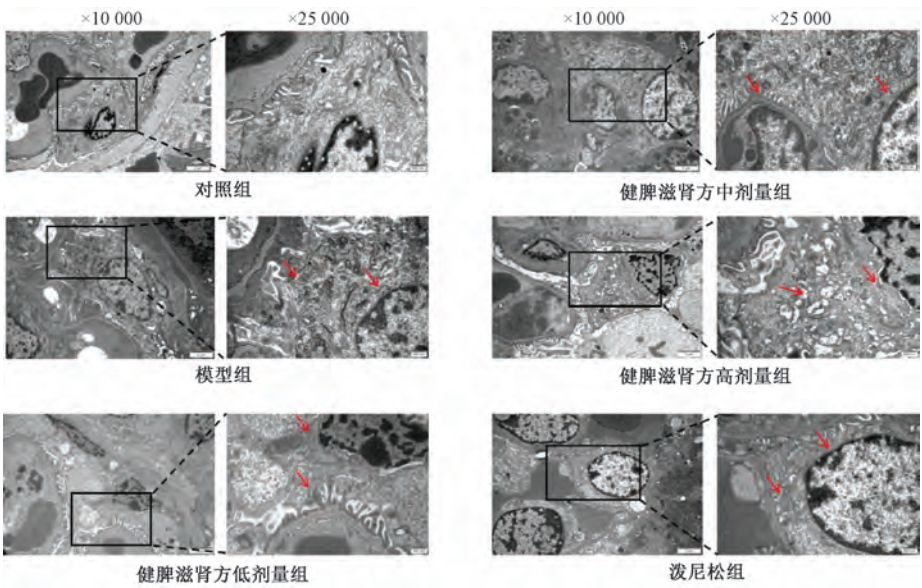
3.2 健脾滋肾方对 MRL/lpr 小鼠肾组织超微结构的影响 透射电镜结果显示, 对照组肾小球系膜细胞呈多突起的星形, 各突起长短不等, 可见密斑和密体的结构; 模型组肾小球系膜区可见电子致密物的沉积, 伴随着系膜细胞增生和基质增多; 而健脾滋肾方各剂量组和泼尼松组肾小球系膜区电子致密物沉积和系膜细胞增生较模型组减轻, 见图 4。



注：黑色箭头指示毛细血管腔纤维化或基底膜增厚。

图 3 各组小鼠肾组织 Masson 染色 (×400)

Fig. 3 Masson staining of renal tissue of mice in each group (×400)



注：红色箭头指示肾小球免疫复合物沉积或基质增多。

图 4 各组小鼠肾组织超微结构图

Fig. 4 Ultrastructure of renal tissue of mice in each group

3.3 健脾滋肾方对 MRL/lpr 小鼠肾小球评分、血管壁周围评分和足突融合率的影响 如表 2 所示，与对照组比较，模型组肾小球评分、血管壁周围评分和足突融合率升高 ($P<0.01$)；与模型组比较，健脾滋肾方各剂量组和泼尼松组肾小球评分、血管壁周围评分和足突融合率降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)，其中健脾滋肾方中剂量组干预效果与泼尼松组相当。

表 2 各组小鼠肾小球评分、血管壁周围评分和足突融合率比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=8$)

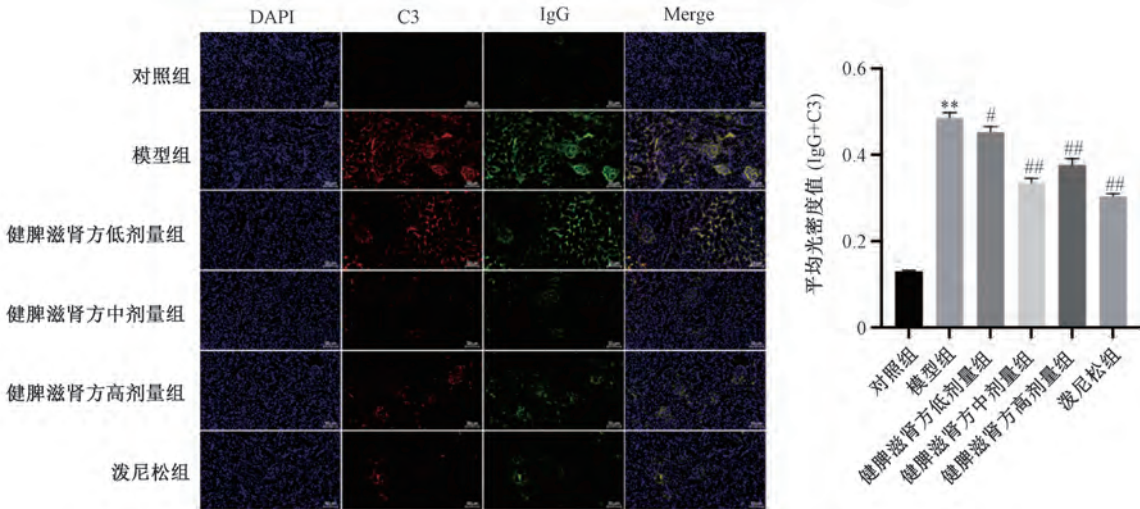
Tab. 2 Comparison of glomerular score, perivascular score and foot process fusion rate of mice in each group($\bar{x}\pm s$, $n=8$)

组别	肾小球评分/分	血管壁周围评分/分	足突融合率/%
对照组	0.26±0.08	0.30±0.06	11.20±2.57
模型组	2.98±0.32**	2.40±0.69**	78.20±5.07**
健脾滋肾方低剂量组	1.86±0.31##	1.60±0.70#	65.30±3.83##
健脾滋肾方中剂量组	1.44±0.19##	1.40±0.52##	48.50±1.90##
健脾滋肾方高剂量组	1.55±0.16##	1.70±0.67#	51.40±3.37##
泼尼松组	1.21±0.20##	1.10±0.57##	45.50±3.89##

注：与对照组比较，** $P<0.01$ ；与模型组比较，# $P<0.05$, ## $P<0.01$ 。

3.4 健脾滋肾方对 MRL/lpr 小鼠肾组织 IgG 和 C3 沉积的影响 如图 5 所示, 对照组肾小球大小正常、轮廓清晰, IgG 和 C3 均无明显沉积; 与对照组比较, 模型组肾小球中见 IgG 呈颗粒状、团块状沿系膜区沉积, C3 大量沿毛细血管壁和系膜区沉

积, IgG 和 C3 沉积增加 ($P<0.01$); 与模型组比较, 健脾滋肾方各剂量组和泼尼松组肾小球形态大小趋于恢复正常, IgG 和 C3 沉积均有不同程度缓解 ($P<0.05$, $P<0.01$)。



注: 与对照组比较, ** $P<0.01$; 与模型组比较, # $P<0.05$, ## $P<0.01$ 。

图 5 各组小鼠肾组织 IgG 和 C3 沉积情况 (×400, $\bar{x}\pm s$, $n=8$)

Fig. 5 Deposition of IgG and C3 in renal tissue of mice in each group (×400, $\bar{x}\pm s$, $n=8$)

3.5 健脾滋肾方对 MRL/lpr 小鼠肾组织 TLR4、p38 和 JNK 阳性表达的影响 如图 6 所示, 与对照组比较, 模型组肾组织 TLR4、p38、JNK 表达增加, 阳性信号主要分布在肾小球系膜区和间质中;

与模型组比较, 健脾滋肾方各剂量组和泼尼松组肾组织 TLR4、p38、JNK 表达减少, 阳性信号分布减少, 其中健脾滋肾方中剂量组表达减少更明显。

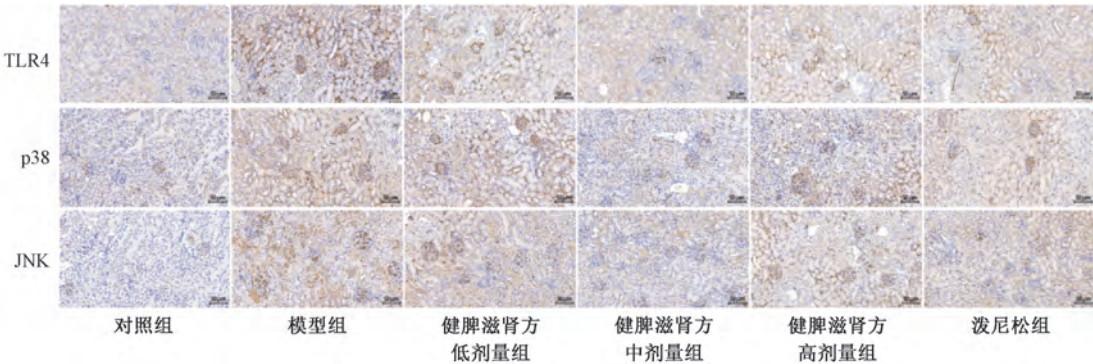


图 6 各组小鼠肾组织 TLR4、p38 和 JNK 蛋白表达比较 (免疫组化, ×400)

Fig. 6 Comparison of TLR4, p38 and JNK protein expressions in renal tissue of mice in each group (Immunohistochemistry, ×400)

3.6 健脾滋肾方对 MRL/lpr 小鼠肾组织 TLR4、p38、JNK、ERK1 和 AP-1 mRNA 表达的影响 如表 3 所示, 与对照组比较, 模型组肾组织 TLR4、p38、JNK、ERK1 和 AP-1 mRNA 表达升高 ($P<$

0.01); 与模型组比较, 健脾滋肾方各剂量组和泼尼松组肾组织 TLR4、p38、JNK、ERK1 和 AP-1 mRNA 表达降低 ($P<0.01$)。

表 3 各组小鼠肾组织 *TLR4*、*p38*、*JNK*、*ERK1* 和 *AP-1* mRNA 表达比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=8$)

Tab. 3 Comparison of mRNA expressions of *TLR4*, *p38*, *JNK*, *ERK1* and *AP-1* in renal tissue of mice in each group ($\bar{x}\pm s$, $n=8$)

组别	<i>TLR4</i>	<i>p38</i>	<i>JNK</i>	<i>ERK1</i>	<i>AP-1</i>
对照组	1.00±0.08	1.01±0.12	1.00±0.03	1.01±0.19	1.00±0.09
模型组	2.89±0.23**	2.68±0.19**	2.70±0.13**	2.70±0.13**	2.23±0.21**
健脾滋肾方低剂量组	2.11±0.13##	2.06±0.08##	2.02±0.06##	2.08±0.22##	1.75±0.11##
健脾滋肾方中剂量组	1.42±0.24##	1.47±0.25##	1.53±0.12##	1.57±0.21##	1.19±0.06##
健脾滋肾方高剂量组	1.55±0.32##	1.65±0.18##	1.57±0.21##	1.56±0.20##	1.32±0.15##
泼尼松组	1.49±0.24##	1.52±0.08##	1.54±0.13##	1.58±0.17##	1.23±0.16##

注：与对照组比较，** $P<0.01$ ；与模型组比较，## $P<0.01$ 。

3.7 健脾滋肾方对 MRL/lpr 小鼠肾组织 *TLR4*、*p38*、*JNK*、*ERK1* 和 *AP-1* 蛋白表达的影响 如图 7、表 4 所示，与对照组比较，模型组肾组织 *TLR4*、*p38*、*JNK*、*ERK1* 和 *AP-1* 蛋白表达升高 ($P<0.01$)；与模型组比较，健脾滋肾方中、高剂量组和泼尼松组肾组织 *TLR4*、*p38*、*JNK*、*ERK1* 和 *AP-1* 蛋白表达降低 ($P<0.01$)。

4 讨论

SLE 是一种异质性和致残率高的疑难病，其病因仍不明确，目前尚无法根治，以控制疾病进展和干预靶器官损害为主^[17]。SLE 引起的肾损害，即狼疮性肾炎，表现为蛋白尿、血尿等症状。现有研

表 4 各组小鼠肾组织 *TLR4*、*p38*、*JNK*、*ERK1* 和 *AP-1* 蛋白表达比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=8$)

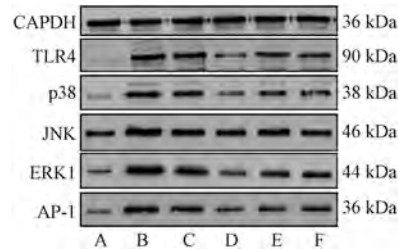
Tab. 4 Comparison of protein expressions of *TLR4*, *p38*, *JNK*, *ERK1* and *AP-1* in renal tissue of mice in each group ($\bar{x}\pm s$, $n=8$)

组别	<i>TLR4</i>	<i>p38</i>	<i>JNK</i>	<i>ERK1</i>	<i>AP-1</i>
对照组	0.14±0.01	0.16±0.03	0.24±0.01	0.23±0.04	0.25±0.07
模型组	0.95±0.06**	0.91±0.08**	0.96±0.08**	1.07±0.05**	1.05±0.03**
健脾滋肾方低剂量组	0.75±0.03##	0.68±0.04#	0.76±0.11	0.90±0.10	0.90±0.11
健脾滋肾方中剂量组	0.35±0.04##	0.31±0.03##	0.42±0.02##	0.40±0.04##	0.55±0.09##
健脾滋肾方高剂量组	0.58±0.06##	0.54±0.01##	0.58±0.03##	0.63±0.03##	0.73±0.10##
泼尼松组	0.46±0.03##	0.44±0.01##	0.48±0.03##	0.47±0.06##	0.65±0.07##

注：与对照组比较，** $P<0.01$ ；与模型组比较，# $P<0.05$ ，## $P<0.01$ 。

究表明，狼疮性肾炎发病与固有免疫异常激活、免疫复合物沉积及下游炎症信号通路过度活化密切相关，而免疫细胞浸润和炎症因子的产生加重肾脏炎症反应^[18-19]。狼疮性肾炎在中医理论中可归属于“阴阳毒”“肾痹”等范畴，其核心病机为“本虚标实”，脾肾亏虚为本，热毒、瘀血、水湿为标^[20]。先天禀赋不足，肾精不足则卫外不固，易感外邪，脾虚失运，脾不统血则致血尿，脾不摄精则致蛋白尿。本课题组基于 SLE “本虚标实”的病机特点，以“健脾运、滋肾精”为治疗原则，

2558



注：A 为对照组，B 为模型组，C~E 分别为健脾滋肾方低、中、高剂量组，F 为泼尼松组。

图 7 各组小鼠肾组织 *TLR4*、*p38*、*JNK*、*ERK1* 和 *AP-1* 蛋白条带图

Fig. 7 Protein bands of *TLR4*, *p38*, *JNK*, *ERK1* and *AP-1* in renal tissue of mice in each group

研创健脾滋肾方。

肾小球评分是用于评估肾小球损伤程度^[21]。血管壁周围评分主要评估肾小动脉和小动脉的内膜增厚、炎症细胞浸润、纤维化等病变^[22]。足突融合是足细胞损伤的重要标志，反映肾小球滤过屏障的功能状态^[23]。本研究结果显示，MRL/lpr 小鼠肾脏损害程度严重，系膜增生，基底膜增厚及较多新月体形成，伴有淋巴细胞大量浸润，肾小球评分、血管壁周围评分和足突融合率升高。健脾滋肾方能改善 MRL/lpr 小鼠肾组织病理学改变，降低

肾小球评分、血管壁周围评分和足突融合率，减轻肾脏 IgG 和 C3 沉积，改善肾损害。

TLR 信号通路异常活化在 SLE 发病机制中发挥核心作用^[24]，其通过识别内源性核酸和免疫复合物，驱动病理性固有免疫激活、I 型干扰素风暴及自身反应性 B 细胞活化，构成 SLE 免疫紊乱的分子基础^[25-26]。TLR4 作为模式识别受体，在 SLE 中通过识别内源性危险信号及病原相关分子模式，驱动病理性固有免疫反应^[27]。研究表明，SLE 患者外周血单核细胞源性巨噬细胞及髓样树突状细胞表面 TLR4 表达显著升高^[28]。在 MRL/lpr 小鼠中，通过抑制 TLR4 表达，可有效控制炎症因子水平^[29]。TLR4 触发一系列下游信号传导，激活 MAPK 家族，进而诱导转录因子入核，介导 AP-1 的表达，加快促炎因子分泌，形成持续性炎症级联反应^[30]。p38 MAPK 通过增强 TGF-β1 对成纤维细胞的促纤维化效应，促进纤维连接蛋白的合成，加速肾间质纤维化^[31]。JNK 通过磷酸化 c-Jun 上调足细胞中 nephrin 蛋白酶表达，破坏裂孔隔膜结构，导致蛋白尿^[32]。

本研究结果显示，健脾滋肾方干预可降低 TLR4、p38、JNK、ERK1、AP-1 mRNA 和蛋白表达。TLR4 作为重要的模式识别受体，能识别病原体相关分子模式。当 TLR4 识别脂多糖后，通过激活 MAPK 通路，促使细胞释放炎症因子，介导机体的炎症反应^[33]。既往研究已证实 TLR4 在肾脏中的过度活化，加重炎症反应，诱导肾小球肾炎，与狼疮性肾炎的发生发展密切相关^[34]。MAPK 家族包括 ERK1/2、p38 MAPK 和 JNK，可驱动炎症反应、系膜细胞损伤及纤维化进程，是狼疮性肾炎病理进展的核心枢纽。p38 MAPK 通过诱导氧化应激导致足细胞线粒体功能障碍和凋亡，进一步加重蛋白尿^[35]。ERK1/2 还促进系膜细胞增殖和纤维化相关基因的表达。有研究报道，冬虫夏草蛋白可通过抑制 TLR4/MYD88/MAPK 通路，介导 Th1 细胞分化，减轻 MRL/lpr 小鼠肾损害程度^[36]。双氢青蒿素可通过 MAPK 通路调节巨噬细胞 M1/M2 平衡，减轻 SLE 肾损害^[37]。

综上所述，健脾滋肾方可能通过抑制 TLR4/MAPK 通路，减少肾脏免疫复合物沉积，从而改善 SLE 肾损害程度。

利益冲突：所有作者声明不存在利益冲突。

参考文献：

[1] Askanase A D, Furie R A, Dall' era M, *et al.* Disease-modifying therapies in systemic lupus erythematosus for extrarenal manifestations[J]. *Lupus Sci Med*, 2024, 11(1): e001124.

[2] Roveta A, Parodi E L, Brezzi B, *et al.* Lupus nephritis from pathogenesis to new therapies; an update[J]. *Int J Mol Sci*, 2024, 25(16): 8981.

[3] Li M, Li C, Cao M, *et al.* Incidence and prevalence of systemic lupus erythematosus in urban China, 2013-2017: A nationwide population-based study[J]. *Sci Bull (Beijing)*, 2024, 69(19): 3089-3097.

[4] Perge B, Papp G, Bói B, *et al.* Prognostic factors of the progression of chronic kidney disease and the development of end-stage renal disease in patients with lupus nephritis: a retrospective cohort study[J]. *J Clin Med*, 2025, 14(3): 665.

[5] Kumar V, Chandra Y, Khan S, *et al.* Challenges of managing lupus nephritis in an emerging nephrology centre: A Fijian cohort study[J]. *Nephrology (Carlton)*, 2025, 30(3): e70012.

[6] Ma K, Li J, Wang X, *et al.* TLR4⁺CXCR4⁺ plasma cells drive nephritis development in systemic lupus erythematosus[J]. *Ann Rheum Dis*, 2018, 77(10): 1498-1506.

[7] Dou L L, Zhang X Y, Liu D, *et al.* Role of traditional Chinese medicine for the treatment of lupus nephritis; mechanisms and applications[J]. *Altern Ther Health Med*, 2024, 30(6): 154-165.

[8] Liu L, Zhang L, Li M. Application of herbal traditional Chinese medicine in the treatment of lupus nephritis[J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 981063.

[9] Wei C Y, Chu C H, Shen H S, *et al.* Traditional Chinese medicine in synergy with conventional therapy improves renal outcomes and provides survival benefit in patients with systemic lupus erythematosus: a cohort study from the largest health care system in Taiwan[J]. *Curr Med Res Opin*, 2025, 41(3): 559-567.

[10] 陈君洁, 黄传兵, 李 明. 健脾滋肾方抑制系统性红斑狼疮患者的足细胞自噬: 基于网络药理学和临床研究[J]. 南方医科大学学报, 2024, 44(3): 465-473.

[11] Shang S, Li M, Jiang H, *et al.* The protective effects of qihuang jianpi zishen decoction on mrl/lpr mice and its mechanism[J]. *Pak J Pharm Sci*, 2022, 35(6): 1627-1635.

[12] Reynolds J A, Li Y, Herlitz L, *et al.* Novel biomarker discovery through comprehensive proteomic analysis of lupus mouse serum[J]. *J Autoimmun*, 2024, 142: 103134.

[13] 朱雅文. 基于 TLR4/NF-κB 通路探讨芪黄健脾滋肾颗粒对系统性红斑狼疮肾足细胞自噬的机制研究[D]. 合肥: 安徽中医药大学, 2025.

[14] Tefan G, Stancu S, Zugravu A, *et al.* Towards a simplified renal histopathological prognostic score in glomerular nephropathies[J]. *Histopathology*, 2020, 77(6): 926-935.

[15] Chen Y P, Cheng H, Rui H L, *et al.* Cryoglobulinemic vasculitis

and glomerulonephritis; concerns in clinical practice[J]. *Chin Med J (Engl)*, 2019, 132(14): 1723-1732.

[16] Matsumoto A, Matsui I, Katsuma Y, *et al.* Quantitative analyses of foot processes, mitochondria, and basement membranes by structured illumination microscopy using elastica-masson- and periodic-acid-Schiff-stained kidney sections[J]. *Kidney Int Rep*, 2021, 6(7): 1923-1938.

[17] Lazar S, Kahlenberg J M. Systemic lupus erythematosus; new diagnostic and therapeutic approaches[J]. *Annu Rev Med*, 2023, 74: 339-352.

[18] Bhargava R, Li H, Tsokos G C. Pathogenesis of lupus nephritis; the contribution of immune and kidney resident cells[J]. *Curr Opin Rheumatol*, 2023, 35(2): 107-116.

[19] Chernova I. Lupus nephritis; immune cells and the kidney microenvironment[J]. *Kidney360*, 2024, 5(9): 1394-1401.

[20] 尚双双, 李 明, 黄传兵. 健脾滋肾法治疗系统性红斑狼疮的理论探源[J]. *中国中医基础医学杂志*, 2023, 29(4): 663-665.

[21] Haas M. Towards harmony in defining and reporting glomerular diseases on kidney biopsy[J]. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 2021, 30(3): 280-286.

[22] 林爱桃, 黄志敏, 张知英, 等. miRNA-155-5P 靶向调控 SOCS1 调节 JAK2/STAT3 信号通路对狼疮性肾炎肾脏损伤的影响[J]. *实用医学杂志*, 2025, 41(9): 1285-1292.

[23] Haas M. Podocyte injury as a potential therapeutic target in IgA nephropathy; should pathology guide us? [J]. *Kidney Int*, 2024, 105(6): 1165-1167.

[24] Bao Y, Lian M, Chen Y, *et al.* sNASP mutation aggravates to the TLR4-mediated inflammation in SLE by TAK1 pathway[J]. *J Immunol Res*, 2023, 2023: 4877700.

[25] Dörner T, Lipsky P E. The essential roles of memory B cells in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus[J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2024, 20(12): 770-782.

[26] Lau L, Cariaga T A, Chang A B, *et al.* An essential role for TASL in mouse autoimmune pathogenesis and Toll-like receptor signaling[J]. *Nat Commun*, 2025, 16(1): 968.

[27] Hsieh Y T, Chen Y C, Chou Y C, *et al.* Long noncoding RNA SNHG16 regulates TLR4-mediated autophagy and NETosis formation in alveolar hemorrhage associated with systemic lupus erythematosus[J]. *J Biomed Sci*, 2023, 30(1): 78.

[28] Xiao Y, Gao Y, Hu Y, *et al.* FASN contributes to the pathogenesis of lupus by promoting TLR-mediated activation of macrophages and dendritic cells[J]. *Int Immunopharmacol*, 2024, 142(Pt B): 113136.

[29] Jing L, Zhang X, Liu D, *et al.* ACK1 contributes to the pathogenesis of inflammation and autoimmunity by promoting the activation of TLR signaling pathways[J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 864995.

[30] Lan X, Qi D, Ren H, *et al.* Chicoric acid ameliorates LPS-induced inflammatory injury in bovine lamellar keratinocytes by modulating the TLR4/MAPK/NF-κB signaling pathway[J]. *Sci Rep*, 2023, 13(1): 21963.

[31] Livingston M J, Zhang M, Kwon S H, *et al.* Autophagy activates EGR1 *via* MAPK/ERK to induce FGF2 in renal tubular cells for fibroblast activation and fibrosis during maladaptive kidney repair[J]. *Autophagy*, 2024, 20(5): 1032-1053.

[32] Sun Q, Liu X, Wang M, *et al.* Long noncoding RNA FGD5-AS1 alleviates childhood IgA nephropathy by targeting PTEN-mediated JNK/c-Jun signaling pathway *via* miR-196b-5p [J]. *Exp Cell Res*, 2023, 424(1): 113481.

[33] 李亚兰, 张崇豪, 刘华琛, 等. 干姜通过 TLR4/MAPK 信号通路调控 Ly6Chi 单核/巨噬细胞改善炎症性肠病的作用机制[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2025, 31(20): 66-75.

[34] Qi H, Cao Q, Liu Q. MicroRNA-16 directly binds to DEC2 and inactivates the TLR4 signaling pathway to inhibit lupus nephritis-induced kidney tissue hyperplasia and mesangial cell proliferation[J]. *Int Immunopharmacol*, 2020, 88: 106859.

[35] Woznowski M P, Potthoff S A, Königshausen E, *et al.* Inhibition of p38 MAPK decreases hyperglycemia-induced nephrin endocytosis and attenuates albuminuria[J]. *J Mol Med (Berl)*, 2022, 100(5): 781-795.

[36] Liao Z, Yang X, He L, *et al.* Cordyceps protein alleviates renal injury by inhibiting T cell infiltration and Th1 cell differentiation in lupus nephritis mice[J]. *Int Immunopharmacol*, 2024, 138: 112566.

[37] Chen Y, Tao T, Liang Z, *et al.* Prednisone combined with dihydroartemisinin attenuates systemic lupus erythematosus by regulating M1/M2 balance through the MAPK signaling pathway[J]. *Mol Immunol*, 2024, 170: 144-155.