

contributes to interleukin-6 signalling[J]. *Cell Signal*, 2008, 20(7): 1385-1391.

[25] Megha K B, Mohanan P V. Role of immunoglobulin and antibodies in disease management[J]. *Int J Biol Macromol*, 2021, 169: 28-38.

[26] Lee S Y, Park S Y, Park H J. Immuno-enhancing effects of *Galium aparine* L. in cyclophosphamide-induced immunosuppressed animal models[J]. *Nutrients*, 2024, 16(5): 597.

[27] Chen S, Zeng J, Li R, et al. Traditional Chinese medicine in regulating macrophage polarization in immune response of inflammatory diseases[J]. *J Ethnopharmacol*, 2024, 325: 117838.

山柰素对高尿酸血症肾病小鼠肾损伤的保护作用

李 偏¹, 叶 涛¹, 杜静芳², 姚 瑶², 申 娜^{2*}
(1. 河北工程大学临床医学院, 河北 邯郸 056000; 2. 河北工程大学附属医院, 河北 邯郸 056000)

摘要: **目的** 探究山柰素对高尿酸血症肾病 (HN) 小鼠的保护作用。**方法** 60 只昆明小鼠随机分为对照组、模型组、别嘌醇组 (5 mg/kg)、山柰酚组 (50 mg/kg) 和山柰素低、高剂量组 (25、50 mg/kg), 采用氧嗪酸钾 (300 mg/kg) 联合次黄嘌呤 (500 mg/kg) 建立高尿酸血症肾病小鼠模型, 造模及给药干预 21 d。给药结束后, 检测小鼠血清尿酸 (SUA)、血清肌酐 (SCr)、24 h 尿蛋白 (24 h UTP)、肝脏黄嘌呤氧化酶 (XOD) 水平, HE 染色和 Masson 染色观察肾组织病理变化, TUNEL 染色检测肾组织细胞凋亡情况, 免疫组化法及蛋白质免疫印迹法检测肾组织 NLRP3 炎症小体及凋亡相关蛋白表达。**结果** 与对照组比较, 模型组小鼠 SUA、SCr、24 h UTP、肝脏 XOD 活性升高 ($P<0.01$), 肾组织损伤严重, 肾间质纤维化面积与细胞凋亡率增加 ($P<0.01$), 肾组织 NLRP3、ASC、Caspase-1、cleaved-Caspase-1、pro-IL-1 β 、IL-1 β 、Caspase-3、cleaved-Caspase-3 蛋白表达升高 ($P<0.05$, $P<0.01$)。与模型组比较, 别嘌醇组、山柰酚组、山柰素各剂量组小鼠 SUA、SCr、24 h UTP 及肝脏 XOD 活性降低 ($P<0.05$, $P<0.01$), 肾脏病理损伤改善, 肾间质纤维化面积和肾组织细胞凋亡率降低 ($P<0.01$), 肾组织 NLRP3、ASC、Caspase-1、cleaved-Caspase-1、pro-IL-1 β 、IL-1 β 、Caspase-3、cleaved-Caspase-3 蛋白表达降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)。**结论** 山柰素能有效改善 HN 小鼠肾功能, 减轻肾脏炎症和纤维化, 减少肾组织细胞凋亡, 其机制可能是通过抑制肝脏 XOD 活性减少尿酸合成, 并抑制 NLRP3 炎症小体活化, 从而保护肾损伤。

关键词: 山柰素; 高尿酸血症肾病; NLRP3 炎症小体; 黄嘌呤氧化酶; 细胞凋亡

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2025)10-3256-08

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2025.10.012

Protective effect of kaempferide in a mouse model of hyperuricemic nephropathy

LI Pian¹, YE Tao¹, DU Jing-fang², YAO Yao², SHEN Na^{2*}
(1. School of Clinical Medicine, Hebei University of Engineering, Handan 056000, China; 2. Affiliated Hospital of Hebei Engineering University, Handan 056000, China)

ABSTRACT: AIM To investigate the protective effects of kaempferide on hyperuricemic nephropathy (HN) in mice. **METHODS** Sixty Kunming mice were randomly divided into the control group, the model group, the allopurinol group (5 mg/kg), the kaempferol group (50 mg/kg), and the low-dose and high-dose kaempferide groups (25, 50 mg/kg). HN mouse models were established by administering potassium oxyzinatate (300 mg/kg) and hypoxanthine (500 mg/kg) in combination for 21 days, concurrently with the test drug. Following treatment

收稿日期: 2024-12-06
基金项目: 河北省医学科学研究课题计划 (20250166)
作者简介: 李 偏 (1995—), 女 (回族), 硕士生, 研究方向为高尿酸血症、高尿酸血症肾病的药物治疗。Tel: 13588158794, E-mail: anan128195@163.com
* 通信作者: 申 娜 (1982—), 女, 博士, 主任医师, 硕士生导师, 从事风湿免疫性疾病基础、临床研究。Tel: 18031022697, E-mail: shenna1982@hebeu.edu.cn

administration, serum uric acid (SUA), serum creatinine (SCr), 24-hour urinary protein (24 h UTP), and hepatic xanthine oxidase (XOD) levels were measured. Renal tissue pathology was assessed using HE staining and Masson staining. Apoptosis in renal tissue was evaluated *via* TUNEL staining. The expressions of NLRP3 inflammasome and apoptosis-associated proteins in renal tissues were analyzed by immunohistochemistry and Western blot. **RESULTS** Compared to the control group, the model group demonstrated elevated levels of SUA, SCr, 24 h UTP, and hepatic XOD activity ($P<0.01$); marked renal damage, and increased area of renal interstitial fibrosis and apoptosis rate ($P<0.01$); and increased protein expressions of NLRP3, ASC, Caspase-1, cleaved-Caspase-1, pro-IL-1 β , IL-1 β , Caspase-3 and cleaved-Caspase-3 in renal tissue ($P<0.05$, $P<0.01$). Compared to the model group, the groups treated with allopurinol, kaempferol, or kaempferide showed reduced levels of SUA, SCr, 24 h UTP, and hepatic XOD activity ($P<0.05$, $P<0.01$); improved renal pathological injury with reduced renal interstitial fibrosis area and apoptosis rate of renal tissue ($P<0.01$); and downregulated protein expressions of NLRP3, ASC, Caspase-1, cleaved-Caspase-1, pro-IL-1 β , IL-1 β , Caspase-3 and cleaved-Caspase-3 in renal tissue as well ($P<0.05$, $P<0.01$). **CONCLUSION** Kaempferide improves renal function while attenuating inflammation, fibrosis, and apoptosis in the kidneys of HN mice. This nephroprotective effect may stem from its dual action in inhibiting hepatic XOD to reduce uric acid synthesis and blocking NLRP3 inflammasome activation.

KEY WORDS: kaempferide; hyperuricaemia nephropathy; NLRP3 inflammasome; xanthine oxidase; apoptosis

高尿酸血症是一种慢性代谢性疾病，其患病率逐年增高并呈年轻化趋势，已成为全球公共卫生问题^[1-2]，是慢性肾脏病发生发展的独立危险因素^[3-4]。尿酸钠结晶与可溶性尿酸均能激活 NOD 样受体家族含 pyrin 结构域蛋白 3（NOD-like receptor family, pyrin domain-containing protein 3, NLRP3）炎症小体，诱导白细胞介素（interleukin, IL）-1 β 产生，介导肾脏损伤^[5-6]，并且 NLRP3 炎症小体活化可驱动肾脏局部炎症级联反应及间质纤维化，加速慢性肾脏病的病理进展^[7-8]。黄嘌呤氧化酶（xanthine oxidase, XOD）作为尿酸合成的限速酶，是治疗高尿酸血症的有效靶点^[9]，但临床一线 XOD 抑制剂（如非布司他和别嘌醇）存在显著安全性问题，包括肝功能异常、肾衰竭、Stevens-Johnson 综合征及潜在心血管风险^[10]。

山柰素是天然单甲氧基黄酮类化合物（山柰酚 4'-O-甲基衍生物），主要存在于菝葜和山柰中，具有抗炎^[11]、抗肥胖、降糖^[12]等药理作用。研究表明，山柰酚可降低高尿酸血症小鼠血清尿酸（serum uric acid, SUA）、血清肌酐（serum creatinine, SCr）水平^[13]，但其对高尿酸血症肾病（hyperuricemic nephropathy, HN）的作用及其机制尚未阐明。另外，山柰素可通过抑制氧化应激并诱导自噬，改善顺铂及缺血再灌注诱导的小鼠肾损伤；在体外实验中，它对顺铂诱导的肾损伤保护效应与山柰酚相当^[14]；分子对接与体外筛选证实，

它对 XOD 的抑制能力与低浓度别嘌醇相当^[15]，但山柰素在体内对 HN 的作用及其机制尚不清楚。本研究通过氧嗪酸钾联合次黄嘌呤建立 HN 小鼠模型，评估山柰素对其肾损伤的保护作用。

1 材料

1.1 动物 60 只 SPF 级雄性昆明小鼠，体质量（20 $\pm$ 2）g，购自斯贝福（北京）生物技术有限公司 [实验动物生产许可证号 SCXK（京）2019-0010]，饲养于河北工程大学附属医院中心实验室 [实验动物使用许可证号 SYXK（冀）2023-001]。动物实验经河北工程大学附属医院实验动物伦理委员会批准（伦理编号 IACUC-Hebeu-2023-0037）。

1.2 试剂与药物 别嘌醇、山柰酚（批号 C15476028、C14856795，上海麦克林生化科技股份有限公司）；山柰素（批号 MUST-23122110，成都曼思特生物科技有限公司）。次黄嘌呤（批号 M0330D，大连美仑生物技术有限公司）；羧甲基纤维素钠（CMC-Na）、氧嗪酸钾（批号 2230818001、2231129002，北京索莱宝科技有限公司）；尿酸（UA）、肌酐（CRE）、尿蛋白、黄嘌呤氧化酶（XOD）检测试剂盒（批号 20240407、20240322、20240416、20240409，南京建成生物工程研究所）；一步法 TUNEL 细胞凋亡检测试剂盒（绿色荧光）（批号 061223240312，上海碧云天生物科技股份有限公司）；羊抗兔 IgG-HRP（批号 20000768，武汉三鹰生物技术有限公司）；半胱氨

酸天冬氨酸蛋白酶 (cystein-asparate protease, Caspase)-1 抗体、cleaved-Caspase-3 抗体、IL-1 β 抗体 (批号 F117405、F092609、F115403, 上海埃必威生物技术有限公司); cleaved-Caspase-1 抗体 (批号 2i44197, 美国 Affinity 公司); NLRP3 抗体 (批号 1087600-2, 英国 Abcam 公司); 凋亡相关斑点样蛋白 (apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD, ASC) 抗体 (批号 5, 美国 CST 公司); β -actin 抗体 (批号 AC22073002, 武汉赛维尔生物科技有限公司)。

1.3 仪器 3-30KS 高速冷冻离心机 (德国 Sigma 公司); HistoCore PEARL 组织脱水机 (德国 Leica 公司); DYY-5D 电泳及转膜电源仪 (北京六一生物科技有限公司); Epoch 酶标仪 (美国 BioTek 公司); Axioscope 5 显微镜 (德国 ZEISS 公司); Amersham ImageQuant™ 800 蛋白印迹成像系统 (瑞典 Cytiva 公司)。

2 方法

2.1 分组、造模及给药 小鼠适应性喂养 7 d 后, 随机分为对照组、模型组、别嘌醇 (5 mg/kg) 组、山柰酚 (50 mg/kg)^[16] 组和山柰素低、高剂量 (25、50 mg/kg)^[14] 组, 每组 10 只。参照文献 [17-18] 报道建立 HN 模型, 对照组小鼠灌胃 0.5% CMC-Na 溶液并腹腔注射生理盐水, 其余各组均灌胃 500 mg/kg 次黄嘌呤 (溶于 0.5% CMC-Na 溶液) 并腹腔注射 300 mg/kg 氧嗪酸钾 (溶于生理盐水) 进行造模。每次造模后 1 h, 各给药组小鼠灌胃相应剂量药物 (溶剂均为 10% 二甲基亚砷+40% 聚乙二醇 300+5% 吐温 80+45% 生理盐水), 模型组和对照组灌胃给予相应体积溶剂, 每天 1 次, 连续 21 d, 其间自由进食饮水。

2.2 标本采集 第 20 天给药后, 将小鼠放入代谢笼中禁食不禁水, 留取 24 h 尿液, 在 4℃、3 000 r/min 条件下离心 10 min, 取上清, 于-80℃冰箱中保存。第 21 天给药后 1 h, 小鼠麻醉后摘除眼球取血, 室温凝固 1 h, 4℃、3 000 r/min 离心 10 min, 收集血清, 于-20℃冰箱中保存。小鼠取血后, 立即予以生理盐水进行心脏灌注, 摘取左肾, 置于 4% 多聚甲醛溶液中固定, 肝组织及右肾摘除后用生理盐水漂洗, 滤纸吸干, 液氮冷冻后转至-80℃冰箱中保存。

2.3 生化指标检测 按照相应试剂盒说明书, 检测小鼠 SUA、SCr、24 h 尿总蛋白 (24 hour urine total protein quantification, 24 h UTP) 水平。

2.4 肝组织 XOD 活性检测 取小鼠肝组织适量, 加入 9 倍量 RIPA 裂解液, 制成 10% 组织匀浆液, 12 000 r/min 离心 15 min, 取上清液, 按照试剂盒说明书检测 XOD 活性。

2.5 肾组织病理学检测 小鼠肾组织固定 24 h 后进行脱水、透明、浸蜡、石蜡包埋, 切片 3~4 μ m, 分别进行 HE 染色和 Masson 染色, 在显微镜下观察肾组织病理变化并拍照, 采用 Image J 软件计算 Masson 染色 (蓝色) 胶原阳性面积的百分比。

2.6 TUNEL 染色评估肾组织细胞凋亡情况 小鼠肾组织石蜡切片脱蜡至水, 滴加蛋白酶 K, 37℃ 孵育 20 min, PBS 洗涤 3 次, 滴加 TUNEL 检测液, 37℃ 孵育 1 h, PBS 洗涤 3 次, 抗荧光淬灭封片剂封片 (含 DAPI), 在荧光显微镜下观察并拍照。采用 Image J 软件计算 TUNEL 染色阳性细胞数目与细胞核总数, 两者比值的百分数即细胞凋亡率。

2.7 免疫组化法检测肾组织 NLRP3 蛋白表达 小鼠肾组织切片脱蜡至水, 进行抗原修复, 滴加内源性过氧化物酶阻断剂, 室温孵育 10 min, PBS 洗涤 3 次, 滴加 NLRP3 一抗于湿盒内, 4℃ 孵育过夜, PBS 洗涤 3 次, 滴加增强酶标山羊抗兔 IgG 聚合物, 37℃ 孵育 20 min, PBS 洗涤 3 次, 在显微镜下控制 DAB 显色时间, 苏木素复染细胞核, 脱水透明, 封片, 在显微镜下观察并拍照。采用 Image J 软件定量分析 NLRP3 蛋白表达情况, 结果以阳性细胞面积占比表示。

2.8 蛋白免疫印迹法检测小鼠肾组织 NLRP3 炎症小体及凋亡相关蛋白表达 称取小鼠肾组织适量, 加入组织蛋白裂解液和蛋白酶抑制剂, 研磨仪充分匀浆, 置于冰上裂解 30 min, 4℃、12 000 r/min 离心 15 min, 取上清液, 按 BCA 试剂盒说明书检测蛋白浓度, 加入蛋白上样缓冲液, 100℃ 加热 10 min 使蛋白完全变性, 冰上冷却后于-80℃冰箱中保存。蛋白进行上样和电泳后, 采用湿转法将其转印至 PVDF 膜, 5% 脱脂奶粉溶液室温封闭 2 h, 加入一抗 NLRP3、ASC、Caspase-1、cleaved-Caspase-1、IL-1 β 、cleaved-Caspase-3、 β -actin, 4℃ 孵育过夜, 加入二抗辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔 IgG, 室温孵育 1 h, ECL 发光显影成像。采用 Image J 软件分析各蛋白条带灰度值, 以 β -actin 为内参, 计算目的蛋白相对表达量。

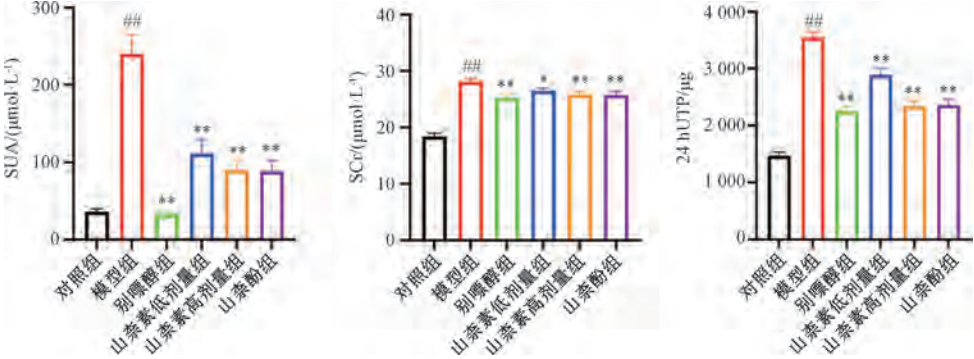
2.9 统计学分析 通过 SPSS 30.0 软件进行处理, 计量资料以 ($\bar{x}\pm s$) 表示, 符合正态分布及方差齐

性者多组间比较采用单因素方差分析，组间两两比较采用 LSD-*t* 检验。*P*<0.05 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 山柰素对 HN 小鼠 SUA、SCr、24 h UTP 水平

的影响 与对照组比较，模型组小鼠 SUA、SCr、24 h UTP 水平升高 (*P*<0.01)；与模型组比较，别嘌呤组、山柰酚组、山柰素各剂量组小鼠 SUA、SCr、24 h UTP 水平降低 (*P*<0.05, *P*<0.01)，见图 1。

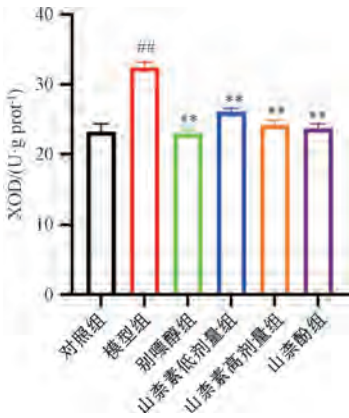


注：与对照组比较，###*P*<0.01；与模型组比较，**P*<0.05，***P*<0.01。

图 1 各组小鼠 SUA、SCr、24 h UTP 水平比较 ($\bar{x}\pm s$, *n*=10)

Fig. 1 Comparison of mouse SUA, SCr and 24 h UTP levels in each group ($\bar{x}\pm s$, *n*=10)

3.2 山柰素对 HN 小鼠肝组织 XOD 活性的影响 与对照组比较，模型组小鼠肝组织 XOD 活性升高 (*P*<0.01)；与模型组比较，别嘌呤组、山柰酚组和山柰素各剂量组小鼠肝组织 XOD 活性降低 (*P*<0.01)，见图 2。



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

图 2 各组小鼠肝组织 XOD 活性比较 ($\bar{x}\pm s$, *n*=10)

Fig. 2 Comparison of mouse liver tissue XOD activity in each group ($\bar{x}\pm s$, *n*=10)

3.3 山柰素对 HN 小鼠肾组织病理学的影响 HE 染色显示，对照组小鼠肾组织结构清晰，肾小球、肾小管及肾间质未见异常；模型组小鼠可见局部肾小球萎缩，肾小管上皮细胞浊肿，部分上皮细胞空泡样变并脱落到管腔内，形成颗粒管型，局部肾小管上皮细胞萎缩、刷状缘脱落，肾小管扩张伴间质炎性细胞浸润；别嘌呤组、山柰酚组、山柰素各剂

量组小鼠肾小管上皮细胞浊肿减轻，上皮空泡样变减少，肾小管扩张改善，肾间质炎性细胞浸润减轻，见图 3。

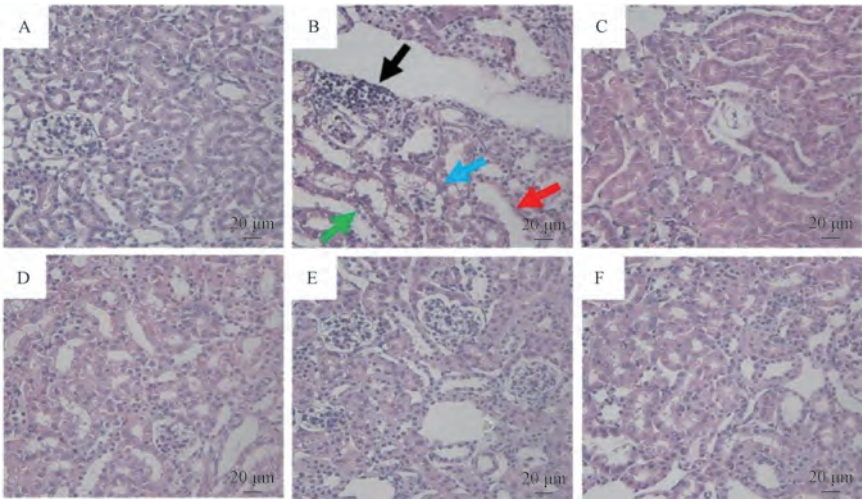
Masson 染色显示，与对照组比较，模型组小鼠肾组织胶原纤维面积增加 (*P*<0.01)，肾间质纤维化严重；与模型组比较，别嘌呤组、山柰酚组、山柰素各剂量组小鼠肾组织胶原纤维面积减少 (*P*<0.01)，肾间质纤维化减轻，见图 4。

3.4 山柰素对 HN 小鼠肾组织细胞凋亡的影响 与对照组比较，模型组小鼠肾组织细胞凋亡严重，细胞凋亡率升高 (*P*<0.01)；与模型组比较，别嘌呤组、山柰酚组、山柰素各剂量组小鼠肾组织细胞凋亡减轻，细胞凋亡率降低 (*P*<0.01)，见图 5。

与对照组比较，模型组小鼠肾组织 Caspase-3、cleaved-Caspase-3 蛋白表达升高 (*P*<0.01)；与模型组比较，别嘌呤组、山柰酚组、山柰素各剂量组小鼠肾组织 Caspase-3、cleaved-Caspase-3 蛋白表达降低 (*P*<0.05, *P*<0.01)，见图 6。

3.5 山柰素对 HN 小鼠肾组织 NLRP3 蛋白表达的影响 与对照组比较，模型组小鼠肾组织 NLRP3 蛋白表达阳性率升高 (*P*<0.01)；与模型组比较，别嘌呤组、山柰酚组、山柰素各剂量组小鼠肾组织 NLRP3 蛋白表达阳性率降低 (*P*<0.01)，见图 7。

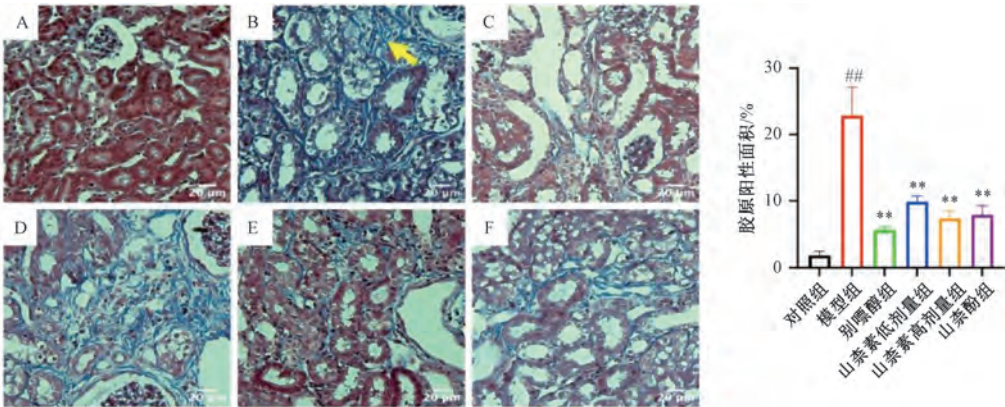
3.6 山柰素对 HN 小鼠肾组织 NLRP3 炎症小体相关蛋白表达的影响 与对照组比较，模型组小鼠肾组织 NLRP3、ASC、Caspase-1、cleaved-Caspase-1、



注：A 为对照组，B 为模型组，C 为别嘌呤组，D~E 分别为山柰素低、高剂量组，F 为山柰酚组。黑色箭头指示炎细胞浸润，绿色箭头指示肾小管上皮细胞浊肿，蓝色箭头指示肾小球萎缩，红色箭头指示肾小管扩张。

图 3 各组小鼠肾组织 HE 染色 (×400)

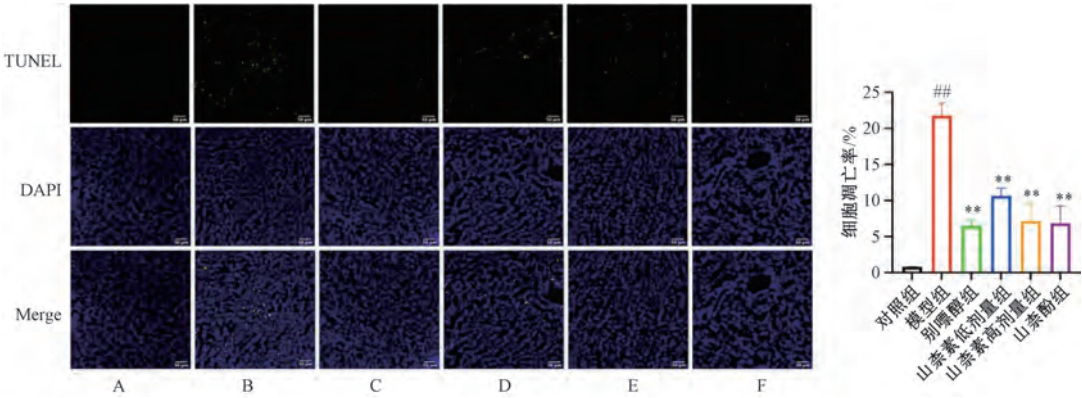
Fig. 3 HE staining of mouse kidney tissue of each group (×400)



注：A 为对照组，B 为模型组，C 为别嘌呤组，D~E 分别为山柰素低、高剂量组，F 为山柰酚组。黄色箭头指示胶原纤维。与对照组比较，^{##} $P<0.01$ ；与模型组比较，^{**} $P<0.01$ 。

图 4 各组小鼠肾组织 Masson 染色 (×400, $\bar{x}\pm s$, $n=3$)

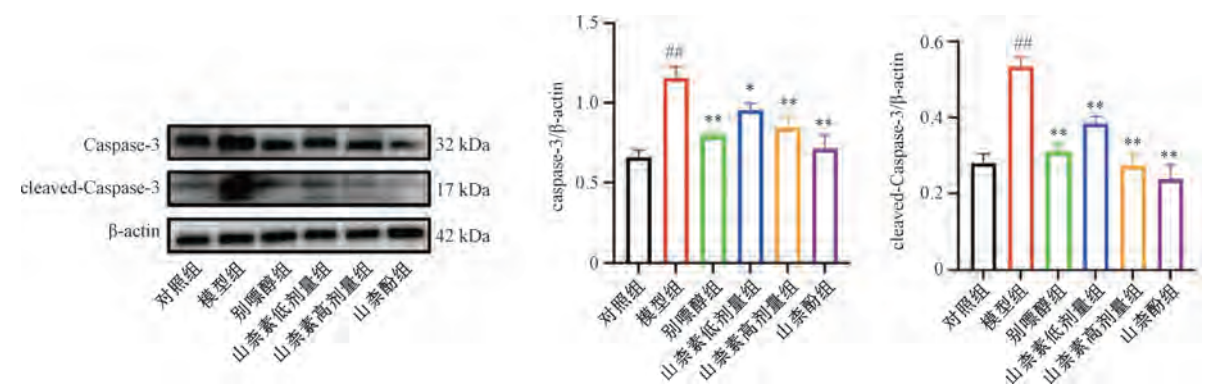
Fig. 4 Masson staining of mouse kidney tissue in each group (×400, $\bar{x}\pm s$, $n=3$)



注：A 为对照组，B 为模型组，C 为别嘌呤组，D~E 分别为山柰素低、高剂量组，F 为山柰酚组。黄色箭头指示胶原纤维。与对照组比较，^{##} $P<0.01$ ；与模型组比较，^{**} $P<0.01$ 。

图 5 各组小鼠肾组织细胞凋亡率比较 (TUNEL 染色, ×200, $\bar{x}\pm s$, $n=3$)

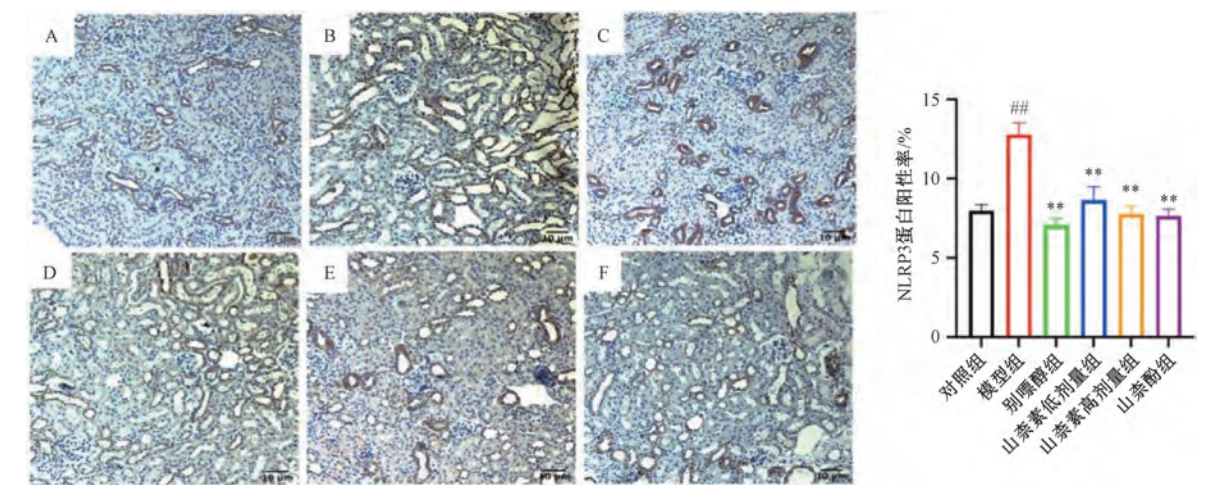
Fig. 5 Comparison of apoptosis rate in mouse renal tissue in each group (TUNEL staining, ×200, $\bar{x}\pm s$, $n=3$)



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

图 6 各组小鼠肾组织 Caspase-3、cleaved-Caspase-3 蛋白表达比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

Fig. 6 Comparison of mouse renal Caspase-3 and cleaved-Caspase-3 protein expressions in each group ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)



注：A 为对照组，B 为模型组，C 为别嘌醇组，D~E 分别为山柰素低、高剂量组，F 为山柰酚组。黄色箭头指示胶原纤维。

与对照组比较，^{##} $P<0.01$ ；与模型组比较，^{**} $P<0.01$ 。

图 7 各组小鼠肾组织 NLRP3 表达比较 ($\times 200$, $\bar{x}\pm s$, $n=3$)

Fig. 7 Comparison of mouse kidney tissue NLRP3 expression in each group ($\times 200$, $\bar{x}\pm s$, $n=3$)

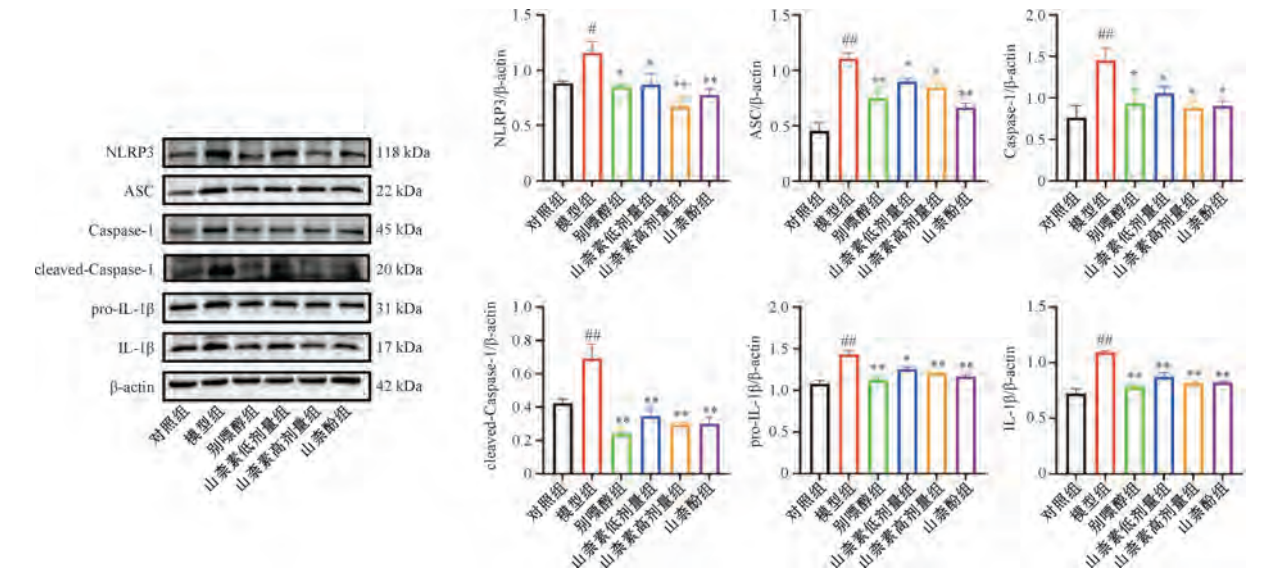
pro-IL-1β、IL-1β 蛋白表达升高 ($P<0.05$, $P<0.01$)；与模型组比较，别嘌醇组、山柰酚组、山柰素各剂量组小鼠肾组织 NLRP3、ASC、Caspase-1、cleaved-Caspase-1、pro-IL-1β、IL-1β 蛋白表达降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)，见图 8。

4 讨论

持续的高尿酸血症造成肾脏病理改变，包括肾脏炎症和纤维化，从而损伤肾功能^[19]。越来越多的证据表明，尿酸诱导的炎症是啮齿动物高尿酸血症肾损伤的核心机制，其中 NLRP3 通路可能发挥重要作用。NLRP3 炎症小体与肾脏炎症、纤维化及细胞凋亡密切相关^[20]，Vilaysane 等^[7]发现，在单侧输尿管梗阻模型中，与 *Nlrp3*^{+/+} 小鼠比较，*Nlrp3*^{-/-} 小鼠肾小管损伤减轻，肾间质炎症和纤维化改善，肾组织细胞凋亡减少，并且其特异性抑制

剂可减轻结晶诱导的小鼠肾脏炎症和纤维化^[21]。另外，降低尿酸水平也可预防肾脏 NLRP3 炎症小体激活，在实验性肾病中发挥肾脏保护作用^[22]。因此，降低尿酸水平、抑制 NLRP3 炎症小体的激活可能是治疗 HN 的有效策略。

NLRP3 炎症小体作为先天免疫的重要组成部分，是由核苷酸结合寡聚域样受体 NLRP3、适配蛋白 ASC 和效应蛋白 Caspase-1 组成的大分子多蛋白复合物，其形成后激活 Caspase-1，促进 IL-18、IL-1β 成熟和分泌，进而造成炎症损伤^[23]。XOD 是将黄嘌呤和次黄嘌呤转化为尿酸的关键限速酶^[24]，其高活性会导致尿酸的过度合成。XOD 抑制剂是目前临床一线降尿酸药物，然而存在严重不良反应。近年来，天然产物或中药因其多靶点作用、多途径机制及安全性，在高尿酸血症及相关肾



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

图 8 各组小鼠肾组织 NLRP3、ASC、Caspase-1、cleaved-Caspase-1、pro-IL-1β、IL-1β 蛋白表达比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=3\sim5$)
Fig. 8 Comparison of mouse kidney tissue protein expressions of NLRP3, ASC, Caspase-1, cleaved-Caspase-1, pro-IL-1β and IL-1β in each group ($\bar{x}\pm s$, $n=3\sim5$)

损伤的研究中引起了广泛关注。

山柰素主要来源于菝葜和山柰，两者均用于治疗风湿病、HN、炎症、肿瘤等疾病，有一定疗效^[25-26]。本研究结果显示，模型组小鼠 SUA、SCr、24 h UTP 水平升高，肾脏病理损伤严重，肾间质纤维化面积及细胞凋亡率增加，表明长期高尿酸水平可引发肾脏炎症、纤维化和细胞凋亡，损伤肾功能^[27-29]；山柰素干预后，可降低 HN 小鼠 SUA、SCr、24 h UTP 水平，改善肾脏病理损伤，减轻肾间质纤维化及细胞凋亡，证实该成分对 HN 小鼠的肾脏保护作用。此外，山柰素能抑制 HN 小鼠肝脏 XOD 活性，表明它通过抑制肝脏 XOD 活性来减少尿酸合成，进而降低血清尿酸水平；降低 HN 小鼠肾组织 NLRP3 炎症小体及凋亡相关蛋白表达，表明它可通过抑制 NLRP3 炎症小体的激活来减轻肾脏炎症及细胞凋亡。同时，山柰素与山柰酚对 HN 小鼠的肾脏保护效果相当。

综上所述，山柰素具有良好的降尿酸、肾脏保护作用，其机制可能是通过抑制肝脏 XOD 活性来减少尿酸合成，抑制 NLRP3 炎性小体激活来减轻肾损伤。因此，该成分可作为一种新型的潜在药物或补充剂，用于保护高尿酸血症引起的肾损伤。

参考文献：

[1] Chen-Xu M, Yokose C, Rai S K, et al. Contemporary prevalence of gout and hyperuricemia in the United States and

Decadal Trends: The national health and nutrition examination survey, 2007-2016[J]. *Arthritis Rheumatol*, 2019, 71(6): 991-999.

[2] Zhang M, Zhu X, Wu J, et al. Prevalence of hyperuricemia among Chinese adults: findings from two nationally representative cross-sectional surveys in 2015-16 and 2018-19[J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 791983.

[3] Gaubert M, Bardin T, Cohen-Solal A, et al. Hyperuricemia and hypertension, coronary artery disease, kidney disease: from concept to practice[J]. *Int J Molsci*, 2020, 21(11): 4066.

[4] Ponticelli C, Podestà M A, Moroni G. Hyperuricemia as a trigger of immune response in hypertension and chronic kidney disease[J]. *Kidney Int*, 2020, 98(5): 1149-1159.

[5] Braga T T, Forni M F, Correa-Costa M, et al. Soluble uric acid activates the NLRP3 inflammasome[J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 39884.

[6] Martinon F, Pétrilli V, Mayor A, et al. Gout-associated uric acid crystals activate the NALP3 inflammasome[J]. *Nature*, 2006, 440(7081): 237-241.

[7] Vilaysane A, Chun J, Seamone M E, et al. The NLRP3 inflammasome promotes renal inflammation and contributes to CKD[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2010, 21(10): 1732-1744.

[8] Lorenz G, Darisipudi M N, Anders H J. Canonical and non-canonical effects of the NLRP3 inflammasome in kidney inflammation and fibrosis[J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2014, 29(1): 41-48.

[9] Mandal A K, Mount D B. The molecular physiology of uric acid homeostasis[J]. *Annu Rev Physiol*, 2015, 77: 323-345.

[10] Afinogenova Y, Danve A, Neogi T. Update on gout management: what is old and what is new[J]. *Curr Opin Rheumatol*, 2022, 34(2): 118-124.

[11] Elgazar A A, Selim N M, Abdel-Hamid N M, *et al.* Isolates from *Alpinia officinarum* Hance attenuate LPS-induced inflammation in HepG2; evidence from *in silico* and *in vitro* studies[J]. *Phytother Res*, 2018, 32(7): 1273-1288.

[12] Tang H, Zeng Q, Tang T, *et al.* Kaempferide improves glycolipid metabolism disorder by activating PPAR γ in high-fat-diet-fed mice[J]. *Life Sci*, 2021, 270: 119133.

[13] Haidari F, Keshavarz S A, Mohammad Shahi M, *et al.* Effects of parsley (*Petroselinum crispum*) and its flavonol constituents, kaempferol and quercetin, on serum uric acid levels, biomarkers of oxidative stress and liver xanthine oxidoreductase activity in oxonate-induced hyperuricemic rats[J]. *Iran J Pharm Res*, 2011, 10(4): 811-819.

[14] Shao Y F, Tang B B, Ding Y H, *et al.* Kaempferide ameliorates cisplatin-induced nephrotoxicity *via* inhibiting oxidative stress and inducing autophagy[J]. *Acta Pharmacol*, 2023, 44(7): 1442-1454.

[15] Ou R, Lin L, Zhao M, *et al.* Action mechanisms and interaction of two key xanthine oxidase inhibitors in galangal; Combination of *in vitro* and *in silico* molecular docking studies[J]. *Int J Biol Macromol*, 2020, 162: 1526-1535.

[16] Yuan P, Sun X, Liu X, *et al.* Kaempferol alleviates calcium oxalate crystal-induced renal injury and crystal deposition *via* regulation of the AR/NOX2 signaling pathway[J]. *Phytomedicine*, 2021, 86: 153555.

[17] Lu M, Yin J, Xu T, *et al.* Fuling-Zexie formula attenuates hyperuricemia-induced nephropathy and inhibits JAK2/STAT3 signaling and NLRP3 inflammasome activation in mice[J]. *J Ethnopharmacol*, 2024, 319(Pt 2): 117262.

[18] Li M H, Guan J, Chen Z, *et al.* Fufang Zhenzhu Tiaozhi capsule ameliorates hyperuricemic nephropathy by inhibition of PI3K/AKT/NF- κ B pathway[J]. *J Ethnopharmacol*, 2022, 298: 115644.

[19] Su H Y, Yang C, Liang D, *et al.* Research advances in the mechanisms of hyperuricemia-induced renal injury[J]. *Biomed Res Int*, 2020, 2020: 5817348.

[20] Komada T, Muruve D A. The role of inflammasomes in kidney disease[J]. *Nat Rev Nephrol*, 2019, 15(8): 501-520.

[21] Ludwig-Portugall I, Bartok E, Dhana E, *et al.* An NLRP3-specific inflammasome inhibitor attenuates crystal-induced kidney fibrosis in mice[J]. *Kidney Int*, 2016, 90(3): 525-539.

[22] Braga T T, Foresto-Neto O, Camara N O S. The role of uric acid in inflammasome-mediated kidney injury[J]. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 2020, 29(4): 423-431.

[23] Latz E, Xiao T S, Stutz A. Activation and regulation of the inflammasomes[J]. *Nat Rev Immunol*, 2013, 13(6): 397-411.

[24] Si Y, Park J W, Jung S, *et al.* Layer-by-layer electrochemical biosensors configuring xanthine oxidase and carbon nanotubes/graphene complexes for hypoxanthine and uric acid in human serum solutions[J]. *Biosens Bioelectron*, 2018, 121: 265-271.

[25] Yang L, Wang B, Ma L, *et al.* Traditional Chinese herbs and natural products in hyperuricemia-induced chronic kidney disease[J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 971032.

[26] Wang S Y, Zhao H, Xu H T, *et al.* *Kaempferia galanga* L.: progresses in phytochemistry, pharmacology, toxicology and ethnomedicinal uses[J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 675350.

[27] Kang D H, Nakagawa T, Feng L, *et al.* A role for uric acid in the progression of renal disease[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2002, 13(12): 2888-2897.

[28] Liu Y, Gong S, Li K, *et al.* Coptisine protects against hyperuricemic nephropathy through alleviating inflammation, oxidative stress and mitochondrial apoptosis *via* PI3K/Akt signaling pathway[J]. *Biomed Pharmacother*, 2022, 156: 113941.

[29] Zhang Y, Wang S, Dai X, *et al.* Simiao San alleviates hyperuricemia and kidney inflammation by inhibiting NLRP3 inflammasome and JAK2/STAT3 signaling in hyperuricemia mice[J]. *J Ethnopharmacol*, 2023, 312: 116530.