

槲皮素通过焦亡通路对降植烷诱导小鼠狼疮性肾炎的影响

李笠¹, 戴有金², 周苗², 吴萍^{1*}

(1. 江苏科技大学, 江苏 镇江 212100; 2. 南京医科大学, 江苏 南京 211166)

摘要: 目的 探究槲皮素对降植烷诱导小鼠狼疮性肾炎的影响。方法 采用降植烷腹腔注射诱导狼疮肾炎模型, 将小鼠随机分为对照组、模型组和槲皮素低、中、高剂量组 (25、50、100 mg/kg), 每组6只。检测24 h UPT、BUN、Scr水平; ELISA法检测自身抗体ANA、ds-DNA、snRNP/Sm水平及炎症因子IL-6、TNF- α 水平; HE、Masson染色检测肾组织病理损伤变化; 免疫荧光染色检测肾组织IgG、C3、Mac-3表达; Western blot法检测焦亡通路蛋白N-GSDMD、cleaved-Caspase-1、NLRP3表达。再将小鼠随机分为对照组、模型组、槲皮素组、sh-GSDMD组、槲皮素+sh-GSDMD组, 进一步验证槲皮素通过巨噬细胞焦亡途径对小鼠狼疮性肾炎发挥治疗作用。结果 与模型组比较, 槲皮素各剂量组小鼠24 h UPT、BUN、Scr、ANA、ds-DNA、snRNP/Sm、IL-6、TNF- α 水平降低 ($P < 0.05$), 肾脏病理损伤缓解, 并呈剂量依赖性 ($P < 0.05$)。槲皮素主要通过抑制焦亡通路, 对狼疮性肾炎小鼠的肾功能和肾组织具有保护作用 ($P < 0.05$)。结论 槲皮素可通过抑制炎性小体/GSDMD介导的巨噬细胞焦亡, 对狼疮性肾炎引起的肾功能损伤发挥干预作用。

关键词: 槲皮素; 狼疮肾炎; 降植烷; 自身抗体; 炎症因子; 焦亡; GSDMD

中图分类号: R285.5

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2025)07-2371-06

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2025.07.039

狼疮性肾炎是系统性红斑狼疮患者最严重的表现, 约35%~60%的患者会因并发症而丧失肾功能^[1-2]。因此, 寻找狼疮性肾炎的有效治疗方法尤为重要。

巨噬细胞焦亡是程序性细胞死亡的一种促炎症形式, 其特征是细胞质膜破裂, 导致包括炎症介质在内的细胞内容物释放^[3-4]。核苷酸结合寡聚化结构域样受体含pyrin结构域蛋白3 (NLR family pyrin domain containing protein 3, NLRP3) 炎性小体通过凋亡相关斑点样蛋白 (apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD, ASC) 募集并激活半胱氨酸蛋白酶 (cysteiny aspartate specific proteinase-1, Caspase-1), 活化的Caspase-1将gasdermin D (GSDMD) 切割成N-GSDMD^[5-6], 活化的后者迁移到质膜并形成孔洞, 导致细胞焦亡^[7]。巨噬细胞主要标志蛋白为Mac-3^[8], 其介导的焦亡参与了炎症疾病的发病机制, 如心血管疾病、风湿性疾病、传染病^[9-10]。因此, 巨噬细胞焦亡很可能是治疗炎症性疾病的新靶点^[11-12]。

槲皮素广泛存在于天然植物中^[13], 具有抗氧化^[14]、抗炎^[15]、免疫调节^[16]、抗微生物^[17]等活性, 已被广泛应用于各种疾病治疗中。目前为止, 槲皮素对狼疮性肾炎发生发展过程中巨噬细胞焦亡的作用尚不十分明确。因此, 本研究将探究槲皮素能否通过焦亡途径对降植烷诱导的狼疮性肾炎发挥作用, 以期为该成分在狼疮性肾炎的临床应

用提供依据。

1 材料

1.1 动物 SPF级雌性BALB/c小鼠60只, 7周龄, 购自扬州大学兽医学院 [实验动物合格证号SCXK(苏)2022-0009], 自由饮食, 并饲养于江苏大学实验动物中心清洁级屏障环境内, 温度(22±2)℃, 相对湿度(50±5)%, 12 h昼夜循环光照。本研究经江苏科技大学动物伦理委员会审核批准 (伦理号G2023SJ05)。

1.2 试剂 槲皮素、降植烷 (货号PHR1488、P2870, 美国Sigma公司)。小鼠抗核抗体 (antinuclear antibody, ANA)、双链DNA (double-stranded DNA, ds-DNA)、小核糖核蛋白颗粒 (small nuclear ribonucleoprotein particles, snRNP/S) m、白介素-6 (interleukin-6, IL-6)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) ELISA试剂盒、Masson染色试剂盒 (货号F2887、YKW-20339、EY-01H1682、SEKM-0007、SEKM-0034、G1340, 北京索莱宝科技有限公司); NLRP3抗体、N-GSDMD抗体、cleaved-Caspase1抗体、 β -actin抗体 (货号D4D8T、93709、D57A2、93473, 美国Cell Signal Technology公司); IgG、C3抗体 (货号ab172730、ab200999, 英国Abcam公司); 蛋白提取试剂盒、定量试剂盒 (货号P0033、P0009, 上海碧云天生物技术股份有限公司)。

收稿日期: 2025-03-20

基金项目: 国家自然科学基金 (32372948)

作者简介: 李笠 (1989—), 男, 硕士生, 从事免疫疾病基础研究。Tel: (025) 86867155, E-mail: 313719437@qq.com

* **通信作者:** 吴萍 (1978—), 女, 博士, 研究员, 从事病原菌检测、药物开发、免疫疾病基础研究。Tel: (0511) 85616720, E-mail: wp4114@163.com

1.3 仪器 Multiskan 51119000 酶标仪 (美国 Thermo Fisher 公司); BX51 光学显微镜、1-71 荧光显微镜 (日本 Olympus 公司); 3100 全自动生化分析仪 (日本 Hitachi 公司)。

2 方法

2.1 造模 BALB/c 小鼠腹腔注射 0.5 mL 降植烷, 每 2 周使用阿尔伯狄克 (氏) 试验半定量测定蛋白尿, 当尿微量白蛋白水平大于 1 000 mg/L 时, 即为造模成功。

2.2 分组与给药 采用随机数字表法将造模成功的小鼠随机分为模型组和槲皮素低、中、高剂量组 (25、50、100 mg/kg), 每组 6 只, 另取 6 只正常小鼠作为对照组。槲皮素各剂量组小鼠灌胃给予相应剂量药物, 对照组和模型组小鼠灌胃给予等体积生理盐水, 每天 1 次, 连续 5 个月。

进一步小鼠随机分为对照组、模型组、槲皮素组、sh-GSDMD 组、槲皮素+sh-GSDMD 组, 对照组和模型组给药方法同上; 槲皮素组小鼠灌胃给予 50 mg/kg 槲皮素, 每天 1 次, 连续 5 个月; sh-GSDMD 组小鼠尾静脉注射 100 μ L GSDMD 干扰病毒, 每月 1 次, 连续 5 个月; 槲皮素+sh-GSDMD 组小鼠灌胃给予 50 mg/kg 槲皮素, 每天 1 次, 同时尾静脉注射 100 μ L GSDMD 干扰病毒, 每月 1 次, 连续 5 个月。GSDMD shRNA 序列为 5'-CCGGGCATTCATAGACATGCCAGATCTCGAGATCTGGCATGCTCTATGAATGCTTTTTC-3'。

2.3 肾功能指标检测 收集小鼠尿液和血液, 采用自动生化分析仪检测尿液 24 h 尿蛋白 (24 h urinary total protein, 24 h UTP) 水平, 以及血清尿素氮 (blood urea nitrogen, BUN)、肌酐 (serum creatinine, Scr) 水平。

2.4 ELISA 法检测 ANA、ds-DNA、snRNP/Sm、IL-6、TNF- α 水平 收集小鼠血清, 严格按照试剂盒说明书, 采用酶标仪检测自身抗体指标 ANA、ds-DNA、snRNP/Sm 水平和炎症因子 IL-6、TNF- α 水平。

2.5 Masson 染色检测肾组织病理损伤变化 将小鼠肾组织切片常规脱蜡至水化, 苏木精染液染核 5~10 min, 返蓝, Masson 染色, 梯度乙醇脱水, 二甲苯透明, 中性树脂封片, 显微镜下随机选取每张切片 3 个视野, 通过 Image J 软件分析纤维比。胶原纤维或蛋白呈蓝色, 胞浆、肌肉、纤维素、神经胶质和红细胞呈红色, 胞核呈蓝色。

2.6 HE 染色检测肾组织病理损伤变化 小鼠肾组织经戊二醛固定后全自动组织脱水浸蜡, 石蜡包埋, 切片, 常规脱蜡, 水化, 苏木素染色, 返蓝, 伊红染色, 脱水封片, 病理切片全景扫描和分析系统扫描病理图像, 分析组织炎症性损伤及坏死情况。

2.7 Austin 评分检测肾组织活动性病况 显微镜下观察小鼠肾组织情况, 进行 Austin 评分, 包括肾小球毛细血管内增生、肾小球内中性白细胞浸润、白金耳现象和透明血栓形成、核碎裂坏死、纤维索性坏死、细胞性新月体和肾间质炎症反应, 除核碎裂和纤维索性坏死项计 0~6 分外, 其余每项计 0~3 分, 满分 24 分, 分值越高, 病理活动越严重。

2.8 免疫荧光染色检测肾组织 IgG、C3、Mac-3 表达 将小鼠肾组织切片常规脱蜡至水, 加入 5% BSA 室温封闭 20 min, 加入 IgG 抗体 (1:200)、C3 抗体 (1:100)、Mac-3 抗体 (1:100), 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜, 室温放置 45 min 复温, 加入 50~100 μ L 荧光二抗 (1:500), 室温孵育 30 min, DAPI 染色, 抗荧光淬灭封片剂封片, 4 $^{\circ}$ C 保存, 倒置显微镜下随机选取每张切片 3 个视野, 通过 ImageJ 软件分析阳性面积比。

2.9 Western blot 法检测肾组织 N-GSDMD、cleaved-Caspase-1、NLRP3 蛋白表达 用含蛋白酶和磷酸酶抑制剂的 RIPA 缓冲液裂解小鼠肾组织, 提取蛋白, BCA 法检测含量, 取等量进行变性, 加入上样缓冲液后冷冻保存, 制备 10% SDS 聚丙烯酰胺凝胶, 上样, 电泳, 湿转法转移至 PVDF 膜, 5% 脱脂奶粉 TBST 溶液室温封闭 3 h, 分别加入 N-GSDMD、cleaved-Caspase-1、NLRP3 抗体 (1:1 000), 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜, 次日加入二抗 (1:1 000), 室温孵育 1 h, 强化学发光法显色, 凝胶成像系统拍照, 以 β -actin 为内参, 通过 Image J 软件计算蛋白相对表达。

2.10 统计学分析 使用 GraphPad Prism 6.0 软件进行数据处理, 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, 2 组间比较采用 *t* 检验。P<0.05 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 槲皮素对狼疮性肾炎小鼠肾功能的影响 与对照组比较, 模型组小鼠血清 24 h UTP、BUN、Scr 水平升高 (P<0.01); 与模型组比较, 槲皮素中、高剂量组小鼠血清 24 h UTP、BUN、Scr 水平降低 (P<0.05, P<0.01), 并呈剂量依赖性, 见表 1, 提示槲皮素能抑制降植烷诱导的小鼠肾功能损伤。

表 1 槲皮素对狼疮性肾炎小鼠肾功能的影响 ($\bar{x}\pm s$, n=6)

组别	24 h UTP/mg	BUN/(mmol·L ⁻¹)	Scr/(μ mol·L ⁻¹)
对照组	14.25 \pm 2.01	6.63 \pm 0.85	37.19 \pm 6.95
模型组	40.29 \pm 6.68**	16.18 \pm 1.76**	58.44 \pm 4.65**
槲皮素低剂量组	37.20 \pm 3.89#	15.05 \pm 0.96	55.68 \pm 5.58
槲皮素中剂量组	26.74 \pm 2.25#	13.22 \pm 1.38#	47.98 \pm 6.11#
槲皮素高剂量组	24.10 \pm 4.20###	12.23 \pm 1.10###	44.36 \pm 4.29###

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

3.2 槲皮素对狼疮性肾炎小鼠自身抗体水平的影响 与对照组比较, 模型组小鼠血清 ANA、ds-DNA、snRNP/Sm 抗体水平升高 (P<0.01); 与模型组比较, 槲皮素中、高剂量小鼠血清 ANA、抗 ds-DNA、snRNP/Sm 抗体水平降低 (P<0.05), 并呈剂量依赖性, 见表 2, 提示槲皮素能抑制小鼠自身抗体的产生。

3.3 槲皮素对狼疮性肾炎小鼠炎症因子水平的影响 与对照组比较, 模型组小鼠血清 IL-6、TNF- α 水平升高 (P<0.05); 与模型组比较, 槲皮素中、高剂量组小鼠血清 IL-6、TNF- α 水平降低 (P<0.05, P<0.01), 并呈剂量依赖性, 见表 3, 提示槲皮素能抑制小鼠炎症因子的产生。

表 2 槲皮素对狼疮性肾炎小鼠自身抗体水平的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	ANA 抗体/ ($\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$)	ds-DNA 抗体/ ($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	snRNP/Sm 抗体/ ($\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$)
对照组	23.19±2.01	348.87±32.10	14.85±2.23
模型组	39.55±3.08**	554.40±55.91**	24.66±1.19**
槲皮素低剂量组	38.43±2.76	528.75±45.62	22.51±2.15
槲皮素中剂量组	31.25±3.54#	489.30±39.57#	19.87±2.60#
槲皮素高剂量组	30.08±2.23#	476.58±47.24#	18.62±3.48#

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

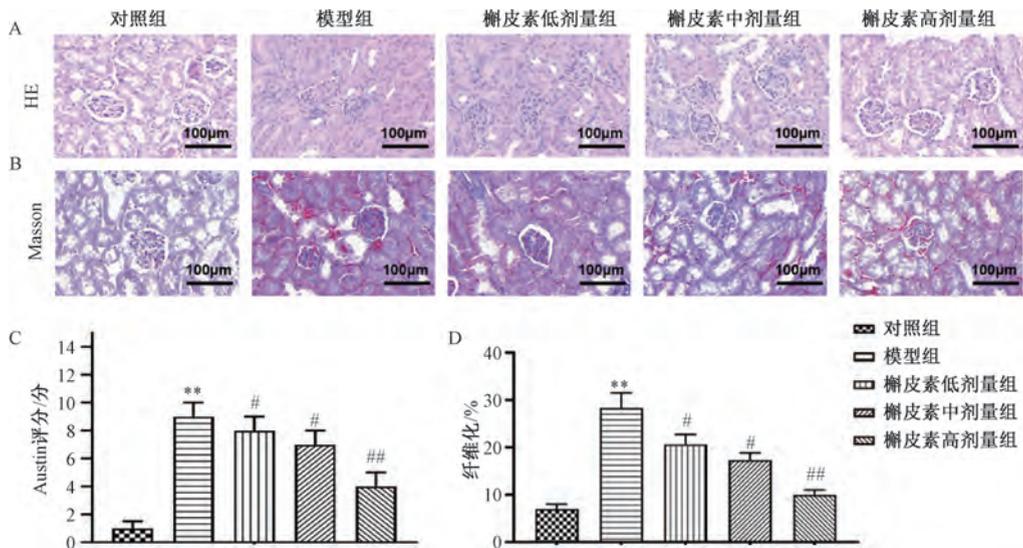
表 3 槲皮素对狼疮性肾炎小鼠炎症因子水平的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	IL-6/($\text{pg}\cdot\text{mL}^{-1}$)	TNF- α /($\text{pg}\cdot\text{mL}^{-1}$)
对照组	18.95±6.56	54.08±17.12
模型组	70.56±15.21*	242.52±28.79*
槲皮素低剂量组	64.21±13.85	228.65±23.64
槲皮素中剂量组	40.65±8.52##	170.65±22.08#
槲皮素高剂量组	35.26±9.20##	158.77±39.65##

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

3.4 槲皮素对狼疮性肾炎小鼠肾脏病理损伤的影响 对照组小鼠肾小球、肾小管及肾间质结构正常，细胞排列整齐，未见明显的病变；模型组小鼠肾脏炎性细胞浸润，系膜细胞增殖，肾小管结构紊乱；槲皮素低、中剂量组小鼠肾脏炎性细胞浸润、系膜细胞增殖和肾小管结构紊乱病理表型减轻；槲皮素高剂量组小鼠系膜细胞增殖和肾小管结构紊乱进一步减轻，已无明显的炎性细胞浸润。与对照组比较，模型组小鼠 Austin 评分升高 ($P<0.01$)；与模型组比较，槲皮素各剂量组小鼠 Austin 评分降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)，并呈剂量依赖性，见图 1A、1C，提示槲皮素能抑制降植烷诱导小鼠肾脏的病理损伤。

对照组小鼠肾小球、肾小管及肾间质结构正常，未见明显的纤维化病变；模型组小鼠肾脏组织出现弥漫性的病灶，肾间质纤维化增生严重；槲皮素低、中剂量组小鼠肾纤维化程度减轻；槲皮素高剂量组小鼠肾间质纤维化情况改善。与对照组比较，模型组小鼠肾纤维化升高 ($P<0.01$)；与模型组比较，槲皮素各剂量组小鼠肾纤维化降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)，并呈剂量依赖性，见图 1B、1D，提示槲皮素能抑制降植烷诱导的小鼠肾脏的纤维化。



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

图 1 槲皮素对狼疮性肾炎小鼠肾脏病理损伤的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

3.5 槲皮素剂量对狼疮性肾炎小鼠肾组织 IgG、C3 表达的影响 与对照组比较，模型组小鼠肾组织 IgG、C3 表达升高 ($P<0.01$)；与模型组比较，槲皮素各剂量组小鼠肾组织 IgG、C3 表达降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)，并呈剂量依赖性，见图 2，提示槲皮素能抑制降植烷诱导小鼠肾组织 IgG、C3 表达。

3.6 槲皮素对狼疮性肾炎小鼠肾功能损伤的影响 与对照组比较，模型组小鼠血清 24 h UPT、BUN、Scr 水平升高 ($P<0.01$)；与模型组比较，槲皮素组、sh-GSDMD 组、槲皮素+sh-GSDMD 组小鼠血清 24 h UPT、BUN、Scr 水平降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)，以槲皮素+sh-GSDMD 组更显著，见表 4，提示槲皮素通过抑制炎症介导的巨噬细胞焦亡来改善

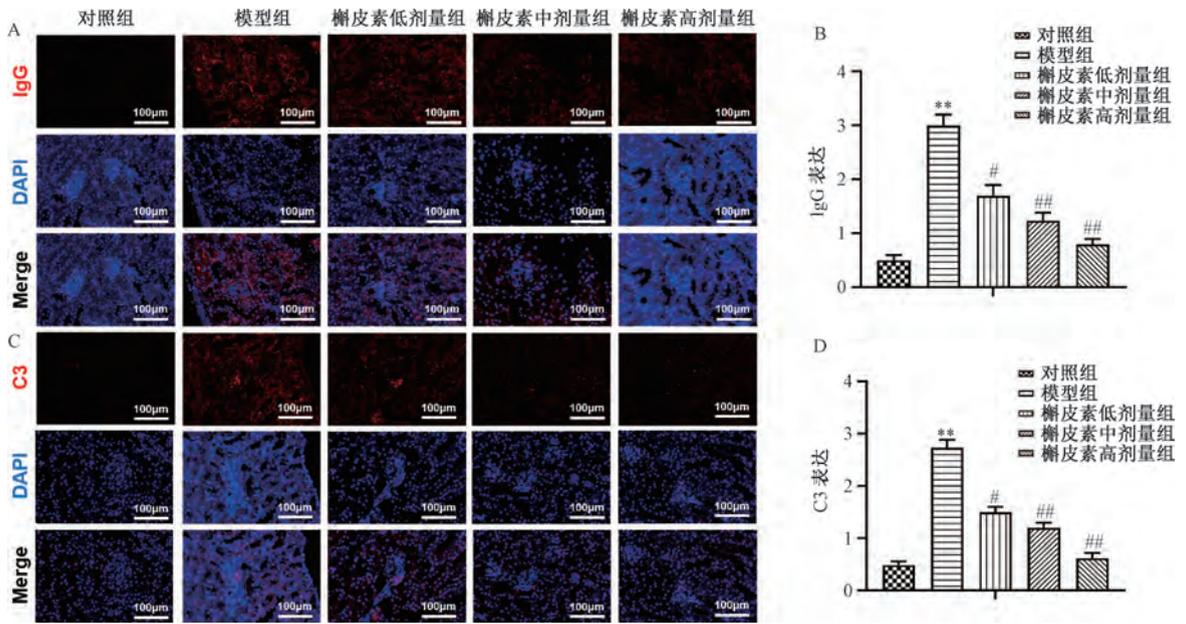
狼疮性肾炎小鼠的肾功能。

表 4 槲皮素对狼疮性肾炎小鼠肾功能损伤的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	24 h UTP/mg	BUN/ ($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)	Scr/ ($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)
对照组	14.25±2.01	6.63±0.85	37.19±6.95
模型组	40.29±6.68**	16.18±1.76**	58.44±4.65**
槲皮素组	24.10±4.20#	12.23±1.10#	44.36±4.29#
sh-GSDMD 组	29.33±5.29##	13.78±1.25#	48.20±5.11#
槲皮素+sh-GSDMD 组	21.89±3.57##	10.04±0.99##	41.25±3.72##

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

3.7 槲皮素对狼疮性肾炎小鼠肾组织病理损伤的影响 对



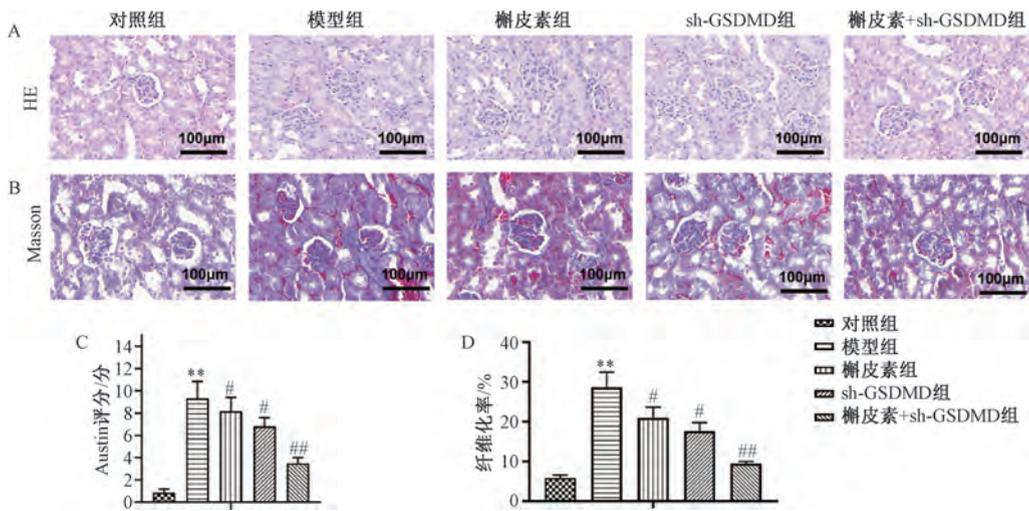
注：荧光显微镜下 IgG 阳性和 C3 表达呈红色荧光，细胞核（DAPI 染色）呈蓝色荧光。与对照组比较，** $P < 0.01$ ；与模型组比较，# $P < 0.05$ ，## $P < 0.01$ 。

图2 槲皮素剂量对狼疮性肾炎小鼠肾组织 IgG、C3 表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

对照组小鼠肾组织结构正常，未见明显的病变；模型组小鼠肾脏炎性细胞浸润、系膜细胞增殖和肾小管结构紊乱；槲皮素组和 sh-GSDMD 组小鼠肾脏可见零星肾小球体积增大，个别肾小球囊间隙不明显，并伴有少量、散在的炎性细胞浸润；槲皮素+sh-GSDMD 组小鼠肾小管萎缩，肾小囊壁增厚等情况有所减轻，无明显的炎性细胞浸润。与对照组比较，模型组小鼠 Austin 评分升高 ($P < 0.01$)；与模型组比较，槲皮素组、sh-GSDMD 组、槲皮素+sh-GSDMD 组小鼠 Austin 评分降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)，以槲皮素+sh-GSDMD 组更显著，见图 3A、3C，提示槲皮素通过抑制炎症介导的巨噬细胞焦亡改善了狼疮性肾炎小鼠肾脏的病

理损伤。

对照组小鼠肾组织结构正常，未见明显的纤维化病变；模型组小鼠肾脏组织出现弥漫性的病灶，肾间质纤维化增生严重；槲皮素组、sh-GSDMD 组、槲皮素+sh-GSDMD 组小鼠肾间质纤维化情况改善。与对照组比较，模型组小鼠肾纤维化程度升高 ($P < 0.01$)；与模型组比较，槲皮素组、sh-GSDMD 组、槲皮素+sh-GSDMD 组小鼠肾纤维化程度降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)，以槲皮素+sh-GSDMD 组更显著，见图 3B、3D，提示槲皮素通过抑制炎症介导的巨噬细胞焦亡抑制狼疮性肾炎小鼠肾纤维化。



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

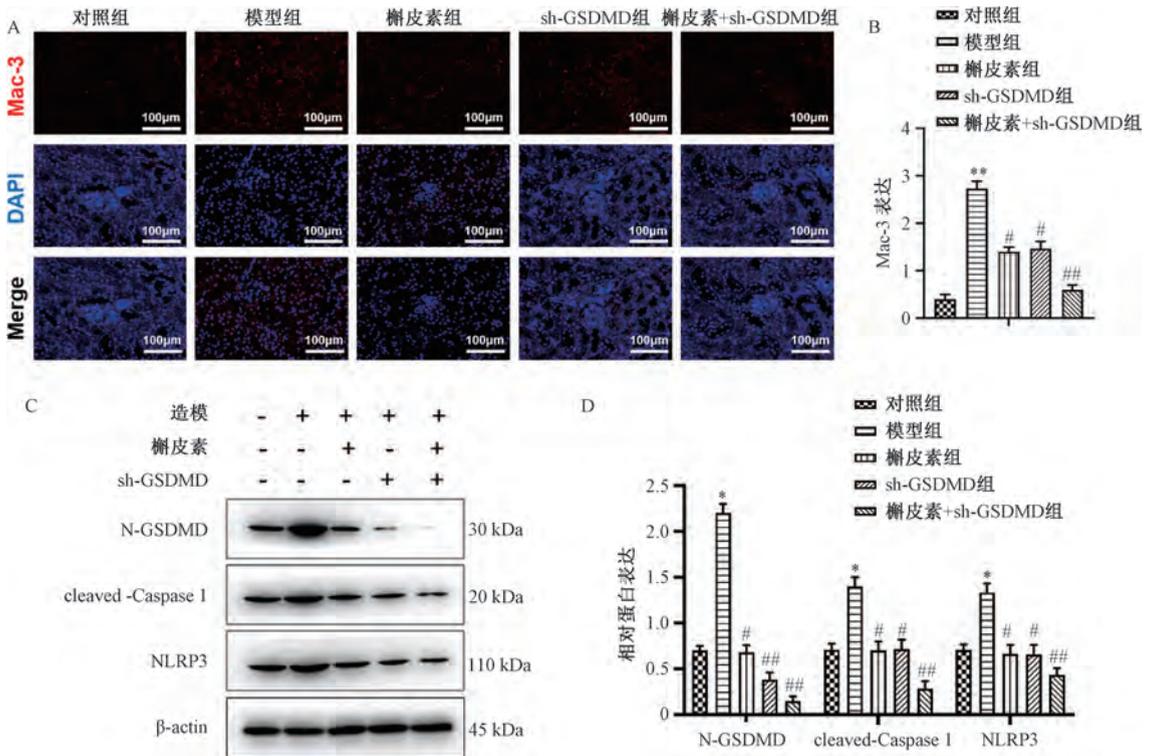
图3 槲皮素对狼疮性肾炎小鼠肾组织病理损伤的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

3.8 槲皮素对狼疮性肾炎小鼠肾组织炎性/巨噬细胞焦亡通路相关蛋白表达的影响 与对照组比较，模型组小鼠肾

组织 Mac-3、N-GSDMD、cleaved-Caspase-1、NLRP3 蛋白表达升高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)；与模型组比较，槲皮素组、

sh-GSDMD组、槲皮素+sh-GSDMD组小鼠肾组织 Mac-3、N-GSDMD、cleaved-Caspase-1、NLRP3 蛋白表达降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 以槲皮素+sh-GSDMD组更显著, 见图4,

提示槲皮素能抑制狼疮性肾炎小鼠肾组织的炎症介导的巨噬细胞焦亡通路。



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4 槲皮素对狼疮性肾炎小鼠肾组织炎症/巨噬细胞焦亡通路相关蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

4 讨论

系统性红斑狼疮是一种以多器官损伤为特征的自身免疫性疾病, 狼疮性肾炎是本病最严重的器官表现之一^[18], 也是最常见的死亡原因^[19]。约30%~60%的成人和高达70%的儿童患有狼疮性肾炎, 10%~20%的患者在诊断治疗后5年内仍会发展为终末期肾病^[20]。目前, 亟需加强对狼疮性肾炎的深入研究, 探索更有效的治疗方法。

槲皮素属于天然的黄酮类化合物, 广泛存在于水果和植物中^[21], 由于其高溶解度和生物利用度被广泛研究^[22]。槲皮素对于改善多种肿瘤、阿尔茨海默病和代谢性疾病具有良好的安全性和有效性^[23], 有着较强的抗氧化、抗炎活性^[24], 后者主要通过抑制细胞因子的产生, 减少环氧合酶、脂氧合酶表达^[25], 前者主要通过影响谷胱甘肽、酶和活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 活性, 调节信号转导途径, 从而抑制脂质氧化和抑制 ROS, 有助于抑制炎症和预防相关疾病^[26]。另外, 槲皮素的两亲性有助于其快速穿透血脑屏障, 从而在中枢神经系统内实现广泛的细胞内蛋白质相互作用^[27-28]。本研究结果证明, 槲皮素能剂量依赖地抑制降植烷诱导的狼疮性肾炎的肾脏功能损伤、自身抗体水平、机体炎性水平和肾脏病理损伤, 对狼疮性肾炎小鼠具有保护作用。

焦亡是由炎症小体引起的一种新的溶解性程序性细胞死亡, NLRP3将前胱天蛋白酶1转化为裂解的胱天蛋白酶,

从而驱动D275处的GSDMD裂解为N-GSDMD^[29], 后者形成跨膜孔洞, 释放细胞因子, 如白细胞介素-1 β /18 (interleukin-1 β /18, IL-1 β /18), 最终导致强烈的炎症和细胞死亡^[30], 故GSDMD介导的单核细胞/巨噬细胞焦亡可能是治疗系统性红斑狼疮的有效药物靶点, 可通过减轻GSDMD介导的焦亡来抑制疾病进展^[31]。在系统性红斑狼疮患者的单核细胞/巨噬细胞中, 各种NLRP3炎性小体的异常激活可能会触发促炎性N-GSDMD的形成, 从而介导焦亡, 最终导致系统性红斑狼疮的发展^[32-33]。在系统性红斑狼疮患者和小鼠肾脏中, GSDMD表达和激活增加, 提示可通过抑制GSDMD来治疗狼疮性肾炎^[31], 与本研究一致。另外, 槲皮素可抑制炎性小体蛋白NLRP3和焦亡执行蛋白N-GSDMD表达, 提示它是通过抑制炎性小体介导巨噬细胞焦亡引起的狼疮性肾炎肾功能损伤来发挥作用。

系统性红斑狼疮作为自身免疫性疾病, 其发生发展机制涉及多种因素的关联和相互作用, 可能会限制治疗效果, 甚至导致不良反应^[20]。槲皮素具有抗炎、抗氧化、神经保护、抗过敏活性及与多种分子和靶标相互作用的能力, 且毒性小^[27]。本研究发现, GSDMD介导的炎性小体/巨噬细胞焦亡通路是狼疮性肾炎的一种靶向治疗机制, 而槲皮素通过这一通路对小鼠狼疮性肾炎具有很好的治疗效果, 可为相关临床治疗提供实验基础。

参考文献:

- [1] Mahajan A, Amelio J, Gairy K, et al. Systemic lupus erythematosus, lupus nephritis and end-stage renal disease: a pragmatic review mapping disease severity and progression[J]. *Lupus*, 2020, 29(9): 1011-1020.
- [2] Fanouriakis A, Tziolos N, Bertias G, et al. Update on the diagnosis and management of systemic lupus erythematosus[J]. *Ann Rheum Dis*, 2021, 80(1): 14-25.
- [3] Zeng Z L, Li G H, Wu S Y, et al. Role of pyroptosis in cardiovascular disease[J]. *Cell Prolif*, 2019, 52(2): e12563.
- [4] Kang R, Zeng L, Zhu S, et al. Lipid peroxidation drives gasdermin D-mediated pyroptosis in lethal polymicrobial sepsis[J]. *Cell Host Microbe*, 2018, 24(1): 97-108.
- [5] Fu J N, Wu H. Structural mechanisms of NLRP3 inflammasome assembly and activation[J]. *Annu Rev Immunol*, 2022, 41: 301-316.
- [6] Xu S, Chen H W, Ni H E, et al. Targeting HDAC6 attenuates nicotine-induced macrophage pyroptosis via NF- κ B/NLRP3 pathway[J]. *Atherosclerosis*, 2021, 317: 1-9.
- [7] Long J P, Sun Y, Liu S S, et al. Targeting pyroptosis as a preventive and therapeutic approach for stroke[J]. *Cell Death Discov*, 2023, 9(1): 155.
- [8] Sharma A, Choi J S Y, Stefanovic N, et al. Specific NLRP3 inhibition protects against diabetes-associated atherosclerosis[J]. *Diabetes*, 2021, 70(3): 772-787.
- [9] Faliti C E, Gualtierotti R, Rottoli E, et al. P2X7 receptor restrains pathogenic Tfh cell generation in systemic lupus erythematosus[J]. *J Exp Med*, 2019, 216(2): 317-336.
- [10] Zhen Y, Zhang H. NLRP3 inflammasome and inflammatory bowel disease[J]. *Front Immunol*, 2019, 10: 276.
- [11] Ge G R, Bai J X, Wang Q, et al. Punicalagin ameliorates collagen-induced arthritis by downregulating M1 macrophage and pyroptosis via NF- κ B signaling pathway[J]. *Sci China Life Sci*, 2021, 65(3): 588-603.
- [12] Fidler T P, Xue C Y, Yalcinkaya M, et al. The AIM2 inflammasome exacerbates atherosclerosis in clonal haematopoiesis[J]. *Nature*, 2021, 592(7853): 296-301.
- [13] Olona A, Hateley C, Guerrero A, et al. Cardiac glycosides cause cytotoxicity in human macrophages and ameliorate white adipose tissue homeostasis[J]. *Br J Pharmacol*, 2021, 179(9): 1874-1886.
- [14] Septembre-Malaterre A, Boumendjel A, Seteyen A S, et al. Focus on the high therapeutic potentials of quercetin and its derivatives[J]. *Phytomed Plus*, 2022, 2(1): 100220.
- [15] Muñoz-Reyes D, Morales A, Prieto M. Transit and metabolic pathways of quercetin in tubular cells: Involvement of its antioxidant properties in the kidney[J]. *Antioxidants (Basel)*, 2021, 10(6): 909.
- [16] Sallam A A, El-Magd M A, Ahmed M M, et al. Quercetin alleviated multi-walled carbon nanotubes-induced neurotoxicity in mice through inhibition of oxidation, inflammation, and pyroptosis[J]. *Biomed Pharmacother*, 2022, 151: 113160.
- [17] Shen P, Lin W J, Deng X, et al. Potential implications of quercetin in autoimmune diseases[J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 689044.
- [18] Anders H J, Saxena R, Zhao M H, et al. Lupus nephritis[J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2020, 6(1): 7.
- [19] Yurkovich M, Vostretsova K, Chen W J, et al. Overall and cause-specific mortality in patients with systemic lupus erythematosus: a meta-analysis of observational studies[J]. *Arthritis Care Res (Hoboken)*, 2014, 66(4): 608-616.
- [20] Yu F, Haas M, Glasscock R, et al. Redefining lupus nephritis: clinical implications of pathophysiologic subtypes[J]. *Nat Rev Nephrol*, 2017, 13(8): 483-495.
- [21] Rauf A, Imran M, Khan I A, et al. Anticancer potential of quercetin: A comprehensive review[J]. *Phytother Res*, 2018, 32(11): 2109-2130.
- [22] Xu D, Hu M J, Wang Y Q, et al. Antioxidant activities of quercetin and its complexes for medicinal application[J]. *Molecules*, 2019, 24(6): 1123.
- [23] Shabbir U, Rubab M, Daliri E B, et al. Curcumin, quercetin, catechins and metabolic diseases; the role of gut microbiota[J]. *Nutrients*, 2021, 13(1): 206.
- [24] Aghababaei F, Hadidi M. Recent advances in potential health benefits of quercetin[J]. *Pharmaceuticals (Basel)*, 2023, 16(7): 1020.
- [25] Carullo G, Cappello A R, Frattaruolo L, et al. Quercetin and derivatives: useful tools in inflammation and pain management[J]. *Future Med Chem*, 2017, 9(1): 79-93.
- [26] Xiao L, Luo G, Tang Y H, et al. Quercetin and iron metabolism: What we know and what we need to know[J]. *Food Chem Toxicol*, 2018, 114: 190-203.
- [27] Huebbe P, Wagner A E, Boesch-Saadatmandi C, et al. Effect of dietary quercetin on brain quercetin levels and the expression of antioxidant and Alzheimer's disease relevant genes in mice[J]. *Pharmacol Res*, 2010, 61(3): 242-246.
- [28] Chen S, Tang Y H, Gao Y, et al. Antidepressant potential of quercetin and its glycoside derivatives: a comprehensive review and update[J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 865376.
- [29] Miao R, Jiang C, Chang W Y, et al. Gasdermin D permeabilization of mitochondrial inner and outer membranes accelerates and enhances pyroptosis[J]. *Immunity*, 2023, 56(11): 2523-2541.
- [30] Huang X Y, Feng Z Q, Jiang Y Z, et al. VSIG4 mediates transcriptional inhibition of Nlrp3 and Il-1 β in macrophages[J]. *Sci Adv*, 2019, 5(1): 7426.
- [31] Cao H, Liang J Y, Liu J, et al. Novel effects of combination therapy through inhibition of caspase-1/gasdermin D induced-pyroptosis in lupus nephritis[J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 720877.
- [32] Yang C A, Huang S T, Chiang B L. Sex-dependent differential activation of NLRP3 and AIM2 inflammasomes in SLE macrophages[J]. *Rheumatology (Oxford)*, 2015, 54(2): 324-331.
- [33] Swanson K V, Deng M, Ting J P. The NLRP3 inflammasome: molecular activation and regulation to therapeutics[J]. *Nat Rev Immunol*, 2019, 19(8): 477-489.