

· 基础研究 ·

化瘀解毒方对梗阻性肾病大鼠肾脏 NLRP3、Caspase1、IL-1 β 表达的影响

梁文杰^{1,2} 马雪莲^{1,2} 王 莹¹ 熊云昭¹ 王香婷² 许庆友^{1,2}

摘要 目的 观察化瘀解毒方对梗阻性肾病大鼠肾脏核苷酸结合寡聚结构域样受体蛋白 3 [NOD (nucleotide-binding oligomerization domain)-like receptor protein 3, NLRP3]、天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶 1 (Caspase-1)、IL-1 β 表达的影响。**方法** 将 40 只清洁级 SD 大鼠随机分为假手术组 (10 只)、造模组 (30 只), 采用单侧输尿管结扎 (unilateral ureteral obstruction, UUO) 手术复制梗阻性肾病模型, 成功后随机分为模型组、西药组和中药组, 每组各 10 只。西药组给予依普利酮 100 mg/(kg·d), 中药组给予化瘀解毒方 13.7 g/(kg·d), 假手术组和模型组给予等量生理盐水, 连续给药 10 天。检测各组血清 IL-1 β 含量, 检测肾脏 NLRP3、Caspase-1、IL-1 β 蛋白及 mRNA 表达, 检测肾脏 TUNEL 阳性细胞率。**结果** 假手术组 NLRP3 表达不明显, Caspase-1 及 IL-1 β 呈弱表达, 仅见少量 TUNEL 阳性细胞。与假手术组比较, 模型组血清 IL-1 β 含量升高 ($P < 0.01$), 肾组织 NLRP3、Caspase-1 及 IL-1 β 蛋白及 mRNA 表达升高 ($P < 0.01$); NLRP3 主要表达于肾间质巨噬细胞及肾小管上皮细胞, Caspase-1 及 IL-1 β 主要见于肾小管上皮细胞胞浆; TUNEL 阳性细胞增多, 以间质扩张的远端小管上皮细胞为主 ($P < 0.01$)。与模型组比较, 两个给药组血清 IL-1 β 含量降低 ($P < 0.01$), NLRP3、Caspase-1 及 IL-1 β 蛋白及 mRNA 表达降低, TUNEL 阳性细胞率降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。**结论** 化瘀解毒方可下调 NLRP3、Caspase-1、IL-1 β 蛋白及 mRNA 表达, 减轻肾组织炎症损伤。

关键词 化瘀解毒方; 梗阻性肾病; NOD 样受体蛋白 3; 天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶 1; 白细胞介素-1 β

Effect of Huayu Jiedu Recipe on the Expressions of NLRP3, Caspase1, and IL-1 β in Kidneys of Obstructive Nephropathy Rats LIANG Wen-jie^{1,2}, MA Xue-lian^{1,2}, WANG Xuan¹, XIONG Yun-zhao¹, WANG Xiang-ting², and XU Qing-you^{1,2} 1 College of Integrative Medicine, Hebei Medical University, Shijiazhuang (050017); 2 Hebei College of Chinese Medicine, Hebei key Laboratory of Integrative Medicine on Liver-Kidney Patterns, Shijiazhuang (050091)

ABSTRACT Objective To observe the effect of Huayu Jiedu Recipe (HJR) on the expressions of nucleotide-binding oligomerization domain (NOD)-like receptor protein 3 (NLRP3), Caspase-1, IL-1 β in kidneys of obstructive nephropathy rats. **Methods** Totally 40 clean grade SD rats were randomly divided into the sham-operation group ($n=10$) and the model group ($n=30$). The model of obstructive nephropathy was established by unilateral ureteral obstruction (UUO). Totally 30 successfully modeled UUO rats were randomly divided into the model group, the Western medicine group, the Chinese medicine group, 10 in each group. Eplerenone (100 mg·kg⁻¹·d⁻¹) was administrated to rats in the Western medicine group. HJR (13.7 g·kg⁻¹·d⁻¹) was administrated to rats in the Chinese medicine group. Equal volume of normal saline was administered to rats in the sham-operation group and the model group. All medication was performed once daily for 10 successive days. The serum IL-1 β level was detected. Protein and

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (No.81473652); 河北省科技计划项目 (No.152777208); 河北省教育厅重点项目 (No.ZD2016018)

作者单位: 1. 河北医科大学中西医结合学院 (石家庄 050017); 2. 河北中医学院, 河北省中西医结合肝肾病证重点实验室 (石家庄 050091)

通讯作者: 许庆友, Tel: 0311-89926290, E-mail: qingyouxu@sohu.com

DOI: 10.7661/j.cjim.20170208.017

mRNA expressions of NLRP3, Caspase-1, and IL-1 β in renal tissue were detected. TUNEL positive rate was detected by TUNEL method. Results The expression of NLRP3 was not obviously seen, Caspase-1 and IL-1 β were weakly expressed, and only fewer amount of TUNEL positive cells could be seen in the sham-operation group. Compared with the sham-operation group, serum IL-1 β level increased ($P < 0.01$), mRNA and protein expression of NLRP3, Caspase-1, and IL-1 β were up-regulated in renal tissue of the model group ($P < 0.01$). NLRP3 was mainly expressed in renal interstitial macrophages and renal tubular epithelial cells. Caspase-1 and IL-1 β were mainly expressed in the cytoplasm of renal tubular epithelial cells. TUNEL positive cells were significantly increased, mainly dominated in interstitial expanded epithelial cells of distal tubules ($P < 0.01$). Compared with the model group, serum IL-1 β level was significantly decreased ($P < 0.01$); mRNA and protein expressions of NLRP3, Caspase-1, and IL-1 β were obviously down-regulated ($P < 0.01$), and the TUNEL positive rate was obviously decreased ($P < 0.05$, $P < 0.01$) in the two medicated groups. Conclusion HJR could down-regulate mRNA and protein expressions of NLRP3, Caspase-1, and IL-1 β , thus attenuating inflammatory injury of renal tissue.

KEYWORDS Huayu Jiedu Recipe; obstructive nephropathy; nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor protein 3; Caspase-1; interleukin-1 β

炎症小体是细胞内模式识别受体(pattern recognition receptor, PRR)等多种蛋白质参与组装形成的蛋白复合体,在激发和调节肾脏炎症反应中发挥重要的调控作用,介导组织损伤诱发的无菌炎症,是炎症反应的感受器和调节器。炎症小体可激活 Caspase-1 并进一步促进炎症因子 IL-1 β 和 IL-18 的切割和成熟, NLRP3 炎症小体是其重要成员^[1]。NLRP3/Caspase-1/IL-1 β 诱导的炎症反应及其相关的组织损伤是导致慢性梗阻性肾病进展为终末期肾病的重要因素^[2]。当机体受到各种微生物性或非微生物性信号刺激时,宿主细胞可通过 PRR 识别各种危险信号,激活 NLRP3 炎症小体,进而诱导炎症凋亡(pyroptosis)^[3],加重疾病进程。中医药通过作用于 NLRP3 炎症小体相关分子而调节炎症因子及其信号通路,干预慢性肾脏病(chronic kidney disease, CKD)的发生发展,产生明显效果^[1]。本实验采用大鼠单侧输尿管结扎(unilateral ureteral obstruction, UUO)方式,复制梗阻性肾病模型,给予醛固酮受体阻断剂依普利酮及化瘀解毒方干预治疗,观察 NLRP3 炎症小体相关分子在 UUO 大鼠肾脏组织的活化及其对细胞 DNA 损伤的影响,并观察化瘀解毒方的调控作用,以探索其作用机制。

材料与方法

1 动物 清洁级雄性 SD 大鼠,8 周龄,体重(180 $\pm$ 20)g,购于河北医科大学动物实验中心,许可证号:SCXK(冀)2013-1-003。实验动物于河北医科大学中西医结合学院动物实验室饲养 1 周,温度(20 $\pm$ 2) $^{\circ}\text{C}$,自由进食和饮水。动物实验经河北中医

学院伦理委员会批准(批号:冀中医科[2015]1 号)。

2 药物 依普利酮(粉剂),英国 Abcam 公司产品,50 mg,批号:APN12608-1-1。化瘀解毒方:采用广东一方制药有限公司免煎颗粒(黄芪 4 g 醋鳖甲 0.7 g 僵蚕 1 g 乌梢蛇 2 g 地龙 1 g 赤芍 2 g 丹参 3.9 g 黄芩 1.8 g 金银花 2 g 蒲公英 0.9 g 大黄 2.5 g),含生药 126 g,按比例混匀煎煮 15 min。

3 试剂及仪器 IL-1 β 放免试剂盒,北京北方生物技术研究所有限公司,批号:151125;SYBR Green 荧光定量 PCR 试剂盒,Vazyme Biotech Co.,Ltd,批号:R233-01;NLRP3 抗体,英国 Eterlife 公司,批号:F1716;Caspase-1 抗体,美国 Proteintech,批号:00046167;IL-1 β 抗体,美国 Novus Biologicals,批号:NB600-633。紫外-可见分光光度计,型号:756MC,上海精密科学仪器有限公司;电泳仪及电泳槽,型号:DYY-12C,北京六一仪器厂;紫外透射仪,型号:UV-254,北京鼎国公司;放射免疫计数器,型号:FJ-2021R,国营二六工厂;实时荧光定量基因扩增仪,型号:7500 Fast,美国 Applied Biosystems 公司;双色红外激光成像系统,型号:odyssey,美国 LI-cor 公司;显微镜,型号:VANOX DM-10AD,日本 Olympus。

4 动物分组及模型制备 40 只 SD 大鼠以随机数字表法分为假手术组、模型组、西药组及中药组,每组 10 只。大鼠单侧输尿管梗阻模型制备参照 Iwai T 方法^[4]。各组大鼠 10%水合氯醛注射后,于左侧中腹部切开皮肤,游离左侧输尿管,分别在输尿管上 1/3 处和中 1/3 处用丝线结扎,切断输尿管,逐层缝合皮肤。

假手术组仅游离而不结扎输尿管。术后因感染死亡 3 只。

5 干预方法 术后灌胃给药,西药组大鼠按参考文献[5]给予依普利酮 100 mg/(kg·d);中药组按参考文献[6]给予化瘀解毒中药煎剂 13.7 g/(kg·d);假手术组及模型组给予等容量生理盐水。连续干预 10 天。

6 检测指标及方法 干预结束后断头取血,摘取左侧肾脏,部分组织置于 4% 多聚甲醛中固定,用于石蜡包埋,其余组织 -70℃ 保存以备指标检测。

6.1 血清 IL-1 β 检测 大鼠股动脉取血,留取血液标本 3 mL,吸取血清。采用放射免疫法检测,按照试剂盒说明操作。

6.2 肾组织 NLRP3、Caspase-1、IL-1 β mRNA 表达检测 采用 Real-time PCR 法。提取 RNA,反转录 cDNA 后扩增。PCR 反应体系 20 μ L,扩增条件:95℃ 预变性 2 min,两步法循环反应(95℃ 10 s,60℃ 1 min)40 个循环,融解曲线 95℃ 15 s,60℃ 60 s,95℃ 15 s。以 GAPDH 为内参照基因,得到目的基因的 Ct 值,以 RQ 值表示基因相对表达量, $RQ = 2^{-\Delta\Delta Ct}$ 。引物由 Invitrogen 公司合成,序列如表 1。

表 1 Real-time PCR 引物序列

基因	序列	长度(bp)
NLRP3	上游:5'-CAGAAGCTGGGGTTGGTGAA-3'	125
	下游:5'-CCCATGTCTCCAAGGGCATT-3'	
Caspase-1	上游:5'-GTGGTCCCTCAAGTTTTGC-3'	154
	下游:5'-CCGACTCTCCGAGAAAGATG-3'	
IL-1 β	上游:5'-CAGCTTTTCGACAGTGAGGAGA-3'	139
	下游:5'-TTGTGCGAGATGCTGCTGTGA-3'	
GAPDH	上游:5'-ACTTTGGCATCGTGGAAGGG-3'	220
	下游:5'-ACATTGGGGGTAGGAACACG-3'	

6.3 SABC 法检测 NLRP3、Caspase-1、IL-1 β 蛋白表达 参照参考文献[7]。石蜡切片(4 μ m)脱蜡、梯度脱水,修复抗原后加入兔抗鼠一抗(1:100)4℃ 过夜;PBS 清洗 3 次,5 min/次,加入生物素标记的羊抗兔二抗,37℃ 孵育 1 h,同上清洗 3 次,滴加 SABC 复合物,37℃ 孵育 30 min,同上清洗 3 次,DAB 显色,蒸馏水充分冲洗,苏木精复染,脱水,透明,封片。显微镜观察蛋白表达情况及位置,以光镜下出现棕黄色颗粒为阳性表达。

6.4 Western Blot 法检测肾组织 NLRP3、Caspase-1、IL-1 β 蛋白表达 参照参考文献[8]。冰冻肾组织给以裂解液(含蛋白酶抑制剂)提取并测

定蛋白含量;上样蛋白 20~60 μ g,电泳、转膜;5%脱脂牛奶封闭 1~2 h,加入兔抗鼠一抗(1:500~1 000),4℃ 过夜,TBST 清洗 10 min $\times$ 3 次;加入荧光素标记的羊抗兔二抗(1:20 000),室温 60 min,TBST 清洗 10 min $\times$ 3 次,TBST 清洗 10 min 后用红外激光成像系统扫描,所得结果给以内参校正。

6.5 TUNEL 染色检测肾组织细胞 DNA 损伤情况 将石蜡切片(4 μ m)常规脱蜡、水化;在组织片上滴加新鲜配置的渗透试剂 0.1% TritonX-100,冰上孵育 10 min 后,PBS 洗 2 遍;每个样本滴加 50 μ L TUNEL 反应液,37℃ 避光孵育 60 min,PBS 洗 3 遍;滴加 POD 阳性信号转换剂,37℃ 避光孵育 20 min,PBS 洗 3 遍。苏木素复染 10 s,流水冲洗,盐酸分化 1~2 s,Scott 液返蓝 2 min,流水冲洗。梯度脱水、透明、封片。显微镜下观察:正常细胞核显蓝色,TUNEL 阳性细胞核染棕黄色。400 倍光镜下,每组选取互不连接的 10 个视野,统计 TUNEL 阳性细胞,计算阳性率,阳性率(%)=(TUNEL 阳性细胞数/细胞总数) $\times$ 100%。

7 统计学方法 采用 SPSS 13.0 统计软件进行数据分析。数据采用 $\bar{x}\pm s$ 表示,各组数据比较前先行正态性及方差齐性检验,满足正态性及方差齐性者,多组比较采用单因素方差分析,组间比较采用 LSD 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 各组大鼠血清 IL-1 β 含量比较(表 2) 与假手术组比较,模型组血清 IL-1 β 含量升高($P<0.01$)。与模型组比较,两个给药组血清 IL-1 β 含量降低($P<0.01$)。

表 2 各组大鼠血清 IL-1 β 含量比较 (ng/mL, $\bar{x}\pm s$)

组别	n	IL-1 β
假手术	10	0.223 $\pm$ 0.048
模型	9	0.290 $\pm$ 0.056*
西药	9	0.227 $\pm$ 0.036 Δ
中药	9	0.231 $\pm$ 0.029 Δ

注:与假手术组比较,* $P<0.01$;与模型组比较, $\Delta P<0.01$

2 各组大鼠肾组织 NLRP3、Caspase-1 及 IL-1 β mRNA 表达比较(表 3) 与假手术组比较,模型组肾组织 NLRP3、Caspase-1 及 IL-1 β mRNA 表达升高($P<0.01$)。与模型组比较,两个给药组 NLRP3、Caspase-1 及 IL-1 β mRNA 表达降低($P<0.01$)。

表 3 各组大鼠肾组织 NLRP3、Caspase-1、IL-1β mRNA 表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	NLRP3	Caspase-1	IL-1β
假手术	6	1.1 ± 0.3	0.76 ± 0.21	0.91 ± 0.23
模型	6	11.9 ± 3.8 *	10.57 ± 1.23 *	8.84 ± 2.43 *
西药	6	7.7 ± 1.1 [△]	7.64 ± 0.48 [△]	4.07 ± 1.17 [△]
中药	6	5.2 ± 1.9 [△]	5.65 ± 1.72 [△]	4.75 ± 0.91 [△]

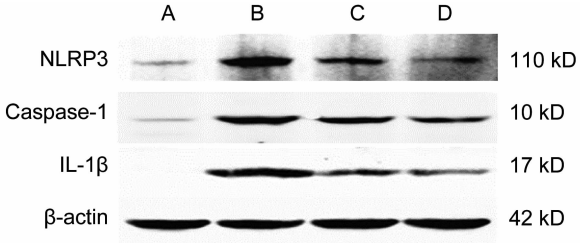
注:与假手术组比较,**P* < 0.01;与模型组比较,[△]*P* < 0.01

3 各组大鼠肾组织 NLRP3、Caspase-1 及 IL-1β 蛋白表达比较(表 4,图 1、2) 假手术组 NLRP3 表达不明显,Caspase-1 及 IL-1β 呈弱表达,模型组 NLRP3 主要表达于肾间质巨噬细胞及肾小管上皮细胞,Caspase-1 及 IL-1β 主要见于肾小管上皮细胞胞浆。与假手术组比较,模型组 NLRP3、Caspase-1 及 IL-1β 蛋白表达均升高(*P* < 0.01)。与模型组比较,两个给药组 NLRP3、Caspase-1 及 IL-1β 表达降低(*P* < 0.01)。

表 4 各组大鼠肾组织 NLRP3、Caspase-1 及 IL-1β 蛋白表达量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	NLRP3	Caspase-1	IL-1β
假手术	6	0.11 ± 0.03	0.10 ± 0.03	0.013 ± 0.004
模型	6	0.69 ± 0.14 *	0.83 ± 0.15 *	0.703 ± 0.144 *
西药	6	0.35 ± 0.11 [△]	0.59 ± 0.16 [△]	0.375 ± 0.089 [△]
中药	6	0.32 ± 0.09 [△]	0.47 ± 0.08 [△]	0.324 ± 0.107 [△]

注:与假手术组比较,**P* < 0.01;与模型组比较,[△]*P* < 0.01



注:A 为假手术组;B 为模型组;C 为西药组;D 为中药组

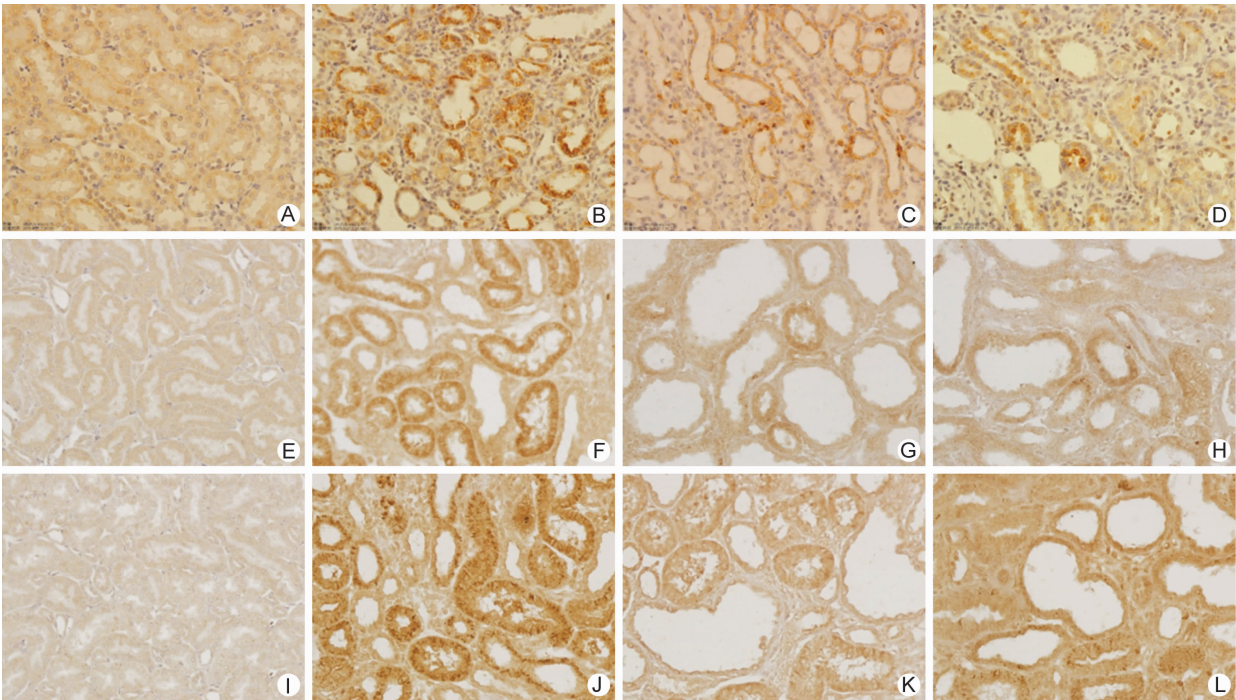
图 2 Western Blot 检测各组大鼠肾组织 NLRP3、Caspase-1、IL-1β 蛋白表达

4 各组肾组织细胞 TUNEL 染色阳性率比较(表 5,图 3) 假手术组仅见少量 TUNEL 阳性细胞。与假手术组比较,模型组细胞阳性率升高,以间质扩张的远端小管上皮细胞为主(*P* < 0.01)。与模型组比较,两个给药组远端小管 TUNEL 阳性细胞减少,阳性率降低(*P* < 0.05, *P* < 0.01)。

表 5 各组大鼠肾组织细胞 TUNEL 染色阳性率比较 (% , $\bar{x} \pm s$)

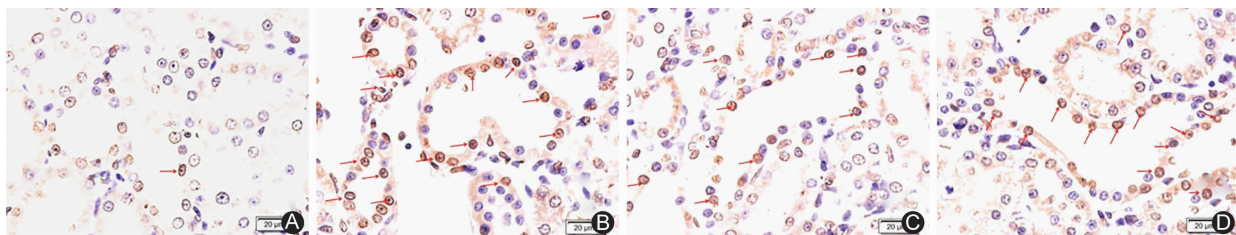
组别	n	阳性率
假手术	6	3.8 ± 1.5
模型	6	35.2 ± 5.5 *
西药	6	26.0 ± 6.0 [△]
中药	6	23.6 ± 6.8 ^{△△}

注:与假手术组比较,**P* < 0.01;与模型组比较,[△]*P* < 0.05,^{△△}*P* < 0.01



注:A-D 为 NLRP3 表达结果;E-H 为 Caspase-1 表达结果;I-L 为 IL-1β 表达结果;A、E、I 为假手术组;B、F、J 为模型组;C、G、K 为西药组;D、H、L 为中药组

图 1 各组大鼠肾组织 NLRP3、Caspase-1、IL-1β 蛋白表达 (SABC, ×400)



注:A 为假手术组;B 为模型组;C 为西药组;D 为中药组;箭头所指为 TUNEL 阳性细胞

图3 各组肾组织细胞病理结果 (TUNEL, ×400)

讨 论

NLRP3 炎症小体参与肾脏炎症损伤^[1]。肾损害时释放的许多损伤相关分子模式,包括活性氧、胞外 ATP、尿酸、核酸、透明质酸以及二聚糖等细胞外基质成分,可激活 NLRP3 炎症小体,NLRP3/IL-1 β 轴是 CKD 进展的重要原因,CKD 进程中,肾小管上皮细胞、足细胞及浸润的巨噬细胞等均可见到 NLRP3 炎症小体活化^[9]。结扎小鼠单侧输尿管,肾小管上皮细胞 NLRP3、Caspase-1、IL-1 β 及 IL-18 表达明显增强,促进肾脏炎症及纤维化;敲除 NLRP3 基因,UUO 术后肾小管损伤明显减轻^[10,11]。前期研究显示,UUO 术后大鼠肾脏炎细胞浸润明显,炎性因子表达增强,而依普利酮可阻断醛固酮的致炎作用,下调炎性因子表达,减轻炎症损伤^[12,13]。

Hua KF 等^[14]报道,中药蛇床子的有效成分蛇床子素可抑制体外培养的活化的巨噬细胞及肾系膜细胞活性氧的产生和释放,减少超氧离子水平,进而抑制 NLRP3 活化,减少炎细胞浸润,改善炎症损伤。Yang Y 等^[15]报道,五苓散(猪苓、茯苓、泽泻、肉桂、白术等)通过抑制 Toll 样受体信号通路分子进而抑制炎症小体活化,减少 IL-1 β 分泌,从而减轻炎性细胞浸润。

CKD 中医病机是“虚、瘀、毒”,“虚”是发病基础,“瘀”是病变结果,“毒”是进展关键,基于此病机采用活血制毒及益气扶正治法。在前期化瘀涤痰通络中药(地龙、僵蚕、鳖甲、赤芍、丹参、黄芪、大黄)的基础上,加入黄芩、金银花、蒲公英等药以解毒泻浊。方中地龙、僵蚕、鳖甲、乌梢蛇以化瘀通络、软坚散结;赤芍、丹参以活血养血;大黄、黄芩、金银花、蒲公英以解毒泻浊;黄芪以益气扶正。临床观察化瘀解毒方可有效减轻症状,保护肾功能,减缓疾病进展^[16]。

本研究结果显示,UUO 大鼠肾组织 NLRP3、Caspase-1 mRNA 及蛋白水平表达均升高,从而加速了 IL-1 β 等炎性因子的成熟,促进肾组织及血清炎

性因子升高,加重炎症损伤。化瘀解毒方可明显抑制 NLRP3 炎症小体活化,下调肾组织 NLRP3、Caspase-1 分子表达,导致肾组织及血清的 IL-1 β 等炎性因子水平降低,减轻炎症损伤。提示化瘀解毒方对 NLRP3/Caspase-1/IL-1 β 轴有调控作用,NLRP3 可能是化瘀解毒中药拮抗炎症损伤的靶点之一。

NLRP3 炎症小体激活使 Caspase-1 活化,Caspase-1 不仅剪切 pro-IL-1 β 为成熟的炎性因子,而且诱导细胞膜穿孔损伤,导致炎性凋亡(pyroptosis),有利于 IL-1 β 的释放^[17,18]。炎性凋亡亦称焦亡,是一种伴随着炎症反应的细胞程序性死亡,兼具凋亡和坏死的特征又有别于之,DNA 损伤和膜损伤是其两个基本特征,由于染色质 DNA 断裂,使其 TUNEL 染色阳性,这与凋亡相似^[19];而与凋亡不同的是,由于细胞膜上众多 1~2 nm 的膜孔形成,使细胞内容物及 IL-1 β 等炎性因子释放,进一步扩大炎症反应^[20]。本研究显示化瘀解毒方通过调控 NLRP3 炎症小体而下调 Caspase-1 分子表达,并使肾组织 TUNEL 阳性细胞减少,同时降低肾组织及血清的 IL-1 β 表达水平,提示化瘀解毒方可能通过调控 NLRP3/Caspase-1/Pyroptosis 通路,抑制 Caspase-1 介导的炎性凋亡而拮抗炎症损伤。

化瘀解毒方可通过调控 NLRP3 炎症小体抑制 IL-1 β 产生及 Caspase-1 介导的炎性凋亡,减轻肾组织炎症损伤。但炎症机制十分复杂,NLRP3 炎症小体活化可导致炎性凋亡,也可引起凋亡^[21],有待进一步研究。

参 考 文 献

- [1] Gross O, Thomas CJ, Guarda G, et al. The inflammasome: an integrated view [J]. Immunol Rev, 2011, 243(1): 136-151.
- [2] Turner CM, Arulkumaran N, Singer M, et al. Is the inflammasome a potential therapeutic target in renal diseases [J]. BMC Nephrol, 2014, 15: 21.
- [3] 王岩,孙兵. 炎症小体及其相关疾病的研究进展[J].

- 中国免疫学杂志, 2015, 31(6): 721-727.
- [4] Iwai T, Kitamoto K, Teramoto K, et al. Cobalt protoporphyrin attenuates rat obstructive nephropathy: role of cellular infiltration[J]. *Urology*, 2008, 72(2): 432-438.
- [5] Nielsen FT, Jensen BL, Hansen PB, et al. The mineralocorticoid receptor antagonist eplerenone reduces renal interstitial fibrosis after long-term cyclosporine treatment in rat: antagonizing cyclosporine nephrotoxicity [J]. *BMC Nephrol*, 2013, 14: 42.
- [6] 徐叔云, 卞如濂, 陈修. 药理实验方法学[M]. 第3版. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 203-204.
- [7] Fang X, Tao D, Shen J, et al. Neuroprotective effects and dynamic expressions of MMP9 and TIMP1 associated with atorvastatin pretreatment in ischemia-reperfusion rats [J]. *Neurosci Lett*, 2015, 603: 60-65.
- [8] Ding W, Xu C, Wang B, et al. Rotenone attenuates renal injury in aldosterone-infused rats by inhibiting oxidative stress, mitochondrial dysfunction, and inflammasome activation [J]. *Med Sci Monit*, 2015, 21: 3136-3143.
- [9] 梁文杰, 毕建成, 许庆友. NLRP3 炎症小体在慢性肾脏病的表达及中药的干预机制[J]. *中药药理与临床*, 2016, 32(3): 208-211.
- [10] Wang W, Wang X, Chun J, et al. Inflammasome-independent NLRP3 augments TGF- β signaling in kidney epithelium [J]. *J Immunol*, 2013, 190(3): 1239-1249.
- [11] Vilaysane A, Chun J, Seamone ME, et al. The NLRP3 inflammasome promotes renal inflammation and contributes to CKD [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2010, 21(10): 1732-1744.
- [12] 王箬, 梁丽娟, 王聪慧, 等. 肾络通煎剂对梗阻性肾病大鼠肾间质纤维化的影响[J]. *中国中西医结合杂志*, 2014, 34(10): 1238-1244.
- [13] Ding W, Guo H, Xu C, et al. Mitochondrial reactive oxygen species-mediated NLRP3 inflammasome activation contributes to aldosterone-induced renal tubular cells injury [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(14): 17479-17491.
- [14] Hua KF, Yang SM, Kao TY, et al. Osteole mitigates progressive IgA nephropathy by inhibiting reactive oxygen species generation and NF- κ B/NLRP3 pathway [J]. *PLoS One*, 2013, 8(10): e77794.
- [15] Yang Y, Zhang DM, Liu JH, et al. Wuling San protects kidney dysfunction by inhibiting renal TLR4/MyD88 signaling and NLRP3 inflammasome activation in high fructose-induced hyperuricemic mice [J]. *J Ethnopharmacol*, 2015, 169: 49-59.
- [16] 彭云松, 梁丽娟, 谷艳丽, 等. 化瘀通络解毒法治疗瘀血阻络型 IgA 肾病 60 例临床观察 [J]. *河北中医*, 2013, 35(8): 1130-1132.
- [17] Próchnicki T, Mangan MS, Latz E. Recent insights into the molecular mechanisms of the NLRP3 inflammasome activation [J]. *F1000Res*, 2016, 5: 1469.
- [18] Dubois H, Wullaert A, Lamkanfi M. General strategies in inflammasome biology [J]. *Curr Top Microbiol Immunol*, 2016, 397: 1-22.
- [19] Vande Walle L, Lamkanfi M. Pyroptosis [J]. *Curr Biol*, 2016, 26(13): R568-R572.
- [20] Lamkanfi M, Dixit VM. Manipulation of host cell death pathways during microbial infections [J]. *Cell Host Microbe*, 2010, 8(1): 44-54.
- [21] Chung H, Vilaysane A, Lau A, et al. NLRP3 regulates a non-canonical platform for caspase-8 activation during epithelial cell apoptosis [J]. *Cell Death Differ*, 2016, 23(8): 1331-1346.
- (收稿: 2016-10-29 修回: 2016-12-31)
- 责任编辑: 赵芳芳
英文责编: 张晶晶