

基于 Nrf2 调控 Pink1/Parkin 介导的线粒体自噬探讨金丝桃苷防治脓毒症相关急性肾损伤的作用机制

魏艳华^{1,2}, 李嘉欣^{1,2}, 宋捷^{1,2}, 张利^{1,2*}, 孙林春^{3*}

1. 南京中医药大学附属中西医结合医院 检验科, 江苏南京 210028

2. 江苏省中医药研究院, 江苏南京 210028

3. 南京医科大学附属儿童医院 检验科, 江苏南京 210008

摘要: 目的 探讨金丝桃苷对脓毒症相关急性肾损伤 (sepsis-associated acute kidney injury, SAKI) 小鼠的干预作用及相关机制。方法 采用盲肠结扎穿孔术 (cecal ligation and puncture, CLP) 建立 SAKI 小鼠模型, 设置假手术组、模型组、地塞米松 (1 mg/kg) 组及金丝桃苷高、低剂量 (50、25 mg/kg) 组和金丝桃苷 (50 mg/kg) + 核因子 E2 相关因子 2 (nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Nrf2) 抑制剂 ML385 (30 mg/kg) 组。给予药物干预 7 d 后, 绘制小鼠生存曲线, 检测肾功能、炎症因子和氧化应激水平; 采用苏木素-伊红 (hematoxylin-eosin, HE) 染色观察肾组织病理变化; 采用 TUNEL 染色检测肾组织细胞凋亡情况; 免疫组化检测肾组织 Nrf2 的表达; Western blotting 检测肾组织 Nrf2、PTEN 诱导激酶 1 (PTEN induced kinase 1, Pink1)、Parkin 蛋白表达; 免疫荧光分析肾组织微管相关蛋白 1 轻链 3B (microtubule-associated protein 1 light chain 3B, LC3B) 和线粒体外膜转运酶 20 同源物 (translocase of the outer mitochondrial membrane 20, TOMM20) 的共定位情况。体外采用脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 诱导人肾小管上皮细胞 (human kidney-2, HK-2) 损伤, 给予金丝桃苷干预后, 检测细胞活力、凋亡和活性氧水平; 透射电镜观察线粒体超微结构; 流式细胞仪检测线粒体膜电位 (mitochondrial membrane potential, MMP) 和三磷酸腺苷 (adenosine triphosphate, ATP) 水平以评估线粒体功能; Western blotting 检测 Nrf2、血红素加氧酶-1 (heme oxygenase-1, HO-1) 以及线粒体自噬蛋白 Pink1、Parkin、p62 的表达。结果 与模型组比较, 金丝桃苷可显著提高 SAKI 小鼠存活率 ($P < 0.05$), 减轻体质量下降和肾脏病理损伤 ($P < 0.05$ 、 0.01), 改善肾功能和氧化应激反应 ($P < 0.05$ 、 0.01), 抑制炎症因子水平 ($P < 0.05$ 、 0.01), 上调肾组织 Nrf2、Pink1、Parkin 的表达 ($P < 0.01$), 增加肾组织 LC3B 与 TOMM20 的共定位。体外实验结果显示, 金丝桃苷 (40 μmol/L) 可抑制 LPS 诱导的 HK-2 细胞凋亡和氧化应激 ($P < 0.01$), 提高 MMP 及 ATP 水平 ($P < 0.01$), 上调 Nrf2、HO-1、Pink1、Parkin 蛋白表达 ($P < 0.01$), 下调 p62 的表达 ($P < 0.01$), 促进线粒体自噬, 缓解线粒体损伤。此外, Nrf2 抑制剂 ML385 显著逆转金丝桃苷对 CLP 诱导的 SAKI 小鼠的保护作用 ($P < 0.05$ 、 0.01), 同时减弱了金丝桃苷诱导的 HK-2 细胞线粒体自噬。结论 金丝桃苷可能通过激活 Nrf2/HO-1 信号通路调控 Pink1/Parkin 介导的线粒体自噬, 缓解线粒体功能障碍, 减轻 SAKI 小鼠的氧化应激与炎症反应, 从而发挥肾脏保护作用。

关键词: 金丝桃苷; 脓毒症相关急性肾损伤; 线粒体自噬; Nrf2; 氧化应激; 炎症反应

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253 - 2670(2026)02 - 0515 - 12

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.02.012

Mechanism of hyperoside in preventing and treating sepsis-associated acute kidney injury based on Nrf2-regulated Pink1/Parkin-mediated mitophagy

WEI Yanhua^{1,2}, LI Jiaxin^{1,2}, SONG Jie^{1,2}, ZHANG Li^{1,2}, SUN Linchun³

1. Department of Clinical Laboratory, Affiliated Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210028, China

2. Jiangsu Province Academy of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210028, China

3. Department of Clinical Laboratory, Children's Hospital Affiliated to Nanjing Medical University, Nanjing 210008, China

收稿日期: 2025-07-01

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(81873055); 南京中医药大学自然科学基金项目(XZR2023058); 南京市卫生科技发展专项(YKK20125); 江苏省中医药科技发展计划重点项目(ZD202415)

作者简介: 魏艳华, 主管技师, 研究方向为临床检验。E-mail: weiyanhua840816@126.com

*通信作者: 孙林春, 副主任技师, 主要从事脓毒症临床诊断标志物的研究。E-mail: 451377086@qq.com

张利, 主任技师, 主要从事脓毒症临床诊断标志物的研究。E-mail: 4824122@qq.com

Abstract: Objective To investigate the intervention effect and related mechanism of hyperoside on sepsis-associated acute kidney injury (SAKI) in mice. **Methods** A mouse model of SAKI was established by cecal ligation and puncture (CLP). Sham group, model group, dexamethasone (1 mg/kg) group, hyperoside high-, low-dose (50, 25 mg/kg) groups and hyperoside (50 mg/kg) + nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2) inhibitor ML385 (30 mg/kg) group were set up. After 7 d of drug intervention, the survival curve of mice was plotted. The levels of renal function, inflammatory factors and oxidative stress were detected. The pathological changes of renal tissue were observed by hematoxylin-eosin (HE) staining. TUNEL staining was used to detect apoptosis in renal tissue cells. Immunohistochemical was used to detect Nrf2 expression in renal tissue. Western blotting was used to detect the expressions of Nrf2, PTEN induced kinase 1 (Pink1) and Parkin proteins in renal tissue. Immunofluorescence was used to detect the co-localization of microtubule associated protein 1 light chain 3B (LC3B) and translocase of the outer mitochondrial membrane 20 (TOMM20) in renal tissue. Lipopolysaccharide (LPS) was used *in vitro* to induce injury in human tubular epithelial cells (HK-2). After intervention with hyperoside, cell viability, apoptosis and reactive oxygen species levels were detected. Mitochondrial ultrastructure was observed by transmission electron microscopy. Flow cytometry was used to detect mitochondrial membrane potential (MMP) and adenosine triphosphate (ATP) levels to evaluate mitochondrial function. Western blotting was used to detect the expressions of Nrf2, heme oxygenase-1 (HO-1) and mitochondrial autophagy proteins Pink1, Parkin, p62. **Results** Compared with model group, hyperoside could significantly improve the survival rate of SAKI mice ($P < 0.05$), alleviate weight loss and renal pathological damage ($P < 0.05$, 0.01), improve renal function and oxidative stress response ($P < 0.05$, 0.01), inhibit inflammatory factor levels ($P < 0.05$, 0.01), up-regulate the expressions of Nrf2, Pink1, Parkin in renal tissue ($P < 0.01$), and increase the co-localization of LC3B and TOMM20 in renal tissue. *In vitro* experimental results showed that hyperoside (40 μmol/L) could inhibit LPS-induced apoptosis and oxidative stress in HK-2 cells ($P < 0.01$), increase MMP and ATP levels ($P < 0.01$), up-regulate Nrf2, HO-1, Pink1, Parkin protein expressions ($P < 0.01$), down-regulate p62 expression ($P < 0.01$), promote mitochondrial autophagy, and alleviate mitochondrial damage. In addition, Nrf2 inhibitor ML385 significantly reversed the protective effect of hyperoside on CLP-induced SAKI mice ($P < 0.05$, 0.01), while weakening hyperoside induced mitochondrial autophagy in HK-2 cells. **Conclusion** Hyperoside may regulate Pink1/Parkin mediated mitochondrial autophagy by activating Nrf2/HO-1 signaling pathway, alleviate mitochondrial dysfunction, alleviate oxidative stress and inflammatory response in SAKI mice, and thus exert renal protective effects.

Key words: hyperoside; sepsis-associated acute kidney injury; mitophagy; Nrf2; oxidative stress; inflammatory response

急性肾损伤 (acute kidney injury, AKI) 作为一种临床综合征，其典型特征为肾功能呈现急剧恶化态势，伴有高发病率和高死亡率，同时也是引发终末期肾病的关键诱因^[1]。其中，脓毒症是 AKI 最常见的病因之一，约 42% 的脓毒症患者合并 AKI，而脓毒症相关急性肾损伤 (sepsis-associated AKI, SAKI) 的致死率达到 60%~80%^[2]。除采用脏器功能支持、体液复苏以及抗生素治疗等手段外，目前尚未有其他特效治疗方式。鉴于此，深入探究 SAKI 的病理发生机制，从而探寻有效的治疗靶点已成为亟待解决的重要课题。

线粒体自噬在维持肾脏细胞稳态中起着关键作用，其异常与多种肾脏疾病的发生发展密切相关^[3]。在 SAKI 中，脓毒症诱导的氧化应激和炎症反应可导致线粒体损伤，而线粒体自噬的激活是一种重要的细胞保护机制^[4]。核因子 E2 相关因子 2 (nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Nrf2) 作为抗氧化应激的核心转录因子，可抑制炎症以及调控多种抗氧化酶的表达来维持线粒体的正常功能^[5-6]，促进线粒体自噬从而清除受损的线粒体，在肾脏保护中具有

重要作用^[7]。因此，针对 Nrf2 及其介导的线粒体自噬进行干预，可能为缓解 SAKI 提供新的治疗方案。金丝桃苷是黄酮醇苷类化合物，在金丝桃科、杜鹃花科、桔梗科、蔷薇科等植物的果实与全草中广泛存在^[8]，在脓毒症急性肺损伤、脓毒症急性心肌损伤等动物模型中具有显著疗效^[9-10]。金丝桃苷具有抗炎、抗氧化、调节线粒体稳态等多种生物活性，但其在 SAKI 中的作用机制尚不明确。本研究通过构建体内小鼠 SAKI 模型以及脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 诱导的人肾小管上皮细胞体外 SAKI 模型，探讨金丝桃苷是否通过激活 Nrf2 调控的线粒体自噬发挥防治 SAKI 的作用。

1 材料

1.1 动物

SPF 级雄性 C57BL/6J 小鼠 90 只，体质量 20~22 g，由江苏华创信诺医药科技有限公司提供，动物合格证号 A202503311023。小鼠饲养于温度 (25±2) °C、相对湿度 (55±15)% 的环境中，自由进食饮水。动物实验经江苏省中西医结合医院实验动物伦理委员会批准 (批准号 AEWC-20250206-475)。

1.2 细胞

人肾小管上皮细胞(human kidney-2, HK-2)由中国科学院典型培养物保藏中心提供。

1.3 药品与试剂

金丝桃苷(质量分数≥98%, 批号B20631)购自上海源叶生物科技有限公司; LPS(批号L2880)购自美国Sigma公司; Nrf2抗体(批号16396-1-AP)、血红素加氧酶-1(heme oxygenase-1, HO-1)抗体(批号10701-1-AP)、PTEN诱导激酶1(PTEN induced kinase 1, Pink1)抗体(批号23274-1-AP)、Parkin抗体(批号14060-1-AP)、p62抗体(批号18420-1-AP)、微管相关蛋白1轻链3B(microtubule-associated protein 1 light chain 3B, LC3B)抗体(批号14600-1-A)购自武汉三鹰生物技术有限公司; 线粒体外膜转运酶20同源物(translocase of the outer mitochondrial membrane 20, TOMM20)抗体(批号GB111481)购自武汉赛维尔生物科技有限公司; Nrf2抑制剂ML385(批号MCE HY-100523)购自美国MCE公司; β-actin抗体(批号bs-0061R)、山羊抗兔二抗(批号bs-0295G-HRP)购自Bioss公司; 肾损伤因子-1(kidney injury molecule-1, KIM-1)试剂盒(批号E-EL-M3039)、白细胞介素-1β(interleukin-1β, IL-1β)试剂盒(批号E-EL-M0037)、IL-6试剂盒(批号E-EL-M0044)购自武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司; 肌酐(creatinine, Cr)试剂盒(批号C011-2-1)、尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)试剂盒(批号C013-2-1)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)试剂盒(批号A003)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)试剂盒(批号A001)购自南京建成生物工程研究所; 线粒体红色荧光探针(批号KGE2705)、FITC标记的羊抗兔抗体(批号KGC6214)、凋亡试剂盒(批号KGA1101)、活性氧(reactive oxygen species, ROS)试剂盒(批号KGA7308)、线粒体膜电位(mitochondrial membrane potential, MMP)试剂盒(批号KGA1904-50)购自江苏凯基生物技术股份有限公司; CCK-8试剂盒(批号K1018)购自美国APExBIO公司; 增强型三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)试剂盒(批号S0027)购自碧云天生物技术公司。

1.4 仪器

Synergy H1型酶标仪(美国BIOTEK公司); HERAcell 150i型恒温培养箱(美国Thermo公司);

DYCP-31DN型电泳仪、DYCZ-40G型转印电泳仪(北京六一生物科技有限公司); 4200型凝胶成像系统(上海天能公司); Olympus IX73型倒置荧光显微镜、FV3000型激光共聚焦显微镜(日本Olympus公司); BD FACS CantoTM II型流式细胞仪(美国BD Biosciences公司); MILLIQU超纯水仪(美国Millipore公司); FEI Tecnai G2 F30型透射电子显微镜[赛默飞世尔科技(中国)有限公司]。

2 方法

2.1 体内实验

2.1.1 动物分组、造模与给药 将C57BL6/J小鼠随机分为假手术组、模型组、地塞米松(1 mg/kg)^[11]组及金丝桃苷低、高剂量(25、50 mg/kg)组和金丝桃苷(50 mg/kg)+ML385(30 mg/kg)^[12]组, 每组15只。采用盲肠结扎穿孔术^[13]建立脓毒症模型: 小鼠麻醉后暴露并结扎盲肠, 穿刺贯通结扎盲肠2次, 轻柔挤出少量肠内容物, 盲肠还纳腹腔并将切口缝合。假手术组小鼠除不进行结扎和穿刺外, 其余手术操作与模型组一致。手术结束后进行补液。造模后小鼠心率及呼吸频率为术前的2倍、尿量减少并出现精神萎靡、竖毛、少动、肛温≥40℃等表现, 且术后24 h模型组小鼠血清Cr、BUN水平明显高于假手术组, 提示造模成功。给药组于术前4 h ip ML385, 术后2 h ip金丝桃苷或地塞米松, 假手术组和模型组ip等体积的生理盐水, 1次/d, 连续给药7 d。术后第7天采集小鼠血液, 收集肾脏。

2.1.2 肾组织病理形态观察 取肾组织置于4%多聚甲醛中固定, 梯度乙醇脱水, 二甲苯透化, 浸蜡包埋制作蜡块, 切片。石蜡切片经二甲苯脱蜡, 梯度乙醇处理, 常规苏木素-伊红(hematoxylin-eosin, HE)染色, 于显微镜下观察并拍照。在200倍镜下对10个视野的100个肾小管进行Paller评分, 评分越高提示组织损伤程度越重(单根肾小管评分上限为10分)^[14]。

2.1.3 肾功能、促炎因子、氧化应激指标检测 按照试剂盒说明书检测血清中BUN、Cr、KIM-1、IL-6、IL-1β、MDA水平及SOD活性。

2.1.4 TUNEL染色检测肾组织细胞凋亡情况 取肾组织石蜡切片, 滴加蛋白酶K工作液, 37℃孵育30 min以去除组织中的蛋白质; 加入50 μL TUNEL检测液, 37℃避光孵育1 h; 洗涤后, 加入抗淬灭剂封片, 于荧光显微镜下观察并拍照, 激发波长设置为450~500 nm, 发射波长设置为515~

565 nm。

2.1.5 免疫组化观察肾组织 Nrf2 表达 取肾组织石蜡切片，滴加 3% H₂O₂ 溶液，室温下避光孵育 10 min，以去除组织内的内源性过氧化氢酶；漂洗后抗原修复，洗涤，用牛血清白蛋白封闭，滴加 Nrf2 抗体，4 ℃孵育过夜；孵育二抗，洗涤，DAB 和苏木素染色，自然晾干后，滴加中性树胶封片，于显微镜下观察并拍照。

2.1.6 免疫荧光染色观察肾组织线粒体自噬情况 取肾组织石蜡切片，抗原修复，血清封闭，滴加 TOMM20 抗体，湿盒内 4 ℃孵育过夜；孵育 HRP 标记的山羊抗兔二抗，加入花青 3-酪胺染料，微波处理；滴加 LC3B 抗体，湿盒内 4 ℃孵育过夜；孵育 Alexa Fluor488 标记的山羊抗兔二抗，DAPI 复染细胞核，自发荧光猝灭，封片，于显微镜下观察并拍照。

2.1.7 Western blotting 检测肾组织 Nrf2、Pink1 和 Parkin 蛋白表达 取肾组织，剪碎后加入裂解液提取蛋白，蛋白样品经十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳，转至 PVDF 膜，封闭后，分别加入一抗（1：1 000），4 ℃孵育 4 h；加入二抗（1：4 000），室温孵育 1 h，加入 ECL 化学发光试剂，自动曝光成像。

2.2 体外实验

2.2.1 细胞培养 HK-2 细胞用含 10% 胎牛血清、100 U/mL 青链霉素的培养基，于 37 ℃、5% CO₂ 的培养箱中培养，每 2 天更换 1 次培养液。

2.2.2 CCK-8 检测细胞活力 取对数生长期的 HK-2 细胞，以 5×10³ 个/孔接种于 96 孔板中，培养过夜。分别加入 LPS（1、5、10、20 μg/mL）或金丝桃苷（5、10、20、40、80 μmol/L），另设置对照组加入不含药物的培养基，孵育 24 h 后，加入 CCK-8 试剂，继续孵育 2 h，采用酶标仪测定 450 nm 处的吸光度（A）值。

设置对照组、模型组和金丝桃苷（10、20、40、80 μmol/L）组，对照组加入不含药物的培养基，模型组加入 20 μg/mL LPS 处理 24 h，各给药组加入 20 μg/mL LPS 和不同浓度的金丝桃苷共同处理 24 h。加入 CCK-8 试剂，继续孵育 2 h，采用酶标仪测定 450 nm 处的 A 值。

2.2.3 流式细胞仪检测细胞凋亡、ROS 和 MMP 水平 设置对照组、模型组和金丝桃苷（40 μmol/L）组，对照组加入不含药物的培养基，模型组加入 20 μg/mL LPS 处理 24 h，给药组加入 20 μg/mL LPS 和

40 μmol/L 金丝桃苷共同处理 24 h。收集细胞，按照试剂盒说明书进行染色，采用流式细胞仪分别检测细胞凋亡率、ROS 和 MMP 水平。

2.2.4 ATP 水平的检测 按“2.2.3”项下方法进行分组和处理后，收集细胞，按照试剂盒说明书检测 ATP 水平。

2.2.5 透射电子显微镜观察细胞超微结构 按“2.2.3”项下方法进行分组和处理后，收集细胞，用 2.5% 戊二醛固定，经琼脂预包埋、固定、脱水、渗透包埋、聚合等步骤后，将树脂块切成 70 nm 左右的超薄切片，经铀铅染色，于透射电子显微镜下观察并拍照。

2.2.6 Western blotting 检测 Nrf2、HO-1、Pink1、Parkin 和 p62 蛋白表达 设置对照组、模型组和金丝桃苷（20、40 μmol/L）组，按“2.2.3”项下方法进行处理后，收集细胞，加入裂解液提取蛋白。按“2.1.7”项下方法检测相关蛋白表达。

2.2.7 免疫荧光染色观察细胞线粒体自噬情况 设置对照组、模型组、金丝桃苷（40 μmol/L）组和金丝桃苷（40 μmol/L）+ML385（5 μmol/L）组。对照组加入不含药物的培养基，模型组加入 20 μg/mL LPS 处理 24 h，金丝桃苷组加入 20 μg/mL LPS 和 40 μmol/L 金丝桃苷共同处理 24 h，金丝桃苷+ML385 组先加入 5 μmol/L ML385 培养 12 h^[13]，再加入 20 μg/mL LPS 和 40 μmol/L 金丝桃苷共同处理 24 h。加入线粒体红色荧光探针，37 ℃孵育 30 min。固定后封闭，孵育 LC3B 抗体和 FITC 标记的二抗后，DAPI 染液复染细胞核，于显微镜下观察并拍照。

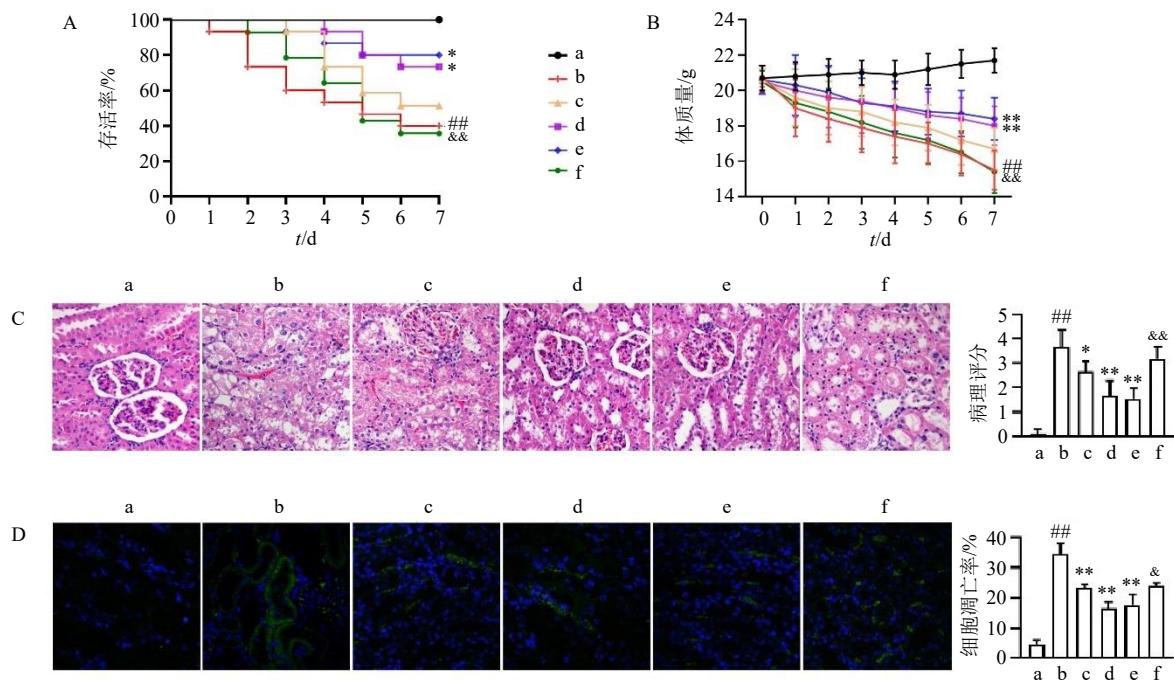
2.3 统计学分析

采用 Graphpad Prism 8 软件进行统计学分析，数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。多组间比较采用单因素方差分析，两组间比较采用 LSD-t 检验。

3 结果

3.1 金丝桃苷对 SAKI 小鼠存活率和肾损伤的影响

文献报道金丝桃苷（25、50 mg/kg）可以改善 LPS 诱导的小鼠肾损伤^[15]，金丝桃苷（20、40 mg/kg）有改善脓毒症模型大鼠心肌损伤的作用^[11]，结合课题组前期预实验结果，采用金丝桃苷（25、50 mg/kg）干预盲肠结扎穿孔术诱导的 SAKI 小鼠，连续 7 d 监测小鼠存活率和体质量变化。生存曲线结果（图 1-A）显示，与模型组比较，金丝桃苷高剂量组和



A-各组小鼠存活率 ($n=15$)；B-各组小鼠体质量变化 ($n=15$)；C-肾组织HE染色 ($\times 200$) 及病理评分统计 ($n=3$)；D-肾组织TUNEL染色 ($\times 200$) 及细胞凋亡率统计 ($n=3$)；a-假手术组；b-模型组；c-金丝桃苷低剂量组；d-金丝桃苷高剂量组；e-地塞米松组；f-高剂量金丝桃苷+ML385组；与假手术组比较：* $P<0.05$ ** $P<0.01$ ；与模型组比较：* $P<0.05$ ** $P<0.01$ ；与金丝桃苷高剂量组比较：& $P<0.05$ && $P<0.01$ ，图2~5同。

A-survival rates of mice in each group ($n=15$)；B-changes in body weight of mice in each group ($n=15$)；C-HE staining of renal tissue ($\times 200$) and pathological score statistics ($n=3$)；D-TUNEL staining of renal tissue ($\times 200$) and apoptosis rate statistics ($n=3$)；a-sham group；b-model group；c-hyperoside low-dose group；d-hyperoside high-dose group；e-dexamethasone group；f-high-dose hyperoside + ML385 group；* $P<0.05$ ** $P<0.01$ vs model group；& $P<0.05$ && $P<0.01$ vs hyperoside high-dose group, same as Figs. 2—5.

图1 金丝桃苷对 SAKI 小鼠存活率和肾损伤的影响 ($\bar{x} \pm s$)

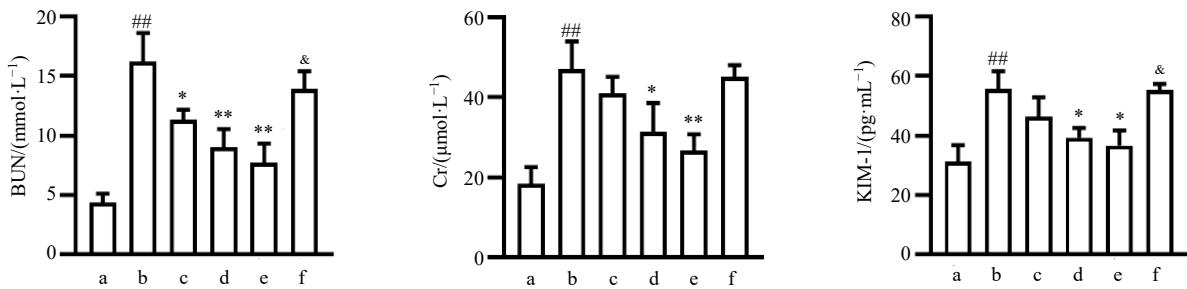
Fig. 1 Effect of hyperoside on survival and kidney injury of SAKI mice ($\bar{x} \pm s$)

地塞米松组小鼠 7 d 存活率显著提高 ($P<0.05$)。如图 1-B 所示，假手术组小鼠体质量平稳上升，模型组小鼠体质量显著下降 ($P<0.01$)；与模型组比较，金丝桃苷高剂量组和地塞米松组小鼠体质量下降速度明显变缓 ($P<0.01$)。HE 染色结果 (图 1-C) 显示，假手术组小鼠肾组织形态学正常；模型组肾组织有严重的损伤表现，包括肾小管细胞空泡化和刷状边界丧失，形成管型，细胞脱落进入小管腔，炎性细胞浸润等，病理评分显著升高 ($P<0.01$)；与模型组比较，金丝桃苷高剂量组和地塞米松组小鼠肾小管损伤明显减少，组织内炎症细胞浸润较少，形态趋于正常，病理评分显著降低 ($P<0.01$)。TUNEL 染色结果 (图 1-D) 显示，模型组小鼠肾脏组织有明显的形态变化，如核凝聚、碎裂、凋亡小体等，提示细胞凋亡的发生，这些凋亡的细胞主要位于肾小管管腔周围，为肾小管上皮细胞；而金丝桃苷高剂量组和地塞米松组小鼠肾小管上皮细胞

凋亡率明显减少 ($P<0.01$)。ML385 是一种 Nrf2 特异性抑制剂，可干扰 Nrf2 的转录活性^[16]，为了探究金丝桃苷的保护作用是否依赖于 Nrf2 的抗氧化活性，分析 ML385 对金丝桃苷疗效的干扰作用。结果显示，与金丝桃苷高剂量组比较，金丝桃苷 + ML385 组小鼠存活率、体质量显著降低 ($P<0.01$)，肾组织病理评分和细胞凋亡率显著升高 ($P<0.05$ 、 0.01)，提示 ML385 削弱了金丝桃苷对 SAKI 小鼠肾脏的保护作用。

3.2 金丝桃苷对 SAKI 小鼠肾功能的影响

如图 2 所示，与假手术组比较，模型组小鼠血清中 BUN、Cr、KIM-1 水平明显升高 ($P<0.01$)，表明盲肠结扎穿孔术诱导的脓毒症能够引起小鼠的肾功能障碍。与模型组比较，金丝桃苷高剂量组和地塞米松组小鼠血清中 BUN、Cr、KIM-1 水平明显降低 ($P<0.05$ 、 0.01)，金丝桃苷低剂量组血清中 BUN 水平显著降低 ($P<0.05$)，表明金丝桃苷能够

图 2 金丝桃苷对 SAKI 小鼠肾功能的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)Fig. 2 Effect of hyperoside on renal function of SAKI mice ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

有效缓解脓毒症诱导的急性肾损伤。与金丝桃苷高剂量组比较, 金丝桃苷+ML385 组小鼠血清中 BUN、KIM-1 水平显著升高($P<0.05$), 提示 ML385 削弱了金丝桃苷对 SAKI 小鼠肾损伤的保护作用。

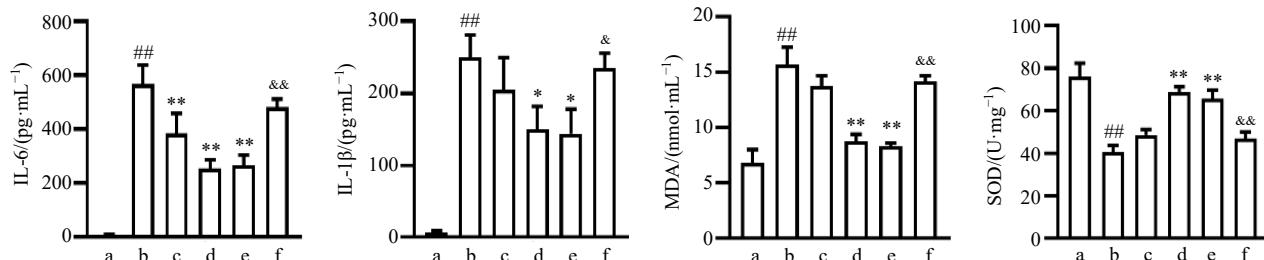
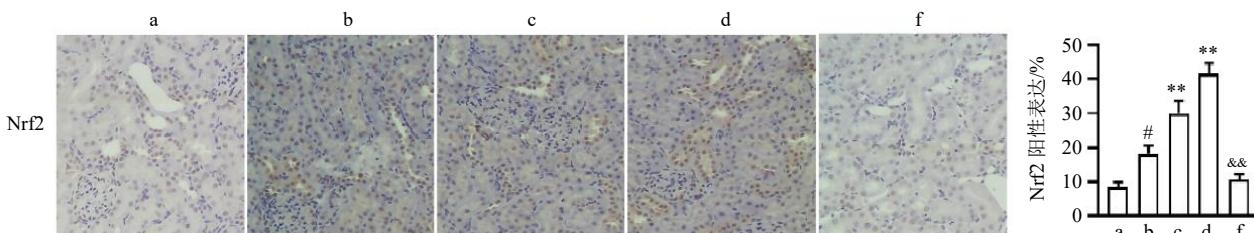
3.3 金丝桃苷对 SAKI 小鼠血清中炎症因子和氧化应激水平的影响

通过检测各组小鼠血清中促炎因子 IL-6、IL-1 β 水平的变化, 反映金丝桃苷对 SAKI 小鼠炎症反应的影响。如图 3 所示, 与假手术组比较, 模型组小鼠血清中 IL-6、IL-1 β 水平明显升高($P<0.01$); 与模型组比较, 金丝桃苷高剂量组和地塞米松组小鼠血清中 IL-6、IL-1 β 水平明显降低($P<0.05$ 、 0.01), 金丝桃苷低剂量组血清中 IL-6 水平显著降低($P<0.01$)。血清 MDA 水平及 SOD 活性反映了小鼠氧化应激的程度, 与假手术组比较, 模型组小鼠血清

中 MDA 水平明显升高($P<0.01$), SOD 活性明显降低($P<0.01$); 与模型组比较, 金丝桃苷高剂量组和地塞米松组小鼠血清中 MDA 水平明显降低($P<0.01$), SOD 活性明显升高($P<0.01$)。与金丝桃苷高剂量组比较, 金丝桃苷+ML385 组小鼠血清中 IL-6、IL-1 β 、MDA 水平显著升高($P<0.05$ 、 0.01), SOD 活性显著降低($P<0.01$)。以上结果说明盲肠结扎穿孔术诱导的脓毒症能够引起小鼠体内发生炎症反应和氧化应激, 金丝桃苷能够减轻 SAKI 小鼠的炎症反应和氧化应激, ML385 可以逆转金丝桃苷的作用。

3.4 金丝桃苷对 SAKI 小鼠肾组织 Nrf2 表达的影响

Nrf2 介导的炎症和氧化应激在 SAKI 的进展中起着关键作用^[17]。采用免疫组化检测各组小鼠肾组织中 Nrf2 蛋白表达情况, 结果如图 4 所示, 与假手

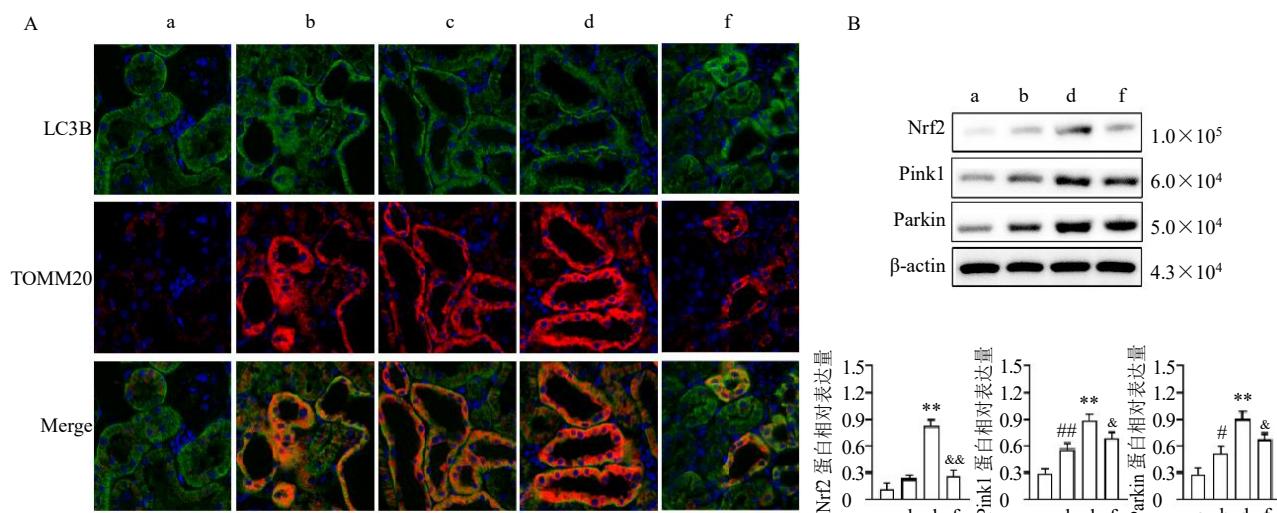
图 3 金丝桃苷对 SAKI 小鼠血清中炎症因子和氧化应激水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)Fig. 3 Effect of hyperoside on levels of inflammatory cytokines and oxidative stress in serum of SAKI mice ($\bar{x} \pm s, n = 6$)图 4 金丝桃苷对 SAKI 小鼠肾组织 Nrf2 表达的影响 ($\times 200$; $\bar{x} \pm s, n = 3$)Fig. 4 Effect of hyperoside on Nrf2 expression in kidney tissue of SAKI mice ($\times 200$; $\bar{x} \pm s, n = 3$)

术组比较,模型组小鼠肾组织中Nrf2阳性表达显著增加($P<0.05$);与模型组比较,金丝桃苷高、低剂量组肾组织Nrf2阳性表达进一步增加($P<0.01$);与金丝桃苷高剂量组比较,金丝桃苷+ML385组肾组织Nrf2阳性表达明显降低($P<0.01$)。

3.5 金丝桃苷对 SAKI 小鼠肾组织线粒体自噬的影响

线粒体自噬在 SAKI 中维持线粒体稳态^[18], LC3B 和 TOMM20 的共定位标志着线粒体自噬的激活^[19]。采用免疫荧光染色分析肾组织 LC3B 与 TOMM20 共定位情况,结果见图 5-A,与假手术组比较,模型组肾小管细胞中 LC3B 和 TOMM20 共

定位增加,线粒体自噬增加;金丝桃苷组红绿色荧光共定位增强,说明金丝桃苷干预后线粒体自噬进一步增加,从而缓解线粒体损伤;金丝桃苷+ML385 组肾脏组织中红色荧光与绿色荧光减弱,荧光共定位减少,说明 ML385 抑制了金丝桃苷诱导的线粒体自噬。Western blotting 结果显示,与模型组比较,金丝桃苷高剂量组小鼠肾组织 Nrf2 以及线粒体自噬蛋白 Pink1、Parkin 的表达上调($P<0.01$);而 ML385 逆转了金丝桃苷诱导的肾组织中 Nrf2、Pink1、Parkin 表达的升高($P<0.05$ 、 0.01),表明金丝桃苷减轻 SAKI 小鼠的炎症反应可能与激活抗氧化应激 Nrf2 信号通路以及线粒体自噬有关。



A-免疫荧光检测各组小鼠肾组织线粒体自噬情况 ($\times 200$); B-Western blotting 检测各组小鼠肾组织 Nrf2、Pink1 和 Parkin 蛋白表达。

A-mitochondrial autophagy in renal tissue of mice in each group detected by immunofluorescence ($\times 200$); B-expressions of Nrf2, Pink1 and Parkin proteins in kidney tissues of mice in each group detected by Western blotting.

图 5 金丝桃苷对 SAKI 小鼠肾组织线粒体自噬的影响 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 5 Effect of hyperoside on mitochondrial autophagy in kidney tissue of SAKI mice ($\bar{x} \pm s, n=3$)

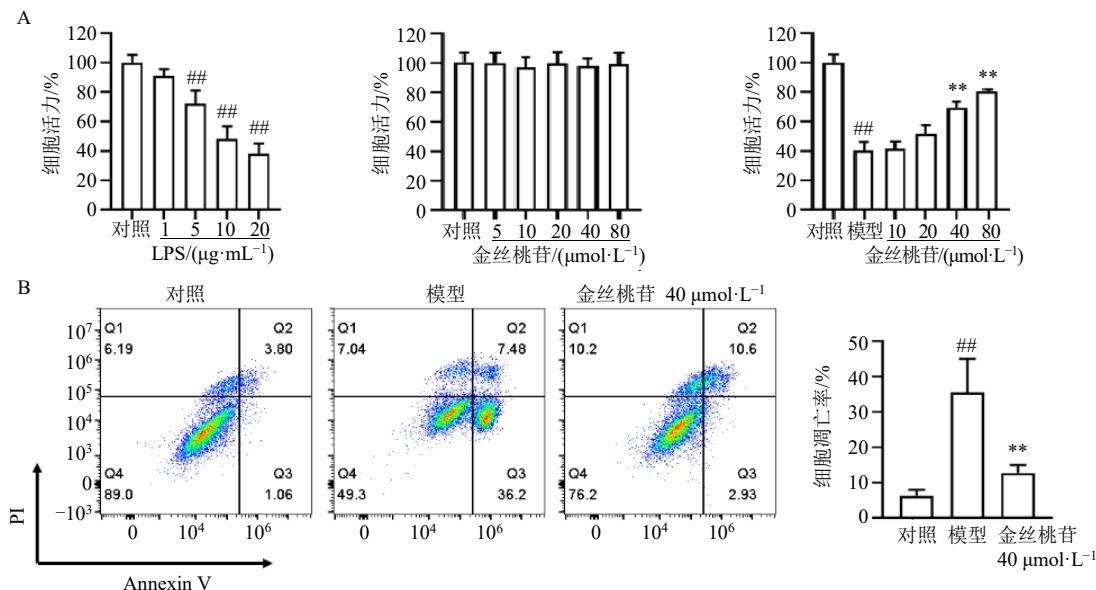
3.6 金丝桃苷对 LPS 诱导的 HK-2 细胞活力和凋亡的影响

急性肾损伤发生时,肾小管上皮细胞为主要受损靶细胞^[20],故选用 LPS 诱导的 HK-2 细胞作为研究对象,构建 SAKI 体外细胞损伤模型。如图 6-A 所示,5、10、20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ LPS 处理 24 h 后,细胞活力明显降低($P<0.01$),和文献报道的剂量一致^[21],因此后续实验采用 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 LPS 作用于 HK-2 细胞。金丝桃苷(5、10、20、40、80 $\mu\text{mol}/\text{L}$)处理 24 h,对 HK-2 细胞活力无显著影响。金丝桃苷和 LPS(20 $\mu\text{g}/\text{mL}$)共同孵育 24 h,金丝桃苷 20 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 组细胞活力有上升的趋势,40、80 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 的金丝桃

苷可显著改善 LPS 诱导的细胞活力下降($P<0.01$),因此选择 40 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 的金丝桃苷进行后续研究。如图 6-B 所示,与对照组比较,模型组细胞凋亡率显著升高($P<0.01$);与模型组比较,金丝桃苷组细胞凋亡率显著降低($P<0.01$),表明金丝桃苷可抑制 LPS 诱导的 HK-2 细胞凋亡。

3.7 金丝桃苷对 LPS 诱导的 HK-2 细胞氧化应激的影响

如图 7-A 所示,与对照组比较,模型组 ROS 水平显著升高($P<0.01$);与模型组比较,金丝桃苷组 ROS 水平显著降低($P<0.01$)。如图 7-B 所示,与对照组比较,模型组 Nrf2 蛋白表达水平显著升高

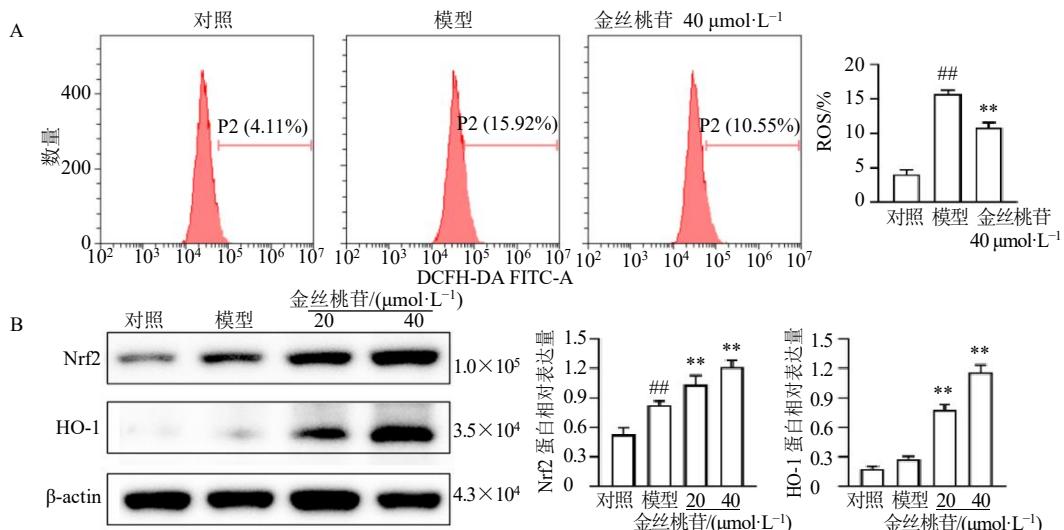


与对照组比较: ##P<0.01; 与模型组比较: **P<0.01, 图7、8同。

##P<0.01 vs control group; **P<0.01 vs model group, same as Figs. 7, 8.

图6 金丝桃苷对LPS诱导的HK-2细胞活力(A)和凋亡(B)的影响($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 6 Effect of hyperoside on viability (A) and apoptosis (B) of LPS-induced HK-2 cells ($\bar{x} \pm s, n=3$)



A-流式细胞仪检测各组ROS水平; B-Western blotting检测各组Nrf2和HO-1蛋白表达。

A-ROS level in each group detected by flow cytometer; B-expressions of Nrf2 and HO-1 proteins in each group detected by Western blotting.

图7 金丝桃苷对LPS诱导的HK-2细胞氧化应激的影响($\bar{x} \pm s, n=3$)

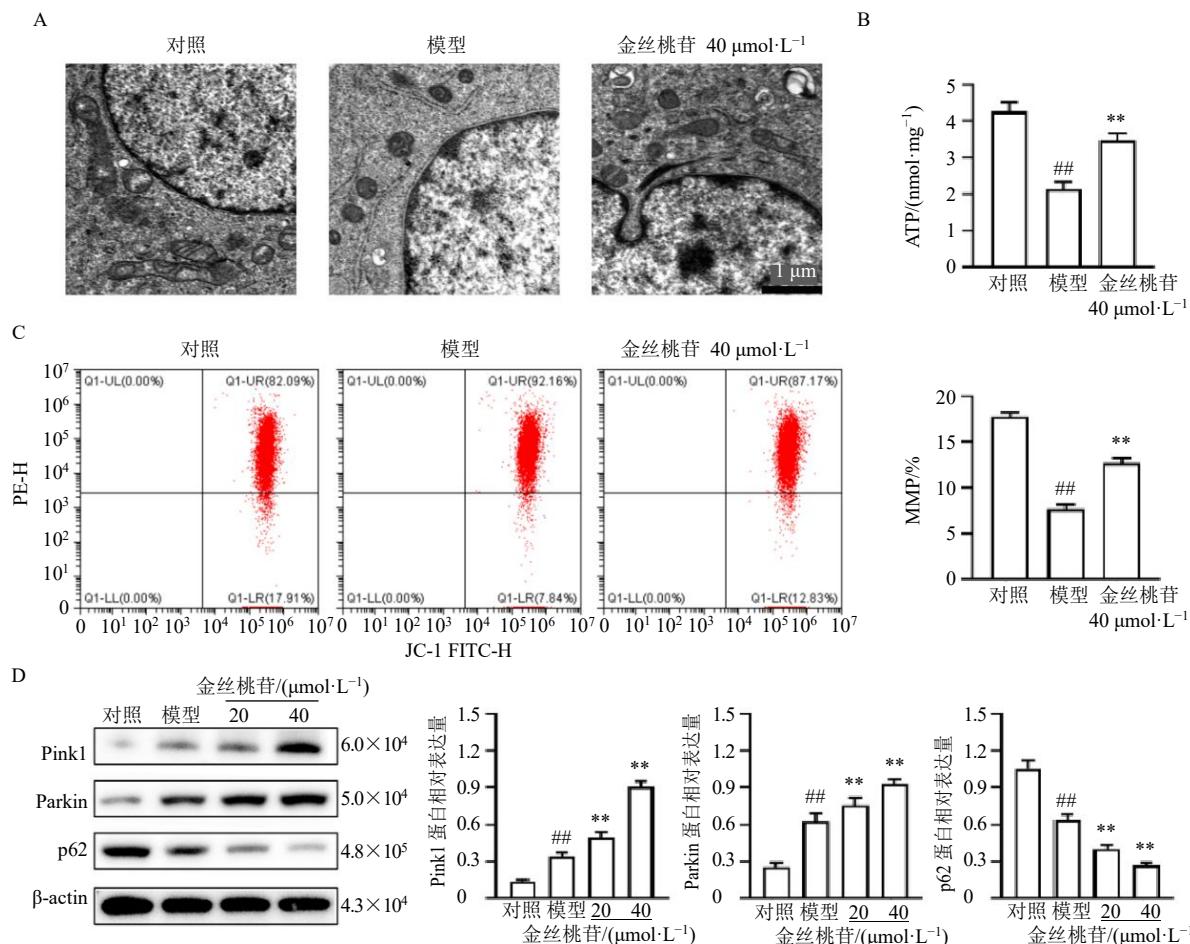
Fig. 7 Effect of hyperoside on oxidative stress of LPS-induced HK-2 cells ($\bar{x} \pm s, n=3$)

($P<0.01$);与模型组比较,金丝桃苷各剂量组Nrf2和HO-1蛋白表达水平进一步升高($P<0.01$),与体内实验结果一致,表明金丝桃苷激活了脓毒症体内模型和体外细胞模型中的Nrf2通路。

3.8 金丝桃苷促进线粒体自噬缓解LPS诱导的线粒体功能障碍

采用透射电镜观察线粒体超微结构,如图8-A

所示,对照组细胞线粒体边界清晰,形态正常;膜模型组线粒体数量较少,形态固缩变小,线粒体膜局部模糊,基质浓缩变深,嵴扩张、减少;金丝桃苷组线粒体数量和形态尚可,基质略微溶解,线粒体损伤程度明显减轻,同时可观察到细胞内出现自噬清除受损线粒体。此外,与对照组比较,模型组ATP和MMP水平显著降低($P<0.01$,图8-B、C),



A-透射电镜观察各组细胞线粒体超微结构 ($\times 5000$); B-各组 ATP 水平; C-流式细胞仪检测各组 MMP 水平; D-Western blotting 检测各组 Pink1、Parkin 和 p62 蛋白表达。

A-mitochondrial ultrastructure of cells in each group observed by transmission electron microscopy ($\times 5000$); B-ATP level in each group; C-MMP level in each group detected by flow cytometry; D-expressions of Pink1, Parkin and p62 proteins in each group detected by Western blotting.

图 8 金丝桃苷对 LPS 诱导的 HK-2 细胞线粒体损伤的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 8 Effect of hyperoside on mitochondria damage of LPS-induced HK-2 cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

提示 LPS 导致 HK-2 细胞线粒体功能障碍；与模型组比较，金丝桃苷组 ATP 和 MMP 水平显著升高 ($P < 0.01$)，表明金丝桃苷缓解了 LPS 诱导的线粒体功能障碍。Western blotting 结果显示，与对照组比较，模型组 HK-2 细胞中 Pink1、Parkin 蛋白表达水平升高 ($P < 0.01$)，p62 蛋白表达水平降低 ($P < 0.01$)；与模型组比较，金丝桃苷高、低剂量组 Pink1、Parkin 蛋白表达水平进一步升高 ($P < 0.01$)，p62 蛋白表达水平进一步降低 ($P < 0.01$)，提示金丝桃苷可能通过促进线粒体自噬缓解 LPS 诱导的线粒体功能障碍。

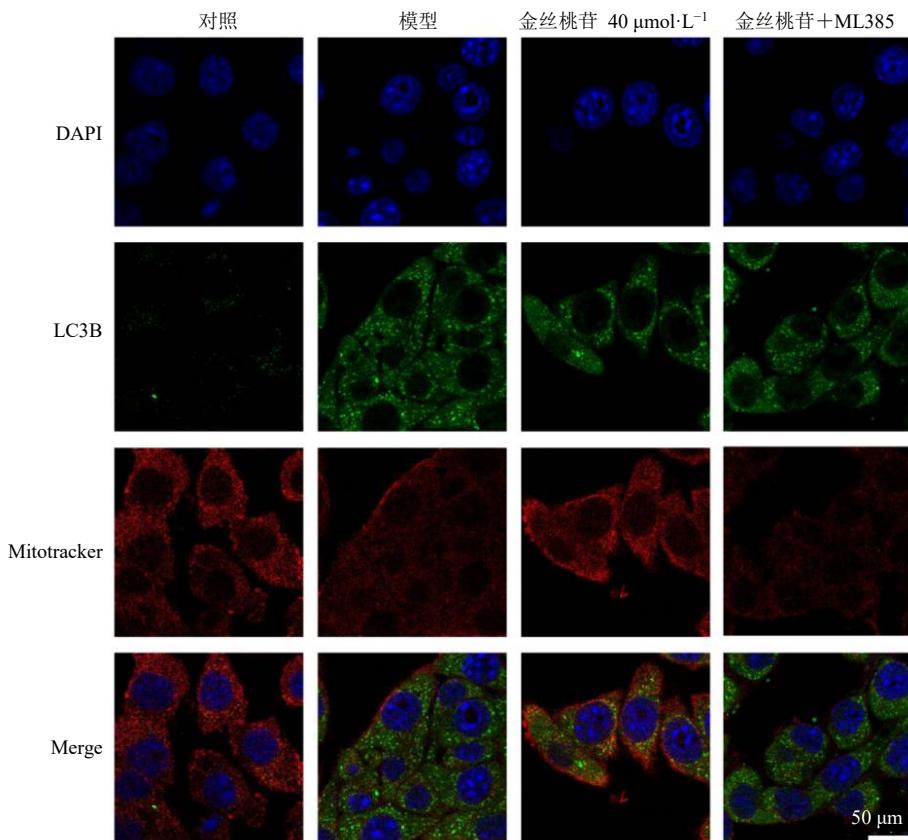
3.9 Nrf2 抑制剂逆转金丝桃苷诱导的 HK-2 细胞线粒体自噬

线粒体荧光探针和 LC3 的共定位标志着线粒

体自噬的激活^[22]。如图 9 所示，与对照组比较，模型组 HK-2 细胞中绿色荧光 (LC3B) 和红色荧光 (线粒体探针) 共定位增加；与模型组比较，金丝桃苷组的红绿色荧光共定位显著增强，而 ML385 逆转了金丝桃苷诱导的线粒体自噬。体内、体外实验均证实金丝桃苷对 SAKI 小鼠线粒体自噬的诱导作用依赖于 Nrf2 信号通路，金丝桃苷对 SAKI 的保护作用可能与 Nrf2 调控 Pink1/Parkin 介导的线粒体自噬密切相关。

4 讨论

SAKI 是脓毒症常见的器官衰竭症状之一，可诱发凝血功能障碍、炎症反应、氧化应激和肾小管上皮细胞损伤等症状。SAKI 治疗费用高昂，医疗资源消耗显著，目前尚无特效手段治疗 SAKI。在临床

图 9 ML385 逆转金丝桃苷诱导的 HK-2 细胞线粒体自噬 ($\times 400$)Fig. 9 ML385 reversed mitochondrial autophagy in HK-2 cells induced by hyperoside ($\times 400$)

干预策略中，中药单体、组分及注射液^[23]因具备独特的抗炎与抗氧化作用优势，有望成为 SAKI 的潜在治疗策略。现代药理学研究显示，金丝桃苷具有抗炎、保护肾脏损伤等多种药理学活性^[24]。金丝桃苷通过上调 Nrf2/HO-1 信号通路，抑制肾脏细胞的凋亡、过度的氧化应激和炎症反应，从而减轻肾脏缺血再灌注损伤^[25]。本研究证实金丝桃苷可减轻 SAKI 小鼠肾脏病理损伤，改善小鼠肾功能，提高小鼠 7 d 生存率，抑制促炎因子的释放，减轻炎症反应，且金丝桃苷对肾小管上皮细胞具有保护作用，能够抑制 LPS 诱导的凋亡和氧化应激。

脓毒症状态下，氧化应激与炎症反应并非孤立存在，而是形成 ROS 升高→炎症激活→ROS 进一步增多的恶性循环。一方面，盲肠结扎穿孔术诱导的 SAKI 小鼠中受损线粒体释放的 ROS 可激活 NOD 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3 (NOD-like receptor thermal protein domain associated protein 3, NLRP3) 炎症小体^[26]，促进 IL-1 β 等促炎因子成熟；另一方面，炎症细胞浸润肾脏后，通过“呼吸爆发”产生大量 ROS，进一步加重肾小管上皮细胞氧化损

伤及线粒体功能障碍。Nrf2 不仅参与抗氧化应激，还可抑制炎症信号通路的激活发挥抗炎作用^[27]。Nrf2 激活后通过转录 HO-1、SOD 等抗氧化酶清除 ROS^[28]，亦可通过 HO-1 的代谢产物直接发挥抗炎作用，形成“抗氧化-抗炎”的统一调控轴。HO-1 催化血红素降解生成胆红素、一氧化碳及铁离子均是经典抗炎分子^[29]。Nrf2 还可直接抑制炎症信号通路增强抗炎效应，Nrf2 进入细胞核后，可与核因子- κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 的 p65 亚基竞争性结合 DNA 上的同源序列，抑制促炎通路 NF- κ B 的激活^[30]。因此，金丝桃苷激活 Nrf2/HO-1 通路，可同时发挥抗氧化-抗炎的功效。

ROS 的降低有助于维持线粒体的膜电位和功能完整性，减少线粒体损伤。当线粒体受损时，会产生大量 ROS，激活 Nrf2 信号通路，进而通过抗氧化作用来维持线粒体的正常功能，间接促进线粒体自噬的发生，清除受损的线粒体。线粒体是氧化应激的主要来源（约 90% ROS 由线粒体呼吸链产生），也是炎症信号的关键触发者（线粒体 ROS 激活炎症通路），因此线粒体功能的维护是金丝桃苷

实现抗氧化与抗炎协同的核心靶点。本研究证实，在盲肠结扎穿孔术诱导的模型小鼠以及体外 LPS 引起的肾小管上皮细胞损伤模型中 Nrf2 表达均上调，金丝桃苷干预后进一步激活 Nrf2/HO-1 通路，减轻线粒体超微结构损伤，促进受损线粒体的清除。而 Nrf2 抑制剂 ML385 逆转了金丝桃苷对肾脏的保护作用以及对线粒体自噬的诱导作用，表明金丝桃苷缓解 SAKI 与 Nrf2/HO-1 通路介导的线粒体功能密切相关。

Nrf2 可直接调控一些线粒体自噬相关基因的表达，当细胞受到氧化应激等损伤时，Nrf2 被激活并进入细胞核，与 Pink1 基因启动子区域的抗氧化反应元件结合，增强其转录活性，使细胞内 Pink1 蛋白水平升高^[31]，Pink1 的增多能促进 Parkin 向线粒体的转位，进而激活 Pink1/Parkin 通路，启动线粒体自噬^[32]。据报道，在盲肠结扎穿孔术建立的小鼠脓毒症模型中，脑组织中 Pink1/Parkin 通路介导的线粒体自噬激活显著改善小鼠的存活率^[33]。同样，金丝桃苷可促进 HK-2 细胞中 Pink1/Parkin 蛋白的表达，此作用可被 ML385 逆转，表明金丝桃苷诱导的线粒体自噬依赖于 Nrf2 信号通路的激活。

综上，本研究初步揭示了金丝桃苷治疗 SAKI 的作用机制，为 SAKI 的治疗提供了新的候选药物。本研究选择地塞米松作为阳性对照^[34-35]，仅用于验证抗炎-抗氧化类药物对 SAKI 病理损伤的干预效应，而非推荐其作为 SAKI 临床治疗药物；临床 SAKI 治疗仍需遵循指南推荐，以抗生素控制感染为首要措施。2024 年《中国脓毒症相关急性肾损伤诊疗指南》中指出：地塞米松虽在部分炎症失控的 SAKI 患者中短期使用（如合并呼吸窘迫综合征），但存在明确禁忌人群（如严重感染未控制、高血糖未纠正者）。金丝桃苷可直接保护肾小管上皮细胞，减少凋亡、改善线粒体功能，这种“修复型保护”机制与地塞米松的“抑制型抗炎”形成本质差异，为临床中“需避免激素不良反应”的患者（如合并糖尿病、免疫低下、消化道溃疡的 SAKI 患者）提供了非激素类干预选择。未来的研究可以进一步探讨金丝桃苷的最佳治疗时间窗，亦可结合指南推荐方案，进一步探讨金丝桃苷与抗生素联合使用对 SAKI 的协同干预效应，为其临床转化提供更多的实验依据。同时，深入研究 Nrf2 调控线粒体自噬的具体分子机制，可能会发现新的治疗靶点，为 SAKI 的防治开辟新的途径。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 白晶雪, 雷根平, 王婷, 等. 基于铁死亡探讨中医药干预肾脏疾病作用机制研究进展 [J]. 中草药, 2024, 55(18): 6393-6401.
- [2] 黄承, 蒲运刚, 田仁富, 等. ANXA1 拟肽 Ac2-26 对脓毒症大鼠急性肾损伤及中性粒细胞凋亡过程的影响 [J]. 中国免疫学杂志, 2024, 40(6): 1160-1165.
- [3] 王江侠, 杨丽霞, 米登海, 等. 当归多糖对糖尿病肾病 KK-Ay 小鼠肾脏 AMPK 信号通路及线粒体自噬的影响 [J]. 中草药, 2023, 54(10): 3189-3196.
- [4] 李海波, 周琪, 张析哲, 等. 线粒体质量控制在脓毒症急性肾损伤中作用机制的研究进展 [J]. 临床麻醉学杂志, 2022, 38(9): 996-1000.
- [5] Xun Q F, Yang Q, Wang W, et al. GLCCI1 ameliorates mitochondrial dysfunction in allergic asthma mice via DYRK1A/FAM117B-dependent NRF2 activation [J]. *Cell Signal*, 2025, 134: 111929.
- [6] Song Z Y, Hei T K, Gong X Z. Tetramethylpyrazine attenuates sodium arsenite-induced acute kidney injury by improving the autophagic flux blockade via a YAP1-Nrf2-p62-dependent mechanism [J]. *Int J Biol Sci*, 2025, 21(3): 1158-1173.
- [7] Sun X, Wang H Y, Liu Y, et al. 5-methoxytryptophan alleviates lipopolysaccharide-induced acute kidney injury by regulating Nrf2-mediated mitophagy [J]. *J Inflamm Res*, 2024, 17: 9857-9873.
- [8] 关晓娇, 赵文婷, 闵冬雨, 等. 金丝桃苷对高脂饮食诱导 ApoE^{-/-}小鼠代谢相关脂肪性肝病的保护作用 [J]. 药物评价研究, 2022, 45(2): 281-286.
- [9] 夏骏, 姚晓丽, 刘潭, 等. 金丝桃苷改善脓毒症模型大鼠心肌损伤作用机制研究 [J]. 中国药业, 2021, 30(5): 21-25.
- [10] 宋林宏. 金丝桃苷改善脓毒症损伤的机制研究及先心病回顾性分析 [D]. 广州: 南方医科大学, 2023.
- [11] 张练, 王茂娟, 谢红, 等. 迷迭香酸对脓毒症急性肾损伤大鼠 NF-κB 和 p38 MAPK 信号通路的影响 [J]. 现代免疫学, 2024, 44(3): 221-226.
- [12] Chen Z J, Wang H L, Hu B, et al. Transcription factor nuclear factor erythroid 2 p45-related factor 2 (NRF2) ameliorates sepsis-associated acute kidney injury by maintaining mitochondrial homeostasis and improving the mitochondrial function [J]. *Eur J Histochem*, 2022, 66(3): 3412.
- [13] 吕媛媛, 赵春霞, 何莎莎. 参附黄方通过抑制 GSDMD 介导的细胞焦亡减轻脓毒症诱导的小鼠肠损伤 [J]. 中草药, 2025, 56(16): 5856-5868.
- [14] 张铭, 雷娇, 龚禹, 等. 芍药苷通过 JNK/NEK7/NLRP3 通路缓解脓毒症相关急性肾损伤 [J]. 中国病理生理学杂志, 2024, 40(6): 1160-1165.

- 杂志, 2024, 40(9): 1711-1717.
- [15] 巩春智. 金丝桃苷对脂多糖所致小鼠急性肾损伤的保护作用及其机制研究 [D]. 济南: 山东大学, 2019.
- [16] 张成, 彭旌峰, 郑迪, 等. 虾青素通过激活 Nrf2/GPX4 通路抑制铁死亡减轻大鼠对比剂急性肾损伤 [J]. 中国老年学杂志, 2025, 45(10): 2416-2422.
- [17] Xu L J, Cai J, Li C R, et al. 4-Octyl itaconate attenuates LPS-induced acute kidney injury by activating Nrf2 and inhibiting STAT3 signaling [J]. *Mol Med*, 2023, 29(1): 58.
- [18] Li Y M, Hu C, Zhai P, et al. Fibroblastic reticular cell-derived exosomes are a promising therapeutic approach for septic acute kidney injury [J]. *Kidney Int*, 2024, 105(3): 508-523.
- [19] Yuan J B, Gu G X, Jin B M, et al. Menin maintains lysosomal and mitochondrial homeostasis through epigenetic mechanisms in lung cancer [J]. *Cell Death Dis*, 2025, 16(1): 163.
- [20] 龚禹, 雷娇, 张铭, 等. 荷药苷通过 β -catenin/c-Myc 通路抑制有氧糖酵解缓解小鼠脓毒症相关急性肾损伤 [J]. 陆军军医大学学报, 2025, 47(2): 132-140.
- [21] Chen K D, Lu S P, Shi K, et al. Hyperoside attenuates sepsis-induced acute lung injury by Nrf2 activation and ferroptosis inhibition [J]. *Int Immunopharmacol*, 2025, 145: 113734.
- [22] Chen J J, Xiao S, Yan X Y, et al. Mechanism of SMYD2 promoting stemness maintenance of bladder cancer stem cells by regulating PYCR1 expression and PINK1/Parkin mitophagy pathway [J]. *Int J Oncol*, 2025, 66(5): 41.
- [23] 张月银, 刘兴, 杨亚东. 参附注射液对脓毒症相关急性肾损伤的影响 [J]. 武汉大学学报: 医学版, 2025, 46(2): 252-257.
- [24] 孙翠鸽, 袁宇, 闵冬雨, 等. 基于网络药理学与实验证探究金丝桃苷干预糖尿病肾病的作用机制 [J]. 中医药信息, 2025, 42(2): 34-41.
- [25] 唐玲, 唐荣伟, 赵臻怡, 等. 金丝桃苷调控 Nrf2/HO-1/NQO1 通路减轻大鼠肾缺血再灌注损伤 [J]. 中国新药与临床杂志, 2024, 43(4): 285-290.
- [26] Zhou R B, Yazdi A S, Menu P, et al. A role for mitochondria in NLRP3 inflammasome activation [J]. *Nature*, 2011, 469(7329): 221-225.
- [27] 徐成, 陈朝红. 核因子 E2 相关因子 2 信号通路与肾脏疾病 [J]. 肾脏病与透析肾移植杂志, 2021, 30(2): 165-169.
- [28] 杨昊若, 任军华, 张昱, 等. 槲皮素通过激活 Keap1/Nrf2 信号通路减轻脂多糖诱导的大鼠急性肾损伤 [J]. 中国临床药理学杂志, 2023, 39(21): 3134-3138.
- [29] Vogel M E, Zucker S D. Bilirubin acts as an endogenous regulator of inflammation by disrupting adhesion molecule-mediated leukocyte migration [J]. *Inflamm Cell Signal*, 2016, 3(1): e1178.
- [30] Liu G H, Qu J, Shen X. NF-kappaB/p65 antagonizes Nrf2-ARE pathway by depriving CBP from Nrf2 and facilitating recruitment of HDAC3 to MafK [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2008, 1783(5): 713-727.
- [31] Murata H, Takamatsu H, Liu S L, et al. NRF2 regulates PINK1 expression under oxidative stress conditions [J]. *PLoS One*, 2015, 10(11): e0142438.
- [32] Zhang Z Z, Huang T Y, Chen X, et al. Acetyl zingerone inhibits chondrocyte pyroptosis and alleviates osteoarthritis progression by promoting mitophagy through the PINK1/parkin signaling pathway [J]. *Int Immunopharmacol*, 2025, 161: 115055.
- [33] Cui Y, Liu J F, Song Y, et al. High concentration hydrogen protects sepsis-associated encephalopathy by enhancing Pink1/parkin-mediated mitophagy and inhibiting cGAS-STING-IRF3 pathway [J]. *CNS Neurosci Ther*, 2025, 31(2): e70305.
- [34] 王巧, 强静超, 卞乐, 等. 水晶兰苷通过调节 NF- κ B/NLRP3 炎症小体通路改善脓毒症相关急性肾损伤和功能障碍 [J]. 南京医科大学学报: 自然科学版, 2025, 45(1): 1-12.
- [35] 王旭东, 赵玉良, 史为涛, 等. 黄芪多糖对脓毒症急性肾损伤大鼠 AMPK/SIRT1 信号通路介导的肾上皮细胞能量代谢的影响 [J]. 中国医院药学杂志, 2021, 41(21): 2181-2185.

[责任编辑 李亚楠]