

大黄甘草汤通过 SIRT3 去乙酰化 p53 改善慢性肾脏病铁死亡的机制

崔梦迪^{1,2}, 安熠^{1*}, 王瑞^{3,4,5*}, 熊致立^{3,4,5}

(1. 武汉科技大学附属老年病医院, 武汉 430064; 2. 湖北中医药大学, 武汉 430065;
3. 湖北省中医院, 武汉 430061; 4. 湖北中医药大学附属医院, 武汉 430061;
5. 湖北中医药研究院, 武汉 430061)

[摘要] 目的:探讨大黄甘草汤通过沉默信息调节因子3(SIRT3)去乙酰化肿瘤蛋白p53减轻慢性肾脏病(CKD)铁死亡的作用机制。方法:在体内实验中,0.2%腺嘌呤饲料喂养建立CKD小鼠模型,将72只C57BL/6小鼠随机分为空白组,模型组,大黄甘草汤低、中、高剂量组(0.975、1.95、3.90 g·kg⁻¹)和缬沙坦组(0.025 g·kg⁻¹),每组12只。检测血清尿素氮(BUN)和肌酐(SCr)评估肾功能;苏木素-伊红(HE)、过碘酸-雪夫(PAS)和马松(Masson)染色评估肾脏病理;免疫组化检测肾组织I型胶原蛋白(Col I)、Ⅲ型胶原蛋白(ColⅢ)和 α -平滑肌肌动蛋白(α -SMA)表达评估肾纤维化;酶联免疫吸附测定法(ELISA)检测血清炎症因子肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)、白细胞介素-6(IL-6)评估炎症反应;比色法检测超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)、谷胱甘肽(GSH)及肾组织总铁水平评估脂质过氧化和铁代谢水平;蛋白免疫印迹法(Western blot)检测小鼠SIRT3/p53信号通路、ac-p53和谷胱甘肽过氧化物酶4(GPX4)蛋白表达水平。在体外实验中,用埃拉斯汀(Erastin)诱导HK-2细胞铁死亡模型,分为空白组,模型组,大黄甘草汤含药血清低、中、高剂量组(15只大鼠随机分为3组,每组5只,分别按0.675、1.35、2.70 g·kg⁻¹灌胃制备含药血清)和铁抑制剂-1(Fer-1)组(5 μ mol·L⁻¹)。采用细胞增殖与活性检测-8(CCK-8)法检测细胞存活率,筛选Erastin造模及大黄甘草汤含药血清治疗最佳剂量;Western blot检测SIRT3/p53信号通路、ac-p53和GPX4蛋白表达水平;免疫荧光共聚焦检测p53核易位。结果:在体内实验中,与空白组比较,模型组小鼠BUN、血SCr水平显著升高($P<0.01$)。肾脏病理损伤严重,肾纤维化加重。脂质过氧化、铁代谢紊乱显著,表现为SOD、GSH明显降低,MDA、总铁含量明显升高($P<0.05$, $P<0.01$)。与模型组比较,大黄甘草汤梯度干预后,上述指标均明显改善($P<0.05$, $P<0.01$)。在体外研究中,与空白组比较,模型组HK-2细胞存活率显著降低,并筛选出0.4 μ mol·L⁻¹ Erastin为最佳诱导剂量,高剂量大黄甘草汤含药血清为最佳治疗剂量。与模型组比较,大黄甘草汤各含药血清组细胞存活率明显升高($P<0.05$, $P<0.01$)。机制研究显示,与空白组比较,体内外模型组SIRT3、GPX4蛋白表达显著降低,p53、ac-p53蛋白表达及p53核易位显著增加($P<0.01$)。与模型组比较,大黄甘草汤干预后上述蛋白表达及核易位变化均明显逆转($P<0.05$, $P<0.01$)。结论:大黄甘草汤对腺嘌呤诱导的CKD小鼠和Erastin诱导的HK-2细胞铁死亡均具有保护作用,其机制与通过SIRT3/p53信号通路发挥抗铁死亡效应有关。

[关键词] 大黄甘草汤; 慢性肾脏病; 铁死亡; 沉默信息调节因子3(SIRT3); 去乙酰化

[中图分类号] R277;R285;R289 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2026)17-0059-11

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20252436

[网络出版地址] <https://link.cnki.net/urlid/11.3495.R.20251211.1744.002>

[网络出版日期] 2025-12-12 14:11:05



Mechanisms of Dahuang Gancaotang in Improving Ferroptosis in Chronic Kidney Disease through SIRT3-mediated Deacetylation of p53

CUI Mengdi^{1,2}, AN Yi^{1*}, WANG Rui^{3,4,5*}, XIONG Zhili^{3,4,5}

(1. Geriatric Hospital of Wuhan University of Science and Technology, Wuhan 430064, China;

[收稿日期] 2025-09-14

[基金项目] 武汉市卫健委2023年中医药科研项目(WZ24Q05);国家自然科学基金青年基金项目(82405273);湖北省中医药管理局中医药科研项目(ZY2025L243);湖北省自然科学基金2024年联合基金项目(2024AFD299)

[第一作者] 崔梦迪,博士,从事中医药防治肾病的研究,E-mail:879154365@qq.com

[通信作者] *安熠,硕士,主治医师,从事中医药防治肾病的研究,E-mail:20961691@qq.com;

*王瑞,博士,主治医师,从事中医药防治肾病的研究,E-mail:wangrui@hbhtcm.com

2. Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430065, China; 3. Hubei Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine (TCM), Wuhan 430061, China; 4. Affiliated Hospital of Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430061, China; 5. Hubei Research Institute of TCM, Wuhan 430061, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the mechanisms by which Dahuang Gancaotang (DHGC) alleviates ferroptosis in chronic kidney disease (CKD) via silent information regulator 3 (SIRT3)-mediated deacetylation of tumor protein p53 (p53). **Methods:** *In vivo*, a CKD mouse model was established by feeding a 0.2% adenine-containing diet. Seventy-two C57BL/6 mice were randomly divided into six groups: blank group, model group, DHGC low-, medium-, and high-dose groups (0.975, 1.95, 3.90 g·kg⁻¹), and valsartan group (0.025 g·kg⁻¹), with 12 mice in each group. Renal function was evaluated by measuring serum blood urea nitrogen (BUN) and creatinine (SCr). Renal pathological changes were assessed using hematoxylin-eosin (HE), periodic acid-Schiff (PAS), and Masson staining. Immunohistochemistry was used to detect the expression of collagen type (Col) I, Col III, and α -smooth muscle actin (α -SMA) in renal tissue to evaluate renal fibrosis. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to measure serum tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-1 β (IL-1 β), and interleukin-6 (IL-6) to assess inflammatory responses. Colorimetric assays were used to determine superoxide dismutase (SOD), malondialdehyde (MDA), glutathione (GSH), and renal total iron content to evaluate lipid peroxidation and iron metabolism. Western blot was used to detect the protein expression of the SIRT3/p53 signaling pathway, acetylated p53 (ac-p53), and glutathione peroxidase 4 (GPX4) in renal tissue. *In vitro*, a ferroptosis model of HK-2 cells was induced using erastin. Cells were divided into six groups: blank group, model group, DHGC-containing serum low-, medium-, and high-dose groups (15 rats were randomly divided into three groups, $n = 5$ per group, and gavaged with 0.675, 1.35, 2.70 g·kg⁻¹ to prepare medicated serum), and ferrostatin-1 (Fer-1) group (5 μ mol·L⁻¹). The cell counting Kit-8 (CCK-8) assay was used to determine cell viability and to screen the optimal concentrations of erastin and DHGC-containing serum. Western blot was used to detect SIRT3/p53 pathway proteins, ac-p53, and GPX4 expression. Immunofluorescence confocal microscopy was used to observe p53 nuclear translocation. **Results:** *In vivo*, compared with the blank group, the model group showed significantly increased BUN and SCr levels ($P < 0.01$). Severe renal pathological injury and aggravated renal fibrosis were observed. Lipid peroxidation and iron metabolism disorders were evident, as shown by significantly decreased SOD and GSH levels and significantly increased MDA and renal total iron levels ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Compared with the model group, all the above indices were significantly improved after DHGC intervention in a dose-dependent manner ($P < 0.05$, $P < 0.01$). *In vitro*, compared with the blank group, HK-2 cell viability was significantly decreased in the model group. A concentration of 0.4 μ mol·L⁻¹ erastin was identified as the optimal induction dose, and high-dose DHGC-containing serum was identified as the optimal treatment condition. Compared with the model group, cell viability was significantly increased in all DHGC-containing serum groups ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Mechanistically, compared with the blank group, protein expression of SIRT3 and GPX4 was significantly decreased in both *in vivo* and *in vitro* model groups, while p53 and ac-p53 expression and p53 nuclear translocation were significantly increased ($P < 0.01$). Compared with the model group, these changes were significantly reversed after DHGC intervention ($P < 0.05$, $P < 0.01$). **Conclusion:** DHGC exerts a protective effect against adenine-induced CKD in mice and erastin-induced ferroptosis in HK-2 cells. The mechanism is associated with its anti-ferroptosis effect mediated via the SIRT3/p53 signaling pathway.

[Keywords] Dahuang Gancaotang; chronic kidney disease; ferroptosis; silent information regulator 3 (SIRT3); deacetylation

慢性肾脏病(CKD)的特征是肾脏结构或功能异常持续3个月或更长时间,伴或不伴肾小球滤过率(eGFR)下降,或不明原因的eGFR下降至低于60 mL·min⁻¹·(1.73 m²)⁻¹超过3个月^[1]。在亚洲地区,预计已有4.34亿人患有CKD^[2],中国CKD患病率已达8.2%^[3]。在中国CKD呈快速攀升趋势,并存在人口老龄化、诊断不足、监测体系不完善等问题,已对公共卫生系统造成重大压力^[4]。现临床治疗策略主要集中于病因控制及并发症管理,尚缺乏针对CKD病因的精准干预手段。因此,探索CKD的病因并开发特异性治疗药物,已受到研究者的日益关注。

传统医学将CKD归为“水肿”“关格”“虚劳”“溺

毒”等范畴。中医理论认为,CKD的发生发展多源于外感邪气或内生毒邪,导致脾肾功能失调,湿浊内生,日久化热成瘀,水湿、邪热、瘀浊等羁留体内,酿生浊毒,终致肾体受损、肾用失司^[5-7]。《黄帝内经·素问·玉机真脏论篇》云:“五脏者,皆禀气于胃,胃者五脏之本也。”若肾脏功能渐至衰微,浊毒内盛而无从下泄时,便可上逆犯胃,致使胃失和降,表现为恶心、呕吐、纳呆等症状。临床研究显示,CKD患者恶心和呕吐的发生率已高达30%~43%^[8],反映了CKD患者多存有“浊毒内盛、胃气上逆”的病理状态。

《黄帝内经》有云:“其下者,引而竭之”。“通腑泄浊”法便是该治法的具体应用。当肾脏开阖失

职,浊毒无从下泄时,则可因势利导,另辟蹊径,给邪以出路,引浊毒自大肠而去,减轻肾脏的排泄负担,为肾元的恢复创造条件。大黄甘草汤出自《金匮要略》,原为“食已即吐”之胃反证设,具有“清热通腑、和胃降逆”功效。作为“通腑泄浊”法的代表方剂,大黄甘草汤在CKD临床治疗的应用中每获良效,已有临床研究与验案表明,经大黄甘草汤干预后能显著改善CKD患者胃肠不适症状^[9],并延缓慢性肾脏病进展^[10]。但其发挥肾脏保护作用的分子机制尚不清晰。

铁死亡(Ferroptosis)作为一种铁依赖性脂质过氧化驱动的程序性细胞死亡形式,是肾小管上皮细胞损伤与CKD进展的关键环节^[11],抑制铁死亡已成为延缓CKD进展极具潜力的新兴治疗策略^[12]。在中医认知中,湿热浊毒内蕴是CKD的核心病机之一,而铁死亡过程中所致的炎症反应、异常蓄积的铁离子及过多的脂质过氧化产物,恰是“湿热浊毒”在微观层面的具象化体现,治疗上可予大黄甘草汤以“清热通腑、解毒祛浊”。深入分子机制层面发现,线粒体核心去乙酰化酶沉默信息调节因子3(SIRT3)不仅能维持线粒体氧化还原稳态,更是铁死亡的关键负调控因子^[13-14]。而肿瘤抑制蛋白p53则被视为铁死亡的经典促发因子,可介导组织损伤与纤维化^[15-16]。值得注意的是,SIRT3/p53信号通路已被证实可抑制铁死亡,进而缓解心脏纤维化^[17]。基于此,笔者推测大黄甘草汤可能通过调控SIRT3/p53信号通路抑制铁死亡,从而延缓CKD进展。本研究为验证该机制,故开展如下实验。

1 材料

1.1 动物及饲料 本实验选取SPF级雄性C57BL/6小鼠72只,7周龄,体质量20~22 g,由河南省斯克贝斯生物科技股份有限公司提供,动物合格证号SCXK(鄂)2020-0005;15只雄性SPF级雄性SD大鼠,6~8周龄,体质量180~220 g,由湖北省疾病预防控制中心(湖北省预防医学科学院)提供,动物合格证号SCXK(鄂)2020-0018,用以制备含药血清。动物饲养于湖北中医药大学实验动物中心。饲养环境温度(22±2)℃、相对湿度(50±5)%、12 h/12 h光暗交替。0.2%腺嘌呤饲料购自安徽跬步书玉生物科技有限公司。

1.2 伦理 本实验经湖北中医药大学伦理委员会批准(批准号HUCMS61616355),全过程严格遵守3R原则。

1.3 药物 大黄甘草汤按《伤寒杂病论》原方比例

配伍(大黄12 g、甘草3 g,4:1)。大黄(湖北辰美中药有限公司,批号242506013)和甘草(湖北天济药业有限公司,批号202504016)饮片均购于湖北省中医院中药房,经湖北中医药大学成焕波高级工程师鉴定符合2020年版《中华人民共和国药典》标准。药材按比例(大黄80 g、甘草20 g)加沸水800 mL提取10 min,过滤,滤液经减压浓缩后真空干燥,制得干浸膏粉末,测得出膏率为9.53%,研究中1.95 g·kg⁻¹(以生药量计)剂量按提取率折算相当于185.80 mg·kg⁻¹(以粉末量计)。阳性药缬沙坦分散片(VAL,规格40 mg/片,批号H20051350)购自山东鲁南贝特制药有限公司。

1.4 试剂 血尿素氮(BUN)、肌酐(Scr)、谷胱甘肽(GSH)、超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)及肾组织总铁离子含量检测试剂盒(武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司,批号分别为E-BC-K183-M、E-BC-K188-M、E-BC-K030-M、E-BC-K020-M、E-BC-K025-M、E-BC-K772-M);肿瘤坏死因子-α(TNF-α)、白细胞介素-1β(IL-1β)和白细胞介素-6(IL-6)试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司,批号分别为PT512、PI301、PI326);SIRT3、p53、谷胱甘肽过氧化物酶4(GPX4)、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)抗体及牛血清白蛋白(BSA)、辣根过氧化物酶(HRP)标记的山羊抗兔免疫球蛋白(Ig)G、细胞增殖与活性检测-8(CCK-8)试剂盒(武汉赛维尔生物科技公司,批号分别为GB11354、GB12626、GB115275、GB15002、GC305010、GB23303、G4103);Ferrostatin-1(Fer-1)、Lys370乙酰化p53(ac-p53)抗体(上海艾博抗贸易有限公司,批号分别为RM02804、ab183544);阿利新蓝-过碘酸-雪夫染色(AB-PAS)染色试剂盒、马松(Masson)三色染色试剂盒、苏木素-伊红(HE)染色试剂盒(北京索莱宝科技有限公司,批号分别为G1285、G1340、G1120);埃拉斯汀(Erastin)、I型胶原蛋白(Col I)、Ⅲ型胶原蛋白(Col Ⅲ)、α-平滑肌肌动蛋白(α-SMA)抗体(武汉三鹰生物技术有限公司,批号分别为CM01165、14695-1-AP、22734-1-AP、14395-1-AP)。

1.5 仪器 ECLIPSE80i型光学显微镜(日本Nikon公司),Multiskan FC型酶标仪(美国赛默飞科技公司),SVE-2型垂直电泳仪、SVT-2型转印电泳仪(武汉赛维尔生物技术有限公司),JT-12J型组织脱水机、JB-L5型组织包埋机(武汉俊杰电子有限公司),RM2016型轮转式切片机病理切片机(德国Leica公司),BS-1000M型全自动生化分析仪(深圳迈瑞生

物医疗电子股份有限公司), D3024R型台式高速冷冻型微量离心机(北京大龙兴创实验仪器股份公司)。

2 方法

2.1 动物分组、造模及给药 将小鼠随机分为空白组, 模型组, 大黄甘草汤低、中、高剂量组(0.975 、 1.95 、 $3.90\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)和阳性药缬沙坦组($0.025\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$) [剂量根据《药理实验方法学》中人和小鼠体表面积换算^[18], 设置大黄甘草汤中剂量为 70 kg 人体等效剂量, 低剂量为等效 0.5 倍剂量, 高剂量组为等效 2 倍剂量], 每组 12 只。适应性喂养 1 周后, 除空白组常规饲料喂养外, 其余各组均予 0.2% 腺嘌呤饲料诱导CKD模型, 共持续 4 周。以小鼠出现精神萎靡、多饮多尿, 且BUN及SCr水平显著升高为造模成功标准^[19]。在造模 2 周时, 各给药组每日灌胃相应药物, 空白组及模型组灌胃等体积生理盐水, 连续干预 2 周。

2.2 标本采集与处理 末次给药后用 5% 异氟醚麻醉小鼠, 剪去小鼠胡须, 采用眼球摘除术采血, 分离获取血清; 同时剖腹完整摘除肾脏, 分离获取肾组织。左肾经 4% 多聚甲醛固定、脱水后石蜡包埋, 右肾液氮速冻后置于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存备用。所有动物于SPF环境下分笼饲养, 自由摄食饮水。

2.3 血清生化指标检测 采集的血液置于不含抗凝剂的采血管中, 静置后以 $3\ 000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 15 min (离心半径 7 cm)后留取淡黄色的上清液, 测定血清中BUN、SCr含量, 以及TNF- α 、IL-6、IL-1 β 含量。另取肾组织, 按试剂盒说明制备组织匀浆, 离心后取上清液, 用于检测SOD、MDA、GSH及总铁浓度。

2.4 HE、Masson和PAS染色检测肾组织病理变化 固定后的肾组织经常规乙醇脱水、石蜡包埋, 切片厚 $3\sim 5\text{ }\mu\text{m}$, 经脱蜡、水化后行HE、Masson及PAS染色, 风干后中性树胶封片, 使用全景扫描系统成像分析。

2.5 免疫组化检测肾组织Col I、Col III和 α -SMA表达 切片脱蜡、抗原修复, 经 $3\%\text{ H}_2\text{O}_2$ 阻断内源性过氧化物酶、磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤、牛血清白蛋白(BSA)封闭。分别加入Col I一抗($1:800$)、Col III一抗($1:500$)和 α -SMA一抗($1:20\ 000$), $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜, PBS洗涤; HRP标记二抗 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 孵育 1 h , PBS洗涤。 $3,3'$ -二氨基联苯胺(DAB)显色, 苏木素复染, 分化, 返蓝, 中性树胶封片。光学显微镜下观察拍照。

2.6 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测肾组织SIRT3、p53、ac-p53、GPX4蛋白表达 肾组织用含蛋白酶抑制剂的放射免疫沉淀(RIPA)裂解液提取总蛋白, 于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $12\ 000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 15 min (离心半径 8 cm), 取上清液, 二喹啉甲酸(BCA)法定量。等量蛋白经十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)转移至PVDF膜, 5% 脱脂奶粉封闭。 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 孵育一抗过夜[SIRT3、p53、GPX4($1:1\ 000$), ac-p53($1:500$), GAPDH($1:5\ 000$)]。TBST洗涤后, HRP标记二抗($1:10\ 000$) $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 孵育 1.5 h , 增强化学发光(ECL)显影。Image J分析灰度值。

2.7 含药血清制备 将 15 只健康成年雄性SD大鼠随机分为 3 组($n=5$), 参考《药理实验方法学》^[18], 以大黄甘草汤临床人用剂量(大黄 12 g 、甘草 3 g , 共 $15\text{ g}\cdot\text{d}^{-1}$)为依据, 按成人体质量 70 kg 计算, 结合人和动物体表面积换算系数(大鼠为 6.3), 计算大鼠等效剂量为 $1.35\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。实验设低、中、高 3 个剂量组, 中剂量为临床等效剂量($1.35\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$), 低、高剂量分别为中剂量的 0.5 倍($0.675\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)和 2 倍($2.70\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)分别每日灌胃大黄甘草汤, 连续 7 d 。末次给药 1 h 后麻醉腹主动脉采血, 以 $3\ 000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 15 min (离心半径 7 cm), $56\text{ }^{\circ}\text{C}$ 灭活补体 30 min , 滤膜过滤除菌, $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存。

2.8 细胞活力检测 CCK-8法筛选Erastin诱导HK-2细胞的最佳造模浓度及大黄甘草汤含药血清最佳治疗剂量。细胞(1×10^5 个/mL)接种 96 孔板, 分组处理: 空白组, 模型组, 大黄甘草汤含药血清低、中、高剂量组(大鼠分别按 0.675 、 1.35 、 $2.70\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量灌胃大黄甘草汤制备含药血清, 细胞培养基中添加体积分数均为 10%)和Fer-1($5\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ^[20])组, 每组 5 复孔。加入CCK-8试剂 $10\text{ }\mu\text{L}$, $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 孵育 $30\sim 60\text{ min}$, 酶标仪 450 nm 测吸光度 A , 根据细胞活力筛选最佳造模浓度。

2.9 免疫荧光共聚焦检测 HK-2细胞经 $200\text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ MitoTracker CMXRos染色后, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 孵育p53($1:200$)、GPX4($1:200$)一抗过夜, PBS洗涤; $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 孵育荧光二抗($1:300$) 1 h , PBS洗涤。赫斯特染色液(Hoechst)染核, 激光共聚焦显微镜采集图像。采用Image J软件进行图像定量分析, 以Hoechst染色区域界定细胞核范围, 测定细胞p53核内和GPX4的平均荧光强度(MFI), 选取随机视野进行统计分析。

2.10 统计学分析 数据采用SPSS 25.0软件分析。正态分布计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示, 多组间比较用单因

素方差分析。组间两两比较:方差齐性时用邦费罗尼校正(Bonferroni)法,方差不齐时用Tamhane's T2检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 大黄甘草汤对CKD小鼠肾功能、炎症反应的影响 与空白组比较,模型组小鼠BUN和SCr水平均显著升高($P<0.01$);与模型组比较,各给药组BUN水平呈梯度依赖性降低,大黄甘草汤中、高剂

量组及缬沙坦组SCr水平显著降低($P<0.01$)。提示大黄甘草汤能改善肾功能,发挥肾脏保护作用。此外,与空白组比较,模型组小鼠血清炎症因子TNF- α 、IL-1 β 和IL-6水平均显著升高($P<0.01$);与模型组比较,除大黄甘草汤低剂量组IL-1 β 水平差异无统计学意义外,大黄甘草汤给药组及缬沙坦均在不同程度降低了炎症因子IL-6、IL-1 β 和TNF- α 表达($P<0.05$, $P<0.01$)。见表1。

表1 大黄甘草汤对小鼠肾功能指标BUN、SCr水平及炎症指标TNF- α 、IL-1 β 、IL-6含量的影响($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

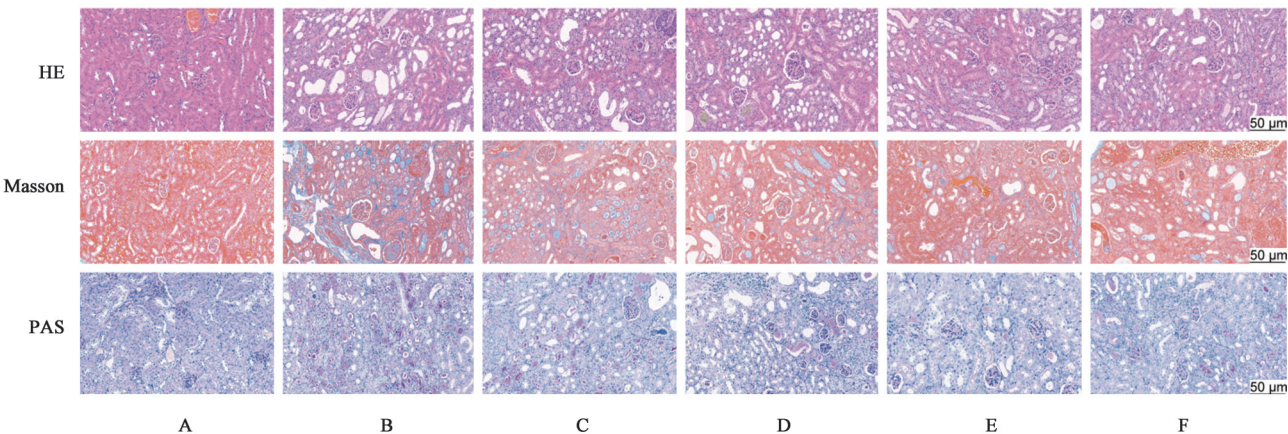
Table 1 Effect of Dahuang Gancaotang (DHGC) on renal function indexes BUN, SCr levels and inflammatory indexes TNF- α , IL-1 β and IL-6 levels in mice ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	BUN/mmol·L ⁻¹	SCr/mg·dL ⁻¹	TNF- α /ng·L ⁻¹	IL-1 β /ng·L ⁻¹	IL-6/ng·L ⁻¹
空白组		19.52±0.97	1.22±0.19	45.98±2.95	36.74±1.92	24.99±3.28
模型组		78.99±4.02 ¹⁾	3.12±0.23 ¹⁾	150.20±5.75 ¹⁾	114.85±13.29 ¹⁾	77.68±6.54 ¹⁾
DHGC-L组	0.975	67.09±2.77 ³⁾	2.82±0.25	138.77±4.56 ²⁾	117.21±12.22	69.90±3.03 ²⁾
DHGC-M组	1.95	50.26±6.57 ³⁾	2.67±0.20 ³⁾	122.33±6.47 ³⁾	88.47±4.10 ³⁾	54.17±2.35 ³⁾
DHGC-H组	3.90	43.11±3.87 ³⁾	2.20±0.14 ³⁾	90.09±3.60 ³⁾	81.42±4.92 ³⁾	48.61±2.78 ³⁾
缬沙坦组	0.025	39.91±2.80 ³⁾	2.07±0.07 ³⁾	91.65±6.92 ³⁾	80.38±6.81 ³⁾	44.81±1.32 ³⁾

注:与空白组比较¹⁾ $P<0.01$;与模型组比较²⁾ $P<0.05$,³⁾ $P<0.01$ (表2、表3,表5-表7同)

3.2 大黄甘草汤对CKD小鼠肾组织病理形态变化的影响 HE染色结果表明,空白组肾组织结构基本完整,未见明显异常;模型组可见肾间质水肿、管型形成、炎症细胞浸润,肾小管扩张且管腔内上皮细胞坏死脱落、排列紊乱;与模型组比较,各给药组肾组织结构显著恢复,炎症浸润和纤维化程度均明显减轻。Masson染色结果显示,空白组无明显胶原

纤维沉积;模型组肾间质可见大量蓝紫色胶原纤维沉积;各给药组均不同程度逆转了纤维化沉积。PAS染色显示,空白组肾脏组织结构基本完整;与空白组比较,模型组肾脏组织结构完整区域显著减少,可见基底膜显著破坏,间质细胞外基质大量沉积,而经大黄甘草汤及缬沙坦治疗后均有不同程度改善。见图1。



注:A.空白组;B.模型组;C.DHGC-L组;D.DHGC-M组;E.DHGC-H组;F.缬沙坦组(图2和图3同)

图1 大黄甘草汤对小鼠肾脏病理切片的影响($\times 200$)

Fig. 1 Effect of DHGC on pathological sections in mice ($\times 200$)

3.3 大黄甘草汤对CKD小鼠肾组织纤维化标志物Col I/III和 α -SMA的影响 免疫组化结果显示,与空白组比较,模型组纤维化标志物Col I、

Col III和 α -SMA表达显著升高;与模型组比较,各给药组上述表达均呈剂量依赖性降低。结果表明,阳性药和大黄甘草汤梯度剂量干预均能抑制

CKD 小鼠肾组织纤维化标志物 Col I、Col III 和 α -SMA 的表达,其中观察到大黄甘草汤高剂量组与阳性药缬沙坦有着相似的改善肾纤维化水平的作用。见图 2。

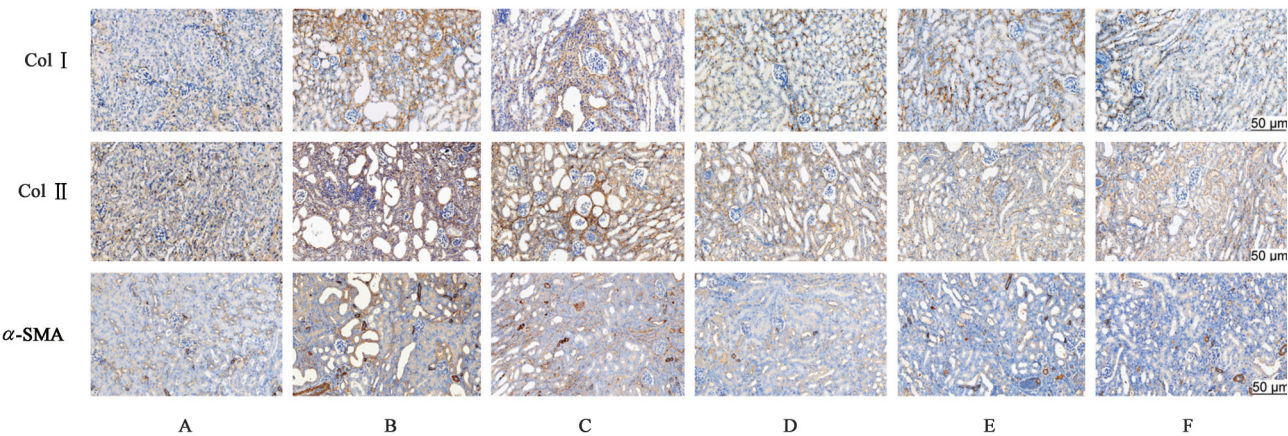


图2 大黄甘草汤对小鼠肾脏 Col I、Col III 和 α -SMA 表达的影响 (免疫组化, $\times 200$)
Fig. 2 Effect of DHGC on expression of Col I, Col III and α -SMA in mouse kidney (IHC, $\times 200$)

3.4 大黄甘草汤对 CKD 小鼠氧化应激与铁死亡指标 GSH、SOD、MDA 和总铁水平的影响 与空白组比较,模型组氧化应激指标 GSH、SOD 水平显著降低,MDA、总铁含量显著升高 ($P<0.01$);与模型组比较,除低剂量组 SOD 和总铁水平未见显著差异外,大黄甘草汤低、中、高剂量组及缬沙坦组均能明显逆转上述趋势,差异有统计学意义 ($P<0.05$, $P<0.01$)。表明大黄甘草汤及缬沙坦均能显著缓解 CKD 小鼠氧化应激,改善铁死亡,且缬沙坦表现出更强的作用功效。见表 2。

表2 大黄甘草汤对小鼠氧化应激及铁死亡指标的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)
Table 2 Effect of DHGC on oxidative stress and ferroptosis in mice ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	剂量/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	GSH/ $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$	MDA/ $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$	SOD/ $\text{U}\cdot\text{mg}^{-1}$	铁/ $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$
空白组		2.82 ± 0.13	1.46 ± 0.10	155.30 ± 11.54	21.40 ± 1.94
模型组		$1.63\pm 0.12^{1)}$	$2.45\pm 0.09^{1)}$	$112.52\pm 4.19^{1)}$	$63.22\pm 2.10^{1)}$
DHGC-L 组	0.975	$2.10\pm 0.19^{2)}$	$1.94\pm 0.12^{3)}$	120.96 ± 3.30	60.34 ± 4.11
DHGC-M 组	1.95	$2.13\pm 0.18^{3)}$	$1.92\pm 0.13^{3)}$	$130.39\pm 4.49^{3)}$	$57.03\pm 3.03^{2)}$
DHGC-H 组	3.90	$2.09\pm 0.09^{3)}$	$1.93\pm 0.06^{3)}$	$132.58\pm 4.11^{3)}$	$54.61\pm 2.83^{3)}$
缬沙坦组	0.025	$2.12\pm 0.05^{3)}$	$1.69\pm 0.09^{3)}$	$137.69\pm 4.23^{3)}$	$49.47\pm 1.21^{3)}$

3.5 大黄甘草汤对 CKD 小鼠肾组织 SIRT3、p53、ac-p53 及 GPX4 蛋白表达的影响 与空白组比较,模型组小鼠肾组织中 SIRT3 和 GPX4 蛋白表达显著降低 ($P<0.01$),p53 及 ac-p53 蛋白表达均显著升高 ($P<0.01$);与模型组比较,除大黄甘草汤低剂量组未见明显差异外,经大黄甘草汤中、高剂量组与缬沙坦干预后, SIRT3 和 GPX4 蛋白表达显著上调 ($P<0.01$),p53 与 ac-p53 表达显著下降 ($P<0.01$),且大黄甘草汤药物浓度越高,治疗作用越显著。值得注意的是,缬沙坦调控 SIRT3/p53/GPX4 信号通路的作用效果不及大黄甘草汤高剂量组,提示缬沙坦可能主要通过其他通路干预 CKD。见表 3、图 3。

3.6 不同浓度 Erastin 及大黄甘草汤含药血清对 HK-2 细胞活力的影响 CCK-8 法检测结果显示,

$0.4\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Erastin 诱导 HK-2 细胞后,细胞活性受到显著抑制并接近半数抑制浓度 (IC_{50}) ($P<0.01$),适合细胞造模并用于检测含药血清的保护作用。因此,后续实验采用 $0.4\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Erastin 诱导 HK-2 细胞铁死亡。同样,根据细胞活力实验结果,大黄甘草汤低中高含药血清及 Fer-1 均能显著改善细胞活力,其中 Fer-1 的疗效最佳,而在大黄甘草含药血清组中,高剂量组对细胞活力改善最明显,故选择其作为后续药物治疗手段 ($P<0.05$, $P<0.01$)。见表 4、表 5。

3.7 大黄甘草汤含药血清对 Erastin 诱导的 HK-2 细胞 SIRT3、p53、ac-p53 及 GPX4 蛋白表达的影响 与空白组比较,模型组 HK-2 细胞中 SIRT3 和 GPX4 蛋白表达显著降低 ($P<0.01$),p53 及 ac-p53 蛋白表达

表 3 大黄甘草汤对小鼠肾脏 SIRT3、p53、ac-p53、GPX4 蛋白表达的影响 ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	SIRT3/GAPDH	p53/GAPDH	ac-p53/GAPDH	GPX4/GAPDH
空白组		0.336±0.005	0.244±0.005	0.088±0.004	0.258±0.005
模型组		0.072±0.003 ¹⁾	0.692±0.013 ¹⁾	0.335±0.007 ¹⁾	0.061±0.004 ¹⁾
DHGC-L 组	0.975	0.082±0.003	0.668±0.017	0.311±0.009	0.075±0.004
DHGC-M 组	1.95	0.110±0.005 ³⁾	0.454±0.015 ³⁾	0.211±0.014 ³⁾	0.131±0.005 ³⁾
DHGC-H 组	3.90	0.186±0.012 ³⁾	0.310±0.015 ³⁾	0.111±0.007 ³⁾	0.170±0.008 ³⁾
缬沙坦组	0.025	0.121±0.005 ³⁾	0.329±0.011 ³⁾	0.181±0.011 ³⁾	0.140±0.007 ³⁾

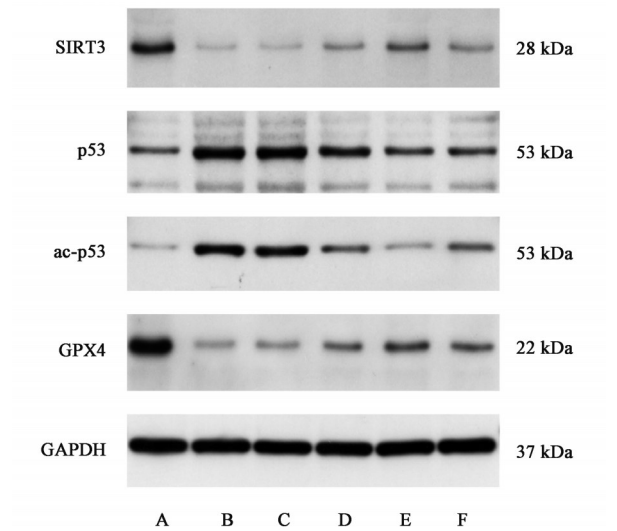


图 3 小鼠肾脏 SIRT3、p53、ac-p53、GPX4 蛋白表达电泳
Fig. 3 Electrophoresis of SIRT3, p53, ac-p53 and GPX4 protein expression in kidney of mice

表 4 不同剂量 Erastin 对 HK-2 细胞活力的影响 ($\bar{x}\pm s, n=5$)

组别	剂量/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	平均吸光度	细胞活力/%
背景孔		0.154±0.003	
空白组		1.379±0.009	100.00±0.73
Erastin	0.1	1.329±0.042	95.92±3.43
	0.2	0.926±0.031 ¹⁾	63.02±2.53 ¹⁾
	0.4	0.820±0.041 ¹⁾	54.37±3.35 ¹⁾
	0.8	0.490±0.005 ¹⁾	27.43±0.41 ¹⁾
	1.0	0.247±0.003 ¹⁾	7.59±0.24 ¹⁾

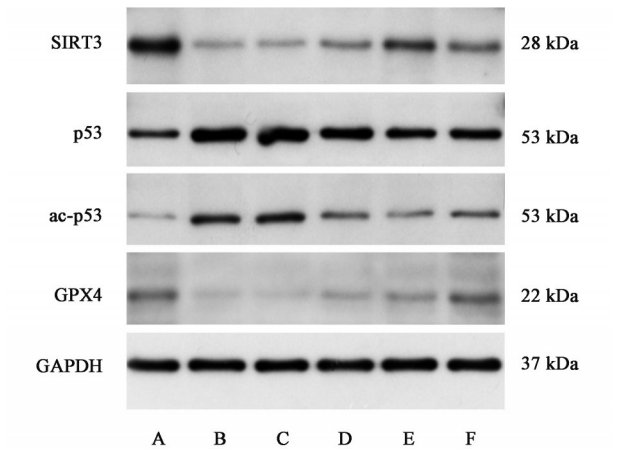
注：与空白组比较 ¹⁾ $P<0.01$

均显著升高 ($P<0.01$)；与模型组比较，除大黄甘草汤含药血清低剂量组未见明显差异外，经大黄甘草汤含药血清高剂量组与 Fer-1 干预后，SIRT3 和 GPX4 蛋白表达显著上调，差异具有统计学意义 ($P<0.01$)，p53 与 ac-p53 表达显著下降 ($P<0.01$)，且大黄甘草汤药物浓度越高，治疗作用越显著。作为直接靶向脂质过氧化的强效铁死亡抑制剂，Fer-1 改善 GPX4

表 5 大黄甘草汤对 Erastin 诱导后 HK-2 细胞活力的影响 ($\bar{x}\pm s, n=5$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	平均吸光度	细胞活力/%
背景孔		0.150±0.002	
空白组		1.368±0.002	100.00±0.28
模型组		0.816±0.009 ¹⁾	54.68±0.71 ¹⁾
DHGC-L 组	0.675	0.899±0.023 ²⁾	61.50±1.96 ²⁾
DHGC-M 组	1.35	0.959±0.004 ³⁾	66.42±0.36 ³⁾
DHGC-H 组	2.70	1.043±0.049 ³⁾	73.32±4.10 ³⁾
Fer-1 组		1.061±0.012 ³⁾	74.79±0.99 ³⁾

水平的效应显著优于大黄甘草汤含药血清组，但对 SIRT3/p53 及 ac-p53 的调控作用弱于高剂量组，提示 SIRT3/p53 并非 Fer-1 直接作用靶点。见图 4、表 6。



注：A. 空白组；B. 模型组；C. DHGC-L 组；D. DHGC-M 组；E. DHGC-H 组；F. Fer-1 组(图 5 同)

图 4 HK-2 细胞中 SIRT3、p53、ac-p53、GPX4 蛋白表达电泳
Fig. 4 Electrophoresis of SIRT3, p53, ac-p53 and GPX4 protein expression in HK-2 cells

3.8 大黄甘草汤对 Erastin 诱导的 HK-2 细胞铁死亡的核定位影响 空白组中，p53 水平较低，主要定位在细胞核中，并伴随少量胞质分布，而 GPX4 水平较

表6 大黄甘草汤对HK-2细胞中SIRT3、p53、ac-p53、GPX4蛋白表达的影响($\bar{x}\pm s, n=3$)
Table 6 Effect of DHGC on expression of SIRT3, p53, ac-p53 and GPX4 proteins in HK-2 cells ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	SIRT3/GAPDH	p53/GAPDH	ac-p53/GAPDH	GPX4/GAPDH
空白组		0.807±0.007	0.717±0.007	0.113±0.002	0.337±0.003
模型组		0.163±0.002 ¹⁾	2.131±0.013 ¹⁾	0.759±0.003 ¹⁾	0.047±0.001 ¹⁾
DHGC-L组	0.675	0.168±0.015	2.077±0.094	0.775±0.011	0.051±0.002
DHGC-M组	1.35	0.409±0.003 ³⁾	1.605±0.009 ³⁾	0.378±0.003 ³⁾	0.104±0.002 ³⁾
DHGC-H组	2.70	0.580±0.003 ³⁾	1.110±0.007 ³⁾	0.267±0.002 ³⁾	0.183±0.002 ³⁾
Fer-1组		0.413±0.003 ³⁾	1.175±0.007 ³⁾	0.386±0.003 ³⁾	0.328±0.003 ³⁾

高。然而与空白组比较,模型组的p53被显著激活且核定位显著增强($P<0.01$),而GPX4水平明显下降;与模型组比较,经大黄甘草汤治疗后,p53整体水平减弱,核内聚集显著减弱,GPX4水平显著增

加,这与Western blot结果基本保持一致;Fer-1组表现出与大黄甘草汤含药血清高剂量组相当的抑制p53及其核定位,增加GPX4水平的改善作用。见图5、表7。

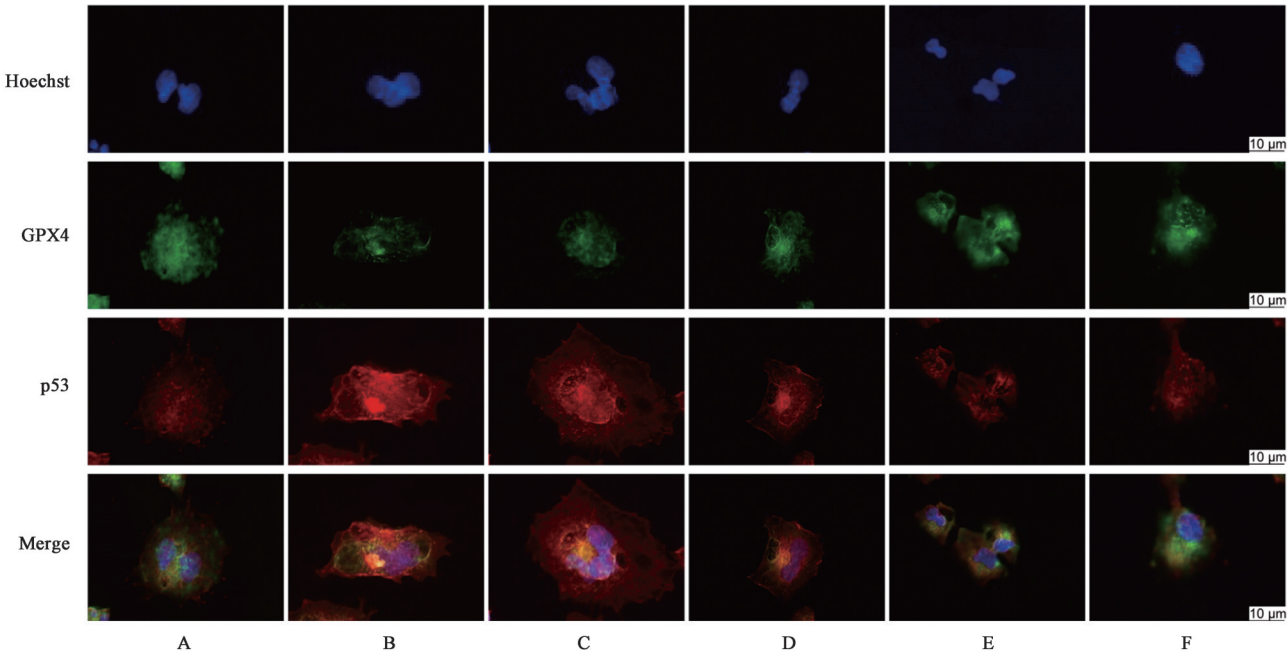


图5 大黄甘草汤对HK-2细胞核易位分布情况的影响(免疫荧光,×400)
Fig. 5 Effect of DHGC on distribution of HK-2 nuclear translocation (IF, ×400)

表7 大黄甘草汤对HK-2细胞p53核内和GPX4平均荧光强度的影响($\bar{x}\pm s, n=5$)
Table 7 Effect of Dahuang Gancaotang on mean fluorescence intensity of p53 and GPX4 in HK-2 cells ($\bar{x}\pm s, n=5$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	p53	GPX4
空白组		104.59±7.08	287.68±11.56
模型组		310.93±20.53 ¹⁾	103.88±10.13 ¹⁾
DHGC-L组	0.675	222.70±18.40 ³⁾	161.08±15.42 ³⁾
DHGC-M组	1.35	169.26±9.76 ³⁾	219.84±13.13 ³⁾
DHGC-H组	2.70	128.41±12.65 ³⁾	245.82±25.77 ³⁾
Fer-1组		121.26±7.20 ³⁾	272.17±16.63 ³⁾

4 讨论

慢性肾脏病已成为全球重大公共卫生挑战,其病机复杂,治疗手段有限,亟需新的治疗手段进入大众视野^[12]。铁死亡作为一种程序性细胞死亡方式,Erastin成为细胞铁死亡的公认造模剂^[21],而Fer-1则是该病理过程的经典抑制剂^[20]。近年来铁死亡被证实参与CKD的肾小管损伤和疾病进展过程^[22]。本研究首次揭示经典方剂大黄甘草汤可能通过调控SIRT3/p53信号通路抑制铁死亡,从而改善CKD肾,为中医药防治CKD提供了新的分子作用机制。

针对CKD的治疗需分清标本缓急。针对“浊毒内盛、胃气上逆”的标实之证,宜以祛邪为要。此时水反为湿,谷反为滞,若纯用补益反致壅滞,治应以祛邪为急。诚如《黄帝内经》所云:“甚者独行,间者并行”,故选用药仅二味,配伍精当的大黄甘草汤为之用,其药简力专,可直捣病所。大黄甘草汤出自《金匮要略》,原为“食已即吐”之胃反证设。方中大黄苦寒,其气走窜,力功峻下以荡涤肠中积滞,且能逐气分热结,以化血分瘀毒;将军之官善走不补,然《张氏医通》言“胃气愈伤,浊邪愈逆”,故臣以甘平守中之甘草,以顾护胃气,使全方攻邪而不伤正。二药相合,泻而不伤正,攻中有守,具有“通腑泄浊、和胃降逆”之功,契合《黄帝内经》“六腑以通为用”“去菟陈莖”之治则。

现代医学研究表明,慢性肾脏病的主要病理特征包括持续的炎症反应^[23]、肾小管上皮细胞损伤^[24]和肾纤维化^[25],最终可导致肾功能不可逆地丧失^[26],进一步加剧纤维化进程^[27]。本研究结果显示,CKD模型小鼠出现显著的肾功能恶化,表现为血清BUN、SCr水平升高,并伴有肾小管坏死扩张、结构破坏等明显病理改变。同时,炎症因子(IL-1 β 、IL-6、TNF- α)水平显著上调及肾纤维化指标(Col I、Col III、 α -SMA)的显著增加,进一步证实了CKD炎症和纤维化的关键病理特征。而经大黄甘草汤干预后,上述指标均得到不同程度的改善。然而,其具体分子机制仍需深入探究。近年来,铁死亡已在多种动物模型中证实能显著引起肾纤维化^[28-30]。因此,本研究进一步从铁死亡的角度切入,探讨大黄甘草汤对铁死亡过程的调节作用。

铁死亡的发生与细胞内氧化应激失衡和脂质过氧化修复系统功能障碍密切相关^[31]。其中,GPX4是抑制铁死亡的核心调控因子,以GSH为底物,将有氧的脂质过氧化物还原为无毒的醇类,从而阻断铁死亡的发生^[32]。在本研究的CKD小鼠肾组织中,笔者观察到病理性铁蓄积显著增加,脂质过氧化产物MDA含量显著升高。与此同时,肾脏内源性抗氧化防御体系受损,核心抗氧化酶SOD和GPX4活性及其重要底物GSH水平显著下降,这些变化共同促进了铁死亡的激活,与既往CKD中铁死亡报道一致^[33-34]。经过大黄甘草汤治疗后,上述指标均显著改善,提示大黄甘草汤的肾脏保护作用与抗铁死亡密切相关。

为深入探索其上游调控机制,团队发现p53作为关键的转录因子,不仅调控细胞周期与凋亡,近

年来也被证实是铁死亡的关键调控节点^[35]。p53的功能发挥不仅取决于蛋白表达量,更依赖于其翻译后修饰状态,其中乙酰化是稳定并激活其功能的重要方式^[36]。研究证实,生理状态下,p53水平较低,主要在细胞核中发挥作用^[37],在受到铁死亡等病理刺激后,会导致p53激活并在细胞核内积聚^[38],而乙酰化修饰能够显著增强其核定位,阻止其向胞质的转移与降解^[39],从而导致被激活的ac-p53在核内大量积聚并持续激活下游靶基因,最终促进铁死亡的发生^[38]。SIRT3作为线粒体内主要的去乙酰化酶,能够直接通过去乙酰化修饰作用于p53,削弱其核定位,进而抑制其功能^[40]。大量研究证实,中药复方及活性单体可通过SIRT3的去乙酰化修饰,发挥改善相关病理损伤的作用。ZHOU等^[41]发现中药单体和厚朴酚通过SIRT3去乙酰化调控环化鸟苷酸/腺苷酸合成酶(cGAS)/干扰素基因刺激蛋白(STING)信号通路抑制铁死亡,进而改善肺泡上皮细胞衰老;WANG等^[42]发现中药单体灵芝酸D通过SIRT3去乙酰化调控核因子E₂相关因子2(Nrf2)/GPX4通路气道黏液分泌过多;WANG等^[43]补肺益肾方能通过SIRT3去乙酰化叉头框蛋白O3(FoxO3)抑制线粒体氧化应激,从而改善慢性阻塞性肺气肿。在团队前期研究中,已证实SIRT3为大黄甘草汤治疗急性肾损伤的关键靶点^[44],但在CKD治疗中仍有待探索与验证。基于上述内容,本研究通过Western blot检测发现,模型组小鼠的SIRT3表达显著下调,而总p53及ac-p53水平显著升高。大黄甘草汤干预能够显著上调SIRT3的蛋白表达,同时有效逆转了ac-p53及核内p53的异常升高。这些结果共同提示,大黄甘草汤的肾脏保护作用,可能正是通过激活SIRT3,促进p53去乙酰化并抑制其核内定位,从而抑制铁死亡来发挥疗效的。

本研究不足之处,在于聚焦蛋白翻译后修饰对信号通路的调控,SIRT3作为去乙酰化酶,其对p53的调控主要依赖蛋白乙酰化修饰,而非mRNA表达变化,然而,检测mRNA表达水平有助于从基因转录层面提供更多的证据支持。此外,目前尚缺乏基因敲除、沉默或特异性抑制剂明确该通路的因果调控关系,并借助实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)技术探究大黄甘草汤对SIRT3、p53的转录调控作用,完善并进一步明确其靶向该通路调控铁死亡的具体机制。综上所述,本研究证实大黄甘草汤通过激活SIRT3/p53信号通路发挥抗铁死亡效应,可通过上调SIRT3表达,降低p53的乙酰化水平并减少其核定位,从而抑

制铁死亡,改善肾功能。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] 王海燕. 肾脏病学[M]. 3版. 北京:人民卫生出版社,2008:1435-1442.
- WANG H Y. Nephrology [M]. 3rd Ed. Beijing: People's Medical Publishing House,2008:1435-1442.
- [2] MAKMUN A, SATIRAPOJ B, TUYEN D G, et al. The burden of chronic kidney disease in Asia region: A review of the evidence, current challenges, and future directions [J]. *Kidney Res Clin Pract*, 2025, 44(3):411-433.
- [3] WANG L, XU X, ZHANG M, et al. Prevalence of chronic kidney disease in China: Results from the sixth China chronic disease and risk factor surveillance [J]. *JAMA Intern Med*, 2023, 183(4):298-310.
- [4] LIU J, SHI Y, DIAO Y, et al. Strategies to improve long-term outcomes for patients with chronic kidney disease in China [J]. *Kidney Dis (Basel)*, 2023, 9(4):265-276.
- [5] 曾静静, 杨冠琦, 吕静. “伏毒损络”论治慢性肾脏病研究进展[J]. *天津中医药大学学报*, 2025, 44(6):571-576.
- ZENG J J, YANG G Q, LV J. Research progress on treating chronic kidney disease based on "hidden toxin damaging collaterals" theory [J]. *J Tianjin Univ Tradit Chin Med*, 2025, 44(6):571-576.
- [6] 吴爱君, 程冉, 曾艳秋, 等. 基于脂质肾毒性学说探析慢性肾脏病“湿邪内蕴”的现代生物学机制及“从湿论治”的潜在靶点[J]. *中国中医基础医学杂志*, 2024, 30(2):269-274.
- WU A J, CHENG R, ZENG Y Q, et al. Exploration on modern biological mechanism of "dampness retention" in chronic kidney disease based on lipid nephrotoxicity theory and potential targets of "treating from dampness" [J]. *Chin J Basic Med Tradit Chin Med*, 2024, 30(2):269-274.
- [7] 李福生, 王茂泓, 吴国庆, 等. 慢性肾脏病中医治疗“四难”与对策浅析[J]. *中华中医药杂志*, 2022, 37(3):1545-1547.
- LI F S, WANG M H, WU G Q, et al. Analysis on "four difficulties" and countermeasures in TCM treatment of chronic kidney disease [J]. *Chin J Tradit Chin Med Pharm*, 2022, 37(3):1545-1547.
- [8] METZGER M, ABDEL-RAHMAN E M, BOYKIN H, et al. A narrative review of management strategies for common symptoms in advanced CKD [J]. *Kidney Int Rep*, 2021, 6(4):894-904.
- [9] 韩帅杰. 慢肾衰脾胃证候与胃肠激素的相关性及大黄甘草汤干预的临床研究[D]. 北京:北京中医药大学, 2019:54-64.
- HAN S J. Correlation between spleen-stomach syndrome and gastrointestinal hormones in chronic renal failure and clinical study of Dahuang Gancaotang intervention [D]. Beijing: Beijing University of Chinese Medicine, 2019:54-64.
- [10] 邵云霞, 束永兵, 郑昌志, 等. 经方临床应用体会[J]. *光明中医*, 2023, 38(5):956-958.
- SHAO Y X, SHU Y B, ZHENG C Z, et al. Experience of clinical application of classic prescriptions [J]. *Guangming J Chin Med*, 2023, 38(5):956-958.
- [11] ZHUO W, WEN Y, LUO H, et al. Mechanisms of ferroptosis in chronic kidney disease [J]. *Front Mol Biosci*, 2022, 9:975582.
- [12] LI J, ZHENG S, FAN Y, et al. Emerging significance and therapeutic targets of ferroptosis: A potential avenue for human kidney diseases [J]. *Cell Death Dis*, 2023, 14(9):628.
- [13] GUO Y, LIANG N N, ZHANG X, et al. Mitochondrial GPX4 acetylation is involved in cadmium-induced renal cell ferroptosis [J]. *Redox Biol*, 2024, 73:103179.
- [14] WEI X, WANG T, XING Z, et al. Sirtuin 3 protects lung adenocarcinoma from ferroptosis by deacetylating and stabilizing mitochondrial glutamate transporter solute carrier family 25 member A22 [J]. *Antioxidants (Basel)*, 2025, 14(4):22.
- [15] LI H, WANG B, WU S, et al. Ferroptosis is involved in polymyxin B-induced acute kidney injury via activation of p53 [J]. *Chem Biol Interact*, 2023, 378:110479.
- [16] YE Z, XIA Y, LI L, et al. p53 deacetylation alleviates calcium oxalate deposition-induced renal fibrosis by inhibiting ferroptosis [J]. *Biomed Pharmacother*, 2023, 164:114925.
- [17] SU H, CANTRELL A C, CHEN J, et al. SIRT3 deficiency enhances ferroptosis and promotes cardiac fibrosis via p53 acetylation [J]. *Cells*, 2023, 12(10):13.
- [18] 魏伟, 吴希美, 李元建. 药理实验方法学[M]. 北京:人民卫生出版社, 2010:70.
- WEI W, WU X M, LI Y J. Experimental Methodology of Pharmacology [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2010:70.
- [19] JIA T, OLAUSON H, LINDBERG K, et al. A novel model of adenine-induced tubulointerstitial nephropathy in mice [J]. *BMC Nephrol*, 2013, 14:116.
- [20] CAO Y, ZHAO H, LIN S, et al. Danshen injection ameliorates unilateral ureteral obstruction-induced renal fibrosis by inhibiting ferroptosis via activating SIRT1/GPX4 pathway [J]. *Front Pharmacol*, 2024, 15:1503628.
- [21] MLEJNEK P, KIKALOVA K, JAKUBEC P, et al. Some new aspects of erastin-induced ferroptosis in cancer cells [J]. *Chem Biol Interact*, 2025, 419:111632.
- [22] FENG Q, YANG Y, REN K, et al. Broadening horizons: The multifaceted functions of ferroptosis in kidney diseases [J]. *Int J Biol Sci*, 2023, 19(12):3726-3743.
- [23] WU W, WANG X, YU X, et al. Smad3 signatures in renal inflammation and fibrosis [J]. *Int J Biol Sci*, 2022, 18(7):2795-2806.
- [24] HUANG R, FU P, MA L. Kidney fibrosis: From mechanisms to therapeutic medicines [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2023, 8(1):129.
- [25] LIU Y, LEI H, ZHANG W, et al. Pyroptosis in renal inflammation and fibrosis: Current knowledge and clinical

- significance[J]. *Cell Death Dis*, 2023, 14(7):472.
- [26] LI L, LU M, PENG Y, et al. Oxidatively stressed extracellular microenvironment drives fibroblast activation and kidney fibrosis[J]. *Redox Biol*, 2023, 67:102868.
- [27] LIU Y, KORS L, BUTTER L M, et al. NLRX1 prevents M2 macrophage polarization and excessive renal fibrosis in chronic obstructive nephropathy[J]. *Cells*, 2023, 13(1):23.
- [28] ZHANG F, HU Z, JACOB A, et al. An eCIRP inhibitor attenuates fibrosis and ferroptosis in ischemia and reperfusion induced chronic kidney disease [J]. *Mol Med*, 2025, 31(1):11.
- [29] ZHAO W, CHU F, ZHU J, et al. Diosmin attenuates UUO-induced renal ferroptosis and fibrosis by inhibiting the HIF-1 α /FABP4 signaling axis[J]. *Phytomedicine*, 2025, 141:156738.
- [30] WANG Q, XI Y, ZHAO H, et al. Ferroptosis mediates the progression of hyperuricemic nephropathy by activating RAGE signaling[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2025, 43(1-3):56-74.
- [31] DING M, HUO K, CHEN X, et al. The role of non-coding RNA in ferroptosis of liver cancer and its impact on lipid peroxidation[J]. *Front Immunol*, 2025, 16:1555518.
- [32] LONG Z, LUO Y, YU M, et al. Targeting ferroptosis: A new therapeutic opportunity for kidney diseases [J]. *Front Immunol*, 2024, 15:1435139.
- [33] WANG J, WANG Y, LIU Y, et al. Ferroptosis, a new target for treatment of renal injury and fibrosis in a 5/6 nephrectomy-induced CKD rat model [J]. *Cell Death Discov*, 2022, 8(1):10.
- [34] WANG J, LIU Y, WANG Y, et al. The cross-link between ferroptosis and kidney diseases[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2021, 2021:6654887.
- [35] SHIN D, LEE J, ROH J. Pioneering the future of cancer therapy: Deciphering the p53-ferroptosis nexus for precision medicine[J]. *Cancer Lett*, 2024, 585:216645.
- [36] NAGASAKA M, MIYAJIMA C, AOKI H, et al. Insights into regulators of p53 acetylation[J]. *Cells*, 2022, 11(23):3765.
- [37] YANG Y, ZHANG Y, YANG J, et al. Interdependent nuclear co-trafficking of ASPP1 and p53 aggravates cardiac ischemia/reperfusion injury[J]. *Circ Res*, 2023, 132(2):208-222.
- [38] HUANG M, WU Y, WEI X, et al. Trifluridine/Tipiracil induces ferroptosis by targeting p53 via the p53-SLC7A11 axis in colorectal cancer 3D organoids [J]. *Cell Death Dis*, 2025, 16(1):255.
- [39] ALHEBSHI H, TIAN K, PATNAIK L, et al. Evaluation of the role of p53 tumour suppressor posttranslational modifications and TTC5 cofactor in lung cancer[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(24):13204.
- [40] LI N, XIONG R, LI G, et al. PM_{2.5} contributed to pulmonary epithelial senescence and ferroptosis by regulating USP3-SIRT3-p53 axis [J]. *Free Radic Biol Med*, 2023, 205:291-304.
- [41] ZHOU Q, YI G, CHANG M, et al. Activation of Sirtuin3 by honokiol ameliorates alveolar epithelial cell senescence in experimental silicosis via the cGAS-STING pathway [J]. *Redox Biol*, 2024, 74:103224.
- [42] WANG J, LI J, HE Y, et al. The SIRT3 activator ganoderic acid D regulates airway mucin MUC5AC expression via the Nrf2/GPX4 pathway [J]. *Pulm Pharmacol Ther*, 2023, 83:102262.
- [43] WANG J, YUE H, DONG Y, et al. Effective compound combination of Bufe Yishen formula ameliorates PM_{2.5}-induced COPD by inhibiting mitochondrial oxidative stress through SIRT3-mediated FoxO3 deacetylation [J]. *Phytomedicine*, 2025, 140:156568.
- [44] WANG R, AN Y, XU Y, et al. Exploring anti-acute kidney injury mechanism of Dahuang-Gancao decoction by network pharmacology and experimental validation [J]. *Aging (Albany NY)*, 2023, 15(19):10072-10088.
- [责任编辑 孙丛丛]