

冬凌草甲素调控LXR α 信号通路改善肥胖相关性肾病的作用及机制研究^Δ

赵墨苑^{1,2*}, 王炎玉^{1,2}, 周本杰^{1,2}, 乡世健^{1,2}, 陈宇莲^{1,2#} (1. 中山大学附属第七医院药学部, 广东 深圳 518107; 2. 深圳市中药活性物质筛选与转化重点实验室, 广东 深圳 518107)

中图分类号 R965;R285 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2026)15-1960-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2026.15.05



摘要 **目的** 基于肝X受体 α (LXR α)信号通路,探讨冬凌草甲素(ORI)对肥胖相关性肾病(ORG)小鼠的改善作用及机制。**方法** 通过对LXR α 野生型纯合子(LXR $\alpha^{+/+}$)小鼠和LXR α 纯合敲除(LXR $\alpha^{-/-}$)小鼠进行肾脏转录组高通量测序以及京都基因与基因组百科全书通路富集分析,预测LXR α 调控的关键通路和作用靶点,并通过Western blot实验进行验证。采用高脂饮食诱导构建ORG小鼠模型。以LXR α 激动剂GW3965(30 mg/kg)为阳性对照,检测或观察连续灌胃50、100 mg/kg ORI 4周(每天1次)后小鼠体重、肾脏质量、肾组织病理形态学变化以及血清中肾功能指标、血脂指标水平和肾组织中炎症因子水平,评价ORI改善ORG的药效;同时,检测小鼠肾组织中LXR α 及其调控靶点的mRNA和蛋白表达,验证ORI改善ORG的机制。**结果** 与LXR $\alpha^{+/+}$ 小鼠相比,LXR $\alpha^{-/-}$ 小鼠肾组织中上调差异基因显著富集于花生四烯酸(AA)代谢通路,其中Cyp4a12的表达显著上调(校正 P 值 <0.05);Western blot实验证实,LXR $\alpha^{-/-}$ 小鼠肾组织中细胞色素P450家族4亚家族A成员12(CYP4A12)蛋白表达显著上调($P<0.05$)。药效实验结果显示,50、100 mg/kg ORI均可显著改善ORG小鼠肾组织病理形态学变化,降低体重、肾脏质量以及血清肌酐、尿素氮、血脂水平和肾组织中白细胞介素6(IL-6)、IL-1 β 水平($P<0.05$);同时,其可显著上调肾组织中LXR α 核蛋白、ABCA1蛋白及其mRNA表达($P<0.05$),下调CYP4A12蛋白及其mRNA表达($P<0.05$)。**结论** ORI可能通过激活LXR α 信号通路,下调CYP4A12表达,抑制AA致炎性代谢,从而发挥对ORG的改善作用。

关键词 冬凌草甲素;肥胖相关性肾病;肝X受体 α ;CYP4A12;脂毒性

Study on the effect and mechanism of oridonin improving obesity-related glomerulopathy via regulating the LXR α signaling pathway

ZHAO Moyuan^{1,2}, WANG Yanyu^{1,2}, ZHOU Benjie^{1,2}, XIANG Shijian^{1,2}, CHEN Yulian^{1,2} (1. Dept. of Pharmacy, The Seventh Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University, Guangdong Shenzhen 518107, China; 2. Shenzhen Key Laboratory for Screening and Transformation of Active Substances in Traditional Chinese Medicine, Guangdong Shenzhen 518107, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE** To explore the therapeutic efficacy and mechanism of oridonin (ORI) against obesity-related glomerulopathy (ORG) based on the liver X receptor α (LXR α) signaling pathway. **METHODS** Kidney tissues of LXR α wild-type homozygous (LXR $\alpha^{+/+}$) mice and LXR α homozygous knockout (LXR $\alpha^{-/-}$) mice were subjected to high-throughput renal transcriptome sequencing and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes pathway enrichment analysis to predict key pathways and targets regulated by LXR α , followed by verification via Western blot assay. An ORG mouse model was established by feeding a high-fat diet. The LXR α agonist GW3965 (30 mg/kg) was set as the positive control. After intragastric administration of 50 mg/kg and 100 mg/kg ORI once daily for 4 consecutive weeks, the body weight, renal weight, renal histopathological alterations, serum renal function indicators, blood lipid levels and inflammatory factor levels in renal tissue of mice were detected and observed to evaluate the efficacy of ORI in alleviating ORG. Meanwhile, the mRNA and protein expression levels of LXR α and its downstream targets in mouse renal tissues were detected to validate the mechanism by which ORI relieves ORG. **RESULTS** Compared with LXR $\alpha^{+/+}$ mice, the upregulated differentially expressed genes in renal tissues of LXR $\alpha^{-/-}$ mice were significantly enriched in the arachidonic acid (AA) metabolic pathway, and the expression level of Cyp4a12 was markedly elevated (adjusted $P<0.05$). Western blot results verified that cytochrome P450 family 4 subfamily A member 12 (CYP4A12) protein expression was significantly increased in the kidneys of LXR $\alpha^{-/-}$ mice ($P<0.05$). Pharmacodynamic results showed that both 50 mg/kg and 100 mg/kg ORI notably improved renal pathological

^Δ **基金项目** 国家自然科学基金青年科学基金项目(No.82504911);中国博士后科学基金面上项目(No.2024M763831);广东省基础与应用基础研究基金项目(No.2023A1515110767)

* **第一作者** 硕士研究生。研究方向:中药活性成分筛选与药理作用。E-mail:zhaomy53@mail2.sysu.edu.cn

通信作者 助理研究员,博士。研究方向:中药活性成分筛选与脂质代谢调控。E-mail:chenyulian6@mail.sysu.edu.cn

lesions in ORG mice; these two doses reduced body weight, renal weight, serum creatinine, blood urea nitrogen, blood lipid levels as well as renal interleukin-6 (IL-6) and IL-1 β levels ($P<0.05$). In addition, ORI significantly upregulated the mRNA and protein expression of renal nuclear LXR α and ABCA1, and downregulated the mRNA and protein expression of CYP4A12 ($P<0.05$). **CONCLUSIONS** ORI may exert an ameliorative effect on ORG by activating the LXR α signaling pathway, downregulating CYP4A12 expression, and inhibiting AA-induced inflammatory metabolism.

KEYWORDS oridonin; obesity-related glomerulopathy; liver X receptor α ; CYP4A12; lipotoxicity

肥胖相关性肾病 (obesity-related glomerulopathy, ORG) 是由能量摄入过多诱发肥胖, 继发慢性低度炎症与多重代谢紊乱, 最终导致肾小球肥大的疾病; 该病以肥胖、蛋白尿为主要临床特征^[1]。ORG 发病隐匿, 致病机制复杂, 是进展至糖尿病肾病乃至终末期肾病的关键危险因素^[2]。目前, 临床上常用他汀类药物治疗 ORG, 但此类药物会增加肌肉损伤的风险, 甚至造成横纹肌溶解^[3]。因此, 研发新的治疗 ORG 的药物具有重要意义。

冬凌草是唇形科植物碎米桠 *Rabdosia rubescens* (Hemsl.) Hara 的干燥地上部分。其有效成分冬凌草甲素 (oridonin, ORI) 具有明确的抗炎、降脂活性^[4-5]。本课题组前期研究发现, ORI 在非酒精性脂肪性肝病模型小鼠中具有明确的抗炎及降脂作用, 可显著减轻肝脏脂质堆积、抑制炎症因子表达并改善胰岛素抵抗^[6]。ORG 与非酒精性脂肪性肝病同属肥胖相关代谢性疾病的靶器官损害, 二者均以脂毒性诱导的组织炎症和纤维化为核心特征^[6-7]。因此, 笔者推测 ORI 可能对 ORG 具有改善作用, 是治疗 ORG 的潜在药物。

ORI 已被证实是肝脏 X 受体 α (liver X receptor α , LXR α) 的激动剂^[8]。LXR α 是核受体超家族中由配体激活的转录因子, 在肾脏等代谢活跃组织中高度表达, 可直接结合靶基因启动子区的肝 X 受体反应元件, 调控并增强下游靶基因的转录, 是连接脂质代谢、炎症等过程的关键枢纽^[8]。细胞色素 P450 (cytochrome P450, CYP450) 家族 4 亚家族 A 成员 12 (CYP4A12) 可催化花生四烯酸 (arachidonic acid, AA) ω -羟基化生成 20-羟基二十碳四烯酸 (20-hydroxyeicosatetraenoic acid, 20-HETE), 后者是一种强效促炎、促血管收缩的脂质介质^[9-11]。然而, LXR α 是否可调控 CYP4A12 表达进而抑制 AA 炎性代谢, 以及 ORI 是否可通过 LXR α 调控 CYP4A12 表达从而发挥对 ORG 的改善作用, 尚不明确。

本研究首先检测 LXR α 野生型纯合子 (LXR $\alpha^{+/+}$) 小鼠和 LXR α 纯合敲除 (LXR $\alpha^{-/-}$) 小鼠肾脏转录组高通量测序 (RNA sequencing, RNA-seq) 数据, 并进行京都基因与基因组百科全书 (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG) 通路富集分析, 预测 LXR α 调控的关键通路和作用靶点。在此基础上, 采用高脂饮食诱导构建 ORG 小鼠模型, 评估 ORI 对 ORG 的改善作用, 并进一步验证 ORI 通过调控 LXR α 信号通路改善 ORG 的作用机制, 以期对 ORG 治疗提供新的理论依据和实验基础。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用的主要仪器有: Mini-PROTEAN 型垂直电泳装置 (美国 Bio-Rad 公司), XPN-100 型超高速离心机、Tanon 5200 型全自动化学发光图像分析系统 (上海天能生命科学仪器有限公司), Archimed X4 型医用荧光定量聚合酶链式反应 (PCR) 仪 [鲲鹏 (徐州) 科学仪器有限公司]、KF-PRO-020 型数字病理切片扫描仪 [江丰 (宁波) 生物信息技术有限公司], EPOCH-SN 型微孔板分光光度计 [博兴 (深圳) 生物科技有限公司], CX-31 型光学显微镜 (日本 Olympus 公司), Infinite M1000 Pro 型全波长酶标仪 (瑞士 Tecan 公司) 等。

1.2 主要药品与试剂

ORI 对照品 (批号 AFCD0706, 纯度 98%) 购自成都埃法生物科技有限公司; 高脂饲料 (货号 D12492) 购自戴茨生物科技有限公司; 动物组织基因组 DNA 提取试剂盒 (货号 DE-05011) 和 RNA 提取试剂盒 (货号 RE-03014) 均购自成都福际生物技术有限公司; 甘油三酯 (triglyceride, TG)、总胆固醇 (total cholesterol, TC)、高密度脂蛋白胆固醇 (high-density lipoprotein cholesterol, HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇 (low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C)、血尿素氮 (blood urea nitrogen, BUN)、肌酐 (creatinine, Cr) 检测试剂盒 (批号分别为 258151、252101、252081、252041、20260128、20260123) 均购自中生北控生物科技股份有限公司; 白细胞介素 6 (interleukin-6, IL-6)、IL-1 β 酶联免疫吸附分析 (ELISA) 试剂盒 (货号分别为 A115353、A05612) 均购自上海抚生实业有限公司; 甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (GAPDH) 鼠单克隆抗体 (批号 ZB15004-HRP-100) 购自武汉赛维尔生物科技有限公司; LXR α 鼠单克隆抗体、ATP 结合盒亚家族 A 成员 1 (ATP binding cassette subfamily A member 1, ABCA1) 鼠单克隆抗体 (批号分别为 GR9889-64、GR3327186-1) 均购自艾博抗 (上海) 贸易有限公司; CYP4A12 鼠多克隆抗体 (货号 51157-1-AP) 购自武汉三鹰生物技术有限公司; 核纤层蛋白 B1 (Lamin B1) 兔单克隆抗体 (货号 AF5161) 购自江苏亲科生物研究中心有限公司; LXR α 激动剂 GW3965 (货号 S2630, 纯度 99.88%) 购自上海赛徕克生物科技有限公司; BCA 蛋白检测试剂盒 (批号 A423250903) 购自上海碧云天生物技术有限公司。

1.3 动物

2只4周龄SPF级LXRα杂合敲除(LXRα^{+/-})小鼠(雌性、雄性各1只),体重14~16 g,购自赛业(苏州)生物科技有限公司,货号为KOCMP-21253-Nr1h3,遗传背景为C57BL/6;30只7~8周龄SPF级C57BL/6雄性小鼠,体重(22±1)g,购自广东至远生物医药科技有限公司[动物生产许可证号:SCXK(粤)2023-0066]。小鼠均饲养于深圳华腾生物医药科技有限公司[动物使用许可证号:SYXK(粤)2023-0327];饲养环境温度为(22±1)℃,光照遵循自然昼夜节律。饲养期间小鼠自由饮水与进食。本研究动物实验已获深圳华腾生物医药科技有限公司实验动物使用与管理委员会批准,批号为B202504-13。

2 方法与结果

2.1 LXRα调控的关键通路和作用靶点预测

2.1.1 LXRα^{+/-}与LXRα^{-/-}小鼠的获取

将LXRα^{+/-}雄性与雌性小鼠进行同品系内交互繁殖,待其所产子代长至3周龄左右,按动物组织基因组DNA提取试剂盒说明书操作,提取子鼠尾尖基因组DNA,并经PCR反应进行基因型鉴定,选取LXRα^{+/-}和LXRα^{-/-}小鼠(交配3代后的小鼠)用于后续实验。

2.1.2 LXRα^{+/-}与LXRα^{-/-}小鼠的RNA-seq

分别选取7~8周龄的LXRα^{+/-}和LXRα^{-/-}小鼠各5只,处死后迅速摘取双侧肾组织,按RNA提取试剂盒说明书操作,提取肾组织中总RNA,送至因美纳(中国)科学器材有限公司进行文库构建及双端150 bp测序。比较LXRα^{+/-}和LXRα^{-/-}小鼠的RNA-seq结果,以校正P值(P_{adj})<0.05为筛选阈值,共获得275个上调差异基因和785个下调差异基因。对差异基因进行KEGG通路富集分析,结果显示,上调差异基因显著富集于本研究重点关注且与炎症表型密切相关的AA代谢通路(AA metabolism)(P_{adj} =0.005 31),详见图1(下调差异基因的KEGG通路富集图略)。利用联川生物云平台(OmicStudio, <https://www.omicstudio.cn/tool/7>)绘制火山图,并将注释AA代谢通路的全部差异基因标注出来。结果(图2)显示,LXRα^{-/-}小鼠肾组织中Cyp4a12表达显著上调。

2.1.3 LXRα敲除后小鼠肾组织中LXRα、CYP4A12蛋白表达检测

取“2.1.2”项下LXRα^{+/-}与LXRα^{-/-}小鼠肾组织各20 mg,提取组织中总蛋白,使用BCA试剂盒测定蛋白浓度并进行变性处理。取20 μg蛋白上样进行电泳后转膜,用5%脱脂牛奶封闭;将膜与一抗(LXRα的稀释度为1:3 000,CYP4A12的稀释度为1:1 000,内参GAPDH的稀释度为1:5 000)孵育过夜,然后用特异性二抗孵育。用化学发光液显影后采集图像,采用ImageJ软件分析条带灰度值,以目的蛋白与内参GAPDH条带灰度值的比值表示目的蛋白的相对表达量。用GraphPad Prism 10.1软件进行数据的统计分析;计量资料符合正态分布,以

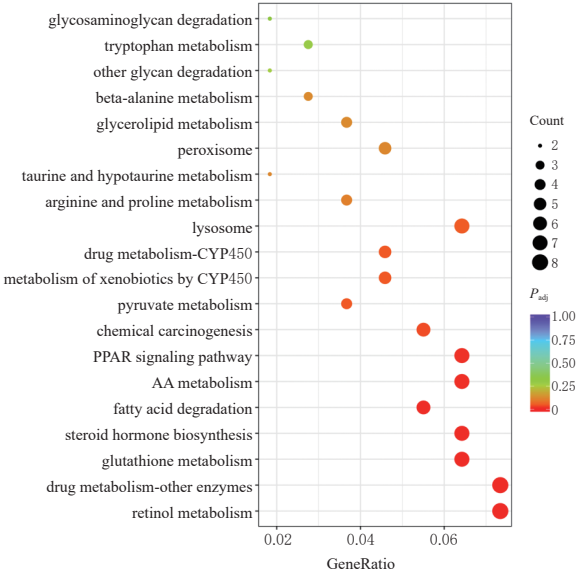


图1 LXRα敲除后小鼠肾组织中上调差异基因的KEGG通路富集结果

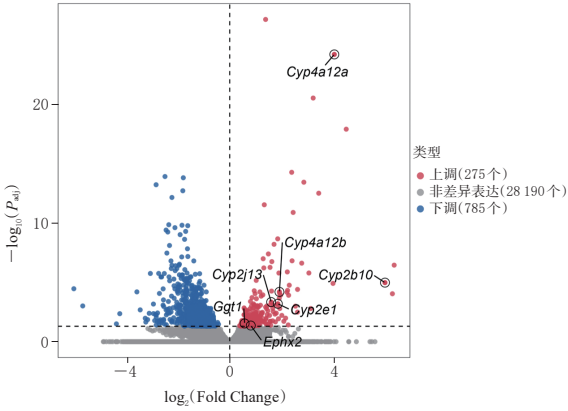


图2 LXRα敲除后小鼠肾组织中差异基因的火山图

$\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用独立样本t检验;检验水准 $\alpha=0.05$ 。

结果(图3)显示,与LXRα^{+/-}小鼠[CYP4A12蛋白的相对表达量为1.00±0.17($n=5$,下同)]比较,LXRα^{-/-}小鼠肾组织中CYP4A12蛋白(AA代谢通路中关键代谢酶)的相对表达量(1.68±0.17)显著升高($P<0.05$),且LXRα蛋白表达缺失,说明LXRα敲除后AA代谢通路被激活。结合RNA-seq与KEGG通路富集结果可知,LXRα可下调CYP4A12表达,从而抑制AA致炎性代谢。因此,本研究后续将围绕该机制开展动物层面的通路验证。

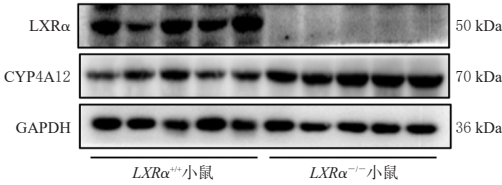


图3 LXRα^{+/-}与LXRα^{-/-}小鼠肾组织中LXRα、CYP4A12蛋白表达的电泳图

2.2 ORI对ORG小鼠的药效作用研究

2.2.1 分组、造模与给药

将30只C57BL/6J小鼠随机分为对照组、模型组、ORI低剂量组(50 mg/kg)、ORI高剂量组(100 mg/kg)、GW3965组(LXR α 激动剂,30 mg/kg),每组6只。实验期间,对照组小鼠用普通饲料喂养,其余4组小鼠用高脂饲料喂养。从实验第9周起,各给药组小鼠每天灌胃相应药物1次(剂量根据本课题组前期研究设定^[6]),连续4周;对照组和模型组小鼠同法灌胃等体积0.5%羧甲基纤维素钠溶液。

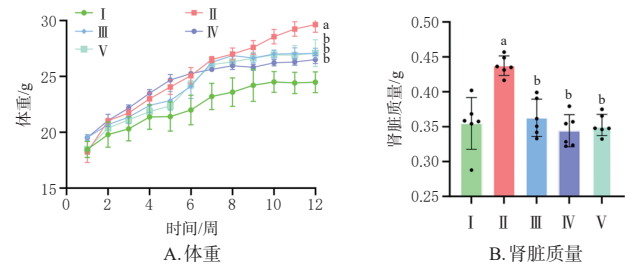
2.2.2 体重测定及取材

实验期间每周称量小鼠体重。末次给药后,小鼠禁食不禁水过夜。次日称量体重后,用戊巴比妥钠将小鼠麻醉并摘眼球取血。血液于室温静置1 h后,在4℃下以3 000 r/min离心15 min,取上清液,置于-80℃冰箱中保存,备用。取血后,采用颈椎脱臼法处死小鼠,立刻取肾组织并称重。将部分肾组织用4%多聚甲醛固定24 h,剩余肾组织于-80℃冰箱中保存备用。采用GraphPad Prism 10.1软件进行数据的统计分析;计量资料符合正态分布,以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用LSD-*t*检验;检验水准 $\alpha = 0.05$ (后文统计学方法同)。

结果(图4)显示,实验第12周,与对照组比较,模型组小鼠体重、肾脏质量均显著升高($P < 0.05$);与模型组比较,ORI低、高剂量组和GW3965组小鼠体重、肾脏质量均显著降低($P < 0.05$)。

2.2.3 小鼠肾组织病理形态学观察

取“2.2.2”项下经4%多聚甲醛固定的肾组织,常规制备石蜡切片后,分别进行HE、Masson及油红O染色,



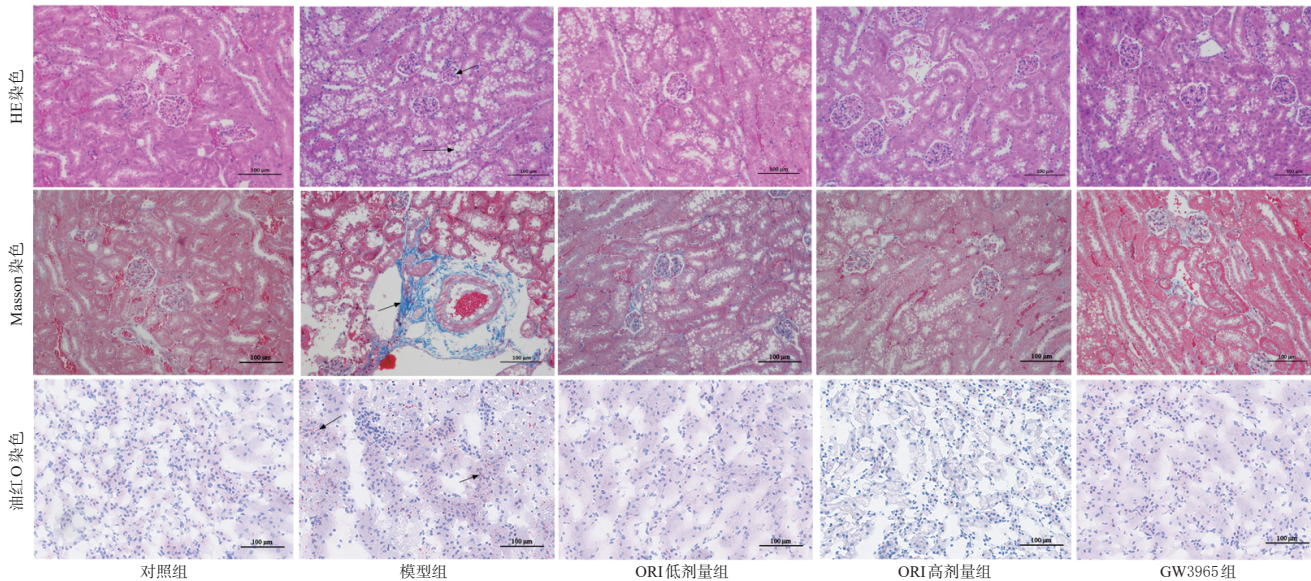
I : 对照组; II : 模型组; III : ORI低剂量组; IV : ORI高剂量组; V : GW3965组; a: 与对照组比较, $P < 0.05$; b: 与模型组比较, $P < 0.05$ 。

图4 各组小鼠体重和肾脏质量比较($\bar{x} \pm s, n = 6$)

采用光学显微镜观察小鼠肾组织病理形态学变化,结果见图5。HE染色结果显示,模型组小鼠肾小管上皮细胞出现广泛空泡化;与模型组比较,ORI低、高剂量组和GW3965组小鼠肾小管上皮细胞空泡化程度均明显减轻。Masson染色结果显示,模型组小鼠肾间质胶原沉积增多,纤维化面积增大;与模型组比较,ORI低、高剂量组和GW3965组小鼠肾间质胶原沉积均显著减少。油红O染色结果显示,模型组小鼠肾内脂滴堆积明显;与模型组比较,ORI低、高剂量组和GW3965组小鼠脂滴堆积均明显减少。

2.2.4 小鼠血清中肾功能指标和血脂指标测定

取“2.2.2”项下小鼠血清,按照相应试剂盒说明书操作,采用酶标仪检测小鼠血清中肾功能指标(BUN、Cr)和血脂指标(TG、TC、HDL-C、LDL-C)水平。结果(表1)显示,与对照组比较,模型组小鼠血清中BUN、Cr、TG、TC、LDL-C水平均显著升高($P < 0.05$),HDL-C水平显著降低($P < 0.05$);与模型组比较,ORI低、高剂量组和GW3965组小鼠血清中上述指标水平均显著逆转($P < 0.05$)。



注:HE染色图中黑色箭头所指为炎症细胞浸润及肾小管上皮细胞空泡化;Masson染色图中黑色箭头所指为肾间质胶原沉积;油红O染色图中黑色箭头所指为脂滴堆积。

图5 各组小鼠肾组织病理形态学观察结果(比例尺:100 μm)

表1 各组小鼠血清中肾功能指标和血脂指标水平比较($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	BUN/ (mmol/L)	Cr/ (μ mol/L)	TG/ (mmol/L)	TC/ (mmol/L)	LDL-C/ (mmol/L)	HDL-C/ (mmol/L)
对照组	8.10 $\pm$ 0.68	15.03 $\pm$ 4.68	0.54 $\pm$ 0.02	3.39 $\pm$ 0.26	0.84 $\pm$ 0.22	4.49 $\pm$ 0.13
模型组	10.05 $\pm$ 0.58 ^a	49.50 $\pm$ 7.14 ^a	1.43 $\pm$ 0.29 ^a	11.47 $\pm$ 1.18 ^a	3.55 $\pm$ 0.61 ^a	3.24 $\pm$ 0.66 ^a
ORI低剂量组	8.06 $\pm$ 0.53 ^b	34.13 $\pm$ 10.47 ^b	1.00 $\pm$ 0.17 ^b	6.38 $\pm$ 0.42 ^b	2.59 $\pm$ 0.45 ^b	5.84 $\pm$ 0.74 ^b
ORI高剂量组	7.34 $\pm$ 0.94 ^b	21.02 $\pm$ 8.62 ^b	0.95 $\pm$ 0.23 ^b	5.65 $\pm$ 1.62 ^b	2.48 $\pm$ 0.52 ^b	5.91 $\pm$ 0.92 ^b
GW3965组	8.65 $\pm$ 0.34 ^b	23.84 $\pm$ 9.99 ^b	1.06 $\pm$ 0.18 ^b	8.08 $\pm$ 0.76 ^b	1.96 $\pm$ 0.75 ^b	6.47 $\pm$ 0.68 ^b

a: 与对照组比较, $P<0.05$; b: 与模型组比较, $P<0.05$ 。

2.2.5 小鼠肾组织中炎症因子水平检测

取“2.2.2”项下冻存的肾组织适量,制备组织匀浆,然后以7 400 r/min离心10 min,取上清液。参照相应ELISA试剂盒说明书方法操作,采用酶标仪检测小鼠肾组织中IL-6、IL-1 β 水平。结果(表2)显示,与对照组比较,模型组小鼠肾组织中IL-6、IL-1 β 水平均显著升高($P<0.05$);与模型组比较,ORI低、高剂量组和GW3965组小鼠肾组织中IL-6、IL-1 β 水平均显著降低($P<0.05$)。

表2 各组小鼠肾组织中IL-6、IL-1 β 水平比较($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	IL-6/(pg/g)	IL-1 β /(ng/g)
对照组	320.66 $\pm$ 159.50	845.74 $\pm$ 286.18
模型组	968.92 $\pm$ 175.50 ^a	2365.56 $\pm$ 462.77 ^a
ORI低剂量组	729.57 $\pm$ 159.91 ^b	1498.72 $\pm$ 433.18 ^b
ORI高剂量组	416.04 $\pm$ 122.06 ^b	1214.05 $\pm$ 458.97 ^b
GW3965组	695.30 $\pm$ 119.47 ^b	699.29 $\pm$ 385.70 ^b

a: 与对照组比较, $P<0.05$; b: 与模型组比较, $P<0.05$ 。

2.3 ORI通过LXR α 调控CYP4A12改善ORG的机制研究

2.3.1 小鼠肾组织中Abca1、Cyp4a12 mRNA表达检测

采用实时荧光定量PCR法检测。取“2.2.2”项下冻存的小鼠肾组织(每组取5只小鼠样本),采用TRIzol试剂提取组织中总RNA,检测其纯度和浓度后,将RNA逆转录合成cDNA,并以cDNA为模板进行PCR扩增。反应体系(共15 μ L)为:2 $\times$ SYBR Green Mix 7.5 μ L,上、下游引物各0.75 μ L,DNA模板1.5 μ L,ddH₂O 4.5 μ L。以Gapdh为内参,采用2^{- $\Delta\Delta$ CT}法计算各目的基因mRNA的相对表达量。引物由北京擎科生物科技股份有限公司设计并合成,引物序列及扩增产物长度见表3。

表3 引物序列及扩增产物长度

目的基因	引物序列(5'-3')	扩增产物长度/bp
Gapdh	上游:AGGTCGGTGTGAACGGATTG	146
	下游:TGTAGACCATGTAGTTGAGGTCA	
Abca1	上游:GCTTGTGGCCTCAGTTAAGG	135
	下游:GTAGCTCAGGCGTACAGAGAT	
Cyp4a12	上游:CCTCTAATGGCTGCAAGGCTA	353
	下游:CCAGGTGATAGAAGTCCCATCT	

结果(表4)显示,与对照组比较,模型组小鼠肾组织中Abca1 mRNA表达显著下调($P<0.05$),Cyp4a12 mRNA表达显著上调($P<0.05$);与模型组比较,ORI低、高剂量组和GW3965组小鼠肾组织中Abca1 mRNA表

达均显著上调($P<0.05$),Cyp4a12 mRNA表达均显著下调($P<0.05$)。

表4 各组小鼠肾组织中Abca1、Cyp4a12 mRNA表达水平比较($\bar{x} \pm s, n=5$)

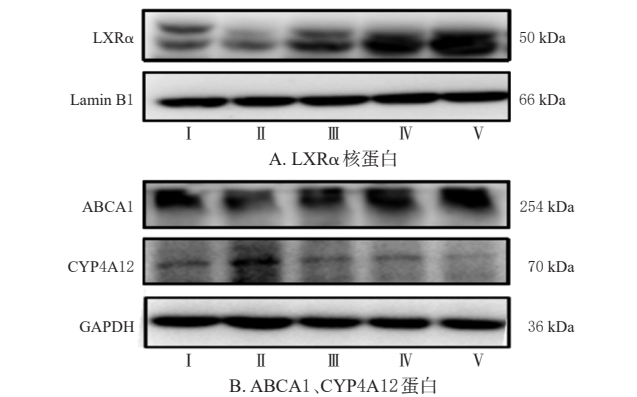
组别	Abca1 mRNA	Cyp4a12 mRNA
对照组	1.00 $\pm$ 0.19	1.00 $\pm$ 0.26
模型组	0.43 $\pm$ 0.15 ^a	9.05 $\pm$ 4.36 ^a
ORI低剂量组	0.69 $\pm$ 0.13 ^b	4.41 $\pm$ 0.98 ^b
ORI高剂量组	0.91 $\pm$ 0.35 ^b	3.98 $\pm$ 1.31 ^b
GW3965组	1.01 $\pm$ 0.56 ^b	3.48 $\pm$ 1.15 ^b

a: 与对照组比较, $P<0.05$; b: 与模型组比较, $P<0.05$ 。

2.3.2 小鼠肾组织中LXR α 核蛋白和ABCA1、CYP4A12蛋白表达检测

取“2.2.2”项下冻存的小鼠肾组织20 mg(每组取3只小鼠样本),提取组织中总蛋白,采用Western blot法检测肾组织中LXR α 核蛋白和ABCA1、CYP4A12蛋白表达。其中LXR α 核蛋白检测内参为Lamin B1(稀释比例为1:1 000),ABCA1(稀释比例为1:1 000)、CYP4A12蛋白检测内参为GAPDH,其余条件同“2.1.3”项。

结果(图6、表5)显示,与对照组比较,模型组小鼠肾组织中LXR α 核蛋白、ABCA1蛋白表达均显著下调($P<0.05$),CYP4A12蛋白表达显著上调($P<0.05$);与模型组比较,ORI低、高剂量组和GW3965组小鼠肾组织中LXR α 核蛋白、ABCA1蛋白表达均显著上调($P<0.05$),CYP4A12蛋白表达均显著下调($P<0.05$)。



I: 对照组; II: 模型组; III: ORI低剂量组; IV: ORI高剂量组; V: GW3965组。

图6 各组小鼠肾组织中LXR α 核蛋白及ABCA1、CYP4A12蛋白表达的电泳图

表5 各组小鼠肾组织中LXR α 核蛋白及ABCA1、CYP4A12蛋白表达水平比较($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	LXR α /Lamin B1	ABCA1/GAPDH	CYP4A12/GAPDH
对照组	1.00 $\pm$ 0.06	1.00 $\pm$ 0.12	1.00 $\pm$ 0.13
模型组	0.77 $\pm$ 0.09 ^a	0.56 $\pm$ 0.11 ^a	2.37 $\pm$ 0.28 ^a
ORI低剂量组	1.54 $\pm$ 0.17 ^b	0.79 $\pm$ 0.06 ^b	0.95 $\pm$ 0.06 ^b
ORI高剂量组	2.02 $\pm$ 0.15 ^b	1.17 $\pm$ 0.13 ^b	0.76 $\pm$ 0.09 ^b
GW3965组	2.57 $\pm$ 0.42 ^b	1.46 $\pm$ 0.21 ^b	0.64 $\pm$ 0.06 ^b

a: 与对照组比较, $P<0.05$; b: 与模型组比较, $P<0.05$ 。

3 讨论

ORG是一种长期肥胖直接导致的肾脏损害,早期表现为肾小球高滤过和蛋白尿,后期表现为肾小球肥大、局灶节段性肾小球硬化及间质纤维化,严重者甚至发生肾纤维化;10%~30%的ORG可进展为慢性肾功能不全甚至终末期肾病^[1]。

中医认为,ORG的核心病机为脂浊堆积,气血津液运行不畅,加之血瘀痰阻,血行失度,从而发为本病;该病在不同阶段可兼夹湿热、热毒等标实之证^[7]。冬凌草味苦、甘,性微寒,具有清热解毒、活血祛瘀的功效^[12],恰能针对ORG进展期出现的“热毒瘀结”之标。本研究结果显示,冬凌草的活性成分ORI能有效降低ORG小鼠的体重及肾脏质量,改善血清肾功能指标及血脂代谢紊乱,减轻肾组织中脂滴沉积、细胞空泡化及间质纤维化等病理形态学改变,并显著抑制肾组织中炎症因子IL-6、IL-1 β 的表达,提示ORI对ORG小鼠具有较好的改善作用。

核受体超家族中配体激活的转录因子有两个亚型,分别是LXR α 和LXR β ;其中,LXR α 在代谢活跃组织(包括肝脏、肠道、肾脏等)中高度表达,而LXR β 则在全身普遍表达^[8]。LXR α 虽是连接炎症等的关键枢纽,但其对与炎症表型密切相关的AA代谢通路的调控作用及作用靶点尚不清楚。因此,本研究通过肾脏RNA-seq并结合KEGG通路富集分析,预测LXR α 调控的关键通路和作用靶点。结果发现,上调差异基因显著富集于与炎症表型密切相关的AA代谢通路,并且LXR $\alpha^{-/-}$ 小鼠肾组织中Cyp4a12表达显著上调。进一步的Western blot结果显示,LXR $\alpha^{-/-}$ 小鼠肾组织中CYP4A12蛋白表达亦显著上调。以上结果表明,LXR α 可通过下调CYP4A12表达,抑制AA致炎性代谢。

LXR α 属于转录因子,本身无翻译活性。当LXR α 活化并入核后,会启动下游靶基因Abca1的转录;LXR α 核蛋白的表达水平反映了LXR α 的核定位能力与稳定性,而ABCA1蛋白的表达水平则反映了LXR α 的转录激活能力,二者共同反映LXR α 的转录活性^[13]。CYP4A12可通过催化AA发生 ω -羟基化生成20-HETE。CYP4A12表达上调会造成20-HETE蓄积,这不仅会加重急性肾损伤的炎症细胞浸润^[11],还可诱导巨噬细胞转化为肌成纤维细胞,进而推动肾间质纤维化进展^[14]。因此,调控CYP4A12表达是治疗肾脏疾病的重要手段。本研究发现,ORI可显著逆转ORG小鼠肾组织中LXR α 核蛋白、ABCA1蛋白及其mRNA表达的下调,并可逆转CYP4A12蛋白及其mRNA表达的上调,与LXR α 激动剂GW3965的作用趋势一致。这提示ORI改善ORG的作用可能与激活LXR α 信号通路,下调CYP4A12表达,进而抑制AA致炎性代谢有关。

综上所述,ORI可能通过激活LXR α 信号通路,下调CYP4A12表达,抑制AA致炎性代谢,从而发挥对ORG的改善作用。然而,本研究尚存在一定局限,如未对AA代谢通路的终末产物进行定量分析,未明确LXR α 与

CYP4A12直接的分子结合位点等。后续需通过液相色谱-串联质谱技术进行非靶向代谢组学检测,以及联合双荧光素酶报告基因实验和染色质免疫沉淀技术精确定位LXR α 在CYP4A12启动子区的结合基序。

参考文献

- [1] Haruhara K, Okabayashi Y, Sasaki T, et al. Podocyte density as a predictor of long-term kidney outcome in obesity-related glomerulopathy[J]. *Kidney Int*, 2024, 106(3): 496-507.
- [2] Hall J E, do Carmo J M, da Silva A A, et al. Obesity, kidney dysfunction and hypertension: mechanistic links[J]. *Nat Rev Nephrol*, 2019, 15(6): 367-385.
- [3] 何瑞,徐志猛,王来,等. 他汀相关肌肉症状的研究进展[J]. *药学进展*, 2020, 44(4): 303-312.
- [4] He H B, Jiang H, Chen Y, et al. Oridonin is a covalent NLRP3 inhibitor with strong anti-inflammasome activity[J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 2550.
- [5] Li X, Zhang C T, Ma W, et al. Oridonin: a review of its pharmacology, pharmacokinetics and toxicity[J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 645824.
- [6] Chen Y L, Jiang H G, Zhan Z K, et al. Oridonin restores hepatic lipid homeostasis in an LXR α -ATGL/EPT1 axis-dependent manner[J]. *J Pharm Anal*, 2023, 13(11): 1281-1295.
- [7] 王子贤,郭畅,饶向荣. 饶向荣辨治肥胖相关性肾病经验[J]. *中国中医药信息杂志*, 2025, 32(3): 157-160.
- [8] Clark A T, Russo-Savage L, Ashton L A, et al. A mutation in LXR α uncovers a role for cholesterol sensing in limiting metabolic dysfunction-associated steatohepatitis[J]. *Nat Commun*, 2025, 16: 1102.
- [9] Rocic P, Schwartzman M L. 20-HETE in the regulation of vascular and cardiac function[J]. *Pharmacol Ther*, 2018, 192: 74-87.
- [10] Hoff U, Lukitsch I, Chaykovska L, et al. Inhibition of 20-HETE synthesis and action protects the kidney from ischemia/reperfusion injury[J]. *Kidney Int*, 2011, 79(1): 57-65.
- [11] Hoyer-Allo K J R, Späth M R, Brodesser S, et al. Caloric restriction reduces the pro-inflammatory eicosanoid 20-hydroxyeicosatetraenoic acid to protect from acute kidney injury[J]. *Kidney Int*, 2022, 102(3): 560-576.
- [12] 谢涛,杨正强,徐文武,等. 冬凌草化学成分、药理作用及临床应用研究进展[J]. *中草药*, 2022, 53(1): 317-325.
- [13] Xu Y, Lai F, Xu Y, et al. Mycophenolic acid induces ATP-binding cassette transporter A1 (ABCA1) expression through the PPAR γ -LXR α -ABCA1 pathway[J]. *Biochemical and biophysical research communications*, 2011, 414(4): 779-782.
- [14] Zhong F B, Huang X Y, Sun H R, et al. Maternal obesity induces macrophage to myofibroblast transition in kidneys of male offspring through a pathway driven by 20-hydroxyeicosatetraenoic acid[J]. *Nat Commun*, 2026, 17: 6183.

(收稿日期:2026-05-22 修回日期:2026-07-20)

(本文责编:林 静)