

# 基于NLRP3炎症小体及TLR4/NF-κB信号通路探讨黑果枸杞花青素对痛风性关节炎的作用及机制<sup>\*</sup>

唐超群<sup>1</sup>, 姜红江<sup>1,2</sup>

(1.安徽中医药大学第一临床医学院,安徽 合肥 230031;

2.山东省文登整骨医院,山东 威海 264200)

**[摘要]** 目的:探讨黑果枸杞花青素(AEL)对痛风性关节炎(GA)大鼠炎症水平的影响及其可能的作用机制。方法:选取60只SPF级雄性SD大鼠作为研究对象,随机分为6组( $n=10$ ):空白组、模型组、秋水仙碱组(0.3 mg/kg)、AEL低剂量组(59.5 mg/kg)、AEL中剂量组(119 mg/kg)及AEL高剂量组(238 mg/kg)。空白组和模型组使用生理盐水3 mL灌胃,其他各组均采用相应的药液3 mL灌胃,连续灌胃14 d后,除空白组关节腔注射生理盐水外,其余各组均采用尿酸钠(MSU)诱导建立急性痛风性关节炎模型。于造模成功后6、12、24、48 h采用游标卡尺测量踝部周径变化。测定结束后经腹主动脉采血检测尿酸(UA)水平,酶联免疫吸附试验(ELISA)测定IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$ 水平;取大鼠踝关节苏木精-伊红(HE)染色观察滑膜组织病理改变;Western blotting检测滑膜NLRP3、ASC、Caspase-1、TLR4和NF-κB蛋白表达。结果:与模型组比较,AEL高剂量组大鼠在12、24、48 h踝部周径值显著降低( $P<0.05$ );与模型组比较,AEL高剂量组大鼠UA水平降低( $P<0.05$ );与空白组比较,模型组大鼠光镜下滑膜组织细胞呈现典型炎性改变,包括滑膜增生及大量中性粒细胞浸润;AEL干预组随剂量增加,炎症细胞数减少。与模型组比较,AEL高剂量组大鼠血清IL-6、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 水平均降低( $P<0.05$ )。与模型组比较,AEL高剂量组大鼠滑膜组织中NLRP3、Caspase-1、ASC和TLR4、NF-κB蛋白表达均降低( $P<0.05$ )。结论:AEL可降低痛风性关节炎大鼠炎症因子水平,其机制可能与调控NLRP3、TLR4/NF-κB信号通路有关。

**[关键词]** 痛风性关节炎;黑果枸杞花青素;炎症反应;NLRP3炎症小体;大鼠

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]**

DOI:10.13862/j.cn43-1446/r.20251127.001

## Effects and Mechanism of Anthocyanin Extract from *Lycium ruthenicum* on Gouty Arthritis via the NLRP3 Inflammasome and TLR4/NF-κB Signaling Pathway

TANG Chaoqun<sup>1</sup>, JIANG Hongjiang<sup>1,2</sup>

(1.The First Clinical Medical College, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei Anhui 230031, China;

2.Shandong Wendeng Orthopaedic Hospital, Weihai Shandong 264200, China)

**[Abstract]** To investigate the effect of anthocyanin extract from *Lycium ruthenicum* (AEL) on inflammation levels in rats with gouty arthritis (GA) and its potential mechanism of action. Methods: Sixty SPF-grade male Sprague-Dawley rats were randomly divided into six groups ( $n=10$  per group): blank control group, model group, colchicine group (0.3 mg/kg), AEL low-dose group (59.5 mg/kg), AEL medium-dose group (119 mg/kg), and AEL high-dose group (238 mg/kg). The blank control and model groups were administered 3 mL of normal saline by gavage, while the other groups received 3 mL of their respective drug solutions by gavage for 14 consecutive days. After this period, except for the blank control group which received an intra-articular injection of normal saline, an acute gouty arthritis model was induced in all other groups using monosodium urate (MSU) crystals.

\*基金项目:国家中医药管理局共建项目(GZY-KJS-SD-2023-029)

通信作者:姜红江,男,主任医师,研究方向为骨关节疾病

Ankle circumference was measured using a vernier caliper at 6, 12, 24, and 48 hours after successful model establishment. Blood was collected from the abdominal aorta to measure uric acid (UA) levels, and serum levels of IL-1 $\beta$ , IL-6, and TNF- $\alpha$  were determined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Hematoxylin-eosin (HE) staining was performed on rat ankle joints to observe pathological changes in the synovial tissue. The protein expression levels of NLRP3, ASC, Caspase-1, TLR4, and NF- $\kappa$ B in the synovium were detected by Western blotting. Results: Compared with the model group, the ankle circumference values in the AEL high-dose group were significantly reduced at 12, 24, and 48 hours ( $P<0.05$ ). The AEL high-dose group also showed reduced UA levels compared to the model group ( $P<0.05$ ). Compared with the blank control group, synovial tissue cells in the model group exhibited typical inflammatory changes under light microscopy, including synovial hyperplasia and extensive neutrophil infiltration. In the AEL intervention groups, the number of inflammatory cells decreased with increasing dosage. Serum levels of IL-6, IL-1 $\beta$ , and TNF- $\alpha$  in the AEL high-dose group were lower than those in the model group ( $P<0.05$ ). The protein expression levels of NLRP3, Caspase-1, ASC, TLR4, and NF- $\kappa$ B in the synovial tissue of the AEL high-dose group were lower than those in the model group ( $P<0.05$ ). Conclusion: AEL can reduce the levels of inflammatory factors in rats with gouty arthritis, and its mechanism may be related to the regulation of the NLRP3 inflammasome and the TLR4/NF- $\kappa$ B signaling pathway.

[Keywords] gouty arthritis; *Lycium ruthenicum* anthocyanins; inflammatory response; NLRP3 inflammasome; rats

痛风作为代谢性关节疾病,其病理特征主要为单钠尿酸盐结晶在关节及周围组织的异常沉积<sup>[1]</sup>。该病多累及下肢承重关节,临床表现为突发性剧烈疼痛,通常在6 h内症状达到峰值,伴随显著的红肿热痛等炎症体征,严重影响患者日常活动能力<sup>[2]</sup>。痛风性关节炎(gouty arthritis, GA)作为痛风最常见的临床表现形式,不仅带来剧烈疼痛,还可导致关节结构破坏、功能障碍,甚至致畸。因此,探究能有效缓解GA患者关节症状及预防结构损伤的干预策略具有重要临床价值。

类黄酮是一种含量极高的多酚植物化学物质,存在于许多植物性食物中<sup>[3]</sup>。花青素、黄烷-3-醇、黄烷酮、黄酮醇和异黄酮是类黄酮的主要亚类。由于黄酮类化合物具有抗氧化、抗炎、免疫调节、抗癌和抗增生等特性,因此被认为与各种慢性疾病呈负相关关系<sup>[4]</sup>。目前已有研究发现,一些黄酮类化合物可通过增加尿酸排泄、减少尿酸重吸收、炎症和黄嘌呤氧化酶活性来缓解高尿酸血症<sup>[5-6]</sup>。黑果枸杞是茄科枸杞属多棘刺落叶灌木,其果实富含花青素、多糖等活性成分,是目前发现的花青素含量最高的植物<sup>[7]</sup>。目前,已有研究证明黑果枸杞花青素(anthocyanin extract of *Lycium ruthenicum*, AEL)可以缓解痛风性关节炎的症状<sup>[8]</sup>。此外,有研究表明花青素和黄酮均对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)炎症小体有显著的抑制作用<sup>[9]</sup>。而氧化应激平衡失调介导的NLRP3炎症小体激活可能在单钠尿酸盐(monosodium urate, MSU)诱导的GA中发挥关键作用<sup>[10]</sup>。大量研究发现,MSU致病晶体可促进Toll样受体4(toll-like receptor 4, TLR4)和核因子- $\kappa$ B(Nuclear Factor kappa B, NF- $\kappa$ B)依赖性转录半胱天冬酶-1(cysteine-aspartic acid specific protease 1, Caspase-1)和白介素-1(interleukin-1, IL-1)等NLRP3炎症小体成分,继而组装和激活NLRP3炎症小体,并产生生物活性细胞因子和炎症

介质<sup>[11]</sup>。同时,研究表明,含胱天蛋白酶募集结构域的凋亡相关斑点样蛋白(apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD, ASC)介导NLRP3信号传导,在NLRP3炎症小体的组装和Caspase-1的募集中起重要作用<sup>[12]</sup>。因此,在前期研究的基础上,本文从NLRP3炎症小体及TLR4/NF- $\kappa$ B信号通路入手,进一步探究AEL预防和治疗GA的作用,为今后的临床用药及抗痛风药物开发提供一定的理论依据和实验基础。

## 1 材料与方法

1.1 实验动物 60只SPF级雄性SD大鼠,8周龄,体质量270~320 g,购于济南朋悦实验动物繁育公司,动物生产许可证号:SCXK(鲁)20220006,动物质量合格证号:370726240100581782。饲养于山东省文登整骨医院国家三级实验室(国家中医药管理局认证),饲养环境严格控制在温度(17±2)℃、湿度45%~60%,所有动物均自由摄取无菌水及标准SPF级饲料,预适应期7 d。本实验方案经山东省文登整骨医院伦理委员会审核批准,批准编号:LL202400103。

1.2 药物及试剂 AEL(山东圣嘉德生物科技有限公司,批号:20230806);秋水仙碱片(广东彼迪药业有限公司,批号:20230501);MSU(上海碧云天生物技术有限公司,批号:Y026302);尿酸(uric acid, UA)检测试剂盒[生工生物工程(上海)股份有限公司,批号:D799286];TNF- $\alpha$ (批号:D731168)、IL-6(批号:D731010)、IL-1 $\beta$ (批号:D731006)酶联免疫吸附试验(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)试剂盒均购自生工生物工程(上海)股份有限公司;HRP标记山羊抗兔IgG[生工生物工程(上海)股份有限公司,批号:D110085];TLR4(批号:AF8187)、NF- $\kappa$ B p65(批号:AF5243)、Caspase-1(批号:AF1681)、NLRP3(批号:AF2155)、ASC(批号:AF6234)均购自上海碧云天生物技术有限公司。

1.3 主要仪器 超纯水仪(赛默飞世尔科技公司,型号:Smart2

Pure);压力蒸汽灭菌器(山东博科生物产业有限公司,型号: BKQ-B75II);生物安全柜(济南鑫贝西生物技术有限公司,型号: BSC-1100HA2-X);小型垂直电泳仪(美国伯乐生命医学产品有限公司,型号: Mini-ProteanTetraCell);EPS300型电泳仪、VE-180型电泳槽、VE-186型转膜仪均购自上海天能科技有限公司;激光共聚焦显微镜(德国徕卡,型号:TCS SP8);生物显微镜(德国徕卡公司,型号: DM2000);4℃冰箱(海尔集团,型号: HYC940);超低温冰箱(海尔集团,型号: DW-86L338J);冷冻包埋系统(ZONWAY,型号: PBM-C型);病理组织漂烘仪[普瑞斯星(常州)医疗器械有限公司,型号: ZMN-6802]。

**1.4 造模、分组及给药** 大鼠适应性饲养7 d后,按随机数字表法分为6组( $n=10$ ):空白组、模型组、秋水仙碱组(0.3 mg/kg)、AEL高剂量组(238 mg/kg)、AEL中剂量组(119 mg/kg)及AEL低剂量组(59.5 mg/kg)。各组每日灌胃处理:空白组与模型组给予3 mL生理盐水;阳性对照组给予0.3 mg/kg秋水仙碱溶液;AEL各剂量组分别按体质量给予相应浓度提取物。连续14 d药物预处理后,除空白组外,其余50只实验动物参照文献[13]建立MSU晶体诱导型GA模型:采用踝关节背侧胫骨肌腱内侧入路,单次注射5%MSU悬浊液。空白组大鼠注射等量无菌生理盐水。

**1.5 标本采集** 在实验初始阶段对各组实验动物进行基线踝关节周径测量。成功建立GA模型后,按6、12 h、24 h、48 h时间梯度重复测定关节周径变化。终期处理时,采用苯巴比妥钠实施麻醉后,经腹主动脉采集5~6 mL全血样本,经4℃低温静置后以3 000 r/min离心处理10 min(离心半径16 cm)获取血清样本进行后续检测。同时无菌摘取踝关节滑膜组织,液氮速冻后保存于-80℃超低温环境,后续分别进行组织切片病理学观察及蛋白质印迹法(Western blotting)分析。

## 1.6 观察指标

**1.6.1 关节肿胀度** 采用标准测量程序,由固定操作者使用校准皮尺于造模前及造模后各时间点,对大鼠右侧踝关节进行三维测量。每次连续测量3次取均值,以此量化关节周径变化值。

**1.6.2 血清尿酸定量** 上述大鼠血清采用尿酸氧化酶法检测尿酸水平。

**1.6.3 大鼠滑膜组织形态学观察** 采用苏木素-伊红(hematoxylin-eosin staining, HE)染色法观察滑膜组织病理变化,依次采用70%、80%、95%、无水乙醇进行组织脱水,4%多聚甲醛溶液固定滑膜组织、石蜡包埋切片(4 μm),HE复染,在光学显微镜下观察大鼠滑膜组织病理变化。

**1.6.4 ELISA检测各组血清IL-1β、IL-6、TNF-α水平** 添加辣根过氧化物酶100 μL标记抗原,37℃恒温箱孵育120 min后,加入100 μL生物素标记二抗工作液,室温反应60 min后,避光条件下加入HRP-Streptavidin复合物100 μL,25℃孵育20 min。显色阶段加入TMB底物溶液100 μL,避光反应20 min后终止显色。使用酶标仪测定各孔450 nm波长处吸光度值,通过标准曲线计算目标因子浓度。

**1.6.5 Western blotting 法检测 NLRP3、ASC、Caspase -1 和 TLR4、NF-κB 蛋白表达** 每组取踝关节滑膜组织置于预冷离

心管,按RIPA:PMSF=100:1比例加入裂解液,低温匀浆后4℃、10 000 r/min离心10 min(离心半径8.6 cm),收集上清液备用。十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶分离等量蛋白,恒流转膜后,加入封闭液缓慢摇动,室温封闭2 h;添加抗体NLRP3、ASC、Caspase-1、TLR4、NF-κB和磷酸甘油醛脱氧酶(1:1 000)PBST洗涤3次,10 min/次,一抗、二抗孵育过夜,ECL发光试剂盒显影后置于凝胶成像仪中,以β-actin作为内参蛋白,通过专业图像分析软件定量检测目标条带灰度值。

**1.7 统计学方法** 使用GraphPad Prism 9.5软件分析数据,符合正态分布且方差齐采用单因素方差分析,不满足正态分布时采用Kruskal-Wallis检验,并进行组间多重比较。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

## 2 结 果

**2.1 实验动物基本情况** 实验周期内,空白组大鼠维持良好生理状态,具体表现为皮毛润泽、神经反射灵敏、运动协调性正常、摄食量稳定及排泄物性状无异常。各造模组大鼠造模前生理指标与空白组无差异。干预后出现典型病理表征:毛发干枯褪色、应激反应减弱、自主活动频率降低、进食量减少及稀便频发。症状改善时效性排序显示,秋水仙碱组恢复速率最优,AEL高剂量组次之,AEL中剂量第三,AEL低剂量组恢复效能最低。

**2.2 各组大鼠踝关节肿胀度** 与空白组比较,模型组、AEL低剂量组大鼠6 h、12 h、24 h、48 h踝关节肿胀度均升高( $P<0.05$ ),造模后踝关节肿胀图见图1。AEL中剂量组48 h肿胀度与空白组比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ ),其余时段差异有统计学意义( $P<0.05$ )。与模型组比较,秋水仙碱组与AEL高剂量组12、24、48 h的关节肿胀度明显降低( $P<0.05$ ).(见图2)

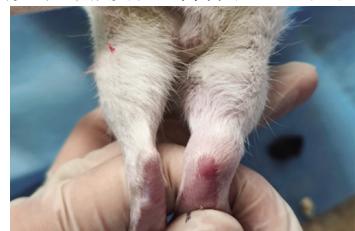
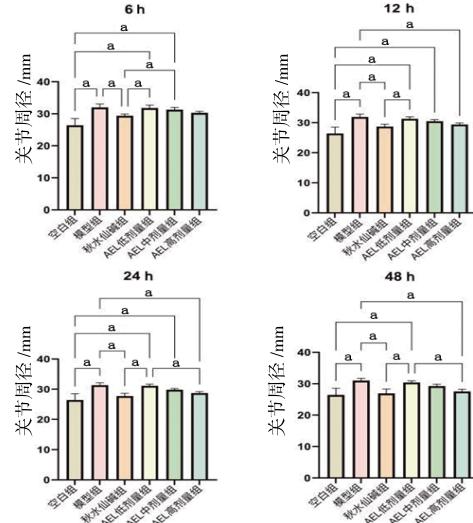


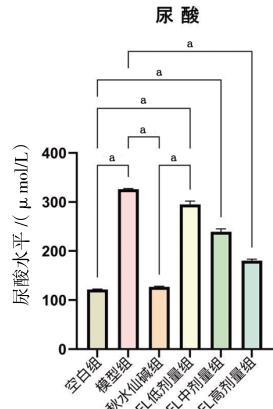
图1 造模后踝关节情况



注:两组比较,  $^aP<0.05$ 。

图2 各组大鼠关节肿胀度比较 ( $\bar{x}\pm s, n=10$ )

2.3 各组大鼠血清尿酸水平 与空白组比较,模型组及AEL中低剂量组大鼠血清尿酸水平显著升高( $P<0.05$ )。与模型组比较,秋水仙碱组、AEL高剂量组大鼠UA水平均降低( $P<0.05$ )。(见图3)



注:两组比较,<sup>a</sup> $P<0.05$ 。

图3 各组大鼠尿酸水平比较 ( $\bar{x}\pm s, n=10$ )

2.4 各组大鼠滑膜组织形态学 通过HE染色光学显微镜下观察,空白组大鼠滑膜组织结构完整,细胞层排列紧密;模型组大鼠滑膜组织结构呈现典型炎症病理改变,包括滑膜异常增生及大量中性粒细胞浸润;秋水仙碱组大鼠炎症细胞数明显降低;AEL干预组大鼠随着剂量增加,炎症细胞浸润程度逐渐下降。(见图4)

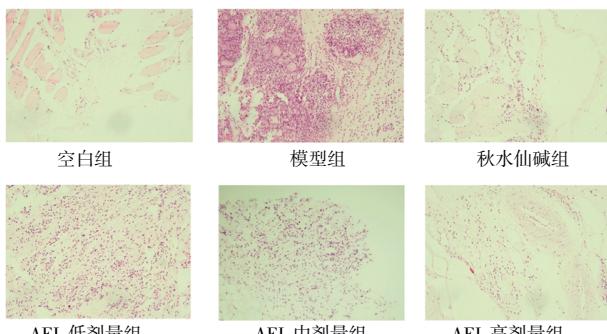
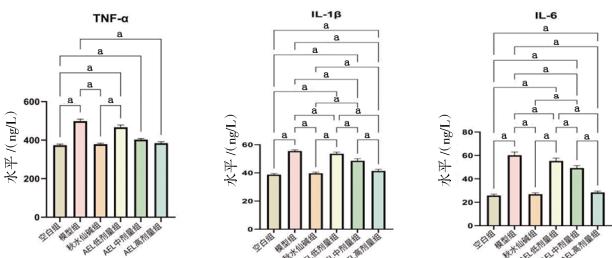
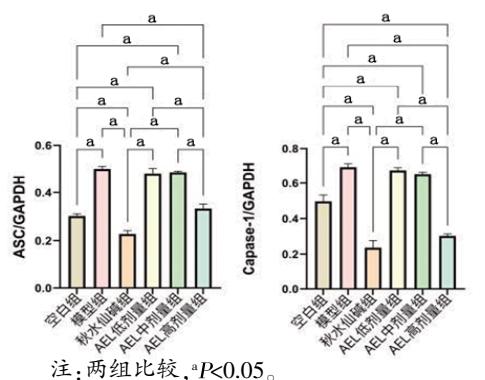


图4 各组大鼠滑膜组织HE染色病理图片 ( $\times 200$ )

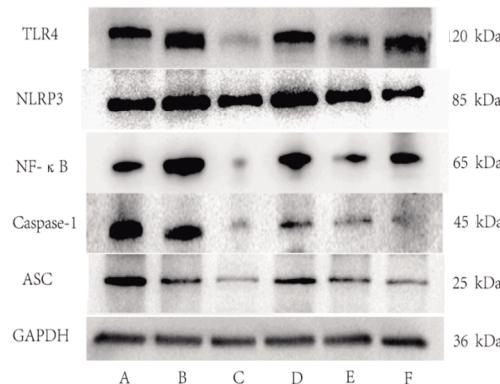
2.5 各组大鼠血清TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6水平 与空白组比较,模型组大鼠血清TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6水平明显升高( $P<0.05$ );与模型组比较,秋水仙碱组和AEL高剂量组大鼠血清中TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6水平均降低( $P<0.05$ );AEL低剂量组大鼠血清中IL-1 $\beta$ 、IL-6水平均高于AEL中剂量组( $P<0.05$ )。(见图5)



注:两组比较,<sup>a</sup> $P<0.05$ 。

图5 各组大鼠血清TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6水平比较 ( $\bar{x}\pm s, n=10$ )

2.6 各组大鼠滑膜组织NLRP3、ASC、Caspase-1、TLR4和NF- $\kappa$ B蛋白表达 与空白组比较,AEL高剂量组大鼠滑膜组织NLRP3、Caspase-1、TLR4及NF- $\kappa$ B的蛋白表达有差异( $P<0.05$ ),但ASC蛋白表达差异无统计学意义( $P>0.05$ )。与模型组比较,秋水仙碱组、AEL高剂量组大鼠滑膜组织中NLRP3、ASC、Caspase-1和TLR4、NF- $\kappa$ B蛋白表达均降低( $P<0.05$ );AEL低剂量组和中剂量组大鼠各组蛋白表达比较,差异均无统计学意义( $P>0.05$ )。(见图6~7)

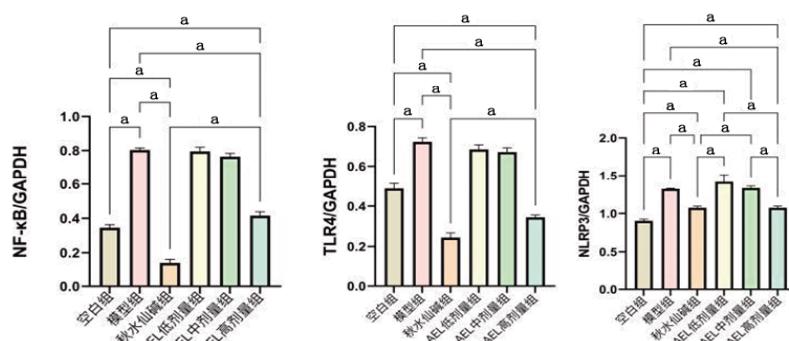


注:A.空白组;B.模型组;C.秋水仙碱组;D.AEL低剂量组;E.AEL中剂量组;F.AEL高剂量组。

图6 各组大鼠滑膜组织NLRP3、ASC、Caspase-1、TLR4和NF- $\kappa$ B蛋白表达Western blotting条带图

### 3 讨 论

GA在中医学中可归属于“痹证”“历节”“白虎风”等范畴,其病因可概括为“正虚为本,邪实为标”,是先天禀赋不足与后天失调共同作用的结果。目前,临幊上对急性痛风发作的治疗选择通常是非甾体抗炎药、秋水仙碱、皮质类固醇和镇痛药。但秋水仙碱、非甾体抗炎药(NSAIDs)和糖皮质激素



注:两组比较,<sup>a</sup> $P<0.05$ 。

图7 各组大鼠滑膜组织NLRP3、ASC、Caspase-1、TLR4和NF- $\kappa$ B蛋白表达水平比较 ( $\bar{x}\pm s, n=10$ )

(GCs)等药物的联合应用会对机体产生不良反应,如消化道出血<sup>[14]</sup>。腹泻也是秋水仙碱最常见的副作用<sup>[15]</sup>。因此,临床对不良反应少、能积极控制GA病情的药物需求日益增大。研究发现,治疗GA的中草药已成为研究重要方向。枸杞用药历史悠久,《神农本草经》记载:“枸杞久服,坚筋骨,轻身不老,耐寒暑。”万凤琼等<sup>[16]</sup>在肝肾阴虚型痛风患者的辨证饮食调护中也提到采用枸杞配合其他中草药进行治疗。此外,也可在急性期辅助治疗,针对湿热夹瘀型痛风,枸杞子可与土茯苓、萆薢配伍,取其利湿不伤阴之效。已有研究表明,枸杞黄酮与萆薢中的薯蓣皂苷可协同抑制尿酸重吸收蛋白URAT1<sup>[17]</sup>。枸杞中的黑果枸杞是茄科枸杞,在传统医学中占据重要地位,《晶珠本草》《四部医典》等藏医经典文献记载其可用于治疗心脏病、月经不调和绝经综合征,《维吾尔药志》亦载其具有治疗尿道结石、痈疮及牙龈出血的功效<sup>[18]</sup>。其属多棘刺落叶灌木,果实呈紫黑色,富含花色苷、黄酮、多糖、生物碱等活性成分,其中花青素含量尤为突出。现有研究表明黑果枸杞具有显著的抗氧化、抗疲劳、免疫调节、抗衰老及神经保护等多种生物活性<sup>[19]</sup>。CHEN S S等<sup>[20]</sup>在探讨AEL在d-半乳糖处理的大鼠中发挥神经保护作用的潜在机制中发现,AEL可抑制小胶质细胞增生和星形细胞增多,降低NF-κB、IL-1β、COX-2和TNF-α的过表达,同时可降低p-JNK、Caspase-3水平和Bax/Bcl-2比率。此外,有研究发现,AEL也可改善小鼠的炎症和氧化应激<sup>[21]</sup>。这些研究表明,AEL在功能性食品开发、疾病防治以及药物开发领域具有广阔的应用前景。

近年来,NLRP3炎症小体的研究也成为热点。炎症小体通常由模式识别受体(PRR)、一种称为ASC的衔接蛋白以及效应蛋白半胱天冬酶-1组成。大量研究表明,致病性晶体可以促进NLRP3炎症小体、TLR4和NF-κB依赖性转录,随后NLRP3炎症小体进行组装并进一步激活<sup>[21,22]</sup>。NLRP3一旦激活,其与接头蛋白ASC和效应蛋白Caspase-1一起启动炎性小体组装,导致Caspase-1激活<sup>[23]</sup>,可进一步触发涉及促炎细胞因子和趋化因子的下游信号转导级联反应,并促进中性粒细胞和其他细胞募集到晶体沉积位点,最终导致炎症进展和组织破坏<sup>[24]</sup>。已有研究证明,由NLRP3炎症小体介导的促炎因子(如IL-1β和IL-18)的产生与痛风的发病机制有关<sup>[25]</sup>。SO A K等<sup>[26]</sup>研究表明,NLRP3炎症小体对于感应MSU沉积和触发先天免疫应答至关重要,并且可能是痛风的一个非常重要的治疗靶标。到目前为止,研究人员越来越关注NLRP3炎症小体,靶向NLRP3炎症小体的治疗策略在GA的治疗中取得了相当大的进展。

本次研究验证了AEL对GA的炎症反应具有干预作用,并通过NLRP3炎症小体、TLR4/NF-κB信号通路进行调控。前期已有研究表明,AEL可以缓解GA的症状<sup>[26]</sup>。本实验结果显示,与空白组比较,模型组大鼠踝关节肿胀度、血清尿酸水平都较高,血清中促炎因子TNF-α、IL-1β、IL-6水平明显升高;而AEL高剂量组大鼠踝关节肿胀度明显减轻,血清尿酸水平明显降低,血清中促炎因子TNF-α、IL-1β、IL-6水平明显降低。此外,与模型组比较,秋水仙碱组、AEL高剂量组大鼠滑膜组织中NLRP3、ASC、Caspase-1和TLR4、NF-κB蛋白表达水平均降低。这一结果表明,AEL能够减轻大鼠踝关节肿胀度、降低尿

酸水平并能减轻GA炎症反应,可能是通过调控NLRP3炎症小体、TLR4/NF-κB信号通路中关键基因和蛋白的表达以达到干预效果。

综上,AEL能够减轻GA炎症反应程度,改善关节肿胀度,因此推测NLRP3炎症小体、TLR4/NF-κB信号通路可能是介导该作用的分子机制之一。本研究首次基于NLRP3炎症小体、TLR4/NF-κB信号通路探讨AEL对GA炎症反应的干预程度与效果,为中医药治疗GA提供新的思路和方向。然而,本实验仍存在不足之处,当前实验设置的药物浓度梯度缺乏系统性设计依据,后续需基于药代动力学参数建立更科学的剂量-效应关系模型。实验动物个体差异可能导致部分检测指标出现偏差,需要采用更大样本量进一步进行多中心重复验证。此外,本研究虽证实AEL的抗炎效应,但对其分子调控网络仍需深入解析。课题组此前基于孟德尔随机化分析发现特定肠道菌群与痛风发病存在一定关联,提示未来可开展肠道微生物组测序,系统研究AEL干预对菌群组成及代谢产物的调节作用,进而完善其多靶点作用机制的理论框架。

## 参考文献

- [1] PUNZI L, GALOZZI P, LUISETTO R, et al. Gout: One year in review 2023 [J]. Clin Exp Rheumatol, 2024, 42(1): 1-9.
- [2] WANG S W, LIU W, WEI B W, et al. Traditional herbal medicine: Therapeutic potential in acute gouty arthritis[J]. J Ethnopharmacol, 2024, 330: 118182.
- [3] SPENCER J P E. Flavonoids: Modulators of brain function? [J]. Br J Nutr, 2008, 99E(Suppl 1): ES60-ES77.
- [4] KOPUSTINSKIENE D M, JAKSTAS V, SAVICKAS A, et al. Flavonoids as anticancer agents[J]. Nutrients, 2020, 12(2): 457.
- [5] CHEN Y Y, ZHAO Z A, LI Y M, et al. Baicalein alleviates hyperuricemia by promoting uric acid excretion and inhibiting xanthine oxidase[J]. Phytomedicine, 2021, 80: 153374.
- [6] CUI D L, LIU S Y, TANG M H, et al. Phloretin ameliorates hyperuricemia-induced chronic renal dysfunction through inhibiting NLRP3 inflammasome and uric acid reabsorption[J]. Phytomedicine, 2020, 66: 153111.
- [7] 陈莎莎,索有瑞,白波,等.青藏高原黑果枸杞花青素稳定性评价[J].天然产物研究与开发,2017,29(2):322-328.
- [8] 闫淑萍,王硕,陈涛,等.黑果枸杞花青素提取物对大鼠急性痛风性关节炎的作用[J].食品科学技术学报,2022,40(3): 105-111.
- [9] YI Y S. Regulatory roles of flavonoids on inflammasome activation during inflammatory responses[J]. Mol Nutr Food Res, 2018, 62(13): e1800147.
- [10] YIN C Y, LIU B Y, WANG P, et al. Eucalyptol alleviates inflammation and pain responses in a mouse model of gout arthritis[J]. Br J Pharmacol, 2020, 177(9): 2042-

2057.

- [11] PANY G, HUANGM T, SEKAR P, et al. Decoy receptor 3 inhibits monosodium urate-induced NLRP3 inflammasome activation via reduction of reactive oxygen species production and lysosomal rupture[J]. *Front Immunol*, 2021, 12:638676.
- [12] SUN L B, MA W, GAO W L, et al. Propofol directly induces caspase-1-dependent macrophage pyroptosis through the NLRP3-ASC inflammasome[J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10(8):542.
- [13] 侯燕.白头翁皂苷通过NLRP3炎性体信号通路抑制大鼠痛风性关节炎急性发作的研究[D].合肥:安徽中医药大学,2019.
- [14] KOGUT M H, LEE A, SANTIN E. Microbiome and pathogen interaction with the immune system[J]. *Poult Sci*, 2020, 99(4):1906-1913.
- [15] ZHANG W, DOHERTY M, BARDIN T, et al. EULAR evidence based recommendations for gout. Part II: Management. Report of a task force of the EULAR Standing Committee for International Clinical Studies Including Therapeutics (ESCISIT)[J]. *Ann Rheum Dis*, 2006, 65(10):1312-1324.
- [16] 万凤琼,郭佳.50例痛风患者的辨证饮食调护[J].云南中医杂志,2012,33(3):81-82.
- [17] 张二飞,殷紫,杨礼白,等.健脾清热利浊汤对痛风性肾病大鼠模型肾脏功能的影响[J].中成药,2020,42(9):2459-2463.
- [18] 杨承武,尹晓翔.黑果枸杞多糖通过调节Nrf2/NF-κB信号通路缓解运动性心肌损伤的保护作用[J].分子植物育种,2025,23(12):4135-4142.
- [19] LIU B, MA J Y, LI T, et al. Advances in the preparation, structure and bioactivity of polysaccharides from *Lycium ruthenicum* Murr.: A review[J]. *Foods*, 2024, 13(13):1995.
- [20] CHEN S S, ZHOU H N, ZHANG G, et al. Anthocyanins from *Lycium ruthenicum* Murr. ameliorated d-galactose-induced memory impairment, oxidative stress, and neuroinflammation in adult rats[J]. *J Agric Food Chem*, 2019, 67(11):3140-3149.
- [21] TIAN B M, ZHAO J H, XIE X Q, et al. Correction: Anthocyanins from the fruits of *Lycium ruthenicum* Murray improve high-fat diet-induced insulin resistance by ameliorating inflammation and oxidative stress in mice[J]. *Food Funct*, 2021, 12(15):7092.
- [22] KELLEY N, JELTEMA D, DUAN Y H, et al. The NLRP3 inflammasome: An overview of mechanisms of activation and regulation[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(13):3328.
- [23] ZHAN X Y, LI Q, XU G, et al. The mechanism of NLRP3 inflammasome activation and its pharmacological inhibitors[J]. *Front Immunol*, 2023, 13:1109938.
- [24] SHARMAB R, KANNEGANTIT D. NLRP3 inflammasome in cancer and metabolic diseases[J]. *Nat Immunol*, 2021, 22(5):550-559.
- [25] TRANT H, PHAMJ T, SHAFEEQ H, et al. Role of interleukin-1 inhibitors in the management of gout[J]. *Pharmacotherapy*, 2013, 33(7):744-753.
- [26] SO A K, MARTINON F. Inflammation in gout: Mechanisms and therapeutic targets[J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2017, 13(11):639-647.

(收稿日期:2025-06-08 编辑:罗英姣)