

八正散对慢性尿路感染大鼠的改善作用及机制研究^Δ

蕙蕙荣^{1*}, 李小凤², 蒋晓磊¹, 李靖¹, 马正安¹, 李喜香^{1,2#} (1. 甘肃省中医院药学部, 兰州 730050; 2. 甘肃中医药大学药学院, 兰州 730000)

中图分类号 R965 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2025)20-2525-06
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2025.20.07



摘要 目的 探讨八正散对大肠埃希菌致大鼠慢性尿路感染(CUTI)的改善作用及机制。方法 将大鼠分为正常对照组、模型组、左氧氟沙星组(45 mg/kg)和八正散组(4.95 g/kg), 每组10只。除正常对照组外, 其余各组大鼠经尿道向膀胱内注射大肠埃希菌菌液(1×10^8 cfu/mL)构建CUTI模型。造模同时, 各组大鼠灌胃相应药液或水, 每天1次, 连续4周。末次给药后, 检测大鼠血常规(白细胞数量和淋巴细胞百分比)以及血清中炎症因子[白细胞介素 1β (IL- 1β)、IL-6、IL-8、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)], 免疫指标[CD4、CD8、分泌型免疫球蛋白A(SIgA)], 肾功能指标[胱抑素C(Cys-C)、 α 1-微球蛋白(α 1-MG)、尿素、肌酐]水平; 观察大鼠肾脏和膀胱组织的病理学形态; 检测大鼠膀胱组织中Toll样受体4(TLR4)、核因子 κ B(NF- κ B)、核苷酸结合结构域富含亮氨酸重复序列和含热蛋白结构域受体3(NLRP3)蛋白的表达水平。结果 与正常对照组比较, 模型组大鼠血清中IL- 1β 、IL-6、IL-8、TNF- α 、CD8、Cys-C、 α 1-MG、尿素、肌酐水平以及膀胱组织中TLR4、NF- κ B、NLRP3蛋白的表达水平均显著升高($P < 0.05$), CD4、SIgA水平均显著降低($P < 0.05$); 肾脏和膀胱组织均可见大量炎症细胞浸润等病理学改变。与模型组比较, 八正散组大鼠上述定量指标均显著逆转($P < 0.05$), 肾脏和膀胱组织均未见明显炎症性病变。结论 八正散可减轻CUTI大鼠炎症反应, 增强其免疫功能, 上述作用可能与抑制TLR4/NF- κ B/NLRP3信号通路有关。

关键词 八正散; 慢性尿路感染; 炎症反应; 免疫功能; 大肠埃希菌; TLR4/NF- κ B/NLRP3信号通路

Improvement effects and mechanism of Bazheng powder on chronic urinary tract infection in rats

XI Huirong¹, LI Xiaofeng², JIANG Xiaolei¹, LI Jing¹, MA Zheng'an¹, LI Xixiang^{1,2} (1. Dept. of Pharmacy, Gansu Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730050, China; 2. College of Pharmacy, Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China)

ABSTRACT OBJECTIVE To investigate the improvement effects and its mechanism of Bazheng powder on chronic urinary tract infection (CUTI) induced by *Escherichia coli* in rats. **METHODS** The rats were divided into normal control group, model group, levofloxacin group (45 mg/kg) and Bazheng powder group (4.95 g/kg), with 10 rats in each group. Except for the normal control group, other groups were administered an intravesical injection of *Escherichia coli* suspension (1×10^8 cfu/mL) via the urethra to establish CUTI model; at the same time, rats in each group were administered the corresponding medicinal solution or water by gavage once a day for 4 consecutive weeks. After the last medication, blood routine tests (white blood cell count and lymphocyte percentage), the levels of serum inflammatory factors [interleukin- 1β (IL- 1β), IL-6, IL-8, tumor necrosis factor- α (TNF- α)], and immune indicators [CD4, CD8, secretory immunoglobulin A (SIgA)], renal function indicators [cystatin C (Cys-C), α 1-microglobulin (α 1-MG), urea and creatinine] were all determined; the pathological changes in renal and bladder tissues in rats were observed. The protein expressions of Toll-like receptor 4 (TLR4), nuclear factor- κ B (NF- κ B), and nucleotide-binding domain leucine-rich repeat and pyrin domain-containing receptor 3 (NLRP3) in rat bladder tissues were detected. **RESULTS** Compared with the normal control group, the levels of IL- 1β , IL-6, IL-8, TNF- α , CD8, Cys-C, α 1-MG, urea and creatinine in serum, as well as the protein expressions of TLR4, NF- κ B and NLRP3 in bladder tissues, were significantly elevated in the model group ($P < 0.05$). Conversely, the levels of CD4 and SIgA were significantly decreased ($P < 0.05$). Pathological changes, such as extensive infiltration of inflammatory cells, were observed in both renal and bladder tissues. Compared with the model group, the above quantitative indicators in the Bazheng powder group were significantly improved ($P < 0.05$), with no obvious inflammatory lesions observed in either renal or bladder tissues. **CONCLUSIONS** Bazheng powder can alleviate inflammatory reaction and

improve the immune function of CUTI rats, and its mechanism may be related to the inhibition of TLR4/NF- κ B/NLRP3 signaling pathway.

KEYWORDS Bazheng powder; chronic urinary tract infection; inflammatory reaction; immune function; *Escherichia coli*; TLR4/NF- κ B/NLRP3 signaling pathway

Δ 基金项目 甘肃省财政转移支付地方项目——中西医结合防治耐药菌研究(No.20210140305); 国家中医优势专科建设项目、2025年全国老药工传承工作室建设项目(No.甘财社[2024]118号)

* 第一作者 主管药师, 硕士。研究方向: 中药及复方药理学。
E-mail: 18709404297@163.com

通信作者 主任中药师, 博士生导师。研究方向: 中药制剂的开发与研究。E-mail: lixixiang929@163.com

尿路感染是临床常见的泌尿系统感染性疾病,主要是由于细菌、真菌等病原体在尿路中异常生长、繁殖,侵犯黏膜或组织,继而引起的炎症性疾病^[1]。尿路感染根据病情可分为急性尿路感染和慢性尿路感染(chronic urinary tract infection, CUTI),其中 CUTI 主要由急性感染久治不愈所致,病情反复且病程较长,若不及时治疗可诱发脓毒血症和肾衰竭,甚至危及患者生命安全^[2]。现代研究表明,大肠埃希菌是 CUTI 的常见致病菌,约占其致病菌总数的 70%~90%^[3]。目前,临床治疗 CUTI 的一线药物为抗菌药物,但长期使用易出现细菌耐药的现象,而中药在治疗尿路感染方面具有独特的优势,可缓解尿路感染症状,并降低复发率^[4]。

八正散出自《太平惠民和剂局方》,是治疗湿热淋证的代表方,由瞿麦、萹蓄、车前子等多味中药组成,具有清热利湿、通淋止痛的功效,被广泛用于尿路感染、前列腺炎、膀胱炎等泌尿系统疾病的临床治疗^[5-6]。研究发现, Toll 样受体 4(Toll-like receptor 4, TLR4)/核因子 κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)/核苷酸结合结构域富含亮氨酸重复序列和含热蛋白结构域受体 3(nucleotide-binding domain leucine-rich repeat and pyrin domain-containing receptor 3, NLRP3)信号通路在尿路感染相关炎症反应的发生中具有重要作用^[7-9]。因此,调控上述信号通路可能是治疗尿路感染的重要策略。基于此,本研究以大肠埃希菌诱导构建 CUTI 大鼠模型,并基于 TLR4/NF- κ B/NLRP3 信号通路探究八正散对该模型的改善作用及潜在机制,以期八正散治疗尿路感染的科学内涵阐释及 CUTI 的临床治疗提供参考。

1 材料

1.1 主要仪器

PocH-100iV 型血细胞分析仪、KNF-100 型尿液分析仪均购自希森美康医用电子(上海)有限公司;BS-240VET 型动物生化分析仪购自深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司;CX43 型电子显微镜购自日本 Olympus 公司;Rayto RT-6100 型酶标仪购自深圳杜雷生命科学股份有限公司;L-500 型台式高速离心机购自湘潭湘仪仪器有限公司;HGZF-101-1 型电热恒温鼓风干燥箱购自上海跃进医疗器械有限公司。

1.2 主要药品与试剂

八正散组方饮片滑石、川木通、萹蓄、瞿麦、车前子、栀子、大黄、甘草(批号分别为 220901A、22053105、221109、211202、230401、230101、230405、230401)均由甘肃省中医院中药房提供,由甘肃省中医院药学部李喜香主任中药师鉴定均为真品。

Luria-Bertani 培养基(批号 CM0003)购自北京雷根生物技术有限公司;左氧氟沙星片[阳性对照药,批号 22070109,规格 0.5 g(按 $C_{18}H_{20}FN_3O_4$ 计)]购自四川海汇药业有限公司;尿素、肌酐检测试剂盒(批号分别为

141321008、141123021)均购自深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司;白细胞介素 1β (interleukin- 1β , IL- 1β)、IL-6、IL-8、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、CD4、CD8、胱抑素 C(cystatin C, Cys-C)、分泌型免疫球蛋白 A(secretory immunoglobulin A, SIgA)、 α 1-微球蛋白(α 1-microglobulin, α 1-MG)试剂盒(批号分别为 E20231024-30206B、E20231024-30219B、E20231024-30221B、E20231024-31063B、E20240109-31696B、E20240109-31697B、E20240109-30230B、E20240109-30624B、E20240109-30142B)均购自上海酶联生物科技有限公司;鼠抗 TLR4 单克隆抗体(货号 66350-1-Ig)购自武汉三鹰生物技术有限公司;兔抗 NLRP3、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)单克隆抗体(货号分别为 ab263899、ab181602)均购自英国 Abcam 公司;兔抗 NF- κ B 单克隆抗体(货号#8242)购自美国 CST 公司;辣根过氧化物酶标记的羊抗兔免疫球蛋白 G 二抗(批号 AS1058)购自武汉阿斯本生物技术有限公司。

1.3 实验动物

本研究所用动物为 6 周龄的 SPF 级雌性 SD 大鼠,共 40 只,体重 160~180 g,购自甘肃中医药大学动物实验中心,实验动物生产许可证号为 SCXK(甘)2020-0002。所有大鼠均饲养于中国农业科学院兰州畜牧与兽药研究所 SPF 级动物实验室(室温 18~22 °C、相对湿度 45%~55%)内,自由摄食、饮水,适应性喂养 7 d。本研究方案经甘肃中医药大学实验动物伦理委员会审查(编号 SY2023-608)。

1.4 细菌

大肠埃希菌(批号 2203311)由商城北纳创联生物技术有限公司提供。

2 方法

2.1 大肠埃希菌菌液配制

将大肠埃希菌接种于 25 mL 新鲜 Luria-Bertani 培养基中,于 37 °C、250 r/min 的恒温培养振荡器中培养 8 h;收集菌液,以 4 500 r/min 离心 5 min,弃上清液;取细菌沉淀,用无菌磷酸盐缓冲液(PBS)稀释,备用。临用前,用无菌 PBS 将菌液密度调整至 1×10^8 cfu/mL^[10]。

2.2 药液制备

取根据八正散组方,取滑石、川木通、萹蓄、瞿麦、车前子、栀子、大黄各 9 g 和甘草 6 g,混合,加 10 倍量水,浸泡 15~20 min 后煎煮 45 min,过滤;药渣再加 10 倍量水,煎煮 45 min,过滤;合并两次滤液,浓缩,制成质量浓度为 0.78 g/mL(以生药量计)的八正散药液,于 -4 °C 下密封保存,备用。

2.3 分组、造模与给药

将大鼠分为正常对照组、模型组、左氧氟沙星组(45 mg/kg,剂量根据临床等效剂量换算,临用时以水为溶剂配制成混悬液)和八正散组(4.95 g/kg,剂量参考文献[11]设置,且前期少量样本预实验结果证实该剂量作用

效果良好),每组10只。除正常对照组外,其余各组大鼠直接经尿道向膀胱内注射大肠埃希菌菌液构建CUTI模型,具体操作如下^[12]:大鼠禁水不禁食12 h后麻醉,将尿道口消毒,插入一次性导尿管(距离尿道口2~3 cm),用一次性注射器将1 mL大肠埃希菌菌液(1×10^8 cfu/mL)缓慢注入导尿管中,结扎尿道口1~2 h;1周后同法注入菌液,次日检测各组大鼠尿常规,当造模大鼠尿液中白细胞数量较正常对照组大鼠明显升高时,表明造模成功。造模同时,各药物组大鼠灌胃相应药液,模型组和正常对照组大鼠灌胃等体积水,每天1次,连续4周。造模过程中,模型组和八正散组各有2只大鼠死亡,左氧氟沙星组有1只大鼠死亡,正常对照组无大鼠死亡,后续每组纳入8只大鼠进行实验。

2.4 一般情况观察

给药期间,观察各组大鼠一般行为学表现,包括毛发、精神状态、排尿次数、尿液颜色、大便性状等;每周称量各组大鼠体重,并记录。

2.5 标本采集

末次给药后,采集各组大鼠眼眶血,血样置于装有肝素钠的一次性抗凝EP管中,用于大鼠血常规指标的检测;随后采集其腹主动脉血,血样于室温下静置1 h后,以3 000 r/min离心15 min,分离上层血清,用于大鼠炎症、免疫、肾功能相关指标的检测。采血完成后,分离各组大鼠的肾脏和膀胱,将左肾组织和一半的膀胱组织用4%多聚甲醛溶液固定,用于苏木精-伊红(HE)染色和免疫组化染色;剩余膀胱组织于-80 °C下保存,用于相关蛋白表达检测。

2.6 血常规指标检测

取“2.5”项下抗凝全血样品适量,采用血细胞分析仪检测各组大鼠全血中白细胞数量和淋巴细胞百分比。

2.7 血清中炎症、免疫、肾功能相关指标水平检测

取“2.5”项下血清样品适量,严格按照试剂盒说明书方法操作,采用酶标仪检测血清中炎症因子(IL-1 β 、IL-6、IL-8、TNF- α)、免疫指标(CD4、CD8、SIgA)、肾功能指标(Cys-C、 α 1-MG)水平。另外,取“2.5”项下血清样品适量,采用动物生化分析仪检测大鼠血清中另两种肾功能指标(尿素和肌酐)水平。

2.8 肾脏和膀胱组织的病理学形态观察

取“2.5”项下各组大鼠经4%多聚甲醛溶液固定的肾脏和膀胱组织适量,经石蜡包埋后,切片(厚度5 μ m);取部分切片,经二甲苯脱蜡、乙醇梯度脱水后进行HE染色,再经脱水、封片后,采用显微镜观察其肾脏和膀胱组织的病理学变化。

2.9 膀胱组织中TLR4、NF- κ B、NLRP3蛋白表达水平检测

采用免疫组化法进行检测。取“2.8”项下各组大鼠(每组3只)的膀胱组织切片,经脱蜡至水和抗原修复、阻断后,加入TLR4、NF- κ B、NLRP3一抗(稀释度均为1:

100),于4 °C下孵育过夜;加入相应二抗(稀释度为1:100),于室温下孵育20 min;以二氨基联苯胺(DAB)显色,经苏木精复染、分化、返蓝、封片后,采用显微镜观察并拍照。采用Image J软件测定每个视野下各蛋白阳性染色(呈棕色)的平均光密度值,以表示相应蛋白的表达水平。

采用Western blot法进行检测。取“2.5”项下各组大鼠(每组3只)冻存的膀胱组织适量,加入RIPA裂解液裂解、匀浆,提取总蛋白,再以BCA法测定蛋白浓度。蛋白经变性处理后,进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳、转膜和封闭,加入TLR4、NF- κ B、NLRP3、GAPDH一抗(稀释度均为1:1 000),于4 °C下孵育过夜;加入相应二抗(稀释度为1:1 000),于常温下孵育1 h;经化学发光试剂显色后,置于凝胶成像系统中成像。采用Image J软件分析各蛋白的条带灰度值,以目的蛋白与内参蛋白(GAPDH)的灰度值比值表示目的蛋白的表达水平。

2.10 统计学方法

采用SPSS 22.0软件对数据进行统计分析。满足正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,进一步两两比较采用LSD-*t*检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

3 结果

3.1 八正散对CUTI大鼠一般情况的影响

正常对照组大鼠精神状态良好,活动敏捷,毛发光亮,排尿次数和尿液颜色均正常;模型组大鼠精神萎靡,动作迟缓,毛发竖立、光泽性差,排尿次数明显增加,尿液颜色发黄,大便呈稀便状;左氧氟沙星组和八正散组大鼠精神状态较好,排尿次数、尿液颜色和粪便状态整体向好。实验期间,各组大鼠体重呈正常增长趋势,且各组间体重差异不大。

3.2 八正散对CUTI大鼠血常规指标的影响

与正常对照组比较,模型组大鼠全血中白细胞数量显著升高($P<0.05$),而淋巴细胞百分比的差异无统计学意义($P>0.05$);与模型组比较,左氧氟沙星组和八正散组大鼠全血中白细胞数量、淋巴细胞百分比虽有一定变化,但差异均无统计学意义($P>0.05$)。结果见表1。

表1 各组大鼠血常规指标比较($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	白细胞数量/($\times 10^9 L^{-1}$)	淋巴细胞百分比/%
正常对照组	5.77 \pm 2.11	0.79 \pm 0.03
模型组	8.35 \pm 3.19 ^a	0.63 \pm 0.51
左氧氟沙星组	6.28 \pm 2.95	0.64 \pm 0.16
八正散组	7.64 \pm 1.77	0.73 \pm 0.04

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

3.3 八正散对CUTI大鼠血清中炎症、免疫、肾功能相关指标的影响

与正常对照组比较,模型组大鼠血清中IL-1 β 、IL-6、IL-8、TNF- α 、CD8、Cys-C、 α 1-MG、尿素、肌酐水平均显著升高($P<0.05$),CD4、SIgA水平均显著降低($P<$

0.05);与模型组比较,左氧氟沙星组和八正散组大鼠血清中上述指标水平均显著逆转($P<0.05$)。结果见表2~表4。

表2 各组大鼠血清中炎症因子水平比较($\bar{x} \pm s, n=8, \text{pg/mL}$)

组别	IL-1 β	IL-6	IL-8	TNF- α
正常对照组	6.46 \pm 0.94	21.27 \pm 3.19	33.61 \pm 3.84	54.12 \pm 4.85
模型组	9.17 \pm 0.79 ^a	33.06 \pm 2.25 ^a	48.85 \pm 4.27 ^a	73.37 \pm 5.26 ^a
左氧氟沙星组	7.18 \pm 0.63 ^b	22.76 \pm 1.90 ^b	38.31 \pm 4.43 ^b	57.02 \pm 4.93 ^b
八正散组	8.15 \pm 0.74 ^b	29.13 \pm 1.08 ^b	42.60 \pm 4.98 ^b	65.83 \pm 4.84 ^b

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

表3 各组大鼠血清中免疫相关指标水平比较($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	CD4/(ng/mL)	CD8/(ng/mL)	SIgA/($\mu\text{g/mL}$)
正常对照组	2.35 \pm 0.17	7.28 \pm 1.15	86.30 \pm 7.40
模型组	1.66 \pm 0.21 ^a	9.61 \pm 0.83 ^a	54.89 \pm 5.08 ^a
左氧氟沙星组	2.03 \pm 0.13 ^b	8.17 \pm 1.75 ^b	67.84 \pm 6.56 ^b
八正散组	2.05 \pm 0.24 ^b	8.73 \pm 1.31 ^b	63.26 \pm 4.24 ^b

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

表4 各组大鼠血清中肾功能相关指标水平比较($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	Cys-C/(ng/mL)	α 1-MG/(pg/mL)	尿素/(mmol/L)	肌酐/($\mu\text{mol/L}$)
正常对照组	163.14 \pm 21.91	52.54 \pm 4.65	6.97 \pm 1.37	29.35 \pm 3.80
模型组	253.28 \pm 17.96 ^a	93.91 \pm 7.67 ^a	11.07 \pm 2.09 ^a	37.21 \pm 8.37 ^a
左氧氟沙星组	197.96 \pm 22.17 ^b	66.61 \pm 8.03 ^b	8.45 \pm 1.17 ^b	30.75 \pm 4.80 ^b
八正散组	208.74 \pm 11.29 ^b	68.11 \pm 6.94 ^b	9.36 \pm 2.01 ^b	33.67 \pm 5.98 ^b

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

3.4 八正散对 CUTI 大鼠肾脏和膀胱组织病理学形态的影响

肾脏组织 HE 染色结果(图1)显示,正常对照组大鼠肾脏组织结构清晰,肾皮质、肾髓质边界清晰;模型组大鼠肾实质细胞变性、坏死,可见大量炎症细胞浸润和炎症灶,且存在肾小球萎缩现象;左氧氟沙星组和八正散

组大鼠肾脏无明显炎症性病变,可见正常的肾皮质、肾髓质、肾盂、肾盏等结构。

膀胱组织 HE 染色结果(图2)显示,正常对照组大鼠膀胱组织结构清晰,黏膜层结构完整、表面光滑,无明显病理学变化;模型组大鼠膀胱上皮细胞明显增厚、薄厚不均,固有层可见大量炎症细胞浸润;左氧氟沙星组和八正散组大鼠膀胱上皮细胞正常,无明显炎症性病变。

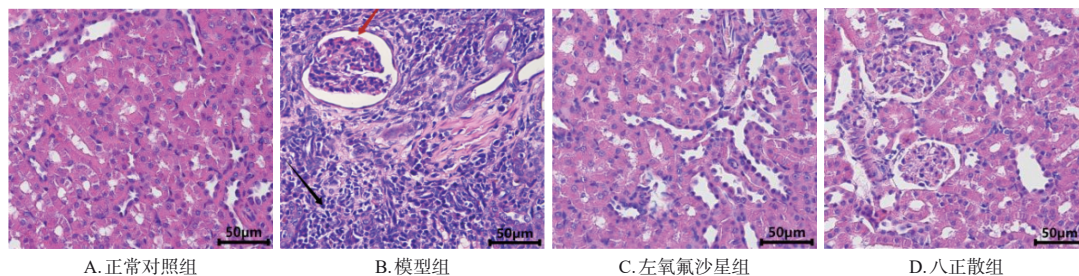
3.5 八正散对 CUTI 大鼠膀胱组织中 TLR4、NF- κ B、NLRP3 蛋白表达的影响

免疫组化法结果(图3、表5)显示,与正常对照组比较,模型组大鼠膀胱组织中 TLR4、NF- κ B、NLRP3 蛋白阳性染色的平均光密度值均显著升高($P<0.05$);与模型组比较,左氧氟沙星组和八正散组大鼠膀胱组织中上述蛋白阳性染色的平均光密度值均显著降低($P<0.05$)。

Western blot 法结果(图4、表6)显示,与正常对照组比较,模型组大鼠膀胱组织中 TLR4、NF- κ B、NLRP3 蛋白的表达水平均显著升高($P<0.05$);与模型组比较,左氧氟沙星组和八正散组大鼠膀胱组织中上述蛋白的表达水平均显著降低($P<0.05$)。

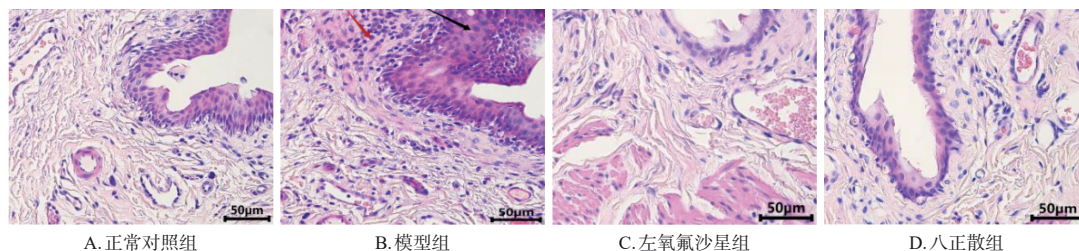
4 讨论

流行病学调查显示,尿路感染在全球范围内造成了巨大的健康和经济损失,约 25% 有尿路感染病史的人群会进展为慢性感染^[13]。尿路感染属中医学“淋证”范畴,与下焦湿热蕴结、膀胱气化不利有关,宜以清热、利水、通淋为主要治则^[14]。其动物模型建立方法多样,传统的有单侧输尿管半结扎+膀胱内注射细菌+夹闭尿道口^[15]、下腹部切开注射大肠埃希菌+夹闭尿道口^[16]等,但上述方法易导致动物死亡,造模成功率低。因此,本研究采用直接经尿道向膀胱内注射大肠埃希菌菌液的方法构建 CUTI 模型,以探讨八正散的作用及机制。



红色箭头:肾小球萎缩;黑色箭头:炎症细胞浸润。

图1 各组大鼠肾脏组织病理学变化的显微图(HE 染色)



黑色箭头:上皮细胞增厚;红色箭头:固有层炎症细胞浸润。

图2 各组大鼠膀胱组织病理学变化的显微图(HE 染色)

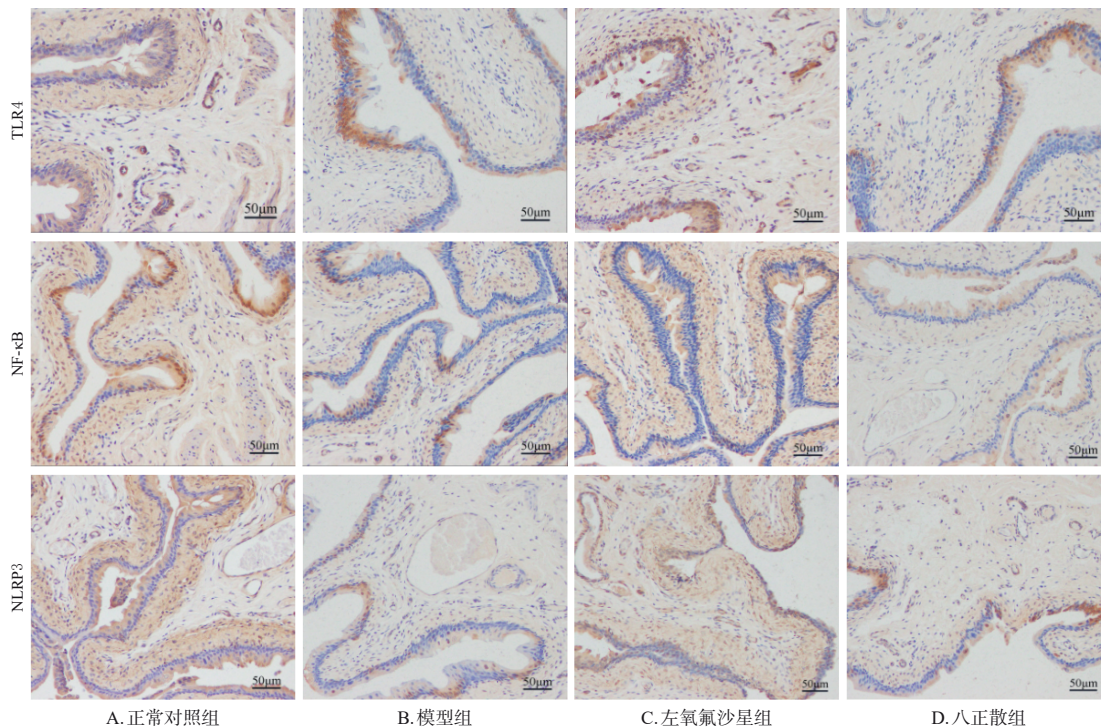


图3 各组大鼠膀胱组织中TLR4、NF-κB、NLRP3蛋白表达的免疫组化显微图

表5 各组大鼠膀胱组织中TLR4、NF-κB、NLRP3蛋白阳性染色的平均光密度值比较($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	TLR4	NF-κB	NLRP3
正常对照组	0.122 ± 0.014	0.119 ± 0.006	0.141 ± 0.014
模型组	0.283 ± 0.021 ^a	0.298 ± 0.012 ^a	0.326 ± 0.026 ^a
左氧氟沙星组	0.237 ± 0.010 ^b	0.224 ± 0.011 ^b	0.212 ± 0.012 ^b
八正散组	0.174 ± 0.012 ^b	0.167 ± 0.005 ^b	0.174 ± 0.001 ^b

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

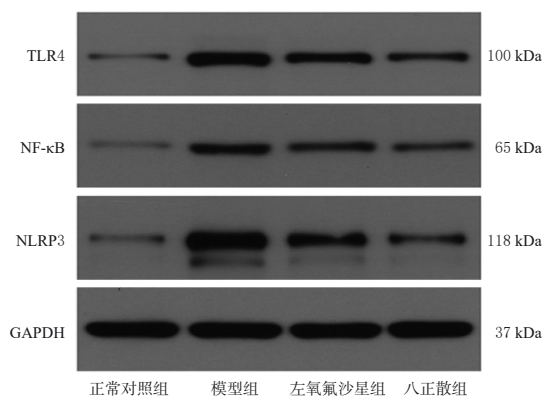


图4 大鼠膀胱组织中TLR4、NF-κB、NLRP3蛋白表达的电泳图

表6 大鼠膀胱组织中TLR4、NF-κB、NLRP3蛋白表达水平比较($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	TLR4/GAPDH	NF-κB/GAPDH	NLRP3/GAPDH
正常对照组	0.142 ± 0.069	0.093 ± 0.034	0.165 ± 0.089
模型组	0.729 ± 0.064 ^a	0.494 ± 0.074 ^a	0.889 ± 0.021 ^a
左氧氟沙星组	0.565 ± 0.102 ^b	0.384 ± 0.051 ^b	0.598 ± 0.054 ^b
八正散组	0.344 ± 0.148 ^b	0.261 ± 0.096 ^b	0.299 ± 0.036 ^b

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

尿路感染主要发生在尿道,但感染控制不及时会导致炎症蔓延,引发逆行感染,进而侵袭肾脏。Cys-C是评

估肾功能的重要指标,主要反映肾小球的滤过功能^[17]。 $\alpha 1$ -MG是一种糖蛋白,经肾小球滤过,到达肾小管后被重吸收和分解;当血液中 $\alpha 1$ -MG水平出现异常,则提示肾脏发生损伤^[18]。本研究结果显示,造模后,模型大鼠血清中尿素、肌酐、Cys-C、 $\alpha 1$ -MG水平均较正常大鼠显著升高,肾脏和膀胱组织均可见大量炎症细胞浸润;经八正散干预后,模型大鼠上述定量分析指标均显著逆转,病理学改变明显好转,提示八正散对大鼠CUTI具有明显的改善作用。

在病原体刺激下,泌尿系统可能出现剧烈的炎症反应,产生包括TNF- α 、IL-6、IL-8、IL-1 β 在内的多种促炎因子,这些炎症因子能够引起细胞组织损伤,同时可反作用于相关信号通路,从而导致更多炎症因子产生,加剧炎症反应^[19]。本研究结果显示,造模后,模型大鼠血清中TNF- α 、IL-6、IL-8和IL-1 β 水平均较正常大鼠显著升高;经八正散干预后,模型大鼠血清中上述炎症因子水平均显著降低,提示八正散可通过降低炎症因子水平来改善大鼠CUTI。

SIgA由尿道黏膜细胞分泌,可防止细菌黏附于泌尿上皮细胞,其水平增加可增强尿道对病原体的抵抗能力^[20]。T淋巴细胞亚群与机体免疫功能有关,CD4、CD8是T淋巴细胞亚群的2个标志糖蛋白,CD4能够诱导机体产生免疫反应,而CD8则可杀伤被病原体感染的靶细胞^[21]。本研究结果显示,造模后,模型大鼠血清中CD8水平较正常大鼠显著升高,SIgA、CD4水平均显著降低;经八正散干预后,模型大鼠血清中CD8水平显著降低,SIgA、CD4水平均显著升高,提示八正散还可通过调节宿主免疫系统来发挥改善大鼠CUTI的作用。

TLR4/NF- κ B/NLRP3 信号通路是机体炎症反应及免疫调节的关键调控通路,活化的 TLR4 可激活 NF- κ B 蛋白的表达,从而调节下游效应分子的功能,进而促进 NLRP3 炎症小体的表达^[22]。相关研究指出,当机体受到病原体侵袭时,TLR4/NF- κ B/NLRP3 信号通路介导的炎症反应将被触发,在一定程度上损伤机体免疫功能,导致机体特异性抗体产生不足,无法及时、充分地清除病原体,进而加重机体感染^[23]。同时,NLRP3 介导的 IL-1 β 过量释放可诱发膀胱壁纤维化及排尿功能障碍,造成机体反复感染,从而导致尿路感染慢性化^[24]。本研究结果显示,造模后,模型大鼠膀胱组织中 TLR4、NF- κ B、NLRP3 蛋白的表达水平均较正常大鼠显著升高;经八正散干预后,大鼠膀胱组织中上述蛋白的表达水平均显著降低,提示八正散对大鼠 CUTI 症状的改善作用可能与调控 TLR4/NF- κ B/NLRP3 信号通路有关。

综上所述,八正散可减轻 CUTI 大鼠炎症反应,增强其免疫功能,上述作用可能与抑制 TLR4/NF- κ B/NLRP3 信号通路有关。然而,本研究尚未明确其干预效应是否依赖于该信号通路,后续本课题组将继续深入探讨八正散抗 CUTI 的具体机制,并通过特异性通路抑制剂进行通路阻断实验,观察在 TLR4/NF- κ B/NLRP3 信号通路功能受抑情况下八正散的药效作用,从而为相关研究提供科学依据。

参考文献

[1] PECK J, SHEPHERD J P. Recurrent urinary tract infections: diagnosis, treatment, and prevention[J]. *Obstet Gynecol Clin North Am*, 2021, 48(3): 501-513.

[2] 中国女医师协会肾脏病与血液净化专委会. 中国女性尿路感染诊疗专家共识[J]. *中华医学杂志*, 2017, 97(36): 2827-2832.

[3] MODGIL V, KAUR H, MOHAN B, et al. Molecular, phylogenetic and antibiotic resistance analysis of enteroaggregative *Escherichia coli*/uropathogenic *Escherichia coli* hybrid genotypes causing urinary tract infections[J]. *Indian J Med Microbiol*, 2020, 38(3 & 4): 421-429.

[4] 于国泳, 田哲菁, 孙玥, 等. 中医药防治泌尿道感染优势与证据研究综述[J]. *中国中药杂志*, 2017, 42(8): 1439-1448.

[5] 杨俊云. 阿奇霉素与中药八正散加减对女性泌尿生殖道支原体感染的临床疗效评价[J]. *抗感染药学*, 2017, 14(1): 153-154.

[6] 张勇, 胡森. 自拟益气排石汤与八正散加减治疗泌尿系统结石的临床效果观察[J]. *临床合理用药杂志*, 2016, 9(29): 58-59.

[7] 尤小明, 施安娜, 金百冶. 姜黄素对慢性尿路感染大鼠 TLR4/NF- κ B 通路及尿路上皮屏障影响[J]. *中国公共卫生*, 2020, 36(2): 188-191.

[8] 李碧怡, 彭嘉健, 邝敏华, 等. 八正散对急性肾盂肾炎模型大鼠炎症因子和局部免疫功能的影响[J]. *中国中医急症*, 2020, 29(12): 2133-2136.

[9] 白鑫宇, 杨萍, 刘萍. 基于网络药理学考察八正散加减方治疗慢性前列腺炎的作用及可能机制[J]. *遵义医科大学学报*, 2020, 43(3): 310-320.

[10] 朱可嘉. 小鼠尿路感染模型中排尿行为异常及慢性尿路感染易感性的影响因素[D]. 济南: 山东大学, 2020.

[11] 黄晓朋. 基于腺性膀胱炎大鼠模型研究八正散影响膀胱 β 3-AR、Ki67、p53 及相关细胞因子作用机制[D]. 成都: 成都中医药大学, 2015.

[12] HANNAN T J, HUNSTAD D A. A murine model for *Escherichia coli* urinary tract infection[J]. *Methods Mol Biol*, 2016, 1333: 159-175.

[13] 岑海燕, 吴建国, 陈燕, 等. 老年性尿路感染的流行病学及诊治现状[J]. *国外医药(抗生素分册)*, 2023, 44(6): 379-382.

[14] 苗蓓亮, 于丽, 高梦琦, 等. 基于重阳理论探讨复发性尿路感染的辨治[J]. *浙江中医药大学学报*, 2024, 48(4): 459-464.

[15] 杨文波. 基于细菌黏附研究八正散治疗儿童细菌性尿路感染的作用机制[D]. 长春: 长春中医药大学, 2022.

[16] COOPER T E, TENG C, HOWELL M, et al. D-mannose for preventing and treating urinary tract infections[J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2022, 8(8): CD013608.

[17] HANSSON M, GUSTAFSSON R, JACQUET C, et al. Cystatin C and α 1-microglobulin predict severe acute kidney injury in patients with hemorrhagic fever with renal syndrome[J]. *Pathogens*, 2020, 9(8): 666.

[18] 张满生, 杨爱华, 张小云, 等. 尿 α 1-微球蛋白检测在尿路感染定位诊断中的意义[J]. *中国中西医结合肾病杂志*, 2012, 13(9): 830-831.

[19] 樊进军, 吕中一, 于宪芹, 等. 木犀草素对反复尿路感染大鼠模型尿路上皮屏障的影响[J]. *中华医院感染学杂志*, 2024, 34(11): 1658-1662.

[20] XIANGCHEN G U, QIU M S, XIE L, et al. Individualized traditional Chinese medicine treatment antibiotics for recurrent urinary tract infections: a multicenter, randomized controlled study[J]. *J Tradit Chin Med*, 2024, 44(3): 524-529.

[21] 龙大治, 黄金球, 颜丽艳, 等. 原花青素改善尿路感染所致膀胱损伤的机制研究[J]. *中国临床药理学杂志*, 2022, 38(19): 2291-2295.

[22] YANG F M, FAN D, YANG X Q, et al. The artemisinin analog SM934 alleviates dry eye disease in rodent models by regulating TLR4/NF- κ B/NLRP3 signaling[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2021, 42(4): 593-603.

[23] CAI Q Y, ZHAO C Y, XU Y Y, et al. Qingda granule alleviates cerebral ischemia/reperfusion injury by inhibiting TLR4/NF- κ B/NLRP3 signaling in microglia[J]. *J Ethnopharmacol*, 2024, 324: 117712.

[24] 谭令. 三草降压汤对 SHR 肾脏 TLR4/NF- κ B/NLRP3 信号通路调控的研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2020.

(收稿日期: 2025-04-28 修回日期: 2025-09-01)

(编辑: 唐晓莲)