

基于 HIF-1 α /PKM2 信号通路探讨保肾排毒汤对脓毒症相关急性肾损伤的作用机制

黄瑞峰¹ 张晓雨¹ 侯军德¹ 李兰²

¹贵州中医药大学第一临床医学院, 贵州贵阳 550025; ²贵州中医药大学第一附属医院重症医学科, 贵州贵阳 550001

通信作者: 李兰, Email: yunlanglee@163.com

【摘要】 目的 探讨保肾排毒汤对脓毒症相关急性肾损伤(SA-AKI)的保护作用及其与低氧诱导因子-1 α (HIF-1 α)/M2型丙酮酸激酶(PKM2)信号通路的关系。方法 选择60只SD大鼠按随机数字表法分为正常对照组、模型组、地塞米松组、保肾排毒汤低、中、高剂量组,每组10只。正常对照组、模型组均连续灌胃生理盐水;保肾排毒汤低、中、高剂量组给予保肾排毒汤14.375、28.750、57.500 g/kg;地塞米松组单次腹腔注射塞米松10 mg/kg。各组均连续给药7 d,于末次灌胃1 h后采用单次腹腔注射脂多糖10 mg/kg的方法复制SA-AKI模型,正常对照组给予等量生理盐水。观察大鼠一般状态评分;采用苏木素-伊红(HE)染色观察肾组织病理学变化;采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测血清白细胞介素-1 β (IL-1 β)、胱抑素-C(Cys-C)、乳酸(Lac)及乳酸脱氢酶(LDH)水平;采用蛋白质免疫印迹试验(Western blotting)检测肾组织HIF-1 α 、PKM2及血管内皮生长因子(VEGF)蛋白表达水平。结果 与模型组相比,保肾排毒汤中、高剂量可显著改善SA-AKI大鼠一般状态评分(分:15.85 \pm 2.71、10.33 \pm 2.50比21.50 \pm 1.38,均 P <0.05),明显减轻肾组织病理学损伤,降低血清IL-1 β (ng/L:44.05 \pm 6.40、26.13 \pm 4.17比66.14 \pm 6.86)、Cys-C(mg/L:644.10 \pm 53.47、549.02 \pm 74.49比887.23 \pm 82.56)、Lac(mmol/L:1862.02 \pm 62.52、1561.63 \pm 214.19比2732.79 \pm 215.22)及LDH(μ mol \cdot s⁻¹ \cdot L⁻¹:0.134 \pm 0.015、0.097 \pm 0.017比0.197 \pm 0.016)水平(P <0.05或 P <0.01),以保肾排毒汤高剂量组的效果更为明显(均 P <0.01);同时可显著抑制肾组织中HIF-1 α 、PKM2和VEGF的蛋白过度表达(均 P <0.05)。而阳性药物地塞米松的作用效果与保肾排毒汤高剂量组相当[一般状态评分(分):12.17 \pm 0.76比10.33 \pm 2.50,IL-1 β (ng/L):33.94 \pm 6.03比26.13 \pm 4.17,Cys-C(mg/L):698.32 \pm 47.67比549.02 \pm 74.49,Lac(mmol/L):1957.15 \pm 144.97比1561.63 \pm 214.19,LDH(μ mol \cdot s⁻¹ \cdot L⁻¹):0.123 \pm 0.011比0.097 \pm 0.017,均 P >0.05]。结论 保肾排毒汤通过抑制HIF-1 α /PKM2信号通路,纠正肾脏皮质区病理性糖酵解亢进,减轻炎症反应和肾组织损伤,从而发挥对SA-AKI肾脏的保护作用。

【关键词】 保肾排毒汤; 脓毒症相关急性肾损伤; 低氧诱导因子-1 α /M2型丙酮酸激酶信号通路; 糖酵解; 炎症

基金项目:国家自然科学基金地区基金资助项目(82560924);国家中医优势专科建设项目(2024910905);中医药、民族医药重点学科建设项目[QZYZZDXK(JS)-2023-02];贵州中医药大学研究生科研基金项目(YCXKYB2024002)

DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2026.02.006

Exploring the mechanism of Baoshen Paidu decoction on sepsis-associated acute kidney injury based on the hypoxia-inducible factor-1 α /pyruvate kinase M2 signaling pathway

Huang Ruifeng¹, Zhang Xiaoyu¹, Hou Junde¹, Li Lan²

¹The First School of Clinical Medicine, Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550025, Guizhou, China; ²The First Affiliated Hospital of Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550001, Guizhou, China

Corresponding author: Li Lan, Email: yunlanglee@163.com

【Abstract】 Objective To investigate the protective effect of Baoshen Paidu decoction on sepsis-associated acute kidney injury (SA-AKI) and its relationship with the hypoxia-inducible factor-1 α (HIF-1 α)/pyruvate kinase M2 (PKM2) signaling pathway. **Methods** Sixty Sprague-Dawley (SD) rats were randomly divided into 6 groups using the random number table method: normal control group, model group, dexamethasone group, and low-, medium- and high-dose Baoshen Paidu decoction groups, with 10 rats in each group. Rats in the normal control group and model group were intragastrically administered normal saline continuously. The low-, medium- and high-dose Baoshen Paidu decoction groups were given Baoshen Paidu decoction at doses of 14.375, 28.750 and 57.500 g/kg respectively. The dexamethasone group received a single intraperitoneal injection of dexamethasone at 10 mg/kg. All groups were treated continuously for 7 days. One hour after the last intragastric administration, a single intraperitoneal injection of lipopolysaccharide (10 mg/kg) was performed to establish the sepsis-associated acute kidney injury (SA-AKI) model, while the normal control group was injected with an equal volume of normal saline. The general status scores of rats were observed. Renal histopathological changes were observed by hematoxylin-eosin (HE) staining. Serum levels of interleukin-1 β (IL-1 β), cystatin C (Cys-C), lactic acid (Lac), and lactate dehydrogenase (LDH) were detected by enzyme-linked immunosorbent

assay (ELISA). The protein expressions of HIF-1 α , PKM2, and vascular endothelial growth factor (VEGF) in renal tissues were detected by Western blotting. **Results** Compared with the model group, the medium- and high-dose Baoshen Paidu decoction groups showed significantly reduced general status scores in SA-AKI rats (15.85 ± 2.71 and 10.33 ± 2.50 vs. 21.50 ± 1.38 , both $P < 0.05$), and renal histopathological injury was markedly alleviated, serum levels of IL-1 β (ng/L: 44.05 ± 6.40 and 26.13 ± 4.17 vs. 66.14 ± 6.86), Cys-C (mg/L: 644.10 ± 53.47 and 549.02 ± 74.49 vs. 887.23 ± 82.56), Lac (mmol/L: $1\ 862.02 \pm 62.52$ and $1\ 561.63 \pm 214.19$ vs. $2\ 732.79 \pm 215.22$), and LDH ($\mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$: 0.134 ± 0.015 , 0.097 ± 0.017 vs. 0.197 ± 0.016) were significantly reduced ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), with more pronounced effects observed in the high-dose Baoshen Paidu decoction group (all $P < 0.01$). Meanwhile, the excessive protein expression of HIF-1 α , PKM2, and VEGF in renal tissues were significantly inhibited (all $P < 0.05$). The effects of the positive drug dexamethasone were comparable to those of high-dose Baoshen Paidu decoction [general status score: 12.17 ± 0.76 vs. 10.33 ± 2.50 , IL-1 β (ng/L): 33.94 ± 6.03 vs. 26.13 ± 4.17 , Cys-C (mg/L): 698.32 ± 47.67 vs. 549.02 ± 74.49 , Lac (mmol/L): $1\ 957.15 \pm 144.97$ vs. $1\ 561.63 \pm 214.19$; LDH ($\mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$): 0.123 ± 0.011 vs. 0.097 ± 0.017 ; all $P > 0.05$]. **Conclusion** Baoshen Paidu decoction exerts a protective effect against on kidneys SA-AKI by inhibiting the HIF-1 α /PKM2 signaling pathway, correcting pathological hyperactivation of glycolysis in the renal cortical region, and alleviating inflammatory responses and renal tissue injury.

【Key words】 Baoshen Paidu decoction; Sepsis-associated acute kidney injury; Hypoxia-inducible factor-1 α /pyruvate kinase M2 signaling pathway; Glycolysis; Inflammation

Fund program: National Natural Science Foundation of China Regional Fund Project (82560924); National Traditional Chinese Medicine Advantage Specialty Construction Project (2024910905); Key Discipline Construction Project of Traditional Chinese Medicine and Ethnic Medicine [QZYZZDXK (JS)-2023-02]; Graduate Research Fund Project of Guizhou University of Traditional Chinese Medicine (YCXKYB2024002)

DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2026.02.006

脓毒症相关急性肾损伤 (sepsis-associated acute kidney injury, SA-AKI) 被定义为发生脓毒症时 7 d 内出现 AKI。一项纳入 187 888 例成人重症监护病房 (intensive care unit, ICU) 患者的回顾性队列研究显示, 约 50% 的脓毒症患者会发生 SA-AKI, 且较单纯脓毒症或单纯 AKI 具有较高的病死率^[1-2]。SA-AKI 的病理机制复杂, 涉及炎症风暴、微循环功能障碍、氧化应激和细胞代谢重编程等多个方面^[3-4]。尽管目前临床上器官支持治疗技术不断进步, 但对 SA-AKI 仍缺乏特异性的靶向治疗药物^[5]。因此, 深入探索 SA-AKI 的分子机制并优化干预策略已成为危重病医学领域的研究热点。

近年来, 以巨噬细胞、中性粒细胞等免疫细胞与肾近端小管上皮细胞在脓毒症早期从氧化磷酸化向有氧糖酵解的代谢转化为特点的代谢重编程被认为是 SA-AKI 的关键机制^[5]。这种代谢转换不仅导致局部组织酸中毒和功能紊乱, 更能直接激活炎症小体, 促进白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 等促炎因子的暴发性释放, 形成“代谢-炎症”的恶性循环^[6-7]。低氧诱导因子-1 α (hypoxia-inducible factor-1 α , HIF-1 α) 作为糖酵解作用中的关键上游分子, 在脓毒症缺氧条件下代谢转化过程中起着关键作用^[8-9]。在脓毒症状态下, 即使没有严重缺氧, 内毒素等炎症介质也能通过核转录因子- κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 等途径激活 HIF-1 α 。活化的 HIF-1 α 可上调一系列糖酵解相关酶的表达,

其中 M2 型丙酮酸激酶 (pyruvate kinase M2, PKM2) 是关键靶点之一。PKM2 不仅是糖酵解过程中的限速酶, 更是一种重要的蛋白质激酶, 可进入细胞核与 HIF-1 α 形成转录复合物, 共同上调血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 等的基因表达, 进一步加剧血管渗漏和炎症反应^[10-11]。因此, HIF-1 α /PKM2 信号轴构成了连接脓毒症炎症刺激与代谢重编程的核心桥梁, 对其进行干预可能为 SA-AKI 治疗提供新的思路。

中医药在防治脓毒症和多器官功能损伤方面具有独特优势。中医学将 SA-AKI 归属于“关格”范畴, 其核心病机为脾肾阴阳虚衰, 湿热毒瘀内蕴。保肾排毒汤是贵州中医药大学第一附属医院重症医学科李兰教授临床凝练提出的“二证二法”辨证体系下用于防治 SA-AKI 的经验方, 前期研究已证实其对 SA-AKI 大鼠模型肾功能具有保护作用, 能改善肾功能指标 (血肌酐及尿素氮)、减轻氧化应激^[12]。然而, 该方是否能通过调控细胞代谢重编程, 阻断“代谢-炎症”恶性循环, 从而发挥肾脏保护作用, 目前尚不清楚。本研究基于 HIF-1 α /PKM2 信号通路介导的有氧糖酵解这一新机制, 旨在从“代谢-炎症”的角度深入探讨保肾排毒汤治疗 SA-AKI 的作用机制, 从而为其临床推广应用提供坚实的实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物分组与模型制备及给药: 选择 60 只 SD 大鼠, 体质量 180 ~ 220 g, 平均 (200 \pm 20) g。将大鼠按随机数字表法分为正常对照组、模型组、地塞

米松组、保肾排毒汤低、中、高剂量组,每组 10 只。正常对照组、模型组均连续灌胃生理盐水;保肾排毒汤低、中、高剂量组给予保肾排毒汤 14.375、28.750、57.500 g/kg(保肾排毒汤由生大黄 10 g、制附子 10 g、芒硝 10 g、蒲公英 15 g、煅龙骨 30 g、煅牡蛎 30 g、地榆炭 10 g、茯苓 15 g、川芎 6 g 组成。中药材由贵州中医药大学第一附属医院中药房提供,所有中药材浸泡 30 min 后,制附子、煅龙骨、煅牡蛎先煎 1 h,再加入其他药物进行熬制,中药熬好后均浓缩至 140 mL,参考《中药药理研究方法学》大鼠给药量经等效换算后按照成人用药量的 6.3 倍);地塞米松组单次腹腔注射塞米松 10 mg/kg。各组均连续给药 7 d,于末次灌胃 1 h 后采用单次腹腔注射脂多糖 10 mg/kg 的方法复制 SA-AKI 模型,正常对照组给予等量生理盐水。

1.2 伦理学:本实验中动物处置方法符合动物伦理学标准,并由贵州中医药大学动物伦理委员会批准(审批号:20250314004)。

1.3 检测指标及方法:实验结束后大鼠腹主动脉采血,分离血清,-80℃低温冰箱保存待检;取双侧肾脏组织制备于病理学切片检查,其余组织液氮速冻后转入-80℃低温冰箱保存备用。

1.3.1 一般状态观察与评分:按文献[13]方法观察各组大鼠的一般状态,并记录一般状态评分。

1.3.2 肾组织病理学观察:用 4% 的多聚甲醛水溶液固定肾组织,经过脱水、透明、石蜡包埋等过程处理肾组织标本后,制备成 4 μm 厚的切片,行常规苏木素-伊红(hematoxylin-eosin, HE)染色,光学显微镜下观察肾组织形态结构,重点评估肾小球、肾小管病变及炎症细胞浸润情况,并采集图像。

1.3.3 血清指标检测:采用酶联免疫吸附试验(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)检测血清中 IL-1β、乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)、乳酸(lactic acid, Lac)和胱抑素 C(cystatin C, Cys-C)含量,操作严格按照试剂盒说明书要求进行。

1.3.4 肾组织蛋白表达检测:取肾组织采用蛋白质免疫印迹试验(Western blotting)检测肾组织中 HIF-1α/PKM2/VEGF 信号通路蛋白表达,操作严格按照试剂盒说明书步骤进行。

1.4 统计学方法:采用 GraphPad Prism 9.3 软件和 SPSS 26.0 处理数据。计量资料首先进行 Shapiro-Wilk 正态性检验和 Levene 方差齐性检验。符合正态分布且方差齐性的数据以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)

表示,多组间比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA),事后检验采用 SNK-*q* 检验;方差不齐者采用 Welch's ANOVA,事后检验采用 Games-Howell 法。非正态分布数据采用 Kruskal-Wallis *H* 检验,事后检验采用 Dunn's 多重比较。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 保肾排毒汤改善 SA-AKI 大鼠的一般状态:制模 8 h 后各组大鼠均无死亡。正常对照组大鼠各项指标正常。模型组大鼠精神萎靡、竖毛、眼分泌物增多、呼吸减少或者气喘、活动受限,对刺激反应差,病理评分较正常对照组显著升高(分: 21.50 ± 1.38 比 1.83 ± 0.75 , $P < 0.05$)。地塞米松干预后状态明显改善,病理评分(分: 12.17 ± 0.76)较模型组明显降低($P < 0.05$)。保肾排毒汤各剂量组反应呈现剂量依赖性的改善作用,保肾排毒汤低、中、高剂量组病理评分均较模型组明显降低(分: 18.67 ± 0.82 、 15.83 ± 2.71 、 10.33 ± 2.50 比 21.50 ± 1.38 , 均 $P < 0.05$),以保肾排毒汤高剂量组的效果最为显著,但均接近地塞米松组水平。

2.2 保肾排毒汤可减轻肾组织病理损伤(图 1):正常对照组肾小球、肾小管结构清晰完整。模型组可见明显的肾组织损伤,表现为肾小球轻度萎缩、系膜基质增厚、肾小管上皮细胞水肿、空泡变性及脱落,并伴有炎症细胞浸润。保肾排毒汤各剂量组肾组织损伤程度减轻,其中保肾排毒汤低剂量组病变有所减轻但仍明显;保肾排毒汤中和高剂量组肾组织损伤得到显著改善,结构趋于正常,仅见少量上皮细胞肿胀,炎症浸润极少,保肾排毒汤高剂量组保护效果与地塞米松组相近。

2.3 保肾排毒汤可降低血清炎症、损伤及糖酵解标志物水平(表 1):模型组血清 IL-1β、Cys-C、Lac 及 LDH 水平均较正常对照组明显升高(均 $P < 0.01$),证实了严重的全身炎症、肾功能损伤及糖酵解亢进。保肾排毒汤各剂量均能不同程度地逆转上述指标的异常升高,其中保肾排毒汤中、高剂量组的改善作用尤为显著,且呈现出明确的剂量依赖性关系。地塞米松组也表现出显著的改善效果,与模型组比较差异有统计学意义($P < 0.01$),但在数据上介于保肾排毒汤中、高剂量组之间。

2.4 保肾排毒汤可抑制肾组织中 HIF-1α/PKM2/VEGF 信号通路的激活(表 2;图 2):与正常对照组比较,模型组大鼠肾组织中 HIF-1α、PKM2 及 VEGF

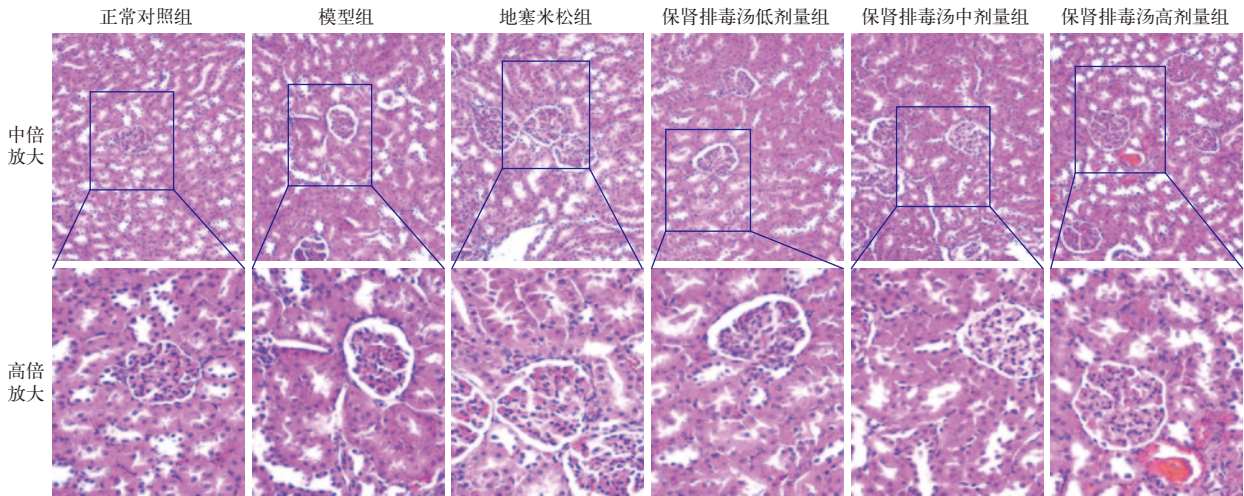


图 1 保肾排毒汤对 SA-AKI 大鼠肾组织病理学损伤的影响 HE 染色

表 1 各组 SA-AKI 大鼠血清指标检测结果 ($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数 (只)	IL-1 β (ng/L)	Cys-C (mg/L)
正常对照组	6	19.51 \pm 5.06	456.60 \pm 66.03
模型组	6	66.14 \pm 6.86 ^a	887.23 \pm 82.56 ^a
地塞米松组	6	33.94 \pm 6.03 ^c	698.32 \pm 47.67 ^c
保肾排毒汤低剂量组	6	55.93 \pm 7.59	800.61 \pm 30.43
保肾排毒汤中剂量组	6	44.05 \pm 6.40 ^b	644.10 \pm 53.74 ^b
保肾排毒汤高剂量组	6	26.13 \pm 4.17 ^c	549.02 \pm 74.49 ^c

组别	动物数 (只)	Lac (mmol/L)	LDH ($\mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$)
正常对照组	6	1 347.92 \pm 126.78	0.076 \pm 0.017
模型组	6	2 732.79 \pm 215.22 ^a	0.197 \pm 0.016 ^a
地塞米松组	6	1 957.15 \pm 144.97 ^b	0.123 \pm 0.011 ^b
保肾排毒汤低剂量组	6	2 294.20 \pm 243.04	0.158 \pm 0.021
保肾排毒汤中剂量组	6	1 862.02 \pm 62.52 ^c	0.134 \pm 0.015 ^c
保肾排毒汤高剂量组	6	1 561.63 \pm 214.19 ^b	0.097 \pm 0.017 ^b

注：与正常对照组比较，^a $P < 0.01$ ；与模型组比较，^b $P < 0.01$ ，^c $P < 0.05$

的蛋白表达水平均显著升高(均 $P < 0.01$)，其表达量分别为正常对照组的 3.1、1.5 和 1.3 倍。干预后，各治疗组上述蛋白的异常高表达均得到不同程度抑制，且保肾排毒汤呈剂量依赖性调控作用，以高剂量组的抑制作用最为显著。保肾排毒汤高剂量组 HIF-1 α 、PKM2 和 VEGF 的蛋白表达水平均较模型组分别降低 29.2%、25.7% 和 24.8%(均 $P < 0.05$)，其效果与地塞米松组相近。而保肾排毒汤中、低剂量组上述蛋白表达水平均未见显著影响(均 $P > 0.05$)。

3 讨论

尽管支持治疗技术不断进步，SA-AKI 仍与高病死率和长期不良预后密切相关^[14-15]。本研究通过构建 LPS 诱导的 SA-AKI 大鼠模型，从代谢与炎症交叉调控的角度系统阐释了保肾排毒汤的肾保护

表 2 各组 SA-AKI 大鼠 HIF-1 α 、PKM2、VEGF 信号通路蛋白表达水平的比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数 (只)	HIF-1 α 蛋白表达 (HIF-1 α / β -actin)	PKM2 蛋白表达 (PKM2/ β -actin)	VEGF 蛋白表达 (VEGF/ β -actin)
正常对照组	3	0.26 \pm 0.09	0.66 \pm 0.08	0.60 \pm 0.03
模型组	3	0.80 \pm 0.02 ^a	0.97 \pm 0.05 ^a	0.80 \pm 0.03 ^a
地塞米松组	3	0.50 \pm 0.17 ^b	0.71 \pm 0.10 ^b	0.46 \pm 0.05 ^c
保肾排毒汤低剂量组	3	0.90 \pm 0.11	0.98 \pm 0.04	0.75 \pm 0.10
保肾排毒汤中剂量组	3	0.75 \pm 0.10	0.80 \pm 0.10	0.67 \pm 0.05
保肾排毒汤高剂量组	3	0.50 \pm 0.17 ^b	0.73 \pm 0.08 ^b	0.55 \pm 0.06 ^c

注：与正常对照组比较，^a $P < 0.05$ ；与模型组比较，^b $P < 0.05$ ，^c $P < 0.01$

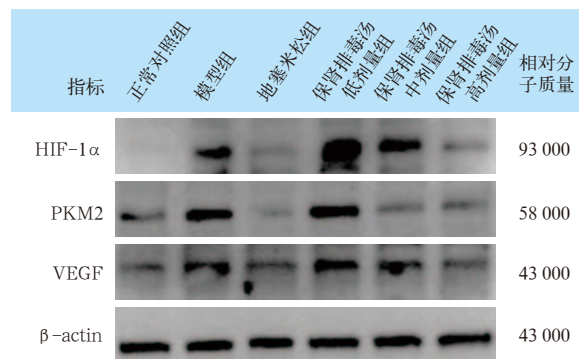


图 2 保肾排毒汤对 SA-AKI 大鼠肾组织 HIF-1 α /PKM2/VEGF 信号通路蛋白表达的影响

机制。实验结果表明，保肾排毒汤能显著改善模型大鼠的一般状态及肾组织病理学损伤，其作用机制与下调 HIF-1 α /PKM2 信号通路、纠正糖酵解代谢紊乱、减轻炎症反应密切相关。具体分析表现为：保肾排毒汤通过抑制 HIF-1 α /PKM2 信号通路调控 SA-AKI 糖酵解，降低血清 Lac 及 LDH 水平，减少

炎症因子 IL-1 β 释放及 VEGF 的生成,从而发挥对 SA-AKI 大鼠的肾脏保护作用。

近年来,细胞代谢重编程,特别是从氧化磷酸化向有氧糖酵解的转换,被认为是 SA-AKI 病理演进的核心环节^[16]。在 LPS 等病原相关分子模式刺激下,肾脏固有细胞发生显著的代谢重构,其特征是从高效的有氧氧化向低效的糖酵解转变^[17]。这种代谢转换虽能短时间内快速产生三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)以满足应激状态下细胞能量需求,但长期持续会导致 Lac 堆积和微环境酸化,进而加剧组织损伤^[12, 18]。本研究观察到,模型组大鼠血清 Lac 和 LDH 水平显著升高,直接证实了糖酵解过度激活在 SA-AKI 发病中的重要作用。最新研究表明, Lac/白蛋白作为一种新型生物标志物,以糖酵解的代谢重编程机制在 SA-AKI 发病中的重要作用^[19]。Tang 等^[17]研究发现,2-脱氧葡萄糖等糖酵解抑制剂对 SA-AKI 小鼠具有保护作用。

HIF-1 α 作为细胞应对缺氧的核心调控因子,在 SA-AKI 的发病中扮演着“双刃剑”的角色:早期其适度的激活可能具有细胞保护性,但持续、过度的激活则有害^[20-21]。HIF-1 α 调节多种糖酵解酶和促炎细胞因子的表达,与缺氧适应、血管形成、炎症发展等多种生物学过程有关, LPS 也可通过 Toll 样受体 4(Toll-like receptors 4, TLR4)/NF- κ B 等炎症信号通路稳定 HIF-1 α 蛋白。本研究证实 LPS 刺激后,大鼠肾组织 HIF-1 α 蛋白明显堆积, LDH 表达及 IL-1 β 释放增加,这与既往研究结果一致^[22-23]。而保肾排毒汤能有效抑制 HIF-1 α 的蛋白积累、LDH 表达及 IL-1 β 释放,提示其可能通过多重途径中断这一恶性循环的起始环节。

PKM2 作为糖酵解途径的最后一个限速酶,对于维持生物体能量供应和代谢平衡至关重要,其四聚体形式促进葡萄糖高效氧化,而二聚体形式则有利于糖酵解中间产物积累,用于生物合成并具有非代谢功能^[24-26]。在脓毒症状态下,四聚体 PKM2 变构调节最终解离为二聚体形式,可入核作为转录辅激活因子,与 HIF-1 α 协同上调促炎和促血管生成基因表达^[27]。此外, HIF-1 α 还可直接转录上调 PKM2 的表达,而 PKM2 二聚体又能作为 HIF-1 α 的共激活因子,放大其转录活性,形成正反馈环路,共同促进 VEGF 等的基因表达,加剧炎症和血管渗漏。本研究结果表明, SA-AKI 模型组大鼠 PKM2 蛋白表达显著增加,这通常与其二聚体形式的增加相关,

从而驱动了以有氧糖酵解增强为特征的病理性代谢重编程。而保肾排毒汤能同时下调 HIF-1 α 和 PKM2 的蛋白表达,有效阻断 HIF-1 α /PKM2 这一正反馈环路,这可能是保肾排毒汤发挥肾保护作用的核心机制。

过度糖酵解的直接后果是 Lac 大量生成和堆积。本研究通过检测 Lac 和 LDH 水平,证实了模型组糖酵解通量的急剧升高。Lac 不仅是代谢废物,其本身也是一种信号分子,可通过 G 蛋白耦联受体 81(G protein-coupled receptor 81, GPR81)促进炎症因子的表达,并能抑制免疫细胞功能,形成免疫抑制微环境^[28-29]。本研究结果显示,保肾排毒汤在降低 Lac 和 LDH 的同时,也显著降低了促炎因子 IL-1 β 和肾损伤标志物 Cys-C 的水平,并改善了组织病理学损伤,这为其肾保护作用提供了另一个可能的作用机制。

保肾排毒汤是贵州省名中医李兰教授经验方,长期应用于临床,疗效显著,全国中医药行业高等教育“十四五”规划教材《中医急诊学》中关格辨证也是采用李兰教授“二证二法”学术思想,并推荐使用保肾排毒汤。保肾排毒汤中的生大黄泻下攻积、祛瘀排毒,制附子温补肾阳,补泻兼施、寒温并用共为君药;芒硝、蒲公英清热解毒为臣药,助君药以增强驱邪之力;茯苓健脾利湿,固护正气;煅龙骨、煅牡蛎、地榆炭敛阴收涩共为佐药,防止君药泻下太过,以扶正祛邪;使药川芎行气活血,血行则气行,使药达病所。全方标本兼顾,祛邪扶正,共奏清热利湿、化瘀解毒、温补脾肾之功效。保肾排毒汤作为一个多成分的中药复方,其作用机制可能是多层次、多靶点协同的。除本研究聚焦的代谢调控外,还可能通过抗氧化应激、抑制细胞凋亡、调节肠道菌群等其他途径协同发挥肾保护作用。现代药理学研究表明,大黄素可抑制 LPS 诱导的 TLR4 表达^[30],下调 TNF- α 和 IL-6 合成,鉴于 LPS 通过 TLR4/NF- κ B 通路稳定 HIF-1 α ,推测大黄素可能从上游阻断 HIF-1 α 的非缺氧依赖性激活,从而发挥肾脏保护作用,这有待进一步验证。本研究显示,高剂量保肾排毒汤组的效果与地塞米松相当,且中药复方具有整体调节、不良反应较小的优点。未来的研究可进一步利用 PKM2 特异性抑制剂或激动剂、HIF-1 α 基因敲除动物等更精确地验证这一通路中的因果关系,并深入分析该复方中的活性成分及其直接作用靶点。

本实验存在一定的局限性：本研究基于前期课题组的实验效应仅将 8 h 作为研究时间点，未能对 SA-AKI 中炎症因子、Lac 水平变化进行动态观察，未来的研究可增加 12 h 和 24 h 等不同时间点观察炎症因子、Lac、肾脏病理等指标变化。本研究从糖酵解能量代谢异常角度探究 SA-AKI，但未应用透射电镜观察肾脏细胞线粒体等亚细胞器结构变化，因此未来进一步研究可从细胞器结构的角度分析 SA-AKI 肾组织细胞结构变化，深入探讨其发病机制。

综上所述，保肾排毒汤对 LPS 诱导的 SA-AKI 大鼠模型具有显著的肾脏保护作用，其机制是通过抑制 HIF-1 α /PKM2 信号通路，纠正肾脏皮质区病理糖酵解亢进，减少 Lac 生成，进而抑制 IL-1 β 等促炎因子的释放，最终减轻肾组织的炎症损伤。本研究提示 HIF-1 α /PKM2 轴可作为防治 SA-AKI 的潜在新靶点，为保肾排毒汤的临床转化应用提供了重要的理论支持。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- Zarbock A, Nadim MK, Pickkers P, et al. Sepsis-associated acute kidney injury: consensus report of the 28th Acute Disease Quality Initiative workgroup [J]. *Nat Rev Nephrol*, 2023, 19 (6): 401–417. DOI: 10.1038/s41581-023-00683-3.
- Takeuchi T, Flannery AH, Liu LJ, et al. Epidemiology of sepsis-associated acute kidney injury in the ICU with contemporary consensus definitions [J]. *Crit Care*, 2025, 29 (1): 128. DOI: 10.1186/s13054-025-05351-5.
- Evans L, Rhodes A, Alhazzani W, et al. Surviving Sepsis Campaign: international guidelines for management of sepsis and septic shock 2021 [J]. *Crit Care Med*, 2021, 49 (11): e1063–e1143. DOI: 10.1097/CCM.0000000000005337.
- An S, Yao Y, Hu HB, et al. PDHA1 hyperacetylation-mediated lactate overproduction promotes sepsis-induced acute kidney injury via Fis1 lactylation [J]. *Cell Death Dis*, 2023, 14 (7): 457. DOI: 10.1038/s41419-023-05952-4.
- Liu CH, Wei W, Huang YX, et al. Metabolic reprogramming in septic acute kidney injury: pathogenesis and therapeutic implications [J]. *Metabolism*, 2024, 158: 155974. DOI: 10.1016/j.metabol.2024.155974.
- 邵卢晶, 王春霞, 张育才. 固有免疫细胞代谢重编程调控脓毒症免疫稳态的研究进展 [J]. *中华危重病急救医学*, 2019, 31 (7): 910–912. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2019.07.023.
- Liu AB, Tan B, Yang P, et al. The role of inflammatory response and metabolic reprogramming in sepsis-associated acute kidney injury: mechanistic insights and therapeutic potential [J]. *Front Immunol*, 2024, 15: 1487576. DOI: 10.3389/fimmu.2024.1487576.
- Cheng SL, Li YF, Sun XL, et al. The impact of glucose metabolism on inflammatory processes in sepsis-induced acute lung injury [J]. *Front Immunol*, 2024, 15: 1508985. DOI: 10.3389/fimmu.2024.1508985.
- Li ZL, Lv LL, Tang TT, et al. HIF-1 α inducing exosomal microRNA-23a expression mediates the cross-talk between tubular epithelial cells and macrophages in tubulointerstitial inflammation [J]. *Kidney Int*, 2019, 95 (2): 388–404. DOI: 10.1016/j.kint.2018.09.013.
- Yang LC, Xie M, Yang MH, et al. PKM2 regulates the Warburg effect and promotes HMGB1 release in sepsis [J]. *Nat Commun*, 2014, 5: 4436. DOI: 10.1038/ncomms5436.
- Xie M, Yu Y, Kang R, et al. PKM2-dependent glycolysis promotes NLRP3 and AIM2 inflammasome activation [J]. *Nat Commun*, 2016, 7: 13280. DOI: 10.1038/ncomms13280.
- 黄瑞峰, 李兰, 徐月芳, 等. 保肾排毒汤对脓毒症大鼠急性肾损伤的作用机制研究 [J]. *时珍国医国药*, 2023, 34 (10): 2388–2391. DOI: 10.3969/j.issn.1008-0805.2023.10.20.
- Shrum B, Anantha RV, Xu SX, et al. A robust scoring system to evaluate sepsis severity in an animal model [J]. *BMC Res Notes*, 2014, 7: 233. DOI: 10.1186/1756-0500-7-233.
- Aguilar MG, AlHussen HA, Gandhi PD, et al. Sepsis-associated acute kidney injury: pathophysiology and treatment modalities [J]. *Cureus*, 2024, 16 (12): e75992. DOI: 10.7759/cureus.75992.
- Monard C, Bianchi N, Kelevina T, et al. Epidemiology and outcomes of early versus late septic acute kidney injury in critically ill patients: a retrospective cohort study [J]. *Anaesth Crit Care Pain Med*, 2024, 43 (1): 101332. DOI: 10.1016/j.acepm.2023.101332.
- Cao ML, Zhao XQ, Xia F, et al. Mitochondrial dysfunction and metabolic reprogramming in acute kidney injury: mechanisms, therapeutic advances, and clinical challenges [J]. *Front Physiol*, 2025, 16: 1623500. DOI: 10.3389/fphys.2025.1623500.
- Tang WB, Wei QQ. The metabolic pathway regulation in kidney injury and repair [J]. *Front Physiol*, 2023, 14: 1344271. DOI: 10.3389/fphys.2023.1344271.
- 张丽, 王毅, 于湘友. 基于肠-肾轴的脓毒症相关性急性肾损伤的研究进展 [J]. *中华危重病急救医学*, 2023, 35 (3): 329–333. DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20230131-00051.
- Hua YM, Ding N, Jing HZ, et al. Association between the lactate-to-albumin ratio (LAR) index and risk of acute kidney injury in critically ill patients with sepsis: analysis of the MIMIC-IV database [J]. *Front Physiol*, 2025, 16: 1469866. DOI: 10.3389/fphys.2025.1469866.
- Ruan H, Zhang Q, Zhang YP, et al. Unraveling the role of HIF-1 α in sepsis: from pathophysiology to potential therapeutics—a narrative review [J]. *Crit Care*, 2024, 28 (1): 100. DOI: 10.1186/s13054-024-04885-4.
- Avendaño-Ortiz J, Redondo-Calvo FJ, Lozano-Rodríguez R, et al. Thiosulfate-enriched allium sativum extract exhibits differential effects between healthy and sepsis patients: the implication of HIF-1 α [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24 (7): 6234. DOI: 10.3390/ijms24076234.
- Diao RX, Lv WY, Wang YC, et al. Aquaporin-1 Facilitates macrophage M1 polarization by enhancing glycolysis through the activation of HIF1 α in lipopolysaccharide-induced acute kidney injury [J]. *Inflammation*, 2025, 48 (4): 1775–1790. DOI: 10.1007/s10753-024-02154-8.
- Kang P, Cheng F. Mechanisms and therapeutic prospects of hypoxia-inducible factor 1-alpha in acute kidney injury: a systematic review [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2025, 13: 1660433. DOI: 10.3389/fcell.2025.1660433.
- Wang S, Zhang H, Du BL, et al. Fuzzy planar cell polarity gene (FUZ) promotes cell glycolysis, migration, and invasion in non-small cell lung cancer via the phosphoinositide 3-kinase/protein kinase B pathway [J]. *J Cancer*, 2022, 13 (8): 2419–2429. DOI: 10.7150/jca.63152.
- Palsson-McDermott EM, Curtis AM, Goel G, et al. Pyruvate kinase M2 regulates Hif-1 α activity and IL-1 β induction and is a critical determinant of the Warburg effect in LPS-activated macrophages [J]. *Cell Metab*, 2015, 21 (2): 347. DOI: 10.1016/j.cmet.2015.01.017.
- Sun HJ, Zheng GL, Wang ZC, et al. Chicoric acid ameliorates sepsis-induced cardiomyopathy via regulating macrophage metabolism reprogramming [J]. *Phytomedicine*, 2024, 123: 155175. DOI: 10.1016/j.phymed.2023.155175.
- Toller-Kawahisa JE, Hiroki CH, Silva C, et al. The metabolic function of pyruvate kinase M2 regulates reactive oxygen species production and microbial killing by neutrophils [J]. *Nat Commun*, 2023, 14 (1): 4280. DOI: 10.1038/s41467-023-40021-6.
- Llibre A, Kucuk S, Gope A, et al. Lactate: a key regulator of the immune response [J]. *Immunity*, 2025, 58 (3): 535–554. DOI: 10.1016/j.immuni.2025.02.008.
- Chen J, Huang ZY, Chen Y, et al. Lactate and lactylation in cancer [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2025, 10 (1): 38. DOI: 10.1038/s41392-024-02082-x.
- Zhu XL, Wang YJ, Yang YZ, et al. Suppression of lipopolysaccharide-induced upregulation of toll-like receptor 4 by emodin in mouse proximal tubular epithelial cells [J]. *Mol Med Rep*, 2012, 6 (3): 493–500. DOI: 10.3892/mmr.2012.960.

(收稿日期: 2026-01-26)

(责任编辑: 邸美仙)