

本文引文格式:方璇,方浩然,王可祥,等. GSDMD 介导的焦亡通路在 TMAO 诱导小鼠肾脏损伤的调控作用[J]. 右江民族医学院学报, 2026, 48(4): 517-523, 573.

【论著与临床报道】

GSDMD 介导的焦亡通路在 TMAO 诱导小鼠肾脏损伤的调控作用

方璇^{1,2}, 方浩然¹, 王可祥¹, 邵德翠^{1,2}

(1. 皖南医科大学生理学与神经生物学教研室, 安徽 芜湖 241002;

2. 皖南医科大学细胞电生理研究室, 安徽 芜湖 241002)

摘要:目的 探讨消皮素 D(GSDMD)在三甲胺 N-氧化物(TMAO)诱导的小鼠肾脏损伤中的作用。方法 将野生型小鼠与 GSDMD 基因敲除(GSDMD^{-/-})小鼠随机分为 4 组:对照组、TMAO 组、TMAO+GSDMD^{-/-}组、GSDMD^{-/-}组。通过检测小鼠血肌酐(Scr)、血尿素氮(BUN)及尿蛋白/肌酐比值(UACR)评估肾脏功能;通过 Masson 染色观察肾组织胶原沉积,蛋白免疫印迹技术分析纤连蛋白(Fibronectin)、I 型胶原蛋白 $\alpha 1$ 链(COL1A1)、NOD 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3(NLRP3)、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-1(Caspase-1)、GSDMD 和白细胞介素-1 β (IL-1 β)的表达。结果 与对照组相比,TMAO 组小鼠 Scr、BUN 及 UACR 水平显著升高,肾脏组织胶原纤维面积增加,Fibronectin、COL1A1 表达显著上调;NLRP3、Caspase-1、GSDMD 和 IL-1 β 蛋白水平显著上升。与 TMAO 组比较,TMAO+GSDMD^{-/-}组小鼠肾功能指标显著下降,肾脏纤维化程度减轻,纤维化相关蛋白表达下调,IL-1 β 表达显著降低。结论 TMAO 激活小鼠肾脏组织 NLRP3/Caspase-1/GSDMD 的焦亡通路,GSDMD 基因的敲除能阻断 TMAO 诱导的肾脏纤维化及 IL-1 β 介导的炎症应答。

关键词:慢性肾脏病;细胞焦亡;三甲胺 N-氧化物;肾脏纤维化

中图分类号:R692

文献标识码: A

文章编号: 1001-5817(2026)04-0517-08

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2026.04.004

Regulatory role of GSDMD-mediated pyroptosis pathway in TMAO-induced renal injury in mice

FANG Xuan^{1,2}, FANG Haoran¹, WANG Kexiang¹, SHAO Decui^{1,2}

(1. Department of Physiology and Neurobiology, Wannan Medical University, Wuhu 241002, Anhui, China; 2. Laboratory of Cellular Electrophysiology, Wannan Medical University, Wuhu 241002, Anhui, China)

Abstract: **Objective** To investigate the role of gasdermin D (GSDMD) in trimethylamine N-oxide (TMAO)-induced renal injury in mice. **Methods** Wild-type (WT) mice and GSDMD knockout (GSDMD^{-/-}) mice were randomly assigned to four groups: control group, TMAO group, TMAO + GSDMD^{-/-} group, and GSDMD^{-/-} group. Renal function was evaluated by assessing serum creatinine (Scr), blood urea nitrogen (BUN), and urinary albumin-to-creatinine ratio (UACR). Masson's staining was performed to observe collagen deposition in renal tissue. Western blotting was used to analyze the protein expression levels of fibronectin, collagen type I $\alpha 1$ chain (COL1A1), NOD-like receptor pyrin domain-containing protein 3 (NLRP3), caspase-1, GSDMD, and interleukin-1 β (IL-1 β). **Results** Compared with the control group, the TMAO group exhibited significantly elevated levels of Scr, BUN and UACR, increased collagen fiber area in renal tissue, markedly upregulated expression of fibronectin and COL1A1, as well as significantly elevated protein levels of NL-

基金项目:国家自然科学基金项目(81400695)

第一作者:方璇,在读硕士研究生,研究方向:肾脏生理及相关疾病研究,E-mail:fangxuan0624@163.com

通讯作者:邵德翠,博士,副教授,研究方向:肾脏生理及相关疾病研究,E-mail:shaodecui@wnmc.edu.cn

RP3, caspase-1, GSDMD and IL-1 β . Compared with the TMAO group, the TMAO + GSDMD-/- group showed significant reductions in renal function parameters, alleviation of renal fibrosis, downregulated expression of fibrosis-related proteins, and a significant decrease in IL-1 β expression. **Conclusion** TMAO activates the NLRP3/caspase-1/GSDMD pyroptosis pathway in mouse renal tissue. GSDMD-knockout blocks TMAO-induced renal fibrosis and IL-1 β -mediated inflammatory response.

Key words: chronic kidney disease; pyroptosis; trimethylamine N-oxide; renal fibrosis

慢性肾脏疾病(chronic kidney disease,CKD)在全球范围内普遍存在,并且 CKD 的患病率和死亡率随着年龄的增长呈现明显增长的趋势,已成为全球十大死亡原因之一,影响了全球 10%~14% 的人口^[1-2]。同时,CKD 显著增加了心血管疾病、感染性疾病等疾病的发病率和死亡率^[3]。进行性纤维化是 CKD 的最终共同的病理特征,表现为不可逆的肾小球硬化、肾小管萎缩、间质性纤维化,并伴随着慢性炎症、细胞外基质的合成,目前临床上仍缺乏有效逆转此过程的治疗方法^[2,4]。

近年来,越来越多的证据表明三甲胺 N-氧化物(trimethylamine N-oxide, TMAO)与 CKD 的发展有着密切的联系。在 CKD 患者中,血液循环中 TMAO 浓度的上升加速疾病的进展和肾功能的下降^[5]。在动物实验研究中,胆碱饮食和腹腔注射 TMAO 诱导肾功能损伤并促进肾脏纤维化^[6]。在人体内,TMAO 由肠道微生物将胆碱、卵磷脂和左旋肉碱代谢为中间产物三甲胺,三甲胺经血液循环输送至肝脏,在黄素单加氧酶 3 催化下生成,最终通过尿液排出体外^[7-8]。当肾功能不全时,TMAO 的排出受到阻碍,血液中的 TMAO 含量上升,进而加重肾脏的损害。然而,TMAO 驱动 CKD 进展的具体分子机制仍未完全阐明。TMAO 诱导 CKD 的机制可能与其激活炎症信号有关,包括增加炎性小体释放,活化半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-1(Caspase-1)^[9-10]。Caspase-1 活化后切割并激活活皮素 D(Gasdermin D, GSDMD),GSDMD 是执行细胞焦亡(一种促炎性程序性细胞死亡)的关键蛋白。激活的 GSDMD 在细胞膜上形成孔道,增强细胞通透性,导致肿胀破裂,诱导细胞死亡^[11],并大量释放 IL-1 β 等炎症内容物;若焦亡过度激活,炎症反应亢进,则会形成一种自我放大的炎症-组织损伤循环,最终造成组织结构与功能的严重损害^[12]。然而,目前关于 GSDMD 介导的焦亡通路是否直接参与 TMAO 诱导的肾纤维化,尚缺乏深入研究。

因此,本研究拟通过构建 TMAO 诱导的小鼠肾损伤模型,结合 GSDMD 基因敲除小鼠,旨在观察肾组织 GSDMD/Caspase-1 焦亡通路的变化,并明确 GSDMD 缺失对 TMAO 相关肾损伤及纤维化的影响以期阐明 CKD 的发病机制提供新视角,并为临床

治疗寻找潜在的分子靶点。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 选用 SPF 级雄性 6~8 周龄 C57BL/6 的野生型小鼠购自南京青龙山实验动物中心,在 21~25℃ 的温度下,维持在 40%~65% 的相对湿度下,维持通风系统,光照和黑暗 12 h 交替循环,并保持饮食充足,定期换垫料。该实验动物已通过皖南医科大学实验动物伦理委员会的审查批准(伦理审批号:WNMC-AWE-2025034)。

1.1.2 主要试剂和仪器 肌酐测定试剂盒(C011-2-1)、尿素氮测定试剂盒(C013-2-1)、微量白蛋白测试盒(H127-1-1)购自南京建成生物工程研究所;Mouse Genotyping Kit(D301)购自新贝生物科技有限公司;2 $\times$ Rapid Taq Master Mix(P222-01)购自南京诺唯赞生物科技股份有限公司;DNA marker(3591A)购自 TaKaRa Bio;Masson 染色试剂盒(G1340)购自北京索莱宝科技有限公司; β -actin 抗体(AC038)、NOD 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3(NLRP3)抗体(A5652)购自爱博泰克生物公司;GSDMD 单克隆抗体(39754T)、Caspase-1 抗体(24232T)、Cleaved-Caspase-1 抗体(89332S)、蛋白免疫印迹技术分析纤连蛋白(Fibronectin)抗体(63779S)、I 型胶原蛋白 α 1 链(COL1A1)抗体(91144S)购自 Cell Signaling Technology;GSDMD 和白细胞介素-1 β (IL-1 β)抗体(GTX44482)购自 Gene Tex;TMAO(T162064)购自阿拉丁生化科技股份有限公司;石蜡切片机(德国 LEICA);烤片机(亚光医用电子技术有限公司);PCR 仪(Bio-Rad 公司);化学发光成像仪(Bio-technique 公司);酶标仪(伯腾仪器有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 小鼠造模与分组 选取 24 只 6~8 周龄的 C57BL/6 野生型小鼠,适应性饲养 1 周后,将小鼠随机分为 4 组($n=6$):对照组、TMAO 1 个月组、TMAO 2 个月组、TMAO 3 个月组。其中 TMAO 各干预组的小鼠每天进行腹腔注射 TMAO(100 μ mol/kg),对照组给予腹腔注射相同剂量的生理盐水。分别于 1 个月、2 个月、3 个月时,在麻醉状态下采集小鼠外周血,随后采用颈椎脱臼法安乐处死,在冰上迅速取

出小鼠的肾脏组织并检测相应的指标,观察不同 TMAO 干预时长对肾脏损伤的影响。另取 6~8 周龄的 16 只 C57BL/6 野生型小鼠和 16 只 GSDMD^{-/-}的基因敲除小鼠在适应环境后,分成 4 组($n=8$):对照组、TMAO 组、TMAO+GSDMD^{-/-}组、GSDMD^{-/-}组,其中 TMAO 和 TMAO+GSDMD^{-/-}组每日腹腔注射 TMAO 持续 3 个月,对照组和 GSDMD^{-/-}组腹腔注射等剂量的生理盐水。3 个月后,统一麻醉下对小鼠采血,安乐处死小鼠后取材,进行后续的实验分析。

1.2.2 血肌酐和血尿素氮的测定 将小鼠血液收集于 1.5 mL 的无菌离心管中,室温静置 1 h,待血液充分凝固和分层。在 5 000 r/min 离心 15 min,使血浆和红细胞分离,取上层血浆转移至离心管中备用或置于一 80 ℃ 冰箱保存。根据肌酐试剂盒和尿素氮试剂盒说明书的步骤进行测定,分别采用肌氨酸氧化酶法和尿酶法,使用酶标仪在特定波长下测定吸光度,依据公式计算出血浆中肌酐(Serum creatinine, Scr)和尿素氮(Blood Urea Nitrogen, BUN)的含量。

1.2.3 尿液的收集 末次腹腔注射结束后,将老鼠置于代谢笼中 24 h,饮食自由,收集 24 h 尿液,避免粮食和粪便污染尿液。收集到的尿液以 3 500 r/min 离心 10 min,吸取上清液,置于一 80 ℃ 冰箱保存。

1.2.4 尿白蛋白/肌酐比值的测定 24 h 尿液在保存过程中如有沉淀形成,则以 3 000 r/min 再次离心 20 min,取上清液待测。根据试剂盒说明书的步骤,采用竞争法检测尿微量白蛋白:在预包被了抗体的酶标孔中加入样本,随后加入生物素标记的抗原,两者竞争结合抗体形成复合物,37 ℃ 孵育 30 min;然后加入亲和素-HRP,37 ℃ 孵育 30 min,最后经 HRP 的催化反应和显色反应,在 450 nm 波长下读取数值,计算出尿白蛋白/肌酐比值(urine albumin-to-creatinine ratio, UACR)的值。

1.2.5 组织蜡块包埋和组织切片 取新鲜肾脏组织,置于 4%多聚甲醛固定液固定 48 h,然后将组织放入包埋框,梯度酒精逐步脱水处理,脱水后梯度二甲苯逐步透明处理,随后浸入石蜡 I 和石蜡 II 各 30 min,将包埋好的蜡块放入切片机,切成 5 μ m 的组织切片,将切好的组织切片转移至防脱玻片上,于 65 ℃ 烘箱中烤片 2 h,随后置于 4 ℃ 冰箱保存。

1.2.6 Masson 染色 将组织切片放入二甲苯中脱蜡,经梯度乙醇复水后,配制好的 Weigert 铁苏木素染细胞核 8 min,酸性乙醇分化 10 s,Masson 蓝化液反蓝 3 min,丽春红品红染色液染色 5~10 min,上述各染色步骤之间均以缓慢流水冲洗 1~3 min。随后用磷钼酸分化,苯胺蓝复染特异性标记胶原纤维,再经弱

酸处理液处理,通过梯度乙醇脱水,采用中性树胶封片,并于倒置显微镜下观察组织纤维化程度。

1.2.7 样本 DNA 提取和 PCR 反应条件 将待测小鼠的脚趾等组织分别置于不同的离心管中,加入 Mouse Genotyping Kit 试剂盒中现配现用的消化液进行裂解,在 55 ℃ 金属浴中消化 15 min,随后升温至 95 ℃ 使蛋白酶活性丧失,以 12 000 r/min 离心 5 min 吸取含有 DNA 片段的上清液。根据 2 $\times$ Rapid Taq Master Mix 试剂盒的使用说明对目标基因进行扩增。引物序列: GSDMD Forward Primer, 5'-CGATG-GAACGTAGTGCTGTG-3'; GSDMD Reverse Primer, 5'-TCCTTCCCAACCTGCTGTTG-3'。反应体系配制: 2 $\times$ Rapid Taq Master Mix, 10 μ L; cDNA 模板, 2 μ L; Forward Primer, 0.5 μ L; Reverse Primer, 0.5 μ L; DNase free H₂O, 7 μ L 扩增程序: 预变性 95 ℃, 3 min; 变性 95 ℃, 1 s; 退火及延伸 65 ℃, 20 s。最终产物保存在 -20 ℃ 冰箱中。

1.2.8 GSDMD 基因敲除鉴定 在锥形瓶中用电泳缓冲液配制 2% 的琼脂糖凝胶,置于微波炉中加热至完全溶解,待温度降至 55 ℃ 时加入溴化乙锭,充分混匀后注入制胶模具中。完全凝固后,将琼脂糖凝胶放入电泳槽中,上样并用 marker 作比较,以电压 130 V 恒压电泳 30 min。采用化学发光成像系统成像,以 marker 为参照物,准确判断条带位置,野生型小鼠条带位于 550 bp,纯合 GSDMD 基因敲除的小鼠条带位于 423 bp,从而成功鉴定所需要的 GSDMD^{-/-}的基因鼠。

1.2.9 Western Blot 称取肾脏组织,加入钢珠及现配的 RIPA 裂解液(内含蛋白酶及磷酸酶抑制剂),匀浆研磨后置于冰上裂解 30 min,4 ℃ 12 000 r/min 离心 15 min,取上清液,并通过 BCA 法测定蛋白质浓度。按 4:1 的比例加入 5 $\times$ 上样缓冲液,高温蛋白变性后将样本加样至 SDS-PAGE 凝胶孔道中,电泳(80 V, 40 min; 120 V, 50 min)分离蛋白,电泳结束后,将蛋白转至 PVDF 膜上,随后用脱脂奶粉于室温封闭 2 h, TBST 洗膜 3 次,每次 10 min,与 β -actin 一抗在 4 ℃ 冰箱孵育过夜,次日,以 TBST 再次洗膜,随后在室温下孵育种属相匹配的二抗 2 h,再次 TBST 洗膜。洗完后即可在显影仪中显影,最后用 ImageJ 分析条带的灰度值。

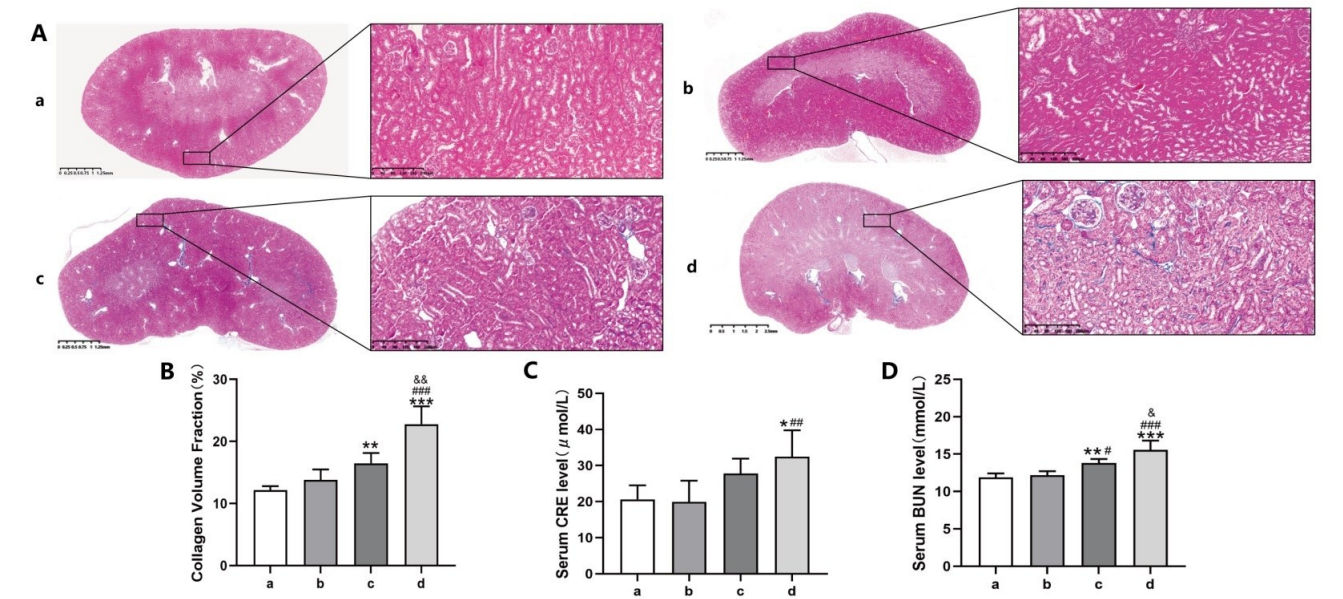
1.3 统计学方法 采用 GraphPad Prism 10.6 软件进行数据分析。两组间的比较用独立样本 t 检验,资料符合正态分布和方差齐性,多组间比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA),以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 不同暴露时长下 TMAO 对肾脏损伤的影响

单因素方差分析结果显示:与对照组相比,TMAO 1 个月组未见明显病理改变,TMAO 3 个月组可见肾小管管腔变形、萎缩及空泡变性;TMAO 3 个月组胶原纤维阳性面积占比显著高于 TMAO 1 个月组($P<0.001$)及 TMAO 2 个月组($P<0.01$)(见图 1A、图 1B)。外周血肾功能指标 Scr 及 BUN 检测结果如图 1C、图 1D 所示,与 TMAO 1 个月组相比,TMAO 3 个月组 Scr 水平显著升高($P<0.01$);BUN 水平在 TMAO 2 个月组较 1 个月组升高($P<0.05$),而 3 个

月组较 1 个月组及 2 个月组显著升高($P<0.001,P<0.05$)。为探究指标随干预时间的动态变化规律,本研究对 TMAO 1 个月、TMAO 2 个月和 TMAO 3 个月组的结果进行了线性趋势分析。结果显示,胶原纤维阳性面积随着干预时间延长呈显著线性上升($F_{1,16}=42.19,P<0.001,R^2=0.705$),Scr 及 BUN 水平亦表现为明显线性升高($F_{1,13}=11.59,P<0.001,R^2=0.4668$; $F_{1,13}=45.66,P<0.001,R^2=0.7783$),提示干预时间与指标变化存在强线性关联。上述结果表明,随 TMAO 暴露时间延长,小鼠肾脏功能损伤程度加重,与肾组织结构损伤趋势一致。

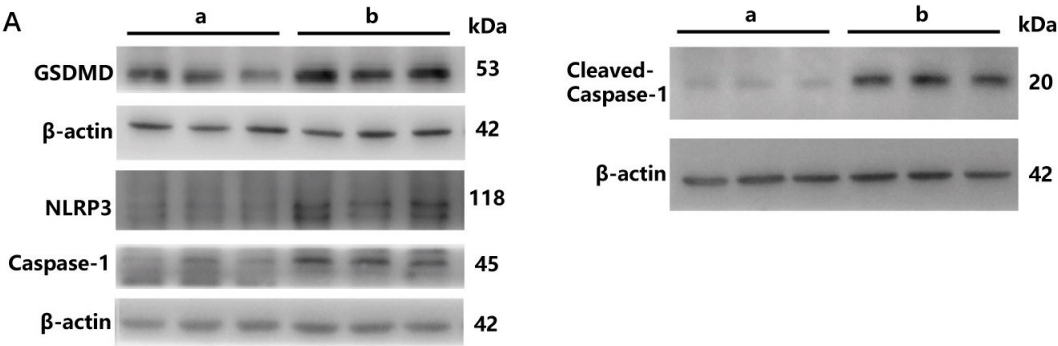


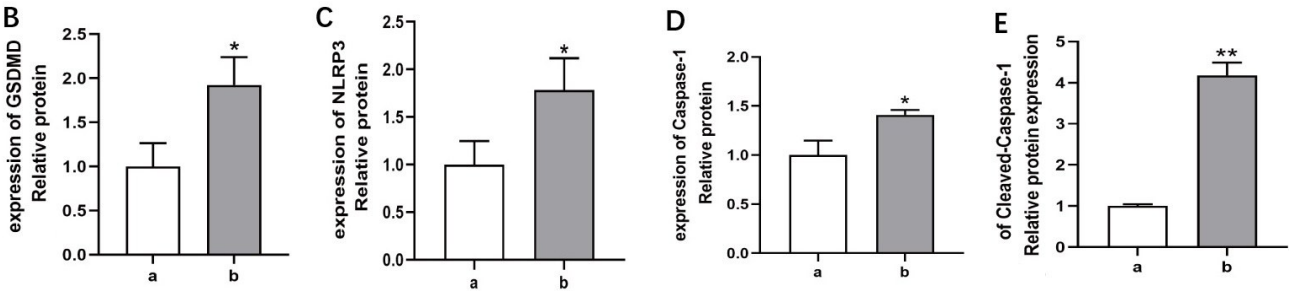
注:A 为各组肾脏组织的 Masson 染色(200×,200 μm);B 为各组胶原纤维的面积占比($n=6$);C、D 为各组小鼠 Scr、BUN 的浓度。
a:对照组,b:TMAO 1 个月组,c:TMAO 2 个月组,d:TMAO 3 个月组。与对照组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$,*** $P<0.001$;
与 TMAO 1 个月组比较,## $P<0.01$,### $P<0.001$;与 TMAO 2 个月组比较,& $P<0.05$,&& $P<0.01$ 。

图 1 肾纤维化及相关肾损伤指标在不同 TMAO 干预时长的变化情况

2.2 TMAO 诱导肾脏发生焦亡 Western Blot 结果显示(见图 2),与对照组相比,TMAO 组小鼠肾脏组织中 GSDMD、NLRP3 蛋白的相对表达量显著上调($P<0.05$),Caspase-1、Cleaved-Caspase-1 的表达量亦明显

升高($P<0.05,P<0.01$),上述结果提示长期的 TMAO 暴露,激活肾脏组织 NLRP3/Caspase-1/GSDMD 焦亡信号通路。

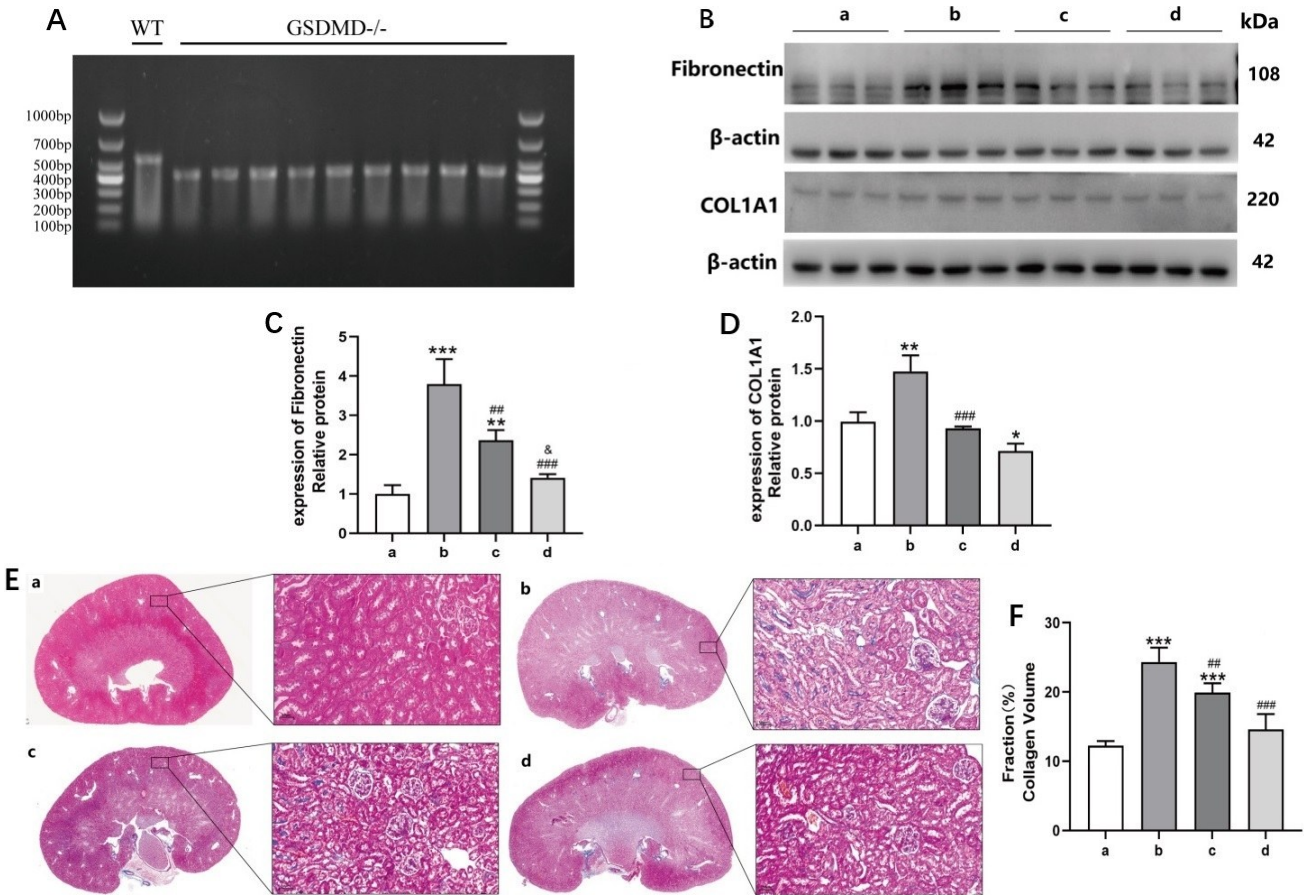




注:A 为 WB 检测 GSDMD、NLRP3、Caspase-1、Cleaved-Caspase-1 的蛋白表达水平;
B~E 为各蛋白的灰度值统计分析。a:对照组,b:TMAO 组。与对照组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$ 。
图 2 TMAO 激活小鼠肾脏组织焦亡途径

2.3 GSDMD 基因敲除缓解 TMAO 诱导的肾脏纤维化 通过基因鉴定确认小鼠基因型(见图 3A)。Western Blot 结果显示(见图 3B~图 3D),与对照组相比,TMAO 组的 Fibronectin、COL1A1 表达水平均显著上调($P<0.001$, $P<0.01$),而 GSDMD 基因敲除本身(GSDMD-/-组)对这两种蛋白的基础表达无显著影响;与 TMAO 组比较,TMAO + GSDMD-/-组

COL1A1 蛋白表达显著下调($P<0.001$),Fibronectin 蛋白的表达亦明显降低($P<0.01$)。Masson 染色结果进一步证实(见图 3E、图 3F),与对照组相比,TMAO 组小鼠肾间质胶原纤维大量沉积,胶原纤维阳性面积占比显著升高($P<0.001$);与 TMAO 组相比,TMAO+GSDMD-/-组小鼠肾脏纤维化病理改变相对减轻,胶原纤维阳性面积占比减少($P<0.01$)。

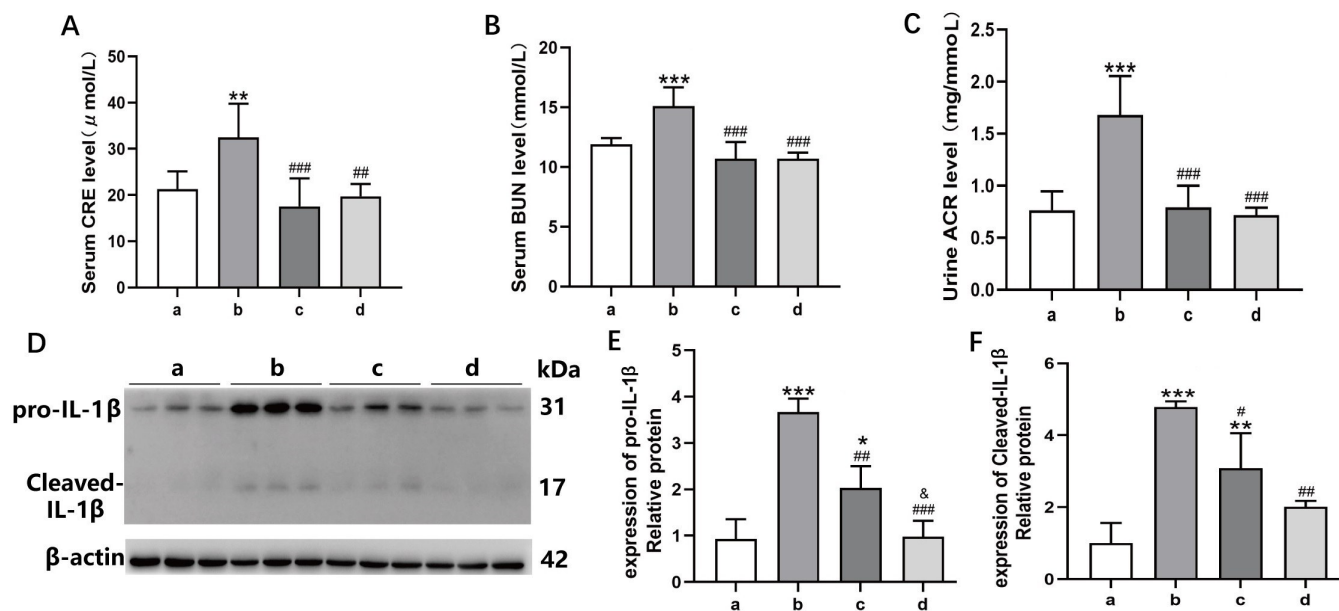


注:A 为小鼠 GSDMD 基因鉴定的结果;B~D 为各组 Fibronectin、COL1A1 蛋白的表达水平;
E、F 为各组肾脏组织的 Masson 染色(400 $\times$,50 μ m)及胶原纤维的面积占比。WT 为对照组,
a:对照组,b:TMAO 组,c:TMAO+GSDMD-/-组,d:GSDMD-/-组。
与对照组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$,*** $P<0.001$;与 TMAO 组比较,## $P<0.01$,
$P<0.001$;与 TMAO+GSDMD-/-组比较,& $P<0.05$ 。

图 3 GSDMD 基因敲除对 TMAO 诱导肾脏纤维化的缓解作用

2.4 GSDMD 基因敲除减轻 TMAO 诱导的肾功能障碍及肾组织 IL-1 β 活化 各组小鼠 Scr、BUN 及 UACR 水平如图 4A~图 4C 所示:与对照组相比, TMAO 组的小鼠 BUN、UACR 水平显著升高($P<0.001$), Scr 水平亦明显上升($P<0.01$);与 TMAO 组比较, TMAO+GSDMD $^{-/-}$ 组的 Scr、BUN 及 UACR 水平显著下降($P<0.001$)。检测各组小鼠肾脏组织

IL-1 β (pro-IL-1 β /Cleaved-IL-1 β)的蛋白表达水平,结果如图 4D~图 4F 所示,与对照组相比较, TMAO 组 pro-IL-1 β 、Cleaved-IL-1 β 显著上调($P<0.001$), GSDMD $^{-/-}$ 组与对照组相比差异无统计学意义($P>0.05$);与 TMAO 组相比, TMAO+GSDMD $^{-/-}$ 组的 pro-IL-1 β 、Cleaved-IL-1 β 表达显著下调($P<0.05$, $P<0.01$)。



注: A~C 为各组 Scr、BUN、UACR 的浓度; D~F 为各组 pro-IL-1 β 、Cleaved-IL-1 β 蛋白的表达水平。

a: 对照组, b: TMAO 组, c: TMAO+GSDMD $^{-/-}$ 组, d: GSDMD $^{-/-}$ 组。

与对照组比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$; 与 TMAO 组比较, # $P<0.05$,

$P<0.01$, ### $P<0.001$; 与 TMAO+GSDMD $^{-/-}$ 组比较, & $P<0.05$ 。

图 4 GSDMD 基因敲除减轻 TMAO 诱导的肾脏损伤及炎症反应

3 讨论

肠道微生物失调是 CKD 病理生理的关键因素之一^[13-14], TMAO 已被证实为 CKD 进展的关键风险因素, TMAO 可通过诱导肾脏炎症反应、损伤肾单位结构, 加速肾脏纤维化进程, 肾纤维化代表了大部分慢性 and 进行性肾病的共同最终途径, 但其加剧肾纤维化的具体机制尚待阐明^[15]。本研究证实, TMAO 通过激活肾脏 NLRP3/Caspase-1/GSDMD 焦亡通路, 驱动 IL-1 β 介导的炎症反应, 从而加速肾纤维化进程; 而 GSDMD 基因敲除可有效阻断这一过程, 为理解 TMAO 的肾毒性机制提供了全新视角。

肾纤维化是 CKD 进展至终末期的共同病理途径, 主要的特征包括细胞外基质的过度沉积^[16]。为探究 TMAO 在其中的作用, 首先构建了 TMAO 长期暴露的小鼠模型。结果显示, TMAO 干预损害小鼠肾功能 (Scr、BUN、UACR 升高), 并诱导典型的纤维化病理改变, 如 Masson 染色阳性的胶原沉积增加, 以及 Fibronectin 和 COL1A1 蛋白表达的显著上调。这些结

果成功复现了 TMAO 的肾损伤效应^[17], 为后续机制探究奠定可靠的动物模型基础。近年来细胞死亡方式成为 CKD 研究的重要方向, 肾脏疾病与肾细胞死亡有着密切的联系, 包括细胞凋亡, 坏死, 坏死性凋亡, 铁死亡, 焦亡和自噬等^[18]。目前所认识的细胞焦亡作为一种炎症性程序性坏死, 与肾纤维化的发生发展密切相关, 肾小管上皮细胞焦亡导致肾小管的丢失和炎症, 进而促进肾纤维化^[19]。焦亡由 Gasdermin 家族成员的活化和质膜孔的形成所引发, 通常是 Caspase 蛋白激活的结果。NLRP3/Caspase-1/GSDMD 轴是介导肾小管上皮细胞焦亡的核心通路之一, 其在狼疮性肾炎和高尿酸血症等多种肾病模型中的致病作用已被证实^[20-21]。本研究发现 TMAO 处理激活该通路: 表现出 Caspase-1 的活化, 进而剪切 GSDMD 产生功能性 N 端片段 (GSDMD-N), GSDMD-N 可在细胞膜上形成孔道, 诱导炎症反应。为明确 GSDMD 在 TMAO 诱导肾脏损伤中的特异性作用, 本研究采用 GSDMD 基因敲除小鼠进行干预实验。在 TMAO 暴露下, GS-

DMD 基因敲除展现出显著的保护作用:显著逆转了肾功能障碍(Scr、BUN 及 UACR 降低),减轻肾脏胶原纤维沉积,下调纤维化相关蛋白的表达水平,并阻断了 IL-1 β 的剪切成熟。这一系列结果表明,GSDMD 是 TMAO 诱导肾脏损伤的关键执行分子。与近年研究中 GSDMD 敲除可减轻草酸钙肾结石、高尿酸血症等所致肾损伤的结论相符^[22-23],进一步巩固了 GSDMD 作为肾脏病理状态下潜在干预靶点的普适性价值。

尽管取得了明确发现,但仍存在一定局限性。肾脏是由肾小球系膜细胞、肾小管上皮细胞、肾间质成纤维细胞及肾脏固有巨噬细胞等多种细胞构成的复杂器官,使用全身性 GSDMD 敲除小鼠,无法区分 GSDMD 在肾小管上皮细胞、成纤维细胞或浸润的免疫细胞(如中性粒细胞、巨噬细胞)中的具体作用。细胞死亡途径间存在复杂串扰,Gasdermin 家族蛋白的裂解并非单一半胱天冬酶或炎性小体激活的直接结果。成熟 IL-1 β 作为关键促炎因子,可进一步招募巨噬细胞、中性粒细胞等炎症细胞浸润肾脏组织,引发持续性炎症反应^[24]。迄今为止,pro-IL-1 β 、pro-IL-18 等 IL-1 家族成员的催化裂解,主要依赖 Caspase-1 等分子的活性,IL-1 β 又可通过激活 NF- κ B 通路进一步放大炎症反应^[25-26]。而在 TMAO 诱导的 CKD 中,GSDMD 全敲难以厘清其在不同细胞间的调控网络,进而限制了对 GSDMD 参与肾纤维化分子机制的深入探究。

TMAO 激活小鼠肾脏组织中 GSDMD 介导的焦亡通路,驱动 IL-1 β 介导的炎症-纤维化级联反应,进而加剧 CKD 进展;GSDMD 作为这一通路的核心枢纽,有望成为治疗 TMAO 相关肾损伤的潜在靶点。

参考文献:

[1] Global, regional, and national burden of chronic kidney disease in adults, 1990 – 2023, and its attributable risk factors: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2023[J]. Lancet, 2025, 406(10518): 2461-2482.

[2] HUANG R S, FU P, MA L. Kidney fibrosis: from mechanisms to therapeutic medicines[J]. Sig Transduct Target Ther, 2023, 8: 129.

[3] WANG L M, 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] ROMAGNANI P, AGARWAL R, CHAN J C N, et al. Author correction: chronic kidney disease[J]. Nat Rev Dis Primers, 2025, 11: 53.

[5] SHAO D, BAI L, CHEN Q, et al. Trimethylamine N-oxide induced chronic kidney injury by triggering PANoptosis[J]. Physiol Res, 2025, 74(4): 613-622.

[6] LI Y C, LU H M, et al. Gut microbiota-derived trimethylamine N-oxide is associated with the risk of all-cause and cardiovascular mortality in patients with chronic kidney disease: a systematic review and dose-response meta-analysis[J]. Ann Med, 2023, 55: 2215542.

[7] KIM S H, YOON M Y, YOON S S. TMAO and the gut microbiome: implications for the CVD-CKD-IBD axis[J]. Ann Med, 2025, 57(1): 2522324.

[8] SPENCE J D. Cardiovascular effects of TMAO and other toxic metabolites of the intestinal microbiome[J]. J Intern Med, 2023, 293(1): 2-3.

[9] LAI Y S, TANG H E, ZHANG X R, et al. Trimethylamine-N-oxide aggravates kidney injury *via* activation of p38/MAPK signaling and upregulation of HuR[J]. Kidney Blood Press Res, 2022, 47(1): 61-71.

[10] LEE J, LEE J, KIM K, et al. Antibiotic-induced intestinal microbiota depletion can attenuate the acute kidney injury to chronic kidney disease transition *via* NADPH oxidase 2 and trimethylamine-N-oxide inhibition[J]. Kidney Int, 2024, 105(6): 1239-1253.

[11] RAO Z P, ZHU Y T, YANG P, et al. Pyroptosis in inflammatory diseases and cancer[J]. Theranostics, 2022, 12(9): 4310-4329.

[12] ELIAS E E, LYONS B, MURUVE D A. Gasdermins and pyroptosis in the kidney[J]. Nat Rev Nephrol, 2023, 19(5): 337-350.

[13] LOHIA S, VLAHOU A, ZOIDAKIS J. Microbiome in chronic kidney disease (CKD): an omics perspective[J]. Toxins, 2022, 14(3): 176.

[14] WANG H C, AINIWAER A, SONG Y X, et al. Perturbed gut microbiome and fecal and serum metabolomes are associated with chronic kidney disease severity[J]. Microbiome, 2023, 11(1): 3.

[15] HUMPHREYS B D. Mechanisms of renal fibrosis[J]. Annu Rev Physiol, 2018, 80: 309-326.

[16] ALLISON S J. Targeting EMT to reverse renal fibrosis[J]. Nat Rev Nephrol, 2015, 11(10): 565.

[17] TANG Y Z, LI Y X, YANG X Y, et al. Intestinal metabolite TMAO promotes CKD progression by stimulating macrophage M2 polarization through histone H4 lysine 12 lactylation[J]. Cell Death Differ, 2026, 33(2): 314-326.

[18] HU B Y, MA K, WANG W, et al. Research progress of pyroptosis in renal diseases[J]. Curr Med Chem, 2024, 31(40): 6656-6671.

[19] LI Y S, YUAN Y, HUANG Z X, et al. GSDME-mediated pyroptosis promotes inflammation and fibrosis in obstructive nephropathy[J]. Cell Death Differ, 2021, 28(8): 2333-2350.

(下转第 573 页)

[3] PAN J Q,CEN L,XU L,et al. Prevalence and risk factors for colorectal polyps in a Chinese population;a retrospective study[J]. Sci Rep,2020,10:6974.

[4] LEGGETT B, WHITEHALL V. Role of the serrated pathway in colorectal cancer pathogenesis[J]. Gastroenterology,2010,138(6):2088-2100.

[5] HAWKINS N J, WARD R L. Sporadic colorectal cancers with microsatellite instability and their possible origin in hyperplastic polyps and serrated adenomas [J]. J Natl Cancer Inst,2001,93(17):1307-1313.

[6] 王淑辉,刘丽波,孔学哲. 河北省承德地区大肠息肉发生的相关因素调查研究[J]. 安徽医药,2022,26(1):35-39.

[7] XU J,HE W,ZHANG N N,et al. Risk factors and correlation of colorectal polyps with type 2 diabetes mellitus [J]. Ann Palliat Med,2022,11(2):647-654.

[8] 潘程宇,滑永志. 幽门螺旋杆菌感染与大肠息肉的相关性[J]. 临床与病理杂志,2020,40(3):616-619.

[9] 赵树巧,牛学敏,石蕾,等. 石家庄地区大肠息肉流行病学特征调查及影响因素分析[J]. 现代生物医学进展,2021,21(21):4137-4141.

[10] WU H Z,LIANG G R,KONG M J,et al. The status and risk factors for anxiety/depression in patients with atrophic chronic gastritis;a cross-sectional study[J]. Ann Palliat Med,2022,11(10):3147-3159.

[11] 谭雪娇,彭雅琼,彭昕,等. 新疆部分地区结直肠息肉患者的焦虑和抑郁状况及影响因素分析[J]. 中华消化杂志,2023,43(7):472-480.

[12] 叶衬轩,钟柳英,郭振科,等. 肠道息肉与焦虑、抑郁情绪的关系[J]. 国际精神病学杂志,2023,50(5):1132-1134.

[13] NIE H,GAO Z Y,LUO Y H,et al. Influence of soaking *Malus domeri* (Bois) Chev. leaves on gut microbiota and metabolites of long-living elderly individuals in Hezhou city,Guangxi,China[J]. Food Sci Hum Wellness,2024,13(3):1311-1321.

[14] 王人杰,张晓兰,蔡继东,等. 结直肠息肉的规范化诊疗[J]. 中华胃肠外科杂志,2024,27(6):583-590.

[15] 农云翠,黄小知,黄灵旭,等. 结直肠息肉发生的影响因素分析[J]. 广西医学,2025,47(7):962-967.

[16] 李霞. 体检结肠镜检查在预防大肠癌中的价值探讨[J]. 医药前沿,2021,11(34):49-50.

收稿日期:2026-03-11;修回日期:2026-05-29

(本文编辑 覃洪含)

(上接第 523 页)

[20] WANG X,XIE X,NI J Y,et al. USP11 promotes renal tubular cell pyroptosis and fibrosis in UUO mice *via* inhibiting KLF4 ubiquitin degradation[J]. Acta Pharmacol Sin,2025,46(1):159-170.

[21] GAO H C,XIE T,LI Y Y,et al. Role of gasdermins in chronic kidney disease [J]. Front Immunol, 2025, 16: 1557707.

[22] YANG S S,QI Y J,CHEN Y,et al. Regulating the balance between GSDMD-mediated pyroptosis and CHMP4B-dependent cell repair attenuates calcium oxalate kidney stone formation[J]. Int J Biol Sci,2025,21(7):3099-3121.

[23] WU F,CHEN C M,LIN G,et al. Caspase-11/GSDMD contributes to the progression of hyperuricemic nephropathy by promoting NETs formation[J]. Cell Mol Life Sci,2024,81(1):114.

[24] WANG Y J,LI Y S,CHEN Z M,et al. GSDMD-dependent neutrophil extracellular traps promote macrophage-to-myofibroblast transition and renal fibrosis in obstructive nephropathy[J]. Cell Death Dis,2022,13(8):693.

[25] DEVANT P,DONG Y,MINTSERIS J,et al. Structural insights into cytokine cleavage by inflammatory caspase-4[J]. Nature,2023,624(7991):451-459.

[26] DEVANT P,DONG Y,MINTSERIS J,et al. Publisher Correction:Structural insights into cytokine cleavage by inflammatory caspase-4 [J]. Nature, 2024, 625 (7995): E17.

收稿日期:2026-04-08;修回日期:2026-05-30

(本文编辑 覃黎黎)