

# 基于网络药理学、分子对接及实验验证探讨加味升降散 治疗IgA肾病的作用机制

张圆圆<sup>1</sup>, 靳培培<sup>1</sup>, 顾悦<sup>1</sup>, 郭登洲<sup>2\*</sup>

(1. 河北中医学院 研究生学院, 石家庄 050091;

2. 河北中医学院 第一附属医院/河北省中医院, 石家庄 050011)

**[摘要]** 目的:基于网络药理学初步预测加味升降散治疗免疫球蛋白(Ig)A肾病(IgAN)的活性成分、作用靶点及信号通路,通过分子对接及动物实验验证探讨其可能作用机制。方法:通过中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP),蛋白质数据库(UniProt Knowledge base)数据库,查阅文献及成分靶点预测数据库(SwissTargetPrediction)获取加味升降散药理作用的活性成分及相关靶点;通过基因数据库(GeneCards),人类孟德尔遗传病数据库(OMIM)获取IgAN相关靶点;使用Cytoscape 3.9.0软件数据库构建药物活性成分的相关靶点与疾病相关靶点的加味升降散-IgAN靶点调控网络,结合STRING数据库绘制蛋白相互作用网络;使用Metascape数据库对交集基因进行基因本体(GO)功能注释和京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析。选取关键作用靶点与主要活性成分通过AutoDockTools 1.5.6软件进行分子对接验证;采用联合牛血清白蛋白(BSA)灌胃+尾静脉注射脂多糖(LPS)+皮下注射四氯化碳(CCl<sub>4</sub>)、蓖麻油的免疫复合的方法建立实验性IgA肾病大鼠模型,给予加味升降散和盐酸贝那普利干预4周。给药结束后处死大鼠,通过酶联免疫吸附测定法(ELISA)、免疫组织化学法、实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)、蛋白免疫印迹法(Western blot)检测大鼠血清及肾组织中转化生长因子- $\beta_1$ (TGF- $\beta_1$ )、白细胞介素-6(IL-6)表达水平来进行动物实验验证。结果:经过口服生物利用度(OB)、类药性(DL)及查阅文献初步筛选获得加味升降散中活性成分105个;药物疾病交集基因124个,核心靶点59个,其中神经营养性酪氨酸激酶受体1型(NTRK1)、泛素化连接酶E3蛋白(CUL3)、肿瘤蛋白p53(TP53)、表皮生长因子受体(EGFR)、核输出蛋白1(XPO1)等靶点可能与IgAN密切相关,KEGG富集分析预测加味升降散治疗IgAN主要涉及磷脂酰肌醇3-激酶/蛋白激酶B(PI3K/Akt)信号通路、核转录因子- $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)信号通路、细胞因子-细胞因子受体相互作用(Cytokine-cytokine receptor interaction)等通路。分子对接分析,加味升降散中主要活性成分与核心作用靶点中的NTRK1、CUL3、TP53、EGFR、XPO1具有较为稳定的结合活性,其可能通过影响NTRK1、CUL3、TP53、EGFR、XPO1靶点蛋白进而调控炎症反应。动物模型验证结果:加味升降散能够显著降低IgAN大鼠血清及肾组织中细胞因子TGF- $\beta_1$ 、IL-6表达水平,可能通过调控Cytokine-cytokine receptor interaction、PI3K/Akt、NF- $\kappa$ B等信号通路抑制过度纤维化、炎症反应和免疫应答。结论:加味升降散可能通过多靶点及多通路治疗IgAN,其发挥治疗作用的机制可能与影响NTRK1、CUL3、TP53、EGFR、XPO1等靶点蛋白的表达及调控Cytokine-cytokine receptor interaction、PI3K/Akt、NF- $\kappa$ B等信号通路进而抑制过度纤维化、炎症反应和免疫应答有关。

**[关键词]** 加味升降散; 免疫球蛋白(Ig)A肾病(IgAN); 网络药理学; 分子对接; 动物实验

**[中图分类号]** R285;R289;R22;R2-031;R33 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2022)07-0162-10

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20220419 **[增强出版附件]** 内容详见<http://www.syfjxz.com>或<http://cnki.net>

**[网络出版地址]** <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20220209.1048.002.html>

**[网络出版日期]** 2022-02-09 14:23

## Mechanism of Modified Shengjiangsan in Treatment of IgA Nephropathy Based on Network Pharmacology, Molecular Docking, and Experimental Verification

ZHANG Yuan-yuan<sup>1</sup>, JIN Pei-pei<sup>1</sup>, GU Yue<sup>1</sup>, GUO Deng-zhou<sup>2\*</sup>

(1. Graduate School, Hebei University of Chinese Medicine, Shijiazhuang 050091, China;

**[收稿日期]** 2021-12-03

**[基金项目]** 河北省科技计划项目(16277765D);河北中医学院科技能力提升项目(KTZ2019025)

**[第一作者]** 张圆圆,在读博士,住院医师,从事中医药治疗慢性肾脏病研究,E-mail:514183801@qq.com

**[通信作者]** \*郭登洲,主任医师,教授,博士生导师,从事中医药治疗慢性肾脏病研究,E-mail:guodeangzhou@sohu.com

2. The First Affiliated Hospital of Hebei University of Chinese Medicine, Hebei Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shijiazhuang 050011, China)

**[Abstract]** **Objective:** To preliminarily predict the active components, targets, and signaling pathways of modified Shengjiangsan in the treatment of immunoglobulin A nephropathy (IgAN) based on network pharmacology, and to explore its underlying mechanism through molecular docking and experimental verification on animals. **Method:** The active ingredients and related targets of modified Shengjiangsan were obtained from Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform (TCMSP), UniProt, SwissTargetPrediction, and literature review. IgAN-related targets were obtained from GeneCards and Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM). Cytoscape 3.9.0 was used to construct the regulation network of the related targets of Shengjiangsan and IgAN, and the protein-protein interaction (PPI) network was plotted by STRING. The common genes were analyzed for gene ontology (GO) functional annotation and Kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) pathway enrichment by Metascape. Key targets and main active ingredients were selected for molecular docking by AutoDockTools 1.5.6. The experimental model of IgAN was induced by bovine serum albumin (BSA, *ig*) combined with lipopolysaccharide (LPS, *iv*) and the complex of CCl<sub>4</sub> and castor oil (*sc*) in rats. The model rats were treated with modified Shengjiangsan and benazepril hydrochloride for four weeks. The rats were sacrificed after drug administration. The levels of transforming growth factor- $\beta_1$  (TGF- $\beta_1$ ) and interleukin-6 (IL-6) in the serum and kidney tissues were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), immunohistochemistry, Real-time quantitative polymerase chain reaction (Real-time PCR), and Western blot. **Result:** A total of 105 active ingredients were obtained according to oral bioavailability (OB), drug-likeness (DL), and literature screening. There were 124 common genes and 59 core targets. Neurotrophic tyrosine receptor kinase 1 (NTRK1), cullin-3 (CUL3), tumor protein 53 (TP53), epidermal growth factor receptor (EGFR), exportin 1 (XPO1), and other targets might be closely related to IgAN. As predicted by KEGG enrichment analysis, the treatment of IgAN with modified Shengjiangsan mainly involved the phosphoinositide 3-kinase (PI3K)/protein kinase B (Akt) signaling pathway, nuclear transcription factor-kappa B (NF- $\kappa$ B) signaling pathway, and cytokine-cytokine receptor interaction signaling pathway. As revealed by molecular docking, the main active ingredients in modified Shengjiangsan showed stable binding activities with NTRK1, CUL3, TP53, EGFR, and XPO1 in the core targets, indicating that it presumably regulated inflammatory responses by affecting NTRK1, CUL3, TP53, EGFR, and XPO1 target proteins. The results of experimental verification on animals showed that the expression levels of cytokines TGF- $\beta_1$  and IL-6 in the serum and kidney tissues of IgAN rats were significantly decreased by modified Shengjiangsan, suggesting that Shengjiangsan might inhibit excessive fibrosis, and inflammatory and immune responses by regulating signaling pathways such as cytokine-cytokine receptor interaction, PI3K/Akt, and NF- $\kappa$ B. **Conclusion:** Modified Shengjiangsan may treat IgAN through multiple targets and pathways. Its mechanism may be related to the inhibition of excessive fibrosis, and inflammatory and immune responses by affecting the expression of NTRK1, CUL3, TP53, EGFR, and XPO1 and the regulation of the cytokine-cytokine receptor interaction, PI3K/Akt, NF- $\kappa$ B, and other signaling pathways.

**[Keywords]** modified Shengjiangsan; immunoglobulin A nephropathy (IgAN); network pharmacology; molecular docking; animal experiments

免疫球蛋白(Ig)A肾病(IgAN)是一种常见的原发性肾小球疾病,临床表现主要以肉眼血尿和或镜下血尿为主,肾组织活检病理显示在肾小球系膜区以IgA为主的免疫复合物沉积<sup>[1]</sup>。IgAN进展的

主要危险因素有肾小球硬化<sup>[2]</sup>、肾间质纤维化、高血压、大量蛋白尿和肾功能减退<sup>[3]</sup>。IgAN发病机制复杂,涉及免疫、遗传、环境或营养等多种因素,因此也缺乏特异性治疗<sup>[4]</sup>,目前西医多以血管紧张素转

换酶抑制剂、血管紧张素受体拮抗剂、糖皮质激素、免疫抑制剂等控制血压、减少尿蛋白等治疗为主<sup>[5]</sup>,但存在治疗周期长、不良反应多、敏感度不一、激素依赖等问题。近年来,临床中运用中药复方治疗IgAN越来越多<sup>[6-7]</sup>,且效果显著,在改善患者临床症状,减轻糖皮质激素及免疫抑制剂不良反应等方面发挥了重要作用<sup>[8]</sup>。

升降散源于明代龚廷贤《万病回春》卷二瘟疫门中的内府仙方,由僵蚕、蝉蜕、姜黄、大黄组成。升降散原为治疗瘟疫而创立,具有泄热解毒、宣郁通闭、消痰祛瘀等功用,近现代多用于治疗“热郁邪结”证。前期研究证实升降散具有抑制炎症、提高免疫功能,抑制毒素反应、保护肾功能的作用<sup>[9-13]</sup>。现代药理研究表明,蝉蜕、僵蚕、大黄、姜黄具有抗菌、抗感染、抗肿瘤、调节免疫等功效<sup>[14-17]</sup>。且在临床中发现在升降散基础上加用桔梗、茯苓、积雪草以疏通三焦、清热利湿、活血化瘀可以明显提高治疗IgAN疗效,减少患者蛋白尿,延缓疾病进展。但因加味升降散中中药活性成分复杂、作用靶点多,故不清楚其治疗IgAN的作用机制。网络药理学是基于系统生物学的理论,对生物系统的网络分析,选取特定信号节点进行多靶点药物分子设计的新学科,是目前探索中药药理机制有效的方法。本研究旨在通过网络药理学初步预测加味升降散治疗IgAN的活性成分、作用靶点及信号通路,并通过分子对接及动物实验验证探讨加味升降散治疗IgAN可能作用机制,为临床运用加味升降散治疗IgAN提供理论依据。

## 1 方法

**1.1 加味升降散活性成分与靶点预测** 利用中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP, <http://tcmsp.com/tcmsp.php>),检索桔梗、茯苓、姜黄、大黄、积雪草的所有化学成分,根据药物代谢动力学(ADME)的参数,以口服生物利用度(OB)≥30%,类药性(DL)≥0.18为筛选条件,得到桔梗、茯苓、姜黄、大黄、积雪草的活性成分。并利用UniProt数据(<https://www.uniprot.org/>)的注释文件将药物靶点基因全称转换为基因ID。利用CNKI(<https://www.cnki.net/>)查阅文献获取僵蚕、蝉蜕的有效成分,通过化源网(<https://www.chemsrc.com/>)获取有效成分CAS号,借助PubChem(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)数据库和SwissTargetPrediction(<http://www.swisstargetprediction.ch/>),预测潜在作用靶点,筛选可能性(Probability)>0.93的靶点基因。将筛选

出的活性成分及作用靶点导入Cytoscape 3.9.0软件,构建“药物-活性成分-作用靶点”网络图。

**1.2 IgAN疾病靶点的预测** 利用GeneCards(<https://www.genecards.org/>),在线人类孟德尔遗传病数据库(OMIM, <http://omim.org/>),搜索关键词“IgA nephropathy”,获得IgAN的靶蛋白基因。通过Venny 2.1(<https://bioinfo.gp.cnb.csic.es/tools/venny/index.html>)在线工具绘制韦恩图,获得加味升降散与IgAN的交集靶点基因。

**1.3 蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络构建及核心靶点筛选** 将1.2项下得到的交集靶点导入STRING 11.5数据库(<https://string-db.org/>)进行PPI分析;将加味升降散靶点基因和IgAN靶蛋白基因分别导入Cytoscape 3.9.0软件中,运用“BisoGenet”和“CytoNCA”插件筛选网络中的核心靶点。

**1.4 基因本体(GO)和京都基因与基因组百科全书(KEGG)生物富集分析** 在Metascape(<http://metascape.org/gp/index.html#/main/step1>)数据库<sup>[18]</sup>,以 $P<0.01$ 为筛选条件,对交集靶点进行GO功能注释和KEGG通路富集分析。利用微生信在线平台(<http://www.bioinformatics.com.cn/>)将GO和KEGG通路富集结果绘制成气泡图。

## 2 药物主要活性成分-核心靶点分子对接验证

从TCMSP、PubChem数据库(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)下载加味升降散主要药物活性成分的2D结构(“MOL2”格式或“SDF”格式),运用Open Babel软件将“SDF”格式转换为“PDB”格式;“MOL2”格式不予处理。从RSCBPDB数据库(<https://www.rcsb.org/>)下载核心靶点蛋白的3D结构,保存为“PDB”格式。利用AutoDockTools 1.5.6软件去水、加氢,对受体和配体进行分子对接,通过对对接分数值来评价其结合活性。然后使用PyMOL软件对结果进行可视化展示。

## 3 动物实验验证

**3.1 药物** 加味升降散免煎颗粒(僵蚕12g、蝉蜕12g、桔梗8g、茯苓10g、姜黄10g、大黄6g、积雪草10g)以上药物由广东一方制药厂提供(批号分别为9112903、9115203、0061423、0062763、0042053、0040293、0077393)。盐酸贝那普利片由深圳信立泰药业股份有限公司生产(批准文号国药准字H20054771,规格5mg/片)。

**3.2 动物** 北京维通利华实验动物技术有限公司购进42只雄性SD大鼠,SPF级,7周龄,体质量(200±20)g,动物合格证号110011200106395172,合

格可证号 SCXK(京)2016-0006。饲养于河北中医学院实验动物中心标准化动物房(相对湿度 50%~70%, 温度 23~25 °C, 昼夜各半), 普通饲料(批号 202090812), 自由饮水。本实验由河北中医学院伦理委员会批准, 动物实验伦理编号 DWLL2018046。

**3.3 试剂及仪器** 牛血清白蛋白(BSA)、脂多糖(LPS)(北京索莱宝科技有限公司, 货号分别为 A8010、L8880);  $\text{CCl}_4$ (天津傲然精细化工研究所, 批号 2020-09-17); 蓖麻油(天津市光复精细化工研究所, 批号 2020-09-02); 白细胞介素(IL)-6、转化生长因子- $\beta_1$ (TGF- $\beta_1$ )、 $\beta$ -肌动蛋白(actin)抗体(北京博奥森生物技术有限公司, 批号分别为 bs-0782R、bs-0086R、bs-0061R); IL-6、TGF- $\beta_1$ 试剂盒(上海森雄科技事业有限公司, 批号分别为 SXR032、SXR059)。引物为自行设计, 由生物工程(上海)股份有限公司合成部合成, 见表 1。

表 1 引物序列

Table 1 Primer sequence

引物	序列(5'-3')	长度/bp
$\beta$ -actin	上游 GCAGGAGTACGATGAGTCCG	74
	下游 ACGCAGCTCAGTAACAGTCC	
IL-6	上游 AGCGATGATGCACTGTCAGA	127
	下游 GGAACCTCCAGAAGACCAGAGC	
TGF- $\beta_1$	上游 GACTCTCCACCTGCAAGACC	100
	下游 GGACTGGCGAGCCTTAGTTT	

CFX96 型实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)仪(Bio-Rad); 756MC 型紫外-可见分光光度计(上海精密科学仪器有限公司); DP73 型数码显微镜(Olympus); PE-9600 型基因扩增仪(美国 PE 公司); DYY 型电泳槽及电泳仪(北京六一工厂); FJ-2021 型  $\gamma$ -放射免疫计数器(西安二六二厂); FR-980 型复日生物电泳图像分析系统(上海复日科技有限公司)。

**3.4 动物分组、模型制备、给药与取样** 将所购 SPF 级雄性 SD 大鼠按照随机数字表法分为正常组 8 只、造模组 34 只。于实验室饲养笼内适应性饲养 1 周, 未见不良反应, 检测全部大鼠尿蛋白、尿潜血均为阴性。参照陆慧瑜等<sup>[19]</sup>造模方案 BSA+LPS+ $\text{CCl}_4$ +蓖麻油复合造模的方法, 制备 IgAN 实验大鼠模型。具体操作, 造模组大鼠采用联合 BSA 灌胃+尾静脉注射 LPS+皮下注射  $\text{CCl}_4$ 、蓖麻油的免疫复合方法建立实验 IgAN 大鼠模型, 方案为口服免疫原 BSA 400  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  隔天灌胃, 持续 8 周; 皮下注射蓖麻

油 0.3 mL+ $\text{CCl}_4$  0.1 mL, 每周 1 次, 持续 9 周, 并于第 6 周联合运用 LPS 0.05 mg 尾静脉注射。正常组予等量蒸馏水隔天灌胃, 持续 8 周; 皮下注射 0.9% 氯化钠溶液 0.4 mL, 每周 1 次, 持续 9 周; 造模组大鼠出现肉眼血尿、蛋白尿, 随机选取造模组大鼠 2 只, 行光镜、电镜、免疫荧光检测以确定造模是否成功。模型制备成功后, 将造模组 32 只大鼠按照随机数字表法分成模型组、中药低剂量组、中药高剂量组、贝那普利组各 8 只。中药低剂量组、中药高剂量组予加味升降散灌胃, 给药剂量按照徐叔云等<sup>[20]</sup>的剂量换算公式计算(人体质量 70 kg), 中药低剂量组大鼠按照 6.27  $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  体质量灌胃, 中药高剂量组按照 12.54  $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  体质量灌胃, 每日 1 次, 共持续 4 周; 贝那普利组按照 10  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  灌服盐酸贝那普利片, 每日 1 次, 共持续 4 周; 正常组和模型组均予相同体积蒸馏水灌胃, 每日 1 次, 共持续 4 周。实验大鼠每周检测体质量。实验第 14 周, 禁食 12 h, 禁水 4 h, 进行称重, 3% 浓度的戊巴比妥钠按照 40  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  体质量对大鼠进行腹腔注射麻醉, 麻醉成功后, 股动脉取血, 离心机分离上清用于指标检测; 完成股动脉取血后, 立即从肾门处游离出肾脏, 先切取部分右侧肾脏组织, 放入冻存管中后快速放置于液氮罐内, 后转移至 -80 °C 冰箱冻存用于 Real-time PCR、蛋白免疫印迹法(Western blot)检测, 再将剩余的右肾组织用 4% 的多聚甲醛液进行固定, 用于免疫组织化学检测。

### 3.5 指标检测

**3.5.1 酶联免疫吸附测定法(ELISA)检测大鼠血清 TGF- $\beta_1$ 、IL-6 水平** 各组大鼠血液上清采用 ELISA 法检测 TGF- $\beta_1$ 、IL-6 水平, 实验步骤按照试剂盒方法进行。

**3.5.2 免疫组化法(IHC)检测大鼠肾组织 TGF- $\beta_1$ 、IL-6 表达水平** 肾组织进行常规脱蜡及水化、抗原修复、室温孵育、血清封闭、滴加 PBS 稀释好的 IL-6 (1:100)、TGF- $\beta_1$  (1:100) 孵育、加入生物素标记的二抗、室温孵育、自来水冲洗、苏木素复染、盐酸酒精分化、梯度乙醇脱水、二甲苯透明、中性树脂封片; 显微镜下仔细对比观察阳性表达, 并选 5 个不重叠的视野, 采图拍摄保存。

**3.5.3 Real-time PCR 检测大鼠肾组织 IL-6 mRNA、TGF- $\beta_1$  mRNA 的表达** 引物序列扩增完毕后, 得到各样本各目的基因及内参基因的  $C_t$  值,  $\Delta C_t =$  目的基因  $C_t$  值 - 内参基因的  $C_t$  值, 按照公式  $Q = 2^{-\Delta C_t}$ , 得到 IL-6 mRNA、TGF- $\beta_1$  mRNA 相对定量值

(*RQ*值),将*RQ*值用于统计分析。

**3.5.4 Western blot检测TGF- $\beta_1$ 、IL-6蛋白表达** 按照试剂盒说明提取大鼠肾脏组织蛋白,BCA法测定蛋白浓度,每管上清液中分别加入5×loading buffer 50  $\mu$ L,100  $^{\circ}$ C煮沸15 min,以蛋白变性。按照十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)凝胶电泳说明书进行电泳,聚偏氟乙烯树脂(PDVF)转膜90 min。在封闭液中室温静止12 h,加入稀释好的一抗IL-6(1:800),TGF- $\beta_1$ (1:800), $\beta$ -actin(1:5000),室温摇动1~3 h,磷酸盐吐温缓冲液(PBST)洗3遍一抗,每次10 min,加入二抗,稀释(1:6500),在室温条件下摇动1~2 h,PBST洗3遍二抗,每次10 min,显色、洗膜、读片。使用Quantityone软件进行分析,测定各条带的平均吸光度*A*,将待测蛋白质表达量与内参照 $\beta$ -actin表达量进行对比,用以表示蛋白质的相对表达水平。

**3.6 统计学方法** 相关数据统计采用SPSS 26.0统计软件进行分析,计量资料符合正态分布且方差齐,用 $\bar{x}\pm s$ 表示,多组间比较应用单因素方差分析,组间两两比较用*t*检验法,方差不齐应用秩和检验, $P<0.05$ 说明差异具有统计学意义。

## 4 结果

**4.1 加味升降散与IgAN相关靶点交集** 通过TCMSP、CNKI数据库检索加味升降散药物成分,设置OB $\geq$ 30%、DL $\geq$ 0.18、Probability $>$ 0.93后,共筛选出加味升降散105种活性化合物,剔除重复基因,活性成分对应靶点基因300个。以“IgA nephropathy”为关键词,在GeneCards、OMIM数据库检索到相关靶点蛋白基因1319个。通过Venny2.1在线工具绘制韦恩图,获得加味升降散与IgAN的交集靶点基因124个。通过STRING数据库对交集靶点进行PPI分析,节点数125,边数2607平均节点度41.7,平均局部聚类系数0.692,预期边数766,PPI富集 $P<1.0\times 10^{-16}$ 。见增强出版附加材料。

**4.2 构建“药物-靶点”网络** 通过Cytoscape 3.9.0软件构建“药物-靶点”网络,并对“药物-靶点”网络进行分析,得到以下网络分析参数,节点数目为323个,边数为500,平均相邻节点数为3.071,网络直径7,网络半径4,特征路径长度为3.208,系数0.000,网络密度为0.010,网络异质性为3.590,网络集中度0.456。见增强出版附加材料。

**4.3 加味升降散治疗IgAN核心靶点获取** 运用Cytoscape 3.9.0软件中“BisoGenet”插件将加味升降散和IgAN靶点基因分别导入,取二者交集,根据2倍

中位数度值初步筛选出核心靶点网络,运用CytoNCA插件和拓扑学参数,计算出度值、连接度、紧密度、相关度,选取各参数中位数进行筛选,逐步筛选出交互网络的核心基因,这些核心基因是加味升降散治疗IgAN的核心靶点。见增强出版附加材料。

**4.4 GO及KEGG通路富集分析** 利用Metascape数据库对124个加味升降散与IgAN交集靶点基因进行生物富集分析,得到GO功能富集条目2324条,其中生物过程2080条、细胞组成86条和分子功能158条。根据GO富集结果,对*P*值排名前20的条目应用微生信平台分别绘图。根据Metascape数据库筛得到KEGG通路324条,根据*P*值排序绘制排名前20的KEGG气泡图。其中*Y*轴代表通路名称,*X*轴代表基因所占百分比,气泡面积代表通路富集基因数,气泡面积越大信号通路的显著性就越高,气泡颜色代表*P*值的大小。可预测加味升降散对IgAN的治疗作用主要分布在磷脂酰肌醇3-激酶/蛋白激酶B(PI3K/Akt)信号通路、核转录因子- $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)信号通路、细胞因子-细胞因子受体相互作用(cytokine-cytokine receptor interaction)等信号通路。使用Cytoscape 3.9.0软件构建加味升降散治疗IgAN的KEGG信号通路关系网络图。见增强出版附加材料。TGF- $\beta_1$ 、IL-6等靶点是多个通路共同作用的靶点。

**4.5 主要活性成分和核心靶点的分子对接** 选取加味升降散治疗IgAN核心靶点中前5位的关键靶点与加味升降散的主要活性成分做分子对接,对接结合力值见表1,对接结合力值越小说明配体和受体结合越稳定,越可能发生相互作用。其中山柰酚与肿瘤蛋白p53(TP53)的结合力值最低,为-9.64 kcal·mol<sup>-1</sup>(1 kcal $\approx$ 4.186 kJ),其对接可视化模型见增强出版附加材料。

## 4.6 动物实验验证

**4.6.1 ELISA法检测大鼠血清中TGF- $\beta_1$ 、IL-6** 与正常组相比,模型组大鼠血清中TGF- $\beta_1$ 、IL-6含量均显著升高( $P<0.01$ );与模型组比较,中药低剂量组、中药高剂量组、贝那普利组大鼠血清中IL-6含量显著下降( $P<0.01$ );与模型组比较,中药高剂量组、贝那普利组大鼠血清中TGF- $\beta_1$ 含量显著下降( $P<0.01$ );中药低剂量组、中药高剂量组、贝那普利组大鼠各组间血清中TGF- $\beta_1$ 、IL-6相差不大,差异无统计学意义。见表2。

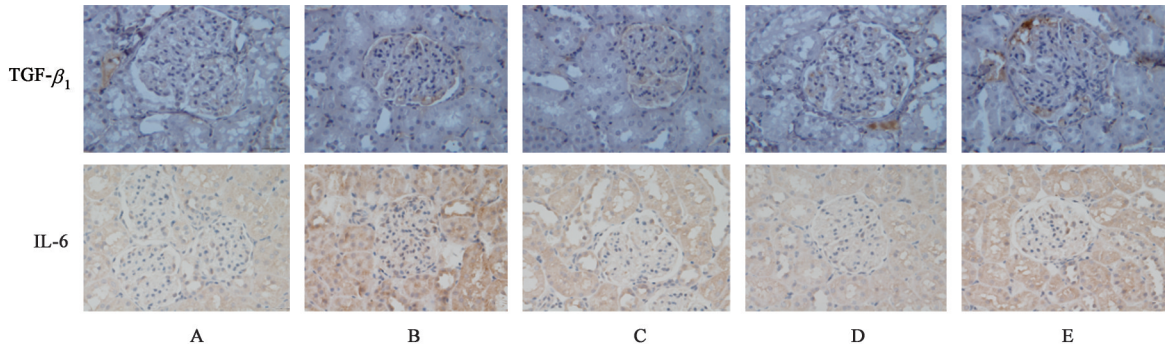
**4.6.2 免疫组化法观察** 与正常组比较,模型组大鼠TGF- $\beta_1$ 、IL-6在系膜区、足细胞表达增强(++);与

表1 对部分加味升降散活性成分与关键靶点结合能的预测

Table 1 Prediction of binding energy between active component and key targets of modified Shengjiangsans

No.	来源中药	化合物	结合能量/kcal·mol <sup>-1</sup>				
			NTRK1	CUL3	TP53	EGFR	XPO1
1	大黄	β-谷甾醇	-8.01	-6.93	-9.09	-8.64	-5.17
2	茯苓	常春藤皂苷元	-7.23	-5.56	-7.85	-8.25	-4.58
3	积雪草、僵蚕	槲皮素	-6.36	-4.05	-6.77	-6.56	-3.33
4	姜黄	植物甾醇	-8.34	-5.68	-8.97	-7.74	-5.76
5	桔梗	木犀草素	-6.53	-4.72	-6.94	-6.32	-4.12
6	桔梗	金合欢素	-6.86	-4.64	-6.82	-6.92	-5.26
7	僵蚕	山柰酚	-7.55	-5.49	-9.64	-7.70	-5.52

模型组比较, 中药低剂量组、中药高剂量组、贝那普利组 TGF-β<sub>1</sub>、IL-6 在系膜区、足细胞表达减弱(+);



注: A. 正常组; B. 模型组; C. 中药低剂量组; D. 中药高剂量组; E. 贝那普利组(图2同)

图1 加味升降散对大鼠肾组织 TGF-β<sub>1</sub>、IL-6 的表达(免疫组化, ×400)

Fig. 1 Expression of TGF-β<sub>1</sub>, IL-6 in renal tissue of modified Shengjiangsans (IHC, ×400)

**4.6.3 大鼠肾组织中 IL-6 mRNA、TGF-β<sub>1</sub> mRNA 的测定** 与正常组大鼠比较, 模型组大鼠 IL-6 mRNA 表达显著增强( $P<0.01$ ); 与正常组大鼠比较, 模型组大鼠 TGF-β<sub>1</sub> mRNA 表达明显增强( $P<0.05$ ); 与模型组大鼠比较, 中药高剂量组、贝那普利组大鼠 IL-6 mRNA 表达显著减弱( $P<0.01$ ); 与模型组大鼠相比, 中药高剂量组、贝那普利组大鼠 TGF-β<sub>1</sub> mRNA 表达明显减弱( $P<0.05$ ); 中药高剂量组、贝那普利组大鼠 TGF-β<sub>1</sub> mRNA、IL-6 mRNA 表达水平差异无统计学意义。见表3。

**4.6.4 大鼠肾组织 IL-6、TGF-β<sub>1</sub> 蛋白表达** 与正常组大鼠比较, 模型组大鼠 TGF-β<sub>1</sub>、IL-6 蛋白表达显著上调( $P<0.01$ ); 与模型组大鼠比较, 中药低剂量组大鼠 TGF-β<sub>1</sub>、IL-6 蛋白表达明显减少( $P<0.05$ ); 与模型组大鼠比较, 中药高剂量组、贝那普利组大鼠 TGF-β<sub>1</sub>、IL-6 蛋白表达显著减少( $P<0.01$ ); 中药低剂量组、中药高剂量组、贝那普利组大鼠各组间相比,

表2 加味升降散对大鼠间血清 IL-6、TGF-β<sub>1</sub> 的表达的影响( $\bar{x}\pm s, n=8$ )

Table 2 Effect of expression of IL-6 and TGF-β<sub>1</sub> in modified Shengjiangsans ( $\bar{x}\pm s, n=8$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	IL-6/ng·L <sup>-1</sup>	TGF-β <sub>1</sub> /μg·L <sup>-1</sup>
正常组		15.40±1.73	32.12±4.28
模型组		22.33±3.09 <sup>2)</sup>	41.20±6.54 <sup>2)</sup>
中药低剂量组	6.27	18.44±2.07 <sup>4)</sup>	36.15±5.23
中药高剂量组	12.54	18.17±2.99 <sup>4)</sup>	33.65±4.65 <sup>4)</sup>
贝那普利组	0.01	17.16±1.98 <sup>4)</sup>	33.90±4.10 <sup>4)</sup>

注: 与正常组比较<sup>1)</sup> $P<0.05$ , <sup>2)</sup> $P<0.01$ ; 与模型组比较<sup>3)</sup> $P<0.05$ , <sup>4)</sup> $P<0.01$ (表2-表4同)

中药低剂量组、中药高剂量组、贝那普利组大鼠相比, TGF-β<sub>1</sub>、IL-6 在系膜区、在足细胞表达强度无明显差异。见图1。

表3 加味升降散对大鼠肾组织中 IL-6 mRNA、TGF-β<sub>1</sub> mRNA 表达的影响( $\bar{x}\pm s, n=8$ )

Table 3 Expression of IL-6 mRNA, TGF-β<sub>1</sub> mRNA in modified Shengjiangsans ( $\bar{x}\pm s, n=8$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	IL-6	TGF-β <sub>1</sub>
正常组		0.879±0.141	0.898±0.171
模型组		1.309±0.343 <sup>2)</sup>	1.293±0.413 <sup>1)</sup>
中药低剂量组	6.27	1.095±0.195	1.039±0.207
中药高剂量组	12.54	0.937±0.117 <sup>4)</sup>	0.936±0.183 <sup>3)</sup>
贝那普利组	0.01	0.906±0.165 <sup>4)</sup>	0.934±0.112 <sup>3)</sup>

TGF-β<sub>1</sub>、IL-6 蛋白表达水平差异无统计学意义。见图2和表4。

## 5 讨论

IgAN 起病隐匿, 多为先天不足、久病劳倦、外邪侵入, 病位在肾, 与脾肺肾相关。在临床中, 气阴两虚、肾气亏虚以及瘀血、湿热等为医家认可的发病机制。黄教授认为 IgAN 的病因主要是由于患者素

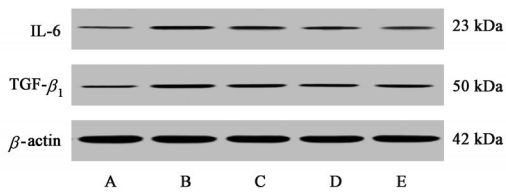


图2 大鼠肾组织 IL-6、TGF-β<sub>1</sub> 蛋白电泳

Fig. 2 Electrophoresis of IL-6, TGF-β<sub>1</sub> protein in renal-tissue of roots Shengjiangsan

表4 加味升降散对大鼠肾组织中 IL-6、TGF-β<sub>1</sub> 蛋白的表达 ( $\bar{x} \pm s$ , n=8)

Table 4 Expression of IL-6, TGF-β<sub>1</sub> in modified Shengjiangsan ( $\bar{x} \pm s$ , n=8)

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	IL-6/β-actin	TGF-β <sub>1</sub> /β-actin
正常组		0.218±0.045	0.289±0.050
模型组		0.580±0.091 <sup>2)</sup>	0.719±0.097 <sup>2)</sup>
中药低剂量组	6.27	0.455±0.074 <sup>3)</sup>	0.562±0.063 <sup>3)</sup>
中药高剂量组	12.54	0.371±0.070 <sup>4)</sup>	0.462±0.074 <sup>4)</sup>
贝那普利组	0.01	0.281±0.047 <sup>4)</sup>	0.398±0.062 <sup>4)</sup>

体阴虚、气虚或气阴两虚，而又感受风热邪毒或湿热邪毒等外邪。以至气血运行失常，三焦枢机不利，影响到脾肺肾三脏的功能，而使水湿浊邪内壅，久之湿热瘀血等标实之证形成<sup>[21]</sup>。根据陈香美等<sup>[22]</sup>做的大样本 IgAN 患者中医证候的流行病学调查显示 IgAN 患者主要以湿热、血瘀两种证候为主 (31.6%、28.9%)。笔者前期临床观察也证实湿热为本病的重要病因<sup>[23-25]</sup>，而血瘀贯穿于 IgA 肾病的发生、发展整个过程中。加味升降散方中大黄、积雪草荡积行瘀、清邪热，清利下焦湿热为君药，僵蚕、蝉蜕祛风解痉、散风热、宣肺气清利上焦湿热，茯苓健脾渗湿以清利中焦湿热共为臣药；佐以姜黄活血化瘀；桔梗为使药，载药上行，清宣上焦湿热；诸药合用升降清浊，寒温并用，可使阳升阴降，内外通达，气血调畅，三焦湿热之邪得清，瘀血得除。现代药理研究发现<sup>[26-32]</sup>，蝉蜕、僵蚕能改善脂质代谢，减少蛋白尿，抑制肾小球系膜细胞的增殖，减轻系膜基质积聚，桔梗总皂苷及桔梗皂苷 D 能够有效调节 PI3K/Akt 信号通路及其介导的 NF-κB 信号通路抑制炎症反应和细胞凋亡，三环四萜类化合物茯苓素通过与醛固酮受体结合，拮抗醛固酮受体的作用来达到利尿渗湿之功，姜黄素类似物 J7 可能通过抑制氧化应激、抗细胞凋亡、抑制转化生长因子-β/Smad 蛋白 (TGF-β/Smad) 通路及纤维化作用实现对 2 型糖尿病大鼠肾脏的保护，大黄酚能够改善 LPS 诱导的小鼠炎症模型中的炎症反应，积雪草酸通过抑制磷

脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (PI3K/Akt/mTOR) 信号通路抑制 A549 细胞增殖和迁移。由此可见加味升降散方中各药都可对肾组织产生保护作用。

分子对接结果显示，加味升降散中主要活性成分与核心作用靶点中的神经营养性酪氨酸激酶受体 1 型 NTRK1)、泛素化连接酶 E3 蛋白 (CUL3)、TP53、表皮生长因子受体 (EGFR)、核输出蛋白 1 (XPO1) 具有较为稳定的结合活性。NTRK1 即原肌球蛋白受体激酶 A (TrkA)，是人类中由 NTRK1 基因编码的蛋白质，该基因编码神经营养性酪氨酸激酶受体 (NTRK) 家族的成员。该激酶是膜结合受体，其在神经营养蛋白结合后磷酸化自身 (自身磷酸化) 和 MAPK 途径的成员。通过 PI3K/Akt 信号通路、MAPK 信号通路调控细胞增殖、炎症反应、细胞凋亡。研究表明，在儿童 IgAN 中，神经营养因子 (NTs) 及其受体 (ntr) 的基因编码的单核苷酸多态性 (SNP) 与易感性、病理进展、足细胞足突消失和蛋白尿的发生有关<sup>[33]</sup>。CUL3 是泛素化连接酶 E3 蛋白复合物 (BTB-CUL3-RBX1) 的核心成分，介导靶蛋白的泛素化和随后的蛋白酶体降解，而 CUL3 的上调可促进 LPS 诱导的足细胞凋亡<sup>[34]</sup>。TP53 是 1 个转录因子，在靶基因中有很多都与细胞凋亡或细胞周期调控过程有关。此外 TP53 也能与胞质中的 B 细胞淋巴瘤-2 (Bcl-2) 家族蛋白发生相互作用，使得线粒体外膜通透性增高，诱发细胞凋亡<sup>[35]</sup>，也可以通过 PI3K/Akt、MAPK 等信号通路调控细胞增殖、炎症反应、细胞凋亡。EGFR 是一种跨膜糖蛋白，是表皮生长因子受体家族中的一员，属于受体酪氨酸激酶家族。EGFR 作为细胞表面蛋白可与配体如表皮生长因子 (EGF) 结合，EGFR 可被激活，由单体转化为二聚体并且发生自体酪氨酸磷酸化，激活后的 EGFR 可以再磷酸化下游蛋白<sup>[36-37]</sup>，调控细胞存活的 PI3K/Akt/mTOR 信号通路。XPO1<sup>[38-40]</sup> 是细胞周期调控基因编码一种蛋白质，它通过控制细胞周期蛋白 B、MAPK 激酶的定位，参与控制一些细胞过程。还可以调节活化 T 细胞核因子 (NFAT) 和激活蛋白-1 (AP-1)。AP-1 是细胞内的 1 个转录激活因子，通过调节基因的表达来应对多种刺激，包括细胞因子、生长因子等，控制了细胞的分化、增殖和凋亡。由此可见加味升降散可能通过影响 NTRK1、CUL3、TP53、EGFR、XPO1 靶点蛋白进而调控细胞增殖和凋亡，抑制炎症反应，进而治疗 IgAN。

动物模型验证结果显示，加味升降散能够显著

降低 IgAN 大鼠血清及肾组织中细胞因子 TGF- $\beta_1$ 、IL-6 表达水平。TGF- $\beta_1$ 、IL-6 作为细胞因子可以通过 cytokine-cytokine receptor interaction 激活 PI3K/Akt、NF- $\kappa$ B、MAPK 等信号通路,参与先天性和适应性炎症宿主防御,调控细胞的增殖、生长、分化、凋亡。TGF- $\beta_1$  对免疫细胞的发育和成熟非常重要,在调节免疫反应、维持免疫耐受具有重要意义。当组织急性损伤后,TGF- $\beta_1$  作为愈合过程中的主要调节因子,会影响参与其中的每一种细胞类型。因此不控制 TGF- $\beta_1$  的表达,例如由感染、创伤引起的作用,就会出现正常生理调节转向过度的病理修复。这种纤维化的特点是胶原瘢痕组织的积聚和硬化,损害器官功能直至衰竭<sup>[41-42]</sup>。研究发现通过下调 TGF- $\beta_1$  蛋白表达水平、抑制 PI3K/Akt/mTOR 信号通路可发挥抗肾纤维化作用<sup>[43]</sup>。IL-6 不仅由 T 细胞产生,也由包括巨噬细胞、成纤维细胞、内皮细胞等一系列细胞产生。IL-6 表达由多种刺激因子诱导,包括白细胞介素-1(IL-1)、肿瘤坏死因子(TNF)和血小板衍生生长因子(PDGF)等细胞因子。细菌和病毒感染以及微生物成分如 LPS 也是 IL-6 的有效诱导因子。IL-6 作用的靶细胞很多,包括巨噬细胞、活化的 B 细胞等;IL-6 能使 B 细胞前体成为产生抗体的细胞,也可调节多种细胞的生长与分化,具有调节免疫应答,并在机体的抗感染免疫反应中起重要作用<sup>[44]</sup>。研究发现 IL-6 能激活丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)/细胞外调节蛋白激酶(ERK1/2)和 PI3K/Akt 信号通路,上调白细胞介素-15(IL-15)的表达,引起自身免疫性疾病<sup>[45]</sup>。而通过下调 PI3K/Akt 和 MAPK 的表达,减少 IL-6 基因表达,抑制 NF- $\kappa$ B 的活化,抑制细胞因子的产生可以控制炎症反应<sup>[46]</sup>。因此当 TGF- $\beta_1$ 、IL-6 过度表达可通过上述通路引起过度纤维化、炎症反应和免疫应答造成肾脏病理损害。研究发现通过调控 PI3K/Akt/NF- $\kappa$ B 信号通路可改善 IgAN 大鼠的肾组织损伤状况,延缓 IgAN 的发生发展<sup>[47]</sup>,而抑制 NF- $\kappa$ B 信号通路及其相关炎症因子的过度表达也可降低 IgAN 大鼠的蛋白尿<sup>[48]</sup>,并且抑制 PI3K/Akt/NF- $\kappa$ B 和 MAPK/NF- $\kappa$ B 途径可以减少细胞中炎症介质的产生<sup>[49]</sup>。因此通过加味升降散的干预,降低 IgAN 大鼠血清及肾组织中 TGF- $\beta_1$ 、IL-6 表达,可以抑制过度纤维化、炎症反应和免疫应答,从而减轻肾脏病理损害,减少蛋白尿,发挥保护肾脏的作用,达到延缓 IgAN 进展的目的。

综上所述,加味升降散可能通过多靶点及多通

路治疗 IgAN,其发挥治疗作用的机制可能与影响 NTRK1、CUL3、TP53、EGFR、XPO1 等靶点蛋白的表达及调控 cytokine-cytokine receptor interaction、PI3K/Akt、NF- $\kappa$ B 等信号通路进而抑制过度纤维化、炎症反应和免疫应答有关。

本研究只是对部分核心靶点和个别通路进行验证,在实际治疗过程中是否涉及上述核心靶点和通路有待进一步的动物实验和细胞实验验证。中药的成分复杂,配伍形成的中药复方通过煎煮或者提纯后成分必然有所变化。而网络药理学只是对目前各数据库中的中药成分进行简单堆叠,数据库的更新周期和包含程度以及搜集过程中的遗漏等因素都会影响结果的准确性,因此需要在不断的补充基础上开展进一步的研究,以阐明加味升降散治疗 IgAN 的具体机制,为临床治疗 IgAN 提供明确理论依据。

【利益冲突】 本文不存在任何利益冲突。

#### 【参考文献】

- [1] 侯婉音,蔡青青,师素芳,等. IgA 肾病的血管病变[J]. 中华肾脏病杂志,2019,35(7):553-557.
- [2] 陈振杰,李超,李航,等. 局灶节段性肾小球硬化形成机制及其在 IgA 肾病中的作用[J]. 中国医学科学院学报,2018,40(4):549-555.
- [3] 徐钢. 肾脏病诊疗指南[M]. 3版. 北京:科学出版社,2013:6.
- [4] 庞爽,赵栓,徐夏莲,等. 基于网络药理学和体外细胞实验分析黄芪治疗 IgA 肾病的作用机制[J]. 中国实验方剂学杂志,2021,27(15):139-147.
- [5] 王颖超,张寅,谢雁鸣,等. 2683 例 IgA 肾病患者临床特征及用药规律分析[J]. 中国中西医结合肾病杂志,2017,18(6):494-497.
- [6] 宋丹丹,程艳. 益气固本、滋肾调免方剂对气阴两虚型 IgA 肾病患者的疗效[J]. 河南医学研究,2021,30(33):6285-6288.
- [7] 胡建娥. 雷公藤多苷联合厄贝沙坦治疗 IgA 肾病的疗效分析[J]. 吉林医学,2021,42(11):2680-2681.
- [8] 姜晨,徐荣佳,崔师妍,等. 基于 HPLC-Q-TOF-MS/MS 和网络药理学探讨益肾化湿颗粒治疗 IgA 肾病作用机制[J]. 中草药,2021,52(21):6576-6585.
- [9] 顾晓慧,吴晓萍,张蕾. 升降散合栀子豉汤加减联合母乳治疗小儿急性化脓性扁桃体炎疗效及对免疫、炎症因子水平的影响[J]. 河北中医,2020,42(2):197-201,296.
- [10] 刘新平,王展儒,张雯. 升降散合贝母瓜蒌散治疗儿童支原体肺炎[J]. 吉林中医药,2020,40(6):766-768.

- [11] 赵子佳,周桂荣,王玉,等. 蝉蜕的化学成分及药理作用研究[J]. 吉林中医药,2017,37(5):491-493.
- [12] 张思瑶. 升降散治疗外感高热(社区获得性肺炎)的临床研究[D]. 南京:南京中医药大学,2020.
- [13] 夏一春,郭健,周雄根,等. 升降散对脓毒症患者肾功能的影响[J]. 中国中医急症,2013,22(2):214-215.
- [14] 李晶峰,孙佳明,张辉. 僵蚕的化学成分及药理活性研究[J]. 吉林中医药,2015,35(2):175-177.
- [15] 罗素,荣晓凤,彭菲菲. 大黄素对TNF- $\alpha$ 诱导的成纤维样滑膜细胞株MH7A细胞ERK1/2和p38MAPK的影响[J]. 免疫学杂志,2017,33(2):113-117.
- [16] HU B, ZHANG H, MENG X, et al. Aloe-emodin from rhubarb (*Rheum rhabarbarum*) inhibits lipopolysaccharide-induced inflammatory responses in RAW264. 7 macrophages[J]. J Ethnopharmacol, 2014, 153(3):846-853.
- [17] MIYAZAKI T, WADA M, KAWAHARA H, et al. Dynamic load at baseline can predict radiographic disease progression in medial compartment knee osteoarthritis [J]. Ann Rheum Dis, 2002, 61 (7) : 617-622.
- [18] ZHOU Y, ZHOU B, PACHE L, et al. Metascape provides a biologist-oriented resource for the analysis of systems-level datasets [J]. Nat Commun, 2019, 10 (1):1523.
- [19] 陆慧瑜,张巧玲,蒋小云,等. IgA肾病大鼠模型的建立[J]. 中国误诊学杂志,2011,11(6):1264-1267.
- [20] 徐叔云,卞如濂,陈修.《药理学实验方法学》第二版出版发行[J]. 中国药理学通报,1992(1):19.
- [21] 张丽芬. 黄文政教授治疗IgA肾病临床经验[C]//中国中西医结合学会肾脏病专业委员会. 第四届国际中西医结合肾脏病学术会议论文汇编. 北京:中国中西医结合学会,2006:3.
- [22] 陈香美,谢院生. 重视延缓IgA肾病进展的基础和临床研究[J]. 中华肾脏病杂志,2004,20(4):235-237.
- [23] 张圆圆,靳培培,郭登洲. 郭登洲教授治疗IgA肾病临床经验[J]. 河北中医,2020,42(9):1292-1294.
- [24] 段先佳,边东,吕哲,等. 疏通三焦、清热利湿方对IgA肾病大鼠肾组织TGF- $\beta_1$ 及血清IL-6、IL-17的影响[J]. 时珍国医国药,2018,29(10):2358-2361.
- [25] 顾悦,王思瑜,张圆圆,等. 从湿热论治IgA肾病研究进展[J]. 中医学报,2020,35(8):1691-1696.
- [26] 于俊生,杜雅静,汪慧惠. 蝉蜕、僵蚕对系膜增生性肾小球肾炎模型大鼠肾组织Toll样受体4表达的影响[J]. 中华中医药学刊,2015,33(1):7-9,后插1.
- [27] 左军,尹柏坤,胡晓阳. 桔梗化学成分及现代药理研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报,2019,21(1):113-116.
- [28] 冷晶. 基于NF- $\kappa$ B和PI3K/Akt信号通路阐释桔梗皂苷对顺铂致肾毒性的保护作用[D]. 长春:吉林农业大学,2019.
- [29] 李佳丹,周迪夷. 茯苓多糖对db/db小鼠肾脏保护作用及其对p38 MAPK/PPAR- $\gamma$ 信号通路的影响[J]. 中国中医药科技,2019,26(3):346-350.
- [30] 姬秀焕,章琼莹,池琛,等. 姜黄素类似物J7对2型糖尿病大鼠肾脏的保护作用[J]. 浙江医学,2019,41(13):1342-1347,1457.
- [31] 朱培,闫东梅,郑伟. 大黄酚通过抑制巨噬细胞的TNF- $\alpha$ 从而改善LPS诱导的小鼠炎症反应[J]. 中国实验诊断学,2021,27(1):98-101.
- [32] 王子健,庄作会,刘春霞. 积雪草酸通过调控PI3K/Akt/mTOR信号通路抑制A549细胞的增殖和迁移[J]. 中国老年学杂志,2021,41(21):4827-4830.
- [33] HAHN W H, SUH J S, CHO B S. Linkage and association study of neurotrophins and their receptors as novel susceptibility genes for childhood IgA nephropathy[J]. Pediatr Res, 2011, 69(4):299-305.
- [34] WU Y, ZHAO M, LIN Z. Pyrroloquinoline quinone (PQQ) alleviated sepsis-induced acute liver injury, inflammation, oxidative stress and cell apoptosis by downregulating CUL3 expression [J]. Bioengineered, 2021, 12(1):2459-2468.
- [35] KAMP W M, WANG P Y, HWANG P M. TP53 mutation, mitochondria and cancer [J]. Curr Opin Genet Dev, 2016, 38:16-22.
- [36] SCHLESSINGER J. Ligand-induced, receptor-mediated dimerization and activation of EGF receptor [J]. Cell, 2002, 110(6):669-672.
- [37] NAKOPOULOU L, STEFANAKI K, BOLETIS J, et al. Immunohistochemical study of epidermal growth factor receptor (EGFR) in various types of renal injury [J]. Nephrol Dial Transplant, 1994, 9(7):764-769.
- [38] MILOUDI H, BOHERS É, GUILLONNEAU F, et al. XPO1 (E571K) mutation modifies exportin 1 localisation and interactome in B-cell lymphoma [J]. Cancers (Basel), 2020, 12(10):1-20.
- [39] LIN D C, HAO J J, NAGATA Y, et al. Genomic and molecular characterization of esophageal squamous cell carcinoma [J]. Nat Genet, 2014, 46(5):467-473.
- [40] TAN M, WETTERSTEN H I, CHU K, et al. Novel inhibitors of nuclear transport cause cell cycle arrest and decrease cyst growth in ADPKD associated with decreased CDK4 levels [J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2014, 307(11):F1179-F1186.
- [41] LODYGA M, HINZ B. TGF- $\beta_1$ - A truly transforming growth factor in fibrosis and immunity [J]. Semin Cell

- Dev Biol, 2020, 101: 123-139.
- [42] KIM K K, SHEPPARD D, CHAPMAN H A. TGF- $\beta_1$  signaling and tissue fibrosis [J]. Cold Spring Harb Perspect Biol, 2018, doi: 10.1101/cshperspect.a022293.
- [43] 陈峰, 徐瑜琳, 陈红波, 等. 消痰泄浊饮介导 PI3K/Akt/mTOR 信号通路改善糖尿病肾病小鼠肾纤维化 [J]. 浙江中医杂志, 2021, 56(3): 157-160.
- [44] KISHIMOTO T. Interleukin-6: from basic science to medicine-40 years in immunology [J]. Annu Rev Immunol, 2005, 23: 1-21.
- [45] TAO Q S, HUANG H L, CHAI Y, et al. Interleukin-6 up-regulates the expression of interleukin-15 is associated with MAPKs and PI3K signaling pathways in the human keratinocyte cell line, HaCaT [J]. Mol Biol Rep, 2012, 39(4): 4201-4205.
- [46] CAO Y, LI F, LUO Y, et al. 20-Hydroxy-3-oxolupan-28-oic acid attenuates inflammatory responses by regulating PI3K-Akt and MAPKs signaling pathways in LPS-stimulated RAW264.7 macrophages [J]. Molecules, 2019, 24(3): 386.
- [47] 王广伟, 张禹, 张佳宁, 等. 加味三仁汤对免疫球蛋白 A 肾病大鼠 PI3K/Akt/NF- $\kappa$ B 信号通路的影响 [J]. 中药药理与临床, 2021, 37(5): 11-17.
- [48] 张禹, 王广伟, 吕哲, 等. 基于 NF- $\kappa$ B 炎症通路探讨五味消毒饮对 IgA 肾病大鼠的抗炎机制 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(10): 15-22.
- [49] 郭静, 尚海, 马丽炎, 等. 芦荟大黄素衍生物 AE-YJ 通过 PI3K-Akt/NF- $\kappa$ B 和 MAPK/NF- $\kappa$ B 途径抑制 LPS 诱导 RAW264.7 细胞炎症介质的释放 [J]. 中国药理学通报, 2021, 37(12): 1700-1708.

[责任编辑 顾雪竹]

· 书讯 ·

## 枸橼酸钠用于高危出血患者血液透析中的体会

### ——评《血液透析护理实践精讲》

血液透析技术在医学上得到深入普及和发展,对临床护理工作的规范水平有了更高的要求。血液透析是救治急、慢性肾功能衰竭的有效治疗方式之一,而血液透析过程中的抗凝技术影响着透析治疗的质量。然而在高危出血患者接受血液透析的治疗过程中,不可避免的是会出现相关并发症,威胁其生活质量水平。

《血液透析护理实践精讲》由王丽芹、成红梅、黄贤伟主编,中国医药科学技术出版社2020年出版。该书作为血液透析护理人员的临床实践指导用书,定位性较强。全书分为十七个章节,涉及肾脏功能的基础知识、血液透析指征、血液透析仪器设备、血液透析技术、血管通路的护理、血液透析中的护理、血液透析并发症及血液透析心理与健康教育等知识点,重点阐述了血液透析护理工作的规范化管理和血液透析新入职护士的正规化培训相关内容,力求在内容上做到深入浅出,清晰可见。该书结合临床操作的实用性,并得到了多位临床护理专家及临床医务人员的支持。在书中汇集图片、文字、流程图、临床路径、重点难点、临床差错点等多种方法,充分进行解析和说明,对于高危出血患者来说,良好的抗凝技术可以有效降低体外循环的凝血以及患者失血情况,保证透析治疗的充分性和有效性,进而提升患者的生活质量水平。因此抗凝技术是验证透析治疗质量的标准与基础。普通肝素及低分子肝素是临床上较常用的抗凝剂,但存在易发出血的缺陷,而枸橼酸钠作为一种新型的抗凝剂,如今已逐渐成为重要的抗凝药物,被广泛应用于高危出血患者的血液透析中。枸橼酸钠抗凝技术的优势在于安全性高,主要是作用在患者循环的动脉端,改善出血情况。血液透析医护人员应向患者进行透析抗凝作用、运行机制、治疗过程中存在的不良反应作为说明,具体包括以下三点,其一要以患者的实际病情及身体承受能力等对各液体用量进行适当调整;其二要对患者的生命体征密切监测,可以通过询问的方式让患者表达,若发现患者有口唇麻木或抽搐等现象,须及时为其补充钙剂,同时降低枸橼酸钠的输入量;其三要对患者的静脉压以及透析器颜色进行密切留意,若发现患者的透析器颜色发生变化,在颜色变暗的情况下可以采取生理盐水冲洗的方式应对,若发现患者的透析器出现故障时,要做到及时更换机器以保证透析作业。在患者完成血液透析后,也要注意对患者的观测。因为枸橼酸钠抗凝技术可能会存在碱中毒的状况,所以在患者完成透析后要留意其体内酸碱值,依据实际情况调整枸橼酸钠的用量;同时留意患者在透析完成后是否存在出血或出血症状严重的情况。高危出血患者护理评价主要包括体外循环的凝血情况、出血征象两个关键指标。在高危出血患者中体外循环凝血情况是指血液透析管及透析器的凝血情况,按照不同等级评估患者凝血发生率。具体标准,0级为透析器和管路无凝血或数根纤维凝血;Ⅰ级为透析器和管路部分凝血或成束纤维凝血;Ⅱ级为透析器和管路严重凝血或半数以上纤维凝血;Ⅲ级为透析中静脉压、跨膜压均代表升高或需更换透析器。而出血征象主要观察患者在透析过程中出血或原有出血的情况,评估发生率。枸橼酸钠抗凝技术在高危出血患者血液透析中效果显著,应用优质的护理方法进行有效干预,能使高危出血患者血液透析时的电解质水平得到改善,降低相关并发症的发生概率及出血情况,有助于提高患者预后性。

《血液透析护理实践精讲》非常适合血液净化专科护理人员学习借鉴。该书按照国家对专科护理人才的培养要求,分析了血液净化专科护士的核心能力体系,总结出护士规范化培训应覆盖的专业知识和基本技能,可为开展护士培训提供有效参考。让读者在阅读上能更深入、更直观的理解内容。

(作者徐艳,张旭珍,蒋丹罗兰,丽水市中心医院,浙江 丽水 323000)