

## 基于甲羟戊酸途径的盐酸小檗碱体外抗肺癌细胞药效及机制

郑宇锟<sup>1</sup>, 王光忠<sup>1,2</sup>, 吴骁伟<sup>3</sup>, 简祈盼<sup>1</sup>, 舒宇航<sup>1</sup>, 周仲实<sup>1,2\*</sup>

(1. 湖北中医药大学药学院, 武汉 430065;

2. 湖北省中药炮制工程技术研究中心, 武汉 430065;

3. 华中科技大学同济医学院附属同济医院, 武汉 430030)

**[摘要]** 目的:探究盐酸小檗碱(BBH)通过甲羟戊酸(MVA)途径抗肺癌细胞的药效及机制。方法:以人源肺癌细胞A549与鼠源肺癌细胞LLC作为研究对象,细胞增殖与活性检测(CCK-8)法检测BBH(10、20、30、40、50  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )对2种肺癌细胞增殖的抑制作用(48 h);然后采用细胞划痕实验检测BBH(40  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )对A549与LLC细胞迁移能力的影响(24、48 h);集落形成实验比较BBH(10、20、40  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )给药下2种细胞的集落形成能力;试剂盒检测BBH(40  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )对A549与LLC细胞中乙酰辅酶A(A-CoA)和总胆固醇(TC)含量的影响;运用AutoDock Vina软件对接BBH与MVA途径调控蛋白固醇调节结合原件蛋白2(SREBP2);实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)检测BBH(40  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )对A549与LLC细胞中MVA途径9个相关mRNA[羟甲基戊二酸单酰辅酶A合酶1(HMGCS1)、羟甲基戊二酸单酰辅酶A还原酶(HMGCR)、甲羟戊酸激酶(MVK)、磷酸甲羟戊酸激酶(PMK)、5-焦磷酸甲羟戊酸脱羧酶(MVD)、法尼基焦磷酸合酶(FDPS)、角鲨烯单加氧酶(SQLE)、法尼基二磷酸法尼基转移酶1(FDFT1)、异戊二烯基二磷酸合酶1(GGPS1)]表达的影响;蛋白免疫印迹法(Western blot)检测BBH(40  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )对2种细胞中MVA途径3个基因(HMGCS1、HMGCR、FDFT1)的关键蛋白表达的影响;使用TCGA数据库分析HMGCS1、HMGCR、FDFT1与SREBP2的转录基因SREBF2在非小细胞肺癌(NSCLC)中的关系。结果:与空白组比较, BBH组A549与LLC细胞的增殖、迁移与集落形成能力均显著降低( $P<0.01$ );细胞的凋亡率显著升高( $P<0.01$ );分子对接表明BBH与SREBP2具有良好的对接活性;与空白组比较, BBH组MVA途径的代谢产物A-CoA与TC的含量均显著下降( $P<0.01$ );给药BBH后, A549与LLC细胞中MVA途径基因HMGCS1、HMGCR、MVK、PMVK、MVD、FDPS、SQLE、FDFT1、GGPS1 mRNA的表达降低( $P<0.01$ ), HMGCS1、HMGCR、FDFT1蛋白水平明显下降( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ )。在NSCLC患者中, HMGCS1、HMGCR、FDFT1与SREBF2呈高度相关( $R=0.54$ ,  $R=0.57$ ,  $R=0.48$ )。结论:BBH可抑制A549与LLC细胞的增殖、迁移与集落形成能力并促进细胞的凋亡,其原因可能与BBH结合SREBP2调控MVA途径有关。

**[关键词]** 盐酸小檗碱; 肺癌细胞; 分子对接; 甲羟戊酸途径

**[中图分类号]** R22;R242;R2-031;R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2022)13-0092-10

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20221228

**[网络出版地址]** <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20220418.0822.002.html>

**[网络出版日期]** 2022-04-19 15:17

### Effect and Mechanism of Berberine Hydrochloride Against Lung Cancer Cells *in Vitro* Based on Mevalonate Pathway

ZHENG Yukun<sup>1</sup>, WANG Guangzhong<sup>1,2</sup>, WU Xiaowei<sup>3</sup>, JIAN Qipan<sup>1</sup>,

SHU Yuhang<sup>1</sup>, ZHOU Zhongshi<sup>1,2\*</sup>

(1. Pharmacy Faculty, Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430065, China;

2. Hubei Engineering Technology Research Center of Chinese Material Medical Processing,

Wuhan 430065, China; 3. Tongji Hospital, Tongji Medical College of Huazhong University of

Science and Technology, Wuhan 430030, China)

**[收稿日期]** 2022-01-09

**[基金项目]** 湖北省自然科学基金项目(2020CFB740)

**[第一作者]** 郑宇锟, 硕士, 从事中药药理学及分子生物学研究, E-mail: 1248932051@qq.com

**[通信作者]** \* 周仲实, 博士, 讲师, 从事中药药理学及分子生物学研究, E-mail: 3161@hbtcem.edu.cn

**[Abstract] Objective:** To investigate the efficacy and mechanism of berberine hydrochloride (BBH) against lung cancer cells through the mevalonate (MVA) pathway. **Method:** Human lung cancer A549 cells and mouse Lewis lung carcinoma (LLC) cells were used as research subjects. Cell proliferation and cell counting kit-8 (CCK-8) assay were performed to detect the inhibitory effect of BBH (10, 20, 30, 40, 50  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) on the proliferation of the two kinds of cells (48 h). Then cell scratch assay was used to explore the influence of BBH (40  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) on the migration of A549 and LLC cells (24, 48 h), and colony formation assay was conducted to compare the colony formation ability of the cells under different concentrations of BBH (10, 20, 40  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ). Moreover, the effects of BBH (40  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) on the content of acetyl-coenzyme A (A-CoA) and total cholesterol (TC) in A549 and LLC cells were determined by kit assay. AutoDock Vina was used for the dock of BBH and MVA pathway regulatory protein, sterol regulatory element-binding protein 2 (SREBP2). Real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction (Real-time PCR) was used to observe the effects of BBH (40  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) on the mRNA expression of nine genes related to the MVA pathway in A549 and LLC cells: hydroxymethylglutaryl-CoA synthase 1 (HMGCS1), hydroxymethylglutaryl-CoA Reductase (HMGCR), mevalonate kinase (MVK), phosphomevalonate kinase (PMVK), mevalonate 5-pyrophosphate decarboxylase (MVD), farnesyl diphosphate synthase (FDPS), squalene epoxidase (SQLE), farnesyl-diphosphate farnesyltransferase 1 (FDFT1), and geranylgeranyl diphosphate synthase 1 (GGPS1). Western blot was performed to clarify the effects of BBH (40  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) on the expression of three key proteins of the MVA pathway: HMGCS1, HMGCR, and FDFT1. The Cancer Genome Atlas (TCGA) database was searched to analyze the relationship between HMGCS1, HMGCR, FDFT1 and transcription gene SREBF2 in non-small cell lung cancer (NSCLC). **Result:** Compared with the conditions in the control group, the proliferation, migration, and colony formation of A549 and LLC cells in the BBH group were decreased ( $P<0.01$ ), while the cell apoptosis rate was increased ( $P<0.01$ ). Molecular docking showed that BBH had good binding activity with SREBP2. In addition, the content of A-CoA and TC of the MVA pathway was reduced ( $P<0.01$ ). BBH down-regulated the mRNA expression of HMGCS1, HMGCR, MVK, PMVK, MVD, FDPS, SQLE, FDFT1, and GGPS1 in A549 and LLC cells ( $P<0.01$ ), and lowered the levels of HMGCS1, HMGCR, and FDFT1 proteins ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ). In NSCLC patients, HMGCS1, HMGCR, and FDFT1 were highly correlated with SREBF2 ( $R=0.54$ ,  $R=0.57$ , and  $R=0.48$ ). **Conclusion:** BBH can inhibit the proliferation, migration, and colony formation of A549 and LLC cells and promote cell apoptosis, which may be related to the regulation of MVA pathway by BBH binding to SREBP2.

**[Keywords]** berberine hydrochloride; lung cancer cells; molecular docking; mevalonate pathway

肺癌作为中国癌症死亡的首要原因,对人民的健康构成了巨大威胁<sup>[1-2]</sup>。2015年中国恶性肿瘤流行情况报告显示,我国因肺癌死亡人数约为63.1万例,死亡率约为0.46%。肺癌作为我国男性恶性肿瘤发病首位与女性恶性肿瘤发病顺位第2位,每年分别新增新发病例约52.0万与26.7万<sup>[3]</sup>,且该数量近年在我国依然不断快速上升。因此,对抗肺癌药物机制的深入研究至关重要。中药治疗肺癌可以有效提高患者生存质量和生存期,且在临床上应用广泛。中药黄连的复方制剂及有效成分在抗肺癌方面作用显著<sup>[4-5]</sup>,吉米丽汗·司马依等<sup>[6]</sup>在黄连解毒汤治疗新型冠状病毒肺炎的网络药理学研究中,通过京都基因和基因组百科全书(KEGG)分析其有

效成分显著富集于肺癌通路,其中,盐酸小檗碱(BBH)是该方剂发挥抗癌作用的主要成分之一,但具体分子作用机制尚不明确。胆固醇在癌细胞的发育和繁殖中占据重要的作用,甲羟戊酸(MVA)途径作为细胞内合成胆固醇的唯一途径<sup>[7]</sup>,其在癌症中的作用越来越受到重视。MVA途径利用糖酵解的最终产物乙酰辅酶A(A-CoA)为原料,经羟甲基戊二酸单酰辅酶A合酶1(HMGCS1)、羟甲基戊二酸单酰辅酶A还原酶(HMGCR)、法尼基二磷酸法尼基转移酶1(FDFT1)在内的多种基因的调控,通过影响电子传递链、N-糖基化反应、蛋白质的异戊二烯化修饰等影响肺癌在内的多种恶性肿瘤的生长与增殖<sup>[8-9]</sup>。此外有研究指出,黄连解毒汤中的

BBH通过影响糖脂代谢过程,降低细胞内总胆固醇(TC)的含量在治疗2型糖尿病中发挥关键作用<sup>[10-11]</sup>。BBH是否能通过影响MVA途径发挥抗肺癌的作用目前尚未有报道。本研究旨在探讨BBH通过MVA途径体外抗肺癌细胞的调控机制,为更好地利用MVA途径治疗肿瘤提供参考。

## 1 材料

**1.1 细胞** A549(引自ATCC,细胞号CCL-185)、LLC(引自ATCC,细胞号CRL-1642)细胞株均由华中科技大学同济医学院附属同济医院提供,传至第3代用于后续实验。

**1.2 试剂** BBH单体(成都瑞芬思生物科技有限公司,CAS633-65-8);F12培养基(武汉普诺赛公司,批号WH0221K191);DMEM高糖培养基、胎牛血清(美国Gibco公司,批号分别为8120196、2232589);二甲基亚砜(DMSO,国药集团化学试剂有限公司,批号20191223);青霉素与链霉素溶液、0.25%胰酶细胞消化液、细胞增殖与活性检测(CCK-8)试剂盒、细胞裂解液(中国碧云天生物技术有限公司,批号分别为072419190731、C0201、C0038、P0013J); $\beta$ -肌动蛋白( $\beta$ -actin)一抗(美国Cell Signaling公司,批号#12620);HMGCS1一抗、FDFT1一抗(美国Proteintech公司,批号分别为17643-1-AP、13128-1-AP);HMGCR一抗(成都正能生物技术有限公司,批号384588),羊抗小鼠免疫球蛋白(Ig)G-辣根过氧化物酶(HRP)、羊抗兔IgG-HRP、ECL超敏发光液(北京索莱宝科技有限公司,批号分别为SE131、SE134、A6856);凋亡试剂盒(美国Biosciences公司,批号AB1926A1);TRizol试剂(美国赛默飞世尔科技公司,批号10296010);逆转录试剂盒、SYBR(南京诺唯赞生物技术有限公司,批号分别为R223-01、MR101-01/02);实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)扩增试剂盒(美国ABclonal公司,批号RK20429);TC、A-CoA检测试剂盒(美国Elabscience公司,批号分别为E-EL-0125C、E-BC-K109-M)。

**1.3 仪器** FluorChem FC3型凝胶成像分析系统(美国ProteinSimple公司);1730R型高速冷冻离心机、BD Accuri C6型流式细胞仪(美国基因仪器有限公司);Model 310型二氧化碳培养箱(美国赛默飞世尔科技公司);CKX53型培养显微镜(日本奥林巴斯有限公司);Box998型酶标仪(美国博腾仪器有限公司);qTOWER 2.0型qPCR检测仪(德国耶拿分析仪器股份公司);VE-186转移型蛋白免疫印迹法

(Western blot)电泳仪(上海天能生物科技有限公司)。

## 2 方法

**2.1 细胞培养及传代** A549细胞培养于F12培养基、LLC细胞培养于DMEM高糖培养基,两种培养基均添加1%青霉素与链霉素溶液和10%的胎牛血清。细胞培养皿放入37℃、5%CO<sub>2</sub>恒温培养箱中培养1~2d,待细胞长满皿的80%或以上,加入适量的0.25%胰酶消化液,放入培养箱中消化(A549细胞消化2min、LLC细胞消化1min),取出后加入完全培养基终止消化。将细胞悬液转移至15mL离心管,1000r·min<sup>-1</sup>离心5min,半径17cm,弃去管中上清液,加入完全培养基轻轻吹匀细胞,随后将细胞悬液转移至新的2个培养皿中,按照1:2进行传代。

**2.2 CCK-8法检测细胞的存活率** 将A549与LLC细胞各分组为空白组, BBH组(10、20、30、40、50  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  BBH)和溶剂组。两种细胞悬液均以 $5\times 10^3$ 个细胞/100  $\mu\text{L}$ 均匀接种到96孔板的孔中,溶剂组为每孔100  $\mu\text{L}$ 完全培养基,每组均设置6个平行复孔。待细胞贴壁后,空白组更换含有DMSO的培养基溶液, BBH组更换不同浓度的含有BBH的培养基溶液,继续培养48h将板取出,每孔加入CCK-8试剂10  $\mu\text{L}$ ,再放入培养箱中孵育20min,酶标仪450nm处检测吸光度A。SPSS 26.0软件计算药物的半数抑制浓度(IC<sub>50</sub>)。细胞存活率=( $A_{\text{BBH组}} - A_{\text{溶剂组}}$ )/( $A_{\text{空白组}} - A_{\text{溶剂组}}$ ) $\times 100\%$ 。

**2.3 细胞划痕试验检测细胞迁移** 将A549与LLC细胞接种到六孔板中,分别分为空白组与BBH组。当细胞融合率达到90%及以上时,使用无菌枪头在每个孔中均匀用力地划过一道直线,并用PBS清洗2次以去除划掉的细胞。空白组更换含有DMSO的无血清培养基, BBH组更换含有BBH(40  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )的无血清培养基,放入培养箱中继续培养,每12h观察1次,显微镜在同一位置进行拍照。使用Image J(NIH图像软件)测量划痕之间的面积,计算细胞迁移抑制率。细胞迁移抑制率=(BBH组初始划痕间面积-BBH组各时间点划痕间面积)/(空白组初始划痕间面积-空白组各时间点划痕间面积) $\times 100\%$ 。

**2.4 集落形成实验检测细胞增殖** 将A549与LLC细胞分为空白组与10、20、40  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  BBH组,2种细胞均匀接种到6孔板的孔中( $1\times 10^3$ 个细胞/mL)。3d后空白组更换含有DMSO的培养基, BBH组用含不同浓度的BBH培养基换液。继续培养7d,弃

去培养基, PBS清洗3次, 加入0.05%结晶紫染色20 min, 拍摄细胞集落并计数, 计算各组的抑制率。抑制率=(空白组平均集落数-BBH组平均集落数)/空白组平均集落数×100%。

**2.5 流式细胞术测定细胞凋亡** 将A549与LLC细胞加药处理48 h, 使用不含EDTA的胰酶消化并收集2种细胞, 按照凋亡试剂盒的说明进行处理。4℃预冷的PBS洗涤细胞2次, 1×Annexin-binding buffer调节其浓度为1×10<sup>6</sup>个细胞/mL。取100 μL细胞悬液于1.5 mL离心管中, 加入FITC Annexin V 5 μL和PI 1.5 μL, 室温避光反应15 min。加入1×Annexin-binding buffer 400 μL, 轻柔混匀, 冰上放置。1 h内使用流式细胞仪检测细胞凋亡。应用Flow Jo V10软件分析数据。

**2.6 RNA提取与Real-time PCR检测mRNA的表达** TRIzol法提取A549与LLC细胞的总RNA, 使用逆转录试剂盒将反转录反应体系在PCR仪中42℃反应2 min、50℃反应15 min、85℃反应5 s得到cDNA。加入SYBR配置扩增反应体系, 分别与基因的特异性引物进行反应, 采用三步法进行PCR反应: 95℃条件下预变性1 min, 95℃条件下变性20 s、60℃条件下退火/延伸45 s, 95℃条件下反应1 min, 采集融解曲线, 共40个循环。通过融解曲线分析验证反应的特异性, 使用2<sup>-ΔΔC<sub>t</sub></sup>法计算各mRNA相对表达水平。引物由擎科生物科技有限公司合成, 见表1。

**2.7 Western blot检测相关蛋白表达** 将提取的A549与LLC细胞蛋白质装载到10%凝胶上并使用十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)分离, 然后转移到0.45 μm孔径聚偏氟乙烯(PVDF)膜上。5%脱脂牛奶中封闭1 h, 4℃下孵育β-actin(1:1万)、HMGCS1(1:1 000)、HMGR(1:1 000)、FDFT1(1:1 000)抗体过夜, 使用TBS缓冲液洗涤, 然后在二级抗体(1:5 000)中室温培养1 h。使用ECL化学发光液在凝胶成像系统中曝光显影, Image J软件测量蛋白质条带的灰度值。

**2.8 ELISA检测A-CoA的表达** 按照试剂盒的说明处理A549与LLC细胞。在酶标板中加入标准品或样品溶液(5×10<sup>5</sup>个细胞/100 μL), 37℃孵育90 min。弃去孔内液体, 加入生物素化抗体/抗原工作液100 μL, 37℃孵育60 min, 洗涤3次。加入酶结合物工作液100 μL, 37℃孵育30 min, 洗涤5次。加入底物溶液90 μL, 37℃孵育15 min, 最后加入终止液50 μL。酶标仪450 nm处测量A。绘制标准曲

表1 引物序列

Table 1 Primer sequences

物种来源	引物	序列(5'-3')	长度/bp
人	β-actin	上游 GGATTCCTATGTGGGCGACGA	21
		下游 GCGTACAGGGATAGCACAGC	20
	HMGCS1	上游 TGTCTTTCGTGGCTCACTC	20
		下游 CTGCAGTCTCCAGGTCTGTC	20
	HMGR	上游 TTCGGTGGCCTCTAGTGAGA	20
		下游 GATGGGAGGCCACAAAGAGG	20
	MVK	上游 TGGACCTCAGCTTACCCAACA	21
		下游 GACTGAAGCCTGGCCACATC	20
	PMVK	上游 GGCAAGAGGAAATCCGGGAA	20
		下游 CCTCCTGTAGGTGCTGGTG	20
	MVD	上游 TGAACTCCGCTGCTCATC	19
		下游 CGGTACTGCCTGTCAGCTTCT	21
	FDPS	上游 CTTCTATAGCTGCAGCCATGTAC	24
		下游 GCATTGGCGTGCTCCTTCT	19
	SQLE	上游 CGTGCTCCTCTTGGTACCTCAT	22
		下游 CGGTCAAGCGGAGATTATC	20
FDFT1	上游 TCAGACCAGTCGCAGTTTCG	20	
	下游 CTGCGTTGCGCATTTC	17	
GGPS1	上游 GGAAGGATTCATGTAGGCATCG	23	
	下游 TGGTTCTCACTTGTTACCTGG	22	
小鼠	β-actin	上游 TGCTGTCCCTGTATGCCTCT	20
		下游 TTTGATGTACGCACGATTT	20
	HMGCS1	上游 CGGATCGTGAAGACATCAACTC	22
		下游 CGCCCAATGCAATCATAGGAA	21
	HMGR	上游 TGTTCCACCGCAACAACAAGA	21
		下游 CCGCGTTATCGTCAGGATGA	20
	MVK	上游 GGTGTGGTCGGAACCTTCCC	19
		下游 CCTTGAGCGGGTTGGAGAC	19
	PMVK	上游 AAAATCCGGAAGGACTTTCGT	21
		下游 AGAGCACAGATGTTACCTCCA	21
	MVD	上游 ATGGCCTCAGAAAAGCCTCAG	21
		下游 TGGTCGTTTTAGCTGGTCTCT	21
	FDPS	上游 GGAGGTCTAGAGTACAATGCC	22
		下游 AAGCCTGGAGCAGTTCTACAC	21
	SQLE	上游 AGTTCGCTGCCTTCTCGGATA	21
		下游 GCTCCTGTTAATGTCGTTTCTGA	23
FDFT1	上游 AGAGTGGCGGTTCACTGAGA	20	
	下游 GAGAAAGGCCAATTCCCACCA	21	
GGPS1	上游 TTCACAGGCATTTAATCACTGGC	23	
	下游 ACCACGTCGGAGCTTTGAAC	20	

线,根据标准曲线计算 A549 与 LLC 细胞空白组和 BBH 组 A-CoA 的含量。

**2.9 生化试剂盒检测 TC 表达** 按照试剂盒的说明处理 A549 与 LLC 细胞。酶标板空白孔加入双蒸水 2.5  $\mu\text{L}$ ,标准孔加入标准品溶液 2.5  $\mu\text{L}$ ,样本孔加入待测样本 2.5  $\mu\text{L}$ 。向各孔中加入反应试剂 250  $\mu\text{L}$ ,37  $^{\circ}\text{C}$  孵育 10 min,酶标仪 510 nm 处测定 A。分别计算 A549 与 LLC 细胞空白组和 BBH 组 TC 的含量。

**2.10 分子对接与数据库分析** 从 RSCB PDB 数据库 (<https://www.rcsb.org/>)<sup>[12]</sup> 下载固醇调节结合原件蛋白 2 (SREBP2) (PDBID: 1UKL) 的蛋白 3D 结构 PDB 格式文件,从 pubchem 数据库下载 BBH (CAS 号 633-65-8) 的 sdf 格式文件,并使用 openbabel 软件进行格式转化。使用 AutoDockTools 1.5.6 将 SREBP2 蛋白作为受体, BBH 作为配体, Discovery Studio 确定受体的活性口袋,并运用 AutoDock Vina<sup>[13]</sup> 进行对接。对接结果用 PyMOL 软件进行可视化;利用 GEPIA (<http://gepia.cancer-pku.cn/>) 分析 TCGA 数据库中非小细胞肺癌 (NSCLC) 患者 HMGCS1、HMGR、FDFT1 与 SREBF2 的相关性,相关性结果以 R 值表示, R>0 表示正相关。

**2.11 统计学分析** 以上实验均重复 3 次,所有统计学分析均使用 GraphPad Prism 8.0 版软件处理。结果以  $\bar{x} \pm s$  表示。采用 t 检验或方差分析进行统计分析。P<0.05 为差异具有统计学意义。

表 3 BBH 对 A549 与 LLC 细胞迁移的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Table 3 Effect of BBH on cells migration of A549 and LLC ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

组别	浓度 / $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	划痕间面积/ $\text{cm}^2$					
		A549			LLC		
		0 h	24 h	48 h	0 h	24 h	48 h
空白组		4.23 $\pm$ 0.25	3.85 $\pm$ 0.19	3.50 $\pm$ 0.17	4.27 $\pm$ 0.13	3.89 $\pm$ 0.04	3.67 $\pm$ 0.06
BBH 组	40	4.20 $\pm$ 0.23	1.93 $\pm$ 0.15 <sup>2)</sup>	1.30 $\pm$ 0.13 <sup>2)</sup>	4.24 $\pm$ 0.10	2.65 $\pm$ 0.05 <sup>2)</sup>	2.31 $\pm$ 0.04 <sup>2)</sup>

**3.3 BBH 对 A549 与 LLC 细胞的集落形成能力的影响** 与空白组比较, BBH 组 10  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  给药 A549 与 LLC 细胞,就能显著抑制细胞的集落形成能力 (P<0.01),且随着给药剂量的增大抑制作用显著增强。见图 2、表 4。

**3.4 BBH 对 A549 细胞与 LLC 细胞的凋亡作用** 与空白组比较, BBH 组 (40  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 能诱导 A549 与 LLC 的细胞凋亡 (P<0.01)。见表 5。

**3.5 BBH 对 A549 与 LLC 细胞 A-CoA 与 TC 含量的影响** 与空白组比较, BBH 组 (40  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 可以显著降低 A549 与 LLC 细胞中 A-CoA 与 TC 的含量

### 3 结果

**3.1 BBH 对 A549 与 LLC 细胞增殖抑制作用** 与空白组比较,不同浓度 BBH 给药 48 h A549 与 LLC 细胞,其增殖能力受到显著抑制 (P<0.01)。BBH 对 A549 细胞的 IC<sub>50</sub> 为 43.12  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,对 LLC 细胞的 IC<sub>50</sub> 为 49.89  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。选用 BBH 40  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  完成后续实验。见表 2。

表 2 BBH 对 A549 与 LLC 细胞活性的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Table 2 Effect of BBH on cells activity of A549 and LLC ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

组别	浓度 / $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	细胞生存率/%	
		A549	LLC
空白组		100.00 $\pm$ 2.82	100.00 $\pm$ 2.35
BBH 组	10	82.20 $\pm$ 2.52 <sup>2)</sup>	83.03 $\pm$ 2.26 <sup>2)</sup>
	20	78.42 $\pm$ 4.00 <sup>2)</sup>	76.24 $\pm$ 2.31 <sup>2)</sup>
	30	71.43 $\pm$ 3.13 <sup>2)</sup>	69.32 $\pm$ 1.96 <sup>2)</sup>
	40	57.75 $\pm$ 3.71 <sup>2)</sup>	56.60 $\pm$ 3.60 <sup>2)</sup>
	50	46.68 $\pm$ 1.79 <sup>2)</sup>	49.49 $\pm$ 0.88 <sup>2)</sup>

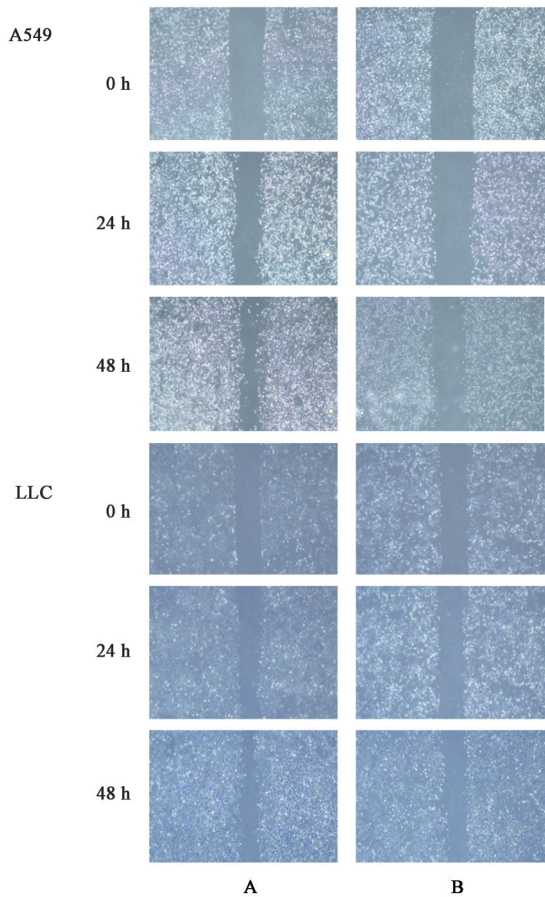
注:与空白组比较 <sup>1)</sup>P<0.05, <sup>2)</sup>P<0.01 (表 3-表 10 同)

**3.2 BBH 对 A549 与 LLC 细胞迁移的影响** 与空白组比较, BBH 组 (40  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) A549 与 LLC 细胞划痕间面积变窄速率减慢 (P<0.01),且有时间依赖性,说明在 BBH 的作用下肺癌细胞迁移能力受阻。见表 3、图 1。

(P<0.01)。见表 6。

**3.6 BBH 与 SREBP2 分子对接** 固醇调节结合原件蛋白 2 (SREBP2) 是 MVA 途径的上游调控蛋白<sup>[14-16]</sup>。BBH (CAS 633-65-8) 与 SREBP2 (PDB doi: 10.2210/pdb1UKL/pdb) 的结合能为 -7.3  $\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ ,两者具有良好的对接活性。见图 3、表 7。

**3.7 BBH 对 A549 与 LLC 细胞 MVA 途径基因的影响** 与空白组比较, BBH 组 A549 与 LLC 细胞中 MVA 途径 HMGCS1、HMGR、MVK、PMVK、MVD、FDPS、SQLE、FDFT1、GGPS1 mRNA 相对表达水平均显著降低,



注:A. 空白组;B. BBH组(图4同)

图1 BBH对A549与LLC细胞迁移的影响(倒置显微镜,×40)  
Fig. 1 Effect of BBH on cells migration of A549 and LLC (inverted microscope, ×40)

差异有统计学意义( $P < 0.01$ ),关键基因HMGCS1、HMGCR、FDFT1蛋白相对表达水平均明显下降,差

表4 BBH对A549与LLC细胞集落形成能力的影响( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Table 4 Effect of BBH on colony formation ability of A549 and LLC cells ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

组别	浓度/ $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	集落数量/个	
		A549	LLC
空白组		218±7	205±11
BBH组	10	170±5 <sup>2)</sup>	163±5 <sup>2)</sup>
	20	65±6 <sup>2)</sup>	84±5 <sup>2)</sup>
	40	22±3 <sup>2)</sup>	25±2 <sup>2)</sup>

表5 BBH对A549与LLC细胞凋亡的影响( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

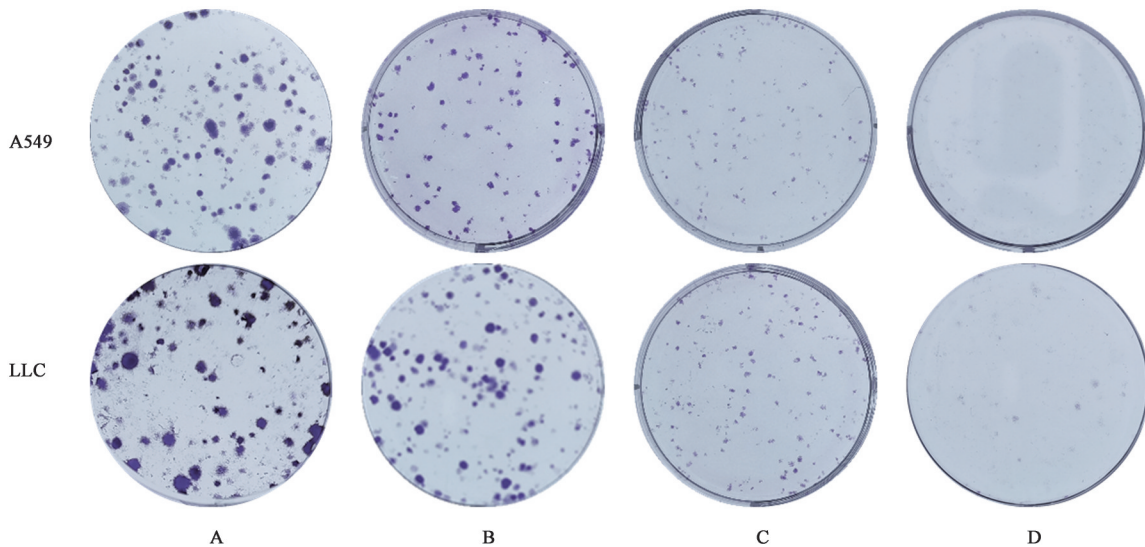
Table 5 Effect of BBH on apoptosis of A549 and LLC cells ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

组别	浓度/ $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	总凋亡率/%	
		A549	LLC
空白组		0.15±0.05	1.65±0.22
BBH组	40	0.70±0.13 <sup>2)</sup>	2.83±0.35 <sup>2)</sup>

异有统计学意义( $P < 0.05, P < 0.01$ )。见表7-表10、图4。

3.8 NSCLC患者中HMGCS1、HMGCR、FDFT1与SREBF2的相关性分析 通过数据库挖掘,确定了在NSCLC患者中HMGCS1、HMGCR、FDFT1基因与SREBP2的转录基因SREBF2具有极强的相关性( $R=0.54, R=0.57, R=0.48$ )。

3.9 BBH通过MVA途径影响NSCLC的调控机制 黑色实线箭头表示单个步骤,黑色虚线箭头表示多个步骤,红色箭头表示抑制作用,绿色箭头表示促进作用。见图5。



注:A. 空白组;B~D. BBH组(10、20、40  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )

图2 BBH对A549与LLC细胞集落形成能力的影响(结晶紫染色)  
Fig. 2 Effect of BBH on colony formation ability of A549 and LLC cells (crystal violet staining)

表6 BBH对A549与LLC细胞A-CoA与TC含量的影响( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

Table 6 Effect of BBH on A-CoA and TC content in A549 and LLC cells ( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

组别	浓度/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	A-CoA/ $\text{ng}/1\times 10^6$ 个细胞		TC/ $\mu\text{mol}/1\times 10^6$ 个细胞	
		A549	LLC	A549	LLC
空白组		9.54±0.21	9.33±0.04	1.53±0.04	1.39±0.01
BBH组	40	6.93±0.18 <sup>2)</sup>	7.12±0.07 <sup>2)</sup>	1.13±0.05 <sup>2)</sup>	1.00±0.02 <sup>2)</sup>

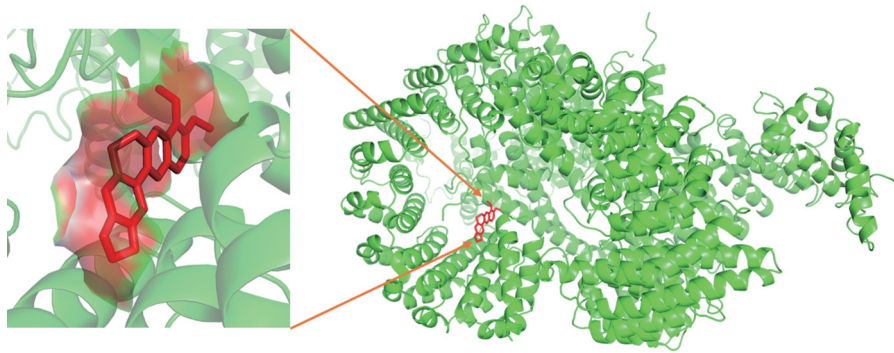


图3 BBH与SREBP2分子对接3D示意

Fig. 3 3D schematic diagram of BBH and SREBP2 molecular docking

表7 BBH对A549细胞MVA途径相关mRNA相对表达的影响( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

Table 7 Effect of BBH on mRNA of MVA pathway genes in A549 cells ( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

组别	浓度/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	A549								
		HMGCS1	HMGCR	MVK	PMVK	MVD	FDPS	SQLE	FDFT1	GGPS1
空白组		1.00±0.01	1.00±0.01	1.00±0.02	1.00±0.01	1.00±0.01	1.00±0.02	1.00±0.01	1.00±0.01	1.00±0.01
BBH组	40	0.84±0.02 <sup>2)</sup>	0.84±0.01 <sup>2)</sup>	0.74±0.01 <sup>2)</sup>	0.38±0.03 <sup>2)</sup>	0.56±0.05 <sup>2)</sup>	0.70±0.04 <sup>2)</sup>	0.80±0.01 <sup>2)</sup>	0.42±0.01 <sup>2)</sup>	0.51±0.01 <sup>2)</sup>

表8 BBH对LLC细胞MVA途径相关mRNA相对表达的影响( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

Table 8 Effect of BBH on mRNA of MVA pathway genes in LLC cells ( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

组别	浓度/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	LLC								
		HMGCS1	HMGCR	MVK	PMVK	MVD	FDPS	SQLE	FDFT1	GGPS1
空白组		1.00±0.01	1.00±0.01	1.00±0.01	1.00±0.01	1.00±0.02	1.00±0.01	1.00±0.01	1.00±0.02	1.00±0.01
BBH组	40	0.84±0.02 <sup>2)</sup>	0.84±0.02 <sup>2)</sup>	0.74±0.05 <sup>2)</sup>	0.38±0.02 <sup>2)</sup>	0.56±0.04 <sup>2)</sup>	0.70±0.03 <sup>2)</sup>	0.80±0.02 <sup>2)</sup>	0.42±0.06 <sup>2)</sup>	0.51±0.03 <sup>2)</sup>

表9 BBH对A549细胞MVA途径关键蛋白的影响( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

Table 9 Effect of BBH on key proteins of MVA pathway in A549 cells ( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

组别	浓度/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	A549		
		HMGCS1/ $\beta$ -actin	HMGCR/ $\beta$ -actin	FDFT1/ $\beta$ -actin
空白组		1.00±0.02	1.00±0.05	1.00±0.02
BBH组	40	0.88±0.08 <sup>1)</sup>	0.88±0.08 <sup>1)</sup>	0.64±0.09 <sup>2)</sup>

表10 BBH对LLC细胞MVA途径关键蛋白的影响( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

Table 10 Effect of BBH on key proteins of MVA pathway in LLC cells ( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

组别	浓度/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	LLC		
		HMGCS1/ $\beta$ -actin	HMGCR/ $\beta$ -actin	FDFT1/ $\beta$ -actin
空白组		1.00±0.02	1.00±0.03	1.00±0.01
BBH组	40	0.88±0.11 <sup>1)</sup>	0.90±0.13 <sup>1)</sup>	0.55±0.11 <sup>2)</sup>

#### 4 讨论

本实验确定了 $40\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的浓度下BBH可以有效抑制肺癌细胞A549与LLC的增殖与迁移,且在 $10\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的浓度下就能显著影响两种细胞的集落形成能力;流式数据表明 $40\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 给药BBH可以促进A549与LLC细胞的凋亡,这些结果与

BBH作用于其他肿瘤细胞的报道基本一致<sup>[17-19]</sup>;对A-CoA与TC含量的检测结果表明,BBH给药可以降低肺癌细胞内MVA途径代谢产物的含量。对参与调控MVA途径的关键基因进行检测,并分析关键基因HMGCS1、HMGCR与FDFT1蛋白水平,实验结果表明,与空白组比较,BBH组可以降低MVA

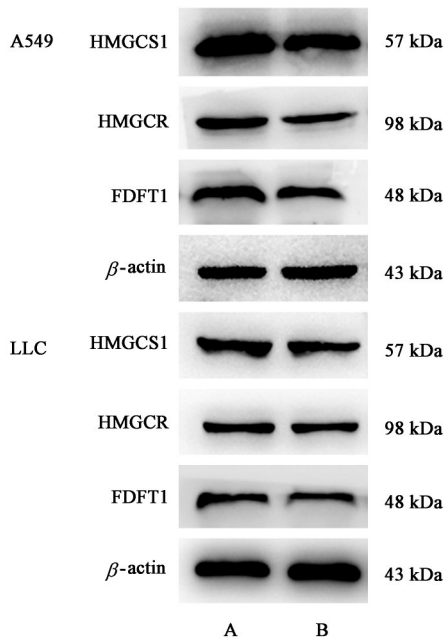


图4 BBH对A549与LLC细胞MVA途径关键蛋白表达电泳  
Fig. 4 Electrophoresis of BBH on key proteins of MVA pathway in A549 and LLC cells

途径基因 mRNA 及关键基因的蛋白的表达水平。HMGC1可促进体外癌细胞生长以及体内肿瘤的肺转移,是MVA途径的一个潜在调节节点。HMGC1水平较高的癌症患者的总生存率较低,降低HMGC1的水平可以抑制癌细胞的生长<sup>[20-21]</sup>; HMGC2是MVA途径最重要的限速基因,靶向HMGC2已被确定为癌症治疗的潜在治疗策略<sup>[22]</sup>; FDFT1与TC的生成密切相关,且在癌细胞的增殖、侵袭以及代谢重编程中起到重要作用,降低FDFT1的水平能影响胆固醇的生成<sup>[23-24]</sup>。表明BBH通过影响MVA途径的进行发挥抗肺癌作用,这些结果

同BBH与MVA途径的上游调控蛋白SREBP2有着良好的对接活性相一致。在NSCLC患者中, HMGC1、HMGC2、FDFT1与SREBP2具有高度相关性,这为中药或其单体作用SREBP2调控MVA途径在临床上治疗肺癌提供一种可能性。随着对MVA途径的了解和深入研究,利用该途径治疗肺癌是一项有前景的策略。目前,基于MVA途径抗肿瘤的药物的根据其针对靶点大致可分为抗HMGC2、抗FDFT1和抗SREBP2三大类,前两种以他汀类药物与二磷酸盐类药物为代表<sup>[25-26]</sup>,而SREBP2的抑制剂又大致可分为3种:氢溴酸盐、microRNA和天然药物。已有的研究表明,天然药物如青蒿琥酯可以靶向SREBP2,抑制MVA途径基因的表达进一步诱导肿瘤细胞的衰老<sup>[27]</sup>;蒽醌类化合物大黄素,能通过影响SREBP2的转录活性抑制胆固醇代谢和调节Akt信号通路,提高索拉非尼对肝癌细胞的治疗作用<sup>[28]</sup>。本研究证明了BBH与SREBP2相结合能够调控MVA途径抑制肺癌细胞的生长与繁殖,表明SREBP2是中药单体调控MVA途径的重要靶点,为中药或其单体运用于临床治疗肺癌提供一个新思路。但是,BBH通过降低SREBP2的活性亦或是降低SREBP2的表达水平调控MVA途径尚不明确,对该机制还需要进一步深入研究。

黄连解毒汤是清热解毒的经典名方,可治三焦火毒症<sup>[29]</sup>。近些年的研究在其治疗上焦病证中较为常见<sup>[30-32]</sup>。黄连解毒汤中的BBH来源于君药黄连与臣药黄芩,在该方剂中有效成分含量排名第二<sup>[33]</sup>。研究表明,黄连解毒汤中的BBH同时具有抗肿瘤与改善糖脂代谢的作用<sup>[6,10]</sup>。本课题组通过对

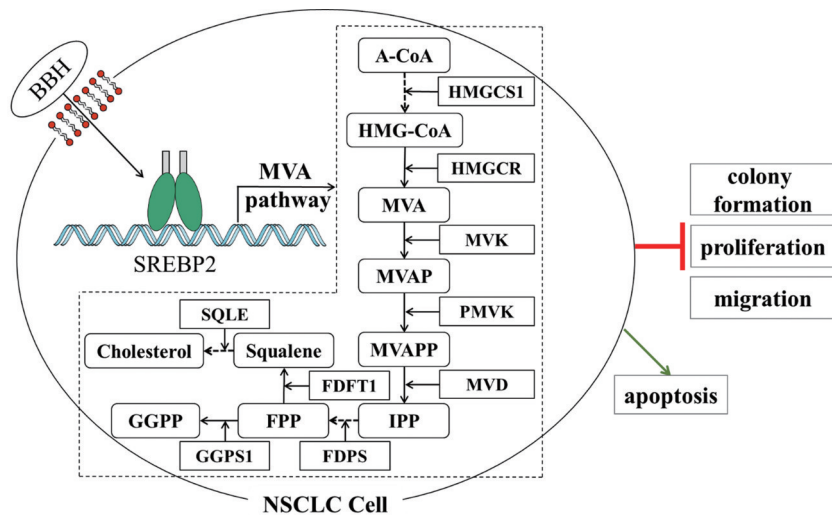


图5 BBH通过MVA途径影响NSCLC的调控机制  
Fig. 5 Regulation mechanism diagram of BBH influencing NSCLC through MVA pathway

BBH作用MVA途径抗肺癌细胞的研究,拟将黄连解毒汤治疗肺癌与降低糖脂代谢的过程相关联,为黄连解毒汤的更广泛的运用于临床治疗提供新的思路。

综上所述,本文研究了BBH体外对A549与LLC两种肺癌细胞的药效作用及结合SREBP2影响MVA途径抗肺癌细胞的调控机制,为利用MVA途径筛选有效、具有应用前景的抗肺癌天然药物提供基础。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

#### [参考文献]

- [1] 李翔,高申. 1990—2019年中国居民肺癌发病、患病和死亡趋势分析[J]. 中国慢性病预防与控制, 2021, 29(11): 821-826.
- [2] 张强,许璨,唐朝克. 细胞内胆固醇水平调节研究进展[J]. 生物化学与生物物理进展, 2021, 49(2): 292-302.
- [3] 郑荣寿,孙可欣,张思维,等. 2015年中国恶性肿瘤流行情况分析[J]. 中华肿瘤杂志, 2019, 41(1): 19-28.
- [4] 赵翠云,李杰,吴童,等. 基于数据挖掘探究中药古方治疗肺癌用药规律[J]. 天津中医药大学学报, 2020, 39(5): 513-519.
- [5] 吴国成,陈焕. 黄连素调节非小细胞肺癌细胞糖酵解水平并抑制A549细胞EMT的发生[J]. 临床肺科杂志, 2020, 25(8): 1206-1211.
- [6] 吉米丽汗·司马依,买买提明·努尔买买提,艾尼瓦尔·吾买尔,等. 黄连解毒汤抗新型冠状病毒肺炎的“中药-成分-靶点”调控网络研究[J]. 西北药学杂志, 2021, 36(5): 763-769.
- [7] 王芳,蔡璐,蔡丰丰,等. 甲羟戊酸途径抗肿瘤机制的研究进展[J]. 世界临床药物, 2018, 39(1): 59-61, 72.
- [8] KWON J, BAKHOUM S F. The cytosolic DNA-sensing cGAS-STING pathway in cancer[J]. *Cancer Discov*, 2020, 10(1): 26-39.
- [9] MARTINS Á M, RAMOS C C, FREITAS D, et al. Glycosylation of cancer extracellular vesicles: Capture strategies, functional roles and potential clinical applications[J]. *Cells*, 2021, 10(1): 109.
- [10] 李驭帅,刘松枝,林耀新,等. 治疗2型糖尿病的黄连解毒汤制剂改良及药理学评价[J]. 中国药理学杂志:网络版, 2022, 20(1): 14-32.
- [11] 陈一君,吴庆光,刘颖,等. 黄连解毒汤单独用药及联合用药对2型糖尿病治疗效果的Meta分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(10): 212-220.
- [12] BOKHOVCHUK F, MESROUZE Y, IZAAC A, et

- al. Molecular and structural characterization of a TEAD mutation at the origin of Sveinsson's chorioretinal atrophy[J]. *FEBS J*, 2019, 286(12): 2381-2398.
- [13] YURI K, ERICH H, CC K, et al. Webina: An open-source library and web app that runs autodock vina entirely in the web browser[J]. *Bioinformatics (Oxford, England)*, 2020, 36(16): 4513-4515.
- [14] GUERRA B, RECIO C, ARANDA-TAVIO H, et al. The mevalonate pathway, a metabolic target in cancer therapy[J]. *Front Oncol*, 2021, doi: 10.3389/fonc.2021.626971.
- [15] XUE L, QI H, ZHANG H, et al. Targeting SREBP-2-regulated mevalonate metabolism for cancer therapy[J]. *Front Oncol*, 2020, doi: 10.3389/fonc.2020.01510.
- [16] MOON S H, HUANG C H, HOULIHAN S L, et al. p53 represses the mevalonate pathway to mediate tumor suppression[J]. *Cell*, 2019, 176(3): 564-580.
- [17] 郑增光,王鹏雁. 盐酸小檗碱对恶性黑色素瘤细胞A375增殖、凋亡和迁移的影响[J]. 浙江中西医结合杂志, 2021, 31(1): 18-21.
- [18] 许真俊,王忠,唐锁艳,等. 小檗碱对膀胱癌T24细胞增殖、迁移的影响及分子机制研究[J]. 西南民族大学学报:自然科学版, 2021, 47(5): 504-509.
- [19] 蒋小飞,刘九辉,李虎,等. 一类新型小檗碱衍生物的合成与生理活性[J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(23): 156-164.
- [20] WANG I H, HUANG T T, CHEN J L, et al. Mevalonate pathway enzyme HMGCS1 contributes to gastric cancer progression[J]. *Cancers (Basel)*, 2020, 12(5): 1088.
- [21] 蔡硕,陈思敏,王媛媛,等. 基于高通量测序技术探讨补骨脂宁治疗肺癌的潜在机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(14): 183-192.
- [22] HASHEMI M, HOSHYAR R, ANDE S R, et al. Mevalonate cascade and its regulation in cholesterol metabolism in different tissues in health and disease[J]. *Curr Mol Pharmacol*, 2017, 10(1): 13-26.
- [23] DONG X, ZHU Y, WANG S, et al. Bavachinin inhibits cholesterol synthesis enzyme FDFT1 expression via AKT/mTOR/SREBP-2 pathway[J]. *Int Immunopharmacol*, 2020, doi: 10.1016/j.intimp.2020.106865.
- [24] HA N T, LEE C H. Roles of farnesyl-diphosphate farnesyltransferase 1 in tumour and tumour microenvironments[J]. *Cells*, 2020, 9(11): 2352.
- [25] LONGO J, SMIRNOV P, LI Z, et al. The

- mevalonate pathway is an actionable vulnerability of t (4; 14)-positive multiple myeloma [J]. *Leukemia*, 2021, 35(3): 796-808.
- [26] SETHUNATH V, HU H, DE ANGELIS C, et al. Targeting the mevalonate pathway to overcome acquired anti-her2 treatment resistance in breast cancer [J]. *Mol Cancer Res*, 2019, 17(11): 2318-2330.
- [27] WEI S, LIU L, CHEN Z, et al. Artesunate inhibits the mevalonate pathway and promotes glioma cell senescence [J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24(1): 276-284.
- [28] KIM Y S, LEE Y M, OH T I, et al. Emodin sensitizes hepatocellular carcinoma cells to the anti-cancer effect of sorafenib through suppression of cholesterol metabolism [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(10): 3127.
- [29] 高晓慧, 梁馨元, 何舒平, 等. 黄连解毒汤联合氟康唑对白色念珠菌生物膜的体外影响的研究[J]. *广东化工*, 2022, 49(2): 29-30, 70.
- [30] 杨晓正, 张理, 马燕楠. 黄连解毒汤对冠心病不稳定型心绞痛患者血脂代谢及血管细胞黏附分子水平的影响[J]. *湖北中医杂志*, 2022, 44(1): 15-17.
- [31] 张思利. 黄连解毒汤治疗慢性牙周炎患者的临床疗效分析[J]. *现代诊断与治疗*, 2021, 32(20): 3225-3227.
- [32] 戚微微, 令狐庆. 黄连解毒汤对肛周脓肿根治术后患者创面愈合及肛门直肠压力的影响[J]. *光明中医*, 2021, 36(17): 2849-2851.
- [33] 李军鸽, 王永春, 孟珈同, 等. 黄连解毒汤中盐酸小檗碱、黄芩苷、黄柏碱、栀子苷的含量测定[J]. *人参研究*, 2021, 33(5): 19-24.

[责任编辑 张丰丰]

·书讯·

## 糖尿病肾病临床诊断与治疗 ——评《糖尿病肾病研究》

糖尿病肾病,是一种患病率高、知晓率和治疗率低、医疗费用负担重的疾病,现已成为慢性肾脏病和终末期肾病的主要原因。按照临床表现可分为肾小球高滤过期、潜伏期、微量白蛋白尿期、大量蛋白尿期、终末期肾病。其主要的临床表现为早期持续性的蛋白尿,部分患者可表现为尿里泡沫多,逐渐出现肾功能损害、高血压、水肿,最后病情进展至晚期,出现严重肾功能衰竭、尿毒症,需透析治疗。即便现阶段医学水平已经能够延缓糖尿病肾病的发展,但由于目前尚无治疗糖尿病肾病的特效方法,糖尿病性肾脏疾病的治疗是一个长期漫长的过程,虽然无法根治,但只要长期规范的治疗就可以延缓疾病的进程。定期复查、规律随访,及早发现仍可以阻断糖尿病肾病的进展。现阶段临床治疗在控制血糖、血压等基础治疗方面有较大的进展,但是针对糖尿病肾病的治疗缺乏有效的手段,相关的多项研究均取得了成果。临床诊断与实验研究是评估一款药物或疗法有效性的指标,既需要客观,又要兼顾临床试验的成本和可操作性。治疗糖尿病肾病的临床实践研究能够提供更加具有针对性的临床应用价值。在患者的临床治疗过程中,临床诊断和实验研究对于患者的病情快速改善,阻止患者病情的进展以及延缓糖尿病终末期肾衰的发生,延长生存期具有至关重要的作用。

《糖尿病肾病研究》由李敬林,依秋霞主编,辽宁科学技术出版社2018年出版。该书主要介绍了糖尿病肾病的研究,包括糖尿病肾病的研究概况、对糖尿病肾病的学术观点及实验研究、实验研究相关成果论文。糖尿病肾病的临床诊断单一,筛查指标为肾脏是否存在损伤及可能存在一些缺陷,临床医生应结合多种辅助检查方法来综合判断,包括糖尿病病史、其他原因的间歇性或持续性临床蛋白尿、伴有肾功能不全、伴发视网膜病变、肾活检型。检测糖尿病患者尿液中是否含有微量白蛋白可早期诊断是否患有糖尿病,对早期积极有效治疗糖尿病肾病具有重要意义,在临床中联合使用尿微量白蛋白、尿肌酐两者的比值更可以客观地判定糖尿病患者肾脏损伤的情况,能避免单一观察指标对疾病诊断带来的片面影响。由于糖尿病肾病有复杂的代谢紊乱情况,在疾病的早期,如果进行积极治疗,肾脏的病情可逆转,一旦发展到终末期肾脏病,治疗及预后较差,肾脏替代治疗成本高,且死亡率高。绝大部分患者不知道自己合并有糖尿病肾脏病,等被发现时往往已到了比较重的程度。通过早期筛查来及早发现和及时干预,以延缓糖尿病肾病的发展。通过对糖尿病肾病的征象、诊断、有效药物或防治措施发现,是以临床实验研究为基础的。实验研究方案由临床试验设计专家、制剂专家、相关疾病领域专家和课题负责人等组织团队一起共同完成临床试验设计。实验研究的本质是一种科学探索,因此必然存在一定的未知性,不同的临床试验的未知程度不同。试验包括干预性与观察性两种。干预性临床试验是指任何治疗研究中采用随机对照设计的研究,预先将受试者或受试人群随机分配接受一种或多种医疗干预,以评价医疗措施对健康结局的影响。观察性研究是指治疗研究中采用非随机对照设计的试验。实验研究证明肾小管损伤是糖尿病肾病早期病理变化的重要一环,肾小管损伤标志物的检测有助于识别更早期的糖尿病肾病,同时对监测糖尿病肾病的病情进展、判断肾脏损伤的程度和预后以及判断治疗干预效果等具有重要的临床价值。改善糖尿病肾病患者用药情况的现状,让更多的患者从中受益。

《糖尿病肾病研究》是糖尿病肾病的入门书籍,其知识内容十分适合想要深入学习糖尿病肾病的相关医师、护理人员学习。其内容翔实,结构清晰,语言通俗,理论紧密联系实际,实用性和可操作性都很强,可供广大医务人员阅读参考。

(作者史丽,胡婷婷,任卫东,河北北方学院附属第一医院,河北张家口075000)