

自噬在肾间质纤维化中的作用及中药干预研究进展

李建省¹, 王英明^{2*}, 闫燕顺³, 程建林¹, 张雯年³, 康桂兰³

(1. 甘肃省中医院, 兰州 730050; 2. 甘肃省妇幼保健院, 兰州 730050;

3. 甘肃中医药大学, 兰州 730030)

[摘要] 肾间质纤维化(RIF)是慢性肾脏疾病进展至肾功能衰竭的共同通路,其发病机制主要与肾脏炎症损伤、氧化应激、细胞凋亡、细胞外基质(ECM)的过度沉积等相关,转化生长因子- β_1 (TGF- β_1)信号通路、哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)信号通路等多种信号通路介导了RIF的发生发展。因其发生机制复杂,临床上尚无特异性防治措施。自噬是真核细胞产生的非损伤性应答,通过降解和重吸收作用,参与维持组织内稳态的平衡。目前,中医药在治疗慢性肾脏疾病延缓RIF的进程中以其多成分、多效应、多靶点的独特优势取得了较好的临床疗效。学者研究发现自噬与中医阴阳学说、癥瘕积聚理论等在一定程度上相符合,并且自噬参与了RIF的诸多环节,RIF病程进展与自噬关系密切,通过干预自噬靶向治疗RIF已成为研究的前沿方向。然而,有关自噬在RIF中的作用及中医药调控自噬治疗RIF的研究相对比较少,因此,有必要进一步阐述自噬与RIF的关系,以明确自噬在RIF中发挥的作用机制及中医药调控自噬靶向治疗RIF的机制,该文就中医理论与自噬和RIF的相关性,结合自噬在RIF中炎症损伤、氧化应激、细胞凋亡、ECM过度沉积等的作用,自噬与TGF- β_1 信号通路、mTOR信号通路在RIF的调控机制,对自噬在RIF中的作用及中药干预的研究进行梳理和总结,以期对RIF的治疗及新药研发提供参考依据。

[关键词] 肾间质纤维化; 自噬; 作用机制; 慢性肾脏病

[中图分类号] R242;R856.2;R692;R256.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2022)19-0274-09

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20221991

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20220322.1532.023.html>

[网络出版日期] 2022-03-24 7:02

Role of Autophagy in Renal Interstitial Fibrosis and Intervention of Chinese Medicine: A Review

LI Jiansheng¹, WANG Yingming^{2*}, YAN Yanshun³, CHENG Jianlin¹, ZHANG Wennian³, KANG Guilan³

(1. Gansu Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730050, China;

2. Gansu Provincial Maternal and Child-card Hospital, Lanzhou 730050, China;

3. Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730030, China)

[Abstract] Renal interstitial fibrosis(RIF) is a common pathway for the progression of chronic kidney disease to renal failure, and its pathogenesis is mainly related to renal inflammatory damage, oxidative stress, apoptosis, and excessive extracellular matrix (ECM) deposition. Transforming growth factor- β_1 (TGF- β_1) signaling pathway, mammalian target of rapamycin (mTOR) signaling pathway and other signaling pathways mediate the occurrence and development of RIF. Because of the complicated mechanism of RIF, there have been no specific prevention and treatment measures in clinical practice. Autophagy is a non-damaging response produced by eukaryotic cells. It maintains the balance of tissue homeostasis through degradation and reabsorption. At present, Chinese medicine has achieved desirable clinical effects with its unique advantages of

[收稿日期] 2021-11-02

[基金项目] 国家中医药管理局青年岐黄学者支持项目;甘肃省自然科学基金项目(20JR5RA162,1308RJZA164);甘肃省高等学校科研项目(2013A-082);

[第一作者] 李建省,博士,主任医师,硕士生导师,青年岐黄学者,从事中西医结合防治肾脏疾病的研究,E-mail:ljsbr@126.com

[通信作者] *王英明,硕士,从事中西医结合防治肾脏疾病研究,E-mail:1334557355@qq.com

multiple components, multiple effects, and multiple targets in the treatment of chronic kidney disease to delay the process of RIF. Scholars have found that autophagy is consistent with the Yin-Yang theory and the theory of abdominal mass in traditional Chinese medicine (TCM) to a certain extent, and it is involved in many aspects of RIF. The progression of RIF is closely related to autophagy. The targeted therapy of RIF by intervention in autophagy has become the frontier of research. However, little is known about the role of autophagy in RIF and the regulation of autophagy by Chinese medicine in the treatment of RIF. Therefore, it is necessary to further elucidate the relationship between autophagy and RIF in order to clarify the mechanism of autophagy in RIF and the mechanism of Chinese medicine regulating autophagy in targeted therapy of RIF. This article focused on the correlation between autophagy and RIF based on TCM theory, and systematically summarized the role of autophagy in RIF and the intervention of Chinese medicine by combining the effects of autophagy on inflammation damage, oxidative stress, apoptosis, and excessive ECM deposition in RIF, and the regulation mechanism of autophagy in TGF- β_1 and mTOR signaling pathways in RIF. This study was expected to provide a certain reference for the clinical treatment of RIF and the development of new drugs.

[Keywords] renal interstitial fibrosis; autophagy; mechanism; chronic kidney disease

慢性肾脏病(CKD)是由各种原因引起的肾脏结构和功能障碍的疾病,可分为原发性、继发性及遗传性肾脏病。肾脏结构和功能的损伤通常是一个慢性进展性过程,目前成人患病率为13.4%,还在呈上升趋势,严重危害人类健康和生命,已经成为世界各国所面临的重要医疗问题^[1-2]。肾间质纤维化(RIF)是CKD进行性肾功能衰竭的原因,是CKD进展至终末期肾病的最终结局,RIF病理以正常肾单位破坏、细胞外基质(ECM)积聚、小管凋亡和萎缩为特征,临床上尚缺乏有效的针对性防治措施以延缓或逆转RIF^[3]。自噬能通过调控溶酶体蛋白降解途径去除蛋白质聚集物和受损的细胞器,以维持细胞内稳态和细胞完整性,自噬与中医阴阳理论,癥瘕积聚等相关,备受研究者的关注。目前,通过调控自噬治疗RIF已成为热点研究方向,中药及其活性成分的在治疗RIF的作用脱颖而出,并逐渐显现出中医药的优势和前景^[4]。因此,深入研究中医药干预自噬治疗RIF发现特异性的诊疗措施对于RIF的防治及延缓肾功能减退具有重要意义,现将自噬在RIF的作用及中医药干预自噬治疗RIF的相关研究进展综述如下。

1 细胞自噬

1.1 自噬的主要类型 在哺乳动物细胞中,目前已知有3种类型的自噬即巨自噬、微自噬和伴侣介导的自噬^[5]。虽然每一种类型都在形态上不同,但最终都将代谢物运送到溶酶体进行降解和回收。巨自噬使用隔离膜隔离一部分细胞质,包括可溶物质和细胞器,形成自噬体,自噬体与溶酶体融合成为自噬小体并降解其中的物质。微自噬是指细胞质

内容物通过溶酶体膜的内陷或变形进入溶酶体的过程,在微自噬过程中,溶酶体通过膜的内陷吞没细胞质中的成分,过程中的膜动力学可能与依赖运输的多泡体(MVB)形成的核内体分复合物相同。伴侣介导的自噬具有高度特异性,所有伴侣介导的自噬底物共有的五肽靶向基序在生物化学上与KFERQ相关,含有KFERQ共识基序的靶蛋白通过胞质伴侣的作用展开,KFERQ基序被热休克蛋白8(HSPA8)复合物识别,将底物递送到溶酶体膜上帮助底物展开,并直接转运到溶酶体膜上,在腔内降解。跨膜蛋白溶酶体相关膜蛋白(LAMP)-2A是LAMP-2的一种亚型,作为溶酶体上的受体,通过多体易位复合物被输送到溶酶体腔内降解和吸收。巨自噬被认为是自噬的主要类型,与微自噬和伴侣介导的自噬相比,对于巨自噬的研究最为广泛,因此,将巨自噬简称为“自噬”^[6-7]。

1.2 自噬的发生过程及相关蛋白 自噬广泛发生于真核细胞中,通过溶酶体的作用降解受损蛋白及损伤衰老的细胞器,实现降解并重新利用和更新,是维持细胞稳态的重要机制。自噬过程主要包括4个阶段,受多种蛋白及信号通路调控,当机体受到饥饿、缺氧、炎症、缺血再灌注等因素刺激后,自噬前体形成并不断延伸,不断延伸的自噬前体包绕待降解的物质形成自噬体,自噬体成熟后与溶酶体结合形成自噬溶酶体,自噬体内膜及其内容物被溶酶体中的水解酶所降解,从而维持了细胞环境的稳态。在此过程中自噬为细胞提供了所需能量,消除了细胞体内受损或老化的细胞器及不需要的蛋白质和病原体等,通过自噬过程合成新的蛋白质以保持内

环境稳态^[8-9]。自噬关键分子酵母 Atg6 同系物-1 (Beclin-1)及微管相关蛋白1轻链3(LC3)均为自噬相关性蛋白,可用于细胞水平的检测,其表达与自噬水平呈正相关。Beclin-1是自噬启动阶段的重要修饰物,是参与自噬调控的重要因子,可接受自噬信号,还可接受其他信号对自噬进行调节,Beclin-1基因表达引起自噬,表达抑制会阻断自噬^[10]。微管相关蛋白LC3,相对分子质量约17 kDa,是自噬标志性蛋白,其以LC3 I和LC3 II分别存在于细胞浆和自噬体膜上,当LC3 I的胞质形式与磷脂酰乙醇胺结合形成LC3 II时表明自噬体已经形成,自噬体内的成分被溶酶体水解酶降解。同时,溶酶体腔内LC3 II被降解,LC3是迄今为止发现的唯一定位于吞噬泡内膜,参与多种自噬信号转导的调节蛋白^[11]。

2 中医理论与细胞自噬和 RIF

自噬维持细胞内环境稳态的功能在生理状态下与中医“阴平阳秘”相符合,在病理状态下与“阴阳自和”相一致,与“癥瘕积聚”相关。肾为阴阳之根,水火之宅,且RIF“肾络癥瘕”的病机学说已成了研究的热点,这为中医药通过调控自噬治疗RIF提供了较好的理论基础。

2.1 阴平阳秘与细胞自噬 中医认为“阴平阳秘,精神乃治”,阴阳平衡是机体健康的最佳状态,机体在内外环境下的阴阳失衡导致了疾病的发生发展。“阴平阳秘”不仅代表机体阴阳之间动态平衡,也是人体活动和功能的一种有序的内稳态^[12]。在机体正气充足的状态下,阴阳“互根互用”与“相互转化”维持稳态平衡,阴阳“互根互用”和“相互转化”与自噬维持细胞内环境稳定是类似的,在生理状态下即正气充足,气血充沛的条件下,机体阴阳互用互化相制以维持阴阳的动态平衡与自噬通过诱导细胞凋亡、降解衰老的细胞器、受损蛋白和重吸收作用为机体提供所需能量及物质内涵相一致,自噬维持细胞内环境稳态的功能与中医“阴平阳秘”相符合。肾为水火之宅,是人体阴阳之根本,融阴阳于一体,所以肾脏“阴平阳秘”的状态是自噬功能正常的基础^[13-14]。

2.2 阴阳自和与细胞自噬 《伤寒论·辨太阳病脉证并治》曰:“凡病,若发汗,若吐,若亡血、亡津液,阴阳自和者,必自愈。”当机体“阴平阳秘”状态被打破时,机体可通过自身或借助药物等手段,使其重新达到阴阳平衡,即“阴阳自和”的状态。细胞自噬是微环境的保持动态平衡的一种方式,是对环境变化做出的有效反应。在病理状态下,当机体受

到如饥饿、缺氧、缺血再灌注等内外环境因素刺激后,细胞通过溶酶体的作用,实现降解与重新利用及自我更新,从而维持细胞稳态^[15-16],这与中医阴阳的对立制约维持阴阳动态平衡在一定程度上相一致。重新实现降解和重吸收,及时自我更新和“阴阳自和”有着相似的内涵,即阴阳自和中有自噬的属性,故从中医理论发掘自噬相关机制应用于临床,对于治疗与自噬相关的疾病具有很好的应用前景。RIF与自噬密切相关,从中医“阴阳自和”角度出发,可认为RIF是肾脏组织局部自噬不足或者太过使“阴阳自和”状态被打破的结局,而自噬抑制RIF是肾组织“阴阳自和”的过程^[17-18]。

2.3 癥瘕积聚与细胞自噬 “癥者,征也,有形而可征也”“瘕者,假也,假物以成形也”“积者,积也,积久而成形也”“聚者,聚也,聚散而无常也”是对癥瘕积聚的论述。癥瘕积聚是对正气亏虚,气血痰湿瘀互结导致具有“有形可见”或“假物成形”特点病证的概括^[19]。目前学者研究表明自噬和中医“气虚痰瘀”有联系,自噬是机体正气充足下通过“精化气”来维持脏腑正常功能保持内环境稳定手段,同时也是消除内生痰浊、瘀血等实邪的方式。癥瘕积聚的本质是内生实邪痰、湿、瘀等胶结阻滞的结果,自噬功能不足,会引起衰老细胞器、异常蛋白、代谢废物等病理产物的累积,这与内生痰、湿、瘀等胶结不去有关,所以癥瘕积聚的聚散消长与自噬水平高低密切相关^[20-21]。目前学者以络病学说、癥瘕理论、肾脏病理为基础,认为RIF病理以成纤维细胞增生、ECM过度沉积是肾络微型癥瘕形成的过程,提出“肾络癥瘕”学说,其病机是正气亏虚,浊毒、痰湿、血瘀等实邪内生形成的微型癥瘕积聚于肾络的结果,已形成理、法、方、药较完备中医治疗体系,这与细胞自噬相关,故深入研究肾络癥瘕与自噬的相关性对于中医药调控自噬治疗RIF有深远的意义^[22-24]。

3 自噬在 RIF 中的作用

自噬与RIF密切相关,研究表明肾脏纤维化与肾脏炎症损伤,氧化应激,细胞凋亡相关,多种信号通路参与了RIF的过程,自噬参与了RIF的多个环节,发挥着重要作用。

3.1 炎症损伤与自噬 炎症损伤是多种肾脏病理、加重疾病进程和增加实质损伤严重程度发病机制的重要因素^[25]。在细胞免疫系统中固有免疫系统模式即识别受体(PRRs)模式和损伤相关分子模式, Toll样受体(TLR)在先天免疫系统中发挥着重要的

调节作用,最近证据表明,TLR信号在肾内各种内源性和外源性刺激的促炎反应中起着重要作用,TLR4通过级联反应诱导巨噬细胞自噬。细胞因子是炎症的化学介质,促进免疫细胞的激活并导致末梢器官损伤^[26]。许多细胞因子[如肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素(IL)-6、干扰素(IFN)- α 、IL-4]具有调节自噬的作用,同时还存在细胞介导的自噬。RIF伴随多种炎症性细胞浸润,在肾脏受损后炎症细胞分泌促纤维化细胞因子,促进纤维化的发生,自噬是一种帮助维持细胞内稳态的细胞内降解途径,自噬具有调控肾脏内的炎症反应的作用,可抑制肾组织炎性细胞因子的浸润,以减缓炎症状态下RIF进展^[27-28]。WEI等^[29]通过体外研究表明,具有抗炎、肾损伤等多效性药理特性银杏素在糖尿病肾病中可修复的汞损伤的自噬,其抑制剂3-MA阻断自噬,则逆转了银杏素对HG诱发的系膜细胞功能障碍的功能。研究发现,银杏黄酮可能通过激活腺苷酸活化蛋白激酶/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(AMPK/mTOR)介导的自噬通路,减轻HG诱导的系膜细胞增生、氧化应激、炎症反应和ECM积聚。

3.2 氧化应激与自噬 氧化和抗氧化作用失衡产生有害的应激状态称之为氧化应激。研究已证实,当细胞受到缺氧等刺激而不能提供机体代谢所需的能量和物质时,自噬就会被激活,发挥降解和重新利用吸收的功能。研究表明,在RIF过程中,肾组织氧化应激与自噬有关,单侧输尿管梗阻的肾脏在缺氧条件下会刺激细胞,使细胞内自噬逐渐增强,从而诱导细胞凋亡,甚至是坏死。氧化应激损伤可以激活自噬,而自噬可降解氧化应激的代谢产物,氧化应激的代谢产物对于机体具有一定的损伤作用,自噬可以通过降氧化应激产物来发挥肾保护效应。CHEN等^[30]发现线粒体是细胞氧化应激产物产生的主要场所,线粒体对自噬有一定的拮抗作用,线粒体内的氧化应激反应会激活自噬,而自噬的作用可分解氧化代谢产物控制氧化应激损伤。但是持续的自噬激活状态下,可能导致自噬溶酶体在细胞内大量聚集,这种过度的自噬最终会导致肾小管上皮细胞死亡^[31]。

3.3 ECM过度沉积与自噬 RIF是多种细胞、细胞因子及生长因子共同参与,相互作用,最终导致ECM合成增多,降解减少,过度沉积的结果^[32],ECM的过度沉积标志着肾脏纤维化的形成。胶原蛋白、非胶原蛋白、糖性蛋白等是ECM的主要成分,I型胶原和II型胶原是最主要的类型,沉积于肾小

管上皮细胞和肾间质,导致肾脏纤维化的发生。自噬通过降解和重吸收作用可促使过度沉积的ECM中的的胶原纤维降解,延缓肾小管的退化,对RIF起到抑制作用。DU等^[33]实验表明,TGF- β_1 诱导的自噬可抑制梗阻肾小管上皮细胞的纤维化,主要机制是自噬通过降解TGF- β_1 和I型胶原起到抑制纤维化的作用。研究报道,在Beclin-1缺失的小鼠肾细胞中,胶原沉积增多,I型胶原蛋白水平升高,肾脏纤维化加重,给予自噬诱导剂后,I型胶原蛋白水平下降,纤维化被抑制,证明自噬可通过降解I型胶原而防止过量的胶原沉积,延缓肾纤维化的进展。在体外培养HK-2细胞中,TGF- β_1 诱导自噬体的积累和LC3的转化,促进成熟TGF- β_1 的降解来抑制肾纤维化,故TGF- β_1 也是自噬的重要诱导物^[34]。

3.4 细胞凋亡与自噬 细胞凋亡被称为程序性细胞死亡,是细胞受控死亡的过程,当细胞通过许多细胞内传感器检测到损伤时,细胞本身可以启动凋亡,其结果是清除体内的细胞,减少机体周围组织的损害,这与细胞自噬的作用是密不可分的^[35]。目前认为凋亡参与了肾小管损伤及RIF进程,肾小管上皮细胞凋亡数量与肾功能恶化密切相关,细胞凋亡越多,肾脏纤维化越严重。在RIF过程中,RIF、自噬、肾组织细胞凋亡呈时间依赖性的方式被诱导,且三者共同存在。在机体轻度损伤阶段,自噬通过阻断RIF和细胞凋亡,对机体起保护作用,当机体损伤加重时,细胞凋亡的表达加强,而自噬功能减弱,进一步加重了RIF。KIM等^[36]使用法尼醇X受体(FXR)敲除(KO)小鼠,运用GW4064和INT-747等激动剂激活FXR,与野生型小鼠相比,FXR KO小鼠的自噬相关蛋白和凋亡相关蛋白表达水平升高,研究还发现在缺氧处理的HK-2细胞中,活性氧(ROS)的增加通过FXR激动剂或FXR过表达来减弱,并且在FXR缺乏细胞和小鼠中,ROX水平升高,FXR激动剂治疗可降低自噬和凋亡水平,细胞和小鼠的FXR缺乏可增加自噬、凋亡和氧化应激水平。

3.5 肾脏纤维化中自噬相关信号通路

3.5.1 TGF- β_1 信号通路 TGF- β_1 信号通路是RIF中最经典的信号通路之一,抑制TGF- β_1 信号通路的影响被认为是防止RIF的关键治疗措施,TGF- β_1 是诱导RIF发生的关键细胞因子,其表达可诱导ECM合成,抑制ECM降解,从而导致RIF。ECM过度沉积是RIF的标志,其中以I型胶原和II胶原为主,在肾脏纤维化过程中,TGF- β_1 信号通路与自噬密切相关,TGF- β_1 促进胶原过度沉积激活了细胞自噬,细

胞自噬可限制细胞外基质积聚,降解胶原的沉积抑制TGF- β_1 作用,即单侧输尿管梗阻(UUO)诱导的肾损伤可激活TGF- β_1 诱导自噬,自噬的激活促进成熟TGF- β_1 的降解,从而减少TGF- β 的分泌,并抑制UUO诱导的RIF^[37]。实验证明,在GFP-LC3转基因小鼠单侧输尿管梗阻后,自噬蛋白缺失的小鼠肾小管上皮细胞中会出现胶原过度沉积,TGF- β_1 水平升高,说明TGF- β_1 既可以诱导自噬,也可以自身诱导自噬,具有双重作用^[38]。

3.5.2 mTOR信号通路 mTOR是自噬的主要调节剂,通过负反馈机制激活溶酶体自噬的发生。在生理或者机体不受任何刺激的情况下,mTOR被激活,抑制自噬通路,而在机体受到刺激时mTOR活性受到抑制,自噬活性表达增强。TGF- β_1 信号通路导致的RIF与非典型的mTOR通路有关,mTOR抑制剂活性激活的mTOR可被TGF- β_1 下调,进而促进胶原蛋白的合成影响RIF^[39]。在mTOR信号通路中,AMPK是mTOR信号通路的负向调控因子,通过抑制mTOR的表达激活自噬,磷脂酰肌醇3-激酶(PI3K)/蛋白激酶B(Akt)是mTOR信号通路的正向调控因子,可间接抑制自噬的激活影响RIF^[40]。有

研究表明,在肾脏纤维化的进展中,TGF- β_1 可以通过诱导PI3K/Akt/mTOR信号通路的激活或抑制自噬的表达调节肾脏纤维化。此外,炎症介导蛋白也可以通过激活PI3K/Akt/mTOR通路,抑制自噬的活性,加重炎症和间质的损伤。mTOR的活性受上游AMPK、PI3K、Akt等多个信号通路调控,与自噬的诱导、调控密切相关^[41]。

4 中药干预细胞自噬治疗RIF的作用

近年来研究发现,中药在抗RIF治疗中具有多成分、多效应、多靶点的干预优势,且疗效确切,几乎无不良反应,是抗RIF延缓CKD的潜在宝库。其中,通过中药干预自噬治疗RIF已成为治疗的新靶点,现将中药单体或成分、复方及制剂通过自噬靶向治疗RIF做一系统性总结。

4.1 中药单体及成分 目前,具有干预自噬抗RIF保护肾脏功能的中药单体及成分主要集中在黄芪甲苷、川芎嗪、大黄素、雷公藤等,其具体代表性成分及作用机制见表1。其主要目标靶点集中在Beclin1、LC3 II、mTOR、TGF- β_1 、 α -平滑肌肌动蛋白(α -SMA)及PI3K/Akt/mTOR等上,主要作用是抑制或促进自噬的表达抑制了RIF。

表1 中药提取物/活性成分通过调控自噬抗RIF的机制

Table 1 Anti RIF mechanism of Chinese herbal extracts/active ingredients by regulating autophagy

| 中药提取物/活性成分 | 模型 | 剂量/mg·kg ⁻¹ | 作用靶点 | 作用 | 参考文献 |
|-----------------|----------------|------------------------|--|-------------------|------|
| 水蛭素 | NRK-52E细胞 | - | p62、LC3、Beclin-1 | 自噬↓,RIF↓ | [42] |
| 栀子苷 | C57BL/6糖尿病肾病小鼠 | 50 | AMPK/Unc-51样激酶1(ULK1)、自噬相关基因5(Atg5)、LC3、Atg12、Beclin-1、p62 | 自噬↑,RIF↓ | [43] |
| 雷公藤多苷 | DKD小鼠血清诱导的足细胞 | - | mTOR/Twist1、LC3、Beclin-1、P62 | 自噬↑,EMT↓,凋亡↓,RIF↓ | [44] |
| 姜黄素 | UUO大鼠 | 200 | LC3、Beclin-1、PI3K/Akt/mTOR | 自噬↑,RIF↓ | [45] |
| 白藜芦醇 | 糖尿病肾病 | 10 | LC3、Beclin-1 | 自噬↑,RIF↓ | [46] |
| 青蒿琥酯(花黄蒿提取物) | 糖尿病SD大鼠 | 50、100 | AMPK、LC3 II | 自噬↑,RIF↓ | [47] |
| 碧心(黄秋葵种子) | 肾小管上皮HK-2细胞 | - | p62 | 自噬↑,RIF↓ | [48] |
| 人参皂苷 | 糖尿病肾病SD大鼠 | 150 | Akt/糖原合成酶激酶-3 β (GSK-3 β) | 自噬↑,EMT和凋亡↓,RIF↓ | [49] |
| 黄芪甲苷 | 糖尿病肾病大鼠 | 20、40、80 | PI3K/Akt/叉头框蛋白O1(FoxO1) | 自噬↑,ECM沉积↓,RIF↓ | [50] |
| 川芎嗪 | 糖尿病肾病SD大鼠 | 50、100、200 | PI3K/Akt/mTOR、LC3 | 自噬↑,RIF↓ | [51] |
| 大黄素 | UUO大鼠 | 10、20 | LC3、Beclin-1、PI3K/Akt/mTOR | 自噬↑,RIF↓ | [52] |
| 黄葵胶囊(牛膝提取物黄蜀葵花) | 糖尿病肾病SD大鼠 | 1、2 | Akt/mTOR/p70S6K信号通路 | 自噬↑,RIF↓ | [53] |
| 冬虫夏草 | 糖尿病肾病Wistar大鼠 | 2.5 | 磷酸化(p)-mTOR、p-AMPK、LC II AMPK/mTOR | 自噬↓,RIF↓ | [54] |
| 丹酚酸B(丹参) | UUO昆明小鼠 | 50、100、200 | LC II、Beclin-1、mTOR | 自噬↑,RIF↓ | [55] |
| 银杏叶提取物 | 糖尿病肾病 | 50、100、200 | Akt、mTOR | 自噬↑,RIF↓ | [56] |

注:↑.促进自噬的表达或RIF程度升高;↓.抑制自噬的表达或RIF程度减轻(表2同)

4.2 中药复方及制剂 刘士杰等^[57]在总结中药治疗 RIF 用药规律时发现 RIF 用药以活血化瘀、补气健脾、滋养肝肾、解毒泻火、利水消肿通淋药为主,治疗上主要采取活血化瘀、补气扶正、清热利湿的治则,反映了正气不足、瘀血阻络、湿热内蕴是 RIF

的主要病机。通过文献研究发现,中药复方及制剂在调控自噬治疗 RIF 药物组成来看,多采取活血化瘀、补益脾肾、清热利湿为主的药物,并且大都采用活血化瘀、补益脾肾、清热利湿并用的治法,多种药物协作,以达到较好的治疗作用。见表 2。

表 2 中药复方及制剂通过调控自噬抗肾间质纤维化的机制

Table 2 Mechanism of anti RIF by regulating autophagy in traditional Chinese medicine compounds and preparations

| 复方制剂及成方 | 药物组成 | 模型 | 剂量/g·kg ⁻¹ | 作用靶点 | 作用 | 参考文献 |
|----------|---|--------------------|-----------------------|--|-------------------|------|
| 石斛合剂 | 石斛、黄芪、五味子、葛根、地黄、知母 | 糖尿病大鼠 | 8 | LC3、Beclin-1、PI3K、Akt、mTOR | 自噬↑, RIF↓ | [58] |
| 降脂通络软胶囊 | 姜黄素类化合物 50 mg+盐酸贝那普利 5 mg | 改良 Border 法制膜性肾病大鼠 | 0.025、0.05、0.1 | AMPK/mTOR/S6K、LC3、Beclin-1、p62 | 自噬↑, RIF↓ | [59] |
| 金匱肾气汤 | 熟地黄、茯苓、牡丹皮、山药、泽泻、酒萸肉、桂枝、附片 | UUO 大鼠 | 1.8 | NOX4、p22phox、p47phox、p62、AMPK/mTOR、LC3 | 自噬↑, RIF↓ | [60] |
| 肾衰 II 号方 | 党参、淫羊藿、丹参、当归、制大黄、黄连、紫苏、川芎、桃仁、虫草菌丝 | 肾切除术 CRF 大鼠 | 60.9 | Atg5、Beclin-1、LC3 | 自噬↑, RIF↓ | [61] |
| 益气活血方 | 黄芪、川牛膝、枳实、虎杖、三棱、莪术、土鳖虫、水蛭 | 腺嘌呤诱导肾病大鼠 | 12 | LC3 II、Beclin-1、p62 | 自噬↑, RIF↓ | [62] |
| 当归补血汤 | 当归、黄芪 | 糖尿病肾病大鼠 | 7、1.75 | Akt、mTOR、miR-21 | 自噬↑, RIF↓ | [63] |
| 运脾和络方 | 黄芪、苍术、泽泻、防己、当归、赤芍、玄参、威灵仙 | 糖尿病肾病大鼠 | 2.5 | Sirt1、p62、LC3、AMPK | 自噬↑, RIF↓ | [64] |
| 薇草胶囊 | 薇草等 | 高尿酸血症大鼠 | 0.55、1.1、2.2 | ATP、NLRP3、LC3/Beclin-1 | 自噬↑, RIF↓, NLRP3↓ | [65] |
| 益气活血解毒中药 | 黄芪、僵蚕、地龙、蝉蜕、乌蛇、丹参、鳖甲、赤芍、金银花、野菊花、蒲公英、当归、大黄 | UUO 大鼠 | 14 | SGK-1、Atg5、Beclin-1、LC3、p-mTOR | 自噬↓, RIF↓ | [66] |
| 通心络胶囊 | 人参、水蛭、全蝎、赤芍、蝉蜕、土鳖虫、蜈蚣、檀香、降香、乳香(制)、酸枣仁(炒)、冰片 | 糖尿病肾病 SD 大鼠 | 0.3 | PI3K/Akt/mTOR | 自噬↓, RIF↓ | [67] |
| 益肾颗粒 | 黄芪、山萸肉、生地、当归、太子参、丹参 | 糖尿病肾病大鼠(Wistar) | 0.89、1.78、3.56 | PI3k/Akt/mTOR | 自噬↑, RIF↓ | [68] |
| 益气祛风通络饮 | 生黄芪、僵蚕、青风藤、白花蛇舌草、丹参等 | 阿霉素诱导大鼠肾纤维化 | 11.46 | LC3、Beclin-1 | 自噬↓, RIF↓ | [69] |
| 蝉苏地黄汤 | 蝉蜕、苏叶、熟地黄、山萸肉、山药、川芎、白花蛇舌草等 | 阿霉素肾病大鼠 | 15.63 | LC3、Beclin-1 | 自噬↓, RIF↓ | [70] |

5 结语与展望

综上所述,自噬是利用细胞降解和重吸收的作用实现了自我更新从而维持内部环境稳态的过程,这与中医“阴平阳秘”动态失衡后,机体重新达到“阴阳自和”状态内涵相一致,与癥瘕积聚相关。自噬与 RIF 密切相关,自噬通过参与通过炎性损伤、氧化应激、ECM 过度沉积,细胞凋亡等多方面抑制了 RIF 的进展,与其最相关的信号通路为 TGF-β₁ 和 mTOR 信号通路,也是目前研究的热点。中医药在治疗 RIF 中取得了较好的疗效,目前已证实中药单体或成分及中药复方制剂通过调控自噬能有效延缓 RIF。近年来中医药对自噬与 RIF 相关性研究较

少,其作用机制的研究目前主要集中在 LC3、Beclin-1、mTOR 等相关靶点,信号通路主要集中在 TGF-β₁ 和 mTOR 信号通路,其作用靶点及相关通路有待进一步深入研究。值得注意的是,自噬具有双重调节作用,细胞自噬既能改善 RIF,过度的细胞自噬可加重 RIF,如何避免肾组织过度自噬的发生是急需深入研究的问题。自噬所表现出的双向调节作用与中医学之阴阳理论在一定程度上是相一致的。中医阴阳互根互用,相互制约的特征可为中医调控自噬双重作用抗 RIF 的作用提供一定的思路和方法,有助于更多中医药调控自噬抗 RIF 的作用机制进一步被揭示,为中药治疗 RIF 及药物研发提供依据。

[参考文献]

- [1] NOELS H, JANKOWSKI J. Editorial on the special issue "comorbidities in chronic kidney disease" [J]. *Toxins (Basel)*, 2020, 12(6):384.
- [2] AMMIRATI A L. Chronic kidney disease [J]. *Rev Assoc Med Bras (1992)*, 2020, 66(Suppl 1):s03-s09.
- [3] SAIFI M A, PEDDAKKULAPPAGARI C S, AHMAD A, et al. Leveraging the pathophysiological alterations of obstructive nephropathy to treat renal fibrosis by cerium oxide nanoparticles [J]. *ACS Biomater Sci Eng*, 2020, 6(6):3563-3573.
- [4] LIANG Q, LIU T, GUO T, et al. ATF4 promotes renal tubulointerstitial fibrosis by suppressing autophagy in diabetic nephropathy [J]. *Life Sci*, 2021, 264:118686.
- [5] 杜灿灿, 刘丽娜, 李文静, 等. 自噬调控细胞代谢平衡的研究进展 [J]. *中国细胞生物学学报*, 2020, 42(11):2003-2013.
- [6] CONDELLO M, PELLEGRINI E, CARAGLIA M, et al. Targeting autophagy to overcome human diseases [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(3):725.
- [7] PARZYCH K R, KLIONSKY D J. An overview of autophagy: Morphology, mechanism, and regulation [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2014; 20(3):460-473.
- [8] 张珊, 马君. 从气虚络瘀论特发性肺纤维化自噬机制 [J]. *安徽中医药大学学报*, 2020, 39(6):7-10.
- [9] 陈凤, 张伟, 杨公涛. 基于细胞自噬论"伏毒"的微观机制及在特发性肺纤维化中的作用 [J]. *世界中医药*, 2021, 16(18):2742-2746.
- [10] TOMAIPITINCA L, PETRUNGARO S, D'ACUNZO P, et al. c-FLIP regulates autophagy by interacting with Beclin-1 and influencing its stability [J]. *Cell Death Dis*, 2021, 12(7):686.
- [11] 解静, 张晓伟, 花芳, 等. 自噬活性物质筛选系统研究进展 [J]. *药科学报*, 2016, 51(1):52-58.
- [12] 严倩, 王雄文, 郑文江. 阴平阳秘与自稳态 [J]. *中医杂志*, 2019, 60(10):845-848.
- [13] 高志平, 荣瑞芬. "阴平阳秘"阐释 [J]. *中华中医药杂志*, 2017, 32(7):2975-2977.
- [14] 王志丹, 贾连群, 宋囡, 等. 从阴阳自和角度论肝脏脂质代谢与细胞自噬的关系 [J]. *时珍国医国药*, 2017, 28(4):924-925.
- [15] 许文婷, 杨佩颖, 贾英杰, 等. 从中医角度论细胞自噬 [J]. *四川中医*, 2015, 33(5):34-35.
- [16] 戴跃龙, 白慧颖, 黄自冲, 等. 浅论《伤寒论》阴阳自和本义 [J]. *中华中医药杂志*, 2019, 34(9):4066-4069.
- [17] 吴克亮, 林晓生, 吴小绸, 等. 基于中医"阴阳自和"理论探讨自噬在骨质疏松症中的作用 [J]. *中国骨质疏松杂志*, 2020, 26(6):915-918.
- [18] 吴登辉, 韩延华, 杨丽珍, 等. 从中医阴阳理论探讨多囊卵巢综合征与细胞自噬的相关性 [J]. *中华中医药杂志*, 2021, 36(8):4526-4528.
- [19] 顾思纯, 杨柏灿. 癥瘕积聚的病证范围及治疗探析 [J]. *江苏中医药*, 2017, 49(9):11-13.
- [20] 鲍家宽, 潘磊, 陈培丰. 细胞自噬的发生机制及中医药对其干预作用进展 [J]. *上海中医药杂志*, 2016, 50(10):99-102.
- [21] 宗文静, 张华敏, 唐丹丽. 中医药对细胞自噬认识及实验研究进展 [J]. *中国中医基础医学杂志*, 2014, 20(11):1593-1595.
- [22] 刘梦超, 王明哲, 肖遥, 等. 基于"肾络癥瘕"理论探讨肾炎防衰液治疗肾间质纤维化的药效物质基础与机制 [J]. *中医药导报*, 2021, 27(7):158-164.
- [23] 刘尚建, 刘玉宁, 沈存, 等. 肾络癥瘕聚散理论的三态四期初探 [J]. *中国中西医结合肾病杂志*, 2015, 16(4):350-351.
- [24] 姚洁琼, 高艳霞, 蔡宏瑜, 等. 基于肾络癥瘕理论的糖尿病肾病患者临床研究 [J]. *时珍国医国药*, 2020, 31(6):1395-1397.
- [25] 陈清海. 自噬在梗阻性肾病中作用与机制的研究进展 [J]. *现代泌尿外科杂志*, 2017, 22(11):874-878.
- [26] 罗珊, 宋立群, 代丽娟, 等. 中医药在肾间质纤维化中自噬相关机制研究进展 [J]. *中医药学报*, 2021, 49(2):98-103.
- [27] 叶晶, 钱知知, 朱思睿, 等. 巨噬细胞在肾间质纤维化中的研究进展 [J]. *中国免疫学杂志*, 2019, 35(1):110-113.
- [28] KIMURA T. Reverse translational research of autophagy and metabolism in kidney disease: Oshima Award Address 2018 [J]. *Clin Exp Nephrol*, 2019, 23(6):733-738.
- [29] WEI L, JIAN P, ERJIONG H, et al. Ginkgetin alleviates high glucose-evoked mesangial cell oxidative stress injury, inflammation, and extracellular matrix (ECM) deposition in an AMPK/mTOR-mediated autophagy axis [J]. *Chem Biol Drug Des*, 2021, 98(4):620-630.
- [30] CHEN Q, YU S, ZHANG K, et al. Exogenous H2S inhibits autophagy in unilateral ureteral obstruction mouse renal tubule cells by regulating the ROS-AMPK signaling pathway [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 49(6):2200-2213.
- [31] 于顺, 倪月秋. 自噬、氧化应激与肾病 [J]. *生理科学进展*, 2018, 49(4):275-279.
- [32] 樊博雅, 杨康, 杨洪涛. 肾间质纤维化的机制与中西医干预研究进展 [J]. *中国中西医结合肾病杂志*, 2020, 21(4):363-365.

- [33] DU C, REN Y, YAO F, et al. Sphingosine kinase 1 protects renal tubular epithelial cells from renal fibrosis via induction of autophagy [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2017, 90:17-28.
- [34] 吴承, 朱少明. 自噬及其在肾纤维化中的作用研究进展[J]. *疑难病杂志*, 2019, 18(5):532-536.
- [35] D'ARCY M S. Cell death: A review of the major forms of apoptosis, necrosis and autophagy [J]. *Cell Biol Int*, 2019, 43(6):582-592.
- [36] KIM D H, PARK J S, CHOI H I, et al. The critical role of FXR is associated with the regulation of autophagy and apoptosis in the progression of AKI to CKD [J]. *Cell Death Dis*, 2021, 12(4):320.
- [37] LIVINGSTON M J, DING H F, HUANG S, et al. Persistent activation of autophagy in kidney tubular cells promotes renal interstitial fibrosis during unilateral ureteral obstruction [J]. *Autophagy*, 2016, 12(6):976-998.
- [38] ISAKA Y. Targeting TGF- β signaling in kidney fibrosis [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(9):2532.
- [39] 单美玲, 石丽君. 肾纤维化进程中的关键信号通路研究进展[J]. *生命科学*, 2021, 33(9):1177-1187.
- [40] WANG Y, ZHANG H. Regulation of autophagy by mTOR signaling pathway [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2019, 1206:67-83.
- [41] ZHOU J, CHENG H, WANG Z, et al. Bortezomib attenuates renal interstitial fibrosis in kidney transplantation via regulating the EMT induced by TNF- α -Smurf1-Akt-mTOR-P70S6K pathway [J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 23(8):5390-5402.
- [42] YU H X, LIN W, YANG K, et al. Transcriptome-based network analysis reveals hirudin potentiates anti-renal fibrosis efficacy in UUO rats [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12:741801.
- [43] DUSABIMANA T, PARK E J, JE J, et al. Geniposide improves diabetic nephropathy by enhancing ULK1-mediated autophagy and reducing oxidative stress through AMPK activation [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(4):1651.
- [44] TAO M, ZHENG D, LIANG X, et al. Tripterygium glycoside suppresses epithelial-to-mesenchymal transition of diabetic kidney disease podocytes by targeting autophagy through the mTOR/Twist1 pathway [J]. *Mol Med Rep*, 2021, 24(2):592.
- [45] LU M, LI H, LIU W, et al. Curcumin attenuates renal interstitial fibrosis by regulating autophagy and retaining mitochondrial function in unilateral ureteral obstruction rats [J]. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 2021, 128(4):594-604.
- [46] 赵俊琳, 张莹莹, 段玲弟, 等. 白藜芦醇对糖尿病小鼠肾脏自噬水平及肾间质纤维化的影响[J]. *中国病理生理杂志*, 2020, 36(5):893-898.
- [47] 梁晨, 李维, 陈怡, 等. 青蒿琥酯对糖尿病大鼠肾脏的保护作用及机制[J]. *山东医药*, 2020, 60(14):9-12.
- [48] LI J, YANG Y, WEI S, et al. Bixin protects against kidney interstitial fibrosis through promoting STAT6 degradation [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2020, 8:576988.
- [49] SHI Y, GAO Y, WANG T, et al. Ginsenoside Rg₁ alleviates podocyte EMT passage by regulating Akt/GSK3 β/β -catenin pathway by restoring autophagic activity [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2020, 2020:1903627.
- [50] 马可可, 鞠营辉, 陈清青, 等. 黄芪甲苷对2型糖尿病肾病大鼠肾组织 PI3K/Akt/FoxO1 信号调控的影响 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2019, 25(2):74-81.
- [51] 钟娟, 陈静, 青姚, 等. 川芎嗪通过抑制 PI3K/Akt/mTOR 通路诱导自噬改善糖尿病肾病大鼠肾损害 [J]. *天津医药*, 2019, 47(4):395-400.
- [52] 窦芳, 丁一, 李韦韦, 等. 大黄素通过 PI3K/Akt/mTOR 信号通路改善单侧输尿管梗阻模型小鼠肾脏纤维化 [J]. *中华肾脏病杂志*, 2018, 34(5):370-376.
- [53] WU W, HU W, HAN W B, et al. Inhibition of Akt/mTOR/p70S6K signaling activity with huangkuai capsule alleviates the early glomerular pathological changes in diabetic nephropathy [J]. *Front Pharmacol*, 2018, 9:443.
- [54] 徐喆, 赵凯, 李志军. 冬虫夏草对糖尿病肾病大鼠肾小管细胞中 AMPK/mTOR 信号传导途径的影响 [J]. *中国现代医学杂志*, 2018, 28(3):1-5.
- [55] 黄小娟, 贺雨, 刘碧好, 等. 丹酚酸 B 通过调控自噬改善 UUO 小鼠肾纤维化 [J]. *中药材*, 2018, 41(9):2201-2205.
- [56] LU Q, ZUO W Z, JI X J, et al. Ethanolic Ginkgo biloba leaf extract prevents renal fibrosis through Akt/mTOR signaling in diabetic nephropathy [J]. *Phytomedicine*, 2015, 22(12):1071-1078.
- [57] 刘士杰, 赵晰, 王耀光. 中医药治疗肾间质纤维化用药规律研究 [J]. *时珍国医国药*, 2018, 29(12):3048-3049.
- [58] CHEN Y, ZHENG Y F, LIN X H, et al. Dendrobium mixture attenuates renal damage in rats with diabetic nephropathy by inhibiting the PI3K/Akt/mTOR pathway [J]. *Mol Med Rep*, 2021, 24(2):590.
- [59] 郝文霞, 高飞, 赵方, 等. 降脂通络软胶囊调控 AMPK/mTOR 信号通路对膜性肾病大鼠自噬的影响 [J]. *中药药理与临床*, 2021, 37(4):148-153.

- [60] 刘春燕,梁承谦,谷依红,等. 金匱肾气汤对单侧输尿管梗阻大鼠氧化应激和自噬的影响[J]. 中药新药与临床药理,2020,31(8):906-911.
- [61] 王蒙,王琛,林评兰,等. 肾衰II号方对慢性肾衰竭大鼠肾组织自噬相关蛋白表达的影响[J]. 中国中西医结合杂志,2019,39(7):832-837.
- [62] XIA C H, HAN X T, ZHANG X, et al. Yiqihuoxue formula activates autophagy and offers renoprotection in a rat model of adenine-induced kidney disease[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2019, 2019: 3423981.
- [63] 叶太生,向楠,姚琼,等. 当归补血汤干预 miRNA-21 调控自噬保护早期糖尿病肾病大鼠肾功能的研究[J]. 时珍国医国药,2019,30(2):282-286.
- [64] 郭焱,唐比强,赵娜,等. 运脾和络方通过调控 Sirt1/AMPK 信号通路并激活自噬而减轻糖尿病肾损伤[J]. 中国病理生理杂志,2019,35(12):2156-2162.
- [65] HU J, WU H, WANG D, et al. Weicao capsule ameliorates renal injury through increasing autophagy and NLRP3 degradation in UAN rats [J]. Int J Biochem Cell Biol,2018,96:1-8.
- [66] 柴亚男,郝娟,马雪莲,等. 益气活血解毒中药对梗阻性肾病细胞自噬的调控作用[J]. 新中医,2018,50(12):8-11.
- [67] 刘颖. 基于 PI3K/mTOR 通路研究通心络对 STZ 糖尿病大鼠肾脏的保护作用[D]. 锦州:锦州医科大学,2018.
- [68] 童楠,张宁. 中药益肾颗粒通过 PI3k/Akt/mTOR 和 LKB1/AMPK/Sirt1 信号通路对糖尿病肾病大鼠的干预作用研究[J]. 中华中医药杂志,2018,33(5):1853-1857.
- [69] 李刘生,杨斌,张昱,等. 益气祛风通络饮对阿霉素大鼠肾脏纤维化的拮抗作用和对肾组织细胞自噬的调节作用[J]. 世界中西医结合杂志,2017,12(7):938-943.
- [70] 赵明明,杨斌,张昱,等. 蝉苏地黄汤对阿霉素大鼠肾脏纤维化及自噬相关蛋白 LC3 和 Beclin-1 表达的影响[J]. 世界中西医结合杂志,2017,12(1):57-61.

[责任编辑 王鑫]