

## 田黄方对高尿酸血症小鼠肾损伤及纤维化的作用

莫菊鲜<sup>1</sup>, 吴铠初<sup>2</sup>, 李明慧<sup>3</sup>, 陈哲<sup>2</sup>, 兰天<sup>1</sup>, 肖炜<sup>1</sup>, 郭姣<sup>1\*</sup>

(1. 广东药科大学中医药研究院, 广东省代谢病中西医结合研究中心, 糖脂代谢病教育部重点实验室, 广东省代谢性疾病中医药防治重点实验室, 广州 510006;  
2. 广东药科大学药学院, 广州 510006;  
3. 广东药科大学中药学院, 广州 510006)

**[摘要]** 目的: 观察田黄方对高尿酸血症肾病(HN)小鼠肾损伤的保护作用, 并通过网络药理学探讨其可能的作用机制。方法: 将所有小鼠随机分为5组, 正常组、模型组、非布司他组、田黄方低、高剂量组。正常组小鼠每日灌胃0.5%羧甲基纤维素钠(CMC-Na), 其余组小鼠灌胃500 mg·kg<sup>-1</sup>次黄嘌呤和腹腔注射200 mg·kg<sup>-1</sup>氧嗪酸钾诱导HN模型, 非布司他组小鼠每日灌胃5 mg·kg<sup>-1</sup>非布司他, 田黄方组小鼠每日灌胃60 mg·kg<sup>-1</sup>和120 mg·kg<sup>-1</sup>田黄方, 连续给药3周。检测小鼠血清尿酸、肌酐、尿素氮水平和24 h尿蛋白含量; 采用苏木素-伊红(HE)染色和过碘酸雪夫(PAS)染色观察肾脏损伤程度, 采用天狼猩红染色观察肾脏纤维化情况; 通过蛋白免疫印迹法(Western blot)、网络药理学及分子对接研究田黄方在HN小鼠中的作用及其分子机制。结果: 生化结果提示, 与模型组比较, 田黄方低剂量组BUN和24 h尿蛋白水平明显降低( $P<0.05$ ), SUA、SCr水平显著降低( $P<0.01$ ), 田黄方高剂量组, SUA、BUN、SCr和24 h尿蛋白水平显著降低( $P<0.01$ ); 病理染色结果表明田黄方各剂量组对肾脏损伤和间质纤维化有不同程度改善作用( $P<0.05$ ); Western blot结果表明田黄方高剂量组能够使NOD样受体热蛋白结构域相关蛋白3(NLRP3)炎性小体、白细胞介素-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )、纤维黏连蛋白(FN)、及尿酸转运蛋白1(URAT1)、磷酸化p65(p-p65)和磷酸化核转录因子(NF)- $\kappa$ B抑制蛋白 $\alpha$ (p-I $\kappa$ B $\alpha$ )的表达降低到正常水平( $P<0.01$ ), 而田黄方低剂量组不影响HN小鼠IL-1 $\beta$ 、URAT1和p-I $\kappa$ B $\alpha$ 的蛋白表达。结论: 田黄方通过抑制NF- $\kappa$ B和NLRP3炎性小体激活改善肾脏炎症和纤维化减轻HN。

**[关键词]** 田黄方; 高尿酸血症肾病; 网络药理学; 肾脏损伤; 炎症; 纤维化

**[中图分类号]** R284; R285; R289; R287; R22; R2-031; R33; R24 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2023)11-0072-10

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20230511 **[增强出版附件]** 内容详见<http://www.syfjxzz.com>或<http://cnki.net>

**[网络出版地址]** <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20230320.1425.002.html>

**[网络出版日期]** 2023-03-21 15:46:24

### Effect of Tianhuang Formula on Renal Injury and Fibrosis in Hyperuricemia Mice

MO Juxian<sup>1</sup>, WU Kaireng<sup>2</sup>, LI Minghui<sup>3</sup>, CHEN Zhe<sup>2</sup>, LAN Tian<sup>1</sup>, XIAO Wei<sup>1</sup>, GUO Jiao<sup>1\*</sup>

(1. Guangdong Metabolic Diseases Research Center of Integrated Chinese and Western Medicine, Key Laboratory of Glucolipid Metabolic Disorder, Ministry of Education; Guangdong Traditional Chinese Medicine (TCM) Key Laboratory for Metabolic Diseases, Institute of Chinese Medicine, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China;  
2. School of Pharmacy, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China;  
3. School of TCM, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China)

**[Abstract]** **Objective:** To observe the protective effect and mechanism of Tianhuang formula (THF)

**[收稿日期]** 2022-11-23

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81830113, 81870420); 广东省基础与应用基础研究重大项目(2019B030302005); 国家重点研发计划中医药现代化研究项目(2018YFC1704200)

**[第一作者]** 莫菊鲜, 在读硕士, 从事中药药效评价与应用研究, E-mail: mojuxian1204@163.com

**[通信作者]** \* 郭姣, 教授, 从事中西医结合防治糖脂代谢病研究, Tel: 020-39352818, E-mail: gyguoyz@163.com

against renal injury in hyperuricemia nephropathy (HN) mice through network pharmacology. **Method:** All mice were randomly divided into a normal group, a model group, a febuxostat group ( $5 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ), a low-dose THF group (L-THF,  $60 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ), and a high-dose THF group (H-THF,  $120 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ). The mice in the normal group were treated with 0.5% sodium carboxymethylcellulose (CMC-Na) by gavage daily. The HN model was induced by oral administration of  $500 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  hypoxanthine and intraperitoneal injection of  $200 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  oteracil potassium in mice except for those in the blank group. The mice in the groups with drug intervention were treated with corresponding drugs by gavage for three weeks. The levels of serum uric acid, creatinine, urea nitrogen, and 24-h albuminuria were measured. The renal injury was observed by hematoxylin-eosin (HE) staining and PAS staining, and renal fibrosis was observed by Sirius red staining. The effects and molecular mechanism of THF in HN mice were analyzed by Western blot, network pharmacology, and molecular docking. **Result:** Biochemical results indicated that compared with model group, BUN and 24 h urinary protein levels were significantly decreased in L-THF group ( $P<0.05$ ), SUA and SCr levels were significantly decreased ( $P<0.01$ ), and SUA, BUN, SCr and 24 h urinary protein levels in H-THF group were significantly decreased ( $P<0.01$ ). The results of pathological staining showed that the kidney injury and interstitial fibrosis were improved in different doses of THF groups ( $P<0.05$ ). Western blot results showed that the Nod-like receptor heat protein domain associated protein 3 (NLRP3) inflammasome, interleukin- $1\beta$  (IL- $1\beta$ ), fibronectin (FN), uric acid transporter 1 (URAT1), phosphorylated p65 (p-p65) and phosphorylated nuclear transcription factor (NF)- $\kappa\text{B}$  were inhibited in the H-THF group. The expression of protein-producing  $\alpha$  (p-I $\kappa\text{B}\alpha$ ) was reduced to the normal level ( $P<0.01$ ), but the expression of IL- $1\beta$ , URAT1 and p-I $\kappa\text{B}\alpha$  in HN mice was not affected in the L-THF group. **Conclusion:** THF ameliorates renal inflammation and fibrosis by inhibiting the activation of NF- $\kappa\text{B}$  and NLRP3 inflammasomes to alleviate HN

**[Keywords]** Tianhuang formula; hyperuricemia nephropathy; network pharmacology; renal injury; inflammation; fibrosis

高尿酸血症是一种由于尿酸盐产生过量或肾脏排泄不足引发的代谢性疾病,血清尿酸升高是其主要表现之一,尿酸长期积累于肾脏会引起肾脏炎性浸润和小管间质纤维化,从而进展为高尿酸血症肾病、痛风性关节炎、肾功能衰竭及心血管疾病等多种危害性疾病<sup>[1]</sup>。随着生活水平的提高,高尿酸血症的患病率逐年增加,已成为全球性的公共卫生问题<sup>[2]</sup>。目前高尿酸血症的治疗药物主要有非布司他、别嘌醇和苯溴马隆。非布司他和别嘌醇是黄嘌呤氧化酶抑制剂,抑制尿酸的生成;苯溴马隆的作用机制是促进尿酸排泄,其可以降低尿酸水平和尿酸单钠晶体沉积。然而,这些药物仍然会产生一些较强的不良反应,如肝衰竭、瘙痒、过敏综合征和中枢神经毒性等<sup>[3]</sup>。

现代中医认为高尿酸血症是由于脾肾亏虚、脾失健运而湿浊内生,肾失气化则排泄不及所致;尿酸滞留血中,阻滞气机,不通则痛,解释了痛风的形成原因,临床以补肾健脾、补益肝肾、祛湿泄浊、清利湿热和活血化瘀等方法进行治疗<sup>[4]</sup>。“调肝启枢化浊法”是郭姣教授基于三十多年临床实践与研究提

出的理念,根据中医的辨证审因理论,将黄连和三七两味中药运用中医配伍方法按照1:1的比例分别提取,合并提取液干燥后获得田黄方提取物。之前的研究表明三七配伍黄连后对糖脂代谢病的治疗作用优于黄连或三七的单独使用<sup>[5-6]</sup>,田黄方对于血糖和血脂具有很好的调节效果<sup>[6-7]</sup>。之前的研究表明田黄方能够改善高脂饮食诱导的小鼠肾损伤<sup>[8]</sup>及改善饮食诱导肥胖大鼠的肝脂肪变性和葡萄糖耐受不良<sup>[9]</sup>。但田黄方对于高尿酸所致的肾脏损伤尚未有过研究报导,因此本研究以高尿酸血症肾病小鼠为模型,结合网络药理学和分子对接探讨田黄方改善HN小鼠肾损伤和纤维化的药效机制。

## 1 材料

**1.1 药物** 黄连和三七饮片(广州至信中药饮片有限公司,批号分别为210501、210301);氧嗪酸钾、次黄嘌呤(美国圣路易斯的Sigma-Aldrich公司,货号分别为I56124、H9377);非布司他(江苏万邦生化医药集团有限责任公司,批号62110754);羧甲基纤维素钠(CMC-Na,上海生工生物科技有限公司,批号20190304)。

**1.2 试剂** 血清尿酸(SUA)、尿蛋白定量、血尿素氮(BUN)、肌酐(SCr)测定试剂盒(南京建成生物工程研究所,货号分别为C012-2-1、C035-2-1、C013-2-1、C011-2-1);苏木素-伊红(HE)染液、过碘酸溶液(0.5%)、Schiff试剂(北京雷根生物技术有限公司,批号分别为0729A20、0928A20、0928A20);天狼猩红染色液(美国Sigma-Aldrich公司,批号365548);甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)抗体(北京全式金生物技术有限公司,货号HC301);抗F4/80、白细胞介素-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )、抗磷酸化p65(p-p65)、NOD样受体热蛋白结构域相关蛋白3(NLRP3)抗体(北京博奥森生物技术有限公司,货号分别为bs-7058、bs-0812R、bs-5662R、bs-10021R);纤维连接蛋白(FN)抗体(武汉博士德生物工程有限公司,货号BA1772);抗尿酸转运蛋白1(URAT1)、抗核转录因子- $\kappa$ B抑制蛋白 $\alpha$ (IKB $\alpha$ )(美国芝加哥Proteintech公司,货号分别为14937-1-AP、10268-1-AP);抗磷酸化核转录因子- $\kappa$ B抑制蛋白 $\alpha$ (p-IKB $\alpha$ )[美国波士顿Cell Signaling Technology(CST)公司,货号#2859]。

**1.3 仪器** BN-518型全自动包埋机、BT120型脱水机(湖北伯纳医疗科技有限公司);RM2235型石蜡切片机(德国Leica公司);SIM-F140BDL型制冰机(日本Panasonic公司);DHG-9075A型电热鼓风干燥箱(上海一恒科学仪器有限公司);BDS15010137系列倒置生物显微镜(重庆奥特光学仪器有限公司);Micro 17型高速冷冻离心机、1510型全波长酶标仪(美国Thermo Fisher Scientific公司);BX53型奥林巴斯光学显微镜(日本Olympus公司);3300029-7Q型化学发光仪(上海勤翔科学仪器有限公司);PowerPac Basic型蛋白电泳仪、转膜仪(美国Bio-Rad公司)。

## 2 方法

**2.1 田黄方的制备** 田黄方是由黄连与三七饮片通过乙醇提取物和大孔树脂富集纯化的方法制备得到的提取物。如前所述<sup>[6,9]</sup>,在回流条件下,用乙醇分别提取三七和黄连,每次提取2 h。将提取液在旋转蒸发仪中浓缩以除去乙醇,然后溶于水中,再用D101大孔树脂进行纯化,于60℃真空中干燥得到纯化提取物。

**2.2 动物和给药方法** SPF级C57BL/6J雄性小鼠(7周)购自维通利华实验动物技术有限公司。动物合格证号SCXK(粤)2021-0057。所有动物在广东药科大学动物实验中心适应性喂养1周后进行实

验。实验获得广东药科大学实验室动物护理和使用伦理委员会批准(批准号gdpulacsp2017618)。所有小鼠随机分为5组,每组6只。分别为正常组(正常小鼠)、高尿酸血症肾病组(模型组,次黄嘌呤500 mg·kg<sup>-1</sup>+氧嗪酸钾200 mg·kg<sup>-1</sup>);非布司他组(非布司他5 mg·kg<sup>-1</sup>),田黄方低剂量组(60 mg·kg<sup>-1</sup>)、田黄方高剂量组<sup>[9]</sup>(120 mg·kg<sup>-1</sup>)。田黄方给药剂量参考LI等<sup>[9]</sup>研究方法。每天9:00正常组及模型组灌胃0.5% CMC-Na、非布司他组灌胃非布司他、田黄方组给予田黄方,15:00除正常组灌胃0.5% CMC-Na外,其余各组小鼠灌胃给药次黄嘌呤(500 mg·kg<sup>-1</sup>)和腹腔注射氧嗪酸钾(200 mg·kg<sup>-1</sup>)诱导高尿酸血症肾病模型,造模方法参考GUAN和李明慧等<sup>[10-11]</sup>。给药3周后,将小鼠置于代谢笼中,收集24 h尿液。

**2.3 生化参数** 血液在室温下静置约30 min,然后3 000 r·min<sup>-1</sup>离心15 min(离心半径4 cm)得到血清。根据生产厂家介绍,依据商用试剂盒使用说明书测定SUA、SCr、24 h尿蛋白和BUN水平。

**2.4 肾脏组织病理学** 肾组织用10%甲醛溶液固定24 h。脱水后石蜡块包埋将肾脏切成4  $\mu$ m的切片。切片于65℃烘箱放置1 h,有机试剂梯度脱蜡后,HE和过碘酸雪夫(PAS)染色观察肾脏组织病理形态;免疫组织化学染色观察肾脏组织炎症浸润情况;天狼猩红染色检测肾脏胶原沉积和纤维化情况。采用光学显微镜对组织切片图像进行采集,使用Image J软件进行结果分析。

**2.5 蛋白免疫印迹法(Western blot)分析** 采用放射免疫沉淀(RIPA)裂解缓冲液提取肾脏组织总蛋白,定量后进行凝胶电泳(80 V, 30 min; 120 V, 1~1.5 h),湿法转膜(250 mA, 90 min),转膜后TBST洗膜3次,每次5 min,用5%脱脂牛奶室温孵育1 h进行封闭处理,之后孵育一抗(所有抗体按1:1 000稀释)于4℃下过夜(8~12 h),第2天经TBST洗膜后,用相应的兔抗或鼠抗室温孵育1 h,经TBST洗膜3次后用化学发光系统检测灰度分析条带。

**2.6 田黄方活性成分及作用靶点获取** 中药系统药理学数据库与分析平台(TCMSP)(于2022年7月查询)是一个系统化的药理学数据库,提供有关中药活性成分和相关靶点。笔者通过TCMSP数据库(<https://tcmsp-e.com/>)获得田黄方的活性成分。以口服生物利用度(OB) $\geq$ 30%、类药性(DL) $\geq$ 0.18为指标,进一步筛选田黄方中的活性成分,同时进行文献查阅补充成分。利用PubChem数据库([• 74 •](https://</a></p></div><div data-bbox=)

pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/)(于2022年12月查询)获得化合物 Canonical SMILES号,利用 SwissTargetPrediction 数据库(<http://www.swisstargetprediction.ch/>)(于2022年12月查询)进行各成分靶点预测,将靶点导入 UniProt 数据库(<https://www.UniProt.org/>)进行基因名标准化,去除重复项获得最终靶点。

**2.7 高尿酸血症疾病作用靶点获取** 为了获得与高尿酸血症相关的作用靶点,将“Hyperuricemia”设置关键词,至下列3种疾病数据库进行检索(2022年7月查询),在线人类孟德尔遗传(OMIM)数据库(<https://omim.org/>), GeneCards 数据库(<https://www.genecards.org/>), 和治疗目标 Therapeutic Target database(TTD)数据库(<http://db.idrblab.net/ttd/>),将获得的靶点合并,去除重复的数据,得到治疗高尿酸血症的作用靶点。

**2.8 成分-疾病交集靶点筛选及中药-活性成分-靶点网络构建** 利用 Venny2.1.0 网站(于2022年12月查询)构建田黄方活性成分作用靶点及疾病作用靶点 Venn 图,以便获取交集靶点进行进一步分析。利用 Cytoscape 3.8.2 软件构建“田黄方活性成分-靶点”网络,对活性成分与靶点相互作用进行可视化。

**2.9 蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络构建及关键靶点获取** 将获得的交集靶点上传至 STRING 数据库(<https://cn.string-db.org/>)(于2022年12月查询),选择物种为 Homo sapiens, minimum required interaction score 保持默认为 medium confidence (0.400),构建 PPI 网络并下载网络图及 tsv 格式文件。分析节点度值(Degree值),筛选出度值阈值大于平均度值(16.0)的靶点,作为核心靶点进行进一步分析。

**2.10 京都基因与基因组百科全书(KEGG)和基因本体(GO)富集分析** 为了进一步阐明田黄方治疗高尿酸血症的机制,将获得的核心靶点上传到 Metascape (<https://metascape.org/gp/index.html#/main/step1>)平台(2022年12月查询)。选择物种为人,默认最小计数值为3, $P<0.01$ ,富集因子 $>1.5$ ,以此为标准在该平台上进行 GO 和 KEGG 富集分析。GO 富集分析包括细胞成分(CC)、生物过程(BP)和分子功能(MF)。通过微生信平台对核心靶点富集结果 BP、CC、MF 通路进行三合一柱形图可视化。

**2.11 分子对接** 通过 TCMSP 数据库下载活性成分 2D 结构(于2023年1月查询),通过 PDB 数据库(<https://www.rcsb.org/>)(于2023年1月查询)下载符

合条件的核心靶点蛋白 3D 结构,筛选条件<sup>[12]</sup>为:①蛋白结构来源为人;②resolution $<2.5\text{\AA}$ ;③结晶 pH 接近人体正常生理范围;④蛋白构想序列完整且有小分子配体。利用 Discovery Studio(DS)(北京创腾科技有限公司)软件进行分子对接并进行可视化作图。将活性成分 2D 结构导入 DS 软件进行配体准备;将靶点蛋白结构导入 DS 软件进行去水,加氢,去除配体,清除蛋白处理;将处理好的活性成分与靶点蛋白在 DS 软件 libdock 模块进行快速对接,对接结果以对接分数(libdock score)得出,并对得分最高的结果进行可视化处理。

**2.12 统计分析** 所有结果均表示为  $\bar{x}\pm s$ ,采用 GraphPad Prism 9.0 软件对数据进行统计分析,两组样本数据比较采用独立样本 *t* 检验,多组间差异采用单因素方差分析(One-way ANOVA)。 $P<0.05$  表示差异具有统计学意义。

### 3 结果

**3.1 田黄方对高尿酸血症小鼠 SUA 及肾功能的影响** 测定 BUN、SCr 和 24 h 尿蛋白等肾脏损害和功能障碍相关的临床标志物,评价小鼠肾功能。与正常组小鼠比较,模型组小鼠 SUA、BUN、SCr 和 24 h 尿蛋白水平显著升高( $P<0.01$ ),证实了高尿酸血症肾病小鼠模型建立成功。经过田黄方低剂量处理后,BUN 和 24 h 尿蛋白水平明显降低( $P<0.05$ ),SUA、SCr 水平显著降低( $P<0.01$ )。经过田黄方高剂量处理后,SUA、BUN、SCr 和 24 h 尿蛋白水平显著降低( $P<0.01$ )。表明田黄方能够有效改善高尿酸引起的肾功能障碍。见表 1。

**3.2 田黄方改善高尿酸血症小鼠肾脏病理损伤** 通过 HE 染色观察到,正常组小鼠肾小管细胞形态正常,肾脏无明显炎症浸润,见图 1。模型组小鼠肾小管结构松散混乱,炎症细胞浸润加重,经过田黄方给药治疗后,细胞形态趋于正常,肾小管未见明显病变,炎性细胞浸润减少。PAS 染色结果显示,模型组小鼠出现明显的肾小管刷状缘缺失,肾小球病变,球囊黏连和肾小管间质损伤。经过田黄方给药治疗后,肾脏糖原沉积明显减少,肾小球和肾小管间质损伤明显减轻,见图 1。

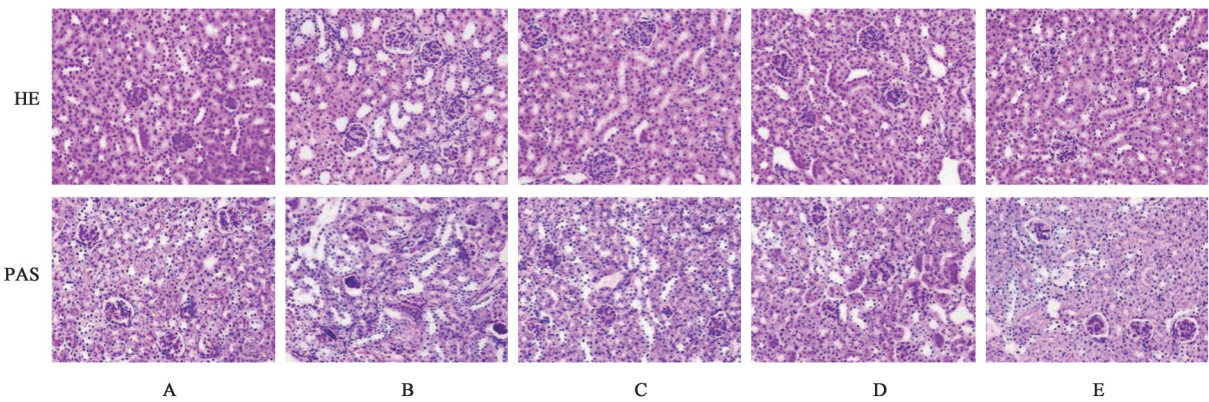
**3.3 田黄方改善高尿酸血症小鼠肾脏炎症浸润** 为了探讨田黄方对高尿酸血症小鼠肾脏炎症的影响,采用 F4/80 免疫组化染色观察小鼠肾脏炎症浸润情况,见图 2、表 2,与正常组小鼠比较,模型组小鼠肾组织 F4/80 的表达显著增加( $P<0.01$ ),肾组织中可见大量棕褐色颗粒的沉积,染色呈强阳性;

表1 田黄方对高尿酸血症肾病小鼠血清尿酸(SUA)和肾功能的影响( $\bar{x}\pm s, n=6$ )

Table 1 Effect of THF on renal function and serum uric acid in HN mice ( $\bar{x}\pm s, n=6$ )

组别	剂量/mg·kg <sup>-1</sup>	SUA/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	Scr/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	BUN/ $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$	尿蛋白/mg·(24 h) <sup>-1</sup>
正常组		59.87±26.85 <sup>2)</sup>	19.27±4.26 <sup>2)</sup>	8.98±1.07 <sup>2)</sup>	1.61±0.72 <sup>2)</sup>
模型组		258.60±37.61	33.69±3.85	15.82±1.63	4.67±1.25
非布司他组	5	81.95±24.19 <sup>4)</sup>	22.32±1.20 <sup>4)</sup>	10.39±1.38 <sup>4)</sup>	3.54±0.66 <sup>2)</sup>
田黄方低剂量组	60	140.60±47.92 <sup>2,4)</sup>	22.33±4.45 <sup>4)</sup>	11.31±3.48 <sup>3)</sup>	3.23±0.65 <sup>2,3)</sup>
田黄方高剂量组	120	113.10±53.16 <sup>4)</sup>	20.02±4.99 <sup>4)</sup>	8.00±2.94 <sup>4)</sup>	2.80±0.26 <sup>1,4)</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、表8同)



注:A.正常组;B.模型组;C.非布司他组;D.田黄方低剂量组;E.田黄方高剂量组(图2、图4同)

图1 高尿酸血症小鼠肾脏病理改变(x200)

Fig. 1 Renal pathology of HN mice (x200)

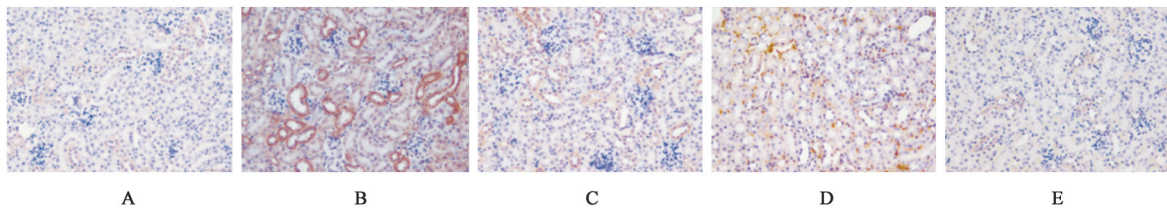


图2 田黄方对高尿酸血症肾病小鼠肾脏炎症浸润程度的影响(免疫组化,x200)

Fig. 2 Effect of THF on degree of renal inflammation and infiltration in mice with hyperuricemia nephropathy (IHC, x200)

与模型组比较,田黄方低剂量组给药后明显减少了高尿酸血症小鼠肾脏巨噬细胞浸润( $P<0.05$ ),非布司他及田黄方高剂量给药后显著减少了高尿酸血症小鼠肾脏巨噬细胞浸润( $P<0.01$ );NLRP3、IL-1 $\beta$ 是肾脏间质炎性浸润的重要蛋白,采用Western blot检测NLRP3、IL-1 $\beta$ 的表达,模型组NLRP3、IL-1 $\beta$ 表达明显上升( $P<0.05, P<0.01$ ),田黄方低剂量组给药处理后,与模型组比较NLRP3表达下降( $P<0.05$ ),但不影响IL-1 $\beta$ 的表达,田黄方高剂量给药处理后,NLRP3、IL-1 $\beta$ 表达显著降低( $P<0.01$ ),见表3、图3,表明田黄方能够降低高尿酸血症小鼠炎症因子的表达,从而有效改善高尿酸引起的肾脏炎症。

**3.4 田黄方改善高尿酸血症小鼠肾脏纤维化及调控尿酸转运体** 采用天狼猩红染色观察小鼠肾脏胶原沉积的变化,见图4。与正常组小鼠比较,高尿

表2 田黄方对高尿酸血症肾病小鼠肾脏F4/80表达免疫组化定量分析( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

Table 2 Immunohistochemical quantitative analysis of THF on F4/80 expression in kidney of mice with hyperuricemia nephropathy ( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

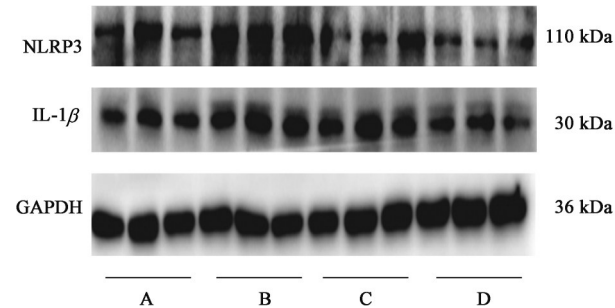
组别	剂量/mg·kg <sup>-1</sup>	F4/80免疫组化阳性率/%
正常组		4.32±0.44
模型组		13.84±2.31 <sup>2)</sup>
非布司他组	5	5.41±0.53 <sup>4)</sup>
田黄方低剂量组	60	8.43±2.17 <sup>3)</sup>
田黄方高剂量组	120	5.29±0.91 <sup>4)</sup>

酸血症小鼠肾小管间质胶原沉积显著高于正常组小鼠( $P<0.01$ );经非布司他及田黄方给药后,肾小管间质胶原沉积显著减少( $P<0.01$ ),见表4。FN是间质质的关键成分,URAT1与尿酸的重吸收有着重

表3 黄方对高尿酸血症肾病小鼠肾脏NLRP3、IL-1 $\beta$ 、FN和URAT1蛋白表达的影响 ( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

Table 3 Effect of THF on expression of NLRP3, IL-1 $\beta$ , FN and URAT1 protein in kidney of mice with hyperuricemia nephropathy ( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

组别	剂量/mg·kg <sup>-1</sup>	NLRP3/GAPDH	IL-1 $\beta$ /GAPDH	FN/GAPDH	URAT1/GAPDH
正常组		1.00±0.27	1.00±0.28	0.79±0.23	1.00±0.49
模型组		1.56±0.24 <sup>1)</sup>	1.87±0.39 <sup>2)</sup>	1.36±0.19 <sup>1)</sup>	1.73±0.16 <sup>1)</sup>
田黄方低剂量组	60	0.98±0.13 <sup>3)</sup>	1.47±0.19	0.59±0.19 <sup>4)</sup>	1.78±0.12
田黄方高剂量组	120	0.74±0.11 <sup>4)</sup>	1.01±0.42 <sup>4)</sup>	0.74±0.22 <sup>3)</sup>	0.71±0.28 <sup>4)</sup>



注:A.正常组;B.模型组;C.田黄方低剂量组;D.田黄方高剂量组(图5同)

图3 田黄方对高尿酸血症肾病小鼠NLRP3及IL-1 $\beta$ 的表达电泳  
Fig. 3 Electrophoresis of THF on expression of NLRP3 and IL-1 $\beta$  in hyperuricemic nephropathy mice

要的关系<sup>[13]</sup>。通过Western blot对FN和URAT1的蛋白水平进行了检测,高尿酸血症模型组FN和URAT1表达增加( $P<0.05$ ),田黄方低剂量给药处理后,FN表达下降( $P<0.01$ ),但不影响URAT1的表达,田黄方高剂量给药处理后,降低了FN的表达( $P<0.01$ ),URAT1的表达显著降低( $P<0.01$ ),见图5、表3。提示田黄方治疗明显减少高尿酸血症小鼠肾纤维化及降低尿酸转运体的表达,从而有效改善高尿酸引起的肾脏损伤。

**3.5 田黄方活性成分及疾病相关靶点获取** 从TCMSP数据库中检索到“OB $\geq$ 30%,DL $\geq$ 0.18”的田黄方的两味中药共含有30个活性成分,其中黄连有18个活性成分,三七有12个活性成分。其中槲皮素为黄连和三七的共有成分。这些成分共预测到1 951个靶蛋白,从中剔除重复的靶蛋白,利用UniProt数据库对这些蛋白的基因名标准化,得到相

表4 田黄方对高尿酸血症肾病小鼠肾脏天狼猩红染色定量分析 ( $\bar{x}\pm s, n=6$ )

Table 4 Quantitative analysis of THF on Sirius red staining in kidney of mice with hyperuricemia nephropathy ( $\bar{x}\pm s, n=6$ )

组别	剂量/mg·kg <sup>-1</sup>	阳性面积/%
正常组		4.41±0.73
模型组		15.57±5.58 <sup>2)</sup>
非布司他组	5	4.87±1.22 <sup>4)</sup>
田黄方低剂量组	60	7.51±1.59 <sup>4)</sup>
田黄方高剂量组	120	5.42±0.81 <sup>4)</sup>

应的靶基因。在GeneCards、OMIM、Therapeutic Target Database数据库中检索到hyperuricemia的相关基因后,删除其中的重复基因,最终筛选出751个hyperuricemia相关的靶点。

**3.6 活性成分-靶点网络构建** 根据所获得的数据,结合Cytoscape 3.8.2软件构建了“中药活性成分-靶点”网络,包含690个节点和1 936条边,见增强出版附加材料,图中黄色六边形表示黄连的活性成分,绿色菱形表示三七活性成分,红色正方形表示二者共有成分槲皮素,紫色椭圆表示作用靶点,连接的线段代表了成分与靶点之间的相互作用。在Venny 2.1平台生成的Venn图中,蓝色部分为田黄方活性成分靶点,黄色部分为高尿酸血症作用靶点,两者交集部分即为田黄方和高尿酸血症的交集靶点共有84个。

**3.7 构建交集靶点的PPI网络及分析** 将交集靶点导入STRING平台生成交集靶点PPI网络,下载网络图及tsv格式文件,见增强出版附加材料。筛

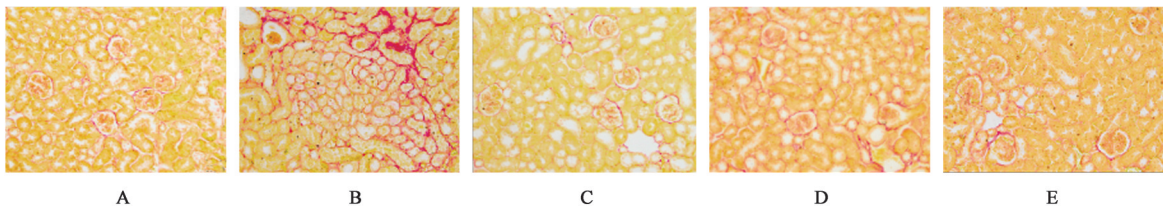


图4 田黄方对高尿酸血症肾病小鼠的肾脏纤维化程度的影响(天狼猩红,×200)

Fig. 4 Effect of THF on Renal fibrosis in mice with hyperuricemia nephropathy (Sirius scarlet, ×200)

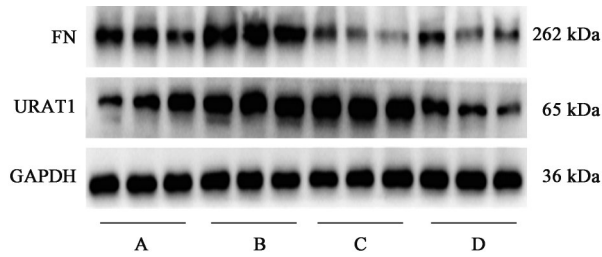


图5 田黄方对高尿酸血症肾病小鼠肾脏组织FN及URAT1的表达电泳

Fig. 5 Electrophoresis of THF on expression of FN and URAT1 in renal tissue of mice with hyperuricemia nephropathy

选出度值大于平均值的靶点作为核心靶点,见表5。度值排名前三的靶点分别是肿瘤坏死因子(TNF)、胱天蛋白酶(Caspase)-3、血管内皮生长因

子A(VEGFA)。推测上述靶点可能是田黄方治疗高尿酸血症的主要靶点。采用Cytoscape 3.8.2对核心靶点及活性成分相互作用进行了可视化及拓扑分析,见增强出版附加材料。图中黄色三角形表示黄连的活性成分,绿色六边形表示三七活性成分,红色正方形表示二者共有成分槲皮素,紫色椭圆表示作用靶点,连接的线段代表了成分与靶点之间的相互作用。图标的大小根据度值的不同而有所变化,度值越大形状越大。根据度值选取排名前五的成分,分别为表小檗碱、3-O-阿魏酰奎尼酸酯、阿魏酸、食脂素、十八碳十二烯,推测上述组分可能是田黄方治疗高尿酸血症的主要活性成分,见表6。

表5 田黄方治疗高尿酸血症的核心靶点度值

Table 5 Degree of key target of THF

靶点	度值	中文名	靶点	度值	中文名	靶点	度值	中文名	靶点	度值	中文名
TNF	50	肿瘤坏死因子	BCL2L1	30	Bcl-2样蛋白11	RELA	26	NF-κB亚单位	IGF1R	20	胰岛素样生长因子I受体
Caspase-3	45	胱天蛋白酶-3	MAPK1	29	有丝分裂原激活蛋白激酶1	JAK2	24	酪氨酸蛋白激酶2	ABL1	19	原癌基因1,非受体酪氨酸激酶
VEGFA	43	血管内皮生长因子	PPARA	29	过氧化物酶体增殖活化受体α	KDR	23	酪氨酸激酶受体2	HNF4A	18	肝细胞核因子4α
PPARG	41	过氧化物酶体增殖活化受体γ	TLR4	28	Toll样受体4	APP	22	淀粉样βA4蛋白	VCAM1	18	血管细胞黏附蛋白1
SIRT1	39	沉默调节蛋白1	ACE	27	血管紧张素转化酶	CDK4	22	细胞周期蛋白依赖激酶4	LYN	17	膜相关蛋白酪氨酸激酶
STAT3	39	转录激活因子3	MAPK8	27	有丝分裂原激活蛋白激酶8	HDAC1	22	组蛋白去乙酰化酶1	AGTR1	16	血管紧张素II受体1
ESR1	37	雌激素受体α	Caspase-8	26	胱天蛋白酶-8	REN	22	肾素	SELE	16	E选择素
HSP90AA1	35	热休克蛋白90α家族A类成员1	EP300	26	E1A结合蛋白P300	PARP1	21	多聚ADP核糖聚合酶1			
PTGS2	33	环加氧酶2	ICAM1	26	细胞间黏附分子1	SERPINE1	21	Serpin E家族E成员1			

表6 田黄方活性成分作用核心靶点及度值

Table 6 Degree and key targets of THF active ingredients

Mol ID	编号	英文名	中文名	度值	核心靶点
MOL002897	HL3	epiberberine	表小檗碱	10	SIRT1、STAT3、MAPK1、MAPK8、ICAM1、JAK2、PARP1、ABL1、SELE
MOL008647	HL10	moupinamide	3-O-阿魏酰奎尼酸酯	10	TNF、HSP90AA1、PTGS2、BCL2L1、EP300、CDK4、HDAC1、ABL1、AGTR1
MOL00360	HL11	ferulic acid	阿魏酸	10	STAT3、PTGS2、TLR4、ACE、RELA、APP、CDK4、REN、PARP1
MOL001792	SQ2	DFV	食脂素	9	VEGFA、PPARG、ESR1、BCL2L1、KDR、SERPINE1、IGF1R、HNF4A
MOL001494	SQ1	mandenol	十八碳十二烯	8	PPARG、PTGS2、MAPK1、PPARA、JAK2、KDR、ABL1

3.8 交集靶点基因功能富集分析 将核心靶点导入Meta Scape数据库网站进行GO和KEGG富集分析。本研究发现299个GO术语,包括275个BP术

语、9个CC术语和15个MF术语。BP、CC和MF的41个术语。BP术语主要包括对脂多糖的反应、对肽的反应、对荷尔蒙的反应、细胞迁移的正调控、对

生长因子的反应、调节上皮细胞细胞凋亡、细胞对有机环化合物的反应、细胞内信号转导的负调控、对TNF- $\alpha$ 的反应、神经元死亡的调节、调节DNA结合转录因子的活性、对缺氧的反应等。CC术语主要涉及隔膜筏、转录调节复合物、细胞体、核封装、膜的一侧、分泌颗粒腔、常染色质、早期内体。MF术语主要包括RNA聚合酶II特异性DNA结合转录因子结合、蛋白质结构域特异性结合、组蛋白脱乙酰酶、蛋白质C末端结合、磷酸酶结合、生长因子受体结合、整合素结合、肽结合、蛋白酶结合蛋白酶、羧酸结合剂、G蛋白连接接受器、蛋白质异源二聚化活性等。

通过KEGG通路富集分析获得17条通路。对KEGG途径富集分析的17个术语进行可视化分析。田黄方治疗高尿酸血症的潜在靶点主要集中在癌症途径、糖尿病并发症的AGE/RAGE信号通路和NF- $\kappa$ B通路等。其中,NF- $\kappa$ B炎症信号通路和高尿酸血症密切相关<sup>[14]</sup>。

**3.9 分子对接分析** DS是新一代分子建模和模拟环境的专业生命科学分子模的软件,主要应用于蛋白质结构功能研究及药物发现<sup>[15]</sup>。根据成分-靶点互作网络,活性成分-核心靶点互作网络,蛋白质相互作用(PPI)网络及GO和KEGG富集分析,推测田黄方治疗高尿酸血症的主要活性成分为表小檗碱、3-O-阿魏酰奎尼酸酯、阿魏酸、食脂素、十八碳十二烯,作用靶点为NF- $\kappa$ B通路上的RELA。将上述活性成分及靶点运用DS进行分子对接验证,对接结果见表7。由对接结果可知,3-O-阿魏酰奎尼酸酯和十八碳十二烯等对NF- $\kappa$ B通路的RELA靶点有良好的结合活性,并将得分最高的3-O-阿魏酰奎尼酸酯与RELA的对接结果进行可视化。

表7 田黄方主要活性成分与RELA分子对接得分

Table 7 LibDock scores of major active compound-RELA molecular docking

编号	Mol ID	英文名	中文名	RELA /分
MOL008647	HL10	moupinamide	3-O-阿魏酰奎尼酸酯	118.55
MOL001494	SQ1	mandenol	十八碳十二烯	109.37
MOL002897	HL3	epiberberine	表小檗碱	106.61
MOL001792	SQ2	DFV	食脂素	106.29
MOL00360	HL11	ferulic acid	阿魏酸	88.53

**3.10 田黄方通过NF- $\kappa$ B通路改善肾损伤** 为了进一步研究田黄方是否通过调节NF- $\kappa$ B信号通路来保护HN小鼠,使用Western blot检测了NF- $\kappa$ B信号

通路。结果表明,与正常组比较,模型组p-p65和p-I $\kappa$ B $\alpha$ 的表达水平显著上调( $P < 0.05$ )。田黄方低剂量给药后下调了p-p65的表达,但p-I $\kappa$ B $\alpha$ 的表达差异无统计学意义,田黄方高剂量给药后可明显抑制I $\kappa$ B $\alpha$ 和p65的磷酸化。这些数据表明,田黄方通过抑制NF- $\kappa$ B信号通路减轻HN小鼠肾脏的炎症和纤维化,见表8、图6。

表8 田黄方对小鼠肾脏p-p65、pI $\kappa$ B $\alpha$ 、I $\kappa$ B $\alpha$ 蛋白表达水平的影响( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Table 8 Effect on protein expression of p-p65, p-I $\kappa$ B $\alpha$ , I $\kappa$ B $\alpha$  were examined by Western blot of THF ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

组别	剂量/mg·kg <sup>-1</sup>	p-p65/GAPDH	p-I $\kappa$ B $\alpha$ /I $\kappa$ B $\alpha$
正常组		0.99 $\pm$ 0.13	1.00 $\pm$ 0.13
模型组		2.15 $\pm$ 0.23 <sup>2)</sup>	2.05 $\pm$ 0.13 <sup>2)</sup>
田黄方低剂量组	60	1.24 $\pm$ 0.39 <sup>3)</sup>	1.48 $\pm$ 0.58
田黄方高剂量组	120	0.88 $\pm$ 0.49 <sup>4)</sup>	1.19 $\pm$ 0.12 <sup>3)</sup>

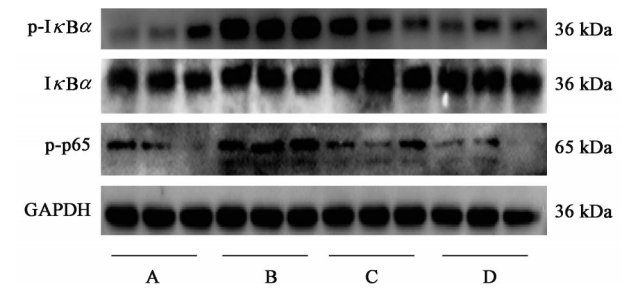


图6 田黄方对高尿酸血症肾病小鼠I $\kappa$ B $\alpha$ 、p-I $\kappa$ B $\alpha$ 和p-p65的蛋白表达电泳

Fig. 6 Electrophoresis of protein expression of THF on I $\kappa$ B $\alpha$ , p-I $\kappa$ B $\alpha$  and p-p65 in hyperuricemic nephropathy mice

#### 4 讨论

尿酸是人体内嘌呤代谢的终产物,人体大部分的尿酸经过肾脏代谢,尿酸的累积导致了肾损伤的炎性细胞因子的水平增加,并且越来越多的证据证实炎症是高尿酸血症中肾损伤的主要机制,长期的尿酸盐刺激肾脏,引起肾脏相关的病理改变<sup>[1]</sup>,包括通过炎症通路进一步促进内皮功能障碍和血管平滑肌细胞增殖,系膜细胞增殖和肾小球硬化,肾小管间质炎症和纤维化<sup>[16]</sup>。现代中医认为尿酸滞留血中,阻滞气机,不通则痛<sup>[4]</sup>。田黄方主要含有小檗碱、巴马汀、人参皂苷Rg<sub>1</sub>、人参皂苷Rb<sub>1</sub>和三七皂苷R<sub>1</sub>等活性成分<sup>[9]</sup>。研究表明,黄连中的小檗碱通过激活过氧化物酶体增殖物活化受体 $\gamma$ 共激活因子-1 $\alpha$ (PGC-1 $\alpha$ )信号通路,抑制糖尿病肾病小鼠模型的脂质积累、线粒体活性氧过度生成、线粒体功能障碍和缺乏脂肪酸氧化<sup>[17]</sup>。三七中的三七总皂苷可通过抑制Smad2/3磷酸化水平,激活Smad6发

挥调控作用,有效减缓慢性肾衰竭大鼠肾间质纤维化进程<sup>[18]</sup>。黄连和三七共有成分槲皮素可显著上调肾组织尿毒素转运蛋白表达、促进尿毒素排泄,有效改善尿酸性肾病大鼠肾损伤<sup>[19]</sup>。田黄方中黄连与三七配伍能够使肝气调达,气机通畅,五脏调和,气血津液运化正常,化解祛除痰浊等物质,降低血脂<sup>[20]</sup>,本研究证实了田黄方能够降低血清尿酸、肌酐和尿蛋白水平,减轻肾脏损伤。

在肾脏炎症和纤维化过程中,包括NF- $\kappa$ B和NLRP3炎症小体等多种信号通路发挥了重要作用。NLRP3炎症小体是一种细胞溶解性蛋白质复合体,由NLRP3、凋亡相关镜像蛋白(ASC)和Caspase-1前体组成,长期暴露于高尿酸环境中可促进NLRP3炎症小体的激活和炎症因子的分泌,活化的NLRP3炎症小体通过NF- $\kappa$ B通路刺激IL-1 $\beta$ 和IL-18的分泌,活化的NF- $\kappa$ B作为一个主要的转录因子也参与了NLRP3的转录,NLRP3炎症反应的恶性循环加速了肾脏损害的发生<sup>[14]</sup>。NF- $\kappa$ B是一种与细胞凋亡、病毒复制、肿瘤发生、炎症和各种自身免疫性疾病有关的转录因子<sup>[21]</sup>。当I $\kappa$ B $\alpha$ 被 $\kappa$ B抑制因子激酶(IKK)磷酸化或被刺激信号降解时,I $\kappa$ B $\alpha$ 磷酸化将引起NF- $\kappa$ B的释放,并诱导NF- $\kappa$ B进入细胞核,激活的NF- $\kappa$ B可以刺激许多基因的表达并产生各种细胞因子,如肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ ),IL-6,白细胞介素-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ ),单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1),脂肪因子,细胞黏附分子,可溶性细胞间黏附分子-1(sICAM-1)和可溶性血管黏附分子-1(sVCAM-1)及急性期蛋白(CRP)<sup>[22]</sup>。研究表明,毛果鱼藤提取物可通过干预TLR4/NF- $\kappa$ B/NLRP3信号通路改善炎症反应,发挥治疗痛风的作用<sup>[23]</sup>。黄芪百合颗粒可能通过HIF-1 $\alpha$ /NF- $\kappa$ B/NLRP3信号通路对低压低氧大鼠急性脑损伤发挥保护作用<sup>[24]</sup>。表明NF- $\kappa$ B/NLRP3信号通路与人体炎症反应密切相关,笔者验证了田黄方能够降低高尿酸血症小鼠的NLRP3、IL-1 $\beta$ 、p-I $\kappa$ B $\alpha$ 和p-p65水平,发挥抗炎作用,从而减轻了肾脏进展性纤维化反应。尿酸生成和排泄的动态平衡是机体维持尿酸稳态的关键因素<sup>[25]</sup>,人体内大约三分之二的尿酸是通过肾小管转运蛋白排泄,尿酸盐阴离子交换剂(URAT1)与尿酸的重吸收有着重要的关系<sup>[13]</sup>,本研究表明田黄方能够通过降低URAT1的表达,调控体内尿酸转运稳态,同时发挥中药多靶点多途径治疗疾病的优势,改善肾脏功能。

近年来,网络药理学作为一门多学科交叉学

科,越来越受到人们的关注。网络药理学已被用于研究药物和蛋白质或基因和疾病之间的相互作用途径,并且能够从网络的角度描述生物系统,药物和疾病之间的复杂性<sup>[26]</sup>。网络药理学表明中药是通过“多成分”“多靶点”,以达到治疗疾病的目的。结合PPI网络分析筛选田黄方防治高尿酸血症的核心靶点,推测田黄方可能通过调控如肿瘤坏死因子(TNF)、细胞间黏附分子1(ICAM1)、Caspase-3、NF- $\kappa$ B亚单位(RELA)、转录激活因子3(STAT3)、环加氧酶2(PTGS2)、Toll样受体4(TLR4)等靶点,发挥治疗HN的作用。通过网络药理学进一步探究田黄方治疗高尿酸血症可能的作用机制,GO和KEGG富集分析表明田黄方发挥治疗作用的靶点主要集中在NF- $\kappa$ B通路上,笔者的实验证实了田黄方能够通过NF- $\kappa$ B/NLRP3信号通路高尿酸血症小鼠肾损伤,发挥抗炎作用;降低URAT1的表达,调控尿酸代谢;降低FN的表达,减轻肾脏纤维化损伤。DS中的LibDock工具采用的是基于特征的对接算法,用LibDock进行化合物筛选时,先生成化合物的低能量构象,再对指定的热点区进行特征计算,然后依次用评分系统对小分子的对接进行打分<sup>[27]</sup>。本研究通过网络药理学和分子对接探讨了田黄方治疗HN的作用机制,发现田黄方可能通过小檗碱、3-O-阿魏酰奎尼酸酯、阿魏酸、血脂素、十八碳十二烯等多种活性成分,调控NF- $\kappa$ B信号通路和NLRP3炎性小体减轻炎症反应,抑制肾纤维化进程。但田黄方中主要是何种成分发挥了作用还需进一步实验验证,是课题组需要深入研究的方向,为今后田黄方的相关临床应用提供更加坚实的理论基础。

综上所述,本研究表明田黄方通过抑制NF- $\kappa$ B和NLRP3炎性小体激活来抑制炎症反应,从而有效改善HN小鼠肾小管间质炎症和纤维化。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

#### [参考文献]

- [1] JUNG S W, KIM S M, KIM Y G, et al. Uric acid and inflammation in kidney disease [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2020, 318(6):F1327-F1340.
- [2] LI Y, SHEN Z, ZHU B, et al. Demographic, regional and temporal trends of hyperuricemia epidemics in mainland China from 2000 to 2019: A systematic review and Meta-analysis [J]. *Glob Health Action*, 2021, 114(11):1874652.
- [3] CICERO A F G, FOGACCI F, KUWABARA M, et al. Therapeutic strategies for the treatment of chronic

- hyperuricemia: An evidence-based update [J]. *Medicina (Kaunas)*, 2021, 2057(2021):2058.
- [ 4 ] 申林强,邓鑫杰,章淑薇,等. 高尿酸血症和痛风的发病机制及中医药干预作用[J]. *中国民间疗法*, 2021, 29(15):120-125.
- [ 5 ] 罗朵生,李坤平,荣向路,等. 基于代谢组学技术的田黄方配伍机制分析[J]. *广州中医药大学学报*, 2016, 33(4):525-530.
- [ 6 ] 罗朵生,李坤平,荣向路,等. 田黄方降脂作用配伍机制的尿液代谢组学研究[J]. *中药药理与临床*, 2016, 32(4):84-88.
- [ 7 ] GUO J. Research progress on prevention and treatment of glucolipid metabolic disease with integrated traditional Chinese and Western medicine [J]. *Chin J Integr Med*, 2017, 23(6):403-409.
- [ 8 ] 黄敏仪,陈可纯,罗朵生,等. 田黄方对高脂饮食诱导小鼠肾脏损伤的改善作用及机制研究[J]. *广东药科大学学报*, 2022, 38(2):1-7.
- [ 9 ] LI K P, YU Y, YUAN M, et al. Tian-Huang Formula, a traditional Chinese medicinal prescription, improves hepatosteatosis and glucose intolerance targeting Akt-SREBP nexus in diet-induced obese rats [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2021, 2021: 6617586.
- [ 10 ] GUAN J, HUANG X Q, DONG J L, et al. A novel mouse model of hyperuricemia and gouty nephropathy [J]. *Chin Med J (Engl)*, 2020, 133(16):2012-2014.
- [ 11 ] 李明慧,观金,代睿欣,等. 活血利湿降浊方调控尿酸转运体及炎症改善高尿酸血症肾病的研究[J]. *中药药理与临床*, 2022, 38(1):150-155.
- [ 12 ] 黄艺飞,尹延哲,邵忠林,等. 基于网络药理学和分子对接探讨土茯苓-车前子干预尿酸性肾病作用机制[J]. *中国中医药图书情报杂志*, 2023, 47(1):21-26.
- [ 13 ] BOBULESCU I A, MOE O W. Renal transport of uric acid: Evolving concepts and uncertainties [J]. *Adv Chronic Kidney Dis*, 2012, 19(6):358-371.
- [ 14 ] WEN L, YANG H, MA L, et al. The roles of NLRP3 inflammasome-mediated signaling pathways in hyperuricemic nephropathy [J]. *Mol Cell Biochem*, 2021, 476(3):1377-1386.
- [ 15 ] 李亚梅,廖端芳. 应用 Discovery Studio 软件预测烟酰胺姜黄素酯抗动脉粥样硬化的作用靶点[J]. *中国医药导报*, 2013, 10(17):16-18, 21.
- [ 16 ] JUNG S W, KIM S M, KIM Y G, et al. Uric acid and inflammation in kidney disease [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2020, 318(6):F1327-F1340.
- [ 17 ] QIN X, JIANG M, ZHAO Y, et al. Berberine protects against diabetic kidney disease via promoting PGC-1 $\alpha$ -regulated mitochondrial energy homeostasis [J]. *Br J Pharmacol*, 2020, 177(16):3646-3661.
- [ 18 ] 高洁,刘益涛,董华,等. 三七总皂苷通过 Smads 信号通路减缓慢性肾衰竭大鼠肾间质纤维化进程的作用研究[J]. *中药新药与临床药理*, 2021, 32(6):799-805.
- [ 19 ] 张明康,周燕,陈宇玥,等. 槲皮素对尿酸性肾病大鼠肾损伤的作用机制研究[J]. *中国临床药理学杂志*, 2022, 38(2):142-146.
- [ 20 ] 郭姣. 糖脂代谢病(瘵浊)中西医结合诊疗技术规范 [J]. *世界中医药*, 2019, 14(3):771-782.
- [ 21 ] BARNABEI L, LAPLANTINE E, MBONGO W, et al. NF- $\kappa$ B: At the borders of autoimmunity and inflammation [J]. *Front Immunol*, 2021, 12:716469.
- [ 22 ] MITCHELL S, VARGAS J, HOFFMANN A. Signaling via the NF- $\kappa$ B system [J]. *Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med*, 2016, 8(3):227-241.
- [ 23 ] 刘洪存,朱震鑫,卢月,等. 基于 TLR4/NF- $\kappa$ B/NLRP3 通路探讨毛果鱼藤提取物抗痛风作用及机制[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2023, doi: 10.13422/j.cnki.syfjx.20230509.
- [ 24 ] 曾元丁,苏韞,龚红霞,等. 基于 HIF-1 $\alpha$ /NF- $\kappa$ B/NLRP3 信号通路探讨黄芪百合颗粒对高原低氧模型大鼠急性脑损伤的保护作用[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2022, doi:10.13422/j.cnki.syfjx.20222105.
- [ 25 ] 张永琪,陈杰伟,叶博闻,等. 四妙丸上调高尿酸血症大鼠小肠 ABCG2 表达促进肠道尿酸排泄的作用[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2022, 28(22):33-39.
- [ 26 ] ZHANG R, ZHU X, BAI H, et al. Network pharmacology databases for traditional Chinese medicine: Review and assessment [J]. *Front Pharmacol*, 2019, 10:123.
- [ 27 ] 黄勇,陈晨,张志毅,等. Autodock Vina 与 Discovery Studio 在虚拟筛选耐药蛋白抑制剂中的比较[J]. *生物信息学*, 2012, 10(4):248-253.

[责任编辑 顾雪竹]