

· 基础研究 ·

秦苓液对尿酸性肾病大鼠肾组织 AMPK/iNOS 信号途径的影响

何毓玺^{1*} 张笑栩¹ 张承承² 白 华³ 王达利¹ 杨 蕾¹ 张正菊¹ 相瑞阳¹ 王 洁⁴ 孟凤仙¹

摘要 目的 观察秦苓液对尿酸性肾病大鼠肾组织 AMPK/iNOS 信号途径的影响,探讨其对尿酸性肾病肾脏损伤的保护机制。**方法** 采用腺嘌呤灌胃配合酵母饲料喂养的方法制备高尿酸肾病大鼠模型,将成模大鼠随机分为模型组,别嘌醇组[23.33 mg/(kg·d)],秦苓液大、中、小剂量组[剂量分别为:36.4、18.2、9.1 g/(kg·d)],每组 12 只,予对应药物干预。6 周和 8 周时处死各组 1/2 大鼠,取肾脏组织。RT-PCR 检测 AMPK α 1、iNOS mRNA 表达水平,Western Blot 检测 AMPK α 1、p-AMPK α 1、iNOS 蛋白表达水平。**结果** 与正常组比较,6 周及 8 周模型组 AMPK α 1 mRNA 和蛋白表达、p-AMPK α 1 蛋白表达降低,iNOS mRNA 及蛋白表达升高($P < 0.01$, $P < 0.05$)。与模型组比较,6 周时秦苓液各组 AMPK α 1 mRNA 表达升高,p-AMPK 蛋白表达升高,iNOS 蛋白表达降低,秦苓液大、小剂量组 AMPK α 1 蛋白表达升高($P < 0.01$, $P < 0.05$);8 周时秦苓液小剂量组 AMPK α 1 mRNA 表达升高,中、小剂量组 AMPK α 1、p-AMPK α 1 蛋白表达升高,iNOS mRNA 及蛋白表达降低($P < 0.01$, $P < 0.05$)。**结论** 秦苓液可能通过调节 AMPK/iNOS 信号途径改善代谢,抑制炎症损伤,减轻尿酸性肾病大鼠的肾脏损伤。

关键词 尿酸性肾病;秦苓液;腺嘌呤核糖核苷酸活化蛋白激酶;诱导型一氧化氮合酶

Effect of Qinling Liquid on AMPK/iNOS Signal Pathway in Uric Acid Nephropathy Rats HE Yu-xi¹, ZHANG Xiao-xu¹, ZHANG Cheng-cheng², BAI Hua³, WANG Da-li¹, YANG Lei¹, ZHANG Zheng-ju¹, XIANG Rui-yang¹, WANG Jie⁴, and MENG Feng-xian¹ 1 Department of Rheumatology, Dongfang Hospital, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing (100078); 2 Department of Nephrology, Dongfang Hospital, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing (100078); 3 Guangwai Hospital in Xicheng District of Beijing, Beijing(100053); 4 Department of Endocrinology, Shunyi Branch, Beijing Hospital of Traditional Chinese Medicine, Beijing (101300)

ABSTRACT Objective To observe the effect of Qinling Liquid (QL) on the AMPK/iNOS signaling pathway in renal tissue of uric acid nephropathy rats, and to explore its mechanism for alleviating renal injury. **Methods** Adenine lavage with yeast feed was used to establish uric acid nephropathy rats model. Modeled rats were randomly divided into model group, allopurinol group (23.33 mg·kg⁻¹·d⁻¹), high, medium and low dose QL group(at the daily dose of 36.4, 18.2 and 9.1 g/kg), 12 in each group. At 6 weeks and 8 weeks, half of the rats in each group were sacrificed and their kidneys were taken. The mRNA expressions of AMPK α 1 and iNOS were detected by RT-PCR, and the protein expressions of AMPK α 1, p-AMPK α 1 and iNOS were detected by Western Blot. **Results** Compared with the normal group, the mRNA and protein expressions of AMPK α 1 were decreased, the p-AMPK α 1 protein expressions were decreased, and mRNA and protein expressions of iNOS were increased in model group at 6-week and 8-week($P < 0.01$, $P < 0.05$). Compared with the model group, the expressions of AMPK α 1 mRNA and p-

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No. 81473516)

作者单位:1.北京中医药大学东方医院风湿科(北京 100078);2.北京中医药大学东方医院肾病科(北京 100078);3.北京市西城区广外医院老年病科(北京 100053);4.北京中医医院顺义医院内分泌科(北京 101300)

通讯作者:孟凤仙, Tel: 010-67689921, E-mail: mfx0823@163.com

*现在重庆市中医院消化科(重庆 400021)

DOI:10.7661/j.cjim.20190815.026

AMPK α 1 protein were increased, and the expressions of iNOS protein decreased in each group of QL. The expressions of AMPK α 1 protein increased in high and low dose QL group ($P < 0.01$, $P < 0.05$). At 8 weeks, AMPK α 1, p-AMPK α 1 protein expressions were increased, and iNOS mRNA and protein expressions decreased in medium and low dose QL group. AMPK α 1 mRNA expressions were increased in QL low dose group ($P < 0.01$, $P < 0.05$). Conclusion QL may inhibit renal immune inflammatory injury and protect the kidney by regulating AMPK/iNOS signal pathway in uric acid nephropathy rats.

KEYWORDS uric acid nephropathy; Qinling Liquid; AMPK; iNOS

近年随着高尿酸血症 (hyperuricemia, HUA) 的人群比例逐渐升高,尿酸性肾病 (uric acid nephropathy, UAN) 患病率也随之增加。目前认为 UAN 的发病机制为高尿酸引起局部肾小球、肾小管细胞代谢功能障碍;尿酸水平过高时血液中可析出尿酸晶体,晶体可直接通过模式识别受体信号通路如 TLR4/NF- κ B 通路导致促炎因子高表达,引起免疫炎症损伤^[1]。秦苓液治疗 UAN 具有良好的效果,相关动物实验证明,该方能降低 UAN 大鼠 24 h 尿蛋白、血尿酸、血肌酐、血尿素氮水平,减轻肾组织病理损伤,保护肾脏^[2],同时可提高其肾组织的 PPAR γ 和 PGC-1 α 表达,降低 IL-1 β 等促炎因子水平^[3],表明秦苓液可通过抑制免疫炎症损伤和调节代谢改善肾功能,二者可能由共同上游腺嘌呤核糖核苷酸活化蛋白激酶 [Adenosine 5'-monophosphate (AMP) -activated protein kinase, AMPK] 调控,故进行本实验探究其对 UAN 大鼠肾脏损伤过程中 AMPK/诱导型一氧化氮合酶 (inducible nitric oxide synthase, iNOS) 信号途径的影响。

材料与方 法

1 动物 健康 8 周龄 SPF 级雄性 SD 大鼠,体重 (200 \pm 10) g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,合格证号 SCXK (京)2012 - 0001。动物饲养环境为北京中医药大学动物房屏障环境,大鼠自由进食饮水,适应性喂养 1 周。酵母饲料购自北京华阜康生物科技股份有限公司,合格证号 SCXK (京)2014 - 0008。本实验通过北京中医药大学医学实验动物伦理委员会审查 (No. BUCM-4 - 20160501 - 2004)。

2 药物及试剂 腺嘌呤 (批号:A8626)、羧甲基纤维素钠 (批号:21902) 购于美国 Sigma 公司;秦苓液 (由山茱萸肉 10 g、秦皮 15 g、土茯苓 15 g、黄柏 15 g、威灵仙 30 g、赤芍 15 g 等共 8 味药物组成,生药含量 2.225 g/mL),由北京中医药大学东方医院药剂科提供;别嘌呤醇胶囊 (0.25 g/粒,批号:15010901) 购于黑龙江澳利达奈德制药有限公司;p-

AMPK α 1 抗体 (批号:ab131357)、AMPK α 1 抗体 (批号:ab32047)、iNOS 抗体 (批号:ab3523) 购于英国 Abcam 公司; β -actin 抗体 (批号:TA-09) 购于北京中杉公司;山羊抗兔 IgG 抗体 (批号:111 - 035 - 003) 购于美国 Jackson 公司;THiFiScript cDNA 第一链合成试剂盒 (CW2569) 购于北京康为世纪公司;SYBR FAST qPCR Kit Master Mix (2 \times) 购于美国 KAPA Biosystems 公司。

3 仪器 X71 自动光学照相生物显微镜 (日本 Olympus 公司);D3024R 离心机高速冷冻离心机 (美国 SCIOLOGEX 公司);JY300C 电泳仪, JY300C 电泳槽 (北京君意东方电泳设备有限公司);Champ-Gel 5000 凝胶成像仪 (北京赛智创业科技有限公司);SMA-1000 分光光度计 (北京美林恒通公司);StepOne Plus 实时定量 PCR 仪 (ABI 公司);高速冷冻离心机 (长沙湘仪离心机仪器有限公司)。

4 造模及分组 大鼠适应性喂养 1 周后,用随机数表法分为正常组 (6 只) 和造模组 (80 只)。正常组每日蒸馏水灌胃,普通饲料喂养。模型组予腺嘌呤 100 mg/kg 灌胃,同时给予 10% 酵母饲料喂养,连续 18 d 后眼眶取血,测定血尿酸 $> 106.8 \mu\text{mol/L}$ ^[4],表明 HUA 模型大鼠造模成功。置成模大鼠于代谢笼中,收集 24 h 尿液,测定尿蛋白含量。大鼠 24 h 正常尿蛋白含量为 1.2 ~ 6.2 mg/(kg \cdot d)^[5],正常范围区间过大,故本实验以模型组高于正常组 ($P < 0.05$) 为成模标准。模型组较正常组 24 h 尿蛋白升高 ($P < 0.05$),提示 UAN 大鼠造模成功。本次造模成模 61 只,成模率为 76.3%。

将造模成功大鼠随机分为模型组,别嘌呤醇组,秦苓液大、中、小剂量组,每组 12 只。正常组及模型组以 10 mL/(kg \cdot d) 蒸馏水灌胃,别嘌呤醇组以 23.33 mg/(kg \cdot d) 别嘌呤醇灌胃,相当于成人用量的 5.6 倍^[5];秦苓液大、中、小剂量组分别以 36.4、18.2、9.1 g/(kg \cdot d) 秦苓液灌胃,分别相当于成人用量的 11.2、5.6、2.8 倍^[5]。各组大鼠每日给药 1 次,连续干预 6 周或 8 周。

5 标本采集 灌胃治疗 6 周和 8 周时,随机麻醉、处死各组大鼠 1/2 量,摘取双侧肾脏,放入液氮中冻存,以备 RT-PCR、Western Blot 方法检测。

6 AMPK α 1 及 iNOS mRNA 表达检测 采用 RT-PCR 技术检测各组大鼠肾组织中 AMPK α 1 及 iNOS mRNA 转录水平。引物由生工生物工程(上海)股份有限公司设计合成,全部引物均通过与全 mRNA RefSeq 数据库 BLAST 比对设计并经实验验证。目的基因及引物序列如表 1。提取肾组织中的总 RNA,进行反转录合成 cDNA 后,以此为模板, β -actin 为内参进行 PCR 扩增。条件:95 $^{\circ}$ C 预变性 3 min 1 个循环;扩增 95 $^{\circ}$ C 3 s,60 $^{\circ}$ C 20 s,共 40 个循环。反应结束后将原始数据、扩增曲线和熔解曲线等信息从定量软件中导出进行分析,得到样本基因相对表达图谱。

表 1 目的基因及引物序列

基因	引物序列	扩增长度(bp)
AMPK α 1	上游 5'-CTTCTTAACCTCCCTCCAC-3'	140
	下游 5'-CTAAATCAGGTTACTCTGGGCAA-3'	
iNOS	上游 5'-GGTTGAGGATTACTTCTCCAGC-3'	132
	下游 5'-GGGTGCAGAGTCTTGTCCTT-3'	
β -actin	上游 5'-GCACCATGAAGATCAAGATCATT-3'	172
	下游 5'-TAACAGTCCGCTAGAAGCATT-3'	

7 AMPK α 1、p-AMPK α 1 及 iNOS 蛋白表达检测 采用 Western Blot 技术检测各组大鼠肾组织中 AMPK α 1、p-AMPK α 1 及 iNOS 蛋白表达水平。肾组织提取蛋白并测定蛋白浓度,上样,电泳,转膜,用封闭液将相应一抗(兔抗鼠)按照稀释, p-AMPK α 1 按 1:500 稀释,其余按 1:1 000 稀释,4 $^{\circ}$ C 孵育过夜后用封闭液稀释后的二抗(山羊抗兔)孵育,TBST 洗 3 次;使用 ECL 化学发光显色液曝光。采用凝胶图像分析系统对蛋白杂交条带进行扫描,并用 Gel Image system ver. 4.00 对图像进行灰度分析。

8 统计学方法 采用 SPSS 20.0 进行数据分析,实验结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用 One-Way ANOVA 分析,组间两两比较用 LSD 法,方差不齐则采用 Games-Howell 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 各组大鼠一般状态比较 正常组大鼠毛色光亮,精神状态良好,饮食摄水正常,活动量正常;模型组被毛稀疏,毛色暗淡,活动量减少,饮食减少,饮水量正常,各给药组大鼠进食较模型组增多,被毛脱落减少,活动量有一定增加。由于灌胃失误加之疾病发展,秦

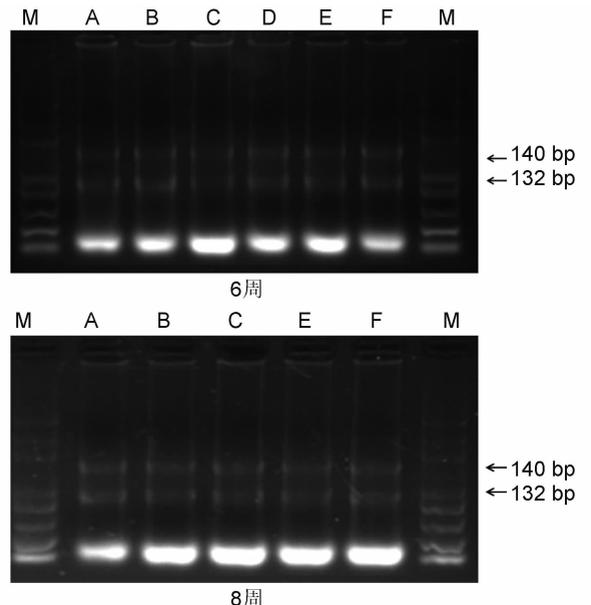
苓液大剂量组在第 7 周与第 8 周各死亡 3 只,中剂量组于第 7 周死亡 1 只,8 周时处死大鼠 26 只,包括正常组 3 只,模型组 6 只,别嘌醇组 6 只,秦苓液中剂量组 5 只,小剂量组 6 只。

2 各组大鼠 AMPK α 1、iNOS mRNA 表达比较 (表 2,图 1) 与正常组比较,6、8 周时模型组 AMPK α 1 mRNA 表达下调,iNOS mRNA 表达上调($P < 0.01$, $P < 0.05$)。与模型组比较,6 周时各给药组 AMPK α 1 mRNA 表达上调,别嘌醇组及秦苓液大剂量组 iNOS mRNA 表达下调($P < 0.01$, $P < 0.05$);8 周时别嘌醇组 AMPK α 1 mRNA 表达上调,iNOS mRNA 表达下调,秦苓液小剂量组 AMPK α 1 mRNA 表达上调,中、小剂量组 iNOS mRNA 表达下调($P < 0.01$, $P < 0.05$)。

表 2 各组大鼠各时间点 AMPK α 1 及 iNOS mRNA 表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	时间	AMPK α 1	iNOS
正常	3	6 周	0.133 \pm 0.030	0.038 \pm 0.015
	3	8 周	0.058 \pm 0.001	0.060 \pm 0.023
模型	6	6 周	0.037 \pm 0.000 *	0.150 \pm 0.005 *
	6	8 周	0.038 \pm 0.002 **	0.357 \pm 0.026 **
别嘌醇	6	6 周	0.093 \pm 0.023 Δ	0.082 \pm 0.024 Δ
	6	8 周	0.043 \pm 0.002 Δ	0.247 \pm 0.045 Δ
秦苓液大剂量	6	6 周	0.067 \pm 0.006 $\Delta\Delta$	0.056 \pm 0.040 Δ
	6	6 周	0.070 \pm 0.007 $\Delta\Delta$	0.066 \pm 0.060
中剂量	5	8 周	0.036 \pm 0.010	0.104 \pm 0.004 $\Delta\Delta$
	6	6 周	0.117 \pm 0.024 Δ	0.060 \pm 0.046
小剂量	6	8 周	0.053 \pm 0.001 $\Delta\Delta$	0.076 \pm 0.016 $\Delta\Delta$

注:与正常组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与模型组同期比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$



注: A 为正常组;B 为模型组;C 为别嘌醇组;D 为秦苓液大剂量组;E 为秦苓液中剂量组;F 为秦苓液小剂量组;M 为 Marker

图 1 各组 6 周和 8 周 RNA 琼脂糖凝胶电泳图

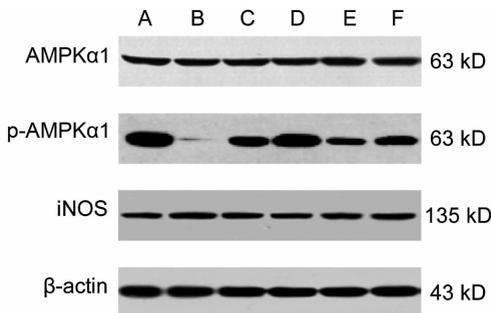
3 各组大鼠各时间点 AMPK α 1、p-AMPK α 1、iNOS 蛋白表达水平比较(表 3,图 2、3) 与正常组比较,模型组 6 周、8 周时 AMPK α 1、p-AMPK α 1 蛋白表达水平下调,iNOS 蛋白表达水平上调($P < 0.01$)。与模型组比较,6 周时秦苓液大、小剂量组 AMPK α 1 蛋白表达水平上调,各给药组 p-AMPK α 1 蛋白表达水

平上调,iNOS 水平下调($P < 0.01$, $P < 0.05$);8 周时别嘌呤醇组及秦苓液中、小剂量组 AMPK α 1、p-AMPK α 1 蛋白表达水平上调,iNOS 水平下调($P < 0.01$, $P < 0.05$)。

表 3 各组大鼠各时间点 AMPK α 1、p-AMPK α 1、iNOS 蛋白表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

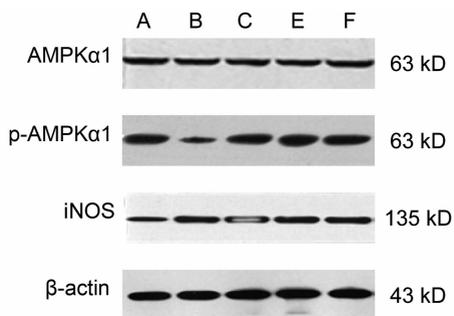
分组	n	时间	AMPK α 1	p-AMPK α 1	iNOS
正常	3	6 周	0.681 \pm 0.055	0.477 \pm 0.007	0.187 \pm 0.074
	3	8 周	0.564 \pm 0.013	0.478 \pm 0.072	0.127 \pm 0.031
模型	6	6 周	0.498 \pm 0.062 *	0.104 \pm 0.079 *	0.523 \pm 0.059 *
	6	8 周	0.422 \pm 0.048 *	0.091 \pm 0.030 *	0.454 \pm 0.030 *
别嘌呤醇	6	6 周	0.664 \pm 0.090	0.244 \pm 0.063 Δ	0.302 \pm 0.100 $\Delta\Delta$
	6	8 周	0.580 \pm 0.038 $\Delta\Delta$	0.362 \pm 0.055 $\Delta\Delta$	0.211 \pm 0.051 $\Delta\Delta$
秦苓液大剂量	6	6 周	0.673 \pm 0.097 Δ	0.429 \pm 0.057 $\Delta\Delta$	0.297 \pm 0.060 $\Delta\Delta$
秦苓液中剂量	6	6 周	0.637 \pm 0.085	0.364 \pm 0.065 Δ	0.270 \pm 0.049 $\Delta\Delta$
秦苓液小剂量	5	8 周	0.552 \pm 0.033 Δ	0.270 \pm 0.065 $\Delta\Delta$	0.209 \pm 0.050 $\Delta\Delta$
	6	6 周	0.669 \pm 0.101 Δ	0.347 \pm 0.078 Δ	0.282 \pm 0.085 $\Delta\Delta$
	6	8 周	0.566 \pm 0.025 Δ	0.404 \pm 0.079 $\Delta\Delta$	0.260 \pm 0.075 $\Delta\Delta$

注:与正常组比较,* $P < 0.01$;与模型组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$



注:A 为正常组;B 为模型组;C 为别嘌呤醇组;D 为秦苓液大剂量组;E 为秦苓液中剂量组;F 为秦苓液小剂量组

图 2 各组大鼠 6 周 AMPK α 1、p-AMPK α 1 及 iNOS 蛋白印迹图



注:A 为正常组;B 为模型组;C 为别嘌呤醇组;D 为秦苓液大剂量组;E 为秦苓液中剂量组;F 为秦苓液小剂量组

图 3 各组大鼠 8 周 AMPK α 1、p-AMPK α 1 及 iNOS 蛋白印迹图

讨 论

UAN 在中医学属“水肿”、“膏淋”、“关格”、“虚劳”等病的范畴,发病症状不一,其病机为肾阴亏损,浊瘀互结,瘀热内生,其脾肾不足为本,瘀浊阻滞为标,孟凤仙教授参考 UAN 的病机特点,结合多年临床经验总结出复方青秦液经验方,治疗合并痛风的 UAN 具有良好效果^[6]。而针对没有明显痛风症状的患者,孟教授在复方青秦液基础上优化得到秦苓液处方。秦苓液由山茱萸肉、秦皮、土茯苓、黄柏、威灵仙、赤芍等药物配伍而成。其中山茱萸肉滋阴益肾、固摄元气,为君药;秦皮、土茯苓清热利湿、健脾化浊,黄柏清利下焦湿热,辅以威灵仙、赤芍祛湿通络,活血化瘀,以致益肾降浊,健脾燥湿,清热化瘀之功。现代研究表明,山茱萸肉中含有丰富的莫诺苷和马钱子苷,有很好的抗氧化活性,对于肾间质纤维化、IgA 肾病具有一定的保护作用^[7]。秦皮的主要活性成分有以秦皮甲素、秦皮乙素为代表的香豆素类,以橄榄苦苷为代表的环烯醚萜类和以咖啡酸为代表的酚类等,具有抗菌、抗炎等作用^[8]。秦皮总香豆素有一定的降血尿酸效果,其机制可能与调控黄嘌呤氧化酶的活性相关^[9]。土茯苓的主要化学成分有黄酮类、生物碱类、皂苷类,具有很好的抗炎、抗氧化作用^[10]。土茯苓可以通过抑制黄嘌呤氧化酶和尿酸转运蛋白降低血尿酸水平,同时其主要成分落新妇苷可以抑制 NF- κ B 信号通路,抑制肾脏损伤^[11]。黄柏含有丰富的黄酮类与生物碱类物质,具有抗菌、抗心律失常、抗消化道溃疡等作用^[12]。黄柏颗粒剂可以抑制 UAN 大鼠肾组织 TNF- α 和环氧合酶 2 (cyclooxygenase 2, COX-2) 水平,同时降低血尿酸,减少尿酸盐在肾脏沉积,减轻肾脏损伤^[13]。

本研究发现,秦苓液能够提高 UAN 大鼠肾脏组织的 AMPK α 1、p-AMPK α 1 水平,降低 iNOS 水平。相比 AMPK α 1,秦苓液对于 p-AMPK α 1 的升高效果更加显著,提示秦苓液减轻 UAN 大鼠肾脏损伤的机制可能和提高 AMPK 的磷酸化水平相关。

高尿酸是 UAN 的根本原因,其可通过多种方式引起肾脏损伤。过高的 UA 可激活肾脏细胞 p38 MAPK 信号通路,增加 MCP-1 的表达,募集单核-巨噬细胞,导致局部组织炎症细胞浸润^[14];UA 晶体可以被细胞膜上的模式识别受体 TLRs 识别,继而 NF-

κB 信号通路激活^[15], 导致下游 TNF-α、IL-1、IL-6、IL-18、趋化因子等炎性因子高表达^[16]; 能量代谢过程中 ATP 转化为 AMP, AMP 经脱氨基、氧化过程生成尿酸, 同时产生氧化剂, 诱导近曲小管损伤^[17]。尿酸可通过影响线粒体膜电位, 诱导氧化应激等方式导致线粒体功能障碍, 导致能量代谢紊乱^[18]。

AMPK 是细胞能量代谢调节的关键细胞因子, 被称为细胞的能量调节器, 其活性紊乱和糖尿病、代谢综合征、心血管疾病等密切相关。AMPK 激活后主要活性形式是磷酸化的 AMPK 即 p-AMPK, 通过检测 p-AMPKα1 能够反应 AMPK 活化水平。活化的 AMPK 可以通过调节线粒体 ATP 合成酶抑制蛋白、PGC-1α 以及 Atg1 和 ULK 途径改善细胞代谢功能。AMPK 也在多个方面影响炎症反应过程, 可以抑制糖酵解, 促进氧化代谢, 提高抑炎细胞活性, 降低促炎细胞活性, 从而抑制炎症反应^[19]; AMPK 可以通过 SIRT1 降低 NF-κB 的 P65 亚单位乙酰化水平, 抑制 NF-κB 转录活性, 减轻炎性损伤^[20]。

iNOS 是炎症反应信号通路的重要细胞因子, 正常情况下 iNOS 在肾脏中含量极低, 但在炎症反应中可被大量合成。iNOS 可以激活下游 COX-2, 引起 COX-2/TXA₂ 联合反应, 构成自我反馈正调节通路, 持续活化 NF-κB, 不断促进炎症介质如 TNF-α、IL-1、IL-6、IL-17 等, 引起炎症反应^[21]; iNOS 可激活 COX-2/PGE2 通路, 扩张局部血管, 提高血管通透性, 引起组织充血、水肿, 同时募集白细胞, 引起局部炎性细胞浸润^[22]; iNOS 激活后可以催化 L-精氨酸产生大量 NO, 还可引起下游 NOX 激活, 产生 ROS, NO 是 RNS 的代表分子, 与 ROS 一起提供大量自由基^[23], NF-κB、JNK、AKt 通路均可以被自由基激活, 进而引起免疫炎性损伤^[24], 加重肾脏损伤。在生理条件下, AMPK 可以微弱增加内皮细胞中 iNOS 水平, 但在炎症反应过程中, AMPK 的激活可以抑制 iNOS 的基因及蛋白表达^[25]。

通过上调 AMPK 及 p-AMPK 的水平, 抑制 iNOS 水平, 秦苓液可以改善肾脏细胞能量代谢, 抑制肾脏细胞炎性反应, 减轻肾脏损伤。实验仍有不足之处。实验中因给药量过大而导致秦苓液大剂量组死亡, 因条件限制大、中、小剂量组未能得到显著的量效关系。模型组 6 周和 8 周时存在肾脏损伤, 表明此种造模方式得到的 UAN 模型肾脏损伤持续时间较长, 但各治疗组在连续干预 6 周和 8 周后各指标未能发现统计学差异。

综上所述, 秦苓液减轻 UAN 大鼠肾脏损伤的机制可能与通过调节 AMPK/iNOS 信号途径, 改善代谢

过程和抑制炎性损伤相关。

利益冲突: 无。

参 考 文 献

- [1] 邹筱芳, 巫冠中. 尿酸肾损伤的分子机制研究进展[J]. 安徽医药, 2015, 19(1): 5-9.
- [2] 王洁, 孟凤仙, 王亚南, 等. 秦苓液对尿酸性肾病大鼠肾功能及肾组织病理改变的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(20): 106-111.
- [3] Zhang HH, Fang TH, Wang J, et al. Effects of Chinese herbal decoction Qinlingye extract on the expression of NLRP3, Caspase-1, Caspase-3 in renal tissue of rats with uric acid kidney injury [J]. BMC Complement Altern Med, 2017, 17 (suppl 1): p207.
- [4] 王冬平, 曾林, 尚世臣主编. 实验动物血液生理生化参考手册[M]. 北京: 科学出版社, 2011: 129.
- [5] US FDA. Guidance for industry estimating the maximum safe starting dose in initial clinical trials for therapeutics in adult healthy volunteers [OL]. <https://www.fda.gov/media/72309>, [2005-07-06].
- [6] 孙婷丽, 郭桂清, 赵立杰, 等. 复方秦液治疗痛风性肾病的效应分析[J]. 当代医学, 2016, 22(1): 140-141.
- [7] 陈焯, 朱春玲, 严瑞, 等. 山茱萸对肾间质纤维化的保护作用及机制研究[J]. 天然产物研究与开发, 2015, 27(11): 1957-1961.
- [8] 杨炳友, 闫明宇, 潘娟, 等. 秦皮化学成分及药理作用研究进展[J]. 中医药信息, 2016, 33(6): 116-119.
- [9] 曹瑞竹, 张三印, 代勇, 等. 秦皮总香豆素降低小鼠急性高尿酸血症血尿酸水平及机理研究[J]. 辽宁中医杂志, 2010, 37(2): 362-363.
- [10] 梁巧静, 梁维萍, 李琼, 等. 土茯苓抗痛风作用研究进展[J]. 世界中医药, 2018, 13(11): 2937-2940.
- [11] Zou W, Zhou H, Hu J, et al. Rhizoma Smilacis Glabrae inhibits pathogen-induced upper genital tract inflammation in rats through suppression of NF-κB pathway [J]. J Ethnopharmacol, 2017, 202: 103-113.
- [12] 李嘉诚, 吴岚, 蔡同凯, 等. 黄柏化学成分及其药理作用研究进展[J]. 药学实践杂志, 2018, 36(5): 389-391, 398.
- [13] 胡家才, 刘睿. 黄柏对尿酸性肾病大鼠肾组织肿瘤坏死因子 α 及环氧化酶-2 表达的影响[J]. 浙江中医药大学学报, 2010, 34(5): 655-657.
- [14] Zhuang Y, Feng Q, Ding G, et al. Activation of ERK1/2 by NADPH oxidase-originated reactive oxygen species mediates uric acid-induced mesangial cell proliferation [J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2014, 307(4): F396-F406.
- [15] 邹筱芳, 巫冠中. 尿酸肾损伤的分子机制研究进展[J]. 安徽医药, 2015, 19(1): 5-9.
- [16] Hahn K, Kanbay M, Lanaspas MA, et al. Serum u-

- ric acid and acute kidney injury: A mini review [J]. J Adv Res, 2017, 8(5): 529-536.
- [17] Cirillo P, Gersch MS, Wei M, et al. Ketohexokinase-dependent metabolism of fructose induces proinflammatory mediators in proximal tubular cells [J]. J Am Soc Nephrol, 2009, 20(3): 545-553.
- [18] 李文, 吴红赤, 封宝红, 等. 线粒体功能障碍在尿酸损伤肾小管上皮细胞中的作用 [J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2015, 16(3): 200-202.
- [19] O'Neill LA, Hardie DG. Metabolism of inflammation limited by AMPK and pseudo-starvation [J]. Nature, 2013, 493(7432): 346-355.
- [20] 郭南京, 李津, 朱雨霏, 等. 艾塞那肽通过激活 AMPK 抑制脂肪酸诱导肝细胞脂肪沉积及炎症反应 [J]. 世界华人消化杂志, 2016, 24(11): 1649-1657.
- [21] 徐永跃, 黄清春, 何羿婷, 等. COX-2/TXA₂ 通路在炎症相关疾病中的分子机制研究进展 [J]. 中国中西医结合杂志, 2017, 37(6): 763-767.
- [22] Nakanishi M, Rosenberg DW. Multifaceted roles of PGE2 in inflammation and cancer [J]. Semin Immunopathol, 2013, 35(2): 123-37.
- [23] Zhang YQ, Ding N, Zeng YF, et al. New progress in roles of nitric oxide during hepatic ischemia reperfusion injury [J]. World J Gastroenterol, 2017, 23(14): 2505-2510.
- [24] Zhang H, Chen MK, Li K, et al. Eupafolin nanoparticle improves acute renal injury induced by LPS through inhibiting ROS and inflammation [J]. Biomed Pharmacother, 2017, 85: 704-711.
- [25] 郭智琳. AMPK 活化剂-AICAR 对 iNOS 及 COX-2 基因表现的调节作用 [D]. 台北: 台湾大学药理学研究所, 2005.

(收稿: 2018-09-02 在线: 2019-10-18)
责任编辑: 赵芳芳

第二十八次全国中西医结合肝病学术会议在天津召开

第二十八次全国中西医结合肝病学术会议于 2019 年 9 月 20—22 日在天津召开。本次大会由第 10 届中国中西医结合学会肝病专业委员会、天津市中西医结合学会主办, 天津市中西医结合学会肝病专业委员会、上海中医药大学附属曙光医院肝病研究所、天津市第一医院承办。

大会邀请了美国加州大学洛杉矶分校著名癌症分子流行病学专家张作风教授及贾继东、刘平等国内外中西医结合肝病领域著名专家做了 13 场精彩的专题讲座。马红教授介绍了慢性乙型肝炎患者发生肝癌的无创预测模型。刘平教授总结了慢性病毒性肝炎-肝硬化的抗肝纤维化治疗问题。叶永安教授做了“中西医结合治疗慢性乙型肝炎——挑战与机遇”主题报告。胡义扬教授报告了肝病研究领域的新热点——脂肪肝中医药治疗研究进展。贾继东教授为介绍了遗传性肝内胆汁淤积诊疗进展。阮冰教授报告了肝衰竭与人工肝研究进展。潘晨教授作了非肝硬化性门脉高压诊治问题的报告。沈锡中教授报告了肠道菌群对免疫检查点抑制剂治疗肿瘤的影响。陆伟教授报告了肠道菌群过度生长对慢肝患者的影响。徐列明教授就刚刚发布的 2019 版肝纤维化中西医结合诊疗指南进行了详细的解读。张俊华教授以循证中医药与核心指标集研究为题做了精彩的报告。陈煜教授介绍了构建新型组织工程肝模型评价药肝及脂肪肝作用机制的研究。

大会首次邀请优秀青年学者进行青年学术报告。戴建业教授做了“基于传统中医药探寻非酒精性脂肪性肝病治疗新靶标”报告。郑明华医师详细介绍了温州医科大学运用 PERSONS 信息化平台进行数据采集-建设标本库-实现临床到科研的转化的范例。

会议开展了青年论坛的辩论, 沈峰医师论证了肠道菌群是 NAFLD 重要的治疗靶点。冯琴研究员探讨了肠道菌群紊乱并不是 NAFLD 的核心病理机制, 是多器官、多因素、多重打击的结果。两位医师为大家带来了一场精彩的辩论。

此外, 还有李天驹等 9 名青年学者进行了大会交流, 均为大会投稿中评选出来的优秀论文。内容涉及病毒性、脂肪性、酒精性及胆汁性肝病(肝纤维化及肝硬化)的基础与临床研究成果。

大会成功举办 2019 年全国中西医结合肝病研究继续教育学习班, 有来自全国各地的 14 位专家学者进行了精彩授课。本次继教班首次增加病例讨论环节, 为临床医生对疑难疾病的诊治提供了良好的思路。

大会成功召开第十届肝病专业委员会全体委员会议, 刘平主任委员总结了第十届肝病专业委员会上一年度的工作并部署了明年的工作任务。张华秘书长汇报了第 28 次全国中西医结合肝病学术会议筹办工作及委员增补情况。会议新增选委员 12 名, 青年委员 11 名。

本次大会共收到交流论文 251 篇, 内容涵盖慢性病毒性肝炎、肝硬化、脂肪性肝病、自身免疫性肝病、酒精性肝病、急性及亚急性肝衰竭、肝癌等中西医结合肝病领域的临床、基础、文献研究及名老中医经验总结等中西医结合基础研究与实践的诸多方面。共有来自全国 27 个省市自治区的 300 余名代表参会。

(张华整理)