

基于网络药理学和分子对接探讨木糖 - 邻苯三酚结合物对脓毒症相关急性肾损伤的作用机制

谢静岚¹, 洪阁², 刘天军²

1. 天津中医药大学, 天津 301617

2. 中国医学科学院 北京协和医学院 生物医学工程研究所 天津市生物医学材料重点实验室, 天津 300192

摘要: **目的** 通过网络药理学和分子对接技术探究木糖 - 邻苯三酚结合物 (XP) 改善脓毒症相关急性肾损伤的潜在靶点, 并采用动物实验验证其作用机制。**方法** 通过 Swiss Target Prediction 和 PharmMapper 数据库筛选 XP 的作用靶点, GeneCards、DrugBank、OMIM 数据库检索脓毒症相关急性肾损伤的疾病靶点, 将药物靶点与疾病靶点取交集获得潜在靶点。利用 DAVID 平台对潜在靶点进行基因本体 (GO)、京都基因和基因组百科全书 (KEGG) 富集分析; 采用 Cytoscape 3.9.1 软件绘制抗氧化剂 XP 改善脂多糖致脓毒症相关急性肾损伤的蛋白相互作用 (PPI) 网络图, 选取 degree 值排名前 10 位的核心靶点和抗氧化剂 XP 作为受体蛋白和配体小分子, 使用 Schrödinger 软件包进行受体和配体的分子对接, 并开展核心靶点相关生物学通路的验证实验。**结果** 共筛选得到 XP 改善脂多糖致脓毒症相关急性肾损伤的作用靶点 111 个, 其中核心靶点为白蛋白 (ALB)、蛋白激酶 B1 (Akt1)、甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (GAPDH)、半胱氨酸蛋白酶 3 (CASP3)、酪氨酸激酶 C (SRC)、雌激素受体 1 (ESR1)、90kDa 热休克蛋白 α 1 (HSP90AA1)、V-Ha-Ras 肉瘤病毒癌基因同源物 (HRAS)、细胞周期素 D1 (CCND1)、丝裂原活化蛋白激酶 1 (MAPK1)。GO 富集分析筛选出生物过程 271 条, 细胞组成 60 条, 分子功能 100 条; KEGG 富集到生物学通路 119 条; 分子对接结果显示 XP 与核心靶点均能够较好的结合。实验结果表明, XP 可以显著改善脂多糖致脓毒症相关急性肾损伤的肾功能指标升高和肾组织病理损伤, 其作用机制与上调肾脏组织中 p-磷脂酰肌醇-3-激酶 (PI3K) 和 p-Akt 蛋白的表达相关。**结论** XP 可通过激活 PI3K/Akt 信号通路, 减轻脓毒症相关急性肾损伤。

关键词: 木糖 - 邻苯三酚结合物; 脓毒症相关急性肾损伤; 网络药理学; 分子对接; 磷脂酰肌醇-3-激酶/蛋白激酶 B1 信号通路

中图分类号: R966 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2024)03-0586-09

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2024.03.007

Mechanism of xylose-pyrogallol complexes in sepsis associated acute kidney injury based on network pharmacology and molecular docking

XIE Jinglan¹, HONG Ge², LIU Tianjun²

1. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China

2. Tianjin Key Laboratory of Biomedical materials, Institute of Biomedical Engineering, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Tianjin 300192, China

Abstract: Objective To explore the potential targets of xylose-pyrogallol complexes (XP) in ameliorating sepsis associated acute kidney injury by network pharmacology and molecular docking methods, and to verify this mechanism *in vivo*. **Methods** The targets of XP were obtained by Swiss Target Prediction and PharMapper database, GeneCards, DrugBank and OMIM database searched the disease targets of sepsis associated acute kidney injury and the potential targets were obtained after the intersection of the drug targets and disease targets. DAVID platform was used for GO and KEGG enrichment analysis. Cytoscape 3.9.1 software was used to construct the PPI network of the intersection targets. Top ten core targets and XP were selected as receptors and small molecule ligand. Schrödinger software was used for molecular docking between receptors and ligand. Finally, the core targets and related biological pathway were confirmed by experiment. **Results** A total of 111 targets of XP were obtained for ameliorating sepsis associated acute kidney injury, and the core targets were ALB, Akt1, GAPDH, CASP3, SRC, ESR1, HSP90AA1, HRAS, CCND1, MAPK1. Items were

收稿日期: 2023-11-03

基金项目: 中国医学科学院医学与健康科技创新工程 (2021-I2M-1-052)

作者简介: 谢静岚, 硕士, 药物化学专业。E-mail: krabs_xx@126.com

screened by GO enrichment analysis, including 271 biological processes, 60 cellular components, and 100 molecular functions. KEGG was enriched to 119 gene pathways. Molecular docking results showed that XP had good affinity with the core targets. Animal experiment showed that XP could significantly alleviate the elevated levels of kidney function and the damage of kidney tissue in rats with sepsis associated acute kidney injury, and its mechanism was related to upregulate p-PI3K and p-Akt expression in kidney.

Conclusion XP could alleviate sepsis associated acute kidney injury in rats by activating the PI3K/Akt signaling pathway.

Key word: xylose-pyrogallol complexes; sepsis associated acute kidney injury; network pharmacology; molecular docking; PI3K/Akt signaling pathway

脓毒症是机体对感染产生的炎症反应失调而引起的生理学和器官功能损害的临床综合征,常见于基础疾病严重或抵抗力差的患者,如严重创伤、烧伤、重症肺炎和外科大手术等^[1-2]。脓毒症的发病率和死亡率都很高,可累及多个器官,其中肾脏是脓毒症的易损器官之一,严重脓毒症患者中约有一半的病例会发生急性肾损伤^[3-4]。脓毒症相关急性肾损伤临床上主要表现为肾脏功能突然下降,肌酐和尿素氮水平增加,肾小球滤过率(GFR)和尿量减少,严重时甚至出现酸碱平衡失调、电解质紊乱和各种全身并发症^[5-7]。脓毒症相关急性肾损伤的发病机制较为复杂,国内外学者大多认为其与免疫炎症反应、微循环功能障碍和代谢重编程等有关^[8-11]。目前,临床上尚无切实可行的脓毒症相关急性肾损伤治疗方法,常规干预措施主要以对症支持为主,如液体复苏、血液净化、药物升压和肾脏替代等。最近有研究表明,脓毒症相关急性肾损伤的发生与肾小管上皮细胞中过量的活性氧有关,不少抗氧化剂在缓解实验性脓毒症相关急性肾损伤中显示出积极的作用,如 *N*-乙酰半胱氨酸、烟酰胺腺嘌呤二核苷酸、表没食子儿茶素没食子酸酯等^[12-15]。

植物中的多酚类化合物具有很强的抗氧化活性,其可以清除活性氧自由基,防止组织器官被氧化损伤。本实验室前期将小分子糖与多羟基酚反应合成了一系列植物多酚类似物,体外抗氧化研究结果显示木糖-邻苯三酚结合物(XP)具有良好的自由基清除能力,可以显著抑制过氧化氢诱导的人血管内皮细胞损伤^[16]。随后,尝试将 XP 用于预防各种内源性或外源性毒性物质导致的大鼠急性肾损伤,发现其可以明显减轻顺铂、碘海醇或脂多糖引起的肾功能下降和病理学损伤,机制与减少肾小管细胞凋亡、维持线粒体结构与功能、抑制氧化应激有关,但其具体的作用靶点和机制尚不清楚^[17]。

因此,本研究采用网络药理学和分子对接相结合的方法寻找 XP 改善脓毒症相关急性肾损伤的核心靶点,并分析核心靶点所涉及的炎症信号通路,

最后通过动物实验验证 XP 对炎症通路的影响和肾脏保护作用机制,以期为临床上脓毒症相关急性肾损伤的防治提供新思路。

1 材料

1.1 药品

XP(白色固体粉末,本实验室自行合成,经 HPLC 面积归一化法检测质量分数>98%),化学结构式见图 1,相对分子质量为 384.33。

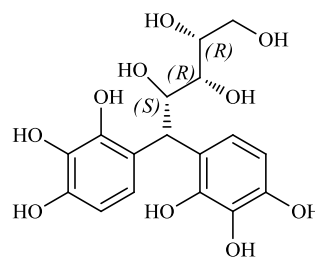


图 1 XP 的化学结构式

Fig. 1 Chemical structure of XP

1.2 实验动物

SD 大鼠 40 只,雄性,SPF 级,6 周龄,体重(200±20)g,购于北京华阜康生物科技股份有限公司,许可证号 SCXK(京)2019-0008,饲养于清洁级实验动物房,温度(25±2)℃,环境相对湿度(50±5)%,12 h/12 h 昼夜交替光照,期间正常饮食、饮水。动物实验方案由中国医学科学院放射医学研究所实验动物伦理委员会批准(批准号 IRM-DWLL-2023245)。

1.3 实验试剂和仪器

脂多糖(LPS,美国 Sigma 公司,批号 0000153963);地塞米松磷酸钠注射液(天津金耀集团湖北天药药业股份有限公司,批号 52212261);生理盐水(石家庄四药有限公司,批号 2301191907);苏木素、伊红染液(北京中杉金桥生物技术有限公司,批号 150916、150917);戊巴比妥钠(美国 Merck 公司,批号 P11011);血清肌酐(CRE)检测试剂盒(深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司,批号 141123003);血尿素氮(BUN)检测

试剂盒（厦门英科新创科技股份有限公司，批号 2103300907）；大鼠中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白 NGAL 酶联免疫吸附检测试剂盒（浙江慧珩生物科技有限公司，批号 EYX-DD02377）；大鼠肾损伤分子（KIM-1）酶联免疫吸附检测试剂盒（上海羽朵生物科技有限公司，批号 YDX1123）；BCA 蛋白质浓度检测试剂盒（北京索莱宝科技有限公司，批号 PC0020）；磷脂酰肌醇-3-激酶（PI3K）一抗、蛋白激酶 B（Akt）一抗、p-AKT 一抗（万类生物，批号 WL02240、WL0003b、WLP001a）；p-PI3K 一抗（武汉爱博泰克生物科技有限公司，批号 AP0854）；全自动生化分析仪（深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司，型号 BS-360S）。

2 方法

2.1 XP 药物靶点的预测和脓毒症相关急性肾损伤疾病靶点的获取

通过 Swiss Target Prediction 数据库(<http://www.swisstargetprediction.ch>) 和 PharmMapper 数据库(<http://lilab-ecust.cn/pharmmapper/submitfile.html>) 预测 XP 的药物靶点；以“lipopolysaccharide induced acute kidney injury”为关键词，在 GeneCards(<https://www.genecards.org>)、Drug Bank(<https://go.drugbank.com>)、OMIM(<https://omim.org>) 数据库中检索脓毒症相关急性肾损伤的相关靶点，合并 3 个数据库的检索结果，去重后得到脓毒症相关急性肾损伤的疾病靶点；运用 Venny 2.1.0 在线网站(<https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny>) 将药物靶点和疾病靶点取交集，绘制韦恩图，再用 Uniprot 数据库(<https://www.uniprot.org/id-mapping>) 进行靶点信息校正，即得 XP 防治脓毒症相关急性肾损伤的潜在靶点。

2.2 基因本体（GO）功能及京都基因与基因组百科全书（KEGG）通路富集分析

将 XP 防治脓毒症相关急性肾损伤的潜在靶点导入 DAVID 数据库(<https://david.ncifcrf.gov>) 进行 GO 功能和 KEGG 通路富集分析，设置生物种类为“homo sapiens”， $P < 0.05$ 。选取排名前 10 位的 GO 功能和 KEGG 通路条目，利用微生信在线分析平台(<https://www.bioinformatics.com.cn>) 绘制 GO 功能柱形图和 KEGG 通路气泡图。

2.3 蛋白相互作用（PPI）网络的构建及核心靶点的筛选

将 XP 防治脓毒症相关急性肾损伤的潜在靶点导入 STRING 数据库(<https://cn.string-db.org>) 构建

PPI 网络，删除游离靶点，再导入 Cytoscape 3.9.1 软件进行网络可视化分析。根据 degree 值大小，选取排名前 10 位蛋白作为 XP 防治脓毒症相关急性肾损伤的核心靶点。

2.4 分子对接

采用 ChemBioDraw 软件绘制 XP 的 2D 结构，并导入 Schrödinger 软件用 LigPrep 模块进行结构优化和 3D 结构转换，保存成 sdf 格式；检索 PDB 数据库(<https://www.rcsb.org>) 下载核心靶点的 3D 结构，并导入 Schrödinger 软件用 Protein Preparation Wizard 模块进行加氢、去水、氢键优化和能量最小化，保存成 pdb 格式；使用 Schrödinger 软件的 Glide 模块完成 XP 和核心靶点的分子对接，对接模式为柔性对接，对接精度为标准对接（SP），计算对接得分（docking score），并以对接结合能小于 -6.0 kJ/mol 作为配体和受体结合较好的判定标准，最后在 PyMOL 软件中进行分子对接结果的可视化分析。

2.5 动物实验验证

2.5.1 脓毒症相关急性肾损伤模型构建、分组及给药 将 40 只雄性 SD 大鼠适应性饲养 1 周后，随机分为对照组、模型组、地塞米松（3 mg/kg^[18]）组和 XP 组（200 mg/kg^[19]，溶于生理盐水），每组 10 只。除对照组外，其余各组大鼠均 ip 10 mg/kg LPS 溶液构建脓毒症相关急性肾损伤模型^[20-22]。从造模前 7 d 开始，XP 组 ig 给药，1 次/d，连续给药 7 d；对照组和模型组同时给予等体积的生理盐水，1 次/d；而地塞米松组于造模前 1 h 单次 ip 地塞米松磷酸钠注射液^[23]。

2.5.2 取材 造模后用代谢笼收集 4 h 内各组大鼠的尿液，24 h 后收集各组血液样本，最终使用 3% 的戊巴比妥钠进行麻醉，脊椎脱臼处死，收集大鼠肾脏并称质量。

2.5.3 肾功能指标评估 收集血液，离心取上清，利用全自动分析仪测定大鼠血清中 CRE 和 BUN 的水平；收集尿液，使用 ELISA 试剂盒检测尿液中 KIM-1 和 NGAL 的水平。

2.5.4 肾组织病理学观察 收集肾组织放置于 4% 多聚甲醛中固定 24 h，肾组织脱水、石蜡包埋、4 μ m 切片、苏木素-伊红（HE）染色，用树脂封片。风干后于显微镜下观察大鼠肾脏病理情况并拍照。

2.5.5 蛋白免疫印迹法检测大鼠肾脏组织中 PI3K、p-PI3K、Akt、p-Akt 蛋白的表达 用组织匀浆器将组织肾脏研磨至均匀液体，4 $^{\circ}$ C、12 000 $\times g$ 离心 30

min, 取上清液, 并用 BCA 试剂盒检测蛋白浓度, 使用 5% 的浓缩胶和 10% 的分离胶经 SDS-PAGE 电泳分离蛋白, 一抗稀释比例为 1:1000, 且按照说明书进行稀释, 4℃ 过夜, 洗膜, 曝光并置于凝胶成像系统仪显影, 最终使用 Image J 软件进行 Western blotting 条带灰度分析。

2.6 统计学分析

使用 GraphPad Prism 9.5.1 软件进行统计分析和图形绘制。采用单因素方差分析 (Oneway ANOVA) 进行组间比较。

3 结果

3.1 XP 作用于脓毒症相关急性肾损伤的潜在靶点

通过检索 2.1 项下所述数据库进行筛选, 将结果转换为标准基因名, 并经过重合并后, 得到 XP 药物作用靶点 167 个; 脓毒症相关急性肾损伤疾病靶点共 4423 个。最后利用 Venny 2.1.0 取交集得到 XP 作用于脓毒症相关急性肾损伤的潜在靶点 111 个, 见图 2。

3.2 GO 功能及 KEGG 通路富集分析结果

将上述潜在靶点上传至 DAVID 数据库后, 进行 GO 功能富集分析, 获得生物过程 (BP) 共 271



图 2 XP - 脓毒症致急性肾损伤 Venn 图

Fig. 2 Venn diagram of XP and sepsis associated acute kidney injury

条 ($P < 0.05$), 主要包括炎症反应、细胞凋亡过程的负调控、对外源性刺激的反应、蛋白质磷酸化、对脂多糖的反应、蛋白激酶 B 信号传导的正调控等; 细胞组分 (CC) 共 60 条, 主要包括膜的组成、细胞外分泌体、线粒体、内膜结合细胞器等; 分子功能 (MF) 共 100 条, 主要包括 ATP 结合、酶结合、蛋白质丝氨酸/苏氨酸/酪氨酸激酶活性等, 见图 3。KEGG 富集分析结果共获得 119 条生物学通路, 可得潜在靶点主要涉及的途径有代谢途径、癌症途径、PI3K/Akt 信号通路、促分裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 信号通路、Rap1 信号通路、叉头框蛋白 O (FoxO) 信号通路等, 见图 4。

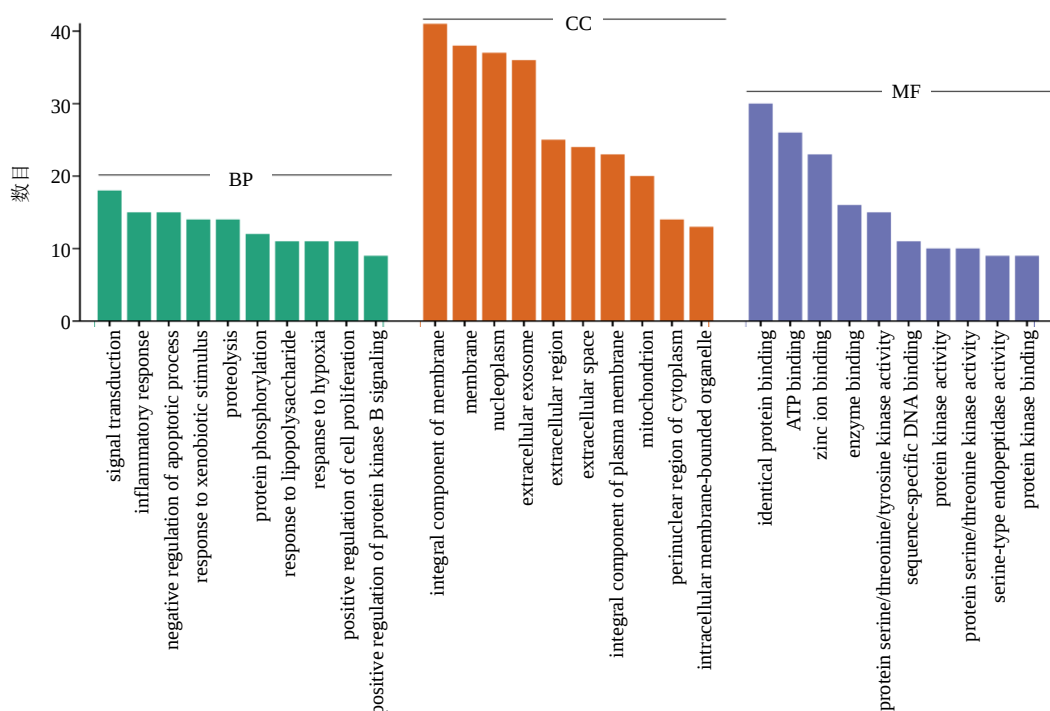


图 3 GO 功能富集分析图

Fig. 3 GO functional enrichment analysis

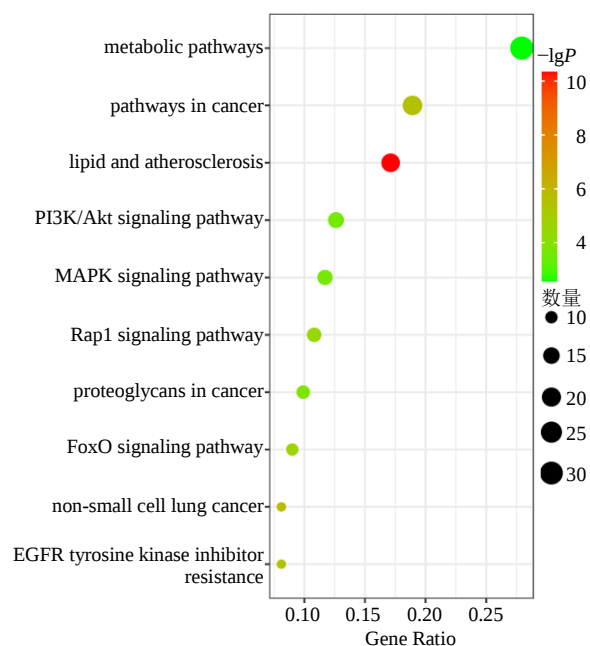


图 4 KEGG 通路富集分析图

Fig. 4 KEGG pathway enrichment analysis

3.3 潜在靶点 PPI 网络图

PPI 网络见图 5, 共含有 111 个节点, 节点颜色越深, degree 值越大; 742 条边, 代表靶点蛋白之间的相互关联。利用 Cytoscape 3.9.1 插件 centiscape 2.2 分析了 PPI 网络图, 根据 degree 值降序排列, 选择排名前 10 位节点作为核心靶点, 分别为白蛋白 (ALB)、Akt1、甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (GAPDH)、半胱氨酸蛋白酶 (CASP3)、酪氨酸激酶 (SRC)、雌激素受体 1 (ESR1)、热休克蛋白 90 α 家族 A 类成员 1 (HSP90AA1)、哈维大鼠肉瘤病毒癌基因同源物 (HRAS)、细胞周期蛋白 D1 (CCND1)、人丝裂原活化蛋白激酶 1 (MAPK1)。

3.4 分子对接分析结果

使用 Schrödinger 软件包将 XP 分别与核心靶点进行分子对接, 对接结果见表 1, 发现 XP 与核心靶点的结合能均具有较好的结合活性, 其数值均小于 0, 这表明 XP 与核心靶点可自发结合。分子对接的结合能越小, 表明小分子配体和蛋白受体之间互作的可能性越大, 可通过影响靶蛋白的结构变化, 进而调控相应的信号通路。使用 PyMol 软件进行可视化处理, 可发现结合过程中能够形成氢键, 而氢键可以提供分子间特异性识别, 这对生物体内的分子识别和信号传导起到重要作用; 还可形成 π - π 堆积相互作用, 增加了结合稳定性, 见图 6。验证了核心靶点均可能在 XP 作用于脓毒症相关急性肾

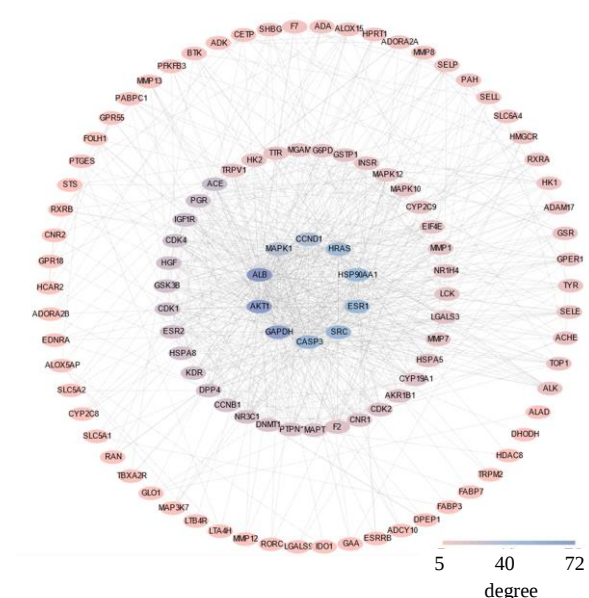


图 5 XP - 脓毒症相关急性肾损伤交集靶点 PPI 网络

Fig. 5 Target PPI network of XP - sepsis associated acute kidney injury

表 1 XP 与核心靶点分子对接结果

Table 1 Molecular docking of XP with core targets

靶点	抗氧化剂 XP 结合能/(kJ·mol ⁻¹)
ALB	-4.797
Akt1	-6.385
GAPDH	-6.208
CASP3	-5.962
SRC	-6.846
ESR1	-8.142
HSP90AA1	-6.263
HRAS	-6.007
CNDD1	-4.497
MAPK1	-6.154

损伤中发挥重要作用。

3.5 动物实验验证

3.5.1 XP 对脓毒症相关急性肾损伤大鼠肾功能的影响 如图 7 所示, 与模型组比较, XP 组和地塞米松预处理组 CRE、BUN、KIM-1、NGAL 水平均显著降低 ($P < 0.001$)。

3.5.2 XP 对脓毒症相关急性肾损伤大鼠肾脏组织的影响 对照组肾小管结构完整, 肾小管上皮细胞均一排列在外周, 未见明显异常; 模型组可见肾小管结构出现严重空泡化, 紊乱松散, 刷状缘丢失, 肾小管上皮细胞脱落形成碎片, 肾间质水肿扩张、充满大量炎性细胞。XP 组和地塞米松预处理组可明显改善肾小管上皮细胞空泡化、脱落及肿胀, 减少了炎性细胞浸润, 见图 8。

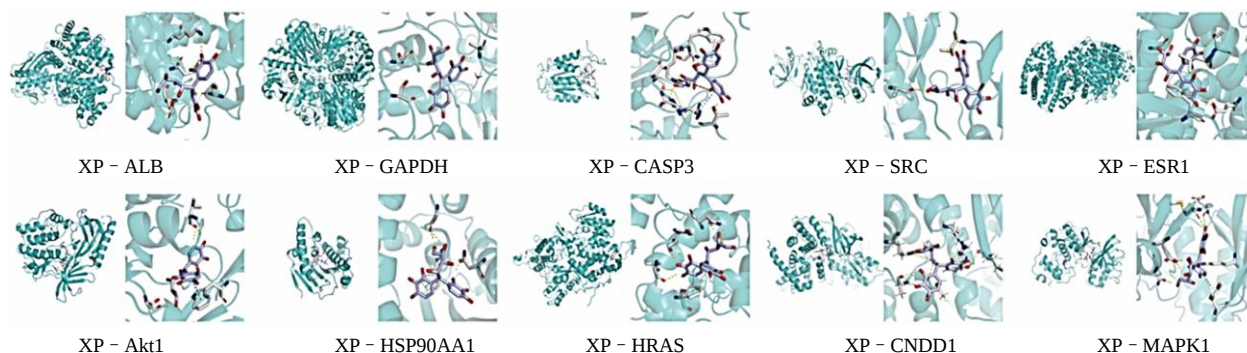
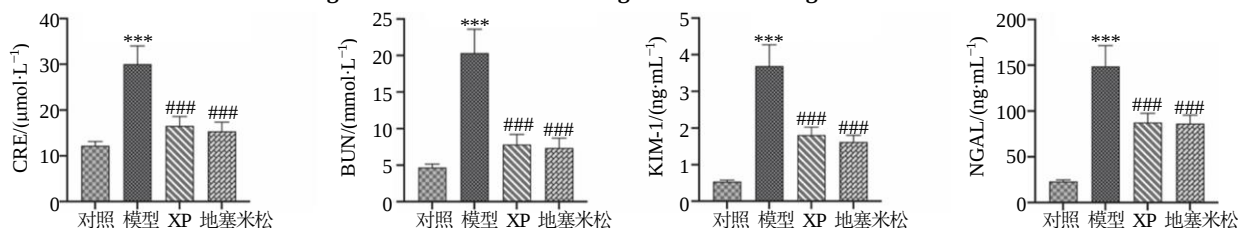
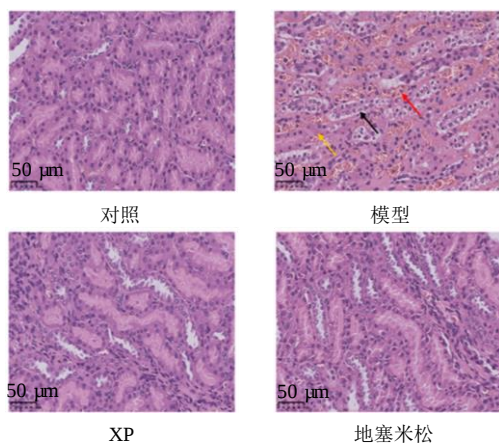


图 6 XP 与核心靶点分子对接可视化

Fig. 6 Visualization of docking between core targets and XP

与对照组比较: *** $P < 0.001$; 与模型组比较: ### $P < 0.001$ 。*** $P < 0.001$ vs control group; ### $P < 0.001$ vs model group.图 7 XP 对脓毒症相关急性肾损伤大鼠肾功能损伤的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)Fig. 7 Effect of XP on sepsis associated acute kidney injury kidney function damage in rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)图 8 XP 对脓毒症相关急性肾损伤大鼠肾形态学的影响 ($\times 400$)Fig. 8 Effect of XP on kidney morphology in sepsis associated acute kidney injury rats ($\times 400$)

3.5.3 XP 对脓毒症相关急性肾损伤大鼠肾组织 PI3K/Akt 通路的影响 与模型组比较, XP 组和地塞米松预处理组的 p-PI3K、p-Akt 蛋白表达明显升高 ($P < 0.01$ 、 0.001), 见图 9。

4 讨论

脓毒症是一种发病率和死亡率都很高, 由感染引起的全身炎症反应的综合征, 肾脏是主要受影响的器官之一^[24]。在脓毒症期间, 由于缺氧、氧化反应不完全等, 自由基的产生急剧增加, 从而抗氧化

系统机制严重受损^[25-26], 因此抗氧化剂在预防和治疗脓毒症相关急性肾损伤上可作为一种有效的治疗策略。有研究表明绿茶中主要活性成分之一表没食子儿茶素没食子酸酯已经显示出通过清除活性氧 (ROS) 相关的治疗来发挥肾保护作用^[27], 而本课题组前期通过将醛酮或酮糖与多酚反应, 得到表没食子儿茶素没食子酸酯的一系列类似物, 发现 XP 对肾损伤的缓解具有明显疗效。XP 是由 D-木糖与焦性没食子酸偶联得到的, 其化学结构与表没食子儿茶素没食子酸酯最为相似, 且具有优异的水溶性, 制备简单且无需催化剂, 绿色环保, 但在对脓毒症相关急性肾损伤的作用机制有待阐明。本研究利用网络药理学通过对数据库的整合, 结合分子对接及实验验证深入挖掘 XP 治疗脓毒症相关急性肾损伤的潜在靶点和作用机制。

KEGG 分析中, 潜在靶点富集在 PI3K/Akt 信号通路上的数目较多。PI3K/Akt 信号通路可参与炎症、氧化应激等多种病理过程, 是调控炎症反应的经典通路, 已被证实为脓毒症相关急性肾损伤的治疗靶点^[28], 并且有研究表明可以通过激活 PI3K/Akt 信号减轻炎症和凋亡, 促进增殖达到治疗脓毒症相关急性肾损伤的效果^[29-31]。GO 生物过程分析表明 XP 改善脓毒症相关急性肾损伤的潜在靶点与蛋白

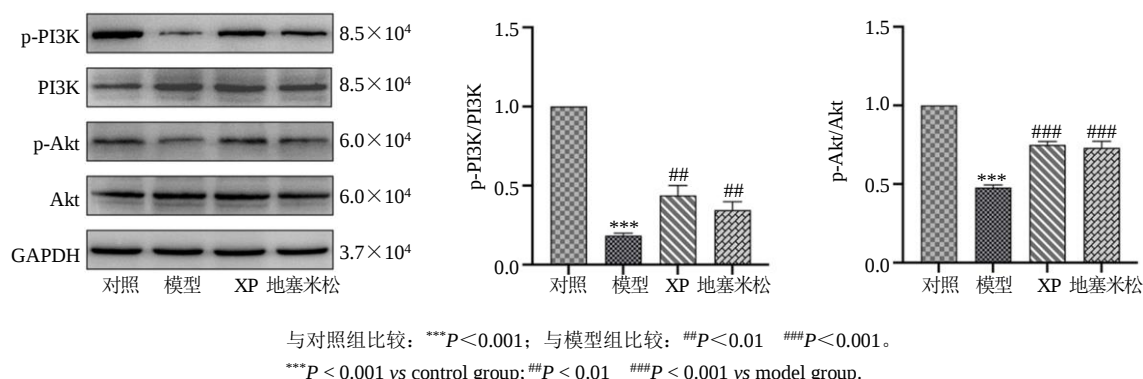


图 9 XP 对脓毒症相关急性肾损伤大鼠肾脏 PI3K/Akt 通路活性的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Fig. 9 Effect of XP on the activity of PI3K/AKT pathway in the kidneys of sepsis associated acute kidney injury rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

质磷酸化、蛋白激酶 B 信号传导、蛋白激酶活性等有关;表明可能与 PI3K/Akt 蛋白激酶的活性有关。经 PPI 网络筛选得 ALB、Akt1、GAPDH、CASP3、SRC、ESR1、HSP90AA1、HRAS、CCND1、MAPK1 可能为 XP 改善脓毒症相关急性肾损伤的核心靶点,且分子对接结果显示 XP 与核心靶点均能够自发结合,其中富集在 PI3K/Akt 通路中的核心靶点 Akt1 与 XP 的结合能最小,为 -6.385 kJ/mol ,显示出较强烈的结合能力。Akt1 是 Akt 的异构体之一,而 Akt 是 PI3K 下游的磷酸化激酶,Akt 被 PI3K/Akt 通路激活后,可以抑制 κB 激酶的 Thr23 位点磷酸化,可影响 κB 激酶参与了细胞凋亡和炎症的基因调节,对于靶向和控制生物合成及代谢途径,包括细胞存活、增殖、自噬和凋亡都很重要^[32]。Liu 等^[33]和 Zhang 等^[34]分别在影剂急性肾损伤和 LPS 所致急性肾损伤模型中发现通过激活 PI3K/Akt 可减轻肾功能障碍并降低了氧化应激水平、上皮细胞的凋亡水平及减少了肾小管损伤,此外,还可通过 PI3K/Akt 信号通路来诱导自噬去除受损的线粒体以减少氧化应激水平^[35]。因此,本研究选择 PI3K、p-PI3K、Akt、p-Akt 蛋白表达验证 PI3K/Akt 信号通路在 XP 对脓毒症相关急性肾损伤保护作用中的影响。

实验结果表明,脓毒症相关急性肾损伤的大鼠模型经 XP 处理后,可明显缓解大鼠肾功能障碍。另外,LPS 诱导引起剧烈的炎症反应能够产生和释放大量的促炎细胞因子,导致肾小管上皮细胞的损伤,这被认为是脓毒症相关急性肾损伤主要触发因素之一^[34, 36-37]。本研究通过对大鼠肾脏进行 HE 染色可观察到 XP 减轻了肾脏炎症细胞的浸润,减少

了肾小管上皮细胞的脱落及凋亡。最后利用蛋白免疫印迹法检测肾脏组织中 PI3K、p-PI3K、Akt、p-Akt 蛋白的表达,结果显示 XP 可显著升高 PI3K 和 Akt 蛋白的磷酸化水平。

综上所述,XP 防治脓毒症相关急性肾损伤关键蛋白可能是 Akt1,并且可能通过增加 PI3K、Akt 的磷酸化,激活了 PI3K/Akt 信号通路,缓解了肾功能障碍、减轻肾小管上皮细胞的炎症及凋亡,起到了肾脏保护作用。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Singer M, Deutschman C S, Seymour C W, *et al.* The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (Sepsis-3) [J]. *JAMA*, 2016, 315(8): 801-810.
- [2] Liu D, Huang S Y, Sun J H, *et al.* Sepsis-induced immunosuppression: mechanisms, diagnosis and current treatment options [J]. *Mil Med Res*, 2022, 9(1): 56.
- [3] van der Poll T, van de Veerdonk F L, Scicluna B P, *et al.* The immunopathology of sepsis and potential therapeutic targets [J]. *Nat Rev Immunol*, 2017, 17(7): 407-420.
- [4] Grondman I, Pirvu A, Riza A, *et al.* Biomarkers of inflammation and the etiology of sepsis [J]. *Biochem Soc Trans*, 2020, 48(1): 1-14.
- [5] Peerapornratana S, Manrique-Caballero C L, Gómez H, *et al.* Acute kidney injury from sepsis: Current concepts, epidemiology, pathophysiology, prevention and treatment [J]. *Kidney Int*, 2019, 96(5): 1083-1099.
- [6] Levey A S, James M T. Acute kidney injury [J]. *Ann Intern Med*, 2017, 167(9): ITC66-ITC80.
- [7] Kellum J A, Romagnani P, Ashuntantang G, *et al.* Acute kidney injury [J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2021, 7(1): 52.

- [8] Fang C Y, Lou D Y, Zhou L Q, *et al.* Natural products: Potential treatments for cisplatin-induced nephrotoxicity [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2021, 42(12): 1951-1969.
- [9] Vijayan A. Tackling AKI: Prevention, timing of dialysis and follow-up [J]. *Nat Rev Nephrol*, 2021, 17(2): 87-88.
- [10] Lee S Y, Lee Y S, Choi H M, *et al.* Distinct pathophysiologic mechanisms of septic acute kidney injury: Role of immune suppression and renal tubular cell apoptosis in murine model of septic acute kidney injury [J]. *Crit Care Med*, 2012, 40(11): 2997-3006.
- [11] Mantzaris K, Tsolaki V, Zakynthinos E. Role of oxidative stress and mitochondrial dysfunction in sepsis and potential therapies [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2017, 2017: 5985209.
- [12] Rushworth G F, Megson I L. Existing and potential therapeutic uses for N-acetylcysteine: The need for conversion to intracellular glutathione for antioxidant benefits [J]. *Pharmacol Ther*, 2014, 141(2): 150-159.
- [13] Yoo J Y, Cha D R, Kim B, *et al.* LPS-induced acute kidney injury is mediated by Nox4-SH3YL1 [J]. *Cell Rep*, 2020, 33(3): 108245.
- [14] Wruck W, Genfi A K A, Adjaye J. Natural products in renal-associated drug discovery [J]. *Antioxidants*, 2023, 12(8): 1599.
- [15] 常静, 尚婷, 王欣桐, 等. 中药通过调控自噬信号通路治疗脓毒症的研究进展 [J]. *中草药*, 2023, 54(7): 2349-2356.
- [16] 刘天军, 杨澍, 杨晓姣. 一种糖基修饰的多酚类化合物的制备方法和用途, 中国: CN201210519507.9 [P]. 2016-08-03.
- [17] 刘天军, 洪阁. 糖基修饰多酚化合物预防和治疗急性肾损伤的新用途, 中国: CN202011220749.9 [P]. 2022-11-29.
- [18] Leach M, Hamilton L C, Olbrich A, *et al.* Effects of inhibitors of the activity of cyclo-oxygenase-2 on the hypotension and multiple organ dysfunction caused by endotoxin: A comparison with dexamethasone [J]. *Br J Pharmacol*, 1998, 124(3): 586-592.
- [19] Huang S, Tang Y Y, Liu T J, *et al.* A novel antioxidant protects against contrast medium-induced acute kidney injury in rats [J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 599577.
- [20] Ping F, Li Y C, Cao Y M, *et al.* Metabolomics analysis of the development of sepsis and potential biomarkers of sepsis-induced acute kidney injury [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2021, 2021: 6628847.
- [21] Doi K, Leelahavanichkul A, Yuen P S T, *et al.* Animal models of sepsis and sepsis-induced kidney injury [J]. *J Clin Invest*, 2009, 119(10): 2868-2878.
- [22] Francis M R, El-Sheakh A R, Suddek G M. Saroglitzar, a dual PPAR- α/γ agonist, alleviates LPS-induced hepatic and renal injury in rats [J]. *Int Immunopharmacol*, 2023, 115: 109688.
- [23] Oyarzabal-Yera A, Rodríguez-Salgueiro S, Merino-García N, *et al.* Protective effects of D-005, a lipid extract from *Acrocomia crisper* fruits, against ischemia/reperfusion-induced acute kidney injury in rats [J]. *Kidney Res Clin Pract*, 2019, 38(4): 462-471.
- [24] Plotnikov E Y, Pevzner I B, Zorova L D, *et al.* Mitochondrial damage and mitochondria-targeted antioxidant protection in LPS-induced acute kidney injury [J]. *Antioxidants*, 2019, 8(6): 176.
- [25] Rocha M, Herance R, Rovira S, *et al.* Mitochondrial dysfunction and antioxidant therapy in sepsis [J]. *Infect Disord Drug Targets*, 2012, 12(2): 161-178.
- [26] Huang M, Cai S L, Su J Q. The pathogenesis of sepsis and potential therapeutic targets [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(21): 5376.
- [27] El-Mowafy A M, Al-Gayyar M M, Salem H A, *et al.* Novel chemotherapeutic and renal protective effects for the green tea (EGCG): Role of oxidative stress and inflammatory-cytokine signaling [J]. *Phytomedicine*, 2010, 17(14): 1067-1075.
- [28] Saha S, Mahalanobish S, Dutta S, *et al.* Mangiferin ameliorates collateral neuropathy in tBHP induced apoptotic nephropathy by inflammation mediated kidney to brain crosstalk [J]. *Food Funct*, 2019, 10(9): 5981-5999.
- [29] Qu Y, Sun Q, Song X X, *et al.* Helix B surface peptide reduces sepsis-induced kidney injury via PI3K/Akt pathway [J]. *Nephrology*, 2020, 25(7): 527-534.
- [30] Park E J, Dusabimana T, Je J, *et al.* Honokiol protects the kidney from renal ischemia and reperfusion injury by upregulating the glutathione biosynthetic enzymes [J]. *Biomedicines*, 2020, 8(9): 352.
- [31] Ullah M, Liu D D, Rai S, *et al.* Reversing acute kidney injury using pulsed focused ultrasound and MSC therapy: A role for HSP-Mediated PI3K/AKT signaling [J]. *Mol Ther Methods Clin Dev*, 2020, 17: 683-694.
- [32] Lin W H, Jiang W P, Chen C C, *et al.* Renoprotective effect of *Pediococcus acidilactici* GKA4 on cisplatin-induced acute kidney injury by mitigating inflammation and oxidative stress and regulating the MAPK, AMPK/SIRT1/NF- κ B, and PI3K/AKT pathways [J]. *Nutrients*, 2022, 14(14): 2877.
- [33] Liu T Q, Liu S P, Yu X F, *et al.* Salvianolic acid B prevents iodinated contrast media-induced acute renal injury in rats via the PI3K/Akt/Nrf2 pathway [J]. *Oxid Med Cell*

- Longev, 2016, 2016: 7079487.
- [34] Zhang B B, Zeng M N, Li B K, *et al.* Arbutin attenuates LPS-induced acute kidney injury by inhibiting inflammation and apoptosis via the PI3K/Akt/Nrf2 pathway [J]. *Phytomedicine*, 2021, 82: 153466.
- [35] Zhao Y, Feng X J, Li B, *et al.* Dexmedetomidine protects against lipopolysaccharide-induced acute kidney injury by enhancing autophagy through inhibition of the PI3K/AKT/mTOR pathway [J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 128.
- [36] Dickson K, Lehmann C. Inflammatory response to different toxins in experimental sepsis models [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(18): 4341.
- [37] Gao H, Yang T, Chen X, *et al.* Changes of lipopolysaccharide-induced acute kidney and liver injuries in rats based on metabolomics analysis [J]. *J Inflamm Res*, 2021, 14: 1807-1825.

[责任编辑 高源]