

基于网络药理学及实验验证探究环丙沙星加重主动脉夹层的潜在致病机制

吕慧, 王琪, 马翔*

新疆医科大学第一附属医院 心脏中心, 新疆 乌鲁木齐 830011

摘要: 目的 通过网络药理学及分子对接技术, 筛选环丙沙星调控主动脉夹层发生发展的关键靶点基因, 并通过动物及细胞实验进一步探究其潜在致病机制。方法 通过 TargetPrediction、PharmMapper、GeneCards、CTD 数据库分别筛选环丙沙星及主动脉夹层的相关靶点, 二者取交集后得到环丙沙星调控主动脉夹层的潜在靶点; 使用基因与蛋白质相互作用检索数据库 (STRING) 构建蛋白质相互作用 (PPI) 网络分析潜在靶点间的关联。通过对潜在靶点进行京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 通路富集分析和基因本体 (GO) 功能富集分析, 构建“药物-靶点-通路-疾病”网络。利用 Cytoscape 软件及蛋白质复合物聚类算法 (MCODE) 等插件进一步筛选出关键靶点, 通过 AutoDock vina 和 PyMol 软件把环丙沙星化学结构与筛选出的关键靶点进行分子对接及可视化呈现。最后结合动物模型构建、苏木精-伊红 (HE) 染色法、细胞增殖和毒性检测实验、体内外实时荧光定量反应 (RT-qPCR) 实验及蛋白质免疫印迹 (Western blotting), 检测小鼠主动脉组织及人主动脉平滑肌细胞 (HASMCs) 关键靶点基因表达。结果 本研究筛选出 515 个环丙沙星相关靶点, 9 004 个主动脉夹层相关靶点, 并得到 412 个环丙沙星介导主动脉夹层的潜在靶点。KEGG 通路富集分析结果显示, 主要富集于血脂与动脉粥样硬化、白细胞介素 (IL) -17 信号通路、肿瘤坏死因子 (TNF) 信号通路等。GO 功能富集分析结果显示, 细胞定位 (CC) 主要富集于膜筏、膜微区等; 分子功能 (MF) 主要富集于受体结合、异生物跨膜转运蛋白活性等; 生物学过程 (BP) 主要富集于对脂多糖的反应、对细菌来源分子的反应等。STRING 及 Cytoscape 分析构建 PPI 网络图及关键子模块, 获得了 15 个关键靶点, 分别为 B 淋巴细胞瘤-2 (Bcl-2)、转录因子 AP-1 (JUN)、CD44、胱天蛋白酶 3 (CASP3)、Toll 样受体 4 (TLR4)、 γ 干扰素 (IFNG)、肿瘤蛋白 P53 (TP53)、蛋白激酶 B1 (Akt1)、白蛋白 (ALB)、基质金属蛋白酶 9 (MMP9)、白细胞介素 (IL) -6、IL-10、IL-1 β 、甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (GAPDH)、肿瘤坏死因子 (TNF)。分子对接结果显示, 环丙沙星与 MMP9、ALB、GAPDH、Akt1、TP53、CASP3、IL-1 β 的对接模式较好。体内实验表明, 相较于模型组, 模型+环丙沙星组在成膜率和死亡率上均增加, 管壁弹性结构破坏也更加严重; 促凋亡基因及促炎基因的 mRNA 表达水平及蛋白表达水平均增加。体外实验发现, 相较于对照组, 不同浓度环丙沙星刺激 HASMCs 细胞后, MMP9、IL-6、CASP3、JUN、IL-1 β 、TP53 和 TLR4 表达水平明显上调, Akt1 表达水平明显下调。结论 环丙沙星是介导主动脉夹层发生发展的重要因素之一, 可能通过刺激炎症因子表达及 VSMCs 凋亡发挥调控作用。

关键词: 环丙沙星; 主动脉夹层; 主动脉平滑肌细胞; 网络药理学; 分子对接技术; 胱天蛋白酶 3; 基质金属蛋白酶 9; 白细胞介素-6; 肿瘤坏死因子

中图分类号: R965 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2024)07-1704-13

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2024.07.006

Potential pathogenic mechanism of ciprofloxacin in regulating aortic dissection based on network pharmacology and experimental verification

LÜ Hui, WANG Qi, MA Xiang

Department of Cardiology, The First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China

Abstract: Objective To screen the key target genes of ciprofloxacin in regulation of the occurrence and development of aortic dissection through network pharmacology and molecular docking technology, and further explore its potential pathogenic mechanism through animal and cell experiments. **Methods** TO screen the related targets of ciprofloxacin and aortic dissection were from TargetPrediction, PharmMapper, GeneCards, and CTD databases respectively, and the potential targets of ciprofloxacin regulating

收稿日期: 2024-02-08

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (82360090); 新疆维吾尔自治区重点研发任务专项 (2022B03022-3)

作者简介: 吕慧, 主要从事内科学研究。E-mail: lvhuixj@163.com

*通信作者: 马翔 E-mail: maxiangxj@yeah.net

aortic dissection were obtained after the intersection of the related targets. PPI network was constructed using the search tool for STRING database to analyze the association between potential targets. The potential targets were analyzed by KEGG pathway enrichment and GO function enrichment analysis, and the “drug - target - pathway - disease” network was constructed. Cytoscape software and MCODE and other plug-ins were used to further screen out the key targets. The chemical structure of ciprofloxacin and the key targets were docked and visualized by AutoDock vina and PyMol software. Combined with animal model construction, HE staining, cell proliferation, and toxicity detection experiments, RT-Qpcr experiments, and Western blotting were used to detect the key target gene expression in mouse aortic tissues and human aortic smooth muscle cells (HASMCs). **Results** In this study, 515 Ciprofloxacin - related targets, and 9 004 aortic dissection-related targets were screened, resulting in 412 potential ciprofloxacin-regulated aortic dissection targets. KEGG pathway enrichment analysis showed that they were mainly enriched in lipid and atherosclerosis, IL-17 signaling pathway, TNF signaling pathway, etc. GO functional enrichment analysis showed that CC was mainly enriched in membrane raft and membrane microdomain. MF was mainly enriched in cytokine receptor binding and xenobiotic transmembrane transporter activity. BP were mainly enriched in the response to lipopolysaccharide, the response to molecule bacterial origin, etc. STRING and Cytoscape analysis were used to construct the PPI network and key sub-modules, and 15 key targets were obtained. They were Bcl-2, JUN, CD44, CASP3, TLR4, IFNG, TP53, Akt1, ALB, MMP9, IL-6, IL10, IL-1B, GAPDH, and TNF. Molecular docking results showed that ciprofloxacin had a good docking mode with MMP9, ALB, GAPDH, Akt1, TP53, CASP3, and IL1 β . *In vivo* experiments showed that compared with the model group, the model + ciprofloxacin model group had increased film formation rate and mortality rate, and more serious damage to the elastic structure of the vessel wall. The mRNA and protein expression levels of pro-apoptotic and pro-inflammatory genes were increased. *In vitro* experiments showed that compared with the control group, the expression levels of MMP9, IL-6, CASP3, JUN, IL-1 β , TP53, and TLR4 were significantly up-regulated, and the expression level of Akt1 was significantly down-regulated in HASMCs cell stimulated with different concentrations of ciprofloxacin. **Conclusion** Ciprofloxacin is one of the important factors mediating the occurrence and development of aortic dissection, which may play a regulatory role by stimulating the expression of inflammatory factors and VASMCs cell apoptosis.

Key words: ciprofloxacin; aortic dissection; aortic smooth muscle cells; network pharmacology; molecular docking technology; CASP3; MMP9; IL-6; TNF

主动脉夹层是一种发病急、进展快、病死率极高的急危重症，其发病机制主要包括血管平滑肌细胞（VSMCs）表型转换、内皮细胞功能障碍、免疫细胞浸润和炎症反应、细胞凋亡、血管细胞外基质降解等^[1]。尽管目前主动脉夹层在诊断方法和治疗措施方面不断取得新进展，但国际主动脉夹层登记中心（IRAD）发布的报告表明主动脉夹层的总死亡率仍高达 27.4%^[2]。因此识别调控主动脉夹层发生发展的危险因素并解析其致病机制显得尤为重要。

氟喹诺酮类药物是世界上最常用抗生素之一，可靶向细菌 DNA 拓扑异构酶 IV 和 DNA 旋转酶。自 20 世纪 80 年代首次引入以来，氟喹诺酮类药物因其本身的药理学特性广泛用于治疗各种细菌感染^[3-4]，包括感染性主动脉疾病^[5]。在 2000—2013 年，中国台湾氟喹诺酮类药物处方从 3.6% 增加至 11.5%，具有主动脉夹层病史的患者 22% 使用了氟喹诺酮类^[6]。然而，2 项独立临床研究表明氟喹诺酮类药物的使用可能与主动脉夹层风险增加有关，风险比从 1.31 增加到 2.43^[7-8]。也有基础研究表明，给予主动脉瘤及夹层模型小鼠环丙沙星会增加主动脉夹层的易感性^[9]。此外，美国食品药品监督管理局（FDA）

也发出警告—氟喹诺酮类应避免在主动脉疾病高危人群中使用^[10]。因此，明确氟喹诺酮类药物在主动脉疾病中的危险性及作用机制，进而评估其在临床心血管病患者中的使用风险是非常有必要的。但以环丙沙星为代表的氟喹诺酮类药物介导主动脉夹层的潜在致病机制目前尚未完全阐明，临床上调整主动脉夹层患者的抗生素用药仍缺乏详实的基础研究支撑。

大量研究已经证实 VSMCs 功能障碍会介导主动脉夹层发生发展。血管平滑肌细胞是主动脉壁中层的主要组成部分，生理条件下，VSMCs 通过合成细胞基质蛋白如胶原和弹性蛋白维持血管壁稳定性，但在炎症刺激或机械损伤时，VSMCs 会发生显著的表型转化，进而引起异常的增殖、迁移、细胞凋亡以及基质金属蛋白酶的合成，破坏主动脉的结构和功能，诱发主动脉夹层的形成^[11]。有研究表明，VSMCs 功能障碍在环丙沙星介导主动脉夹层发生发展中起着关键作用^[9, 12]。因此，本研究基于生物信息学及相关体内外实验探究环丙沙星调控 VSMCs 的功能障碍进而介导主动脉夹层发生发展的具体机制。

利用生物信息学,从分子靶点、信号通路层面探究药物对疾病的可能调控机制,筛选靶蛋白并进一步通过实验验证是一种常用的研究方法^[13-15]。为了探究环丙沙星介导主动脉夹层的潜在致病机制,本研究基于网络药理学与分子对接技术,通过药物靶点及疾病靶点公共数据库筛选环丙沙星可能作用于主动脉夹层的潜在靶点,并利用在线数据库和相关软件分析潜在靶点蛋白互作关系,筛选关键靶点,通过动物模型组织染色情况、主动脉组织靶基因 mRNA 及蛋白相对表达量变化结果及给予不同浓度环丙沙星刺激人主动脉平滑肌细胞 (HASMCs) 后靶基因 mRNA 水平和蛋白水平相对的变化趋势探究其可能的机制。

1 材料与方法

1.1 网络药理学

1.1.1 环丙沙星靶点预测及筛选 从 PubChem 数据库中检索“ciprofloxacin”获取其分子结构,利用 Chem3D 软件对分子结构进行优化。利用 Swiss TargetPrediction、PharmMapper、GeneCards、CTD 数据库进行靶点预测及筛选,4 个数据库获取结果取交集,应用 Uniprot 将靶蛋白进行标准化,删除无效值和重复值后的结果作为环丙沙星的相关靶点。

1.1.2 主动脉夹层相关靶点筛选及环丙沙星作用于主动脉夹层潜在靶点的筛选 在 GeneCards、OMIM、PharmGkb、TTD、CTD 数据库以“aortic dissection”为关键词搜索相关靶点,取 5 个数据库获取疾病靶点的交集作为主动脉夹层相关靶点基因。用 UniProt 数据库将药物相关靶点和疾病相关靶点统一规范为 GeneSymbol,导入 Venny 在线平台取二者的交集,绘制 Venn 图,最终获得环丙沙星作用于主动脉夹层的潜在靶点。

1.1.3 蛋白质相互作用 (PPI) 网络构建及关键模块和关键靶点的筛选 使用在线数据库 STRING 分析环丙沙星作用于主动脉夹层的潜在靶点在蛋白网络中的互作关系,限定物种为“homo sapiens”,设置最小相互作用阈值为“高置信度 (0.7)”,隐藏不相连的节点。将 STRING 分析结果导入 Cytoscape 软件进行可视化分析。使用 Cytoscape 的插件蛋白质复合物聚类算法 (MCODE) 识别功能模块,默认参数 (degree cutoff 2, node score cutoff 0.2, K-core 2, max.depth 100),使用另一个插件 cytoHubba,筛选 5 种常用的算法最大领域分量 (MNC)、边过滤成分 (EPC)、度 (degree) 值、紧密性 (closeness)、径向

度 (radiality) 中排名前 20 位的靶点,取其交集作为环丙沙星调控主动脉夹层的关键靶点。

1.1.4 京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 通路富集分析和基因本体 (GO) 功能富集分析及构建“药物-靶点-通路-疾病”网络 将环丙沙星调控主动脉夹层的潜在靶点导入 Metascape 数据库,默认设置,物种限定为“homo sapiens”,选择富集模块下的生物过程 (BP)、细胞组分 (CC)、分子功能 (MF) 以及 KEGG 通路分别进行富集分析,探究潜在靶点显著富集的功能和通路。通过 Cytoscape 软件,使用上述筛选出的关键靶点以及相关 KEGG 信号通路构建“药物-靶点-通路-疾病”网络,应用 Analyze Network 分析“药物-靶点-通路-疾病”网络各节点的网络拓扑参数,包括 degree、closeness centrality、radiality,根据上述参数判断调控主动脉夹层的重要靶点及发挥作用的信号通路。

1.1.5 分子对接技术 从 PubChem 数据库获取环丙沙星小分子配体,Uniprot 及 PDB 数据库获取大分子关键靶点蛋白受体,以来源生物为“Homo sapiens”、试验方法为“X-RAY DIFFRACTION”、细化分辨率小于等于 2.5 Å (1 Å=0.1 nm) 为筛选条件。对小分子配体能量最小化处理,大分子受体去水、去残基、加氢处理,把小分子配体与大分子靶蛋白的结合能量化后,使用 PyMol 软件进行可视化分析。其中分子对接结合能判断标准为 $-4.25 \text{ kcal/mol} < \text{结合能} \leq -5.00 \text{ kcal/mol}$ (1 cal=4.2 J) 表示配体和受体之间具有对接活性, $-5.00 \text{ kcal/mol} < \text{结合能} \leq -7.00 \text{ kcal/mol}$ 表示配体和受体之间具有良好的对接活性,结合能 $> -7.00 \text{ kcal/mol}$ 表示配体和受体之间具有显著的对接活性。

1.2 实验动物与细胞

雄性 C57BL/6J 野生型小鼠 40 只,周龄 3~4 周,体质量 13~15 g,由新疆医科大学实验动物中心统一饲养并接受了新疆医科大学动物伦理委员会的批准 (伦理委员会审批号 202306-88),符合实验动物饲养和使用准则。HASMCs 细胞来源于青旗 (上海) 生物科技发展有限公司,使用平滑肌细胞培养基进行细胞培养。在细胞培养过程中,采用 95% 湿度、5% CO₂、37 °C 的条件。

1.3 主要试剂与仪器

环丙沙星 (质量分数 ≥98%,批号 LRAB3671) 购于 Sigma 公司;β-氨基丙腈 (质量分数 ≥98%,批号 0000271640) 购于 Sigma 公司;血管紧

张素 II (质量分数 $\geq 98\%$, 批号 P210623-46-LR193974) 购于上海吉尔生化有限公司; 平滑肌细胞培养基购自中乔新舟有限公司; CCK-8 试剂盒购自北京博奥森有限公司; 植入式胶囊渗透泵购自美国 Alzet 公司; RNA 提取试剂盒购自全式金生物有限公司; 反转录试剂盒购自日本 Takara 公司; TB Green 购自日本 Takara 公司; Elisa 试剂盒购自上海江莱生物科技有限公司; PCR 引物购自上海生工公司; BAC 试剂盒购自赛默飞世尔科技有限公司; ECL 发光液购自大连美仑生物有限公司; 兔抗甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (GAPDH) 抗体购自英国 Abcam 公司; 兔抗半胱天冬氨酸蛋白酶 3 (Caspase-3) 抗体购自成都正能生物有限公司; 兔抗 B 淋巴细胞瘤-2 (Bcl-2) 抗体购自成都正能生物有限公司; 兔抗基质金属蛋白酶 9 (MMP9) 抗体购自武汉三鹰生物技术有限公司; 兔抗白细胞介素 (IL)-6 抗体购自武汉三鹰生物技术有限公司; 兔抗 IL-1 β 抗体购自成都正能生物有限公司; 山羊抗兔免疫球蛋白 G (IgG) 抗体购自北京中杉金桥有限公司。

小动物手术显微镜购自德国 ZEISS 公司; 显微手术器械购自上海医疗器械有限公司; Cannon Powershot 系列数码相机购自日本 Cannon 公司; U-V160 型紫外分光光度计购自美国 NanoDrop 公司, 小动物呼吸机购自美国 Harvard 公司; PCR 仪器购自美国 Bio-Rad 公司; 96 孔酶标仪购自美国 Bio-Rad 公司。

1.4 动物实验及细胞实验验证

1.4.1 动物实验分组、造模与给药 将小鼠适应性喂养 1 周后, 随机分为对照组、环丙沙星组、模型组及模型+环丙沙星组, 每组 10 只。环丙沙星的剂量是根据临床治疗常见适应症患者的标准低剂量 (500 mg/d, 约 8.3 mg/kg), 使用标准转换因子 (12.3) 计算得到小鼠的等效剂量 (100 mg/kg) [16-17]。 β -氨基丙腈及血管紧张素 II 的给药剂量参考 Xiang 等 [12] 及 LeMaire 等 [9] 的建模方法。

具体建模方式为: 对照组 ip 4 周生理盐水, 从第 3 周开始联合 ig 生理盐水, 持续 ig 到第 6 周结束; 环丙沙星组 ip 4 周生理盐水, 从第 3 周开始联合 ig 环丙沙星, 持续 ig 到第 6 周; 主动脉夹层组每 24 h ip β -氨基丙腈, 注射浓度为 1 g/kg, 持续 4 周, 给药结束后立即皮下植入 AngII 微量泵 [1 000 ng/(kg·min)] 72 h 构建主动脉夹层模型; 主动脉夹层+环丙沙星组在主动脉夹层组的基础上, 从第 3 周开

始联合 ig 环丙沙星, 持续到第 6 周。大体检查发现主动脉壁内存在水肿, 或在主动脉组织学上发现主动脉中膜或中膜-外膜边界内存在层状分离 (伴有假腔水肿) 为造模成功 [9]。实验结束后, 在小动物麻醉机里加入异氟烷, 使其与氧气混合 (氧流量控制在 1 L/min), 最终输出浓度为 2%~3%, 使用气麻机将小鼠麻醉, 暴露小鼠心前区皮肤, 使用抽取 0.1 mL 肝素的注射器在心脏波动最强点进针采血, 取得的小鼠全血静置离心, 吸取上清液按照 ELISA 试剂盒说明书进行小鼠血浆炎症因子检测。

使用显微镊在高倍显微镜下分离主动脉组织。小鼠主动脉组织经液氮速冻后保存于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱以备检测组织蛋白相对表达量。小鼠主动脉组织经 4% 多聚甲醛固定后, 经冲洗、脱水、透明化、浸蜡、包埋、切片、贴片等步骤制作主动脉切片, 再经脱蜡、水化、苏木精染液染色、水洗、分化、水洗、伊红染液染色、脱水、透明化、封片等步骤得到主动脉 HE 染色切片, 最后在显微镜下观察 HE 切片, 并采集图片使用显微镊在高倍显微镜下分离主动脉进行组织分析。

实验设计时应充分考虑到实验阶段的死亡情况: 在实验过程中, 应每日观察小鼠的生理状态, 包括活动度、食欲、体质量变化等。在建模期间如出现小鼠死亡的情况, 应立即对其进行解剖分析, 以确定死亡原因。如果死亡小鼠胸腔或腹腔有大量积血且主动脉有破口可合理猜测为造模成功因主动脉夹层破裂死亡。

1.4.2 细胞培养及细胞存活率检测 为了检测环丙沙星对 HASMCs 细胞的毒性, 确定最佳药物浓度, 将 HASMCs 细胞铺于 96 孔板中培养, 使用 0 (对照)、50、100、150、200、300 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 环丙沙星分别干预, 使用 CCK-8 试剂盒按照说明书检测细胞活性, 用酶标仪于 450 nm 处测吸光度 (A) 值, 计算细胞活力。

$$\text{细胞存活率} = (A_{\text{实验}} - A_{\text{对照}}) / (A_{\text{对照}} - A_{\text{空白}})$$

1.4.3 实时荧光定量反应 (RT-qPCR) 法检测关键靶基因表达 基于网络拓扑与分子对接分析, 结合细胞存活率检测结果, 选择最佳环丙沙星浓度干预 HASMC 细胞 24 h 后, 按照试剂盒说明, 使用高纯度 RNA 提取试剂盒从 HASMCs 中提取总 RNA, 使用反转录试剂盒将总 RNA 反转录为 cDNA, 将 TB Green 和基因特异性引物以及稀释的 cDNA 加入 8 联排, 用于后续的 RT-qPCR 分析。小鼠主动脉

mRNA 提取需先使用研磨机把组织磨碎，后续方法与细胞相同。使用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法计算每个样本 3 个重复的 mRNA 表达的倍数变化。 $\Delta Ct = Ct_{\text{目的基因}} - Ct_{\text{内参基因}}$ ， $\Delta\Delta Ct = \Delta Ct_{\text{实验}} - \Delta Ct_{\text{对照}}$ 。使用公式 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算出所有

样本的 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 值，计算对照组中 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 的均值，用处理组 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 值比对照组 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 均值计算实验组 mRNA 表达差异。基因引物见表 1。

1.4.4 蛋白质免疫印迹 (Western blotting) 检测关键

表 1 聚合酶链式反应引物序列

Table 1 Primer sequence list for polymerase chain reaction

种属	引物名称	正向 (5'—3')	反向 (5'—3')
人源	<i>GAPDH</i>	TGCACCACCAACTGCTTAGC	GGCATGGACTGTGGTCATGAG
	<i>IL-6</i>	TTCGGTCCAGTTGCCTTCTCC	TTCTGAAGAGGTGAGTGGCTGTC
	<i>IL-1β</i>	TGGCTTATTACAGTGGCAATGAGG	AGTGGTGGTTCGGAGATTCGTAG
	<i>TLR4</i>	AGGATGAGGACTGGGTAAGGAATG	TGGATGATGTTGGCAGCAATGG
	<i>MMP9</i>	CCTGGTCCTGGTGCTCCTG	GCTGCCTGTCGGTGAGATTG
	<i>CASP3</i>	ACAGACAGTGGTGTGATGATGAC	ATGGCACAAAGCGACTGGATG
	<i>Akt1</i>	GAAGCAGGAGGAGGAGGAGATG	GCCACGATGACTTCCTTCTTGAG
	<i>TP53</i>	ATGAGCCGCCTGAGGTTGG	CAGTGTGATGATGGTGAGGATGG
	<i>Bcl-2</i>	CGAGTGGGATGCGGGAGATG	CGGGATGCGGCTGGATGG
	<i>JUN</i>	GCCAAGAACTCGGACCTCCTC	TCGGCGTGGTGGTGATGTG
鼠源	<i>GAPDH</i>	AGAAGGTGGTGAAGCAGGCATC	CGAAGGTGGAAGAGTGGGAGTTG
	<i>IL-6</i>	CTCCCAACAGACCTGTCTATAC	CCATTGCACAACCTCTTTTCTCA
	<i>IL-1β</i>	CTCGCAGCAGCACATCAACAAG	CCACGGGAAAAGACACAGGTAGC
	<i>TLR4</i>	GCCATCATTATGAGTGCCAATT	AGGGATAAGAACGCTGAGAATT
	<i>MMP9</i>	CAAAGACCTGAAAACCTCCAAC	GACTGCTTCTCTCCCATCATC
	<i>CASP3</i>	CGACTGGCGTGTGCGAGATG	AGCAGCAGCAGCAGCAACAG
	<i>Akt1</i>	TCAGGATGTGGATCAGCGAGAGTC	AGGCAGCGGATGATAAAGGTGTTG
	<i>TP53</i>	TGGAAGGAAATTTGTATCCCGA	GTGGATGGTGGTATACTCAGAG
	<i>Bcl-2</i>	GATGACTTCTCTCGTCGCTAC	GAAC TCAAAGAAGGCCACAATC
	<i>JUN</i>	AAGATGGAAACGACCTTCTACG	CTTAGGGTTACTGTAGCCGTAG

靶基因相对表达 将环丙沙星 0、100、200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 干预后的 HASMCs 细胞和研磨后的小鼠主动脉组织在裂解液中裂解，收集蛋白并按照说明书使用 BAC 试剂盒测定蛋白质浓度，并进行加热变性处理。将变性后的蛋白质样品加入制备好的凝胶孔中，施加电压进行电泳，蛋白质将根据相对分子质量大小分离。将分离的蛋白质从凝胶转移至聚偏氟乙烯膜上。使用 5% 脱脂牛奶在室温下封闭膜上未被蛋白质占据的位点，用一抗孵育，洗涤，并用辣根过氧化物酶偶联的抗兔或抗小鼠二抗孵育，使用飞克超敏 ECL 发光液对膜进行显色。通过图像分析软件对结果进行定量和定性分析，使用内参蛋白 GAPDH 进行样本间的比较校正。

1.4.5 统计学分析 采用 GraphPad Prism 8.0 软件进行统计学分析，计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示，组间多重比较采用单因素方差分析 (One-way ANOVA)。

2 结果

2.1 环丙沙星调控主动脉夹层的潜在靶点

本研究共得到环丙沙星相关靶点 571 个，其中 SwissTargetPrediction 数据库 102 个、PharmMapper 数据库 158 个、GeneCards 数据库 236 个、CTD 数据库 75 个，合并及删重后得到 515 个环丙沙星相关靶点。主动脉夹层相关靶点 11 784 个，其中 GeneCards 数据库 241 个、OMIM 数据库 20 个、PharmGkb 数据库 454 个、TTD 数据库 5 个、CTD 数据库 2 381 个，合并后删除重复项，得到主动脉夹层相关靶点 9 004 个，上述二者相关靶点取交集，最终得到 412 个环丙沙星调控主动脉夹层的潜在靶点，见图 1。

2.2 环丙沙星调控主动脉夹层的关键靶点

如图 2A 所示，将 412 个环丙沙星作用于主动脉夹层的潜在靶点按条件筛选后可视化分析得到包

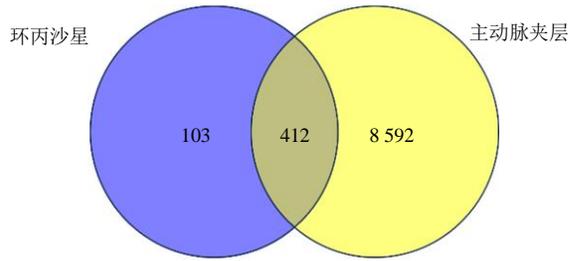


图 1 环丙沙星调控主动脉夹层潜在靶点的韦恩图
Fig. 1 Venn diagram of potential targets of aortic dissection regulated by ciprofloxacin

含 349 个节点、2 156 条边、平均节点度值为 12.487、平均局部聚类系数为 0.419 的 PPI 网络。如图 2B 所示，用 MCODE 鉴定了前 3 个紧密相连的基因模块。如表 2 所示，使用 cytoHubba 通过 5 种主要算法确定环丙沙星介导主动脉夹层的关键靶点，5 种算法排前 20 位的靶点取交集，得到 15 个共有的靶点，见图 3，分别是 Bcl-2、转录因子 AP-1 (JUN)、CD44、CASP3、Toll 样受体 4 (TLR4)、 γ 干扰素 (IFNG)、肿瘤蛋白 P53 (TP53)、蛋白激酶 B1 (Akt1)、白蛋白 (ALB)、MMP9、IL-6、IL-10、IL-1B、GAPDH、

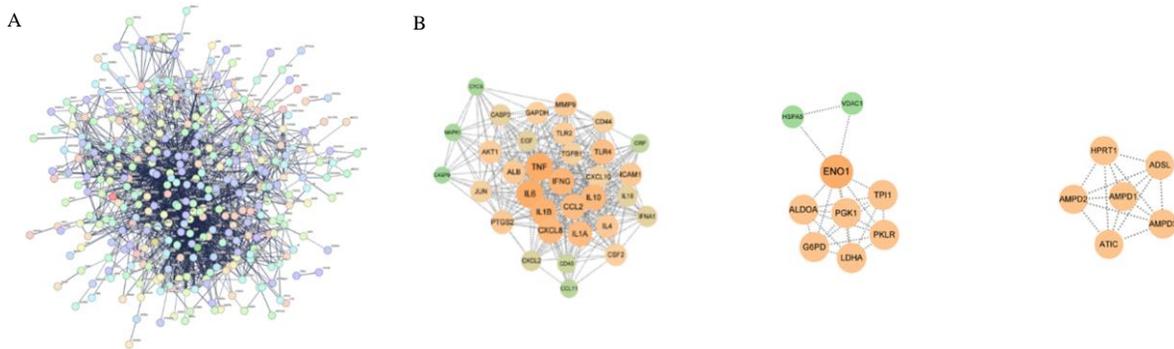


图 2 环丙沙星调控主动脉夹层潜在靶点的 PPI 网络 (A) 及关键模块 (B) 分析

Fig. 2 Analysis of PPI network (A) and key module (B) of potential targets of ciprofloxacin regulation of aortic dissection

表 2 多种拓扑计算方法中排名前 20 位的关键靶点

Table 2 Top 20 key nodes in multiple topology calculation methods

序号	MNC	degree	EPC	closeness	radiality
1	IL-1B	IL-1B	IL-1B	IL-1B	IL-1B
2	IL-1A	IL-1A	IL-1A	Akt1	Akt1
3	Akt1	Akt1	Akt1	TNF	ESR1
4	TNF	TNF	TNF	ESR1	TNF
5	IL-6	IL-6	IL-6	IL-6	IL-6
6	JUN	JUN	JUN	JUN	JUN
7	GAPDH	GAPDH	GAPDH	GAPDH	GAPDH
8	CD44	CD44	CD44	CD44	CD44
9	ICAM1	ICAM1	ICAM1	Bcl-2	Bcl-2
10	Bcl-2	Bcl-2	Bcl-2	IL-10	IL-10
11	IL-10	IL-10	IL-10	HSP90AB1	HSP90AB1
12	HSP90AB1	HSP90AB1	CXCL8	CXCL8	EGF
13	CXCL8	CXCL8	MMP9	MMP9	MMP9
14	MMP9	MMP9	ALB	ALB	ALB
15	ALB	ALB	TP53	TP53	TP53
16	TP53	TP53	TGFB1	TLR4	TLR4
17	TLR4	TLR4	TLR4	PTGS2	PTGS2
18	CCL2	CCL2	CCL2	CASP3	CASP3
19	CASP3	CASP3	CASP3	MAPK3	MAPK3
20	IFNG	IFNG	IFNG	IFNG	IFNG

TNF。因此环丙沙星可能通过作用于上述靶蛋白调控主动脉夹层发生发展。

2.3 GO 功能和 KEGG 通路富集分析

GO 富集分析结果显示，BP 2 537 个，主要包

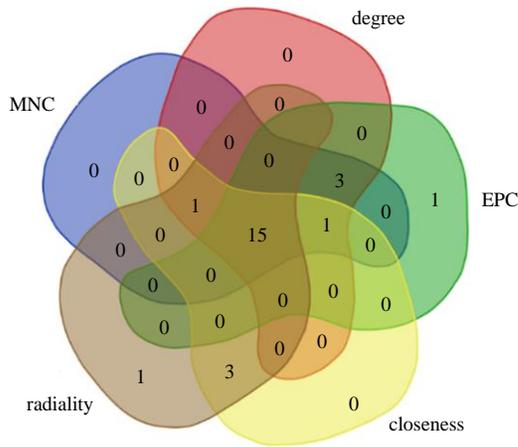


图 3 环丙沙星调控主动脉夹层关键靶点韦恩图

Fig. 3 Venn diagram of key targets of aortic dissection regulated by ciprofloxacin

括对脂多糖的反应、对细菌来源分子的反应、药物反应、氧化应激反应、细胞对生物刺激的反应等，CC 151 个，主要包括膜筏、膜微区、膜区域、胞质囊泡腔、囊腔等；MF 291 个，主要包括细胞因子受

体结合、异生物跨膜转运蛋白活性、蛋白酶绑定、血红素结合、细胞因子活性等，见图 4。KEGG 通路富集分析结果显示，潜在靶点主要参与的通路有血脂与动脉粥样硬化、IL-17 信号通路、TNF 信号通路、细胞凋亡、糖尿病并发症中的晚期糖基化终末产物 (AGE)/AGEs 受体 (RAGE) 信号通路、Toll 样受体信号通路等，见图 5。因此环丙沙星可能通过调控上述通路及功能区域介导主动脉夹层进展。

2.4 “药物 - 靶点 - 通路 - 疾病”网络

结合环丙沙星调控主动脉夹层的关键靶点、可能参与其机制的前 15 条 KEGG 通路构建包含 30 个节点、146 条边的“环丙沙星 - 靶点 - 通路 - 主动脉夹层”网络，见图 6。靶蛋白主要位 Akt1、IL-6、TNF、JUN、Bcl-2、IL-1B、CASP3、TP53、TLR4、MMP9、IFNG、CD44、IL-10。富集的通路主要包括血脂和动脉硬化、流体剪切力与动脉粥样硬化、IL-17 信号通路和癌症中的蛋白聚糖类、TNF 信号通路、糖尿病并发症中的 AGE-RAGE 信号通路、细胞凋亡等。因此环丙沙星介导主动脉夹层致病机制与

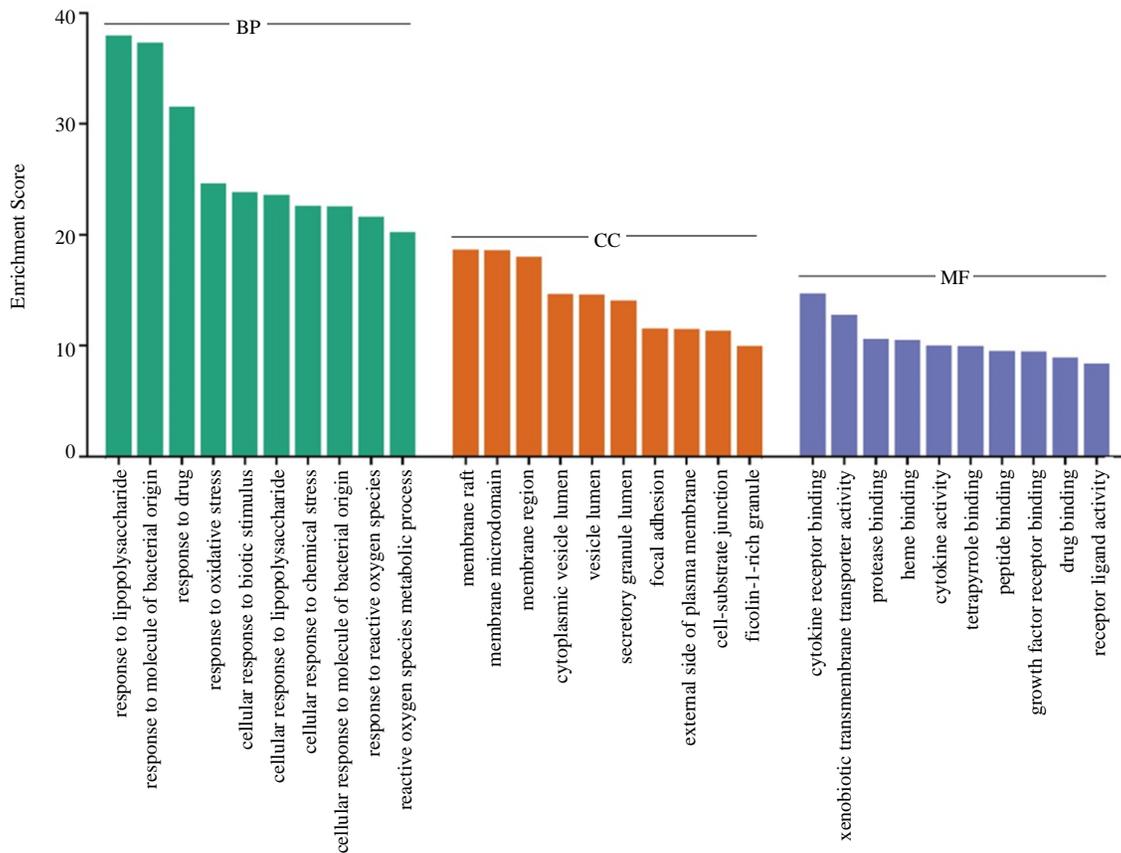


图 4 GO 功能富集分析结果

Fig. 4 Results of GO functional enrichment analysis

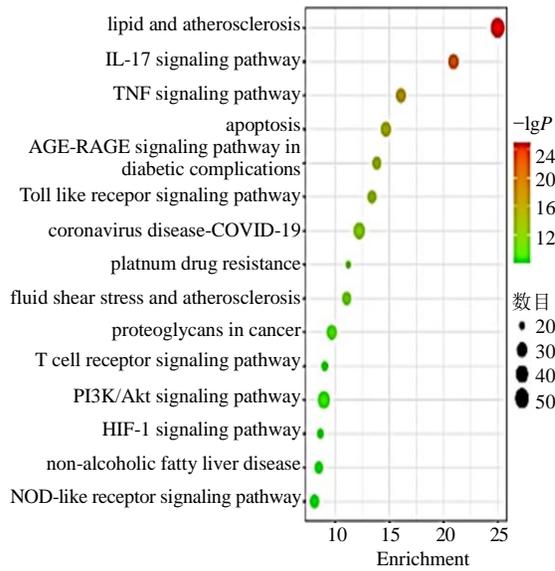


图 5 KEGG 通路富集分析

Fig. 5 Enrichment analysis of KEGG pathway

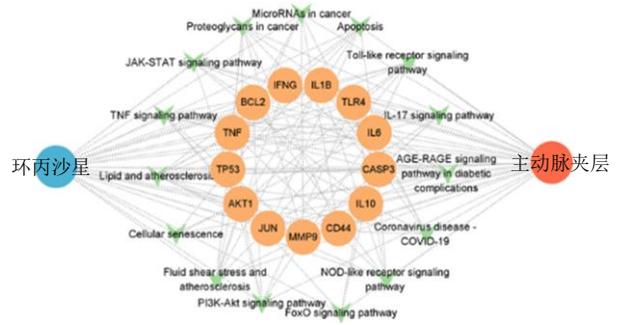


图 6 “环丙沙星 - 靶点 - 通路 - 主动脉夹层”网络

Fig. 6 “Ciprofloxacin - target - pathway - aortic dissection” network

上述靶蛋白及通路密切相关。

2.5 分子对接结果

如图 7 所示，将筛选出的主要疾病靶点 (Bcl-2、JUN、CD44、CASP3、TLR4、IFNG、TP53、Akt1、ALB、MMP9、IL-6、IL-10、IL-1B、GAPDH、TNF)

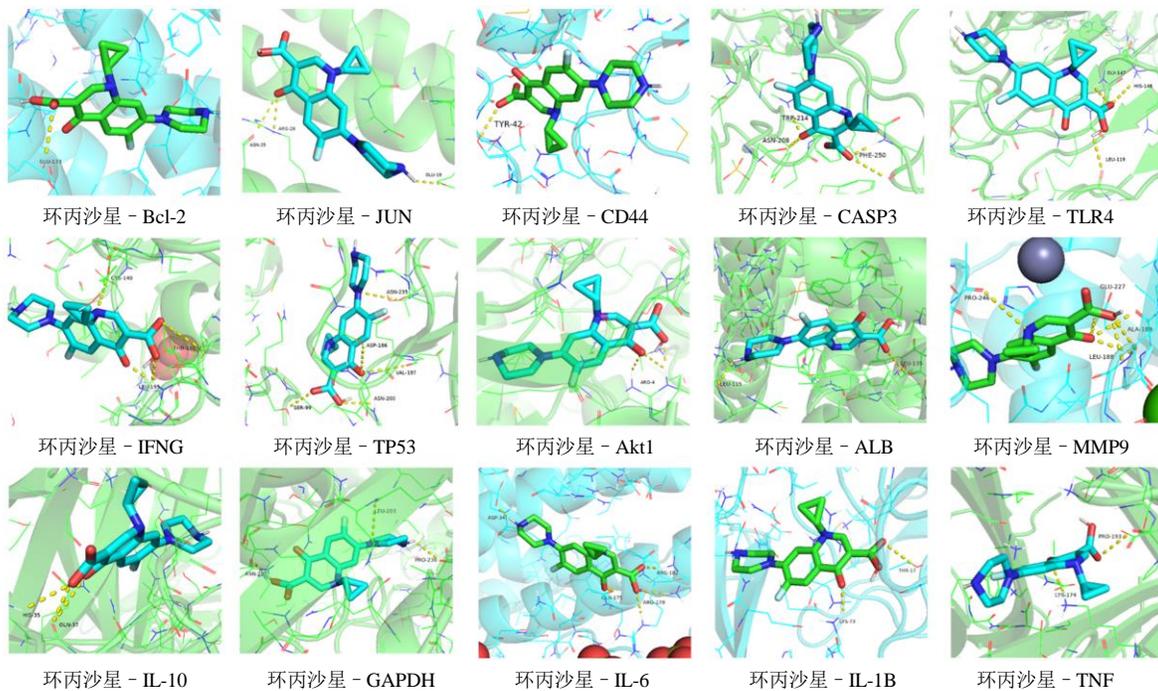


图 7 关键靶点与环丙沙星的分子对接图

Fig. 7 Molecular docking diagram of key target and ciprofloxacin

分别与环丙沙星进行分子对接。结果显示关键靶点与环丙沙星的平均结合能为 7.6 kcal/mol，其中环丙沙星与 MMP9、ALB、GAPDH、Akt1、TP53、CASP3、IL-1B、TNF、Bcl-2、CD44 的对接模式较好，进一步证实环丙沙星可能通过调控上述基因表达增加主动脉夹层易感性。

2.6 动物实验结果

2.6.1 环丙沙星对小鼠主动脉组织、病理、发生率及死亡率的影响 及为了在体内验证环丙沙星对主动脉夹层的影响，用环丙沙星干预由 β-氨基丙腈 + AngII 诱导的主动脉夹层小鼠模型，结合大体宏观图 (图 8) 及 HE 染色结果 (图 9) 显示，模型 + 环

丙沙星组相较于模型组主动脉损伤更严重，主动脉夹层的成膜率和死亡率也更高（图 10）。

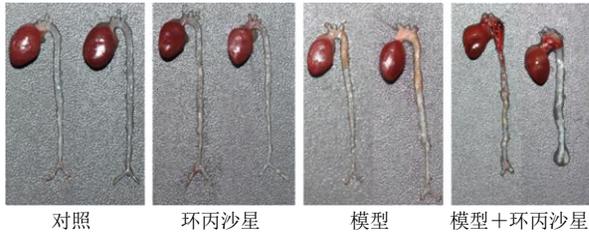


图 8 主动脉组织宏观图

Fig. 8 Macroscopic view of aortic tissue

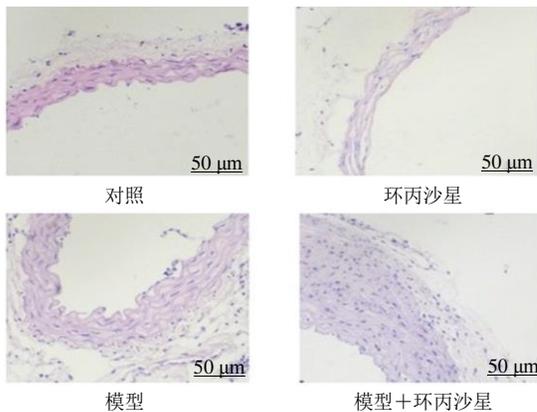


图 9 HE 染色图

Fig. 9 HE staining diagram

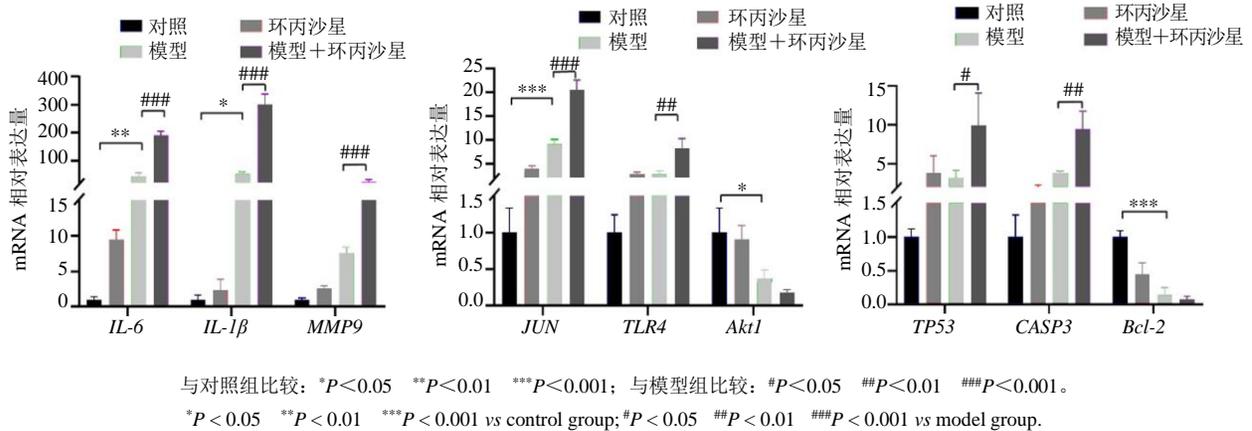
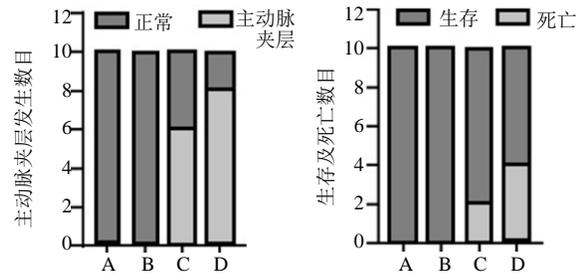


图 11 环丙沙星促进主动脉夹层小鼠凋亡及炎症基因 mRNA 表达 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 11 Ciprofloxacin promoted apoptosis and mRNA expression of inflammatory in aortic dissection mice ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

增加 ($P < 0.001$), 提示炎症在环丙沙星加重主动脉夹层中发挥重要作用。而 *TLR4* mRNA 相对表达量增加提示环丙沙星加重主动脉夹层的机制可能与 *TLR4* 信号通路相关。因此, 促凋亡反应、促炎反应以及 *TLR4* 信号通路都可能参与环丙沙星促进小鼠主动脉夹层发生发展。



A-对照, B-环丙沙星, C-模型, D-模型+环丙沙星。

A-control, B-ciprofloxacin, C-model, D-model + ciprofloxacin.

图 10 主动脉夹层发生率和死亡率的统计分析

Fig. 10 Statistical analysis of the incidence and mortality of aortic dissection

2.6.2 环丙沙星对小鼠主动脉组织凋亡及炎症基因 mRNA 表达的影响 小鼠主动脉组织 RT-qPCR 检测结果如图 11 所示, 相比于模型组, 模型+环丙沙星组主动脉组织中促凋亡基因 *CASP3*、*TP53* mRNA 表达水平显著上调 ($P < 0.5, 0.01$), 抑凋亡因子 *Bcl-2*、*Akt1* mRNA 相对表达量趋势相反, 但无显著差异。因此环丙沙星可能通过促进主动脉平滑肌细胞凋亡加重主动脉夹层。

相比于模型组, 模型+环丙沙星组炎症相关基因 *IL-6*、*IL-1β*、*MMP9*、*JUN* mRNA 表达量均显著

2.6.3 环丙沙星对小鼠促凋亡蛋白及促炎因子水平的影响 蛋白印迹结果如图 12 所示, 与模型组相比, 模型+环丙沙星组促凋亡蛋白 Caspase3 表达量增加, 但无统计学差异; 而促炎因子 *MMP9* 的蛋白表达水平显著增加 ($P < 0.05$)。

在 ELISA 试剂盒检测结果显示, 与模型组相

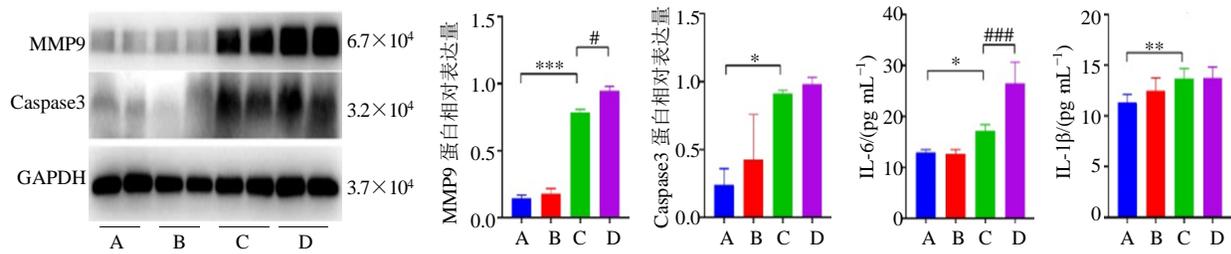


图 12 环丙沙星对主动脉夹层小鼠凋亡蛋白表达及炎症水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 4$)
 A-对照, B-环丙沙星, C-模型, D-模型+环丙沙星; 与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$; 与模型组比较: # $P < 0.05$ ### $P < 0.001$ 。
 A-control, B-ciprofloxacin, C-model, D-model + ciprofloxacin. * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs control group; # $P < 0.05$ ### $P < 0.001$ vs model group.

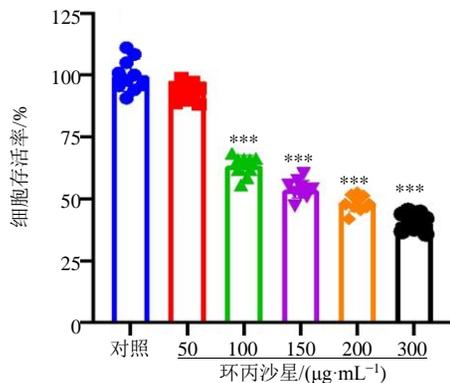
图 12 环丙沙星对主动脉夹层小鼠凋亡蛋白表达及炎症水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 4$)

Fig. 12 Effects of ciprofloxacin on apoptotic protein expression and inflammation level in aortic dissection mice ($\bar{x} \pm s, n = 4$)

比, 模型+环丙沙星组促炎因子 IL-6 水平显著增加 ($P < 0.001$), 提示炎症反应参与环丙沙星促进小鼠主动脉夹层增加的机制。

2.7 细胞实验结果

2.7.1 环丙沙星对 HASMCs 细胞的影响 分别用环丙沙星 50、100、150、200、300 $\mu\text{g/mL}$ 干预 HASMCs 时, 当质量浓度 $\geq 100 \mu\text{g/mL}$ 时, 细胞存活率显著降低 ($P < 0.001$), 见图 13。



与对照组比较: *** $P < 0.001$ 。

*** $P < 0.001$ vs control group.

图 13 不同质量浓度环丙沙星对 HASMCs 细胞率的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 9$)

Fig. 13 Effect of ciprofloxacin on HASMCs cell rate at different concentrations ($\bar{x} \pm s, n = 9$)

2.7.2 环丙沙星对 HASMCs 细胞凋亡、炎症基因和蛋白的影响 RT-qPCR 检测结果显示, 在凋亡相关基因中, 与对照组相比, 环丙沙星 200 $\mu\text{g/mL}$ 组促凋亡因子 *CASP3*、*TP53* mRNA 相对表达量上调 ($P < 0.05$ 、 0.01), 而抑凋亡因子 *Bcl-2*、*Akt1* mRNA 相对表达量下调 ($P < 0.01$ 、 0.001), 因此环丙沙星可能通过促进主动脉平滑肌细胞凋亡加重主动脉夹

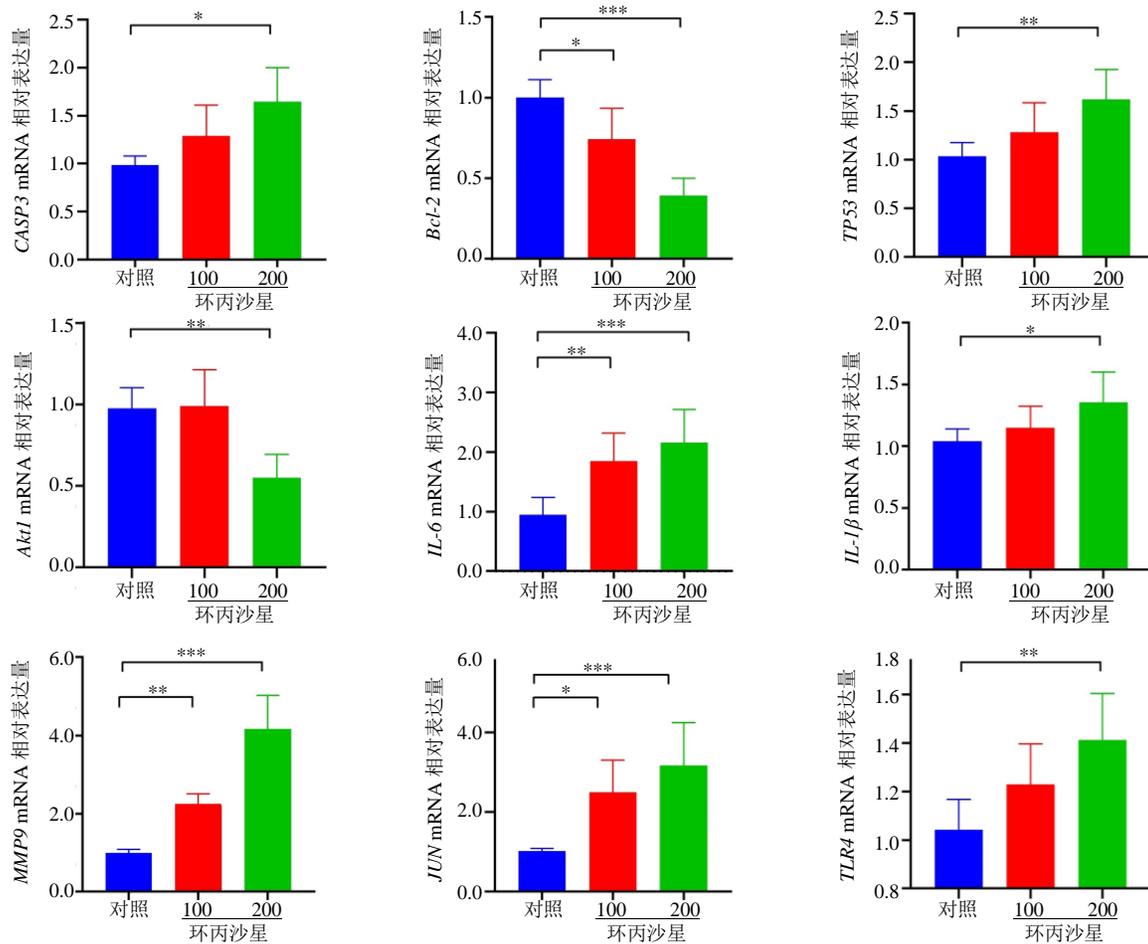
层, 见图 14。

在给予环丙沙星刺激后, HASMCs 中炎症相关基因 *IL-6*、*IL-1β*、*MMP9*、*JUN* mRNA 相对表达量增加 ($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001), 提示炎症也可能在环丙沙星加重主动脉夹层中发挥重要作用; 而 *TLP4* mRNA 相对表达量增加 ($P < 0.01$), 提示环丙沙星加重主动脉夹层的机制可能与 TLR4 信号通路相关。因此, VSMCs 凋亡增加、促炎反应以及 TLR4 信号通路都可能在环丙沙星调控主动脉夹层的潜在致病机制中扮演重要角色。

蛋白印迹结果表明, 与对照组相比, 促凋亡蛋白 Caspase3 在环丙沙星 100、200 $\mu\text{g/mL}$ 组细胞中显著上调 ($P < 0.001$), 且抑凋亡蛋白 *Bcl-2* 的表达显著降低 ($P < 0.01$ 、 0.001); 而 *MMP9* 表达量显著增加 ($P < 0.001$)。相比于对照组, 环丙沙星 200 $\mu\text{g/mL}$ 组, *IL-6*、*IL-1β* 的表达均显著增加 ($P < 0.001$), 见图 15。

3 讨论

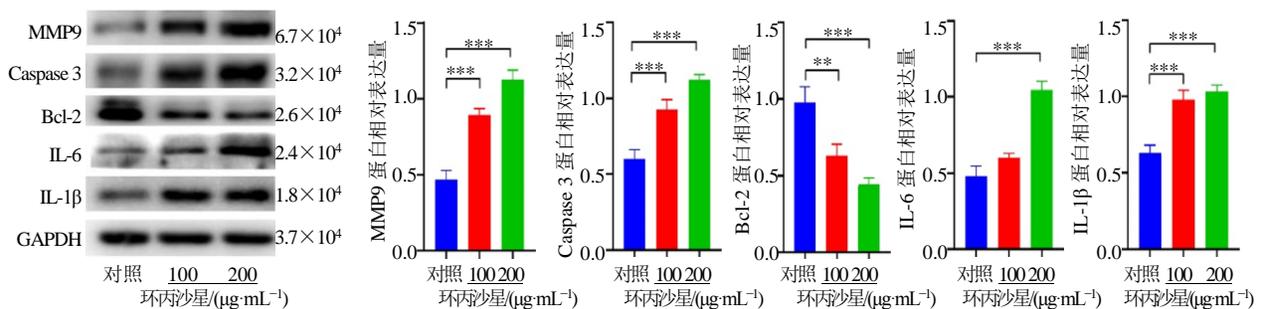
本研究基于多个公共数据库, 利用网络药理学分析方法, 预测得到环丙沙星介导主动脉夹层的潜在靶点 412 个, 潜在靶点的基因富集分析强调炎症、凋亡、脂代谢、线粒体损伤、氧化应激在环丙沙星介导主动脉夹层的机制中具有重要作用。通过构建 PPI 网络、鉴定基因模块及联合多种算法, 最终筛选出 15 个关键靶点, 经分子对接技术验证, 靶蛋白 *MMP9*、*Akt1*、*TP53*、*CASP3*、*IL-1B*、*TNF*、*Bcl-2* 可以自发结合环丙沙星调节机体功能从而调控主动脉夹层发生发展。动物实验表明, 在小鼠模型上给予环丙沙星会加重主动脉夹层, 细胞实验进一步证实了环丙沙星可以通过上调 *IL-6*、*IL-1β*、*TLR4*、*MMP9*、*CASP3*、*TP53* 的表达, 下调 *Akt1* 的表达调节 VSMCs 的功能介导主动脉夹层的发生发展,



与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ 。
* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs control group.

图 14 不同浓度环丙沙星对 HASMCs 细胞关键靶基因的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 14 Effects of ciprofloxacin at different concentrations on key target genes in HASMCs cells ($\bar{x} \pm s, n = 6$)



与对照组比较: ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ 。
** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs control group.

图 15 环丙沙星对相关蛋白的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 15 Effect of ciprofloxacin on related proteins ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

提示环丙沙星通过刺激 VSMCs 炎症反应及凋亡的机制增加主动脉夹层的严重程度。

主动脉夹层是一种危及人类健康的急危重症，

通过早期识别危险因素并积极干预能有效延缓主动脉夹层进展，降低其死亡率，而药物使用是主动脉夹层重要危险因素之一^[18]。尽管有研究表明可卡因

的使用与主动脉夹层的发生具有时间相关性^[19-20]；安非他明的使用与 18~49 岁人群中主动脉夹层风险的增加有关^[21]，西地那非也介导主动脉夹层发生发展^[22]，但上述药物均非临床常用药物。值得注意的是，越来越多的临床大型研究表明临床常用抗生素氟喹诺酮类药物的使用与主动脉夹层的风险增加有关^[23-24]。氟喹诺酮类药物已知的不良反应包括肌腱炎、肌腱断裂以及延缓角膜愈合^[25-27]，但最近有研究表明环丙沙星可以介导主动脉壁损伤，且不论在马凡小鼠模型，还是散发型主动脉夹层小鼠模型中，环丙沙星显著增加了主动脉夹层的发生率和破裂率^[9, 28]，而这与本文研究结果一致。

据报道，氟喹诺酮类药物已知的不良反应是由细胞外基质降解引起的，这与基质金属蛋白酶表达增加及胶原蛋白生成减少有关^[29-30]，而细胞外基质降解也参与环丙沙星介导主动脉夹层发生发展。炎症细胞和促炎症因子会增加基质金属蛋白酶的产生，从而进一步促进了细胞外基质降解和主动脉病变^[31]。有体外研究表明，当环丙沙星质量浓度超过 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时，可对正常 HASMCs 造成损伤，通过诱导正常 HASMCs 的 MMP2、MMP9 和炎症因子水平上调，促进细胞外基质降解进而加重主动脉夹层^[12]，也有体内研究表明，注射环丙沙星会刺激小鼠的主动脉壁赖氨酰氧化酶表达降低和 MMP9 表达和活性增加，而赖氨酰氧化酶可以调节和稳定弹性蛋白、胶原蛋白和细胞外基质^[9]。本研究也证明，浓度大于 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的环丙沙星可刺激正常 HASMC 中 MMP9 及炎症因子（IL-6、IL-1 β ）的表达显著增加，与此同时，TLR4 表达增强且 KEGG 通路富集到 Toll 样受体通路，提示环丙沙星可能通过增加炎症因子表达调控 Toll 样通路介导主动脉夹层的发生发展。环丙沙星可通过促进细胞凋亡发挥作用^[27, 32-33]，而血管平滑肌凋亡是主动脉夹层发展的重要机制之一，有研究表明环丙沙星诱导主动脉平滑肌细胞凋亡从而对管壁造成损伤诱发主动脉夹层^[9, 12]。与上述结果一致，本研究结果提示，与对照组相比，使用超过 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的环丙沙星刺激 HASMCs 后，促凋亡蛋白 CASP3 的表达水平显著上调，抑制凋亡蛋白 Akt1 的表达水平显著下调。因此，环丙沙星调控主动脉夹层的潜在致病机制可能是：一方面，环丙沙星刺激炎症因子和基质蛋白酶表达进而促进主动脉夹层细胞外基质降解；另一方面，环丙沙星介导凋亡基因表达进而调控主动脉夹

层 VSMCs 凋亡。

综上所述，本研究通过网络药理学和分子对接技术，结合体内外实验研究，证明环丙沙星是主动脉夹层发病的危险因素之一，其机制是环丙沙星通过刺激炎症反应促进细胞外基质降解及促进 VSMCs 凋亡进而加重主动脉夹层，可能与 Toll 样受体信号通路的调控密切相关。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Wang Q, Yesitayi G, Liu B, *et al.* Targeting metabolism in aortic aneurysm and dissection: From basic research to clinical applications [J]. *Int J Biol Sci*, 2023, 19(12): 3869-3891.
- [2] Hagan P G, Nienaber C A, Isselbacher E M, *et al.* The International Registry of Acute Aortic Dissection (IRAD): New insights into an old disease [J]. *JAMA*, 2000, 283(7): 897-903.
- [3] Linder J A, Huang E S, Steinman M A, *et al.* Fluoroquinolone prescribing in the United States: 1995 to 2002 [J]. *Am J Med*, 2005, 118(3): 259-268.
- [4] Mamdani M, McNeely D, Evans G, *et al.* Impact of a fluoroquinolone restriction policy in an elderly population [J]. *Am J Med*, 2007, 120(10): 893-900.
- [5] Risse J, Settembre N, Mandry D, *et al.* Infected abdominal aortic aneurysm attributable to *Haemophilus influenzae*: Rapid changes of imaging findings [J]. *Circulation*, 2015, 132(7): 613-615.
- [6] Chen S W, Chan Y H, Wu V C C, *et al.* Reply: The association between fluoroquinolone use and the outcome of aortic aneurysm or dissection [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2021, 78(6): 639-641.
- [7] Lee C C, Lee M T G, Chen Y S, *et al.* Risk of aortic dissection and aortic aneurysm in patients taking oral fluoroquinolone [J]. *JAMA Intern Med*, 2015, 175(11): 1839-1847.
- [8] Daneman N, Lu H, Redelmeier D A. Fluoroquinolones and collagen associated severe adverse events: A longitudinal cohort study [J]. *BMJ Open*, 2015, 5(11): e010077.
- [9] LeMaire S, Zhang L, Luo W, *et al.* Effect of ciprofloxacin on susceptibility to aortic dissection and rupture in mice [J]. *JAMA Surg*, 2018, 153(9): e181804.
- [10] US Food and Drug Administration. Fluoroquinolone antimicrobial drugs information [EB/OL]. (2018-06-18) [2024-02-08]. <https://www.fda.gov/Drugs/DrugSafety/InformationbyDrugClass/ucm346750.htm>.
- [11] Gomez D, Owens G K. Smooth muscle cell phenotypic

- switching in atherosclerosis [J]. *Cardiovasc Res*, 2012, 95(2): 156-164.
- [12] Xiang B T, Abudupataer M, Liu G, *et al.* Ciprofloxacin exacerbates dysfunction of smooth muscle cells in a microphysiological model of thoracic aortic aneurysm [J]. *JCI Insight*, 2023, 8(2): e161729.
- [13] 牛明, 张斯琴, 张博, 等. 《网络药理学评价方法指南》解读 [J]. *中草药*, 2021, 52(14): 4119-4129.
- [14] 赵少磊, 原震, 朱艳茹, 等. 基于网络药理学和分子对接探讨地骨皮调血脂的作用机制 [J]. *中草药*, 2023, 54(5): 1487-1497.
- [15] 赵韦欣, 王晴, 王梦齐, 等. 基于网络药理学和分子对接探讨鸦胆子治疗结直肠癌的作用机制 [J]. *中草药*, 2023, 54(6): 1850-1859.
- [16] Zeiler H J, Voigt W H. Efficacy of ciprofloxacin in stationary-phase bacteria *in vivo* [J]. *Am J Med*, 1987, 82(4A): 87-90.
- [17] Nair A B, Jacob S. A simple practice guide for dose conversion between animals and human [J]. *J Basic Clin Pharm*, 2016, 7(2): 27-31.
- [18] LeMaire S A, Russell L. Epidemiology of thoracic aortic dissection [J]. *Nat Rev Cardiol*, 2011, 8(2): 103-113.
- [19] Daniel J C, Huynh T T, Zhou W, *et al.* Acute aortic dissection associated with use of cocaine [J]. *J Vasc Surg*, 2007, 46(3): 427-433.
- [20] Hsue P Y, Salinas C L, Bolger A F, *et al.* Acute aortic dissection related to crack cocaine [J]. *Circulation*, 2002, 105(13): 1592-1595.
- [21] Westover A N, Nakonezny P A. Aortic dissection in young adults who abuse amphetamines [J]. *Am Heart J*, 2010, 160(2): 315-321.
- [22] Nachtnebel A, Stölberger C, Ehrlich M, *et al.* Aortic dissection after sildenafil-induced erection [J]. *South Med J*, 2006, 99(10): 1151-1152.
- [23] Garg M, Venugopalan V, Vouri S M, *et al.* Oral fluoroquinolones and risk of aortic aneurysm or dissection: A nationwide population-based propensity score-matched cohort study [J]. *Pharmacotherapy*, 2023, 43(9): 883-893.
- [24] Pasternak B, Inghammar M, Svanström H. Fluoroquinolone use and risk of aortic aneurysm and dissection: Nationwide cohort study [J]. *BMJ*, 2018, 360: k678.
- [25] Huston K A. Achilles tendinitis and tendon rupture due to fluoroquinolone antibiotics [J]. *N Engl J Med*, 1994, 331(11): 748.
- [26] Wise B L, Peloquin C, Choi H, *et al.* Impact of age, sex, obesity, and steroid use on quinolone-associated tendon disorders [J]. *Am J Med*, 2012, 125(12): 1228.e23-e28.
- [27] Zhao B Z, Chignell C F, Rammal M, *et al.* Detection and prevention of ocular phototoxicity of ciprofloxacin and other fluoroquinolone antibiotics [J]. *Photochem Photobiol*, 2010, 86(4): 798-805.
- [28] LeMaire S A, Zhang L, Zhang N S, *et al.* Ciprofloxacin accelerates aortic enlargement and promotes dissection and rupture in Marfan mice [J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2022, 163(3): e215-e226.
- [29] Chang H N, Pang J H S, Chen C P C, *et al.* The effect of aging on migration, proliferation, and collagen expression of tenocytes in response to ciprofloxacin [J]. *J Orthop Res*, 2012, 30(5): 764-768.
- [30] Tsai W C, Hsu C C, Chen C P C, *et al.* Ciprofloxacin up-regulates tendon cells to express matrix metalloproteinase-2 with degradation of type I collagen [J]. *J Orthop Res*, 2011, 29(1): 67-73.
- [31] Popowski E, Kohl B, Schneider T, *et al.* Uremic toxins and ciprofloxacin affect human tenocytes *in vitro* [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(12): 4241.
- [32] Kamocki K, När J E, Bottino M C. Effects of ciprofloxacin-containing antimicrobial scaffolds on dental pulp stem cell viability-*In vitro* studies [J]. *Arch Oral Biol*, 2015, 60(8): 1131-1137.
- [33] Somekh E, Douer D, Shaked N, *et al.* *In vitro* effects of ciprofloxacin and pefloxacin on growth of normal human hematopoietic progenitor cells and on leukemic cell lines [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 1989, 248(1): 415-418.

[责任编辑 高源]