

益肾化湿颗粒对 IgA 肾病大鼠 PPAR γ /NF- κ B 信号通路的影响

姜 晨, 忽星歌, 姜 琳, 徐荣佳, 张佳佳, 徐颖慧, 郭雨昕, 白 雪, 黄诗琦

天津中医药大学第一附属医院, 国家中医针灸临床医学研究中心, 天津 300381

摘 要: **目的** 观察益肾化湿颗粒对 IgA 肾病模型大鼠的治疗作用, 并基于过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (peroxisome proliferator-activated receptor γ , PPAR γ)/核因子- κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 信号通路探讨其作用机制。**方法** 随机选取 10 只 SD 大鼠作为对照组, 其余大鼠以“牛血清白蛋白+四氯化碳+脂多糖”联合用药免疫诱导的方法建立 IgA 肾病模型, IgA 肾病大鼠随机分为模型组及益肾化湿颗粒低、高剂量 (1.35、5.40 g/kg) 组和泼尼松 (5.40 mg/kg) 组, 每组 15 只。实验第 7~14 周, 各给药组 ig 药物, 对照组和模型组 ig 蒸馏水, 1 次/d, 观察大鼠的一般状态。给药结束后, 检测各组大鼠 24 h 尿蛋白, 考察各组大鼠肾组织病理情况; 采用免疫组化法检测各组大鼠肾组织肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 和白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6) 蛋白阳性表达情况; 采用 Western blotting 法检测各组大鼠肾组织 PPAR γ 和 NF- κ B 信号通路关键蛋白 p65、p-p65 蛋白表达情况。**结果** 益肾化湿颗粒能够显著降低 IgA 肾病大鼠 24 h 尿蛋白、尿素氮和血肌酐水平 ($P < 0.05$ 、 0.01), 减少 IgA 肾病大鼠肾小球系膜区 IgA 沉积, 显著降低肾组织 TNF- α 沉积 ($P < 0.05$); 益肾化湿颗粒高剂量组大鼠肾组织 p65 和 p-p65 蛋白表达水平显著降低 ($P < 0.05$), PPAR γ 蛋白表达水平显著升高 ($P < 0.05$)。**结论** 益肾化湿颗粒能够减少 IgA 肾病大鼠 24 h 尿蛋白, 改善肾功能及肾组织病理损伤, 延缓 IgA 肾病进展, 其作用机制可能与调控 PPAR γ /NF- κ B 通路有关。

关键词: IgA 肾病; 益肾化湿颗粒; 肾组织损伤; 过氧化物酶体增殖物激活受体 γ ; 核因子- κ B

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2022)03-0751-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2022.03.014

Effect of Yishen Huashi Granules on regulation of PPAR γ /NF- κ B signaling pathway in IgA nephropathy rats

JIANG Chen, HU Xing-ge, JIANG Lin, XU Rong-jia, ZHANG Jia-jia, XU Ying-hui, GUO Yu-xin, BAI Xue, HUANG Shi-qi

First Teaching Hospital of Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, National Clinical Research Center for Chinese Medicine Acupuncture and Moxibustion, Tianjin 300381, China

Abstract: Objective To investigate the therapeutic effect of Yishen Huashi Granules (益肾化湿颗粒) on IgA nephropathy rats, and explore its mechanism based on peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPAR γ)/nuclear factor- κ B (NF- κ B) signaling pathway. **Methods** Ten SD rats were randomly selected as control group. IgA nephropathy models were established in other rats by immune induction with the combination of bovine serum albumin, carbon tetrachloride and lipopolysaccharide. IgA nephropathy rats were randomly divided into model group, Yishen Huashi Granules low-, high-dose (1.35, 5.40 g/kg) groups and prednisone (5.40 mg/kg) group, with 15 rats in each group. During 7—14 weeks, rats in each administration group were ig drugs, rats in control group and model group were ig distilled water, once a day, the general state of rats were observed. After administration, 24 h urine protein of rats in each group was detected, and pathological condition of kidney tissue of rats in each group were investigated; Protein positive expressions of tumor necrosis factor- α (TNF- α) and interleukin-6 (IL-6) were detected by immunohistochemical method; Western blotting was used to detect the protein expressions of PPAR γ and NF- κ B signaling pathway key proteins p65 and p-p65 in kidney tissues of rats in each group. **Results** Yishen Huashi Granules significantly reduced 24 h urine protein, urea nitrogen and blood creatinine levels of IgA nephropathy rats ($P < 0.05$, 0.01), reduced IgA deposition in glomerular mesangial area of IgA nephropathy

收稿日期: 2021-11-11

基金项目: 益肾化湿颗粒临床应用研究和基础研究开放课题 (康药合字 2020 第 336 号)

作者简介: 姜 晨 (1982—), 女, 博士, 副主任医师, 博士生导师, 研究方向为中西医结合治疗肾脏病。

Tel: 18622662919 E-mail: jcdactor_tcm@163.com

rats, and significantly reduced TNF- α deposition in renal tissue ($P < 0.05$); Protein expression levels of p65 and p-p65 in kidney tissue of rats in Yishen Huashi Granules high-dose group were significantly reduced ($P < 0.05$), and PPAR γ protein expression level was significantly increased ($P < 0.05$). **Conclusion** Yishen Huashi Granules can reduce 24 h urine protein in rats with IgA nephropathy, improve renal function and renal tissue pathological damage, and delay the progression of IgA nephropathy. Its mechanism may be related to the regulation of PPAR γ /NF- κ B pathway.

Key words: IgA nephropathy; Yishen Huashi Granules; kidney tissue damage; peroxisome proliferator-activated receptor γ ; nuclear factor- κ B

IgA 肾病是全世界范围内最常见的原发性肾小球疾病 (primary acute glomerulo-nephritis, PCGN), 是导致终末期肾脏病的主要原因之一, 在亚洲地区尤为高发。以 IgA 为主的免疫复合物在肾小球系膜区沉积是 IgA 肾病典型病理表现。沉积在肾小球中的 IgA 免疫复合物介导细胞释放促炎细胞因子如肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6) 和转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β), 可诱导炎症和肾小球硬化^[1], 继而导致肾功能损伤, 而这一系列的损伤主要通过各种炎症通路的激活和能量代谢异常导致的氧化应激、自噬与凋亡失衡而引起。研究表明, 在 IgA 肾病过程中核因子- κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 炎症通路被激活, 相关蛋白高表达^[2]。过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (peroxisome proliferator-activated receptor γ , PPAR γ) 是由配体激活的激素受体家族成员, 参与细胞能量的代谢, 也是参与肾脏病发生发展的关键受体。PPAR γ 可以选择性地抑制 NF- κ B 等因子转录, 从而抑制炎症反应, 提示 PPAR γ 的激活可能是 IgA 肾病潜在的保护机制之一。因此, 调控 PPAR γ /NF- κ B 信号对治疗 IgA 肾病有重要意义。

IgA 肾病中医病机以脾肾气虚为主, 兼见湿热证、水湿证、血瘀证等^[3]。益肾化湿颗粒益气升阳化湿的功效契合 IgA 肾病的中医病机特点。既往研究发现, 益气升阳法及益肾化湿颗粒中组方药物能够抑制肾病患者体内炎症反应, 调节氧化应激和内皮功能, 改善患者的肾功能, 是治疗慢性肾炎的有效方法^[2,4]。研究表明, 益气健脾化湿法能够通过上调 PPAR γ 、抑制 NF- κ B 等炎症因子的表达, 从而抑制炎症反应及调节免疫, 并且能抑制 Toll 样受体 4 (Toll like receptor 4, TLR4) 介导的信号转导, 提高机体免疫力, 减少炎症细胞造成的黏膜损伤^[5-7]。因此, 本研究通过建立 IgA 肾病大鼠模型, 观察肾组织病理以及肾组织 PPAR γ 和 NF- κ B 通路关键蛋白表达, 从而探讨益肾化湿颗粒治疗 IgA 肾病的具体

作用机制, 为临床 IgA 肾病的治疗提供新的依据。

1 材料

1.1 动物

SPF 级雄性 SD 大鼠 70 只, 体质量 180 g, 6 周龄, 由北京华阜康生物科技股份有限公司提供, 动物许可证号 SCXK (京) 2019-0008。动物于天津中医药大学动物中心饲养, 屏障环境, 温度 20~25 °C, 湿度 50%~70%, 自由进食饮水。动物实验经天津中医药大学伦理委员会批准 (批准号 TCM-LAEC2020056)。

1.2 药品与试剂

益肾化湿颗粒 (批号 20201118, 10 g/袋) 购自广州康臣药业有限公司; 醋酸泼尼松片 (批号 2106023, 5 mg/片) 购自浙江仙琚制药股份有限公司; 牛血清白蛋白 (bovine serum albumin, BSA)、脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS)、4%多聚甲醛、PBS 溶液、DAPI、抗荧光淬灭封片剂、EDTA 抗原修复缓冲液、TBST 溶液、ECL 发光液购自北京索莱宝科技有限公司; 蓖麻油、四氯化碳购自上海化工厂; 尿蛋白检测试剂盒购自北京雷根生物技术有限公司; 肌酐试剂盒 (批号 AUZ3562)、尿素氮试剂盒 (批号 AUZ3611)、苏木素-伊红 (HE) 染色套装、Masson 染色套装 (批号 AF0003) 购自上海碧云天生物技术有限公司; HRP 标记的山羊抗兔抗体 (批号 GB23303)、p65 抗体 (批号 GB11142)、 β -actin 小鼠单克隆抗体 (批号 GB12001) 购自武汉塞维生物科技公司; IL-1 β 单克隆抗体 (批号 ab254360)、TNF- α 兔单克隆抗体 (批号 ab215188) 购自英国 Abcam 公司; FITC 标记的兔抗大鼠 IgA 抗体 (批号 bs-10491R-FITC) 购自北京博奥森生物技术有限公司; 磷酸化 p65 (phosphorylated p65, p-p65) 抗体 (批号 AF2006) 购自美国 Affinity 公司; PPAR γ 抗体 (批号 16643-1-AP) 购自武汉三鹰生物技术有限公司。

1.3 仪器

脱水机、染色机 (意大利 DIAPATH 公司); 冰

冻切片机(美国 Thermo Fisher Scientific 公司);冻台(武汉俊杰公司);病理切片机(上海徕卡仪器有限公司);BX51 型光学显微镜(日本 Olympus 公司);超声波细胞破碎仪(宁波新芝生物公司)。

2 方法

2.1 动物造模、分组与给药

70 只大鼠适应性喂养 7 d 后,随机选取 10 只作为对照组,从实验开始之日起 ig 蒸馏水(600 mg/kg),隔日 1 次,连续 8 周;实验第 6 周和第 8 周末 iv 0.2 mL 0.9%氯化钠溶液,1 次/周。其余大鼠使用免疫诱导复合方法建立实验性 IgA 肾病模型^[8]:从实验开始之日起 ig BSA (600 mg/kg),隔日 1 次,连续 8 周;颈部 sc 0.1 mL 四氯化碳和 0.3 mL 蓖麻油,1 次/周,连续 8 周;实验第 6 周和第 8 周末 iv LPS(250 µg/kg),1 次/周。第 8 周末测量每只大鼠尿蛋白水平,随机取模型组和对照组大鼠各 2 只,取肾组织,包埋、固定,采用光镜和免疫荧光检测肾脏组织病理,观察到模型组大鼠肾小球系膜细胞增生和基质增多,系膜区 IgA 沉积显著,并伴有蛋白尿,而对照组无上述明显表现,则确认造模成功^[9]。

将 IgA 肾病模型大鼠随机分为模型组、益肾化湿颗粒低、高剂量(1.35、5.40 g/kg)组和泼尼松(5.40 mg/kg)组,每组 15 只。益肾化湿颗粒溶于蒸馏水配制成质量浓度为 0.40 g/mL 的溶液;醋酸泼尼松片溶于蒸馏水配制成质量浓度为 1.00 mg/mL 的混悬液。各给药组 ig 相应药物,对照组和模型组 ig 等体积蒸馏水,1 次/d,连续 8 周。

2.2 益肾化湿颗粒对 IgA 肾病大鼠尿蛋白的影响

给药结束的前 2 d,大鼠禁食不禁水,置入代谢笼,记录 24 h 尿量,收集约 10 mL 中层尿液,离心,采用丽春红比色法测定尿蛋白浓度,计算 24 h 尿蛋白含量。

2.3 益肾化湿颗粒对 IgA 肾病大鼠肾功能的影响

给药结束后,大鼠禁食 12 h,吸入 2.5%异氟烷麻醉,腹主动脉采血 8 mL,离心取血清,于 -80 °C 冰箱保存,使用全自动生化分析仪检测血清中肌酐和尿素氮水平。

2.4 益肾化湿颗粒对 IgA 肾病大鼠肾组织病理的影响

大鼠处死后,取左肾组织,于 4%多聚甲醛中固定,乙醇脱水、透明、浸蜡后,石蜡包埋并切片(厚 3 µm),分别进行 HE、Masson 染色,于显微镜下观察并拍照。

2.5 益肾化湿颗粒对 IgA 肾病大鼠肾组织 IgA 免疫荧光的影响

取各组大鼠肾组织石蜡切片,冲洗、修复后,加入 IgA 抗体孵育,用 PBS 溶液冲洗 3 遍;避光滴加 FITC 标记的兔抗大鼠 IgA 抗体,37 °C 避光孵育 50 min,用 PBS 溶液洗涤 3 次,稍甩干后,再滴加 DAPI 染液,室温避光孵育 10 min;滴加抗荧光淬灭剂后,用中性树胶封片,于荧光显微镜下观察并拍照。荧光强度分级半定量参照国际通用的五级半定量法判定^[10]。

2.6 益肾化湿颗粒对 IgA 肾病大鼠肾组织 IL-1β、TNF-α 蛋白表达的影响

取各组大鼠肾组织石蜡切片,二甲苯常规脱水、抗原修复,加入 3%双氧水溶液,室温孵育 40 min;再加入 3% BSA,室温封闭 30 min;分别加入 IL-1β、TNF-α 抗体,4 °C 孵育过夜;加入 HRP 标记的山羊抗兔抗体,室温孵育 50 min;DAB 显色并水洗后,苏木素复染 3~5 min,梯度乙醇脱水、二甲苯透明并中性树胶封片,于显微镜下观察并拍照,细胞核为蓝色,阳性表达为黄色。

2.7 益肾化湿颗粒对 IgA 肾病大鼠肾组织 PPARγ、p65 和 p-p65 蛋白表达的影响

取各组大鼠右肾组织,置于 5 mL 冻存管中,于 -80 °C 冰箱保存。加入裂解液研磨提取蛋白,采用 BCA 蛋白定量试剂盒测定蛋白质量浓度,煮沸 5 min 使蛋白变性。蛋白样品经十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳,转至 PVDF 膜,加入脱脂牛奶,室温封闭 30 min;加入 PPARγ、p65、p-p65 和 β-actin 抗体,4 °C 孵育过夜,加入 TBST 溶液洗涤 5 次,5 min/次;加入 FITC 标记的兔抗大鼠 IgA 抗体,室温孵育 90 min,加入 TBST 溶液洗涤 5 次,5 min/次;加入 ECL 发光液显影,曝光后使用 Alpha 软件分析条带。

2.8 统计方法

采用 SPSS 23.0 软件进行统计分析,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。方差齐者采用单因素方差分析,不齐者采用 Kruskal-Wallis 检验, Tukey 法进行多重比较。

3 结果

3.1 大鼠的一般情况

实验过程中模型组大鼠死亡 2 只,泼尼松组死亡 1 只,解剖显示大鼠皮下及腹腔脓肿。对照组大鼠在精神状态、活动性、皮毛光泽度、饮食情况以及大小便方面表现良好。模型组大鼠则出现不同程

度的精神不佳、食量减少、活动减少、皮毛光泽度下降及颜色较黄等情况,体质量较对照组有所降低。模型组 sc 四氯化碳时,皮下会有硬结出现,且脱毛较为严重;并且在尾 iv LPS 后会出现较之前更为严重的精神不振、食欲下降以及活动减少等现象。给予药物干预后,各给药组大鼠精神状态、活动情况、饮食情况都较之前有所改善。

3.2 益肾化湿颗粒对 IgA 肾病大鼠 24 h 尿蛋白定量分析

如表 1 所示,与对照组相比,模型组大鼠 24 h 尿蛋白明显增加 ($P<0.01$);与模型组比较,各给药组大鼠 24 h 尿蛋白均显著降低 ($P<0.01$)。益肾化湿颗粒两组与泼尼松组无显著差异。

3.3 益肾化湿颗粒对 IgA 肾病大鼠肾功能的影响

如表 1 所示,与对照组相比,模型组大鼠血肌

酐、尿素氮均显著升高 ($P<0.01$);与模型组比较,各给药组大鼠血肌酐、尿素氮水平显著降低 ($P<0.05$ 、 0.01)。

3.4 益肾化湿颗粒对 IgA 肾病大鼠肾组织病理的影响

HE 染色和 Masson 染色结果(图 1)显示,模型组大鼠的肾组织呈现不同程度的系膜细胞增生、系膜基质增多的病理改变,部分可见毛细血管襻受压,管腔狭窄及球囊黏连。各给药组肾小球系膜细胞增生和基质增多的状况稍有缓解。

如图 2 所示,模型组大鼠肾小球系膜区可见分支及颗粒状 IgA 沉积,表明 IgAN 模型制备成功。除对照组外,其余各组 IgA 免疫荧光染色结果评分分级大多处于+~+++,各给药组肾小球系膜区 IgA 荧光强度明显减弱。

表 1 各组大鼠 24 h 尿蛋白及肾功能相关指标水平 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 24 h urine protein and renal function-related index levels of rats in each group ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	n/只	24 h 尿蛋白/mg	血肌酐/(μmol·L ⁻¹)	尿素氮/(mmol·L ⁻¹)
对照	—	8	28.88±6.83	31.74±4.07	4.98±0.69
模型	—	11	95.84±12.33 ^{##}	64.35±19.04 ^{##}	8.90±2.97 ^{##}
益肾化湿颗粒	1.35	15	34.81±6.51 ^{**}	31.13±2.25 ^{**}	5.95±1.26 [*]
	5.40	15	25.87±9.45 ^{**}	28.94±4.06 ^{**}	5.68±0.99 [*]
泼尼松	0.005 4	14	29.26±9.77 ^{**}	29.30±1.35 ^{**}	5.41±0.50 [*]

与对照组比较: ^{##} $P<0.001$; 与模型组比较: ^{*} $P<0.05$ ^{**} $P<0.01$

^{##} $P<0.01$ vs control group; ^{*} $P<0.05$ ^{**} $P<0.01$ vs model group

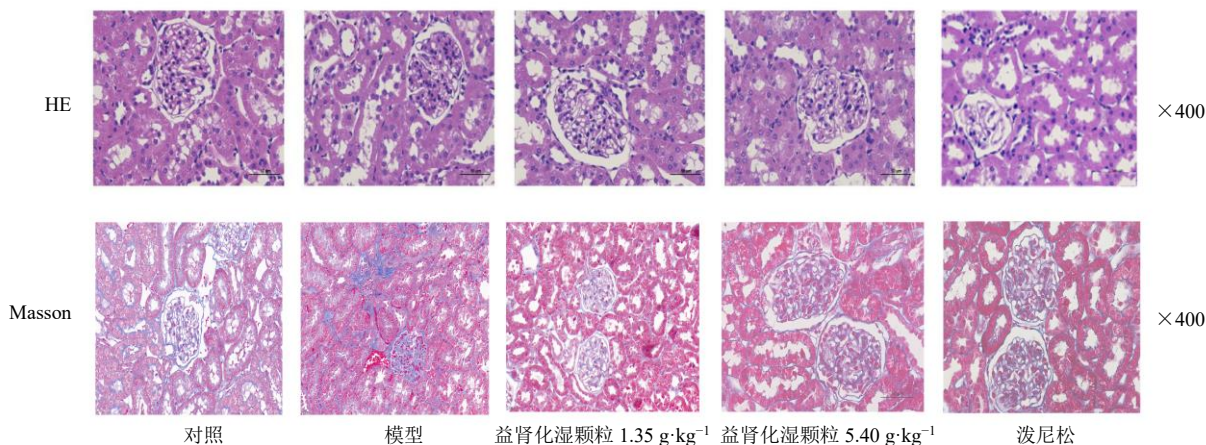


图 1 各组大鼠肾组织病理变化

Fig. 1 Pathological changes of kidney tissue of rats in each group

3.5 益肾化湿颗粒对 IgA 肾病大鼠肾组织 IL-1β、TNF-α 蛋白表达的影响

如图 3 所示,与对照组相比,模型组大鼠肾组织 IL-1β、TNF-α 阳性表达显著增加 ($P<0.05$);与模型组比较,各给药组大鼠肾组织 TNF-α 沉积显著减少 ($P<0.05$), IL-1β 沉积呈下降趋势。

3.6 益肾化湿颗粒对 IgA 肾病大鼠肾组织 PPARγ/NF-κB 信号通路关键蛋白的影响

如图 4 所示,与对照组比较,模型组大鼠肾组织 p65 和 p-p65 蛋白表达水平显著升高 ($P<0.05$),益肾化湿颗粒高剂量组和泼尼松组大鼠肾组织 p65 和 p-p65 蛋白表达水平明显降低 ($P<0.05$)。然而,

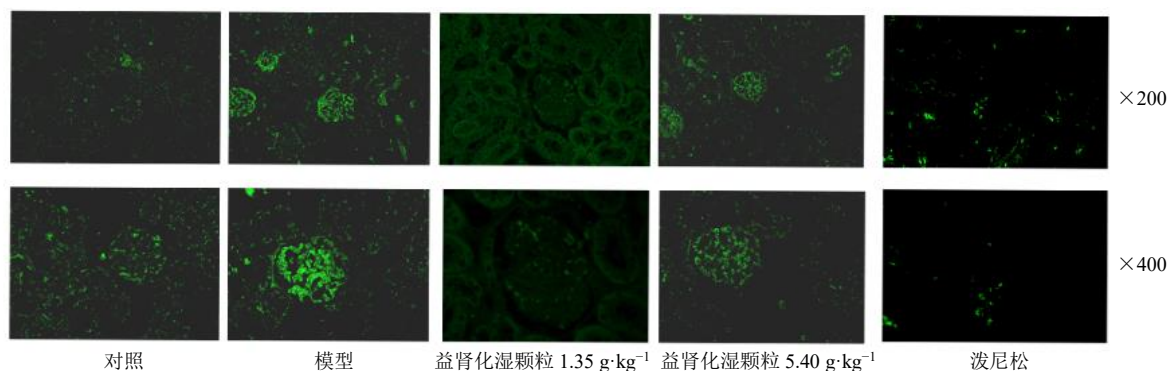
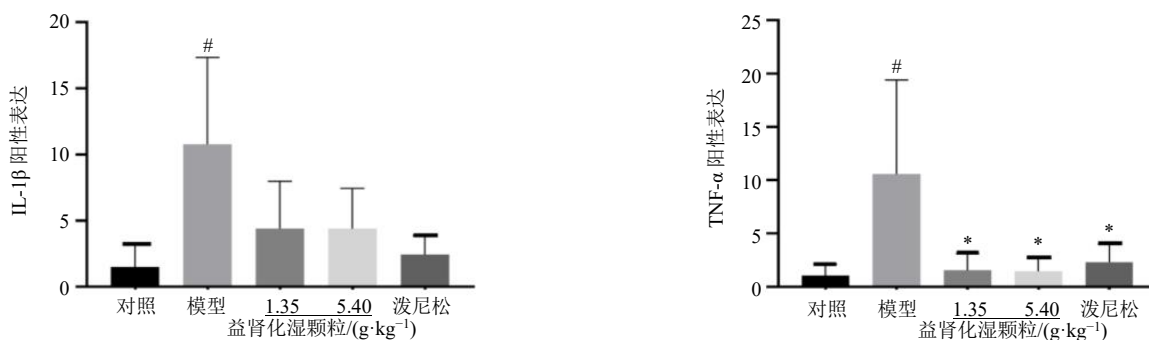
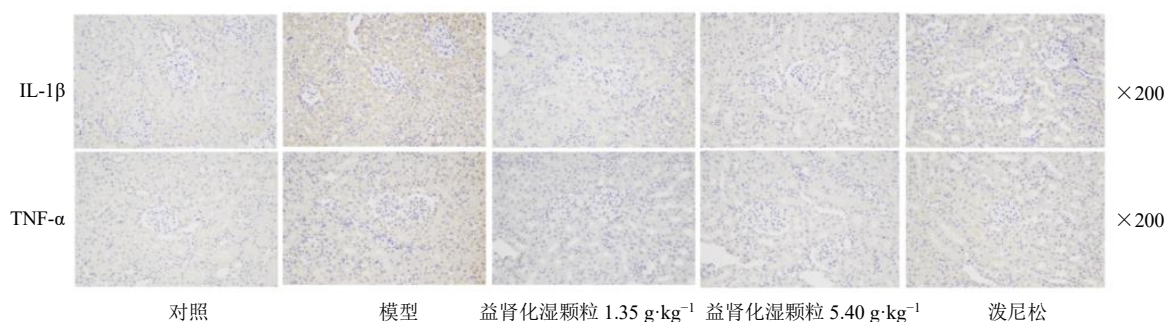


图 2 各组大鼠肾组织 IgA 沉积情况

Fig. 2 IgA deposition in renal tissue of rats in each group



与对照组比较: [#] $P < 0.05$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$, 下图同

[#] $P < 0.05$ vs control group; ^{*} $P < 0.05$ vs model group, same as below figure

图 3 各组大鼠肾组织 IL-1β、TNF-α 蛋白表达情况

Fig. 3 Expression of IL-1β and TNF-α protein in kidney tissue of rats in each group

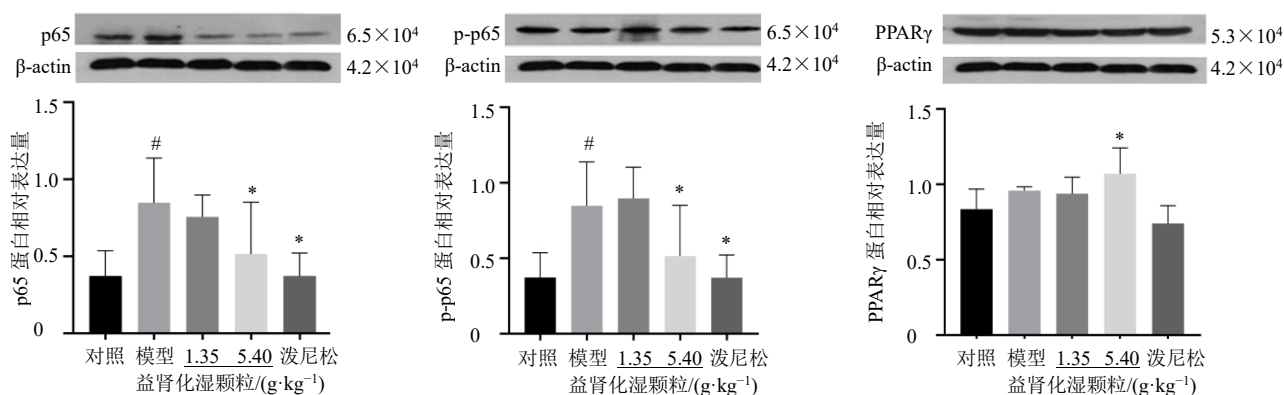


图 4 各组大鼠肾组织 p65、p-p65 和 PPARγ 蛋白表达情况

Fig. 4 p65, p-p65 and PPARγ protein expressions in kidney tissue of rats in each group

模型组大鼠肾组织 PPAR γ 蛋白表达水平与对照组无显著差异,但存在升高趋势;益肾化湿高剂量组 PPAR γ 蛋白表达水平显著升高 ($P<0.05$)。提示益肾化湿颗粒高剂量组可能上调 PPAR γ 蛋白表达,抑制 NF- κ B 信号通路。

4 讨论

IgA 肾病是一种自身免疫性疾病,各种原因导致的含 IgA 的免疫复合物的沉积以及免疫复合物介导的原位系膜细胞氧化应激、炎症反应、促硬化介质生成及足细胞凋亡等是 IgA 肾病发病的主要机制。中医认为 IgA 肾病以脾肾气虚为本,兼见湿热证、水湿证、血瘀证及风湿证,历代各医家也善用益气健脾化湿之法治疗 IgA 肾病^[11-13]。“风”“湿”等致病因素在现代医学中被认为是导致免疫炎症反应的重要因素,而脾虚运化障碍下,水谷精微转运异常,引发能量代谢障碍,可促使细胞线粒体功能及结构发生改变,影响正常细胞代谢和调节功能^[14]。益肾化湿颗粒是健脾化湿代表方剂,重用黄芪为君,以升阳固表、益气利水;配伍人参、白术、茯苓、炙甘草补气养胃;柴胡、独活、羌活、防风为升举清阳、祛风除湿;半夏、陈皮、泽泻、黄连除湿清热;白芍固护阴液,防升阳祛风燥湿太过;全方共奏益肾健脾、升阳化湿、祛风利水之功效^[15],契合 IgA 肾病病因病机。本研究结果显示,益肾化湿颗粒可以明显改善 IgA 肾病大鼠 24 h 尿蛋白及肾功能,对 IgA 肾病有明显的治疗作用。从微观病理学角度,益肾化湿颗粒能明显减轻肾小球系膜细胞增生、基质增多及免疫复合物的沉积。

NF- κ B 通路被称为炎症的中央信号传导途径^[16],参与免疫应答、炎症等生命过程,通常被活性氧、TNF- α 和 IL-1 β 等多种细胞外应激刺激所激活^[17]。研究表明,NF- κ B 信号通路的活化是终末期肾病和 IgA 肾病疾病发展的关键^[18-21]。生理状态下,NF- κ B 主要位于细胞质中,与 NF- κ B 抑制蛋白(inhibitor of NF- κ B, I κ B)构成的复合物不活跃;当细胞受到刺激后,由 I κ B 蛋白的信号诱导降解,造成 NF- κ B 的活化,进而引起 p65 释放和核易位^[17]。虽然这种暴露引起的 p65 诱导激活通常是短暂的,但足以上调具有多种活性的靶基因的反式激活,包括细胞增殖、炎症细胞因子、趋化因子、凋亡介体的上调^[21]。PPAR 家族调控参与细胞增殖、分化以及炎症和免疫相关蛋白的表达。PPAR γ 主要在脂肪组织、肠、肾上皮和免疫系统中表达,其编码蛋白 PPAR γ 可抑

制 p65 的磷酸化和核易位从而调控 NF- κ B 表达,进一步降低 TNF- α 水平,在炎症反应及 IgA 肾病的发生和发展中发挥重要作用^[22]。在巨噬细胞中,PPAR γ 还可作为炎症的负调节剂^[23]。此外,脂代谢异常与肾间质纤维化、肾功能衰竭密切相关,PPAR 家族(PPAR α 、PPAR β 、PPAR γ)同时也是参与调控脂肪细胞分化和葡萄糖稳态关键细胞因子^[24],抑制 PPAR α /类视黄醇 X 受体 α (retinoid X receptor α , RXRA) 通路后,氧化脂肪酸水平下调继而血清三酰甘油升高,促进 IgA 肾病肾小球硬化进展^[25-26]。

本研究结果证明了益肾化湿颗粒能够降低 NF- κ B 信号通路关键因子的蛋白表达,其治疗 IgA 肾病的机制可能通过上调 PPAR γ 蛋白从而调控 NF- κ B 信号通路。结果显示,模型组大鼠肾组织 p65、p-p65 蛋白表达水平显著升高,佐证了 NF- κ B 信号通路的活化参与 IgA 肾病的发展过程。益肾化湿颗粒和泼尼松均能有效降低 p65 和 p-p65 的蛋白表达,通过调控炎症经典通路治疗 IgA 肾病。PPAR γ 蛋白检测结果中,泼尼松并没有发挥调节 PPAR γ 的作用,而益肾化湿颗粒高剂量组能够显著升高 PPAR γ 蛋白表达水平,从而体现了对疾病的正向反馈作用。益肾化湿颗粒是否确实通过调控 PPAR γ 抑制 NF- κ B 信号通路发挥抗炎、调节免疫的作用有待进一步验证。

综上所述,益肾化湿颗粒能改善 IgA 肾病大鼠蛋白尿及肾组织病理损伤,从而保护肾脏功能,其机制可能与调控 PPAR- γ /NF- κ B 信号通路有关。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Baraldi O, Comai G, Cuna V, et al. Mycophenolate mofetil: A possible alternative treatment for IgA nephropathy [J]. *Contributions Nephrol*, 2017, 190: 108-116.
- [2] 刘雨田. 天然免疫在 IgA 肾病中的作用 [D]. 延吉: 延边大学, 2012.
- [3] 詹广浩. BMI 与 IgA 肾病中医证候及临床病理的相关性研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2016.
- [4] 刘翠兰, 王琳琳, 杨文, 等. 骨化三醇联合益肾化湿颗粒对糖尿病肾病微炎症及氧化应激的影响 [J]. *实用医学杂志*, 2018, 34(23): 3994-3997.
- [5] 张超. 升阳益胃汤对 PLGC 模型大鼠 NF- κ B、Bcl-2、c-myc 和 Cyclin-D1 表达的影响 [D]. 兰州: 甘肃中医药大学, 2018.
- [6] 周语平, 张艺琼, 刘光伟, 等. 升阳益胃汤对慢性萎缩性胃炎大鼠胃组织 TLR4 和 IL-6 的影响 [J]. *内蒙古中*

- 医药, 2014, 33(36): 63.
- [7] 姜晨, 徐荣佳, 崔师妍, 等. 基于 HPLC-Q-TOF-MS/MS 和网络药理学探讨益肾化湿颗粒治疗 IgA 肾病作用机制 [J]. 中草药, 2021, 52(21): 6576-6585.
- [8] 高明, 张连栋, 张莉, 等. 改良大鼠 IgA 肾病模型建立及氧化应激状态评估 [J]. 临床肾脏病杂志, 2018, 18(4): 243-247.
- [9] 汤颖, 姜探奇, 成彩联, 等. 实验性 IgA 肾病模型的改进 [J]. 中山大学学报: 医学科学版, 2006, 27(2): 184-187.
- [10] 朱厉, 张宏. IgA 肾病的精准医学研究进展: IgA 肾病中补体系统的活化及临床意义 [J]. 中华医学杂志, 2018, 98(14): 1044-1047.
- [11] 李仁武, 李思, 申正日. 益气滋肾汤对气阴两虚型 IgA 肾病患者临床症状、体征及肾功能稳定的影响 [J]. 辽宁中医杂志, 2021, 48(3): 71-74.
- [12] 白正日. 健脾益肾、利湿泄浊法联合雷公藤多苷片对慢性肾小球肾炎患者肾功能、免疫指标及细胞因子的影响 [J]. 现代中西医结合杂志, 2021, 30(2): 195-199.
- [13] Liu X, Chen J, Liu X, *et al.* Jian-Pi-Yi-Shen Formula ameliorates chronic kidney disease: Involvement of mitochondrial quality control network [J]. *BMC Complement Altern Med*, 2018, 18(1): 340.
- [14] Wu C Y, Hua K F, Yang S R, *et al.* Tris DBA ameliorates IgA nephropathy by blunting the activating signal of NLRP3 inflammasome through SIRT1-and SIRT3-mediated autophagy induction [J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24(23): 13609-13622.
- [15] 陈捷. 益肾化湿颗粒联合坎地沙坦酯治疗糖尿病肾病的临床研究 [J]. 现代药物与临床, 2018, 33(5): 1121-1125.
- [16] Zhang H, Sun S C. NF- κ B in inflammation and renal diseases [J]. *Cell Biosci*, 2015, 5: 63.
- [17] Kopitar-Jerala N. Innate immune response in brain, NF- κ B signaling and cystatins [J]. *Front Mol Neurosci*, 2015, 8: 73.
- [18] Kaartinen K, Syrjänen J, Pörsti I, *et al.* Inflammatory markers and the progression of IgA glomerulonephritis [J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2008, 23(4): 1285-1290.
- [19] Shi B, Ni Z, Cao L, *et al.* Serum IL-18 is closely associated with renal tubulointerstitial injury and predicts renal prognosis in IgA nephropathy [J]. *Mediators Inflamm*, 2012, 2012: 728417.
- [20] Giridharan S, Srinivasan M. Mechanisms of NF- κ B p65 and strategies for therapeutic manipulation [J]. *J Inflamm Res*, 2018, 11: 407-419.
- [21] Christian F, Smith E, Carmody R. The regulation of NF- κ B subunits by phosphorylation [J]. *Cells*, 2016, 5(1): 12.
- [22] Liu B, He Y, Lu R, *et al.* Zhen-wu-Tang protects against podocyte injury in rats with IgA nephropathy via PPAR γ /NF- κ B pathway [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 101: 635-647.
- [23] Ju Z, Su M, Hong J, *et al.* Anti-inflammatory effects of an optimized PPAR- γ agonist via NF- κ B pathway inhibition [J]. *Bioorg Chem*, 2020, 96: 103611.
- [24] Wang J, He L, Yan W, *et al.* The role of hypertriglyceridemia and treatment patterns in the progression of IgA nephropathy with a high proportion of global glomerulosclerosis [J]. *Int Urol Nephrol*, 2020, 52(2): 325-335.
- [25] Zuo N, Suzuki Y, Sugaya T, *et al.* Protective effects of tubular liver-type fatty acid-binding protein against glomerular damage in murine IgA nephropathy [J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2011, 26(7): 2127-2137.
- [26] Xue Y, Guo C, Hu F, *et al.* PPARA/RXRA signalling regulates the fate of hepatic non-esterified fatty acids in a sheep model of maternal undernutrition [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids*, 2020, 1865(2): 158548.

[责任编辑 李亚楠]