

· 实验研究 ·

# 基于转录组学探讨益肾降浊汤对环孢素 A 肾毒性的作用及机制<sup>※</sup>

● 郑登勇<sup>1,2</sup> 阮杏林<sup>3</sup> 王建挺<sup>1</sup> 丘余良<sup>1</sup> 阮诗玮<sup>1▲</sup>

**摘要** 目的:基于转录组学探讨益肾降浊汤(YSJZT)治疗环孢素 A(cyclosporine A, CsA)诱导人近端肾小管上皮细胞(Human kidney-2, HK-2)损伤的作用机制。方法:采用 CCK-8 法检测 HK-2 细胞活力。HK-2 细胞分为正常对照组(NC 组)、模型组(C 组)和治疗组(T 组)。C 组加入含 CsA 16.8 μmol/L 的培养基干预 24 h 后换常规培养基继续培养 24 h; T 组加入含 YSJZT 0.5 mg/mL 的培养基干预 48 h, 造模同 C 组。干预完成后提取各组细胞总 RNA, 进行转录组测序检测差异表达基因(differentially expressed gene, DEG)。对交集的 DEG 进行 GO 功能显著性富集和 KEGG 通路显著性富集分析。结果:益肾降浊汤可回调环孢素 A 诱导的 HK-2 细胞活性下降; C 组与 NC 组比较得到显著 DEG 1410 个; T 组与 C 组比较得到显著 DEG 127 个; 交集得到的 66 个 DEG 通过 GO 功能富集, 主要集中在分子功能部分的粒细胞巨噬细胞集落刺激因子受体结合、雌激素酮磺基转移酶活性, 生物学过程部分的雌激素代谢过程、表皮生长因子受体信号通路; KEGG 通路富集主要在 Fc epsilon RI 信号通路、T 细胞受体信号通路、甾类激素生物合成通路、ErbB 信号通路; 主要涉及集落刺激因子 2(Csf 2)、磺基转移酶 1E 家族成员 1(Sult1E1)、上皮调节蛋白(EREG)等基因。结论:益肾降浊汤通过多靶点恢复环孢素 A 诱导 HK-2 细胞损伤的细胞活力, 其中调控 Csf 2、Sult1E1、EREG 多个靶基因及其相关信号通路, 可能是其减轻 CsA 肾毒性的作用机制。

**关键词** 益肾降浊汤; 环孢素 A; 人近端肾小管上皮细胞; 转录组学

环孢素 A(cyclosporine A, CsA)目前广泛用于治疗实体器官移植及自身免疫性疾病,显著延长了移植器官的存活时间和患者的生命,但 CsA 的急慢性肾毒性制约其临床应用<sup>[1]</sup>。急性肾毒性与 CsA 损伤血管内皮细胞,导致肾血管收缩,肾脏血流灌注不足,肾小球滤过率下降有关;慢性肾毒性与 CsA 上调转化生长因子-β(TGF-β),引起肾小管上皮细胞转分化、肾间质纤维化有关<sup>[2]</sup>。目前尚无肯定的可应用于临床的减轻

CsA 肾毒性的药物<sup>[3]</sup>。

中医认为,环孢素 A 肾损伤系药毒伤肾,导致脾肾亏虚为本,湿浊血瘀为标<sup>[4]</sup>。益肾降浊汤系福建省名中医阮诗玮教授治疗慢性肾功能衰竭的经验方,临床已使用 30 余年,疗效良好。益肾降浊汤“益肾健脾、降浊化瘀”之功效契合环孢素 A 肾损伤的病机,故课题检测益肾降浊汤对环孢素 A 诱导 HK-2 细胞损伤细胞活力的影响。鉴于中药复方成分复杂以及作用的多靶点,机制研究采用转录组测序(transcriptome sequencing, RNA-seq)技术分析益肾降浊汤治疗 CsA 诱导 HK-2 细胞损伤的差异表达基因,探讨益肾降浊汤减轻 CsA 肾毒性的可能靶点。

※基金项目 福建省自然科学基金面上项目(No.2016J01468)  
▲通讯作者 阮诗玮,男,主任医师,博士研究生导师,教授。  
研究方向:中西医结合肾脏病研究。E-mail:1476068677@qq.com

• 作者单位 1. 福建中医药大学附属人民医院肾病科(福建福州 350000); 2. 福建中医药大学附属第二人民医院肾病科(福建福州 350000); 3. 福建医科大学附属协和医院神经内科(福建福州 350000)

## 1 实验材料

1.1 实验细胞 HK-2 细胞株(购自中国科学院细

胞库)。

**1.2 益肾降浊汤** 益肾降浊汤由太子参 15 g、生黄芪 30 g、生白术 15 g、茯苓 15 g、槲寄生 15 g、怀牛膝 15 g、桑椹 15 g、丹参 30 g、当归 10 g、大黄 9 g、六月雪 15 g、车前子 15 g、陈皮 10 g 组成,所有中药饮片购自福建中医药大学附属人民医院中药房。浓煎为 1.0 g/mL。YSJZT 用 0.22 μm 无菌滤器过滤,分装放置 -80 °C 冰箱保存备用。

**1.3 主要试剂及仪器** 环孢素软胶囊(新山地明,批准文号 J20140116,诺华制药)。Cell Count Kit-8 (CCK-8) 试剂(Cat:M4839-500Tests,Abmole BioScience)。胎牛血清(gibco 10099-141C); DME/F12 Medium (hyclone SH30023.01B); 青霉素-链霉素(双抗)(100X)(hyclone SV30010); TRYPSIN 0.25% (1X) Solution (hyclone SH30042.01); TRIzol(上海生工 B511311)。荧光相差倒置显微镜(NIKON® ECLIPSE Ts2R-FL); 二氧化碳培养箱(SANYO MCO-15AC)。

## 2 实验方法

**2.1 细胞培养** HK-2 细胞株在 DME/F12 培养基(含 10% 胎牛血清及 1% 双抗)中培养,于 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 培养箱中培养。

**2.2 益肾降浊汤对 HK-2 细胞活力的影响** 取对数生长期的 HK-2 细胞,按 5×10<sup>3</sup> 个细胞/孔接种于 96 孔板中(100 μl/孔),每组 5 个复孔,放入培养箱内培养 24 h 后更换培养液。给予各浓度益肾降浊汤的培养液(0.125 mg/mL、0.25 mg/mL、0.5 mg/mL、1 mg/mL、2 mg/mL、4 mg/mL),同时设置正常对照和空白对照组(仅有培养基无细胞),置于培养箱内孵育 48 h。各组干预完成后,每孔分别加入 10 μl CCK-8 试剂,孵育 2 h 后酶标仪检测 450 nm 处光密度值(OD 值)。根据所测 OD 值计算细胞活力(%)=(YSJZT 组-空白对照组)/(正常对照组-空白对照组)×100%。

**2.3 CsA 对 HK-2 细胞活力的影响** 取对数生长期的 HK-2 细胞,按 5×10<sup>3</sup> 个细胞/孔接种于 96 孔板中(100 μl/孔),每组 5 个复孔,放入培养箱内培养 24 h 后更换培养液。用环孢素 A 软胶囊 CsA 原液直接稀释在培养基,给予各浓度的 CsA 培养液(4.2 μmol/L、8.4 μmol/L、12.6 μmol/L、16.8 μmol/L、21 μmol/L、42 μmol/L),同时设置正常对照和空白对照组(仅有培养基无细胞),置于培养箱内孵育 24 h 后更换为正常培养液继续孵育 24 h。各组干预完成后,每孔分别加入 10 μl CCK-8 试剂,孵育 2 h 后酶标仪检测 450 nm 处 OD 值。根据所测 OD 值计算细胞活力(%)=(CsA 组-

空白对照组)/(正常对照组-空白对照组)×100%。

**2.4 益肾降浊汤对环孢素 A 诱导 HK-2 细胞损伤细胞活力的影响** 取对数生长期的 HK-2 细胞,按 5×10<sup>3</sup> 个细胞/孔接种于 96 孔板中(100 μl/孔),每组 5 个复孔,放入培养箱内培养 24 h 后更换培养液。根据 CCK-8 检测各浓度 YSJZT 和 CsA 影响 HK-2 细胞活力的结果,选择合理的 CsA 浓度诱导 HK-2 细胞损伤模型,孵育 24 h 后更换为正常培养液继续孵育 24 h。并选择合理的 YSJZT 浓度干预 CsA 诱导 HK-2 细胞损伤模型 48 h。同时设置正常对照和空白对照组(仅有培养基无细胞)。各组干预完成后,每孔分别加入 10 μl CCK-8 试剂,孵育 2 h 后酶标仪检测 450 nm 处 OD 值。根据所测 OD 值计算细胞活力(%)=(CsA 组或者 YSJZT 组-空白对照组)/(正常对照组-空白对照组)×100%。

**2.5 细胞形态学改变** 选择对数生长期的 HK-2 细胞按 10<sup>5</sup> 个/孔种入 6 孔板(2 mL/孔)。分 3 组:正常对照组(NC 组)、模型组(C 组,CsA 16.8 μmol/L)和治疗组(T 组,YSJZT 0.5 mg/mL+CsA 16.8 μmol/L),药物浓度根据“2.3”和“2.4”CCK8 检测结果选择,干预措施同“2.4”。各组干预完成后,相差显微镜下(200×)观察各组细胞形态改变。

**2.6 转录组测序** 选择对数生长期的 HK-2 细胞按 10<sup>5</sup> 个/孔种入 6 孔板(2 mL/孔)。分为 NC 组、C 组(CsA 16.8 μmol/L)和 T 组(YSJZT 0.5 mg/mL+CsA 16.8 μmol/L),YSJZT 对 CsA 诱导 HK-2 细胞损伤模型干预措施同“2.4”。各组干预完成后,采用 Trizol 法提取 HK-2 细胞总 RNA,Agilent 2100 进行 RNA 定量及质检。构建单链环状 DNA 文库,文库质检合格后通过 DNBSEQ 测序平台进行测序。由深圳华大基因股份有限公司完成。

**2.7 差异表达基因筛选及交集 DEG 功能富集分析** 采用 DESeq 进行比对组间显著差异基因分析,筛选比对组间差异表达基因,显著差异表达基因筛选条件为:|log<sub>2</sub>(fold change)|≥1;且 Qvalue<0.05。利用基因本体(Gene Ontology,GO)数据库和京都基因与基因组百科全书(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes,KEGG)数据库,对交集的 DEG 进行 GO 功能与信号通路富集分析,以校正 P<0.05 为显著性阈值。

**2.8 统计学方法** 采用 Graphpad prism 8.0 软件进行分析,实验数据中的计量资料以均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,多组间比较采用 One-Way ANOVA 分析,P<0.05 表示差异有统计学意义。

### 3 结果

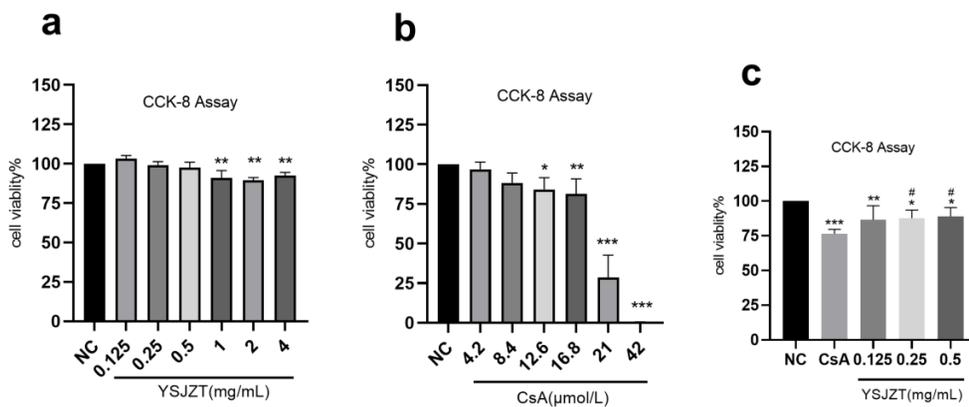
**3.1 益肾降浊汤对HK-2细胞活力的影响** 各浓度YSJZT处理48 h后,0.125 mg/mL、0.25 mg/mL、0.5 mg/mL对HK-2细胞活力无明显抑制,各组细胞活力分别为(103.20±1.98)%、(99.15±2.19)%、(97.42±3.58)%;1 mg/mL、2 mg/mL、4 mg/mL对HK-2细胞活力有统计学意义的抑制作用,各组细胞活力分别为(91.07±4.59)%、(89.45±1.70)%、(92.49±1.99)%。结果见图1a。所以后续实验选择YSJZT 0.125 mg/mL、0.25 mg/mL、0.5 mg/mL三个浓度。

**3.2 CsA对HK-2细胞活力的影响** 经过各浓度CsA处理24 h后,撤掉CsA继续培养24 h,4.2 μmol/L、8.4 μmol/L对HK-2细胞活力无抑制,各组细胞活力分别为(96.96±4.52)%、(88.36±6.24)%;12.6 μmol/L、16.8 μmol/L、21 μmol/L、42 μmol/L对HK-2细胞活力均有统计学意义的抑制,各组细胞活力分别为

(84.18±7.36)%、(81.34±9.47)%、(28.68±13.97)%、(0.33±0.21)%。结果见图1b。所以后续实验选择CsA 16.8 μmol/L诱导HK-2细胞损伤模型。

**3.3 益肾降浊汤对CsA诱导HK-2细胞损伤细胞活力的影响** 与NC组比较,CsA 16.8 μmol/L模型组HK-2细胞活力显著降低,其细胞活力为(76.48±3.16)%;与模型组比较,YSJZT 0.125 mg/mL、0.25 mg/mL、0.5 mg/mL治疗后HK-2细胞活力明显提升,各组的细胞活力分别为(86.59±10.10)%、(87.64±5.91)%、(89.70±5.15)%。结果见图1c。根据不同浓度YSJZT对CsA诱导HK-2损伤细胞活力的恢复情况,故课题后续实验选择YSJZT 0.5 mg/mL对模型进行干预。

**3.4 益肾降浊汤对CsA诱导HK-2细胞损伤形态的影响** NC组细胞形态正常;C组为CsA诱导HK-2细胞损伤模型组,相差显微镜下HK-2细胞内发现大量大小不等的空泡及部分钙化点;T组为益肾降浊汤治疗组,HK-2细胞内空泡及钙化改善不明显。见图2。



注:a.不同浓度益肾降浊汤对HK-2细胞活力的影响(n=5);b.不同浓度CsA对HK-2细胞活力的影响(n=5);c.不同浓度益肾降浊汤对CsA诱导HK-2细胞损伤细胞活力的影响(n=5)。独立实验重复3次。各组与NC组比较,\**P*<0.05,\*\**P*<0.01,\*\*\**P*<0.001;YSJZT组与CsA组比较,#*P*<0.05,##*P*<0.01。NC:正常对照组;YSJZT:益肾降浊汤组;CsA:环孢素A组

图1 益肾降浊汤对CsA诱导HK-2细胞损伤细胞活力的影响

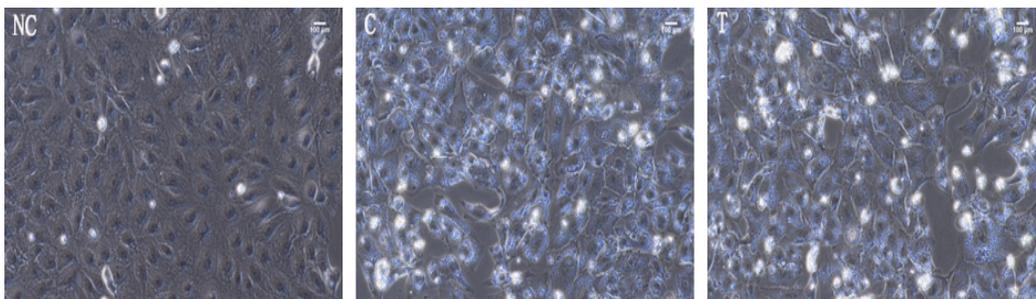
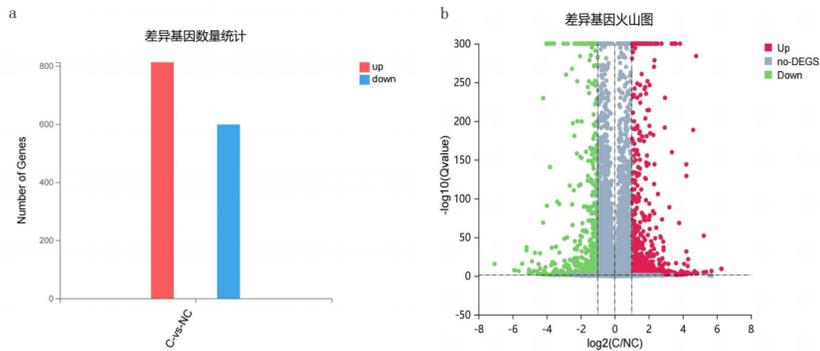


图2 相差显微镜下观察益肾降浊汤对环孢素A诱导HK-2细胞损伤形态的影响(200×)

**3.5 各对照组间差异表达基因情况** RNA-seq测序结果发现,C组与NC组比对得到显著差异表达基因1410个(其中上调基因812个、下调基因598个),见图

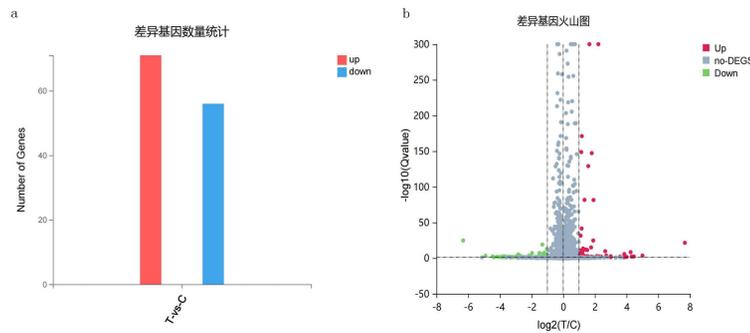
3a和图3b。T组与C组比对得到显著差异表达基因127个(其中上调基因71个、下调基因56个),见图4a和图4b。为明确YSJZT减轻CsA肾毒性的主要靶基

因,将T组比对C组上调DEG交集C组比对NC组上调DEG,得到36个DEG;将T组比对C组下调DEG交集C组比对NC组上调DEG,得到30个DEG,见图5a和图5b。



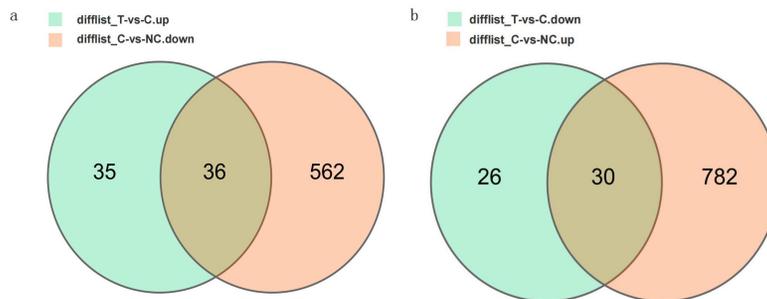
注:a. 模型组比对正常对照组差异表达基因柱状图(X轴系C组比对NC组,Y轴系相应DEG数);b. 模型组比对正常对照组差异表达基因火山图(X轴系log<sub>2</sub>转换每组比对差异倍数, Y轴系-log<sub>10</sub>转换筛选显著性值)

图3 模型组比对正常对照组差异表达基因柱状图及火山图



注:a. 治疗组比对模型组差异表达基因柱状图;b. 治疗组比对模型组差异表达基因火山图

图4 益肾降浊汤治疗组比对模型组差异表达基因柱状图及火山图



注:a. 治疗组比对模型组上调DEG交集模型组比对正常对照组下调DEG;b. 治疗组比对模型组下调DEG交集模型组比对正常对照组上调DEG

图5 不同比对组间交集基因韦恩图

**3.6 差异表达基因GO功能富集分析** 交集得到的66个DEG进行GO功能富集分析,从细胞组分(cellular component)、生物过程(biological process)和分子功能(Molecular Function)三大功能类别中各选取富

集最显著的10个GO term绘制柱状图。通过GO功能富集分析可看出益肾降浊汤治疗后显著回调的差异基因功能主要集中在生物学过程中的雌激素代谢过程( estrogen metabolic process)、表皮生长因子受体信

号通路 (epidermal growth factor receptor signaling pathway, EGFR)、视黄醇代谢过程 (retinol metabolic process); 分子功能中的雌激素酮磺基转移酶活性 (estrone sulfotransferase activity)、粒细胞巨噬细胞集落刺激因子受体结合 (granulocyte macrophage colony-stimulating factor receptor binding); 细胞组分中的主要变化在细胞外间隙 (extracellular space)、质膜的组成部分 (integral component of plasma membrane)。见图6。

结果发现,集落刺激因子2 (Colony-Stimulating Factor 2, Csf 2) 注释到分子功能的粒细胞巨噬细胞集落刺激因子受体结合中; 磺基转移酶 1E 家族成员 1 (sulfotransferase family 1E member 1, Sult1E1) 注释到分子功能的雌激素酮磺基转移酶活性及生物学过程的雌激素代谢过程中; 上皮调节蛋白 (epiregulin, EREG) 注释到生物学过程的 EGFR 信号通路中。

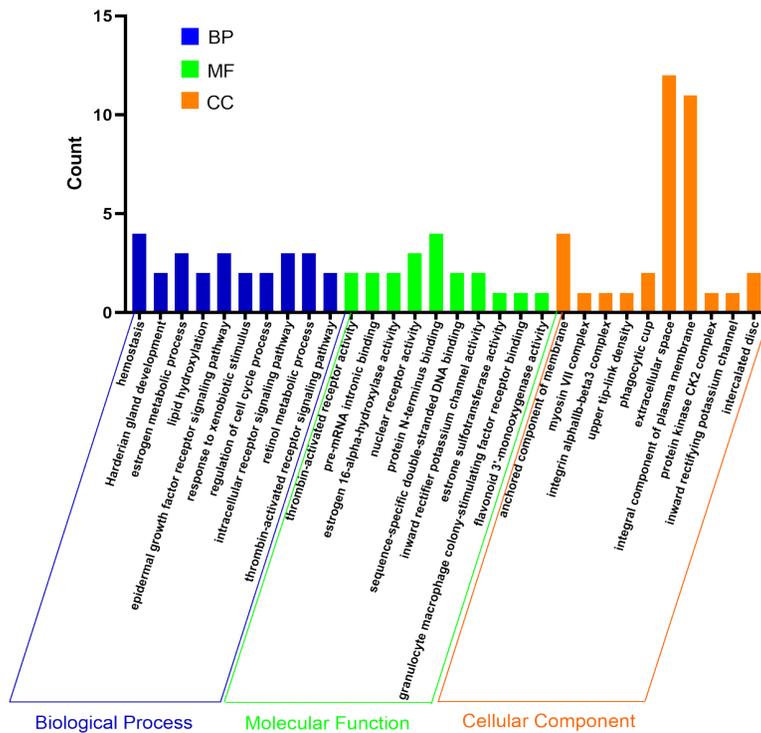


图6 交集差异表达基因的GO富集分析三大功能类别柱状图

**3.7 差异表达基因 KEGG 通路富集分析** 差异表达基因 KEGG 通路富集分析以  $P < 0.05$  为显著性阈值, 对交集基因进行 KEGG 富集分析, 以最显著变化的 11 个通路绘制气泡图, 其中涉及的信号通路包括: 甾类激素生物合成 (Steroid hormone biosynthesis)、细胞色素 P450 代谢的生物异源物质 (Metabolism of xenobiotics by cytochrome P450)、药物代谢-细胞色素 P450 (Drug metabolism-cytochrome P450)、视黄醇的代谢 (Retinol metabolism)、ErbB 信号通路 (ErbB signaling pathway)、FcεRI 信号通路 (Fc epsilon RI signaling pathway) T 细胞受体信号通路 (T cell receptor signaling pathway) 等。见图7。

结果发现, Csf 2 注释到 Fc epsilon RI 信号通路、T 细胞受体信号通路; Sult1E1 注释到甾类激素生物合成通路; EREG 注释到 ErbB 信号通路。

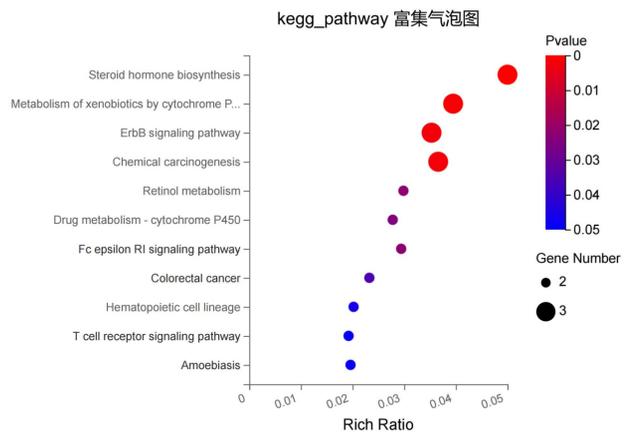


图7 交集差异表达基因 KEGG 通路富集分析气泡图

## 4 讨论

环孢素 A 肾损伤属于中医学“关格”“腰痛”等范畴<sup>[1]</sup>。环孢素 A 肾损伤系药毒伤肾,导致“脾肾亏虚”尤其是“肾精亏虚”;脾肾失运,导致湿浊内停;毒损肾络,瘀血内阻。脾肾亏虚、湿浊血瘀是 CsA 肾损伤的根本病机<sup>[1,4]</sup>。益肾降浊汤主要用于慢性肾功能衰竭“脾肾气虚,湿浊血瘀”证。方中太子参、生黄芪、生白术、茯苓健脾益气、利水渗湿;槲寄生、怀牛膝、桑椹益肾;丹参、当归、怀牛膝活血化瘀;大黄、六月雪、车前子通腑降浊解毒;陈皮健脾理气、助运降逆。诸药共奏益肾健脾,降浊化瘀之功效。在前期的基础研究中,益肾降浊汤<sup>[5]</sup>及其院内制剂益肾降浊冲剂治疗 5/6 肾切除慢性肾功能衰竭大鼠,均能改善大鼠肾功能和抑制肾小管间质纤维化<sup>[6,7]</sup>。益肾降浊汤之功效契合 CsA 肾损伤的病机。

故课题检测益肾降浊汤对环孢素 A 诱导 HK-2 细胞损伤细胞活力的影响。如图 1c 所示,发现益肾降浊汤可回调环孢素 A 引起的 HK-2 细胞活性下降,因此益肾降浊汤是减轻环孢素肾毒性的有效药物。但 YS-JZT 对环孢素 A 诱导 HK-2 细胞损伤细胞内空泡改善不明显,可能与环孢素 A 撤药后 YSJT 继续干预时间仍偏短有关。

RNA-seq 测序结果发现模型组与 NC 组比对得到显著差异表达基因 1410 个(其中上调基因 812 个、下调基因 598 个);YSJT 治疗组与模型组比对得到显著差异表达基因 127 个(其中上调基因 71 个、下调基因 56 个)。为明确 YSJT 减轻 CsA 肾毒性的主要靶基因,将 T 组比对 C 组上调 DEG 交集 C 组比对 NC 组下调 DEG,得到 36 个 DEG;将 T 组比对 C 组下调 DEG 交集 C 组比对 NC 组上调 DEG,得到 30 个 DEG。对交集的 66 个基因进行 GO 富集分析,可看出 YSJT 治疗后显著回调的差异基因功能主要集中在生物学过程中的雌激素代谢过程、表皮生长因子受体信号通路、视黄醇代谢过程,分子功能中的雌激素酮磺基转移酶活性、粒细胞巨噬细胞集落刺激因子受体结合。KEGG 通路富集分析发现,涉及信号通路有甾类激素生物合成、ErbB 信号通路、FcεR1Fc 信号通路、T 细胞受体信号通路等。提示益肾降浊汤减轻环孢素 A 肾小管细胞毒性的作用机制比较广泛。

Csf 2 在 GO 功能分类分子功能中的粒细胞巨噬细胞集落刺激因子受体结合和 KEGG pathway 富集的 Fc epsilon RI 信号通路、T 细胞受体信号通路中发挥作用。肾损伤后巨噬细胞在肾内积聚,并经历由促炎

(M1)表型向正常修复所需的选择性激活(M2)表型的转变。在人 M1 巨噬细胞与 HK-2 细胞共培养的培养基中 Csf 2 增加最多,Csf 2 只由 HK-2 细胞分泌。重组人 Csf 2 蛋白促进巨噬细胞由 M1 向 M2 表型转化。暴露于外源性 Csf 2 后,M1 巨噬细胞诱导的 HK-2 细胞凋亡和活性氧释放减弱。在盲肠结扎穿孔脓毒症小鼠腹腔注射 Csf 2 中和抗体会加重肾损伤,抑制肾小管增殖,进而降低存活率。而重组小鼠 Csf 2 蛋白可以挽救脓毒症小鼠<sup>[8]</sup>。慢性环孢素 A 肾毒性患儿肾活检组织病理发现间质巨噬细胞浸润<sup>[8]</sup>,同时在慢性 CsA 肾毒性大鼠也发现肾间质巨噬细胞浸润,与肾间质纤维化密切相关<sup>[10]</sup>。本研究结果发现,环孢素 A 干预 HK-2 细胞后 Csf 2 显著下调[log<sub>2</sub>(C/NC)=-2.043],益肾降浊汤治疗后显著回调[log<sub>2</sub>(T/C)=1.255],提示益肾降浊汤上调 Csf 2 是其减轻环孢素 A 肾毒性的可能靶点之一。

Sult1E1 在 GO 分类分子功能中的雌激素酮磺基转移酶活性、生物学过程中的雌激素代谢过程和 KEGG pathway 富集的甾类激素生物合成通路中发挥作用。研究表明雌激素可以减轻小鼠急性肾损伤(Acute Kidney Injury,AKI),雌激素 Sult1E1 通过磺化和失活雌激素在雌激素稳态中发挥重要作用,在小鼠急性肾缺血再灌注损伤模型,Sult1E1 基因敲除或对其药理抑制减轻了雌雄小鼠 AKI,与性激素的存在无关。Sult1E1 在 AKI 的发病机制中具有新的功能<sup>[11]</sup>。本研究结果发现,环孢素 A 干预 HK-2 细胞后 Sult1E1 显著上调[log<sub>2</sub>(C/NC)=3.153],益肾降浊汤治疗后显著回调[log<sub>2</sub>(T/C)=-1.177],提示益肾降浊汤抑制 Sult1E1 可能是其减轻环孢素 A 肾毒性的作用机制之一。

EREG 在 GO 分类生物学过程中的 EGFR 信号通路和 KEGG pathway 富集的 ErbB 信号通路中发挥作用。Epiregulin 与表皮生长因子(Epidermal Growth Factor,EGF)在促进肾近端小管上皮细胞(renal proximal tubular cells,RPTC)增殖和迁移方面具有相当的作用。表皮调节蛋白是 RPTC 的一种有效的有丝分裂原,可能通过激活 EGFR 和 PI3K/Akt 通路促进肾脏再生<sup>[12]</sup>。本研究结果发现,环孢素 A 干预 HK-2 细胞后 EREG 显著下调[log<sub>2</sub>(C/NC)=-3.689],益肾降浊汤治疗后显著回调[log<sub>2</sub>(T/C)=1.653],提示益肾降浊汤上调 EREG 可能是其减轻环孢素 A 肾毒性的作用机制之一。但在体内过量的 EGFR 和 ErbB 信号激活是有害的<sup>[13]</sup>,故益肾降浊汤在体内对 EREG 的调控需要进一步研究,以全面了解 YSJT 对 EREG 的调控。

综上,益肾降浊汤通过多靶点恢复环孢素 A 诱导 HK-2 细胞损伤的细胞活力,其中调控 Csf 2、Sult1E1、EREG 多个靶基因及其相关信号通路,可能是益肾降浊汤减轻环孢素 A 肾毒性的作用机制。以上分析的可能靶基因仍需要体内外实验进一步验证。

参考文献

[1] 韩 聪, 胡洪贞, 周 乐, 等. 基于“肠-肾轴”理论探讨芪黄四物汤对环孢素 A 慢性肾毒性的保护机制[J]. 中华中医药杂志, 2020,35(5): 2623-2627.

[2] 王晓磊, 文 彬, 邹 川, 等. 黄春林教授运用中医药防治环孢素 A 肾毒性的策略[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2020,22(4): 1142-1147.

[3] 田普训, 敖建华, 李 宁, 等. 器官移植免疫抑制剂临床应用技术规范(2019 版)[J]. 器官移植, 2019,10(3):213-226.

[4] 钟燧琴, 余 亨, 鲁科达. 中医药防治环孢素肾毒性研究进展[J]. 浙江中西医结合杂志, 2021,31(1):89-92.

[5] 张喜奎, 吴起浩. 益肾降浊汤对慢性肾功能衰竭大鼠肾间质纤维化的影响[J]. 河南中医, 2009,29(5):451-454.

[6] 郑敏麟, 骆丹岚, 阮诗玮. 益肾降浊冲剂对慢性肾功能衰竭肾脏的保护作用及其对肾脏自由基、肾小管 Caspase-3 和 Caspase-9 表达的影响[J]. 中华中医药杂志, 2019,34(8):3460-3464.

[7] XU Y, RUAN S, LIN J, et al. Yishen Jiangzhuo Granules affect tubulointerstitial fibrosis via a mitochondrion-mediated apoptotic pathway.[J]. Chinese journal of integrative medicine, 2015,21(12):928-937.

[8] LI Y, ZHAI P, ZHENG Y, et al. Csf2 Attenuated Sepsis-Induced Acute Kidney Injury by Promoting Alternative Macrophage Transition[J]. Front Immunol, 2020,11:1415.

[9] LIM B J, KIM P K, HONG S W, et al. Osteopontin expression and microvascular injury in cyclosporine nephrotoxicity[J]. Pediatr Nephrol, 2004, 19(3):288-294.

[10] TAO Y, HU L, LI S, et al. Tranilast attenuates chronic cyclosporine nephrotoxicity in rats[J]. Transplant Proc, 2009,41(10):4373-4375.

[11] SILVA B A, ZHOU D, XIE Y, et al. Inhibition of Estrogen Sulfotransferase (SULT1E1/EST) Ameliorates Ischemic Acute Kidney Injury in Mice [J]. J Am Soc Nephrol, 2020,31(7):1496-1508.

[12] ZHUANG S, YAN Y, DAUBERT R A, et al. Epiregulin promotes proliferation and migration of renal proximal tubular cells[J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2007,293(1):F219-F226.

[13] MELDERIS S, HAGENSTEIN J, WARKOTSCH M T, et al. Amphiregulin Aggravates Glomerulonephritis via Recruitment and Activation of Myeloid Cells[J]. J Am Soc Nephrol, 2020,31(9):1996-2012.

(收稿日期:2020-04-06)

(本文编辑:金冠羽)

(上接第 17 页)

经年于门诊复诊,查尿常规:尿蛋白(-),尿蛋白定量 0.2 g/L,尿潜血(±),红细胞 5 个/HP;自身抗体:抗核抗体(ANA)、抗 ds-DNA、抗 RNA-Sm 抗体、抗 Sm 抗体均为阴性;补体 C3:1.62 g/L,C4:0.30 g/L。系统性红斑狼疮未见复发,随证加减易方,肾功能稳定。

按 所谓“正气存内,邪不可干”,观本案病者,先天禀赋欠佳,偶因外感六淫之邪侵袭肌表,内外相召,郁久化热成毒,热毒伤络,皮肤受损为先,渐及关节、筋骨、脏腑,内外合邪导致发病,证属本虚标实,本虚包括肝肾阴虚,标实为热毒炽盛、气滞血瘀。外淫六邪,风热以化毒,湿热以酿毒,循经上行,血络留瘀,发为面部红斑、痤疮;热灼阴液,则口干口苦;肝肾亏虚,加之湿热蕴毒下焦,无以泌清别浊,精微下漏,故见小便色黄、蛋白尿。《医学心语》有言:“浊之因有二种:一由肾虚败精流注;一由湿热渗入膀胱。”阮教授临证经验丰富,自拟解毒健肾汤,清热解毒,活血祛瘀,益气养阴。全方由鱼腥草、鹿衔草、益母草、白花蛇舌草、金银花、半枝莲、褚实子、汉防己、太子参、麦冬、沙苑子、枸杞组成,临床随证加减。本案鱼腥草、白花蛇舌草清热解毒;太子参、麦冬益气养阴;鹿衔草、生地黄

补肾;益母草清热利水;赤白芍、茜草活血安络。诸药共奏祛邪不伤正,扶正不留邪之功,标本兼治。

参考文献

[1] MOHAN C, PUTTERMAN C. Genetics and pathogenesis of systemic lupus erythematosus and lupus nephritis[J]. Nature Reviews Nephrology, 2015, 11(6):329-341.

[2] 姚春鹏,姚 丹. 象思维与六腑命名[J]. 中医杂志,2019,60(22):1891-1894.

[3] 韩金荣. 三焦理论梳理[D]. 济南:山东中医药大学,2011.

[4] 李 雷. 从三焦辨治系统性红斑狼疮规律[D]. 沈阳:辽宁中医药大学,2014.

[5] 于建春,曹晓君,刘云鹤,等. 近十年三焦理论研究概述[J]. 中医杂志, 2017,58(19):1621-1623, 1628.

[6] 周 楚,许勇镇,丘余良. 阮诗玮运用正邪辨证法论治慢性肾脏病 [J]. 广西中医药, 2020,43(2):35-37.

[7] 杨 爽,魏葆琳,孙增涛,等. 基于肺感染后机体损伤探讨正邪理论与免疫失衡的关系[J]. 中华中医药杂志,2014,29(11):3521-3523.

[8] 陈晓玲,许勇镇,阮诗玮. 阮诗玮运用当归芍药散临证思路探讨[J]. 中医药通报,2018,17(3):9-11, 14.

(收稿日期:2020-09-18)

(本文编辑:金冠羽)