

# 雷公藤多苷调控 HIF-1 $\alpha$ /miR-155-5p/Nrf2 通路改善大鼠肾病综合征的机制研究<sup>Δ</sup>

陶伊璠<sup>1,2\*</sup>, 宋纯东<sup>1,2#</sup>, 王旭<sup>1,2</sup>, 张冲<sup>1,2</sup>, 苏颖<sup>1,2</sup>, 郑溪栋<sup>1,2</sup>, 姜浩然<sup>1,2</sup> (1. 河南中医药大学第一附属医院儿科医院肾病紫癜二病区, 郑州 450000; 2. 河南中医药大学儿科医学院, 郑州 450046)

中图分类号 R965 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2026)05-0602-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2026.05.09



**摘要** 目的 研究雷公藤多苷(TWM)对大鼠肾病综合征的改善作用机制。方法 采用尾静脉注射阿霉素的方法复制肾病综合征模型大鼠。将造模成功的大鼠随机分为模型组(蒸馏水)、泼尼松组(10 mg/kg)和 TWM 高、低剂量组(10、5 mg/kg),另设置不造模的空白组(蒸馏水),每组9只。各组大鼠灌胃相应药液/蒸馏水,每天1次,连续6周。观察大鼠肾组织病理学形态;检测大鼠24 h尿蛋白(24 h-UTP)和血清中生化指标[白蛋白(ALB)、血尿素氮(BUN)、肌酐(SCr)、总胆固醇(CHOL)、甘油三酯(TG)]水平;检测大鼠肾组织中氧化应激指标[超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)]水平;检测大鼠肾组织中缺氧诱导因子1 $\alpha$ (HIF-1 $\alpha$ )/微小RNA-155-5p(miR-155-5p)/核因子E<sub>2</sub>相关因子2(Nrf2)信号通路相关mRNA和蛋白表达水平。结果 与空白组比较,模型组大鼠肾组织结构紊乱,肾小球少量坏死,肾小管上皮细胞水肿;24 h-UTP,血清中SCr、BUN、CHOL、TG水平,肾组织中MDA水平,肾组织中HIF-1 $\alpha$ 、Kelch样ECH相关蛋白1(Keap1)mRNA和蛋白表达水平以及miR-155-5p表达水平均显著升高( $P < 0.05$ );血清中ALB水平、肾组织中SOD水平以及Nrf2 mRNA和蛋白表达水平均显著降低( $P < 0.05$ )。与模型组比较,TWM高、低剂量组大鼠肾损伤明显改善,上述定量指标水平均显著逆转( $P < 0.05$ )。结论 TWM可通过调控HIF-1 $\alpha$ /miR-155-5p/Nrf2信号通路,减轻氧化应激损伤,从而改善大鼠肾病综合征。

**关键词** 雷公藤多苷;肾病综合征;氧化应激;HIF-1 $\alpha$ /miR-155-5p/Nrf2信号通路

## Mechanistic study of *Tripterygium wilfordii* multiglucoside in improving nephrotic syndrome via regulating the HIF-1 $\alpha$ /miR-155-5p/Nrf2 pathway

TAO Yifan<sup>1,2</sup>, SONG Chundong<sup>1,2</sup>, WANG Xu<sup>1,2</sup>, ZHANG Chong<sup>1,2</sup>, SU Ying<sup>1,2</sup>, JIA Xidong<sup>1,2</sup>, JIANG Haoran<sup>1,2</sup> (1. Second Ward of Nephropathy Purpura, Pediatric Hospital, the First Affiliated Hospital of Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450000, China; 2. School of Pediatrics, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China)

**ABSTRACT** **OBJECTIVE** To study the improvement effect and mechanism of *Tripterygium wilfordii* multiglucoside (TWM) on nephrotic syndrome in rats. **METHODS** The nephrotic syndrome model was established by intravenous injection of adriamycin via the tail vein. The modeling rats were randomly divided into the model group (distilled water), prednisone group (10 mg/kg), and TWM high- and low-dose groups (10 and 5 mg/kg, respectively). Additionally, blank group (distilled water) without model induction was established. Each group consisted of 9 rats. Rats in each group were administered the corresponding drugs or distilled water by gavage, once a day, for 6 consecutive weeks. The histopathological morphology of kidney tissues in rats was observed; the levels of 24-hour urinary protein (24 h-UTP) and serum biochemical indicators [albumin (ALB), blood urea nitrogen (BUN), serum creatinine (SCr), cholesterol (CHOL), and triglyceride (TG)] in rats were determined; the levels of oxidative stress indicators [superoxide dismutase (SOD), malondialdehyde (MDA)] in kidney tissue of rats were determined; expressions of

hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ )/microRNA-155-5p (miR-155-5p)/nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2) signaling pathway-related mRNA and protein in the renal tissues of rats were detected. **RESULTS** Compared with the blank group, the rats in the model group exhibited disordered renal tissue structure, with a small amount of glomerular necrosis and edema of the renal tubular epithelial cells. 24 h-UTP, serum levels of SCr, BUN, CHOL and TG, MDA content, mRNA and protein expressions of HIF-1 $\alpha$  and

**Δ 基金项目** 国家自然科学基金面上项目(No.82074493);河南省卫生健康委员会河南省中医药科学研究专项重点课题(No.2024ZY1002);河南省卫生健康委员会国家中医药传承创新中心联合共建科研专项立项(No.2024ZXZX1019);河南中医药大学“仲景三名人才工程”仲景领军名医项目(No.河中医政[2025]116号)

\* 第一作者 硕士研究生。研究方向:儿童肾脏病及风湿免疫性疾病。E-mail:t17518874849@163.com

# 通信作者 教授,主任医师,博士生导师,博士。研究方向:儿童肾脏病及风湿免疫性疾病。E-mail:scd670918@126.com

Keap1 as well as the expression of miR-155-5p in renal tissues were increased significantly ( $P<0.05$ ). Serum level of ALB, SOD level in renal tissue as well as mRNA and protein expressions of Nrf2 were decreased significantly ( $P<0.05$ ). Compared with the model group, TWM high-dose and low-dose groups exhibited significant improvements in renal injury, with notable reversals in the levels of the above quantitative indicators ( $P<0.05$ ). **CONCLUSIONS** TWM can alleviate oxidative stress-induced damage and thereby improve nephrotic syndrome in rats by regulating the HIF-1 $\alpha$ /miR-155-5p/Nrf2 signaling pathway.

**KEYWORDS** *Tripterygium wilfordii* multiglucoside; nephrotic syndrome; oxidative stress; HIF-1 $\alpha$ /miR-155-5p/Nrf2 signaling pathway

肾病综合征是由多种病因引起的以大量蛋白尿、低蛋白血症、水肿伴或不伴高脂血症为特点的一种临床综合征<sup>[1]</sup>。目前,针对肾病综合征的临床治疗方法常以糖皮质激素及免疫抑制剂为主,但是长期应用易引发代谢紊乱、骨质疏松、生长发育迟缓、胃黏膜损伤及肝肾功能损伤等多种不良反应,甚至出现激素抵抗、停药复发等一系列临床问题,从而严重影响患者的生活质量<sup>[2]</sup>。因此,开发新的治疗肾病综合征的药物具有重要意义。

中医药治疗安全、疗效持久且副作用小的独特优势,为肾病综合征的治疗提供了新的研究方向。雷公藤多苷(*Tripterygium wilfordii* multiglucoside, TWM)是中药雷公藤的活性成分,具有抗炎、抗肿瘤、抗氧化及调节免疫等药理作用,对肾脏相关疾病具有良好疗效<sup>[3]</sup>。本课题组前期研究发现,TWM不仅可以降低蛋白尿水平,还可以延缓肾功能衰退,具有较高的安全性<sup>[4]</sup>。目前,TWM已被临床用于治疗肾病综合征,但其具体作用机制尚不明确。研究发现,氧化应激损伤是肾病综合征发生的重要病理基础,当机体内氧化与抗氧化平衡状态被打破后可产生较多氧自由基,从而诱导氧化应激损伤,最终导致肾病综合征的发生<sup>[5-6]</sup>。缺氧诱导因子1 $\alpha$ (hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$ , HIF-1 $\alpha$ )是细胞缺氧状态下高度敏感的转录因子,其可直接结合微小RNA-155-5p(microRNA-155-5p, miR-155-5p)启动子缺氧反应元件,抑制核因子E<sub>2</sub>相关因子2(nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Nrf2)的活化,从而诱导氧化应激损伤<sup>[7-8]</sup>。相关研究证实,抑制HIF-1 $\alpha$ 、miR-155-5p表达,促进Nrf2表达,可减轻氧化应激损伤<sup>[9]</sup>。由此可知,调控HIF-1 $\alpha$ /miR-155-5p/Nrf2信号通路对改善肾病综合征具有重要意义。基于此,本研究拟基于HIF-1 $\alpha$ /miR-155-5p/Nrf2信号通路,探究TWM对肾病综合征大鼠具体的作用机制,以期为临床治疗肾病综合征提供新的参考。

## 1 材料

### 1.1 主要仪器

RT-6100型酶标仪购自深圳雷杜生命科学股份有限公司;D3024R台式高速冷冻型微量离心机购自大龙兴创实验仪器(北京)股份有限公司;CFX Connect型荧光定量聚合酶链式反应(PCR)仪购自美国Bio-Rad公司;

ETC811型PCR仪购自北京东胜创新生物科技有限公司;Eclipse Ci-L型光学显微镜购自日本Nikon公司;AU5800型全自动生化分析仪购自美国Beckman Coulter公司。

### 1.2 主要药品与试剂

TWM片(批号231206,规格10 mg/片)购自江苏美通制药有限公司;醋酸泼尼松片(批号24060231,规格10 mg/片)购自国药集团容生制药有限公司;阿霉素(批号D8740)购自北京索莱宝科技有限公司;兔源 $\beta$ -肌动蛋白( $\beta$ -actin)、HIF-1 $\alpha$ 、Nrf2、Kelch样ECH相关蛋白1(Kelch-like ECH-associated protein 1, Keap1)抗体和辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔免疫球蛋白G二抗以及超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)检测试剂盒(货号分别为GB15003、GB111339、GB115673、GB113747、GB23303、G4306、G4302)购自武汉赛维尔生物科技有限公司。

### 1.3 实验动物

本研究所用动物为6周龄雄性SPF级SD大鼠,共45只,体重180~220 g,购自济南朋悦实验动物繁育有限公司,动物生产许可证号为SCXK(鲁)2022-0006。所有大鼠均饲养于河南中医药大学第一附属医院动物实验中心,饲养环境温度18~22℃、湿度55%~65%、12 h明/12 h暗。本研究方案由河南中医药大学第一附属医院实验动物福利伦理委员会审查并批准,批准编号为YFYDW2024037。

## 2 方法

### 2.1 造模、分组及给药

将大鼠适应性喂养1周后,取36只大鼠进行造模处理,具体方法如下:大鼠于第1天和第8天尾静脉注射3 mg/kg的阿霉素以复制肾病综合征模型;继续饲养2周后,检测大鼠24 h尿蛋白(24 hour urinary protein, 24 h-UTP)水平,当24 h-UTP水平 $\geq 50$  mg/kg时,则表明肾病综合征模型复制成功<sup>[10]</sup>。最后,大鼠均造模成功。将造模成功的大鼠随机分为模型组、泼尼松组(10 mg/kg,剂量根据临床等效剂量换算)和TWM高、低剂量组(10、5 mg/kg,低剂量根据临床等效剂量换算),另设置不造模的空白组,每组9只。各给药组大鼠灌胃相应药液,空白

组和模型组大鼠灌胃等体积蒸馏水,每天1次,连续6周。

## 2.2 样本采集及处理

末次灌胃给药后,所有大鼠禁食不禁水24 h,然后放入代谢笼中收集24 h尿液。尿液收集完毕后,麻醉大鼠,于腹主动脉取血并分离上层血清,保存备用。取血完成后,处死大鼠,然后剥离其双侧肾脏,将一部分肾组织置于4%多聚甲醛溶液中固定,剩余部分经液氮快速冷冻后于-80℃冰箱中冻存,待检。

## 2.3 大鼠肾组织病理学形态观察

取“2.2”项下于4%多聚甲醛溶液中固定的肾组织适量,经脱水、石蜡包埋、切片(厚度约4 μm)后,进行苏木素-伊红(HE)染色;将染色后的切片脱水、封片后,采用光学显微镜观察大鼠肾组织病理学形态,如肾小球、肾小管、肾间质等的病理学改变。

## 2.4 大鼠24 h-UTP及血清中生化指标水平检测

取“2.2”项下收集的24 h尿液和血清样品,采用全自动生化分析仪检测大鼠尿液中24 h-UTP水平和血清中白蛋白(albumin, ALB)、血尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)、肌酐(serum creatinine, SCr)、总胆固醇(total cholesterol, CHOL)、甘油三酯(triglyceride, TG)水平。

## 2.5 大鼠肾组织中氧化应激指标检测

每组取3只大鼠的肾组织适量,根据试剂盒说明书方法操作,采用生化比色法检测其中SOD、MDA水平。

## 2.6 大鼠肾组织中HIF-1α/miR-155-5p/Nrf2信号通路相关mRNA表达检测

每组取3只大鼠的肾组织适量,冰上研磨后,提取总RNA,再反转录为cDNA。以cDNA为模板进行PCR扩增,PCR扩增体系为cDNA模板2.0 μL,SYBR Green qPCR预混液7.5 μL,正、反向引物各1.5 μL,无酶无菌水4.0 μL。PCR扩增条件为95℃预变性30 s;95℃变性15 s,60℃退火/延伸30 s,共40个循环。以GAPDH为内参,采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算目的基因mRNA的表达水平。本研究引物序列由武汉赛维尔生物科技有限公司设计并合成,具体信息见表1。

## 2.7 大鼠肾组织中HIF-1α/miR-155-5p/Nrf2信号通路相关蛋白表达检测

每组取3只大鼠的肾组织适量,加入RIPA裂解液裂解,于4℃条件下以12 000 r/min离心10 min,提取总蛋白;采用BCA法测定蛋白浓度后,将蛋白进行变性处理;取变性后蛋白适量,进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳、转膜,再于室温下以5%的脱脂牛奶封闭30 min;加入HIF-1α、Keap1、Nrf2、β-actin一抗(稀释比例分别为1:1 000、1:1 000、1:1 000、1:5 000),于4℃下

表1 PCR引物序列和扩增产物长度

引物名称	引物序列(5'→3')	扩增产物长度/bp
HIF-1α	正向:CTTGGAAACGAGTGAAAGGATACA	183
	反向:GGTTTCTGCTGCCTTGTATGG	
Keap1	正向:GAGATATGAGCCAGATCGAGACG	183
	反向:GGTGAATCATCCGCCACTCAT	
GAPDH	正向:CTGGAGAAACCTGCCAAGTATG	138
	反向:GGTGAAGAATGGGAGTTGCT	
miR-155-5p	正向:ACACTCCAGCTGGGTTAATGCTAATTGTGAT	67
	反向:TGGTGTCGTGGAGTCG	
Nrf2	正向:AATGCCACCGCCAGGACT	100
	反向:TCAAACACTTCTGACTTACCCC	
U6(内参)	正向:CTCGCTTCGGCAGCACA	94
	反向:AACGCTTCCAGAAATTTGCGT	

孵育过夜;次日,加入相应二抗(稀释比例为1:5 000),于室温下孵育30 min;经发光液显色处理后,置于化学发光仪中曝光显影,采用AIWBwell™软件分析蛋白条带灰度值,以目的蛋白与内参蛋白(β-actin)的灰度值比值,表示目的蛋白的表达水平。

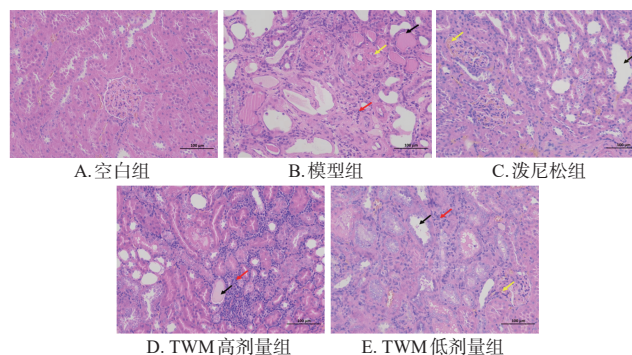
## 2.8 统计学方法

采用SPSS 27.0软件进行统计分析。符合正态分布的数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,若方差齐,多组间比较采用单因素方差分析,进一步组间两两比较采用LSD-*t*检验;若方差不齐,则采用Dunnett's *T*3法进行组间两两比较。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

## 3 结果

### 3.1 TWM对大鼠肾组织病理学形态的影响

空白组大鼠肾组织结构清晰,未见明显炎症细胞浸润,肾小球分布均匀,肾小管上皮细胞圆润、饱满,肾间质未见明显增生。模型组大鼠肾组织结构紊乱,可见较多纤维结缔组织增生伴淋巴细胞浸润;肾小球少量坏死,局部出现肾小球毛细血管淤血,且伴有基质增加;肾小管上皮细胞水肿,细胞质疏松淡染,大量肾小管扩张,且形成蛋白管型。泼尼松组和TWM各剂量组大鼠肾小管上皮水肿、肾小管扩张等病理变化相较于模型组均明显改善。结果见图1。



注:黑色箭头所指为肾小管扩张;黄色箭头所指为肾小球毛细血管淤血;红色箭头所指为淋巴细胞浸润。

图1 各组大鼠肾组织病理学形态的显微图(HE染色)

### 3.2 TW M对大鼠24 h-UTP和血清中生化指标的影响

与空白组比较,模型组大鼠24 h-UTP和血清中SCr、BUN、CHOL、TG水平均显著升高( $P<0.05$ ),ALB水平均显著降低( $P<0.05$ );与模型组比较,泼尼松组和TWM高、低剂量组大鼠24 h-UTP和血清中SCr、BUN、CHOL、TG水平均显著降低( $P<0.05$ ),ALB水平均显著升高( $P<0.05$ )。结果见表2。

表2 各组大鼠24 h-UTP和血清中生化指标水平比较( $\bar{x} \pm s, n=9$ )

组别	24 h-UTP/ (mg/kg)	ALB/ (g/L)	SCr/ ( $\mu$ mol/L)	BUN/ (mmol/L)	CHOL/ (mmol/L)	TG/ (mmol/L)
空白组	7.03 $\pm$ 5.35	36.23 $\pm$ 2.32	24.32 $\pm$ 2.34	6.68 $\pm$ 0.98	1.49 $\pm$ 0.11	0.61 $\pm$ 0.15
模型组	185.94 $\pm$ 15.05 <sup>a</sup>	16.14 $\pm$ 1.23 <sup>a</sup>	42.04 $\pm$ 3.96 <sup>a</sup>	21.73 $\pm$ 3.70 <sup>a</sup>	7.14 $\pm$ 0.34 <sup>a</sup>	2.66 $\pm$ 0.94 <sup>a</sup>
泼尼松组	112.48 $\pm$ 5.98 <sup>b</sup>	25.94 $\pm$ 1.89 <sup>b</sup>	32.00 $\pm$ 4.79 <sup>b</sup>	9.04 $\pm$ 1.20 <sup>b</sup>	2.47 $\pm$ 0.70 <sup>b</sup>	0.98 $\pm$ 0.21 <sup>b</sup>
TWM高剂量组	114.19 $\pm$ 7.78 <sup>b</sup>	22.97 $\pm$ 3.14 <sup>b</sup>	34.08 $\pm$ 5.15 <sup>b</sup>	10.10 $\pm$ 1.29 <sup>b</sup>	2.64 $\pm$ 0.78 <sup>b</sup>	1.24 $\pm$ 0.36 <sup>b</sup>
TWM低剂量组	131.13 $\pm$ 8.55 <sup>b</sup>	25.29 $\pm$ 1.95 <sup>b</sup>	37.72 $\pm$ 2.69 <sup>b</sup>	11.94 $\pm$ 0.58 <sup>b</sup>	4.22 $\pm$ 0.52 <sup>b</sup>	1.32 $\pm$ 0.25 <sup>b</sup>

a:与空白组比较, $P<0.05$ ;b:与模型组比较, $P<0.05$ 。

### 3.3 TW M对大鼠肾组织中氧化应激指标的影响

与空白组比较,模型组大鼠肾组织中SOD水平显著降低( $P<0.05$ ),MDA水平显著升高( $P<0.05$ );与模型组比较,泼尼松组和TWM高、低剂量组大鼠肾组织中SOD水平显著升高,MDA水平显著降低( $P<0.05$ )。结果见表3。

表3 各组大鼠肾组织中SOD、MDA水平比较( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

组别	SOD	MDA
空白组	39.39 $\pm$ 3.93	4.06 $\pm$ 0.35
模型组	15.77 $\pm$ 1.02 <sup>a</sup>	29.07 $\pm$ 2.62 <sup>a</sup>
泼尼松组	31.85 $\pm$ 2.20 <sup>b</sup>	9.67 $\pm$ 0.84 <sup>b</sup>
TWM高剂量组	31.19 $\pm$ 8.77 <sup>b</sup>	11.18 $\pm$ 0.77 <sup>b</sup>
TWM低剂量组	23.98 $\pm$ 0.45 <sup>b</sup>	17.26 $\pm$ 1.78 <sup>b</sup>

a:与空白组比较, $P<0.05$ ;b:与模型组比较, $P<0.05$ 。

### 3.4 TW M对大鼠肾组织中HIF-1 $\alpha$ /miR-155-5p/Nrf2通路相关mRNA表达的影响

与空白组比较,模型组大鼠肾组织中HIF-1 $\alpha$ 、Keap1 mRNA和miR-155-5p表达水平均显著升高,Nrf2 mRNA表达水平显著降低( $P<0.05$ );与模型组比较,泼尼松组和TWM高、低剂量组大鼠肾组织中HIF-1 $\alpha$ 、Keap1 mRNA和miR-155-5p表达水平均显著降低,Nrf2 mRNA表达水平均显著升高( $P<0.05$ )。结果见表4。

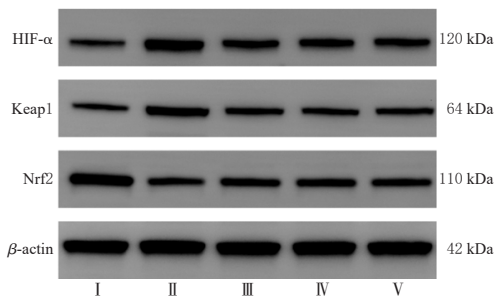
表4 各组大鼠肾组织中HIF-1 $\alpha$ /miR-155-5p/Nrf2通路相关mRNA表达水平比较( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

组别	HIF-1 $\alpha$ mRNA	miR-155-5p	Nrf2 mRNA	Keap1 mRNA
空白组	1.00 $\pm$ 0.00	1.00 $\pm$ 0.00	1.00 $\pm$ 0.00	1.00 $\pm$ 0.00
模型组	2.34 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup>	1.89 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>	0.72 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>	1.59 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>
泼尼松组	1.11 $\pm$ 0.05 <sup>b</sup>	1.30 $\pm$ 0.03 <sup>b</sup>	1.48 $\pm$ 0.06 <sup>b</sup>	0.82 $\pm$ 0.04 <sup>b</sup>
TWM高剂量组	1.55 $\pm$ 0.03 <sup>b</sup>	1.35 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>	1.38 $\pm$ 0.07 <sup>b</sup>	0.98 $\pm$ 0.05 <sup>b</sup>
TWM低剂量组	1.67 $\pm$ 0.03 <sup>b</sup>	1.61 $\pm$ 0.04 <sup>b</sup>	1.12 $\pm$ 0.04 <sup>b</sup>	1.21 $\pm$ 0.05 <sup>b</sup>

a:与空白组比较, $P<0.05$ ;b:与模型组比较, $P<0.05$ 。

### 3.5 TW M对大鼠肾组织中HIF-1 $\alpha$ /miR-155-5p/Nrf2通路相关蛋白表达的影响

与空白组比较,模型组大鼠肾组织中HIF-1 $\alpha$ 、Keap1蛋白表达水平均显著升高,Nrf2蛋白表达水平显著降低( $P<0.05$ );与模型组比较,泼尼松组和TWM高、低剂量组大鼠肾组织中HIF-1 $\alpha$ 、Keap1蛋白表达水平均显著降低,Nrf2蛋白表达水平显著升高( $P<0.05$ )。结果见图2、表5。



I:空白组;II:模型组;III:泼尼松组;IV:TWM高剂量组;V:TWM低剂量组。

图2 各组大鼠肾组织中HIF-1 $\alpha$ 、Keap1、Nrf2蛋白表达的电泳图

表5 各组大鼠肾组织中HIF-1 $\alpha$ 、Keap1、Nrf2蛋白表达水平比较( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

组别	HIF-1 $\alpha$ / $\beta$ -actin	Nrf2/ $\beta$ -actin	Keap1/ $\beta$ -actin
空白组	0.42 $\pm$ 0.02	0.91 $\pm$ 0.01	0.37 $\pm$ 0.02
模型组	0.87 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	0.42 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	0.69 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>
泼尼松组	0.58 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>	0.55 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>	0.45 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>
TWM高剂量组	0.57 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>	0.53 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>	0.44 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>
TWM低剂量组	0.60 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>	0.53 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>	0.46 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>

a:与空白组比较, $P<0.05$ ;b:与模型组比较, $P<0.05$ 。

## 4 讨论

肾病综合征患者的肾小球基底膜受损、尿蛋白丢失、肾小管间质纤维化,导致肾小球滤过率下降和肾功能进行性减退,进而进展为终末期肾病<sup>[1]</sup>。氧化应激是导致肾小球滤过屏障损伤、足细胞凋亡和纤维化的重要分子机制<sup>[2]</sup>。研究发现,氧化与抗氧化失衡可诱导肾病综合征患者肾脏堆积大量活性氧,从而加重患者的临床症状<sup>[3]</sup>。因此,抗氧化应激作用可能会减轻肾损伤,改善肾脏功能,减缓肾病综合征进展。

TWM是从雷公藤去皮根部提取的复合物,含有多种活性成分,包括二萜内酯类(雷公藤甲素等)、生物碱类(雷公藤吉碱等)、三萜类(雷公藤红素等),具有抗炎、调节免疫、抗氧化应激等药理作用,有“中草药激素”之誉<sup>[3]</sup>。据报道,TWM能在免疫球蛋白A肾病、糖尿病肾病、膜性肾病等多种肾脏疾病中发挥治疗作用<sup>[14-15]</sup>。MDA、SOD是反映机体氧化应激水平的经典标志物,可直观评估组织氧化损伤程度<sup>[14]</sup>。本研究结果显示,经不同剂量TWM干预后,大鼠肾损伤减轻,肾功能指标(24

h-UTP、SCr、BUN)、血脂指标(CHOL、TG)以及MDA水平均显著降低,SOD水平显著升高。这提示TWM可通过抑制氧化应激,改善肾病综合征大鼠的肾损伤。

据报道,HIF-1 $\alpha$ 抑制剂可通过抑制氧化应激反应,减轻慢性肾脏病大鼠肾损伤<sup>[16]</sup>。在缺氧或应激微环境中,HIF-1 $\alpha$ 被激活并转录上调miR-155-5p表达,miR-155-5p可通过靶向结合Nrf2的3'-UTR区域,抑制Nrf2的表达<sup>[17]</sup>。Keap1/Nrf2信号通路是维持细胞内部氧化与抗氧化平衡的核心通路,在氧化应激条件下,Nrf2与Keap1解偶联并转入细胞核,启动下游抗氧化酶的表达,以维持细胞内部的氧化与抗氧化平衡;Keap1作为Nrf2的关键负调控蛋白,可间接反映Nrf2的表达与活化状态<sup>[18]</sup>。本研究结果显示,经不同剂量的TWM干预后,大鼠肾组织中HIF-1 $\alpha$ 、Keap1 mRNA和蛋白表达水平以及miR-155-5p表达水平均显著降低,Nrf2 mRNA和蛋白表达水平均显著升高。这提示TWM对大鼠肾病综合征的改善作用与调控HIF-1 $\alpha$ /miR-155-5p/Nrf2信号通路有关。

综上所述,TWM可通过调控HIF-1 $\alpha$ /miR-155-5p/Nrf2信号通路,减轻氧化应激损伤,从而改善大鼠肾病综合征。然而,本研究仅对该通路进行验证,其作用机制是否与其他通路相关,仍需进一步研究。

#### 参考文献

- [1] FRĂȚILĂ V G, LUPUȘORU G, SOROHAN B M, et al. Nephrotic syndrome: from pathophysiology to novel therapeutic approaches[J]. *Biomedicines*, 2024, 12(3):569.
- [2] 《湖北省儿童原发性肾病综合征中西医结合诊疗专家共识》编写委员会,王林群,杨凤杰. 湖北省儿童原发性肾病综合征中西医结合诊疗专家共识[J]. *世界中医药*, 2025, 20(17):3003-3011.
- [3] 方虹,宋纯东,张守琳,等. 雷公藤多苷调节SIRT1/Nrf2/HO-1通路改善IgA肾病大鼠肾损伤的机制[J]. *医药导报*, 2025, 44(6):847-853.
- [4] 宋珂,宋纯东,宋丹,等. 基于内质网应激探讨雷公藤多苷治疗IgA肾病作用机制[J]. *世界中医药*, 2025, 20(2):246-251.
- [5] MULAT S Y, MIHAJLOVIĆ M, ANTONIĆ T, et al. Pediatric nephrotic syndrome: the interplay of oxidative stress and inflammation[J]. *J Med Biochem*, 2024, 43(4):424-435.
- [6] 孔淑君,陈卫东. 慢性肾脏病氧化应激的研究进展[J]. *国际泌尿系统杂志*, 2020, 40(4):759-762.
- [7] 周志豪,孙凡丽,江秉华. 缺氧诱导因子1在高原病中的作用机制的研究进展[J]. *四川大学学报(医学版)*, 2024, 55(6):1424-1435.
- [8] YANG S A, RHEE K H, YOO H J, et al. Ochratoxin A induces endoplasmic reticulum stress and fibrosis in the kidney via the HIF-1 $\alpha$ /miR-155-5p link[J]. *Toxicol Rep*, 2023, 10:133-145.
- [9] LIU G Y, HE L Y, YANG X M, et al. microRNA-155-5p aggravates adriamycin-induced focal segmental glomerulosclerosis through targeting Nrf2[J]. *Nephron*, 2023, 147(2):108-119.
- [10] 黄继汉,黄晓晖,陈志扬,等. 药理试验中动物间和动物与人体间的等效剂量换算[J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2004, 9(9):1069-1072.
- [11] 徐婷婷,刘嘉贤,张霞,等. 中医药治疗肾病综合征的作用机制及研究进展[J/OL]. *辽宁中医杂志*, 2025:1-23 [2026-02-11]. <https://link.cnki.net/urlid/21.1128.r.20251027.0925.012>.
- [12] ZHU Y T, WAN C, LIN J H, et al. Mitochondrial oxidative stress and cell death in podocytopathies[J]. *Biomolecules*, 2022, 12(3):403.
- [13] JHA J C, BANAL C, CHOW B S M, et al. Diabetes and kidney disease: role of oxidative stress[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2016, 25(12):657-684.
- [14] 杨文,宋丹,宋纯东,等. 雷公藤多苷片对糖尿病肾病大鼠Nrf2/Keap1/ARE信号通路的影响[J]. *时珍国医国药*, 2023, 34(1):17-20.
- [15] 薛丕良,李丽琦,刘欣欣,等. 参芪蛭龙汤联合雷公藤多苷片对膜性肾病模型大鼠保护作用的实验研究[J]. *中国药房*, 2020, 31(13):1575-1583.
- [16] 程萌,张纹清,谢金丽,等. 益肾清利活血方抑制HIF1- $\alpha$ 改善肾纤维化的研究[J]. *南京中医药大学学报*, 2025, 41(12):1691-1701.
- [17] LIU G Y, HE L Y, YANG X M, et al. microRNA-155-5p aggravates adriamycin-induced focal segmental glomerulosclerosis through targeting Nrf2[J]. *Nephron*, 2023, 147(2):108-119.
- [18] WANG Y F, CHANG Y Y, ZHANG X M, et al. Salidroside protects against osteoporosis in ovariectomized rats by inhibiting oxidative stress and promoting osteogenesis via Nrf2 activation[J]. *Phytomedicine*, 2022, 99:154020.

(收稿日期:2025-11-12 修回日期:2026-02-11)

(编辑:唐晓莲)