

高冉冉,韩聪,连梦慧,等.气虚湿瘀肾纤维化动物模型建立与评价[J].中国比较医学杂志,2025,35(4):43-57.

Gao RR, Han C, Lian MH, et al. Construction and evaluation of mouse model of renal fibrosis with Qi deficiency and dampness stasis [J]. Chin J Comp Med, 2025, 35(4): 43-57.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2025.04.005

气虚湿瘀肾纤维化动物模型建立与评价

高冉冉¹,韩 聪^{2,3},连梦慧¹,李 伟^{2*}

(1.山东中医药大学第一临床医学院,济南 250014;2.山东中医药大学附属医院,济南 250014;
3.山东中医药大学,济南 250014)

【摘要】 目的 构建气虚湿瘀肾纤维化病证结合小鼠模型并对模型进行评价,运用多组学阐释其蛋白和代谢通路变化。**方法** 24 只 C57BL/6J 小鼠随机分为正常(N)组、模型(M)组、气虚湿瘀肾纤维化病证结合(BZ)组,每组 8 只,实验周期 6 周。采用“环孢素+高脂饮食+游泳力竭+恒温恒湿”建立气虚湿瘀肾纤维化小鼠模型,通过观察一般体征,测定肾功能、舌象 RGB(红、绿、蓝)值、血液流变学指标、血脂、炎症和氧化指标,结合肾组织 HE、Masson、PAS、油红 O 染色、TUNEL 细胞凋亡和 TGF- β 免疫荧光对该模型进行评价;肾蛋白质组学联合血清代谢组学筛选出差异蛋白和代谢物并进行通路富集分析。**结果** BZ 组小鼠第 3 周开始出现体质量下降($P<0.05$),第 4 周体质量显著下降($P<0.01$),同时出现进食及饮水量减少,毛发杂乱光泽度下降,精神萎靡,活动度下降,大便质稀。BZ 组 Scr、BUN、UACR、NAG 均较 N 组升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$),Scr、NAG 水平与 M 组比较有统计学意义。BZ 组小鼠舌象 R 值显著低于 N 组($P<0.01$),B 值高于 N 组,且均与 M 组有显著性差异($P<0.05$)。BZ 组小鼠全血多切变率黏度、HCT 较 N 组和 M 组均升高,PV 较 N 组升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。BZ 组 TC、LDL-C、CRP、IL-6、MDA 水平较 N 组和 M 组均显著升高($P<0.01$),SOD 活性较 N 组下降($P<0.05$)。BZ 组小鼠可见肾小管胞质空泡化明显,炎性细胞浸润、肾小球基底膜增厚、胶原纤维增生和脂质累积显著。BZ 组肾组织细胞凋亡及 TGF- β 沉积增加。BZ 组和 N 组共有 299 个差异蛋白,其中 180 个上调,119 个下调;323 个差异代谢物,其中 205 个上调,118 个下调;初级胆汁酸生物合成、牛磺酸和亚牛磺酸代谢、不饱和脂肪酸的生物合成通路被差异蛋白和差异代谢物共同富集到,共涉及 3 个差异蛋白,9 个差异代谢物,其中二十二碳五烯酸、二十碳五烯酸、牛磺酸、3-亚磺酰基丙氨酸、牛磺胆酸、酰基辅酶 A 氨基酸 N-酰基转移酶 1 和酰基辅酶 A 氨基酸 N-酰基转移酶 2、超长链 3-氧酰辅酶 A 还原酶表现出较高的预测准确性。**结论** 通过“环孢素+高脂饮食+游泳力竭+恒温恒湿”法构建气虚湿瘀肾纤维化(RF)动物模型具有可行性。气虚湿瘀肾纤维化中不饱和脂肪酸生物合成与牛磺酸和亚牛磺酸代谢通路可能发挥重要作用。

【关键词】 气虚湿瘀;肾纤维化;病证结合;动物模型;多组学

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2025) 04-0043-15

Construction and evaluation of mouse model of renal fibrosis with Qi deficiency and dampness stasis

【基金项目】 山东省自然科学基金(ZR2021LZY041,ZR2022QH133);国家自然科学基金项目(82174179,82204886);中国博士后科学基金特别资助(2023T160398);中国博士后科学基金(2021M702039)。

【作者简介】 高冉冉(1998—),女,在读博士研究生,研究方向:中西医结合治疗肾系疾病的临床研究。

E-mail:1377142543@qq.com

【通信作者】 李伟(1962—),女,博士,主任医师,研究方向:中西医结合治疗肾系疾病的临床研究。E-mail:lweidw@163.com

GAO Ranran¹, HAN Cong^{2,3}, LIAN Menghui¹, LI Wei^{2*}

(1. First Clinical Medical School, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Ji'nan 250014, China.

2. Affiliated Hospital of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Ji'nan 250014.

3. Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Ji'nan 250014)

【Abstract】 Objective To construct and evaluate a mouse model of renal fibrosis (RF) combined with Qi deficiency and dampness stasis, and investigate the changes in protein and metabolic pathways using multiomics. **Methods** Twenty-four C57BL/6J mice were divided randomly into normal (N), model (M), and RF and syndrome combined groups (BZ) ($n=8/\text{group}$). The experiment lasted 6 weeks. A mouse model of RF with Qi deficiency and dampness stasis was established by “cyclosporine A+high-fat diet+swimming exhaustion+constant temperature and humidity”. The model was evaluated by detecting general signs, renal function, tongue RGB (red, green, blue) values, hemorheology indexes, blood lipids, and inflammation and oxidation indexes, combined with hematoxylin and eosin, Masson, periodic acid-Schiff, and Oil red O staining, terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling apoptosis, and transforming growth factor- β immunofluorescence analysis of renal tissue. Differential proteins and metabolites were screened by renal proteomics combined with serum metabolomics and subjected to pathway enrichment analysis. **Results** Body mass of mice in the BZ group began to decline at week 3 ($P<0.05$) and decreased significantly at week 4 ($P<0.01$), while food and water consumption decreased, the fur became messy and less glossy, mood and activity decreased, and stools became watery. Serum creatinine, blood urea nitrogen, urine albumin-creatinine ratio, and N-acetyl-beta-glucosaminidase (NAG) were significantly higher in the BZ group compared with those in the N group ($P<0.05$, $P<0.01$), and serum creatinine and NAG levels were significantly different compared with those in the M group. The R value of tongue images was significantly lower in the BZ group compared with that in the N group ($P<0.01$), while the B value was significantly higher ($P<0.05$). The viscosity of the whole blood multi-shear rate and the hematocrit were higher in the BZ group compared with those in the N and M groups, and the platelet volume was higher than in the N group ($P<0.05$, $P<0.01$). Total cholesterol, low-density lipoprotein cholesterol, C-reactive protein, interleukin-6, and malondialdehyde levels were significantly increased in the BZ group compared with those in the N and M groups ($P<0.01$), and superoxide dismutase activity was significantly decreased compared with that in the N group ($P<0.05$). Renal tubule vacuolation, inflammatory cell infiltration, glomerular basement membrane thickening, collagen fiber hyperplasia, and lipid accumulation were evident, and renal cell apoptosis and transforming growth factor- β deposition were increased in the BZ group. There were 299 differential proteins in the BZ and N groups, including 180 up-regulated and 119 down-regulated proteins, and 323 differential metabolites, including 205 up-regulated and 118 down-regulated. Primary bile acid biosynthesis, taurine and hypotaurine metabolism, and biosynthesis of unsaturated fatty acids were co-enriched in differential proteins and differential metabolites, involving three differential proteins and nine differential metabolites. Among these, docosapentaenoic acid (22n-3), eicosapentaenoic acid, taurine, 3-sulfinoalanine, taurocholic acid, Acnat1, Acnat2, and Hsd17b12 showed high prediction accuracy. **Conclusions** We successfully constructed an RF animal model of Qi deficiency and dampness stasis using the “cyclosporine A+high-fat diet+exhaustion of swimming+constant temperature and humidity” method. Biosynthesis of unsaturated fatty acids and taurine and hypotaurine metabolism may play important roles in this RF mouse model of Qi deficiency and dampness stasis.

【Keywords】 Qi deficiency and dampness stasis; renal fibrosis; combination of disease and syndrome; animal model; multiomics

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

肾纤维化 (renal fibrosis, RF) 是慢性肾病 (chronic kidney disease, CKD) 进展为终末期肾病 (end stage renal disease, ESRD) 的病理基础, 在

CKD 进展中常会伴随 RF。全球约 10% 以上的人口患有 CKD, 现已成为重要的公共卫生问题^[1]。一旦进入 ESRD 阶段常需肾代替治疗, 将带来巨

大的经济及社会负担。研究 RF 发病机制、寻求其有效干预方法,对于延缓 CKD 进展及降低 ESRD 发病率具有重要意义。通过动物模型调控变量开展基础研究是现代医学研究的重要手段,同时可体现疾病与证候特征的病证结合动物模型对研究疾病本质及中医药作用机理具有重要意义。RF 根据其临床表现可属“水肿”“关格”“虚劳”等类,其病机以气虚为本、气虚转输无力、水液内停、滋生湿热、病久入络、湿瘀互结、气虚湿瘀为其主要证候特征^[2-4]。本研究根据中医“劳则耗气”与“元气既虚,必不能达于血管,血管无气,必停留而瘀”以及“肥甘厚腻,酿湿生热”“湿热胶着,内外相引”理论,通过“高脂饮食+游泳力竭+恒温恒湿”方式对 RF 动物模型进行“气虚湿瘀”证候造模,从气虚湿瘀宏观表征、实验室指标、肾功能评估、病理改变等多维度进行全面、客观的模型评价,以期为 RF 的中医药研究提供有效的实验载体。此外,本研究还进一步联合蛋白质组学和代谢组学明确气虚湿瘀肾纤维化小鼠相关蛋白和代谢物的表达变化,寻找特异性靶标,以期为 RF 研究提供新的方向。

1 材料和方法

1.1 实验动物

5 周龄 SPF 级雄性 C57BL/6J 小鼠 24 只,小鼠体质量 19~25 g,均购买自北京唯尚立德生物科技有限公司[SCXK(京)2021-0010]。饲养于山东中医药大学附属医院 SPF 级动物实验中心[SYXK(鲁)2023-0031],所有动物自由进食,保证充分饮水,动物实验室 12 h 交替照明。本实验经山东中医药大学附属医院动物实验伦理审查委员会批准(AWE-2022-048),并按 3R 原则给予人道关怀。

1.2 主要试剂与仪器

环孢素软胶囊(杭州中美华东制药有限公司,批号 H10960123);小鼠白细胞介素 6(interleukin-6, IL-6)ELISA 试剂盒(江苏晶美生物科技有限公司,批号 230321KE3);小鼠 C 反应蛋白(C-reactive protein, CRP)ELISA 试剂盒(江苏晶美生物科技有限公司,批号 230321KE4);小鼠 N-乙酰- β -D-氨基葡萄糖苷酶(N-acetyl- β -D-glucosaminidase, NAG)ELISA 试剂盒(江苏晶美

生物科技有限公司,批号 230321KE5);丙二醛(malonaldehyde, MDA)测试盒(南京建成生物工程研究所,批号 20221227);超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)测试盒(南京建成生物工程研究所,批号 20221229);尿白蛋白测定试剂盒(深圳雷杜生命科技,批号 20221121);尿肌酐测定试剂盒(深圳雷杜生命科技,批号 20221222);尿素测定试剂盒(深圳雷杜生命科技,批号 20221020);肌酐测定试剂盒(深圳雷杜生命科技,批号 20221019);总胆固醇(total cholesterol, TC)测定试剂盒(深圳雷杜生命科技,批号 20220908);苏木素-伊红(HE)染液套装(Serviebio,货号 G1076);Masson 染液套装(Serviebio,货号 G1006);PAS 染液套装(Serviebio,货号 G1008);油红染液(Serviebio,货号 G1015);Tunel 试剂盒(Serviebio,货号 G1507)。

South990JS3 血流变分析仪(重庆南方数控设备股份有限公司);Chemray 240 全自动生化分析仪(深圳雷杜生命科技);352 型酶标仪(Labsystems Multiskan MS);Sorvall ST 40 生化分析仪(赛默飞世尔科技有限公司);Donatello 脱水机(Germany DIAPATH);JB-P5 包埋机(武汉俊杰电子有限公司);JB-L5 冻台(武汉俊杰电子有限公司);RM2016 病理切片机(上海徕卡仪器有限公司);ORBITRAP ECLIPSE 质谱仪(美国赛默飞世尔科技有限公司);ACQUITY UPLC I-Class plus 超高效液相串联 QE plus 高分辨质谱仪(Waters);Progenesis QI v3.0 软件(Nonlinear Dynamics)。

1.3 实验方法

1.3.1 分组

24 只 C57BL/6J 小鼠适应性喂养 1 周后,随机分为正常(N)组、模型(M)组、气虚湿瘀肾纤维化病证结合(BZ)组,每组 8 只。

1.3.2 造模

前 4 周 M 组和 BZ 组均以低盐饮食(钠质量分数 0.05%)饲养,M 组用橄榄油溶解的环孢素(cyclosporine A, CsA) 30 mg/(kg·d)经口灌服。第 5 周开始 BZ 组将低盐饮食改为高脂饲料(2.5%胆固醇)喂养,每天以 CsA 30 mg/(kg·d)灌胃 2 h 后,将小鼠放入水箱中游泳,当全组 50%

的小鼠出现自然沉降时停止游泳。小鼠自然风干后放入控制温度及湿度的环境中(温度(30 ± 2) $^{\circ}\text{C}$,相对湿度 80%~90%),每天最少持续 4 h,持续 2 周(图 1)。N 组普通饮食,经口灌服等容量橄榄油。

1.3.3 一般体征

实验过程中对小鼠的一般体征如精神、活动、毛发等进行观察。每周测小鼠体质量。

1.3.4 肾功能指标

6 周后收集小鼠随机尿液。末次给药后麻醉眼眶取血,静置 2 h 后 3000 r/min 离心 10 min 分离血清。全自动生化分析仪检测血肌酐(serum creatinine, Scr)、尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)、尿白蛋白/肌酐(urine albumin creatine ratio, UACR)。ELISA 法检测小鼠尿 NAG。

1.3.5 小鼠舌象采集和分析

所有小鼠舌象拍摄环境保持一致,拍摄过程中用镊子轻轻将小鼠舌部伸展,拍摄尽量保持同一角度,整个过程迅速完成。采用 Adobe Photoshop 2021 对采集的图像进行分析,将舌面分为前、中、后 3 个区域,测各区域的平均 RGB(红、绿、蓝)值,最后选用平均值^[5]。

1.3.6 气虚湿瘀相关指标

所有指标均按照试剂盒中提供的相应说明进行检测。ELISA 法检测小鼠血清 CRP、IL-6,全自动生化分析仪全血多切变率黏度、血浆黏度

(plasma volume, PV)、红细胞压积(hematocrit, HCT)、TC、低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein, LDL-C)、SOD 活性、MDA。

1.3.7 HE、Masson、PAS、油红 O 染色

肾组织在室温下用中性多聚甲醛固定 48 h, 4 μm 切片,石蜡包埋,进行 HE、Masson、PAS 染色,中性树胶封片,光镜观察。冰冻切片,油红染液染,甘油明胶封片剂封片,显微镜下观察。

1.3.8 免疫荧光

肾组织在室温下用中性多聚甲醛固定 48 h, 4 μm 切片,石蜡包埋,抗原修复、自发荧光淬灭及血清封闭后加 TGF- β 一抗及二抗,DAPI 复染细胞核,抗荧光淬灭封片剂封片,荧光显微镜观察,Image J 1.53k 检测平均荧光强度,平均荧光强度=每一个标本的平均荧光强度/正常组平均值。

1.3.9 TUNEL 细胞凋亡

石蜡切片脱蜡至水,蛋白酶 K 修复并使用破膜工作液破膜。将试剂 1(TdT)和试剂 2(dUTP)按比例混合并添加到组织切片中,加入 DAPI 染色液,用抗荧光淬灭剂密封细胞,并用荧光显微镜观察,红色代表阳性凋亡细胞核,Image J 1.53k 检测细胞数量,凋亡指数=凋亡细胞数/细胞总数 $\times 100\%$ 。

1.3.10 肾蛋白质组学

提取肾组织蛋白质,Bradford 法测定浓度,酶解脱盐,混合标记后的肽段用 100 μL 流动相 A

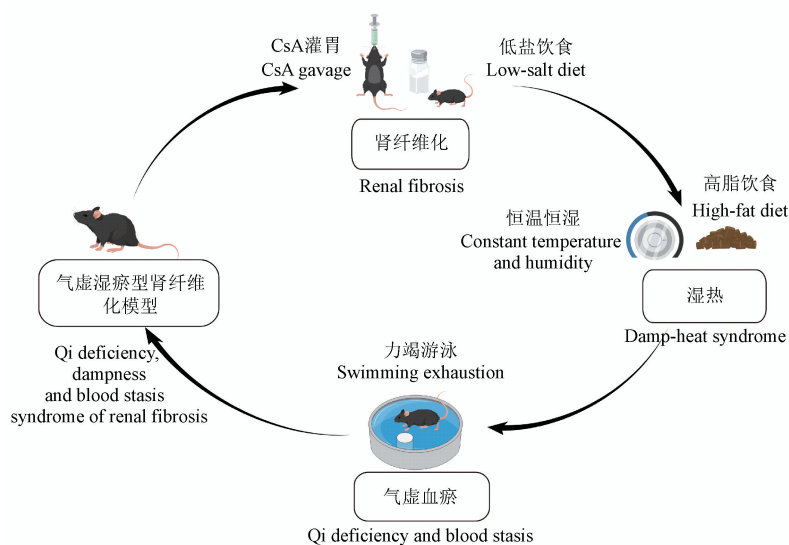


图 1 气虚湿瘀肾纤维化造模示意图(由 Figdraw 绘制)

Figure 1 Schematic diagram of kidney fibrosis modeling with Qi deficiency and dampness stasis(by Figdraw)

溶解,使用高效液相进行分级处理。液相色谱-串联质谱(liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS/MS)质谱分析:使用 DDA 联合 DIA 的采集模式。对于 DDA,使用 ORBITRAP ECLIPSE 质谱仪进行分析,质谱采用数据依赖型采集模式,质谱全扫描范围为 350~1500 m/z ,一级质谱分辨率设为 120 000 (m/z), AGC 为 4×10^5 , C-trap 最大注入时间为 50 ms。二级质谱分辨率设为 15 000 (200 m/z), AGC 为 5×10^4 , 最大注入时间为 22 ms。对于 DIA,一级质谱分辨率设为 120 000 (200 m/z), AGC 为 300%, C-trap 最大注入时间为 50 ms;二级质谱分辨率设为 30 000 (200 m/z), AGC 为 100%, 最大注入时间为 54 ms,肽段碎裂碰撞能量设为 33%,生成质谱检测原始数据。使用 Spectronaut 软件针对原始数据进行 uniprot Mus musculus 库搜库,然后进行蛋白质的鉴定并归一化定量。采用 T -test 检验、 P -value<0.05、Fold change>1.5 倍得到差异蛋白。对差异蛋白进行聚类分析,火山图展示,分析差异蛋白的受试者工作特征曲线(receiver operating characteristic, ROC)预测性。通过 KEGG 富集差异蛋白的作用通路。

1.3.11 血清代谢组学

LC-MS 分析使用 ACQUITY UPLC I-Class plus 超高效液相串联 QE plus 高分辨质谱仪,色谱柱: ACQUITY UPLC HSS T3 (100 mm $\times$ 2.1 mm, 1.8 μ m);柱温:45 $^{\circ}$ C;流动相:流动相 A:水(含 0.1%甲酸),B:乙腈;流速:0.35 mL/min;进样体积:3 μ L。洗脱梯度为 0~2 min,95% A,5% B;2~4 min,95%~70% A,5%~30% B;4~8 min,70%~50% A,30%~50% B;8~10 min,50%~20% A,50%~80% B;10~15 min,100% B;15.1~16 min,95% A,5% B。采用正负离子扫描模式,喷射电压:正离子 3800 V、负离子-3000 V,鞘层气体流量 35 Arb,辅助气体流量 8 Arb,毛细管温度 320 $^{\circ}$ C,质量范围 m/z :100~1200 Hz,全质谱分辨率:70 000,MS/MS 分辨率:17 500。

原始数据导入 Progenesis QI v3.0 软件进行基线过滤、峰识别、积分、保留时间校正、峰对齐和归一化。使用 The Human Metabolome Database (HMDB)、Lipidmaps(v2.3)和 METLIN 数据库以及 EMDB 2.0 进行定性。代谢差异比较分析将通

过多元统计分析和单变量统计分析,以 OPLS-DA 模型第一主成分的 VIP>1, T 检验的 P -value<0.05 为标准筛选差异代谢物,通过聚类热图和火山图展示,然后利用差异代谢物的 KEGG ID 进行通路富集分析,选择具有显著性的($P<0.05$)富集 pathway 进行气泡图绘制。通过 ROC 线分析已识别的潜在生物标志物的特异性和敏感性。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 25.0 对数据进行统计分析,以平均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,正态分布时进行方差齐性检验,若方差齐选取单因素方差分析,多重比较选择 LSD 法,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

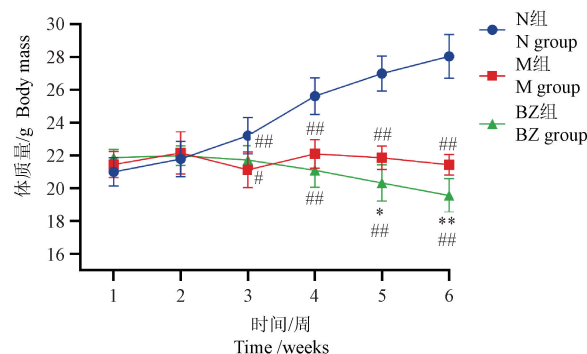
2 结果

2.1 一般体征

实验过程中,每周监测体质量,每天观察小鼠的生活状态。N 组小鼠进食量、饮水量及尿量、精神、毛发、大便未见异常,体质量持续增长。与 N 组比较,M 组小鼠自第 3 周开始体质量下降($P<0.01$),BZ 组小鼠第 3 周开始出现体质量下降($P<0.05$),第 4 周出现体质量显著下降($P<0.01$),同时出现进食及饮水量减少,毛发杂乱光泽度下降,精神萎靡,活动度下降,大便质稀。此外,BZ 组小鼠第 5 周开始与 M 组小鼠相比体质量出现差异($P<0.05$)。结果见图 2。

2.2 肾功能评价

与 N 组比较,M 组和 BZ 组肾功能指标 Scr、



注:与 M 组相比,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与 N 组相比,* $P<0.05$,** $P<0.01$ 。

图 2 小鼠体质量($n=8$)

Note. Compared with the M group,* $P<0.05$,** $P<0.01$.

Compared with the N group,* $P<0.05$,** $P<0.01$.

Figure 2 Body mass of mice($n=8$)

BUN、UACR、NAG 均出现升高 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$),提示肾功能受损。与 M 组比较,BZ 组 Scr、NAG 水平升高 ($P<0.05$),BUN 及 UACR 虽均有升高,但无统计学意义。结果见表 1。

2.3 舌象

小鼠舌象结果显示,M 组小鼠舌象 Red 值低于 N 组 ($P<0.05$),色泽偏淡。BZ 组小鼠舌象 Red 值显著低于 N 组 ($P<0.01$),舌象 Blue 值高

于 N 组 ($P<0.05$),且均与 M 组有差异 ($P<0.05$),提示色泽偏紫暗。结果见图 3,表 2。

2.4 血液流变学检测结果

与 N 组相比,M 组小鼠全血多切变率黏度、PV、HCT 有所升高,但差异无统计学意义。BZ 组小鼠全血多切变率黏度、HCT 较 N 组和 M 组均升高 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$),PV 较 N 组显著升高 ($P<0.01$)。结果见表 3。

表 1 肾功能指标 ($\bar{x}\pm s, n=8$)
Table 1 Index of renal function ($\bar{x}\pm s, n=8$)

分组 Groups	Scr/($\mu\text{mol/L}$)	BUN/(mg/dL)	UACR/(mg/g)	NAG/(U/L)
N 组 N group	46.70 $\pm$ 3.55	22.46 $\pm$ 4.17	27.06 $\pm$ 6.81	89.02 $\pm$ 2.97
M 组 M group	94.92 $\pm$ 7.04 [#]	27.76 $\pm$ 2.80 [#]	60.45 $\pm$ 7.92 [#]	107.50 $\pm$ 2.27 [#]
BZ 组 BZ group	102.75 $\pm$ 5.93 [#]	28.58 $\pm$ 3.65 [#]	90.83 $\pm$ 37.36 [#]	137.05 $\pm$ 3.02 [#]

注:与 N 组相比,^{*} $P<0.05$,^{**} $P<0.01$;与 M 组相比,[#] $P<0.05$,^{##} $P<0.01$ 。
Note. Compared with the M group,^{*} $P<0.05$,^{**} $P<0.01$. Compared with the N group,[#] $P<0.05$,^{##} $P<0.01$.

表 2 小鼠舌象 RGB 值比较 ($\bar{x}\pm s, n=3$)
Table 2 Comparison of RGB values of mouse tongue image ($\bar{x}\pm s, n=3$)

分组 Groups	红色 Red	绿色 Green	蓝色 Blue
N 组 N group	121.00 $\pm$ 4.00	77.00 $\pm$ 14.73	85.00 $\pm$ 4.58
M 组 M group	110.00 $\pm$ 2.65 [#]	79.00 $\pm$ 1.53	86.70 $\pm$ 1.53
BZ 组 BZ group	99.00 $\pm$ 4.51 [#]	84.00 $\pm$ 5.13	97.00 $\pm$ 3.61 [#]

注:与 N 组相比,[#] $P<0.05$,^{##} $P<0.01$;与 M 组相比,^{*} $P<0.05$ 。
Note. Compared with the N group,[#] $P<0.05$,^{##} $P<0.01$. Compared with the M group,^{*} $P<0.05$.

表 3 小鼠血液流变学指标 ($\bar{x}\pm s, n=8$)
Table 3 Blood rheological indexes of mice ($\bar{x}\pm s, n=8$)

分组 Groups	全血多切变率黏度/($\text{mPa}\cdot\text{s}$) Whole blood multi shear viscosity			血浆黏度/($\text{mPa}\cdot\text{s}$) PV	红细胞压积/% HCT
	10/s	40/s	200/s		
N 组 N group	11.97 $\pm$ 0.72	7.36 $\pm$ 0.36	3.84 $\pm$ 0.38	1.27 $\pm$ 0.07	39.69 $\pm$ 2.63
M 组 M group	13.28 $\pm$ 1.21	7.61 $\pm$ 0.41	4.20 $\pm$ 0.69	1.46 $\pm$ 0.17	40.55 $\pm$ 2.37
BZ 组 BZ group	17.99 $\pm$ 1.21 [#]	8.63 $\pm$ 0.29 [#]	5.28 $\pm$ 0.80 [#]	1.52 $\pm$ 0.10 [#]	44.91 $\pm$ 2.61 [#]

注:与 N 组相比,[#] $P<0.01$;与 M 组相比,^{*} $P<0.05$,^{**} $P<0.01$ 。
Note. Compared with the N group,[#] $P<0.01$. Compared with the M group,^{*} $P<0.05$,^{**} $P<0.01$.

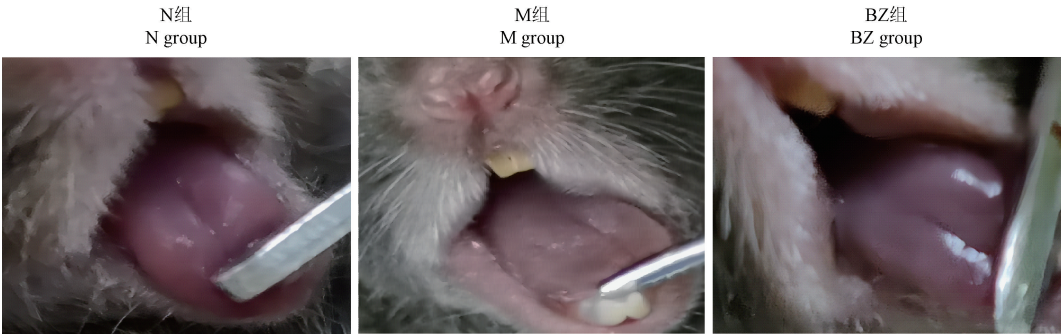


图 3 小鼠舌象图像比较
Figure 3 Comparison of mouse tongue images

2.5 血脂、炎症和氧化指标检测结果

与 N 组比较, M 组 TC、LDL-C、MDA 升高, SOD 活性降低, 但差异无统计学意义, CRP 和 IL-6 水平升高 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$); BZ 组 TC、LDL-C、CRP、IL-6、MDA 水平均显著升高 ($P<0.01$), 且与 M 组有统计学差异 ($P<0.01$), SOD 活性较 N 组下降 ($P<0.05$)。结果见表 4。

2.6 肾组织病理改变

与 N 组比较, M 组小鼠肾组织 HE 染色示肾小球玻璃样变、肾小管水肿、炎细胞浸润; PAS 染色示肾小球基底膜增厚、系膜细胞增生; Masson 染色示胶原纤维增生明显; 油红 O 染色示少量脂

质积累。BZ 组小鼠可见肾小管胞质空泡化明显, 炎性细胞浸润、肾小球基底膜增厚、胶原纤维增生和脂质累积显著 (图 4)。如图 5 所示, 与 N 组比较, M 组和 BZ 组肾组织细胞凋亡及 TGF- β 沉积增加 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$), BZ 组与 M 组相比有统计学意义 ($P<0.01$)。

2.7 肾蛋白质组学和血清代谢组学分析

进一步对 N 组和 BZ 组小鼠进行组织蛋白质组学和血液代谢组学分析, 明确气虚湿瘀肾纤维化小鼠相关蛋白和代谢物的表达变化。如图 6 蛋白质组学结果表明, BZ 组与 N 组比较共有 299 个差异蛋白, 其中 180 个上调, 119 个下调, 分别见

表 4 小鼠血脂、炎症和氧化指标 ($\bar{x}\pm s, n=8$)

Table 4 Blood lipid, inflammation and oxidative indicators in mice ($\bar{x}\pm s, n=8$)

分组 Groups	N 组 N group	M 组 M group	BZ 组 BZ group
总胆固醇/(mmol/L) TC	2.76 $\pm$ 0.61	3.73 $\pm$ 0.76	5.76 $\pm$ 1.37 ^{##**}
低密度脂蛋白胆固醇/(mmol/L) LDL-C	0.98 $\pm$ 0.13	1.13 $\pm$ 0.21	1.96 $\pm$ 0.17 ^{##**}
C 反应蛋白/(mg/L) CRP	2.35 $\pm$ 0.37	2.82 $\pm$ 0.25 [#]	3.59 $\pm$ 0.36 ^{##**}
白介素 6/(pg/mL) IL-6	80.65 $\pm$ 6.60	118.09 $\pm$ 10.27 ^{##}	138.63 $\pm$ 9.74 ^{##**}
超氧化物歧化酶活性/(U/mL) SOD	275.78 $\pm$ 25.47	241.96 $\pm$ 32.08	219.16 $\pm$ 42.29 [#]
丙二醛/(nmol/mL) MDA	4.51 $\pm$ 1.01	5.03 $\pm$ 1.06	6.86 $\pm$ 1.21 ^{##**}

注: 与 N 组相比, [#] $P<0.05$, ^{##} $P<0.01$; 与 M 组相比, ^{**} $P<0.01$ 。
Note. Compared with the N group, [#] $P<0.05$, ^{##} $P<0.01$. Compared with the M group, ^{**} $P<0.01$.

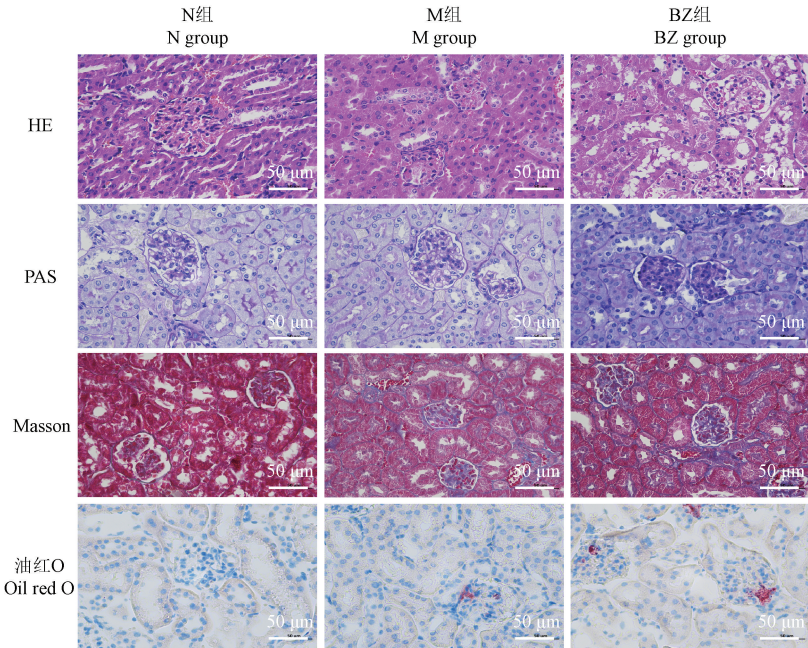
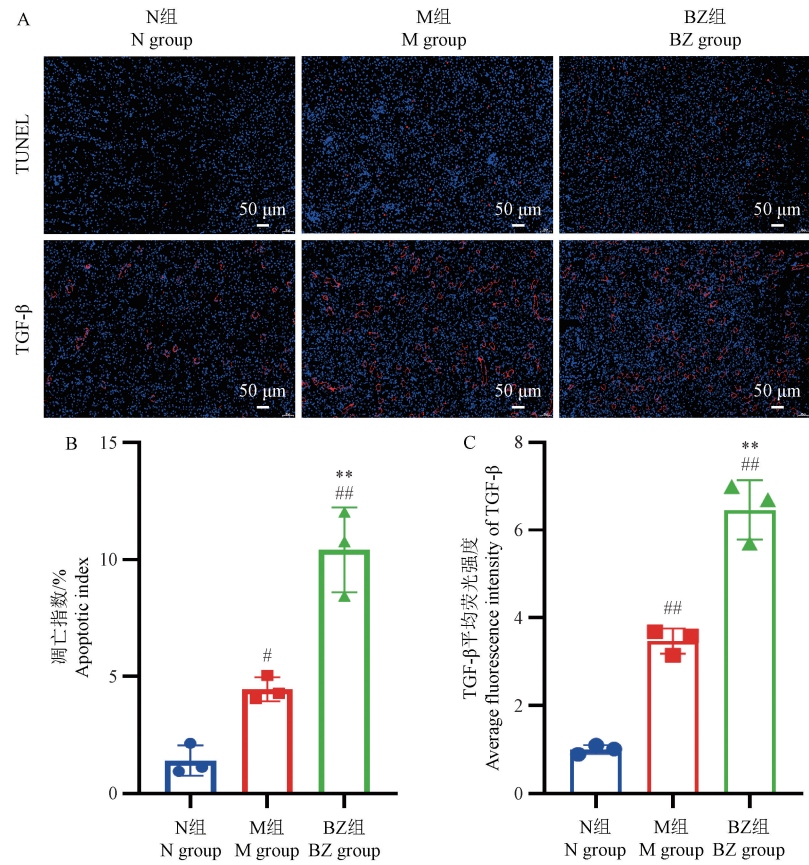


图 4 小鼠肾组织病理变化
Figure 4 Kidney histopathological changes in mice

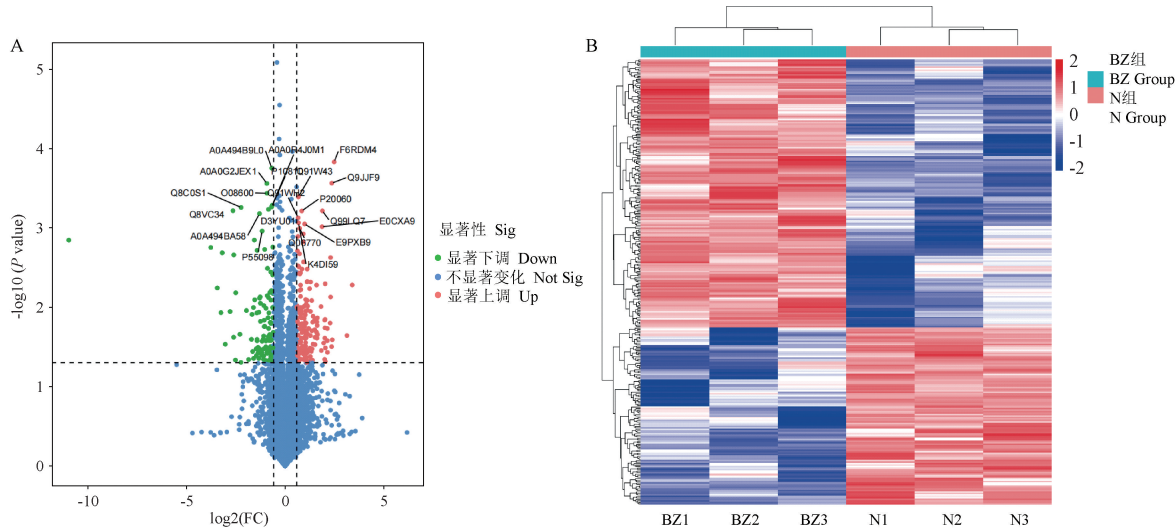


注:A:肾组织 TUNEL 细胞凋亡及 TGF-β 荧光;B:各组细胞凋亡指数($n=3$);C:各组 TGF-β 平均荧光强度($n=3$)。与 N 组相比, $^{\#}P<0.05$, $^{##}P<0.01$;与 M 组相比, $^{**}P<0.01$ 。

图 5 TUNEL 细胞凋亡及 TGF-β 荧光图

Note. A, TUNEL cell apoptosis and TGF-β fluorescence in renal tissue. B, Apoptotic index of each group ($n=3$). C, Average fluorescence intensity of TGF-β in each group ($n=3$). Compared with the N group, $^{\#}P<0.05$, $^{##}P<0.01$. Compared with the M group, $^{**}P<0.01$.

Figure 5 TUNEL and TGF-β fluorescence



注:A:差异蛋白火山图;B:差异蛋白聚类图。

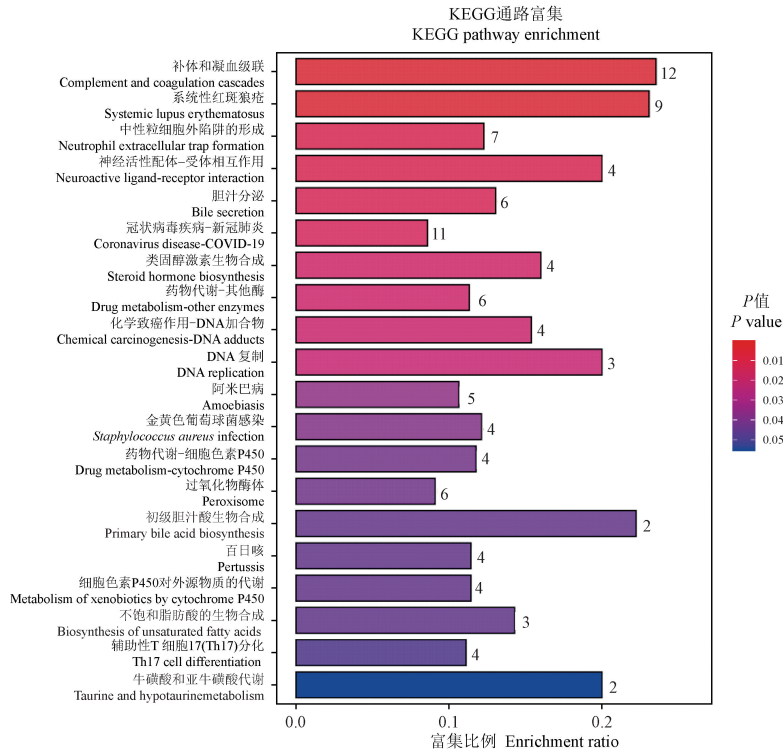
图 6 肾差异蛋白火山及聚类分析图

Note. A, Volcano plot of differential proteins. B, Cluster plot of differential proteins.

Figure 6 Kidney differential proteins volcano and cluster analysis

差异蛋白火山图及聚类图。对差异蛋白进行 KEGG 富集分析,可见差异蛋白主要涉及补体和凝血级联、系统性红斑狼疮、中性粒细胞外陷阱的形成、神经活性配体-受体相互作用、胆汁分泌、冠状病毒疾病-新冠肺炎、类固醇激素生物合成、药物代谢-其他酶、化学致癌作用-DNA 加合物等通路(图 7)。

血清代谢组学通过正交偏最小二乘方-判别分析(orthogonal partial least squares discriminant analysis, OPLS-DA)见 BZ 组和 N 组血清代谢物出现明显分离,表明二组小鼠体内代谢物发生变化(图 8)。如图 9 所示,根据 $VIP>1$,且 $P<0.05$ 筛选差异代谢物,BZ 组与 N 组比较共有 323 个差异代谢物,其中 205 个上调,118 个下调,分别见



注:标红通路表示与血清差异代谢物共同富集到的通路。

图 7 肾差异蛋白富集通路图

Note. Standard red pathway indicates pathways that are enriched with serum differential metabolites.

Figure 7 Renal differential proteins enrichment pathway

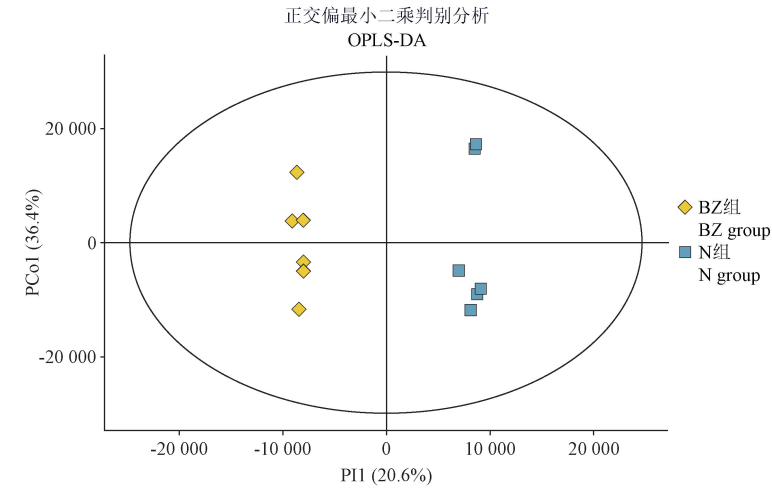
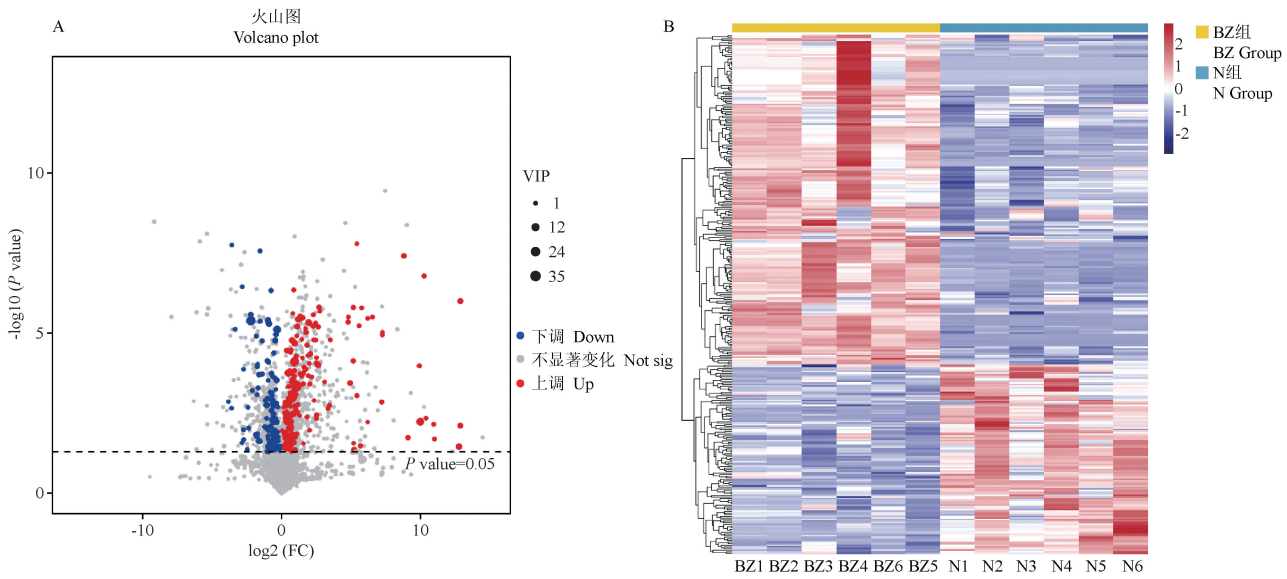


图 8 OPLS-DA 图

Figure 8 OPLS-DA

差异代谢物火山图及聚类图。

如图 10 对差异代谢物进行通路富集分析,选取 P 值排名前 20 的通路可见 N 组和 BZ 组差异代谢物主要涉及初级胆汁酸生物合成、牛磺酸和亚牛磺酸代谢、半胱氨酸和蛋氨酸代谢、癌症的胆碱代谢、不饱和脂肪酸的生物合成、精氨酸生

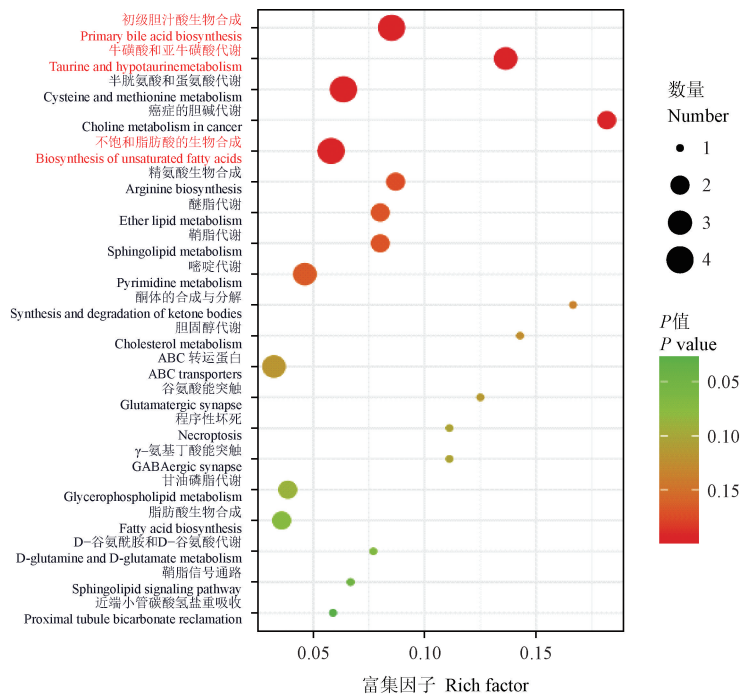


注:A:差异代谢物火山图;B:差异代谢物聚类图。

图 9 血清差异代谢物火山及聚类分析图

Note. A, Volcano plot of differential metabolite. B, Cluster plot of differential metabolite.

Figure 9 Serum differential metabolites volcano and cluster analysis



注:标红通路表示与肾差异蛋白共同富集到的通路。

图 10 血清差异代谢物富集通路图

Note. Standard red pathway indicates pathways that are enriched with Renal differential proteins.

Figure 10 Serum differential metabolites enrichment pathway

物合成、醚脂代谢、鞘脂代谢、嘧啶代谢等通路。

对蛋白质组学和代谢组学结果进行联合分析可见有 3 条通路被差异蛋白和差异代谢物共同富集到,分别为初级胆汁酸生物合成(primary bile acid biosynthesis)、牛磺酸和亚牛磺酸代谢(taurine and hypotaurine metabolism)、不饱和脂肪酸的生物合成(biosynthesis of unsaturated fatty acids),其中共涉及 3 个差异蛋白,9 个差异代谢物(表 5)。对 3 个差异蛋白测序结果进行了 ROC 曲线分析,结果表明 3 个差异蛋白 AUC 均是 1,表

明测序精准,具有很好的预测性(图 11)。对 9 个差异代谢物结果进行了 ROC 曲线分析,其中二十二碳五烯酸(docosapentaenoic acid (22n-3))、二十碳五烯酸(eicosapentaenoic acid)、牛磺酸(taurine)、3-亚磺酰基丙氨酸(3-sulfinioalanine)、牛磺胆酸(taurocholic acid)表现出较高的预测准确性(图 12)。进一步对筛选出的差异蛋白和代谢物进行共表达相关性分析可见差异蛋白和代谢物之间呈负相关性,其中差异蛋白 Hsd17b12 与代谢物之间相关性高(图 13)。

表 5 共同通路及涉及差异蛋白和代谢物信息

Table 5 Common pathways and information involving differential proteins and metabolites

通路 Pathway	差异蛋白及变化趋势 Differential proteins and changing trends	差异代谢物及变化趋势 Differential metabolites and changing trends
初级胆汁酸生物合成 Primary bile acid biosynthesis	酰基辅酶 A 氨基酸 N-酰基转移酶 1 ↑, 酰基辅酶 A 氨基酸 N-酰基转移酶 2 ↑ Acnat1 ↑, Acnat2 ↑	牛磺酸 ↓, 鹅去氧胆酸 ↑, 牛磺胆酸 ↓, 鹅脱氧胆酰牛磺酸 ↑ Taurine ↓, chenodeoxycholic acid ↑, taurocholic acid ↓, chenodeoxycholytaurine ↑
牛磺酸和亚牛磺酸代谢 Taurine and hypotaurine metabolism	酰基辅酶 A 氨基酸 N-酰基转移酶 1 ↑, 酰基辅酶 A 氨基酸 N-酰基转移酶 2 ↑ Acnat1 ↑, Acnat2 ↑	牛磺酸 ↓, 3-亚磺酰基丙氨酸 ↓, 牛磺胆酸 ↓ Taurine ↓, 3-sulfinioalanine ↓, taurocholic acid ↓
不饱和脂肪酸的生物合成 Biosynthesis of unsaturated fatty acids	酰基辅酶 A 氨基酸 N-酰基转移酶 1 ↑, 超长链 3-氧酰辅酶 A 还原酶 ↑, 酰基辅酶 A 氨基酸 N-酰基转移酶 2 ↑ Acnat1 ↑, Hsd17b12 ↑, Acnat2 ↑	棕榈酸 ↑, 十八烯酸 ↑, 二十碳五烯酸 ↓, 二十二碳五烯酸 ↓ Palmitic acid ↑, oleic acid ↑, eicosapentaenoic acid ↓, docosapentaenoic acid (22n-3) ↓

注: ↓: 与 N 组相比下调; ↑: 与 N 组比较上调。

Note. ↓, Downregulated compared with group N. ↑, Upregulated compared with group N.

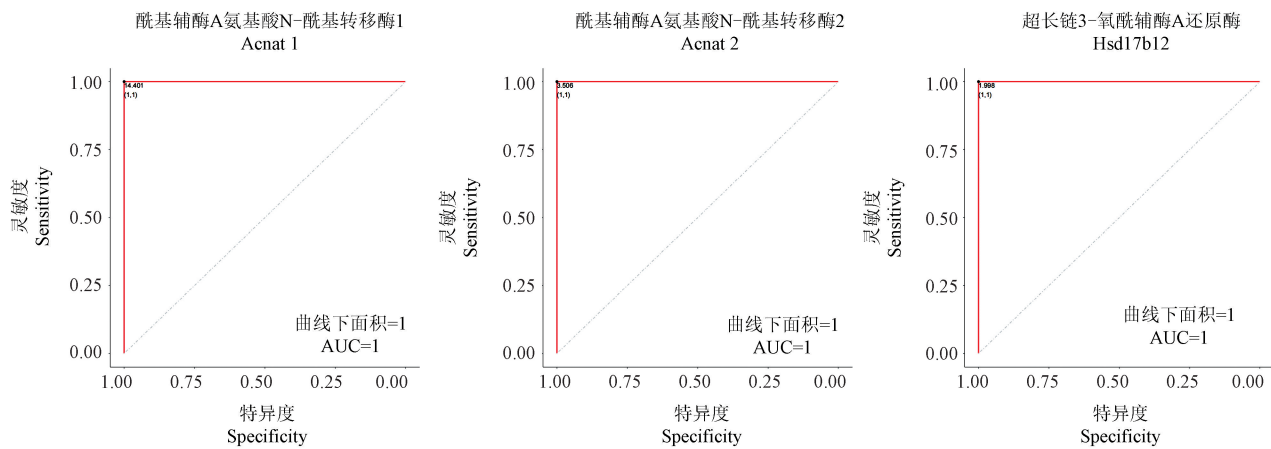


图 11 差异蛋白的 ROC 曲线分析

Figure 11 ROC curve analysis of the differential proteins

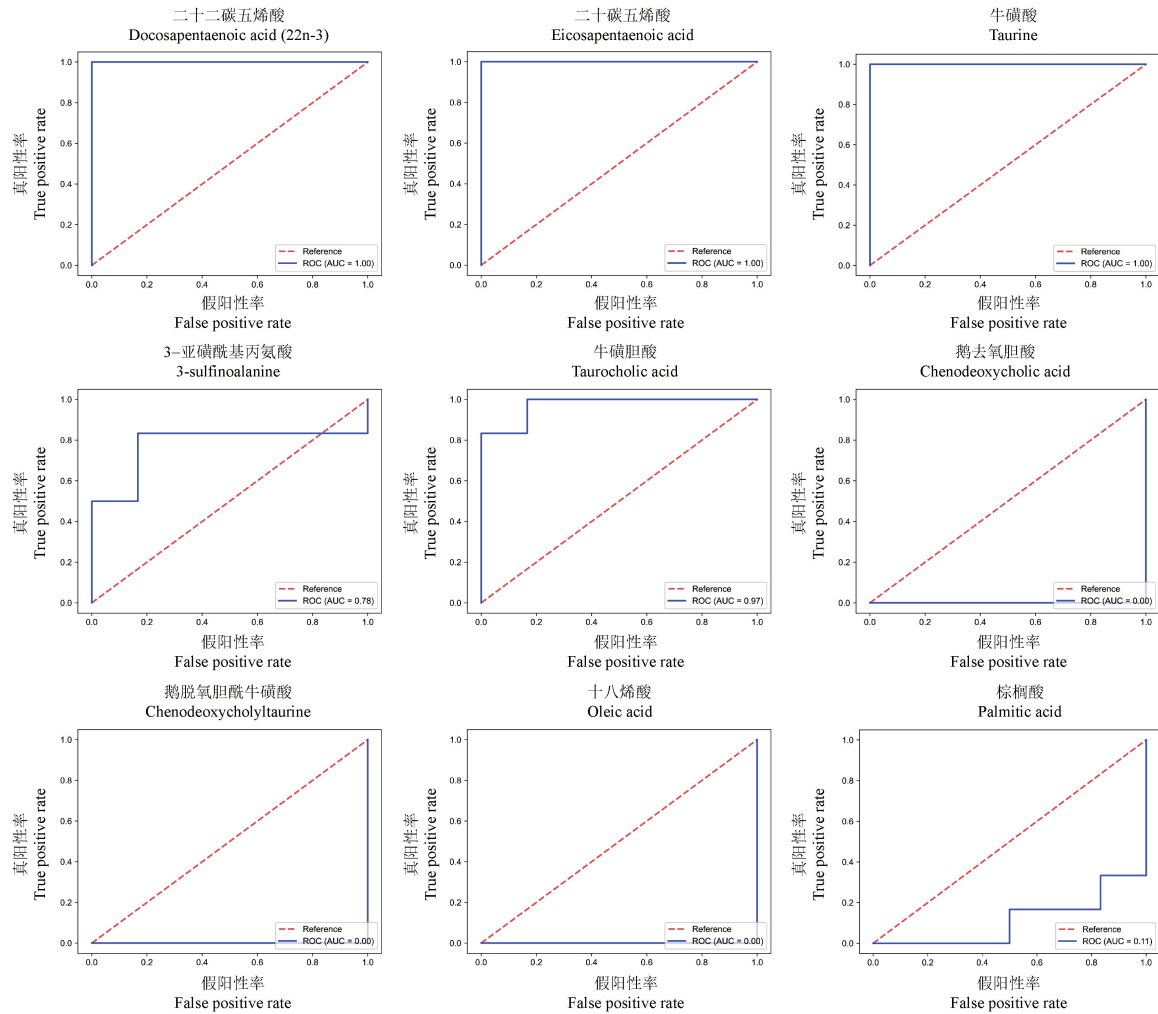
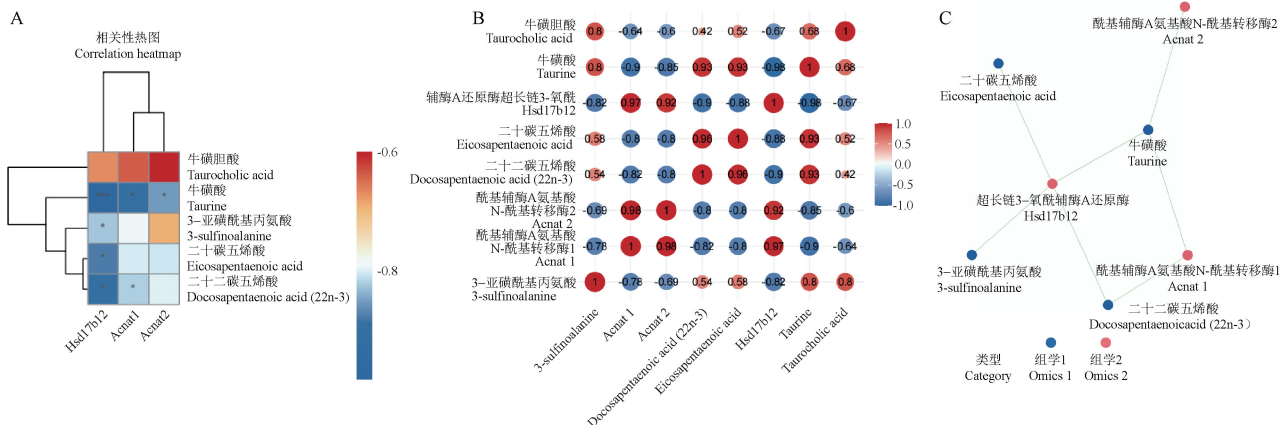


图 12 差异代谢物的 ROC 曲线分析

Figure 12 ROC curve analysis of the differential metabolites



注:A:聚类热图;B:相关性矩阵图,图中红色为正相关,蓝色为负相关,颜色越深相关性越大,圆圈越大相关性越大;C:关联网络图,绿色线代表负相关,红色线代表正相关,线的粗细代表相关性系数的高低。

图 13 蛋白与代谢的共表达相关性分析

Note. A, Cluster heatmap. B, Correlation matrix diagram, where red represents positive correlation and blue represents negative correlation. The darker the color, the greater the correlation. The size of the circle represents the magnitude of the correlation, and the larger the circle, the greater the correlation. C, Correlation network diagram shows that the green line represents negative correlation, the red line represents positive correlation, and the thickness of the line represents the level of correlation coefficient.

Figure 13 Correlation analysis of co-expression between protein and metabolism

3 讨论

RF 多为慢性肾病进展至 ESRD 的共同最终结局,被认为是发生在最初各种损伤之后肾自身损伤修复失败的结果,多见脏腑之气耗伤。气虚无力行血而致血瘀,“气不行水”或“气不化水”则可引起津液输布排泄障碍而发生停聚,郁久化热,形成湿热浊毒。RF 以气虚湿瘀为核心证候,临床病证结合、辨证论治疗效明显。本研究基于 RF 证候特征、病因病机、前期文献梳理及课题组多年来 RF 模型经验^[6-7],通过游泳力竭法诱导小鼠气虚血瘀模型,“高脂饮食+游泳力竭”以及控制恒温恒湿的外界环境以内外相引诱导湿热证小鼠模型,CsA 诱导小鼠 RF 模型,三者联合建立“气虚湿瘀”RF 小鼠模型,从临床出发为基础实验研究提供模型基础。

BZ 组小鼠见 Scr、BUN、UACR 升高提示肾功能受损。气虚运化失常、机体功能衰退可见饮食减少、体质量下降;脾气亏虚,肌肉毛发失于濡养可见皮毛无光;脾气亏虚,清浊不分可见大便稀;气为“神之母”,气虚则神衰,气虚可见精神倦怠、活动性差。BZ 组小鼠出现体质量减轻、进食及饮水量减少,毛发杂乱光泽度下降,精神萎靡,活动度下降,大便质稀符合中医气虚证表现。血瘀多表现为血流动力学上的改变、血浆黏度增加,肾组织胶原纤维的增生^[8]。本实验中 BZ 组小鼠全血多切变率黏度、HCT 较 N 组和 M 组均升高,血浆黏度较 N 组也显著升高,同时可见舌象色泽偏紫暗符合中医血瘀证舌象特点,可见 BZ 组小鼠血瘀证明显。有研究表明湿热证与感染之间存在关联,湿热证可见 IL-6、CRP 水平的升高,此外还可见血脂异常,以及 SOD、MDA 等氧化指标的异常^[9-11]。肾病理上表现为系膜细胞增生、基质增多及炎性细胞的浸润^[10]。本研究中 BZ 组小鼠 TC、LDL-C、CRP、IL-6、MDA 水平较 N 组和 M 组均显著升高,SOD 活性较 N 组下降,可见 BZ 组小鼠湿热征象明显。在肾病理上,BZ 组小鼠可见肾小管胞质空泡化明显,炎性细胞浸润、肾小球基底膜增厚、胶原纤维增生和脂质累积显著,BZ 组较 N 组和 M 组肾组织细胞凋亡及 TGF- β 沉积也显著增加,提示 BZ 组出现 RF 病理改变并可见湿热、血瘀证特点。综上,BZ 组小鼠在体征上表现

出气虚体征,血尿指标体现了血流动力学、炎症、血脂和氧化指标的紊乱以及肾功能的下降,肾组织病理上体现了湿热证、血瘀证的病理表现,符合气虚湿瘀 RF 模型评价标准^[6],提示“气虚湿瘀”肾纤维化小鼠模型造模成功,通过“环孢素+高脂饮食+游泳力竭+恒温恒湿”法构建气虚湿瘀 RF 动物模型具有可行性。但病证结合模型中不可控因素较多,模型评价标准目前缺乏统一认识,仍需进一步研究。

运用肾蛋白质组学和血清代谢组学联合分析体内蛋白和代谢物的变化情况,预测气虚湿瘀 RF 发生的关键靶蛋白,明确相关代谢物的变化,符合中医整体观特点,更贴切于疾病病证变化,有助于其机制的明确。研究结果显示初级胆汁酸生物合成、牛磺酸和亚牛磺酸代谢、不饱和脂肪酸的生物合成被同时富集,共涉及 3 个差异蛋白和 9 个差异代谢物,其中二十二碳五烯酸、二十碳五烯酸、牛磺酸、3-亚磺酰基丙氨酸、牛磺胆酸、酰基辅酶 A 氨基酸 N-酰基转移酶 1 和酰基辅酶 A 氨基酸 N-酰基转移酶 2、超长链 3-氧酰辅酶 A 还原酶(Hsd17b12)具有较高的预测准确性,Hsd17b12 与其他代谢物之间有较高的相关性。

在气虚湿瘀 RF 小鼠中牛磺酸和亚牛磺酸代谢通路里的 Acnat1 和 Acnat2 上调,牛磺酸、3-亚磺酰基丙氨酸、牛磺胆酸下调。Acnat1 主要表达于肾,是一种特异性牛磺酸结合酶,可参与过氧化物酶体中脂肪酸与牛磺酸的偶联,Acnat2 可能将不饱和脂肪酸与牛磺酸结合^[12-13]。重组 ACNAT1 催化长链和超长链饱和酰基辅酶 A 酯(C16-C24-CoAs)转化为牛磺酸,产生 N-酰基牛磺酸(NATs)^[14],NATs 与各种生理过程有关,包括胰岛素信号传导和 TRP 离子通道、钙通道激活等,参与调节能量平衡,对肾功能有潜在影响^[15]。3-亚磺酰基丙氨酸是牛磺酸的前体,牛磺酸是一种含硫氨基酸,可形成牛磺胆酸参与胆固醇代谢和线粒体能量代谢,维持线粒体稳态,减少细胞凋亡^[16],还具有抗氧化应激的作用,能够提高 SOD 活性、降低 MDA 水平^[17]。牛磺酸缺乏可导致高脂血症、高血压以及蛋白尿^[18],升高 TC 和 LDL-C 水平^[19]。本研究中气虚湿瘀 RF 小鼠肾组织 TUNEL 凋亡增加,血脂、UACR 及 MDA 水平升

高, SOD 降低, 可见牛磺酸与亚牛磺酸代谢通路在气虚湿瘀型 RF 小鼠模型中发挥重要作用。

在不饱和脂肪酸的生物合成中 *Acnat1* 和 *Acnat2* 以及 *Hsd17b12* 上调, 二十二碳五烯酸、二十碳五烯酸下调。*Hsd17b12* 参与脂肪酸代谢, 在非常长链脂肪酸的延长中起着关键作用, 参与调节小鼠的代谢稳态^[20], 其上调可促进脂质沉积^[21], 在 BZ 组小鼠中油红 O 染色示脂质沉积, 与之符合。二十二碳五烯酸、二十碳五烯酸都是 Omega-3 长链多不饱和脂肪酸, Omega-3 脂肪酸可通过 AMPK 介导的自噬通量激活减轻肾纤维化^[22], 具有改善血脂、调节免疫、抗炎的作用^[23]。二十碳五烯酸还可降低 TGF- β 1 水平、抑制肾局部炎症, 减少细胞外基质沉积, 减轻 RF^[24]。此外, Omega-3 脂肪酸也可参与 NATs 的合成, 降低血脂水平^[25-26]。可见 BZ 组小鼠 TC、LDL-C 血脂指标升高, CRP、IL-6 炎症指标上升, 肾病理示 TGF- β 沉积增多、炎细胞浸润明显与二十二碳五烯酸、二十碳五烯酸的下调密切相关。

综上, 在气虚湿瘀 RF 小鼠中 *Acnat1*、*Acnat2* 和 *Hsd17b12* 上调参与不饱和脂肪酸生物合成与牛磺酸和亚牛磺酸代谢途径, 血清中表现为牛磺酸、3-亚磺酰基丙氨酸、牛磺胆酸、二十二碳五烯酸、二十碳五烯酸代谢物的下调。因此, 推测在小鼠气虚湿瘀 RF 形成机制可能与 *Acnat1*、*Acnat2* 以及 *Hsd17b12* 参与下 Omega-3 脂肪酸与牛磺酸的偶联影响脂质代谢相关, 气虚湿瘀肾纤维化中不饱和脂肪酸生物合成与牛磺酸和亚牛磺酸代谢通路可能发挥重要作用, *Hsd17b12* 可能为重要靶点。这为后续气虚湿瘀肾纤维化的机制研究及治疗提供新的思路和方向。

参考文献:

- [1] DJUDJAJ S, BOOR P. Cellular and molecular mechanisms of kidney fibrosis [J]. *Mol Aspects Med*, 2019, 65: 16-36.
- [2] 高国栋, 孙伟. “肾虚湿瘀”理论下的慢性肾病中医证候学研究 [J]. *世界科学技术-中医药现代化*, 2021, 23(10): 3474-3482.
GAO G D, SUN W. TCM syndrome research of chronic kidney disease based on the theory of “kidney deficiency and damp-blood stasis” [J]. *Mod Tradit Chin Med Mater Med World Sci Technol*, 2021, 23(10): 3474-3482.
- [3] 胡洪贞, 齐振强, 李伟. 李伟中西医结合治疗慢性肾病经验撷菁 [J]. *辽宁中医杂志*, 2019, 46(2): 260-262.
HU H Z, QI Z Q, LI W. LI Wei's experience of treating chronic kidney disease with traditional Chinese and western medicine [J]. *Liaoning J Tradit Chin Med*, 2019, 46(2): 260-262.
- [4] 陈香美, 倪兆慧, 刘玉宁, 等. 慢性肾衰竭中西医结合诊疗指南 [J]. *河北中医*, 2016, 38(2): 313-317.
CHEN X M, NI Z H, LIU Y N, et al. Guide to diagnosis and treatment of chronic renal failure with integrated traditional Chinese and western medicine [J]. *Hebei J Tradit Chin Med*, 2016, 38(2): 313-317.
- [5] 赵辉, 曹洪欣, 李想, 等. 冠心病心阳虚痰瘀互结证大鼠模型的代谢组学特征分析 [J]. *中国中医基础医学杂志*, 2023, 29(5): 734-741.
ZHAO H, CAO H X, LI X, et al. Analysis on metabonomic characteristics of rat model of coronary heart disease with heart Yang deficiency, phlegm and blood stasis syndrome [J]. *J Basic Chin Med*, 2023, 29(5): 734-741.
- [6] 高冉冉, 申振, 连梦慧, 等. 气虚湿瘀型肾纤维化动物模型的研究进展 [J]. *中国比较医学杂志*, 2023, 33(10): 91-99.
GAO R R, SHEN Z, LIAN M H, et al. Research progress on kidney fibrosis animal models of qi deficiency and dampness stasis syndrome [J]. *Chin J Comp Med*, 2023, 33(10): 91-99.
- [7] HAN C, JIANG Y H, LI W, et al. *Astragalus membranaceus* and *Salvia miltiorrhiza* ameliorates cyclosporin A-induced chronic nephrotoxicity through the “gut-kidney axis” [J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 269: 113768.
- [8] 庞欣欣, 彭紫凝, 邢玉凤, 等. 基于病证结合探讨血瘀证糖尿病肾病大鼠肾损害与内质网应激的关系 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2020, 26(20): 74-81.
PANG X X, PENG Z N, XING Y F, et al. Investigating relationship between renal damage and endoplasmic reticulum stress in diabetic kidney disease rats with blood stasis syndrome based on combination of disease and syndrome [J]. *Chin J Exp Tradit Med Formulae*, 2020, 26(20): 74-81.
- [9] 钟云良, 谢桂权. 原发性肾病综合征湿热证与炎症因子相关性的探讨 [J]. *辽宁中医药大学学报*, 2008, 10(5): 25-26.
ZHONG Y L, XIE G Q. Correlation between damp-heat syndrome and inflammatory factors in primary nephrotic syndrome [J]. *J Liaoning Univ Tradit Chin Med*, 2008, 10(5): 25-26.
- [10] 李春庆, 孙伟, 周栋. 慢性肾病湿热证实验研究进展 [J]. *中医药导报*, 2010, 16(11): 117-119.
LI C Q, SUN W, ZHOU D. Experimental study of chronic

- kidney disease progress Damp [J]. Guid J Tradit Chin Med Pharm, 2010, 16(11): 117–119.
- [11] 陈佳美, 朱青, 朴胜华, 等. 湿热证动物模型造模方法的文献挖掘研究 [J]. 中国中医基础医学杂志, 2021, 27(9): 1399–1404.
- CHEN J M, ZHU Q, PIAO S H, et al. Research on literature mining of animal models with damp-heat syndrome [J]. J Basic Chin Med, 2021, 27(9): 1399–1404.
- [12] HUNT M C, SIPONEN M I, ALEXSON S E H. The emerging role of acyl-CoA thioesterases and acyltransferases in regulating peroxisomal lipid metabolism [J]. Biochim Biophys Acta, 2012, 1822(9): 1397–1410.
- [13] NEUGEBAUER K A, OKROS M, GUZIOR D V, et al. Baat gene knockout alters post-natal development, the gut microbiome, and reveals unusual bile acids in mice [J]. J Lipid Res, 2022, 63(12): 100297.
- [14] REILLY S J, O'SHEA E M, ANDERSSON U, et al. A peroxisomal acyltransferase in mouse identifies a novel pathway for taurine conjugation of fatty acids [J]. FASEB J, 2007, 21(1): 99–107.
- [15] SAGHATELIAN A, MCKINNEY M K, BANDELL M, et al. A FAAH-regulated class of N-acyl taurines that activates TRP ion channels [J]. Biochemistry, 2006, 45(30): 9007–9015.
- [16] 陈哲晖, 陆妹, 杨艳玲. 牛磺酸在遗传代谢病治疗中的应用 [J]. 中国实用儿科杂志, 2023, 38(10): 758–761.
- CHEN Z H, LU M, YANG Y L. Use of taurine in the treatment of inherited metabolic disorders [J]. Chin J Pract Pediatr, 2023, 38(10): 758–761.
- [17] 陈军平, 王德伟, 谭伟源, 等. GYY4137 通过提高自噬水平和降低氧化应激来保护老年雌性大鼠骨量流失 [J]. 中国骨质疏松杂志, 2021, 27(3): 324–328.
- CHEN J P, WANG D W, TAN W Y, et al. GYY4137 protects bone loss in elderly female rats by increasing autophagy levels and reducing oxidative stress [J]. Chin J Osteoporos, 2021, 27(3): 324–328.
- [18] BALIOU S, ADAMAKI M, IOANNOU P, et al. Ameliorative effect of taurine against diabetes and renal-associated disorders (Review) [J]. Med Int (Lond), 2021, 1(2): 3.
- [19] LI Y, ZHAO D, QIAN M, et al. Amlodipine, an anti-hypertensive drug, alleviates non-alcoholic fatty liver disease by modulating gut microbiota [J]. Br J Pharmacol, 2022, 179(9): 2054–2077.
- [20] HEIKELÄ H, RUOHONEN S T, ADAM M, et al. Hydroxysteroid (17 β) dehydrogenase 12 is essential for metabolic homeostasis in adult mice [J]. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2020, 319(3): E494–E508.
- [21] LIU J, CHE Y, CAI K, et al. miR-136 regulates the proliferation and adipogenic differentiation of adipose-derived stromal vascular fractions by targeting *HSD17B12* [J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(19): 14892.
- [22] HAN S, CHOI H, PARK H, et al. Omega-3 fatty acids attenuate renal fibrosis via AMPK-mediated autophagy flux activation [J]. Biomedicines, 2023, 11(9): 2553.
- [23] POGGIOLI R, HIRANI K, JOGANI V G, et al. Modulation of inflammation and immunity by omega-3 fatty acids: a possible role for prevention and to halt disease progression in autoimmune, viral, and age-related disorders [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2023, 27(15): 7380–7400.
- [24] 危志强. 二十碳五烯酸抑制肾小管上皮细胞间质转化及纤维化的机制研究 [D]. 苏州: 苏州大学, 2020.
- WEI Z Q. Mechanism of eicosapentaenoic acid inhibiting interstitial transformation and fibrosis of renal tubular epithelial cells [D]. Suzhou: Soochow University, 2020.
- [25] TRAMMELL S A J, GAMON L F, GOTFRYD K, et al. Identification of bile acid-CoA: amino acid N-acyltransferase as the hepatic N-acyl taurine synthase for polyunsaturated fatty acids [J]. J Lipid Res, 2023, 64(9): 100361.
- [26] BORNFELDT K E. Triglyceride lowering by omega-3 fatty acids: a mechanism mediated by N-acyl taurines [J]. J Clin Invest, 2021, 131(6): e147558.

[收稿日期]2024-08-17