

# 基于 CX3CL1/CX3CR1 信号通路探讨加味补阳还五汤对卒中后抑郁大鼠神经可塑性的影响

罗琳<sup>1</sup>, 黄娟<sup>1</sup>, 雷华娟<sup>2</sup>, 周赛男<sup>1</sup>, 赵帅<sup>3</sup>, 刘坤<sup>4\*</sup>

(1. 湖南中医药大学, 湖南长沙 410208; 2. 湖南中医药大学第一附属医院, 湖南长沙 410000; 3. 长沙市第三医院, 湖南长沙 410035; 4. 湖南省第二人民医院, 湖南长沙 410007)

**摘要:** **目的** 探究加味补阳还五汤对卒中后抑郁 (PSD) 大鼠神经可塑性的影响。**方法** 60 只大鼠随机分为假手术组、模型组、氟西汀组及加味补阳还五汤低、中、高剂量组, 采用复合方法制备 PSD 模型, 加味补阳还五汤低、中、高剂量组给予不同剂量加味补阳还五汤 (6.7、13.4、26.8 g/kg) 灌胃, 氟西汀组给予氟西汀 (1.8 mg/kg) 灌胃, 假手术组和模型组给予等体积蒸馏水灌胃, 连续 21 d。给药结束后, 进行神经功能、行为学评分, HE、尼氏染色观察脑组织病理变化, 免疫荧光染色观察神经元 (Neun) 和小胶质细胞 (Iba1) 之间相互作用, Western blot 法检测神经趋化因子 (CX3CL1)、CX3CR1、磷脂酰肌醇 3 激酶 (PI3K)、苏氨酸激酶 (Akt) 蛋白表达。**结果** 与模型组比较, 各给药组神经功能缺损评分降低 ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ), 旷场活动总距离和进入中央区域频次增加 ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ), 不动时间缩短 ( $P<0.05$ ); 加味补阳还五汤中、高剂量组和氟西汀组新奇摄食潜伏期缩短 ( $P<0.01$ ), 缺血侧海马细胞排列整齐, 细胞水肿减轻, 细胞基本正常, 尼氏小体增多, CX3CL1/Neun、CX3CR1/Iba1 荧光强度增强 ( $P<0.05$ ), CX3CL1、CX3CR1、PI3K、p-Akt 蛋白表达升高 ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ )。**结论** 加味补阳还五汤对 PSD 大鼠具有抗抑郁、神经保护作用, 其机制可能与调控 CX3CL1/CX3CR1 信号通路关键因子、增强神经可塑性有关。

**关键词:** 加味补阳还五汤; 卒中后抑郁; 神经可塑性; CX3CL1/CX3CR1 信号轴

**中图分类号:** R285.5

**文献标志码:** B

**文章编号:** 1001-1528(2024)10-3450-06

**doi:** 10.3969/j.issn.1001-1528.2024.10.045

卒中后抑郁 (post-stroke depression, PSD) 是指脑卒中后继而诱发的以情绪低迷、认知功能受损甚至躯体化症状为主要临床特征的综合疾病<sup>[1]</sup>, 据估计, 大约有 1/3 的卒中患者会在卒中后某个时期内经历抑郁, 严重影响其认知、神经功能的恢复<sup>[2]</sup>。在使用药物治疗 PSD 的患者中有 1/6 在治疗结束时症状得到缓解, 但尚未明确最佳药物和治疗持续时间, 因此需要进一步研究新型抗抑郁药, 以明确它们在治疗 PSD 中的作用<sup>[3]</sup>。大量研究表明, 神经可塑性是脑损伤后神经功能恢复的基础, 神经趋化因子 Fractalkine (recombinant chemokine C-X3-C-motif ligand 1, CX3CL1) 与其受体 CX3CR1 (CX3C chemokine receptor 1, CX3CR1) 是小胶质细胞-神经元相互作用的重要调控因素之一<sup>[4]</sup>。课题组前期研究发现, 补阳还五汤可以抗 PSD 大鼠抑郁行为, 但其机制尚不明确。因此, 本研究旨在观察加味补阳还五汤对 PSD 大鼠抗抑郁的作用, 以及其通过 CX3CL1/CX3CR1 信号通路调控神经可塑性对 PSD 大鼠的保护作用。

## 1 材料

1.1 动物 SPF 级雄性 SD 大鼠 60 只, 2 月龄, 体质量 180~220 g, 购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司 [实验动物生产许可证号 SCXK (湘) 2019-0004], 饲养于湖南中医药大学第一附属医院 SPF 级动物房 [实验动物使用许可证号 SYXK (湘) 2020-0010]。本实验经湖南中医药大学第一附属医院实验动物伦理委员会批准 (伦理审批号 202009030001)。

1.2 药物 加味补阳还五汤由黄芪 120 g (批号 200901)、当归 6 g (批号 210301)、赤芍 4.5 g (批号 210501)、桃仁 3 g (批号 210601)、红花 3 g (批号 210501)、干地龙 3 g (批号 190401)、川芎 3 g (批号 211101)、柴胡 3 g (批号 210601)、郁金 3 g (批号 200401) 组成, 经湖南中医药大学药学院药剂教研室杨晶副教授鉴定为正品, 符合 2020 年版《中国药典》标准, 加入 5 倍量蒸馏水浸泡 60 min, 武火先煎 30 min, 文火再煎 90 min, 用 3 层无菌纱布过滤后加入 3 倍量蒸馏水, 再次煎煮, 过滤, 合并 2 次滤液, 放入冻干机中冷冻干燥成粉末, 冷藏。盐酸氟西汀胶囊 (每粒

收稿日期: 2024-07-01

**基金项目:** 国家自然科学基金项目 (81904193, 82104971); 湖南中医药大学校级科研基金项目 (2020XJJ022)

**作者简介:** 罗琳 (1979—), 女, 博士, 讲师, 从事中医药防治脑血管疾病研究。Tel: 13786120341, E-mail: 79linzi@163.com

\* **通信作者:** 刘坤 (1979—), 男, 博士, 主任医师, 硕士生导师, 从事中西医结合防治脑血管疾病研究。Tel: 13755087478, E-mail: 330256@hnuem.edu.cn

20 mg, 国药准字 J20080016, 批号 16090487345A) 购自礼来 (苏州) 制药有限公司。

1.3 试剂 CX3CL1 抗体 (美国 R&D 公司, 货号 AF537); CX3CR1 抗体 (美国 Invitrogen 公司, 货号 PA1-22487); PI3K、Akt、p-Akt、Neun、Ibal 抗体 (英国 Abcam 公司, 货号 ab40776、ab179463、ab81283、ab177487、ab283319);  $\beta$ -actin 抗体、二抗 HRP-羊抗兔 (北京百奥思科生物医学技术有限公司, 货号 MD6553、MD912565)。

1.4 仪器 Vectra3 型智能组织切片成像系统 (美国 PerkinElmer 公司); 免疫蛋白印迹系统 (美国 Bio-Rad 公司); CLINX 型化学发光成像系统 (上海勤翔科学仪器有限公司); DM3000 型正置荧光显微镜 (德国 Leica 公司)。

## 2 方法

2.1 分组、造模与给药 60 只大鼠按随机数字表法分为假手术组、模型组、氟西汀组和加味补阳还五汤低、中、高剂量组, 每组 10 只。参照 Longa 等<sup>[5]</sup>报道使用大脑中动脉栓塞法制备 MCAO 模型, 大鼠用 1% 戊巴比妥钠 (50 mg/kg) 麻醉, 取颈正中做一直线切口 (约 3 cm), 分离左侧颈总、颈外、颈内动脉, 同时结扎颈外动脉, 将线从颈总动脉中段插入, 并通过颈内动脉至大脑中动脉, 直到遇到轻微阻力为止, 插入深度由分叉部开始计为 (18.5 $\pm$ 0.5) mm, 消毒并缝合皮肤。术后采用 5 分制法对大鼠进行神经功能评分, 选取 1~3 分者入组。

MCAO 术后恢复饲养 2 d 后, 给予慢性不可预见的温和应激 21 d 结合孤养建立 PSD 模型<sup>[6]</sup>。大鼠每周随机给予禁食禁水 (20 h)、禁水 (18 h)、游泳 (4 $^{\circ}$ C, 5 min)、倾斜鼠笼 (45 $^{\circ}$ , 17 h)、湿笼 (100 g 锯屑加 200 mL 水, 21 h)、持续光照 (17 h)、夹尾 (1 min) 7 种刺激, 每天随机选取 1 种方式, 相同方式不连续出现, 但每种应出现 3 次; 假手术组除每天抓取 1 次外, 不做特殊处理。

从应激后第 1 天开始灌胃给药, 加味补阳还五汤低、中、高组分别给予人临床等效剂量 0.5、1、2 倍换算后的补阳还五汤 (6.7、13.4、26.8 g/kg), 氟西汀组给予人临床等效剂量换算后的氟西汀 (1.8 mg/kg), 假手术组和模型组均给予蒸馏水, 持续 21 d, 容积均为 10 mL/kg。

2.2 神经功能学评分 给药 21 d 后, 参考 Clack 等<sup>[7]</sup>的 28 分法对大鼠进行神经行为学评分。评分越高, 神经功能缺损越严重。

2.3 行为学检测

2.3.1 旷场实验 旷场实验<sup>[8]</sup>装置为 100 cm $\times$ 100 cm $\times$ 40 cm 无盖实验箱, 底部分为中心区域和周边区域, 中心区面积为 33 cm $\times$ 33 cm, 在实验箱正中上方 180 cm 处通过支架安装高清摄像装备使画面覆盖整个实验箱。实验时捏住大鼠尾部轻轻放入敞箱中, 计时 5 min, 记录大鼠活动总距离、进入中央区域频次、不动时间。

2.3.2 新奇摄食抑制实验 将 70 cm $\times$ 70 cm $\times$ 45 cm 塑料盒内壁涂成黑色, 置于灯光昏暗的实验室中, 在盒子中央的白纸上放置 1 粒食丸, 依次将大鼠放入敞箱中 (每次同一

方向、同一位置, 放置前禁食不禁水 24 h), 以 5 min 内第 1 次开始咬食食丸为摄食潜伏期<sup>[9]</sup>。

2.4 HE 染色观察脑组织病理损伤 行为学检测后, 大鼠腹腔注射 1% 戊巴比妥钠麻醉, 经心脏灌注后取脑, 4% 多聚甲醛固定脑组织 48 h 后石蜡包埋, 行冠状切片后进行 HE 染色, 评价脑组织病理损伤情况。

2.5 尼氏染色观察脑组织神经元损伤 取脑组织石蜡切片进行尼氏染色, 评价脑组织神经元损伤情况。

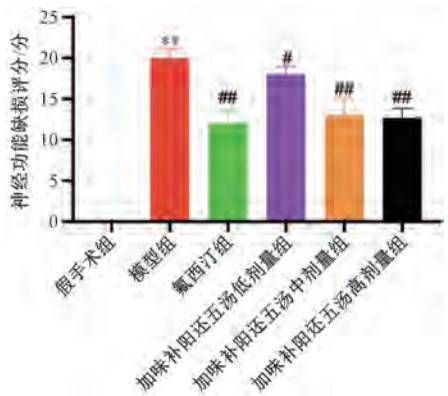
2.6 免疫荧光染色 将石蜡包埋的脑组织行冠状切片后封闭, 孵育一抗、二抗, PBS 冲洗 3 次后滴加 DAPI 室温避光孵育, 冲洗后封片, 通过 Image J 软件进行荧光强度分析。

2.7 Western blot 法检测目的蛋白表达 行为学检测后, 大鼠腹腔注射 1% 戊巴比妥钠麻醉, 冰上取脑组织, 冷冻。取缺血侧大脑组织 20 mg, 加裂解液冰上裂解, 离心后提取总蛋白, 使用 BCA 试剂盒测定蛋白浓度后用添加上样缓冲液, 经电泳、转膜、封闭、孵育一抗、二抗、显色后, 通过 Image J 软件计算 CX3CL1、CX3CR1、PI3K、Akt、p-Akt 蛋白相对表达。

2.8 统计学分析 通过 SPSS 19.0 软件进行处理, 计量资料以 ( $\bar{x}\pm s$ ) 表示, 方差齐者多组间比较采用方差分析, 组间两两比较采用 SNK- $q$  检验; 方差不齐者采用 Tamhane 检验。 $P<0.05$  表示差异具有统计学意义。

## 3 结果

3.1 加味补阳还五汤对 PSD 大鼠神经功能评分的影响 与假手术组比较, 模型组大鼠神经功能评分升高 ( $P<0.01$ ); 与模型组比较, 各给药组大鼠神经功能评分降低 ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ), 见图 1。



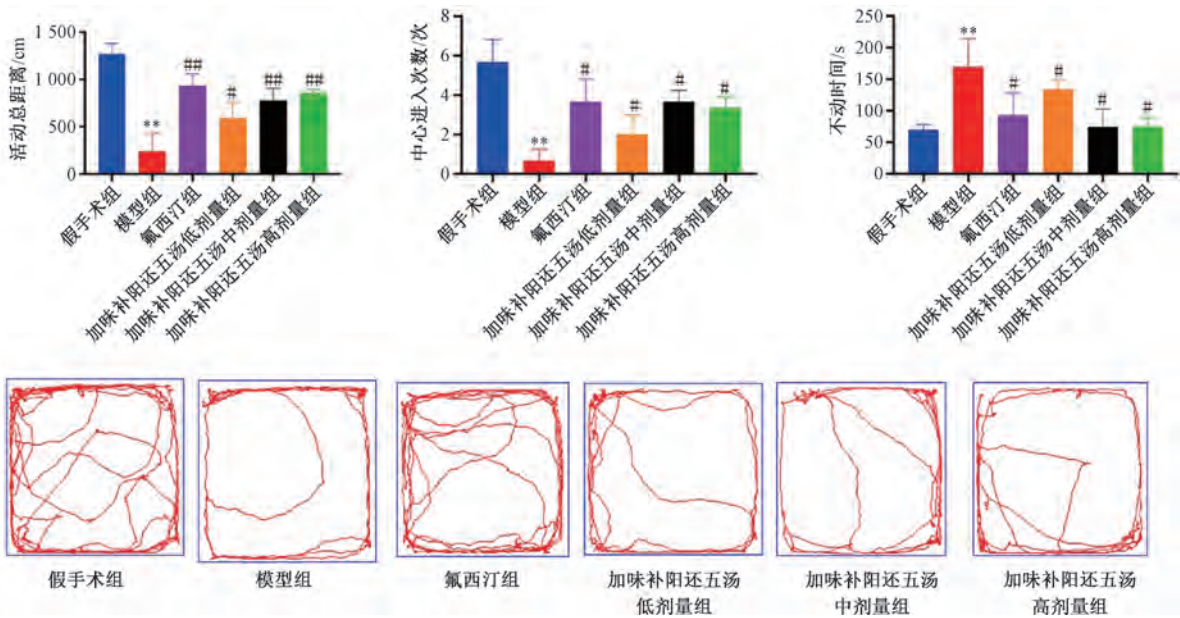
注: 与假手术组比较, \*\*  $P<0.01$ ; 与模型组比较, #  $P<0.05$ , ##  $P<0.01$ 。

图 1 加味补阳还五汤对 PSD 大鼠神经功能评分的影响 ( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=10$ )

3.2 加味补阳还五汤对 PSD 大鼠行为学的影响

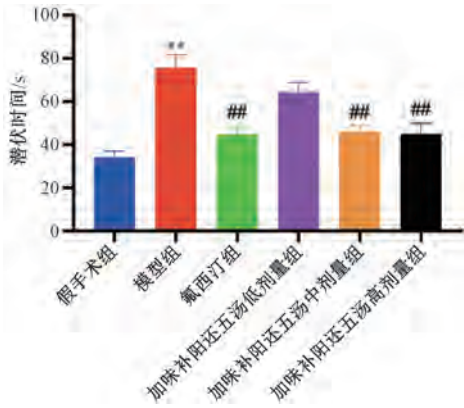
3.2.1 旷场实验 与假手术组比较, 模型组大鼠旷场活动总距离和进入中央区域频次减少 ( $P<0.01$ ), 不动时间增加 ( $P<0.01$ ); 与模型组比较, 各给药组大鼠旷场活动总距离和进入中央区域频次增加 ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ), 不动时间缩短 ( $P<0.05$ ), 见图 2。





注：与假手术组比较，\*\* $P<0.01$ ；与模型组比较，# $P<0.05$ ，## $P<0.01$ 。  
图 2 加味补阳还五汤对 PSD 大鼠旷场实验的影响 ( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=10$ )

3.2.2 新奇摄食实验 与假手术组比较，模型组大鼠潜伏时间延长 ( $P<0.01$ )；与模型组比较，氟西汀组和加味补阳还五汤中、高剂量组大鼠潜伏时间缩短 ( $P<0.01$ )，见图 3。



注：与假手术组比较，\*\* $P<0.01$ ；与模型组比较，## $P<0.01$ 。  
图 3 加味补阳还五汤对 PSD 大鼠新奇摄食潜伏期的影响 ( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=10$ )

3.3 加味补阳还五汤对 PSD 大鼠缺血侧海马区域病理形态以及神经元形态的影响 HE 染色显示，模型组大鼠海马区域大量细胞核皱缩，细胞呈现空泡样改变、大量水肿等；与模型组比较，各给药组大鼠细胞排列整齐，水肿减轻，结构大致正常，见图 4。

尼氏染色显示，与假手术组比较，模型组大鼠缺血侧海马区域可见大量坏死与水肿的神经元，胞核皱缩明显，细胞水肿明显；与模型组比较，各给药组大鼠缺血侧海马区域神经元细胞状态稍好转，细胞排列相对整齐，尼氏小体增多，见图 5。

3.4 加味补阳还五汤对 PSD 大鼠海马神经可塑性的影响

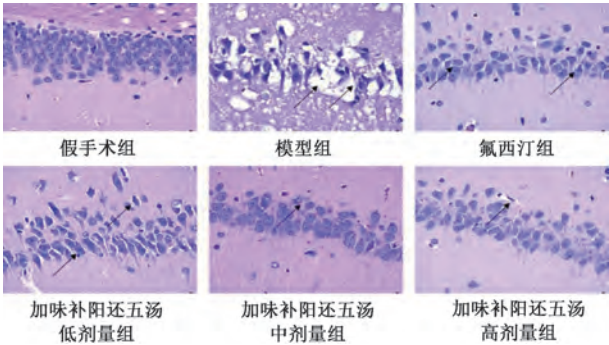


图 4 各组大鼠大脑缺血侧海马 HE 染色 ( $\times 400$ )

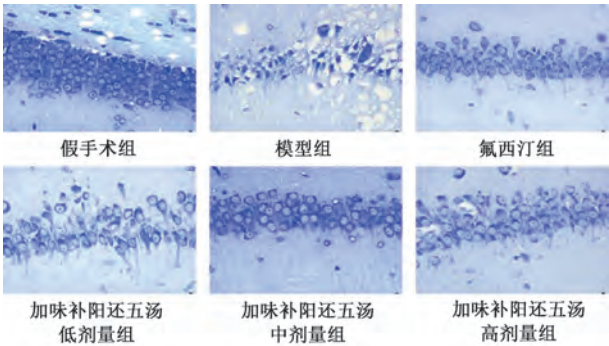
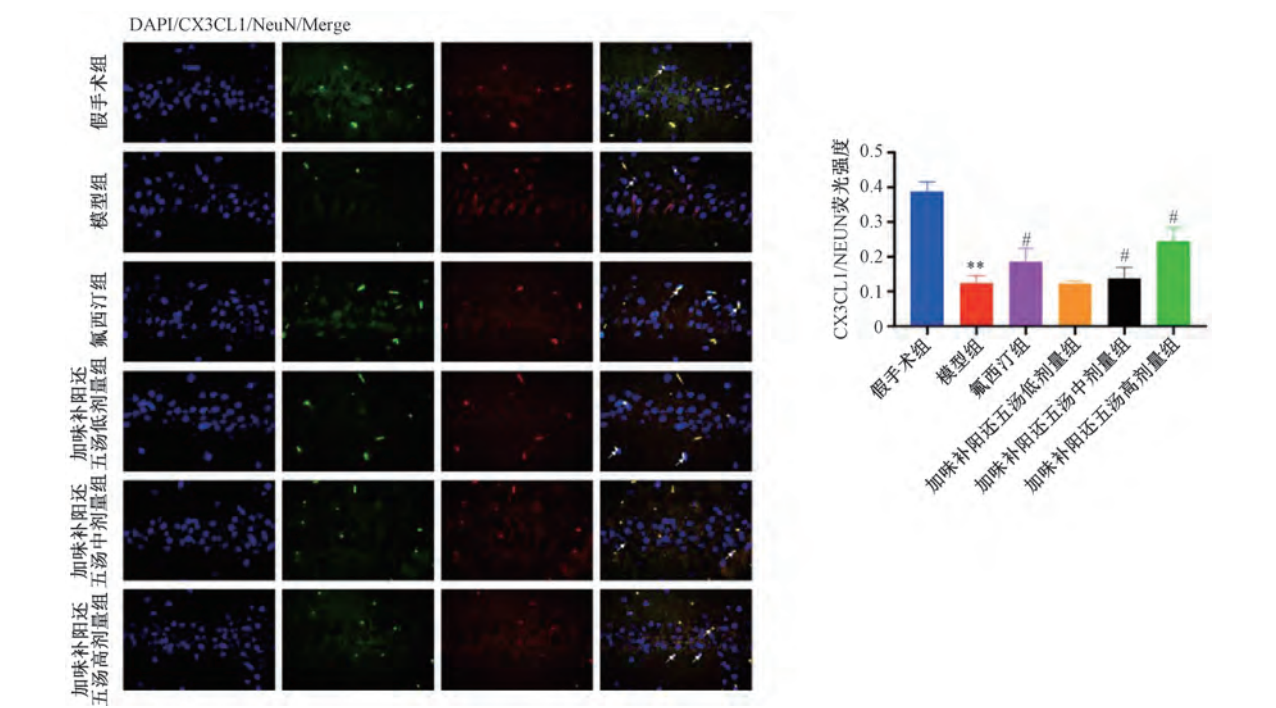


图 5 各组大鼠大脑缺血侧海马尼氏染色 ( $\times 400$ )

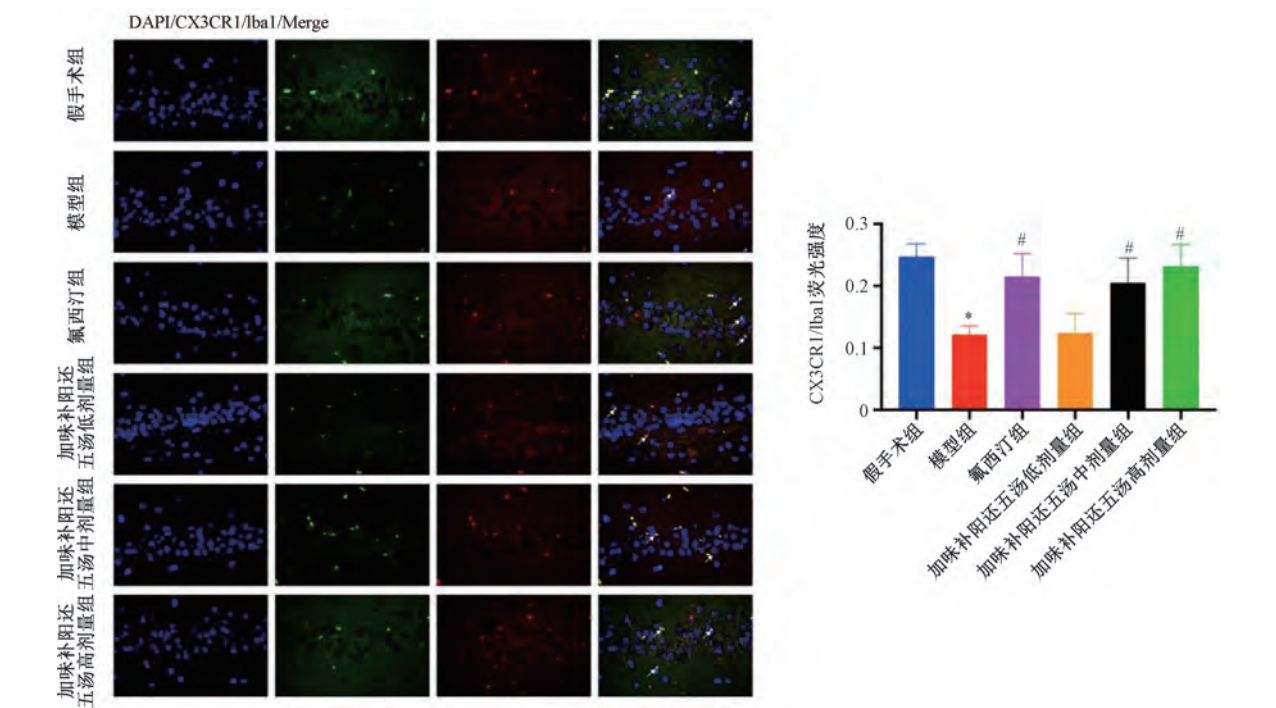
与假手术组比较，模型组大鼠缺血侧海马区 CX3CL1/NeuN、CX3CR1/Iba1 荧光强度降低 ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ )；与模型组比较，氟西汀组和加味补阳还五汤中、高剂量组大鼠 CX3CL1/NeuN、CX3CR1/Iba1 荧光强度增强 ( $P<0.05$ )，见图 6~7。

3.5 加味补阳还五汤对 PSD 大鼠神经可塑性相关通路蛋白表达的影响 与假手术组比较，模型组 CX3CL1、CX3CR1、



注：与假手术组比较，\*\*  $P<0.01$ ；与模型组比较，#  $P<0.05$ 。

图 6 各组大鼠缺血侧海马区 CX3CL1/NeuN 荧光表达 ( $\bar{x}\pm s, n=3$ )



注：与假手术组比较，\*  $P<0.05$ ；与模型组比较，#  $P<0.05$ 。

图 7 各组大鼠缺血侧海马区 CX3CR1/Iba1 荧光表达 ( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

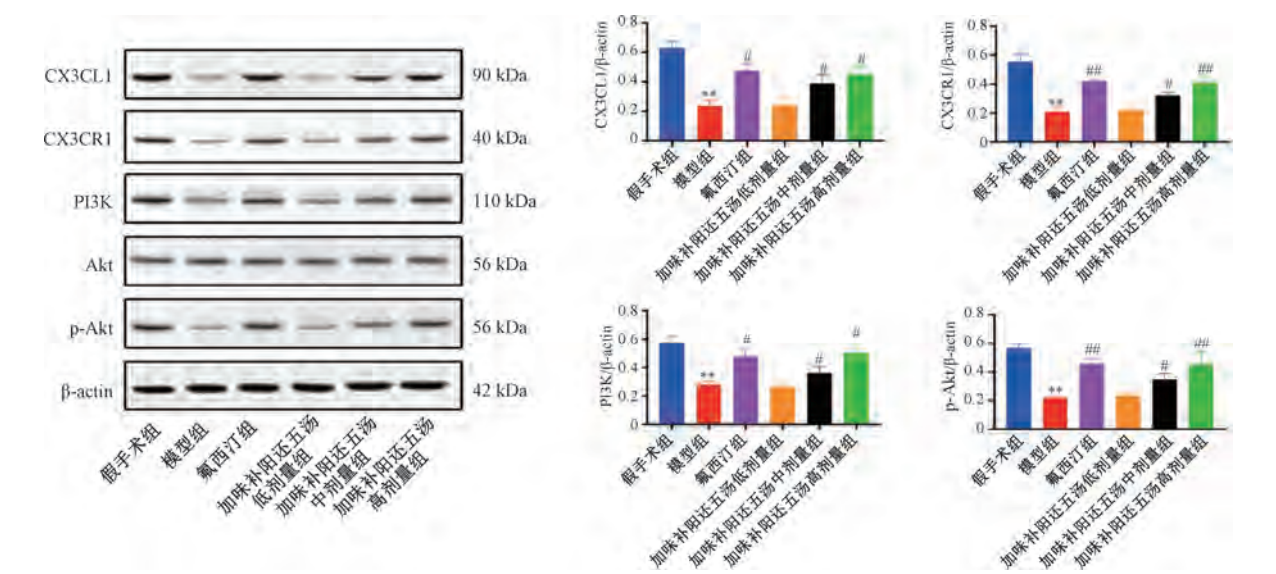
PI3K、p-Akt 蛋白表达降低 ( $P<0.01$ )；与模型组比较，氟西汀组和加味补阳还五汤中、高剂量组 CX3CL1、CX3CR1、PI3K、p-Akt 蛋白升高 ( $P<0.05, P<0.01$ )，见图 8。

4 讨论

近年来 PSD 发病率逐年上升，已严重危害卒中患者的生活质量，甚至增加再次卒中风险，因此早期识别并干预

PSD 已然成为公共卫生问题。目前，广泛使用的抗抑郁药物均存在一定程度的不良反应。中医药在防治 PSD 上具有一定优势，补阳还五汤是治疗气虚血瘀证中风的著名方剂，临床已被广泛用于治疗中风，加味补阳还五汤在原方基础上加以柴胡、郁金而成，共奏益气、活血、疏肝、解郁之功。本研究发现，加味补阳还五汤能够发挥抗 PSD 损伤，





注：与假手术组比较，\*\*  $P<0.01$ ；与模型组比较，#  $P<0.05$ ，##  $P<0.01$ 。

图 8 加味补阳还五汤对 PSD 大鼠 CX3CL1、CX3CR1、PI3K、p-Akt 蛋白表达的影响 ( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=3$ )

促进神经功能恢复的作用。

现代研究表明，大脑具有惊人的适应和恢复能力，神经可塑性的发现对于理解学习和记忆、康复治疗以及大脑发育都具有重大意义，为脑损伤后的功能恢复提供了可能性<sup>[10-11]</sup>，因此，增强 PSD 后的神经可塑性，以提高 PSD 恢复的可能性和效果已经成为热点。由于体内突触可塑性调节机制稳态失衡，从而导致突触所连接的情感电路和情绪的不稳而产生抑郁<sup>[12-14]</sup>，而抗抑郁治疗能减轻神经元树突的损伤，同时减少相关突触蛋白以及改善脑区体积萎缩，说明抑郁症发生与神经可塑性异常密切相关，因此，调节神经可塑性对于 PSD 的功能恢复十分关键。本研究发现，PSD 大鼠缺血侧海马中尼氏小体明显减少、形态改变，表明神经受损明显；加味补阳还五汤可以促进 PSD 大鼠受损区域周围的神经网络重新组织和适应，且中、高剂量下调神经可塑性的效果较好。

CX3CL1/CX3CR1 信号通路在调节神经可塑性中扮演着重要角色，CX3CL1 是一种独特的趋化因子，它既作为膜结合蛋白存在，也能以可溶性形式分泌，可影响突触的稳定性和神经网络的重塑<sup>[15]</sup>；CX3CR1 是 CX3CL1 的唯一已知受体，主要表达在微胶质细胞和某些神经元上<sup>[16]</sup>。研究表明，通过激活 CX3CR1/CX3CL1 通路可以妨碍 2 种细胞之间的信息交流以减轻慢性应激对其功能、可塑性及抑郁样行为的影响<sup>[17-18]</sup>，因此，CX3CL1/CX3CR1 信号通路涉及到神经元和微胶质细胞之间的交流，这对维持大脑环境的稳定和促进神经元生存至关重要。本研究发现，加味补阳还五汤能促进 CX3CL1/Neun 以及 CX3CR1/Iba1 的表达，可能通过调节 PSD 后神经元和小胶质细胞的交流以促进神经可塑性，进而起到抗抑郁及神经保护作用。进一步研究发现，加味补阳还五汤能通过升高 CX3CL1、CX3CR1 及下游因子 PI3K、Akt 蛋白表达，可能通过调控 CX3CL1/CX3CR1 通路促进脑内神经可塑性抗 PSD，有望成为治疗 PSD 的可靠

药物。

综上所述，加味补阳还五汤能改善 PSD 大鼠脑组织病理损伤，促进脑内神经可塑性，调节神经元和小胶质细胞之间的交流，从而发挥抗抑郁、神经保护作用，其机制可能与调控 CX3CL1/CX3CR1 信号通路有关。

参考文献：

[ 1 ]

Medeiros G C, Roy D, Kontos N, *et al.* Post-stroke depression: a 2020 updated review [ J ]. *Gen Hosp Psychiatry*, 2020, 66: 70-80.

[ 2 ]

Wang Z, Zhu M, Su Z, *et al.* Post-stroke depression: different characteristics based on follow-up stage and gender—a cohort perspective study from Mainland China [ J ]. *Neurol Res*, 2017, 39(11): 996-1005.

[ 3 ]

Paolucci S. Advances in antidepressants for treating post-stroke depression [ J ]. *Expert Opin Pharmacother*, 2017, 18( 10 ): 1011-1017.

[ 4 ]

Pawelec P, Ziemka-Nalecz M, Sypek J, *et al.* The impact of the CX3CL1/CX3CR1 axis in neurological disorders [ J ]. *Cells*, 2020, 9(10): 2277.

[ 5 ]

Longa E Z, Weinstein P R, Carlson S, *et al.* Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats [ J ]. *Stroke*, 1989, 20(1): 84-91.

[ 6 ]

Willner P, Towell A, Sampson D, *et al.* Reduction of sucrose preference by chronic unpredictable mild stress, and its restoration by a tricyclic antidepressant [ J ]. *Psychopharmacology (Berl)*, 1987, 93(3): 358-364.

[ 7 ]

Clark W M, Lessov N S, Dixon M P, *et al.* Monofilament intraluminal middle cerebral artery occlusion in the mouse [ J ]. *Neurol Res*, 1997, 19(6): 641-648.

[ 8 ]

Hamon M, Blier P. Monoamine neurocircuitry in depression and strategies for new treatments [ J ]. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2013, 45: 54-63.

[ 9 ] Harris R B, Zhou J, Youngblood B D, *et al.* Failure to change exploration or saccharin preference in rats exposed to chronic mild stress[J]. *Physiol Behav*, 1998, 63(1): 91-100.

[ 10 ] Nudo R J. Recovery after brain injury: mechanisms and principles[J]. *Front Hum Neurosci*, 2013, 24(7): 887.

[ 11 ] Kolb B, Muhammad A, Gibb R. Searching for factors underlying cerebral plasticity in the normal and injured brain [ J ]. *J Commun Disord*, 2011, 44(5): 503-514.

[ 12 ] Duman R S, Aghajanian G K. Synaptic dysfunction in depression: potential therapeutic targets[J]. *Science*, 2012, 338(6103): 68-72.

[ 13 ] Duman R S, Aghajanian G K, Sanacora G, *et al.* Synaptic plasticity and depression: new insights from stress and rapid-acting antidepressants[J]. *Nat Med*, 2016, 22(3): 238-249.

[ 14 ] Price J L, Drevets W C. Neurocircuitry of mood disorders [ J ].

*Neuropsychopharmacology*, 2010, 35(1): 192-216.

[ 15 ] Paolicelli R C, Bisht K, Tremblay M È. Fractalkine regulation of microglial physiology and consequences on the brain and behavior[J]. *Front Cell Neurosci*, 2014, 8: 129.

[ 16 ] Winter A N, Subbarayan M S, Grimmig B. *et al.* Two forms of CX3CL1 display differential activity and rescue cognitive deficits in CX3CL1 knockout mice [ J ]. *J Neuroinflammation*, 2020, 17(1): 157.

[ 17 ] Milior G, Lecours C, Samson L, *et al.* Fractalkine receptor deficiency impairs microglial and neuronal responsiveness to chronic stress[J]. *Brain Behav Immun*, 2016, 55: 114-125.

[ 18 ] Hellwig S, Brioschi S, Dieni S, *et al.* Altered microglia morphology and higher resilience to stress-induced depression-like behavior in CX3CR1-deficient mice [ J ]. *Brain Behav Immun*, 2016, 55: 126-137.

扶正化癥方对马兜铃酸 I 诱导肾小管上皮细胞损伤的影响

王 帆<sup>1</sup>, 王四园<sup>1</sup>, 王 静<sup>1</sup>, 彭 渊<sup>1</sup>, 刘成海<sup>1,2,3</sup>, 陶艳艳<sup>1,2,3\*</sup>  
(1. 上海中医药大学附属曙光医院肝病研究所, 上海 201203; 2. 上海市中医临床重点实验室, 上海 201203; 3. 肝肾疾病病证教育部重点实验室, 上海 201203)

**摘要:** **目的** 探讨扶正化癥方对马兜铃酸 I 诱导的肾小管上皮细胞 HK-2 损伤的保护作用。**方法** 以不同浓度马兜铃酸 I 孵育 HK-2 细胞 24 h, 确定最佳造模浓度。HK-2 细胞分为正常组、模型组、*N*-乙酰半胱氨酸组及扶正化癥方低、高剂量组, 模型组以 400 μmol/L 马兜铃酸 I 分别孵育 6、12、24 h, 扶正化癥方低、高剂量组及 *N*-乙酰半胱氨酸组分别以 100、200 μg/mL 扶正化癥方浸膏粉及 5 mmol/L *N*-乙酰半胱氨酸孵育 24 h。CCK8 法检测细胞活力, 试剂盒测定细胞上清 LDH 活性, RT-qPCR 法检测 *fos* mRNA 表达, 免疫荧光法检测细胞 FOS 蛋白表达, Western blot 法检测细胞 FOS、JNK、p-JNK、ERK、p-ERK、IL-1β 蛋白表达。**结果** HK-2 细胞活力随着马兜铃酸 I 处理时间延长而降低, 细胞损伤逐渐加重 ( $P<0.01$ )。与溶剂对照组比较, 马兜铃酸 I 作用后 HK-2 细胞 *fos* mRNA 表达及 FOS、p-JNK、p-ERK、IL-1β 蛋白表达升高 ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ); 与模型组比较, 扶正化癥方各剂量组和 *N*-乙酰半胱氨酸组细胞活力升高 ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ), *fos* mRNA 表达及 FOS、p-JNK、p-ERK 蛋白表达降低 ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ), JNK、ERK 蛋白表达无明显变化 ( $P>0.05$ ); 扶正化癥方高剂量组和 *N*-乙酰半胱氨酸组细胞 IL-1β 表达降低 ( $P<0.01$ )。**结论** 扶正化癥方可通过抑制 FOS 及 p-JNK、p-ERK 蛋白表达, 抑制炎症因子释放, 从而改善马兜铃酸 I 诱导的 HK-2 细胞损伤。

**关键词:** 扶正化癥方; 马兜铃酸 I; 慢性肾病; 肾小管上皮细胞; 炎症; FOS; JNK; ERK

**中图分类号:** R285.5      **文献标志码:** B      **文章编号:** 1001-1528(2024)10-3455-06

**doi:** 10.3969/j.issn.1001-1528.2024.10.046

收稿日期: 2023-06-16

基金项目: 上海市科委“科技创新行动计划”(19401901500); 上海市中医药三年行动计划 [ZY-(2018-2020)-CCCX-5001]; “重大新药创制”科技重大专项 (2019ZX09201001)

作者简介: 王 帆 (1998—), 女, 硕士生, 从事中草药肝肾毒性的基础、临床研究。Tel: 18614980929, E-mail: wfddoi@163.com

\* 通信作者: 陶艳艳 (1972—), 女, 研究员, 硕士生导师, 从事中草药肝肾毒性的基础、临床研究。Tel: 13761573407, E-mail: taoyanyan1023@126.com