

葛根素减轻LPS诱导的小鼠急性肾损伤:基于调节SIRT1/NF- κ B信号通路

郭晶晶¹, 张文龙^{2,3}, 梁飘⁴, 张龙军⁴, 彭凌音¹, 闵钰琦¹, 潘小珍¹, 杨志英¹, 邓华菲¹

¹湘南学院基础医学院, ²郴州市第一人民医院医务部, ³湘南学院第一临床学院, ⁴湘南学院药学院, 湖南 郴州 423000

摘要:目的 探讨SIRT1/NF- κ B信号通路在葛根素抗脂多糖(LPS)所致急性肾损伤(AKI)中的作用及机制。方法 将15只BALB/C小鼠随机分为3组:对照组, LPS组, 葛根素组。对照组小鼠腹腔注射生理盐水4 d; LPS组小鼠第1天注射LPS(5 mg/kg), 随后注射生理盐水3 d, 葛根素组小鼠第1天注射LPS(5 mg/kg) 1 h后注射葛根素(25 mg/kg), 继续注射葛根素3 d, 第5天收集标本, 观察小鼠肾组织形态变化, 细胞凋亡情况; 测定肾功能指标尿素氮(BUN)、肌酐(Scr)和肾损伤分子1(KIM-1)以及炎症因子肿瘤坏死因子 α (TNF- α)和白细胞介素1 β (IL-1 β); 检测肾组织SIRT1和NF- κ B-p65(acetyl K310)的表达。结果 与对照组相比, LPS组小鼠肾小球毛细血管扩张、充血, 肾间质水肿, 肾小管上皮细胞肿胀, 变形脱落, 肾小管损伤评分增加($P<0.01$), 肾组织细胞凋亡率增加($P<0.01$), 血清中BUN、Scr、KIM-1、TNF- α 和IL-1 β 升高($P<0.01$), 肾组织TNF- α 、IL-1 β mRNA和NF- κ B p65(acetyl K310)表达增加($P<0.01$), 而SIRT1表达降低了17%($P<0.05$)。与LPS组相比, 葛根素处理后肾间质水肿减轻, 肾小管上皮细胞脱落不明显, 肾小管损伤评分、肾组织细胞凋亡率降低($P<0.01$), 血清中BUN、Scr、KIM-1、TNF- α 和IL-1 β 降低($P<0.01$), 肾组织TNF- α 和IL-1 β mRNA以及NF- κ B p65(acetyl K310)表达降低了($P<0.05$), SIRT1表达增加了17%($P<0.05$)。结论 葛根素能够减轻LPS所致AKI, 其机制可能与SIRT1/NF- κ B信号通路有关。

关键词: 葛根素; 急性肾损伤; 脓毒症; SIRT1/NF- κ B; 炎症因子

Puerarin alleviates lipopolysaccharide-induced acute kidney injury in mice by modulating the SIRT1/NF- κ B pathway

GUO Jingjing¹, ZHANG Wenlong^{2,3}, LIANG Piao⁴, ZHANG Longjun⁴, PENG Lingyin¹, MIN Yuqi¹, PAN Xiaozhen¹, YANG Zhiying¹, DENG Huafei¹

¹School of Basic Medical Sciences, Xiangnan University, ²Department of Medical Administration, Chenzhou First People's Hospital, ³First Clinical College of Xiangnan University, ⁴College of Pharmacy, Xiangnan University, Chenzhou 423000, China

Abstract: Objective To investigate the role of the SIRT1/NF- κ B pathway in mediating the effect of puerarin against lipopolysaccharide (LPS)-induced acute kidney injury (AKI). **Methods** Fifteen BALB/C mice were randomized into control group, LPS group and puerarin treatment group, and in the latter two groups, the mice were given an intraperitoneal injection of LPS (5 mg/kg), followed by daily injection of normal saline for 3 days or injection of puerarin (25 mg/kg) given 1 h later and then on a daily basis for 3 days. On day 5 after modeling, the kidney tissues were taken for histological observation and detection of cell apoptosis. The renal function indexes including urea nitrogen (BUN), serum creatinine (Scr) and kidney injury molecule 1 (KIM-1) and the levels of tumor necrosis factor (TNF- α) and interleukin 1 β (IL-1 β) were measured, and the expressions of SIRT1 and NF- κ B-p65(acetyl K310) in the renal tissues were detected. **Results** Intraperitoneal injection of LPS caused obvious glomerular capillary dilatation, hyperemia, renal interstitial edema, and renal tubular epithelial cell swelling and deformation in the mice. The mouse models of LPS-induced AKI also showed significantly increased renal tubular injury score and renal cell apoptosis ($P<0.01$) with increased serum levels of BUN, Scr, KIM-1, TNF- α and IL-1 β ($P<0.01$), enhanced renal expressions of TNF- α , IL-1 β and NF- κ B p65(acetyl K310) ($P<0.01$) and lowered renal expression of SIRT1 ($P<0.05$). Treatment with puerarin effectively alleviated LPS-induced renal interstitial edema and renal tubular epithelial cell shedding, lowered renal tubular injury score ($P<0.01$) and renal cell apoptosis rate ($P<0.01$), and decreased serum levels of BUN, Scr, KIM, TNF- α and IL-1 β ($P<0.01$). Puerarin treatment significantly reduced TNF- α , IL-1 β and NF- κ B p65 (acetyl K310) expression in the renal tissue ($P<0.05$) and increased SIRT1 expression by 17% ($P<0.05$) in the mouse models. **Conclusion** Puerarin can effectively alleviate LPS-induced AKI in mice possibly by modulating the SIRT1/NF- κ B signaling pathway.

Keywords: puerarin; acute kidney injury; sepsis; SIRT1/NF- κ B; inflammatory factors

收稿日期: 2022-11-15

基金项目: 湖南省教育厅资助科研项目(21A0522); 湖南省卫生健康委科研项目(202110001621); 湖南省自然科学基金项目(2021JJ30638); 湘南学院高层次人才科研启动基金项目(2021-22); 湖南省大学生创新创业训练计划项目(湘教通[2020]191号-3660, [2022]174号-4325); 郴州市级重点研发及技术创新引导专项(ZDYF2020160); 湘南学院科研项目(2021XJ101)

作者简介: 郭晶晶, E-mail: 1053986046@qq.com; 张文龙, 副主任医师, E-mail: zhangwenlong72@126.com。郭晶晶、张文龙共同为第一作者

通信作者: 邓华菲, 博士, 副教授, E-mail: denghuafei@126.com

脓毒症是一种由感染引起的全身炎症反应综合征, 随着难以控制的炎症反应可导致机体多个器官出现急性损伤, 而肾脏是瀑布式炎症反应的主要攻击器官之一。脂多糖(LPS)为革兰氏阴性菌细胞壁的主要成分, 给动物注射LPS可以引起类似脓毒症反应, 因此, LPS常用于实验性脓毒症模型的制备^[1]。沉默信息调节相关酶1(SIRT1)是依赖烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD⁺)的去乙酰化酶。已有研究表明, SIRT1能够使核因子 κ B(NF- κ B)等多种转录因子去乙酰化而参与糖脂代谢、器

官代谢和氧化应激等^[2-4],在多种疾病中发挥保护作用。

葛根素是从干燥葛根中提取的一种异黄酮类化合物,其主要有效成分为4,7-二羟基-8-D-葡萄糖异黄酮。大量研究表明葛根素具有保护内皮细胞功能^[5]、调节血管张力^[6]和抑制平滑肌细胞增殖^[7]等作用,主要用于心血管疾病的治疗^[8,9]。最近研究发现,葛根素能改善糖尿病肾病^[10,11]、药物相关性肾损伤^[12]和LPS所致肾损伤^[13],但具体机制尚不清楚。Ling等^[14]发现葛根素可以激活SIRT1并下调NF- κ B的表达,从而降低肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)和IL-6的表达来发挥对脑缺血再灌注损伤的保护作用。Li等^[15]发现葛根素可以通过SIRT1/NF- κ B途径发挥对糖尿病肾病的保护作用,但葛根素能否通过激活SIRT1来抑制NF- κ B的乙酰化,进而降低炎症因子的表达而保护脓毒症急性肾损伤(AKI)尚不明确。故本实验探究SIRT1/NF- κ B通路在葛根素抗LPS所致AKI中的作用及机制。

1 材料和方法

1.1 实验动物

SPF级BALB/C雄性小鼠,体质量18~22 g,购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司,许可证号SCXK(湘)2016-0002,动物适应性饲养1周后开始实验。动物实验经湘南学院动物伦理学委员会批准(伦理号:2022DWLL002)。

1.2 主要试剂与仪器

葛根素和LPS(Sigma)。尿素氮(BUN)、肌酐(Scr)、肾损伤分子-1(KIM-1)、TNF- α 和IL-1 β 的ELISA试剂盒(江苏菲亚生物科技)。原位末端标记法(TUNEL)试剂盒(碧云天生物技术)、小鼠抗SIRT-1抗体(CST),兔抗NF- κ B p65(acetyl K310)、NF- κ B p65和GAPDH抗体(Abcam)。

1.3 方法

1.3.1 脓毒症性AKI小鼠模型的建立 将15只小鼠使用随机数字表法分为对照组,LPS组和葛根素组。对照组腹腔注射生理盐水(0.1 mL/10 g),连续4 d;LPS组于第1天腹腔注射LPS(0.1 mL/10 g,5 mg/kg),然后腹腔注射生理盐水3 d;葛根素组在第1天腹腔注射LPS(0.1 mL/10 g,5 mg/kg)1 h后腹腔注射葛根素(0.1 mL/10 g,25 mg/kg),继续注射葛根素3 d。第5天收集标本。

1.3.2 ELISA检测 小鼠麻醉后摘眼球取血,室温下血液自然凝固后3000 r/min离心20 min后取上清。按照ELISA说明书,在酶标包被板上分别加入50 μ L标准品和稀释后的待测样品,37 $^{\circ}$ C温育30 min,洗涤5次后,除空白孔外每孔加入酶标试剂50 μ L,37 $^{\circ}$ C温育30 min。洗涤5次后,每孔加入显色剂A和B各50 μ L,37 $^{\circ}$ C避光显色10 min,每孔加终止液50 μ L,终止反应,测量各孔

吸光度 $A_{450\text{nm}}$,依据标准曲线计算各孔样品浓度,再乘以稀释倍数。

1.3.3 HE染色 小鼠右肾用4%甲醛固定后石蜡包埋切片,然后进行HE染色,光学显微镜下观察肾脏组织病理学变化并拍照^[16]。双盲法评估肾脏损伤程度,每个样本随机选取6个不重叠的视野,根据肾小管坏死、管型形成和小管扩张的分级评分反映肾小管损伤严重程度。肾小管正常、肾小管损伤面积 $\leq 10\%$ 、11%~25%、26%~45%、46%~75%和 $\geq 76\%$ 的样本分别为0、1、2、3、4和5分。

1.3.4 TUNEL染色 小鼠右肾用4%甲醛固定后石蜡包埋切片,按试剂盒说明书检测肾脏组织细胞凋亡情况。每张切片随机选取5个视野,按凋亡细胞数/总细胞数 $\times 100\%$ 计算凋亡细胞百分率。

1.3.5 Western blotting 提取小鼠左肾蛋白,BCA法测定蛋白含量,取适量分装好的蛋白,加入5 \times SDS蛋白上样缓冲液,95 $^{\circ}$ C煮10 min使蛋白变性,冷却至室温。每个样本20 μ g蛋白经电泳后转移到膜上,室温封闭2 h,然后分别与抗SIRT1、NF- κ B p65(acetyl K310)和NF- κ B p65抗体以及GAPDH抗体(1:1000稀释)在4 $^{\circ}$ C下孵育过夜,TBST洗涤3次,室温下与相应的二抗孵育1 h,用增强化学发光(ECL)显色并拍照,Image J软件扫描并计算蛋白相对表达量。

1.3.6 qRT-PCR 用TRIzol提取小鼠左肾总RNA。使用PrimeScriptTM RT Master Mix(Japan)将mRNA逆转录为cDNA。以cDNA为模板,在Biosystems 7500 Real-Time PCR系统上使用One Step SYBR[®] PrimeScriptTM RT-PCR试剂盒进行qRT-PCR。反应条件:预变性95 $^{\circ}$ C 30 s,变性95 $^{\circ}$ C 5 s,退火-延伸60 $^{\circ}$ C 34 s,40个循环。引物序列,GAPDH Forward-CGTCCCGTAGACAAAATGGT, Reverse-TTGATGGCAACAATCTCCAC; TNF- α Forward-ATGTCTCAGCCTCTTCTCATTC, Reverse-GCTTGTCACCTCGAATTTGAGA; IL-1 β Forward-C ACTACAGGCTCCGAGATGAACAAC, Reverse-TGT CGTTGCTTGGTTCTCCTTGAC。

1.3.7 统计学分析 所有统计分析采用GraphPad Prism 7.0软件进行。数据用均数 \pm 标准差表示,多组间比较采取单因素方差分析,组内两两比较采用Tukey法。当 $P < 0.05$ 时认为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 葛根素对LPS损伤小鼠肾功能的影响

与对照组相比,LPS组小鼠血清中BUN、Scr和KIM-1的水平明显升高,分别由 7.18 ± 1.53 mmol/L、 84.60 ± 7.71 μ mol/L和 5.63 ± 1.43 ng/mL升高至 17.76 ± 3.81 mmol/L、 137.35 ± 13.76 μ mol/L和 9.31 ± 1.13 ng/mL;

葛根素治疗后,小鼠血清中BUN、Scr和KIM-1的水平明显降低,分别降至 9.02 ± 2.85 mmol/L、 $96.06 \pm$

20.31 μ mol/L和 6.53 ± 0.96 ng/mL,差异均有统计学意义($P < 0.01$,图1)。

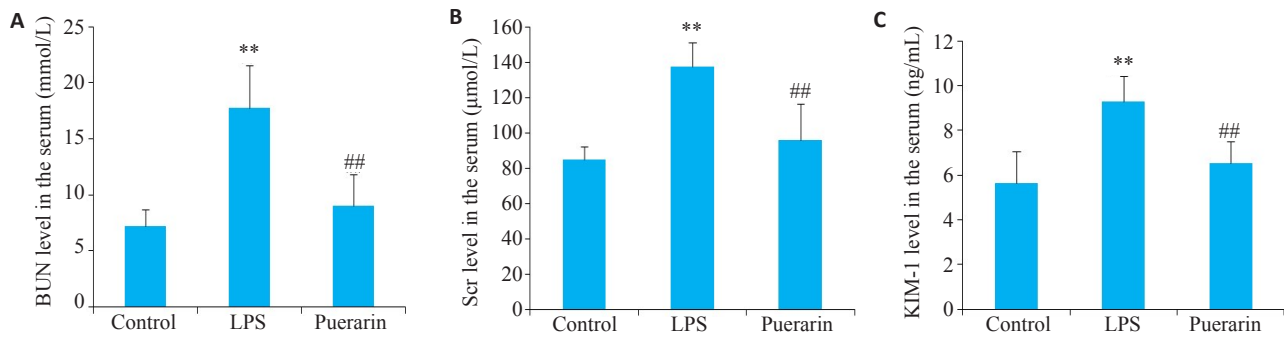


图1 葛根素减轻LPS对小鼠肾功能的损伤

Fig.1 Puerarin alleviates LPS-induced renal dysfunction in mice (Mean±SD, n=5). A, B, and C: BUN, Scr and KIM-1 levels in the 3 groups, respectively. ** $P < 0.01$ vs control group, # $P < 0.01$ vs LPS group.

2.2 葛根素对LPS损伤小鼠肾组织结构的影响

与对照组相比,LPS组小鼠肾脏组织结构模糊,间质水肿明显,有较多的炎症细胞浸润,肾小球毛细血管扩张,肾小管上皮细胞肿胀,存在变形脱落的情况,肾小

管损伤评分明显增加,由0增加到 3.06 ± 0.64 ($P < 0.01$);葛根素治疗后,小鼠肾间质水肿和炎症细胞浸润减轻,肾小管上皮细胞脱落不明显,肾小管损伤评分明显降低到 1.67 ± 0.59 ($P < 0.01$,图2)。

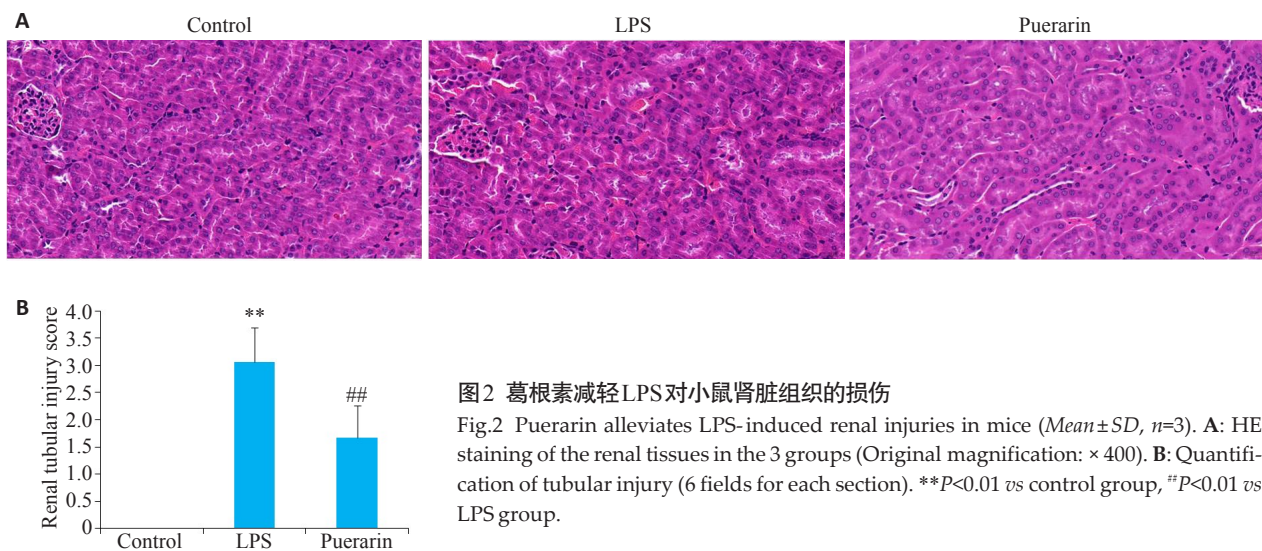


图2 葛根素减轻LPS对小鼠肾脏组织的损伤

Fig.2 Puerarin alleviates LPS-induced renal injuries in mice (Mean±SD, n=3). A: HE staining of the renal tissues in the 3 groups (Original magnification: $\times 400$). B: Quantification of tubular injury (6 fields for each section). ** $P < 0.01$ vs control group, # $P < 0.01$ vs LPS group.

2.3 葛根素对LPS致小鼠肾脏细胞凋亡的影响

与对照组相比,LPS组小鼠肾脏组织细胞凋亡增加,凋亡率由 $(4.80 \pm 1.64)\%$ 增加到 $(27.64 \pm 7.12)\%$ ($P < 0.01$),葛根素治疗后,小鼠肾脏组织细胞凋亡减少,凋亡率降至 $(12.21 \pm 4.10)\%$ ($P < 0.01$)(图3)。

2.4 葛根素对LPS增加小鼠肾脏组织和血清中炎症因子表达的影响

与对照组相比,LPS组小鼠肾脏组织TNF- α 和IL-1 β mRNA表达和血清中TNF- α 和IL-1 β 的含量明显升高,肾脏组织TNF- α 和IL-1 β mRNA分别增加了190%和330% ($P < 0.01$),血清中TNF- α 和IL-1 β 的含量由

455.10 ± 74.64 pg/mL和 185.78 ± 13.83 pg/mL升高至 901.82 ± 143.43 pg/mL和 237.97 ± 21.12 pg/mL ($P < 0.01$);葛根素治疗后小鼠肾脏组织TNF- α 和IL-1 β mRNA表达和血清中TNF- α 和IL-1 β 的含量明显降低,肾脏组织TNF- α 和IL-1 β mRNA分别降低了44%和29% ($P < 0.01$),血清中TNF- α 和IL-1 β 的含量分别降至 600.27 ± 93.20 pg/mL和 202.71 ± 20.88 pg/mL ($P < 0.05$,图4)。

2.5 葛根素对LPS所致小鼠肾组织SIRT1表达的影响

与对照组相比,LPS组小鼠肾脏组织SIRT1表达下降,降低了17% ($P < 0.05$),葛根素治疗后,小鼠肾脏组织

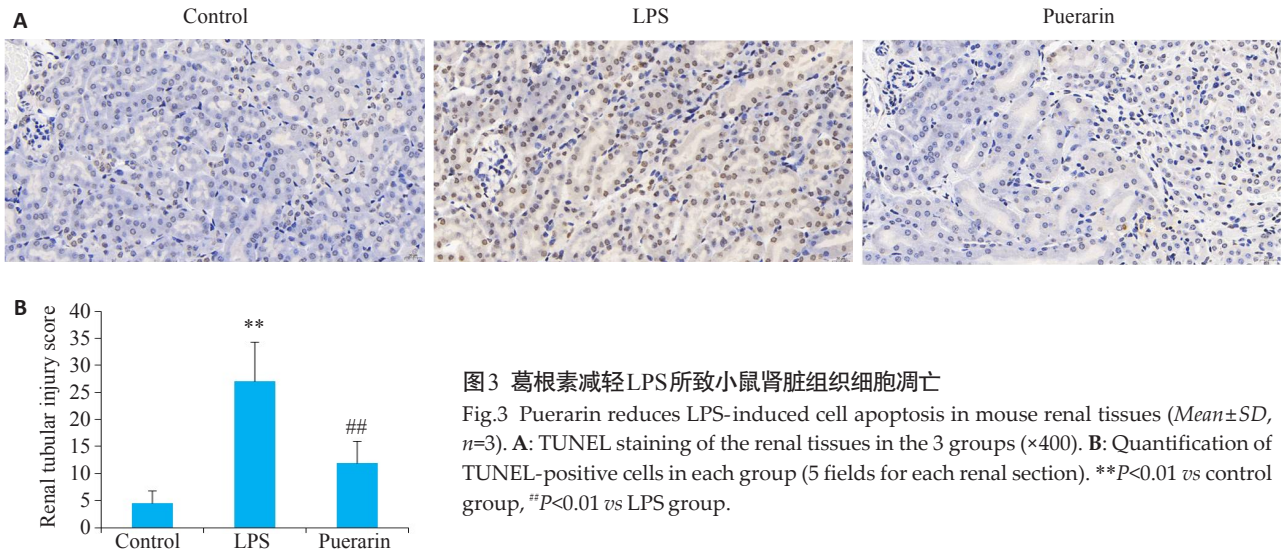


图3 葛根素减轻LPS所致小鼠肾脏组织细胞凋亡

Fig.3 Puerarin reduces LPS-induced cell apoptosis in mouse renal tissues (Mean±SD, n=3). A: TUNEL staining of the renal tissues in the 3 groups (×400). B: Quantification of TUNEL-positive cells in each group (5 fields for each renal section). **P<0.01 vs control group, #P<0.01 vs LPS group.

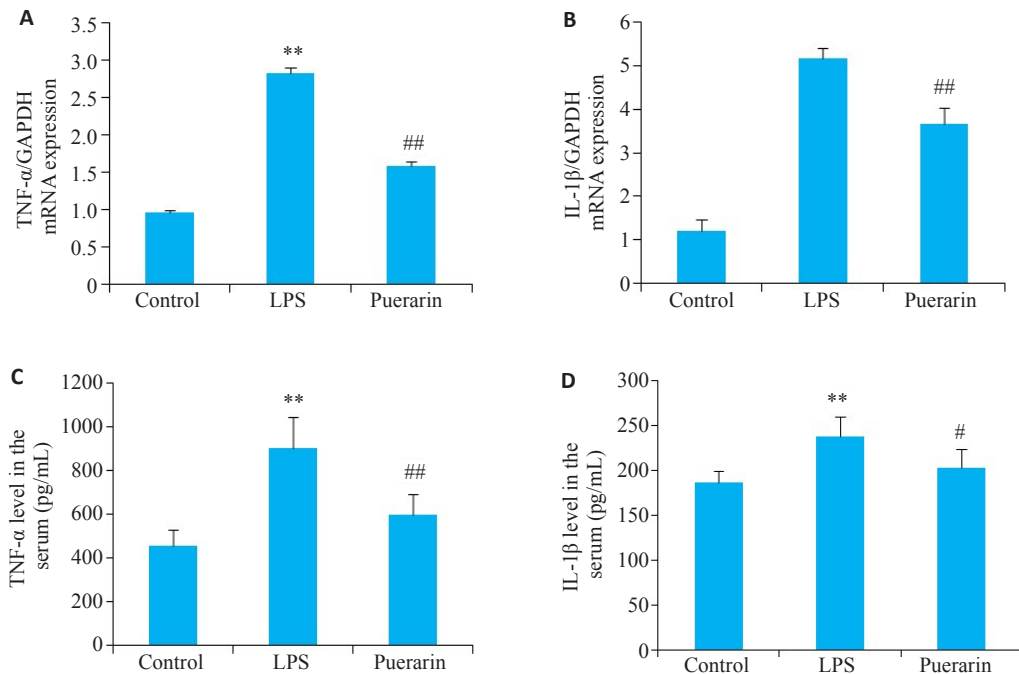


图4 葛根素减轻LPS所致小鼠肾组织和血清中TNF-α和IL-1β表达

Fig.4 Puerarin lowers expressions of TNF-α and IL-1β in the renal tissues in mice with LPS-induced AKI (Mean±SD). A, B: TNF-α and IL-1β mRNA expression in the renal tissues detected using qRT-PCR (n=3). C, D: Serum levels of TNF-α and IL-1β detected using ELISA (n=5). **P<0.01 vs control group; #P<0.05, ##P<0.01 vs LPS group.

SIRT1 表达明显升高,增加了17%(P<0.05,图5)。

2.6 葛根素对LPS所致小鼠肾组织NF-κB-p65(acetyl K310)表达的影响

与对照组相比,LPS组小鼠肾脏组织NF-κB-p65(acetyl K310)表达增加,增加了94%(P<0.01),葛根素治疗后,小鼠肾脏组织NF-κB-p65(acetyl K310)表达明显降低,降低了35%(P<0.05,图6)。

3 讨论

AKI是脓毒症患者常见且严重的并发症之一,其发病机制包括炎症损伤^[17]、微循环障碍^[18]、能量代谢异常^[19]等,其中炎症反应是引发一系列并发症的关键因素。近年来,葛根素因其抗炎作用发挥抗脓毒症多器官损伤而备受关注^[20-22]。本实验结果显示,与LPS组相比,葛根素处理组小鼠肾功能改善,肾组织病理损伤减轻,

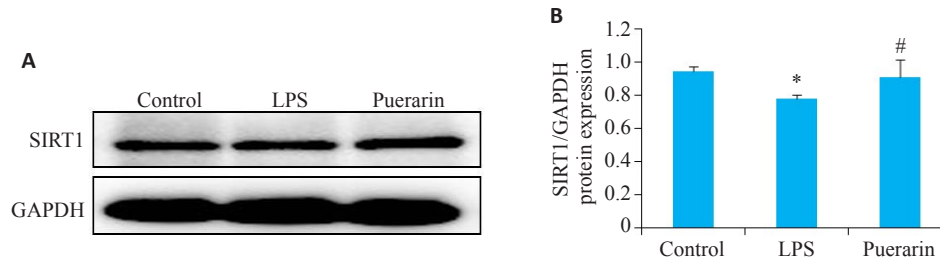


图5 葛根素减弱LPS降低小鼠肾脏组织SIRT1的表达

Fig.5 Puerarin improves LPS-induced reduction of SIRT1 expression in mouse renal tissues (Mean±SD). A: Western blotting of SIRT1 in the renal tissues in the 3 groups. B: Quantification of SIRT protein expression (n=3). *P<0.05 vs control group; #P<0.05 vs LPS group.

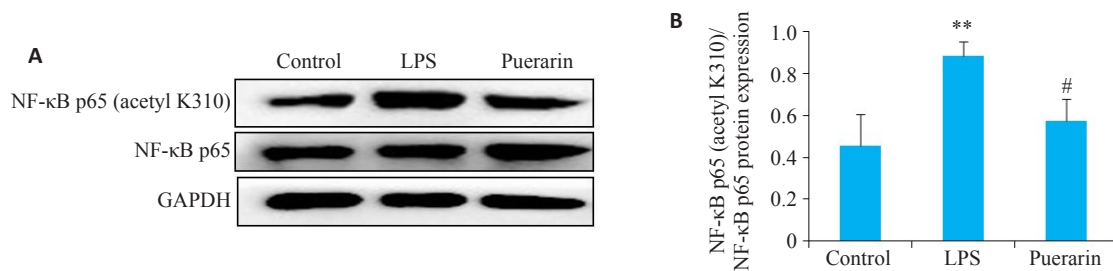


图6 葛根素减弱LPS诱导小鼠肾脏组织NF-κB-p65(acetyl K310)的表达

Fig.6 Puerarin lowers LPS-induced increase of NF-κB-p65(acetyl K310) expression in mouse renal tissues (Mean±SD). A: Western blotting of NF-κB-p65(acetyl K310) in the renal tissues in the 3 groups. B: Quantification of NF-κB-p65(acetyl K310) protein expression (n=3). **P<0.01 vs control group; #P<0.05 vs LPS group.

肾组织细胞凋亡减少,由此可见,葛根素明显减轻脓毒症性AKI,但其机制尚不明确。

SIRT1属于III类组蛋白去乙酰化酶家族成员,参与调节糖脂代谢^[23]、炎症反应^[24]、细胞衰老与凋亡^[25]、氧化应激及肿瘤^[26]形成等。SIRT1使转录因子去乙酰化从而调节它们的活性来发挥上述生物效应^[4]。在SIRT1的这些底物中,有与肾脏疾病进展相关的关键转录因子,如NF-κB p65 (RelA)、STAT3和p53等,其中NF-κB是受SIRT1调控的与炎症密切相关的转录因子^[27]。NF-κB信号通路的严格调控对于维持免疫稳态至关重要,该途径的过度激活可能导致过度炎症^[28],最终导致各种病理状态。研究发现,脓毒症AKI大鼠肾组织中NF-κB的表达增加^[29]。当NF-κB移位到细胞核后,可以激活下游的炎症因子如TNF-α、IL-6的表达和氧化应激的增强,从而促进炎症反应和氧化应激损伤的加重^[30],导致肾损伤。抑制NF-κB信号通路可以减少肾脏炎症、氧化应激和细胞凋亡,从而减轻肾损伤^[31]。lys310末端是NF-κB转录活动的重要靶点,SIRT1直接与NF-κB亚单位RelA/p65接触,使lys310末端去乙酰化,从而影响NF-κB靶基因TNF-α和IL-1β等的转录^[32]。本研究结果显示,与对照组相比,LPS组小鼠肾脏组织中SIRT1表达明显降低,NF-κB乙酰化增加,肾组织中TNF-α和IL-1β mRNA表达和血清中TNF-α和IL-1β含量升高,提示

SIRT1/NF-κB信号通路参与了LPS所致AKI。

葛根素是传统中药葛根的主要活性成分,具有抗炎、调脂、抗氧化等作用,临床上主要用于冠心病、高血压等心血管疾病的辅助治疗^[8,9]。最近研究表明,葛根素能够明显改善紫癜性肾炎患儿的肾功能^[33]和糖尿病肾病的微量蛋白量^[11],减轻LPS所诱导的肾脏炎症反应和肾损伤^[13,34],但其改善肾功能的机制尚不完全清楚。Xu等发现葛根素通过增加肾组织SIRT1的表达,降低NF-κB的表达,减少肾组织IL-6、TNF-α和活性氧的水平来发挥对糖尿病肾病的保护作用^[35]。Li等^[15]进一步发现葛根素可以通过上调肾组织SIRT1的表达,使NF-κB p65的乙酰化降低从而抑制NOX4的表达发挥抗氧化作用实现对糖尿病肾病的保护作用,但葛根素能否通过上调SIRT1来抑制NF-κB的活化,进而降低炎症因子的表达而保护脓毒症性AKI尚不清楚。本研究结果显示,与LPS组相比,葛根素组小鼠肾脏组织中SIRT1表达明显升高,NF-κB的乙酰化降低,肾组织中TNF-α和IL-1β mRNA表达和血清中TNF-α和IL-1β含量减少。由此可以推测,葛根素通过增加肾组织SIRT1的表达,降低NF-κB的乙酰化,从而减少炎症因子的释放发挥抗LPS所致AKI。

综上所述,本实验再次证实了葛根素治疗对LPS所致肾损伤的保护作用。葛根素通过增加肾脏SIRT1表

达,进而使NF- κ B p65去乙酰化,使得炎症因子合成减少,最终减轻LPS所导致的AKI,保护肾功能。本研究表葛根素可能是一种潜在的治疗脓毒症的药物,但有待进一步研究证实。

参考文献:

- [1] Wang Y, Shan XO, Dai YR, et al. Curcumin analog L48H37 prevents lipopolysaccharide-induced TLR4 signaling pathway activation and Sepsis via targeting MD2[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2015, 353(3): 539-50.
- [2] Majeed Y, Halabi N, Madani AY, et al. SIRT1 promotes lipid metabolism and mitochondrial biogenesis in adipocytes and coordinates adipogenesis by targeting key enzymatic pathways[J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 8177.
- [3] Singh V, Ubaid S. Role of Silent information regulator 1 (SIRT1) in regulating oxidative stress and inflammation [J]. *Inflammation*, 2020, 43(5): 1589-98.
- [4] Nakagawa T, Guarente L. Sirtuins at a glance[J]. *J Cell Sci*, 2011, 124 (Pt 6): 833-8.
- [5] 毛庆军, 夏 瑞, 张传汉. 葛根素对脑缺血再灌注家兔脑组织及内皮细胞的保护[J]. *中国临床康复*, 2006, 10(3): 40-1.
- [6] 邓华菲, 张文龙. 葛根素对溶血性磷脂酰胆碱诱导血管内皮损伤的保护作用及机制[J]. *中药药理与临床*, 2011, 27(2): 40-3.
- [7] 宁尚秋, 王绿娅, 王 伟, 等. 葛根素对血管平滑肌细胞增殖及增殖细胞核抗原和凋亡抑制蛋白表达的影响[J]. *心肺血管病杂志*, 2010, 29 (1): 56-60.
- [8] Zhang SL, Chen L, Zhou ZY, et al. Effects of puerarin on clinical parameters, vascular endothelial function, and inflammatory factors in patients with coronary artery disease[J]. *Med Sci Monit*, 2019, 25: 402-8.
- [9] Gao S, Li LY, Li L, et al. Effects of the combination of tanshinone IIA and puerarin on cardiac function and inflammatory response in myocardial ischemia mice[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2019, 137: 59-70.
- [10] Wang B, Chen SB, Yan XF, et al. The therapeutic effect and possible harm of puerarin for treatment of stage III diabetic nephropathy: a meta-analysis[J]. *Altern Ther Health Med*, 2015, 21(1): 36-44.
- [11] 吕翠岩, 张 岩, 贾晓蕾, 等. 参芪地黄汤化痰方结合西医常规疗法治疗IV期糖尿病肾病临床研究[J]. *国际中医中药杂志*, 2020, 42(5): 431-6.
- [12] Wu Z, Li CF, Li Q, et al. Puerarin alleviates cisplatin-induced acute renal damage and upregulates microRNA-31-related signaling [J]. *Exp Ther Med*, 2020, 20(4): 3122-9.
- [13] 邓 娅, 张 咪, 丛子青, 等. 葛根素对急性肾损伤的改善作用及相关机制[J]. *青岛大学学报: 医学版*, 2021, 57(6): 870-3.
- [14] Ling CL, Liang JM, Zhang C, et al. Synergistic effects of salvianolic acid B and puerarin on cerebral ischemia reperfusion injury [J]. *Molecules*, 2018, 23(3): 564.
- [15] Li XL, Zhu QQ, Zheng R, et al. Puerarin attenuates diabetic nephropathy by promoting autophagy in podocytes [J]. *Front Physiol*, 2020, 11: 73.
- [16] Chen YT, Yang CC, Lin KC, et al. Preactivated and disaggregated shape-changed platelets protect kidney against from ischemia-reperfusion injury in rat through attenuating inflammation reaction [J]. *J Tissue Eng Regen Med*, 2019, 13(12): 2155-68.
- [17] Singbartl K, Forneck CL, Kellum JA. Kidney-immune system crosstalk in AKI[J]. *Semin Nephrol*, 2019, 39(1): 96-106.
- [18] Bulent E, Aysegul K, Cihan DT, et al. The renal microcirculation in sepsis[J]. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc Eur Ren Assoc*, 2015, 30(2): 169-77.
- [19] Li K, Gao L, Zhou S, et al. Erythropoietin promotes energy metabolism to improve LPS-induced injury in HK-2 cells via SIRT1/PGC1- α pathway[J]. *Mol Cell Biochem*, 2022: 1-13.
- [20] Deng HF, Wang S, Wang XL, et al. Puerarin protects against LPS-induced vascular endothelial cell hyperpermeability via preventing downregulation of endothelial cadherin[J]. *Inflammation*, 2019, 42 (4): 1504-10.
- [21] Li L, Yin HY, Zhao Y, et al. Protective role of puerarin on LPS/D-Gal induced acute liver injury via restoring autophagy [J]. *Am J Transl Res*, 2018, 10(3): 957-65.
- [22] Zhang SJ, Xu YY, Chen J, et al. Effects of puerarin on lipopolysaccharide-induced myocardial dysfunction in isolated rat hearts[J]. *Pak J Pharm Sci*, 2017, 30(4): 1195-202.
- [23] Rodgers JT, Lerin C, Haas W, et al. Nutrient control of glucose homeostasis through a complex of PGC-1 α and SIRT1 [J]. *Nature*, 2005, 434(7029): 113-8.
- [24] 刘 钰, 王 星, 崔红占, 等. 利拉鲁肽通过circ-sirt1/NF- κ B信号通路抑制血管平滑肌细胞炎症的机制研究[J]. *河北医科大学学报*, 2022, 43 (9): 996-1001.
- [25] 李昌林. circ-Sirt1通过抑制血管平滑肌细胞中p53的激活延缓血管衰老[D]. 石家庄: 河北医科大学, 2022.
- [26] Huang S, Li Y, Sheng GH, et al. Sirtuin 1 promotes autophagy and proliferation of endometrial cancer cells by reducing acetylation level of LC3[J]. *Cell Biol Int*, 2021, 45(5): 1050-9.
- [27] 陈 燎. 外泌体通过自身变化及Sirt1/NF- κ B通路调控脓毒症大鼠炎症反应和肝肾功能损伤[D]. 兰州: 兰州大学, 2022.
- [28] Abraham E. NF- κ B activation [J]. *Crit Care Med*, 2000, 28(4 Suppl): N100-4.
- [29] 邓林林, 张 啸, 高 仪, 等. miR-216a调控NF- κ B信号通路参与脓毒症急性肾损伤的机制[J]. *实用医学杂志*, 2022, 38(17): 2133-7.
- [30] Kabe Y, Ando K, Hirao S, et al. Redox regulation of NF- κ B activation: distinct redox regulation between the cytoplasm and the nucleus[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2005, 7(3/4): 395-403.
- [31] Lu P, Zhang L, Liu T, et al. miR-494-mediated effects on the NF- κ B signaling pathway regulate lipopolysaccharide-induced acute kidney injury in mice[J]. *Immunol Investig*, 2022, 51(5): 1372-84.
- [32] Nopparat C, Sinjanakhom P, Govitrapong P. Melatonin reverses H2O₂-induced senescence in SH-SY5Y cells by enhancing autophagy via sirtuin 1 deacetylation of the RelA/p65 subunit of NF- κ B [J]. *J Pineal Res*, 2017, 63(1): 10.1111/jpi.12407.
- [33] 万 静, 雷菊芳. 葛根素治疗儿童紫癜性肾炎的临床观察[J]. *中国中西医结合肾病杂志*, 2018, 19(9): 814-5.
- [34] 冯 娜, 唐 杰, 贺细菊, 等. 葛根素减轻LPS诱导的小鼠肾脏炎症反应 [J]. *基础医学与临床*, 2022, 42(11): 1727-30.
- [35] XH, Xu, Zheng N, Chen ZN . Puerarin, isolated from *Pueraria lobata* (Willd.), protects against diabetic nephropathy by attenuating oxidative stress[J]. *Gene*, 2016, 591(2): 411-6.

(编辑: 吴锦雅)