

自拟益气清热解毒化瘀方对膜性肾病 及Wnt1/ β -catenin信号通路的影响

芦永霞^{1*} 王宁² 刘晓江³

(¹张家口市中医院肾病科, 张家口 075000; ²张家口市中医院采血室, 张家口 075000;

³张家口市中医院药剂科, 张家口 075000)

摘要 该研究旨在探讨自拟益气清热解毒化瘀方(SDYF)对膜性肾病的肾脏保护作用及潜在机制。在临床研究部分中, 该研究纳入80例膜性肾病患者, 根据随机数字表法分为对照组和观察组, 每组40例。对照组给予基础治疗联合盐酸贝那普利, 观察组在对照组治疗基础上加服SDYF, 两组均持续用药6个月。收集两组患者的临床资料, 检测两组患者治疗前后的肾功能指标[24小时尿蛋白定量(24 h UTP)、血清白蛋白(ALB)、尿素氮(BUN)、血肌酐(Scr)]、血脂指标[总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)]及抗磷脂酶A2受体(PLA2R)抗体水平, 比较两组患者中医证候评分和临床疗效。在动物实验部分中, 该研究采用阳离子化牛血清白蛋白(CBSA)尾静脉注射法成功复制膜性肾病大鼠模型, 采用随机数字表法将造模成功的大鼠分为模型组、西药组(盐酸贝那普利10 mg/kg)、SDYF低剂量组(11.65 g/kg)、SDYF高剂量组(23.31 g/kg), 每组10只; 另设正常对照组(未造模、不给药), 每组10只。各给药组连续给药4周后, 检测各组大鼠肾功能及血脂指标水平; 采用HE、Masson和过碘酸-雪夫(PAS)染色观察肾组织病理变化; 免疫组化法检测大鼠肾脏组织 α -平滑肌肌动蛋白(α -SMA)、I型胶原(Col-I)、纤连蛋白(fibronectin)蛋白表达水平; 免疫荧光染色观察IgG、C5b-9沉积情况; 透射电子显微镜(TEM)观察足细胞结构; Western blot检测肾脏组织中足细胞损伤相关蛋白[肾母细胞瘤蛋白1(WT-1)、nephrin、足细胞素(podocin)]以及Wnt1/ β -catenin信号通路相关蛋白[Wnt1、 β -连环蛋白(β -catenin)、c-Myc、基质金属蛋白酶7(MMP-7)]表达情况。结果显示, 治疗后, 两组的24 h UTP、TC、TG、BUN、Scr、抗PLA2R抗体水平明显降低, 中医证候评分明显下降($P < 0.05$), ALB水平明显升高($P < 0.05$), 且观察组临床总有效率高于对照组($P < 0.05$)。在动物实验中, 相比于对照组, 模型组大鼠肾脏组织病理损伤明显, IgG、C5b-9沉积增加, 足细胞损伤加重, 24 h UTP, 血清TC、TG水平, 肾脏组织 α -SMA、Col-I、fibronectin阳性表达水平以及Wnt1/ β -catenin通路相关蛋白表达水平显著升高($P < 0.05$), 血清ALB水平、足细胞损伤相关蛋白表达水平显著降低($P < 0.05$)。相比于模型组, 西药组、SDYF低剂量组、SDYF高剂量组肾脏组织病理损伤明显减轻, IgG、C5b-9沉积减少, 足细胞损伤减轻, 24 h UTP, 血清TC、TG水平, 肾脏组织 α -SMA、Col-I、fibronectin阳性表达水平以及Wnt1/ β -catenin通路相关蛋白表达水平显著降低($P < 0.05$), 血清ALB水平、足细胞损伤相关蛋白表达水平显著升高($P < 0.05$), 其中SDYF高剂量组改善效果最佳。综上, SDYF可减轻膜性肾病引起的肾脏损伤, 其作用机制可能与抑制Wnt1/ β -catenin信号通路有关。

关键词 膜性肾病; 自拟益气清热解毒化瘀方; Wnt1; β -catenin

Effects of a Self-Designed Yiqi Qingre Jiedu Huayu Formula on Membranous Nephropathy and the Wnt1/ β -catenin Signaling Pathway

收稿日期: 2025-11-04

接受日期: 2026-02-12

2024年度中医药类科学研究课题(批准号: 2024413)资助的课题

*通信作者。Tel: 0313-2566048, E-mail: lyx17331428060@163.com

Received: November 4, 2025

Accepted: February 12, 2026

This work was supported by the 2024 Traditional Chinese Medicine Scientific Research Projects (Grant No.2024413)

*Corresponding author. Tel: +86-313-2566048, E-mail: lyx17331428060@163.com

LU Yongxia^{1*}, WANG Ning², LIU Xiaojiang³

¹*Nephrology Department, Zhangjiakou Hospital of Traditional Chinese Medicine, Zhangjiakou 075000, China;*

²*Blood Collection Room, Zhangjiakou Hospital of Traditional Chinese Medicine, Zhangjiakou 075000, China;*

³*Pharmacy Department, Zhangjiakou Hospital of Traditional Chinese Medicine, Zhangjiakou 075000, China*

Abstract This study aims to investigate the renal protective effects and potential mechanisms of the SDYF (self-designed Yiqi Qingre Jiedu Huayu formula) on membranous nephropathy. In the clinical study, 80 patients with membranous nephropathy were enrolled and randomly divided into a control group and an observation group, with 40 patients in each group. The control group received basic treatment combined with benazepril hydrochloride, and the observation group received SDYF on the basis of the control group's treatment. Both groups were treated continuously for 6 months. Clinical data were collected from both groups. Renal function parameters [24 h UTP (24-hour urine protein quantification), serum ALB (albumin), BUN (blood urea nitrogen), Scr (serum creatinine)], serum lipid profile [TC (total cholesterol), TG (triglycerides)], and anti-PLA2R (phospholipase A2 receptor) antibody levels were measured before and after treatment in both groups. TCM (traditional Chinese medicine) syndrome scores and clinical efficacy were also compared between the two groups. In the animal study, a rat model of membranous nephropathy was successfully established by the method of injecting CBSA (cationized bovine serum albumin) via the tail vein. Rats with successful modeling were randomly divided into five groups: a normal control group (without modeling or drug administration), a model group, a western medicine group (treated with benazepril hydrochloride at 10 mg/kg), a low-dose SDYF group (administered at 11.65 g/kg), and a high-dose SDYF group (administered at 23.31 g/kg), with 10 rats in each group. After 4 weeks of continuous drug administration, renal function parameters and lipid parameters were determined in each group. Renal tissue pathology was observed through HE (hematoxylin and eosin), Masson staining, and PAS (periodic acid-Schiff) staining. Immunohistochemistry was used to detect the expression levels of α -SMA (α -smooth muscle actin), Col-I (type I collagen), and fibronectin in rat kidney tissue. Immunofluorescence staining was used to observe IgG and C5b-9 deposition. TEM (transmission electron microscopy) was used to observe the podocyte structure. Western blot analysis was performed to detect the expression of podocyte injury-related proteins [WT-1 (Wilms' tumor protein 1), nephrin, and podocin] as well as Wnt1/ β -catenin signaling pathway-related proteins [Wnt1, β -catenin, c-Myc, and MMP-7 (matrix metalloproteinase 7)] in renal tissue. The results showed that after treatment, both groups exhibited significantly reduced levels of 24 h UTP, TC, TG, BUN, Scr, and anti-PLA2R antibody, as well as significantly decreased TCM syndrome scores ($P < 0.05$). Concurrently, ALB levels demonstrated a significant increase ($P < 0.05$). Furthermore, the observation group achieved a higher overall response rate than the control group ($P < 0.05$). In animal experiments, compared with the control group, the rats in the model group exhibited significant pathological damage to the renal tissue, increased deposition of IgG and C5b-9, and aggravated podocyte injury; the levels of 24 h UTP, TC, and TG, as well as the positive expression levels of α -SMA, Col-I, fibronectin, and the expression levels of Wnt1/ β -catenin pathway-related proteins in the renal tissue, were significantly elevated ($P < 0.05$). Additionally, serum ALB levels and the expression levels of podocyte injury-related proteins were significantly reduced ($P < 0.05$). Compared with the model group, the renal tissue pathological damage in the western medicine control group, low-dose SDYF group, and high-dose SDYF group was significantly reduced, with decreased deposition of IgG and C5b-9 and reduced podocyte injury; the levels of 24 h UTP, serum TC, and TG, as well as the positive expression levels of α -SMA, Col-I, and fibronectin in the renal tissue, and the expression levels of Wnt1/ β -catenin pathway-related proteins, were significantly decreased ($P < 0.05$), while serum ALB levels and the expression levels of podocyte injury-related proteins were significantly increased ($P < 0.05$). Among them, the high-dose SDYF group

showed the best improvement. In summary, SDYF alleviates renal injury caused by membranous nephropathy, and its mechanism of action may be related to inhibiting the Wnt1/ β -catenin signaling pathway.

Keywords membranous nephropathy; self-designed Yiqi Qingre Jiedu Huayu formula; Wnt1; β -catenin

膜性肾病(membranous nephropathy, MN)是成人肾病综合征的常见病理类型,以肾小球基底膜上皮侧免疫复合物沉积及足细胞损伤为主,最终可导致蛋白尿进行性加重,甚至引发肾功能衰竭^[1-2]。目前临床主要依赖糖皮质激素联合免疫抑制剂治疗,但存在复发率高、药物抵抗及继发感染等风险^[3],亟需探索更安全有效的干预策略。近年研究发现,Wnt/ β -连环蛋白(β -catenin)信号通路的异常激活是MN所致肾损伤的核心机制之一^[4]。在MN病理条件下,持续活化的 β -catenin可诱导足细胞损伤,下调裂孔隔膜蛋白[如nephrin、足细胞素(podocin)]的表达,破坏滤过屏障完整性;同时上调纤维化标志物如 α -平滑肌肌动蛋白(α -smooth muscle actin, α -SMA)等的表达,可加速肾纤维化进程^[4]。研究表明,阻断Wnt/ β -catenin信号通路可减轻并修复MN所致足细胞损伤,进而减缓MN的病理改变进展、保护肾脏^[5]。由此可见,靶向抑制该通路可成为缓解MN进展的新方向。

中医秉持辨证论治的核心理念,认为MN的发生与“脾肾阳虚、湿邪侵袭”密切相关,临床治疗以“补肾健脾益气、清热解聚利湿”为主要治法^[6-7]。据此,本课题组制定了益气清热解聚化聚方(self-designed Yiqi Qingre Jiedu Huayu formula, SDYF),由黄芪、党参、烫水蛭、地龙、茯苓等多种药材组成。基础研究显示,由黄芪、党参、水蛭、地龙等药物组成的中药方剂可显著降低MN大鼠尿蛋白水平、减轻肾脏损伤^[8-9],从而延缓肾脏慢性病理进展。但SDYF是否可通过Wnt/ β -catenin信号通路对MN发挥作用

尚不清楚。因此,本课题通过探讨SDYF对MN的治疗影响及其对Wnt1/ β -catenin信号通路的调控作用,为SDYF治疗MN提供一定的实验依据。

1 材料与方法

1.1 临床研究

1.1.1 研究对象 选择就诊于本院且符合纳入标准的MN患者共计80例,按照随机数字表法分为对照组和观察组,每组40例。两组患者的性别、年龄、体质量指数(body mass index, BMI)、吸烟史、饮酒史及合并症等指标均无明显差异($P>0.05$),具有可比性,本研究已经张家口市中医院医学伦理委员会批准(批件号:2300251)。见表1。

1.1.2 纳入、排除标准 纳入标准:(1)年龄18~65岁;(2)符合西医《肾脏病学》^[10]中MN的诊断标准,均为II期病变,且经肾活检病理检查有明确的病理诊断;(3)符合中医《中药新药临床研究指导原则》^[11]中水肿或尿浊病的诊断标准,且满足相关主症2项及以上;(4)24小时尿蛋白定量(24-hour urine protein quantification, 24 h UTP) <8.0 g/d,免疫抑制治疗未使用或已停用 ≥ 6 个月;(5)患者自愿签署知情同意书。

排除标准:(1)V型狼疮性肾炎、乙肝相关性肾炎等继发性膜性肾病者;(2)合并血栓、肝肾功能不全、肿瘤、传染病等疾病者;(3)妊娠期、哺乳期妇女。

1.1.3 药物、试剂与仪器 盐酸贝那普利(货号:X2208,规格10 mg/片)购自北京诺华制药有限公司;SDYF(30 g黄芪、15 g党参、6 g烫水蛭、30 g丹参、

表1 两组患者临床资料对比

Table 1 Comparison of clinical data between the two groups

项目 Item	对照组(n=40) Control group (n=40)	观察组(n=40) Observation group (n=40)	t/ χ^2 值 t/ χ^2 value	P值 P value
Gender (male/female)	23/17	25/15	0.208	0.648
Age /years	46.95 \pm 7.54	48.12 \pm 9.28	0.619	0.538
BMI /kg·m ⁻²	23.18 \pm 1.42	23.57 \pm 1.19	1.331	0.187
Smoking history (cases /%)	15 (37.5)	16 (40.0)	0.053	0.818
Drinking history (cases /%)	12 (30.0)	10 (25.0)	0.251	0.617
Hypertension (cases /%)	8 (20.0)	10 (25.0)	0.287	0.592
Diabetes (cases /%)	3 (7.5)	2 (5.0)	0.213	0.644

20 g茯苓、20 g川牛膝、24 g生地黄、20 g猪苓、15 g泽泻、12 g地龙、15 g薏苡仁、15 g白花蛇舌草)由本院中药房提供。抗磷脂酶A2受体(phospholipase A2 receptor, PLA2R)抗体试剂盒(货号: CB11019-Hu)购自上海科艾博生物技术有限公司。BS-2800M全自动生化分析仪购自深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司; LC-1000全自动尿液分析仪购自重庆普西医疗设备有限公司。

1.1.4 治疗方法 对照组患者给予基础治疗(包括休息、运动、饮食控制等), 并口服盐酸贝那普利10 mg/d。观察组在对照组治疗基础上加服SDYF, 每日1剂, 水煎2次, 滤液合并并定容至200 mL, 均分两份, 早晚各服用1次, 持续治疗6个月。

1.1.5 指标检测与方法 关键指标检测与方法如下。(1) 肾功能指标、血脂指标及血清抗PLA2R抗体水平。分别在治疗前后采集患者空腹状态下的静脉血3 mL。经4 °C、3 000 r/min离心15 min取上清液, 用全自动生化分析仪检测血清中白蛋白(albumin, ALB)、尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)、血肌酐(serum creatinine, Scr)、总胆固醇(total cholesterol, TC)、甘油三酯(triglyceride, TG)含量。按照酶联免疫吸附试验(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)试剂盒说明书操作检测两组患者血清中抗PLA2R抗体水平。从早晨7点起, 连续24 h收集患者每次排尿的中段尿, 混匀后取5 mL, 用尿液分析仪测24 h UTP总量。(2) 中医证候评分。对两组患者在治疗前后的主证与次证状况予以记录。主证涵盖乏力、浮肿、面色黧黑, 按无(0分)、轻(2分)、中(4分)、重(6分)计分; 次证包括腹胀、腰痛、尿频、便溏, 分值为无(0分)、轻(1分)、中(2分)、重(3分), 最后统计各证候的总积分^[11]。(3) 临床疗效评价。膜性肾病综合疗效判定标准如下。①痊愈: 尿蛋白持续阴性, 或24 h UTP<0.3 g, 肾功能正常; ②显效: 尿蛋白减2个“+”, 或24 h UTP下降≥40%, 肾功能接近正常; ③有效: 尿蛋白减1个“+”, 或24 h UTP下降<40%, 肾功能改善; ④无效: 临床表现及上述检测指标均无改善或加重。(4) 中医证候疗效判定标准如下。①痊愈: 中医临床症状、体征症状消失或基本消失, 证候疗效指数(n)≥95%; ②显效: 中医临床症状、体征症状明显改善, 70%≤ n <95%; ③有效: 中医临床症状、体征症状均有好转, 30%≤ n <70%; ④无效: 中医临床症状、体征症状均无明显改善, 甚至加重, n <30%。

采用尼莫地平法计算疗效指数 $n=[(治疗前积分-治疗后积分)/治疗前积分] \times 100\%$ 。

1.2 动物实验

1.2.1 实验动物 6周龄左右的SPF级SD雄性大鼠[SCXK(京) 2021-0011] 60只, 体质量范围为160~180 g, 购自北京维通利华实验动物技术有限公司。饲养于SPF级动物房, 温度约23 °C, 湿度约55%, 12 h光/12 h暗循环。实验开始前进行1周的适应性饲养, 自由饮水及进食, 检测尿蛋白均为阴性后用于后续实验。本研究已经张家口市中医院动物伦理委员会批准(批件号: 2300130)。

1.2.2 主要试剂及仪器 阳离子化牛血清白蛋白(cationized bovine serum albumin, CBSA)(货号SA8130)购自北京索莱宝生物科技有限公司; 弗氏不完全佐剂(货号P6556)、兔抗大鼠 α -SMA抗体(货号A547)、兔抗大鼠Col-I蛋白抗体(货号SAB4200678)、兔抗大鼠纤连蛋白(fibronectin)抗体(货号SAB5700724)、兔抗podocin抗体(货号HPA004194)购自美国Sigma公司; 兔抗大鼠C5b-9抗体(货号bs-2673R)购自北京博奥森生物技术有限公司; 兔抗大鼠IgG抗体(货号ab150153)、兔源肾母细胞瘤蛋白1(Wilms' tumor 1, WT-1)抗体(货号ab89901)购自英国Abcam公司; 兔抗nephrin抗体(货号5653S)购自美国CST公司; 兔抗Wnt1(货号27935-1-AP)、 β -catenin(货号51067-2-AP)、 β -actin(货号20536-1-AP)、c-Myc(货号10057-1-AP)、MMP-7(货号10374-2-AP)一抗及山羊抗兔HRP二抗(货号SA00001-2)购自武汉三鹰生物技术有限公司; 苏木精-伊红(hematoxylin and eosin, HE)染色试剂盒(货号C0105S)、Masson染色试剂盒(货号C0189S)、过碘酸-雪夫(periodic acid-Schiff, PAS)染色试剂盒(货号C0142S)购自碧云天生物技术有限公司; CX41光学显微镜购自日本Olympus公司; Amersham Imager 600化学发光成像仪购自美国Cytiva公司。除此之外, 其他药物、试剂与仪器同1.1.3。

1.2.3 模型建立及处理 从大鼠群体中随机选取10只作为对照组, 其余50只参照文献[12]采用阳离子化牛血清白蛋白(CBSA)注射法复制MN大鼠模型。在第1天, 多次皮下注射含有1.0 mg CBSA、0.5 mL生理盐水和0.5 mL弗氏不完全佐剂的混合液体进行预免疫。将CBSA溶于生理盐水中制备2.0 mg/mL的CBSA溶液, 7天后, 每隔1天尾静脉注射CBSA 16 mg/kg, 连

续2周。随后,每隔1天尾静脉注射25 mg/kg CBSA,连续4周。对照组大鼠注射等量生理盐水。在代谢笼中收集造模前、给药前和给药后的24 h尿液,给药后大鼠24 h UTP \geq 20 mg为造模成功。造模成功大鼠共44只,随机选取40只纳入实验,再采用随机数字表法将其分为模型组、西药组、SDYF低剂量组和SDYF高剂量组,每组10只。西药组灌胃10 mg/kg盐酸贝那普利^[13]、SDYF低剂量组灌胃11.65 g/kg SDYF、SDYF高剂量组灌胃23.31 g/kg SDYF,灌胃体积均为2 mL,每日1次,持续4周。对照组和模型组每日灌胃等量生理盐水。

1.2.4 指标检测与方法 关键指标检测与方法如下。(1) 肾功能指标及血脂指标检测。给药前和给药后各组大鼠分别用代谢笼收集24 h尿液并记录尿量,4 °C、3 000 r/min离心15 min后取上清液,-20 °C保存备用。腹主动脉采血收集血清,相同条件离心取上清,-20 °C保存备用。使用尿液分析仪测定24 h UTP;使用全自动分析仪检测ALB、Scr、BUN、TC、TG含量。(2) 组织学染色观察肾脏病理形态。磷酸盐缓冲液洗涤肾皮质组织后用10%多聚甲醛室温固定过夜。以不同浓度乙醇梯度脱水,透明后再将组织包埋在石蜡中并切片(3 μ m),脱蜡和水合处理后,HE染色需将部分切片经苏木精和伊红染液依次染色,脱水透明后封片观察组织结构。Masson染色则需切片脱蜡至水后,用丽春红-品红染液染肌纤维等呈红色,再经磷钼酸分化、苯胺蓝染胶原纤维呈蓝色,最后脱水封片以明确纤维化程度。PAS染色需切片脱蜡至水后,用过碘酸氧化糖类,再用雪夫试剂染色使糖原及基底膜呈紫红色,脱水封片后可清晰观察肾小球基底膜等变化。(3) 免疫组化法检测肾脏组织中 α -SMA、Col-I和fibronectin的表达水平。石蜡切片经烘烤、脱蜡及水化后,以枸橼酸盐缓冲液进行抗原修复;再使用10%山羊血清于37 °C封闭切片上的非特异性位点;滴加 α -SMA(1:200)、Col-I(1:100)和fibronectin(1:100)一抗,4 °C孵育过夜;洗涤后滴加HRP标记的山羊抗鼠IgG二抗(1:500)并于室温孵育1 h,再次洗涤后用DAB溶液进行显色,显微镜下观察阳性表达情况并分析平均光密度值。每张切片随机选取5个视野。(4) 免疫荧光染色观察肾脏组织IgG、C5b-9沉积情况。取脱蜡后的切片,在柠檬酸缓冲液中煮沸以提取抗原,自然冷却后,在4 °C下与Alexa Fluor 488

结合的抗鼠IgG(1:200)、C5b-9(1:100)抗体孵育过夜。滴加含有DAPI的抗荧光淬灭剂封片。在荧光显微镜下观察并拍照记录,利用ImageJ软件定量荧光强度。(5) 透射电子显微镜(TEM)观察肾脏组织足细胞结构。将肾脏组织切成约1 cm \times 1 cm \times 1 cm的小块,固定于2.5%戊二醛中4 h,然后经梯度乙醇脱水、包埋(常规条件)。利用半薄切片技术(约1 μ m)对包埋块进行定位。通过光学显微镜观察半薄切片,标记肾小球区域。定位后,使用超薄切片机切取70~90 nm厚的超薄切片,经醋酸铀和枸橼酸铅双重染色,置于透射电子显微镜中观察足细胞结构。(6) Western blot测定Wnt1/ β -catenin信号通路相关蛋白表达情况。使用RIPA裂解液从肾组织中提取蛋白,BCA法测定蛋白浓度后定量,随之进行金属浴变性。通过10% SDS-PAGE凝胶电泳将蛋白分离,而后转移至PVDF膜上,裁剪PVDF膜并将条带置于5%脱脂奶粉中室温封闭1 h,4 °C过夜孵育一抗WT-1(1:2 000)、nephrin(1:2 000)、podocin(1:2 000)、Wnt1(1:1000)、 β -catenin(1:1 000)、c-Myc(1:1 000)、MMP-7(1:1 000)和 β -actin(1:5 000),次日室温孵育山羊抗兔HRP二抗(1:10 000)1 h,而后将配制好的显影液滴加于PVDF膜上并静置1 min,立即使用化学发光成像仪采集图像,利用软件ImageJ进行灰度分析。

1.3 统计学方法

数据使用SPSS 20.0统计软件进行分析。采用Shapiro-Wilk检验评估数据正态性,并通过Levene检验判断方差齐性。结果均符合正态分布,计量资料用平均值 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,两组间样本比较采用 t 检验;多组间样本比较采用单因素方差分析,进一步两两比较采用LSD- t 法;计数资料以[例(%)]表示,两组间样本比较采用 χ^2 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 SDYF对MN患者肾功能指标、血脂指标及血清抗PLA2R抗体水平的影响

治疗前,两组患者肾功能指标、血脂指标及血清抗PLA2R抗体水平均无明显差异($P>0.05$),具有可比性。治疗后,两组患者24 h UTP水平和血清BUN、Scr、TC、TG、抗PLA2R抗体水平明显降低($P<0.05$),血清ALB水平明显升高($P<0.05$),且观察组效果优于对照组($P<0.05$)。见表2。

表2 两组MN患者肾功能指标、血脂指标及血清抗PLA2R抗体水平的比较

Table 2 Comparison of renal function indicators, lipid indicators, and serum anti-PLA2R antibody levels in two groups of MN patients

项目 Item	对照组 Control group		观察组 Observation group	
	治疗前 Before treatment	治疗后 After treatment	治疗前 Before treatment	治疗后 After treatment
	24 h UTP /g	5.75±1.81	2.95±0.61*	5.19±1.54
ALB /g·L ⁻¹	24.98±3.57	36.85±4.41*	24.54±4.32	42.47±3.36*#
BUN /mmol·L ⁻¹	9.56±1.36	7.24±0.86*	9.71±1.80	5.56±0.78*#
Scr /μmol·L ⁻¹	89.51±12.47	79.62±8.38*	89.04±13.93	65.32±6.43*#
TC /mmol·L ⁻¹	7.23±2.01	5.24±1.16*	7.51±2.40	4.27±1.30*#
TG /mmol·L ⁻¹	3.14±0.67	1.72±0.39*	2.96±0.89	1.24±0.26*#
anti-PLA2R antibody /RU·mL ⁻¹	135.29±2.95	32.49±1.77*	138.68±3.43	21.56±1.01*#

* $P<0.05$, 与治疗前相比; # $P<0.05$, 与对照组治疗后相比。 $\bar{x}\pm s$, $n=40$ 。* $P<0.05$ compared with before treatment; # $P<0.05$ compared with the control group after treatment. $\bar{x}\pm s$, $n=40$ 。

表3 两组MN患者中医证候积分的比较

Table 3 Comparison of traditional chinese medicine syndrome scores in two groups of MN patients

症状 Symptoms	对照组 Control group		观察组 Observation group	
	治疗前 Before treatment	治疗后 After treatment	治疗前 Before treatment	治疗后 After treatment
	Main certificate			
Fatigue	3.18±0.93	1.87±0.31*	3.12±0.82	1.28±0.25*#
Edema	3.55±1.10	2.31±0.95*	3.67±1.09	1.51±0.34*#
Sallow complexion	2.83±0.51	1.34±0.33*	2.78±0.47	1.01±0.26*#
Secondary certificate				
Bloating	2.81±0.69	1.47±0.36*	2.93±0.71	1.20±0.25*#
Back pain	2.43±0.73	1.54±0.26*	2.39±0.68	1.04±0.19*#
Frequent urination	2.67±0.78	1.62±0.50*	2.69±0.64	1.30±0.18*#
Loose stools	2.52±0.43	1.69±0.37*	2.36±0.82	1.27±0.32*#

* $P<0.05$, 与治疗前相比; # $P<0.05$, 与对照组治疗后相比。 $\bar{x}\pm s$, $n=40$ 。* $P<0.05$ compared with before treatment; # $P<0.05$ compared with the control group after treatment. $\bar{x}\pm s$, $n=40$ 。

表4 两组综合疗效分析

Table 4 Analysis of the overall efficacy of the two groups

组别 Group	痊愈 Recovery	显效 Significant effect	有效 Effective	无效 Invalid	总有效率/% Overall effectiveness /%
Control group	5 (12.5)	13 (32.5)	9 (22.5)	13 (32.5)	27 (67.5)
Observation group	8 (20.0)	17 (42.5)	11 (27.5)	4 (10.0)	36 (90.0)
χ^2					6.050
P					0.014

例(%), $n=40$ 。Cases (%), $n=40$ 。

2.2 SDYF对MN患者中医证候评分的影响

治疗前, 两组中医证候积分均无显著差异 ($P>0.05$), 具有可比性。治疗后, 两组中医证候积分均显著降低 ($P<0.05$), 且观察组明显优于对照组

($P<0.05$)。见表3。

2.3 SDYF对MN患者临床疗效的影响

综合疗效分析和中医证候分析结果显示, 观察组的总有效率显著高于对照组 ($P<0.05$)。见表4和

表5 两组中医证候分析

Table 5 Analysis of traditional chinese medicine syndromes in two groups

组别 Group	痊愈 Recovery	显效 Significant effect	有效 Effective	无效 Invalid	总有效率/% Overall effectiveness /%
Control group	2 (5.0)	15 (37.5)	12 (30.0)	11 (27.5)	29 (72.5)
Observation group	4 (10.0)	20 (50.0)	14 (35.0)	2 (5.0)	38 (95.0)
χ^2					7.440
P					0.006

例(%), $n=40$ 。Cases (%), $n=40$ 。

表6 各组大鼠24 h UTP水平比较

Table 6 Comparison of 24-hour UTP levels in rats of each group

组别 Group	造模前/mg Before modeling /mg	造模后/mg After modeling /mg	治疗后/mg After treatment /mg
Control group	4.52±0.48	4.82±0.49	4.75±0.45
Model group	4.38±0.42	54.78±5.12*	52.16±4.93*
Western medicine group	4.13±0.43	53.24±4.37*	34.37±3.65 [#]
Low-dose SDYF group	4.22±0.35	52.95±4.46*	36.24±3.25 [#]
High-dose SDYF group	4.61±0.45	55.54±5.08*	30.04±3.93 ^{#&}

* $P<0.05$, 与对照组相比; [#] $P<0.05$, 与模型组相比; [&] $P<0.05$, 与SDYF低剂量组相比。 $\bar{x}\pm s$, $n=10$ 。* $P<0.05$ compared with the control group; [#] $P<0.05$ compared with the model group; [&] $P<0.05$ compared with the low-dose SDYF group. $\bar{x}\pm s$, $n=10$ 。

表5。

2.4 SDYF对MN大鼠24 h UTP水平的影响

造模前, 各组大鼠24 h UTP均保持在极低水平, 且各组大鼠间无统计学差异($P>0.05$)。与造模前相比, 造模后除对照组以外, 其余各组大鼠尿液中24 h UTP水平显著升高($P<0.05$)。治疗后, 与模型组相比, 西药组和SDYF低、高剂量组大鼠24 h UTP水平明显降低($P<0.05$)。与SDYF低剂量组相比, SDYF高剂量组中24 h UTP水平明显降低($P<0.05$)。见表6。

2.5 SDYF对MN大鼠血清中肾功能指标和血脂指标水平的影响

与对照组相比, 模型组大鼠血清中ALB水平明显降低($P<0.05$), BUN、Scr、TC、TG水平明显升高($P<0.05$)。与模型组相比, 西药组和SDYF低、高剂量组大鼠血清中ALB水平明显升高($P<0.05$), BUN、Scr、TC、TG水平明显降低($P<0.05$)。与SDYF低剂量组相比, SDYF高剂量组中ALB水平明显升高($P<0.05$), BUN、Scr、TC、TG水平明显降低($P<0.05$)。见表7。

2.6 SDYF对MN大鼠肾脏病理形态的影响

HE染色显示, 对照组中肾组织完整, 结构正常, 无异常病变。与对照组相比, 模型组大鼠肾脏组织中出现炎性细胞浸润, 肾小球毛细血管基底膜增厚、

肾小球体积增大。与模型组相比, 其他给药组肾小球毛细血管基底膜增厚程度均有减轻, 炎性细胞浸润减少。

Masson染色显示, 与对照组相比, 模型组大鼠肾组织细胞外胶原纤维沉积增加。与模型组相比, 其他给药组细胞外胶原纤维沉积有不同程度减少。

PAS染色显示, 与对照组相比, 模型组大鼠肾小球基底膜增厚, 糖原沉积增加。与模型组相比, 其他给药组上述变化有不同程度改善。见图1。

2.7 SDYF对MN大鼠肾脏组织中 α -SMA、Col-I和fibronectin水平的影响

与对照组相比, 模型组中 α -SMA、Col-I和fibronectin阳性表达水平显著升高($P<0.05$)。与模型组相比, 西药组和SDYF低、高剂量组大鼠肾脏组织中 α -SMA、Col-I和fibronectin阳性表达水平明显降低($P<0.05$)。与SDYF低剂量组相比, SDYF高剂量组中 α -SMA、Col-I和fibronectin阳性表达水平明显降低($P<0.05$)。见图2和表8。

2.8 SDYF对MN大鼠肾脏组织中IgG、C5b-9沉积以及足细胞结构的影响

免疫荧光结果显示, 与对照组相比, 模型组大鼠肾小球中IgG、C5b-9沉积增加, 且沿毛细血管壁

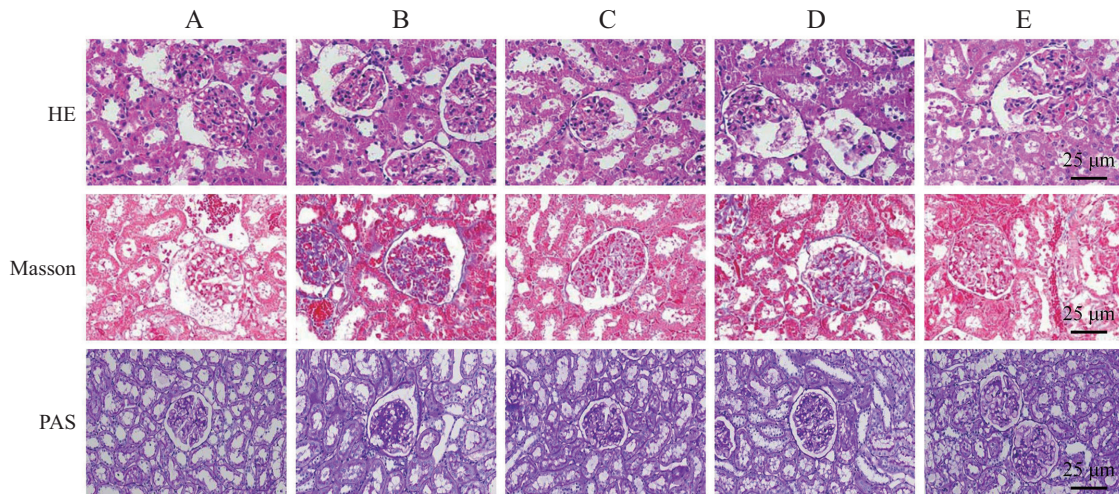
表7 各组大鼠血清中肾功能指标和血脂指标水平比较

Table 7 Comparison of renal function and blood lipid levels in the serum of rats in each group

组别 Group	ALB /g·L ⁻¹	BUN /mmol·L ⁻¹	Scr / μ mol·L ⁻¹	TC /mmol·L ⁻¹	TG /mmol·L ⁻¹
Control group	32.83±4.26	5.15±0.63	23.87±3.36	1.50±0.13	0.48±0.06
Model group	23.56±3.21*	10.40±1.02*	47.12±5.16*	2.41±0.34*	1.27±0.16*
Western medicine group	29.42±3.36 [#]	5.29±0.61 [#]	26.65±4.31 [#]	2.01±0.36 [#]	0.71±0.07 [#]
Low-dose SDYF group	26.99±3.84 [#]	8.04±0.83 [#]	36.71±4.22 [#]	2.11±0.20 [#]	1.13±0.11 [#]
High-dose SDYF group	30.26±2.63 ^{#&}	5.35±0.72 ^{#&}	25.42±2.76 ^{#&}	1.91±0.21 ^{#&}	0.78±0.08 ^{#&}

* $P < 0.05$, 与对照组相比; [#] $P < 0.05$, 与模型组相比; [&] $P < 0.05$, 与SDYF低剂量组相比。 $\bar{x} \pm s$, $n = 10$ 。

* $P < 0.05$ compared with the control group; [#] $P < 0.05$ compared with the model group; [&] $P < 0.05$ compared with the low-dose SDYF group. $\bar{x} \pm s$, $n = 10$.

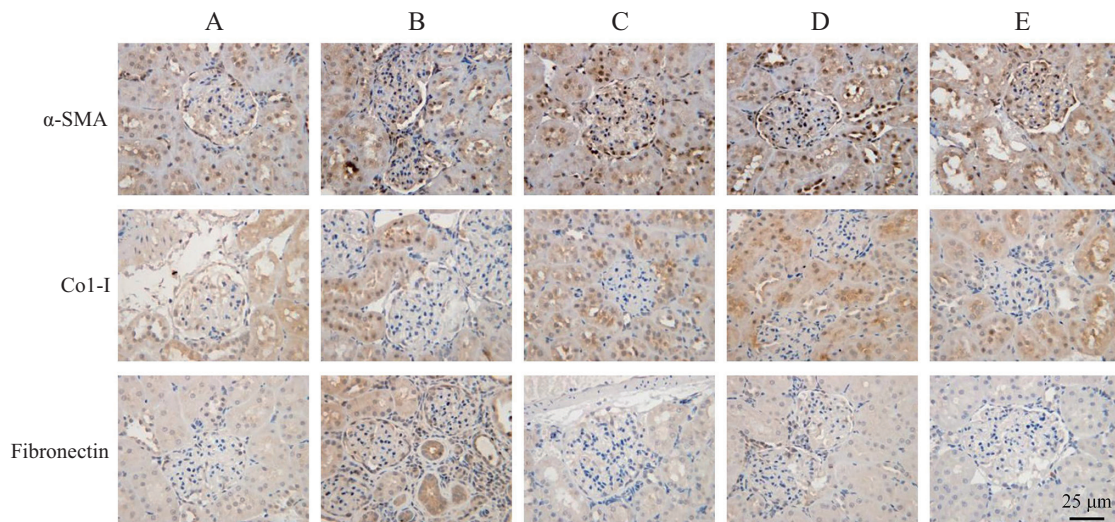


A: 对照组; B: 模型组; C: 西药组; D: SDYF低剂量组; E: SDYF高剂量组。红色箭头为炎性细胞浸润。

A: control group; B: model group; C: western medicine group; D: SDYF low-dose group; E: SDYF high-dose group. Red arrows indicate inflammatory cell infiltration.

图1 各组大鼠肾组织病理切片染色

Fig.1 Histopathological staining of kidney tissue sections from each group of rats



A: 对照组; B: 模型组; C: 西药组; D: SDYF低剂量组; E: SDYF高剂量组。

A: control group; B: model group; C: western medicine group; D: SDYF low-dose group; E: SDYF high-dose group.

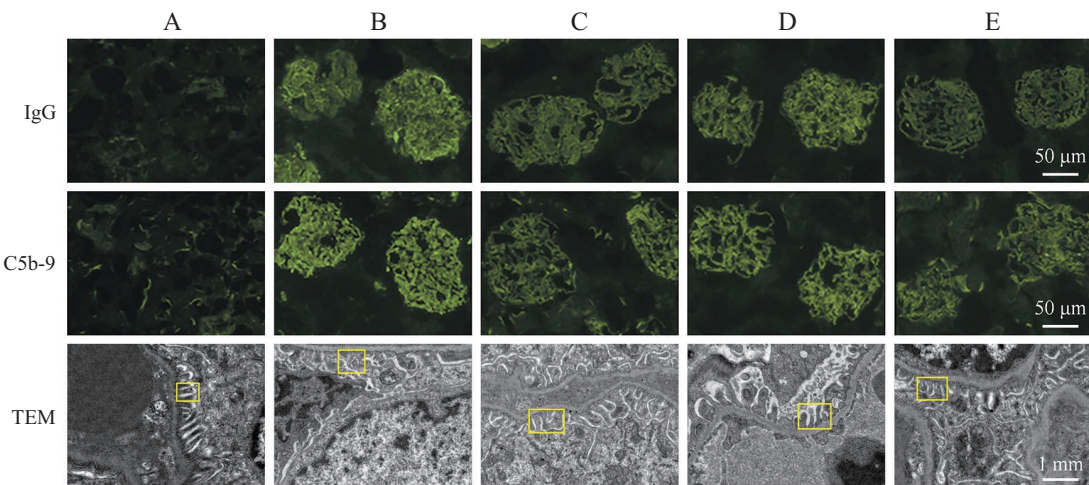
图2 IHC检测各组大鼠肾组织中 α -SMA、Col-I和fibronectin的阳性表达情况Fig.2 IHC detection of positive expression of α -SMA, Col-I, and fibronectin in the kidney tissues of rats in each group

表8 各组大鼠肾组织 α -SMA、Col-I和fibronectin阳性表达情况
Table 8 Positive expression of α -SMA, Col-I, and fibronectin in renal tissues of rats in each group

组别 Group	α -SMA	Col-I	Fibronectin
Control group	0.18 \pm 0.02	0.14 \pm 0.01	0.16 \pm 0.02
Model group	0.39 \pm 0.04*	0.32 \pm 0.03*	0.28 \pm 0.03*
Western medicine group	0.21 \pm 0.02 [#]	0.23 \pm 0.02 [#]	0.21 \pm 0.02 [#]
Low-dose SDYF group	0.31 \pm 0.02 [#]	0.25 \pm 0.01 [#]	0.21 \pm 0.02 [#]
High-dose SDYF group	0.23 \pm 0.02 ^{#&}	0.20 \pm 0.02 ^{#&}	0.18 \pm 0.02 ^{#&}

* P <0.05, 与对照组相比; [#] P <0.05, 与模型组相比; [&] P <0.05, 与SDYF低剂量组相比。 $\bar{x}\pm s$, $n=5$ 。

* P <0.05 compared with the control group; [#] P <0.05 compared with the model group; [&] P <0.05 compared with the low-dose SDYF group. $\bar{x}\pm s$, $n=5$ 。



A: 对照组; B: 模型组; C: 西药组; D: SDYF低剂量组; E: SDYF高剂量组。黄色框表示足突。

A: control group; B: model group; C: western medicine group; D: SDYF low-dose group; E: SDYF high-dose group. The yellow box indicates the foot process.

图3 各组大鼠肾脏组织免疫荧光染色及TEM代表图像

Fig.3 Representative images of immunofluorescence staining and TEM of kidney tissues from each group of rats

分散分布, 荧光强度增强。与模型组相比, 西药组和SDYF低、高剂量组大鼠肾小球中IgG、C5b-9沉积减少, 荧光强度降低。见图3。

TEM结果显示, 与对照组相比, 模型组大鼠足细胞发生广泛坏死, 结构消失, 细胞膜破损明显, 足突数量减少, 并出现融合和增宽现象。与模型组相比, 西药组和SDYF高剂量组足细胞仅呈轻度肿胀, 足突偶见融合; SDYF低剂量组细胞中度水肿, 足突部分融合, 病变程度介于模型组与SDYF高剂量组之间。见图3。

2.9 SDYF对MN大鼠肾脏组织中足细胞损伤相关蛋白表达水平的影响

与对照组相比, 模型组大鼠肾脏组织中WT-1、nephrin、podocin蛋白水平明显降低(P <0.05)。与模型组相比, 西药组和SDYF低、高剂量组大鼠WT-1、nephrin、podocin蛋白水平明显升高(P <0.05)。

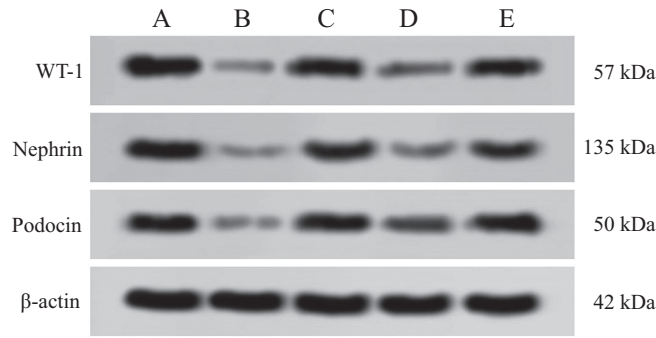
与SDYF低剂量组相比, SDYF高剂量组中WT-1、nephrin、podocin蛋白水平明显升高(P <0.05)。见图4和表9。

2.10 SDYF对MN大鼠肾脏组织中Wnt1/ β -catenin通路相关蛋白表达的影响

与对照组相比, 模型组大鼠肾脏组织中Wnt1、 β -catenin、c-Myc和MMP-7蛋白表达水平明显升高(P <0.05)。与模型组相比, 西药组和SDYF低、高剂量组大鼠肾脏组织中Wnt1、 β -catenin、c-Myc和MMP-7蛋白表达水平明显降低(P <0.05)。与SDYF低剂量组相比, SDYF高剂量组中Wnt1、 β -catenin、c-Myc和MMP-7蛋白表达水平明显降低(P <0.05)。见图5和表10。

3 讨论

MN的核心病理表现为肾小球基底膜免疫复合



A: 对照组; B: 模型组; C: 西药组; D: SDYF低剂量组; E: SDYF高剂量组。

A: control group; B: model group; C: western medicine group; D: SDYF low-dose group; E: SDYF high-dose group.

图4 各组大鼠肾组织中WT-1、nephrin、podocin蛋白表达条带图

Fig.4 Protein expression bands of WT-1, nephrin, and podocin in kidney tissues of rats in each group

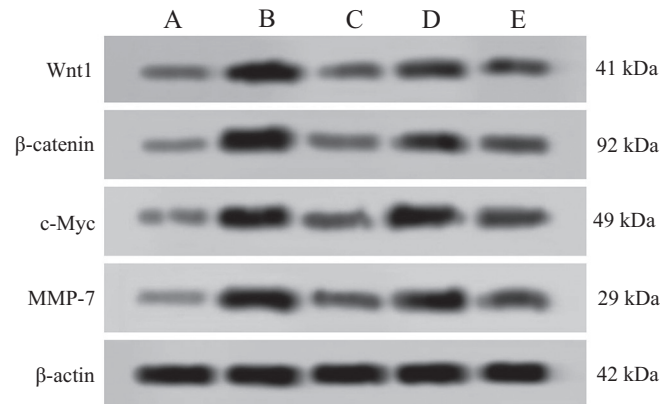
表9 各组大鼠肾组织中WT-1、nephrin、podocin蛋白表达水平

Table 9 Expression levels of WT-1, nephrin, and podocin proteins in kidney tissues of rats in each group

组别 Group	WT-1/ β -actin	Nephrin/ β -actin	Podocin/ β -actin
Control group	1.12 \pm 0.10	1.00 \pm 0.09	1.20 \pm 0.08
Model group	0.29 \pm 0.03*	0.31 \pm 0.02*	0.24 \pm 0.02*
Western medicine group	1.01 \pm 0.07 [#]	0.87 \pm 0.08 [#]	0.97 \pm 0.09 [#]
Low-dose SDYF group	0.53 \pm 0.05 [#]	0.56 \pm 0.05 [#]	0.61 \pm 0.07 [#]
High-dose SDYF group	0.98 \pm 0.08 ^{#&}	0.83 \pm 0.07 ^{#&}	0.94 \pm 0.10 ^{#&}

* P <0.05, 与对照组相比; [#] P <0.05, 与模型组相比; [&] P <0.05, 与SDYF低剂量组相比。 $\bar{x}\pm s$, $n=5$ 。

* P <0.05 compared with the control group; [#] P <0.05 compared with the model group; [&] P <0.05 compared with the low-dose SDYF group. $\bar{x}\pm s$, $n=5$.



A: 对照组; B: 模型组; C: 西药组; D: SDYF低剂量组; E: SDYF高剂量组。

A: control group; B: model group; C: western medicine group; D: SDYF low-dose group; E: SDYF high-dose group.

图5 各组大鼠肾组织中Wnt1/ β -catenin通路相关蛋白表达条带图

Fig.5 Bands of Wnt1/ β -catenin pathway-related protein expression in kidney tissues of rats from each group

物沉积及继发性增厚。患者因免疫紊乱、血液高凝状态及肾功能损伤,多表现为组织水肿、大量蛋白尿,且易并发血栓、感染,严重时可进展为肾衰竭^[14]。目前常规使用的药物、免疫抑制剂及血液透析等方法,常伴随骨髓抑制、感染等副作用,严重影响患者

生活质量^[15]。因此,针对MN的发病机制开发新型治疗药物,对控制病情进展、改善患者预后具有重要意义。SDYF是基于中医对MN“水肿”、“尿浊”、“虚劳”等病机的认识,以“益气、清热、解毒、化痰”为治疗原则,参考以往经典方剂及临床经验化裁而

表10 各组大鼠肾组织中Wnt1/ β -catenin通路相关蛋白表达的比较Table 10 Comparison of the expression of Wnt1/ β -catenin pathway-related proteins in kidney tissues of rats in each group

组别 Group	Wnt1/ β -actin	β -catenin/ β -actin	c-Myc/ β -actin	MMP-7/ β -actin
Control group	0.12±0.03	0.14±0.03	0.21±0.03	0.18±0.02
Model group	1.15±0.06*	0.90±0.05*	1.03±0.09*	0.97±0.10*
Western medicine group	0.26±0.03 [#]	0.23±0.05 [#]	0.36±0.04 [#]	0.32±0.03 [#]
Low-dose SDYF group	0.67±0.04 [#]	0.52±0.05 [#]	0.71±0.09 [#]	0.60±0.07 [#]
High-dose SDYF group	0.25±0.03 ^{#&}	0.28±0.03 ^{#&}	0.42±0.05 ^{#&}	0.35±0.04 ^{#&}

* $P < 0.05$, 与对照组相比; [#] $P < 0.05$, 与模型组相比; [&] $P < 0.05$, 与SDYF低剂量组相比。 $\bar{x} \pm s$, $n = 5$ 。

* $P < 0.05$ compared with the control group; [#] $P < 0.05$ compared with the model group; [&] $P < 0.05$ compared with the low-dose SDYF group. $\bar{x} \pm s$, $n = 5$ 。

成^[16-17]。方中黄芪、党参健脾益肾, 助运水液, 为活血利水提供动力; 烫水蛭、地龙通络逐瘀, 与黄芪、党参相配, 攻补兼施, 共为君药。臣药分两组协同增效: 茯苓、猪苓、泽泻、薏苡仁淡渗利湿、健脾消肿; 丹参、川牛膝活血利水, 生地黄滋阴清热, 白花蛇舌草清热解毒利湿。诸药合用, 共奏益气健脾、活血通络、清热利湿之效。临床研究显示, 以黄芪、地龙为主药的方剂对特发性MN有显著疗效^[18]。本研究临床实验结果亦显示, 加服SDYF的观察组患者中医证候积分明显低于对照组, 临床疗效总有效率更高, 说明SDYF可有效改善MN患者的临床症状。

肾功能指标是评估MN肾脏功能与损伤的关键, 其病理基础在于肾小球滤过膜通透性增加, 导致出现大量蛋白尿, 继而引起血清ALB水平下降及Scr水平升高^[19]。研究显示, 含有黄芪、党参、茯苓、水蛭等药物的加减补阳还五汤可显著降低患者24 h UTP, 提高血浆ALB水平, 有效缓解MN临床症状^[20]。本研究临床结果显示, 治疗后观察组患者肾功能指标的改善情况优于对照组。动物实验进一步显示, SDYF干预可降低MN大鼠24 h UTP、BUN、Scr水平, 升高ALB水平, 且HE染色提示肾脏病理损伤减轻, 说明SDYF能够改善肾功能、减少尿蛋白排泄。血清抗PLA2R抗体是MN患者的一种特殊性抗体, 其水平可反映患者病情严重程度。该抗体阳性以及肾小球抗PLA2R抗体沉积与血清TC水平相关, 研究表明, TC、TG降低常预示MN患者蛋白尿症状的缓解^[21-22]。本研究临床数据显示, 两组治疗后血清TC、TG及抗PLA2R抗体水平均下降, 且观察组效果更优。动物实验亦证实SDYF可降低MN大鼠TC、TG水平, 提示该方可能通过调节血脂水平来缓解MN。

肾间质纤维化和足细胞损伤是MN发生发展的重要因素。 α -SMA、Col-I、fibronectin是肾纤维化

的标志物, 在MN状态下其表达量会显著增加, 从而加重肾脏损伤^[23-24]。Podocin和nephrin分别是足细胞裂隙隔膜和细胞体上的重要蛋白质, 在维持足细胞的正常形态和功能中起着核心作用^[25]。WT-1是肾脏早期发育的关键转录因子, 存在于足细胞核中, 通过特异性标记可确定足细胞位置和数量^[26]。研究表明, 含有黄芪、地黄、泽泻的加味芪黄饮可提高WT-1的蛋白表达水平, 保护MN大鼠肾脏足细胞, 缓解肾功能损伤^[27]。此外, IgG是MN中主要的免疫球蛋白, 其沉积于肾小球基底膜上皮侧是MN的典型病理特征^[28]。IgG沉积后, 可通过旁路途径激活补体系统, 形成C5b-9膜攻击复合物, 进而损伤足细胞, 破坏肾小球滤过屏障, 导致蛋白尿^[29]。在本研究中, 模型组大鼠肾脏组织IgG、C5b-9沉积以及 α -SMA、Col-I、fibronectin表达量增加, 足细胞损伤加重, WT-1、nephrin、podocin蛋白表达水平降低, 而SDYF治疗后上述结果均有明显改善, 提示SDYF可减轻MN大鼠的肾间质纤维化和足细胞损伤, 对肾脏发挥保护作用。

Wnt1/ β -catenin信号通路是一条高度保守且复杂的信号通路, 在MN、慢性肾炎、肾脏纤维化等肾脏疾病中发挥重要作用^[30]。Wnt1配体与受体结合, 可阻止 β -catenin的磷酸化降解, 使其在胞质中积累并转入细胞核, 进而与TCF/LEF转录因子结合, 激活下游靶基因^[31]。其中, c-Myc和MMP-7是该通路的关键下游基因。研究表明, c-Myc可促进细胞周期蛋白表达, 驱动细胞异常增殖, 加剧肾组织损伤^[32]。MMP-7则能降解细胞外基质成分, 破坏肾小球滤过屏障结构, 并激活其他MMPs, 促进肾组织纤维化^[33]。在MN大鼠模型中, β -catenin蛋白表达量显著增加^[34], 而抑制Wnt1/ β -catenin信号通路可降低nephrin、podocin蛋白表达水平, 减轻足细胞损伤^[35]。SU等^[36]则发现

抑制 Wnt1/ β -catenin 信号通路是减轻肾纤维化有前途的治疗靶点。这些证据均表明,抑制 Wnt1/ β -catenin 信号通路是防治 MN 的有效手段。现代药理学研究提示,SDYF 中的部分药物如黄芪、丹参提取物丹酚多酚酸盐可通过干预 Wnt/ β -catenin 信号通路,延缓大鼠肾间质纤维化的进程,从而发挥肾脏保护作用^[37]。与本研究发现一致,在 MN 模型大鼠中,SDYF 治疗可显著抑制 Wnt1/ β -catenin 通路相关蛋白表达,提示该方剂对 Wnt1/ β -catenin 信号通路具有抑制效应。此外,最新研究发现,升清降浊胶囊也可通过抑制 Wnt1/ β -catenin 通路的激活减轻 MN 大鼠的肾脏损伤^[38]。与之不同的是,本研究中 SDYF 缓解肾组织纤维化的作用,同样与调控该通路有关,这可能源于不同中药复方在配伍与作用机制上的差异。

综上所述,SDYF 能减少尿蛋白排泄,减轻肾间质纤维化,缓解足细胞损伤,从而对 MN 大鼠的肾脏发挥保护作用,其机制可能与 Wnt1/ β -catenin 信号通路的抑制有关。然而,本研究未能设计挽救实验,也未检测 Wnt1/ β -catenin 信号通路上下游相关分子,以进一步验证其在 MN 中的具体作用,这些均为后续研究需要完善和深入的内容。

参考文献 (References)

- [1] LERNER G B, VIRMANI S, HENDERSON J M, et al. A conceptual framework linking immunology, pathology, and clinical features in primary membranous nephropathy [J]. *Kidney Int*, 2021, 100(2): 289-300.
- [2] HOXHA E, REINHARD L, STAHL R A K. Membranous nephropathy: new pathogenic mechanisms and their clinical implications [J]. *Nat Rev Nephrol*, 2022, 18(7): 466-78.
- [3] LIU H, CHENG H, WANG H, et al. Crocin improves the renal autophagy in rat experimental membranous nephropathy via regulating the SIRT1/Nrf2/HO-1 signaling pathway [J]. *Ren Fail*, 2023, 45(2): 2253924.
- [4] HUANG Z X, LIAO Y J, ZHENG Y X, et al. Zinc deficiency causes glomerulosclerosis and renal interstitial fibrosis through oxidative stress and increased lactate metabolism in rats [J]. *Biol Trace Elem Res*, 2024, 19(7): 4306.
- [5] DONG Z, DAI H, GAO Y, et al. Inhibition of the Wnt/ β -catenin signaling pathway reduces autophagy levels in complement treated podocytes [J]. *Exp Ther Med*, 2021, 22(1): 737.
- [6] 王志君, 韩晴, 王春宁, 等. 芪苓益肾通络方对脾胃气虚型特发性膜性肾病肾功能及血脂水平的影响[J]. *辽宁中医杂志*(WANG Z J, HAN Q, WANG C N, et al. Effects of Qiling Yishen Tongluo formula on renal function and blood lipid levels in idiopathic membranous nephropathy with spleen and kidney Qi deficiency type [J]. *Liaoning Journal of Traditional Chinese Medicine*), 2023, 50(1): 112-5.
- [7] 滕嘉嘉, 王志萍. 中医药治疗膜性肾病的理论基础及研究进展 [J]. *中医临床研究*(TENG J J, WANG Z P. Theoretical basis and research progress of traditional Chinese medicine in the treatment of membranous nephropathy [J]. *Clinical Research of Traditional Chinese Medicine*), 2022, 14(36): 20-3.
- [8] CHANG M, SHI X, YANG B, et al. Modified Huangqi Chifeng decoction alleviates podocyte injury on rat with experimental membranous nephropathy [J]. *Ren Fail*, 2025, 47(1): 2459896.
- [9] 郑金梅, 王新爱, 刘照, 等. 益肾通络方调控BNIP3介导的线粒体自噬对膜性肾病大鼠Th1/Th2失衡的机制[J]. *检验医学与临床*(ZHENG J M, WANG X A, LIU Z, et al. The mechanism of yishen tongluo formula regulating BNIP3-mediated mitophagy on Th1/Th2 imbalance in rats with membranous nephropathy [J]. *Laboratory Medicine and Clinic*), 2025, 22(13): 1781-6.
- [10] 王海燕, 赵明辉, 张宏, 等. *肾脏病学*[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2020.
- [11] 郑筱蓓. *中药新药临床研究指导原则: 试行*[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2002.
- [12] WANG Y N, MIAO H, HUA M R, et al. Moshen granule ameliorates membranous nephropathy by blocking intrarenal renin-angiotensin system signalling via the Wnt1/ β -catenin pathway [J]. *Phytomedicine*, 2023, 114: 154763.
- [13] 张尧, 高飞, 檀淼, 等. 丹参多酚酸盐通过AMPK/Sirt1/PGC-1 α 信号通路诱导膜性肾病大鼠足细胞自噬的机制[J]. *中国实验方剂学杂志*(ZHANG Y, GAO F, TAN M, et al. Mechanism by which salvianolic acid b induces autophagy in podocytes of rats with membranous nephropathy through the AMPK/Sirt1/PGC-1 α signaling pathway [J]. *Chinese Journal of Experimental Formulas*), 2023, 29(8): 203-13.
- [14] 李双良. 中西医结合治疗膜性肾病的临床研究进展[J]. *内蒙古中医药*(LI S L. Progress in clinical research on the integration of chinese and western medicine in the treatment of membranous nephropathy [J]. *Inner Mongolia Journal of Traditional Chinese Medicine*), 2023, 42(9): 145-7.
- [15] MA S X, LI X J, DUAN T T, et al. Moshen granule ameliorates membranous nephropathy by regulating NF- κ B/Nrf2 pathways via aryl hydrocarbon receptor signalling [J]. *Heliyon*, 2023, 9(9): e20019.
- [16] 康桂兰, 李建省, 王英明, 等. 基于数据挖掘探析中医药治疗特发性膜性肾病证治规律[J]. *中国中医药信息杂志*(KANG G L, LI J S, WANG Y M, et al. Exploring the treatment patterns of traditional chinese medicine for idiopathic membranous nephropathy based on data mining [J]. *China Journal of Traditional Chinese Medicine Information*), 2023, 30(4): 12-7.
- [17] 王新爱, 王大伟, 寇杰, 等. 化瘀通络方对气虚血瘀型膜性肾病患者的临床疗效[J]. *中成药*(WANG X A, WANG D W, KOU J, et al. Clinical efficacy of huayu tongluo formula in patients with membranous nephropathy of qi deficiency and blood stasis type [J]. *Chinese Patent Medicine*), 2024, 46(7): 2244-7.
- [18] 张宏伟, 张娟, 马跃飞, 等. 益气活血通络法联合环磷酰胺治疗特发性膜性肾病的疗效[J]. *临床肾脏病杂志*(ZHANG H J, ZHANG J, MA Y F, et al. The efficacy of qi-boosting, blood-activating, and meridian-unblocking therapy combined with cyclophosphamide in the treatment of idiopathic membranous nephropathy [J]. *Journal of Clinical Nephrology*), 2025, 25(12): 1003-9.
- [19] RAMACHANDRAN R, PRABAKARAN R, PRIYA G, et al. Immunosuppressive therapy in primary membranous nephropathy

- thy with compromised renal function [J]. *Nephron*, 2022, 146(2): 138-45.
- [20] 张正芳, 刘雪, 王海成, 等. 加减补阳还五汤联合西药治疗特发性膜性肾病患者的临床疗效及对其Th17/Treg免疫失衡及微炎症状态的影响[J]. *世界中西医结合杂志*(ZHANG Z F, LIU X, WANG H C, et al. Clinical efficacy of Jiajian Buyang Huanwu decoction combined with Western medicine in the treatment of patients with idiopathic membranous nephropathy and its effects on Th17/Treg immune imbalance and microinflammatory status [J]. *World Journal of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine*), 2025, 20(10): 2064-9.
- [21] TSUZUKI S, YOSHIHARA K. The characteristics of influenza-like illness management in Japan [J]. *BMC Public Health*, 2020, 20(1): 568.
- [22] 夏璇, 李晨, 申彬如, 等. 特发性膜性肾病患者血脂水平与PLA2R抗体和病理学表现的相关性及预后价值[J]. *医药论坛杂志*(XIA X, LI C, SHEN B R, et al. Correlation of blood lipid levels with PLA2R antibodies and pathological features, and prognostic value in patients with idiopathic membranous nephropathy [J]. *Medical Forum Journal*), 2024, 45(14): 1503-7.
- [23] LI Y, CHEN S, TAN J, et al. Combination therapy with DHA and BMSCs suppressed podocyte injury and attenuated renal fibrosis by modulating the TGF- β 1/Smad pathway in MN mice [J]. *Ren Fail*, 2023, 45(1): 2120821.
- [24] LIU R, ZHANG M, GE Y. Circular RNA HIPK3 exacerbates diabetic nephropathy and promotes proliferation by sponging miR-185 [J]. *Gene*, 2021, 765: 145065.
- [25] BUTT L, UNNERSJÖ-JESS D, REILLY D, et al. *In vivo* characterization of a podocyte-expressed short podocin isoform [J]. *BMC Nephrol*, 2023, 24(1): 378.
- [26] AL-ASMAKH M, RIYAMI M A, A L MARBUII M, et al. Trehalose alleviates nephropathy in focal segmental glomerulosclerosis via the upregulation of the WT-1/EZH2 pathway [J]. *Front Pharmacol*, 2025, 16: 1706617.
- [27] 林炜凯, 黎芷鑫, 李季, 等. 加味芪黄饮对膜性肾病大鼠肾组织细胞凋亡的影响[J]. *世界中医药*(LIN W K, LI Z X, LI J, et al. Effect of Jiawei Qihuang decoction on renal tissue cell apoptosis in rats with membranous nephropathy [J]. *World Journal of Traditional Chinese Medicine*), 2024, 19(19): 2914-9.
- [28] SETHI S, MADDEN B. Mapping antigens of membranous nephropathy: almost there [J]. *Kidney Int*, 2023, 103(3): 469-72.
- [29] DONG Z, DAI H, GAO Y, et al. Inhibition of the Wnt/ β -catenin signaling pathway reduces autophagy levels in complement treated podocytes [J]. *Exp Ther Med*, 2021, 22(1): 737.
- [30] SONI H. Canonical Wnt/ β -catenin signaling network as emerging signaling cascade for therapeutic intervention in chronic renal disease [J]. *Curr Drug Targets*, 2021, 22(16): 1825-31.
- [31] NADIN S B, CUELLO-CARRIÓN F D, CAYADO-GUTIÉRREZ N, et al. Overview of Wnt/ β -catenin pathway and DNA damage/repair in cancer [J]. *Biology*, 2025, 14(2): 185.
- [32] HOU W, LU L, LI X, et al. c-Myc participates in high glucose-mediated endothelial inflammation via upregulation of IRAK1 expression in diabetic nephropathy [J]. *Cell Signal*, 2022, 92: 110263.
- [33] BHADANGE R, DAGAR N, GAIKWAD A B. Levosimendan mitigates renal fibrosis via TGF- β 1/Smad axis modulation in UUO rats [J]. *Biomed Pharmacother*, 2025, 187: 118124.
- [34] GAO Y, DAI H, ZHANG N, et al. The ameliorative effect of Ma-huang Fuzi and Shenzhuo decoction on membranous nephropathy of rodent model is associated with autophagy and Wnt/ β -catenin pathway [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 820130.
- [35] MIAO H, WANG Y N, SU W, et al. Sirtuin 6 protects against podocyte injury by blocking the renin-angiotensin system by inhibiting the Wnt1/ β -catenin pathway [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2024, 45(1): 137-49.
- [36] SU X L, LI S J, ZHANG Y R, et al. Overexpression of corin ameliorates kidney fibrosis through inhibition of Wnt/ β -catenin signaling in mice [J]. *Am J Pathol*, 2024, 194(1): 101-20.
- [37] 熊重祥, 侯启迪, 邵小飞, 等. 丹参多酚酸盐抑制Wnt/ β -catenin和TGF- β 1/Smad3信号通路激活抗纤维化及肾脏保护机制研究[J]. *中国中西医结合肾病杂志*(XIONG C X, HOU Q D, SHAO X F, et al. Study on the mechanism of danshen polyphenolic acids inhibiting Wnt/ β -catenin and TGF- β 1/Smad3 signaling pathway activation to combat fibrosis and protect the kidneys [J]. *Chinese Journal of Integrated Traditional and Western Nephrology*), 2023, 24(7): 577-81.
- [38] 吴兴波, 李宝华, 张建东, 等. 基于Wnt1/ β -catenin信号通路探讨升清降浊胶囊对膜性肾病大鼠的作用及机制[J]. *中华中医药学刊*(WU X B, LI B H, ZHANG J D, et al. Exploring the effects and mechanism of Shengqing Jiangzhuo capsules on rats with membranous nephropathy based on the Wnt1/ β -catenin signaling pathway [J]. *Journal of Traditional Chinese Medicine*), 2026, 1(8): 1-13.