

引用:丁秀,李慧,刘会彬,吴成态,王小琴,邹新蓉.膜肾方调控C3a/C3aR通路对特发性膜性肾病大鼠血浆诱导损伤足细胞的影响[J].中医导报,2026,32(3):1-5.

实验

# 膜肾方调控C3a/C3aR通路对特发性膜性肾病大鼠血浆诱导损伤足细胞的影响\*

丁秀<sup>1,2,3,4</sup>,李慧<sup>1,2,3,4</sup>,刘会彬<sup>1,2,3,4</sup>,吴成态<sup>1,2,3,4</sup>,王小琴<sup>1,2,3,4</sup>,邹新蓉<sup>1,2,3,4</sup>

(1.湖北省中医院,湖北 武汉 430061;

2.湖北中医药大学附属医院,湖北 武汉 430061;

3.湖北省中医药研究院,湖北 武汉 430061;

4.中医肝肾研究及应用湖北省重点实验室,湖北 武汉 430061)

[摘要] 目的:探讨膜肾方对特发性膜性肾病大鼠血浆诱导损伤足细胞的干预作用及其机制。方法:建立特发性膜性肾病大鼠模型,用肝素钠作为抗凝剂收集其血浆样品并诱导足细胞损伤,分对照组、模型组、膜肾方组、膜肾方+C3a受体(C3aR)拮抗剂组、C3aR拮抗剂组。采用Western blotting检测各组足细胞C3aR、磷脂酶A2受体(PLA2R)、磷酸化细胞外信号调节激酶1/2(p-ERK1/2)、磷酸化细胞浆型磷脂酶A2(p-cPLA2)蛋白表达水平;酶联免疫吸附试验(ELISA)检测上清液C3a表达水平;Real-time PCR测定Synaptopodin mRNA、C3aR mRNA、PLA2R mRNA表达水平;细胞计数试剂盒-8(CCK-8)检测各组足细胞活力。结果:与对照组比较,模型组足细胞C3aR、PLA2R、p-ERK1/2、p-cPLA2表达水平均升高,上清液C3a水平升高,Synaptopodin mRNA水平下降,C3aR mRNA、PLA2R mRNA水平升高,足细胞活力下降,差异均有统计学意义( $P<0.01$ );与模型组比较,膜肾方组足细胞C3aR、PLA2R、p-ERK1/2、p-cPLA2表达水平均下降,上清液C3a水平下降,Synaptopodin mRNA水平升高,C3aR mRNA、PLA2R mRNA水平下降,足细胞活力改善,差异均有统计学意义( $P<0.01$ );与膜肾方组比较,膜肾方+C3aR拮抗剂组及C3aR拮抗剂组足细胞C3aR、PLA2R、p-ERK1/2、p-cPLA2表达水平均下降,上清液C3a水平下降,Synaptopodin mRNA水平升高,C3aR mRNA、PLA2R mRNA水平下降,足细胞活力改善,膜肾方+C3aR拮抗剂组更明显,差异均有统计学意义( $P<0.01$ )。结论:膜肾方可能通过调控C3a/C3aR通路,下调PLA2R水平,稳定足细胞骨架,改善足细胞活力,从而发挥对足细胞的保护作用。

[关键词] 特发性膜性肾病;膜肾方;足细胞;C3a/C3aR通路

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] A [文章编号] 1672-951X(2026)03-0001-05

DOI: 10.13862/j.cn43-1446/r.2026.03.001

## Effect of Moshen (膜肾方) Formula Regulating the C3a/C3aR Pathway on Podocytes Injured by Plasma from Rats with Idiopathic Membranous Nephropathy

DING Xiu<sup>1,2,3,4</sup>, LI Hui<sup>1,2,3,4</sup>, LIU Huibin<sup>1,2,3,4</sup>, WU Chengtai<sup>1,2,3,4</sup>, WANG Xiaoqin<sup>1,2,3,4</sup>, ZOU Xinrong<sup>1,2,3,4</sup>

(1.Hubei Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Wuhan Hubei 430061, China; 2.Affiliated Hospital of Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan Hubei 430061, China; 3.Hubei Academy of Traditional Chinese Medicine, Wuhan Hubei 430061, China; 4.Hubei Key Laboratory of Research and Application of Traditional Chinese Medicine for Liver and Kidney Diseases, Wuhan Hubei 430061, China)

[Abstract] Objective: To investigate the protective effect of Moshen Formula on podocytes injured by plasma from rats with idiopathic membranous nephropathy (IMN) and to explore its underlying mechanism. Methods: An IMN rat model was established. Plasma samples, collected using heparin sodium as an anticoagulant, were used to induce podocyte injury *in vitro*. The experimental groups included a control group, a model group, a Moshen Formula group, a Moshen Formula+C3aR antagonist group, and a C3aR antagonist group. Western blotting was used to detect the protein expression levels of C3aR, phospholipase A2 receptor (PLA2R), phosphorylated extracellular signal-regulated kinase 1/2 (p-ERK1/2), and phosphorylated cytosolic phospholipase A2 (p-cPLA2). The concentration of C3a in the supernatant was measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The expression levels of Synaptopodin mRNA, C3aR mRNA, and PLA2R mRNA were quantified using real-time

\*基金项目:湖北省自然科学基金联合基金项目(2023AFD181);湖北省中医药管理局青年人才项目(ZY2025Q022)

通信作者:邹新蓉,女,主任医师,研究方向为中医药防治慢性肾脏病

PCR. Podocyte viability was assessed using the Cell Counting Kit-8 (CCK-8) assay. Results: Compared with the control group, the model group exhibited significant increases in the protein expression of C3aR, PLA2R, p-ERK1/2, and p-cPLA2; higher supernatant C3a levels; reduced Synaptopodin mRNA expression; upregulated C3aR mRNA and PLA2R mRNA expression; and decreased podocyte viability ( $P<0.01$ ). Compared with the model group, the Moshen Formula group showed significant downregulation of C3aR, PLA2R, p-ERK1/2, and p-cPLA2 protein levels; decreased supernatant C3a; increased Synaptopodin mRNA; reduced C3aR mRNA and PLA2R mRNA; and improved podocyte viability ( $P<0.01$ ). Compared with the Moshen Formula group, both the Moshen Formula+C3aR antagonist group and the C3aR antagonist group showed downregulation of C3aR, PLA2R, p-ERK1/2, and p-cPLA2 protein levels; decreased supernatant C3a; increased Synaptopodin mRNA; reduced C3aR mRNA and PLA2R mRNA; and improved podocyte viability, with Moshen Formula+C3aR antagonist group demonstrating the most pronounced effects ( $P<0.01$ ). Conclusion: Moshen Formula may protect podocytes by regulating the C3a/C3aR pathway, downregulating PLA2R expression, stabilizing the podocyte cytoskeleton, and improving podocyte viability.

[Keywords] idiopathic membranous nephropathy; Moshen Formula; podocytes; C3a/C3aR pathway

特发性膜性肾病(idiopathic membranous nephropathy, IMN)占肾小球疾病的比例逐年上升<sup>[1-3]</sup>,30%~40%的患者在发病后5~15年内进展为终末期肾病,给家庭和社会带来沉重负担。IMN发病率逐年攀升,其有效治疗方案成为近年来的研究热点及难点。2021年KDIGO指南指出,根据IMN患者血白蛋白、肾小球滤过率、抗磷脂酶A2受体(PLA2R)抗体、24 h尿蛋白定量等指标进行风险分层评估,高风险、极高风险的患者建议免疫抑制治疗,主要药物有环磷酰胺、他克莫司、CD20单抗等。虽然部分患者免疫抑制治疗有效,但伴随的机会性感染、股骨头坏死、肝肾毒性、性腺抑制、肿瘤风险、经济负担等又带来了新的困扰,还有部分患者缓解不明显,存在药物抵抗。

补体系统的激活和补体终末激活产物C5b-9的形成是诱导IMN足细胞损伤和发生蛋白尿的必要条件<sup>[4]</sup>。高强度C3沉积组患者在基线时的疾病严重程度及随访期间的临床结局更差<sup>[5]</sup>。IMN患者的血浆和尿液中C3a水平显著升高,特别是抗PLA2R抗体阳性的患者。此外,含有高水平C3a的IMN患者的血浆会促进体外足细胞PLA2R的上调和C3a受体(C3aR)的过表达,阻碍突触足蛋白的表达以及足细胞的迁移功能和细胞活力。C3a/C3aR通路在IMN的发病机制中起着至关重要的作用<sup>[6]</sup>。

我科基于“阳化气”理论及IMN脾肾亏虚、水瘀互结病机,总结并申报了专利——膜肾方(专利号:ZL202210873654.X)。前期临床研究<sup>[7]</sup>发现膜肾方干预后,临床有效率、证候疗效有效率、生化指标的改善更优。动物实验发现膜肾方干预SD膜性肾病大鼠模型后,肾功能及蛋白尿改善更明显,光镜下观察发现其肾小球基底膜增厚情况、系膜细胞增生及炎性细胞浸润情况均较模型组轻<sup>[8]</sup>。本实验将从细胞水平进一步探讨膜肾方对IMN大鼠血浆诱导损伤足细胞的干预作用及其机制。

## 1 材料与方

1.1 实验动物及足细胞 35只SPF级雄性SD大鼠(7周龄),体质量180~210 g,购自湖北省实验动物研究中心,实验动物生产许可证号:SCXK(鄂)2023-0001,实验动物质量合格证号:410983241100253773。大鼠饲养于SPF级动物实验室,饲养环境为温度22~26℃,相对湿度为50%~60%,每天人工光照明暗各12 h,予灭菌实验鼠饲料、高温高压灭菌水喂养7 d,自由饮食饮水,实验动物使用许可证号:SYXK(鄂)2023-0104。足细胞系MPC5购于武汉华联科生物技术有限公司(货号:CELL-C0550)。本研究通过实验动物中心伦理委员会批准审核,批

准号:HLK-20230915-001。

### 1.2 药物与试剂

1.2.1 膜肾方 由黄芪30 g,党参15 g,汉防己10 g,麸炒白术15 g,淫羊藿15 g,桂枝10 g,山萸肉15 g,苍术15 g,茯苓15 g,猪苓15 g,车前子15 g,白花蛇舌草15 g,丹参15 g,莲须15 g,泽兰15 g组成,为江阴天江药业有限公司生产的中药配方颗粒,购自湖北省中医院,上述颗粒均经本院药事部审核。将上述颗粒加入三蒸水配置至460 mL,膜肾方混悬液质量浓度为2 g/mL,高压灭菌(121℃,20 min),分装,4℃保存备用,灌胃前预热至室温。

1.2.2 试剂 阳离子化牛血清白蛋白(cationized bovine serum albumin, C-BSA)(北京梅科万德生物科技有限公司,批号:20237005);不完全弗氏佐剂(阿拉丁生化科技股份有限公司,批号:D2407283);重组小鼠 $\gamma$ 干扰素(IFN- $\gamma$ )(美国Peprotech公司,批号:12498);C3aR拮抗剂SB290157(美国MCE公司,批号:277814);尿蛋白定量测试盒(南京建成科技有限公司,批号:20240327);小鼠C3a酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒(武汉贝茵莱生物科技有限公司,批号:20240610);兔PLA2R/PLA2R1抗体(武汉贝茵莱生物科技有限公司,批号:20240610);兔C3aR抗体(北京百奥莱博科技有限公司,批号:CS361820);兔p-ERK1/ERK2抗体(美国Abcam公司,批号:CR3412005-9);兔p-PLA2G4A抗体(武汉贝茵莱生物科技有限公司,批号:20240610)。

1.3 主要仪器 荧光定量PCR仪(美国Bio-Rad公司,型号:CFX-Connect 96);电泳仪(美国Bio-Rad公司,型号:mini protean 3 cell);凝胶成像系统(美国Bio-Rad公司,型号:Universal Hood II);离心机(杭州奥盛仪器有限公司,型号:Icen-24R);微型涡旋混合仪(杭州奥盛仪器有限公司,型号:MTV-1);酶标仪(美国Thermo公司,型号:MK3);倒置荧光显微镜(德国Leica公司,型号:DMIL LED);全自动化学发光分析仪(上海天能公司,型号:Tanon-5200);37℃恒温培养箱(上海齐欣科学仪器有限公司,型号:311);CO<sub>2</sub>恒温培养箱(美国Thermo公司,型号:311);UPT优普特实验室超纯水器(法国Millipore公司,型号:ULUPURE)。

### 1.4 实验方法

1.4.1 足细胞培养 足细胞于33℃在重组小鼠IFN- $\gamma$ (150 U/mL)诱导条件下增殖,生长融合至70%~80%时,将细胞移入37℃不含IFN- $\gamma$ 的培养基及5% CO<sub>2</sub>培养箱中,14 d后足细胞即分化成熟,可用于实验。

1.4.2 制备膜肾方含药血清 20只SPF级雄性大鼠用随机数字表及随机数余数分组法分组。15只大鼠用于采集膜肾方含药血清,每天灌胃膜肾方混悬液(早晚各1次,3 mL/次);5只大鼠用于采集空白对照血清,每天灌胃生理盐水(早晚各1次,3 mL/次)。灌胃7 d后使用3%戊巴比妥钠40 mg/kg腹腔注射麻醉各组大鼠,开腹暴露腹主动脉,用注射器取全血,4℃条件下,3 000 r/min离心10 min(离心半径:8.5 cm),取上层淡黄色血清,-80℃冻存备用。

1.4.3 动物分组 SD雄性大鼠15只,普通饲料适应性喂养1周后,所有大鼠留取尿液,测24 h尿蛋白定量均小于5 mg。随机将大鼠分为空白对照组5只、模型组10只。模型组按照文献[8-9]的方法采用C-BSA诱导造模,造模成功后用肝素钠作为抗凝剂收集各组血浆样品备用。采用无血清的RPMI-1640培养液培养6 h使足细胞生长同步化后,按照文献[6]方法诱导足细胞损伤,分为以下5组。(1)对照组:用含有10%对照组SD大鼠血浆的RPMI 1640培养基孵育足细胞48 h。(2)模型组:用含有10%模型组SD大鼠血浆的RPMI 1640培养基孵育足细胞48 h。(3)膜肾方组:用含有10%模型组SD大鼠血浆及15%膜肾方含药血清的RPMI 1640培养基孵育足细胞48 h。(4)膜肾方+C3aR拮抗剂组:用含有10%模型组SD大鼠血浆、C3aR拮抗剂(SB290157,10 μmol/L)及15%膜肾方含药血清的RPMI 1640培养基孵育足细胞48 h。(5)C3aR拮抗剂组:用含有10%模型组SD大鼠血浆及C3aR拮抗剂(SB290157,10 μmol/L)的RPMI 1640培养基孵育足细胞48 h。所有培养基均经过0.22 μm过滤器过滤,不含LPS。

## 1.5 观察指标

1.5.1 Western blotting法检测足细胞C3aR、PLA2R、p-cPLA2、p-ERK1/2的表达水平 细胞蛋白裂解液提取细胞总蛋白,BCA法测定蛋白浓度后制备样品,电泳分离目的蛋白,转膜。5%牛奶室温封闭2 h, I 抗4℃孵育过夜(I 抗稀释比例C3aR 1:1 000、PLA2R 1:500、p-ERK1/2 1:1 000、p-cPLA2 1:1 000),TBST洗涤后 II 抗(稀释比例1:5 000)室温孵育1 h,化学发光仪检测,ImageJ分析条带灰度值。

1.5.2 ELISA法检测C3a表达水平 根据C3a ELISA试剂盒说明书,检测细胞培养上清液中C3a的浓度。

1.5.3 实时荧光定量PCR(Real-time PCR)测定Synaptopodin mRNA、C3aR mRNA、PLA2R mRNA表达水平 利用TRIzol法提取总RNA,反转录cDNA,配置反应体系,在95℃10 min预变性、95℃15 s、60℃60 s,40个循环条件下进行PCR扩增。以GAPDH为内参基因, $2^{-\Delta\Delta C_T}$ 方法计算mRNA表达量。(见表1)

表1 引物序列

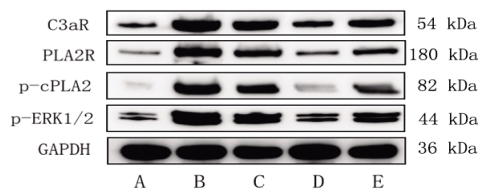
目的基因	引物序列(5'-3')	引物长度
Synaptopodin	上游:CTGCGCCGTAACCTCCGTG	19 bp
	下游:GAGCGCGGTAGGAAAAG	19 bp
C3aR	上游:TCGATGCTGACACCAATTCAA	21 bp
	下游:TCCCAATAGACAAGTGAGACCAA	23 bp
PLA2R	上游:CAGGGCATCGCCCAAGATTT	20 bp
	下游:TTCAGGCTCTCGCTCTGGAT	20 bp
GAPDH	上游:CTGGAGAAACCTGCCAAGTATG	22 bp
	下游:GGTGAAGAATGGGAGTTGCT	21 bp

1.5.4 CCK-8细胞活力测定 在12、24和48 h用0.25%不含乙二胺四乙酸(EDTA)的胰蛋白酶收集足细胞。对细胞进行计数并重悬于不含血浆的RPMI 1640培养基至细胞 $1 \times 10^6$ /mL,加入10%体积的CCK-8溶液并在37℃下孵育3 h,使用酶标仪检测450 nm处的吸光度。

1.6 统计学方法 采用SPSS 22.0统计软件进行数据分析。计量资料以“均数±标准差”( $\bar{x} \pm s$ )表示,符合正态分布计量资料多组间的比较采用方差分析,组间两两比较采用LSD-*t*检验。偏态分布计量资料多组间的比较采用Kruskal-Wallis *H*检验,组间两两比较采用Wilcoxon秩和检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

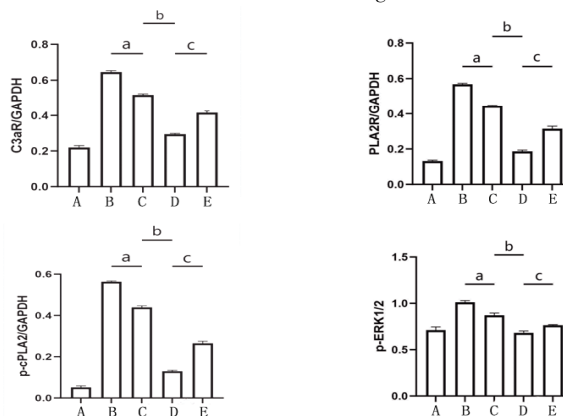
## 2 结果

2.1 各组足细胞C3aR、PLA2R、p-cPLA2、p-ERK1/2表达水平比较 与对照组比较,模型组足细胞C3aR、PLA2R、p-ERK1/2、p-cPLA2表达水平均升高;与模型组比较,膜肾方组足细胞C3aR、PLA2R、p-ERK1/2、p-cPLA2表达水平均下降,差异有统计学意义( $P < 0.01$ );与膜肾方组比较,膜肾方+C3aR拮抗剂组及C3aR拮抗剂组足细胞C3aR、PLA2R、p-ERK1/2、p-cPLA2表达水平均下降,膜肾方+C3aR拮抗剂组更明显,差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。(见图1-2)



注:A.对照组;B.模型组;C.膜肾方组;D.膜肾方+C3aR拮抗剂组;E.C3aR拮抗剂组。

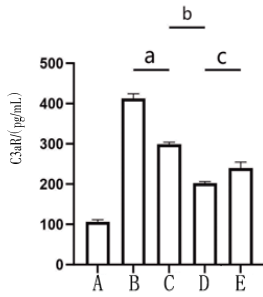
图1 各组足细胞C3aR、PLA2R、p-cPLA2、p-ERK1/2表达Western blotting图



注:A.对照组;B.模型组;C.膜肾方组;D.膜肾方+C3aR拮抗剂组;E.C3aR拮抗剂组。组间比较,<sup>a</sup> $P < 0.01$ ,<sup>b</sup> $P < 0.01$ ,<sup>c</sup> $P < 0.01$ 。

图2 各组足细胞C3aR、PLA2R、p-cPLA2、p-ERK1/2表达水平比较

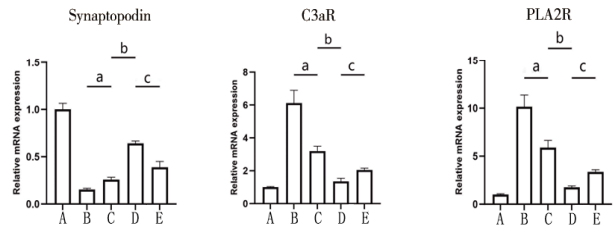
2.2 各组上清液中C3a水平比较 与对照组比较,模型组上清液C3a水平升高;与模型组比较,膜肾方组上清液C3a水平下降,差异有统计学意义( $P < 0.01$ );与膜肾方组比较,膜肾方+C3aR拮抗剂组及C3aR拮抗剂组上清液C3a水平下降,膜肾方+C3aR拮抗剂组更明显,差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。(见图3)



注:A.对照组;B.模型组;C.膜肾方组;D.膜肾方+C3aR拮抗剂组;E.C3aR拮抗剂组。组间比较,<sup>a</sup> $P<0.01$ ,<sup>b</sup> $P<0.01$ ,<sup>c</sup> $P<0.01$ 。

图3 各组上清液 C3a 水平比较

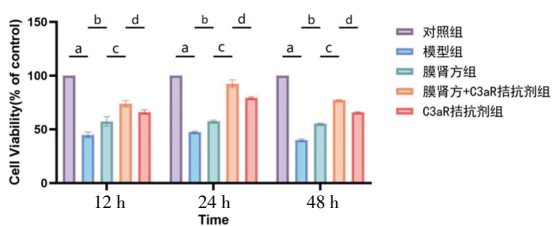
2.3 各组足细胞Synaptopodin mRNA、C3aR mRNA、PLA2R mRNA水平比较 与对照组比较,模型组Synaptopodin mRNA水平下降,C3aR mRNA、PLA2R mRNA水平升高;与模型组比较,膜肾方组Synaptopodin mRNA水平升高,C3aR mRNA、PLA2R mRNA水平下降,差异有统计学意义( $P<0.01$ );与膜肾方组比较,膜肾方+C3aR拮抗剂组及C3aR拮抗剂组Synaptopodin mRNA水平升高,C3aR mRNA、PLA2R mRNA水平下降,膜肾方+C3aR拮抗剂组更明显,差异有统计学意义( $P<0.01$ )。(见图4)



注:A.对照组;B.模型组;C.膜肾方组;D.膜肾方+C3aR拮抗剂组;E.C3aR拮抗剂组。组间比较,<sup>a</sup> $P<0.01$ ,<sup>b</sup> $P<0.01$ ,<sup>c</sup> $P<0.01$ 。

图4 各组足细胞 Synaptopodin mRNA、C3aR mRNA、PLA2R mRNA 水平比较

2.4 各组足细胞活力比较 与对照组比较,模型组足细胞活力下降;与模型组比较,膜肾方组足细胞活力改善,差异有统计学意义( $P<0.01$ );与膜肾方组比较,膜肾方+C3aR拮抗剂组及C3aR拮抗剂组足细胞活力改善,膜肾方+C3aR拮抗剂组更明显,差异有统计学意义( $P<0.01$ )。(见图5)



注:组间比较,<sup>a</sup> $P<0.01$ ,<sup>b</sup> $P<0.01$ ,<sup>c</sup> $P<0.01$ ,<sup>d</sup> $P<0.01$ 。

图5 各组足细胞活力比较

### 3 讨论

IMN多归属于中医学“水肿”范畴。“水为阴邪”,“阳化气,阴成形”(《素问·阴阳应象大论篇》),故IMN临床辨证以脾肾气虚、脾肾阳虚为多。“诸湿肿满,皆属于脾”,脾阳虚,失于运化,水湿内留,日久形成湿浊,脾为湿困,不能升清,精微下注,发为蛋白尿。“肾者,主蛰,封藏之本,精之处也”(《素问·六节藏象论篇》)。肾阳虚,肾失封藏,精气外泄,故见蛋白尿。长期蛋白尿,大量精微物质随小便而去,脾肾失于濡养,虚损

进一步加重,脾肾阳虚,不能化气行水,水液潴留则为水肿。

陈以平教授总结脾肾气虚是IMN基本病机,他认为IMN免疫复合物在上皮下沉积、基底膜增厚等病理变化当归于中医微观辨证之瘀血症,临床采用“益气活血化湿法”治疗IMN,1年总有效率90.20%,完全缓解率达71.43%<sup>[10]</sup>。膜肾方中淫羊藿补肾温阳,“少火生气”为君药。防己-黄芪药对取自《金匱要略》中防己黄芪汤,防己祛风除湿利水,黄芪益气固表利水。二者合用,祛风除湿不伤正,益气固表不恋邪。党参补中益气、气血双补。山茱萸温而不燥,既可益精,又可温阳。上述4味共为臣药,加强君药温补之力,又有利水消肿之效。苍术健脾燥湿,车前子通利水道,白术补气健脾运湿,茯苓、猪苓、车前子利水消肿,莲须助山茱萸补肾固精。桂枝温通经脉、助阳化气,与猪苓、茯苓、白术合用,乃《伤寒论》五苓散化裁而来,有温阳化气利水之功。泽兰活血利水,白花蛇舌草清热利湿,丹参活血化瘀。诸药合用,在IMN的治疗过程中,标本兼治,共奏温补脾肾、祛瘀利水之效。前期临床研究<sup>[7]</sup>及动物实验<sup>[8]</sup>均证实膜肾方能有效减少蛋白尿,改善生化指标,减轻病理损伤。

IMN主要是由于足细胞上的靶抗原与抗体结合形成免疫复合物沉积在肾小球基底膜,通过3条途径激活补体系统,形成补体蛋白水解片段及C5b-9,损伤足细胞引起肾小球滤过屏障受损,进而出现大量蛋白尿<sup>[11]</sup>。现已发现多个IMN相关足细胞靶抗原,包括M型PLA2R、血小板反应蛋白7A域(THSD7A)、抗中性肽链内切酶、抗醛糖还原酶、超氧化物歧化酶和 $\alpha$ -烯醇化酶等,其中PLA2R及其抗体在IMN的发生发展过程中发挥着重要作用<sup>[12]</sup>,PLA2R抗体阳性者临床表现更重<sup>[13]</sup>。IMN相关足细胞靶抗原对应的自身抗体均为IgG4亚型,主要通过旁路途径及凝集素途径激活补体系统<sup>[14]</sup>。补体系统激活是IMN的重要病理生理过程<sup>[15]</sup>,IMN患者的蛋白尿程度与补体系统的激活程度密切相关<sup>[16]</sup>,补体系统的持续激活与IMN的慢性进展和不良预后相关<sup>[17]</sup>。

C3转化酶在补体系统的3条激活途径中均起重要作用,可将补体C3裂解成C3a和C3b。IMN患者的肾脏病理标本中可以发现补体C3及其裂解片段的沉积<sup>[18]</sup>,IMN患者血清C3a水平升高<sup>[15-19]</sup>。IMN患者足细胞膜上有C3aR表达,与C3a结合后发挥过敏性毒素作用,趋化多种炎症细胞,如巨噬细胞、中性粒细胞、肥大细胞等,导致足细胞损伤<sup>[20]</sup>。另有研究发现IMN患者循环中C3a显著增加,足细胞上的C3aR过度表达,与临床严重程度和治疗反应密切相关。C3aR拮抗剂可以减轻Heymann肾炎模型大鼠的肾损伤<sup>[6]</sup>。可见,调控C3a/C3aR通路可作为治疗IMN的潜在靶点。靶向C3的新型单克隆抗体,可通过阻止C3裂解,有效阻断补体系统的多条途径,并在多种实验模型中显示出显著的抗炎效果<sup>[21]</sup>,展现出其在IMN中的应用前景。

MPC-5足细胞通过SV40LT转基因实现永生,可长期培养且保持稳定遗传特性,是研究肾脏疾病和肾小球功能的常用细胞模型。体外培养的MPC-5细胞能模拟肾小球生理环境。本次研究采用IMN大鼠血浆体外诱导损伤MPC-5足细胞,并进行分组干预,结果显示模型组C3aR、PLA2R、p-ERK1/2、p-cPLA2表达水平升高,上清液C3a水平升高;膜肾方含药血清及C3aR拮抗剂干预后,足细胞C3aR、PLA2R、p-ERK1/2、p-cPLA2

表达水平降低,上清液C3a水平降低,以膜肾方+C3aR拮抗剂组下降最明显。表明足细胞损伤后,C3a、C3aR、PLA2R水平均升高,膜肾方含药血清及C3aR拮抗剂干预后,C3a、C3aR、PLA2R水平均下降,提示膜肾方可模拟C3aR拮抗剂作用,下调PLA2R水平,减轻IMN疾病进展风险。

Synaptopodin蛋白是足细胞上重要的骨架蛋白,Synaptopodin的变化可影响足细胞结构和功能,进而导致肾小球疾病进展<sup>[2]</sup>。足细胞损伤时Synaptopodin异常表达,使足细胞脱落、足细胞足突消失和融合,破坏肾小球滤过屏障,导致蛋白尿<sup>[23]</sup>。Synaptopodin蛋白表达于成熟的足细胞足突,调节足突形状和足突运动,IMN患者肾小球足细胞Synaptopodin的表达明显减少<sup>[24]</sup>。此次实验结果发现IMN大鼠血浆诱导损伤足细胞,其Synaptopodin mRNA水平下降,足细胞活力下降;膜肾方含药血清及C3aR拮抗剂干预后,Synaptopodin mRNA水平升高,足细胞活力改善,以膜肾方+C3aR拮抗剂组最明显。

综上所述,膜肾方可能通过调控C3a/C3aR通路,下调PLA2R水平,稳定足细胞骨架,改善足细胞活力,从而发挥对足细胞的保护作用,这为IMN的治疗提供了新思路及新靶点,其具体调控机制及关键分子有待进一步研究。

#### 参考文献

- [1] 任月乔,吴珺,冯奕钧,等.杜志坚基于“阴阳-升降-气血”一体观论治膜性肾病[J].中医药导报,2023,29(5):171-174.
- [2] 尚瑞华,朱永俊,林子艳,等.豫琼两地原发性肾小球疾病病理类型的变迁对比及临床分析[J].临床肾脏病杂志,2021,21(2):111-118.
- [3] 纪利梅,李靖,刘宝利,等.基于数据挖掘分析“温阳化积法”治疗膜性肾病[J].中医药导报,2024,30(1):152-157.
- [4] RONCO P, BECK L, DEBIEC H, et al. Membranous nephropathy[J]. Nat Rev Dis Primers,2021,7:69.
- [5] OTO O A, DEMIR E, MIRIOGLU S, et al. Clinical significance of glomerular C3 deposition in primary membranous nephropathy[J]. J Nephrol,2021,34(2):581-587.
- [6] GAO S, CUI Z, ZHAO M H. Complement C3a and C3a receptor activation mediates podocyte injuries in the mechanism of primary membranous nephropathy[J]. J Am Soc Nephrol,2022,33(9):1742-1756.
- [7] 丁秀,吴成态,王小琴,等.专利膜肾2号方治疗脾肾阳虚特发性膜性肾病的临床研究[J].中国中西医结合肾病杂志,2024,25(9):821-823.
- [8] 丁秀,袁军,邹新蓉,等.基于ERK/cPLA2信号通路探讨膜肾方对膜性肾病大鼠模型的干预作用及其机制[J].时珍国医国药,2021,32(10):2334-2336.
- [9] ZHAOY L, ZHANGX H, GUO F, et al. Yi Shen An, a Chinese traditional prescription, ameliorates membranous glomerulonephritis induced by cationic bovine serum albumin in rats[J]. Pharm Biol,2022,60(1):163-174.
- [10] 陈以平,谢院生,刘宝利,等.膜性肾病中西医诊断与治疗[J].中国中西医结合肾病杂志,2024,25(1):92-94.
- [11] VOINESCUC D, MOZERE M, GENOVESE G, et al. A Neanderthal haplotype introgressed into the human genome confers protection against membranous nephropathy[J]. Kidney Int,2024,105(4):791-798.
- [12] SHARMA M, ROY A, DOLEYP K, et al. Mycophenolate mofetil with steroid, a reasonable alternative to current first-line therapy, for idiopathic membranous nephropathy in resource-constrained settings: A randomized, open-label study[J]. J Assoc Physicians India, 2024,72(6):15-19.
- [13] 钟兰星,梁新华.血清PLA2R抗体与原发膜性肾病临床病理的关系[J].海南医学,2025,36(2):176-180.
- [14] 刘佳宁,朱俊杰,刘云,等.原发性膜性肾病发病机制的研究进展[J].广西医科大学学报,2024,41(12):1671-1676.
- [15] 霍佳文.基于血清蛋白质组学筛选膜性肾病差异预后关键蛋白的研究[D].沈阳:中国医科大学,2024.
- [16] 李贤,覃兰清,李菊英,等.补体系统在特发性膜性肾病发病中作用机制的研究进展[J].广西医科大学学报,2021,38(12):2380-2384.
- [17] 李文圃,肖振卫.特发性膜性肾病研究进展[J].辽宁中医药大学学报,2021,23(6):169-173.
- [18] SMITHR J H, APPELG B, BLOMA M, et al. C3 glomerulopathy: Understanding a rare complement-driven renal disease[J]. Nat Rev Nephrol,2019,15(3):129-143.
- [19] CHI J N, LAI T S, WU C F, et al. The relationship of anti-phospholipase A2 receptor antibody and C5a complement with disease activity and short-term outcome in idiopathic membranous nephropathy[J]. J Formos Med Assoc,2019,118(5):898-906.
- [20] KO Ś CIELSKA -KASPRZAK K, BARTOSZEK D, MYSZKA M, et al. The complement cascade and renal disease[J]. Arch Immunol Ther Exp,2014,62(1):47-57.
- [21] ZELEK W M, MORGAN B P. Monoclonal antibodies capable of inhibiting complement downstream of C5 in multiple species[J]. FrontImmunol,2020,11:612402.
- [22] 王竹,孙万森,刘俊田.积雪草苷对足细胞 $\alpha$ -actinin-4、synaptopodin蛋白及ERK/JNK通路的影响[J].西部中医药,2021,34(7):23-29.
- [23] 吴雪,董玉辉.肾炎消白颗粒对糖尿病肾病模型大鼠足细胞synaptopodin表达影响的研究[J].中国中西医结合肾病杂志,2025,26(3):196-200,283.
- [24] 吴媛,张学琴,安恒通,等.基于Th1/Th2平衡探讨升阳益胃汤对膜性肾病大鼠足细胞的影响[J].中国实验方剂学杂志,2024,30(16):60-67.

(收稿日期:2025-06-12 编辑:李海洋)