

DOI:10.13288/j.11-2166/r.2025.01.011

实验研究

基于转录组学探讨参附黄配方对脓毒症模型小鼠脑组织潜在作用靶点的影响

王宇琛^{1,2,3}, 王雪蕊^{2,3,4}, 徐霄龙^{2,3}, 赵京霞^{2,3}, 王伽伯⁴, 高源⁴, 孔维军⁴, 刘清泉^{2,3}✉

1. 北京中医药大学, 北京市朝阳区北三环东路 11 号, 100029; 2. 首都医科大学附属北京中医医院; 3. 北京市中医研究所; 4. 首都医科大学中医药学院

[摘要] **目的** 从脑部基因组学探讨参附黄配方防治脓毒症相关性脑病的可能作用机制。**方法** C57BL/6 小鼠随机分为假手术组、脓毒症组和参附黄组, 每组 20 只。脓毒症组和参附黄组采取盲肠结扎穿孔术建立脓毒症小鼠模型。造模后 4 h 参附黄组小鼠给予参附黄溶液 2.5 g/(kg·d) 灌胃, 每次 0.5 ml, 每隔 12 h 灌胃 1 次, 造模后总共灌胃 4 次。假手术组和脓毒症组小鼠同时给予 0.5 ml 纯净水灌胃。造模 48 h 后利用转录组测序探究参附黄配方对脓毒症小鼠脑区影响的差异表达基因, 运用 Real-time PCR 和 ELISA 法进一步验证差异表达基因及蛋白的表达。**结果** 参附黄组与脓毒症组比较差异表达基因共 4605 个, 其中 2353 个基因上调, 2252 个基因下调。结合既往文献结果, 筛选出丝氨酸激酶 (*Nek1*)、髓鞘相关糖蛋白 (*Mag*)、内皮细胞特异性酪氨酸激酶受体 (*Tek*)、血小板反应蛋白基序 20 的整合素和金属蛋白酶 (*Adamts20*)、淋巴细胞抗原 86 (*Ly86*)、E3 泛素蛋白连接酶 (*Traip*) 6 个关键基因。进一步对基因及蛋白验证发现, 与假手术组比较, 脓毒症组小鼠脑组织 *Nek1*、*Mag*、*Tek*、*Adamts20*、*Ly86*、*Traip* mRNA 水平及相应蛋白水平均降低 ($P < 0.05$); 与脓毒症组比较, 参附黄组 *Nek1*、*Mag*、*Tek*、*Adamts20*、*Ly86*、*Traip* mRNA 水平及相应蛋白水平均升高 ($P < 0.05$)。**结论** 参附黄配方防治脓毒症相关性脑病的可能作用潜在靶点与 *Nek1*、*Mag*、*Tek*、*Adamts20*、*Ly86*、*Traip* 基因及编码的蛋白有关。

[关键词] 脓毒症; 脓毒症相关性脑病; 转录组学; 参附黄配方

脓毒症是机体无法正常控制感染反应, 进而导致存在生命威胁的一类器官功能障碍, 是由感染引起死亡的主要原因^[1]。当前流行病学研究^[2]显示, 各感染性疾病皆有可能演变成脓毒症, 其长期处于高位的发病率与病死率是急危重症领域的一大难题。该病大多可引发弥漫性脑功能障碍, 即脓毒症相关性脑病(sepsis-associated encephalopathy, SAE), 急性期的表现包括昏迷、谵妄与行为异常, 是该病病死率提升的一大原因, 而经历急性期依然存活的 SAE 患者也存在长期的情绪与认知功能受限^[3]。本团队长期开展与脓毒症及 SAE 有关的研究工作,

认为脓毒症主要治则为扶正解毒通络, 并据此治则拟定了参附黄配方^[4-5]。前期研究^[6-7]表明, 参附黄配方可以显著改善脓毒症小鼠的认知功能障碍。本研究旨在利用基因测序技术探究参附黄配方对脓毒症模型小鼠脑部基因组学的宏观调控情况, 挖掘潜在保护性靶点, 为其防治 SAE 提供依据。本研究已获得北京市中医研究所实验动物伦理委员会批准, 伦理批号: BJTCM-R-2022-05-01。

1 材料与方法

1.1 动物

SPF 级雄性 C57BL/6J 小鼠 60 只, 10 周龄, 体重 20~23 g, 购自北京华阜康公司, 实验动物生产许可证号: SCXK(京)2014-0004, 使用许可证号: SCXK(京)2015-0023, 由北京市中医研究所指定专人基于纯系动物标准实施饲养。

基金项目: 国家自然科学基金(82474294, 82474428); 国家中医药管理局多学科交叉创新团队项目(ZYYCXTD-D-202201); 首都卫生发展科研专项项目(首发 2024-4-1162)

✉ 通讯作者: liuqingquan_2003@126.com

1.2 药物

参附黄配方组成：黑顺片 60 g，大黄 30 g，人参 30 g。药材全部来自首都医科大学附属北京中医医院中药房，煎煮方法参考前期研究^[7]，制备成浓缩为 1 g/ml 的溶液，4℃保存待用。

1.3 主要试剂和仪器

戊巴比妥钠（批号 AZ3017-6）、反转录试剂盒（批号 ERT-RO），德国 Merck 公司；Trizol 试剂（批号 15596-026），美国 Invitrogen 公司；实时荧光定量 PCR（Real-time PCR）试剂盒（货号 CW3008），江苏康为世纪生物科技股份有限公司；小鼠丝氨酸激酶（Nek1）ELISA 试剂盒（批号 ALD39987）、小鼠抗髓鞘相关糖蛋白抗体（Mag Ab）ELISA 试剂盒（批号 ALD47919）、小鼠内皮细胞特异性酪氨酸激酶受体（Tek）ELISA 试剂盒（批号 ALD47904）、小鼠血小板反应蛋白基序 20 的整合素和金属蛋白酶（Adams20）ELISA 试剂盒（批号 ALD47903）、小鼠淋巴细胞抗原 86（Ly86）ELISA 试剂盒（批号 ALD47913）、小鼠 E3 泛素蛋白连接酶（Traip）ELISA 试剂盒（批号 ALD47935），上海艾连达生物科技有限公司；Illumina® Stranded mRNA 试剂盒（批号 20040532），美国 illumina 公司。

Nanodrop 微量分光光度计（型号 Nanodrop2000）、测序平台机（型号 NovaSeq X Plus），美国 illumina 公司；实时荧光定量 PCR 仪（型号 Flash20），北京卡尤迪生物科技股份有限公司；酶标仪（型号 ELx808），美国 Biotek 公司。

1.4 动物分组、造模及给药

采用随机数字表法将 60 只小鼠分为假手术组、脓毒症组、参附黄组，每组 20 只，其中每组 3 只小鼠用于脑组织转录组测序，剩余 17 只用于 Real-time PCR 检测脑组织中差异表达基因表达和 ELISA 法检测脑组织中差异表达基因蛋白水平。参考文献^[8]所示方法，对脓毒症组与参附黄组小鼠实施盲肠结扎穿孔处理，以构建脓毒症小鼠模型：腹腔注射 1% 戊巴比妥钠（40 mg/kg），待麻醉后进行固定，消毒后在剑突中线处行一切口，将盲肠自腹腔内取出，先结扎 1/2 长度盲肠，再通过注射器针头（5 ml）在结扎段对盲肠实施一次贯穿处理。假手术组小鼠麻醉后，实施游离盲肠操作，未进行结扎与穿刺处理。待手术结束，为避免小鼠休克，3 组小鼠背部皆经皮下注射 2 ml 生理盐水。本团队前期已复制表型稳定的脓毒症模型，以造模后 48 h 小鼠血清炎症因子白细胞介素 1 β （IL-1 β ）升高 3 倍以

上提示造模成功^[6-7]。

造模后 4 h 参附黄组小鼠每次给予灌胃 1.25 g/kg^[6]，每隔 12 h 灌胃 1 次，即每日 2 次，造模后总共灌胃 4 次。假手术组和脓毒症组小鼠每次给予 0.5 ml 纯净水灌胃，灌胃时间同参附黄组。

1.5 观察指标及方法

1.5.1 脑组织转录组测序 造模后 48 h，动物腹腔注射 1% 戊巴比妥钠（40 mg/kg）麻醉后进行断头处理，放于冰盒上并迅速分离小鼠脑组织，经液氮快速冷冻后转入 -80℃保存。按照说明书要求使用 Trizol 试剂，从小鼠的大脑组织样本中提取 RNA 并进一步分离和纯化。利用 Nanodrop2000 微量分光光度计对所提 RNA 的浓度和纯度进行检测。RNA 文库构建使用 Illumina® Stranded mRNA 试剂盒，按照标准流程进行。根据供应商推荐的实验方案，在测序平台上机测序。使用软件 fastp (<https://github.com/OpenGene/fastp>) 进行原始测序数据质控；使用软件 HiSat2 (<http://ccb.jhu.edu/software/hisat2/index.shtml>) 将质控后的原始数据，即干净数据片段（Clean data reads），与参考基因组比对，获得用于后续转录本组装、表达量计算的比对数据片段（Mapped data reads），同时对该次转录组测序的比对结果进行质量评估，主要包括测序饱和度、基因覆盖度、序列片段（Reads）在参考基因组不同区域分布以及 Reads 在不同染色体分布分析。使用软件 RSEM (<http://deweylab.github.io/RSEM/>) 进行基因表达量分析。最后使用软件 DESeq2 进行差异表达分析，显著差异表达基因的默认筛选标准为：FC 表示倍数变化，错误发现率（FDR）< 0.05 以及 $|\log_2 FC| \geq 1$ ，当一个基因同时满足这两个条件时，则视该基因为差异表达基因。

1.5.2 Real-time PCR 法检测脑组织中差异表达基因表达 造模后 48 h 取每只小鼠的大脑组织 80 mg，采用 Real-time PCR 法检测，按反转录试剂盒说明将 mRNA 转录为 cDNA。分别加入 SYBR Green 染料、PCR 预混液、无核糖核酸酶水和上下游引物后，采用实时定量 PCR 仪进行实验。引物均通过 Premier 3 软件设计，由北京英俊生物科技有限公司合成，各基因上游序列、下游序列及产物长度如表 1 所示。运用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法将目的基因表达的相对定量值用于统计分析。

1.5.3 ELISA 法检测脑组织中差异表达基因蛋白水平 选取每只小鼠的大脑组织 500 mg，将其加

表1 *Nek1*、*Mag*、*Tek*、*Adamts20*、*Ly86*、*Traip* mRNA 及内参的引物序列、产物长度

Table 1 Primer sequences and product lengths of *Nek1*, *Mag*, *Tek*, *Adamts20*, *Ly86*, *Traip* and internal references

基因	上游引物 (5'→3')	下游引物 (5'→3')	产物长度/bp
<i>Nek</i>	GGCCAGGGAACAAGGATGGAGGA	TGCCTTTCTGGGAGCCATCGAC	200
<i>Mag</i>	CTGCCGCTGTTTGGATAATGA	CATCGGGAAGTCGAAACGG	180
<i>Tek</i>	CAGCTTGCTCCTTTATGGAGTAG	ATCAGACACAAGAGGTAGGGAAT	220
<i>Adamts20</i>	GTCCTGGGAAGTTCGTTTCCA	CACCCCGGAGCTACGTTTC	150
<i>Ly86</i>	GCTGTTTCTGGACATAACTCTGA	TCCTCCTCACAAAGGGGATAG	170
<i>Traip</i>	CACTATCTGCTCCGACTTCTTCG	AACCACTGGATTAGGCATTGC	190
<i>Gapdh</i>	GAAGGTGAAGGTCGGAGTC	GAAGATGCTGATGGGATTTC	160

注：*Nek1*，丝氨酸激酶；*Mag*，髓鞘相关糖蛋白；*Tek*，内皮细胞特异性酪氨酸激酶受体；*Adamts20*，血小板反应蛋白基序 20 的整合素和金属蛋白酶；*Ly86*，淋巴细胞抗原 86；*Traip*，E3 泛素蛋白连接酶。

入适量生理盐水捣碎，4℃、3000 r/min（离心半径 10 cm）离心 10 min 取上清。按照 ELISA 试剂盒步骤对脑组织中差异表达基因蛋白水平进行检测。

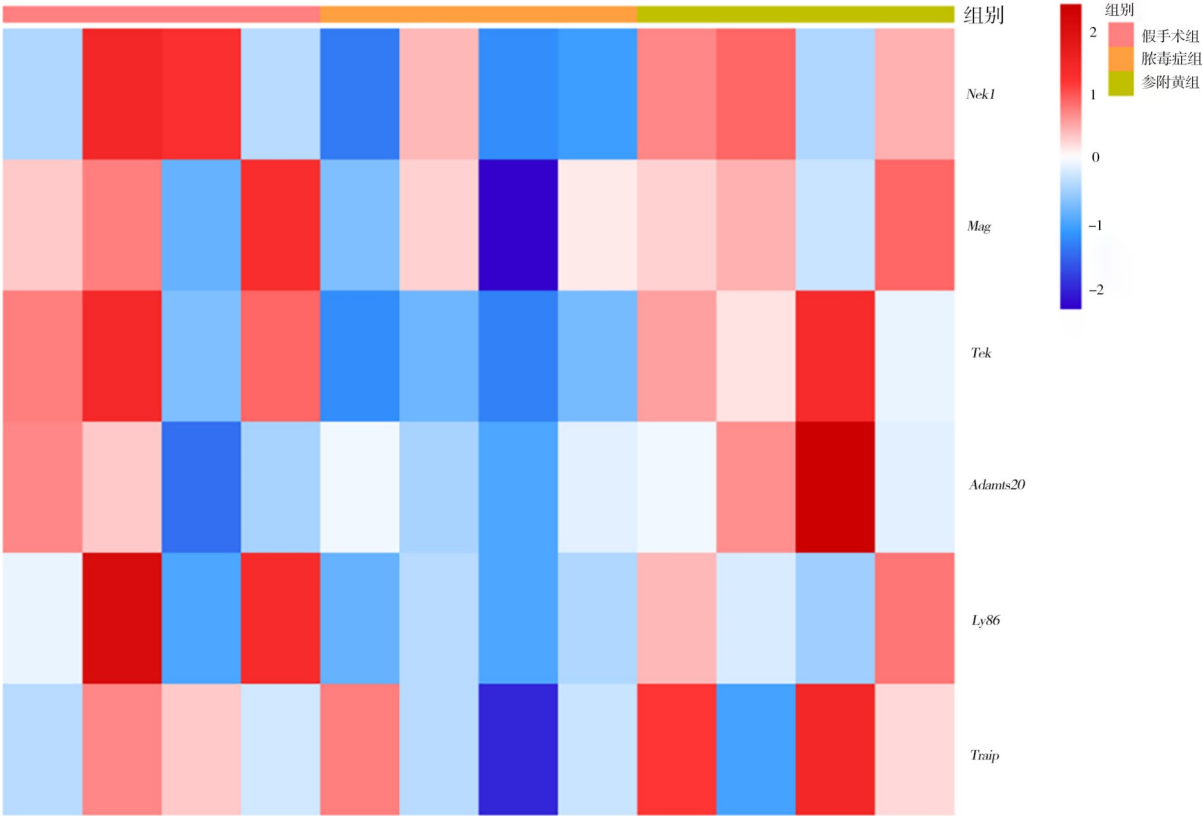
1.6 统计学方法

采用 SPSS 19.0 软件进行数据分析，计量资料均符合正态分布且方差齐以均数±标准差（ $\bar{x}\pm s$ ）表示，多组比较采用单因素方差分析，组间比较采用 LSD 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组差异表达基因分析结果

转录组测序结果显示，参附黄组与脓毒症组比较差异表达基因共 4605 个，其中 2353 个基因上调，2252 个基因下调。进一步结合既往文献 [11-19] 结果，锁定了 6 个关键基因（*Nek1*、*Mag*、*Tek*、*Adamts20*、*Ly86*、*Traip*）绘制热图。6 个关键基因在各组每个样本之间的表达量如图 1 所示，与假手



注：红色代表该基因/转录本在该样本中表达量较高，蓝色代表表达量较低。

Nek1，丝氨酸激酶；*Mag*，髓鞘相关糖蛋白；*Tek*，内皮细胞特异性酪氨酸激酶受体；*Adamts20*，血小板反应蛋白基序 20 的整合素和金属蛋白酶；*Ly86*，淋巴细胞抗原 86；*Traip*，E3 泛素蛋白连接酶。

图1 各组小鼠脑组织差异表达基因中 6 个关键基因表达量比较热图

Figure 1 Heatmap of comparison of the expression of six key genes in differentially expressed genes in the brain tissue of mice in each group

术组比较, 脓毒症组小鼠脑组织中 *Nek1*、*Mag*、*Tek*、*Adamts20*、*Ly86*、*Traip* mRNA 表达显示下调; 与脓毒症组比较, 参附黄组小鼠脑组织 *Nek1*、*Mag*、*Tek*、*Adamts20*、*Ly86*、*Traip* mRNA 表达显示上调。

2.2 各组小鼠脑组织中 *Nek1*、*Mag*、*Tek*、*Adamts20*、*Ly86*、*Traip* mRNA 表达比较

为进一步验证转录组测序差异基因的 mRNA 水平, 将 3 组小鼠大脑差异表达基因中关键基因进行 Real-time PCR 验证。表 2 示, 与假手术组比较, 脓毒症组小鼠脑组织中 *Nek1*、*Mag*、*Tek*、*Adamts20*、*Ly86*、*Traip* mRNA 表达均降低 ($P<0.05$); 与脓毒症组比较, 参附黄组小鼠脑组织中 *Nek1*、*Mag*、*Tek*、*Adamts20*、*Ly86*、*Traip* mRNA 表达均升高 ($P<0.05$)。

2.3 各组小鼠脑组织中 *Nek1*、*Mag*、*Tek*、*Adamts20*、*Ly86*、*Traip* 蛋白水平比较

表 3 示, 与假手术组比较, 脓毒症组小鼠脑组织中 *Nek1*、*Mag*、*Tek*、*Adamts20*、*Ly86*、*Traip* 蛋白水平均降低 ($P<0.05$); 与脓毒症组比较, 参附黄组小鼠脑组织中 *Nek1*、*Mag*、*Tek*、*Adamts20*、*Ly86*、*Traip* 蛋白水平均升高 ($P<0.05$)。

3 讨论

脓毒症通常会引发急性或长期的认知和情感障碍, 并导致脓毒症患者的死亡率增加和预后不佳^[3]。中医学根据临床症状把 SAE 归于“神昏”

范畴。脑为元神之府, 由于邪气亢盛, 正气渐衰, 无力抗衡而突然起病, 早期失治或治未彻底则易使毒邪祛而未尽, 窍虽通而未畅, 故元神受损, 热、瘀、痰等病理产物闭阻清窍而出现认知功能减退等症状。因此, 归纳其病机为正虚毒损、络脉瘀滞。参附黄配方中以人参为君, 附子和大黄共为臣药。人参微苦微温, 附子大辛大热, 大黄大苦大寒, 附子、大黄均走而不守。《医学源流论》言: “大黄与人参同用, 大黄自能逐去坚积, 决不反伤正气, 人参自能充益正气, 决不反补邪气, 至于附子大黄两味, 附子补火以温积寒, 大黄通闭以除结热。寒热各制而合服之, 是偶方中反佐之奇法也。”三药合用, 补虚之中行通阳化积之法, 其解毒通行脑络之效更佳。本团队开展了一系列参附黄配方干预脓毒症的相关研究并取得进展, 且已在动物实验和临床试验中证实了该方的确切疗效, 其在抑制炎症性损伤、改善巨噬细胞吞噬作用、抗血栓等方面发挥作用^[7], 可能通过调节脓毒症小鼠的微生物群和维持肠道屏障完整性来改善肠道功能障碍, 进而降低脓毒症病死率^[9]。

SAE 病理机制复杂, 前额叶病变会造成严重的认知缺陷, 影响记忆功能和对未来的执行与计划^[10]; 中枢神经炎症反应、凝血紊乱、氧化应激、血管内皮功能障碍等是关键病理环节, 神经元、轴突等结构的破坏是神经系统功能障碍的重要原

表 2 各组小鼠脑组织中 *Nek1*、*Mag*、*Tek*、*Adamts20*、*Ly86*、*Traip* mRNA 表达比较

Table 2 Comparison of mRNA levels of *Nek1*, *Mag*, *Tek*, *Adamts20*, *Ly86*, and *Traip* in the brain tissue of septic mice in each group ($2^{-\Delta\Delta Ct}$, $\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	<i>Nek1</i>	<i>Mag</i>	<i>Tek</i>	<i>Adamts20</i>	<i>Ly86</i>	<i>Traip</i>
假手术组	17	1.11±0.25	1.00±0.08	1.04±0.18	1.15±0.27	1.04±0.22	1.10±0.18
脓毒症组	17	0.60±0.03 ^{a)}	0.19±0.23 ^{a)}	0.38±0.16 ^{a)}	0.29±0.12 ^{a)}	0.70±0.02 ^{a)}	0.80±0.06 ^{a)}
参附黄组	17	1.58±0.15 ^{b)}	0.39±0.15 ^{b)}	0.80±0.11 ^{b)}	0.71±0.12 ^{b)}	2.00±0.26 ^{b)}	2.71±0.12 ^{b)}

注: *Nek1*, 丝氨酸激酶; *Mag*, 髓鞘相关糖蛋白; *Tek*, 内皮细胞特异性酪氨酸激酶受体; *Adamts20*, 血小板反应蛋白基序 20 的整合素和金属蛋白酶; *Ly86*, 淋巴细胞抗原 86; *Traip*, E3 泛素蛋白连接酶。

a) 与假手术组比较, $P<0.05$; b) 与脓毒症组比较, $P<0.05$ 。

表 3 各组小鼠脑组织中 *Nek1*、*Mag*、*Tek*、*Adamts20*、*Ly86*、*Traip* 蛋白水平比较

Table 3 Comparison of protein levels of *Nek1*, *Mag*, *Tek*, *Adamts20*, *Ly86*, and *Traip* in the brain tissue of septic mice in each group ($\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	<i>Nek1</i> /ng·ml ⁻¹	<i>Mag</i> /μg·ml ⁻¹	<i>Tek</i> /pg·ml ⁻¹	<i>Adamts20</i> /μg·ml ⁻¹	<i>Ly86</i> /pg·ml ⁻¹	<i>Traip</i> /ng·ml ⁻¹
假手术组	17	15.2±0.25	7.1±0.65	17.5±0.15	1.24±0.27	9.6±0.30	10.9±0.18
脓毒症组	17	8.6±0.43 ^{a)}	2.3±0.13 ^{a)}	11.8±0.19 ^{a)}	0.6±0.18 ^{a)}	4.5±0.22 ^{a)}	5.2±0.32 ^{a)}
参附黄组	17	13.5±0.15 ^{b)}	5.6±0.35 ^{b)}	15.2±0.21 ^{b)}	13.7±0.22 ^{b)}	8.2±0.26 ^{b)}	9.2±0.12 ^{b)}

注: *Nek1*, 丝氨酸激酶; *Mag*, 髓鞘相关糖蛋白; *Tek*, 内皮细胞特异性酪氨酸激酶受体; *Adamts20*, 血小板反应蛋白基序 20 的整合素和金属蛋白酶; *Ly86*, 淋巴细胞抗原 86; *Traip*, E3 泛素蛋白连接酶。

a) 与假手术组比较, $P<0.05$; b) 与脓毒症组比较, $P<0.05$ 。

因^[3]。近年来,基于转录组学的研究方法为深入了解中医药干预机制和治疗靶点提供了新的途径^[11]。因此,本研究通过转录组测序技术拟揭示参附黄配方的宏观调控情况,进而结合文献检索锁定了6个潜在保护性基因,并在转录水平和蛋白水平明确参附黄配方对脑区蛋白的保护性作用。假手术组和参附黄组中呈高表达的 *Nek1*、*Mag*、*Tek*、*Adamts20*、*Ly86*、*Traip* 基因可能参与了其中的重要一环或多个环节。现代研究显示, *Nek1* 基因所编码的蛋白参与调节细胞周期、纤毛形成、DNA 损伤反应、微管稳定性和神经发育等多种细胞功能^[12]。 *Nek1* 基因缺陷的小鼠表现出脑血管内皮细胞细胞凋亡和坏死进程的加速,其机制表现为 *Nek1* 基因缺陷破坏质膜蛋白的内体运输和脑蛋白质组稳态,从而促进线粒体和溶酶体功能障碍以及 α -突触核蛋白的聚集^[13]。 *Mag* 基因所编码的髓鞘相关糖蛋白是一种 I 型跨膜糖蛋白,位于髓鞘的轴突周围,在神经胶质-轴突相互作用中发挥作用,参与维持正常轴突髓鞘的形成,并保护运动神经元免受细胞凋亡^[14]。 *Tek* 基因主要在内皮细胞上表达,负责编码内皮细胞特异性酪氨酸激酶受体内皮细胞特异性酪氨酸激酶受体, *Tek* 基因的激活和磷酸化参与调节血管成熟和内皮细胞存活; *Tek* 基因缺失会加速血管不稳定,导致血液灌注受阻,血管通透性和渗漏增加^[15]。 *Adamts20* 基因编码 Adamts20 蛋白, Adamts20 蛋白作为细胞外基质重塑酶,参与到细胞迁移、组织重塑和细胞黏附变化的多重功能中, *Adamts* 基因变异的人群表现出内皮壁完整性降低^[16-17]。 *Ly86* 基因在细菌脂多糖及念珠菌感染后参与了免疫保护作用^[18]。 *Traip* 基因编码 Traip 蛋白,泛素化蛋白质修饰决定细胞的命运,可在复制应激后保护基因组稳定性,同时 Traip 蛋白对于炎症性疾病的发生发起重要的调控作用^[19]。本研究采用 Real-time PCR 法和 ELISA 法对这 6 种基因的 mRNA 和蛋白水平进行检测,结果发现,脓毒症损伤了小鼠脑区该 6 种基因的 mRNA 和蛋白水平,而参附黄配方的干预使该种损伤一定程度上得到恢复。因此,参附黄配方对于脑区微环境的改善很可能是多维度的,包括中枢神经炎症反应、免疫反应及凝血紊乱的调节以及血管内皮功能障碍的恢复等。

综上,本研究利用基因组学技术筛选出参附黄配方潜在的作用靶点,并对其进行验证,其干预脓毒症的潜在作用靶点可能与 *Nek1*、*Mag*、*Tek*、*Adamts20*、*Ly86*、*Traip* 基因及编码的蛋白有关。

这些潜在保护性蛋白在参附黄配方预防 SAE 的生物学作用机制、因果关系及其上下游通路,有待进一步验证。

参考文献

- [1] MERVYN S, CLIFFORD SD, CHRISTOPHER WS, et al. The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (Sepsis-3) [J]. JAMA, 2016, 315(8): 801-810.
- [2] SRZIĆ I, NESEK AV, TUNJIĆ PD. Sepsis definition: what's new in the treatment guidelines [J]. Acta Clin Croat, 2022, 61(1):67-72.
- [3] TAUBER SC, DJUKIC M, GOSSNER J, et al. Sepsis-associated encephalopathy and septic encephalitis: an update [J]. Expert Rev Anti Infect Ther, 2021, 19(2): 215-231.
- [4] 赵红芳,江其敏,刘清泉. 刘清泉教授应用中医药治疗脓毒症的临床经验[J]. 中国中医急症, 2017, 26(9): 1563-1565.
- [5] 魏一鸣,徐霄龙,胡雅慧,等. 基于数据挖掘的某中医院重症医学科治疗脓毒症的中药组方规律分析[J]. 环球中医药, 2024, 17(2): 248-255.
- [6] 王宇琛,王雪蕊,徐霄龙,等. 参附黄配方对脓毒症小鼠大脑皮质氧化损伤的影响[J]. 中医杂志, 2023, 64(15): 1571-1575, 1584.
- [7] 王雪蕊,郭玉红,赵京霞,等. 参附黄配方对脓毒症小鼠认知功能和突触可塑性的影响[J]. 北京中医药大学学报, 2020, 43(11): 935-940.
- [8] RITTIRSCH D, HUBER-LANG MS, FLIERL MA, et al. Immunodesign of experimental sepsis by cecal ligation and puncture [J]. Nat Protoc, 2009, 4(1): 31-36.
- [9] HE S, ZHAO C, GUO Y, et al. Alterations in the gut microbiome and metabolome profiles of septic mice treated with Shen FuHuang formula [J]. Front Microbiol, 2023, 8(14): 1111962.
- [10] JONES DT, GRAFF-RADFORD J. Executive dysfunction and the prefrontal cortex [J]. Continuum (Minneapolis), 2021, 27(6): 1586-1601.
- [11] 彭红叶,鲁春丽,黄晓强,等. 多组学技术在中医药领域中的应用现状与前景分析[J]. 中医杂志, 2024, 65(8): 775-781.
- [12] MARTINS MB, PEREZ AM, BOHR VA, et al. NEK1 deficiency affects mitochondrial functions and the transcriptome of key DNA repair pathways [J]. Mutagenesis, 2021, 36(3): 223-236.
- [13] WANG H, QI W, ZOU C, et al. NEK1-mediated retromer trafficking promotes blood-brain barrier integrity

- by regulating glucose metabolism and RIPK1 activation [J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1):4826.
- [14] QUARLES RH. Myelin-associated glycoprotein (MAG): past, present and beyond [J]. *J Neurochem*, 2007, 100(6):1431-1448.
- [15] CHEN S, YU M, JU L, et al. The immune-related biomarker TEK inhibits the development of clear cell renal cell carcinoma (ccRCC) by regulating AKT phosphorylation [J]. *Cancer Cell Int*, 2021, 21(1):119.
- [16] ZHONG S, KHALIL RA. A Disintegrin and Metalloproteinase (ADAM) and ADAM with thrombospondin motifs (ADAMTS) family in vascular biology and disease [J]. *Biochem Pharmacol*, 2019, 164:188-204. doi: 10.1016/j.bcp.2019.03.033.
- [17] ARNING A, JEIBMANN A, KÖHNEMANN S, et al. ADAMTS genes and the risk of cerebral aneurysm [J]. *J Neurosurg*, 2016, 125(2):269-274.
- [18] DE VDH, MATZARAKI V, BAKKER OB, et al. Integrating GWAS with bulk and single-cell RNA-sequencing reveals a role for LY86 in the anti-Candida host response [J]. *PLoS Pathog*, 2020, 16(4): e1008408. doi: 10.1371/journal.ppat.1008408.
- [19] 祝重阳, 程玉, 齐洁敏. TRAIP 的研究进展 [J]. 承德医学院学报, 2023, 40(6): 505-509.

Effects of *Shenfuhuang Formula* (参附黄配方) on Potential Targets of Action in the Brain Tissue of Sepsis Model Mice: Transcriptomics-Based Exploration

WANG Yuchen^{1,2,3}, WANG Xuerui^{2,3,4}, XU Xiaolong^{2,3}, ZHAO Jingxia^{2,3}, WANG Jiabo⁴, GAO Yuan⁴, KONG Weijun⁴, LIU Qingquan^{2,3}

1. Beijing University of Chinese Medicine, Beijing, 100029; 2. Beijing Hospital of Traditional Chinese Medicine, Capital Medical University; 3. Beijing Institute of Traditional Chinese Medicine; 4. School of Traditional Chinese Medicine, Capital Medical University

ABSTRACT Objective To investigate the possible mechanism of *Shenfuhuang Formula* (参附黄配方) in prevention and treatment of sepsis-associated encephalopathy from the perspective of brain genomics. **Methods** C57BL/6 mice were randomly divided into sham surgery group, sepsis group, and *Shenfuhuang* group, with 20 mice in each group. The sepsis group and *Shenfuhuang* group were induced to develop sepsis by cecal ligation and puncture (CLP) procedure. At 4 hours after modelling, *Shenfuhuang* group were gavaged with 2.5 g/(kg·d) of *Shenfuhuang Formula*, 0.5 ml each time, at 12 hours intervals, for a total of 4 times after modelling. Sepsis group and sham surgery group were given 0.5 ml of purified water orally. At 48 hours after modeling, the transcriptome sequencing was used to explore the differential gene expression in the effects of *Shenfuhuang Formula* on the brain regions of septic mice, and real-time PCR and ELISA were later used to further validate the differential gene and proteins expression. **Results** A total of 4605 genes were differentially expressed in *Shenfuhuang* group compared with sepsis group, of which 2353 genes were up-regulated and 2252 genes were down-regulated. According to the results of previous publications, six key genes were screened, including serine/threonine-protein kinase (*Nek1*), myelin-associated glycoprotein (*Mag*), endothelial cell-specific tyrosine kinase receptor (*Tek*), a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs 20 (*Adamts20*), lymphocyte antigen 86 (*Ly86*), and E3 ubiquitin-protein ligase (*Traip*). Further genetic and protein validation revealed that, compared to the sham surgery group, the mRNA levels and corresponding protein levels of *Nek1*, *Mag*, *Tek*, *Adamts20*, *Ly86*, and *Traip* in the brain tissue of septic mice significantly reduced ($P < 0.05$). In comparison to the sepsis group, *Shenfuhuang* group showed significantly increased mRNA levels and corresponding protein levels of *Nek1*, *Mag*, *Tek*, *Adamts20*, *Ly86*, and *Traip* ($P < 0.05$). **Conclusion** The potential therapeutic targets of *Shenfuhuang Formula* for treating sepsis-associated encephalopathy may be related to the *Nek1*, *Mag*, *Tek*, *Adamts20*, *Ly86*, and *Traip* genes and their encoded proteins.

Keywords sepsis; sepsis-associated encephalopathy; transcriptomics; *Shenfuhuang Formula* (参附黄配方)

(收稿日期: 2024-06-03; 修回日期: 2024-10-31)

[编辑: 邓媛]