

灯盏益肾颗粒对糖尿病肾病大鼠 TGF- β /Smad 转导通路的影响*

杜义斌¹, 段艳蕊^{1△}, 王亚东², 易欢², 谢铭君²

(1. 云南中医学院第一附属医院, 云南 昆明 650021; 2. 云南中医学院, 云南 昆明 650500)

摘要: **目的** 观察灯盏益肾颗粒对糖尿病肾病(DN)大鼠 TGF-Smad 转导通路的影响,探讨其对 DN 防治作用。**方法** 雄性 SD 大鼠 90 只随机分成正常组(A 组)、模型组(B 组)、盐酸贝那普利组(C 组)、灯盏益肾低、中、高剂量组(D、E、F 组)。链脲佐菌素(STZ)55mg/kg 一次性腹腔注射建立 DN 模型,给予不同实验因素干预后,生化检测胱抑素 C(CysC)、血肌酐(Scr)、血尿素氮(BUN)、尿蛋白/尿肌酐(U_p/U_{cr});免疫组化法测定大鼠肾组织 TGF- β 1、Smad 2、Smad 7、IV 型胶原、纤维粘连蛋白(FN)的表达。**结果** E、F 组 U_p/U_{cr}、CysC、BUN 低于 B 组($P<0.05$ 或 $P<0.01$);E、F 组肾组织中 TGF- β 1、Smad 2、IV 型胶原、FN 蛋白表达明显低于 B 组($P<0.01$)、低于 C、D 组($P<0.05$), Smad 7 蛋白表达多于 B、C、D 组($P<0.05$)。**结论** 灯盏益肾颗粒可以对糖尿病肾病大鼠肾脏组织中 TGF- β /Smad 信号转导通路产生影响,调控肾组织中 IV 型胶原、FN 表达,影响肾纤维化进程,随剂量增加,影响作用增强。

关键词: 糖尿病肾病; 灯盏益肾颗粒; 实验研究; TGF-Smad 信号通路

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1000-2723(2017)05-0006-07

DOI: 10.19288/j.cnki.issn.1000-2723.2017.05.002

糖尿病性肾病(diabetic nephropathy, DN)是糖尿病引起的严重和危害性最大的一种慢性并发症。TGF-Smad 信号转导通路是 DN 发病的始动因素和疾病进展的关键环节之一。细胞外基质(ECM)积聚导致的肾小球硬化是 DN 的主要病理改变,也是肾病进展的病理基础。TGF- β /Smads 信号通路可以通过调控肾组织 IV 型胶原、FN 蛋白表达影响肾小球基底膜增殖和细胞外基质合成及降解,对 DN 发生发展起重要作用^[1]。我们的前期研究证明,灯盏益肾颗粒对慢性肾衰大鼠的肾脏有保护作用^[2]。本实验从分子水平研究灯盏益肾颗粒对 DN 大鼠 TGF-Smad 转导通路的影响,探究灯盏益肾颗粒防治 DN 的作用机制。

1 材料

1.1 实验动物

雄性 SD 大鼠 90 只,8 周龄,体质量(230 ± 20)g,由昆明医科大学实验动物供应中心提供,许可证号:SCXK(滇)2016-0003。适应性喂养 7d。

1.2 药物、试剂、主要仪器设备

灯盏益肾颗粒由江阴天江药业有限公司生产(生产批号:1509341);盐酸贝那普利片:北京诺华制药有限公司(10mg/片,批号:X2209);造模试剂采用链脲佐菌素(STZ),美国 Sigma 公司;血糖分析仪及试纸,三诺生物传感技术有限公司;免疫组化试剂,美国 Abcam 公司。VK-X 系列激光扫描共聚焦显微镜,中国基恩士公司;宝特 ELX-808IU 多功能酶标仪,上海拜格生物科技有限公司;多功能水平电泳槽 HE120,上海天能科技有限公司。

2 方法

2.1 动物分组、造模及给药

将 90 只大鼠随机分 A 组 15 只、造模组 75 只。造模前两组大鼠均测定一次空腹血糖和 U_p/U_{cr},对比无统计学差异后进行造模。参照相关文献^[3-4],造模组予以 STZ55mg/kg 一次性腹腔注射制备糖尿病(DM)模型,72h 后连续 3d 测血糖值 ≥ 16.7 mmol/L 为 DM 模型制备成功。DM 模型大鼠喂养 1 周后随机

* 基金项目: 云南省科技计划面上项目(2014FZ105)

收稿日期: 2017-10-18

作者简介: 杜义斌(1968-),男,云南梁河人,医学硕士,主任医师,研究方向:老年肾脏病中西医结合治疗。

△通信作者: 段艳蕊, E-mail: ddyrr97@163.com

血糖 $\geq 16.7\text{mmol/L}$ 、尿量大于对照组 50%、尿糖呈强阳性、24h 尿白蛋白大于对照组 50%为 DN 模型制备成功。大鼠接受造模处理成功后,随机分成 5 组,即 B、C、D、E、F 组。A、B 两组均以生理盐水 $10\text{mL}/(\text{kg}\cdot\text{d})$ 灌胃;C 组给盐酸贝那普利 $1.05\text{mg}/(\text{kg}\cdot\text{d})$,D、E、F 组分别给 1.89 、 9.45 、 $18.9\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{d})$ 剂量的灯盏益肾颗粒,C、D、E、F 组均用 $10\text{mL}/(\text{kg}\cdot\text{d})$ 的生理盐水溶解后灌胃。各组大鼠均连续灌胃 6 周。

2.2 标本采集

于大鼠灌胃后第 6 周末,留取尿液用于测尿蛋白(U_p)、尿肌酐(U_{cr})。大鼠称重,于第 2 天水合氯醛麻醉后,腹主动脉取血 4mL ,用于检测肾功能。处死大鼠,切取左肾,称重,甲醛固定,用于免疫组化备检。

2.3 指标检测

- (1)血糖测定:尾静脉采血血糖仪测定。
- (2)尿量、尿蛋白、尿肌酐测定:代谢笼收集尿液,考马斯亮蓝法测尿蛋白;尿肌酐用大鼠尿肌酐定量检测试剂盒(ELISA)测定。
- (3)肾功能:胱抑素 C、血肌酐、血尿素氮用罗氏全自动生化仪 Modular P800 测定。
- (4)肾组织 TGF-β1、Smad 2、Smad 7、Ⅳ型胶原、FN:采用 SABC 法,DAB 显色。显微镜 200 倍镜下采集图像,用病理图像分析系统 Image-Pro Plus6.0 进行免疫组化图像分析。

2.4 统计学分析

所有实验的数据均用均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,组内比较采用 *t* 检验,组间比较采用 ANOVA 分析, $P<0.05$ 为显著性界值。数据处理过程由 SPSS19.0 软件完成。

3 结果

3.1 一般状况

实验中,A 组大鼠精神状态好,活动正常,进食、饮水正常,体重逐渐增加。B 组大鼠皮毛枯黄,精神萎靡,活动减少,进食量较 A 组减少,小便量明显增多。C 组、D 组、E 组、F 组大鼠情况较 B 组好转。

3.2 各组大鼠的造模前后空腹血糖(FBG)、24h 尿白蛋白的比较

如表 1 所示,造模 72h 后 B、C、D、E、F 组连续 3d 测血糖值 $\geq 16.7\text{mmol/L}$,说明大鼠 DM 模型造模成功。1 周后,测得各造模组大鼠 24h 尿白蛋白大于 A 组 50%,差异有统计学意义($P<0.01$)。各造模组造模

前与造模后比较,差异有统计学意义($P<0.01$)。

表 1 各组大鼠造模前后血糖与 24h 尿白蛋白比较

组别	<i>n</i>	时间	血糖/ ($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)	24h 尿白蛋白/ ($\text{mg}/24\text{h}$)
A 组	13	造模前	3.64 ± 0.40	13.85 ± 0.50
		造模后	3.82 ± 0.29	14.07 ± 1.09
B 组	10	造模前	3.37 ± 0.60	14.22 ± 0.88
		造模后	$17.87\pm 2.62^{*\bullet}$	$39.00\pm 5.38^{*\bullet}$
C 组	11	造模前	3.61 ± 0.50	14.03 ± 0.80
		造模后	$19.74\pm 5.34^{*\bullet}$	$38.41\pm 4.55^{*\bullet}$
D 组	11	造模前	3.59 ± 0.50	13.77 ± 0.58
		造模后	$18.82\pm 2.84^{*\bullet}$	$38.77\pm 4.85^{*\bullet}$
E 组	12	造模前	3.53 ± 0.56	13.94 ± 0.78
		造模后	$18.05\pm 0.89^{*\bullet}$	$38.89\pm 3.99^{*\bullet}$
F 组	12	造模前	3.63 ± 0.69	14.05 ± 0.62
		造模后	$17.90\pm 0.62^{*\bullet}$	$39.40\pm 3.81^{*\bullet}$

注:与 A 组相比较,* $P<0.01$;与本组造模前比较,• $P<0.01$

3.3 各组大鼠的肾系数(肾重/体重)、Up/Ucr 的比值情况

如表 2 所见,灌胃 6 周后,B 组肾系数、Up/Ucr 比值明显高于 A 组 ($P<0.01$),高于 C、D 组 ($P<0.05$)和 E、F 组 ($P<0.01$);E、F 组肾系数、Up/Ucr 比值与 C、D 组比较有所降低 ($P<0.05$);C、D 组,E、F 组组间肾系数、Up/Ucr 比值比较,差异无统计学意义 ($P>0.05$)。

表 2 各组大鼠肾系数、Up/Ucr 的比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	肾系数/%	Up/Ucr/($\text{mg}\cdot\text{mmol}^{-1}$)
A 组	13	3.34 ± 0.51	21.58 ± 3.97
B 组	10	$7.83\pm 0.71^{*}$	$46.93\pm 6.16^{*}$
C 组	11	$7.17\pm 0.64^{\bullet}$	$41.01\pm 6.29^{\bullet}$
D 组	11	$7.16\pm 0.39^{\bullet}$	$39.99\pm 8.28^{\bullet}$
E 组	12	$6.54\pm 0.62^{\triangle\bigcirc\bigtriangleup}$	$34.56\pm 5.91^{\triangle\bigcirc\bigtriangleup}$
F 组	12	$6.53\pm 0.49^{\triangle\bigcirc\bigtriangleup}$	$34.43\pm 5.43^{\triangle\bigcirc\bigtriangleup}$

注:与 A 组比较,* $P<0.01$;与 B 组比较,• $P<0.05$,△ $P<0.01$;与 C 组比较,◊ $P<0.05$;与 D 组比较,△ $P<0.05$ 。

3.4 各组大鼠的肾功能情况

如表 3 所示,B 组 BUN、CysC 高于 A 组、E 组 ($P<0.01$),高于 C、D 组 ($P<0.05$);B 组 BUN 高于 F 组 ($P<0.05$),CysC 高于 F 组 ($P<0.01$);E、F 组 BUN、CysC 低于 C、D 组 ($P<0.05$);C 组与 D 组比较,E 组与 F 组比较,CysC 差异无统计学意义

($P>0.05$)。各组间 Scr 两两比较差异无统计学意义($P>0.05$)。

表 3 各组大鼠肾功能的比较($\bar{x}\pm s$)

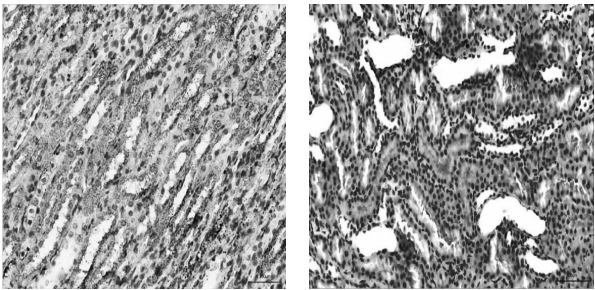
组别	<i>n</i>	BUN/ (mmol·L ⁻¹)	CysC/ (mg·L ⁻¹)	Scr/ (umol·L ⁻¹)
A 组	13	5.53±0.72	0.96±0.15	46.00±11.85
B 组	10	10.52±0.28*	4.72±0.47*	47.90±8.03
C 组	11	10.01±0.39 [○]	1.56±0.36 [○]	48.00±8.94
D 组	11	9.95±0.55 [○]	1.54±0.28 [○]	44.91±6.85
E 组	12	9.51±0.61 ^{●▲}	1.25±0.28 ^{●▲}	51.83±5.72
F 组	12	9.97±0.54 ^{●▲}	1.22±0.27 ^{●▲}	50.08±8.39

注:与 A 组比较,* $P<0.01$;与 B 组比较,[○] $P<0.05$,[●] $P<0.01$;与 C 组比较,[△] $P<0.05$;与 D 组比较,[▲] $P<0.05$

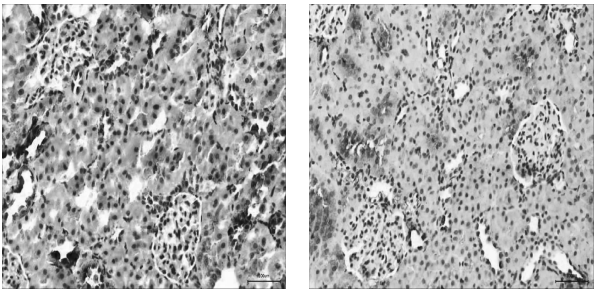
3.5 各组大鼠肾组织免疫组化结果

从表 4、图 1~图 5 可见,A 组大鼠肾脏组织可见 TGF-β1、Smad 2、Ⅳ型胶原、FN 蛋白表达的阳性颗粒,主要见于肾小球和肾小管上皮细胞中,但其表达

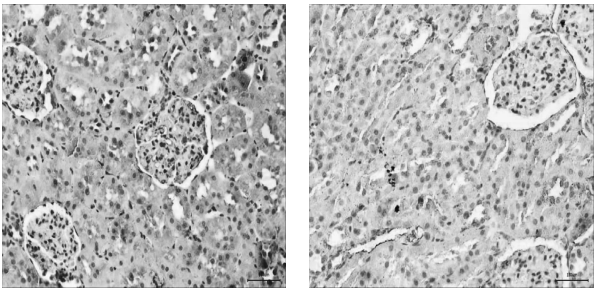
量少,着色较浅;B 组在肾小球和肾小管上皮细胞中的 TGF-β1、Smad 2、Ⅳ型胶原、FN 蛋白表达量明显增加,呈强阳性表达,着色比 A 组明显加深,差异有统计学意义($P<0.01$);与 B 组相比,C、D 组在上述部位 TGF-β1、Smad 2、Ⅳ型胶原、FN 的表达有所减少($P<0.05$),E、F 组明显减少($P<0.01$);E、F 组肾组织 TGF-β1、Smad 2、Ⅳ型胶原、FN 蛋白的表达比 C 组有所减少($P<0.05$)。A 组大鼠在肾小球和肾小管见到 Smad 7 蛋白表达的阳性颗粒,着色较深,表达量较多。而 B 组大鼠肾脏肾小球和肾小管的 Smad 7 蛋白表达的阳性颗粒明显减少,与 A 组相比差异显著($P<0.01$);与 B 组相比,C、D 组肾组织 Smad 7 蛋白表达增多($P<0.05$),E、F 组肾组织 Smad 7 蛋白表达明显增多($P<0.01$);E、F 组肾组织 Smad 7 蛋白表达比 C 组增多($P<0.05$)。其中 C 与 D 组,E 与 F 组 TGF-β1、Smad 2、Smad 7、Ⅳ型胶原、FN 蛋白的表达组间比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。



A.正常组 B.模型组

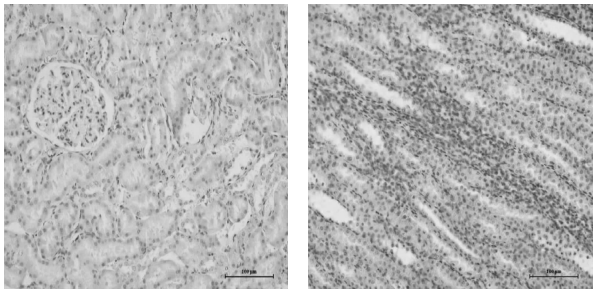


C.盐酸贝那普利组 D.灯盏益肾低剂量组

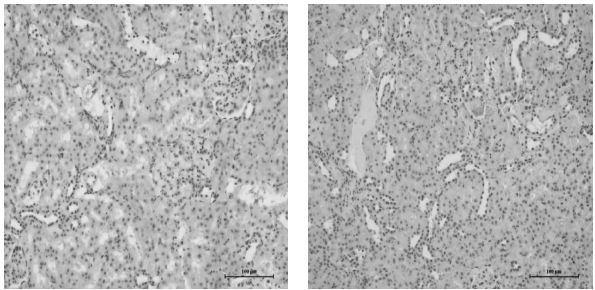


E.灯盏益肾中剂量组 F.灯盏益肾高剂量组

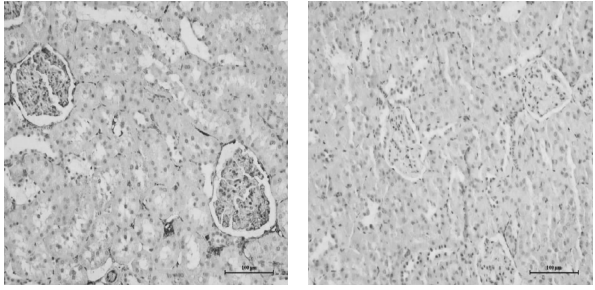
图 1 各组大鼠肾组织 TGF-β1((SABC 法×200)



A.正常组 B.模型组

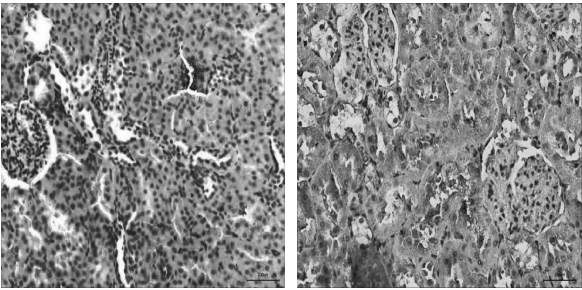


C.盐酸贝那普利组 D.灯盏益肾低剂量组

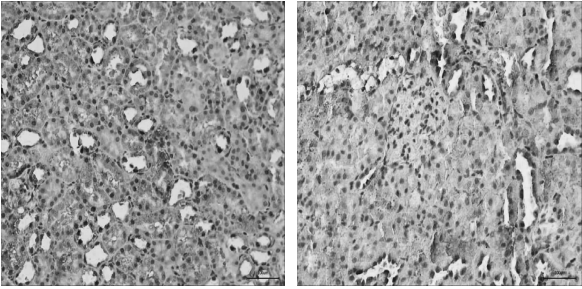


E.灯盏益肾中剂量组 F.灯盏益肾高剂量组

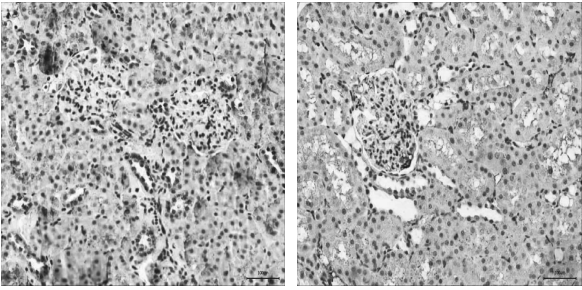
图 2 各组大鼠肾组织 Smad 2((SABC 法×200)



A. 正常组 B. 模型组

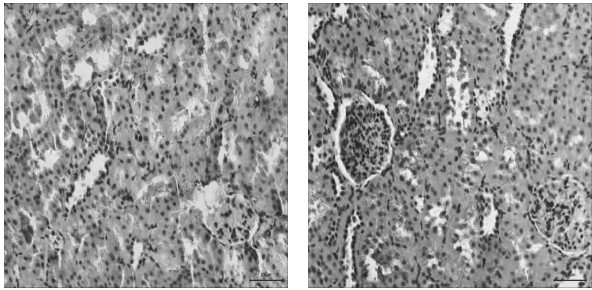


C. 盐酸贝那普利组 D. 灯盏益肾低剂量组

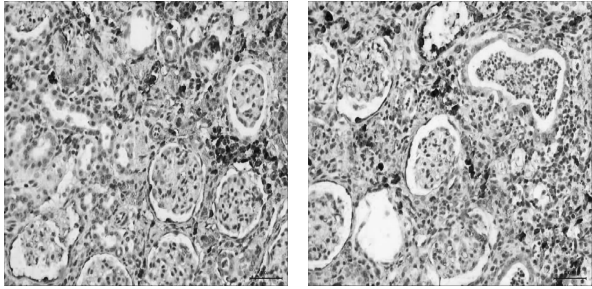


E. 灯盏益肾中剂量组 F. 灯盏益肾高剂量组

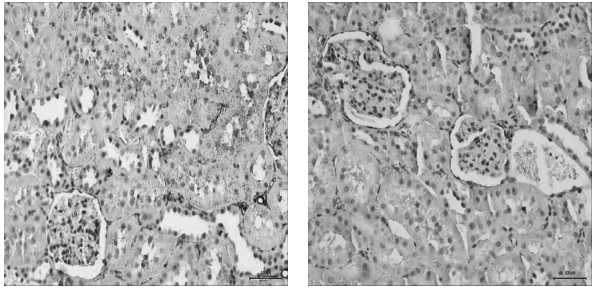
图 3 各组大鼠肾组织 Smad 7 (SABC 法 $\times 200$)



A. 正常组 B. 模型组

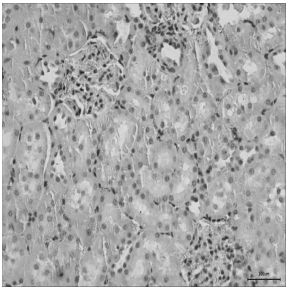


C. 盐酸贝那普利组 D. 灯盏益肾低剂量组

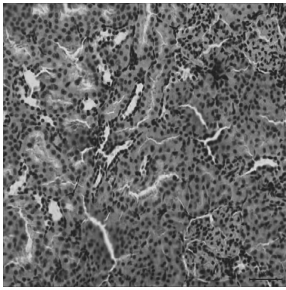


E. 灯盏益肾中剂量组 F. 灯盏益肾高剂量组

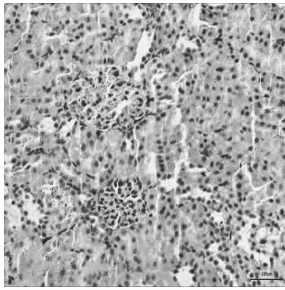
图 4 各组大鼠肾组织 IV 型胶原 (SABC 法 $\times 200$)



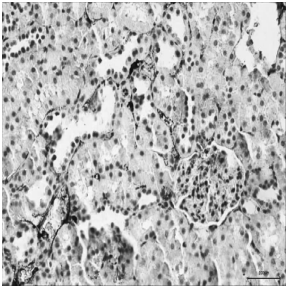
A. 正常组



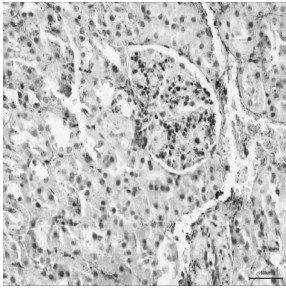
B. 模型组



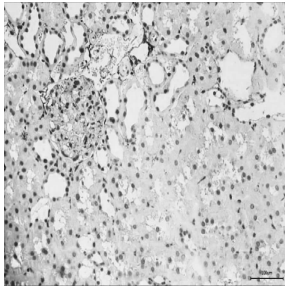
C. 盐酸贝那普利组



D. 灯盏益肾低剂量组



E. 灯盏益肾中剂量组



F. 灯盏益肾高剂量组

图 5 各组大鼠肾组织 FN (SABC 法 $\times 200$)

表 4 各组大鼠 TGF-β1、Smad 2、Smad 7、IV 型胶原、FN 阳性表达率比较($\bar{x} \pm s$, %)

组别	n	TGF-β1	Smad 2	Smad 7	IV 型胶原	FN
A 组	13	2.04±0.48	1.78±0.54	3.10±0.64	6.64±0.44	5.40±2.62
B 组	10	4.43±0.54*	9.44±3.46*	1.21±0.33*	25.53±5.67*	30.27±12.56*
C 组	11	3.75±0.83●	6.93±1.68●	1.96±0.71●	19.49±2.87●	21.58±4.13●
D 组	11	3.74±0.20●	6.81±1.67●	2.03±0.73●	19.85±6.08●	21.72±5.15●
E 组	12	2.93±0.39 ^{△△○}	4.22±0.46 ^{△△○}	2.76±0.55 ^{△△○}	13.51±4.44 ^{△△○}	12.43±4.26 ^{△△○}
F 组	12	2.90±0.48 ^{△△○}	4.21±0.76 ^{△△○}	2.74±0.49 ^{△△○}	13.67±3.97 ^{△△○}	12.30±5.78 ^{△△○}

注:与 A 组比较,* $P<0.01$;与 B 组比较,● $P<0.05$,[△] $P<0.01$;与 C 组比较,[△] $P<0.05$;与 D 组比较,[○] $P<0.05$

4 讨论

灯盏益肾颗粒为云南省中医院院内制剂,原名灯盏花胶囊,全方以灯盏花、黄芪为君,活血祛湿、益气健脾;仙灵脾、山药、生大黄辅助君药为臣,辅助君药补肾固精、健脾益气、活血泄浊;苍术、薏苡仁、干张纸、杜仲、党参燥湿泄浊、补肾益气共为佐使。全方起到活血泄浊、补肾健脾的功效。糖尿病肾病属于“消渴”的并发症,本病的基本病机为脾肾两虚为本,湿浊瘀血滞留为标,正虚邪恋,标本互相影响。治宜活血泄浊、补肾健脾,与灯盏益肾颗粒的功效吻合,故用于治疗 DN。

肾系数反映了肾脏肿大的程度,肾脏增大是 DN 早期的特点,本次研究结果提示造模后大鼠的肾系数、Up/Ucr 均增加,表明高血糖对肾脏造成了损伤。Up/Ucr 是多种肾脏病早期损伤的预警指标^[5]。CysC 能反映肾功能早期损伤^[6]。Scr 和 BUN 作为肾功能检测的经典指标,对于糖尿病肾病早期肾损伤意义不大,但随着病情的进展,这两项指标会逐渐升高^[7]。本次研究结果显示,灯盏益肾颗粒能够改善 DN 大鼠的生长基本状况;治疗后灯盏益肾组和盐酸贝那普利组的肾系数有所降低,且与药物剂量呈现负相关,说明灯盏益肾颗粒和盐酸贝那普利均可抑制 DN 早期肾脏增大;药物干预后灯盏益肾组和盐酸贝那普利组 DN 大鼠 CysC、BUN 均降低,说明 2 种干预药物能改善肾功能;治疗后灯盏益肾颗粒中高剂量组 Up/Ucr、CysC、BUN 低于盐酸贝那普利组,说明中高剂量灯盏益肾颗粒改善肾功能的效果更佳。

IV 型胶原与 FN 均是构成基底膜的主要成分, FN 可以与细胞外基质各类成分相结合,并促进细胞外基质其他成分的沉积。FN 与 IV 型胶原的进行性积聚是 DN 发展过程中最基本的病理变化。有研究表明, FN 合成增多在肾脏纤维化早期即可出现明显变化,是 ECM 早期表达增高的重要指标。IV 型胶原合成和分泌增多及降解减少是许多肾脏疾病发生发展、

ECM 积聚、终至肾小球硬化和肾间质纤维化的主要原因或重要参与因素之一^[8]。

转化生长因子 β1(TGF-β1)是 TGF-β 三个重要亚型之一,在肾脏生理和病理过程多方面起着重要调控作用^[9]。在高糖等因素作用下,可以通过 Smad 2 转导 TGF-β 信号在细胞内活化 TGF-β 受体,刺激细胞外基质合成并在细胞膜区沉积,增强 FN 和 IV 型胶原表达,促进肾脏系膜细胞和系膜基质增生、肾小球基底膜增厚,最终导致肾小球硬化。影响 Smad 2 的活化水平就可以影响 TGF-β-Smad 信号转导,从而 影响其靶效应^[10]。在肾小球硬化动物模型中 Smad 2 有高水平表达,抑制 Smad 2 活性可减少肾组织 FN 和 IV 型胶原表达,也可以抑制高糖诱导的肾小管上皮细胞转分化(EMT)。所以,Smad 2 表达的强弱在肾纤维化病变过程中有重要意义。Smad 7 是抑制性的 Smads,其 MH2 结构域可以与活化的 TGF-β 受体相结合,阻断 R-Smad 与 TGF-β 受体结合从而抑制 R-Smad 磷酸化,阻止 TGF-β 受体复合物的形成及转核入位^[11]。提高 Smad 7 蛋白的表达,调控 TGF-β1-Smad 7 信号转导通路的激活,可以减少系膜基质增厚、积聚,减少胶原纤维沉积,降低肾组织氧化应激水平,减少肾小球足细胞损伤和凋亡,抑制肾小球基底膜增生,保护肾小球滤过屏障结构和功能的完整性,改善肾小球对血浆白蛋白的高滤过,减少蛋白尿的发生,起到保护肾脏的作用^[12]。相关研究也证实,TGF-β1 参与糖尿病肾病(DN)的进程已作为临床慢性肾病进展的重要生物学标志物和治疗靶标,Sma 和 Mad 相关蛋白(Smad)是 TGF-β 家族下游信号转导蛋白,Smad 2 和 Smad 7 则起着相反的调控作用,影响肾纤维化的进程^[13]。在 DN 早期,实验动物和 DN 患者 TGF-β1 水平及 Smad 2 表达即明显升高,血糖水平与 TGF-β1 水平存在着明显的正相关关系^[14]。运用链脲佐菌素(STZ)制造 DN 模型,第 4 周和 12 周大鼠肾小球系膜细胞增生,肾组织中 TGF-β1 和 TGF-β1mR-

NA 表达即有明显增加^[15]。

盐酸贝那普利属血管紧张素转换酶抑制剂(A-CEI),可抑制血管紧张素转换酶、激肽酶,使血管扩张从而达到降血压作用,能够降低肾灌注压,改善肾小球的滤过功能。DN 肾损害的重要原因是肾血流动力学的改变,而盐酸贝那普利可降低机体血液黏度、降低外周阻力,避免血栓形成阻塞肾脏血管,进而达到减轻或延缓 DN 损害的作用^[16]。研究表明,贝那普利至多可以使 DN 患者的尿蛋白排泄减少 42.7%^[17],并可显著降低 2 型 DN 患者的微量白蛋白的排泄,保护肾脏功能^[18]。实验研究^[19]也发现,ACEI/ARB 类药物能抑制肾 TGF- β 1 的表达,通过干预 RAAS 系统间接拮抗 TGF- β 1 的作用。我们课题组前期对云南灯盏花胶囊(灯盏益肾颗粒)的临床和动物实验研究^[20]也显示盐酸贝那普利可以减轻慢性肾衰竭大鼠尿蛋白,延缓慢性肾功能衰竭进程。本研究结果发现灯盏益肾颗粒对 DN 的临床和肾脏形态学改变与盐酸贝那普利有相似的效应。

综上所述,灯盏益肾颗粒可以减少 DN 尿蛋白排泄量,改善肾功能,延缓慢性肾病进程。对 DN 的临床和肾脏形态学改变与盐酸贝那普利有相似的效应。其机制可能是通过调控 DN 大鼠肾组织 TGF-Smad 转导通路,影响肾组织 IV 型胶原、FN 的表达。在一定范围内灯盏益肾颗粒的疗效与剂量成正相关趋势,其具体作用机制有待进一步研究。

参考文献:

- [1] Tu X, Ye X, Xie C, et al. Combination Therapy with Chinese Medicine and ACEI/ARB for the Management of Diabetic Nephropathy: The Promise in Research Fragments [J]. *Curr Vascu Pharmacol*, 2015, 13(4): 526-539.
- [2] 杜义斌,李琦,张坤杨,等. 云南灯盏花胶囊对慢性肾衰竭大鼠 CTGF 及 Smad 7 mRNA 表达的影响 [J]. *环球中医药*, 2014, 9(7): 666-669.
- [3] 张丽芬,吕仁和,黄文政. 链脲佐菌素糖尿病肾病大鼠模型的建立及稳定性评价 [J]. *中国比较医学杂志*, 2014, 4(24): 8-12.
- [4] 黄平,陈丹,华健. 山茱萸颗粒对糖尿病肾病大鼠 TGF- β 1/Smad 7 通路的影响 [J]. *中国中西医结合肾病杂志*, 2012, 13(9): 762-764.
- [5] 胡勤锦,闫振成. 尿毒清联合 ARB/ACEI 治疗糖尿病肾病大量蛋白尿的疗效观察 [J]. *重庆医学*, 2014, 43(26): 3436-3438.
- [6] 周连华,范玉娟,姜文娟,等. 血清胱抑素 C 在早期糖尿病肾病患者肾功能受损评价中的诊断价值 [J]. *临床内科杂志*, 2012, 29(2): 108-109.
- [7] 艾红梅,陈克军. 血清尿素氮与肌酐对早期糖尿病肾病诊断价值探讨 [J]. *实用医技杂志*, 2008, 15(4): 431-433.
- [8] 熊荣兵,傅晓骏. 中药肾糖组方对糖尿病肾病大鼠肾保护作用的实验研究 [J]. *中国中西医结合肾病杂志*, 2015, 16(10): 858-860.
- [9] Hills CE, Squires PE. TGF- β 1-induced epithelial-to-mesenchymal transition and therapeutic intervention in diabetic nephropathy [J]. *Am J Nephrol*, 2010, 31(1): 68-74.
- [10] 唐文彬,凌光辉,孙林,等. Smad 锚着蛋白在糖尿病肾病肾小管上皮细胞转分化中的作用及机制研究 [J]. *中华肾脏病杂志*, 2012, 28(10): 790-797.
- [11] Wallg W, Huang XR, Li A, et al. Signaling mechanism of TGF- β 1 in prevention of renal inflammation: Role of Smad 7 [J]. *Soc Nephrol*, 2005, 16(5): 1371-1383.
- [12] 杜磊,赵静,赵宗江,等. 糖肾平对高糖+LPS 刺激足细胞 TGF- β 1/Smad 7 信号转导通路影响的研究 [J]. *中国中西医结合肾病杂志*, 2013, 14(2): 107-110.
- [13] 贾会玉,李中南,陈光亮. 糖尿病肾病中转化生长因子 β 1/Smad 和 Mad 相关蛋白信号通路的作用及其相关药物研究进展 [J]. *中国药理学与毒理学杂志*, 2016, 30(3): 266-271.
- [14] Hills CE, Squires PE. The role of TGF- β and epithelial-to-mesenchymal transition in diabetic nephropathy [J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2011, 22(3): 131-139.
- [15] She S, Llu W, Li T, et al. Effects of puerarin in STZ-induced diabetic rats by oxidative stress and the TGF- β 1/Smad 2 pathway [J]. *Food Funct*, 2014, 5(5): 944-950.
- [16] 郑春忠. 盐酸贝那普利药理与临床应用 [J]. *海峡药学*, 2010, 19(8): 99-101.
- [17] 杨钱红. 贝那普利对糖尿病肾病患者尿微量白蛋白的影响 [J]. *吉林医学*, 2010, 31(4): 501-502.
- [18] Suganami T, Mukoyama M, Sugawara A, et al. Overexpression of brain natriuretic peptide in mice ameliorates immune-mediated renal injury [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2001, 12(12): 2652-2663.
- [19] Garcia-Sanchez O, Lopez-Hernandez FJ, Lopez-Novoa JM. An integrative view on the role of TGF- β in the progressive tubular deletion associated with chronic kidney disease [J]. *Kidney Int*, 2010, 77(11): 950-955.
- [20] 王志祥,杜义斌,段艳蕊,等. 云南灯盏花胶囊治疗慢性肾功能衰竭 60 例临床研究 [J]. *云南中医中药杂志*, 2006, 27(5): 29-30.

(编辑:徐建平)

Effect of Breviscapine Yishen Granules on TGF- β /Smad Transduction Pathway in Diabetic Nephropathy Rats

DU Yibin¹, DUAN Yanrui¹, WANG Yadong², YI Huan², XIE Mingjun²

(1. The First Affiliated Hospital of Yunnan University of Traditional Chinese Medicine, Kunming 650021, China;

2. Yunnan University of Traditional Chinese Medicine, Kunming 650500, China)

ABSTRACT: Objective To observe the effect of breviscapine Yishen Granule on TGF- β -Smad transduction pathway in diabetic nephropathy (DN) rats, and to explore its preventive and therapeutic effects on DN. **Methods** The 90 male SD rats were randomly divided into normal group (group A), model group (group B), hydrochloric acid Benner Pury group (group C), and the Breviscapine Yishen granules' group were divided into low, middle and high dose group (group C, D, E). While, with streptozotocin (STZ) intraperitoneal injection of 55mg/kg to set up DN model. After given different experimental factors intervention, observed The levels of cystatin C (CysC), serum creatinine (Scr), blood urea nitrogen (BUN) and urinary protein/urine creatinine (Up/Ucr) by biochemical detection. And observed the expression of TGF- β 1, Smad 2, Smad 7, collagen type IV and fibronectin (FN) in renal tissue of rat models was detected by immunohistochemistry. **Results** The levels of of E, F Up/Ucr, Cys C, BUN group was lower than that of B group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$); The expression of TGF- β 1, Smad 2, type IV collagen, FN protein in group E and F renal tissue was significantly lower than that of group B ($P < 0.01$), lower than group C and D ($P < 0.05$), the expression of Smad 7 protein was higher than group B ($P < 0.05$), more than group C and D ($P < 0.05$). **Conclusion** Breviscapine Yishen granule can inhibit the activation of TGF- β -Smad signaling pathway in renal tissue of diabetic nephropathy rats, and reduce the expressions of type IV collagen and FN protein in tissues. The effect of medium and high dose group was better than that of low dose group and Benner Pury hydrochloride group.

KEY WORDS: diabetic nephropathy; breviscapine Yishen granules; experimental study; TGF- β -Smad signaling pathway

(原文见第 1 页)

Effects of Traditional Chinese Medicine Composition on the Inflammatory Response of Atherosclerosis Rabbit Model by Controlling p38MAPK

JIN Zhaohui¹, GAO Pu¹, SONG Guangyi², LIU Zhengtang¹, JIN Bing¹, XIANG Tianyuan¹

(1. Geriatric Research Center of Xiyuan Hospital of China Academy of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100091, China;

2. Liaoning Basic Medical Research Institute, Shenyang 110005, China)

ABSTRACT: Objective The purpose of this study was to explore the effects of traditional Chinese medicine composition (TCMC) on inflammatory reaction of diabetic atherosclerotic rabbit model by intervening p38mitogen-activated protein kinase (p38MAPK) signal pathway. **Methods** DA rabbits were established by alloxan intravenous injection with abdominal aorta intima balloon injury, then intervened by TCMC of high, medium, low dose or simvastatin respectively. **Results** The expression of p38MAPK in the combination of high, medium, low dose and simvastatin group was reduced, and the difference was statistically significant ($P < 0.01$). The high dose group and simvastatin group had lower effects on hs-CRP, IL-6, TNF- α , ET, ICAM-1, VCAM-1 and the difference was statistically significant ($P < 0.01$). The medium dose group can reduce hs-CRP, IL-6, TNF- α , ET, VCAM-1 and the comparison of the model group is statistically significant ($P < 0.01$). The low-dose group decreased hs-CRP, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). The high and medium-dose group of TCMC had reduced the FBG, GHB and GSP of the diabetic arteriosclerosis rabbits, significantly lower than the model group ($P < 0.01$). The low-dose group of TCMC had a reduced effect on FBG, which was significantly lower than that in the model group ($P < 0.05$). There was no statistically significant difference between simvastatin group and model groups ($P > 0.05$). **Conclusion** The traditional Chinese medicine composition may be able to inhibit inflammatory reaction of atherosclerotic rabbit model by intervening p38mitogen-activated protein kinase (p38MAPK) signal pathway.

KEY WORDS: traditional Chinese medicine composition; diabetic atherosclerosis; p38MAPK signaling pathway; inflammatory reaction