

## 参地颗粒对 C-BSA 大鼠肾组织 miRNA-193a 和 WT-1 mRNA 表达的干预作用 \*

项建军<sup>1</sup>, 金 华<sup>2△</sup>, 韩佳月<sup>1</sup>, 王亿平<sup>2</sup>

(1. 安徽中医药大学研究生院, 安徽 合肥 230038;

2. 安徽中医药大学第一附属医院肾内科, 安徽 合肥 230031)

**摘要:** **目的** 观察参地颗粒对 C-BSA 大鼠肾组织中 miRNA-193a 和 WT-1 mRNA 的干预作用。**方法** 40 只雄性 SD 大鼠随机分为正常组、模型组、参地颗粒组、缬沙坦组各 10 只。参地颗粒组给予参地颗粒水溶液 4.0 g/(kg·d) 灌胃, 缬沙坦组给予缬沙坦胶囊混悬液 20 mg/(kg·d) 灌胃, 正常组、模型组予生理盐水灌胃, 每次 3 mL, 每天 1 次, 连续给药 8 周后处理动物、留取尿液和肾脏标本。酶联免疫吸附法(ELISA)检测尿白蛋白和尿肌酐浓度、尿 Nephlin 和 Podocalyxin 含量, 实时荧光定量逆转录聚合酶链反应(qRT-PCR)检测肾组织中 WT-1 及 miRNA-193a mRNA 表达。透射电镜观察肾小球超微结构图, 并计算肾小球基底膜(GBM)平均厚度(TGBM)。**结果** 与正常组比较, 模型组大鼠的尿白蛋白/尿肌酐比值(UACR)、尿 Nephlin 和 Podocalyxin 含量、肾组织 miR-193a mRNA 表达量、TGBM 均显著升高, 而 WT-1 mRNA 表达量显著减少( $P<0.05$ )。与模型组比较, 参地颗粒组和缬沙坦组大鼠的 UACR、尿 Nephlin 和 Podocalyxin 含量、肾组织 miR-193a mRNA 表达量、TGBM 均显著下降, WT-1 mRNA 表达量显著增加( $P<0.05$ ); 且参地颗粒组的 UACR、尿 Podocalyxin、miR-193a 和 WT-1 mRNA 表达量、TGBM 变化均显著优于缬沙坦组( $P<0.05$ )。正常组肾小球足细胞结构正常, 模型组足突可见大部分融合或消失, 基底膜弥漫性增厚, 上皮可见大块电子致密物沉积。参地颗粒组和缬沙坦组的足细胞结构较模型组有所改善。**结论** 参地颗粒可能通过抑制 C-BSA 大鼠肾组织中 miR-193a 表达, 并上调 WT-1 表达, 进而减轻足细胞损伤, 发挥降低尿蛋白作用。

**关键词:** 参地颗粒; C-BSA 大鼠; miRNA-193a; WT-1; 足细胞

**中图分类号:** R285.5

**文献标志码:** A

**文章编号:** 1000-2723(2021)03-0011-06

**DOI:** 10.19288/j.cnki.issn.1000-2723.2021.03.003

## Intervention Effect of Shendi Granule on the Expression of miRNA-193a and WT-1 mRNA in Renal Tissue of C-BSA Rats

XIANG Jianjun<sup>1</sup>, JIN Hua<sup>2</sup>, HAN Jiayue<sup>1</sup>, WANG Yiping<sup>2</sup>

(1. The First Affiliated Hospital of Anhui Traditional Chinese Medicine University, Hefei 230038, China;

2. Department of Nephrology, the First Affiliated Hospital of Anhui University  
of Traditional Chinese Medicine, Hefei 230031, China)

**ABSTRACT: Objective** To observe the intervention effect of Shendi granule on miRNA-193a and WT-1 mRNA in renal tissue of C-BSA rats. **Methods** Forty male SD rats were randomly divided into normal group ( $n=10$ ), model group ( $n=10$ ), Shendi granule group ( $n=10$ ) and valsartan group ( $n=10$ ). The rats in the Shendi granule group were given intragastric administration of Shendi granule aqueous solution 4.0 g/(kg·d), the valsartan group was given valsartan capsule suspension

收稿日期: 2021-04-18

\* **基金项目:** 安徽省高校自然科学研究重点项目(KJ2019A0441); 2021 安徽省医疗重点专科项目; 2016 年安徽省中医发展专项资金; 王亿平名中医工作室(卫办秘[2016]680 号); 安徽中医药领军人才项目(中医药发展秘[2018]23 号)

**第一作者简介:** 项建军(1994-), 男, 在读硕士研究生, 研究方向: 中西医结合肾脏病防治研究。

△通信作者: 金华, E-mail: ya790312@sina.com

20 mg/(kg·d), and the normal group and model group were given normal saline, once a day, once a day. After 8 weeks of continuous administration, the animals were treated, urine and kidney samples were collected. The concentrations of urinary albumin and creatinine, the contents of urinary Nephlin and Podocalyxin were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), and the expression of WT-1 and miRNA-193a mRNA in renal tissue was detected by real-time fluorescence quantitative reverse transcriptase polymerase chain reaction (qRT-PCR). The ultrastructure of glomeruli was observed by transmission electron microscope, and the average thickness of glomerular basement membrane (GBM)(TGBM) was calculated. **Results** Compared with the normal group, the ratio of urinary albumin to creatinine (UACR), the contents of urinary Nephlin and Podocalyxin, the expression of miR-193a mRNA and TGBM in kidney tissue were significantly increased, while the expression of WT-1 mRNA was significantly decreased in the model group. Compared with the model group, the contents of UACR, urinary Nephlin and Podocalyxin, the expression of miR-193a mRNA and TGBM in kidney tissue were significantly decreased, and the expression of WT-1 mRNA was significantly increased in Shendi granule group and valsartan group, and the changes of UACR, urinary Podocalyxin, miR-193a and WT-1 mRNA expression and TGBM in Shendi granule group were significantly better than those in valsartan group ( $P<0.05$ ). The structure of glomerular podocytes in the normal group was normal. In the model group, most of the foot processes fused or disappeared, the basement membrane thickened diffusely, and large electronic dense deposits could be seen under the epithelium. The podocyte structure of Shendi granule group and valsartan group was better than that of model group. **Conclusion** Shendi granule may reduce podocyte injury and reduce urinary protein by inhibiting the expression of miR-193a and up-regulating the expression of WT-1 in renal tissue of C-BSA rats.

**KEY WORDS:** Shendi granule; C-BSA rats; miRNA-193a; WT-1; Podocyte

膜性肾病(membranous nephropathy, MN)目前成为全球肾小球疾病中常见病之一。在国内 MN 已经成为检出率占全部肾活检样本中仅次于 IgA 肾病的第 2 大高发肾小球疾病,其占全部肾活检样本的 23.4%<sup>[1]</sup>。MN 传统治疗为激素联合免疫抑制剂,但部分患者出现感染、股骨头坏死等严重副作用,或治疗不敏感,最终发展为终末期肾功能衰竭<sup>[2-3]</sup>。因此探寻 MN 的发病机制和治疗方法已成为临床难题。采用大鼠尾静脉注射阳离子化牛血清白蛋白(C-BSA)是制作 MN 的经典模型。近年来发现, micro RNA 中 miR-193a 在肾脏过度表达可导致肾小球损伤<sup>[4]</sup>; miR-193a 表达被下调后可介导肾小球壁层上皮细胞(PECs)高表达 WT1 等足细胞标志蛋白,促进其向足细胞转分化<sup>[5]</sup>。中医药治疗 MN 具有一定的临床疗效和优势,既往研究证实参地颗粒在治疗肾小球疾病中已取得良好疗效<sup>[6-7]</sup>。本研究将进一步观察参地颗粒对 C-BSA 大鼠肾组织中 miRNA-193a 和 WT-1 mRNA 的干预作用,探讨其治疗 MN 的作用机理。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 实验动物 选用 2 月龄清洁级雄性 SD 大鼠 40 只,体质量(200±20)g,统一购于安徽医科大学实验动物中心(合格证号:SCXK(鲁)2019-0003),适应

性喂养 1 周。

1.1.2 实验药物与试剂 参地颗粒:由人参、桑螵蛸、鸡内金、五味子、熟地黄、茯苓、川芎共 7 味中药组成,由安徽省中医院制剂中心加工(皖药制字 BZ20080025),每袋颗粒剂 10g,约含生药 34g。缬沙坦胶囊:80 mg×7 粒,北京诺华制药有限公司生产,国药准字 H20040217。阳离子化牛血清白蛋白(C-BSA)购自北京索莱宝科技有限公司(批号:725M036);弗氏不完全佐剂(F5506)购自 Sigma 公司(批号 SLBL9742V);尿白蛋白试剂盒购于武汉基因美生物科技有限公司(批号 GR2019-06);尿肌酐试剂盒购于南京建成生物科技有限公司(批号:20190622);荧光定量 PCR 仪购于 Thermo Scientific(型号:PIKOREAL 96);普通 PCR 仪购于杭州晶格科学仪器有限公司(型号:K960);引物由上海生物工程公司合成。

### 1.2 方法

1.2.1 模型建立及分组 动物分组:采用单纯随机抽样方法,将 40 只大鼠随机分为正常组、模型组、参地颗粒组、缬沙坦组 4 组,每组各 10 只。

造模:除正常组 10 只外,其余 30 只大鼠均采用大鼠尾静脉注射 C-BSA 诱导肾炎模型<sup>[8]</sup>:①预免疫:取 1 mL C-BSA 悬浮液(按 1mg C-BSA+0.5 mL 磷酸

盐缓冲液 (PBS)+0.5 mL 不完全弗氏佐剂充分溶合)对造模大鼠腋下、腹股沟等多处做 3 次皮下致敏免疫,隔日 1 次,共 1 周。②正式免疫:第 2~5 周按每次 16 mg/(kg·d)无菌条件下由尾静脉注射 C-BSA(溶于 PBS 中),每周 3 次,共计 4 周。造模结束后留取造模大鼠 24 h 尿液,测定尿蛋白阳性提示造模成功。

1.2.2 给药方法 所有大鼠在造模结束后第 1 天灌胃用药,参地颗粒组予以 4.0 g/(kg·d)参地颗粒水溶液,缬沙坦组予以 20 mg/(kg·d)缬沙坦胶囊混悬液,正常组和模型组给予等量生理盐水。每天 1 次,每次 3mL,连续给药 8 周。

1.3 标本采集及检测方法 给药 8 周后代谢笼收集大鼠 24 h 尿液,ELISA 法检测尿白蛋白和尿肌酐浓

度、尿 Nephlin 和 Podocalyxin 含量。2%的戊巴比妥麻醉大鼠,摘取右侧肾脏,提取总 RNA,qRT-PCR 法检测 WT-1 及 miRNA-193a mRNA 表达;取少许左侧肾皮质置于 2% 戊二醛固定液中,置于 4℃ 冰箱保存,以备电镜检查。

qRT-PCR 检测方法:取肾脏组织,液氮下研成粉末,Trizol 法抽提总 RNA,生物分光光度计测定 RNA 浓度,OD260/OD280 为 1.8~2.0。取 1 000 ng 总 RNA 逆转录成 cDNA,逆转条件为:37℃ 15 min,85℃ 5 s。将制备好的 cDNA 进行 PCR 扩增,反应体系为 20 μL 体系,反应条件如下:①预变性:95℃,60s;②变性:95℃ 20 s;③退火、延伸:60℃ 60 s,40 个循环。以 β-actin 为内参。见表 1。

表 1 扩增基因的引物序列

| 基因                 | 上游引物                                             | 下游引物                        | 碱基对   |
|--------------------|--------------------------------------------------|-----------------------------|-------|
| β-actin            | 5'-CCCATCTATGAGGGTTACGC-3'                       | 5'-TTTAATGTCACGCACGATTTC-3' | 150bp |
| WT-1               | 5'-GCCCTACAGCAGTGACAATT-3'                       | 5'-AAGGTAGCTCCGAGGTTTCAT-3' | 84bp  |
| miR-193a-3p        | 5'-ACACTCCAGCTGGGAAGTGGCCTACAAAGT-3'             | 5'-TGGTGTCGTGGAGTCG-3'      | 71bp  |
| rno-miR-193a-3p-RT | 5'-CTCAACTGGTGTCTGGAGTCGGC-AATTCAGTTGAGACTGGG-3' |                             |       |

1.4 统计学处理 采用 SPSS 23.0 软件进行统计分析,结果以均值±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,两组间比较采用 t 检验;若资料不符合正态分布或方差不齐则采用非参数检验; $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 ELISA 法检测尿白蛋白和尿肌酐浓度、尿 Nephlin 和 Podocalyxin 含量 与正常组比较,模型组大鼠的尿白蛋白/尿肌酐比值(UACR)、尿 Nephlin 和 Podocalyxin 含量均升高,差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。与模型组比较,参地颗粒组和缬沙坦组大鼠的 UACR、尿 Nephlin 和 Podocalyxin 含量均下降,差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ );且参地颗粒组的 UACR、尿 Podocalyxin 变化明显优于缬沙坦组,差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见表 2。

2.2 qRT-PCR 法检测肾组织中 WT-1 及 miRNA-193a mRNA 表达 与正常组比较,模型组大鼠肾组织中 miR-193a mRNA 表达量下降,WT-1 mRNA 表达量增加,差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。与模型组比较,参地颗粒组和缬沙坦组的 miR-193a mRNA 表

表 2 各组大鼠 UACR、尿 Nephlin 和 Podocalyxin 含量比较( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别    | n | UACR<br>/(mg·g <sup>-1</sup> ) | 尿 Nephlin<br>/(ng·mL <sup>-1</sup> ) | 尿 Podocalyxin<br>/(ng·mL <sup>-1</sup> ) |
|-------|---|--------------------------------|--------------------------------------|------------------------------------------|
| 正常组   | 8 | 0.12±0.02                      | 15.95±3.03                           | 10.50±5.56                               |
| 模型组   | 6 | 0.46±0.04*                     | 52.02±4.79*                          | 49.16±6.76*                              |
| 参地颗粒组 | 7 | 0.26±0.07 <sup>▲△</sup>        | 21.25±1.85 <sup>▲</sup>              | 15.22±3.21 <sup>▲△</sup>                 |
| 缬沙坦组  | 6 | 0.31±0.06 <sup>▲</sup>         | 24.97±4.20 <sup>▲</sup>              | 19.57±3.16 <sup>▲</sup>                  |

注:与正常组比较,\* $P < 0.05$ ;与模型组比较,<sup>▲</sup> $P < 0.05$ ;与缬沙坦组比较,<sup>△</sup> $P < 0.05$ 。

达量升高,WT-1 mRNA 表达量下降,差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ );且参地颗粒组的 WT-1 和 miRNA-193a mRNA 表达量变化明显优于缬沙坦组,差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见表 3。

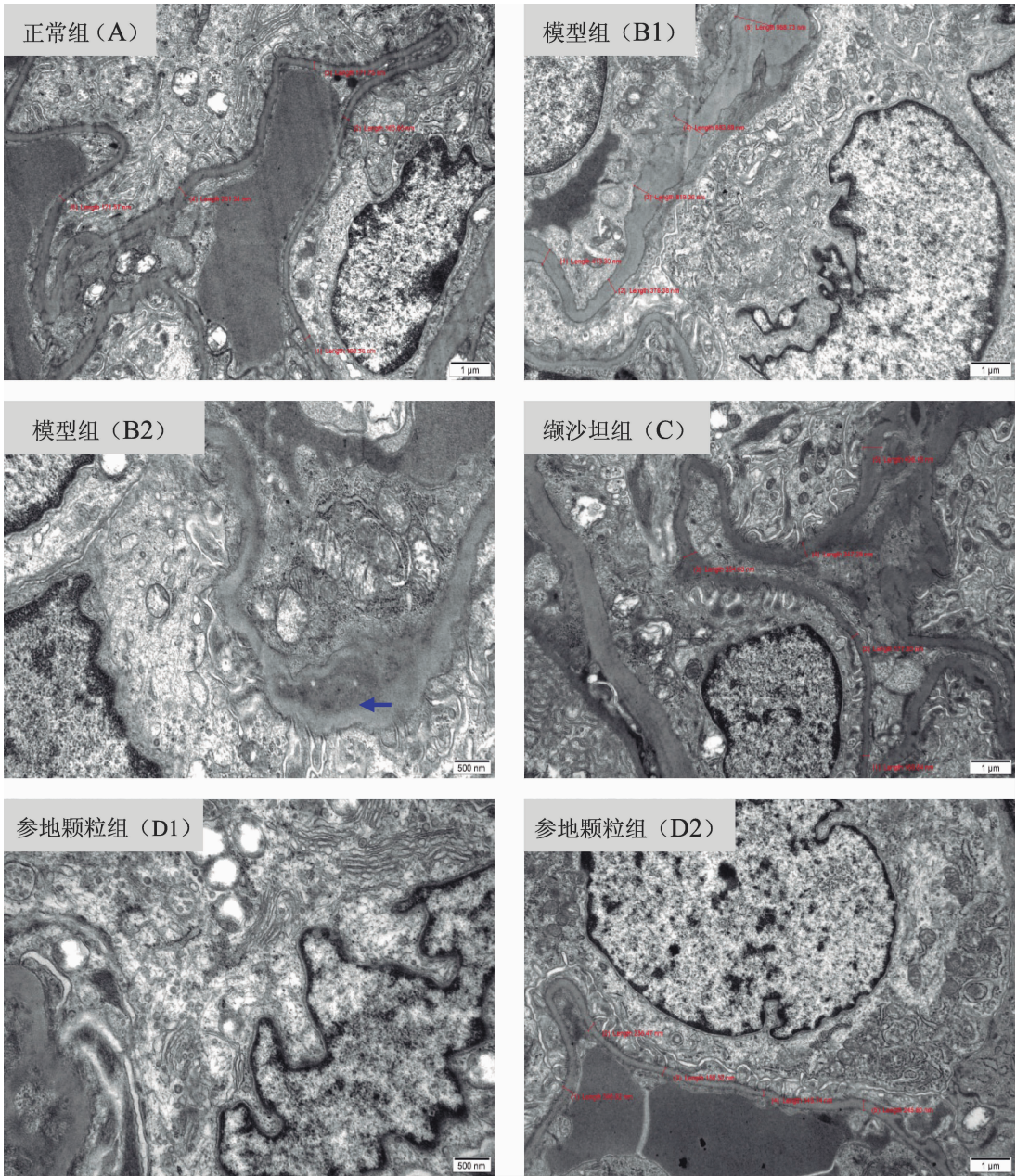
2.3 透射电镜观察 正常组大鼠的肾小球足细胞结构正常,未见足突融合,基底膜均匀且未见增厚,上皮皮下未见电子致密物形成(图 1A)。模型组大鼠的足突可见大部分融合或消失,基底膜弥漫性增厚,上皮皮下

| 表 3 各组大鼠肾组织中 WT-1 及 miRNA-193a mRNA 表达比较( $\bar{x}\pm s$ ) |          |                        |                         |
|------------------------------------------------------------|----------|------------------------|-------------------------|
| 组别                                                         | <i>n</i> | WT-1                   | miRNA-193a              |
| 正常组                                                        | 8        | 1.00±0.28              | 1.00±0.18               |
| 模型组                                                        | 6        | 0.40±0.16*             | 1.75±0.27*              |
| 参地颗粒组                                                      | 7        | 0.64±0.17 <sup>▲</sup> | 1.27±0.20 <sup>▲△</sup> |
| 缬沙坦组                                                       | 6        | 0.53±0.28 <sup>▲</sup> | 1.35±0.12 <sup>▲</sup>  |

注:与正常组比较,\**P*<0.05;与模型组比较,<sup>▲</sup>*P*<0.05;与缬沙坦组比较,<sup>△</sup>*P*<0.05。

可见大块电子致密物沉积(图 1 B1、图 1 B2)。参地颗粒组和缬沙坦组大鼠的肾小球足突融合程度较模型组减轻,基底膜轻度增厚,伴有少量电子致密物沉积(图 1C、图 1 D1、图 1 D2)。

计算肾小球基底膜(GBM)平均厚度(TGBM):透射电镜在 1.5 万倍下随机测定连续 5 处 GBM 厚度,计算 GBM 平均厚度(TGBM)。与正常组比较,模型组大鼠的 TGBM 升高,差异具有统计学意义(*P*<0.05)。与模型组比较,参地颗粒组和缬沙坦组大鼠的 TGBM



注:蓝色箭头为电子致密物沉积;红色标记线为GBM 厚度。

图 1 电镜观察各组大鼠的肾小球超微结构图

均下降,差异具有统计学意义( $P<0.05$ );且参地颗粒组 TGBM 的变化优于缬沙坦组,差异具有统计学意义( $P<0.05$ )。见表 4。

表 4 各组大鼠肾小球基底膜(GBM)平均厚度 (TGBM)比较( $\bar{x}\pm s$ )

| 组别    | <i>n</i> | TGBM/nm                    |
|-------|----------|----------------------------|
| 正常组   | 8        | 183.74±38.12               |
| 模型组   | 6        | 690.33±274.53*             |
| 参地颗粒组 | 7        | 224.83±61.39 <sup>▲△</sup> |
| 缬沙坦组  | 6        | 307.10±139.49 <sup>▲</sup> |

注:与正常组比较,\* $P<0.05$ ;与模型组比较,<sup>▲</sup> $P<0.05$ ;与缬沙坦组比较,<sup>△</sup> $P<0.05$ 。

3 讨论

MN 是肾病综合征最主要的病理类型之一,临床上多以大量蛋白尿为主要表现,蛋白尿持续性漏出是 MN 进行性进展的要素,故减少尿蛋白是治疗 MN 的关键。MN 蛋白尿的形成与足细胞结构和功能改变有密切关系<sup>[9]</sup>。足细胞是一种分布在肾小球毛细血管基底膜外侧高度分化的内脏上皮细胞,在正常情况下,大分子蛋白等物质无法通过足细胞的足突与足突之间形成的隔膜裂孔,故足细胞被认为是构成防止血中蛋白质进入尿液的滤过屏障的最终端部分。研究已证实<sup>[10-11]</sup>,足细胞的损伤及凋亡与足细胞分子基因 WT-1 突变有关联,WT-1 基因的正常表达对保障足细胞甚至肾小球发育起着关键作用。Wagner N<sup>[12]</sup>等通过临床研究及基因敲除研究发现,构成足细胞的两种关键蛋白 nephrin 及 podocalyxin 在肾小球滤过中至关重要,而这两种蛋白的正常表达依赖 WT1 基因的调控,因此,WT1 基因表达的下调,影响足细胞的形态及功能,加重了蛋白尿的漏出及肾脏的病理损伤。WT1 的转录是由 miRNAs 反向调控<sup>[13]</sup>,miRNAs 是一类由 20~25 个核苷酸组成的非编码微小 RNA,其通过参与转录来降低目标基因的表达来改变机体病理生理机制。miR-193a 正是通过调控 WT-1 的表达来影响足细胞表型。miR-193a 的靶点为 WT-1 基因编码区域中的一个单一结合位点,而 WT-1 基因是足突细胞表型的主控基因,起到负责编码调控足细胞转录因子的作用,维持着足细胞的正常生理功能<sup>[14]</sup>。JiaoLi<sup>[15]</sup>等通过检测 SD 大鼠肾组织中凋亡因子

Caspase-3、Bax 和 Bcl-2 的蛋白表达发现,当抑制 miR-193a 的表达,则 Caspase-3、Bax 的表达也不再上调,进一步证实了下调 miR-193a 的表达可以减少足细胞的凋亡。AbheepsaMishra<sup>[16]</sup>等通过抑制人类足细胞 miR-193a 的表达,从而引起足细胞 WT1 表达的上调,进一步提示了在 miR-193a 与 WT1 表达呈负性关联。因此,可以通过抑制 miR-193a 的上调从而维护足细胞稳定。C-BSA 大鼠是制作 MN 的经典模型之一。本研究发现,C-BSA 大鼠肾组织中 miR-193a mRNA 表达量上调,WT-1 mRNA 表达量减少,提示 miR-193a 在 MN 的发生发展过程中可能起到一定的作用。

MN 按其证候特点,中医学上属于“尿浊”“水肿”等范畴。结合历代医家对膜性肾病病机的认识及本团队长期致力于中医药治疗肾小球疾病的研究,认为脾肾亏虚、瘀阻肾络是本病的基本病机<sup>[17]</sup>,故在清朝新安医学名医程林删定的《圣济总录纂要·卷十三·虚劳门》中人参汤的基础上创立了参地颗粒。方中人参为君药,补气、补肾阳、固摄精微;五味子、桑螵蛸、鸡内金固摄精微,联合熟地黄、茯苓健脾补肾,共为臣药;川芎活血化瘀,为佐使药。全方注重补肾健脾,固摄精微之效,亦不失活血化瘀通络之功。现代药理研究表明,参地颗粒中的人参具有增强免疫力、抗衰老、抗氧化应激等作用,人参皂苷 Rg1 具有维护裂孔隔膜分子的稳定的作用,促进足细胞标志蛋白 nephrin 的修复<sup>[18-19]</sup>,减轻足细胞损伤,减少蛋白尿,从而保护肾脏。五味子能增强 WT1 和 nephrin 的表达,进一步保护足细胞的稳定性和减少蛋白尿<sup>[20]</sup>。桑螵蛸具有改善免疫力、抗氧化、抗利尿等作用<sup>[21]</sup>。鸡内金具有抗氧化、改善血糖血脂水平和血流动力学参数、改善胃肠功能,从而改善膜性肾病高凝状态,缓解膜性肾病临床症状作用<sup>[22]</sup>。熟地能加强机体造血功能、调节机体自由基、提高机体免疫力、抑制细胞凋亡<sup>[23]</sup>。茯苓中的茯苓多糖可通过抑制炎症因子的释放,调节机体免疫、促进机体血液循环达到抗凝作用<sup>[24]</sup>。川芎具有减少尿蛋白、促进血液循环、抗血小板聚集、护肾抗炎等作用<sup>[25-26]</sup>。因而参地颗粒具有增强免疫力、抗氧化、促进血液循环,减轻肾脏病理损害等作用。本研究结果表明,参地颗粒通过抑制 C-BSA 大鼠肾组织中 miR-193a 表达,上调 WT-1 表达,进而减轻足细胞损伤,从而发挥降低尿蛋白作用。

## 参考文献:

- [1] XU X, WANG G B, CHEN N, et al. Long-Term exposure to air pollution and increased risk of membranous nephropathy in China[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2016, 27(12):3739-3746.
- [2] YANG S F, XIE L Y, XUE W J, et al. Leflunomide plus oral prednisone in treatment of idiopathic membranous nephropathy: a retrospective clinical study of efficacy and safety[J]. *Nephrology (Carlton)*, 2013, 18(9):615-622.
- [3] ZHANG W, REN Y P, LI J. Application of miR-193a/WT1/PODXL axis to estimate risk and prognosis of idiopathic membranous nephropathy[J]. *Ren Fail*, 2019, 41(1):704-717.
- [4] GEBESHUBER C A, KORNAUTH C, DONG L, et al. Focal segmental glomerulosclerosis is induced by microRNA-193a and its downregulation of WT1[J]. *Nat Med*, 2013, 19(4):481-487.
- [5] KIETZMANN L, GUHR S S, MEYER T N, et al. MicroRNA-193a regulates the transdifferentiation of human parietal epithelial cells toward a podocyte phenotype[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2015, 26(6):1389-1401.
- [6] 魏玲, 金华, 王亿平, 等. 参地颗粒治疗慢性肾炎脾肾亏虚证的疗效及免疫机制研究[J]. *中国中医基础医学杂志*, 2017, 23(6):821-823.
- [7] 王亿平, 张磊, 王东, 等. 参地颗粒调节系膜增生性肾小球肾炎大鼠 T 细胞亚群平衡并下调足细胞足萼糖蛋白水平[J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2017, 33(8):1014-1019.
- [8] MATHIESON P W. Update on the podocyte[J]. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 2009, 18(3):206-211.
- [9] HAN S S, YU M Y, YOO K D, et al. Loss of KLF15 accelerates chronic podocyte injury[J]. *Int J Mol Med*, 2018, 42(3):1593-1602.
- [10] MROWKA C, SCHEDL A. Wilms' tumor suppressor gene WT1: From structure to renal pathophysiologic features[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2000, 11(Suppl 16):S106-S115.
- [11] ZHANG Y Y, XU C X, YE Q, et al. Podocyte apoptosis in diabetic nephropathy by BASP1 activation of the p53 pathway via WT1[J]. *Acta Physiol (Oxf)*, 2021, 232(1):e13634.
- [12] WAGNER N, WAGNER K D, XING Y, et al. The major podocyte protein nephrin is transcriptionally activated by the Wilms' tumor suppressor WT1[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2004, 15(12):3044-3051.
- [13] ZAPATA-BENAVIDES P, Arellano-Rodríguez M, Bol-lain-Y-Goytia J J, et al. Cytoplasmic localization of WT1 and decrease of miRNA-16-1 in nephrotic syndrome[J]. *Biomed Res Int*, 2017, 2017:9531074.
- [14] CHITTIPROL S, CHEN P, PETROVIC-DJERGOVIC D, et al. Marker expression, behaviors, and responses vary in different lines of conditionally immortalized cultured podocytes[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2011, 301(3):F660-F671.
- [15] LI J, CHEN Y, SHEN L L, et al. Improvement of membranous nephropathy by inhibition of miR-193a to affect podocytosis via targeting WT1[J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120(3):3438-3446.
- [16] MISHRA A, AYASOLLA K, KUMAR V, et al. Modulation of apolipoprotein L1-microRNA-193a axis prevents podocyte dedifferentiation in high-glucose milieu[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2018, 314(5):F832-F843.
- [17] 金华, 张磊, 王亿平, 等. 参地颗粒对慢性肾炎患者外周血单个核细胞凋亡及 MCP-1 和 TGF- $\beta$ 1 的干预作用[J]. *中国免疫学杂志*, 2019, 35(24):3060-3065.
- [18] 张婕, 张黎雯, 梁亚浩, 等. 人参皂苷 Rg1 对多柔比星肾病大鼠足细胞 nephrin 的影响[J]. *医学研究生学报*, 2012, 25(6):591-596.
- [19] 刘勇, 肖伟, 肖培根, 等. 适应原与中药补益药[J]. *中国现代中药*, 2015, 17(1):1-5.
- [20] ZHANG M Z, LIU M, XIONG M, et al. Schisandra chinensis fruit extract attenuates albuminuria and protects podocyte integrity in a mouse model of streptozotocin-induced diabetic nephropathy[J]. *J Ethnopharmacol*, 2012, 141(1):111-118.
- [21] 贾坤静, 艾雪, 贾天柱, 等. 桑螵蛸生制品对小鼠免疫功能 and 抗氧化能力的影响[J]. *辽宁中医杂志*, 2016, 43(12):2610-2613.
- [22] 王会, 金平, 梁新合, 等. 鸡内金化学成分和药理作用研究[J]. *吉林中医药*, 2018, 38(9):1071-1073.
- [23] 陈金鹏, 张克霞, 刘毅, 等. 地黄化学成分和药理作用的研究进展[J]. *中草药*, 2021, 52(6):1772-1784.
- [24] 张超伟, 张钰, 苏珊, 等. 茯苓类药材本草学、化学成分和药理作用研究进展[J]. *湖北农业科学*, 2021, 60(2):9-14.
- [25] 宋炎阁. 川芎注射液联合贝那普利治疗糖尿病肾病随机平行对照研究[J]. *实用中医内科杂志*, 2019, 33(4):13-15.
- [26] 凌颖茹. 中西医结合治疗糖尿病肾病临床观察[J]. *中国民族民间医药*, 2017, 26(17):113-115.