

# 改良地黄散抑制 TGF- $\beta$ 1-CTGF 信号通路改善肾间质纤维化的研究

杨志超<sup>1</sup>, 杨建军<sup>2</sup>, 马军<sup>3</sup>, 胡向农<sup>2</sup>, 刘渊<sup>3</sup>, 张犁<sup>4</sup>

(1.南京中医药大学第一临床医学院,江苏南京 210023;2.江苏省中西医结合医院泌尿外科,江苏南京 210028;3.宜兴市中医院肾外科,江苏宜兴 214200;4.南京中医药大学附属医院,江苏南京 210029)

**摘要:**目的 研究改良地黄散对部分输尿管梗阻(PUO)大鼠肾间质纤维化作用以及探讨其可能的机制。方法 80 只 SD 大鼠,随机均分为对照组、模型组、低剂量组、高剂量组,每组 20 只。高低剂量组、模型组采用腰大肌管包埋法建立 PUO 模型,对照组仅切除左侧肾。高剂量组(2 mL/d)和低剂量组(1 mL/d)予以改良地黄散煎剂灌胃,对照组和模型组均给予等量生理盐水灌胃。分别于建模后 4 周、8 周每组取 10 只采集血、尿样本,测定各组大鼠血清肌酐(SCr)、尿素氮(BUN)、24 h 尿蛋白定量。测量肾组织大小、肾皮质厚度。制备肾组织切片,通过 HE 染色、Masson 染色,观察各组肾脏病理组织学改变,以及肾脏纤维化情况。采用免疫组织化学法检测各组大鼠转化生长因子  $\beta$ 1(TGF- $\beta$ 1)、结缔组织生长因子(CTGF)、 $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白( $\alpha$ -SMA)在肾组织的表达情况;采用 qPCR 检测 TGF- $\beta$ 1、CTGF mRNA 表达。结果 4 周时:模型组相大鼠炎性细胞浸润,局部灶状萎缩坏死,较多胶原纤维化形成。高低剂量组较模型组病理改变不明显,肾间质增宽仅有少许间质纤维化。8 周后:模型组淋巴细胞浸润,肾小球坏死,结构彻底改变。间质纤维增生网状成片。高低剂量组较模型组炎性细胞浸润较轻,胶原染色较轻淡,高剂量组变化最小。TGF- $\beta$ 1、CTGF、 $\alpha$ -SMA 蛋白平均阳性表达率两个药物治疗组与模型组相比,4 周时低剂量组均无差异,8 周时两个药物治疗组均有显著差异( $P < 0.01$ )。比较 TGF- $\beta$ 1、CTGF mRNA 表达时发现,低剂量组 4 周时与模型组相比均无差异,8 周时高剂量组与模型组相比均有差异( $P < 0.05$ )。结论 改良地黄散可能通过影响 TGF- $\beta$ 1-CTGF 信号通路,下调  $\alpha$ -SMA 的阳性表达,减轻肾纤维化的病理变化,延缓肾纤维化的发展。

**关键词:**改良地黄散;部分输尿管梗阻;肾间质纤维化;抑制作用

中图分类号:R285.5 文献标志码:A 文章编号:1672-0482(2019)01-0047-06

DOI:10.14148/j.issn.1672-0482.2019.0047

引文格式:杨志超,杨建军,马军,等.改良地黄散抑制 TGF- $\beta$ 1-CTGF 信号通路改善肾间质纤维化的研究[J].南京中医药大学学报,2019,35(1):47-52.

## Effect of Modified Rehmanniae Prescription on TGF- $\beta$ 1-CTGF Signaling Pathway to Improve Renal Interstitial Fibrosis

YANG Zhi-chao<sup>1</sup>, YANG Jian-jun<sup>2</sup>, MA Jun<sup>3</sup>, HU Xiang-nong<sup>2</sup>, LIU Yuan<sup>3</sup>, ZHANG Li<sup>4</sup>

(1. The First Clinical Medical College, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing, 210023, China; 2. Department of Urology Surgery, Chinese and Western Medicine Hospital of Jiangsu Province, Nanjing, 210028, China; 3. Department of Kidney Surgery, Chinese Medicine Hospital of Yixing City, Yixing, 214200, China; 4. Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing, 210029, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To study the effect of modified Rehmanniae Recipe on renal interstitial fibrosis in rats with partial ureteral obstruction (PUO) and to explore its possible mechanism. **METHODS** Eighty SD rats were randomly divided into control group, model group, low dose group and high dose group ( $n=20$ ). In the model group, the model of PUO was established by lumbar large muscle tube embedding method. Only the left kidney was removed in the control group. High dose group (2 mL/d) and low dose group (1 mL/d) were treated with Modified rehmanniae decoction, the control group and the model group were given the same amount of normal saline. The levels of serum creatinine (SCr), urea nitrogen (BUN) and 24 h urinary protein were determined in each group. Blood samples were collected from each group at 4th week and 8th week after modeling. Measurement of renal tissue size, renal cortical thickness. The renal histopathological changes were observed by staining with HE and Masson, and the renal fibrosis was observed. The expressions of transforming growth factor- $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1), connective tissue growth factor (CTGF) and  $\alpha$ -smooth muscle actin ( $\alpha$ -SMA) in renal tissue were detected by immunohistochemistry. The expression of TGF- $\beta$ 1 and CTGF mRNA was detected by qPCR. **RESULTS** At 4th week, inflammatory cell

收稿日期:2018-10-09

基金项目:宜兴市科技项目(2014-01576)

第一作者:杨志超,男,硕士研究生,E-mail:18252715296@163.com

通信作者:张犁,男,主任医师,主要从事泌尿系疾病的研究,E-mail:zhangli.dr@163.com

infiltration, local focal necrosis and necrosis were observed in the model group, and more collagen fibrosis was formed. Compared with the model group, the pathological changes of the high and low dose group were not obvious, and only a small interstitial fibrosis was widened. After 8 weeks: model group lymphocyte infiltration, glomerular necrosis, the structure completely changed. Interstitial fibrous hyperplasia. In the high and low dose group, the infiltration of inflammatory cells was lighter than that of the model group, the staining of the collagen was lighter and the high dose group had the smallest change. The average positive expression rate of TGF- $\beta$ 1, CTGF and  $\alpha$ -SMA protein was not significantly different between the two groups at 4th week compared with the model group. At the 8th week, the two drug treatment groups had Significant difference ( $P < 0.01$ ). Comparison of TGF- $\beta$ 1, CTGF mRNA expression was found when the low-dose group 4 weeks with model group had no differences as compared to high dose group and the model group were different ( $P < 0.05$ ) as compared to 8th week. **CONCLUSION**

Modified rhubarb may reduce the expression of TGF- $\beta$ 1-CTGF and down-regulate the expression of  $\alpha$ -SMA, reduce the pathological changes of renal fibrosis and delay the development of renal fibrosis.

**KEY WORDS:** modified rehmanniae prescription; partial ureteral obstruction; renal interstitial fibrosis; inhibitory effect

全世界慢性肾脏病发病率呈逐年上升趋势<sup>[1]</sup>,其实质是肾纤维化的发展。多种因素共同参与了肾脏纤维化的发生与发展,包括炎症细胞浸润、上皮细胞坏死,细胞外基质增多等<sup>[2]</sup>。肾纤维化的进展中涉及炎症及诸多因子的参与,是个复杂的过程。免疫细胞和肾脏固有细胞产生和分泌促纤维化细胞因子和生长因子,这些细胞因子可以促进纤维化病程<sup>[3]</sup>。其中转化生长因子- $\beta$ 1(TGF- $\beta$ 1)能够诱导上皮细胞分化,刺激成纤维细胞增殖并转分化为肌成纤维细胞,从而导致 $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白( $\alpha$ -SMA)表达增加<sup>[4]</sup>。而结缔组织生长因子(CTGF)是TGF- $\beta$ 1的下游信号因子。CTGF在肾组织中含量最高,其主要作用是刺激纤维母细胞合成ECM,抑制降解,导致ECM集聚,并促进组织修复机结构改建<sup>[5]</sup>。临床针对慢性肾病的患者,主要是并发症的治疗和危险因素的评估,尽量延缓疾病进展<sup>[6-7]</sup>,目前无较好的治疗。近些年来中药方剂或有效成分的提取治疗肾纤维化的研究越来越多,有延缓肾纤维化的作用<sup>[8-9]</sup>,前景广阔。本实验中改良地黄散由《太平圣惠方》收录的地黄散方去升麻、地骨皮、当归、木通,加用川芎、茅根、车前子而成,具有清热凉血、养阴生津功效,主治结石碎石术后尿中有血和肾间质纤维化,具有较好的疗效。方由生地黄 30 g,川芎 15 g,黄芩 15 g,赤芍 15 g,茅根 15 g,车前子 15 g,人参 6 g,生甘草 10 g 组成。实验通过观察肾组织病理及 TGF- $\beta$ 1、CTGF、 $\alpha$ -SMA 的表达,评估改良地黄散对 PUUO 模型大鼠肾纤维化的治疗作用,探讨其影响肾纤维化进展的可能机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 分组及造模

80 只雄性 SD 大鼠,体质量(250±19)g,南京市浦口区莱芙养殖场,动物许可证号:SCXK(苏)2014-0004,随机分为 4 组,分别为对照组、模型组、低剂量

组、高剂量组,每组 20 只。术前 2 h 紫外线灯照射。手术方式:①对照组仅切除左侧肾。②模型组和给药组采用腰大肌管包埋<sup>[10]</sup>改进法建立 PUUO 模型。步骤为 1.5% 戊巴比妥钠 35 mg/kg 腹腔注射麻醉,8% 硫化钠腹部脱毛、备皮、消毒。取右侧腰部切口,显露右侧输尿管上段,将输尿管自肾下极水平至髂腰血管之间分离出约 2.5 cm,在其背侧将腰大肌自肾下极 0.5 cm 水平高度始按输尿管走形钝性分离出一条深 0.5 cm,长 1 cm 沟状裂隙,将该段输尿管置于裂隙底部,间断缝合 3 针,关闭裂隙,生理盐水局部清洗,防止粘连。另左腰部 1.5 cm 长切口,行左肾切除。术间消毒,术中及术后连续 3 d 肌肉注射青霉素 4 万单位预防感染。输尿管进出腰大肌时形成两个狭窄起到挤压作用,腰大肌蠕动也可以轻微压迫输尿管。改进型 PUUO 方法可以有效模拟临床输尿管结石梗阻致肾纤维化病人,同时造模时间长,益于发挥中药方剂的功效。

### 1.2 给药及处理

将药物配成含生药 1 g/mL 的水煎剂,高剂量组予以改良地黄散煎剂 2 mL/d 灌胃(成人 20 倍);低剂量组予以改良地黄散煎剂 1 mL,并稀释成 2 mL/d 灌胃(成人 10 倍);对照组和模型组予均给予等量生理盐水灌胃,疗程均为 4 周,8 周。各组大鼠分笼普通饲料喂养,自由饮水。分别于 4 周,8 周后每组取 10 只大鼠,24 h 尿量收集,腹主动脉采血,测量大鼠质量及右肾长径大小。每组 7 只大鼠肾脏取 4% 多聚甲醛固定标本,脱水、石蜡包埋切片,同时测量最大肾皮质厚度。每组 3 只大鼠肾脏液氮保存。

### 1.3 病理及生化指标观察

各组肾组织切片行常规 HE 染色和 Masson 染色。切片中 10 个不重复视野( $\times 200$ ),观察肾小管间质病变。血肌酐、尿素氮、24 h 定量尿蛋白送由江苏省中西医结合医院检验科全自动生化仪测定。

1.4 免疫组织化学检测

采用 SP 法检测 TGF-β1、α-SMA、CTGF(TGF-β1、α-SMA、CTGF 抗体购于武汉博士德公司);60 °C 恒温箱中烘烤 20 min,常规脱蜡;PBS 冲洗 3 次,每次 5 min;3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 去离子水孵育 10 min 灭活内源性过氧化物酶活性;抗原修复;滴加正常山羊血清封闭液,室温孵育 20 min,甩去多余液体;滴加一抗,4 °C 过夜;PBS 冲洗 3 次,每次 5 min;滴加二抗,室温静置 1 h,PBS 冲洗 2~3 次,每次 5 min;滴加 SP(室温孵育 1 h),PBS 冲洗 3 次,每次 5 min;DAB 显色 10 min;自来水冲洗 10 min 终止反应;苏木精复染 2 min,盐酸酒精分化;常规脱水,封片镜检。每个肾组织制作 3 个切片,每个切片 5 个不连续视野观察,阳性反应呈棕色。

1.5 qPCR 法定量检测 TGF-β1、CTGF mRNA

每组 3 个肾组织,取 200 mg 匀浆,Trizol 提取肾脏组织中总 RNA,紫外分光光度计测定浓度与纯度。按 SYBR Premix Ex TaqTM 试剂盒说明操作,然后进行 PCR 反应。反应体系:10×PCR 缓冲液 2.5 μL,10 mmol/L dNTP 0.5 μL,25 mmol/L 氯化镁 1.5 μL,10 mmol/L 上、下游引物各 0.25 μL,10

mmol/L 探针 0.25 μL,TaqDNA 聚合酶 1.25 μL,cDNA 2 μL,再用去离子水补足至 25 μL。扩增条件:94 °C、2 min;94 °C、15 s,60 °C、15 s,72 °C、15 s,40 个循环;72 °C、10 min。TGF-β1 上游引物序列:5'-ACCCAGGAGCCACCACCTG-3',下游:5'-GC-CGCGCCCCGACCATGCTC-3';CTGF 上游引物序列:5'-ACCCAGGAGCCACCACCTG-3',下游:5'-GCCGCGCCCCGACCATGCTC-3';内参 β-actin 上游引物序列:5'-CTGTCCCTGTATGCCTCTG-3',下游:5'-ATGTCACGCACGATTTCC-3'(引物由 NCBI 查询,使用 DNAMAN 设计,经南京凯基生物公司合成)。荧光定量 PCR 读取循环阈值,计算目的基因 2<sup>-ΔΔCt</sup> 值,以目的基因 2<sup>-ΔΔCt</sup> 值为参数进行分析。试验重复 5 次。

1.6 统计学方法

采用 SPSS 21.0 软件进行统计学分析,数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, $P < 0.05$  认为有统计学意义。统计图由 GraphPad Prism7.0 绘制而成。

2 结果

2.1 大鼠生化指标

结果见表 1。

表 1 各组大鼠血肌酐、尿素氮和 24 h 尿蛋白定量比较( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	血肌酐/(μmol·L <sup>-1</sup> )		尿素氮/(mmol·L <sup>-1</sup> )		24 h 尿蛋白定量/mg	
	4 周	8 周	4 周	8 周	4 周	8 周
对照组	24.20±2.66	25.40±2.27	6.28±0.35	6.89±0.81	6.10±1.60	7.60±1.26
模型组	41.60±5.21 <sup>##</sup>	57.70±3.06 <sup>##</sup>	9.64±0.36 <sup>##</sup>	20.81±1.46 <sup>##</sup>	25.80±3.43 <sup>##</sup>	53.60±3.69 <sup>##</sup>
低剂量组	41.19±5.19	54.90±1.80	9.23±0.64 <sup>*</sup>	19.96±1.16 <sup>*</sup>	25.40±4.50	50.80±3.65 <sup>*</sup>
高剂量组	39.00±4.59 <sup>*</sup>	53.70±4.22 <sup>**</sup>	9.20±0.67 <sup>*</sup>	19.43±0.96 <sup>**</sup>	23.40±2.80	50.10±3.25 <sup>*</sup>

注:与模型组相比,\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.01$ ;与对照组相比,## $P < 0.01$ 。

2.2 大鼠物理指标

结果见表 2。

表 2 各组大鼠体质量、右肾长径和最大肾实质厚度比较( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	体质量/g		右肾长径/mm		最大肾实质厚度/mm	
	4 周	8 周	4 周	8 周	4 周	8 周
对照组	329.20±5.75	414.40±6.96	17.63±0.25	20.61±0.31	5.37±0.15	6.27±0.15
模型组	305.20±5.37 <sup>##</sup>	377.50±6.67 <sup>##</sup>	22.29±0.43 <sup>##</sup>	31.02±0.79 <sup>##</sup>	4.48±0.24 <sup>##</sup>	3.60±0.22 <sup>##</sup>
低剂量组	308.90±7.42	384.70±10.88 <sup>*</sup>	22.01±0.67	30.55±0.57 <sup>*</sup>	4.52±0.27	3.70±0.24 <sup>*</sup>
高剂量组	318.20±3.88 <sup>*</sup>	388.90±8.24 <sup>**</sup>	21.47±0.48 <sup>*</sup>	29.19±1.12 <sup>**</sup>	4.57±0.20	3.73±0.25 <sup>*</sup>

注:与模型组相比,\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.01$ ;与对照组相比,## $P < 0.01$ 。

2.3 HE 染色

4 周后对照组肾小管排列整齐,肾小球结构正常肾间质无异常改变,无纤维组织增生。模型组肾小管轻度扩张上皮细胞脱落,炎细胞浸润,局部灶状萎缩坏死。肾小球基本结构改变,球内细胞萎缩。肾间质增宽,有较多淋巴细胞、巨噬细胞等炎症细胞

浸润小灶性少量分布,较多胶原纤维化形成。两个药物组小管轻度扩张,上皮细胞肿胀,空泡变性。偶见坏死肾小球,病理改变不明显。肾间质增宽有少许间质纤维化。8 周后对照组小管排列仍整齐,肾小球结构基本未变,肾间质偶有少量纤维组织增生。模型组肾小管弥漫性单核细胞、淋巴细胞浸润,坏

死。增生的纤维结缔组织替代上皮组织细胞，肾小球坏死，结晶样沉积，结构彻底改变。间质纤维增生呈束状、多灶状或网状成片。见图 1。

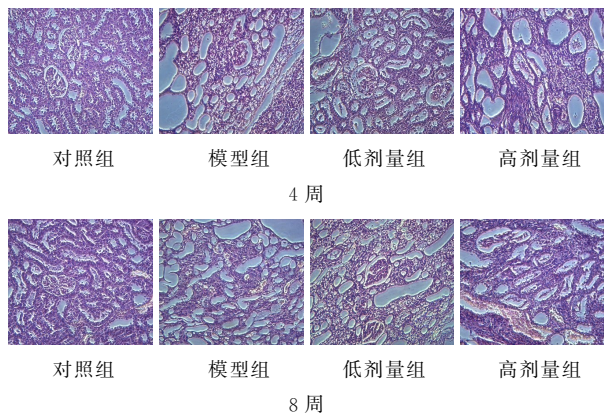


图 1 大鼠肾脏病理变化(HE, ×200)

### 2.4 Masson 染色

各组大鼠肾脏组织 Masson 染色光学显微镜观察发现:对照组胶原染色主要位于小管基底膜及其周围,第 8 周与第 4 周相比无显著变化。模型组第 4 周即可见胶原纤维紊乱,肾间质增宽胶原纤维化形成。第 8 周基膜裸露,肾间质极度紊乱,弥漫性纤维化形成给药组第 4 周也可见少量纤维化形成,但对比模型组程度较轻。第 8 周也可见肾脏组织内小管和间质胶原纤维化形成增多,肾间质局灶性纤维化形成。两个药物组与模型组相比,病理变化较轻。见图 2。

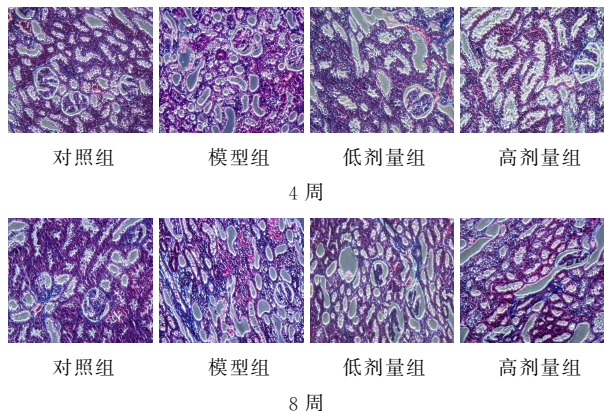


图 2 大鼠肾脏病理变化(Masson, ×200)

### 2.5 改良地黄散对各组大鼠 $\alpha$ -SMA、TGF- $\beta$ 1 及 CTGF 蛋白水平的影响

免疫组织化学检测结果显示,  $\alpha$ -SMA、TGF- $\beta$ 1 和 CTGF 均沿肾小管间质、小血管壁分布,亦见于细胞胞浆中。第 4 周时,模型组  $\alpha$ -SMA、TGF- $\beta$ 1 和 CTGF 较两个药物组阳性面积百分比高,表达染色较深,对照组表达则较少,颜色比较浅;第 8 周时,

模型组  $\alpha$ -SMA、TGF- $\beta$ 1 和 CTGF 广泛表达分布,与两个药物组相比差异明显,对照组变化则较小。见图 3~6。

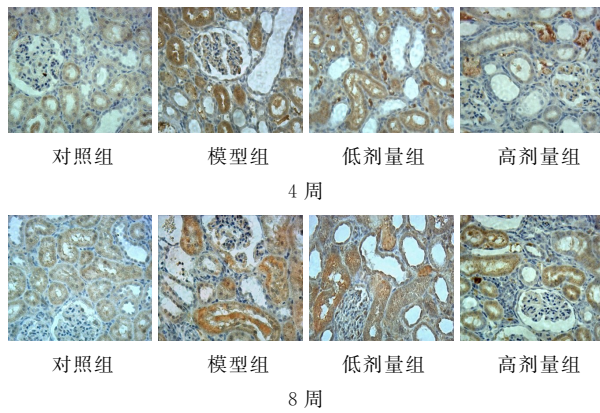


图 3 TGF- $\beta$ 1 在大鼠肾组织中的分布情况(×400)

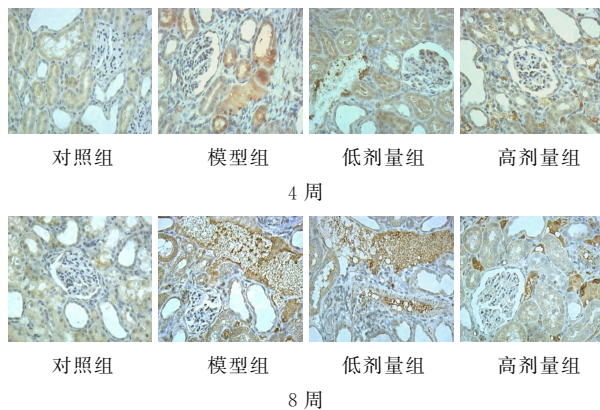


图 4 CTGF 在大鼠肾组织中的分布情况(×400)

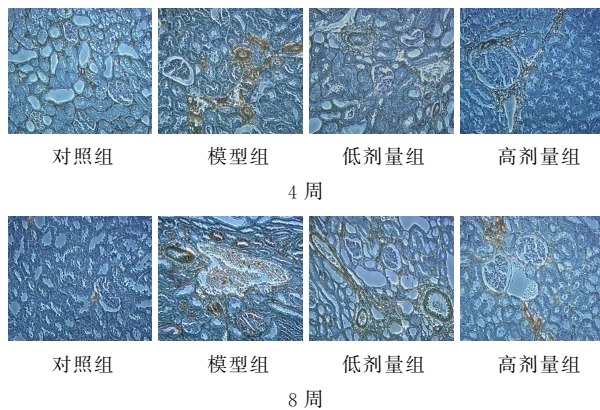
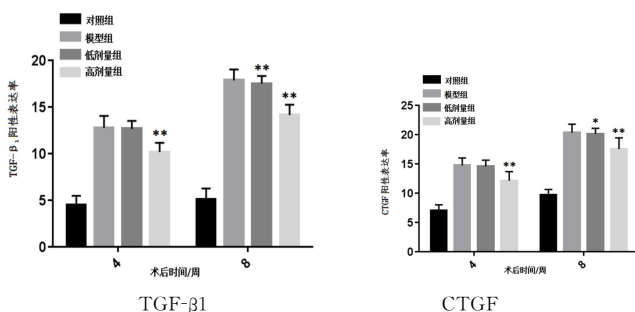
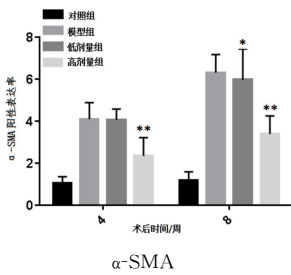


图 5  $\alpha$ -SMA 在大鼠肾组织中的分布(×200)



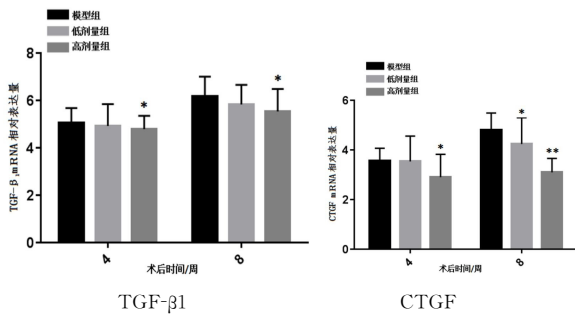


注:与模型组相比,\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.01$ 。 $\bar{x} \pm s, n = 7$ 。

图6 免疫组织化学阳性表达率

## 2.6 改良地黄散对各组大鼠 TGF-β1 及 CTGF mRNA 水平的影响

与模型组相比,两个药物组 TGF-β1 和 CTGF mRNA 表达略低。其中低剂量组与模型组相比,第 4、8 周 TGF-β1 表达均无差异,CTGF 第 4 周时也无差异。高剂量组与模型组相比,TGF-β1、CTGF 第 4、8 周时 mRNA 表达均有差异( $P < 0.05$ )。见图 7。



注:与模型组相比,\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.01$ 。 $\bar{x} \pm s, n = 3$ 。

图7 大鼠 TGF-β1、CTGF mRNA 水平的变化

## 3 讨论

肾纤维化是各种慢性肾脏病发展为终末期肾脏病的共同途径<sup>[11]</sup>,而炎症反应是肾间质纤维化早期启动因素之一<sup>[12]</sup>,未被调控的炎性反应又会促进肾纤维化的进程<sup>[13]</sup>。其主要病理特征表现为肾间质成纤维细胞增生及细胞外基质(ECM)过度沉积<sup>[14]</sup>。而 α-SMA 是活化的成纤维细胞的常用蛋白标志物,参与基质的合成<sup>[15]</sup>。多种肾脏固有细胞向肌成纤维细胞表型转分化均有 α-SMA 蛋白表达<sup>[16]</sup>。抑制 α-SMA 生成或干扰其作用过程可有效防治肾小球硬化<sup>[17]</sup>。肾纤维化的发生涉及诸多信号因子,其中转化生长因子 TGF-β1 能直接促进间质成纤维细胞合成胶原,促进肾小管上皮细胞-间充质转化。而 CTGF 是 TGF-β1 的下游信号因子,由 TGF-β1 诱导产生<sup>[18-19]</sup>,正常肾脏组织 CTGF 表达量较少。CTGF 和 TGF-β1 协同作用,不仅能使肾小球系膜细胞肥大迁移,还能介导系膜细胞产生胶原蛋白,导

致 ECM 的沉积<sup>[20]</sup>。但由于其病理机制复杂,尚无有效的抗肾纤维化的治疗方法<sup>[21]</sup>。

PUUO 模型致纤维化由 UUO 模型改进而来,其优点是纤维化进展较缓,造模时间长,肾脏病理变化不如 UUO 模型急剧,可有效模拟临床结石梗阻型患者。同时,可以有效体现中药起效时间长的优势,一般造模后中药灌胃可达数月,充分发挥中药方剂药性。本研究主要通过改良地黄散影响 PUUO 大鼠肾纤维化过程,观察改良地黄散能否下调 TGF-β1 等促肾纤维化的细胞信号因子释放,抑制肾间质的炎症反应。实验结果显示,PUUO 大鼠肾脏生理逐步变化,起初上皮细胞脱落,炎细胞浸润,逐渐肾小管轻度扩张,肾小球结构也发生改变,球内细胞萎缩。肾间质增宽,最后形成较多胶原纤维化。而两个药物组虽然也有炎症反应、胶原纤维的形成,但上皮细胞空泡变性、球内细胞萎缩相对较少,胶原纤维起初也只有少量形成,纤维化进程较为缓慢,病理变化较轻。同时高剂量组病理变化较低剂量组干预效果更加明显。说明改良地黄散可通过抑制炎症细胞在肾小管和肾间质的聚集,减缓上皮细胞变性萎缩,延缓 PUUO 大鼠的肾纤维化病理变化进展。另外实验中发现 α-SMA、TGF-β1 和 CTGF 的表达在不同小组中有较大的差异。4 周时,模型组 α-SMA、TGF-β1 和 CTGF 较 2 个药物组表达较高,免疫组织化学法表达染色较深,对照组表达则很少,颜色很浅,高低剂量组则可能因治疗药物的干预表达也相对较少,且高剂量组效果更加明显;第 8 周时,模型组 α-SMA、TGF-β1 和 CTGF 已经广泛表达分布。而两个治疗组变化不是十分明显,免疫组织化学阳性面积表达率与模型组相比均有显著差异( $P < 0.01$ )。提示改良地黄散可抑制 TGF-β1 水平,下调结缔组织生长因子 CTGF,并且减少 α-SMA 的表达。

生地黄具有清热凉血、益阴生津之功效;黄芩清热燥湿,凉血安胎,解毒;赤芍除血痹,破坚积;车前子利尿;茅根凉血止血,诸药配伍对肾纤维化具有良好的治疗效果。而现代药理研究提示,川芎中的川芎嗪是从活血化瘀的根茎中提取的生物碱单体,具有显著抗肾间质纤维化的作用<sup>[22]</sup>。人参含有多种有效活性成分具有增强免疫力、抑制血管内皮细胞增殖、抗炎、抗氧化等作用<sup>[23]</sup>。黄芩素、黄芩苷则可抑制炎症反应和诸多炎症介质的释放<sup>[24-25]</sup>,芍药根提取物在抗肝纤维化中能抑制 α-SMA 的表达<sup>[26]</sup>,

芍药苷能抑制 TGF-β1 的表达<sup>[27]</sup>。中医学认为肾纤维化的病因病机是本虚标实,虚实夹杂;脾肾亏虚为本,瘀血、湿浊、湿热、毒邪为标。改良地黄散方有益气补肾,活血化瘀解毒,通腑泄浊等功效,因此对部分性肾梗阻性所致的肾间质纤维化具有治疗作用。

本研究中,通过病理观察及相关数据比较,改良地黄散药物相互配伍发挥药性,可能通过下调 TGF-β1-CTGF 信号通路水平,并减少 α-SMA 蛋白的表达,改善肾脏纤维化病理变化,影响 PUUO 模型大鼠肾间质纤维化的进展,具有较好的治疗效果。

参考文献:

[1] KHWAJA A, EL KOSSI M, FLOEGE J, et al. The management of ckd: A look into the future[J]. *Kidney Int*, 2007, 72(11): 1316-1323.

[2] LIU Y. Renal fibrosis: New insights into the pathogenesis and therapeutics[J]. *Kidney Int*, 2006, 69(2): 213-217.

[3] JI NF, YAO LS, LI Y, et al. Polysaccharide of cordyceps sinensis enhances cisplatin cytotoxicity in non-small cell lung cancer H157 cell line[J]. *Integr Cancer Ther*, 2011, 10(4): 359-367.

[4] LIU Y. New insights into epithelial-mesenchymal transition in kidney fibrosis[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2010, 21(2): 212-222.

[5] 车丽双. TGF-β1 与 CTGF 在肾间质纤维化中的作用[J]. *医学综述*, 2013, 19(4): 624-626.

[6] BOOR P, SEBEKOVA K, OSTENDORF T, et al. Treatment targets in renal fibrosis[J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2007, 22(12): 3391-3407.

[7] TURNER JM, BAUER C, ABRAMOWITZ MK, et al. Treatment of chronic kidney disease[J]. *Kidney Int*, 2012, 81(4): 351-362.

[8] 徐剑,袁红伶,倪凯,等.翠云草对单侧输尿管梗阻大鼠肾间质纤维化抑制作用研究[J]. *上海交通大学学报(医学版)*, 2016, 36(12): 1689-1696.

[9] LI Y, GE Y, LIU FY, et al. Norcantharidin, a protective therapeutic agent in renal tubulointerstitial fibrosis[J]. *Mol Cell Biochem*, 2012, 361(1/2): 79-83.

[10] 杨关天,杨建军,姚茂银.输尿管部分梗阻与肾小管间质纤维化[J]. *医学研究生学报*, 2006, 3: 252.

[11] BOOR P, OSTENDORF T, FLOEGE J. Renal fibrosis: novel insights into mechanisms and therapeutic targets[J]. *Nat Rev Nephrol*, 2010, 6(11): 643-656.

[12] VERNON MA, MYLONAS KJ, HUGHES J. Macrophages and renal fibrosis[J]. *Semin Nephrol*, 2010, 30(3): 302-317.

[13] MENG XM, NIKOLIC-PATERSON DJ, LAN HY. Inflammatory processes in renal fibrosis[J]. *Nat Rev Nephrol*, 2014, 10(9): 493-503.

[14] ZEISBERG M, NEILSON EG. Mechanisms of tubulointerstitial fibrosis[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2010, 21(11): 1819-1834.

[15] QI W, CHEN X, PORONNIK P, et al. The renal cortical fibroblast in renal tubulointerstitial fibrosis[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2006, 38(1): 1-5.

[16] SILVA GE, COSTA RS, RAVINAL RC, et al. Mast cells, TGF-β1 and α-SMA expression in IgA nephropathy[J]. *Dis Markers*, 2008, 24(3): 181-190.

[17] RISER BL, NAJMABADI F, PERBAL B, et al. CCN3(NOV) is a negative regulator of CCN2 (CTGF) and a novel endogenous inhibitor of the fibrotic pathway in an in vitro model of renal disease[J]. *Am J Pathol*, 2009, 174(5): 1725-1734.

[18] WANG YN, LIN C, REN Q, et al. Astragaloside effect on TGF-β1, SMAD2/3, and α-SMA expression in the kidney tissues of diabetic KKAY mice[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(6): 6828-6834.

[19] SAMUEL A, BLACK JR, TRACKMAN PC. Transforming growth factor-β1 (TGFβ1) stimulates connective tissue growth factor (CCN2/CTGF) expression in human gingival fibroblasts through a RhoA independent, Rac1/Cdc42-dependent mechanism: Statins with forskolin block TGFβ1-induced CCN2/CTGF expression[J]. *Biol Chem*, 2008, 283(16): 10835-10847.

[20] HAYDONT V, RISER BL, AIGUEPERSE J, et al. Specific signals involved in the long-term maintenance of radiation-induced fibrogenic differentiation; a role for CCN2 and low concentration of TGF-beta1[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2008, 294(6): 1332-1341.

[21] TURNER JM, BAUER C, ABRAMOWITZ MK, et al. Treatment of chronic kidney disease[J]. *Kidney Int*, 2012, 81(4): 351-362.

[22] 吴小南,吴异兰,陈洁.川芎嗪对高糖诱导的人肾小管上皮细胞转分化的影响[J]. *中国全科医学*, 2009, 12(5): 843-846.

[23] 李珊珊,金银萍,姚春林,等.人参多糖的结构与活性研究进展[J]. *中国中药杂志*, 2014, 39(24): 4709-4714.

[24] FAN GW, ZHANG Y, JIANG X, et al. Anti-inflammatory activity of baicalein in LPS-stimulated RAW264.7 macrophages via estrogen receptor and NF-kappaB-dependent pathways[J]. *Inflammation*, 2013, 36: 1584-1591.

[25] YANG YZ, TANG YZ, LIU YH. Wogonoside displays anti-inflammatory effects through modulating inflammatory mediator expression using RAW264.7 cells[J]. *J Ethnopharmacol*, 2013, 148: 271-276.

[26] KUO JJ, WANG CY, LEE TF, et al. Paeoniae Radix reduces PDGF-stimulated hepatic stellate cell migration[J]. *Planta Med*, 2012, 78(4): 341-348.

[27] HU ZT, GAO SL, QIN F, et al. Effect of paeoniflorin on TGF-β/smad signal transduction pathway in rats with radiation-induced hepatic fibrosis[J]. *Pharm J Chin PLA*, 2012, 28(4): 283-288.

(编辑:董宇)