

# 芪归益肾方对 UUO 小鼠肾组织 TGF- $\beta_1$ /Smads/PI3K 信号通路的影响

杨彦裕<sup>1,2</sup>, 魏明刚<sup>1\*</sup>, 刘蔚<sup>1</sup>, 顾冬梅<sup>1</sup>

(1. 苏州大学附属第一医院, 苏州 215006; 2. 青海省人民医院, 西宁 810007)

**[摘要]** **目的:**利用单侧输尿管梗阻(UUO)模型探讨芪归益肾方通过调控转化生长因子- $\beta_1$ (TGF- $\beta_1$ )/Smads/磷脂酰肌醇 3 激酶(PI3K)信号通路延缓肾脏纤维化进展的机制。**方法:**Balb/C 小鼠 32 只,制造 UUO 肾病模型,根据干预的药物分为芪归益肾方组(中药组,10 g·kg<sup>-1</sup>),洛汀新组(10 mL·kg<sup>-1</sup>),模型组,假手术组。实验结束后取肾组织采用苏木素-伊红(HE)染色及 Masson 染色进行病理学检测,观察肾小管-间质指数的变化;采用免疫组化检测肾组织中 TGF- $\beta_1$ , Smads, PI3K, 纤维连接蛋白(FN)蛋白的表达,蛋白免疫印迹(Western blot)及逆转录-聚合酶链式反应(RT-PCR)方法对肾组织的 TGF- $\beta_1$ , PI3K 蛋白及 mRNA 表达进行分析。**结果:**与假手术组比较,模型组肾小管-间质指数明显升高,免疫组化显示 TGF- $\beta_1$ , Smads, FN 蛋白表达均明显升高,PI3K 蛋白表达明显降低( $P < 0.05$ ),TGF- $\beta_1$  蛋白及 mRNA 表达明显升高,PI3K 蛋白及 mRNA 表达明显降低( $P < 0.05$ );与模型组比较,中药组和洛汀新组明显降低肾小管-间质指数,免疫组化显示明显降低 TGF- $\beta_1$ , Smads, FN 蛋白表达,明显升高 PI3K 蛋白表达( $P < 0.05$ ),明显降低 TGF- $\beta_1$  蛋白及 mRNA 表达,明显升高 PI3K 蛋白及 mRNA 表达( $P < 0.05$ )。**结论:**芪归益肾方对于 UUO 模型小鼠延缓肾脏纤维化有较好的治疗作用,其作用机制可能与调控 TGF- $\beta_1$ /Smads/PI3K 信号通路有关。

**[关键词]** 芪归益肾方; 调控; 细胞信号通路; 肾脏纤维化

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)06-0089-05

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2016060089

## Effects of Qigui Yishen Formulae on TGF- $\beta_1$ /Smads/PI3K Signaling Pathway in Renal Tissues of UUO Model Mice

YANG Yan-yu<sup>1,2</sup>, WEI Ming-gang<sup>1\*</sup>, LIU Wei<sup>1</sup>, GU Dong-mei<sup>1</sup>

(1. The First Affiliated Hospital of Soochow University, Suzhou 215006, China;

2. Qinghai Province People's Hospital, Xining 810007, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study the effects of Qigui Yishen formulae on unilateral ureteral obstruction (UUO) model rats and investigate its mechanism in delaying renal fibrosis progress by regulating the transforming growth factor- $\beta_1$  (TGF- $\beta_1$ ) /Smads/phosphatidylinositol 3 kinase (PI3K) signaling pathway. **Method:** Thirty two Balb/C mice were used to establish UUO renal disease model, and divided into four groups according to intervention drugs: Qigui Yishen formulae group (Chinese medicine group, 10 g·kg<sup>-1</sup>), Lotensin group (10 mL·kg<sup>-1</sup>), model group and sham-operation group. After experiment, the renal tissues were taken, HE staining and Masson staining were used for pathological detection, and the changes in renal tubular-interstitial index were observed. Immunohistochemistry examination was used to detect the protein expression of TGF- $\beta_1$ , Smads, PI3K and fibronectin (FN). The protein and mRNA expressions of TGF- $\beta_1$  and PI3K were analyzed by RT-PCR and Western blot. **Result:** Compared with the sham operation group, renal tubular-interstitial index was

**[收稿日期]** 20150106(020)

**[基金项目]** 国家自然科学基金面上项目(81273723,81473633);江苏省中医药管理局项目(LZ13235);苏州大学“专业学位硕士案例教材建设”项目(58320939)

**[第一作者]** 杨彦裕, 硕士, 住院医师, 从事中西医结合肾脏病方向研究, Tel:13897419174, E-mail:289503943@qq.com

**[通讯作者]** \* 魏明刚, 博士, 副教授, 从事中医药防治肾脏病的基础与临床研究, Tel:13813791993, E-mail:weiminggang@suda.edu.cn

significantly increased in model group, and the immunohistochemistry examination results showed that TGF- $\beta_1$  protein and mRNA expressions, Smads, and FN protein expressions were significantly increased, while PI3K protein expression and mRNA expression were significantly reduced ( $P < 0.05$ ). Compared with the model group, renal tubular-interstitial index was significantly reduced in Chinese medicine group and Lotensin group, and the immunohistochemistry examination results showed that TGF- $\beta_1$  protein and mRNA expressions, Smads, and FN protein expressions were significantly reduced ( $P < 0.05$ ), while PI3K protein expression and mRNA expression were significantly increased ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** Qigui Yishen formulae had treatment effects on delaying renal fibrosis progress in UUO model rats. The mechanism of action might be associated with regulating TGF- $\beta_1$ /Smads/PI3K signaling pathway.

[ **Key words** ] Qigui Yishen formulae; regulation; cell signaling pathway; renal fibrosis

慢性肾脏病导致尿毒症是肾脏疾病的最终转归,如何治疗和延缓慢性肾脏病的病变发展也是肾脏病领域的难题之一。因此,对于本病的认识及治疗具有较高的研究价值。肾脏纤维化是慢性肾脏病主要的病理学因素。延缓肾脏纤维化是减轻慢性肾脏病情发展、降低尿毒症发病率的重要策略。然而肾脏纤维化本身病变过程非常复杂。真正的认识肾脏纤维化的发病过程并找出治疗靶点是延缓肾脏纤维化、治疗慢性肾脏病的核心问题。

以往认为转换生长因子- $\beta_1$  (TGF- $\beta_1$ ) 在肾脏纤维化病变进程中起着极其重要的作用,这一观点得到了广泛的认可<sup>[1-3]</sup>。但是,TGF- $\beta_1$  仅仅是导致病情发展的上游细胞因子,对于病情的调控和治疗靶点的选择起到引导作用。课题组从 2002 年开始应用中医药对慢性肾脏病进行诊治,通过一系列的基础和临床研究发现加味当归补血汤对调控细胞因子、延缓肾脏纤维化具有较好的疗效并形成了“健脾益肾、活血通络”的治疗原则,在此基础上将方剂进一步化裁,命名为芪归益肾方<sup>[4-6]</sup>。进一步的研究发现,以芪归益肾方为基础的相关研究对于肾脏纤维化具有明显的治疗效果,其机制可能是通过干预 TGF- $\beta_1$ /Smads 信号通路减少 ECM 聚集进而延缓肾脏纤维化进程。课题组认为芪归益肾方延缓肾脏纤维化的机制可能与调控细胞信号通路转导相关,本研究主要探讨芪归益肾方调控 TGF- $\beta_1$  及下游信号通路磷脂酰肌醇 3-激酶 (PI3K) 等表达,从而延缓肾脏纤维化的进程,为芪归益肾方对肾脏纤维化的治疗机制寻找实验依据。

## 1 材料

**1.1 动物** 选用雄性 Balb/C 小鼠 32 只,体重 (20 ± 2) g,SPF 级,由昭衍(苏州)新药研究中心有限公司提供,合格证号 SCXK(苏)2013-0003。

**1.2 药物及试剂** TGF- $\beta_1$  抗体(批号 ab64715),

Smad2 抗体(批号 ab33875), Smad2/3 抗体(批号 ab28379), PKC 抗体(批号 ab31), PI3K 抗体(批号 ab86714), GAPDH 抗体(批号 ab9485), 均由英国 Abcam 公司提供。其他所有试剂均为国产分析纯。黄芪(批号 130202-1), 当归(批号 130408-1), 川芎(批号 130410-1), 怀牛膝(批号 130409-1), 以上中药由苏州天灵药业有限公司提供,由苏州大学附属第一医院制剂室进行制备,最终按 1 g·mL<sup>-1</sup> 药物浓缩进行加工;洛汀新(北京诺华药物制药有限公司,批号 X2106)。所有药材经由苏州大学附属第一医院药学部程宗琦主任药师鉴定均符合 2010 年版《中国药典》相关项下要求。药物剂量及浓度根据体内外预实验的研究结果确定。逆转录-聚合酶链式反应(RT-PCR)试剂盒(美国 Promega 公司,批号 A3500), dNTPs(批号 CBF4901A), MgCl<sub>2</sub>(批号 AB401A), Taq PCR 聚合酶(批号 DR100AM), PCR DL2000 Marker(批号 D501A), 均为 TaKaRa 公司产品;DEPC(美国 Amresco 公司分装,批号 E174), Tris-base(美国 Amresco 公司分装,批号 D0194)。

**1.3 仪器** 550 型酶联免疫检测仪(美国 Bio-Rad 公司), Hybaid Express PCR 扩增仪(英国 Hybaid 公司), EC250-90 型电泳仪(美国 EC 公司), DYY-III30 型电泳槽(北京君意东方电泳设备有限公司), Alpha Imager 2000 型凝胶图象系统(美国 Alpha 公司)。

## 2 方法

**2.1 动物分组及给药** 将 32 只小鼠适应饲养 1 周,普通饮食,自由进水。根据随机数字表法随机分为假手术组、模型组、洛汀新组、中药组。各组在 2% 戊巴比妥麻醉下行左侧输尿管结扎术。小鼠在固定器上固定后,腹部消毒,延腹正中中线切开皮肤,剪开腹膜,暴露左侧肾脏及输尿管,游离输尿管后以 5/0 号手术线做结扎,生理盐水冲洗后关腹并逐层缝合腹膜及皮肤,假手术组仅以手术线穿过输尿管,

余步骤与手术组相同。术后第 2 日开始 *ig*。*ig* 混悬液按照人常规剂量与小鼠用药的换算关系,确定小鼠 *ig* 量:按照  $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$  体重计算药物质量浓度和使用量<sup>[7]</sup>;假手术组、模型组均按体重灌  $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$  体重的生理盐水。以开始 *ig* 记为实验第 1 日,第 10 日将小鼠颈椎脱臼处死,快速剖取左肾,分别进行病理及分子生物学检测。

**2.2 光学显微镜检测** 将手术侧肾组织以 10% 甲醛固定后,脱水、浸蜡、石蜡包埋,切成  $2 \mu\text{m}$  厚度的切片,每组 8 张切片,进行苏木素-伊红 (HE), Masson 染色,每张切片随机观察 8~10 个肾小球以及肾小管-间质病理变化。采用半定量分级积分从 0~2 分计算<sup>[8]</sup>。

**2.3 免疫组织化学检测** 取材见 HE 染色相关步骤;采用两步法进行免疫组织化学染色。使用半定量法计数方法即根据每张切片阳性细胞的面积及阳性细胞区域的着色强度进行分级评分,根据两者乘积的积分进行统计分析。检测肾组织中  $\text{TGF-}\beta_1$ , Smad2/3 及 PI3K 表达。每组 8 张切片,每张切片随机观察 8~10 个区域的病理变化。应用病理图文分析软件进行表达程度的分析。

**2.4 分子生物学检测**

**2.4.1 采用蛋白免疫印迹 (Western blot) 法** Western blot 检测肾皮质  $\text{TGF-}\beta_1$ , PI3K 蛋白表达。取各组小鼠肾皮质,组织裂解液 ( $30 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  Tris,  $\text{pH} 7.5$ ,  $150 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  NaCl,  $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  PMSF,  $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$   $\text{Na}_3\text{VO}_4$ , 1% NonidetP-40, 10% glycerol) 在研磨器中研磨,离心取上清液即为总蛋白。每孔加  $75 \mu\text{g}$  总蛋白进行 8% SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳,湿转至硝酸纤维素膜。5% 脱脂奶室温封闭 60 min,加 1 抗于  $4 \text{ }^\circ\text{C}$  过夜。然后加相应辣根过氧化物酶 (HRP) 标记的羊抗兔 IgG (TBST 稀释 1:5 000) 室温反应 120 min 用 ECL 化学发光剂在 X 射线片上曝光,显影、定影、冲洗晾干后扫描蛋白条带。以  $\beta$ -actin 为内参,采用 Cymentre2000 柯达活体成像仪进行定量分析<sup>[8]</sup>。

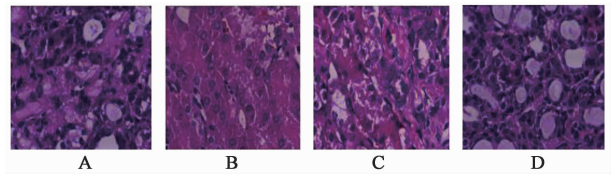
**2.4.2 RT-PCR 检测目的蛋白**  $\text{TGF-}\beta_1$ , PI3K 的引物序列是根据网上 NCBI 数据库中各自基因序列设计获得,由上海生工生物技术有限公司合成。取各组小鼠肾皮质,采用异硫氰酸胍-酚-二氯甲烷一步法抽提总 RNA,以分光光度法测 RNA 含量与纯度后,在  $-80 \text{ }^\circ\text{C}$  环境中保存。取总 RNA  $5 \mu\text{g}$ ,逆转录试剂盒逆转录 cDNA。取 PCR 产物  $5 \mu\text{L}$ ,加入  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  溴酚蓝指示剂  $1 \mu\text{L}$ ,进行 1.2% 琼脂糖凝胶电泳,

Alpha Imager 2000 凝胶图像系统对凝胶进行拍照、积分吸光度数据分析,以甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (GAPDH) 作为内参照,结果分别与 GAPDH 对照,数值以两者积分吸光度比值表示。PCR 扩增反应各自分别重复 3 次;扩增条件为  $95 \text{ }^\circ\text{C}$  预热 9 min,  $95 \text{ }^\circ\text{C}$  变性 30 s,  $58 \text{ }^\circ\text{C}$  退火 30 s,  $72 \text{ }^\circ\text{C}$  延伸 1 min, 35 个循环。

**2.5 统计学分析** 采用 SPSS 14.0 统计软件进行分析,样本数据采用  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较采用方差分析,方差不齐时采用秩和检验,以  $P < 0.05$  为差异有统计学差异。

**3 结果**

**3.1 对 UUO 肾病小鼠组织病理学及肾脏小管病变-间质指数的影响** 假手术组肾脏组织正常,无病理变化;模型组小鼠肾脏小管间炎症较明显;芪归益肾方组及洛汀新组小鼠肾脏小管间炎症较明显明显减轻。与正常组比较,模型组肾脏小管病变-间质指数明显升高 ( $P < 0.05$ );与模型组比较,芪归益肾方组及洛汀新组明显降低肾脏小管病变-间质指数。见图 1, 2, 表 1。



A. 模型组; B. 假手术组; C. 洛汀新组; D. 芪归益肾方组 (图 2~5 同)

图 1 芪归益肾方对 UUO 肾病小鼠组织病理学的影响 (HE,  $\times 400$ )  
Fig.1 Effects of Qigui Yishen formulae on renal histopathology in UUO nephropathy of rats (HE,  $\times 400$ )

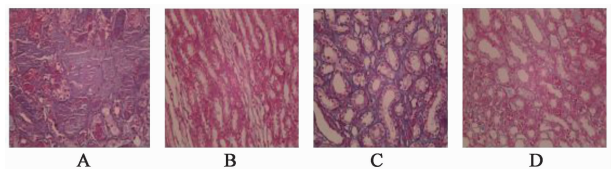


图 2 芪归益肾方对 UUO 肾病小鼠肾脏组织病理学的影响 (Masson,  $\times 400$ )

Fig.2 Effects of Qigui Yishen formulae on renal histopathology in UUO nephropathy of rats (Masson,  $\times 400$ )

表 1 芪归益肾方对 UUO 肾病小鼠肾脏小管病变-间质指数的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

Table 1 Effects of Qigui Yishen formulae on renal tubulointerstitial injuer index in UUO nephropathy of rats ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	肾小管-间质指数
假手术	-	$2.72 \pm 0.56$
模型	-	$8.39 \pm 0.96^{(1)}$
洛汀新	$1 \times 10^{-3}$	$6.84 \pm 0.76^{(2)}$
芪归益肾方	10	$4.61 \pm 0.83^{(2,3)}$

注:与假手术组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ ;与模型组比较<sup>2)</sup>  $P < 0.05$ ;与洛汀新组比较<sup>3)</sup>  $P < 0.05$  (表 2, 3 同)。

**3.2 对小鼠肾组织 TGF- $\beta_1$ , Smad2/3, PI3K, FN 蛋白表达的影响** 与假手术组比较,模型组小鼠肾组织 TGF- $\beta_1$ , Smad2/3, FN 蛋白表达明显升高, PI3K

蛋白表达明显降低 ( $P < 0.05$ ); 与模型组比较, 芪归益肾方组明显降低 TGF- $\beta_1$ , Smad2/3, FN 蛋白表达, 明显升高 PI3K 蛋白表达 ( $P < 0.05$ )。见图 3, 表 2。

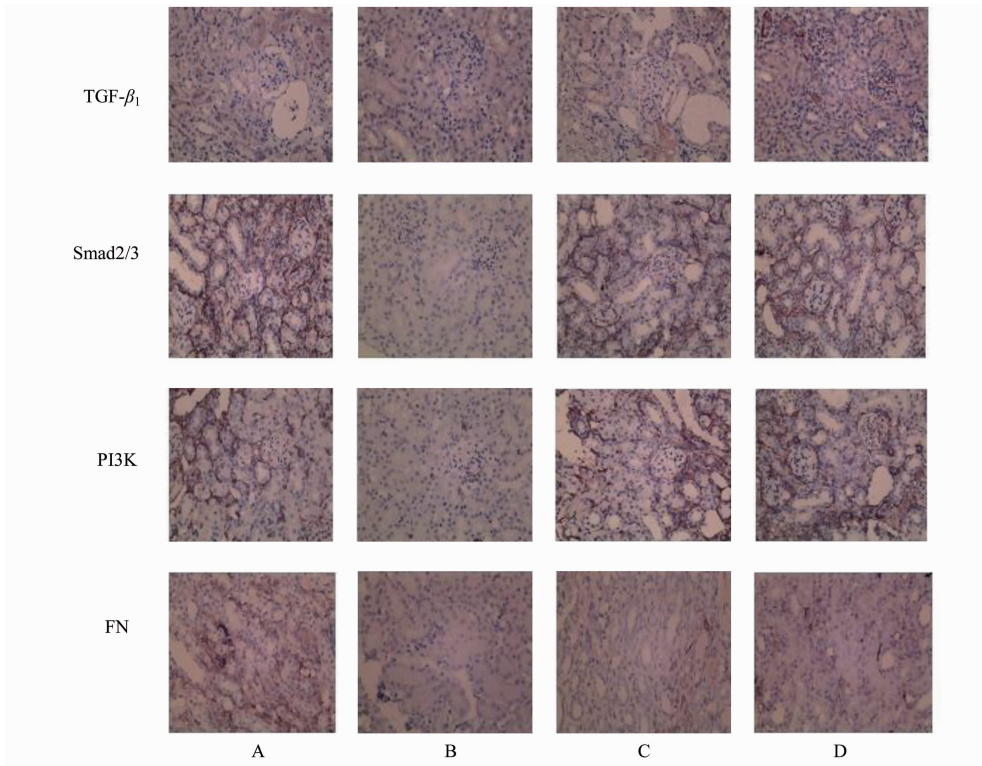


图 3 芪归益肾方对 UUO 肾病小鼠肾脏小管间质 TGF- $\beta_1$ , Smad2/3, PI3K, FN 蛋白表达的影响 (免疫组化,  $\times 400$ )

Fig. 3 Effects of Qigui Yishen formulae on expression of TGF- $\beta_1$ , Smad2/3, PI3K, FN protein in UUO nephropathy of rats (IHC,  $\times 400$ )

表 2 芪归益肾方对 UUO 肾病小鼠肾脏小管间质 TGF- $\beta_1$ , Smad2/3, PI3K, FN 蛋白表达的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

Table 2 Effects of Qigui Yishen formulae on expression of TGF- $\beta_1$ , Smad2/3, PI3K, FN protein in UUO nephropathy of rats ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	TGF- $\beta_1$	Smad2/3	PI3K	FN
假手术	-	0.212 $\pm$ 0.047	0.178 $\pm$ 0.032	0.355 $\pm$ 0.031	0.314 $\pm$ 0.039
模型	-	0.476 $\pm$ 0.036 <sup>1)</sup>	0.387 $\pm$ 0.056 <sup>1)</sup>	0.203 $\pm$ 0.019 <sup>1)</sup>	0.526 $\pm$ 0.041 <sup>1)</sup>
洛丁新	$1 \times 10^{-3}$	0.344 $\pm$ 0.041 <sup>2)</sup>	0.261 $\pm$ 0.036 <sup>2)</sup>	0.241 $\pm$ 0.023 <sup>2)</sup>	0.472 $\pm$ 0.043 <sup>2)</sup>
芪归益肾方	10	0.281 $\pm$ 0.039 <sup>2,3)</sup>	0.182 $\pm$ 0.038 <sup>2,3)</sup>	0.291 $\pm$ 0.022 <sup>2,3)</sup>	0.374 $\pm$ 0.033 <sup>2,3)</sup>

**3.3 肾组织 TGF- $\beta_1$ , PI3K mRNA 和蛋白表达的影响** 进行干预后, 治疗组中 TGF- $\beta_1$  表达水平不同程度下降, 其中, 芪归益肾方组下降最为明显, 与洛丁

新组比较有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 而 PI3K 相对于模型组不同程度上调, 且芪归益肾方组优于洛丁新组 ( $P < 0.05$ )。见表 3, 图 4, 5。

表 3 芪归益肾方对 UUO 肾病小鼠肾脏小管间质 TGF- $\beta_1$ , PI3K 蛋白表达的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

Table 3 Effects of Qigui Yishen formulae on expression of TGF- $\beta_1$ , PI3K protein in UUO nephropathy of rats ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	mRNA		蛋白	
		TGF- $\beta_1$ /GAPDH	PI3K/GAPDH	TGF- $\beta_1$ /GAPDH	PI3K/GAPDH
假手术	-	0.195 $\pm$ 0.023	0.442 $\pm$ 0.017	0.266 $\pm$ 0.025	0.401 $\pm$ 0.027
模型	-	0.322 $\pm$ 0.015 <sup>1)</sup>	0.234 $\pm$ 0.022 <sup>1)</sup>	0.482 $\pm$ 0.031 <sup>1)</sup>	0.213 $\pm$ 0.022 <sup>1)</sup>
洛丁新	$1 \times 10^{-3}$	0.291 $\pm$ 0.019 <sup>2)</sup>	0.325 $\pm$ 0.019 <sup>2)</sup>	0.403 $\pm$ 0.024 <sup>2)</sup>	0.332 $\pm$ 0.020 <sup>2)</sup>
芪归益肾方	10	0.233 $\pm$ 0.023 <sup>2,3)</sup>	0.389 $\pm$ 0.018 <sup>2,3)</sup>	0.313 $\pm$ 0.025 <sup>2,3)</sup>	0.374 $\pm$ 0.029 <sup>2,3)</sup>

#### 4 讨论

研究表明慢性肾脏病变过程中肾脏纤维化是导

致病变发生和进展的主要原因。ECM 的聚集与肾脏纤维化密切相关。而 ECM 的代谢与包括 TGF- $\beta_1$

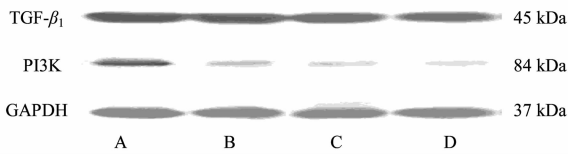


图 4 芪归益肾方对 UUO 肾病小鼠肾脏小管间质 TGF- $\beta_1$ , PI3K 蛋白表达的影响

Fig. 4 Effects of Qigui Yishen formulae on expression of TGF- $\beta_1$ , PI3K protein in UUO nephropathy of rats

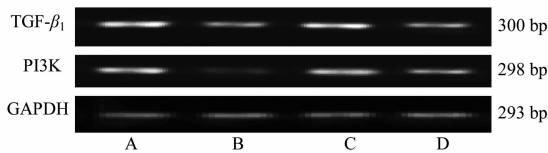


图 5 芪归益肾方对 UUO 肾病小鼠肾脏小管间质 TGF- $\beta_1$ , PI3K mRNA 表达的影响

Fig. 5 Effects of Qigui Yishen formulae on expression of TGF- $\beta_1$ , PI3K mRNA in UUO nephropathy of rats

在内的细胞因子作用具有直接的关系。因此,通过调控 TGF- $\beta_1$  的表达与 ECM 的代谢具有密切的关系。Smad2/3 为受体激活型蛋白,作为 TGF- $\beta_1$  的下游细胞因子与 TGF- $\beta_1$  的 I 型受体结合后,形成受体复合物,在磷酸化后从受体复合物上将其释放出来,再与胞质内的 Smad4 蛋白结合形成低聚体复合物,最后转移到细胞核内,激活细胞核内的细胞外基质成分如各型胶原等启动子的活性,从而使得 ECM 合成增加。FN 是 ECM 的主要成分之一,其异常增多对 ECM 增生及纤维化有着异常重要的影响。研究表明通过 TGF- $\beta_1$ /Smad 信号通路激活的 PI3K 通过作用于促细胞凋亡因子从而介导细胞凋亡,抑制 PI3K 可以减少 TGF- $\beta_1$  诱导的 ECM 聚集,进而延缓肾脏纤维化<sup>[9-10]</sup>。

肾脏纤维化的产生从中医学的角度进行微观辨证属于“肾络癥瘕”,其病机多为脾肾两虚、血脉瘀阻。加味当归补血汤(芪归益肾方)是在多年临床中应用并在治疗慢性肾脏病取得理想疗效的方药<sup>[4-6]</sup>。通过前期进行的相关基础证实应用“益肾健脾、活血通络”的治疗方法对于“肾络癥瘕”疗效确切<sup>[11-12]</sup>,并进一步在既往的实验研究中发现加味当归补血汤(芪归益肾方)具有降低肾脏病模型动物尿蛋白、减少 ECM 聚集作用、对于促纤维化因子 TGF- $\beta_1$  和 ECM 有明显的抑制和调控作用。芪归益肾方是在此方剂基础上化裁而来,其中,黄芪益肾健脾是为君药,当归、川芎活血通络,消瘀去癥是为臣药,牛膝活血化瘀,益肾通络,辅助黄芪化瘀利水且

入肾经,为佐使药。

笔者进一步验证了上述论述芪归益肾方对于 ECM 的代谢具有抑制作用。从而延缓了肾脏纤维化的进展。干预这些因子及信号通路可以有效的减缓 ECM,进而减轻、延缓肾脏纤维化进程。中药、西药对于 PI3K 有显著的调控作用,进而在 TGF- $\beta_1$ /Smads/PI3K 信号通路中逐级进行干预,最终减少 ECM 的聚集,这与笔者此前的研究结论是一致的;对于 UUO 小鼠模型,可以通过 TGF- $\beta_1$ /Smads/PI3K 信号通路,治疗肾脏纤维化,进一步揭示了该信号通路的机制。此次研究进一步的发掘了中药对于信号通路干预的机制可能是通过影响其下游的 PI3K 因子而延缓 ECM 聚集,延缓肾脏纤维化病变的进程。

#### [参考文献]

- [1] 车丽双,黄荣桂. TGF- $\beta$  与 CTGF 在肾间质纤维化中的作用[J]. 医学综述,2013,19(4):624-626.
- [2] 胡志娟,李英. TGF- $\beta$ /Smad 信号通路肾脏疾病的研究进展[J]. 中国中西医结合肾病杂志,2005,6(1):55-57.
- [3] 董凤芹,蔡卫民,李红. 肾纤维化发病机制的研究进展[J]. 国外医学泌尿系统分册,2003,23(4):457-459.
- [4] 魏明刚,熊佩华,张玲. 中药对 IgA 肾炎肾小管损害的保护作用[J]. 中医杂志,2006,47(11):839-840.
- [5] 魏明刚,孙伟,程宗琦,等. 加味当归补血汤抑制微炎症与慢性肾小球肾炎临床疗效的研究[J]. 中成药,2014,36(1):48-51.
- [6] Wei M G, Xiong P H, Zhang L. Effect of Chinese herbs on immunoglobulin A nephropathy: a randomized controlled trial[J]. J Tradit Chin Med, 2013, 33(1):65-69.
- [7] 孙敬方. 动物实验方法学[M]. 北京:人民卫生出版社,2001:356.
- [8] 魏明刚,何伟明,陆迅,等. 加味当归补血汤对细胞骨架蛋白在阿霉素肾病大鼠表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2014,20(22):133-138.
- [9] Lan H Y, Chung A C. TGF- $\beta$ /Smad signaling in kidney disease[J]. Semin Nephrol, 2012,32(3):236-243.
- [10] Ning X H, Ge X F, Cui Y, et al. Ulinastatin inhibits unilateral ureteral obstruction-induced renal interstitial fibrosis in rats via transforming growth factor  $\beta$  (TGF- $\beta$ )/Smad signalling pathways [J]. Int Immunopharmacol,2013,15(2):406-413.
- [11] 魏明刚. 肾脏微炎症状态的中医理论探讨[J]. 中医杂志,2011,52(10):813-815.
- [12] 魏明刚. 肾脏病病机的理论探讨[J]. 中国中医基础医学杂志,2011,17(11):1188-1191.

[责任编辑 周冰冰]