

萆薢除痹汤对大鼠尿酸性肾病防治作用的影响

江雪纯, 平凡, 张谨枫, 汪悦*

(南京中医药大学第一临床医学院, 南京 210000)

[摘要] **目的:** 研究萆薢除痹汤对尿酸性肾病大鼠肾组织核转录因子- κ B (NF- κ B), 单核细胞趋化因子 (MCP-1), 细胞间黏附分子-1 (ICAM-1), 血管细胞间黏附分子-1 (VCAM-1) 的影响; 研究萆薢除痹汤对细胞中以上炎症指标表达的调控作用; 探讨萆薢除痹汤对尿酸性肾病防治的影响。**方法:** 采用腺嘌呤 ($100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 和盐酸乙胺丁醇 ($250 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 制作尿酸性肾病大鼠模型, 设立空白组, 模型组, 西药别嘌醇组 ($5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), 萆薢除痹汤低、中、高剂量组 ($7.25, 14.49, 29.98 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) 6 组, 实验第 21 天处死, 采用实时荧光定量 PCR (Real-time PCR) 法及免疫印迹法 (Western bolt) 检测各组大鼠肾脏组织中 NF- κ B, MCP-1, ICAM-1, VCAM-1 的 mRNA 含量和蛋白表达水平。同时体外培养 NR 8383 巨噬细胞, 各组加入不同浓度含药血清, 将其分为空白组、模型组、中药低 (2.5%), 中 (5%), 高 (10%) 剂量组 5 组, 培养 24 h 后提取 NR8383 细胞总蛋白, 用 Western bolt 法检测以上各指标的表达。**结果:** 体内实验发现, 与正常组比较, 萆薢除痹汤低、中、高剂量组 NF- κ B, MCP-1, ICAM-1, VCAM-1 的蛋白及 mRNA 表达与模型组相比明显降低, 萆薢除痹汤低、中、高剂量组与别嘌醇比较, 组间比较无统计学差异。体外实验发现萆薢除痹汤低、中、高浓度组各指标蛋白的表达与模型组相比降低 ($P < 0.05$), 其中、高浓度组下调程度更明显 ($P < 0.01$)。**结论:** 体内及体外实验均证实萆薢除痹汤可通过抑制 NF- κ B, MCP-1, ICAM-1, VCAM-1 所导致的炎症反应而保护肾功能, 起到防治尿酸性肾病的作用, 其机制可能与其能减轻尿酸盐的沉积的有关。

[关键词] 尿酸性肾病; 萆薢除痹汤; 体内外实验; 核转录因子 κ B; 单核细胞趋化因子-1; 细胞间黏附分子-1; 血管细胞间黏附分子-1

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2016)16-0103-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfx.2016160103

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20160707.1534.002.html>

[网络出版时间] 2016-07-07 15:34:04

Effect of Bixie Chubi Decoction in Preventing and Treating Uric Acid Nephropathy

JIANG Xue-chun, PING Fan, ZHANG Jin-feng, WANG Yue*

(The First Clinical Medical College of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210000, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the effect of Bixie Chubi decoction (BXCBD) on nuclear transcription factor- κ B (NF- κ B), monocyte chemotactic factor-1 (MCP-1), intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1), vascular intercellular adhesion molecule-1 (VCAM-1) in renal tissues of rats with uric acid nephropathy, study on regulation of BXCBD on the expression of the above cell inflammatory index, and discuss about the mechanism of BXCBD in preventing and treating uric acid nephropathy renal protection. **Method:** Adenine ($100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) and ethambutol hydrochloride ($250 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) were used to prepare the model of uric acid nephropathy rats. The rats were divided into six groups: normal group, model group, western medicine allopurinol group ($5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), BXCBD low, medium and high-dose groups ($7.25, 14.49, 29.98 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$). The rats was sacrificed at the 21st day. The contents of NF- κ B, MCP-1, VCAM-1, ICAM-1 and mRNA in kidney tissues of each group were detected by real-time PCR and Western bolt methods. Meanwhile, NR 8383 macrophages were cultured

[收稿日期] 20160330(017)

[基金项目] 国家中医药管理局重点学科(中医痹症学)开放基金项目(BBXXK2013101);江苏省研究生创新工程项目(KYLX150989)

[第一作者] 江雪纯,在读硕士,从事中医内科学风湿免疫学研究, Tel:15195751702, E-mail:2334702784@qq.com

[通讯作者] *汪悦,教授,博士生导师,从事风湿免疫及内分泌疾病的临床与基础研究, Tel:13809023858, E-mail:wangyuephd@126.com

in vitro, each group was given different concentrations of drug-containing serums, and divided into blank group, model group, traditional Chinese medicine (TCM) low-concentration (2.5%), middle-concentration (5%) and high-concentration (10%) groups ($n = 5$). NR8383 total cellular proteins were extracted after being cultured for 24 h. Western blot method was used to detect the expression of the above indicators. **Result:** According to the *in vivo* experiment, compared with the normal group, the BXCBD low, medium and high-dose groups showed significantly lower NF- κ B, MCP-1, ICAM-1 and VCAM-1 protein and mRNA expressions. Compared with allopurinol group, BXCBD low, medium and high-dose groups showed no inter-group statistical difference. On the basis of the *in vitro* experiment, compared with the model group, BXCBD low, medium and high-dose groups showed lower protein expressions ($P < 0.05$), particularly middle and high-concentration groups ($P < 0.01$). **Conclusion:** *In vivo* and *in vitro* experiments have confirmed that Bixie Chubi decoction has the effect in preventing and treating uric acid nephropathy. By inhibiting NF- κ B, MCP-1, ICAM-1, VCAM-1 in the inflammatory reaction. The mechanism may be related to the reduction of the deposition of uric acid salts.

[Key words] uric acid nephropathy; Bixie Chubi decoction; *in vivo* and *in vitro* experiment; nuclear transcription factor- κ B; monocyte chemotactic factor-1; intercellular adhesion molecule-1; vascular intercellular adhesion molecule-1

尿酸性肾病 (uric acid nephropathy, UAN) 是指由于嘌呤代谢紊乱使血尿酸生成过多和 (或) 排泄减少, 继而尿酸盐结晶沉积于肾脏, 晚期可导致肾小管间质纤维化、肾小球纤维化^[1]。UAN 发病率高, 据统计, 痛风患者 40% 以上可发展为慢性肾脏病^[2]。治疗多以西药长期控制为主, 引发诸多不良反应, 并且在一定程度上加重了肾损害, 且停药后复发率较高^[3]。目前中医药治疗 UAN 已取得良好的疗效, 具有作用缓和持久、毒副作用小, 对于慢性肾损害疾病预后极佳^[4], 但中药具体作用机制仍不明确, 有待深入研究。萆薢除痹汤为汪悦教授临床验方, 已有多年临床应用经验, 本方由萆薢、车前子、制大黄、玉米须、豨莶草等 11 味药物组成, 具有清热利湿, 活血通络的功效。前期临床研究证实本方可有效降低患者血尿酸水平, 减轻关节肿痛程度, 降低蛋白尿、血肌酐等指标, 具有良好的临床疗效^[5]; 课题组既往研究证实萆薢除痹汤具有明显降低小鼠血清尿酸的作用, 并且通过抑制白细胞介素-1 β (IL-1 β), 肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 达到抗炎镇痛的功效, 还能降低肾脏相关尿酸转运子 URAT1 mRNA 水平^[6]。但其深入抗炎及保护肾功能机制尚待深入研究, 核转录因子 (NF)- κ B, 单核细胞趋化因子 (MCP-1) 是参与炎症损伤的重要促炎因子, 细胞间黏附分子-1 (ICAM-1), 血管细胞间黏附分子-1 (VCAM-1) 是免疫反应过程中重要的黏附分子, 并且研究显示以上指标都参与肾脏疾病的发病机制, 如急性肾损伤、糖尿病肾病等, 并影响着肾脏疾病的预后^[7-8], 但其是

否参与了 HUA 肾损伤发生发展的过程, 目前国内鲜有研究。因此本课题从炎症因子及肾损伤分子出发, 通过观察 UAN 模型大鼠肾组织 NF- κ B, MCP-1, ICAM-1, VCAM-1 基因蛋白表达及萆薢除痹汤对其的影响, 并且通过细胞实验证实, 探讨萆薢除痹汤对尿酸性肾病的防治作用, 为提高尿酸性肾病临床疗效提供理论依据。

1 材料

1.1 动物 SPF 级健康雄性 SD 大鼠 60 只, 体重 (180 \pm 20) g, 北京维通利华实验动物技术有限公司, 合格证号 SCXK (京) 2012-0001。

1.2 主要药物与试剂 萆薢除痹汤购自同仁堂药店; F12k 培养基、优质胎牛血清 (美国 Gibco 公司, 批号分别为 16000-044, 16000-033), 别嘌醇片 (江苏世贸天阶制药有限公司, 批号 H20033683), 盐酸乙胺丁醇片 (沈阳红旗制药有限公司, 批号 H21022349), 腺嘌呤 (Amresco 公司, 批号 21054308); 预染 Marker (美国 Sigma 公司, 批号 0171106); 逆转录试剂盒 (美国 Invitrogen 公司, 批号 AORT-0020); 实时荧光定量 PCR (Real-time PCR) 试剂盒, 实时荧光定量试剂盒 (大连 Takara 公司, 批号分别为 D120-A, DRR081A); 全蛋白提取试剂盒 (批号 KGP2100), 细胞核蛋白与细胞浆蛋白提取试剂盒 (批号 OP-0003), BCA 蛋白测定试剂盒 (批号 CW0014), SDS-PAGE 凝胶试剂盒 (批号 1011011) 和 ECL 检测液 (批号 ARB10319) (上海碧云天生物技术有限公司); 兔抗 NF- κ B p65 单克隆抗体 (美国 Cell Signaling 公司, 批号 SC-8008), 兔抗 VCAM-1 多克隆抗体 (批号 ab-19569), 兔抗 MCP-1 多

克隆抗体(批号 ab-18698),小鼠抗 ICAM-1 多克隆抗体(批号 ab-27462)(美国 Abcam 公司);GAPDH 抗体(上海生工生物工程有限公司,批号 ab-9483);辣根酶标记羊抗兔 IgG 抗体(美国 Cell Signaling 公司,批

号 ab-93657);辣根酶标记羊抗小鼠 IgG 抗体(上海碧云天生物技术有限公司,批号 M080825)。Real-time PCR 引物由上海生物工程技术服务公司合成,系列见表 1。

表 1 Real-time PCR 引物序列

Table 1 Primer sequences of Real-time PCR

名称	引物序列	退火温度/℃	产物长度/bp
GAPDH	上游 5'-EAAOAAEEOEOAAOKAA-3'	77.8	183
	下游 5'-KEKEOEEKEOEOEAOEEOE-3'		
NF-κB	上游 5'-GGCACAGTCAAGGCTGAGAATG-3'	76.5	283
	下游 5'-ATGGTGGTGAAGACGACGCCAG-3'		
ICAM-1	上游 5'-GCCCGGAGGATCACAAACGAC-3'	77.6	477
	下游 5'-CCTGGGGCTGGCATGTAAGAGT-3'		
VCAM-1	上游 5'-ACACCTCCCCAAGAATACAG-3'	79	425
	下游 5'-GCTCATCTCAACACCCACAG-3'		
MCP-1	上游 5'-CAAGGTAAGGAGCATAGAGCCA-3'	78	146
	下游:5'-GAGGAAATAGGGGAGCAGGAA-3'		

1.3 药物溶液配制 萆薢除痹汤(萆薢 20 g,玉米须 30 g,泽泻 10 g,制大黄 6 g,车前子 10 g,苍术 10 g,黄柏 10 g,片姜黄 10 g,川牛膝 10 g,地黄 30 g,甘草 6 g):药物加 10 倍体积水,浸泡 30 min 后,煎煮 2 次,每次 1 h,合并滤液,采用旋转蒸发仪浓缩药液质量浓度至 2.898 g·mL⁻¹(高剂量浓度),并 -20 ℃ 分装保存,临用前恢复至室温并稀释;腺嘌呤 + 乙胺丁醇溶液:按照腺嘌呤 10 g,乙胺丁醇 25 g 剂量,加生理盐水定容至 1:1 配制;别嘌醇溶液:按照 2 700 mg,加生理盐水定容至 1 L 比例配制。

1.4 仪器 1645050 型转膜仪,TOCAN320 型化学发光成像系统,(美国 Bio-rad 公司);MX3000P 型 Real-time PCR 仪(大连 Takara 公司);BJS6800 型 UVP 凝胶成像系统(美国 Thermo 公司),M401291 型低温超速离心机(德国 Eppendorf 公司)。

2 方法

2.1 体内实验

2.1.1 尿酸性肾病动物模型的建立 随机抽取 SD 大鼠 50 只,采取腺嘌呤配合盐酸乙胺丁醇的方法建立大鼠高尿酸血症肾病模型,按每只大鼠腺嘌呤 100 mg·kg⁻¹ + 盐酸乙胺丁醇 250 mg·kg⁻¹ ig。

2.1.2 动物分组 将大鼠适应性喂养 7 d 后,将 60 只大鼠随机分成 6 组,分别为空白组(K),模型组(M),萆薢除痹汤低(D),中(Z),高(G)剂量组,阳性药别嘌醇组(X),每组 10 只。

2.1.3 给药方法 ig 时间上下午固定时间各 1 次,

实验前 7 d 除空白组每只大鼠 1.4 mL·d⁻¹蒸馏水 ig,上下午各 1 次。实验第 7 天,除空白组及造模组不变外,中药低、中、高剂量组分别给予 29.98, 14.49,7.25 g·kg⁻¹萆薢除痹汤 ig(中剂量中药组按体表面积法,为人体等效剂量,低剂量为等效剂量 0.5 倍,高剂量为等效剂量 2 倍),阳性药给予别嘌醇 5 mg·kg⁻¹,连续给药 3 周。

2.1.4 肾组织标本采集及制备 28 d 后处死大鼠,取肾组织分为 3 份,1 份用 10% 福尔马林固定,经脱水、组织用石蜡包埋,切成 2 μm 厚石蜡切片做苏木素-伊红(HE)染色,另 2 份肾组织于液氮中速冻后 -80 ℃ 冰箱保存,以备蛋白质印迹法(Western bolt)和聚合酶链式反应(PCR)。

2.1.5 Western bolt 检测 NF-κB, MCP-1, ICAM-1, VCAM-1 蛋白表达量 使用蛋白提取试剂盒提取各组细胞蛋白,聚氰基丙烯酸正丁酯(BCA)法测定蛋白浓度。取蛋白提取液加入上样缓冲液,95 ℃ 水煮沸 5 min,使蛋白变性。分别等量点样于 10% 聚丙烯酰胺凝胶进行 SDS-PAGE 电泳,电转膜,脱脂奶粉封闭,将一抗 NF-κB p65(1:1 000), MCP-1(1:2 000), ICAM-1(1:1 000), VCAM-1(1:2 000),甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH,1:5 000)置于 4 ℃ 过夜,洗膜;二抗(1:5 000)孵育,超敏化学发光试剂(ECL),显影定影。底片用 Quantity One 软件进行灰度值分析,以目的蛋白/内参蛋白的灰度表示目的蛋白表达的相对含量。

2.1.6 Real-time PCR 测定肾组织中 NF- κ B, MCP-1, ICAM-1, VCAM-1 mRNA 表达量 肾组织总 RNA 提取按照 Takara 公司的 RNA 提取试剂盒说明书进行,先去除总 RNA 中 DNA 的干扰后进行逆转录,产物分别进行 NF- κ B, MCP-1, ICAM-1, VCAM-1, GAPDH 的扩增,使用 ABI7500 型扩增仪,20 μ L 反应体系荧光染料法,95 $^{\circ}$ C 预变性 5 min, 94 $^{\circ}$ C 变性 60 s,根据引物不同选择不同退火温度(表 1),72 $^{\circ}$ C 延伸 60 s,共 28 个循环,72 $^{\circ}$ C 终末延伸 10 min, 4 $^{\circ}$ C 保温。扩增产物进行凝胶电泳后于 BandsScan 5.0 图像处理系统测量产物的吸光度。

2.2 体外实验

2.2.1 含药血清的制备 SD 大鼠 5 只,将草薢除痹汤按照 0.01 mL \cdot g $^{-1}$ 灌胃 5 d,每日 2 次,取血,提取血清,备用。

2.2.2 NR 8383 细胞的培养 将 NR 8383 细胞(购自上海中国科学院细胞库,批号 BNCC100239)置于含有 100 U \cdot L $^{-1}$ 青霉素,100 g \cdot L $^{-1}$ 链霉素,15% 优质胎牛血清的 F12k 培养基中培养传代。

2.2.3 细胞分组及给药 取对数生长期细胞,接种于 6 孔板中,分为空白组,模型组,中药低、中、高浓度组 5 组,将细胞悬液加入不同浓度含药血清 20 h

后,在将空白组除外的其余 4 组加入脂多糖(LPS 1 g \cdot L $^{-1}$ 刺激 4 h。

2.2.4 Western bolt 方法检测细胞中 NF- κ B, MCP-1, ICAM-1, VCAM-1 蛋白表达量 提取 NR 8383 细胞总蛋白,其余具体步骤同体内实验。

2.3 统计学处理 应用 SPSS 10.0 软件进行统计分析,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。多组间比较采用方差分析,两组间比较采用 *t* 检验,以 $P < 0.05$ 为具有统计学意义。

3 结果

3.1 草薢除痹汤对大鼠肾组织病理学的影响 病理改变 K 组大鼠为正常大鼠肾脏病理形态。M 组大鼠肾小管腔扩大,肾组织内有尿酸沉积,周围有大量炎细胞浸润,间质有少量成纤维细胞增生。X 组, Z 组, G 组大鼠病变程度较 M 组明显减轻, D 组较 M 组病变程度减轻,见图 1。

3.2 草薢除痹汤对尿酸性肾病大鼠肾组织中 NF- κ B, MCP-1, ICAM-1, VCAM-1 蛋白合成的影响 与 K 组比较 M 组大鼠各指标蛋白表达水平显著增高 ($P < 0.01$),与 M 组比较 X, D, Z, G 组各指标表达水平降低 ($P < 0.05$),见表 2,图 2。

3.3 草薢除痹汤对尿酸性肾病大鼠肾组织中 NF-

表 2 草薢除痹汤对大鼠肾组织 NF- κ B, MCP-1, ICAM-1, VCAM-1 蛋白表达水平影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Bixie Chubi Decoction on renal tissue of rats with NF- κ B, MCP-1, ICAM-1, VCAM-1 protein expression influence ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/g \cdot kg $^{-1}$	NF- κ B	MCP-1	ICAM-1	VCAM-1
空白	-	0.32 \pm 0.19	1.63 \pm 0.11	0.66 \pm 0.62	0.64 \pm 0.48
模型	-	2.52 \pm 1.07 ²⁾	4.16 \pm 0.48 ²⁾	3.56 \pm 0.35 ²⁾	2.42 \pm 0.84 ²⁾
别嘌醇	5 \times 10 $^{-3}$	0.60 \pm 0.42 ⁴⁾	1.44 \pm 0.93 ⁴⁾	1.24 \pm 1.03 ⁴⁾	1.34 \pm 0.57 ^{1, 3)}
草薢除痹汤	7.25	0.82 \pm 1.10 ³⁾	1.29 \pm 0.12 ³⁾	0.87 \pm 0.59 ⁴⁾	1.29 \pm 0.54 ^{1, 3)}
	14.49	0.73 \pm 0.51 ³⁾	0.67 \pm 0.27 ^{1, 4)}	0.93 \pm 0.76 ⁴⁾	1.05 \pm 0.32 ³⁾
	29.98	0.61 \pm 0.56 ⁴⁾	1.18 \pm 0.34 ³⁾	1.14 \pm 1.18 ^{1, 4)}	1.33 \pm 0.67 ^{1, 3)}

注:与空白组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$;与模型组比较³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$ (表 3 同)。

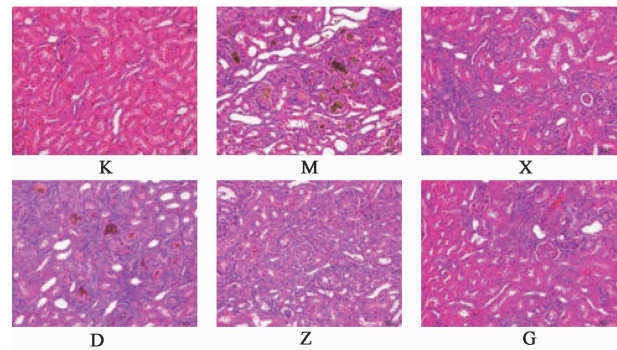


图 1 草薢除痹汤对大鼠肾组织病理学影响(HE, $\times 200$)
K. 空白组; M. 模型组; X. 别嘌醇组; D, Z, G. 草薢除痹汤低、中、高剂量组(图 2 同)

图 1 Bixie Chubi decoction on effect of rat renal tissue pathology (HE, $\times 200$)

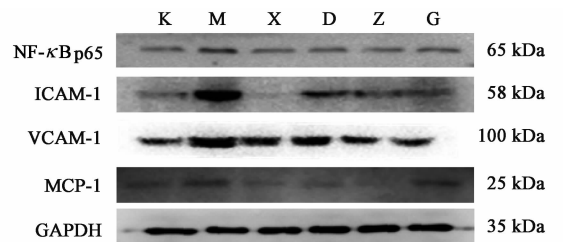


图 2 草薢除痹汤对大鼠肾组织中 NF- κ B, MCP-1, ICAM-1, VCAM-1 蛋白水平的影响

Fig. 2 Bixie Chubi decoction on NF- κ B, MCP-1, ICAM-1, VCAM-1 protein levels

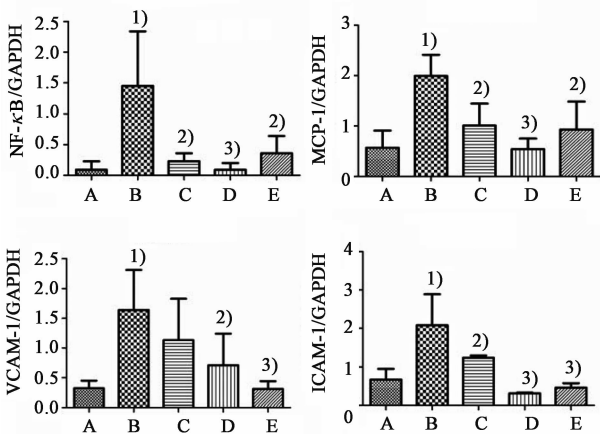
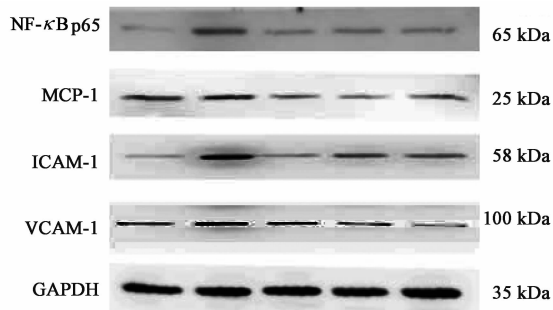
κ B, MCP-1, ICAM-1, VCAM-1 mRNA 表达的影响 与 K 组比较 M 组大鼠各指标表达水平显著增

高 ($P < 0.01$), 与 M 组比较 X, D, Z, G 组各指标表达水平明显降低 ($P < 0.01$), 见表 3。

表 3 萆薢除痹汤对尿酸性肾病大鼠肾组织 NF- κ B, MCP-1, ICAM-1, VCAM-1 mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	NF- κ B/ $2^{-\Delta\Delta Ct}$	MCP-1/ $2^{-\Delta\Delta Ct}$	ICAM-1/ $2^{-\Delta\Delta Ct}$	VCAM-1/ $2^{-\Delta\Delta Ct}$
正常	-	1.00 \pm 0.00	1.00 \pm 0.00	1.00 \pm 0.00	1.00 \pm 0.00
模型	-	1.43 \pm 0.11 ²⁾	59.64 \pm 4.28 ²⁾	3.41 \pm 0.29 ²⁾	2.24 \pm 0.16 ²⁾
别嘌醇组	5×10^{-3}	0.61 \pm 0.13 ^{1,4)}	35.35 \pm 5.45 ^{2,4)}	2.67 \pm 0.25 ^{1,3)}	0.93 \pm 0.09 ⁴⁾
萆薢除痹汤	7.25	0.71 \pm 0.08 ⁴⁾	14.86 \pm 9.48 ^{2,4)}	2.29 \pm 0.56 ^{1,4)}	1.71 \pm 0.14 ^{1,4)}
	14.49	0.87 \pm 0.24 ⁴⁾	14.37 \pm 1.95 ^{2,4)}	2.38 \pm 0.24 ^{1,4)}	1.44 \pm 0.38 ⁴⁾
	29.98	0.66 \pm 0.068 ^{1,4)}	8.90 \pm 1.27 ^{2,4)}	2.05 \pm 0.27 ^{1,4)}	1.11 \pm 0.14 ⁴⁾

3.4 萆薢除痹汤对 NR 8383 细胞 NF- κ B, MCP-1, ICAM-1, VCAM-1 蛋白表达的影响 与空白组比较, 模型组各指标表达明显升高 ($P < 0.01$), 与模型组比较, 中药低浓度组各指标表达下降 ($P < 0.05$), 中、高浓度组表达明显下降 ($P < 0.01$), 见图 3。



与空白组比较¹⁾ $P < 0.01$; 与模型组比较²⁾ $P < 0.05$, ³⁾ $P < 0.01$

图 3 萆薢除痹汤对 NR 8383 细胞 NF- κ B, MCP-1, ICAM-1, VCAM-1 蛋白水平的影响

Fig. 3 Bixie Chubi decoction on NR8383 cells of NF- κ B, MCP-1, ICAM-1, VCAM-1 protein levels

4 讨论

人体约 70% 的尿酸由肾脏排泄, 而尿酸性肾病发病机制的关键在于尿酸盐沉积于肾脏引起的炎性细胞浸润, 引起细胞因子、转化生长因子表达增多,

刺激成纤维细胞向肌纤维细胞转化, 最终导致肾脏纤维化, 甚至肾衰竭^[9]。在这一过程中, 如何平稳控制尿酸水平对于尿酸性肾病的防治尤为重要, 结合既往及本次实验研究结果表明^[10], 大鼠血尿酸水平与血管紧张素 II, 环氧化酶-2 (COX-2), NF- κ B, MCP-1, ICAM-1, VCAM-1 密切相关, 从而刺激中性粒细胞募集至晶体沉积部位, 以致炎症扩大^[11]。

具有抑制炎症因子和控制尿酸双重功效的中药方剂对于防治尿酸性肾病具有重要意义, 汪悦教授根据多年临床经验, 自拟方萆薢除痹汤, 方中萆薢利湿去浊、祛风除痹为君, 车前子、玉米须、泽泻、苍术、黄柏利尿渗湿, 大黄清热解毒, 佐以片姜黄通络止痛、川牛膝补肾固本、地黄和甘草滋阴以防诸药伤阴, 全方益肾利湿, 化瘀通络, 标本兼顾。现代药理学研究认为萆薢具有促进单核巨噬细胞吞噬功能, 降低炎症因子的作用^[12]; 大黄能明显减轻肾组织碱性成纤维细胞生长因子与 COX-2 的表达, 对肾功能有一定的保护作用^[13]; 玉米须能降低肌酐清除率、减少尿白蛋白排泄, 提高肾组织中 nephrin mRNA 表达, 减轻肾衰竭^[14]。

本实验通过体内及体外 2 个实验体系来观察萆薢除痹汤在防治大鼠尿酸性肾病中的作用, 结果显示, 萆薢除痹汤各剂量组及各浓度组可不同程度降低组织和细胞中 NF- κ B, MCP-1, ICAM-1, VCAM-1 的表达, 且体外实验及病理改变均发现萆薢除痹汤中高浓度组对于各指标的下调作用明显强于低浓度组, 这说明萆薢除痹汤在减轻尿酸盐沉积的同时还可抑制诸炎症因子的表达, 从而缓解尿酸所致的肾损伤。故笔者推测, 萆薢除痹汤防治 UAN 肾损害的机制可能与其下调 MCP-1, ICAM-1, VCAM-1 的高表达, 抑制 NF- κ B 介导的免疫炎症反应有关, 从而改善肾组织的病理损伤。但萆薢除痹汤各组分的作用

机制以及是否参与了其他免疫过程还有待于进一步研究。

[参考文献]

[1] Wu X, Liu L, Xie H, et al. Tanshinone IIA prevents uric acid nephropathy in rats through NF- κ B inhibition [J]. *Planta Medica*, 2012, 78(9):866-873.

[2] 邹和群,孙世澜. 进一步提高高尿酸性肾病的防治水平[J]. *临床肾脏病杂志*, 2011,11(2):52.

[3] 程焕瑛,冯松节. 尿酸性肾病中医药研究概述[J]. *四川中医*,2015(33):189-191.

[4] 李迎巧,高建明. 尿酸性肾病的中医药防治研究进展[J]. *中国中西医结合肾病杂志*, 2014, 3(15):270-272.

[5] 苏振明. 萆薢除痹汤治疗痛风性关节炎湿热蕴结证的临床研究[D]. 南京:南京中医药大学,2014.

[6] 平凡,谭唱,颜至昭,等. 萆薢除痹汤抗实验性痛风作用机制探讨[J]. *中国实验方剂学杂志*,2015,21(9):129-132.

[7] 王晓丹,王晓亮,白云凯. VCAM-1 与肾脏疾病[J]. *国际泌尿系统杂志*,2008,27(3):390-395.

[8] 曾龙驿,SHU Jiong,林可意,等. 伊贝沙坦对糖尿病大鼠肾氧化应激、NF- κ B 活性和 ICAM-1mRNA 表达的影响[J]. *中山大学学报:医学科学版*,2008,29(4):402-406.

[9] Schweyer S, Hemmerlein B, Radzun H J, et al. Continuous recruitment, co-expression of tumour necrosis factor-alpha and matrix metalloproteinases, and apoptosis of macrophages in gout tophi[J]. *Archiv Für Pathologische Anatomie Und Physiologie Und Für Klinische Medizin*, 2000, 437(5):534-539.

[10] 商学征,马卫国,周鹏,等. 复方青秦液对尿酸性肾病大鼠肾组织血管紧张素 II 及环氧合酶-2 影响的研究[J]. *中国中西医结合杂志*,2014,17(7):819-825.

[11] Hachicha M, Naccache P H, Mccoll S R. Inflammatory microcrystals differentially regulate the secretion of macrophage inflammatory protein 1 and interleukin 8 by human neutrophils: a possible mechanism of neutrophil recruitment to sites of inflammation in synovitis [J]. *J Exp Med*, 1996, 182(6):2019-2025.

[12] 龚海洋,王红,许哲,等. 二十一种中药对小鼠免疫药理作用的初步研究[J]. *中药药理与临床*,1995(2):30-33.

[13] 倪晴帆,胡家才. 大黄对尿酸性肾病大鼠肾组织 bFGF 及 COX-2 的影响[J]. *武汉大学学报:医学版*, 2009,30(2):191-194.

[14] 窦传斌,杜娟,许启泰. 玉米须多糖的利尿作用研究[J]. *河南大学学报:医学版*,2007,26(3):35-37.

[责任编辑 邹晓翠]