

抗纤灵水煎剂对慢性肾衰模型小鼠 PI3K-AKT-mTOR mRNA 表达的影响

麻志恒^{1,2}, 钟利平¹, 余柯娜¹, 王颖¹, 何立群^{1*}

(1. 上海中医药大学附属曙光医院, 上海 201203;

2. 上海交通大学医学院附属新华医院 崇明分院, 上海 202150)

[摘要] **目的:**探讨不同剂量的抗纤灵水煎剂对慢性肾衰模型小鼠磷酸酰肌醇3激酶(PI3K)/丝氨酸及苏氨酸蛋白激酶(AKT)/雷帕霉素靶蛋白(mTOR) mRNA 表达的影响,并探讨其作用机制。**方法:**C57BL/6J小鼠50只采用5/6肾切除制备慢性肾脏纤维化小鼠模型,同时设立假手术组10只,造模成功的小鼠随机分为模型组,雷帕霉素组(0.8 mg·kg⁻¹),抗纤灵水煎液低、中、高剂量组(10,20,40 g·kg⁻¹),连续ig 8周后处死小鼠,苏木素-伊红(HE)染色观察肾组织病理改变,实时荧光定量聚合酶链式反应(qPCR)检测PI3K-AKT-mTOR mRNA 表达的含量。**结果:**与假手术组比较,模型组小鼠肾组织纤维化组织增多,肾损伤评分明显升高,PI3K-AKT-mTOR mRNA 表达明显增强,差异有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$);与模型组比较,雷帕霉素组和抗纤灵各剂量组肾组织纤维化减轻,PI3K-AKT-mTOR mRNA 表达明显下降($P < 0.05$, $P < 0.01$);与雷帕霉素组比较,抗纤灵水煎液中、高剂量与雷帕霉素组间无显著性差异,低剂量组疗效差于雷帕霉素($P < 0.05$),高、中、低剂量组比较,低剂量组与高、中剂量组之间有明显差异($P < 0.05$),高、中剂量组之间无显著性差异。**结论:**抗纤灵水煎液可降模型小鼠表达PI3K-AKT-mTOR mRNA 的表达,减轻肾脏纤维化纤维化,抗纤灵水煎液中、高剂量与和雷帕霉素等同。

[关键词] 抗纤灵; 慢性肾衰; 磷酸酰肌醇3激酶/丝氨酸及苏氨酸蛋白激酶/雷帕霉素靶蛋白 mRNA; 肾组织病理学

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)20-0096-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2016200096

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20160830.0819.030.html>

[网络出版时间] 2016-08-30 8:19

Effect of Kangxianling Decoction on Expression of PI3K-AKT-mTOR mRNA in Mice with Chronic Renal Failure Model

MA Zhi-heng^{1,2}, ZHONG Li-ping¹, YU Ke-na¹, WANG Ying, HE Li-qun^{1*}

(1. Shuguang Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine,

Shanghai 201203, China; 2. Chongming Branch, Xinhua Hospital Affiliated to

Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai 202150, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the effect of different doses Kangxianling decoction on the expression of PI3K-AKT-mTOR mRNA in mice with chronic renal failure induced by 5/6 nephrectomized, and discuss its action mechanism. **Method:** Totally 50 C57BL/6J mice were selected in the chronic renal fibrosis model induced by 5/6 nephrectomy, with 10 rats in the sham-operated group. After the successful modeling, the rats were divided into the model group, the rapamycin group (0.8 mg·kg⁻¹), Kangxianling decoction low, middle and high-dose groups (10, 20, 40 g·kg⁻¹), ig, for eight weeks. After the rats were sacrificed, HE staining was used to observe

[收稿日期] 20150810(021)

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81373615);国家临床重点专科建设项目;国家中医药管理局重点专科建设项目

[第一作者] 麻志恒, 博士, 副主任医师, 从事中西医防治肾脏病的临床及实验研究工作, Tel: 021-69692423, E-mail: zhiheng_macm@163.com

[通讯作者] *何立群, 博士, 主任医师, 从事肾脏病的基础及临床研究, Tel: 021-69692423, E-mail: liqunhe59@163.com

the renal pathological changes and the score of Kidney damage was made, qPCR was made to detect PI3K-AKT-mTOR mRNA expression. **Result:** The renal tissue fibrosis, the score of kidney damage and the PI3K-AKT-mTOR mRNA expression in model group were higher than those in the sham group, with statistically significant differences ($P < 0.01$); compared with the model group, the renal tissue fibrosis, the score of kidney damage and the PI3K-AKT-mTOR mRNA expression decreased in RAP group and all of Kangxianling decoction groups significantly decreased ($P < 0.05$, $P < 0.01$); compared with the RAP group, the middle and high-dose groups had no significant difference and the low-dose group showed a lower efficacy ($P < 0.05$); compared with the low-dose group, middle and high-dose groups had significant differences ($P < 0.05$), but there were no significant difference between middle and high-dose groups. **Conclusion:** Kangxianling decoction could reduce the score of kidney damage and PI3K-AKT-mTOR mRNA expression, and the middle and high-dose Kangxianling decoctions have the same effect as RAP.

[**Key words**] Kangxianling; chronic renal failure; PI3K-AKT-mTOR mRNA; renal histopathology

肾脏纤维化被认为是慢性肾脏疾病进展至肾功能衰竭的共同途径和病理特征^[1],许多因素如细胞因子,血管活性物质等的激活或释放,都能够引起肾脏纤维化。现代研究表明,许多信号通路如转化生长因子- β (TGF- β)/Smad 信号通路,哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)信号通路等,均参与了上述细胞因子等激活或释放的调节。中医复方成分较多,临床配伍使用,能够达到协同作用,类似于具有信号通路中的多靶点作用,随着代谢组等现代分子生物学技术的发展,中药复方制剂的研究成为近几年研究的热点。

磷脂酰肌醇 3 激酶(PI3K)/丝氨酸及苏氨酸蛋白激酶(AKT)/mTOR 信号通路是一条经典的信号途径,在细胞存活与分化、细胞生长、运动和凋亡等多种生理和病理过程中起重要作用^[2-3]。现代研究表明,PI3K/AKT 通路在缺氧诱导下的肾小管上皮细胞和肾间质纤维化中起着重要的作用^[4-6],在双侧输尿管结扎导致的肾纤维化模型中,磷酸化的 PI3K/AKT/mTOR 明显增加^[7],而抑制其通路可以明显延缓纤维化的进程^[8]。

雷帕霉素作为一种新型的免疫抑制剂,研究发现其具有免疫抑制、抗炎、抗肿瘤和抗衰老等效应,能够延缓肾脏疾病进展,目前应用于肾移植,IgA 型肾病,膜型肾病,糖尿病肾病等多种肾脏疾病^[9-10]。

查阅相关文献后笔者发现,目前对中药治疗肾脏纤维化的机制研究,特别是信号通路的机制研究,主要集中在 TGF- β /Smad 信号通路,从 PI3K-AKT-mTOR 信号通路研究肾脏相关疾病的,主要集中在肾癌方面,在肾纤维化方面,报道极少,因此,本实验使用了抗纤灵方,它是在传统中医理论的指导下研制出来的医院协定方,已经在上海市曙光医院使用

多年,动物实验和临床研究表明,其具有良好的疗效^[11-14],实验中又以 mTOR 的抑制剂雷帕霉素作为阳性药,从引起肾脏纤维化的信号旁路途径(mTOR 信号通路)入手,观察不同剂量的抗纤灵对慢性肾衰模型小鼠肾组织 PI3K-AKT-mTOR mRNA 表达的影响,旨在进一步探讨抗纤灵的作用机制。

1 材料

1.1 动物 清洁级 C57BL/6J 小鼠 40 只,体重 18 ~ 22 g,由上海西普尔-必凯实验动物有限公司提供,合格证号 SCXK(沪)2008-0016。小鼠分笼饲养于上海中医药大学实验动物中心,予 12 h 光照,45 °C 湿度的环境中,自由饮水,进食标准普通饲料,适应性喂养 1 周后进行实验。

1.2 药物及试剂 由丹参 15 g(产于河南),桃仁 12 g(产于云南),当归 12 g(产于甘肃),怀牛膝 15 g(产于河南),酒大黄 9 g(产于河南)组成,由上海曙光医院中药房提供,药材加 10 倍水浸泡过夜,加热煮沸后改文火煎煮 30 min,过滤,过滤后加 8 倍水同样煎煮 30 min,混合 2 次过滤液,水浴中浓缩至 300 mL,含生药 210 g·L⁻¹,高压灭菌后备用。雷帕霉素粉剂(上海威奥生物公司,批号 R706203),Trizol ReagentRNA 抽提试剂盒(日本 Toyo-B0 公司,货号 NPK-20),逆转录试剂盒(加拿大 Fermentas 公司,货号 K1622),实时荧光定量试剂盒(日本 TaKara 公司,货号 PRP420A),PI3K,AKT 及 mTOR 抗体(美国 CST 公司,货号分别为 4257s,9272s,2983s);二抗 HRP 标记的 IgG(中国上海威奥生物公司,批号 WH1102)。

1.3 仪器 5417R 型高速低温离心机(德国 Eppendorf 公司),ELX800 型酶标仪(美国 Bio-Tek 公司),6543-7 型 Mini Protean Cell 小型垂直电泳电

泳槽及 CFX-96 型实时荧光定量 PCR (qPCR) 仪 (美国 Bio-Rad 公司)。

2 方法

2.1 5/6 肾切除诱导的慢性肾脏纤维化模型的建立^[7] 按 Platt 法建立慢性肾衰小鼠模型,以 3% 戊巴比妥钠按 40 mg·kg⁻¹ 剂量 ip 麻醉,小鼠俯卧位暴露左肾区,在距左脊肋骨 1.5 cm 处做斜向外的切口,经后腹膜取出左肾,并暴露于外,剥离肾周脂肪及包膜后,弧形切除 2/3 肾组织 (主要切除皮质部分),消毒棉球压迫止血,观察切面无活动性出血后复位剩余左肾,然后逐层缝合腹膜、肌肉及皮肤,10 d 后以相同的方法麻醉大鼠,完全游离右肾肾蒂后结扎,行右肾摘除,然后逐层缝合腹膜、肌肉及皮肤。2 次手术共切除肾脏约 80% 左右。假手术组仅在手术时作背部切口,打开肾区皮肤肌肉并暴露肾脏后再缝合伤口。

2.2 实验分组及给药 60 只小鼠随机选取 10 只作为假手术组,其余为手术组,按以上方法制作慢性肾衰模型。2 周后采用小鼠眼内眦取血,测血肌酐水平。将模型成功小鼠按血肌酐水平分为模型组 (10 只),雷帕霉素组 (10 只),抗纤灵组 (高、中、低剂量组各 10 只),使各组之间的血肌酐值无统计学差异。根据小鼠与人体 (60 kg) 每千克体重折算系数数值,计算出抗纤灵按照低、中、高剂量 (10, 20, 40 g·kg⁻¹) 配成水煎剂,ig 前用蒸馏水将药液稀释成相应的比例,雷帕霉素剂量为 1.3 mg·kg⁻¹,每天 ig 0.5 mL 治疗,模型组和假手术组予等体积生理盐水 ig,连续用药 8 周。

2.3 实验标本收集及指标检测方法 处死前禁水 6 h,以 3% 戊巴比妥钠 ip 麻醉,取左侧残肾,用生理盐水冲洗,冰上操作,除去血污及脂肪等组织,其中一部分肾组织常规固定,脱水,石蜡包埋,另一部分入冷存管,存放于液氮罐中,运用 qPCR 法测定肾脏组织中 PI3K-AKT-mTOR mRNA 的表达。

2.3.1 肾组织病理学检查 常规厚度 4 μm 切片,行苏木素-伊红 (HE) 染色,每组选取 6 张切片,每张切片随机选择 10 个肾皮质视野,按文献 [15-16] 描述的方法进行半定量评分,肾小管间质损害观察蛋白,红细胞管型,肾小管扩张,坏死,间质炎性细胞浸润,间质纤维病变。肾小球硬化损伤观察:系膜细胞增殖,球囊粘连与节段硬化,新月体形成,每张切片随机选取 4 个视野,按照病变面积分级:0 分,正常;1 分,小于 25%;2 分,26% ~ 50%;3 分,51% ~ 75%;4 分,大于 76%。每张切片由 2 位病理医生双

盲法分别评分,取平均值。

2.3.2 肾组织中 PI3K-AKT-mTOR mRNA 的表达 RNA 提取按照常规方法进行,提取后的 RNA 进行浓度测定,使用 2 μg RNA 进行逆转录,体系为 50 μL,反应结束后进行 qPCR 反应,引物序列见表 1,引物浓度为 0.3 μmol·L⁻¹,cDNA 使用 2 μL,反应条件按照说明书采用两步法进行,95 °C 预变性 15 min,95 °C 变性 10 s,60 °C 退火延伸 32 s,40 个循环,反应结束后,分析 C_t 值,以甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (GAPDH) 为内部参照,采用 2^{-ΔΔC_t} 法计算 mRNA 的相对表达量。

表 1 PCR 引物

Table 1 Primers of PCR

基因	基因序列 5'-3'	片段长度/bp
PI3K	上游 CTTGCCTCCATTCACCACCTCT	97
	下游 GCCTCTAATCTTCTCCTCTCTCCTTC	
AKT	上游 TGTCTCGTGAGCGCGTGTTTT	159
	下游 CCGTTATCTTGATGTGCCCGTC	
mTOR	上游 AGTGAAGCCGAGAGCAATGAGA	134
	下游 GACAAGGAGATAGAACGGAAGAAGC	
GAPDH	上游 CAACGGGAAACCCATCACCA	96
	下游 ACGCCAGTAGACTCCACGACAT	

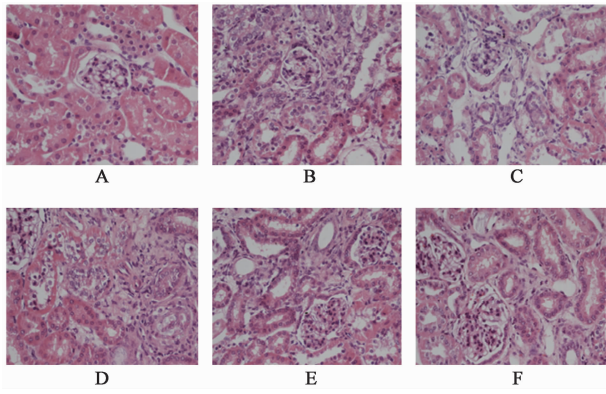
2.4 统计学分析 采用 SPSS 13.0 软件进行处理,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间均数比较采用单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对慢性肾衰模型小鼠肾组织病理形态学的影响 镜下 HE 染色可见,假手术组肾脏,肾小球,肾小管,系膜结构正常,间质未见增宽,无炎性细胞浸润,小管基底膜光滑完整,模型组系膜细胞增生,细胞增多,肾小球囊性增多,纤维组织增多,肾小管上皮细胞弥漫空泡变性,大部分肾小管扩张或者萎缩,基底膜增厚,断裂,可见大量炎性细胞浸润,各治疗组系膜细胞增生减轻,纤维组织减少,肾小管扩张或萎缩减少,空泡变性减轻,炎性细胞减少。见图 1。

3.2 对慢性肾衰模型小鼠肾组织损伤评分的影响 与假手术组比较,模型组损伤评分显著升高 ($P < 0.01$);与模型组比较,各治疗组积分明显下降 ($P < 0.05, P < 0.01$);与雷帕霉素组比较,抗纤灵低剂量有显著性差异 ($P < 0.05$),疗效差于雷帕霉素,抗纤灵中、高剂量与雷帕霉素没有显著性差异,抗纤灵低剂量组与中、高剂量组间比较也显著性差异 ($P < 0.05$)。见表 2。

3.3 对慢性肾衰模型小鼠肾组织 PI3K, AKT, mTOR mRNA 表达水平的影响 与假手术组比较,



A. 假手术组; B. 模型组; C. 雷帕霉素 $0.8 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$; D. 抗纤灵 $10 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组; E. 抗纤灵 $20 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组; F. 抗纤灵 $40 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组

图 1 抗纤灵对慢性肾衰小鼠肾组织病理形态学的影响(HE, $\times 400$)
Fig. 1 Effect of Kangxianling on kidney pathological morphology in chronic renal failure mice(HE, $\times 400$)

表 2 抗纤灵对肾衰模型小鼠肾组织损伤评分的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Effect of Kangxianling on injury score of renal tissues in chronic renal failure mice($\bar{x} \pm s$)

组别	n	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	肾小球	肾小管
假手术	8	-	1.12 ± 0.02	1.89 ± 0.02
模型	9	-	$3.07 \pm 0.02^{2)}$	$4.21 \pm 0.04^{2)}$
雷帕霉素	8	8×10^{-4}	$2.01 \pm 0.02^{4)}$	$2.97 \pm 0.03^{4)}$
抗纤灵	8	10	$2.33 \pm 0.01^{3,5)}$	$3.88 \pm 0.03^{3,5)}$
	9	20	$2.17 \pm 0.02^{4,7)}$	$3.41 \pm 0.04^{4,7)}$
	9	40	$2.09 \pm 0.01^{4,7)}$	$3.06 \pm 0.03^{4,8)}$

注:与假手术组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$;与模型组比较³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$;与雷帕霉素组比较⁵⁾ $P < 0.05$, ⁶⁾ $P < 0.01$;与抗纤灵低剂量比较⁷⁾ $P < 0.05$, ⁸⁾ $P < 0.01$ (表 3 同)。

表 3 抗纤灵对肾衰模型小鼠肾组织 PI3K, AKT, mTOR mRNA 表达水平的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Effect of Kangxianling on level of PI3K, AKT, mTOR mRNA expression in chronic renal failure mice($\bar{x} \pm s$)

组别	n	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	PI3K	AKT	mTOR
假手术	8	-	1.00 ± 0.01	0.77 ± 0.07	0.97 ± 0.09
模型	9	-	$3.04 \pm 0.11^{1)}$	$2.93 \pm 0.12^{1)}$	$3.07 \pm 0.03^{1)}$
雷帕霉素	8	8×10^{-4}	$2.21 \pm 0.14^{4)}$	$1.60 \pm 0.17^{4)}$	$2.13 \pm 0.03^{4)}$
抗纤灵	8	10	$2.54 \pm 0.23^{4)}$	$2.30 \pm 0.23^{3,6)}$	$2.78 \pm 0.19^{3,5)}$
	9	20	$2.38 \pm 0.28^{4,7)}$	$2.20 \pm 0.18^{3,7)}$	$2.29 \pm 0.26^{4,7)}$
	9	40	$2.27 \pm 0.19^{4,7)}$	$1.83 \pm 0.15^{4,7)}$	$2.15 \pm 0.21^{4,7)}$

段,而中药成分及药物间配伍的多样性和作用于多环节的特点,在防治肾间质纤维化领域中日益突显强大优势。

PI3K/ AKT /mTOR 信号通路对细胞的生长、增殖、凋亡等起着重要的调节作用,参与了多种生理和病理过程如肿瘤的生长,纤维化的形成,氧化应激等^[17]。AKT 是 PI3K 下游的一个重要靶激酶,具有丝氨酸、苏氨酸激酶活性^[18],其可直接激活 mTOR, mTOR 以 mTOR1 和 mTOR2 2 种不同复合物形式存在,其中 mTOR1 是由 mTOR 的催化亚基和 mTOR 的调节相关蛋白 Raptor 组成,对雷帕霉素敏感,调

模型组 PI3K, AKT, mTOR mRNA 水平明显升高 ($P < 0.05$);与模型组比较,雷帕霉素,抗纤灵各剂量组均有所降低 ($P < 0.01, P < 0.05$),与雷帕霉素比较,抗纤灵低剂量在 AKT, mTOR mRNA 方面有明显性差异 ($P < 0.05, P < 0.01$),在 PI3K 方面无显著性差异,抗纤灵中、高剂量在 PI3K, AKT, mTOR mRNA 方面均无显著性差异,抗纤灵低、中、高 3 组比较,抗纤灵中、高剂量在 PI3K, AKT, mTOR mRNA 方面与低剂量之间有显著性差异 ($P < 0.05$),但中、高剂量之间无显著性差异。见表 3。

4 讨论

肾脏纤维化发病机制错综复杂,是一个多渠道,多环节的进展过程,目前研究显示孤立靶点对其进行干预的效果并不理想,需着眼于多靶点的治疗手

节蛋白翻译和代谢^[19]。雷帕霉素是 mTORC1 特异性抑制剂,动物实验中发现雷帕霉素通过保护足细胞、抑制肾间质炎症与纤维化等病变以延缓糖尿病肾病、膜性肾病等慢性肾脏病肾功能丢失,促进囊壁衬里细胞凋亡,阻抑多囊肾囊肿形成与增大以保护肾功能^[20-26]。

因此,本实验采用 5/6 肾切除诱导产生肾脏纤维化模型,采用雷帕霉素作为药性药物,从 PI3K-AKT-mTOR mRNA 信号通路入手,观察抗纤灵对其影响,结果表明,抗纤灵能够减轻模型组小鼠肾组织纤维化,降低 PI3K-AKT-mTOR mRNA 表达,与雷帕

霉素组比较,抗纤灵中、高剂量与雷帕霉素相当,低剂量组疗效差于雷帕霉素,高、中、低剂量组间比较,低剂量组疗效稍差于中、高剂量组,中、高剂量组间比较,没有显著性差异,说明抗纤灵水煎液可降低模型小鼠表达 PI3K-AKT-mTOR mRNA 的表达,减轻肾组织的纤维化,中、高剂量与和雷帕霉素疗效等同,这为抗纤灵的多靶点作用机制提供了一定的实验依据。

[参考文献]

[1] 龚绍琼, 张弋. 氯沙坦对单侧输尿管梗阻大鼠肾间质纤维化的保护作用[J]. 实用医学杂志, 2008, 24(16): 2769-2771.

[2] Coelho R P, Yuelling L M, Fuss B, et al. Neurotrophin-3 targets the translational initiation machinery in oligodendrocytes[J]. *Glia*, 2009, 57(16): 1754-1764.

[3] Rosen N, She Q B. AKT and cancer-is it all mTOR? [J]. *Cancer Cell*, 2006, 10(4): 254-256.

[4] Rodríguez-Peña A B, Grande M T, Eleno N, et al. Activation of Erk1/2 and Akt following unilateral ureteral obstruction [J]. *Kidney Int*, 2008, 74(2): 196-209.

[5] Zeng R, Yao Y, Han M, et al. Biliverdin reductase mediates hypoxia-induced EMT via PI3-kinase and Akt [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2008, 19(2): 380-387.

[6] Du R, Xia L, Ning X, et al. Hypoxia-induced Bmi1 promotes renal tubular epithelial cell-mesenchymal transition and renal fibrosis via PI3K/Akt signal [J]. *Mol Biol Cell*, 2014, 25(17): 2650-2659.

[7] Ma S K, Joo S Y, Kim C S, et al. Increased phosphorylation of PI3K/Akt/mTOR in the obstructed kidney of rats with unilateral ureteral obstruction [J]. *Chonnam Med J*, 2013, 11(3): 108-112.

[8] Liang M, Lv J, Chu H, et al. Vertical inhibition of PI3K/Akt/mTOR signaling demonstrates *in vitro* and *in vivo* anti-fibrotic activity [J]. *Dermatol Sci*, 2014, 76(2): 104-111.

[9] Rial Mdel C, Abbud-Filho M, Goncalves R T, et al. Individualizing early use of sirolimus in renal transplantation [J]. *Transplant Proc*, 2010, 42(10): 4518-4525.

[10] 何娅妮, 陈佳. 雷帕霉素在肾脏病中的应用现状[J]. 中华肾病研究电子杂志, 2014, 3(4): 183-186.

[11] 张长明, 周家俊, 何立群, 等. 抗纤灵方对CKD3~4期患者疗效及机制的临床多中心随机对照研究[J]. 辽宁中医杂志, 2013, 40(5): 122-124.

[12] 张长明, 周家俊, 何立群. 抗纤灵方治疗慢性肾脏病3期患者110例临床研究[J]. 中医杂志, 2013, 54(3): 214-216.

[13] 王东, 张长明, 王云满, 等. 抗纤灵方药物血清对骨髓来源成纤维细胞表型转化的影响[J]. 中医杂志,

2013, 54(5): 420-422.

[14] 王东, 张江, 陈刚, 等. 抗纤灵药物血清对骨髓来源的成纤维细胞转化生长因子- β 和I型胶原的抑制作用[J]. 中国中医药信息杂志, 2012, 19(10): 29-31.

[15] Li Y, Yang J, Dai C, et al. Role for integrin-linked kinase in mediating tubular epithelial to mesenchymal transition and renal interstitial fibrogenesis [J]. *Clin Invest*, 2003, 112(4): 503-516.

[16] Bob F, Gluhovschi G, Herman D, et al. Immunohistochemical study of tubular epithelial cells and vascular endothelial cells in glomerulonephritis [J]. *REN Fail*, 2004, 36(8): 1208-1214.

[17] Coelho R P, Yuelling L M, Fuss B, et al. Neurotrophin-3 targets the translational initiation machinery in oligodendrocytes[J]. *Glia*, 2009, 57(16): 1754-1764.

[18] Yang Y, Wang J, Qin L, et al. Rapamycin prevents early steps of the development of diabetic nephropathy in rats [J]. *Am Nephrol*, 2007, 27(5): 495-502.

[19] Mori H, Inoki K, Masutani K, et al. The mTOR pathway is highly activated in diabetic nephropathy and rapamycin has a strong therapeutic potential [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 384(4): 471-475.

[20] Narita M, Young A R, Arakawa S, et al. Spatial coupling of mTOR and autophagy augments secretory phenotypes [J]. *Science*, 2011, 332(6032): 966-970.

[21] McMahon G, Weir M R, Li X C, et al. The evolving role of mTOR inhibition in transplantation tolerance [J]. *Am Soc Nephrol*, 2011, 22(3): 408-415.

[22] Kato H, Nakajima S, Saito Y, et al. mTORC1 serves ER stress-triggered apoptosis via selective activation of the IRE1-JNK pathway [J]. *Cell Death Differ*, 2012, 19(2): 310-320.

[23] Novalic Z, van der Wal A M, Leonhard W N, et al. Dose-dependent effects of sirolimus on mTOR signaling and polycystic kidney disease [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2012, 23(5): 842-853.

[24] Wang S, Wilkes M C, Leof E B, et al. Noncanonical TGF- β pathways, mTORC1 and Abl, in renal interstitial fibrogenesis [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2010, 298(1): F142-F149.

[25] Inoki K, Mori H, Wang J, et al. mTORC1 activation in podocytes is a critical step in the development of diabetic nephropathy in mice [J]. *J Clin Invest*, 2011, 121(6): 2181-2196.

[26] Chen G, Chen H, Wang C, et al. Rapamycin ameliorates kidney fibrosis by inhibiting the activation of mTOR signaling in interstitial macrophages and myofibroblasts [J]. *PLoS One*, 2012, 7(3): e33626.

[责任编辑 周冰冰]