

禾肾丸对阿霉素肾病大鼠蛋白尿及 肾组织 nephrin 蛋白表达影响

杨芳^{1,2}, 何泽云^{2*}

(1. 湖南中医药大学 中医诊断学湖南省重点实验室, 长沙 410208;
2. 湖南中医药大学 第一附属医院, 长沙 410007)

[摘要] **目的:**研究禾肾丸对阿霉素肾病大鼠蛋白尿及肾组织足细胞裂孔膜蛋白 nephrin 表达的影响,为其治疗肾病蛋白尿提供实验依据。**方法:**SPF 级雄性 Wistar 大鼠随机分为模型组,禾肾丸组(1.8 g·kg⁻¹),贝那普利组(1 mg·kg⁻¹)及空白组。采用一次性尾静脉注射阿霉素 6 mg·kg⁻¹复制阿霉素肾病大鼠模型。造模成功后,禾肾丸组及贝那普利组分别给予相应药液,模型组及空白组给予等体积蒸馏水,1 次/d,连续 28 d。给药结束后,收集 24 h 尿液,检测尿蛋白,腹主动脉采血,检测血中白蛋白(albumin, Alb),血肌酐(serum creatine, SCr),血尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)。苏木素-伊红(HE)检查肾脏组织形态变化,透射电镜观察肾小球足细胞足突及基底膜改变,免疫组化及蛋白免疫印迹(Western blot)法检测肾组织 nephrin 表达。**结果:**经禾肾丸治疗后,24 h 蛋白尿较模型组显著下降($P < 0.01$),血清 SCr, BUN 显著降低($P < 0.01$),Alb 显著升高($P < 0.01$)。组织病理学检查显示,禾肾丸组肾小球上皮细胞肿胀明显减轻,部分肾小球体积略增大,系膜细胞及系膜基质仅见轻微增生,管腔内未见小管有蛋白管型。超微结构研究显示,禾肾丸组肾小球基底膜光滑均匀,略见增厚,足突清晰完整、偶见融合。免疫组化结果显示,禾肾丸组 nephrin 蛋白阳性面积率显著高于模型组($P < 0.01$)。Western blot 结果显示,nephrin 蛋白表达量较模型组显著升高($P < 0.01$)。**结论:**禾肾丸可能通过上调 nephrin 表达水平,修复受损足细胞而减少蛋白尿、保护肾脏。

[关键词] 禾肾丸; 阿霉素肾病; 蛋白尿; nephrin 蛋白

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)09-0158-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2017090158

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170209.0906.006.html>

[网络出版时间] 2017-02-09 9:06

Effect of Heshen Pill on Urinary Protein and Expression of Nephrin Protein in Rats with Adriamycin-induced Nephropathy

YANG Fang^{1,2}, HE Ze-yun^{2*}

(1. Hunan Province Key Laboratory of Diagnostics of Traditional Chinese Medicine, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China; 2. The First Hospital Affiliated to Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410007, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of Heshen pill (HSP) on urinary protein and the expression of nephrin protein in rats with adriamycin-induced nephropathy. **Method:** The rats were randomly divided into four groups, namely the model group, the HSP group (1.8 g·kg⁻¹), the benazepril group (1 mg·kg⁻¹) and the control group. Nephropathy rat model was induced through injection of adriamycin (6 mg·kg⁻¹). After successful modeling, the HSP group and the benazepril group were given the corresponding

[收稿日期] 20161205(012)

[基金项目] 湖南省中药管理局重点项目(201503);湖南省研究生创新研究计划项目(CX2015B316)

[第一作者] 杨芳,在读博士,从事慢性肾病的中医药防治研究,E-mail:fangy82@163.com

[通讯作者] *何泽云,教授,博士生导师,从事慢性肾脏疾病的中医药防治研究,E-mail:hzy2005@zju.edu.cn

drugs, and the model group and the control group were given equivalent volume of distilled water, 1 times a day, for 28 days. At the end of the experiment, 24 h urine was collected for urine protein detection, and aortic blood was collected for albumin (Alb), serum creatine (SCr), blood urea nitrogen (BUN) detection. The morphological changes in renal tissues were assessed by hematoxylin-eosin (HE) staining, and the changes in foot process and basilar membrane of podocytes were probed under transmission electron microscope (TEM). The nephrin protein was measured by immunohistochemistry and Western blot. **Result:** After the treatment, the 24 h proteinuria of the HSP group was decreased significantly than that of the model group ($P < 0.01$). SCr, BUN were decreased significantly, and Alb was increased significantly of the HSP group than those of the model group ($P < 0.01$). Histopathological examination revealed that glomerular epithelial cell swelling of the HSP group was reduced significantly, glomerular volume was increased slightly, mesangial cells and matrix showed slight hyperplasia, and no protein cast is found in lumen. Ultrastructural examination showed that the glomerular basement membrane of the HSP group was smooth and even, with slight thickening, and foot process was clear and complete, with occasional fusion. Immunohistochemistry showed that the positive area rate of nephrin protein of the HSP group was significantly superior to that of the model group ($P < 0.01$). Western blot demonstrated that the nephrin protein expression of the HSP group was significantly superior to that of the model group ($P < 0.01$). **Conclusion:** The inhibitive effects of HSP on proteinuria are achieved by promoting nephrin expression and repairing podocyte damage.

[**Key words**] Heshen pill; adriamycin-induced nephropathy; urinary protein; nephrin protein

慢性肾病(chronic kidney disease, CKD)是世界范围内的重要公共健康问题^[1]。蛋白尿是肾病进展的独立危险因素,尿蛋白排泄增多是CKD病情持续进展的重要原因,是判断其预后的指标之一^[2],而足细胞损伤是引起蛋白尿的重要原因^[3]。足细胞裂孔膜蛋白nephrin作为维持足细胞正常形态和主要功能的裂孔隔膜分子,其表达下降为足细胞损伤的最常见标志^[4]。

禾肾丸是导师何泽云教授依据原发性肾病综合征之脾肾亏虚、肾失封藏的病机,由“金锁固精丸”去莲须加莲子,加山药、黄柏、大枣及糯米化裁而成,临床用于治疗慢性肾病蛋白尿,疗效卓著^[5-6]。前期研究表明,禾肾丸能有效减少蛋白尿的漏出,并具有一定的修复肾小球基底膜作用^[7],而其具体作用机制尚不明确。因此本研究拟通过研究禾肾丸对阿霉素肾病大鼠足细胞标志蛋白nephrin蛋白的影响,明确其作用机制,为其临床治疗慢性肾病蛋白尿提供实验依据。

1 材料

1.1 动物 Wistar大鼠,SPF级,雄性,体重(160±10)g,购自北京维通利华生物公司,合格证号SCXK(京)2012-0001,饲养于湖南中医药大学SPF实验动物中心,温度(22±1)℃,湿度(50±5)%。在开展本实验研究工作前均签署动物实验伦理审查书,且所有工作的进行均符合动物实验相关条件及动物实

验伦理审查委员会的相关要求及所有规定。

1.2 受试药物 盐酸贝那普利片(深圳信立泰药业股份有限公司,批号AD20150105)。

禾肾丸(湖南中医药大学第一附属医院药剂科,批号20150709,为湖南中医药大学第一附属医院院内制剂)药物组成为沙苑子100g,山药100g,醋炙牡蛎50g,醋炙龙骨50g,莲子100g,芡实50g,大枣50g,黄柏20g,糯米50g。所有药材均符合《中国药典》(2015年版)一部相关质量要求,经湖南中医药大学中药鉴定教研室左亚杰教授鉴定。其中沙苑子为豆科植物扁茎黄芪*Astragalus complanatus*的干燥成熟种子;山药为薯蓣科植物薯蓣*Dioscorea opposita*的干燥根茎;牡蛎为牡蛎科动物长牡蛎*Ostrea gigas*,大连湾牡蛎*O. talienwhanensis*或近江牡蛎*O. rivularis*的贝壳;龙骨为古代哺乳动物的骨骼化石^[8];莲子为睡莲科植物莲*Nelumbo nucifera*的干燥成熟种子;芡实为睡莲科植物芡*Euryale ferox*的干燥成熟种仁;大枣为鼠李科植物枣*Ziziphus jujuba*的干燥成熟果实;黄柏为芸香科植物黄皮树*Phellodendron chinense*的干燥树皮;以上7味药粉碎成细粉,备用;糯米用12倍的水煮开,取糯米汁,加入到上述细粉中,制丸,干燥,即得。

1.3 试剂 注射用盐酸多柔比星(深圳万乐药业有限公司,批号1409E1);nephrin(G-20)羊抗鼠一抗(美国SantaCruz公司,批号sc-32530);兔抗羊二

抗(美国 ICLLabs 公司,批号 RGHL-50P); β -肌动蛋白(β -actin)(D6A8)兔抗鼠一抗、磷酸酶抑制剂 cocktail(美国 CST 公司,批号分别为 5872S, 8457S);羊抗兔二抗(美国 Merck-Millipore 公司,批号 AP123P);BCA 蛋白定量试剂盒(碧云天生物技术有限公司,批号 P0010);PVDF 膜(美国 Millipore 公司,批号 IPNH00010)。

1.4 仪器 PowerPac™ Basic 型电泳仪, Mini-PROTEAN®Tetra 转移电泳槽, ChemiDoc®XRS + 型凝胶成像系统, SmartSpec plus 型核酸蛋白测定仪(美国 Bio-Rad 公司);Centrifuge 5417R 超速高冷离心机(德国 Eppdorf 公司);IKA®All Basic 型组织粉碎机(德国 IKA 公司);LX20 型全自动生化仪(美国 Beckman Coulter 公司);HT7700 型透射电镜(日本日立公司);KD2258 型石蜡切片机(浙江金华公司);UCT 型电镜超薄切片机(德国 Leica 公司);BX43 型光学显微镜(日本 Olympus 公司);ImageProPlus7.0 图像分析系统(美国 Media Cybernetics 公司);2620 型动物器具进口代谢笼(意大利 Tecniplast 公司)。

2 方法

2.1 阿霉素肾病模型建立与分组 取 Wistar 大鼠,随机分为空白组、模型组、禾肾丸组及贝那普利组。模型组、禾肾丸组及贝那普利组大鼠一次性尾静脉注射阿霉素 $6 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ [7],空白组一次性尾静脉注射等体积的生理盐水。

2.2 给药 每次将禾肾丸 20 g 研钵磨碎溶于蒸馏水 100 mL 中,药物终质量浓度约为 $0.133 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$,放置于 $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱保存,用完再配,灌胃前将药液复温至常温后再使用。禾肾丸组按课题组前期研究最佳给药方式 $1.8 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 给予药液[9-10]。

贝那普利 60 kg 人的口服剂量约 $0.14 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$;折算 200 g 大鼠的剂量约为 $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,每次将贝那普利 20 g 用研钵磨碎溶于蒸馏水 100 mL 中,其最终质量浓度为 $0.2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$,放置于 $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 度冰箱保存,用完再配,灌胃前将药液复温至常温后再使用。贝那普利组按 $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 给药。

模型组及空白组给予等体积蒸馏水,1 次/d,连续 28 d,给药量参照禾肾丸组。

2.3 24 h 尿蛋白测定 在造模前 1 d,造模 14 d,给药 14,28 d 4 个时间点分别将大鼠放入代谢笼,收集 24 h 尿液,采用 Bio-Rad 酶标仪定量测定 24 h 尿蛋白。

2.4 血清白蛋白(albumin, Alb),血肌酐(serum

creatinine, SCr),血尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)测定 实验结束后,禁食 12 h,次日清晨,麻醉大鼠,腹主动脉采血, $4 \text{ }^\circ\text{C}$, $3\ 000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 15 min,全自动生化仪进行血 Alb, SCr, BUN 测定。

2.5 肾组织病理学检查 实验结束后,麻醉大鼠,取左肾组织以 4% 多聚甲醛固定、石蜡包埋,切片行苏木素-伊红(HE)染色,在光学显微镜观察肾组织病理改变。

2.6 肾组织超微病理学检查 实验结束后,右肾组织取部分皮质用 3% 戊二醛, $0.22 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 蔗糖的磷酸盐缓冲液电镜固定,1% 锇酸后固定,逐级乙醇脱水、环氧树脂包埋,透射电镜(TEM)进行肾脏超微病理学检查。

2.7 免疫组化检测肾组织 nephrin 蛋白含量 肾组织石蜡切片,漂洗、抗原修复、消除内源性过氧化物酶,分别加 nephrin 一抗(1:500), $37 \text{ }^\circ\text{C}$ 孵育 1.5 h,加二抗(1:2 000), diaminobenzidine(DAB)染色,苏木素复染,中性树脂封片。每张切片随机选取 5 个视野($\times 400$), ImageProPlus 图像分析软件进行半定量分析。

2.8 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测肾组织 nephrin 蛋白含量 提取肾皮质组织蛋白并定量,取蛋白 $20 \text{ } \mu\text{g}$, 80 V 电泳 30 min, 120 V 电泳 110 min,转膜缓冲液中 300 mA 转膜 90 min, TBST 封闭 1 h,羊抗鼠 nephrin 抗体(1:1 000) $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 过夜,加入兔抗羊二抗(1:4 000)室温孵育 1 h, ECL 发光显影, Bio-Rad 凝胶成像系统 ChemiDoc™ XRS + 拍照。以电泳条带的灰度值作为条带的强度指标,内参照 β -actin 表达条带的强度为标准,以各自蛋白的灰度值与 β -actin 蛋白灰度值之比作为各自蛋白的相对表达量,并进行统计分析。

2.9 统计学分析 采用 SPSS 22.0 统计软件进行统计学分析,计量资料以表示;24 h 尿蛋白比较,采用一般线性模型的 Repeated Measure 过程实现重复测量资料的方差分析,并用 Multivariate 过程实现组间的两两比较;对于 Western blot 结果采用析因设计的方差分析进行比较。 $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 禾肾丸对阿霉素肾病大鼠 24 h 尿蛋白定量的影响 与空白组比较,注射阿霉素后,24 h 蛋白尿显著上升,且持续升高($P < 0.01$),提示造模成功。经禾肾丸治疗 14, 28 d 后,24 h 尿蛋白显著下降($P < 0.01$)。见表 1。

表 1 禾肾丸对阿霉素肾病大鼠 24 h 尿蛋白定量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量	造模前 1 d	造模 14 d	给药 14 d	给药 28 d
空白	-	6.85 ± 1.04	8.17 ± 1.84	7.91 ± 2.05	7.64 ± 1.94
模型	-	7.11 ± 1.19 ¹⁾	127.56 ± 16.87 ¹⁾	206.94 ± 22.43 ¹⁾	292.69 ± 21.68 ¹⁾
禾肾丸	1.8 g·kg ⁻¹	7.16 ± 1.05 ²⁾	124.49 ± 15.92 ²⁾	96.47 ± 14.72 ²⁾	68.24 ± 18.45 ²⁾
贝那普利	1.0 mg·kg ⁻¹	6.95 ± 1.01 ²⁾	129.54 ± 17.28 ²⁾	86.99 ± 17.04 ²⁾	58.72 ± 20.23 ²⁾

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

3.2 禾肾丸对阿霉素肾病大鼠血清 Alb, SCr, BUN 的影响 与空白组比较,模型组血清 SCr, BUN 显著上升($P < 0.01$),血清 Alb 显著降低($P < 0.01$),提示造模成功。经禾肾丸治疗后,血清 SCr, BUN 显著降低($P < 0.01$),血清 Alb 显著升高($P < 0.01$)。见表 2。

表 2 禾肾丸对阿霉素肾病大鼠血清 Alb, SCr, BUN 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

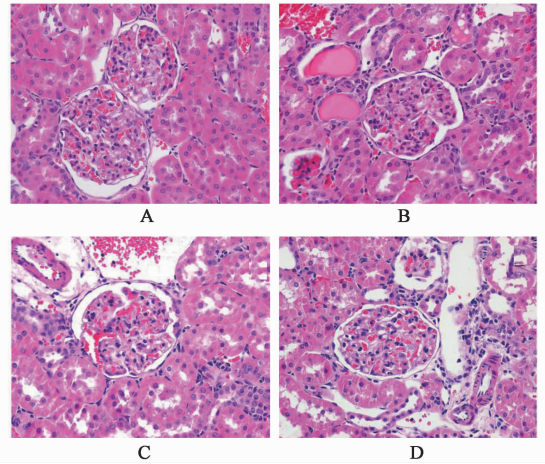
Table 2 Effect of Heshen pill on Alb, SCr, BUN in rats with adriamycin-induced nephropathy ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量	Alb/ mg·L ⁻¹	SCr/ μmol·L ⁻¹	BUN/ mmol·L ⁻¹
空白	-	35.63 ± 1.09	40.21 ± 3.77	5.40 ± 0.39
模型	-	21.55 ± 2.79 ¹⁾	75.69 ± 6.40 ¹⁾	7.78 ± 0.67 ¹⁾
禾肾丸	1.8 g·kg ⁻¹	26.52 ± 1.57 ²⁾	63.79 ± 8.17 ²⁾	5.95 ± 0.41 ²⁾
贝那普利	1.0 mg·kg ⁻¹	29.02 ± 2.00 ²⁾	54.51 ± 8.80 ²⁾	6.68 ± 0.54 ²⁾

3.3 禾肾丸对阿霉素肾病大鼠肾组织病理学改变影响 空白组大鼠肾小球上皮细胞形态完整,系膜细胞及基质无增生。模型组大鼠肾小球上皮细胞肿胀,部分肾小球体积增大,系膜细胞及系膜基质局灶节段性增多;肾小管上皮细胞部分空泡样变性,管腔内可见小管有蛋白管型。禾肾丸组肾小球上皮细胞肿胀明显减轻,部分肾小球体积略增大,系膜细胞及系膜基质仅见轻微增生,管腔内未见小管有蛋白管型。见图 1。

3.4 禾肾丸对阿霉素肾病大鼠肾组织超微结构改变影响 空白组肾小球基底膜光滑均匀未见增厚,足突清晰完整、未见融合。模型组足细胞变扁平,足突广泛融合,足细胞微绒毛样改变。禾肾丸组肾小球基底膜光滑均匀,略见增厚,足突清晰完整、偶见融合。见图 2。

3.5 禾肾丸对阿霉素肾病大鼠肾组织 nephrin 蛋白的分布影响 nephrin 免疫组化染色阳性物质呈棕黄色颗粒,空白组大鼠可见 nephrin 蛋白大量表达,连续、粗线样分布肾小球毛细血管襻。模型组仅少



A. 空白组;B. 模型组;C. 禾肾丸组;D. 贝那普利组(图 2~4 同)
图 1 禾肾丸对阿霉素肾病大鼠肾组织病理学改变影响(HE, ×400)
Fig.1 Effect of Heshen pill on pathological changes in kidney tissues of rats with adriamycin-induced nephropathy(HE, ×400)

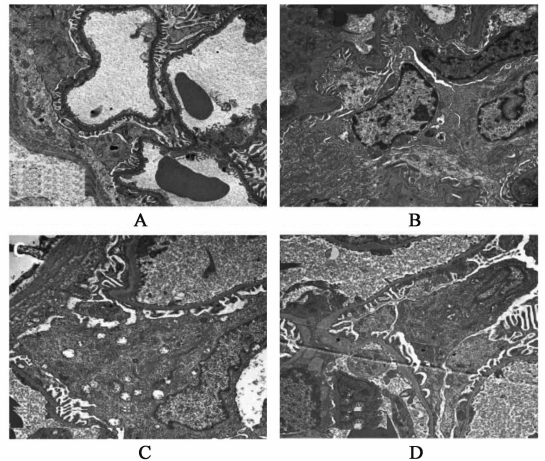
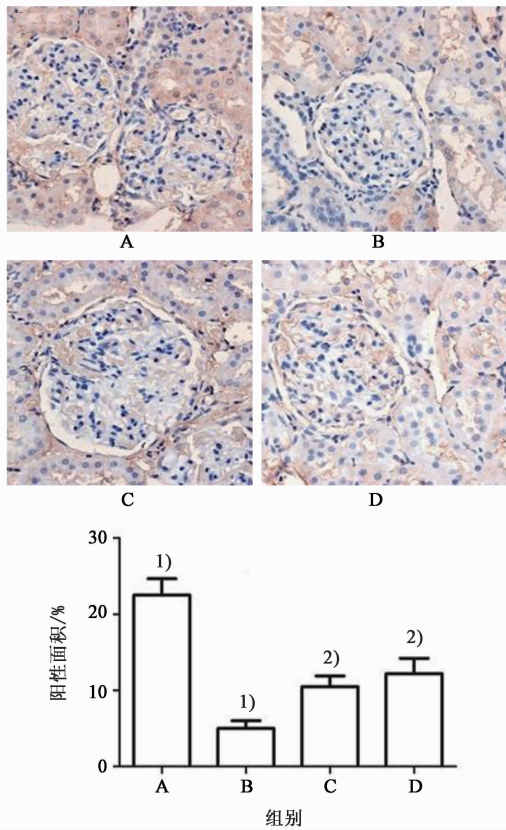


图 2 禾肾丸对阿霉素肾病大鼠肾组织超微结构改变影响(TEM, ×5 000)
Fig.2 Effect of Heshen pill on ultrastructural changes in kidney tissues of rats with adriamycin-induced nephropathy(TEM, ×5 000)

量 nephrin 蛋白表达,棕黄色粗线样沉积逐渐变细、变淡或消失。禾肾丸组可见 nephrin 蛋白表达较多,棕黄色线样沉积较模型组粗、颜色深。禾肾丸组阳性面积率显著高于模型组($P < 0.01$)。见图 3。

3.6 禾肾丸对阿霉素肾病大鼠肾组织 nephrin 蛋白



与 A 组比较¹⁾ $P < 0.01$; 与 B 组比较²⁾ $P < 0.01$ (图 4 同)
图 3 禾肾丸对阿霉素肾病大鼠肾组织 nephrin 蛋白的分布影响 (IHC, $\times 400$)

Fig. 3 Effect of Heshen pill on expression of nephrin protein of rats with adriamycin-induced nephropathy (IHC, $\times 400$)

表达影响 模型组 nephrin 蛋白表达量显著降低 ($P < 0.01$)。经禾肾丸治疗后, nephrin 蛋白表达量显著升高 ($P < 0.01$)。见图 4。

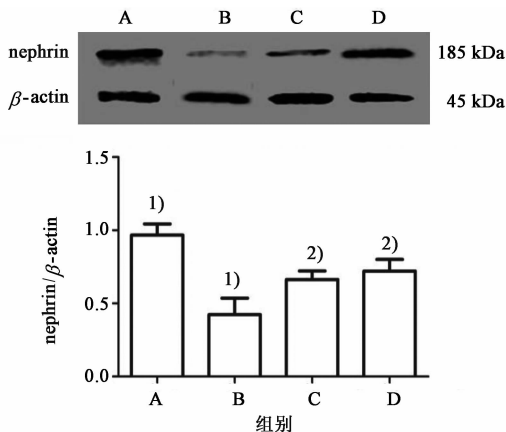


图 4 禾肾丸对阿霉素肾病大鼠肾组织 nephrin 蛋白表达影响
Fig. 4 Effect of Heshen pill on expression of nephrin protein of rats with adriamycin-induced nephropathy

4 讨论

蛋白尿是慢性肾脏病的重要表现,是其进展至

终末期肾病的独立危险因素^[11],减少蛋白尿是诊治和评价肾脏疾病预后的重要指标^[12]。中医学认为蛋白质属人体水谷精微,由脾化生、布散,肾封藏。脾失健运,清阳下陷,精微下注,肾失封藏,固摄无权,精微下泄,随洩而出,即为蛋白尿。何泽云教授依据蛋白尿之病机,由“金锁固精丸”去莲须加莲子,加山药、黄柏、大枣及糯米化裁而成禾肾丸,方中沙苑子有补肾涩精之功为君药;醋炙龙骨,味甘涩性平,功偏固肾涩精,醋炙牡蛎味咸,质重沉降,长于收敛固涩,两药合用专以涩精,芡实、莲子二者相须为用,共奏有益肾固精之功,与平补脾肾的山药共为臣药,助君药固肾涩精之力,君臣相伍,以资不足;大枣肉补中益气健脾为佐药,黄柏苦以坚阴入肾经,正合《黄帝内经》“肾欲坚,急食苦以坚之”之意,亦为佐药;以上诸药合用共奏补肾固精,益气健脾之效,临床用于治疗慢性肾病蛋白尿,疗效卓著^[5-6,10],然其作用机制尚未完全明确。

现代研究表明肾小球疾病蛋白尿主要是由于肾小球滤过屏障的完整性受损所致^[13],而足细胞是维持肾小球滤过屏障完整性、防止蛋白尿形成的重要因素^[13-14]。nephrin 蛋白在肾脏中特异表达于足细胞,定位于足细胞裂孔膜区,是维持足细胞正常形态和主要功能的裂孔隔膜分子^[13-15],其表达下降为足细胞损伤的最常见标志^[4,16]。众多实验证实, nephrin 基因和(或)蛋白表达水平的异常在蛋白尿的发生机制中具有非常重要的作用^[17-19]。本实验研究发现,模型组足细胞变扁平,足突广泛融合,足细胞微绒毛样改变, nephrin 蛋白表达显著降低,与文献报道一致^[20-21],这提示 nephrin 蛋白表达降低,引起足细胞超微结构改变,进而致使裂孔隔膜功能异常,滤过屏障受损,产生蛋白尿。经禾肾丸治疗后, nephrin 蛋白表达显著增加,尿蛋白显著减少,肾小球上皮细胞肿胀明显减轻,部分肾小球体积略增大,系膜细胞及系膜基质仅见轻微增生,基底膜光滑均匀,略见增厚,足突清晰完整、偶见融合,故本研究表明,禾肾丸可能通过上调 nephrin 蛋白表达,修复受损足细胞,维系肾小球滤过屏障完整性而降低蛋白尿排泄,从而减轻肾脏组织病变,延缓肾脏疾病进展。

[参考文献]

[1] ZHANG L, LONG J, JIANG W, et al. Trends in chronic kidney disease in China[J]. N Engl J Med, 2016,375(9): 905-906.
[2] CHEN C H, WU H Y, WANG C L, et al. Proteinuria

- as a therapeutic target in advanced chronic kidney disease: a retrospective multicenter cohort study [J]. *Sci Rep*, 2016, 6(17): 26539.
- [3] LI T, MAO J, HUANG L, et al. Huaiqihuang may protect from proteinuria by resisting MPC5 podocyte damage via targeting p-ERK/CHOP pathway [J]. *BJBMS*, 2016, 16(3): 193-200.
- [4] LIN J S, Susztak K. Podocytes: the weakest link in diabetic kidney disease [J]. *Curr Diab Rep*, 2016, 16(5): 1-9.
- [5] 李旭华, 何泽云, 郭志强, 等. 禾肾丸治疗原发性肾病综合征 53 例临床观察 [J]. *中医药导报*, 2015, 21(5): 20-22.
- [6] 杨芳, 何泽云. 何泽云教授治疗慢性肾炎蛋白尿经验撷萃 [J]. *湖南中医药大学学报*, 2015, 35(9): 42-44.
- [7] 李旭华, 何泽云, 旷丽君, 等. 禾肾丸对阿霉素肾病大鼠肾脏形态学的影响 [J]. *世界中西医结合*, 2015, 10(9): 1299-1302.
- [8] 张晗, 张磊, 刘洋. 龙骨、牡蛎化学成分、药理作用比较研究 [J]. *中国中药杂志*, 2011, 36(13): 1839-1840.
- [9] 李旭华, 何泽云, 彭亚军, 等. 禾肾丸对阿霉素肾病大鼠肾脏组织 PI3K 及 PENT 蛋白表达的影响 [J]. *上海中医药大学学报*, 2016, 30(6): 69-74.
- [10] 何泽云, 熊志胜, 李旭华, 等. 禾肾丸对阿霉素肾病大鼠肾脏组织 podocalyxin 及 α -actin-4 蛋白表达的影响 [J]. *湖南中医杂志*, 2015, 31(10): 140-144.
- [11] SHEM W W, CHEN H M, CHEN H, et al. Obesity-related glomerulopathy: body mass index and proteinuria [J]. *Clin J Nephrol Dial Transplant*, 2010, 5(8): 1401-1409.
- [12] Halimi J M, Joly D, Combe C, et al. Blood pressure and proteinuria control remains a challenge in patients with Type2 diabetes mellitus and chronic kidney disease: experience from the prospective observational ALICE-PROTECT study [J]. *BMC Nephrol*, 2016, 17(1): 135.
- [13] HONG D S, Oh I H, Park J S, et al. Evaluation of urinary indices for albuminuria and proteinuria in patients with chronic kidney disease [J]. *Kidney Blood Press Res*, 2016, 41(3): 258-266.
- [14] Wakamatsu A, Fukusumi Y, Hasegawa E, et al. Role of calcineurin (CN) in kidney glomerular podocyte: CN inhibitor ameliorated proteinuria by inhibiting the redistribution of CN at the slit diaphragm [J]. *Physiol Rep*, 2016, 4(6): e12679.
- [15] Welsh G I, Saleem M A. The podocyte cytoskeleton-key to a functioning glomerulus in health and disease [J]. *Nat Rev Nephrol*, 2011, 8(1): 14-21.
- [16] LI X, Chuang P Y, D'Agati V D, et al. Nephin preserves podocyte viability and glomerular structure and function in adult [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2015, 26(10): 2361-2377.
- [17] Ristola M, Lehtonen S. Functions of the podocyte proteins nephrin and Neph3 and the transcriptional regulation of their genes [J]. *Clin Sci: Lond*, 2014, 126(5): 315-328.
- [18] Perysinaki G S, Moysiadis D K, Bertias G, et al. Podocyte main slit diaphragm proteins, nephrin and podocin, are affected at early stages of lupus nephritis and correlate with disease histology [J]. *Lupus*, 2011, 20(8): 781-791.
- [19] Santin S, Garcia-Maset R, Ruiz P, et al. Nephrin mutations cause childhood-and adult-onset focal segmental glomerulosclerosis [J]. *Kidney Int*, 2009, 76(12): 1268-1276.
- [20] 曹晨, 郝世梦, 孟泽松, 等. 化瘀通络中药对糖尿病肾病代谢指标及裂孔膜蛋白 nephrin 的影响 [J]. *中国中西医结合肾病杂志*, 2016, 17(6): 484-487.
- [21] 朱勤, 陈洪宇. 参芪地黄汤对阿霉素肾病大鼠足细胞 Nephrin 蛋白和 mRNA 表达的影响 [J]. *中华中医药学刊*, 2015, 33(2): 296-299.

[责任编辑 邹晓翠]