

芪蓯肾康颗粒总多糖对大鼠肾小球系膜细胞 IL-6 和 MCP-1 的影响

吕静¹, 杨冠琦², 张君^{1*}

(1. 辽宁中医药大学附属医院, 沈阳 110032; 2. 辽宁中医药大学, 沈阳 110032)

[摘要] **目的:** 观察芪蓯肾康颗粒总多糖提取物对大鼠肾小球系膜细胞白介素-6(IL-6)、单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)表达的影响。探讨芪蓯肾康颗粒总多糖提取物防治肾小球硬化的作用机制。**方法:** 应用血清药理学方法, 制取芪蓯肾康颗粒总多糖高、低剂量组(生药: 30, 15 g·kg⁻¹)的含药血清; 用血管紧张素 II(Ang II)作为刺激因子, 培养大鼠肾小球系膜细胞, 使其发生增殖; 用免疫酶联吸附法(ELISA法)检测系膜细胞 IL-6, MCP-1 蛋白表达的情况。**结果:** 芪蓯肾康颗粒总多糖对 IL-6 有显著抑制作用, 与 Ang II 组比较, 差异显著($P < 0.01$); 芪蓯肾康颗粒总多糖对 MCP-1 有显著抑制作用, 与 Ang II 组比较, 差异显著($P < 0.01$)。**结论:** 芪蓯肾康颗粒总多糖可能通过抑制 IL-6, MCP-1 的蛋白表达, 抑制炎症反应, 从而防治肾小球硬化。

[关键词] 芪蓯肾康颗粒; 多糖总提取物; 肾小球系膜细胞; 血管紧张素 II; 白介素-6; 单核细胞趋化蛋白-1

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)12-0239-03

[doi] 10.11653/syjf2013120239

Effect of Qiji Shenkang Granule Total Polysaccharide Extract on IL-6 and MCP-1 in Glomerular Mesangial Cells of Rats

LV Jing¹, YANG Guan-qi², ZHANG Jun^{1*}

(1. Affiliated Hospital of Liaoning Traditional Chinese Medical College, Shenyang 110032, China;

2. Liaoning Traditional Chinese Medical University, Shenyang 110032, China)

[Abstract] **Objective:** To probe the therapeutic mechanism of Qiji Shenkang granule total polysaccharide on glomerular sclerosis by observing the effect of Qiji Shenkang granule total polysaccharide on the expression of interleukin-6 (IL-6), monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) of mesangial cells of rats. **Method:** Serum containing Qiji Shenkang granule total polysaccharide was collected by serum pharmacology method. The cultured rat glomerular mesangial cells were stimulated to proliferate by angiotensin II (Ang II). The protein expression of MCP-1 and IL-6 was measured by ELISA. **Result:** Qiji Shenkang granule total polysaccharide had markedly inhibitory effect on IL-6 with significant difference compared with the Ang II group ($P < 0.01$). Qiji Shenkang granule total polysaccharide had remarkably inhibitory effect on MCP-1 with significant difference compared with the Ang II group ($P < 0.01$). **Conclusion:** Qiji Shenkang granule total polysaccharide may inhibit the protein expression of IL-6 and MCP-1 to relieve the inflammatory reaction and thereby to prevent and treat glomerular sclerosis.

[Key words] Qiji Shenkang granule; total polysaccharides; glomerular mesangial cells; angiotensin II; IL-6; MCP-1

[收稿日期] 20130122(007)

[基金项目] 国家科技重大专项项目(2009ZX09103); 辽宁省博士科研启动基金(20091053)

[第一作者] 吕静, 博士, 副主任医师, 从事肾内科研究工作, Tel: 024-86291556, E-mail: evend2000@sina.com

[通讯作者] * 张君, 主任医师, 从事儿童内科研究工作, Tel: 024-86291559, E-mail: zhangjun555678@sina.com

肾小球硬化是大多数免疫性和非免疫性肾病的共同病理特征^[1]。在炎症因子的作用下,肾小球系膜细胞异常增生、肥大,并由此导致细胞外基质在系膜区的过度沉淀,成为诱导肾小球硬化的直接因素^[2]。白细胞介素-6(IL-6)分泌异常往往导致一些免疫异常性疾病的发生,参与肾小球疾病的发生和发展,是与肾小球疾病关系较为密切的炎症细胞因子^[3]。MCP-1 能趋化和激活单核巨噬细胞,而单核巨噬细胞在肾脏病的发生发展中起重要作用^[4]。本研究旨在探讨芪蓟肾康颗粒总多糖可否通过抑制肾小球系膜细胞 IL-6 及 MCP-1 的表达,减少对肾小球系膜细胞的刺激,减缓肾小球硬化进程。

1 材料

1.1 动物 健康 SD 大鼠 15 只,体重 180 ~ 220 g,雌雄各半,北京维通利华实验动物技术有限公司,许可证号 SCXK(京)2011-0003。

1.2 细胞株 HBZY-1 肾小球系膜细胞株(武汉博士德生物技术有限公司,CX0130)。

1.3 中药与试剂 黄芪、牡丹皮、丹参、小蓟等(辽宁中医药大学附属医院药剂科提供)。芪蓟肾康颗粒总多糖(辽宁中医药大学药学院提供)。血管紧张素 II(Wako 公司,014-18211)、胎牛血清(FBS, Gibico 公司,8131650)、DMEM(Hyclone 公司,SH30022.01B)、氯沙坦(Sigma 公司,497329970)、IL-6、MCP-1 ELISA 试剂盒(Bio-Swamp 公司,批号分别为 RA20607,RA20492)。

2 方法

2.1 芪蓟肾康颗粒总多糖浸膏的制备 将芪蓟肾康颗粒水煎液用 40% 乙醇沉淀(沉淀出淀粉等大分子物质),得 40% 乙醇沉淀物。滤除沉淀后的上清,挥去乙醇,运用大孔吸附树脂法富集总多糖。

2.2 分组、含药血清制备 取大鼠 15 只,雌雄各半,按体重随机分 3 组,分别为正常组,芪蓟肾康颗粒总多糖高、低剂量组(生药 30,15 g·kg⁻¹)。大鼠连续 ig 给药 5 d,末次药后 1 h 采血。分离血清。1 500 r·min⁻¹ 离心 5 min,吸取上清液,经 56 °C 水浴灭活,30 min 后用 0.22 μm 滤器过滤除菌,置 -20 °C 保存备用。

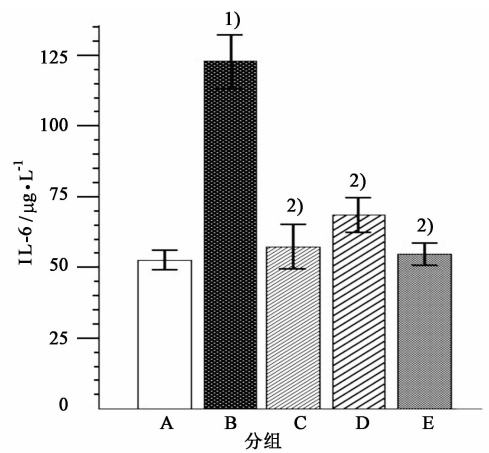
2.3 细胞上清液 IL-6 和 MCP-1 水平检测 将肾小球系膜细胞以 2 × 10⁴ 个/孔的密度接种于 24 孔培养板。用含 0.5% FBS 的 DMEM 培养 24 h 后,更换含 10% 含药血清 DMEM 培养,分组为:空白对照组、模型组(Ang II 10⁻⁷ mmol·L⁻¹)、芪蓟肾康颗粒总多糖高、低剂量组、氯沙坦组(10 μmol·L⁻¹),每组 5

只。48 h 后收集细胞上清液,应用酶联免疫吸附法,严格按试剂盒所附说明书操作,检测 IL-6、MCP-1 水平。

2.4 统计学处理 采用 SPSS 10.0 统计软件进行处理,以 $\bar{x} \pm s$ 表示,进行单因素方差分析, $P < 0.05$ 为有统计意义。

3 结果

3.1 对 IL-6 的影响 模型组与空白对照组相比有显著差异($P < 0.01$)。芪蓟肾康颗粒总多糖高、低剂量组、氯沙坦组均能降低 IL-6 的蛋白表达,与模型组比有显著差异($P < 0.01$)。尤以总多糖高剂量组的作用最强。说明总多糖能有效降低 IL-6 蛋白表达,抑制 IL-6 对肾小球系膜细胞的作用。见图 1。



A. 空白组; B. 模型组; C. 芪蓟肾康颗粒总多糖 30 g·kg⁻¹ 组; D. 芪蓟肾康颗粒总多糖 15 g·kg⁻¹ 组; E. 氯沙坦组 10 μmol·L⁻¹ 与对照组比较¹⁾ $P < 0.01$; 与模型组比较²⁾ $P < 0.01$ (图 2 同)

图 1 芪蓟肾康颗粒总多糖对肾小球系膜细胞上清 IL-6 含量的影响($\bar{x} \pm s, n = 5$)

3.2 对 MCP-1 的影响 模型组与空白组相比有显著差异($P < 0.01$)。芪蓟总多糖高、低剂量组,氯沙坦组均能降低 MCP-1 的蛋白含量,与模型组相比有显著性差异($P < 0.01$)。尤以总多糖低剂量组作用最强。说明芪蓟肾康颗粒总多糖能降低 MCP-1 的蛋白表达,在肾脏的炎症反应中减弱了对炎症细胞的趋化及激活作用,减少炎症细胞的浸润,抑制了炎症反应。见图 2。

4 讨论

IL-6 由活化的 B 细胞产生,是一种多效的细胞因子,以旁分泌或自分泌的形式在多种细胞内起作用。在 0.5% 的 FBS 存在的情况下,重组的 IL-6 和部分纯化的 IL-6 可以诱导体外培养的系膜细胞增生,提示 IL-6 是系膜细胞增殖的自分泌调节剂^[5]。

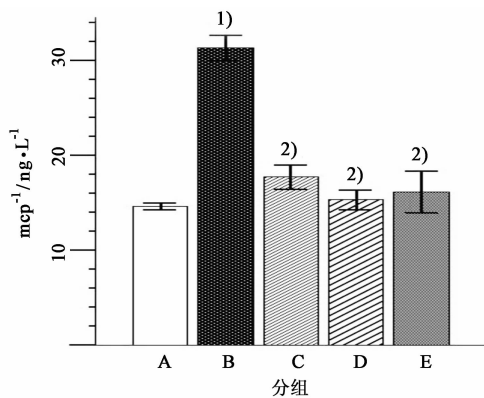


图2 芪蓊肾康颗粒总多糖对肾小球系膜细胞上清 MCP-1 含量的影响($\bar{x} \pm s, n=5$)

MCP-1 是对白细胞具有趋化作用的一类小分子蛋白质或多肽。MCP-1 过度表达将介导大量单核巨噬细胞趋化、激活,如促进多种活性物质释放,参与炎症反应,从而加剧肾组织损伤;促进肾脏表达多种因子如 IL-6 等^[6]。多种细胞因子的表达严重失衡是肾脏损伤的一个重要起始反应。持续性失衡可导致进行性肾硬化。IL-6 和 MCP-1 的过表达,使炎症反应加剧,损伤肾脏。实验表明,Ang II 可诱导肾小球系膜细胞 IL-6 和 MCP-1 的表达,与文献报道一致^[7-8]。芪蓊肾康颗粒总多糖能有效地抑制 IL-6, MCP-1 的表达。芪蓊肾康颗粒总多糖可能通过抑制 MCP-1 的表达,使单核巨噬细胞减少肾脏表达多种因子,亦可通过直接减少 IL-6 的表达抑制炎症反应。据报道,黄芪多糖能明显下调慢性肾炎患者血清 IL-6 的表达^[9],糖尿病肾病大鼠肾组织内 NF- κ B mRNA 表达水平,黄芪多糖可能是通过抑制 NF- κ B 表达,延缓了肾小球的硬化^[10]。芪蓊肾康颗粒多糖是否也是通过抑制 NF- κ B 表达,延缓了肾小球的硬化,有待进一步研究。

[参考文献]

- [1] 姚毓奇. 肾小球硬化研究进展[J]. 国外医学:泌尿系统分册,2003,23(3):297.
- [2] 陈香美. 加强细胞因子与肾小球硬化关系的研究[J]. 中华医学杂志,1996,76(6):403.
- [3] 史秀岩,胡兆雄,朱忠华. 慢性肾炎患者血浆 leptin 和血清 IL-6、IL-18 及 SOD 检测的临床意义[J]. 放射免疫学杂志,2012,25(2):125.
- [4] 王晓青,李竞,王鹏虎. 氧抄坦联合苯纳普利对早期糖尿病肾病患者血清 TGF- β_1 及 MCP-1 的影响[J]. 新乡医学院学报,2006,23(5):517.
- [5] Kim J S, Rho B Y, Lee T H, et al. The interaction of hepatitis B virus X protein and protein phosphatase type 2 Ca and its effect on IL-6 [J]. Bioch Biophys Res Commun,2006,351(1):253.
- [6] Kim S I, Han D C, Lee H B. Lovstatin inhibits transforming growth factor-beta1 expression in diabetic rat glomeruli and cultured rat mesangial cells[J]. J Am Soc Nephrol,2000,11(1):80.
- [7] Ruiz-Ortega M, Ruperez M, Lorenzo O, et al. Angiotensin II regulates the synthesis of proinflammatory cytokines and chemokines in the kidney[J]. Kidney Int,2002,(Suppl 82):12.
- [8] 黄松明,张爱华,丁桂霞,等. 核因子 κ B/I κ B 信号通路在血管紧张素 II 诱导的系膜细胞趋化因子表达的调控作用[J]. 中华儿科杂志,2004,42(2):141.
- [9] 陈莉芬,李荣亨,曹文富,等. 黄芪对慢性肾炎患者血清 TNF- α 、IL-6 及细胞免疫功能的影响[J]. 重庆医科大学学报,2002,27(2):174.
- [10] 吴朝妍,张莹雯. 黄芪多糖对肾阳虚型糖尿病大鼠肾组织 NF- κ B、TGF- β_1 的影响[J]. 武汉大学学报:医学版,2006,27(3):381.

[责任编辑 李玉洁]

《中国中药杂志》2013 年征订启事

《中国中药杂志》系中国科协主管,中国药学会主办,中国中医科学院中药研究所承办的综合性中药学术期刊。创刊于 1955 年 7 月,是创刊最早、发行量最大的中药学术刊物。《中国中药杂志》全面反映我国中医科研最高学术水平,主要报道该领域新成果、新技术、新方法与新思路,内容包括栽培、资源与鉴定、炮制、药剂、化学、药理、不良反应、临床等。设有专论、综述、研究论文、研究报告、临床、学术探讨、药事管理、经验交流、信息等栏目。主要读者对象为医药领域各级管理部门、研究所、大专院校、企业以及医院等从事医药科研、管理、生产、医院制剂及临床研究等方面的专业人员。

《中国中药杂志》现为半月刊,128 页,2013 年定价每期 30 元,全年 24 期定价为 720 元。国内刊号 11-2272/R,国际刊号 1101-5302。

本刊现已全面实现网络编辑办公,如欲投稿或联系本刊、获取本刊各种信息动态请登录中国中药杂志网站 www.cjcm.com.cn 或 www.中国中药杂志.com。

联系电话:稿件查询 010-64045830 转 602;主任电话 010-64058556;资源与栽培栏编辑:010-64048925;制剂栏编辑:010-64040392;化学栏编辑:010-64040113;药理栏编辑:010-84022522;临床栏编辑:010-64059766;电子杂志制作发行及网上维护:010-64030625。