

## 糖肾清 1 号对糖尿病肾病大鼠肾组织 Ang II 及 TGF- $\beta_1$ 转录表达的影响

张润云<sup>1</sup>, 郑燕飞<sup>3</sup>, 刘惠<sup>2</sup>, 孙翠英<sup>3</sup>, 谭玲<sup>3</sup>, 刘博<sup>3</sup>, 陈轶<sup>3</sup>, 孟凤仙<sup>2\*</sup>

(1. 中国中医科学院广安门医院内分泌科, 北京 100053;

2. 北京中医药大学东方医院风湿免疫科, 北京 100078;

3. 北京中医药大学, 北京 100029)

**[摘要]** 目的: 观察中药糖肾清 1 号对糖尿病肾病肾组织局部 Ang II 及 TGF $\beta_1$  mRNA 转录表达及蛋白表达水平的影响。

**方法:** 建立糖尿病肾病大鼠模型, 设空白组、模型组、阳性药对照组(卡托普利 24 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>)、糖肾清 1 号甲、乙、丙、丁的高、中、低剂量治疗组(甲组给药糖肾清 1 号有效成分 A, 高剂量组 94 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>, 中剂量组 47 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>, 低剂量组 23.5 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>。乙组给药糖肾清 1 号有效成分 B, 高剂量组 94 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>, 中剂量组 47 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>, 低剂量组 23.5 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>。丙组用药为 1/2A 与 1/2B 配成, 高剂量组 94 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>, 中剂量组 47 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>, 低剂量组 23.5 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>。丁组为糖肾清 1 号生药制剂, 高剂量组用药为 195 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>, 中剂量为 97.5 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>, 低剂量组 48.75 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>), 每组 10 只。分别采用 RT-PCR, Western blot, ELISA 等方法检测大鼠 Ang II, TGF- $\beta_1$  mRNA 转录及蛋白表达水平, 进行组织形态学观测。**结果:** 糖肾清 1 号呈量效依赖性下调 Ang II, TGF- $\beta_1$  mRNA 转录和蛋白表达( $P < 0.01$  或  $0.05$ ), 减少细胞外基质的沉积( $P < 0.05$ )。**结论:** 糖肾清 1 号可通过调控 Ang II, TGF- $\beta_1$  mRNA 转录和蛋白表达, 抑制肾组织纤维化的发生发展。

**[关键词]** 糖肾清 1 号; 糖尿病肾病; 细胞因子; 纤维化

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)22-0158-06

## Effect of Tangshenqing on Transcription and Expression of Ang II and TGF- $\beta_1$ in Rats' Renal Tissue

ZHANG Run-yun<sup>1</sup>, ZHENG Yan-fei<sup>3</sup>, LIU Hui<sup>2</sup>, SUN Cui-ying<sup>3</sup>, TAN Ling<sup>3</sup>, LIU Bo<sup>3</sup>,  
CHEN Yi<sup>3</sup>, MENG Feng-xian<sup>2\*</sup>

(1. Guanganmen Hospital Department of Endocrinology, Beijing 100053, China; 2. Dongfang Hospital Affiliated to Beijing University of Chinese Medicine Department of Rheumatism Immunity, Beijing 100078, China; 3. Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China)

**[Abstract]** **Objective:** To observe the effect of Tangshenqing No. 1 on the transcription and expression of Ang II and TGF $\beta_1$  in the renal issue. **Method:** One hundred and forty-six rats were divided into control group(six rats), model group(10 rats), active-drug controlled group(10 rats), and four treatment groups by Tangshenqing No. 1, each designed as low-dose, mid-dose and high-dose groups(10 rats/group). Ang II and TGF- $\beta_1$  were tested by RT-PCR, Western blot, immunohistochemistry and pathomorphology. **Result:** Rats in treatment groups showed a significant down-regulated expression of mRNA and protein ( $P < 0.01$  or  $P < 0.05$ ); ECM sediment was also decreased( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** Tangshenqing No. 1 can curb the development of renal tissue fibrosis by regulate the mRNA transcription and protein expression of Ang II, TGF- $\beta_1$ .

**[收稿日期]** 20110306(001)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(30772762)

**[通讯作者]** \* 孟凤仙, 从事内分泌代谢病、风湿免疫病的研究, Tel:13520056890, E-mail:mengfengxian55@163.com

[ **Key words** ] Tangshenqing; diabetic nephrosis; cytokine; fibrosis

肾素血管紧张素系统(RAS)对肾血流量调节、肾小球滤过率、肾素释放和细胞生长均有重要作用,而血管紧张素 II (Ang II)是整个 RAS 系统的中心环节,其通过与组织局部的 Ang II 受体结合而发挥作用。糖尿病肾病(DN)者肾脏局部 RAS 活性增高,或肾组织对 RAS 反应性增强。动物实验亦证明 DN 模型大鼠肾组织局部 Ang II 呈高表达,Ang II 诱导 TGF- $\beta_1$  的合成与释放,成为介导肾组织纤维化,引起肾功能衰竭的重要因素。中药糖肾清 1 号对 DN 模型大鼠的肾组织局部 Ang II 及 TGF- $\beta_1$  有良好的调控作用,从而达到保护肾功能的目的。

## 1 材料

**1.1 动物** SD 大鼠(SPF/VAF 级)146 只,雄雌各 73 只,体重(200 ± 50)g,品系 CD(SD)IGS,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,合格证号 SCXK(京)2006-0009。动物饲养环境:中国中医科学院中药研究所实验动物中心。

**1.2 药物与试剂** 糖肾清 1 号为孟凤仙教授经验方,购自北京中医药大学东方医院。糖肾清 1 号有效成分购自上海生物科技有限公司。阳性对照药卡托普利,购自北京曙光药业有限公司,批号 080232。链脲佐菌素(streptozocin, STZ, 购自美国 Amersco 公司,批号 20100812)。

## 2 方法

**2.1 模型制备及给药剂量** 大鼠正常饲养 1 周后,随机取 6 只做正常对照组,其余 140 只禁食 12 h 后,按 64 mg·kg<sup>-1</sup>腹腔注射 STZ 柠檬缓冲液(STZ,美国 Amersco,批号 2010082)进行造模。72 h 后测定血糖,13.8 ~ 25 mmol·L<sup>-1</sup>时为造模成功<sup>[1]</sup>,本实验大鼠 72 h 血糖在 15.14 ~ 18.82 mmol·L<sup>-1</sup>,符合成功模型标。造模成功大鼠故随机分为模型组 10 只,阳性对照组 10 只,药物治疗甲、乙、丙、丁 4 组,每组又分高、中、低剂量组,各 10 只。正常组自由饮食,模型组等量蒸馏水灌胃,阳性对照组 24 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>卡托普利灌胃给药,治疗组甲组给药糖肾清 1 号有效成分 A,高剂量组 94 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>,中剂量组 47 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>,低剂量组 23.5 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>给药。乙组给药糖肾清 1 号有效成分 B,高剂量组 94 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>,中剂量组 47 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>,低剂量组 23.5 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>给药。丙组用药为 1/2 A 与 1/2 B 配

成,高剂量组 94 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>,中剂量组 47 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>,低剂量组 23.5 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>给药。丁组为糖肾清 1 号生药制剂,高剂量组用药为 195 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>,中剂量为 97.5 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>,低剂量组用药 48.75 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>。实验时按 0.01 mL·g<sup>-1</sup>,等容积不等浓度灌胃给药,共 12 周。给药结束分别将各组大鼠剖检,称重,迅速摘取左肾,矢状分割,1/2 部分 10% 中性福尔马林溶液固定;1/2 部分 2.5% 戊二醛溶液固定,右肾置液氮中保存备用。

**2.2 肾组织形态学观察** 分别将 10% 中性福尔马林溶液固定的肾组织进行取材,脱水,石蜡包埋,4  $\mu$ m 切片,HE 和 PAS 染色,对于 HE 染色,镜检着重观察肾小球系膜基质增生、肾小球基底膜增厚,观察肾小管上皮细胞空泡变性、肾小管增生、基底膜增厚,以及肾间质纤维化、炎症细胞浸润、坏死等,进行分级评分及总积分;对于 PAS 染色,每张切片在 40 倍物镜下随机选取 20 个正切的肾小球,分别测量肾小球基质着色面积和肾小球面积,计算肾小球基质面积/肾小球面积比,取均值(Olympus DP71 分析系统)。结果采用 SPSS 16.0 软件进行统计分析。肾组织 HE 染色镜检结果的组间多重比较采用非参数秩和检验,肾组织 PAS 染色镜核测量的肾小球基质相对面积值的组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$  为有统计学意义。将 2.5% 戊二醛溶液固定的肾组织电镜专业处理,进行组织超微结构观察。

**2.3 RT-PCR 检测** RNA 抽提试剂盒, Oligo-(DT), Ribonuclease Inhibitor, M-MLV Reverse Transcriptase, Bioeasy Sybr Green I Real Time PCR Kit Manual 均由尚柏生物医学技术(北京)有限公司提供,其余生化试剂都为进口分析纯试剂。

引物设计与合成:Ang II 基因序列的上下游引物分别是 5'-GCCAGATACTGCGAAAGCATGA-3'和 5'-GCTTCCATTCGCACCACAGA-3'; TGF- $\beta_1$  基因序列的上下游引物分别是:5'-ACCGGCCTTTCTGCTTCT-3'和 5'-GGTCCTTGC GGAAGTCAATG-3'; 看家基因 actin 序列的引物分别是 5'-CACTATTGGCAA CGAGCGGTTTC-3'和 5'-ACTTGCGGTGCACGATGGA G-3'。

Real-time RT-PCR 扩增:使用 TRIzol 试剂提取肾组织中的 RNA 后,反转录为 cDNA。分别用上述

目的基因引物和 actin 引物进行实时荧光 PCR 反应,反应体积为 50  $\mu\text{L}$ ,反应体系含样本 cDNA 2  $\mu\text{L}$ , 2XSYBR Mix 25  $\mu\text{L}$ , 10  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  引物各 1  $\mu\text{L}$ , Taq DNA Polymerase 0.3  $\mu\text{L}$ 。反应条件为:95  $^{\circ}\text{C}$  孵育 120 s;95  $^{\circ}\text{C}$  变性 20 s,58  $^{\circ}\text{C}$  退火 25 s,72  $^{\circ}\text{C}$  延伸 30 s,共 45 个循环。反应结束后进行熔解曲线分析,以鉴定 PCR 产物的特异性。使用 Line-gene 荧光定量 PCR 检测系统软件分析 PCR 过程各检测样本的 Ct (threshold of cycle) 值。结果采用组间比较单因素方差分析进行统计学处理。

**2.4 ELISA 检测** 大鼠血管紧张素 II (ANG II) 酶联反应试剂盒,美国 RB 进口分装,批号 18111011。Multiskanmk 3 型全自动多功能酶标仪 (Thermo, USA)。酶联免疫吸附法,方法依照说明书进行。结果以  $\bar{x} \pm s$  表示,采用组间比较单因素方差分析进行统计学处理。

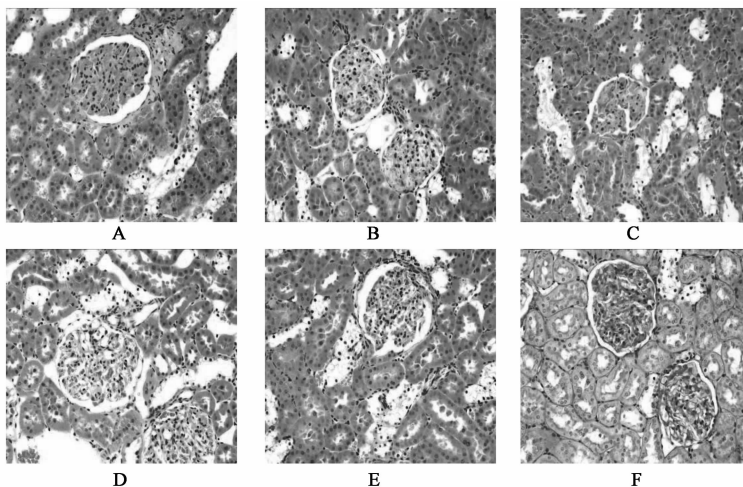
**2.5 Western blot 检测** ①实验时取 -80  $^{\circ}\text{C}$  冷冻肾组织需要量(约 20 mg),每 10 mg 组织加入 200  $\mu\text{L}$  蛋白裂解液,冰上匀浆。4  $^{\circ}\text{C}$ , 12 000  $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ ,离心 10 min。取上清,用 BCA 蛋白定量试剂盒 (sunbio) 测定蛋白浓度。②Western blot 过程:依次灌制 12% 分离胶,4% 浓缩胶,加样,电泳,浓缩胶 80 V,分离胶 120 V,待溴酚蓝电泳至胶底时终止电泳。湿法电转移至 PVDF 膜,约 45 ~ 90 min,放入 TBS-T 中洗 1 次,5 min,用 TBS-T 配制 5% 脱脂奶粉,将膜入后,室温放置 1 h。用封闭液将一抗按比例(1:200)稀释,与膜共同孵育,4  $^{\circ}\text{C}$  过夜。TBS-T 洗 3 次,每次 5

min。用封闭液稀释 HRP 标记的二抗,稀释比例 1:3 000,与膜共同孵育 2 ~ 3 h。TBS-T 洗 3 次,每次 5 min,ECL 曝光,将显色后的膜或底片照相,Lab Works 软件对图像进行灰度分析。相对含量的变化 = 目的蛋白灰度/actin 灰度。结果以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较采用单因素方差分析进行统计学处理。

### 3 结果

#### 3.1 组织形态学改变

**3.1.1 HE 染色显微镜观察** 模型组:大部分动物肾小球肥大增生,系膜基质弥漫性中度至重度增生,系膜细胞数量增多,基底膜增厚,皮质及皮髓交界处小管上皮细胞空泡变性,部分肾小管萎缩,间质中轻度纤维组织增生,细胞数量增多,小管基底膜增厚,间质见灶状淋巴样细胞浸润。治疗组:甲组有肾小球系膜基质增生,肾小管上皮细胞变性,纤维组织增生均较模型组减轻( $P < 0.01$ )。乙组肾小球基质增生,小管上皮细胞变性,纤维组织增生及炎症浸润较模型组减轻。丙组肾小球基质增生,肾小管上皮细胞变性,纤维组织增生及炎症浸润方面较模型组减轻。( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ),丁组肾小球基质增生,小管上皮细胞变性,纤维组织增生及炎症浸润病变较模型组减轻。肾小球系膜增生较模型组明显减轻( $P < 0.05$ ),各组动物的肾脏病变的总积分秩和检验的 Rank 值由小至大依次为:①丙高 > 甲高 > 丁高 > 乙高;②丙中 > 丁高 > 乙高;③丙中 > 丁中 > 甲中 > 乙中;④乙小 > 丙小 > 丁小 > 甲小(图 1)。



A. 对照组;B. 模型组 ;C. 甲高剂量组;D. 乙高剂量组;E. 丙高剂量组;F. 丁高剂量组 (图 2 同)

图 1 部分组别大鼠肾组织变化情况 (HE,  $\times 400$ )

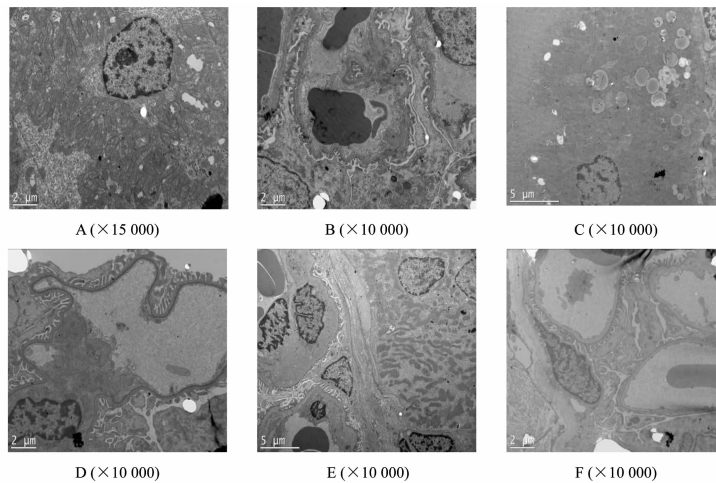


图2 部分组别大鼠肾组织超微结构变化情况( $\times 10\ 000$ )

**3.1.2 肾小球细胞外基质(ECM)相对面积测量** 模型组的肾小球系膜区增宽,系膜基质中度至重度增生并呈弥漫性分布,与对照组比较有显著差异( $P < 0.05$ )。乙高剂量、丙高剂量、丙中、丁高剂量组的肾小球相对面积 ECM 低于模型组( $P < 0.05$ ),其中丙高剂量组的 ECM 较模型组明显减低( $P < 0.01$ )。

**3.1.3 电镜观察** 电镜观察显示,模型组肾小球足突融合严重,基底膜增厚,肾间质纤维化(图2)。甲组高剂量组肾小管官腔细胞的线粒体肿胀,柱状上皮细胞损伤,脂肪滴沉积。乙组高剂量组足突有融合,基底膜无明显增厚,间质纤维化少。丙组高剂量组肾小球无明显损害,间质纤维化程度小,肾小管官腔柱状上皮细胞结构疏松,无明显坏死。丁组高剂量组无明显间质纤维化,无明显肾小球病变,肾小管官腔细胞结构比较正常。①治疗组肾小球病变,肾小管间质纤维化的损伤程度明显低于模型组及阳性对照组。②4个药物治疗组间比较,呈明显量效关系。大剂量组肾损伤程度要低于中剂量组,而中剂量组又好于小剂量组。③治疗组同剂量组中,丙、丁组肾损伤程度、纤维化程度低于乙组,乙组肾损伤程度低于甲组。④治疗组对肾纤维化有明显的抑制作用,丁、丙2组大剂量组效果最佳。

**3.2 糖肾清1号对肾脏局部 Ang II, TGF- $\beta_1$  mRNA 转录水平的影响**

**3.2.1 糖肾清1号对肾脏局部 Ang II mRNA 转录水平的影响** 结果显示:糖肾清1号组与正常组比较  $P < 0.01$ ;与模型组比较  $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ 。糖肾清1号治疗组间比较:甲、乙、丙、丁高剂量组及甲、丙、

丁中剂量组,阳性对照组对 Ang II mRNA 高表达影响显著,下调作用优于其他剂量组。甲、丙、丁中剂量组优于乙组中剂量组。甲组小剂量组下调作用优于乙、丙、丁低剂量组(表1)。

**3.2.2 糖肾清1号对肾脏局部 TGF- $\beta_1$  mRNA 转录水平的影响** 结果显示:糖肾清1号组与正常组比较  $P < 0.01$ ;与模型组比较  $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ 。糖肾清1号治疗组间比较,甲、乙、丙、丁高剂量组、中剂量组及阳性药物组 TGF- $\beta_1$  mRNA 高表达影响显著下调,优于其他组。甲、乙、丁低剂量组较丙组小剂量组效果明显(表1)。

**3.3 糖肾清1号对肾组织 TGF- $\beta_1$ , Ang II 蛋白表达的影响**

**3.3.1 糖肾清1号对 Ang II 蛋白表达的影响** ELISA 方法检测结果显示:糖肾清1号组与正常组比较  $P < 0.01$ ;与模型组比较  $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ 。治疗组间比较:甲、乙、丙、丁高剂量组及甲、丙、丁中剂量组、丙组低剂量组、阳性对照组对 Ang II mRNA 表达有显著影响,下调作用优于其他组。甲、丙、丁中剂量组优于乙组中剂量组。甲、丁低剂量组优于乙组小剂量组(表2)。

**3.3.2 糖肾清1号对肾组织 TGF- $\beta_1$  蛋白表达的影响** Western 方法检测结果显示:糖肾清1号组与正常组比较  $P < 0.01$ ;与模型组比较  $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ 。治疗组间比较:丙高、中剂量组、丁高剂量组、阳性对照组对 TGF- $\beta_1$  蛋白表达有显著下调作用。丙高、中剂量组、丁中剂量组、丙低剂量组下调作用优于其他组别。

表 1 糖肾清 1 号对肾组织 TGF-β<sub>1</sub>, Ang II mRNA 表达 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量 /mg·kg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup>	TGF-β <sub>1</sub> 基因 表达量/cpm	Ang II 基因 表达量/cpm
正常	-	93.98 ± 8.51	98.13 ± 2.64
模型	-	2 230.22 ± 191.41 <sup>1)</sup>	2 536.68 ± 207.00 <sup>1)</sup>
阳性药	24	361.00 ± 66.45 <sup>3)</sup>	405.03 ± 91.33 <sup>3)</sup>
甲高	94	494.33 ± 158.33 <sup>3)</sup>	534.45 ± 159.95 <sup>3)</sup>
甲中	47	914.88 ± 118.49 <sup>3)</sup>	1 036.65 ± 161.93 <sup>3)</sup>
甲低	23.5	1 719.69 ± 113.70 <sup>2)</sup>	1 798.40 ± 101.31 <sup>2)</sup>
乙高	94	653.05 ± 106.75 <sup>3)</sup>	680.53 ± 134.21 <sup>3)</sup>
乙中	47	1 394.97 ± 361.65 <sup>2)</sup>	1 471.34 ± 335.97 <sup>3)</sup>
乙低	23.5	2 043.21 ± 55.07	2 051.28 ± 105.52 <sup>2)</sup>
丙高	94	848.63 ± 16.64 <sup>3)</sup>	908.04 ± 24.48 <sup>3)</sup>
丙中	47	1 405.61 ± 130.71 <sup>3)</sup>	1 454.86 ± 128.19 <sup>3)</sup>
丙低	23.5	2 005.03 ± 78.60	2 266.67 ± 188.65
丁高	195	682.11 ± 0.00 <sup>3)</sup>	719.03 ± 38.75 <sup>3)</sup>
丁中	97.5	1 253.33 ± 150.14 <sup>3)</sup>	1 373.57 ± 110.96 <sup>3)</sup>
丁低	48.75	1 808.78 ± 132.86	1 865.47 ± 118.78 <sup>2)</sup>

注:与正常组比较<sup>1)</sup>P < 0.01;与模型组比较<sup>2)</sup>P < 0.05,<sup>3)</sup>P < 0.01。

表 2 糖肾清 1 号对肾组织 TGF-β<sub>1</sub> (Western 方法),  
Ang II (ELISA 方法) 蛋白表达 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量 /mg·kg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup>	Ang II 蛋白表达 (ELISA 方法)	TGF-β <sub>1</sub> 蛋白表达 (Western 方法)
正常	-	20.82 ± 1.12	0.10 ± 0.01
模型	-	62.67 ± 5.61 <sup>1)</sup>	0.42 ± 0.19 <sup>1)</sup>
阳性药	24	36.11 ± 2.85 <sup>3)</sup>	0.13 ± 0.06 <sup>3)</sup>
甲高	94	18.22 ± 1.21 <sup>3)</sup>	0.26 ± 0.07
甲中	47	31.82 ± 1.20 <sup>3)</sup>	0.32 ± 0.05
甲低	23.5	41.25 ± 5.00 <sup>2)</sup>	0.38 ± 0.13
乙高	94	20.82 ± 1.35 <sup>3)</sup>	0.22 ± 0.15 <sup>2)</sup>
乙中	27	37.40 ± 8.37 <sup>2)</sup>	0.31 ± 0.09
乙低	23.5	53.30 ± 1.81	0.44 ± 0.09
丙高	94	17.53 ± 1.98 <sup>3)</sup>	0.10 ± 0.02 <sup>3)</sup>
丙中	27	26.39 ± 1.98 <sup>3)</sup>	0.12 ± 0.02 <sup>3)</sup>
丙低	23.5	33.81 ± 3.78 <sup>3)</sup>	0.19 ± 0.04 <sup>2)</sup>
丁高	195	23.88 ± 3.43 <sup>3)</sup>	0.13 ± 0.01 <sup>3)</sup>
丁中	97.5	37.03 ± 2.74 <sup>3)</sup>	0.18 ± 0.03 <sup>2)</sup>
丁低	48.75	50.19 ± 2.86 <sup>2)</sup>	0.21 ± 0.01 <sup>2)</sup>

注:与正常组比较<sup>1)</sup>P < 0.01;与模型组比较<sup>2)</sup>P < 0.05,<sup>3)</sup>P < 0.01。

## 4 讨论

目前研究表明:参与糖尿病肾病病理损伤、肾组织纤维化的关键性调节机制为肾脏局部的肾素血管紧张素活性增高;致肾系膜区细胞外基质(ECM)沉积因子高表达;以及肾脏局部炎性因子高表达等多种因素因果互动,恶性演变而成。其中 Ang II, TGF-β<sub>1</sub> 始终扮演着重要角色。

**4.1 Ang II 具有促生长作用及促纤维生成效应** ① Ang II 对系膜细胞具有促生长及促纤维生成作用。系膜细胞是参与肾小球硬化的主要细胞。Ang II 通过调节细胞内的多种生长因子调节系膜的生长(包括增殖和肥大),使 ECM、纤维连接蛋白、层连蛋白及胶原的分泌增加;②Ang II 促进肾小球血管内皮细胞增殖,及促进进球小管上皮细胞肥大,诱导细胞凋亡;③Ang II 促进肾小管间质纤维化,使成纤维细胞的表型变为成肌纤维细胞,这些被激活的成纤维细胞发生增殖,并侵入肾小球和肾小管周围的区域导致基质在小管间质区域集聚,并减少基质的降解,诱导肾脏纤维化;④促进纤维化组织生长因子(CTGF)生成。CTGF 是一种新发现的促纤维生成的细胞因子。Ang II 通过 AT<sub>1</sub> 诱导 CTGF 合成,CTGF 是转化生长因子 TGF-β<sub>1</sub> 的下游调节中十分重要的调节因子。主要在肾小球硬化和肾小管间质纤维化过程中发挥作用。活化的 RAS 系统产生过量的 Ang II,诱导 TGF-β<sub>1</sub> 及其受体的合成和释放,进而活化 CTGF,及 TGF-β<sub>1</sub> 继续诱导基因-人类克隆-3(βig-h<sub>3</sub>),促进纤维层粘连蛋白(FN)等表达增加,引起肾小球基质增厚、沉积乃至纤维化。

**4.2 Ang II 导致肾脏血流动力学发生改变** 研究证明,RAS 活性增高将导致滤过膜通透性增加的机制主要在于足细胞裂隙膜的损害。nephrin 是足细胞裂隙膜的主要结构分子,其表达量和(或)分布方式的改变均可导致蛋白尿。足细胞的凋亡与尿蛋白量成正相关。Ang II 诱导 nephrin 表达改变在足细胞凋亡及肾小球硬化的发生发展中具有重要作用。

**4.3 Ang II 具有促炎性因子的作用** 可以直接影响有关细胞的增殖、肥大、分化、诱导炎症反应<sup>[1]</sup>。

**4.4 TGF-β<sub>1</sub> 在 ECM 代谢中起重要调节作用** 不仅是 MC 促有丝分裂因子,刺激 ECM 合成<sup>[2]</sup>,而且通过多个作用环节导致 ECM 过度聚集和 FN 合成增多。TGF-β<sub>1</sub> 持续表达最终导致肾小球破坏和肾间质纤维化。

**4.5** TGF- $\beta_1$  对肾小球细胞是否发生凋亡也起重要调控作用 TGF- $\beta_1$  抗体可抑制 Ang II 诱导的肾小球上皮细胞凋亡<sup>[3-4]</sup>。而 TGF- $\beta_1$  诱导肾组织细胞凋亡是其致肾纤维化和肾小球硬化的重要方面<sup>[5]</sup>。

**4.6** TGF- $\beta_1$  是参与间质纤维化最关键的细胞因子之一<sup>[6]</sup> 近年认为肾间质病变在肾损害中作用更为重要,目前研究已充分证明,糖尿病状态下,活化的肾脏局部的 RAS 系统激活刺激 TGF- $\beta_1$  的产生,而 Ang II -TGF- $\beta_1$  -ECM 轴的形成及稳态对肾组织纤维化起决定性作用。糖肾清 1 号具有化瘀降浊、解毒利湿的功效。对 DN 模型大鼠肾组织纤维化的抑制机制在于其对 Ang II 在肾组织的高表达有很好的调控作用。通过下调 Ang II 的基因转录及蛋白表达,进而下调了相关纤维化因子 TGF- $\beta_1$  的高表达而实现。

#### [参考文献]

[1] Zoja C, Donaolelli R, Colleoni S, et al. Protein overload stimulates RANTES production by proximal tubular cell

depending on NF-kappa B activation[J]. *Kidney Int*, 1998,53:1608.

[2] Singh R, Song R H, Alavi N, et al. High glucose decreases matrix metalloproteinase2 activity in rat mesangial cells Viatrana forming growth factor betal [J]. *Exp Nephrol*,2001,9(4):249.

[3] Ding G, Reddy K, Kapasi A A, et al. Angiotensin II induces apoptosis in rat glomerular epithelial cells[J]. *Am J Physiol Renal Physio*,2002,283(1):173.

[4] Yang B, Johnson T S, Thomas C L, et al. Expression of apoptosis-related genes and proteins in experimental chronic renal scarring[J]. *J Am Soc Nephrol*,2002,12(2):275.

[5] 王伟铭,陈楠,董德长. 肾组织核心聚糖和转化生长因子- $\beta_1$  的表达与肾间质纤维化的关系[J]. *肾脏病与透析肾移植杂志*,2002,11(2):124.

[6] Border W A, Noble N A. Transforming growth factor- $\beta$  in tissue fibrosis[J]. *N Engl J Med*,1994,331:1288.

[责任编辑 邹晓翠]

---

## 本刊欢迎网上投稿

《中国实验方剂学杂志》2010 年正式施行网上投稿,请登录本刊网站 [www. syfjxzz. com](http://www.syfjxzz.com) 注册会员,登陆采编系统之后按照提示在线投稿。本刊对网上来稿免收稿件处理费。编辑部对来稿有修改权。经审后,如录用,请按通知要求交纳论文发表费。详见本刊稿约。