

糖肾清对 DN 模型大鼠肾组织形态学的影响

高双荣¹, 孙翠英², 郑燕飞², 张润云³, 金磊³, 刘惠², 张春艳², 孟凤仙^{2*}

(1. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700; 2. 北京中医药大学东方医院, 北京 100078;
3. 中国中医科学院广安门医院, 北京 100053)

[摘要] **目的:**探讨糖肾清对糖尿病大鼠肾脏形态学的影响。**方法:**将 SD 大鼠随机分为对照组、模型组、阳性药卡托普利(14 mg·kg⁻¹)组、糖肾清高、中、低剂量(187, 93.5, 46.75 mg·kg⁻¹)组,用 STZ 诱导大鼠糖尿病肾病(DN)模型,连续 ig 12 周后处死大鼠,取肾脏行 HE, PAS 染色,光镜下对肾组织病变进行分类评分, PAS 染色下测定肾小球系膜基质相对面积。**结果:**糖肾清高剂量组的肾脏病变较模型组有所减轻,其肾小球基质相对面积较模型组明显减少($P < 0.05$)。**结论:**糖肾清能减轻 DN 大鼠肾小球细胞外基质的增生程度,对其肾脏病变具有保护作用。

[关键词] 糖肾清; 糖尿病肾病; 形态学

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)14-0156-04

Morphologic Effect of Tangshenqing on Kidney of Rats with Diabetic Nephropathy

GAO Shuang-rong¹, SUN Cui-ying², ZHENG Yan-fei², ZHANG Run-yun³,
JIN Lei³, LIU Hui², ZHANG Chun-yan², MENG Feng-xian^{2*}

(1. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China;
2. Dongfang Hospital Affiliated to Beijing University of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100078, China;
3. Guanganmen Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100053, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate morphologic effect of Tangshenqing on kidney of rats with diabetic nephropathy. **Method:** SD rats were induced diabetic nephropathy by STZ then randomly divided into normal control group, the model group, the positive group, the high dose of Tangshenqing group, the medium dose of Tangshenqing group and the low dose of the group. They were 187, 93.5 and 46.75 mg·kg⁻¹ respectively. After twelve weeks' oral drug administration, the rats were killed and the kidneys were harvested for hematoxylin and eosin and the periodic acid-silver dyeing. The renal lesions were classified and scored under light microscope. The relative area of mesangium matrix was measured under the periodic acid-silver dyeing. **Result:** The renal lesions of the high dose of Tangshenqing group was lightened than the model group. Mesangium matrix relative area of the high dose of Tangshenqing was obviously reduced than the model group ($P < 0.05$). **Conclusion:** Tangshenqing may relieve the extent of mesangium matrix hyperplasia for rats with diabetic nephropathy.

[Key words] Tangshenqing; diabetic nephropathy; morphology

[收稿日期] 2011-02-14

[基金项目] 国家自然科学基金项目(30772762)

[第一作者] 高双荣, 硕士, 助理研究员, 从事毒理病理研究, Tel: 010-84252805-2231, E-mail: rdou8@sohu.com

[通讯作者] * 孟凤仙, 博士, 主任医师, 从事内分泌代谢和风湿免疫病研究, Tel: 010-87669826, E-mail: liuo9@hotmail.com

糖尿病肾病 (diabetic nephropathy, DN) 是糖尿病常见的并发症,在西方国家,糖尿病肾病已成为导致终末肾病的首要原因^[1]。其主要病理学改变为肾小球系膜基质沉积,基底膜增厚,肾小管及间质纤维化和炎症细胞浸润,以致肾功能衰竭^[2]。因此, DN 的治疗对防止终末肾衰的发生及发展有着极其重要的意义。糖肾清是一种有临床研究基础的待开发的新药,具有滋阴清热、化痰降湿浊功效^[3],对介导 DN 肾组织纤维化的相关细胞因子有较好的调控作用。本项目拟观察糖肾清对 DN 模型大鼠肾组织形态学的影响,以探讨其对肾小球细胞外基质增生的干预作用及对 DN 肾小球的保护作用。

1 材料与方法

1.1 材料 SPF 级 IGS 大鼠 56 只,雌雄各半,体重 (250 ± 50)g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,动物许可证号 SCXK(京)2006-0009,动物饲养环境为中国中医科学院中药研究所实验动物中心。糖肾清购自北京中医药大学东方医院,卡托普利购自中美上海施贵宝制药有限公司(批号 0210032),链脲佐菌素(streptozocin, STZ, 购自美国 Amersco 公司批号 20100812)。

1.2 造模方法 实验大鼠正常饲养 1 周后,随机选取 6 只作正常对照,其余 50 只大鼠禁食 12 h 后,按

64 mg·kg⁻¹ ip STZ 柠檬酸钠缓冲液进行造模,72 h 后测定血糖,达 13.8 ~ 25 mmol·L⁻¹ 者确认造模成功。

1.3 分组及给药 将造模成功的大鼠随机分为模型组 10 只,阳性药组 10 只,糖肾清高、中、低剂量各 10 只。正常组自由饮食,模型组等量蒸馏水 ig,阳性药组予 14 mg·kg⁻¹·d⁻¹ 卡托普利,糖肾清高、中、低剂量组分别为 187.00, 93.5, 46.75 mg·kg⁻¹·d⁻¹。各组按 10 mL·kg⁻¹ 等容不等浓度 ig 12 周。

1.4 肾组织病理学检查 于实验 12 周末处死大鼠,分离肾脏,置 10% 福尔马林固定,经梯度脱水、石蜡包埋,4 μm 切片,行 HE, PAS 染色。光镜下观察(HE 染色)肾小球、肾小管及肾间质病变,计算肾脏病变总积分(等于肾脏各类病变的分级评分之和)。在 400 倍镜下(PAS 染色)随机取 20 个完整肾小球,采集肾小球基质着色区,计算肾小球基质相对面积(肾小球基质面积 / 肾小球面积),取均值。

1.5 诊断标准 参照《肾脏病理学诊断技术》^[4],结合本试验中 DN 模型大鼠肾组织病变的性质及程度制定以下诊断标准(表 1):1 个“+”号代表 1 分,计算每只动物肾脏分类评分及总积分,总积分 = 肾小球病变评分 + 肾小管病变评分 + 纤维组织增生评分 + 炎性坏死评分。

表 1 DN 模型大鼠肾脏病变的诊断标准

评分	分级	肾小球病变	肾小管病变	纤维组织增生	炎性坏死
0	-	肾小球结构正常	肾小管结构正常	间质结构正常	未见炎细胞浸润
1	+	个别肾小球轻度增大	散在近曲小管上皮细胞空泡变性	轻度纤维增生,个别肾小管增生	小灶状炎症
2	++	部分肾小球系膜基质轻度增生,偶见基底膜增厚	部分近曲小管空泡变性	轻→中度纤维增生,部分肾小管基底膜增厚	片状炎细胞浸润,个别肾小管坏死
3	+++	肾小球基质中度增生,部分肾小球基底膜增厚	大部分近曲小管空泡变性	中度纤维增生,多发肾小管再生,基底膜增厚	大片炎细胞浸润,少量肾组织坏死
4	++++	肾小球基质弥漫重度增生,部分小球基底膜增厚	大部分肾小管空泡变性,其余小管嗜酸性变	重度纤维增生	大片炎细胞浸润,大量肾组织坏死

1.6 统计学处理 采用 SPSS 16.0 软件,HE 染色观察结果的多组间比较采用非参数秩和检验,肾小球基质面积的结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多样本的均数比较采用单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异显著的检验标准。

2 结果

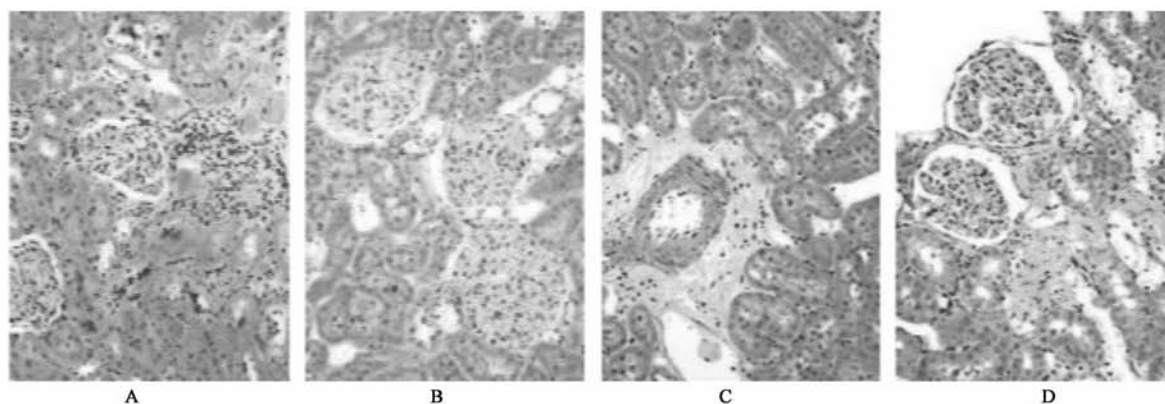
2.1 HE 染色切片显微镜观察 模型组大部分肾小球肥大,系膜基质弥漫性中至重度增生,肾小球基底膜增厚,肾小管上皮细胞空泡变性,部分肾小管萎缩,间质轻、中度纤维组织增生、淋巴细胞浸润,较对

照组有显著性差异($P < 0.01$)。糖肾清高、中剂量组肾脏病变较模型组有所减轻,见表 2,图 1。

表 2 糖肾清颗粒对肾脏病变总积分的影响

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	n	肾脏病变总积分/分	排序值
对照	-	6	0 ± 0	6.50
模型	-	10	5.4 ± 3.1	73.22
卡托普利	14.00	10	5.3 ± 2.1	72.62
糖肾清颗粒	187.00	10	4.4 ± 2.2	59.79
	93.50	10	4.3 ± 2.7	62.42
	46.75	10	5.1 ± 2.6	73.29

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



A. 对照组; B, C. 模型组; D. 糖肾清 187.00 mg·kg⁻¹组

图 1 各组大鼠肾脏组织变化情况 (HE, ×400)

2.2 肾小球基质相对面积 模型组肾小球系膜区增宽,系膜基质呈中度至重度增生,与对照组比有显著性差异($P < 0.05$)。糖肾清 187.00 mg·kg⁻¹组肾小球基质相对面积明显低于模型组,糖肾清 93.50 mg·kg⁻¹组肾小球基质相对面积较模型组有减少趋势($P < 0.1$)。见表 3,图 2。

表 3 糖尿清颗粒对肾小球基质相对面积的影响

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	n	基质相对面积/%
对照	-	6	6.50 ± 2.07
模型	-	10	17.19 ± 2.48
卡托普利	14.00	10	17.04 ± 1.27
糖肾清颗粒	187.00	10	12.90 ± 2.60 ¹⁾
	93.50	10	15.25 ± 2.70
	46.75	10	16.83 ± 2.60

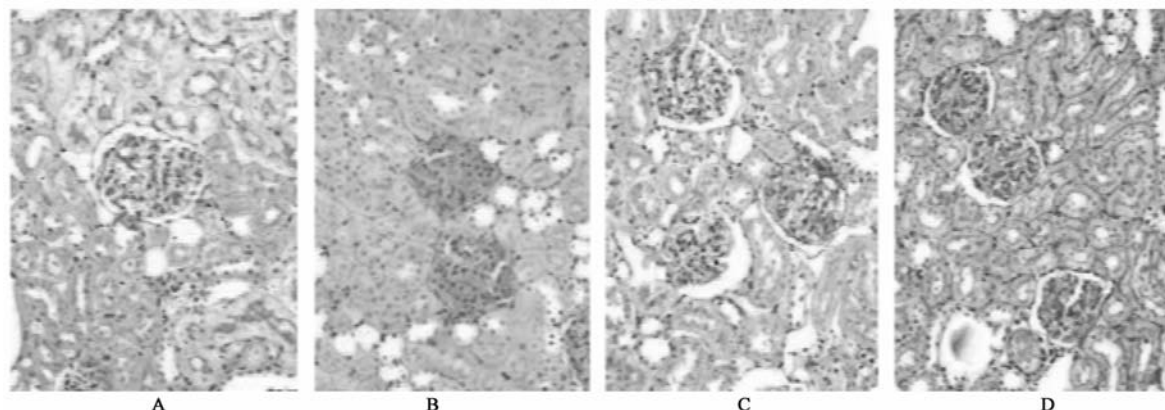
3 讨论

DN 的最终结局是肾小球硬化,其病理基础是由于 IV 型胶原、纤维连接蛋白(laminin, LN)及层黏连

蛋白(fibronectin, FN)堆积,共同引起肾小球系膜基质增生及肾小球基底膜增厚。近年来应用中医中药治疗 DN 取得了令人鼓舞的疗效^[5]。

本研究结果表明,糖肾清 187 mg·kg⁻¹组肾脏病变较模型组有减轻趋势,其肾小球基质相对面积较模型组明显减少($P < 0.05$),表明糖肾清 187 mg·kg⁻¹可明显改善 DN 肾小球系膜细胞外基质的增生程度;糖肾清 93.50 mg·kg⁻¹组的肾脏病变较模型组有所减轻,其肾小球基质相对面积较模型组有减低趋势($P < 0.1$),表明此对 DN 模型大鼠肾小球系膜细胞外基质增生程度亦有减轻作用;糖肾清 46.75 mg·kg⁻¹组的肾脏病变总积分与模型组比较未见明显差异。

DN 中医分型绝大多数为气阴两虚兼血瘀型,临床实践证明,糖肾清具有益气养阴、活血化瘀的作用,糖肾清主要成分是黄芪、丹参。丹参属活血化瘀类中药,具有促进纤溶、抗血栓、改善微循环等作用,可降低糖尿病肾病大鼠肾皮质 IV 型胶原和 FN 的含



A. 对照组; B 模型组; C. 糖肾清 187.00 mg·kg⁻¹组; D. 糖肾清 93.50 mg·kg⁻¹组

图 2 各组肾小球系膜增生情况 (PAS, ×400)

藁本、辽藁本和新疆藁本挥发油化学成分分析及其血管活性观察

张迎春, 陈畅, 李韶菁, 许海玉, 李德凤, 吴宏伟, 杨洪军*

(中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

[摘要] 目的: 分析比较藁本、辽藁本及代用品新疆藁本共 7 个样品中挥发油的化学成分, 并观察对离体血管的舒张活性。方法: 采用水蒸气蒸馏法提取 7 个藁本样品的挥发油, 运用气相色谱-质谱法 (GC-MS) 对其化学成分进行分析鉴定, 并用面积归一化法计算各成分相对含量; 离体血管实验观察不同品种藁本挥发油对 KCl 预收缩大鼠胸主动脉环张力的影响。结果: 从 7 个藁本样品中共鉴定出 82 个成分, 其中含共有成分 14 个, 各样品所鉴定成分平均占其总挥发油的 94%。离体血管实验显示, 各样品挥发油对大鼠胸主动脉环均有不同程度的舒张作用, 且量效曲线呈非线性关系; 半数有效量 (ED₅₀) 30.4 ~ 400.1 μg·mL⁻¹。结论: 不同品种藁本挥发油化学成分的种类及含量差异显著, 对大鼠离体血管的舒张活性明显不同。

[关键词] 藁本; 新疆藁本; 挥发油; 气相色谱-质谱法; 胸主动脉; 离体血管

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)14-0159-07

Chemical Analysis and Observation on Vascular Activity of Essential Oil from *Ligusticum sinensis*, *Conioselinum tataricum* and *Ligusticum jeholense*

ZHANG Ying-chun, CHEN Chang, LI Shao-jing, XU Hai-yu, LI De-feng, WU Hong-wei, YANG Hong-jun*
(Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing, 100700, China)

[Abstract] **Objective:** To analyze and compare composition and content of volatile oils extracted from seven

[收稿日期] 2011-04-06

[基金项目] 中国中医科学院自主选题课题 (Z02063)

[第一作者] 张迎春, 在读硕士, 从事中药复方优化研究, E-mail: yczhang1203@yahoo. cn

[通讯作者] * 杨洪军, 研究员, Tel: 010-64014411-2948, E-mail: hunjun0420@vip. sina. com

量, 丹参的水溶性成分之一丹酚酸 A 可抑制小鼠成纤维细胞的增殖, 降低成纤维细胞内胶原的合成率, 是丹参抗纤维化的有效成分之一。

综上所述, 糖肾清能减少细胞外基质堆积, 对 DN 肾小球具有保护作用。

[参考文献]

- [1] Molitch M E, DeFronzo R A, Franz M J, et al. Nephropathy in diabetes [J]. Diabetes Care, 2004, 27 (Suppl 1): 792.
- [2] 王海梅, 邓安国, 冯玉锡. 糖尿病肾病肾组织纤维化

发病基质的研究进展 [J]. 国外医学: 泌尿系统分册, 2003, 23(5): 543.

- [3] 孟凤仙, 孙志波, 刘慧, 等. 糖肾清颗粒抗糖尿病肾病药理作用研究 [J]. 中国中医基础医学杂志, 2007, 13 (12): 953.
- [4] Agnes B Fogo, Michael Kshgarian. 周庚寅主译. 肾脏病理诊断图谱 [M]. 北京: 北京大学医学出版社, 2007: 139.
- [5] 邸阜生, 杨艳, 杨茜, 等. 糖肾清 I 号治疗糖尿病肾病的临床研究 [J]. 天津中医药, 2003, 20(2): 21.

[责任编辑 何伟]