

大黄素对小鼠肾脏毒性表现的凋亡机制

黄婉奕, 李彦桥, 蒋晴, 罗煜, 艾小鹏, 王平, 孟宪丽*
(成都中医药大学药学院, 成都 611137)

[摘要] **目的:**观察大黄素长期给药对小鼠肾脏毒性的影响,探讨其可能的毒性机制,为临床合理用药及进一步研究提供一定依据。**方法:**昆明种小鼠30只,随机分为空白组和大黄素低、高剂量(0.8, 1.6 g·kg⁻¹)组,每组10只,雌雄各半。连续灌胃给药11周。给药期间,观察记录小鼠的一般情况;停止给药后检测动物血清尿素氮(BUN),肌酐(SCr),丙二醛(MDA),超氧化物歧化酶(SOD),肿瘤坏死因子- α (TNF- α)和白细胞介素-6(IL-6)等指标。计算肾脏指数并检测肾脏中谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)和还原型谷胱甘肽/氧化型谷胱甘肽(GSH/GSSG),取肾脏进行病理组织学检查,免疫组化法检测肾脏转化生长因子- β_1 (TGF- β_1)及半胱氨酸蛋白酶-3(Caspase-3)蛋白表达。**结果:**与同性别空白组比较,给药组小鼠体质量下降明显,肾脏指数降低,BUN和SCr升高明显($P < 0.05$, $P < 0.01$),SOD活力明显降低($P < 0.05$, $P < 0.01$),TNF- α 含量明显增多($P < 0.05$, $P < 0.01$),大黄素高剂量组GSH-Px含量和GSH/GSSG明显下降($P < 0.05$),Caspase-3表达明显上升($P < 0.05$)。肾脏病理组织学检测,大黄素高剂量组可见肾小管上皮细胞肿胀、肾小管管腔中蛋白管型、充血和淋巴细胞小灶性增生明显,大黄素低剂量组以上表现较高剂量组不明显。**结论:**大黄素长期大剂量给药对小鼠肾脏存在一定毒性,在1.6 g·kg⁻¹·d⁻¹剂量下毒性作用明显,无明显性别差异。其潜在毒性机制可能为引起氧化系统紊乱,诱发氧化应激损伤,触发炎症反应,进而使细胞凋亡。

[关键词] 大黄素; 长期毒性; 肾毒性; 氧化应激

[中图分类号] R22;R242;R2-031;R285.5;R99 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)11-0042-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20182421

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20180929.1400.007.html>

[网络出版时间] 2018-09-30 10:34

Apoptosis Mechanism of Emodin on Renal Toxicity in Mice

HUANG Wan-yi, LI Yan-qiao, JIANG Qing, LUO Yu, AI Xiao-peng, WANG Ping, MENG Xian-li*
(College of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the effect of long-term administration of emodin on the kidney toxicity of mice, explore its possible toxic mechanism, and provide some basis for clinical rational drug use and further research. **Method:** The 30 Kunming mice, half male and half female, were randomly divided into 3 groups: control group, emodin low dose group and emodin high dose groups (0.8, 1.6 g·kg⁻¹), 10 mice in each group. Continuous intragastric administration was given for 11 weeks. During administration, the general situation of the mice was observed and recorded. After treatment, the serum urea nitrogen (BUN), creatinine (SCr), malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD) tumor necrosis factor (TNF- α) and interleukin-6 (IL-6) were detected. Kidney index was calculated and glutathione peroxidase (GSH-Px) and reduced glutathione/oxidized glutathione (GSH/GSSG) ratio were measured. The kidneys were taken for histopathological examination and the protein expression levels of transforming growth factor- β_1 (TGF- β_1) and cysteine aspartic acid specific protease-3 (Caspase-3) were then detected by immunohistochemistry assay. **Result:** As compared with control

[收稿日期] 20180703(010)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81473149)

[第一作者] 黄婉奕,在读硕士,从事中药药效与毒理学研究,E-mail:huangwany33@163.com

[通信作者] *孟宪丽,博士,教授,从事中药药效与毒理学研究,E-mail:xlm999@cdutcm.edu.cn

group of the same sex, the weight of mice in the administration groups was decreased significantly, renal index was decreased while BUN and SCr levels were increased significantly ($P < 0.05$, $P < 0.01$); activity of SOD was decreased significantly ($P < 0.05$, $P < 0.01$); content of TNF- α was increased significantly ($P < 0.05$, $P < 0.01$), while the content of GSH-Px and the ratio of GSH/GSSG were decreased significantly in high emodin group ($P < 0.05$), and the expression of Caspase-3 was increased significantly in high emodin group ($P < 0.05$). Renal histopathology: tubule epithelial cells swelling, tubulointerstitial protein tube type, hyperemia and lymphocytic small focal hyperplasia were observed in emodin high dose group, but the performance above was not obvious in low dose group. **Conclusion:** The long-term administration of emodin at a large dose would show toxicity effect on mice kidney, and the toxicity was obvious at the dose of $1.6 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$, but there was no significant difference between the sexes. The mechanism of its potential toxicity may be related to the disorder of oxidation system, the injury of oxidative stress, the triggering of inflammatory reaction, and the apoptosis of cells.

[**Key words**] emodin; long-term toxicity; nephrotoxicity; oxidative stress

大黄是治疗多种疾病的重要中药,在临床上有着广泛的应用。现代研究表明,大黄蒽醌类成分具有抗炎^[1]、抗肿瘤^[2]、保护心血管^[3]等作用。此外,大黄还具有肝肾损伤保护作用^[4-6],另一方面,长期服用大黄对肾功能有一定损伤^[7-8],产生毒性的主要成分是大黄素、大黄酸和芦荟大黄素。大黄素作为大黄有效成分之一,在大黄的游离蒽醌衍生物中含量最高,因此研究大黄素的毒性机制尤为重要。有研究发现,大黄素能够明显抑制 HK-2 细胞增殖,引起 HK-2 细胞凋亡增加,且大黄素对细胞的毒性存在明显的剂量效应和时间效应^[9-12]。课题组前期研究发现,大黄可清除体内过度累积的自由基,干预内毒素血症模型大鼠体内氧化应激损伤的信号传导,发挥保护作用^[13],而大剂量大黄素则可诱导 L02 和 HepG2 细胞凋亡,其毒性作用机制可能是通过线粒体凋亡途径实现^[14-15]。大黄素对细胞的毒性机制已有较为深入的研究,大黄素的体内毒性研究对象多为肝脏,而大黄素对小鼠肾脏的毒性相关机制研究鲜有报道。本研究以大黄素灌胃小鼠,从整体动物水平上研究大黄素对小鼠肾功能和肾组织形态的影响,为临床合理用药提供一定依据,同时结合氧化应激指标,初步探讨大黄素对肾脏毒性的作用机制。

1 材料

1.1 动物 SPF 级昆明种小鼠 30 只,雌雄各半,体重 18 ~ 25 g,由四川省医学科学院实验动物研究所提供,合格证号 SCXK(川)2013-0015。本研究获得成都中医药大学实验动物伦理委员会批准(批准号 TCM-2016-312)。

1.2 药物与试剂 大黄素(宝鸡市辰光生物科技有限公司,批号 20161123,纯度 $\geq 98\%$);蛋白酶抑制剂(瑞士 Roche 公司,批号 24348600);RIPA 裂解

液(杭州联科生物技术股份有限公司,批号 71725031);尿素氮(urea nitrogen, BUN),肌酐(creatinine, SCr),丙二醛(malondialdehyde, MDA),超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD),白细胞介素-6(interleukins-6, IL-6),肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor-alpha, TNF- α),谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px),总谷胱甘肽(total glutathione, T-GSH)/氧化型谷胱甘肽(oxidized glutathione, GSSG)测定试剂盒(南京建成生物工程研究所,批号分别为 20170714, 20170830, 20170712, 20170713, 220670752, 228270724, 20170710, 20170710);苏木素,伊红(美国 Thermo 公司,批号分别为 20170308, 20170308);半胱氨酸蛋白酶-3(cysteine aspartic acid specific protease-3, Caspase-3)一抗(美国 Cell Signaling 公司,批号 9662S);转化生长因子- β_1 (transforming growth factor- β_1 , TGF- β_1)一抗(美国 Abcam 公司,批号 92486);免疫组织化学 SP 试剂盒(北京中杉金桥生物技术有限公司,批号 18149A01)。

1.3 仪器 Varioskan Flash 型全波长扫描式多功能酶标仪(美国 Thermo 公司), ZHWY-100H 型恒温培养振荡器(上海智城分析仪器制造有限公司), CX22 型光学显微镜(日本 Olympus 公司), DM1000 型显微成像系统(德国 Leica 公司)。

2 方法

2.1 动物分组及给药 5 周龄小鼠 30 只,雌雄各半,适应性饲养 3 d 后,按体质量和性别随机分为雌性空白组,大黄素低、高剂量组;雄性空白组,大黄素低、高剂量组,每组 5 只。大黄素低、高剂量分别灌胃大黄素 $0.8, 1.6 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ (给药剂量由前期所做急性毒性实验确定),空白组灌胃给予相同体积的 0.5%

羧甲基纤维素钠(CMC-Na)。连续给药 11 周。

2.2 检测指标

2.2.1 一般情况 给药期间,记录观察小鼠的一般行为情况,如行为活动、精神状态、饮食饮水量、大小便颜色、体质量变化等。

2.2.2 血清生化指标检测 于末次给药后禁食 12 h,摘眼球取血,静置,3 500 r·min⁻¹离心 10 min,取上清液,试剂盒检测血清 BUN,SCr,MDA,SOD,TNF- α ,IL-6 水平。

2.2.3 肾脏指数 小鼠处死后,分离肾脏,在冰冷的生理盐水中清洗后,滤纸析干,称重,记录。根据左右肾脏质量和小鼠体质量计算肾脏指数。

2.2.4 肾脏谷胱甘肽抗氧化系统功能 左肾上半部分称重后用灭菌的剪刀剪碎,加入已放入蛋白酶抑制剂的 RIPA 裂解液,组织裂解液质量体积比为 1:5,匀浆,静置 30 min 后在 4 $^{\circ}$ C,3 000 r·min⁻¹离心 10 min,取上清液,根据试剂盒说明书检测肾脏 GSH-Px 水平及 GSH/GSSG。

2.2.5 病理组织学检测 剩余左肾用 4% 多聚甲醛固定,通过脱水,包埋,切片,脱蜡,苏木素-伊红(HE)染色,树脂胶封片,显微镜下观察组织病理学

变化,采用显微成像系统进行拍照记录组织学损伤。

2.2.6 免疫组化法检测肾脏 TGF- β_1 ,Caspase-3 蛋白表达 右肾经多聚甲醛固定,脱水,包埋,切片,脱蜡后进行抗原修复,分别孵育过氧化物酶阻断剂,山羊血清,一抗(TGF- β_1 ,Caspase-3 分别为 1:100,1:800),二抗(1:20),辣根酶标记链霉卵白素工作液,经 DAB 显色,苏木素复染,冲洗返蓝,梯度乙醇脱水,二甲苯透明,树脂胶封片。显微镜下观察目的蛋白表达情况,并采用显微成像系统拍照记录,Image-Pro Plus 6.0 软件计算积分吸光度 IA 及对阳性表达细胞进行计数。

2.2.7 数据统计 采用 SPSS 19.0 对数据进行统计分析,组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 大黄素对大鼠一般情况的影响 与雌性空白组比较,给药 11 周时大黄素低、高剂量组小鼠体质量明显降低($P < 0.05$, $P < 0.01$),与雄性空白组比较,给药 7~11 周大黄素低、高剂量组小鼠体质量明显降低($P < 0.05$, $P < 0.01$);各组小鼠饮食饮水无明显变化。见表 1。

表 1 大黄素对不同性别小鼠体质量的影响($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Table 1 Effect of emodin on body weight of mice of different genders($\bar{x} \pm s, n = 5$)

性别	组别	剂量 /g·kg ⁻¹	0 周	1 周	3 周	5 周	7 周	9 周	11 周
雌性	空白	-	23.54 \pm 2.07	24.66 \pm 2.80	29.00 \pm 3.47	31.46 \pm 3.23	34.76 \pm 3.96	36.42 \pm 4.39	36.88 \pm 2.37
	大黄素	0.8	22.76 \pm 1.32	25.46 \pm 1.44	28.82 \pm 1.98	28.58 \pm 3.08	29.86 \pm 3.57	32.08 \pm 2.08	33.56 \pm 1.88 ¹⁾
		1.6	22.68 \pm 1.30	23.88 \pm 2.08	28.64 \pm 2.12	30.14 \pm 2.82	31.22 \pm 2.41	32.82 \pm 2.65	32.30 \pm 1.77 ²⁾
雄性	空白	-	19.52 \pm 1.16	24.88 \pm 2.31	35.42 \pm 3.94	39.32 \pm 3.33	42.94 \pm 3.57	44.78 \pm 3.47	47.60 \pm 3.67
	大黄素	0.8	19.80 \pm 1.34	24.94 \pm 2.69	34.14 \pm 4.27	34.93 \pm 2.51	35.98 \pm 5.02 ¹⁾	39.82 \pm 4.91 ¹⁾	41.16 \pm 3.74 ¹⁾
		1.6	19.84 \pm 1.03	25.30 \pm 2.88	33.28 \pm 3.85	35.90 \pm 2.79	37.32 \pm 3.54 ¹⁾	39.02 \pm 2.10 ¹⁾	38.34 \pm 2.49 ²⁾

注:与同性别空白组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$ (表 2~6 同)。

3.2 大黄素对小鼠肾脏指数的影响 与同性别空白组比较,大黄素低、高剂量组雄性小鼠肾脏指数均有不同程度降低($P < 0.05$),雌性给药小鼠肾脏指数有下降趋势。见表 2。

3.3 大黄素对小鼠血清 BUN,SCr,SOD,MDA,TNF- α ,IL-6 水平的影响 与同性别空白组比较,大黄素高低、剂量组 BUN,SCr 浓度明显上升($P < 0.05$, $P < 0.01$),SOD 活力明显降低($P < 0.05$, $P < 0.01$),MDA 浓度升高,但差异无统计意义。与同性别空白组比较,大黄素高、低剂量组 TNF- α 含量均

表 2 大黄素对不同性别小鼠肾脏指数的影响($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Table 2 Effect of emodin on renal index of mice of different genders($\bar{x} \pm s, n = 5$)

性别	组别	剂量/g·kg ⁻¹	肾脏指数/mg·g ⁻¹
雌性	空白	-	10.39 \pm 0.61
	大黄素	0.8	9.81 \pm 1.00
		1.6	9.72 \pm 0.46
雄性	空白	-	13.36 \pm 0.64
	大黄素	0.8	12.20 \pm 0.58 ¹⁾
		1.6	11.07 \pm 0.90 ¹⁾

上升,大黄素高剂量组上升显著($P < 0.01$),雌性大 黄素低剂量组 IL-6 有上升趋势。见表 3。

表 3 大黄素对不同性别小鼠血清 BUN, SCr, SOD, MDA, TNF- α , IL-6 的影响($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Table 3 Effect of emodin on serum BUN, SCr, SOD, MDA, TNF- α , IL-6 in mice of different genders($\bar{x} \pm s, n = 5$)

性别	组别	剂量 /g·kg ⁻¹	BUN /mmol·L ⁻¹	SCr /μmol·L ⁻¹	SOD /U·mL ⁻¹	MDA /μmol·L ⁻¹	TNF- α /ng·L ⁻¹	IL-6 /ng·L ⁻¹
雌性	空白	-	23.88 ± 3.67	50.49 ± 6.97	15.46 ± 0.41	6.46 ± 1.37	123.12 ± 2.00	63.84 ± 5.39
	大黄素	0.8	30.43 ± 1.95 ¹⁾	72.66 ± 9.79 ¹⁾	14.02 ± 0.71 ¹⁾	6.59 ± 1.10	124.17 ± 3.32	65.99 ± 9.51
		1.6	32.92 ± 3.46 ²⁾	76.87 ± 11.37 ²⁾	12.98 ± 0.95 ²⁾	6.63 ± 0.99	131.94 ± 2.57 ²⁾	66.22 ± 2.79
雄性	空白	-	24.53 ± 1.88	53.13 ± 5.72	15.44 ± 0.77	6.77 ± 1.33	118.29 ± 1.84	64.54 ± 9.98
	大黄素	0.8	30.50 ± 2.40 ²⁾	62.70 ± 9.21 ¹⁾	12.37 ± 2.04 ¹⁾	7.77 ± 0.65	120.48 ± 0.92 ¹⁾	68.58 ± 9.08
		1.6	31.27 ± 3.68 ²⁾	70.99 ± 13.10 ¹⁾	12.50 ± 1.68 ²⁾	7.92 ± 0.96	126.61 ± 3.92 ²⁾	69.67 ± 8.53

3.4 大黄素对小鼠肾脏谷胱甘肽抗氧化系统功能的影响 与同性别空白组比较,大黄素高剂量组 GSH-Px 酶活力, GSH/GSSG 下降($P < 0.05$)。见表 4。

表 4 大黄素对不同性别小鼠肾脏 GSH-Px 酶活力及 GSH/GSSG 的影响($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Table 4 Effect of emodin on GSH-Px activity and GSH/GSSG in kidney of mice of different genders($\bar{x} \pm s, n = 5$)

性别	组别	剂量/g·kg ⁻¹	GSH-Px/U·mg ⁻¹	GSH/GSSG
雌性	空白	-	34.60 ± 0.75	0.229 ± 0.031
	大黄素	0.8	31.48 ± 2.84	0.190 ± 0.032
		1.6	29.35 ± 3.35 ¹⁾	0.172 ± 0.016 ¹⁾
雄性	空白	-	34.52 ± 2.52	0.211 ± 0.055
	大黄素	0.8	30.44 ± 2.07 ¹⁾	0.193 ± 0.027
		1.6	30.05 ± 2.04 ¹⁾	0.151 ± 0.024 ¹⁾

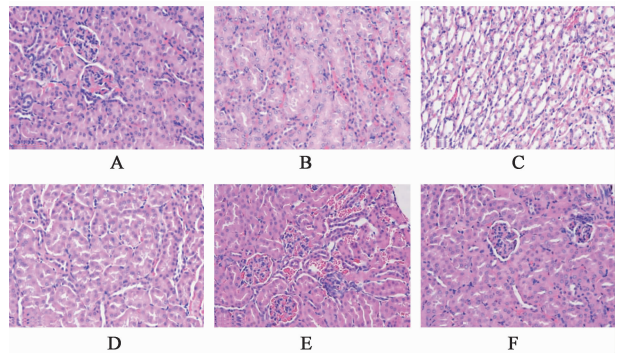
3.5 大黄素对小鼠肾脏病理形态学的影响 与同性别空白组相比,大黄素高剂量组可见严重肾小管上皮细胞肿胀、肾小管管腔中蛋白管型、充血和淋巴细胞小灶性增生,大黄素低剂量组病变较高剂量组不明显。见图 1。

3.6 大黄素对小鼠肾脏 TGF- β_1 蛋白表达的影响 与同性别空白组比较,大黄素低剂量组小鼠肾脏 TGF- β_1 表达量有上升趋势,大黄素高剂量组 TGF- β_1 蛋白表达上升明显($P < 0.05, P < 0.01$)。见图 2, 表 5。

3.7 大黄素对小鼠肾脏 Caspase-3 蛋白表达的影响 与同性别空白组比较,大黄素低、高剂量组小鼠肾脏Caspase-3阳性细胞表达均有上升,且大黄素高剂量组有明显差异($P < 0.05$)。见图 3,表 6。

4 讨论

脏器指数可作为毒性的重要标志,脏器指数下



A. 雌性空白组; B. 雌性大黄素低剂量组; C. 雌性大黄素高剂量组; D. 雄性空白组; E. 雄性大黄素低剂量组; F. 雄性大黄素高剂量组(图 2, 3 同)

图 1 大黄素对不同性别小鼠肾脏组织形态的影响(HE, ×200)

Fig. 1 Effect of emodin on renal histomorphology of mice of different genders(HE, ×200)

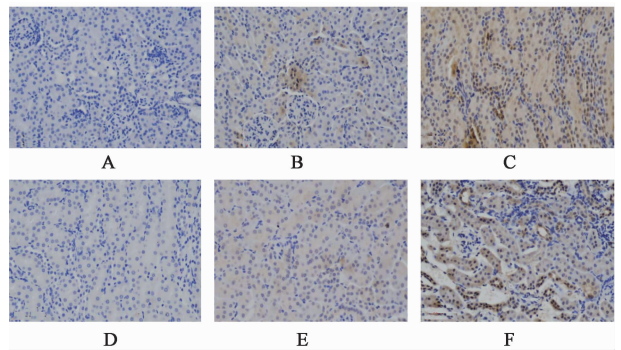


图 2 大黄素对小鼠肾脏 TGF- β_1 蛋白表达的影响(免疫组化, ×200)

Fig. 2 Effect of emodin on expression of TGF- β_1 protein in mouse kidney(IHC, ×200)

降则表示脏器有萎缩,退行性变化等。BUN, SCr 是判断肾功能的常用指标,分别具有很高的敏感性和特异性,其值的高低可准确反映肾功能损害程度,对于肾功能损伤早期诊断具有重要意义^[16]。灌胃给

表 5 大黄素对小鼠肾脏 TGF-β₁ 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Table 5 Effect of emodin on optical density of TGF-β₁ in mouse kidney ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

性别	组别	剂量/g·kg ⁻¹	IA
雌性	空白	-	0.100 ± 0.016
	大黄素	0.8	0.119 ± 0.043
		1.6	0.160 ± 0.020 ²⁾
雄性	空白	-	0.104 ± 0.023
	大黄素	0.8	0.122 ± 0.020
		1.6	0.164 ± 0.029 ¹⁾

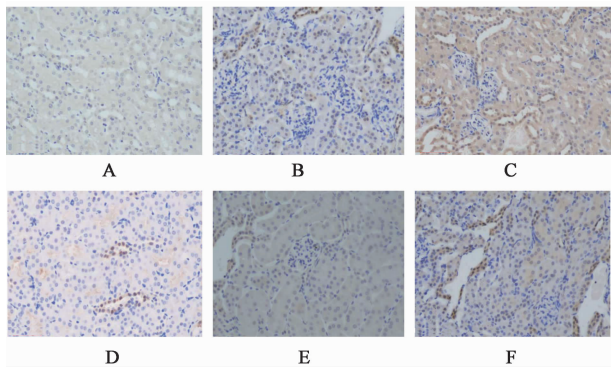


图 3 大黄素对小鼠肾脏 Caspase-3 蛋白表达的影响 (免疫组化, × 200)

Fig. 3 Effect of emodin on expression of Caspase-3 protein in mouse kidney (IHC, × 200)

表 6 大黄素对小鼠肾脏 Caspase-3 蛋白阳性细胞数的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Table 6 Effect of emodin on number of Caspase-3 protein positive cells in kidney of mice ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

性别	组别	剂量/g·kg ⁻¹	阳性细胞数/个
雌性	空白	-	19.75 ± 7.84
	大黄素	0.8	31.78 ± 10.33
		1.6	38.33 ± 6.98 ¹⁾
雄性	空白	-	24.58 ± 7.40
	大黄素	0.8	33.75 ± 13.87
		1.6	42.08 ± 11.68 ¹⁾

予小鼠不同剂量的大黄素后,雌雄小鼠体质量及肾脏指数相比空白组均有不同程度降低,血清 BUN, SCr 含量也有显著升高。结合肾脏 HE 染色病理形态观察,给药组小鼠肾脏组织样本均见有不同程度的组织病理学改变。主要病变有 4 种类型,即肾小管上皮细胞肿胀、肾小管管腔中蛋白管型、充血和淋巴细胞小灶性增生,其中高剂量组较低剂量组病变明显。由此可见,长期给予大黄素会造成小鼠肾脏

不同程度损伤,剂量越大毒性越强。

氧化应激即机体自由基生成增加或清除能力降低,大量堆积的氧自由基会诱发组织过氧化,过氧化可引发氧化应激损伤^[17-19],包括炎症反应、细胞凋亡等。SOD,MDA,GSH 是氧化应激的重要标志物,在细胞处于氧化应激时出现异常,其活性的改变提示机体对 ROS 清除能力下降从结果来看,高剂量组 SOD 活力显著下降,肾脏谷胱甘肽抗氧化系统功能失衡,可见大剂量大黄素可诱发机体氧化应激损伤。

TGF-β₁ 是关键致纤维化因子^[20],可激活肾脏组织的炎症信号通路,促进炎症细胞的浸润,产生炎症因子^[21-22]。TNF-α 和 IL-6 均是炎症因子,其分泌水平可在一定程度上反映机体的细胞免疫功能。IL-6 可增加 TGF-β₁ 的表达,使组织纤维化^[23]。Caspase-3 是重要的凋亡因子,是细胞凋亡信号通路上的关键蛋白酶。结果显示,大黄素高剂量组 TGF-β₁ 和 TNF-α 表达显著上升,说明大黄素通过触发炎症因子进而产生毒性,且呈现剂量差异。其中 IL-6 有升高趋势,TGF-β₁ 蛋白表达明显增强,说明 TGF-β₁ 增高可能通过其他途径实现。

综上所述,大黄素长期大剂量给药对小鼠肾脏存在一定毒性,且高剂量毒性更明显,无明显性别差异。其潜在毒性机制可能为引起氧化系统紊乱,诱发氧化应激损伤,触发炎症反应,进而使细胞凋亡。

[参考文献]

[1] 罗爽,罗霞,刘琦,等. 大黄酸对 DSS 诱导溃疡性结肠炎小鼠的治疗作用及机制探讨[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(11):109-113.

[2] MA J W, HUANG C M, LIN Y C, et al. Aloe-emodin inhibits HER-2 expression through the downregulation of Y-box binding protein-1 in HER-2-overexpressing human breast cancer cells [J]. Oncotarget, 2016, 7(37): 58915-58930.

[3] 张耀雷,李昆,杨炯,等. 大黄素缓解球囊损伤致大鼠颈动脉狭窄及其机制[J]. 第三军医大学学报, 2017, 39(1):48-53.

[4] XUE J, CHEN F, WANG J, et al. Emodin protects against concanavalin a-induced hepatitis in mice through inhibiting activation of the p38 MAPK-NF-κB signaling pathway [J]. Cell Physiol Biochem, 2015, 35(4): 1557-1570.

[5] 王少杰,李晓洁,徐志猛,等. 大黄素对小鼠急性脂肪肝的改善作用[J]. 中国药科大学学报, 2017, 48(1):89-95.

[6] 孙禄,袁迅玲,杨亚琦,等. 大黄素对大鼠肾纤维化

- 肾间质中骨形态发生蛋白-7 表达的影响及意义[J]. 中医临床研究, 2017, 9(3):73-74,79.
- [7] 赵玲, 胡昌江, 潘新, 等. 长期服用生大黄、熟大黄对大鼠肝肾功能影响的比较[J]. 中国医院药学杂志, 2015, 35(15):1384-1387.
- [8] 邓诺, 易艳, 梁爱华, 等. 大黄肾脏毒性部分机制研究[J]. 中国中药杂志, 2018, 43(13):2777-2783.
- [9] 王青秀. 大黄及其主要成份的毒性毒理研究[D]. 北京:中国人民解放军军事医学科学院, 2007.
- [10] WANG C, DAI X, LIU H, et al. Involvement of PPAR γ in emodin-induced HK-2 cell apoptosis [J]. Toxicol in Vitro, 2015, 29(1):228-233.
- [11] 雷瑶, 王志洁, 邱国福, 等. 大黄素脂质体对 Hep-2 细胞毒的检测[J]. 武汉大学学报:理学版, 2006, 52(2):247-251.
- [12] 王翔飞, 葛均波, 孙爱军, 等. 大黄素通过 p53 途径抑制血管平滑肌细胞增殖的实验研究[J]. 中华心血管病杂志, 2006, 34(1):44-49.
- [13] 陈文, 张祎, 王沛明, 等. 大黄对内毒素血症模型大鼠氧化应激损伤的保护作用初探[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(15):112-116.
- [14] 刘德明, 周春燕, 吴嘉思, 等. 大黄素通过线粒体通路诱导 HepG2 细胞凋亡[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(3):104-108.
- [15] 刘德明, 周春燕, 吴嘉思, 等. 大黄素通过激活线粒体 caspase-8 通路诱导 L02 细胞凋亡[J]. 中药药理与临床, 2017, 33(5):23-26.
- [16] 谭汉全, 尹雪梅. PTH、BUN 及 SCr 联合检测在肾功能损伤早期诊断中的临床价值[J]. 海南医学院学报, 2015, 21(2):197-199.
- [17] YANG Y, LIU P, CHEN L, et al. Therapeutic effect of Ginkgo biloba polysaccharide in rats with focal cerebral ischemia/reperfusion (I/R) injury [J]. Carbohydr Polym, 2013, 98(2):1383-1388.
- [18] 兰美华, 吴红彦. 中药植物多糖抗氧化作用研究进展[J]. 实用中医药杂志, 2012, 28(4):326-327.
- [19] 汪志峰, 仲崇俊, 张毅, 等. 缺血后处理对大鼠局灶性脑缺血再灌注损伤保护作用的实验研究[J]. 南通大学学报:医学版, 2012, 32(6):504-506,440.
- [20] XIONG J, SUN Q, JI K, et al. Epidermal growth factor promotes transforming growth factor- β_1 -induced epithelial-mesenchymal transition in HK-2 cells through a synergistic effect on Snail[J]. Mol Biol Rep, 2013, 41(1):241-250.
- [21] MENG X M, HUANG X R, XIAO J, et al. Diverse roles of TGF- β receptor II in renal fibrosis and inflammation *in vivo* and *in vitro*[J]. J Pathol, 2012, 227(2):175-188.
- [22] Dizin E, Hasler U, Nlandukhodo S, et al. Albuminuria induces a proinflammatory and profibrotic response in cortical collecting ducts via the 24p3 receptor[J]. Am J Physiol Renal, 2013, 305(7):1053-1063.
- [23] 何文俊, 张涛, 蒋学俊, 等. 炎症因子与慢性心力衰竭[J]. 中华临床医师杂志:电子版, 2011, 5(2):457-460.

[责任编辑 张丰丰]