

· 实验研究 ·

冬虫夏草防治氨基糖甙肾毒性
损伤的实验研究

黎磊石 郑 丰 刘志红 周 虹 杨俊伟 庄永泽 许瑞吉

内容提要 为阐明冬虫夏草(简称虫草)对氨基糖甙肾毒性损伤的防治作用,我们进行了一系列的实验研究,结果表明:在庆大霉素急性肾损伤模型中,接受虫草治疗的大鼠尿 NAG 酶、血肌酐水平低于对照组,肾小球滤过和保钠功能优于对照组。离体肾灌注(IPK)研究证明,虫草可提高 IPK 代谢率,增加肾小球滤过,保护肾小管正常运转。此外虫草还可减轻体外培养的肾小管细胞对庆大霉素损伤的易感性。虫草作用的机理可能包括:(1)拮抗氨基糖甙所致肾脏氧耗下降,提高肾小管 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP}$ 酶活力;(2)减轻氨基糖甙溶酶体损伤和脂质过氧化损伤;(3)降低组织钙含量;(4)通过诱导肾小管细胞 c-myc 基因表达,以及对损伤状态下肾内肾组织表皮生长因子(EGF)调节的保护,促进肾小管的再生修复。

关键词 肾功能衰竭 氨基糖甙 冬虫夏草

Experimental Study on Effect of *Cordyceps Sinensis* in Ameliorating Aminoglycoside Induced Nephrotoxicity LI Lei-shi, ZHENG feng, LIU Zhi-hong, et al *Research Institute of Nephrology, Jinling Hospital, Nanjing (210002)*

In order to evaluate the effect of *Cordyceps sinensis* (CS) on aminoglycoside (AG) induced nephrotoxicity, gentamycin was imposed on the young and old rats with CS administration. The renal tubular injury was ameliorated as evidenced by less prominent increment of BUN, SCr, sodium excretion, urinary NAGase and less severity of histopathological changes as compared with control. In addition, the use of CS could promote an earlier recovery of renal oxygen consumption insulin clearance, and sodium absorption in isolated perfused kidney from CS treated intoxicated rat than that from control. Possible mechanisms of CS on drug-induced nephrotoxicity include: (1) Accelerating the regeneration of tubular cells; (2) Protecting the sodium pump activity of tubular cells; (3) Attenuating the tubular cell lysosome hyperfunction stimulated by phagocytosis of AG as well as decreasing the tubular cell lipoperoxidation in response to toxic injury; (4) Reducing the tissue Ca^{++} content.

Key words renal failure, aminoglycoside, *Cordyceps sinensis*

氨基糖甙(Aminoglycoside)肾毒性损害在临床上颇为常见。据西方统计,接受庆大霉素注射的病例中,约 11%~26%发生了可逆的肾功能损害,严重者表现为急性肾功能衰竭(ARF)^①。作者在过去的 5 年中,通过一系列实验证实,冬虫夏草(*Cordyceps sinensis*, 下简称虫草)在防治氨基糖甙所造成的肾毒性损伤中有确切的疗效。并从细胞分子水平、离体器官灌注、整体动物实验以及病理、生理、生化等方面

进行了深入的研究,初步阐明了虫草的作用机理。

虫草对大鼠庆大霉素急性损伤的作用

1 材料和方法

1.1 28 只 6 月龄雄性 SD 大鼠,体重 183~202 g,本研究动物均购自中国药科大学动物实验中心。动物随机分两组,均给予庆大霉素 $160 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 腹腔注射,连续 7 天,其中一组给予虫草水提液 $0.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 灌胃,另一组灌服等体积蒸馏水作对照。

1.2 28 只 18 月龄雄性 SD 大鼠,体重 496.6~540.0 g,随机分两组,均给予庆大霉素 100

mg·kg⁻¹·d⁻¹腹腔注射, 连续 7 天, 其中一组给予虫草治疗, 另一组作为对照。

2 结果 研究表明, 青年和老年大鼠, 注射庆大霉素均可使其血肌酐(SCr)水平和尿 N-乙酰葡萄糖

胺(NAG)增加, 以庆大霉素注射后 7 天最明显, 如表 1、2 所示。虫草治疗组的尿 NAG 酶和 SCr 水平低于对照组。此外, 青年组庆大霉素注射大鼠经虫草治疗后的菊粉清除率和尿钠均少于对照组。

表 1 虫草对青年 SD 大鼠庆大霉素肾损伤的影响 ($\bar{x} \pm S$)

组别	NAG($\mu\text{mol}/24\text{h}$)		SCr ($\mu\text{mol}/\text{L}$)	菊粉清除率 ($\text{ml} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$)	尿 Na ⁺ ($\mu\text{mol}/\text{min}$)
	3 天	7 天			
虫草	43.5±40.2*(14)	297.4±176.7*(10)	268.1±21.6**(14)	19.0±5.0*(6)	0.52±0.28*(6)
对照	32.8±22.4(10)	608.6±280.0(10)	380.1±88.4(14)	10.0±6.0(6)	1.02±0.16(6)

注: 与对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; () 内为鼠数

表 2 虫草对老年 SD 大鼠庆大霉素肾损伤的影响 ($\bar{x} \pm S$)

组别	注射 时间 (d)	NAG 酶 ($\mu\text{mol}/\text{L}$)	BUN (mmol/L)	SCr ($\mu\text{mol}/\text{L}$)
虫草 (14)	2	15.68±9.44	7.65±2.65	115.00±39.00
	4	29.14±26.72	6.98±0.65	112.07±19.55
	7	156.53±11.47	15.80±3.50	198.73±38.61
对照 (14)	2	17.45±6.40*	7.40±0.86	118.90±13.52
	4	89.57±52.04*	8.65±2.36	156.07±18.82
	7	424.12±328.17	16.07±7.55	215.27±38.30

注: 与虫草组同一时间比较, * $P < 0.01$; () 内为鼠数

虫草对氨基糖甙急性肾损伤后大鼠离体灌注肾功能的影响

1 材料和方法

1.1 庆大霉素肾损伤模型 8 月龄雌性 SD 大鼠

表 3 两组大鼠 IPK 功能比较 ($\bar{x} \pm S$)

组别	肾氧耗量 ($\mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$)	菊粉清除率 ($\mu\text{l}/\text{min}$)	Na ⁺ 重吸收分数 (%)	
			K ⁺ 重吸收分数 (%)	
虫草 庆大霉素模型 (6)	6.27±1.30	83.00±42.00	0.70±0.41	0.66±0.10
卡那霉素模型	3.91±0.64	153.00±65.00	0.63±0.17	0.34±0.17
对照 庆大霉素模型 (6)	5.21±1.18	57.00±10.00	0.64±0.57	0.58±0.12
卡那霉素模型	3.11±0.41*	80.00±53.00**	0.51±0.14	0.28±0.13

注: 与虫草组同模型比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; () 内为鼠数

虫草对体外培养肾小管细胞庆大霉素毒性的影响

1 材料和方法

1.1 肾小管细胞培养和鉴定 按常规方法⁽³⁾。

1.2 体外培养肾小管细胞庆大霉素损伤模型制作及分组 按常规方法⁽³⁾, 肾小管细胞以 10^6 /孔细胞浓度加入 6 孔培养板, 8 h 后加入 200 mg/L、400 mg/L 庆大霉素(终浓度), 其中一组加入虫草 5 mg/L(终浓度), 另一组加入等体积 1640 培养液作为对照组(根据高效液相等对虫草水提液成分, 特别是氨基酸分析结果选用)。

1.3 观察指标 庆大霉素加入含虫草液的培养液后 24 h 收获培养上清液和细胞, 测定 NAG 酶,

12 只, 腹腔注射庆大霉素 $120 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, 连续 3 天, 同上分组治疗。实验操作同卡那霉素肾损伤模型(见下)。

1.2 卡那霉素肾损伤模型 8 月龄雄性 SD 大鼠 12 只, 实验前禁水 24 h 后, 肌肉注射卡那霉素 $200 \text{ mg}/\text{kg}$, 同时腹腔注射低分子右旋糖酐 $3 \text{ g}/\text{kg}$, 24 h 后采血 1 ml 测定 BUN、SCr, 并据此将大鼠分两组, 一组给予虫草治疗($n=6$); 另一组作为对照($n=6$)。于模型建立后 6 天宰杀动物, 取肾脏作离体肾灌注(IPK)。IPK 技术由本研究所杨俊伟建立⁽²⁾。

观察指标包括各组大鼠肾氧耗量, 菊粉清除率, Na⁺、K⁺重吸收。

2 结果 虫草治疗组离体灌注肾氧耗量和菊粉清除率、重吸收均高于对照组, 见表 3。

乳酸脱氢酶(LDH), 碱性磷酸酶(AKP)以及 Na⁺-K⁺-ATP 酶含量, 同时测定细胞蛋白含量作校正。

2 结果 虫草组 LDH、NAG 酶释放均明显低于对照组, 但两组 AKP 含量无显著性差异。与正常组 Na⁺-K⁺-ATP 酶活性($0.193 \pm 0.019 \text{ nmol} \cdot \text{pi}/\text{mg} \cdot \text{pr}/\text{h}$)相比较, 两组 Na⁺-K⁺-ATP 酶活力均受抑, 但当庆大霉素浓度进一步加大到 1600 mg/L, 对照组细胞 Na⁺-K⁺-ATP 酶完全失活时($0.023 \pm 0.018 \text{ nmol} \cdot \text{pi}/\text{mg} \cdot \text{pr}/\text{h}$, 正常细胞受哇巴因抑制后, Na⁺-K⁺-ATP 酶活力为 $0.050 \pm 0.016 \text{ nmol} \cdot \text{pi}/\text{mg} \cdot \text{pr}/\text{h}$), 虫草组细胞仍保持低度活性($0.077 \pm 0.005 \text{ nmol} \cdot \text{pi}/\text{mg} \cdot \text{pr}/\text{h}$), 见表 4。

表 4 两组肾小管细胞损伤程度的比较 ($\bar{x} \pm S$)

组别	LDH 释放 (%)	NAG 酶释放 (mu/L)	AKP 含量 (u/g · pr)	Na ⁺ -K ⁺ -ATP 酶含量 (nmol · pi/mg · pr/h)
虫草 庆大霉素 200 mg	6.50 ± 11.26	13.17 ± 0.62	65.33 ± 2.62	0.18 ± 0.05
(3) 400 mg	6.80 ± 1.24	16.50 ± 2.27	62.33 ± 0.94	0.16 ± 0.01
对照 庆大霉素 200 mg	10.49 ± 6.63	13.83 ± 0.24	65.33 ± 3.86	0.18 ± 0.04
(3) 400 mg	10.98 ± 2.66*	37.33 ± 0.94**	64.67 ± 3.39	0.15 ± 0.03

注: 与虫草组同剂量比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; () 内为鼠数

虫草对庆大霉素血药浓度和肾皮质药物浓度的影响

1 材料和方法

1.1 血药浓度谷值 设立虫草组及对照组, 分别于大鼠腹腔注射 160 mg/kg 庆大霉素, 24 h 和 7 天后经内眦取血 1 ml, 应用免疫荧光偏振法测定血药浓度。

1.2 肾皮质药物浓度 方法同上, 于大鼠注射庆大霉素后 7 天, 取肾皮质匀浆, 测定匀浆液庆大霉素浓度, 同时以蛋白质含量作校正。

1.3 抗菌效力 取无菌试管 12 支, 分两组。A 组: 虫草+庆大霉素; B 组: 单用庆大霉素。将庆大霉素原液稀释后, 加入冬虫夏草或等量注射稀释液, 每一管接种等量的大肠菌液, 充分混匀置 37°C 培养, 连续观察 72 h, 培养液混浊为细菌生长(+). 同时另设 4 支管, 庆大霉素低浓度(2.08 mg/L)+冬虫夏草高浓度(20 mg/L, 各 2 支), 分别接种大肠杆菌和绿脓杆菌, 观察细菌生长情况。结果判定: 培养液混浊为细菌生长(+).

血清杀菌试验 血清获取: SD 雄性大鼠 6 只, 体重 150 ± 10 g, 分两组, 按 20 mg · kg⁻¹ · d⁻¹ 庆大霉素腹腔注射, 共 4 天, A 组(虫草组)同时给虫草液 1 g/只灌胃 1 天; B 组(对照组)每天予饮用水 2 ml 灌胃。在第 1 天用药后的第 4 h 和第 24 h, 第 4 天用药后的第 8 h 和第 24 h 取血, 分离血清。

2 结果

2.1 虫草对庆大霉素血药浓度谷值的影响 用庆大霉素 24 h 及 7 天后, 虫草组与对照组血药谷值无明显差异($P > 0.05$)

2.2 两组肾皮质匀浆庆大霉素积聚量亦无显著差异(虫草组 $n=8$, 7.53 ± 4.75 ng/mg · Pr, 对照组 $n=9$, 9.98 ± 2.18 mg/pr, 两组比较, $P > 0.05$)

2.3 体外杀菌实验结果 庆大霉素浓度由 33.30 mg/L 减至 4.16 mg/L, 均可有效地抑制大肠杆菌生长。当浓度减至 2.08 mg/L 时不能抑制大肠杆菌生长。在庆大霉素抗菌同时加入冬虫夏草, 庆大霉素浓度为 2.08 mg/L 时仍能有效地抑制大肠杆菌

生长。在庆大霉素低浓度(2.08 mg/L)+冬虫夏草高浓度(20 mg/L)的培养液中大肠杆菌及绿脓杆菌均不能生长。

2.4 血清杀菌试验结果 两组大鼠第 1 天用药后的第 4 h、第 24 h 血清对大肠杆菌生长均有良好的抑制作用。对绿脓杆菌, 第 4 h 的两组血清能抑制其生长, 而第 24 h 的血清仅虫草组能有效抑制其生长, 对照组血清不能抑制绿脓杆菌生长。两组大鼠第 4 天用药后的第 8 h、第 24 h 血清对大肠杆菌和绿脓杆菌均有抑制作用。

虫草对 Na⁺-K⁺-ATP 酶活力、溶酶体功能以及脂质过氧化损伤的影响

1 材料和方法 同前制作庆大霉素和卡那霉素毒性损伤模型, 并给予虫草治疗。于模型建立不同时间宰杀动物, 观察肾皮质 Na⁺-K⁺-ATP 酶(Musz-bek 法)⁽⁴⁾, 超氧化物歧化酶(SOD)、脂质过氧化产物——丙二醛(MDA)和组织钙含量改变, 同时应用速度梯度离心分离肾小管细胞溶酶体, 测定溶酶体酸性磷酸酶(AP), 以了解溶酶体功能变化。

2 结果

2.1 Na⁺-K⁺-ATP 酶 用庆大霉素后 3 天测定两组肾皮质 Na⁺-K⁺-ATP 酶活力, 虫草组 $n=6$, 0.254 ± 0.074 nmol · pi/mg · pr/min, 明显高于对照组($n=6$, 0.131 ± 0.070 nmol · pi/mg · pr/min), 两组比较有显著性差异($P < 0.01$)。

2.2 溶酶体 AP 卡那霉素肾毒性模型建立后第 2 天, 肾皮质溶酶体 AP 活力显著升高(虫草组 $n=8$, 126.11 ± 80.04 u/ml, 正常对照组 $n=6$, 42.78 ± 36.22 u/ml, 两组比较, $P < 0.01$), 该肾毒性模型建立第 5 天虫草组为 67.3 ± 45.7 u/ml, 低于正常对照组(91.8 ± 21.3 u/ml), $P < 0.05$ 。第 8 天时两组均恢复正常。

2.3 组织钙 用庆大霉素后 3 天测定三组肾皮质钙含量, 肾毒性模型组明显升高(虫草组 $n=6$, 59.38 ± 8.63 μg/g 正常对照组: 43.94 ± 5.61 μg/g, 两组比较, $P < 0.01$), 而虫草组基本正常($n=6$, 44.07 ± 6.34 μg/g)。

2.4 MDA 卡那霉素肾毒性 ARF 模型建立后第 2 天肾组织 MDA 含量显著增加(虫草组 $n=8$, 2.96 ± 1.85 nmol/mg · pr, 正常对照组 $n=6$, 1.68 ± 0.64 nmol/mg · pr, 两组比较, $P < 0.05$), ARF 第 5 天虫草组为 0.65 ± 0.44 nmol/mg · pr, 而对照组明显升高(3.21 ± 0.81 nmol/mg · pr, 与正常对照组比较, $P < 0.05$), 并持续至 ARF 第 8 天(3.85 ± 2.22 nmol/mg · pr)。

2.5 SOD 卡那霉素肾毒性模型建立后第 2 天肾皮质总 SOD 活力明显降低(虫草组 $n=8$, 68.2 ± 20.35 u/mg · pr, 正常对照组 $n=6$, 137.6 ± 44.9 u/mg · pr, 两组相比, $P < 0.01$), 虫草组也是降低的趋势, 但与正常对照组比较无显著性差异。该模型建立的第 5 天对照组和虫草组均恢复正常。

虫草对肾小管细胞增殖及 c-myc 原癌基因表达的影响

1 材料与方法

1.1 肾小管细胞增殖测定 用³H-TdR 掺入法。

1.2 肾小管细胞 c-myc 原癌基因表达测定 取肾小管细胞以 1×10^5 浓度加入 6 孔板, 在含 0.01% FCS 的 1640 培养液中培养 72 h 使细胞进入休止期, 换入实验培养液(0.1% FCS + 虫草 $5 \mu\text{g/ml}$, 0.1% FCS + 1640 培养液)。分别于实验培养液加入后 0.5 h、1 h、2 h、4 h 提取肾小管细胞总 RNA 进行原位杂交。原位杂交具体方法同前^[5], 所用探针为生物素标记的 c-myc 原癌基因, 8.5 Kb 片段。采用标本 RNA 倍比稀释的方法对 mRNA 表达进行半定量。

2 结果

2.1 肾小管细胞增殖 取大鼠灌服 $1\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 虫草 1 周后的血清, 加入细胞培养液中。与大鼠灌服等体积蒸馏水后的血清相比较, 含虫草的血清刺激后细胞增殖明显增强(虫草组 $n=12$, 47788 ± 16275.25 cpm/孔, 正常对照组 $n=12$, 30970 ± 4203 cpm/孔, 两者比较, $P < 0.05$)。直接将 $5 \mu\text{g/ml}$ 虫草水提液加入培养液后 8 h, 肾小管细胞增殖与正常对照组比较无明显差异(虫草组, $n=4$, 11279 ± 4322 cpm/孔, 正常对照组, $n=4$, 9378 ± 5237 cpm/孔, $P > 0.05$), 但再过 4 h, 虫草组细胞增殖明显增强(虫草组 $n=6$, 26631 ± 10322 cpm/孔, 正常对照组 $n=6$, 9560 ± 4761 cpm/孔, $P < 0.05$)。

2.2 c-myc 原癌基因表达 斑点杂交显示, 1640 对照组肾小管细胞 c-myc mRNA 只有轻度表达。在实验过程中, 加入虫草后 0.5 h, 肾小管细胞 c-myc mRNA 表达明显增强, 效价达 1:40, 虫草

诱导的高表达持续 4 h。

虫草对肾小管细胞表皮生长因子表达的影响

1 材料和方法 大鼠庆大霉素肾损伤模型制作及实验分组同前, 于大鼠接受庆大霉素注射后第 4 天、第 7 天和停药 4 天后, 收集尿和肾组织标本(虫草组和对照组每一时相 4 只动物), 同前采用斑点杂交的方法观察肾组织表皮生长因子(EGF)mRNA 表达改变; 肾组织 EGF 受体含量采用竞争结合法测定, 尿 EGF 排泄量采用放射免疫方法测定。

2 结果

2.1 肾组织 EGF mRNA 表达 注射庆大霉素后 4 天, 虫草组和对照组 EGF mRNA 均较正常组显著下降, 但虫草组下降幅度低于对照组(斑点杂交强度, 虫草组 0.536 ± 0.262 mm, 正常对照组 0.121 ± 0.090 mm, 两组比较, $P < 0.01$), 再注射 3 天, 两组进一步降低, 组间无明显差异。停药后 4 天两组开始回升。

2.2 肾组织 EGF 分布与含量 正常大鼠肾组织 EGF 主要分布于髓质, 用庆大霉素后, 肾组织 EGF 出现从髓质到皮质的“重分布”现象, 尤以用药 7 天后最为明显, 虫草组第 7 天肾皮质 EGF 阳性小管细胞数高于对照组, 见表 5。

表 5 两组大鼠 EGF 分布与含量比较 ($\bar{x} \pm S$)

组别	肾皮质 EGF 阳性细胞 (个/mm ²)	尿 EGF 排泄量 (ng/24 h)
虫草 注射庆大第 4 天 (4)	30.15 ± 18.24	53.60 ± 37.24
第 7 天	86.63 ± 24.24	48.43 ± 30.60
停药后第 4 天	57.38 ± 32.21	57.82 ± 35.91
对照 注射庆大第 4 天 (4)	24.63 ± 8.24	38.57 ± 18.83
第 7 天	$46.67 \pm 35.82^*$	28.70 ± 11.89
停药后第 4 天	26.67 ± 20.74	53.28 ± 42.07

注: 与虫草组同一时间比较, $*P < 0.05$; () 内为鼠数

2.3 肾皮质 EGF 受体含量 如表 5 所示, 庆大霉素肾损伤时, 皮质 EGF 受体含量明显增加, 尤以虫草组明显。

2.4 尿 EGF 含量 正常大鼠($n=9$)尿 EGF 排泄量为 55.14 ± 30.33 ng/24 h。庆大霉素肾毒性损伤大鼠尿 EGF 排泄减少, 其中对照组更为明显, 见表 5, 停药后 4 天, 两组均明显回升。

讨 论

氨基糖甙抗菌素进入体内后, 几乎不经任何代谢就直接以原形从肾脏排出, 由于肾小管细胞膜可能存

在其特异受体或结合位点,因而很容易在肾小管细胞内大量积聚,导致能量代谢、钙离子内流、溶酶体功能和自由基清除等发生紊乱,最终使细胞遭受损伤⁽⁵⁾。国外曾从这一机理出发,提出了许多防治措施,包括应用多聚天门冬氨酸、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 等与氨基糖甙竞争与肾小管细胞膜结合,应用钙离子拮抗剂以减少钙离子内流等,但效果并不理想。

我们从整体动物实验、离体器官灌注和体外细胞培养 3 个不同层次论证虫草的作用,发现虫草有以下作用:(1)可减轻庆大霉素所致青年大鼠急性肾毒性损伤,使尿 NAG 酶、血肌酐上升降低,菊粉清除、尿钠重吸收增加;(2)对老年易感大鼠同样具有良好的疗效;(3)具有拮抗氨基糖甙所致肾脏氧耗下降的效应;(4)可直接减轻庆大霉素对体外培养肾小管细胞的毒性损伤,使细胞 NAG 酶、LDH 释放减少,从而肯定了虫草的疗效。

虫草的疗效作用机理,可能包括以下几个方面:(1)拮抗氨基糖甙所致肾脏氧耗下降,使细胞在氨基糖甙肾毒性影响条件下同样保持生理转运功能,另外,虫草可能对线粒体代谢亦有直接影响,这可能是该组肾氧耗量高的重要原因⁽⁶⁾。(2)减轻溶酶体损伤氨基糖甙进入肾小管细胞后,大部分为溶酶体所摄取。虫草治疗可以稳定溶酶体,这可能也是虫草防治氨基糖甙肾毒性损伤的重要机制之一。(3)防止肾皮质组织钙含量升高动态观察氨基糖甙肾毒性损伤后肾组织钙含量变化发现,肾组织钙含量升高与肾小管细胞损伤、坏死程度呈正比。虫草治疗降低组织钙是否意味着减少了氨基糖甙所致细胞外钙内流,从而实现其细胞保护作用,目前尚难定论。(4)减轻脂质过氧化损伤,我们的实验证实虫草也具有降低卡那霉素肾毒性损伤后肾皮质 MDA 含量的作用,尽管脂质过氧化可能只是庆大霉素肾毒性的结果而不是原因,但虫草对脂质过氧化某一过程的阻断,至少可部分解释其防治卡那霉素肾毒性 ARF 的机理⁽⁷⁾。(5)促进肾小管细胞修复再生,急性肾功能衰竭发生、发展和恢复的过程,从病理生理角度上分析实际上就是肾小管细胞损伤、坏死和修复、再生的过程,因而急性肾功能衰竭的预后,很大程度上取决于肾小管细胞再生速度。虫草可刺激肾小管细胞增殖,这可能是其防治氨基糖甙肾毒性损伤重要机制之一。

进一步研究虫草促进肾小管细胞增殖的机理表

明,虫草的作用可能与其诱导 c-myc mRNA 高表达有关。c-myc mRNA 表达与细胞增殖调控关系密切,体内外应用重组 c-myc 基因反义寡核苷酸阻断 c-myc 基因表达可抑制细胞周期从 G1 向 S 期的转换,抑制细胞增殖;相反,应用脂多糖,血小板衍生生长因子等有丝分裂原诱导 c-myc 基因表达可促进细胞增殖,因而虫草有可能通过对 c-myc 基因的影响,促进肾小管细胞再生⁽⁸⁾。虫草的作用可能还与其对肾脏 EGF 表达的影响有关⁽⁹⁾。EGF 具有很强的刺激肾小管细胞增殖的活性。尽管在缺血或中毒损伤后,肾脏 EGF 表达下调,但肾小管细胞 EGF 受体活性增强,因而可以通过受体的作用使 EGF 的增殖效应得到发挥。值得注意的是,虫草治疗使庆大霉素肾损伤大鼠 EGF mRNA 表达和蛋白质分泌下降幅度减轻,这可能给肾小管细胞再生带来更好的条件。虫草对氨基糖甙肾毒性的防治作用不是孤立的,它应该是上述多重效应的一个综合结果。

参 考 文 献

1. Fanning WJ, Gump D, Jick H. Gentamicin-and cephalothin-associated rises in blood urea nitrogen. *Antimicrob Agents Chemother* 1976; 10: 80.
2. 杨俊伟, 黎磊石. 离体肾灌注技术. *肾脏病与透析肾移植杂志* 1992; 1: 64.
3. 郑 丰, 黎磊石. 大黄对体外肾小管细胞增殖的影响. *中华医学杂志* 1993; 6: 343.
4. Muszbek L, Szabo T, Fesus L. A highly sensitive method for the measurement of ATPase activity. *Analytic Biochem* 1977; 77: 286.
5. 刘志红, 胡伟新, 黎磊石, 等. 大黄素对系膜细胞 c-myc 原癌基因表达的影响. *肾脏病与透析肾移植杂志* 1992; 1: 27-30.
6. Weinberg JM. The cellular basis of nephrotoxicity. In *Schrier RW and Gottschalk CW edit. Disease of the kidney*, 2nd ed. New York: Little, Brown and Company, 1988: 1137.
7. Williams PD. Inhibition of renal $\text{Na}^{+}\text{-K}^{+}\text{-ATPase}$ by gentamicin. *J Pharmacol Exp Ther* 1984; 231: 248.
8. 郑 丰, 黎磊石, 刘志红, 等. 冬虫夏草促进肾小管细胞增殖与 c-myc 原癌基因表达的联系. *肾脏病与透析肾移植杂志* 1993; 2: 21.
9. Walk PD. Evidence suggesting a role for hydroxyl radical in gentamicin induced acute renal failure in rats. *J Clin Invest* 1988; 81: 334.

(收稿: 1995-09-25 修回: 1996-04-19)