

祛风通络方对阿霉素肾病大鼠足细胞 Desmin 及 CD2AP 蛋白的影响

王 竹¹ 刘俊田² 孙万森¹ 李睿萍¹ 王 晔¹

摘要 **目的** 探讨祛风通络方对阿霉素肾病大鼠足细胞结蛋白(Desmin)和 CD2 相关蛋白(CD2-associated protein,CD2AP)的作用。**方法** 一次性尾静脉注射阿霉素制备肾病模型。3 周后造模成功,随机分为空白对照组(A 组,12 只),模型对照组(B 组,8 只),祛风通络方小、中、大剂量组(C 组、D、E 每组 8 只)和阳性对照组(F 组,8 只)。从第 4 周起,A 组和 B 组给生理盐水,C~E 组分别给祛风通络方 1.0、2.1、4.2 g/mL,F 组给泼尼松 25 mg/kg。各组均灌胃给药,10 mL/kg,1 次/天,连续 28 天。期间进行 24 h 尿蛋白定量、血清生化指标检测,实验结束时电镜观察超微结构、Real-time PCR 法及 Western blot 法检测足细胞骨架蛋白 Desmin mRNA、裂孔隔膜蛋白 CD2AP mRNA 及其蛋白表达。**结果** (1)与 B 组比较,C、D、E、F 组 24 h 尿蛋白定量明显降低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。(2)与 B 组比较,C、D、E 组 ALB 均有所升高,差异有统计学意义($P < 0.05$);TC 含量明显降低,差异均有统计学意义($P < 0.05$);F 组 TG 反而有明显增加,差异有统计学意义($P < 0.05$)。(3)电镜观察发现,D、E、F 组与 B 组比较,足细胞形态均有不同程度改善,特别是足突结构、足突数目改善明显,其 D、E 组改善更明显。(4)阿霉素肾病大鼠中 Desmin mRNA、CD2AP mRNA 及蛋白表达均升高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。干预后,与 B 组比较,C、D、E、F 组 Desmin mRNA 和 CD2AP mRNA 表达明显降低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。(5)与 A 组比较,B 组 Desmin、CD2AP 蛋白表达显著升高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。与 B 组比较,C、D、E、F 组 CD2AP 蛋白表达明显降低,D、E、F 组 Desmin 蛋白表达明显降低,差异均有统计学意义($P < 0.05$);各剂量组间比较,C、D、E 组 Desmin 及 CD2AP 蛋白表达逐渐降低,差异有统计学意义($P < 0.05$);与 F 组比较,C、D 组 CD2AP 蛋白表达明显高,E 组 CD2AP 蛋白表达明显低,差异有统计学意义($P < 0.05$);C、D、E 组 Desmin 蛋白表达较高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** 祛风通络方对阿霉素肾病大鼠的治疗作用伴随着改变足细胞骨架蛋白 Desmin 及裂孔隔膜蛋白 CD2AP 基因表达的改变而实现。

关键词 祛风通络方;阿霉素肾病;结蛋白;CD2 相关蛋白

Effect of Qufeng Tongluo Recipe on Expression of Desmin and CD2AP Proteins in Adriamycin-induced Nephropathy Rats: an Experimental Research WANG Zhu¹, LIU Jun-tian², SUN Wan-sen¹, LI Rui-ping¹, and WANG Ye¹ 1 Department of Traditional Chinese Medicine, Second Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an (710004), China; 2 Department of Pharmacology, Xi'an Jiaotong University School of Medicine, Xi'an (710061), China

ABSTRACT **Objective** To investigate the effect of Qufeng Tongluo Recipe (QTR) on the expression of desmin and CD2-associated protein (CD2AP) in adriamycin-induced nephropathy rats. **Methods** The adriamycin-induced nephropathy rat model was induced by a disposable intravenous injection of adriamycin. The model was successfully established after 3 weeks. Rats were then randomly divided into the blank control group (Group A, $n = 12$), the model control group (Group B, $n = 8$), the small, medium, large dose QTR group (Group C, $n = 8$; Group D, $n = 8$; Group E, $n = 8$), and the positive control group (Group F, $n = 8$). From the fourth week normal saline was given to rats in Group A and Group B, QTR 1.0

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No. 81001579)

作者单位:1.西安交通大学第二附属医院中医科(西安 710004);2.西安交通大学医学院药理系(西安 710061)

通讯作者:王 竹,Tel:13002957572,E-mail:75467619@qq.com

DOI: 10.7661/CJIM.2014.02.0203

g/mL, 2.1 g/mL, and 4.2 g/mL was respectively administered to those in Group C, D, and E. Prednisone 25 mg/kg was given to rats in Group F. All medication was performed by gastrogavage at 10 mL/kg, once daily, for 28 successive days. 24-h urinary protein excretion and sera biochemical indices were determined during medication. At the end of the experiment, ultrastructure was observed, mRNA expression of desmin, mRNA and protein of CD2AP were detected by Real-time PCR and Western blot. Results (1) Compared with Group B, 24-h urinary protein excretion significantly decreased in Group C, D, E, and F ($P < 0.05$). (2) Compared with Group B, Alb in Group C, D, and E increased ($P < 0.05$) and TC significantly decreased ($P < 0.05$). TG significantly increased in Group F ($P < 0.05$). (3) Results of electron microscope showed, compared with Group B, the morphology of foot cells was improved to various degrees in Groups D, E, and F, especially the foot process structure and the number of foot processes were significantly improved, which was more obviously shown in Group D and Group E. (4) mRNA expression of desmin, mRNA and protein of CD2AP increased in adriamycin-induced nephropathy rats ($P < 0.05$). After intervention, when compared with Group B, mRNA expression of desmin and CD2AP were significantly lower in Group C, D, E, and F ($P < 0.05$). (5) Compared with Group A, expression of desmin and CD2AP significantly increased ($P < 0.05$). Compared with Group B, the expression of desmin protein were obviously lower in Group C, D, E, and F, and the protein expression of desmin obviously decreased in Group D, E, and F ($P < 0.05$). The protein expression of desmin and CD2AP gradually decreased in Group C, D, and E ($P < 0.05$). Compared with Group F, the expression of CD2AP protein obviously increased in Group C and D ($P < 0.05$); the expression of CD2AP protein obviously decreased in Group E ($P < 0.05$); the expression of desmin protein was higher in Group C, D, and E ($P < 0.05$). Conclusion QTR's therapeutic effect on adriamycin-induced nephropathy rats might be achieved through altered expression of desmin and CD2AP.

KEYWORDS Qufeng Tongluo Recipe; adriamycin-induced nephropathy; desmin; CD2-associated protein

足细胞是高度分化的细胞,它形成多重指突状的足突,相邻足突之间相互交联形成裂孔,覆盖一层裂孔隔膜,附于肾小球毛细血管基底膜的外侧。足细胞通过抵消肾小球基底膜的向外膨胀作用而稳定肾小球的结构。足细胞骨架结构是足细胞发挥正常功能的基础,在足细胞的运动、能量和信息传递等方面均起着重要作用^[1]。在肾小球滤过中,足细胞面对毛细血管张力、滤过液流经足突时产生的流体剪切力等外力作用时,能通过调节自身结构,适应外力作用,进而维持正常的肾小球滤过率^[2]。病理状态下,足细胞骨架结构无法进行适应性应变,将导致足细胞损害,甚至脱落,最终引起大量蛋白尿^[1]。因此研究足细胞骨架结构及裂孔隔膜蛋白对蛋白尿的发病机制有重要意义。祛风通络方是在“风伏肾络”^[3]的病机理论指导下组成的中药复方,用于肾病临床多年,效果可靠。本实验通过足细胞结蛋白(Desmin)及裂孔隔膜蛋白 CD2 相关蛋白(CD2-associated protein, CD2AP)的表达改变,探讨祛风通络方临床疗效的理论依据。

材料与方法

1 动物及药物 雄性健康 SPF 级 SD 大鼠 62

只,体重(150 ± 20)g,由西安交通大学医学院实验动物中心提供,动物质量合格证编号:SCXK(陕)2007-003。阿霉素由浙江海正药业有限公司生产(批号:120903);醋酸泼尼松为浙江仙居制药有限公司生产(批号:121264);祛风通络方购于西安易圣堂大药房,每剂含生药 105 g(黄芪、桑寄生、乌梢蛇、海风藤、防风、生地)。

2 实验试剂及仪器 RNAfast 200(上海,Fastgen); RevertAid™ First Strand cDNA Synthesis Kits(立陶宛,MBI); Real-time PCR Master Mix(日本,TOYOBO);寡核苷酸引物由北京三博远志生物技术有限公司设计及合成,Desmin 试剂盒(美国,Proteintech),CD2AP 试剂盒(美国,ABCAM),Beta-actin 试剂盒(USA,Santa Cruz)。实验仪器:9700 PCR 扩增仪(美国,Applied Biosystems 公司);7600-020 型全自动生化分析仪(日本,日立公司);H-600 透射式电子显微镜(日本,日立公司);Desmin 一抗(美国,proteintech)、CD2AP 一抗(美国,ABCAM); β -actin(美国,santa cruz);Desmin、CD2AP 二抗[Goat anti-Rabbit IgG(H+L),美国,PIERCE]; β -actin 二抗[Goat anti-mouse IgG(H+L),美国,Pierce]。

表 1 3 周后大鼠 24 h 尿蛋白定量及血生化检测定量分析 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	24 h 尿蛋白定量(mg/24 h)	ALB(g/L)	BUN(mmol/L)	Cr(μ mol/L)	TC(mmol/L)	TG(mmol/L)
A	12	37.99 $\pm$ 14.99	31.69 $\pm$ 1.21	8.31 $\pm$ 0.65	49.65 $\pm$ 3.22	1.54 $\pm$ 0.44	1.35 $\pm$ 1.15
G	40	109.82 $\pm$ 25.67 *	27.59 $\pm$ 2.77 *	10.78 $\pm$ 2.12	57.44 $\pm$ 5.93	11.41 $\pm$ 0.96 *	9.24 $\pm$ 5.40 *

注:与 A 组比较,* $P < 0.05$

3 动物模型制备、分组及给药方法 将大鼠按随机数字表法分为空白对照组(A 组,12 只)和肾病模型组(G 组,50 只),按照任艳云^[4]的方法一次性尾静脉注射阿霉素 6 mg/kg 制备肾病模型,空白对照组尾静脉注射等容量生理盐水。3 周后检测大鼠 24 h 尿蛋白定量及血生化指标,提示造模成功(表 1)。除死亡及不合格模型动物外,将造模成功的 40 只肾病模型大鼠按随机数字表法分为模型对照组(B 组,8 只)、祛风通络方小、中、大剂量组(C、D、E 每组 8 只)和阳性对照组(F 组,8 只)。从第 4 周起,A 组和 B 组给等量生理盐水,C~E 组分别给予祛风通络方 2 mL,含生药量分别为 1.0、2.1、4.2 g/mL(分别相当于临床用药的 6、12、24 倍),F 组给泼尼松液 2 mL(25 mg/kg,相当于成人剂量的 4 倍)。灌胃给药,1 次/日,连续 28 天。实验结束时,处死动物。

4 观察指标及方法

4.1 尿蛋白、血清生化指标的测定 于实验第 3、7 周末,全自动生化分析仪(方法)测定血清白蛋白(ALB)、BUN、Cr、TC 和 TG;邻苯三酚红/钼酸盐法测定 24 h 尿蛋白定量。

4.2 电镜观察足细胞形态 实验结束时,各组大鼠随机选取 2 只,取约 1 mm $\times$ 1 mm $\times$ 1 mm 新鲜肾皮质经戊二醛液 4 $^{\circ}$ C 固定、四氧化锇液 4 $^{\circ}$ C 后固定、乙醇梯度脱水、环氧树脂包埋、切片厚度 50 ~ 70 mm、醋酸铀和柠檬酸铅双重染色,H-600 透射式电子显微镜观察、拍片。

4.3 Real-time PCR 测定 Desmin、CD2AP mRNA 的表达 实验结束时,各组 6 只大鼠进行 Real-time PCR 检测。提取新鲜大鼠肾皮质组织,冰上立即称取 50 ~ 100 mg,提取总 RNA。在第 1 链 cDNA 中加入寡核苷酸引物。应用 Real-time PCR Master Mix 的方法进行 Real-time PCR,以 β -actin 为内参对照。Desmin 上游引物为:5'-TCCTACAC-CTGCGAGATTG-3',下游引物为:5'-GCGATGTT-GTCCTGATAGC-3'。CD2AP 上游引物为:5'-AGG-TAGAAGAAGGCTGGTGGAGTG-3',下游引物为:5'-CGGAGATGGCATAGGTGAGGTAGG-3'。PCR 反应体系为总体积为 25 μ L,蒸馏水 9.5 μ L, cDNA 2 μ L,上、下游引物各 0.5 μ L,PCR Mix 12.5 μ L。PCR 反应条件:95 $^{\circ}$ C 热启动 10 min,95 $^{\circ}$ C 变性 15 s,

60 $^{\circ}$ C 退火 30 s,72 $^{\circ}$ C 延伸 30 s,72 $^{\circ}$ C 收集荧光,共 40 个循环。采用 2^{- $\Delta\Delta$ Ct}(comparative ct method od quantitation, $\Delta\Delta$ Ct)法进行相关数据的统计处理。

4.4 Western blot 法检测 Desmin、CD2AP 蛋白表达 用 RIPA 蛋白提取液(含蛋白酶抑制剂 PMSF)提取肾皮质组织总蛋白,采用 BCA 法测定蛋白浓度。每孔加 100 μ g 总蛋白进行 SDS-PAGE 电泳,恒流 150 mA(ILK:90 min; β -actin:60 min)湿转至 PVDF 膜上,10% 脱脂奶粉室温封闭 120 min,ILK(1:500)和 β -actin(1:1 000)一抗 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜,TBST 漂洗,然后用二抗 37 $^{\circ}$ C 室温反应 60 min,TBST 漂洗,在暗室中梯度曝光,使用 Image J 软件分析。以 β -actin 作为内参。

5 统计学方法 采用 SPSS 13.0 统计软件进行统计学处理。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用 F 检验,两两比较采用 LSD 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 各组 7 周末 24 h 尿蛋白定量比较(表 2) 与 B 组比较,C、D、E 组及 F 组 24 h 尿蛋白定量明显降低,差异有统计学意义($P < 0.05$);但各剂量组间差异无统计学意义($P > 0.05$);各剂量组与 F 组比较,差异亦无统计学意义($P > 0.05$)。

表 2 7 周末各实验组 24 h 尿蛋白定量比较 (mg/24 h, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	24 h 尿蛋白定量
A	12	42.32 $\pm$ 10.15
B	8	162.77 $\pm$ 27.51 *
C	8	107.27 $\pm$ 28.04 Δ
D	8	99.98 $\pm$ 19.31 Δ
E	8	98.44 $\pm$ 15.76 Δ
F	8	97.55 $\pm$ 12.82 Δ

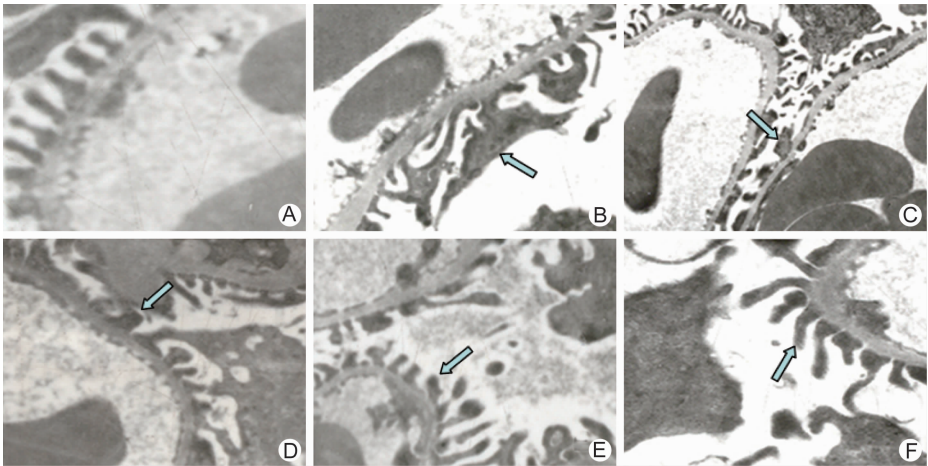
注:与 A 组比较,* $P < 0.05$;与 B 组比较, $\Delta P < 0.05$

2 各组 7 周末血清 ALB、BUN、Cr、TC、TG 结果比较(表 3) 7 周末,与 A 组比较,B 组 ALB 降低,Cr、TC 及 TG 升高,差异有统计学意义($P < 0.05$);与 B 组比较,C、D、E 组 ALB 均有所升高,TC 含量明显降低,差异均有统计学意义($P < 0.05$);

表 3 各组 7 周末的血生化检测结果比较 ($\bar{x} \pm s$)

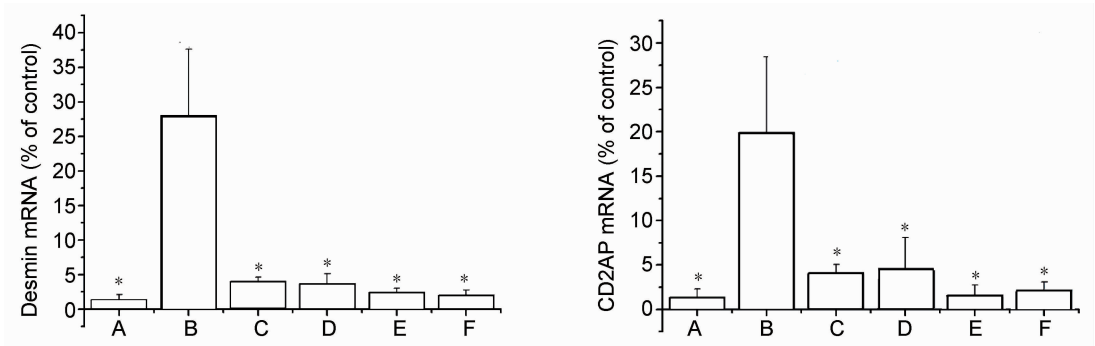
组别	n	ALB(g/L)	BUN(mmol/L)	Cr(μ mol/L)	TC(mmol/L)	TG(mmol/L)
A	12	30.24 $\pm$ 1.38	8.31 $\pm$ 0.65	49.65 $\pm$ 7.91	1.54 $\pm$ 0.44	1.35 $\pm$ 1.15
B	8	20.85 $\pm$ 2.08 *	10.52 $\pm$ 3.62	57.10 $\pm$ 8.14 *	11.86 $\pm$ 1.62 *	10.76 $\pm$ 2.05 *
C	8	26.11 $\pm$ 2.87 Δ	9.93 $\pm$ 1.08	58.56 $\pm$ 9.00	8.13 $\pm$ 3.20 Δ	8.99 $\pm$ 3.15
D	8	27.96 $\pm$ 2.90 Δ	9.14 $\pm$ 2.39	51.10 $\pm$ 4.86	7.88 $\pm$ 4.35 Δ	8.28 $\pm$ 3.19
E	8	28.36 $\pm$ 3.30 Δ	9.09 $\pm$ 3.18	48.56 $\pm$ 4.13 Δ	6.58 $\pm$ 2.70 Δ	8.34 $\pm$ 3.36
F	8	30.55 $\pm$ 6.30 Δ	9.67 $\pm$ 5.99	57.08 $\pm$ 8.58	8.48 $\pm$ 1.41	18.84 $\pm$ 7.13 Δ

注:与 A 组比较, * $P < 0.05$;与 B 组比较, $\Delta P < 0.05$



注:A 为空白对照组;B 为模型对照组;C 为祛风通络方小剂量组;D 为祛风通络方中剂量组;E 为祛风通络方大剂量组;F 为阳性对照组;下同;箭头所指为各组足细胞及足突典型形态变化

图 1 各组大鼠干预结束后肾小球的超微结构 ($\times 10\ 000$)



注:与 B 组比较, * $P < 0.05$

图 2 各组 Desmin mRNA、CD2AP mRNA 表达结果比较

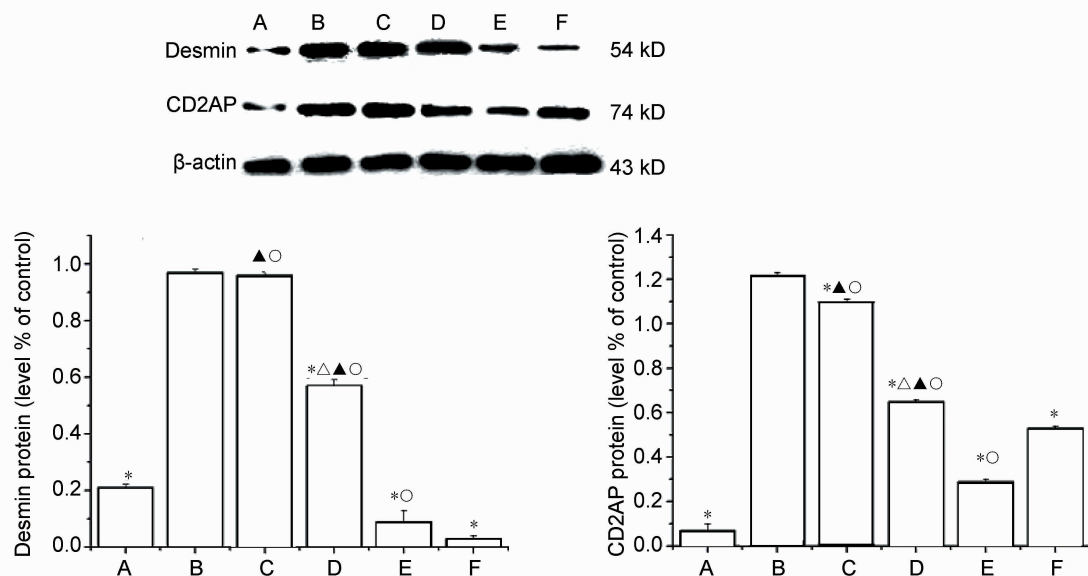
F 组 ALB 及 TG 明显增加,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

3 各组足细胞及足突形态比较(图 1) 实验结束时,电镜下 A 组大鼠足细胞结构完整,突排列整齐清晰,基底膜结构完整。B 组可见足突增宽、部分回缩、融合甚至消失,足细胞有脱落、细胞数明显减少。与 B 组比较,C 组足细胞改变不明显,D、E、F 组,足细胞形态均有不同程度改善,特别是足突结构、足突数目改善明显,其 D、E 组改善更明显。

4 各组 Desmin mRNA 和 CD2AP mRNA 表达结果比较(图 2) 与 A 组比较,B 组 Desmin mRNA、

CD2AP mRNA 表达显著升高,差异有统计学意义($P < 0.05$);干预后,各组表达皆可降低。与 B 组比较,C、D、E、F 组 Desmin mRNA 和 CD2AP mRNA 的表达明显降低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

5 各组第 7 周末 Desmin、CD2AP 蛋白表达量比较(图 3) 与 A 组比较,B 组 Desmin、CD2AP 蛋白表达显著升高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。与 B 组比较,C、D、E、F 组 CD2AP 蛋白表达明显降低,差异均有统计学意义($P < 0.05$);各剂量组间比较,C、D、E 组 CD2AP 蛋白表达逐渐降低,差异有统计学意义($P < 0.05$);与 F 组比较,C、D 组 CD2AP 蛋白表



注:与 B 组比较, * $P < 0.05$; 与 C 组比较, $\Delta P < 0.05$; 与 E 组比较, $\Delta P < 0.05$; 与 F 组比较, $\circ P < 0.05$

图 3 各组第 7 周末 Desmin、CD2AP 蛋白表达量比较

达明显升高, E 组 CD2AP 蛋白表达明显降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。与 B 组比较, Desmin 蛋白表达 D、E、F 组明显降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 各剂量组间比较, C、D、E 组 Desmin 蛋白表达逐渐降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 与 F 组比较, C、D、E 组 Desmin 蛋白表达较高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

讨 论

足细胞骨架与裂孔隔膜蛋白密切相关, 且都对维持足细胞结构稳定, 防止蛋白尿的发生有重要作用。足细胞骨架结构是足细胞发挥正常功能的基础, 该结构不仅赋予细胞一定的形状, 而且在足细胞的运动、能量和信息传递等方面均起着重要作用。当足细胞骨架结构无法进行适应性应变时, 将导致足细胞损害, 甚至脱落, 最终引起大量蛋白尿。足细胞的足突分为 3 个膜性结构域: 顶膜区, 裂孔隔膜 (slit diaphragm, SD) 和与肾小球基底膜 (glomerular basement membrane, GBM) 相连的基膜区, 其结构和功能均与足突肌动蛋白细胞骨架相关^[5]。足突的任何一个结构域发生功能障碍, 都将引起肌动蛋白从并联的收缩蛋白束变成致密的网状结构, 并伴有足突融合、足突结构单一化和正常指状突消失和蛋白尿^[6]。足突中 SD 是足细胞间独特的黏附复合体, 近年发现在 SD 上有很多蛋白, 如 Nephryn、CD2AP 等, 它们是滤过屏障的结构基础, 参与维持足细胞生理功能的信号传递^[7]、对于细胞骨架的重塑 (remodeling) 和足细胞形态的完整也

起到了重要作用^[8]。其中 CD2AP 基因是与人类原发性、散发性局灶节段性肾小球硬化 (focal sectional glomerular sclerosis, FSGS) 有关的基因之一。研究表明, CD2AP 作为重要的足细胞骨架相关蛋白之一, 参与细胞骨架的构建和肾小球足细胞的信号转导, 它具有衔接子的功能, 将肾小球足突细胞 SD 与足突内细胞骨架蛋白连接起来, 起到稳定 SD 的作用^[9-11]。同时可直接与肌动蛋白细胞骨架相互作用, 参与调节肌动蛋白细胞骨架的功能^[12]。Desmin 属于细胞骨架的中间丝蛋白。正常情况下, 足细胞主要表达中间丝蛋白波形蛋白, 而 Desmin 主要在系膜细胞表达。当足细胞因各种原因发生损伤时, 可大量表达 Desmin 而发生表型转化。本实验中我们观察有密切关系的细胞骨架 Desmin 及裂孔隔膜蛋白 CD2AP 在阿霉素肾病大鼠中的表达, 并给予祛风通络方进行干预。

在实验结束时, 各干预组均可有效减少尿蛋白, 与模型组比较差异有统计学意义。各干预组均可升高血浆白蛋白, 降低总胆固醇的含量, 这对于大量蛋白尿的阿霉素肾病大鼠来说, 起到了治疗作用。电镜观察发现, 祛风通络方中、大剂量组能够较好地改善阿霉素肾病大鼠足细胞及足突的形态结构。在对目的蛋白检测时发现, 阿霉素肾病大鼠中 Desmin mRNA、CD2AP mRNA 及蛋白表达均升高。这与已有的研究结果相符^[13-15]。经祛风通络方干预后, Desmin mRNA、CD2AP mRNA 及相关蛋白表达均出现了下调。以上实验结果说明祛风通络方对阿霉素诱导的肾病大鼠有治疗作用, 这种治疗作用伴随着细胞骨架蛋白及裂孔隔

膜蛋白基因表达的改变,这可能是其治疗机制之一。

祛风通络方(乌梢蛇、海风藤、防风、黄芪、桑寄生、生地)在临床上用于治疗肾性蛋白尿效果较好。笔者认为肾病是一种络病,最初,肾精不足、肾络空虚,风感于人,久则伏于肾络,终成肾络疾患,此即肾病“风伏肾络”之病机,最终不论出现何种病理产物,如瘀血、湿热,皆以风邪为载体,再次成为致病因素,加重肾脏损害。故治疗原则都应以祛风通络为主,祛肾络之风邪兼通肾络之瘀滞、补肾络之虚损。方中君药为乌梢蛇,海风藤、防风为臣药,取虫类之走窜通络、藤类之缠绕蔓延,三药合力直达病所,搜肾络之伏风、通肾络之瘀滞。佐以黄芪、桑寄生,黄芪补气通络,利水消肿,桑寄生补肝肾、祛风湿,符合肾病以虚为本的病机特点。全方使以生地养阴生津,既防诸药之燥,又引诸药直入肾经。诸药相合刚柔相济、标本兼顾,体现了祛风通络、益气补肾的特点。药理研究认为,黄芪有明显的利尿作用,提高血浆白蛋白水平,降低尿蛋白量,并可调节机体免疫功能,增强巨噬细胞的吞噬功能,提高非特异性免疫功能,是一类无毒性的免疫促进剂^[16]。海风藤具有抗内毒素、抑制血小板活化因子、抗炎、抗氧化、对局部缺血再灌注组织具有保护等作用^[17]。防风具有解热、镇痛、抗炎、抗菌及很好的抗过敏等作用^[18]。桑寄生具有降压、利尿、扩张血管等作用;与激素并用,可减少激素用量,防止副作用,并有利于激素的撤减,防止“反跳”现象^[19]。生地具有调节免疫功能的作用,既能提高低下的细胞免疫,又能抑制亢进的体液免疫^[20],并且有肾缺血保护作用^[21]。乌梢蛇血清能升高小鼠白细胞数与 NK 细胞活性,提示乌梢蛇血清对机体免疫功能具有正向调节作用^[22]。

综上所述,祛风通络方明确了细胞骨架蛋白 Desmin 及裂孔隔膜蛋白 CD2AP 在阿霉素肾病大鼠中的表达,这可能是其治疗作用的机制。但细胞骨架蛋白及裂孔隔膜蛋白的改变中存在哪些关联因素,比如谁是改变的启动因子或者是否存在统一的信号传导路径,都需要继续研究。

参 考 文 献

- [1] 邹琦,郑祥雄. 肾小球足细胞功能认识的进展[J]. 医学综述, 2011, 17(19): 2910-2913.
- [2] 康郁林,朱光华,何威逊. 肾小球足细胞骨架结构的适应性应变[J]. 实用儿科临床杂志, 2009, 24(5): 383-385.
- [3] 孙万森,赵艳龙,任艳芸,等. 祛风通络方对阿霉素肾病大鼠 Podocin mRNA 表达及足细胞足突形态的影响[J]. 南方医科大学学报, 2011, 31(2): 244-247.
- [4] 任艳芸,孙万森,赵艳龙,等. 祛风通络方对阿霉素肾病大鼠肾小球基底膜阴离子位点的影响[J]. 西安交通大学学报(医学版), 2010, 31(1): 110-114.
- [5] Faul C, Asanuma K, Yanagida-Asanuma E, et al. Actin up: regulation of podocyte structure and function by components of the actin cytoskeleton [J]. Trends Cell Biol, 2007, 17(8): 428-437.
- [6] Kerjaschki D. Caught flat-footed: podocyte damage and the molecular bases of focal glomerulosclerosis [J]. J Clin Invest, 2001, 108(11): 1583-1590.
- [7] Benzing T. Signaling at the slit diaphragm [J]. JASN, 2004, 15(6): 1382-1391.
- [8] 范青锋,邢燕,丁洁. 足细胞裂孔隔膜与信号传导[J]. 中华肾脏病杂志, 2006, 22(5): 312-314.
- [9] Schiffer M, Mundel P, Shaw AS, et al. A novel role for the adaptor molecule CD2-associated protein in transforming growth factor- β -induced apoptosis [J]. J Biol Chem, 2004, 279(35): 37004-37012.
- [10] Tossidou I, Kardinal C, Peters I, et al. CD2AP/CIN85 balance determines receptor tyrosine kinase signaling response in podocytes [J]. J Biol Chem, 2007, 282(10): 7457-7464.
- [11] Salant DJ, Topham PS. Role of nephrin in proteinuric renal diseases [J]. Springer Semin Immunopathol, 2003, 24(4): 423-439.
- [12] 姜华军,张春,朱忠华. CD2AP 在足细胞中的生理功能研究[J]. 医学分子生物学杂志, 2009, 5(4): 348-351.
- [13] 张碧丽,李志军,宋兰云,等. Desmin 蛋白与局灶节段性肾小球硬化的相关性研究[J]. 临床儿科杂志, 2009, 27(1): 76-78.
- [14] 彭亚琴,莫樱,蒋小云,等. 阿霉素肾病大鼠肾组织中 nephrin 和 CD2AP 的表达及意义[J]. 中山大学学报(医学科学版), 2009, 30(1): 15-20.
- [15] 邢燕,丁洁,范青锋,等. 足细胞分子高表达致阿霉素肾病大鼠发生蛋白尿[J]. 中华肾脏病杂志, 2006, 22(1): 27-32.
- [16] 周钦,李荣亨. 黄芪对肾小球疾病物质代谢紊乱的调节作用[J]. 中草药, 1999, 30(5): 386-388.
- [17] 宋敬丽,袁林,刘艳菊,等. 海风藤化学成分和药理作用的研究进展[J]. 湖北中医学院学报, 2007, 9(3): 70-71.
- [18] 孙晓红,邵世和,李洪涛,等. 防风的临床应用及研究[J]. 北华大学学报(自然科学版), 2004, 5(2): 138-141.
- [19] 胡运久. 中西医结合治疗肾病综合征 12 例[J]. 国医论坛, 1997, 12(1): 39.
- [20] 李更生,于震,王慧森. 地黄化学成分与药理研究进展[J]. 国外医学(中医中药分册), 2004, 26(2): 74-78.
- [21] 汤依群,戴德哉,黄宝. 地黄对缺氧大鼠心脑血管肾线粒体呼吸功能的保护作用[J]. 中草药, 2002, 33(10): 915-917.
- [22] 方晓阳,吴丹彤,马树田. 乌梢蛇血清对小鼠白细胞数和 NK 细胞活性的影响[J]. 安徽中医学院学报, 2002, 21(2): 40-41.

(收稿:2013-01-25 修回:2013-11-25)