

· 基础研究 ·

健脾祛湿和络方含药血清对足细胞标志蛋白 Nephritin、Podocalyxin 及 mTOR 表达的影响

王新慧^{1,2} 赵 雯³ 李 澎⁴ 梁 莹² 徐建龙² 余仁欢²

摘要 **目的** 探讨健脾祛湿和络方(Jianpi Qushi Heluo Formula, JQHF)含药血清对嘌呤霉素氨基核苷(PAN)诱导的小鼠足细胞损伤模型标志蛋白 Nephritin、Podocalyxin 及 mTOR 相关自噬因子表达的影响。**方法** 以体外培养小鼠足细胞为研究对象,除空白组外均以 PAN(100 μg/mL)体外诱导足细胞,根据含药血清细胞培养基的不同分为空白组(10%空白血清),模型组(10%空白血清 + PAN),JQHF 低剂量组(10%低剂量 JQHF 含药血清 + PAN),JQHF 中剂量组(10%中剂量 JQHF 含药血清 + PAN),JQHF 高剂量组(10%高剂量 JQHF 含药血清 + PAN),替米沙坦(TMST)组(10%TMST 含药血清 + PAN),醋酸泼尼松(PRE)组(10%PRE 含药血清 + PAN),雷帕霉素(RAP)组(100 μg/L RAP + 10%空白组血清 + PAN)。CCK-8 法检测足细胞损伤模型在各组血清作用后的活性变化;Western blot 法检测各组足细胞标志蛋白 Nephritin、Podocalyxin 及细胞内 mTOR 相关自噬蛋白表达水平。**结果** (1)与空白组比较,模型组细胞活力显著下降($P < 0.01$),与模型组比较,JQHF 高剂量、TMST、PRE 及 RAP 组足细胞活力上升($P < 0.05$);(2)与模型组比较,除 JQHF 低剂量组 Podocalyxin 表达外,其余各药物干预组 Nephritin、Podocalyxin 表达均增多($P < 0.05$, $P < 0.01$);与 JQHF 低剂量组比较,JQHF 高剂量、TMST、PRE 及 RAP 组 Nephritin 表达增多($P < 0.05$);与 JQHF 中剂量组比较,JQHF 高剂量、TMST、PRE 及 RAP 组 Nephritin 表达增多($P < 0.05$),TMST、PRE、RAP 组 Podocalyxin 表达亦增多($P < 0.05$);与 JQHF 高剂量组比较,TMST、PRE、RAP 组 Podocalyxin 表达增多($P < 0.05$)。 (3)与模型组比较,各药物干预组 LC3-II 表达均增多($P < 0.05$, $P < 0.01$),JQHF 高剂量组、TMST 组、PRE 组、RAP 组 P-mTOR、P-4EBP1 表达均减少($P < 0.05$),JQHF 高剂量组、TMST 组、RAP 组 P-P70S6K 表达减少($P < 0.01$)。**结论** JQHF 可以改善细胞内自噬水平,修复 PAN 诱导损伤足细胞,与上调细胞内 Nephritin、Podocalyxin 及 LC3-II 的表达,减少 mTOR 及相关因子合成有关。

关键词 足细胞;健脾祛湿和络方;Nephritin 蛋白;Podocalyxin 蛋白;mTOR 自噬相关因子

Effect of Jianpi Qushi Heluo Formula Containing Serum on the Expression of Podocyte Marker Protein Nephritin, Podocalyxin and mTOR WANG Xin-hui^{1,2}, ZHAO Wen³, LI Peng⁴, LIANG Ying², XU Jian-long², and YU Ren-huan² 1 Graduate School, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing (100029); 2 Department of Nephropathy, Xiyuan Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing (100091); 3 Graduate School, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing (100700); 4 Graduate Institute of Basic Medical Science, Xiyuan Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing (100091)

ABSTRACT **Objective** To explore the effect of Jianpi Qushi Heluo Formula(JQHF) drug-containing serum on the levels of Nephritin, Podocalyxin and mTOR-related autophagy factor in puromycin aminonucleoside(PAN)-induced mouse podocyte injury model. **Methods** In accordance with the difference of drug-containing serum cell culture medium, the mouse podocyte was segregated into 8 different groups, inclu-

基金项目:中国中医科学院自主选题研究项目(No. 5050109)

作者单位:1. 北京中医药大学研究生院(北京 100029); 2. 中国中医科学院西苑医院肾病科(北京 100091); 3. 中国中医科学院研究生院(北京 100700); 4. 中国中医科学院西苑医院基础医学研究所(北京 100091)

通讯作者:余仁欢, Tel: 010-62835369, E-mail: tezhonggeyu@vip.sina.com

DOI: 10. 7661/j.cjtm. 20180814. 223

ding normal group (10% normal serum), model group (10% normal serum + PAN), low dose of JQHF group (10% low-dose JQHF-containing serum + PAN), medium dose of JQHF group (10% medium-dose JQHF-containing serum + PAN), high dose of JQHF group (10% high-dose JQHF-containing serum + PAN), telmisartan group (TMST, 10% TMST-containing serum + PAN), prednisone acetate group (PRE, 10% PRE-containing serum + PAN), and rapamycin group (RAP, 100 μ g/L RAP + 10% normal serum + PAN) other than the normal group, all were in the PAN (100 /mL) induction. The activity change of the podocyte injury model subsequent to the serum effect of each group were detected by CCK-8. In addition, the expression levels of Nephrin, Podocalyxin and mTOR-related autophagic protein in each group were detected by the Western blot. Results (1) Compared with the normal group, podocyte activity was significantly decreased in the model group ($P < 0.01$). Compared with the model group, podocyte activity increased in the high dose of JQHF, TMST, PRE, and RAP groups ($P < 0.05$). (2) Compared with the model group, other than the Podocalyxin expression in the low dose of JQHF group, Nephrin and Podocalyxin expression manifested increased in all the other drug intervention groups ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Compared with the low dose of JQHF group, the expression of Nephrin in high dose of JQHF, TMST, PRE, and RAP groups was increased ($P < 0.05$). Compared with the medium dose of JQHF group, the expression of Nephrin was increased in the high dose of JQHF, TMST, PRE, and RAP groups ($P < 0.05$), and the expression of Podocalyxin also increased in TMST, PRE, and RAP groups ($P < 0.05$). Compared with the high dose of JQHF group, Podocalyxin expression was increased in TMST, PRE, and RAP groups ($P < 0.05$). (3) Compared with the model group, the expression of LC3-II was increased in each drug intervention group ($P < 0.05$, $P < 0.01$), whereas, the expressions of both P-mTOR and P-4EBP1 were decreased in the high dose of JQHF, TMST, PRE, and RAP group ($P < 0.05$). Moreover, the expression of P-P70S6K was significantly decreased in the high dose of JQHF, TMST, and RAP groups ($P < 0.01$). Conclusion JQHF could improve the level of autophagy in cells and repair the injured podocyte induced by PAN; furthermore, it is also associated with the up-regulating expression of Nephrin, Podocalyxin, and LC3-II, decreasing the synthesis of mTOR-related factors in the cell.

KEYWORDS Podocyte; Jianpi Qushi Heluo Formula; Nephrin; Podocalyxin; mTOR

足细胞即肾小球上皮细胞,附着于肾小球基底膜外侧,是阻止蛋白尿的最后屏障,易受到致病刺激影响,导致蛋白尿进而引起肾小球硬化^[1],是各种原发或继发肾小球疾病发病及疾病转归或进展的关键细胞之一。足细胞损伤主要表现为细胞胞体肥大或变薄、足突消失或融合、细胞内溶酶体等细胞器数量的异常等。现代研究表明,足细胞的病理改变,与维持细胞结构及功能的重要标志性蛋白 Nephrin、Podocalyxin^[2]等的异常表达以及细胞内 mTOR 相关自噬通路^[3]的失衡相关。

近年相关实验研究表明,多种中草药或中药复方对减轻足细胞损伤,缓解肾脏疾病具有显著作用^[4-6]。健脾祛湿和络方(Jianpi Qushi Heluo Formula, JQHF)是余仁欢主任医师的经验方,以防己黄芪汤为基础化裁而来,组方针对肾脏病患者易脾肾不足,气虚血瘀,湿浊内蕴的特点,有补虚泻实的作用,临床运用多年,在治疗原发性肾小球疾病蛋白尿的临床应用疗效确切^[7]。JQHF 对脂多糖(lipopolysaccharides, LPS)诱导的小鼠系膜细胞纤维黏连蛋白(FN)、层黏

连蛋白(LN)及转化生长因子- β_1 (TGF- β_1)表达影响的实验表明,该方可抑制增殖肾小球系膜细胞(glomerular mesangial cells, GMCs)对系膜外基质(extra cellular matrixc, ECM)的分泌,进而缓解肾脏病进展^[8]。本实验拟观察 JQHF 对 PAN 诱导的小鼠足细胞损伤模型细胞活性、细胞标志性蛋白以及 mTOR 相关自噬蛋白表达的影响,研究 JQHF 对损伤足细胞的作用机制,进一步探索其临床疗效机制。

材料与方法

1 动物 SD 大鼠 60 只,SPF 级,雄性,1.5 ~ 2 个月龄;体重 190 ~ 210 g;购于北京华阜康生物科技股份有限公司[许可证号:SCXK(京)2014-0004],实验方案符合中国中医科学院西苑医院伦理要求。

2 实验细胞 小鼠肾小球足细胞,购于国家实验细胞资源共享平台,编号:3111C0001CCC000230。

3 药物 健脾祛湿和络方(生黄芪 30 g 汉防己 20 g 炒白术 15 g 茯苓 20 g 生薏苡仁 20 g 紫苏叶 15 g 荷叶 15 g 生甘草 10 g 连翘 10 g),

由中国中医科学院西苑医院药剂科提供。醋酸泼尼松片(Prednisone acetate, PRE), 5 mg/片, 浙江仙琚制药股份有限公司, 批号: 150806; 替米沙坦片(Telmisartan, TMST) 80 mg/片, 德国勃林格殷格翰公司, 批号: 110739。

4 主要试剂及仪器 主要试剂: 双抗(Sigma 公司, 批号 LS515-002), 嘌呤霉素氨基核苷(puromycin aminonucleoside, PAN, Sigma 公司, 批号 85-85-8); 优级胎牛血清(Gibco 公司, 批号 AVC66310), DMEM 培养液(Dulbecco's modified eagle medium, DMEM, Gibco 公司, 批号: OD16943210), 0.25% 胰酶(Gibco 公司, 批号: SH30042); 汉防己甲素(Tetrandrine, TET, 上海酶联生物科技有限公司, 批号: B348058); 磷酸盐缓冲液(Phosphate buffered saline, PBS, 北京亿鸣复兴科技有限公司, 批号: 57186-25-1), CCK-8(日本同仁化学, GH802); Anti-Nephrin 抗体、Anti-podocalyxin 抗体、Anti-Synaptopodin 抗体、Anti-LC3 抗体、Anti p-mTOR 抗体、Anti p-p70S6K 抗体、Anti p-4EBP1 抗体(Abcam 公司); 辣根酶标记山羊抗小鼠 IgG(ZSGB-Bio 公司, 批号: 125088)。主要仪器: TH4-200 倒置相差显微镜(Olympus 公司); 多功能酶标仪(Multiskan MK3, Thermo 公司); 凝胶成像仪(北京赛智创业科技有限公司)等。

5 实验方法

5.1 含药血清的制备 大鼠适应性饲养 3 天后, 禁食 24 h, 称重, 随机分 6 组。依据“人和动物间按体表面积折算的等效剂量比值”表^[9], TMST 组大鼠给予 7.2 mg/(kg·d) 灌胃, PRE 组给予 4.5 mg/(kg·d) 灌胃。JQHF 低、中、高剂量组根据颗粒制剂包装上注明的每包生药量, 按体表面积法计算大鼠给药的等效剂量, 以超纯水冲化成中药混悬液, 使其浓度为 200%, 选用等容灌胃量为 1 mL/100 g 进行灌胃。依据换算, 各组生药含量分别为: JQHF 低剂量组 6.7 g/(kg·d), 相当于成人用量 0.5 倍; JQHF 中剂量组 13.4 g/(kg·d), 相当于成人用量; JQHF 高剂量组 26.8 g/(kg·d), 相当于成人用量 2 倍。每日上午 10:00 按 1 mL/100 g 灌胃, 持续 5 天。末次灌胃后, 禁食 12 h。3.5% 水合氯醛腹腔麻醉, 腹主动脉取血, 37℃ 静置 2 h。离心机 3 000 r/min、10 min 离心, 收集血清, 56℃ 水浴, 30 min 灭活, 0.22 μm 无菌过滤器除菌, 分装, -20℃ 保存备用。

5.2 足细胞复苏及培养 将足细胞冻存管从 -80℃ 冰箱取出, 37℃ 水浴锅解冻。离心机

1 500 r/min、10 min 离心处理, 弃上清, 加入 1 mL PBS 缓冲液重悬细胞、离心。重复无菌操作, 弃上清, 加 1 mL 含 γ-干扰素细胞增殖阶段 DMEM 培养液, 吹打重悬细胞至均匀, 移液至细胞培养瓶, 加培养基, 33℃、5% CO₂ 培养箱增殖。每 2~3 天更换培养基, 细胞生长呈 70%~80% 以上融合时, 进行传代并继续培养。增殖至足够数目, 于 37℃、5% CO₂ 培养箱, 使用不含诱导增殖的 γ-干扰素培养基, 每 2~3 天换液, 10~14 天分化成熟, 进行实验操作。

5.3 足细胞分组 按照含药血清及实验目的, 配制含各组待测血清的细胞培养基(DMEM), 空白组(10%空白组血清+DMEM); 模型组(10%空白组血清+DMEM); JQHF 低剂量组(10%低剂量 JQHF 含药血清+DMEM); JQHF 中剂量组(10%中剂量 JQHF 含药血清+DMEM); 高 JQHF 组(10%高剂量 JQHF 含药血清+DMEM); TMST 组(10% TMST 含药血清+DMEM); PRE 组(10% PRE 含药血清+DMEM); RAP 单体组(100 μg/L RAP+10%空白组血清+DMEM)。取培养于 37℃、5% 培养箱中 96 孔板的成熟足细胞, 弃去分化培养基, 磷酸盐缓冲液冲洗。按照待测血清分组, 每组设 6 个复孔, 同步化后, 每孔各加 100 μL 培养液, 除空白组外的各孔加入 PAN(100 μg/mL)。

6 检测指标及方法

6.1 CCK-8 法检测 OD 值 各组含药血清作用于足细胞 24 h 后, 采用 CCK-8 法检测, 450 nm 波长下酶标仪检测各组细胞光密度(OD)值。

6.2 Western blot 法检测足细胞模型标志蛋白 Nephrin、Podocalyxin 以及自噬相关标志蛋白 LC3-II、mTOR、P-P70S6K、P-4EBP1 的表达 细胞培养箱内培育正常足细胞后, 制作足细胞损伤模型, 加入各组含药血清干预损伤模型, 确定内参蛋白 β-actin。裂解细胞提取上清液, 分装保存, BCA 法测浓度。配置凝胶, 测好浓度的样品, 确定上样体积, 加入相应体积 5×蛋白上样缓冲液和 0.5 mmol/L PBS 使上样缓冲液至终浓度为 1×, 将加好的样品混合溶液于沸水浴变性 5~10 min, 变性完毕后冷却, 瞬时离心, 将样品按顺序取至 SDS-PAGE 胶齿中, 电泳转膜。结束后将膜用 TBST 清洗加入封闭液, 温室封闭 1 h, 去掉封闭液, TBST 洗 3 次, 每次 8 min, 加入用 3% BSA(in TBST)溶液稀释的一抗溶液中, 4℃ 过夜孵育, 去掉一抗溶液 TBST 清洗后用 3% BSA(in TBST)溶液稀释的辣根过氧化物酶标记的二抗稀释液室温孵育 1 h, 去掉二抗溶液, TBST 清洗。化学发光准备, 将膜置于

凝胶成像仪中检测,根据凝胶图像,将所得图片使用 Image J 软件分析,检测各条带的灰度值。

7 统计学方法 应用 SPSS 19.0 统计数据,统计结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间数比较应用 ANOVA 单因素方差分析 LSD 检验,两组间差异比较采用配对 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 各组足胞活力比较(表 1) 与空白组比较,模型组足细胞活力下降($P < 0.01$);与模型组比较,JQHF 高剂量组及 TMST 组、PRE 组、RAP 组足细胞活力上升(均 $P < 0.05$)。

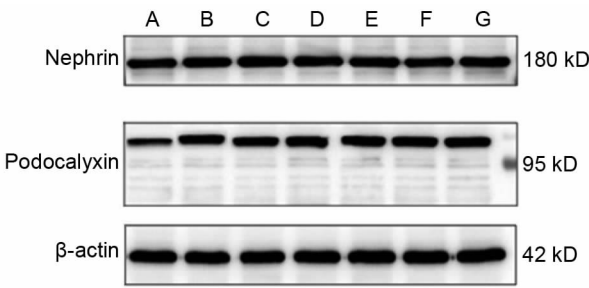
表 1 各组足细胞活力比较 ($\bar{x} \pm s$)		
组别	<i>n</i>	OD 值
空白	6	1.51 ± 0.14
模型	6	0.98 ± 0.05 *
JQHF 高剂量	6	1.15 ± 0.06 Δ
JQHF 中剂量	6	1.04 ± 0.03
JQHF 低剂量	6	1.01 ± 0.12
TMST	6	1.31 ± 0.07 Δ
PRE	6	1.28 ± 0.06 Δ
RAP	6	1.21 ± 0.05 Δ

注:与空白组比较, * $P < 0.01$;与模型组比较, $\Delta P < 0.05$

2 各组标志蛋白 Nephrin、Podocalyxin 灰度值比较(表 2) 与模型组比较,除 JQHF 低剂量组 Podocalyxin 表达外,其余各药物干预组 Nephrin、Podocalyxin 表达均增多($P < 0.05$, $P < 0.01$)。与 JQHF 低剂量组比较,JQHF 高剂量组、TMST 组、PRE 组及 RAP 组 Nephrin 表达增多($P < 0.05$, $P < 0.01$)。与 JQHF 中剂量组比较,JQHF 高剂量组、TMST 组、PRE 组及 RAP 组 Nephrin 表达增多($P < 0.05$),TMST 组、PRE 组、RAP 组 Podocalyxin 表达亦增多($P < 0.05$)。与 JQHF 高剂量组比较,TMST 组、PRE 组、RAP 组 Podocalyxin 表达增多($P < 0.05$),TMST、PRE、RAP 组间比较 Podocalyxin 表达,

表 2 各组蛋白 Nephrin、Podocalyxin 灰度值比较 ($\bar{x} \pm s$)			
组别	<i>n</i>	Nephrin/ β -actin	Podocalyxin/ β -actin
模型	6	0.73 ± 0.02	0.69 ± 0.04
JQHF 高剂量	6	0.96 ± 0.03 ** Δ $\blacktriangle$	0.92 ± 0.02 *
JQHF 中剂量	6	0.87 ± 0.04 *	0.91 ± 0.03 *
JQHF 低剂量	6	0.83 ± 0.03 *	0.79 ± 0.03
TMST	6	0.98 ± 0.04 ** Δ $\blacktriangle$ $\circ$	1.07 ± 0.06 ** Δ $\blacktriangle$ $\circ$
PRE	6	0.94 ± 0.02 ** Δ $\blacktriangle$ $\circ$	1.09 ± 0.04 ** Δ $\blacktriangle$ $\circ$
RAP	6	0.97 ± 0.03 ** Δ $\blacktriangle$ $\circ$	1.13 ± 0.12 ** Δ $\blacktriangle$ $\circ$

注:与模型组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$;与 JQHF 低剂量组比较, $\Delta P < 0.05$;与 JQHF 中剂量组比较, $\blacktriangle P < 0.05$;与 JQHF 高剂量组比较, $\circ P < 0.05$



注:A 为模型组;B 为 JQHF 高剂量组;C 为 JQHF 中剂量组;D 为 JQHF 低剂量组;E 为 TMST 组;F 为 PRE 组;G 为 RAP 组

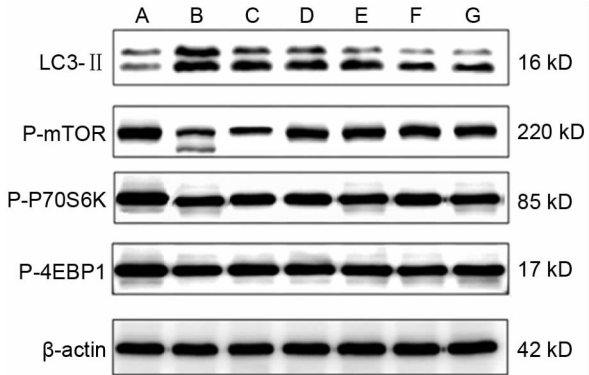
图 1 各组 Nephrin、Podocalyxin 蛋白条带图

差异无统计学意义($P > 0.05$)。

3 各组细胞内自噬相关标志蛋白灰度值比较(表 3,图 2) 与模型组比较,各药物干预组 LC3-II 表达均增多($P < 0.05$, $P < 0.01$),JQHF 高剂量组, TMST 组、PRE 组、RAP 组 P-mTOR、P-4EBP1 表达均减少($P < 0.05$),JQHF 高剂量组、TMST 组、RAP 组 P-P70S6K 表达减少($P < 0.01$)。各药物干预组间自噬相关标志蛋白灰度值比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。

表 3 各组细胞内自噬相关标志蛋白灰度值比较 ($\bar{x} \pm s$)					
组别	<i>n</i>	LC3-II/ β -actin	P-mTOR/ β -actin	P-P70S6K/ β -actin	P-4EBP1/ β -actin
模型	6	0.39 ± 0.03	1.26 ± 0.17	1.43 ± 0.18	1.21 ± 0.12
JQHF 高剂量	6	0.88 ± 0.07 **	1.07 ± 0.08 *	0.92 ± 0.07 **	0.82 ± 0.05 *
JQHF 中剂量	6	0.81 ± 0.04 **	1.21 ± 0.13	1.31 ± 0.12	1.14 ± 0.07
JQHF 低剂量	6	0.65 ± 0.02 *	1.14 ± 0.09	1.38 ± 0.15	1.15 ± 0.06
TMST	6	0.71 ± 0.03 **	1.02 ± 0.05 *	0.83 ± 0.08 **	0.82 ± 0.07 *
PRE	6	0.93 ± 0.12 **	1.05 ± 0.07 *	1.16 ± 0.11	0.79 ± 0.04 *
RAP	6	0.91 ± 0.14 **	1.03 ± 0.05 *	0.93 ± 0.09 **	0.84 ± 0.07 *

注:与模型组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$



注:A 为模型组;B 为 JQHF 高剂量组;C 为 JQHF 中剂量组;D 为 JQHF 低剂量组;E 为 TMST 组;F 为 PRE 组;G 为 RAP 组

图 2 各组 LC3-II、P-mTOR、P-P70S6K、P-4EBP1 蛋白条带图

讨 论

既往研究表明,足细胞的足突和裂孔膜复合体是肾脏过滤血浆产生原尿的关键结构^[10],裂孔膜及足突结构的稳定与多种细胞标志蛋白相关。标志蛋白 Podocalyxin 与裂孔膜一起构成滤过屏障,维持裂孔膜、足突之间和肾小囊间的正常形态结构以及足细胞与肾小球基底膜间的黏附平衡,Podocalyxin 的缺失可引起足突融合,引发蛋白尿^[11]。足细胞正常生理状态下需存在较高水平的自噬维持细胞内环境稳态,自噬能力减弱会诱发足细胞损伤,导致肾脏病发生^[12]。足细胞内自噬调节过程复杂,细胞的自噬活性变化大多都与 mTOR 相关^[13,14]。肾素-血管紧张素系统 (renin-angiotensin system, RAS) 抑制剂以及免疫抑制剂,是治疗慢性肾小球肾炎、肾病综合征等的主要推荐用药,大量机制研究也表明,PRE、TMST 可以修复损伤足细胞^[15-18]。RAP 产自链霉菌,研究表明,RAP 作为新型天然大环内酯类免疫抑制剂,可抑制 PAN 足细胞模型内 mTOR 活性,调节下游通路降低 P-70S6K 的表达,上调自噬水平,帮助足细胞从损伤中恢复^[19]。本研究采用 TMST、PRE、RAP 等与中药复方含药血清对照,探讨 JQHF 的治疗作用及可能的机制。

本研究发现,JQHF、PRE、TMST、RAP 均对损伤足细胞有一定保护和修复作用,其中 JQHF 高剂量组优于中、低剂量组。JQHF 可增加损伤足细胞结构功能蛋白 Nephrin 和电荷蛋白 Podocalyxin 的表达,维持损伤足细胞结构形态的完整,改善因标志蛋白缺失导致的足突融合、消失,修复肾小球滤过屏障的损伤。同时抑制 mTOR 的活化,减少 mTOR 诱导的 P-70S6K、P-4EBP1 合成,恢复 LC3-II 表达,进而恢复细胞自噬水平。JQHF 是西苑医院余仁欢教授自拟方,由防己黄芪汤化裁,临床疗效显著^[7,8]。方中生黄芪补肺健脾,可行于气分及肌表;汉防己辛散苦泄,清热祛风,善走下且泄下焦州都之湿热;炒白术、生薏苡仁、茯苓健脾除湿益燥,和中益气,既可助黄芪健脾固表,又可助防己除湿利水;荷叶与紫苏叶配伍,达舒展阳气、疏理气机以散阴火之效。诸药相配,可起到改善脾运化功能、补益气血、祛除湿邪、调和经络的作用。现代药理研究表明,黄芪可以改善全身免疫功能,抗氧化、防衰老、提高机体应激能力、促进体内蛋白质代谢^[20]。付荣国等^[21]研究表明,黄芪可通过影响 Bcl-2 相关信号通路,影响细胞凋亡,减少肾损伤。此外,防己含有汉防己甲素,现代药理证明汉防己甲素 (Tet-

randrine, TET) 属钙离子拮抗剂,既可以调节免疫功能,抑制炎症反应,抗纤维化,拮抗链霉素诱导的肾毒性,还具有增加肾小球内血流量,改善肾脏供血情况的作用^[22]。

本研究通过探讨 JQHF 对损伤足细胞影响作用,验证了 JQHF 临床可缓解蛋白尿的疗效作用,并进一步深入挖掘了其临床疗效的细胞层面作用机制及其实验理论基础。本实验研究并未涉及多数特异性蛋白,所研究的 mTOR 相关下游通路,仅是自噬相关通路的一部分,并未涉及细胞特异蛋白相关 mRNA 表达领域,JQHF 的作用机制仍需进一步深入全面探索。

利益冲突:本实验中使用药物均出自课题经费,无其他药商及机构赞助,不存在利益冲突。

参 考 文 献

- [1] Kriz W, Gretz N, Lemley KV. Progression of glomerular diseases: is the podocyte the culprit? [J]. *Kidney Int*, 1998, 54(3): 687-697.
- [2] Reiser J, Pixley FJ, Hug A, et al. Regulation of mouse podocyte process dynamics by protein tyrosine phosphatases [J]. *Kidney Int*, 2000, 57(5): 2035-2042.
- [3] 田年秀, 王晓磊, 王涛, 等. 芪卫颗粒含药血清通过 Caspase12 途径减轻高糖环境下肾足细胞损伤的机制研究[J]. *中华中医药杂志*, 2018, 33(5): 1858-1862.
- [4] 韩世盛, 卢嫣, 姚天文, 等. 越婢汤和固精方对嘌呤霉素氨基核苷肾病大鼠肾小球足细胞损伤的影响[J]. *中医杂志*, 2018, 59(1): 51-55.
- [5] 徐蕾, 任现志. 黄芪对足细胞损伤修复作用的研究进展[J]. *江苏中医药*, 2017, 49(3): 82-85.
- [6] McMahon GM, Datta D, Bruneau S, et al. Constitutive activation of the mTOR signaling pathway within the normal glomerulus [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2012, 425(2): 244-249.
- [7] 屈欢欢, 陈小娟, 何岩, 等. 健脾祛湿和络方治疗原发性肾小球疾病蛋白尿 50 例临床观察[J]. *中医杂志*, 2013, 54(21): 1834-1836.
- [8] 赵雯, 余仁欢, 李澎, 等. 健脾祛湿和络方对 LPS 诱导的小鼠系膜细胞 FN、LN 及 TGF- β_1 表达的影响[J]. *中国中西医结合肾病杂志*, 2017, 18(2): 102-105.
- [9] 徐叔云主编. 药理实验方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 20.
- [10] Shankland SJ. The podocyte's response to injury: role in proteinuria and glomerulo sclerosis [J]. *Kidney Int*, 2006, 69(12): 2131-2147.
- [11] Kavoura E, Gakiopoulou H, Paraskevakou H, et

- al. Immunohistochemical evaluation of podocalyx-in expression in glomerulo pathies associated with nephrotic syndrome[J]. Hum Pathol, 2011, 42(2): 227-235.
- [12] Hartleben B, Güdel M, Meyer-Schwesinger C, et al. Autophagy influences glomerular disease susceptibility and maintains podocyte homeostasis in aging mice[J]. J Clin Invest, 2010, 120(4): 1084-1096.
- [13] Korolchuk VI, Saiki S, Lichtenberg M, et al. Lysosomal positioning coordinates cellular nutrient responses[J]. Nat Cell Biol, 2011, 13(4): 453-460.
- [14] Pous C, Codogno P. Lysosome positioning coordinates mTORC1 activity and autophagy[J]. Nat Cell Biol, 2011, 13(4): 342-344.
- [15] 赵宇, 刘燕, 商黔惠, 等. 替米沙坦对 4% 高盐饮食诱导肾脏纤维化的保护作用[J]. 中国老年学杂志, 2018, 38(6): 1430-1433.
- [16] 徐永, 程亮, 郑东辉. 替米沙坦对糖尿病肾病患者尿 nephrin 排泄的影响[J]. 中华全科医学, 2014, 12(1): 56-57, 92.
- [17] Yu SY, Yu L. Dexamethasone inhibits podocyte apoptosis by stabilizing the PI3K/Akt signal pathway[J]. Biomed Res Int, 2013: 326986. DOI: 10.1155/2013/326986.
- [18] Zhang J, Pippin JW, Krofft RD, et al. Podocyte repopulation by renal progenitor cells following glucocorticoids treatment in experimental FSGS[J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2013, 304: F1375-F1389.
- [19] 张学凤. 雷帕霉素对 PAN 损伤足细胞的作用及其对 P-P70S6K 表达的影响[D]. 太原: 山西医科大学, 2014.
- [20] 林红强, 杨娜, 王涵, 等. 黄芪的化学成分、药理活性及临床应用研究进展[J]. 世界最新医学信息文摘, 2018, 18(38): 45-47, 49.
- [21] 付荣国, 周琳, 聂萌, 等. 黄芪当归合剂对大鼠缺血性急性肾损伤的保护研究[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2006, 13(1): 9-12.
- [22] 安玉香, 赵会平, 徐昕. 粉防己碱对豚鼠链霉素性肾损伤的干预作用[J]. 分子细胞生物学报, 2007, 40(2): 113-122.

(收稿: 2017-11-09 在线: 2018-08-31)

责任编辑: 白霞

《中西医结合心脑血管病杂志》第三届编委会在哈尔滨隆重召开

2018 年 8 月 10—11 日,《中西医结合心脑血管病杂志》第三届编委会在冰城哈尔滨隆重召开,黑龙江珍宝岛药业承办本次会议。中国科学院院士、《中西医结合心脑血管病杂志》名誉总编陈可冀院士、《中西医结合心脑血管病杂志》总编辑吴宗贵教授、副总编辑范维琥教授、张敏州教授,编委史载祥教授、张文高教授、史大卓教授、高长玉教授、王裕颐教授、牛争平教授、曹晓岚教授、项宝玉等《中西医结合心脑血管病杂志》编委会全体成员参加本次会议。

8 月 10 日,以“中西合璧,医药携手,共护心脑”为主题的《中西医结合心脑血管病杂志》创刊 16 周年庆典在哈尔滨召开。庆典中《中西医结合心脑血管病杂志》总编吴宗贵教授致欢迎辞,回顾创刊历程,自 2003 年创刊以来,在陈可冀院士的带领下及编委会成员的共同努力下,《中西医结合心脑血管病杂志》一天天健康成长,杂志的影响力逐年提高,2006 年入选中国科技核心期刊,学术期刊的专业化水平及学科影响力稳步提升,学术期刊的导向性、指导性得到广泛的赞誉和认可。对此期间所有编委及编辑部同志的不懈努力及辛勤付出表示感谢。

在杂志创刊 16 周年之际,陈可冀名誉总编亲笔题词“高品质学术期刊导向,再接再厉”,对杂志今后的发展寄予厚望,亲自将这份淳淳厚爱和今后发展的殷切希望转交吴宗贵主委。同时举行庆祝仪式,编委会全体成员共同庆祝杂志创刊 16 周年。

8 月 11 日,《中西医结合心脑血管病杂志》第三届编委会在黑龙江珍宝岛药业会议室召开,会议由吴宗贵总编主持。首先,由编辑部主任贾林山对近年来《中西结合心脑血管病杂志》工作情况进行汇报,随后,各位编委依次发表意见,讨论在互联网、新媒体融合下如何提高期刊影响力等及未来发展方向和改进措施,并确定第三届编委人员名单,陈可冀院士对杂志取得的成绩予以肯定,同时吴宗贵总编希望广大编委推荐有潜力的青年编委,为杂志注入新鲜的血液,把《中西医结合心脑血管病杂志》办得更好,为中西医结合事业发展做出更大贡献。

(贾林山 整理)