

· 基础研究 ·

肾衰Ⅱ号方对慢性肾衰竭大鼠肾组织
自噬相关蛋白表达的影响王蒙¹ 王琛^{1,2} 林评兰^{1,2} 吴明^{1,2} 徐琳^{1,2}

摘要 目的 肾衰Ⅱ号方对 5/6(A/I) 肾切除慢性肾衰竭(CRF)大鼠肾组织自噬相关蛋白表达的影响。
方法 随机选取 65 只 SD 雄性大鼠采用 5/6(A/I) 肾切除术制备 CRF 大鼠模型,将 45 只成功造模大鼠随机分为模型组、中药组(肾衰Ⅱ号方 10 mL/kg)、西药组(氯沙坦钾 6 mL/kg),每组 15 只,另取 15 只大鼠作为假手术组。给予相应干预,60 日后检测大鼠的肾功能[血肌酐(Scr)、血尿素氮(BUN)、内生肌酐清除率(CCr)]及血红蛋白(HGB),采用 Western Blot 检测自噬相关蛋白 Atg5、Beclin-1、LC3 的表达,HE 和 Masson 染色观察肾组织病理形态。**结果** 与本组干预前比较,中药组、西药组干预后 Scr、BUN、HGB 水平均降低($P < 0.01$),CCr 水平升高($P < 0.01$)。与假手术组比较,模型组 BUN 及 Scr 升高($P < 0.01$),CCr 及 HGB 降低($P < 0.01$),肾皮质和肾髓质 Atg5、Beclin-1 蛋白表达及 LC3-II/LC3-I 升高($P < 0.01$, $P < 0.05$)。与模型组同期比较,两个给药组干预后 BUN 水平降低($P < 0.01$),CCr 水平升高($P < 0.01$),肾皮质和肾髓质 Atg5、Beclin-1 蛋白表达及 LC3-II/LC3-I 升高($P < 0.01$, $P < 0.05$)。HE 和 Masson 染色显示,中药组和西药组肾脏病理变化明显减轻,优于模型组。**结论** 肾衰Ⅱ号方能够改善 5/6(A/I) 肾切除 CRF 大鼠的肾功能,提高 HGB 水平,减轻肾间质纤维化,其作用机制可能与自噬相关信号通路的激活有关。

关键词 肾衰Ⅱ号方;慢性肾衰竭;肾间质纤维化;自噬

Effects of Shenshuai Recipe II on Autophagy Related Proteins Expression in Chronic Renal Failure Rats' Nephridial Tissue WANG Meng¹, WANG Chen^{1,2}, LIN Ping-lan^{1,2}, WU Ming^{1,2}, and XU Lin^{1,2} 1 Department of Nephrology, Shuguang Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai(200021); 2 TCM Institute of Kidney Disease, Key Laboratory of Liver and Kidney Diseases Ministry of Education, Shanghai Key Laboratory of Traditional Chinese Clinical Medicine, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai(200021)

ABSTRACT Objective To observe the effects of Shenshuai Recipe II (SSR) on the autophagy related proteins expression in the chronic renal failure (CRF) rats induced by 5/6 ablation/infarction (A/I). **Methods** Totally 65 SD male rats were randomly selected to induce CRF rat model by 5/6 (A/I) and 45 successful rat models were randomized into model group, Chinese medicine group (SSR 10 mL/kg) and Western medicine group (Losartan potassium 6 mL/kg), 15 rats in each group. Another 15 rats were recruited as sham operation group. After 60-day-intervention, renal function [serum creatinine (Scr), blood urea nitrogen (BUN), creatinine clearance rate (CCr)] and hemoglobin (HGB) were measured, the autophagy related proteins expression of Atg5, Beclin-1, LC3 were determined by Western Blot, the renal pathological changes were observed by HE and Masson staining. **Results** Compared with the pre-intervention, the levels of Scr, BUN and HGB decreased and the level of CCr increased in the Chinese

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No. 81573946);国家自然科学基金青年科学基金项目(No. 81603591);上海市科委科研项目(No. 16401931700);上海市卫计委科研课题(No. 201540199)

作者单位:1. 上海中医药大学附属曙光医院肾内科(上海 200021); 2. 上海中医药大学肾病研究所, 肝肾疾病病证教育部重点实验室, 上海市中医药重点实验室(上海 200021)

通讯作者:王琛, Tel: 021-20256328, E-mail: chenwang42@163.com

DOI: 10. 7661/j.cjtm. 20190312. 002

medicine group and the Western medicine group after the intervention ($P < 0.01$). Compared with the sham operation group, the level of BUN and SCr were increased ($P < 0.01$), the level of CCR and HGB were decreased ($P < 0.01$), the expression of Atg5, Beclin-1 protein and LC3-II/LC3-I in the renal cortex and the medulla increased in the model group ($P < 0.01$, $P < 0.05$). After intervention, the level of BUN decreased ($P < 0.01$), the level of CCr increased ($P < 0.01$), the expression of Atg5, Beclin-1 protein and LC3-II/LC3-I in the renal cortex and the medulla increased in medication groups as compared with that in the model group ($P < 0.01$, $P < 0.05$). HE and Masson staining showed that the pathological changes in the Chinese medicine group and Western medicine group were significantly ameliorated, better than those of the model group. Conclusion SSR could improve renal function and relieve renal interstitial fibrosis in CRF rats induced by 5/6 (A/I), which could be associated with activation of autophagy related signaling pathway.

KEYWORDS Shenshuai Recipe II; chronic renal failure; renal interstitial fibrosis; autophagy

肾间质纤维化(renal interstitial fibrosis, RIF)是各种肾脏疾病发展至终末期肾病的共同通路,抑制 RIF 对于防治慢性肾脏病的进展具有重要意义。自噬作为细胞内部固有的“清洁”体系,对于维持细胞稳态,适应内环境变化具有重要作用。近年来,自噬在 RIF 中的作用受到研究者的广泛关注,如 Kim WY 等^[1]在单侧输尿管梗阻(unilateral ureteral obstruction, UUO)模型中利用 3-MA 抑制自噬之后,RIF 的程度加强,由此认为自噬具有保护作用。近期研究结果证实了自噬的增强能够延长哺乳动物的寿命,改善健康^[2]。

肾衰 II 号方是上海曙光医院肾病科治疗慢性肾衰竭(chronic renal failure, CRF)的有效经验方,研究证实,肾衰 II 号方能够增加肾血流量,改善氧耗,下调磷脂酰肌醇-3 激酶/蛋白激酶 B(phosphatidylinositol-3 kinase/protein kinase B, PI3K/Akt)信号通路的表达,调节肾内失衡的血管紧张素 II(angiotensin II, Ang II)和神经元型一氧化氮合酶(neuronal nitric oxide synthase, nNOS)信号传导途径,保护肾功能,延缓 RIF 进展^[3-5]。然而,肾衰 II 号方是否对自噬相关蛋白具有调控作用尚不清楚。因此,本研究旨在探索肾衰 II 号方对 5/6 (ablation/infarction, A/I) 肾切除 CRF 大鼠自噬相关蛋白 Atg5、Beclin-1、LC3 表达的影响,以进一步揭示其延缓 RIF 进展的作用机制。

材料与方法

1 动物 80 只 SPF 级健康成年雄性 SD 大鼠,8 周龄,体重 190 ~ 210 g,购自上海西普尔-必凯实验动物有限公司,合格证编号:SCXK(沪)2008-0016,饲养于上海中医药大学实验动物中心,温度(22 ± 2) $^{\circ}\text{C}$, 12 h 光照,相对湿度(55 ± 2)%。饲料为市售固体普通饲料,饮用水均为自来水,自由饮用水

及摄食。本实验通过上海中医药大学伦理委员会审批(No. SZY201604006),实验过程中遵守国家有关实验动物保护和使用准则。

2 药物 肾衰 II 号方(组成:党参 15 g 仙灵脾 15 g 丹参 15 g 当归 15 g 制大黄 15 g 黄连 6 g 紫苏 15 g 川芎 15 g 桃仁 15 g 虫草菌丝 5 g),饮片购于上海康桥中药饮片公司,其中,党参、当归、制大黄产于甘肃,黄连、川芎产于四川,丹参、桃仁产于山东,紫苏、虫草菌丝产于浙江,仙灵脾产于陕西,中药饮片已经过鉴定,上海曙光医院制剂科制备(6.09 g/mL);氯沙坦钾片(科素亚, 100 mg,杭州默沙东制药有限公司,批号:H20030654),西药蒸馏水制备混悬液(5.5 mg/mL)。

3 主要试剂及仪器 兔抗大鼠 Atg5 单克隆抗体,美国 Cell Signaling Technology 公司,批号:12994S;兔抗大鼠 LC3 单克隆抗体,美国 Cell Signaling Technology 公司,批号:12741S;兔抗大鼠 Beclin-1 单克隆抗体,英国 Abcam 公司,批号:ab210498;GAPDH 抗体,美国 Proteintech 公司,批号:60004-1-Ig;HRP 标记山羊抗兔 IgG(H+L),中国 Beyotime 公司,批号:A0208;HRP 标记山羊抗小鼠 IgG(H+L),中国 Beyotime 公司,批号:A0216;电泳及转膜装置:美国 Bio-Rad 公司。

4 造模及分组 随机选取 65 只大鼠制备 5/6 (A/I) 肾切除 CRF 大鼠模型^[6],适应性喂养 1 周后,用 2% 戊巴比妥钠(0.2 mL/100 g)进行腹腔注射麻醉,局部剃毛常规消毒,于左肋弓下 0.5 cm 处,脊柱向左旁开 1 cm 处切开一垂直于脊柱长约 1.5 cm 切口。在无菌条件下经过后腹膜选取左肾并暴露肾脏,将肾包膜分离后,把左肾动脉的 2/3 分支结扎(单个结扎后支及前降支),缝合,1 周后摘除右肾。30 日后,目内眦采血测定肾功能及血常规指标。剔除造模失败和死

亡大鼠后,造模成功存活 45 只,造模成功率为 69%。将 45 只造模成功的大鼠分为 9 笼,编号 1~9,每笼 5 只大鼠,编号 1~5。分别测量每只大鼠的体重,利用 SPSS 19.0 软件建立数据库,录入笼号和编号,并以体重作为变量,通过设定随机种子、产生随机数、对随机数编秩、对随机数秩次排列、随机确定等步骤确定 1~15 为模型组,16~30 为中药组,31~45 为西药组,每组 15 只,另取 15 只大鼠为假手术组。

5 干预方法 造模 30 日后,按成人标准体重(60 kg)常规用量的 20 倍给药,西药组给予氯沙坦钾混悬液 2 mL (5.5 mg/mL)灌胃,中药组给予肾衰 II 号方浓煎药液 2 mL (含生药 6.09 g/mL)灌胃,药物灌胃剂量参照课题组既往研究用量^[5]。假手术组、模型组则予生理盐水 2 mL 灌胃。各组每日干预 1 次,连续 60 日。干预期间自由摄食和饮水。

6 检测指标及方法

6.1 样本采集与处理 大鼠用 2% 戊巴比妥钠(0.2 mL/100 g)腹腔注射麻醉,打开腹腔,下腔静脉采血,4 ℃ 4 000 r/min 离心 10 min,收集血清。摘取左肾,将左肾横切为二,一半置 10% 中性缓冲福尔马林液中固定 24 h 经石蜡包埋后制成 3 μm 切片,行常规 HE、Masson 染色观察肾组织病理形态;一半沿皮髓交界线切开分离皮髓部,分装后放入液氮 -80 ℃ 保存用于 Western Blot 检测。

6.2 血常规和生化指标检测 采用 T540 仪器测定 HGB,全自动生化分析仪检测 SCr、BUN。用 CCr 代替 GFR,计算公式为:CCr (mL/min) = 尿肌酐 × 24 h 尿量(mL)/SCr × 1 440。干预前后分别检测上述指标。

6.3 Atg5、Beclin-1 及 LC3 蛋白检测 采用 Western Blot 法。每 20 mg 组织加入 0.2 mL 的 Lysis buffer (RIPA : PMSF = 100 : 1),冰上反应 30 min,每 10 min 震荡 1 次,充分裂解后 4 ℃ 13 000 r/min 离心 10 min,将上清转至 1.5 mL EP 管,再离心 5 min,用 BCA 法测定蛋白浓度,制备蛋白样品,100 ℃ 煮沸 5 min 变性,置于 -20 ℃ 保存。按

照 30 μg/孔的蛋白上样量,采用 12% SDS-PAGE 的凝胶电泳,120 V 电泳,湿转法以 100 V,120 min 条件进行转膜,与 5% 脱脂奶粉室温下封闭 20 min,Atg5 抗体(1:1 000)、Beclin-1 抗体(1:1 000)、LC3 抗体(1:1 000)、GAPDH 抗体(1:2 000)4 ℃ 100 r/min 摇床过夜,HRP 标记山羊抗兔或 HRP 标记山羊抗小鼠 1:1 000 室温 100 r/min 孵育 2 h,0.01% PBS-T 清洗 10 min/次,共 3 次,ECL 发光,暗室曝光。条带的吸光度值以 GAPDH 作为内参照。

7 统计学方法 采用 SPSS 19.0 统计软件,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组内干预前后比较采用配对 *t* 检验,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较若方差齐则采用 LSD 法,方差不齐者经对数转换,使方差齐后再用 LSD 多重比较, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 各组大鼠一般状态比较 实验结束时,各组均有 15 只大鼠存活。假手术组反应灵敏,皮毛致密有光,精力充沛,一般状态良好。模型组精神不振,皮毛枯槁无光,较少活动、进食,体重增加缓慢;中药组、西药组精神较前明显改善,食欲旺盛,活动量增多,体重增加明显。

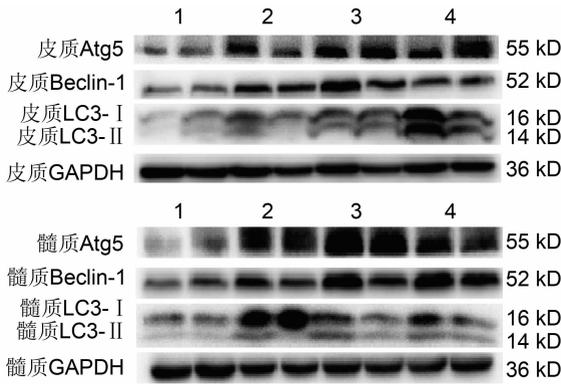
2 各组大鼠干预前后 SCr、BUN、CCr、HGB 比较(表 1) 与假手术组比较,模型组干预前 SCr、BUN 升高($P < 0.01$),CCr 及 HGB 降低($P < 0.01$)。与本组干预前比较,中药组、西药组干预后 SCr、BUN、HGB 均降低($P < 0.01$),CCr 水平升高($P < 0.01$)。与模型组同期比较,两个给药组干预后 BUN 均降低($P < 0.01$),CCr 均升高($P < 0.01$)。

3 各组大鼠肾组织 Atg5、Beclin-1、LC3 表达比较(图 1、2) 与假手术组比较,模型组肾皮质和肾髓质 Atg5、Beclin-1 蛋白表达及 LC3-II/LC3-I 升高($P < 0.01, P < 0.05$);与模型组比较,中药组、西药组肾皮质和肾髓质 Atg5、Beclin-1 蛋白表达及 LC3-II/LC3-I 升高($P < 0.01, P < 0.05$)。

表 1 各组大鼠干预前后 SCr、BUN、CCr 及 HGB 比较 ($\bar{x} \pm s$)

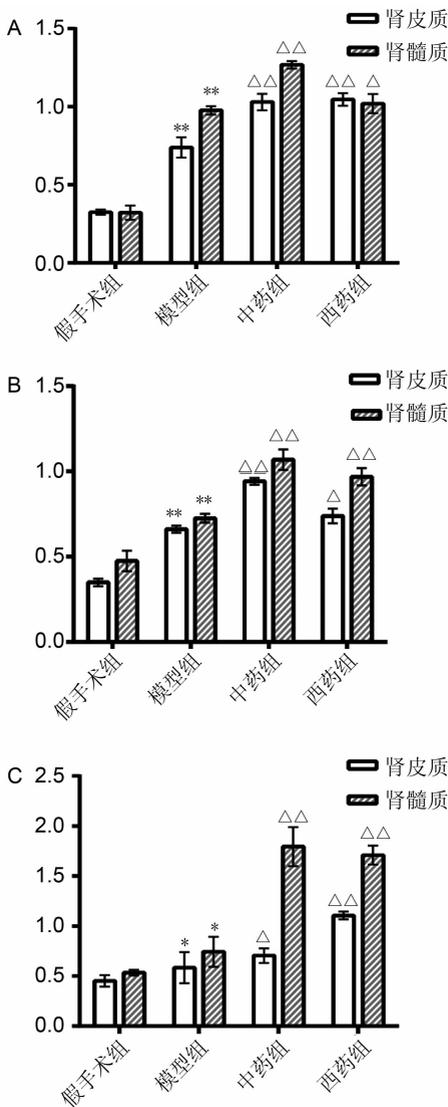
组别	n	时间	SCr (μmol/L)	BUN (mmol/L)	CCr (mL/min)	HGB (g/L)
假手术	15	干预前	27.55 ± 3.04 ^Δ	5.81 ± 0.83 ^Δ	1.87 ± 0.46 ^Δ	148.60 ± 4.87 ^Δ
		干预后	25.50 ± 2.87	6.70 ± 0.53	1.85 ± 0.24	138.10 ± 4.53
模型	15	干预前	50.44 ± 7.55	12.47 ± 2.36	0.84 ± 0.41	135.50 ± 6.10
		干预后	50.20 ± 8.70	12.20 ± 2.00	1.00 ± 0.20	120.55 ± 7.12
中药	15	干预前	54.50 ± 10.19	12.61 ± 1.81	0.73 ± 0.36	135.30 ± 7.79
		干预后	45.62 ± 8.20 [*]	9.75 ± 1.10 ^{*Δ}	1.75 ± 0.18 ^{*Δ}	125.66 ± 4.86 [*]
西药	15	干预前	53.30 ± 10.68	13.13 ± 2.61	0.83 ± 0.47	134.30 ± 7.90
		干预后	46.13 ± 9.00 [*]	10.70 ± 1.20 ^{*Δ}	1.72 ± 0.14 ^{*Δ}	123.50 ± 5.56 [*]

注:与本组干预前比较, * $P < 0.01$;与模型组同期比较, $\Delta P < 0.01$



注:1 为假手术组;2 为模型组;3 为中药组;4 为西药组

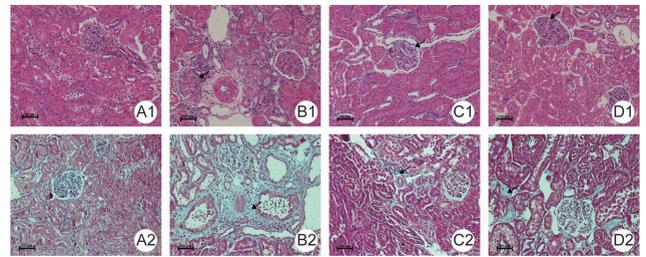
图 1 各组肾组织髓质、皮质 Atg5、Beclin-1、LC3 蛋白表达



注:A 为 Atg5 表达;B 为 Beclin-1 表达;C 为 LC3-II/LC3-I;与假手术组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$;与模型组比较, Δ $P < 0.05$, ΔΔ $P < 0.01$; $n = 15$

图 2 各组肾皮质、髓质 Atg5、Beclin-1 及 LC3-II/LC3-I 比较

4 各组大鼠肾组织病理结果比较(图 3) 假手术组肾小球结构正常,管腔无扩张,包曼氏囊囊腔清晰,无扩张,肾间质无炎性细胞浸润,无纤维组织增生。模型组肾小球结构紊乱,系膜重度增生,毛细血管管腔严重受压闭塞,肾小球呈弥漫性硬化、硬化区系膜基质增生,与包曼氏囊粘连,肾小球周围纤维化,肾间质大量炎性细胞浸润。中药组肾小球病变轻微,包曼氏囊存在,未及明显球囊粘连。管腔无明显扩张。西药组肾小球结构较模型组清晰,小球内仍有轻度分叶,系膜增生减少、炎性物质亦明显减少,肾小球系膜基质增生减轻,囊腔结构较模型组完整,肾小球纤维化较模型组有所减轻。



注:A 为假手术组;B 为模型组;C 为中药组;D 为西药组;1 为 HE 染色;2 为 Masson 染色;B1 箭头所指为肾小球硬化;C1 箭头所指为肾小球病变轻微;D1 箭头所指为肾小球呈分叶状改变;B2 箭头所指为 RIF;C2 箭头和 D2 箭头所指为 RIF 较模型组明显减轻

图 3 各组大鼠肾组织病理结果比较 (×200)

讨 论

RIF 是各种病因导致的慢性、进展性肾脏疾病的最终归宿,在各种慢性肾脏疾病的转归中起着主导作用。因此,如何改善和减轻 RIF 是当今肾脏病领域研究的热点之一。自噬在多种肾脏模型中体现出了肾脏保护作用,如 Li JZ 等^[7]证实,二甲双胍可以通过 AMPK/ULK1/2/Beclin-1 信号通路激活自噬,从而抑制顺铂诱导的肾小管上皮细胞凋亡;在缺血一再灌注模型中,Guan XJ 等^[8]利用雷帕霉素激活自噬可以显著减少肾小管上皮细胞凋亡的发生。因此,本研究以自噬为切入点,以自噬过程中的关键蛋白为靶点,研究 5/6(A/I)肾切除 CRF 大鼠残余肾组织自噬相关蛋白的表达以及肾衰 II 号方的干预作用。

肾衰 II 号方是曙光医院肾病科治疗 CRF 的有效经验方,本方中党参益气健脾,恢复中州脾胃清升浊降之枢机,具有耐缺氧、抑制炎症因子表达和保护肾功能的作用^[9],合仙灵脾温肾祛湿,能够抗氧化、清除自由基,二药脾肾同调,培本固源,共为君药^[10]。臣以虫草

菌丝壮命门之火,益精补肾,可通过下调转化生长因子 β 和 α 平滑肌肌动蛋白的表达,抑制肾纤维化^[11]。佐当归养血活血,提高机体的抗氧化能力^[12];丹参活血祛瘀,具有抗凝、清除自由基、保肝护肾的作用^[13];制大黄推陈致新,攻积行瘀,清热除湿,抑制肾成纤维细胞分裂增殖,减轻 RIF^[14]。黄连清热燥湿解毒,具有抗炎、降脂、抑制 RIF 的作用^[15];紫苏行气和中解毒,能够提高免疫力、降脂、改善肾功能^[16]。制大黄、黄连虽苦寒,但有党参、仙灵脾甘辛温药,即可佐治制大黄、黄连之苦寒,又不致使湿热之邪冰伏不化。桃仁、川芎增强活血化瘀之力,二者均能抗血栓、降低血流阻力,保护肾实质^[17,18]。全方寒温并用,攻补兼施,契合 CRF 的病机。本实验观察到模型组大鼠精神萎靡,肾功能下降,HE 和 Masson 染色显示肾小球弥漫性硬化,肾间质明显纤维化并伴有大量炎性细胞浸润,肾组织病变严重,提示造模成功。与模型组比较,中药组大鼠的精神状态明显改善,肾功能改善,HE 和 Masson 染色显示肾小球病变轻微,RIF 程度减轻,提示肾衰 II 号方具有明显的保护肾功能,减轻 RIF 的作用。并且,中药组和西药组在改善肾功能方面无明显的差异,但从病理结果上比较,中药组在改善肾脏病理形态方面优于西药组。

本实验选取了 3 个重要的自噬相关蛋白 Atg5、Beclin-1、LC3 作为检测自噬发生情况的指标。Beclin-1 是关键自噬节点,它通过同源结构域与 PI3K-III 结合而形成两个不同的 PI3K-III 复合物,促进自噬体的形成与成熟^[19]。Atg5 和 LC3 存在于自噬体形成过程中的两个必须的连接系统之中。Atg5 通过与 Atg12 和 Atg16 的结合而形成 Atg12-Atg5-Atg16 复合物^[20],而胞浆中的 LC3-I 通过与磷脂酰乙醇胺结合而形成具有膜结合能力的 LC3-II,LC3-II 一直被认为是自噬发生的标志^[21]。在本研究中,与假手术组比较,模型组残余肾组织皮质及髓质 Atg5、Beclin-1 蛋白表达上调和 LC3-II/LC3-I 的比值升高,说明在 CRF 大鼠模型中,自噬被激活。与模型组比较,中药组 Atg5、Beclin-1 蛋白表达明显上调和 LC3-II/LC3-I 的比值明显升高,说明肾衰 II 号方可能通过上调自噬相关蛋白的表达,起到保护肾功能,减轻 RIF 的作用。

肾脏是血供丰富的器官,由于肾脏血管结构和分布的差异,约 90% 的血供分布于皮质,约 10% 分布于髓质,主要是外髓部^[22,23]。而基于肾脏的生理结构,近端小管 S3 段和髓袢升支粗段需要消耗大量的氧,肾小管的高速主动转运由线粒体呼吸供能,因此,肾髓质部对缺血缺氧刺激高度敏感^[5]。而 5/6

(A/I)模型是典型的肾内缺血缺氧模型,因此,本研究将大鼠肾脏皮髓部分离,运用 Western Blot 方法分别检测了 Atg5、Beclin-1、LC3 蛋白的表达情况,观察自噬的发生是否和肾脏缺血缺氧的程度存在一致性。结果如上所示,在模型组肾髓质中,Atg5、Beclin-1 蛋白的表达和 LC3-II/LC3-I 的比值高于肾皮质,在中药组中存在相同的趋势。说明在 5/6 (A/I)模型中,肾髓质的自噬水平高于肾皮质,而肾衰 II 号方上调肾髓质的自噬水平高于肾皮质,其具体作用机制需要进一步研究。

综上,肾衰 II 号方可以上调模型组 Atg5、Beclin-1、LC3 蛋白的表达,并能降低 SCr、BUN 的水平,升高 CCr、HGB 水平,改善肾脏的病理形态,减轻 RIF,其作用机制可能与激活自噬相关信号通路有关。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突。

参 考 文 献

- [1] Kim WY, Nam SA, Song HC, et al. The role of autophagy in unilateral ureteral obstruction rat model [J]. *Nephrology (Carlton)*, 2012, 17(2): 148 - 159.
- [2] Fernández ÁF, Sebtí S, Wei Y, et al. Disruption of the beclin 1 - BCL2 autophagy regulatory complex promotes longevity in mice [J]. *Nature*, 2018, 558(7708): 136 - 140.
- [3] 徐亚赞,何峥,周圆,等.肾衰 II 号方联合西药对原发性慢性肾脏病 3、4 期患者肾功能及肾血流灌注的影响 [J]. *中医杂志*, 2018, 59(17): 1480 - 1483.
- [4] 杨婧,王琛,祝婷婷,等.PI3K/Akt 信号通路在慢性肾衰竭大鼠肾组织的表达及肾衰 II 号方的干预作用 [J]. *中国中西医结合肾病杂志*, 2015, 16(9): 763 - 766.
- [5] 秦军燕,王琛,邵命海,等.肾衰 II 号方对慢性肾功能衰竭大鼠肾组织 AngII 及 nNOS 蛋白表达的影响 [J]. *中国中西医结合杂志*, 2012, 32(9): 1280 - 1284.
- [6] Deng AH, Tang T, Singh P, et al. Regulation of oxygen utilization by angiotensin II in chronic kidney disease [J]. *Kidney Int*, 2009, 75(2): 197 - 204.
- [7] Li JZ, Gui Y, Ren J, et al. Metformin protects against cisplatin-induced tubular cell apoptosis and acute kidney injury via AMPK alpha-regulated autophagy induction [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 23975.
- [8] Guan XJ, Qian Y, Shen Y, et al. Autophagy protects renal tubular cells against ischemia/reperfusion injury in a time-dependent manner [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2015, 36(1): 285 - 298.
- [9] Li ZT, Zhu LB, Zhang H, et al. Protective effect of a polysaccharide from stem of *Codonopsis pi*

- losula* against renal ischemia/reperfusion injury in rats [J]. *Carbohydr Polym*, 2012, 90(4): 1739-1743.
- [10] 韩爱萍, 张洁, 丁选胜. 淫羊藿总黄酮对四氧嘧啶糖尿病小鼠血管功能的影响 [J]. *南京中医药大学学报*, 2011, 27(3): 243-246.
- [11] 陈晓霞, 王军, 周大为. 人工虫草提取物对大鼠单侧输尿管梗阻致肾小管间质损伤的保护作用 [J]. *中国中西医结合肾病杂志*, 2004, 5(8): 440-442.
- [12] 郑鸿翔, 姚欣耀, 盛楚华, 等. 当归或三七对兔甘油致急性肾衰的保护作用及其机制研究 [J]. *中国现代医学杂志*, 2003, 13(9): 361.
- [13] 刘娟, 刘颖. 丹参药理学活性成分研究进展 [J]. *辽宁中医药大学学报*, 2010, 12(7): 15-17.
- [14] 宁英远, 王俭勤, 屈燧林. 大黄素对人肾成纤维细胞增殖的影响 [J]. *中国中西医结合杂志*, 2000, 20(2): 105-106.
- [15] 王舒. 中药黄连研究进展 [J]. *亚太传统医药*, 2015, 11(9): 44-46.
- [16] 郭雪红. 中药紫苏药理及临床研究新进展 [J]. *天津药学*, 2016, 28(2): 70-73.
- [17] 以敏, 徐君毅, 郝二伟, 等. 桃仁提取物抗血瘀证大鼠血栓形成的机制 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2016, 22(1): 125-128.
- [18] 金玉青, 洪远林, 李建蕊, 等. 川芎的化学成分及药理作用研究进展 [J]. *中药与临床*, 2013, 4(3): 44-48.
- [19] Antonioli M, Di RM, Piacentini M, et al. Emerging mechanisms in initiating and terminating autophagy [J]. *Trends Biochem Sci*, 2017, 42(1): 28-41.
- [20] Messer JS. The cellular autophagy/apoptosis checkpoint during inflammation [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2017, 74(7): 1281-1296.
- [21] Wong SW, Sil P, Martinez J. Rubicon: LC3-associated phagocytosis and beyond [J]. *FEBS J*, 2018, 285(8): 1379-1388.
- [22] Evans RG, Eppel GA, Anderson WP, et al. Mechanisms underlying the differential control of blood flow in the renal medulla and cortex [J]. *J Hypertens*, 2004, 22(8): 1439-1451.
- [23] 侯超, 李明星. 超声造影评价急性肾损伤患者肾血流灌注的应用现状 [J]. *东南大学学报(医学版)*, 2017, 36(2): 290-293.

(收稿: 2018-05-21 在线: 2019-04-17)

责任编辑: 赵芳芳

欢迎订阅 2019 年 *Chinese Journal of Integrative Medicine*

Chinese Journal of Integrative Medicine (《中国结合医学杂志》)是由中国中西医结合学会、中国中医科学院主办的国际性学术期刊,旨在促进结合医学及替代医学的国际交流,及时发表结合医学或替代医学领域的最新进展、趋势以及临床实践、科学研究、教育、保健方面经验和成果的科学论文。1995 年创刊,由中国科学院院士陈可冀担任主编。设有述评、专题笔谈、论著、临床经验、病例报道、综述、药物相互作用、法规指南、学术探讨、思路与方法、跨学科知识、会议纪要、书评、读者来信等栏目。本刊被多种国际知名检索系统收录,如: Science Citation Index Expanded (SCI-E)、Index Medicus/Medline、Chemical Abstracts (CA)、Abstract Journal (AJ)、CAB Abstracts、CAB International、Excepta Media (EMBASE)、Expanded Academic、Global Health、Google Scholar、Index Copernicus (IC)、Online Computer Library Center (OCLC)、SCOPUS 等。本刊于 2007 年被 SCI-E 收录。2018 年 6 月底科睿唯安公布 2017 年本刊 SCI 影响因子为 1.346。2010 年 10 月 1 日与汤森路透集团签约,正式采用 ScholarOne Manuscripts 在线投审稿系统。

Chinese Journal of Integrative Medicine 为大 16 开本,铜版纸印刷,彩色插图,2011 年改为月刊,80 页,国内定价为 60.00 元/期,全年定价:720.00 元。国际标准刊号:ISSN 1672-0415,国内统一刊号:CN 11-4928/R,国内邮发代号:82-825,海外发行由 Springer 公司代理。国内订户在各地邮局均可订阅,也可直接汇款至本社邮购。

地址:北京海淀区西苑操场 1 号,中国中西医结合杂志社,邮政编码:100091;电话:010-62886827,62876547,62876548;传真:010-62874291;E-mail:cjim_en@cjim.cn;网址:http://www.cjim.cn。