· 基础研究 ·

Nrf2/HO-1 通路介导的及己醇提取物致大鼠肾毒性研究

孙淑萍[1,2,3,4] 张小平[2] 李红星[1,3] 刘金鑫[1] 张家豪[1,3] 王 洋[1,3]

摘要 目的 研究及己根、茎、叶醇提取物所致大鼠肾毒性及机制。**方法** 将 40 只雄性 SD 大鼠随机分成空白(KB)组、根醇(GC)组、茎醇(JC)组和叶醇(YC)组,每组 10 只。GC、JC、YC 三组分别给予相应醇提取物 4.14、3.21、1.17 g/kg 灌胃。KB 组给予等体积 0.5% 羧甲基纤维素钠(CMC-Na)溶液灌胃,每天 1 次,连续灌胃 14 天。绘制体重变化曲线,计算肾脏指数,制作肾脏组织切片,进行 HE 染色及组织病理学观察。检测血清尿素氮(BUN,速率法)、肌酐(SCr,酶法)和尿酸(UA,酶法)及肾脏组织总超氧化物歧化酶(T-SOD,羟胺法)和丙二醛(MDA,TBA 法)含量;Western Blot 法检测 Nrf2/HO-1 通路中 Nrf2、HO-1 蛋白含量;免疫组化法检测肾脏 TGF-β_1 阳性表达情况。**结果** 与 KB 组比较,JC 组 BUN、UA 含量升高($P<0.01$);JC 组和 YC 组 SCr、MDA 含量升高($P<0.01$),T-SOD 含量及 HO-1、Nrf2 蛋白表达降低($P<0.01$,$P<0.05$);GC 组、JC 组和 YC 组大鼠肾脏 TGF-β_1 表达水平升高($P<0.01$)。与 GC 组比较,JC 组 BUN、UA 含量升高($P<0.01$);JC 组和 YC 组 SCr、MDA 含量及 TGF-β_1 表达升高($P<0.01$,$P<0.05$),T-SOD 含量及 HO-1、Nrf2 蛋白表达降低($P<0.01$)。与 JC 组比较,YC 组 BUN、SCr、UA、MDA 含量降低($P<0.01$,$P<0.05$),T-SOD 含量升高($P<0.01$)。KB 组镜下未见明显病理变化;GC 组偶见肾小管出血和上皮细胞脱落;JC 组肾小管上皮细胞肿胀、坏死、脱落,炎细胞浸润明显,并出现严重的血管扩张充血和淤血;YC 组肾小管上皮细胞脱落坏死,伴有淤血现象。**结论** 及己茎和叶部位的肾毒性较大,根部位的肾毒性较小,其机制可能与氧化应激损伤有关。

关键词 及己;醇提取物;肾毒性;氧化应激;Nrf2/HO-1 通路

Study on Nrf2/HO-1 Pathway-mediated Nephrotoxicity Induced by Alcohol Extracts of *Chloranthus Serratus* in Rats

SUN Shu-ping[1,2,3,4], ZHANG Xiao-ping[2], LI Hong-xing[1,3], LIU Jin-xin[1], ZHANG Jia-hao[1,3], and WANG Yang[1,3] *1 College of Pharmacy, Wannan Medical College, Anhui (241002); 2 College of Life Science, Anhui Normal University, Anhui (241000); 3 Natural Daily Chemical Institute, Wannan Medical College, Anhui (241002); 4 Drug Research and Development Center, Wannan Medical College, Anhui (241002)*

ABSTRACT Objective To investigate the nephrotoxicity induced by alcohol extracts from *Chloranthus serratus* root, stem and leaf, and related toxic mechanisms. **Methods** Forty male SD rats were randomly divided into blank (KB) group, root alcohol (GC) group, stem alcohol (JC) group and leaf alcohol (YC) group, 10 rats in each group. Rats in the GC, JC and YC groups were administered intragastrically corresponding ethanol extracts of 4.14, 3.21 and 1.17 g/kg, respectively. The KB group was intragastrically administered with an equal volume of 0.5% CMC-Na solution once a day for 14 successive days. The weight change curve was drawn, the kidney index was calculated, renal tissue sections were prepared for perform-

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No. 91742101);安徽省自然科学基金项目(No. 1608085MH160);安徽省科技厅重点研究与开发项目(No. 1804h08020271);安徽省教育厅自然科学研究项目(No.KJ2013B310);安徽省卫生计生委中医药课题(2016zy95);皖南医学院重点科研项目培育基金(No.WK2014Z03);安徽师范大学研究生科研创新与实践项目(No. 2014yks094zd)

作者单位:1. 皖南医学院药学院(安徽 241002);2. 安徽师范大学生命科学院(安徽 241000);3. 皖南医学院天然日化研究所(安徽 241002);4. 皖南医学院药物研发中心(安徽 241002)

通讯作者:张小平,Tel:0553-3932185,E-mail:pinghengxu@sina.com.cn

DOI:10.7661/j.cjim.20190626.021

中国中西医结合杂志

ing HE staining and histopathological observation. The contents of serum urea nitrogen (BUN), creatinine (SCr), uric acid (UA) in serum were determined by rate method, enzymatic method and enzymatic method, respectively. The contents of total superoxide dismutase (T-SOD) and malondialdehyde (MDA) in renal tissue were determined by hydroxylamine method and TBA method, respectively. Changes of Nrf2 and HO-1 protein levels in the Nrf2/HO-1 pathway were detected by Western Blot. Immunohistochemical method was used to detect the positive expression of TGF-β_1 in kidneys. **Results** Compared with the KB group, the contents of BUN and UA in the JC group were increased (P<0.01); the contents of SCr and MDA in the YC and JC group were increased (P<0.01); the content of T-SOD and the expression of HO-1 and Nrf2 proteins in the JC and YC groups were decreased (P<0.01, P<0.05); the expression level of TGF-β_1 in the GC, JC and YC groups was elevated (P<0.01). Compared with the GC group, the levels of BUN and UA in the JC group were increased (P<0.01); the contents of SCr and MDA as well as TGF-β_1 positive expression in the JC and YC groups were increased (P<0.01, P<0.05); the contents of T-SOD and protein expression of HO-1 and Nrf2 in the JC and YC groups were decreased (P<0.01, P<0.05).Compared with JC group, the contents of BUN, SCr, UA and MDA were decreased(P<0.01), the content of T-SOD was increased in YC group (P<0.01). Microscopically, no obvious pathological changes were observed in the KB group; renal tubular hemorrhage and epithelial cell shedding occurred occasionally in the GC group; tubular epithelial cells in the JC group were swollen, necrotic, and shedding, inflammatory cells infiltration was obvious, and severe vasodilatation and congestion were observed; renal tubular epithelial cells in the YC group were shedding and necrosis, accompanied by congestion. **Conclusion** The nephrotoxicity of the stem and leaf parts from *Chloranthus serratus* is much severer, and the nephrotoxicity of the root part is lighter, the mechanism of nephrotoxicity may be related to oxidative stress injury.

KEYWORDS *Chloranthus serratus*; alcohol extracts; nephrotoxicity; oxidative stress; Nrf2/HO-1 pathway

药物肾毒性是常见的毒性效应,严重的肾毒性可能导致肾功能衰竭[1]。当下中药的开发力度越来越大,但中药的肾毒性问题却限制了其临床应用,是值得关注和研究的问题。及己(*Chloranthus serratus*)为金粟兰科金粟兰属植物及己的根、根茎或全草,具有舒筋活络、祛风镇痛、消肿祛毒,主治跌打损伤、疔疮肿毒、毒蛇咬伤、风湿痹痛等[2,3]。现有文献已证实及己根的醇提取物具有一定的抗炎活性[4]。《中药大辞典》记载及己有毒性[5]。及己的用药部位有根、全草及地上部分,其安全有效的用药部位有待研究。研究表明及己毒性靶器官包括肾脏、肝脏、心脏等[6],但迄今为止其毒性机制尚不明确。及己应用方式有水煎和酒浸两种,市售成方制剂"三七药酒"中含有及己药材,属酒浸方式,故本实验用及己根、茎、叶的醇提物对大鼠进行灌胃给药,探讨其肾毒性及机制,为及己毒性研究提供参考,进而为及己安全用药提供实验依据。

材料与方法

1　动物　40 只 7 周龄清洁级 SD 雄性大鼠,购自山东省实验动物中心,合格证号:SCXK(鲁)2014-0007,体重(200±10)g,饲养在(24±2)℃,通气、通风良好的动物房内,每天光照 12 h,给予正常饮食、饮水,适应性饲养 1 周。本动物实验方案经过皖南医学院药学院实验动物福利与伦理审查(审批时间:2014 年 3 月 20 日)。

2　药物　及己采于安徽黄山,参照《安徽植物志》[7]、《中药大辞典》[8],经皖南医学院朱建华教授鉴定为真品。将及己洗净,自然晾干后分离出根、茎、叶各部分,用高速粉碎机粉碎至粗粉。将及己根用 75% 乙醇回流提取 3 次,第 1 次 15 倍量醇,浸泡 0.5 h,提取 1.5 h;第 2 次 10 倍量醇,提取 1 h;第 3 次 8 倍量醇,提取 1 h。每次抽滤,合并 3 次滤液,减压回收乙醇,45 ℃真空干燥,粉碎过 80 目筛,得及己根醇提取物。用 75% 醇提取物重量/粗粉重量×100%,即得 75%醇提取物得率。及己茎醇提取物与叶醇提取物制备方法同上,干燥器内常温保存备用。

3　主要试剂及仪器　尿素氮(urea nitrogen, BUN)检测试剂盒(长春汇力生物技术有限公司,批号:2014007);血肌酐(serum creatinine, SCr)检测试剂盒、尿酸(uric acid, UA)检测试剂盒(上海容创生物技术有限公司,批号:RCL0246、RCL0248);兔抗

细胞转化生长因子 β_1（TGF-β_1，批号：BST12F21C49）、鼠抗 β-actin（批号：66240-1-Ig）、羊抗鼠 IgG（批号：BST12F21C50）、血红素加氧酶-1 兔抗（批号：ZP1039BP39）、羊抗兔 IgG（批号：BST12L05A54）均购自武汉博士德生物工程有限公司；核转录因子 E2 相关因子 2 兔多克隆抗体（美国 Proteintech 公司，批号：16396-1-AP）。Amersham Imager 600 超灵敏多功能成像仪（美国 General Electric 公司）；全自动生化分析仪（深圳市库贝尔生物科技有限公司）；高速冷冻离心机（安徽嘉文仪器装备有限公司）；CKX31 Olympus 显微镜（日本 Olympus 公司）。

4 动物分组及干预方法 适应性喂养 1 周后的大鼠，剔除异常者。称重后按随机数字表法分为空白（KB）组、根醇（GC）组、茎醇（JC）组和叶醇（YC）组，每组 10 只。根据预实验结果和种属间等效剂量折算表[9]确定大鼠日给药量（醇提取物质量，g/kg）= 人日服量（3 g）×0.018×5×及己根、茎、叶提取率（GC 为 15.35%，JC 为 11.90%，YC 为 4.31%）×100，即 GC、JC、YC 组分别给予的醇提取物 4.14、3.21、1.17 g/kg，相当于临床剂量 100 倍。称取规定质量的及己根、茎、叶醇提取物和 0.5% 羧甲基纤维素钠（sodium carboxymethylcellulose，CMC-Na）溶液制成混悬液，灌胃给药。KB 组给予等体积 0.5% CMC-Na 溶液，于每日下午 13:00-14:30 给药 1 次，连续给药 14 日，第 15 日处死。

5 检测指标及方法

5.1 干预期间大鼠基本情况观察 干预期间，每日观察大鼠饮食量、大小便、活动性、皮毛、眼角分泌物等情况。并于第 1、3、7、11、15 日分别称重，计算体重变化率，绘制体重变化曲线。体重变化率（%）=［某日体重（g）-第 1 日体重（g）］/第 1 日体重（g）×100%。

5.2 肾脏指数 大鼠于灌胃第 14 日，给药后 24 h（禁食不禁水 12 h），按照 0.4 mL/100 g 腹腔注射 25% 乌拉坦溶液进行麻醉，摘除眼球取血，于 4 ℃，3 000 r/min 条件下离心 10 min，取上清液。然后脱臼处死大鼠，取出肾脏，洗净，用滤纸吸干，分析天平称重，计算肾脏指数。肾脏指数（%）= 肾脏质量（g）/大鼠质量（g）×100%。

5.3 BUN、SCr、UA 测定 取适量血清，利用酶标仪，分别按各试剂盒说明书测定血清中 BUN（速率法）、SCr（酶法）、UA（酶法）含量。

5.4 大鼠肾脏匀浆中总超氧化物歧化酶、丙二醛含量检测 大鼠肾脏组织在冰水浴低温条件下，按肾脏组织质量（g）：生理盐水（mL）为 1:9 的比例加入生理盐水，用手动匀浆方法制作肾脏组织匀浆，4 ℃，2 500 r/min 离心 20 min，取上清液分别按各试剂盒说明书测定肾脏匀浆中总超氧化物歧化酶（total superoxide dismutase，T-SOD，羟胺法）、丙二醛（malonaldehyde，MDA，TBA 法）含量。

5.5 肾脏组织病理学观察 将各组大鼠肾用 10% 甲醛溶液固定 36 h，石蜡包埋，制成 4~5 μm 切片，HE 染色，光学显微镜（×200）观察肾脏组织病理学变化。

5.6 Nrf2/HO-1 通路中 Nrf2、HO-1 蛋白含量检测 采用 Western Blot 法。称取定量大鼠肾脏组织，用现配的 RIPA 裂解液（含有蛋白酶抑制剂）于冰上提取总蛋白。用聚丙烯酰胺凝胶电泳分离总蛋白，转到 NC 膜上，5% 脱脂牛奶（TBST 溶解）封闭 2 h，一抗 Nrf2 兔抗/HO-1 兔抗孵育 4 ℃过夜，TBST 洗涤 3 次后，室温孵育二抗羊抗兔 IgG 1 h。加现配的化学发光液曝光，Image J 软件统计各组灰度值，定量分析。

5.7 肾脏 TGF-β_1 阳性表达情况检测 采用免疫组化法。切片常规脱蜡复水，30% H_2O_2 室温孵育 10 min，灭活内源性酶，水洗。将切片浸入枸橼酸缓冲液中，微波炉高火加热至沸腾以修复抗原，滴加 5% BSA 封闭液，37 ℃作用 30 min。滴加一抗（1:100），孵育 2 h。PBS 清洗 5 min×3 次。山羊抗兔 IgG 37 ℃孵育 30 min，PBS 清洗 5 min×3 次，滴加 SABC，37 ℃作用 30 min，PBS 清洗 5 min×4 次，DAB 显色 15 min，蒸馏水洗涤，苏木精轻度复染，封片，镜下观察，用 Image J 软件统计阳性表达百分率。

6 统计学方法 使用 SPSS 17.0 和 GraphPad Prism 5 统计数据，采用 *One-Way ANOVA* 进行比较，数据均以 $\bar{x}\pm s$ 表示。采用 GraphPad Prism 5 进行绘图。$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 各组大鼠干预期间一般情况 KB 组大鼠饮食量、大小便、活动性、皮毛、眼角分泌物等情况均正常；GC 组大鼠可见后足轻微肿胀，其余无异常；JC 组大鼠活动量减少，反应迟缓，鼻孔和眼角出血明显，睾丸和四足肿胀严重；YC 组大鼠毛发无光泽，活动量较 KB 组下降。各组大鼠无死亡。

2 各组各时间点大鼠体重比较（图 1） 干预期间各组间大鼠体重差异无统计学意义（$P>0.05$）。

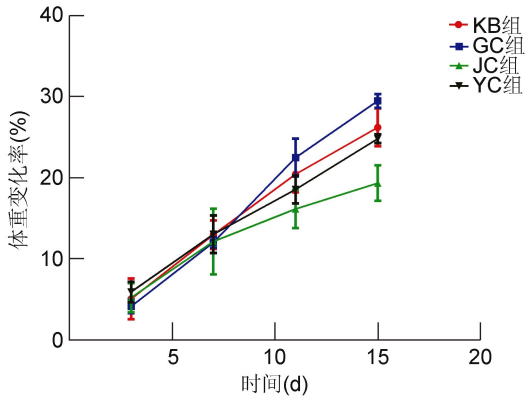


图 1　各组各时间点大鼠体重比较　(n=10)

3　各组大鼠肾脏指数比较(图 2)　与 KB 组比较,GC 组、JC 组和 YC 组肾脏指数升高,但差异无统计学意义(P>0.05)。

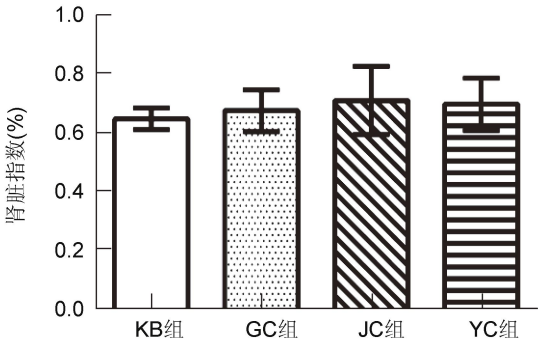


图 2　各组大鼠肾脏指数比较

4　各组大鼠血清 BUN、SCr、UA 含量比较(表 1)　与 KB 组及 GC 组比较,JC 组 BUN、SCr、UA 含量升高(P<0.01),YC 组 SCr 含量升高(P<0.01)。与 JC 组比较,YC 组 BUN、SCr、UA 含量降低(P<0.01,P<0.05)。

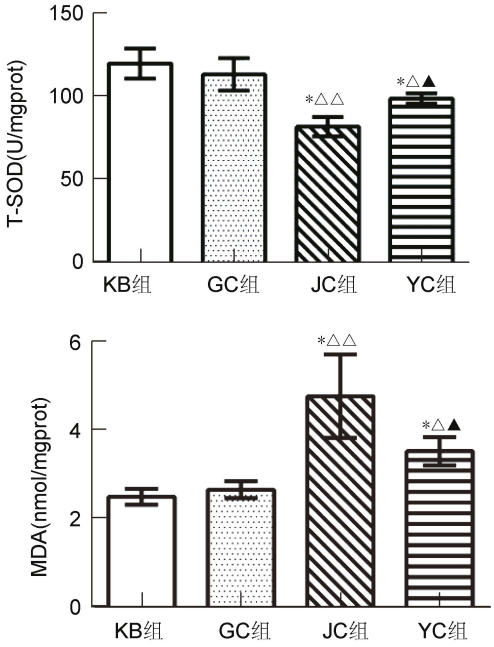
表 1　各组大鼠血清 BUN、SCr、UA 含量比较

(μmol/L, $\bar{x}\pm s$)

组别	n	BUN	SCr	UA
KB	10	6.33±0.33	24.76±2.56	239.13±13.46
GC	10	6.58±0.84	25.38±0.89	251.27±10.83
JC	10	11.78±1.32* △	43.02±2.86* △	342.62±67.63* △
YC	10	6.88±0.28▲▲	31.10±1.50* △▲▲	270.70±7.84▲

注:与 KB 组比较,* P<0.01;与 GC 组比较,△P<0.01;与 JC 组比较,▲P<0.05,▲▲P<0.01

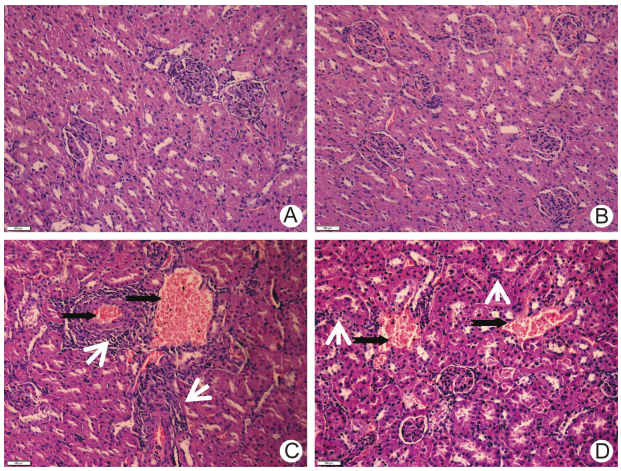
5　各组肾脏组织 T-SOD、MDA 含量比较(图 3)　与 KB 组及 GC 组比较,JC 组和 YC 组 MDA 含量升高(P<0.01,P<0.05),T-SOD 含量降低(P<0.01,P<0.05)。与 JC 组比较,YC 组 MDA 含量降低(P<0.01),T-SOD 含量升高(P<0.01)。



注:与 KB 组比较,* P<0.01;与 GC 组比较,△P<0.05,△△P<0.01;与 JC 组比较,▲P<0.01

图 3　各组大鼠肾脏组织 T-SOD、MDA 含量比较

6　各组大鼠肾脏组织形态比较(图 4)　KB 组组织结构完整,肾小球、肾小管均未见明显病理变化。GC 组偶见肾小管出血和上皮细胞脱落。JC 组可见肾小管上皮细胞肿胀、坏死、脱落,炎细胞浸润明显,并出现严重的血管扩张充血和淤血。YC 组也出现肾小管上皮细胞脱落坏死,并伴有淤血现象。

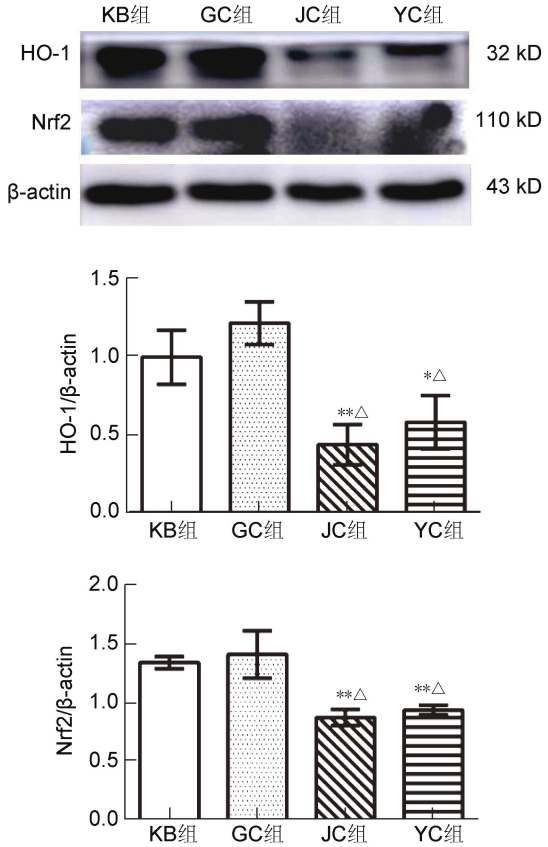


注:A 为 KB 组;B 为 GC 组;C 为 JC 组;D 为 YC 组;白色箭头所指为炎细胞浸润;黑色燕尾箭头所指为血管扩张充血和淤血

图 4　各组大鼠肾脏组织形态结果　(HE,×200)

7　各组 Nrf2、HO-1 蛋白表达比较(图 5)　与

KB 组比较,JC 组和 YC 组 HO-1、Nrf2 蛋白表达降低($P<0.01$,$P<0.05$),GC 组 Nrf2、HO-1 蛋白含量均无明显变化($P>0.05$)。与 GC 组比较,JC 组和 YC 组 HO-1、Nrf2 蛋白含量降低($P<0.01$)。



注:与 KB 组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与 GC 组比较,△ $P<0.01$

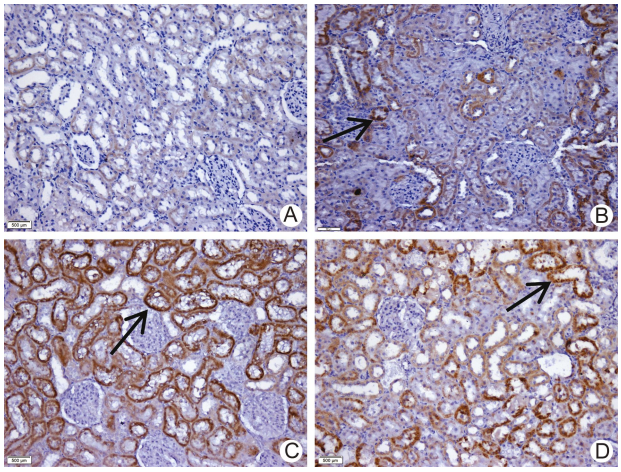
图 5 各组 Nrf2、HO-1 蛋白表达比较

8 各组大鼠肾脏 TGF-β_1 阳性表达比较(图 6、7) 与 KB 组比较,GC 组、JC 组和 YC 组大鼠肾脏 TGF-β_1 表达升高($P<0.01$)。与 GC 组比较,JC 组和 YC 组大鼠肾脏 TGF-β_1 表达升高($P<0.01$)。

讨 论

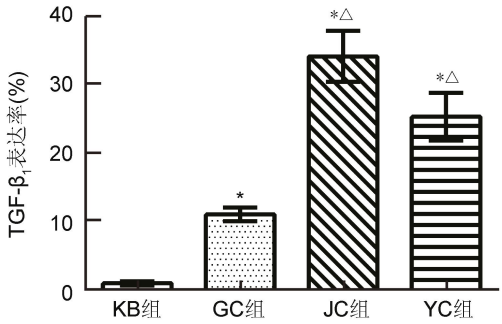
肾脏因其血流灌注率高[10],主要参与各种药物和化学试剂的过滤和浓缩,药物摄取和排泄能力强而成为药物相关毒性最敏感的靶器官之一[11]。因此研究药物肾毒性及机制对指导临床合理用药具有一定的意义。

肾组织 HE 染色能较直观地反映肾组织的损伤程度,本研究中肾组织 HE 染色结果提示,JC 组和 YC 组可见肾小管上皮细胞肿胀、脱落坏死,血管扩张充血和淤血,严重的炎细胞浸润等异常病理变化。GC 组偶



注:A 为 KB 组;B 为 GC 组;C 为 JC 组;D 为 YC 组;黑色箭头所指肾小管处棕黄色深染为阳性表达

图 6 各组大鼠肾脏 TGF-β_1 免疫组化图 (×200)



注:与 KB 组比较,* $P<0.01$;与 GC 组比较,△ $P<0.01$

图 7 各组大鼠肾脏 TGF-β_1 阳性表达率比较

见肾小管出血和上皮细胞脱落。表明 JC 和 YC 对肾脏的损害较为严重,GC 组肾脏损伤最为轻微。

血清 BUN、SCr、UA 可作为反映肾毒性大小的生化指标[12]。作为临床常用检测肾功能的参数,血清中 BUN、SCr 水平升高提示存在肾功能损伤,而嘌呤代谢终产物 UA 则反映了肾脏清除功能,其含量越高表明肾脏清除能力越低,说明肾脏损伤越严重[13]。本研究结果显示 JC 组和 YC 组 SCr、BUN 和 UA 含量较 GC 组和 YC 组均显著上调,提示两者均产生较大的肾毒性,且 JC 组、YC 组肾毒性大于 GC 组;JC 组 BUN 和 UA 含量较 GC 组均显著升高,较 YC 组也明显升高,表明 JC 组产生了明显的肾毒性,且毒性作用大于 GC 组和 YC 组。以上生化结果与肾组织 HE 染色病理学结果一致。

TGF-β_1 是一种强大的促纤维化细胞因子,具有多效性,其阳性表达率是衡量各种肾脏疾病的重要指标,如肾纤维化、炎症等[14,15],通过增加促炎细胞因子的产生,进而加重肾脏毒性[16]。TGF-β_1 过表达可加

重炎症反应和细胞凋亡[15]。因此抑制 TGF-β_1 表达,可以降低肾毒性[17]。本研究发现 JC 组和 YC 组 TGF-β_1 在肾小管强阳性表达,较 GC 组大鼠肾脏 TGF-β_1 阳性表达明显增强,说明 JC、YC 肾脏毒性大于 GC。

肾毒性涉及致病机制较多,细胞氧化应激反应、氧化/抗氧化失衡是其中重要的机制之一[14]。肾毒性和自由基、氧化应激之间有一定的关系[11,18]。肾组织中自由基的过度产生和抗氧化酶活性的过度抑制是触发肾毒性的关键因素[19]。肾功能的改变与脂质过氧化水平的升高和组织抗氧化防御能力的降低有关[20]。氧化应激在药物诱导的肾毒性发展中起关键作用[21]。氧化应激反应中,自由基在细胞内大量形成,过量的自由基抑制肾组织中内源性抗氧化酶 SOD 的活性,增加脂质过氧化物如 MDA 的生成,攻击细胞中的膜脂、DNA 和蛋白质等生物分子导致氧化应激损伤,加重肾损伤[22,23]。MDA 水平显著增加及抗氧化酶 SOD 水平的显著下调会导致肾毒性损伤增加[24]。本研究中与 GC 组比较,JC 组和 YC 组 T-SOD 降低,MDA 升高,说明 JC、YC 可以诱发氧化应激,损伤肾脏,肾毒性大于 GC。

TGF-β_1 激活相关氧化应激通路,如 Nrf2/HO-1 通路,该通路为氧化应激反应中重要的通路之一[25],Nrf2 亦能抑制 TGF-β_1 的表达[15]。Nrf2 是一种氧化应激诱导型转录因子,通过其转录调控作用,调节抗氧化酶如 SOD、HO-1 的表达和活性,通过其抵抗和参与氧化还原稳态的维持,对抑制氧化应激及调节内环境稳态至关重要[15,26,27],可能在各种类型的肾脏疾病中调节氧化剂/抗氧化剂平衡中起关键作用[14]。Nrf2 可激活介导下游抗氧化保护蛋白 HO-1 的表达。HO-1 具有抗氧化应激、抗炎等作用,诱导 HO-1 对肾损伤具有保护作用,进而参与各种氧化应激防御[28]。有毒物质刺激机体后,短时间内 Nrf2/HO-1 通路被激活,保护蛋白 Nrf2/HO-1 水平应激性升高,但长时间有毒物质作用后会导致 Nrf2 和 HO-1 蛋白显著性降低[15]。与这些研究结果一致,本实验 Western Blot 结果显示 JC 组和 YC 组 Nrf2 蛋白含量较 KB 组和 GC 组均降低,且 JC 组降低更显著,而 HO-1 蛋白含量变化情况则进一步显示 JC 组肾毒性大于 YC 组,GC 组肾毒性最小,而且发现 GC 组 Nrf2、HO-1 表达水平略高于 KB 组,这可能与及己的抗氧化和抗炎作用相关[14]。由此可见,JC、YC 肾毒性归因于 Nrf2 表达的抑制,其受到抑制则进一步抑制 HO-1 的表达及抗氧化酶如 SOD 的活性[14]。由于抗氧化酶如 SOD 的活性受到抑制,导致脂质过氧化产物 MDA 水平显著升高,从而导致肾毒性。

本研究结果还显示灌胃给药 7 日后,JC 组和 YC 组体重增长明显比 KB 组和 GC 组变缓,提示二者产生了毒性作用;GC 组、JC 组和 YC 组肾脏指数均出现上升的趋势,提示三者均有不同程度的肾毒性,且 JC、YC 毒性更明显。

综上可得出 JC 组和 YC 组的肾毒性较大,GC 组的肾毒性较小,提示及己的根作为入药部位较安全,相关的毒性机制可能是氧化应激损伤,下一步将采用电镜观察肾脏组织超微结构的变化来进一步探索三者的肾毒性。

利益冲突:无。

参 考 文 献

[1] Sharma S, Joshi A, Hemalatha S. Protective effect of *Withania coagulans* fruit extract on cisplatin-induced nephrotoxicity in rats[J]. Pharmacognosy Res, 2017, 9(4): 354-361.

[2] Tag H, Namsa ND, Mandal M, et al. Antipyretic and antibacterial activity of *Chloranthus erectus* (Buch.-Ham.) Verdcourt leaf extract: A popular folk medicine of Arunachal Pradesh[J]. Indian J Pharmacol, 2010, 42 (5): 273-276.

[3] 赵国平, 陈仁寿主编. 中药大辞典[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2009: 310-311.

[4] 孙淑萍, 李胜利. 及己根醇提物抗炎作用的研究[J]. 中国中医药现代远程教育, 2013, 11(7): 149-150.

[5] 南京中医药大学编著. 中药大辞典(上册)[M]. 第 2 版. 上海: 上海科学技术出版社, 2006: 310-311.

[6] 张武, 朱建华, 程利宝, 等. 急性及己中毒的实验病理学研究[J]. 法医学杂志, 2006, 22(1): 15-17.

[7] 《安徽植物志》协作组编. 安徽植物志[M]. 第 2 卷. 北京: 中国展望出版社, 1986: 378-378.

[8] 江苏新医学院. 中药大辞典(上册)[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1986: 234.

[9] 魏伟, 吴希美, 李元建主编. 药理实验方法学[M]. 第 4 版. 北京: 人民卫生出版社, 2010: 1698.

[10] Kim ES, Lee JS, Akram M, et al. Protective activity of *Dendropanax morbifera* against cisplatin-induced acute kidney injury[J]. Kidney Blood Press Res, 2015, 40(1): 1-12.

[11] Faubel S, Lewis EC, Reznikov L, et al. Cisplatin-induced acute renal failure is associated with an increase in the cytokines interleukin (IL)-1beta, IL-18, IL-6 and neutrophil infiltration in the kidney[J]. J

Pharmacol Exp Ther, 2007, 322(1): 8-15.

[12] Sung JE, Choi JY, Kim JE, et al. Hepatotoxicity and nephrotoxicity of saponin-enriched extract of *Asparagus cochinchinensis* in ICR mice[J]. Lab Anim Res, 2017, 33(2): 57-67.

[13] Wang H, Zhou Z, Hu J, et al. Renal impairment in different phenotypes of Wilson disease [J]. Neurol Sci, 2015, 36(11): 2111-2115.

[14] Hall BE, Wankhade UD, Konkel JE, et al. Transforming growth factor β_3 knock-in ameliorates inflammation due to TGF-β_1 deficiency while promoting glucose tolerance[J]. Biol Chem, 2013, 288 (44): 32074-32092.

[15] Peng XY, Dai CS, Liu QW, et al. Curcumin attenuates on carbon tetrachloride-induced acute liver injury in mice via modulation of the Nrf2/ho-1 and TGF-β_1/smad3 pathway[J]. Molecules, 2018, 23 (1): 215-230.

[16] Kabel AM, Elkhoely AA. Ameliorative effect of coenzyme Q10 and/or candesartan on carboplatin-induced nephrotoxicity: roles of apoptosis, transforming growth factor-β_1, nuclear factor kappa-b and the Nrf2/ho-1 pathway[J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2017, 18(6): 1629-1636.

[17] 景宇, 白亚君, 陶冶. 苦参碱对大鼠慢性环孢素肾毒性模型 TGF-β_1 和 BMP-7 表达的影响[J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2007, 8 (5): 259-262.

[18] Ramesh G, Reeves WB. p38 MAP kinase inhibition ameliorates cisplatin nephrotoxicity in mice[J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2005, 289(1): F166-F174.

[19] Soliman AM, Desouky S, Marzouk M, et al. *Origanum majorana* attenuates nephrotoxicity of cisplatin anticancer drug through ameliorating oxidative stress[J]. Nutrients, 2016, 8(5): 264-272.

[20] Dezoti Fonseca C, Watanabe M, Vattimo Mde F. Role of heme oxygenase-1 in polymyxin B-induced nephrotoxicity in rats[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2012, 56 (10): 5082-5087.

[21] Mora LDO, Antunes LM, Francescato HD, et al. The effects of oral glutamine on cisplatin-induced nephrotoxicity in rats[J]. Pharmacol Res, 2003, 47(6): 517-522.

[22] Conklin KA. Dietary antioxidants during cancer chemotherapy: Impact on chemotherapeutic effectiveness and development of side effects[J]. Nutr Cancer, 2000, 37(1): 1-18.

[23] Han D, Chen W, Gu X, et al. Cytoprotective effect of chlorogenic acid against hydrogen peroxide-induced oxidative stress in MC3T3-E1 cells through PI3K/Akt-mediated Nrf2/HO-1 signaling pathway [J]. Oncotarget, 2017, 8(9): 14680-14692.

[24] Abe Y, Sakairi T, Beeson C, et al. TGF-β_1 stimulates mitochondrial oxidative phosphorylation and generation of reactive oxygen species in cultured mouse podocytes, mediated in part by the mTOR pathway[J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2013, 305(10): 1477-1490.

[25] Churchman AT, Anwar AA, Li FYL, et al. Transforming growth factor- TGF-β_1 elicits Nrf2-mediated antioxidant responses in aortic smooth muscle cells [J]. J Cell Mol Med, 2009, 13 (8B): 2282-2292.

[26] Ibáñez L, Ferrándiz ML, Brines R, et al. Effects of Nrf2 deficiency on bone microarchitecture in an experimental model of osteoporosis[J]. Oxid Med Cell Longev, 2014, 2014: 3 726590.

[27] Genrich G, Kruppa M, Lenk L, et al. The anti-oxidative transcription factor Nuclear factor E2 related factor-2 (Nrf2) counteracts TGF-β_1 mediated growth inhibition of pancreatic ductal epithelial cells -Nrf2 as determinant of pro-tumorigenic functions of TGF-β1 [J]. BMC Cancer, 2016, 16: 155-168.

[28] Choi EM, Suh KS, Kim YJ, et al. Glabridin alleviates the toxic effects of methylglyoxal on osteoblastic MC3T3-E1 cells by increasing expression of the glyoxalase system and Nrf2/HO-1 signaling and protecting mitochondrial function[J]. J Agric Food Chem, 2016, 64(1): 226-235.

(收稿: 2018-06-21 在线: 2019-08-09)

责任编辑: 赵芳芳

中国中西医结合杂志 中国中西医结合杂志 中国中西医结合杂志 中国中西医结合杂志 中国中西医结合杂志