

火绒草黄芪混煎液对系膜增生性肾小球肾炎模型大鼠的改善作用及机制[△]

侯侠^{1*}, 赵玥², 张颖², 贾冬², 仲坤³, 房小楠³, 董笑博³, 齐越^{1#}(1. 江苏省徐州医药高等职业学校药学技术系, 江苏徐州 221116; 2. 辽宁中医药大学附属第二医院药理室, 沈阳 110034; 3. 辽宁中医药大学中医研究生学院, 沈阳 110847)

中图分类号 R965 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2022)19-2359-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2022.19.11



摘要 目的 研究火绒草黄芪混煎液(HRCHQ)对系膜增生性肾小球肾炎(MsPGN)模型大鼠的改善作用及机制。方法 将70只大鼠按体质量分为假手术组($n=10$)和造模组($n=60$)。假手术组大鼠行假手术,造模组大鼠采用免疫学方法(弗氏佐剂+牛血清蛋白+脂多糖)复制MsPGN模型。将造模成功的50只大鼠按体质量随机分为模型组和HRCHQ高、中、低剂量组(4.05、2.03、1.02 g/kg)以及盐酸贝那普利片组(20 mg/kg),每组各10只。假手术组、模型组大鼠灌胃蒸馏水,其余各组大鼠灌胃相应药液15 mL/kg,每天1次,连续5周。末次给药后,测定大鼠血清中总蛋白、白蛋白、尿素氮含量,采用免疫组织化学染色法检测大鼠肾脏组织中转移生长因子 β_1 (TGF- β_1)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)的表达,采用免疫荧光法检测大鼠肾脏组织中补体C3的表达,采用Western blot法检测大鼠肾脏组织中磷脂酰肌醇3激酶/蛋白激酶B/糖原合酶激酶3 β (PI3K/Akt/GSK3 β)信号通路相关蛋白的磷酸化水平及纤连蛋白(FN)的表达水平。结果 与模型组比较,HRCHQ高剂量组大鼠血清中总蛋白、白蛋白含量均显著升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$);血清中尿素氮含量,肾脏组织中TGF- β_1 、TNF- α 、FN、补体C3表达水平和PI3K、Akt、GSK3 β 蛋白的磷酸化水平均显著降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。结论 HRCHQ可通过减少系膜细胞增殖以及抑制PI3K/Akt/GSK3 β 信号通路活性来改善MsPGN。

关键词 火绒草;黄芪;系膜增生性肾小球肾炎;系膜细胞;磷脂酰肌醇3激酶/蛋白激酶B/糖原合酶激酶3 β 信号通路

Improvement effects of Huorongcaohuangqi admixture decoction on mesangial proliferative glomerulonephritis model rats and its mechanism

HOU Xia¹, ZHAO Yue², ZHANG Ying², JIA Dong², ZHONG Kun³, FANG Xiaonan³, DONG Xiaobo³, QI Yue¹(1. Dept. of Pharmaceutical Technology, Jiangsu Provincial Xuzhou Pharmaceutical Vocational College, Jiangsu Xuzhou 221116, China; 2. Dept. of Pharmacology, the Second Affiliated Hospital of Liaoning University of TCM, Shenyang 110034, China; 3. College of Graduate School, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110847, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE** To study the improvement effects of Huorongcaohuangqi (HRCHQ) admixture decoction on mesangial proliferative glomerulonephritis (MsPGN) model rats and its mechanism. **METHODS** Totally 70 rats were divided into sham operation group ($n=10$) and modeling group ($n=60$) according to body weight. Sham operation group underwent sham operation, and MsPGN model was induced by immunological method (Freund's adjuvant+BSA+lipo polysaccharide) in modeling group. After successfully modeling, 50 rats were randomly divided into model group, HRCHQ high-dose, medium-dose and low-dose groups (4.05, 2.03, 1.02 g/kg), Benazepril hydrochloride tablet group (20 mg/kg), with 10 rats in each group. Sham operation group and model group were given distilled water intragastrically; other groups were given relevant medicine intragastrically 15 mL/kg, once a day, for consecutive 5 weeks. After last administration, the contents of total protein, albumin and urea nitrogen were determined in the serum of rats. The expressions of transforming growth factor β_1 (TGF- β_1) and tumor necrosis factor α (TNF- α) in renal tissue were detected by immunohistochemistry; the expression of complement C3 in renal tissue was detected by immunofluorescence. The phosphorylation level of phosphatidylinositol 3 kinase/protein kinase B/glycogen synthase kinase 3 β (PI3K/Akt/GSK-3 β) signal pathway related proteins and expression level of fibronectin (FN) in renal tissue were detected by Western blot. **RESULTS** Compared with model group, the serum contents of total protein and albumin were increased significantly in HRCHQ high-dose group ($P<0.05$ or $P<0.01$). The serum content of urea nitrogen, the expressions of TGF- β_1 , TNF- α , FN and complement C3, and the phosphorylation levels of PI3K, Akt and GSK3 β protein were all decreased significantly ($P<0.05$ or $P<0.01$).

[△]基金项目 国家重大新药创制中药新品种研发及其关键创新技术项目(No.2017ZX09301019);辽宁省科技厅课题(No.2019-ZD-0843, No.2021-BS-046)

*第一作者 副教授,硕士。研究方向:中药新药药理、神经药理。
E-mail:Houxia_75@163.com

#通信作者 教授,博士。研究方向:中药新药药理、神经药理。
E-mail:lnzyxyqy2003@163.com

CONCLUSIONS HRCHQ can improve MsPGN by reducing the proliferation of mesangial cells and inhibiting the activity of PI3K/Akt/GSK3 β signaling pathway.

KEYWORDS *Leontopodium leontopodioides*; *Astragalus membranaceus*; mesangial proliferative glomerulonephritis; mesangial cell; PI3K/Akt/GSK-3 β signaling pathway

系膜增生性肾小球肾炎(mesangial proliferative glomerulonephritis, MsPGN)是以肾小球系膜细胞增殖和细胞外基质沉积为特征的肾小球疾病^[1]。尽管MsPGN是终末期肾病的主要原因,但其机制尚未完全阐明^[2]。相关研究发现,免疫复合物清除障碍、免疫调节功能障碍和细胞凋亡均可导致MsPGN^[3]。目前,临床上常联合糖皮质激素、免疫抑制剂、抗血小板药物和抗血脂药物等来治疗MsPGN,但疗效较差^[4]。因此,开发新的治疗MsPGN的药物具有重要意义。

火绒草为菊科火绒草属植物火绒草 *Leontopodium leontopodioides* (Willd.) Beauv. 的全草,具有清热凉血、益肾利尿、消炎利尿的功效^[5],常用于抑制炎症及消除水肿^[6]。黄芪为膜荚黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. 的干燥根,具有益气固表、健脾温中、利水消肿的功效,临床上常用于肾炎的治疗^[7]。研究发现,尿蛋白是反映肾脏病变严重程度的重要标志,尿蛋白的增加可加速MsPGN疾病的进程^[8]。本课题组前期研究发现,火绒草黄芪混煎液(HRCHQ)可降低MsPGN模型大鼠尿蛋白含量,改善肾组织的病理学变化^[9]。相关研究发现,磷脂酰肌醇3激酶/蛋白激酶B/糖原合酶激酶3 β (phosphatidylinositol 3 kinase/protein kinase B/glycogen synthase kinase 3 β , PI3K/Akt/GSK3 β) 信号通路在MsPGN的病理过程中具有重要作用,激活该信号通路可促进系膜细胞增殖及细胞外基质增生^[10]。另外,抑制肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor α , TNF- α)、转移生长因子 β_1 (transforming growth factor β_1 , TGF- β_1)、补体C3、纤连蛋白(fibronectin, FN)的表达,对改善肾功能具有重要作用^[11]。基于此,笔者建立MsPGN大鼠模型,探讨HRCHQ对该模型大鼠TNF- α 、TGF- β_1 、补体C3、FN表达的影响及其对PI3K/Akt/GSK3 β 信号通路的调控作用,以期HRCHQ治疗MsPGN提供实验依据。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器有BX-53型显微镜(日本Olympus公司)、Neofuge 13R型酶标仪(美国Bio Rad公司)、Tanon 5200型全自动化学分光图像分析系统(上海天能科技有限公司)、Revolve型荧光显微镜(美国Echo公司)。

1.2 主要药品与试剂

火绒草和黄芪均购自辽宁中医药大学附属第二医院药剂科,经辽宁中医药大学第二临床学院药物分析室尤献民教授鉴定为火绒草 *L. leontopodioides* (Willd.)

Beauv. 和膜荚黄芪 *A. membranaceus* (Fisch.) Bge.。盐酸贝那普利片(阳性对照药,批号X2657,规格10 mg)购自北京诺华制药有限公司;牛血清蛋白(bovine serum albumin, BSA)、弗氏完全佐剂、弗氏不完全佐剂(批号分别为WXBC7359V、SLBV6895、SLBT5128)均购自美国Sigma公司;脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)(批号1116L031)购自北京索莱宝科技有限公司;尿素氮试剂盒(批号20180920)和白蛋白试剂盒(批号20180820)购自南京建成生物工程研究所;兔抗补体C3、 β -肌动蛋白(β -actin)多克隆抗体(批号分别为AH10106155、bs-10966R)购自北京博奥森生物技术有限公司;FITC标记的羊抗兔免疫球蛋白G(IgG)二抗(批号BST13H30C05)购自武汉博士德生物工程有限公司;兔抗TNF- α 、TGF- β_1 、PI3K、Akt、磷酸化Akt(p-Akt)、磷酸化PI3K(p-PI3K)、FN多克隆抗体(批号分别为EPR21753-109、EPR21143、EPR18702、EPR16798、EPR18853、EPR-18702、EPR2311025)均购自美国Abcam公司;兔抗GSK3 β 、磷酸化GSK3 β (p-GSK3 β)多克隆抗体(批号分别为12456T、9323T)均购自美国Cell Signaling Technology公司;其余试剂均为分析纯,水为纯净水。

1.3 动物

本研究所用动物为SPF级健康SD大鼠,雄性,共70只,体质量180~220 g,购自辽宁长生生物技术有限公司,动物生产许可证号为SCXY(辽)2018-0001。所有受试动物于辽宁中医药大学实验动物中心饲养。饲养室温度为20~23 $^{\circ}$ C,湿度为50%~60%。

2 方法

2.1 HRCHQ的制备

取火绒草150 g、黄芪300 g,加4 500 mL水,浸泡30 min后,煎煮2 h,滤过,收集滤液;残渣加3 000 mL水,煎煮1 h,滤过,收集滤液;残渣再次加1 500 mL水,煎煮0.5 h,滤过,收集滤液。合并3次滤液,浓缩成质量浓度为0.27 g/mL的HRCHQ(以生药量计),置于4 $^{\circ}$ C下保存,待用。

2.2 分组、造模与给药

将70只大鼠按体质量分为假手术组($n=10$)和造模组($n=60$)。造模组大鼠参考文献[12-13]的免疫学方法复制MsPGN模型,具体如下:大鼠经戊巴比妥钠腹腔注射(50 mg/kg)麻醉后,剃毛,切除大鼠左侧肾脏;肾脏切除术后第2周末,大鼠皮下注射0.1 mL A液(即弗氏完全佐剂0.1 mL+3.0 mg BSA);第3周末和第4周末大鼠皮下注射0.1 mL B液(即弗氏不完全佐剂0.1 mL+3.0

mg BSA);第5周起大鼠腹腔注射BSA 0.5 mg,每天增加0.5 mg直至10.0 mg;第6周末大鼠尾静脉注射LPS 100 μ g。假手术组大鼠麻醉后仅暴露左侧肾脏,不做切除,其余步骤同造模组,皮下、腹腔均注射生理盐水。造模结束后,检测大鼠末次注射后24 h的尿蛋白,当造模大鼠的尿蛋白水平为假手术组大鼠的3倍时,表明造模成功^[4]。本研究造模成功的大鼠共50只。

将造模成功的50只大鼠按体质量分为模型组和HRCHQ高、中、低剂量组(4.05、2.03、1.02 g/kg)以及盐酸贝那普利片组(阳性对照组,20 mg/kg),每组各10只。各给药组剂量参考文献[9]设置。假手术组、模型组大鼠灌胃蒸馏水,其余各组大鼠灌胃相应药液,灌胃体积均为15 mL/kg,每天1次,连续5周。

2.3 大鼠血清中总蛋白、白蛋白、尿素氮含量的测定

各组大鼠于末次给药后1 h麻醉,暴露腹主动脉后采血,静置15 min后,以2 500 r/min离心15 min,取上清液,按试剂盒说明书相关方法检测大鼠血清中总蛋白、白蛋白、尿素氮含量。

2.4 大鼠肾脏组织中TGF- β_1 、TNF- α 蛋白表达水平的检测

采用免疫组织化学染色法进行检测。各组大鼠腹主动脉采血后,摘取右侧肾脏,将肾脏的一半置于-80 $^{\circ}$ C下冷冻保存,另一半固定于4%多聚甲醛中。取固定于4%多聚甲醛中的肾脏(每组取6只),常规制备厚度为5 μ m的石蜡切片,经脱蜡、脱水后,以3%过氧化氢灭活内源性过氧化物酶10 min;将切片浸入0.01 mol/L枸橼酸盐溶液(pH 6.0)中加热至沸腾,冷却至室温后,以5%BSA封闭25 min;加入TGF- β_1 、TNF- α 一抗(稀释度均为1:100),4 $^{\circ}$ C孵育过夜;滴加二抗(稀释度为1:2 000),37 $^{\circ}$ C孵育35 min;经二氨基联苯胺显色后,以苏木素复染,再脱水、透明、封片。每组大鼠各取10张连续切片,每张切片随机选取5个不同的视野,于光学显微镜下观察TGF- β_1 、TNF- α 蛋白的表达情况。以细胞内表达棕黄色颗粒为阳性染色。采用JEOA 801D形态学图像分析系统计算阳性染色的光密度值,用来表示蛋白的表达水平。

2.5 大鼠肾脏组织中补体C3的表达水平检测

采用免疫荧光法进行检测。取“2.4”项下经0.01 mol/L枸橼酸盐溶液(pH 6.0)煮沸并冷却至室温的切片,以5%BSA封闭30 min,加入补体C3一抗(稀释度为1:500),4 $^{\circ}$ C孵育过夜;滴加二抗(稀释度为1:1 000),37 $^{\circ}$ C避光孵育30 min;弃去抗体,避光,于显微镜下观察,拍照,并用Image J软件检测荧光强度,用来表示蛋白表达水平。

2.6 大鼠肾脏组织中PI3K/Akt/GSK3 β 信号通路相关蛋白磷酸化水平和FN表达水平的检测

采用Western blot法进行检测。每组选取“2.4”项下冷冻保存的5个肾脏组织,以RIPA裂解提取蛋白,BCA

法测定蛋白浓度。蛋白经变性后,进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳,转膜,室温封闭2 h,加入PI3K(稀释度为1:500)、p-PI3K(稀释度为1:300)、Akt(稀释度为1:400)、p-Akt(稀释度为1:200)、p-GSK3 β (稀释度为1:200)、GSK3 β (稀释度为1:400)、FN(稀释度为1:1 000)、 β -actin(稀释度为1:1 000)一抗,4 $^{\circ}$ C孵育过夜;加入二抗(稀释度为1:5 000),室温孵育2 h;加入发光液进行曝光,经凝胶成像系统成像后,采用Image J软件分析目的蛋白的灰度值,以p-PI3K与PI3K、p-Akt与Akt、p-GSK3 β 与GSK3 β 的灰度值比值分别表示PI3K、Akt、GSK3 β 蛋白的磷酸化水平,以FN蛋白与内参 β -actin蛋白的灰度值比值表示FN蛋白的表达水平。

2.7 统计学方法

采用SPSS 21.0统计学软件进行数据分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用LSD-*t*检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

3 结果

3.1 HRCHQ对模型大鼠血清中总蛋白、白蛋白、尿素氮含量的影响

与假手术组相比,模型组大鼠血清中总蛋白、白蛋白含量均显著降低,尿素氮含量显著升高($P<0.01$)。与模型组相比,盐酸贝那普利片组、HRCHQ高剂量组大鼠血清中总蛋白、白蛋白含量均显著升高,尿素氮含量均显著降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$),HRCHQ中剂量组大鼠血清中白蛋白含量显著升高($P<0.05$)。结果见表1。

表1 各组大鼠血清中总蛋白、白蛋白、尿素氮含量的测定结果($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	总蛋白(μ g/mL)	白蛋白(g/L)	尿素氮(mmol/L)
假手术组	54.43 \pm 4.87	32.40 \pm 1.40	5.87 \pm 0.93
模型组	32.38 \pm 9.10 ^a	24.25 \pm 0.86 ^a	10.82 \pm 2.11 ^a
HRCHQ高剂量组	46.97 \pm 8.05 ^b	31.74 \pm 5.55 ^b	7.17 \pm 1.51 ^b
HRCHQ中剂量组	40.83 \pm 13.89	30.13 \pm 5.20 ^b	9.66 \pm 3.32
HRCHQ低剂量组	38.68 \pm 14.85	27.71 \pm 6.30	9.91 \pm 3.63
盐酸贝那普利片组	48.03 \pm 4.181 ^c	31.11 \pm 3.18 ^c	6.37 \pm 3.67 ^c

a:与假手术组相比, $P<0.01$;b:与模型组相比, $P<0.05$;c:与模型组相比, $P<0.01$

3.2 HRCHQ对模型大鼠肾脏组织中TGF- β_1 、TNF- α 蛋白表达的影响

与假手术组相比,模型组大鼠肾脏组织中有大量TGF- β_1 、TNF- α 蛋白表达,其光密度值均显著升高($P<0.05$);与模型组相比,HRCHQ高剂量组、盐酸贝那普利片组大鼠肾脏组织中有少量TGF- β_1 、TNF- α 蛋白表达,其光密度值均显著降低($P<0.05$)。结果见图1、表2。

3.3 HRCHQ对模型大鼠肾脏组织中补体C3表达的影响

与假手术组相比,模型组大鼠肾小球系膜区补体C3沉积显著增加,其荧光强度值显著升高($P<0.05$);与模型组相比,HRCHQ高剂量组、盐酸贝那普利片组大鼠肾小球系膜区补体C3沉积显著减少,其荧光强度值均显著降低($P<0.05$)。结果见图2、表2。

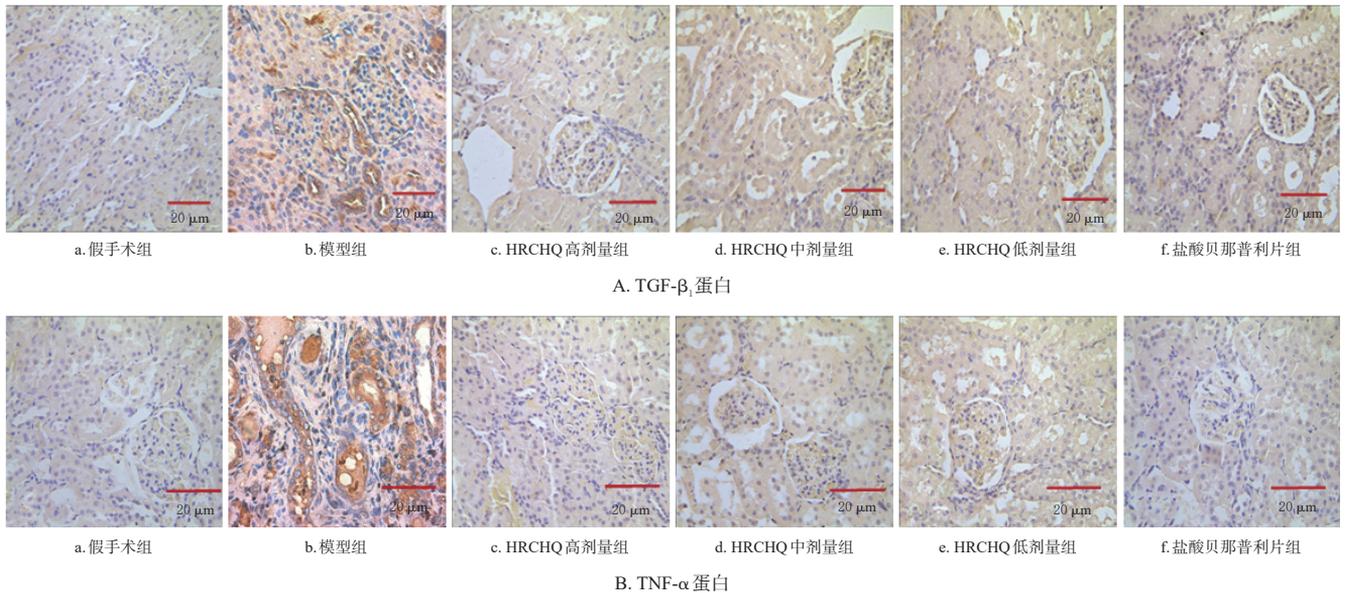


图1 各组大鼠肾脏组织中TGF-β₁、TNF-α蛋白表达的免疫组化图

表2 各组大鼠肾脏组织中TGF-β₁、TNF-α光密度及补体C3荧光强度的检测结果($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	TGF-β ₁	TNF-α	补体C3
假手术组	0.10 ± 0.02	0.08 ± 0.01	42.11 ± 4.02
模型组	0.23 ± 0.03 ^a	0.22 ± 0.02 ^a	85.31 ± 6.78 ^a
HRCHQ高剂量组	0.12 ± 0.03 ^b	0.10 ± 0.02 ^b	54.12 ± 5.08 ^b
HRCHQ中剂量组	0.18 ± 0.03	0.19 ± 0.03	78.19 ± 5.43
HRCHQ低剂量组	0.21 ± 0.04	0.20 ± 0.02	80.21 ± 6.14
盐酸贝那普利片组	0.14 ± 0.02 ^b	0.13 ± 0.02 ^b	48.14 ± 3.19 ^b

a: 与假手术组相比, $P < 0.05$; b: 与模型组相比, $P < 0.05$

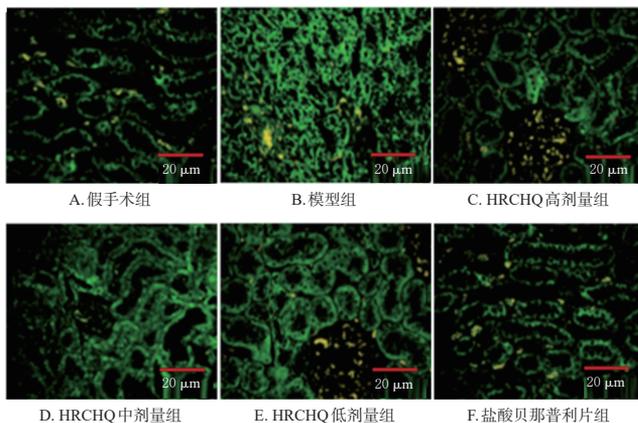


图2 各组大鼠肾脏组织中补体C3表达的免疫荧光图

3.4 HRCHQ对MsPGN模型大鼠肾脏组织中PI3K/Akt/GSK3β信号通路相关蛋白及FN表达的影响

与假手术组相比,模型组大鼠肾脏组织中PI3K、Akt、GSK3β蛋白的磷酸化水平和FN蛋白表达水平均显著升高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);与模型组相比,HRCHQ高剂量组、盐酸贝那普利片组大鼠肾脏组织中上述指标水平均显著逆转($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),HRCHQ中剂量组大鼠肾脏组织中FN蛋白表达水平显著降低($P < 0.05$)。结果见图3、表3。

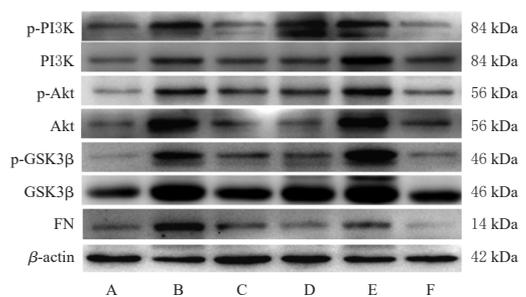


图3 各组大鼠肾脏组织中PI3K/Akt/GSK3β信号通路相关蛋白及FN蛋白表达的电泳图

表3 各组大鼠肾脏组织中PI3K/Akt/GSK3β信号通路相关蛋白磷酸化水平及FN蛋白表达水平的检测结果($\bar{x} \pm s, n=5$)

组别	p-PI3K/PI3K	p-Akt/Akt	p-GSK3β/GSK3β	FN/β-actin
假手术组	0.42 ± 0.03	0.40 ± 0.03	0.21 ± 0.01	0.28 ± 0.02
模型组	0.91 ± 0.02 ^a	0.83 ± 0.01 ^a	0.58 ± 0.02 ^a	0.69 ± 0.03 ^b
HRCHQ高剂量组	0.58 ± 0.02 ^c	0.62 ± 0.03 ^c	0.25 ± 0.02 ^c	0.34 ± 0.02 ^d
HRCHQ中剂量组	0.71 ± 0.04	0.75 ± 0.02	0.53 ± 0.02	0.41 ± 0.03 ^c
HRCHQ低剂量组	0.83 ± 0.02	0.77 ± 0.03	0.55 ± 0.03	0.64 ± 0.02
盐酸贝那普利片组	0.53 ± 0.04 ^c	0.58 ± 0.02 ^c	0.41 ± 0.02 ^c	0.31 ± 0.01 ^d

a: 与假手术组相比, $P < 0.05$; b: 与假手术组相比, $P < 0.01$; c: 与模型组相比, $P < 0.05$; d: 与模型组相比, $P < 0.01$

4 讨论

MsPGN是一种以肾小球病变为主的慢性肾脏疾病,临床上主要表现为尿蛋白、血尿、水肿、高血压及肾功能障碍。血清中尿素氮含量的升高以及白蛋白、总蛋白含量的降低可诱导TGF-β₁及TNF-α的表达,加重肾衰竭^[15]。系膜细胞增殖和细胞外基质沉积是MsPGN的主要病理特征,TGF-β₁及TNF-α表达增加,不仅参与肾脏纤维化过程中的细胞外基质聚集,还可参与系膜细胞增殖、炎症浸润等多个途径,如MAPK及PI3K/Akt/

GSK3 β 信号途径,促进肾组织纤维化^[16-18]。补体 C3 可沉积于肾脏,当其表达增加时,可促进系膜细胞增殖,从而释放多种炎症因子,进而加重肾损伤^[19]。FN 是细胞外基质的主要成分,具有较强的细胞黏附活性,当肾脏细胞受损而发生炎症反应时,可使 FN 合成增多而形成积聚,进而参与 MsPGN 的进程^[20]。本研究结果发现,HRCHQ 可降低 MsPGN 模型大鼠血清中尿素氮含量,增加血清中白蛋白及总蛋白含量,减少肾小球系膜区补体 C3 的沉积,下调肾脏组织中 TGF- β_1 、TNF- α 、FN 蛋白的表达,表明 HRCHQ 可能通过减少系膜细胞增殖来改善 MsPGN 模型大鼠的肾功能。

PI3K 是由 2 种亚单位构成的二聚体,包括具有催化作用的 p110 和发挥调节作用的 p85^[21]。Akt 是 PI3K/Akt 信号转导通路中与 MsPGN 疾病相关的重要下游靶标分子,作为 GSK3 β 的上游因子,Akt 可以从多个环节促进 GSK3 β 的转录活性^[22],激活 PI3K/Akt/GSK3 β 信号通路,可加重系膜细胞增殖及细胞外基质的增生^[23]。本研究结果发现,HRCHQ 可降低 MsPGN 模型大鼠肾脏组织中 PI3K、Akt、GSK3 β 蛋白的磷酸化水平,表明 HRCHQ 可能是通过抑制 PI3K/Akt/GSK-3 β 信号通路活性来改善 MsPGN 模型大鼠的肾功能。

综上所述,HRCHQ 可通过减少系膜细胞增殖以及抑制 PI3K/Akt/GSK3 β 信号通路活性来改善 MsPGN。

参考文献

[1] FLOEGE J, AMANN K. Primary glomerulonephritides [J]. *Lancet*, 2016, 387(10032):2036-2048.

[2] BAI J X, GENG W J, MEI Y, et al. Effect of Huaier on the proliferation of mesangial cells in anti-thy-1 nephritis [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 42(6):2441-2452.

[3] STRIKER L J, DOI T, ELLIOT S, et al. The contribution of glomerular mesangial cells to progressive glomerulosclerosis[J]. *Semin Nephrol*, 1989, 9(4):318-328.

[4] CYBULSKY A V, WALSH M, KNOLL G, et al. Canadian Society of Nephrology Commentary on the 2012 KDIGO clinical practice guideline for glomerulonephritis: management of glomerulonephritis in adults[J]. *Am J Kidney Dis*, 2014, 63(3):363-377.

[5] 潘春媛,尤海丹,贺杰,等. 火绒草正丁醇层化学成分的分离与鉴定[J]. *沈阳药科大学学报*, 2010, 27(6):436-439.

[6] 姜鸿,侯政,邸子真,等. 火绒草抗急性炎症药效物质基础初步研究[J]. *中成药*, 2010, 32(6):1048-1050.

[7] 郭维文,黎帅,陈玲玲,等. 黄芪甲苷对糖尿病肾病大鼠肾脏的保护作用及其机制[J]. *中国病理生理杂志*, 2014, 30(2):351-354.

[8] ZOJA C, MORIGI M, REMUZZI G. Proteinuria and phenotypic change of proximal tubular cells[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2003, 14(Suppl 1):S36-S41.

[9] 齐越,仲坤,贾冬,等. 火绒草联合黄芪对系膜增生性肾小球肾炎模型大鼠肾功能的改善作用及机制研究[J]. 中

国药房, 2020, 31(15):1842-1848.

[10] 段文婷. 黄芪甲苷调控 PI3K/Akt/GSK-3 β 信号通路对高胰岛素环境下肾小球系膜细胞的保护作用及其机制[D]. 合肥:安徽医科大学, 2016.

[11] 孟晓华,徐湜潺,冯晓明,等. 黄芪山甲方对单侧输尿管结扎致肾间质纤维化 TGF- β_1 及纤维粘连蛋白(FN)表达的影响[J]. *四川中医*, 2015, 33(1):54-56.

[12] 贾慧,邹万忠. 改良慢性血清病性大鼠系膜增生性肾炎模型的建立[J]. *肾脏病与透析肾移植杂志*, 1996, 5(3):21-25,98.

[13] 张磊. 参地颗粒对慢性肾小球肾炎患者和系膜增生性肾炎模型大鼠 T 细胞亚群及足细胞的影响[D]. 合肥:安徽中医药大学, 2016.

[14] ALANS, ŞALVAE, YILMAZ İ, et al. The effectiveness of chitosan-mediated silencing of PDGF-B and PDGFR- β in the mesangial proliferative glomerulonephritis therapy[J]. *Exp Mol Pathol*, 2019, 110:104280.

[15] HUANG Y J, YANG X Q, ZHANG Y N, et al. Correlation of urine protein/creatinine ratios to 24-h urinary protein for quantitating proteinuria in children[J]. *Pediatr Nephrol*, 2020, 35(3):463-468.

[16] 杨奇茹,李国霞,李宝丽,等. 扶肾降浊方剂对肾小球系膜增生性肾炎大鼠肾脏组织 TGF- β_1 及 CTGF 表达的影响[J]. *山东医药*, 2014, 54(3):29-31.

[17] HWANG M, KIM H J, NOH H J, et al. TGF-beta1 siRNA suppresses the tubulointerstitial fibrosis in the kidney of ureteral obstruction[J]. *Exp Mol Pathol*, 2006, 81(1):48-54.

[18] TAKABATAKE Y, ISAKA Y, MIZUI M, et al. Chemically modified siRNA prolonged RNA interference in renal disease[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, 363(2):432-437.

[19] 潘艳子,陈新政,马宝梅. 黄芪对原发性肾小球肾炎患者血清白细胞介素-17 和肿瘤坏死因子- α 水平的影响[J]. *新乡医学院学报*, 2015, 32(12):1098-1100.

[20] STANGOU M, BHANGAL G, LAI P C, et al. Effect of IL-11 on glomerular expression of TGF-beta and extracellular matrix in nephrotoxic nephritis in Wistar Kyoto rats [J]. *J Nephrol*, 2011, 24(1):106-111.

[21] MARTINI M, DE SANTIS M C, BRACCINI L, et al. PI3K/Akt signaling pathway and cancer: an updated review[J]. *Ann Med*, 2014, 46(6):372-383.

[22] 王晓南,吴青,杨旭,等. 雷公藤红素对白血病细胞 Akt 信号通路的影响及在细胞凋亡中的作用[J]. *中国中西医结合杂志*, 2011, 31(2):228-232.

[23] BALAKRISHNAN B, CHEN W, TANG M S, et al. Galactose-1 phosphate uridylyltransferase (GalT) gene: a novel positive regulator of the PI3K/Akt signaling pathway in mouse fibroblasts[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2016, 470(1):205-212.

(收稿日期:2022-03-22 修回日期:2022-08-21)

(编辑:唐晓莲)