

[药 理]

益肾化湿颗粒对抗 Thy-1 型肾炎大鼠肾组织中 PCNA、Akt 表达的影响

董王钰¹, 杨 锐¹, 张春江¹, 许晓刚¹, 陶 林^{1,2}, 杨晓萍^{1*}

(1. 石河子大学医学院第一附属医院, 新疆 石河子 832000; 2. 石河子大学医学院, 新疆 石河子 832000)

摘要: 目的 通过建立大鼠抗 Thy-1 型肾炎模型探究益肾化湿颗粒对系膜增生性肾小球肾炎 (MsPGN) 的作用机制。方法 60 只大鼠, 随机分为空白组、模型组、缬沙坦组 (8.5 mg/kg) 及益肾化湿颗粒低、高剂量组 (3.125、6.25 g/kg), 均行左肾切除术, 7 d 后, 经尾静脉单次注射 Thy-1 抗体, 建立不可逆性抗 Thy-1 型 MsPGN 大鼠模型, 空白组尾静脉单次注射生理盐水。造模完成后灌胃给予相应药物, 空白组和模型组灌胃给予生理盐水, 连续 6 周。记录大鼠生理状况, 检测 24 h 尿蛋白、血清肌酐和尿素氮水平, HE、Masson 染色观察大鼠肾组织病理变化, Western blot 检测肾组织 Akt、p-Akt、PCNA 蛋白表达, RT-qPCR 检测肾组织 *Akt*、*PCNA* mRNA 表达。结果 与模型组比较, 益肾化湿颗粒各剂量组大鼠体重增加 ($P<0.05$), 24 h 尿蛋白、血清肌酐和尿素氮水平、肾组织病理评分、*PCNA* mRNA 表达均降低 ($P<0.05$); 益肾化湿颗粒高剂量组大鼠肾组织 PCNA、p-Akt 蛋白表达降低 ($P<0.05$)。结论 益肾化湿颗粒能改善 MsPGN 大鼠蛋白尿、肾功能及肾组织病理损伤, 从而延缓肾脏病变, 其机制可能与抑制 PCNA、p-Akt 表达有关。

关键词: 益肾化湿颗粒; 系膜增生性肾小球肾炎; PCNA; Akt

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2022)09-2799-06

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2022.09.009

Effects of Yishen Huashi Granules on the renal expression of PCNA and Akt in rats with anti-Thy-1 nephritis

DONG Wang-yu¹, YANG Rui¹, ZHANG Chun-jiang¹, XU Xiao-gang¹, TAO Lin^{1,2},
YANG Xiao-ping^{1*}

(1. The First Hospital Affiliated to School of Medicine, Shihezi University, Shihezi 832000, China; 2. School of Medicine, Shihezi University, Shihezi 832000, China)

ABSTRACT: **AIM** To explore the mechanism of Yishen Huashi Granules on mesangial proliferative glomerulonephritis (MsPGN) using the rat models of anti-Thy-1 nephritis. **METHODS** Sixty rats were randomly divided into blank group, model group, valsartan group (8.5 mg/kg), and groups for low dose and high dose Yishen Huashi Granules use (3.125, 6.25 g/kg). Seven days after all rats' left nephrectomy, a single injection of Thy-1 antibody was performed through the tail vein to establish an irreversible anti-Thy-1 MsPGN rat model, and normal saline was dosed upon the blank group, after which 6-week of corresponding drugs (normal saline for the blank group and model group) were administered by gavage. The rats had their physiological conditions recorded; their levels of 24 hour urinary protein elimination, levels of serum creatinine and urea nitrogen detected; their renal pathological changes observed by HE and Masson staining; their renal protein expressions of Akt, p-Akt, and

收稿日期: 2022-03-13

基金项目: 国家自然科学基金项目 (82160235); 益肾化湿颗粒临床应用研究和基础研究开放课题 (中西医结合肾脏病分会康药合字 2020385)

作者简介: 董王钰 (1990—), 女, 硕士, 主治医师, 研究方向为临床内科肾脏病诊疗。Tel: 15299932615, E-mail: 289634957@qq.com

* 通信作者: 杨晓萍 (1965—), 女, 博士, 主任医师, 硕士生导师, 研究方向为临床内科肾脏病诊疗。Tel: 13579458071, E-mail: sbkyxp@163.com

PCNA detected by Western blot; and their renal mRNA expressions of *Akt* and *PCNA* detected by RT-qPCR as well. **RESULTS** Compared with the model group, Yishen Huashi Granules groups shared weight gain in the rats ($P < 0.05$), and decreased levels of 24 hour urinary protein elimination, levels of serum creatinine and urea nitrogen, renal tissue pathological score, and *PCNA* mRNA expression ($P < 0.05$). In addition, the group intervened with high dose of Yishen Huashi Granules were observed with decreased renal protein expressions of PCNA and p-Akt ($P < 0.05$). **CONCLUSION** Inhibiting PCNA and p-Akt expressions, Yishen Huashi Granules improve MsPGN rats' proteinuria, renal functions impairment and renal pathological damage to delay their kidney lesions.

KEY WORDS: Yishen Huashi Granules; mesangial proliferative glomerulonephritis; PCNA; Akt

系膜增生性肾小球肾炎 (mesangial proliferative glomerulonephritis, MsPGN) 是全球最常见的肾小球肾炎类型之一^[1], 其基本病理特征为肾小球系膜细胞增殖和/或系膜细胞外基质沉积增多^[2]。有研究表明, 随着系膜细胞增生程度的加重, 蛋白尿、总胆固醇、甘油三酯可随之升高, 并伴随血清白蛋白的降低^[3]。因此, 抑制系膜细胞增殖对改善 MsPGN 肾功能、延缓病程进展至关重要。既往研究表明, 益肾化湿颗粒具有抑制氧化应激、炎症、细胞凋亡、增殖的作用^[4-5]。因此, 本研究通过建立不可逆性抗 Thy-1 型 MsPGN 大鼠模型, 观察肾组织病理变化, 检测血清肾功能相关指标以及肾组织中 PCNA、Akt 蛋白和 mRNA 表达, 探索益肾化湿颗粒对 MsPGN 疾病的治疗作用及调控机制, 并探讨其与增殖的关系。

1 材料

1.1 动物 SPF 级雄性 SD 大鼠 60 只, 体质量 (200 ± 20) g, 6 周龄, 购自新疆医科大学动物实验中心, 实验动物生产许可证号 SCXK (新) 2018-0002, 实验动物使用许可证号 SYXK (新) 2018-0003。大鼠饲养屏障环境为温度 (23 ± 3) °C, 相对湿度 40% ~ 70%, 自由进食饮水。实验经石河子大学伦理委员会批准 [2020 院伦理实字 (177) 号 (No. 01)]。

1.2 试剂与药物 益肾化湿颗粒 (批号 20200503, 10 g/袋) 购自广州康臣药业有限公司, 完全溶解于 45 °C 生理盐水中, 配制成 500 mg/mL 药液备用; 缬沙坦分散片 (批号 20210112, 80 mg/片) 购自海南皇隆制药股份有限公司, 研磨成粉后溶解于 45 °C 生理盐水中, 配制成 2 mg/mL 药液。兔抗大鼠 Thy1 多克隆抗体、蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt) (货号 bs-6951R)、p-Akt (Thr308) (货号 bs-2720R)、增殖细胞核抗原 (proliferating cell nuclear antigen, PCNA) (货号 bs-

2007R) 抗体购自北京博奥森生物技术有限公司; 尿蛋白定量测试盒 (批号 C035-2-1) 购自南京建成生物工程研究所有限公司; 山羊抗兔 IgG H&L (HRP) (货号 ab205718)、山羊抗小鼠 IgG H&L (HRP) (货号 ab205719) 购自英国 Abcam 公司; β -actin 抗体 (批号 100166-MM10) 购自北京义翘神州科技股份有限公司。

1.3 仪器 酶标仪、蛋白转膜仪 (美国 Bio-Rad 公司); 显微镜 (日本尼康公司); 高速冷冻离心机 (美国赛默飞世尔科技公司); 微量分光光度计 (杭州奥盛仪器有限公司); 电泳仪 (北京六一生物科技有限公司); 凝胶成像系统 (上海天能科技有限公司); 实时定量 PCR 仪 (美国 ABI 公司)。

2 方法

2.1 动物造模、分组与给药 大鼠适应性饲养 1 周后, 随机分为 5 组, 即空白组、模型组、缬沙坦组 (8.5 mg/kg) 及益肾化湿颗粒低、高剂量组 (3.125、6.25 g/kg), 每组 12 只, 均行左肾切除术, 7 d 后, 除空白组外, 其余 4 组大鼠均经尾静脉单次注射 2 mg/kg Thy-1 抗体, 建立不可逆性 MsPGN 大鼠模型, 空白组尾静脉单次注射等体积生理盐水。造模完成后, 各给药组灌胃给予相应剂量药物, 空白组和模型组灌胃给予等体积生理盐水, 连续 6 周。

2.2 样本采集 于第 7、42 天灌胃结束后, 随机各取 6 只大鼠, 使用代谢鼠笼收集 24 h 尿液, 4 °C、1 500 r/min 离心 5 min, 取上清液单独分装, 保存于 -80 °C 冰箱; 于第 8、43 天, 将大鼠固定于操作台, 麻醉后开腹, 经腹主动脉取血 4 mL, 4 °C、3 000 r/min 离心 10 min, 取上清液 (即血清) 单独分装, 保存于 -80 °C 冰箱; 大鼠取血完毕后处死, 完整摘取右侧肾脏组织, 一部分固定于 4% 多聚甲醛, 另一部分液氮速冻后转移至 -80 °C 冰箱保存。

2.3 24 h 尿蛋白定量检测 采用尿蛋白定量测试盒检测 24 h 尿蛋白水平。

2.4 血清肌酐、尿素氮水平检测 使用全自动生化分析仪检测血清肌酐、尿素氮水平。

2.5 肾组织病理变化观察 取于第 8、43 天固定的肾组织样本,经乙醇脱水、透明、浸蜡、石蜡包埋,切成 4 μm 薄片,分别进行 HE、Masson 染色,显微镜下观察并拍照,并对病理病变进行肾小球系膜细胞及基质增生程度、肾间质纤维化程度分级进行量化评分^[6-7]。

2.6 Western blot 法检测大鼠肾组织 PCNA、Akt、p-Akt 蛋白表达 取适量于第 43 天冷冻保存的肾组织,裂解后提取总蛋白,经电泳、转膜后,使用脱脂牛奶封闭 1 h,加入一抗 PCNA (1:500)、Akt (1:500)、p-Akt (Thr308) (1:500)、 β -actin (1:1 000) 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 16 h,洗膜后加入二抗孵育 2 h,洗膜后显色定影,采用 Image J 软件进行分析,以 β -actin 为内参,计算目的蛋白相对表达。

2.7 RT-qPCR 法检测大鼠肾组织 PCNA、Akt mRNA 表达 取适量于第 43 天冷冻保存的肾组织,提取总 RNA 并反转录为 cDNA,然后进行 RT-qPCR 分析,反应条件为 95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 10 min;95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 15 s,60 $^{\circ}\text{C}$ 退火 60 s,共循环 40 次。引物序列见表 1。

表 1 引物序列

Tab. 1 Primer sequences

引物名称	序列(5'→3')	引物长度/bp
Akt1	正向 CCAGGACCATGAGAAGCTGTT	185
Akt1	反向 ACACGATGTTGGCAAAGAAGC	
PCNA	正向 GAACCTTTTCACAAAAGCCACTC	103
PCNA	反向 GTGTCCCATGTCAGCAATTIT	
GAPDH	正向 CAGGCTGCCTTCTCTTGTG	172
GAPDH	反向 GATGGTGATGGGTTTCCCGT	

2.8 统计学分析 通过 SPSS 21.0 软件进行处理,GraphPad Prism 8.0 软件辅助作图,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,2 组间比较采用 LSD 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 大鼠一般情况 空白组大鼠反应较灵敏,精神状态佳,进食正常;其余各组造模后精神不振,进食量减少。连续给药治疗 6 周后,给药组大鼠精神状态及进食量优于模型组,各给药组间大鼠精神状态及进食量无明显差异。第 43 天对各组大鼠体质量进行记录,与空白组比较,模型组大鼠体质量

无明显变化($P>0.05$);与模型组比较,益肾化湿颗粒各剂量组大鼠体质量增加($P<0.05$),缬沙坦组大鼠体质量增加,但差异无统计学意义($P>0.05$);各给药组间体质量差异无明显变化($P>0.05$),见表 2。

表 2 益肾化湿颗粒对大鼠体质量的影响($\text{g}, \bar{x}\pm s, n=6$)

Tab. 2 Effects of Yishen Huashi Granules on rats' body weight ($\text{g}, \bar{x}\pm s, n=6$)

组别	剂量	体质量
空白组	—	267.25 $\pm$ 27.61
模型组	—	259.57 $\pm$ 14.55
缬沙坦组	8.5 mg/kg	280.07 $\pm$ 31.46
益肾化湿颗粒低剂量组	3.125 g/kg	295.10 $\pm$ 21.37 [*]
益肾化湿颗粒高剂量组	6.25 g/kg	295.35 $\pm$ 16.07 [*]

注:与模型组比较,* $P<0.05$ 。

3.2 益肾化湿颗粒对 MsPGN 肾炎大鼠 24 h 尿蛋白定量的影响 第 7 天,各组大鼠 24 h 尿蛋白水平比较无明显差异($P>0.05$)。第 42 天,与空白组比较,模型组 24 h 尿蛋白水平升高($P<0.05$);与模型组比较,益肾化湿颗粒各剂量组及缬沙坦组 24 h 尿蛋白水平降低($P<0.05$);各给药组比较差异无统计学意义($P>0.05$),见表 3。

表 3 益肾化湿颗粒对大鼠 24 h 尿蛋白定量的影响($\text{mg/L}, \bar{x}\pm s, n=6$)

Tab. 3 Effects of Yishen Huashi Granules on rats' 24 hour urinary protein elimination ($\text{mg/L}, \bar{x}\pm s, n=6$)

组别	第 7 天	第 42 天
空白组	200.16 $\pm$ 89.61	227.77 $\pm$ 73.91
模型组	301.69 $\pm$ 194.76	561.76 $\pm$ 152.67 [#]
缬沙坦组	273.70 $\pm$ 97.76	260.96 $\pm$ 120.56 [*]
益肾化湿颗粒低剂量组	280.39 $\pm$ 98.61	274.24 $\pm$ 110.35 [*]
益肾化湿颗粒高剂量组	276.62 $\pm$ 126.95	252.25 $\pm$ 120.01 [*]

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

3.3 益肾化湿颗粒对 MsPGN 肾炎大鼠肾功能的影响 第 8 天,与空白组比较,模型组大鼠血清肌酐水平升高($P<0.01$),尿素氮水平升高,但差异无统计学意义($P>0.05$);与模型组比较,益肾化湿颗粒各剂量组尿素氮水平降低($P<0.05$),血清肌酐水平降低,但差异无统计学意义($P>0.05$)。第 43 天,与空白组比较,模型组血清肌酐、尿素氮水平均升高($P<0.05$);与模型组比较,各给药组血清肌酐、尿素氮水平均降低($P<0.05$);各给药组比较差异无统计学意义($P>0.05$),见表 4。

3.4 益肾化湿颗粒对 MsPGN 肾炎大鼠肾组织病理变化的影响 第 8 天,空白组大鼠肾小球结构基本正常,仅出现极其轻微的系膜细胞增生以及肾间质纤维化,未观察到毛细血管腔受挤压的情况;与空

表 4 益肾化湿颗粒对大鼠肾功能的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Tab. 4 Effects of Yishen Huashi Granules on rats' indices levels of renal function ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

组别	第 8 天		第 43 天	
	血清肌酐/ $(\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$	尿素氮/ $(\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1})$	血清肌酐/ $(\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$	尿素氮/ $(\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1})$
空白组	28.78 $\pm$ 1.06	8.55 $\pm$ 0.68	31.52 $\pm$ 1.13	6.99 $\pm$ 0.43
模型组	33.95 $\pm$ 0.82 [#]	8.59 $\pm$ 1.05	37.68 $\pm$ 1.61 [#]	7.92 $\pm$ 0.25 [#]
缬沙坦组	33.48 $\pm$ 1.56	8.14 $\pm$ 1.13	31.85 $\pm$ 0.78 [*]	7.14 $\pm$ 0.81 [*]
益肾化湿颗粒低剂量组	33.23 $\pm$ 1.33	6.38 $\pm$ 0.91 [*]	30.20 $\pm$ 1.18 [*]	6.38 $\pm$ 0.77 [*]
益肾化湿颗粒高剂量组	33.82 $\pm$ 1.12	7.11 $\pm$ 1.09 [*]	30.28 $\pm$ 1.53 [*]	7.10 $\pm$ 0.70 [*]

注:与空白组比较,[#] $P<0.01$;与模型组比较,^{*} $P<0.05$ 。

白组比较,模型组大鼠肾组织系膜细胞与系膜基质呈现弥漫性增生,毛细血管管腔部分受到挤压,出现轻度狭窄,提示 Thy-1 型肾炎大鼠模型制备成功。与空白组比较,模型组大鼠肾小球系膜细胞及基质增生程度评分、肾间质纤维化评分均升高 ($P<0.05$);各给药组与模型组比较 2 项评分均无明显变化 ($P>0.05$)。第 43 天,模型组大鼠肾组

织系膜细胞、基质增生、肾间质纤维化较空白组严重,2 项评分均高于空白组 ($P<0.05$);各给药组大鼠肾组织系膜细胞增生及细胞外基质沉积、肾间质纤维化程度较模型组改善,2 项评分均低于模型组 ($P<0.05$);各给药组各评分比较差异无统计学意义 ($P>0.05$),见图 1、表 5。

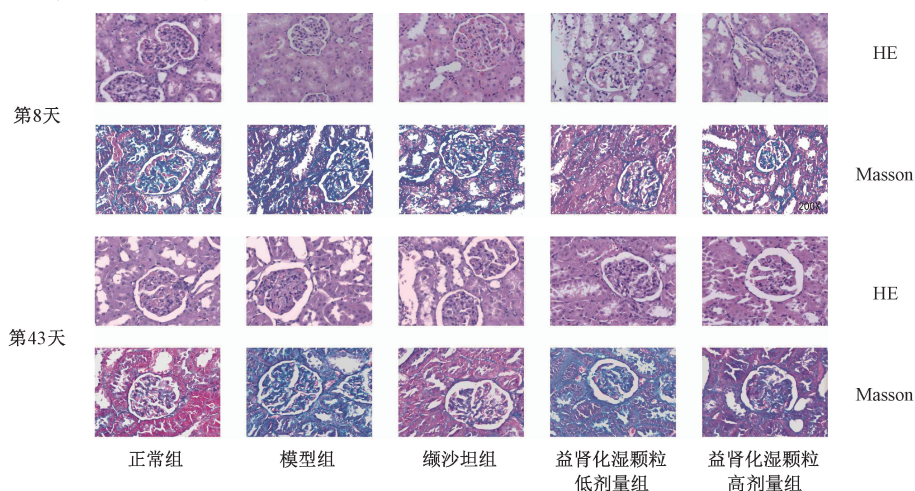


图 1 各组大鼠肾组织病理变化 ($\times 200$)

Fig. 1 Renal pathological changes of rats in each group ($\times 200$)

表 5 益肾化湿颗粒对大鼠肾组织病理变化的影响 (分, $\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Tab. 5 Effects of Yishen Huashi Granules on renal pathological changes in rats (score, $\bar{x} \pm s$, $n=6$)

组别	第 8 天		第 43 天	
	肾小球系膜细胞 及基质增生程度评分	肾间质纤维化评分	肾小球系膜细胞 及基质增生程度评分	肾间质纤维化评分
空白组	1.00 $\pm$ 0	0.17 $\pm$ 0.41	1.00 $\pm$ 0	0.50 $\pm$ 0.55
模型组	2.33 $\pm$ 0.52 [#]	1.33 $\pm$ 0.52 [#]	1.83 $\pm$ 0.41 [#]	1.67 $\pm$ 0.52 [#]
缬沙坦组	2.17 $\pm$ 0.41	1.17 $\pm$ 0.41	1.33 $\pm$ 0.52 [*]	0.50 $\pm$ 0.55 [*]
益肾化湿颗粒低剂量组	2.00 $\pm$ 0	0.67 $\pm$ 0.52	1.33 $\pm$ 0.52 [*]	0.33 $\pm$ 0.52 [*]
益肾化湿颗粒高剂量组	2.00 $\pm$ 0	0.67 $\pm$ 0.82	1.17 $\pm$ 0.41 [*]	0.50 $\pm$ 0.55 [*]

注:与空白组比较,[#] $P<0.05$;与模型组比较,^{*} $P<0.05$ 。

3.5 益肾化湿颗粒对 MsPGN 肾炎大鼠肾组织 PCNA、Akt、p-Akt 蛋白表达的影响 与空白组比较,模型组大鼠肾组织 PCNA、p-Akt 蛋白表达升高 ($P<0.05$);与模型组比较,益肾化湿高剂量组和缬沙坦组大鼠肾组织 PCNA、p-Akt 蛋白表达降

低 ($P<0.05$);各组大鼠肾组织 Akt 蛋白表达比较差异无统计学意义 ($P>0.05$),见图 2~3。

3.6 益肾化湿颗粒对 MsPGN 肾炎大鼠肾组织 PCNA、Akt mRNA 表达的影响 与空白组比较,模型组大鼠肾组织 PCNA mRNA 表达升高 ($P<0.05$),

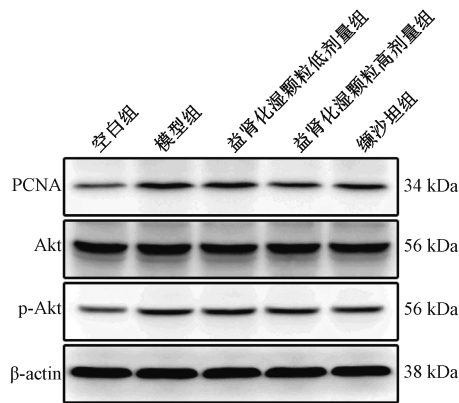
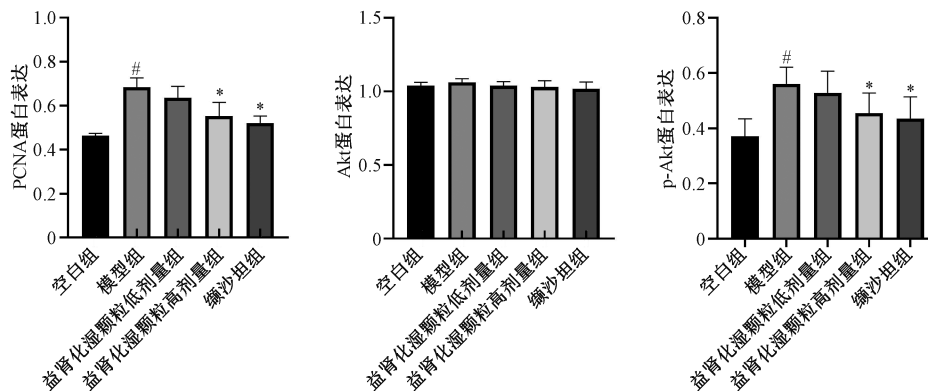


图 2 各组大鼠肾组织 PCNA、Akt、p-Akt 蛋白表达
Fig. 2 Renal protein expressions of PCNA, Akt and p-Akt in rats of each group



注：与空白组比较，[#] $P < 0.05$ ；与模型组比较，^{*} $P < 0.05$ 。

图 3 益肾化湿颗粒对大鼠肾组织 PCNA、Akt、p-Akt 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

Fig. 3 Effects of Yishen Huashi Granules on renal protein expressions of PCNA, Akt and p-Akt of rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

4 讨论

目前 MsPGN 治疗药物主要包括血管紧张素转化酶抑制剂或血管紧张素 II 受体阻滞剂、糖皮质激素、免疫抑制剂等^[8]。根据该疾病本虚标实之证^[9-10]，多数医家主张使用益气滋肾、清利湿热等方医治^[11]。益肾化湿颗粒是以黄芪、人参为君药，黄芪等为臣药的 16 味中药组方^[12]，具有升阳补脾、益肾化湿功效，用于脾虚湿盛所致蛋白尿等，对症 MsPGN。本研究结果显示，益肾化湿颗粒可增加大鼠体质量，降低 24 h 尿蛋白水平，改善肾功能，提示对 MsPGN 有治疗作用。同时，病理结果表明，益肾化湿颗粒能减轻肾小球系膜细胞增生及基质增多，提示其可减轻肾脏病理损伤。

PCNA 为 DNA 聚合酶 δ 的辅助蛋白^[13]，是评价细胞增殖的常用指标之一^[14]。有研究证实，在大鼠抗 Thy-1 肾炎模型造模后第 1 天，肾小球系膜细胞内 PCNA 表达上调，提示 PCNA 能较早反映肾

Akt mRNA 表达升高，但差异无统计学意义 ($P > 0.05$)；与模型组比较，各给药组大鼠肾组织 PCNA、Akt mRNA 表达降低 ($P < 0.05$)；各给药组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)，见表 6。

表 6 益肾化湿颗粒对 MsPGN 肾炎大鼠肾组织 PCNA、Akt mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

组别	Akt	PCNA
空白组	1.037 $\pm$ 0.298	1.085 $\pm$ 0.468
模型组	1.286 $\pm$ 0.467	2.127 $\pm$ 1.045 [#]
益肾化湿颗粒低剂量组	1.205 $\pm$ 0.462	1.242 $\pm$ 0.587 [*]
益肾化湿颗粒高剂量组	1.087 $\pm$ 0.383	1.146 $\pm$ 0.778 [*]
缬沙坦组	1.139 $\pm$ 0.364	1.161 $\pm$ 0.639 [*]

注：与空白组比较，[#] $P < 0.05$ ；与模型组比较，^{*} $P < 0.05$ 。

小球系膜细胞的增殖状况^[15]。本研究证明，益肾化湿颗粒可降低 PCNA 蛋白和 mRNA 表达，提示其可能通过抑制 PCNA 表达，减少处于增殖状态的肾小球系膜细胞，延缓 MsPGN 进展。

PI3K/Akt 信号通路在肾小球系膜细胞增殖和细胞外基质沉积过程中发挥了重要作用^[16-17]。有研究表明，通过抑制该信号通路可抑制高糖诱导的肾小球系膜细胞增殖^[18]。本研究发现，各组间 Akt mRNA 和蛋白表达比较差异无统计学意义，益肾化湿颗粒高剂量组 p-Akt 蛋白表达低于模型组，这可能是由于 Akt 被磷酸化修饰为 p-Akt 后具有生物活性^[19]，有研究显示，p-Akt 可参与抗 Thy-1 肾炎模型中系膜增生的启动和进展^[20]，与本研究结果一致。

综上所述，益肾化湿颗粒能改善 MsPGN 大鼠蛋白尿、肾功能及肾组织病理损伤，从而保护肾脏功能，延缓肾脏病变，其机制可能与抑制 PCNA、

p-Akt 表达有关。本研究为益肾化湿颗粒治疗 MsPGN 的相关机制提供了一定的实验基础。

参考文献:

- [1] Yu T Y, Gong Y J, Liu Y, *et al.* KLF6 acetylation promotes sublytic C5b-9-induced production of MCP-1 and RANTES in experimental mesangial proliferative glomerulonephritis[J]. *Int J Biol Sci*, 2020, 16(13): 2340-2356.
- [2] Xia L, Liu Y, Zhang Z W, *et al.* Modulation of IL-6 expression by KLF4-mediated transactivation and PCAF-mediated acetylation in sublytic C5b-9-induced rat glomerular mesangial cells[J]. *Front Immunol*, 2022, 12: 779667.
- [3] Pan C P, Zhou C X, Shan A Q, *et al.* Expression and clinical significance of thrombospondin-1 and plasminogen activator inhibitor-1 in patients with mesangial proliferative glomerulonephritis[J]. *Ann Palliat Med*, 2020, 9(5): 3187-3193.
- [4] 童 薇. 益肾化湿颗粒治疗早期 2 型糖尿病肾病临床疗效观察及其对 NOX4 水平的影响[D]. 南昌: 南昌大学, 2020.
- [5] 刘翠兰, 王琳琳, 杨 文, 等. 益肾化湿颗粒调节 PI3K/Akt 信号通路对糖尿病大鼠肾损伤的影响[J]. *中国老年学杂志*, 2021, 41(8): 1699-1704.
- [6] 王海燕. 肾脏病学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 1017-1018.
- [7] 邹万忠. 肾活检病理学[M]. 第 5 版. 北京: 北京大学医学出版社, 2021: 107-108.
- [8] 张晶晶, 李 涛, 钟 黎. 黄芩苷对系膜增生性肾小球肾炎大鼠细胞凋亡及 NLRP3/caspase-1 通路的影响[J]. *中国老年学杂志*, 2021, 41(23): 5287-5291.
- [9] 周少婷. 猪苓汤治疗系膜增生性肾小球肾炎的临床研究[D]. 南宁: 广西中医药大学, 2018.
- [10] 曹占兴, 何 敏. 中西医结合治疗系膜增生性肾小球肾炎的研究进展[J]. *云南中医中药杂志*, 2012, 33(4): 77-78.
- [11] 周少婷, 甘兰岚, 谭海丽, 等. 中医治疗系膜增生性肾小球肾炎近况[J]. *实用中医药杂志*, 2018, 34(1): 132-133.
- [12] 陈 琦, 李 赟, 杨 林, 等. 益肾化湿颗粒治疗慢性肾小球肾炎的临床观察[J]. *中国中西医结合肾病杂志*, 2014, 15(2): 165-166.
- [13] 丁焕然, 曹树辉, 马立人. 增殖细胞核抗原及其在肺癌中的研究进展[J]. *中国煤炭工业医学杂志*, 2007, 10(5): 492-493.
- [14] 孙亚杰, 林婷婷, 何彦津, 等. 临床常用药物对体外培养的复发性翼状胬肉成纤维细胞的抑制效果比较[J]. *中华实验眼科杂志*, 2017, 35(6): 512-519.
- [15] 赵 聃, 李 妍, 周建博, 等. 大鼠 Thy-1 肾炎增殖病变及 sublytic C5b-9 致其肾小球系膜细胞增生的实验研究[J]. *南京医科大学学报 (自然科学版)*, 2012, 32(10): 1343-1350.
- [16] Manning B D, Toker A. Akt/PKB Signaling: Navigating the Network[J]. *Cell*, 2017, 169(3): 381-405.
- [17] 闫 晗, 杨吉春, 迟毓婧. PI3K-Akt 信号转导通路对脂代谢的调控作用[J]. *生理科学进展*, 2021, 52(6): 425-430.
- [18] 包 昀, 林双峰, 邓 波, 等. 秦皮甲素对高糖诱导大鼠肾小球系膜细胞增殖及纤维连接蛋白表达的影响[J]. *中药新药与临床药理*, 2021, 32(2): 214-218.
- [19] Cantley L C. The phosphoinositide 3-kinase pathway[J]. *Science*, 2002, 296(5573): 1655-1657.
- [20] Qiu W, Zhang Y, Liu X M, *et al.* Sublytic C5b-9 complexes induce proliferative changes of glomerular mesangial cells in rat Thy-1 nephritis through TRAF6-mediated PI3K-dependent Akt1 activation[J]. *J Pathol*, 2012, 226(4): 619-632.