

芹菜素对糖尿病大鼠肾功能的保护作用及机制研究

奚 丹¹, 苏 卿^{2*}

(1. 长春医学高等专科学校, 吉林 长春 130000; 2. 大连医科大学附属第二医院, 辽宁 大连 116000)

摘要: **目的** 探讨芹菜素对糖尿病大鼠肾功能的保护作用及潜在机制。**方法** 通过喂养高糖高脂饲料联合腹腔注射链脲佐菌素 (STZ) 法建立糖尿病大鼠模型, 并随机分为模型组、厄贝沙坦组 (15 mg/kg) 及芹菜素低、高剂量组 (50、100 mg/kg), 每组 10 只, 另取 10 只健康大鼠 (喂养标准饲料) 作为正常组, 灌胃给予相应药物, 每天 1 次, 给药 4 周后检测大鼠空腹血糖 (FBG)、24 h 尿蛋白量、血肌酐 (Scr)、血尿素氮 (BUN) 及肾肥大指数, HE 染色观察肾组织病理改变, ELISA 法检测肾组织 IL-2、IL-6、CRP、MDA 水平及 SOD、CAT 活性, Western blot 法检测 NF- κ B p65、I κ B α 、Nrf2、HO-1 蛋白表达。**结果** 与正常组比较, 模型组大鼠 FBG、24 h 尿蛋白、Scr、BUN、肾肥大指数、肾组织 IL-2、IL-6、CRP、MDA 水平及 NF- κ B p65 蛋白表达升高 ($P<0.01$), 而体质量、肾组织 SOD、CAT 活性及 I κ B α 、Nrf2、HO-1 蛋白表达降低 ($P<0.01$), 且肾组织病理损伤明显; 与模型组比较, 芹菜素各剂量组大鼠 FBG、24 h 尿蛋白、Scr、BUN、肾肥大指数、肾组织 IL-2、IL-6、CRP、MDA 水平及 NF- κ B p65 蛋白表达降低 ($P<0.05$, $P<0.01$), 而体质量、肾组织 SOD、CAT 活性及 I κ B α 、Nrf2、HO-1 蛋白表达升高 ($P<0.05$, $P<0.01$), 且肾组织病理损伤有所缓解。**结论** 芹菜素具有保护糖尿病大鼠肾功能的作用, 该作用与抑制炎症反应和氧化应激有关。

关键词: 芹菜素; 糖尿病; 肾功能; 炎症反应; 氧化应激

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2023)02-0630-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2023.02.052

国际糖尿病联盟 2020 年的数据表明, 全球共有 4.63 亿糖尿病患者, 在成年人群中的发病率为 9.3%, 预计到 2040 年发病人数将会突破 6.42 亿^[1]。糖尿病肾病为糖尿病最严重的并发症之一, 是导致糖尿病患者残疾及死亡的首要原因, 因而进行早期预防极为重要^[2]。目前, 临床上控制高血压和降低血糖是预防及治疗糖尿病肾病的主要手段, 但存在用药局限及诸多不良反应, 效果难以令人满意^[3]。炎症反应和氧化应激在糖尿病肾病的发生及进展中发挥重要作用, 抑制炎症反应及氧化应激是延缓该病进展的有效方法^[4]。中药应用历史悠久, 具有多靶点、多途径的优势, 在降低肌酐值、尿蛋白量及改善肾功能等方面均具有较大的优势, 日益受到研究者的关注^[5]。

芹菜素为黄酮类化合物, 主要以植物黄色素的形式广泛存在于多种蔬菜、中药材及水果中^[6], 具有抗炎、抗氧化应激、抗动脉粥样硬化、调节免疫及抗肿瘤等多种药理作用^[7]。有研究发现, 芹菜素可显著降低高脂喂养联合链脲佐菌素 (STZ) 诱导的 2 型糖尿病大鼠及四氧嘧啶联合 STZ 诱导的 1 型糖尿病大鼠的血糖水平^[8-10]。然而, 关于芹菜素对糖尿病大鼠肾功能的保护作用及其分子机制并未阐明。本研究通过高脂饲料联合 STZ 法建立糖尿病大鼠模型, 给予芹菜素干预, 探讨其对肾功能的保护作用, 并从炎症反应及氧化应激的角度阐述分子机制, 为芹菜素应用

于糖尿病早期肾损伤的防治提供依据。

1 材料

1.1 实验动物 雄性清洁级 SD 大鼠, 体质量 (200 $\pm$ 20) g, 购自上海杰思捷实验动物公司, 实验动物生产许可证号 SCXK (沪) 2018-0004。

1.2 试剂与药物 芹菜素 (湖南赛禾生物科技有限公司, 纯度 >90%, 批号 180419), 用 0.5% 羧甲基纤维素钠 (CMC-Na) 配制成混悬液。厄贝沙坦片 (美国威斯敏斯特公司, 规格 75 mg/片, 批号 69367-119-01); STZ (美国 Sigma 公司, 批号 046K1206); 血肌酐 (Scr)、尿素氮 (BUN) 检测试剂盒 (北京华英生物技术研究所, 批号 20190320、20190325); 白细胞介素 2 (IL-2)、IL-6、C 反应蛋白 (CRP) 检测试剂盒 (上海晶抗生物工程有限公司, 批号 18070601、18091101、18112501); 超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT)、丙二醛 (MDA) 检测试剂盒 (上海酶研生物科技有限公司, 批号 20190118、20190328、20181225); 核因子 κ B p65 (NF- κ B p65)、NF- κ B 抑制蛋白 α (I κ B α)、核因子 E2 相关因子 2 (Nrf2)、血红素氧合酶 1 (HO-1)、甘油醛 3 磷酸脱氢酶 (GAPDH) 抗体 (英国 Abcam 公司, 批号 ab207297、ab109300、ab137550、ab189491、ab8245)。

1.3 仪器 BSA2235 型分析天平 (德国 Sartorius 公司);

收稿日期: 2021-07-28

作者简介: 奚 丹 (1981—), 女, 硕士, 讲师, 从事基础医学及药理学研究。E-mail: xidan2823@163.com

* 通信作者: 苏 卿 (1981—), 男, 硕士, 副主任医师, 从事临床医学及药理学研究。Tel: 13804332823, E-mail: 83968346@163.com

KDC-160R 型高速冷冻离心机（安徽中科中佳科学仪器有限公司）；卓越型血糖仪（瑞士罗氏公司）；Chemray 240 型全自动生化分析仪（深圳雷杜生命科学股份有限公司）；LKB-1 型超薄切片机（德国 Leica 公司）；YKT-2800 型显微镜（上海永科光学仪器公司）；Epoch 型酶标仪（美国 BioTek 公司）；X6 型紫外可见分光光度计（上海元析仪器有限公司）；MiniTrans-blot 型电转印槽及 165-8001 型垂直电泳槽（美国 Bio-Rad 公司）。

2 方法

2.1 造模、分组及给药 采用高糖高脂饲料喂养联合腹腔注射 STZ 方法建立糖尿病大鼠模型^[11]。大鼠经高糖高脂饲料喂养 4 周后剂量腹腔注射 30 mg/kg STZ 溶液，3 d 后测定空腹血糖（FBG），FBG≥11.1 mmol/L 者视为造模成功，FBG<11.1 mmol/L 者排除。将造模成功的大鼠随机分为模型组、厄贝沙坦组（15 mg/kg）及芹菜素低、高剂量组（50、100 mg/kg），每组 10 只，另取 10 只健康大鼠（标准饲料喂养）作为正常组，灌胃给予相应药物，每天 1 次，给药 4 周，其中模型组和正常组大鼠灌胃等体积 0.5% CMC-Na 溶液。末次给药结束，称定各组大鼠体质量，并用代谢笼收集 24 h 尿液；随后腹腔注射 20% 乌拉坦进行麻醉，腹主动脉取血，4 ℃、3 000 r/min 离心 15 min，分离得血清，分装后备用；颈椎脱位法处死大鼠，分离肾脏组织，称定质量后备用。

2.2 FBG、24 h 尿蛋白、Scr、BUN 及肾肥大指数检测 采用血糖仪测各组大鼠 FBG 水平；通过双缩脲法采用全自动生化分析仪检测 24 h 尿蛋白量；通过酶法采用全自动生化分析仪检测 Scr、BUN 水平；肾肥大指数=双肾质量/体质量。

2.3 HE 染色观察肾组织病理改变 使用 4% 多聚甲醛固定肾脏组织，梯度乙醇脱水，石蜡包埋后切片，经脱蜡、水洗及苏木精-伊红（HE）染色后，在光学显微镜下观察各组大鼠肾组织病理改变情况。

2.4 肾组织炎症反应和氧化应激指标检测 取各组大鼠部分肾脏组织，用含蛋白酶抑制剂的 RIPA 裂解液进行充分

表 2 芹菜素对糖尿病大鼠 24 h 尿蛋白、Scr、BUN 及肾肥大指数的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	24 h 尿蛋白/mg	Scr/(mmol·L ⁻¹)	BUN/(mmol·L ⁻¹)	肾肥大指数/(mg·g ⁻¹)
正常组	8.69±1.86	8.14±1.60	66.71±8.74	2.74±0.36
模型组	46.74±5.77**	21.61±2.56**	105.40±12.62**	6.70±0.69**
芹菜素低剂量组	34.31±4.75 ^{##}	16.43±2.19 ^{##}	92.45±11.04 [#]	5.90±0.71 [#]
芹菜素高剂量组	28.49±2.26 ^{##}	15.84±1.65 ^{##}	85.16±9.87 ^{##}	4.88±0.53 ^{##}
厄贝沙坦组	25.35±3.39 ^{##}	13.29±1.10 ^{##}	80.68±10.19 ^{##}	4.14±0.64 ^{##}

注：与正常组比较，** $P<0.01$ ；与模型组比较，[#] $P<0.05$ ，^{##} $P<0.01$ 。

3.3 芹菜素对糖尿病大鼠肾组织病理改变的影响 正常组大鼠肾组织未见系膜细胞增生，细胞排列紧密、胞浆丰富，肾小管间质区域结构清晰，肾小球体积正常；模型组大鼠肾组织系膜基质增多，肾小管可见炎性浸润、空泡及肿胀，肾小球体积增大；芹菜素各剂量组和厄贝沙坦组大鼠肾组织系膜基质稍有增多，肾小管炎性浸润、空泡及肿胀等病理改变程度均有不同程度的缓解，肾小球体积增大趋势也

裂解，4 ℃、12 000 r/min 离心 10 min，分离得上清液，分装后冻存备用。参照说明书中操作步骤，采用酶联免疫吸附（ELISA）法分别检测肾组织炎症反应指标 IL-2、IL-6、CRP 水平，氧化应激指标 SOD、CAT 活性及 MDA 水平。

2.5 Western blot 法检测肾组织 NF-κB p65、IκBα、Nrf2、HO-1 蛋白表达 取“2.4”项下肾组织匀浆上清液，二喹啉甲酸法检测蛋白浓度，经十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳、转膜、封闭及一抗、二抗孵育后，采用化学发光法进行显色、曝光及显影。图片扫描后，用 Image J 软件进行灰度值分析，以 GAPDH 为内参，计算目的蛋白相对表达量。

2.6 统计学分析 通过 SPSS 18.0 软件进行处理，计量资料以 ($\bar{x}\pm s$) 表示，组间比较采用单因素方差分析。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 芹菜素对糖尿病大鼠体质量及 FBG 水平的影响 与正常组比较，模型组大鼠体质量降低 ($P<0.01$)，FBG 水平升高 ($P<0.01$)；与模型组比较，芹菜素各剂量组大鼠体质量增加 ($P<0.01$)，FBG 水平降低 ($P<0.01$)，而阳性药厄贝沙坦组大鼠体质量、FBG 水平均无明显变化 ($P>0.05$)，见表 1。

表 1 芹菜素对糖尿病大鼠体质量及 FBG 水平的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	体质量/g	FBG/(mmol·L ⁻¹)
正常组	290.51±25.62	6.16±0.58
模型组	240.69±40.59**	19.77±2.13**
芹菜素低剂量组	294.10±32.11 ^{##}	15.13±2.25 ^{##}
芹菜素高剂量组	307.02±34.25 ^{##}	14.29±1.20 ^{##}
厄贝沙坦组	254.43±28.38	18.18±2.47

注：与正常组比较，** $P<0.01$ ；与模型组比较，^{##} $P<0.01$ 。

3.2 芹菜素对糖尿病大鼠 24 h 尿蛋白、Scr、BUN 及肾肥大指数的影响 与正常组比较，模型组大鼠 24 h 尿蛋白、Scr、BUN 及肾肥大指数均升高 ($P<0.01$)；与模型组比较，芹菜素各剂量组和厄贝沙坦组大鼠 24 h 尿蛋白、Scr、BUN 及肾肥大指数均降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)，见表 2。

低于模型组，见图 1。

3.4 芹菜素对糖尿病大鼠肾组织炎症反应的影响 与正常组比较，模型组大鼠肾组织 IL-2、IL-6 及 CRP 水平升高 ($P<0.01$)；与模型组比较，芹菜素各剂量组和厄贝沙坦组大鼠肾组织 IL-2、IL-6 及 CRP 水平降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)，提示芹菜素具有抑制糖尿病大鼠肾组织炎症反应的作用，见表 3。

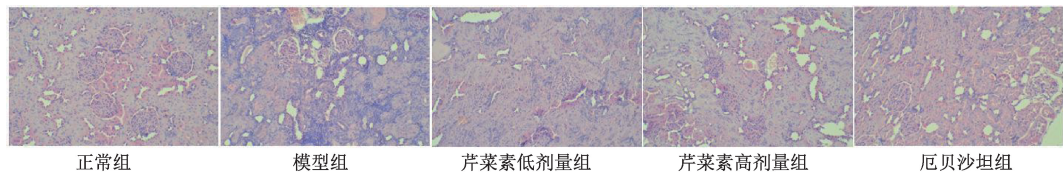


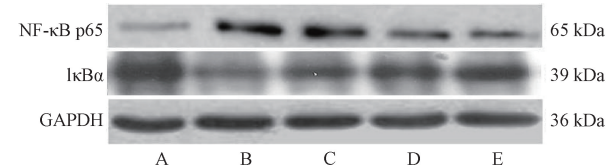
图 1 各组大鼠肾组织病理改变情况（HE 染色，×200）

表 3 芹菜素对糖尿病大鼠肾组织炎症反应的影响（ $\bar{x}\pm s$ ， $n=10$ ）

组别	IL-2/(pg·mL ⁻¹)	IL-6/(pg·mL ⁻¹)	CRP/(pg·mL ⁻¹)
正常组	412.57±52.04	40.39±6.52	655.83±71.09
模型组	1315.75±161.21**	107.58±12.63**	1219.22±142.63**
芹菜素低剂量组	876.34±93.87##	81.92±10.32##	1077.59±120.51#
芹菜素高剂量组	814.56±85.62##	62.51±7.10##	913.27±109.27##
厄贝沙坦组	658.41±76.18##	60.33±8.16##	803.69±98.45##

注：与正常组比较，** $P<0.01$ ；与模型组比较，# $P<0.05$ ，## $P<0.01$ 。

3.5 芹菜素对糖尿病大鼠肾组织 NF- κ B p65、I κ B α 蛋白表达的影响 与正常组比较，模型组大鼠肾组织 NF- κ B p65 蛋白表达升高（ $P<0.01$ ），而 I κ B α 蛋白表达降低（ $P<0.01$ ）；与模型组比较，芹菜素各剂量组和厄贝沙坦组大鼠肾组织 NF- κ B p65 蛋白表达降低（ $P<0.05$ ， $P<0.01$ ），而 I κ B α 蛋白表达升高（ $P<0.01$ ），提示芹菜素抑制肾组织炎症反应与调控 NF- κ B 信号通路有关，见图 2、表 4。



注：A 为正常组，B 为模型组，C 为芹菜素低剂量组，D 为芹菜素高剂量组，E 为厄贝沙坦组。

图 2 各组大鼠肾组织 NF- κ B p65、I κ B α 蛋白条带图

表 5 芹菜素对糖尿病大鼠肾组织 SOD、CAT 活性及 MDA 水平的影响（ $\bar{x}\pm s$ ， $n=10$ ）

组别	SOD/(U·mgprot ⁻¹)	CAT/(U·mg prot ⁻¹)	MDA/(mmol·mg prot ⁻¹)
正常组	41.53±5.06	15.84±2.03	1.69±0.21
模型组	22.24±3.69**	10.17±1.36**	4.08±0.67**
芹菜素低剂量组	25.66±3.47#	12.28±1.57##	3.51±0.42#
芹菜素高剂量组	33.82±4.38##	14.60±1.84##	2.84±0.38##
厄贝沙坦组	36.57±5.22##	14.95±1.60##	2.15±0.46##

注：与正常组比较，** $P<0.01$ ；与模型组比较，# $P<0.05$ ，## $P<0.01$ 。

3.7 芹菜素对糖尿病大鼠肾组织 Nrf2、HO-1 蛋白表达的影响 与正常组比较，模型组大鼠肾组织 Nrf2、HO-1 蛋白表达均降低（ $P<0.01$ ）；与模型组比较，芹菜素各剂量组和厄贝沙坦组大鼠肾组织 Nrf2、HO-1 蛋白表达均升高（ $P<0.01$ ），提示芹菜素减轻肾组织氧化应激的作用与调控 Nrf2/HO-1 信号通路有关，见图 3、表 6。

4 讨论

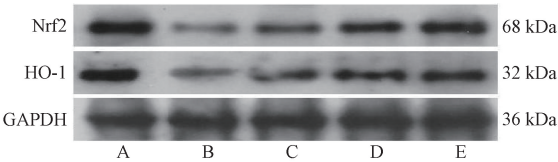
糖尿病肾病发病机制复杂，长期的高糖环境可以激活肾脏组织中的炎症反应，一方面能刺激细胞外基质聚集，增厚基底膜并逐步出现肾小球硬化；另一方面也能对肾小球内皮细胞造成直接损害^[12]。IL-2、IL-6 及 CRP 均为常见

表 4 芹菜素对糖尿病大鼠肾组织 NF- κ B p65、I κ B α 蛋白表达的影响（ $\bar{x}\pm s$ ， $n=10$ ）

组别	NF- κ B p65/GAPDH	I κ B α /GAPDH
正常组	0.13±0.02	1.47±0.16
模型组	0.81±0.10**	0.44±0.05**
芹菜素低剂量组	0.72±0.08#	0.83±0.08##
芹菜素高剂量组	0.28±0.04##	0.95±0.12##
厄贝沙坦组	0.25±0.03##	1.15±0.13##

注：与正常组比较，** $P<0.01$ ；与模型组比较，# $P<0.05$ ，## $P<0.01$ 。

3.6 芹菜素对糖尿病大鼠肾组织氧化应激的影响 与正常组比较，模型组大鼠肾组织 SOD、CAT 活性降低（ $P<0.01$ ），而 MDA 水平升高（ $P<0.01$ ）；与模型组比较，芹菜素各剂量组和厄贝沙坦组大鼠肾组织 SOD、CAT 活性升高（ $P<0.05$ ， $P<0.01$ ），而 MDA 水平降低（ $P<0.05$ ， $P<0.01$ ），提示芹菜素具有减轻糖尿病大鼠肾组织氧化应激的作用，见表 5。



注：A 为正常组，B 为模型组，C 为芹菜素低剂量组，D 为芹菜素高剂量组，E 为厄贝沙坦组。

图 3 各组大鼠肾组织 Nrf2、HO-1 蛋白电泳图

的炎性细胞因子，参与了糖尿病肾病的病情进展并直接与蛋白尿水平呈正相关^[13]。研究发现，芹菜素可以有效降低游离脂肪酸诱导的 L02 细胞中肿瘤坏死因子- α （TNF- α ）、

表 6 芹菜素对糖尿病大鼠肾组织 Nrf2、HO-1 蛋白表达的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	Nrf2/GAPDH	HO-1/GAPDH
正常组	1.08±0.14	0.75±0.09
模型组	0.15±0.02**	0.11±0.01**
芹菜素低剂量组	0.26±0.03##	0.23±0.03##
芹菜素高剂量组	0.48±0.05##	0.44±0.05##
厄贝沙坦组	0.86±0.10##	0.52±0.05##

注：与正常组比较，** $P<0.01$ ；与模型组比较，## $P<0.01$ 。

IL-8 等炎症因子的表达，抑制炎症反应^[14]。本研究同样发现，芹菜素能够降低糖尿病大鼠肾组织 IL-2、IL-6、CRP 水平，具有抑制糖尿病大鼠肾组织炎症反应的作用。NF-κB 信号通路在炎症反应中起关键作用，可以介导 IL-2、IL-6、CRP 等多种炎症因子的转录和表达^[15]。研究发现，给予动脉粥样硬化模型大鼠芹菜素治疗后，NF-κB p65 蛋白表达降低，表明芹菜素改善大鼠动脉粥样硬化的作用与调控 NF-κB 信号通路有关^[16]。本研究同样发现，经芹菜素治疗后，糖尿病大鼠肾组织 NF-κB p65 蛋白表达降低，而 IκBα 蛋白表达增加，表明调控 NF-κB 信号通路进而抑制炎症反应是芹菜素保护糖尿病大鼠肾功能作用的潜在机制。

肾脏是氧化应激最敏感的器官之一，氧化应激是糖尿病肾损伤发生的重要环节，也是糖尿病肾病的诱发因素^[17]。长期的高血糖环境可导致抗氧化酶的糖基化，使 SOD、CAT 等抗氧化酶活性降低，减弱抗氧化系统清除能力；同时，持续的高血糖也能诱导机体产生 MDA 等过氧化物产物，损伤肾脏，并逐渐发展为糖尿病肾病^[18]。本研究发现，芹菜素能够增加糖尿病大鼠肾组织 SOD、CAT 活性，降低 MDA 水平，具有减轻糖尿病大鼠肾组织氧化应激的作用。Nrf2 是具有调控抗氧化应激活性的转录因子，在正常生理状态下，胞质内的胞质接头蛋白 Keap1 与 Nrf2 形成复合物，使 Nrf2 的活性被抑制；在氧化应激状态下，Keap1 与 Nrf2 复合物解离，Nrf2 游离后进入细胞核，与抗氧化反应元件 (ARE) 结合，激活抗氧化酶基因 HO-1 的表达，进而增强细胞的抗氧化能力^[19]。杨丽等^[20]研究发现，芹菜素可以升高妊娠期糖尿病大鼠肝组织 Nrf2、HO-1 蛋白表达。本研究结果同样证实，经芹菜素治疗后，糖尿病大鼠肾组织 Nrf2、HO-1 蛋白表达升高，表明调控 Nrf2/HO-1 信号通路进而减轻氧化应激水平是芹菜素保护糖尿病大鼠肾功能作用的又一个潜在机制。

综上所述，本研究发现芹菜素能够降低糖尿病大鼠 FBG 水平、24 h 尿蛋白、Scr、BUN 及肾肥大指数，且能有效缓解肾组织病理性改变，证实其具有保护糖尿病大鼠肾功能的作用；进一步机制研究表明，该作用与抑制炎症反应及氧化应激有关，但深入机制还有待于进一步的研究。

参考文献：

[1] 姜世敏, 方锦颖. 糖尿病肾病多学科诊治与管理专家共识 [J]. 中国临床医生杂志, 2020, 48(5): 522-527.

[2] Xiong Y C, Zhu W, Xu Q, *et al.* Sleeve gastrectomy attenuates diabetic nephropathy by upregulating Nephryn expressions in diabetic obese rats[J]. *Obes Surg*, 2020, 30(8): 2893-2904.

[3] Tamru K, Aga F, Berhanie E, *et al.* Incidence of diabetic nephropathy in patients with type 2 diabetes mellitus at a tertiary healthcare setting in Ethiopia[J]. *Diabetes Metab Syndr*, 2020, 14(5): 1077-1083.

[4] Sha J B, Sui B, Su X Q, *et al.* Alteration of oxidative stress and inflammatory cytokines induces apoptosis in diabetic nephropathy [J]. *Mol Med Rep*, 2017, 16(5): 7715-7723.

[5] 杜 华, 张 宁, 李玳玳, 等. 益肾颗粒通过调控 LncRNA MALAT1 和 mTOR 介导的自噬改善糖尿病肾病机制研究 [J]. 中华中医药杂志, 2020, 35(5): 2338-2343.

[6] Kasiri N, Rahmati M, Ahmadi L, *et al.* The significant impact of apigenin on different aspects of autoimmune disease [J]. *Inflammopharmacology*, 2018, 26(6): 1359-1373.

[7] 郭丛丛, 姚金铭, 范正媛, 等. 芹菜素治疗糖尿病及其并发症作用机制概述 [J]. 山东中医杂志, 2019, 38(10): 990-995.

[8] 刘 爽, 崔卫正. 芹菜素对链脲佐菌素诱导糖尿病大鼠肝损伤的影响[J]. 国际中医中药杂志, 2015, 37(4): 335-338.

[9] 刘俊法. 芹菜素对糖尿病大鼠降血糖、调节血脂和抗氧化能力的影响[J]. 中药药理与临床, 2014, 30(5): 44-47.

[10] 赵 岗, 杨 丽, 樊秀梅. 芹菜素通过 PI3K/Akt 通路对妊娠期糖尿病大鼠胰岛素抵抗的作用[J]. 药物评价研究, 2020, 43(3): 417-422.

[11] 张晓利, 胡威利, 吴 银, 等. 柴胡皂苷 A 对糖尿病大鼠肾结构和功能的保护作用及机制研究 [J]. 广州中医药大学学报, 2020, 37(7): 1347-1353.

[12] Moreno J A, Gomez-Guerrero C, Mas S, *et al.* Targeting inflammation in diabetic nephropathy: A tale of hope[J]. *Expert Opin Investig Drugs*, 2018, 27(11): 917-930.

[13] Barutta F, Bruno G, Grimaldi S, *et al.* Inflammation in diabetic nephropathy: moving toward clinical biomarkers and targets for treatment[J]. *Endocrine*, 2015, 48(3): 730-742.

[14] 邵益丹, 赵艳梅, 潘金明, 等. 芹菜素对 L02 细胞非酒精性脂肪性肝炎模型炎症反应及胰岛素抵抗的改善作用 [J]. 中国现代应用药学, 2015, 32(11): 1309-1312.

[15] Zhang S F, Xu L, Liang R F, *et al.* Baicalin suppresses renal fibrosis through microRNA-124/TLR4/NF-κB axis in streptozotocin-induced diabetic nephropathy mice and high glucose-treated human proximal tubule epithelial cells [J]. *J Physiol Biochem*, 2020, 76(3): 407-416.

[16] 徐 倩, 杜 超, 严 鹏, 等. 芹菜素对动脉粥样硬化大鼠 LOX-1 和 NF-κB 表达的影响 [J]. 中成药, 2020, 42(3): 748-751.

[17] Arora M K, Singh U K. Oxidative stress: Meeting multiple targets in pathogenesis of diabetic nephropathy [J]. *Curr Drug Targets*, 2014, 15(5): 531-538.

[18] Haraguchi R, Kohara Y, Matsubayashi K, *et al.* New insights into the pathogenesis of diabetic nephropathy: Proximal renal tubules are primary target of oxidative stress in diabetic kidney

[J]. *Acta Histochem Cytochem*, 2020, 53(2): 21-31.

[19] Agnieszka L, Milena D, Elzbieta P, *et al.* Role of Nrf2/HO-1 system in development, oxidative stress response and diseases: An evolutionarily conserved mechanism[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2016, 73(17): 3221-3247.

[20] 杨 丽, 赵 岗, 樊秀梅, 等. 基于 Nrf2/HO-1 通路研究芹菜素改善妊娠期糖尿病大鼠氧化应激损伤[J]. *中国医药导报*, 2020, 17(13): 27-31.

流式细胞术测定马蓝基因组大小

胡永乐^{1,2}, 宁书菊³, 叶 齐¹, 马小毛¹, 蔡国倩¹, 魏道智^{1*}
(1. 福建农林大学生命科学学院, 福建省农业生态过程与安全监控重点实验室, 福建 福州 350002;
2. 武夷学院生态与资源工程学院, 福建 武夷山 354300; 3. 福建农林大学农学院, 作物生态与分子生理学福建省高校重点实验室, 福建 福州 350002)

摘要: **目的** 采用流式细胞术测定马蓝基因组大小。**方法** 以马蓝幼嫩叶片为材料, 水稻日本晴为参照, mGb 裂解液解离细胞后通过流式细胞仪检测荧光强度, 计算基因组大小。**结果** mGb 裂解液对细胞核解离效果较好, 马蓝基因组大小为 (0.99±0.01) Gb。**结论** 该方法既丰富了马蓝遗传信息, 又为其基因组学研究和流式细胞技术应用提供参考。
关键词: 马蓝; 基因组大小; 流式细胞术
中图分类号: Q7 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2023)02-0634-03
doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2023.02.053

马蓝 *Baphicacanthus cusia* (Nees) Bremek. 为爵床科马蓝属多年生草本植物, 主产于福建、浙江、四川、贵州等地, 其干燥根茎、根称为“南板蓝根”, 茎、叶经加工炮制可得青黛, 两者均收录于 2020 年版《中国药典》^[1]。目前, 复方南板蓝根片、复方感冒灵片、热毒清片等是市面上常见以南板蓝根为主要原料的中成药, 而青黛也是复方青黛胶囊、桂林西瓜霜含片、牛黄消炎丸等制剂的重要原料, 可见马蓝开发利用价值很高, 其中福建马蓝青黛含量在 5% 以上, 远高于 2020 年版《国家药典》规定, 是福建省大宗道地药材之一^[2]。近年来, 野生马蓝生态环境受人类活动破坏严重, 种质资源保护和驯化栽培长期未得到重视, 导致优质资源流失, 并且栽培种有效成分含量不稳定, 也使得品质参差不齐, 故对该道地药材进行种质资源保护和遗传背景解析具有重要的实际意义。

马蓝主要化学成分为靛蓝、靛玉红、吲哚酚苷、色胺酮等, 在拮抗原微生物、提高机体免疫功能、保肝等方面功效确切, 近年来被广泛应用于医疗保健、化妆用品、化工印染、食品加工、农业兽药等领域^[3], 相关研究也大多

集中于成分分析、吲哚类生物碱合成途径研究^[4-5], 但关于基因组的研究较少, 导致其有效成分生物合成通路和调控机制研究缺乏系统性, 限制了其药用价值的深入了解和开发。基因组大小是生物体单倍体基因组 DNA 总量, 又称 C 值, 其数值测定能为基因组研究提供基础参考^[6]。

流式细胞术是融合了激光技术、半导体技术、流体力学、细胞化学等多学科知识的自动分析技术, 相较于孚耳根微显影法、基因组测序法更简便易行, 检测结果更稳定可靠, 是近几年基因组大小测定的首选方法。因此, 本研究采用流式细胞仪测定马蓝基因组大小, 有助于该植物在生物进化、生长发育、生理生化机制、代谢机理方面的深入研究, 也可为今后其他植物样本检测中内参植物和裂解液的选择提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料 马蓝嫩叶采自福建农林大学马蓝栽培基地, 经福建农林大学魏道智教授鉴定为正品。水稻日本晴作为内参, 由福建农林大学植物免疫研究中心繁种保存。FACSCalibur 流式细胞仪 (美国 BD 公司)。MgCl₂ · 6H₂O

收稿日期: 2021-07-07
基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (81573517); 福建省自然科学基金项目 (2019J01827); 福建农林大学科技创新专项基金项目 (CXZX2020011A)
作者简介: 胡永乐 (1986—), 女, 博士生, 研究方向为药用植物资源开发利用。Tel: 13960613927, E-mail: huyongle114@163.com
* 通信作者: 魏道智 (1960—), 男, 博士, 教授, 研究方向为药用植物资源开发利用。Tel: 13705034019, E-mail: weidz888@sohu.com
网络出版日期: 2022-05-25
网络出版地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1368.R.20220524.1744.004.html>