

雷公藤多苷片对糖尿病肾病大鼠肾脏的保护作用

段凤阳^{1,2}, 宋纯东^{1*}, 宋 丹^{2#}, 郭 婷¹, 张 博¹, 王宁丽¹, 王耀献³, 丁 樱^{1,2}
(1. 河南中医药大学第一附属医院儿科, 河南 郑州 450006; 2. 河南中医药大学, 河南 郑州 450006;
3. 北京中医药大学, 北京 100029)

摘要: **目的** 探讨雷公藤多苷片对糖尿病肾病 (DN) 大鼠肾脏的保护作用。**方法** 将 42 只大鼠随机分为正常组、模型组、缬沙坦 (代文组)、雷公藤多苷片组, 其中正常组普通喂养, 模型组、代文组和雷公藤多苷片组予高脂高糖饮食+腹腔注射链脲佐菌素 (STZ) 法建立 DN 大鼠模型。代文组灌胃给予代文胶囊, 雷公藤多苷片组灌胃给予雷公藤多苷片, 正常组和模型组灌胃给予生理盐水。6 周后收集大鼠尿液, 腹主动脉取血后处死取材, 检测尿素氮、肌酐、胆固醇、甘油三酯、高密度脂蛋白水平及 24 h 尿蛋白总量, HE 染色观察肾脏病理形态, ELISA 法检测血清 NF- κ B、COX-2 水平, Western blot 法检测肾组织 NF- κ B、COX-2 蛋白表达, RT-qPCR 法检测肾组织 NF- κ B、COX-2 mRNA 表达。**结果** 与模型组比较, 雷公藤多苷片组大鼠 24 h 尿蛋白定量和血清尿素氮、肌酐、胆固醇、甘油三酯、NF- κ B、COX-2 水平降低 ($P<0.01$), 高密度脂蛋白水平升高 ($P<0.01$); 肾小球形态基本正常、系膜细胞增生及炎症细胞浸润减轻; 肾组织 NF- κ B、COX-2 mRNA 和蛋白表达降低 ($P<0.01$)。**结论** 雷公藤多苷片可以减轻 DN 大鼠 24 h 尿蛋白定量, 保护肾功能, 降低血脂, 改善肾脏病理损伤, 其机制可能与抑制 NF- κ B/COX-2 通路介导的炎症反应有关。**关键词:** 雷公藤多苷片; 糖尿病肾病; NF- κ B/COX-2 通路; 炎症
中图分类号: R285.5 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2023)05-1639-05
doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2023.05.043

糖尿病肾病 (diabetic nephropathy, DN) 是糖尿病患者进展至终末期肾脏病的主要原因, 目前发病机制尚未明确, 但绝大多数学者认为与机体炎症反应有关^[1-2]。近年来, 核因子- κ B/环氧化酶 2 (NF- κ B/COX-2) 通路在风湿性关节炎等炎症相关性疾病中备受关注^[3-6], 研究显示其与多种肾脏疾病亦关系密切^[7]。NF- κ B 是众多炎症性疾病的中心环节, 可以调控肿瘤坏死因子 (TNF- α) 等多种细胞因子转录, 引起肾脏系膜细胞增生、血尿和蛋白尿^[8]。COX-2 是 DN 的重要枢纽基因, 在肾脏中定位于肾髓质的间质成纤维细胞, 与肾小球硬化及间质纤维化关系密切^[9]。在炎症状态下, NF- κ B 被激活后可启动 COX-2 的基因转录, 从而引起肾脏损伤及慢性纤维化, 故阻断 NF- κ B/COX-2 通路, 可抑制系膜细胞增殖、肾小球硬化和间质纤维化, 改善预后。

雷公藤多苷片是卫矛科植物雷公藤根茎的有效提取物, 具有祛风解毒、消肿止痛等作用^[10]。课题组前期研究证实, 雷公藤多苷片可以降低大鼠肾组织 TGF- β 1/p38MAPK

的表达, 减轻肾脏病理损害, 改善肾功能^[11]。有研究指出 NF- κ B/COX-2 是 p38 MAPK 的下游通路^[12]。因此, 本研究旨在进一步观察雷公藤多苷片对 DN 肾脏损伤的保护作用及其对 NF- κ B/COX-2 炎症信号通路的影响。

1 材料

1.1 动物 42 只 SPF 级 SD 雄性大鼠, 6~8 周龄, 体质量 (200 $\pm$ 20) g, 购自郑州大学实验动物中心, 实验动物生产许可证号 SCXK (豫) 2019-0002。大鼠饲养于河南中医药大学第一附属医院中心实验室, 实验经河南中医药大学第一附属医院实验动物福利伦理委员会审查批准 (伦理号 YFYDW2021013)。

1.2 药物与试剂 链脲佐菌素 (STZ) (美国 Sigma 公司, 批号 S1030); 缬沙坦 (代文) 胶囊 (北京诺华制药有限公司, 国药准字 H20040217, 规格 80 mg/粒); 雷公藤多苷片 (江苏美通制药有限公司, 批号 Z32021007, 规格 10 mg/片)。NF- κ B、COX-2 ELISA 试剂盒 (江苏酶免实业有限公司)。

收稿日期: 2022-10-27

基金项目: 国家自然科学基金项目 (82074493); 河南省自然科学基金项目 (202300410266); 河南省中医药学科领军人才项目 (豫卫中医函 [2021] 8 号); 河南省卫生健康委员会中医药青苗人才项目 (豫卫中医函 [2021] 16 号)

作者简介: 段凤阳 (1984—), 男, 博士生, 主治医师, 从事中西医结合肾病研究。Tel: 18703648937, E-mail: duanfengyang2013@sina.com

#共同第一作者: 宋 丹 (1999—), 女, 硕士生, 住院医师, 从事中西医结合肾病研究。Tel: 15890069236, E-mail: songdan320@163.com

*通信作者: 宋纯东 (1967—), 男, 博士, 主任医师, 教授, 博士生导师, 从事肾小球疾病的中西医诊治机制研究。Tel: (0371) 66210427, E-mail: scd670918@126.com

1.3 仪器 CFX 型荧光定量 PCR 仪（美国 Bio-Rad 公司）；Rt2100c 型酶标检测仪（美国 Rayto 公司）；RM2016 型病理切片机（上海徕卡仪器有限公司）；E100 型显微镜（日本 Nikon 公司）；CaseViewer 2.4 型扫描浏览软件、Pannoramic DESK/MIDI/250/1000 型全景切片扫描仪均购自匈牙利 3Dhistech 公司。

2 方法

2.1 造模、分组及给药 42 只 SD 大鼠适应性喂养 7 d，期间检测血糖、尿蛋白水平均正常。取 34 只大鼠给予高脂高糖饲料（57% 大小鼠维持饲料+10% 猪油+20% 蔗糖+10% 酪蛋白+2.5% 胆固醇+0.5% 胆酸钠）喂养，1 周后，参考文献 [13] 报道，一次性腹腔注射 55 mg/kg STZ，72 h 后尾静脉取血测血糖，血糖值 ≥ 16.6 mmol/L，尿糖强阳性，24 h 尿蛋白定量 >30 mg 即为造模成功。造模过程中，大鼠死亡 5 只，造模失败 5 只。将造模成功的 24 只大鼠随机分为模型组、代文组、雷公藤多苷片组，每组 8 只，另取 8 只未造模大鼠作为正常组，给予普通饲料喂养。造模成功后即给予药物干预，代文组灌胃 8.33 mg/kg 缬沙坦；雷公藤多苷片组灌胃 5 mg/kg 药液；正常组和模型组灌胃等量生理盐水，连续给药 6 周。

2.2 血液及尿液指标检测 给药结束后，将大鼠置于代谢笼中，收集 24 h 尿液。以 10% 水合氯醛腹腔注射麻醉大鼠，腹主动脉取血后剥离肾脏。使用全自动生化分析仪检测血清尿素氮（BUN）、肌酐（Scr）、胆固醇（CHO）、甘油三酯（TG）、高密度脂蛋白（HDL）水平，全自动蛋白分析仪检测 24 h 尿蛋白定量（24 h-UTP）。

2.3 HE 染色观察肾组织病理形态 取适量肾组织，去除被膜，置于 4% 多聚甲醛液中固定，经乙醇梯度脱水、二甲苯透明，制备 4 μ m 石蜡切片，并进行 HE 染色，置于显微镜下观察并采集图像。

2.4 ELISA 法检测血清 NF- κ B、COX-2 水平 腹主动脉取血并分离血清，将稀释后的样品加入各孔中，加入酶标试剂后置于 37 $^{\circ}$ C 温育 60 min 后弃去，每孔加满稀释后的洗涤剂，静置 30 s 后弃去，重复 5 次，分别加入显色剂 A、显色剂 B 各 50 μ L，混匀后于 37 $^{\circ}$ C 避光显色 15 min，每孔加入终止液 50 μ L，测定 NF- κ B、COX-2 水平。

2.5 Western blot 法检测肾组织 NF- κ B、COX-2 蛋白表达 取适量肾组织，低温匀浆裂解 30 min，加入 150 μ L RIPA 裂解液裂解肾脏组织抽提总蛋白，12 000 r/min 离心 10 min，收集上清液，进行 BCA 蛋白浓度测定，蛋白溶液加入蛋白上样缓冲液，沸水浴变性 15 min，进行 SDS-PAGE 电泳、转膜和封闭，加入一抗 4 $^{\circ}$ C 摇床孵育过夜，二抗室温孵育 30 min，ECL 法进行显影和定影，使用 Alpha 软件分析光密度值。

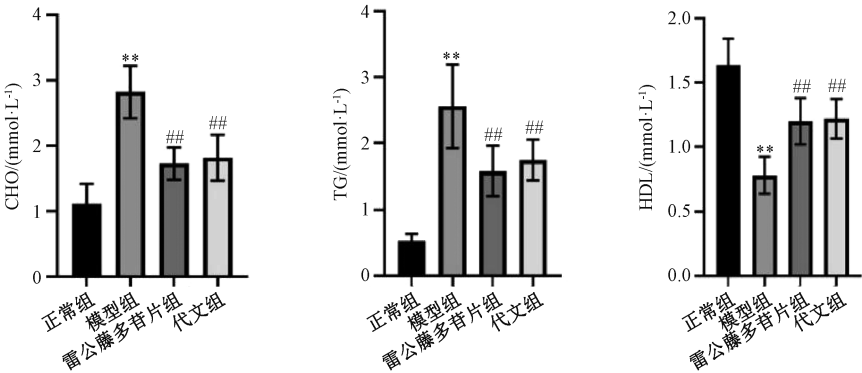
2.6 RT-qPCR 法检测肾组织 NF- κ B、COX-2 mRNA 表达 取适量肾组织，加入液氮研磨成碎块，使用 TRIzol 试剂提取总 RNA，采用 Nanodrap 仪检测 RNA 浓度及纯度，进行反转录，反转录条件为 25 $^{\circ}$ C 5 min，42 $^{\circ}$ C 30 min，85 $^{\circ}$ C 5 s。随后进行 PCR 扩增反应，条件为 95 $^{\circ}$ C 10 min；95 $^{\circ}$ C 15 s，60 $^{\circ}$ C 30 s，40 个循环；65 $^{\circ}$ C 升到 95 $^{\circ}$ C，每升温 0.5 $^{\circ}$ C，采集 1 次荧光信号。引物由武汉赛维尔生物科技有限公司合成，序列见表 1。

表 1 引物序列		
基因	引物序列	长度/bp
NF- κ B	正向 5'-GGGACTATGACTTGAATGCGG-3'	230
	反向 5'-CAGCCAGGTCCCGTGAAATA-3'	
COX-2	正向 5'-CTGATGACTGCCCAACTCCC-3'	143
	反向 5'-CTGGGCAAAGAATGCGAACA-3'	
GAPDH	正向 5'-CTGGAGAAACCTGCCAAGTATG-3'	138
	反向 5'-GGTGGAAGAATGGGAGTTGCT-3'	

2.7 统计学分析 通过 SPSS 25.0 软件进行处理，符合正态分布的计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示，多组间比较采用单因素方差分析，任意两组间比较采用 SNK- q 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 雷公藤多苷片对 DN 大鼠血脂的影响 如图 1 所示，与正常组比较，模型组大鼠血清 CHO、TG 水平升高 ($P < 0.01$)，HDL 水平降低 ($P < 0.01$)；与模型组比较，雷公藤多苷片组和代文组 CHO、TG 水平降低 ($P < 0.01$)，HDL 水平升高 ($P < 0.01$)；雷公藤多苷片组与代文组 CHO、TG、HDL 水平比较无差异 ($P > 0.05$)。

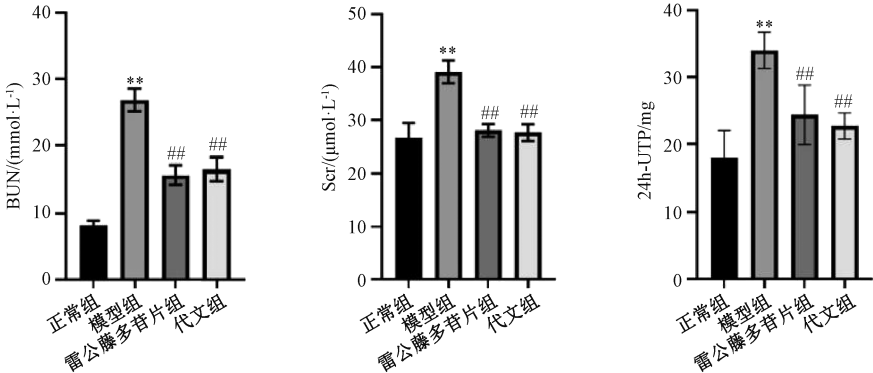


注：与正常组比较，** $P < 0.01$ ；与模型组比较，## $P < 0.01$ 。

图 1 雷公藤多苷片对 DN 大鼠 CHO、TG、HDL 水平的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

3.2 雷公藤多苷片对 DN 大鼠肾功能及蛋白尿的影响 如图 2 所示,与正常组比较,模型组大鼠 BUN、Scr、24 h-UTP 水平升高 ($P<0.01$);与模型组比较,雷公藤多苷片

组和代文组 BUN、Scr、24 h-UTP 水平降低 ($P<0.01$);雷公藤多苷片组与代文组 BUN、Scr、24 h-UTP 水平比较无差异 ($P>0.05$)。

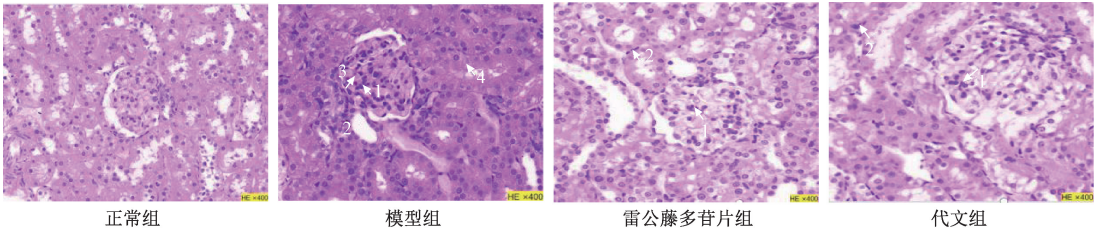


注:与正常组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,## $P<0.01$ 。

图 2 雷公藤多苷片对 DN 大鼠 BUN、Scr、24 h-UTP 水平的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=8$)

3.3 雷公藤多苷片对 DN 大鼠肾组织病理形态的影响 如图 3 所示,正常组大鼠肾小球及肾小管结构及体积正常;模型组大鼠肾小球系膜细胞轻度增生,基底膜增厚,基质增宽,肾小管上皮细胞肿胀,肾间质炎症细胞浸润,符合

DN 早期肾脏病理变化;代文组大鼠肾小球肥大,系膜细胞增生,小管间质轻度炎症细胞浸润;雷公藤多苷片组大鼠肾小球形态基本正常,系膜细胞增生,小管间质轻度炎症细胞浸润。



注:1 指示系膜增生;2 指示炎症细胞浸润;3 指示基底膜增厚;4 指示肾小管上皮细胞肿胀,空泡变性。

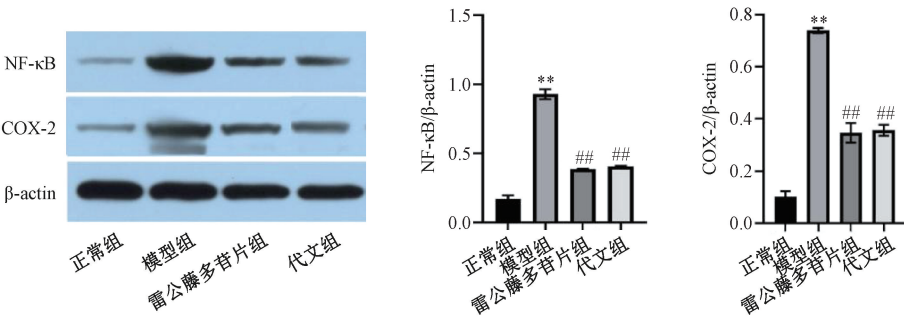
图 3 雷公藤多苷片对 DN 大鼠肾组织病理形态的影响 ($\times 400$)

3.4 雷公藤多苷片对 DN 大鼠血清 NF- κ B、COX-2 水平的影响 如表 2 所示,与正常组比较,模型组大鼠血清 NF- κ B、COX-2 水平升高 ($P<0.01$);与模型组比较,雷公藤多苷片组和代文组大鼠血清 NF- κ B、COX-2 水平降低 ($P<0.01$);雷公藤多苷片组与代文组 NF- κ B、COX-2 水平比较无差异 ($P>0.05$)。

表 2 雷公藤多苷片对 DN 大鼠血清 NF- κ B、COX-2 水平的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=8$)

组别	NF- κ B	COX-2
正常组	4.24 $\pm$ 0.65	35.81 $\pm$ 2.14
模型组	9.78 $\pm$ 0.91**	81.14 $\pm$ 7.20**
雷公藤多苷片组	6.18 $\pm$ 0.93##	42.79 $\pm$ 4.47##
代文组	5.95 $\pm$ 0.96##	46.53 $\pm$ 6.15##

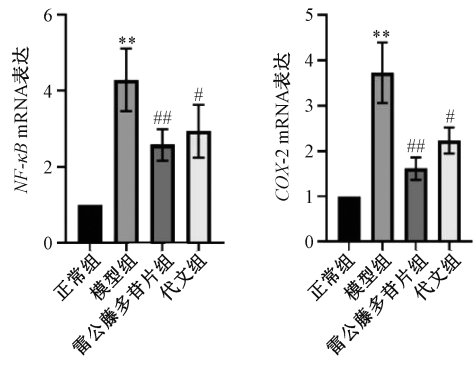
注:与正常组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,## $P<0.01$ 。
蛋白表达降低 ($P<0.01$);雷公藤多苷片组与代文组 NF- κ B、COX-2 蛋白表达比较无差异 ($P>0.05$)。



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

图 4 雷公藤多苷片对 DN 大鼠肾组织 NF- κ B、COX-2 蛋白表达的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=8$)

3.6 雷公藤多苷片对 DN 大鼠肾组织 $\text{NF-}\kappa\text{B}$ 、 COX-2 mRNA 表达的影响 如图 5 所示,与正常组比较,模型组大鼠肾组织 $\text{NF-}\kappa\text{B}$ 、 COX-2 mRNA 表达升高 ($P<0.01$);与模型组比较,雷公藤多苷片组和代文组大鼠肾组织 $\text{NF-}\kappa\text{B}$ 、 COX-2 mRNA 表达降低 ($P<0.05$, $P<0.01$);雷公藤多苷片组与代文组 $\text{NF-}\kappa\text{B}$ 、 COX-2 mRNA 表达比较无差异 ($P>0.05$)。



注:与正常组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,# $P<0.05$,## $P<0.01$ 。
图 5 雷公藤多苷片对 DN 大鼠肾组织 $\text{NF-}\kappa\text{B}$ 、 COX-2 mRNA 表达的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=8$)

4 讨论

DN 是由糖尿病引起的肾脏病变,高脂高糖饮食引起的脂代谢紊乱是 DN 重要的独立危险因素^[14]。脂蛋白在肾脏沉积,可促进系膜细胞增殖,肾小球扩张、硬化^[15]。本研究显示,模型组大鼠血清 CHO、TG 水平升高,HDL 水平降低,肾小球系膜增生,基底膜增厚;给予雷公藤多苷片干预后,CHO、TG 水平降低,HDL 水平升高。信长慧等^[16]研究亦证实,雷公藤多苷片能够降低小鼠 CHO、TG 以及低密度脂蛋白水平,从而达到降血脂、保护肾脏的作用。

$\text{NF-}\kappa\text{B}/\text{COX-2}$ 信号通路主要参与炎症的发生和修复^[17]。 $\text{NF-}\kappa\text{B}$ 是联系肥胖、炎症和代谢紊乱的关键环节^[18],可通过增加肾脏细胞内氧化应激反应,引起蛋白尿和系膜细胞及基质增生和肾小管损伤^[19-21]。 COX-2 是 $\text{NF-}\kappa\text{B}$ 的下游因子,可刺激系膜细胞增生、基底膜增厚,最终导致肾小球硬化。有研究显示,肾脏 COX-2 的表达与足细胞损伤及蛋白尿程度呈正相关,且随着 COX-2 的高表达,肾功能逐渐下降^[22]。Nishikawa 等^[23]指出, COX-2 过度表达可导致糖尿病早期肾脏高滤过,最终导致肾小球硬化。在高糖条件下, COX-2 表达增加,可激活 $\text{NF-}\kappa\text{B}$ 。 $\text{NF-}\kappa\text{B}$ 亦可通过磷酸化诱导 COX-2 表达增加并释放大量炎性物质,加重肾脏损伤。本研究发现,模型组血清 $\text{NF-}\kappa\text{B}$ 、 COX-2 水平较正常组升高,且与 BUN、Scr、24 h-UTP 水平升高呈正相关,与上述研究结果基本一致,提示 DN 肾脏损伤程度可能与 $\text{NF-}\kappa\text{B}$ 、 COX-2 血清浓度有关。另外,模型组大鼠肾组织 $\text{NF-}\kappa\text{B}$ 、 COX-2 表达升高,病理表现为肾小球系膜细胞轻度增生,基底膜增厚,肾小管上皮细胞肿胀,亦提示 DN 大鼠肾脏病理损伤可能和 $\text{NF-}\kappa\text{B}$ 、 COX-2 等炎症因

子高表达有关。

雷公藤多苷片是中草药雷公藤的有效成分提取物,大量实验研究提示,雷公藤多苷片可通过影响 RhoA/ROCK1 通路、 $\text{TGF-}\beta 1/\text{P38MAPK}$ 通路和下调肾脏 WT1 基因表达,抑制肾小球系膜增生及延缓肾脏纤维化^[24-25]。临床研究发现,雷公藤多苷片具有保护肾功能,降低炎症因子水平的作用^[26]。本研究结果显示,雷公藤多苷片干预后,大鼠血清 BUN、Scr、24 h-UTP 水平降低,提示雷公藤多苷片具有减少蛋白尿,保护肾功能作用。HE 染色显示,雷公藤多苷片组大鼠肾组织系膜细胞增生、基质增宽减轻,提示雷公藤可减轻肾脏病理损害。另外,本实验还发现,雷公藤多苷片干预后,血清 $\text{NF-}\kappa\text{B}$ 、 COX-2 水平降低,肾组织 $\text{NF-}\kappa\text{B}$ 、 COX-2 mRNA 和蛋白表达均降低,提示其可能通过影响 $\text{NF-}\kappa\text{B}$ 、 COX-2 表达发挥上述保护作用。

综上所述,雷公藤多苷片具有降血脂,减轻蛋白尿和肾脏病理损伤,改善肾功能等作用,其机制可能与抑制 $\text{NF-}\kappa\text{B}/\text{COX-2}$ 炎症信号通路有关。

参考文献:

[1] Zhou H, Ni W J, Meng X M, *et al.* MicroRNAs as regulators of immune and inflammatory responses: potential therapeutic targets in diabetic nephropathy[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 8: 618536.

[2] Wei J Y, Deng X N, Li Y, *et al.* PP2 ameliorates renal fibrosis by regulating the $\text{NF-}\kappa\text{B}/\text{COX-2}$ and $\text{PPAR}\gamma/\text{UCP2}$ pathway in diabetic mice [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2021, 2021: 7394344.

[3] Rumzhum N N, Ammit A J. Cyclooxygenase 2: its regulation, role and impact in airway inflammation[J]. *Clin Exp Allergy*, 2016, 46(3): 397-410.

[4] Wang M L, Niu J L, Ou L N, *et al.* Zerumbone protects against carbon tetrachloride (CCl_4) -induced acute liver injury in mice *via* inhibiting oxidative stress and the inflammatory response: Involving the $\text{TLR4}/\text{NF-}\kappa\text{B}/\text{COX-2}$ pathway [J]. *Molecules*, 2019, 24(10): 1964.

[5] Zhu X Y, Wang G, Wu S, *et al.* Protective effect of *D*-carvone against dextran sulfate sodium induced ulcerative colitis in Balb/c mice and LPS induced RAW cells *via* the inhibition of COX-2 and $\text{TNF-}\alpha$ [J]. *J Environ Pathol Toxicol Oncol*, 2020, 39(3): 235-245.

[6] Liu X H, Pan L L, Wang X L, *et al.* Leonurine protects against tumor necrosis factor- α -mediated inflammation in human umbilical vein endothelial cells[J]. *Atherosclerosis*, 2012, 222(1): 34-42.

[7] Stenvinkel P, Chertow G M, Devarajan P, *et al.* Chronic inflammation in chronic kidney disease progression: Role of Nrf2[J]. *Kidney Int Rep*, 2021, 6(7): 1775-1787.

[8] Zhang J J, Mi Y M, Zhou R W, *et al.* The $\text{TLR4-MyD88-NF-}\kappa\text{B}$ pathway is involved in sIgA-mediated IgA nephropathy[J]. *J Nephrol*, 2020, 33(6): 1251-1261.

[9] Abdallah M S, Kennedy C R J, Stephan J S, *et al.* Transforming

growth factor- β 1 and phosphatases modulate COX-2 protein expression and TAU phosphorylation in cultured immortalized podocytes[J]. *Inflamm Res*, 2018, 67(2): 191-201.

[10] 王 龙, 徐闪闪, 代彦林, 等. 雷公藤多苷片联合清热止血方对紫癜性肾炎患者的临床疗效[J]. *中成药*, 2021, 43(4): 914-918.

[11] 宋纯东, 杨晓丽, 薛黎明, 等. 雷公藤多苷对早期糖尿病肾病大鼠肾组织 TGF- β ₁/p38MAPK 表达的影响[J]. *中国中医基础医学杂志*, 2012, 18(12): 1348-1350.

[12] Zhao Y, Liu X H, Qu Y, *et al.* The roles of p38 MAPK $\rightarrow$ COX2 and NF- κ B $\rightarrow$ COX-2 signal pathways in age-related testosterone reduction[J]. *Scientific Reports*, 2019, 9: 10556.

[13] 罗 影, 左中夫, 程 雪, 等. 葛花总黄酮通过 Nrf2/HO-1 信号通路对 1 型糖尿病大鼠肾脏的保护作用[J]. *中成药*, 2021, 43(11): 3178-3182.

[14] Samsu N. Diabetic nephropathy: Challenges in pathogenesis, diagnosis, and treatment [J]. *Biomed Res Int*, 2021, 2021: 1497449.

[15] 周晓丽, 张 倩, 钱智勇. 高脂血症动物模型肾功能损伤机制及干预研究进展[J]. *实验动物与比较医学*, 2022, 42(3): 213-219.

[16] 信长慧, 张竞超, 张付菊. 雷公藤多苷片对高脂小鼠血脂的影响[J]. *中国现代应用药学*, 2018, 35(9): 1351-1354.

[17] Terzuoli E, Meini S, Cucchi P, *et al.* Antagonism of bradykinin B2 receptor prevents inflammatory responses in human endothelial cells by quenching the NF- κ B pathway activation [J]. *PLoS One*, 2014, 9(1): e84358.

[18] 吴晓静. 高脂喂养大鼠肾脏 NF- κ B 及炎症因子表达变化及利拉鲁肽的干预研究[D]. 承德: 承德医学院, 2017.

[19] Yiu W H, Chan K W, Chan L Y Y, *et al.* Spleen tyrosine kinase inhibition ameliorates tubular inflammation in IgA nephropathy[J]. *Front Physiol*, 2021, 12: 650888.

[20] 闫双通, 李春霖, 陆菊明, 等. NF- κ B 及下游炎症因子在胰岛素抵抗大鼠肾脏中的表达[J]. *解放军医学杂志*, 2014, 39(10): 782-786.

[21] Palsamy P, Subramanian S. Resveratrol protects diabetic kidney by attenuating hyperglycemia-mediated oxidative stress and renal inflammatory cytokines *via* Nrf2-Keap1 signaling [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2011, 1812(7): 719-731.

[22] Cheng H F, Fan X F, Guan Y F, *et al.* Distinct roles for basal and induced COX-2 in podocyte injury[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2009, 20(9): 1953-1962.

[23] Nishikawa T, Araki E. Impact of mitochondrial ROS production in the pathogenesis of diabetes mellitus and its complications [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2007, 9(3): 343-353.

[24] 宋纯东, 侯小静, 薛黎明, 等. 雷公藤多苷片对糖尿病肾病大鼠肾组织 WT1 的影响[J]. *中华中医药杂志*, 2015, 30(12): 4472-4474.

[25] 宋纯东, 宋 丹, 任献青, 等. 雷公藤多苷片对糖尿病肾病大鼠肾组织 RhoA/ROCK1 表达的影响[J]. *中华中医药学刊*, 2020, 38(8): 166-169; 280.

[26] 高 原, 王 昱. 雷公藤多苷片治疗糖尿病肾病的疗效及其对肾功能、炎症因子等的影响[J]. *检验医学与临床*, 2022, 19(13): 1846-1849.

慈菇消脂方对 TGF- β 1 诱导 LX2 细胞 *miR-378a-3p* 表达及 Hh 信号通路的影响

王爱娣, 马燕花*, 王 莉, 赵秀萍
(甘肃中医药大学第一临床医学院, 甘肃 兰州 730000)

摘要: **目的** 观察慈菇消脂方对 TGF- β 1 诱导活化 LX2 细胞 *miR-378a-3p* 表达及 Hh 信号通路的影响。**方法** 将细胞分为对照组、诱导组、含药血清组、*miR-378a-3p* inhibitor 组、*miR* inhibitor NC 组。CCK-8 法检测各组细胞活力, 流式细胞术检测各组细胞凋亡率, RT-qPCR 检测各组细胞 *miR-378a-3p* 表达, RT-qPCR 和 Western blot 法检测各组细胞 *Shh*、*Gli1*、*Gli2*、*Col-I*、 α -SMA mRNA 和蛋白表达。**结果** 与对照组比较, 诱导组细胞活力及 *Shh*、*Gli1*、*Gli2*、*Col-I*、 α -SMA mRNA 和蛋白表达升高 ($P<0.01$), *miR-378a-3p* 表达降低 ($P<0.01$)。与诱导组比较, 含药血清组细胞活力、*Shh*、*Gli1*、*Gli2*、*Col-I*、 α -SMA mRNA 及 α -SMA、*Gli2* 蛋白表达降低 ($P<0.05$), 细胞凋亡率及 *miR-378a-3p* 表达升高 ($P<0.01$); *miR-378a-3p* inhibitor 组细胞活力、*Shh*、*Gli1*、*Gli2*、*Col-I*、 α -SMA mRNA 及 *Gli1*、*Gli2*、 α -SMA 蛋白表达升高 ($P<0.05$, $P<0.01$), 细胞凋亡率及 *miR-378a-3p* 表达降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)。**结论** 慈菇消脂方含药血清可上调 TGF- β 1 诱导 LX2 细胞 *miR-378a-3p* 表达和下调 *Gli2*、 α -SMA 表达, 从而抑制 LX2 细胞活化, 发挥抗肝纤维化的作用。

关键词: 慈菇消脂方; LX2 细胞; TGF- β 1; *miR-378a-3p*; Hh 信号通路

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2023)05-1643-06

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2023.05.044

收稿日期: 2022-12-26
基金项目: 国家自然科学基金地区基金项目 (81860821); 2019 年甘肃省高等学校创新能力提升项目 (2019B-104)
作者简介: 王爱娣 (1992—), 女, 硕士生, 从事消化内科研究。Tel: 15769416936, E-mail: 1145660670@qq.com
*** 通信作者:** 马燕花 (1976—), 女, 博士, 教授, 从事中西医结合内科研究。Tel: (0931) 8281992, E-mail: 617747928@qq.com