

益肾汤联合强的松与依那普利对 IgA 肾病小鼠肾 MMP-9、TIMP-1 表达的影响

万启军¹, 石成钢², 何永成¹, 吴正治³, 洪国保², 胡 斌⁴, 栾韶东¹

(1. 深圳市第二人民医院肾内科, 广东 深圳 518035; 2. 中山大学附属第三医院肾内科, 广东 广州 510630;
3. 深圳市中西医结合临床研究所, 广东 深圳 518035; 4. 中山大学达安基因诊断中心, 广东 广州 510080)

摘 要:【目的】探讨中药“益肾汤”治疗 IgA 肾病(IgAN)的机理。【方法】用“口服牛血清白蛋白联合尾静脉注射葡萄球菌肠毒素 B”法复制小鼠 IgAN 模型。设正常组、模型组、益肾汤低浓度、益肾汤高浓度、强的松+依那普利、强的松+依那普利+益肾汤低浓度、强的松+依那普利+益肾汤高浓度 7 组。FQ-PCR 法检测小鼠肾组织 MMP-9、TIMP-1 mRNA 表达、免疫组化 SABC 法检测小鼠肾组织 MMP-9、TIMP-1 的含量。【结果】模型组小鼠肾间质 MMP-9 表达(PU 值: 6.9 ± 2.7 vs 5.8 ± 2.1 ; mRNA 表达: 0.297 ± 0.025 vs 0.107 ± 0.004)与正常组比较差异无显著性 ($P > 0.05$), 而模型组 TIMP-1 表达 (PU 值: 18.0 ± 7.7 vs 5.2 ± 2.2 ; mRNA 表达: 0.884 ± 0.247 vs 0.109 ± 0.007)则较正常组明显上调 ($P < 0.05$)。益肾汤低浓度组与高浓度组之间肾小管间质 MMP-9、TIMP-1 表达差异无显著性 ($P > 0.05$), 但益肾汤高浓度组与低浓度两组 MMP-9 表达均强于模型组 (PU 值: 8.9 ± 3.0 vs 6.9 ± 2.7 , 8.9 ± 3.3 vs 6.9 ± 2.7 ; mRNA 表达: 0.397 ± 0.047 vs 0.297 ± 0.025 , 0.386 ± 0.027 vs 0.297 ± 0.025 ; $P < 0.05$), 而 TIMP-1 的表达均弱于模型组 (PU 值: 14.92 ± 6.07 vs 18.04 ± 7.70 , 15.55 ± 6.01 vs 18.04 ± 7.70 ; mRNA 表达: 0.665 ± 0.197 vs 0.883 ± 0.247 , 0.713 ± 0.221 vs 0.883 ± 0.247 ; $P < 0.05$)。5 个治疗组中强的松+依那普利+益肾汤高浓度组 MMP-9 mRNA 及其蛋白表达最强 (PU 值: 34.3 ± 8.7 ; mRNA 表达: 1.265 ± 0.433)、而 TIMP-1 mRNA 及其蛋白表达最弱 (PU 值: 9.2 ± 3.4 ; mRNA 表达: 0.293 ± 0.068)。【结论】益肾汤可促进 IgAN 小鼠肾组织 MMP-9 的表达、抑制 TIMP-1 的表达。强的松+依那普利+益肾汤的联合治疗方案较单用强的松+依那普利或单用益肾汤治疗 IgAN 有更好的疗效。

关键词: 益肾汤; IgA 肾病; 基质金属蛋白酶; 组织金属蛋白酶抑制剂; 荧光定量聚合酶链反应

中图分类号: R28 文献标识码: A 文章编号: 1672-3554(2008)03-0412-06

Experimental Study of Effects of TCM YiShen Decoction Combined with Prednisone and Enalapril on Expressions of MMP-9 and TIMP-1 in Kidney Tissue of Mice with IgA Nephropathy

WAN Qi-jun, SHI Cheng-gang, HE Yong-cheng, WU Zheng-zhi, HONG Guo-bao,
HU Bing, LUAN Shao-dong

(1. Renal Division, The Second People's Hospital of Shenzhen, Shenzhen 518035, China; 2. Renal Division, The Third Affiliated Hospital, SUN Yat-sen University, Guangzhou 510085, China; 3. Western and Chinese Medicine Institute of Shenzhen, Shenzhen 518035, China; 4. Daan Gene Diagnosis Center, SUN Yat-sen University, Guangzhou 510080, China)

Abstract: 【Objective】To explore the contents and mRNA expressions of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1) in kidney tissue of mice with IgA nephropathy (IgAN) and the effects of TCM YiShen Decoction combined with prednisone and enalapril on them. 【Methods】The IgAN model was

收稿日期: 2007-04-20

基金项目: 深圳市科技和信息局科研基金 (200602025)

作者简介: 万启军 (1967-), 男, 重庆市人, 医学博士, 主任医师, E-mail: wanqijunsz@yahoo.com.cn; 石成钢, 通讯作者

established by the method of oral intake of bovine serum albumin (BSA) together with the injection of staphylococcus enterotoxin B (SEB) through caudal vein. The mRNA expressions of MMP-9 and TIMP-1 were measured by fluorescent quantitative polymerase chain reaction (FQ-PCR) and the contents of MMP-9 and TIMP-1 protein were measured by immunohistochemistry. 【Results】 No significant differences of mRNA and protein expression of MMP-9 and TIMP-1 were found between the low concentration and high concentration Yishen Decoction group. But the secretion and mRNA expression of TIMP-1 in the low and high concentration Yishen Decoction group was decreased than the IgAN model group (PU: 14.9 ± 6.1 vs 18.0 ± 7.7 , 15.6 ± 6.0 vs 18.0 ± 7.7 ; mRNA: 0.665 ± 0.198 vs 0.884 ± 0.247 , 0.713 ± 0.221 vs 0.883 ± 0.247) ($P < 0.05$), while that of MMP-9 was stronger than the model control group (PU: 8.9 ± 3.0 vs 6.9 ± 2.7 , 8.9 ± 3.3 vs 6.9 ± 2.7 ; mRNA expression: 0.397 ± 0.047 vs 0.297 ± 0.025 , 0.386 ± 0.027 vs 0.297 ± 0.025 ; $P < 0.05$). Among the five treatment groups, the prednisone plus enalapril plus Yishen Decoction group showed the weakest mRNA and protein expression of TIMP-1 (PU: 9.2 ± 3.4 ; mRNA expression: 0.293 ± 0.068) and the strongest expression of MMP-9 (PU: 34.3 ± 8.7 ; mRNA expression: 1.265 ± 0.433). 【Conclusion】 The abnormal expression of MMP-9, TIMP-1 mRNA and protein play important roles in the onset and development of IgAN. The TCM Yishen Decoction can reduce the abnormal expression of the mRNA and protein of TIMP-1, strengthen the mRNA and protein expression of MMP-9 so as to slow down the renal injury that was less obvious than the combination of prednisone with enalapril. The combination of prednisone plus enalapril plus Yishen Decoction has better treatment effect than single use of combination of prednisone and enalapril or the single use of Yishen Decoction to modulate the abnormal expression of MMP-9 and TIMP-1 mRNA and protein in kidney tissue of mice with IgA nephropathy.

Key words: TCM Yishen Decoction; IgA nephropathy; fluorescence quantitative polymerase chain reaction; matrix metalloproteinases; tissue inhibitor of metalloproteinases

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2008, 29(3): 412-417]

IgA肾病(IgAN)是目前公认的发病率最高的原发性肾小球疾病,也是慢性肾功能不全的主要病理类型。细胞外基质(ECM)的过度积聚而导致肾间质纤维化是IgAN发展为终末期肾病的主要途径。如何减少ECM的过度积聚,从而延缓IgAN的进展已经成为近年来人们的研究的热点之一。关于“IgA如何治疗?治疗的具体方案如何?”西医尚无一致的意见。中医药是我国的特色,如何合理应用中药治疗IgAN,已引起人们的广泛兴趣。临床已有大量文献^[1,2]报道,应用中西药联合治疗可以延缓IgAN的进展,但从机制方法探讨较少。基质金属蛋白酶(MMPs)及组织金属蛋白酶抑制剂(TIMPs)的比例失衡,在ECM的合成和降解过程中有重要作用^[3]。本文检测了MMP-9、TIMP-1在IgAN肾小管间质中表达的变化以及中药方剂益肾汤与西药对其的影响。

1 材料与方方法

1.1 益肾汤组方及制备

黄芪 15 g、生地 20 g、丹皮 10 g、熟地 15 g、赤芍 10 g、当归 10 g、山药 15 g、茯苓 15 g、山茱萸 15 g、金樱子 15 g、枸杞子 15 g、白茅根 30 g、女贞

子 15 g、旱莲草 15 g、仙鹤草 20 g;按照“人-鼠用药剂量转换公式”计算,浓缩成高浓度(相当于成人剂量的两倍)及低浓度(相当于成人的用量)两种剂型,原液装瓶,高压消毒后密封保存,备用。

1.2 小鼠 IgAN 模型的建立、鉴定及动物分组

1.2.1 实验动物 BALB/C 小鼠 105 只,鼠龄 8~10 周,体质量 18~22 g,雌性。由中山大学实验动物中心提供。动物许可证:SCXK(粤)2004-0011,动物批号:NO.0018045,粤监证字:2006A003。

1.2.2 造模所用主要试剂 牛血清白蛋白(BSA,深圳市晶美生物有限公司,产品批号:RF101-010),葡萄球菌肠毒素 B(SEB,中国军事医学科学院微生物流行病学研究所)。

1.2.3 造模 按文献[4]介绍,用“口服牛血清白蛋白联合尾静脉注射葡萄球菌肠毒素 B”法复制小鼠 IgAN 模型。

1.2.4 IgAN 鼠模型的鉴定及分组 造模第 5 周末,确定 IgAN 模型成功后,分组干预,共观察 12 周:①正常组(A组 $n=15$):1 mL 蒸馏水灌胃,每天 1 次。②模型组(B组 $n=16$):1 mL 蒸馏水灌胃,每天 1 次。③泼尼松+依那普利组(C组 $n=14$):泼尼松每天 5 mg/kg 和依那普利每天 10 mg/kg 混于 1 mL 蒸馏水中灌胃,每天 1 次。④泼尼松+依那普

利+益肾汤低浓度组(D组 $n=14$):泼尼松每天 5 mg/kg 和依那普利每天 10 mg/kg 溶于低浓度益肾汤 1 mL 中灌胃,每天 1 次。⑤益肾汤低浓度组(E组 $n=14$):低浓度益肾汤 1 mL 灌胃,每天 1 次。⑥泼尼松+依那普利+益肾汤高浓度组(F组 $n=14$):泼尼松每天 5 mg/kg 和依那普利每天 10 mg/kg 溶于高浓度益肾汤 1 mL 中灌胃,每天 1 次。⑦益肾汤高浓度组(G组 $n=14$):高浓度益肾汤 1 mL 灌胃,每天 1 次。

1.3 FQ-PCR 法检测各组小鼠肾组织 MMP-9、TIMP-1 mRNA 的表达

1.3.1 肾组织 RNA 的提取 肾组织块(约 100 mg)置匀浆器,加 Trizol(Invitrogen 公司)1 mL,冷冻匀浆,转置于 1.5 mL Eppendorf 管,加入氯仿 0.2 mL,盖紧盖子,用力摇动 15 s,15~30℃孵育 2~3 min,4℃,12 000 r/min($r=15$ cm),离心 15 min,取上清液至另一 1.5 mL Eppendorf 管,加与上清液等体积的异丙醇,15~30℃孵育样品 10 min,4℃,12 000 r/min($r=15$ cm),离心 10 min,弃上清液,75%乙醇(含 DEPC 水)洗涤沉淀一次(至少 1 mL 75%乙醇/mL Trizol),4℃7 500 r/min 离心 5 min,弃乙醇,空气或真空干燥 5~10 min(不要完全干燥),加 DEPC 处理水溶解 RNA,-80℃保存备用。若长期保存,加入 2.5 倍体积乙醇,置-80℃保存。

1.3.2 引物的设计和合成 Primer express 2.0 软件(美国 Applied Bio-system Inc.),序列如下: Sequence Name, MMP-9; Forward Primer, 5'-CGTG-GGTCGATTCCAAACC-3'; Reverse Primer, 5'-GGCA-AGTCTTCAGAGTAGTTTTGGAT-3'; TaqMan Probe, 5'-FAM-TCAAAGGCCTCAAGTGGGACCATCATTA-MRA-3'; Sequence Name, TIMP-1; Forward Primer, 5'-TCGACATGGAGCTGGTGAAA-3'; Reverse Primer, 5'-CGAGCCTTAGTTTGGACAGGAT-3'; TaqMan Probe, 5'-FAM-AAGCGCATCGAAGCCATCCG-TAMRA-3'。 Sequence Name, GAPDH(内参照基因); Forward Primer, 5'-TGTGTCCGTCCTGGATCTGA-3'; Reverse Primer, 5'-TGCCTGCTTCACCACCTTCT-3'; TaqMan Probe, 5'-FAM-TGCCGCTGGAGAAACCTGCC-TAMRA-3'。由 ABI3900 台式高通量 DNA 合成仪合成。引物和探针由中山大学达安基因诊断中心合成并纯化。

1.3.3 逆转录反应 取 4 μ L RNA 模板做逆转录

反应,仪器为 PE 9600 PCR 仪(美国 Perkin Elmer 公司),反应体系如下:(德国 QIAGEN 公司 RT-PCR 试剂盒)5 $\times$ 逆转录 buffer 4 μ L[逆转录 buffer 成:50 mmol/L Tris-HCl(pH 8.0),50 mmol/L KCl,4 mmol/L $MgCl_2$,10 mmol/L DTT]。上游引物(10 nmol/L)0.4 μ L,下游引物(10 nmol/L)0.4 μ L,dNTPs(10 mmol/L)0.5 μ L(华美),MMLV(200 U/ μ L)1 μ L,DEPC(焦炭酸二乙酯)水 9.7 μ L,RNA 模板 4 μ L,总体积:20 μ L。反应条件:37℃1 h、95℃3 min。

1.3.4 荧光定量 PCR 反应 以下反应均由荧光定量仪 PE 7000 型 PCR 扩增仪扩增完成。反应体积为 50 μ L,反应体系:5 $\times$ 定量 PCR buffer(美国 ABI 公司)10 μ L,上游引物 F(10 nmol/L)1 μ L,下游引物 R(10 nmol/L)1 μ L,dNTPs(25 mmol/L)(Sigma 公司)0.5 μ L,荧光探针(10 nmol/L)(上海生工)1 μ L,Taq 酶(美国 ABI 公司)1.5 μ L,cDNA 5 μ L,双蒸水 30 μ L[PCR buffer 成分:10 mmol/L Tris-HCl(pH 8.0),50 mmol/L KCl,2 mmol/L $MgCl_2$]。反应条件:93℃2 min,93℃45 s,55℃45 s,共 40 个循环。

1.4 免疫组化 SABC 法检测各组小鼠肾组织 MMP-9、TIMP-1 含量

取免疫组化的肾组织切片,置于显微镜下,计数 10 个肾小球,光学放大 400 倍,图像摄入德国 KONTRON IBAS 2.5 全自动图像分析系统,应用阳性单位值(positive unit PU)的计算公式计算 PU 值,以各组间的 PU 值进行比较。 $PU=100 \times (Ga-GA)/[(1-Aa) \times G_{max}]$ 。Ga:为阳性反应的平均灰度级;GA:为整个视野的平均灰度;Aa:为阳性反应的面积密度; G_{max} :为设定的灰度最高级。

1.5 统计学方法

采用 SPSS11.0 统计软件进行统计分析。数据以 $\bar{x} \pm s$,配对资料 t 检验, $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 IgAN 动物模型

造模组小鼠尾静脉注射 SEB 后均有不同程度的神态萎靡、皮毛蓬乱、反应性下降、食量减少等现象;而正常对照组小鼠活动度、反应性、进食量等均未见明显异常。造模组抽样鼠 24 h 尿蛋白定量显著高于正常对照组小鼠[(11.7 $\pm$ 4.4)mg/d vs

(5.5 ± 1.5)mg/d, $P < 0.01$]. 光镜见($\times 400$ 倍 PAS 染色)造模组小鼠肾小球体积轻度增大,系膜细胞和基质中重度增生,部分肾小球囊腔粘连,肾小球毛细血管管腔挤压变窄。而正常对照组小鼠肾小球未见明显异常(图 1);免疫荧光检查(IF, $\times 400$ 倍)可见造模组小鼠系膜区 IgA+++ ,而正常对照组小鼠系膜区 IgA- ~ $\pm$ (图 2)。

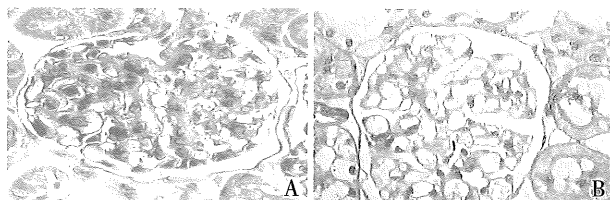


图 1 光镜检查

Fig.1 Light Microscope test($\times 400$)

A: model group; B: control group

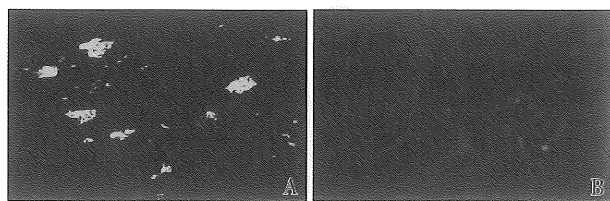


图 2 免疫荧光检查

Fig.2 Immunofluorescence test($\times 400$)

A: model group; B: control group

2.2 免疫组化结果

各组小鼠 MMP-9、TIMP-1 PU 值的比较见表 1。

2.3 FQ-PCR 检测肾组织 MMP-9、TIMP-1mRNA 的结果

各样本中 MMP-9、TIMP-1mRNA 曲线,见图 5、6;各样本肾组织中 MMP-9、TIMP-1mRNA 表达的差异见表 2。

3 讨论

肾间质纤维化几乎是包括 IgAN 在内的所有肾脏疾病发展成终末期肾衰竭的共同通路,其主要病理变化是肾间质大量 ECM 的沉积。IgAN 系膜细胞和系膜基质增生,是多种因素综合作用的结果,其中 ECM 降解减少在 ECM 沉积的过程中发挥重要作用。在有关 ECM 的降解酶系中,MMP-9

表 1 小鼠 MMP-9、TIMP-1 PU 值的比较

Table 1 The comparison of the positive unit of MMP-9 and TIMP-1 in mice ($\bar{x} \pm s$)

Group	n	MMP-9 PU(%)	TIMP-1 PU(%)
A	15	5.76 ± 2.13	5.24 ± 2.22
B	16	$6.89 \pm 2.66^{1)}$	$18.04 \pm 7.70^{1)2)}$
C	14	$17.33 \pm 6.03^{3)}$	$13.36 \pm 6.03^{3)}$
D	14	23.78 ± 4.68	9.87 ± 3.36
E	14	$8.91 \pm 3.32^{3)}$	$15.55 \pm 6.01^{3)4)}$
F	14	34.34 ± 8.73	$9.21 \pm 3.35^{5)}$
G	14	$8.88 \pm 2.98^{3)}$	$14.92 \pm 6.07^{3)}$

Compared with the normal group, 1) $P < 0.05$; Compared with the treated groups, 2) $P < 0.05$; Compared with the prednisone + enalapril + low concentration Yishen Decoction group, 3) $P < 0.05$; Compared with the high concentration Yishen Decoction group, 4) $P > 0.05$; Compared with the prednisone + enalapril + low concentration concentration Yishen Decoction group, 5) $P > 0.05$

表 2 小鼠肾组织 MMP-9、TIMP-1mRNA 表达

Table 2 The expression of MMP-9 and TIMP-1mRNA in the kidney tissue of mice ($\bar{x} \pm s$)

Group	n	MMP-9 PU(%)	TIMP-1 PU(%)
A	15	0.107 ± 0.003	0.110 ± 0.007
B	16	$0.297 \pm 0.025^{2)}$	$0.884 \pm 0.247^{1)2)}$
C	14	$0.837 \pm 0.240^{3)}$	$0.557 \pm 0.102^{3)}$
D	14	1.113 ± 0.563	0.312 ± 0.040
E	14	$0.386 \pm 0.027^{3)}$	$0.713 \pm 0.221^{3)4)}$
F	14	1.264 ± 0.433	$0.293 \pm 0.068^{5)}$
G	14	$0.340 \pm 0.047^{3)}$	$0.665 \pm 0.198^{3)}$

Compared with the normal group, 1) $P < 0.05$; Compared with the treated groups, 2) $P < 0.05$; Compared with the prednisone + enalapril + low concentration Yishen Decoction group, 3) $P < 0.05$; Compared with the high concentration Yishen Decoction group, 4) $P > 0.05$; Compared with the prednisone + enalapril + low concentration concentration Yishen Decoction group, 5) $P > 0.05$

主要降解 IV 型胶原等基膜成分^[5,6], TIMP-1 则对 MMP-1、2、3、9 均有抑制作用,有学者报道, TIMP-1 在多种表现为 ECM 沉积的肾脏疾病中发挥作用^[7,8]。

传统中医认为 IgAN 属本虚标实之证,以肺、脾、肾三脏虚弱为本,外感、水湿、湿热、瘀血及湿浊为标^[9]。现代医学研究认为 ECM 聚积与中医的

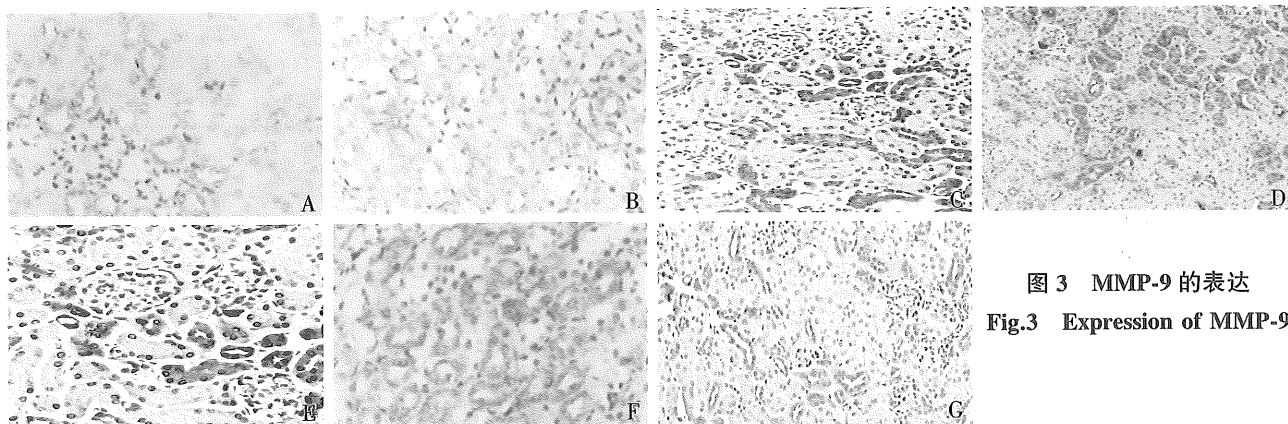


图 3 MMP-9 的表达

Fig.3 Expression of MMP-9

A: Control group; B: Model group; C: Predisone+enalapril group; D: Predisone+enalapril+low group; E: Low concentration Yishen Decoction group; F: Predisone+enalapril+high group; G: High concentration Yishen Decoction group; $\times 200$

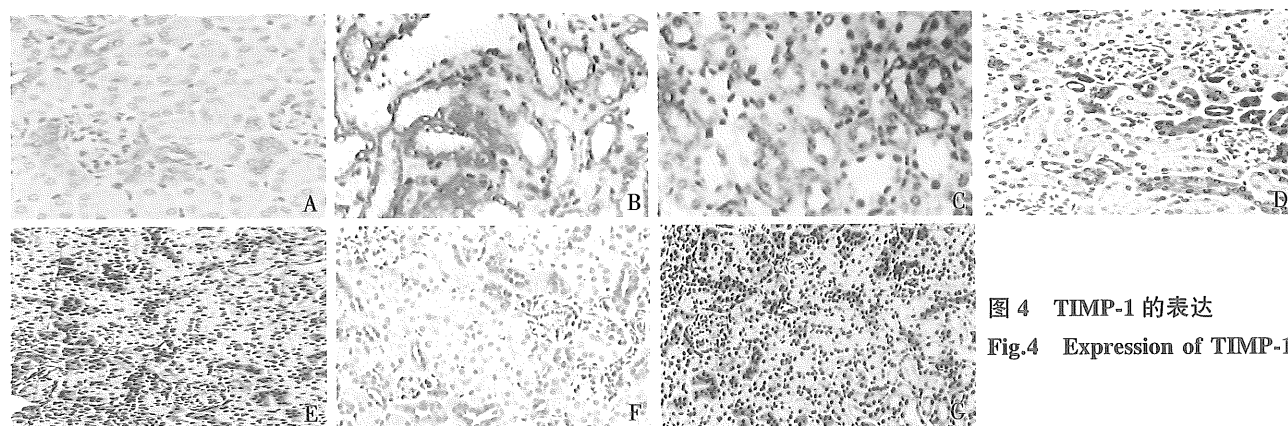


图 4 TIMP-1 的表达

Fig.4 Expression of TIMP-1

A: Control group; B: Model group; C: Predisone+enalapril group; D: Predisone+enalapril+low group; E: Low concentration Yishen Decoction group; F: Predisone+enalapril+high group; G: High concentration Yishen Decoction group; $\times 200$

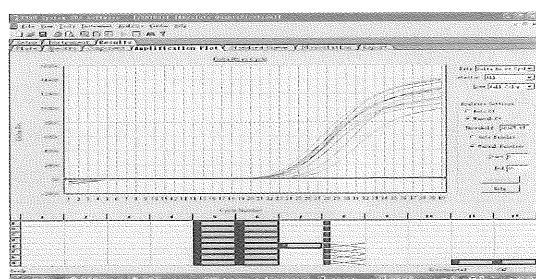


图 5 各样本 MMP-9 荧光扩增曲线图

Fig.5 The fluorescent expanding cures of MMP-9 in samples

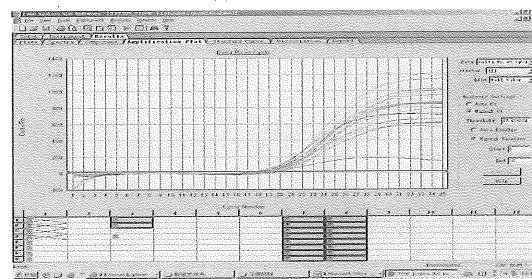


图 6 各样本 TIMP-1 荧光扩增曲线图

Fig.6 The fluorescent expanding cures of TIMP-1 in samples

“血瘀”有密切的联系^[10]。经验方“益肾汤”是在古代名方“六味地黄丸《小儿药证直诀》”基础上,结合临床用药体会加减化裁而成。方中熟地甘柔补血,滋肾填精、当归补血活血;山茱萸、枸杞子、女贞子滋养肝肾固肾气;黄芪补气升阳、山药健脾益胃以助运化,茯苓渗利脾湿,丹皮凉泻肝火,生地、赤芍、白茅根清热凉血,金樱子固精,旱莲草滋阴、仙鹤草收剑。研究证实^[11,12]“益肾汤”组方中,多

味中药均有益气、活血、化淤之功效,并有减少 IgAN 患者的蛋白尿、稳定患者肾功能的作用。

本实验结果显示,正常组小鼠肾小管间质均有微量 MMP-9 及 TIMP-1 表达;模型组小鼠 MMP-9 表达与正常组无显著差异,而模型组肾小管间质 TIMP-1 表达则显著上调,主要在肾小管上皮细胞尤其在肾小球周围的肾小管上皮细胞中大量表达。本研究虽未证实益肾汤低浓度组与高浓度组之间

MMP-9、TIMP-1 表达有显著差异,但益肾汤低浓度及高浓度组小鼠 MMP-9 表达均强于模型组,而 TIMP-1 表达均弱于模型组,差异均有显著性,显示益肾汤可促进肾组织 MMP-9 的表达、抑制 TIMP-1 的表达。在 5 个治疗组中强的松+依那普利+益肾汤治疗组 MMP-9mRNA 及蛋白表达最强而 TIMP-1mRNA 及蛋白表达最弱,提示强的松+依那普利+益肾汤的联合治疗方案较单用强的松+依那普利治疗或单用益肾汤治疗 IgAN 有更好的疗效。

参考文献:

- [1] 王永钧,陈洪宇. IgA 肾病中西医结合诊断及治疗建议[J]. 中国中西医结合肾病杂志,2005,2(1):63-66.
- [2] 张立艳,曲环汝,刘超. 胡仲仪辨治 IgA 肾病经验[J]. 陕西中医,2003,23(4):331-333.
- [3] 罗克勤,黄锋先,关伟明,等. MMP-2、MMP-9 在大鼠氨基核苷肾病肾组织中的表达及作用探讨[J]. 中山大学学报:医学科学版,2004,25(3s):96-99.
- [4] 刘志红,黎磊石,李莉. 葡萄球菌肠毒素诱发的 IgA 肾病模型[J]. 中华肾脏病杂志,1989,5(1):6-10.
- [5] Balbin M, Fueyo A, Knauper V, et al. Collagenase 2 (MMP-8) expression in murine tissue remodeling processes, analysis of its potential role in postpartum involution of the uterus [J]. J Biol Chem, 1998, 273

(37): 315-319.

- [6] 伊志强,侯瑞光,王拓,等. 胶质瘤中 MMP-2 和 TIMP-2 的表达及意义[J]. 中华神经医学杂志,2005,4(11):1097-1100.
- [7] Karamessinis PM, Tzinia AK, Kitsiou PV, et al. Proximal tubular epithelial cell integrins respond to high glucose by altered cell matrix interactions and differentially regulate matrix in expression [J]. Lab Invest, 2002, 82(8):1081-1093.
- [8] 王建中,陈香美,师锁柱,等. 基质金属蛋白酶 9 和金属蛋白酶组织抑制物 1 在 IgA 肾病肾组织中的表达[J]. 中华内科杂志,2002,41(2):75-77.
- [9] 刘宏伟,庞俊娟. 中医药治疗 IgA 肾病的临床探析[J]. 辽宁中医杂志,1998,25(4):158-160.
- [10] 陈香美,陈以平,李平,等. 1016 例 IgA 肾病患者中医证候的多中心流行病学调查及相关因素分析[J]. 中国中西医结合杂志,2006,3(26):197-200.
- [11] Yin XX, Zhang YD, Wu HW, et al. Protective effects of astragalus saponin I on early stage of diabetic nephropathy in rats[J]. J Pharmacol Sci, 2004, 95(2):256-266.
- [12] Ang N, Isbel NM, Nikollrpaterson DJ, et al. Local macrophage proliferation in human glomerulonephritis [J]. Kidney Int, 1998, 54(6):143-151.

(编辑 徐杰)

(上接 411 页 from page 411)

性自身免疫性脑脊髓炎,其机制可能与抑制抗原刺激的淋巴细胞增殖、降低促炎细胞因子如 IFN- γ 的释放和趋化因子的表达等作用相关;刘鹏英等^[10]报道 QKL 降低大鼠脑出血后脑组织中 TNF- α 含量,减轻炎症反应。这些研究报道同本研究都表明 QKL 在体内具有抗炎和负性免疫调节作用。

总之,本研究从体内和体外两个层次都证明, QKL 是一种有效的负性免疫调节药物,其抑制 T 细胞的活化和增殖可能是其免疫抑制作用机制之一,也可能是临床有效治疗免疫相关性疾病有效的基础。

参考文献:

- [1] 范京国,崔立新,周东民,等. 清开灵注射液的实验和临床研究近况[J]. 光明中医,2007,22(1):67-69.
- [2] 徐建好,张维. 清开灵注射液近 5 年临床应用概况[J]. 中华实用中西医杂志,2005,16(18):756-759.
- [3] 欧阳华,刘弋戈. 清开灵注射液临床应用概述[J]. 海峡药学,2005,17(3):121-125.

- [4] 赵令斋,曾耀英,曾祥凤,等. 白杨素对小鼠 T 细胞体外活化、增殖和细胞周期的影响[J]. 暨南大学学报,2006,27(6):779-783.
- [5] 陈孝银,周光雄,赵昌林,等. 番荔枝内酯单体 Desacetylavaricin 对肝癌细胞株生长和凋亡的影响[J]. 中山大学学报:医学科学版,2007,28(3):254-267.
- [6] 任钧国,邱全璞,郝玉,等. 清开灵对白细胞-血管内皮细胞粘附的影响[J]. 中国中医药信息杂志,2003,10(5):16-17.
- [7] 李世纲,戴恩来,崔笑梅. 清开灵注射液对实验性肾炎大鼠肾皮质细胞 NF- κ B 表达影响的实验研究[J]. 甘肃中医,2001,14(6):66-67.
- [8] 宋春杰,尹岭,朱克. 清开灵有效治疗实验性自身免疫性脑脊髓炎[J]. 中国神经免疫学和神经病学杂志,2003,10(3):156-158.
- [9] 宋春杰,尹岭,丁新生,等. 复方黄芪甙制剂对实验性自身免疫性脑脊髓炎小鼠淋巴细胞表型和趋化因子受体 CCR5 表达的影响[J]. 南京医科大学学报,2005,25(12):887-889.
- [10] 李鹏英,刘敏,鲁艺,等. 新清开灵注射液对大鼠脑出血后脑组织 TNF- α 、SOD 的影响[J]. 中医药学报,2007,35(1):10-13.

(编辑 刘清海)