

疏肝补肾方对被动型 Heymann 肾炎大鼠 IL-6 及 TGF- β_1 /Smad 信号通路的影响*

李文圃, 侯亚威, 王会浩, 肖振卫[△]

山东中医药大学, 山东 济南 250355

[摘要] 目的:观察疏肝补肾方对被动型 Heymann 肾炎(passive Heymann nephritis, PHN)大鼠的治疗作用,探讨该方防治膜性肾病(membranous nephropathy, MN)的作用机制。方法:将32只雄性SD大鼠随机选取8只作为空白对照组,其余24只通过尾静脉注射羊抗大鼠 Fx1A 血清构建 PHN 大鼠模型。建模成功后,将 PHN 大鼠随机分为模型组、疏肝补肾方组和西药组,每组8只。分组后开始灌胃给药干预:疏肝补肾方组大鼠按 11.7 g·kg⁻¹·d⁻¹ 剂量灌服疏肝补肾方药液;西药组大鼠灌服醋酸泼尼松(1 mg·kg⁻¹·d⁻¹)联合环磷酰胺(3 mg·kg⁻¹·d⁻¹)混悬液;空白对照组与模型组大鼠均灌服等量生理盐水。各组均每日灌胃1次,连续干预4周。于造模1周后(干预起始前)及干预1、2、4周时,收集大鼠24 h尿液,采用酶联免疫吸附测定法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)检测24 h尿蛋白定量(24 hour urinary protein quantification, 24 h UP)。干预4周后,经下腔静脉采血,采用ELISA法检测血清白细胞介素6(interleukin-6, IL-6)水平;取大鼠肾组织,分别进行光镜与电镜病理形态学观察;采用实时荧光定量聚合酶链式反应(quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR)法检测肾组织中转化生长因子 β_1 (transforming growth factor- β_1 , TGF- β_1)、Smad2、Smad7的mRNA表达水平。结果:干预4周后,疏肝补肾方组、西药组大鼠24 h UP水平均低于模型组,且西药组降低幅度更明显,差异具有统计学意义($P < 0.05$);疏肝补肾方组与西药组的24 h UP水平比较,差异无统计学显著性($P > 0.05$)。各组大鼠血清IL-6水平比较,差异无统计学显著性($P > 0.05$)。肾组织PAS染色光镜结果显示:与模型组相比,西药组和疏肝补肾方组大鼠肾小球增大、基底膜增厚、毛细血管襻僵硬等病理改变均有所减轻。电镜结果显示:西药组和疏肝补肾方组大鼠肾组织基底膜增厚程度缓解,足突融合范围缩小,仅见少量电子致密物稀疏沉积。分子生物学检测结果显示:与空白对照组比较,模型组大鼠肾组织中TGF- β_1 、Smad2的mRNA表达水平呈升高趋势,Smad7 mRNA表达水平呈降低趋势,但差异均无统计学显著性($P > 0.05$);西药组大鼠肾组织Smad7 mRNA表达水平显著降低($P < 0.05$);与模型组比较,疏肝补肾方组与西药组大鼠肾组织TGF- β_1 、Smad2的mRNA表达水平均降低,且Smad2 mRNA表达水平降低更为显著($P < 0.05$)。结论:疏肝补肾方能够降低被动型 Heymann 肾炎大鼠的尿蛋白水平,减轻肾组织病理损伤,并可下调肾组织中TGF- β_1 与Smad2 mRNA的表达,影响TGF- β_1 /Smad信号通路,进而抑制肾组织纤维化进程,发挥延缓膜性肾病进展的作用。

[关键词] 被动型 Heymann 肾炎;膜性肾病;疏肝补肾方;白细胞介素6;信号通路

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 2096-9600(2026)03-0022-06

Effects of Liver-soothing Kidney-invigorating Prescription on IL-6 and TGF- β_1 /Smad Signaling Pathway in Rats with Passive Heymann Nephritis

LI Wenpu, HOU Yawei, WANG Huihao, XIAO Zhenwei[△]

Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China

Abstract Objective: To observe therapeutic effects of liver-soothing kidney-invigorating prescription on rats suffering passive Heymann nephritis (PHN), and to discuss the mechanism of the prescription in preventing and treating MN. Methods: All 32 male SD rats were randomly divided into a blank control group ($n=8$) and a model induction group ($n=24$). The model induction group received an injection of sheep anti-rat Fx1A serum via the tail vein to establish the PHN rat models. After successfully modeling, PHN rats were randomized into the model group, liver-soothing kidney-invigorating prescription group and Western medicine group with eight in each. The rats began to receive intragastric administration for intervention after grouping: liver-soothing kidney-invigorating prescription group was drenched with the solution of liver-soothing kidney-invigorating prescription at a dose of 11.7 g·kg⁻¹·d⁻¹; Western medicine group accepted the gavage of the suspension of prednisone acetate (1

mg·kg⁻¹·d⁻¹) combined with cyclophosphamide (3 mg·kg⁻¹·d⁻¹); the blank control group and the model group were administered with the same amount of physiological saline. All the groups accepted intragastric administration once each day, for four weeks in a row. Urine samples of the rats were collected for 24 hours at one week after modeling (before the start of intervention) and at 1, 2, and 4 weeks of intervention, ELISA was adopted to detect the levels of 24 h UP. After four weeks of the intervention, blood was collected from the inferior vena cava, ELISA was applied to measure the levels of IL-6 in the serum; renal tissue samples were collected from the rats for pathological morphological observation under light microscope and electron microscope, respectively. The expressions of TGF- β_1 , Smad2 and Smad7 mRNA in renal tissues were tested using qRT-PCR method. Results: After four weeks of the intervention, the levels of 24h UP in liver-soothing kidney-invigorating prescription group and Western medicine group were lower than these in the model group, and the decrease in Western medicine group was more evident, and the difference demonstrated statistical meaning ($P<0.05$); The difference was not statistically significant in the levels of 24h UP between liver-soothing kidney-invigorating prescription group and Western medicine group ($P>0.05$). The difference was not statistically significant in the levels of IL-6 between all the groups ($P>0.05$). Light microscopy of PAS-stained kidney tissue showed that, compared with the model group, pathological changes such as glomerular enlargement, basement membrane thickening, and capillary loop rigidity were alleviated in both the Western medicine group and the liver-soothing kidney-invigorating prescription group. Electron microscopy showed that in the Western medicine group and liver-soothing kidney-invigorating prescription group, the degree of basement membrane thickening was reduced, the extent of foot process fusion was decreased, and only sparse deposition of a small amount of electron-dense deposits was observed. Results of molecular biology assays revealed that: compared with the blank control group, the expressions of TGF- β_1 and Smad2 mRNA showed an upward trend, while the expressions of Smad7 mRNA presented a downward trend, but the difference had no statistical meaning ($P>0.05$); the levels of Smad7 mRNA in renal tissue was significantly decreased in the Western medicine group ($P<0.05$); compared with the model group, the Western medicine group and liver-soothing kidney-invigorating prescription group demonstrated the lowered levels of TGF- β_1 and Smad2 mRNA, and the decrease in the expressions of Smad2 mRNA was more noticeable ($P<0.05$). Conclusion: Liver-soothing kidney-invigorating prescription could lower the levels of urinary protein and relieve renal histopathological lesions in rats with PHN, and downregulate the expressions of TGF- β_1 and Smad2 mRNA in the renal tissue, and affecting TGF- β_1 /Smad signaling pathway, thereby inhibiting renal tissue fibrosis and delaying the progression of MN.

Keywords passive Heymann nephritis; membranous nephropathy;
liver-soothing kidney-invigorating prescription; IL-6; signaling pathway

膜性肾病(membranous nephropathy, MN)好发于中老年男性,是临床常见的肾脏疾病,约占肾小球疾病的20%~30%^[1]。在我国, MN的发病率逐年增高,且呈现出年轻化趋势^[2]。目前临床上对MN的治疗多采用糖皮质激素联合免疫抑制剂的方案,但该方案存在副作用较大、复发率较高等不足。对老年患者来说,常易导致抵抗力下降、血糖升高等问题,从而增加感染风险,影响治疗进程。近年来,中医药在治疗MN方面显示出一定优势,尤其在减少不良反应、提高临床疗效方面逐渐受到重视。疏肝补肾方基于名老中医张珍玉教授在脏腑理论方面的独特学术观点,以肝主疏泄与肾主封藏的对立统一关系为立法依据组方而成^[3]。本研究采用尾静脉注射羊抗大鼠F_x1A血清的方法,建立被动型Heymann肾炎(passive Heymann nephritis, PHN)大鼠模型,观察疏肝补肾方对

PHN大鼠尿蛋白水平及肾组织病理变化的作用,并检测其对相关细胞因子表达的影响,从而探讨疏肝补肾方防治MN的作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物 SPF级SD大鼠32只,雄性,体重180~200 g,饲养于山东中医药大学附属医院SPF级动物房。所有大鼠均由济南朋悦实验动物繁育有限公司提供,合格证号:SCXK(鲁)20190003。饲养条件:饲养温度20~22℃,相对湿度(50±10)%,采用Co⁶⁰辐照饲料喂养,正常光照,自由摄食与进水。实验动物伦理审查批件号:AWE-2019-016。

1.2 药物与试剂 疏肝补肾方药物组成:柴胡6 g,白芍9 g,人参18 g,黄芪25 g,生地黄15 g,熟地黄15 g,山药12 g,山萸肉9 g,茯苓12 g,牡丹皮9 g。上述药物采用含相应质量生药的配方颗粒

(由山东中医药大学附属医院药房提供),按处方比例制备成生药浓度为2 g/mL的药液;醋酸泼尼松片(山东新华制药股份有限公司,国药准字H37020647,规格:5 mg/片);复方环磷酰胺片(通化茂祥制药有限公司,国药准字H22026738,规格:50 mg:50 mg)。药物临用前加纯水配制成每毫升含0.2 mg醋酸泼尼松和0.6 mg环磷酰胺的混悬液。羊抗大鼠F α 1A血清(Probetex产品,济南研达生物技术有限公司,批号:169-6M);大鼠白细胞介素6(interleukin-6, IL-6)酶联免疫吸附测定法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)检测试剂盒(Elabscience产品,济南武岳生物技术有限公司,批号:9VJZ3S55DQ);SPARKeasy RNA提取试剂盒、SPARKscript II RT Plus Kit反转录试剂盒、2 \times SYBR Green qPCR Mix试剂盒均由山东思科捷生物技术有限公司提供,批号分别为:YADKZ、YUEER、YPHYF。

1.3 仪器 5424R型高速冷冻离心机(德国Eppendorf公司);480 II型实时荧光定量PCR仪(美国Roche公司);1510型全波长酶标仪(美国Thermo Fisher公司);HT7700型透射电子显微镜(日本Hitachi公司)。

1.4 被动型Heymann肾炎大鼠模型构建 32只雄性SD大鼠适应性饲养10天后,取8只大鼠作为空白组,其余24只大鼠按5 mL \cdot kg $^{-1}$ 剂量^[4]尾静脉注射羊抗大鼠F α 1A血清,空白组给予等剂量生理盐水。1周后将所有大鼠置于代谢笼中收集24 h尿液并检测尿蛋白定量。以24 h尿蛋白定量(24 hour urinary protein quantification, 24 h UP) $>$ 20 mg \cdot 24 h $^{-1}$ 视为造模成功。

1.5 分组及干预方法 将造模成功的大鼠随机分为3组,即模型组、疏肝补肾方组和西药组,每组8只。根据人与大鼠临床等效剂量^[5]换算灌胃剂量,疏肝补肾方组大鼠以11.7 g \cdot kg $^{-1}\cdot$ d $^{-1}$ 剂量灌胃疏肝补肾方药液;西药组大鼠灌胃醋酸泼尼松(1 mg \cdot kg $^{-1}\cdot$ d $^{-1}$)加环磷酰胺(3 mg \cdot kg $^{-1}\cdot$ d $^{-1}$)混悬液;空白组与模型组大鼠均灌胃等量生理盐水。每天给药1次,连续干预4周。干预期间每周称重1次,并根据体重调整药量。

1.6 检测指标

1.6.1 24 h UP 分别在造模1周后(干预0周)及干预1、2、4周后,收集各组大鼠24 h尿液,采用ELISA法测定24 h UP。

1.6.2 血清IL-6水平 干预4周后,收集大鼠尿液,经左下腹注射10%水合氯醛溶液麻醉,于下腔静脉采集血液,离心半径7.3 cm,3000 r \cdot min $^{-1}$ 离

心15 min,取上层血清,根据ELISA试剂盒说明书操作,测定血清IL-6表达水平。

1.6.3 肾组织病理形态学 处死大鼠并取肾脏组织,部分置于4%多聚甲醛中固定,经乙醇梯度脱水、石蜡包埋、切片、PAS染色后,置于光镜下观察;取1 mm \times 1 mm \times 1 mm大小的肾皮质置于2.5%戊二醛中,样本在4 $^{\circ}$ C下用2.5%戊二醛固定4 h,随后经1%锇酸于室温固定2 h,经乙醇梯度脱水、包埋、超薄切片机切片,并经2%醋酸铀饱和酒精溶液及枸橼酸铅双染色后,置于透射电镜下观察。

1.6.4 肾组织中转化生长因子- β_1 (transforming growth factor- β_1 , TGF- β_1)、Smad2、Smad7的mRNA水平 将“1.6.3”中剩余肾组织用液氮速冻后转移至-80 $^{\circ}$ C冰箱保存,行qRT-PCR检测。采用SPARKeasy RNA提取试剂盒提取总RNA后,以Total RNA 1 μ L, 4 \times gDNA Eraser Mix 4 μ L, RNase free H $_2$ O 11 μ L, 5 \times SPARKscript II RT Master Mix II 4 μ L建立20 μ L反应体系,反转录得到cDNA。以2 \times SYBR Green qPCR Mix 10 μ L, 上游引物(10 μ M)0.4 μ L, 下游引物(10 μ M)0.4 μ L, cDNA 1 μ L, RNase free H $_2$ O 8.2 μ L, 建立20 μ L PCR体系。PCR仪反应条件:预变性95 $^{\circ}$ C, 5 min; 扩增95 $^{\circ}$ C, 10 s, 60 $^{\circ}$ C, 10 s, 72 $^{\circ}$ C, 10 s, 45个循环。检测各组TGF- β_1 、Smad2、Smad7的Ct值,将大鼠ACTB基因作为内参基因,并与其比较得到 Δ Ct。以2 $^{-\Delta\Delta$ Ct表示各基因的相对定量,并进行数据分析。扩增引物由上海生工生物工程股份有限公司合成,引物序列见表1。

表1 TGF- β_1 、Smad2及Smad7的引物序列

基因名称	引物序列	长度/bp
TGF- β_1	上游:5'-ATGGTGGACCGCAACAACGC-3'	20
	下游:5'-CTGGCACTGCTTCCCGAATGTC-3'	22
Smad2	上游:5'-CCCAGCAGGAATTGAGCCACAG-3'	22
	下游:5'-AGGAGACAGTTCAGCCGAGAG-3'	22
Smad7	上游:5'-TTGCCTCGGACAGCTCAATTCG-3'	22
	下游:5'-CACACGCCATCCACTTCCCTTG-3'	22

1.7 统计学方法 采用SPSS 24.0统计软件分析所有实验数据,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,对于符合正态分布的多组组间比较采用单因素方差分析,等方差的事后多重比较用LSD法,方差不齐的组间两两比较采用Tamhane's T2法。 $P<$ 0.05为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 24 h UP水平 造模1周后,与空白组比较,模型组大鼠24 h UP水平明显升高($P<$ 0.05),且

造模大鼠分组后,各组之间差异不明显($P>0.05$)。干预1、2周后,与模型组比较,疏肝补肾方组、西药组大鼠24 h UP水平降低,但差异无统计学意义($P>0.05$)。干预4周后,疏肝补肾方组、西药组大鼠24 h UP水平均低于模型组,且西药组降低更明显($P<0.05$);疏肝补肾方组与西药组之间比较,无明显差异($P>0.05$)。见表2。

2.2 血清 IL-6 水平 干预4周后,空白组血清 IL-6 表达水平为(102.27±50.65)ng/L,模型组为(91.73±15.23)ng/L,疏肝补肾方组为(74.14±22.50)ng/L,西药组为(68.60±24.13)ng/L,各組间比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。

2.3 肾组织病理形态学变化情况 PAS 染色后,

表2 各组大鼠干预不同时间点24 h 尿蛋白定量水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	造模1周后	干预1周后	干预2周后	干预4周后
空白组	6	8.12±1.76	7.13±1.50	13.84±1.68	10.04±3.08
模型组	6	30.30±5.33**	70.80±11.84**	71.68±16.10**	73.19±12.92**
疏肝补肾方组	6	35.10±9.95**	67.31±9.71**	69.83±26.98*	63.75±22.27*
西药组	6	37.94±4.62**	59.67±16.33**	44.38±14.36*	49.53±11.45**#

mg·24h⁻¹

注:与空白组比较,*表示 $P<0.05$,**表示 $P<0.01$;#表示与模型组比较, $P<0.05$ 。

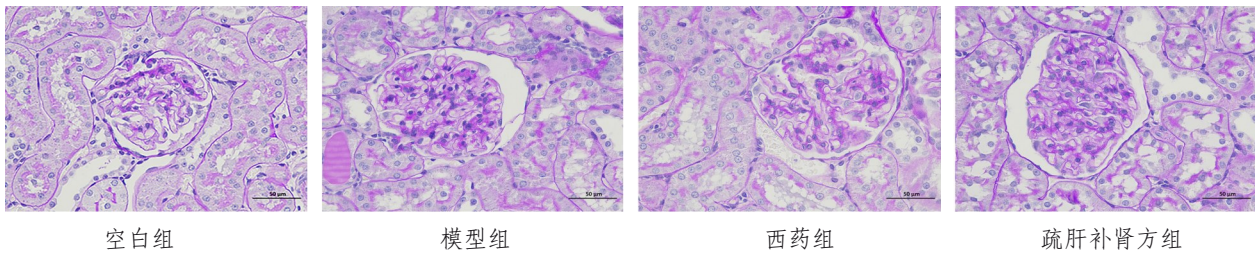


图1 光镜下各组大鼠肾组织病理形态学变化(PAS染色,×400)

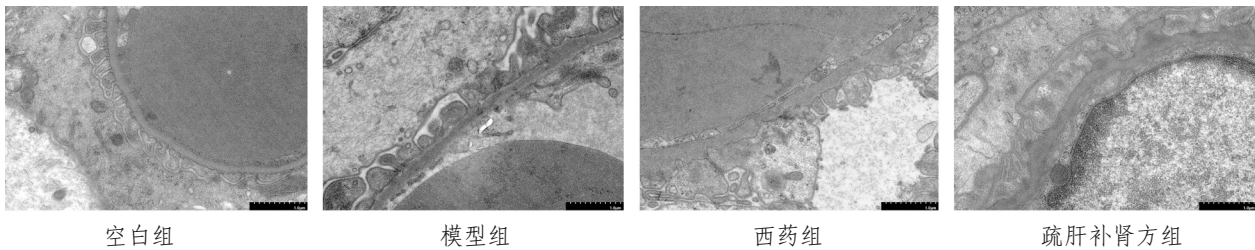


图2 电镜下各组大鼠肾组织病理形态学变化(铅铅双染色,×6000)

2.4 TGF-β₁、Smad2、Smad7 mRNA 表达水平 干预4周后,与空白组比较,模型组大鼠肾组织中TGF-β₁、Smad2的mRNA表达水平升高,Smad7 mRNA表达水平降低,但均无统计学意义($P>0.05$);西药组Smad7 mRNA表达水平明显降低($P<0.05$);与模型组比较,疏肝补肾方组与西药组TGF-β₁、Smad2的mRNA表达水平降低,且Smad2的降低程度较明显($P<0.05$)。见图3。

光镜下空白组大鼠肾小球形态正常,周边肾小管及间质未见明显病理改变;模型组大鼠肾小球明显增大,基底膜增厚,可见链环形成,毛细血管襻僵硬感;西药组与疏肝补肾方组肾小球增大、基底膜增厚、毛细血管襻僵硬程度稍有一定减轻。见图1。

电镜下,空白组大鼠肾组织基底膜无增厚,无电子致密物沉积,足细胞结构清晰,无足突融合;模型组大鼠基底膜弥漫性增厚,可见大量电子致密物沉积于上皮细胞下,足突弥漫性融合、消失;西药组与疏肝补肾方组基底膜增厚程度及足突融合范围缩小,仅见少量电子致密物稀疏沉积。见图2。

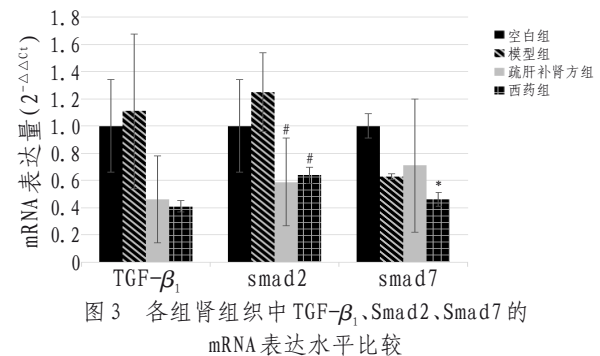


图3 各组肾组织中TGF-β₁、Smad2、Smad7的mRNA表达水平比较

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

3 讨论

MN 电镜下的典型病理特征为肾小球基底膜弥漫性增厚并伴有上皮下电子致密物沉积, 临床表现为水肿及大量蛋白尿^[6]。大量蛋白尿同时也是促使慢性肾脏病进展的重要因素, 因此在临床上, 治疗 MN 的关键在于降低尿蛋白。被动型 Heymann 肾炎大鼠模型是通过注射含异种动物抗大鼠 Fx1A 抗体的血清建立, 该模型的体征表现及肾组织病理表现与人类 MN 类似, 是研究人类 MN 的常用模型^[7]。在本研究中, 造模 1 周后造模大鼠出现了大量蛋白尿, 证明 MN 大鼠模型构建成功^[4]。

疏肝补肾方是基于名老中医张珍玉教授关于脏腑理论独特的学术观点, 以肝、肾疏泄与封藏对立统一关系立法组成的方药。张珍玉教授基于朱丹溪“司疏泄者, 肝也; 主闭藏者, 肾也”^[8]的认识, 提出了肝肾关系的新见解: “乙癸同源的缘由是‘水木同府’, 受当时理学思想的影响, 肝肾同处于藏泄对立的矛盾统一体中, 不仅有相依互化的统一性, 而且还有相约相制的对立性, 封藏与疏泄的对立统一才是乙癸同源最深刻的内涵。”MN 在临床上常表现为大量蛋白尿、水肿、疲乏等症状。中医对其病机的认识多从脏腑出发, 尤以脾、肾两脏为核心, 证型以脾肾两虚证较为多见^[9]。肾与脾分别为先后天之本, 为相互资生的关系, 肾受脾后天精气则生, 脾赖肾先天元气则化, 脾气充盛, 肾精气足, 肾才能正常发挥其封藏与泄水的功能。而肾的封藏与泄水相反相成, 这又离不开肝调畅全身气机的作用。以肝肾相约相制的对立性立法, 在补肾的同时加用疏肝的药物, 组成疏肝补肾方应用于临床, 特别是在治疗难治性 MN 过程中显示出了良好的疗效。在本研究中, 与模型组比较, 疏肝补肾方和西药均有降低尿蛋白的作用, 尤其是在灌胃给药第 4 周, 西药组尿蛋白明显降低, 且与疏肝补肾方组疗效相当。由此可见, 单纯疏肝补肾方治疗能够降低尿蛋白。而与疏肝补肾方组比较, 西药组降低尿蛋白的作用更明显, 这可能与实验中给大鼠灌胃给药疗程短, 未能达到疏肝补肾方最佳治疗效果时间有关, 这也与临床中激素加免疫抑制剂起效比单纯中药汤剂治疗起效快的情况一致, 今后我们将在进一步的实验中延长疗程, 以期充分发挥其治疗作用。同时, 对实验大鼠肾皮质的电镜检查结果显示, 干预 4 周后, 电镜下疏肝补肾方组基底膜增厚、足突融合情况均有一定程度的减轻, 电子致密物沉积明显减少, 证明疏肝补肾方能够改善 MN 病理改变, 修复足细胞损伤, 降低尿蛋白。

IL-6 是一种能够参与免疫应答、炎症反应等多种生理、病理过程的细胞因子^[10]。IL-6 可诱导补体 C5 转变为 C5a, 进而促进组胺释放, 同时 IL-6 又能够促进血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 的产生, 增加血管通透性^[11]。另外, IL-6 可以引起 Th17 细胞/Treg 细胞平衡失调, 进而参与多种自身免疫性疾病的发病和进展^[12]。在生理情况下, 系膜细胞可以分泌少量 IL-6, 而在病理状态下, 高水平的 IL-6 可以引起系膜细胞的增殖及细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 的增厚^[13]。研究表明, 系膜增生性肾小球肾炎患者受累的系膜细胞及尿液中 IL-6 含量明显高于 MN 等非增殖性肾小球疾病^[14]。由此可见, IL-6 可能与增殖性肾小球疾病关系更为密切。本研究结果显示, 各组大鼠之间血清 IL-6 水平并无统计学差异, 表明 IL-6 并没有参与大鼠被动型 Heymann 肾炎的发病, 这与文献^[15]报道的对 MN 大鼠血清中 IL-6 水平的研究结果一致。这可能与不同病理类型的肾病综合征参与其发病的炎性细胞因子不同有关。除 IL-6 外, 对疏肝补肾方中主要药物与 MN 的网络药理学研究中发现, 还有 AKT1、TP53、STAT3、VEGFA、EGF 等 5 个潜在靶点, 后期将对这 5 个靶点及其相关信号通路进行进一步的实验研究, 以探讨疏肝补肾方治疗 MN 的分子机制。

TGF- β 是参与组织纤维化的重要细胞因子, 能够促进成肌纤维细胞增殖、活化, 介导上皮间充质转化, 引起 ECM 的产生和沉积^[16]。TGF- β 存在三种亚型, 其中在肾组织中主要为 TGF- β_1 。研究表明, TGF- β_1 及其下游的 Smad 蛋白家族构成的 TGF- β_1 /Smad 信号通路在肾组织纤维化过程中发挥关键作用^[17]。参与 TGF- β_1 /Smad 信号通路的 Smads 蛋白主要为 Smad2、Smad3、Smad4 及 Smad7, 其中 Smad2 和 Smad3 直接参与信号传递, 促进肾组织纤维化, 而 Smad7 则可以竞争结合 TGF- β 受体, 阻断信号传递, 抑制肾纤维化^[18-19]。而肾组织纤维化是慢性肾脏病的最终表现, 也是多种肾脏疾病的最终结果。由此可见, TGF- β_1 /Smad 信号通路在肾小球硬化及慢性肾脏病进展中具有至关重要的作用。研究显示, TGF- β_1 在不同病理类型的慢性肾脏病中表达不同, 其中最多为严重系膜硬化性肾小球肾炎和 IgA 肾病^[20]。目前, 关于 TGF- β_1 在 MN 中表达情况的研究很少。余海峰等^[21]研究发现, TGF- β_1 与肾小球节段或球性硬化关系更为密切。本研究结果显示, 与空白组比较, 模型组 TGF- β_1 与 Smad2 mRNA 的表达水平有上升趋势, 但差异不明

显,究其原因,可能与早期MN的特点不是肾小球硬化等纤维化的表现有关,结合病理结果也可以看出,此时纤维化并不是病理改变的主要因素,因此TGF- β_1 表达量少,这也与戚其学等^[22]报道的TGF- β_1 在MN肾小球中表达强度低的情况一致。随着长期蛋白尿促使病程发展,肾组织纤维化将成为病理变化的主要因素,进而进展为终末期肾脏病。本研究结果显示,疏肝补肾方可以降低MN大鼠TGF- β_1 与Smad2 mRNA的表达,从长期来看,疏肝补肾方可以抑制纤维化进程,具有一定的预防作用,这也与中医“既病防变”的治未病思想不谋而合。

综上所述,疏肝补肾方能够降低被动型Heymann肾炎大鼠尿蛋白,减轻肾组织病理损伤,并通过下调TGF- β_1 与Smad2 mRNA表达,影响TGF- β_1 /Smad信号通路,抑制肾组织纤维化,预防肾小球硬化,从而延缓疾病进展。而IL-6可能与大鼠被动型Heymann肾炎发病无关。从既病防变的角度看,疏肝补肾方具有延缓MN纤维化进展的作用,但对减少尿蛋白的作用机制仍未明确,可能与多种细胞因子相互作用共同参与保护足细胞、修复足细胞损伤有关,这仍需更多的动物及临床试验加以阐明,以期对疏肝补肾方治疗MN提供理论依据。

参考文献

- [1] 李文圃,肖振卫. 特发性膜性肾病研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报,2021,23(6):169-173.
- [2] ZHU P,ZHOU F D,WANG S X,et al. Increasing frequency of idiopathic membranous nephropathy in primary glomerular disease: a 10-year renal biopsy study from a single Chinese nephrology centre [J]. *Nephrology(Carlton)*,2015,20(8):560-566.
- [3] 白云静. 封藏与疏泄的理论研究[D]. 济南:山东中医药大学,2002.
- [4] 张良,黄蔚霞,程锦国. 不同剂量的Anti-Fx1A对大鼠被动型Heymann肾炎模型的影响[J]. 中国中西医结合肾病杂志,2018,19(12):1052-1054.
- [5] 黄继汉,黄晓晖,陈志扬,等. 药理试验中动物间和动物与人体间的等效剂量换算[J]. 中国临床药理学与治疗学,2004,9(9):1069-1072.
- [6] 王海燕. 肾脏病学[M]. 北京:人民卫生出版社,2008:1033-1034.
- [7] 刘旺意,邓跃毅,蔡小凡,等. 特发性膜性肾病动物模型的研究进展[J]. 中国中西医结合肾病杂志,2019,20(5):465-467.
- [8] 朱丹溪. 格致余论 局方发挥 金匱钩玄[M]. 刘学义,校注. 北京:中国中医药出版社,2008:9-66.
- [9] 廖奕娇,徐彩.《金匱要略》五脏相关理论论治肾性水肿的思路[J]. 西部中医药,2024,37(11):41-44.
- [10] 贾春翠,饶春明,于雷. 以白细胞介素-6信号通路为靶点的生物技术药物研究进展[J]. 中国生物制品学杂志,2019,32(9):1048-1053.
- [11] 张伟洁,郑宏. IL-6介导免疫炎症反应作用及其与疾病关系的研究进展[J]. 细胞与分子免疫学杂志,2017,33(5):699-703.
- [12] KIMURA A,KISHIMOTO T. IL-6:regulator of Treg/Th17 balance[J]. *Eur J Immunol*,2010,40(7):1830-1835.
- [13] 黄燕萍,闫晓彩. 白细胞介素-6、8、10在肾小球疾病发病机理中的作用研究进展[J]. 陕西医学杂志,2000,29(10):598-601.
- [14] HORII Y,MURAGUCHI A,IWANO M,et al. Involvement of IL-6 in mesangial proliferative glomerulonephritis[J]. *J Immunol*,1989,143(12):3949-3955.
- [15] 薛丕良,李凤金,白茹,等. 参芪蛭龙汤对膜性肾病大鼠血清中IL-2、IL-6和TNF- α 水平的影响[J]. 中医药信息,2019,36(2):8-12.
- [16] 李静,柳斌,樊均明. TGF- β 在足细胞生理功能及病理损伤中的作用[J]. 中国中西医结合肾病杂志,2011,12(12):1120-1122.
- [17] 敬雪明,张诗琬,喻雪琴,等. 信号通路在肾纤维化发生机制中作用的研究进展[J]. 山东医药,2020,60(2):102-105.
- [18] 杨萍芬,牛艳芬. TGF- β_1 /Smad信号通路在组织纤维化中的研究进展[J]. 国际药学研究杂志,2019,46(10):738-744.
- [19] 张智博,赵克明. 基于TGF- β_1 /Smads信号通路的中药防治支气管哮喘研究进展[J]. 西部中医药,2024,37(1):95-99.
- [20] STEIN OAKLEY A N,MAGUIRE J A,DOWLING J,et al. Altered expression of fibrogenic growth factors in IgA nephropathy and focal and segmental glomerulosclerosis[J]. *Kidney Int*,1997,51(1):195-204.
- [21] 余海峰,郝翠兰,赵梅霖,等. 血清转化生长因子- β_1 与肾小球病理损害相关性研究[J]. 中国中西医结合肾病杂志,2011,12(4):341-343.
- [22] 戚其学,张玉侠,王力芬,等. 转化生长因子 β_1 及其I、II型受体在人类肾小球疾病中的表达及促使肾组织硬化的机理[J]. 中国血液流变学杂志,2007(1):125-127.

收稿日期:2025-05-30

*基金项目:山东省中医药科技发展计划(2013ZDZK-034)。

作者简介:李文圃(1995—),男,硕士学位,医师。研究方向:中医药治疗肾系疾病。

△通讯作者:肖振卫(1967—),女,博士学位,硕士研究生导师,副教授,副主任医师。研究方向:中医药治疗肾系疾病。Email:xiaozw2006@126.com。