

撤稿声明

本刊对下述印后网络出版论文进行撤稿：

论文标题：《祛风通络方对高糖诱导人肾小球系膜细胞炎性反应的影响机制研究》（《重庆医学》2021 年第 50 卷第 20 期 3430-3435 页）

作者：陈东东，罗梦洁，朱章志

DOI: 10.3969/j.issn.1671-8348.2021.20.003

撤稿原因：因文章数据存在问题，内容有不真实，经全体作者申请撤稿。

特此告知并诚挚地向读者致歉。

《重庆医学》编辑部

2022 年 6 月 1 日

论著·基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2021.20.003

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20210713.1545.023.html\(2021-07-14\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20210713.1545.023.html(2021-07-14))

祛风通络方对高糖诱导人肾小球系膜细胞 炎症反应的影响机制研究*

陈东东¹, 罗梦洁¹, 朱章志^{2△}

(1. 广州中医药大学第一临床医学院 510000; 2. 广州中医药大学第一附属医院内分泌科 510000)

[摘要] **目的** 观察祛风通络方对高糖诱导人肾小球系膜细胞炎症反应的影响。**方法** 体外培养人肾小球系膜细胞株并采用 25.0 mmol/L 高糖 DMEM 诱导其增殖, 设立正常组、模型组、抑制剂组、祛风通络组, ELISA 法测定 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、TGF- β 1 的表达水平, real-time PCR 法测定白细胞介素-1 β (IL-1 β)、IL-6、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、转化生长因子- β 1(TGF- β 1)、细胞间黏附分子-1(ICAM-1)、单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)、相对分子量为 38×10^3 的促分裂素原活化蛋白激酶(p38 MAPK) mRNA 的表达, Western blot 法检测 ICAM-1、MCP-1、p38 MAPK 的表达。**结果** 与正常组比较, 模型组 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、TGF- β 1 水平增加 ($P<0.05$), IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、TGF- β 1、ICAM-1、MCP-1、p38 MAPK mRNA 相对表达水平升高 ($P<0.05$), p38 MAPK、ICAM-1、MCP-1 的相对表达水平升高 ($P<0.05$); 与模型组比较, 祛风通络组 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、TGF- β 1 水平下降 ($P<0.05$), IL-1 β 、TNF- α 、TGF- β 1、ICAM-1、MCP-1、p38 MAPK mRNA 相对表达水平降低 ($P<0.05$), MCP-1 的相对表达水平降低 ($P<0.05$)。与抑制剂组比较, 祛风通络组 p38 MAPK、IL-1 β 、IL-6、TGF- β 1 mRNA 相对表达水平, 差异有统计学意义 ($P<0.05$)。**结论** 祛风通络方可以明显改善高糖诱导人肾小球系膜细胞的炎症反应, 减少 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、TGF- β 1、MCP-1、ICAM-1 的表达, 这一过程可能是通过 p38 MAPK 信号通路实现的。

[关键词] p38 MAPK; 肾小球系膜细胞; 糖尿病肾病; 从风论治; 祛风通络方

[中图分类号] R285 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2021)20-3430-06

The effects of Qufeng Tongluo recipe on the inflammatory response of human glomerular mesangial cells induced by high glucose*

CHEN Dongdong¹, LUO Mengjie¹, ZHU Zhangzhi^{2△}

(1. The First Clinical Medical College of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou, Guangdong 510000, China; 2. Department of Endocrinology, the First Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou, Guangdong 510000, China)

[Abstract] **Objective** To observe the effect of Qufeng Tongluo recipe on inflammatory response of human glomerular mesangial cells induced by high glucose. **Methods** Human mesangial cells were cultured in vitro. Its proliferation was induced by the DMEM with 25.0 mmol/L of glucose. The normal group, model group, inhibitor group and Qufeng Tongluo group were set up. The ELISA was used to detect the levels of IL-1 β , IL-6, TNF- α and TGF- β . Real-time PCR was used to detect the mRNA expression levels of the interleukin-1 β (IL-1 β), IL-6, tumor necrosis factor- α (TNF- α), transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1), intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1), monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) and mitogen-activated protein kinase mRNA with relative molecular weight of 38×10^3 (p38 MAPK). Western blot was used to detect the expression levels of p38 MAPK, ICAM-1 and MCP-1. **Results** Compared with that of the normal group, the levels of IL-1 β , IL-6, TNF- α and TGF- β in the model group increased ($P<0.05$); the relative mRNA expression levels of IL-1 β , IL-6, TNF- α , TGF- β 1, ICAM-1, MCP-1 and p38 MAPK in the model group increased ($P<0.05$), and the relative expression levels of the p38 MAPK, ICAM-1 and MCP-1 increased ($P<0.05$). Compared with that of the model group, the levels of IL-1 β , IL-6, TNF- α and TGF- β 1 decreased in the Qufeng Tongluo group ($P<0.05$), the mRNA expression levels of the IL-1 β , TNF- α , TGF- β , ICAM-1, MCP-1 and

* 基金项目: 国家自然科学基金项目(81873190)。 作者简介: 陈东东(1992—), 住院医师, 硕士, 主要从事中医内科学研究。 △ 通信作者, E-mail: 274841655@qq.com。

P38 MAPK mRNA decreased ($P < 0.05$); and the relative expression level of the MCP-1 decreased ($P < 0.05$). Compared with the inhibitor group, there were significant differences in the mRNA expression levels of p38 MAPK, IL-1 β , IL-6, TGF- β ($P < 0.05$). **Conclusion** The Qufeng Tongluo Fomula can significantly improve the inflammatory response of the human mesangial cells induced by high concentration of glucose, and decrease the expression of the IL-1 β , IL-6, TNF- α , TGF- β , MCP-1 and ICAM-1. The process may be achieved by the p38 MAPK signal pathway.

[Key words] p38 MAPK; mesangial cells; diabetic nephropathies; Cong Feng Lun Zhi; Qufeng Tongluo Fomula fomula

糖尿病肾病(diabetic nephropathies, DN)是糖尿病最常见的微血管并发症之一,亦是导致糖尿病患者死亡的主要原因^[1]。DN 发病机制复杂,而免疫炎症损伤一直是 DN 发病机制研究的热点之一。研究表明, p38 MAPK 信号通路是肾脏免疫炎症反应的重要途径,在炎症、纤维化和应激反应中具有重要作用^[2-4],其可以促进 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、TGF- β 1、ICAM-1、CAMP 反应元件结合蛋白(CREB-1)等细胞因子的表达,加剧 DN 的恶化,而 ICAM-1、单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)、IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、TGF- β 1 等因子表达的增强能反作用于 p38 MAPK 信号转导通路,促进通路的激活,可加快肾纤维化的进展^[5-9]。因此,有效调节 p38 MAPK 信号通路从而抑制炎症细胞浸润及相关炎症因子活化对治疗 DN 具有重要的意义。

既往研究证实,祛风通络方(牛蒡子、蚕砂、穿山龙)在治疗 DN 方面具有一定的降低蛋白尿,延缓肾小球纤维化的作用,其机制与抑制磷脂酰肌醇 3-激酶/丝氨酸/苏氨酸激酶/核转录因子- κ B(PI3K/Akt/NF- κ B)信号通路,下调 TGF- β 1、MCP-1 等炎症因子的表达水平有关^[10-11]。此外,目前研究发现,PI3K/Akt/NF- κ B 信号通路介导的 p38 MAPK 信号通路与肾纤维化关系密切^[12-14],许多细胞外刺激通过细胞内信号通路激活 p38 MAPK 产生生物学效应^[15-18]。为进一步从分子生物学角度揭示祛风通络方治疗 DN 的机制及“从风论治”法的合理性,笔者基于 p38 MAPK 信号通路对祛风通络方改善高糖诱导的人肾小球系膜细胞炎症反应的分子机制进行了研究。

1 材料与方法

1.1 实验动物及细胞株

无特定病原体(SPF)级 Wistar 雄性大鼠购自北京维通利华实验动物技术有限公司,体重 290~300 g。实验动物在广州中医药大学动物实验室饲养,所有动物实验均经本校动物实验伦理委员会审核并批准。人肾小球系膜细胞株购自北京裕恒丰科技有限公司(货号 4200,传至第 3 代用于实验)。

1.2 主要试剂、药物和实验仪器

祛风通络方(牛蒡子、蚕砂、穿山龙):中药颗粒剂由广州中医药大学第一附属医院提供。低糖 DMEM 培养液、高糖 DMEM 培养液购自美国 Hyclone 公司(批号 10099-141);胎牛血清购自美国 Gibco 公司(批号 10099-141);SB203580 购自上海陶素公司(批号

152121-47-6);IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、TGF- β 1 ELISA 试剂盒购自美国 Invitrogen 公司(批号分别为 88-7261、88-7066、88-7346、88-8350);ICAM-1 抗体购自美国 Proteintech 公司(货号 10020-1-AP);p38 MAPK 抗体购自 CST 公司(货号 3690);MCP-1 抗体、 β -actin 抗体、HRP 标记羊抗鼠及羊抗兔 IgG 购自美国 Abcam 公司(货号分别为 ab9669、ab6276、ab6789、ab6721);总 RNA 提取试剂盒、mRNA cDNA Synthesis 试剂盒、mRNA/lncRNA 实时荧光定量 PCR (real time-qPCR)试剂盒购自北京 GenePool 公司(货号分别为 GPQ1801、GPQ1803、GPQ1808)。双垂直电泳槽(型号 MP-8001)、转移槽(型号 MP-3030)、电泳仪(型号 PP-1150)购自北京凯元信瑞仪器有限公司;温控摇床(型号 TS-2000A)购自海门其林贝尔仪器制造有限公司;定量 real time-qPCR 仪(型号 Line Gene 9600 Plus)购自杭州博日科技股份有限公司;紫外可见分光光度计(型号 NANODROP 2000)购自美国 Thermo Scientific 公司。

1.3 方法

1.3.1 药物血清制备

20 只 SPF 级 Wistar 雄性大鼠普通饲料喂养 1 周。将大鼠分为 2 组,正常组、祛风通络组,每组 10 只。祛风通络组按前期预实验最佳药物剂量($47.2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)灌胃祛风通络方,正常组灌服同体积生理盐水,上、下午各 1 次,间隔 12 h,连续灌胃 3 d。于末次灌胃前 8 h 禁食不禁水,麻醉后在大鼠股动脉进行无菌采血。将采集到的血液 4℃下静置 4 h,在 3 000 r/min 条件下冷冻离心 20 min,分离血清,56℃水浴中灭活 30 min,0.22 μm 微孔膜过滤,-80℃冷藏备用。

1.3.2 细胞培养及分组

从液氮中取出人肾小球系膜细胞株,迅速复苏,接种于含 10%胎牛血清(FBS)的低糖 DMEM 培养基中,于 37℃、5% CO₂ 培养箱中培养,每 1~2 天更换培养液 1 次,待细胞长满后用 0.25%胰酶消化,进行细胞传代,均匀传入细胞瓶,当细胞铺满瓶底 80%~90%时,换无血清培养基同步化 24 h,之后对细胞进行分组处理:正常对照组(DMEM 低糖培养液+大鼠正常血清),模型组(含 25.0 mmol/L 葡萄糖的 DMEM 高糖培养液+大鼠正常血清),抑制剂组(DMEM 高糖培养液+大鼠正常血清+5 $\mu\text{mol/L}$

SB203580 预处理),祛风通络组(DMEM 高糖培养液+祛风通络大鼠药物血清预处理)。

1.3.3 ELISA 法检测 IL-1β、IL-6、TNF-α、TGF-β1 的表达水平

取生长良好的肾小球系膜细胞,以 5×10⁵/孔密度接种于 6 孔板,按 1.2.2 项方法分组培养及处理细胞,培养 24 h 后收集细胞上清液,根据 IL-1β、IL-6、TNF-α、TGF-β1 试剂盒说明书进行指标测定。

1.3.4 实时荧光定量 PCR(Real time-qPCR, RT-qPCR)检测 IL-1β、IL-6、TNF-α、TGF-β1、ICAM-1、MCP-1、p38 MAPK mRNA 相对表达水平

按 1.2.2 项方法分组培养及处理细胞,培养 48 h

后收集各组细胞,用总 RNA 提取试剂盒提取人肾小球系膜细胞株总 RNA,取 3 μL 总 RNA 用 1%琼脂糖凝胶进行电泳,以检测 RNA 的完整性,用 mRNA cDNA Synthesis 试剂盒进行反转录,冰上操作并依次按照说明加入各组分,15 ℃ 3 min,30 ℃ 10 min,反应结束后短暂离心,得到的 cDNA 置于-20 ℃ 保存。引物由北京基谱生物科技有限公司提供,引物序列及长度见表 1。PCR 反应条件:94 ℃ 4 min;94 ℃ 30 s,50 ℃ 40 s,72 ℃ 1 min,40 个循环,分别测定待测标本目的基因及内参的 Ct 值,计算各基因 mRNA 相对表达水平。

表 1 引物序列及产物大小

基因	引物方向	引物序列(5'-3')	产物大小(bp)
p38 MAPK	正向	GCTGAACAAGACAATCTGGGAGGT	98
	反向	AAAAGCAGCACACACAGAGCCAT	
ICAM-1	正向	GAGATTGTCATCATCACTGTGGTAGC	117
	反向	TTGGGCCTGTTGTAGTCTGTATTTTC	
MCP-1	正向	TTCTGTGCCCTGCTGCTCATAG	156
	反向	ACTTGCTGCTGGTGATTCTTCTA	
IL-6	正向	ATGAGGAGACTTGCCTGGTGAAAAT	104
	反向	TCTGGCTTGTTCCTCACTACT	
IL-1β	正向	AGTGGTGTTCTCCATGTCCTTTGTA	213
	反向	AGCTTGTTATTGATTCTATCTTGT	
TGF-β1	正向	ACCTCGGCTGGAAGTGGAT	103
	反向	ACCTTGCTGTACTGCGTGTC	
TNF-α	正向	AATGGCGTGGAGCTGAGAG	180
	反向	CTTGATGCGAGAGAGGAGGTT	
β-actin	正向	ACTTAAGTTGCGTTACACCCTT	155
	反向	GTCACCTTCACCGTTCCA	

1.3.5 蛋白免疫印迹(Western blot)法检测 ICAM-1、MCP-1、p38 MAPK 的表达水平

按 1.2.2 项方法分组培养及处理细胞,培养 48 h 后收集各组细胞,提取细胞总蛋白,按常规方法进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)、转膜、封闭、孵育一抗、孵育二抗,然后进行显色、拍照。实验重复 3 次。结果采用 Quantity One v. 4. 6. 2 软件分析条带灰度值,并计算各蛋白相对表达水平。

1.4 统计学处理

采用 SPSS26.0 软件进行统计学处理,计量资料

采用 $\bar{x} \pm s$ 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。

2 结 果

2.1 ELISA 法检测结果

模型组 IL-1β、IL-6、TNF-α、TGF-β1 的表达水平较正常组有所增加($P<0.05$);抑制剂组以上各项指标的表达水平较模型组明显下降($P<0.05$),祛风通络组以上各指标的表达水平较模型组也明显下降($P<0.05$)。见表 2。

表 2 各组 IL-1β、IL-6、TNF-α、TGF-β1 的表达水平($\bar{x} \pm s$, pg/mL, $n=6$)

组别	IL-1β	IL-6	TNF-α	TGF-β1
正常组	5.56±0.16	54.96±1.80	106.61±2.95	87.93±1.43
模型组	37.93±1.32 ^a	145.49±3.06 ^a	176.16±2.16 ^a	145.49±3.06 ^a
抑制剂组	14.0±0.67 ^b	64.12±1.94 ^b	126.36±2.10 ^b	64.12±4.97 ^b
祛风通络组	29.57±0.85 ^b	100.65±1.52 ^b	159.35±2.17 ^b	100.65±1.52 ^b

^a: $P<0.05$,与正常组比较;^b: $P<0.05$,与模型组比较。

2.2 RT-qPCR 法检测结果

与正常组比较,模型组 IL-1β、IL-6、TNF-α、TGF-

β1、ICAM-1、MCP-1、p38 MAPK mRNA 相对表达水平上调,差异有统计学意义($P<0.05$);与模型组比

较,抑制剂组以上各指标及祛风通络组 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、ICAM-1、MCP-1、p38 MAPK mRNA 相对表达水平下调($P<0.05$);与抑制剂组比较,祛风通络组 p38 MAPK、IL-1 β 、IL-6、TGF- β 1 mRNA 相对表达水平上调($P<0.05$)。见表 3、4。

2.3 Western blot 法检测 ICAM-1、MCP-1、p38 MAPK 的表达水平

模型组中 p38 MAPK、ICAM-1、MCP-1 相对表达水平较正常组显著升高,两组比较差异有统计学意义($P<0.05$);抑制剂组以上各指标较模型组显著降低,差异也有统计学意义($P<0.05$);祛风通络组只有

MCP-1 相对表达水平较模型组降低,差异有统计学意义($P<0.05$),而 p38 MAPK、ICAM-1 相对表达水平较模型组无明显变化($P>0.05$)。见图 1,表 5。

表 3 各组 p38 MAPK、ICAM-1、MCP-1 mRNA 相对表达水平变化($\bar{x}\pm s,n=3$)

组别	p38 MAPK	ICAM-1	MCP-1
正常组	1.00 \pm 0.03	1.00 \pm 0.09	1.00 \pm 0.04
模型组	2.87 \pm 0.24 ^a	3.30 \pm 0.38 ^a	2.22 \pm 0.14 ^a
抑制剂组	1.42 \pm 0.02 ^b	1.64 \pm 0.06 ^b	1.29 \pm 0.19 ^b
祛风通络组	2.00 \pm 0.13 ^{bc}	2.04 \pm 0.12 ^b	1.53 \pm 0.22 ^b

^a: $P<0.05$,与正常组比较;^b: $P<0.05$,与模型组比较;^c: $P<0.05$,与抑制剂组比较。

表 4 各组 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、TGF- β 1 mRNA 相对表达水平变化($\bar{x}\pm s,n=3$)

组别	IL-1 β	IL-6	TNF- α	TGF- β 1
正常组	1.00 \pm 0.04	1.00 \pm 0.08	1.00 \pm 0.12	1.00 \pm 0.11
模型组	2.64 \pm 0.14 ^a	1.71 \pm 0.23 ^a	2.54 \pm 0.11 ^a	5.83 \pm 0.32 ^a
抑制剂组	1.50 \pm 0.16 ^b	1.07 \pm 0.10 ^b	1.43 \pm 0.18 ^b	2.56 \pm 0.36 ^b
祛风通络组	1.84 \pm 0.09 ^{bc}	1.46 \pm 0.13 ^c	1.75 \pm 0.24 ^b	3.52 \pm 0.39 ^{bc}

^a: $P<0.05$,与正常组比较;^b: $P<0.05$,与模型组比较;^c: $P<0.05$,与抑制剂组比较。

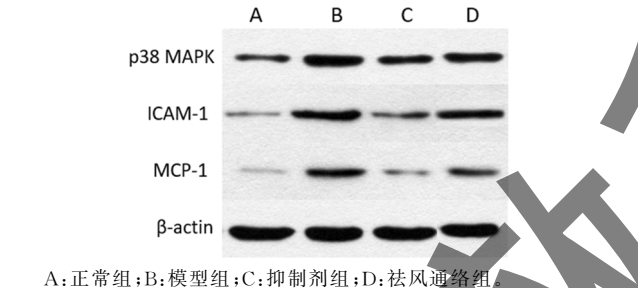


图 1 各组 p38 MAPK、ICAM-1、MCP-1 的 Western blot

表 5 各组 ICAM-1、MCP-1、p38 MAPK 相对表达水平变化($\bar{x}\pm s,n=3$)

组别	ICAM-1	MCP-1	p38 MAPK
正常组	0.17 \pm 0.07	0.09 \pm 0.04	0.25 \pm 0.04
模型组	0.64 \pm 0.01 ^a	0.47 \pm 0.52 ^a	0.77 \pm 0.16 ^a
抑制剂组	0.29 \pm 0.03 ^b	0.18 \pm 0.04 ^b	0.44 \pm 0.03 ^b
祛风通络组	0.55 \pm 0.07	0.34 \pm 0.05 ^b	0.64 \pm 0.07

^a: $P<0.05$,与正常组比较;^b: $P<0.05$,与模型组比较。

3 讨论

中医认为,DN 当属于《黄帝内经》中“消瘴”的范畴^[17-18],《灵枢·五变》指出:“余闻百疾之始期也,必生于风雨寒暑,循毫毛而入腠理,或复还,或留止,或为风肿汗出,或为消瘴。”明确指出“消瘴”发病与风邪相关。风为百病之长,其善行而数变的特性,与糖尿病并发症多、病情进展快的特点相类似。本研究团队基于《黄帝内经》理论,对于 DN 提出了“肾络伏风”病机学说,认为消渴病日久,热伤气阴,久病及肾,肾络亏虚,外风与内风乘虚侵袭人体,伏于肾之络脉^[20-21],形成“肾络伏风”,治疗当重视祛风通络,临床常使用各类“风药”,如牛蒡子、穿山龙、蚕砂等,取得了良好的效果。

许多研究表明,“风药”具有一定的抗炎、调节免疫的作用^[22-24]。本研究使用的祛风通络方包含牛

蒡子、穿山龙、蚕砂,牛蒡子疏风清热以散外风,穿山龙祛风除湿、通络止痛,蚕砂为祛风除湿之要药,三者相须为用,共奏祛风通络之功。现代药理学研究表明,牛蒡子主要成分为牛蒡子苷和牛蒡子苷元等,具有降压、降血脂、抗炎等作用^[25-26]。研究表明,牛蒡子提取物可以减轻大鼠肾组织 TGF- β 1、MCP-1 mRNA 的表达^[27],同时可以减少血清肌酐、血尿素氮及 24 h 尿蛋白,对肾脏具有一定的保护作用^[28-29]。穿山龙可以降低血清 TNF- α 、抑制 TNF- α mRNA 的表达并且可通过抑制 IL-1 β 的分泌进而影响其下游的 PI3K、CXCR4、JAK-STAT、NF- κ B 信号通路进而减轻炎症反应^[30-32]。蚕砂也有显著的抗炎镇痛作用,研究发现,蚕砂提取物能调节细胞因子代谢、改善免疫功能,特别是可促进 CD4⁺ 回升和 CD4⁺/CD8⁺ 的比值恢复^[33]。

本研究中,从 ELISA、RT-qPCR、Western blot 结果均可看出,在高糖诱导下,人肾小球系膜细胞 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、TGF- β 1、MCP-1、ICAM-1 mRNA 的表达均有不同程度的升高,这一表现可被 p38 MAPK 特异性抑制剂 SB20358 所抑制,说明了 p38 MAPK 信号通路在人肾小球系膜细胞的炎症反应中确实发挥了重要作用,并且祛风通络方对 p38 MAPK 信号通路具有调节作用。与正常组比较,模型组 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、TGF- β 1、ICAM-1、MCP-1、p38 MAPK mRNA 相对表达水平升高,p38 MAPK、ICAM-1、MCP-1 相对表达水平升高;而与模型组比较,祛风通络组 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、TGF- β 1 表达水平下降,IL-1 β 、TNF- α 、TGF- β 1、ICAM-1、MCP-1、p38 MAPK mRNA 相对表达水平减少,均表明祛风通络方能明显改善高糖诱导后人肾小球系膜细胞 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、TGF- β 1 的分泌水平。IL-1 β 、IL-6、TGF- β 1 参与了

肾小球系膜细胞的异常增殖和细胞外基质的过度沉积^[34-37],而 TNF- α 与 DN 的肾肥大与超滤密切相关,是造成 DN 蛋白尿发生的重要因子之一^[38]。本研究团队在前期研究中发现,祛风通络方能明显改善模型组大鼠的 24 h 尿蛋白量^[10-11],本研究提示这可能与祛风通络方减少 TNF- α 等炎症因子的表达有关。此外,与模型组比较,祛风通络方还可以减少 ICAM-1、MCP-1 mRNA 的表达和 MCP-1 蛋白质的表达,这将对减少炎症细胞的趋化和浸润、减轻肾小球系膜细胞损伤具有重要意义。另外,本研究也存在不足,本研究仅仅研究了祛风通络方基于 p38 MAPK 信号通路对高糖诱导人肾小球系膜细胞炎症反应的影响,而未对其进行 p38 MAPK 基因敲除和过表达的相关方面进行探究,因此仍有待进一步全面细致探讨。

综上所述,祛风通络方可以明显改善高糖诱导后人肾小球系膜细胞的炎症反应,减少 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、TGF- β 1、MCP-1、ICAM-1 的表达,这一过程可能是通过 p38 MAPK 信号通路实现的,该研究结果可为“从风论治”DN 的机制提供一定的依据。

参考文献

- [1] National Kidney Foundation. KDOQI clinical practice guideline for diabetes and CKD: 2012 update[J]. *Am J Kidney Dis*, 2012, 60(5): 850-886.
- [2] 陈好利,万毅刚,赵青,等. 糖尿病肾病肾组织炎症信号通路 p38MAPK 的调节机制及中药的干预作用[J]. *中国中药杂志*, 2013, 38(14): 2268-2272.
- [3] TSIANI E, LEKAS P, FANTUS I G, et al. High glucose-enhanced activation of mesangial cell p38 MAPK by ET-1, ANG II, and platelet-derived growth factor[J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2002, 282(1): E161-169.
- [4] WILMER W A, DIXON C L, HEBERT C. Chronic exposure of human mesangial cells to high glucose environments activates the p38 MAPK pathway[J]. *Kidney Int*, 2001, 60(3): 858-871.
- [5] 张黎明,高凌. 炎症细胞因子在 2 型糖尿病发病机制中的研究进展[J]. *重庆医学*, 2016, 45(8): 1113-1116.
- [6] WU M, CHEN X, LOU J, et al. TGF- β 1 contributes to CD8⁺ Treg induction through p38 MAPK signaling in ovarian cancer microenvironment[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(28): 44534-44544.
- [7] 程闰夏,杨琳琳,林云,等. p38MAPK 信号通路与肾小球疾病关系的研究进展[J]. *山东医药*, 2018, 58(14): 98-101.
- [8] 王丽晖,吴广礼,张丽霞,等. p38 MAPK 信号途径在高糖诱导的大鼠肾系膜细胞中激活的意义[J]. *解放军医学杂志*, 2009, 34(2): 196-199.
- [9] 李蕾蕾,朱虹. 糖尿病肾病与炎症机制[J]. *河北医药*, 2019, 41(9): 1413-1417.
- [10] 黄为钧,赵进喜,王世东,等. 祛风通络方对糖尿病肾脏病模型大鼠足细胞损伤的影响[J]. *中医杂志*, 2019, 60(5): 422-426.
- [11] 黄为钧,赵进喜,王世东,等. 基于 PI3K/Akt 信号通路探索益气活血祛风通络法治疗糖尿病肾病的作用机制[J]. *环球中医药*, 2018, 11(8): 1196-1203.
- [12] LIU M N, NING X X, LI R, et al. Signalling pathways involved in hypoxia-induced renal fibrosis. [J]. *J Cell Mol Med*, 2017, 21(7): 1248-1259.
- [13] ZHANG H F, WANG Y L, GAO C, et al. Salvianolic acid a attenuates kidney injury and inflammation by inhibiting NF- κ B and p38 MAPK signaling pathways in 5/6 nephrectomized rats [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2018, 39(12): 1855-1864.
- [14] CHEN H, YANG X, LU K, et al. Inhibition of high glucose-induced inflammation and fibrosis by a novel curcumin derivative prevents renal and heart injury in diabetic mice [J]. *Toxicol Lett*, 2017, 278: 48-58.
- [15] CUADRADO A, NEBRED A R. Mechanisms and functions of p38 MAPK signalling[J]. *Biochem J*, 2010, 429(3): 403-417.
- [16] COULTHARD L R, WHITE D E, JONES D L, et al. p38 (MAPK): stress responses from molecular mechanisms to therapeutics [J]. *Trends Mol Med*, 2009, 15(8): 369-379.
- [17] 吴文静. 糖尿病肾脏病气虚血瘀病机及其临床特征和益气活血法作用机制研究[D]. 北京:北京中医药大学, 2016.
- [18] 岳虹,赵进喜,申子龙,等. 益气祛风通络方对糖尿病肾病大鼠尿蛋白的影响[J]. *环球中医药*, 2019, 12(3): 328-333.
- [19] 何乐,龚磊,李储忠,等. p38MAPK 通路特异性抑制剂 SB203580 对大鼠垂体 GH3 细胞增殖和分泌的影响[J]. *中国药物警戒*, 2018, 15(9): 523-525, 529.
- [20] 南赫,黄晓强,王宣权,等. 糖尿病肾病“肾络伏风”病机学说及“从风论治”治法的探讨[J]. *环球中医药*, 2020, 13(4): 620-623.
- [21] 黄为钧,赵进喜,王世东,等. 再论糖尿病肾脏病“从风论治”[J]. *中华中医药杂志*, 2020, 35(2): 588-590.

- [22] 许琳,王凤云,唐旭东,等. 风药在肠易激综合征治疗中的应用[J]. 中医杂志,2016,57(23):1999-2003.
- [23] 刘国玲,沈永杰,尤丽菊,等. 雷公藤多苷降低糖尿病肾病大鼠炎症细胞因子的表达[J]. 细胞与分子免疫学杂志,2014,30(7):721-724.
- [24] 金善善,许文成,王小琴. 从炎症细胞因子探讨从风论治肾小球疾病的物质基础[J]. 辽宁中医杂志,2019,46(8):1591-1594.
- [25] GAO Q, YANG M, ZUO Z. Overview of the anti-inflammatory effects, pharmacokinetic properties and clinical efficacies of arctigenin and arctiin from *Arctium lappa* L [J]. *Acta Pharmacol Sin*,2018,39(5):787-801.
- [26] LEE S, SHIN S, KIM H, et al. Anti-inflammatory function of arctiin by inhibiting COX-2 expression via NF- κ B pathways [J]. *J Inflamm (Lond)*,2011,8(1):16.
- [27] 王海颖,陈以平. 牛蒡子提取物减轻糖尿病大鼠肾脏病变的机理研究[J]. 中医药学刊,2004,22(7):1250-1252.
- [28] MA S T, LIU D L, DENG J J, et al. Effect of arctiin on glomerular filtration barrier damage in STZ-induced diabetic nephropathy rats [J]. *Phytother Res*,2013,27(10):1474-1480.
- [29] WU J G, WU J Z, SUN L N, et al. Ameliorative effects of arctiin from *Arctium lappa* on experimental glomerulonephritis in rats [J]. *Phyto-medicine*,2009,16(11):1033-1041.
- [30] 郭亚春,黄群,宋鸿儒,等. 穿山龙总皂苷对胶原诱导性关节炎大鼠血清及滑膜组织肿瘤坏死因子 α 影响的研究[J]. 中国全科医学,2012,15(36):4196-4199.
- [31] 周琦,张宁,卢芳,等. 穿山龙总皂苷对痛风性关节炎大鼠关节炎滑膜 IL-1 β 及其信号转导通路的影响[J]. 中药药理与临床,2013,29(6):52-57.
- [32] 周琦,张宁,卢芳,等. 穿山龙总皂苷对白介素-1诱导的成纤维样滑膜细胞基质细胞衍生因子-1及 I κ B 激酶表达的影响[J]. 中国中西医结合杂志,2015,35(2):234-238.
- [33] 巨君芳,魏克民. 蚕砂提取物联合环孢菌素 A 治疗再生障碍性贫血的实验研究[J]. 中国中医药科技,2010,17(6):513-514.
- [34] MENG X M, NIKOLIC-PATERSON D J, LAN H Y. TGF- β : the master regulator of fibrosis [J]. *Nat Rev Nephrol*,2016,12(6):325-338.
- [35] 郑铁骑,邢翔飞. 细胞因子与肾间质纤维化相关性的研究进展[J]. 山东医药,2017,57(6):107-110.
- [36] MA T T, MENG X M. TGF- β /Smad and Renal Fibrosis [J]. *Adv Exp Med Bio*,2019,1165:347-364.
- [37] WU X M, PAN C Q, CHEN R, et al. BML-111 attenuates high glucose-induced inflammation, oxidative stress and reduces extracellular matrix accumulation via targeting Nrf2 in rat glomerular mesangial cells [J]. *Int Immunopharmacol*,2020,79:106108.
- [38] 张颖. 中西医结合治疗糖尿病肾病并发蛋白尿的疗效观察[J]. 辽宁中医杂志,2018,45(7):1432-1435.

(收稿日期:2021-02-23 修回日期:2021-05-08)

(上接第 3429 页)

- [12] CHO H J, HWANG Y S, YOON J, et al. EphrinB1 promotes cancer cell migration and invasion through the interaction with RhoGDI1 [J]. *Oncogene*,2018,37(7):861-872.
- [13] MORROW J J, BAYLES I, FUNNELL A P W, et al. Positively selected enhancer elements endow osteosarcoma cells with metastatic competence [J]. *Nat Med*,2018,24(2):176-185.
- [14] AKTORIES K, SCHWAN C, JANK T. Clostridium difficile Toxin biology [J]. *Annu Rev Microbiol*,2017,71:281-307.
- [15] SENOO H, KAMIMURA Y, KIMURA R, et al. Phosphorylated Rho-GDP directly activates mTORC2 kinase towards AKT through dimerization with Ras-GTP to regulate cell migration [J]. *Nat Cell Biol*,2019,21(7):867-878.
- [16] GOLDING A E, VISCO I, BIELING P, et al. Extraction of active RhoGTPases by RhoGDI regulates spatiotemporal patterning of RhoGTPases [J]. *Elife*,2019,8:e50471.
- [17] ALAM M, KASHYAP T, MISHRA P, et al. Role and regulation of pro-apoptotic Bax in oral squamous cell carcinoma and drug resistance [J]. *Head Neck*,2019,41(1):185-197.

(收稿日期:2021-03-12 修回日期:2021-06-16)