

doi: 10.7499/j.issn.1008-8830.2016.04.017

论著·实验研究

黄芩苷对单侧输尿管梗阻肾间质纤维化大鼠模型的治疗作用及机制研究

谭禹洁¹ 朱春玲¹ 毛华雄²

(1. 贵州医科大学附属医院肾内科, 贵州 贵阳 550004;
2. 中南大学湘雅医院儿科, 湖南 长沙 410008)

[摘要] **目的** 探讨不同剂量黄芩苷在不同时间对单侧输尿管梗阻(UUO)肾间质纤维化模型大鼠的治疗作用及机制。**方法** 将64只Sprague Dawley大鼠随机分为假手术组、模型组、黄芩苷小剂量治疗组(小剂量组)和黄芩苷大剂量治疗组(大剂量组),每组再随机分为7d组和14d组,每组8只。采用左侧输尿管结扎的方法制作大鼠UUO模型。苏木精-伊红染色观察各组肾脏病理改变;ELISA法检测各组血清TGF- β 1、Notch1和Jagged1的含量;免疫组化法检测各组TGF- β 1和Notch1的表达。Pearson法对各检测指标间行相关分析。**结果** 苏木精-伊红染色结果显示7d和14d模型组肾间质炎性细胞浸润、水肿,肾小管扩张、结构紊乱,肾小管上皮细胞变性、坏死,肾小球结构基本正常;大、小剂量组病变程度均较模型组减轻。7d和14d模型组大鼠血清TGF- β 1含量及肾组织TGF- β 1阳性细胞数均较假手术组明显增高($P<0.05$);7d和14d大、小剂量组血清TGF- β 1含量及肾组织TGF- β 1阳性细胞数均较同时间点模型组下降($P<0.05$)。7d和14d各组血清Notch1含量差异无统计学意义($P>0.05$);但模型组肾组织Notch1阳性细胞数较假手术组增加,而大、小剂量组均较同时间点模型组下降($P<0.05$)。7d和14d各组血清Jagged1含量差异无统计学意义($P>0.05$)。大鼠血清TGF- β 1与Notch1含量变化呈正相关($r=0.650, P<0.01$);血清Notch1与Jagged1含量变化呈正相关($r=0.727, P<0.01$);大鼠肾组织TGF- β 1与Notch1的阳性细胞数亦呈正相关($r=0.743, P<0.01$)。**结论** 黄芩苷治疗可减轻UUO大鼠肾间质纤维化,其机制可能与通过抑制Notch1信号通路从而抑制TGF- β 1的表达有关。

[中国当代儿科杂志, 2016, 18(4): 365-371]

[关键词] 黄芩苷;肾间质纤维化;转化生长因子- β 1;Notch1,大鼠

Therapeutic effect of baicalin in treatment of renal interstitial fibrosis in rats with unliateral ureteral obstruction and related mechanisms

TAN Yu-Jie, ZHU Chun-Ling, MAO Hua-Xiong. Department of Nephrology, Affiliated Hospital of Guizhou Medical University, Guiyang 550004, China (Zhu C-L, Email: gyzcl@medmail.com.cn)

Abstract: Objective To investigate the therapeutic effect of baicalin at different doses administered for different periods of time in the treatment of renal interstitial fibrosis in rats with unliateral ureteral obstruction (UUO) and related mechanisms. **Methods** Sixty-four Sprague-Dawley rats were randomly divided into sham-operation, model, low-dose baicalin, and high-dose baicalin groups, and each group was further randomly divided into 7-day and 14-day groups ($n=8$ each). Left ureteral ligation was used to establish the rat model of UUO. Hematoxylin and eosin staining was used to observe the pathological changes in the kidney. ELISA was used to measure the serum levels of transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1), Notch1, and Jagged1. Immunohistochemistry was used to measure the expression of TGF- β 1 and Notch1. The Pearson correlation analysis was used for correlation analysis. **Results** Hematoxylin and eosin staining showed inflammatory cell infiltration and edema in renal interstitium, tubular dilation and structure disorder, degeneration and necrosis of renal tubular epithelial cells, and a basically normal structure of the glomeruli on days 7 and 14 in the model group, and these lesions were alleviated in the low- and high-dose baicalin groups. Compared with

[收稿日期] 2016-01-22; [接受日期] 2016-02-29
[基金项目] 贵州省科技厅[黔科合SY字(2011)3052]。
[作者简介] 谭禹洁,女,硕士研究生。
[通信作者] 朱春玲,女,主任医师,教授。

the sham-operation group, the model group had a significantly higher serum level of TGF- β 1 and a significantly higher number of TGF- β 1-positive cells in renal tissues on days 7 and 14 ($P < 0.05$). Compared with the model group at the same time points, the high- and low-dose baicalin groups had a significantly lower serum level of TGF- β 1 and a significantly lower number of TGF- β 1-positive cells in renal tissues on days 7 and 14 ($P < 0.05$). The serum level of Jagged1 showed no significant differences between any two groups on days 7 and 14 ($P > 0.05$). The serum level of TGF- β 1 was positively correlated with that of Notch1 ($r = 0.650, P < 0.01$), and the serum level of Notch1 was positively correlated with that of Jagged1 ($r = 0.727, P < 0.01$). TGF- β 1 level in renal tissues was also positively correlated with the number of Notch1-positive cells ($r = 0.743, P < 0.01$). **Conclusions** Baicalin can alleviate renal interstitial fibrosis in UUO rats, probably by inhibiting Notch1 signaling pathway and the expression of TGF- β 1. [Chin J Contemp Pediatr, 2016, 18(4): 365-371]

Key words: Baicalin; Renal interstitial fibrosis; TGF- β 1; Notch1; Rats

慢性肾脏病 (chronic kidney disease, CKD) 已成为危害全球公众健康的严重问题。肾间质纤维化是不同病因所致 CKD 进展中的病理过程,也是发生终末期肾病 (end-stage renal disease, ESRD) 的共同通路。临床上相当一部分成人 CKD 由儿童期 CKD 进展而来,早期 CKD 患儿几乎无症状,至 20 岁时约 70% 的儿童 CKD 患者进展为 ESRD,如何延缓 CKD 的进程备受关注^[1]。抑制或减缓肾间质纤维化的发展有利于延缓 CKD 的进程,对于延长患者的生命具有重要意义。多种细胞、细胞因子及炎症介质在肾间质纤维化过程中发挥作用,其中转化生长因子- β 1 (transforming growth factor- β 1, TGF- β 1) 是关键因子, TGF- β 1 过度表达可导致肾小球系膜增生、基底膜增厚,使肾小球硬化^[2]。Notch1/Jagged1 信号转导通路是 TGF- β 1 延迟激活的非 Smads 信号途径,调节细胞的增生、分化、生长和凋亡等,在 CKD 发展过程中 TGF- β 1 是一个促纤维化细胞因子^[3]。目前肾纤维化仍然缺乏有效的治疗,抑制 TGF- β 1 的表达可抑制肾纤维化进程,因此,有效抑制 TGF- β 1 表达的药物有望成为治疗肾纤维化的选择。

黄芩苷是中药黄芩中提取的一种黄酮类化合物,具有抗炎、拮抗钙离子、清除自由基、抗脂质过氧化、调节免疫、促进肿瘤细胞凋亡等多种药理作用^[4]。近年来研究证实黄芩苷具有抗纤维化及器官保护作用,能够通过减少 TGF- β 1 的表达抑制肾间质纤维化的形成和发展^[5];有研究发现黄芩提取物通过抗肾组织氧化损伤对肾间质纤维化大鼠模型具有抗肾间质纤维化作用^[6];最新研究显示黄芩素可通过抑制磷酸肌醇 3-激酶 (PI3K) /Akt 信号途径诱导肌成纤维细胞的凋亡改善肾小管间质纤维化^[7]。但暂无黄芩苷可能通过 Notch1/Jagged1 信号传导通路起到拮抗肾间质纤维化作用的相关报道。本研究通过观察黄芩苷在单侧输尿

管梗阻 (unilateral ureteral obstruction, UUO) 肾间质纤维化大鼠模型中的治疗作用,探讨黄芩苷调控 TGF- β 1/Notch1/Jagged1 信号通路与肾脏保护作用的相关性,为黄芩苷治疗肾间质纤维化提供新的实验依据。

1 材料与方法

1.1 主要仪器与试剂

黄芩苷 (分析纯:含量 $\geq 98.0\%$) 购自上海酶联生物科技有限公司,使用时以生理盐水溶解,调节 pH 值至 7.0,浓度为 2.0%;大鼠 TGF- β 1 ELISA 试剂盒、兔抗大鼠 TGF- β 1 抗体及 SABC-POD (羊抗兔 IgG) 试剂盒购自武汉博士德生物工程技术有限公司;大鼠 Notch1 ELISA 试剂盒和大鼠 Jagged1 ELISA 试剂盒购自上海 (里苏) 生物技术有限公司;兔抗大鼠 Notch1 抗体购自上海酶联生物科技有限公司。多功能酶标仪 M200 PRO (瑞士 TECAN 公司);Leica 光学显微镜 (德国 LEICA 公司)。全自动生化分析仪 (美国 BECKMAN 公司)。

1.2 实验动物及分组

健康雄性 6~8 周龄 Sprague Dawley 大鼠共 64 只,平均体重 172 ± 14 g,由中南大学实验动物学部提供,符合二级动物标准,饲养于中南大学实验动物学部。按照完全随机方法将大鼠分为假手术组、模型组、黄芩苷小剂量治疗组 (简称小剂量组) 和黄芩苷大剂量治疗组 (简称大剂量组),每组再随机分为 7 d 组和 14 d 组,每组 8 只。

1.3 大鼠 UUO 肾间质纤维化模型制作

大鼠 UUO 肾间质纤维化模型制作采用左侧输尿管结扎术^[8]。大鼠称重后予 10% 水合氯醛 0.3 mL/100 g 腹腔内注射麻醉,在大鼠背部脊柱左侧作一纵向切口,逐层分离充分暴露肾脏,分离出输尿管,用“1”号丝线分别在紧靠肾盂及远离肾

孟约1 cm处结扎输尿管,在两结点中间离断输尿管,用庆大霉素生理盐水冲洗腹腔后逐层缝合,常规消毒。假手术组不结扎和剪断输尿管,其余步骤与模型组相同。大鼠麻醉苏醒后正常饲养。手术当日开始,小剂量组给予2%黄芩苷溶液20 mg/kg,大剂量组给予2%黄芩苷溶液40 mg/kg,腹腔注射,连续7 d或14 d;模型组和假手术组每日给予小剂量组同等剂量的生理盐水腹腔注射。

1.4 大鼠肾组织病理标本制备

于手术后7 d、14 d用10%水合氯醛腹腔注射麻醉大鼠,取出左侧肾脏,用生理盐水冲洗后测量其大小,放入10%甲醛溶液中固定>1周,梯度酒精脱水、透明、浸蜡、石蜡包埋。将包埋后的大鼠肾组织切片,厚度约3.5 μm ,常规苏木精-伊红染色,光镜下观察病理改变,拍照。

1.5 大鼠血清 TGF- β 1、Notch1 和 Jagged1 检测

观察至手术后7 d、14 d的大鼠麻醉后,用心脏采血的方式取血。随即以3000 r/min离心10 min,取上清液,用ependorf管储存于-80 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱。用双抗夹心酶联免疫吸附法(ELISA)检测TGF- β 1、Notch1和Jagged1的含量,试剂采用大鼠ELISA检测试剂盒,实验步骤按照试剂盒说明书进行。用酶标仪在450 nm测定OD值。以标准物的浓度为横坐标,OD值为纵坐标,在Excel 2007软件中对数据进行直线回归分析,得出多项式方程,将样品的OD值代入多项式方程,计算出相应的浓度。实际浓度乘以稀释倍数。

1.6 免疫组化法检测大鼠肾组织中 TGF- β 1 和 Notch1

将已固定的肾组织常规脱水、浸蜡、包埋后切片,厚度约3~5 μm ;载玻片采用多聚赖氨酸防脱片处理;捞片后置烤箱中,60 $^{\circ}\text{C}$ 约1 h,使切片紧密黏附于玻片上;切片常规脱蜡;3%过氧化氢去离子水孵育10 min,以消除内源性过氧化物酶活性;蒸馏水洗,PBS浸泡5 min;微波抗原修复;4%山羊血清封闭,37 $^{\circ}\text{C}$ 温箱孵育30 min;甩掉多余液体,不洗;滴加兔抗大鼠TGF- β 1或Notch1一抗,37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育2 h,4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜;PBS洗4遍;滴加生物素标记的羊抗兔IgG二抗,37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育1 h,PBS洗3遍;滴加链霉素抗生物素蛋白-过氧化物酶溶液,37 $^{\circ}\text{C}$ 温箱孵育30 min,PBS洗涤;DAB显色,苏木素复染;封片,普通光镜下观察。阳性反应

呈棕色。每只大鼠随机取3张切片,每张切片随机取5个高倍镜视野,计数每个视野阳性细胞数,算出平均数即为每张切片阳性细胞的百分比。

1.7 统计学分析

采用SPSS 19.0统计软件包对数据进行统计学分析,计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,两组均数比较采用 t 检验,多样本均数比较采用方差分析,组间两两比较采用SNK- q 检验。相关分析采用Pearson相关分析法。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠肾脏病理结果

苏木精-伊红染色结果显示:7 d和14 d假手术组大鼠肾脏结构正常,无炎性细胞浸润,肾小球及肾小管细胞胞体清晰,轮廓正常,胞质内染色均匀,胞核及核仁清晰可见,肾小管无扩张。7 d和14 d模型组可见肾间质水肿,肾小管明显扩张,肾小管结构明显紊乱,间质区明显增宽,较多炎性细胞浸润,大部分肾小管上皮细胞空泡变性,部分肾小管上皮细胞坏死脱落;肾小球结构基本正常,内皮细胞清晰。小剂量组及大剂量组与模型组比较,可见炎性细胞浸润减少,肾小管扩张减轻,肾小管细胞空泡变性减少,肾小球未见明显病变;14 d小剂量组及大剂量组分别与7 d小剂量组及大剂量组比较病变有所减轻。见图1。

2.2 各组大鼠血清 TGF- β 1 检测结果

在7 d和14 d时模型组大鼠血清TGF- β 1含量均较假手术组明显增高($P<0.05$);黄芩苷治疗后,7 d和14 d小剂量组及大剂量组血清TGF- β 1含量均较同时时间点的模型组有显著下降($P<0.05$);但在7 d和14 d时小剂量组与大剂量组比较差异无统计学意义($P>0.05$)。提示血清TGF- β 1在大鼠UUO后7 d即有明显增加,可持续至14 d;黄芩苷可抑制血清TGF- β 1的增加。见表1。

2.3 各组大鼠血清 Notch1 检测结果

7 d和14 d时模型组血清Notch1含量较假手术组均有所增加,但差异无统计学意义($P>0.05$);黄芩苷治疗后,7 d和14 d小剂量组和大剂量组血清Notch1含量均较模型组有所下降,接近假手术组水平,但差异无统计学意义($P>0.05$)。见表2。

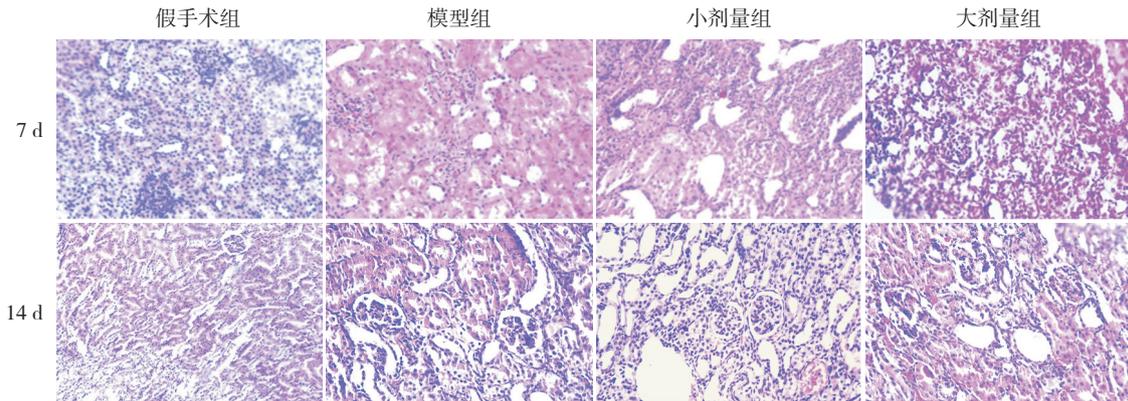


图1 各组大鼠肾组织病理改变(苏木精-伊红染色, ×400) 7d和14d假手术组大鼠肾脏染色均匀,无炎性细胞浸润,肾小球及肾小管细胞胞体清晰,轮廓正常,胞质内染色均匀,胞核及核仁清晰可见。7d和14d模型组大鼠可见肾间质水肿,淋巴细胞、单核细胞及少量浆细胞浸润;肾小管灶性萎缩及空泡变性;肾小球结构基本正常,基膜厚度均匀,内皮细胞清晰。小剂量组及大剂量组病变程度轻于模型组。

表1 各组大鼠血清 TGF-β1 水平比较 ($\bar{x} \pm s$, ng/mL)

组别	n	7 d	14 d
假手术组	8	2.65 ± 0.26	2.54 ± 0.41
模型组	8	3.63 ± 0.40 ^a	3.27 ± 0.58 ^a
小剂量组	8	2.72 ± 0.50 ^b	2.67 ± 0.32 ^b
大剂量组	8	2.75 ± 0.45 ^b	2.63 ± 0.24 ^b
F 值		7.587	4.432
P 值		0.001	0.013

注: a 示与假手术组比较, $P < 0.05$; b 示与模型组比较, $P < 0.05$ 。

表2 各组大鼠血清 Notch1 水平比较 ($\bar{x} \pm s$, ng/mL)

组别	n	7 d	14 d
假手术组	8	37 ± 7	33 ± 5
模型组	8	45 ± 7	43 ± 8
小剂量组	8	34 ± 11	35 ± 8
大剂量组	8	34 ± 7	35 ± 9
F 值		2.910	2.369
P 值		0.056	0.095

2.4 各组大鼠血清 Jagged1 检测结果

7d和14d时模型组与同时间假手术组比较血清 Jagged1 含量明显增加,但差异无统计学意义 ($P > 0.05$);小剂量组和大剂量组在7d和14d时血清 Jagged1 含量较同时间点模型组有所下降,但差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表3。

2.5 各组大鼠肾组织 TGF-β1 免疫组化结果

免疫组化结果显示大鼠肾组织 TGF-β1 的阳性细胞数在7d和14d时模型组均较同时间点假手

术组明显增高 ($P < 0.05$);黄芩苷治疗后,小剂量组和大剂量组 TGF-β1 的阳性细胞数均较同时间点模型组减少 ($P < 0.05$),且大剂量组较小剂量组有所减少 ($P < 0.05$);14d时小剂量组及大剂量组与7d同组别比较 TGF-β1 的阳性细胞数减少 ($P < 0.05$)。提示黄芩苷可降低大鼠 UUO 后肾组织 TGF-β1 的表达,且与使用时间和剂量有关。见表4及图2。

表3 各组大鼠血清 Jagged1 水平比较 ($\bar{x} \pm s$, pg/mL)

组别	n	7 d	14 d
假手术组	8	135 ± 27	147 ± 40
模型组	8	181 ± 41	190 ± 29
小剂量组	8	149 ± 25	169 ± 48
大剂量组	8	134 ± 32	149 ± 24
F 值		2.700	2.441
P 值		0.069	0.086

表4 各组大鼠肾组织 TGF-β1 阳性细胞数比较

($\bar{x} \pm s$, %)

组别	n	7 d	14 d	t 值	P 值
假手术组	8	17.6 ± 1.1	15.1 ± 2.6	2.491	0.032
模型组	8	50.6 ± 2.7 ^a	36.6 ± 2.5 ^a	15.112	<0.001
小剂量组	8	35.3 ± 2.7 ^{a,b}	25.5 ± 3.0 ^{a,b}	9.029	<0.001
大剂量组	8	31.4 ± 3.3 ^{a,b,c}	19.8 ± 1.7 ^{a,b,c}	6.978	<0.001
F 值		198.861	113.290		
P 值		<0.001	<0.001		

注: a 示与假手术组比较, $P < 0.05$; b 示与模型组比较, $P < 0.05$; c 示与小剂量组比较, $P < 0.05$ 。

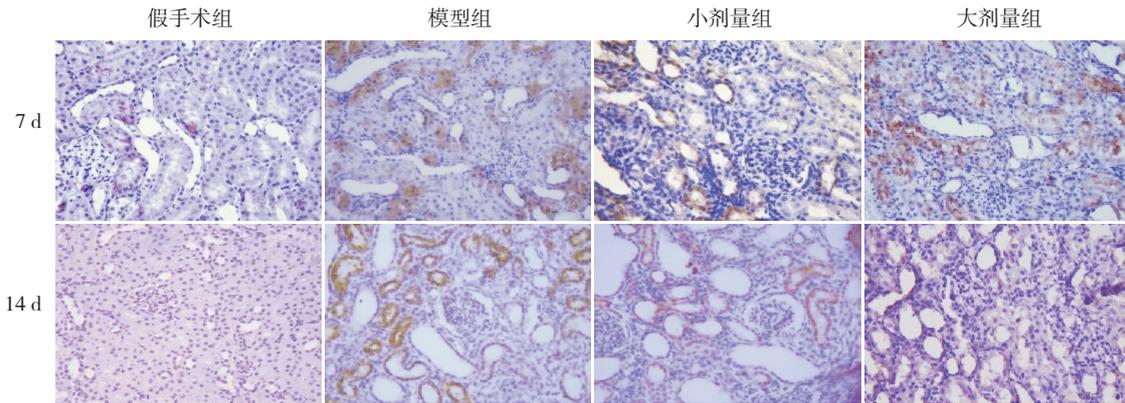


图2 各组大鼠肾组织 TGF-β1 免疫组化结果 (DAB 显色, ×400) 7 d 和 14 d 时模型组大鼠肾组织中 TGF-β1 阳性细胞均较假手术组明显增多; 小剂量组及大剂量组大鼠肾组织中 TGF-β1 阳性细胞较模型组减少, 以大剂量组更明显, 但仍较假手术组增多。阳性细胞呈棕色。

2.6 各组大鼠肾组织 Notch1 免疫组化结果

免疫组化结果显示大鼠肾组织 Notch1 的阳性细胞数在 7 d 和 14 d 时模型组均较同时间点假手术组明显增高 ($P < 0.05$); 黄芩苷治疗后, 小剂量组和大剂量组 Notch1 的阳性细胞数均较同时间点模型组减少 ($P < 0.05$); 而同时间点小剂量组与大剂量组比较及 14 d 时黄芩苷治疗组与 7 d 同组别比较差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。提示黄芩苷可抑制大鼠 UUO 后肾组织 Notch1 的表达, 但加大剂量和延长使用时间效果不明显。见表 5 及图 3。

表5 各组大鼠肾组织 Notch1 阳性细胞数比较

($\bar{x} \pm s, \%$)

组别	n	7 d	14 d	t 值	P 值
假手术组	8	16.3 ± 3.1	12.3 ± 1.5	3.305	0.008
模型组	8	33.9 ± 1.2 ^a	39.3 ± 3.8 ^a	3.578	0.009
小剂量组	8	23.8 ± 2.3 ^b	23.0 ± 2.7 ^{ab}	0.677	0.510
大剂量组	8	21.7 ± 1.2 ^b	20.4 ± 2.6 ^{ab}	1.248	0.241
F 值		98.434	128.097		
P 值		<0.001	<0.001		

注: a 示与假手术组相比, $P < 0.05$; b 示与模型组相比, $P < 0.05$ 。

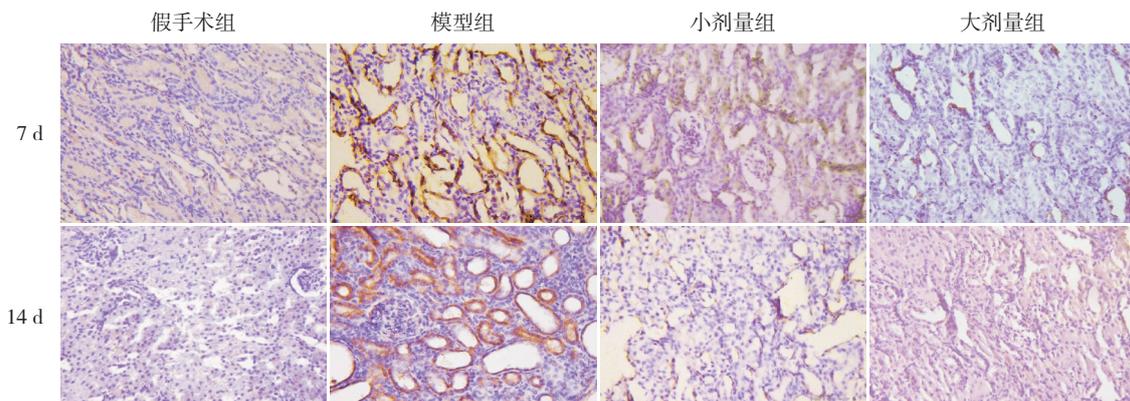


图3 各组大鼠肾组织 Notch1 免疫组化结果 (DAB 显色, ×400) 7 d 和 14 d 时模型组大鼠肾组织中 Notch1 阳性细胞均较假手术组明显增多; 小剂量组及大剂量组大鼠肾组织中 Notch1 阳性细胞较模型组减少, 大剂量组较小剂量组减少不明显。阳性细胞呈棕色。

2.7 相关分析

大鼠血清 TGF-β1 含量变化与血清 Notch1 含量变化呈正相关 ($r = 0.650, P < 0.01$); 血清 Notch1 含量变化与血清 Jagged1 含量变化呈正

相关 ($r = 0.727, P < 0.01$)。大鼠肾组织 TGF-β1 与 Notch1 的阳性细胞数亦呈正相关 ($r = 0.743, P < 0.01$)。见图 4~6。

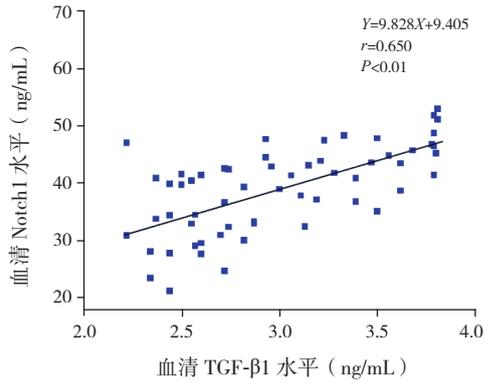


图4 大鼠血清 TGF-β1 与 Notch1 水平的相关分析图

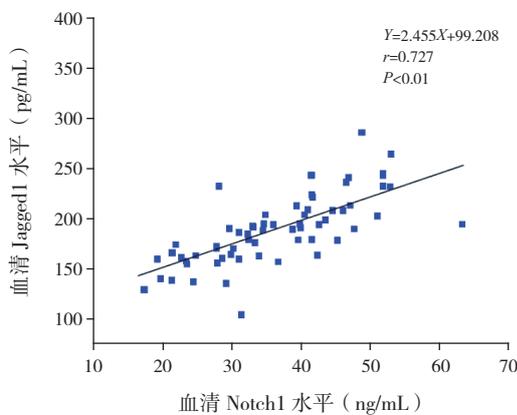


图5 大鼠血清 Notch1 与 Jagged1 水平的相关分析图

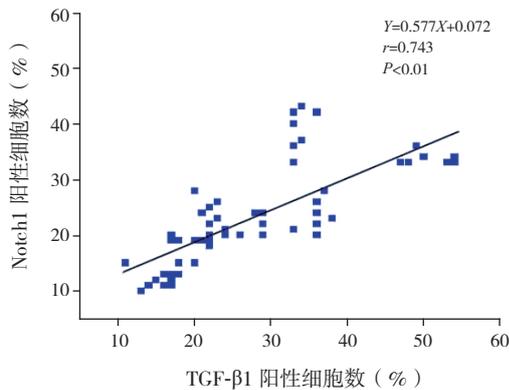


图6 大鼠肾组织 TGF-β1 与 Notch1 阳性细胞数的相关分析图

3 讨论

肾间质纤维化是多种病因导致 CKD 进展中的基本病理改变,也是发生 ESRD 的共同通路。抑制肾间质纤维化的进程,是延长 CKD 患者生命的关键,因此也成为目前 CKD 的研究热点。

由于大鼠 UUO 模型的病理发生过程与人类肾间质纤维化过程相似,因此是研究肾间质纤维化常用的动物模型。UUO 模型有较好的重复性,肾间质纤维化发生迅速,在输尿管结扎 1 周内该侧肾脏即开始出现肾间质纤维化的病理特点^[8]。本研究采用结扎大鼠左侧输尿管制备 UUO 模型,大鼠肾脏病理观察结果显示肾间质水肿,肾小管明显扩张,肾小管结构明显紊乱,间质区明显增宽,较多炎性细胞浸润,肾小管上皮细胞空泡变性,部分肾小管上皮细胞坏死脱落,肾小球结构基本正常,提示大鼠 UUO 模型制备成功。

黄芩苷具有抗炎、抗肿瘤、调节免疫、抗变态反应、抗菌抗病毒、清除氧自由基和抗脂质过氧化等作用。谢红东等^[6]的研究结果显示黄芩提取物灌胃对肾纤维化大鼠模型有治疗作用,其机制与抗肾组织氧化损伤有关。另一项研究结果显示:黄芩素可能通过抑制 TGF-β1/Smad 信号转导通路来拮抗肾间质纤维化^[9]。有最新研究用黄芩素治疗 UUO 小鼠模型和处理被 TGF-β1 激活的正常大鼠肾 NRK-49F 细胞模型,结果显示黄芩素在体内及体外均能改善肾小管间质纤维化,其机制可能是通过抑制线粒体 PI3k/Akt 通路诱导成肌纤维细胞的细胞凋亡^[8]。本研究发现 UUO 大鼠给予黄芩苷治疗后,病理观察显示小剂量组及大剂量组炎性细胞浸润减少,肾小管扩张减轻,肾小管上皮细胞空泡变性减少,提示黄芩苷治疗对改善 UUO 大鼠肾脏病理有一定的作用。

细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 过度沉积是肾纤维化的特点,是公认的 CKD 的一个共同病理特征。研究表明, TGF-β1 为 CKD 进行性肾纤维化相关的关键介质,其具有多个生物学特性,包括细胞增殖、分化、细胞凋亡、自噬和生成 ECM 等^[10]。在大鼠 UUO 模型的研究中发现梗阻侧肾脏 TGF-β1 上调并诱导肾细胞产生 ECM,导致肾小球硬化以及间质纤维化^[11]。相当多的证据表明, TGF-β1 在 CKD 病人和动物模型的损伤侧肾脏表达上调^[12]。本研究结果显示模型组大鼠血清 TGF-β1 含量及肾组织 TGF-β1 阳性细胞数在 7 d 和 14 d 时均较假手术组明显增高,提示 TGF-β1 参与了大鼠 UUO 的病理变化,并持续至 14 d,与文献报道基本一致。黄芩苷治疗后,小剂量组及大剂量组 7 d 和 14 d 时血清 TGF-β1 含量及肾组织 TGF-β1 阳性

细胞数均较同时间点模型组有显著下降；大剂量组肾组织TGF-β1阳性细胞数较小剂量组有所降低，14 d小剂量组及大剂量组与7 d同组别比较肾组织TGF-β1阳性细胞数下降。提示黄芩苷治疗可减少大鼠UUO后血清TGF-β1的含量及肾组织TGF-β1的表达，且与使用时间和剂量有关。

Notch对肾脏的发育至关重要，肾脏组织一旦发育成熟，Notch受体和配体表达水平则很低或是无表达。当肾组织受到损伤后，Notch信号通路的各种分子可重新表达，一方面促使组织修复和再生，另一方面加重组织的损伤^[13]。研究表明活化的Notch可能有助于急性肾损伤后的再生，但持续的Notch表达与肾间质性纤维化和肾小球硬化有关^[14]。在UUO大鼠模型中随着肾间质纤维化程度的加重，纤维连接蛋白增加的同时Notch1/Jagged1的表达增强，提示Notch1/jagged1信号通路在肾间质纤维化发病机制中起重要作用^[15]。本研究结果显示7 d和14 d模型组大鼠肾组织Notch1阳性细胞数较假手术组增加，提示Notch1参与了UUO大鼠肾组织的损伤过程，且以局部介导为主。黄芩苷治疗后，大、小剂量组7 d和14 d时肾组织Notch1阳性细胞数均较同时间点模型组下降；7 d和14 d模型组血清Jagged1含量较假手术组有所增加，黄芩苷治疗后血清Jagged1含量较同时间点模型组有所下降，但差异无统计学意义。

Morrissey等^[16]应用基因芯片筛选研究发现，UUO大鼠模型的远端肾小管Notch1和Jagged1的基因表达上调，体外研究显示，TGF-β1可诱导人类肾小管上皮细胞的Jagged1表达，提示UUO大鼠模型存在TGF-β1依赖的Notch信号通路激活。有研究结果表明，Notch1信号传导途径可通过TGF-β1的活化引发糖尿病肾病^[17]。本研究相关分析显示大鼠血清TGF-β1与Notch1含量变化呈正相关，肾组织TGF-β1与Notch1的表达量呈正相关，大鼠血清Notch1与Jagged1含量变化呈正相关；提示Notch1/Jagged1信号途径可能参与了大鼠UUO的病理过程，且与TGF-β1的活化相关。黄芩苷治疗可抑制TGF-β1/Notch1/Jagged1信号途径的活化。

本研究结果显示黄芩苷治疗可减轻UUO大鼠肾间质病变，减轻肾间质纤维化，其机制可能与抑制TGF-β1及Notch1/Jagged1表达有关。加大剂

量及延长治疗时间可能增加疗效。

[参 考 文 献]

- [1] 毛华雄, 易著文. 儿童慢性肾脏病现状与防治[J]. 中国实用儿科杂志, 2011, 26(6): 401-403.
- [2] Samarakoon R, Overstreet JM, Higgins SP, et al. TGF-β1→SMAD/p53/USF2→PAI-1 transcriptional axis in ureteral obstruction-induced renal fibrosis[J]. Cell Tissue Res, 2012, 347(1): 117-128.
- [3] Sirin Y, Susztak K. Notch in the kidney: development and disease[J]. J Pathol, 2012, 226(2): 394-403.
- [4] 黄志军. 黄芩苷药理作用研究进展[J]. 天津药学, 2012, 24(3): 61-64.
- [5] 张灵灵, 郭明好. 黄芩苷在抗器官纤维化中的作用[J]. 中国临床新医学, 2010, 3(3): 289-291.
- [6] 谢红东, 杨珂, 穆焕德, 等. 黄芩提取物对大鼠肾间质纤维化的作用及其抗氧化机制[J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2009, 10(3): 240-242.
- [7] Wang W, Zhou PH, Xu CG, et al. Baicalein ameliorates renal interstitial fibrosis by inducing myofibroblast apoptosis in vivo and in vitro[J]. BJU Int, 2015. [Epub ahead of print]
- [8] Buyukserbetci M, Dadali M, Aydogmus Y, et al. Oral misoprostol does not protect the kidneys from diclofenac induced toxicity: data from an unilateral ureteral obstructive rat model[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2015, 19(18): 3528-3535.
- [9] 王文玉, 郭孜, 孙淑军, 等. 黄芩素对大鼠肾间质纤维化的干预作用及对肾组织中TGF-β1和Smad-2表达的影响[J]. 长春中医药大学学报, 2012, 28(3): 383-385.
- [10] Meng XM, Chung AC, Lan HY. Role of the TGF-β/BMP-7/Smad pathways in renal diseases[J]. Clin Sci (Lond), 2013, 124(4): 243-254.
- [11] Loeffler I, Wolf G. Transforming growth factor-β and the progression of renal disease[J]. Nephrol Dial Transplant, 2014, 29 Suppl 1: i37-i45.
- [12] Meng XM, Tang PM, Li J, et al. TGF-β/Smad signaling in renal fibrosis[J]. Front Physiol, 2015, 6: 82.
- [13] 黄仁发, 周金玉, 周巧玲. Notch信号通路与肾脏疾病[J]. 医学综述, 2013, 19(22): 4038-4041.
- [14] Sweetwyne MT, Tao J, Susztak K. Kick it up a notch: Notch signaling and kidney fibrosis[J]. Kidney Int Suppl (2011), 2014, 4(1): 91-96.
- [15] 孙彬, 王笑云, 王宁宁, 等. 大鼠单侧输尿管梗阻后肾脏Notch1/Jagged1的表达及其意义[J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2006, 26(11): 1009-1014.
- [16] Morrissey J, Guo G, Moridaira K, et al. Transforming growth factor-beta induces renal epithelial Jagged-1 expression in fibrotic disease[J]. J Am Soc Nephrol, 2002, 13(6): 1499-1508.
- [17] Liu L, Gao C, Chen G, et al. Notch signaling molecules activate TGF-β in rat mesangial cells under high glucose conditions[J]. J Diabetes Res, 2013, 2013: 979702.

(本文编辑: 万静)