

健脾清化方对阿霉素肾病大鼠免疫炎症损伤的作用机制*

马晓红^{1,2,3}, 何立群^{1,2,3△}

1. 上海中医药大学附属曙光医院 肾内科(上海 201203); 2. 上海市中医临床重点实验室(上海 201203);
3. 上海中医药大学(上海 201210)

【摘要】 目的 从细胞免疫介导的炎症损伤角度,探讨健脾清化方对阿霉素致局灶节段硬化(focal segmental glomerular sclerosis, FSGS)模型大鼠 FSGS 的影响。**方法** 左侧肾切除加尾静脉注射阿霉素致大鼠肾脏 FSGS,观察健脾清化方对模型大鼠脾淋巴细胞 CD4⁺/CD8⁺ 比值,肾小管间质纤维连接蛋白(FN)mRNA、Ⅲ型胶原(Col Ⅲ)mRNA、肿瘤坏死因子-α(TNF-α)、白细胞介素(IL)6 表达的影响。**结果** 健脾清化方能明显降低模型鼠脾淋巴细胞 CD4⁺/CD8⁺ 比值,肾小管间质 FN mRNA、Col Ⅲ mRNA、TNF-α、IL6 水平。**结论** 健脾清化方对阿霉素肾病模型大鼠肾脏 FSGS 有一定的改善作用,该机制可能与健脾清化方抑制细胞免疫介导的炎症损伤有关。

【关键词】 健脾清化方 CD4⁺/CD8⁺ 局灶节段性硬化

Effects of Jianpi Qinghua Decoctions on Immune Inflammatory Injury in Adriamycin-induced Nephropathic Rats MA Xiaohong^{1,2,3}, HE Li-qun^{1,2,3△}. 1. Department of Urology, Shuguang Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China; 2. Clinical Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China; 3. Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201210, China

△ Corresponding author, E-mail: heliqun59@163.com

【Abstract】 Objective To investigate the effects of Jianpi Qinghua Decoctions on the inflammation injury mediated by the cellular immunity in the focal segmental glomerular Sclerosis (FSGS) nephropathy rats. **Methods** The FSGS nephropathy rat model was established by the method of intravenous injection of Adriamycin after the removal of one kidney. After the treatment of Jianpi Qinghua Decoctions, the blood, spleen and kidney samples of each rat were collected for the detection of splenocytes CD4⁺/CD8⁺ ratio, renal tubulointerstitial fibronectin (FN) mRNA, Col Ⅲ mRNA, and the expression levels of TNF-α and IL6. **Results** The treatment of Jianpi Qinghua Decoctions decreased the levels of CD4⁺/CD8⁺, tubulointerstitial FN mRNA, Col Ⅲ mRNA, TNF-α and IL6 significantly in FSGS nephropathy rats. **Conclusion** Jianpi Qinghua Decoctions could improve renal FSGS damage in adriamycin-induced nephropathy rats.

【Key words】 Jianpi Qinghua decoctions CD4⁺/CD8⁺ Focal segmental glomerular sclerosis

细胞免疫参与并介导局灶节段性硬化(focal segmental glomerular sclerosis, FSGS)^[1],其介导的肾脏损伤是肾小球疾病的始发因素,并导致肾小球炎症及纤维化,是肾纤维化重要的发病机制之一。T淋巴细胞是细胞免疫的主要细胞,CD4⁺和CD8⁺显著降低时T淋巴细胞总数降低^[2]。健脾清化方是在李东垣所制补脾胃泻阴火升阳汤基础上化裁组成,该方不仅可改善临床慢性肾衰患者肾功能及肾脏病理^[3-7],而且可明显改善和抑制Platt模型大鼠的肾功能、蛋白尿和丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)

炎症通路^[8,9]。我们采用左侧肾切除加尾静脉注射阿霉素(adriamycin, ADR)建立大鼠肾脏FSGS模型,对该模型使用健脾清化方的过程中发现该方能明显减低模型大鼠的肌酐、尿素氮、24h尿蛋白定量,对肾功能有明显的改善作用(待发表)。本研究从细胞免疫介导的炎症损伤角度,观察了健脾清化方对ADR致FSGS肾病模型大鼠FSGS的影响,以进一步探讨健脾清化方改善肾纤维化的机制。

1 材料与方

1.1 材料

1.1.1 实验动物 SPF级8周龄雄性SD大鼠56只,体质量(200±20)g,由上海西普尔-必凯实验有限公司提供。合格证号:SCXK(沪)2008-0016。实验大鼠分笼饲养于上海中医药大学实验动物中心,设备使用证号:SYXK(沪)2009-0069,温度25℃、

* 国家自然科学基金项目(No. 81173219)、科技部中医药行业科研专项(No. 201007005)、上海市科委创新行动计划项目(No. 11DZ1973100)、上海市中医药事业发展三年行动计划项目(No. ZYSNXd-CC-YJXY)、上海市教育委员会E-研究院建设计划资助项目(No. E03008)和上海高校创新团队建设项目资助

△ 通讯作者, E-mail: heliqun59@163.com

12 h光照、45%湿度的环境中,自由饮水,进食标准普通饲料。

1.1.2 药物及其制备 健脾清化方:党参 15 g、生黄芪 15 g、草果仁 6 g、苍术 10 g、黄连 3 g、制大黄 9 g,共计 58 g。健脾方:党参 15 g、生黄芪 15 g,共计 30 g。清化方:草果仁 6 g、苍术 10 g、黄连 3 g、制大黄 9 g,共计 28 g。以上均由中药研究所制备提供。尿毒清颗粒,康臣药业(内蒙古)有限责任公司生产,批准文号:国药准字 Z20073256。

1.1.3 主要试剂 磁珠法 RNA 抽提试剂盒(购自 TOYOBO 公司,货号 NPK-201);逆转录试剂盒(购自美国 Fermentas,货号 K1622);SYBR Premix Ex TaqTM(购自大连 TaKaRa 公司,货号 DRR420A)。肿瘤坏死因子- α (TNF- α)抗体(美国 ABCAM, Inc 货号 ab1793),白细胞介素(IL)6 抗体(美国 ABCAM, Inc 货号 ab6672)。小鼠抗大鼠 CD3-PE 抗体(购自 EBIOSCIENCE 公司,货号 12-0030-82);小鼠抗大鼠 CD4-FITC 抗体(购自 EBIOSCIENCE 公司,货号 11-0040-82);小鼠抗大鼠 CD8-PE-Cy7 抗体(购自 EBIOSCIENCE 公司,货号 25-0084-82);Percoll 细胞分离液(购自 GE 公司,货号 17-0891-09-100ML);Fixation and Permeabilization(购自 IVITORGEN 公司,货号 gas-003)。

引物:纤维连接蛋白(FN)、Ⅲ型胶原(Col Ⅲ)、*GAPDH* 引物由大连 TaKaRa 公司合成。*FN* 引物为 5'-CTGAACCCAGTCCCGATGGTA-3'(F),5'-CACGTCCAACGGCATGAAG-3'(R),119 bp。*Col Ⅲ* 引物为 5'-TTTGGCACAGCAGTCCAATGTA-3'(F),5'-GACAGATCCCGAGTGCAGAGA-3'(R),121 bp。*GAPDH* 引物为 5'-GGCACAGTCAAGGCTGAGAATG-3'(F),5'-ATGGTGGTG AAGACGCCAGTA-3'(R),143 bp。

1.1.4 主要仪器 CFX-96 荧光定量 PCR 仪(美国 Bio-Rad 公司),Nanovue™Plus 核酸蛋白测定仪(美国 GE 公司),M5 型酶标仪(美国 MD 公司),FACSCalibar 流式细胞仪(美国 Beeton Dickinson 公司),HERA Cell 150 CO₂ 培养箱(美国 Thermo Scientific 公司),Bio-Rad 电泳仪。

1.2 方法

1.2.1 实验分组和处理 56 只 SD 大鼠随机分为 3 组:正常组($n=8$),假手术组($n=8$),造模组($n=40$)。造模组行单侧肾切除,以 2%戊巴比妥钠(40 mg/kg)腹腔注射麻醉,距左脊肋骨 1.5 cm 处斜向外方切口,暴露肾脏,分离肾周脂肪后,切除左

肾,结扎血管,逐层缝合,于术后第 1 周行 1 次尾静脉注射,注射剂量 ADR 0.6 mL(ADR 3 mg/kg)。假手术组仅作背部切口,逐层缝合,于术后第 1 周尾静脉注射生理盐水 0.6 mL。模型组、假手术组于术后第 5 周再次尾静脉注射,重复前次剂量。

模型大鼠第 2 次尾静脉注射后 2 周内内眦采血,测定肾功能。肌酐水平高于正常组(单因素方差分析, $P<0.01$),说明造模成功。成模后根据肌酐分成 5 组:模型组、健脾清化方组、健脾方组、清化方组和尿毒清组,每组 8 只,共 40 只。分别给予健脾清化方、健脾方、清化方、尿毒清每日灌胃,用量按照 60 kg 人体 20 倍剂量换算分别为 3.9 g/(200 g 大鼠·d)、2.0 g/(200 g 大鼠·d)、1.9 g/(200 g 大鼠·d)、2.7 g/(200 g 大鼠·d),疗程 56 d。灌胃容积控制在 2 mL 以下,正常组和模型组以同体积生理盐水灌胃。

1.2.2 大鼠肾脏与脾脏组织标本的收集 灌胃 56 d 后,实验结束当天麻醉处死大鼠,2%戊巴比妥钠(40 mg/kg)腹腔注射麻醉,取出残余右侧肾脏,称重,去包膜,一部分残余右肾置于液氮保存,取肾皮质及肾髓质备测 *Col Ⅲ* mRNA、*FN* mRNA、TNF- α 、IL6 水平。取出脾脏,去包膜,置于新鲜 PBS 液中冰上保存,研磨后备测脾脏淋巴细胞 CD4⁺、CD8⁺。

1.2.3 RT-PCR 检测肾小管间质 *FN* mRNA、*Col Ⅲ* mRNA 的表达 于液氮中取 50 g 肾组织加入 500 μ L RLA 冰上匀浆,12 000 $\times g$ 常温离心 5 min,取上清采用磁珠法 RNA 抽提试剂盒提取肾脏总 RNA,Nanovue 浓度测试仪测定 RNA 的纯度及含量。取 2 μ L RNA 进行逆转录,反应条件:65 $^{\circ}$ C 5 min,42 $^{\circ}$ C 60 min,70 $^{\circ}$ C 5 min,合成 cDNA;采用 20 μ L 反应体系进行 PCR 扩增,反应条件:第一步 95 $^{\circ}$ C 30 s;第二步 95 $^{\circ}$ C 15 s,60 $^{\circ}$ C 30 s,40 个循环。采用 2^{- $\Delta\Delta$ Ct} 法计算 mRNA 的相对表达量。

1.2.4 Western blot 检测肾小管间质 TNF- α 、IL6 的表达 液氮中取 100 mg 肾组织加入苯甲基磺酰氟(PMSF)、组织裂解液(RIPA)、磷酸酶抑制剂等在冰上匀浆,4 $^{\circ}$ C、12 000 $\times g$ 离心 10 min,BCA 法测蛋白浓度确定上样量,16 μ L 样品中总蛋白含量为 50 μ g;95 $^{\circ}$ C 变性 5 min,加样后 80 V 凝胶电泳 150 min;80 V 转膜 70 min;室温封闭 1 h;分别孵育一抗(1:500 稀释的小鼠抗 TNF- α 抗体,1:500 稀释的兔抗 IL6 抗体,1:2 000 稀释的小鼠抗 β -actin 内参抗体),4 $^{\circ}$ C 过夜;PBS 洗 5 min \times 3 次,HRP 标

记的山羊抗兔 IgG 或 HRP 标记的山羊抗小鼠 IgG (1 : 5 000)室温孵育 1 h, PBS 洗 5 min × 3 次; ECL 显色、曝光。使用 Image J 分析软件测量条带的吸光度值。以目的蛋白条带吸光度(A)值与内参条带 A 值比值作为目的蛋白的相对表达量。

1.2.5 流式细胞术检测大鼠脾脏淋巴细胞 CD4⁺/CD8⁺

1.2.5.1 大鼠脾脏淋巴细胞的分离 PBS 中取出脾脏,置于盛有新鲜 PBS 的培养皿中,用载玻片研磨脾脏,200 目筛网过滤,取过滤液离心(90 × g, 2 min),取上清离心(450 × g, 5 min),留沉淀,每管样品中加入 Percoll,水平离心机行浓度梯度离心(800 × g, 20 min),离心后吸取中间的白膜层淋巴细胞,移入另一试管。PBS 定容 10 mL 洗涤 2 次(800 × g, 5 min),弃上清, PBS 重悬,计数并调整细胞浓度为 2 × 10⁶ /mL。

1.2.5.2 流式细胞术检测分析 收集细胞,离心(300 × g, 5 min)弃上清,细胞悬于 50 μL washing buffer 中,加入 T 细胞表面特异性抗原 PE-CD3,加入 FITC-CD4、PE-Cy7-CD8, 4 °C 20 min, washing buffer 洗涤 1 次后细胞悬于 washing buffer 800 μL 中,上流式细胞仪分析 CD4⁺/CD8⁺ 比值。

1.2.6 统计学方法 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,组间两两比较采用 LSD 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

各组大鼠存活情况:正常组、假手术组存活 8 只;健脾清化方组、清化方组、尿毒清组均存活 7 只;模型组、健脾组存活 6 只。

2.1 各组大鼠肾小管间质 Col III mRNA、FN mRNA 的表达

结果见表 1。与正常组和假手术组相比,模型组大鼠肾小管间质 Col III mRNA、FN mRNA 相对表达量升高 ($P < 0.01$);健脾清化方组、清化方组、尿毒清组与模型组相比 Col III mRNA 相对表达量降低 ($P < 0.01$),健脾清化方组低于尿毒清组 ($P < 0.01$);健脾清化方组、清化方组与模型组相比 FN mRNA 相对表达量降低 ($P < 0.01$),健脾清化方组低于尿毒清组 ($P < 0.01$)。与健脾方组比较,健脾清化方组和清化方组 Col III mRNA、FN mRNA 相对表达量降低 ($P < 0.01$)。余组间差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

2.2 各组大鼠肾小管间质 TNF-α、IL6 的表达

表 1 各组大鼠肾小管间质 Col III mRNA、FN mRNA 相对表达量 (2^{-ΔΔCt}) 的比较

Table 1 Comparison of Col III mRNA, FN mRNA (2^{-ΔΔCt}) among of seven groups

Group	n	Col III mRNA	FN mRNA
Normal	8	0.002 ± 0.000 2*	0.009 ± 0.000 7*
Sham	8	0.002 ± 0.000 2*	0.009 ± 0.000 9*
Model	6	0.026 ± 0.002 4	0.040 ± 0.026 5
JPQHD	7	0.004 ± 0.000 4*·#·Δ	0.011 ± 0.002 8*·#·Δ
JPD	6	0.027 ± 0.002 2	0.045 ± 0.007 4
QHD	7	0.008 ± 0.000 5*·Δ	0.019 ± 0.001 7*·Δ
NDQ	7	0.009 ± 0.001 2*	0.030 ± 0.001 8

JPQHD: JianPi QingHua Decoction; JPD: JianPi Decoction; QHD: QingHua Decoction; NDQ: NiaoDuQing. * $P < 0.01$, vs. model group; # $P < 0.01$, vs. NDQ group; Δ $P < 0.01$, vs. JPD group

结果见表 2、图 1、图 2。与正常组和假手术组相比,模型组大鼠肾小管间质 TNF-α、IL6 表达升高 ($P < 0.01$);与模型组相比,健脾清化方组、健脾方组、清化方组 TNF-α、IL6 表达下降 ($P < 0.01$),尿毒清组 IL6 表达下降 ($P < 0.01$);与尿毒清组相比,健脾清化方组、健脾方组、清化方组 TNF-α 表达下降 ($P < 0.05$);健脾清化方组与尿毒清组 IL6 比较

表 2 各组大鼠肾小管间质 TNF-α、IL6 表达的比较

Table 2 Expressions of TNF-α and IL6 in seven groups

Group	n	TNF-α (A value)	IL6 (A value)
Normal	8	0.300 ± 0.093 *	0.468 ± 0.227 *
Sham	8	0.282 ± 0.058 *	0.385 ± 0.037 *
Model	6	1.439 ± 0.354	1.604 ± 0.465
JPQHD	7	0.378 ± 0.029 *·#·Δ	0.299 ± 0.100 *·Δ
JPD	6	0.839 ± 0.030 *·#	0.834 ± 0.119 *
QHD	7	0.774 ± 0.015 *·#	0.273 ± 0.028 *·Δ
NDQ	7	1.284 ± 0.264	0.700 ± 0.016 *

JPQHD, JPD, QHD, NDQ: Denotes the same as those in table 1. A value: Absorbance value. * $P < 0.01$, vs. model group; # $P < 0.05$, vs. NDQ group; Δ $P < 0.05$, vs. JPD group

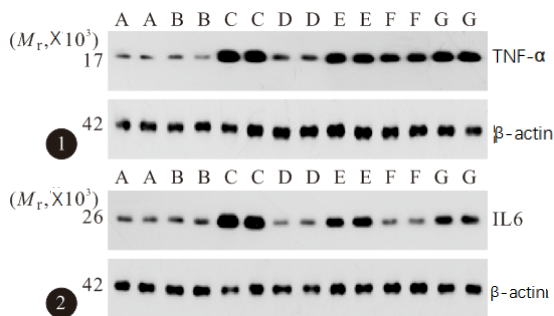


图 1 各组大鼠肾小管间质 TNF-α 的表达

图 2 各组大鼠肾小管间质 IL6 的表达

Fig 1 Expression of TNF-α in seven groups

Fig 2 Expression of IL6 in seven groups

A: Normal group; B: Sham group; C: Model group; D: JianPi QingHua Decoction group; E: JianPi Decoction group; F: QingHua Decoction group; G: NiaoDuQing group

差异无统计学意义($P>0.05$);与健脾方组比较,健脾清化方组 TNF- α 、IL6 表达下降($P<0.05$),清化方组 IL6 表达下降($P<0.05$);余组间差异无统计学意义($P>0.05$)。

2.3 各组大鼠脾淋巴细胞 CD4⁺/CD8⁺ 比值的比较

模型组与正常组和假手术组相比,CD4⁺/CD8⁺ 比值升高($P<0.01$);健脾清化方组 CD4⁺/CD8⁺ 比值低于模型组($P<0.05$);与健脾方组相比,健脾清化方组 CD4⁺/CD8⁺ 比值降低($P<0.05$);余组间差异无统计学意义($P>0.05$)。见表

3、图 3。

表 3 各组大鼠脾淋巴细胞 CD4⁺/CD8⁺ 比值的比较

Table 3 Comparison of CD4⁺/CD8⁺ among seven groups

Group	n	CD4 ⁺ /CD8 ⁺
Normal	8	1.12±0.30*
Sham	8	1.17±0.44*
Model	6	2.18±1.36
JPQHD	7	1.33±0.92*·△
JPD	6	2.20±0.46
QHD	7	1.65±0.55
NDQ	7	1.71±0.33

JPQHD, JPD, QHD, NDQ: Denotes the same as those in table

1. * $P<0.05$, vs. model group; △ $P<0.05$, vs. JPD group

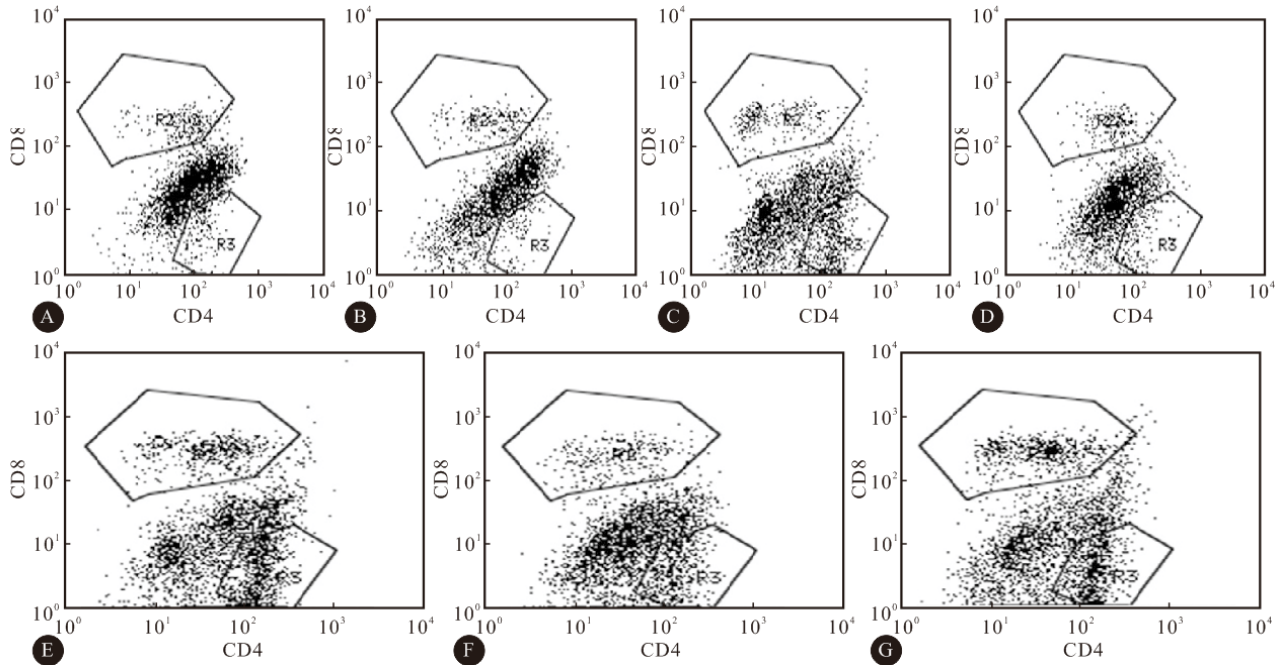


图 3 大鼠脾淋巴细胞 CD4⁺、CD8⁺ 流式细胞术检测

Fig 3 Flow cytometry of CD4⁺、CD8⁺ among seven groups

A-G: Denotes the same as those in Fig 1

3 讨论

细胞免疫介导的损伤是 FSGS 发病机制之一^[10],其机制主要通过致敏 T 细胞的直接杀伤作用及淋巴因子相互配合、协同杀伤靶细胞发挥作用。细胞免疫的主要细胞 T 淋巴细胞主要分为 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 淋巴细胞两大亚群,参与细胞免疫及免疫调节,在机体免疫中起重要作用。

作为 T 淋巴细胞的两大亚群,CD4⁺ T 淋巴细胞中的辅助性 T 淋巴细胞(Th)产生的细胞因子 Th1 细胞能合成分泌 TNF- α 、IL2 等,可促进 IgG 的生成、增强 NK 细胞的杀伤能力,促进炎症反应;产生的细胞因子 Th2 能分泌 TNF- α 、IL6 等,其分泌的细胞因子可促进 B 细胞的增殖和抗体生成^[11];

Th2 还可合成分泌 IL4,并作用于纤维细胞的 IL4 受体,促进成纤维细胞增殖,使其分泌 I、III 型胶原和 FN;CD4⁺ T 细胞还可分泌一种成纤维细胞刺激因子-1,促进成纤维细胞增生和活化。活化的 CD8⁺ T 细胞能够分泌大量包括细胞因子、趋化因子[如 TNF- α 、TNF- β 、IL、干扰素- γ (IFN- γ)等]等炎症因子,导致血管壁的炎症、细胞外基质的沉积和血管平滑肌细胞的肥大和增生;激活能再释放多种细胞因子的巨噬细胞,诱导 MHC-I 类分子表达,使心肌成纤维细胞表型发生转变,激活免疫应激反应,最终导致心肌纤维化^[12-17];CD8⁺ T 细胞合成和分泌的 TGF- α 可促进纤维产生、抑制基质降解。CD4⁺、CD8⁺ 表现为免疫调节的改变但均可介导炎症损伤,因此,二者失调可引起肾脏纤维化,并且通

过免疫炎症介导损伤引起。

由党参、生黄芪、草果仁、苍术、黄连、制大黄组成的健脾清化方,具有清热化湿、健脾益气之功,并长期运用于临床慢性肾衰患者的治疗。大量的研究表明该方可改善肾功能、抗炎、抗氧化,临床疗效明显^[3-7]。动物实验证明健脾清化方对慢性肾衰大鼠肾功能及蛋白尿的改善均有作用^[8,9];在对 ADR 致 FSGS 大鼠模型的研究中还发现健脾清化方可抑制成纤维细胞的激活,降低分泌细胞外基质(ECM)的能力,有改善肾脏纤维化的作用(待发表)。

FN 是肾小球硬化及肾间质纤维化的始动因素,Col III 是反映肾纤维化的指标之一,其在肾间质的高表达意味着 ECM 的堆积及肾纤维化的加重^[18]。本实验采用 ADR 致大鼠 FSGS 模型,观察健脾清化方对细胞免疫介导的炎症损伤的影响,结果发现,与模型组相比,健脾清化方能明显降低肾小管间质 FN mRNA、Col III mRNA,因此,该方改善肾纤维化的进程可能是通过抑制肾纤维化的始动因素,减少组成 ECM 的主要成分,进而减少 ECM 的合成和堆积途径;并且健脾清化方可明显降低炎症启动因子 TNF- α 及炎症因子 IL6 的表达,改善模型大鼠肾脏的炎症损伤,以上这些结果可能与健脾清化方对 CD4⁺、CD8⁺ 的调节有关。本实验结果显示,健脾清化方组与模型组相比 CD4⁺/CD8⁺ 比值明显降低。CD4⁺/CD8⁺ 比值增高见于自身免疫性疾病、恶性肿瘤、病毒性感染、变态反应等。FSGS 肾组织(肾实质)中 T 淋巴细胞增多,以 CD8⁺ 为主,间质中 T 淋巴细胞和单核/巨噬细胞浸润,以 CD4⁺ 为主,且处于激活状态,表达人类白细胞抗原(HLA)-II 类抗原及细胞间黏附分子-1(ICAM-1)。机体有赖于各 T 细胞亚群维持一定的比例来维持正常的免疫功能状态,淋巴细胞亚群 CD4⁺/CD8⁺ 比值是反映机体免疫紊乱的敏感指标^[19]。健脾清化方对 CD4⁺/CD8⁺ 比值的影响提示该方对细胞免疫有一定的调节作用。

本实验中我们将健脾清化方拆方后,组成清化方和健脾方,清化方以清热化湿为主,健脾方以健脾益气见长,而健脾清化方则兼顾两方之治法,研究中发现健脾清化方和清化方在抑制 T 淋巴细胞激活方面的效果好于健脾方,说明清热化湿法有调节细胞免疫的作用。健脾方只有健脾益气之功而无清化湿热之力,本课题组前期研究中也发现健脾方在抑制成纤维细胞激活、改善肾脏纤维化方面逊于具有清热化湿功效的健脾清化方和清化方,而具有清热

化湿、健脾益气功效的健脾清化方效果最好(待发表)。因此,在 FSGS 大鼠模型的治疗中,仅用健脾益气之法不能奏效,必须兼有清热化湿之力。

综上所述,当 FSGS 时,肾组织和肾间质中的 T 淋巴细胞和单核/巨噬细胞增多,CD4⁺、CD8⁺ 处在激活状态,健脾清化方对 CD4⁺/CD8⁺ 比值的抑制效果,说明其对 ADR 致 FSGS 模型大鼠 FSGS 的作用,可能是通过抑制 T 淋巴细胞的激活,抑制细胞免疫介导的炎症损伤的途径,并且通过清热化湿法调节细胞免疫,改善肾脏纤维化。

参 考 文 献

- Kriz W, Hahnel B, Rosener S, *et al.* Long-term treatment of rats with FGF-2 results in focal segmental glomerulosclerosis. *Kidney Int.* 1995;48(5):1435-1450.
- 孙琳,文传兵,冷冬梅等.神经病理性疼痛患者免疫功能状态改变的研究. *四川大学学报(医学版)*, 2009;40(5):937-940.
- 何立群,蔡 涂.健脾清化方治疗脾虚湿热型慢性肾衰的临床观察. *中西医结合学报*, 2005;3(4):270-273.
- 何立群,侯卫国,沈沛成等.健脾清化方治疗脾虚湿热型慢性肾衰的临床疗效及细胞分子机制研究. *上海中医药杂志*, 2006;40(4):6-8.
- 陈 刚,何立群.健脾清化方治疗慢性肾衰竭 53 例临床观察. *中国中西医结合肾杂志*, 2006;7(10):591-593.
- 吴 锋,孙 悦,张 彤等.健脾清化方对 CKD2~3 期患者慢性微炎症状态的随机对照多中心研究. *中国中西医结合肾病杂志*, 2012;13(6):504-506.
- 符 强,何立群,曹和欣.健脾清化方对慢性肾功能衰竭高脂血症大鼠肾组织氧自由基和转化生长因子 $\beta 1$ mRNA 表达的影响. *中西医结合学报*, 2006;4(4):408-412.
- 马晓红,王 东,何立群等.健脾清化方对慢性肾衰大鼠肾组织 TGF- $\beta 1$ mRNA 及 CTGF mRNA 表达的影响. *中国中医药科技*, 2013;20(2):122-123,128.
- 马晓红,邹 赞,何立群等.丝裂原活化的蛋白激酶 p38 在健脾清化方改善大鼠慢性肾衰竭中的意义. *浙江大学学报(医学版)*, 2013;42(5):567-572.
- 朱吉莉,贾汝汉,王学玉.局灶性节段性肾小球硬化发病机制的研究现状. *国外医学泌尿系统分册*, 2001;21(5):224-227.
- 冯 静,费 瑜,孟晓萍. CD4⁺ 和 CD8⁺ T 淋巴细胞与动脉粥样硬化相关性研究进展. *中国动脉硬化杂志*, 2011;19(8):707-710.
- 耿 丽,孟晓萍. CD8⁺ T 淋巴细胞与高血压心肌纤维化的研究进展. *现代生物医学进展*, 2010;10(6):1198-1200.
- Li YY, Feng YQ, Kadckami T, *et al.* Myocardial extracellular matrix remodeling in transgenic mic over expressing tumor necrosis factoralpha modulated by anti-tumor necrosis factoralpha therapy. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2000;97(23):12746-12753.
- Heymans S, Pauschinger M, De Palma A, *et al.* Inhibition of urokinase-type plasminogen activator or matrix metalloproteinases prevents cardiac injury and dysfunction during viral myocarditis. *Circulation*, 2006;114(6):565-573.
- 彭 毅,邵紫韞,丁世芳.动脉粥样硬化中的细胞因子及细胞因子相关信号通路. *中国动脉硬化杂志*, 2008;16(2):161-164.
- 李 东,张彩珍.病毒性心肌炎心肌纤维化机制的研究进展. *亚太传统医药*, 2009;5(1):137-139.
- Schiffrin EL. T lymphocytes: a role in hypertension. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 2010;19(2):181-186.
- 朱少铭,张庆红,刘久波等.慢性肾脏疾病肾纤维化早期临床观察指标的探讨. *临床内科杂志*, 2004;21(9):630-631.
- 丁涵露,王 莉,洪大情等. CD4⁺/CD8⁺ T 细胞在维持性血液透析患者血管钙化发生中的作用. *实用医院临床杂志*, 2011;8(4):52-55.

(2013-06-05 收稿, 2013-09-27 修回)

编辑 余 琳