

# 复肾功方对慢性肾功能衰竭大鼠肾脏 nephrin mRNA 表达的影响\*

王玲, 黄学宽<sup>△</sup>, 万磊, 杨玉

重庆医科大学中医药学院(重庆 401331)

**【摘要】** 目的 研究复肾功方对慢性肾功能衰竭(chronic renal failure, CRF)大鼠肾组织足细胞裂孔隔膜蛋白(nephrin) mRNA 表达的影响,探讨其降低尿蛋白、减轻肾损害的作用机制。方法 将 55 只雄性 SD 大鼠随机分为正常组,模型组,复肾功方低、中、高剂量组,每组 11 只。正常组常规饲养,其余 4 组大鼠食用含腺嘌呤饲料建立慢性肾功能衰竭模型,连续喂养 21 d。造模成功后,所有大鼠改用常规饲料。正常组和模型组按 20 mL/(kg·d)灌胃给予生理盐水;复肾功方低、中、高剂量组按大鼠体质量分别以生药 4、8、16 g/kg 灌胃复肾功方,1 次/d,连续灌胃 30 d。实验结束后,收集大鼠尿液测定 24 h 尿蛋白定量,检测各组大鼠血清血肌酐(SCr)和尿素氮(BUN)水平,HE 染色检测肾小球组织形态学改变,免疫荧光检测 nephrin 蛋白表达,Real-Time PCR 法观察肾脏 nephrin mRNA 表达情况。结果 与正常组比较,模型组 24 h 尿蛋白定量、SCr 和 BUN 水平升高( $P < 0.05$ ),nephrin 蛋白及 mRNA 表达下降( $P < 0.05$ );与模型组比较,经复肾功方治疗后,24 h 尿蛋白定量、SCr 和 BUN 水平降低( $P < 0.05$ ),肾组织 nephrin 蛋白及 mRNA 的表达升高( $P < 0.05$ )。结论 复肾功方降低 CRF 大鼠尿蛋白,减轻肾损害程度,其机制可能与升高肾组织 nephrin 蛋白及 mRNA 的表达、减轻足细胞损伤有关。

**【关键词】** 复肾功方 慢性肾功能衰竭 足细胞裂孔隔膜蛋白 大鼠

## Effect of Fushengong Decoction on the Expression of Nephrin mRNA in Kidney of Rats with Chronic Renal Failure

WANG Ling, HUANG Xue-kuan<sup>△</sup>, WAN Lei, YANG Yu. College of Traditional Chinese Medicine, Chongqing Medical University, Chongqing 401331, China

<sup>△</sup> Corresponding author, E-mail: xkhuang2002@163.com

**【Abstract】** **Objective** To investigate the effect of Fushengong Decoction on the expression of nephrin mRNA in renal tissue of rats with chronic renal failure (CRF). **Methods** Fifty five male SD rats were randomly divided into five groups: control group, CRF model group, and low, medium and high Fushengong Decoction dose groups. Rats in control group were fed with standard chow, while the other four groups were fed with adenine to make CRF. The rats in control group received intra-gastric normal saline (NS) of 20 mL/(kg·d) for 30 d, while those in low, medium and high Fushengong Decoction dose groups received Fushengong Decoction at the dose of 4 g/kg, 8 g/kg and 16 g/kg respectively, once a day for 30 d. After that, 24 h urinary protein in urine was measured, blood urea nitrogen (BUN) and serum creatinine (SCr) were detected. Histomorphology of glomerulus were studied by HE staining, and the expression of nephrin were detected by immunohistochemistry and RT-PCR. **Results** Compared to the control group, the levels of 24 h urinary protein, BUN and SCr increased significantly ( $P < 0.05$ ) and the expression of nephrin protein and mRNA decreased significantly ( $P < 0.05$ ) in CRF model group. The renal interstitium showed fibrotic lesions in model group. The levels of 24 h urinary protein, BUN and SCr decreased significantly after the treatment of Fushengong Decoction ( $P < 0.05$ ), while the expression of nephrin protein and mRNA increased significantly ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Fushengong Decoction could reduce urinary protein and relieve renal damage in rats with CRF by improving the expression of nephrin and reducing the injury of podocytes.

**【Key words】** Fushengong Decoction Chronic renal failure Nephrin Rat

慢性肾功能衰竭(chronic renal failure, CRF)是由慢性进行性肾实质损害而导致肾脏功能受损的

一种临床综合征,主要表现为氮质血症及水电解质紊乱、酸碱平衡失调、代谢产物潴留和全身各系统症状,为各种肾脏疾病持续发展的最终归宿<sup>[1]</sup>。肾间质纤维化是慢性肾脏疾病进行性发展的共同病理基础,是导致 CRF 的主要病理基础<sup>[2]</sup>。蛋白尿是 CRF 的主要临床表现之一,且蛋白尿是慢性肾脏疾

\* 重庆市自然科学基金(No. cstc2011jjA10058)和重庆市九龙坡区科技计划项目(九龙坡科委发[2011]62号、[2013]37号)资助

<sup>△</sup> 通信作者, E-mail: xkhuang2002@163.com

病进展的独立危险因素<sup>[3]</sup>,而肾小球足细胞裂孔隔膜蛋白 nephrin 表达异常与蛋白尿的发生密切相关<sup>[4]</sup>。复肾功方是首届国医大师、著名中医学家郭子光教授经过 60 余年临床验证总结出来的经验方,主要用于慢性肾功能不全一、二期(代偿期、失代偿期)的非替代疗法,许多病例表明,尽早治疗可逆转肾功能(尤以高血压肾损害和糖尿病肾病等为优),而免于替代疗法(透析、换肾)<sup>[5]</sup>。前期实验证明<sup>[6]</sup>,复肾功方确有改善 CRF 大鼠模型肾功能、减轻肾损伤、延缓病情的作用。本实验拟探讨复肾功方对 CRF 大鼠肾组织 nephrin mRNA 表达的影响,探讨其防治 CRF 蛋白尿的作用机制。

## 1 材料和方法

### 1.1 动物

清洁级雄性 SD 大鼠 55 只,体质量为(200±20)g,由重庆医科大学实验动物中心提供〔动物合格证号:SCXK(渝)2012-0001,环境合格证号 SYXK(渝)2012-0001〕。

### 1.2 药品与试剂

复肾功方由黄芪、水蛭、车前子、牛膝、丹皮、泽泻、茯苓、山茱萸、山药、生地、杜仲、黄柏、苍术等组成,原药购自重庆西部医药商城有限责任公司,由重庆医科大学中医药学院鉴定,自制煎剂,即冷水浸泡 30 min,煮沸后煎 30 min,共煎 3 次,合并药液,浓缩为含生药 1.0 g/mL 的煎剂。腺嘌呤(货号 A0205)由西安国安生物(Sigma-Aldrich 分装)提供,nephrin 一抗(批号 BA0474)由武汉博士德生物工程公司提供,Trizol(批号 15596-026)由 Life Technologies 提供,氯仿(批号 100068608)、异丙醇(批号 80109218)、乙醇(批号 10009218)由国药集团提供,PrimeScript RT reagent Kit(批号 DRR037A)由 TaKaRa 公司提供,二氨基联苯胺(DAB)显色试剂盒(批号 14164A01)由北京中杉金桥生物技术公司提供,荧光定量试剂盒(批号 AK5401-RR820A)由 TaKaRa 公司提供。

### 1.3 仪器

AU400 全自动生化分析仪、IX71 荧光倒置型显微镜,日本 OLYMPUS 公司;LDZ5-2 型离心机,北京离心机厂;Image-Pro Plus,美国 Media Cybernetics 公司;RM2015 型切片机,德国莱卡。

### 1.4 实验方法

**1.4.1 造模、分组及给药** 取雄性 SD 大鼠 55 只适应性饲养 1 周后,随机分为 5 组:正常组,模型组,

复肾功方低、中、高剂量组,每组 11 只。正常组常规饲养,其余大鼠食用含质量分数为 0.5%腺嘌呤的饲料,用代谢笼喂养大鼠,每笼 1 只,每只大鼠每天食入 20 g 料块,连续喂养 21 d。造模后,各组用随机数表法抽取出 1 只大鼠,眼球采血,分离血清,检测血肌酐(SCr)和尿素氮(BUN)水平以确定造模是否成功。造模成功后所有大鼠均停用含腺嘌呤的饲料,改用常规饲料饲养。从造模成功后第 1 天起,正常组和模型组给予生理盐水 20 mL/kg 进行灌胃,复肾功方低、中、高剂量组按大鼠体质量分别以生药 4、8、16 g/kg 灌胃复肾功方煎剂,每日 1 次,连续灌胃 30 d。

**1.4.2 24 h 尿蛋白定量检测** 实验结束前 1 d,用代谢笼收集各组大鼠 24 h 尿液,记录总尿量后留取 5 mL,液氮冷冻保存备用,待测 24 h 尿蛋白定量,采用磺柳酸-硫酸钠比浊法检测。

**1.4.3 血清 SCr、BUN 含量检测** 实验过程中大鼠处置符合中华人民共和国科技部 2006 年颁布的《关于善待实验动物的指导性意见》。灌药 30 d 后,末次给药后禁食不禁水 12 h,注射质量浓度为 0.2 g/mL 乌拉坦 5 mL/kg 进行麻醉,摘眼球采血 3~5 mL,静置 1~2 h,4 000 r/min 离心 10 min,分离血清,取上清液,4℃保存待测。根据试剂盒说明书检测血清 SCr、BUN 的含量。

**1.4.4 病理组织学观察** 颈椎脱臼处死大鼠,取出肾脏组织,体积分数为 4%多聚甲醛固定,石蜡包埋,切片,二甲苯脱蜡,梯度乙醇和 HE 染色,常规脱水、透明、中性树脂封片、镜检。

**1.4.5 免疫荧光法检测 nephrin 的表达** 取新鲜肾组织块,固定,包埋切片,脱蜡、入水,热修复后;滴加正常山羊血清封闭液,室温 20 min;滴加一抗(1:60),4℃过夜,次日 37℃,20 min,PBS 冲洗;滴加荧光标记的二抗(IgG),37℃避光 20 min,PBS 充分水洗后,晾干,中性树脂封片。荧光显微镜观察阳性染色发绿色荧光,应用 Image-Pro Plus 5.0 软件分析免疫荧光切片的荧光强度。以各组蛋白的荧光强度与内参蛋白荧光强度的比值为该组蛋白的相对表达量。

**1.4.6 Real-Time PCR 观察大鼠肾脏 nephrin mRNA 的表达**

采用 Trizol 提取肾组织总 RNA。引物设计由上海生工公司完成。Nephrin 上游及下游引物:5'-GCCTGTGCTGTTTCGCTCTTG-3',5'-CGTTCCTGACTCGGTCCTCTT-3';GAPDH(内参)上游及

下游引物: 5'-CCATCTTCCAGGAGCGAGAT-3', 5'-AAACATGGGGGCATCAGC-3'。PCR 反应体系 20  $\mu\text{L}$ : SYBR Premix Ex Taq 10  $\mu\text{L}$ , PCR Forward Primer (10  $\mu\text{mol/L}$ ) 1  $\mu\text{L}$ , PCR Reverse Primer (10  $\mu\text{mol/L}$ ) 1  $\mu\text{L}$ , cDNA 模板 1  $\mu\text{L}$ , ddH<sub>2</sub>O 7  $\mu\text{L}$ 。95  $^{\circ}\text{C}/30\text{ s}$  预变性; 40 cycles, 95  $^{\circ}\text{C}/5\text{ s}$ , 60  $^{\circ}\text{C}/34\text{ s}$  (收集荧光) 扩增; 95  $^{\circ}\text{C}/15\text{ s}$ , 60  $^{\circ}\text{C}/1\text{ min}$ , 95  $^{\circ}\text{C}/15\text{ s}$  熔解。采用  $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$  法计算目的基因的相对表达量。

### 1.5 统计学方法

数据采用  $\bar{x} \pm s$  表示, 组间比较采用单因素方差

分析,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 各组大鼠 24 h 尿蛋白定量和血清 SCr 和 BUN 含量比较

与正常组比较, 模型组大鼠 24 h 尿蛋白定量、SCr 和 BUN 水平均升高 ( $P < 0.05$ ); 与模型组比较, 经复肾功方治疗后, 各剂量组 24 h 尿蛋白定量、SCr 和 BUN 水平均降低 ( $P < 0.05$ ), 且以高剂量组水平最低。见表 1。

### 2.2 各组大鼠肾脏形态学变化

表 1 各组 24 h 尿蛋白定量和血清 SCr 和 BUN 含量变化比较 ( $n=10$ ,  $\bar{x} \pm s$ )

Table 1 Comparison of SCr and BUN and 24 h urine protein in rats ( $n=10$ ,  $\bar{x} \pm s$ )

Group	24 h urine protein/mg	SCr/ $(\mu\text{mol/L})$	BUN/(mmol/L)
Normal	4.43 $\pm$ 0.37	33.79 $\pm$ 2.45	5.92 $\pm$ 3.12
CRF model	26.23 $\pm$ 4.06 $\Delta$	238.77 $\pm$ 4.72 $\Delta$	29.27 $\pm$ 8.30 $\Delta$
Fushengong Decoction			
Low dose	18.95 $\pm$ 2.36 $\Delta\blacktriangle$	131.95 $\pm$ 6.09 $\Delta\blacktriangle$	12.65 $\pm$ 1.73 $\Delta\blacktriangle$
Medium dose	17.57 $\pm$ 2.18 $\Delta\blacktriangle\star$	127.05 $\pm$ 7.90 $\Delta\blacktriangle\star$	10.24 $\pm$ 1.45 $\Delta\blacktriangle\star$
High dose	17.41 $\pm$ 1.61 $\Delta\blacktriangle\star\star$	119.36 $\pm$ 5.24 $\Delta\blacktriangle\star\star$	9.55 $\pm$ 1.03 $\Delta\blacktriangle\star\star$

$\Delta P < 0.05$ , vs. normol group;  $\blacktriangle P < 0.05$ , vs. CRF model group;  $\star P < 0.05$ , vs. Fushengong Decoction Low dose group;  $\star\star P < 0.05$ , vs. Fushengong Decoction medium dose group

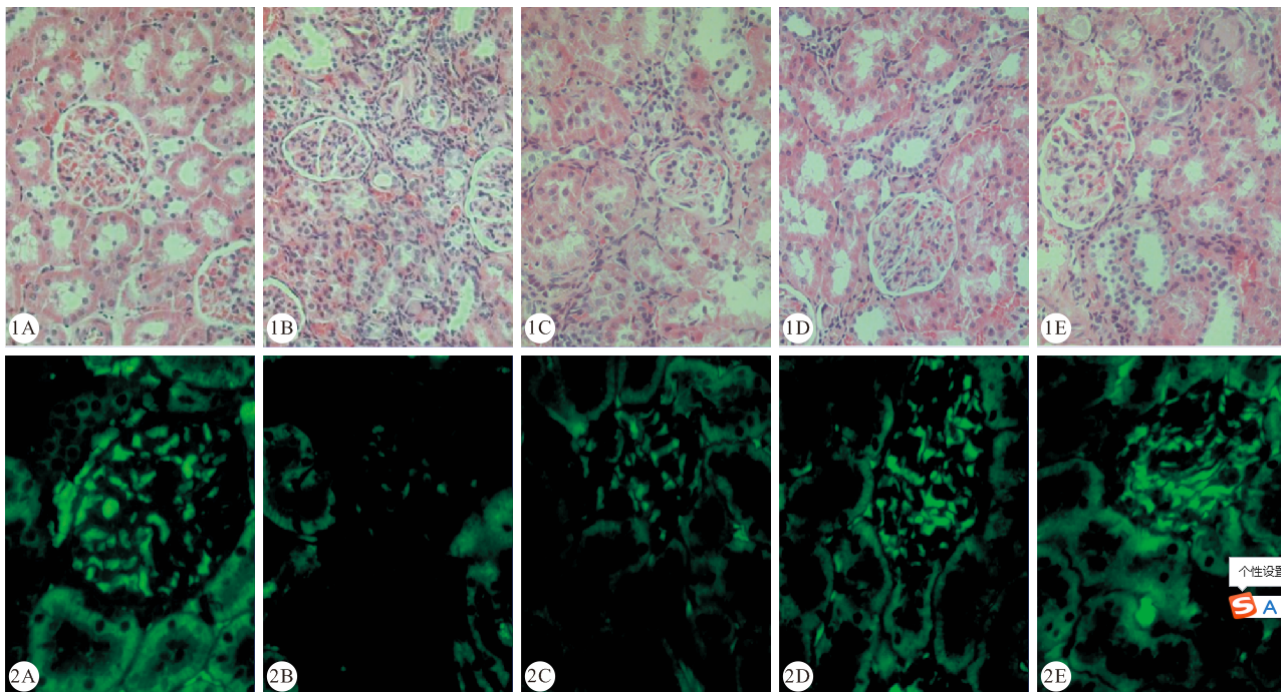


图 1 各组大鼠肾组织形态学变化。HE  $\times 400$

图 2 各组大鼠肾组织 nephrin 的免疫荧光。 $\times 400$

Fig 1 The changes of renal tissues in rats. HE  $\times 400$

Fig 2 Immunofluorescence of nephrin in renal tissues of rats.  $\times 400$

A: Normal group; B: CRF model group; C: Fushengong Decoction low dose group; D: Fushengong Decoction medium dose group; E: Fushengong Decoction high dose group

正常组大鼠肾脏呈红褐色、质软、无肿胀, 而模型组大鼠肾脏外观苍白、肿胀, 经复肾功方治疗后,

低、中、高剂量组大鼠肾脏外观苍白、肿胀明显减轻, 以高剂量组肾脏外观的改善最为明显。HE 染色

(图1)显示,正常组大鼠肾小管和肾小球结构正常,未见明显组织学改变;模型组可见肾小球变形萎缩,毛细血管充血明显,肾小管上皮细胞变性、脱落,肾小管上皮不完整,可见蛋白管型和红细胞,间质炎性细胞弥漫浸润,间质纤维化。经复肾功方治疗后,肾脏病理改变显著减轻,肾小球灌注改善,肾小管萎缩明显减轻,蛋白管型和红细胞明显减少,间质细胞增生明显减轻。

### 2.3 各组肾组织 nephrin 蛋白的表达

由图2、表2可见,正常组大鼠肾组织有大量 nephrin 表达;与正常组比较,模型组大鼠肾组织 nephrin 表达减少( $P < 0.01$ );与模型组比较,经复肾功方治疗后,各剂量组大鼠肾组织 nephrin 表达均上调( $P < 0.05$ ),且剂量越高上调越明显。

表2 各组大鼠肾组织 nephrin 蛋白的表达

Table 2 Expression of nephrin protein in renal tissues of rats

Group	n	Nephrin protein
Normal	10	539.38 ± 25.52
CRF model	10	190.82 ± 27.12 $\Delta$
Fushengong Decoction		
Low dose	10	299.09 ± 24.05 $\Delta$ · $\blacktriangle$
Medium dose	10	389.67 ± 25.60 $\Delta$ · $\blacktriangle$ · $\star$
High dose	10	487.64 ± 23.13 $\Delta$ · $\blacktriangle$ · $\star$ · $\blackstar$

$\Delta$   $P < 0.05$ , vs. normol group;  $\blacktriangle$   $P < 0.05$ , vs. CRF model group;  $\star$   $P < 0.05$ , vs. Fushengong Decoction low dose group;  $\blackstar$   $P < 0.05$ , vs. Fushengong Decoction medium dose group

### 2.4 各组大鼠肾脏 nephrin mRNA 的表达

表3结果表明:与正常组比较,模型组大鼠肾组织 nephrin 表达降低( $P < 0.01$ );与模型组比较,经复肾功方治疗后,各剂量组大鼠肾组织 nephrin 表达上调( $P < 0.05$ ),且剂量越高上调越明显。

表3 各组大鼠肾组织 nephrin 表达比较( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 10$ )

Table 3 Expression of nephrin mRNA in renal tissues of rats ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 10$ )

Group	Nephrin mRNA ( $2^{-\Delta\Delta Ct}$ )
Normal	1.00 ± 0.00
CRF model	0.14 ± 0.01 $\Delta$
Fushengong Decoction	
Low dose	0.19 ± 0.02 $\Delta$ · $\blacktriangle$
Medium dose	0.32 ± 0.05 $\Delta$ · $\blacktriangle$ · $\star$
High dose	0.67 ± 0.11 $\Delta$ · $\blacktriangle$ · $\star$ · $\blackstar$

$\Delta$   $P < 0.05$ , vs. normol group;  $\blacktriangle$   $P < 0.05$ , vs. CRF model group;  $\star$   $P < 0.05$ , vs. Fushengong Decoction low dose group;  $\blackstar$   $P < 0.05$ , vs. Fushengong Decoction medium dose group

## 3 讨论

肾小球高滤过率是 CRF 的主要病理机制之一,

肾小球毛细血管基底膜增厚、系膜细胞增殖,使细胞外基质(ECM)积聚,进而加速肾小球硬化。而肾小球硬化是慢性肾脏病终末期病理基础。本实验采用腺嘌呤复制 CRF 模型(Yokozawa 法),此造模法操作简单,死亡率低。腺嘌呤是一种含氮杂环的嘌呤类化合物,体内高浓度的腺嘌呤在黄嘌呤氧化酶的作用形成极难溶于水的 2,8-二羟基腺嘌呤并经肾小球滤过,沉积在肾小管并堵塞肾小管管腔而引起管腔囊状扩张,由于肾小管的堵塞,导致毒素蓄积及水电解质代谢的紊乱,使肾功能进行性的损害,最终导致 CRF<sup>[7-8]</sup>。

肾小球滤过屏障包括足细胞、肾小球基膜、内皮细胞表面蛋白多糖、有窗孔的肾小球内皮细胞<sup>[9]</sup>,这些组件形成一个电荷选择性滤过屏障,允许小分子废物通过尿液排出,防止大分子渗漏到尿液<sup>[10]</sup>。当慢性肾功能衰竭时,肾小球滤过屏障遭到破坏,从而产生蛋白尿。而 nephrin 与磷脂酰肌醇 3 激酶(PI3K)相互作用的改变可能是导致足细胞结构功能异常以及蛋白尿产生的原因之一<sup>[11]</sup>。Nephrin 属于细胞黏附分子中免疫球蛋白超家族成员,是一种信号受体分子<sup>[12]</sup>,含有 1 241 个氨基酸残基,其基因定位于 19q13.1,长 26 kb,含 29 个外显子,由胞外区、跨膜区和一个含羧基末端的胞内区组成,是特异性表达于足细胞裂孔隔膜上的一种跨膜蛋白<sup>[13]</sup>,又是肾小球滤过屏障中的重要蛋白成分,而裂孔隔膜是足细胞的足突相互交叉形成的一个专门的细胞间连接,主要是裂孔隔膜蛋白与足细胞骨架蛋白相的连接,它是阻止蛋白渗漏进入尿液、防止出现蛋白尿的最后一道屏障。当裂孔隔膜蛋白中的 nephrin 损伤,则可导致足细胞骨架蛋白结构遭到破坏<sup>[14]</sup>,进而使肾小球滤过屏障遭到破坏,从而产生大量蛋白尿。而 nephrin 蛋白又在足细胞足突间形成和维护裂孔隔膜中发挥着重要作用<sup>[15]</sup>,其表达改变也是足细胞损伤的重要标志,nephrin 表达减少导致足细胞凋亡、脱落和融合<sup>[16-17]</sup>。当然,磷酸化对足细胞的生存状态是很重要的<sup>[18]</sup>,nephrin 表达异常可激活 PI3K-Akt 信号通路中相关上下游分子 p-Tyr,使其在足细胞内异常沉积<sup>[19]</sup>,且通过 PI3K 磷酸化来介导足细胞肌动蛋白骨架的重构,还与许多其他足细胞蛋白一起参与重要的细胞信号转导<sup>[20]</sup>,从而改变足细胞的形态与功能。可见,蛋白尿的产生与足细胞的形态功能和 nephrin 的异常表达密切相关。

CRF 属中医“关格”“肾劳”“癃闭”“水肿”“溺毒”等范畴。郭老认为,CRF 基本病机为气血失调、痰瘀阻络,其中 CRF 早中期以肺肾虚损(兼湿浊瘀阻)为主要病机,晚期则以肺脾肾虚极,兼湿浊困阻、

心肝火旺为主要病机,而病至终末期,五脏交亏,出入废,升降息。所以慢性肾衰早中期治疗非常重要,若糖尿病、高血压患者早期发现尿蛋白,及时采用中医药治疗可防止其发展为肾衰竭<sup>[21]</sup>。复肾功方针对气血失调、痰瘀阻络、脏腑虚衰病机创立,主要用于 CRF 早中期的治疗。复肾功方是由黄芪、茯苓、山茱萸、车前子、水蛭、牛膝、丹皮、杜仲、苍术等药组成。黄芪、茯苓、泽泻、杜仲,利尿、降低尿蛋白、提高免疫力、调节血压;山茱萸、山药、牛膝,健脾益气、抗氧化增强肾脏蛋白质的合成;丹皮、水蛭,活血化瘀,能改善血液流变性;黄柏、苍术,清热、燥湿,抗炎、降压、降低血尿酸<sup>[22]</sup>。全方合用,有抗炎、改善肾血流量、保护肾功能等作用。

本实验采用 HE 染色、免疫荧光及 Real-Time PCR 检测方法,结果显示,经复肾功方治疗后,CRF 大鼠 24 h 尿蛋白定量、SCr 和 BUN 水平明显下降,肾组织 nephrin 蛋白及 mRNA 表达上调,不同剂量组均有不同程度的好转,且以高剂量组效果更好。由此可知, nephrin 蛋白在 CRF 的病情进展中发挥着重要作用,这可作为今后临床治疗 CRF 的新靶点。可见,复肾功方降低 CRF 大鼠尿蛋白、修复肾小球系膜及上皮细胞,减轻足细胞损伤,从而减轻肾脏损伤,可能与上调 nephrin 蛋白有关,但其机制有待进一步阐明。

### 参 考 文 献

[1] 王宝安, 吴金玉, 龙 韵, 等. 慢性肾衰竭的中医药治疗进展. 中医学报, 2011, 26(7): 854-855.

[2] 周宝尚, 张 璟. Wnt 信号通路与肾脏纤维化. 重庆医学, 2011, 40(28): 2894-2896.

[3] SHEN W, CHEN H, CHEN H, *et al.* Obesity-related glomerulopathy; body mass index and proteinuria. Clin J Am Soc Nephrol, 2010, 5(8): 1401-1409.

[4] ADVANI A, WIGGINS KJ, COX AJ, *et al.* Inhibition of the epidermal growth factor receptor preserves podocytes and attenuates albuminuria in experimental diabetic nephropathy. Nephrology, 2011, 16(6): 573-581.

[5] 黄学宽. 郭子光临床经验集. 北京: 人民卫生出版社, 2009: 275.

[6] 骆 言, 黄学宽, 熊维建, 等. 复肾功方对慢性肾功能衰竭大鼠肾功能的影响. 中成药, 2015, 4(37): 870-873.

[7] 陈俊蓉, 陈利国, 谢林林. 关于腺嘌呤慢性肾衰实验模型的思考. 实验动物科学, 2013, 2(30): 65-67.

[8] ALI BH, AL-SALAM S, AL HUSSENI I, *et al.* Effects of

Gum Arabic in rats with adenine-induced chronic renal failure. Exp Biol Med (Maywood), 2010, 235(3): 373-382.

- [9] LI LS, LIU ZH. Epidemiologic data of renal diseases from a single unit in China: analysis based on 13,519 renal biopsies. Kidney Int, 2004, 66(3): 920-923.
- [10] SATOH D, HIROSE T, HARITA Y, *et al.* aPKC $\lambda$  maintains the integrity of the glomerular slit diaphragm through trafficking of nephrin to the cell surface. J Biochem, 2014, 156(2): 115-128.
- [11] ZHU J, SUN N, AOUJIT I, *et al.* Nephrin mediates actin reorganization via phosphoinositide 3-kinase in podocytes. Kidney Int, 2008, 73(5): 556-566.
- [12] TOSSIDOU I, TENG B, DROBOT L, *et al.* CIN85/RukL is a novel binding partner of nephrin and podocin and mediates slit diaphragm turnover in podocytes. J Biol Chem, 2010, 285(33): 25285-25295.
- [13] WARTIOVAARA J, OFVERSTEDT LG, KHOSHNOODI J, *et al.* Nephrin strands contribute to a porous slit diaphragm scaffold as revealed by electron tomography. J Clin Invest, 2004, 114(10): 1475-1483.
- [14] 邹大威, 高彦彬, 李骄阳, 等. 糖肾宁对糖尿病肾病大鼠肾组织 nephrin, desmin 表达的影响. 环球中医药, 2015, 8(3): 307-312.
- [15] FUKUYO Y, NAKAMURA T, BUBENSHCHIKOVA E, *et al.* Nephrin and Podocin functions are highly conserved between the zebrafish pronephros and mammalian metanephros. Mol Med Rep, 2014, 9(2): 457-465.
- [16] 匡 蕾. Nephrin 与糖尿病肾病的关系. 国际病理科学与临床杂志, 2011, 31(2): 140-144.
- [17] 袁博寒, 朱晓玲, 王永钧. 足细胞裂孔膜蛋白与局灶节段性肾小球硬化的研究进展. 中国中西医结合肾病杂志, 2009, 10(3): 255-257.
- [18] YU M, REN Q, YU SY. Role of nephrin phosphorylation induced by dexamethasone and angiotensin II in podocytes. Mol Biol Rep, 2014, 41(6): 3591-3595.
- [19] DENHEZ B, LIZOTTE F, GUIMOND MO, *et al.* Increased SHP-1 Protein Expression by High Glucose Levels Reduces Nephrin Phosphorylation in Podocytes. J Biol Chem, 2015, 290(1): 350-358.
- [20] LI X, HE JC. An update: the role of Nephrin inside and outside the kidney. Sci China Life Sci, 2015, 58(7): 649-657. doi: 10.1007/s11427-015-4844-1.
- [21] 刘 渊, 郭子光. 郭子光从肺肾虚损辨治早中期慢性肾衰竭经验. 上海中医药杂志, 2011, 45(90): 4-5.
- [22] 梅全喜. 简明实用中药药理学手册. 北京: 人民卫生出版社, 2010.

(2015-10-21 收稿, 2016-02-27 修回)

编辑 汤 洁