

◆方药研究◆

真武汤及其拆方对肾小管上皮细胞氧化损伤的干预作用研究

孙静, 危建安, 余万霖, 卢月, 黄海定, 韩凌

广东省中医院, 广东 广州 510006

[摘要] 目的: 研究真武汤及温阳组、利水组对肾小管上皮细胞氧化损伤的干预作用, 为中医治则治法的科学性提供实验依据。**方法:** 不同浓度 H_2O_2 作用于肾小管上皮细胞 HK-2, 诱导 HK-2 细胞氧化损伤模型, 采用真武汤组含药血清、温阳组含药血清、以及利水组含药血清进行干预, 分别检测各中药组对损伤细胞的增殖作用, 对缺氧损伤相关基因 HO-1、HIF-1 α 、生存素 (survivin) 表达的影响, 以及对肾纤维化和肾小管上皮转分化相关基因转化生长因子 $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$)、 α -平滑肌肌动蛋白 (SMA)、钙黏蛋白 (E-cadherin) 基因表达的影响。**结果:** H_2O_2 作用不同时间可造成 HK-2 细胞损伤明显。与模型组比较, 真武汤组和利水组具有明显修复 HK-2 细胞生长的作用 ($P < 0.05$), 温阳组作用不显著; 真武汤组、温阳组及利水组均可上调 HO-1、HIF-1 α 的表达, 抑制 survivin 的表达 ($P < 0.05$), 但三者之间差异不明显。真武汤组、温阳组及利水组可降低 SMA 及 E-cadherin 的表达, 温阳组可下调 TGF- $\beta 1$ 的表达, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。**结论:** 真武汤对体外 HK-2 细胞氧化损伤模型具有明显的保护作用, 利水组对损伤模型的修复作用比较明显, 温阳组抗肾纤维化及肾小管上皮转分化作用比较明显。本研究为中医治则治法的科学性提供了实验依据。

[关键词] 真武汤; 温阳利水; 肾小管上皮细胞; 细胞实验

[中图分类号] R285.5 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0256-7415 (2018) 09-0001-05

DOI: 10.13457/j.cnki.jncm.2018.09.001

A Study of Intervention Effect of Zhenwu Tang and Its Decomposed Recipes on Oxidative Damage of Renal Tubular Epithelial Cells

SUN Jing, WEI Jian'an, YU Wanlin, LU Yue, HUANG Haiding, HAN Ling

Abstract: **Objective:** To study the intervention effects of Zhenwu tang and its decomposed recipes on the oxidative damage of renal tubular epithelial cells and to provide experimental evidence for the scientific character of principles of the Chinese medicine treatment. **Methods:** Used different concentrations of H_2O_2 to act on renal tubular epithelial cells HK-2 to form a model of the oxidative damage in renal tubular epithelial cells. Intervened by the group of Zhenwu tang in serum containing drug, the group for warming yang in serum containing drug and the group for promoting diuresis in serum containing drug, and detected the proliferation effect in injured cells in each Chinese medicine group as well as the effects on the expressions of hypoxia-injured genes (HO-1, HIF-1 α and survivin) respectively. Detected the effects on renal fibrosis and the expressions of relative genes of renal tubular epithelial transdifferentiation, such as TGF- $\beta 1$, SMA and E-cadherin. **Results:** H_2O_2 can cause significant damages to HK-2 cells at different times. Compared with the model group, the group of Zhenwu tang and the group for promoting diuresis had a significant effect in repairing HK-2 cells ($P < 0.05$), while the group for warming yang had no obvious effect. The group of Zhenwu tang, the group for warming yang and the group for promoting diuresis can elevated the expressions of HO-1, HIF-1 α genes and had a significant effect in inhibiting survivin genes. when compared with the model group ($P < 0.05$), but the differences among the three groups were not evident. The group of Zhenwu tang, the group of warming yang and the group for promoting diuresis can reduce the expressions of SMA and E-cadherin genes; and the group of warming yang can reduce the expressions of TGF- $\beta 1$, differences being significant ($P <$

[收稿日期] 2018-02-26

[基金项目] 广东省中医药局项目 (20151220); 广东省普通高校重点实验室课题资助项目 (AAF111111A07)

[作者简介] 孙静 (1973-), 女, 主管技师, 研究方向: 中医药分子生物学实验技术。

[通信作者] 韩凌, E-mail: asi33@163.com。

0.05). **Conclusion:** Zhenwu tang has an obvious effect in protecting the model of oxidative damage renal tubular epithelial cells in vitro. the group for promoting diuresis has a more significant effect in repairing the injured model and the group for warming yang has an evident effect in ameliorating renal fibrosis and renal tubular epithelial transdifferentiation. This study provides an experimental basis for the scientific character of principles of Chinese medicine treatment.

Keywords: Zhenwu tang; Warming yang and promoting diuresis; Injury of tubular epithelial cells; Cell experiment

温阳利水名方真武汤已被证明对多种慢性肾脏疾病有效。本课题组前期研究表明,真武汤可明显增加阿霉素肾病模型大鼠 24 h 尿量,缓解低蛋白血症,使肾小球萎缩硬化及充血现象缓解,蛋白管型减少。用单侧输尿管梗阻(UUO)模型研究表明,真武汤可减少 UUO 大鼠的 24 h 尿量,降低血肌酐水平及尿素氮水平^[1-3]。真武汤按照功能主治可以分为温阳功能与利水功能,并且每一部分都有相应组成的药物。但温阳功效与利水功效的相互关系如何,单独应用温阳药物,或者单独应用利水药物是否均具有治疗慢性肾脏病的作用,尚不得而知。本研究将真武汤按照其药物组成,拆方成温阳组(由附子、干姜组成),以及利水组(由白术、茯苓、芍药组成),分别制备真武汤组、温阳组、利水组含药血清,采用体外肾小管上皮细胞氧化损伤模型,研究真武汤、温阳组、利水组对肾小管上皮细胞氧化损伤的干预作用,为中医治则与治法的科学性提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 细胞 人肾小管上皮细胞(以下简称 HK-2 细胞)购自中国典型培养物保藏中心。

1.2 实验药物及试剂 炮附子、茯苓、白术、芍药、生姜购自康美药业有限公司。1640 培养基、胎牛血清(Gibco 公司)。过氧化氢(H₂O₂), MTT, SYBR[®] Premix Ex Taq[™] II (Perfect Real Time) PrimeScript[™] RT Master Mix(TaKaRa 公司)。Trizol(英津创津公司)。

1.3 实验设备 普通 PCR 仪 9700、荧光定量 PCR 仪 vii7(ABI 公司); 高速冷冻离心机(BECKMAN 公司, S-22R); 紫外可见分光光度计(岛津公司, UV2450)。

1.4 药物含药血清的制备 真武汤组方药由炮附子、茯苓、芍药、生姜各 90 g、白术 60 g, 5 剂药水煎剂浓缩至含生药量 1.8 g/mL。温阳组方药由炮附子、生姜各 90 g 按 3:3 比重水煎至含生药量 0.75 g/mL。利水组方药茯苓、芍药各 90 g、白术 60 g, 水煎至含生药量 1.0 g/mL。实验动物: SPF 级 SD 大鼠, 体质量(250±25) g, 购自广东省医学实验动物中心, 许可证号为: SYXK(粤)2008-0094。大鼠分为正常组、真武汤组、温阳组、利水组, 每组 10 只, 按大鼠体质量, 1 mL/100 g 剂量灌服给药。每天 2 次, 连续给药 6 天, 第 6 天早上空腹, 给药 1 h 后用 10%水合氯醛麻醉, 腹主动脉采血, 离心后吸出血清备用。

1.5 细胞培养 HK-2 细胞用含 10%胎牛血清的 RPMI 1 640 培养基, 于 37℃、饱和湿度、5%CO₂ 培养箱中培养, 2~3 天换液 1 次, 细胞消化时采用 0.25%含 EDTA 胰酶, 传代比例为 1:4。

1.6 MTT 法检测不同浓度 H₂O₂ 对 HK-2 细胞增殖率的影响 HK-2 细胞以每孔 10³~10⁴ 个细胞接种于 2 块 96 孔板中, 每孔体积约 200 μL。种板 24 h 更换培养基。分别加入 50、75、100、125 μM 的 H₂O₂, 分别孵育 24 h、48 h, 于培养结束前 4 h, 每孔加入 MTT 溶液(5 mg/mL)20 μL, 37℃继续孵育 4 h。小心吸弃孔内培养上清液, 每孔加入二甲基亚砷溶液, 室温振荡 10 min, 多功能酶联免疫分析仪于 570 nm 处检测 OD 值, 观察细胞增殖情况。

1.7 各组合药血清对 H₂O₂ 诱导 HK-2 细胞氧化损伤模型增殖率的影响 HK-2 细胞以每孔 10³~10⁴ 个细胞接种于 96 孔板中, 每孔体积约 200 μL。种板 24 h 更换培养基, 以 75 μm、100 μm 的 H₂O₂ 刺激细胞, 6%浓度的温阳利水组血清、温阳组血清、利水组血清以及正常组血清分别加入培养体系, 共同孵育 48 h。于培养结束前 4 h, 每孔加入 MTT 溶液(5 mg/mL) 20 μL, 37℃继续孵育 4 h。小心吸弃孔内培养上清液, 每孔加入二甲基亚砷溶液, 室温振荡 10 min, 多功能酶联免疫分析仪于 570 nm 处检测 OD 值, 观察细胞增殖情况。

1.8 RT-PCR 方法检测各药物组对 HK-2 细胞相关基因表达的影响

1.8.1 分组 HK-2 细胞培养方法同前, 将 HK-2 细胞种入 6 孔板中, 培养 24 h 后, 分为空白组、模型组、真武汤组、温阳组、利水组 5 组, 空白组加入 6%空白大鼠血清, 模型组加入 100 μM 的 H₂O₂, 真武汤组、温阳组、利水组分别加入含 6%真武汤、温阳、利水组大鼠含药血清, 同时加入 100 μM 的 H₂O₂。药物作用 48 h 后, 各组细胞分别加入 1 mL Trizol, 反复吹打混匀, 收集至 1.5 mL 离心管中, -80℃冰箱保存。

1.8.2 总 RNA 提取及 cDNA 合成 (1)总 RNA 提取: 采用 Trizol、氯仿提取法: 在 -80℃冰箱内取出用 Trizol 收集的细胞, 解冻后加入 200 μL 氯仿, 振荡混匀, 静置 10 min, 置低温高速离心机 13 000 r/min, 4℃离心 15 min, 吸出上清至一新的离心管中, 重复上述步骤 1 次, 吸出上清加入等体积异丙醇, 轻轻混匀, 13 000 r/min, 4℃离心 10 min, 轻轻弃去上清, 沉淀用 75%乙醇洗 2 次, 挥干, 加入 30 μL RNase-free H₂O, 收集 RNA 溶液。取 10 μL 稀释至 1 mL, 用 A260/A280 检测总 RNA 浓度和纯度。(2)cDNA 合成: 在冰浴条件下进行, 总 RNA 取样 1 μL, PrimeScript[™] RT Master Mix 4 μL, 补充水至 20 μL, 轻柔混匀后进行反转录反应, 反应温度 37℃, 15 min(反转录反应), 85℃, 5 s(终止反应)。

1.8.3 引物设计 应用 Invitrogen 公司在线引物设计软件

OligoPerfect™ Designer 设计, 采用 BLAST 进行比对, 由 Invitrogen 公司合成。合成 α-SMA、E-cadherin、生药囊 (survivin)、TGF-β₁、HO-1、HIF-1α 等 6 对引物。

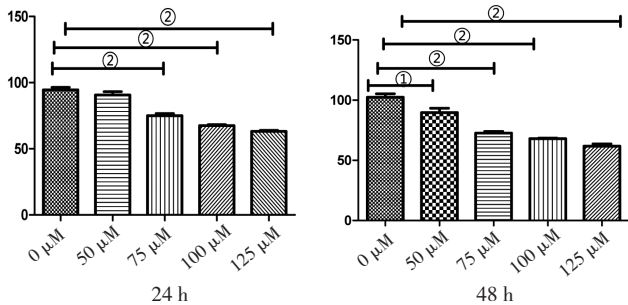
表 1 引物信息表

| 引物名称 | 引物序列 | 长度(bp) |
|----------------------------|---------------------------|--------|
| homo-a-SMA-F | CAGCGACCCTAAAGCTTCCC | 202 |
| homo-a-SMA-R | GGCTGTTAGGACCTCCCTC | |
| homo-E-cadherin-F | TTACTGCCCCAGAGGATGA | 144 |
| homo-E-cadherin-R | TGCAACGTCGTTACGAGTCA | |
| homo-survivin-F | AGATGACGACCCCATGCAAA | 71 |
| homo-survivin-R | CGCACTTTCTCCGAGTTTC | |
| homo-TGF-β ₁ -F | TGGTGAAACCCACAACGAA | 113 |
| homo-TGF-β ₁ -R | GAGCAACACGGTTCAGGTA | |
| homo-HO-1-F | AAACTTCAGAGGGGCGAAG | 93 |
| homo-HO-1-R | GACAGCTGCCACATTAGGGT | |
| homo-HIF-1α-F | GGACAGCCTCACCAACAGA | 227 |
| homo-HIF-1α-R | GCAGTCTACATGCTAAATAATTCCT | |

1.9 统计学方法 数据采用 graphpad prism 5 软件进行统计。细胞增殖抑制率和 mRNA 表达结果组间比较采用 t 检验; P < 0.05 为有统计学意义。

2 结果

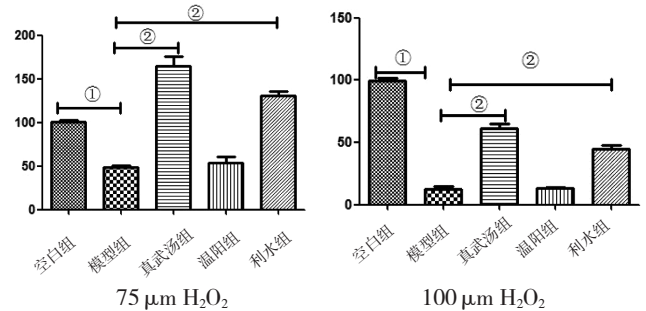
2.1 不同浓度 H₂O₂ 对 HK-2 细胞的损伤结果比较 见图 1。与空白组比较, H₂O₂ 可造成 HK-2 细胞增殖受损, 75 μM ~ 125 μM 的 H₂O₂ 作用 24 h, 即可导致 HK-2 细胞增殖明显受损, 增殖抑制率分别减少约 25%、30%、40%, 差异均有统计学意义(P < 0.05), 且呈一定剂量相关性。当 H₂O₂ 作用时间延长至 48 h 时, 对 HK-2 增殖的抑制作用更为明显, 75 μM ~ 125 μM 的 H₂O₂ 对 HK-2 细胞的抑制作用仍然存在, 另外终浓度为 50 μM 的 H₂O₂ 作用 48 h 后, 也表现出一定的抑制 HK-2 细胞增殖的作用, 增殖抑制率约为 85%, 差异有统计学意义(P < 0.05)。因此将采用 75 μM 以及 100 μM 的 H₂O₂ 作用 48 h 制备肾小管上皮细胞 HK-2 氧化损伤模型用于真武汤拆方的研究。



与 0 μM 比较, ①P < 0.05; 与模型组比较, ②P < 0.05

图 1 不同浓度 H₂O₂ 对 HK-2 细胞氧化损伤的影响

2.2 各组合药血清对 H₂O₂ 诱导 HK-2 细胞氧化损伤模型影响结果比较 见图 2。与空白组比较, 模型组细胞增殖受到明显抑制, 差异均有统计学意义(P < 0.05); 与模型组比较, 真武汤组有明显的恢复受损细胞增殖的作用, 差异均有统计学意义(P < 0.05); 但温阳组对受损的 HK-2 细胞增殖没有明显的恢复作用; 利水组也可明显恢复受损 HK-2 细胞增殖的作用, 差异均有统计学意义(P < 0.05)。100 μM 浓度的 H₂O₂ 造模条件下, 各含药血清组对受损细胞的恢复作用趋势与 75 μM 的 H₂O₂ 造模相类似。



与空白组比较, ①P < 0.05; 与模型组比较, ②P < 0.05

图 2 6%含药血清对不同浓度 H₂O₂ 损伤的 HK-2 细胞生长的影响

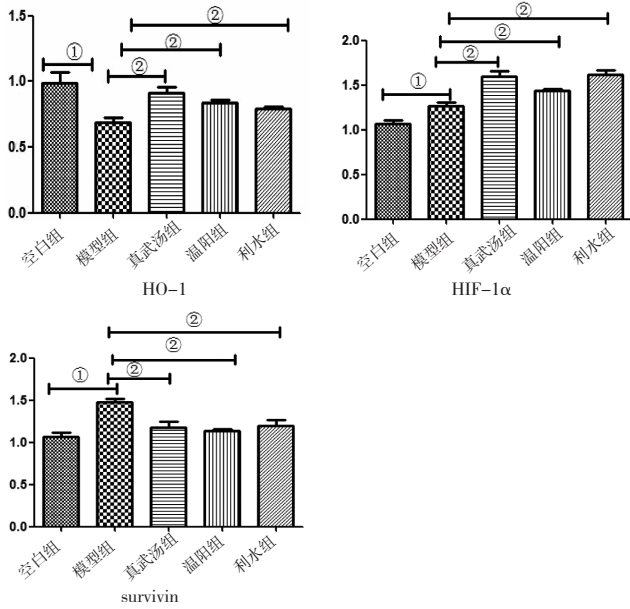
2.3 各组合药血清对 H₂O₂ 诱导 HK-2 细胞损伤模型缺氧基因表达的影响结果比较 见图 3。与空白组比较, 100 μM 的 H₂O₂ 作用 48 h 造模, 可明显使肾小管细胞 HK-2 缺氧相关基因 HO-1 基因表达下调、HIF-1α 以及 survivin 基因表达上调, 差异均有统计学意义(P < 0.05)。与模型组比较, 真武汤组、温阳组、利水组均可明显促进 HO-1 表达的恢复, 进一步上调 HIF-1α 表达, 抑制 survivin 表达, 差异均有统计学意义(P < 0.05)。同时真武汤组、温阳组、利水组之间, 在对异常的缺氧相关基因表达的恢复方面未见明显差异。

2.4 各组合药血清对 H₂O₂ 诱导 HK-2 细胞损伤模型纤维化相关基因表达的影响结果比较 见图 4。与空白组比较, 100 μM 的 H₂O₂ 作用 48 h 造模, 可明显使肾小管细胞 HK-2 纤维化相关基因 SMA、TGF-β₁ 基因表达上调以及 E-cadherin 的基因表达下调, 差异均有统计学意义(P < 0.05)。与模型组比较, 3 个含药血清均可明显降低 SMA 的表达, 上调 E-cadherin 的表达, 差异均有统计学意义(P < 0.05), 温阳组可下调 TGF-β₁ 基因表达, 差异有统计学意义(P < 0.05)。

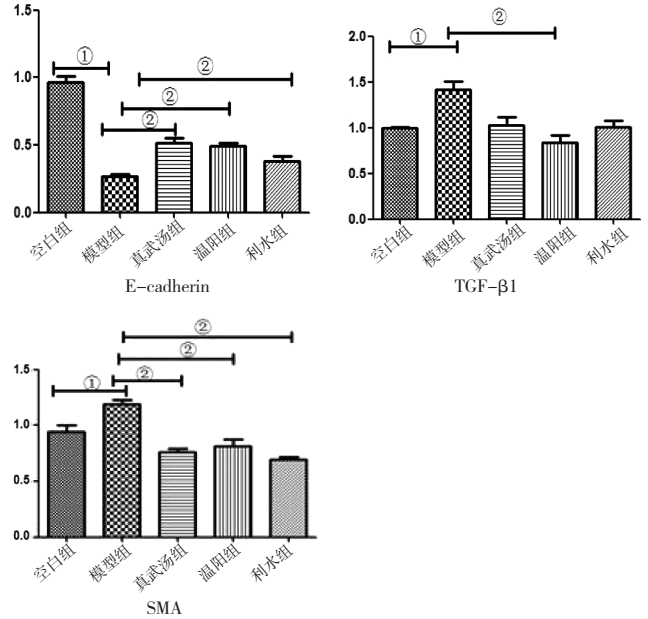
3 讨论

温阳利水名方真武汤源自张仲景《伤寒论》, 主治脾肾虚、水湿内停。真武汤全方由 5 味药组成, 方中附子回阳救逆, 温肾助阳, 为君药; 茯苓健脾渗湿、甘淡利水, 生姜宣肺温阳, 散寒利水, 两药共为臣药; 白术补气健脾, 燥湿利水, 与芍药酸甘敛阴共为佐药^[4]。

多项研究证明真武汤治疗慢性肾脏疾病有效。研究表明,



与空白组比较, ① $P < 0.05$; 与模型组比较, ② $P < 0.05$
图3 6%含药血清对 H_2O_2 诱导HK-2细胞损伤模型
缺氧基因表达的影响



与空白组比较, ① $P < 0.05$; 与模型组比较, ② $P < 0.05$
图4 6%含药血清对 H_2O_2 诱导HK-2细胞损伤
模型纤维化相关基因表达的影响

真武汤低、高剂量组可明显降低UO大鼠升高的尿KIM-1、E-cadherin、OPN含量,及UO大鼠升高的外周血PAI-1、IL-6、MCP-1含量,提示真武汤可能是通过降低上述指标含量而达到缓解肾间质纤维化作用的^[3-5]。

“湿胜则阳微”是清代著名温热派医家叶天士所提出,明确指出湿邪阻滞阳气运化或阳气素虚,虚寒内滞,而出现湿胜阳微。这一论点对现代肾脏病的诊疗影响颇深。中医药在延缓慢性肾脏病的进展、改善患者症状方面积累了丰富的经验。尽管中医药在控制血压、血糖、贫血等方面处于劣势,但在减轻患者症状、改善营养状态、延缓进展、预防感染、提高患者生活质量等方面有独特的优势^[6]。中晚期肾脏病患者常常出现顽固性水肿,并可有少尿、心悸、气急等凶险变证出现,温阳利水的方法在中晚期慢性肾脏病患者中应用甚广。但目前对这一治法治疗肾脏疾病的科学研究仍开展较少。鞠静等^[7]提出真武汤温阳机制包括兴奋下丘脑-垂体-肾上腺、下丘脑-垂体-甲状腺以温肾阳,降低一氧化氮及内皮素,抑制心肌细胞凋亡。温心阳,通过调节渗透压、调节水通道蛋白增加尿量以达到利尿功效,但总体来说其作用机制仍未阐明。

真武汤中附子为君药,研究发现附子主要成分是乌头类生物碱、多糖、皂苷等,具有强心、保护心肌细胞、抗心律失常、抗炎镇痛、抗肿瘤等作用^[8]。臣药茯苓的化学成分主要为多糖、三萜、脂肪酸、甾醇等,其中多糖类化合物和三萜类化合物是茯苓发挥药理作用的主要活性物质。茯苓多糖具有抗肿瘤、保肝、利尿、抗衰老、抗炎、降血脂、增强免疫等作用,茯苓三萜具有抗肿瘤、保肝、抗衰老、抗炎等作用^[9]。臣药生

姜的化学成分主要包括挥发油、姜辣素、二苯基庚烷、黄酮类等。其药理作用主要有促进消化功能、改善血液循环功能、止呕、抗炎抑菌、抗肿瘤及抗氧化等^[10]。苍术酮是真武汤中佐药白术挥发油的主要活性成分,此外,多糖以及白术内酯等均是白术发挥药理作用的主要物质基础。白术的药理作用主要包括增强脾胃功能、调节胃肠运动、利尿、调节心血管系统、调节免疫系统以及神经系统、抗肿瘤、抗菌、抗炎等^[11]。芍药的主要活性成分包括单萜及其苷类、三萜及甾体类、黄酮类、鞣质类等,其药理作用的研究主要集中在白芍总苷及酚类化合物上,具有抗炎、镇痛、保肝、抑制自身免疫反应的作用^[12]。可以看出真武汤中具有利尿以及治疗肾脏系统疾病的药物主要集中在茯苓与白术这两味药中,因此真武汤中通过茯苓与白术组成的“利水组”,配伍其他三味药组成的“温阳组”,实现可以治疗多种慢性肾脏疾病的作用。但对于“温阳”与“利水”的相互关系,单独应用“温阳”或“利水”是否对肾脏疾病也可以起到治疗作用,以及单用与合用的疗效对比等仍有待进一步研究。

H_2O_2 作用于肾小管上皮细胞诱导的氧化应激模型,会产生大量自由基,造成细胞氧化损伤,是目前常用的肾脏损伤的造模剂之一。本研究采用 H_2O_2 体外刺激肾小管上皮HK-2细胞制备氧化损伤模型,分别观察温阳组、利水组以及真武汤组含药血清的保护作用差异。结果显示对细胞损伤的修复以真武汤及利水组作用明显。

HO-1又称热休克蛋白,参与多种急性肾损伤^[13-14]。低氧诱导因子HIF-1 α 的激活对组织适应缺血缺氧起关键作用。

长时间缺氧的条件下对 HIF-1 α 调节线粒体呼吸进行干预会导致活性氧簇(ROS)水平和细胞凋亡的增加,缺氧适应性的产生,能够使缺氧细胞增殖、血管生长、细胞能量代谢等顺利进行。因此 HIF-1 α 被认为具有细胞保护作用^[15-16]。survivin 能够调节细胞的有丝分裂,促进细胞增殖、抑制细胞凋亡^[17]。在乏氧或常氧条件下, HIF-1 α 蛋白可通过结合 survivin 核心启动子片段中的潜在位点,上调 survivin 的表达^[18]。本研究结果表明,真武汤及温阳、利水组有明显保护肾小管上皮细胞缺氧损伤的作用,三者差异不明显。

慢性缺氧会导致肾脏纤维化。肾小管上皮细胞间充质转分化(Epithelial to mesenchymal transition, EMT)是慢性肾脏病患者形成肾间质纤维化(Renal interstitial fibrosis, RIF)的主要病变途径。E-cadherin、SMA 是代表 EMT 发生的标志物^[19-21], TGF- β 1 是目前公认的最主要致纤维化细胞因子,是诱导 EMT 过程的关键因素^[22-23]。本研究结果表明, H₂O₂ 作用可使肾小管 HK-2 细胞间充质转分化明显增加,真武汤组、温阳组及利水组均表现出一定的抑制病理性纤维化基因表达上调的作用,但真武汤及温阳组效果略优。

总体而言,本研究结果证实真武汤具有明显的保护受损的肾小管上皮氧化损伤,抑制肾小管上皮转分化的作用。利水组对损伤模型的修复作用比较明显,温阳组抗肾纤维化及肾小管上皮转分化作用比较明显。本研究为中医治则治法的科学性提供了实验依据。

[参考文献]

- [1] 李莎莎, 韩凌, 黎莉, 等. 真武汤对肾纤维化大鼠尿蛋白含量及生化指标的影响[J]. 江西中医药大学学报, 2011, 23(2): 64-67.
- [2] 李莎莎, 肖雪, 韩凌, 等. 真武汤对肾纤维化大鼠血清和肾脏组织中 SOD 活力、MDA 含量的影响[J]. 中药药理与临床, 2012, 28(2): 18-20.
- [3] 韩凌, 李莎莎, 冯森玲, 等. 真武汤对大鼠单侧输尿管梗阻模型细胞因子的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(3): 164-168.
- [4] 侯兆辉, 侯志敏. 《伤寒论》真武汤方证浅析[J]. 中国中医急症, 2010, 19(3): 487.
- [5] 韩凌, 冯森玲, 李莎莎, 等. 真武汤对单侧输尿管梗阻模型大鼠尿 KIM-1、clusterin、OPN 含量的影响[J]. 中药药理与临床, 2012, 28(1): 13-17.
- [6] 毕礼明, 陈英兰, 马济佩. 中西医结合治疗慢性肾脏病的切入点探讨[J]. 中华中医药学刊, 2009, 28(8): 1759-1760.
- [7] 鞠静, 杜武勋. 真武汤药效物质基础及温阳利水机制研究[J]. 吉林中医药, 2016, 36(7): 719-723.
- [8] 邓晓红, 黄建华, 董竟成. 附子药理作用的分子机制研究进展[J]. 江西中医药大学学报, 2018, 30(1): 121-124.
- [9] 游昕, 熊大国, 郭志斌, 等. 茯苓多种化学成分及药理作用的研究进展[J]. 安徽农业科学, 2015, 43(2): 106-109.
- [10] 王小飞, 吴国泰, 牛亭惠, 等. 生姜的化学、药理及应用[J]. 中国果菜, 2016, 36(6): 23-26.
- [11] 王涵, 杨娜, 谭静, 等. 白术化学成分、药理作用及临床应用的研究进展[J]. 甘肃医药, 2018, 37(1): 23-26.
- [12] 金英善, 陈曼丽, 陶俊. 芍药化学成分和药理作用研究进展[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2013, 27(4): 745-750.
- [13] 陈海燕. 急性肾损伤的生物标志物—血红素加氧酶[J]. 天津医科大学学报, 2017, 23(5): 483-484.
- [14] Zager RA, Johnson AC, Becker K. Plasma and urinary heme oxygenase-1 in AKI[J]. Journal of the American Society of Nephrology Jasn, 2012, 23(6): 1048-1057.
- [15] 唐群, 吴华, 张熙, 等. 六味地黄汤对慢性肾衰模型大鼠 PHD2 和 HIF-1 α 表达的影响[J]. 北京中医药大学学报, 2017, 40(4): 290-296.
- [16] 苗龙, 刘洋, 刘林, 等. 肾细胞癌组织中 PTEN 和 HIF-1 α 的表达及临床意义[J]. 现代生物医学进展, 2017, 17(6): 1127-1130.
- [17] 汪峰, 张斌斌, 郭巍, 等. 舒尼替尼对转移性肾细胞癌患者临床疗效及生存素、端粒酶表达的影响[J]. 现代医学, 2017, 45(4): 552-558.
- [18] 周颖, 赵敏, 张辉, 等. 缺氧诱导因子-1 α 和 Survivin 蛋白在非小细胞肺癌中的表达及其与人乳头状瘤病毒感染的相关性[J]. 中国老年学, 2017, 37(6): 1406-1408.
- [19] 孙伟, 尹雪皎, 涂玥, 等. 芪附汤调节 ERK1/2 信号通路改善 UUO 阳虚证模型肾间质纤维化的作用和机制[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(21): 4082-4089.
- [20] 汪洋, 牟建军, 刘富强, 等. 高盐喂食对 Dahl 盐敏感大鼠肾小管上皮向间质转化和肾脏纤维化的影响[J]. 中华高血压杂志, 2015, 32(3): 1524-1525.
- [21] 潘祉谕, 达静静, 董蓉, 等. Snail1/IGF-1 信号通路介导高糖诱导的肾小管上皮细胞 EMT[J]. 中国病理生理杂志, 2017, 33(9): 1662-1668.
- [22] Yang J, Liu Y. Dissection of key events in tubular epithelial to myofibroblast transition and its implications in renal interstitial fibrosis[J]. American Journal of Pathology, 2001, 159(4): 1465-1475.
- [23] 蔡月琴, 褚燕青, 朱科燕, 等. miR-21 对 TGF- β 1 诱导的肾小管上皮细胞间质转分化的影响[J]. 中国应用生理学杂志, 2017, 33(4): 346-350.

(责任编辑:冯天保,钟志敏)