

[药 理]

丹参注射液对糖尿病大鼠肾小管 TLR4 蛋白表达的影响

徐仲儒¹, 阮旭¹, 杨晔^{1,2}, 尹登科^{1,2,3*}
(1. 安徽中医药大学药学院, 安徽 合肥 230012; 2. 安徽省中医药科学院药物制剂研究所, 安徽 合肥 230012; 3. 中药复方安徽省重点实验室, 安徽 合肥 230012)

摘要: **目的** 研究丹参注射液对糖尿病大鼠肾小管 Toll 样受体 4 (TLR4) 蛋白表达的影响。**方法** 高糖高脂饲料联合腹腔注射链脲佐菌素建立大鼠糖尿病模型, 40 只大鼠随机分为正常组、模型组、二甲双胍组、丹参注射液组, 每组 10 只。给药 6 周后, HE 染色观察大鼠肾组织病理变化, 免疫组化染色观察 TLR4 蛋白表达, Western blot 检测高糖环境下大鼠肾小管上皮细胞 (NRK-52E) 增殖及 TLR4 蛋白表达。**结果** 丹参注射液缓解了大鼠肾小管病变。与模型组比较, 丹参注射液组 TLR4 蛋白表达显著降低 ($P<0.01$); 高糖环境下其质量浓度为 30 mg/mL 时可显著促进 NRK-52E 细胞增殖 ($P<0.05$), 并呈剂量依赖性地显著降低 TLR4 蛋白表达 ($P<0.05$, $P<0.01$)。**结论** 丹参注射液可保护糖尿病大鼠肾小管, 降低高糖环境下 NRK-52E 细胞 TLR4 蛋白表达, 从而改善糖尿病肾病。

关键词: 丹参注射液; 糖尿病; 肾小管; Toll 样受体 4 (TLR4)
中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2019)02-0279-06
doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2019.02.008

Effects of Danshen Injection on TLR4 protein expression in the renal tubular of diabetic rats

XU Zhong-ru¹, RUAN Xu¹, YANG Ye^{1,2}, YIN Deng-ke^{1,2,3*}
(1. School of Pharmacy, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230012, China; 2. Institute for Pharmaceutical Sciences, Anhui Provincial Academy of Chinese Medicine, Hefei 230012, China; 3. Anhui Provincial Key Laboratory for Chinese Herbal Compound, Hefei 230012, China)

ABSTRACT: **AIM** To study the effects of Danshen Injection on Toll-like receptor 4 (TLR4) protein expression in the renal tubular of diabetic rats. **METHODS** Forty rats were randomly divided into normal group, model group, metformin group and Danshen Injection group, 10 rats in each group, after which diabetic rat models were established by high-glucose and high-fat diet combined with intraperitoneal injection of streptozotocin. HE staining and immunohistochemistry staining succeeded by 6-week corresponding administration were applied to observing pathological changes and TLR4 protein expression of rat renal tissue, Western blot was used to detect the proliferation and TLR4 protein expression of rat renal tubular epithelial cells (NRK-52E) under high-glucose environment. **RESULTS** Danshen Injection alleviated rat renal tubular lesions. Compared with the model group, the Danshen Injection group demonstrated markedly decreased TLR4 protein expression ($P<0.01$), at whose concentration of 30 mg/mL, significant promotion of NRK-52E cell proliferation under high-glucose environment was achieved, as well as the obvious dose-dependent TLR4 protein expression decrease ($P<0.05$, $P<0.01$). **CONCLUSION** Danshen Injection improves diabetic nephropathy due to its protection for the renal tubular of diabetic rats and its power in decreasing the TLR4 protein expression of NRK-52E cells under high-glucose environment. **KEY WORDS:** Danshen Injection; diabetes; renal tubular; Toll-like receptor 4 (TLR4)

收稿日期: 2018-09-04
基金项目: 国家自然科学基金 (81102682); 安徽省自然科学基金 (1708085MH216); 安徽省高校自然科学基金 (KJ2017A290)
作者简介: 徐仲儒 (1994—), 男, 硕士生, 从事中药抗糖尿病研究。E-mail: 849899872@qq.com
* 通信作者: 尹登科 (1977—), 男, 教授, 从事生物体活性成分及作用机制研究。Tel: 15156890963, E-mail: yindengke@sina.com

随着生活水平不断提升，糖尿病作为代谢紊乱性疾病逐渐成为人类健康的严重威胁，它是一种多因素、多靶点的顽疾，发病率随年龄增长而迅速升高。在临床治疗过程中通常只能采用保守疗法对病情加以缓解，针对诊断出的临床病症进行全面治疗是首要方案。糖尿病肾病是糖尿病主要并发症，也是造成终末期肾衰竭的罪魁祸首之一，如不及时治疗则会逐步恶化，并危及患者生命。

Toll 样受体 4 (TLR4) 信号通路是机体固有免疫的主要构成之一，可通过激活 NF- κ B 信号通路导致下游炎症因子释放、炎症细胞浸润，以及相关炎症因子再释放导致信号放大等^[1]，其中 TLR4/NF- κ B 信号通路是以脂多糖等为配体的固有免疫信号传导途径。研究表明糖尿病状态下胰岛素抵抗与该信号通路存在相关性^[2]，同时肾小球滤过功能下降、肾小管重吸收能力不足可能也是由于炎症反应所致^[3]，故对糖尿病状态下固有免疫异常状态的调节与稳定是糖尿病整体治疗的一个重要思路^[4-5]。

丹参作为传统活血化瘀中药，在临床上广泛用于治疗糖尿病肾病，并取得了较好的效果^[6]。近期研究表明，丹参中的脂溶性成分丹参酮可下调单核巨噬细胞 TLR4/NF- κ B 信号通路，从而起到降低炎症反应的作用^[7]；水溶性成分丹酚酸 B 也可减轻缺血性中风模型的炎症反应^[8]。课题组前期发现，丹参注射液可改善糖尿病大鼠肾小管结构变化，恢复肾小管功能^[9]，对 Ang II 诱导的大鼠肾小管上皮细胞 (NRK-52E) 有显著保护作用，推测可能是通过调节 PI3K/Akt 信号通路所致^[10]。本实验考察丹参注射液对糖尿病状态下肾小管 TLR4 表达的影响，从固有免疫与炎症角度阐述该制剂对糖尿病肾病的改善作用。

1 材料

大鼠肾小管上皮细胞 (NRK-52E，中国科学院生物化学与细胞生物学研究所)。SD 大鼠 (体质量 180~220 g) 购自安徽中医药大学实验动物中心，动物合格证号 SCXK (皖) 2017-001。丹参注射液 (生药量 1.5 g/mL，批号 1705083，正大青春宝药业有限公司)；盐酸二甲双胍片 (批号 48180104，上海上药信谊药厂有限公司)。高糖高脂饲料 (安徽中医药大学动物中心)；链脲佐菌素 (美国 Sigma 公司，产品编号 LS0130)；四甲基偶氮唑盐 (北京索莱宝科技有限公司，批号 1212U054)；TLR4 兔抗鼠多克隆抗体 (批号

8730k26)、HRP 山羊抗兔抗体 (批号 2847b43) (美国 Affinity 公司)； β -actin 鼠源单克隆抗体 (批号 ATQAP1801)、HRP 山羊抗鼠抗体 (批号 ATQ-MA2701，美国 Abbkine 公司)；SDS-PAGE 凝胶试剂盒 (上海碧云天生物技术有限公司，产品编号 P0012 A)；ECL 超敏试剂盒 (美国 Thermo Scientific 公司，批号 RF232184 A)；苏木素 (广州市欣源贸易有限公司，批号 20180224)；伊红 (北京索莱宝科技有限公司，批号 20171123)；PV6000 (北京中杉金桥生物技术有限公司，批号 17G87D11)。SCW-CJ-2FD 型洁净工作台 (苏州宏瑞净化科技有限公司)；SPECTRA MAX-190 型酶标仪 (美国 MDC 公司)；倒置生物显微镜 (德国 Leica 公司)；DYCZ-24DN 型垂直电泳仪 (北京六一仪器厂)；Amersham Imager 600 型成像仪 (美国 GE 公司)。

2 方法

2.1 建模、分组与给药 40 只大鼠随机分成 4 组，每组 10 只，普通饲料适应性喂养 1 周后，取其中 30 只每天喂养高糖高脂饲料，持续 2 周，再腹腔注射链脲佐菌素 (50 mg/kg)，而普通饲料喂养的大鼠腹腔注射等剂量生理盐水，然后继续用相应饲料喂养，1 周后，每天测定大鼠血糖，大于 16.7 mol/L 时视为造模成功。对造模成功的大鼠重新随机分为正常组、模型组、二甲双胍组、丹参注射液组，其中后 3 组继续用高糖高脂饲料喂养，而正常组用普通饲料喂养，每天按时对丹参注射液组大鼠腹腔注射丹参注射液 (2 mL/kg)，二甲双胍组大鼠灌胃二甲双胍溶液 (150 mg/kg)，模型组、正常组大鼠腹腔注射等剂量生理盐水 (2 mL/kg)。给药 6 周后处死大鼠，取肾脏置于中性福尔马林溶液中固定，对组织进行石蜡包埋、切片。

2.2 HE 染色 将大鼠肾组织石蜡切片放入二甲苯中脱蜡后在梯度乙醇中水化，先用苏木素对细胞核染色 5 min，1% 盐酸乙醇分化 30 s 后温水返蓝，再用伊红复染 30 s，梯度乙醇脱水，二甲苯透明后中性树脂胶封片。

2.3 免疫组化染色 将大鼠肾组织石蜡切片置于二甲苯中脱蜡，梯度乙醇水化，PBS 漂洗 3 次，121 ℃ 下柠檬酸钠缓冲液中浸泡 2 min 以修复表面抗原，室温下自然冷却后清洗 3 次，过氧化物酶阻断剂室温下孵育 10 min，漂洗 3 遍，37 ℃ 下山羊血清孵育 20 min，倾去血清后滴加 PV6000 一抗，4 ℃ 下孵育过夜，TBST 漂洗 3 次，滴加 HRP 二

抗, 37℃下孵育20 min, 漂洗3次后滴加DAB显色液显色5 min, 洗去DAB显色液, 苏木素复染, 盐酸乙醇分化, 冲洗返蓝。脱水透化后, 中性树胶封片, 显微镜下观察。

2.4 高糖环境下NRK-52E细胞增殖检测 将对数生长期的细胞用胰酶消化, 细胞计数板计数, 按照 $5\times 10^4/\text{mL}$ 细胞密度接种于96孔板中, 37℃培养箱中培养至85%面积, 更换无血清培养基同步化24 h, 再更换含葡萄糖5.5、10、20、30、40、50、60、70、80 mmol/L的无血清培养基。干预24 h后, 加入20 μL MTT溶液(5 mg/mL)孵育4 h, 吸去上清液, 加入150 μL 二甲基亚砜后振摇10 min, 在490 nm波长处检测吸光度。

2.5 高糖环境下NRK-52E细胞TLR4蛋白表达检测 将对数生长期的细胞用胰酶消化, 按照 $5\times 10^5/\text{mL}$ 细胞密度配制细胞悬液, 加到6孔板中, 待细胞长至单层85%面积后, 更换无血清培养基同步化24 h, 再分别更换含葡萄糖5.5、25、80 mmol/L的DMEM培养基, 干预24 h后清洗细胞表面, 每孔加50 μL 裂解液, 冰上裂解30 min, 刮下细胞, 4℃、12 000 r/min离心10 min, 蛋白样品以4:1体积加入上样缓冲液, 煮沸5 min后在-20℃下长期保存。SDS-PAGE电泳采用5%浓缩胶和12%分离胶, 按每孔30 μg 蛋白量上样, 浓缩胶电压70 V, 分离胶电压更换为110 V, 凝胶以200 mA电流转膜2 h, 转膜结束后5%脱脂奶粉在37℃下封闭1 h, TBST漂洗3次, TLR4多克隆抗体(兔源)(1:800)、 β -actin单克隆抗体(鼠源)(1:1 000)在4℃下孵育过夜, TBST漂洗3次, HRP标记的二抗在37℃下孵育1 h, 漂洗3次后ECL显色液曝光, 结果用Image J软件解析, 得到灰度值。

2.6 丹参注射液对NRK-52E细胞的影响考察 将对数生长期的细胞用胰酶消化, 按照 $1\times 10^4/\text{孔}$ 细胞密度铺入96孔板, 放入培养箱中培养至单层细胞85%面积, 更换无血清培养基同步化24 h, 随后正常组更换正常无血清培养基, 模型组更换高糖无血清培养基, 丹参注射液组更换丹参高糖无血清培养基(相当于30、3、0.3、0.03 mg/mL原药材), 培养24 h后加入MTT溶液孵育4 h, 然后吸去上清, 加入150 μL 二甲基亚砜振摇均匀, 在490 nm波长处检测吸光度。

2.7 丹参注射液对高糖环境下NRK-52E细胞TLR4蛋白表达的影响考察 将对数生长期的细胞

用胰酶消化, 均匀铺于6孔板中, 待长至单层85%面积后更换无血清低糖培养基同步化24 h, 同步化结束后正常组更换正常无血清培养基, 模型组更换高糖无血清培养基, 丹参注射液组分别更换30、3、0.3、0.03 mg/mL丹参高糖无血清培养基, 干预24 h后提取蛋白质进行检测, 方法同“2.5”项。

2.8 统计学分析 通过SPSS 23.0软件进行处理, 组间比较采用单因素方差分析。以 $P<0.05$ 表示存在显著差异。

3 结果

3.1 丹参注射液对大鼠肾小管的保护作用 图1显示, 正常组大鼠肾小管和肾小球形态清晰; 模型组大鼠肾脏出现一定程度的肾小管胞外基质堆积和炎症细胞浸润; 二甲双胍组、丹参注射液组上述症状较轻。

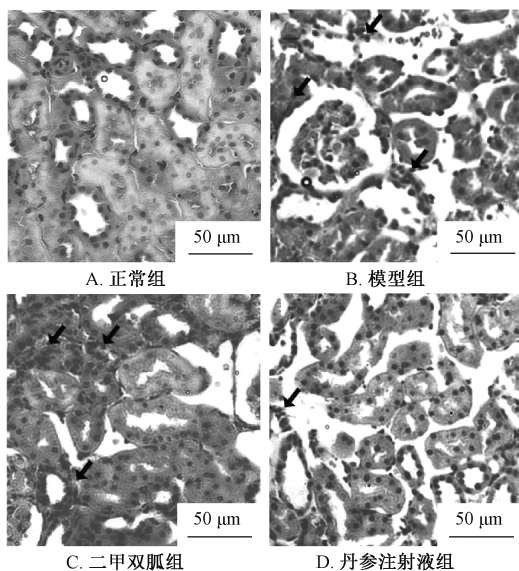


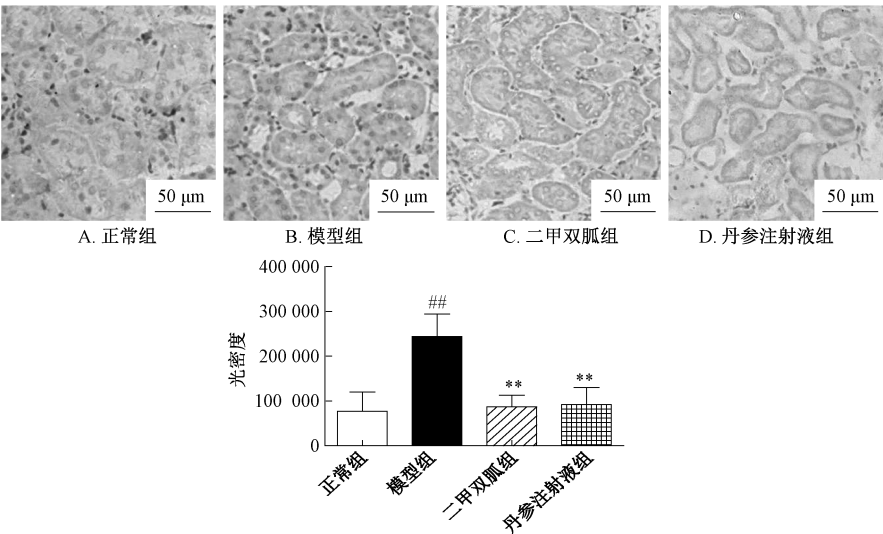
图1 大鼠肾组织HE染色(×200)

Fig.1 HE staining of rat renal tissue (×200)

3.2 丹参注射液对大鼠肾小管TLR4蛋白表达的影响 图2显示, 与正常组比较, 模型组TLR4蛋白表达显著升高($P<0.01$); 与模型组比较, 丹参注射液组其蛋白表达显著下降($P<0.01$), 并与正常组比较无显著差异($P>0.05$)。

3.3 葡萄糖对NRK-52E细胞增殖和TLR4蛋白表达的影响 图3显示, 作用24 h后随着葡萄糖浓度逐渐升高, 细胞增殖率先升后降, 并在其浓度超过50 mmol/L时更显著($P<0.05$)。

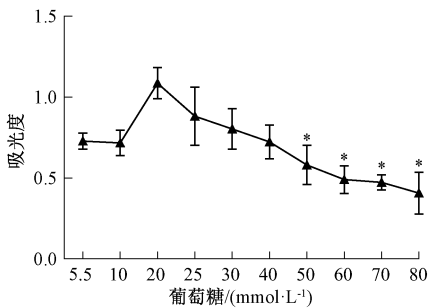
图4显示, 葡萄糖浓度为25、80 mmol/L时, TLR4蛋白表达显著升高($P<0.05$, $P<0.01$)。



注：与正常组比较，##*P*<0.01；与模型组比较，***P*<0.01

图2 丹参注射液对TLR4蛋白表达的影响(×200)

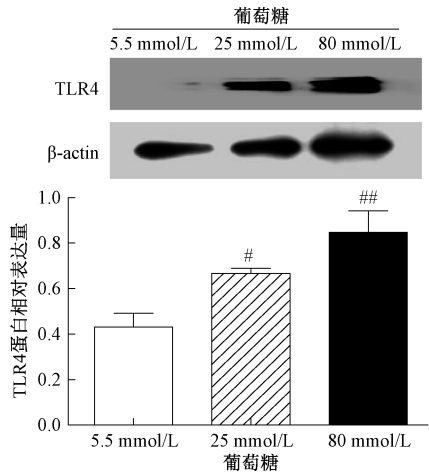
Fig. 2 Effect of Danshen Injection on TLR4 protein expression (×200)



注：与5.5 mmol/L组比较，**P*<0.05

图3 葡萄糖对NRK-52E细胞增殖的影响

Fig. 3 Effect of glucose on NRK-52E cell proliferation



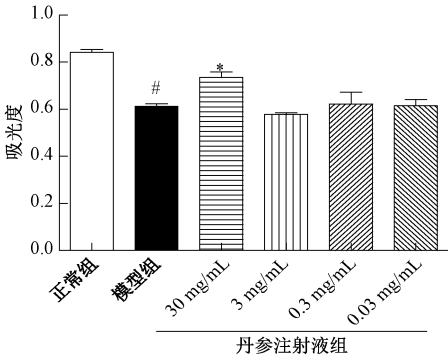
注：与5.5 mmol/L组比较，#*P*<0.05，##*P*<0.01

图4 葡萄糖对TLR4蛋白表达的影响

Fig. 4 Effect of glucose on TLR4 protein expression

3.4 丹参注射液对高糖环境下NRK-52E细胞增殖

的影响 图5显示，与正常组比较，模型组细胞增殖被显著抑制 (*P*<0.05)；与模型组比较，丹参注射液组 (30 mg/mL) 可显著减弱这种抑制作用 (*P*<0.05)。



注：与正常组比较，#*P*<0.05；与模型组比较，**P*<0.05

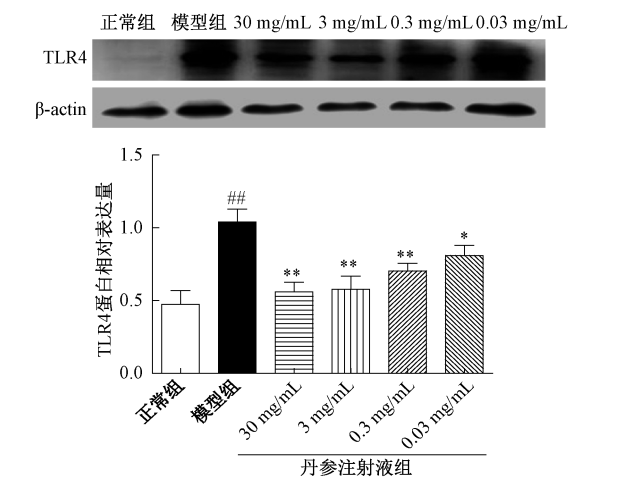
图5 丹参注射液对高糖环境下NRK-52E细胞增殖的影响

Fig. 5 Effect of Danshen Injection on NRK-52E cell proliferation under high-glucose environment

3.5 丹参注射液对高糖环境下TLR4蛋白表达的影响 图6显示，与正常组比较，模型组TLR4蛋白显著上调 (*P*<0.01)；与模型组比较，丹参注射液组其表达显著降低 (*P*<0.05, *P*<0.01)，并呈剂量依赖性。

4 讨论

Toll样受体作为激活固有免疫的重要信号通路，在受到配体刺激的情况下可传递炎症信号，并导致炎症细胞浸润及炎症因子释放^[11]。本实验探讨丹参注射液对糖尿病大鼠肾脏的保护作用及对肾



注：与正常组比较，##*P*<0.01；与模型组比较，**P*<0.05，***P*<0.01

图 6 丹参注射液对高糖环境下 TLR4 蛋白表达的影响
Fig.6 Effect of Danshen Injection on TLR4 protein expression under high-glucose environment

组织 Toll 样受体 4 (TLR4) 蛋白表达的影响，发现丹参注射液在体内可有效降低大鼠 TLR4 蛋白表达，并对肾组织起到一定程度的保护作用；在体外可削弱高糖诱导大鼠肾小管上皮细胞 (NRK-52E) TLR4 蛋白表达，并在一定范围内存在剂量依赖性。由此可知，丹参注射液可有效降低 TLR4 蛋白表达，可能是通过下调 TLR4/NF-κB 信号通路来降低其下游相关信号分子表达，从而起到保护糖尿病状态下大鼠肾小管的作用^[12]。

现代糖尿病肾病的机制研究主要是针对多元醇代谢通路激活、氧化应激^[13]、糖基化终末代谢产物堆积^[14]、炎症反应^[15-16]等，其中糖尿病肾病状态下炎症反应发生的重要原因之一可能是高糖环境下生成的糖基化终末产物 (AGEs) 等配体激活 NF-κB 信号通路^[17]，造成炎症因子释放及炎症细胞浸润，另外有实验发现，糖尿病状态下 TLR4 信号通路激活与热休克蛋白 70、高迁移率族蛋白 B1 存在正相关^[18-19]。研究显示，体内胰岛素抵抗可能与 TLR4 信号通路上调有关，推测可能是由于 Toll 样受体激活后所释放的炎症因子和趋化蛋白等信号分子诱导所致^[20-21]，同时 TLR4/NF-κB 信号通路可能作为上游信号通路来诱发肾组织氧化应激，从而造成糖尿病肾病氧化损伤^[22]，表明它在糖尿病肾病发病过程中起到重要作用，并与多种发病因素密切相关。

糖尿病在古籍中被记载为消渴症，中医临床诊断其以气虚血虚为始，因虚致瘀而后致病^[23]。丹参在中医治疗糖尿病过程中作为治疗血瘀的良药，

被广泛用于各种复方中，有实验证明其中的脂溶性成分丹参酮 II A^[24]、水溶性成分丹参素^[25]及丹参多糖^[26]等具有下调炎症相关信号通路的作用；相关临床研究也表明，丹参辅助治疗糖尿病肾病可有效地降低患者蛋白尿水平，相比单用西药有着更理想的疗效^[27]。本研究通过阐明丹参注射液治疗糖尿病肾病的作用机制，可为中药临床用药及使用禁忌方面提供一定借鉴。

参考文献：

[1] Schmid H, Boucherot A, Yasuda Y, *et al.* Modular activation of nuclear factor-kappaB transcriptional programs in human diabetic nephropathy [J]. *Diabetes*, 2006, 55 (11) : 2993-3003.

[2] Galbo T, Perry R J, Jurczak M J, *et al.* Saturated and unsaturated fat induce hepatic insulin resistance independently of TLR-4 signaling and ceramide synthesis *in vivo* [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110(31): 12780-12785.

[3] Anders H J, Schaefer L. Beyond tissue injury-damage-associated molecular patterns, toll-like receptors, and inflammasomes also drive regeneration and fibrosis [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2014, 25(7): 1387-1400.

[4] Lin M, Yiu W H, Wu H J, *et al.* Toll-like receptor 4 promotes tubular inflammation in diabetic nephropathy [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2012, 23(1): 86-102.

[5] Yu R, Bo H, Villani V, *et al.* The inhibitory effect of rapamycin on toll like receptor 4 and interleukin 17 in the early stage of rat diabetic nephropathy [J]. *Kidney Blood Press Res*, 2016, 41(1): 55-69.

[6] Yang S, Liu M, Chen Y, *et al.* NaoXinTong Capsules inhibit the development of diabetic nephropathy in db/db mice [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 9158.

[7] Gao H, Liu X, Sun W, *et al.* Total tanshinones exhibits anti-inflammatory effects through blocking TLR4 dimerization via the MyD88 pathway [J]. *Cell Death Dis*, 2017, 8(8): e3004.

[8] Wang Y, Chen G, Yu X, *et al.* Salvianolic acid B ameliorates cerebral ischemia/reperfusion injury through inhibiting TLR4/MyD88 signaling pathway [J]. *Inflammation*, 2016, 39(4): 1503-1513.

[9] Yin D K, Yin J J, Yang Y, *et al.* Renoprotection of Danshen Injection on streptozotocin-induced diabetic rats, associated with tubular function and structure [J]. *J Ethnopharmacol*, 2014, 151(1): 667-674.

[10] 阮旭, 杨晔, 徐仲儒, 等. 丹参注射液对 Ang II 诱导 NRK-52E 细胞损伤的保护作用 [J]. *中成药*, 2018, 40 (5) : 1170-1173.

[11] Yang M X, Xu J, Yu J, *et al.* Anti-inflammatory effects of 1, 25-dihydroxyvitamin D3 in monocytes cultured in serum from patients with type 2 diabetes mellitus and diabetic nephropathy with uremia via Toll-like receptor 4 and nuclear factor-κB p65

- [J]. *Mol Med Rep*, 2015, 12(6): 8215-8222.
- [12] Xu X X, Qi X M, Zhang W, *et al*. Effects of total glucosides of paeony on immune regulatory toll-like receptors TLR2 and 4 in the kidney from diabetic rats[J]. *Phytomedicine*, 2014, 21(6): 815-823.
- [13] He W, Yuan T, Choezom D, *et al*. Ageing potentiates diet-induced glucose intolerance, β -cell failure and tissue inflammation through TLR4 [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 2767.
- [14] Ilatovskaya D V, Blass G, Palygin O, *et al*. A NOX4/TRPC6 pathway in podocyte calcium regulation and renal damage in diabetic kidney disease[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2018, 29(7): 1917-1927.
- [15] Klein R, Horak K, Lee K E, *et al*. The relationship of serum soluble receptor for advanced glycation end products (sRAGE) and carboxymethyl lysine (CML) to the incidence of diabetic nephropathy in persons with type 1 diabetes[J]. *Diabetes Care*, 2017, 40(9): e117-e119.
- [16] Uzun S, Ozari M, Gursu M, *et al*. Changes in the inflammatory markers with advancing stages of diabetic nephropathy and the role of pentraxin-3[J]. *Ren Fail*, 2016, 38(8): 1193-1198.
- [17] Oguiza A, Recio C, Lazaro I, *et al*. Peptide-based inhibition of I κ B kinase/nuclear factor- κ B pathway protects against diabetes-associated nephropathy and atherosclerosis in a mouse model of type 1 diabetes[J]. *Diabetologia*, 2015, 58(7): 1656-1667.
- [18] Jheng H F, Tsai P J, Chuang Y L, *et al*. Albumin stimulates renal tubular inflammation through an HSP70-TLR4 axis in mice with early diabetic nephropathy[J]. *Dis Model Mech*, 2015, 8(10): 1311-1321.
- [19] Nair A R, Ebenezer P J, Saini Y, *et al*. Angiotensin II-induced hypertensive renal inflammation is mediated through HMGB1-TLR4 signaling in rat tubulo-epithelial cells[J]. *Exp Cell Res*, 2015, 335(2): 238-247.
- [20] Griffin C, Eter L, Lanzetta N, *et al*. TLR4, TRIF, and MyD88 are essential for myelopoiesis and CD11c⁺ adipose tissue macrophage production in obese mice[J]. *J Biol Chem*, 2018, 293(23): 8775-8786.
- [21] Garibotto G, Carta A, Picciotto D, *et al*. Toll-like receptor-4 signaling mediates inflammation and tissue injury in diabetic nephropathy[J]. *J Nephrol*, 2017, 30(6): 719-727.
- [22] Elsherbiny N M, El-Sherbiny M, Said E. Amelioration of experimentally induced diabetic nephropathy and renal damage by nilotinib [J]. *J Physiol Biochem*, 2015, 71(4): 635-648.
- [23] 孙超, 谢晴宇, 孟庆刚. 糖尿病肾病中医证素分布规律研究[J]. 北京中医药大学学报, 2015, 38(4): 266-270.
- [24] Chen X, Wu R, Kong Y, *et al*. Tanshinone II A attenuates renal damage in STZ-induced diabetic rats via inhibiting oxidative stress and inflammation [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(19): 31915-31922.
- [25] Teng M C, Wu P C, Lin S P, *et al*. Danshensu decreases UVB-induced corneal inflammation in an experimental mouse model via oral administration [J]. *Curr Eye Res*, 2018, 43(1): 27-34.
- [26] Han C, Yang J, Song P, *et al*. Effects of *Salvia miltiorrhiza* polysaccharides on lipopolysaccharide-induced inflammatory factor release in RAW264.7 cells [J]. *J Interferon Cytokine Res*, 2018, 38(1): 29-37.
- [27] 李季. 丹参川芎嗪联合凯时治疗糖尿病肾病临床效果研究[J]. 中国实用医药, 2013, 8(11): 158-159.