

五子衍宗丸通过抑制 GRP78 减轻 EAE 小鼠持续的内质网应激

肖午帅¹, 樊慧杰¹, 李艳荣¹, 贾璐¹, 孙梦瀛¹, 张波², 尉杰忠³, 肖保国⁴, 施福东⁵, 马存根^{1,3*}, 柴智^{1*}

(1. 山西中医药大学基于炎症反应的重大疾病创新药物山西省重点实验室/神经生物学研究中心, 山西 晋中 030619; 2. 山西卫生健康职业学院, 山西 晋中 030619; 3. 山西大同大学脑科学研究所, 山西 大同 037009; 4. 复旦大学华山医院神经病学研究所, 上海 200025; 5. 天津医科大学总医院, 天津 300052)

摘要: 目的 观察五子衍宗丸对实验性自身免疫性脑脊髓炎 (EAE) 小鼠内质网应激的影响。方法 C57BL/6 雌鼠随机分为正常组、模型组和五子衍宗丸组, 免疫后第 3 天起, 进行药物干预, 持续 25 d。每天记录神经功能评分。采集小鼠脊髓标本, 进行苏木素-伊红染色和髓鞘染色观察五子衍宗丸的神经保护作用; Western blot 检测脊髓 GRP78、Caspase-12、CHOP 的蛋白表达。结果 与模型组相比, 五子衍宗丸可延缓小鼠起病时间 ($P < 0.01$) 并改善神经功能 ($P < 0.01$), 抑制脊髓炎性细胞浸润和白质髓鞘脱失 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 降低脊髓组织 GRP78、Caspase-12、CHOP 的蛋白表达 ($P < 0.05$)。结论 五子衍宗丸对 EAE 小鼠有一定的防治作用, 可能与抑制 GRP78 来减轻持续的内质网应激有关。

关键词: 五子衍宗丸; 实验性自身免疫性脑脊髓炎; 多发性硬化; 葡萄糖调节蛋白 78; 内质网应激

中图分类号: R285.5

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2021)06-1594-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2021.06.039

多发性硬化是一种中枢神经系统自身免疫性疾病, 其特征是遍布中枢神经系统炎性病变导致严重的神经功能障碍, 脱髓鞘、轴突损伤和血脑屏障改变其病理学标志^[1]。其发病机制可能是由于中枢神经系统内原存的病变, 伴有的不同程度的炎症, 导致髓磷脂慢性脱落, 或是因外周 T 细胞进入中枢神经系统并与巨噬细胞和 B 细胞一起攻击髓磷脂, 使髓鞘乃至轴突产生病变^[2]。实验性自身免疫性脑脊髓膜炎 (EAE) 是多发性硬化的成熟动物模型^[3]。目前在用于治疗多发性硬化的药物中, 部分能够预防炎性组织损伤, 但均无法直接促进修复, 且有一定的毒副作用^[4]。

基于中医肾藏精生髓, 上充于髓海之脑的理论, 肾亏髓空被认为是多发性硬化的根本病机^[5]。五子衍宗丸具有补肾填精充髓的功效。现代研究表明, 五子衍宗丸能够提高大鼠机体免疫^[6]。课题组前期研究发现^[7-8], 五子衍宗丸能够通过抑制炎症反应发挥对多发性硬化的神经保护效应, 且其有抗凋亡的作用。近来有研究^[9]表明, 二甲双胍

能够下调内质网应激相关基因葡萄糖调节蛋白 78 (GRP78) 和增强子结合蛋白同源蛋白 (CHOP) 的表达, 这或是其能保护由鱼藤酮诱导的帕金森病小鼠内巴胺能神经元的一个原因。二至丸通过下调内质网应激相关因子 CHOP 和半胱天冬氨酸蛋白酶 12 (Caspase-12) 的蛋白表达, 改善帕金森病小鼠的运动和学习记忆功能^[10]。五子衍宗丸是否可以减轻 EAE 小鼠的内质网应激而发挥治疗作用? 基于此, 本研究将探讨五子衍宗丸对 EAE 小鼠内质网应激的影响。

1 材料与方法

1.1 动物 8~10 周龄 C57BL/6 雌性小鼠 24 只, 体质量 18~21 g, 购于北京维通利华实验动物公司, 动物生产许可证号 SCXK (京) 2016-0006。获山西中医药大学伦理委员会批准, 实验操作严格执行国际动物实验方针。动物于无菌动物房 (温度 22~25 °C, 相对湿度 40%~60%) 进行 1 周适应性饲养, 而后开展实验。

收稿日期: 2020-08-16

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81102552, 81703978); 中央引导地方科技发展资金自由探索类基础研究项目 (YDZX20201400001483); 山西省青年拔尖人才支持计划项目 (晋组办字 [2019] 35); 山西省自然科学基金项目 (201901D111334); 山西省留学回国人员科技活动项目择优资助项目 (20200026); 山西省重点研发计划项目 (201803D31209); 山西省高等学校科技创新计划项目 (2019L0724)

作者简介: 肖午帅 (1991—), 男, 硕士生, 研究方向为中西医结合防治神经系统疾病。Tel: (0351) 3179952, E-mail: xws12020338@163.com

* **通信作者:** 马存根 (1960—), 男, 博士, 教授, 博士生导师, 研究方向为中西医结合防治神经系统疾病。Tel: (0351) 3179702, E-mail: macungen2001@163.com

柴智 (1979—), 男, 博士, 教授, 硕士生导师, 研究方向为中西医结合防治神经系统疾病。Tel: (0351) 3179952, E-mail: chaizhi008@126.com

1.2 药物 五子衍宗丸含菟丝子(炒)、枸杞子、五味子(蒸)、覆盆子、盐车前子五种中药,购于太原市同仁堂药店(北京同仁堂股份有限公司,批号18035041,规格0.1g/粒,成人用量口服,6g/次,2次/d)。将药丸研磨至细粉后,以0.9%生理盐水配制成0.32g/mL的五子衍宗丸药液备用。

1.3 仪器 电泳仪(美国Bio-Rad公司,型号PowerPac™);酶标仪(德国Leica公司,型号C-1150);冷冻离心机(德国Eppendorf公司,型号5840);转膜仪(型号PowerPac™)、凝胶成像分析仪(型号HOOD-II)(美国Bio-Rad公司);冰冻切片机(型号CM1950)、正置显微镜(型号DM4000B/DFC450C)(德国Leica公司)。

1.4 试剂 小鼠髓鞘少突胶质细胞糖蛋白多肽35-55(MOG₃₅₋₅₅)(上海强耀生物科技有限公司,批号9001);结核分枝杆菌(美国Becton Dickinson公司,批号231141);百日咳毒素(美国Sigma公司,批号231144);完全弗氏佐剂(美国Alexis公司,批号60301);抗葡萄糖调节蛋白78蛋白抗体(批号GR3281962-1)、抗半胱天冬氨酸蛋白酶12蛋白抗体(批号GR3225341-3)、抗增强子结合蛋白同源蛋白抗体(批号GR3259414-5)均购自英国Abcam公司。

1.5 模型制备 将MOG₃₅₋₅₅溶解于0.9%NaCl溶液,结核分枝杆菌于完全弗氏佐剂中溶解,后以针管混合器将二者以相同体积充分混合成油包水样乳剂,待静置后无分层方可使用。取该试剂(MOG₃₅₋₅₅浓度为250μg/只,结核分枝杆菌浓度为350μg/只,0.1mL/只)于小鼠背部脊椎两侧选取4点进行皮下注射;免疫当日和48h后,对小鼠按每只300ng/次的规格腹腔注射百日咳毒素。待其尾部肌张力下降,视EAE模型制成。

1.6 动物分组及给药 根据其平均体质量按照随机数字表法将24只小鼠均分为正常组、模型组、五子衍宗丸组。免疫后第3天开始持续25天灌胃,每天给正常组和模型组以50mL/kg的生理盐水,五子衍宗丸组给予每天16g/kg的五子衍宗丸药液,体积为每次0.5mL/只^[7],每日2次,早晚间隔12h。

1.7 行为学观察 从免疫当天起,每日对各组小鼠进行临床神经功能评分。采纳国际通用5分制^[3]:0分,无症状;1分,尾张力消失,跛行;2分,后肢无力,翻其可复;3分,后肢完全瘫痪,触其可动;4分,后肢全瘫和前肢部分瘫痪;5分,濒死或死亡。症状介于两者之间则以均值计。

1.8 采样及检测 药物干预至第28天,腹腔注射10%水合氯醛(8mL/kg)麻醉,于每组中随机取4只以0.9%生理盐水快速灌注,后以4%多聚甲醛缓慢灌流固定,提取脊髓,脱水包埋,再行液氮冷冻,制10μm厚的冰冻切片,4℃保存备用;取各组另4只以0.9%生理盐水进行心脏灌注,快速提取脊髓组织再低温研磨,高速离心,匀浆后提蛋白,定量备用。

1.8.1 苏木素-伊红染色检测脊髓组织炎性细胞浸润程度 水中浸泡脊髓切片10min,继而室温苏木素染色

12min,流水速洗5min,后于0.5%盐酸酒精中分化13s,流水速洗2min,伊红染色1~2min,流水速浸6min,再以梯度乙醇脱水,继而以二甲苯透明,用中性树胶进行封片,光镜下采集图片。

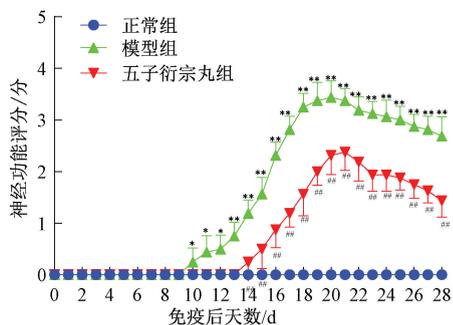
1.8.2 髓鞘染色检测脊髓白质脱髓程度 脊髓切片浸于95%乙醇中固定15min,后浸于固蓝置60℃烤箱中孵育20h,继而以95%乙醇溶液浸9min,去离子水流洗5min,0.05%碳酸锂快速浸10s,再以70%乙醇分化,重复此两步操作至能够清晰辨别出灰质,去离子水浸流6min,以梯度乙醇脱水,再以二甲苯透明,中性树胶封片,光镜下采集图片。

1.8.3 Western blot检测GRP78、Caspase-12、CHOP蛋白表达 取组织蛋白,4℃条件下裂解组织,以BCA法测定蛋白含量,再制蛋白上样缓冲液。以10%凝胶电泳,后以半干式转膜法转至硝酸纤维膜上。5%脱脂牛奶床床封闭1.5h,洗涤后以TBST分别稀释GRP78(1:100)、Caspase-12(1:1000)、CHOP(1:200)和Tubulin(1:10000)一抗,4℃孵育过夜,次日洗涤后加入相应的HRP耦联二抗(1:10000),室温进行2h孵育,TBST漂洗,以ECL试剂显色曝光条带,后计算灰度值并比较再统计。

1.9 统计学方法 采用GraphPad Prism 8.0统计软件进行数据分析,计量资料用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较用单因素方差分析(ANOVA),两两比较采用t检验,若不符合正态分布或方差齐性,则采用非参数检验, $P < 0.05$ 则认为其差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 五子衍宗丸对小鼠神经功能的影响 如图1所示,模型组小鼠于免疫后第10天开始发病,五子衍宗丸组小鼠于免疫后第14天开始发病。模型组、五子衍宗丸组平均起病时间分别为(10.88±1.13)、(14.88±0.83)d,与模型组相比,五子衍宗丸组小鼠平均起病时间推迟($P < 0.01$),平均最高神经评分分别为(3.44±0.32)、(2.38±0.35)分,五子衍宗丸组小鼠平均最高神经评分降低($P < 0.01$)。



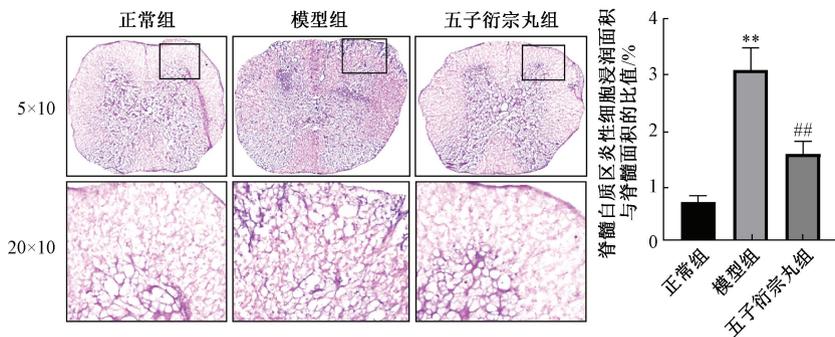
注:与正常组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与模型组比较,### $P < 0.01$ 。平均起病时间以各组小鼠首次出现症状的天数计,平均最高神经功能评分以各组小鼠免疫后28d内最高神经功能评分计。

图1 五子衍宗丸对小鼠神经功能的影响($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

2.2 五子衍宗丸对小鼠脊髓影响炎性细胞浸润的影响 如图2所示,正常组、模型组、五子衍宗丸组脊髓白质区炎

性细胞浸润面积占整个脊髓面积的比值分别为 (0.71 ± 0.11)%、(3.07 ± 0.39)%、(1.57 ± 0.22)%。与正常组比

较,模型组炎性细胞浸润增加 ($P < 0.01$);与模型组相比,五子衍宗丸组炎性细胞浸润减少 ($P < 0.01$)。

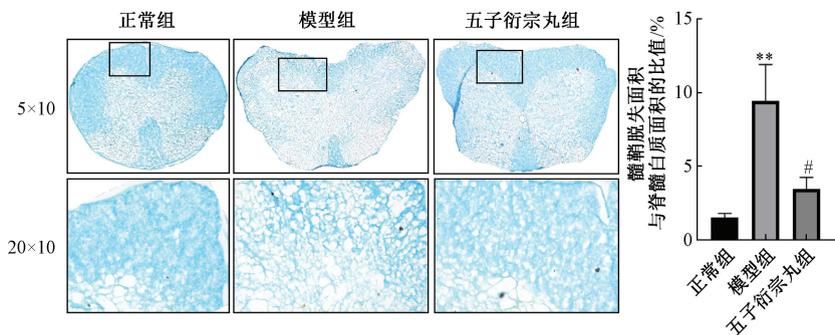


注:与正常组比较,** $P < 0.01$;

图2 五子衍宗丸对小鼠脊髓影响炎性细胞浸润的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 4$)

2.3 五子衍宗丸对小鼠脊髓髓鞘脱失的影响 如图3所示,正常组、模型组、五子衍宗丸组髓鞘脱失面积与脊髓白质面积比值分别为 (1.47 ± 0.28)%、(9.43 ± 2.47)%、

(3.40 ± 0.81)%。与正常组比较,模型组髓鞘脱失增加 ($P < 0.01$);与模型组相比,五子衍宗丸组髓鞘脱失减少 ($P < 0.05$)。

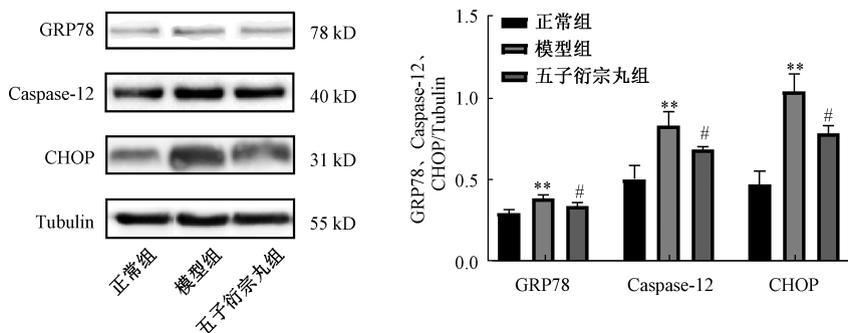


注:与正常组比较,** $P < 0.01$;

图3 五子衍宗丸对小鼠脊髓髓鞘脱失的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 4$)

2.4 五子衍宗丸对小鼠脊髓 GRP78、Caspase-12、CHOP 蛋白表达的影响 如图4所示,与正常组比较,模型组脊髓组织 GRP78、Caspase-12、CHOP 蛋白表达均升高 ($P <$

0.01);与模型组比较,五子衍宗丸组脊髓组织 GRP78、Caspase-12、CHOP 蛋白表达均降低 ($P < 0.05$)。



注:与正常组比较,** $P < 0.01$;

图4 五子衍宗丸对小鼠脊髓 GRP78、Caspase-12、CHOP 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 4$)

3 讨论

多发性硬化是一种的中枢神经系统炎性变性疾病脱髓鞘疾病^[11]。中医将肾虚视为多发性硬化的发病之本^[12]。补肾方药对于多发性硬化患者临床症状的改善,及生活质量的提高,都具有积极影响^[13]。现代研究表明,五子衍宗丸

组分中枸杞子具有一定的抗凋亡作用^[14],五味子有抗内质网应激和抗炎作用^[15],菟丝子具有抗炎活性^[16]。本研究结果显示,补肾经方五子衍宗丸可改善 EAE 小鼠神经功能评分并可延缓起病时间。苏木素-伊红染色和髓鞘染色结果证实,五子衍宗丸能够抑制脊髓白质炎性细胞浸润和髓鞘

脱失。

在多发硬化发作之前或期间, 炎性介质的刺激或因神经细胞试图再髓鞘时导致内质网上蛋白超负载^[17], 可能会触发内质网应激。内质网应激通过未折叠蛋白反应来恢复内质网稳态^[18]。内质网应激主调节器 GRP78 与未折叠的蛋白质结合, 同时与三个跨膜未折叠蛋白反应信号转导器解离, 从而启动内质网应激的三条分支通路即肌醇需要酶 1、PKR 样内质网激酶和激活转录因子 6^[19]。再髓鞘化和轴突的修复、再生的一个信号便是适当的内质网应激触发的未折叠蛋白反应^[20]。持续的内质网应激能使未折叠蛋白反应激活炎症信号通路^[21]甚至促进神经毒性和凋亡程序^[22]。Caspase-12 和 CHOP 是内质网应激的两条主要的细胞凋亡途径^[23]。在内质网应激期间, 钙稳态被打破, 可以特异性地激活 Caspase-12, 而后启动相关级联反应^[24]。未折叠蛋白反应的三条通路均能作用于 CHOP, 肌醇需要酶 1 能够上调 CHOP 转录因子表达^[23], PKR 样内质网激酶能够诱导 ATF4 激活, 而后激活 CHOP, 切割后的激活转录因子 6 能够调节 CHOP 的表达^[25]。未折叠蛋白反应的三条通路的激活都会产生转录因子分别为激活转录因子 6a、剪切转录因子 X 盒结合蛋白 1 和激活转录因子 4, 均能激活 GRP78 基因, 从而提高内质网正常折叠蛋白质的能力^[17]。有研究发现, EAE 小鼠体内 GRP78、Caspase-12 和 CHOP 蛋白表达水平升高^[26]。另有研究发现, 缺乏 GRP78 基因表达的小鼠能够导致少突胶质细胞丢失并加剧 EAE 的发展^[27]。在本实验中, EAE 小鼠的 GRP78、Caspase-12、CHOP 蛋白表达水平同时升高, 再结合其病理结果可知, EAE 小鼠此时 GRP78 的高表达可被认为是持续的内质网应激标志物而非适度的内质网应激标志物, 且可推测此时高表达状态下的 GRP78 发挥的保护作用远不及由 Caspase-12 和 CHOP 产生的触发凋亡加重炎症的髓鞘脱失的作用, 而这种持续的内质网应激亦是由 GRP78 启动的。GRP78 对髓鞘细胞有保护作用, 而由 GRP78 启动的持续的内质网应激导致的病理作用是高表达的 GRP78 的保护作用所不能弥补的。五子衍宗丸能够下调 GRP78、Caspase-12 和 CHOP 蛋白的表达, 表明其可减轻持续的内质网应激, 减轻对髓鞘损害本身也是一种保护髓鞘的表现。

综上, 五子衍宗丸对 EAE 小鼠具有一定的防治作用, 这可能与通过抑制 GRP78 的表达来下调持续的内质网应激有关。持续的内质网应激下的 GRP78 可能是五子衍宗丸治疗多发硬化性的一个潜在的新的治疗靶点。这为今后深入探索内质网应激通路参与五子衍宗丸对 EAE 小鼠的防治机制提供了研究基础, 也为临床应用五子衍宗丸治疗多发硬化提供了实验基础。

参考文献:

[1] Boiziau C, Nikolski M, Mordelet E, et al. A peptide targeting inflammatory CNS lesions in the EAE rat model of multiple sclerosis[J]. *Inflammation*, 2018, 41(3): 932-947.
[2] De Kleijn K M A, Martens G J M. Molecular Effects of FDA-

Approved Multiple Sclerosis Drugs on Glial Cells and Neurons of the Central Nervous System [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21 (12): 4229.
[3] Saiga R, Hoshino M, Takeuchi A, et al. Synchrotron radiation microtomography of brain hemisphere and spinal cord of a mouse model of multiple sclerosis revealed a correlation between capillary dilation and clinical score [J]. *J Comp Neurol*, 2019, 527(13): 2091-2100.
[4] Villoslada P, Steinman L. New targets and therapeutics for neuroprotection, remyelination and repair in multiple sclerosis [J]. *Expert Opin Investig Drugs*, 2020, 29(5): 443-459.
[5] 郑娜, 王奇, 尹琳琳. 补肾中药治疗多发硬化性的研究进展[J]. *中华中医药刊*, 2017, 35(3): 573-575.
[6] 杨卓, 张希, 陈志敏, 等. 五子衍宗丸中药物盐制后对肾精亏虚大鼠免疫功能的影响[J]. *时珍国医国药*, 2019, 30(9): 2134-2137.
[7] 张若楠, 柴智, 樊慧杰, 等. 五子衍宗丸对实验性自身免疫性脑脊髓炎小鼠防治作用及其机制研究[J]. *中华中医药杂志*, 2018, 33(4): 1316-1319.
[8] 李瑞雪, 樊慧杰, 柴智, 等. 五子衍宗丸对神经管畸形细胞模型凋亡途径的影响[J]. *中医杂志*, 2019, 60(13): 1134-1141.
[9] Wang D X, Chen A D, Wang Q J, et al. Protective effect of metformin against rotenone-induced parkinsonism in mice [J]. *Toxicol Mech Methods*, 2020, 30(5): 350-357.
[10] 吴欣芳, 段冷昕, 高晓乐, 等. 二至丸对 MPTP 所致帕金森病小鼠的防治作用研究[J]. *中国中药杂志*, 2019, 44 (19): 4219-4224.
[11] Baecher-Allan C, Kaskow B J, Weiner H L. Multiple sclerosis: mechanisms and immunotherapy[J]. *Neuron*, 2018, 97(4): 742-768.
[12] 黄灵, 尚晓玲. 多发硬化性的中医药研究进展[J]. *中医临床研究*, 2016, 8(7): 141-144.
[13] 黄春英, 周哲屹, 刘国成. 补肾填精方治疗多发硬化 21 例[J]. *河南中医*, 2018, 38(9): 1409-1412.
[14] Liu L, Sha X Y, Wu Y N, et al. Lycium barbarum polysaccharides protects retinal ganglion cells against oxidative stress injury [J]. *Neural Regen Res*, 2020, 15 (8): 1526-1531.
[15] Jang M K, Nam J S, Kim J H, et al. Schisandra chinensis extract ameliorates nonalcoholic fatty liver via inhibition of endoplasmic reticulum stress [J]. *J Ethnopharmacol*, 2016, 185(9): 96-104.
[16] Kang S Y, Jung H W, Lee M Y, et al. Effect of the semen extract of *Cuscuta chinensis* on inflammatory responses in LPS-stimulated BV-2 microglia [J]. *Chin J Nat Med*, 2014, 12 (8): 573-581.
[17] Sprengle N T, Sims S G, Sánchez C L, et al. Endoplasmic reticulum stress and inflammation in the central nervous system [J]. *Mol Neurodegener*, 2017, 12(1): 42.
[18] Liu Y, Awadia S, Delaney A, et al. UAE1 inhibition mediates the unfolded protein response, DNA damage and

- caspase-dependent cell death in pancreatic cancer [J]. *Transl Oncol*, 2020, 13(11): 100834.
- [19] Ramirez M U, Hernandez S R, Soto-Pantoja D R, et al. Endoplasmic reticulum stress pathway, the unfolded protein response, modulates immune function in the tumor microenvironment to impact tumor progression and therapeutic response [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 21(1): 169.
- [20] Stone S, Lin W. The unfolded protein response in multiple sclerosis [J]. *Front Neurosci*, 2015, 9(2): 264.
- [21] 王镜淇, 龚国清. 内质网应激与炎症反应的研究进展 [J]. *药学研究*, 2017, 36(5): 279-282.
- [22] Sprengle N T, Lahiri A, Simpkins J W, et al. Endoplasmic reticulum stress is transmissible *in vitro* between cells of the central nervous system [J]. *J Neurochem*, 2019, 148(4): 516-530.
- [23] Kamarehei M, Kabudanian Ardestani S, Firouzi M, et al. Increased expression of endoplasmic reticulum stress-related caspase-12 and CHOP in the Hippocampus of EAE mice [J]. *Brain Res Bull*, 2019, 147(2): 174-182.
- [24] Yao P P, Sheng M J, Weng W H, et al. High glucose causes apoptosis of rabbit corneal epithelial cells involving activation of PERK-eIF2 α -CHOP-caspase-12 signaling pathway [J]. *Int J Ophthalmol*, 2019, 12(12): 1815-1822.
- [25] Andhavarapu S, Mubariz F, Arvas M, et al. Interplay between ER stress and autophagy: a possible mechanism in multiple sclerosis pathology [J]. *Exp Mol Pathol*, 2019, 108(3): 183-190.
- [26] Pejman S, Kamarehei M, Riazzi G, et al. Ac-SDKP ameliorates the progression of experimental autoimmune encephalomyelitis *via* inhibition of ER stress and oxidative stress in the hippocampus of C57BL/6 mice [J]. *Brain Res Bull*, 2020, 154(1): 21-31.
- [27] Hussien Y, Podojil J R, Robinson A P, et al. ER Chaperone BiP/GRP78 is required for myelinating cell survival and provides protection during experimental autoimmune encephalomyelitis [J]. *J Neurosci*, 2015, 35(48): 15921-15933.

姜黄素对糖尿病肾病小鼠肾脏自噬及氧化应激的影响

韩晓瑜¹, 李嘉斌¹, 丁杰英¹, 温庆伟^{2*}

(1. 浙江大学医学院附属儿童医院, 浙江 杭州 310000; 2. 广西医科大学, 广西南宁 530021)

摘要: 目的 研究姜黄素对糖尿病肾病(DN)小鼠肾脏自噬及氧化应激的影响。方法 小鼠尾静脉多次注射链脲佐菌素及摘除右肾法诱导建立DN小鼠模型。以随机数字法将模型小鼠分为模型组、姜黄素高、低剂量组、缬沙坦组, 每组10只。另选取10只同龄小鼠为空白组。各组小鼠灌胃予相对药物90 d, 每日1次, 空白组与模型组予等容积生理盐水。给药结束后, 收集小鼠尿液计算其尿量, 自动生化分析仪检测小鼠24 h尿蛋白(UP)及血清中肌酐(Scr)、尿素氮(BUN)水平。HE染色后观察小鼠肾脏病理变化。试剂盒检测肾脏的羟自由基(-OH)、活性氧(ROS)水平及线粒体呼吸链复合物I、III(Complex I、III)的活性。ELISA法检测肾脏锰超氧化物歧化酶(Mn-SOD)、过氧化氢酶(CAT)的活性。Western blot检测肾脏组织中线粒体自噬蛋白p-mTOR、Beclin1、LC3的蛋白表达。结果 与模型组相比, 缬沙坦、姜黄素高、低剂量组的小鼠尿量、Scr、BUN、UP水平降低($P < 0.05$)。肾组织病理形态有所改善, CAT、Mn-SOD、Complex I、III的活性提高, -OH、ROS的水平降低($P < 0.05$)。自噬蛋白p-mTOR表达减少, Beclin1、LC3表达增加($P < 0.05$)。结论 姜黄素能改善肾功能及其病理状态, 这可能与改善肾脏的氧化应激和自噬有关。

关键词: 姜黄素; 糖尿病肾病; 自噬; 氧化应激

中图分类号: R285.5

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2021)06-1598-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2021.06.040

糖尿病是人体代谢紊乱所造成的基础疾病且无法根治而伴随终身, 因此长期高血糖会导致多种的并发症所发

生^[1]。糖尿病肾病是因为肾脏的高糖环境使大量的活性氧(ROS)产生而造成肾脏微血管氧化应激损伤的常见糖尿病

收稿日期: 2020-06-27

基金项目: 国家自然科学基金(81360129)

作者简介: 韩晓瑜(1985—), 女, 药师, 从事糖尿病肾病研究。Tel: (0571) 86670408, E-mail: 6513339@zju.edu.cn

* 通信作者: 温庆伟(1976—), 男, 博士, 教授, 高级工程师, 从事糖尿病肾病研究。Tel: (0771) 5358272, E-mail: 726452413@zju.edu.cn