

黄芪甲苷保护肾脏的分子机制研究进展

陈素枝¹, 檀金川^{2*}

1. 天津中医药大学, 天津 300193

2. 河北省中医院, 河北 石家庄 050011

摘要: 黄芪甲苷是黄芪中含量最高的有效成分, 具有广泛的药理活性, 诸多研究证实黄芪甲苷对慢性肾脏疾病有治疗作用。查阅近 5 年国内外文献, 从黄芪甲苷保护足细胞、抑制肾脏纤维化、保护肾小管细胞和抑制肾小球系膜细胞活化 4 方面对黄芪甲苷保护肾脏的分子机制进行综述, 旨在剖析黄芪甲苷治疗慢性肾病的作用靶点, 为黄芪甲苷在肾病治疗中的应用提供依据。

关键词: 黄芪甲苷; 足细胞; 肾脏纤维化; 肾小管细胞; 分子机制

中图分类号: R285 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2018)24-5973-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.24.035

Research progress on molecular mechanism of astragaloside IV in protecting kidney

CHEN Su-zhi¹, TAN Jin-chuan²

1. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China

2. Hebei Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shijiazhuang 050011, China

Abstract: Astragaloside IV is the most abundant and active ingredient in *Astragalus membranaceus*. Many studies have confirmed that astragaloside IV has a renal protective effect on chronic kidney disease. After reviewing the literatures at home and abroad for the past five years, The molecular mechanism of the protective effect of astragaloside IV on kidney was reviewed from the aspects of protection of podocytes, inhibition of renal fibrosis, protection of renal tubular cells, and inhibition of mesangial cell activation. The aim of this study is to analyze the target of astragaloside IV in the treatment of chronic kidney disease, and provide a basis for the application of astragaloside IV in nephropathy.

Key words: astragaloside IV; podocytes; renal fibrosis; renal tubular cell; molecular mechanism

黄芪甲苷(astragaloside IV, AS-IV)是黄芪中含量最高、活性较为广泛的有效成分。国内外研究证实黄芪具有保护肾脏、治疗慢性肾脏病的作用^[1-3], 故 AS-IV 也被广泛用于慢性肾脏疾病的治疗。慢性肾脏疾病以蛋白尿产生、足细胞缺失、肾小管萎缩和间质纤维化为特征, 蛋白尿通过诱导炎症反应、肾小管细胞凋亡和间质纤维化引起肾损伤^[4-5]。慢性肾病的常规治疗包括给予激素、免疫抑制剂或血管紧张素转化酶抑制剂(ACEI)/血管紧张素受体阻滞剂(ARB)类药物, 但并没有显示出防止足细胞和肾小管细胞凋亡、抑制肾脏纤维化的优势。故越来越多的研究者开始寻求中药治疗方案, 以弥补肾病常规治疗的不足。诸多研究证实 AS-IV 具有抗炎^[6-7]、

抗凋亡^[8-10]、抑制纤维化^[11-14]等作用, 在肾病治疗中有广泛的应用前景。本文通过综述 AS-IV 保护肾脏的分子机制, 为该药临床研究及进一步开发利用提供依据。

1 保护足细胞

所有肾小球疾病的共同最终途径是足细胞消失、肾小球硬化^[15]。足细胞是终末分化的细胞, 不能依赖于新细胞的补充, 其凋亡是导致数量减少的主要因素^[16-18]。足细胞的凋亡和缺失导致滤过屏障结构的破坏, 从而引起蛋白尿的发生。研究表明足细胞损伤和丢失是肾小球疾病包括局灶阶段性肾小球硬化、糖尿病肾病(DN)、微小病变和膜性肾小球病发生和发展的关键因素^[19]。保护足细胞, 抑制

收稿日期: 2018-10-11

作者简介: 陈素枝(1989—), 女, 天津中医药大学 2016 级博士研究生, 研究方向为中医内科肾病。Tel: 18033897822

*通信作者 檀金川(1964—), 男, 博士生导师, 教授。E-mail: 1955981973@qq.com

其凋亡可能为治疗慢性肾病提供新的方向。

1.1 上调整合素 $\alpha 3\beta 1$

在蛋白尿肾病中,足细胞足突消失,进一步的损伤会造成足细胞从肾小球基底膜(GBM)脱落甚至凋亡^[20]。整联蛋白和整联蛋白连接激酶(ILK)参与足细胞从 GBM 脱落过程,整联蛋白是细胞表面蛋白家族,介导细胞与细胞、细胞与细胞外基质(ECM)的黏附。整联蛋白异二聚体由 α 和 β 亚基组成,足细胞通过整合素 $\alpha 3\beta 1$ 与 GBM 连接,高糖(HG)可诱导足细胞整合素 $\alpha 3\beta 1$ 的减少,并伴有足细胞对 GBM 的黏附性降低。实验证明 AS-IV 能够改善链脲佐菌素(STZ)诱导的 DN 大鼠系膜基质扩张、肾小球硬化和间质纤维化,并以剂量依赖方式减少足细胞足突消失^[21]。AS-IV 通过抑制 ILK,上调整合素 $\alpha 3\beta 1$ 的表达,恢复足细胞的细胞-基质黏附,减少足细胞脱落。类似的研究也证实 AS-IV 通过上调 DN 大鼠肾组织整合素 $\beta 1$ 表达,抑制 ILK 和 α -辅助肌动蛋白-4 的表达,改善足细胞黏附功能^[22]。

1.2 调节线粒体质量控制

线粒体是一种动态细胞器,在能量代谢、信号转导及细胞分化、增殖和凋亡的调节中发挥着重要的作用^[23]。肾脏是一种高度需氧器官,富含线粒体,而线粒体稳态通过线粒体质量控制维持,包括线粒体生物合成、线粒体融合/分裂及线粒体自噬^[24]。研究显示 AS-IV 可显著抑制 db/db 糖尿病小鼠肾脏中线粒体裂变主要调节因子动力相关蛋白 1(Drp-1)、裂变蛋白 1(Fis-1)和线粒体分裂因子(MFF)的上调,抑制线粒体分裂^[25]。PTEN 诱导假定激酶 1(PINK1)/Parkin 介导的线粒体自噬是最著名的线粒体自噬途径。线粒体自噬能够促进线粒体更新并防止功能失调线粒体的积累,起到保护细胞的作用,但也可能导致细胞损伤^[26]。研究观察到 db/db 小鼠肾脏线粒体中 PINK1 表达水平上调,其蛋白量的积累进一步将 Parkin 从细胞质募集到线粒体且活性增加,并在丝氨酸 65(Ser65)处磷酸化 [p-Parkin(Ser65)]。而 AS-IV 下调了 PINK1、Parkin 和 p-Parkin(Ser65)的异常表达^[25]。提示 AS-IV 干预了线粒体自噬。线粒体融合蛋白 1/2(Mfn-1/2)和视神经萎缩蛋白 1(OPA-1)分别负责外部和内部线粒体膜融合。在该项研究中 AS-IV 并没有改变 Mfn-1/2 和 OPA-1 的蛋白表达量,并且对线粒体生物合成的主要调节因子过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 共激活因子-1 α (PGC-1 α)及其下游信号核呼吸因子-1

(NRF-1)的蛋白也没有显著改变^[25]。表明 AS-IV 没有干预 db/db 小鼠肾脏线粒体的融合和生物合成。以上研究表明 AS-IV 可以通过干预线粒体分裂和自噬恢复线粒体质量控制的失调,进而保护肾脏。

1.3 上调肌浆/内质网(ER) Ca^{2+} -ATP 酶

ER 在新合成蛋白质的折叠和加工中起重要作用,各种可以扰乱内质网稳态,导致内质网腔内未折叠或错误折叠蛋白堆积的物质或细胞因子,都会引起内质网应激(ERS)。ERS 时从内质网到细胞核的一系列信号传导即为未折叠蛋白反应(UPR),UPR 包括 3 种信号途径:活化转录因子 6(ATF6)途径^[27]、蛋白激酶样内质网激酶(PERK)-真核翻译起始因子 2 α (eIF2 α)-活化转录因子 4(ATF4)^[28]和内质网跨膜蛋白肌醇酶 1 α (IRE1 α)-X 盒结合蛋白 1(XBP1)途径^[27,29]。ER 是细胞内 Ca^{2+} 的主要储存位点,并依赖腔内 Ca^{2+} 浓度维持其功能。体内 Ca^{2+} 平衡失调可引发 ERS 和 UPR 的激活。肌浆/ER Ca^{2+} -ATP 酶(SERCA)的功能是将 Ca^{2+} 从细胞质泵入 ER,维持 ER 内 Ca^{2+} 稳态, SERCA 功能障碍导致细胞质 Ca^{2+} 升高并引发 ERS^[30]。SERCA2 是 SERCA 家族成员之一,在代谢综合征中其活性和/或表达减少,进而导致 ERS 和 ERS 诱导的细胞凋亡^[30],其中 SERCA2 亚型 b(SERCA2b)在肾脏和条件永生小鼠足细胞中最常见。研究显示 db/db 糖尿病小鼠肾脏中 ERS 反应时 UPR 的 3 种信号途径被激活,ATF6、PERK、IRE1 α 及其下游靶标 eIF2 α 、ATF4 和 XBP1 被激活,并且诱导下游凋亡介质 C/EBP 同源蛋白(CHOP)、c-Jun-N-末端激酶(JNK)和半胱氨酸天门冬氨酸蛋白水解酶-12(caspase-12)来诱导足细胞凋亡。而 AS-IV 显著消除了 db/db 糖尿病小鼠肾脏中的 ERS 及其诱导的细胞凋亡,表现为对上述 ERS、UPR 反应分子的强烈抑制^[8]。ERS 对 Ca^{2+} 稳态的干扰也引起线粒体介导的细胞凋亡,在 db/db 糖尿病小鼠肾皮质表现为促凋亡蛋白 Bax、细胞色素 C、凋亡蛋白酶激活因子 1(APAF1)、凋亡诱导因子(AIF)水平升高及抗凋亡蛋白 Bcl-2 表达降低,这与棕榈酸引起的体外培养的足细胞溶质 Ca^{2+} 水平升高和线粒体凋亡途径一致^[8],而 AS-IV 则以剂量依赖性方式恢复基础细胞溶质 Ca^{2+} 水平,同时显著抑制细胞色素 C、APAF1、AIF 蛋白的表达,提示 AS-IV 能抑制线粒体介导的足细胞凋亡途径^[8]。以上研究表明 AS-IV 通过 ERS 和线粒体 2 个信号途径抑制足细胞凋亡,

即 SERCA-Ca²⁺-ERS-UPR 和 SERCA-Ca²⁺-ERS-线粒体途径,其能作用于这2种途径的最上游靶点,通过恢复SERCA2表达避免下游一系列级联反应的发生,但也不排除其作用于下游信号途径的某个或多个靶点。相似的研究显示 AS-IV 通过上调 SERCA2b 和 AMP 活化蛋白激酶 α (AMPK α) 表达,减弱因 SERCA2b 表达不足引起的 ERS,以及减弱由 ERS 和 AMPK α 促进的自噬来减少足细胞凋亡^[31]。另有研究证实 AS-IV 在 STZ 诱导的 DN 大鼠和依霉素诱导的体外足细胞中,通过抑制 ERS-PERK-eIF2 α -JNK 信号途径来抑制足细胞凋亡^[9];以及 AS-IV 通过下调 PERK-ATF4-CHOP 信号通路抑制 ERS 诱导的 DN 大鼠足细胞凋亡^[10]。

1.4 抑制 TRPC6/Ca²⁺/CaN/NFAT 信号途径

瞬时受体电位 (TRP) 通道属于阳离子通道的异质超家族,参与许多生物功能调节,其中包括调节 Ca²⁺ 稳态。TRP 通道的刺激诱导 Ca²⁺ 流入细胞并随后激活蛋白激酶^[32]。瞬时受体电位通道 6 (TRPC6) 是足细胞中主要的 Ca²⁺ 内流通路^[33]。TRPC6 的下游信号传导包括 2 种钙依赖性转录因子的激活,活化 T 细胞核因子 (NFAT) 和 cAMP 反应元件结合蛋白^[32]。NFAT 是钙调神经磷酸酶 (CaN) 的底物,属于 Ca²⁺ 依赖性转录因子。灭活细胞中 NFAT 高度磷酸化并位于细胞质,在去磷酸化后转移到细胞核,并在细胞核刺激基因转录。已有研究证实 TRPC6/Ca²⁺/CaN/NFATc1 信号通路参与足细胞损伤^[34]。研究显示 AS-IV 通过抑制 HG 刺激的足细胞中 TRPC6 的上调,降低了细胞内 Ca²⁺ 流入水平。在 HG 诱导的足细胞中活化 T 细胞核因子 2 (NFAT2, TRPC6 信号传导途径的下游蛋白) 上调,并在细胞核部位积累,即 NFAT2 出现核转位。AS-IV 可抑制这一现象,降低 NFAT2 表达,具体表现为上调细胞质 NFAT2 mRNA,下调细胞核 NFAT2 mRNA^[35]。另外 AS-IV 还抑制了足细胞 Bax (细胞凋亡的指标) 表达。证实 AS-IV 通过抑制 TRPC6-Ca²⁺-CaN-NFAT2-Bax 信号途径阻止 HG 诱导的足细胞凋亡^[35]。

1.5 调节 miR-378/TRAF5 和 TUG1/TRAF5 信号途径

研究表明肿瘤坏死因子受体 (TNFR) 相关因子 5 (TRAF5) 介导核转录因子- κ B (NF- κ B) 的激活,诱导小鼠足细胞凋亡^[36]。微小 RNA (miRs) 是转录后调节基因表达的小的非编码 RNA,生物信

息学分析表明 miR-378 通过抑制 TRAF5 的 3'-UTR 活性下调 TRAF5 表达^[37]。STZ 诱导的 DN 大鼠及 HG 诱导的小鼠足细胞培养实验显示 HG 抑制了足细胞中 miR-378 的表达,并促进 TRAF5 mRNA 和蛋白的表达以及足细胞凋亡。AS-IV 干预后上调 miR-378 的表达,抑制 TRAF5 表达,减少了足细胞凋亡^[37],提示 AS-IV 可能通过调节 miR-378/TRAF5 信号途径抑制 DN 大鼠足细胞凋亡。另有研究显示牛磺酸上调基因 1 (TUG1) 表达水平在 DN 小鼠肾小球中持续降低,而 TUG1 在足细胞的特异性过表达改善了 DN 小鼠生化及病理学表现^[38]。TUG1 与 TRAF5 相互作用,TUG1 过表达促进 TRAF5 蛋白的降解。AS-IV 能够上调 TUG1、下调 TRAF5 的表达水平,减少 STZ 诱导的 DN 大鼠足细胞凋亡^[39]。

2 抑制肾脏纤维化

肾小管间质纤维化和肾小管萎缩在慢性肾病的发病过程中起关键作用,也是以持续性或复发性蛋白尿为特征的原发性或继发性肾病进展的主要决定因素^[40-42]。蛋白尿不仅是肾小球疾病严重程度的标志,而且是肾小球和肾小管间质进一步损伤的因素。持续暴露于大量白蛋白中的近端小管由于蛋白超负荷而导致其上皮细胞凋亡,并可能导致细胞因子、趋化因子、生长因子和血管活性分子的释放增加及补体激活,诱导间质炎症细胞浸润。管状细胞分化为肌成纤维细胞,随后出现间质纤维化,并进一步引发肾单位丢失和肾功能恶化^[43]。

2.1 抑制丝裂素活化蛋白激酶 (MAPK) /NF- κ B 信号通路

肾间质纤维化是由慢性炎症引起的肾间质成纤维细胞增生和 ECM 的过度积累。ECM 是由蛋白多糖和纤维蛋白如胶原蛋白、纤连蛋白和层黏连蛋白组成的动态结构。转化生长因子- β (TGF- β) 通过上调基质蛋白合成和抑制基质降解在组织纤维化中发挥重要作用^[44]。TGF- β 信号转导涉及经典的 Smad 依赖途径^[45]和非经典信号途径,TGF- β 通过非经典途径激活 MAPK 家族,包括细胞外信号调节激酶 (ERK)、p38MAPK 和 c-Jun-N 末端激酶 (JNK)^[46]。研究显示 AS-IV 以剂量依赖性方式抑制 TGF- β 1 诱导的大鼠肾成纤维细胞活性增加,表现在下调细胞增殖标志物增殖细胞核抗原 (PCNA) 的表达;并以剂量依赖性方式抑制 TGF- β 1 诱导的 α 平滑肌肌动蛋白 (α -SMA) 增多,进而抑制成纤维细胞的分化^[47]。另外,AS-IV 还可以通过抑制胶原蛋白 I 和

纤连蛋白生成抑制 ECM 合成^[47]。进一步研究显示 AS-IV 能抑制 TGF- β 1 诱导的肾成纤维细胞中 ERK1/2、p38MAPK 和 JNK 的活化, 并且抑制 TGF- β 1 诱导的磷酸化 I κ B α 上调和 NF- κ B p65 亚基的核转位^[47]。I κ B α 和 NF- κ B p65 来自 IKK/I- κ B/NF- κ B 信号途径^[48-49], I κ B α 是 I κ B 的家族成员, 是调控 NF- κ B 的上游关键分子; 而 NF- κ B p65 是 NF- κ B 的 5 个成员之一, 对调控靶基因转录具有关键性作用^[47]。以上研究结果表明, AS-IV 是通过调节 MAPK 和 NF- κ B 信号传导途径的活性抑制肾成纤维细胞分化和 ECM 形成, 并且通过 p38MAPK 途径抑制胶原蛋白、纤连蛋白、 α -SMA 合成进而发挥抗纤维化作用^[11-12]。

2.2 抑制 TGF- β /Smad 信号通路

TGF- β 受体是丝氨酸/苏氨酸激酶跨膜异型 I 型和 II 型受体复合物, 其经受体活化后通过 Smad 依赖性和非 Smad 依赖性传递信号^[50]。Smad 信号传导途径包括 Smad2/3 等分子^[51], 肾脏的纤维化与 Smad2/3 明显升高有关。DN 中肾小管上皮细胞间充质转化 (EMT) 为成纤维细胞, 是肾纤维化过程中细胞外基质的主要来源。TGF- β /Smad 信号通路激活使 α -SMA 蛋白表达增加^[52], α -SMA 是参与肾小管上皮细胞 EMT 过程的间充质细胞标记物, 其水平可反映肾纤维化程度。AS-IV 可降低 DN 小鼠肾中 TGF- β 1、Smad2/3 和 α -SMA 蛋白表达^[13,52], 表明其通过抑制 TGF- β /Smad 信号通路抑制肾脏纤维化和肾小管上皮细胞 EMT。

2.3 抑制 TLR4/NF- κ B 途径

当肾脏受到损伤时, 几乎所有肾脏细胞包括成纤维细胞、肾小管上皮细胞、周细胞、内皮细胞及足细胞都会参与肾脏修复和 ECM 生成^[53]。同时, 淋巴细胞、单核/巨噬细胞和其他炎症细胞通过不同途径参与肾纤维化的异常修复, 表现为炎症细胞浸润、成纤维细胞活化和增殖、ECM 积聚。NF- κ B 是调节促炎介质产生的关键转录因子, 用于确定炎症反应; 促炎介质肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-1 β (IL-1 β) 和 IL-6 等可诱导前馈炎症反应^[54]。研究显示 AS-IV 能显著减低单侧输尿管梗阻 (UUO) 肾纤维化模型小鼠纤连蛋白和胶原蛋白 I, 抑制炎症细胞浸润和炎症细胞因子分泌, 表现为减少了浸润性巨噬细胞和淋巴细胞数量及炎症细胞因子 TNF- α 和 IL-1 β mRNA 水平^[55]。体外研究显示 AS-IV 抑制了脂多糖 (LPS) 刺激的人肾小管近段

上皮细胞 (HK-2 细胞) 中炎症细胞因子 TNF- α 和 IL-1 β mRNA 水平^[55]。TLR 是 LPS 的受体之一, TLR4 是 TLR 家族的重要成员, 能诱导炎症细胞因子表达, 并作为信号通路的启动子激活 NF- κ B, 刺激促炎反应^[56]。体内、体外研究显示 AS-IV 抑制了 UUO 小鼠 TLR4、NF- κ B 表达, 上调 NF- κ B 抑制剂 I κ B β 表达, 与 TLR4 抑制剂 TAK-242 有相似效果^[55]。以上结果表明 AS-IV 可通过 TLR4/NF- κ B 途径减少肾脏纤维化过程中的炎症反应, 改善肾纤维化。AS-IV 通过抑制 TLR4/NF- κ B 信号通路减弱炎症反应已在其他研究中得到证实^[57]。

3 保护肾小管细胞

过量白蛋白通过近端小管细胞再摄取并激活一系列信号通路引起肾小管间质炎症、氧化应激、纤维化和肾小管细胞损伤和死亡^[58]。因此, 肾小管上皮细胞在协调蛋白尿诱导的肾损伤和纤维化进展中起重要作用。另外, 肾小管细胞凋亡可能导致肾小管形态学改变, 进一步导致肾小管萎缩^[59]。

AS-IV 可以改善顺铂诱导的 HK-2 细胞的毒性, 改善小鼠肾小管结构损伤^[60], 减少跨膜蛋白肾损伤分子-1 (KIM-1) 的表达。其作用机制是通过抑制 NF- κ B 途径抑制炎症反应及通过激活 Nrf2/HO-1 途径抑制氧化应激, 进而保护肾小管细胞。NF- κ B 调节并促进参与炎症过程的众多炎症介质的释放^[61]。Nrf2 是一种核转录因子, 激活后可转位于细胞核内, 诱导抗氧化蛋白类基因、抗氧化防御因子和抗炎因子类等表达, 增强组织抗氧化、抗炎及抗凋亡能力^[62]。HO-1 是广泛存在的抗氧化防御酶, 可被 Nrf2 调节^[60]。Nrf2/HO-1 途径通过诱导氧化应激参与肾小管细胞损伤并导致肾毒性^[63]。而关于 AS-IV 的抗氧化作用以及依赖于 Nrf2 信号传导的激活发挥抗氧化作用在既往研究^[63-64]中已经证实。

4 抑制肾小球系膜细胞活化

系膜细胞 (MC) 活化在许多肾纤维化相关的肾小球疾病中多有发生, MC 被激活后增加 α -SMA 蛋白表达, 进而增殖合成过量的 EMC^[65], 促进肾脏纤维化。AS-IV 可以通过调节组蛋白去乙酰化酶 1 (SIRT1)/NF- κ B 途径、增强自噬来抑制 MC 活化^[66]。SIRT1 的功能是去除蛋白质上的乙酰基团, 研究表明其通过介导 Smad7 去乙酰化抑制 TGF- β 1 诱导的 MC 凋亡^[67]。NF- κ B 可通过 SIRT1 去乙酰化调节自噬^[68]。AS-IV 能以剂量依赖方式降低 α -SMA、纤连蛋白和胶原蛋白 IV (Col IV) 表达水平, 通过促进

SIRT1 介导的 NF- κ Bp65 亚基去乙酰化抑制 NF- κ B 信号传导, 增强 MC 自噬进而抑制其增殖^[66]。

5 结语与展望

大多数慢性肾脏疾病是进行性的, 原发性肾病及糖尿病、高血压、感染、自身免疫性疾病等引起的继发性肾病中都存在足细胞凋亡、肾间质纤维化和肾小管萎缩。AS-IV 能保护足细胞防止其凋亡, 抑制肾间质纤维化, 但是关于其能防止肾小管细胞凋亡的证据则很少, 需要进一步研究证实。

AS-IV 在慢性肾脏疾病的治疗中得到广泛应用, 更多的分子机制将有待研究证实。明确 AS-IV 治疗肾脏疾病的靶标和途径能够为其在肾脏系统或其他系统疾病中的应用提供依据。另外, 已有研究表明 AS-IV 以剂量依赖方式防止足细胞凋亡和抑制肾脏纤维化^[8,21,66], 因此有必要就其剂量和安全性问题做进一步探索。

参考文献

- [1] Chu S, Wang L, Mao X D, *et al.* Improvement of Huangqi Decoction on endothelial dysfunction in 5/6 nephrectomized rats [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2016, 40(6): 1354-1366.
- [2] Zhao J, Wang L, Cao A L, *et al.* Huangqi Decoction ameliorates renal fibrosis via TGF- β /Smad signaling pathway *in vivo* and *in vitro* [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2016, 38(5): 1761-1774.
- [3] Ahmed M S, Hou S H, Battaglia M C, *et al.* Treatment of idiopathic membranous nephropathy with the herb *Astragalus membranaceus* [J]. *Am J Kidney Dis*, 2007, 50(6): 1028-1032.
- [4] Zoja C, Abbate M, Remuzzi G. Progression of renal injury toward interstitial inflammation and glomerular sclerosis is dependent on abnormal protein filtration [J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2015, 30(5): 706-712.
- [5] Tojo A, Kinugasa S. Mechanisms of glomerular albumin filtration and tubular reabsorption [J]. *Int J Nephrol*, 2012, doi: 10.1155/2012/481520.
- [6] Jiang P, Ma D, Wang X, *et al.* Astragaloside IV prevents obesity-associated hypertension by improving pro-inflammatory reaction and leptin resistance [J]. *Mol Cells*, 2018, 41(3): 244-255.
- [7] Qin S, Huang K, Fang Z, *et al.* The effect of astragaloside IV on ethanol-induced gastric mucosal injury in rats: Involvement of inflammation [J]. *Int Immunopharmacol*, 2017, doi: 10.1016/j.intimp.2017.09.011.
- [8] Guo H, Cao A, Chu S, *et al.* Astragaloside IV attenuates podocyte apoptosis mediated by endoplasmic reticulum stress through upregulating sarco/endoplasmic reticulum Ca-ATPase 2 expression in diabetic nephropathy [J]. *Front Pharmacol*, 2016, doi:10.3389/fphar.2016.00500.
- [9] Wang Z S, Xiong F, Xie X H, *et al.* Astragaloside IV attenuates proteinuria in streptozotocin-induced diabetic nephropathy via the inhibition of endoplasmic reticulum stress [J]. *BMC Nephrol*, 2015, doi: 10.1186/s12882-015-0031-7.
- [10] Chen Y, Gui D, Chen J, *et al.* Down-regulation of pERK-ATF4-CHOP pathway by astragaloside IV is associated with the inhibition of endoplasmic reticulum stress-induced podocyte apoptosis in diabetic rats [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2014, 33(6): 1975-1987.
- [11] Li X, Wang X, Han C, *et al.* Astragaloside IV suppresses collagen production of activated hepatic stellate cells via oxidative stress-mediated p38 mapk pathway [J]. *Free Radic Biol Med*, 2013, doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2013.02.027.
- [12] Xu W, Shao X, Tian L, *et al.* Astragaloside IV ameliorates renal fibrosis via the inhibition of mitogen-activated protein kinases and antiapoptosis *in vivo* and *in vitro* [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2014, doi: 10.1124/jpet.114.214205.
- [13] Wang Y N, Lin C, Ren Q, *et al.* Astragaloside effect on TGF- β 1, SMAD2/3, and α -SMA expression in the kidney tissues of diabetic KKAy mice [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(6): 6828-6834.
- [14] Wang X, Gao Y, Tian N, *et al.* Astragaloside IV improves renal function and fibrosis via inhibition of miR-21-induced podocyte dedifferentiation and mesangial cell activation in diabetic mice [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2018, doi: 10.2147/dddt.s170840.
- [15] Fries J W, Sandstrom D J, Meyer T W, *et al.* Glomerular hypertrophy and epithelial cell injury modulate progressive glomerulosclerosis in the rat [J]. *Lab Invest*, 1989, 60(2): 205-218.
- [16] Kim J M, Wu H, Green G, *et al.* CD2-associated protein haploinsufficiency is linked to glomerular disease susceptibility [J]. *Science*, 2003, 300(5623): 1298-1300.
- [17] Zhang H, Luo W, Sun Y, *et al.* Wnt/ β -Catenin signaling mediated-UCH-L1 expression in podocytes of diabetic nephropathy [J]. *Int J Mol Sci*, 2016, doi: 10.3390/ijms17091404.
- [18] Liu F, Zong M, Wen X, *et al.* Silencing of histone deacetylase 9 expression in podocytes attenuates kidney injury in diabetic nephropathy [J]. *Sci Rep*, 2016, doi: 10.1038/srep33676.
- [19] Huang J, Liu G, Zhang Y M, *et al.* Urinary soluble

- urokinase receptor levels are elevated and pathogenic in patients with primary focal segmental glomerulo-sclerosis [J]. *BMC Med*, 2014, doi: 10.1186/1741-7015-12-81.
- [20] Garg P. A review of podocyte biology [J]. *Am J Nephrol*, 2018, 47(Suppl): 3-13.
- [21] Chen J, Chen Y F, Luo Y L, *et al.* Astragaloside IV ameliorates diabetic nephropathy involving protection of podocytes in streptozotocin induced diabetic rats [J]. *Eur J Pharmacol*, 2014, doi: 10.1016/j.ejphar.2014.04.037.
- [22] Lu W S, Li S, Guo W W, *et al.* Effects of Astragaloside IV on diabetic nephropathy in rats [J]. *Genet Mol Res*, 2015, 14(2): 5427-5434.
- [23] Kabekkodu S P, Chakrabarty S, Shukla V, *et al.* Mitochondrial biology: From molecules to diseases [J]. *Mitochondrion*, 2015, doi: 10.1016/j.mito.2015.07.008.
- [24] Fischer F, Hamann A, Osiewacz H D. Mitochondrial quality control: An integrated network of pathways [J]. *Trends Biochem Sci*, 2012, 37(7): 284-292.
- [25] Liu X, Wang W, Song G, *et al.* Astragaloside IV ameliorates diabetic nephropathy by modulating the mitochondrial quality control network [J]. *PLoS One*, 2017, 12(8): e0182558.
- [26] Shintani T, Klionsky D J. Autophagy in health and disease: A double-edged sword [J]. *Science*, 2004, 306(5698): 990-995.
- [27] Walter P, Ron D. The unfolded protein response: From stress pathway to homeostatic regulation [J]. *Science*, 2011, 334(6059): 1081-1086.
- [28] Yamada K E, Eckhart C D. Boric acid activation of eIF2 α and Nrf2 is pERK dependent: A mechanism that explains how boron prevents DNA damage and enhances antioxidant status [J]. *Biol Trace Elem Res*, 2018, doi: 10.1007/s12011-018-1498-4.
- [29] Tan Z, Zhang W, Sun J, *et al.* ZIKV infection activates the IRE1-XBP1 and ATF6 pathways of unfolded protein response in neural cells [J]. *J Neuroinflammation*, 2018, doi: 10.1186/s12974-018-1311-5.
- [30] Kang S, Dahl R, Hsieh W, *et al.* Small molecular allosteric activator of the sarco/endoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase (SERCA) attenuates diabetes and metabolic disorders [J]. *J Biol Chem*, 2016, 291(10): 5185-5198.
- [31] Guo H J, Wang Y, Zhang X M, *et al.* Astragaloside IV protects against podocyte injury via SERCA2-dependent ER stress reduction and AMPK α -regulated autophagy induction in streptozotocin-induced diabetic nephropathy [J]. *Sci Rep*, 2017, doi: 10.1038/s41598-017-07061-7.
- [32] Thiel G, Lesch A, Rubil S, *et al.* Regulation of gene transcription following stimulation of transient receptor potential (TRP) channels [J]. *Int Rev Cell Mol Biol*, 2018, doi: 10.1016/bs.ircmb.2017.07.010.
- [33] Ji T, Zhang C, Ma L, *et al.* TRPC6-Mediated Ca²⁺ signaling is required for hypoxia-induced autophagy in human podocytes [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 48(4): 1782-1792.
- [34] Liang S, Zhang H, Du Y, *et al.* RANK deficiency ameliorates podocyte injury by suppressing calcium/calcineurin/NFATc1 signaling [J]. *Kidney Blood Press Res*, 2018, 43(4): 1149-1159.
- [35] Yao X M, Liu Y J, Wang Y M, *et al.* Astragaloside IV prevents high glucose-induced podocyte apoptosis via downregulation of TRPC6 [J]. *Mol Med Rep*, 2016, 13(6): 5149-5156.
- [36] Wu F, Yao D S, Lan T Y, *et al.* Berberine prevents the apoptosis of mouse podocytes induced by TRAF5 overexpression by suppressing NF- κ B activation [J]. *Int J Mol Med*, 2018, 41(1): 555-563.
- [37] Lei X, Zhang B D, Ren J G, *et al.* Astragaloside suppresses apoptosis of the podocytes in rats with diabetic nephropathy via miR-378/TRAF5 signaling pathway [J]. *Life Sci*, 2018, doi: 10.1016/j.lfs.2018.05.037.
- [38] Long J, Badal S S, Ye Z, *et al.* Long noncoding RNA Tug1 regulates mitochondrial bioenergetics in diabetic nephropathy [J]. *J Clin Invest*, 2016, 126(11): 4205-4218.
- [39] Lei X, Zhang L, Li Z, *et al.* Astragaloside IV/lncRNA-TUG1/TRAF5 signaling pathway participates in podocyte apoptosis of diabetic nephropathy rats [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2018, doi: 10.2147/dddt.s166525.
- [40] Hall I E, Parikh C R, Schröppel B, *et al.* Procurement biopsy findings versus kidney donor risk index for predicting renal allograft survival [J]. *Transplant Direct*, 2018, 4(8): e373.
- [41] Sun Z J, Li X Q, Chang D Y, *et al.* Complement deposition on renal histopathology of patients with diabetic nephropathy [J]. *Diabetes Metab*, 2018, doi: 10.1016/j.diabet.2018.08.011.
- [42] Srivastava A, Palsson R, Kaze A D, *et al.* The prognostic value of histopathologic lesions in native kidney biopsy specimens: Results from the boston kidney biopsy cohort study [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2018, 29(8): 2213-2224.
- [43] Bazzi C, Rizza V, Olivieri G, *et al.* Tubular reabsorption of high, middle and low molecular weight proteins according to the tubulo-interstitial damage marker N-acetyl-b-D-glucosaminidase in glomerulonephritis [J]. *J Nephrol*, 2015, 28(5): 541-548.
- [44] Isaka Y. Targeting TGF- β signaling in kidney fibrosis [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, doi: 10.3390/ijms19092532.

- [45] Overstreet J M, Samarakoon R, Meldrum K K, *et al.* Redox control of p53 in the transcriptional regulation of TGF-beta1 target genes through SMAD cooperativity [J]. *Cell Signal*, 2014, 26(7): 1427-1436.
- [46] Shi Y, Massagué J. Mechanisms of TGF-beta signaling from cell membrane to the nucleus [J]. *Cell*, 2003, 113(6): 685-700.
- [47] Che X J, Wang Q, Xie Y Y, *et al.* Astragaloside IV suppresses transforming growth factor-b1 induced fibrosis of cultured mouse renal fibroblasts via inhibition of the MAPK and NF-κB signaling pathways [J]. *Biochem Bioph Res Commun*, 2015, 464(4): 1260-1266.
- [48] Shin N R, Kim C, Seo C S, *et al.* Galgeun-tang attenuates cigarette smoke and lipopolysaccharide induced pulmonary inflammation via IκBα/NF-κB signaling [J]. *Molecules*, 2018, doi: 10.3390/molecules23102489.
- [49] Lee J, Choi J, Kim S, *et al.* Effective suppression of pro-inflammatory molecules by DHCA via IKK-NF-κB pathway, *in vitro* and *in vivo* [J]. *Br J Pharmacol*, 2015, 172(13): 3353-3369.
- [50] Chen W, ten Dijke P. Immunoregulation by members of the TGF-β superfamily [J]. *Nat Rev Immunol*, 2016, 16(12): 723-740.
- [51] Nickel J, ten Dijke P, Mueller T D. TGF-β family co-receptor function and signaling [J]. *Acta Biochim. Biophys Sin*, 2018, 50(1): 1-25.
- [52] Qi W, Niu J, Qin Q, *et al.* Astragaloside IV attenuates glycated albumin-induced epithelial-to-mesenchymal transition by inhibiting oxidative stress in renal proximal tubular cells [J]. *Cell Stress Chaperon*, 2014, 19(1): 105-114.
- [53] Yang Y, Song M, Liu Y, *et al.* Renoprotective approaches and strategies in acute kidney injury [J]. *Pharmacol Ther*, 2016, doi: 10.1016/j.pharmthera.2016.03.015.
- [54] Qian D, Wei G, Xu C, *et al.* Bone marrow-derived mesenchymal stem cells (BMSCs) repair acute necrotized pancreatitis by secreting microRNA-9 to target the NF-κB1/p50 gene in rats [J]. *Sci Rep*, 2017, doi: 10.1038/s41598-017-00629-3.
- [55] Zhou X, Sun X, Gong X, *et al.* Astragaloside IV from *Astragalus membranaceus* ameliorates renal interstitial fibrosis by inhibiting inflammation via TLR4/NF-κB *in vivo* and *in vitro* [J]. *Int Immunopharmacol*, 2017, doi: 10.1016/j.intimp.2016.11.006.
- [56] Chen Z, Liu X, Yu G, *et al.* Ozone therapy ameliorates tubulointerstitial inflammation by regulating TLR4 in adenine-induced CKD rats [J]. *Ren Fail*, 2016, 38(5): 822-830.
- [57] Yang J, Wang H X, Zhang Y J, *et al.* Astragaloside IV attenuates inflammatory cytokines by inhibiting TLR4/NF-κB signaling pathway in isoproterenol-induced myocardial hypertrophy [J]. *J Ethnopharmacol*, 2013, 150(3): 1062-1070.
- [58] Eddy A A. Proteinuria and interstitial injury [J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2004, 19(2): 277-281.
- [59] Thomas M E, Brunskill N J, Harris K P, *et al.* Proteinuria induces tubular cell turnover: A potential mechanism for tubular atrophy [J]. *Kidney Inter*, 1999, 55(3): 890-898.
- [60] Yan W, Xu Y, Yuan Y, *et al.* Renoprotective mechanisms of Astragaloside IV in cisplatin-induced acute kidney injury [J]. *Free Radic Res*, 2017, doi: 10.1080/10715762.2017.1361532.
- [61] Ozkok A, Ravichandran K, Wang Q, *et al.* NF-kappaB transcriptional inhibition ameliorates cisplatin-induced acute kidney injury (AKI) [J]. *Toxicol Lett*, 2016, 240(1): 105-113.
- [62] 孙宪昌, 郭俊, 姜明春, 等. 人参皂苷 Rg₁ 通过 Akt-Nrf2 信号通路拮抗顺铂诱导的豚鼠耳毒性作用研究 [J]. *中草药*, 2018, 49(14): 3309-3317.
- [63] Chen Q Q, Su Y, Ju Y H, *et al.* Astragalosides IV protected the renal tubular epithelial cells from free fatty acids-induced injury by reducing oxidative stress and apoptosis [J]. *Biomed Pharmacoth*, 2018, doi: 10.1016/j.biopha.2018.09.049.
- [64] Gu D M, Lu P H, Zhang K, *et al.* EGFR mediates astragaloside IV-induced Nrf2 activation to protect cortical neurons against *in vitro* ischemia/reperfusion damages [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2015, 457(3): 391-397.
- [65] Abboud H E. Mesangial cell biology [J]. *Exp Cell Res*, 2012, 318(9): 979-985.
- [66] Wang X, Gao Y, Tian N, *et al.* Astragaloside IV represses high glucose-induced mesangial cells activation by enhancing autophagy via SIRT1 deacetylation of NF-κB p65 subunit [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2018, doi: 10.2147/dddt.s174058.
- [67] Kume S, Haneda M, Kanasaki K, *et al.* SIRT1 inhibits transforming growth factor beta-induced apoptosis in glomerular mesangial cells via Smad7 deacetylation [J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(1): 151-158.
- [68] Nopparat C, Sinjanakhom P, Govitrapong P. Melatonin reverses H₂O₂-induced senescence in SH-SY5Y cells by enhancing autophagy via sirtuin 1 deacetylation of the RelA/p65 subunit of NF-κB [J]. *J Pineal Res*, 2017, 63(1): e12407.