

- 2008, 26(4): 276-277.
- [10] 蒋亚斌, 聂立红, 荆春霞. 2 型糖尿病糖化血红蛋白控制率及其与并发症的关系 [J]. 南方医科大学学报, 2008, 28 (12): 2180-2182.
- [11] King G L. The role of inflammatory cytokines in diabetes and its complications [J]. *J Periodontol*, 2008, 79 (8): 1527-1529.
- [12] 马越鸣, 闫晶超, 王天明, 等. 泻心汤在急性炎症模型动物上的抗炎效应 [J]. 中国药理学通报, 2006, 22 (11): 1393-1394.

六味地黄加味胶囊对糖尿病肾病大鼠肾脏蛋白激酶 C 活性及结缔组织生长因子的影响

唐 庆¹, 胡 慧¹, 王全胜¹, 范 恒¹, 马晓红²

(1. 华中科技大学同济医学院 协和医院, 湖北 武汉 430022; 2. 湖北中医学院, 湖北 武汉 430065)

摘 要:目的 观察六味地黄加味胶囊对糖尿病肾病 (DN) 大鼠肾脏的保护作用, 对肾脏蛋白激酶 C (PKC) 活性及结缔组织生长因子 (CTGF) 表达的影响。方法 ip 链脲佐菌素 (STZ) 建立大鼠 DN 模型, 模型成功后随机分为 5 组: 对照组、模型组、洛汀新组、六味地黄加味胶囊组、洛汀新与六味地黄加味胶囊合用组, 药物干预 12 周后, 透射电镜观察各组大鼠肾脏超微结构, 免疫组织化学法检查肾皮质 CTGF 表达, 检测相对肾质量、血糖、尿白蛋白排泄率 (UPER)、血肌酐 (SCr)、尿肌酐 (UCr)、内生肌酐清除率 (CCr)、肾脏 PKC 活性等。结果 DN 大鼠肾脏胶原沉积明显, 相对肾质量、血糖、UPER、CCr、肾脏 PKC 活性、肾皮质 CTGF 表达等显著升高, 洛汀新、六味地黄加味胶囊及两药合用均可降低肾脏 PKC 活性和肾皮质 CTGF 的表达, 改善 DN 大鼠蛋白尿、肾功能, 减轻肾脏胶原沉积, 两药合用能更显著降低肾脏 PKC 活性、肾皮质 CTGF 的表达, 降低蛋白尿和改善肾功能作用更强。结论 洛汀新、六味地黄加味胶囊及两药合用均能保护 DN 大鼠肾脏, 且两药合用较单用洛汀新作用更强。

关键词: 六味地黄加味胶囊; 糖尿病肾病; 蛋白激酶 C; 结缔组织生长因子

中图分类号: R285.5

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2010)01-0077-05

Effects of Liuwei Dihuang Jia wei Capsula on renal protein kinase C activity and connective tissue growth factor of diabetic nephropathy rats

TANG Qing¹, HU Hui¹, WANG Quan-sheng¹, FAN Heng¹, MA Xiao-hong²

(1. Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, China;

2. Hubei College of Traditional Chinese Medicine, Wuhan 430065, China)

Abstract : Objective To investigate the protection of Liuwei Dihuang Jia wei Capsula (LDJ Capsula, Rehmanniae Capsula of Six Ingredients) on diabetic nephropathy (DN) rats' kidney and effect on renal protein kinase C (PKC) activity and connective tissue growth factor (CTGF) of DN rats. **Methods** The DN rat models were induced by ip injection of streptozotocin (STZ). The rats were randomly divided into five groups: control group; DN model group; Lotensin group; LDJ Capsula group; and Lotensin and LDJ Capsula combination group. Drug intervention term was 12 weeks. Renal ultrastructure was observed by transmission electron microscope and Masson staining. Relative kidney weight, blood glucose level, serum and urine creatinine content, creatinine clearance, excretion rate of the 24 hour urine protein, renal PKC activity, and CTGF expression in renal cortex were measured by immunohistochemistry. **Results** Deposition of collagen in renal of DN rats was conspicuous. Relative kidney weight, blood glucose level, serum and urine creatinine content, creatinine clearance, excretion rate of 24 h urine protein, renal PKC activity and CTGF expression of DN rats increased obviously. All Lotensin, LDJ Capsula, and the combination of these two drugs could decrease renal PKC activity and CTGF expression and ameliorate proteinuria and renal function of DN rats. At the same time they all could abate the deposition of collagen in renal of DN rats. Combination of these two drugs could decrease renal PKC activity and CTGF expression more obviously and at the same time had more notable protective effect on kidney of DN rats. **Conclusion** All

收稿日期: 2009-03-16

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30600810)

作者简介: 唐 庆 (1976—), 男, 湖北人, 主治医师, 讲师, 博士, 主要从事中西医结合治疗肾脏疾病研究。

Tel: (027) 85726395 E-mail: tqing405@yahoo.com.cn

*通讯作者 范 恒 Tel: (027) 63889899 E-mail: Fanheng@yahoo.com.cn

Lotensin, LDJ Capsula, and the combination of these two drugs could protect kidney of DN rats. The combination of these two drugs has more obviously protective effect than using Lotensin only.

Key words: Liuwei Dihuang Jiawei Capsula (LDJ Capsula); diabetic nephropathy (DN); protein kinase C (PKC); connective tissue growth factor (CTGF)

糖尿病肾病 (diabetic nephropathy, DN) 是糖尿病最常见的合并症,在多种炎症因子的作用下 DN 患者出现肾脏纤维化,最终导致肾功能衰竭,是糖尿病患者死亡的主要原因之一。在因肾衰竭而进行透析或肾移植治疗中, DN 占 25%~30%,是终末期肾病的最常见原因。因此及早治疗对改善 DN 预后至关重要。大量实验及临床研究表明中药经典方剂六味地黄丸及其相关改良剂型对糖尿病具有治疗作用,同时对糖尿病并发症 DN 等具有明显的保护作用^[1,2],临床应用也比较广泛。本实验继续研究六味地黄加味胶囊治疗 DN 作用,并探讨其作用机制,进一步从实验角度证实该方疗效及其作用机制,为六味地黄加味胶囊的临床应用提供理论依据。

1 材料

1.1 实验动物:雄性 SD 大鼠 60 只,体质量 (180±20) g,由华中科技大学同济医学院实验动物中心提供[合格证号:SCXK(鄂)20042-0028]。

1.2 实验用药:六味地黄加味胶囊组方为熟地、山萸肉、山药、泽泻、丹皮、茯苓、黄芪、丹参、金樱子,以上中药材饮片由湖北省金新龙中药饮片有限公司提供,六味地黄加味胶囊由湖北省中医院药剂科制备,相当于生药 3.1 g/g,其中含熊果酸>0.03%,含丹皮酚>0.15% (使用前用生理盐水配成混悬液)。洛汀新由北京诺华制药有限公司生产,批号 04024。

1.3 主要试剂:链脲佐菌素 (STZ) 购自 Sigma 公司;兔抗大鼠结缔组织生长因子 (CTGF) 多克隆抗体及 SP 免疫试剂盒 (北京博奥森生物技术有限公司)。蛋白激酶 C (PKC) 测定试剂盒购自 Gibco 公司;γ-32 P-ATP 购自 DuPont NEN,转化生长因子-β1 (TGF-β1) ELISA 试剂盒购自 Genzyme 公司。

1.4 主要仪器:自动生化分析仪 (美国 Beckman 公司);H-600 型透射电镜;754 型紫外-可见分光光度计 (上海第三分析仪器厂);SPR-960 型自动酶标分析仪 (长春赛诺迈德公司)。

2 方法

2.1 模型制备、分组及给药:随机将 60 只大鼠分为 5 个组 (每组 12 只),分别为对照组、模型组、洛汀新组、六味地黄加味胶囊组、洛汀新与六味地黄加

味胶囊合用组。造模方法:动物适应性喂养 1 周后,禁食 12 h,将 STZ 溶解于 0.1 mol/L 枸橼酸钠缓冲液 (pH 4.5) 中,按 65 mg/kg 一次性 ip 给药制备糖尿病大鼠模型。造模后称体质量,观察 24 h 尿量、饮食量、饮水量,并每日检测血糖、尿糖,连续 3 d 空腹血糖值>16.7 mmol/L、尿糖定性++以上、尿量增加 1 倍以上为糖尿病模型形成。再继续喂养 1 周,随机抽取两只动物测尿微量白蛋白,尿微量白蛋白>15 μg/mL,确定 DN 模型形成。造模成功后进行药物干预。洛汀新组:将洛汀新研磨溶于生理盐水中,按 10 mg/kg ig 给药;六味地黄加味胶囊组:按成人与大鼠药物剂量比^[3],大鼠 ig 六味地黄加味胶囊生药 15.5 g/kg;洛汀新与六味地黄加味胶囊合用组:早晨 ig 10 mg/kg 洛汀新,中午 ig 生药 15.5 g/kg 六味地黄加味胶囊;对照组和模型组 ig 生理盐水 (体积为 2 mL/200 g),药物干预时间为 12 周。干预期间全部大鼠标准饮食,不使用胰岛素及其他降糖药物。

2.2 标本收集

2.2.1 收集尿液、血清、肾脏标本:实验结束前 1 天,用代谢笼收集 24 h 尿液,记录 24 h 尿量及饮水量。药物干预结束后用 10% 水合氯醛 ip 麻醉大鼠,称体质量,腹主动脉取血,分离血清,-20℃保存备用;取肾脏,左肾用于病理切片,右侧肾脏去包膜清洗后称质量,置液氮保存,备测 PKC 活性。空腹血糖值低于 11.1 mmol/L 的大鼠从糖尿病各组中排除,实验结束时,糖尿病各组共排除 4 只大鼠,另有 4 只大鼠死亡,最终共 52 只大鼠纳入实验。

2.2.2 肾皮质细胞胞液和膜成分的分离:分离肾皮质,每 100 mg 肾皮质组织加入 1.0 mL 缓冲液 1 (20 mmol/L Tris、0.5 mmol/L EGTA、0.5 mmol/L EDTA、10 mmol/L β-巯基乙醇、0.025 mg/mL 牛胰蛋白酶抑制剂、0.025 mg/mL 亮抑蛋白肽,pH 7.5),在冰上充分匀浆,匀浆液于 4℃、2 000×g 离心 15 min,弃沉淀物 (去除细胞核、未破碎的细胞及组织)。再于 4℃、10 000×g 离心 60 min,上清液即为胞液成分,用于检测胞液 PKC 活性。于冰浴中沉淀物用缓冲液 2 (含 0.5% Triton X-100 的缓冲液 1,pH 7.5) 匀浆,匀浆液于 4℃、2 000×g

离心 15 min, 所得上清液即为去污剂溶解的膜制剂, 用于检测胞膜 PKC 活性。

2.3 观察指标和测定方法

2.3.1 相对肾质量、血液及尿液生化指标测定: 取大鼠左肾, 精确称质量, 按下式计算相对肾质量 (肾质量/体质量); 血糖、尿白蛋白排泄率 (UPER)、血肌酐 (SCr)、尿肌酐 (UCr) 采用 Beckman 自动生化分析仪检测, 并按下式计算内生肌酐清除率 (CCr, $CCr = UCr (\mu\text{mol/L}) \times \text{尿量} (\text{mL/min}) / SCr (\mu\text{mol/L})$); ELISA 法检测血清 TGF- β 1 水平。

2.3.2 肾脏超微病理结构观察: 取肾皮质, 剪成 1 mm³ 大小。2.5% 戊二醛预固定、1% 锇酸固定、脱水、环氧树脂包埋、切片、枸橼酸铅染色、装片, 8 000 倍透射电镜下观察肾小球毛细血管基底膜、足细胞等超微结构改变并摄片。

2.3.3 免疫组织化学法检测肾皮质 CTGF 表达: 采用 SP 法检测肾皮质中的 CTGF 表达, 按 SP 试剂盒说明书进行。每张肾脏切片随机选取 10 个高倍镜视野 (400 倍), 用 HMIAS 2000 高清晰度彩色病理图文分析系统对所选视野内的棕黄色阳性信号进行图像灰度值分析, 计算各组大鼠肾组织 CTGF 的平均阳性表达率。

2.3.4 PKC 活性测定: 取肾皮质细胞胞液和胞膜制备剂分别用 Lowry 法进行蛋白定量后, 采用 PKC 试剂盒方法测定胞液和胞膜中 PKC 活性, 底

物为髓鞘碱性蛋白肽 MBP4214 (Gln2Lys2-Arg2Pro2Ser2Gln2Arg2Ser2Lys2Tyr2Leu), PKC 活性以单位时间内每毫克蛋白质催化 ATP 的 pmol 数表示。

2.4 统计方法: 实验资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用方差分析, 结果用 SPSS 12.0 统计软件包处理。

3 结果

3.1 各组大鼠相对肾质量、血糖、UPER、CCr、血清 TGF- β 1、肾皮质 CTGF 表达情况: 实验结束时, 模型组大鼠相对肾质量、血糖、UPER、CCr、血清 TGF- β 1 水平均明显高于对照组 ($P < 0.05, 0.01$); 药物干预后, 3 个药物组相对肾质量、UPER、CCr、血清 TGF- β 1 水平、肾皮质 CTGF 表达较模型组显著降低 ($P < 0.05, 0.01$), 血糖与模型组无明显差异, 洛汀新与六味地黄加味胶囊合用组 UPER、血清 TGF- β 1、肾皮质 CTGF 表达与洛汀新组比较显著降低 ($P < 0.05$)。见表 1。

3.2 各组大鼠肾脏超微结构形态观察: 对照组大鼠肾脏肾小球基底膜薄厚均匀, 足细胞及内皮细胞结构完整, 足细胞足突排列整齐清晰。模型组肾小球基底膜增厚, 同一肾小球内不同部位基底膜厚薄差异明显, 足细胞肿胀, 部分足突融合、甚至消失, 部分足突肥大。3 个给药组基底膜增厚都有所改善, 肾小球滤过膜的三层结构较清晰, 足细胞无明显肿胀, 足突的融合减少。见图 1。

表 1 各组大鼠相对肾质量、血糖、UPER、CCr、血清 TGF- β 1、肾皮质 CTGF 表达情况 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Relative kidney weight, blood glucose, UPER, CCr, TGF- β 1 in serum, and CTGF expression in renal cortex in every group of rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/ (g · kg ⁻¹)	动物/ 只	相对肾质量	血糖/ (mmol · L ⁻¹)	UPER/ (mg · 24 h ⁻¹)	CCr/ (mL · min ⁻¹)	TGF- β 1/ (pg · mL ⁻¹)	CTGF/ %
对照	-	12	3.42 ± 0.20	4.88 ± 0.74	12.5 ± 1.3	2.22 ± 0.21	4.41 ± 0.34	1.86 ± 0.23
模型	-	10	6.85 ± 0.76 *	21.50 ± 4.12 **	61.6 ± 3.5 **	5.64 ± 1.58 *	16.21 ± 2.32 **	4.53 ± 0.34 **
洛汀新	0.01	9	3.99 ± 0.24 #	22.10 ± 2.72	36.3 ± 3.4 #	3.45 ± 0.32 #	10.24 ± 0.01 #	3.38 ± 0.31 #
六味地黄加味胶囊	15.5	11	3.83 ± 0.15 #	21.16 ± 2.86	37.8 ± 5.6 #	3.52 ± 0.41 #	9.55 ± 2.30 #	3.45 ± 0.41 #
洛汀新+六味地黄加味胶囊	0.01+15.5	10	3.95 ± 0.73 #	19.51 ± 4.18	31.2 ± 4.2 #	3.22 ± 0.31 #	6.86 ± 2.11 #	3.01 ± 0.26 #

与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 与模型组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$; 与洛汀新组比较: $P < 0.05$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs control group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ vs model group; $P < 0.05$ vs Lot group

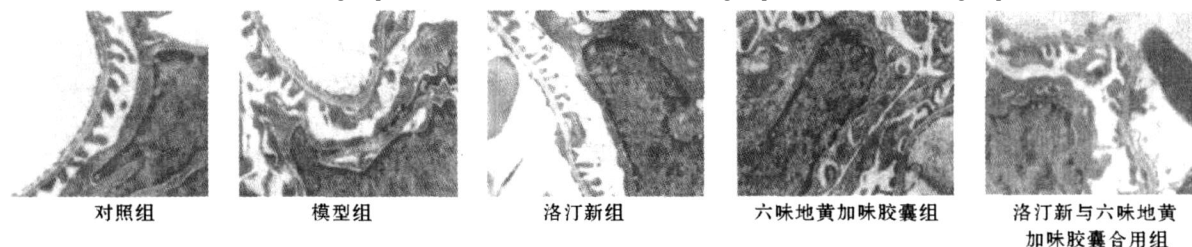


图 1 各组大鼠肾脏超微结构

Fig. 1 Ultrastructure of kidney in every group of rats

3.3 各组大鼠肾皮质 CTGF 表达情况:肾皮质 CTGF 经免疫组化染色呈棕褐色,灰度分析显示模型组肾脏 CTGF 表达较对照组明显增高 ($P < 0.01$),3 个给药组 CTGF 表达较模型组有下降趋势 ($P < 0.05, 0.01$),洛汀新与六味地黄加味胶囊合用组 CTGF 表达与洛汀新组比较更低 ($P < 0.05$)。见图 2 和表 1。

3.4 各组大鼠肾皮质组织细胞胞液和膜 PKC 活性:模型组胞液 PKC 活性明显低于对照组 ($P <$

0.05),胞膜 PKC 活性显著高于对照组 ($P < 0.01$),胞液 PKC 活性与膜 PKC 活性之比明显低于对照组 ($P < 0.01$);3 个给药组胞液 PKC 活性较模型组升高 ($P < 0.05$),胞膜 PKC 活性较模型组显著降低 ($P < 0.01$),胞液 PKC 活性与膜 PKC 活性之比高于模型组 ($P < 0.05$);洛汀新与六味地黄加味胶囊合用组胞膜 PKC 活性较洛汀新组低 ($P < 0.05$),胞液 PKC 活性与膜 PKC 活性之比高于洛汀新组 ($P < 0.05$)。见表 2。

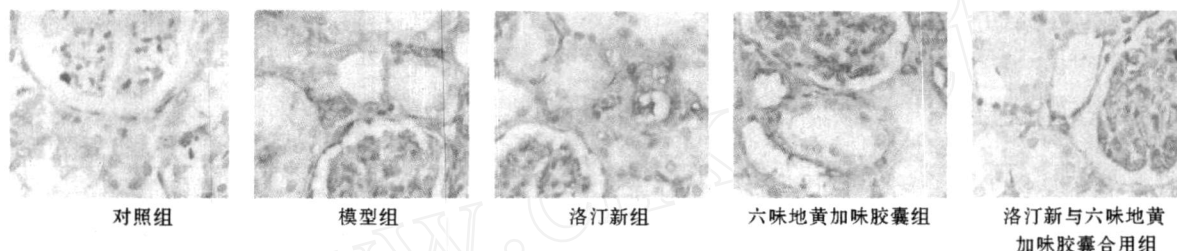


图 2 各组大鼠肾脏 CTGF 表达情况

Fig. 2 Immunohistochemistry micrographs of CTGF expression in renal cortex in every group of rats

表 2 各组大鼠肾皮质组织细胞胞液、胞膜 PKC 活性 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 PKC Activities of cytosol and cytomembrane in renal cortex in every group of rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/ (g · kg ⁻¹)	动物/ 只	胞液 PKC 活性/ (pmol · min ⁻¹ · mg ⁻¹)	胞膜 PKC 活性/ (pmol · min ⁻¹ · mg ⁻¹)	胞液 PKC 活性/ 胞膜 PKC 活性
对照	-	12	622.6 ± 56.3	85.8 ± 7.6	6.8 ± 1
模型	-	10	436.9 ± 34.7*	376.7 ± 36.8**	1.2 ± 0.1**
洛汀新	0.01	9	499.7 ± 43.2#	231.6 ± 15.7##	3.2 ± 0.2#
六味地黄加味胶囊	15.5	11	509.4 ± 55.2#	248.4 ± 21.3##	3.0 ± 0.4#
洛汀新+六味地黄加味胶囊	0.01+15.5	10	522.8 ± 41.5#	169.8 ± 15.6##	3.9 ± 0.1#

与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 与模型组比较:

$P < 0.05$ ## $P < 0.01$; 与洛汀新组比较: $P < 0.05$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs control group; # $P < 0.05$

$P < 0.01$ vs model group; $P < 0.05$ vs Lot group

4 讨论

细胞信号转导异常在糖尿病慢性并发症中的作用近年日益受到重视,近年研究显示,糖尿病时高血糖作为启动因子,诱导各种血管活性物质、细胞因子等相互作用共同影响细胞外基质 (ECM) 的合成和降解,而这一作用主要通过细胞内信号转导物质 PKC 介导,PKC 细胞内信号传导系统异常被认为在 DN 中发挥重要的作用。PKC 是一组密切相关的有多种亚型的蛋白质家族,它可被钙和磷脂激活。静息状态下 PKC 主要以无活性的形式存在于胞浆中;糖尿病状态下,由于持续性高血糖使细胞内葡萄糖流量增加,葡萄糖可通过糖酵解途径从头合成二酯酰甘油 (DAG)^[4]。DAG 为 PKC 的内源性激活

剂,当细胞内 DAG 的量增加,可促使 PKC 移位至细胞膜而被激活,始动因子 PKC 的膜转移现象为 PKC 激活的重要标志^[5]。研究显示糖尿病大鼠肾小球总 PKC 活性与对照组无显著差异,但细胞膜 PKC 活性增高了 4 倍,而胞浆 PKC 活性则显著下降,提示高糖可引起肾小球细胞内 PKC 由胞浆到胞膜移位活化,此后肾脏 PKC 活化与 DN 的关系日益受到人们重视^[6]。

DN 时肾素-血管紧张素系统 (RAS) 亢进,血管紧张素 (Ang) 产生过多是引起高血糖状态下 TGF-β1 表达增加的一个重要因素^[7]。另外 DN 时糖基化产物也可继续刺激 TGF-β1 的表达,造成肾脏损害^[8]。沈雯等^[9]研究显示,高糖导致的 TGF-β1 和 ECM 高表达可被 PKC 抑制剂 chelerythrine chloride 所阻断,Darren^[10]等的研究也显示 PKC 抑制剂可以降低实验动物的肾小球 TGF-β1 水平,提示 PKC 活化参与 DN 时 TGF-β1 的高表达。CTGF 被认为是 TGF-β1 的下游效应分子,可通过 Smads 信号直接参与纤维化过程^[11],有研究表明 PKC 活化可以通过 TGF-β1 介导 CTGF 生成,导致 DN 肾脏肥大和纤维化^[12]。

六味地黄加味胶囊是治疗糖尿病肾病的有效组方,本方在六味地黄丸方的基础上加用黄芪、丹参、金樱子,有滋阴补肾,益气通络、涩精的功效,临床上与洛汀新合用对早期糖尿病肾病浮肿、蛋白尿有较好的疗效。本实验结果显示洛汀新、六味地黄加味

胶囊及两药合用均可改善 DN 大鼠蛋白尿和肾功能,减轻肾脏胶原沉积,且两药合用较单用洛汀新可以更好控制 DN 大鼠蛋白尿。DN 大鼠肾皮质组织胞液 PKC 活性较正常大鼠下降,胞膜的 PKC 活性明显增高,胞液 PKC 活性与胞膜 PKC 活性之比显著下降,提示 DN 大鼠肾皮质细胞有 PKC 由胞浆向胞膜转移的过程,与文献报道一致^[5]。洛汀新与六味地黄加味胶囊都能提高胞液 PKC 活性,降低胞膜 PKC 活性,使胞液 PKC 活性与胞膜 PKC 活性比显著提高,降低血清 TGF- β 1 水平和肾皮质 CTGF 表达,且两药合用可以更加显著降低 DN 大鼠肾皮质胞膜 PKC 活性,提高胞液 PKC 活性与胞膜 PKC 活性比,两药合用较单用洛汀新更显著降低血清 TGF- β 1 水平和肾皮质 CTGF 的表达,说明洛汀新与六味地黄加味胶囊合用可以更有效抑制肾脏 PKC 活化,降低 TGF- β 1 水平和 CTGF 的表达。综上所述,六味地黄加味胶囊对 DN 大鼠肾脏有明显的保护作用,其作用机制与抑制肾脏 PKC 激活、降低细胞因子 TGF- β 1 及抑制肾皮质 CTGF 的表达有关,并且与洛汀新合用有协同保护肾脏的作用,对临床应用六味地黄加味胶囊治疗 DN 有指导意义。

参考文献:

- [1] 吕妍,王新,唐方. 六味地黄制剂对糖尿病肾病大鼠肾功能的影响[J]. 中草药, 2005, 36(9): 1379-1380.
- [2] 刘卿,周于禄,裴奇,等. 六味地黄丸对糖尿病肾病大鼠肾脏保护作用的研究[J]. 湖南中医药大学学报, 2007, 27(6): 40-43.
- [3] 章元沛. 药理学实验[M]. 北京:人民卫生出版社, 1996.
- [4] Koya D, King GL. Protein kinase C activation and the development of diabetic complications[J]. *Diabetes*, 1998, 47: 859-866.
- [5] Idris I, Gray S, Donnelly R. Protein kinase C activation: Isozyme-specific effects on metabolism and cardiovascular complications in diabetes[J]. *Diabetologia*, 2001, 44(6): 659-673.
- [6] Craven P A, De Rubertis F R. Protein kinase C is activated in glomeruli from streptozotocin diabetic rats. Possible mediation by glucose[J]. *J Clin Invest*, 1989, 83(5): 1667-1675.
- [7] Kagami S, Border W A, Miller D E, et al. Angiotensin stimulates extracellular matrix protein synthesis through induction of transforming growth factor- β expression in rat glomerular mesangial cells[J]. *J Clin Invest*, 1994, 93(6): 2421-2427.
- [8] Singh R, Song R H, Alavi N, et al. High glucose decrease matrix metalloproteinase-2 activity in rat mesangial cells via transforming growth factor- β [J]. *Exp Nephrol*, 2001, 9(4): 249-257.
- [9] 沈雯,陆福明,林善钺,等. 蛋白激酶 C 在高糖诱导近端小管上皮细胞细胞外基质及转化生长因子 β 1 高表达中的作用[J]. 中华肾脏病杂志, 2001, 17(4): 246-249.
- [10] Darren J K, Yuan Z, Claire H, et al. Protein kinase C- β inhibition attenuates the progression of experimental diabetic nephropathy in the presence of continued hypertension[J]. *Diabetes*, 2003, 52(2): 512-518.
- [11] Wahab N A, Weston B S, Mason R M. Modulation of the TGF- β /Smad signaling pathway in mesangial cells by CTGF/CCN2[J]. *Exp Cell Res*, 2005, 307(2): 305-314.
- [12] Furlong F, Crean J, Thornton L, et al. Dysregulated intracellular signaling impairs CTGF-stimulated responses in human mesangial cells exposed to high extracellular glucose[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2007, 292(6): 1691-1700.

双氢青蒿素诱导前列腺癌 PC-3 细胞凋亡及其机制研究

高小玲¹, 罗子国¹, 王丕龙², 李庆春¹

(1. 重庆医科大学生命科学研究院, 重庆 400016; 2. 重庆医科大学附属第一医院 消化内科, 重庆 400016)

摘要:目的 研究双氢青蒿素对前列腺癌 PC-3 细胞的凋亡诱导作用,并探讨其可能的机制。方法 MTT 法测定不同浓度双氢青蒿素对 PC-3 细胞增殖的影响,流式细胞仪 (FCM)、透射电镜 (TEM) 观察双氢青蒿素对 PC-3 细胞的凋亡诱导作用,免疫组化 (SP) 检测双氢青蒿素对 PC-3 细胞内 Bax、Bcl-2 蛋白阳性表达的影响。结果 双氢青蒿素对 PC-3 细胞有明显增殖抑制效应,能诱导 PC-3 细胞凋亡且具有浓度-时间依赖性,导致 PC-3 细胞线粒体肿胀、核碎裂、凋亡小体形成;随着双氢青蒿素浓度的增加,Bcl-2 蛋白阳性表达降低,而 Bax 蛋白阳性表达增加。结论 双氢青蒿素可能通过上调 Bax,下调 Bcl-2 蛋白表达诱导前列腺癌 PC-3 细胞凋亡。

关键词:双氢青蒿素; 前列腺癌; 细胞凋亡

中图分类号:R979.1; R737.2

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2010)01-0081-05

收稿日期:2009-03-16

作者简介:高小玲(1970—),女,重庆人,主治医师,博士在读,主要从事抗肿瘤机制研究。

Tel: (023) 68485838 E-mail: ling-high@163.com

*通讯作者 罗子国 Tel: (023) 68485838 E-mail: luoliangwen@yahoo.com.cn