

糖肾一号胶囊对糖尿病肾病大鼠的作用及其机制研究

苏衍进¹, 王郁金^{1*}, 王 琴², 徐军建², 赵 莉², 秦刚新², 袁秀丽¹, 杨锦欣¹, 李 科¹

1. 陕西中医药大学, 陕西 咸阳 712046

2. 陕西中医药大学附属医院, 陕西 咸阳 712000

摘要: **目的** 观察糖肾一号胶囊对糖尿病肾病(DN)大鼠的作用及可能机制。**方法** SD大鼠采用ip链脲佐菌素(STZ)方法制备DN模型,造模成功大鼠随机分为模型组,贝那普利组(1.04 g/kg),糖肾一号胶囊高、中、低剂量(9、6、3 g/kg)组,每组15只,另设对照组15只,各组连续ig给药8周,测定各组大鼠血糖、血脂、血胱抑素C、血清固醇元件结合蛋白1c(SREBP-1c)、SREBP-2c水平,进行尿微量白蛋白定量,检测各组大鼠肾组织IRS-1、PI3K、podocin蛋白表达水平。**结果** 与模型组比较,糖肾一号胶囊高、中剂量组大鼠血糖、血脂、血胱抑素C、尿微量白蛋白明显降低($P < 0.05$ 、 0.01),血清SREBP-1c和SREBP-2c水平显著降低($P < 0.05$),肾脏组织IRS-1、PI3K及podocin蛋白表达水平明显升高($P < 0.05$),而糖肾一号胶囊低剂量组升高不明显($P > 0.05$),高剂量组与中剂量组比较差异显著($P < 0.05$)。**结论** 糖肾一号胶囊对DN大鼠具有一定保护作用,其能够降低DN大鼠血糖、血脂、血胱抑素C、尿微量白蛋白水平,作用机制可能与提高肾组织podocin蛋白表达、改善肾足细胞损伤、延缓肾脏纤维化有关。

关键词: 糖肾一号胶囊; 糖尿病肾病; 血脂; 血糖; podocin; 固醇元件结合蛋白

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2017)19-4011-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.19.017

Effects of Tangshen 1st Capsule on levels of serum SREBP-1c and SREBP-2c and expression of IRS-1, PI3K, and podocin proteins in diabetic nephropathy rats

SU Yan-jin¹, WANG Yu-jin¹, WANG Qin², XU Jun-jian², ZHAO Li², QIN Gang-xin², YUAN Xiu-li¹, YANG Jin-xin¹, LI Ke¹

1. Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712046, China

2. Shaanxi University of Chinese Medicine Hospital, Xianyang 712000, China

Abstract: Objective To observe effect and possible mechanism of Tangshen 1st Capsule on diabetic nephropathy rats. **Methods** Diabetic nephropathy model was established by SD rat ip injected with STZ. Dividing model rats randomly into six groups, 15 rats in model group, 15 rats in benazepril (1.04 g/kg) group, 15 rats in Tangshen 1st Capsule (9 g/kg), 15 rats in Tangshen 1st Capsule (6 g/kg), and 15 rats in Tangshen 1st Capsule (3 g/kg) group; In addition, there were 15 rats designated as normal control group. Rats in normal control group and model group were given corresponding drugs for 8 weeks. After 8 weeks, it was time to observe the blood glucose, blood lipid, cystatin C, SREBP-1c, SREBP-2c, urinary albumin, expression of IRS-1, PI3K, and podocin protein levels in renal tissue. **Results** Compared with model group after treatment, in Tangshen 1st Capsule high-dose group and mid-dose group, blood glucose, blood lipid, cystatin C, and urinary microalbumin decreased significantly ($P < 0.05$, 0.01), SREBP-1c and SREBP-2c in serum decreased significantly ($P < 0.05$); IRS-1, PI3K, and podocin protein expression in renal tissues increased significantly ($P < 0.05$), and in low-dose group increased significantly ($P > 0.05$), in high-dose group, and mid-dose group were statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion** Tangshen 1st Capsule have protective effects on diabetic nephropathy rats, and its mechanisms are in part associated with reducing blood glucose and blood lipid, and increasing podocin protein expression.

Key words: Tangshen 1st Capsule; diabetic nephropathy; blood lipid; plasma glucose; podocin; sterol regulatory element-binding protein

收稿日期: 2017-07-04

基金项目: 陕西省教育厅科研项目(320104-203010017)

作者简介: 苏衍进(1975—),男,在职博士,研究方向为慢性肾脏病临床及实验研究。Tel: 15353150315 E-mail: suyanjin2008@126.com

*通信作者 王 琴, 护理师。Tel: (029)32087711 E-mail: suyanjin2008@126.com

糖尿病肾病 (diabetic nephropathy, DN) 是糖尿病微血管并发症, 是导致慢性肾功能衰竭的重要因素之一, 已成为糖尿病患者死亡的主要原因^[1-2]。目前研究发现, 高血糖、高血脂可能为引发 DN 的直接或间接原因^[3]。正常生理状态下, 血糖水平控制由胰岛素调节, 其发挥生物效应由其靶细胞膜上胰岛素受体 (insulin receptor, IR) 介导, 胰岛素受体底物-1^[4] (insulin receptor substrate-1, IRS-1) 是 IR 下游第 1 个底物分子, 在其信号传导途径中发挥着非常重要作用, IRS-1 磷酸化, 致使磷脂酰肌醇 3-激酶 (PI3K)^[5] 被激活, PI3K 激活后使葡萄糖进入细胞内, 调节血糖。高血脂对肾脏损害起着重要作用, 而固醇元件结合蛋白 (sterol regulatory element-binding protein, SREBPs) 直接参与调节脂肪酸、三酰甘油合成和葡萄糖代谢相关酶基因的表达^[6]。无论高血糖还是高血脂, 导致肾损害主要临床特征为蛋白尿^[7]。蛋白尿的产生主要与肾小球滤过屏障有关, podocin 是肾小球滤过屏障的重要组成部分, 因此 podocin 蛋白表达是肾小球滤过屏障功能正常与否的关键^[8-9]。糖肾一号胶囊为临床常用中药, 疗效较好^[10-11], 为探讨其机制, 本研究拟通过其对血清 SREBP-1c、SREBP-2c 水平及肾组织 IRS-1、PI3K、podocin 蛋白表达的影响, 探讨其调节血糖、血脂, 降低尿蛋白, 抑制肾脏纤维化、硬化等作用, 为临床进一步推广提供理论依据。

1 材料

1.1 实验动物

健康雄性 SD 大鼠, 体质量 200~250 g, 鼠龄 4~6 周, 第四军医大学动物中心提供, 动物合格号 SCXK (军) 2015-009, 饲料由第四军医大学提供。

1.2 药物

糖肾一号胶囊 (组方: 生黄芪 30 g、熟地黄 12 g、山药 15 g、山萸肉 12 g、泽泻 15 g、茯苓 15 g、丹皮 12 g、丹参 20 g、芡实 15 g、金樱子 15 g), 每粒 0.5 g (其中含熊果酸 > 0.03%、丹皮酚 > 0.15%), 由陕西中医药大学附属医院制剂中心提供, 批号 201436。贝那普利 (洛丁新), 10 mg, 北京诺华制药有限公司提供, 批号 X2424。

1.3 主要试剂

PI3K 多克隆抗体 (ab84512), 购自北京中杉生物技术有限公司; 水合氯醛, 国药集团化学试剂有限公司生产, 批号 20100304; 链脲佐菌素 (STZ), Calbiochem 公司, 批号 B56981; 兔抗大鼠 podocin

多克隆抗体 (ab93650), 购自美国 Abcam 公司; SREBP-1c (批号 E13C2521)、SREBP-2c (批号 E13C2525) 均购自美国 R&D 公司; 血糖 (批号 20140618)、血脂 (批号 20140893)、尿微量白蛋白 (批号 20130971) 试剂盒均购自上海源叶生物技术有限公司。

1.4 仪器

Centrifuge5417R 型离心机 (科大创新股份有限公司中佳分公司); ALC210 型电子分析天平 (北京赛多利斯仪器系统); 7600 型全自动生化分析仪 (日本日立公司); LKB-NOVA 型超薄切片机 (瑞典 LKB 公司); HQ45A 型恒温摇床 (武汉中国科学院武汉科学仪器厂); GeneGeniusBOX 全自动凝胶成像系统 (英国 Syngene 公司); One Touch II 型血糖仪及其试纸, Lifescan 公司。

2 方法

2.1 模型制备、分组及给药^[12-13]

选取雄性 SD 大鼠 120 只, 普通饲料适应性喂养 1 周, 检测血糖及尿蛋白, 均为阴性者用于实验。取出 15 只, 作为对照组, 其余大鼠一次性 ip STZ 35 mg/kg, 72 h 后测空腹血糖, 空腹血糖值 ≥ 6.7 mmol/L 确定为糖尿病模型成功, 2 周后尿微量白蛋白阳性者, 作为 DN 模型纳入研究对象。将成模的 75 只 DN 模型大鼠随机分为 5 组: 模型组, 贝那普利组 (1.04 g/kg), 糖肾一号胶囊低、中、高剂量 (3、6、9 g/kg^[14]), 分别取糖肾一号胶囊内容物 15、30、45 g, 分别溶于 100 mL 蒸馏水中, 摇晃均匀至完全溶解, 于 4 °C 冰箱冷藏备用) 组, 每组 15 只。糖肾一号胶囊各组分别 ig 给予相应药物, 贝那普利组 ig 给予贝那普利片水溶液, 给药体积为 20 mL/kg, 对照组和模型组 ig 等量生理盐水, 每天给药 1 次, 共给药 8 周。实验期间, 动物自由进食、饮水, 不使用胰岛素及其他降糖药物。

2.2 标本收集

第 8 周末次给药后用代谢笼收集大鼠 24 h 尿液; 尾静脉采空腹血留取标本测血糖; 用 3.5% 水合氯醛麻醉大鼠, 快速取出大鼠右肾, 剥去被膜, 称质量, 取肾皮质, 放入冻存管内, 立即投放到液氮中, 短暂冷却后转入 -80 °C 超低温冰箱保存, 待测。

2.3 观察指标和测定方法

尿微量白蛋白、空腹血糖、血脂、血胱抑素 C 均采用全自动生化分析仪检测; 肾脏组织 IRS-1、PI3K 蛋白阳性表达检测采用免疫组化法; podocin

蛋白表达检测采用 Western blotting 法; 蛋白检测均按试剂盒方法操作; 血清 SREBP-1c、SREBP-2c 水平检测采用 ELISA 法。肾组织进行光镜及电镜检查。

2.4 统计学方法

应用 SPSS 17.0 软件进行统计分析处理, 所有数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用单因素方差分析。

3 结果

3.1 对 DN 大鼠空腹血糖、血胱抑素 C 及尿微量白蛋白的影响

模型组大鼠空腹血糖、血胱抑素 C 及尿微量白蛋白均高于对照组 ($P < 0.01$); 糖肾一号胶囊高剂量组大鼠空腹血糖、血胱抑素 C 及尿微量白蛋白与模型组比较均显著降低 ($P < 0.01$), 糖肾一号胶囊中剂量组大鼠空腹血糖、血胱抑素 C 及尿微量白蛋白与模型组比较也显著降低 ($P < 0.05$), 而糖肾一

号胶囊低剂量组与模型组比较各项指标差异不显著 ($P > 0.05$); 糖肾一号胶囊高剂量组与中剂量组各指标比较差异显著 ($P < 0.05$)。见表 1。

3.2 对 DN 大鼠血脂水平的影响

模型组大鼠血清总胆固醇 (TC) 和三酰甘油 (TG) 水平均显著高于对照组 ($P < 0.01$); 与模型组相比, 糖肾一号胶囊高、中剂量组大鼠血清 TC、TG 水平均显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01), 且高剂量组较中剂量组作用显著 ($P < 0.05$)。见表 1。

3.3 对 DN 大鼠肾组织 IRS-1 和 PI3K 表达的影响

模型组大鼠肾脏组织 IRS-1、PI3K 阳性表达与对照组比较均显著降低 ($P < 0.05$), 糖肾一号胶囊高、中剂量组大鼠肾脏组织 IRS-1、PI3K 表达高于模型组 ($P < 0.05$ 、 0.01), 且高剂量组与中剂量组间差异显著 ($P < 0.05$)。见图 1、2 和表 2。

表 1 各组大鼠空腹血糖、血胱抑素 C、尿微量白蛋白、血脂水平比较 ($\bar{x} \pm s$, $n = 15$)

Table 1 Comparison on fasting blood glucose, serum cystatin C, urinary trace albumin, and blood lipid levels of diabetic nephropathy rats in each group ($\bar{x} \pm s$, $n = 15$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	血糖/(mmol·L ⁻¹)	尿微量白蛋白/(μg·mL ⁻¹)	血胱抑素 C/(mg·L ⁻¹)	TC/(mmol·L ⁻¹)	TG/(mmol·L ⁻¹)
对照	—	4.28 ± 0.16	8.56 ± 1.20	0.53 ± 0.05	1.36 ± 0.42	0.54 ± 0.16
模型	—	12.62 ± 1.30 ^{##}	146.28 ± 2.24 ^{##}	0.97 ± 0.17 ^{##}	15.32 ± 5.67 ^{##}	6.86 ± 1.24 ^{##}
贝那普利	1.04	11.84 ± 1.61	38.98 ± 4.36 [*]	0.75 ± 0.05 [*]	14.85 ± 3.37	6.25 ± 1.53
糖肾一号胶囊	9	7.62 ± 1.28 ^{**△}	20.42 ± 2.68 ^{**△}	0.58 ± 0.05 ^{**△}	5.39 ± 1.24 ^{**△}	1.52 ± 0.34 ^{**△}
	6	9.38 ± 1.22 [*]	30.66 ± 4.82 [*]	0.86 ± 0.04 [*]	8.16 ± 1.43 [*]	3.88 ± 1.15 [*]
	3	11.22 ± 1.06	35.88 ± 6.36	0.92 ± 0.08	10.25 ± 2.78	5.46 ± 1.62

与对照组比较: ^{##} $P < 0.01$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$; 与糖肾一号胶囊 6 g·kg⁻¹ 组比较: [△] $P < 0.05$, 下同

^{##} $P < 0.01$ vs control group; ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ vs model group; [△] $P < 0.05$ vs Tangshen 1st Capsule 6 g·kg⁻¹ group, same as below

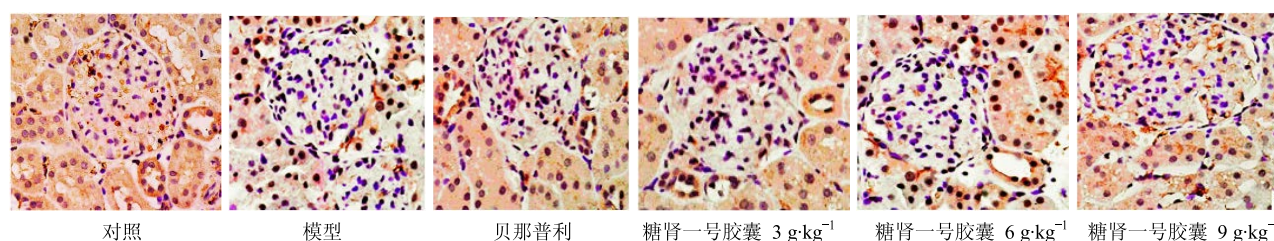


图 1 各组大鼠肾组织 IRS-1 表达免疫组化结果 (×400)

Fig. 1 Immunohistochemical staining of expression of IRS-1 in renal tissue of rats in each group (×400)

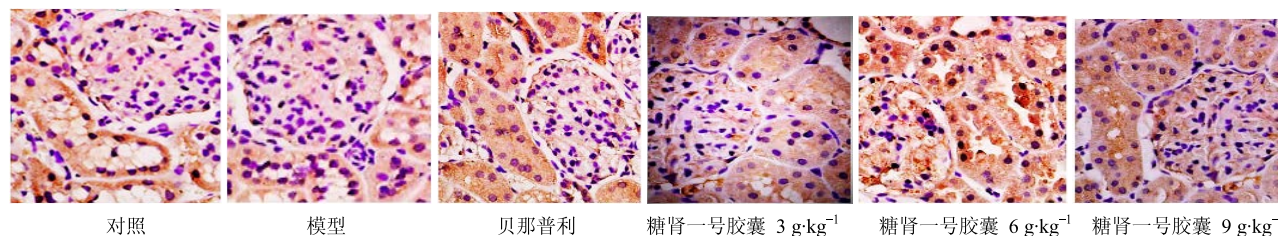


图 2 各组大鼠肾组织 PI3K 表达免疫组化结果 (×400)

Fig. 2 Immunohistochemical staining of expression of PI3K in renal tissue of rats in each group (×400)

表2 各组大鼠肾组织 IRS-1、PI3K 和 podocin 蛋白表达水平 ($\bar{x} \pm s, n = 15$)Table 2 Expression of IRS-1, PI3K, and podocin protein in renal tissue of rats in each group ($\bar{x} \pm s, n = 15$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	IRS-1	PI3K	podocin/β-actin
对照	—	0.196±0.026	0.568±0.026	0.674±0.120
模型	—	0.146±0.012 ^{##}	0.314±0.012 ^{##}	0.196±0.043 ^{##}
贝那普利	1.04	0.139±0.015	0.302±0.016	0.386±0.019
糖肾一号胶囊	9	0.187±0.034 ^{**△}	0.526±0.024 ^{**△}	0.542±0.026 ^{**△}
	6	0.158±0.015 [*]	0.422±0.018 [*]	0.416±0.013 [*]
	3	0.149±0.062	0.308±0.044	0.324±0.022

3.4 对 DN 大鼠肾组织 podocin 蛋白表达的影响

与对照组比较,模型组大鼠肾组织 podocin 蛋白表达水平显著降低 ($P < 0.01$);与模型组比较,贝那普利组、糖肾一号胶囊高、中剂量组大鼠肾组织 podocin 蛋白表达水平平均显著升高 ($P < 0.05$ 、 0.01);且糖肾一号胶囊高剂量组较中剂量组肾组织 podocin 表达水平升高 ($P < 0.05$),见图 3 和表 2。

3.5 对 DN 大鼠血清 SREBP-1c、SREBP-2c 水平的影响

与对照组比较,模型组大鼠血清 SREBP-1c、SREBP-2c 水平显著升高 ($P < 0.01$);与模型组比较,贝那普利组、糖肾一号胶囊高和中剂量组大鼠血清 SREBP-1c、SREBP-2c 水平均显著性降低 ($P < 0.05$ 、 0.01);且高剂量组大鼠血清 SREBP-1c、SREBP-2c 水平较中剂量组显著降低 ($P < 0.05$)。见表 3。

3.6 对大鼠肾组织病理形态学的影响

光镜下观察,对照组大鼠肾组织形态正常,肾小球管壁薄厚正常,管腔大小正常,无病理改变;

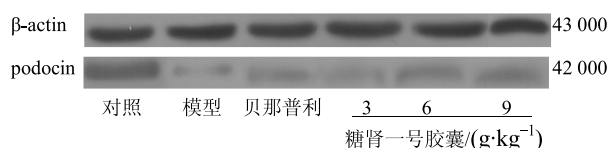


图3 各组大鼠肾组织 podocin 蛋白表达水平 (Western blotting)

Fig. 3 Expression of podocin protein in renal tissue of rats in each group (Western blotting)

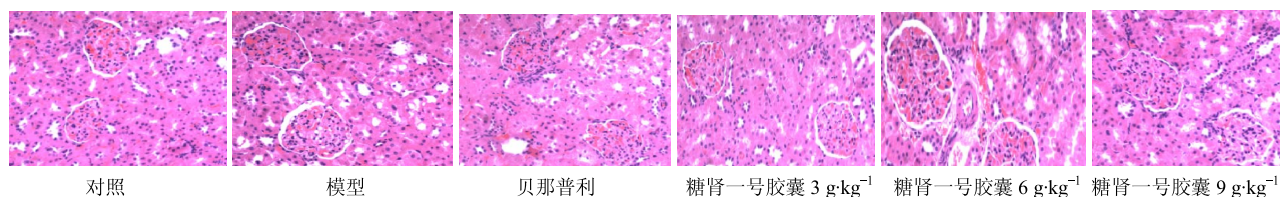


图4 各组大鼠肾脏组织病理学观察 (HE, ×400)

Fig. 4 Pathomorphology of renal tissue of rats in each group (HE, ×400)

表3 各组大鼠血清 SREBP-1c 和 SREBP-2c 水平比较 ($\bar{x} \pm s, n = 15$)Table 3 Comparison of levels of SREBP-1c and SREBP-2c in serum of rats in each group ($\bar{x} \pm s, n = 15$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	SREBP-1c/(mg·L ⁻¹)	SREBP-2c/(mg·L ⁻¹)
对照	—	6.75±1.16	4.15±1.12
模型	—	10.28±1.19 ^{##}	6.12±1.32 ^{##}
贝那普利	1.04	7.14±1.46 [*]	4.26±1.15 [*]
糖肾一号胶囊	9	7.96±1.32 ^{**△}	4.48±1.62 ^{**△}
	6	8.52±1.13 [*]	5.14±1.28 [*]
	3	9.24±1.82	5.87±1.65

模型组大鼠肾组织形态改变明显,肾小球管壁薄而肿胀,表现无规则,管腔大小不均匀,血管萎缩,肾小管上皮细胞空泡变性。盐酸贝那普利组、糖肾一号低、中、高剂量组大鼠肾组织以上病理变化明显改善。见图 4。

电镜下观察,对照组肾小球基底膜无增厚,足状突起清晰,排列有序;模型组局部足突变短、平坦、融合,呈带状结构,贴敷于基底膜,局部基底膜增厚,各给药组上述病理改变均不同程度地减轻。糖肾一号胶囊高剂量组作用最明显。见图 5。

4 讨论

DN 是糖尿病慢性并发症之一,严重危害人类健康,因此预防糖尿病并发症,尤其 DN 发生、发展及其重要。现代研究发现, DN 发生、发展与高血糖、高血脂关系比较密切。而胰岛素是调节糖代谢最主要的激素。胰岛素发挥降糖作用基本过程为

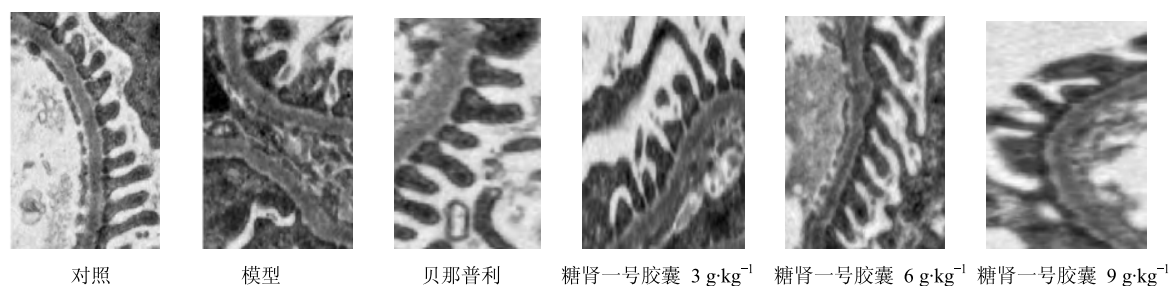


图5 各组大鼠肾小球超微结构 (×20 000)

Fig. 5 Ultrastructure of glomerular of rats in each group (× 20 000)

胰岛素与相应靶组织上的 IR 结合,导致 IR 磷酸化,磷酸化的 IR 可致第 1 个下游底物分子 IRS-1 磷酸化,磷酸化的 IRS-1 激活 PI3K,被激活的 PI3K 导致磷酸肌醇依赖的蛋白激酶 (PDK1) 激活,活化的 PDK1 可导致葡萄糖转移因子 4 (GLUT4) 的合成、分泌、移位等变化。GLUT4 对血糖的调节极其重要,因为它是直接影响葡萄糖入细胞内的细胞因子。高血脂对 DN 发生、发展亦起着重要作用,而 SREBP-1c、SREBP-2c 直接调节血脂的代谢。本研究发现,模型组大鼠肾组织 IRS-1、PI3K 平均光密度明显降低,血清 SREBP-1c、SREBP-2c 水平明显升高,导致血糖、血脂升高,进而引起 DN 发生、发展,糖肾一号胶囊治疗后,大鼠血糖、血脂明显降低,说明糖肾一号胶囊有降低血糖、血脂作用,有一定延缓 DN 发生、发展的作用。

DN 损害临床特征早期为出现微量蛋白尿;中期蛋白尿明显增多,出现临床蛋白尿;最后进展为慢性肾功能不全。目前研究表明蛋白尿产生主要原因与肾小球滤过屏障损伤有关,而滤过屏障功能障碍与足细胞损伤有关。有研究表明, nephrin-CD2AP-podocin 复合物是维持肾小球滤过功能的必要条件。podocin 是一个完整膜蛋白,在滤过膜维持结构和功能方面发挥着重要作用。本研究发现,模型组肾组织 podocin 蛋白表达明显降低,尿中微量白蛋白定量明显升高,经糖肾一号胶囊治疗后,各组肾组织 podocin 蛋白表达明显升高,尿中微量白蛋白量明显降低,说明糖肾一号胶囊有降低尿蛋白作用。

中医辨 DN 属“水肿”“尿浊”等范畴,其病机大多认为是在消渴气阴两虚基础上发展而来。消渴日久,久病则虚,久虚必有瘀^[15]。以气阴两虚,瘀血内阻为则,糖肾一号胶囊(生黄芪、熟地黄、山药、山萸肉、泽泻、茯苓、丹皮、丹参、芡实、

金樱子) 临床治疗多例患者,效果显著。方中君药生黄芪益气;臣药熟地、山药、山萸肉补肝肾;泽泻、茯苓、丹皮利水消肿;佐药丹参活血化瘀;芡实、金樱子固精缩尿。现代研究表明,黄芪^[16]一方面具有降血糖、调血脂作用,另一方面又有增强胰岛素敏感性、抑制肾小球系膜外基质增生作用;丹参具有改善肾脏微循环、消除系膜外基质作用,上述研究与本实验研究结果一致。

综上所述,糖肾一号胶囊具有一定降低血糖、血脂,降低尿微量白蛋白,提高肾组织 PI3K、podocin 蛋白表达,改善足细胞损伤,延缓肾脏纤维化的作用,且与剂量有依赖关系。其机制可能为①通过激活胰岛素信号传导系统,达到降糖作用;②调节血清 SREBP-1c、SREBP-2c 水平,调节血脂代谢;③提高肾组织 podocin 蛋白表达,改善足细胞损伤,降低尿微量白蛋白。但其确切机制有待进一步研究。

参考文献

- [1] Yang W, Lu J, Weng J, *et al.* Prevalence of diabetes a-mong men and women in China [J]. *New Engl J Med*, 2010, 362(12): 1090-1101.
- [2] Luis-Rodríguez D, Martínez-Castelao A, Górriz J L, *et al.* Patho-physiological role and therapeutic implications of inflammation in diabetic nephropathy [J]. *World J Diabetes*, 2012, 3(1): 7-18.
- [3] Fukami K, Yamagishi S, Coughlan M T, *et al.* Ramipril inhibits AGE-RAGE-induced matrix metalloproteinase-2 activation in experimental diabetic nephropathy [J]. *Diabetol Metab Syndr*, 2014, 6(1): 86-95.
- [4] 彭冰洁, 肖丽娟, 伍翔, 等. 绿原酸对高脂饲料大鼠骨骼肌糖代谢的影响 [J]. *中草药*, 2015, 46(17): 2580-2585.
- [5] 张琦, 彭洋, 宋君秋, 等. 黄芪苷 IV 通过 PI3K/Akt 信号通路抗 H₂O₂ 诱导的 H9c2 细胞氧化损伤 [J]. *中草*

- 药, 2010, 41(6): 955-959.
- [6] Wen X, Zeng Y, Liu L, *et al.* Zhenqing recipe alleviates diabetic nephropathy in experimental type 2 diabetic rats through suppression of SREBP-1c [J]. *J Ethnopharmacol*, 2012, 142(1): 144-150.
- [7] Keane W F, Lyle P A. Recent advances in management of type 2 diabetes and nephropathy lessons from the RENAAL study [J]. *Am J Kidney Dis*, 2003, 41(3): S22-S25.
- [8] Huby A C, Rastaldi M P, Caron K, *et al.* Restoration of podocyte structure and improvement of chronic renal disease in transgenic mice over-expressing renin [J]. *PLoS One*, 2009, 4(8): e6721.
- [9] Caridi G, Perfumo F, Ghiggeri G M. NPHS2 (Podocin) mutations in nephrotic syndrome. Clinical spectrum and fine mechanisms [J]. *Pediatrics*, 2005, 115(5 Pt 2): 54R-61R.
- [10] 苏衍进, 王惠玲, 王郁金, 等. 糖肾一号胶囊治疗早期糖尿病肾病 30 例 [J]. 中医杂志, 2010, 51(12): 1106-1107.
- [11] 苏衍进, 马居里, 王郁金. 糖肾一号胶囊对早期糖尿病肾病患者血浆 AngII 及 GMP140 影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(2): 227-228.
- [12] 肖 祥. 糖尿病肾病模型及研究新进展 [J]. 实用医院临床杂志, 2013, 10(3): 159-162.
- [13] Sun H, Ge N, Shao M, *et al.* Lumbrokinase attenuates diabetic nephropathy through regulating extracellular matrix degradation in streptozotocin-induced diabetic rats [J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2013, 100(1): 85-95.
- [14] 徐叔云, 陈 修, 卞如濂. 药理实验方法学 [M]. 第 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2006.
- [15] 胡筱娟, 李 群, 李 婷, 等. 糖尿病肾病中医证型与瘀血证相关性研究 [J]. 陕西中医, 2012, 33(11): 1487-1488.
- [16] 叶赏和, 傅晓骏, 郑海文, 等. 糖肾宁对早期糖尿病肾病细胞因子的影响研究 [J]. 海南医学院学报, 2010, 16(2): 145-147.