

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2020.23.001

• 基础研究 •

黄芪皂苷 II 对 STZ 诱导的糖尿病大鼠的肾脏保护作用研究 *

高崇婷¹ 桂定坤^{1,2Δ} 汪年松¹ 谢玲³ 苏君¹ 叶丹³

(1 上海交通大学附属第六人民医院 肾内科 上海 200233;

2 上海健康医学院附属第六人民医院东院 肾脏风湿科 上海 201306; 3 上海海洋大学 上海 201306)

摘要 目的:研究黄芪皂苷 II (Astragaloside- II, AS- II) 对链脲佐菌素 (Streptozocin, STZ) 诱导的糖尿病肾病 (Diabetic nephropathy, DN) 大鼠肾脏的保护作用。**方法:**将 8 周龄雄性 SD (Sprague-Dawley) 大鼠随机选取 5 只作为正常对照组, 其余大鼠予腹腔注射 55 mg/kg 剂量 STZ 建立糖尿病模型。造模成功的大鼠随机分为模型组与 AS- II 治疗组, 每组 5 只。AS- II 治疗组予 AS- II 3.2 mg/ (kg·d) 连续口服灌胃治疗 9 周, 同时正常对照组和模型组给予等量生理盐水溶液灌胃。第 9 周末, 收集大鼠 24 h 尿液测定尿微量白蛋白浓度, 留取肾脏组织观察肾脏病理改变并检测肾组织中足细胞裂孔隔膜蛋白 Nephlin、WT1 和 caspase-3 的表达。**结果:**与糖尿病模型组比较, AS- II 治疗组 DN 大鼠肾脏病理损伤明显改善, caspase-3 表达明显减少, Nephlin 和 WT1 表达增加, 尿蛋白排泄减轻 ($P < 0.05$)。**结论:**AS- II 治疗可改善 DN 大鼠肾脏足细胞凋亡, 降低尿蛋白, 具有肾脏保护作用。

关键词:糖尿病肾病; 黄芪皂苷 II; 足细胞; 凋亡**中图分类号:** R-33; R587.2; R285.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2020)23-4401-06

Renal Protective Effect of Astragaloside- II on STZ-induced Diabetic Rats*

GAO Chong-ting¹, GUI Ding-kun^{1,2Δ}, WANG Nian-song¹, XIE Ling³, SU Jun¹, YE Dan³

(1 Department of Nephrology, Shanghai Jiaotong University Affiliated Sixth People's Hospital, Shanghai, 200233, China;

2 Department of nephrorheumatology, Shanghai Health Medical College Affiliated Sixth People's Hospital East Hospital, Shanghai, 201306, China; 3 Shanghai Ocean University, Shanghai, 201306, China)

ABSTRACT Objective: To study the effects of Astragaloside- II (AS- II) on renal protection in streptozotocin (STZ) induced type 1 diabetic rats. **Methods:** Five male Sprague-Dawley (SD) rats aged 8 weeks were randomly selected as the normal control group. The rest of the rats were induced by intraperitoneal injection of STZ (55 mg/kg) to establish the model of type 1 diabetes rats. The diabetic rats were randomly divided into diabetic model group and AS- II treatment group (n=5). AS- II treatment group was given 3.2 mg/ (kg·d) solution by gavage for 9 weeks. Normal control group and diabetes model group were given the same volume by gavage for 9 weeks. At the end of the 9th week, urine albumin to creatinine ratio (ACR) and renal histopathology were examined, immunohistochemistry was used to detect the protein expression of Nephlin, WT1 and caspase-3. **Results:** Compared with diabetes model group, ACR and the renal histopathology was obviously improved, moreover, the expression of Nephlin and WT1 were up-regulated and the expression of caspase-3 were down-regulated in AS- II treatment group. **Conclusion:** Therefore, AS- II ameliorates podocyte apoptosis in STZ-induced type 1 diabetic rats, alleviate the pathological injury of the kidney, reduce ACR. has a protective effect on the kidney of STZ-induced type 1 diabetic rats, which can delay the progression of diabetic nephropathy.

Key words: Diabetic nephropathy; Astragaloside- II; Podocyte; Apoptosis**Chinese Library Classification (CLC):** R-33; R587.2; R285.5 **Document code:** A**Article ID:** 1673-6273(2020)23-4401-06

前言

糖尿病肾病 (Diabetic Nephropathy, DN) 是糖尿病常见的微血管并发症, 是慢性肾脏病 (Chronic Kidney Disease, CKD) 的主要病因之一, CKD 一旦进展至终末期肾脏病 (end-stage renal

disease, ESRD), 其肾脏损伤将不可逆转^[1]。然而, 当前临床上通过调脂、降糖及运用肾素-血管紧张素-醛固酮系统药物等治疗方法均不能彻底阻止疾病的进展。因而, 研究 DN 的发病机制, 探求有效的防治 DN 的新方法刻不容缓。足细胞 (podocyte) 是高度分化的肾小球上皮细胞, 附着于肾小球基底膜 (Glomerular

* 基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (81774052, 81573738)

作者简介: 高崇婷 (1993-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 中西医结合防治糖尿病肾病基础研究,

电话: 18817573609, E-mail: gao_tutu@sjtu.edu.cn

Δ 通讯作者: 桂定坤 (1978-), 男, 博士, 主任医师, 研究方向: 中西医结合防治肾脏病,

电话: 18017579169, E-mail: dingkungui@alu.fudan.edu.cn

(收稿日期: 2020-04-23 接受日期: 2020-05-18)

Basement Membrane, GBM)的外侧,对维持 GBM 的结构和功能至关重要,是构成肾小球滤过膜的最后一道屏障,研究表明足细胞损伤是 DN 进展的关键^[2]。因而,探索能在早期有效地抑制足细胞损伤的药物,将为防治 DN 开辟一条新的途径。在我国传统医学中,DN 属 " 消渴 "、" 水肿 " 等范畴,为本虚标实之证,气虚是其关键病机^[3]。黄芪是一种常见中药药材,迄今已有 2000 多年的历史,具有补气固表的功效,被广泛用于治疗气虚乏力、慢性肾炎蛋白尿及糖尿病等^[4]。黄芪甲苷 (Astragaloside IV, AS-IV) 是黄芪的主要活性成分之一,大量临床和实验研究表明其具有抗氧化、抗炎、免疫调节等综合生物学特性,对 DN 肾脏具有保护作用^[5,6]。黄芪皂苷 II (Astragaloside II, AS- II) 作为黄芪的另一种主要有效成份,目前有关其对 DN 肾脏的保护作用及机制的研究尚少。本研究通过建立 STZ 诱导的 1 型糖尿病大鼠模型,探究 AS- II 对 DN 肾脏的保护作用,旨在为 DN 的预防及治疗提供一条新的策略。

1 材料与方法

1.1 材料

实验所用动物为 8 周龄清洁级雄性 Sprague Dawley (SD) 大鼠,体重约 200-250g,由南京大学模式动物研究所提供 (动物许可证号:SCXK(苏)2010-0001),动物实验在上海交通大学附属第六人民医院动物房进行 (实验动物许可证号:SYXK(沪)2011-0128)。操作规范且通过动物伦理委员会审批。黄芪皂苷 II 购自上海经科化学科技有限公司(检验纯度 $\geq 98\%$);链脲佐菌素 (Streptozocin,STZ)、抗 Nephlin 抗体均购自美国 Sigma-Aldrich 公司;抗 caspase-3 抗体、抗 WT-1 抗体购自艾博抗 (Abcam)公司。全自动生化仪(日立,HITACHI 7600-120E)购于日本 Hitachi 公司;荧光显微镜购于德国 Leica 公司。

1.2 方法

1.2.1 动物分组与给药 8 周龄雄性 SD 大鼠,适应性喂养 2 周。随机取 5 只 SD 大鼠为正常对照组,其余大鼠给予腹腔注射 55 mg/kg 剂量的 STZ 溶液(溶于 0.1 mol/L 枸橼酸-枸橼酸钠缓冲液中)建立 1 型糖尿病大鼠模型,72 小时后取大鼠尾静脉血测量其随机血糖,随机血糖 ≥ 16.7 mmol/L 则表示造模成功。将造模成功的糖尿病大鼠随机分为模型组($n=5$)与 AS- II 治疗组($n=5$)。AS- II 治疗组每天给予 AS- II 3.2 mg/kg 口服灌胃,正常对照组及糖尿病模型组均予等体积的蒸馏水口服灌胃,每日灌胃 1 次,连续 9 周。

1.2.2 标本采集及检测 1) 尿液标本采集及检测方法 于灌胃第 9 周末,将大鼠置于代谢笼中收集 24 h 尿液(大鼠自主进食及饮水)。将所收集的尿液离心(3500 r/min, 10 min, 4℃),取上清,弃去沉渣,记录尿量,保存于 EP 管中,采用全自动生化仪(HITACHI 7600-120E)检测尿微量白蛋白及尿肌酐。剩余尿液置于 -80℃ 冰箱中长期保存。

2) 肾组织病理标本采集及检测方法 于灌胃第 9 周末,给予大鼠腹腔注射 1%戊巴比妥钠麻醉,打开腹腔及胸腔,暴露心脏及肾脏。经腹主动脉留取血液后,用生理盐水进行心脏灌流,灌注至双侧肾脏颜色由红色变为白色,迅速摘除肾脏,去除肾包膜,沿肾蒂剖开肾脏。将左侧肾组织置于 10%福尔马林溶液中固定,室温贮存。将固定完成后的肾脏组织进行酒精梯度

脱水,石蜡包埋、切成厚度为 2 μ m 左右的薄片,进行苏木精-伊红染色(HE)及过碘酸雪夫氏染色法 (PAS) 染色,用荧光显微镜观察并拍片。

3) 肾组织透射电镜标本采集及检测方法 沿肾皮髓交界处分离肾脏皮质,将肾皮质组织切成约 1×1×1 mm³ 大小的立方块,迅速放入 2%戊二醛固定液中,并贮存于 4℃ 冰箱。PBS 洗涤后用 1%锇酸固定液固定,常规梯度乙醇脱水,环氧树脂包埋后切成 2.0 μ m 左右厚度的切片,用 3%醋酸铀-枸橼酸铅进行染色,最后用透射电镜观察并拍片。

4) 肾组织免疫组织化学检测 将切好的肾组织石蜡切片置于 60℃ 烘箱中,烘片 30 分钟至石蜡融化。经二甲苯及梯度酒精脱蜡处理后,在沸水浴中用 EDTA 修复液进行抗原修复,用 3%过氧化氢阻断内源性过氧化物酶。用 5%山羊血清封闭(室温,30 分钟),孵育 Nephlin 第一抗体、caspase-3 第一抗体(4℃,过夜)。用 TBST 溶液清洗 3 次(每次 5 分钟),随后孵育第二抗体(室温,60 分钟),孵育完成后再用 TBST 溶液洗 3 次(每次 5 分钟)。滴加 DAB 显色液进行显色至肾组织变棕黄色,用双蒸水终止染色。用苏木素复染,经梯度酒精及二甲苯脱水处理后,用中性树胶封片。用荧光显微镜进行观察并拍片。

1.3 统计学方法

本实验数据用 GraphPad Prism 7.0、SPSS 24.0 及 Image J 软件进行分析,采取单因素方差分析对计量资料的显著性进行检验,以 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 AS- II 对 STZ 诱导的 1 型糖尿病大鼠尿蛋白的影响

尿微量白蛋白 / 肌酐比值 (Urinary albumin/creatinine ratio, ACR) 是临床检测尿蛋白排泄水平的常用指标,在糖尿病大鼠模型建立成功后,留取各组大鼠 24 小时尿液即 0 周尿液,检测其尿 ACR 水平。结果发现,与正常对照组大鼠相比,实验中糖尿病模型组和 AS- II 治疗组大鼠 ACR 水平明显升高,表明除正常对照组外其余糖尿病大鼠均出现 DN 所导致的肾功能损害。给予 AS- II 治疗组 SD 大鼠 AS- II 口服灌胃治疗,于第 9 周末,留取大鼠 24 小时尿液检测其尿 ACR。结果发现,与正常对照组相比,模型组 SD 大鼠尿 ACR 明显升高,而给予 AS- II 灌胃治疗 9 周后的大鼠 ACR 水平均较模型组有明显下降,表明 AS- II 能在一定程度上改善 STZ 诱导的糖尿病大鼠的尿微量白蛋白排泄情况,减轻 DN 大鼠蛋白尿(图 1)。

2.2 AS- II 对 STZ 诱导的 1 型糖尿病大鼠肾脏病理结构的影响

在灌胃第 9 周末留取大鼠肾脏组织标本进行 HE 及 PAS 染色。可观察到,正常组肾小球大小正常、形状规则、结构完整且清晰。与正常组相比,模型组大鼠肾脏发生显著的病理改变,GBM 增厚,细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 增多;与模型组相比,予 AS- II 治疗后, DN 大鼠的肾脏病理改变有显著改善(图 2)。

2.3 AS- II 对 STZ 诱导的 1 型糖尿病大鼠肾脏足细胞超微结构的影响

将大鼠肾脏超薄切片标本在透射电镜下观察大鼠肾脏超微结构,可观察到,与正常组相比,模型组大鼠肾脏足细胞结构破坏,足细胞足突出现融合或消失现象;与模型组相比,AS- II

治疗组大鼠的肾脏足细胞结构相对完整,足细胞足突发生融合的数量显著减少,表明其足细胞病变有所减轻(图3)。

2.4 AS-II 对 STZ 诱导的 1 型糖尿病大鼠肾脏 Nephlin 表达的影响

通过免疫组织化学方法检测了大鼠肾脏中 Nephlin 蛋白的表达情况,进一步探讨 AS-II 对 STZ 诱导的 1 型糖尿病大鼠肾脏足细胞粘附分子的影响。结果发现,与正常对照组相比,模型组大鼠肾组织中的 Nephlin 蛋白表达有明显减少,而给予 AS-II 治疗 9 周后的大鼠肾组织中 Nephlin 蛋白的表达明显上调(图4)。

2.5 AS-II 对 STZ 诱导的 1 型糖尿病大鼠肾脏 WT-1 表达的影响

WT-1 是足细胞的特异性标志,在足细胞核中表达,WT-1

的表达能反应足细胞的数目。通过免疫组织化学方法检测了大鼠肾脏中 WT-1 蛋白的表达情况,进一步探讨 AS-II 对 STZ 诱导的 1 型糖尿病大鼠肾脏足细胞数目的影响。结果发现,与正常对照组相比,模型组大鼠肾组织中的 WT-1 蛋白表达有明显减少,而给予 AS-II 治疗 9 周后的大鼠肾组织中 WT-1 蛋白的表达明显上调(图5)。

2.6 AS-II 对 STZ 诱导的 1 型糖尿病大鼠肾脏 caspase-3 表达的影响

与正常对照组相比,模型组大鼠肾组织中 caspase-3 蛋白的表达明显增多,给予 AS-II 治疗 9 周后大鼠肾组织中 caspase-3 蛋白的表达量有明显下降。

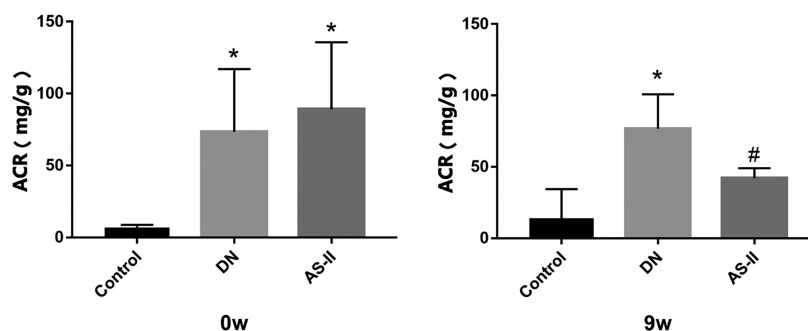


图1 AS-II 对 STZ 诱导的 1 型糖尿病大鼠蛋白尿的影响

Fig.1 Effect of AS-II on albuminuria in type 1 diabetes model rats

Note: Data were expressed as $\bar{x} \pm SD$, $n=5$. * $P < 0.05$, compared with the normal group; # $P < 0.05$, compared with the diabetic model group.

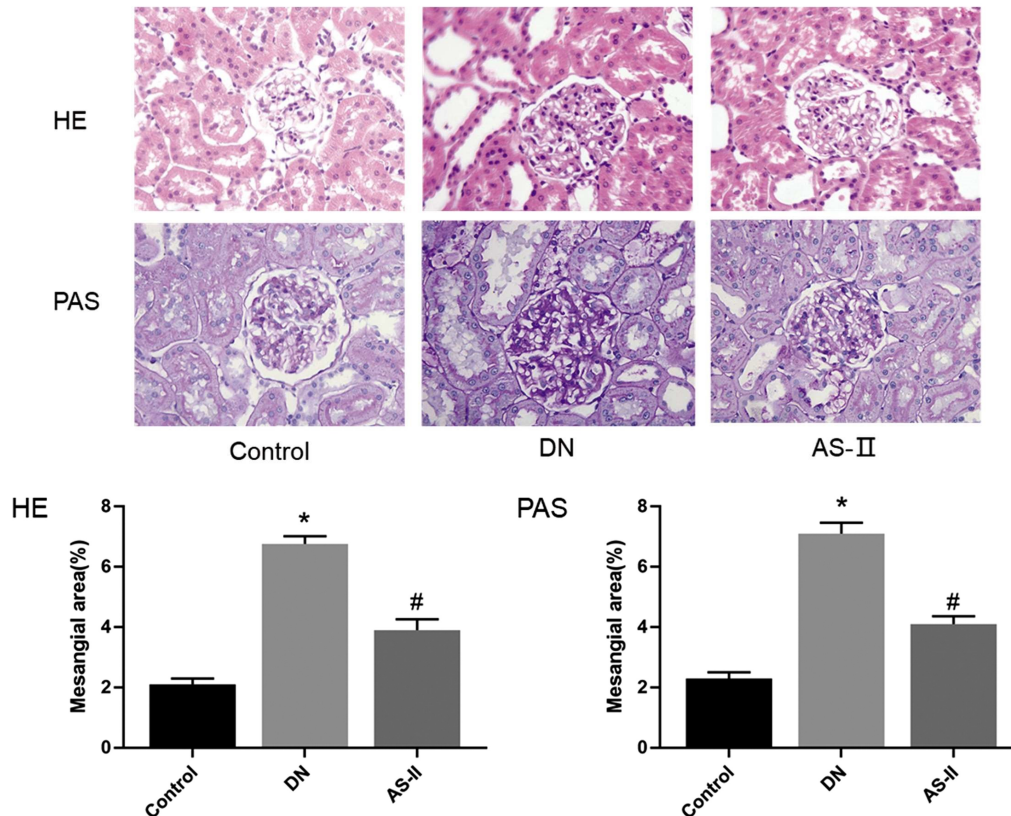


图2 AS-II 对 STZ 诱导的 1 型糖尿病大鼠肾脏病理改变的影响

Fig.2 Effect of AS-II on pathological staining in type 1 diabetes model rats

Note: HE and PAS staining of rats' kidney tissue (400 $\times$); $\bar{x} \pm SD$, $n=5$. * $P < 0.05$, compared with the normal group;

$P < 0.05$, compared with the diabetic model group.

3 讨论

糖尿病肾病(Diabetic Nephropathy, DN) 是糖尿病(diabetes mellitus, DM) 常见的微血管并发症之一,已成为我国慢性肾脏病(Chronic Kidney Disease, CKD)的主要病因, DN 一旦进展至 ESRD,其肾脏损伤将不可逆转^[1]。微量蛋白尿是糖尿病肾病临

床肾脏受损最早期、最敏感的指标,现已证实其出现与肾小球滤过屏障受损有关^[7]。DN 是一种渐进性的微血管并发症,其发病机制复杂,与多种基因、蛋白、代谢途径及环境因素相关^[8]。除了血脂升高、吸烟、高蛋白质饮食、超重和肥胖外,高血糖、高血压以及遗传因素等也是 DN 主要的危险因素^[9,10]。因此,DKD 的防治需要多靶点进行,目前临床上针对 DN 的治疗策略主要是

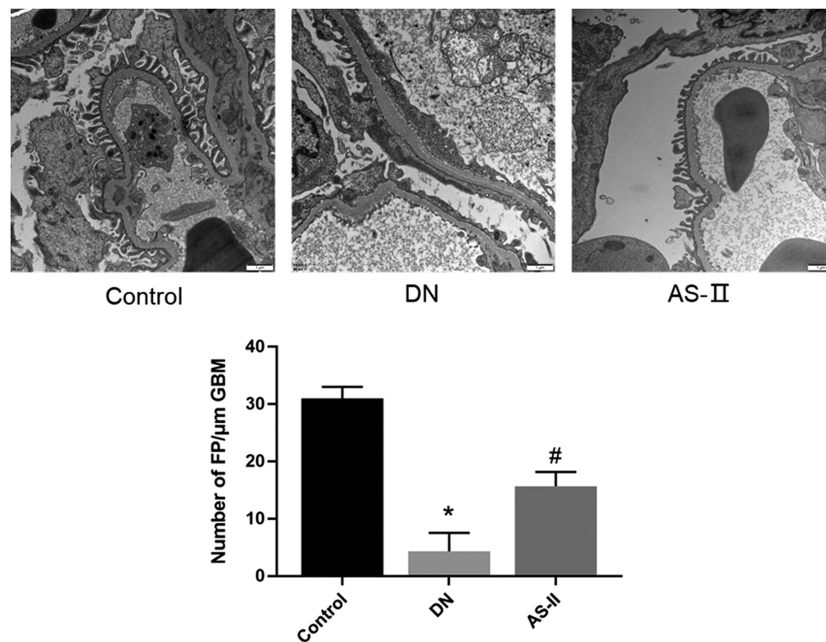


图3 AS-II 对 STZ 诱导的 1 型糖尿病大鼠肾脏足细胞超微结构的影响

Fig.3 Effect of AS-II on renal podocyte ultrastructure changes in type 1 diabetes model rats

Note: Transmission electron microscope of rats' kidney tissue (7000×); $\bar{x} \pm SD$, n=5. * $P < 0.05$, compared with the normal group;

$P < 0.05$, compared with the diabetic model group.

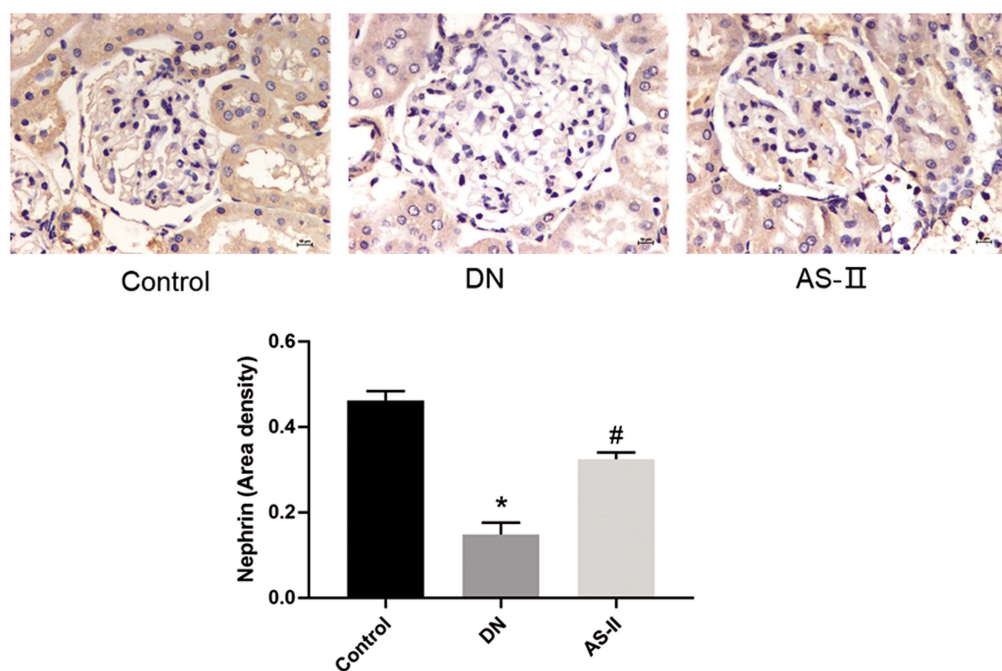


图4 AS-II 对 STZ 诱导的 1 型糖尿病大鼠肾脏 Nephlin 蛋白表达的影响

Fig.4 Effect of AS-II on Nephlin protein expression of kidney in type 1 diabetes model rats

Note: Immunohistochemical staining of rats' kidney tissue (400×); $\bar{x} \pm SD$, n=5. * $P < 0.05$, compared with the normal group;

$P < 0.05$, compared with the diabetic model group.

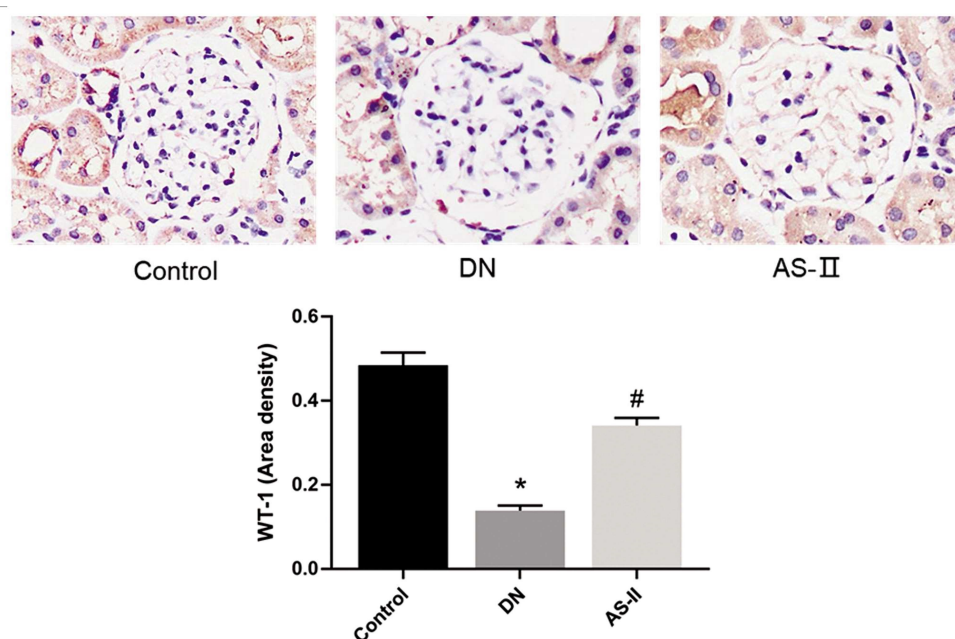


图5 AS-II对STZ诱导的1型糖尿病大鼠肾脏WT1蛋白表达的影响

Fig.5 Effect of AS-II on WT1 protein expression of kidney in type 1 diabetes model rats

Note: Immunohistochemical staining of rats' kidney tissue (400x); $\bar{x} \pm SD$, n=5. * $P < 0.05$, compared with the normal group;

$P < 0.05$, compared with the diabetic model group.

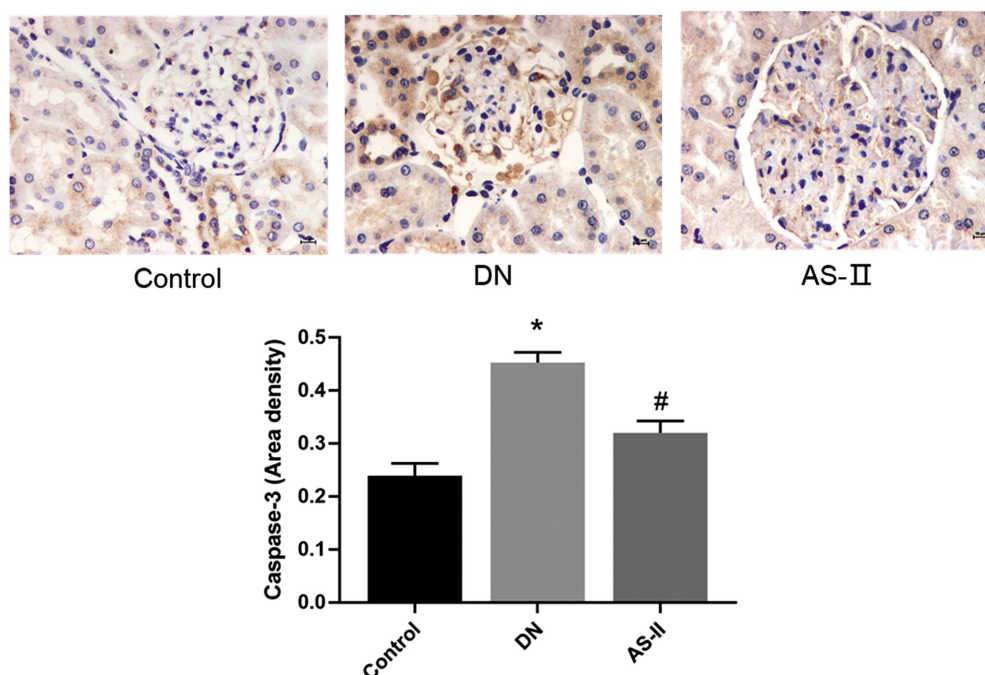


图6 AS-II对STZ诱导的1型糖尿病大鼠肾脏caspase-3蛋白表达的影响

Fig.6 Effect of AS-II on caspase-3 protein expression of kidney in type 1 diabetes model rats

Note: Immunohistochemical staining of rats' kidney tissue (400x); $\bar{x} \pm SD$, n=5. * $P < 0.05$, compared with the normal group;

$P < 0.05$, compared with the diabetic model group.

降糖、调脂、控制血压及应用阻断肾素-血管紧张素-醛固酮系统药物等,然而这些治疗措施并不能完全阻止疾病进展^[11]。因此,探索早期、有效的延缓DN进展的新方法,迫在眉睫。我国传统中医药具有多位点、整体调节的特点,通过调控疾病发生发展过程中各环节的平衡,进而发挥其疗效,在治疗DN这一多环节复杂的内分泌代谢疾病中具有其优势^[12]。在中医学中DN属于“消渴”、“水肿”的范畴,气阴两虚是DN的基本病

机。因此,益气法是DN的基本治法之一^[13]。黄芪具备补气升阳、益卫固表等效用,《本草求真》指出黄芪为补气诸药之最,作为一味“补中益气、健脾利水”的中草药被广泛应用于治疗糖尿病、慢性肾炎蛋白尿等^[14]。临床meta分析显示黄芪具有肾脏保护作用,能减少尿蛋白,改善肾功能,从而有效治疗DN^[15]。前期研究表明,黄芪及其有效成分黄芪甲苷(Astragaloside IV, AS-IV)均具有保护肾脏的作用,能够减少尿蛋白,从而有效治

疗 DN^[16,17]。AS-II 是黄芪的另一种有效成分,目前关于 AS-II 的研究尚少,AS-II 是否能减轻肾脏足细胞的损伤发挥肾脏保护作用尚不明确。本研究通过 STZ 诱导建立 1 型糖尿病大鼠模型,探讨 AS-II 这一黄芪有效成分对 DN 大鼠肾脏的疗效及可能的作用机制。与正常对照组相比,糖尿病模型组大鼠的尿微量白蛋白排泄有明显升高,此外,肾脏也发生明显的病理改变,肾小球系膜增厚,系膜基质增生。经 AS-II 治疗后,治疗组 DN 大鼠的尿微量白蛋白排泄情况较模型组明显减少,同时可观察到肾脏的病理改变也有所改善,说明 AS-II 对 DN 大鼠肾脏具有一定的保护作用。

肾小球滤过屏障与 DN 的发生发展密切相关,足细胞是一种高度分化的细胞,是构成肾小球滤过膜的最后一道屏障。近年来研究表明,足细胞损伤是启动 DN 蛋白尿和肾小球硬化的关键因素^[18],当足细胞损伤时,肾小球滤过屏障受损,进而产生蛋白尿。在糖尿病肾病状态下,足细胞发生凋亡和功能障碍,足细胞数目减少,肾小球滤过屏障受损,从而导致大量蛋白尿^[19,20]。因此, DN 是典型的足细胞损伤性疾病,蛋白尿与 DN 足细胞损伤的严重程度成正相关^[3]。高糖状态下,足细胞与肾小球基底膜之间的粘附力降低,足细胞脱落,使得肾小球基底膜裸露,继而加重 DN 进展^[21]。肾糖蛋白(Nephrin)是构成足细胞裂孔隔膜的主要蛋白^[22,23],能通过影响细胞信号转导来调控足细胞的粘附力^[24],对保护肾小球滤过屏障有重要作用^[25]其含量的多少是检测足细胞损伤的重要指标^[26]。此外,足细胞数目不仅是 DN 进展的重要标志^[19],还是预测糖尿病病人肾脏疾病预后的指标^[27]。WT-1 是足细胞的特异性标志,在足细胞核中表达。糖尿病状态下足细胞发生凋亡、脱落,WT-1 的表达能反应足细胞的数目。本研究进一步探讨了 AS-II 对足细胞 Nephrin 和 WT-1 蛋白的作用,与正常组相比,模型组 DN 大鼠肾组织中 Nephrin 和 WT-1 蛋白的表达水平明显下降,经 AS-II 治疗后,Nephrin 和 WT-1 蛋白的表达增加。由此可见,AS-II 治疗在改善足细胞脱落损伤方面发挥了一定的作用。

DN 的进展与足细胞的多种病理损伤途径密切相关,坏死、脱落和凋亡等都能引起足细胞数目的减少,其中的主要原因为脱落和凋亡^[28]。足细胞凋亡是早期 DN 进展的重要机制之一^[29]。Caspase-3 是与细胞凋亡密切相关的蛋白酶家族--含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶(cysteiny aspartate specific proteinase, Caspase)家族中的一个重要凋亡效应因子,可直接诱导细胞凋亡^[30]。本研究发现,模型组 DN 大鼠肾脏中 Caspase-3 蛋白表达水平较正常组明显升高,提示足细胞凋亡增多,经 AS-II 治疗后,肾脏 Caspase-3 蛋白的表达有所减少,说明 AS-II 治疗对改善足细胞的凋亡具有一定作用。

综上,AS-II 可下调 STZ 诱导的糖尿病大鼠肾组织中 Caspase-3 的表达,减少足细胞凋亡,同时上调足细胞相关蛋白 Nephrin 和 WT-1 蛋白的表达,增强足细胞粘附力,减少足细胞脱落,改善 DN 状态下肾脏的病理损伤,从而有效减轻 DN 大鼠的尿蛋白排泄,对 DN 具有肾脏保护作用。因此,AS-II 对 DN 的肾脏保护作用可能是通过减轻足细胞的凋亡来实现的,相关的具体信号通路我们将在后续的实验研究中进一步探讨,为防治 DN 提供新的思路和方法。

参考文献(References)

- [1] Zhang L, Long J, Jiang W, et al. Trends in Chronic Kidney Disease in China[J]. N Engl J Med, 2016, 375(9): 905-906
- [2] Hong Q, Zhang L, Das B, et al. Increased podocyte Sirtuin-1 function attenuates diabetic kidney injury[J]. Kidney Int, 2018, 93(6): 1330-1343
- [3] Xue R, Gui D, Zheng L, et al. Mechanistic Insight and Management of Diabetic Nephropathy: Recent Progress and Future Perspective[J]. J Diabetes Res, 2017, 2017: 1839809
- [4] 陈腾, 简桂花, 汪年松. 黄芪治疗糖尿病肾病的研究进展[J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2017, 18(5): 462-464
- [5] Zhao L H, Ma Z X, Zhu J, et al. Characterization of polysaccharide from Astragalus radix as the macrophage stimulator [J]. Cellular Immunology, 2011, 271(2): 329-334
- [6] Gui D, Huang J, Guo Y, et al. Astragaloside IV ameliorates renal injury in streptozotocin-induced diabetic rats through inhibiting NF- κ B-mediated inflammatory genes expression[J]. Cytokine, 2013, 61(3): 970-977
- [7] Roscioni SS, Lambers Heerspink HJ, de Zeeuw D. Microalbuminuria: target for renoprotective therapy PRO[J]. Kidney Int, 2015, 87(1): 243-244
- [8] Kitada M, Ogura Y, Monno I, et al. Regulating Autophagy as a Therapeutic Target for Diabetic Nephropathy [J]. Curr Diab Rep, 2017, 17(7): 53
- [9] Cao Z, Cooper ME. Pathogenesis of diabetic nephropathy [J]. J Diabetes Investig, 2011, 2(4): 243-247
- [10] Ahmad J. Management of diabetic nephropathy: Recent progress and future perspective[J]. Diabetes Metab Syndr, 2015, 9(4): 343-358
- [11] Futrakul N, Futrakul P. Therapeutic resistance to ACEI and ARB combination in macroalbuminuric diabetic nephropathy [J]. Clin Nephrol, 2012, 78(3): 250
- [12] 张帆, 石岩. 中医药治疗糖尿病肾病概况[J]. 实用中医内科杂志, 2016, (07): 113-115
- [13] 周迪夷, 赵进喜, 牟新, 等. 糖尿病肾病分期证候分布特点研究[J]. 北京中医药大学学报(中医临床版), 2012, (01): 38-41
- [14] Fu J, Wang Z, Huang L, et al. Review of the botanical characteristics, phytochemistry, and pharmacology of Astragalus membranaceus (Huangqi)[J]. Phytotherapy Research Ptr, 2015, 28(9): 1275-1283
- [15] 益气活血法治疗糖尿病肾病的 meta 分析[J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2014, 15(2): 156-159
- [16] Gui D, Guo Y, Wang F, et al. Astragaloside IV, a novel antioxidant, prevents glucose-induced podocyte apoptosis in vitro and in vivo[J]. PLoS ONE, 2012, 7(6): e39824
- [17] Yao XM, Liu YJ, Wang YM, et al. Astragaloside IV prevents high glucose-induced podocyte apoptosis via downregulation of TRPC6 [J]. Mol Med Rep, 2016, 13(6): 5149-56
- [18] Anil K P, Welsh G I, Saleem M A, et al. Molecular and cellular events mediating glomerular podocyte dysfunction and depletion in diabetes mellitus[J]. Front Endocrinol (Lausanne), 2014, 5: 151
- [19] Pagtalunan ME, Miller PL, Jumping-Eagle S, et al. Podocyte loss and progressive glomerular injury in type II diabetes [J]. J Clin Invest, 1997, 99(2): 342-348

- [21] 朱薇. 晚发型重度子痫前期孕妇血清硒与谷胱甘肽过氧化物酶水平的变化[J]. 武汉大学学报(医学版), 2018, 39(6): 992-995
- [22] Fountain J C, Bajaj P, Pandey M, et al. Oxidative stress and carbon metabolism influence *Aspergillus flavus* transcriptome composition and secondary metabolite production [J]. *Entific Reports*, 2016, 6(1): 38747
- [23] S H. Afroze, R R. Kalagiri, M. Reyes, et al. Apoptotic and stress signaling markers are augmented in preeclamptic placenta and umbilical cord[J]. *BBA Clinical*, 2016, 1(6): 25-30
- [24] Stepan H, Leo C, Purz S, et al. Placental localization and expression of the cell death factors BNip3 and Nix in preeclampsia, intrauterine growth retardation and HELLP syndrome [J]. *European Journal of Obstetrics & Gynecology & Reproductive Biology*, 2005, 122 (2): 172-176
- [25] Kadyrov M, Schmitz C, Black S, et al. Pre-eclampsia and Maternal Anaemia Display Reduced Apoptosis and Opposite Invasive Phenotypes of Extravillous Trophoblast[J]. *Placenta*, 2003, 24(5): 540-548
- [26] Zi-ruNiu, Tao Han, Xiao-luan Sun, et al. MicroRNA-30a-3p is overexpressed in the placentas of patients with preeclampsia and affects trophoblast invasion and apoptosis by its effects on IGF-1 [J]. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 2018, 218(2): 249
- [27] C.Linscheid, E.Heitmann, P.Singh, et al. Trophoblast expression of the minor histocompatibility antigen HA-1 is regulated by oxygen and is increased in placentas from preeclamptic women[J]. *Placenta*, 2015, 36(8): 832-838
- [28] Monika Zadrozna, Ma łgorzata Gawlik, Barbara Nowak, et al. Antioxidants activities and concentration of selenium, zinc and copper in preterm and IUGR human placentas [J]. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 2009, 23(2): 144-148
- [29] Raphaela Costa Ferreira, Marilene Brandão TenórioFragoso, Nassib BezerraBueno, et al. Oxidative stress markers in preeclamptic placentas: A systematic review with meta-analysis[J]. *Placenta*, 2020, 99(15): 89-100
- [30] Khara A, Vanderlelie J J, Holland O, et al. Overexpression of Endogenous Anti-Oxidants with Selenium Supplementation Protects Trophoblast Cells from Reactive Oxygen Species-Induced Apoptosis in a Bcl-2-Dependent Manner[J]. *Biological Trace Element Research*, 2016, 177(2): 1-10

(上接第 4406 页)

- [20] Wolf G, Chen S, Ziyadeh FN. From the periphery of the glomerular capillary wall toward the center of disease: podocyte injury comes of age in diabetic nephropathy[J]. *Diabetes*, 2005, 54(6): 1626-1634
- [21] Chen J, Chen Y, Luo Y, et al. Astragaloside IV ameliorates diabetic nephropathy involving protection of podocytes in streptozotocin induced diabetic rats[J]. *Eur J Pharmacol*, 2014, 736: 86-94
- [22] Mundel P. Podocytes and the quest for precision medicines for kidney diseases[J]. *Pflugers Arch*, 2017, 469(7-8): 1029-1037
- [23] Ruotsalainen V, Ljungberg P, Wartiovaara J, et al. Nephlin is specifically located at the slit diaphragm of glomerular podocytes[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1999, 96(14): 7962-7967
- [24] Martin CE, Jones N. Nephlin Signaling in the Podocyte: An Updated View of Signal Regulation at the Slit Diaphragm and Beyond[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2018, 9: 302
- [25] Sever S, Schiffer M. Actin dynamics at focal adhesions: a common endpoint and putative therapeutic target for proteinuric kidney diseases[J]. *Kidney Int*, 2018, 93(6): 1298-1307
- [26] Wada Y, Abe M, Moritani H, et al. Original Research: Potential of urinary nephrin as a biomarker reflecting podocyte dysfunction in various kidney disease models[J]. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2016, 241(16): 1865-1876
- [27] Meyer TW, Bennett PH, Nelson RG. Podocyte number predicts long- term urinary albumin excretion in Pima Indians with Type II diabetes and microalbuminuria [J]. *Diabetologia*, 1999, 42 (11): 1341-1344
- [28] Shankland SJ. The podocyte's response to injury: role in proteinuria and glomerulosclerosis[J]. *Kidney Int*, 2006, 69(12): 2131-2147
- [29] Shi JX, Wang QJ, Li H, et al. SIRT4 overexpression protects against diabetic nephropathy by inhibiting podocyte apoptosis [J]. *Exp Ther Med*, 2017, 13(1): 342-348
- [30] Rodríguez-Hernández A, Brea-Calvo G, Fernández-Ayala DJ, et al. Nuclear caspase-3 and caspase-7 activation, and poly (ADP-ribose) polymerase cleavage are early events in camptothecin-induced apoptosis[J]. *Apoptosis*, 2006, 11(3): 453