

# 人参皂苷 Rg3 对低密度脂蛋白诱导的肾小球系膜细胞 TGF-β/Smad/NF-κB 通路及细胞凋亡的影响 \*

李胜涛<sup>1</sup> 夏川<sup>1</sup> 曹红<sup>1</sup> 徐玉娟<sup>1</sup> 黄红娟<sup>1</sup> 周丹旎<sup>1</sup> 阳爱丽<sup>1</sup> 阳帆<sup>2,3,†</sup>

[中图分类号] R446.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-1740(2023)01-0008-06

**【摘要】 目的:**分析人参皂苷 Rg3 对低密度脂蛋白(LDL)诱导人肾小球系膜细胞(HMC)转化生长因子-β/Smad/核因子 kappa B(TGF-β/Smad/NF-κB)通路及细胞凋亡的影响。**方法:**将 HMC 细胞分为对照组(不做任何处理)、LDL 组( $40\mu\text{g}/\text{ml}$  的 LDL 处理)、人参皂苷 Rg3 低浓度组(LDL  $40\mu\text{g}/\text{ml}$ +人参皂苷 Rg3  $15\mu\text{mol}/\text{L}$ )、人参皂苷 Rg3 中浓度组(LDL  $40\mu\text{g}/\text{ml}$ +人参皂苷 Rg3  $30\mu\text{mol}/\text{L}$ )、人参皂苷 Rg3 高浓度组(LDL  $40\mu\text{g}/\text{ml}$ +人参皂苷 Rg3  $60\mu\text{mol}/\text{L}$ )。采用 MTT 法检测 HMC 细胞增殖活性;Western Blotting 法检测通路相关蛋白 TGF-β、Smad2、Smad3、NF-κB 以及 B 淋巴细胞瘤基因相关 x 蛋白(Bax)、B 淋巴细胞瘤基因-2(Bcl-2)和半胱天冬酶-3(Caspase-3)细胞凋亡相关蛋白的表达水平。**结果:**与对照组相比,LDL 组 HMC 细胞增殖活性、TGF-β、Smad2、Smad3、NF-κB 蛋白表达水平明显升高,差异均有统计学意义( $P<0.01$ );与 LDL 组相比,人参皂苷 Rg3 低、中、高浓度组 HMC 细胞增殖活性、TGF-β、Smad2、Smad3、NF-κB、Bcl-2 蛋白表达水平明显降低,HMC 细胞凋亡率、Bax 和 Caspase-3 的蛋白水平明显升高,并呈浓度依赖性,差异均有统计学意义( $P<0.01$ )。**结论:**人参皂苷 Rg3 可抑制 LDL 诱导的 HMC 细胞增殖,促进其凋亡,其作用机制可能与 TGF-β/Smad/NF-κB 信号通路密切相关。

**【关键词】** 人参皂苷 Rg3; 低密度脂蛋白; 肾小球系膜细胞; TGF-β/Smad/NF-κB 通路; 凋亡

## The Effects of Ginsenoside Rg3 on TGF-β/Smad/NF-κB Pathway and Apoptosis of Human Mesangial Cells Induced by Low Density Lipoprotein

LI Sheng-tao<sup>1</sup>, XIA Chuan<sup>1</sup>, CAO Hong<sup>1</sup>, XU Yu-juan<sup>1</sup>, HUANG Hong-juan<sup>1</sup>, ZHOU Dan-ni<sup>1</sup>, YANG Ai-li<sup>1</sup>, YANG Fan<sup>2,3,†</sup>

<sup>1</sup>Laboratory of Chenzhou First People's Hospital, Chenzhou 423000, China; <sup>2</sup>Hunan Medical College, Huaihua 418000, China; <sup>3</sup>Xiangtan First People's Hospital, Xiangtan 411101, China;

\* Corresponding author

**【Abstract】 Objective:** To investigate the effects of ginsenoside Rg3 on transforming growth factor-β/Smad/nuclear factor kappa B(TGF-β/Smad/NF-κB)pathway and apoptosis of human mesangial cells (HMC) induced by low density lipoprotein (LDL). **Method:** The cultured HMC cells were divided into the control group (without any treatment), the LDL group ( $40\mu\text{g}/\text{ml}$  LDL treatment), the low concentration group(LDL  $40\mu\text{g}/\text{ml}$ + ginsenoside Rg3  $15\mu\text{mol}/\text{L}$ ), and the medium concentration group(LDL  $40\mu\text{g}/\text{ml}$ + ginsenoside Rg3  $30\mu\text{mol}/\text{L}$  group), high concentration group(LDL  $40\mu\text{g}/\text{ml}$ + ginsenoside Rg3  $60\mu\text{mol}/\text{L}$ ). The proliferation activity of HMC cells was detected by MTT method, the expression levels of cell cycle related proteins of TGF-β, Smad2, Smad3, NF-κB, and

\* [基金项目] 湖南省卫生健康委一般资助项目(202203105470);郴州市级重点研发及技术创新引导专项项目(ZDYF2020017);郴州市第一人民医院院级科研项目(N2019-032)

[作者单位] <sup>1</sup>郴州市第一人民医院检验医学中心,郴州 423000; <sup>2</sup>湖南医药学院医学院,怀化 418000; <sup>3</sup>湘潭市第一人民医院,湘潭 411101; <sup>†</sup>通讯作者,E-mail:yachvili@aliyun.com

本文 2022-07-18 收到,2022-09-22 修回

apoptosis related proteins of B-lymphoma gene-related X protein (Bax), B-lymphoma gene-2 (Bcl-2) and caspase-3 were detected by Western Blotting. **Results:** Compared with those in the control group, the proliferation activity, TGF-β, Smad2, Smad3, NF-κB proteins expression levels of HMC cells in LDL group were significantly higher, and the differences were statistically significant. Compared with those in LDL group, the proliferation activity, TGF-β, Smad2, Smad3, NF-κB, Bcl-2 proteins expression levels of HMC cells in low, medium and high concentration ginsenoside Rg3 groups were significantly lower, the apoptosis rate of HMC cells and the protein levels of Bax and Caspase-3 were significantly higher, with a concentration dependent manner, and the differences were statistically significant ( $P < 0.01$ ). **Conclusion:** Ginsenoside Rg3 can inhibit the proliferation and promote the apoptosis of HMC cells induced by LDL, and its mechanism may be closely related to TGF-β/Smad/NF-κB signal pathway.

**【Key words】** Ginsenoside Rg3; Low density lipoprotein; Mesangial cells; TGF-β/Smad/NF-κB pathway; Apoptosis

肾脏疾病的病理类型表现多样,但在各种病理类型中常伴有不同程度的系膜细胞及系膜基质的增生,系膜细胞及系膜基质增生是肾小球肾炎及肾小球硬化过程中常见的病理变化,也是引发肾小球肾炎的主要病理因素<sup>[1,2]</sup>。人参皂苷是从中药人参中提取的有效活性成分,主要成分有皂苷、蛋白和多糖等,其中皂苷包括 Rg1、Rb1、Rg3 等多种皂苷单体<sup>[3]</sup>。研究<sup>[4,5]</sup>证实,人参皂苷 Rg3 在抗炎、抗肿瘤、抑制肿瘤细胞增殖和侵袭、诱导细胞凋亡方面具有重要作用。大量研究表明,转化生长因子-β1 (TGF-β1)/Smads 通路是一种广泛存在于正常细胞和肿瘤细胞的跨膜信号转导通路,参与炎症反应、肿瘤细胞增殖、侵袭转移和凋亡等病理过程<sup>[6,7]</sup>。有研究<sup>[8]</sup>表明,人参皂苷 Rg1 在一定给药浓度下,对大鼠肾小球系膜细胞具有抗炎作用,且该作用可能依赖于 TGF-β/Smad 信号通路活性的调节。但是,目前 TGF-β/Smad 核因子 kappa B(NF-κB)通路在人参皂苷 Rg3 干预低密度脂蛋白 (Low Density Lipoprotein, LDL)诱导的人肾小球系膜细胞 (Human Mesangial Cells, HMC)中的作用机制尚不完全清楚。因此,本研究观察人参皂苷 Rg3 对 LDL 诱导的 HMC 细胞 TGF-β/Smad/NF-κB 通路及细胞凋亡的影响,从而为其药物作用机制及临床应用提供一定的理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 仪器: PowerWave XS2 酶标仪 (美国 BioTek 公司), QUANTUM ST5 凝胶成像分析系统(法国 Vilber ), Gallios 流式细胞仪(美国 BECKMAN COULTER)。

1.1.2 药材/药品与试剂: 人参皂苷 Rg3(中国食品

药品检定研究院, 2019040), 链霉素 (Sigma, S1277-50G) 和青霉素 (Sigma, A9518-5G) 购于华北制药有限公司; DMEM 培养基 (Gibco, 11995065)、胎牛血清 (140527) 和胰蛋白酶购于杭州四季青有限公司, MTT (克拉马尔公司, 3293B07)、DMSO (Sigma 公司, 34869); 辣根过氧化物酶 (HRP) 标记二抗、山羊抗兔 IgG (中杉金桥公司, ZE2306)。Annexin-V-FITC/PI 细胞凋亡试剂盒 (南京凯基生物科技发展有限公司, KGA102)。兔抗人 TGF-β(ab208156)、Smad2 (ab33875)、Smad3 (ab208182)、NF-κB (ab32360)、β-actin (ab179467)、Bax (ab182733)、Bcl-2 (ab32124) 和 Caspase-3 (ab2302) 单克隆抗体购自 Abcam 公司。BCA 蛋白定量试剂盒 (碧云天生物技术有限公司, P0010), PVDF 膜购自美国 Millipore 公司。

1.1.3 细胞: 人 HMC 细胞购自中国科学院上海细胞库。

### 1.2 方法

1.2.1 人 HMC 细胞培养: HMC 细胞用含有 10% 胎牛血清、100U/ml 青霉素、100μg/ml 链霉素的 DMEM 培养液, 置于 37℃、5% CO<sub>2</sub> 恒温培养箱中培养, 待细胞进入对数生长期时进行后续试验。

1.2.2 细胞分组与干预: 将 HMC 细胞分成 5 组, 分别为对照组(不做任何处理)、LDL 组 (40μg/ml LDL)、人参皂苷 Rg3 低浓度组 (LDL 40μg/ml + 人参皂苷 Rg3 15μmol/L)、Rg3 中浓度组 (LDL 40μg/ml + 人参皂苷 Rg3 30μmol/L)、Rg3 高浓度组 (LDL 40μg/ml + 人参皂苷 Rg3 60μmol/L), 人参皂苷 Rg3 给药剂量参考相关文献<sup>[9]</sup>, 并做适量调整。于 37℃、5% CO<sub>2</sub> 细胞培养箱中培养 48h 后, 收集各组细胞用于后续实验。每组细胞设置 6 个复孔。

1.2.3 MTT 法检测 HMC 细胞增殖活性: 取各组

基础与实验

对数生长期的 HMC 细胞,调整细胞浓度为  $2.0 \times 10^4$  个细胞/ml 的单细胞悬液,加入 96 孔板中,培养 24h,每孔加入浓度为 5mg/ml 的 MTT 溶液 20 $\mu$ l,37℃孵育 4h 后去除上清液,加入 100  $\mu$ l DMSO,37℃孵育 20min,以空白孔为对照,酶标仪测定吸光度(A)值,实验重复 3 次。细胞增殖活性=(实验组 OD 值-空白组 OD 值)/(对照组 OD-空白组 OD)×100%。

**1.2.4 流式细胞术检测 HMC 细胞凋亡:**取各组细胞(调整细胞浓度为  $1 \times 10^6$  个细胞/ml)100 $\mu$ l 接种于 96 孔板,培养 48h 后,用不含 EDTA 的胰酶消化细胞,冰 PBS 终止消化,用 PBS 洗涤细胞,用 200 $\mu$ l 结合缓冲液制得细胞重悬液,分别加入异硫氰酸荧光素(FITC)标记的 Annexin V 及碘化丙啶(PI)各 5 $\mu$ l,混合均匀,室温避光孵育 5min 后,上机检测,实验重复三次。

**1.2.5 Western Blotting 法检测 TGF- $\beta$ 、Smad2、Smad3、NF- $\kappa$ B、Bax、Bcl-2 和 Caspase-3 蛋白表达:**收集各组对数生长期的 HMC 细胞,加入细胞裂解液,严格按照试剂盒说明书提取各组细胞总蛋白,采用 BCA 蛋白测定试剂盒测定每个样品的蛋白浓度,调整蛋白浓度,取 50 $\mu$ g 蛋白样品与上样缓冲液混合均匀,100℃水浴煮沸 5min,进行 SDS-PAGE 凝胶电泳,电泳结束后将蛋白转移至 PVDF 膜上,用 5% 的牛血白蛋白(BSA)室温封闭 2h,分别加入稀释过的 TGF- $\beta$ 、Smad2、Smad3、NF- $\kappa$ B、 $\beta$ -actin、Bax、Bcl-2 和 Caspase-3 抗体(1:100 稀释),4℃孵育过夜,室温下 PBS 洗涤 3 次,再加入 HRP 标记的二抗(1:50 稀释),37℃孵育 1h,DAB 试剂盒显色,利用凝胶成像仪对 Western Blotting 印迹条带进行定量分析。以  $\beta$ -actin 为内参,使用 Quantity One(4.6.6)软件分析蛋白电泳条带,以目标条带与内参条带的灰度值比值作为目标蛋白的相对表达量。

### 1.3 统计学处理

本研究数据分析均采用 SPSS 22.0 统计软件,计量资料以平均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,多组间比较采用单因素方差分析,进一步两两比较采用 t 检验, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 人参皂苷 Rg3 对 LDL 诱导的 HMC 细胞增殖活性的影响

各组 HMC 细胞活性差异有统计学意义( $P <$

0.05)。与对照组比较,LDL 组 HMC 细胞增殖活性明显升高( $t = 11.494$ ),差异有统计学意义( $P < 0.01$ );与 LDL 组相比,人参皂苷 Rg3 低、中、高浓度组 HMC 细胞增殖活性明显降低( $t = 15.325, 19.487, 25.197$ ,  $P$  均 $< 0.01$ ),另外人参皂苷 Rg3 各组 HMC 细胞增殖活性呈低浓度组>中浓度组>高浓度组( $t$  均 $> 6.680$ ,  $P < 0.01$ )。见表 1。

表 1 人参皂苷 Rg3 对 LDL 诱导的 HMC 细胞增殖活性的影响( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

组别	HMC 细胞增殖活性(%)
对照组	100.00±0.00
LDL 组	151.32±10.87 <sup>1)</sup>
人参皂苷 Rg3 低浓度组	74.56±5.69 <sup>2)</sup>
人参皂苷 Rg3 中浓度组	51.45±6.28 <sup>2)3)</sup>
人参皂苷 Rg3 高浓度组	24.68±5.78 <sup>2)3)4)</sup>
F 值	103.61

注:与对照组比较,<sup>1)</sup>  $P < 0.01$ ;与 LDL 相比较,<sup>2)</sup>  $P < 0.01$ ;与人参皂苷 Rg3 低浓度组比较,<sup>3)</sup>  $P < 0.01$ ;与人参皂苷 Rg3 中浓度组比较,<sup>4)</sup>  $P < 0.01$

### 2.2 人参皂苷 Rg3 对 LDL 诱导的 HMC 凋亡的影响

各组 HMC 细胞凋亡率差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。与对照组比较,LDL 组 HMC 凋亡率差异无统计学意义( $t = 1.952$ ,  $P > 0.05$ );与 LDL 组比较,人参皂苷 Rg3 低、中、高浓度组 HMC 细胞凋亡率显著升高,差异均有统计学意义( $t = 16.015, 26.118, 34.939$ ,  $P$  均 $< 0.01$ ),另外人参皂苷 Rg3 各组 HMC 细胞凋亡率呈低浓度组<中浓度组<高浓度组( $t$  均 $> 14.426$ ,  $P < 0.01$ )。见图 1,表 2。

表 2 人参皂苷 Rg3 对 LDL 诱导的 HMC 凋亡的比较( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

组别	HMC 细胞凋亡率(%)
对照组	6.52±0.82
LDL 组	6.47±0.76
人参皂苷 Rg3 低浓度组	16.68±1.32 <sup>1)</sup>
人参皂苷 Rg3 中浓度组	33.26±2.37 <sup>1)2)</sup>
人参皂苷 Rg3 高浓度组	58.35±3.54 <sup>1)2)3)</sup>
F 值	93.28

注:与 LDL 组比较,<sup>1)</sup>  $P < 0.01$ ;与人参皂苷 Rg3 低浓度组比较,<sup>2)</sup>  $P < 0.01$ ;与人参皂苷 Rg3 中浓度组比较,<sup>3)</sup>  $P < 0.01$

### 2.3 人参皂苷 Rg3 对 LDL 诱导的 HMC 细胞相关

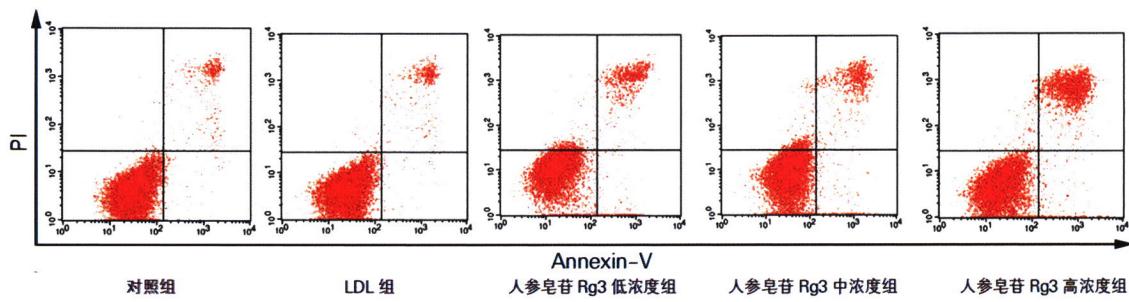


图 1 各组 HMC 细胞凋亡(流式细胞术)

通路蛋白 TGF- $\beta$ 、Smad2、Smad3、NF-κB 表达的影响

各组 HMC 细胞相关通路蛋白 TGF- $\beta$ 、Smad2、Smad3、NF-κB 表达差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。与对照组比较, LDL 组 TGF- $\beta$ 、Smad2、Smad3、NF-κB 蛋白表达水平明显升高, 差异均有统

计学意义 ( $t$  均  $> 13.723, P < 0.01$ ) ;与 LDL 组比较, 人参皂苷 Rg3 低、中、高浓度组 TGF- $\beta$ 、Smad2、Smad3、NF-κB 蛋白表达水平明显降低, 且人参皂苷 Rg3 各浓度组相关蛋白表达水平呈低浓度  $>$  中浓度组  $>$  高浓度组, 差异均有统计学意义 ( $t$  均  $> 3.253, P < 0.01$ )。见表 3。

表 3 人参皂苷 Rg3 对 LDL 诱导的 HMC 细胞中 TGF- $\beta$ 、Smad2、Smad3、NF-κB 蛋白表达的比较 ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

组别	TGF- $\beta$ 蛋白	Smad2 蛋白	Smad3 蛋白	NF-κB 蛋白
对照组	0.35 $\pm$ 0.07	0.55 $\pm$ 0.11	0.52 $\pm$ 0.11	0.42 $\pm$ 0.12
LDL 组	1.36 $\pm$ 0.14 <sup>1)</sup>	1.78 $\pm$ 0.19 <sup>1)</sup>	1.67 $\pm$ 0.13 <sup>1)</sup>	1.32 $\pm$ 0.09 <sup>1)</sup>
人参皂苷 Rg3 低浓度组	1.09 $\pm$ 0.12 <sup>2)</sup>	1.46 $\pm$ 0.13 <sup>2)</sup>	1.38 $\pm$ 0.16 <sup>2)</sup>	1.04 $\pm$ 0.13 <sup>2)</sup>
人参皂苷 Rg3 中浓度组	0.82 $\pm$ 0.09 <sup>2(3)</sup>	1.03 $\pm$ 0.09 <sup>2(3)</sup>	1.01 $\pm$ 0.12 <sup>2(3)</sup>	0.83 $\pm$ 0.09 <sup>2(3)</sup>
人参皂苷 Rg3 高浓度组	0.58 $\pm$ 0.09 <sup>2(3)4)</sup>	0.82 $\pm$ 0.09 <sup>2(3)4)</sup>	0.79 $\pm$ 0.08 <sup>2(3)4)</sup>	0.64 $\pm$ 0.08 <sup>2(3)4)</sup>
F 值	79.14	80.17	78.21	77.59

注: 与对照组比较,<sup>1)</sup>  $P < 0.01$ ; 与 LDL 组比较,<sup>2)</sup>  $P < 0.01$ ; 与人参皂苷 Rg3 低浓度组比较,<sup>3)</sup>  $P < 0.01$ ; 与人参皂苷 Rg3 中浓度组比较,<sup>4)</sup>  $P < 0.01$

#### 2.4 人参皂苷 Rg3 对 LDL 诱导的 HMC 细胞凋亡相关蛋白 Bax、Bcl-2 和 Caspase-3 表达的影响

各组 HMC 细胞凋亡相关蛋白 Bax、Bcl-2 和 Caspase-3 蛋白表达水平差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。与对照组比较, LDL 组 Bax、Bcl-2 和 Caspase-3 表达水平差异不显著, 均无统计学意义 ( $t$  均  $< 1.$

350,  $P > 0.05$ ) ;与 LDL 组比较, 人参皂苷 Rg3 低、中、高浓度组 Bax 和 Caspase-3 的蛋白水平上调, 不同浓度人参皂苷 Rg3 组间呈低浓度组  $<$  中浓度组  $<$  高浓度组, Bcl-2 蛋白表达下调, 不同浓度人参皂苷 Rg3 组间呈低浓度组  $>$  中浓度组  $>$  高浓度组, 差异均有统计学意义 ( $t$  均  $> 2.943, P < 0.01$ ), 见表 4。

表 4 人参皂苷 Rg3 对 LDL 诱导的 HMC 细胞 Bax、Bcl-2 和 Caspase-3 蛋白表达的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

组别	Bax 蛋白	Bcl-2 蛋白	Caspase-3 蛋白
对照组	0.43 $\pm$ 0.07	0.98 $\pm$ 0.13	0.56 $\pm$ 0.12
LDL 组	0.47 $\pm$ 0.09	0.96 $\pm$ 0.09	0.55 $\pm$ 0.14
人参皂苷 Rg3 低浓度组	0.68 $\pm$ 0.09 <sup>1)</sup>	0.79 $\pm$ 0.09 <sup>1)</sup>	0.81 $\pm$ 0.09 <sup>1)</sup>
人参皂苷 Rg3 中浓度组	0.91 $\pm$ 0.11 <sup>1(2)</sup>	0.62 $\pm$ 0.09 <sup>1(2)</sup>	1.02 $\pm$ 0.12 <sup>1(2)</sup>
人参皂苷 Rg3 高浓度组	1.24 $\pm$ 0.12 <sup>1(2)3)</sup>	0.41 $\pm$ 0.11 <sup>1(2)3)</sup>	1.34 $\pm$ 0.15 <sup>1(2)3)</sup>
F 值	77.31	74.86	76.54

注: 与 LDL 组相比较,<sup>1)</sup>  $P < 0.01$ ; 与人参皂苷 Rg3 低浓度组比较,<sup>2)</sup>  $P < 0.01$ ; 与人参皂苷 Rg3 中浓度组比较,<sup>3)</sup>  $P < 0.01$

### 3 讨论

慢性肾小球肾炎与肾小球硬化是由多种病因引起的一类原发性肾小球疾病,脂代谢紊乱在肾病综合征或继发性肾小球疾病中常见,是肾脏病变进展的重要危险因素,研究发现 LDL 在肾病综合征或伴有血脂、脂蛋白成分升高的原发或继发性肾小球疾病的病情进展中发挥作用<sup>[10, 11]</sup>。本研究结果显示,与对照组比较,LDL 组 HMC 细胞增殖活性明显升高,与相关研究结果一致<sup>[12, 13]</sup>,提示 LDL 能促进 HMC 细胞增殖。

肾小球系膜细胞过度增殖、细胞外基质积聚等是肾脏疾病发生的重要因素,因此抑制系膜细胞增殖、促进细胞凋亡对缓解疾病有重要意义。人参皂苷 Rg3 是中药人参中的一种皂苷类化合物,具有减轻炎症反应、减少氧自由基、抗氧化等一系列药理活性。研究表明人参皂苷 Rg3 可以通过增强抗氧化能力,减轻炎症反应及抗细胞凋亡等缓解糖尿病肾病进程<sup>[9, 14]</sup>。冀凯等<sup>[15]</sup>研究表明,人参皂苷 Rg3 可能是通过抑制 NF-κB 信号通路减轻高糖诱导的系膜细胞增殖及炎症反应。以上结果表明,人参皂苷 Rg3 可能具有抑制系膜细胞增殖、促进细胞凋亡等作用。本研究发现,与 LDL 组相比,人参皂苷 Rg3 低、中、高浓度组 HMC 细胞增殖活性明显降低,HMC 细胞凋亡率明显升高,并呈浓度依赖性,提示人参皂苷 Rg3 可显著抑制 LDL 诱导的 HMC 细胞增殖,促进细胞凋亡,然而其具体机制不清楚。

NF-κB 是一种核转录因子,NF-κB 在炎症的发生发展中发挥重要作用,通过激活 NF-κB 信号通路,导致一系列促炎症因子的释放并且促进促纤维化因子 TGF-β1 的产生,TGF-β 在肾脏纤维化发病机制中发挥重要作用<sup>[16]</sup>。TGF-β 能通过激活细胞中的 Smad 蛋白来转导 TGF-β,在信号传导中起到重要作用<sup>[17]</sup>。研究表明,抑制 TGF-β/Smad3 信号通路可以预防肾纤维化<sup>[18]</sup>。陶鹏宇等<sup>[19]</sup>研究表明,六味地黄丸具有肾脏保护作用,其机制可能是通过

调控 NF-κB 及 TGF-β/Smad 双信号通路,从而减轻糖尿病肾病炎症损伤和纤维化。肖伟伟等<sup>[20]</sup>研究表明,白藜芦醇能够降低 Wnt/β-catenin 和 TGF-β1-Smad2/3 信号通路的表达水平,改善糖尿病肾脏病理进程,减少肾脏受到的损害。本研究发现,与对照组相比,LDL 组 TGF-β、Smad2、Smad3、NF-κB 蛋白表达水平明显升高,提示 LDL 可上调 TGF-β、Smad2、Smad3、NF-κB 表达,促进 HMC 细胞增殖;与 LDL 组相比,人参皂苷 Rg3 低、中、高浓度组 TGF-β、Smad2、Smad3、NF-κB 蛋白表达水平明显降低,并呈浓度依赖性,提示人参皂苷 Rg3 可能通过抑制 TGF-β/Smad 通路从而抑制肾纤维化的进程,抑制 NF-κB 信号通路,减轻炎症,进而抑制 LDL 诱导的 HMC 细胞增殖。

Bax 是 Bcl-2 家族成员之一,发挥促凋亡作用,Caspase 家族(半胱氨酸蛋白酶家族)是一切凋亡信号传导的共同通路,是凋亡的重要标志,Caspase-3 是细胞凋亡过程中 Caspase 的关键分子<sup>[21, 22]</sup>。本研究发现,与对照组和 LDL 组相比,人参皂苷 Rg3 低、中、高浓度组 Bax 和 Caspase-3 的蛋白水平上调,Bcl-2 蛋白表达下调,并呈浓度依赖性,进一步说明人参皂苷 Rg3 对 LDL 诱导的 HMC 细胞具有促进凋亡作用,且呈现明显的剂量依赖性,但是具体机制尚不明确。

综上所述,人参皂苷 Rg3 可能通过抑制 TGF-β/Smad/NF-κB 通路活化,进而抑制 LDL 诱导的 HMC 细胞增殖,促进其凋亡。但本研究局限于 TGF-β/Smad/NF-κB 信号通路相关因子表达水平的变化情况,未对通路进行验证,后续需做进一步研究予以明确具体机制。◆

#### 本文第一作者简介:

李胜涛(1978—),男,汉族,硕士,副主任技师,主要从事生物化学与分子生物学研究

### 参 考 文 献

- 刘芳. 肾小球基底膜与肾脏疾病[J]. 中华肾脏病杂志, 2017, 33(11):873—877.
- 范高霞, 甘甜, 周晓燕, 等. Rac1 抑制剂对高糖诱导大鼠肾小球系膜细胞损伤的影响及其作用机制[J]. 安徽医科大学学报, 2019, 54(4):605—610.
- 张彩, 史磊. 人参化学成分和药理作用研究进展[J]. 食品与药品学杂志
- Peng Y, Zhang R, Yang X, et al. Ginsenoside Rg3 suppresses the proliferation of prostate cancer cell line PC3 through ROS-induced cell cycle arrest[J]. Oncol Lett, 2019, 17(1):1 139—1 145.
- Li J, Qi Y. Ginsenoside Rg3 inhibits cell growth, migration and

- invasion in Caco-2 cells by downregulation of lncRNA CCAT1 [J]. Exp Mol Pathol, 2019, 106(1):131–138.
- 6 肖伟伟, 奚 悅. 白藜芦醇对糖尿病肾病大鼠 Wnt/β-catenin 和 TGF-β1-Smad2/3 信号通路的影响[J]. 中成药, 2019, 41(12):3 033–3 038.
- 7 Zhao B, Lu YL, Yang Y, et al. Overexpression of lncRNA AN-RIL promoted the proliferation and migration of prostate cancer cells via regulating let-7a/TGF-β1/ Smad signaling pathway[J]. Cancer Biomark, 2018, 21(3):613–620.
- 8 赵 静. 人参皂苷 Rg1 对糖基化末端产物诱导肾小球系膜细胞炎症及 TGFβ/Smad 信号通路的影响[J]. 中国药师, 2018, 21(11):1 919–1 923.
- 9 吴胜斌, 王应灯. 人参皂苷 Rg3 对 H2O2 诱导人肾小球系膜细胞氧化应激损伤的保护作用及其机制研究[J]. 现代药物与临床, 2015, 30(12):1 437–1 442.
- 10 Shinya N, Eiji I, Yujiro O, et al. The efficacy of low-density lipoprotein apheresis in a patient with drug-resistant minimal change nephrotic syndrome: A case report and a review of the literature[J]. Nephrology, 2018, 23(6):603–604.
- 11 潘碧霞, 刘国辉, 姜宗培, 等. 瑞舒伐他汀对氧化低密度脂蛋白诱导的大鼠肾小球系膜细胞结缔组织生长因子表达的影响[J]. 广东医学, 2014, 35(12):1 838–1 841.
- 12 廖江铭. 氧化低密度脂蛋白对大鼠肾小球系膜细胞的炎症性影响与活血化瘀法干预研究[D]. 北京:北京中医药大学, 2014:8–33.
- 13 唐 灵, 周 康, 王 艳, 等. 绞股蓝皂苷对 AGEs 诱导的人肾小球系膜细胞增殖及分泌细胞外基质的影响[J]. 中华中医药杂志, 2015, 30(12):4 478–4 481.
- 14 吴胜斌, 王应灯. 人参皂苷 Rg3 对糖尿病肾病大鼠肾组织 Bax 和 B 淋巴细胞瘤-2 蛋白表达及肾细胞凋亡的影响[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2020, 34(1):5–8.
- 15 冀 凯, 杜世豪, 李 新, 等. 人参皂苷 Rg3 抑制高糖诱导的人肾小球系膜细胞过度增殖、炎症反应和 PTX3 的表达[J]. 烟台大学学报(自然科学与工程版), 2020, 33(1):55–62.
- 16 Wang D, Zhang G, Chen X, et al. Sitagliptin ameliorates diabetic nephropathy by blocking TGF-β1/Smad signaling pathway [J]. Int J Mol Med, 2018, 41(5):2 784–2 792.
- 17 Li J, Qiu PC, He QY, et al. Dencichine ameliorates kidney injury in induced type II diabetic nephropathy via the TGF-β/Smad signalling pathway[J]. Eur J Pharmacol, 2017, 812:196–205.
- 18 Feng M, Tang PM, Huang XR, et al. TGF-β mediates renal fibrosis via the Smad3-ErbB4-IR long noncoding RNA axis[J]. Mol Ther, 2018, 26(1):148–161.
- 19 陶鹏宇, 张 悅. 六味地黄丸通过调控 NF-κB 及 TGF-β/Smad 双信号通路减轻糖尿病肾病炎症及纤维化[J]. 广州中医药大学学报, 2019, 36(2):99–104.
- 20 肖伟伟, 奚 悅. 白藜芦醇对糖尿病肾病大鼠 Wnt/β-catenin 和 TGF-β1-Smad2/3 信号通路的影响[J]. 中成药, 2019, 41(12):3 034–3 037.
- 21 Yao C, Cao X, Fu Z, et al. Boschniakia rossica polysaccharide triggers laryngeal carcinoma cell apoptosis by regulating expression of Bcl-2, Caspase-3, and P53[J]. Med Sci Monit, 2017, 23:2 059–2 064.
- 22 Silwedel C, Haarmann A, Fehrholz M, et al. More than just inflammation: Ureaplasma species induce apoptosis in human brain microvascular endothelial cells[J]. J Neuroinflammation, 2019, 16(1):38.

## · 医学前沿 ·

## 特定基因突变促进心血管疾病发展

西班牙卡洛斯三世国家心血管研究中心(CNIC)的一个研究小组与美国研究机构合作,已经证明编码蛋白 p53 基因的获得性突变,将促进动脉粥样硬化性心血管疾病的发展。该研究数据在《自然·心血管研究》上发表。

p53 被称为基因组守护者,通过调节多种细胞功能以响应细胞应激,有助于维持细胞内遗传物质的完整性。一个成年人每天都会产生数十万个血细胞,虽然是必不可少的,但这个过程不可避免地促进了负责这种产生的祖细胞突变。血细胞中获得性 p53 基因突变的存在增加了罹患血癌在内的各种癌症的风险。研究证明,p53 突变还加速了动脉粥样硬化的发展。

CNIC 与美国斯坦福大学、马萨诸塞州总医院和范德堡大学合作,分析了来自 50000 多人血细胞的测序数据,发现 p53 获得性突变的携带者患冠心病和外周动脉疾病的风险更高,这种影响与高血压或血液胆固醇升高等既定的心血管危险因素无关。

基于这些结果,CNIC 科学家在动脉粥样硬化的动物模型中进行了功能研究,他们将携带 p53 突变的细胞引入其中。结果表明,携带这些突变的小鼠患心血管疾病的速率更快,主要是由于动脉壁中免疫细胞的增殖率异常升高。

研究人员表示,这种对动物实验研究提供了确凿的证据,证明这些突变增加了患心血管疾病的风险。也拓宽了我们对血细胞突变的获得(一种称为克隆造血的现象)如何作为心血管危险因素的知识。

研究人员强调,不同基因的突变通过不同的机制导致心血管疾病。在未来,这可用来设计针对不同突变的个性化预防策略。

来源:科技日报