

- 10 Baud V, Karin M. Signal transduction by tumor necrosis factor and its relatives[J]. Trends Cell Biol, 2001; 11(9): 372-7.
- 11 张丽, 朱熊兆, 白玫, 等. 不同应激方式引发的抑郁大鼠行为特征比较[J]. 中华行为医学与脑科学杂志, 2012; 21(3): 212-5.
- 12 徐爱军, 刘昊, 刘英, 等. 抑郁症大鼠海马体积异常的形态学探讨[J]. 中风与神经疾病杂志, 2014; 31(2): 118-20.
- 13 季颖, 孙大字. 归脾汤对抑郁模型大鼠血清 T3 T4 和海马神经元形态的影响[J]. 中华中医药学刊, 2008; 26(12): 2603-4.
- 14 钱瑞琴, 罗和春. 电针与舒血宁联合治疗对抑郁症患者免疫功能的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2001; 7(3): 56-8.
- 15 Sahebkar A, Cicero A, Simental-Mendia LE, et al. Curcumin down-regulates human tumor necrosis factor- α levels: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials[J]. Pharmacol Res, 2016; 107: 234-42.
- 16 Gulyaeva NV. Functional neurochemistry of the ventral and dorsal hippocampus: stress, depression, dementia and remote hippocampal damage[J]. Neurochem Res, 2019; 44(6): 1306-22.
- 17 梁如, 殷佳, 潘晔, 等. 交泰丸对慢性温和不可预知性应激抑郁模型大鼠炎症细胞因子的影响[J]. 中草药, 2018; 49(5): 1100-5.
- 18 杨连君, 曹雪涛, 于益芝. bcl-2, bax 与肿瘤细胞凋亡[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2003; 10(3): 232-4.
- 19 曲环, 郭艳红, 朱小君, 等. 骨髓间充质干细胞对缺氧诱导心肌细胞凋亡的保护作用[J]. 中华医学杂志, 2007; 87(4): 271-4.
- [2022-01-19 修回]
(编辑 王一涵)

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- κ B 通路及细胞凋亡的影响

李胜涛¹ 彭小友¹ 曹红¹ 徐玉娟¹ 李莉萍¹ 周丹旒¹ 徐桂珍¹ 王华²

(1 郴州市第一人民医院检验医学中心, 湖南 郴州 423000; 2 湖南省妇幼保健院儿童保健科)

【摘要】目的 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(TGF)- β /Smad/核因子(NF)- κ B 通路及细胞凋亡的影响。**方法** 将培养的 HMC, 分别为对照组(不做任何处理)、LDL 组(40 μ g/ml 的 LDL 处理)、LDL 40 μ g/ml+人参皂苷 Rg3 15 μ mol/L 组(低浓度组)、LDL 40 μ g/ml+人参皂苷 Rg3 30 μ mol/L 组(中浓度组)、LDL 40 μ g/ml+人参皂苷 Rg3 60 μ mol/L 组(高浓度组)。用噻唑蓝(MTT)法检测 HMC 增殖活性; Western 印迹检测通路相关蛋白 TGF- β 、Smad2、Smad3、NF- κ B 及细胞凋亡相关蛋白、B 细胞淋巴瘤(Bcl)-2、Bcl-2 相关 X 蛋白(Bax)和半胱氨酸蛋白酶(caspase)-3 蛋白的表达水平。**结果** 与对照组相比, LDL 组 HMC 增殖活性、TGF- β 、Smad2、Smad3、NF- κ B 蛋白表达水平明显升高($P < 0.05$); 与 LDL 组相比, 低、中、高浓度组 HMC 增殖活性、TGF- β 、Smad2、Smad3、NF- κ B、Bcl-2 蛋白表达水平明显降低, HMC 凋亡率、Bax 和 Caspase-3 蛋白水平明显升高, 并呈浓度依赖性($P < 0.05$)。**结论** 人参皂苷 Rg3 可抑制 LDL 诱导的 HMC 增殖, 促进其凋亡, 其作用机制可能与 TGF- β /Smad/NF- κ B 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; 转化生长因子(TGF)- β /Smad/核因子(NF)- κ B 通路; 凋亡

【中图分类号】 R446.1 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-9202(2023)07-1681-05; doi:10.3969/j.issn.1005-9202.2023.07.039

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,研究表明,肾小球系膜细胞炎症是引发肾小球肾炎的主要病理因素^[1,2]。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^[3]。研究^[4,5]表明,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。转化生长因子(TGF)- β 1/Smads 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^[6,7]。有研究表明,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^[8]。但是,目前 TGF- β /Smad/核因子(NF)- κ B 通路在人参皂苷 Rg3 干预低密度脂蛋白(LDL)诱导的人肾小球系膜细胞(HMC)细胞中的作用机制尚不完全清楚。本研究观察人参皂苷 Rg3 对 LDL 诱导的 HMC TGF- β /Smad/NF- κ B 通路及细胞凋亡的影响。

1 材料与方法

1.1 仪器 PowerWave XS2 酶标仪(美国 BioTek 公司), IX71 倒置荧光显微镜(OLYMPUS 公司),

基金项目:湖南省科技重大专项项目(2019SK1013);郴州市第一人民医院院级科研项目(N2019-032)

通信作者:徐桂珍(1973-),女,副主任技师,主要从事细胞形态学研究。

第一作者:李胜涛(1978-),男,硕士,副主任技师,主要从事生物化学与分子生物学研究。

QUANTUM ST5 凝胶成像分析系统(法国 Vilber), Gallios 流式细胞仪(美国 BECKMAN COULTER)。

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 DMEM(Gibco, 11995065)、胎牛血清(四季青有限公司, 140527)、胰蛋白酶购于杭州四季青有限公司, 噻唑蓝(MTT, 克拉马尔公司, 3293B07)、二甲基亚砜(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)。膜联蛋白 V-异硫氰酸荧光素/碘化丙啶(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- κ B(ab32360)、 β -actin(ab179467)、B 细胞淋巴瘤(Bcl)-2(ab32124)、Bcl-2 相关 X 蛋白(Bax, ab182733)和半胱氨酸蛋白酶(caspase)-3(ab2302)单克隆抗体购自 Abcam 公司。二喹啉甲酸(BCA)蛋白定量试剂盒(碧云天生物技术有限公司, P0010), 聚偏氟乙烯(PVDF)膜购自美国 Millipore 公司。

1.2 动物/细胞 人 HMC 购自中国科学院上海细胞库。

1.3 方法

1.3.1 人 HMC 培养 用含有 10% 胎牛血清、100 U/ml 青霉素、100 μ g/ml 链霉素的 DMEM 培养液, 置于 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 恒温培养箱中培养 HMC, 待细胞进入对数生长期时进行后续试验。

1.3.2 分组与干预 实验分成 5 组, 分别为对照组(不做任何处理)、LDL 组(40 μ g/ml 的 LDL 处理)、LDL 40 μ g/ml+人参皂苷 Rg3 15 μ mol/L 组(低浓度组)、LDL 40 μ g/ml+人参皂苷 Rg3 30 μ mol/L 组(中浓度组)、LDL 40 μ g/ml+人参皂苷 Rg3 /60 μ mol/L 组(高浓度组), 人参皂苷 Rg3 给药剂量参考文献^[9], 并做适量调整。于 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 细胞培养箱中培养 48 h 后, 收集各组细胞用于后续实验。每组细胞设置 6 个复孔。

1.3.3 MTT 法检测 HMC 增殖活性 取 1.3.2 中各组对数生长期的 HMC, 调整细胞浓度为 2.0×10^4 /ml 的单细胞悬液, 加入 96 孔板中, 培养 24 h, 每孔加入浓度为 5 mg/ml 的 MTT 溶液 20 μ l, 37 $^{\circ}$ C 孵育 4 h 后去除上清液, 加入 100 μ l DMSO, 37 $^{\circ}$ C 孵育 20 min, 以空白孔为对照, 酶标仪测定吸光度(A)值, 实验重复 3 次。细胞活力 = (实验组 OD 值 - 空白组 OD 值) / (对照组 OD - 空白组 OD)。

1.3.4 流式细胞术检测细胞凋亡 取 1.3.2 中各组细胞以每孔 1×10^6 个细胞接种于 96 孔板, 培养 48 h 后, 用不含 EDTA 的胰酶消化细胞, 冰磷酸盐缓冲液(PBS)终止消化, 用 PBS 洗涤细胞, 用 200 μ l 结合缓冲液制得细胞重悬液, 分别加入 FITC 标记的 Annexin V 及 PI 各 5 μ l, 混合均匀, 室温避光孵育 5 min 后, 上机检测, 实验重复 3 次。

1.3.5 Hoechst 荧光染色法检测细胞凋亡 取 1.3.2 中各组对数生长期细胞, 胰蛋白酶消化后调整细胞浓度, 接种于含有盖玻片 6 孔板内, 培养 48 h, 弃去上层细胞培养液, 加入 10% 甲醛溶液固定 1 h, PBS 洗涤 3 次, 添加 500 μ l Hoechst33342 (1 μ g/ml) 染液染色 10 min, PBS 冲洗后置于倒置荧光显微镜下观察细胞形态学变化。

1.3.6 Western 印迹法检测 TGF- β 、Smad2、Smad3、NF- κ B、Bax、Bcl-2 和 Caspase-3 蛋白表达 收集 1.3.2 中各组对数生长期的 HMC, 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 μ g 蛋白样品与上样缓冲液混合均匀, 100 $^{\circ}$ C 水浴煮沸 5 min, 进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE), 电泳结束后将凝胶上蛋白转移至 PVDF 膜上, 用 5% 的牛血清白蛋白(BSA)室温封闭 2 h, 分别加入稀释过的 TGF- β 、Smad2、Smad3、NF- κ B、 β -actin、Bax、Bcl-2 和 caspase-3 等抗体(1:100 稀释), 4 $^{\circ}$ C 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 $^{\circ}$ C 孵育 1 h, DAB 试剂盒显色, 利用凝胶成像仪对 Western 印迹条带进行定量分析。以 β -actin 为内参, 使用 Quantity One4.6.6 软件分析目标条带与内参条带的灰度值比值作为蛋白的相对表达量。

1.4 统计学分析 采用 SPSS22.0 软件进行方差分析, 两两比较采用 SNK-*q* 检验。

2 结果

2.1 人参皂苷 Rg3 对 LDL 诱导的 HMC 增殖活性的影响 与对照组相比, LDL 组 HMC 增殖活性明显升高($P < 0.05$); 与对照组、LDL 组相比, 低、中、高浓度组 HMC 增殖活性明显降低, 并随人参皂苷 Rg3 浓度升高, HMC 增殖活性逐渐降低($P < 0.05$), 见表 1。

2.2 人参皂苷 Rg3 对 LDL 诱导的 HMC 凋亡的影响 LDL 组 HMC 凋亡率与对照组相比, 差异无统计学意义($P > 0.05$); 与对照组和 LDL 组相比, 低、

中、高浓度组 HMC 细胞凋亡率显著升高,并呈浓度依赖性($P<0.05$),见表 1、图 1。

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

组别	HMC 活性 (%)	HMC 细胞 凋亡率(%)
对照组	100.00±0.00	6.52±0.82
LDL 组	151.32±10.87 ¹⁾	6.47±0.76
低浓度组	74.56±5.69 ¹⁾²⁾	16.68±1.32 ¹⁾²⁾
中浓度组	51.45±6.28 ¹⁾²⁾³⁾	33.26±2.37 ¹⁾²⁾³⁾
高浓度组	24.68±5.78 ¹⁾²⁾³⁾⁴⁾	58.35±3.54 ¹⁾²⁾³⁾⁴⁾

与对照组比较;1) $P<0.05$;与 LDL 组比较;2) $P<0.05$;与低浓度组比较;3) $P<0.05$;与中浓度组比较;4) $P<0.05$;下表同

2.3 Hoechst 荧光染色结果 对照组、LDL 组细胞发出微弱的蓝色荧光,形态、大小均正常,人参皂苷 Rg3 组细胞凋亡数目增多,凋亡细胞体积变小,部分

出现碎片化,核浓缩聚集,细胞固缩现象更加明显,见图 2。

2.4 人参皂苷 Rg3 对 LDL 诱导的 HMC 细胞相关通路蛋白 TGF-β、Smad2、Smad3、NF-κB 表达的影响

与对照组比较,LDL 组 TGF-β、Smad2、Smad3、NF-κB 蛋白表达水平明显升高($P<0.05$);与 LDL 组比较,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($P<0.05$),见表 2。

2.5 人参皂苷 Rg3 对 LDL 诱导的 HMC 细胞相关凋亡蛋白 Bax、Bcl-2 和 Caspase-3 表达的影响 与对照组比较,LDL 组 Bax、Bcl-2 和 Caspase-3 表达水平差异不显著($P>0.05$);与对照组和 LDL 组比较,低、中、高浓度组 Bax 和 Caspase-3 蛋白水平明显上调,Bcl-2 蛋白表达明显下调,并呈浓度依赖性($P<0.05$),见表 2。

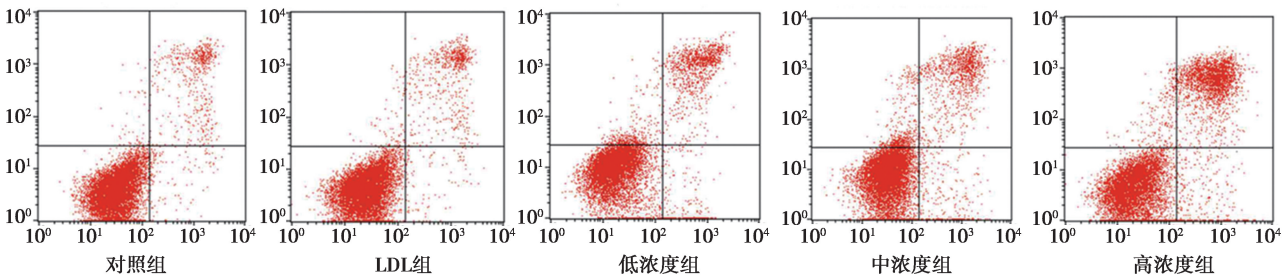


图 1 人参皂苷 Rg3 对 LDL 诱导的 HMC 凋亡的影响

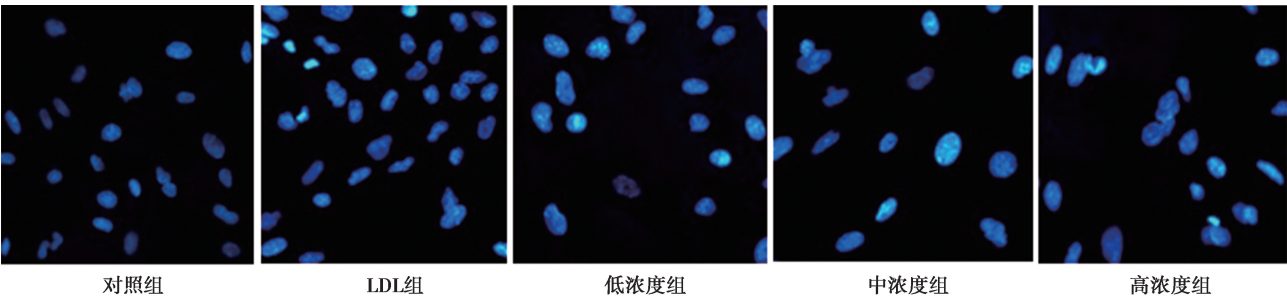


图 2 Hoechst 荧光染色检测细胞凋亡($\times 400$)

表 2 人参皂苷 Rg3 对 LDL 诱导的 HMC 增殖活性、凋亡的影响($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	TGF-β	Smad2	Smad3	NF-κB	Bax	Bcl-2	Caspase-3
对照组	0.35±0.07	0.55±0.11	0.52±0.11	0.42±0.12	0.43±0.07	0.98±0.13	0.56±0.12
LDL 组	1.36±0.14 ¹⁾	1.78±0.19 ¹⁾	1.67±0.13 ¹⁾	1.32±0.09 ¹⁾	0.47±0.09	0.96±0.09	0.55±0.14
低浓度组	1.09±0.12 ¹⁾²⁾	1.46±0.13 ¹⁾²⁾	1.38±0.16 ¹⁾²⁾	1.04±0.13 ¹⁾²⁾	0.68±0.09 ¹⁾²⁾	0.79±0.09 ¹⁾²⁾	0.81±0.09 ¹⁾²⁾
中浓度组	0.82±0.09 ¹⁾²⁾³⁾	1.03±0.09 ¹⁾²⁾³⁾	1.01±0.12 ¹⁾²⁾³⁾	0.83±0.09 ¹⁾²⁾³⁾	0.91±0.11 ¹⁾²⁾³⁾	0.62±0.09 ¹⁾²⁾³⁾	1.02±0.12 ¹⁾²⁾³⁾
高浓度组	0.58±0.09 ¹⁾²⁾³⁾⁴⁾	0.82±0.09 ¹⁾²⁾³⁾⁴⁾	0.79±0.08 ¹⁾²⁾³⁾⁴⁾	0.64±0.08 ¹⁾²⁾³⁾⁴⁾	1.24±0.12 ¹⁾²⁾³⁾⁴⁾	0.41±0.11 ¹⁾²⁾³⁾⁴⁾	1.34±0.15 ¹⁾²⁾⁴⁾

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组原发性肾小球疾病,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^[10,11]。本研究结果与其他学者^[12]研究结果相一致。提示 LDL 能促进 HMC 增殖。

HMC 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 具有减轻炎症反应、减少氧自由基、抗氧化等一系列药理活动。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^[9,13]。冀凯等^[14]研究表明,人参皂苷 Rg3 可能是通过抑制 NF- κ B 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,但是目前人参皂苷 Rg3 对 LDL 诱导的 HMC 增殖的影响尚不清楚。本研究提示人参皂苷 Rg3 可显著抑制 LDL 诱导的 HMC 增殖,促进细胞凋亡,然而其机制不清楚。

NF- κ B 是一个核转录因子,NF- κ B 在炎症的发生发展中发挥重要作用,通过激活 NF- κ B 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- β 1 的产生,TGF- β 在肾脏纤维化发病机制中发挥重要作用^[15]。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^[16]。研究表明,抑制 TGF- β /Smad3 信号通路可以预防肾纤维化^[17]。陶鹏宇^[18]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 κ B 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^[19]研究表明,白藜芦醇能够降低 wnt/ β -catenin 和 TGF β 1-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。本研究提示,LDL 可上调 TGF- β 、Smad2、Smad3、NF- κ B 表达,促进 HMC 增殖;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- κ B 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^[20,21]。本研究结果说明,人参皂苷 Rg3 对 LDL 诱导的 HMC 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,人参皂苷 Rg3 可能通过抑制 TGF- β /Smad/NF- κ B 通路活化,进而抑制 LDL 诱导的 HMC 增殖,促进其凋亡。但本研究局限于 TGF- β /Smad/NF- κ B 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,仍需做进一步研究。

4 参考文献

- 1 刘芳. 肾小球基底膜与肾脏疾病[J]. 中华肾脏病杂志,2017;33(11):873-7.
- 2 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):605-10.
- 3 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,2016;18(1):300-4.
- 4 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):1139-45.
- 5 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):131-8.
- 6 肖伟伟,奚悦. 白藜芦醇对糖尿病肾病大鼠 Wnt/ β -catenin 和 TGF- β 1-Smad2/3 信号通路的影响[J]. 中成药,2019;41(12):3033-8.
- 7 Zhao B,Lu YL,Yang Y,*et al.* Overexpression of lncRNA ANRIL promoted the proliferation and migration of prostate cancer cells via regulating let-7a/TGF- β 1/ Smad signaling pathway[J]. *Cancer Biomark*,2018;21(3):613-20.
- 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 TGF β /Smad 信号通路的影响[J]. 中国药师,2018;21(11):1919-23.
- 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):1437-42.
- 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):603-4.
- 11 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):4478-81.
- 12 Wang Y,Zhang R,Zhang Y,*et al.* MicroRNA-326-3p ameliorates high glucose and ox-LDL-IC-induced fibrotic injury in renal mesangial cells by targeting FerR III [J]. *Nephrology (Carlton)*,2018;23(11):1031-8.
- 13 吴胜斌,王应灯. 人参皂甙 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.

- 14 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.
- 15 Wang D,Zhang G,Chen X,*et al.* Sitagliptin ameliorates diabetic nephropathy by blocking TGF- β /Smad signaling pathway[J]. *Int J Mol Med*,2018;41(5):2784-92.
- 16 Li J,Qiu PC,He QY,*et al.* Dencichine ameliorates kidney injury in induced type II diabetic nephropathy via the TGF- β /Smad signaling pathway[J]. *Eur J Pharmacol*,2017;812:196-205.
- 17 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):148-61.
- 18 陶鹏宇,张悦. 六味地黄丸通过调控 NF- κ B 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.
- 19 肖伟伟,奚悦. 白藜芦醇对糖尿病肾病大鼠 Wnt/ β -catenin 和 TGF- β 1-Smad2/3 信号通路的影响[J]. 中成药,2019;41(12):3034-7.
- 20 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;23:2059-64.
- 21 Silwedel C,Haarmann A,Fehrholz M,*et al.* More than just inflammation:reaplasma species induce apoptosis in human brain microvascular endothelial cells[J]. *J Neuroinflamm*,2019;16(1):38.

[2021-12-17 修回]

(编辑 杜娟)

基于 p38MAPK 信号通路分析硫酸镁对瑞芬太尼所致的术后痛觉过敏大鼠的影响

钱厚霖¹ 周述芝² (1 西南医科大学附属医院麻醉科,四川 泸州 646000;2 雅安市人民医院麻醉科)

〔摘要〕 目的 分析硫酸镁是否经 p38 丝裂原活化蛋白激酶(p38) MAPK 信号通路抑制瑞芬太尼所致的术后痛觉过敏。方法 选取 8 月龄 SPF 清洁级 SD 大鼠 60 只,分为对照(C)组、痛觉过敏(P)组、低剂量硫酸镁(M1)组、中剂量硫酸镁(M2)组、高剂量硫酸镁(M3)组各 12 只。除 C 组外 P 组、M1 组、M2 组、M3 组做切口痛模型,之后均静脉以 1.3 μ g/(kg \cdot min)的速度泵注瑞芬太尼,建立瑞芬太尼所致的术后痛觉过敏模型,C 组泵注氯化钠(NaCl)。M1 组、M2 组、M3 组除了尾静脉泵注瑞芬太尼外,静脉注射 4 ml 的 9% NaCl 稀释的硫酸镁 250、500、1 000 mg/kg。分别于干预前 24 h(T0)、干预后 8 h(T1)、干预后 12 h(T2)、干预后 48 h(T3)观察各组大鼠疼痛行为学、痛敏反应指标,并分析白细胞介素(IL)-1 β 、p38MAPK 信号通路指标表达量。结果 除 C 组外,P 组、M1 组、M2 组、M3 组 T1~T3 时间点疼痛评分均显著高于 T0 点($P<0.05$);M1 组、M2 组、M3 组 T1~T3 点疼痛评分均显著低于 P 组($P<0.05$);M1 组、M2 组、M3 组在 T1~T3 点疼痛评分对比,M3 组显著低于 M2 组,M2 组显著低于 M1 组($P<0.05$)。除 C 组外,P 组、M1 组、M2 组、M3 组 T1~T3 点 PWL、PWT 均显著低于 T0 点($P<0.05$);T1~T3 点 M1 组、M2 组、M3 组 PWL、PWT 均显著高于 P 组($P<0.05$);M1 组、M2 组、M3 组在 T1~T3 点 PWL、PWT 对比,M3 组显著高于 M2 组,M2 组显著高于 M1 组($P<0.05$)。P 组、M1 组、M2 组、M3 组脊髓 IL-1 β 、p38MAPK、PLA2 表达显著高于 C 组($P<0.05$);M1 组、M2 组、M3 组脊髓 IL-1 β 、p38MAPK、PLA2 表达显著低于 P 组($P<0.05$);M1 组、M2 组、M3 组脊髓 IL-1 β 、p38MAPK、PLA2 表达对比,M3 组显著低于 M2 组,M2 组显著低于 M1 组($P<0.05$)。结论 硫酸镁具有抑制由瑞芬太尼所致的术后痛觉过敏的作用,其机制可能为抑制 p38MAPK 信号通路活性。

〔关键词〕 硫酸镁;p38 丝裂原活化蛋白激酶;瑞芬太尼;术后痛觉过敏

〔中图分类号〕 R965 **〔文献标识码〕** A **〔文章编号〕** 1005-9202(2023)07-1685-05;doi:10.3969/j.issn.1005-9202.2023.07.040

因瑞芬太尼具有无蓄积、起效较快等优点,目前已经广泛应用手术患者的术中镇痛的维持中,但研究显示^[1,2],瑞芬太尼虽然具有较强的镇痛作用,但与其他阿片类药物相比,其更易引起痛觉过敏。痛觉过敏的发生较易将急性疼痛症状转变为慢性疼痛症状,是使用瑞芬太尼中所面临的最为棘手的问题,因此积极防治瑞芬太尼所诱发的痛觉过敏是目前所

关注的热点。报道称^[3],痛觉过敏发生过程中 N-甲基-M-天冬氨酸(NMDA)受体具有重要的意义,而硫酸镁被认为属于一种非竞争性的 NMDA 受体拮抗剂,其可经预防伤害性感受的中枢敏感化而对疼痛进行调节。已有研究显示^[4],静脉输注硫酸镁具有抗痛觉过敏的作用。但已有的研究并未明确其改善瑞芬太尼所致的术后痛觉过敏的作用机制,因此本研究分析硫酸镁是否经改善疼痛相关的 p38 丝裂原活化蛋白激酶(p38MAPK)信号通路发挥作用,为临床上硫酸镁的应用提供参考。

基金项目:四川省医学会科研课题(S21033)

第一作者:钱厚霖(1990-),男,硕士,住院医师,主要从事神经阻滞的临床应用研究。