

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2021.22.003
文章编号: 1005-8982 (2021) 22-0010-07

泌尿系统疾病专题·论著

雷公藤多苷通过PI3K/Akt通路对糖尿病肾病大鼠热休克蛋白90及PGC-1 α 表达的影响*

于向慧¹, 何艳玲², 杨雨菲², 张庚良¹, 冯晓辞¹

(1.河北省中医院 内分泌科,河北 石家庄 050032; 2.河北中医学院,河北 石家庄 050091)

摘要: **目的** 探究雷公藤多苷(TG)通过PI3K/Akt通路对糖尿病肾病(DN)大鼠热休克蛋白90(HSP90)及过氧化物酶体增殖物激活受体- γ 共激活因子-1 α (PGC-1 α)水平的影响。**方法** 通过腹腔注射链脲佐菌素复制DN大鼠模型,并将其随机分为DN组、DN+TG组和DN+TG+SC79组(每组15只),另取15只健康大鼠作为对照组。TG灌胃剂量为20 mg/kg。大鼠腹腔内注射SC79(0.04 mg/g)以激活PI3K/Akt通路。通过HE染色验证模型复制结果和TG对肾组织的保护作用。生化检测大鼠24 h尿蛋白和肌酐,酶联免疫吸附试验检测炎症因子水平,HE染色观察各组大鼠肾损伤情况,Masson染色观察各组大鼠肾纤维化情况,qRT-PCR和Western blotting分别检测HSP90和PGC-1 α mRNA和蛋白相对表达量。**结果** DN组24 h尿蛋白、肌酐、肾组织纤维化面积百分比、p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt、HSP90 mRNA和蛋白相对表达量、IL-1 β 及IL-6高于对照组($P < 0.05$),PGC-1 α mRNA和蛋白相对表达量低于对照组($P < 0.05$);DN+TG组24 h尿蛋白、肌酐、肾组织纤维化面积百分比、p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt、HSP90 mRNA和蛋白相对表达量、IL-1 β 及IL-6低于DN组($P < 0.05$),PGC-1 α mRNA和蛋白相对表达量高于DN组($P < 0.05$)。DN+TG+SC79组24 h尿蛋白、肌酐、肾组织纤维化面积百分比、p-PI3K/PI3K、p-Akt/Akt、HSP90 mRNA和蛋白相对表达量、IL-1 β 及IL-6高于DN+TG组($P < 0.05$),PGC-1 α mRNA和蛋白相对表达量低于DN+TG组($P < 0.05$)。**结论** TG可以通过抑制PI3K/Akt通路抑制HSP90的转录和翻译,从而促进PGC-1 α 的表达,并发挥抗炎和抗纤维化作用,从而缓解DN。

关键词: 糖尿病肾病;雷公藤多苷;PI3K/Akt;热休克蛋白90;过氧化物酶体增殖物激活受体- γ 共激活因子-1 α

中图分类号: R587.2;R692.9

文献标识码: A

Tripterygium Glycosides Tablets affect the levels of heat shock protein 90 and PGC-1 α in rats with diabetic nephropathy through PI3K/Akt pathway*

Xiang-hui Yu¹, Yan-ling He², Yu-fei Yang², Geng-liang Zhang¹, Xiao-ci Feng¹

(1. Department of Endocrinology, Hebei Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shijiazhuang, Hebei 050032, China; 2. Hebei College of Traditional Chinese Medicine, Shijiazhuang, Hebei 050091, China)

Abstract: Objective To explore the effects of Tripterygium Glycosides (TG) Tablets on the levels of heat shock protein 90 (HSP90) and peroxisome proliferator-activated receptor- γ coactivator-1 α (PGC-1 α) in diabetic nephropathy (DN) rats and the roles of PI3K/Akt pathway. **Methods** The DN model was established by intraperitoneal injection of streptozotocin. A total of 45 DN rats were divided into DN group ($n = 15$), DN+TG group

收稿日期: 2021-07-12

* 基金项目: 河北省中医药管理局科研计划项目(No:2021061)

[通信作者] 冯晓辞, E-mail: 13730111688@qq.com; Tel: 13730111688

($n = 15$) and DN+TG+SC79 group ($n = 15$), and another 15 healthy rats were selected as the control group. TG were administered intragastrically at a dose of 20 mg/kg, and SC79 (0.04 mg/g) was injected intraperitoneally to activate the PI3K/Akt pathway. The HE staining was applied to determine whether the DN model was successfully established and to assess the protective effects of TG on the kidney. The renal function, the area percentage of kidney fibrosis, the mRNA and protein levels of molecules associated with PI3K/Akt pathway, HSP90 and PGC-1 α , and inflammatory factor levels in each group were detected. **Results** The 24-hour urine protein, creatinine, the area percentage of kidney fibrosis, the mRNA and protein levels of p-PI3K/PI3K, p-Akt/Akt and HSP90, and the levels of IL-1 β and IL-6 in the DN group were higher than those in the control group ($P < 0.05$), while the mRNA and protein levels of PGC-1 α were lower in the DN group than those in the control group ($P < 0.05$). The 24-hour urine protein, creatinine, the area percentage of kidney fibrosis, the mRNA and protein levels of p-PI3K/PI3K, p-Akt/Akt and HSP90, and the levels of IL-1 β and IL-6 in the DN+TG group were lower than those in the DN group ($P < 0.05$), while the mRNA and protein levels of PGC-1 α were higher in the DN+TG group than those in the DN group ($P < 0.05$). In addition, the 24-hour urine protein, creatinine, the area percentage of kidney fibrosis, the mRNA and protein levels of p-PI3K/PI3K, p-Akt/Akt and HSP90, and the levels of IL-1 β and IL-6 were higher, and the mRNA and protein levels of PGC-1 α were lower in the DN+TG+SC79 group compared with those in the DN+TG group ($P < 0.05$). **Conclusions** TG can downregulate the transcription and translation of HSP90 by inhibiting the PI3K/Akt pathway and further promote the expression of PGC-1 α , through which TG exert anti-inflammatory and anti-fibrotic effects, thereby alleviating DN.

Keywords: diabetic nephropathy; Tripterygium Glycosides Tablets; PI3K/Akt; heat shock protein 90; peroxisome proliferator-activated receptor- γ coactivator-1 α

糖尿病肾病 (diabetic nephropathy, DN) 是由高糖微环境引起的多种病理机制协同作用导致的肾组织细胞凋亡和纤维化, 表现为肾功能逐渐下降^[1]。目前关于 DN 的发病机制仍不明确, 有研究认为高糖微环境激活 PI3K/Akt 通路, 促进炎症细胞因子等基因转录, 导致细胞凋亡和纤维化^[2]。热休克蛋白 (heat shock protein, HSP) 是分子伴侣蛋白的一个家族, 参与蛋白质折叠和稳定化, 其中 HSP90 是最丰富的一种, 各种压力条件 (如高糖、高温、缺氧等) 均可诱导 HSP90 的活化^[3]。最新研究发现, DN 患者 HSP90 明显上调, 但是其在 DN 中的作用机制和调控方式仍不明确^[4]。过氧化物酶体增殖物激活受体- γ 共激活因子-1 α (peroxisome proliferator-activated receptor- γ coactivator-1 α , PGC-1 α) 可通过调控线粒体功能调节活性氧自由基, 进而参与 DN 的发生、发展^[5]。雷公藤多甙 (tripterygium glycosides, TG) 是从传统中药雷公藤中提取的一种化合物, 有缓解肾组织损伤的作用^[6]。近年来研究显示, TG 对 DN 也具有治疗作用^[7]。也有研究显示, TG 可通过抑制 PI3K/Akt 通路, 缓解甲状腺氧化应激状态^[8], 但是 TG 是否通过 PI3K/Akt 缓解 DN, 以及是否对 HSP90 和 PGC-1 α 产生影响仍不清楚。本文主要分析 TG 通过 PI3K/Akt 通路对 DN 大鼠 HSP90、PGC-1 α 水平的影响。

1 材料与方法

1.1 动物模型复制及分组

65 只 SD 大鼠 SPF 级, 雄性, 12 周, 体重 220 ~ 250 g, 购自华北制药股份有限公司。实验动物生产许可证号: SCXK(冀)2019-004, 实验动物使用许可证号: SYXK(冀)2019-011。取 50 只 SD 大鼠腹腔注射链脲佐菌素 (60 mg/kg, pH=4.5) 复制 DN 模型^[9]。注射后第 3 天抽取大鼠检测尾静脉血检测空腹血糖, 空腹血糖 > 16.67 mmol/L 证明糖尿病模型复制成功。继续饲养 4 周后, 收集大鼠尿液检测尿微量白蛋白, 以尿微量白蛋白 > 15 μ g/ml 确定 DN 模型复制成功。本研究模型复制成功率为 92.00% (46/50)。随机选择 45 只模型复制成功的大鼠分为 DN 组、DN+TG 组和 DN+TG+SC79 组, 每组 15 只; 选择 15 只健康大鼠作为对照组。DN+TG 组和 DN+TG+SC79 组大鼠 TG 灌胃, 根据人体和大鼠体质量换算出剂量为 20 mg/kg, 1 次/d^[10]。DN+TG+SC79 组大鼠腹腔内注射 SC79 以激活 PI3K/Akt 通路^[11], 剂量为 0.04 mg/g, 2 次/周。连续干预 4 周后进行实验。

1.2 主要试剂及仪器

链脲佐菌素 (上海如吉生物科技发展有限公司), PI3K/Akt 通路激动剂 SC79(S7863) (上海碧云天生物技术有限公司), 酶联免疫吸附试验试剂盒 (enzyme linked

immunosorbent assay, ELISA)(南京森贝伽生物科技有限公司),苏木精-伊红(hematoxylin-eosin, HE)和Masson染色试剂盒、RNAspin Mini和miRNeasy Mini试剂盒、Bestar qRT-PCR和Bestar qRT-PCR试剂盒、TaqMan miRNA试剂盒、一抗和山羊抗免疫球蛋白G(IgG)二抗(1:1 000稀释,#ab6721)、硝酸纤维素膜、电化学发光(electrochemiluminescence, ECL)显色试剂盒购自广州易锦生物技术有限公司。SMT100V小动物自动生化分析仪、显微镜购自上海易毕恩生物技术有限公司。

1.3 方法

1.3.1 肾功能指标和炎症因子 通过SMT100V小动物自动生化分析仪检测大鼠24 h尿蛋白和肌酐,评估肾功能。收集大鼠尾静脉血,2 000 r/min离心20 min,收集上层血清,用ELISA试剂盒检测白细胞介素1 β (Interleukin-1 β , IL-1 β)和IL-6,用酶标仪检测450 nm处的吸光度值,然后根据标准曲线计算IL-1 β 和IL-6水平。

1.3.2 HE染色 大鼠安乐死后取出肾组织并在室温条件下用4%多聚甲醛固定6 h。乙醇脱水(从低浓度到高浓度)后,将组织包埋在石蜡中,制作5 μ m厚的切片,固定在载玻片上。载玻片在室温条件下用苏木精染色10 min,自来水洗涤1~2 min后将载玻片置于10%冰醋酸中10 s,然后置于1%氨水中,直到切片变蓝。随后用自来水清洗1~2 min后将载玻片放入曙红中10 s。用乙醇(浓度分别为70%、90%、95%和100%)脱水后,将载玻片置于二甲苯中2 min;重复此步骤1次。最后用中性胶密封玻片,在倒置显微镜下观察大鼠肾组织损伤情况。

1.3.3 Masson染色 将肾组织固定在10%中性甲醛缓冲液,石蜡包埋、切片(厚约4 μ m),用Masson三色染色剂染色,以检测肾间质纤维化的面积。2位研究人员使用IDA-2000高分辨率数字显微镜和图像分析系统,在400倍放大镜下评估每个视野的纤维化面积百分比。

1.3.4 Western blotting检测HSP90和PGC-1 α 蛋白表达 将肾组织置于RIPA裂解缓冲液中,冰上裂解。通过8% SDS-PAGE分离每个样品中等量(50 μ g)蛋白,并将其转移到硝酸纤维素膜上。室温条件下将膜浸入5%脱脂牛奶中2 h,封闭非特异性抗原。膜与一抗体在4 $^{\circ}$ C条件下孵育过夜,然后将膜与相应的辣根过氧化物酶偶联的二抗在室温下孵

育1 h。使用ECL显色试剂盒显色,Quantum One软件分析灰度,计算蛋白相对表达量。

1.3.5 实时荧光定量聚合酶链反应(quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR)检测HSP90和PGC-1 α mRNA表达 采用RNeasy Mini试剂盒提取肾组织总RNA, Bestar qRT-PCR试剂盒逆转录为cDNA,条件如下:37 $^{\circ}$ C 15 min,98 $^{\circ}$ C 5 min。采用BestarTM qRT-PCR预混液进行qRT-PCR实验,反应条件:95 $^{\circ}$ C预变性2 min,94 $^{\circ}$ C变性20 s,58 $^{\circ}$ C退火20 s,72 $^{\circ}$ C延伸20 s,共计40个循环,72 $^{\circ}$ C继续延伸4 min。使用Agilent Stratagene Mx3000P序列检测系统进行qRT-PCR分析。通过比较循环阈值并以GAPDH作为内参,计算mRNA相对表达量。qRT-PCR引物序列见表1。

表1 qRT-PCR引物序列

基因	引物序列	引物长度/ bp
HSP90	正向:5'-CAGTGCATGGTTCCTTGC-3'	104
	反向:5'-CACCGAGGAACCTACCTGAT-3'	
PGC-1 α	正向:5'-GGCAAGAGAATCCACGAAG-3'	91
	反向:5'-GTTGTTGCTGCTCTTTCCCG-3'	
GAPDH	正向:5'-AGAGGAAATCCTGCGGTGAC-3	138
	反向:5'-CAATAGTGATGACCTGGCCGT-3'	

1.4 统计学方法

数据分析采用SPSS 19.0统计软件。计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,比较用方差分析或 t 检验,多组间进一步两两比较用SNK- q 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠血糖水平比较

各组大鼠干预前的血糖水平比较,经方差分析,差异有统计学意义($P < 0.05$);各模型组大鼠干预前血糖均高于对照组,且 > 16.67 mmol/L。各组大鼠干预后的血糖水平比较,经方差分析,差异有统计学意义($P < 0.05$);DN+TG组、DN+TG+SC79组低于DN组($P < 0.05$)。对照组、DN组大鼠干预前后的血糖水平比较,经 t 检验,差异无统计学意义($t = 0.842$ 和 0.126 , $P = 0.412$ 和 0.106)。DN+TG组、DN+TG+SC79组大鼠干预前后的血糖水平比较,经 t 检

验, 差异有统计学意义 ($t=35.058$ 和 36.821 , 均 $P=0.000$), 干预后血糖降低。见表 2。

表 2 各组大鼠空腹血糖水平比较
($n=15$, mmol/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	干预前	干预后
对照组	4.96 \pm 0.55	4.52 \pm 0.51
DN 组	29.05 \pm 2.44	30.11 \pm 2.84
DN+TG 组	29.67 \pm 2.21	22.05 \pm 2.15
DN+TG+SC79 组	30.21 \pm 2.38	23.97 \pm 2.34
F 值	28.763	30.237
P 值	0.001	0.001

2.2 TG 对大鼠肾组织损伤的影响

对照组肾小球和肾小管正常; DN 组肾小球出现水肿和炎症浸润, 结构出现异常, 肾小球膨大; DN+TG 组肾小球结构基本完整, 水肿和炎症浸润有所缓解; DN+TG+SC79 组肾小球损伤情况与 DN 组类似。见图 1。

2.3 TG 对大鼠肾功能的影响

各组大鼠肾功能指标比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。进一步两两比较结果:

DN 组 24 h 尿蛋白和肌酐高于对照组和 DN+TG 组 ($P < 0.05$); DN+TG+SC79 组的 24 h 尿蛋白和肌酐高于 DN+TG 组 ($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 各组大鼠肾功能指标比较 ($n=15$, $\bar{x} \pm s$)

组别	24 h 尿蛋白/mg	肌酐/(μ mol/L)
对照组	24.57 \pm 3.85	28.35 \pm 3.96
DN 组	248.16 \pm 30.28	55.42 \pm 7.47
DN+TG 组	126.92 \pm 19.74	39.38 \pm 5.58
DN+TG+SC79 组	238.24 \pm 31.06	52.51 \pm 7.43
F 值	25.179	23.731
P 值	0.001	0.001

2.4 TG 对大鼠肾纤维化的影响

对照组、DN 组、DN+TG 组、DN+TG+SC79 组的肾组织纤维化面积百分比分别为 (3.74 ± 0.45)%、(21.77 ± 2.06)%、(7.94 ± 0.91)% 和 (19.32 ± 1.89)%, 经方差分析, 差异有统计学意义 ($F = 27.356$, $P = 0.001$)。进一步两两比较结果: DN 组高于对照组和 DN+TG 组 ($P < 0.05$); DN+TG+SC79 组高于 DN+TG 组 ($P < 0.05$)。见图 2。

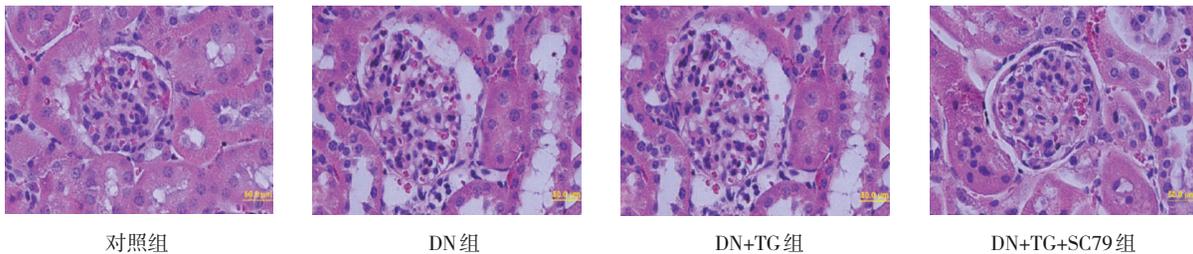


图 1 各组大鼠肾组织损伤情况 (HE 染色 $\times 400$)

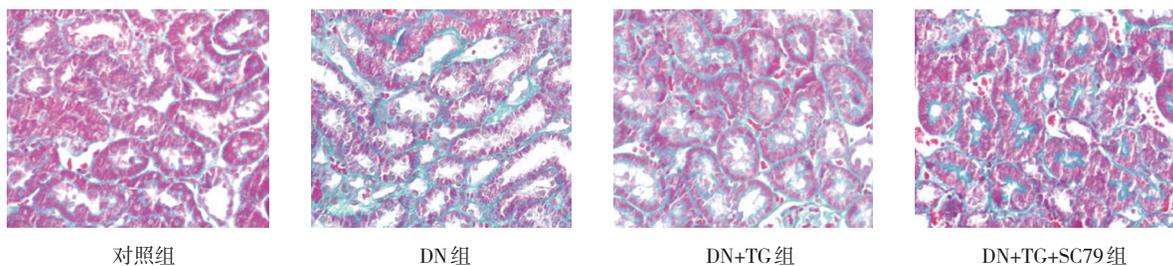


图 2 各组大鼠肾纤维化情况 (Masson 染色 $\times 400$)

2.5 各组大鼠 PI3K/Akt 通路激活情况

各组大鼠肾组织中 PI3K/Akt 通路激活情况比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。进一步两两比较结果: DN 组 p-PI3K/PI3K 和 p-Akt/Akt 高于对照组和 DN+TG 组 ($P < 0.05$); DN+TG+

SC79 组 p-PI3K/PI3K 和 p-Akt/Akt 高于 DN+TG 组 ($P < 0.05$)。见表 4 和图 3。

2.6 TG 对大鼠肾组织 HSP90、PGC-1 α 转录水平的影响

各组大鼠肾组织 HSP90、PGC-1 α mRNA 相对

表 4 各组大鼠 PI3K 和 Akt 磷酸化水平比较
($n=15, \bar{x} \pm s$)

组别	p-PI3K/PI3K	p-Akt/Akt
对照组	0.56 ± 0.05	0.41 ± 0.04
DN 组	2.97 ± 0.25	2.18 ± 0.19
DN+TG 组	1.17 ± 0.10	1.05 ± 0.09
DN+TG+SC79 组	2.06 ± 0.17	1.84 ± 0.16
F 值	19.765	22.124
P 值	0.001	0.001

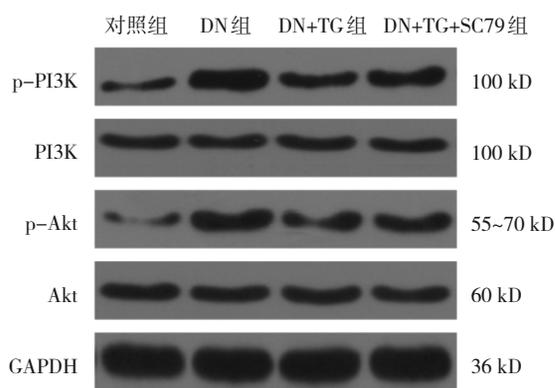


图 3 各组大鼠肾组织中 PI3K/Akt 通路的表达

表达量比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。进一步两两比较结果: DN 组 HSP90 mRNA 相对表达量高于对照组和 DN+TG 组 ($P < 0.05$), 而 PGC-1 α mRNA 相对表达量低于对照组和 DN+TG 组 ($P < 0.05$); DN+TG+SC79 组 HSP90 mRNA 相对表达量高于 DN+TG 组 ($P < 0.05$), 而 PGC-1 α mRNA 相对表达量低于 DN+TG 组 ($P < 0.05$)。见表 5。

表 5 各组大鼠 HSP90 和 PGC-1 α mRNA 相对表达量比较 ($n=15, \bar{x} \pm s$)

组别	HSP90 mRNA	PGC-1 α mRNA
对照组	0.94 ± 0.09	4.72 ± 0.43
DN 组	4.89 ± 0.45	0.91 ± 0.09
DN+TG 组	3.01 ± 0.28	3.54 ± 0.41
DN+TG+SC79 组	4.74 ± 0.45	1.45 ± 0.22
F 值	15.764	14.987
P 值	0.001	0.001

2.7 TG 对大鼠肾组织 HSP90、PGC-1 α 蛋白表达的影响

各组大鼠肾组织 HSP90 和 PGC-1 α 蛋白相对表达量比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 ($P <$

0.05)。进一步两两比较结果: DN 组 HSP90 蛋白相对表达量高于对照组和 DN+TG 组 ($P < 0.05$), 而 PGC-1 α 蛋白相对表达量低于对照组和 DN+TG 组 ($P < 0.05$); DN+TG+SC79 组 HSP90 蛋白相对表达量高于 DN+TG 组, 而 PGC-1 α 蛋白相对表达量低于 DN+TG 组 ($P < 0.05$)。见表 6 和图 4。

表 6 各组大鼠 HSP90 和 PGC-1 α 蛋白相对表达量比较
($n=15, \bar{x} \pm s$)

组别	HSP90 蛋白	PGC-1 α 蛋白
对照组	0.62 ± 0.06	2.53 ± 0.21
DN 组	3.64 ± 0.32	0.58 ± 0.05
DN+TG 组	2.31 ± 0.21	2.06 ± 0.18
DN+TG+SC79 组	3.38 ± 0.30	0.91 ± 0.09
F 值	19.765	17.432
P 值	0.001	0.001

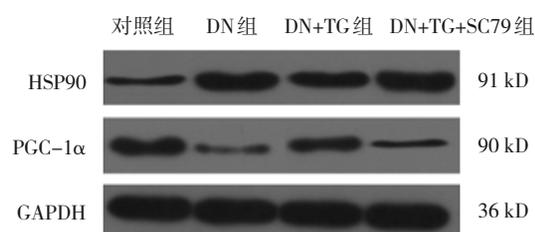


图 4 各组大鼠肾组织 HSP90 和 PGC-1 α 蛋白的表达

2.8 TG 对大鼠 IL-1 β 、IL-6 水平的影响

各组大鼠炎症因子水平比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。进一步两两比较结果: DN 组 IL-1 β 、IL-6 水平高于对照组和 DN+TG 组 ($P < 0.05$); DN+TG+SC79 组 IL-1 β 、IL-6 水平高于 DN+TG 组 ($P < 0.05$)。见表 7。

表 7 各组大鼠 IL-1 β 、IL-6 水平比较
($n=15, \text{pg/mL}, \bar{x} \pm s$)

组别	IL-1 β	IL-6
对照组	14.67 ± 2.01	24.21 ± 2.86
DN 组	86.32 ± 9.65	96.75 ± 9.39
DN+TG 组	38.76 ± 4.63	49.02 ± 5.67
DN+TG+SC79 组	80.77 ± 9.44	91.34 ± 10.43*
F 值	23.087	22.456
P 值	0.001	0.001

3 讨论

全世界超过 4 亿人患有糖尿病, 每年死亡 370 万

人^[12]。长期高血糖会损害器官的小血管, 主要包括眼睛、肾脏和神经。在许多国家, DN 是导致终末肾脏疾病最常见的原因, 表现为肾小球肥大、蛋白尿和肾小球膜细胞分泌的细胞外基质(extracellular matrix, ECM)成分积累。在 DN 中, 促炎症细胞因子(如 IL-1 β 和 IL-6 等)水平升高, 影响肾单位的转运蛋白和离子通道的功能, 并导致肾脏纤维化和肾小球硬化。肾小球功能性细胞丧失与 ECM 蛋白(尤其是间质胶原蛋白, 包括 I、III 和 IV 型胶原蛋白)过度积累密切相关, 肾纤维化是 DN 进展的关键机制, 也是导致肾功能丧失的主要原因^[13]。但是目前尚无治疗 DN 的有效方法。

有研究显示, PI3K/Akt 在 DN 中发挥重要作用, PI3K 和 Akt 被磷酸化激活后, 进入细胞核调节转录, 从而促进炎症因子和 ECM 等的表达, 损伤肾功能^[14-15]。中药在治疗 DN 中取得了长足的发展, 有研究表明中药可通过抑制 PI3K/Akt 通路, 缓解 DN, 保护肾功能^[16]。TG 是从雷公藤根木质部提取和纯化的活性物质, 已被广泛用于治疗自身免疫和炎症疾病, 包括类风湿性关节炎、系统性红斑狼疮及肾病综合征等^[17]。并且近年来也有生物信息学研究结果显示, TG 具有缓解糖尿病引起的器官纤维化的作用, 从而缓解包括 DN 在内的糖尿病并发症^[18], 但是 TG 是否通过 PI3K/Akt 通路对 DN 肾功能和纤维化具有缓解作用仍未明确。本研究通过 TG 灌胃干预 DN 小鼠, 并通过 SC79 激活 PI3K/Akt 通路, SC79 可作为促进动物模型中 PI3K 和 Akt 磷酸化的试剂^[19]。结果显示 TG 能够明显缓解 DN 大鼠的肾组织损伤和纤维化, 保护肾功能。通过 Western blotting 结果检测证实 DN 大鼠模型肾组织中 PI3K 和 Akt 蛋白磷酸化水平明显升高, 而 TG 可显著抑制 PI3K/Akt 通路的激活, SC79 可使 PI3K 和 Akt 磷酸化水平恢复。并且本研究结果还表明, 使用 SC79 激活 PI3K/Akt 通路后, TG 对肾组织的保护作用被阻断。有研究发现, TG 可通过抑制 PI3K/Akt 通路, 提高卵巢癌细胞对顺铂的敏感性^[20]。陈婷等^[21]研究发现 TG 可通过减少 PI3K 和 Akt 磷酸化水平, 抑制青光眼手术后的纤维化。有研究显示 TG 也具有降低血糖的作用, 但是其对血糖的影响有限, 干预后血糖浓度依旧 >16.67 mmol/L, 这对保护肾脏组织作用轻微。这提示在 DN 中, TG 可能通过

抑制 PI3K/Akt 通路的激活, 保护肾组织并减少 ECM 的累积, 从而保护肾功能。但是关于 TG 抑制 PI3K/Akt 后, 通过何种分子机制缓解 DN 仍不清楚。

PI3K-Akt 信号通路的活性可以被类脂磷酸酶 PTEN 和 SHIP 负调节, 但迄今为止尚未发现下调 Akt 活性的特异磷酸酶, 而用磷酸酶抑制剂处理细胞后, Akt 的磷酸化和活性均有所增加。最近发现 HSP90 能结合 Akt, 阻止 Akt 被 PP2A 磷酸酶的去磷酸化而失活, 因此具有保护 Akt 的作用。另外激活 PI3K/Akt 可磷酸化 Sirt1, 随后 Sirt1 乙酰化激活 PGC-1 α 从而发挥其作用。为进一步分析 TG 通过 PI3K/Akt 缓解 DN 的作用机制, 本文检测了 HSP90 和 PGC-1 α 表达。HSP90 的表达可被 PI3K/Akt 通路上调^[22], 体外研究也显示高糖环境下肾小管细胞中 HSP90 升高, 其过表达加速细胞损伤^[23]。而抑制 HSP90 可使 DN 大鼠 IL-6 等炎症因子水平降低, 保护肾脏功能^[24]。PGC-1 α 具有保护线粒体、缓解氧化应激和抗纤维化作用^[25], 并且与 PI3K/Akt 之间存在串扰, 两者互相调控^[26]。有研究结果显示, 中药在缓解 DN 的同时还会促进 PGC-1 α 的表达^[27]。本研究结果显示, DN 组大鼠肾组织中 HSP90 表达及炎症细胞因子水平均显著升高, 而 PGC-1 α 表达降低, TG 能够抑制 HSP90 表达和降低炎症因子, 并促进 PGC-1 α 的表达, 而使用 SC79 激活 PI3K/Akt 后, TG 抑制 HSP90 表达和降低炎症因子水平, 以及促进 PGC-1 α 表达的作用被阻断。有研究发现, TG 可通过抑制 HSP90 的表达改善肾病综合征患者肾功能^[9]。最新研究表明, 雷公藤的活性提取物可通过促进 PGC-1 α 的转录和翻译缓解炎症反应, 进而调控细胞代谢, 保护细胞^[28]。提示 DN 的发生可能与 PI3K/Akt 促进 HSP90 表达, 抑制 PGC-1 α 表达有关, 而 TG 可能通过激活 PI3K/Akt 通路, 调节 p-Akt 的转录调节功能, 进而抑制 HSP90 的转录和翻译, 促进 PGC-1 α 的表达, 起到缓解 DN 的作用。

综上所述, TG 可以通过抑制 PI3K/Akt 通路, 抑制 HSP90 的转录和翻译, 促进 PGC-1 α 的表达, 并发挥抗炎和抗纤维化作用, 从而缓解 DN。

参考文献:

- [1] UMANATH K, LEWIS J B. Update on diabetic nephropathy: core curriculum 2018[J]. Am J Kidney Dis, 2018, 109(3): 218-228.

- [2] 马可可, 鞠营辉, 陈清青, 等. 黄芪甲苷对 2 型糖尿病肾病大鼠肾组织 PI3K/Akt/FoxO1 信号调控的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(2): 74-81.
- [3] LI L, WANG L, YOU Q D, et al. Heat shock protein 90 inhibitors: an update on achievements, challenges, and future directions[J]. *J Med Chem*, 2020, 63(5):1798-1822.
- [4] 王娇, 唐俊明, 杨婷, 等. 热休克蛋白 90 在大鼠糖尿病肾病中的作用及机制[J]. 广东医学, 2018, 39(16): 29-33.
- [5] XUE H Y, LI P P, LUO Y H, et al. Salidroside stimulates the Sirt1/PGC-1 α axis and ameliorates diabetic nephropathy in mice[J]. *Phytomedicine*, 2019, 54(1): 240-247.
- [6] WANG J M, WANG C B, WU J Y, et al. Oral microemulsion based delivery system for reducing reproductive and kidney toxicity of Tripterygium glycosides[J]. *J Microencapsul*, 2019, 36(6): 523-534.
- [7] 宋纯东, 宋丹, 任献青, 等. 雷公藤多苷片对糖尿病肾病大鼠肾组织 RhoA/ROCK1 表达的影响[J]. 中华中医药学刊, 2020, 8(8): 124-127.
- [8] 张洁, 王思瑶, 陆春晖, 等. 雷公藤多苷调控 PI3K/AKT/mTOR 通路对 Graves 病小鼠甲状腺功能及氧化应激状态的作用研究[J]. 实用药物与临床, 2020, 8(8): 688-692.
- [9] 张培培, 鲁科达, 夏虹, 等. 加味黄芪汤对糖尿病肾病大鼠肾组织 SIRT1 及 PGC-1 α 表达的影响[J]. 中华中医药杂志, 2019, 34(2): 589-593.
- [10] 杨忠民, 蔡佳盈, 孙凌云, 等. 雷公藤多苷片对免疫球蛋白 A 肾病大鼠肾病理损伤及血清炎症因子表达的影响[J]. 中国临床药理学杂志, 2020, 1(15): 224-227.
- [11] LUAN Q, PAN L X, HE D Y, et al. SC79, the AKT activator protects cerebral ischemia in a rat model of ischemia/reperfusion injury[J]. *Med Sci Monit*, 2018, 24(1): 5391-5397.
- [12] PAPADEMETRIOU V, ALATAKI S, SAVROPOULOS K, et al. Pharmacological management of diabetic nephropathy[J]. *Curr Vasc Pharmacol*, 2020, 18(2): 139-147.
- [13] JIANG Z H, TAND Y Z, SONG H N, et al. miRNA-342 suppresses renal interstitial fibrosis in diabetic nephropathy by targeting SOX6[J]. *Int J Mol Med*, 2020, 45(1): 45-52.
- [14] LU Q, WANG W W, ZHANG M Z, et al. ROS induces epithelial-mesenchymal transition via the TGF- β 1/PI3K/Akt/mTOR pathway in diabetic nephropathy[J]. *Exp Ther Med*, 2019, 17(1): 835-846.
- [15] SHI C H, HUANG Y, LI W Q, et al. Influence of lncRNA UCA1 on glucose metabolism in rats with diabetic nephropathy through PI3K-Akt signaling pathway[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23(22): 10058-10064.
- [16] 童楠, 张宁. 中药益肾颗粒通过 PI3k/Akt/mTOR 和 LKB1/AMPK/Sirt1 信号通路对糖尿病肾病大鼠的干预作用研究[J]. 中华中医药杂志, 2018, 33(5): 1853-1857.
- [17] WANG J Y, HE L Y, YAN W Z, et al. The role of hypertriglyceridemia and treatment patterns in the progression of IgA nephropathy with a high proportion of global glomerulosclerosis[J]. *Int Urol Nephrol*, 2020, 52(2): 325-335.
- [18] 袁永亮, 李泽运, 杜玥, 等. 基于生物信息数据库探讨雷公藤红素抗糖尿病及其并发症的生物分子机制研究[J]. 中国药理学杂志, 2020, 4(4): 305-311.
- [19] WEN L J, WANG K, ZHANG F T, et al. AKT activation by SC79 to transiently re-open pathological blood brain barrier for improved functionalized nanoparticles therapy of glioblastoma[J]. *Biomaterials*, 2020, 237(1): 119793.
- [20] 占欣璐, 谭布珍, 钟焰英, 等. 雷公藤多苷对耐顺铂人上皮卵巢癌细胞体外活性的影响及机制研究[J]. 中国免疫学杂志, 2018, 34(7): 1017-1022.
- [21] 陈婷, 周和政. 雷公藤甲素防治青光眼术后滤过泡纤维化的可行性分析[J]. 国际眼科杂志, 2014, 14(6): 1045-1048.
- [22] ZHANG X H, CHEN B X, WU J X, et al. Aspirin enhances the protection of Hsp90 from heat-stressed injury in cardiac microvascular endothelial cells through PI3K-Akt and PKM2 pathways[J]. *Cells*, 2020, 9(1): 243-246.
- [23] GARCRA C, BENITO S, MORENO V, et al. Mechanism and consequences of the impaired Hif-1 α response to hypoxia in human proximal tubular HK-2 cells exposed to high glucose[J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1):15868-15871.
- [24] LAPPALA J, OKSALA N J, LAAKSON D E, et al. Suppressed heat shock protein response in the kidney of exercise-trained diabetic rats[J]. *Scand J Med Sci Sports*, 2018, 28(7): 1808-1817.
- [25] FONTECH M, MARTIN D, MARM J M, et al. The role of PGC-1 α and mitochondrial biogenesis in kidney diseases[J]. *Biomolecules*, 2020, 10(2): 347-349.
- [26] HUANG J B, HSU S P, PAN H Y, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator 1 α activates vascular endothelial growth factor that protects against neuronal cell death following status epilepticus through PI3K/AKT and MEK/ERK signaling[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(19): 7247-7250.
- [27] 刘倩, 鲁华, 郭更新, 等. 雷公藤多苷联合激素对成人 NS 糖皮质激素抵抗及 HSP90 的影响[J]. 基因组学与应用生物学, 2017, 36(11): 4485-4490.
- [28] FANG P H, HE B, YU M, et al. Treatment with celastrol protects against obesity through suppression of galanin-induced fat intake and activation of PGC-1 α /GLUT4 axis-mediated glucose consumption[J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2019, 1865(6): 1341-1350.

(童颖丹 编辑)

本文引用格式: 于向慧, 何艳玲, 杨雨菲, 等. 雷公藤多苷通过 PI3K/Akt 通路对糖尿病肾病大鼠热休克蛋白 90 及 PGC-1 α 表达的影响[J]. 中国现代医学杂志, 2021, 31(22): 10-16.

Cite this article as: YU X H, HE Y L, YANG Y F, et al. Tripterygium Glycosides Tablets affect the levels of heat shock protein 90 and PGC-1 α in rats with diabetic nephropathy through PI3K/Akt pathway[J]. *China Journal of Modern Medicine*, 2021, 31(22): 10-16.