

固本通络方对 IgA 肾病小鼠 Peyer 小结 B 淋巴细胞 IgA 类别转换的影响*

沈沛成, 何立群[△]

上海中医药大学附属曙光医院 肾内科 (上海 200021)

【摘要】 目的 探讨固本通络方治疗 IgA 肾病的作用机制。方法 昆明种小鼠经过 12 周诱导建立 IgA 肾病动物模型,随机分为模型组($n=15$)、中药组($n=15$);另取正常小鼠作为正常对照组($n=15$)。12 周造模结束时开始,中药组按小鼠体质量予固本通络方 1.35 mL/(g·d)灌胃,正常对照组和模型组予等量生理盐水灌胃,每日 1 次,均连续 8 周。第 0 周、12 周和 20 周时,测定各组 24 h 尿蛋白;第 12 周和 20 周观察肾组织病理学改变,第 20 周时实时荧光定量 PCR 检测 Peyer 小结转化生长因子 β (TGF- β)、细胞信号转导分子(Smad)3 mRNA 表达,免疫组化法检测 Peyer 小结 TGF- β 、Smad3 蛋白的表达,流式细胞测定 Peyer 小结(IgA+B 淋巴细胞)/B 淋巴细胞水平。结果 与正常对照组相比,模型组小鼠 24 h 尿蛋白升高(12 周和 20 周),系膜区 IgA 沉积,Peyer 小结 TGF- β 、Smad3 蛋白和 mRNA 表达升高,(IgA+B 淋巴细胞)/B 淋巴细胞水平升高,差异均有统计学意义(P 均 <0.01)。与模型组相比,中药组各项指标均有所改善,差异有统计学意义(P 均 <0.01);但与正常对照组相比,中药组各项指标的差异有统计学意义(P 均 <0.01)。结论 固本通络方能有效改善 IgA 肾病小鼠蛋白尿及肾小球系膜区 IgA 沉积,可能与其调节 Peyer 小结 TGF- β /Smad3,进而影响 B 淋巴细胞 IgA 类别转换有关。

【关键词】 IgA 肾病 Peyer 小结 B 淋巴细胞 IgA 类别转换 TGF- β /Smad3 固本通络方

Effect of "Gubentongluo Formula" on the IgA Class Switch Recombination of B Lymphocytes in Peyer's Patches in Mice with IgA Nephropathy SHEN Pei-cheng, HE Li-qun[△]. Shuguang Hospital Affiliated with Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200021, China

[△] Corresponding author, E-mail: spc111215@163.com

【Abstract】 **Objective** To explore the underlying mechanism of "Gubentongluo Formula" in treatment of IgA nephropathy (IgAN). **Methods** After the IgAN model was successfully induced at week 12, the Kunming mice were randomly divided into three groups: normal control group ($n=15$), IgAN group ($n=15$) and Traditional Chinese Medicine (TCM) group. The mice in normal control and IgAN group were intragastrically administrated with normal saline for 8 weeks; meanwhile, the mice in TCM group were intragastrically administrated with "Gubentongluo Formula" 1.35 mL/(g·d). The levels of 24 h urine protein were determined at Week 0, 12 and 20. At week 20, the changes of renal pathology were detected; the mRNA expressions of transforming growth factor- β (TGF- β) and small mothers against decapentaplegic (Smad) 3 in Peyer's patches (PPs) were detected by fluorescent quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction; the protein expressions of TGF- β and Smad 3 in PPs were detected by immunohistochemistry technique; the levels of (IgA+B)/B lymphocytes in PPs were determined by flow cytometry. **Results** Compared with those results of normal control group, the levels of 24 h urine protein, IgA deposition in glomerular mesangial area, and expressions of protein and mRNA of TGF- β and Smad3 in IgAN group were significantly increased ($P<0.01$). Besides, the levels of (IgA+B)/B lymphocytes were significantly elevated in IgAN group ($P<0.01$). All these indicators were improved in TCM group. Compared with IgAN group, the differences were statistically significant ($P<0.01$). Compared with those results of control group, the levels of (IgA+B)/B lymphocytes showed no significant difference in TCM group ($P>0.05$), but other indicators showed significant differences ($P<0.01$). **Conclusion** "Gubentongluo Formula" could effectively improve proteinuria and suppress IgA deposition in glomerular mesangial area in IgAN mice, due to affect IgA class switch recombination of B lymphocytes in PPs through regulating TGF- β /Smad3 pathway.

【Key words】 IgA nephropathy Peyer's patch B lymphocyte IgA class switch recombination TGF- β /Smad3 Gubentongluo Formula

*上海市科委科研项目(No. 12ZR1432400)、中医临床重点项目(No. 14401972203)、中医引导项目(No. 15401930100)、上海市卫生和计划生育委员会科研课题(No. 201440488)及上海市中医药三年行动计划(No. ZY3-JSFC-2-1029)资助

[△] 通信作者, E-mail: spc111215@163.com

IgA 肾病是最常见的慢性肾脏疾病,也是导致终末期肾病最常见的病因之一^[1-2]。该病发病机制复杂,临床和病理表现多样化,现代医学尚无特效治疗手段。中医药治疗 IgA 肾病有独到的优势,因此开展相关研究具有重要的临床意义。

中医理论认为阴阳、脏腑和气血津液的盛衰在疾病的病程中举足轻重,故与之关系密切的营卫调和显得尤为重要。以调和营卫的治疗方法应用于肾系疾病,多有良效^[3-4]。近年来,上海曙光医院肾病科创制了调和营卫之固本通络方(组方为黄芪、党参、山药、早莲草、地黄、桂枝、白芍、炙甘草)治疗 IgA 肾病。该方能显著改善 IgA 肾病患者的血尿和蛋白尿,且其疗效与大便溏薄或腹泻的症状变化呈正相关^[5]。包括 Peyer 小结在内的肠道黏膜相关淋巴组织能调节大便性状^[6];作为免疫诱导部位的 Peyer 小结,是 B 淋巴细胞转化为分泌 IgA 的浆细胞之主要场所,与 IgA 肾病关系密切^[7]。另一方面,转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β)/细胞信号转导分子(small mothers against decapentaplegic, Smad)则是 B 淋巴细胞 IgA 类别转换的主要信号通路之一^[8-9]。基于此,本研究对治疗前后的 IgA 肾病小鼠蛋白尿、肾病理损伤、Peyer 小结 TGF- β /Smad3 和 IgA 及 B 淋巴细胞进行检测,观察固本通络方对 Peyer 小结 B 淋巴细胞 IgA 类别转换的影响,探讨其可能的作用机制。

1 材料与方法

1.1 动物

SPF 级 6 周龄雄性昆明种小鼠 45 只,体质量约 20 g,购自中国科学院上海动物所。上海中医药大学实验动物中心清洁级动物房内饲养,实验前给予标准饲料适应性饲养 1 周。

1.2 试剂

牛血清白蛋白(BSA)购自美国 Sigma 公司(批号:A9647);葡萄球菌肠毒素 B(staphylococcal enterotoxin B, SEB)购自军事医学科学院微生物流行病研究所;固本通络方(黄芪 15 g、女贞子 15 g、丹参 15 g、早莲草 15 g、桃仁 10 g、汉兰 10 g、土大黄 30 g、白茅根 30 g、鬼箭羽 15 g),曙光医院制剂室提供,水煎浓缩至含生药量为 3.7 g/mL。

1.3 方法

1.3.1 动物模型的制备 45 只小鼠分为中药组(固本通络方)、模型组(IgA 肾病)、正常对照组,每组 15 只。模型组和中药组根据文献^[9]诱导建立

IgA 肾病小鼠模型:1~5 周隔日 BSA (200 mg/kg)灌胃;第 6 周起 BSA(20 mg/kg)尾静脉注射,每天 1 次,连续 3 d;第 8 周起 SEB (0.5 mg/kg)尾静脉注射,每周 1 次,连续 3 周,观察至第 12 周末。若小鼠肾小球系膜细胞增生,系膜区有颗粒状、团块状 IgA 沉积,表明模型复制成功。正常对照组则在同期给予等量、等次 0.01 mmol/L 的 PBS 缓冲液灌胃及尾静脉注射。

1.3.2 分组治疗 正常对照组小鼠予正常条件饲养,不造模,但予生理盐水灌胃;模型组也予生理盐水灌胃;中药组则按小鼠体质量予固本通络方以 1.35 mL/(g·d)胃,均为 12 周造模结束时开始,每天 1 次,连续 8 周。

1.3.3 样本留取 分批在第 0 周(造模前)、12 周(造模后)和 20 周时(分组治疗后)称重并处死动物,每批 5 只,收集尿液,留取小肠和肾脏组织备用。

颈椎脱臼法处死小鼠,于腹中线剪开毛皮及肌层,钝性分离从幽门至回盲部的全部小肠;冰 Hank's 液反复冲洗肠腔;肉眼观察,用眼科弯剪剪下所有 Peyer 小结,观察大小并记录个数,置于盛有冰 Hank's 液的平皿中保存备用。

分离小肠后分开肠管,暴露腹主动脉和肾脏,于右肾上方阻断腹主动脉,PBS 缓冲液灌洗,立即剪取双肾置于冰生理盐水中,剥离肾周包膜及结缔组织后剪取皮质置于体积分数为 10% 中性甲醛溶液中。

1.4 检测指标

1.4.1 尿液、血清学指标 小鼠处死前单独置于代谢笼中 24 h,记尿量,观察尿色并收集尿液,以双缩脲法测定第 0 周、12 周和 20 周 24 h 尿蛋白定量。以 2% 戊巴比妥麻醉后眼眶取血,以 Beckman 自动生化分析仪测血清肌酐。

1.4.2 肾脏组织 HE 染色和免疫荧光染色 12 周及 20 周时,以体积分数为 10% 的甲醛固定小鼠肾脏组织,石蜡包埋,5 μ m 切片,苏木精-伊红(HE)染色,光镜下观察系膜区系膜细胞及基质有无增生。5 μ m 切片依次经二甲苯和体积分数为 95% 乙醇固定,PBS 液漂洗,加兔抗小鼠 IgA (1:100),4 $^{\circ}$ C 过夜,PBS 液漂洗,FITC 标记羊抗兔 IgG (1:100)4 $^{\circ}$ C 过夜,PBS 液漂洗,甘油封片,荧光显微镜下观察系膜区 IgA 沉积。

1.4.3 流式细胞仪检测 Peyer 小结 IgA+B 淋巴细胞 20 周时,Ficon 密度梯度离心法分离 Peyer 小结中的淋巴细胞,Hank's 液过滤、洗涤,并调整

细胞数于 $(5 \sim 10) \times 10^5 \text{ mL}^{-1}$ 。在各组淋巴细胞 $100 \mu\text{L}$ 中分别加入 FITC 标记鼠抗小鼠 IgA 抗体和鼠抗小鼠 CD19 单克隆抗体(抗 B 淋巴细胞表面特异分子)各 $1 \mu\text{L}$, 避光孵育 15 min, PBS 洗涤, 再加 $50 \mu\text{L}$ PBS 混成悬液, 流式细胞仪检测(美国 BD 公司的 FACSCalibur 流式细胞仪)。以上抗体均购自英国 AbDserotec 公司。计算(IgA+B 淋巴细胞)/B 淋巴细胞水平。

1.4.4 免疫组织化学法检测 Peyer 小结 TGF- β 、Smad3 蛋白表达 采用常规 SABC 法进行免疫组织化学分析。抗 TGF- β 抗体和抗 Smad3 抗体, 采用 SABC 成套免疫组化试剂盒, 购自武汉博士德生物工程有限公司(批号: 20140400), 严格按照试剂盒说明书的方法和步骤进行。20 周时, 取 Peyer 小结的组织石蜡切片, 二甲苯脱蜡, 修复孵育后, 滴加 1:100 稀释的 TGF- β 及 Smad3 抗体, $3 \text{ }^\circ\text{C}$ 过夜。PBS 液多次冲洗, 再滴加生物素化标记的羊抗兔 IgG 二抗和显色剂工作液, 反复 PBS 液冲洗, DAB 显色, 苏木精复染封片。光学显微镜($200\times$)观察, 胞质内出现棕黄色颗粒为阳性反应。每张切片中随机取 5 个视野, 摄取图像, 通过美国 Media Cybernetics 公司图像分析管理系统进行图像分析, 计算阳性面积与整个视野面积的比值, 取其平均值, 以百分率表示, 作为目的蛋白的相对表达量。

1.4.5 荧光实时定量 PCR 检测 Peyer 小结 TGF- β 、Smad3 mRNA 20 周时, 采用 ZYMO RESEARCH 的 Direct-zol RNA MiniPrep 试剂盒抽提 RNA, 纯化后的 RNA 立即使用或者 $\leq -70 \text{ }^\circ\text{C}$ 储存。采用 ABM 5 \times All-In-One RT MasterMix 试剂盒进行逆转录反应($20 \mu\text{L}$ 体系), $1 \mu\text{g}$ RNA $25 \text{ }^\circ\text{C}$ 孵育 10 min, $42 \text{ }^\circ\text{C}$ 逆转录 50 min, $85 \text{ }^\circ\text{C}$ 灭活逆转录酶 5 min, $-20 \text{ }^\circ\text{C}$ 保存, 工作浓度 $10 \text{ ng}/\mu\text{L}$ 。各 mRNA 引物自行设计, 序列见表 1。采用实时荧光定量 PCR 扩增($20 \mu\text{L}$ 体系): ABMEvaGreen 2 \times qPCR MasterMix $10 \mu\text{L}$ 、上游和下游引物各 $0.6 \mu\text{L}$ 、cDNA $2 \mu\text{L}$ 、RNase-free H_2O $6.8 \mu\text{L}$ 。采用两步法进行 PCR 反应, 扩增反应条件为: $95 \text{ }^\circ\text{C}$ 预变性 3 min, $95 \text{ }^\circ\text{C}$ 变性 15 s, $60 \text{ }^\circ\text{C}$ 退火 60 s, 40 个循环; 熔解反应条件为: $94 \text{ }^\circ\text{C}$ 预变性 90 s, $60 \text{ }^\circ\text{C}$ 变性 3 min, $94 \text{ }^\circ\text{C}$ 退火 10 s, 1 个循环。以 GAPDH 为内参, 计算循环阈值(Ct), 并以 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 表示基因的相对表达量。

1.5 统计学方法

计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。多组间比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用 Scheffe 法; 同组前后比

较采用 t 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

表 1 引物设计序列

Table 1 The sequence of primer design

Gene name	Primer sequence (5' to 3')	Amplicon size/bp
GAPDH	F: TGGCCTTCCGTGTTCTCTAC	178
	R: GAGTTGCTGTTGAAGTCGCA	
TGF- β	F: GCCCGAAGCGGACTACTATG	188
	R: TTAATCTCTGCAAGCGCAGC	
SMAD3	F: AATACGGTAGATCAGTGGGACA	176
	R: CAGTTTTTCGATTGCCTTGAGC	

2 结果

2.1 小鼠 24 h 尿蛋白的比较

造模前(第 0 周), 3 组小鼠的尿蛋白均为低水平且差异无统计学意义($P > 0.05$)。第 12 周建模结束, 模型组及中药组的尿蛋白均较正常对照组增加, 差异均有统计学意义(P 均 < 0.01), 模型组与中药组的差异无统计学意义($P > 0.05$)。与 12 周相比, 第 20 周模型组和正常对照组的尿蛋白无明显改变, 差异无统计学意义($P > 0.05$); 中药组的尿蛋白则下降, 差异有统计学意义($P < 0.01$)。第 20 周时, 中药组的尿蛋白低于模型组($P < 0.01$), 此二组均高于正常对照组($P < 0.01$)。见表 2。

表 2 各组小鼠 24 h 尿蛋白比较 ($\bar{x} \pm s, \text{mg}/24 \text{ h}$)

Table 2 Comparison of 24 h urine protein among there groups ($\bar{x} \pm s, \text{mg}/24 \text{ h}$)

Group	n	Week 0	Week 12	Week 20
Control	5	0.52 ± 0.14	0.63 ± 0.15	0.64 ± 0.16
IgAN	5	0.51 ± 0.14	$2.10 \pm 0.53^*$	$2.19 \pm 0.57^*$
TCM	5	0.52 ± 0.15	$2.14 \pm 0.60^*$	$1.28 \pm 0.42^* \# \cdot \Delta$

* $P < 0.01$, vs. control group; # $P < 0.01$, vs. IgAN group; Δ $P < 0.05$, vs. week 12 in the same group

2.2 肾脏病理损伤的比较

2.2.1 HE 染色 正常对照组无异常肾脏病理改变; 模型组和中药组在造模结束时均可见明显肾小球系膜细胞增生和基质增多, 系膜区有免疫复合物沉积, 提示模型复制成功; 治疗结束时, 中药组与模型组比较, 肾小球病变明显减轻。见图 1。

2.2.2 免疫荧光 正常对照组肾小球系膜区无 IgA 沉积; 模型组和中药组在造模结束时均可见系膜区有较强的团块状或颗粒状中等强度 IgA 沉积, 提示模型复制成功; 治疗结束时, 中药组系膜区 IgA 为散在的线状或颗粒状轻度荧光沉积, 较模型组明显减弱。见图 2。

2.3 Peyer 小结 (IgA+B 淋巴细胞)/B 淋巴细胞水平的比较

第 20 周时,与正常对照组(6.64 ± 1.26)相比,模型组 Peyer 小结(IgA+B 淋巴细胞)/B 淋巴细胞(9.81 ± 1.93)升高,差异有统计学意义($P < 0.01$);与模型组相比,中药组 Peyer 小结(IgA+B 淋巴细胞)/B 淋巴细胞(6.97 ± 2.15)降低($P < 0.01$)并恢复至与正常对照组水平相当($P > 0.05$)。

2.4 Peyer 小结 TGF- β 、Smad3 蛋白表达的比较

第 20 周时,与正常对照组相比,模型组和中药组 Peyer 小结 TGF- β 和 Smad3 的蛋白表达均升高

($P < 0.01$);与模型组相比,中药组 Peyer 小结 TGF- β 和 Smad3 的蛋白表达均降低($P < 0.05$),但仍高于正常对照组水平($P < 0.05$),见表 3。

2.5 Peyer 小结 TGF- β 、Smad3 mRNA 表达的比较

第 20 周时,模型组和中药组的 TGF- β 和 Smad3 mRNA 表达较正常对照组升高,差异均有统计学意义(P 均 < 0.01)。与模型组相比,中药组的 TGF- β 、Smad3 mRNA 表达降低(P 均 < 0.01),但仍高于正常对照组水平($P < 0.05$)。见表 4。

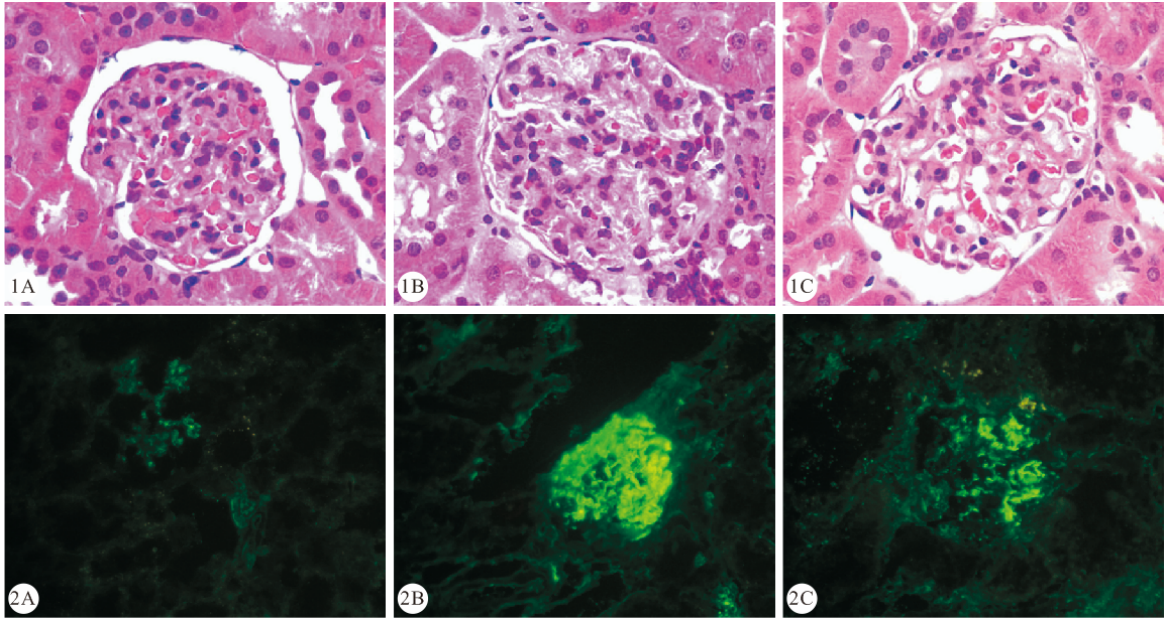


图 1 各组小鼠 20 周时肾脏 HE 染色。×400

图 2 各组小鼠 20 周时肾脏 IgA 免疫荧光染色。×400

Fig 1 HE staining in kidney tissues of different groups at Week 20. ×400

Fig 2 IgA deposition in kidney tissue of different groups detected by immunofluorescence staining at Week 20. ×400

by immunofluorescence staining at Week 20. ×400

A: Control group; B: IgAN group; C: TCM group

表 3 小鼠 20 周时 Peyer 小结 TGF- β 、Smad3 的蛋白表达量($\bar{x} \pm s, \%$)

Table 3 Comparison of protein expressions of TGF- β and Smad3 in Peyer's patches among three groups at Week 20 ($\bar{x} \pm s, \%$)

Group	n	TGF- β	Smad3
Control	5	0.33 ± 0.04	0.36 ± 0.05
IgAN	5	$0.64 \pm 0.25^*$	$0.61 \pm 0.22^*$
TCM	5	$0.48 \pm 0.17^{* \#}$	$0.45 \pm 0.19^{* \#}$

* $P < 0.01$, vs. control group; # $P < 0.01$, vs. IgAN group

表 4 小鼠 20 周时 Peyer 小结 TGF- β 、Smad3 mRNA 表达水平($\bar{x} \pm s, 2^{-\Delta\Delta Ct}$)

Table 4 Comparison of mRNA expressions of TGF- β and Smad3 in Peyer's patches among three groups at Week 20 ($\bar{x} \pm s, 2^{-\Delta\Delta Ct}$)

Group	n	TGF- β	Smad3
Control	5	9.11 ± 0.82	123.22 ± 14.74
IgAN	5	$44.61 \pm 4.25^*$	$1094.16 \pm 128.39^*$
TCM	5	$22.46 \pm 2.13^{* \#}$	$545.97 \pm 52.68^{* \#}$

* $P < 0.01$, vs. control group; # $P < 0.01$, vs. IgAN group

3 讨论

临床实践发现固本通络方调和营卫能显著改善 IgA 肾病患者的病情^[5],但该方治疗 IgA 肾病的具体作用靶点和机制尚不明确,妨碍其进一步的应用推广。目前认为营主要指血液,卫主要指组织液和淋巴液,营卫二气实质是人的免疫功能,调和营卫即为改善免疫功能^[10]。免疫学因素又是 IgA 肾病的主要发病机制之一,故调和营卫中药治疗 IgA 肾病有现代医学的支持。另一方面,固本通络方显著改善 IgA 肾病患者大便溏薄或腹泻的症状,并与血尿和蛋白尿的改善呈正相关^[5];Peyer 小结对大便性状有重要的调节作用^[6];IgA 肾病时 Peyer 小结的 B 淋巴细胞 IgA 类别转换失调,导致 IgA+B 细胞增多,直接参与 IgA1 的产生和异常糖基化^[7, 11],那么固本通络方是否作用于肠道 Peyer 小结,调节

免疫以治疗 IgA 肾病呢? 因此, 本研究以肠道黏膜免疫诱导法建立 IgA 肾病小鼠模型, 观察固本通络方的肾保护作用及其对 Peyer 小结 B 淋巴细胞 IgA 类别转换的影响, 以揭示该方的科学内涵, 为中医药治疗 IgA 肾病提供理论依据。

本研究结果显示固本通络方不仅能显著改善 IgA 肾病小鼠的尿蛋白和系膜区病理损伤, 而且能降低 Peyer 小结 IgA+B 淋巴细胞水平, 以及 TGF- β 、Smad3 蛋白和 mRNA 的表达 ($P < 0.01$), 提示其机制可能与抑制 Peyer 小结 TGF- β /Smad 信号通路的激活, 影响 B 淋巴细胞 IgA 类别转换有关。TGF- β /Smad 是启动 B 淋巴细胞 IgA 类别转换最重要的信号通路之一^[9], 而 IgA 肾病时 Peyer 小结 TGF- β mRNA 的表达显著上调^[12], 故 Peyer 小结 TGF- β /Smad 在 IgA 肾病的发生发展中起重要作用, 这可能成为一个新的治疗靶点。TGF- β 由 B 细胞活化后继发分泌, 与 IgA 肾病密切相关^[13]。Smad 蛋白是已知的 TGF- β 受体的胞内唯一的激酶底物, 将 TGF- β 信号直接由细胞膜传递入细胞核内, 其中 Smad3 起主导作用^[14]。本研究中 IgA 肾病小鼠 Peyer 小结 TGF- β 、Smad3 蛋白和 mRNA 的表达均较正常对照组增高, 给予固本通络方治疗后, 这些指标的表达较模型组降低, 与此同时也发现中药组 Peyer 小结 IgA+B 淋巴细胞水平较模型组降低, 提示固本通络方可能通过有效抑制 IgA 肾病 Peyer 小结 TGF- β /Smad 信号的过表达, 阻断该通路的激活, 从而改善 Peyer 小结 B 淋巴细胞 IgA 类别转换失调, 这可能是固本通络方治疗 IgA 肾病的重要分子机制之一。

中医药对于 IgA 肾病的疗效和机制研究, 以及 Peyer 小结 IgA 类别转换与 IgA 肾病的关系, 均已经有相关报道^[11, 15-17]。但中医药通过调节 Peyer 小结 IgA 类别转换而治疗 IgA 肾病的研究, 目前尚未见相关报道。IgA 肾病发病的始发环节是过多异常糖基化 IgA1 的产生, 超过了降解能力或不能被降解, 继而沉积于肾脏引起损害^[15]。IgA 肾病的 IgA1 异常糖基化继发于异常黏膜免疫反应的 B 细胞激活及 IgA 类别转换失调, 并非遗传缺陷所造成^[18-19]。因此, 如能改善 IgA 类别转换失调, 有望减少异常糖基化 IgA1 的形成, 指明 IgA 肾病防治的新方向。本研究基于临床实践的启发, 通过对 IgA 肾病小鼠模型的研究, 推测固本通络方可能与此有关, 为中医药治疗 IgA 肾病的研究提供新思路 and 视角。然而, 目前的实验只能证明固本通络方能

调节 Peyer 小结 TGF- β /Smad3 信号通路以及 B 淋巴细胞 IgA 类别转换, 并不能证明该方是特异性地通过 TGF- β /Smad3 信号通路改善 B 淋巴细胞 IgA 类别转换。这其中具体的分子生物学机制, 仍需开展进一步的深入研究。

参 考 文 献

- [1] XIE J, CHEN N. Primary glomerulonephritis in mainland China: an overview. *Contrib Nephrol*, 2013(181):1-11. doi: 10.1159/000348642.
- [2] LI X, LIU Y, LÜ J, *et al.* Progression of IgA nephropathy under current therapy regimen in a Chinese population. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2014, 9(3):484-489.
- [3] 杜霄壤, 李瑞玲, 高建东. 高建东治疗肾脏疾病验案 2 则. *湖南中医药大学学报*, 2012, 32(6):47-48.
- [4] 申子龙. 柴胡桂枝汤临床应用探析. *国医论坛*, 2013, 28(3):12-13.
- [5] 黄迪, 李雯雯, 沈沛成, 等. 固本通络方治疗脾胃气虚型 IgA 肾病的临床疗效观察. *上海中医药杂志*, 2015, 49(3):54-56.
- [6] 钟白云, 邓辉, 廖经忠, 等. 亚健康大便不形人群结肠黏膜蛋白质组学研究. *中南大学学报(医学版)*, 2011, 36(9):817-822.
- [7] GUTZEIT C, MAGRI G, CERUTTI A. Intestinal IgA production and its role in host-microbe interaction. *Immunol Rev*, 2014, 260(1):76-85.
- [8] STAVNEZER J, KANG J. The surprising discovery that TGF beta specifically induces the IgA class switch. *J Immunol*, 2009, 182(1):5-7.
- [9] LI XZ, FENG JT, HU CP, *et al.* Does Arkadia contribute to TGF- β -induced IgA expression through up-regulation of Smad signaling in IgA nephropathy. *Int Urol Nephrol*, 2010, 42(3):719-722.
- [10] 吴相春, 贾振华, 魏聪, 等. 《内经》营卫关系探析. *中国中医基础医学杂志*, 2011, 17(2):127-129.
- [11] COPPO R. The intestine-renal connection in IgA nephropathy. *Nephrol Dial Transplant*, 2015, 30(3):360-366.
- [12] SAKAI F, HOSOYA T, ONO-OHMACHI A, *et al.* Lactobacillus gasseri SBT2055 induces TGF- β expression in dendritic cells and activates TLR2 signal to produce IgA in the small intestine. *PLoS One*, 2014, 9(8):e105370. doi:10.1371/journal.pone.0105370.
- [13] LI Z, LI Y, CHEN L. Association between transforming growth factor- β gene-509C/T polymorphism and susceptibility of IgA nephropathy: a meta-analysis. *Ren Fail*, 2014, 36(10):1473-1480.
- [14] ZHAO B, CHEN YG. Regulation of TGF- β signal transduction. *Scientifica (Cairo)*, 2014(2014):874065. doi:10.1155/2014/874065.
- [15] KIRYLUI K, NOVAK J. The genetics and immunobiology of IgA nephropathy. *J Clin Invest*, 2014, 124(6):2325-2532.
- [16] 朱亚瑾, 包胜梅, 祝国宁, 等. 中医辨证治疗 IgA 肾病单纯血尿和(或)轻度蛋白尿临床观察. *浙江中西医结合杂志*, 2014, 24(4):319-320.
- [17] 潘静, 陈仁铭. 二半汤治疗 IgA 肾病大鼠的实验研究. *中华中医药学刊*, 2016, 34(1):39-41.
- [18] KUMAR S, WUERFFEL R, ACHOUR I, *et al.* Flexible ordering of antibody class switch and V(D)J joining during B-cell ontogeny. *Genes Dev*, 2013, 27(22):2439-2444.
- [19] TANAKA M, SEKI G, SOMEYA T, *et al.* Aberrantly glycosylated IgA1 as a factor in the pathogenesis of IgA nephropathy. *Clin Dev Immunol*, 2011(2011):470803. doi:10.1155/2011/470803.

(2015-08-11 收稿, 2016-02-15 修回)

编辑 吕熙