

基于肾络瘀阻研究益肾活血方对单侧输尿管结扎大鼠肾脏血管内皮生长因子和 Notch 信号通路的影响

钟建 赵宁博 刘朝业

(广西中医药大学第一附属医院肾病科, 广西壮族自治区 南宁 530023)

【摘要】 目的 观察益肾活血方对单侧输尿管结扎(UUO)大鼠血管内皮生长因子-2(VEGF-2)、Notch4 表达水平的影响。方法 选择雄性 SD 大鼠 96 只,按随机数字表法分为假手术组、UUO 模型组、氯沙坦治疗组、益肾活血方治疗组,每组 24 只。采用 UUO 方法复制肾纤维化动物模型,氯沙坦组和益肾活血方组分别以氯沙坦、益肾活血方灌胃进行干预;假手术组仅分离单侧输尿管后行腹部缝合。分别于术后 7、14、21 d 取血,检测各组尿素氮(BUN)、血肌酐(SCr)水平的变化;采集肾脏标本,检测肾脏组织微血管密度(MVD)及 VEGF-2、Notch4 的蛋白表达水平。结果 与 UUO 模型组比较,各治疗组 BUN、SCr 水平显著降低,差异有统计学意义(均 $P < 0.01$);益肾活血方组 BUN、SCr 水平略低于氯沙坦组,但差异无统计学意义(均 $P > 0.05$)。假手术组大鼠各时间点肾组织 VEGF-2、Notch4 蛋白表达水平均在正常范围内;而 UUO 模型组大鼠肾组织 VEGF-2、Notch4 蛋白表达随时间延长呈轻度增加,肾脏 MVD 下降的程度则逐渐加重。两个给药组大鼠肾组织 VEGF-2、Notch4 蛋白表达均较模型组显著增加;VEGF-2(A 值)以术后 14 d 表达最强(假手术组、模型组、益肾活血方组和氯沙坦组 14 d 时分别为 0.18 ± 0.09 、 4.73 ± 0.72 、 7.27 ± 1.35 、 8.11 ± 1.64 , 21 d 时分别为 0.19 ± 0.07 、 4.05 ± 0.88 、 7.10 ± 1.12 、 7.79 ± 1.53),此后呈轻度下降趋势;Notch4(A 值)以 21 d 表达最强(4 个组分别为 0.62 ± 0.35 、 9.08 ± 1.52 、 14.48 ± 3.14 、 15.54 ± 3.38 , 均 $P < 0.05$);MVD(个/mm²)下降的程度较模型组显著减轻(4 个组 7 d 时分别为 45.20 ± 6.25 、 25.34 ± 4.67 、 30.23 ± 4.20 、 32.26 ± 4.36 , 14 d 时分别为 46.07 ± 6.22 、 20.06 ± 3.98 、 26.88 ± 4.36 、 26.95 ± 4.11 , 21 d 时分别为 45.18 ± 6.10 、 17.79 ± 3.72 、 21.71 ± 4.25 、 21.68 ± 4.41 , $P < 0.01$ 或 $P < 0.05$);益肾活血方组的数值与氯沙坦相近,两组比较无显著差异。结论 中药益肾活血方对肾纤维化过程中的微血管损伤有明显改善作用,这可能与药物对 VEGF 和 Notch 信号级联通路调控作用有密切关系。

【关键词】 益肾活血方; 血管新生; 血管内皮生长因子; Notch

Based on kidney vascular and network static blood obstruction to study influence of prescription for boosting kidney and promoting blood circulation (Yishen Huoxue) on kidney vascular endothelial growth factor and Notch signal pathway in rats with unilateral ureter ligation Zhong Jian, Zhao Ningbo, Liu Zhaoeye. Department of Nephropathy, the First Affiliated Hospital of Guangxi Traditional Chinese Medicine University, Nanning 530023, Guangxi, China

Corresponding author: Zhong Jian, Email: 624361905@qq.com

【Abstract】 Objective To observe the influence of Yishen Huoxue prescription on expressions of vascular endothelial growth factor-2 (VEGF-2) and Notch4 in rats with unilateral ureter obstruction (UUO). **Methods** Ninety-six male Sprague-Dawley (SD) rats were randomly divided into sham operation group, UUO model group, losartan group, and Yishen Huoxue group, with 24 rats in each group. The rat models of renal fibrosis were reproduced by using UUO method, and they were treated by Yishen Huoxue herb prescription or losartan intra-gastric administration respectively for therapeutic interference. In the sham operation group, simply the unilateral ureter was separated from the nearby tissues and then the abdomen incision was stitched. The blood was collected on 7, 14 and 21 days after operation for determination of blood urea nitrogen (BUN) and serum creatinine (SCr). Kidney tissues specimens were harvested, and microvessel density (MVD), the protein expression levels of VEGF-2 and Notch4 in the kidney were detected. **Results** Compared with UUO model group, BUN and SCr in both treatment groups were significantly decreased with significant difference (all $P < 0.01$). BUN and SCr in Yishen Huoxue group were slightly lower than those in losartan group without significant difference (both $P > 0.05$). The expression levels of VEGF-2 and Notch4 in sham operation group at each time point were in normal range; with the time extension, the expressions of VEGF-2 and Notch 4 protein were slightly increased, and the descent degree of MVD in kidney was aggravated gradually in UUO model group. The VEGF-2 and Notch4 protein expressions in kidney tissues of the two treatment groups were significantly increased compared with those in model group, the expression of VEGF-2 (A value) reached the highest level on the 14th day after operation (VEGF-2 levels in sham operation, model, Yishen Huoxue Herb prescription and losartan groups were 0.18 ± 0.09 , 4.73 ± 0.72 , 7.27 ± 1.35 , 8.11 ± 1.64 on the 14th day, and they were 0.19 ± 0.07 , 4.05 ± 0.88 , 7.10 ± 1.12 ,

7.79 ± 1.53 on 21th day, respectively), later representing a tendency of slight decrease, and Notch4 protein expression (A value) peaked on the 21st day (0.62 ± 0.35, 9.08 ± 1.52, 14.48 ± 3.14, 15.54 ± 3.38 in above four groups, all $P < 0.05$). The degrees of decrease in renal MVD (microvessel/mm²) in the both treatment groups was significantly less than that in model group (45.20 ± 6.25, 25.34 ± 4.67, 30.23 ± 4.20, 32.26 ± 4.36 on the 7th day, 46.07 ± 6.22, 20.06 ± 3.98, 26.88 ± 4.36, 26.95 ± 4.11 on the 14th day, 45.18 ± 6.10, 17.79 ± 3.72, 21.71 ± 4.25, 21.68 ± 4.41 on the 21st day in above four groups, $P < 0.05$ or $P < 0.01$). There were no statistically significant differences in the above values between Yishen Huoxue herb group and losartan group. **Conclusion** Traditional Chinese medicine "benefiting qi for activating blood circulation therapy (Yishen Huoxue herb prescription)" has obvious improving effect on the microvascular injury in the process of renal fibrosis that possibly is related closely to the drug regulation on VEGF/Notch signaling cascade.

【Key words】 Yishen Huoxue herb prescription; Angiogenesis; Vascular endothelial growth factor; Notch

近年来,缺血、缺氧所致肾小管周围毛细血管损伤在肾间质纤维化(RIF)过程中的重要作用已引起了人们的广泛关注。Chade 等^[1]在研究肾脏血管疾病中指出,肾微血管病变为肾间质、肾小球纤维化的决定性因素,血管收缩和血管内皮功能障碍可引起肾小管周围毛细血管血流量逐渐减少和轻度间质缺血,刺激血管增生和修复,可稳定肾功能并延缓肾脏病的进展。Mayer^[2]研究认为,肾小管间质缺氧和肾小管周围毛细血管稀疏是进展性慢性肾脏病的典型特征。国内学者在急慢性马兜铃酸肾病中也发现不同程度的肾间质微血管数目减少和微血管内皮细胞损伤^[3-4]。在心脑血管研究领域,许多具有益气、活血、通络作用的中药(如黄芪、丹参、当归等)能有效拮抗损伤组织的低氧或缺血状态,促进局部组织微血管新生^[5]。因此,本研究将微血管损伤以及中医学络病理论相结合,以益肾、活血、通络为法,针对低氧或缺血环节开展肾脏领域的中医药抗肾纤维化研究,无疑为有效治疗慢性肾脏疾病开拓了一条极为重要的途径。

1 材料与方法

1.1 主要实验仪器和试剂: TBA-120FR 全自动生化分析仪(日本); Bio-Rad ChemiDoc MP 全能型凝胶成像分析系统(美国); 日本奥林巴斯 290715 显微镜; 兔抗鼠多克隆血管内皮细胞生长因子-2 (VEGF-2)、Notch4 抗体(美国 Santa Cruz 公司); β -肌动蛋白(β -actin)多克隆抗体(多抗)、二喹啉甲酸法(BCA)蛋白定量试剂盒、苯甲基磺酰氟(PMSF)均为北京天根生化科技有限公司产品。

1.2 主要药品与试剂: 益肾活血方由黄芪 15 g、当归 12 g、丹参 12 g、红花 15 g、大黄 10 g、田七 10 g 组成,由广西中医药大学第一附属医院药剂科提供。先将药材用相当于药材 5 倍的自来水浸泡 2 h,煮沸后微火煎煮 30 min,过滤后收集煎液,原药渣再加少量水煎煮,两煎液混合,于水浴恒温器上浓缩至浓度为含生药 1 g/mL。氯沙坦即科素亚由北京诺华制药

有限公司生产,批准文号:H20040217; 每片 50 mg,研磨成粉末,以蒸馏水配成 5 mg/mL 的溶液备用。

1.3 实验动物分组及模型复制: 选择雄性 SD 大鼠 96 只,体质量 180 ~ 250 g,按随机数字表法分为假手术组、单侧输尿管结扎(UUO)模型组、氯沙坦组、益肾活血方组。采用结扎大鼠左侧输尿管取肾门和输尿管中上 1/3 处复制单侧输尿管梗阻模型^[6]。假手术组仅分离单侧输尿管后行腹部缝合。

本实验中动物处置方法符合动物伦理学标准。

1.4 给药方法: 从大鼠术后第 1 天早晨开始,氯沙坦治疗组、益肾活血方治疗组通过灌胃给药,按照《实验动物学》中人与大鼠用药换算公式,两药分别给予氯沙坦和益肾活血方 10 mL · kg⁻¹ · d⁻¹,每日 1 次,假手术组和 UUO 模型组均给予生理盐水 10 mL · kg⁻¹ · d⁻¹,每日 1 次灌胃,共 21 d^[6]。

1.5 检测指标和方法: 大鼠制模后第 7、14、21 天,每个时间点取 8 只大鼠以 10% 水合氯醛腹腔注射麻醉大鼠,均用 10 mL 一次性注射器从大鼠腹腔采集静脉血,离心后置于 -20 °C 冰箱中冷藏备用。随后处死大鼠,同时取肾脏组织用 10% 甲醛溶液浸泡, -80 °C 冻存。

1.5.1 生化指标检测: 采用全自动生化分析仪检测各组血肌酐(SCr)、尿素氮(BUN)水平。

1.5.2 微血管密度(MVD)计数方法: 凡被 F VIII 因子免疫组化染色成棕黄色的单个内皮细胞或内皮细胞簇作为一个血管进行计数。每张切片在同一纤维化区域选择 4 个高倍视野($\times 400$)进行微血管计数,计数 mm² 面积内微血管数量,即 MVD,求其均值。

1.5.3 各组 VEGF-2、Notch4 蛋白表达水平检测: 采用蛋白质免疫印迹试验(Western Blot)检测肾组织 VEGF-2、Notch4 蛋白表达水平。取肾组织 100 mg 置于培养皿中,在冰上用手术剪剪碎,进行匀浆,然后加入蛋白裂解液,提取组织总蛋白,BCA 法检测蛋白浓度。按 Western Blot 步骤进行电泳、转膜,加入 VEGF-2、Notch4 多抗(1:300)进行免疫检测,蛋

表 1 各组大鼠 SCr、BUN 水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数 (只)	SCr($\mu\text{mol/L}$)			BUN(mmol/L)		
		制模后第 7 天	制模后第 14 天	制模后第 21 天	制模后第 7 天	制模后第 14 天	制模后第 21 天
假手术组	8	42.82 ± 6.76	42.90 ± 7.87	41.33 ± 6.11	6.43 ± 0.60	6.59 ± 1.20	6.51 ± 0.75
UUO 模型组	8	74.28 ± 8.74 ^a	78.59 ± 10.11 ^a	85.96 ± 8.24 ^a	12.70 ± 0.66 ^a	13.48 ± 0.46 ^a	16.83 ± 1.08 ^a
益肾活血方组	8	65.15 ± 8.01 ^{ac}	73.26 ± 4.92 ^{ab}	78.18 ± 6.41 ^{ab}	10.36 ± 0.76 ^{ac}	12.96 ± 0.25 ^{ab}	14.14 ± 0.27 ^{ab}
氯沙坦组	8	66.57 ± 7.76 ^{ac}	75.63 ± 5.60 ^{ab}	79.98 ± 9.79 ^{ab}	10.41 ± 0.62 ^{ac}	13.16 ± 0.42 ^{ab}	14.51 ± 0.38 ^{ab}

注:与假手术组比较,^a $P < 0.01$;与模型组比较,^b $P < 0.01$,^c $P < 0.05$

白条带用 Bio-Rad ChemiDoc MP 全能型凝胶成像分析系统检测吸光度(A)值,用 β -actin 作为内参照,通过计算目的蛋白表达量来分析 VEGF-2、Notch4 蛋白的相对表达水平。

1.6 统计学分析:使用 SPSS 21.0 统计软件进行数据处理,计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组均数比较用方差分析;组间差异用单因素方差分析(Oneway ANOVA);方差齐时组间多重比较用 LSD 和 SNK 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组 SCr、BUN 水平比较(表 1):与假手术组比较,UUO 模型组制模后各时间点 SCr、BUN 水平均明显升高;与 UUO 模型组比较,各治疗组 SCr、BUN 水平均显著降低($P < 0.01$);益肾活血方组 SCr、BUN 水平略低于氯沙坦组,但差异无统计学意义(均 $P > 0.05$)。

2.2 各组肾组织 MVD 变化比较(表 2):与假手术组比较,UUO 模型组、益肾活血方组、氯沙坦组大鼠肾组织 MVD 均显著下降($P < 0.01$),MVD 下降程度随时间推移而逐渐增加,7 d 时最轻,21 d 时最重;与 UUO 模型组比较,治疗组 MVD 均有不同程度升高(均 $P < 0.05$);但益肾活血方组和氯沙坦组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。

2.3 各组肾组织 VEGF-2、Notch4 蛋白表达比较(表 3):假手术组 VEGF-2、Notch4 微量表达;UUO 模型组和两个治疗组大鼠肾脏 VEGF-2 蛋白表达显著增加,VEGF-2 术后 14 d 时表达最强,此后呈轻

表 2 各组大鼠肾脏 MVD 比较($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数 (只)	MVD(个/ mm^2)		
		制模后第 7 天	制模后第 14 天	制模后第 21 天
假手术组	8	45.2 ± 6.25	46.07 ± 6.22	45.18 ± 6.10
UUO 模型组	8	25.34 ± 4.67 ^a	20.06 ± 3.98 ^a	17.79 ± 3.72 ^a
益肾活血方组	8	30.23 ± 4.20 ^{ab}	26.88 ± 4.36 ^{ac}	21.71 ± 4.25 ^{ac}
氯沙坦组	8	32.26 ± 4.36 ^{ab}	26.95 ± 4.11 ^{ac}	21.68 ± 4.41 ^{ac}

注:与假手术组比较,^a $P < 0.01$;与 UUO 模型组比较,^b $P < 0.01$,^c $P < 0.05$

度减弱,Notch4 术后 21 d 时表达最强。与 UUO 模型组比较,两个治疗组 VEGF-2 蛋白表达均显著增加(均 $P < 0.05$),益肾活血方组 VEGF-2 表达与氯沙坦组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。

3 讨论

3.1 肾络瘀阻与 RIF 微血管损伤:清代著名医家叶天士将营卫理论和络脉理论相结合,创立“久病入络”“久痛入络”,极大地完善和发展了“络病学”理论,并广泛运用于临床各种疾病的辨证论治中,对后世医家的影响极为深远。至此,中医“络病学”理论正式形成并快速发展,成为现代中医学理论的重要组成部分。已有研究显示:许多益气活血通络中药能明显改善心脑血管组织器官的局部缺氧,对抗微血管损伤,促进缺血组织中的微血管再生,恢复有效的血液循环,从而延缓或逆转器官功能障碍^[7]。基于肾脏微循环研究和现代“络病学”的最新成果,我们认为:肾纤维化过程中,持续发生的肾小管周围微血管病变与中医“络病学”之“脉络瘀阻”存在密切相

表 3 大鼠肾组织 VEGF-2、Notch4 蛋白表达比较($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数 (只)	VEGF-2(A 值)			Notch4(A 值)		
		制模后第 7 天	制模后第 14 天	制模后第 21 天	制模后第 7 天	制模后第 14 天	制模后第 21 天
假手术组	8	0.21 ± 0.12	0.18 ± 0.09	0.19 ± 0.07	0.53 ± 0.34	0.49 ± 0.36	0.62 ± 0.35
UUO 模型组	8	3.86 ± 0.60 ^a	4.73 ± 0.72 ^a	4.05 ± 0.88 ^a	7.29 ± 1.58 ^a	8.34 ± 1.47 ^a	9.08 ± 1.52 ^a
益肾活血方组	8	6.43 ± 1.21 ^{ac}	7.27 ± 1.35 ^{ac}	7.10 ± 1.12 ^{ac}	10.51 ± 2.04 ^{ac}	12.62 ± 2.19 ^{ab}	14.48 ± 3.14 ^{ab}
氯沙坦组	8	7.06 ± 1.27 ^{ac}	8.11 ± 1.64 ^{ac}	7.79 ± 1.53 ^{ac}	11.10 ± 2.21 ^{ac}	13.22 ± 2.29 ^{ab}	15.54 ± 3.38 ^{ab}

注:与假手术组比较,^a $P < 0.01$;与模型组比较,^b $P < 0.01$,^c $P < 0.05$

关性。慢性肾脏疾病发展的病机学中,早期因脾肾亏虚,失于运化蒸腾,致水湿内聚,湿浊内阻,日久而渐化为浊毒,最终致浊毒深入血络,导致肾脏功能的减退和丧失。因此,结合 VEGF/Notch4/Delta 信号级联通路对肾脏微血管新生的调控机制,研究和阐释肾纤维化过程中“脉络瘀阻”的生物学本质,不仅可以极大地丰富慢性肾脏疾病的微观辨证理论,同时也为中医药干预慢性肾纤维化提供了新的研究思路 and 重要研究方法,是当代中西医结合肾脏病学重要的研究切入点。

3.2 益肾活血方关键药物的现代药理学研究:相对于西药抗肾微血管损伤的不足,针对肾纤维化过程中“脉络瘀阻”的重要病理机制,选择具有益肾活血通络作用的中药治疗 RIF,能有效改善局部组织缺氧及微循环障碍,从而有效延缓 RIF 的发展。益肾活血方中各组成药物具有以下作用。

3.2.1 黄芪:属补虚类中药,主要含有苷类、多糖、氨基酸及微量元素,具有增强机体免疫功能、利尿等作用。左川等^[8]研究发现:黄芪提取物可诱导肝细胞因子(HGF)及受体原癌基因 c-Met 表达,抑制转化生长因子- β (TGF- β) 的蛋白和 mRNA 表达,从而有效逆转肾小管上皮-间充质转变(EMT),减轻 RIF 进程。周素娟等^[9]研究发现,黄芪通过抑制高糖高脂时内皮细胞与系膜细胞间的相互作用,减少 IV 型胶原(Col IV)、Fn 含量,发挥肾脏保护作用。

3.2.2 大黄:为将军之药,有泻下攻积、清热解毒、活血祛瘀等功效。大黄主要有效成分包括大黄酚、大黄素、大黄酸、大黄素甲醚、芦荟大黄素及其衍生物等,具有拮抗炎症反应、抑制成纤维细胞分化增殖、抗肾纤维化的作用。黄娟等^[10]研究表明,大黄酸能减少单侧输尿管梗阻侧肾皮质脂质过氧化物的产生,同时增加抗氧化酶的含量,减少 TGF- β 1 和碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)表达,从而阻断 RIF 进展的过程,发挥肾脏保护作用。

3.2.3 丹参:含有多种脂溶性非醌类及水溶性成分,能改善微循环,抗凝、促进纤溶、抑制血小板聚集、降脂及抗纤维化^[11]。有研究证实,经丹参各有效组分干预后细胞因子的表达降低,与马兜铃酸(AA)诱导组比较,丹酚酸 B 对 TGF- β 1、组织金属蛋白酶抑制剂-1(TIMP-1)、内皮素-1(ET-1)的过表达具有较好的抑制作用,并显示出一定的剂量依赖性^[12]。陆海英等^[13]研究发现丹参酚酸-B(SA-B)可抑制肾组织基质金属蛋白酶-2(MMP-2)和 TIMP-2 的蛋白表达,从而改善 UO 大鼠的 RIF 和肾功能。

3.2.4 川芎:可活血行气、旁通脉络,其活性成分为生物碱川芎嗪等,川芎嗪能抑制血管平滑肌收缩,改善微循环,降低血小板表面活性,抑制血小板聚集,防止血栓形成^[14]。吴小南等^[15]研究发现,川芎嗪可阻断高糖诱导的肾小管上皮细胞转分化,减少肾小管上皮细胞 α -平滑肌肌动蛋白(α -SMA) mRNA 表达,进而抑制糖尿病肾病的 RIF,且存在剂量依赖性。陆敏等^[16]研究发现,川芎能显著改善 RIF 大鼠肾组织病理结构,降低 III 型前胶原、TGF- β 1 的表达,上调 Smad7 表达,具有延缓 RIF 进展的作用。

3.3 益肾活血方对 UO 大鼠肾脏 VEGF 和 Notch4 信号级联通路的影响:本研究发现,VEGF-2 和 Notch4 信号通路对 RIF 血管新生起重要调控作用。经益肾活血方、氯沙坦干预后,可以明显效增加肾脏 VEGF-2、Notch4 的蛋白表达水平,减轻 RIF 过程中微血管毁损,从而改善肾脏功能,且益肾活血方与氯沙坦二者作用并无明显差异。此外本研究还发现,各药物组 VEGF-2 蛋白表达在制模后第 14 天最强,而此后呈轻度下降趋势,药物干预组 VEGF-2 下降水平较 UO 模型组明显减轻,而 Notch4 则随时间延长呈逐渐上升趋势;氯沙坦对 UO 大鼠 VEGF-2、Notch4 信号通路调控作用与益肾活血方类似。氯沙坦是血管紧张素受体拮抗剂(ARB)的代表药物,可能通过阻断肾脏的血管紧张素 1(AT1)受体、扩张肾血管、提高肾小球率过滤、降低尿蛋白来实现对肾功能的保护。史永红等^[17]通过动物实验证实,氯沙坦可下调磷酸化内源性络氨酸激酶 2(p-JAK2)和磷酸化信号转导和转录激酶 3(p-STAT3)表达,其肾脏保护作用可能部分是通过抑制此信号途径的活化来实现的。此外,有学者通过对行体外循环(CPB)心脏手术的老年患者(年龄 \geq 60 岁)进行临床观察后发现,术后早期使用血管紧张素受体 ACEI/ARB 组,其急性肾损伤(AKI)的发生率低于未使用 ACEI/ARB 组^[18]。

研究证实,VEGF-Notch 信号通路在血管生成以及细胞增殖、迁移、平滑肌分化、动静脉分化等多方面起着极其重要的调控作用^[19]。低氧诱导因子-1(HIF-1)作为初始信号启动了 VEGF 及受体的表达,VEGF 的高表达可激活 Notch 信号通路,使 Notch 受体 Dll4 的表达显著上调,从而反馈性抑制 VEGF 诱导的血管新生。Dong 等^[19]与陈凛等^[20]的研究证实:①当 Notch 信号转导通路存在缺陷时,在正常情况下停止生长的血管内皮细胞可呈现持续性的增

殖和迁移; ② 当 VEGF 与 Notch 信号通路被阻断时, 血管内皮细胞将保持静止状态, 停止增殖; ③ Notch 受体 Dll4 正常表达可调控血管的发生、再生、形成以及分支形成中的血管末梢细胞与基底细胞, 使之存在正常的比例; ④ VEGF 可通过诱导 Dll4 的表达, 启动 Notch 信号转导通路作为负反馈调节因素, 以达到防止过多的血管发生和形成。

综上所述, 通过本实验我们发现, VEGF-2 和 Notch4 信号级联通路对 RIF 过程中局部微血管新生有确切的调控作用, 中药益肾活血方能明显改善 RIF 过程中的微血管损伤, 延缓大鼠肾功能的恶化, 从而达到延缓 RIF 进展的作用, 为中医药治疗 RIF 提供了强有力的实验依据。

参考文献

[1] Chade AR. Renovascular disease, microcirculation, and the progression of renal injury: role of angiogenesis [J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2011, 300(4): R783-790.
 [2] Mayer G. Capillary rarefaction, hypoxia, VEGF and angiogenesis in chronic renal disease [J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2011, 26(4): 1132-1137.
 [3] 张成银, 许冬梅, 贾晓妍, 等. 血管内皮生长因子和低氧诱导因子-1 α 与慢性马兜铃酸肾病大鼠肾间质纤维化的关系 [J]. *临床与实验病理学杂志*, 2009, 25(1): 75-76, 78.
 [4] 梁永平, 王云满, 刘育军, 等. 慢性马兜铃酸肾病大鼠肾组织微血管损伤机制及温阳活血方的干预作用 [J]. *中国中西医结合肾病杂志*, 2008, 9(8): 680-683, .
 [5] 魏灿杰, 唐涛, 罗杰坤, 等. 益气活血法对脑出血大鼠脑组织促血管生成素-1 及其受体表达的影响 [J]. *中国中西医结合急救杂志*, 2007, 14(3): 138-141.
 [6] 钟建, 李夏露. 益肾活血通络法对单侧输尿管梗阻大鼠肾脏缺氧诱导因子-1 血管内皮生长因子信号通路干预作用的实验研究 [J]. *环球中医药*, 2014, 7(1): 12-16.
 [7] 陈文元, 吴立娅, 陈岩, 等. 中药影响血管新生作用机制研究进展 [J]. *中国中医基础医学杂志*, 2009, 15(3): 237-239.

[8] 左川, 邱红渝, 谢席胜, 等. 黄芪对 UUO 模型大鼠肾脏肝细胞生长因子表达的影响 [J]. *四川大学学报 (医学版)*, 2009, 40(1): 100-105.
 [9] 周素娟, 赵晋晋, 雷闽湘. 黄芪对高糖高脂环境下内皮细胞与系膜细胞相互作用的影响 [J]. *中国中医药信息杂志*, 2009, 16(8): 26-27.
 [10] 黄娟, 陈文莉, 朱虹. 大黄酸对输尿管梗阻大鼠肾组织纤维化的保护机制 [J]. *中国药师*, 2009, 12(11): 1529-1531.
 [11] 承韶晖, 陈晓蓉, 侯冠峰, 等. 丹参酮 II A 磺酸钠对脑缺血 / 再灌注模型大鼠脑梗死及神经功能评分影响的实验研究 [J]. *中国中西医结合急救杂志*, 2012, 19(5): 287-289.
 [12] 王巍巍, 张金元. 丹参有效组分对马兜铃诱导的肾小管上皮细胞转化生长因子- β 1、基质金属蛋白酶抑制剂-1、纤溶酶原激活物抑制剂-1 及内皮素-1 表达的影响 [J]. *上海医学*, 2009, 32(9): 808-812.
 [13] 陆海英, 张悦, 刘煜敏, 等. 丹参酚酸 b 对肾纤维化大鼠肾组织 mmp-2 表达的影响 [J]. *上海中医药大学学报*, 2009, 23(2): 55-58.
 [14] 杨广, 黄丹虹, 杨澄, 等. 川芎嗪保护脓毒症大鼠心肌的抗氧化机制研究 [J]. *中国中西医结合急救杂志*, 2013, 20(1): 13-15.
 [15] 吴小南, 吴异兰, 陈洁, 等. 川芎嗪对高糖诱导的人肾小管上皮细胞转分化的影响 [J]. *中国全科医学*, 2009, 12(10): 843-846.
 [16] 陆敏, 周娟, 王飞, 等. 川芎嗪对肾间质纤维化模型大鼠 Smad7 和 SnoN 蛋白表达的影响 [J]. *中国中药杂志*, 2009, 34(1): 84-88.
 [17] 史永红, 段惠军, 何宁, 等. 氯沙坦对糖尿病大鼠肾小球信号蛋白 JAK2 和 STAT3 表达的影响 [J]. *中华危重病急救医学*, 2005, 17(11): 662-666.
 [18] 胡鹏华, 陈源汉, 梁馨琴, 等. 术后早期使用 ACEI/ARB 或利尿剂对老年心脏病术后急性肾损伤发生的影响 [J]. *中华危重病急救医学*, 2013, 25(7): 394-398.
 [19] Dong X, Wang YS, Dou GR, et al. Influence of Dll4 via HIF-1 α -VEGF signaling on the angiogenesis of choroidal neovascularization under hypoxic conditions [J]. *PLoS One*, 2011, 6(4): e18481.
 [20] 陈凛, 吕伟, 卫勃, 等. Delta 样分子 4/Notch 信号途径对人脐静脉内皮细胞生物学行为的影响 [J]. *中华医学杂志*, 2009, 89(44): 3106-3110.

(收稿日期: 2015-07-10)(本文编辑: 李银平)

• 消息 •

中国科技信息研究所 2015 年版《中国科技期刊引证报告》(核心版)
 ——中西医结合医学类期刊影响因子和综合评价总分前 10 位排序表

期刊名称	影响因子	排位	期刊名称	综合评价总分	排位
中国中西医结合急救杂志	1.670	1	中国中西医结合杂志	72.1	1
中国中西医结合杂志	1.115	2	现代中西医结合杂志	57.1	2
中西医结合心脑血管病杂志	0.849	3	中西医结合心脑血管病杂志	48.8	3
中国中西医结合肾病杂志	0.763	4	中国中西医结合急救杂志	47.7	4
现代中西医结合杂志	0.653	5	<i>Journal of Integrative Medicine</i>	46.5	5
<i>Journal of Integrative Medicine</i>	0.638	6	世界中西医结合杂志	34.1	6
中国中西医结合外科杂志	0.571	7	中国中西医结合外科杂志	33.7	7
中西医结合肝病杂志	0.534	8	中国中西医结合肾病杂志	33.1	8
世界中西医结合杂志	0.454	9	中西医结合肝病杂志	31.9	9
中国中西医结合皮肤性病学杂志	0.426	10	中国中西医结合皮肤性病学杂志	28.2	10