

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2018.01.013

实验研究

越婢汤和固精方对嘌呤霉素氨基核苷肾病大鼠肾小球足细胞损伤的影响

韩世盛, 卢嫣, 姚天文, 王怡*

(上海中医药大学附属岳阳中西医结合医院, 上海市虹口区甘河路 110 号, 200437)

摘要 目的 探讨发汗解表法(越婢汤)与补肾固精法(固精方)治疗肾病综合征的疗效及可能机制。方法 40 只 Wistar 大鼠随机分为正常组、模型组、越婢汤组、固精方组, 每组 10 只。除正常组外其余各组大鼠采用单次尾静脉注射嘌呤霉素氨基核苷 9 mg/100 g 建立肾小球足细胞损伤大鼠模型。造模后第 2 天开始越婢汤组每天灌胃给予含生药越婢汤 2.1 g/100 g, 固精方组每天给予含生药固精方 7.5 g/100 g, 正常组及模型组灌胃等体积蒸馏水, 连续 2 周。检测各组大鼠血清肌酐、尿素氮、尿酸、白蛋白、总胆固醇、甘油三酯, 尿蛋白定量和尿肌酐, 肾组织 TRPC5、TRPC6 蛋白及 mRNA 表达, 观察肾小球病理改变及足细胞超微结构。结果 与正常组比较, 模型组大鼠尿素氮、尿酸、总胆固醇、甘油三酯上升, 血清白蛋白水平降低, 尿蛋白肌酐比增加, 肾组织 TRPC5、TRPC6 蛋白及 mRNA 表达均升高 ($P < 0.05$)。与模型组比较, 越婢汤及固精方组血清尿素氮、尿酸、总胆固醇、甘油三酯、尿蛋白肌酐比下降, 白蛋白上升, 肾组织 TRPC5、TRPC6 mRNA 亦降低 ($P < 0.05$)。越婢汤组血清白蛋白、尿酸水平、肾组织 TRPC5 mRNA 表达低于固精方组, 而 TRPC6 mRNA 高于固精方组 ($P < 0.05$)。结论 越婢汤、固精方可能通过调控肾组织 TRPC5 及 TRPC6 表达, 减轻足细胞损伤, 从而改善肾病综合征的低蛋白、高血脂表现。

关键词 肾病综合征; 足细胞损伤; 嘌呤霉素氨基核苷; 越婢汤; 固精方

瞬时受体电位离子通道(transient receptor potential channels, TRPC)是一种非选择性阳离子通道, 肾小球足细胞主要表达 TRPC5 和 TRPC6, 其突变或活化导致瞬时钙内流增加、细胞骨架重塑, 抑制足细胞 TRPC5 或 TRPC6 可能是治疗蛋白尿性肾脏病的新靶点^[1]。足细胞足突间裂孔隔膜与中医学“玄府”在形态、特性、功能、病理改变及临床特征方面具有高度相似性, 我们认为其可能为“肾玄府”的结构表现形式之一, 并提出“肾玄府-足细胞裂隙隔膜假说”^[2]。前期研究采用越婢汤治疗微小病变肾病综合征患者取得满意疗效^[3], 使用固精方治疗蛋白尿同样有效^[4], 在一定程度上佐证了这种假说。本研究通过建立非免疫因素介导的嘌呤霉素氨基核苷(puromycin amino-nucleoside, PAN)肾病大鼠模型, 模拟足细胞损伤

所致微小病变性肾病综合征, 探讨越婢汤与固精方对足细胞损伤的影响及可能作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物

SPF 级雄性 Wistar 大鼠 40 只, 6 周龄, 体重 (169.60 ± 7.65) g, 购于上海斯莱克实验动物有限公司, 实验动物许可证号: SCXK(沪)2012-0002。

1.2 实验药物及试剂

越婢汤: 麻黄 18 g, 生石膏 24 g, 生姜 9 g, 甘草 6 g, 大枣 6 g; 固精方: 党参 30 g, 黄芪 30 g, 茯苓 15 g, 芡实 30 g, 金樱子 30 g, 龙骨 15 g, 牡蛎 15 g, 桑寄生 30 g, 玉米须 15 g, 薏苡根 15 g。颗粒剂由江阴天江药业有限公司生产, 批号分别为 1507143、1511133。

1.3 主要试剂及仪器

PAN (美国 Sigma 公司, 批号: 033M4018V);

基金项目: 国家自然科学基金(81403361); 上海高校青年教师培养资助计划(ZZszy13042)

* 通讯作者: drwangyi0110@126.com, 18930560215

生化试剂盒 (南京建成生物科技有限公司, 批号: A028-4, A111-2); 尿蛋白定量试剂盒 (南京建成生物科技有限公司, 批号: C035-2); 含有蛋白酶和磷酸酶抑制剂的裂解液 (北京索莱宝科技有限公司, 批号: R0010); 山羊抗 TRPC5 (美国 Santa Cruz 公司, 批号: sc-48737); 鼠抗 TRPC6 (英国 Abcam, 批号: ab63038); 兔抗 GAPDH (美国 CST 公司, 批号: 5174); ECL 化学发光液显色 (德国 Millipore 公司, 批号: WBKLS0100); 二抗 (上海碧云天生物科技有限公司, HRP 标记二抗批号: A0208、A0181、A0216, FITC 标记二抗批号: A0460、A-21467); Trizol (美国 Invitrogen 公司, 批号: 1596-026); SYBR Green PCR 试剂盒 (美国 Thermo 公司, 批号: K0223); 2.5% 戊二醛 (国药集团化学试剂有限公司, 批号: 30092436); 苏木素、伊红染色液 (珠海贝索生物技术有限公司, 批号: 714094、BA4099); PAS、Masson 染色试剂盒 (北京雷根生物技术有限公司, 批号: DG0007、DC0032)。

全自动生化仪 (上海科华卓越生物工程股份有限公司, 型号: 450); Western Blotting 成像系统 (上海天能科技有限公司, 型号: 5200); Real-time 检测仪 (美国 ABI 公司, 型号: 7300); 荧光显微镜 (德国 Leica 公司, 型号: DM6000B); 光学显微镜 (日本 Olympus 公司, 型号 CX41); 透射电镜 (美国 FEI 公司, 型号: Tecnai G2 spirit)。

1.4 造模、分组及给药

大鼠适应性喂养 1 周后, 根据体重按随机数字表法分为正常组、模型组、越婢汤组、固精方组, 每组 10 只。参照文献 [6] 建立肾小球足细胞损伤大鼠模型, 即予 PAN 9mg/100g 经尾静脉一次性注射, 正常组大鼠注射等剂量生理盐水。造模后第 2 天开始灌胃给药, 越婢汤组每天给予含生药越婢汤 2.1g/100g, 固精方组每天给予含生药固精方 7.5g/100g, 连续 2 周, 正常组及模型组灌胃等体积蒸馏水。

1.5 观察指标及方法

1.5.1 生化指标检测 水合氯醛 33mg/100g 腹腔注射麻醉大鼠, 无菌条件下打开腹腔, 腹主动脉采血, 静置 2h 后离心。检测血清肌酐、尿素氮、尿酸、白蛋白、总胆固醇、甘油三酯, 按照试剂盒说明书步骤进行。

1.5.2 尿蛋白肌酐比 应用基础代谢笼收集大鼠 24h 尿液标本, 检测尿蛋白定量和尿肌酐, 计算尿

蛋白肌酐比。

1.5.3 肾组织 TRPC5、TRPC6 蛋白表达 采用 Western Blotting 法检测。将肾组织剪碎后按每 20mg 加入 200 μ l 含有蛋白酶和磷酸酶抑制剂的裂解液, 匀浆器匀至完全裂解, 4℃ 14500 r/min 离心 15 min, 取上清并蛋白定量。每孔上样 95 μ g 蛋白, 加入适量缓冲液沸水浴 10min 后离心取上清, 10% PAGE 胶电泳后半干式转膜, 采用丽春红染色检测转膜是否成功。5% 脱脂奶粉室温封闭 1h 后分别加入 1:150 稀释的山羊抗 TRPC5、1:800 稀释的鼠抗 TRPC6、1:1500 稀释的兔抗 GAPDH, 室温孵育 2h, 洗膜后按 1:1000 稀释的 HRP 标记二抗 37℃ 孵育 1h, 洗膜后加入 ECL 化学发光液显色, Western Blotting 成像系统记录实验结果, 以 GAPDH 为内参分析 TRPC5、TRPC6 相对含量。

1.5.4 肾组织 TRPC5、TRPC6 mRNA 表达 采用 Real-time PCR 法检测。取液氮冻存肾皮质约 100mg 匀浆, 按 Trizol 试剂标准程序提取肾皮质总 RNA。引物序列由美国 Thermo 公司合成, TRPC5: 上游 5' CTTCGCTCATCGCCTTATC 3', 下游 5' GT-TCTTCGCTGTGGTCATC 3', 预期产物 219bps; TRPC6: 上游 5' GAGGATGATGCCGATGTGG 3', 下游 5' GCAGGGACTTTGGACTTGG 3', 预期产物 118bps; 内参 GAPDH: 上游 5' GTCGGTGTGAACG-GATTTC 3', 下游 5' TCCCATTCTCAGCCTTGAC 3', 预期产物 181bps。采用 Real-time 检测仪分析 mRNA 表达。

1.5.5 肾组织 TRPC5、TRPC6 免疫荧光双重染色 5 μ m 冰冻组织切片固定后依次滴加一抗孵育 4℃ 过夜, 二抗室温孵育 1h, 分别 0.02M PBS 洗 3 min $\times$ 3 次, 防淬灭封片剂与 DAPI 1:500 稀释封片, 荧光显微镜拍片, 采用 Image Pro Plus 6.0 软件计算免疫荧光阳性面积。

1.5.6 肾脏病理及足突超微结构 固定的肾组织经常规洗涤、脱水、透明、浸蜡、包埋、切片后行 HE、PAS、Masson 染色, 光学显微镜观察肾脏病理。肾组织经 2.5% 戊二醛固定, 脱水、包埋、超薄切片定位肾小球, 透射电镜观察足突融合情况。

1.6 统计学方法

采用 SPSS 18.0 软件分析, 计量资料以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 符合正态分布组间比较采用单因素方差分析, 非正态分布及计数资料使用秩和检验。检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

正常组大鼠死亡 2 只、模型组大鼠死亡 1 只，主要为追加麻醉剂量所致；越婢汤组大鼠死亡 1 只，为灌胃所致窒息。

2.1 各组大鼠尿蛋白肌酐比较

表 1 示，与正常组比较，模型组尿蛋白肌酐比增加 ($P < 0.05$)；与模型组比较，越婢汤和固精方组尿蛋白肌酐比均降低 ($P < 0.05$)；固精方组和越婢汤组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表 1 各组大鼠尿蛋白肌酐比较 (mg/g, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	尿蛋白肌酐比
正常组	8	357.05 ± 78.50
模型组	9	2310.30 ± 753.48*
固精方组	10	653.27 ± 140.15 [△]
越婢汤组	9	752.26 ± 222.15 [△]

注：与正常组比较，* $P < 0.05$ ；与模型组比较， $\Delta P < 0.05$

2.2 各组大鼠血清生化指标比较

表 2 示，与正常组比较，模型组大鼠尿素氮、尿酸、总胆固醇、甘油三酯明显上升，白蛋白降低 ($P < 0.05$)，肌酐差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。与模型组比较，越婢汤组及固精方组血清尿素氮、尿酸、总胆固醇、甘油三酯下降，白蛋白上升 ($P < 0.05$)，肌酐水平差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。越婢汤组血清白蛋白及尿酸水平低于固精方组 ($P < 0.05$)。

2.3 各组大鼠肾组织 TRPC5、TRPC6 蛋白及 mRNA 水平比较

表 3 示，与正常组比较，模型组大鼠肾组织

TRPC5、TRPC6 蛋白及 mRNA 表达均升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)；与模型组比较，固精方组和越婢汤组 TRPC5、TRPC6 mRNA 均降低，固精方组 TRPC6 蛋白亦降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)；越婢汤组 TRPC5 mRNA 表达低于固精方组，而 TRPC6 mRNA 表达高于固精方组 ($P < 0.05$)。

2.4 各组大鼠肾组织 TRPC5、TRPC6 免疫荧光染色比较

正常组大鼠肾脏免疫荧光双重染色显示 TRPC6 表达较 TRPC5 明显，荧光强度较强，两者均沿毛细血管襻线状或颗粒状分布。模型组 TRPC5 及 TRPC6 免疫荧光表达较正常组明显增强，呈颗粒状分布；与模型组比较，越婢汤组与固精方组 TRPC5 及 TRPC6 表达减弱。表 4 示，与正常组比较，模型组大鼠肾组织 TRPC5、TRPC6 免疫荧光阳性面积升高 ($P < 0.01$)；与模型组比较，固精方组和越婢汤组 TRPC5、TRPC6 免疫荧光阳性面积降低 ($P < 0.01$)，固精方组和越婢汤组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表 4 各组大鼠肾组织 TRPC5、TRPC6 免疫荧光阳性面积比较 (μm^2 , $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	TRPC5	TRPC6
正常组	8	450.60 ± 24.66	471.35 ± 19.25
模型组	9	661.05 ± 14.94*	673.25 ± 21.78*
固精方组	10	546.00 ± 26.92 [△]	552.90 ± 20.07 [△]
越婢汤组	9	551.80 ± 17.93 [△]	556.05 ± 16.67 [△]

注：TRPC5，瞬时受体电位离子通道 5；TRPC6，瞬时受体电位离子通道 6；与正常组比较，* $P < 0.01$ ；与模型组比较， $\Delta P < 0.01$

表 2 各组大鼠血清生化指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	白蛋白 (g/L)	尿素氮 (mmol/L)	肌酐 ($\mu\text{mol/L}$)	尿酸 ($\mu\text{mol/L}$)	总胆固醇 (mmol/L)	甘油三酯 (mmol/L)
正常组	8	39.54 ± 2.55	3.56 ± 0.76	57.69 ± 19.25	168.53 ± 15.36	1.50 ± 0.12	1.40 ± 0.22
模型组	9	26.12 ± 2.74*	7.70 ± 0.90*	66.88 ± 26.00	274.23 ± 20.70*	4.36 ± 0.29*	2.86 ± 0.53*
固精方组	10	35.45 ± 3.45 [△]	5.75 ± 0.56 [△]	63.72 ± 19.07	223.56 ± 16.79 [△]	3.90 ± 0.34 [△]	2.26 ± 0.27 [△]
越婢汤组	9	32.11 ± 2.01 ^{△▲}	5.67 ± 1.61 [△]	61.65 ± 18.68	206.93 ± 17.02 ^{△▲}	3.71 ± 0.23 [△]	2.22 ± 0.20 [△]

注：与正常组比较，* $P < 0.05$ ；与模型组比较， $\Delta P < 0.05$ ；与固精方组比较， $\Delta P < 0.05$

表 3 各组大鼠肾组织 TRPC5、TRPC6 蛋白及 mRNA 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	TRPC5		TRPC6	
		蛋白 (/NAPDH)	mRNA (%)	蛋白 (/NAPDH)	mRNA (%)
正常组	8	0.34 ± 0.16	0.09 ± 0.02	0.31 ± 0.26	0.71 ± 0.13
模型组	9	0.69 ± 0.23*	0.44 ± 0.04**	0.86 ± 0.19*	3.84 ± 0.32**
固精方组	10	0.54 ± 0.31	0.26 ± 0.04 ^{△△▲}	0.55 ± 0.14 [△]	1.68 ± 0.23 ^{△△▲}
越婢汤组	9	0.52 ± 0.13	0.21 ± 0.01 ^{△△}	0.61 ± 0.19	2.02 ± 0.10 ^{△△}

注：TRPC5，瞬时受体电位离子通道 5；TRPC6，瞬时受体电位离子通道 6；与正常组比较，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$ ；与模型组比较， $\Delta P < 0.05$ ， $\Delta\Delta P < 0.01$ ；与越婢汤组比较， $\Delta P < 0.05$

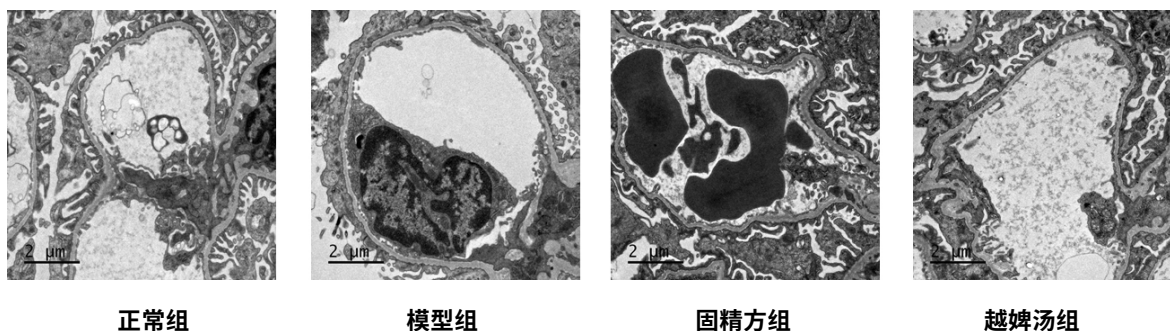


图 1 各组大鼠肾小球足突超微结构电镜图 (×6000)

2.5 各组大鼠肾脏病理及超微结构观察

HE、PAS、Masson 染色可观察到正常组肾小球光镜下毛细血管襻开放良好,系膜细胞与系膜基质未见增生,基底膜无增厚,肾小管及间质无明显病理改变。模型组部分肾小管上皮细胞肿胀变性、管腔可见蛋白管型,偶见肾间质少许淋巴细胞浸润,肾小球则无明显病变,符合微小病变病理特征。越婢汤组与固精方组肾小球基本正常,上皮细胞变性减轻,蛋白管型较模型组减少,偶可见少量淋巴细胞浸润。

图 1 示,电镜观察正常组肾小球足细胞清晰完整,足突排列规整,无融合现象;模型组出现足突融合成板片状,裂孔间隙消失;越婢汤组及固精方组足突融合较模型组明显减轻,但仍可见足突宽度增宽及部分融合现象。

3 讨论

“玄府”最早意指汗孔,至金元刘完素进一步完善并提出玄府气液理论,指出玄府其形微毫,其态似孔,主通利开阖、气机升降。肾为先天之本,主藏精,因此肾之玄府必然参与藏精之能。精者,人之根本,蛋白质无疑为精的重要组分,蛋白尿则属精微下泄范畴^[4],故而玄府理论于蛋白尿的治疗中可发挥作用。玄府开阖失司,其治法通常有“通玄”及“固玄”,通者多宗刘完素“辛以通玄”之法,固者则以固摄法为主^[4]。临床研究提示,以麻黄为代表的辛味药和以黄芪、金樱子等为代表的益气固摄法尽管治则相反,但治疗肾病均有一定临床疗效^[8-10]。越婢汤是经方治疗风水的代表性方剂,君药麻黄、石膏均为辛味通玄药,寒热互补。固精方为我们临床治疗蛋白尿的经验方,全方以健脾益气、补肾固精为主,临床治疗蛋白尿具有一定疗效^[4]。两者一散一敛、一泻一补,均具有治疗肾病的理论及临床基础,故选择其作为汗法和补法调控玄府的代表方剂。

肾小球脏层上皮细胞,即足细胞,与基底膜、

内皮细胞共同构成肾小球滤过屏障。足细胞及其裂孔隔膜居于滤过屏障最外层,是限制血浆蛋白的主要屏障。足细胞适应损伤的方式为动态的肌动蛋白细胞骨架重塑引起足突融合,继而从基底膜剥离、凋亡,最终引起肾小球硬化^[11],故有效稳定损伤的足细胞骨架是治疗蛋白尿的关键点。研究显示,多种足细胞病人及实验室模型均出现 TRPC6 表达增高^[12-13],过表达或功能突变的 TRPC6 导致蛋白尿发生^[14],基因敲除的 TRPC6 则保护足细胞的完整性,相似的结果同样在 TRPC5 中被报道^[15]。鉴于两者通路中的相互拮抗机制,国外学者提出足细胞 TRPC5 与 TRPC6 可能通过拮抗平衡钙信号而调控足细胞适应性表型,TRPC 更被认为是未来治疗足细胞病新的分子靶点^[14]。

本研究通过 PAN 诱导建立足细胞损伤大鼠模型,观察到 TRPC5、TRPC6 表达显著升高,足细胞广泛融合,肾脏病理呈微小病变,以及低蛋白血症、高脂血症及蛋白尿等表现,明确 TRPC 参与足细胞损伤的过程。分别采用越婢汤与固精方干预后结果显示,两组大鼠 TRPC5、TRPC6 蛋白及 mRNA 表达均不同程度下调,足突融合减轻,低蛋白血症、高脂血症及蛋白尿较模型组改善。实验结果提示汗法与益气补肾固摄虽然治法相佐,但均有下调 TRPC5、TRPC6 及改善足细胞损伤的作用。研究结果还发现,以辛味药为主的越婢汤下调 TRPC5 较 TRPC6 明显,而固精方则具有明显的下调 TRPC6 作用,可能由于不同治法导致,其钙通道失衡与足细胞骨架重排之间不同的信号机制仍有待细胞水平的研究进一步阐明。

参考文献

- [1] WIEDER N, GREKA A. Calcium, TRPC channels, and regulation of the actin cytoskeleton in podocytes: towards a future of targeted therapies [J]. *Pediatr Nephrol*, 2016, 31 (7): 1047-1054.
- [2] 韩世盛,王怡,徐艳秋,等. “肾玄府”实质探讨 “玄府-足细胞裂隙隔膜”假说 [J]. *上海中医药杂志*, 2013,

47(12):28-30.

- ⑤ 韩世盛,王怡. 发汗解表法治疗顽固性肾病综合征验案介绍[J]. 新中医, 2016, 48(2): 213-216.
- ⑥ 黄芳,韩世盛,王怡. 固精方治疗慢性肾炎蛋白尿临床观察[J]. 辽宁中医杂志, 2013, 40(6): 1153-1154.
- ⑦ 刘丽华,朱春芳,欧周罗. 单次静脉注射嘌呤霉素氨基核苷所致大鼠肾病模型的优化及评价[J]. 复旦学报(医学版), 2005, 32(4): 488-492.
- ⑧ 王怡,韩世盛. 蛋白尿的中医证治[J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2010, 11(5): 381-383.
- ⑨ 韩世盛,卢嫣,王怡. 基于肾玄府理论浅议“辛以通玄”在肾病蛋白尿治疗中的应用[J]. 上海中医药杂志, 2015, 49(1): 22-24.
- ⑩ 李雯雯,沈沛成. 麻黄连翘赤小豆汤治疗慢性肾小球肾炎研究概况[J]. 辽宁中医药大学学报, 2016, 18(3): 85-87.
- ⑪ 韩世盛,徐艳秋,王怡. 中医益气固摄法治疗原发性肾病综合征的系统评价[J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2015, 16(2): 136-139.
- ⑫ 金劲松,盛磊,姜楠,等. 水陆二仙丹对阿霉素肾病大鼠蛋白尿影响的实验研究[J]. 湖北中医药大学学报, 2013, 15(1): 14-17.

- [1] PERICO L, CONTI S, BENIGNI A, et al. Podocyte-actin dynamics in health and disease[J]. Nat Rev Nephrol, 2016, 12(11): 692-710.
- [2] SHENGYOU Y, LI Y, ZHIHONG H, et al. Influence of tacrolimus on podocyte injury induced by angiotensin II[J]. J Renin Angiotensin Aldosterone Syst, 2015, 16(2): 260-266.
- [3] ZHAO B, YANG H, ZHANG R, et al. The role of TRPC6 in oxidative stress-induced podocyte ischemic injury[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2015, 461(2): 413-420.
- [4] MOLLER CC, WEI C, ALTINTAS MM, et al. Induction of TRPC6 channel in acquired forms of proteinuric kidney disease[J]. J Am Soc Nephrol, 2007, 18(1): 29-36.
- [5] THOMAS S, SOOKYUNG K, CONSTANTINE T, et al. Inhibition of the TRPC5 ion channel protects the kidney filter[J]. J Clin Invest, 2013, 123(11): 5298-5309.
- [6] ANNA G, PETER M. Balancing calcium signals through TRPC5 and TRPC6 in podocytes[J]. J Am Soc Nephrol, 2011, 22(11): 1969-1980.

Effect of Yuebi Tang (越婢汤) and Gujing Fang (固精方) on Glomerular Podocyte Injury in Puromycin Aminonucleoside Nephropathy Rats

HAN Shisheng, LU Yan, YAO Tianwen, WANG Yi

(Yueyang Hospital of Integrative Medicine, Shanghai University of Chinese Medicine, Shanghai, 200437)

ABSTRACT Objective To explore the efficacy and the possible mechanism of the method of inducing sweating to release the exterior (Yuebi Tang, 越婢汤) and the method of supplementing kidney and consolidating essence (Gujing Fang, 固精方) in the treatment of nephrotic syndrome. **Methods** Forty Wistar rats were randomized into control group, model group, Yuebi Tang group and Gujing Fang group, with 10 rats in each group. Rats in each group except for the control group were given a single intravenous injection of puromycin aminonucleoside 9 mg/100 g to establish the model of glomerular podocyte injury. On the second day after modeling, Yuebi Tang group was orally administered Yuebi Tang (2.1 g/100 g) daily, the Gujing Fang group was orally given Gujing Fang (7.5 g/100 g) daily, while the control group and the model group were given equal volume of distilled water. The treatment period was 2 weeks. The levels of serum creatinine, urea nitrogen, uric acid, albumin, total cholesterol, triglyceride, urinary protein and urinary creatinine, TRPC5 and TRPC6 protein and mRNA expressions in renal tissue of rats in each group were measured, and glomerular pathological changes and podocyte ultrastructure were observed. **Results** Compared with those in the control group, the levels of urea nitrogen, uric acid, total cholesterol and triglyceride in the model group increased, serum albumin decreased, urinary protein creatinine ratio increased, while the expressions of TRPC5 and TRPC6 protein and mRNA in renal tissue increased ($P < 0.05$). Compared with those in the model group, the serum creatinine, uric acid, total cholesterol, triglyceride and urinary protein creatinine ration decreased in Yuebi Tang group and Gujing Fang group, albumin increased, and the expressions of TRPC5 and TRPC6 mRNA in the renal tissue decreased ($P < 0.05$). The serum levels of albumin, uric acid and TRPC5 mRNA in renal tissue in Yuebi Tang group were lower than those in Gujing Fang group, while TRPC6 mRNA was higher ($P < 0.05$). **Conclusion** Yuebi Tang and Gujing Fang may regulate the protein expressions of TRPC5 and TRPC6 in renal tissue, reduce the podocyte injury, thus improving the low protein and hyperlipemia in nephrotic syndrome.

Keywords nephrotic syndrome; podocyte injury; puromycin aminonucleoside; Yuebi Tang (越婢汤); Gujing Fang (固精方)

(收稿日期: 2017-05-23; 修回日期: 2017-07-12)

编辑: 邓 媛