

· 综 述 ·

补肾益气法防治肾间质纤维化机制研究概况

沈烨渠¹ 指导:何立群^{1,2}

(1. 上海中医药大学附属曙光医院肾内科, 上海市浦东新区张江高科技园张衡路 528 号, 201203;

2. 上海市高校中医内科 E-研究院)

[关键词] 肾间质纤维化; 中医药; 益气活血法; 机制

肾纤维化是几乎所有肾脏疾病进展到终末期肾功能衰竭的共同通路, 其特征包括肾小球纤维化、肾间质纤维化、肾血管纤维化^[1], 是各种肾脏疾病慢性化主要的病理学表现之一, 是各种肾小球、血管和小管间质本身疾病的最后结局。肾间质纤维化(RIF)是以细胞外基质(ECM)在肾间质的过度积聚与沉积以及成纤维细胞增生为特征, 是多种细胞、生长因子、细胞因子共同参与, 相互作用, 最终导致 ECM 合成增多, 降解减少, 过度沉积的结果^[2]。当肾脏受到内在或外界损伤, 受损组织开始一系列自我修复过程: 首先, 肾脏固有细胞激活, 促炎性细胞因子产生和释放, 单核/巨噬细胞、T 细胞被招募并向受损部位浸润; 随后, 系膜细胞、成纤维细胞、小管上皮细胞在相关细胞因子作用下被激活或进行转分化并产生大量 ECM; 大量 ECM 沉积可致纤维瘢痕形成和肾组织重构, 导致肾实质毁损和肾功能丧失。目前认为, RIF 形成的分子机制主要包括 4 个阶段: ①细胞活化和损伤阶段; ②纤维化信号传递阶段; ③纤维化形成阶段; ④肾脏结构和功能毁损阶段^[1]。中医药研究者对有关单味中药、有效成分及中药复方在防治肾纤维化方面进行了大量体内、外研究, 发现许多中药, 特别是补肾益气类中药能减轻肾间质纤维化, 延缓肾衰竭的进展, 显示了中医药在抗肾纤维化方面的优势, 本文就此作一概述。

1 中医学对肾纤维化病因病机的认识

对于肾纤维化, 其本虚标实的病机特点已为大多数医家所认可, 且有一个共识, 即都认为肾虚是肾纤维化形成的根本。从中医角度来看, RIF 被认为是由于脏腑正气虚弱, 久病入络, 瘀血阻络而导致肾虚气化不利, 浊不得泄, 湿浊内蕴, 日久化为浊毒。湿、浊、毒内蕴日久导致血络瘀阻, 形成瘀痕积聚而令脏腑正气进一步衰弱。这些病理改变来源于正虚, 同时又会留滞停蓄, 进一步加重正气的耗损。

由于脏腑正气虚弱, 久病入络, 瘀血阻络而导致肾虚气化不利, 浊不得泄, 湿浊内蕴, 日久化为浊毒。中医学认为, 肾虚证形成的原因可以归结为两个方面: 一是先天禀赋不足, 一是由后天因素引起。纵观五脏六腑, 肾病与脾肾二脏关系最大, 正虚以脾肾两虚为主。与现代医学对肾脏疾病导致肾纤维化各种因素的认识也是一致的。如脾肾两虚——体液及细胞免疫功能紊

乱; 固摄失司, 脾失健运——蛋白等精微物质随尿流失, 尿蛋白持续存在, 低蛋白血症及脂质代谢异常等^[3], 均可造成肾功能持续损害, 加重肾小球及肾间质的炎症反应并促进其纤维化。

2 肾间质纤维化的补肾益气法

肾病多虚证。广东省中医院 1997 年 1 月至 1999 年 4 月期间住院的 197 例慢性肾炎患者中气虚证者占 56.3%^[4]。贾秀琴等^[5]对 269 篇文献研究发现, 使用频次最高的药组是补益药(35.7%), 补益药的使用频率补气药>补阳药>补血药>补阴药, 其中补气药虽只有 9 味, 但使用次数达 347 次, 在最常用的 15 味中药中, 补气药占 5 味, 可见气虚在肾纤维化中的关键作用。

2.1 抑制成纤维细胞过度活化, 促进其凋亡

正常肾脏几乎无肌成纤维细胞(Myof), α 平滑肌肌动蛋白(α SMA)的表达仅见于肾脏血管中层, 而在肾小球和肾间质无表达。在炎症、免疫反应、毒素等因素的刺激下, 间质成纤维细胞被激活, 出现增殖和表型改变, 表达 α SMA, 分化为 Myof, 其具有大量合成纤维性胶原的能力, 在小管间质纤维化发病机制中起着重要作用。同时成纤维细胞和 Myof 的凋亡过少及肾小管细胞的过度凋亡均是肾组织纤维化的重要环节。柯兴昌等^[6]在探讨人参皂苷 Rg1 对梗阻肾的保护作用时发现, 人参皂苷 Rg1 可能有抑制梗阻肾小管上皮细胞凋亡、促进上皮细胞增殖、抑制间质纤维化和肾小球硬化等多种作用。在复方的研究中, 保肾片也能显著降低体外培养大鼠肾成纤维细胞增殖, 同时诱导凋亡^[7]。

2.2 抑制肾小管上皮细胞转分化

正常情况下肾小管上皮细胞表达上皮细胞的标志蛋白——角蛋白, 但在病理状态下, 肾小管上皮细胞具有向间质细胞转化的能力, 转化为成纤维细胞或 Myof 即发生肾小管上皮细胞的表型转化, 进而表达间充质细胞的标志蛋白——波形蛋白及 α SMA。Kalluri 等^[8]报道, 在 RIF 的发生过程中, 36% 的成纤维细胞来源于小管上皮细胞转分化(EMT), 药物干预 EMT 能很好改善肾间质纤维化。孙万森等^[9]在应用绞股蓝总皂苷治疗腺嘌呤诱导的慢性肾功能衰竭(CRF)大鼠时发现, 肾脏病理治疗组系膜细胞增生及上皮细胞损伤比病理组病损明显减轻, 提示绞股蓝具有显著的抗纤维化作用。

2.3 拮抗细胞外基质增多与其降解减少

ECM 在维持正常组织结构与功能及细胞生长、分化过程中起着非常重要的作用。在肾间质纤维化中, 降解细胞外基质的蛋白酶(如金属蛋白酶)活性降低, 而抑制细胞外基质降解的酶如金属蛋白酶组织抑制因子表达上调, ECM 这种动态平衡

失调,致ECM在肾间质过度沉积引起RIF。ECM降解酶系主要包括纤溶酶原激活物(PA)/纤溶酶系统和基质金属蛋白酶(MMPs)系统,而血浆纤溶酶原激活物抑制剂(PAI-1)和基质金属蛋白酶组织抑制因子1(TIMP-1)分别是PA/纤溶酶系统和MMPs系统的生理性抑制物^[10-11]。纤维连接蛋白(FN)是一种高分子糖蛋白,是肾脏ECM的主要成分之一。研究表明,FN是最早出现在损伤组织中的基质蛋白成分^[12]。因此,FN的表达程度也可反映ECM积聚程度。翁孝刚等^[13]观察到百令胶囊可显著改善糖尿病大鼠肾脏结构、防止系膜区扩大和基底膜增厚、具有显著的抗肾小球纤维化的作用。目前对黄芪的多项研究中发现:①能抑制大鼠体外培养血管平滑肌细胞(VSMC)分泌MMP-2和MMP-9活性,与此同时迁徙能力也明显下降,从而对平滑肌细胞的增殖和迁移起着重要作用^[14];②亦能显著降低成纤维细胞胶原合成速率,发挥抗纤维化作用^[15]。刘明日^[16]采用益肾颗粒治疗腺嘌呤致慢性肾衰竭大鼠模型,结果显示,该颗粒能减少肾小球细胞外基质FN集聚,减轻肾小管变性坏死及肾间质纤维化程度。何立群等^[17]用肾衰冲剂治疗5/6肾切除大鼠肾小球硬化模型,发现可以降低血层粘连蛋白(LN)、Ⅳ型胶原(COL-Ⅳ)、Ⅲ型前胶原(PC-Ⅲ),提高血FN含量,减少残肾肾小球细胞外基质FN、COL-Ⅳ过量积聚,其减轻肾小球硬化的机理在于减少残肾肾小球ECM的增生。

2.4 对细胞因子、生长因子的作用

细胞因子在肾间质纤维化中发挥重要作用,细胞因子的作用可分为促进纤维化和抑制纤维化两种。目前研究发现,生长因子如TGF-β、结缔组织生长因子(CTGF)、血小板衍生生长因子(PDGF)等和血管活性因子如血管紧张素Ⅱ(AngⅡ)、内皮素-1(ET-1)等为促纤维化因子;而肝细胞生长因子(HGF)、骨形成蛋白-7(BMP-7)、干扰素-γ(IFN-γ)等可阻止间质纤维化。TGF-β是公认的导致肾间质纤维化的细胞因子,它能够诱导炎症细胞浸润和成纤维细胞的增殖,参与肾间质纤维化的发生发展过程。HGF在体内为重要抗纤维化因子,其可拮抗TGF-β介导肌成纤维细胞激活,阻断小管细胞转分化。体内实验提示,HGF以Smad为靶点发挥抗纤维化作用;同时,相关动物模型也证实HGF的上述作用^[18-20]。黄芪能通过直接诱导肝细胞因子及其受体-met表达,抑制TGF-β蛋白及RNA水平^[21]。冬虫夏草对单侧输尿管梗阻(UUO)大鼠模型防治研究中发现,虫草水提取物和醇提取物均可通过下调TGF-β和αSMA表达^[22]。甘草酸18α对梗阻性肾病大鼠肾间质的影响中发现其能直接抑制肾间质炎症细胞浸润和成纤维细胞增殖以及Ⅰ、Ⅲ胶原的合成,可能与其调控肾间质中TGF-β和CTGF的表达有关^[23]。

可以看出,不少中药改善肾间质纤维化是多途径多靶点,如黄芪当归合剂同时通过抑制肾小管转分化、下降ECM的主要成分、下调TGF-β、CTGF表达等途径改善肾间质纤维化^[24]。何立群等^[25-26]通过慢性肾衰竭患者、动物模型的研究,提示抗纤灵冲剂可通过改善肾血流动力学、调节脂质代谢,氧化抗氧化系统、细胞分子水平等机理,来抑制肾间质纤维化及肾小球硬化。

3 补肾益气法在肾间质纤维化治疗中的地位

贾秀琴等对269篇文献检索表明,肾纤维化是一种病程较

长的难治之症,而久病必虚,所以扶助正气是治疗肾纤维化很重要的一方面^[7]。实验研究表明,补肾益气类中药有着明显改善及延缓肾纤维化的作用。红景天能抑制大鼠肾小管上皮细胞及间质细胞向肌成纤维细胞转化,从而干预肾间质纤维化^[27]。赵建荣等^[28]研究亦发现,黄芪当归合剂对UUO模型具有使肾小管扩张及萎缩减轻,肾间质内单核细胞的浸润减少,对间质纤维化病变有治疗作用。孟立强等^[29]实验研究发现,该合剂干预RIF的作用机理在病变早期与减少炎症细胞反应和下调TGF-β的表达有关,后期则主要是减少EMT及ECM的过度沉积。张勉之等^[30]以补肾活血方防治肾间质纤维化,结果发现,治疗组肾间质损伤程度明显轻于模型组,具有使成纤维细胞表达减少,上皮细胞表达增强,其抑制并逆转了肾小管上皮细胞成纤维细胞的转化,阻止了肾间质纤维化进程。王钊林等^[31]在研究中观察到,芪红合剂显著增强bcl-2在UUO大鼠肾皮质中表达的上调,抑制FN在肾间质中表达的上调,明显减少肾间质纤维化面积,明显降低尿素氮(BUN)、肌酐(Cr)水平,延缓肾小管损伤及间质纤维化进展有关。陈刚等^[32]通过实验研究认为,抗纤灵二号方可能通过减轻肾小管损伤,减少胶原纤维积聚,下调TGF-β、FN及PAI-1表达,抑制ECM沉积,促进ECM降解,从而达到改善肾间质纤维化的作用。

4 小结

相关研究表明,RIF在肾脏疾病转归中起主导作用,是反映肾功能下降严重程度和判断预后的最重要指标^[33]。所以抗肾间质纤维化的有效治疗即可以阻断或延缓慢性肾功能衰的进程。从资料看,目前中药抗肾间质纤维化的实验研究备受重视,已对黄芪、冬虫夏草、大黄等单味中药及其提取物有较深入的实验研究,且对一些经验复方也进行了实验研究,有的动物实验研究已深入到细胞生物学、蛋白表达水平,从不同角度证实中医药能够通过抑制肾小管上皮细胞转分化,减少肾间质炎症细胞浸润;通过拮抗促纤维化因子,诱导抗纤维化因子;通过抑制ECM的沉积,刺激ECM的降解等机制,在一定程度上阻断或延缓RIF的形成。

虽然中医药在拮抗肾间质纤维化这一方面的研究,取得了进展,但也存在着不少问题。①动物实验尚缺乏深入系统的研究,如作用机制、中药复方的有效成分、药理、药效的研究仍较少。同时动物的机体代谢在许多方面与人类有着很大的差异,尽管特定动物模型可以模拟某一器官的特定病变,但从中医治疗学角度仍不能完全代表人类疾病全身变化的实际情况,因而使中药在抗肾纤维化机制研究中的应用意义受到一定限制。②中药抗肾纤维化的临床研究方面,缺乏多中心、随机的临床报道。这是因为目前慢性肾脏病(CKD)的中医药疗效评定的标准不一,用药疗程亦各有异,且有些方药缺乏实验研究,机理不明,不易验证,为医生和CKD患者广泛接受尚有一定困难。③应用单味药、提取物防治肾纤维化难以发挥中医整体及辨证治疗的优势。④传统大复方难以深入研究。中药的成分复杂多样,其有效成分尚未完全弄清,虽然中药复杂的成分产生了多靶点的作用环节,但却给有效成分的筛选、提取造成了困难,以致作用机理的研究难以开展。我们认为,通过以上探讨与研究,应用补肾益气法及方药防治肾纤维化具有可靠的理论基础与

客观依据。今后应在中医理论的指导下,重视细胞生物学、分子生物学、中药药理及中药化学等学科的运用,借助现代医学的研究成果,充分发挥中医药优势,深入系统研究中医药防治纤维化的作用机制和作用环节;同时可将补肾益气方药进行拆方研究,运用客观数据来阐明益气活血法及方药的协同作用;探索有明显临床疗效、无毒副作用的基础方药,可将传统大复方“变小”,通过对不同配伍药物及配伍剂量的对比研究,筛选最佳配伍形式,这可能是中药复方研究的突破点之一。

参考文献

[1] Eddy AA. Molecular basis of renal fibrosis [J]. *Pediatr Nephrol*, 2000, 15(3-4): 290-301.

[2] Razzaque MS, Taguchi T. Cellular and molecular events leading to renal tubulointerstitial fibrosis [J]. *Med Electron Microsc*, 2002, 35(2): 68-80.

[3] 沈庆法. 中医临床肾脏病学[M]. 上海: 上海中医药大学出版社, 2007: 41.

[4] 冷伟, 杨霓芝, 赵代鑫, 等. 益气活血法防治肾纤维化的探讨与研究[J]. *江苏中医药*, 2009, 41(5): 59-60.

[5] 贾秀琴, 李雪梅. 中药抗肾纤维化用药规律探析[J]. *中国中西医结合肾病杂志*, 2006, 7(12): 739-740.

[6] 柯昌兴, 郝丽娜, 陈剑珩, 等. 人参皂苷 Rg1 对梗阻肾的保护作用[J]. *临床泌尿外科杂志*, 2005, 20(4): 228-230.

[7] 刘丽, 朱晓雷, 王钢, 等. 保肾片对大鼠肾间质成纤维细胞作用的实验研究[J]. *中国中医基础医学杂志*, 2002, 8(5): 50-52.

[8] Kalluri R, Neilson EG. Epithelial mesenchymal transition and its implications for fibrosis [J]. *J Clin Invest*, 2003, 112(12): 1776-1784.

[9] 孙万森, 吴喜利, 乔成林, 等. 绞股蓝总皂苷防治多脏器损伤的药理研究进展[J]. *中药材*, 2007, (02): 51-52.

[10] Rerolle JP, Hertig A, Nguyen G, et al. Plasminogen activator inhibitor type 1 is a potential target in renal fibrogenesis [J]. *Kidney Int*, 2000, 58(5): 1841-1850.

[11] Oda T, Jung YO, Kim HS, et al. PAI-1 deficiency attenuates the fibrogenic response to ureteral obstruction [J]. *Kidney Int*, 2001, 60(2): 587-596.

[12] Pavan MV, Ghini B, Castro M, et al. Prevention of hypertension attenuates albuminuria and renal expression of fibronectin in diabetic spontaneously hypertension rats [J]. *Am J Nephrol*, 2003, 23(6): 422-428.

[13] 翁孝刚, 窦敬芳. 百令胶囊对实验性糖尿病大鼠肾脏的保护作用[J]. *中华实用中西医杂志*, 2005, 18(21): 1475-1477.

[14] 黄进宇, 单江, 程刚, 等. 黄芪注射液体外对大鼠血管平滑肌细胞基质金属蛋白酶-2 活性的抑制作用[J]. *中医杂志*, 2003, 44(2): 140-142.

[15] 沈权, 侯魁彪, 叶澄宇. 黄芪对硬膜外疤痕影响的超微结构观察[J]. *中国中医骨伤科杂志*, 2000, 8(2): 15-17.

[16] 刘明日, 渠力平, 钟百灵. 谊肾颗粒对慢性肾功能衰竭大鼠的抗纤维化作用[J]. *山东医药*, 2005, 45(25): 23-24.

[17] 何立群, 高建东, 郑平东, 等. 肾衰冲剂缓解 5/6 肾切除大鼠肾小球硬化的实验研究[J]. *中国中医药信息杂志*, 2002, 2

(9): 22-23.

[18] Liu Y. Hepatocyte growth factor in kidney fibrosis: Therapeutic potential and mechanisms of action [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2004, 287(1): 7-16.

[19] Yang J, Dai C, Liu Y. A novel mechanism by which hepatocyte growth factor blocks tubular epithelial to mesenchymal transition [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2005, 16(1): 68-78.

[20] Yang J, Liu Y. Blockage of tubular epithelial to myofibroblast transition by hepatocyte growth factor p prevents renal interstitial fibrosis [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2002, 13(1): 96-107.

[21] 牟姗, 张庆怡, 倪兆慧, 等. 黄芪注射液对体外培养的人肾间质成纤维细胞 C-met 表达的作用[J]. *中华肾脏病杂志*, 2004, 20(2): 137-139.

[22] 陈晓霞, 王军, 周大为. 人工虫草提取物对大鼠单侧输尿管梗阻致肾小管间质损伤的保护作用[J]. *中国中西医结合肾病杂志*, 2004, 5(8): 440-442.

[23] 李开龙, 张建国, 王慧民, 等. 甘草酸 18 α 体调节梗阻性肾病大鼠肾间质中 CTGF 和 TGF- β 表达的实验研究[J]. *第三军医大学学报*, 2005, 27(4): 323-326.

[24] 黄海长, 闵亚丽. 黄芪当归合剂及依那普利对结缔组织生长因子在肾间质纤维化中表达的比较研究[J]. *中华肾脏病杂志*, 2003, 19(3): 233-235.

[25] 何立群, 王怡, 高建东. 抗纤灵冲剂对慢性肾衰肾纤维化及其影响因素的研究[J]. *医学研究通讯*, 2003, 32(7): 20.

[26] 王怡, 何立群, 高建东. 抗纤灵颗粒剂改善慢性肾衰竭肾纤维化的研究[J]. *中成药*, 2003, 25(10): 820-823.

[27] 王亚平, 李伯祥, 张雪光. α 平滑肌肌动蛋白在大鼠肾间质损伤时的表达及红景天甙的保护作用[J]. *中华肾脏病杂志*, 2000, 16(2): 118.

[28] 赵建荣, 屈磊, 李晓玫. 黄芪当归合剂对梗阻性肾病大鼠肾间质纤维化的防治作用[J]. *北京大学学报*, 2004, 36(2): 119-123.

[29] 孟立强, 屈磊, 李晓玫. 黄芪当归和剂对肾间质纤维化的多靶点抑制作用[J]. *中国药理学通报*, 2006, 22(3): 296-302.

[30] 张勉之, 段惠军, 张大宁. 补肾活血法组方中药防治肾间质纤维化的实验研究[J]. *中草药*, 2004, 35(6): 302-304.

[31] 王钊林, 马华. 中药芪红和剂对肾间质纤维化模型大鼠肾皮质中 bcl-2 表达的影响[J]. *山西中医学院学报*, 2006, 7(4): 15-17.

[32] 陈刚, 周健淞, 吴美, 等. 抗纤灵二号方对单侧输尿管梗阻大鼠肾间质细胞外基质的调节[J]. *江苏中医药*, 2009, 41(2): 75-77.

[33] Zeisberg M, Maeshima Y, Mosterman B, et al. Renal fibrosis: Extracellular Matrix microenvironment regulates migratory behavior of activated tubular epithelial cells [J]. *Am J Pathol*, 2002, 160(6): 2001-2008. <http://www.cnki.net>

(收稿日期: 2009-09-04)

[编辑: 李 巍]