

引用:孟立锋,杨端云,史伟,杜少鹏,樊均明. 健脾益气方调控间隙连接蛋白43防治PD大鼠腹膜损伤的作用机制研究[J]. 湖南中医杂志,2020,36(7):157-161.

健脾益气方调控间隙连接蛋白43 防治PD大鼠腹膜损伤的作用机制研究

孟立锋^{1,2},杨端云¹,史伟¹,杜少鹏¹,樊均明³

(1. 广西中医药大学第一附属医院,广西 南宁,530023;

2. 西南医科大学中西医结合防治器官纤维化实验室,四川 泸州,646000;

3. 成都医学院第一附属医院,四川 成都,610500)

[摘要] 目的:研究健脾益气方通过调控间隙连接蛋白(Cx)43干预腹膜透析大鼠腹膜间皮细胞转分化的作用机制。方法:将75只大鼠随机分为5组,即空白组、模型组、中药高剂量组、中药低剂量组、西药组,除空白组大鼠外,其余各组均采用5/6肾切除联合腹腔注射4.25%腹透液复制慢性肾衰竭腹膜纤维化大鼠模型。造模成功后,中药高、低剂量组给予健脾益气方,西药组给予阿托伐他汀钙,模型组给予0.9%氯化钠注射液,空白组不做任何处理。每天灌胃1次,连续4周。干预后光镜观察各组大鼠腹膜结构变化,测量腹膜致密层厚度;免疫组化法及蛋白质印迹法检测Cx43、蛋白激酶B/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(Akt/mTOR)通路和腹膜间皮细胞转分化(EMT)标志蛋白表达。结果:各组大鼠腹膜厚度及Cx43、pAkt、pmTOR、 α -平滑肌肌动蛋白(α -SMA)、E-钙黏附蛋白(E-cadherin)阳性面积比,空白组与模型组比较,中药高、低剂量组及西药组与模型组比较,中药高剂量组与西药组、中药低剂量组比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。各组大鼠腹膜组织Cx43、pAkt、pmTOR、 α -SMA、E-cadherin蛋白表达,空白组与模型组比较,中药高剂量组与西药组比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。结论:健脾益气方可能通过调控Cx43表达,干预Akt/mTOR信号通路介导的腹膜间皮细胞EMT进程,从而发挥保护腹膜间皮细胞、防治腹膜损伤的作用。

[关键词] 腹膜纤维化;腹膜透析;大鼠;健脾益气方;间隙连接蛋白43;实验研究

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A DOI:10.16808/j.cnki.issn1003-7705.2020.07.060

Interventional effect of spleen-strengthening and Qi-tonifying prescription on peritoneal injury in rats by regulating the gap junction protein connexin 43

MENG Lifeng^{1,2}, YANG Duanyun¹, SHI Wei¹, DU Shaopeng¹, FAN Junming³

(1. The First Affiliated Hospital of Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530023, Guangxi, China;

2. Combined Traditional Chinese and Western Medicine Laboratory for Controlling Organ Fibrosis,
Southwest Medical University, Luzhou 646000, Sichuan, China;

3. The First Affiliated Hospital of Chengdu Medical College, Chengdu 610500, Sichuan, China)

[Abstract] Objective: To investigate the mechanism of action of spleen-strengthening and Qi-tonifying prescription in the intervention of peritoneal mesothelial cell transdifferentiation in a rat model of peritoneal dialysis by regulating the gap junction protein connexin 43 (Cx43). Methods: A total of 75 rats were randomly divided into blank group, model group, high- and low-dose traditional Chinese medicine (TCM) groups, and Western medicine group. All rats except those in the blank group were given 5/6 nephrectomy combined with intraperitoneal injection of 4.25% peritoneal dialysis solution to establish a rat model of chronic renal failure and peritoneal fibrosis. After successful modeling, the rats in the high- and low-dose TCM groups were given spleen-strengthening and Qi-tonifying prescription, those in the Western medicine group were given atorvastatin calcium, those in the model group were given 0.9% sodium chloride injection, and

基金项目:国家自然科学基金项目(81560761);中国博士后基金项目(2017M612987);广西壮族自治区自然科学基金面上项目(2017JJA140363y)

第一作者:孟立锋,男,副主任医师,研究方向:中医药防治肾脏病

those in the blank group were not given any treatment. The drugs were given by gavage once a day for 4 consecutive weeks. After intervention, a light microscope was used to observe the change in peritoneal structure and measure the thickness of peritoneal dense layer; immunohistochemistry and Western blot were used to measure the expression of Cx43, the protein kinase - B/mammalian target of rapamycin (Akt/mTOR) pathway, and marker proteins for the epithelial - to - mesenchymal transdifferentiation (EMT) of peritoneal mesothelial cells. Results: There were significant differences in peritoneal thickness and positive area ratios of Cx43, phosphorylated AKt (pAKt), phosphorylated mTOR (pmTOR), α - smooth muscle actin (α - SMA), and epithelial cadherin (E - cadherin) between the blank group and the model group, between the high - and low - dose TCM groups/Western medicine group and the model group, and between the high - dose TCM group and the Western medicine group or low - dose TCM group ($P < 0.05$). There were significant differences in the protein expression of Cx43, pAKt, pmTOR, α - SMA, and E - cadherin in the peritoneal tissue between the blank group and the model group and between the high - dose TCM group and the Western medicine group ($P < 0.05$). Conclusion: Spleen - strengthening and Qi - tonifying prescription exerts a protective effect on peritoneal mesothelial cells and plays a role in the prevention and treatment of peritoneal injury by regulating the expression of Cx34 and the EMT process of peritoneal mesothelial cells mediated by the Akt/mTOR signaling pathway.

[**Keywords**] peritoneal fibrosis; peritoneal dialysis; rat; spleen - strengthening and Qi - tonifying prescription; connexin 43; experimental study

腹膜透析(peritoneal dialysis, PD)是一种具有良好的残余肾功能保护作用及早期生存率优势的疗法,也是终末期肾病患者的重要替代疗法^[1]。但在1~4年内,仍有约3%~36%的患者出现腹膜超滤衰竭,造成大量患者退出腹膜透析。其中腹膜纤维化(peritoneal fibrosis, PF)是导致超滤衰竭的主要原因,同时也是患者退出腹膜透析的首要原因^[2]。研究发现,PD过程中腹膜间皮细胞(PMC)损伤在腹膜纤维化及腹膜功能丧失中发挥了重要作用,完整的间皮细胞层可以显著延缓腹膜超滤衰竭的进程^[3],因此针对PMC的保护是改善腹膜透析超滤效能的重要靶点。

腹膜间皮细胞损伤、脱落是由于其细胞间隙连接结构遭到损害所致。间隙连接(GJ)是由2个相邻细胞膜上紧密装配的间隙连接蛋白(Cx)组成的通道结构,间隙连接蛋白及其所介导的间隙连接通讯(GJIC)在调控细胞的增殖、分化及维持内环境的稳定等生理过程中发挥着重要作用^[4]。研究表明,人腹膜间皮细胞间隙连接蛋白主要是Cx43^[5]。已有研究证实Cx43在高糖导致的腹膜间皮细胞损伤过程中起着重要作用^[6],且腹膜间皮细胞转分化(EMT)是腹膜纤维化的起始环节和可逆阶段,PI3K/Akt/mTOR信号通路参与介导腹膜间皮细胞转分化进程^[7]。但是,Cx43如何参与调控腹膜纤维化进程,其关键信号通路及与腹膜纤维化的关系如何目前尚不明确。

本课题组在既往研究基础上提出脾气亏虚是PD相关性腹膜早期病变的主要病机,发现健脾益气法能有效防治腹透相关性腹膜纤维化^[8]。本研究通过复制PD大鼠腹膜纤维化模型,检测Cx43、Akt/mTOR通路和腹膜间皮细胞转分化标志分子的水平,观察健脾益气方能否通过调控间隙连接蛋白43的表达,进而干预腹膜纤维化进程,并为中医药防治PD相关性PF提供新的思路和方法。

1 实验材料

1.1 动物 SPF级雄性SD大鼠75只,5周龄,体质量150~180 g,购于广西医科大学实验动物中心,实验动物使用许可证号SCXK(桂)2014-0005,动物使用符合广西中医药大学伦理委员会管理条例。适应性喂养1周,分笼饲养于广西中医药大学实验动物中心,自由饮水、摄食。

1.2 药物及试剂 1)药物。健脾益气方,处方:黄芪30 g,党参15 g,白术10 g,茯苓15 g,炙甘草8 g,川芎7 g,葛根15 g。每剂共100 g,以上药物在广西中医药大学第一附属医院药剂科制成每毫升药液含生药1 g的浓缩液,于4℃冰箱保存备用;阿托伐他汀钙(辉瑞制药有限公司,批准文号:国药准字H20051408,规格:20 mg/片),研磨成粉,以蒸馏水配成1 mg/ml的溶液。2)试剂。4.25%乳酸盐腹膜透析液(广州百特,批号:6AB9896),HRP标记羊抗兔多克隆抗体及DAB免疫组化染色试剂盒(中杉金桥生物公司),超高灵敏度化学发光检测试剂盒(碧云天公司),Cx43小鼠单克隆抗体(Thermo公司),E - cadherin、 α - SMA、Akt、mTOR、pAkt、pmTOR抗体(CST公司)。

1.3 主要仪器 全自动生化分析仪(上海艾迪康公司),低温高速台式离心机(德国Eppendorf公司),电子分析天平(上海花潮电器有限公司),石蜡切片机(德国Leica公司),超低温冰箱(美菱生物医疗),高压灭菌锅(上海申安公司),扫描系统(德国Leica公司),Leica DC100扫描系统(德国Leica公司),图像分析软件系统(德国Leica公司),倒置相差显微镜(日本OLYMPUS),电泳仪(北京六一生物科技有限公司),凝胶成像分析系统(上海勤翔有限公司)。

2 实验方法

2.1 模型制备 先采用5/6肾切除法建立慢性肾衰竭尿毒症模型。先行左肾2/3切除术。术前1 d禁食12 h,腹腔注

射10%水合氯醛溶液(3 ml/kg)麻醉大鼠,俯卧位于动物手术台,食指触及大鼠左侧肾脏位置后,备皮、消毒,做长约1.5cm纵行切口,暴露左肾,切除肾脏上下各1/3并压迫,观察无明显出血后复位残肾。1周后,行右肾全切术,手术准备同前,切开腹腔,暴露右肾,丝线结扎右侧肾蒂,切除右肾,观察无明显出血后,关腹。术后腹腔注射青霉素 4×10^5 U。造模2周后,检测血肌酐值,达到正常大鼠血肌酐值的2~3倍则证明造模成功。实验第5周,每天腹腔注射4.25%腹膜透析液(100 ml/kg)复制PF大鼠模型腹膜纤维组,维持4周。

2.2 动物分组 将75只大鼠分为空白组15只、造模组60只。将造模成功后的60只大鼠随机分为4组,每组各15只,即模型组、中药高剂量组(健脾益气方高剂量组)、中药低剂量组(健脾益气方低剂量组)、西药组(阿托伐他汀钙组)。

2.3 给药方法 依据人与动物体表面积折算,中药低剂量组给药量为 $100 \text{ g} \times 0.018/0.2 = 9 \text{ g}/(\text{kg} \cdot \text{d})$,中药高剂量组给药量为 $36 \text{ g}/(\text{kg} \cdot \text{d})$;西药组给药量为 $1.8 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$;模型组灌胃等体积0.9%氯化钠注射液;空白组不做任何手术及药物干预。各组大鼠于腹膜透析当日开始,每天晨间灌胃1次,共4周。

2.4 指标采集与检测

2.4.1 指标采集 各组大鼠分别于给药后的第28天断头处死,取出壁层腹膜组织,修剪成约 $5 \text{ mm} \times 5 \text{ mm}$ 大小,一半浸入PLP液中,4℃冰箱固定8 h,常规石蜡包埋,另一半则置-70℃冰箱保存待测。

2.4.2 指标检测 1)观察大鼠的一般状况如精神状态、皮毛、饮食、活动及体质量变化等。2)常规光镜观察腹膜组织结构及测量腹膜厚度。常规染色:壁层腹膜石蜡包埋后,4 μm厚石蜡切片,常规脱蜡,梯度乙醇脱水,苏木素室温染核,快速自来水冲洗,盐酸乙醇分化,伊红复染,自来水冲洗,梯度乙醇脱水,二甲苯透明,中性树脂封片。在光镜($\times 200$ 倍)下观察HE染色切片,每张切片取10个不同视野,每个视野观察5个不同位置,使用Leica Qwin 550病理图文分析系统,测量腹膜厚度(即腹膜间皮至肌肉的垂直距离,含间皮下纤维组织),取平均值。3)免疫组织化学法检测腹膜Cx43、pAKt、pmTOR、 α -SMA、E-cadherin蛋白阳性面积比。将处理好的玻片放入沸腾的抗原修复液中,中火加热10 min,室温放至自然冷却,3% H_2O_2 封闭10 min, PBS缓冲液洗3次,每次5 min,再用5% BSA封闭10 min,滴加一抗(Cx43、pAKt、pmTOR、 α -SMA、E-cadherin)稀释到合适浓度(1:200),湿盒中4℃过夜, PBS缓冲液洗,滴加生物素标记二抗,37℃放置1 h, PBS缓冲液洗,滴加DAB Plus Substrate,流水冲洗,苏木素复染,常规脱水、透明、封片。显微镜拍摄保存,Leica Qwin 550图像分析软件进行半定量分析,测定阳性面积比,计算单位面积棕黄色或黄色染色区域的平均吸光度。4) Western blotting法检测腹膜Cx43、pAKt、mTOR、pmTOR、 α -SMA、E-cadherin蛋白的表达。将冻存

的腹膜组织100 mg,放入盛有400 μl的细胞裂解液离心管中,冰上操作,将组织和裂解液转移至玻璃研磨器内,置于冰上反复研磨。将研磨好的组织液移入离心管内,冰上震荡裂解30 min,超声裂解5 s,重复一次,然后离心,4℃12000 r/30 min。取上清用BCA试剂盒测蛋白浓度。取30 μg蛋白标本加上样缓冲液煮沸变性,放-20℃冻存。SDS-PAGE凝胶电泳,转膜,5%脱脂奶粉的TBS封闭1 h, TBST洗3次,BSA配置一抗稀释液,兔抗大鼠Cx43、pAKt(1:400)、pmTOR(1:500),小鼠抗大鼠E-cadherin、 α -SMA(1:600)及兔抗大鼠GAPDH多克隆抗体(1:600),孵一抗,4℃摇床过夜,回收抗体, TBST洗3次。常温孵育HRP标记的IgG二抗,洗膜后曝光,凝胶成像分析系统分析目的蛋白条带与内参蛋白的IOD比值,进行统计分析。

2.5 统计学方法 采用SPSS 17.0统计学软件进行统计分析,计量资料用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,各组间比较用单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 实验结果

3.1 各组大鼠一般情况比较 在实验期间,先后有11只大鼠死亡,死因包括麻醉过量、手术损伤、术后感染、反复腹腔注射致大鼠内脏出血以及不明原因死亡,最终进入实验数据结果分析的各组大鼠数目为:空白组15只,模型组11只,中药高剂量组13只,中药低剂量组12只,西药组13只。实验过程中,各组大鼠表现有明显不同,造模前各组大鼠毛发光滑、反应灵敏、饮食良好。造模后,大鼠出现毛发稀疏、反应迟钝、喜好蜷卧等症状,且逐渐出现形体消瘦。

3.2 各组大鼠光镜下腹膜病理表现比较 HE染色显示空白组大鼠腹膜间皮细胞层覆盖完好,间皮下基底膜薄,并与结缔组织相连,间皮下无胶原纤维沉积,腹膜无毛细血管扩张充血,无炎症细胞浸润。模型组大鼠腹膜间皮细胞层明显脱落,梭形纤维细胞、成纤维细胞增生成多层,间皮下基质疏松,胶原纤维大量沉积,毛细血管扩张充血,伴有炎症细胞浸润。而各药物干预组大鼠腹膜上述形态改变均有不同程度的减轻,尤以中药高剂量组最为明显。(见图1)

3.3 各组大鼠腹膜厚度及Cx43、pAKt、pmTOR、 α -SMA、E-cadherin蛋白阳性面积比比较 与空白组比较,模型组腹膜厚度及pAKt、pmTOR、 α -SMA蛋白阳性面积比升高,Cx43、E-cadherin蛋白阳性面积比降低,差异有统计学意义;与模型组、西药组、中药低剂量组比较,中药高剂量组腹膜厚度及pAKt、pmTOR、 α -SMA蛋白阳性面积比明显降低,Cx43、E-cadherin蛋白阳性面积比明显升高,差异有统计学意义。(见表1)

3.4 各组大鼠腹膜组织Cx43、pAKt、pmTOR及 α -SMA、E-cadherin蛋白表达比较 与空白组比较,模型组Cx43、E-cadherin表达水平明显降低,pAKT、pmTOR、 α -SMA表达水平明显升高,差异有统计学意义;予药物干预后,pAKT、pmTOR、 α -SMA表达水平明显降低,Cx43、E-cadherin蛋白明显升高,且中药高剂量组疗效优于西药组,差异有统计学意义。(见图2、图3)

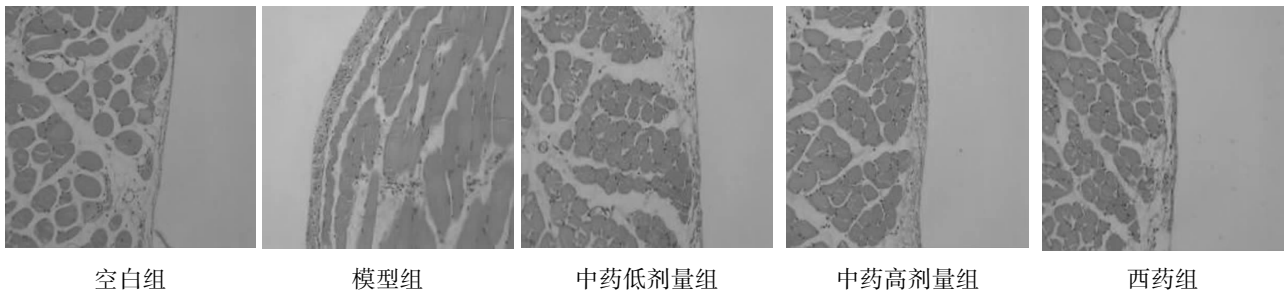
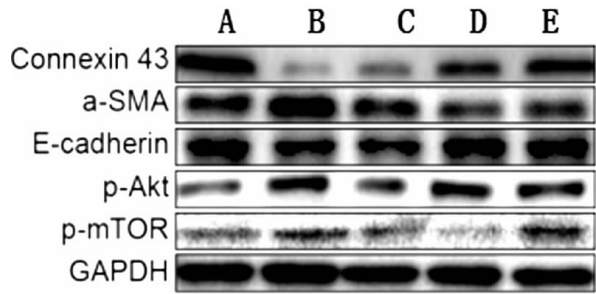


图1 各组大鼠光镜下腹膜病理图(×200 倍)

表1 各组大鼠腹膜厚度及 Cx43、pAkt、pmTOR、α-SMA、E-cadherin 蛋白阳性面积比比较(̄x±s)

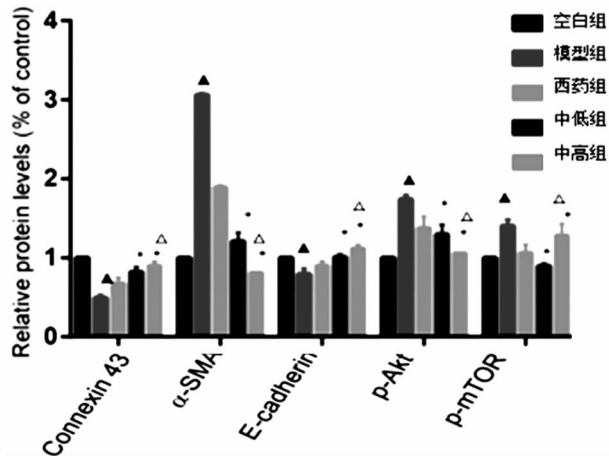
组别	例数	腹膜厚度(μm)	Cx43(%)	pAkt(%)	pmTOR(%)	α-SMA(%)	E-cadherin(%)
空白组	15	6.73±2.27	56.82±6.72	4.92±0.63	3.74±0.45	3.58±0.53	6.47±0.83
模型组	11	61.87±9.13 ^a	14.81±3.37 ^a	19.14±1.12 ^a	18.54±1.23 ^a	21.60±1.35 ^a	0.93±0.31 ^a
西药组	13	32.56±2.30	33.67±3.49	12.35±1.32	11.92±1.15	14.93±1.12	2.59±0.25
中药低剂量组	12	38.9±2.62	15.91±3.48	12.54±1.26	10.56±1.09	15.2±1.14	1.84±0.41
中药高剂量组	13	24.51±3.15 ^{abcd}	45.37±5.17 ^{abcd}	5.41±1.14 ^{abcd}	4.32±0.89 ^{abcd}	8.11±1.18 ^{abcd}	3.56±0.27 ^{abcd}

注:与空白组比较,^a*P*<0.05;与模型组比较,^b*P*<0.05;与西药组比较,^c*P*<0.05;与中药低剂量组比较,^d*P*<0.05。



注:A—空白组;B—模型组;C—西药组;D—中药高剂量组;E—中药低剂量组。

图2 各组大鼠腹膜组织 Cx43、pAkt、pmTOR 及 α-SMA、E-cadherin 蛋白电泳图



注:与模型组比较,**P*<0.05;与西药组比较,[△]*P*<0.05;与空白组比较,[▲]*P*<0.05。

图3 各组大鼠腹膜组织 Cx43、pAkt、pmTOR 及 α-SMA、E-cadherin 蛋白表达比较

4 讨论

腹膜透析是否能够持续而有效地进行,在很大程度上取决于腹膜结构的完整性和功能的有效性。病理组织学研究表明 PD 相关性腹膜纤维化的最重要特征是腹膜表面间皮细胞层的丧失^[9]。PMC 为腹膜的主要组成部分,长期的腹膜透析使腹膜间皮细胞受损,刺激产生多种生长因子及细胞因子,这些因子通过结合细胞表面特异受体,将信号转入细胞内,进而活化不同的核内转录因子,调节转录基因的表达,最终诱导 EMT 的发生、间皮下细胞外基沉积、新生血管增多和血管玻璃样变等,这些病变使得腹膜通透性增加及超滤减少,最终出现超滤衰竭^[10]。在调控 EMT 的复杂网络过程中,Cx 43 及 PI3K/Akt/mTOR 信号通路均扮演着十分重要的角色。EMT 动态过程中的相关蛋白能与 Cx43 直接相互作用,影响 Cx43 在细胞膜上的锚定和定位,进而影响其介导的 GJIC 功能。研究发现,细胞骨架蛋白[肌动蛋白丝(F-actin)]参与 Cx43 的调控,当细胞受到胞外信号诱导时,骨架蛋白通过与细胞质膜上 Cx43 的 C 末端相互作用,促使 Cx43 定位于细胞膜上形成 GJIC^[11]。因此本课题组推测 Cx43 表达异常与 EMT 进程有着密切关系,且有研究发现 PI3K/Akt 通路参与了 PD 过程中 TGF-β1 导致的腹膜间皮细胞 EMT 的发生,抑制 PI3K/Akt 通路,可明显减轻 TGF-β1 导致的腹膜间皮细胞 EMT^[7]。雷帕霉素可以有效抑制 TGF-β1 诱导培养的 HPMC 发生 EMT,提示 AKT/mTOR 通路参与 EMT 过程,调控 mTOR 信号通路可以逆转 EMT 的发生^[12]。

《素问·热论》首提“脾主大腹”,明确指出脾脏对腹部组织功能的正常发挥有着重要作用。有研究对 381 例 PD 患者进行证候分析,发现 PD 初期脾肾气虚证所占比例最大^[13-14]。因此,我们认为脾气亏虚是 PD 相关的腹膜早期病变的主要病机^[15]。中医学认为人体的一切生理病理变化

都是气运动变化的结果,气对人体有重要的调控作用和传播生命信息作用。气和细胞通讯是中西医不同思维方式对于同一生命现象的不同认识,可以相互印证^[16]。结合Cx43对间皮细胞EMT的调控机制,考虑在PF过程中腹膜间皮细胞Cx43及其介导的GJIC功能受损,这与中医学“脾气亏虚”存在密切相关性。针对PF过程中“脾气亏虚”的重要机制,本研究选择具有健脾益气功效的健脾益气方来保护腹膜间皮细胞的结构和功能,防止和延缓PF进程。健脾益气方是以健脾名方四君子汤加味而成,方中以黄芪、党参健脾益气,白术、茯苓健脾燥湿,葛根、川芎升阳理气,炙甘草调和诸药。有研究显示,HMG-CoA还原酶抑制剂能上调细胞间连接蛋白,增强细胞间隙连接通讯^[17]。阿托伐他汀可抑制PI3K/Akt通路的激活而延缓肾小管间质纤维化的进展^[18]。因此,本研究将HMG-CoA还原酶抑制剂类药物阿托伐他汀作为对照药。结果表明,健脾益气方能明显降低大鼠腹膜厚度及pAkt、pmTOR、 α -SMA蛋白阳性面积比($P<0.05$),明显升高Cx43、E-cadherin蛋白阳性面积比($P<0.05$)。说明健脾益气方能有效防治腹膜间皮细胞损伤,其机制可能是通过调控Cx43表达,干预Akt/mTOR通路,以抑制腹膜间皮细胞EMT改变。

综上所述,健脾益气方可能通过调控Cx43表达,干预Akt/mTOR信号通路介导的腹膜间皮细胞EMT进程,从而发挥保护腹膜间皮细胞、干预EMT进程的作用。本研究为PD诱导腹膜损伤的发病机制研究及中医药治疗提供了新的思路和方法,对进一步开发有效的保护腹膜功能、拮抗PF的中药方剂及中药单体具有一定指导意义,其临床应用效果有待进一步研究。

参考文献

- [1] QIANG Y, MICHELLE D. Peritoneal dialysis in China[J]. Perit Dial Int, 2014, 34(1): S29-S30.
- [2] 范汝燕,翁宁,徐佳美. 持续性非卧床腹膜透析患者退出原因分析[J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2008, 9(8): 708-709.
- [3] BUCHEL J, BARTOSOVA M, EICH G, et al. Interference of peritoneal dialysis fluids with cell cycle mechanisms[J]. Perit Dial Int, 2014, 34(1): 37-47.
- [4] CHEVALLIER D, CARETTE D, GILLERON J, et al. The emerging role of connexin 43 in testis pathogenesis[J]. Curr Mol Med, 2013, 13(8): 1331-1334.
- [5] TAKAHIKO O, TOMOMNRI H, NORIAKI Y, et al. Hexamethylene bisacetamide protects peritoneal mesothelial cells from glucose[J]. Kidney Int, 2001, 60(3): 996-1008.
- [6] 曹东维,张苗,何劲松,等. 高糖对人腹膜间皮细胞间隙连接蛋白的影响[J]. 徐州医学院学报, 2010, 30(2): 93-95.
- [7] 彭翔,刘伏友,孙林,等. PI3K/Akt信号调节腹膜间皮细胞上皮-间充质转分化[J]. 中华肾脏病杂志, 2014, 30(5): 363-369.
- [8] 孟立锋,杨端云,李吉武,等. 加味六君子汤对腹膜纤维化大鼠腹膜间皮细胞转分化的影响[J]. 中国中西医结合肾病杂

志, 2016, 17(4): 299-302.

- [9] TARAUN T, FLOREA L, PADURARU D, et al. The peritoneal membrane in patients with long-term dialysis[J]. Rom J Morphol Embryol, 2014, 55(3): 927-932.
- [10] MARGETTA PJ, BONNIAU P. Basic mechanisms and clinical implications of peritoneal fibrosis[J]. Perit Dial Int, 2003, 23(6): 530-541.
- [11] BUTEVICH E, HULSMANN S, WENZEL D, et al. Drebrin is a novel connexin43 binding partner that links gap junctions to the submembrane cytoskeleton[J]. Current Biology, 2004, 14(8): 650-658.
- [12] AGUILERA A, AROEIRA LS, RAMIRZ-HUESCAM, et al. Effects of rapamycin on the epithelial to mesenchymal transition of human peritoneal mesothelial cells[J]. Int J Artif Organs, 2005, 28(2): 164-169.
- [13] 盛梅笑,许陵冬,江燕,等. 腹膜透析患者中医证型研究及其影响因素的临床观察[J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2014, 15(1): 30-33.
- [14] 吴一帆,刘旭生,黄春林,等. 156例维持性腹膜透析患者中医证型分析[J]. 中国中西医结合杂志, 2010, 30(2): 146-149.
- [15] 孟立锋,史伟,王夏青,等. 中医药防治腹膜透析相关性腹膜纤维化研究进展[J]. 中华肾病研究电子杂志, 2018, 7(3): 131-134.
- [16] 徐先祥,戴岳,刘青云. “气”与细胞通讯[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2007, 9(6): 31-36.
- [17] CLÀDIA SALAT-CANEAL, MARTA SESÉ, CRISTINA PEULÀ, et al. Internal translation of the Cx43 transcript[J]. Cell Communication and Signaling, 2014, 12(31): 1-6.
- [18] 彭红霞,陈明,张超. Akt信号蛋白在阿托伐他汀作用于UUO大鼠肾小管-间质中的表达[J]. 中国病理生理杂志, 2008, 24(6): 1231-1233.

(收稿日期:2019-11-26)

佛手炒肉

材料:佛手1个,精肉120g,鸡腿菇150g。葱花、姜丝、豆瓣酱、盐适量。做法:将精肉切细丝,佛手和鸡腿菇切片。锅内放油烧热,放入肉煸炒,再加入葱花、姜丝等材料,炒至肉变色;再放入鸡腿菇,继续煸炒;然后放入切好的佛手;最后放入豆瓣酱大火炒至熟,加入盐调味即可。本药膳具有理气和胃、清心安神的功效,适合于有肝气不舒引起的胃痛、胃胀、失眠等症状的人群食用。(http://www.cntcm.com.cn/yskp/2020-06/25/content_77527.htm)