

水蛭素对糖尿病肾病足细胞损伤的保护作用及机制

陈茂盛
浙江省人民医院

【摘要】

目的：水蛭及水蛭素具有活血化瘀通络功效，国内外研究均表明水蛭素已经在心脑血管疾病发挥作用，在肾脏病领域也有应用，对于改善蛋白尿、缓解肾功能等具有一定功效。既往的研究也表明，水蛭对于糖尿病肾病具有较好的治疗作用，但具体作用机制尚不清楚。本研究旨在糖尿病肾病动物模型及细胞模型中探索水蛭素抗凝作用之外的减少蛋白尿及足细胞保护作用，并探索其分子机制。

方法：以 db/db 小鼠为研究对象，构建水蛭素灌胃治疗的糖尿病肾病动物模型，PAS 染色观察肾脏病理改变；自动化生化仪检测肾损伤的血生化及尿液指标（血肌酐、尿素氮及尿蛋白）；Western Blot 检测足细胞损伤相关标志物（nephrin、synaptopodin、podocin）；免疫荧光检测足细胞骨架 F-actin，荧光显微镜进行采集并定量。以 30mM 高糖处理构建糖尿病足细胞损伤细胞模型，水蛭素治疗及 RhoA 抑制剂处理后，Western Blot 检测足细胞损伤标志物及骨架相关标志物；Pull down RhoA 后 WB 检测 RhoA 蛋白水平；免疫荧光检测足细胞骨架。

结果：db/db 小鼠在 12 周开始出现肾肥大，肾小球增大，系膜基质扩张，足细胞丢失及基底膜增厚等病变；水蛭素灌胃治疗 4 周能显著减少 db/db 小鼠蛋白尿，降低其血肌酐、血尿素氮的水平。PAS 染色显示水蛭素治疗能缓解 db/db 小鼠肾脏病理改变如肾小球体积增大，系膜细胞、系膜基质增生等。另外 db/db 小鼠肾脏组织细胞中 F-actin 张力纤维显著减少，而水蛭素治疗后有所恢复。Western blot 显示 db/db 小鼠足细胞相关标志物（nephrin、synaptopodin、podocin）蛋白水平下降，TRPC6 蛋白水平上调，水蛭素治疗能维持足细胞相关标志物的表达水平，并抑制 TRPC6 的上调。细胞实验证实高糖刺激能诱导 RhoA 水平增加，而水蛭素可以抑制 RhoA 的水平。Western blot 及免疫荧光均显示 RhoA 抑制剂能抑制水蛭素对足细胞骨架的保护及上调标志物的作用，提示 RhoA 在水蛭素治疗糖尿病肾病足细胞损伤中发挥重要作用。

结论：本文通过构建糖尿病肾病小鼠模型及细胞模型，体内外实验证实水蛭素治疗能通过维持足细胞骨架形态及密度，减少蛋白尿，从而改善肾功能。其机制一方面抑制 TRPC6 的表达从而减少钙离子内流起到足细胞保护作用，另一方面可能抑制 RhoA 蛋白起到足细胞骨架保护作用。