

网络出版时间: 2018-4-27 9:39 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20180426.1411.006.html>

## 雷公藤多苷对贝伐珠单抗诱导的小鼠蛋白尿的影响及其相关机制的研究

闻 妹<sup>1</sup>, 陈映霞<sup>1</sup>, 马兴群<sup>1</sup>, 黄 勇<sup>1</sup>, 曹梦苒<sup>1</sup>, 江 超<sup>2</sup>

**摘要** 目的 探索雷公藤多苷(TWP)对贝伐珠单抗(BEV)诱导的小鼠蛋白尿的干预作用及可能作用机制。方法 30只ICR小鼠分为对照组(静脉相同注射生理盐水)、BEV组[BEV 60 mg/(kg·周), i.v.]、BEV+TWP1组[BEV 60 mg/(kg·周), i.v.+TWP 4 mg/(kg·d)]、BEV+TWP2组[BEV 60 mg/(kg·周), i.v.+TWP 8 mg/(kg·d)]、BEV+TWP3组[BEV 60 mg/(kg·周), i.v.+TWP 16 mg/(kg·d)]。4周末收集小鼠24 h尿液、血液标本,行尿蛋白总量、血液生化指标检测,最后处死小鼠,留取肾组织,分别行HE染色、电镜、免疫组化、Q-PCR等方法检测。结果 ①与对照组比较,BEV组24 h尿蛋白量显著增高;BEV+TWP2、BEV+TWP3组24 h尿蛋白量较BEV组明显降低,差异具有统计学意义( $P<0.01$ );BEV+TWP1组24 h尿蛋白量差异无统计学意义。②各组血生化指标差异无统计学意义。③在光镜下,BEV+TWP1、BEV组小鼠肾小球内皮细胞缩小,改变后的结构呈空泡状,对照组无明显变化;与BEV组比较,BEV+TWP2、BEV+TWP3组肾小球结构有明显恢复。④电镜下观察到对照组小鼠足细胞结构正常,而BEV组足细胞足突明显融合;较BEV组,BEV+TWP2、BEV+TWP3组小鼠足细胞有明显恢复,BEV+TWP3组接近正常组。⑤免疫组化结果:对照组、BEV+TWP2、BEV+TWP3组小鼠肾组织VEGF的表达为阳性或强阳性,BEV组为阴性或弱阳性。⑥VEGF、nephlin、podocin mRNA的表达量情况,与各组24 h尿量有密切相关性,差异具有统计学意义( $P<0.01$ );BEV+TWP1组差异无统计学意义。结论 BEV降低VEGF、nephlin、podocin蛋白及mRNA表达,从而破坏肾小球滤过膜,导致蛋白尿。而TWP可减少蛋白尿,主要机制可能恢复了肾小球足细胞VEGF、nephlin、podocin蛋白及mRNA的表达,从而发挥足细胞修复作用。

**关键词** 雷公藤多苷片;蛋白尿;VEGF;nephlin/podocin

**中图分类号** R 73-34

**文献标志码** A **文章编号** 1000-1492(2018)05-0686-06  
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2018.05.006

2018-01-02 接收

**基金项目** 南京军区重点课题(编号:14ZD21)

**作者单位**:<sup>1</sup>解放军八一医院肿瘤内科,南京 210000

<sup>2</sup>黄山市人民医院肿瘤科,黄山 242700

**作者简介**: 闻 妹,女,住院医师;

陈映霞,女,主任医师,硕士生导师,责任作者,E-mail: che-nyingxiacsco@qq.com

过去十年中,血管形成抑制剂已广泛应用于临床,贝伐珠单抗(bevacizumab, BEV)为新型抗血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的人源化单克隆抗体,通过选择性地结合VEGF,阻止VEGF与其受体结合,进而抑制新生血管的形成,达到抑制肿瘤生长的目的。蛋白尿是BEV较常见的不良反应之一,通过抑制血管内皮生长因子信号通路,导致肾功能损伤。这一不良反应目前尚无有效预防及治疗方法,一旦出现3级及3级以上蛋白尿,建议停用血管形成抑制剂,很大程度上降低了其临床治疗效果<sup>[1]</sup>。多项研究<sup>[2-3]</sup>证实雷公藤多苷片(*Tripterysium wilfordii* polyglucoside, TWP)可以通过维持肾小球足细胞的功能,降低糖尿病肾病相关蛋白尿。该研究在体外研究的基础上<sup>[4]</sup>,观测TWP对BEV相关小鼠肾损伤的修复作用并探索讨论其作用机制。

### 1 材料与方法

**1.1 材料** 选用清洁级雄性ICR(institute of cancer research)小鼠30只,由南京军区总院实验动物中心提供。BEV注射液购自瑞士罗氏制药公司;雷公藤多苷片购自上海复旦复华有限公司;cDNA第一链合成试剂盒购自美国Thermo Fisher(K1622)公司;氯仿(500 ml)、异丙醇(500 ml)购自中国南京化学试剂有限公司;兔抗鼠VEGF单克隆抗体、兔抗鼠nephlin单克隆抗体、兔抗鼠podocin单克隆抗体购自美国Abcam公司。

**1.2 实验分组** 30只健康清洁级实验小鼠适应性喂养1周后,随机分为5组:对照组:尾静脉注射相同体积生理盐水,1次/周,共4周;BEV组:尾静脉注射BEV 60 mg/(kg·周),共4周;BEV+TWP1组:尾静脉注射BEV 60 mg/(kg·周),喂服TWP 4 mg/(kg·d),共4周;BEV+TWP2组:尾静脉注射BEV 60 mg/(kg·周),喂服TWP 8 mg/(kg·d),共4周;BEV+TWP3组:尾静脉注射BEV 60 mg/(kg·周),喂服TWP 16 mg/(kg·d),共4周;每周称体重调整用药剂量。4周后采集小鼠24 h尿液,测

量尿蛋白总量;采集小鼠血液标本,检测血液中血尿素氮(blood ureanitrogen,BUN)、肌酐(serum creatinine scr,Scr)、谷草转氨酶(glutamic oxalacetic transaminase,AST)、谷丙转氨酶(glutamic-pyruvic transaminase,ALT)等生化指标。最后解剖小鼠,取出肾组织,HE染色方法观察肾小球结构改变,通过电镜观察足细胞超微结构变化,免疫组化方法观测肾组织 VEGF、nephrin 及 podocin 蛋白表达变化,Q-PCR 方法检测 VEGF mRNA、podocin mRNA 及 nephrin mRNA 表达。实验观察过程中,动物自由活动、饮水、进食。

**1.3 标本收集** 4周末收集24h尿液,测尿中蛋白总量,眼球取血,检测血液中 Scr、BUN、AST、ALT 等指标。解剖小鼠,取出肾组织,行免疫组化及分子检测。

**1.4 24 h 尿蛋白测定** 根据试剂盒说明书测定。

**1.5 血生化指标** 血清 Scr、BUN、AST、ALT 等生化指标按照试剂说明书在全自动化生化仪上检测。

**1.6 肾组织的光镜检查** 取一部分肾组织,大小约 0.5 cm,10% 福尔马林固定,石蜡包埋,切片厚度 2  $\mu\text{m}$ ,行 HE 染色后光镜下观察。

**1.7 电镜检测足细胞超微结构改变** 取小于 1  $\text{mm}^3$  肾组织块,用 2.5% 戊二醛固定,用 0.1 mol/L 磷酸漂洗液漂洗 3 次。1% 锇酸固定液固定 2~3 h,再用 0.1 mol/L 磷酸漂洗液漂洗 3 次;最后经脱水、烘烤、染色后,Hitachi7500 透射电镜下观察足突和基膜改变,拍片。

**1.8 免疫组化法观察肾组织 VEGF、nephrin、podocin 分布** 将石蜡切片脱蜡,加入兔抗鼠抗体(VEGF、podocin、nephrin 稀释浓度均为 1:100)孵育 4  $^{\circ}\text{C}$  过夜,严格按照试剂盒说明操作,切片完成后光镜下观察。

**1.9 Q-PCR 分析 VEGF、nephrin、podocin mRNA 的表达** 操作严格按照 Q-PCR 试剂盒说明书进行,引物均由南京思普金科技有限公司提供。逆转录反应:起始模板 RNA 2 ng,反应体系为 10  $\mu\text{l}$ ,每个检验指标做 3 个复孔。反应条件为:95  $^{\circ}\text{C}$  预变性 2 min,95  $^{\circ}\text{C}$  变性 15 s,60  $^{\circ}\text{C}$  退火 20 s,72  $^{\circ}\text{C}$  延伸 40 s。引物分别是 qmPodocin (123 bp) F: 5'-GAC-CAGAGGAAGGCATCAAGC-3', R: 5'-GCACAACCTT-TATGCAGAACCAG-3'; qmVEGF (105 bp) F: 5'-CA-CATAGAGAGAATGAGCTTCC-3', R: 5'-CTCCGCTCT-GAACAAGGCT-3'; qmNephrin (87 bp) F: 5'-TCT-GGGTCCAAACCCCTAAGATT-3', R: 5'-TCAATAAG-

CAGGTGGAACCTCAC-3'。

**1.10 统计学处理** 应用 SPSS 16.0 软件进行分析,数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,多组间数据的比较采用单因素方差分析及两两比较的 LSD-*t* 检验,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 24 h 尿蛋白比较** BEV 组 24 h 尿蛋白量显著高于对照组;与 BEV 组比较,BEV + TWP2、BEV + TWP3 组 24 h 尿蛋白量明显降低,差异具有统计学意义( $P < 0.01$ );BEV + TWP1 24 h 尿蛋白量差异无统计学意义。见图 1。

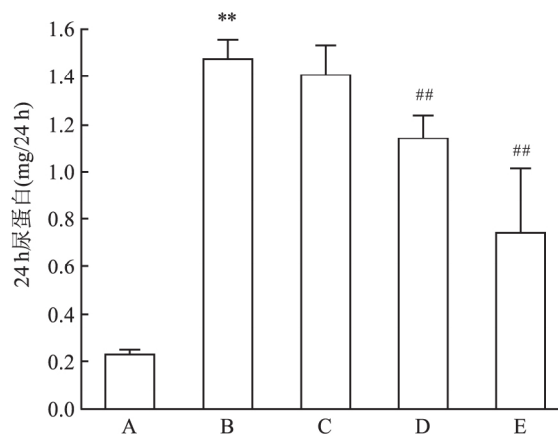


图1 各组小鼠24h尿蛋白量的变化

A: 对照组; B: BEV 组; C: BEV + TWP1 组; D: BEV + TWP2 组; E: BEV + TWP3 组; 与对照组比较: \*\*  $P < 0.01$ ; 与 BEV 组比较: ##  $P < 0.01$

**2.2 血生化分析** 各组小鼠 ALT、AST、BUN、CREA 差异无统计学意义( $P > 0.05$ ) (表 1)。

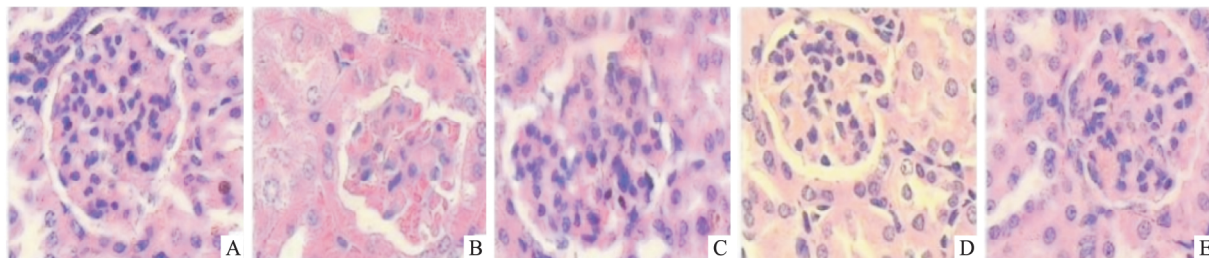
**2.3 肾组织病理变化** 光镜下观察对照组小鼠肾组织结构正常;BEV + TWP1、BEV 组小鼠肾小球内皮细胞缩小,改变后的结构呈空泡状;与 BEV 组比较,BEV + TWP2、BEV + TWP3 组肾小球结构有明显恢复,见图 2。

**2.4 电镜方法观察肾足细胞超微结构** 对照组:足细胞形态结构正常;BEV 组、BEV + TWP1 组:足细胞足突显著减少、广泛融合,微绒毛减少、变短,内皮孔明显增多、扩大、不规则,基底膜局部增厚;BEV + TWP2 组、BEV + TWP3 组:足细胞足突融合、微绒毛减少、基底膜增厚均明显改善,内皮孔分布正常,BEV + TWP3 组小鼠的足细胞接近正常。见图 3。

**2.5 免疫组化检测 VEGF、nephrin、podocin 蛋白的表达** 免疫组化结果:对照组、BEV + TWP2、

表1 各组小鼠血清生化指标的比较( $n=6, \bar{x} \pm s$ )

| 组别       | ALT( U/L)        | AST( U/L)         | BUN( $\mu\text{mmol/L}$ ) | CREA( $\mu\text{mmol/L}$ ) |
|----------|------------------|-------------------|---------------------------|----------------------------|
| 对照       | 26.50 $\pm$ 2.17 | 75.33 $\pm$ 5.84  | 7.17 $\pm$ 0.76           | 9.83 $\pm$ 1.17            |
| BEV      | 27.85 $\pm$ 5.19 | 73.17 $\pm$ 7.73  | 6.95 $\pm$ 1.35           | 12.17 $\pm$ 1.33           |
| BEV-TWP1 | 30.00 $\pm$ 4.82 | 78.67 $\pm$ 6.12  | 7.48 $\pm$ 1.22           | 10.33 $\pm$ 1.97           |
| BEV-TWP2 | 27.17 $\pm$ 2.79 | 76.50 $\pm$ 12.53 | 5.97 $\pm$ 0.57           | 9.17 $\pm$ 1.94            |
| BEV-TWP3 | 31.83 $\pm$ 3.76 | 76.33 $\pm$ 9.99  | 6.00 $\pm$ 0.93           | 10.33 $\pm$ 2.94           |

图2 小鼠肾小球变化 HE  $\times 400$ 

A: 对照组; B: BEV 组; C: BEV-TWP1 组; D: BEV-TWP2 组; E: BEV-TWP3 组

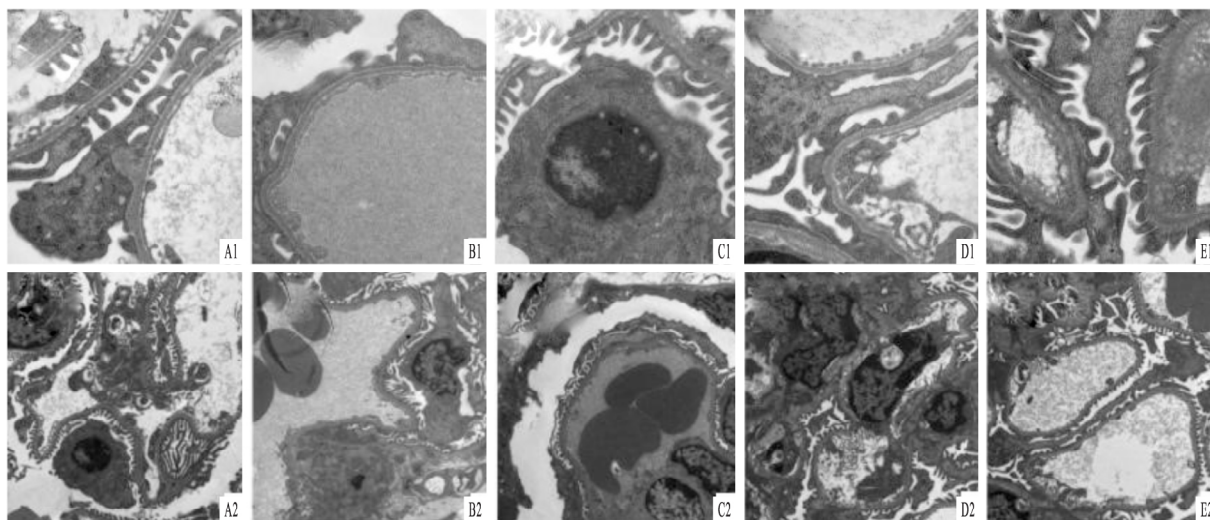


图3 各组小鼠电镜下足细胞结构变化

A: 对照组; B: BEV 组; C: BEV-TWP1 组; D: BEV-TWP2 组; E: BEV-TWP3 组; 1:  $\times 5000$ ; 2:  $\times 1700$ 

BEV-TWP3 组小鼠肾组织 VEGF 的表达为中、强阳性, BEV 组为阴性或弱阳性。见图 4~6。

**2.6 Q-PCR 检测小鼠肾组织 VEGF、nephrin、podocin mRNA 表达** VEGF、nephrin、podocin 蛋白与 mRNA 表达量情况, BEV 组较对照组明显降低, BEV+TWP2、BEV-TWP3 较 BEV 组显著升高, 差异具有统计学意义( $P<0.01$ ); BEV+TWP1 组差异无统计学意义。见图 7。

### 3 讨论

BEV 在应用 4 周后其 24 h 蛋白尿的发生率显著升高。参照相关研究, 根据 BEV 临床使用剂量,

在预实验中设计了三组不同的剂量来诱导蛋白尿的产生。结果显示, 小鼠被注射 BEV 4 周后, 肾脏出现肾小球内皮细胞萎缩、空泡状改变等病理变化。电镜下显示肾足细胞出现足突明显减少、足突融合增宽、微绒毛稀疏变短、基底膜局部增厚等超微结构改变。这些异常均表明蛋白尿的发生与 BEV 对足细胞损伤密切相关。且 BEV 导致的损伤具有剂量相关性。而各组小鼠的 Scr、BUN、ALT、AST 无显著差异, 表明足细胞结构的损伤不至于引起明显的肾功能变化。临床上也显示, 蛋白尿的产生并不意味着肾功能会在短期内出现明显变化。

VEGF 家族是血小板源生长因子超家族中最重



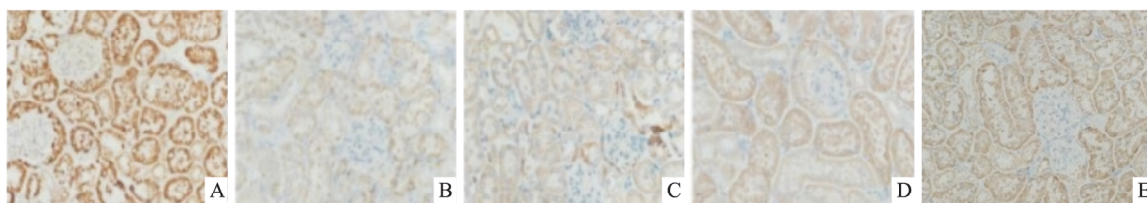


图4 各组小鼠足细胞 VEGF 蛋白表达 免疫组化 ×400

A: 对照组; B: BEV 组; C: BEV - TWP1 组; D: BEV - TWP2 组; E: BEV - TWP3 组

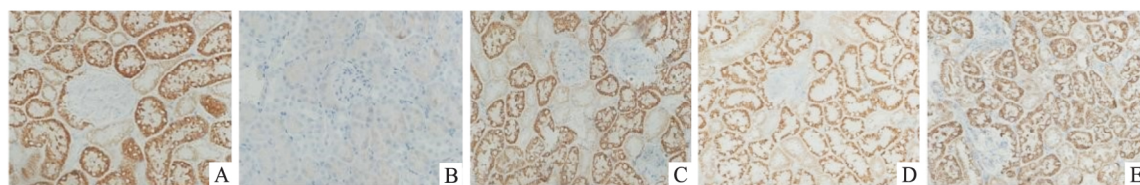


图5 各组小鼠足细胞 nephrin 蛋白表达 免疫组化 ×400

A: 对照组; B: BEV 组; C: BEV - TWP1 组; D: BEV - TWP2 组; E: BEV - TWP3 组

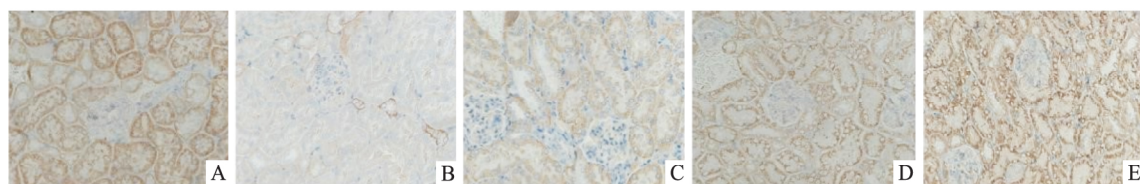


图6 各组小鼠足细胞 podocin 蛋白表达 免疫组化 ×400

A: 对照组; B: BEV 组; C: BEV - TWP1 组; D: BEV - TWP2 组; E: BEV - TWP3 组

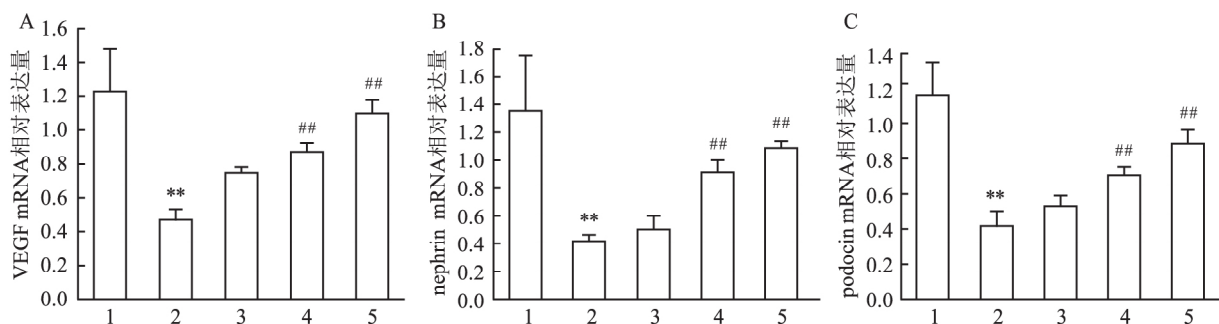


图7 Q-PCR 检测 VEGF、nephrin、podocin 基因表达

A: VEGF mRNA; B: nephrin mRNA; C: podocin mRNA; 1: 对照组; 2: BEV 组; 3: BEV - TWP1 组; 4: BEV - TWP2 组; 5: BEV - TWP3 组; 与对照组比较: \*\*  $P < 0.01$ ; 与 BEV 组比较: ##  $P < 0.01$

要的成员,肾小球足细胞和肾小管上皮细胞 VEGF 的表达最显著,VEGF 有助于促进血管内皮细胞增殖和新生血管的形成,在维持足细胞功能与基底膜蛋白方面具有重要作用<sup>[5-7]</sup>。将足细胞 VEGF 基因敲除,会降低肾小球基底膜重要组成部分、裂隙孔膜相关蛋白 nephrin 的表达,最终导致蛋白尿的形成<sup>[8]</sup>。在本实验中,通过免疫组化、Q-PCR 显示 VEGF 蛋白和 mRNA 表达量与蛋白尿具有相关性。这与之前的研究<sup>[10]</sup>结果吻合。

本实验显示,BEV 可降低足细胞 VEGF 的表达,抑制足细胞相关蛋白 nephrin、podocin 的表达,进而造成足细胞损伤,最后导致蛋白尿。

TWP 具有保护和修复肾小球电荷屏障、抑制免疫应答、改变肾小球机械屏障的损伤等作用,是治疗糖尿病肾病等蛋白尿临床常用药物之一,其疗效和安全性得到大多数学者的认可<sup>[11]</sup>。本试验证实足细胞损伤是 BEV 相关蛋白尿主要发生机制之一,nephrin 与 podocin 的表达降低将引起裂孔膜疏松、

消失,滤过屏障损坏,从而出现蛋白尿。文献<sup>[12]</sup>报道 TWP 具有上调 nephrin、podocin 表达,改善足细胞损伤的作用。本研究在使用 BEV 的基础上采用不同剂量的 TWP [4、8、16 mg/(kg·d)] 干预,结果显示小鼠 24 h 尿蛋白明显下降。光镜下显示中、高剂量 TWP 导致的一系列病理改变病变明显缓解,Q-PCR、免疫组化结果显示经过 TWP 干预的小鼠 VEGF、nephrin、podocin 表达明显恢复。小鼠足细胞病变改善程度与 TWP 剂量正相关,主要的机制是 TWP 通过修复小鼠足细胞损伤,增加肾小球 nephrin、podocin 表达。

TWP 的毒性始终是人们关注的问题,尤其是肝肾功能,本文采用的 TWP 剂量参考了大量糖尿病肾病的实验研究,证明采用的剂量未引起明显不良反应<sup>[13-14]</sup>。TWP(20 mg,口服 TID)治疗 BEV 诱导的蛋白尿个案中,患者服用 TWP 期间定期检查生化指标,无明显异常,说明 TWP 是治疗 BEV 相关蛋白尿的有效药物,有进一步研究的价值。

### 参考文献

- [1] Wu S, Kim C, Baer L, et al. Bevacizumab increases risk for severe proteinuria in cancer patients [J]. J Am Soc Nephrol, 2010, 21(8): 1381-9.
- [2] Ma R X, Liu L Q, Xu Y, et al. Protective effect of triptolide on renal tissues in type 2 diabetic mice [J]. J Hypertens, 2008, 16: 1120-4.
- [3] Ma R, Liu L, Liu X, et al. Triptolide markedly attenuates albuminuria and podocyte injury in an animal model of diabetic nephropathy [J]. Exp Ther Med, 2013, 6(3): 649-56.
- [4] 江超,陈映霞,秦叔逵,等.雷公藤多苷干预舒尼替尼引起的小鼠肾足细胞凋亡及相关蛋白表达的机制研究[J].安徽医科大学学报,2016,51(6): 801-3.
- [5] Lankhorst S, Baelde H J, Kappers M H, et al. Greater sensitivity of blood pressure than renal toxicity to tyrosine kinase receptor inhibition with sunitinib [J]. Hypertension, 2015, 66(3): 543-9.
- [6] Zhao N, Xu Q, Wang M, et al. Mechanism of kidney injury caused by bevacizumab in rats [J]. Int J Clin Exp Pathol, 2014, 7(12): 8675-83.
- [7] Schrijvers B F, Flyvbjerg A, De Zeeuw D. The role of vascular endothelial growth factor (VEGF) in renal pathophysiology [J]. Kidney Int, 2004, 65(6): 2003-17.
- [8] Eremina V, Jefferson J A, Kowalewska J, et al. VEGF inhibition and renal thrombotic microangiopathy [J]. N Engl J Med, 2008, 358(11): 1129-36.
- [9] Lankhorst S, Kappers M H, van Esch J H, et al. Mechanism of hypertension and proteinuria during angiogenesis inhibition: evolving role of endothelin-1 [J]. J Hypertens, 2013, 31(3): 444-54.
- [10] Bertuccio C, Veron D, Aggarwal P K, et al. Vascular endothelial growth factor receptor 2 direct interaction with nephrin links VEGF-A signals to actin in kidney podocytes [J]. J Biol Chem, 2011, 286(46): 39933-44.
- [11] 王军涛.雷公藤多苷治疗糖尿病肾病大量蛋白尿的疗效观察[J].中医中药研究,2015,7(24): 184-5.
- [12] 郑云,郝丽,潘梦舒,等.雷公藤多苷对大鼠肾病足细胞病变的影响[J].中华肾脏杂志,2011,27(4): 288-92.
- [13] 芦琨,刘国玲,沈永,等.雷公藤多苷对糖尿病肾病大鼠肾脏炎症损伤的保护作用[J].中药药理与临床,2015,31(8): 93-5.
- [14] 陈卫东,常保超,张燕,等.雷公藤多苷对糖尿病大鼠肾组织缺氧诱导因子-1 $\alpha$ 及内皮素-1表达的影响[J].南方医科大学学报,2015,35(4): 499-505.

## Effects and mechanism of *Tripterysium wilfordii* polyglucoside on proteinuria induced by bevacizumab

Wen Mei, Chen Yingxia, Ma Xingqun, et al

(Dept of Medical Oncology, Nanjing 81 Hospital of PLA, Nanjing 210002)

**Abstract Objective** To evaluate the effects and mechanism of TWP on proteinuria induced by bevacizumab.

**Methods** Thirty ICR mice were randomly divided into Control group (same volume of saline i.v); BEV group [BEV 60 mg/(kg·w) i.v]; BEV-TWP1 group [BEV 60 mg/(kg·w) i.v and TWP 4 mg/(kg·d)]; BEV-TWP2 group [BEV 60 mg/(kg·w) i.v and TWP 8 mg/(kg·d)]; BEV-TWP3 group [BEV 60 mg/(kg·w) i.v and TWP 16 mg/(kg·d)]. After four weeks, 24 h proteinuria, biochemical index were determined. Finally, the mice were executed, and the kidney tissue was taken, and HE staining, electron microscopy, immunohistochemical staining and Q-PCR were adopted. **Results** ① Compared with Control group, 24 h proteinuria in BEV group was gradually increased; however, compared with BEV group, 24 h proteinuria in BEV-TWP2 group and BEV-TWP3 group reduced obviously ( $P < 0.01$ ). ② There were no statistical significance in biochemical criteria

网络出版时间: 2018-4-27 9:39 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20180426.1411.007.html>

## 宫颈鳞癌中 CD44 分子变异体的表达分析

王娟, 宋伟国, 申震, 吴大保, 周颖

**摘要** 目的 研究宫颈鳞癌中 CD44 分子变异体的表达水平, 并进行分析。方法 qRT-PCR 法检测宫颈鳞癌 SiHa、HeLa、ME-180 细胞系 CD44 各种变异体的转录水平; 凝胶电泳进一步验证 CD44 在子宫颈鳞癌细胞株中的表达亚型及水平; Western blot 法检测子宫颈鳞癌细胞株中的 CD44v6 蛋白水平; 免疫组化检测 30 例宫颈鳞癌组织中 CD44v6 蛋白的表达水平及部位, 结合临床病理特征及预后进行分析。结果

SiHa、HeLa 细胞系主要表达 CD44s、CD44v6 型变异体, ME-180 细胞系主要表达 CD44v 型变异体, 以 CD44v6 为主; 宫颈鳞癌组织中 CD44v6 蛋白表达均为阳性, 主要位于细胞膜和细胞质, CD44v6 强表达与宫颈鳞癌分期、淋巴结转移、预后有关 ( $P < 0.05$ ), 与分化程度无关 ( $P > 0.05$ )。结论 宫颈鳞癌细胞系及组织中以 CD44v6 变异体为主, SiHa、

HeLa 细胞系 CD44s 变异体表达量较高, ME180 细胞系以 CD44v 型表达为主。CD44v6 高表达参与宫颈鳞癌的侵袭与转移, 可能作为判断宫颈鳞癌患者预后的重要生物学指标。

**关键词** CD44; 变异体; 宫颈鳞癌

**中图分类号** R 737.33

**文献标志码** A **文章编号** 1000-1492(2018)05-0691-05  
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2018.05.007

在世界范围内, 宫颈癌是第二位常见的妇科肿瘤<sup>[1]</sup>, 85% 宫颈癌发生于发展中国家。多项研究<sup>[2]</sup>表明, 宫颈癌的形成涉及多个基因和分子的参与, 黏附分子功能的改变是重要因素。CD44 抗原是被 CD44 基因编码的单通道、多肽链的跨膜糖蛋白, 分为胞外结合区、跨膜区和胞内区, 是细胞黏附分子 (cellular adhesion molecule family, CAM) 家族的重要成员, 最初被认为是透明质酸 (HA) 的受体, 主要负责细胞与细胞之间、细胞与基质之间的黏附<sup>[3]</sup>。CD44 是一个高保守的复杂基因, 由 20 个外显子组成并定位于人类 11 号染色体上与鼠的 2 号染色体上。不同的可变剪切方式形成 CD44s (标准型) 与 CD44v (变异型)。CD44s 由 1~5 和 16~20 外显子组成, 也叫组成型外显子 (c), CD44v 含有变异型外显子 (v), 由剩余的 6~15 外显子组成, 命名为 v1~

2017-12-22 接收

**基金项目:** 国家自然科学基金 (编号: 81272881、81001168); 安徽省年度重点科研项目 (编号: 1301043053); 2015 年省学术和技术带头人后备人选资助课题 (编号: 2015H062); 中国科学院天然免疫与慢性疾病重点实验室开放课题 (编号: KLIICD-201603); 安徽省科技攻关课题 (编号: 1704a0802151)

**作者单位:** 安徽医科大学附属省立医院妇产科, 合肥 230001

**作者简介:** 王娟, 女, 硕士研究生;

周颖, 女, 副研究员, 副主任医师, 硕士生导师, 责任作者, E-mail: caddie1234@gmail.com

among the all groups. ③ At the light microscopy, appeared as bulb with atrophic glomerular endothelial cells in BEV and BEV-TWP1 group, but no change was found in the control group; the pathomorphological improvements were exhibited in atropkhhic glomerular endothelial cells, manifested no obvious pathologic changes in BEV-TWP2 and BEV-TWP3 group. ④ Electron microscopy of kidney tissue revealed that the foot processes and microvilli of mouse podocyte in control group were normal. However, foot processes of podocytes were significantly decreased and extensively fused in BEV group and BEV-TWP1 group. Compared to BEV group, the pathological changes of the podocyte in BEV-TWP2 and BEV-TWP3 groups obviously improved to a close normal podocyte structure. ⑤ Immunohistochemical staining showed the expression of VEGF/podocin and nephrin was positive or strong positive in control, BEV-TWP2 and BEV-TWP3 groups, while weak positive or negative in BEV and BEV-TWP1 group. ⑥ Quantitative-PCR results revealed that the expression levels of VEGF/nephrin and podocin in mouse kidneys were inversely associated with 24 h proteinuria in all these 5 groups. **Conclusion** Bevacizumab is proved to reduce the expressions of VEGF, nephrin and podocin and induce renal function impairment and that functional changes in glomerular filtration barrier contribute to the occurrence of proteinuria. TWP may exert a protective effect on podocytes in mice. The mechanism may be associated with the up-regulated expressions of VEGF, nephrin and podocin. **Key words** *Tripterygium wilfordii* polyglucoside; proteinuria; VEGF; nephrin/podocin