

白藜芦醇抑制高糖诱导的肾脏系膜细胞增殖的机制研究

黄亮, 刘辉, 李建伟, 胡斌(三峡大学仁和医院, 湖北 宜昌 443001)

摘要: 目的 探讨白藜芦醇(resveratrol, RSV)对高糖诱导的大鼠肾脏系膜细胞 HBZY-1 cells(MCS)增殖的影响, 并探讨其潜在作用机制。方法 将对数生长期细胞随机分为对照组、高糖组、RSV 组。各组细胞培养 48 h 后, 利用 MTT 检测各组 HBZY-1 细胞增殖; RT-PCR 检测 Wnt、 β -catenin、Collagen-IV、TNF- α 、IL-6 和 MCP-1 基因表达; ELISA 检测 TNF- α 、IL-6 和 MCP-1 表达; Western blotting 检测 Wnt、 β -catenin 和 Collagen-IV 蛋白的变化。结果 与对照组相比, 高糖组细胞增殖率、Wnt、 β -catenin、Collagen-IV、TNF- α 、IL-6 和 MCP-1 表达水平均明显增高($P<0.05$)。与高糖组相比, RSV 组细胞增殖率、Wnt、 β -catenin、p-p65、Collagen-IV、TNF- α 、IL-6 和 MCP-1 表达水平均明显降低($P<0.05$)。结论 RSV 可通过抑制炎症而减轻高糖诱导的肾脏系膜细胞增殖, 其机制与抑制 Wnt/ β -catenin/p65 信号通路激活有关。

关键词: 白藜芦醇; HBZY-1 cells(MCS); 增殖; Wnt/ β -catenin

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2016)02-0170-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2016.02.009

Mechanism Study of Resveratrol Inhibited High Glucose-induced the Proliferation of Glomerular Mesangial Cell

HUANG Liang, LIU Hui, LI Jianwei, HU Bin(Renhe Hospital of China Three Gorges University, Yichang 443001, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To explore the effect and potential mechanism of resveratrol(RSV) on the high glucose-induced the proliferation of glomerular mesangial cell HBZY-1(MCs) cultured under high glucose conditions. **METHODS** The HBZY-1(MCs) cells at logarithmic growth phase were randomly divided into control group, high glucose group and RSV group. The proliferation of the MCS cell was measured by MTT. The mRNA level of Wnt, β -catenin, Collagen-IV, TNF- α , IL-6 and MCP-1 were measured by RT-PCR. The expression of TNF- α , IL-6 and MCP-1 were measured by ELISA. The expression of Wnt, β -catenin and Collagen-IV were measured by Western blotting. **RESULTS** Compared with the control group, the proliferation rate of HBZY-1 cells, the expression of and protein level of Wnt, β -catenin, Collagen-IV, TNF- α , IL-6 and MCP-1 were significantly increased($P<0.05$). Compared with the high glucose group, the proliferation rate of HBZY-1 cells, the expression of and protein level of Wnt, β -catenin, p-p65, Collagen-IV, TNF- α , IL-6 and MCP-1 were significantly decreased($P<0.05$). **CONCLUSION** RSV can inhibit the proliferation of HBZY-1 cell by suppressing inflammation and the mechanism may be achieved through attenuating Wnt/ β -catenin signal transduction pathway activation.

KEY WORDS: resveratrol; HBZY-1 cells(MCS); proliferation; Wnt/ β -catenin

糖尿病是以血糖异常升高为主要特征的全身代谢紊乱性疾病。随着经济的发展, 人们生活方式的改变, 糖尿病患者明显增多, 其严重的并发症已严重威胁到人类身心健康^[1-3]。其中糖尿病肾病是糖尿病最常见、最严重的微血管并发症。据报道, 糖尿病肾病诱发的肾衰竭已占到血液透析患者的 15%, 其数量呈现飞速上升的趋势^[4-5]。目前研究认为糖尿病肾病的发生与炎症反应、氧化应激、血流动力学改变等多种因素相关^[6-7]。其中炎症反应是导致肾脏系膜细胞增殖和细胞外基质沉积的重要原因之一^[8-10]。白藜芦醇(resveratrol, RSV)是一种生物活性很强的天然多酚类物质, 最

近研究发现其具有抗炎的作用^[11-14]。本实验拟研究 RSV 对高糖诱发的肾脏系膜增殖的影响及其作用机制。

1 材料与方法

1.1 细胞株

大鼠肾小球系膜细胞(HBZY-1, 美国 ATCC 细胞库), 置于含有 10%胎牛血清的 RPMI 1640 培养液中, 加入青霉素 (100 U·mL⁻¹) 和链霉素 (100 U·mL⁻¹), 在 37 °C、5% CO₂ 饱和湿度培养箱中培养。

1.2 试剂

RSV(美国 Sigma, 批号: R5010, 纯度>99.5%),

作者简介: 黄亮, 女, 讲师, 主治医师 Tel: (0717)6555530

E-mail: lemonmoonhll@sina.com

用 DMSO 溶解并使 DMSO 终浓度 $<0.01\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$; CCK-8 试剂盒(日本同仁, 批号: CK04); RPMI 1640 培养基(美国 Gibco); 小牛血清(杭州四季青); Wnt 抗体、 β -catenin 抗体、Collagen-IV 均购自美国 CST; TNF- α 、IL-6 和 MCP-1 ELISA 试剂盒(美国 Abgent, 试剂盒批号分别为 BO015V, AG0023, KT20273); β -actin 抗体(Abmart)。Wnt、 β -catenin、Collagen-IV、TNF- α 、IL-6 和 MCP-1 引物均购自美国 Invitrogen; 蛋白裂解液 RIPA(碧云天, 武汉谷歌); 蛋白酶抑制剂 cocktail 及 Western blot(武汉谷歌); BCA 蛋白定量试剂盒(碧云天, 武汉谷歌, 试剂盒批号: AR0146); ECL 试剂盒(碧云天、武汉谷歌, 批号: 3010040001); 总 RNA 提取试剂盒(Takara, 批号: R1200)。

1.3 仪器

3111 型 CO_2 细胞培养箱(美国 Forma Scientific); AE2000 型倒置显微镜和激光共聚焦显微镜均购自日本 Olympus; N1239 型酶标仪(赛默飞); 胶片及 F3-7-6-058 型化学发光仪(美国柯达); PVDF 膜(美国 Roche); PCNJ-752 型紫外分光光度计(美国 Thermo Fisher); 41030 型实时定量 PCR(美国 Bio-Rad)。

1.4 MTT 检测 HBZY-1 细胞增殖率

取对数生长期的 HBZY-1 细胞, 接种于 12 孔板内, 调整细胞密度为 $2\times 10^5\cdot\text{mL}^{-1}$, 每孔 100 μL , 待细胞贴壁。分组: 对照组(培养基浓度 $40\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)、高糖组(葡萄糖浓度 $40\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)、RSV 组(葡萄糖浓度 $40\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ + RSV 组浓度为 10, 20, 40 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$; 每组均设 3 个复孔。12 孔板置于 $37\text{ }^\circ\text{C}$ 、5% CO_2 培养箱培养 48 h 后, 加入 $5\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的 MTT 溶液每孔 20 μL , 继续培养 4 h, 然后加入三联裂解液[10% SDS+5%异丁醇+1% HCL($10\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)], 每孔 100 μL], $37\text{ }^\circ\text{C}$ 放置过夜后, 用酶标仪于 570 nm 处读取吸光度(OD)值。根据 OD 值计算细胞增殖抑制率: 细胞增殖抑制率(%)=(对照孔 OD 值-实验孔 OD 值)/(对照孔 OD 值-空白孔 OD 值) $\times 100\%$ 。

1.5 Western blotting 检测 HBZY-1 细胞 Wnt、 β -catenin、p65、p-p65 和 Collagen-IV 的表达

将各组收集的细胞按照蛋白裂解液 RIPA 操作说明书提取蛋白, BCA 法进行蛋白定量, 将各组蛋白浓度调成一致, 沸水煮 5 min, 待用。取各

组细胞总蛋白样品 50 μg , 以样品中的 β -actin 为内参, 经 SDS-PAGE 凝胶电泳, 转膜, 然后用含 5%脱脂奶粉的 PBS 封闭 2 h, 分别加入适量含 2%脱脂奶粉的 PBS 稀释抗体 Wnt(1:1 000)、 β -catenin(1:500)、p65(1:1 000)、p-p65(1:500)、Collagen-IV(1:1 000)、 β -actin(1:3 000)抗体, $4\text{ }^\circ\text{C}$ 孵育过夜。PBS 洗膜 3 次, 每次 10 min, 根据一抗的来源, 再分别加入适量含 2%脱脂奶粉的 PBS 稀释的 HRP 标记羊抗兔 IgG(1:500)、HRP 标记羊抗鼠 IgG(1:5 000)室温下作用 2 h, PBS 洗膜 3 次, 每次 10 min, ECL 化学发光显色、压片、显影、定影、胶片扫描保存。用 Ge-l Pro Analy zer (Ver.3.0)软件测定蛋白条带灰度值, Wnt、 β -catenin 和 Collagen-IV 条带灰度值与 β -actin 内参条带灰度值的比值分别表示上述蛋白表达量化。

1.6 RT-PCR 检测 Wnt、 β -catenin、Collagen-IV、TNF- α 、IL-6 和 MCP-1 mRNA 水平

按照总 RNA 提取试剂盒说明提取各组细胞总 RNA, 紫外分光光度计测量浓度, 逆转录以及扩增反应按试剂盒说明书进行, 实时定量 PCR 检测。引物均由 Invitrogen 公司合成。管家基因 β -actin 作为内参对照基因, 用得到的各样本的 Ct 值按公式 $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 计算相对表达量。引物序列参照表 1。

表 1 PCR 引物序列

Tab. 1 The primer for RT-PCR

基因	正向引物序列	逆向引物序列
TNF- α	CTGAACCTCGGGTGATCGG	GGCTTGCTACTCGAATTTTGAGA
MCP-1	AGCTTCCTTGTCAGGTGCT	GACAGCCCAGGTCAAAGGTT
IL-6	CTGAAGAGACTTCCATCCAG	AGTGTATAGACAGGTCTGTTGG
β -actin	AGAGGGAAATCGTGCGTGAC	CAATAGTGATGACCTGGCCGT

1.7 ELISA 检测 TNF- α 、IL-6 和 MCP-1 的表达

按照 ELISA 试剂盒说明书操作步骤检测血清中 TNF- α 、IL-6 和 MCP-1 表达水平

1.8 统计学处理

应用 SPSS 12.0 统计软件进行分析, 实验数据采用 $\bar{x}\pm s$ 表示, 资料采用单因素方差分析(ANOVA), 多个样本之间的两两比较采用 t 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 RSV 可明显减轻大鼠肾脏系膜细胞增殖

与对照组比较, 高糖组大鼠肾脏系膜细胞增殖率明显增高, 其细胞计数明显增高($P<0.05$); 与

高糖组比较, RSV 组肾脏系膜细胞增殖率明显下降,其细胞计数明显减少($P<0.05$)。最佳抑制系膜细胞增殖的浓度为 $40\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 结果见图 1。

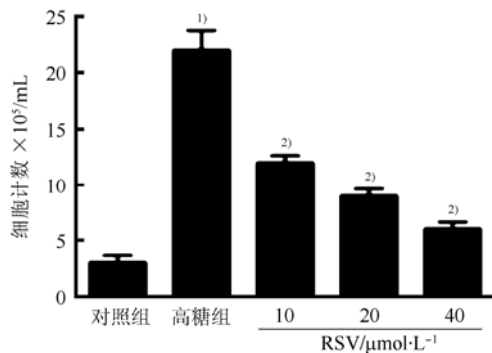


图 1 MTT 检测 RSV 对大鼠肾脏系膜细胞增殖的影响与对照组比较, ¹⁾ $P<0.05$; 与高糖组比较, ²⁾ $P<0.05$ 。
Fig. 1 The effect of RSV in the proliferation of HBZY-1 by MTT
Compared with control group, ¹⁾ $P<0.05$; compared with high glucose group, ²⁾ $P<0.05$.

2.2 RSV 可明显促进细胞凋亡/坏死

与对照组比较, 高糖组大鼠肾脏系膜细胞凋亡/坏死受阻($P<0.05$); 与高糖组比较, RSV 组肾脏系膜细胞计数明显下降, 提示凋亡/坏死明显增高($P<0.05$), 结果见图 2。

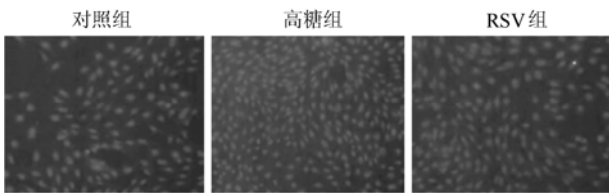


图 2 RSV 对细胞凋亡/坏死的影响
Fig. 2 The effect of RSV in the apoptosis and necrosis of HBZY-1.

2.3 RSV 可明显减轻大鼠肾脏系膜细胞 Wnt、 β -catenin 的表达

RT-PCR 和 Western blotting 检测显示, 与对照组比较, 高糖组大鼠肾脏系膜细胞在接受高糖 ($40\ \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) 刺激 48 h 后, 肾脏系膜细胞 Wnt 和 β -catenin 表达明显增加($P<0.05$); 与高糖组比较, RSV 组肾脏系膜细胞 Wnt 和 β -catenin 表达明显减少($P<0.05$)。结果见图 3 和表 2~3。

2.4 RSV 可明显减轻大鼠肾脏系膜细胞 p-p65 的表达

Western blotting 检测显示, 与对照组比较, 高糖组大鼠肾脏系膜细胞在接受高糖 ($40\ \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) 刺激 48 h 后, 肾脏系膜细胞 p-p65 表达明显增加

($P<0.05$), 而 p65 表达无明显差异。与高糖组比较, RSV 组肾脏系膜细胞 p-p65 表达明显减少($P<0.05$), 而 p65 表达依然无明显差异。结果见图 4 和表 4。

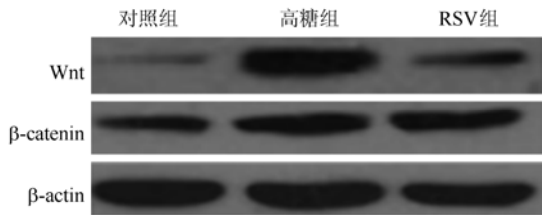


图 3 Western blotting 检测 RSV 对大鼠肾脏系膜细胞 Wnt、 β -catenin 的表达影响
Fig. 3 The effect of RSV on the expression of Wnt and β -catenin in HBZY-1 by Western blotting

表 2 RT-PCR 检测 RSV 对 Wnt 和 β -catenin mRNA 表达水平的影响

Tab. 2 The effect of RSV on the mRNA level of Wnt and β -catenin by RT-PCR

组 别	Wnt(mRNA)	β -catenin(mRNA)
对照组	1 $\pm$ 0.1	1 $\pm$ 0.05
高糖组	5 $\pm$ 0.35 ¹⁾	6.25 $\pm$ 0.42 ¹⁾
RSV 组	2.75 $\pm$ 0.25 ²⁾	3.15 $\pm$ 0.27 ²⁾

注: 与对照组比较, ¹⁾ $P<0.05$; 与高糖组比较, ²⁾ $P<0.05$ 。
Note: Compared with control group, ¹⁾ $P<0.05$; compared with high glucose group, ²⁾ $P<0.05$.

表 3 Western blotting 检测 RSV 对 Wnt 和 β -catenin 蛋白水平的影响

Tab. 3 The effect of RSV on the protein level of Wnt and β -catenin by Western blotting

组 别	Wnt/ β -actin	β -catenin/ β -actin
对照组	0.25 $\pm$ 0.07	0.28 $\pm$ 0.05
高糖组	1.15 $\pm$ 0.12 ¹⁾	0.65 $\pm$ 0.07 ¹⁾
RSV 组	0.35 $\pm$ 0.05 ²⁾	0.45 $\pm$ 0.06 ²⁾

注: 与对照组比较, ¹⁾ $P<0.05$; 与高糖组比较, ²⁾ $P<0.05$ 。
Note: Compared with control group, ¹⁾ $P<0.05$; compared with high glucose group, ²⁾ $P<0.05$.

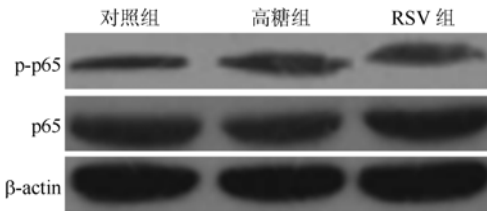


图 4 Western blotting 检测 RSV 对大鼠肾脏系膜细胞的 p65 和 p-p65 表达影响
Fig. 4 The effect of RSV on the expression of p65 and p-p65 in HBZY-1 by Western blotting

表 4 Western blotting 检测 RSV 对 p65 和 p-p65 蛋白水平的影响

Tab. 4 The effect of RSV on the protein level of p65 and p-p65 by Western blotting

组 别	p-p65/ β -actin	p65/ β -actin
对照组	0.15 $\pm$ 0.02	0.75 $\pm$ 0.07
高糖组	0.27 $\pm$ 0.03 ¹⁾	0.71 $\pm$ 0.04
RSV	0.34 $\pm$ 0.02 ²⁾	0.82 $\pm$ 0.07

注：与对照组比较，¹⁾ $P<0.05$ ；与高糖组比较，²⁾ $P<0.05$ 。
Note: Compared with control group, ¹⁾ $P<0.05$; compared with high glucose group, ²⁾ $P<0.05$.

2.5 RSV 可明显减轻大鼠肾脏系膜细胞 TNF- α 、IL-6 和 MCP-1 的表达和分泌

与对照组比较，高糖组大鼠肾脏系膜细胞在接受高糖(40 mmol·L⁻¹)刺激 48 h 后，大鼠肾脏系膜细胞 TNF- α 、IL-6 和 MCP-1 表达和分泌明显增加($P<0.05$)；RSV 组与高糖组比较，大鼠肾脏系膜细胞 TNF- α 、IL-6 和 MCP-1 表达和分泌明显减少($P<0.05$)，结果见图 5。

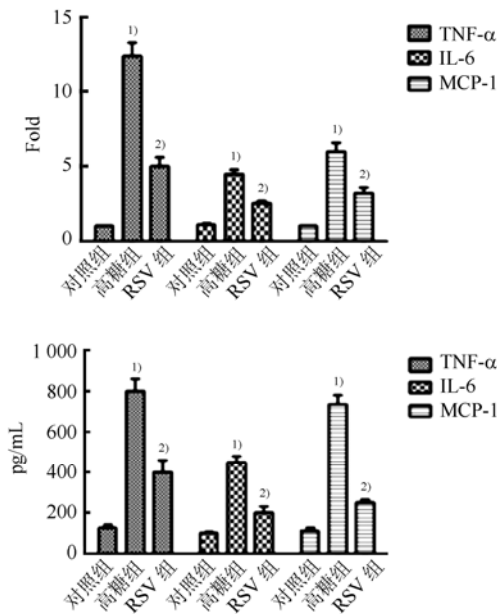


图 5 RT-PCR 和 ELISA 检测 RSV 对大鼠肾脏系膜细胞 TNF- α 、IL-6 和 MCP-1 表达和分泌的影响
与对照组比较，¹⁾ $P<0.05$ ；与高糖组比较，²⁾ $P<0.05$ 。

Fig. 5 The effect of RSV on the expression of TNF- α , IL-6 and MCP-1 in HBZY-1 by RT-PCR and ELISA
Compared with control group, ¹⁾ $P<0.05$; compared with high glucose group, ²⁾ $P<0.05$.

2.6 RSV 可明显减轻大鼠肾脏系膜细胞基质聚积
肾脏系膜细胞基质聚积是系膜细胞增殖的结果，是诱发糖尿病肾病的重要原因之一，Collagen-IV 是基质聚积典型代表。与对照组比较，高糖组

大鼠肾脏系膜细胞在接受高糖(40 mmol·L⁻¹)刺激 48 h 后，大鼠肾脏系膜细胞 Collagen-IV 表达明显增加($P<0.05$)。与高糖组比较，RSV 组肾脏系膜细胞 Collagen-IV 表达明显下降($P<0.05$)。结果见图 6 和表 5。

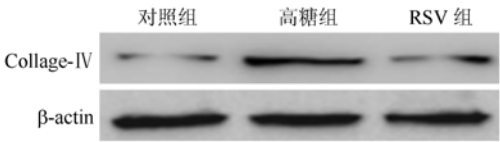


图 6 Western blotting 检测 RSV 对大鼠肾脏系膜细胞 Collagen-IV 的表达影响

Fig. 6 The effect of RSV on the expression of Collagen-IV in HBZY-1 by Western blotting

表 5 RT-PCR 检测 RSV 对 Collagen-IV mRNA 和 Collagen-IV 蛋白表达水平的影响

Tab. 5 The effect of RSV on the mRNA level and protein level of Collagen-IV by RT-PCR

组 别	Collagen-IV (mRNA)	Collagen-IV/ β -actin
对照组	1.00 $\pm$ 0.10	0.18 $\pm$ 0.04
高糖组	4.75 $\pm$ 0.45 ¹⁾	0.45 $\pm$ 0.06 ¹⁾
RSV 组	2.35 $\pm$ 0.25 ²⁾	0.23 $\pm$ 0.05 ²⁾

注：与对照组比较，¹⁾ $P<0.05$ ；与高糖组比较，²⁾ $P<0.05$ 。
Note: Compared with control group, ¹⁾ $P<0.05$; compared with high glucose group, ²⁾ $P<0.05$.

3 讨论

糖尿病肾病是糖尿病最严重、最常见的微血管并发症，是糖尿病脑、心、肾三大并发症之一，是导致慢性肾功能衰竭的重要原因，其已占据慢性肾衰竭透析患者>15%，且还有增加的趋势，这不但给患者带来极大的痛苦和不便，还给家庭和社会带来了极大的负担^[2-5]。研究发现糖尿病肾病的主要形态学改变为肾脏细胞外基质大量沉积，诱发肾脏发生不可逆性肾纤维化。目前研究发现多种机制参与了高糖诱导的糖尿病肾病的发生、发展，与氧化应激、血流动力学异常和细胞因子异常表达相关，最近研究发现炎症因子与氧化应激、免疫反应相互作用可影响肾脏血流动力学，造成细胞外基质沉积，继而导致系膜细胞增生肥大而诱发肾脏病理改变，导致糖尿病肾病发生^[8-10]。核因子(NF- κ B)是参与氧化应激和炎症反应的关键因子之一，与血管内皮细胞损伤、组织细胞凋亡等糖尿病血管并发症的多种病理生理过程相关，其活性取决于亚基 p65 的激活，因此抑制炎症反应表达是减轻细胞外基质沉积，进而减轻纤

维化乃至糖尿病肾病肾脏损害的有效途径。RSV是存在于花生、浆果、葡萄等多种植物中的天然多酚类物质,迄今研究发现其具有抗肿瘤、抗氧化应激、抗血小板、抗诱变和心脏保护作用^[11-13]。最近研究发现 RSV 具有改善胰岛素抵抗,降低血糖,抑制炎症反应的作用^[11-13]。而炎症反应是诱发糖尿病肾病的重要原因^[13-14]。实验结果显示高糖可导致大鼠肾脏系膜细胞增殖, Collagen-IV 表达增加, p65 通过磷酸化激活增加,以及促炎症细胞因子 TNF- α 、IL-6 和 MCP-1 的表达和分泌明显增加,这提示高糖可通过激活 NF- κ B 信号通路而诱发炎症反应,导致细胞外基质沉积和肾脏系膜细胞增殖明显增加,诱发糖尿病肾病,这与既往研究结论一致:高糖诱发的炎症反应是导致系膜细胞增殖的重要原因^[8-10]。RSV 可明显减少大鼠肾脏系膜细胞增殖、Collagen-IV 表达、p65 的磷酸化以及促炎症细胞因子 TNF- α 、IL-6 和 MCP-1 的表达和分泌。这显示 RSV 可通过抑制 NF- κ B 激活介导的炎症反应而减轻细胞外基质的沉积和肾脏系膜细胞增殖,从而减轻肾脏纤维化的发生,进而削弱糖尿病肾病诱发的肾脏损害。但其抑制炎症的具体机制不明。

Wnt/ β -catenin 信号通路是生物进化中极为保守的信号通路,可调节细胞的增殖、分化、成熟^[15-16]。Wnt 活化是调节 β -catenin 激活的关键信号分子,最近研究发现 Wnt/ β -catenin 信号通路可调节 p65 激活介导的炎症反应^[15-16]。

实验结果显示,高糖可诱导 Wnt 和 β -catenin 表达明显增加,这提示高糖可刺激 Wnt/ β -catenin 信号通路明显激活。RSV 可明显减少 Wnt 和 β -catenin 表达,这提示 RSV 可明显抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路激活。

综上所述,RSV 可以通过抑制 Wnt/ β -catenin/NF- κ B 信号通路激活而介导的炎症,进而减少细胞外基质沉积和系膜细胞增殖,从而减少高糖导致的糖尿病肾脏损害。然而 RSV 是直接作用于 Wnt 信号分子还是通过影响其上游激酶和(或)信号分子而间接发挥作用目前仍不清楚,除 Wnt/ β -catenin 信号通路外,是否还有其他信号通路参与其中,尚需进行更深入的研究。

REFERENCES

- [1] TWEDT R, BRADLEY M, DEISEROTH D, et al. Sleep duration and blood glucose control in women with gestational diabetes mellitus [J]. *Obstet Gynecol*, 2015, 126(2): 326-331.
- [2] ZHANG S Q, HE F, CHEN H J. Systematic review of the therapeutic efficacy of Kudiezi injection on the adjunctive treatment of diabetic nephropathy [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*(中国现代应用药理学), 2015, 6(32): 750-754.
- [3] KAMPMANN U, MADSEN L R, SKAJAA G O. Gestational diabetes: A clinical update [J]. *World J Diabetes*. 2015, 6(8): 1065-1072.
- [4] EBOH C, CHOWDHURY T A. Management of diabetic renal disease [J]. *Ann Transl Med*, 2015, 3(11): 154-158.
- [5] LASH L. Mitochondrial glutathione in diabetic nephropathy [J]. *J Clin Med*, 2015, 4(7): 1428-1447.
- [6] ZOJA C, ZANCHI C, BENIGNI A. Key pathways in renal disease progression of experimental diabetes [J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2015, 30(Suppl 4): iv54-iv59.
- [7] SLYNE J, SLATTERY C, MCMORROW T, et al. New developments concerning the proximal tubule in diabetic nephropathy: *in vitro* models and mechanisms [J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2015, 30(Suppl 4): iv60-iv67.
- [8] PAN X, WANG J, PU Y, et al. Effect of puerarin on expression of ICAM-1 and TNF- α in kidneys of diabetic rats [J]. *Med Sci Monit*, 2015, 23(21): 2134-2140.
- [9] DURAN-SALGADO M B, RUBIO-GUERRA A F. Diabetic nephropathy and inflammation [J]. *World J Diabetes*, 2014, 5(3): 393-398.
- [10] WADA J, MAKINO H. Inflammation and the pathogenesis of diabetic nephropathy [J]. *Clin Sci (Lond)*, 2013, 124(3): 139-152.
- [11] HAO X D, CHANG J, QIN B Y. Synthesis, estrogenic activity, and anti-osteoporosis effects in ovariectomized rats of resveratrol oligomer derivatives [J]. *Eur J Med Chem*, 2015(102): 26-38.
- [12] NEVES A R, NUNES C, REIS S. New Insights on the biophysical interaction of resveratrol with biomembrane models: Relevance for its biological effects [J]. *J Phys Chem B*, 2015, 119(35): 11664-11672.
- [13] JEONG J H, LEE Y R, PARK H G, et al. The effects of either resveratrol or exercise on macrophage infiltration and switching from M1 to M2 in high fat diet mice [J]. *J Exerc Nutrition Biochem*, 2015, 19(2): 65-72.
- [14] ZHANG Q, YUAN L, ZHANG Q, et al. Resveratrol attenuates hypoxia-induced neurotoxicity through inhibiting microglial activation [J]. *Int Immunopharmacol*, 2015, 28(1): 578-587.
- [15] YIN X, WANG X, HU X, et al. ER β Induces the differentiation of cultured Osteoblasts by both Wnt/ β -catenin signaling pathway and estrogen signaling pathways [J]. *Exp Cell Res*, 2015, 335(1): 107-114.
- [16] AMADO N G, FONSECA B F, CERQUEIRA D M, et al. Effects of natural compounds on *Xenopus* embryogenesis: a potential read out for functional drug discovery targeting Wnt/ β -catenin signaling [J]. *Curr Top Med Chem*, 2012, 12(19): 2103-2113.

收稿日期: 2015-08-06