

# Inhibitory Effect of Mongolian Medicine Yihe Decoction on Inflammatory Reaction and Fibrosis of Human Peritoneal Mesothelial Cells Induced by High Glucose *in Vitro*

Bagen

Xilingol Mongolian Medical Hospital, Xilingol Inner Mongolia  
Email: 1144255900@qq.com

Received: May 11<sup>st</sup>, 2019; accepted: May 24<sup>th</sup>, 2019; published: May 31<sup>st</sup>, 2019

## Abstract

**Objective:** To observe the effect of Mongolian medicine Yihe Decoction on inflammation and fibrosis of HMrSV5 cells stimulated by high glucose *in vitro*. **Methods:** The levels of inflammatory cytokines IL-6 (interleukin 6), MCP-1 (monocyte chemoattractant protein 1), TGF-beta (transforming growth factor- $\beta$ ), IL-8 (interleukin 8), IL-17 (interleukin 17) and TNF-alpha (tumor necrosis factor  $\alpha$ ) in HMrSV5 cell culture system before and after treatment with Yihe Decoction were detected by ELISA, and the expression of intracellular fibrosis-related VEGF (vascular endothelial growth factor), fibronectin, collagen IV were detected by Western blotting. **Results:** The contents of IL-6, MCP-1, TGF-beta, IL-8, IL-17 and TNF-alpha in cell culture medium of Yihe decoction treatment group were significantly lower than those of high sugar treatment group. The expression of fibronectin and collagen IV in HMrSV5 cells increased after high glucose treatment, and the expression of fibronectin and collagen IV in HMrSV5 cells decreased significantly after treatment with Yihe decoction. **Conclusion:** Yihe decoction can inhibit the release of inflammatory factors caused by high glucose treatment of HMrSV5 cells, and significantly inhibit the expression of fibrosis-related protein in HMrSV5 cells. It can inhibit the inflammatory reaction of peritoneal cells and anti-fibrosis effect.

## Keywords

Yihe Decoction, Peritoneal Fibrosis, Mongolian Medicine

# 蒙药伊赫汤抑制高糖引起的人腹膜间皮细胞炎症反应和纤维化的体外实验研究

巴根

锡林郭勒盟蒙医医院, 内蒙古 锡林郭勒盟

## 摘要

目的: 观察蒙药伊赫汤在体外细胞水平对高糖刺激引起的HMrSV5细胞炎症反应和纤维化的影响。方法: 通过ELISA检测伊赫汤处理前后HMrSV5细胞培养体系中炎症相关细胞因子白介素6 (interleukin 6, IL-6)、单核细胞趋化因子1 (monocyte chemoattractant protein 1, MCP-1)、转化生长因子 $\beta$  (transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ )、白介素8 (interleukin 8, IL-8)、白介素17 (interleukin 17, IL-17)和肿瘤坏死因子 $\alpha$  (tumor necrosis factor  $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )含量变化, 通过Western blotting检测细胞内纤维化相关蛋白血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、纤粘蛋白(fibronectin)和IV型胶原(collagen IV)表达量变化。结果: 伊赫汤处理组细胞培养基中IL-6、MCP-1、TGF- $\beta$ 、IL-8、IL-17和TNF- $\alpha$ 等炎症相关蛋白含量相较于高糖处理组显著降低。HMrSV5细胞经高糖处理后, 纤维化相关蛋白fibronectin和collagen IV等在细胞内表达量增加, 伊赫汤处理可以显著降低细胞内纤维化相关蛋白fibronectin和collagen IV的表达。结论: 伊赫汤可以抑制由高糖处理HMrSV5细胞导致的炎症因子的释放, 同时可以显著抑制HMrSV5细胞内纤维化相关蛋白表达, 具有抑制腹膜细胞炎症反应和抗纤维化改变作用。

## 关键词

伊赫汤, 腹膜纤维化, 蒙医药

Copyright © 2019 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

蒙医学的三根学说是蒙医学理论的核心, 贯穿于蒙医理论体系的各个方面, 指导着临床诊疗实践工作。蒙医学认为人体之所以能维持正常的生理活动, 主要在于体内具有三种能量和基本物质, 即赫依、希拉和巴达干三大基本要素。因为这三大基本要素是人体生命活动的本源和基础, 故将其称为“三根”。在正常情况下, 三根之间相互依存、相互制约, 处于动态平衡的状态中。三根一方过多或偏胜, 就会导致相应的病理改变, 进而引发疾病[1]。

伊赫汤又名调元大补二十五味汤散, 是蒙医传统验方, 由红花、诃子、梔子、土木香、胡黄连、石榴、酸梨干、贯众、野菊花、芫荽果、猪血粉、蓝盆花等二十五味蒙药构成, 主治收敛, 解毒, 调节寒热。用于“宝日”扩散, “赫依”、“协日”、“巴达干”失调, 久病不愈, 身倦体息, 口干, 食欲不振, 胃脘疼痛等证[2]。该药是我科临床常用药物, 对于改善长期腹膜透析患者腹膜纤维化、恢复和保护肾脏功能有明显的临床疗效, 但具体抗腹膜纤维化、保护肾脏功能的机制尚未见文献报道。本研究采用人腹膜间皮细胞系 HMrSV5 高糖造模, 观察伊赫汤在体外细胞水平对 HMrSV5 细胞炎症相关蛋白表达量的影响, 从而探寻伊赫汤抗腹膜纤维化、保护肾脏功能的分子机制。

## 2. 方法

### 2.1. 细胞培养

人腹膜间皮细胞 HMrSV5 购于上海弘顺生物技术有限公司。HMrSV5 细胞培养于含 10%胎牛血清

(FBS; Hyclone, Logan, USA)、100 U/mL 青霉素和 100 U/mL 链霉素的 DMEM 培养基(Gibco, NY, USA)中。培养条件为 37℃、5% CO<sub>2</sub>。高糖(培养基中葡萄糖浓度为 75 和 125 mmol/L)处理用来作为阳性对照组。伊赫汤由锡盟蒙医医院制剂室提供。细胞实验时取 3 g 溶于 50 mL 超纯水中, 室温超声 30 min, 离心取上清液过 0.2 μm 滤膜, 96 孔板中每孔加入滤液 40 μL。

## 2.2. Western Blotting 检测

HMrSV5 经胰酶消化收集后, 加入适量 RIPA 裂解液, 4℃下 3000 r/min 离心, 取上清液置于-20℃冰箱中 BCA 蛋白定量试剂盒测定各组蛋白浓度。

## 2.3. ELISA 检测

收集细胞培养液上清, 按 ELISA 试剂盒说明书方法操作。

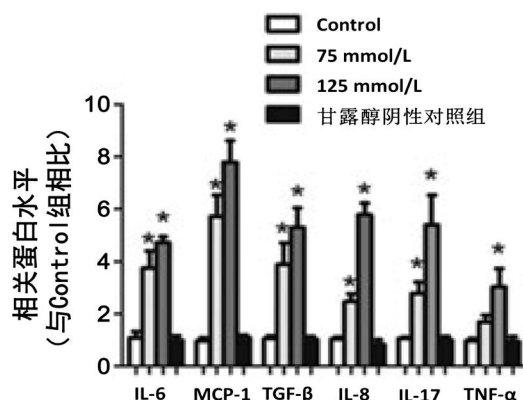
## 2.4. 统计学处理

采用 SPSS 19.0 统计学软件进行数据分析, 以 P < 0.05 作为有统计学差异阈值。

## 3. 结果

### 3.1. 高糖处理可以引发 HMrSV5 细胞炎症相关因子释放

HMrSV5 细胞在高糖处理后, 细胞培养基中白介素 6 (interleukin 6, IL-6)、单核细胞趋化因子 1 (monocyte chemoattractant protein 1, MCP-1)、转化生长因子 β (transforming growth factor-β, TGF-β)、白介素 8 (interleukin 8, IL-8)、白介素 17 (interleukin 8, IL-17)和肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor α, TNF-α)等炎症相关蛋白含量显著增加(图 1)。



**Figure 1.** Changes of inflammatory factor content in HMrSV5 cell medium after high glucose treatment  
**图 1.** 高糖处理 HMrSV5 细胞后培养基中炎症因子含量变化图

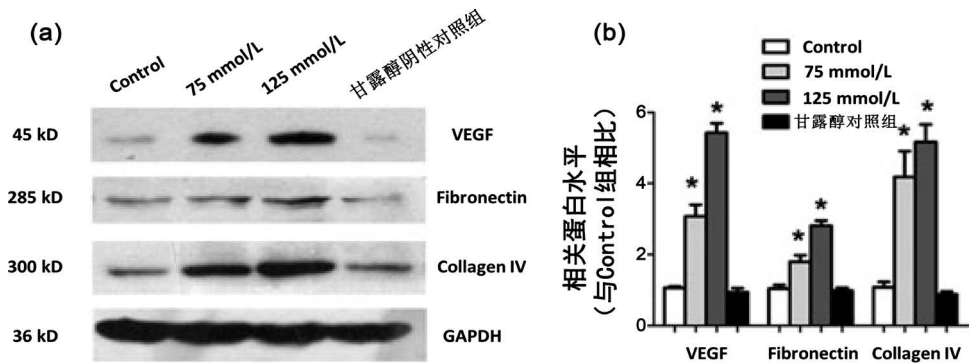
### 3.2. 高糖处理可以促进 HMrSV5 细胞纤维化相关蛋白表达

HMrSV5 细胞经高糖处理后, 纤维化相关蛋白血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、纤粘蛋白(fibronectin)和 IV 型胶原(collagen IV)等在细胞内表达量增加(图 2)。

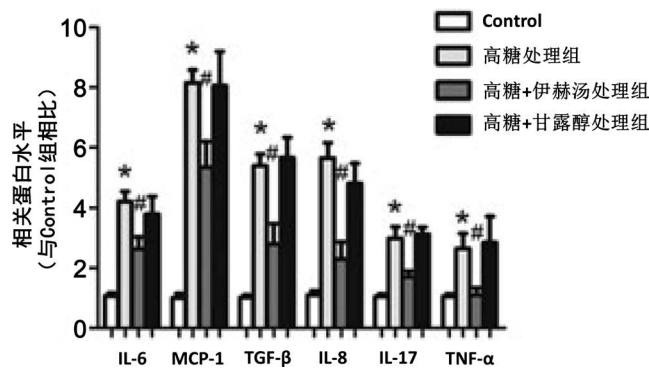
### 3.3. 伊赫汤可以抑制高糖处理可以引发的 HMrSV5 细胞炎症相关因子释放

伊赫汤可以抑制由高糖处理 HMrSV5 细胞导致的炎症因子的释放。伊赫汤处理组细胞培养基中白介素 6 (interleukin 6, IL-6)、单核细胞趋化因子 1 (monocyte chemoattractant protein 1, MCP-1)、转化生长因子

$\beta$  (transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ )、白介素 8 (interleukin 8, IL-8)、白介素 17 (interleukin 8, IL-17)和肿瘤坏死因子  $\alpha$  (tumor necrosis factor  $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )等炎症相关蛋白含量相较于高糖处理组显著降低(图 3)。



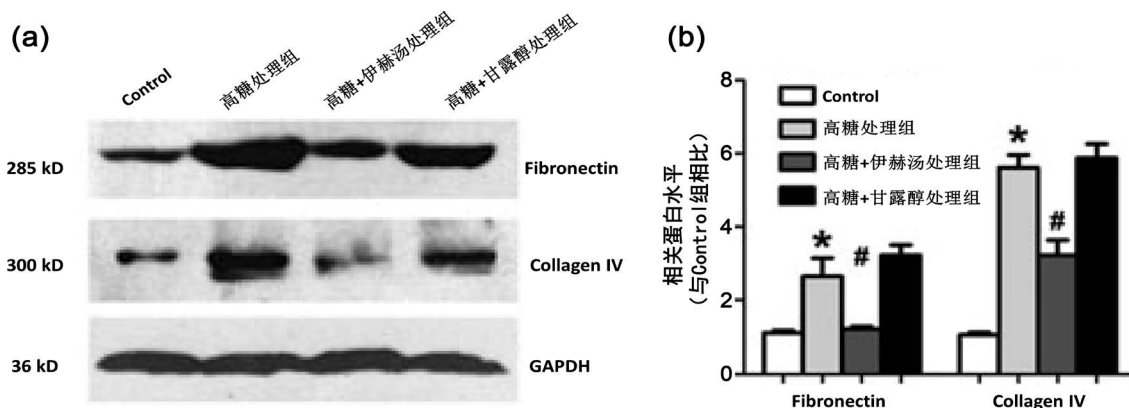
**Figure 2.** Changes of intracellular fibrosis-related protein expression in HMRSV5 cells treated with high glucose  
**图 2.** 高糖处理 HMrSV5 细胞后细胞内纤维化相关蛋白表达量变化图



**Figure 3.** Changes of inflammatory factor content in HMRSV5 cell medium treated with Yihe decoction  
**图 3.** 伊赫汤处理 HMrSV5 细胞后培养基中炎症因子含量变化图

### 3.4. 伊赫汤可以抑制 HMrSV5 细胞纤维化相关蛋白表达

HMrSV5 细胞经高糖处理后, 纤维化相关蛋白纤粘蛋白(fibronectin)和 IV 型胶原(collagen IV)等在细胞内表达量增加, 伊赫汤可以显著抑制 HMrSV5 细胞内纤维化相关蛋白表达(图 4)。



**Figure 4.** Changes of intracellular fibrosis-related protein expression in HMRSV5 cells treated with Yihe decoction  
**图 4.** 伊赫汤处理 HMrSV5 细胞后细胞内纤维化相关蛋白表达量变化图

## 4. 讨论

慢性肾功能衰竭是多种因素导致的一种缓慢进行性的肾脏功能损害,而且疾病发展最终会导致肾功能完全丧失,引发尿毒症等一系列严重的临床综合征[3]。临床治疗该疾病主要采取血液透析、腹膜透析和肾脏移植等方法,其中肾脏移植是现行最有效的治疗方法,但由于肾脏供体相对缺乏、配型较为困难,患者寻找和等待肾源时间很长,所以,目前临床治疗主要采取腹膜透析和血液透析这两种治疗方法治疗晚期肾功能不全和肾功能衰竭。其中腹膜透析是以自身腹膜作为半透膜进行物质透析的一种方法,具有可居家治疗、更好保护残余肾功能、对血流动力学影响小等优点,已成为晚期肾功能不全和肾功能衰竭患者的首选治疗方法之一[4]。腹膜结构和功能的变化是影响腹膜透析治疗的关键,长期进行腹膜透析患者普遍存在腹膜纤维化改变,腹膜纤维化引起的超滤衰竭会导致腹膜原有半透能力消失,使腹膜透析不可维持[5]。目前,腹膜纤维化的发病机制尚不完全清楚,研究表明,腹膜纤维化与局部炎症反应和 VEGF 高表达呈正相关性[6]。

伊赫汤又名调元大补二十五味汤散,是蒙医传统验方,用于“宝日”扩散,“赫依”、“协日”、“巴达干”失调,久病不愈,身倦体怠,口干,食欲不振,胃脘疼痛等证。临床上还常有依赫汤用于免疫性疾病和过敏性症状的治疗,表明依赫汤具有抗炎抗过敏的作用[7]。我科在临床工作中通过对患者进行辩证后采用依赫汤辅助治疗晚期肾功能不全和肾功能衰竭患者,发现依赫汤辅助治疗有利于改善长期腹膜透析患者腹膜纤维化、恢复和保护肾功能。为阐明依赫汤抗炎和抗腹膜纤维化的作用机制,我们采用了 Western blotting 和 ELISA 方法检测了高糖造模后人腹膜间皮细胞系 HMrSV5 培养体系中炎症反应相关细胞因子和细胞内纤维化相关蛋白含量表达量变化,发现,依赫汤确实可以有效降低高糖刺激导致的 HMrSV5 细胞炎症相关细胞因子的释放,表明依赫汤确实可以有效抑制腹膜细胞的炎症反应。同时,依赫汤还可以有效抑制 HMrSV5 细胞纤维化相关蛋白的表达,表明依赫汤也可以有效抑制高糖刺激导致的 HMrSV5 细胞的纤维化改变。

## 5. 结论

依赫汤确实可以有效降低高糖刺激导致的 HMrSV5 细胞炎症相关细胞因子的释放,抑制 HMrSV5 细胞纤维化相关蛋白的表达,表明依赫汤确实可以有效抑制腹膜细胞的炎症反应和纤维化改变。

## 基金项目

内蒙古自治区科技计划项目。

## 参考文献

- [1] 崔东祥,阿迪雅. 浅谈三根学说在蒙医学中的重要意义[J]. 中国民族医药杂志, 1995, 1(2): 6.
- [2] 莎日娜,何春龙,王焕芸. 高效液相色谱法测定伊赫汤中羟基红花黄色素 A 的含量[J]. 药学实践杂志, 2013, 31(2): 140-142.
- [3] 刘付敬樟,江康伟,文丽斯,等. 腹膜透析治疗慢性肾功能衰竭患者的疗效及其对血清 BUN、SCr、细胞因子水平的影响[J]. 疑难病杂志, 2017, 16(12): 1240-1243.
- [4] 冷宁. 腹膜透析治疗慢性肾功能衰竭患者的临床效果及其对肾功能指标的作用分析[J]. 中国实用医药, 2019, 14(10): 49-50.
- [5] Devuyst, O., Margetts, P.J., Tpley, N., et al. (2010) The Pathophysiology of the Peritoneal Membrane. *Journal of the American Society of Nephrology*, **21**, 1077-1085. <https://doi.org/10.1681/ASN.2009070694>
- [6] Shang, J., He, Q.X., Chen, Y., et al. (2018) miR-15a-5p Suppresses Inflammation and Fibrosis of Peritoneal Mesothelial Cells Induced by Peritoneal Dialysis via Targeting VEGFA. *Journal of Cellular Physiology*, **234**, 9746-9755. <https://doi.org/10.1002/jcp.27660>
- [7] 苏荣高娃. 蒙药伊赫汤治疗药物过敏经验[J]. 中国民族民间医药, 2013, 22(8): 2.

**知网检索的两种方式：**

1. 打开知网页面 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>  
下拉列表框选择：[ISSN]，输入期刊 ISSN：2166-6067，即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>  
左侧“国际文献总库”进入，输入文章标题，即可查询

投稿请点击：<http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱：[tcm@hanspub.org](mailto:tcm@hanspub.org)