

柴胡皂苷-d 防治大鼠肾小球硬化的实验研究

Experimental Investigation of Suppressive Effect of Saikosaponin-d on the Progression of Glomerulosclerosis

李 平/LI Ping¹, 巩跃文/GONG Yue-wen², 赵世萍/ZHAO Shi-ping¹, 李克明/LI Ke-ming¹,
陈玉武/CHEN Yu-wu¹, 付桂香/FU Gui-xiang¹, 郭景珍/GUO Jing-zhen¹, 李 忻/LI Xin¹,
张 韞/ZHANG Wen¹

1. 中日友好医院, 北京 100029

2. 加拿大马尼托巴大学药学院, 温尼伯格 R3H0Y6

1. China-Japan Friendship Hospital, Beijing 100029, China

2. Faculty of Pharmacy, University of Manitoba, Winnipeg R3H0Y6, Canada

[摘要] 目的: 观察柴胡皂苷-d 对一侧肾切除加单克隆抗体 1-22-3 注射造成进行性大鼠肾小球硬化的防治作用。方法: 18 只大鼠一侧肾切除 1 d 后, 尾静脉注射单克隆抗体 1-22-3 造成大鼠进行性肾小球硬化。随机分为 3 组, 每组 6 只。第一组给生理盐水作对照, 另外两组分别腹腔注射柴胡皂苷-d 1.8 mg 和 0.6 mg/kg 体重/d。在代谢笼内取大鼠造模后第 1、4、8、14 和 21 d 尿液, 并动态观察造模后第 1、5、10、14 和 18 d 收缩压变化。21 d 后处死全部大鼠, 进行血生化和肾组织光学显微镜检查, 并利用 RT-PCR 和免疫荧光的方法分析了药物对炎症硬化因子 TGF- β I 型胶原、 α -平滑肌肌动蛋白(α -SMA)和炎症细胞在肾小球和肾小管间质表达与分布的影响。结果: 柴胡皂苷-d 在减轻肾小球病理损害的同时, 抑制了 TGF- β 在肾小球内的表达和 α -SMA 沿鲍曼氏囊的分布。柴胡皂苷-d 治疗组 CD8⁺T 细胞和巨噬细胞在肾小球周围和肾小管间质的浸润也明显减轻。结论: 柴胡皂苷-d 能够有效地防治大鼠肾小球硬化, 可能与抑制了 TGF- β 在肾小球内的表达和炎症细胞在肾小球和肾小管间质浸润有关。

[关键词] 柴胡皂苷-d; 肾小球硬化; 单克隆抗体 1-22-3

[中图分类号] R243, R285.6

[文献标识码] A

[文章编号] 1000-7857(2006)10-0037-05

Abstract: Objective: The preventive effects of Saikosaponin-d (Ssd) on the progression of mesangioproliferation and glomerulosclerosis, induced by intravenous injection of anti-Thy1 monoclonal antibody (mAb) 1-22-3 into uninephrectomized rats, were evaluated. Methods: Eighteen rats were divided into three groups of six. One group was treated with phosphate buffered saline (PBS) as a control. The other two groups were treated with Ssd 1.8 mg/kg body weight (BW)/day or 0.6mg/kg BW/day respectively. Urine samples were collected from the rats in metabolic cages on days 1, 4, 8, 14 and 21 after the injection of mAb 1-22-3. Systolic BP (SBP) was tested on days 1, 5, 10, 14 and 18 after the injection. All rats were sacrificed 21 days after the injection of mAb 1-22-3 for blood biochemistry, and immunofluorescent and light microscopy of the kidneys. Results: Ssd suppressed proteinuria, extracellular matrix expansion, crescentic formation as well as inflammatory cell infiltration. Especially, Ssd was shown to have highly significant suppressive effect on CD8⁺T cells infiltration into the periglomerular and tubulointerstitial areas and on expression of TGF- α type I collagen in the kidneys and α -SMA along Bowman's capsule. Conclusions: Our study indicates that Ssd could prevent initiation and progression of mesangioproliferative glomerulonephritis in rats through inhibition of CD8⁺ T cell infiltration, macrophage accumulation and activation, and expression of TGF- and type I collagen in the kidneys.

Key Words: saikosaponin-d; glomerulosclerosis; mAb 1-22-3

CLC Numbers: R243, R285.6

Document Code: A

Article ID: 1000-7857(2006)10-0037-05

据文献记载, 中药柴芩汤源于古代危亦林的《世医得效方》。近年来, 人们注意到, 此方具有明显的利水渗湿作用, 多用于治疗泌尿系统和消化系统疾病。在日本关于柴芩汤治疗肾小球疾病实验的研究比较多见。我们针对柴芩汤中的有效成分进行了系列研

究, 发现柴芩汤可以防治肾小球硬化^[1], 其中主要活性成分是柴胡皂苷-d(SS-d)^[2]。SS-d 为五环三萜齐墩果烷型皂苷。本实验室已从传统中药北柴胡中提取出柴胡总皂苷, 经硅胶柱层析、Rp-8 反相柱层析分离纯化, 制备了 SS-d 纯品, 其纯度可达 92%。近十几年

收稿日期: 2006-08-29

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30271520, 90209035)

作者简介: 李 平, 女, 北京樱花北路中日友好医院临床医学研究所, 研究员, 主要研究方向为中西医结合肾脏病基础与临床;

E-mail: llucky@public3.bta.net.cn

来,有人做了一些关于 SS-d 抗炎和免疫调节方面的研究^[3-4],但是,关于 SS-d 治疗肾脏病及机理探讨的报道却很少。为了进一步观察 SS-d 防治大鼠肾小球硬化的作用并探讨相关的机理,我们进行了以下的实验研究。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物

雌性 Wistar 大鼠 18 只,6 周龄,体重 140~160 g,购于维通利华实验动物公司。

1.1.2 实验用药

柴胡皂苷-d 由中日友好医院药物物理室从北柴胡中提取,为白色粉末,能部分溶于生理盐水中;腹腔注射给药。高效液相色谱法分析其纯度大于 90%。

1.1.3 实验试剂

1) 1-22-3 抗体:日本新泻大学医学部肾脏病研究所免疫病态学研究室清水不二雄教授赠送。其制备方法可参照 Kawachi 等的报道^[5]。

2) 免疫荧光所用一抗:

① 抗巨噬细胞的单克隆抗体 (mAb ED1), Chemicon International Inc, Temecula, CA, USA;

② 抗胸腺组织中细胞毒/T 抑制淋巴细胞的单克隆抗体 (mAb CD8), PHLS Center for Applied Microbiology and research, Wiltshire, UK;

③ 抗平滑肌肌动蛋白单克隆抗体 (mAb α -SMA), Sigma Chemical Company, St. Louis, MO, USA;

④ 多克隆兔抗转化生长因子- β TGF- β 抗体 Chemicon;

⑤ 兔抗胶原 I 抗体 Chemicon。

3) 免疫荧光所用二抗:

① FITC 标记羊抗小鼠 IgG1 和 IgG2a, Southern Biotechnology Associates, Inc, Birmingham, AL, USA;

② FITC 标记猪抗兔 IgG DAKO-Patts. Glostrup, Denmark。

4) dATP、dCTP、dGTP、dTTP、寡(dT)12-18、反转录酶 GIBCO BRL, Gaithersburg, MD, USA。

1.2 方法

1.2.1 给药及取材方式

18 只大鼠分为 3 组,每组 6 只。组 1 给磷酸盐缓冲液 (PBS) 作对照;组 2 给柴胡皂苷-d 1.8 mg/kg 体重/d;组 3 给柴胡皂苷-d 0.6 mg/kg 体重/d。全部大鼠于左肾切除 1 d 后,尾静脉注射 500 μ g 单克隆抗体 1-22-3。每组大鼠在抗体注射前 5 d,开始给生理盐水或柴胡皂苷-d,抗体注射后连续给药 21 d。21 d 后处死全部大鼠,心脏取血做生化检查,取肾组织做免疫荧光和光学显微镜检查。

1.2.2 尿蛋白检测

于造模后第 1、4、8、14、21 d,将大鼠放入代谢笼内,禁食,可自由饮水,收集大鼠 24 h 尿液。分别取 3 组大鼠 24 h 尿,采用双缩脲法进行蛋白定量分析,以牛血清白蛋白作为标准对照。

1.2.3 收缩压测定

收缩压的测定采用尾动脉描记法,测定前大约预热 15 min,使尾部血管充分扩张。单克隆抗体 1-22-3 注射后第 1、5、10、14 d 和 18 d,晚 7~10 时之间测定全部大鼠的收缩压,重复 3 次,取平均值。

1.2.4 光镜检查

部分肾组织被固定在 10%的中性福尔马林缓冲液中,石蜡包埋。切割 2~3 μ m 厚,利用 PAS 和 PAM 染色。半定量分析系膜基质增生程度,即观察每张切片中 100 个肾小球,根据肾小球受累的程度将其损害的严重性定为 0~+++,即:正常为 0;病变小

于 25%为+;25%~50%为++;50%~75%为+++;75%~100%为++++。以此作为该小球系膜基质增加分数,分别为 1~4 分。将 100 个肾小球分数总和后,取平均值作为每只鼠的系膜基质增加分数,并计数了 100 个肾小球中新月体的数量。

1.2.5 免疫荧光分析

肾组织在被冷却为 -70°C 的正己烷中萃取后, -70°C 保存,冰冻切片机将冻结组织切割为 4 μ m 厚,间接免疫荧光法染色。荧光镜下,分别计数每只大鼠 20 个完整的肾小球中和肾小球周围 ED1 和 CD8 阳性细胞数;在放大 400 倍的情况下,计数每只大鼠 15 个视野中肾小管间质 ED1 和 CD8 阳性细胞数。另外,半定量分析了肾小球内 TGF- β 、I 型胶原和 α -SMA 的荧光强度和分布,当病变范围 <25% 时记为+;当病变范围为 25%~50% 时记为++,50%~75% 记为+++,>75% 记为++++,并分别记为 1~4 分。将 20 个肾小球分数总和后,取平均值作为每只鼠的荧光强度分数,进行统计学处理。

1.2.6 血生化检查

检测了血液标本中血清总蛋白、肌酐、胆固醇和尿素氮的水平。

1.2.7 统计学分析

组间数据分析,采用非配对 t 检验,所有数据均采用均值 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s.d.$) 表示。

2 结果

2.1 尿蛋白

给一侧肾切除的大鼠注射单克隆抗体 1-22-3 后出现蛋白尿,如图 1 所示。尿蛋白可从抗体注射 4 d 后持续到实验结束。与生理盐水对照组比较,治疗组于第 4、8、14 d 和 21 d 均显示对尿蛋白具有抑制作用。特别是在第 4 d,柴胡皂苷-d 1.8 mg/kg/d 与生理盐水对照组比较具有显著性的差异 (18.9 $\pm$ 2.5 ng vs 68.4 $\pm$ 41.7 ng, $P < 0.05$)。

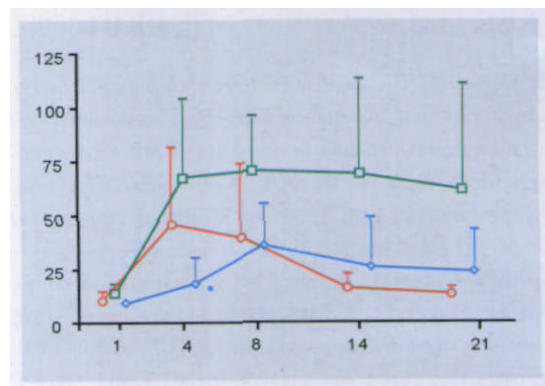


图 1 动态分析各组 24 h 尿蛋白排泄 (mg/d)

注: $\bar{x} \pm s.d.$, $\square$ 磷酸缓冲液 (PBS: 对照); $\diamond$ 柴胡皂苷-d 1.8 mg/kg 体重/d;

$\circ$ 柴胡皂苷-d 0.6 mg/kg 体重/d 与对照组比较 *, $P < 0.05$ 。

Fig. 1 The mean 24-h urinary protein excretion values (mg/day)

Each value is expressed as mean $\pm$ s.d. $\square$, phosphate-buffered saline (PBS: control); $\diamond$, Saikosaponin-d (Ssd) 1.8 mg/kg BW/d; $\circ$, Ssd 0.6 mg/kg BW/d. *, $P < 0.05$ compared with control value.

2.2 收缩压

给一侧肾切除的大鼠注射单克隆抗体 1-22-3, 10 d 后可见到明显的收缩压升高,如图 2 所示。柴胡皂苷-d 明显地抑制了收缩压的增高,特别是在高剂量组,于第 10、14 和 18 d 与生理盐水对照组比较,均见到明显的统计学差异。

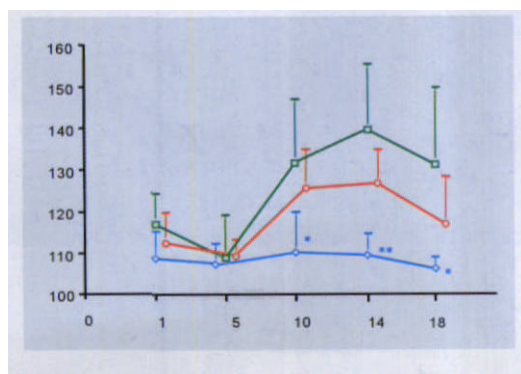
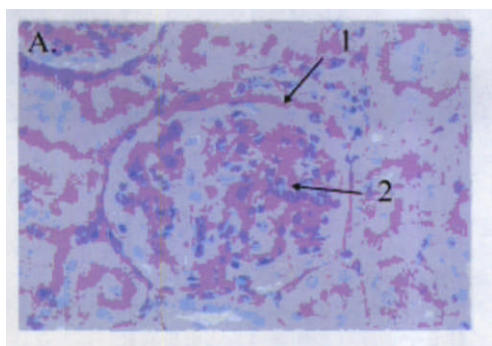


图 2 动态分析各组收缩压(mmHg)的变化情况

注: $\bar{x} \pm s$, $\square$ 磷酸缓冲液(PBS: 对照); $\diamond$ 柴胡皂苷-d 1.8 mg/kg 体重/d; $\circ$ 柴胡皂苷-d 0.6mg/kg 体重/d; 与对照组比较 *, $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

Fig. 2 The changes of mean systolic blood pressure values (mm Hg)

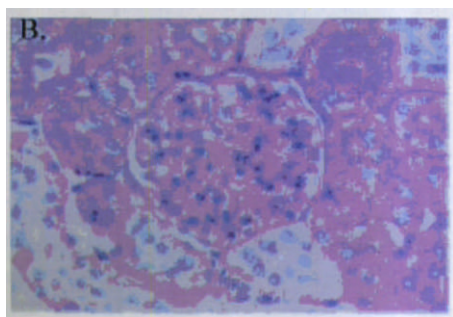
Each value is expressed as mean $\pm$ SD. $\square$, phosphate- buffered saline (PBS: control); $\diamond$, Ssd 1.8mg/kg BW/d; $\circ$, Ssd 0.6mg/kg BW/d. *, $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ compared with control value.



(A) 生理盐水对照组

注: 可见到肾小球系膜细胞增生、系膜基质增加(箭头 2)、节段硬化伴新月体形成(箭头 1)(PAS X400)。

(A) Glomerular crescentic lesion (marked as 1) and mesangial matrix expansion (marked as 2) were noted in the renal cortex of glomerulonephritic rats without treatment of Ssd



(B) 柴胡皂苷-d 组(1.8 mg/kg/d)

注: 肾小球接近正常(PAS X400)。

(B) In glomerulonephritic rats with treatment of 1.8 mg/kg Ssd, the glomerulus is nearly normal.

图 3 第 21 d 光镜所见生理盐水对照组与柴胡皂苷-d 1.8 mg/kg. d 组情况

Fig. 3 Histological changes of the kidneys at 21 days after mAb 1- 22- 3 injection

2.3 光镜所见

在第 21 d, 生理盐水对照组(如图 3A 所示)可见到肾小球系膜细胞增生、系膜基质增加、节段硬化伴新月体形成。如图 3B 所示, 第 21 d 柴胡皂苷-d 1.8 mg/kg/d 组, 肾小球接近正常。我们半定量分析了 3 组系膜基质增加情况, 其统计学处理后的结果如图 4A 所示: 系膜基质增加得分, 药物治疗组明显低于对照组(柴胡皂苷-d 1.8 mg/kg/d, 柴胡皂苷-d 0.6 mg/kg/d vs 对照组: 89 ± 22.5 , 105 ± 8.8 vs 166.7 ± 3.4 , $P < 0.01$)。图 4B 所示为每一个标本 100 个肾小球中新月体出现的百分比(柴胡皂苷-d 1.8 mg/kg/d, 柴胡皂苷-d 0.6 mg/kg/d vs 对照组: $4.4\% \pm 0.0\%$, $8\% \pm 1.1\%$ vs $13.2\% \pm 3.3\%$, $P < 0.01$ 和 $P < 0.05$)。同时显示, 柴胡皂苷-d 明显地减轻了肾小球组织学的损伤。

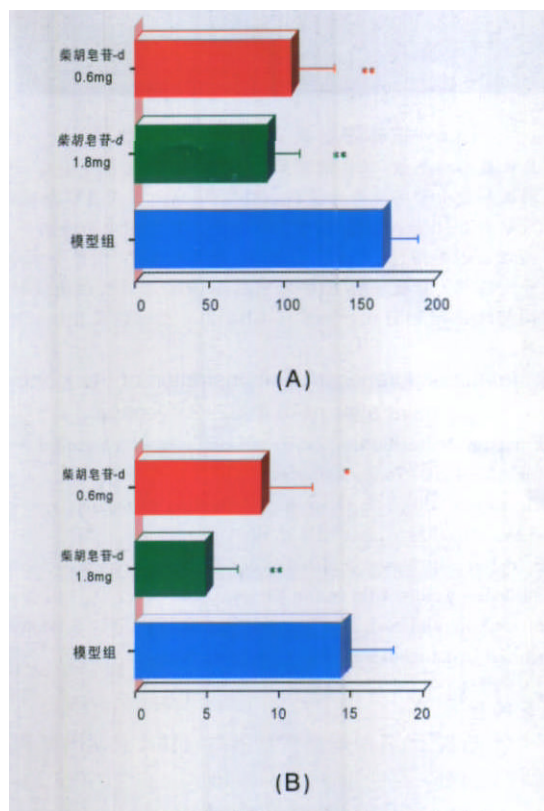


图 4 系膜基质增加程度(A)和肾小球中新月体形成的百分比(B)

注: $\bar{x} \pm s$, 与对照组比较 *, $P < 0.05$; ** $P < 0.01$ 。

Fig. 4 The degrees of mesangial matrix expansion (A) and percentage of glomerular crescentic formation (B) Significant decreases in both mesangial matrix expansion and glomerular crescentic lesion were observed after the treatment of Ssd especially in those rats with 1.8 mg/kg Ssd treatment.

2.4 荧光所见

如图 5A- 5D 所示, 抗体注射第 21 d 荧光结果显示, 与生理盐水对照组比较, 柴胡皂苷-d 抑制了 mAb ED1 所示识别的巨噬细胞和 mAb CD8 所示识别的 $CD8^+$ T 淋巴细胞在肾小球、肾小球周围和肾小管间质的浸润。特别是 $CD8^+$ T 淋巴细胞集聚在柴胡皂苷-d 治疗组明显地被抑制。

如图 6A- 6F 所示, 柴胡皂苷-d 还抑制了肾小球内 TGF- β 1 型胶原和 α -SMA 的表达。在生理盐水对照组中, 我们见到 α -SMA 不仅在系膜区有表达, 而且沿着鲍曼氏囊亦可见到表达(图 6E)。柴胡皂苷-d 组没有见到 α -SMA 沿着鲍曼氏囊表达(图 6F)。

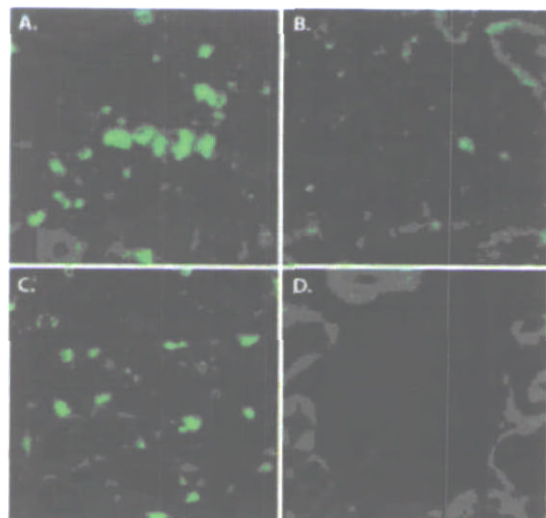


图5 抗体注射第21 d 荧光结果显示

- 注: (A) 生理盐水对照组: 抗体注射第21 天荧光结果, 在肾小球、肾小球周围和肾小管间质有大量被 mAb ED1 所识别的巨噬细胞浸润。
(B) 柴胡皂苷-d 治疗组: 抑制了巨噬细胞在肾组织中的浸润。
(C) 生理盐水对照组: 抗体注射第21 天荧光结果, 在肾小球和肾小管间质有大量被 mAb CD8 所识别的 CD8⁺ T 淋巴细胞浸润。
(D) 柴胡皂苷-d 治疗组: 抑制了 CD8⁺ T 淋巴细胞在肾组织中的浸润。

Fig. 5 Immunofluorescent demonstration of the kidneys at 21 days after mAb 1-22-3 injection

- (A) PBS: control: Increased infiltration of macrophages recognized by antibodies against ED1 in the kidneys
(B) The treatment with Ssd: Decreased infiltration of macrophages recognized by antibodies against ED1 in the kidneys
(C) PBS: control: Increased infiltration of CD8⁺ T lymphocytes recognized by antibodies against CD8 in the kidneys
(D) The treatment with Ssd: Decreased infiltration of CD8⁺ T lymphocytes recognized by antibodies against CD8 in the kidneys

2.5 血生化检查

统计学分析提示, 各组间血清总蛋白、肌酐、总胆固醇和血尿素氮无统计学差异。

3 讨论与结论

研究证明, 柴胡皂苷-d 对一侧肾切除加单克隆抗体 1-22-3 引起的进行性系膜增生性肾小球肾炎具有治疗作用。具体表现在抑制了尿蛋白的排泄、肾小球形态学的改变和炎症细胞的浸润。

系膜增生性肾小球肾炎是以大量蛋白尿、系膜细胞增生和细胞外基质增加为特点的进行性肾小球疾病。目前有人报道, 在人类肾小球肾炎中, 肾小球周围 α SMA 的表达与病变严重程度密切相关^[6], 并且, α SMA 沿鲍曼氏囊周围的表达被认为是肾小球硬化进展的标志^[7]。这些发现提示, 炎症硬化因子可能在肾小球疾病的进展过程中起了重要的作用。TGF- β 已经被证明是一个介导硬化的生长因子, 在脏器纤维化中其表达明显增加^[8-10]。此外, 在系膜细胞表型发生改变、向肌成纤维细胞转化时, 亦可见到 TGF- β 在肾间质的高度表达^[11]。因此, 我们认为, 调节 TGF- β 在肾脏的表达可有效地控制单克隆抗体 1-22-3 引起的进行性系膜增生性肾小球病变。此研究中, 我们首次发现柴胡皂苷-d 抑制了 TGF- β mRNA 和蛋白在实验性肾病大鼠肾脏内的表达。我们还注意到, 柴胡皂苷-d 在减少 TGF- β 表达的同时, 伴随着 I 型胶原和 α SMA 在大鼠肾小球内表达的减少。据报道, I 型胶原主要是细胞外基质成分在肾脏的过度蓄积^[12-13]; α SMA 是肌成纤维

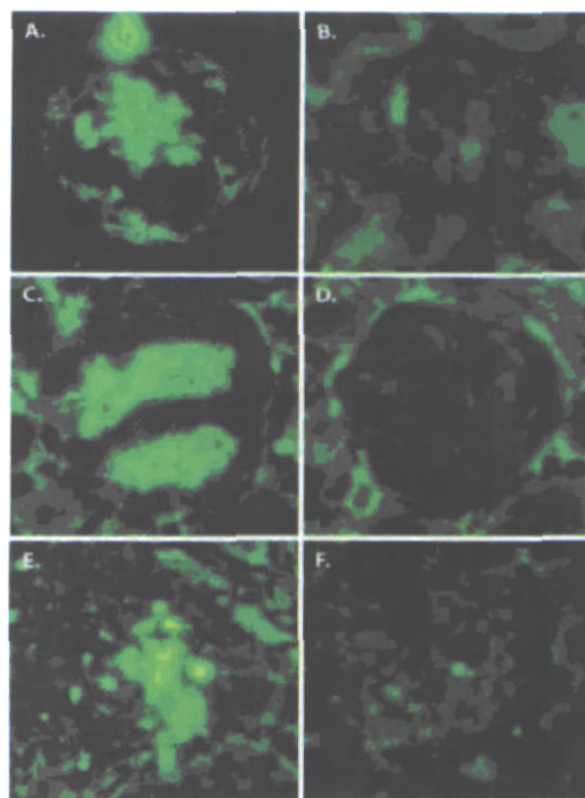


图6 柴胡皂苷-d 抑制了肾小球内 TGF- β I 型胶原和 α SMA 的表达

- 注: (A) 生理盐水对照组: 肾小球内可见明显的 TGF- β 的表达。
(B) 柴胡皂苷-d 组: TGF- β 的表达明显减轻。
(C) 生理盐水对照组: 肾小球内可见明显的 I 型胶原的表达。
(D) 柴胡皂苷-d 组: I 型胶原的表达明显减轻。
(E) 生理盐水对照组: 肾小球内可见明显的 α SMA 的表达, 不仅在系膜区有表达, 而且沿着鲍曼氏囊亦可见到表达。
(F) 柴胡皂苷-d 组: α SMA 的表达明显减轻, 没有见到 α SMA 沿着鲍曼氏囊表达。

Fig. 6 Immunofluorescent images of α SMA, type I collagen and TGF- β in the glomeruli

- (A) PBS: control: Increased positive stainings for α SMA in the glomeruli.
(B) The treatment with Ssd: reduced positive stainings for α SMA in the glomeruli.
(C) PBS: control: Increased positive stainings for type I collagen in the glomeruli.
(D) The treatment with Ssd: reduced positive stainings for type I collagen in the glomeruli.
(E) PBS: control: Increased positive stainings for TGF- β in the glomeruli.
(F) The treatment with Ssd: reduced positive stainings for TGF- β in the glomeruli.

细胞的标志物, 其表达可反映系膜细胞的异常活化。我们认为, 柴胡皂苷-d 对肾脏疾病的治疗作用很可能是通过抑制了细胞事件的活化与进展。免疫荧光结果还提示, 柴胡皂苷-d 明显地抑制了 CD8⁺ T 细胞在肾小球周围和肾小管间质的浸润。我们分析, 柴胡皂苷-d 对巨噬细胞和被活化的巨噬细胞的抑制作用可能与部分地抑制了 CD8⁺ T 细胞在肾小球周围和肾小管间质的浸润有关, 这些炎症细胞在引起肾损害、导致系膜增生性肾小球肾炎的进展方面可能起了至关重要的作用^[14-15]。

研究结果提示, 柴胡皂苷-d 通过抑制 CD8⁺ T 细胞在大鼠肾

脏的浸润、巨噬细胞的积聚和活化以及 TGF- β 和 I 型胶原在肾组织中的表达,从而起到了抑制系膜增生性肾小球肾炎发生和进展的作用。

参考文献(References)

- [1] 李 平,李培恒,张子义,等. 柴胡汤及其有效成分对大鼠实验性肾炎的影响[J]. 中国中西医结合杂志, 2003,23(10):757-759.
- [2] LI P, KAWACHI H, MORIOKA T, et al. Suppressive effects of sairei- to on mAb 1-22-3 induced glomerulonephritis: analysis of effective components[J]. Pathol Int, 1997,47: 430-435.
- [3] KATO M, PU MY, ISOBE KI, et al. Characterization of the immunoregulatory action of saikosaponin- d [J]. Cell Immunol, 1994, 159: 15-25.
- [4] KATO M, PU MY, ISOBE KI, et al. Cell type- oriented differential modulatory actions of saikosaponin- d on growth responses and DNA fragmentation of lymphocytes triggered by receptor- mediated and receptor- bypassed[J]. Pathway, 1995, 29: 207-213.
- [5] KAWACHI H, OIKASA M, MATSUI K, et al. Epitope- specific induction of mesangial lesions with proteinuria by a MoAb a gainst mesangial cell surface antigen [J]. Clin Exp Immunol, 1992,88(3): 399-404.
- [6] GONLUSEN G, ERGIN M, PAYDAS S, et al. The expression of cytoskeletal proteins(alpha- SMA, vimentin, desmin) in kidney tissue: a comparison of fetal, normal kidneys, and glomerulonephritis[J]. Urol Nephrol, 2001,33:299-305.
- [7] FUJIGAKI Y, SUN DF, FUJIMOTO T, et al. Mechanisms and kinetics of Bowman's epithelial- myofibroblast transdifferentiation in the formation of glomerular crescents [J]. Nephron, 2002,92:

203-212.

- [8] PETERS H, BORDER W A, NOBLE N A. Targeting TGF- beta overexpression: maximizing the antifibrotic actions of angiotensin II blockade in anti- Thy1 glomerulonephritis [J]. Nephrol Dial Transplant, 1999,14(Suppl 4):22-23.
- [9] ZHOU A, UENO H, SHIMOMURA M, et al. Blockade of TGF- beta action ameliorates renal dysfunction and histologic progression in anti- GBM nephritis[J]. Kidney Int, 2003, 64:92-101.
- [10] ONETTI MUDA A, FERIOZZI S, RAHIMI S, et al. Expression of TGF- beta receptors type I and II in human glomerulonephritis[J]. Nephrol Dial Transplant, 1998,13:279-284.
- [11] MORATH C, DECHOW C, LEHRKE I, et al. Effects of retinoids on the TGF- beta system and extracellular matrix in experimental glomerulonephritis[J]. J Am Soc Nephrol, 2001, 12:2300-2309.
- [12] STOKES M B, HUDKINS K L, ZAHARIA V, et al. Up- regulation of extracellular matrix proteoglycans and collagen type I in human crescentic glomerulonephritis[J]. Kidney Int, 2001,59:532-542.
- [13] STOKES M B, HOLLER S, CUI Y, et al. Expression of decorin, biglycan, and collagen type I in human renal fibrosing disease[J]. Kidney Int, 2000,57:487-498.
- [14] HOTTA O, YUSA N, FURUTA T, et al. Membranoproliferative glomerulonephritis in the aged and its possible causal relationship with CD8⁺CD57⁺ lymphocytes[J]. Clin Nephrol, 1998,49:138-144.
- [15] FUJINAKA H, YAMAMOTO T, FENG L, et al. Crucial role of CD8- positive lymphocytes in glomerular expression of ICAM- 1 and cytokines in crescentic glomerulonephritis of WKY rats [J]. J Immunol, 1997, 158: 4978-4983.

(责任编辑 李慧政)

·科技智力游戏·

轻松一刻——填空补白

“轻松一刻——填空补白”游戏供读者读刊闲暇之余自娱自乐,并获取一些小知识。读者可根据下面“横”行、“纵”列的文字提示,分别填上相应的文字。

纵:

1. 一位反对伪气功和伪科学的斗士。
2. 著名散文《荷塘月色》的作者。
3. 用于运送物资和人员的飞行器。
4. 现任中国科学技术协会主席。
5. 一种无机化合物,通常用来使水澄清。
6. 由研究某一学科的人组成的学术团体。
7. 一种植物,学名丝石竹,盛开时每枝绽出无数细如豆粒般的白花,每朵5瓣,插花中被视为最佳陪衬花卉。
8. 指上午11点到下午1点这段时间。
9. 音乐中交替出现的有规律的强弱、长短的现象。
10. 曹禺创作的著名话剧。
11. 中央军委机关报刊名。
12. 表示繁华富丽。
13. 物体受外力作用变形后,除去作用力后能恢复原来形状的性质。
14. 欧洲(主要是意大利)从14到16世纪文化和思想发展的潮流,其文化特点是复兴被遗忘的希腊、罗马的古典文化。
15. 一门研究《红楼梦》及其作者的学问。
16. 解放军的楷模,助人为乐的榜样,毛泽东主席曾向全国发出学习他的号召。
17. 广西著名景点,因其岩峰布列恰似北斗

七星而得名。

18. 由硅、锗等半导体材料制成的电子管。

横:

- 一、利用现代数学特别是统计数学来研究人力、物力的运用和筹划,使其能发挥最大效率的一门学科。
- 二、火车、汽车和电车等交通工具上驾驶员的通俗称呼。
- 三、某些元素(如铀等)自动地把原子核中的物质放射出来而衰变成另外的元素的性质。
- 四、被誉为中国三大通俗男高音歌唱家之一,以一首《懂你》而成名。
- 五、红色经典长篇小说,作者为罗广斌和杨益言。
- 六、韩国人往往如此称呼自己的国家。
- 七、一种文学体裁,以现实生活中具有典型意义的真人真事为题材,经过适当的艺术加工而成,具有新闻特点。
- 八、我国古代指太阳还没出来以前出现在东方天空的金星。
- 九、中华人民共和国十大元帅之一,抗日战争时期任八路军总司令,解放战争时期任人民解放军总司令。
- 十、现任 Google 公司全球副

总裁兼中国区总裁,著有《做最好的自己》一书。

十一、唐代诗人杜牧的诗《清明》中的第一句。

十二、弹药、炸药包等的发火装置,一般用雷汞等容易发火的化学药品装在金属管里制成。

十三、1976年4月至1980年9月曾任我国国务院总理职务,后因坚持“两个凡是”而退出党和国家领导人位置。

(供稿 曾超群 责任编辑 李向荣)

