·实验研究·

益肾软坚散对慢性马兜铃酸肾病大鼠模型肾间质纤维化的保护作用

张　聪[1,2]　谌贻璞[1]　杨彦芳[1]　董鸿瑞[1]

摘要　目的　研究中药方剂益肾软坚散能否对慢性马兜铃酸肾病(CAAN)大鼠的肾损害起到保护作用。**方法**　雄性 SD 大鼠 18 只分为 3 组,每组 6 只。模型组予关木通浸膏水溶液间断灌胃制成 CAAN 动物模型,中药组在造模基础上同步予益肾软坚散水煎剂灌胃,对照组予自来水灌胃。于 1、4、8、12、16 周分别检测大鼠体重、24h 尿蛋白定量、尿 β_2 微球蛋白、血清肌酐(SCr);并于第 16 周末处死大鼠,取肾脏组织,切片做 Masson 染色观察肾脏病理变化;用 RT-PCR 及免疫组化方法检测肾组织中转化生长因子-β_1(TGF-β_1)、结缔组织生长因子(CTGF)、纤溶酶原激活物抑制物-1(PAI-1)、金属蛋白酶组织抑制物-1(TIMP-1)和 Ⅰ 型胶原(Col Ⅰ)mRNA 及蛋白质表达。**结果**　与对照组比较,模型组大鼠 24h 尿蛋白定量、尿 β_2 微球蛋白、SCr 自造模后 1 周出现不同程度的上升($P<0.01$,$P<0.05$);16 周时肾间质纤维化面积显著扩大($P<0.01$);肾组织内 TGF-β_1、CTGF、PAI-1、TIMP-1 及 Col Ⅰ 各指标的 mRNA 及蛋白质表达均显著上调($P<0.01$)。中药干预后,上述上调指标除 24h 尿蛋白定量外均被显著抑制($P<0.01$,$P<0.05$)。**结论**　益肾软坚散可抑制肾间质内细胞外基质蓄积,从而改善 CAAN 的肾间质纤维化及肾功能。

关键词　马兜铃酸;益肾软坚散;间质纤维化;肾脏

Protective Effects of Yishen Ruanjian Power on Renal Interstitial Fibrosis in Chronic Aristolochic Acid Induced Nephropathy Rat Model ZHANG Cong, CHEN Yi-pu, YANG Yan-fang, et al. *Department of Nephropathy, China-Japan Friendship Hospital, Beijing (100029)*

Abstract　Objective　To study the protective effects of Yishen Ruanjian Power (YRP) on renal interstitial fibrosis in rats with chronic aristolochic acid induced nephropathy (CAAN). **Methods**　Eighteen male SD rats were divided into 3 groups, 6 in each group. Water solution of Caulis Aristolochia Manshuriensis (CAM) Liquid Extract were given to the mice in the model group by gastrogavage to make CAAN animal model. For those in the TCM group, decocted water solution of YRP was given by gastrogavage after the mice being modeled with the above-mentioned method. Tap water was given by gastrogavage to the mice in the control group. Body weight, 24-hr urinary protein excretion and β_2 microglobulin (β_2-MG), and serum creatinine (SCr) were determined at the end of the 1st, 4th, 8th, 12th and 16th week. At the end of the 16th week, the rats were sacrificed and the pathological figure of their kidneys were observed by Masson staining. Transforming growth factor-β_1(TGF-β_1), connective tissue growth factor (CTGF), plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1), tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1) and type Ⅰ collagen (Col Ⅰ) in kidney tissue were determined by RT-PCR and immunohistochemical method, respectively. **Results**　At end of the 1st week, urinary protein excretion, urinary β_2-MG and SCr in the model group were significantly increased to the levels higher than those in the control group ($P<0.01$ or 0.05). Relative area of interstitial fibrosis was significantly enlarged in the model group at the end of the 16th week ($P<0.01$), and at the same time, the mRNA and protein expression of TGF-β_1, CTGF, PAI-1, TIMP-1 and Col Ⅰ in kidney tissue were significant up-regulated ($P<0.01$). After intervention with YRP, the above-mentioned up-regulated parameters, except 24-hr urinary protein excretion,

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.30170429),国家中医药管理局科研基金资助项目(No.2000-J-P-64 及国中医药科 2001ZDZX04)
作者单位:1. 卫生部中日友好医院肾病中心(北京 100029);2. 北京大学第三医院肾内科
通讯作者:谌贻璞,Tel:010-84206172,E-mail:chen_yipu@medmail.com.cn

万方数据

were all significantly inhibited ($P<0.01$ or 0.05). **Conclusion** YRP could inhibit the accumulation of extracellular matrix in renal interstitial tissue, so as to alleviate the renal interstitial fibrosis and improve the renal function.

Key words aristolochic acid; Yishen Ruanjian Power; interstitial fibrosis; kidney

近年来,关于关木通等中药引起的慢性马兜铃酸肾病(chronic aristolochic acid nephropathy, CAAN)日益受到重视。该病临床以进行性肾衰竭、病理以寡细胞性肾间质纤维化为主要特点,至今尚无成熟治疗方法[1]。我科曾自拟了中药方剂益肾软坚散,并用其含药血清进行了细胞生物学实验,证实该含药血清能拮抗马兜铃酸(aristolochic acid, AA)细胞毒性[2,3]。本研究在上述工作基础上,进一步用益肾软坚散对我科建立的 CAAN 模型大鼠[4]进行试验治疗,观察其疗效并初步探讨其作用机制。

材料与方法

1 材料

1.1 动物 雄性 SD 大鼠 18 只(清洁级),8 周龄,体重 200 g 左右,由北京维通利华实验动物技术有限公司提供。

1.2 药物 关木通浸膏水溶液制备:与高艳丽等[4]所用方法同。益肾软坚散水煎剂制备:丹参、炙鳖甲、生黄芪、全当归、虫草菌丝等 8 味中药生药,水煎浓缩为含生药 2 g/ml 的合剂,由中日友好医院临床研究所药理室协制。

1.3 试剂 总 RNA 提取试剂盒(上海生工生物工程公司),鼠白血病病毒逆转录酶、TaqDNA 聚合酶、随机引物(美国 Promega 公司产品),兔抗大鼠转化生长因子-β_1(TGF-β_1)多克隆抗体(美国 Santacruz 产品,稀释倍数 1:50),山羊抗人结缔组织生长因子(CTGF)多克隆抗体(美国,R&D 公司产品,稀释倍数 1:12.5),兔抗人纤溶酶原激活物抑制物-1(PAI-1)多克隆抗体(武汉博士德公司,稀释倍数 1:110),兔抗大鼠金属蛋白酶组织抑制物-1(TIMP-1)多克隆抗体(武汉博士德公司,稀释倍数 1:150),兔抗大鼠Ⅰ型胶原(Col Ⅰ)多克隆抗体(德国 Biotrend 公司稀释倍数 1:100),生物素化山羊抗兔 IgG 或兔抗山羊 IgG(北京中山生物技术公司),链霉亲和素-生物素-辣根过氧化物酶复合物工作液(北京中山生物技术公司),胃蛋白酶(北京中山生物技术公司)。引物设计:均由上海生工生物工程公司合成,见表 1。

1.4 仪器 TC-96AE 聚合酶链式反应 DNA 扩增仪(中国科学院遗传研究所制),Eppendof低温离心机(Eppendof 公司制),JY96-Ⅱ超声波细胞粉碎机(上海新芝生物技术研究所制)。

表 1 各指标的引物设计

引物名称	引物序列	产物长度
Col Ⅰ	正链 5'-CTTCGTGTAAACTCCCTCC-3'	224bp
	负链 5'-CACTTTTGGTTTTTGGTCAC-3'	
TGF-β_1	正链 5'-AATACGTCAGACATTCGGGAAGCA-3'	498bp
	负链 5'-GTCAATGTACAGCTGCCGTACACA-3'	
CTGF	正链 5'-CTAAGACCTGTGGAATGGGC-3'	383bp
	负链 5'-CTCAAAGATGTCATTGTCCCC-3'	
TIMP-1	正链 5'-GACCTGGTTATAAGGGCTAAA-3'	216bp
	负链 5'-GCCCGTGATGAGAAACTCTTCACT-3'	
PAI-1	正链 5'-ATGAGATCAGTACTGCGGACGCCATC TTTG-3'	343bp
	负链 5'-GCACGGAGATGGTGCTACCATCAG ACTTGT-3'	
GAPDH*	正链 5'-AATGCATCCTGCACCAA-3'	515bp
	负链 5'-GTAGCCATATTCATTGTCATA-3'	
β-actin△	正链 5'-GTGGGGCGCCCCAGGCACCA-3'	538bp
	负链 5'-CTCCTTAATGTCACGCACGATTTC-3'	

注:*与 PAI-1 共扩增做内参照,并单扩增做 TGF-β_1、CTGF 及 TIMP-1 的内参照;△与 Col Ⅰ共扩增做内参照

2 实验方法

2.1 模型制作和分组给药 雄性 SD 大鼠 18 只,分为 3 组,每组大鼠 6 只。对照组:用自来水每日清晨灌胃;模型组:用关木通浸膏水溶液清晨灌胃,方法与文献[4]相同;中药组:在模型组基础上,同步予益肾软坚散水煎剂 1 ml/100g 体重每日下午灌胃。共灌胃 16 周。

2.2 理化指标测量及标本留取 全部大鼠于实验第 1、4、8、12、16 周测量体重,并由内眦静脉取血进行血肌酐(SCr,采用日立 7170 自动生化仪)及 24h 尿蛋白定量(采用自动生化分析仪 BECKMAN COULTER LX-20)、尿糖定性(试纸法)及尿 β_2 微球蛋白(放射免疫分析)检测。16 周时用 2% 戊巴比妥钠 0.2 ml/100g 体重麻醉大鼠,然后进行肾脏原位灌洗去除血液,取双肾称重,取肾组织一部分固定于 10% 中性福尔马林缓冲液中,供病理检查用,一部分肾组织放入液氮中保存,备提取 RNA 之用。

2.3 肾组织病理检查 肾组织常规脱水、包埋、切片及 Masson 染色后,光学显微镜(×100)采集皮质肾间质图像(每只大鼠随机采集 15 个视野),用多功能真彩色病理图像分析系统(北京航空航天大学制造)进

万方数据

行自动测量分析,肾间质纤维化相对面积(%)=肾间质绿染区面积/视野总面积×100%。

2.4　逆转录-多聚酶链反应(RT-PCR)　RNA 提取、逆转录及 PCR 按文献[5]方法操作。PCR 反应参数如下:(1)Col Ⅰ与 β-actin 共扩增:94℃ 50s,60℃ 1 min,72℃ 35s,30 个循环;(2)TGF-β_1 扩增:94℃ 1 min,60℃ 1 min,72℃ 2 min,26 个循环;(3)CTGF 扩增:94℃ 1 min,55℃ 1 min,72℃ 1 min,30 个循环;(4)PAI-1 与 GAPDH 共扩增;94℃ 1 min,60℃ 1 min,72℃ 2 min,30 个循环;(5)TIMP-1 扩增:94℃ 1 min,52℃ 1 min,72℃ 1 min,30 个循环;(6)GAPDH 扩增(做 TGF-β_1、CTGF 及 TIMP-1 内参照):94℃ 45s,58℃ 45s,72℃ 1 min,30 个循环。目的基因相对表达量=目的基因条带吸光度/内参照基因条带吸光度。

2.5　免疫组织化学染色　切片常规处理后,用微波处理 98℃ 10 min (TGF-β_1、CTGF、PAI-1、TIMP-1),或用 0.4% 胃蛋白酶消化 37℃ 2 h(Col Ⅰ)修复抗原,用链霉亲和素-生物素-辣根过氧化物酶复合物(SABC)技术进行染色,染色操作与文献[5]相同。然后进行图像采集及测量分析(方法同上),肾小管间质相对阳性面积(%)=肾小管间质阳性面积/视野总面积×100%。

3　统计学方法　全部计量资料均以 $\bar{x}\pm s$ 表示,除 SCr 外组间差异比较采用单因素方差分析。因为 SCr 受组间大鼠体重差异的影响,以大鼠体重为协变量,大鼠 SCr 为因变量作协方差分析。以上均由 SPSS 10.0 统计软件完成。

结　果

1　各组大鼠不同时间点体重比较　见表 2。实验前各组大鼠体重差异无显著性(数据略)。模型组及中药组大鼠给药后各周体重均显著低于对照组;中药组大鼠与模型组比较各周体重差异无显著性。

表 2　各组大鼠不同时间点体重比较　(g,$\bar{x}\pm s$)

组别	n	体重				
		1 周	4 周	8 周	12 周	16 周
对照	6	249±16	398±46	483±47	530±52	513±45
模型	6	199±19*	309±33*	334±17*	367±29*	385±31*
中药	6	203±13*	306±37*	345±38*	390±41*	394±39*

注:与对照组比较,* $P<0.01$

2　各组大鼠不同时间点尿蛋白定量比较　见表 3。实验前各组大鼠尿蛋白定量差异无显著性($P>0.05$)。模型组及中药组大鼠给药后各周尿蛋白定量均显著高于对照组($P<0.01$)。中药组大鼠自用药第 4 周开始尿蛋白定量低于模型组,但两组比较差异无显著性($P>0.05$)。

表 3　各组大鼠不同时间点尿蛋白定量比较　(mg/24h,$\bar{x}\pm s$)

组别	n	24h 尿蛋白				
		1 周	4 周	8 周	12 周	16 周
对照	6	5.60±1.58	6.62±2.08	7.39±1.45	8.59±1.91	8.86±3.27
模型	6	18.71±7.07*	23.65±4.45*	25.24±5.00*	27.36±4.66*	31.14±3.51*
中药	6	18.24±7.43*	15.77±6.46*	22.72±4.60*	24.38±3.90*	27.90±4.36*

注:与对照组比较,* $P<0.01$

3　各组大鼠尿糖定性检测结果　始终为阴性。

4　各组大鼠不同时间点尿 β_2 微球蛋白比较　见表 4。1 周时,模型组及中药组均比对照组显著升高($P<0.01$),4、8 周有所回落,但差异仍有显著性($P<0.05$),16 周时中药组比模型组减低,且差异有显著性($P<0.05$)。

5　各组大鼠不同时间点 SCr 值比较　见表 5。协方差分析结果显示实验前各组大鼠的 SCr 值差异无显著性($P>0.05$)。模型组大鼠给药后各时间点 SCr 值均高于对照组,除第 4 周外差异均有显著性($P<0.05$,$P<0.01$)。中药组大鼠 SCr 变化趋势与模型组同,但在用药后第 12、16 周其值低于模型组($P<0.05$)。

表 4　各组大鼠不同时间点尿 β_2 微球蛋白变化比较　(ng/24h,$\bar{x}\pm s$)

组别	n	尿 β_2 微球蛋白			
		1 周	4 周	8 周	16 周
对照	6	485.12±148.99	313.49±146.77	484.27±171.35	410.87±112.17
模型	6	1986.68±470.97**	684.53±234.23*	807.56±323.42*	1089.53±331.71*
中药	6	1767.61±509.24**	571.17±226.75*	717.20±293.74*	689.95±315.26*△

注:与对照组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与模型组比较,△ $P<0.05$

表 5　各组大鼠不同时间点 SCr 值比较　(μmol/L,$\bar{x}\pm s$)

组别	n	SCr				
		1 周	4 周	8 周	12 周	16 周
对照	6	53.0±5.3	61.8±5.3	75.1±4.4	79.6±5.3	88.4±21.2
模型	6	65.4±7.1*	68.1±12.4	88.4±12.4*	110.5±9.7*	153.8±13.3**
中药	6	66.3±9.7*	67.2±18.6	86.6±10.6*	99.0±21.2*△	114.9±23.9*△

注:与对照组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与模型组比较,△ $P<0.05$

万方数据

表 6 各组大鼠肾组织各指标的 mRNA 表达 ($\bar{x} \pm s$)

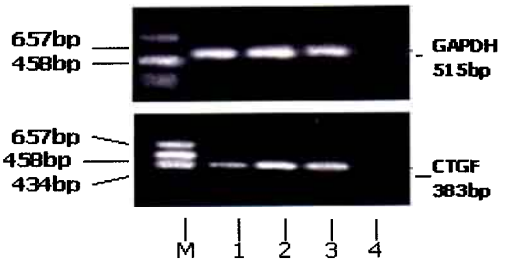
组别	n	Col Ⅰ	CTGF	TGF-β_1	PAI-1	TIMP-1
对照	6	0.483±0.072	0.476±0.112	0.393±0.096	0.422±0.053	0.521±0.104
模型	6	0.872±0.102*	0.902±0.124*	0.921±0.103*	0.787±0.124*	0.922±0.137*
中药	6	0.687±0.079*△	0.733±0.104*△	0.584±0.087*△	0.608±0.136*△	0.732±0.106*△

注:与对照组比较,* $P<0.01$;与模型组比较,△ $P<0.01$;表内数值为目的基因相对表达量

表 7 各组大鼠肾组织各指标的蛋白质表达 (%, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	Col Ⅰ	CTGF	TGF-β_1	PAI-1	TIMP-1
对照	6	3.19±0.98	0.93±0.24	0.53±0.23	0.41±0.06	0.31±0.14
模型	6	26.17±2.73*	12.35±1.21*	4.94±1.02*	4.34±0.85*	3.59±1.10*
中药	6	10.05±1.32*△	4.20±0.96*△	2.67±0.57*△	1.33±0.13*△	1.29±0.25*△

注:与对照组比较,* $P<0.01$;与模型组比较,△ $P<0.01$;表内数值为阳性表达相对面积量



注:M. DNA 标准参照物;1. 对照组;2. 模型组; 3. 中药组;4. PCR 阴性对照

图 1 各组大鼠肾组织 CTGF mRNA 的表达

6 各组大鼠肾组织病理检查结果比较 16 周时肾间质纤维化相对面积(%):模型组(3.964±0.739)及中药组(1.021±0.469)显著高于对照组(0.158±0.059),差异均有显著性($P<0.01$),而中药组大鼠肾间质纤维化相对面积显著低于模型组($P<0.01$)。

7 各组大鼠肾组织各指标的 mRNA 表达 见表 6,图 1。16 周时模型组及中药组各指标 mRNA 表达较对照组显著升高($P<0.01$),但中药组上述指标较模型组显著下降($P<0.01$)。

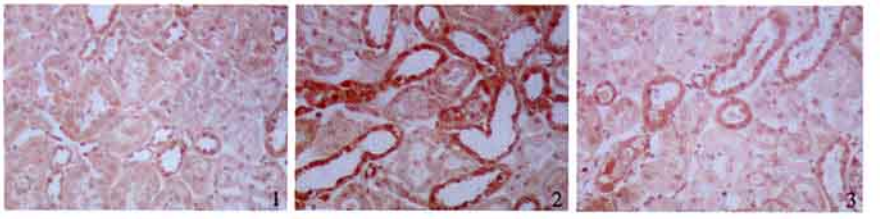
8 各组大鼠肾组织各指标的蛋白质表达 见表 7,图 2。对照组肾组织中 Col Ⅰ 仅表达于肾间质及血管壁外膜,肾小球及肾小管未见着色;模型组大鼠 Col Ⅰ 的肾间质表达明显增多,呈多灶状分布。对照组肾组织中 TGF-β_1 及 CTGF 主要表达于部分肾小管及肾小球,血管壁仅微弱表达,肾间质未见着色;模型组大鼠 TGF-β_1 及 CTGF 的肾小管表达明显增多。对照组肾组织中 PAI-1 主要表达在血管壁和部分肾小管,肾小球及肾间质未见着色;模型组大鼠 PAI-1 的肾小管表达明显增多。对照组肾组织中 TIMP-1 主要表达在部分肾小管,肾小球仅微弱表达,肾血管及肾间质未见着色;模型组大鼠 TIMP-1 的肾小管表达明显增多。中药组各指标表达较模型组减低。16 周时各指标的蛋白质表达结果与 mRNA 表达结果一致。

讨 论

CAAN 的病理变化为寡细胞性肾间质纤维化,临床表现为慢性进行性肾衰竭,治疗十分困难。中医辨证 CAAN 患者常属"脾肾虚亏、脉络瘀阻、气滞血瘀",所以我们自拟了以"健脾补肾、活血化瘀、软坚散结"为治则的中药益肾软坚散,对 CAAN 进行早期干预治疗,观察疗效并探讨作用机制。

本研究中的实验模型大鼠 24h 尿蛋白定量、尿 β_2 微球蛋白及 SCr 均明显增高,病理肾间质纤维组织相对面积显著增加,分子生物学检查肾组织内 Col Ⅰ mRNA 表达显著增强,免疫组化分析肾间质内 Col Ⅰ 含量显著增多,上述指标均证实此实验大鼠 CAAN 模型已制作成功。

在用益肾软坚散灌胃治疗后,治疗组大鼠的肾小



注: 1. 对照组;2. 模型组;3. 中药组

图 2 各组大鼠肾组织 CTGF 的免疫组化结果(SABC, ×100)

万方数据

管功能(尿 β_2 微球蛋白)及肾小球功能(SCr)损害均较模型组显著减轻;病理及免疫组化检查显示其肾间质纤维化程度及 Col Ⅰ 含量也较模型组显著减少。这些结果提示给 CAAN 模型大鼠早期应用益肾软坚散能有效防治肾间质纤维化和改善肾功能。

肾间质纤维化的发生、发展与肾间质细胞外基质(ECM)合成与降解失衡相关[6]。在调控 ECM 合成方面 TGF-β_1 及 CTGF 很重要。TGF-β_1 是公认的最重要的致纤维化因子,它具有促进成纤维细胞和肾小管上皮细胞表型转化,及促进 ECM 合成的作用[7]。CTGF 是近年新发现的一个细胞因子,在 TGF-β_1 诱导下能由成纤维细胞等细胞生成,它专门介导 TGF-β_1 的促 ECM 合成效应,是 TGF-β_1 的下游因子[8]。在调控 ECM 降解方面纤溶酶、基质金属蛋白酶(MMP)、PAI-1 和 TIMP-1 很重要,纤溶酶能直接降解 ECM 并激活 MMP 而促进 ECM 降解,而 PAI-1 能阻止纤溶酶原向纤溶酶转化,TIMP 能抑制 MMP 活性,故而发挥抑制 ECM 降解效应[6,9]。另外,TGF-β_1 也具有增加 TIMP-1 活性及抑制 MMP 合成作用,从而也能抑制 ECM 降解[7]。因此,我们选用了 TGF-β_1、CTGF、PAI-1 和 TIMP-1 作为观察指标。

本研究结果显示第 16 周模型组大鼠肾组织的 TGF-β_1 和 CTGF mRNA 表达显著上调,同时肾小管间质 TGF-β_1 和 CTGF 蛋白质表达也明显增强。而中药组上述观察指标较模型组均显著降低。本研究同时还观察到模型组大鼠肾组织 PAI-1 和 TIMP-1 mRNA 表达显著上调,肾小管间质 PAI-1 和 TIMP-1 蛋白质表达也明显增加,而中药组上述两指标显著降低。故推测益肾软坚散可能通过下调 TGF-β_1 和 CTGF 高表达而抑制 ECM 合成,并下调 PAI-1 和 TIMP-1 高表达而促进 ECM 降解,故而减轻肾间质内 ECM(包括 Col Ⅰ)蓄积及纤维化,改善肾功能。

我科[2,3]曾用益肾软坚散含药血清与马兜铃酸钠(AA-Na)同人肾间质成纤维细胞(hRIFs)及人肾小管上皮细胞(HKC)共同孵育,发现含药血清可以下调 AA-Na 刺激后 hRIFs 及 HKC 对 TGF-β_1、CTGF、TIMP-1 和 Col Ⅰ mRNA 及蛋白质的高表达,与本动物模型研究结果相似。但是在细胞研究结果中 PAI-1 的表达未下调,而动物模型研究中 PAI-1 的表达下调了,这一差异可能是整体实验与细胞培养条件不同导致。

总之,通过体内和体外实验我们得出结论,益肾软坚散可通过下调肾组织内促 ECM 合成因子及抗 ECM 降解因子的表达,抑制肾间质内 ECM 蓄积,而改善 CAAN 的肾间质纤维化及肾功能。我们将这一研究成果应用于临床以作进一步验证。

参 考 文 献

1 陈　文,谌贻璞,李　安,等.马兜铃酸肾病的临床及病理表现.中华医学杂志 2001;81(18):1101—1105.
Chen W, Chen YP, Li A, et al. The clinical and pathological exhibition of aristolochic acid nephropathy. Natl Med J Chin 2001;81(18):1101—1105.

2 方　静,谌贻璞,杨彦芳,等.益肾软坚散含药血清拮抗马兜铃酸对人肾间质成纤维细胞的作用.中国中西医结合杂志 2004;24(9):811—815.
Fang J, Chen YP, Yang YF, et al. Antagonistic effect of Yishen Ruanjian San contained serum against aristolochic acid in antagonizing human renal interstitial fibroblasts. Chin J Integr Tradit West Med 2004;24(9):811—815.

3 方　静,谌贻璞,杨彦芳,等.益肾软坚散含药血清拮抗马兜铃酸对人肾小管上皮细胞的作用.中国中药杂志 2005;30(5):704—707.
Fang J, Chen YP, Yang YF, et al. Antagonistic effect of Yishen Ruanjian San contained serum against aristolochic acid in antagonizing human renal tubular epithelial cell. China J Chin Materia Medica 2005;30(5):704—707.

4 高艳丽,谌贻璞,董鸿瑞,等.慢性马兜铃酸肾病动物模型及牛磺酸的早期保护作用.中国中西医结合杂志 2003;23(增刊):109—112.
Gao YL, Chen YP, Dong HR, et al. A rat model of chronic aristolochic acid nephropathy and the protective effects of taurine on the early stage of the renal injury. Chin J Integr Tradit West Med 2003;23(Suppl):109—112.

5 程　虹,田雪飞,董鸿瑞,等.糖尿病肾脏内皮素-1 与血管紧张素Ⅱ交叉作用的初步探讨.中华医学杂志 2004;84(3):248—252.
Cheng H, Tian XF, Dong HR, et al. The preliminary studies on the cross action between endothelin-1 and angiotensin Ⅱ in kidney tissue of rats with diabetic nephropathy. Natl Med J China 2004;84(3):248—252.

6 Eddy AA. Molecular insights into renal interstitial fibrosis. J Am Soc Nephrol 1996;7(12):2495—2508.

7 Douthwaite JA, Johnson TS, Haylor JL, et al. Effects of transforming growth factor-β_1 on renal extracellular matrix components and their regulating proteins. J Am Soc Nephrol 1999;10(10):2109—2119.

8 Gupta S, Clarkson MR, Duggan J, et al. Connective tissue growth factor: potential role in glomerulosclerosis and tubulointerstitial fibrosis. Kidney Int 2000;58(4):1389—1399.

9 Vassalli JD, Sappino AP, Belin D. The plasminogen activator/plasmin system. J Clin Invest 1991;88(4):1067—1072.

(收稿:2005-03-04　修回:2005-04-11)

万方数据