

枸杞黄清膏抑制 UUO 大鼠肾间质纤维化的初步研究

蒲金赟, 周建华 (华中科技大学同济医学院附属同济医院儿科, 湖北 武汉 430030)

[摘要] 目的:探讨枸杞黄清膏对肾间质纤维化的疗效及其作用机制。方法:Wistar 大鼠随机分为 5 组, 每组 5 只, 分别为假手术组、UUO (Unilateral Ureteral Obstruction) 组, 1.5 g kg⁻¹ 枸杞黄治疗组, 2.25 g kg⁻¹ 枸杞黄治疗组和 3.0 g kg⁻¹ 枸杞黄治疗组。于术后第 3 天开始, 每天分别给予治疗组大鼠 1.5 g kg⁻¹, 2.25 g kg⁻¹, 3.0 g kg⁻¹ 枸杞黄清膏水溶剂灌胃; 于术后第 14 d 处死大鼠后获取肾脏组织。梗阻侧肾脏组织行 HE、Masson 染色, 观测肾间质病理改变; 免疫组化方法检测肾间质肌成纤维细胞堆积程度; Western Blot 方法检测梗阻侧肾组织 α -SMA 蛋白表达水平。结果:与假手术组相比, UUO 模型组大鼠建模后 14 d 肾间质严重损伤并伴明显纤维化病变, 大量肌成纤维细胞在肾间质广泛堆积。2.25 g kg⁻¹, 3.0 g kg⁻¹ 枸杞黄清膏治疗 UUO 大鼠后, 间质纤维沉积及间质肌成纤维细胞浸润明显减少。Western Blot 检测结果显示 2.25 g kg⁻¹、3.0 g kg⁻¹ 剂量枸杞黄清膏治疗 UUO 大鼠 14 d 时, α -SMA 蛋白表达下调。结论:在肾间质纤维化早期使用 2.25 g kg⁻¹、3.0 g kg⁻¹ 枸杞黄可减轻 UUO 大鼠肾间质肌成纤维细胞堆积从而减轻肾间质纤维化。

[关键词]: 肾间质纤维化; 肌成纤维细胞; 枸杞黄清膏; 单侧输尿管梗阻

[中图分类号] [文献标识码] [文章编号]

Primary study on antifibrosis mechanism of Huaiqihuang in UUO rats

PU Jin-yun, ZHOU Jian-hua (Department of Pediatrics, Affiliated Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Hubei Wuhan 430030, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To design this experiments to evaluate therapeutic effects of Chinese herbal medicine Huaiqihuang(HQH) on obstructive kidneys and explore the involved mechanism. **METHODS** Wistar rats were randomly assigned to five groups, 5 rats in each group. Rats in control groups received sham operation and normal saline. Rats in model groups and treatment groups were intragastrically administrated normal saline and different doses of Huaiqihuang (Low-dose 1.5 g kg⁻¹, Mid-dose 2.25 g kg⁻¹, High-dose 3.0 g kg⁻¹) respectively from D3 after left ureter ligation. Protein expressions of α -SMA in obstructive kidneys were analyzed by IHC and western blots. **RESULTS** After rats were sacrificed on D14, histopathological changes were observed, UUO rats on D14 showed significant tubulointerstitial lesions with severe fibrosis. Clusters of myofibroblasts appeared in renal institium. Mid-dose and High-dose rather than low-dose treated rats showed lesions and fibrosis of mild degrees. The study revealed that both Mid-dose and High-dose significantly decreased accumulation of myofibroblasts in renal institium and reduced α -SMA protein expression. **CONCLUSION** 2.25 g kg⁻¹ and 3.0 g kg⁻¹ HQH at early stage of renal fibrosis can effectively attenuate renal interstitial fibrosis by inhibiting accumulation of myofibroblasts.

KEY WORDS: renal fibrosis; myofibroblasts; Huaiqihuang; UUO

肾间质纤维化 (renal interstitial fibrosis, RIF) 是所有慢性肾脏疾病的共同病理学特征。肾脏纤维化以肾间质中炎性细胞出现及胶原成分聚集增多为主要特点, 伴肾小管萎缩和扩张变形, 小管周围毛细血管减少, 肾单位进行性破坏等病变。肾间质纤维化发展最终导致肾脏功能衰竭^[1]。成纤维细胞和肌成纤维细胞过度增生是肾间质纤维化的重要特征之一。正常肾脏间质中存在成纤维细胞 (fibroblast)。机械力, 细胞因子和其他因素都可诱导成纤维细胞获得肌成纤维细胞表型 (myofibroblast)^[2]。肌成纤维细胞通常指活化或分化的成纤维细胞。与成纤维细胞不同, 肌成纤维细胞的重要特征是具有收缩功能, 其物质基础是 α -smooth muscle actin(α -SMA)蛋白的从头合成。因此, α -SMA 蛋白常被用作肌成纤维细胞的标记。肾间质纤维化发生的最终效应是间质区域大量胞外基质沉积, 主要成分为胶原纤维蛋白^[3]。利用 GFP 基因呈报小鼠证实, UUO 模型中约 75% 的产 I 型胶原细胞表达 α -SMA 蛋白, 提示肌成纤维细胞是过量的细胞外基质 (Extracellular matrix, ECM) 的主要来源^[4-5]。研究发现某些药干预此过程以及相关 ECM 过度产生^[6]。

枸杞黄清膏 (Huai QiHuang, HQH) 是中成药制剂枸杞黄颗粒的原药, 是槐耳菌质、枸杞和黄精的复合制剂。槐耳中富含的多糖类化合物槐耳多糖 (PS-T)^[7], 可调节机体免疫功能。由于其无明显的毒副作用和温和的药理作用, 已经作为辅药被广泛应用于儿科临床, 用于改善肾脏病相关临床症状, 提高儿童免疫力。但有关 HQH 对病变肾脏的远期影响的实验研究相对匮乏, 其临床价值也未受到足够重视。本研究采用大鼠 UUO 模型, 在肾间质纤维化初期 (UUO 3 d) 开始每天给予低剂量 (1.5 g kg⁻¹)、中剂量 (2.25 g kg⁻¹)、高剂量 (3.0 g kg⁻¹) 枸杞黄水溶液灌胃治疗, 观察早其对肾间质纤维化晚期 (UUO 14 d) 的影响, 并探讨枸杞黄

清膏干预肾间质纤维化的机制。

1 材料

1.1 药物及主要试剂 槐杞黄清膏 (HQH) 由江苏盖天力药业有限公司提供 (批号为 CA10), 置于 4 °C, 避光密封备用。小鼠来源抗大鼠 α -SMA 抗体购自武汉博士德公司。

1.2 动物 SPF 级雄性 Wistar 大鼠, 体质量 180~200 g, 由同济医院动物实验中心提供。造模前适应性喂养 3 d, 成模期间自由摄取饲料和净化水。

2 方法

2.1 分组 将 Wistar 大鼠随机分为假手术组、UUO 手术组、1.5 g kg⁻¹ 槐杞黄清膏治疗组、2.25 g kg⁻¹ 槐杞黄清膏治疗组、3.0 g kg⁻¹ 槐杞黄清膏治疗组, 每组 5 只。

2.2 肾间质纤维化模型的建立及给药 采用左侧输尿管结扎法构建大鼠肾间质纤维化模型。10%水合氯醛 3 ml kg⁻¹ ip 麻醉大鼠后, 取仰卧位固定。备皮后, 经腹正中偏左纵切口 2 cm, 打开腹腔, 暴露左侧输尿管并钝性分离, 于近肾盂段处和左髂动脉处用 4-0 线双重结扎输尿管, 并在两线结之间剪断输尿管, 关闭腹腔。假手术组只分离左侧输尿管, 不结扎。模型建立后第 3 d 起, 每 24 h 分别给予低、中、高剂量组大鼠 1.5 g kg⁻¹, 2.25 g kg⁻¹、3.0 g kg⁻¹ 溶于生理盐水的槐杞黄清膏灌胃。假手术组与模型组大鼠给予 10 ml kg⁻¹ 生理盐水。在术后 14 d 处死, 获取肾脏标本。

2.3 样品采集及观察指标的检测

2.3.1 HE 染色: 取梗阻侧肾上极 2 mm×2 mm×2 cm 组织, 置于 4%多聚甲醛固定 24 h, 石蜡包埋, 切片。常规脱蜡至水, 行 HE 染色。在 200 倍镜下, 随机选取 10 个不重叠视野。根据肾小管扩张、小管萎缩、间质水肿、间质纤维化和间质炎症细胞浸润 5 项病变指标进行评分。无: 0 分; 轻度: ≤25%, 1 分; 中度: ≤50%, 2 分; 重度: >50%, 3 分。统计量为 10 个视野得分的平均值。

2.3.2 Masson 染色: 染色前, 将切片浸入 Bovein 氏液中, 37 °C, 1 h。按 Masson 三色法染色后, 在 400 倍镜下, 随机选取 10 个不重叠视野。根据纤维化面积评价纤维化程度。

2.3.3 免疫组化: 切片常规脱蜡至水后, 置于 0.01 M 枸橼酸钠缓冲液中高压法修复抗原 3 min。自然冷却后, 3%过氧化氢避光封闭 10 min, 5% BSA 37 °C 30 min。滴加 α -SMA 一抗 (1:400), 4 °C 过夜。PBS 浸洗, 滴加 HRP 标记二抗, 室温 1 h。DAB 显色, 镜下控制。200 倍视野下随机选取 5 个不重叠视野, 计算阳性区域的面积后取平均值。

2.3.4 Western Blot 检测: 将大鼠肾脏离体后, 放入液氮冷冻 24 h 后移入 -80 °C 冰箱保存。称取肾组织 50~100 mg, 加入适量 RIPA 和 PMSF 迅速充分匀浆。置于冰上裂解 30 min 后, 4 °C, 12 000 r min⁻¹ 离心 5 min。用 Bradford 法测总蛋白浓度后, 加入上样缓冲液, 95 °C, 5 min 变性组织蛋白提取物。SDS-PAGE 凝胶电泳, 转膜后依次孵育一抗、二抗。用 ECL 发光法检测 GAPDH 及 α -SMA 蛋白表达。

2.4 统计学处理: 数据以均数±标准误 ($\bar{x}\pm s$) 表示, 采用 SPSS 13.0 统计软件利用 ANOVA 方法进行组间差异显著性检验, 以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 槐杞黄清膏对 UUO 大鼠梗阻侧肾脏质量的影响 肉眼观察, 假手术组肾脏大小形态正常, 颜色暗红; 手术组梗阻侧肾脏明显肿大, 颜色变浅, 有囊性感, 内含褐色浑浊尿液, 肾实质变薄, 表面可见针尖样白点。UUO 大鼠梗阻侧肾脏和非梗阻侧肾脏重量均明显增加。使用不同剂量槐杞黄后, 梗阻侧肾脏重量/体质量无明显改变; 而中、高剂量槐杞黄可减少非梗阻侧肾脏质量/体质量比。

表 1 槐杞黄清膏对 UUO 大鼠双侧肾重/体质量比的影响 ($\bar{x}\pm s$, n=5)

Tab 1 Effects of HQH on ratio of kidney weight to body weight of UUO rats ($\bar{x}\pm s$, n=5)

| 分组 | 体质量/g | 梗阻侧肾重/体质量 mg g ⁻¹ |
|--------------------------|-------------|---------------------------------|
| 假手术组 | 273.8±22.83 | 3.70±0.53 |
| UUO 组 | 255.2±38.30 | 6.95±1.48* |
| 1.5g kg ⁻¹ 组 | 262.8±18.21 | 6.85±1.07 |
| 2.25g kg ⁻¹ 组 | 268.5±11.24 | 6.69±1.14 |
| 3.0g kg ⁻¹ 组 | 285.8±17.57 | 6.49±0.24 |

注: * $P<0.05$, 与模型组相比。 * $p<0.05$, vs. UUO.

3.2 槐杞黄清膏减轻 UUO 大鼠肾间质损伤 HE 染色显示, 假手术组肾小管及肾小球形态和结构无明显异常, 间质区未见炎性细胞浸润和纤维沉积病变 (图 1 D)。UUO 大鼠肾小球形态及结构基本正常, 部分肾小管上皮细胞扁平、管腔扩张、间质区明显变宽, 大部分肾小管管腔塌陷及萎缩, 间质区域增宽, 弥漫性炎症细胞浸润和纤维化 (图 1 E), 肾间质损伤评分达 10 分以上 (图 1 F)。尽管, 间质病变严重程度并非均匀分布, 但这些病理改变在大部分间质

区域都可观察到。中剂量枸杞黄清膏治疗 UUO 大鼠后，肾间质炎性细胞减少，纤维化程度减轻，萎缩小管区域缩小，肾间质损伤明显好转(图 1 B, $P<0.05$)。高剂量枸杞黄清膏治疗后，肾间质损伤显著改善 (图 1 C, $P<0.01$)。但低剂量枸杞黄清膏未能明显减轻肾间质损伤 (图 1 A)。

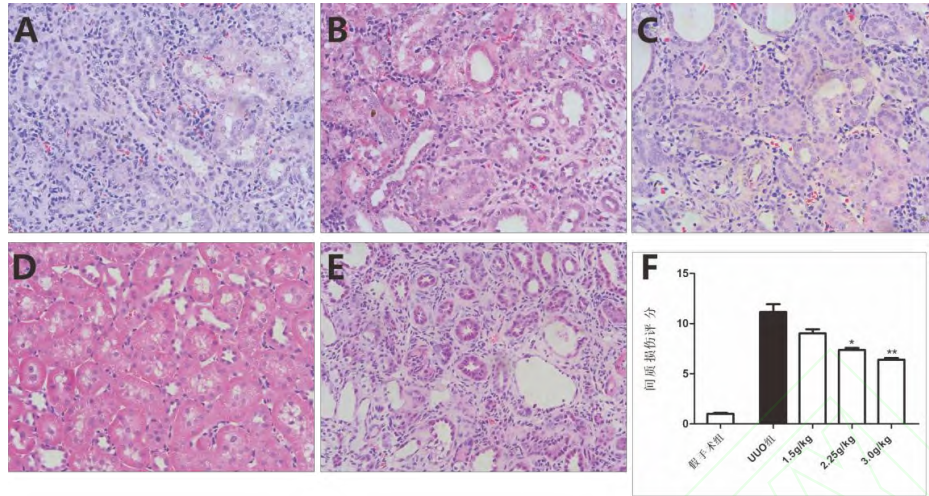


图 1 枸杞黄清膏减轻 UUO 大鼠肾间质损伤 (HE 染色, $\times 200$)

A. 1.5 g kg^{-1} 枸杞黄清膏治疗组; B. 2.25 g kg^{-1} 枸杞黄清膏治疗组; C. 3.0 g kg^{-1} 枸杞黄清膏治疗组; D. 假手术组; E. UUO 组; F. 肾间质损伤评分。数据表示为平均值 \pm 标准误, * $P<0.05$, ** $P<0.01$, 与模型组相比。

Fig 1 Huaiqihuang alleviated renal tubulointerstitial lesions in UUO rats (HE staining, $\times 200$)

A. 1.5 g kg^{-1} HQH-treated rats; B. 2.25 g kg^{-1} HQH-treated rats; C. 3.0 g kg^{-1} HQH-treated rats; D. sham rats; E. UUO rats; F. Tubulointerstitial injury scores in each group. Data were expressed as mean \pm S.E.M of 5 rats. * $p<0.05$, vs. UUO. ** $p<0.01$, vs. UUO.

3.3 枸杞黄清膏减轻 UUO 大鼠肾间质纤维化 Masson 染色显示, 假手术组胶原主要位于肾小球及肾小管基底膜, 间质区无着色 (图 2 D)。UUO 大鼠梗阻侧肾间质增宽, 萎缩肾小管周围大量胶原纤维沉积, 部分区域呈团块状集聚 (图 2 E)。中剂量枸杞黄清膏治疗后, 间质纤维胶原沉积减少, 萎缩小管区域减少, 大部分病变区域胶原呈丝状沉积, 部分区域可见团块状积聚 (图 2 B), 纤维化病变明显好转 ($P<0.05$)。高剂量枸杞黄清膏治疗后, 部分病变区域可见丝状胶原沉积, 偶见团块状沉积。

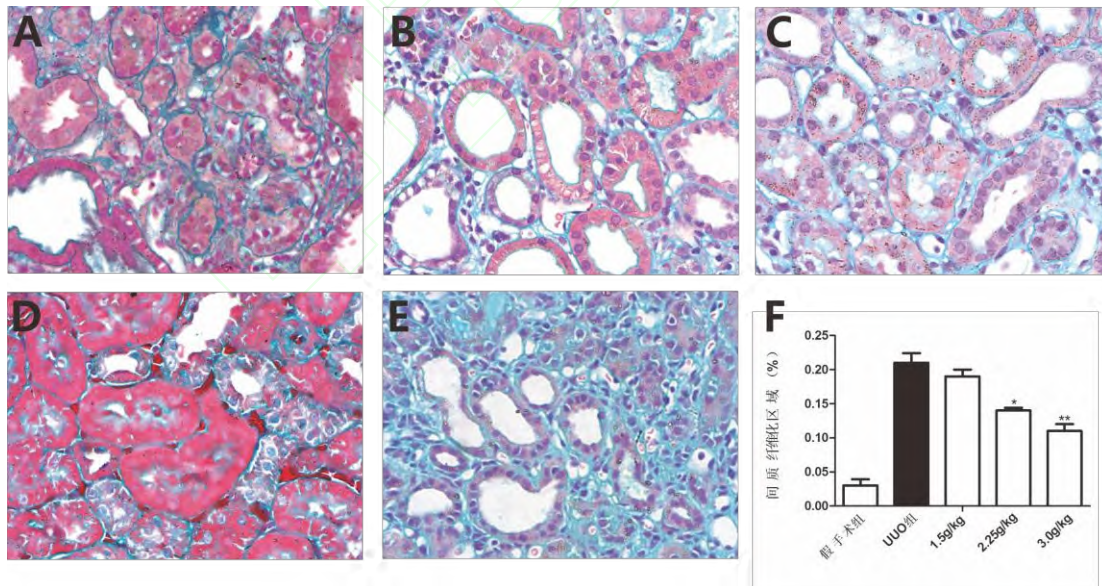


图 2 枸杞黄清膏减少 UUO 大鼠肾间质胶原沉积 (Masson 染色, $\times 400$)

A. 1.5 g kg^{-1} 枸杞黄清膏治疗组; B. 2.25 g kg^{-1} 枸杞黄清膏治疗组; C. 3.0 g kg^{-1} 枸杞黄清膏治疗组; D. 假手术组; E. UUO 组; F. 肾脏间质胶原沉积区域面积。数据表示为平均值 \pm 标准误, * $P<0.05$, ** $P<0.01$, 与模型组相比。

Fig 2 Huaiqihuang decreased renal interstitial collagen content in UUO rats (Masson staining, $\times 400$)

A. 1.5 g kg^{-1} HQH-treated rats; B. 2.25 g kg^{-1} HQH-treated rats; C. 3.0 g kg^{-1} HQH-treated rats; D. Sham rats; E. UUO rats; F. percentage of interstitial collagen deposition areas in kidney tissues examined by Masson trichrome staining. Tubulointerstitial injury scores in each group. Data were expressed as mean \pm S.E.M of 5 rats. * $p<0.05$, vs. UUO. ** $p<0.01$, vs. UUO.

3.4 枸杞黄清膏减少 UUO 大鼠肾间质肌成纤维细胞聚集及下调 α -SMA 蛋白表达 为探究该药是否通过影响肌成纤维细胞聚集从而改善间质纤维化,采用蛋白免疫印迹方法检测梗阻侧肾脏组织中 α -SMA 蛋白表达水平。结果显示,正常肾脏极少表达 α -SMA,梗阻侧肾脏 α -SMA 表达水平显著升高。中剂量枸杞黄清膏可明显降低梗阻侧肾脏 α -SMA 蛋白水平表达 ($P < 0.05$),高剂量枸杞黄清膏显著下调 α -SMA 蛋白表达 ($P < 0.01$) (图 3 F、H)。

免疫组化结果显示,假手术组血管壁平滑肌细胞 α -SMA 表达呈强阳性,肾小球和肾小管上皮细胞无着色,肾皮间质区阳性细胞稀疏散在 (图 3 D)。UUO 大鼠梗阻侧肾脏间质中肌成纤维细胞较假手术组明显增多,主要围绕在萎缩或扩张的肾小管周围 (图 3 E)。中剂量枸杞黄清膏治疗 UUO 大鼠后,可见间质内肌成纤维细胞堆积明显减少 ($P < 0.05$)。高剂量枸杞黄清膏治疗 UUO 大鼠后,间质内肌成纤维细胞堆积显著减少 ($P < 0.01$),甚至某些区域未见肌成纤维细胞。

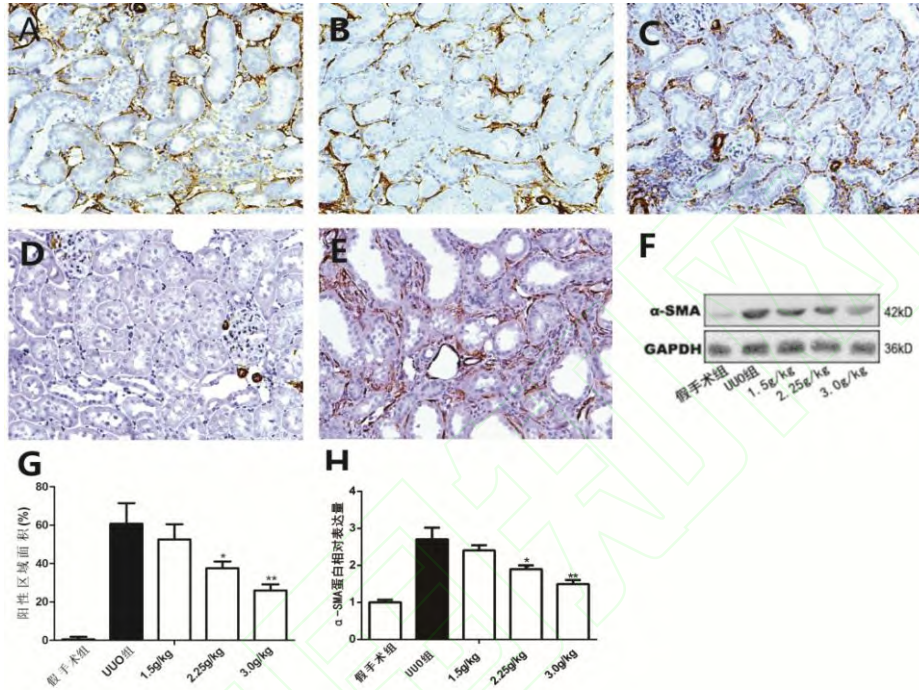


图 3 枸杞黄清膏减少 UUO 大鼠肾间质肌成纤维细胞聚集(A-E, 免疫组化 $\times 200$; F, 蛋白免疫印迹)

A. 1.5 g kg^{-1} 枸杞黄清膏治疗组; B. 2.25 g kg^{-1} 枸杞黄清膏治疗组; C. 3.0 g kg^{-1} 枸杞黄清膏治疗组; D. 假手术组; E. UUO 组; F. α -SMA 蛋白在各组大鼠肾组织的表达; G. 各组大鼠肾组织间质 α -SMA 阳性区域面积比例; H. 肾组织 α -SMA 蛋白相对表达量。数据表示为平均值 \pm 标准误, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, 与模型组相比。

Fig 3 Huaiqihuang decreased the accumulation of myofibroblasts in the UUO rats (A-E, IHC, $200\times$; F, Western Blot)

A. 1.5 g kg^{-1} HQH-treated rats; B. 2.25 g kg^{-1} HQH-treated rats; C. 3.0 g kg^{-1} HQH-treated rats; D. Sham rats; E. UUO rats; F. expression of α -SMA in kidney tissues as determined by western blot ($n=5$); G. percentages of α -SMA-positive area relative to the whole area in kidney tissues ($n=5$), GAPDH was used as the internal control; H. relative protein expression of α -SMA in kidneys. Data were expressed as mean \pm S.E.M of 5 rats. * $p < 0.05$, vs. UUO. ** $p < 0.01$, vs. UUO.

4 讨论

大鼠 UUO 模型被广泛用于研究肾脏纤维化。压力性及渗透性因素导致肾小管损伤引起快速进展性肾间质纤维化^[8]。与前人研究一致, UUO 模型梗阻侧肾脏在 14 d 表现为大部分近端肾小管萎缩,远端肾小管明显扩张,间质大量炎性细胞浸润,并伴随大量胶原纤维沉积 (图 1 E、图 2 E)。在纤维化间质区域内往往存在大量肌成纤维细胞。纤维化病变越严重,肌成纤维细胞约密集,呈簇状分布 (图 3 E)。

本实验发现,低剂量枸杞黄清膏不能明显减轻 UUO 大鼠肾间质损伤,改善间质纤维化病变;而中、高剂量枸杞黄清膏可减轻 UUO 大鼠肾间质纤维化程度 (图 2 B、图 2 C)。并且,高剂量枸杞黄对纤维化肾脏的影响更为显著 (图 1 F、图 2 F)。本实验结果提示,枸杞黄清膏以剂量依赖方式减轻肾间质纤维化。

UUO 模型中,肾小管内流体动力学的改变导致肾小管上皮细胞骨架重排,表型改变,以及促纤介质和促炎介质产生。由于成纤维细胞与肾小管基底膜接触,因此小管内的生化状况可间接导致其转变为肌成纤维细胞表型^[9-10]。引起肾脏纤维化的原发疾病之间的差异性决定了产基质细胞的来源不同。另外,在纤维化发展不同时期产基质细胞的来源并不完全相同。

体内示踪研究均提示在 UUO 模型中, 肾间质细胞是肌成纤维细胞的主要来源, 包括成纤维母细胞, 周皮细胞和血管周细胞。其中, 50% 肌成纤维细胞由成纤维细胞增生分化而来, 35% 来自骨髓细胞分化, 10% 来自内皮细胞转分化, 5% 来自肾小管上皮细胞转分化^[11]。肾间质纤维化进程中, 间质固有成纤维细胞转化为肌成纤维细胞与其增殖有关。骨髓来源的成纤维细胞在肾间质纤维化过程中并不增殖, 而表现为迁移和分化过程^[11]。成纤维细胞和肌成纤维细胞过度增生是肾间质纤维化的特点之一^[11]。已经发现有许多药物可干预肌成纤维细胞堆积于肾间质从而改善肾脏纤维化。UUO 术后 1 d 即有成纤维细胞增殖为肌成纤维细胞, 并可检测到 α -SMA^[12]。本实验中, UUO 大鼠在术后 3 d 接受槐杞黄清膏治疗, 此时肾间质已经存在肌成纤维细胞。结果显示, 中、高剂量槐杞黄清膏可减少间质肌成纤维细胞聚集(图 3 B、C)。这提示即使纤维化进程已经开始, 槐杞黄清膏仍可通过影响减少肌成纤维细胞聚集干预肾间质纤维化进程。尽管本实验并未在细胞水平证实槐杞黄对成纤维细胞增殖及骨髓源性成纤维细胞迁移的影响, 但许多实验已证实槐杞黄清膏或其活性成分槐耳多糖具有影响细胞增殖和迁移的生物学活性。槐耳清膏可抑制系膜细胞合成分泌细胞外基^[13]。槐耳浸膏能抑制胰腺癌细胞 Panc-1 的增殖^[14], 诱导人直肠癌 HR8348 细胞凋亡^[15]。离体实验证实, 槐耳清膏对高转移潜能人肝癌细胞株 MHCC97H 细胞的黏附、运动、侵袭能力均有抑制作用^[16]。槐耳可抑制人胃癌 MGC803 细胞迁移, 且通过诱导细胞凋亡的方式有效抑制该细胞生长^[17]。槐耳清膏对抗肿瘤细胞的作用机制提示其可能通过抑制间质肌成纤维细胞增生、促进肌成纤维细胞凋亡或减少外周血来源的肌成纤维细胞迁移减少肾间质肌成纤维细胞堆积发挥抗纤维化作用。

本实验证明, 在肾脏纤维化发生早期使用 $2.25 \text{ g kg}^{-1} \text{ d}^{-1}$ 、 $3.0 \text{ g kg}^{-1} \text{ d}^{-1}$ 槐杞黄清膏可通过减少肌成纤维细胞聚集从而减轻 UUO 大鼠晚期肾间质纤维化程度。此项研究从动物在体水平证实槐杞黄清膏可对抗肾间质纤维化, 为临床医生提供了有关该药治疗慢性肾脏病的实验学依据。但其抑制肌成纤维细胞聚集的机制有待更深入的研究。

参考文献:

- [1] Becker G J, Hewitson T D. The role of tubulointerstitial injury in chronic renal failure [J]. *Current opinion in nephrology and hypertension*, 2000, 9(2): 133-138.
- [2] Hinz B. The myofibroblast: paradigm for a mechanically active cell [J]. *Journal of biomechanics*, 2010, 43(1): 146-155.
- [3] Miyazaki M, Nishino T, Abe K, et al. Regulation of renal extracellular matrix metabolism [J]. *Contributions to nephrology*, 2003, 139,141-155.
- [4] Lin S L, Kisseleva T, Brenner D A, et al. Pericytes and perivascular fibroblasts are the primary source of collagen-producing cells in obstructive fibrosis of the kidney [J]. *The American journal of pathology*, 2008, 173(6): 1617-1627.
- [5] Hinz B, Phan S H, Thannickal V J, et al. The myofibroblast: one function, multiple origins [J]. *The American journal of pathology*, 2007, 170(6): 1807-1816.
- [6] Boor P, Sebekova k, Ostendorf T, et al. Treatment targets in renal fibrosis [J]. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*, 2007, 22(12): 3391-3407.
- [7] 郭跃伟. 槐耳菌丝体多糖的研究_槐耳多糖的组成及摩尔比测定 [J]. *中国药科大学学报*, 1992, 23(3):155-157.
- [8] Gaudio K M, Siegel N J, Hayslett J P, et al. Renal perfusion and intratubular pressure during ureteral occlusion in the rat [J]. *The American journal of physiology*, 1980, 238(3): F205-209.
- [9] Li L, Zepeda-orozco D, Patel V, et al. Aberrant planar cell polarity induced by urinary tract obstruction [J]. *American journal of physiology Renal physiology*, 2009, 297(6): F1526-1533.
- [10] Rohatgi R, Flores D. Intratubular hydrodynamic forces influence tubulointerstitial fibrosis in the kidney [J]. *Current opinion in nephrology and hypertension*, 2010, 19(1): 65-71.
- [11] Lebleu V S, Taduri G, O'connell J, et al. Origin and function of myofibroblasts in kidney fibrosis [J]. *Nature medicine*, 2013, 19(8): 1047-1053.
- [12] Picard N, Baum O, Vogetseder A, et al. Origin of renal myofibroblasts in the model of unilateral ureter obstruction in the rat [J]. *Histochemistry and cell biology*, 2008, 130(1): 141-155.
- [13] 王紫. 槐杞黄浸膏通过 smad2 依赖的转化生长因子 TGF β 1 途径抑制大鼠系膜细胞增殖及 CTGF 合成 [J]. *华中科技大学学位论文*, 2011,
- [14] 周进, 李德春, 匡玉庭. 金克(槐耳清膏)抑制胰腺癌细胞 Panc-1 生长转移的实验研究 [J]. *苏州大学学报(医学版)*, 2005(02):226-228.
- [15] 程若川, 汤礼贵, 兰丽琴. 槐耳清膏诱导人直肠癌 HR8348 细胞凋亡的实验研究 [J]. *中国肿瘤*, 2003, 2003(02):63-65.
- [16] 李立新. 槐耳浸膏对人肝癌高转移细胞系转移的抑制作用研究 [J]. *中国肿瘤*, 2006, 2006. 15(4):265-268.
- [17] 卢洁. 槐耳对人胃癌细胞 MGC803 增殖和凋亡的影响 [J]. *中国中西医结合消化杂志*, 2013, 11:580-583.

收稿日期: 2014-08-25

[作者简介]蒲金赟, 男, 博士在读, 研究方向: 儿童肾脏疾病, 电话: 027-83663297, E-mail: 474006038@qq.com [通讯作者]
周建华, 男, 教授, 博士生导师, 研究方向: 儿童肾脏疾病研究, E-mail: jhzhou@tjh.tjmu.edu