

螺内酯对单肾切除糖尿病大鼠肾脏保护作用研究 *

李 庆¹ 陈 城² 谢利平² 刘晓燕² 施 辉^{1△}

(1 南通大学医学院 江苏 南通 226000 2 南京医科大学 江苏 南京 210029)

摘要 目的:研究螺内酯对单肾切除糖尿病 SD 大鼠的肾脏保护作用及机制。方法:48 只雄性 SD 大鼠随机分为单肾切除对照组 C 组、单肾切除糖尿病模型组 D 组、单肾切除糖尿病螺内酯干预组 S 组(50mg/kg/day 灌胃)。给药 6 周后观察各组大鼠生化指标改变,肾组织形态学改变,RT-PCR 及 Western Blot 检测肾组织中 HGF 水平的变化。结果:给药 6 周后,D 组与 C 组相比,血糖、24h 尿蛋白定量、尿素氮、血肌酐和肾重/体重显著增高($P<0.05$)。螺内酯治疗后可降低糖尿病大鼠的 24h 尿蛋白定量和肾重/体重,但对其它指标无明显影响。形态学显示,D 组与 C 组相比肾小球系膜区细胞外基质增多及系膜细胞增生,肾小球基底膜增厚,足细胞足突融合、消失。螺内酯治疗后上述病理改变均有不同程度的减轻;RT-PCR、Western Blot 结果显示 D 组和 S 组 HGF 表达均增加($P<0.05$),而 D 组 HGF 表达明显低于螺内酯治疗组。结论:螺内酯可能通过上调 HGF 的水平从而起到保护糖尿病大鼠肾脏作用。

关键词 螺内酯;肝细胞生长因子(HGF);糖尿病肾病(DN)

中图分类号 Q95-3 R587.2 **文献标识码** A **文章编号** 1673-6273(2011)06-1097-05

Protection of Spironolactone on the Kidney in Diabetic Rats Undergoing Mono-nephrectomy*

LI Qing¹, CHEN Cheng², XIE Li-ping², LIU Xiao-yan², SHI Hui^{1△}

(1 The medicine college of Nantong university, 226000, Nantong China; 2 Nanjing medical university, 210029 Nanjing China)

ABSTRACT Objective: To investigate the effect of spironolactone on the mono-nephrectomy diabetic SD rats and to explore the possible mechanism. **Methods:** 48 male SD rats were randomly divided into three groups: mono-nephrectomy control rats (group C), mono-nephrectomy diabetic rats (group D), and mono-nephrectomy diabetic rats treated with spironolactone (group S, 50mg/kg/day, intragastric administration). 6 weeks after treatment, biochemical indicators and renal tissue morphology were detected. The mRNA and protein expression levels of HGF were detected by RT-PCR and Western Blot respectively. **Results:** Blood sugar, 24 hours urinary protein, serum creatinine (SCr), urea nitrogen (BUN), and ratio of renal weight/ body weight increased in mono-nephrectomy diabetic rats (group D) compared with those in the mono-nephrectomy control rats (group C) ($P<0.05$). Spironolactone could decrease the 24 hours urinary protein and ratio of renal weight/ body weight, but had no obvious effect on the other indicators in diabetic rats. Compared with group C, there was the expansion of extracellular matrix with proliferated intercapillary cells in the expanded mesangial area, the thickening of basement membrane (GBM) in group D. Foot processes even fused or disappeared in the rats of group D. Meanwhile, the renal pathologic changes as above were improved in the rats of group S. The mRNA and expression of HGF were up-regulated in the rats of group D and S, especially in the group S ($P<0.05$). **Conclusion:** Spironolactone ameliorates the glomerular injury in diabetic rats presumably via up-regulation of HGF expression level.

Key words: Spironolactone; Hepatocyte growth factor (HGF); Diabetic nephropathy(DN)

Chinese Library Classification: Q95-3, R587.2 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2011)06-1097-05

前言

近年来,糖尿病的发病率明显增高,其慢性并发症糖尿病肾病(DN)的发生也随之上升,DN是导致慢性肾功能不全的首要原因^[1]。同时DN还是1型糖尿病患者死亡的首要原因。在

2型糖尿病患者中则仅次于糖尿病性心血管及脑血管疾病^[2]。因此采用有效的途径延缓DN的发生、发展是当今社会的一个研究热点。严格控制血糖、血压,使用血管紧张素转化酶抑制剂(ACEI)或血管紧张素受体拮抗剂(ARB)等是目前治疗糖尿病肾病的主要措施^[3]。在肾素-血管紧张素-醛固酮系统

* 基金项目:南通市社会发展科技计划 螺内酯对单肾切除糖尿病大鼠的保护机制(s2008054)

作者简介:李庆(1982-)女,硕士研究生,主要研究方向:糖尿病肾病。电话:13405746162, E-mail: 450049771@qq.com

△通讯作者:施辉,主任医师,硕士生导师,教授,江苏省肾脏病学会委员,南通市肾脏病与风湿病学会副主任委员。

电话:15962991166, E-mail: ntfyshi@163.com

(收稿日期:2011-01-05 接受日期:2011-01-29)

(RAAS)中,血管紧张素 转化酶抑制剂或血管紧张素 受体拮抗剂对肾脏的保护作用已得到人们的公认^[4],但对醛固酮研究较少。螺内酯作为醛固酮受体拮抗剂,是常用的利尿剂。近年来其研究表明,螺内酯具有预防和减轻组织器官纤维化功能,对肾脏有保护作用^[5,6],但其具体的作用机制仍不清楚。本研究旨在研究螺内酯对糖尿病肾病的保护作用及可能机制。

1 材料与方法

1.1 主要材料

链尿佐菌素(STZ)购自 Sigma 公司、兔抗 HGF 多克隆抗体、鼠抗 β -actin 购自 Santa cruz,羊抗兔二抗、羊抗鼠二抗购自碧云天生物技术研究。螺内酯购自江苏瑞年前进制药公司。PVDF 膜为美国 Millipore 公司产品。ECL 发光试剂购自 Pierce 公司。

1.2 实验动物及分组

雄性 SD 大鼠 6 周龄,体重 180~200 g,清洁级,南通大学实验动物中心提供。随机分为 3 组 C 组单肾切除对照组, D 组单肾切除糖尿病模型组, S 组单肾切除糖尿病螺内酯干预组。

1.3 实验动物模型的制备及药物干预

按 Anderson S 等建立的方法,动物适应 1 周后,SD 大鼠腹腔内注射戊巴比妥钠(40mg/kg)麻醉,行右肾切除术^[7]。2 周后切口愈合,糖尿病模型组大鼠单次腹腔注射溶于 0.1%枸橼酸钠缓冲液(PH=4.4)的 STZ(50mg/kg),单肾切除对照组(C 组)腹腔注射等体积枸橼酸钠缓冲液,72 h 后血糖高于 16.67 mmol/L、尿糖 ++~++++ 者确定为糖尿病模型制作成功。糖尿病模型制备成功后开始给予螺内酯干预,按 50mg/kg/day 灌胃给予螺内酯, C 组、D 组给予等量 CMC。所有动物标准饮食自由饮水饮食,不使用降糖药,每周测血糖 1 次。药物干预 6 周后进行标本收集和各项指标的检测。

1.4 实验方法

1.4.1 标本收集和处理 药物干预 6 周末,代谢笼收集 24 h 尿量,测 24h 尿蛋白(24 h Upro)和肌酐,断食禁食 12h 麻醉后腹股沟动脉取血测血糖(FBG)、血钾(K⁺)、尿素氮(BUN)、肌酐(SCr),灌洗后,切取左肾,去掉被膜,滤纸吸干灌洗平衡液后称重,部分组织以 10%中性甲醛固定,石蜡包埋,制成 3 μ m 切片,行常规 PAS 染色。肾下极取肾皮质,DEPC 水冲洗后入含 TRIzol 的冷冻离心管, -70℃液氮保存提取总 RNA。

1.4.2 血尿生化指标测定 磺柳酸比浊法测定 24 h Upro; 罗氏血糖仪和血糖试纸检测 FBG,强生公司全自动生化分析仪测定 SCr、BUN、血 K⁺。

1.4.3 肾组织的病理学改变 肾组织经固定、脱水、包埋、切片,各组肾组织石蜡切片厚 3 μ m 行常规 PAS 染色,光镜下观察。PAS 染色切片用图像分析系统检测。每张切片取 6 个完整的肾小球、计算肾小球系膜区面积占肾小球面积的比值。所有切片均统一编号,盲法观察。

1.4.4 肾组织超微结构改变 取肾组织近下极 0.1cm $\times$ 0.1 cm $\times$ 0.1 cm 大小的组织 2-3 块。2.5%戊二醛前固定,1%锇酸后固

定,美国 RMC 公司 PT. XL 型超薄切片机切片,醋酸双氧铀、柠檬酸铅双重染色,日本 JEOL 公司 JEM-1010 型透射电镜观察、拍照。

1.4.5 RT-PCR 取液氮冻存的肾组织,按试剂说明书,用 TRIzol (宝生物 Takara)分离肾组织总 RNA。取总 RNA 提取液 2 μ l,用三蒸水稀释 500 倍后,用紫外分光光度计检测其 A260 和 A280 值,确定 RNA 的纯度和量。取 2 μ g 总 RNA 用作 cDNA 合成,反应体积为 20 μ l 进行 RT-PCR 扩增, HGF 上下游引物序列为 5'-TCC CCT GTC ATA GGT AGT-3' 和 5'-GAT TTG GTG GTT CCC CTG-3' (扩增片段为 547bp)。PCR 扩增条件为 95℃ 5min, 94℃ 30s, 56℃ 30s, 72℃ 40s, 共 33 个循环,最后 72℃ 延伸 5min。内参 β -actin 的上下游引物为 5'-GGA CTA CTA CGC CAA AGA AG-3' 和 5'-TCA AAA GAC AGC CAC TCA GG-3' (扩增片段为 238bp)PCR 扩增条件为 94℃ 2min, 1 个循环, 94℃ 30s, 58℃ 30s, 72℃ 2min, 共进行 30 个循环,最后 72℃ 延伸 6min。将 PCR 产物在 1.7%琼脂糖凝胶中进行电泳,置于凝胶图像分析系统,PCR 条带密度采用 Scion image 图像分析软件半定量分析。以管家基因 β -actin 为内参照校正,用目的基因的吸光度与 GAPDH 吸光度的比值代表目的基因的相对表达含量。每个样本的每个指标重复做三次,取其均值。

1.4.6 Western Blot 肾脏组织液氮快速冷冻,然后加入裂解液 (PH7.6, 8g/L NaCl, 3.9g/L Tris-base, 2.1g/L NaF, 0.184g/L Na₃VO₄, 10ml Triton-X100, 1mmol/L PMSF, 1 μ g/mL aprotinin, 10 μ g/mL Leupeptin)匀浆裂解获取总蛋白,蛋白含量采用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒(美国 Pierce)测定。取总蛋白 60 μ g 经 8% SDS-PAGE 凝胶电泳后,转移至 PVDF 膜上,然后用含 5%脱脂牛奶的 TBS-T 室温封闭 2h,洗膜后加入一抗 HGF α (抗体稀释度 1:500)及内参 β -actin(抗体稀释度 1:1000)4℃ 孵育过夜, TBS-T 洗膜 3 次,每次 5min,加入 1:2000 的辣根过氧化物酶标记的羊抗兔和羊抗鼠 IgG 二抗室温孵育 2h, TBS-T 洗膜 3 次,每次 5min, ECL 显影液显色并曝光成像。图像采用 Image J 分析软件进行灰度分析。

1.5 统计学分析

数据用均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,用 Prime 4.0 分析统计软件进行分析。所有数据进行方差齐性检验后进行单因素方差分析,以 P<0.05 为有统计学意义。

2 结果

2.1 一般检测指标

与对照组 C 组大鼠相比,糖尿病组 D 组及螺内酯干预组 S 组成模大鼠出现多饮、多食、多尿、消瘦等代谢紊乱症状,精神萎靡,反应迟钝,动作迟缓,毛发黄、干、欠光泽,饮水量、尿量明显增加。除血钾外, D 组大鼠血糖、24h 蛋白定量,尿素氮,血肌酐,肾重/体重比均显著升高(P<0.001, P<0.01)见表一。给予螺内酯处理后,可明显降低糖尿病大鼠的 24h 尿蛋白含量(24hUpro)及肾重/体重比,对其他指标无明显影响,见图一。

表 1 各组大鼠一般指标检测结果($\bar{x} \pm s$)
Table 1 The test results of general index in the rats of every group

index	单肾脏切除对照组 C 组 mono-nephrectomy control rats group	单肾脏切除糖尿病组 D 组 mono-nephrectomy diabetic rats group	单肾脏切除螺内酯干预组 S 组 mono-nephrectomy diabetic rats treated with spironolactone group
鼠数 rats number	n=8	n=8	n=8
血糖 blood sugar(mmol/L)	5.52± 0.66	25.32± 3.48b	25.07± 2.64b\
尿素氮 urea nitrogen (mmol/L)	6.16± 1.82	14.05± 2.31b	13.22± 2.47 b
肌酐 serum creatinine(μ mol/L)	61.02± 3.31	75.58± 4.35b	74.97± 4.73 b
血钾 potassium (mmol/L)	4.96± 0.39	4.63± 0.30	5.08± 0.45
肾重 renal weight (g)	2.48± 0.18	3.50± 0.28b	2.85± 0.23d
体重 body weight (g)	408.70± 23.70	320.10± 20.15b	308.42± 15.05d
肾重 / 体重比 ratio of renal weight/ body weight	6.18± 0.36	10.75± 0.77b	9.09± 0.44bd
24 小时尿蛋白 24 hours urinary protein (mg)	5.74± 0.69	21.22± 2.22b	12.01± 1.26d

注 :与 C 组比较 ,bP<0.01 ;与 D 组比较 ,dP<0.01
Note: bP<0.01, group S compared with group C; dP<0.01, group S compared with group D

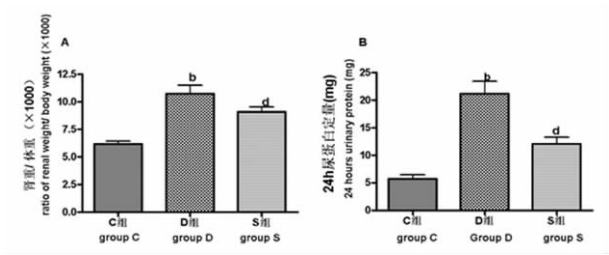


图 1 各组大鼠肾重 / 体重比(A)及 24h 尿蛋白定量(B)变化值。注 :与 C 组比较 ,bP<0.001 ;与 D 组比较 ,dP<0.01
Fig.1 Ratio of renal weight/ body weight and 24 hours urinary protein in the rats of every group Note: bP<0.001,group S compared with group C, ; dP<0.01,group S compared with group D

2.2 各组大鼠肾脏的病理改变
各组大鼠行 PAS 染色显示 ,单肾切除对照组 C 组大鼠肾小球结构基本正常。糖尿病组 D 组大鼠肾小球基底膜增厚 ,细胞外基质 (ECM)增多 ,系膜区扩大 ,螺内酯干预后肾组织病理改变系膜细胞增生较轻 ,细胞外基质增多程度有所减小(图二)。PAS 染色图像分析显示与对照组 C 组相比 ,糖尿病组 D 组大鼠肾小球系膜区面积占肾小球面积的比值明显增加(P<0.01),而给予螺内酯干预后 ,可有效改善大鼠肾小球系膜区面积与肾小球面积比值 ,差异有统计学意义(P<0.01) ,见表二。
电镜下观察 ,C 组大鼠肾小球基底膜 (GBM) ,足细胞足突正常 ,D 组大鼠肾小球 GBM 增厚 ,足细胞足突融合、消失 ,螺内酯干预后上述病理改变均有不同程度的减轻(图三)。

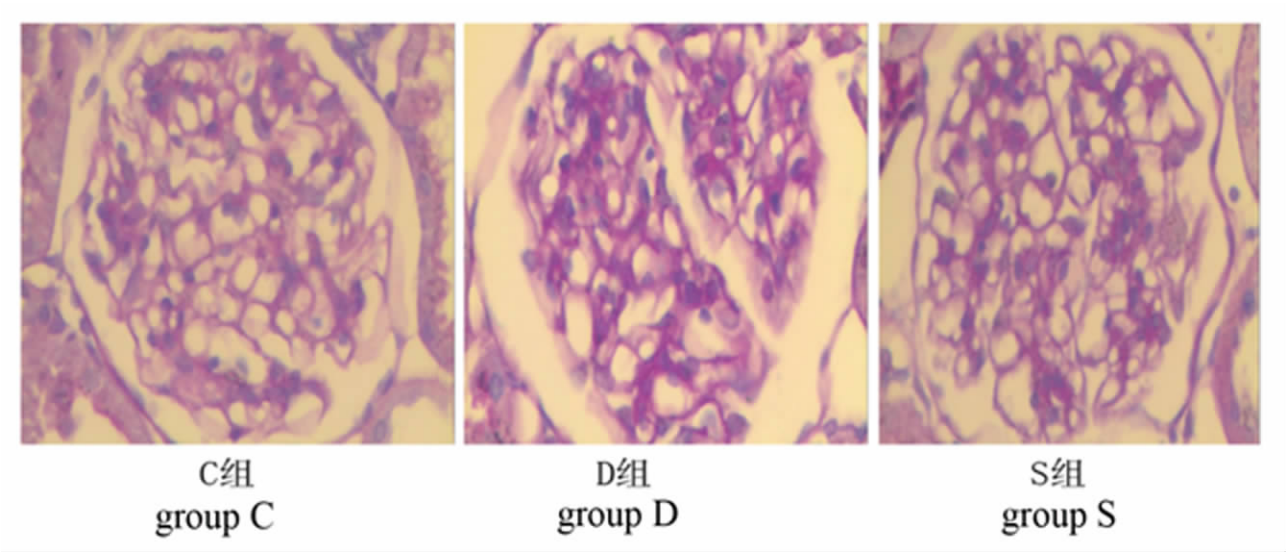


图 2 各组大鼠肾组织 PAS 染色后 ,肾小球的病理改变
Fig.2 The pathological changes of glomerular after renal tissue's PAS staining in the rats of every group

表 2 各组大鼠肾小球系膜区面积占肾小球面积的比值的变化($\bar{x} \pm s$)Table 2 The changes of ratio of mesangial area/glomerular area in the rats of every group($\bar{x} \pm s$)

组别 group	鼠数 rats number	肾小球系膜区面积 / 肾小球面积(%) ratio of mesangial area/glomerular area (%)
单肾切除对照组 C 组 mono-nephrectomy control rats group	n=6	17.03 $\pm$ 2.57
单肾切除糖尿病组 D 组 mono-nephrectomy diabetic rats group	n=6	25.02 $\pm$ 2.51b\
单肾切除螺内酯干预组 S 组 mono-nephrectomy diabetic rats treated with spironolactone group	n=6	19.17 $\pm$ 3.21d

注 :与 C 组比较 $bP<0.01$;与 D 组比较 $dP<0.01$

Note: bP<0.01,group S compared with group C, dP<0.01,group S compared with group D

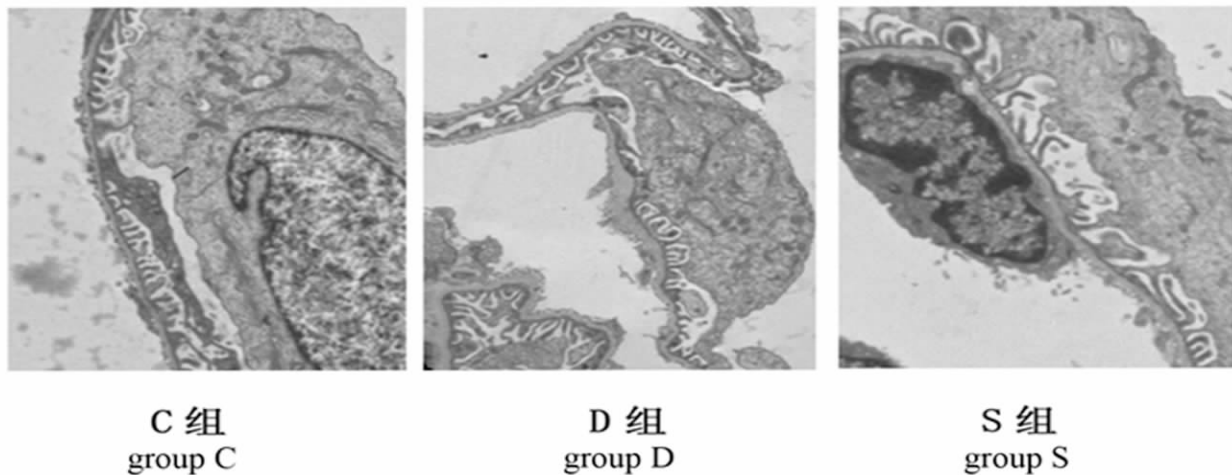


图 3 各组大鼠肾组织电镜下足突及基底膜的改变

Fig.3 Changes of foot process and GBM were observed by electron microscope in the rats of every group

2.3 各组大鼠肾组织内 HGF mRNA 和蛋白的表达

RT-PCR 方法检测肾组织总 RNA 结果显示,与对照组 C 组相比,糖尿病大鼠组 D 组 HGFmRNA 水平有所增加,差异有统计学意义($P<0.05$)。给予螺内酯治疗后,肾组织中 HGFmRNA

水平较 D 组又进一步明显增加($P<0.05$)。见图四。Western Blot 检测大鼠肾组织匀浆蛋白,也进一步表明,螺内酯可明显增加肾组织中 HGF 水平($P<0.05$)(图五)。

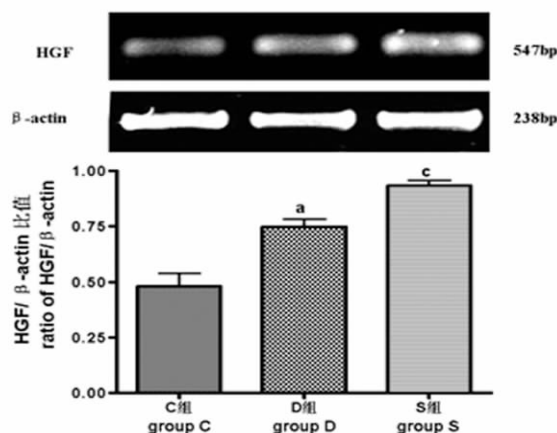


图 4 RT-PCR 检测各组大鼠肾组织中 HGFmRNA 水平变化,其中 β -actin 为内参注:与 C 组比较 $aP<0.05$;与 D 组比较 $cP<0.05$

Fig.4 The mRNA of HGF were measured by RT-PCR and β -actin is internal parameters Note: aP<0.05,group S compared with group C, cP<0.05,group S compared with group D

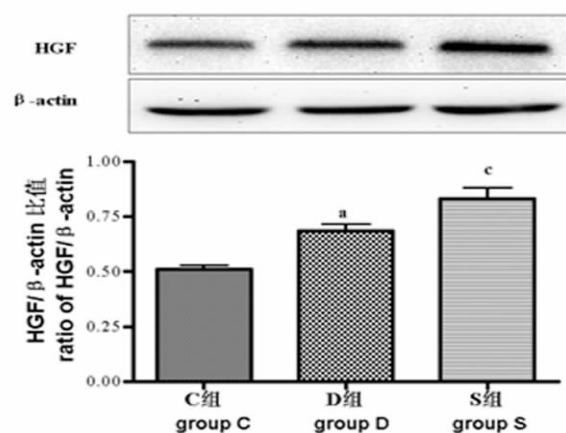


图 5 Western Blot 检测各组大鼠肾组织中 HGF 蛋白水平变化,其中 β -actin 为内参注:与 C 组比较 $aP<0.05$;与 D 组比较 $cP<0.05$

Fig.5 The protein expression levels of HGF were measured by Western Blot respectively, and β -actin is internal parameters Note: aP<0.05,group S compared with group C, cP<0.05 group S compared with group D.

3 讨论

DN 是糖尿病最常见也是最严重全身慢性微血管并发症之一,目前 DN 已超过慢性肾小球肾炎和高血压肾病而成为终末期肾病的首位病因,其发病机制和防治成为研究的热点^[12]。DN 早期表现为肾小球系膜细胞增生,小管间质扩张,肾小球系膜区和小管间质细胞外基质积聚,伴随出现肾小球滤过率下降,肾功能改变,蛋白尿等,终致肾小球硬化及肾小管间质纤维化^[8,9]。本实验通过单肾切除加 STZ 诱导复制 DN 模型,结果表明 STZ 诱导 6 周后,血糖、24h 尿蛋白定量、尿素氮(BUN)、肌酐(SCr)和肾重/体重显著增高,PAS 染色显示肾小球基底膜增厚,细胞外基质(ECM)增多,系膜区扩大,电镜下观察到肾小球 GBM 增厚,足细胞足突融合、消失。提示 DN 模型制备成功,这与国内外报道相一致^[10,11]。

大量研究表明,糖尿病时肾素-血管紧张素-醛固酮系统(RAAS)与 DN 的发生有密切关系^[12],在肾脏纤维化中起着重要作用。其中血管紧张素(Ang)是该系统中引起肾脏损害的主要物质。早期研究证实长期使用血管紧张素转化酶抑制剂 ACEI 的患者存在醛固酮的“逃逸”现象^[13],但一直以来醛固酮的作用一直被忽视。近来研究显示,醛固酮在 DN 的发生发展中也发挥着一定的作用,它可不依赖于肾素-血管紧张素的效应引起靶器官和血管损伤、纤维化^[14]。因此针对醛固酮作为治疗 DN 的靶点已成为国内外医学研究的热点。

螺内酯作为醛固酮受体拮抗剂,近有研究显示它具有预防和减轻肾脏纤维化的作用^[5,6]。并且其抗纤维化的作用与其利尿效果无关。螺内酯可减少Ⅰ型胶原的沉积和纤维连接蛋白的分泌,减轻了小管间质纤维化^[15]。也有研究显示盐皮质激素受体拮抗剂的治疗能延缓 DN 的发生、发展^[16-18]。这些研究均提示螺内酯在糖尿病肾病中可能发挥着重要的保护作用。本实验也证实螺内酯可降低单肾切除糖尿病 SD 大鼠 24h 尿蛋白、肾重/体重比,减少 ECM 形成,改善肾小球肥大,从而延缓 DN 的进展。螺内酯是保钾利尿剂,它可能导致血钾升高,本实验中,给予螺内酯干预 6 周后,血钾水平并没有明显变化,可能与给药时间长短有关系。

肝细胞生长因子(HGF)最初是作为一种对成熟肝细胞有明显促生长作用的细胞因子被发现的。近期研究表明,HGF 可作为一种抗纤维化因子,在多种慢性肾疾病中起到保护作用,如阻塞性肾病、慢性的同种异体移植肾肾病及环孢霉素 A 肾病等^[19-22]。HGF 在糖尿病肾病的进程中也起着非常重要的作用,它可以通过多种机制阻止或延缓糖尿病肾病的发展,如保护胰岛 β 细胞,增加胰岛素水平及降低血糖水平,抑制 TGF- β 的产生,或是阻断 ECM 的增多来干扰糖尿病肾病的形成^[23,24]。不仅如此,HGF 发挥其保护作用与血糖无显著相关性,即使在高血糖的情况下,其保护作用依然存在。TGF- β 在糖尿病肾病中的作用已经非常的肯定,糖尿病肾病模型动物模型中,系膜区 TGF- β 增多,ECM 增多,肾脏肥大^[25],而给予螺内酯干预后,可明显降低 TGF- β 的 mRNA 和蛋白水平^[26]。因此提示螺内酯发挥 DN 保护作用有可能是直接作用于 HGF,然后引起 TGF- β 和 ECM 的变化来介导的。本研究结果显示给予螺内酯干预后,单肾切除糖尿病 SD 大鼠肾组织中 HGF mRNA

和蛋白水平均明显增加。

因此,STZ 诱导的单肾切除糖尿病大鼠血糖、24h 尿蛋白定量、尿素氮(BUN)、肌酐(SCr)和肾重/体重显著增高,而螺内酯干预后可降低糖尿病大鼠的 24h 尿蛋白定量和肾重/体重比,减少细胞外基质形成,从而起到保护糖尿病大鼠肾脏,延缓肾小球硬化的作用。其作用机制与上调 HGF 相关。这为螺内酯的用药及针对 HGF 为药物靶点的临床试验,提供了新的科学理论依据。

参考文献(References)

- [1] Van Dieren S, Beulens JW, van der Schouw YT, et al. The global burden of diabetes and its complications: an emerging pandemic[J]. Eur J Cardiovasc Prev Rehabil, 2010,17:S3-8
- [2] Wright J, Hutchison A. Cardiovascular disease in patients with chronic kidney disease[J]. Vasc Health Risk Manag, 2009,5:713-22
- [3] Locatelli F, Del Vecchio L, Cavalli A. Inhibition of the renin-angiotensin system in chronic kidney disease: a critical look to single and dual blockade[J]. Nephron Clin Pract, 2009,113(4):c286-93
- [4] Siragy HM, Carey RM. Role of the intrarenal renin-angiotensin-aldosterone system in chronic kidney disease [J]. Am J Nephrol, 2010,31(6):541-50
- [5] Epstein M. Aldosterone as a mediator of progressive renal dysfunction: evolving perspectives[J]. Intern Med, 2001, 40(7):573-83
- [6] Brown NJ, Nakamura S, Ma L, et al. Aldosterone modulates plasminogen activator inhibitor-1 and glomerulosclerosis in vivo [J]. Kidney Int,2000,58(3):1219-27
- [7] Anderson S, Rennke HG, Brenner BM. Nifedipine versus fosinopril in uninephrectomized diabetic rats[J]. Kidney Int, 1992,41(4):891-7
- [8] Hagiwara H, Kaizu K, Uriu K, et al. Expression of type-1 plasminogen activator inhibitor in the kidney of diabetic rat models [J]. Thromb Res, 2003,111(4-5):301-9
- [9] Eddy AA. Molecular basis of renal fibrosis [J]. Pediatr Nephrol, 2000, 15(3-4):290-301
- [10] 马骥, 张汝忠, 杨海春, 等. 阻断 T 型钙通道可减轻糖尿病大鼠的蛋白尿和肾病理改变[J]. 中华肾脏病杂志, 2000,16(2):93-97
- [11] Kohzuki M, Wu XM, Kamimoto M, et al. Renal-protective effect of non-depressor dose of cicletanine in streptozotocin diabetic rats [J]. J Hypertens,1999,17(5):695-700
- [12] Ruggenenti P, Cravedi P, Remuzzi G. The RAAS in the pathogenesis and treatment of diabetic nephropathy[J]. Nat Rev Nephrol,2010,6(6): 319-30
- [13] Borghi C, Boschi S, Ambrosioni E, et al. Evidence of a partial escape of renin-angiotensin-aldosterone blockade in patients with acute myocardial infarction treated with ACE inhibitors [J]. J Clin Pharmacol, 1993,33(1):40-5
- [14] Schrier RW, Masoumi A, Elhassan E. Aldosterone: role in edematous disorders, hypertension, chronic renal failure, and metabolic syndrome[J]. Clin J Am Soc Nephrol, 2010,5(6):1132-40
- [15] Fera I, Pichardo I, Juárez P, et al. Therapeutic benefit of spironolactone in experimental chronic cyclosporine A nephrotoxicity [J]. Kidney Int, 2003, 63(1):43-52
- [16] Fujisawa G, Okada K, Muto S, et al. Spironolactone prevents early renal injury in streptozotocin-induced diabetic rats [J]. Kidney Int, 2004, 66(4):1493-502

(下转第 1096 页)

protection against severe gastrointestinal complications in Henoch-Schönlein purpura. [J] Rheumatol, 2001, 28: 1014-1018

- [13] Wee H, Oh HM, Jo JH, Jun CD. ICAM-1/LFA-1 interaction contributes to the induction of endothelial cell-cell separation: implication for enhanced leukocyte diapedesis [J]. Experimental & Molecular Medicine, 2009, 41(5): 341-348
- [14] Rallidis L S, Paschos G, Liakos GK, et al. Dietary alpha-linolenic acid decreases C-reactive protein, serum amyloid A and interleukin-6 in dyslipidaemic patients [J]. Atherosclerosis, 2003, 167(2): 237-242
- [15] Pola R, Flex A, Gaetani E, et al. Synergistic Effect of -174G/C Polymorphism of the Interleukin-6 Gene Promoter and 469 E/K Polymorphism of the Intercellular Adhesion Molecule-1 Gene in Italian Patients With History of Ischemic Stroke [J]. Stroke, 2003, 34:

881-885

- [16] Kelly A. Volcik, Christie M. Ballantyne, Ron Hoogveen, et al. Incident Ischemic Stroke: Atherosclerosis Risk in Communities Study. Intercellular Adhesion Molecule-1 G241R Polymorphism Predicts Risk of [J]. Stroke, 2010, 41: 1038-1040
- [17] 马丽媛, 赵勇, 王兴宇, ICAM-1 基因 Gly 214Arg 多态性与缺血性脑卒中的关系 [J]. 现代诊断与治疗, 2000, 11: 328-329
- Ma Li-yuan, Zhao Yong, Wang Xing-yu, et al. Relationship between ICAM-1 Gene Gly 214Arg Polymorphism and Ischemic Stroke [J]. Modern Diagnosis and Treatment, 2000, 11: 328-329
- [18] Boeardi L, Salvarani C, Casalia B, et al. Intercellular adhesion molecule-1 gene polymorphisms in Behcet's Disease [J]. Rheumatol, 2001, 28: 1283-1287

(上接第 1101 页)

- [17] Miric G, Dallemagne C, Endre Z, et al. Reversal of cardiac and renal fibrosis by pirfenidone and spironolactone in streptozotocin-diabetic rats [J]. Br J Pharmacol, 2001, 133(5): 687-94
- [18] Sato A, Hayashi K, Saruta T. Antiproteinuric effects of mineralocorticoid receptor blockade in patients with chronic renal disease [J]. Am J Hypertens, 2005, 18(1): 44-9
- [19] Mizuno S, Matsumoto K, Nakamura T. Hepatocyte growth factor suppresses interstitial fibrosis in a mouse model of obstructive nephropathy [J]. Kidney Int, 2001, 59: 1304-1314
- [20] Yang J, Liu Y. Blockage of tubular epithelial to myofibroblast transition by hepatocyte growth factor prevents renal interstitial fibrosis [J]. J Am Soc Nephrol, 2002, 13: 96-107
- [21] Azuma H, Takahara S, Matsumoto K, et al. Hepatocyte growth factor prevents the development of chronic allograft nephropathy in rats [J]. J Am Soc Nephrol, 2001, 12: 1280-1292

- [22] Yazawa K, Isaka Y, Takahara S, et al. Direct transfer of hepatocyte growth factor gene into kidney suppresses cyclosporin A nephrotoxicity in rats [J]. Nephrol Dial Transplant, 2004, 19: 812-816
- [23] Klahr S, Morrissey J. Obstructive nephropathy and renal fibrosis: The role of bone morphogenetic protein-7 and hepatocyte growth factor [J]. Kidney Int, 2003, (87): S105-12
- [24] Mou S, Wang Q, Shi B, et al. Hepatocyte growth factor suppresses transforming growth factor-beta-1 and type III collagen in human primary renal fibroblasts [J]. Kaohsiung J Med Sci, 2009, 25(11): 577-87
- [25] Hills CE, Squires PE. TGF-beta1-induced epithelial-to-mesenchymal transition and therapeutic intervention in diabetic nephropathy [J]. Am J Nephrol, 2010, 31(1): 68-74
- [26] Yuan J, Jia R, Bao Y. Beneficial effects of spironolactone on glomerular injury in streptozotocin-induced diabetic rats [J]. J Renin Angiotensin Aldosterone Syst, 2007, 8(3): 118-26