

丹酚酸 A、B 及其分子药对配伍对肾纤维化过程中 CTGF 及 Par-3 的干预作用

赵任杰¹ 吴丹彤² 李 均² 姚 兰²

(1 成都军区总医院肾内科, 成都, 610083; 2 遵义医学院珠海校区, 珠海, 519000)

摘要 目的: 观察丹酚酸 A、B 及其分子药对配伍对肾纤维化中 CTGF 及 Par-3 表达的影响。方法: 采用 50 只雄性 SPF 级 SD 大鼠随机分为 5 组: 正常组、造模组、丹酚酸 A 组、丹酚酸 B 组及丹酚酸 A + B 组。除正常组外, 其余大鼠均造成 UUO 模型。各组予相应药物治疗 2 周, 腹主动脉采血检测大鼠 Cr、BUN; 免疫荧光观察大鼠肾组织 CTGF、Par-3 表达情况。结果: 1) 肾功能检测: 模型组大鼠血清 Cr、BUN 水平显著高于正常组 ($P < 0.05$)。丹酚酸 A 组大鼠血清 Cr 水平明显低于模型组 ($P < 0.05$); 丹酚酸 A 组和丹酚酸 B 组大鼠血清 BUN 水平明显低于模型组 ($P < 0.05$); 各治疗组间比较, 血清 Cr 和 BUN 水平差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。2) CTGF 免疫荧光检测: 和正常组相比, 模型组大鼠肾组织肾小管上皮细胞阳性细胞数目明显增多, 荧光强度明显增强 (+ + +); 经丹酚酸 A、B 及组分配伍治疗后, CTGF 荧光强度较模型组明显减弱, 其中以丹酚酸 A + B 组减弱较为明显 (±), 丹酚酸 B 组次之 (+)。3) Par-3 免疫荧光检测结果: 模型组大鼠肾组织肾小管上皮细胞阳性细胞数目比正常组明显减少, 荧光强度明显减弱 (±); 经丹酚酸 A、B 及组分配伍治疗后, 丹酚酸 A、B、A + B 组 Par-3 荧光强度较模型组明显增强, 其中以丹酚酸 A + B 组增强较为明显 (+ + +), 丹酚酸 B 组次之 (+ +)。结论: 经丹酚酸 A、B 及其分子药对配伍治疗后, 可一定程度改善大鼠肾功能, 但无统计学意义; 丹酚酸组分配伍组能显著抑制大鼠肾组织 CTGF 的表达、促进 Par-3 的表达, 其效果优于丹酚酸 A 和丹酚酸 B 组。该机制可能与其促进 Par-3 在 UUO 大鼠肾组织中的表达和减少 CTGF 的表达有关。

关键词 肾纤维化; 丹酚酸 A; 丹酚酸 B; CTGF; Par-3

Intervention Effect of Salvianolic acid A, B on CTGF and Par-3 Expression in the Process of Renal Fibrosis

Zhao Renjie¹, Wu Dantong², Li Jun², Yao Lan²

(1 ChengDu Military General Hospital Department of Nephrology, Chengdu 610083, China;

2 Zhuhai Campus, Zunyi Medical College, Zhuhai 519000, China)

Abstract Objective: To investigate the intervention effect of Salvianolic acid A, B and their component molecules of drug compatibility on expression of CTGF and Par-3 in the process of renal fibrosis. **Methods:** A total of 50 male Sprague-Dawley rats were randomly divided into five groups: normal group (n = 10), the control group (n = 10), salvianolic acid A group (n = 10), salvianolic acid B group (n = 10) and salvianolic acid A and B group (n = 10). All rats were made into unilateral ureteral obstruction (UUO) model except the normal group. After two weeks of treatment, we took blood sample from abdominal aorta and examined Cr and BUN levels; and observed CTGF, Par-3 protein expression in kidney tissue by immunofluorescence. **Results:** 1) Results of renal function test: model group's serum Cr level was significantly higher than the normal group ($P < 0.05$); the Sal A group's serum Cr level was obviously lower than the model group ($P < 0.05$); the serum BUN levels in the Sal group A and group B significantly lower than the model group; among the treatment groups, serum Cr and BUN levels showed no significant difference ($P > 0.05$). 2) Results of CTGF immunofluorescence test: the number of rat renal tubular epithelial cells showing positive in model group significantly increased compared to the control group and the fluorescence intensity significantly enhanced (+ + +); after treatment of Sal A, B, and component compatibility, CTGF fluorescence intensity was reduced compared with the model group, among which the Sal A + B group decreased significantly (±) and followed by the Sal B group (+). 3) Results of Par-3 immunofluorescence test: the number of positive cells in rat renal tubular epithelial cells in the model group was significantly decreased than the normal group and the fluorescence intensity was significantly reduced (±); after treatment of Sal A, B and component compatibility, Par-3 the fluorescence intensity in the Sal A, Sal B, Sal A + B group was significantly enhanced compared with the model group, among which the Sal A + B group enhanced most obviously (+ + +), and followed by the Sal group B (+ +).

基金项目: 国家自然科学基金项目丹酚酸 A、B、C 分子药对配伍对肾纤维化过程中 PDGF-C/PDGFR- α 信号途径的干预作用 (编号: 81260603)

通信作者: 李均 (1966. 12—), 男, 博士研究生, 主任医师, 硕士研究生导师, 博士, 主要从事中医药防治慢性肾脏病的研究, E-mail: lijun69-1214

Conclusion: Sal A, B and component compatibility treatment could partly improve rat's renal function, but showed no significant difference. The Sal A + B group could significantly inhibit the expression of CTGF in renal tissue and promote expression of Par-3, and its effect was better than the Sal A group and Sal B group. It may be related to promoting the expression of Par-3 and reducing the expression of CTGF in UUO kidney tissue of rats.

Key Words Renal interstitial fibrosis; Salvianolic acid A; Salvianolic acid B; CTGF; Par-3

中图分类号:R285.6;R256.5 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2015.06.024

肾间质纤维化是各类慢性肾脏病(Chronic Kidney Disease, CKD)进展到终末期肾衰竭的共同通路,其发生、发展和多种细胞因子密切相关^[1]。结缔组织生长因子(Connective Tissue Growth Factor, CTGF)对成纤维细胞具有趋化、促有丝分裂及分化等作用。大量研究进一步发现,CTGF与包括血管、心脏^[2]、肾脏^[3-4]、胰腺^[5]、肺^[6]及肝脏^[7]等许多组织器官纤维化的发生发展密切相关。CTGF被认为是TGF- β 1的直接下游效应递质^[8],主要在瘢痕形成、损伤修复与病理状态下纤维化的形成方面起作用。细胞极性蛋白-3(Polarity complex protein-3, Par-3)是Par复合物的核心蛋白,在维持细胞间紧密连接、上皮细胞极性及其细胞形态上有重要作用^[9-11]。实验证实,高表达Par-3可部分减轻肾小管上皮细胞转分化(Epithelial Mesenchymal Transition, EMT)的程度。因此,通过干预CTGF及Par-3的表达有可能成为治疗肾纤维化疾病一个新的靶点。

本课题采用体内单侧输尿管梗阻(Unilateral Ureteral Obstruction, UUO)模型,观察临床常用防治肾纤维化的药物丹酚酸A、丹酚酸B及其分子药对配伍对UUO模型CTGF和Par-3表达的影响,国内外未见临床报道。

1 材料与方法

1.1 实验材料与主要仪器

1.1.1 实验动物 SPF级雄性SD大鼠50只(购自广东省医学实验动物中心,许可证号:SYXK(粤)2008-0002,合格证号NO.440072000),鼠龄7~8周,体重220~250 g。饲养于SPF级动物房,自由饮水,日常光照。适应性饲养3 d后,无不良反应即进入实验。

1.1.2 实验药物 丹酚酸A、丹酚酸B购买自上海融禾医药科技发展有限公司,有效组分纯度均为98%,(批号分别为120821、120910)。兔抗大鼠CTGF多克隆抗体(Abcam:产品编号ab6692);兔抗大鼠Par-3多克隆抗体(Santa cruz:产品编号sc-5598);荧光二抗一山羊抗兔IgG-FITC(中杉金桥:产品编号ZF-0311);肌酐(Cr)检测试剂盒(Roche:产

品编号62154001);尿素氮(BUN)检测试剂盒(Roche:产品编号62098501);DAPI工作液(Roche:产品编号NO.10236276001)。

1.1.3 主要仪器 倒置荧光显微镜(DMIRB, DIC),Leica, Germany; -80℃低温冰柜, Forma Scientific, Germany。

1.2 方法

1.2.1 动物分组、造模及给药 50只清洁级雄性SD大鼠适应性饲养3 d后,随机分为正常对照组($n=10$)和造模组($n=40$)。正常对照组给予自由进食和饮水,造模组按文献方法制备单侧输尿管梗阻(UUO)模型^[12]:以3%戊巴比妥钠,按0.2 mL/100 g腹腔注射麻醉,麻醉成功后用橡皮筋固定大鼠,使其呈俯卧位,剃去右背部毛发,暴露皮肤,用碘伏消毒其拟行手术切口位置及周围约5 cm左右,共3遍,铺无菌手术洞巾。在距脊柱约1~1.5 cm处做长约1~1.5 cm的纵行切口,逐层剥离皮下组织,钝性剥离肌肉,打开腹膜,暴露出肾盂及右输尿管,玻璃分针分离输尿管,先于近肾门处结扎输尿管,再于远离肾门处结扎输尿管,最后在两结扎线之间离断输尿管,术中避免损伤肾脏及临近组织或器官,而后逐层缝合,关闭腹腔,碘伏消毒皮肤切口,无菌敷料覆盖包扎。造模后随机分为4组,第2天开始灌胃,连续14 d:UUO模型组($n=10$),每天按2 mL/200 g予生理盐水灌胃;丹酚酸A组($n=10$),丹酚酸A溶液12.5 mg/kg·d灌胃;丹酚酸B组($n=10$),丹酚酸B溶液12.5 mg/kg·d灌胃;丹酚酸A+B组($n=10$),丹酚酸A及丹酚酸B各6.25 mg/kg·d灌胃。正常组($n=10$),每天按2 mL/200 g予生理盐水灌胃。

1.2.2 观察指标及方法 1)大鼠肾功能测定:大鼠用药后2周,腹主动脉采血,通过149全自动生化分析仪检测大鼠血肌酐(Scr)和尿素氮(BUN)。2)免疫荧光检测CTGF、Par-3:麻醉状态下取出结扎侧肾脏,制备肾组织切片。将切片置于电热鼓风干燥箱中60℃干燥60 min,予以常规脱蜡至水;抗原修复完后,予PBS洗3次,每次3 min;滴加山羊血清封闭

液,置于 37 ℃ 下孵育 10 min,甩干后加入 CTGF 多克隆抗体(1:100)或 PAR3 多克隆抗体(1:100)4 ℃ 孵育过夜;在室温中复温 45 min,予 PBS 洗 3 次,5 min/次,再滴加按比例稀释的含 FITC 标示的荧光二抗(1:80),遮光,60 min,然后再用 PBS 洗 3 次,5 min/次;滴加 DAPI 工作液,37 ℃ 复染 10 min,PBS 充分洗涤;免疫荧光专用封片剂封片,荧光显微镜观察采图。同时用 PBS 作阴性对照,其他操作程序同上。3)CTGF、Par-3 结果判定:采用目前通用的 5 级分法,即(±~++++)级:(±)级:低倍镜下荧光信号不能被查见,高倍镜下似乎可见;(+)级:低倍镜下模糊可见荧光信号而高倍镜下可显见;(++)级:低倍镜下荧光信号显见,高倍镜下清晰显见荧光信号;(+++)级:低倍镜下荧光信号清楚显见,高倍镜下炫目;(++++)级:高倍镜下荧光信号刺眼。

1.2.3 统计学分析 所有数据采用 SPSS 16.0 统计软件分析,各组数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组资料间比较采用单因素方差分析,用 LSD 法与 Tamhane's T3 法检验比较组间差异。以 $P < 0.05$ 为判断差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 丹酚酸 A、B 及其分子配伍对 UUO 大鼠肾功能的影响 如表 1 所示:UUO 组大鼠血清 Cr 和 BUN 水平均比正常组明显上升($P < 0.05$),说明造模后大鼠肾功能受损。与模型组比较,丹酚酸 A 组可明显降低大鼠血清 Cr 水平($P < 0.05$),余治疗组大鼠血清 Cr 水平均呈下降趋势,但差异无统计学意义($P > 0.05$),说明丹酚酸 A、B 可在一定程度上改善 UUO 大鼠的肾功能;与模型组比较,丹酚酸 A 组和丹酚酸 B 组可明显降低大鼠血清 BUN 水平($P < 0.05$),余治疗组血清 BUN 水平呈下降趋势,但差异无统计学意义($P > 0.05$)。

表 1 各组大鼠肾功能的检测结果($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	剂量	血清	
		/mg·kg ⁻¹	Cr/ μ mol·L ⁻¹	BUN/mmol·L ⁻¹
正常组	7	---	28.17±2.95	7.76±0.50
模型组	7	---	44.06±16.04*	11.37±1.76*
丹酚酸 A 组	7	12.50	32.40±6.79 Δ	9.33±0.85* Δ
丹酚酸 B 组	7	12.50	37.70±3.34*	9.52±1.03* Δ
丹酚酸 A+B 组	7	6.25+6.25	37.13±3.24*	10.23±1.77*

注:用*表示与正常组比较, $P < 0.05$; Δ 表示与模型组比较, $P < 0.05$ 。

2.2 丹酚酸 A、B 及其分子配伍对 UUO 大鼠肾组织 CTGF、Par-3 表达的影响

2.2.1 CTGF 免疫荧光结果 荧光显微镜下察见:CTGF 阳性表达信号呈绿色,在 UUO 大鼠肾组织表

达部位主要定位于肾小管上皮细胞。正常组大鼠肾组织肾小管上皮细胞多呈阴性,荧光强度较弱(±);和正常组相比,模型组大鼠肾小管上皮细胞阳性细胞数目明显增多,荧光强度明显增强(+++);经丹酚酸 A、B 及组分配伍治疗后,CTGF 荧光强度较模型组明显减弱,其中以丹酚酸 A+B 组减弱较为明显(±),丹酚酸 B 组次之(+),丹酚酸 A 组较模型组荧光略有减弱(++),详见图 1-图 5。

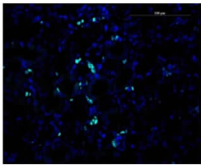


图 1 正常组(10×40)

注:CTGF 阳性表达信号呈绿色,表达部位主要定位于 UUO 大鼠肾组织肾小管上皮细胞。荧光强度较弱。

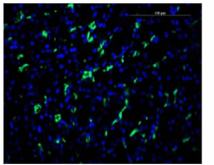


图 2 模型组(10×40)

注:模型组大鼠肾组织肾小管上皮细胞阳性数目较正常组明显增多,荧光强度明显增强。

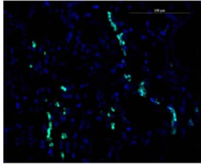


图 3 丹酚酸 A 组(10×40)

注:大鼠肾组织肾小管上皮细胞阳性数目较模型组明显减少,荧光强度稍减弱。但不及丹酚酸 B 组。

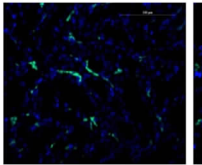


图 4 丹酚酸 B 组(10×40)

注:大鼠肾组织肾小管上皮细胞阳性数目较模型组明显减少,荧光强度明显减弱。但不及丹酚酸 A+B 组。

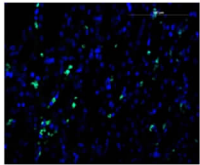


图 5 丹酚酸 A+B 组(10×40)

注:大鼠肾组织肾小管上皮细胞阳性数目较模型组明显减少,荧光强度明显减少。

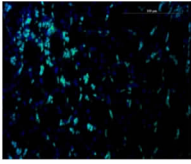


图 6 正常组(10×40)

注:Par-3 阳性表达信号呈绿色,表达部位主要定位于肾小管上皮细胞胞质。

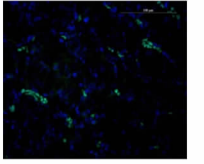


图 7 模型组(10×40)

注:模型组大鼠肾组织肾小管上皮细胞阳性数目较正常组明显减少,荧光强度明显减弱。

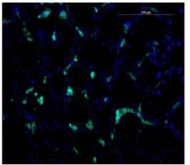


图 8 丹酚酸 A 组(10×40)

注:大鼠肾组织肾小管上皮细胞阳性数目较模型组略有增多,荧光强度稍增强。但不及丹酚酸 A+B 组。

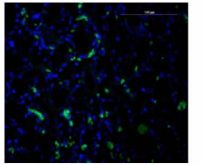


图 9 丹酚酸 B 组(10×40)

注:大鼠肾组织肾小管上皮细胞阳性数目较模型组明显增多,荧光强度明显增强。但不及丹酚酸 A+B 组。

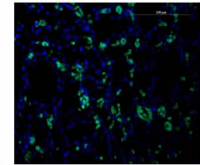


图 10 丹酚酸 A+B 组(10×40)

注:大鼠肾组织肾小管上皮细胞阳性数目较模型组明显增多,荧光强度明显增强。

2.2.2 Par-3 免疫荧光表达结果 荧光显微镜下观察可见:Par-3 阳性表达信号呈绿色,在 UUO 大鼠肾组织表达部位主要在肾小管上皮细胞胞质。正常组大鼠肾组织肾小管上皮细胞多呈阳性,荧光强度较强(+++);模型组大鼠肾小管上皮细胞阳性细胞数目比正常组明显减少,荧光强度明显减弱(±);经丹酚酸 A、B 及组分配伍治疗后,丹酚酸 A、丹酚酸 B、丹酚酸 A+B 组 Par-3 表达信号较之模型组显著加强,而以丹酚酸 A+B 组增强较为明显(+++),

丹酚酸 B 组次之(+ +),丹酚酸 A 组荧光略有增强(+),详见图 6 - 图 10。

3 讨论

本课题选用临床抗肾纤维化常用中药丹参水溶性活性成分中结构相似的丹酚酸 A、丹酚酸 B 组分进行分子药对配伍(1:1)应用,丹酚酸 B 采用最佳剂量 12.5 mg/kg · d 给药^[13],丹酚酸 A 等剂量代换,丹酚酸 A + B 均按照 1:1 比例配伍给药(根据课题组前期预实验结果确定用药剂量和比例)。

结缔组织生长因子(CTGF)属于 CNN 生长因子家族(也称 CCN2)^[5]。CTGF 被认为是一种由 TGF- β 1 诱导产生的致纤维化蛋白^[14],CTGF 在功能上与 TGF- β 1 具有很大的相似性,较之 TGF- β 1,CTGF 的最大特点就是生物学功能比较单一,主要表现在对纤维化的影响^[15]。在 CTGF 启动子序列 128 ~ 162 位置上存在着一个重要的转化生长因子- β 1(TGF- β 1)调控元件。经研究证实,CTGF 可被 TGF- β 1 诱导表达,并作 TGF- β 1 主要的下游递质介导其促纤维化作用,其在成纤维细胞内过度表达,与肾纤维化的发生密切相关^[16]。实验证实,减少 CTGF 表达可减轻 UUO 大鼠模型的肾间质纤维化^[3]。在慢性间质性肾疾病,随肾间质损害程度加重,表达 CTGF mRNA 细胞数量显著增多,并随间质纤维化程度加重而增多^[17]。在肾纤维化模型中,用 CTGF 的反义治疗可以减轻肾纤维化的反应^[18]。此外有实验报道:CTGF 在糖尿病肾病的肾纤维化中发挥重要作用^[19-20]。Par-3 属于蛋白酶激活受体(PARs)家族,是 G 蛋白偶联受体(GPCRs)的一个亚家族,是一种极性蛋白^[21-23]。研究证实:在哺乳动物的上皮细胞,Par-3 有两个亚型(Par3A 和 Par3B),它与 Par-6、aP-KC 蛋白共同构成蛋白激酶复合体,参与紧密连接的组成^[24]。Par-3 不仅是蛋白激酶复合体的一个核心蛋白,而且也是紧密连接所必需的,起着极其重要的作用。邻近细胞间形成的紧密连接是细胞极性的一个重要体现。肾小管上皮细胞的转分化(EMT)被认为可致细胞外基质(ECM)的不断积聚,最终导致肾功能的不可逆损害^[25-27]。细胞极性的丧失和连接的破坏是 EMT 过程中的始动关键环节^[28]。有研究表明,当基因敲除 Par-3 分子后,将导致细胞连接松散,细胞分化改变^[29-30]。此外,实验证实:通过诱导 PAR-3 蛋白表达增加,可发挥延缓肾纤维化的作用^[31]。

本实验结果表明:模型组 CTGF 荧光强度明显增强,各治疗组荧光强度减弱,以丹酚酸 A + B 组减

弱较为明显;模型组 Par-3 荧光强度减弱,各治疗组荧光强度增强,以丹酚酸 A + B 组增强较为明显。说明丹酚酸 A、B 及其分子药对可减少 CTGF 表达、增多 Par-3 表达,且组分配伍效果更明显。

综上所述,丹酚酸 A、B 及其分子药对配伍对 UUO 大鼠肾脏具有一定的保护作用,其机制可能与其减少肾组织 CTGF 的表达,促进 Par-3 的表达,从而影响肾纤维化过程中肾小管上皮细胞转分化有关。丹酚酸 A、B 及其分子药对可干预 CTGF 和 Par-3 的表达,且丹酚酸 A、B 分子药效果更明显。

参考文献

- [1] 胡尧,张先觉,李又空. 肾纤维化的药物治疗进展[J]. 长江大学学报:自科版,2013(3):103 - 108.
- [2] Li L, Chen F, Cao YG, et al. Role of calcium-sensing receptor in cardiac injury of hereditary epileptic rats[J]. Pharmacology, 2015, 95(1 - 2):10 - 21.
- [3] Sun W, Yin XJ, Tu Y, et al. Effects and mechanisms of Qifu decoction ameliorating renal tubulointerstitial fibrosis through inhibiting ERK1/2 signaling pathway in unilateral ureteral obstruction rats with yang deficiency[J]. Zhongguo Zhong Yao Za Zhi, 2014, 39(21):4082 - 4089.
- [4] Lee S, Kim SI, Choi ME. Therapeutic targets for treating fibrotic kidney diseases[J]. Transl Res, 2015, 165(4):512 - 530.
- [5] Charrier A, Brigstock DR. Regulation of pancreatic function by connective tissue growth factor (CTGF, CCN2) [J]. Cytokine Growth Factor Rev, 2013, 24(1):59 - 68.
- [6] 赵敏,徐安莉,周艳艳,等. 温补肾阳法对肾阳虚肺纤维化大鼠肺内 CTGF 表达的影响[J]. 中国老年学杂志, 2015, 35(2):421 - 424.
- [7] Chunqiu Hao, Yumei Xie, Meijuan Peng, et al. Inhibition of connective tissue growth factor suppresses hepatic stellate cell activation in vitro and prevents liver fibrosis in vivo[J]. Clinical and Experimental Medicine, 2014, 14(2):141 - 150.
- [8] 朱祯,唐英,何立群,等. 大黄酚对单侧输尿管梗阻模型大鼠肾组织 CTGF、 α -SMA 和 FN 的影响[J]. 中南药学, 2014, 12(7):631 - 634.
- [9] 李或,陈朝青,李亚东. 姜黄素对单侧输尿管梗阻大鼠肾小管上皮细胞分化及 TGF- β 1/Smads 信号转导途径的影响[J]. 中国中西医结合杂志 2011, 31(9):1224 - 1228.
- [10] McCaffrey, L. M., et al., Loss of the Par3 polarity protein promotes breast tumorigenesis and metastasis[J]. Cancer Cell, 2012, 22(5):601 - 614.
- [11] Zhang Y, Wang W, Chen J, et al. Structural insights into the intrinsic self-assembly of Par-3 N-terminal domain [J]. Structure, 2013, 21(6):997 - 1006.
- [12] 李均,王冬,曹轶璇,等. 黄芪丹参有效组分不同比例配伍对肾纤维化模型大鼠肾小管上皮细胞转分化的影响[J]. 上海中医药大学学报, 2012, 26(1):68 - 72.
- [13] 陆海英,周娟,陆敏,等. 丹酚酸 B 对实验性肾间质纤维化大鼠的保护作用及其机制[J]. 中药材, 2010, 33(11):1755 - 1759.

- [14] 王文文, 程锦国. 纤维化疾病中的 TGF- β /CTGF 协同轴[J]. 山西中医学院学报, 2013, 14(1): 76-78.
- [15] Kobayashi, H., et al., Connective tissue growth factor and progressive fibrosis in biliary atresia[J]. *Pediatr Surg Int*, 2005, 21(1): 12-16.
- [16] Tall, E. G., et al., TGF-beta-stimulated CTGF production enhanced by collagen and associated with biogenesis of a novel 31-kDa CTGF form in human corneal fibroblasts[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2010, 51(10): 5002-5011.
- [17] Nogare AL, Dalpiaz T, Pedrosa JA, et al. Expression of fibrosis-related genes in human renal allografts with interstitial fibrosis and tubular atrophy[J]. *J Nephrol*, 2013, 26(6): 1179-1187.
- [18] Liu Y1, Li W, Liu H, et al. Inhibition effect of small interfering RNA of connective tissue growth factor on the expression of extracellular matrix molecules in cultured human renal proximal tubular cells[J]. *Ren Fail*, 2014, 36(2): 278-284.
- [19] Cheng M, Liu H, Zhang D, et al. HMGB1 Enhances the AGE-Induced Expression of CTGF and TGF- β via RAGE-Dependent Signaling in Renal Tubular Epithelial Cells[J]. *Am J Nephrol*, 2015, 41(3): 257-266.
- [20] Khan S, Jena G, Tikoo K. Sodium valproate ameliorates diabetes-induced fibrosis and renal damage by the inhibition of histone deacetylases in diabetic rat[J]. *Exp Mol Pathol*, 2015, 98(2): 230-239.
- [21] Isabel Canto, Unice J. K. Soh, JoAnn Trejo. Allosteric Modulation of Protease-activated Receptor Signaling[J]. *Mini Rev Med Chem*, 2012, 12(9): 804-811.
- [22] Gieseler, F., et al., Proteinase-activated receptors (PARs)-focus on receptor-receptor-interactions and their physiological and pathophysiological impact[J]. *Cell Commun Signal*, 2013, 11: 86.
- [23] Wei Feng, Hao Wu, Ling-Nga Chan, Par-3-mediated Junctional Localization of the Lipidphosphatase PTEN Is Required for Cell Polarity Establishment[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2008, 284(4): 2340-2344.
- [24] Toshinori Matsui, Takashi Watanabe, Kenji Matsuzawa, et al. PAR3 and aPKC regulate Golgi organization through CLASP2 phosphorylation to generate cell polarity[J]. *Mol Biol Cell*, 2015, 26(4): 751-761.
- [25] Tang, R., et al., Epithelial-mesenchymal transdifferentiation of renal tubular epithelial cells induced by urinary proteins requires the activation of PKC-alpha and beta1 isozymes[J]. *Cell Biol Int*, 2011, 35(9): 953-959.
- [26] Wiwanitkit, V, Fibrosis and evidence for epithelial-mesenchymal transition in the kidneys of patients with staghorn calculi[J]. *BJU Int*, 2011, 107(11): 1847.
- [27] 徐浩岑. 人参皂苷 Rg1 对肾小管上皮细胞转分化的抑制作用及其与 VEGFR2、EPOR 表达变化的关系[D]. 南京: 南京中医药大学, 2013.
- [28] Wang, Z. and S. S. Li. Numb: A new player in EMT[J]. *Cell Adh Migr*, 2010, 4(2): 176-179.
- [29] McCaffrey, L. M., et al. Loss of the Par3 polarity protein promotes breast tumorigenesis and metastasis[J]. *Cancer Cell*, 2012, 22(5): 601-614.
- [30] Iden S., et al. Tumor type-dependent function of the par3 polarity protein in skin tumorigenesis[J]. *Cancer Cell*, 2012, 22(3): 389-403.
- [31] 王冬. 黄芪丹参药对及其有效组分抗肾纤维化的实验研究[D]. 遵义: 遵义医学院, 2012.

(2014-12-23 收稿 责任编辑: 徐颖)

(上接第 894 页)

- [3] 高川, 容蓉, 孟红. 白藜苕草提取物体外抗病毒作用实验研究[J]. *山东中医杂志*, 2009, 28(1): 54-56.
- [4] Chiara Sinico, Alessandro DeLogu, Francesco Lai, et al. Liposome-mal incorporation of artemisia arborescens L. essential oil and in vitro antiviral activity[J]. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 2012, 59: 161-168.
- [5] 杨洁, 赵夕秋, 顾苏俊. 升黄克痛软膏体外抗病毒实验研究[J]. *中华医院感染学杂志*, 2009, 19(5): 2018-2019.
- [6] 喻小凯. 加味麻黄附子细辛汤加减联合小剂量福莫特罗干粉吸入治疗老年支气管哮喘疗效观察[J]. *中国现代药物应用*, 2013, 23(7): 143-144.
- [7] 杨西强, 郭海涛. 麻黄附子细辛汤治疗弥漫性肺间质纤维化 18 例[J]. *中国中医药现代远程教育*, 2013, 11(14): 87-88.
- [8] 邱小波. 麻黄附子细辛汤证治探讨[J]. *光明中医*, 2009, 4(4): 759-760.
- [9] 王月芬. 麻黄附子细辛汤临床运用体会[J]. *Chinese Journal of Information on TCM*, 2009, 8(6): 82.
- [10] 张怀礼. 麻黄附子细辛汤临床运用举隅[J]. *云南中医中药杂志*, 2010, 5(31): 52.
- [11] 朱燕, 程东庆. 中草药抗单纯疱疹病毒的实验及临床研究进展[J]. *医学综述*, 2012, 14(19): 3003-3005.
- [12] 刘颖娟, 杨占秋, 肖红, 等. 中药麻黄有效成分体外抗单纯疱疹病毒的实验研究[J]. *湖北中医学院学报*, 2012, 61(4): 36-38.

(2014-10-31 收稿 责任编辑: 洪志强)