

肾络通调控 NR3C2/SGK-1/Smad 通路抑制肾间质纤维化的机制研究

黄东华^{1,2}, 熊云昭³, 王莹³, 王箬^{3,4}, 王淼^{1,3}, 许庆友^{1,3,4*}

1. 河北医科大学研究生学院, 河北 石家庄 050017

2. 河北体育学院附属医院, 河北 石家庄 050041

3. 河北中医学院中西医结合学院, 河北 石家庄 050091

4. 河北省肝病重点实验室, 河北 石家庄 050091

摘要: **目的** 探讨中药复方肾络通调控 NR3C2/SGK-1/Smad 通路抑制肾间质纤维化的作用机制。**方法** Wistar 大鼠随机分为假手术组、模型组、依普利酮组、肾络通组, 每组各 12 只。模型组、依普利酮组和肾络通组均采用单侧输尿管结扎的方法建立肾间质纤维化大鼠模型。术后即开始给药, 依普利酮组给予依普利酮混匀于饲料中按 100 mg/(kg·d) 剂量食入; 肾络通组给予肾络通煎剂按照 26 g/(kg·d) 剂量入水瓶饮用, 模型组和假手术组给予等比例生理盐水, 每天 1 次, 连续干预 10 d。采用激光共聚焦显微镜检测盐皮质激素受体 NR3C2 表达, 采用免疫组化、Western blotting、qRT-PCR 等方法检测大鼠肾组织 SGK-1、TGF- β_1 、Smad4、Smad7 表达情况。**结果** 假手术组 NR3C2 表达于细胞胞质, 核内未见表达; 模型组小管表达明显增强, 核内可见阳性表达; 依普利酮组和肾络通组细胞核内可以见到 NR3C2 表达, 但较模型组显著减少。与假手术组比较, 其他各组 SGK-1、TGF- β_1 、Smad4 表达显著上调, 而 Smad7 表达则显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01)。与模型组比较, 依普利酮组及肾络通组 SGK-1、TGF- β_1 、Smad4 表达范围及强度均显著减弱 ($P < 0.05$ 、 0.01), Smad7 表达范围及强度均显著增强 ($P < 0.01$)。**结论** 肾络通可通过抑制盐皮质激素受体活化, 下调 SGK-1 表达, 并通过调控 Smads 信号蛋白水平, 抑制了 TGF- β_1 促纤维化作用, 从而阻止了肾间质纤维化的发生发展。

关键词: 肾络通; 肾间质纤维化; 盐皮质激素受体; 血清糖皮质激素激酶 1; 单侧输尿管结扎

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2018)21-5149-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.21.028

Mechanism of Shenluotong regulating NR3C2/SGK-1/Smad pathway in inhibiting renal interstitial fibrosis

HUANG Dong-hua^{1,2}, XIONG Yun-zhao³, WANG Xuan³, WANG Zheng^{3,4}, WANG Miao^{1,3}, XU Qing-you^{1,3,4}

1. Graduate college, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017, China

2. The University Hospital, Hebei Physical Education Institute, Shijiazhuang 050041, China

3. College of Integrated of Chinese and Western Medicine, Hebei University of Chinese Medicine, Shijiazhuang 050091, China

4. Hebei Key Laboratory of Integrative Medicine on Liver-kidney Patterns, Shijiazhuang 050091, China

Abstract: **Objective** To investigate the mechanism of Shenluotong inhibiting renal interstitial fibrosis by regulating NR3C2/SGK-1/Smad pathway. **Methods** A total of 48 Wistar rats were randomly divided into sham operation group, model group, Eplerenone group, and Shenluotong group ($n = 12$). Model group, Eplerenone group, and Shenluotong group used unilateral ureteral obstruction (UUO) method to establish rat renal interstitial fibrosis model. After the operation, the rats in the eplerenone group were treated with eplerenone at a dose of 100 mg/(kg·d). Rats in the Shenluotong group were oral given Shenluotong decoction at a dose of 26 g/(kg·d) and Sham operation group and model group were administrated equal volume of saline once daily for continuous 10 d. Laser confocal microscopy was used to detect mineralocorticoid receptor NR3C2 expression. The expressions of SGK-1, TGF- β_1 , Smad4, and Smad7 in renal tissues were detected by immunohistochemistry, Western Blot and Real time-PCR. **Results** In the sham operation group, NR3C2 was expressed in the cytoplasm of renal tubular epithelial cells and was not expressed in the nucleus. The expression of NR3C2 in the UUO rat was significantly up-regulated in cytoplasm and positive expression was observed in the nucleus.

收稿日期: 2018-06-28

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81273684, 81473652); 河北省自然科学基金资助项目 (H2015423009)

作者简介: 黄东华 (1976—), 女, 河北石家庄人, 博士研究生在读, 研究方向为肾病的诊治规律。Tel: 15354110328 E-mail: 1161362484@qq.com

*通信作者 许庆友, 博士生导师, 主要从事肾病诊治规律的研究。Tel: (0311)89926290 E-mail: qqingyouxu@sohu.com

The expression of NR3C2 in the nucleus of cells in the Eplerenone group and Shenluotong group was significantly decreased when compared with the model group. Compared with the sham-operated group, the expression of SGK-1, TGF- β_1 , and Smad4 was significantly up-regulated and the expression of Smad7 was significantly decreased ($P < 0.05, 0.01$) in the other groups. Compared with model group, the expression range and intensity of TGF- β_1 and Smad4 were significantly decreased in Eplerenone group and Shenluotong group ($P < 0.05, 0.01$), and the expression range and intensity of Smad7 were significantly increased ($P < 0.01$).

Conclusion Shenluotong can inhibit renal interstitial fibrosis through blocking the activation of mineralocorticoid receptor, reducing the level of SGK-1, and regulating the Smads signal pathway to inhibit the overexpression of TGF- β_1 .

Key words: Shenluotong; renal interstitial fibrosis; mineralocorticoid receptor (MR); serum and glucocorticoid-induced protein kinase 1 (SGK-1); unilateral ureteral obstruction (UUO)

肾间质纤维化 (RIF) 是指由各种原因导致细胞外基质 (ECM) 在肾间质内沉积过多所形成的病理改变。近年关于盐皮质激素受体活化, 导致肾小管损伤的研究引起国内外的关注, 醛固酮受体阻断剂在临床的应用, 可以延缓肾脏病的发展, 然而具体机制尚不清楚。因而, 本实验通过观察 RIF 大鼠肾组织中 NR3C2、SGK-1、Smads/TGF- β_1 信号通路的变化, 解析盐皮质激素受体的作用并探讨肾络通抑制 RIF 的作用机制。

1 材料

1.1 动物

清洁级雌性 Wistar 大鼠 48 只, 体质量 (180 ± 20) g, 8 周龄, 由河北医科大学动物实验中心提供, 许可证号 SCXK (冀) 1205069。

1.2 药物

肾络通 (黄芪 15 g、丹参 15 g、鳖甲 15 g、地龙 12 g、蝉蜕 10 g、乌梢蛇 10 g、川芎 10 g、僵蚕 10 g、大黄 6 g), 由河北省中医院提供; 依普利酮, 美国 Pfizer 公司产品。

1.3 仪器与试剂

7500 Fast Real-time PCR System 基因扩增仪 (美国 Applied Biosystems 公司); 凝胶图像分析系统 (Scion Image 4.0.3.2 图像分析系统); Trans-Blot SD 转膜仪 (美国 BIO-RAD 公司); Leica SP8 激光扫描共聚焦显微镜 (德国 Leica 公司); RNA 提取采用 OMEGA Total RNA Kit 试剂盒 (批号 k120G); 免疫组化试剂盒由北京中杉金桥生物技术有限公司提供; 转化生长因子- β_1 (TGF- β_1) 抗体 (Bioworld 公司, 批号 AA56133); Smad4 抗体 (Epitomics 公司, 批号 YH092604C); Smad7 抗体 (Affinity 公司, 批号 19U72); SGK-1 抗体 (Affinty 公司, 批号 19U71); NR3C2 抗体 (Proteintech 公司, 批号 0016122); GAPDH 抗体 (Epitomics 公司, 批号 YI23103P)。

2 方法

2.1 分组及造模

Wistar 大鼠 48 只, 随机分为假手术组、模型组、依普利酮组、肾络通组, 每组 12 只。模型组、依普利酮组和肾络通组采用 Iwai 等^[1]的方法制备大鼠单侧输尿管梗阻模型。大鼠 ip 10% 水合氯醛麻醉后, 纵向切开其左侧中腹部皮肤, 游离其左侧输尿管, 分别在输尿管上 1/3 和中 1/3 处结扎并切断输尿管, 术后逐层缝合皮肤。假手术组仅游离输尿管但不结扎离断。

2.2 给药和剂量

术后即开始给药, 依普利酮组给予依普利酮 100 mg/(kg·d), 药物按 1.25 g/kg 混匀于饲料中; 肾络通组给予肾络通煎剂 (粉剂溶解, 生药质量浓度为 2 g/mL), 按照 26 g/(kg·d) 剂量加入饮用水瓶中; 模型组和假手术组给予等比例生理盐水, 每天 1 次, 连续干预 10 d。给药结束后, 各组每只大鼠分别称体质量、断头处死; 切下其梗阻侧肾脏经去被膜后再称质量。选取部分肾组织, 以 4% 多聚甲醛固定后制成标本, 用于肾脏的组织病理学检测。

2.3 肾脏病理检测

取各组大鼠左侧肾脏, 以 4% 多聚甲醛固定, 石蜡包埋, 制作石蜡切片, 分别行 Masson、HE 染色, 光镜下观察病理学改变。

2.4 激光共聚焦显微镜检测盐皮质激素受体 NR3C2 表达

5 μ m 肾脏冰冻切片 1:100 抗体孵育过夜, 清洗后加入带有 TRITC 标记的二抗孵育 1 h, 清洗后 DAPI 染核后封片, 激光共聚焦显微镜观察 NR3C2 的表达。

2.5 TGF- β_1 、Smad4、Smad7 mRNA 检测

qRT-PCR 法检测 TGF- β_1 、Smad4、Smad7 表达。提取 RNA, 反转录 cDNA 后扩增。Platinum SYBR Green qPCR Super Mix-UDG ($2 \times$) 10 μ L, 正向引

物 (10 $\mu\text{mol/L}$) 0.4 μL , 反向引物 (10 $\mu\text{mol/L}$) 0.4 μL , ROX Reference Dye 0.4 μL , 模板 2 μL , ddH₂O 6.8 μL , 总体积 20 μL 。引物由 Invitrogen 公司合成。TGF- β_1 引物序列: 上游引物为 5'-TGCCTGACGGTC-AGGTCA-3', 下游引物为 5'-CAGGAAGGA-AGGCTGGAG-3'; Smad4 引物序列: 上游引物为 5'-ACCAACTTCCCCAACATTCCT-3', 下游引物为 5'-ACTATGGCTGCCTGCCAGAA-3'; Smad7 引物序列: 上游引物为 5'-CCCCATCACCTTAG-TCGACTCT-3', 下游引物为 5'-GACAGTCTGCAG-TTGTTTGAAGA-3'; β -actin 引物序列: 上游引物为 5'-TGCCTGACGGTCAGGTCA-3', 下游引物为 5'-CAGGAAGGAAGGCTGGAAG-3'。PCR 扩增条件: 95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 2 min, 95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 15 s, 50~60 $^{\circ}\text{C}$ 退火 34 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 1 min, 40 个循环。采用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 方法分析基因表达相对变化。

2.6 免疫组化法检测 SGK-1、TGF- β_1 、Smad4、Smad7 蛋白表达

采用 SABC 法检测, 石蜡切片脱蜡、梯度脱水, 修复抗原后加入一抗 (1:100) 4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜; 清洗后二抗孵育 1 h, 滴加 SABC 复合物, DAB 显色, 以光镜下出现棕黄色颗粒为阳性表达, 苏木精复染, 脱水, 透明, 封片。

2.7 Western blotting 法检测 SGK-1、TGF- β_1 、Smad4、Smad7 蛋白表达

冰冻肾组织给以裂解液 (含蛋白酶抑制剂) 提取并测定蛋白含量; 取样品按比例加入 loading buffer 95 $^{\circ}\text{C}$ 煮沸 5 min 后待电泳; 配制 10% SDS-PAGE 胶, 上样蛋白 20~40 μg , 电泳 90 V 到底; 0.22 μm PVDF 膜 20 V、40 min 半干转; 5% 脱脂牛奶室温封闭 1~2

h, 加入 1 抗 (1:500~1 000), 4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜, TBST 清洗 3 次, 每次 10 min; 加入二抗 (1:20 000), 室温 60 min, TBST 清洗 2 次, 每次 5 min, TBS 清洗 5 min 后显影, 所得结果用内参进行校正。

2.8 统计学方法

数据资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 使用 SPSS 16.0 统计软件进行统计学处理。

3 结果

3.1 大鼠肾组织病理形态学改变

由图 1 可见, HE 染色显示, 模型组大鼠肾小管扩张明显, 以远端小管尤著, 小管上皮细胞变性、坏死, 肾间质可见大量炎细胞浸润; 依普利酮组及肾络通组大鼠肾小管上皮细胞变性、坏死及程度较模型组稍有减轻, 炎细胞浸润的数量明显减少, 但肾小管扩张无明显改变。Masson 染色显示, 模型组肾脏组织结构排列紊乱, 肾间质明显增宽, 部分肾小管萎缩, 肾间质中有大量胶原沉积, 尤以髓质明显; 依普利酮组及肾络通组肾脏组织中胶原含量较假手术组明显增多, 但较模型组明显减少。

3.2 激光共聚焦显微镜检测盐皮质激素受体 NR3C2 表达

由图 2 可见, 结果显示假手术组 NR3C2 表达于细胞胞质, 核内未见表达; 模型组肾小管表达明显增强, 核内可见到阳性表达; 依普利酮及肾络通组细胞核内可以见到 NR3C2 表达, 但较模型组显著减少。

3.3 大鼠肾组织 TGF- β_1 、Smad4、Smad7 mRNA 表达

由表 1 可见, 与假手术组比较, 模型组中 TGF- β_1 表达明显增强 ($P < 0.01$)。与模型组比较, 依普利酮组及肾络通组 TGF- β_1 表达明显下降, 并且肾络

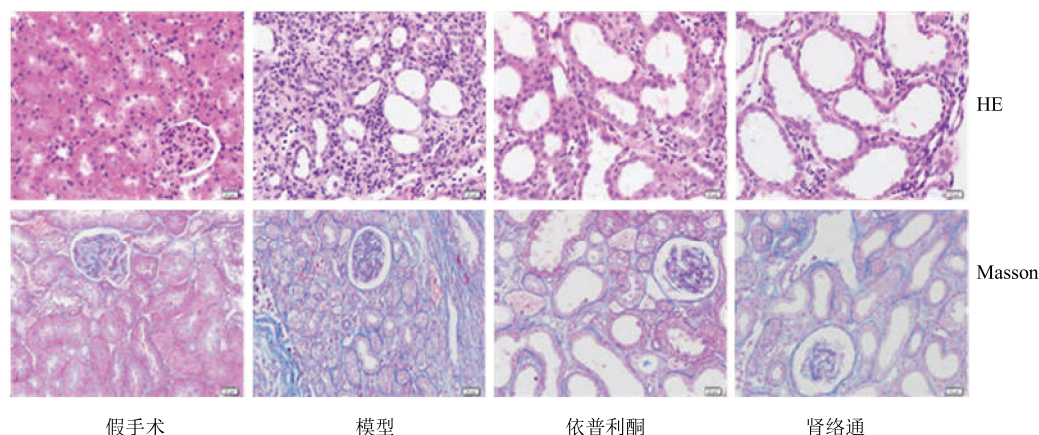


图 1 各组大鼠肾组织病理形态学改变 (×400)

Fig. 1 Pathological changes of kidney in each group (×400)

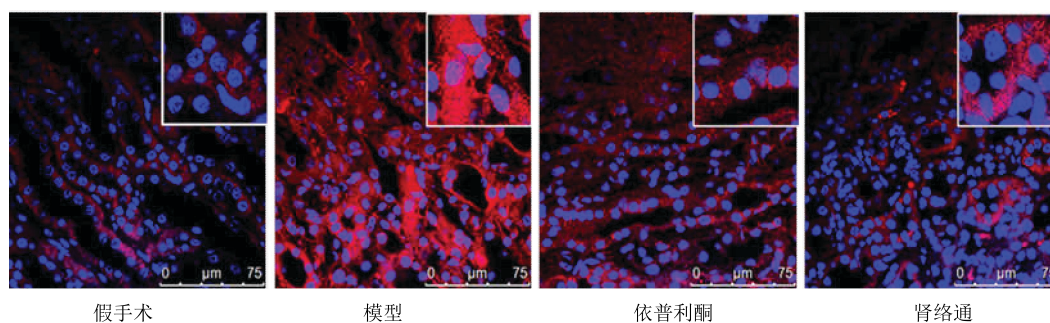


图 2 激光共聚焦显微镜检测盐皮质激素受体 NR3C2 表达

Fig. 2 Detection of mineralocorticoid receptor NR3C2 expression by laser confocal microscopy

表 1 各组大鼠肾组织 TGF- β_1 、Smad4 和 Smad7 mRNA 表达 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)Table 1 TGF- β_1 , Smad4, and Smad7 mRNA expression in rat kidney ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	TGF- β_1	Smad4	Smad7
假手术	—	1.000 ± 0.016	1.000 ± 0.052	1.000 ± 0.037
模型	—	2.890 ± 0.221**	1.780 ± 0.070**	0.530 ± 0.048**
依普利酮	0.1	1.940 ± 0.051 [△]	0.940 ± 0.029 [△]	0.880 ± 0.002 [△]
肾络通	26	1.710 ± 0.069 [△]	1.260 ± 0.069 [△]	0.860 ± 0.049 [△]

与假手术组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: [△] $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs Sham group; [△] $P < 0.05$ vs model group

通组下降更为显著 ($P < 0.05$)。模型组大鼠肾组织中 Smad4 的表达较假手术组明显增加 ($P < 0.01$); 而 Smad7 的表达则显著下降 ($P < 0.01$)。依普利酮组及肾络通组大鼠肾组织中 Smad4 的表达均较模型组明显下降, 尤以依普利酮组下降更为明显 ($P < 0.05$); 依普利酮组及肾络通组大鼠肾组织中 Smad7 的表达均较模型组显著增加, 尤以依普利酮组升高显著 ($P < 0.05$)。

3.4 免疫组化检测大鼠肾组织 SGK-1、TGF- β_1 、Smad4、Smad7 蛋白表达

由图 3 可见, 模型组中 SGK-1 在肾小管上皮细胞中的表达明显增强, 与模型组比较, 依普利酮组及肾络通组 SGK-1 表达范围及强度均明显降低。模型组中 TGF- β_1 主要表达于肾小管上皮细胞及肾小球; 与模型组比较, 依普利酮组及肾络通组 TGF- β_1 表达范围及强度均显著减弱。模型组肾组织中 Smad4 表达较假手术组显著上调, 而 Smad7 表达则显著下降, 主要表达于肾小管上皮细胞的胞浆中; 与模型组比较, 依普利酮组及肾络通组肾组织中 Smad4 表达范围及强度均显著减弱; Smad7 表达范围及强度均显著增强。

3.5 Western blotting 法检测大鼠肾组织 SGK-1、TGF- β_1 、Smad4、Smad7 蛋白表达

由图 4 和表 2 可见, 模型组大鼠肾组织中

SGK-1 蛋白表达较假手术组明显增强; 依普利酮组及肾络通组 SGK-1 蛋白表达均较模型组明显下降, 尤以肾络通组下调更为显著 ($P < 0.01$)。模型组大鼠肾组织中 TGF- β_1 蛋白表达较假手术组明显上调; 依普利酮组及肾络通组 TGF- β_1 蛋白表达均较模型组明显下降, 并且依普利酮组下调更为显著 ($P < 0.01$)。模型组大鼠肾组织中 Smad4 蛋白表达较假手术组明显增多 ($P < 0.01$); 而 Smad7 蛋白表达则较假手术组明显减少 ($P < 0.01$); 依普利酮组及肾络通组大鼠肾组织中 Smad4 蛋白的表达均较模型组明显下降, 尤以肾络通组下降更为明显 ($P < 0.01$); 依普利酮组及肾络通组大鼠肾组织中 Smad7 蛋白的表达均较模型组明显升高, 尤以依普利酮组升高更为显著 ($P < 0.01$)。

4 讨论

RIF 是各种慢性肾脏疾病发生进展到终末期肾病的共同路径和主要病理学基础。其主要病理改变有肾间质大量炎细胞 (主要包括淋巴及单核细胞) 浸润、肾小管部分萎缩、胶原及纤维连结蛋白 (FN) 等 ECM 成分在肾间质内过度沉积^[2-5]。

在多种病因导致 RIF 的发生发展过程中, 肾素-血管紧张素-醛固酮系统 (RAAS) 被激活是其中的关键环节。血管紧张素与醛固酮 (ALDO) 密切相关, 血管紧张素 II (Ang-II) 通过血管紧张素 II 1

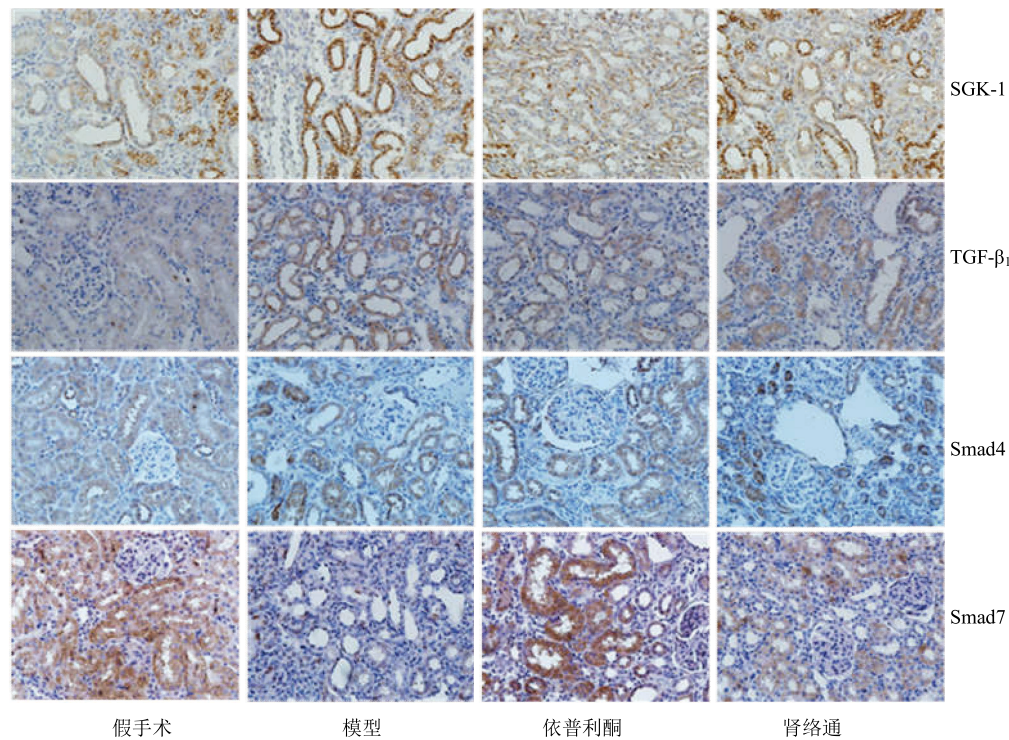


图 3 免疫组化检测各组大鼠肾脏 SGK-1、TGF-β₁、Smad4、Smad7 蛋白表达 (SABC, ×400)

Fig. 3 Immunohistochemical detection of SGK-1, TGF-β₁, Smad4, and Smad7 protein expression in kidney of rats in each group (SABC, × 400)

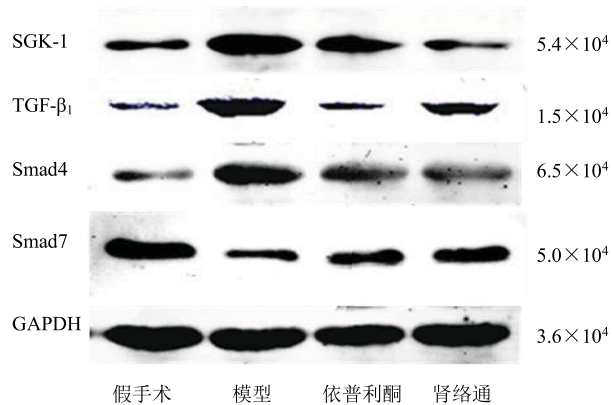


图 4 Western blotting 检测大鼠肾脏 SGK-1、TGF-β₁、Smad4、Smad7 蛋白表达

Fig. 4 Western blotting detection of SGK-1, TGF-β₁, Smad4, and Smad7 protein expression in rat kidney

型受体 (AT1R) 由肾上腺皮质球状带细胞合成和分泌 ALDO。醛固酮受体阻断剂可以改善血管内皮功能及减少胶原的积聚^[6], 说明醛固酮可独立参与 RIF 的进程^[7]。

NR3C2 核受体亚家族 C 组成员 2 (NR3C2) 属于盐皮质激素受体, 是一个配体依赖的转录因子, 可以直接促进肾脏水钠滞留导致高血压的发生^[8]。NR3C2 生理状态下表达于细胞胞质, 与热休克蛋白结合在一起, 当受到醛固酮刺激时, 与热休克蛋白分离, 发生核移位, 进入细胞核, 继而激活下游信号通路发挥作用。采用免疫荧光标记 MR 标志物 NR3C2 表达, 可以验证其的活化。实验结果显示, 模型组实验动物肾脏肾小管上皮细胞 NR3C2 表达明显增强, 并进入核内, 肾络通及依普利酮可以下

表 2 Western blotting 检测各组大鼠肾组织 SGK1、TGF-β₁、Smad4 和 Smad7 蛋白表达 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 2 Western blotting detection of SGK1, TGF-β₁, Smad4, and Smad7 protein expression in kidney tissue of each group ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	SGK-1/GAPDH	TGF-β ₁ /GAPDH	Smad4/GAPDH	Smad7/GAPDH
假手术	—	0.53 ± 0.018	0.36 ± 0.010	0.19 ± 0.005	0.57 ± 0.011
模型	—	1.37 ± 0.029**	1.11 ± 0.037**	0.67 ± 0.010**	0.23 ± 0.011**
依普利酮	0.1	0.86 ± 0.022 ^{△△}	0.27 ± 0.010 ^{△△}	0.59 ± 0.015 ^{△△}	0.39 ± 0.009 ^{△△}
肾络通	26	0.43 ± 0.015 ^{△△}	0.61 ± 0.066 ^{△△}	0.43 ± 0.016 ^{△△}	0.35 ± 0.018 ^{△△}

与假手术组比较: ***P* < 0.01; 与模型组比较: ^{△△}*P* < 0.01
***P* < 0.01 vs Sham group; ^{△△}*P* < 0.01 vs model group

调其表达并抑制核转位,证实肾络通抑制肾脏损伤的机制与下调 NR3C2 表达及核转位有关。

盐皮质激素受体(MR)激活后通过血清和糖皮质激素诱导的蛋白激酶 1(SGK-1)途径发挥着作用^[9]。SGK-1 是醛固酮促纤维化作用的关键介质^[10],属于 PI3K 的下游信号传导介质,主要参与细胞内的信号传导,当醛固酮激活 MR 后,通过 SGK-1 途径刺激促纤维化因子 TGF- β_1 、促炎性因子 TNF- α 等参与纤维化的形成^[11]。付文成等^[12]的研究发现,大鼠肾组织在给予醛固酮刺激后,肾组织中 SGK-1、TGF- β_1 和 CTGF 表达显著增高,说明醛固酮可通过激活 SGK-1 进而诱导 TGF- β_1 及其下游因子的表达,从而提示这是醛固酮诱导 RIF 发生的重要机制。

TGF- β_1 是目前公认的最强的致纤维化细胞因子^[13],被认为是 RIF 最重要的作用因子之一,其高表达是 RIF 形成的中心环节。TGF- β_1 的表达受 Smads 信号转导通路的调节,其中 Smad4 促进其表达而 Smad7 下调其表达,调控 Smads 而影响 TGF- β_1 的表达,在肾纤维化发生发展过程中有重要意义^[14]。研究结果证实,通过抑制 MR 活化,继而调控 Smad4 与 Smad7 的失衡,抑制了 TGF- β_1 的过表达。

本实验采用单侧输尿管梗阻方法复制 RIF 模型,激活 RAAS 系统。当 RAAS 激活后,Ang-II 上调,醛固酮分泌增多,从而启动了肾间质纤维化的进程。依普利酮即是一种新型的醛固酮受体阻断剂,它能有效抑制醛固酮活化,进而抑制细胞因子的增殖和 ECM 的大量分泌,从而抑制肾间质纤维化的进程而保护肾功能^[15-16]。前期实验发现,肾络通能够抑制炎症介质分泌,抑制细胞的表型转化,减缓 RIF 的进展^[17]。本研究中给以肾络通或依普利酮干预后,肾脏纤维化程度明显减轻, NR3C2、SGK-1、TGF- β_1 表达均明显低于模型组,说明肾络通可通过抑制 MR 活化,下调 SGK-1/TGF- β_1 的表达,抑制 RIF 的进展。

参考文献

- [1] Iwai T, Kitamoto K, Teramoto K, *et al.* Cobalt protoporphyrin attenuates rat obstructive nephropathy: Role of cellular infiltration [J]. *Urology*, 2008, 72(2): 432-438.
- [2] Djurdjaj S, Chatziantoniou C, Raffetseder U, *et al.* Notch-3 receptor activation drives inflammation and fibrosis following tubulointerstitial kidney injury [J]. *J Pathol*, 2012, 228(3): 286-299.
- [3] Ekici A B, Hackenbeck T, Morinière V, *et al.* Renal fibrosis is the common feature of autosomal dominant tubulointerstitial kidney diseases caused by mutations in mucin 1 or uromodulin [J]. *Kidney Int*, 2014, 86(3): 589-599.
- [4] Muthukumar T, Lee J R, Dadhanian D M, *et al.* Allograft rejection and tubulointerstitial fibrosis in human kidney allografts: Interrogation by urinary cell mRNA profiling [J]. *Transplant Rev (Orlando)*, 2014, 28(3): 145-154.
- [5] Arai H, Hayashi H, Takahashi K, *et al.* Tubulointerstitial fibrosis in patients with IgG4-related kidney disease: Pathological findings on repeat renal biopsy [J]. *Rheumatol Int*, 2015, 35(6): 1093-1101.
- [6] Doultou T W R. ACE inhibitor-angiotensin receptor blocker combinations: A clinician's perspective [J]. *Mini Rev Med Chem*, 2006, 6(5): 491-497.
- [7] Bolignano D, Palmer S C, Navaneethan S D, *et al.* Aldosterone antagonists for preventing the progression of chronic kidney disease [J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2014, doi: 10.1002/14651858.CD007004.pub3.
- [8] de Kloet E R, Van Acker S A, Sibug R M, *et al.* Brain mineralocorticoid receptors and centrally regulated functions [J]. *Kidney Int*, 2000, 57(4): 1329-1336.
- [9] Hou J, Speirs H J, Seckl J R, *et al.* Sgk1 gene expression in kidney and its regulation by aldosterone: Spatio-temporal heterogeneity and quantitative analysis [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2002, 13(5): 1190-1198.
- [10] Terada Y, Kuwana H, Kobayashi T, *et al.* Aldosterone-stimulated SGK1 activity mediates profibrotic signaling in the mesangium [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2008, 19(2): 298-309.
- [11] Martín-Fernández B, Valero Muñoz M, de las Heras N, *et al.* Relevance of SGK1 in structural, functional and molecular alterations produced by aldosterone in heart [J]. *Horm Mol Biol Clin Invest*, 2014, 18(2): 53-61.
- [12] 付文成, 彭文, 王浩, 等. 姜黄素对醛固酮诱导肾间质纤维化的保护作用 [J]. 现代中西医结合杂志, 2013, 22(2): 133-138.
- [13] 张闻宇, 黄文栋, 姜桂予. 胆汁酸 G 蛋白偶联受体通过 p38MAPK 通路诱导巨噬细胞 IL1 β 、TNF- α 和 IL6 的转录 [J]. 第三军医大学学报, 2012, 34(7): 597-601.
- [14] Klahr S, Morrissey J. Obstructive nephropathy and renal fibrosis [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2009, 295(5): 1024-1032.
- [15] 杨红霞, 朱敏怡. 黄芪对糖尿病大鼠肾组织的保护作用 [J]. 实用医学杂志, 2005, 21(17): 1964-1965.
- [16] 叶太生, 姚琼, 张莹雯. “当归黄芪药对”调控 TGF- β_1 /CTGF mRNA 表达抗大鼠肾纤维化的实验研究 [J]. 湖北中医杂志, 2016, 38(2): 1-4.
- [17] 王箬, 梁丽娟, 王聪慧, 等. 肾络通煎剂对梗阻性肾病大鼠肾间质纤维化的影响 [J]. 中国中西医结合杂志, 2014, 34(10): 1238-1244.