

芦丁对高糖模型大鼠肾小球系膜细胞的保护作用

顾利青*, 许英, 吕金宝(苏州市第五人民医院药剂科, 江苏苏州 215007)

中图分类号 R285.5 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)35-3278-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.35.05

摘要 目的:研究芦丁对高糖模型大鼠肾小球系膜细胞的保护作用。方法:以高糖(25 mmol/L)培养鼠肾小球系膜细胞。试验随机均分为正常对照(正常培养基)组、溶剂对照(0.1% DMSO)组、模型(正常培养基)组、卡托普利(1 μ mol/L)组与芦丁高、中、低质量浓度(40、10、5 μ g/ml)组,培养48 h。采用实时荧光定量-聚合酶链反应(RT-PCR)法测定细胞转化生长因子(TGF)- β_1 mRNA的表达,Western blot法检测细胞Smad 2/3与Smad 7的含量,分光光度法测细胞总超氧化物歧化酶(T-SOD)、丙二醛(MDA)、过氧化氢酶(CAT)与谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)水平。结果:与溶剂对照组比较,模型组细胞Smad 2/3、TGF- β_1 mRNA的表达增强,T-SOD、CAT与GSH-Px活性减弱,MDA含量增加,Smad 7的表达减弱,差异有统计学意义($P < 0.01$)。与模型组比较,芦丁高、中、低质量浓度组细胞Smad 2/3表达减弱,T-SOD、CAT活性增强,MDA含量减少,Smad 7的表达减弱;芦丁高、中质量浓度组TGF- β_1 mRNA表达减弱,GSH-Px活性增强,差异有统计学意义($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。结论:芦丁通过TGF- β_1 /Smad通路对高糖培养的大鼠肾小球系膜细胞产生保护作用,具有潜在的防治糖尿病肾病作用。

关键词 芦丁;转化生长因子- β_1 mRNA;Smad蛋白;氧化应激

Protective Effects of Rutin on Mesangial Cells of High Glucose Model Rats

GU Li-qing, XU Ying, LYU Jin-bao (Dept. of Pharmacy, Suzhou Fifth People's Hospital, Jiangsu Suzhou 215007, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the protective effect of rutin on mesangial cells of high glucose model rats. METHODS: The mesangial cells of rats were cultured with high glucose. The cultured mesangial cells were randomly divided into normal control group (normal culture medium), solvent control group (0.1% DMSO), model group (normal culture medium), captopril group (1 μ mol/L) and rutin high-concentration, medium-concentration and low-concentration groups (40, 10, 5 μ g/ml), for culturing 48h. The mRNA expression of TGF- β_1 in mesangial cells was detected by RT-PCR; the contents of Smad2/3 and Smad 7 were determined by Western blot; the levels of T-SOD, MDA, CAT, and GSH-Px were measured by spectrophotometry. RESULTS: Compared with solvent control group, the mRNA expression of Smad 2/3 and TGF- β_1 and MDA content were increased in model group, while the activities of T-SOD, CAT and GSH-Px and the expression of Smad 7 were decreased; there was statistical significance ($P < 0.01$). Compared with model group, the expression of Smad 2/3 Smad 7, and MDA content were decreased in rutin high-concentration, medium-concentration and low-concentration groups, while the activities of T-SOD, CAT were increased; the mRNA expression of TGF- β_1 mRNA were decreased, GSH-Px was increased in rutin high-concentration, medium-concentration groups, there was statistical significance ($P < 0.01$, $P < 0.05$). CONCLUSIONS: Rutin can protect mesangial cells of high glucose model rats via TGF- β_1 /Smad pathway, and is a potent protective agent against diabetic nephropathy.

KEYWORDS Rutin; TGF- β_1 mRNA; Smads; Oxidative stress

近年来,糖尿病肾病(Diabetic nephropathy, DN)已成为常见的终末期肾脏疾病,系膜区系膜细胞肥大和细胞外基质堆积是DN肾小球硬化的主要原因之一。高糖可引起多元醇、蛋白激酶C(Protein kinase C, PKC)/丝裂原活化蛋白激酶(Mitogen-activated protein kinase, MAPK)、转化生长因子(TGF)- β 等信号通路的异常,导致肾小球系膜细胞功能的紊乱,在DN的发生和发展中起着至关重要的作用^[1]。

芦丁广泛存在于苹果、槐米、芸香、荞麦等各种食物及中药材中,具有抗氧化、抗基因突变、抗惊厥、抗癌、保护细胞、抗血小板、抗凝血和保护血管等作用^[2-4]。最近,有文献报道芦丁可以通过抑制非糖基化终产物(AGEs)的形成^[5]、改善链脲霉素(Streptozotocin, STZ)诱导糖尿病大鼠的氧化应激^[6]、改善糖

异生^[7]、部分反转损伤的心肌功能^[8]等发挥治疗糖尿病的功效。同时,芦丁通过提高羟脯氨酸和胶原含量、降低基质金属蛋白酶(Matrix metalloproteinases, MMPs)活性、增强基质金属蛋白酶组织抑制剂(Tissue inhibitors of metalloproteinases, TIMPs)水平等环节,对STZ诱导的大鼠肾脏病变发挥保护作用^[9]。

高糖可刺激活性氧及TGF- β_1 的表达,TGF- β_1 能够通过介导MAPKs、Smads、PKC等信号通路诱导细胞外基质堆积,最终导致DN的恶化和加剧。研究发现^[8],肾小球系膜细胞肥大和肾小球系膜区细胞外基质堆积是导致肾小球硬化的重要因素,而肾小球系膜细胞分泌细胞因子也是不可忽视的因素。DN可能是细胞因子和生长因子共同作用的结果,因而肾小球系膜细胞常常被选择作为研究DN的靶细胞,而研究药物对TGF- β_1 /Smad信号通路的影响也是研究药物能否防治糖尿病肾病的途径之一。本研究通过实验证实芦丁通过TGF- β_1 /

* 副主任药师。研究方向:医院药学和药理学。电话:0512-65180122。E-mail:glq70731@126.com

Smad通路逆转高糖培养大鼠肾小球系膜细胞指标的异常,对大鼠肾小球系膜细胞具有保护作用,为临床治疗DN提供科学的参考。

1 材料

1.1 仪器

Class 100型CO₂培养箱(美国Sheldon公司);聚合酶链反应(PCR)仪(美国PE公司);ZFP型紫外手提式分析仪(上海长明光学电子仪器厂);5417R型台式高速冷冻离心机(德国Eppendorf公司);128CE型酶标仪(澳大利亚Clinibio公司);CX31型倒置显微镜(日本Olympus公司);EV265型电泳转运系统(瑞典Hofer公司);TS-1型脱色摇床(海门市麒麟医用仪器厂)。

1.2 药品与试剂

芦丁对照品(中国食品药品检定研究院,批号:100037-201106,纯度:99.9%);卡托普利(常州制药厂有限公司,批号:20111025);DMEM培养基、胰蛋白酶(美国Gibco公司);DNA Marker III(北京天根生物科技有限公司);琼脂糖(美国Bio-Rad公司);碘化丙啶(美国Sigma公司);BCA蛋白分析试剂盒、十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)蛋白上样缓冲液、Western抗稀释液、Western封闭液、Western及PI细胞裂解液、碱性磷酸酯酶标记山羊抗兔IgG(H+L)、碱性磷酸酯酶标记驴抗山羊IgG(H+L)及PMS(上海碧云天生物技术有限公司);山羊抗大鼠Smad7多克隆抗体(美国Santa Cruz公司);兔抗大鼠Smad2/3多克隆抗体(美国Bioworld公司);蛋白预染Marker(立陶宛Fermentas公司);配制浓缩胶及分离胶、电泳液缓冲液、转移液所需试剂(上海生工生物工程有限公司);总超氧化物歧化酶(T-SOD)、丙二醛(MDA)、过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)测试盒(南京建成生物工程有限公司);二甲亚砜(DMSO,湖南九鼎制药有限公司,批号:F25120801);其余剂均为国产分析纯。

1.3 细胞

大鼠肾小球系膜细胞HBZT-1(武汉大学中国典型培养物保藏中心)。

2 方法

2.1 细胞的培养与分组

取5~8代大鼠肾小球系膜细胞,在正常条件(5.56 mmol/L葡萄糖、10%胎牛血清、100 u/ml青霉素、100 u/ml链霉素)下,于37℃、5% CO₂培养箱中培养24 h后,随机均分为7组,即正常对照(正常培养基)组、溶剂对照(0.1% DMSO)组、模型(正常培养基)组、卡托普利(1 μmol/L)组与芦丁高、中、低质量浓度(40、10、5 μg/ml)组。加入相应药液培养48 h后,收集细胞混悬液1 ml(1.5×10⁶ ml⁻¹),4℃下,以离心半径为30 cm、1 000 r/min离心8 min,离心3次。细胞沉淀重新悬浮于2 ml细胞裂解液中,4℃下,以离心半径为30 cm、2 500 r/min离心8 min,收集上清液,-20℃贮藏,待测。

2.2 T-SOD、MDA、CAT与GSH-Px水平的测定

T-SOD、MDA、CAT与GSH-Px的水平分别用相应试剂盒,

采用分光光度法测定。

2.3 实时荧光定量(RT)-PCR法检测细胞中TGF-β₁ mRNA的表达

采用Promega Total RNA分离系统提取系膜细胞中的总RNA。大鼠TGF-β₁ mRNA的上、下游引物序列分别为5'-CCCGCATCCCAGGACCTCTCT-3'和5'-CGGGGGACTG-GCGAGCCTTAG-3',扩增产物长度为519 bp;β-actin的上、下游引物序列分别为5'-GCTGCGTGTGGCCCCTGAG-3'和5'-ACGCAGGATGGCATGAGGGA-3',扩增产物长度为252 bp。取3 μl总RNA样品加到反应管,加入50 μl反应液,混匀后滴加矿物油覆盖表面。将反应管放入PCR仪,48℃孵育45 min进行反转录,随后进行TGF-β₁与β-actin的RT-PCR扩增,扩增条件如下:94℃预变性5 min;94℃变性1 min,57℃退火50 s,72℃延伸1 min共40个循环;72℃延伸7 min。RT-PCR产物用1%琼脂糖凝胶电泳分离,用凝胶图像分析系统对电泳所得图像进行吸光度分析,以TGF-β₁吸光度与β-actin吸光度的比值表示目的基因TGF-β₁ mRNA的相对表达量。

2.4 Western blot法测定Smads蛋白的表达

参照文献采用Western blot法测定细胞中的Smads含量^[10]。各组细胞培养48 h后,去除培养基,所得细胞用PBS洗3次,然后与含5PMSF的细胞裂解液混合30 min,细胞裂解液随后在4℃下,以离心半径为30 cm、12 000 r/min离心30 min,收集上清液。采用BCA蛋白分析试剂盒测定上清液中蛋白含量,随后裂解液用进行SDS-PAGE分析。所有样品均制备在Laemmli缓冲液中,上样前煮沸5 min。将凝胶转膜至醋酸纤维素膜上,室温下用Western封闭液将膜封闭在TBS-吐温液中1 h,然后用一抗4℃下孵育过夜,取出膜用TBS-吐温溶液洗2次(各10 min)、TBS溶液洗1次(10 min),随后将膜置二抗孵育液,室温下孵育2 h,洗涤方法同上。将膜置于表面皿内,在膜上滴加BCIP/NBT显色液,避光在摇床上显色15 min左右,将膜取出,用水冲洗,停止染色。利用凝胶定量分析软件Quantity One对所得蛋白质条带进行吸光度分析,以Smads与β-actin吸光度的比值表示目的蛋白的相对表达含量。

2.5 统计学方法

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用SPSS13.0软件处理、分析试验数据。多组间单因素比较先用单因素分析其正态性,再以LSD法进行比较。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 芦丁对模型细胞T-SOD、MDA、CAT和GSH-Px水平的影响

与正常对照组比较,溶剂对照组细胞T-SOD、GSH-Px、CAT活性和MDA含量差异无统计学意义($P > 0.05$),表明0.1%的DMSO可以用于细胞培养并进行对细胞氧化应激状态的研究。与溶剂对照组比较,模型组T-SOD、GSH-Px、CAT活性减弱,MDA含量增加,差异有统计学意义($P < 0.01$),表明高糖环境下的肾小球系膜细胞处于较强的氧化应激状态。与模型组比较,芦丁高、中、低质量浓度组T-SOD、CAT活性增强,

MDA 含量减少, 芦丁高、中质量浓度组 GSH-Px 活性增强, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$), 表明芦丁能改善高糖培养的肾小球系膜细胞氧化应激状态。芦丁对模型细胞 T-SOD、MDA、CAT 和 GSH-Px 水平的影响见表 1。

表 1 芦丁对模型细胞 T-SOD、MDA、CAT 和 GSH-Px 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Tab 1 Effects of rutin on the levels of T-SOD, MDA, CAT and GSH-Px in model cells ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	T-SOD, U/mg	MDA, nmol/mg	CAT, U/ml	GSH-Px, U/ml
正常对照组	9.06 ± 0.88	7.05 ± 1.13	2.56 ± 0.31	132.32 ± 16.18
溶剂对照组	9.05 ± 0.76	6.89 ± 1.15	2.70 ± 0.30	128.05 ± 12.09
模型组	6.74 ± 0.83 [*]	20.22 ± 1.25 [*]	1.78 ± 0.39 [*]	87.17 ± 6.49 [*]
卡托普利组	7.18 ± 0.90	4.96 ± 1.03 ^{##}	1.67 ± 0.31	85.99 ± 10.71
芦丁低质量浓度组	8.67 ± 0.86 ^{##}	4.54 ± 1.07 ^{##}	2.56 ± 0.42 [*]	89.60 ± 11.60
芦丁中质量浓度组	9.76 ± 0.81 ^{###}	3.75 ± 1.11 ^{##}	2.79 ± 0.33 ^{##}	104.80 ± 10.76 [*]
芦丁高质量浓度组	10.18 ± 0.84 ^{###}	3.62 ± 1.13 ^{##}	3.25 ± 0.31 ^{##}	129.39 ± 13.98 ^{##}

与溶剂对照组比较: * $P < 0.01$; 与模型组比较: # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$
vs. solvent control group: * $P < 0.01$; vs. model group: # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$

3.2 芦丁对模型细胞 TGF- β_1 mRNA 表达的影响

与正常对照组比较, 溶剂对照组细胞中 TGF- β_1 mRNA 表达无明显改变 ($P > 0.05$), 表明 0.1% 的 DMSO 可以用于细胞培养并进行 TGF- β_1 mRNA 表达水平的研究。与溶剂对照组比较, 模型组 TGF- β_1 mRNA 表达增强, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 芦丁高、中质量浓度组 TGF- β_1 mRNA 表达减弱, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$), 表明芦丁具有减弱高糖导致的 TGF- β_1 表达异常。TGF- β_1 mRNA 的表达见图 1; 芦丁对模型细胞 TGF- β_1 mRNA 表达的影响见表 2。

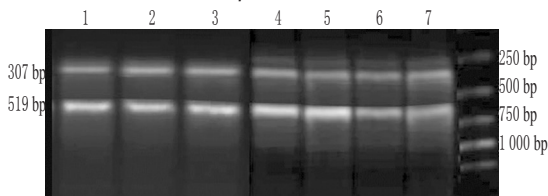


图 1 TGF- β_1 mRNA 的表达

Fig 1 mRNA expression of TGF- β_1

1. 芦丁高质量浓度组; 2. 芦丁中质量浓度组; 3. 芦丁低质量浓度组; 4. 卡托普利组; 5. 模型组; 6. 溶剂对照组; 7. 正常对照组
1. rutin high-concentration group; 2. medium-concentration group; 3. low-concentration groups; 4. captopril group; 5. model group; 6. solvent control group; 7. normal control group

3.3 芦丁对模型细胞 Smad 2/3、Smad 7 蛋白表达的影响

与正常对照组比较, 溶剂对照组细胞中的 Smad 2/3、Smad 7 蛋白表达差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 表明 0.1% 的 DMSO 对细胞的 Smad 2/3 和 Smad 7 表达无明显影响, 可用于细胞培养并进行细胞 Smad 2/3 和 Smad 7 蛋白表达的研究。与溶剂对照组比较, 模型组 Smad 2/3 蛋白增强, Smad 7 蛋白减弱, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 芦丁高、中、低质量浓度组的 Smad 2/3 蛋白表达减弱, Smad 7 蛋白表达增强, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$), 表明芦丁可影响细胞 Smad 2/3 和 Smad 7 蛋白的表达, 能明显逆转高糖导致的

细胞内 Smad 2/3 和 Smad 7 蛋白的表达异常。Smad 2/3、Smad 7 蛋白的表达见图 2; 芦丁对模型细胞 Smad 2/3、Smad 7 蛋白表达的影响见表 3。

表 2 芦丁对模型细胞 TGF- β_1 mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Tab 2 Effects of rutin on mRNA expression of TGF- β_1 in model cell ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	TGF- β_1 /mRNA 相对表达量
正常对照组	2.34 ± 0.12
溶剂对照组	2.49 ± 0.19
模型组	3.49 ± 0.18 [*]
卡托普利组	2.55 ± 0.17 ^{##}
芦丁低质量浓度组	2.75 ± 0.21
芦丁中质量浓度组	2.36 ± 0.18 ^{##}
芦丁高质量浓度组	2.23 ± 0.14 ^{##}

与溶剂对照组比较: * $P < 0.01$; 与模型组比较: # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$
vs. solvent control group: * $P < 0.01$; vs. model group: # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$

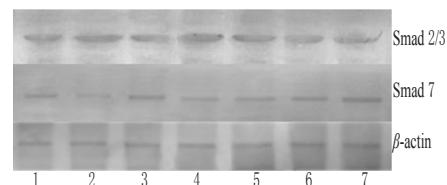


图 2 Smad 2/3 与 Smad 7 蛋白的表达

Fig 2 Protein expression of Smad 2/3 and Smad 7

1. 芦丁高质量浓度组; 2. 芦丁中质量浓度组; 3. 芦丁低质量浓度组; 4. 卡托普利组; 5. 模型组; 6. 溶剂对照组; 7. 正常对照组
1. rutin high-concentration group; 2. medium-concentration group; 3. low-concentration groups; 4. captopril group; 5. model group; 6. solvent control group; 7. normal control group

表 3 芦丁对模型细胞中 Smad 2/3 与 Smad 7 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Tab 3 Effects of rutin on protein expression of Smad 2/3 and Smad 7 in model cells ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	Smad 2/3/ β -actin	Smad 7/ β -actin
正常对照组	5.72 ± 0.77	3.13 ± 0.99
溶剂对照组	5.96 ± 0.71	3.14 ± 0.83
模型组	7.87 ± 0.74 [*]	1.55 ± 0.54 [*]
卡托普利组	7.56 ± 0.46	1.98 ± 0.60
芦丁低质量浓度组	6.80 ± 0.53 [*]	2.26 ± 0.64 [*]
芦丁中质量浓度组	5.28 ± 0.66 ^{##}	3.56 ± 0.63 ^{##}
芦丁高质量浓度组	5.08 ± 0.86 ^{##}	3.28 ± 0.61 ^{##}

与溶剂对照组比较: * $P < 0.01$; 与模型组比较: # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$
vs. solvent control group: * $P < 0.01$; vs. model group: # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$

4 讨论

DN 的发展进程中, 众多通路均与氧化应激产生的产物增加有关^[10], 高血糖可引起葡萄糖自氧化和非酶糖基化反应, 致使活性氧簇 (ROS) 的产生增加, 加速 DN 进展。在本研究中, 与溶剂对照组比较, 模型组 T-SOD、GSH-Px、CAT 活性明显减弱, MDA 生成增加, 此结果与国内外研究报道一致^[8, 10]。芦丁各质量浓度组对高糖引起的 T-SOD、GSH-Px、CAT 活性减弱均有增强作用, 并对高糖引起的 MDA 含量降低具有逆转作用,

说明芦丁可以提高机体氧化能力,明显增强肾功能,与CAP组相比效果更好。

TGF- β_1 作为肾脏疾病发展的核心因子,直接介导DN肾脏的肥大, DN中激活的代谢通路及血流动力学异常均与TGF- β_1 异常有关^[11-12]。TGF- β_1 通过系膜细胞的高亲和性受体促进系膜细胞的增殖和系膜基质的分泌,在肾小球纤维化中起着重要的作用。TGF- β_1 通过上调蛋白抑制因子,下调基质降解蛋白酶如胶原酶的合成,阻止新合成的细胞外基质降解最终导致肾小球硬化^[13-14]。本研究中,芦丁能抑制高糖诱导的TGF- β_1 高表达可能与其作用于多种信号转导途径有关。芦丁干预肾小球系膜细胞,使TGF- β_1 mRNA表达明显减弱,则可能减轻高糖引起的系膜细胞的增殖和肥大,减少细胞外基质的合成,从而延缓肾小球硬化的发生。

Smad家族蛋白是目前所知的TGF- β 受体胞内激酶底物,能介导TGF- β_1 的胞内信号转导,参与TGF- β_1 /Smad这一信号通路的Smad家族蛋白主要有Smad 2、3、4、7。其中Smad2、3由TGF- β_1 激活,Smad4与R-Smad结合参与TGF- β_1 的信号转导,而Smad6、7对信号转导起负调控作用^[45]。研究发现,高糖可明显提高大鼠肾小球系膜细胞中TGF- β_1 mRNA、Smad2/3的表达,降低Smad7的表达。本研究表明,芦丁可有效抑制高糖导致的细胞Smad2/3蛋白表达,上调Smad7蛋白的表达,从而减少细胞外基质的形成,保护DN肾小管功能、阻断肾纤维化,起到肾脏保护作用。

总之,芦丁一方面可以对抗高糖引起的氧化应激;另一方面可反转高糖引起的TGF- β_1 /Smad通路异常,为其防治DN和延缓DN的进程提供了理论依据。

参考文献

- [1] Haneda M, Koya D, Isono M, et al. Overview of glucose signaling in mesangial cells in diabetic nephropathy[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2003, 14(5):1 374.
- [2] Sheu JR, Hsiao G, Chou PH, et al. Mechanisms involved in the antiplatelet activity of rutin, a glycoside of the flavonol quercetin, in human platelets[J]. *J Agric Food Chem*, 2004, 52(14):4 414.
- [3] Nassiri-Asl M, Shariati-Rad S, Zamansoltani F. Anticonvulsive effects of intracerebroventricular administration of rutin in rats[J]. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2008, 32(4):989.
- [4] 白瑞霞,宋素异,鲁米诺.高锰酸钾化学法测定芦丁片中芦丁的含量[J]. *中国药房*, 2013, 24(31):460.
- [5] Cervantes-Laurean D, Schramm DD, Jacobson EL, et al.

Inhibition of advanced glycation end product formation on collagen by rutin and its metabolites[J]. *J Nutr Biochem*, 2006, 17(8):531.

- [6] Kamalakkannan N, Prince PS. Antihyperglycaemic and antioxidant effect of rutin, a polyphenolic flavonoid, in streptozotocin-induced diabetic wistar rats[J]. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 2006, 98(1):97.
- [7] Stanley Mainzen Prince P, Kamalakkannan N. Rutin improves glucose homeostasis in streptozotocin diabetic tissues by altering glycolytic and gluconeogenic enzymes[J]. *J Biochem Mol Toxicol*, 2006, 20(2):96.
- [8] Evans JL, Goldfine ID, Maddux BA, et al. Oxidative stress and stress activated signaling pathways: a unifying hypothesis of type 2 diabetes[J]. *Endocr Rev*, 2002, 23(5):599.
- [9] Wolf G. Growth factors and the development of diabetic nephropathy[J]. *Curr Diab Rep*, 2003, 3(6):485.
- [10] Fukami K, Ueda S, Yamagishi S, et al. AGEs activate mesangial TGF-beta-Smad signaling via an angiotensin 2 type 1 receptor interaction[J]. *Kidney Int*, 2004, 66(6):2 137.
- [11] Okazaki Y, Yamasaki Y, Uchida HA, et al. Enhanced TGF-beta/Smad signaling in the early stage of diabetic nephropathy is independent of the AT1a receptor[J]. *Clin Exp Nephrol*, 2007, 11(1):77.
- [12] Shi YH, Zhao S, Wang C, et al. Fluvastatin inhibits activation of JAK and STAT proteins in diabetic rat glomeruli and mesangial cells under high glucose conditions[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2007, 28(12):1 938.
- [13] Noh HJ, Kim HC, Lee SS, et al. The inhibitory effect of siRNAs on the high glucose-induced overexpression of TGF-beta1 in mesangial cells[J]. *J Korean Med Sci*, 2006, 21(3):430.
- [14] Willis BC, Borok Z. TGF-beta-induced EMT: mechanism and implications for fibrotic lung disease[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2007, 293(3):525.
- [15] 郝惠惠,邵珠明,杜倩,等.槲皮素对糖尿病大鼠氧化应激及TGF- β_1 /CTGF的影响[J]. *中国医院药学杂志*, 2012, 32(13):1 012.

(收稿日期:2013-10-16 修回日期:2014-05-07)

《中国药房》杂志——《中国科学引文数据库》(CSCD)来源期刊,欢迎投稿、订阅