

蛹虫草对糖尿病大鼠肾脏病程发展的抑制作用

李 冰, 王静凤, 杨延村, 李晓林, 杨玉红, 滕来宾, 薛长湖*

(中国海洋大学食品科学与工程学院, 山东 青岛 266003)

摘 要:目的: 研究蛹虫草(*Cordyceps militaris*)对糖尿病大鼠肾脏病程发展的抑制作用。方法: 采用一次性腹腔注射链脲佐菌素(STZ)的方法建立糖尿病大鼠模型。经蛹虫草(400mg/kg, 以体质量计)灌胃 8 周后, 分别检测大鼠空腹血糖值和肾脏指数; 并收集大鼠 24h 尿液, 检测尿液中微量白蛋白(mAlb)、 β -N 乙酰葡萄糖苷酶(NAG)含量; 测定血清中尿素氮(BUN)、肌酐(Cr)、尿酸(UA)含量; 通过 RT-PCR 法测定肾脏中转化生长因子 β_1 (TGF- β_1)及其 II 型受体(T β R II)、结缔组织生长因子(CTGF)mRNA 表达; Western blotting 检测肾脏中 TGF- β_1 蛋白表达; 免疫组化法检测肾脏中 IV 型胶原表达。结果: 蛹虫草能显著降低糖尿病大鼠空腹血糖($P < 0.05$)、肾脏指数($P < 0.01$)、24h 排尿量($P < 0.01$)、尿微量白蛋白排泄率(UAER) ($P < 0.01$)和 NAG 排泄率($P < 0.01$); 同时能够降低血清中 BUN、Cr、UA 含量($P < 0.05$); 下调 TGF- β_1 、TGF β R II 和 CTGF 的 mRNA 表达($P < 0.01$), 减少 TGF- β_1 及 IV 型胶原的蛋白表达($P < 0.01$)。结论: 蛹虫草具有良好的降血糖及改善肾脏滤过功能的作用, 其机制可能与抑制 TGF- β_1 、TGF β R II 和 CTGF 等基因表达, 减少胶原物质在肾脏中的积累有关。

关键词: 蛹虫草; 糖尿病肾病; 转化生长因子- β_1 ; 结缔组织生长因子; IV 型胶原

Suppressive Effect of *Cordyceps militaris* on the Development of Nephropathy in Diabetic Rats

LI Bing, WANG Jing-feng, YANG Yan-cun, LI Xiao-lin, YANG Yu-hong, TENG Lai-bin, XUE Chang-hu*

(College of Food Science and Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

Abstract: Objective: To explore the inhibitory function of *Cordyceps militaris* on the development of nephropathy in diabetic rats. Methods: Diabetic rat model was established by intraperitoneally injecting streptozotocin at the dose of 60 mg/kg. After the diabetic rats were administered with *Cordyceps militaris* at the dose of 400 mg/kg for 8 consecutive weeks, fasting blood glucose level, kidney index, the contents of microalbumin (mAlb) and β -N acetyl glucosaminidase (NAG) in urine, and the contents of blood urea nitrogen (BUN), creatinine (Cr) and uric acid (UA) in serum were determined. The mRNA expression of transforming growth factor- β_1 (TGF- β_1), transforming growth factor beta-receptor II (TGF β R II) and connective tissue growth factor (CTGF) in the kidney were evaluated by semi-quantitative RT-PCR. The expression of collagen IV and TGF- β_1 protein in the kidney was determined by immunohistochemistry and Western blot analysis. Results: *C. militaris* could significantly reduce fasting blood glucose ($P < 0.05$), kidney index ($P < 0.01$), 24-h urine collection ($P < 0.01$), the excretion of mAlb ($P < 0.01$) and NAG ($P < 0.01$) in urine, and serum BUN, Cr and UA levels ($P < 0.05$) of diabetic rats. *C. militaris* administration resulted in a remarkably down-regulation of TGF- β_1 , TGF β R II and CTGF mRNA expression in the kidney of diabetic rats ($P < 0.01$). Western blot and immunohistochemistry analyses revealed a reduction in the expression of TGF- β_1 and collagen IV protein due to *C. militaris* administration. Conclusion: *C. militaris* has anti-hyperglycemic function and can improve kidney filtration function. The mechanisms of these functions may be due to the inhibited expression of TGF- β_1 , TGF β R II and CTGF as well as the reduced accumulation of collagen in the mouse kidney.

Key words: *C. militaris*; diabetic nephropathy; TGF- β_1 ; connective tissue growth factor(CTGF); collagen IV

中图分类号: R965

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2011)15-0255-05

收稿日期: 2010-09-16

基金项目: 海洋公益性行业科研专项(201105029); 国际科技合作项目(2010DFA31330);

国家自然科学基金项目(30871944; 30972284)

作者简介: 李冰(1985—), 男, 硕士研究生, 研究方向为海洋生物活性物质。E-mail: lb435317714@163.com

* 通信作者: 薛长湖(1964—), 男, 教授, 博士, 研究方向为水产品加工。E-mail: xuech@ouc.edu.cn

糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)是常见的糖尿病慢性微血管并发症,病人晚期出现严重肾功能衰竭,是导致糖尿病患者死亡的主要原因之一,因此控制和延缓糖尿病肾病的发展过程具有重要的临床意义。病理早期肌酐清除能力下降,血清肌酐(creatinine, Cr)、尿素氮(blood uria nitrogen, BUN)水平升高,出现蛋白尿,肾脏细胞增殖肥大,细胞外基质(extracellular matrix, ECM)增多,晚期出现肾小球硬化和肾小管间质的纤维化。肾小球系膜细胞分泌产生的转化生长因子 β_1 (transforming growth factor- β_1 , TGF- β_1)被认为是早期参与介导DN的最主要的细胞因子^[1]。而结缔组织生长因子(connective tissue growth factor, CTGF)作为转化生长因子 β (TGF- β)的下游调节因子,能介导和调节TGF- β 的促胶原等细胞外基质(ECM)合成,抑制其降解等作用^[2]。

蛹虫草又名北冬虫夏草,其化学成分与冬虫夏草相似^[3],富含虫草多糖、虫草素、超氧化物歧化酶等活性物质,具有降血脂、提高免疫力、延缓衰老等功能^[4-5]。近年来,人们对虫草的需求量逐年增加,其医疗保健作用得到了广泛的重视。故本实验通过观察蛹虫草对糖尿病大鼠血糖及其肾脏滤过功能的影响,并通过检测TGF- β_1 、转化生长因子 β_1 II型受体(transforming growth factor beta receptor II, T β RII)和CTGF等细胞因子的表达,对其保护作用机制进行探讨,以期进一步挖掘虫草的药用价值,为其合理开发应用提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

人工蛹虫草(*Cordyceps militaris*),由市场购得,经超微粉碎后室温储存。实验时以蒸馏水配制成所需浓度悬浊液。

链脲佐菌素(streptozocin, STZ) 美国Sigma公司; Cr、BUN、尿酸(uric acid, UA)、 β -D-N-乙酰葡萄糖苷酶(β -D-N-acetyl-glucosaminidase, NAG)测定试剂盒 南京建成生物工程研究所;尿微量白蛋白(microalbuminuria, mAlb)测试盒 上海太阳生物技术有限公司;Taq酶、M-MLV逆转录酶(moloney murine leukemia virus reverse transcriptase, M-MLV RT) 日本Takara公司;兔抗大鼠IV型胶原多克隆抗体 武汉博士德生物技术有限公司;兔抗大鼠TGF- β_1 多克隆抗体 美国CST公司;TRIzol Reagent 美国Invitrogen公司;Western及IP细胞裂解液 碧云天生物技术有限公司;实验所需基因引物由上海生工生物技术有限公司合成。

1.2 实验动物

SD大鼠,雄性,体质量(200 \pm 20)g, SPF级,

购于北京维通利华实验动物技术有限公司,合格证号为SCXK(京)2007-0001。

1.3 仪器与设备

680型酶标仪 美国Bio Rad公司; Surestep血糖仪 美国强生公司; Mastercycler personal PCR仪 德国Eppendorf Mastercycle公司; GIS-2008型凝胶成像系统 上海天能科技有限公司; BH-2型光学显微镜 日本Olympus公司; TGL-16G型冷冻离心机 上海安亭科学仪器厂; UV-2550型紫外-可见分光光度计 日本岛津公司。

1.4 方法

1.4.1 模型建立及动物分组

健康SD大鼠,禁食不禁水12h,一次性腹腔注射STZ 60mg/kg(以体质量计)。72h后尾静脉采血,测空腹血糖,以血糖值 ≥ 16.7 mmol/L者为造模成功。正常对照组注射等体积枸橼酸缓冲液(pH4.3)。将造模成功的大鼠按体质量及血糖随机分为模型对照组和蛹虫草给药组,每组10只。蛹虫草组以400mg/kg(以体质量计)灌胃给药,正常对照组和模型对照组给予生理盐水,灌胃体积为1mL/100g,共8周。

1.4.2 标本收集

大鼠于末次给药后,代谢笼单只收集24h尿液,离心分装,4℃保存待测。大鼠于末次给药后,禁食不禁水5h,尾静脉取血100 μ L,按照试剂盒方法分离血清,测血糖水平。经心脏插管注入4℃预冷生理盐水灌洗至肾脏颜色发白后,摘取双肾去掉包膜后称质量,于冰上取8mm³肾皮质于中性甲醛中固定,待进行免疫组化染色。剩余肾皮质分别切成小块投入液氮中,待提取组织RNA及蛋白。

1.4.3 尿液中mAlb和NAG含量测定

mAlb和NAG含量参照试剂盒方法检测,尿微量白蛋白排泄率(UAER)为mAlb含量与24h尿量乘积。NAG排泄率为NAG含量与24h尿量乘积。

1.4.4 血清BUN、Cr和UA含量测定

参照试剂盒方法分别检测血清中BUN、Cr和UA含量。

1.4.5 肾皮质中TGF- β_1 、T β RII和CTGF mRNA表达检测

产物经1%琼脂糖凝胶电泳,并进行光度扫描,以 β -actin作为内参校正。

采用Trizol法提取肾皮质总RNA,两步法RT-PCR检测目的基因的表达量,PCR反应条件为:94℃预变性5min,94℃变性45s,退火30s,72℃延伸45s,最后72℃再延伸10min。

引物设计、产物长度、退火温度及循环数如表1所示。

表1 引物设计、产物长度、退火温度和循环数

Table 1 Primer design, product length, annealing temperature and cycle number

基因	引物设计	产物长度/bp	退火温度/℃	循环数
<i>TGF-β</i>	(+) ^{5'} ACTACGCCAAGAAGTCACCC-3' (-) ^{5'} TGAGCACTGAAGCGAAAGC-3'	358	59	27
<i>TβR II</i>	(+) ^{5'} GTGGAGGAAGAACGACAAGAA-3' (-) ^{5'} CACGGTAACAGTAGAAGATGGC-3'	315	59	30
<i>CTGF</i>	(+) ^{5'} GTGACAGGGGAGGGACATT-3' (-) ^{5'} CAAGAACAATAGGCACAAACG-3'	313	59	26
<i>βactin</i>	(+) ^{5'} GCAGATGTGGATCAGCAAGC-3' (-) ^{5'} GTCAAAGAAAGGGTGTAAACG-3'	111	59	24

1.4.6 肾皮质中 *TGF-β₁* 蛋白表达检测

取0.1g肾皮质加入1mL裂解液匀浆, 12000 × g 离心5min, 取上清液测蛋白浓度。将上清液与6 × Loading Buffer 混合后, 沸水浴加热5min, 离心取上清。于4℃凝胶电泳, 电转移1h至硝酸纤维素膜, 用5%脱脂奶粉溶液4℃封闭过夜, 加入兔抗大鼠 *TGF-β₁* 抗体(工作浓度1:1000)室温孵育1.5h, 磷酸盐-吐温缓冲液洗膜3 × 10min, 加入HRP标记的二级抗体(工作浓度1:5000)室温孵育膜1h, 磷酸盐-吐温缓冲液洗膜4 × 15min。曝光底片, 扫描保存为电脑文件, 用ImageJ 1.4 分析软件将条带的灰度值数字化。以甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)作内参, 目的条带与其相比得到相对量。

1.4.7 肾脏中IV型胶原蛋白表达检测

将固定的肾脏石蜡包埋, 制成4 μm 切片。按照试剂盒说明进行免疫组化染色, 其中IV型胶原抗体工作浓度为1:30, 4℃孵育过夜; 用3,3'-二氨基联苯胺(DAB)显色液显色15min。实验采用删除第一抗体作阴性对照, 高倍镜下每组切片选取20个肾小球, 应用图像软件分析系统计算每张切片IV型胶原阳性表达率。

1.4.8 统计学分析

数据分析采用SPSS11.0 软件进行单因素方差分析, 同时进行LSD比较。以 $P < 0.05$ 为具有统计学意义上的差异。实验结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示。

2 结果与分析

2.1 蛹虫草对大鼠血糖和肾脏指数的影响

表2 蛹虫草对糖尿病大鼠空腹血糖、肾脏指数、24h尿量及白蛋白排泄率的影响($\bar{x} \pm s$, $n=10$)Table 2 Effect of *C. militaris* on fasting blood glucose, kidney index and urine and mAlb excretion in diabetic rats ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	终末空腹血糖 值/(mmol/L)	肾脏指数/ (g/kg)	排尿量/ (mL/24h)	UAER 排泄率/ (mg/24h)
正常对照组	6.51 ± 0.60	3.84 ± 0.50	19.00 ± 3.63	0.37 ± 0.05
模型对照组	26.53 ± 2.71 [#]	7.29 ± 0.67 [#]	98.80 ± 11.95 [#]	0.87 ± 0.05 [#]
蛹虫草组	22.15 ± 2.14 [*]	6.12 ± 0.38 ^{**}	82.40 ± 8.64 ^{**}	0.63 ± 0.09 ^{**}

注: #.与正常对照组比较, 差异极显著($P < 0.01$); *.与模型对照组比较, 差异显著($P < 0.05$); **.与模型对照组比较, 差异极显著($P < 0.01$)。下同。

由表2可知, 模型对照组大鼠血糖明显高于正常对照组($P < 0.01$), 蛹虫草组血糖值较模型大鼠降低了16.51% ($P < 0.05$)。模型对照组大鼠肾脏指数比正常对照组升高了89.84% ($P < 0.01$)。经灌胃蛹虫草后, 肾脏指数下降了16.04% ($P < 0.01$)。说明蛹虫草具有良好的降血糖及抑制肾脏肥大的功能。

2.2 蛹虫草对排尿量及UAER排泄率的影响

由表2可见, 模型对照组24h排尿量及UAER排泄率均明显高于正常对照组($P < 0.01$), 而蛹虫草治疗后, 大鼠24h尿量及UAER排泄率较模型对照组分别降低了16.60%和27.59% ($P < 0.01$)。UAER排泄率是肾小球受损的灵敏指标, 实验结果提示蛹虫草对肾小球具有一定保护作用。

2.3 蛹虫草对尿NAG排泄率的影响

表3 蛹虫草对糖尿病大鼠NAG排泄率、BUN、Cr和UN的影响($\bar{x} \pm s$, $n=10$)Table 3 Effect of *C. militaris* on NAG excretion and serum BUN, Cr and UN levels in diabetic rats ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	NAG排泄 率/(U/24h)	BUN/ (mmol/L)	Cr/ (mmol/L)	UA/ (mg/L)
正常对照组	0.30 ± 0.05	5.66 ± 0.78	0.80 ± 0.12	17.53 ± 2.44
模型对照组	1.18 ± 0.23 [#]	11.67 ± 1.34 [#]	1.16 ± 0.20 [#]	24.37 ± 2.59 [#]
蛹虫草组	0.78 ± 0.17 [*]	10.04 ± 1.34 [*]	0.90 ± 0.14 [*]	20.25 ± 1.95 [*]

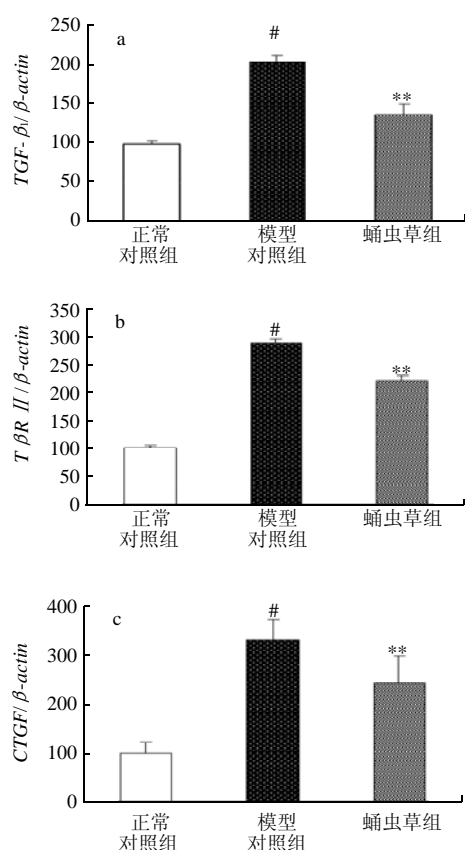
NAG是一种溶酶体水解酶, 主要存在于近端肾小管细胞的溶酶体中, 其活性增高可作为肾小管细胞损伤的早期标志物^[6]。由表3可见, 模型对照组大鼠NAG排泄率较正常对照组提高了2.9倍($P < 0.01$), 经灌胃样品后, 蛹虫草组大鼠NAG排泄率较模型对照组降低了33.90% ($P < 0.05$)。表明蛹虫草对肾小管具有保护作用。

2.4 蛹虫草对血清BUN、Cr和UA含量的影响

BUN、Cr和UA分别为人体蛋白质、肌酸和嘌呤代谢产物, 3种物质均经肾小球滤过后随尿排出, 其在血清中含量可直观反映肾小球的滤过功能。由表3可见, 与正常对照组相比, 模型对照组大鼠血清BUN、Cr和UA含量均极显著上升($P < 0.01$)。经灌样品8周后, 大鼠血清中三者含量分别降低了13.97%、22.41%和16.90% ($P < 0.05$)。表明蛹虫草能够明显改善肾小球的过滤功能。

2.5 蛹虫草对大鼠肾皮质中 *TGF-β₁*、*TβR II*以及 *CTGF* mRNA表达的影响

PCR结果表明, 与正常对照组比较, 模型对照组 *TGF-β₁*、*TβR II*以及 *CTGF* mRNA表达均极显著升高($P < 0.01$)。蛹虫草能显著抑制三者mRNA表达, 与模型对照组相比, 蛹虫草组肾皮质中 *TGF-β₁*、*TβR II*及 *CTGF* mRNA表达分别减少了33.66%、23.67%和26.67% (图1)。



a. $TGF-\beta_1$ mRNA; b. $T\beta R II$ mRNA; c. $CTGF$ mRNA.

图1 蛹虫草对大鼠肾脏中 $TGF-\beta_1$, $T\beta R II$ 以及 $CTGF$ mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Fig.1 Effect of *C. militaris* on mRNA expression of $TGF-\beta_1$, $T\beta R II$ and $CTGF$ in diabetic rats ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

2.6 蛹虫草对大鼠肾皮质中 $TGF-\beta_1$ 蛋白表达的影响

Western blotting 分析结果显示, 模型对照组大鼠肾皮质中 $TGF-\beta_1$ 蛋白表达量约为正常大鼠的 6 倍, 经灌胃蛹虫草后, 其蛋白表达量降低了 10.10% (图 2)。

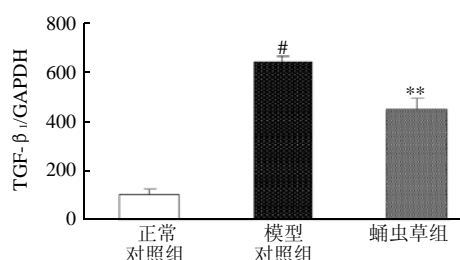


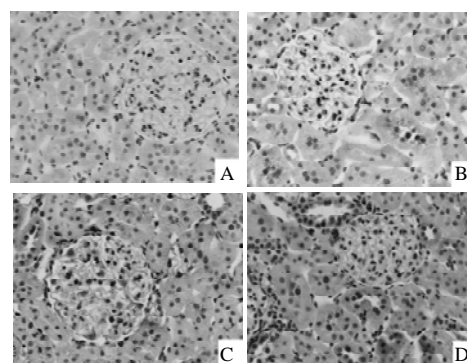
图2 蛹虫草对糖尿病大鼠肾脏中 $TGF-\beta_1$ 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Fig.2 Effect of *C. militaris* on $TGF-\beta_1$ expression in diabetic rats ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

2.7 蛹虫草对大鼠肾脏中 IV 型胶原蛋白表达的影响

实验采用去除 IV 型胶原抗体作阴性对照。由图 3 可见, 在正常大鼠肾脏中 IV 型胶原有一定的表达量, 而

模型对照组阳性染色明显增强, 蛹虫草组阳性表达有所减弱。对图像定量分析显示, 与正常对照组(表达率为 $(12.01 \pm 2.34)\%$)相比, 模型对照组($(67.21 \pm 8.79)\%$)大鼠肾皮质中 IV 型胶原阳性表达率显著增强 ($P < 0.01$); 蛹虫草组($(35.6 \pm 6.61)\%$)IV 型胶原阳性表达率明显降低 ($P < 0.01$)。



A. 阴性对照(去除 IV 型胶原抗体); B. 正常对照组; C. 模型对照组; D. 蛹虫草组。

图3 蛹虫草对糖尿病大鼠肾脏中 IV 型胶原蛋白表达的影响

Fig.3 Effect of *C. militaris* on collagen IV expression in the kidney of diabetic rats

3 讨论

DN 是糖尿病最常见、最严重的慢性并发症之一, 以早期肌酐清除能力下降, 血清 Cr、BUN 水平升高, 肾小球肥大, 同时出现蛋白尿和肾功能受损为特征。本实验以 STZ 诱导建立糖尿病模型, 并在高血糖环境下造成对肾脏的损伤, 出现肾脏肥大、肾小球滤过功能下降, 尿中出现 mAlb, 表明糖尿病大鼠已出现早期的 DN 症状, 造模成功。

高血糖是 DN 产生的首要原因, 是最强烈的产生 mAlb 的危险因素。血糖水平在糖尿病发生肾脏病变的过程中至关重要^[6]。实验结果表明, 蛹虫草能显著改善糖尿病大鼠高血糖症状。DN 发生时, 肾小球系膜区为主的细胞外基质的胶原合成增加、分解减慢, 导致肾脏体积增大 20%~30%。且 DN 主要损伤肾小球毛细血管, 临床表现为血清 BUN、Cr、UA 增高。而 mAlb 是肾小球受损的灵敏指标, 被用作早期糖尿病肾病期的诊断指标。已有研究发现, 虫草能抑制肾小球系膜细胞增殖, 抑制成纤维细胞的增殖生长及合成细胞外基质的能力^[7-8], 有效的降低血 Cr、BUN 水平, 减轻内生肌酐清除率的下降, 降低尿 NAG 和尿蛋白^[9-10], 这与本实验结果相一致, 说明蛹虫草可有效改善糖尿病大鼠的肾脏高滤过现象, 明显改善了 DN 早期的肾小球及肾小管损害。

在 DN 的发病机制中, $TGF-\beta_1$ 介导了肾小球肥大及

细胞基质堆积,直接参与了DN的发生。TGF- β_1 抑制大多数肾脏细胞的增殖分化,诱导细胞肥大。TGF- β_1 与T β R II结合能直接促进IV胶原等ECM成分合成增加,促进基底膜增厚^[11-13]。体外实验显示,在高糖、晚期糖基化终产物(advanced glycation end products, AGEs)和TGF- β_1 下,CTGF在肾脏细胞表达均明显增加,激活的CTGF进而促进I、IV型胶原的合成^[14]。研究发现,CTGF通过增加基质金属蛋白酶组织抑制物-1(tissue inhibitor of metalloproteinase-1, TIMP-1)的表达,抑制高糖状态下细胞外基质的降解,在DN的发病中起重要作用^[15]。本研究结果表明,蛹虫草能显著抑制糖尿病模型大鼠肾脏中TGF- β_1 mRNA和蛋白表达量,降低TGF- β_1 受体T β R II的基因表达,从而降低活性的TGF- β_1 发挥,并抑制CTGF mRNA表达,较少对IV胶原合成的促进作用。说明抑制TGF- β_1 的表达和生成是蛹虫草保护糖尿病大鼠肾脏的有效途径之一。

综上所述,蛹虫草能显著降低糖尿病大鼠空腹血糖值,抑制肾脏肥大并减少白蛋白排泄率,对肾脏起到保护作用。其机制可能是蛹虫草中含有的活性物质可抑制TGF- β_1 活性,通过下调T β R II的表达来降低TGF- β_1 生物活性的发挥,并抑制CTGF的表达,减少IV胶原的合成,从而减少ECM的积聚,改善微循环,并可能通过阻断和减轻肾脏微血管病变,减少尿蛋白排泄,以此达到保护肾脏的作用。

参考文献:

- [1] ZIYADEH F N. Mediators of diabetic renal disease: the case for TGF- β as the major mediator[J]. J Am Soc Nephrol, 2004, 5(Suppl 1): S55-S57.
- [2] WESTON B S, WAHAB N A, MASON R M. CTGF mediates TGF-beta-induced fibronectin matrix deposition by upregulating active alpha5beta1 integrin in human mesangial cells[J]. J Am Soc Nephrol, 2003, 14(3): 601-610.
- [3] 陈俐彤, 曹红峰, 黄文芳. 蛹虫草的化学成分、药效及应用[J]. 现代食品科技, 2005, 21(3): 192-197.
- [4] 廖春丽, 方改霞, 王莲哲, 等. 蛹虫草主要有效成分分析[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(12): 5050-5052.
- [5] WON S Y, PARK E H. Anti-inflammatory and related pharmacological activities of cultured mycelia and fruiting bodies of *Cordyceps militaris* [J]. J Ethnopharmacol, 2005, 96(3): 555-561.
- [6] BASILE D P, DONOHOE D, ROETHE K, et al. Renal ischemic injury results in permanent damage to peritubular capillaries and influences long-term function[J]. Am J Physiol, 2001, 281(5): F887-F899.
- [7] 王筱霞, 吴兆龙. 冬虫夏草对离体人肾小球系膜增殖的影响[J]. 中国临床药理学杂志, 2001, 10(1): 24-26.
- [8] 王要军, 孙自勤, 权启镇, 等. 冬虫夏草对人成纤维细胞形态及细胞外基质合成功能的影响[J]. 滨州医学院学报, 1999, 22(3): 226-233.
- [9] ZHAO Dean, YANG Desheng, BI Lingyun, et al. Bailing capsule in preventing epithelial-mesenchymal transition in rats with tubulointerstitial fibrosis[J]. J Appl Clin Pediatr, 2005, 20(9): 939-942.
- [10] 孙建红, 何戎华, 任传路, 等. 虫草制剂和开博通对糖尿病大鼠肾脏功能和形态影响的对比研究[J]. 徐州医学院学报, 2000, 20(6): 450-453.
- [11] CHEN S, HONG S W, CRUZ M C, et al. The key role of the transforming growth factor- β system in the pathogenesis of diabetic nephropathy [J]. Ren Fail, 2001, 23(3/4): 471-481.
- [12] SINGH R, SONG R H, ALAVI N, et al. High glucose decreases matrix metalloproteinase-2 activity in rat mesangial cells via transforming growth factor-beta1[J]. Exp Nephrol, 2001, 9(4): 249-257.
- [13] ISONO M, ANDRAS M, DONG C H, et al. Stimulation of TGF- β type II receptor by high glucose in mouse meangial cells and in diabetic kidney[J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2000, 278: F830-F838.
- [14] TWIGG S M, COOPER M E. The time has come to target connective tissue growth factor in diabetic complications[J]. Diabetologia, 2004, 47(6): 965-968.
- [15] MCLENNAN S V, WANG X Y, MORENO V, et al. Connective tissue growth factor mediates high glueose effects on matrix degradation through tissue inhibitor of matrix metalloproteinase type I: implications for diabetic nephropathy[J]. Endocrinology, 2004, 145: 5646-5655.