

基础研究

DOI: 10.11699/cyxb20131116

氟伐他汀对环孢素 A 致大鼠肾毒性的保护作用

何 辉, 邓新军, 王 沫, 陈 桦, 胡建敏, 刘永光, 李 民, 郭 颖, 范礼佩, 赵 明

(南方医科大学珠江医院器官移植科, 广州 510282)

【摘要】目的:观察羟甲基戊二酰辅酶 A 还原酶抑制剂氟伐他汀(fluvastatin, Flu)对环孢素 A(cyclosporine A, CsA)致大鼠肾毒性的保护作用。**方法:**选择 30 只健康、雄性 SD 大鼠, 随机分为 3 组: ①对照组: 给予蒸馏水和橄榄油灌胃; ②肾毒性组: 给予 CsA 30 mg/(kg·d); ③治疗组: 给予 CsA 30 mg/(kg·d) 和 Flu 7 mg/(kg·d)。在灌药后的第 14 天, 每组随机处死 5 只大鼠, 实验的第 28 天, 处死其余的大鼠, 观察各组肾脏组织学变化, 用免疫组织化学技术检测肾组织中 Smad2/3、Smad7 蛋白及转化生长因子- β 1(transforming growth factor- β 1, TGF- β 1)的表达情况。各组大鼠在每周抽血检测肾功能和脂类水平。**结果:**在第 1 周, Flu 治疗组的血肌酐(serum creatinine, SCr)与对照组差异无统计学意义($P=0.564$)。肾毒性组从第 1 周开始 SCr 增高($P=0.000$)。肾毒性组在第 14 天和第 28 天肾脏的纤维化评分、Smad2/3 蛋白及 TGF- β 1 的表达与对照组比较增加($P=0.000$), 而 Smad7 蛋白表达明显下调($P=0.000$), Flu 在这 2 个时间点能够不同程度地改善这些指标。3 组的胆固醇水平在第 0、1、2、3 和 4 周之间的差异无统计学意义($P=0.865$ 、 0.997 、 0.505 、 0.871 及 0.540), 同时各组的甘油三酯水平在相同时间点比较差异无统计学意义($P=0.894$ 、 0.663 、 0.826 、 0.635 及 0.928)。治疗组与肾毒性组在第 2 周和第 4 周 CsA 的谷值浓度比较均无统计学差异($P=0.183$ 和 $P=0.123$)。**结论:**Flu 对环孢素 A 致大鼠肾毒性有保护作用。

【关键词】氟伐他汀; 环孢素 A; 肾脏纤维化; 大鼠; Smads; 转化生长因子- β 1

【中国图书分类法分类号】R617

【文献标志码】A

【收稿日期】2013-03-15

Effects of fluvastatin on renal fibrosis induced by cyclosporine A

HE Hui, DENG Xinjun, WANG Mo, CHEN Hua, HU Jianmin, LIU Yongguang, LI Min, GUO Ying,

FAN Lipei, ZHAO Ming

(Department of Organ Transplantation, Zhujiang Hospital, Southern Medical University)

【Abstract】Objective: To observe the effects of hydroxymethylglutaryl coenzyme A reductase inhibitor fluvastatin(Flu) on renal fibrosis induced by cyclosporine A(CsA) in rats. **Methods:** Totally 30 adult male SD rats were randomly divided into three groups. Controls were fed with olive oil, CsA treated rats were given CsA(30 mg/(kg·d)), and Flu treated rats were given CsA(30 mg/(kg·d)) and Flu(7 mg/(kg·d)) by gavage. Five rats of each group were sacrificed on the 14th d and the others were sacrificed at the end of the study (the 28th d). Histological changes in renal tissue were observed. Sites and levels of expression of Smad protein 2/3, Smad protein 7 and transforming growth factor- β 1(TGF- β 1) were examined by immunohistochemistry staining. Renal function and lipid levels were measured in every week. **Results:** Serum creatinine(SCr) in Flu treated group on the 7th d was all equivalent to that of control group($P=0.564$). From the first week after treatment, levels of SCr in CsA treated group were significantly increased compared with those in control group($P=0.000$). Compared with those of control group, Smad protein 2/3 and TGF- β 1 expression on the 14th and 28th d was significantly increased in CsA treated rats($P=0.000$), while Smad protein 7 expression was markedly decreased($P=0.000$). These lesions were significantly ameliorated by Flu. Levels of total cholesterol($P=0.865$, 0.997 , 0.505 , 0.871 , 0.540), triglycerides($P=0.894$, 0.663 , 0.826 , 0.635 , 0.928) had no statistical difference at same time point among all three groups. CsA valley concentration had no statistical difference between Flu treated group and CsA treated group($P=0.183$, $P=0.123$). **Conclusion:** Flu could slow the progression of cyclosporine nephropathy.

【Key words】fluvastatin; cyclosporine A; renal fibrosis; rat; Smads; transforming growth factor- β 1

作者介绍: 何 辉, Email: huihe.cn@163.com,

研究方向: 移植免疫学。

通信作者: 赵 明, Email: zhaomingzjyy@163.com。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(编号: 81170696)。

环孢素 A (cyclosporine A, CsA) 是广泛应用于器官移植的抗排斥及多种自身免疫性疾病的治疗药物。而该药物临床上最常见的副作用就是肾脏毒性, 其损害发生时间多在前 6 个月和 12 个月后减量阶段。经皮肾穿刺活检, 发现其发生率为 18.9%^[1]。CsA 肾毒性的主要病理表现为肾小球硬化及间质纤维化等, 从而导致肾功能受损。有研究发现^[2-3], 氟伐他汀 (fluvastatin, Flu) 可减轻肾脏纤维化程度, 改善肾功能, 且其机制并不依赖于血循环中高胆固醇的降低。本研究拟探讨 Flu 对 CsA 致大鼠肾毒性的保护作用及其机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物与材料

选择雄性 SD 大鼠, 体质量 200~220 g, 共 30 只, 购自南方医科大学实验动物中心。CsA (新山地明, 诺华制药提供) 溶解于橄榄油。Flu (来适可, 诺华制药提供) 溶解于蒸馏水。转化生长因子 (transforming growth factor, TGF)- β 1、Smad2/3 和 Smad7 免疫组织化学试剂盒 (美国 St. Louis 生物公司) 按照说明书操作, 其中 Smad2/3、Smad7 和 TGF- β 1 一抗为兔抗鼠多克隆抗体。

1.2 实验分组及步骤

30 只 SD 大鼠予以低钠 (钠质量分数为 0.037%) 饮食饲养 1 周后^[4], 按照随机数字表法分成 3 组: (1) 对照组 ($n=10$): 每天予以等量橄榄油灌胃; (2) 肾毒性组 ($n=10$): 予以 CsA 30 mg/(kg·d) 灌胃^[5]; (3) 治疗组 ($n=10$): 予以 CsA 30 mg/(kg·d) 和 Flu 7 mg/(kg·d) 灌胃^[6], CsA 和 Flu 相隔 12 h 给药。实验期间维持低钠饮食, 共观察 4 周。药物处理后第 0、1、2、3、4 周于各组大鼠尾静脉处采集血标本。并分别在药物处理后 2 周和 4 周, 随机选取各组中的 5 只大鼠, 以 5% 异戊巴比妥钠 (50 mg/kg) 腹腔注射麻醉满意后, 切除双肾行病理学检查, 采用颈椎脱臼法处死大鼠。将获取的肾脏标本固定于 10% 福尔马林中, 石蜡包埋, 切成 4 μ m 厚的切片。分别采用链霉素抗生物素蛋白-过氧化物酶连结 (SP) 法和 Masson's 三色染色法对肾组织切片进行染色。

SP 法: 脱蜡和梯度酒精脱水, 3% H_2O_2 室温下孵育阻断内源性过氧化物酶, 微波炉中 95 $^{\circ}C$ 下行抗原修复, 正常小牛血清工作液封闭, 分别加入一抗兔抗鼠 Smad2/3 抗体 (1:50)、兔抗鼠 Smad7 抗体 (1:100) 和 TGF- β 1 抗体 (1:50), 4 $^{\circ}C$ 孵育

过夜, 再依次加入生物素偶联二抗和辣根过氧化物酶标记的链霉素卵白素, DAB 显色, 苏木精复染, 最后梯度酒精脱水、二甲苯透明、中性树胶封片。

Masson's 三色染色: 脱蜡和梯度酒精脱水, 依次进行 Weiger 铁苏木精染色、盐酸酒精分化、丽春红酸性品红液染色、1% 磷钼酸水溶液处理、苯胺蓝液复染、1% 冰醋酸处理以及 95% 酒精分化, 最后梯度酒精脱水、二甲苯透明、中性树胶封片。

1.3 观察指标

1.3.1 大鼠基本情况观察 每天观察各组大鼠的神态、活动、饮食、饮水及毛发情况, 全部大鼠在处理第 0、1、2、3、4 周测量体质量, 同时在大鼠尾静脉采集血标本。

1.3.2 血标本检测 将采集的血标本以 3 000 r/min 离心 10 min 获取上层血清, 然后采用全自动生化分析仪检测血肌酐 (serum creatinine, SCr)、总胆固醇 (total cholesterol, TC) 及甘油三酯 (triglyceride, TG)。将第 2 周和第 4 周采集的血标本采用特异性荧光偏振免疫法, 测定全血 CsA 谷值浓度。

1.3.3 肾组织病理评估 各组 Masson's 染色后的切片采用既往研究^[7]中的评分方式进行纤维化评分 (0-无纤维化, 1-轻度, 2-中度, 3-重度)。

1.3.4 Smad2/3、Smad7 和 TGF- β 1 免疫组化的半定量分析 高倍镜下观察各组免疫组化后的切片, 采用 Bresalier 法^[8]根据细胞着色强弱进行半定量评分 (0-阴性、无着色, 1-弱阳性、浅黄色, 2-中度阳性、棕黄色, 3-强阳性、棕褐色)。

1.4 统计学分析

采用 SPSS 13.0 统计软件处理, 计量资料以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。对各组体质量、血生化、肾脏纤维化评分和免疫组化半定量评分的比较采用单因素方差分析, 方差齐性组间比较采用 LSD- t 检验, 若方差不齐采用 Dunnett's T3 法; 血药浓度比较采用两样本 t 检验; Smad2/3、Smad7 与 TGF- β 1 的两两关系采用 Pearson 法。以 $P \leq 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠一般情况比较

治疗组及对照组大鼠在整个实验期间精神状态、饮食、皮毛、活动度等方面无明显改变, 而肾毒性组大鼠于第 2 周开始出现明显精神萎靡、活动差、食量及饮水量下降、毛发变黄及松乱脱落。对照组和治疗组大鼠第 1、2 周的体质量之间差异均无统计学差异 ($P=0.093$ 和 $P=0.106$), 第 3、4 周体质量均有统计学差异 ($P=0.000$)。在 1、2、3、4 周, 肾毒性组大鼠体质量均明显低于同时时间点对照组和治疗组 ($P=0.000$), 见表 1。

表 1 3 组大鼠不同时间点的体质量 ($g, \bar{x} \pm s$)

Tab.1 Rat's weight at different time points among 3 groups ($g, \bar{x} \pm s$)

组别	0 周	1 周	2 周	3 周	4 周
对照组	211.300 $\pm$ 3.889	257.300 $\pm$ 7.558	300.800 $\pm$ 8.626	348.800 $\pm$ 9.757	385.200 $\pm$ 7.823
肾毒性组	208.700 $\pm$ 5.122	223.900 $\pm$ 5.363 ^a	246.400 $\pm$ 5.400 ^a	272.000 $\pm$ 6.164 ^a	290.800 $\pm$ 4.207 ^a
治疗组	210.100 $\pm$ 4.954	251.300 $\pm$ 9.615 ^b	294.700 $\pm$ 9.821 ^b	296.000 $\pm$ 6.285 ^{ab}	317.200 $\pm$ 6.535 ^{ab}
F 值	0.771	53.333	133.229	134.078	292.605
P 值	0.473	0.000	0.000	0.000	0.000

注: a, 与对照组比较, $P < 0.05$; b, 与肾毒性组比较, $P < 0.05$

表 2 3 组大鼠不同时间点的 SCr ($\mu\text{mol/L}$, $\bar{x} \pm s$)Tab.2 Rat's SCr at different time points among 3 groups ($\mu\text{mol/L}$, $\bar{x} \pm s$)

组别	0 周	1 周	2 周	3 周	4 周
对照组	50.120 $\pm$ 2.938	50.850 $\pm$ 2.510	52.090 $\pm$ 3.040	55.780 $\pm$ 3.774	52.660 $\pm$ 4.465
肾毒性组	49.090 $\pm$ 3.582	61.080 $\pm$ 4.525 ^a	61.920 $\pm$ 3.029 ^a	72.180 $\pm$ 1.418 ^a	78.020 $\pm$ 2.339 ^a
治疗组	49.420 $\pm$ 4.224	51.740 $\pm$ 2.899 ^b	56.220 $\pm$ 2.660 ^{ab}	59.720 $\pm$ 2.063 ^{ab}	61.200 $\pm$ 2.605 ^{ab}
F 值	0.211	27.370	28.664	53.597	77.584
P 值	0.811	0.000	0.000	0.000	0.000

注:a,与对照组比较, $P < 0.05$,b,与肾毒性组比较, $P < 0.05$

2.2 SCr

各组大鼠第 0 周的 SCr 比较无统计学差异($F=0.211$, $P=0.811$);治疗组与对照组大鼠的 SCr 比较,第 1 周无统计学差异($P=0.564$),第 2、3 和 4 周治疗组大鼠的 SCr 均高于同时点对照组大鼠的 SCr($P=0.004$, $P=0.035$ 和 $P=0.001$);治疗组与肾毒性组大鼠的 SCr 比较,自第 1 周起,治疗组大鼠的 SCr 均低于同时点肾毒性组大鼠的 SCr(P 均 $=0.000$),见表 2。

2.3 脂类代谢水平

各组的 TC 水平在 0、1、2、3、4 周的比较,3 组之间的差异均无统计学意义($F=0.146$, 0.003 , 0.702 , 0.140 及 0.649 , $P=0.865$, 0.997 , 0.505 , 0.871 及 0.540)。同时各组的 TG 水平在相同时间点比较均无统计学差异($F=0.113$, 0.418 , 0.192 , 0.472 及 0.075 , $P=0.894$, 0.663 , 0.826 , 0.635 及 0.928),见图 1。

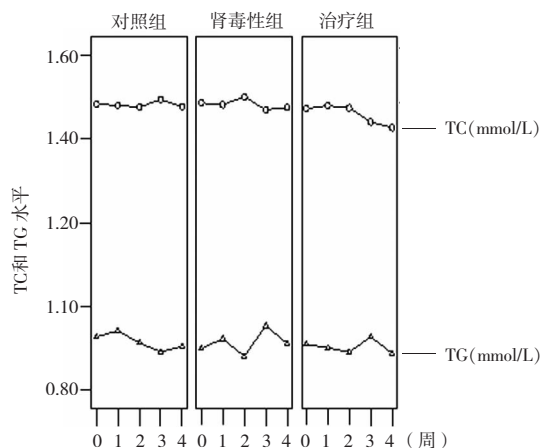


图 1 3 组不同时间点 TC 及 TG 水平

Fig.1 Levels of TC and TG at different time points among 3 groups

2.4 CsA 血药浓度

治疗组与肾毒性组第 2 周、第 4 周同时时间点的 CsA 谷值浓度比较均无统计学差异($t=0.268$, $P=0.183$ 和 $t=0.124$, $P=0.123$),见表 3。

2.5 肾脏病理检查

第 2、4 周时,各组大鼠之间的肾脏纤维化程度相比,3 组之间的差异均具有统计学意义($F=50.579$ 和 $F=406.724$, P 均 $=0.000$),LSD- t 法两两比较显示肾毒性组大鼠的肾脏纤维化程度高于同时时间点的对照组和治疗组($P=0.000$)。治疗组大鼠纤维化程度在第 2 周与对照组比较无统计学差异($P=0.086$),在第 4 周明显低于肾毒性组大鼠的纤维化程度($P=0.000$),见图 2、3。

维化程度高于同时时间点的对照组和治疗组($P=0.000$)。治疗组大鼠纤维化程度在第 2 周与对照组比较无统计学差异($P=0.086$),在第 4 周明显低于肾毒性组大鼠的纤维化程度($P=0.000$),见图 2、3。

表 3 肾毒性组和治疗组大鼠不同时间点的 CsA 谷值血药浓度比较 ($\mu\text{g/ml}$, $\bar{x} \pm s$)Tab.3 Comparison of CsA valley concentration at different time points between two groups ($\mu\text{g/ml}$, $\bar{x} \pm s$)

组别	第 2 周	第 4 周
肾毒性组	3.68 $\pm$ 0.56	3.74 $\pm$ 0.74
治疗组	3.62 $\pm$ 0.47	3.69 $\pm$ 0.46
t 值	0.268	0.124
P 值	0.183	0.123

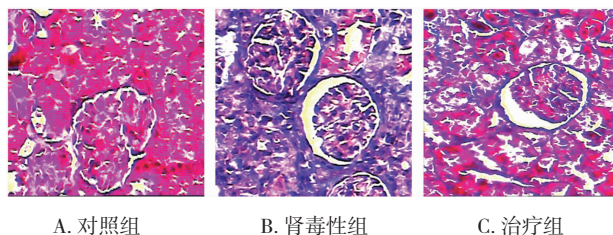
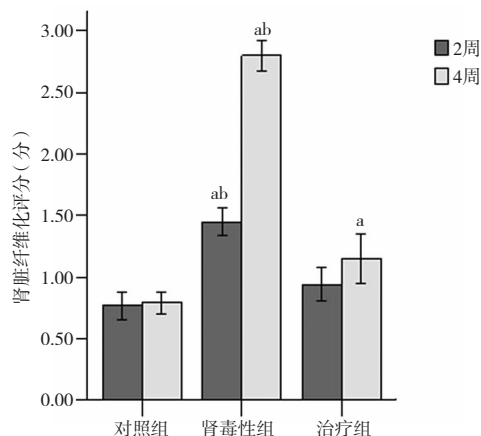
图 2 各组大鼠第 4 周肾组织纤维化情况 (Masson, 200 $\times$)Fig.2 Renal fibrosis in each group at the 4th week (Masson, 200 $\times$)a. 与对照组比较 $P < 0.05$; b. 与治疗组比较 $P < 0.05$

图 3 3 组不同时间点肾脏纤维化程度

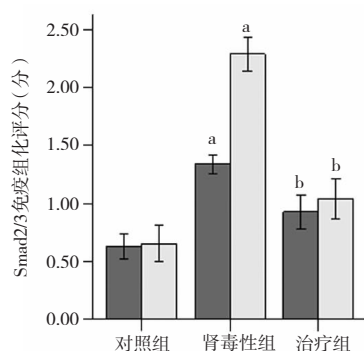
Fig.3 Renal fibrosis at different time points among 3 groups

2.6 各组大鼠肾组织 Smad2/3、Smad7 和 TGF- β 1 免疫组化的表达

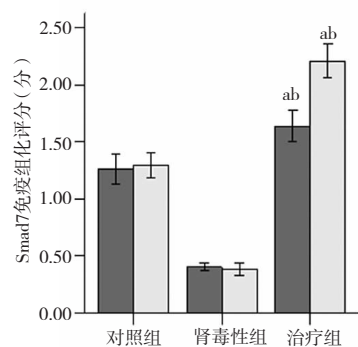
在第 2 周和第 4 周,对照组肾小管上皮细胞胞质中可见少量 Smad2/3 弱阳性表达,肾毒性组 Smad2/3 强阳性表达细胞数明显增多,治疗组肾组织 Smad2/3 表现为中度阳性表达。Smad7 在对照组大鼠的肾小球和皮质肾小管上皮细胞内大量阳性表达,治疗组中大鼠肾组织广泛表达 Smad7,在肾毒性组中呈弱阳性表达。

各组的 Smad2/3 和 Smad7 的阳性表达细胞的平均染色强度积分分别在第 2、4 周相比,3 组之间的差异均具有统计学意义 ($F=76.385$ 和 222.982 , $F=238.271$ 和 513.428 , P 均 $=0.000$), LSD- t 法两两比较显示肾毒性组大鼠的 Smad2/3 阳性表达积分均明显高于在相同时间点治疗组和对照组 ($P=0.000$),治疗组大鼠肾组织 Smad7 阳性表达积分均明显高于在相同时间点对照组和肾毒性组 ($P=0.000$),见图 4A、B。

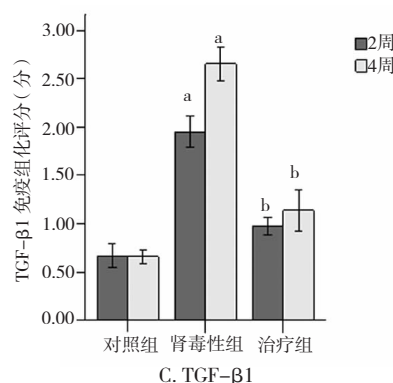
与对照组大鼠肾脏组织相比,肾毒性组 TGF- β 1 肾小球和肾小管上皮细胞的胞质、胞核多呈阳性表达,在第 4 周肾毒性组大鼠肾脏组织呈强阳性表达;肾间质可见散在阳性细胞分布,大部分肾小球鲍曼囊壁、脏层上皮细胞亦有阳性细胞表达。在第 2、4 周,3 组的 TGF- β 1 阳性表达细胞积分之间的差异均具有统计学差异 ($F=307.23$ 和 540.122 , P 均 $=0.000$),但治疗组在第 4 周 TGF- β 1 阳性表达积分与对照组相比差异无统计学意义 ($P=0.074$,图 4C)。TGF- β 1 阳性细胞评分与 Smad7、Smad2/3 阳性细胞评分相关分析,可发现 TGF- β 1 与 Smad2/3 表达成正相关 ($r=0.923$, $P=0.000$),而 TGF- β 1 与 Smad7 表达成负相关 ($r=-0.801$, $P=0.000$)。随着肾脏纤维化的加重 Smad2/3 蛋白和 TGF- β 1 的表达逐渐增加,而 Smad7 蛋白的表达逐渐减少。



A. Smad2/3 蛋白



B. Smad7 蛋白

C. TGF- β 1

a. 与对照组比较 $P < 0.05$; b. 与肾毒性组比较 $P < 0.05$

图 4 3 组 Smad2/3、Smad7 蛋白和 TGF- β 1 在不同时间点的表达

Fig.4 Expression of Smad protein 2/3, Smad protein 7 and TGF- β 1 at different time points among 3 groups

3 讨论

在本次实验中,低钠饮食更容易诱导 CsA 肾毒性,其机制可能是激活肾素-血管紧张素系统,导致大鼠的肾素与血管紧张素 II (angiotensin II, Ang II) 的活性增加,大鼠长时间用 Ang II 处理可引起肾间质细胞增生和纤维化,类似于 CsA 肾毒性的病理变化^[5]。大鼠服用大剂量 CsA 后的副作用主要表现为其肾毒性,生化检查提示 SCr 进行性升高,病理表现为间质纤维化、小管萎缩、肾小球硬化和血管内膜增厚等,而肾小球硬化和肾间质纤维化持续进展将导致肾功能不可逆损伤,甚至肾功能衰竭^[9]。本研究中肾毒性组大鼠的一般情况在第 2 周开始变差,体质量明显低于同时时间点的对照组大鼠,SCr 持续升高,以及肾间质纤维化逐渐加重,表明 30 mg/(kg·d) CsA 灌胃可成功诱导大鼠 CsA 肾毒性模型。为避免因药物的本身相互作用降低药效,2 种药物采用相隔 12 h 给药,可以发现治疗组的大鼠在 CsA 血药浓度与肾毒性组无差异的情况下,SCr 水平和肾间质纤维化程度均低于同时时间点肾毒性组大鼠,表明 Flu 对 CsA 导致的肾毒性具有一定的保护作用。

Flu 作为 HMG-CoA 还原酶抑制剂(hydroxymethylglutaryl coenzyme A reductase inhibitor, HCR1),可选择性阻断 HMG-CoA 抑制脂质合成,达到保护糖尿病肾脏的研究已见报道^[2-3]。有学者认为,高胆固醇血症可诱导间质炎症、间质内脂质氧化产物的积聚而致纤维化,此过程伴有肾脏内基质蛋白、基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)、金属蛋白酶组织抑制剂(tissue inhibitor of metalloproteinases, TIMPs)及纤溶酶原激活物抑制因子 1(plasminogen ac-

tivator inhibitor-1, PAI-1) 的升高, 而同时尿激酶型纤溶原激活物(urokinase-type plasminogen activator, uPA) 则下降, HCRI 能消除高脂危险因素, 达到降脂性保护肾脏效应^[15]。可是在本研究中发现肾毒性组大鼠的脂类水平和治疗组比较无统计学差异, 并不能说明 Flu 是通过降低血脂达到保护肾脏作用。本研究利用免疫组化染色, 发现肾毒性组的大鼠肾脏中 TGF- β 1 较对照组和治疗组均广泛表达, 表明 TGF- β 1 的合成表达与 CsA 的肾毒性有着密切的关系。

TGF- β 1 能促进系膜细胞、肾小管细胞及间质纤维细胞合成胶原、纤维连接蛋白和层黏连蛋白, 同时促进 TIMPs 与 PAI-1 基因的表达, 还促进纤维化因子生成增加, 抑制肾小管细胞增殖并诱导其凋亡, 抑制 MMPs 活性, 抑制纤维化因子生成减少, 加重细胞外基质的堆积, 从而导致肾脏纤维化^[10]。在各种肾病中 TGF- β 1 是肾小球硬化和肾间质纤维化发生、发展的必需因子。

近年来研究发现 Smads 家族是 TGF- β 1 信号转导通路中的关键介质^[11], TGF- β 1 通过与细胞表面特异性受体相结合而启动下游的 Smads 蛋白通路, 介导 TGF- β 1 信号由细胞质传入细胞核。其中 Smad2、Smad3 为受体激活型 Smads, 能与 TGF- β 1 受体结合和磷酸化, 是 TGF- β 1 信号转导的启动因子^[12-13]。Smad7 为抑制型 Smads, 通过与已活化的 TGF- β 1 稳定结合, 并关闭 TGF- β 1 与其它配体结合的通道, 直接影响磷酸化和阻止 Smad2、Smad3 的活化, 导致激活型 Smads 转导信号的抑制, Smads7 正负反馈调节 TGF- β 1 信号通路^[14]。在肾毒性组中 Smad2/3 及 TGF- β 1 的表达明显高于对照组及治疗组, 而 Smad7 的表达明显低于其他各组, 表明 CsA 能促进 Smad2/3 的表达, 而抑制 Smad7 的表达。那么 CsA 就是通过上调激活型 Smads 的表达, 同时下调抑制型 Smads 的表达, 达到增强 TGF- β 1 的表达与活性, 引起肾脏的纤维化。治疗组大鼠的 Smad2/3 的表达明显低于肾毒性组, 而 Smad7 是广泛表达, 大量 Smad7 表达有抑制肾脏纤维化作用。因此, 推测 Flu 对 TGF- β 1/Smads 通路有抑制作用。

综上所述, Flu 是通过抑制 Smad2、Smad3 的表达, 并促进 Smad7 的表达, 达到抑制 TGF- β 1 表达的作用, 来减轻 CsA 导致的肾毒性, 延缓肾脏纤维化的进展, 这为临床上使用 Flu 降低 CsA 导致肾毒性提供新的有力理论依据。

参 考 文 献

- [1] Lee D B. Cyclosporine and the renin-angiotensin axis[J]. *Kidney Int*, 1997, 52(1): 248-260.
- [2] Inoue T, Ikeda H, Nakamura T, et al. Potential benefit of statin therapy for dyslipidemia with chronic kidney disease: Fluvastatin Renal Evaluation Trial (FRET)[J]. *Intern Med*, 2011, 50(12): 1273-1278.
- [3] Gao P, Wu X, Shui H, et al. Fluvastatin inhibits high glucose-induced nuclear factor kappa B activation in renal tubular epithelial cells[J]. *J Nephrol*, 2012. doi: 10.5301/jn.5000128[Epub ahead of time].
- [4] Elzinga L W, Rosen S, Bennett W M. Dissociation of glomerular filtration rate from tubulointerstitial fibrosis in experimental chronic cyclosporine nephropathy: role of sodium intake[J]. *J Am Soc Nephrol*, 1993, 4(2): 214-221.
- [5] 乔保平, 张亚伟, 李道明, 等. 大鼠口服环孢素 A 慢性肾毒性模型的建立[J]. *中华器官移植杂志*, 2000(3): 29-32.
- [6] Qiao B P, Zhang Y W, Li D M, et al. Establishment of an experimental chronic cyclosporine nephropathy model in rat[J]. *Chinese Journal of Transplantation*, 2000(3): 29-32.
- [7] Schnaper H W. Balance between matrix synthesis and degradation: a determinant of glomerulosclerosis[J]. *Pediatr Nephrol*, 1995, 9(1): 104-111.
- [8] Kunter U, Rong S, Boor P, et al. Mesenchymal stem cells prevent progressive experimental renal failure but maldifferentiate into glomerular adipocytes[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2007, 18(6): 1754-1764.
- [9] Bork K, Reutter W, Weidemann W, et al. Enhanced sialylation of E-PO by overexpression of UDP-GlcNAc 2-epimerase/ManAc kinase containing a sialuria mutation in CHO cells[J]. *FEBS Lett*, 2007, 581(22): 4195-4198.
- [10] Doi S, Zou Y, Togao O, et al. Klotho inhibits transforming growth factor-beta1 (TGF-beta1) signaling and suppresses renal fibrosis and cancer metastasis in mice[J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(10): 8655-8665.
- [11] Campistol J M, Inigo P, Larios S, et al. Role of transforming growth factor-beta1 in the progression of chronic allograft nephropathy[J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2001, 16(s1): 114-116.
- [12] Susarla B T, Laing E D, Yu P, et al. Smad proteins differentially regulate transforming growth factor-beta-mediated induction of chondroitin sulfate proteoglycans[J]. *J Neurochem*, 2011, 119(4): 868-878.
- [13] Dzwonek J, Preobrazhenska O, Cazzola S, et al. Smad3 is a key nonredundant mediator of transforming growth factor beta signaling in Nme mouse mammary epithelial cells[J]. *Mol Cancer Res*, 2009, 7(8): 1342-1353.
- [14] Ren M, Wang B, Zhang J, et al. Smad2 and Smad3 as mediators of the response of adventitial fibroblasts induced by transforming growth factor beta1[J]. *Mol Med Rep*, 2011, 4(3): 561-567.
- [15] Kapoor S. Smad7 gene transfer therapy: therapeutic applications beyond colonic fibrosis[J]. *Eur J Clin Invest*, 2008, 38(11): 876-877, 878-880.
- [16] Yu Y H, Wang Y, Dong B, et al. Fluvastatin prevents renal injury and expression of lactin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 in rabbits with hypercholesterolemia[J]. *Chin Med J (Engl)*, 2005, 118(8): 621-626.

(责任编辑: 冉明会)