

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2017.19.001

文章编号: 1005-8982(2017)19-0001-06

基础研究·论著

## 吡非尼酮对大鼠肾间质纤维化的防治作用研究\*

徐建华<sup>1</sup>, 肖红波<sup>2</sup>, 程玉花<sup>1</sup>, 王瑜<sup>1</sup>, 张桂玲<sup>1</sup>, 吕金雷<sup>1</sup>, 邵毅<sup>3</sup>

(1. 南昌大学第一附属医院 肾内科, 江西 南昌 330006; 2. 北京大学深圳医院 肾内科, 广东 深圳 518036; 3. 南昌大学第一附属医院 眼科, 江西 南昌 330006)

**摘要:目的** 研究吡非尼酮(PFD)对大鼠肾间质纤维化的作用及其作用机制,为临床使用吡非尼酮提供理论依据。**方法** 24只标准雄性SD大鼠,随机分为3组:正常组(NC组)、模型组(M组)及吡非尼酮治疗组(S组)。M组及S组行左侧输尿管结扎术,复制肾间质纤维化模型。S组予吡非尼酮250 mg/(kg·d)灌胃,NC组及M组大鼠予等量1%羧甲基纤维素钠溶液灌胃。分别于手术后第1、3、5、7天处死各组大鼠各2只,取梗阻侧肾脏。HE染色观察各组肾组织病理变化,实时荧光定量聚合酶链反应(qRT-PCR)检测结缔组织生长因子(CTGF)mRNA表达水平,Western blot检测转化生长因子-β(TGF-β)及α-平滑肌激动蛋白(α-SMA)的蛋白表达水平。**结果** NC组未显示肾纤维化,M组显示大鼠肾间质纤维化及炎症细胞浸润。NC组TGF-β、α-SMA蛋白表达均较低,M组TGF-β、α-SMA蛋白及CTGF mRNA表达较NC组均升高,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),且随着梗阻时间延长,各物质表达量增高,但第7天M组及S组上述物质表达量较第5天减少,且M组与S组之间表达差异无统计学意义( $P > 0.05$ );S组上述物质各时间点表达则较M组均减少,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。**结论** 吡非尼酮可能通过抑制大鼠肾组织TGF-β和CTGF的表达进而减少成纤维细胞转化为肌成纤维细胞,减少细胞外基质(ECM)的沉积,发挥抗肾纤维化作用。

**关键词:** 吡非尼酮;单侧输尿管梗阻;肾间质纤维化;结缔组织生长因子;转化生长因子-β;α-平滑肌肌动蛋白

中图分类号: R-332

文献标识码: A

## Effect of Pirfenidone on renal interstitial fibrosis in rats\*

Jian-hua Xu<sup>1</sup>, Hong-bo Xiao<sup>2</sup>, Yu-hua Cheng<sup>1</sup>, Yu Wang<sup>1</sup>,  
Gui-ling Zhang<sup>1</sup>, Jin-lei Lü<sup>1</sup>, Yi Shao<sup>3</sup>

(1. Department of Nephrology, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang, Jiangxi 330006, China 2. Department of Nephrology, Shenzhen Hospital of Peking University, Shenzhen, Guangdong 518036, China; 3. Department of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang, Jiangxi 330006, China)

**Abstract: Objective** To investigate the effect of Pirfenidone (PFD) on renal interstitial fibrosis in rat model of unilateral ureteral occlusion (UUO) and to reveal the anti-fibrosis mechanism of PFD. **Methods** Twenty-four standard male SD rats were randomly divided into three groups: normal control group (N), UUO model group (M) and Pirfenidone treated group (S). The rats of the M and S groups underwent left urethral ligation to make the renal interstitial fibrosis model. The S group was given PFD 250 mg/(kg·d) for gavage, meanwhile the N and M groups were given 1% sodium carboxymethyl cellulose solution for gavage. Two rats were sacrificed from each group on day 1, 3, 5 and 7 after UUO operation, the kidney of the obstructive side was taken for further research. In each group,

收稿日期: 2016-12-15

\* 基金项目: 国家自然科学基金(No: 81400372, 81660129); 全国临床医药研究专项基金(No: L2012052); 广东省自然科学基金(No: S2013040015040); 江西省自然科学基金青年基金(No: 20132BAB215004, 20114BAB215036)

[通信作者] 吕金雷, E-mail: lvjinlei97@163.com, Tel: 13064127385

[作者简介] 徐建华现工作单位为江西省直医疗门诊部, 330046

pathological changes were observed by HE staining, qRT-PCR was applied to detect the mRNA expression of connective tissue growth factor (CTGF), Western blot was applied to detect the protein expressions of TGF- $\beta$  and  $\alpha$ -SMA. **Results** There was obvious renal interstitial fibrosis in the M group. Compared with the N group, the expressions of TGF- $\beta$  and  $\alpha$ -SMA proteins and the mRNA expression of CTGF were significantly increased in the M group ( $P < 0.05$ ). Compared with the M group, the expressions of above parameters in the S group were decreased significantly ( $P < 0.05$ ). The level of TGF- $\beta$  was positively correlated with the level of  $\alpha$ -SMA ( $P < 0.05$ ). **Conclusions** Pirfenidone has anti-fibrosis effect on rat UUO model by inhibiting renal TGF- $\beta$  and CTGF expressions, which may control the fibroblast transformation and reduce the extracellular matrix deposition in the renal tissue.

**Keywords:** Pirfenidone; unilateral ureteral obstruction; renal interstitial fibrosis; connective tissue growth factor; transforming growth factor beta

纤维化过程是组织损伤后的一种病理生理过程,是指由各种致病因子所致结缔组织异常增生,如果损伤因素长期不能去除,纤维化的长期持续存在最终将导致器官的结构改变和功能减退。肾小管间质纤维化(tubulointerstitial fibrosis, TIF),是各种致病病因引起进行性肾损害的主要病理特征,是导致终末期肾病(end-stage renal disease, ESRD)的根本病理改变之一,是多种肾疾病发展至终末期肾衰竭的共同病理特征<sup>[1]</sup>,TIF 的出现往往预示着预后不良,可以作为肾功能恶化的一个十分准确的预测指标,其程度与肾功能减退密切相关<sup>[2]</sup>。阻断肾纤维化的形成及其发展,就能有效地阻止慢性肾病的进展及肾衰竭的发生。但是目前对纤维化疾病的治疗仅限于非特异性抗炎药物、免疫抑制剂及糖皮质激素等的应用,临床上尚缺乏真正用于治疗纤维化过程的有效药物。吡非尼酮(Pirfenidone, PFD)是目前已经证实的少数可延缓甚至逆转纤维化的药物之一。已有实验证实其能阻止甚至逆转细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的积聚,能够有效地延缓肺纤维化、肝纤维化、青光眼术后滤过道瘢痕化等的进展<sup>[3-4]</sup>,但是关于其在肾间质纤维化中的作用报道甚少。本研究以单侧输尿管梗阻复制肾间质纤维化模型,探讨其作用及可能的机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物及试剂

实验动物:24 只标准雄性 SD 大鼠,体重 150 ~ 180 g(购自南昌大学医学院实验动物科学部)。术前检查均无全身病变。主要试剂:PDF (P2116; 美国 Sigma 公司),1%羧甲基纤维素钠溶液,小鼠抗大鼠  $\alpha$ -SMA 单克隆抗体(美国 Abcam 公司),转化生长因子- $\beta$  (transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ ) 抗体(美国 Abcam 公司),辣根酶标记山羊抗小鼠 IgG

(北京中山金桥生物技术有限公司)。Trizol 总 RNA 抽提试剂盒、逆转录试剂盒,实时荧光定量聚合酶链反应(quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR)试剂盒(北京全式金生物技术有限公司),qRT-PCR 引物(上海生工生物工程股份有限公司)。

### 1.2 动物模型的分组、复制及取材

#### 1.2.1 模型的分组和复制

24 只标准雄性 SD 大鼠,每笼 6 只,于标准实验室环境常规喂养,适应性喂养 1 周后,随机分为正常组(NC 组,  $n=8$ ),模型组(M 组,  $n=8$ )及 PFD 治疗组(S 组,  $n=8$ )。M 组及 S 组大鼠均在 8%水合氯醛腹腔注射麻醉下接受手术,于左侧腹部取一长约 3 cm 纵行切口,逐层分离,暴露肾脏及膀胱,沿着肾脏膀胱走向寻找输尿管,分离并结扎左侧输尿管,关闭腹腔。各组大鼠正常饮食、进水。S 组大鼠自手术当天起给予 PFD 250 mg/(kg·d)灌胃,PFD 溶于 1%羧甲基纤维素钠溶液。NC 组及 M 组大鼠自手术当天起给予等量 1%羧甲基纤维素钠溶液灌胃。分别于手术后第 1、3、5 及 7 天处死各组大鼠各 2 只。

1.2.2 取材 处死前称大鼠体重,用 8%水合氯醛腹腔注射麻醉,取左侧肾脏,去除包膜和结缔组织,洗净,沥干血迹,迅速置于液氮中过夜,次日转移至 -80℃冰箱保存,备 HE 染色、Western blot 及 qRT-PCR 检测用。所有实验步骤通过动物伦理委员会同意。

### 1.3 肾组织病理形态学观察

取出的肾组织经 10%中性甲醛固定,常规包埋,按 3  $\mu$ m 的厚度行连续切片,行 HE 染色。

### 1.4 qRT-PCR 检测梗阻侧肾组织中结缔组织生长因子(CTGF)mRNA 表达水平

分别取 M 组及 S 组大鼠肾组织 100 mg,按总 RNA 提取试剂盒、逆转录试剂盒说明书分别提取各

组总 RNA 及逆转录合成 cDNA 模板,取 2  $\mu$ l cDNA 用于 qRT-PCR 反应。qRT-PCR 所用引物序列见表 1,  $\beta$ -actin mRNA 作为内参照。qRT-PCR 反应条件:预变性 94 $^{\circ}$ C 30 s,变性 94 $^{\circ}$ C 5 s,退火 60 $^{\circ}$ C,40

个循环,每次实验设 3 复孔,独立实验重复 3 次。SDS 软件分析 cDNA 扩增的相对表达量,实时定量 PCR 仪(ABI7500)检测出相对表达量 RQ 值(RQ 值 = $2^{-\Delta\Delta C_t}$ )用于统计学分析。

表 1  $\beta$ -actin 及 CTGF 引物序列

引物名称	引物序列
$\beta$ -actin	正向引物:5'-CACTGGTCGGGAGTCAGAAC-3';反向引物:5'-ACAAGAACAATAGGCACAAACG-3'
CTGF	正向引物:5'-TCAGGTCATCACTATCGGCAAT-3';反向引物:5'-AAAGAAAGGGTGTAACGCA-3'

### 1.5 Western blot 检测 TGF- $\beta$ 和 $\alpha$ -SMA 蛋白的表达

取液氮保存的肾组织,使用 RIPA 蛋白裂解液提取总蛋白,并用 BCA 法检测蛋白浓度。取 30  $\mu$ g 蛋白样品变性后经 8%SDS-PAGE 电泳 3 h,200 mA 转膜 90 min 至 NC 膜上,5%脱脂牛奶室温封闭 1 h,分别用鼠抗大鼠 TGF- $\beta$  单抗(1:1 000)、鼠抗大鼠  $\alpha$ -SMA 多抗(1:100)、鼠抗大鼠  $\beta$ -actin 单抗(1:2 500)4 $^{\circ}$ C 孵育过夜,辣根过氧化物酶标记抗鼠 IgG 二抗(1:1 000)室温 1 h,洗膜后 ECL 显色成像。相同实验条件重复 3 次。以  $\beta$ -actin 为内参照,通过计算目标蛋白与  $\beta$ -actin 蛋白的灰度比值进行半定量分析。

### 1.6 统计学方法

应用 SPSS18.0 统计软件进行数据处理,计量数据用均数  $\pm$  标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,多时间点比较采用重复测量设计的方差分析,同一时间点组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 各组大鼠实验过程中生活状态的比较

NC 组大鼠反应灵敏、食欲佳、睡眠良好;手术后 3 d,M 组大鼠毛色开始逐渐变黄、色泽变黯淡、反应迟钝、食量下降、体重增加慢、自觉活动减少,梗阻时间越长,表现越明显;S 组上述表现处于 NC 组及 M 组之间。

### 2.2 肾脏病理变化

HE 染色显示 NC 组大鼠肾小管间质无明显纤维化,M 组大鼠自第 1 天开始即有较为明显的间质增生、纤维化、炎症细胞浸润等,提示本次实验模型复制成功,可行后续实验。S 组肾间质纤维化和炎症细胞浸润较 M 组减少。见附图。

### 2.3 CTGF mRNA 相对表达量

qRT-PCR 结果显示,行单侧输尿管结扎术后第 1、3、5 及 7 天,M 组及 S 组大鼠 CTGF mRNA 表达采用重复测量设计的方差分析,结果:第 1、3 及 5 天 CTGF mRNA 表达量有差异( $F=19.721, P=0.046$ ),随着梗阻时间越长,表达量越高,但第 7 天 M 组与 S 组表达量减少,且两组之间表达差异无统计学意义( $F=0.127, P=0.739$ )。见表 2。

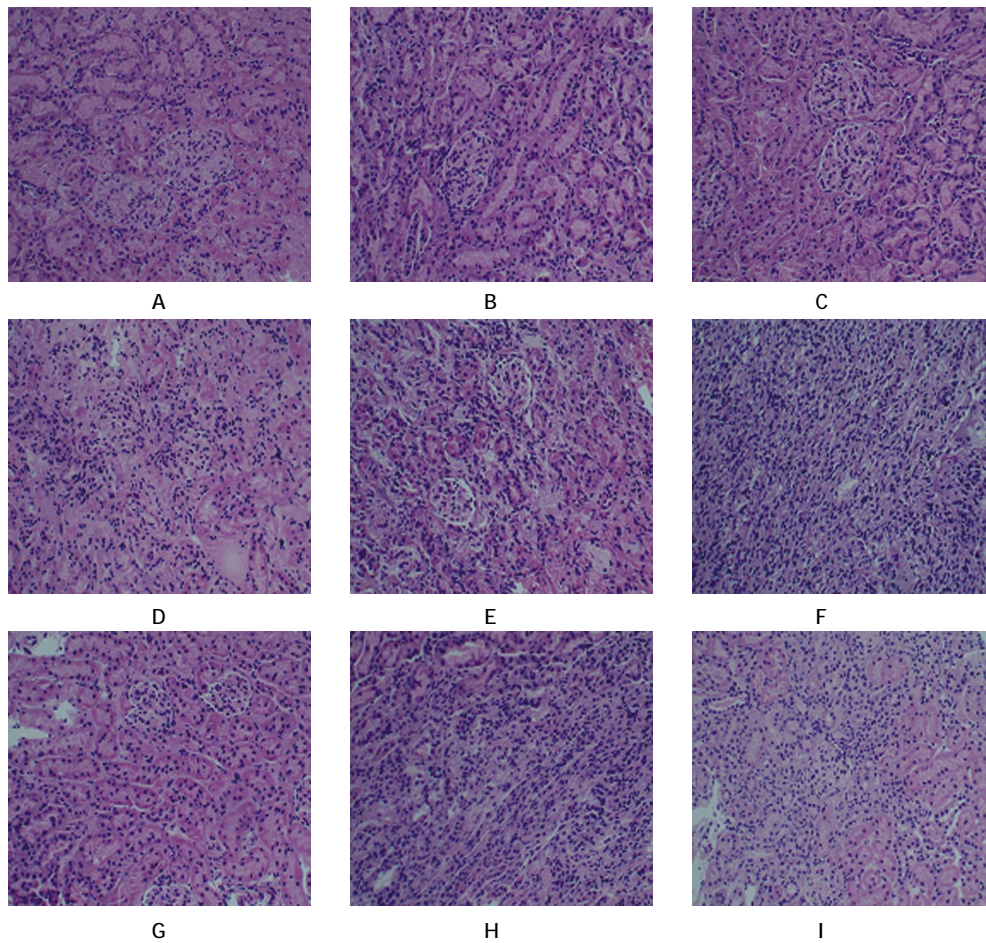
### 2.4 各组 TGF- $\beta$ 及 $\alpha$ -SMA 蛋白表达水平

正常组大鼠肾脏中仅有少量 TGF- $\beta$ 、 $\alpha$ -SMA 表达,单侧输尿管结扎术后,M 组及 S 组大鼠 TGF- $\beta$  及  $\alpha$ -SMA 蛋白表达采用重复测量设计的方差分析,结果:①与 NC 组比较,TGF- $\beta$  第 1、3 及 5 天表达有差别( $F=35.341, P=0.025$ ), $\alpha$ -SMA 第 1、3、5 及 7 天表达有差别( $F=34.357, P=0.026$ ),梗阻时间越长,表达量越高;②S 组与 M 组比较,TGF- $\beta$  第 1、3 及 5 天表达量降低( $F=8.742, P=0.039$ ), $\alpha$ -SMA 第 1、3 及 5 天表达量降低( $F=8.233, P=0.042$ );③第 7 天 TGF- $\beta$  及  $\alpha$ -SMA S 组与 M 组之间表达趋势无差别( $F=1.157$  和  $2.749, P=0.343$  和  $0.173$ )。见表 3。

表 2 肾组织 CTGF mRNA 表达变化 ( $n=8, \bar{x} \pm s$ )

组别	CTGF mRNA			
	第 1 天	第 3 天	第 5 天	第 7 天
NC 组	1.000 $\pm$ 0.000	1.000 $\pm$ 0.000	1.000 $\pm$ 0.000	1.000 $\pm$ 0.000
M 组	0.502 $\pm$ 0.433	1.935 $\pm$ 0.700 <sup>1)</sup>	1.732 $\pm$ 0.211 <sup>1)</sup>	0.286 $\pm$ 0.259
S 组	0.255 $\pm$ 0.170	0.237 $\pm$ 0.113 <sup>2)</sup>	0.554 $\pm$ 0.415 <sup>2)</sup>	0.371 $\pm$ 0.318

注:1)与第 1 天 M 组比较, $P < 0.05$ ;2)与相同时间 M 组比较, $P < 0.05$



A: NC 组; B: M 组 1 d; C: M 组 3 d; D: M 组 5 d; E: M 组 7 d; F: S 组 1 d; G: S 组 3 d; H: S 组 5 d; I: S 组 7 d

附图 各组肾组织病理变化 (HE, × 200)

表 3 各组肾组织 TGF-β、α-SMA 蛋白相对表达量 (n=8,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	TGF-β				α-SMA			
	第 1 天	第 3 天	第 5 天	第 7 天	第 1 天	第 3 天	第 5 天	第 7 天
NC 组	1.000 ± 0.000	1.000 ± 0.000	1.000 ± 0.000	1.000 ± 0.000	1.000 ± 0.000	1.000 ± 0.000	1.000 ± 0.000	1.000 ± 0.000
M 组	2.280 ± 0.452 <sup>1)</sup>	2.638 ± 0.470 <sup>1)</sup>	2.928 ± 0.702 <sup>1)</sup>	2.396 ± 0.543 <sup>1)</sup>	2.213 ± 0.474 <sup>1)</sup>	3.868 ± 1.145 <sup>1)</sup>	5.831 ± 1.400 <sup>1)</sup>	4.042 ± 1.143 <sup>1)</sup>
S 组	1.107 ± 0.529 <sup>2)</sup>	1.709 ± 0.264 <sup>1)2)</sup>	1.550 ± 0.480 <sup>1)2)</sup>	2.972 ± 0.752 <sup>1)</sup>	1.309 ± 0.290 <sup>1)2)</sup>	3.63 ± 1.023 <sup>1)2)</sup>	3.118 ± 0.816 <sup>1)2)</sup>	2.77 ± 0.678 <sup>1)</sup>

注: 1) NC 组比较,  $P < 0.05$ ; 2) 与相同时间 M 组比较,  $P < 0.05$

### 3 讨论

纤维化主要病理改变为器官组织内纤维结缔组织增多, ECM 沉积, 实质细胞减少, 持续进展可致器官结构破坏和功能减退, 乃至衰竭, 严重威胁人类健康和生命。任何引起 ECM 合成增加以及降解减少的因素都能够导致 ECM 的沉积。肾小管间质纤维化是各种肾病进展至终末期的共同通路, 也是判断预后的关键指标, 延缓肾间质纤维化的进展是治疗各种肾疾病、改善预后的有效方法<sup>[9]</sup>。

肾间质纤维化的发生机制较为复杂, 至今尚未明确, TGF-β 是参与多种纤维化过程的中枢因子, 能够促进成纤维细胞的增殖和生长, 增加胶原的合成以及减少 ECM 的降解。而 CTGF 是实现 TGF-β 主要纤维化效应的下游介质。ITO 等<sup>[6]</sup>观察到, 肾间质纤维化病变区内 CTGF mRNA 表达和肌成纤维细胞同步增加。TGF-β 可以通过多种途径诱导 CTGF 的表达, 实现其纤维化效应。FAN 等<sup>[7]</sup>观察到, TGF-β 可刺激体外培养的人近曲小管上皮细胞发

生表型转化而转变为肌成纤维细胞,并可以高表达 CTCF 并增加 ECM 的合成<sup>[9]</sup>。肌成纤维细胞是间质细胞外基质持续增加的主要来源细胞<sup>[9]</sup>,在 TGF- $\beta$  刺激下,体外培养的肾间质成纤维细胞可以高表达 CTCF 并增加 ECM 的合成。黄海长等<sup>[10]</sup>证明 CTGF 可直接诱导体外培养的肾间质成纤维细胞转化为肌成纤维细胞。肌成纤维细胞胞质内的  $\alpha$ -SMA 是其活跃的标志性抗原<sup>[11]</sup>, $\alpha$ -SMA 能较好地反映肾间质纤维化程度,其数量与肾间质纤维化程度密切相关,可作为判断预后的良好指标。张春等<sup>[12]</sup>研究提示,CTGF 可能通过与胞膜上特定配体结合,启动细胞内信号转导,促进了  $\alpha$ -SMA 基因的转录,进而增加了  $\alpha$ -SMA 蛋白合成。

目前,对于器官纤维化,尚无效果特别肯定的药物,主要仍是使用激素及免疫抑制剂,但其效果甚微,且副作用较大。PFD 是一种新型抗纤维化药物,属于一种羟基吡啶,化学名为 5-甲基-1-苯基-2-[1H]-吡啶酮,分子量为 185.2,具有广谱的抗纤维化作用,其在多种器官纤维化中均被证实有良好的抗纤维化作用,IYER 等<sup>[13]</sup>用博来霉素诱导的肺纤维化仓鼠证实 PFD 可以抑制纤维化肺组织的脯氨酸羟化酶的活性,减少羟脯氨酸的生成,抑制 I 型、III 型胶原基因的转录,减少肺胶原的含量。GARCIA 等<sup>[14]</sup>证实 PFD 可明显抑制肝硬化大鼠的 I 型、II 型、IV 型胶原 mRNA 的表达,血中羟脯氨酸水平下降,明显改善肝纤维化,SHIMIZU 等<sup>[15]</sup>通过切除大鼠 5/6 肾脏复制慢性肾衰竭模型,并饲喂 PFD,可使残余肾皮质中的 I 型、IV 型胶原 mRNA 和羟脯氨酸水平下降,与对照组相比,纤维化程度明显减轻。PFD 抗纤维化的主要机制被认为是<sup>[16]</sup>:①抑制 TGF- $\beta$  过度表达。TGF- $\beta$  是参与多种纤维化过程的中枢因子,对炎症具有放大作用,是单核巨噬细胞强有力的趋化剂,活化的巨噬细胞可以分泌 TGF- $\beta$ ,TGF- $\beta$  可以通过正反馈的形式诱导自身的合成和分泌,故 TGF- $\beta$  在整个纤维化的病理生理过程中保持高水平。研究证实 PFD 能够减少肺、肾等器官成纤维细胞 TGF- $\beta$  表达,并与胶原合成和基质减少相关。②清除活性氧(ROS)。在纤维化发病过程中的早期炎症阶段,炎症细胞产生的髓过氧化物酶、超氧化物歧化酶可以催化过氧化物形成 ROS。ROS 可引起脂质过氧化反应、放大炎症反应,使体内蛋白及酶变性、DNA 氧化损伤;此外,它还可以作为细胞内重要信使,活化多条信号通路,间接引起组织损伤。

几乎所有纤维化都与氧化应激有关。PFD 可清除体内 ROS,减轻纤维化程度。③抑制肿瘤坏死因子 TNF- $\alpha$  的生成,减轻炎症反应。TNF- $\alpha$  主要由活化的单核/巨噬细胞产生,是重要的炎症因子,可以引起和加重炎症反应,引起组织的损伤,启动组织修复及纤维化过程。研究证实,吡非尼酮可以在翻译水平上抑制巨噬细胞 TNF- $\alpha$  的生成。

在相同梗阻时间下 M 组 TGF- $\beta$ 、 $\alpha$ -SMA 的蛋白表达及 CTGF mRNA 表达均高于 S 组,但第 7 天 M 组及 S 组上述物质表达量较第 5 天减少,且 M 组与 S 组之间表达差异无统计学意义,提示 PFD 可能通过抑制 CTGF 的表达而减少以  $\alpha$ -SMA 为活化标志的肾间质肌成纤维细胞的数量和表达,减少细胞外基质的合成,从而延缓肾间质纤维化的进展,该治疗在早期可显著缓解肾组织纤维化,但梗阻时间越长,肾脏积水越明显,肾实质破坏越明显,药物作用较前有所下降。

PFD 作为一种新型的抗纤维化药物,其对于纤维化疾病的预防和治疗作用机制研究还不是十分透彻,与此同时,PFD 与肾增生性疾病的研究目前尚处于初级阶段,因此,进一步探究 PFD 在肾疾病的应用具有十分重要的意义。研究表明,PFD 具有良好的穿透性,同时具有作用广泛、副作用小的特点,这使得 PFD 能够更好地应用于其他纤维增生性疾病,为临床治疗提供新的思路和希望,具有极大的应用前景。

#### 参 考 文 献:

- [1] MISSERI R, RINK R C, MELDRUM D R, et al. Inflammatory mediators and growth factors in obstructive renal injury[J]. J Surg Res, 2004, 119(2): 149-159.
- [2] HEALY E, BRADY H R. Role of tubule epithelial cells in the pathogenesis of tubulointerstitial fibrosis induced by glomerular disease[J]. Curr Opin Nephrol Hypertens, 1998, 7(5): 525-530.
- [3] CHAN A L, RAFII R, LOUIE S, et al. Therapeutic update in idiopathic pulmonary fibrosis[J]. Clin Rev Allergy Immunol, 2013, 44(1): 65-74.
- [4] 邵毅,余瑶,裴重刚,等. 吡非尼酮滴眼液在兔眼小梁切除术后抗瘢痕作用研究[J]. 中国现代医学杂志, 2015, 25(2): 13-17.
- [5] 李娣昕,曾红兵,纪春阳,等. 吡非尼酮对单侧输尿管梗阻大鼠肾小管间质纤维化的影响[J]. 医药导报, 2011(6):716-720.
- [6] ITO Y, ATEN J, BENDE R J, et al. Expression of connective tissue growth factor in human renal fibrosis[J]. Kidney Int, 1998, 53(4): 853-861.
- [7] FAN J M, YEEYANG N G, HILL P, et al. Transforming growth

- factor- $\beta$  regulates tubular epithelial-myofibroblast transdifferentiation in vitro[J]. *Kidney Int*, 1999, 56: 1455-1467.
- [8] YOKOI H, MUKOYAMA M, NAGAE T, et al. Reduction in connective tissue growth factor by antisense treatment ameliorates renal tubulointerstitial fibrosis[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2004, 15(6): 1430-1440.
- [9] BADID C, VINCENT M, FOUQUE D, et al. Myofibroblast: a prognostic marker and target cell in progressive renal disease[J]. *Ren Fail*, 2001, 23(3/4): 543-549.
- [10] 黄海长, 李惊子, 王海燕. 结缔组织生长因子诱导肾成纤维细胞转为成肌纤维细胞[J]. *科学通报*, 2002(1): 37-40.
- [11] 贾皓, 裴新明, 张盈涛, 等. 螺内酯对实验大鼠肝组织 TGF $\beta$  1、PDGF-BB 及  $\alpha$ -SMA 表达的影响[J]. *西安交通大学学报(医学版)*, 2004(1): 64-66.
- [12] 张春, 朱忠华, 刘建社, 等. 结缔组织生长因子在单侧输尿管梗阻大鼠肾脏中的表达及其意义 [J]. *中国病理生理杂志*, 2007(9): 1786-1790.
- [13] IYER S N, GURUJEYALAKSHMI G, GIRI S N. Effects of pirfenidone on transforming growth factor-beta gene expression at the transcriptional level in bleomycin hamster model of lung fibrosis[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 1999, 291(1): 367-373.
- [14] GARCIA L, HERNANDEZ I, SANDOVAL A, et al. Pirfenidone effectively reverses experimental liver fibrosis[J]. *J Hepatol*, 2002, 37(6): 797-805.
- [15] SHIMIZU T, FUKAGAWA M, KURODA T, et al. Pirfenidone prevents collagen accumulation in the remnant kidney in rats with partial nephrectomy[J]. *Kidney Int Suppl*, 1997, 63: S239-S243.
- [16] 薛克营, 张浩, 陈燕. 新型抗纤维化药物吡非尼酮[J]. *中国新药杂志*, 2005(8):1070-1073.

(张蕾 编辑)