

· 基础研究 ·

六味地黄汤通过缺氧诱导因子 1 α 途径对 5/6 肾切除大鼠肾间质纤维化的抑制作用*

唐 群¹, 何泽云^{2 Δ} , 陈 丽¹, 徐文峰¹, 曾海飞¹

(1. 湖南中医药大学, 长沙 410208; 2. 湖南中医药大学第一附属医院, 长沙 410007)

摘要:目的 探讨六味地黄汤对缺氧诱导因子 1 α (HIF-1 α) 在慢性肾间质纤维化中的表达及作用。方法 选择清洁级雄性 SD 大鼠 30 只, 随机分为假手术组、模型组和六味地黄汤组各 10 只。假手术组打开腹腔暴露肾脏, 但不切除肾脏。模型组、六味地黄汤组大鼠均在无菌条件下进行 5/6 肾切除术复制慢性肾间质纤维化模型, 术后 8 周, 比较 3 组肾脏组织病理变化, HIF-1 α 、结缔组织生长因子(CTGF)在肾组织中的蛋白表达水平。结果 与六味地黄汤组比较, 模型组肾脏中 HIF-1 α 、CTGF 蛋白表达水平均明显升高($P < 0.05$)。结论 HIF-1 α 通过调节 CTGF 的表达促进肾间质纤维化, 而六味地黄汤可降低 HIF-1 α 的表达, 从而减轻肾间质纤维化。

关键词:六味地黄汤/治疗应用; 肾疾病/中药疗法; 缺氧诱导因子 1 α ; 结缔组织生长因子; 慢性病

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2013.07.022

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2013)07-0774-04

Inhibition role of Liuwei Dihuang Decoction on renal interstitial fibrosis in 5/6 nephrectomized rat model by HIF-1 α pathway*

Tang Qun¹, He Zeyun^{2 Δ} , Chen Li¹, Xu Wenfeng¹, Zeng Haifei¹

(1. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China; 2. First Affiliated Hospital, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410007, China)

Abstract: Objective To investigate the expression and role of Liuwei Dihuang Decoction on the expression of hypoxia inducible factor 1 alpha(HIF-1 α) in the chronic renal interstitial fibrosis. **Methods** SPF 30 SD male rats were selected and randomly divided into the sham operation group, model group and Liuwei Dihuang Decoction group, 10 cases in each group. The sham was opened the abdomen for exposing kidneys, but without resection of the kidney. The model group and the Liuwei Dihuang Decoction group were carried out 5/6 nephrectomy under sterile conditions to replicate the chronic renal interstitial fibrosis model. The renal histopathological changes and the protein expression levels of HIF-1 α and connective tissue growth factor(CTGF) in the renal tissues were compared among 3 groups. **Results** Compared with the Liuwei Dihuang Decoction group, the protein expression levels of HIF-1 α and CTGF in the renal tissue in the model group were significantly elevated($P < 0.05$). **Conclusion** HIF-1 α promotes renal interstitial fibrosis by adjusting the expression of CTGF, Liuwei Dihuang Decoction may attenuate renal interstitial fibrosis by decreasing the expression of HIF-1 α .

Key words: Liuwei Dihuang Decoction/treatment application; kidney disease/Chinese medicine therapy; hypoxia-inducible factor 1 alpha; connective tissue growth factor; chronic disease

研究指出, 肾小管间质部分的慢性氧缺失是促进肾脏疾病进展和纤维化的重要原因^[1]。体外实验证明, 缺氧可刺激肾小管上皮细胞和间质成纤维细胞向肌成纤维细胞表型转分化, 参与肾间质纤维化的发生、发展^[2], 缺氧主要通过缺氧诱导因子 1 α (hypoxia-inducible factor 1 α , HIF-1 α) 发挥作用^[3], 后者可调控结缔组织生长因子(connective tissue growth factor, CTGF) 表达。现将本研究探讨 HIF-1 α 在慢性肾间质纤维化中的作用以及六味地黄汤对其表达的影响报道如下。

1 材料与方

1.1 材料

1.1.1 动物 清洁级雄性 SD 大鼠 30 只, 体质量(200 \pm 10) g, 由湖南中医药大学实验动物中心提供并饲养于湖南中医药大学 SPF 级动物房。

1.1.2 药物 六味地黄汤(熟地黄 24 g, 山药 12 g, 山茱萸 12 g, 泽泻 9 g, 茯苓 9 g, 牡丹皮 9 g) 购自湖南中医药大学第一附属医院药剂科。先将药材用相当于药材 5 倍的自来水浸泡 2 h, 煮沸后再微火煎煮 30 min, 过滤后收集煎液, 原药渣加少量水煎煮, 取二煎液。将两煎液混合, 于水浴恒温器上浓缩药液至含生药 1 g/mL。

1.1.3 主要试剂 一抗为兔抗大鼠 HIF-1 α 、CTGF 多克隆抗体(美国 Santa Cruz), 兔二步法检测试剂盒(PV-6001)、二抗为非生物素标记山羊抗兔 IgG 抗体(北京中杉金桥公司), DAB 显色试剂盒(武汉博士德公司), ECL 化学发光试剂(美国 Pierce 公司)。

1.2 方法

1.2.1 造模 SD 雄性大鼠适应性喂养 1 周后随机分为假手

术组(10 只)、模型组(10 只)和六味地黄汤组(10 只)。假手术组打开腹腔暴露肾脏后避免牵拉肾脏,不切除肾脏。模型组、六味地黄汤组大鼠均在无菌条件下进行 5/6 肾切除术,以 10%水合氯醛 0.30 mL/100 g 腹腔注射麻醉大鼠,常规消毒铺巾,从左腹部切口,打开腹腔,静脉夹夹住肾蒂后迅速切除左肾上下极(切除 2/3),以吸收性明胶海绵压迫止血,复位肾脏。1 周后进行第 2 次手术,切除右侧肾脏。右肾摘除术后第 2 天,六味地黄汤组予以六味地黄汤灌胃(生药含量按公式:人的剂量 $\times 0.018 \times 5/\text{kg}$ 体质量计算),每天 1 次,至处死为止;模型组、假手术组以等容积蒸馏水灌胃,给药 8 周后全部处死,中途死亡的大鼠直接剔除。

1.2.2 标本收集 各组大鼠分别于灌胃第 8 周后处死,处死前收集 24 h 尿量,酶联免疫吸附试验(enzyme-linked immunosorbent assay,ELISA)检测 24 h 尿清蛋白(24 urinary albumin,24 h UAlb)。腹主动脉采血分离血清,酶法测定血肌酐(serum creatinine,Scr)浓度,尿素酶-GLDH 法测定血尿素氮(blood urea nitrogen,BUN)浓度。肾组织分为两部分处理:(1)光镜观察。标本用 4%多聚甲醛固定,分别行 HE 染色、Masson 染色及免疫组织化学检测。(2)肾组织取出后立即放入液氮罐中,随后转入 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存待用。

1.2.3 肾脏组织学检查 肾组织经 4%多聚甲醛固定,梯度乙醇脱水、二甲苯透明、石蜡包埋、切片(厚度为 $3\sim 4\ \mu\text{m}$)后,分别进行 HE 染色及 Masson 染色,Olympus 显微镜观察并拍照。

1.2.4 免疫组织化学染色 免疫组织化学采用兔二步法检测试剂盒(PV-6001),一抗用兔抗大鼠抗体,一抗及工作浓度:HIF-1 α (1:100)、CTGF(1:200),二抗用相应羊抗兔抗体,染色呈棕褐色者为阳性染色。

1.2.5 图像分析 Olympus 显微镜观察肾组织病理变化并拍照,每张切片随机选取 5 个视野,用麦克奥迪数码医学分析系统(Motic Med 6.0)进行图像分析。测定视野内免疫阳性细胞的平均灰度值,以灰度值进行定量分析,测得组织细胞平均灰度值愈小,其蛋白水平愈高。

1.2.6 Western blot 检测 常规提取蛋白质样品,BCA 法进行蛋白质定量。每泳道 50 μg 蛋白,10%十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺(sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis,SDS-PAGE)凝胶电泳分离后湿转至 PVDF 膜,封闭,加一抗,一抗及工作浓度:HIF-1 α (1:200)、CTGF(1:300),4

$^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜。洗膜,加相应二抗(1:2000)室温孵育 1 h,ECL 试剂在暗室中发光,X 线胶片曝光、显影、定影。扫描测定条带密度值,以与 β -actin 的比值作为表达强度。

1.3 统计学处理 应用 SPSS18.0 统计软件进行数据处理,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 六味地黄汤对 5/6 肾切除大鼠肾脏功能的影响 见表 1。

2.2 六味地黄汤对 5/6 肾切除大鼠肾组织形态学的影响 HE 染色下,假手术组肾小球和肾小管结构清晰,未见明显异常;模型组肾小球系膜细胞明显增生,硬化增多,肾小管明显萎缩、消失,部分肾小管发生代偿性扩张,可见蛋白管型,肾间质纤维化明显,大量淋巴细胞浸润。六味地黄汤组病变程度较模型组明显减轻(图 1)。Masson 染色下,假手术组肾小球和肾小管仅基底膜染成蓝色,肾间质无明显胶原纤维;模型组肾间质见大量染成蓝色的胶原纤维;六味地黄汤组肾间质可见少量胶原纤维,胶原沉积较模型组明显减轻(图 2)。

2.3 六味地黄汤对 5/6 肾切除大鼠肾组织 HIF-1 α 、CTGF 表达的影响

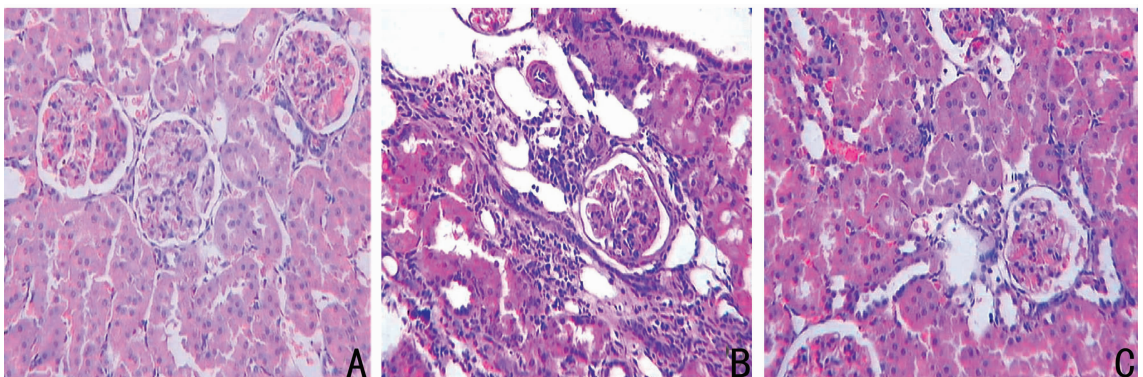
2.3.1 HIF-1 α 的表达 假手术组 HIF-1 α 微量表达,主要在肾皮髓质交界处,模型组和六味地黄汤组肾小管上皮细胞、间质细胞胞质和胞核中均表达增加,肾小球表达不明显(图 3)。

组别	n	24 h UAlb(mg)	BUN(mmol/L)	Scr($\mu\text{mol/L}$)
假手术组	10	3.60 \pm 1.40*	6.49 \pm 0.98*	59.60 \pm 5.82*
模型组	7	22.12 \pm 1.05*	13.54 \pm 1.33*	87.42 \pm 6.92*
六味地黄汤组	9	19.08 \pm 2.02	11.66 \pm 1.20	77.44 \pm 5.68

*: $P<0.05$,与六味地黄汤组比较。

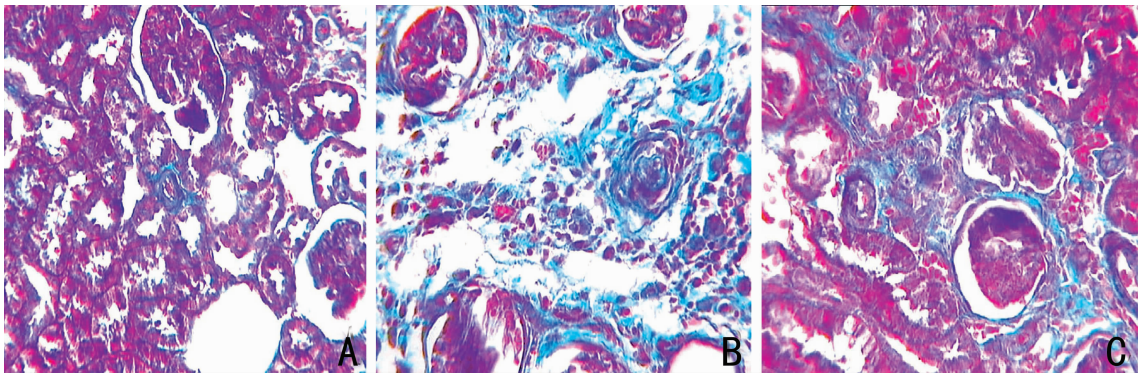
2.3.2 CTGF 的表达 假手术组 CTGF 表达不明显,模型组和六味地黄汤组肾小管上皮细胞、间质细胞胞质和胞核中 CTGF 均表达明显增加,肾小球表达不明显(图 4)。

2.3.3 肾组织 HIF-1 α 、CTGF 表达半定量分析 3 组肾组织 HIF-1 α 、CTGF 表达在模型组最强,六味地黄汤组次之,假手术组最弱。与六味地黄汤组比较,模型组 HIF-1 α 、CTGF 的表达明显升高($P<0.05$),见表 2。



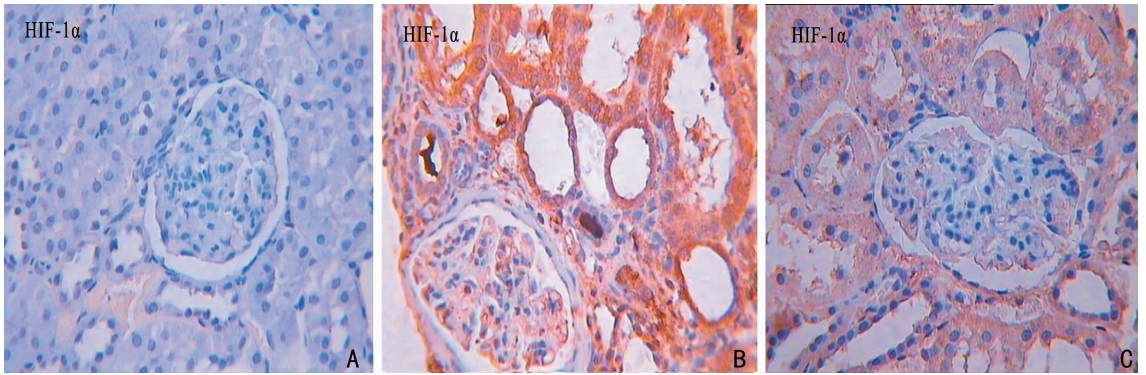
A:假手术组;B:模型组;C:六味地黄汤组。

图 1 3 组大鼠肾脏的病理改变(HE 染色, $\times 250$)



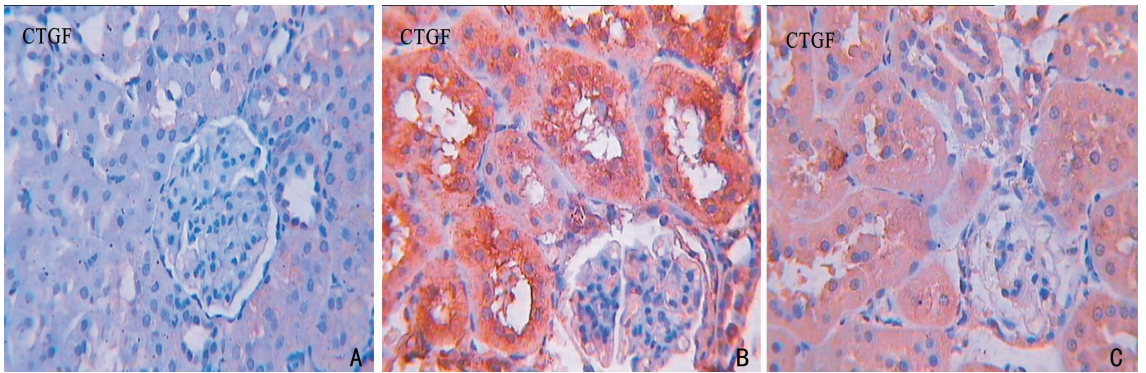
A:假手术组;B:模型组;C:六味地黄汤组。

图 2 3 组大鼠肾脏的病理改变(Masson 染色,×250)



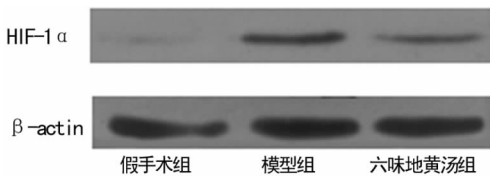
A:假手术组;B:模型组;C:六味地黄汤组。

图 3 3 组大鼠肾组织 HIF-1 α 的蛋白表达水平(IHC,×400)



A:假手术组;B:模型组;C:六味地黄汤组。

图 4 3 组大鼠肾组织 CTGF 的蛋白表达水平(IHC,×400)



*: $P < 0.05$, 与六味地黄汤组比较。

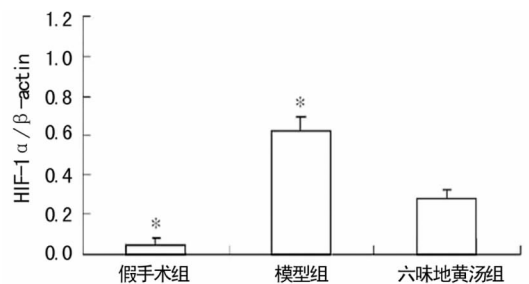
图 5 3 组大鼠肾组织 HIF-1 α 蛋白表达电泳图

表 2 3 组大鼠肾组织 HIF-1 α 、CTGF 表达的平均灰度值($\bar{x} \pm s$)

组别	n	HIF-1 α	CTGF
假手术组	10	215.30 \pm 24.60*	223.00 \pm 21.50*
模型组	7	141.00 \pm 12.20*	137.60 \pm 14.10*
六味地黄汤组	9	170.70 \pm 10.90	184.20 \pm 11.40

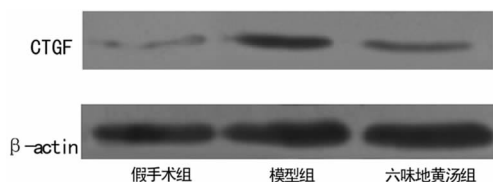
*: $P < 0.05$, 与六味地黄汤组比较。

2.4 六味地黄汤对 5/6 肾切除大鼠肾组织 HIF-1 α 、CTGF 蛋白水平的影响 与六味地黄汤组比较,模型组 HIF-1 α 、CTGF 蛋白表达水平均明显升高($P < 0.05$)。见图 5~8。



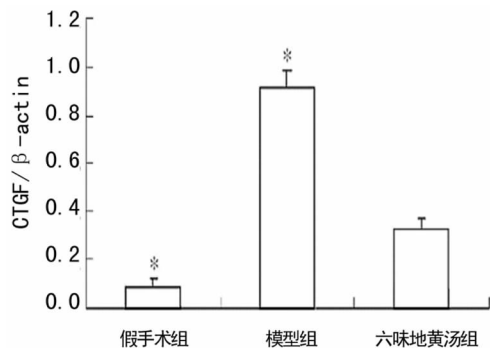
*: $P < 0.05$, 与六味地黄汤组比较。

图 6 Western blot 检测 3 组 HIF-1 α 的表达



*: $P < 0.05$, 与六味地黄汤组比较。

图 7 3 组大鼠肾组织 CTGF 蛋白表达电泳图



*: $P < 0.05$, 与六味地黄汤组比较。

图 8 Western blot 检测 3 组 CTGF 的表达

3 讨 论

HIF-1 是 1992 年 Semenza 等在低氧诱导的肝细胞癌细胞株 Hep3B 细胞核提取物中发现的一种蛋白质,是迄今为止发现的惟一能在缺氧状态下发挥活性的特异性转录因子。已有研究表明,缺氧激活的转录因子 HIF-1 α 在纤维化发展中起至关重要的作用^[4]。慢性肾衰竭(chronic renal failure, CRF)是各种肾脏疾病持续进展的最终结局,其主要病理学特征为肾小球硬化和肾间质纤维化。慢性缺氧可诱发 HIF-1 α 持续表达,后者上调一系列促纤维化靶基因导致肾间质纤维化。因此,慢性缺氧是引起肾间质纤维化的一个关键因素^[5],而 HIF-1 α 是导致肾间质纤维化的关键因子^[6-7]。

5/6 肾切除大鼠是目前研究慢性肾脏病进展的理想动物模型。已有研究表明,5/6 肾切除的大鼠肾脏组织中存在小动脉病变,这种小动脉病变可导致肾小球后毛细血管血流减少和肾小管间质缺血,而缺血就意味着低氧。Manotham 等^[8]研究证实,在 5/6 肾切除大鼠模型中,在发生肾小管纤维化前,肾小管已存在明显的缺氧。Zhang 等^[9]研究证实,管周毛细血管丢失和肾小管间质缺氧在肾间质纤维化不明显之前的早期阶段(术后第 3 周)已经很严重,并且持续存在于肾间质纤维化的发展过程中。Zeng 等^[10]研究发现,HIF-1 α 在 5/6 肾切除大鼠肾组织中显著升高,这一结果证实慢性缺氧存在于 5/6 肾切除模型。俞小芳等^[11]研究 5/6 肾切除大鼠亦发现在早期阶段(术后第 1 周末),HIF-1 α 在肾内表达即开始增加,在术后 12 周仍有持续表达。Kimura 等^[6]通过应用 5/6 肾切除的基因敲除小鼠模型证实了 HIF-1 α 具有促进肾纤维化的作用,认为抑制 HIF-1 α 的表达是治疗肾脏纤维化的靶点。此外,CTGF 是目前公认的较强的促纤维化生长因子,其表达受 HIF-1 α 调控^[12]。本研究显示模型组存在明显的纤维化,且与假手术组比较,模型组肾组织中 HIF-1 α 、CTGF 蛋白表达水平均明显升高,说明 HIF-1 α 可能通过调节 CTGF 的表达,促进肾间质纤维化。

六味地黄丸是临床上治疗肾阴虚证型慢性肾小球肾炎的

有效方剂^[13]。其临床疗效肯定,但其作用机制缺乏深入研究。何泽云等^[14]研究发现 5/6 肾切除大鼠在术后 8 周,留存肾不可避免地发生了间质纤维化。给 5/6 肾切除大鼠灌胃六味地黄汤 8 周后,其 BUN、Scr 的水平明显低于模型组,并能减少留存肾系膜细胞的增生及间质纤维化,使肾切除大鼠生存期延长^[15]。蔡惠芳等^[16]研究发现,六味地黄丸具有改善 5/6 肾切除大鼠残肾肾功能的作用,其改善残肾肾功能的作用与六味地黄丸提高肾小球的体积密切相关。李万斌等^[17]研究认为,六味地黄丸可能通过促进 MMP-2 的表达,对抗 IV 胶原的过度沉积,减轻硬化程度,达到保护肾脏、延缓肾衰竭进程的积极作用。目前,从缺氧的角度探讨六味地黄汤延缓肾间质纤维化的机制研究尚未见报道,缺氧是导致肾间质纤维化的重要原因,而六味地黄汤具有耐缺氧、抗氧化的作用,为本研究提供了坚实的理论依据。本研究结果显示,与模型组比较,六味地黄汤延缓肾间质纤维化的作用机制可能是通过改善缺氧从而抑制 HIF-1 α 的表达,进而下调 CTGF 的蛋白水平,从而减轻肾间质纤维化。

参考文献:

- [1] Fine LG, Norman JT. Chronic hypoxia as a mechanism of progression of chronic kidney diseases: from hypothesis to novel therapeutics[J]. *Kidney Int*, 2008, 74(7): 867-872.
- [2] Manotham K, Tanaka T, Matsumoto M, et al. Transdifferentiation of cultured tubular cells induced by hypoxia[J]. *Kidney Int*, 2004, 65(3): 871-880.
- [3] Higgins DF, Kimura K, Iwano M, et al. Hypoxia-inducible factor signaling in the development of tissue fibrosis[J]. *Cell Cycle*, 2008, 7(9): 1128-1132.
- [4] Coppole BL, Bai S, Burgoon LD, et al. Hypoxia-inducible factor-1 α regulates the expression of genes in hypoxic hepatic stellate cells important for collagen deposition and angiogenesis[J]. *Liver Int*, 2011, 31(2): 230-244.
- [5] Takiyama Y, Harumi T, Watanabe J, et al. Tubular injury in a rat model of type 2 diabetes is prevented by metformin: a possible role of HIF-1 α expression and oxygen metabolism[J]. *Diabetes*, 2011, 60(3): 981-992.
- [6] Kimura K, Iwano M, Higgins DF, et al. Stable expression of HIF-1 α in tubular epithelial cells promotes interstitial fibrosis[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2008, 295(4): F1023-1029.
- [7] Haase VH. Pathophysiological consequences of HIF activation: HIF as a modulator of fibrosis[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2009, 1177: 57-65.
- [8] Manotham K, Tanaka T, Matsumoto M, et al. Evidence of tubular hypoxia in the early phase in the remnant kidney model[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2004, 15(5): 1277-1288.
- [9] Zhang B, Liang X, Shi W, et al. Role of impaired peritubular capillary and hypoxia in progressive interstitial fibrosis after 56 subtotal nephrectomy of rats[J]. *Nephrology (Carlton)*, 2005, 10(4): 351-357.
- [10] Zeng R, Yao Y, Han M, et al. Biliverdin(下转第 780 页)

论与相关研究一致。这充分地说明了异氟醚具有抗炎作用,能够抑制促炎细胞因子的产生,在一定的程度上减缓了炎症反应。Adams 等^[6]研究也表明,大鼠腹腔注射吸入麻醉药能够降低脂多糖诱导的 IL-6/IL-10 的比率并能减轻炎症反应。薛纪秀等^[7]研究表明丙泊酚和异氟醚能减少胰岛素(IN)、TNF- α 、IL-6 和胰岛素抵抗指数及在一定程度上减轻了应激反应。因此。这对今后临床上麻醉药物的使用提供了理论指导和现实基础。也有研究表明,利多卡因预处理可抑制内毒素诱导的促炎因子 IL-6、TNF- α 的释放和减轻内毒素诱发的兔肺毛细血管通透性增加、肺部炎症细胞浸润及内皮细胞损伤^[8]。但也有实验显示,直接给予大鼠异氟醚上调了大鼠肺脏炎症因子的水平^[9]。这可能与实验条件及炎症模型不同有关。尽管有点矛盾,但更多的研究证明,卤族类吸入性麻醉剂预处理对肺缺血再灌注损伤和神经具有保护作用^[10-11]。

Flondor 等^[12]研究表明,大鼠静脉注射内毒素脂多糖后用吸入性麻醉药异氟烷处理可以抑制促炎细胞因子 TNF- α 及 IL-1 β 的释放,产生抗炎作用。同时,体外研究也表明,麻醉药丙泊酚和氯胺酮可抑制脂多糖刺激的 PBMC 细胞因子的表达^[13]。Weber 等^[14]研究表明,异氟烷能有效抑制人的脐静脉内皮细胞所产生的 TNF- α 和血管细胞黏附分子-1 的分泌。与本研究结果一致。

目前,不同的麻醉药物对细胞因子产生的影响还存在一定的争议,其机制不是十分清楚。本研究表明了吸入麻醉药预处理通过抑制促炎细胞因子产生抗炎作用,可应用于手术上的免疫和抗感染等方面。因此,根据患者病情、手术大小,尤其是那些免疫功能异常、感染、创伤的高危手术患者,选择合适的麻醉药物维持细胞因子平衡,以调节机体免疫,具有重要的临床意义。

参考文献:

- [1] 郑海燕. 丙泊酚麻醉对围术期肝缺血再灌注损伤患者血浆氧化亚氮/内皮素-1 和炎症细胞因子的影响[J]. 实用医学杂志, 2009, 25(23): 3995-3997.
- [2] 柳垂亮, 李玉娟, 石永勇. 吸入麻醉药抗缺血再灌注损伤及其机制研究进展[J]. 中国药理学杂志, 2009, 44(18): 1369-1371.
- [3] 李秀华, 程晓燕, 张岩. 静脉麻醉药预处理对鼠脑缺血损伤皮质区 TNF- α 的影响[J]. 当代医学, 2009, 15(28):

6-8.

- [4] Xu GM, Tao GC. Effects of isoflurane on ICAM-1 expression and neutrophils infiltration in rats with liver ischemia and reperfusion injury[J]. J Med Colleges PLA, 2009, 24(5): 259-265.
- [5] Lee HT, Emala CW, Joo JD, et al. Isoflurane improves survival and protects against renal and hepatic injury in murine septic peritonitis[J]. Shock, 2007, 27(4): 373-379.
- [6] Adams SD, Radhakrishnan RS, Helmer KS, et al. Effects of anesthesia on lipopolysaccharide-induced changes in serum cytokines[J]. J Trauma, 2008, 65(1): 170-174.
- [7] 薛纪秀, 范隆, 徐国勋, 等. 丙泊酚和异氟醚麻醉对胰岛素抵抗及促炎细胞因子的影响[J]. 临床麻醉学杂志, 2008, 24(1): 8-10.
- [8] 廖志婕. 利多卡因预处理对兔肺损伤炎症反应的影响[D]. 广州: 第一军医大学学报, 2006.
- [9] 安海燕, 杨拔贤. 不同浓度异氟醚吸入对大鼠炎症反应的影响[J]. 山东医药, 2009, 49(11): 3-7.
- [10] 张素品. 异氟烷/七氟烷预处理及后处理对大鼠肺缺血再灌注损伤的保护作用[D]. 天津: 天津医科大学, 2009.
- [11] 张俊杰, 郡建勤. 吸入麻醉药的神经保护效应及可能机制[J]. 麻醉与监护论坛, 2011, 18(5): 359-362.
- [12] Flondor M, Hofstetter C, Boost KA, et al. Isoflurane inhalation after induction of endotoxemia in rats attenuates the systemic cytokine response[J]. Eur Surg Res, 2008, 40(1): 1-6.
- [13] 亓玲丽, 郭政. 麻醉药物对细胞因子白细胞介素-1 β 和白细胞介素-6 的影响[J]. 中国药物与临床, 2007, 7(7): 505-507.
- [14] Weber NC, Kandler J, Schlack W, et al. Intermittent pharmacologic pretreatment by xenon, isoflurane, nitrous oxide, and the opioid morphine prevents tumor necrosis factor alpha-induced adhesion molecule expression in human umbilical vein endothelial cells[J]. Anesthesiology, 2008, 108(2): 199-207.

(收稿日期: 2012-08-23 修回日期: 2012-10-21)

(上接第 777 页)

reductase mediates hypoxia-induced EMT via PI3-kinase and Akt[J]. J Am Soc Nephrol, 2008, 19(2): 380-387.

- [11] 俞小芳, 丁小强, 朱加明, 等. 5/6 肾切除大鼠低氧诱导因子 1 α 和 2 α 在肾内的表达和定位[J]. 中华肾脏病杂志, 2010, 26(9): 689-695.
- [12] Xu H, Liu X, Ning W, et al. Expression of HIF-1 α in 5/6-nephrectomized rat models of chronic kidney fibrosis[J]. ZhongNan DaXue XuBao, 2009, 3(4): 308-312.
- [13] 何泽云, 徐元美. 六味地黄丸治疗肾阴虚型慢性肾小球肾炎的临床研究[J]. 湖南中医学院学报, 2004, 24(1): 35-37.

- [14] 何泽云, 阳晓. 参麦注射液对 5/6 肾切除大鼠肾脏及腹膜形态结构的影响[J]. 中国中西医结合杂志, 1998, 18(9): 553-555.
- [15] 何泽云, 陈江华, 李晓峰. 六味地黄丸对肾切除大鼠肾小球化生的影响[J]. 湖南中医学院学报, 2004, 24(2): 1-3.
- [16] 蔡惠芳, 谭元生, 何泽云, 等. 六味地黄丸对大鼠 5/6 肾切除肾功能的影响[J]. 湖南中医药大学学报, 2007, 27(2): 17-19.
- [17] 李万斌, 何泽云. 六味地黄丸延缓 5/6 肾切除大鼠肾组织纤维化研究[J]. 中国药师, 2009, 12(4): 411-413.

(收稿日期: 2012-10-26 修回日期: 2012-11-19)