

论著·基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2017.17.007

电针调控新西兰兔骨关节炎性疼痛及对脊髓 IL-17、IL-17R 表达的影响*

程红^{1,2}, 杨敏^{1△}

(1. 西南医科大学附属医院康复医学科, 四川泸州 646000; 2. 四川省泸州市人民医院康复医学科 646000)

[摘要] **目的** 研究电针是否通过抑制脊髓内白细胞介素(IL)-17 及 IL-17R 的表达来调控新西兰兔骨关节炎性疼痛。**方法** 新西兰兔随机分为假手术组、炎症模型组、假手术+IL-17 组、炎症+抗 IL-17 组、炎症+电针组、炎症+假电针组, 每组 8 只, 4%木瓜蛋白酶构建兔骨关节炎模型, IL-17 及 IL-17 抗血清采用椎管内注射, 电针组选择电针刺激足三里(30 min, 2 Hz 连续波, 1~2 mA), 假电针组采用非穴位刺激, 测定免痛阈, 采用实时荧光定量 PCR(RT-qPCR)检测兔脊髓组织 IL-17、IL-17R 的 mRNA 表达, Western bolt 检测 IL-17、IL-17R 蛋白表达。**结果** 在构建骨关节炎模型后新西兰兔痛阈显著下降($P<0.05$), 椎管注射 IL-17 后可以显著降低假手术新西兰兔痛阈($P<0.05$), 而椎管注射 IL-17 抗血清后可明显增加骨关节炎模型免痛阈。选择足三里电针刺刺激可显著提升免痛阈($P<0.05$)。骨关节炎模型组 IL-17、IL-17R 的 mRNA 及蛋白表达显著增加($P<0.05$), 而电针刺刺激后其表达显著下降($P<0.05$)。**结论** 新西兰兔骨关节炎性疼痛发生可能涉及脊髓 IL-17 异常表达, 而电针可能通过抑制脊髓 IL-17、IL-17R 的表达来调控骨关节炎性疼痛。

[关键词] 电针; 新西兰兔; 骨关节炎性疼痛; 白细胞介素-17; 白细胞介素-17R**[中图分类号]** R246.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2017)17-2326-04

Electroacupuncture regulates pain and its effect on IL-17 and IL-17R expression of spinal cord in New Zealand rabbit with osteoarthritis*

Chen Hong^{1,2}, Yang Min^{1△}

(1. Department of Rehabilitation Medicine, Affiliated Hospital of Southwest Medical University, Luzhou, Sichuan 646000, China;

2. Department of Rehabilitation Medicine, Luzhou Municipal People's Hospital of Sichuan Province, Sichuan 646000, China)

[Abstract] **Objective** To investigate whether electroacupuncture(EA) regulates the pain in New Zealand rabbits with osteoarthritis by inhibiting the IL-17 and IL-17R expression in spinal cord. **Methods** New Zealand rabbits were randomly divided into the sham operation group, inflammation model group, sham operation+IL-17 group, inflammation+IL-17 group, inflammation+EA group and inflammation+sham EA group, 8 cases in each group. The rabbit osteoarthritis model was established by using the papaya protease, IL-17 and IL-17 antiserum was injected into the spinal canal, The EA group selected the EA at Zusanli point(30 min, 2 Hz continuous wave, 1~2 mA), the sham EA group adopted the non-acupoint stimulation. Then the pain threshold of rabbits was detected. The mRNA expression of IL-17 and IL-17R in rabbit spinal cord tissue was detected by RT-qPCR and the protein expression was detected by Western-Bolt. **Results** The rabbit pain threshold was significantly decreased after constructing the New Zealand osteoarthritis model($P<0.05$), and the spinal canal injection of IL-17 could significantly decrease the pain threshold of sham operation New Zealand rabbit($P<0.05$), while the spinal canal injection of IL-17 antiserum could significantly increase the pain threshold of osteoarthritis model rabbit. Selecting EA at Zusanli point could significantly enhance the rabbit pain threshold($P<0.05$). The mRNA and protein expression of IL-17 and IL-17R of the osteoarthritis model group were significantly increased($P<0.05$), while the expressions were significantly decreased after EA stimulation($P<0.05$). **Conclusion** The pain occurrence of New Zealand rabbit osteoarthritis may involve the IL-17 abnormal expression in spinal cord. EA may regulate the osteoarthritis pain by inhibiting the expression of IL-17 and IL-17R in spinal cord.

[Key words] electroacupuncture; New Zealand rabbit; osteoarthritis pain; IL-17; IL-17R

骨关节炎是一种退行性骨关节病变,疼痛是其主要临床表现之一,且机制复杂,系统性镇痛效果欠佳。针灸是药物之外镇痛的常用方法,已经被广泛应用于临床,针灸镇痛具有很好临床效果,且无明显不良反应^[1]。阿片类受体被认为是针灸镇痛的主要靶点之一^[2],有研究证实 μ 阿片类受体和 δ 阿片类受体可能参与到电针抑制完全弗氏佐剂诱导的大鼠炎性疼痛^[3]。随着研究的深入,发现在阿片类受体之外,5-HT、兴奋性氨基酸、炎症因子等物质的合成与释放可能也参与电针镇痛的机制。白细胞介素(IL)-17 是一类常见炎症因子,一般认为 IL-

17 是由 TH17 细胞分泌,且主要介导多发性硬化病、关节炎、红斑狼疮等自身免疫性疾病。但是最近的研究发现,在中枢神经系统胶质细胞可以观察到 IL-17 高表达,并且可能通过对外界有害刺激的传递与处理来调控中枢神经疼痛发生^[4]。本研究通过构建新西兰兔骨关节炎模型,探讨 IL-17 是否参与到炎性疼痛的发生,以及电针治疗骨关节炎性疼痛的可能机制,为电针镇痛机制提供可能的理论依据。

1 材料与方

1.1 试剂与仪器

1.1.1 试剂 4%木瓜蛋白酶(Sigma 公司,美国),IL-17、重组人 IL-17(上海希美化学有限公司),Trizol、逆转录试剂盒、RT-qPCR 试剂盒(Takara 公司,日本),引物设计与合成(上海生工),鼠抗 IL-17 抗体、鼠抗 IL-17R 抗体、鼠抗 GADPH 抗体(Abcam 公司,美国),羊抗鼠二抗(碧云天)。

1.1.2 仪器 韩氏 LH202H 穴位电针仪(北京华卫产业开发公司),神经电生理仪(上海诺诚电气有限公司),ABI-7300 定量荧光 PCR 仪(ABI 公司,美国)。

1.2 实验动物与分组 健康 6 个月龄新西兰兔,体质量 2.0~2.5 kg,雄雌各半,由西南医科大学动物实验中心提供,动物由专业饲养员饲养于常温、常湿环境中,许可证号 SCXK:[川]2015-17。分组:(1)假手术组(C 组)、骨关节炎模型组(M 组)、假手术+IL-17 组(C+IL-17 组)、骨关节炎+抗 IL-17 组(M+抗 IL-17 组),每组 8 只,雄雌各半。骨关节炎造模:在实验第 1、4、7 天于兔右膝关节腔内注射 4%木瓜蛋白酶 0.3 mL,假手术组予以同等时间、同等体积生理盐水注入右膝关节腔内。假手术+IL-17 组:同假手术组造模,在造模同时时间点,采用椎管注入法,注入 50 μ L 重组人 IL-17(rIL-17);骨关节炎+抗 IL-17 组:同骨关节炎造模,在造模同时时间点,采用椎管注入法,将 0.2 μ g IL-17 抗血清溶于 50 μ L 生理盐水,注入兔椎管。(2)C 组、M 组、骨关节炎+电针组(M+EA 组)、骨关节炎+假电针组(M+FEA 组),假手术组、骨关节炎模型组造模均同前。

1.3 方法

1.3.1 电针治疗 穴位选择参照《实验针灸学》中“常用实验动物针灸穴位”的规定及新西兰兔解剖结构及生理条件,选取“足三里”穴,解剖学位置:小腿背外侧上 1/5 折点处,约当于腓骨头下 1.2 cm、胫骨嵴后 1.0 m 处。在造模完成 1 周后进行电针治疗,确定穴位后以毫针进行针刺,深度约为 15~20 mm,选择韩氏 LH202H 穴位电针仪穴位神经刺激仪(北京华卫有限公司,中国)以 2/100 Hz 频率、3 mA 强度进行针刺治疗,每次持续 10 min,隔天治疗 1 次,3 次/周,共计 3 周。假电针组在距足三里穴位小于 1 cm 处的非穴位位置进行同等条件电针刺激。

1.3.2 痛阈测定 选择神经电生理仪,以正负电极刺激兔患肢,设定电刺频率为 400 Hz、持续时间 10 s,电流从 0 mA 开始逐步加大,到兔出现嘶叫或后肢逃避行为时的电流值为其痛阈。

1.3.3 取材 待实验结束后,选择假手术组的 C 组、M 组、M+EA 组、M+FEA 组新西兰兔,断头处死,迅速取出 L4-5 脊髓腰背大鵬角组织,立即置于液氮中,后转移至-80 $^{\circ}$ C 冰箱保存待测。

1.3.4 RT-qPCR 测定 mRNA 表达

1.3.4.1 提取 RNA 将保存待测的兔脊髓组织置于均浆器,加入 1 mL Trizol,研磨至无块状态,待充分裂解后加入氯仿(200 μ L/L 溶于 Trizol 裂解液),震动摇匀,4 $^{\circ}$ C、12 000 r/min 离心 15 min,取上层水相即为待测 RNA,分光光度仪检测 260/280 吸光度,1.8~2.2 为标本合格,可进行下一步逆转录。

1.3.4.2 cDNA 合成 1 μ g RNA,6 μ L 5 \times RT 缓冲液,0.5 μ L 10 mmol/L dNTP,0.50 μ L 40 U/ μ L RNA 酶抑制剂,0.25 μ L 200 U/ μ L 逆转录酶,其余以 ddH₂O 水补足至 20 μ L 反应体系。逆转录反应参数设置:16 $^{\circ}$ C 30 min,35 $^{\circ}$ C 30 min,75 $^{\circ}$ C 15 min,逆转录完成后于-20 $^{\circ}$ C 保存备用。

1.3.4.3 RT-qPCR 使用 Real-time PCR 实时荧光定量反应

体系,ABI-7300 定量荧光 PCR 仪进行扩增反应,严格按照试剂盒说明书进行参数设置及操作,以 GADPH 为内参,GADPH、IL-17、IL-17R 引物序列由上海生工设计合成,见表 1。反应总体积 20 μ L;2 \times miRNA qPCR Mix(含 Sybr Green)10 μ L,Reverse primer 0.4 μ L,Forward primer 0.4 μ L,cDNA 产物 1.0 μ L,余用 ddH₂O 水补齐,反应参数:94 $^{\circ}$ C 预变性 3 min;94 $^{\circ}$ C 20 s,60 $^{\circ}$ C 20 s,72 $^{\circ}$ C 40 s 共 40 个循环,所有反应设立 3 个复孔。得到 Ct 值,Ct 值代表荧光达到阈值的循环数。以 2^{- Δ Ct} 表示测定 mRNA 相对表达量。

1.3.5 Western bolt 测定蛋白表达 将保存待测的兔脊髓组织称质量后以 100 mg/mL 比例向组织样本中加入 RIPA 裂解液(pH:7.4,50 mmol/L Tris-HCl,150 mmol/L NaCl,1 mmol/L EDTA,1 mmol/L PMSF,20 g/mL 胰蛋白酶抑制剂),冰上裂解 30 min,于匀浆器置于冰槽中研磨 30 min,吸出组织匀浆,4 $^{\circ}$ C、12 000 r/min 离心 15 min,取上清液即为蛋白样本,BCA 法检测蛋白浓度。对样本先后进行聚丙烯酰胺凝胶电泳,转膜,封闭,分别加入一抗:鼠抗 IL-17 抗体(1:2000),鼠抗 IL-17R 抗体(1:1 000)及鼠抗 GADPH 抗体(1:5 000)于 4 $^{\circ}$ C 震荡过夜,洗净后加入二抗羊抗鼠抗体(1:5 000)1 h,以凝胶图象处理系统分析。

1.4 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件进行分析,计数资料采用 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用两独立样本 t 检验,以 P<0.05 为差异有统计学意义。

表 1 引物序列

基因	序列	5'-3'
GADPH	Forward primer	AGA AGG CTG GGG CTC ATT TG
	Reverse primer	LAG GGG CCA TCC ACA GTC TTC
IL-17	Forward primer	GGG GAC AGA GTT CAT GTG GTA
	Reverse primer	AGA TTA CTA CAA CCG ATC CAC CT
IL-17R	Forward primer	CCT GTG GTG ATG CCT CAG TT
	Reverse primer	ATG GAC ACT GCA GAC AGA CG

2 结 果

2.1 骨关节炎及 IL-17 对新西兰兔痛阈影响 由表 2 可知,C 组的新西兰兔痛阈无显著变化,而 C 组通过椎管注射 IL-17 后痛阈呈逐渐下降的趋势(P<0.05);与 C 组比较,M 组新西兰兔痛阈呈逐渐下降趋势(P<0.05),而 M 组新西兰兔椎管注射抗 IL-17 其痛阈明显增加(P<0.05)。

2.2 电针对新西兰兔痛阈影响 与 C 组比较,M 组新西兰兔痛阈显著下降(P<0.05),而进行电针治疗后其痛阈明显升高(P<0.05);与 M+EA 组比较,M+FEA 组新西兰兔痛阈显著下降(P<0.05),见表 3。

2.3 电针对新西兰兔脊髓组织 IL-17、IL-17R mRNA 影响 新西兰兔构建骨关节炎模型后,IL-17、IL-17R mRNA 水平显著升高(P<0.05),在电针治疗后 IL-17、IL-17R mRNA 水平显著下降(P<0.05)。见图 1。

2.4 电针对新西兰兔脊髓组织 IL-17、IL-17R 蛋白表达影响 由图 2 可知,与 mRNA 表达类似,在构建骨关节炎模型后,IL-17、IL-17R 在脊髓组织蛋白表达量显著升高(P<0.05),而电针治疗后其表达显著下降(P<0.05)。见图 2。

表 2 骨关节炎及 IL-17 对新西兰图痛阈影响($\bar{x} \pm s$)

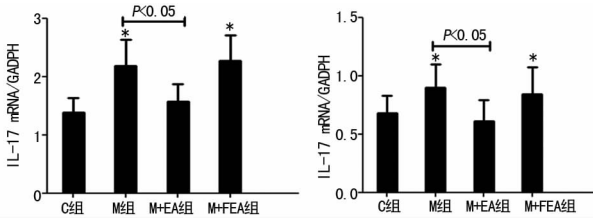
组别	n	0 d	5 d	10 d	15 d	20 d	25 d	30 d
C 组	8	12.3±2.1	12.7±2.8	12.5±2.2	12.9±2.8	12.1±1.9	12.3±2.6	12.5±2.7
C+IL-17 组	8	11.7±2.0	9.2±2.1 ^a	5.6±0.7 ^a	5.9±1.3 ^a	6.8±1.7 ^a	9.2±2.5 ^a	10.4±2.4
M 组	8	11.2±1.8	11.5±2.7	8.8±2.1 ^b	5.3±1.4 ^b	7.9±1.5 ^b	7.6±1.3 ^b	8.3±1.6 ^b
M+抗 IL-17 组	8	11.9±2.4	10.6±2.5	11.4±2.1 ^c	13.8±2.9 ^c	12.6±2.2 ^c	11.9±2.7 ^c	12.5±2.1 ^c

^a: $P < 0.05$, 与 C 组比较; ^b: $P < 0.05$, 与 C 组比较; ^c: $P < 0.05$, 与 M 组比较。

表 3 电针对新西兰兔痛阈影响($\bar{x} \pm s$)

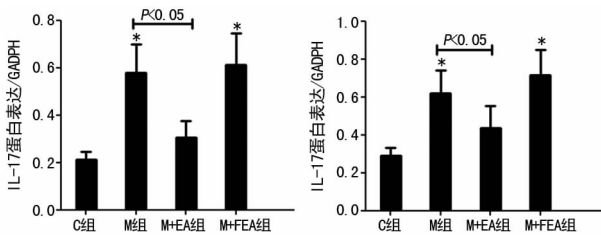
组别	n	0 d	5 d	10 d	15 d	20 d	25 d	30 d
C 组	8	12.0±2.2	12.5±2.3	12.7±2.8	12.7±2.5	12.3±2.0	12.1±2.2	12.6±2.6
M 组	8	12.4±1.6	11.8±2.9	8.5±2.3 ^b	5.5±1.6 ^b	7.4±1.5 ^b	7.5±1.7 ^b	8.8±1.9 ^b
M+EA 组	8	11.7±2.3	11.6±2.7	8.6±2.2	8.2±1.8 ^a	9.9±1.8 ^a	11.6±2.3	12.1±2.6 ^a
M+FEA 组	8	12.1±2.1	11.6±2.6	8.1±1.7 ^c	4.8±0.9 ^c	7.6±1.2 ^c	7.9±1.5 ^c	8.3±1.6 ^c

^b: $P < 0.05$, 与 C 组比较; ^a: $P < 0.05$, 与 M 组比较; ^c: $P < 0.05$, 与 M+EA 组比较。



*: $P < 0.05$, 与 C 组比较。

图 1 新西兰兔脊髓 IL-17、IL-17R 脊髓组织 mRNA 表达



*: $P < 0.05$, 与 C 组比较。

图 2 新西兰兔脊髓组织 IL-17、IL-17R 蛋白表达

3 讨 论

疼痛是骨关节炎的主要临床表现之一,研究显示 10%~15% 的患者表现为持续性和广泛性疼痛,而在膝关节或背部的局限性疼痛更为常见,可达 25% 左右^[5]。骨关节炎疼痛与神经病学、神经肌肉和心理因素密切相关,而电针疗法主要是通过控制中枢神经系统来达到镇痛效果^[5-6]。电针疗法不仅可以减轻炎性疼痛的临床症状,还可以明显减少中枢神经系统镇痛药物的使用。Zhang 等^[7]通过构建炎性疼痛动物模型发现,电针可以显著抑制完全弗氏佐剂诱导的大鼠缩腿、舔爪等自发性疼痛行为。越来越多的研究证实,电针可以通过激活外周阿片肽、 μ 阿片类受体及 δ 阿片类受体等的释放与激活来干预炎性疼痛发生^[4]。在阿片类受体之外,胶质细胞分泌的细胞因子可能也是电针镇痛的路径,因为细胞因子可使大胶质细胞和小胶质细胞活化,而活化的胶质细胞与炎性疼痛关系密切^[8]。但是目前的研究多聚焦于电针通过激活经典的阿片类受体来干预炎性疼痛,涉及抑制脊髓组织细胞因子的电针镇痛机制,还少见报道。

IL-17 作为一种炎症细胞因子,在外周血高表达可能与炎

性疼痛有一定关系。Dagley 等^[9]研究发现,外周血中 IL-17 的高表达可能是关节痛的发病机制之一。Pinto 等^[10]对大鼠膝关节炎注射甲基化的牛血清蛋白构建局部关节炎模型,再通过注射 IL-17 抗血清可以明显提高大鼠的机械缩足阈值。脊髓作为疼痛信息处理与信号传递的关键部位,调控慢性疼痛的发生,而脊髓胶质细胞存在 IL-17 的表达,并且可能参与到疼痛的中枢性信号传递与处理^[4,11]。本研究通过构建新西兰兔骨关节炎模型,在 C 组兔椎管注射 IL-17 后其痛阈显著下降,而 M 组兔椎管注射 IL-17 抗血清可以干预兔痛觉过敏。这表明脊髓组织 IL-17 高表达可能介导了骨关节炎疼痛发生,而抑制脊髓组织 IL-17 可能是骨关节炎镇痛途径之一。这也与相关报道相符,Kim 等^[12]对普通小鼠椎管注射 IL-17 使脊髓组织 IL-17 达到高浓度状态,发现小鼠明显热痛觉过敏。Kim 等^[12]还证实,IL-17 基因敲除的坐骨神经痛小鼠表现出明显的机械痛阈值升高,进一步研究发现这可能是 IL-17 表达降低而导致脊髓 L3-5 节段小胶质细胞和星状胶质细胞活化减少的缘故。

前述实验表明 IL-17 可能参与骨关节炎疼痛的发生,并且是可能的治疗靶点之一,但电针干预疼痛发生机制研究多在阿片类受体领域,而电针是否可以通过抑制 IL-17 来发挥抗炎效果,目前还未见相关报道。本研究评估了电针对模型兔的镇痛作用,结果显示,骨关节炎模型新西兰兔痛阈明显下降,而电针治疗后兔痛阈显著回升,体现出电针良好的镇痛效果。在新西兰兔构建骨关节炎模型后,IL-17 在脊髓组织 mRNA 及蛋白表达均显著升高,而对骨关节炎兔电针治疗后,IL-17 在脊髓组织表达明显下降。这与前述实验结果相吻合,脊髓组织 IL-17 高表达可能介导了骨关节炎疼痛发生,而电针可能是通过抑制 IL-17 在脊髓组织表达来干预骨关节炎疼痛。IL-17 依赖 IL-17R 来上调 IL-6、IL-8 及前列腺素 E2 等的表达^[13],IL-17R 也是 IL-17 参与信号传递的关键受体^[14]。本研究检测了 IL-17R 的表达情况,结果发现 IL-17R 在脊髓组织表达与 IL-17 高度一致,进一步提示 IL-17 在骨关节炎疼痛中枢调节具有重要作用,IL-17 可能是通过 IL-17R 对外界有害刺激信息进行处理和传递,而电针可能通过抑制脊髓 IL-17、IL-17R 表达来发挥骨关节炎镇痛作用。

综上所述,IL-17 可能介导了骨关节炎疼痛发生,电针对新西兰兔骨关节炎疼痛有较好镇痛作用,抑制脊髓组织 IL-17 及

IL-17R 表达是其可能机制之一。但是疼痛的中枢性调控机制非常复杂,IL-17 与其他介质,如经典阿片类受体有无联系,以及电针在抑制 IL-17、IL-17R 后其他介质有无变化,均需要进一步深入研究。

参考文献

- [1] Gadau M, Yeung WF, Liu H, et al. Acupuncture and moxibustion for lateral elbow pain: a systematic review of randomized controlled trials [J]. *BMC Complement Altern Med*, 2014, 14(1): 136.
- [2] Wang C, Sun D, Liu C, et al. Mother root of *Aconitum carmichaelii* Debeaux exerts antinociceptive effect in complete Freund's adjuvant-induced mice: roles of dynorphin/kappa-opioid system and transient receptor potential vanilloid type-1 ion channel [J]. *J Transl Med*, 2015, 13(2): 284.
- [3] Jiang YL, He XF, Shen YF, et al. Analgesic roles of peripheral intrinsic met-enkephalin and dynorphin A in long-lasting inflammatory pain induced by complete Freund's adjuvant in rats [J]. *Exp Ther Med*, 2015, 9(6): 2344-2348.
- [4] Wang J, Zhang R, Dong C, et al. Transient receptor potential channel and interleukin-17A involvement in LTTL gel inhibition of bone cancer pain in a rat model [J]. *Integr Cancer Ther*, 2015, 14(4): 381-393.
- [5] Marconcin P, Espanha M, Yázigí F, et al. The PLE(2)NO self-management and exercise program for knee osteoarthritis: study protocol for a randomized controlled trial [J]. *BMC Musculoskelet Disord*, 2016, 17(1): 250.
- [6] Gomes-Neto M, Araujo AD, Junqueira ID, et al. Comparative study of functional capacity and quality of life among obese and non-obese elderly people with knee osteoarthritis [J]. *Rev Bras Reumatol*, 2016, 56(2): 126-130.
- [7] Zhang Y, Zhang RX, Zhang M, et al. Electroacupuncture inhibition of hyperalgesia in an inflammatory pain rat model: involvement of distinct spinal serotonin and norepinephrine receptor subtypes [J]. *Br J Anaesth*, 2012, 109(2): 245-252.
- [8] Zhang T, Sun K, Shen W, et al. SOCS1 regulates neuropathic pain by inhibiting neuronal sensitization and glial activation in mouse spinal cord [J]. *Brain Res Bull*, 2016, 124(2): 231-237.
- [9] Dagley A, Ennis J, Turner JD, et al. Protection against Chikungunya virus induced arthralgia following prophylactic treatment with adenovirus vectored interferon (mDEF201) [J]. *Antiviral Res*, 2014, 108(1): 1-9.
- [10] Pinto LG, Cunha TM, Vieira SM, et al. IL-17 mediates articular hypernociception in antigen-induced arthritis in mice [J]. *Pain*, 2010, 148(2): 247-256.
- [11] Meng X, Zhang Y, Lao L, et al. Spinal interleukin-17 promotes thermal hyperalgesia and NMDA NR1 phosphorylation in an inflammatory pain rat models [J]. *Pain*, 2013, 154(2): 294-305.
- [12] Kim CF, Moalem-Taylor G. Interleukin-17 contributes to neuroinflammation and neuropathic pain following peripheral nerve injury in mice [J]. *J Pain*, 2011, 12(3): 370-383.
- [13] Parajuli P, Anand R, Mandalaparty C, et al. Preferential expression of functional IL-17R in glioma stem cells: potential role in self-renewal [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(5): 6121-6135.
- [14] Huang G, Wang Y, Vogel P, et al. Control of IL-17 receptor signaling and tissue inflammation by the p38 α -MKP-1 signaling axis in a mouse model of multiple sclerosis [J]. *Sci Signal*, 2015, 8(366): 24.
- [13] Cregger M, Berger AJ, Rimm DL. Immunohistochemistry and quantitative analysis of protein expression [J]. *Arch Pathol Lab Med*, 2006, 130(7): 1026-1030.
- [14] Hu Q, Noor M, Yf W, et al. In vitro anti-fibrotic activities of herbal compounds and herbs [J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2009, 24(10): 3033-3041.
- [15] Kaneto H, Morrissey J, Klah RS. Increased expression of TGF- β 1-RNA in the obstructed kidney of rats with unilateral ligation [J]. *Kidney Int*, 2002, 53(3): 311-314.
- [16] Yang J, Liu Y. Dissection of key events in tubular epithelial to myofibroblast transition and its implications in renal interstitial fibrosis [J]. *Am J Pathol*, 2001, 159(4): 1465-1475.

(收稿日期:2017-01-06 修回日期:2017-03-10)

(上接第 2325 页)

- MC, et al. Unilateral ureteral obstruction: beyond obstruction [J]. *Int Urol Nephrol*, 2014, 46(4): 765-776.
- [9] Susan J, Murch HP, Vasantha RD, et al. A metabolomic analysis of medicinal diversity in Huang-qin (*Scutellaria baicalensis* Georgi) genotypes: discovery of novel compounds [J]. *Plant Cell Rep*, 2004, 23(8): 419-425.
- [10] 延卫东,王瑞君,何琰,等. 黄芩苷药理作用研究进展 [J]. *陕西中医*, 2002, 23(12): 1127-1129.
- [11] Zhao Q, Zhang Y, Wang G, et al. A specialized flavone biosynthetic pathway has evolved in the medicinal plant, *Scutellaria baicalensis* [J]. *Sci Adv*, 2016, 2(4): e1501780.
- [12] Klahr S, Morrissey JJ. Obstructive nephropathy and renal fibrosis [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2002, 283(5): F861-875.

(收稿日期:2017-01-10 修回日期:2017-03-14)