

· 实验研究 ·

阿霉素肾病大鼠中肾小球 nephrin 表达与氧化应激反应的关系

朱颖, 鹿玲

(安徽医科大学第一附属医院儿科, 安徽 合肥 230022)

[摘要] **目的** 氧化和抗氧化失衡可能是肾病综合征产生大量蛋白尿的原因之一,而肾小球裂隙膜分子 nephrin 在维持肾小球滤过屏障功能中起着重要作用。因此该实验初步探讨阿霉素肾病大鼠肾小球裂隙膜分子 nephrin 表达与氧化应激反应的关系,以及泼尼松和维生素 E 对阿霉素大鼠肾损伤保护作用的机制。**方法** 尾静脉单次注射阿霉素 5 mg/kg 建立肾病发病过程中的氧化应激模型,并增加泼尼松和维生素 E 干预。应用化学比色法检测肾皮质氧化应激指标变化,应用免疫组织化学技术观察肾小球裂隙膜分子 nephrin 表达变化,并对两者进行相关性分析。**结果** ①肾病组大鼠肾皮质丙二醛(MDA)含量及 24 h 尿蛋白排泄量高于正常对照组,超氧化物歧化酶(SOD)和总抗氧化能力(T-AOC)活性低于正常对照组。与肾病组相比,泼尼松和维生素 E 干预组从 14 d 开始尿蛋白排泄量明显减少,直到 28 d($P<0.05$)。维生素 E 干预组肾皮质 MDA 含量较肾病 28 d 组下降,SOD、T-AOC 活性较肾病 28 d 组升高。②正常对照组大鼠 nephrin 沿肾小球基底膜呈深褐色连续线性分布;肾病组随着时间的延长深褐色连续线性分布向浅褐色短线条状或点状分布转化;泼尼松和维生素 E 干预组减轻了 nephrin 分子的异常改变;量化分析显示,肾病组肾小球 nephrin 阳性表达含量明显低于正常对照组,泼尼松及维生素 E 干预组肾小球 nephrin 阳性表达含量较肾病组增加。③肾小球 nephrin 蛋白阳性表达含量与肾皮质 MDA 含量呈负相关,与肾皮质 SOD 和 T-AOC 活性呈正相关。**结论** 肾小球裂隙膜分子 nephrin 表达减少与氧化应激反应密切相关;泼尼松和维生素 E 对阿霉素肾病大鼠肾损伤有保护作用。[中国当代儿科杂志,2009,11(1):56-60]

[关键词] 阿霉素;蛋白尿;Nephrin;氧化应激;大鼠
[中图分类号] R-33 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-8830(2009)01-0056-05

Relationship between glomerular nephrin expression and oxidative stress reaction in rats with adriamycin-induced nephrosis

ZHU Ying, LU Ling. Department of Pediatrics, First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022, China (Lu L, Email: zbkllfj@mail.hf.ah.cn)

Abstract: Objective It has been proposed that nephrotic syndrome is a consequence of an imbalance between oxidant and anti-oxidant activity. Nephrin plays an important role in maintaining glomerular filtration barrier. This study aimed to explore the relationship between the expression of glomerular nephrin and oxidative stress reaction in rats with adriamycin (ADR)-induced nephrosis, and the protection of prednisone and vitamin E against renal injuries. **Methods** Nephrosis was induced by single intravenous injection of ADR (5 mg/kg). The prednisone intervention group was administered with prednisone (10 mg/kg daily) between 1 and 4 weeks after ADR injection. The vitamin E intervention group received vitamin E of 20 mg/kg daily from 1 week before ADR injection till to 4 weeks after ADR injection. Control rats were intravenously injected with normal saline. After 7, 14, 21 and 28 days of ADR injection, the indexes of oxidative stress reaction of the renal cortex, malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD) and total antioxidative capacity (T-AOC), were measured using the chemical chromatometry. The protein expression of glomerular nephrin was measured by immunohistochemistry. **Results** Prednisone or vitamin E treatment reduced urinary protein from 14 days to 28 days after ADR injection. MDA levels of renal cortex increased, while renal activities of SOD and T-AOC as well as nephrin protein contents decreased in untreated nephrosis group from 7 days after ADR injection compared with those in the control rats. Compared with the untreated nephrosis group, prednisone treatment resulted in an increase in nephrin protein contents 28 days after ADR injection; Vitamin E treatment decreased renal MDA levels and increased renal activities of SOD and T-AOC and nephrin protein contents 28 days after ADR injection. Nephrin staining showed a sable linear-like pattern along the capillary loops of glomerulus in the control rats. Nephrin staining presented a light tan discontinuous short linear-like or

[收稿日期]2008-05-26;[修回日期]2008-06-18
[基金项目]安徽省自然科学基金(050430709)。
[作者简介]朱颖,女,硕士研究生。主攻方向:小儿肾脏疾病。
[通讯作者]鹿玲,女,教授,安徽医科大学第一附属医院儿科。邮编:230022。

punctiform pattern along the capillary loops of glomerulus in the untreated ADR group. Prednisone or vitamin E treatment ameliorated abnormal expression of nephrin induced by nephrosis. Glomerular nephrin expression level was negatively correlated with renal MDA level and positively correlated with renal activities of SOD and T-AOC. **Conclusions** A reduction of glomerular nephrin expression is closely related to oxidative stress reaction. Prednisone and vitamin E have protective effects against renal injuries induced by ADR in rats. [Chin J Contemp Pediatr, 2009, 11 (1):56-60]

Key words: Adriamycin; Proteinuria; Nephrin; Oxidative stress; Rats

微病变型肾病是小儿肾病综合征(nephrotic syndrome, NS)中最常见的病理类型,肾小球上皮细胞足突广泛融合为其最典型的病理改变,大量蛋白尿是其最具特征的临床表现。关于蛋白尿的产生、足细胞形态变化的分子机制及两者间的关系仍未明确。1998年Kestila等^[1]发现了足细胞裂隙膜上第一个蛋白分子nephrin,且nephrin的基因NPHS1的突变导致了芬兰型先天性肾病综合征(CNF),这提示nephrin缺陷是CNF发生蛋白尿和足突融合的原因之一,但是目前对nephrin在维持裂隙膜滤过屏障功能中的作用仍不明确。有研究报道^[2,3],NS与氧化应激反应密切相关。活性氧(reactive oxygen species, ROS)可能参与了足细胞损伤及后来蛋白尿的发生过程^[4]。但ROS是否与肾小球裂隙膜分子nephrin的破坏有关,目前没有明确的相关报道。为了探讨ROS在肾小球滤过屏障损伤中的作用,本实验采用氧化应激致肾损伤模型——大鼠阿霉素肾病模型的原理^[5,6],观察给予阿霉素(ADR)后不同时间点大鼠肾皮质氧化、抗氧化成份的变化及肾小球裂隙膜分子nephrin的表达情况,分析它们之间的相互关系,并增加泼尼松和维生素E干预,初步探讨泼尼松和维生素E对阿霉素大鼠肾损伤是否有保护作用及其可能的机制。

1 材料和方法

1.1 实验动物及模型制备

健康雄性Wistar大鼠56只,体重180~200g(安徽医科大学实验动物中心提供),随机分为肾病组32只:注射阿霉素7d(ADR7)、14d(ADR14)、21d(ADR21)、28d(ADR28)后分别处死,每组各8只;泼尼松干预组,维生素E干预组和正常对照组,每组各8只。肾病组及干预组尾静脉单次注射阿霉素5mg/kg,正常对照组尾静脉单次给予等量生理盐水注射。泼尼松干预组在注射阿霉素后第1天起给予泼尼松每天10mg/kg灌胃,持续4周;维生素E干预组在注射阿霉素前1周给予维生素E每天20mg/kg灌胃进行预处理,注射阿霉素后继续给予维生素E每天20mg/kg灌胃;正常对照组和肾病组给予蒸馏水灌胃,持续4周。于注射阿霉素后7,

14,21,28d随机处死肾病组大鼠各8只,正常对照组、泼尼松及维生素E干预组各8只于28d时一次性处死。处死前收集24h尿液,并留取肾皮质标本。

1.2 标本收集

①尿液:用代谢笼收集大鼠注射阿霉素前1d尿液(用尿蛋白试纸定性),及注射阿霉素后7,14,21,28d的24h尿液,记录尿量。②肾组织:肾病组于各时间点收集尿液结束当天,随机取大鼠各8只处死,正常对照组,泼尼松干预组和维生素E干预组于第28天时一次性处死,留取肾脏标本。左肾取肾皮质固定,用于免疫组化;右肾取肾皮质在生理盐水冰浴中制成10%的组织匀浆,保存于-80℃冰箱,用于氧化应激指标检测。

1.3 实验方法

1.3.1 24h尿蛋白含量测定 考马斯亮兰法试剂盒测定,购于南京建成生物工程研究所。

1.3.2 氧化应激反应指标测定 各组大鼠肾皮质制备10%组织匀浆后,用南京建成生物工程研究所的试剂盒检测肾皮质中丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)、总抗氧化能力(T-AOC)含量,并以考马斯亮兰法检测肾皮质匀浆蛋白水平作为校正。

1.3.3 肾小球nephrin蛋白检测 应用免疫组织化学SABC法,1μm肾组织石蜡切片经梯度脱蜡水化后,3%过氧化氢封闭内源性过氧化物酶,磷酸缓冲盐溶液(PBS)洗涤。抗原微波热修复。正常小牛血清封闭。依次加入nephrin抗体(Boster公司,BA1689)、二抗及链酶亲和素-过氧化物酶复合物(SABC液)(Boster公司,SA1022)孵育后,DAB显色,苏木素轻度复染,中性树胶封片。用PBS代替一抗作阴性对照。

1.4 肾小球nephrin蛋白半定量分析

应用计算机图像分析系统对肾组织免疫组化结果进行半定量分析,计算肾小球nephrin蛋白染色强弱。每只大鼠随机取2张切片,每张切片肾皮质区取5个400倍物镜视野,计算平均光密度的平均值,即为nephrin蛋白阳性表达的相对含量。

1.5 统计学处理

数据均采用SPSS13.0进行统计学处理,所有计量资料均用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示;多组资料间

比较,采用单因素方差分析(One-way ANOVA);对有关趋势的变量采用 Pearson 相关分析。 $P<0.05$ 为有显著性意义。

2 结果

2.1 各组大鼠 24 h 尿蛋白排泄量动态变化

与正常对照组相比,ADR 7 d 组尿蛋白无明显差异,从 ADR 14 d 组尿蛋白开始显著增加($P<0.01$),直至 28 d;与肾病组相比,泼尼松和维生素 E 干预组从 14 d 始尿蛋白排泄量明显减少($P<0.05$),直至 28 d(表 1)。

表 1 各组大鼠 24 h 尿蛋白排泄量动态变化 (mg/24 h, $\bar{x}\pm s$)

组别	7 d	14 d	21 d	28 d
正常对照	10.10 $\pm$ 1.31	11.27 $\pm$ 1.60	14.97 $\pm$ 3.08	15.89 $\pm$ 3.06
肾病	16.00 $\pm$ 5.16	49.55 $\pm$ 9.32 ^a	86.13 $\pm$ 15.66 ^a	120.81 $\pm$ 16.91 ^a
泼尼松	14.13 $\pm$ 2.86	27.03 $\pm$ 7.62 ^b	38.71 $\pm$ 8.18 ^b	54.50 $\pm$ 8.02 ^b
维生素 E	13.38 $\pm$ 2.46	32.33 $\pm$ 7.60 ^b	61.74 $\pm$ 6.12 ^b	91.26 $\pm$ 12.16 ^b

a:与正常对照组比较, $P<0.01$; b:与肾病组比较, $P<0.05$ 。

2.2 各组大鼠肾皮质氧化应激指标和 nephrin 蛋白阳性表达含量变化

与正常对照组比较,注射阿霉素 7 d 后肾病组

大鼠肾脏脂质过氧化产物 MDA 含量明显增加,SOD、T-AOC 抗氧化酶活性则明显下降;nephrin 蛋白阳性表达含量显著下降。与 ADR 28 d 组比较,泼尼松干预组肾皮质 MDA 含量,SOD、T-AOC 活性无明显改变,而 nephrin 蛋白阳性表达含量则显著上升;与 ADR 28 d 组比较,维生素 E 干预组肾皮质 MDA 含量下降,SOD、T-AOC 活性明显升高,nephrin 蛋白阳性表达含量显著上升。大鼠肾脏大体观察可见 14~28 d 模型组大鼠处死时有大量腹水,肾脏外观苍白、肿胀。与正常组比较,肾病组从 14 d 以后,右肾重/体重明显增加,差异具有显著性。与 ADR 28 d 组比较,泼尼松和维生素 E 干预组右肾重/体重明显减轻,差异具有显著性(表 2)。

2.3 各组大鼠肾小球 nephrin 蛋白分布

正常对照组 nephrin 蛋白沿肾小球毛细血管祥呈深褐色连续、线状分布。肾病组从第 7 天开始,nephrin 染色向浅褐色、不连续、颗粒样、短线样模式转变。肾病组 nephrin 分子分布的异常变化随时间进展逐渐加重,受累肾小球进行性增多。泼尼松及维生素 E 干预组明显阻止了 nephrin 分子的异常改变,虽未能完全抑制分布的变化,但与肾病组相比,分布异常明显减轻。阴性对照无 nephrin 蛋白分布(图 1)。

表 2 各组大鼠肾皮质 MDA 含量,SOD,T-AOC 活性变化及 nephrin 蛋白阳性表达含量比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	右肾重/体重($\times 10^{-3}$)	MDA (nmol/mg pr)	SOD(U/mg pr)	T-AOC(U/mg pr)	nephrin 蛋白阳性表达含量
正常对照	3.24 $\pm$ 0.34	0.98 $\pm$ 0.28	497.21 $\pm$ 33.23	2.31 $\pm$ 0.26	0.99 $\pm$ 0.06
ADR7	3.19 $\pm$ 0.43	1.32 $\pm$ 0.19 ^a	450.48 $\pm$ 29.94 ^a	1.88 $\pm$ 0.09 ^a	0.71 $\pm$ 0.02 ^a
ADR14	3.89 $\pm$ 0.26 ^a	1.56 $\pm$ 0.50 ^a	409.64 $\pm$ 30.63 ^a	1.45 $\pm$ 0.20 ^a	0.49 $\pm$ 0.03 ^a
ADR21	4.29 $\pm$ 0.50 ^a	1.98 $\pm$ 0.36 ^a	345.44 $\pm$ 20.38 ^a	1.12 $\pm$ 0.09 ^a	0.33 $\pm$ 0.04 ^a
ADR28	4.60 $\pm$ 0.40 ^a	2.58 $\pm$ 0.43 ^a	315.64 $\pm$ 15.74 ^a	0.92 $\pm$ 0.10 ^a	0.18 $\pm$ 0.02 ^a
泼尼松	3.43 $\pm$ 0.34 ^b	2.24 $\pm$ 0.22	335.74 $\pm$ 30.50	1.20 $\pm$ 0.18	0.49 $\pm$ 0.03 ^b
维生素 E	3.44 $\pm$ 0.38 ^b	1.46 $\pm$ 0.20 ^b	417.50 $\pm$ 27.68 ^b	1.62 $\pm$ 0.19 ^b	0.42 $\pm$ 0.03 ^b

a:与正常对照组比较, $P<0.05$; b:与 ADR 28 d 组比较, $P<0.01$ 。

2.4 Nephrin 蛋白与 24 h 尿蛋白排泄量及氧化应激反应指标相关分析及散点图结果

经 Pearson 相关分析显示,大鼠肾小球 nephrin 蛋白阳性表达含量与大鼠 24 h 尿蛋白及大鼠肾皮质脂质过氧化产物 MDA 含量呈负相关(图 2A,B),与大鼠肾皮质 SOD 和 T-AOC 活性呈正相关(图 2C,D)。

3 讨论

肾小球足细胞及其足突间的裂隙膜是构成肾小球滤过膜的最后一道屏障^[7]。近年来,已先后确定

了多个位于足细胞及裂隙膜上的蛋白分子如 nephrin,Podocin,CD2AP、 α -actinin-4 等^[8~10]。这些研究成果的获得都是基于 CNF 致病基因(NPHS1 基因)的发现,但其编码蛋白 nephrin 在维持肾小球滤过屏障中的作用尚不清楚。最近的研究结果表明 nephrin 与 Podocin、CD2AP 相互作用可介导 PI3K/AKT 活化进而抑制足细胞凋亡^[11]。邢燕等^[12]报道,在肾病状态时 nephrin 磷酸化水平降低,进而影响 nephrin 与其它分子间的作用,导致裂隙膜分子正常信号传导障碍,从而引起肾小球通透性增加,导致蛋白尿的发生。Toyoda 等^[13]研究报道蛋白尿的产生与 nephrin 的表达呈负相关。本实验发现肾病

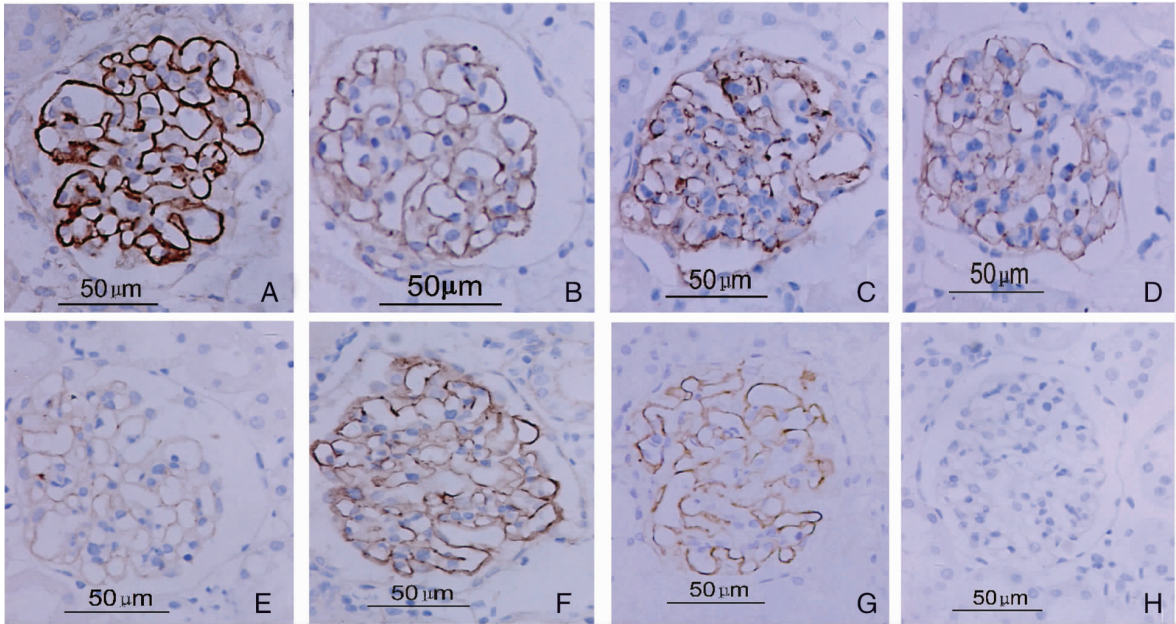


图1 肾小球 nephrin 蛋白的表达(免疫组织化学 SABC 法,光镜)。A:正常对照组;nephrin 蛋白沿肾小球毛细血管袢呈深褐色、连续、线状分布。**B~E**:ADR7、ADR14、ADR21、ADR28 组:肾病组从第7 天开始,nephrin 染色向浅褐色、不连续、颗粒样、短线样模式转变,且肾病组 nephrin 分子分布的异常变化随时间进展逐渐加重。**F,G**:泼尼松干预组、维生素 E 干预组:泼尼松及维生素 E 干预明显阻止了 nephrin 分子的异常改变,虽未能完全抑制分布的变化,但与肾病组相比,分布异常明显减轻。**H**:阴性对照:无 nephrin 蛋白分布。

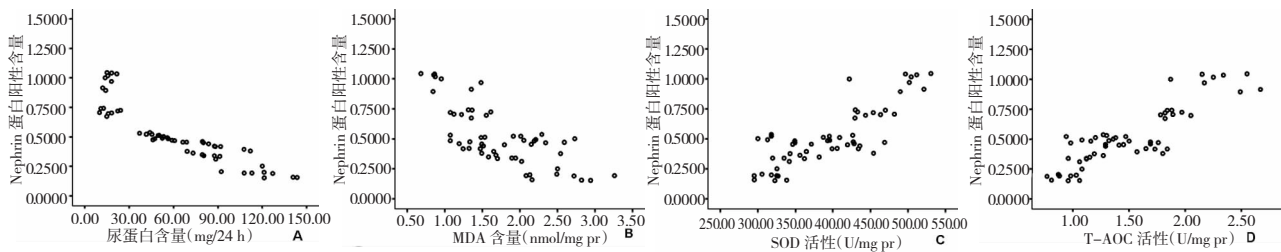


图2 nephrin 蛋白与24 h 尿蛋白排泄量及氧化应激反应指标相关分析。A:阿霉素大鼠24 h 尿蛋白含量与 nephrin 蛋白阳性表达含量相关性散点图($r = -0.894, P < 0.01$) ;**B**:阿霉素大鼠 MDA 含量与 nephrin 蛋白阳性表达含量相关性散点图($r = -0.732, P < 0.01$) ;**C**:阿霉素大鼠 SOD 活性与 nephrin 蛋白阳性表达含量相关性散点图($r = 0.822, P < 0.01$) ;**D**:阿霉素大鼠 T-AOC 活性与 nephrin 蛋白阳性表达含量相关性散点图($r = 0.869, P < 0.01$) 。

组在注射阿霉素后 nephrin 表达量下调,并随时间延长进行性加重,与此同时大鼠尿蛋白量也随时间延长进行性增多,通过相关分析亦得到 nephrin 半定量与尿蛋白量呈负相关。这些似乎均可解释在许多肾脏病中存在 nephrin 的下调、易位与足突融合或消失以及蛋白尿的并存,进而证实了 nephrin 在肾小球滤过屏障中发挥着重要作用。

氧化应激在肾损伤和蛋白尿的发生过程中为一重要参与因素^[4]。机体在代谢过程中产生的 ROS,由于体内存在低分子清除剂(如维生素 E 等)和抗氧化酶系统(如 SOD,T-AOC 等),使得 ROS 产生和清除保持动态平衡。当这种平衡被打破,ROS 生成

异常增多,即发生氧化应激反应^[14]。过量的 ROS 和不饱和脂肪酸作用诱发脂质过氧化反应,脂质过氧化产物(如 MDA)可使膜受体、膜蛋白酶和离子通道的脂质微环境改变,从而改变其功能。本实验采用的氧化应激模型——阿霉素肾病模型是由 Bertani 等^[15]于 1982 年创立的。属于氧自由基反应介导,病理改变类似于微小病变型肾病综合征的肾小球疾病。阿霉素是蒽环类抗生素,在黄嘌呤氧化酶、NADH 脱氢酶等酶系统下生成半醌自由基,其醌式结构在体内通过线粒体酶的作用还原为半醌自由基,再产生氧自由基,诱发肾小球脂质过氧化反应,导致肾小球滤过膜的结构和功能的破坏,引起大量

蛋白尿。本研究发现肾病组大鼠注射阿霉素后随着时间的延长MDA含量不断增加,SOD和T-AOC活性不断降低,且蛋白尿排泄量也一直增加。实验证实脂质过氧化反应参与了大鼠阿霉素肾病病理过程,肾病状态下机体抗氧化能力减退。并提示脂质过氧化反应是导致ADR大鼠蛋白尿发生发展的原因之一。但是脂质过氧化反应与nephrin破坏之间的关系,仍不明确。曾有报道^[16~18]间接提示nephrin易受脂质过氧化损伤。在我们的实验过程中同时发现随着肾病组大鼠肾皮质脂质过氧化产物MDA的增加和抗氧化酶SOD和T-AOC的降低,足细胞裂隙膜分子nephrin的表达随之降低,相关分析提示nephrin半定量与肾皮质MDA含量呈负相关,与SOD和T-AOC含量呈正相关,与尿蛋白量呈负相关。从而提示,肾皮质脂质过氧化反应与肾小球足细胞裂隙膜分子nephrin的减少密切相关。因此我们推断,在阿霉素肾病模型中脂质过氧化反应引起nephrin损伤,导致其表达量减少,随后引发蛋白尿的产生。

糖皮质激素广泛应用于治疗各种以蛋白尿为主要表现、足细胞损伤为特征的肾小球疾病。本实验用泼尼松干预后,肾病组nephrin表达量上调,蛋白尿减轻,因此我们推测在药物干预的情况下,可能存在nephrin的修复使蛋白表达趋于正常化,滤过屏障逐渐恢复正常,蛋白尿减少。Xing等^[19]研究提示,足细胞可能是糖皮质激素作用的靶细胞,在糖皮质激素干预下nephrin分子也发生了重要改变。但其确切作用机制和作用靶细胞仍待进一步研究。

Nakakura等^[2]研究提示,脂质过氧化反应在肾病综合征的发病中占了重要作用,用维生素E治疗可以降低实验动物的蛋白尿。维生素E为非酶促低分子清除剂,能提供电子使自由基还原,阻断自由基链锁反应的传递,对机体起保护作用。因此,本实验用维生素E做预处理,增强了实验动物的抗氧化能力,该组动物与肾病组比较MDA含量明显降低,SOD和T-AOC活性较明显升高,nephrin表达上调。间接说明肾病综合征时机体存在脂质过氧化反应,维生素E可以通过抗氧化作用,增加nephrin表达而减轻蛋白尿的产生。

总之,肾小球足细胞裂隙膜分子nephrin的减少或缺失与氧化应激反应密切相关;泼尼松可以通过稳定nephrin分子的作用而减轻蛋白尿;维生素E可以通过抗氧化活性而稳定nephrin分子从而减轻蛋白尿。

[参 考 文 献]

- [1] Kestilä M, Lenkkeri U, Männikkö M, Lamerdin J, McCready P, Putaala H, et al. Positionally cloned gene for a novel glomerular protein-nephrin-is mutated in congenital nephrotic syndrome. *Mol cell*, 1998, 1(4):575-582.
- [2] Nakakura H, Ashida A, Hirano K, Tamai H. Oxidative stress in a rat model of nephrosis can be quantified by electron spin resonance [J]. *Pediatr Nephrol*, 2004, 19(3):266-270.
- [3] Mathew JL, Kabi BC, Rath B. Anti-oxidant vitamins and steroid responsive nephrotic syndrome in Indian children[J]. *J Paediatr Child Health*, 2002, 38(5):450-454.
- [4] Bek MF, Bayer M, Müller B, Greiber S, Lang D, Schwab A, et al. Expression and function of C/EBP homology protein (GADD153) in podocytes[J]. *Am J Pathol*, 2006, 168(1):20-32.
- [5] 吴升华, 杨运昌. 活性氧在阿霉素肾病中致病作用的实验研究[J]. *中国病理生理杂志*, 1991, 7(3):306-309.
- [6] Wu SH, Yang YC, Wang ZM. Role of oxygen radicals in Adriamycin-induced nephrosis[J]. *Chin Med J*, 1990, 103(4):283-289.
- [7] Tryggvason K, Wartiovaara J. How does the kidney filter plasma? [J]. *Physiology (Bethesda)*, 2005, 20:96-101.
- [8] Asanuma K, Campbell KN, Kim K, Faul C, Mundel P. Nuclear relocation of the nephrin and CD2AP-binding protein dendrin promotes apoptosis of podocytes[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2007, 104(24):10134-10139.
- [9] Weins A, Kenlan P, Herbert S, Le TC, Villegas I, Kaplan BS, et al. Mutational and biological analysis of α -actinin-4 in focal segmental glomerulosclerosis[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2005, 16(12):3694-3701.
- [10] Kawachi H, Miyauchi N, Suzuki K, Han G, Orikasa M, Shimizu F. Role of podocyte slit diaphragm as a filtration barrier[J]. *Nephrology (Carlton)*, 2006, 11(4):274-281.
- [11] Foster RR, Saleem MA, Mathieson PW, Bates DO, Harper SJ. Vascular endothelial growth factor and nephrin interact and reduce apoptosis in human podocytes[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2005, 288(1):F48-F57.
- [12] 邢燕, 丁洁, 范青锋, 管娜, 张敬京. 三种不同药物作用下足细胞分子的变化[J]. *中华肾脏病杂志*, 2006, 22(5):275-281.
- [13] Toyoda M, Suzuki D, Umezono T, Uehara G, Maruyama M, Honma M, et al. Expression of human nephrin mRNA in diabetic nephropathy[J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2004, 19(2):380-385.
- [14] McCord JM. The evolution of free radicals and oxidative stress[J]. *Am J Med*, 2000, 108(8):652-659.
- [15] Bertani T, Poggi A, Pozzoni R, Delaini F, Sacchi G, Thoua Y, et al. Adriamycin-induced nephrotic syndrome in rats: sequence of pathologic events[J]. *Lab Invest*, 1982, 46(1):16-23.
- [16] Koshikawa M, Mukoyama M, Mori K, Suganami T, Sawai K, Yoshioka T, et al. Role of p38 mitogen-activated protein kinase activation in podocyte injury and proteinuria in experimental nephrotic syndrome[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2005, 16(9):2690-2701.
- [17] 林小芹, 易著文, 吴小川, 何小解, 张建江. α -D₃ 对阿霉素肾病大鼠肾组织 WT₁ 表达的影响[J]. *中国当代儿科杂志*, 2004, 6(3):195-198.
- [18] 韩子明, 邢燕, 王宏伟, 梁秀玲, 周建华. 缬沙坦对阿霉素肾病肾硬化大鼠细胞凋亡及 Fas 和 FasL 表达的影响[J]. *中国当代儿科杂志*, 2003, 5(4):306-310.
- [19] Xing Y, Ding J, Fan Q, Guan N. Diversities of podocyte molecular changes induced by different antiproteinuria drugs[J]. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2006, 231(5):585-593.