

# 抑制 NAD(P)H 氧化酶表达和活性对大鼠糖尿病肾病的影响

彭炎强, 纪玉莲, 姜宗培, 余学清, 杜勇

(中山大学附属第一医院肾内科, 广东 广州 510080)

**摘要:**【目的】探讨 NAD(P)H 氧化酶在糖尿病肾病发病中的作用和防治方法。【方法】链脲佐菌素(STZ)诱导的大鼠糖尿病模型随机分为糖尿病组 NAD(P)H 氧化酶抑制剂 apocynin 治疗组( $0.2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ )和血管紧张素转换酶抑制剂福辛普利治疗组( $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ), 疗程 8 周。用 RT-PCR 检测肾 NAD(P)H 氧化酶亚基 p22phox mRNA 表达; 组织病理学检查观察肾病变程度; 测定血肌酐(Scr)、内生肌酐清除率(Ccr)、24 h 尿蛋白排泄量、肾质量指数等。【结果】糖尿病大鼠肾 p22phox mRNA 的表达较正常大鼠明显升高( $P < 0.05$ ), apocynin 治疗不影响肾 p22phox mRNA 的表达; 福辛普利治疗 4 周, 明显降低了肾 p22phox mRNA 表达( $P < 0.05$ ); apocynin 和福辛普利均显著降低了肾小球细胞外基质蛋白、Scr、尿蛋白和肾质量指数( $P < 0.05$ ), 提高了 Ccr( $P < 0.05$ ), 但对血糖和血压均没有显著影响。【结论】糖尿病大鼠肾组织中, NAD(P)H 氧化酶的表达明显升高并参与了糖尿病肾病发病; 抑制 NAD(P)H 氧化酶活性和表达的治疗措施可延缓糖尿病肾病的发生和发展。

**关键词:** 糖尿病肾病; NAD(P)H 氧化酶; NAD(P)H 氧化酶抑制剂; 血管紧张素转换酶抑制剂

中图分类号: R363; R585

文献标识码: A

文章编号: 1672-3554(2004)03-0245-04

## Effects of Inhibition of NAD(P)H Oxidase Expression and Activity in Diabetic Nephropathy

PENG Yan-qiang, JI Yu-lian, JIANG Zong-pei, YU Xue-qing, DU Yong

(Department of Nephrology, The First Affiliated Hospital, SUN Yat-sen University, Guangzhou 510080, China)

**Abstract:** 【Objective】 To investigate the role of NAD(P)H oxidase in the development of diabetic nephropathy and the methods for prevention and treatment. 【Methods】 Streptozotocin-induced diabetic rats were randomly assigned to three groups: diabetic rats, apocynin ( $0.2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ) treatment and angiotensin converting enzyme inhibitor fosinopril treatment group ( $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ) for 8 weeks. Kidney expression of p22phox mRNA of NAD(P)H oxidase was evaluated by RT-PCR; Histopathology was used to study the renal pathological changes. Serum creatinine level (Scr), 24-hour protein excretion, kidney hypertrophy index and endogenous creatinine clearance rate (Ccr) were detected. 【Results】 Compared with normal control rats, kidney p22phox mRNA expression was significantly increased in diabetic rats ( $P < 0.05$ ). Apocynin unaffected on the expression of p22phox mRNA, but fosinopril significantly decreased p22phox mRNA expression ( $P < 0.05$ ). Both apocynin and fosinopril were significantly decreased the glomerular ECM deposition, Scr level, 24-hour protein excretion and kidney hypertrophy index ( $P < 0.05$ ), while increased Ccr ( $P < 0.05$ ) when compared with diabetic rats. Apocynin and fosinopril treatment did not affect the elevated blood sugar and the blood pressure in our experiments. 【Conclusion】 NAD(P)H oxidase subunit p22phox mRNA expression is significantly in-

收稿日期: 2003-10-17

作者简介: 彭炎强 (1973-) 男, 广东潮阳人, 硕士生; 纪玉莲, 硕士导师, 通讯作者。

creased in the kidneys of diabetic rats and it may involve in the development of diabetic nephropathy. Inhibition of NAD(P)H oxidase expression and activity can improve diabetic nephropathy.

Key words: diabetic nephropathy, NAD(P) H oxidase, NAD(P) H oxidase inhibitor, angiotensin converting enzyme inhibitor

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2004, 25(3): 245 - 248, 263]

细胞外基质积聚和肾小球硬化是糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)的主要病理改变。我们先前的研究表明,反应性氧基(reactive oxygen species, ROS)在细胞外基质积聚和肾小球硬化的发病中主要起信号传导作用<sup>[1]</sup>。超氧阴离子(O<sub>2</sub><sup>-</sup>)是ROS的主要成分,肾NAD(P)H氧化酶是O<sub>2</sub><sup>-</sup>产生的主要调控酶之一<sup>[2]</sup>。因此我们推测,肾NAD(P)H氧化酶可能通过调控ROS的产生而参与了DN发病。鉴于p22phox是NAD(P)H氧化酶产生O<sub>2</sub><sup>-</sup>的关键亚基<sup>[3]</sup>;而血管紧张素II(Ang II)能上调NAD(P)H氧化酶的表达和活性<sup>[4, 5]</sup>,我们试用NAD(P)H氧化酶的特异抑制剂夹竹桃麻素(apocynin)<sup>[2]</sup>和血管紧张素转换酶抑制剂福辛普利,以观察能否通过抑制NAD(P)H氧化酶活性和表达而改善DN。

## 1 材料和方法

### 1.1 大鼠糖尿病模型的建立和分组

雌性SD大鼠,33只,清洁级,体质量160~210g(购自中山大学北校区实验动物中心),单次腹腔注射用柠檬酸缓冲液(0.1 mol/L; pH 4.5)新鲜配制链脲佐菌素(streptozotocin STZ, 65 mg/kg, Sigma公司)。3d后空腹血糖 $\geq 16.7$  mmol/L为糖尿病。成模后,给大鼠编号,按计算机产生随机数字把大鼠随机分为糖尿病组11只、福辛普利治疗组11只(10 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>)和apocynin治疗组11只(Calbiochem公司, 0.2 g·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>),灌胃给药,分别于4周(各5只)和8周(各6只)杀检。整个实验过程不使用胰岛素。正常对照组大鼠10只,腹腔注射等量的柠檬酸缓冲液,于4周和8周杀检。所有实验大鼠自由进食。

### 1.2 标本采集和临床指标检测

杀检前1d,用RBP-1B大鼠血压计(中日友好医院),尾动脉测大鼠收缩压;然后放进代谢笼,收集24h尿液,离心后取上清液,测尿量,用考马斯亮蓝法测尿蛋白浓度。下腔静脉采血,送生化检

查。切除双肾,称其总质量,取其平均值(mg),与体质量(g)之比,即为肾质量指数(mg/g)。部分肾组织石蜡包埋,用于病理检查,其余肾组织保存于-80℃冰箱备用。

### 1.3 半定量 RT-PCR

按Trizol试剂(Invitrogen公司)的说明书提取肾组织的总RNA,用DEPC处理的无菌双蒸水稀释RNA,用Biophotometer核酸测定仪(Eppendorf公司)测RNA浓度后保存于-80℃冰箱。以GAPDH为内参照,方法按RevertAid™ First Strand cDNA Synthesis Kit(MBI公司)的步骤进行。具体如下:①逆转录反应:取总质量5 ug RNA,以多聚寡核苷酸为引物[Oligo(dT)<sub>18</sub>],在RevertAid™ M-MuLV逆转录酶的作用下,合成cDNA。条件是:70℃ 5 min, 37℃ 5 min, 42℃ 60 min和70℃ 10 min,合成的cDNA保存在-80℃冰箱。②PCR:扩增p22phox引物<sup>[6]</sup>:上游5'-GACGCTTCACGCAGTGGTACT-3',下游引物5'-CACGACCTCATCTGTCACTGG-3'; GAPDH引物自行设计:上游5'-ATGGTCTACATGTTCCAGTA-3',下游5'-TCAGATCCACAACGGATCA-3',所有引物均由上海生工公司合成。p22phox条件:95℃预热10 min, 94℃ 1 min, 65℃ 1 min, 72℃ 1.5 min, 30循环,最后72℃ 10 min,终产物485 bp; GAPDH的反应条件:95℃ 1 min, 60℃ 1 min, 72℃ 1 min, 30循环,最后72℃ 10 min,终产物590 bp。PCR产物用15 g/L琼脂糖凝胶(含0.5 μg/mL EB)电泳鉴定,用Fluor Chem™8900凝胶成像系统(Alpha Innotech公司)进行分析,以p22phox吸光度值与GAPDH吸光度值的比作为p22phox mRNA表达半定量值。

### 1.4 肾病理学和肾小球细胞外基质测定

3 μm石蜡包埋肾组织切片行PAS染色,观察肾病理改变。用德国KONTRON IBAS 2.5全自动图像分析系统对PAS染色切片进行分析,每张切片按顺时针方向随机取30个完整肾小球,经分析系统计算每个肾小球PAS阳性染色面积与整个肾小球面积之比,然后求30个肾小球此比值的均数,

即为每张切片肾小球细胞外基质的相对含量<sup>[7]</sup>。

### 1.5 统计分析

所有数据用均数 ± 标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 多组均数的比较采用单因素方差分析, 用 SPSS11.0 统计软件分析。

## 2 结 果

### 2.1 NADPH 氧化酶亚基 p22phox mRNA 表达

在 4 周和 8 周时, 糖尿病大鼠肾 p22phox mRNA 的表达较正常大鼠分别增高 2.8 倍 ( $P = 0.007$ ) 和 2.2 倍 ( $P = 0.029$ ), 与糖尿病组比较, 福辛普利治疗组在 4 周时降低了 p22phox mRNA 表达的 45% ( $P = 0.034$ ); apocynin 治疗 4 周和 8 周, 对 p22phox mRNA 表达没有影响。见图 1, 2; 表 1。

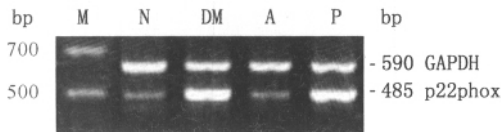


图 1 4 周时 p22phox mRNA 表达

Fig. 1 The expression of p22phox mRNA at 4 weeks

M: marker; N: normal control; DM: diabetic group; A: foscinopril group; P: apocynin group

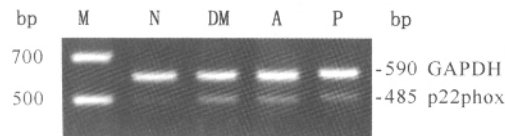


图 2 8 周 p22phox mRNA 表达

Fig. 2 The expression of p22phox mRNA at 8 weeks

M: marker; N: normal control; DM: diabetic group; A: foscinopril group; P: apocynin group

表 1 各组大鼠肾 p22phox mRNA 表达

Table 1 Kidney p22phox mRNA expression

| Group          | n     | A                         |                           |
|----------------|-------|---------------------------|---------------------------|
|                |       | 4 weeks                   | 8 weeks                   |
| Normal control | 5     | 0.34 ± 0.15               | 0.31 ± 0.12               |
| Diabetic       | 5 ~ 6 | 0.96 ± 0.33 <sup>1)</sup> | 0.69 ± 0.42 <sup>1)</sup> |
| Foscinopril    | 5 ~ 6 | 0.53 ± 0.30 <sup>2)</sup> | 0.38 ± 0.24               |
| Apocynin       | 5 ~ 6 | 0.74 ± 0.36 <sup>1)</sup> | 0.52 ± 0.10               |

1):  $P < 0.05$ , vs normal control; 2):  $P < 0.05$ , vs diabetic group

### 2.2 肾病理改变

8 周时糖尿病大鼠肾小球系膜基质弥漫增生, 福辛普利和 apocynin 治疗均明显改善肾脏病理改变并分别减少了肾小球细胞外基质蛋白的 32.4% ( $P = 0.037$ ) 和 34.4% ( $P = 0.028$ ), 见图 3, 图 4。

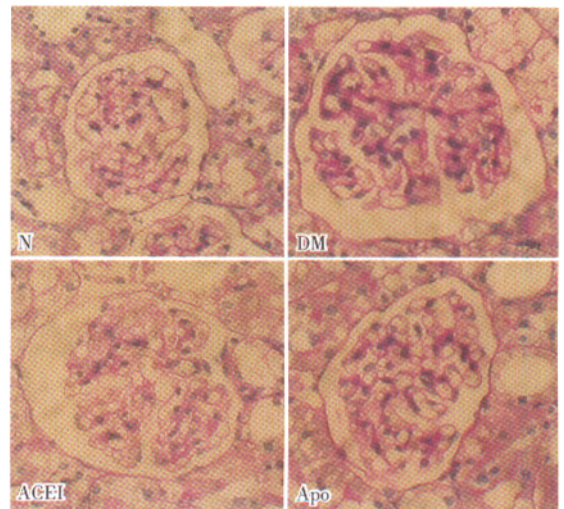


图 3 8 周时肾组织切片 PAS 染色

Fig. 3 PAS staining of kidney section at 8 weeks ( $\times 400$ )

N: normal control; DM: diabetic group; ACEI: foscinopril group; Apo: apocynin group

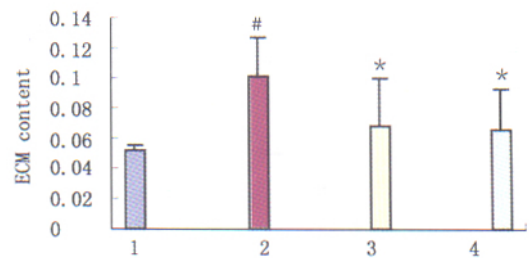


图 4 8 周时肾小球细胞外基质变化

Fig. 4 The changing of glomerular ECM content at 8 weeks

1: normal control; 2: diabetic group; 3: foscinopril group; 4: apocynin group; #: vs normal control  $P < 0.05$ ; \*: vs diabetic group  $P < 0.05$

### 2.3 临床指标

与正常大鼠对比, 在 4 周和 8 周时, 糖尿病组大鼠 Scr、24 h 尿蛋白排泄量、肾质量指数和 Ccr 均显著增高。与糖尿病组比较, apocynin 治疗 4 周降低尿蛋白 32% ( $P = 0.011$ ) 和肾质量指数 15% ( $P = 0.024$ ); 8 周时, apocynin 和福辛普利分别降低 Scr 的 29% ( $P = 0.003$ ) 和 18% ( $P = 0.048$ )、尿蛋白量的 63% ( $P < 0.001$ ) 和 24% ( $P = 0.015$ )、肾质量指数的 23% ( $P < 0.001$ ) 和 16% ( $P = 0.005$ ); 而 Ccr 分别增高 96% ( $P = 0.005$ ) 和 70% 倍 ( $P = 0.033$ )。福辛普利和 apocynin 治疗对血糖和血压没有影响。见表 2。

表 2 各组大鼠临床结果

Table 2 The clinical outcome of all group rats

|                                 | 4 weeks (n=5) |                          |                           |                             | 8 weeks (n=6) |                            |                              |                              |
|---------------------------------|---------------|--------------------------|---------------------------|-----------------------------|---------------|----------------------------|------------------------------|------------------------------|
|                                 | N             | DM                       | DM+ACEI                   | DM+Apo                      | N (n=5)       | DM                         | DM+ACEI                      | DM + APo                     |
| Body mass (g)                   | 224 ± 28      | 172 ± 29 <sup>1)</sup>   | 202 ± 14                  | 204 ± 20 <sup>2)</sup>      | 263 ± 43      | 164 ± 16 <sup>1)</sup>     | 207 ± 37 <sup>1),2)</sup>    | 207 ± 30 <sup>1),2)</sup>    |
| Blood sugar (mmol/L)            | 6.7 ± 1.5     | 32.0 ± 1.1 <sup>1)</sup> | 32.2 ± 0.7 <sup>1)</sup>  | 32.8 ± 1.0 <sup>1)</sup>    | 9.8 ± 0.9     | 29.7 ± 1.0 <sup>1)</sup>   | 30.9 ± 2.2 <sup>1)</sup>     | 28.9 ± 2.8 <sup>1)</sup>     |
| Blood pressure (kPa)            | 15.1 ± 0.6    | 15.5 ± 0.9               | 15.2 ± 1.0                | 14.8 ± 1.6                  | 15.4 ± 1.0    | 18.2 ± 1.0 <sup>1)</sup>   | 17.3 ± 1.1 <sup>1)</sup>     | 17.5 ± 1.1 <sup>1)</sup>     |
| Kidney hypertrophy index (mg/g) | 3.1 ± 1.7     | 5.4 ± 1.0 <sup>1)</sup>  | 5.2 ± 0.4 <sup>1)</sup>   | 4.6 ± 0.1 <sup>1),2)</sup>  | 2.7 ± 0.3     | 6.5 ± 0.6 <sup>1)</sup>    | 5.5 ± 0.7 <sup>1),2)</sup>   | 5.1 ± 0.6 <sup>1),2)</sup>   |
| 24hour protein excretion (mg)   | 2.9 ± 0.6     | 58.6 ± 18.2              | 53.8 ± 4.6 <sup>1)</sup>  | 39.8 ± 8.9 <sup>1),2)</sup> | 9.5 ± 5.7     | 110.5 ± 14.8 <sup>1)</sup> | 84.5 ± 18.5 <sup>1),2)</sup> | 40.7 ± 17.2 <sup>1),2)</sup> |
| Scr (μmol/L)                    | 49.6 ± 3.6    | 69.8 ± 6.1 <sup>1)</sup> | 74.4 ± 10.4 <sup>1)</sup> | 62.2 ± 7.8 <sup>1)</sup>    | 57.0 ± 7.8    | 87.3 ± 14.9 <sup>1)</sup>  | 71.5 ± 16.2 <sup>2)</sup>    | 61.7 ± 10.4 <sup>2)</sup>    |
| Bun (mmol/L)                    | 6.1 ± 1.1     | 12.0 ± 3.4               | 11.8 ± 3.1                | 9.9 ± 0.3                   | 6.8 ± 1.8     | 17.1 ± 3.7 <sup>1)</sup>   | 13.2 ± 1.7 <sup>1),2)</sup>  | 11.5 ± 2.8 <sup>1),2)</sup>  |
| Ccr (mL/min)                    | 0.5 ± 0.2     | 2.7 ± 0.4 <sup>1)</sup>  | 2.6 ± 1.0 <sup>1)</sup>   | 2.8 ± 0.8 <sup>1)</sup>     | 0.4 ± 0.3     | 2.3 ± 1.2 <sup>1)</sup>    | 3.9 ± 1.5 <sup>1),2)</sup>   | 4.5 ± 1.3 <sup>1),2)</sup>   |

N: normal control; DM: diabetic group; ACEI: fosinopril; Apo: apocynin; (1):  $P < 0.05$ , vs normal control; 2):  $P < 0.05$ , vs diabetic group Scr: serum; Bun: blood urea nitrogen; Ccr: creatinine clearance rate

### 3 讨论

我们的结果清楚地显示链脲左菌素(STZ)诱导的糖尿病大鼠在 4 周和 8 周时,肾 NAD(P)H 氧化酶 p22phox 亚基 mRNA 表达明显增高,同时伴随着尿蛋白排泄的增加、Scr 升高、肾质量指数的增加和肾小球系膜基质的增多。p22phox 表达增高,可使 NAD(P)H 氧化酶活性增高<sup>[4]</sup>,间接提示了 STZ 诱导的大鼠糖尿病模型中,肾组织 NAD(P)H 氧化酶活性增高。结合文献报道的 STZ 诱导的糖尿病大鼠中,肾组织 NAD(P)H 氧化酶的另一亚基 p47phox 表达增加<sup>[8]</sup>,因此有理由相信 NAD(P)H 氧化酶表达上调和活性增高可能参与了糖尿病肾病的发病。

研究发现, NAD(P)H 氧化酶可催化  $O_2$  产生  $O_2^-$ ,后者可通过歧化生成  $H_2O_2$ ;  $H_2O_2$  能与  $O_2^-$  反应生成  $OH^-$ ,上述系列反应使肾内 ROS 增多。ROS 在糖尿病肾病发病机制中的作用已经得到了广泛的证实。因此,我们相信 NAD(P)H 氧化酶的上调可能是通过增加 NAD(P)H 氧化酶活性,进而促进 ROS 产生而参与糖尿病肾病的发病。

本研究中,我们采用 NAD(P)H 氧化酶活性抑制剂 apocynin 治疗 STZ 诱导的糖尿病大鼠,虽然它对 p22phox mRNA 的表达没有影响,但在 4 周时开始降低尿蛋白和肾质量指数;8 周时明显地改善了 DN 的病理变化和肾功能、降低尿蛋白和肾质量指数,显示了它延缓糖尿病肾病的发生和发展的作用。由于 NAD(P)H 氧化酶的激活是通过其胞浆成分 P47phox 的磷酸化并与 P67phox、rac 易位,最后

与胞膜成分 p22phox 和 gp91phox 聚集而实现<sup>[9]</sup>, apocynin 可抑制 NAD(P)H 氧化酶各亚基的聚集而特异性抑制该酶的活性<sup>[2]</sup>,因此我们推测, apocynin 改善糖尿病肾病是通过抑制 NAD(P)H 氧化酶活性而实现的。apocynin 的上述作用,提示 NAD(P)H 氧化酶参与糖尿病肾病的发生和发展。apocynin 不影响 p22phox mRNA 的表达,与文献<sup>[10]</sup>报道的相符, Richar 用 apocynin 治疗盐皮质激素性高血压大鼠 28 d,不能抑制主动脉 p22phox mRNA 的表达,但却能降低主动脉 NAD(P)H 氧化酶产生  $O_2^-$ ,更有力地证明 apocynin 是 NAD(P)H 氧化酶活性抑制剂。但由于实验条件的限制,我们未能直接测定糖尿病大鼠肾组织 NAD(P)H 氧化酶活性。

另外,我们应用福辛普利治疗 STZ 诱导的糖尿病大鼠,4 周时开始明显地抑制了肾脏 p22phox mRNA 的表达,治疗 8 周时明显地改善了 DN 的病理变化和肾功能、降低尿蛋白和肾质量指数,延缓了糖尿病肾病的发生和发展,显示出与 apocynin 相同的肾保护作用。既往的研究表明, Ang II<sup>[4,5]</sup>能刺激体外培养肾小球系膜细胞和肾小管上皮细胞 NAD(P)H 氧化酶的表达和活性,增加  $O_2^-$  的产生,进而刺激了细胞的肥大和增殖;导致细胞外基质聚集。我们的结果提示 ACEI 可能通过抑制 Ang II 的生成而抑制了 NAD(P)H 氧化酶的表达和活性,进而减少了 ROS 的产生而延缓了糖尿病肾病的发生和发展。鉴于 ACEI 治疗糖尿病肾病的作用机制已得到广泛的研究,但我们相信 ACEI 对糖尿病肾病的治疗和保护作用至少是部分地通过抑制 NAD

(下转第 263 页 to page 263)

快妊娠,以免错失妊娠机会。若术后两年仍不能成功妊娠的妇女则获得自然妊娠的机会将大大下降,应指导妇女采取进一步的治疗方法,如辅助生育技术等<sup>[5]</sup>。

本文研究提示:PCOS 的手术治疗仍是较简单、疗效肯定、疗效维持时间较长的好方法。两种术式的术后妊娠率相似,OWR 比 LOD 更好、更长远地改善 PCOS 妇女的月经异常,只是由于 LOD 的微创性而逐渐取代了 OWR。从整体疗效考虑 OWR 略胜于 LOD,OWR 仍然是值得推荐的治疗 PCOS 的有效方法。

参考文献:

[1] Campo S. Ovulatory cycles, pregnancy outcome and complications after surgical treatment of polycystic ovary syndrome[J]. *Obstet Gyn Surv*, 1998,53(5): 297-308.

[2] Amer S A, Gopalan V, Li T C, et al. Long term follow-up of patients with polycystic ovarian syndrome after laparoscopic ovarian drilling: clinical outcome [J]. *Hum Reprod*, 2002, 17(8): 2035-42.

[3] Donesky B W, Adashi E Y. Surgically induced ovulation in the polycystic ovary syndrome: wedge resection revisited in the age of laparoscopy [J]. *Fertil Steril*, 1995,63(3): 439-63.

[4] 姚书忠,刘栋擎,王宁宁.腹腔镜手术治疗女性不孕 401 例疗效分析 [J]. *中山医科大学学报*, 2002, 23(4):297-9.

[5] Balen A H, Conway G S, Kaltsas G, et al. Polycystic ovary syndrome: the spectrum of the disorder in 1741 patients [J]. *Hum Reprod*, 1995, 10(8): 2107-11.

(编辑 张恩健)



(上接第 248 页 from page 248)

(P)H 氧化酶表达而实现。

总之,STZ 诱导的大鼠糖尿病模型肾组织中,NAD(P)H 氧化酶 p22phox 亚基 mRNA 的表达明显升高;抑制 NAD(P)H 氧化酶的活性和表达能延缓糖尿病肾病的发生和发展,提示 NAD(P)H 氧化酶参与糖尿病肾病的发病。福辛普利部分地通过抑制 NAD(P)H 氧化酶的表达而改善糖尿病肾病。

参考文献:

[1] Jiang Z, Seo J Y, Ha H, et al. Reactive oxygen species mediate TGF-beta 1-induced plasminogen activator inhibitor-1 upregulation in mesangial cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, 309(4): 961-6.

[2] Attia D M, Verhagen A M, Stroes E S, et al. Vitamin E alleviates renal injury, but not hypertension, during chronic nitric oxide synthase inhibition in rats [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2001, 12(12): 2585-93.

[3] Ushio-Fukai M, Zafari A M, Fukui T, et al. p22phox is a critical component of the superoxide-generating NADH/NADPH oxidase system and regulates angiotensin II-induced hypertrophy in vascular smooth muscle cells [J]. *J Biol Chem*, 1996 271(38): 23317-21.

[4] Hannken T, Schroeder R, Stahl R A, et al. Angiotensin II-mediated expression of p27Kip1 and induction of cellular hypertrophy in renal tubular cells depend

on the generation of oxygen radicals [J]. *Kidney Int*, 1998, 54(6): 1923-33.

[5] Jaimes E A, Galceran J M, Raij L. Angiotensin II induces superoxide anion production by mesangial cells [J]. *Kidney Int*, 1998, 54(3): 775-84.

[6] Wassmann S, Laufs U, Baumer A T, et al, HMG-CoA reductase inhibitors improve endothelial dysfunction in normocholesterolemic hypertension via reduced production of reactive oxygen species [J]. *Hypertension*, 2001, 37(6): 1450-57.

[7] Lee G T, Ha H, Jung M, et al. Delayed treatment with lithospermate B attenuates experimental diabetic renal injury[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2003, 14(3): 709-20.

[8] Onozato M L, Tojo A, Goto A, et al, Oxidative stress and nitric oxide synthase in rat diabetic nephropathy: effects of ACEI and ARB [J]. *Kidney Int*, 2002, 61(1): 186-94.

[9] Morena M, Cristol J P, Senécal L, et al. Oxidative stress in hemodialysis patients: is NADPH oxidase complex the culprit? [J]. *Kidney Int*, 2002, 61: S, 109 ~ 14.

[10] Beswick R A, Dorrance A M, Leite R, et al. NADH/NADPH oxidase and enhanced superoxide production in the mineralocorticoid hypertensive rat[J]. *Hypertension*, 2001, 38(5): 1107-11.

(编辑 黄小延)