

· 基础研究 ·

## 缬沙坦对 2 型糖尿病大鼠肾脏骨桥蛋白和骨形态发生蛋白-7 表达的影响

马瑞霞\*, 邵乐平, 李玉山, 蒋伟, 刘丽秋

(青岛大学医学院附属医院肾内科, 青岛 266003)

**【摘要】**目的 探讨缬沙坦对 2 型糖尿病大鼠(T2DM)肾脏骨桥蛋白(OPN)和骨形态发生蛋白-7(BMP-7)表达的影响。方法 Wistar 大鼠随机分为 3 组: 对照组、DM 模型组和缬沙坦治疗组[25 mg/(kg·d)]。高脂、高糖喂养联合小剂量链脲佐菌素建立 T2DM 模型。缬沙坦治疗 12 周末, 测定血压、血糖、尿白蛋白(UAL)排泄量; 应用光镜观察肾脏病理变化; 采用免疫组化、实时定量 PCR 技术测定肾组织 BMP-7、OPN、转化生长因子- $\beta_1$ (TGF- $\beta_1$ ) 蛋白及 mRNA 的表达。结果 与对照组比较, DM 组大鼠 UAL 及肾组织 ED-1 阳性细胞数明显升高( $P<0.01$ ); 肾组织 BMP-7 mRNA 及蛋白的表达下调( $P<0.01$ ), 而 OPN、纤连蛋白及 TGF- $\beta_1$  的表达显著上调( $P<0.01$ )。缬沙坦干预后明显减少 UAL 的排泄( $P<0.01$ ), 并显著抑制肾组织巨噬细胞浸润及 TGF- $\beta_1$ 、OPN 和纤连蛋白过度表达( $P<0.05$ ), 同时上调 BMP-7 的表达( $P<0.01$ )。结论 缬沙坦减少肾组织巨噬细胞浸润及细胞外基质, 对糖尿病性肾病有保护作用, 其机制可能与下调 TGF- $\beta_1$  和 OPN 及恢复 BMP-7 的表达有关。

**【关键词】** 缬沙坦; 糖尿病性肾病; 转化生长因子- $\beta_1$ ; 骨形态发生蛋白-7; 骨桥蛋白

**【中图分类号】** R542.22

**【文献标识码】** A

**【文章编号】** 1671-5403(2011)01-0060-06

## Effect of valsartan on expression of osteopontin and bone morphogenetic protein-7 in kidneys of type 2 diabetic rats

MA Ruixia\*, SHAO Leping, LI Yushan, JIANG Wei, LIU Liliu

(Department of Nephrology, Affiliated Hospital, Medical College of Qingdao University, Qingdao 266002, China)

**【Abstract】 Objective** To investigate the effect of valsartan on osteopontin(OPN) and bone morphogenetic protein-7 (BMP-7) in the kidneys of type 2 diabetic mellitus (T2DM) rats. **Methods** Wistar rats were divided into control, T2DM, and valsartan treatment [25 mg/(kg·d)] groups. Rats were fed high sucrose high fat diet combined with a low dose of streptozotocin (STZ) to induce T2DM models. After administration of valsartan for 12 weeks, blood pressure, blood glucose, urinary albumin (UAL) and creatinine clearance (CCr) were determined. Renal morphology was observed under light microscope. The protein and mRNA expressions of BMP-7, OPN, transforming growth factor- $\beta_1$  (TGF- $\beta_1$ ), fibronectin and ED-1 in renal tissue were determined by immunohistochemistry and quantitative real time PCR respectively. **Results** Compared with control group, in T2DM rats, UAL was significantly increased ( $P<0.01$ ); the expressions of BMP-7 protein and mRNA were significantly decreased ( $P<0.01$ ); the expressions of OPN, fibronectin and TGF- $\beta_1$  were elevated ( $P<0.01$ ). UAL was markedly attenuated by valsartan ( $P<0.01$ ). Valsartan effectively suppressed the expressions of fibronectin, OPN and TGF- $\beta_1$  and decreased ED-1 positive cells ( $P<0.05$ ), while significantly upregulated the expressions of BMP-7 ( $P<0.01$ ). **Conclusion** Valsartan has protective effects on diabetic nephropathy by decreasing macrophage infiltration and reducing extracellular matrix accumulation, which may involve the down regulation of TGF- $\beta_1$  and OPN, as well as recovery of BMP-7.

**【Key words】** valsartan; diabetic nephropathy; transforming growth factor  $\beta_1$ ; bone morphogenetic protein; osteopontin

*This work was supported by science and Technology Bureau of Qingdao.*

糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)发病率高, 尤其 2 型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)导

致的肾脏损害占 90%~95%, 治疗棘手、疗效差, 危害极大, 但其发病机制尚不完全清楚<sup>[1]</sup>。转化生长因

收稿日期: 2009-09-08; 修回日期: 2010-10-08

基金项目: 青岛市科技局课题(2005 市科委-24)

通讯作者: 马瑞霞: Tel: 0532-82911602, E-mail: anita1685@163.com

子-β<sub>1</sub>(transforming growth factor-β<sub>1</sub>, TGF-β<sub>1</sub>)是DN发生中心环节的重要致病因子。近来研究表明骨形态发生蛋白-7(bone morphogenetic protein-7, BMP-7)是TGF-β<sub>1</sub>内源性拮抗剂,以TGF-β<sub>1</sub>为应答元件的骨桥蛋白(osteopontin, OPN)是重要巨噬细胞趋化因子之一,两者均参与DN的病理过程<sup>[2,3]</sup>。而在DN治疗中应用最为广泛、且起关键作用的药物——血管紧张素II受体拮抗剂(angiotensin II receptor blocker, ARB)是否影响T2DM肾组织BMP-7及OPN表达及其意义,国内外尚未见报道。本研究旨在通过高脂、高糖喂养联合小剂量链脲佐菌素(streptozotocin, STZ)建立T2DM大鼠,探讨ARB制剂缬沙坦对肾组织BMP-7、OPN及TGF-β<sub>1</sub>表达的影响,为DN的防治及临床治疗提供实验性理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 动物模型的建立及分组

SPF级雄性Wistar大鼠50只,体重(200±20)g,青岛市药检所实验动物中心提供。将实验动物随机分为正常对照组(*n*=10)和模型组,即高糖高脂喂养组(*n*=40)。模型组给予高糖高脂饮食(常规饲料66.5%加20%蔗糖、10%猪油、2.5%胆固醇、胆酸盐1%)喂养8周后,于空腹状态下STZ30 mg/kg一次性腹腔注射(用前溶解在0.01 mol/L枸橼酸缓冲液中, pH4.5)。正常对照组给予常规饲料喂养,仅注射等量枸橼酸缓冲液。模型组注射STZ 1周后,尾静脉取血测定空腹血糖(fasting blood glucose, FBG)及胰岛素(insulin, INS)水平,并计算胰岛素敏感性指数ISI [insulin sensitivity index, ISI=22.5/(FBG×INS), HOMA法]。FBG大于正常大鼠血糖均值+3个标准差(本研究确定该值为FBG≥10.0 mmol/L)及ISI≤正常动物均值(即胰岛素抵抗),即为T2DM模型造模成功,纳入实验组。将造模成功的DM大鼠随机分成2组:DM模型组和缬沙坦(北京诺华制药有限公司)治疗组[DT组, 25 mg/(kg·d)]。正常对照组和DM组每天给予等量生理盐水,共治疗12周。DM大鼠在整个实验期间均不应用胰岛素及降糖药。

### 1.2 标本测定

1.2.1 血、尿指标检测 INS、糖化血红蛋白(glycol-hemoglobin, HbA1c)及尿白蛋白(urinary albumin, UAL)按照试剂盒说明书,采用ELISA法检测(美国ADL公司)。利用日立7020生化分析仪检测FBG、血肌酐

(serum creatinine, SCr)、尿肌酐(urinary creatinine, UCr)、血甘油三酯(triglyceride, TG)和总胆固醇(total cholesterol, TC)。UAL的排泄量以UAL/UCr表示。根据UCr、Scr计算内生肌酐清除率(creatinine clearance, CCr), CCr = UCr/UCr×24 h尿量,由于CCr受体表面积的影响,用体质量(body mass, BM)加以校正。

1.2.2 肾脏病理检查 HE、PAS、Masson三色染色观察肾组织病理变化。PAS染色的切片放大400倍研究肾小球硬化指数(glomerular sclerosis index, GSI),半定量方法评估肾小球硬化程度。每例切片随机观察20个不重叠的Masson染色200倍视野,半定量计算肾间质纤维化指数(renal interstitial fibrosis index, RIFI)和肾间质纤维组织相对面积(肾间质绿染区面积/视野总面积×100%)。通过对每张切片的肾小球硬化及肾间质纤维化情况进行总的评估,计算出平均GSI及RIFI<sup>[4]</sup>。

1.2.3 免疫组织化学染色 采用SP法,操作步骤按试剂盒说明书进行。实验结果用HMIAS22000高清晰彩色病理图文报告分析系统对所选取视野中免疫组化阳性信号进行图像分析,计算每个视野中BMP-7、OPN和TGF-β<sub>1</sub>(Santa Cruz公司)阳性染色面积占总视野面积的百分比,并计算其均值。对于ED-1免疫组化(武汉博士德公司),每张切片高倍镜下(×400)依次观察肾小球、肾间质区域20个不重叠视野,分别计数每个视野下ED-1阳性细胞数,计算其均数。

1.2.4 实时定量PCR检查 应用ABI7500 Real-Time PCR System两步法PCR扩增标准程序,严格按照说明书进行实时定量PCR的操作。以BMP-7、OPN和TGF-β<sub>1</sub>条带与GAPDH条带光密度比值表示他们的相对表达量;采用CT值法对基因表达产物进行相对定量。82.1℃, 84.7℃, 86.9℃, 84.3℃分别为BMP-7, OPN, TGF-β<sub>1</sub>, GAPDH的溶解曲线。引物序列见表1(上海生工生物工程技术有限公司)。

表1 各细胞因子引物序列及扩增片断

目的基因	引物序列	扩增片段(bp)
BMP-7	5'-GACACTGGTTCACCTCATCAACCC-3'	170
	5'-GTCTCAGGAAGACCTAGTGGCAG-3'	
TGF-β <sub>1</sub>	5'-GCCTGAGTGGCTGTCTTTTGA-3'	197
	5'-GGAAGGGTCGGTTCATGTCAT-3'	
OPN	5'-TCAGCATTCGCTTCTGTCT-3'	111
	5'-CTGTAAGTTGCTGCCTCTA-3'	
GAPDH	5'-TTCTAGAGACAGCCGCATCT-3'	106
	5'-TGGTAACCAAGGTGTCCGATA-3'	

1.2.5 统计学处理 数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 多组间比较若方差齐, 采用 one way ANOVA 检验, 若方差不齐采用  $q$  检验(Newman-Keuls 法)。部分数据间做相关分析, 计算相关系数  $r$ , 以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。分析软件采用 SPSS16.0 进行。

## 2 结果

### 2.1 各组大鼠物理及生化指标的变化

40 只造模大鼠中, 28 只大鼠成功造模, 出现 FBG, 平均动脉压(mean artery pressure, MAP)、HbA1c, TC, TG 明显升高及胰岛素抵抗, UAL 高于 NC 组[(2.28±0.41) vs (0.46±0.01) mg/mg,  $P < 0.001$ ], 造模成功率为 70%(表 2)。

药物干预 12 周末, 与 NC 组比较, DM 组大鼠 MAP, FBG, 肾重(kidney weight, KW)、肾重/体质量(KW/BM), UAL 及 Ccr 显著升高( $P < 0.05$ ); 与 DM 组相比, 缬沙坦治疗组大鼠 MAP, KW/BM 及 Ccr 明显降低, UAL 显著减少( $P < 0.01$ )。FBG, CH 及 TG 虽有下降趋势, 但无统计学差异( $P > 0.05$ ; 表 2)。

### 2.2 肾组织病理学改变

光镜检查显示, NC 大鼠肾组织结构正常; DM 大鼠肾组织出现系膜区增宽、细胞外基质增多、肾小球硬化及肾间质纤维化, 与 NC 组比较, DM 大鼠的 GSI 和 RIFI 明显升高( $P < 0.01$ ); DT 大鼠肾脏病理不同程度得到改善, DT 组大鼠的 GSI 和 RIFI 较 DM 大鼠降低( $P < 0.05$ ; 图 1; 表 3)。

### 2.3 各组大鼠肾脏 ED-1 阳性细胞数变化

与 NC 组比较, DM 大鼠肾小球及肾间质的 ED-1 阳性细胞数显著增多 ( $P < 0.01$ ), 与 DM 组比较, DT 肾组织的 ED-1 阳性细胞数明显减少( $P < 0.05$ )。肾小球 ED-1 阳性细胞与 GSI 明显相关( $r = 0.648, P < 0.01$ ); 肾间质 ED-1 阳性细胞数与 RIFI 也相关( $r = 0.585, P < 0.01$ ; 表 3)。

### 2.4 各组大鼠肾组织 BMP-7、OPN、TGF- $\beta_1$ 及 FN 蛋白表达

免疫组化显示, 与 NC 组比较, DM 组大鼠肾组织 OPN, TGF- $\beta_1$  及纤连蛋白(fibronectin, FN)表达均上调, 而 BMP-7 表达下调。缬沙坦干预后可明显抑制肾组织 OPN 和 TGF- $\beta_1$  表达, 同时上调 BMP-7 表达(图 2)。相关分析表明肾间质 ED-1 阳性细胞与 OPN 及 TGF- $\beta_1$  的蛋白表达呈正相关( $r = 0.76, P < 0.01$ ;  $r = 0.73, P < 0.01$ ), 与 BMP-7 的蛋白表达呈负相关( $r = -0.69, P < 0.05$ ; 图 3)。

### 2.5 各组大鼠肾组织 BMP-7、OPN 及 TGF- $\beta_1$ mRNA 表达

实时定量 PCR 结果显示, 与 NC 组比较, DM 组 BMP-7 mRNA 及蛋白表达下调( $P < 0.01$ ), 而 OPN 和 TGF- $\beta_1$  mRNA 及蛋白表达明显增加( $P < 0.01$ ); 与治疗组比较, DM 组 BMP-7 的 mRNA 及蛋白表达明显上调( $P < 0.01$ ), 而 OPN 和 TGF- $\beta_1$  的表达减少( $P < 0.01$ ; 图 4)。

表 2 各组大鼠常规指标的比较 (  $\bar{x} \pm s$  )

组别	<i>n</i>	UAL(mg/mg)	KW/BM(g/kg)	MAP(mmHg)	FBG(mmol/L)	INS( $\mu$ g/L)
NC	10	0.45±0.09	2.05±0.02	106±4	5.9±1.1	19±6
DM	11	6.36±0.87**	5.06±0.57**	124±6**	18.2±2.7**	20±7
DT	12	2.36±0.35*#	12.75±0.61*#	111±5#	18.5±3.8**	19±5
组别	<i>n</i>	ISI	HbA1c	TC(mmol/L)	TG(mmol/L)	Ccr(ml/min)
NC	10	0.182±0.01	2.9±0.3	2.96±0.04	0.65±0.22	1.47±0.18
DM	11	0.052±0.19**	7.0±0.4*	3.72±0.38*	1.56±0.48**	2.58±0.35**
DT	12	0.008±0.02*	6.6±0.4**	3.41±0.35*	1.24±0.32**	1.58±0.30#

注: NC: 对照组; DM: 糖尿病组; DT: 缬沙坦组; UAL: 尿白蛋白; KW/BM: 肾重/体质量; MAP: 平均动脉压; FBG: 空腹血糖; INS: 胰岛素水平; ISI: 胰岛素敏感指数; HbA1c: 糖化血红蛋白; TC: 总胆固醇; TG: 甘油三酯; Ccr: 肌酐清除率。与正常对照组比较, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ ; 与 DM 组比较, # $P < 0.01$

表 3 各组肾组织硬化、纤维化及 ED-1 阳性细胞数比较 (  $\bar{x} \pm s$  )

组别	<i>n</i>	GSI	RIFI	肾小球 ED-1 细胞数	肾间质 ED-1 细胞数
NC	10	0.13±0.04	0.12±0.02	0.23±0.06	0.41±0.07
DM	11	1.06±0.05*	0.48±0.01*	1.96±0.12*	5.02±1.20*
DT	12	0.82±0.02*#	0.35±0.03*#	1.32±0.10*#	2.05±0.19*#

注: NC: 对照组; DM: 糖尿病组; DT: 缬沙坦组; GSI: 肾小球硬化指数; RIFI: 肾间质纤维化指数。与 NC 组比较, \* $P < 0.01$ ; 与 DM 组比较, # $P < 0.05$

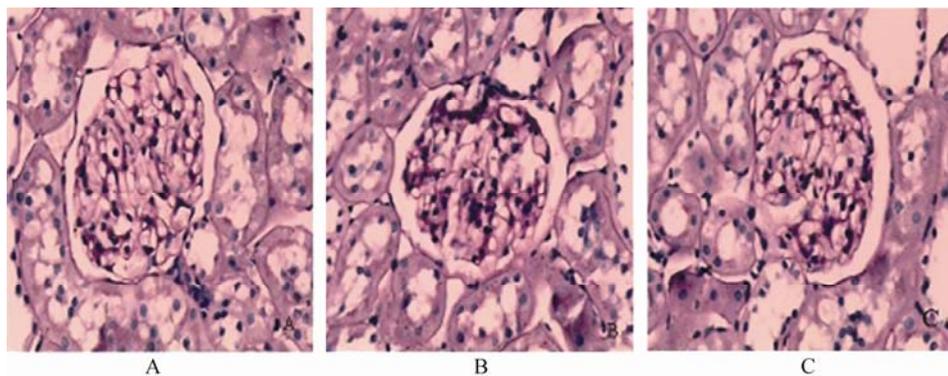


图1 各组大鼠肾组织病理学改变(PAS × 200)  
A: 对照组; B: 糖尿病组; C: 缬沙坦组

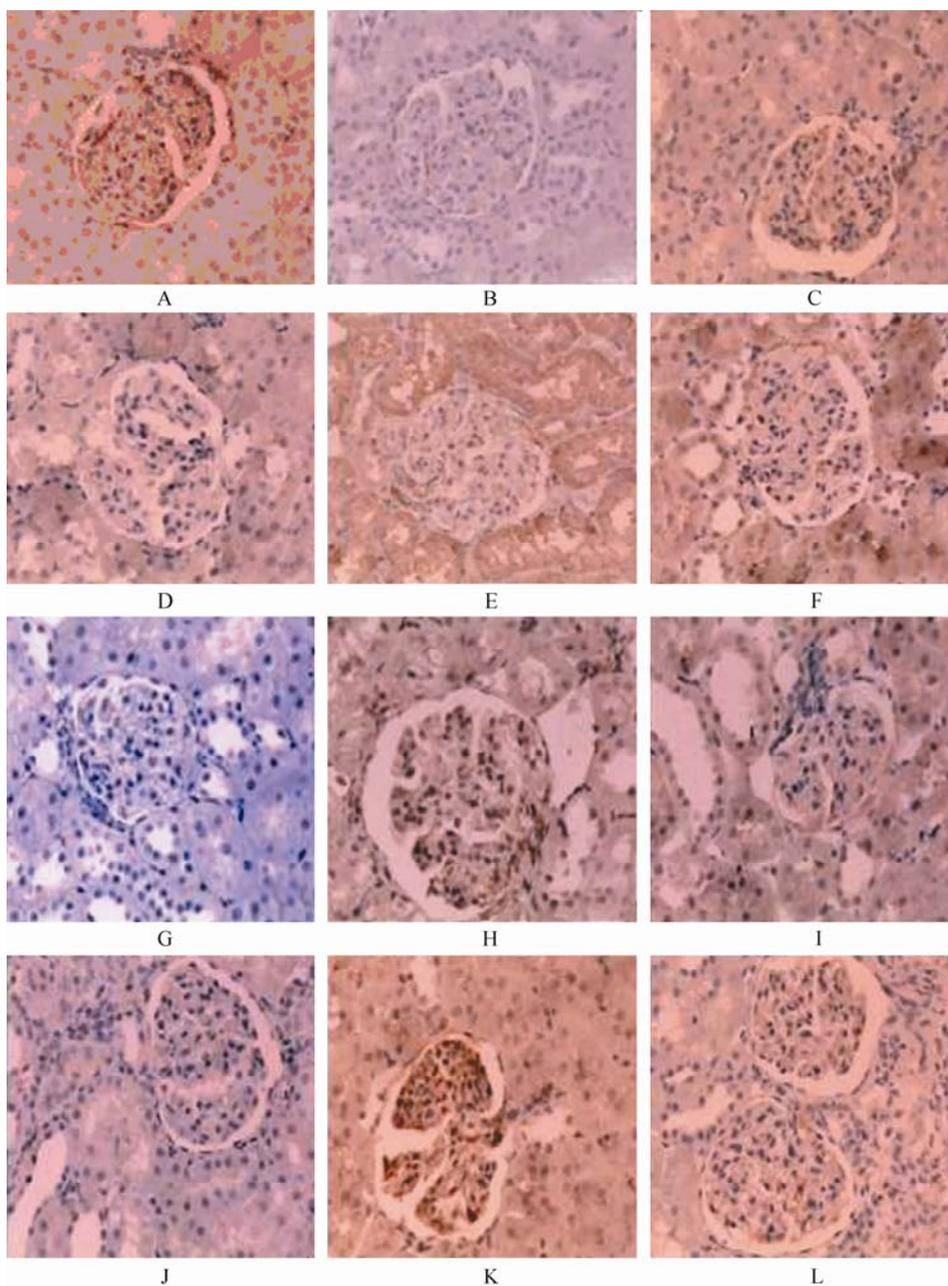


图2 各组大鼠 BMP-7, OPN, TGF- $\beta_1$ , FN 的表达(SP × 200)  
A-C: BMP-7; D-F: OPN; G-I: TGF- $\beta_1$ ; J-L: FN; A, D, G, J: 对照组; B, E, H, K: 糖尿病组; C, F, I, L: 缬沙坦组

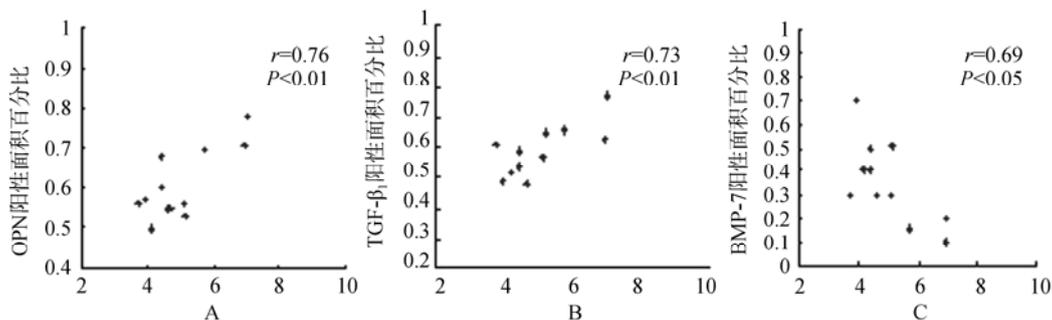


图3 ED-1 阳性细胞与 OPN, TGF-β<sub>1</sub> 及 BMP-7 的蛋白表达相关性分析  
A: OPN 蛋白; B: TGF-β<sub>1</sub> 蛋白; C: BMP-7 蛋白

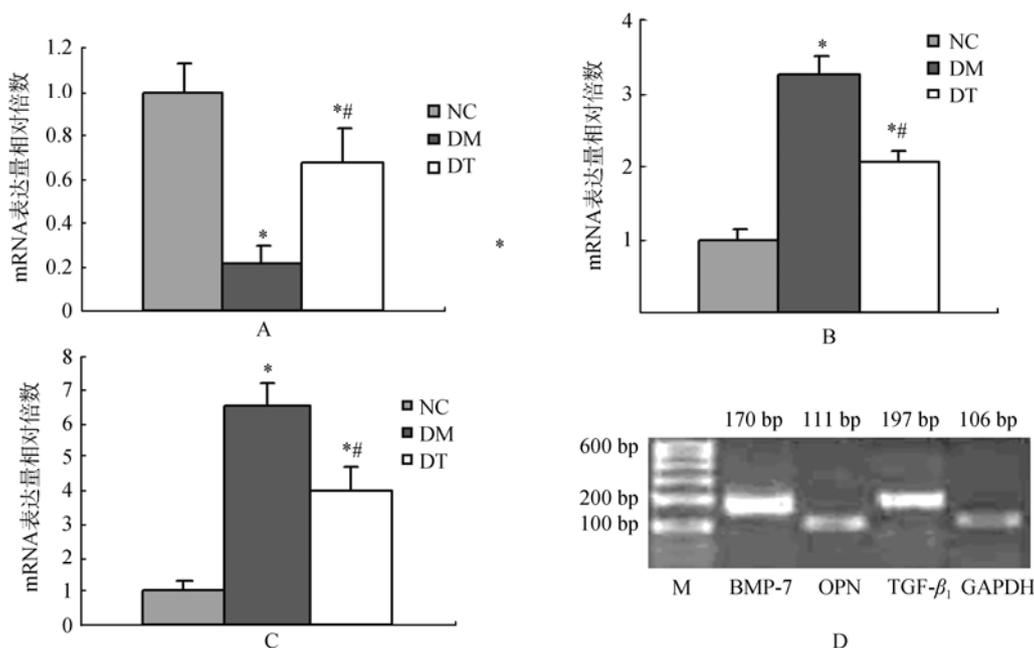


图4 各组肾组织 BMP-7, OPN, TGF-β<sub>1</sub> mRNA 的水平  
A: BMP-7; B: OPN; C: TGF-β<sub>1</sub>; D: PCR 扩增结果。与 NC 组比较, \**P*<0.01; 与 DM 组比较, #*P*<0.01

### 3 讨论

DN 早期病理变化表现为肾小球体积增大, 肾小球系膜基质增宽及毛细血管基底膜增厚, 后期出现肾小球硬化及肾间质纤维化。本研究的 T2DM 实验大鼠, 不但血糖、血压、血脂及 KW/BM 显著增高, 尿白蛋白定量在实验开始时已明显高于正常对照组, 而且肾小球系膜及基底膜相对面积和肾间质纤维组织相对面积均显著增加, 证实这些大鼠 DN 模型已制作成功, 与 Ratna 等<sup>[5]</sup>报道相似。

本研究发现早期 DM 大鼠尿白蛋白排泄率明显增加, DM 大鼠肾组织 OPN、TGF-β<sub>1</sub> 及 FN 表达较正常大鼠均升高, 而 BMP-7 表达下调, 且与肾间质巨噬细胞浸润有关, 肾间质 ED-1 阳性细胞数与 OPN、TGF-β<sub>1</sub> 表达呈正相关, 而与 BMP-7 表达呈负相关。提示 OPN 表达上调、BMP-7 表达下调及巨噬细胞

浸润参与 DN 的病理过程。

TGF-β<sub>1</sub> 是 DN 发病过程中肾小球与肾小管间质损害最为肯定的关键生长因子之一, 它通过多途径、多机制调节发挥其致病作用。并往往作为肾脏损害评价的指标。BMP-7 是 TGF-β<sub>1</sub> 细胞因子超家族的一员, 具有多种生物活性, 参与细胞增生、分化和凋亡的作用, 并调节细胞外基质的代谢, 而且在细胞的趋化、黏附中也起到一定的作用, 还有抗炎作用, 能拮抗 TGF-β<sub>1</sub> 所诱发的肾小管上皮细胞向肾间质成纤维细胞转化, 同时还可以通过诱导肾间质成纤维细胞向肾小管上皮细胞转化, 从而有利于促进损伤肾小管的修复, 减轻肾小球硬化及肾间质纤维化<sup>[6,7]</sup>。最近有研究发现 BMP-7 是足细胞生存的必须因子, 通过保护足细胞而发挥其肾脏保护作用<sup>[8]</sup>。Wang 等<sup>[9]</sup>利用 BMP-7 转基因糖尿病模型发现在肾组织 TGF-β<sub>1</sub> 水平保持不变的前提下, 内源性

BMP-7可抑制肾小球硬化、肾间质纤维化、减少蛋白尿,延缓DN的发生和发展。Li等<sup>[10]</sup>研究STZ诱导的DM大鼠肾脏中BMP-7的表达亦发现随着DM大鼠尿蛋白的变化而肾组织BMP-7的表达而变化,且呈负相关。本研究结果发现DM大鼠BMP-7的下调,且与巨噬细胞浸润有关,与以往报道相似。

OPN基因启动子上有多个应答元件,包括TGF- $\beta_1$ 、高糖、葡萄糖胺等,提示OPN可受TGF- $\beta_1$ 的调控。OPN作为生长因子,能刺激血管平滑肌细胞的增殖和迁移,也能刺激肾小球系膜细胞增殖,产生细胞外基质;同时,OPN可以作为趋化因子发挥作用,趋化巨噬细胞,引起肾脏组织损伤和纤维化。日本学者Kikuchi等<sup>[4]</sup>报道,与正常对照组相比,OLETF大鼠(T2DM模型)可观察到肾脏OPN表达增加,巨噬细胞浸润增加。免疫抑制剂咪唑立宾治疗12周,可以显著抑制糖尿病大鼠尿蛋白的排泄,减轻肾脏巨噬细胞的浸润,抑制OPN和TGF- $\beta_1$ 的表达,阻止肾小球病变和肾脏间质纤维化的进展。国内曹延萍等<sup>[11]</sup>观察单肾切除加小剂量STZ诱导而建立T2DM大鼠模型的肾组织OPN的表达,结果发现T2DM大鼠肾组织OPN过度表达,且与巨噬细胞浸润明显相关,共同参与DN早期的发病。我们以前的研究也发现DM大鼠OPN的过度表达与蛋白尿的发生及DN发展有关<sup>[12]</sup>。本研究结果发现DM大鼠OPN的表达明显上调,且与巨噬细胞浸润有关,与以往报道相似。

研究证实Ang II可直接活化免疫细胞或通过炎症介质的产生而导致高血压靶器官的损伤,并认为Ang II是一个前炎症反应因子,与TGF- $\beta_1$ 协同参与肾脏损害。本实验首次观察缬沙坦对T2DM大鼠肾脏BMP-7及OPN表达影响,结果发现,与DM大鼠比较,缬沙坦在改善模型大鼠血压、尿蛋白定量、Ccr及KW/BM比值等物理、生化指标的同时,肾脏病理病变也显著减轻,免疫组化及实时定量PCR结果显示肾小球及肾间质FN积聚及ED-1细胞数明显减少,并抑制OPN和TGF- $\beta_1$ 蛋白及mRNA表达。且部分上调肾组织的BMP-7蛋白及mRNA的表达。提示缬沙坦除降压及降低Ccr发挥其降蛋白尿的作用外,同时可通过抗炎、抑制巨噬细胞浸润及减少细胞外基质发挥其肾脏保护作用,其机制可能与抑

制肾组织OPN、TGF- $\beta_1$ 及提高BMP-7的表达有关,对该领域的进一步研究可引发DN发病机制和诊断治疗的新突破。

#### 【参考文献】

- [1] Murphy M, Crean J, Brazil DP, *et al.* Regulation and consequences of differential gene expression in diabetic kidney disease[J]. *Biochem Soc Trans*, 2008, 36(5): 941-945.
- [2] Mitu G, Hirschberg R. Bone morphogenetic protein-7 (BMP-7) in chronic kidney disease[J]. *Front Biosci*, 2008, 13: 4726-4739.
- [3] Lorenzen J, Shah R, Biser A. The role of osteopontin in the development of albuminuria[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2008, 19(5): 884-890.
- [4] Kikuchi Y, Imakiire T, Yamada M, *et al.* Mizoribine reduces renal injury and macrophage infiltration in non-insulin dependent diabetic rats[J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2005, 20(8): 1573-1581.
- [5] Ratna S, Dand A, Nusrath M. Kidney involvement in a nongenetic rat model of type 2 diabetes[J]. *Kidney Int*, 2005, 68(6): 2562-2571.
- [6] Tanaka M, Endo S, Okuda T, *et al.* Expression of BMP-7 and USAG-1 (a BMP antagonist) in kidney development and injury[J]. *Kidney Int*, 2008, 73(2): 181-191.
- [7] Motazed R, Colville Nash P, Kwan JT, *et al.* BMP-7 and proximal tubule epithelial cell: activation of multiple signaling pathways reveals a novel anti fibrotic mechanism[J]. *Pharm Res*, 2008, 25(10): 2440-2446.
- [8] Turk T, Leeuwis JW, Gray J, *et al.* BMP signaling and podocyte markers are decreased in human diabetic nephropathy in association with CTGF overexpression[J]. *J Histochem Cytochem*, 2009, 57(7): 623-631.
- [9] Wang S, de Caestecker M, Kopp J, *et al.* Renal bone morphogenetic protein-7 protects against diabetic nephropathy[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2006, 17(9): 2504-2512.
- [10] Li X, Xu L, Gao H, *et al.* Effects of grape seed proanthocyanidins extracts on AGEs and expression of bone morphogenetic protein-7 in diabetic rats[J]. *J Nephrol*, 2008, 21(5): 722-733.
- [11] 曹延萍,高峰,郝军,等.骨桥蛋白在糖尿病大鼠肾组织中的表达及意义[J].*中国危重病急救医学*, 2008, 20(5): 287-290.
- [12] 马瑞霞,刘丽秋,徐岩,等.雷公藤甲素对2型糖尿病大鼠肾脏的保护作用[J].*中华高血压杂志*, 2008, 16(12): 1120-1124.