

leflunomide 对 IgA 肾病大鼠肾脏保护作用的机制研究

汤颖 姜探奇 王成 彭晖 刘迅 唐琳

【摘要】 目的 观察 leflunomide 对实验性 IgA 肾病(IgAN)大鼠肾脏病理及肾组织转化生长因子- β 1(TGF- β 1)、单核细胞趋化因子-1(MCP-1)表达的影响。方法 建立 IgAN 大鼠模型,随机分成模型组、泼尼松组、leflunomide 组,同时设立正常对照组。用免疫荧光和光镜观察免疫复合物在肾脏的沉积及系膜区基质增生程度,用免疫组化和逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)方法分别检测肾组织 TGF- β 1、MCP-1 的蛋白和基因表达水平。结果 与模型组比较,leflunomide 组免疫复合物在肾脏的沉积明显减少,系膜区基质增生程度显著减轻(P 均 <0.01);leflunomide 在基因和蛋白水平均能够有效抑制 TGF- β 1 和 MCP-1 在肾组织中的表达($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。结论 leflunomide 能减少免疫复合物在肾脏的沉积,并且下调 TGF- β 1、MCP-1 在肾脏的表达,减少局部炎症反应,减轻系膜区基质增生,延缓肾脏纤维化的进程,保护肾脏。

【关键词】 leflunomide; IgA 肾病,实验性; 转化生长因子- β 1; 单核细胞趋化因子-1

Study on protective effects and its mechanism of leflunomide on renal tissue in rat IgA nephropathy model

TANG Ying, LOU Tan-qi, WANG Cheng, PENG Hui, LIU Xun, TANG Hua. Department of Nephrology, The Third Affiliated Hospital of SUN Yat-sen University, Guangzhou 510630, Guangdong, China
Corresponding author: LOU Tan-qi (Email: lou.tq@163.com)

【Abstract】 Objective To observe the effects of leflunomide on renal pathology and expression of transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1), monocyte chemotaxis peptide1 (MCP-1) in renal tissue of experimental IgA nephropathy in rat. **Methods** IgA nephropathy model was reproduced in rats. They were randomly divided into leflunomide group, prednisone group, nephropathy control group, and normal control group. The deposition of immunocomplex in renal tissue and degree of mesangial matrix hyperplasia in mesangial region were detected by immunofluorescence and light microscope; the level of expression of gene and protein of TGF- β 1 and MCP-1 in renal tissue were determined by immunohistochemistry and reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) methods. **Results** Compared with model group, leflunomide lessened the deposit of immunocomplex in renal tissue, alleviated the hyperplasia of mesangial matrix (all $P<0.01$). Leflunomide could also inhibit the expression of TGF- β 1, MCP-1 at the level of gene and protein in renal tissue ($P<0.05$ or $P<0.01$). **Conclusion** Leflunomide can decrease the deposit of immunocomplex, down regulate the expression of TGF- β 1, MCP-1 in kidney, diminish local inflammatory reaction, relieve hyperplasia of mesangial matrix, related the process of nephrotic fibrosis, and protect renal function.

【Key words】 leflunomide; experimental IgA nephropathy; transforming growth factor- β 1; monocyte chemotaxis peptide1

IgA 肾病(IgAN)是一种以肾小球系膜区 IgA 沉积为特征的免疫复合物肾小球肾炎,是导致慢性肾功能衰竭的最常见原因之一,有 20%~30% 的患者在 20 年内进展为肾功能衰竭^[1]。近年来研究表明,转化生长因子- β 1(TGF- β 1)、单核细胞趋化因子-1(MCP-1)与 IgAN 的病情进展密切相关^[2-3],抑制它们的表达可延缓肾脏损害,保护肾功能^[4-5]。leflunomide 是一种新型的免疫抑制剂,通过其在体内的活性物质 A77 1726 发挥免疫调节作用。目前国内外已有实验表明 leflunomide 能够应用于多种免

疫相关性疾病的治疗,如移植排斥^[6]、系统性红斑狼疮等^[7],但尚未有用于 IgAN 治疗的研究报道。本研究观察 leflunomide 对实验性 IgAN 模型动物的病理及肾组织 TGF- β 1、MCP-1 表达的影响,研究 leflunomide 治疗 IgAN 的可能作用机制,为临床治疗 IgAN 寻找一种新的方法。

1 材料与方法

1.1 动物分组与模型建立:雄性 SD 大鼠 32 只(由中山大学实验动物中心提供),体重 220~260 g。用内毒素脂多糖(LPS)+四氯化碳(CCl_4)+牛血清白蛋白(BSA)联合制模:BSA 400 mg/kg 隔日灌胃,连用 6 周;于 6 周和 8 周时经大鼠尾静脉注射 LPS 0.05 mg 各 1 次,蓖麻油每次 0.5 ml,每周皮下注射 1 次 CCl_4 0.1 ml,连用 9 周,10 周末制模结束。

基金项目:广东省广州市科技攻关项目(2004Z3-E0461)

作者单位:510630 广东广州,中山大学附属第三医院肾内科

通讯作者:姜探奇,Email: lou.tq@163.com

作者简介:汤颖(1976-),女(汉族),江西省人,医学硕士,医师。

将制模成功的大鼠按随机数字表法分成模型组、泼尼松组、leflunomide 组, 同期设立正常对照组, 每组 8 只。泼尼松组予泼尼松 1 mg · kg⁻¹ · d⁻¹ 混悬液灌胃; leflunomide 组予 leflunomide 15 mg · kg⁻¹ · d⁻¹ 混悬液灌胃; 模型组及正常对照组以等量饮用水灌胃; 疗程均为 4 周。所有大鼠在实验期间均予以标准饮食。

1.2 肾组织病理检查

1.2.1 免疫荧光染色: 实验结束时用乙醚麻醉大鼠取肾脏, 部分肾皮质做冰冻切片, 进行 IgA、IgG、IgM 检查, 半定量标准参照目前国内外通用的五级法(0~4+)分级。低倍镜下不能显示, 高倍镜下似乎可见为±; 低倍镜下似乎可见, 高倍镜下可见为+; 低倍镜下可见, 高倍镜下清晰可见为++; 低倍镜下清晰可见, 高倍镜下耀眼为+++; 高倍镜下刺眼为++++。另一部分用质量分数为 10% 的中性甲醛水溶液固定, 石蜡包埋、切片, 分别行苏木素-伊红(HE)、马松三色(MASSON)及高碘酸-希夫(PAS)染色。取 PAS 染色的肾组织切片, 在光镜下随机计数 15 个肾小球, 用全自动图像分析系统计算肾小球系膜区面积, 同时测定毛细血管丛面积, 计算肾小球系膜区占整个毛细血管丛面积的百分比^[6], 并观察系膜区有无增生和增宽。

1.2.2 免疫组化: 取部分肾皮质做石蜡切片, 用链霉素-亲和素-生物素-过氧化物酶(SABC)法进行免疫组化染色, 检测 TGF-β1 和 MCP-1 的蛋白表达。兔抗鼠 TGF-β1 抗体及山羊抗鼠 MCP-1 抗体(美国 Santa Cruz Biotechnology 公司)工作浓度均为 1:100, 抗兔 SABC 免疫组化试剂盒购自北京中山生物有限公司, 抗山羊 SABC 免疫组化试剂盒购于美国 Santa Cruz Biotechnology 公司, 3,3'-二氨基联苯胺(DAB)显色。常规设阳性及阴性对照。取免疫组化的肾组织切片, 光镜下计数 15 个肾小球, 应用全自动图像分析系统计算阳性单位(PU)的数值, 用以判定 TGF-β1 和 MCP-1 的蛋白表达量。PU = (Ga - GA) / [(1 - Aa) × Gmax] × 100%, 其中 Ga 代表阳性反应的平均灰度级, GA 代表整个视野的平均灰度, Aa 代表阳性反应的面积密度, Gmax 代表设定的灰度最高级(为 256)^[9]。

1.2.3 逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR): 取肾组织用液氮固定, 采用改良的异硫氰酸胍一步法提取总 mRNA, 用 THERMOSCIPT™ 逆转录试剂盒, 转录成 cDNA, 并行 PCR 扩增反应。取内参照三磷酸甘油醛脱氢酶(GAPDH) PCR 产物 5 μl 与 TGF-β1

或 MCP-1 PCR 产物 5 μl 混匀, 然后加入质量分数为 1.5% 的琼脂糖凝胶于同一个点样孔中, 90 V 电压下电泳 20~25 min。用凝胶图像系统成像及扫描定量分析 DNA 带的含量, 以所测得积分吸光度(A)值与内参照积分 A 值比值代表 TGF-β1、MCP-1 的 mRNA 表达水平半定量值。

1.3 统计学分析: 数据用 SPSS 11.0 医用统计软件进行处理。计量资料用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 组间差异用单因素方差分析(one-way ANOVA), 组间比较用 SNK-q 检验法, 等级资料采用非参数秩和检验, P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 IgAN 动物模型的病理特点: 光镜下可见肾组织有轻至中度系膜增生, 偶见新月体形成, 未见有硬化、祥坏死及小管和间质损害; 免疫荧光显示以 IgA 为主的免疫球蛋白在肾小球系膜区弥漫沉积。

2.2 免疫荧光染色(彩色插页图 1): leflunomide 和泼尼松均能抑制肾组织的免疫反应, 减少免疫复合物在肾脏的沉积。

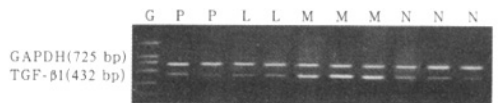
2.3 系膜区基质的表达(表 1, 彩色插页图 2): 与模型组比较, 泼尼松组和 leflunomide 组系膜区基质表达量均明显减少, 差异均有统计学意义(P 均 < 0.01); 泼尼松组与 leflunomide 组间系膜区基质的表达差异无统计学意义(P > 0.05)。

表 1 各组大鼠肾小球系膜区增生程度的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数	系膜区面积 (mm ²)	肾小球面积 (mm ²)	系膜区/肾小球面积比值
正常对照组	8	415.8 ± 126.6	13 845.7 ± 2 867.5	0.031 ± 0.010
模型组	8	1 118.2 ± 387.2 ^b	11 804.1 ± 4 399.2	0.099 ± 0.035 ^b
泼尼松组	8	721.2 ± 264.0 ^b	12 220.2 ± 4 366.2	0.059 ± 0.014 ^{bd}
leflunomide 组	8	693.1 ± 251.2 ^b	11 006.9 ± 2 893.5	0.066 ± 0.023 ^{bd}

注: 与正常对照组比较, ^bP < 0.01, 与模型组比较, ^dP < 0.01

2.4 TGF-β1 的 mRNA 及蛋白表达(图 3, 彩色插页图 4; 表 2): 泼尼松和 leflunomide 均能明显抑制 TGF-β1 的 mRNA 及蛋白表达, 与模型组比较差异有统计学意义(P < 0.05 或 P < 0.01); 泼尼松组与 leflunomide 组间差异无统计学意义(P 均 > 0.05)。



G: GAPDH; P: 泼尼松组; L: leflunomide 组; M: 模型组; N: 正常对照组

图 3 半定量 RT-PCR 检测各组大鼠 TGF-β1 mRNA 表达

表 2 各组大鼠肾组织 TGF-β1、MCP-1 的 mRNA 及蛋白表达比较($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	TGF-β1	TGF-β1 的	MCP-1	MCP-1 的
	mRNA	PU(%)	mRNA	PU(%)
正常对照组	0.520±0.189	8.903±2.631	0.164±0.095	8.472±0.479
模型组	1.095±0.455 ^b	15.399±3.319 ^a	0.284±0.206 ^a	16.396±0.426 ^b
泼尼松组	0.601±0.179 ^d	9.870±2.510 ^c	0.173±0.129 ^c	11.974±0.477 ^c
leflunomide 组	0.598±0.201 ^d	10.347±2.740 ^c	0.177±0.109 ^c	11.996±0.507 ^c

注:与正常对照组比较,^a $P<0.05$,^b $P<0.01$;与模型组比较,^c $P<0.05$,^d $P<0.01$

2.5 MCP-1 的 mRNA 及蛋白表达(表 2;图 5,彩色插页图 6);泼尼松及 leflunomide 均能抑制 MCP-1 的 mRNA 及蛋白表达,与模型组比较差异均有统计学意义(P 均 <0.05);泼尼松组和 leflunomide 组 MCP-1 的 mRNA 及蛋白表达量相似,与正常对照组比较差异均无统计学意义(P 均 >0.05)。

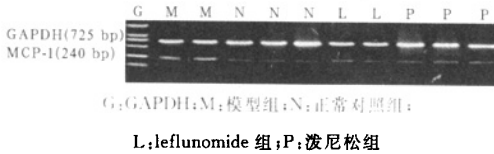


图 5 半定量 RT-PCR 检测各组大鼠 MCP-1 mRNA 表达

3 讨论

IgAN 是导致慢性肾功能衰竭的最常见原因之一,约占我国原发性肾小球疾病的 30%~40%。关于 IgAN 的治疗,目前尚无确切有效的方法。Lai^[10] 提出,今后 IgAN 的治疗应着重于减少 IgA 在系膜区沉积和改善局部由浸润的中性粒细胞及释放的炎症因子介导的炎症反应,从而延缓 IgAN 的病程进展。leflunomide 主要通过抑制嘧啶核苷酸从头合成途径的限速酶——二氢乳清酸脱氢酶(DHODH)活性^[11],阻断嘧啶的经典合成途径和抑制蛋白酪氨酸激酶(PTK)^[12]活性,抑制 T、B 淋巴细胞的增殖和活化,从而抑制机体的免疫反应。leflunomide 还能抑制细胞黏附分子和前炎症因子的表达,抑制中性粒细胞趋化,减轻组织炎症反应^[13]。本研究观察了使用 leflunomide 进行干预对实验性 IgAN 大鼠肾脏病理的改变,以及肾组织 TGF-β1、MCP-1 的表达。我们对以往的制模方法加以改进:①联合应用 LPS+CCl₄+BSA 作为制模方法,LPS 是免疫佐剂,毒性较外毒素肠毒素 B(SEB)弱,不易对动物机体造成损害,引起动物死亡;②将口服免疫原 BSA 的剂量比原来加大 1 倍,改为 400 mg/kg 隔日灌胃 1 次;③CCl₄ 由以往的腹腔注射改为皮下注射,且剂

量减少至诱导肝纤维化剂量的 1/3,尽可能减少对肝脏的损害^[14]。通过以上改良,模型组 IgA 在肾脏组织有较强沉积,操作起来更加方便、安全,不易引起腹腔感染和动物死亡,并且无明显肝脏损害。在整个制模过程中大鼠无死亡;模型组大鼠肾脏系膜区都以较强的 IgA 沉积为主,光镜观察主要表现为弥漫性轻中度系膜增生。

有研究表明,细胞外基质(ECM)成分在肾间质内的沉积与预后呈正相关关系,基质沉积愈多则预后愈不良。与模型组比较,leflunomide 能显著减少免疫复合物在实验性 IgAN 大鼠肾脏系膜区的沉积,减轻系膜区基质的增生,提示 leflunomide 治疗有效^[15]。为了解 leflunomide 的作用机制,我们还观察了 leflunomide 对肾组织 TGF-β1 和 MCP-1 表达的影响。MCP-1 是一种炎症趋化因子,能刺激核转录因子-κB(NF-κB)的活性,且在全身炎症反应中以 NF-κB 作为细胞内信号的某些特异性表达,可在脓毒症大鼠体内呈高表达^[16];能加剧 IgAN 病情的发展速度^[3]。TGF-β1 是调节细胞增殖和分化的一种多功能细胞因子,能促进胚胎生长发育,调节免疫功能,生长抑制,创伤修复,促进血管生成和 ECM 沉积,小剂量时有化学趋化性并有致炎作用;高浓度时促进创伤愈合和纤维化^[17]。有实验表明,在糖尿病肾病中,TGF-β1 与纤维粘连蛋白和层粘连蛋白均显著升高,与 ECM 积聚相关^[18]。Yang 等^[19] 认为 TGF-β1 mRNA 可作为肾脏局部硬化的指标,包括 IgAN、狼疮性肾炎、糖尿病肾病、微小病变等。本研究结果发现,无论是在基因水平或是在蛋白水平,leflunomide 治疗后肾间质 TGF-β1、MCP-1 的表达均较模型组显著减少。提示 leflunomide 可能可以通过减少免疫复合物在肾脏系膜区的沉积及抑制 TGF-β1、MCP-1 在肾脏局部的产生,减少局部炎症反应,减少系膜区基质的增生,减轻肾脏纤维化,延缓 IgAN 的进展。

参考文献

- [1] Abe A, Utsunomiya Y. The role of the interaction between macrophages and mesangial cells in the progression of IgA nephropathy[J]. Nippon Jinzo Gakkai Shi, 1996, 38(11): 519-529.
- [2] Wada J, Sugiyama H, Makino H. Pathogenesis of IgA nephropathy[J]. Semin Nephrol, 2003, 23(6): 556-563.
- [3] Ou Z L, Hotta O, Natori Y, et al. Enhanced expression of C chemokine lymphotactin in IgA nephropathy[J]. Nephron, 2002, 91(2): 262-269.
- [4] Fukasawa H, Yamamoto T, Suzuki H, et al. Treatment with anti-TGF-beta antibody ameliorates chronic progressive nephritis by inhibiting Smad/TGF-beta signaling[J]. Kidney

Int, 2004, 65(1): 63-74.

[5] Ihm C G, Park J K, Hong S P, et al. A high glucose concentration stimulates the expression of monocyte chemotactic peptide1 in human mesangial cells[J]. Nephron, 1998, 79(1): 33-37.

[6] Hardinger K L, Wang C D, Schnitzler M A, et al. Prospective, pilot, open-label, short-term study of conversion to leflunomide reverses chronic renal allograft dysfunction [J]. Am J Transplant, 2002, 2(9): 867-871.

[7] Remer C F, Weisman M H, Wallace D J. Benefits of leflunomide in systemic lupus erythematosus; a pilot observational study[J]. Lupus, 2001, 10(7): 480-483.

[8] 郭啸华, 刘志红, 彭艾, 等. 大黄酸对 2 型糖尿病肾病大鼠疗效观察[J]. 中华肾脏病杂志, 2002, 18(4): 280-284.

[9] 申洪. 免疫组织化学染色定量方法研究(Ⅱ) [J]. 中国组织化学与细胞化学杂志, 1995, 4(1): 89-91.

[10] Lai K N. Future directions in the treatment of IgA nephropathy[J]. Nephron, 2002, 92(2): 263-270.

[11] Davis J P, Cain G A, Pitts W J, et al. The immunosuppressive metabolite of leflunomide is a potent inhibitor of human dihydroorotate dehydrogenase[J]. Biochemistry, 1996, 35(4): 1270-1273.

[12] Breedveld F C, Dayer F C. Leflunomide; mode of action in the treatment of rheumatoid arthritis[J]. Ann Rheum Dis, 2000, 59(5): 841-849.

[13] Kraan M C, Reece R J, Barg E C, et al. Modulation of inflammation and metalloproteinase expression in synovial tissue by leflunomide and methotrexate in patients with active rheumatoid arthritis, findings in a prospective, randomized, double-blind, parallel-design clinical trial in thirty-nine patients at two centers[J]. Arthritis Rheum, 2000, 43(8): 1820-1830.

[14] 许建明, 徐叔云. CCl₄ 诱发的肝纤维化动物模型[M]//徐叔云. 药理实验方法学. 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2002; 1350-1351.

[15] 孙伟, 曾安平, 王钢, 等. IgA 肾病肾实质内层粘连蛋白与纤维连接蛋白局部沉积与长期预后关系的探讨[J]. 中国危重病急救医学, 2000, 12(4): 202-204.

[16] 蒋丽. 大黄对腺毒症大鼠核因子-κB 活化的抑制作用[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2004, 11(6): 364-367.

[17] 徐新保, 何振平. TGF-β₃ Smad 家族与器官移植免疫和器官纤维化[J]. 国外医学生理、病理科学与临床分册, 2001, 21(5): 403-404.

[18] 王丽晖, 段惠军, 史永红, 等. 洛伐他汀对糖尿病大鼠肾功能及肾脏组织 p38 丝裂原激活蛋白激酶表达的影响[J]. 中国危重病急救医学, 2004, 16(12): 734-737.

[19] Yang C W, Hsueh S, Wu M S, et al. Glomerular transforming growth factor-beta1 mRNA as a marker of glomerulosclerosis-application in renal biopsies[J]. Nephron, 1997, 77(3): 290-297.

(收稿日期: 2007-11-09 修回日期: 2008-04-02)

(本文编辑: 李银平)

• 病例报告 •

阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征饮酒后昏迷 1 例

王珩 梁静

【关键词】 阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征; 饮酒; 昏迷

我院抢救 1 例阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征(OSAHS)昏迷患者, 报告如下。

1 病历简介

患者男性, 56 岁。有打鼾史 20 年、原发性高血压病史 10 年, 体质指数为 31.9 kg/m², 因饮酒 500 g 后 1 h 突发昏迷 2 h 入院。查体: 患者口唇青紫、呼之不应。体温 37℃, 脉搏 124 次/min, 呼吸频率 24 次/min, 血压 130/70 mm Hg (1 mm Hg = 0.133 kPa), 中度昏迷, 打鼾, 压眶反射消失, 角膜反射消失, 眼球居中固定, 双侧瞳孔等大、等圆, 对光反射阳性, 鼻唇沟对称, 余颅神经检查不配合, 四肢肌力 0 级, 肌张力对称减低, 腱反射消失, 双侧巴宾斯基征(-), 夏道克

征(-), 面色苍黄, 口唇发绀, 呼吸困难, 双肺呼吸音不清晰, 可闻及哮鸣音, 心率 124 次/min。脉搏血氧饱和度(SpO₂)为 0.65。血气分析: pH 值 7.034, 氧分压(PO₂)33 mm Hg, 二氧化碳分压(PCO₂)93.2 mm Hg。心电图示窦性心动过速。头颅 CT 正常。

抢救过程: 予以气管切开术, 术后患者血气分析随即恢复正常, 17 h 后意识逐渐转清, 4 d 时拔除气管套管后 SpO₂ 为 0.85。随后查体发现: 口咽部及咽咽部明显狭窄。清醒状态下 SpO₂ 为 0.85。多导睡眠监测(PSG)为呼吸暂停, 低通气指数(AHI)124 次/h, 平均 SpO₂ 为 0.66, 最低 SpO₂ 为 0.47。头颅磁共振成像(MRI)提示右侧半卵圆中心腔隙性梗死、脑萎缩。

2 讨论

本例患者清醒状态下存在低血氧,

PSG 监测报告为重度 OSAHS, 重度低氧血症。夜间睡眠过程中, 呼吸中枢对缺氧的敏感性逐步下降, 呼吸暂停低通气时间也逐渐增长, 在呼吸暂停过程中 SpO₂ 明显下降, 而 SpO₂ 的持续下降(维持在 0.60 以下)使呼吸中枢处于抑制状态, 饮酒后加重中枢抑制, 患者不能因缺氧被唤醒, 所以呼吸暂停低通气现象不能终止, 而较长时间的低血氧进一步导致脑部缺氧、脑水肿, 进入昏迷状态^[1]。本例重度 OSAHS 患者饮酒后睡眠中持续低通气状态被及时发现并得到全力抢救。OSAHS 患者有夜间猝死的可能性。

参考文献

[1] 张玉焕, 朱宏宇, 杨庆文, 等. 阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征睡眠监测中昏迷一例[J]. 中华耳鼻咽喉科杂志, 2003, 38(4): 288.

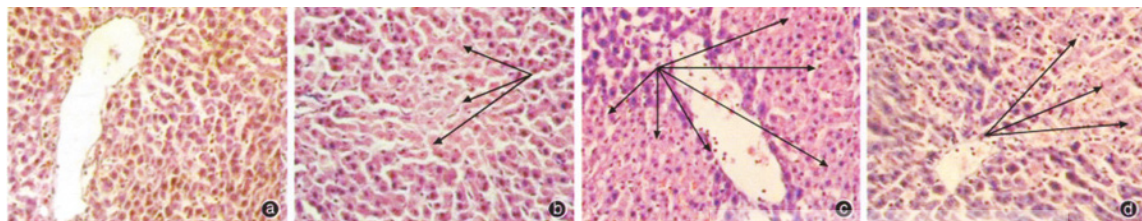
(收稿日期: 2008-04-23)

(本文编辑: 李银平)

作者单位: 300100 天津南开医院脑病科
作者简介: 王珩(1962-), 女(汉族), 天津市人, 副主任医师。

异氟醚预处理对缺血/再灌注复合内毒素大鼠肝脏损伤的影响

(正文见271页)

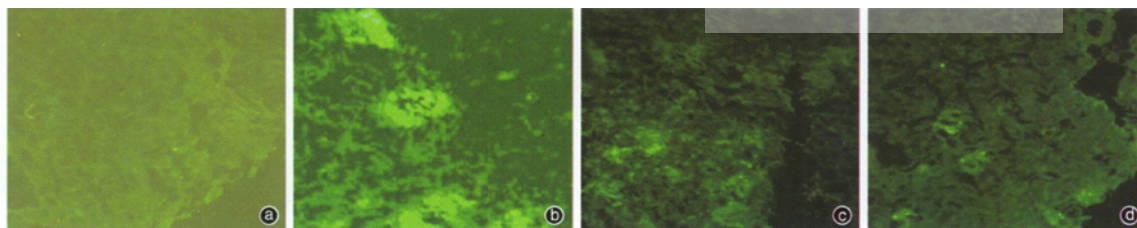


③: Sham组; ④: I/R组; ⑤: I/R+LPS组; ⑥: ISO预处理组; 箭头示坏死区域

图3 各组大鼠肝组织病理学改变(HE, ×400)

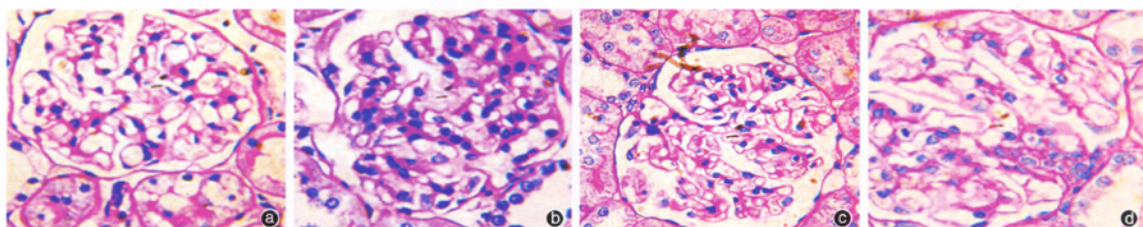
leflunomide对IgA肾病大鼠肾脏保护作用的机制研究

(正文见283页)



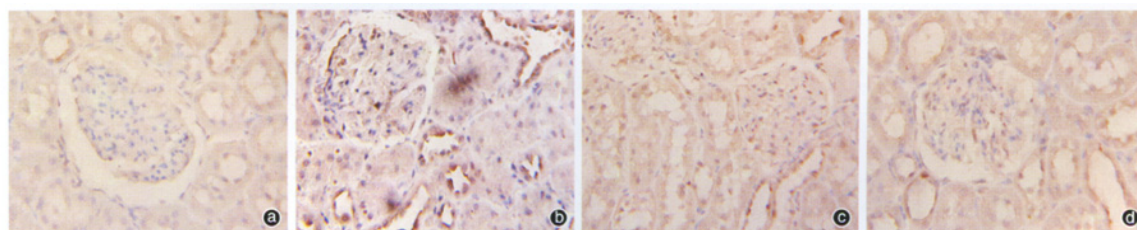
①: 正常对照组, IgA(-); ②: 模型组, IgA(+++); ③: 泼尼松组, IgA(-); ④: leflunomide组, IgA(±)

图1 各组大鼠肾组织免疫荧光图像(×100)



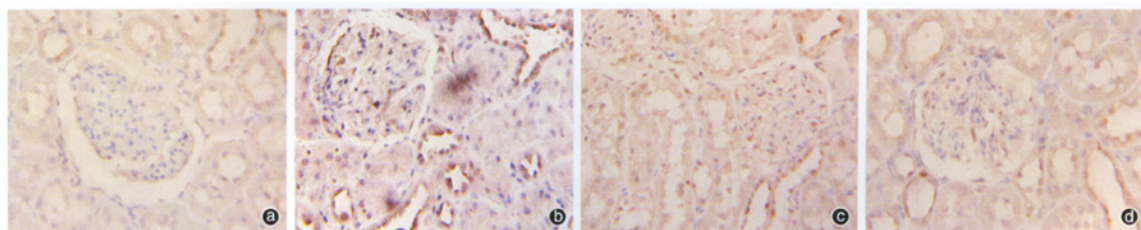
①: 正常对照组; ②: 模型组; ③: 泼尼松组; ④: leflunomide组

图2 各组大鼠肾组织病理学改变(PAS, ×400)



①: 正常对照组; ②: 模型组; ③: 泼尼松组; ④: leflunomide组

图4 各组大鼠肾组织TGF-β1的表达(免疫组化, ×100)



①: 正常对照组; ②: 模型组; ③: 泼尼松组; ④: leflunomide组

图6 各组大鼠肾组织MCP-1的表达(免疫组化, ×200)