

文章编号 1006-8147(2021)03-0234-05

论 著

蚓激酶对 UUO 大鼠肾组织 NOX4、FAK、Src 的影响

王晓敏¹, 申珅², 刘婷婷¹, 李春雨¹, 宁志芬¹, 李国霞¹

(1.天津医科大学国际医学院中西医结合教研室,天津 300070;2.潍坊市市直机关医院糖尿病科,潍坊 261000)

摘要 目的:观察蚓激酶(lumbrokinase)对单侧输尿管梗阻(UUO)大鼠肾组织 NADPH 氧化酶 4(NOX4)、黏着斑激酶(FAK)、Src 激酶表达的影响,并探讨其潜在机制。方法:雄性 Sprague-Dawley(SD)大鼠 50 只,随机分为 5 组,每组 10 只,即假手术组、模型组、蚓激酶低、中、高剂量组(0.9×10^5 、 1.8×10^5 、 3.6×10^5 U·kg⁻¹),术后第 2 天开始灌胃给药,假手术组、模型组大鼠给予等体积生理盐水灌胃,连续 14 d。免疫组化法检测转化生长因子 $\beta 1$ (TGF $\beta 1$)、NOX4、FAK、Src 蛋白表达变化,Western 印迹法和 RT-PCR 法检测 TGF $\beta 1$ 、NOX4、FAK、Src 蛋白和 mRNA 表达变化。结果:与假手术组相比,模型组 TGF $\beta 1$ 、NOX4、FAK、Src、 α -SMA 蛋白和 mRNA 水平显著升高(均 $P < 0.05$)。与模型组比较,免疫组化结果显示,蚓激酶组 TGF $\beta 1$ 、NOX4、FAK、Src 蛋白水平明显降低($F=10.57, 7.086, 11.23, 7.750$, 均 $P < 0.05$);Western 印迹结果显示,蚓激酶组 TGF $\beta 1$ 、NOX4、FAK、Src、 α -SMA 蛋白水平明显降低($F=8.873, 11.18, 6.902, 8.679, 5.672$, 均 $P < 0.05$);RT-PCR 结果显示,蚓激酶组 TGF $\beta 1$ 、NOX4、FAK、Src mRNA 水平明显降低($F=5.546, 4.285, 6.626, 3.911, 5.914$, 均 $P < 0.05$)。结论:蚓激酶可改善 UUO 模型大鼠肾间质纤维化(RIF),其机制可能与蚓激酶调控 TGF $\beta 1$ 、NOX4、FAK、Src、 α -SMA 的表达有关。

关键词 蚓激酶;单侧输尿管梗阻;肾间质纤维化;黏着斑激酶;Src;NADPH 氧化酶 4

中图分类号 R285.5

文献标志码 A

Effects of lumbrokinase on expression of NOX4, FAK, Src in renal interstitial fibrosis of unilateral ureteral obstruction(UUO)ratsWANG Xiao-min¹, SHEN Shen², LIU Ting-ting¹, LI Chun-yu¹, NING Zhi-fen¹, LI Guo-xia¹

(1.Department of Integrated Western and Chinese Medicine College of International Medicine, School of Basic Medical Sciences, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China; 2. Department of Diabetes, Weifang Municipal Department Hospital, Weifang 261000, China)

Abstract Objective: To investigate the effects and mechanism of lumbrokinase on expression of NADPH oxidase 4(NOX4), focal adhesion kinase(FAK) and proto-oncogene tyrosine-protein kinase(Src) in unilateral ureteral obstruction(UUO)-induced renal interstitial fibrosis of rats. **Methods:** A rat model of UUO was established through ligation of a unilateral ureter. Fifty male Sprague-Dawley(SD) rats were randomly divided into 5 groups: Sham group, Model group, Low, Medium and High-doses of lumbrokinase treatment groups (0.9×10^5 , 1.8×10^5 , 3.6×10^5 U·kg⁻¹) with intragastric administration for 14 d. Immunohistochemistry was used to detect the protein expression of transforming growth factor $\beta 1$ (TGF $\beta 1$), NOX4, FAK, Src, Western blotting and RT-PCR were used to detect the protein and mRNA level of TGF $\beta 1$, NOX4, FAK, Src and α -smooth muscle actin(α -SMA). **Results:** Compared with the sham group, the protein and mRNA level of TGF $\beta 1$, NOX4, FAK, Src and α -SMA in the model group were increased significantly (all $P < 0.05$). Compared with the UUO group, the protein level of TGF $\beta 1$, NOX4, FAK, Src in treatment groups by immunohistochemistry were decreased significantly ($F=10.57, 7.086, 11.23, 7.750$, all $P < 0.05$), the protein level of TGF $\beta 1$, NOX4, FAK, Src and α -SMA in treatment groups by Western blotting were decreased significantly ($F=8.873, 11.18, 6.902, 8.679, 5.672$, all $P < 0.05$), the mRNA level of TGF $\beta 1$, NOX4, FAK, Src and α -SMA in treatment groups by RT-PCR were decreased significantly ($F=5.546, 4.285, 6.626, 3.911, 5.914$, all $P < 0.05$). **Conclusion:** Lumbrokinase attenuates renal interstitial fibrosis of UUO rats. Its mechanism is related to the regulation of TGF $\beta 1$, FAK, Src, NOX4 and α -SMA expression.

Key words lumbrokinase; unilateral ureteral obstruction; renal interstitial fibrosis; focal adhesion kinase; Src; NADPH oxidase 4

肾间质纤维化(renal interstitial fibrosis, RIF)是所有慢性肾脏疾病(chronic kidney disease, CKD)进

展至终末期的共同病理表现。肾间质炎症细胞浸润,肾小管上皮细胞在细胞因子和生长因子刺激下发生上皮间质转化(mesenchymal transition, EMT),造成细胞外基质(extra cellular matrix, ECM)产生过多,降解减少,并最终取代正常肾单位,导致肾纤维化^[1-3]。如何有效防治肾纤维化已成为肾病领域研究的难题。中药在肾纤维化的防治中体现出独特的优势,

基金项目 天津医科大学留学生科技创新项目(2110-2GJ003);国家自然科学基金青年科学基金(81803101);天津市自然科学基金青年项目(19JJCNCJ12300)

作者简介 王晓敏(1991-),女,硕士在读,研究方向:中医药防治肾脏纤维化作用机理;通信作者:李国霞, E-mail:liguoxia96@163.com。

具有良好的临床疗效^[4-5]。大量研究证实中药具有抗炎、溶纤抗氧化应激等作用,通过调控转化生长因子 $\beta 1$ (epithial -transforming growth factor $\beta 1$, TGF $\beta 1$),可减轻氧化应激损伤,抑制细胞表型转化,防止 ECM 过度堆积,延缓肾纤维化发展^[6-8]。蚓激酶是从传统中药地龙中提取的单体成分,现代药理研究表明蚓激酶具有溶栓、抗凝、抗氧化应激等作用,目前多用于心脑血管疾病、癌症和 CKD 的临床治疗^[9]。本课题组在前期研究中证实蚓激酶能减轻单侧输尿管梗阻(unilateral ureteral obstruction, UUO)大鼠肾脏病理损害,下调 TGF $\beta 1$ 、胶原纤维 I (collagen I)、 α -平滑肌肌动蛋白(alpha-smooth muscle actin, α -SMA)的表达水平,减少胶原纤维产生和 ECM 沉积^[10],初步表明蚓激酶具有治疗肾纤维化作用,但其作用机理尚需进一步探讨。本研究旨在观察蚓激酶对 UUO 大鼠肾脏 NADPH 氧化酶 4(NADPH oxidase 4, NOX4)、黏着斑激酶(focal adhesion kinase, FAK)、Src 激酶(proto-oncogene tyrosine-protein kinase, Src)蛋白和 mRNA 表达的影响,进一步观察蚓激酶治疗肾纤维化的作用机理,为肾纤维化的防治提供新的研究思路。

1 材料和方法

1.1 动物 清结级雄性 Sprague-Dawley (SD) 大鼠(北京华阜康生物科技股份有限公司), 50 只, 8 周龄, 体重 180~200 g, 许可证号: SCXK(京)2014-0004。常规饲养, 动物房温度(21±1)℃, 相对湿度(55±1)%, 12 h 明暗交替, 自由饮水。经适应性喂养 1 周后开始试验。

1.2 药物与试剂 蚓激酶(北京百奥蚓激酶药业有限责任公司)。抗体 TGF $\beta 1$ 、NOX4、FAK、Src、 α -SMA、GAPDH、羊抗鼠 IgG、羊抗兔 IgG (Proteintech), BCA 试剂盒(碧云天生物技术有限公司), ECL 化学发光试剂盒(碧云天生物技术有限公司), 免疫组化试剂盒(中杉金桥公司), DAB 显色液、TRIpure Reagent 试剂盒(Solarbio), Power Up TMSYBERTM Green Master Mix (ThermoFisher), Fast Quant RTKit (TIANGEN)。

1.3 主要仪器 石蜡切片机、烘片机(德国 LEICA 公司), 光学显微镜(日本 OLYMPUS 公司); 电泳仪, 转膜仪, 化学发光分析仪(美国 BIO-RAD 公司)。

1.4 动物分组及 UUO 模型制备 与给药大鼠适应性喂养 7 d 后, 按随机表法分为 5 组, 除假手术组外, 其余组大鼠均按 UUO 模型制备^[11]。大鼠全麻诱导后, 沿下腹中线纵行切口, 并用 4-0 号缝合线结扎左输尿管上 1/3 部, 进行 UUO 手术。假手术组大鼠采用相同的手术方式但不结扎输尿管。术后第 2 天开始

给药, 蚓激酶组按 0.9×10^5 、 1.8×10^5 、 3.6×10^5 U·kg⁻¹ 剂量灌胃给药, 假手术组及模型组大鼠等量生理盐水灌胃, 每日 1 次, 连续 14 d。术后第 14 天处死各组大鼠。腹腔打开后在距肾门 1 mm 处切取左侧梗阻肾脏, 部分肾组织 4% 多聚甲醛液固定 24 h, 常规脱水石蜡包埋, 用于免疫组织化学检测, 部分肾组织冻存管分装, 冻存于 -80℃ 冰箱, 用于 Western 印迹和 RT-PCR 实验。

1.5 免疫组化法检测大鼠肾组织 TGF $\beta 1$ 、NOX4、FAK、Src 表达变化 石蜡切片, 恒温干燥箱 65℃, 40 min 后经二甲苯脱蜡及梯度酒精水化, 微波加热进行抗原修复, 3% H₂O₂ 阻断内源性过氧化物酶, 10% 山羊血清封闭后, 分别滴加一抗[TGF $\beta 1$ (1:100)、FAK (1:100)、Src (1:100)、NOX4 (1:100)], 4℃ 孵育过夜, PBS 冲洗后, 滴加辣根标记酶工作液标记, 室温孵育 10 min, PBS 冲洗后滴加 DAB 显色液孵育 5 min, 自来水冲洗, 苏木素复染 20 s, 梯度酒精脱水, 二甲苯透明, 中性树胶封片。每张切片选取 3 个非重叠视野采图。采用 Image-Pro Plus 6.0 软件测定单位面积阳性染色区域平均光密度值 (IOD/area) 并做统计分析。

1.6 Western 印迹法检测大鼠肾组织 TGF $\beta 1$ 、NOX4、FAK、Src、 α -SMA 表达变化 取肾组织标本 30 mg, 加入预冷 RIPA 裂解缓冲液, 研磨后静置于冰上裂解 60 min, 4℃, 12 000×g 离心, 取上清。BCA 法测定蛋白浓度。10% SDS-PAGE 胶进行电泳蛋白分离, 并将目的蛋白转移至 PVDF 膜上, 5% 脱脂奶粉封闭 2 h 后, 将膜与一抗[TGF $\beta 1$ (1:500)、FAK (1:1 000)、Src (1:1 000)、NOX4 (1:1 000)、 α -SMA (1:1 000)、GAPDH (1:10 000)] 4℃ 孵育过夜。加入二抗[羊抗兔 IgG (1:10 000), 羊抗鼠 IgG (1:10 000)] 室温孵育 2 h。使用电化学发光溶液 (ECL) 进行曝光显影, 并用凝胶成像系统进行扫描拍照。以 GAPDH 为内参进行条带灰度分析。将目标条带与参考条带的灰度比值作为蛋白的相对表达, 采用 Image J 14.1 软件进行图片处理。

1.7 实时荧光定量 PCR (RT-PCR) 检测大鼠肾组织 TGF $\beta 1$ 、NOX4、FAK、Src、 α -SMA 在 mRNA 水平上的表达变化 Trizol 试剂盒提取组织总 RNA, 并转录为 cDNA, 以 cDNA 为模板进行 PCR 反应。反应体系为 10 μ L [Mix 5 μ L, 无 RNA 酶水 3 μ L, 上、下游引物各 0.5 μ L, cDNA 1 μ L], 反应条件为: 95℃ 预变性 5 min; 95℃ 变性 15 s, 60℃ 退火 1 min, 重复 40 个循环后, 65℃ 延伸 10 min。扩增反应后读取 Ct 值, 以 GAPDH 为内参, 用 2^{- $\Delta\Delta$ Ct} 法计算基因的相对表达量。引物序列见表 1。

表 1 PCR 引物序列

Tab 1 Primer sequence

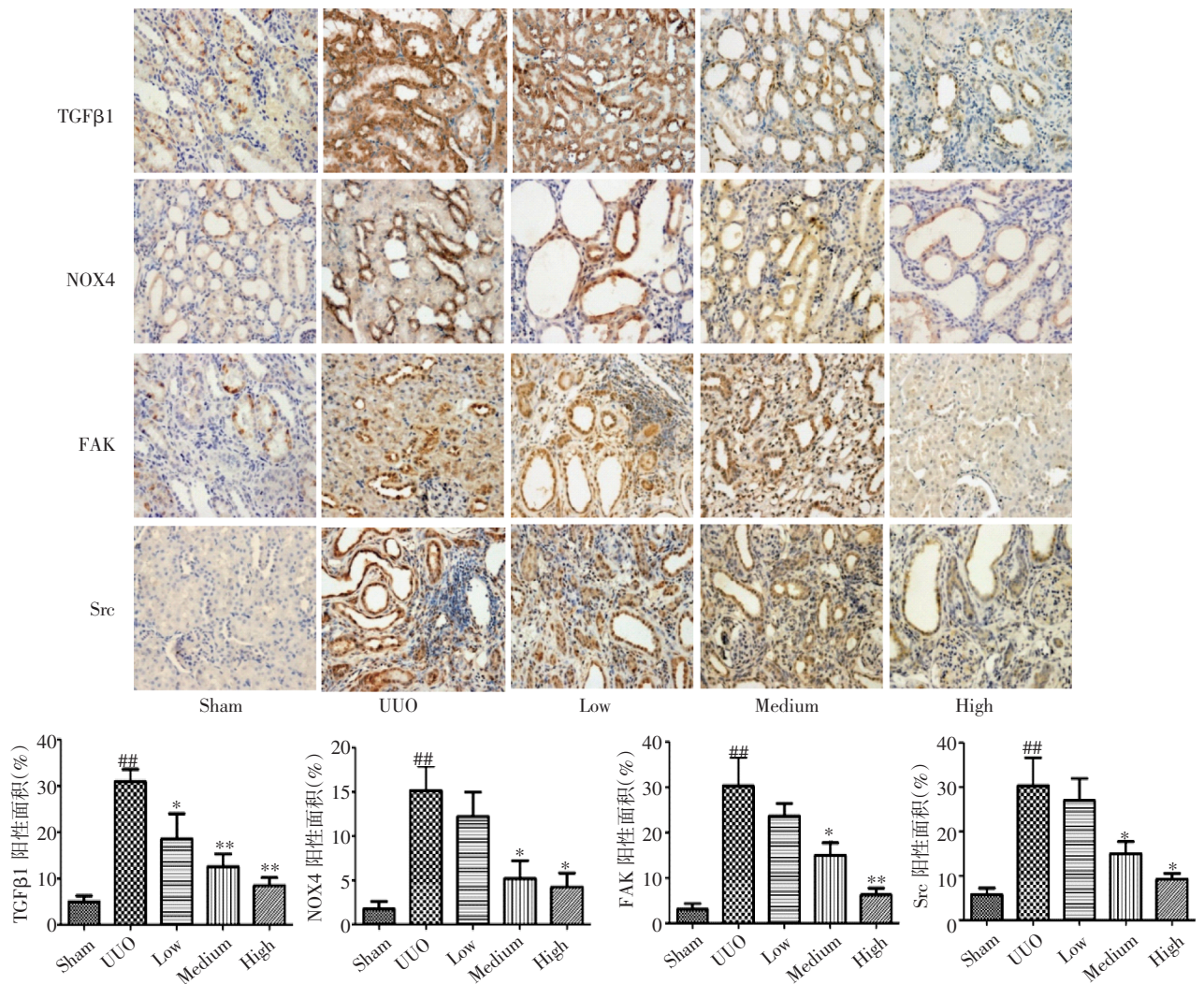
基因	引物序列(5'→3')
TGFβ1	F:CTCAACACCTGCACAGCTCC R:AGTTGGCATGGTAGCCCTTG
NOX4	F:TGTTGGCCTAGCATTGTGT R:CACTGAGAAGTTCAGGGCGT
Src	F:GTGTCACCGTCTCACTACCG R:TGGGTTCTTCTGACACCACG
FAK	F:AGGACCATCCCTGTTCTCCA R:GGGAAGACAGACGCATGAGAT
α-SMA	F:CCCCTGAAGAGCATCCCACCCTG R:GGCCAGCCAGATCCAGACGCAT
GAPDH	F:AGATGGTGAAGGTCGGTGTG R:CTGGAAGATGGTGATGGGTT

1.8 统计学处理 使用 Graph Pad Prism5.0 软件进行统计学分析。数据服从正态分布,以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析。 $P < 0.05$ 为差异有统

计学意义。

2 结果

2.1 蚓激酶对 UUO 大鼠肾脏 TGFβ1、NOX4、FAK、Src 蛋白表达的影响 假手术组 TGFβ1、NOX4、FAK、Src 均仅有少量表达。TGFβ1 在肾小管上皮细胞中呈棕褐色颗粒,与假手术组比较,模型组 TGFβ1 表达明显上升($F=10.57, P < 0.01$),与模型组比较,蚓激酶组 TGFβ1 阳性区域均有不同程度减少 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);NOX4 主要在肾小管细胞中表达,与假手术组比较,模型组 NOX4 蛋白表达量明显上升($F=7.086, P < 0.01$),与模型组相比,蚓激酶低中高剂量组 NOX4 蛋白表达水平均有不同程度下降($P < 0.05$); FAK、Src 主要在细胞核表达,与假手术组相比,模型组 FAK、Src 表达量明显升高($F=11.23、7.750, P < 0.01$),与模型组相比, 蚓激酶剂量组 FAK、Src 蛋白表达均有不同程度降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),见图 1。



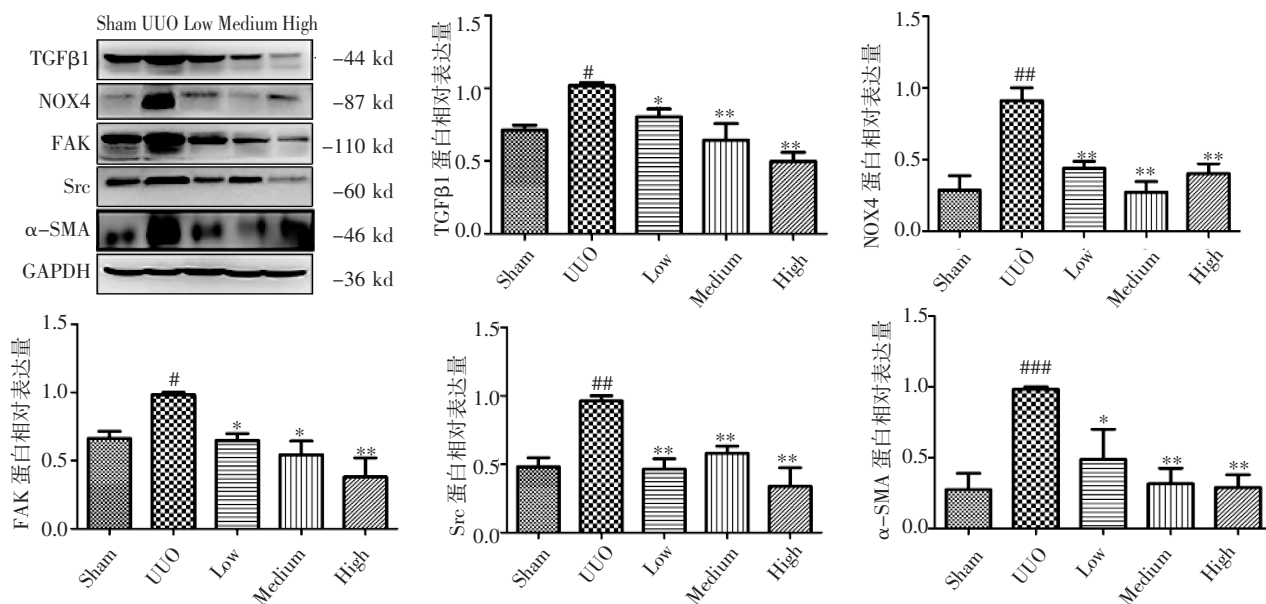
注:Sham:假手术组;UUO:模型组;Low:蚓激酶低剂量组;Medium:蚓激酶中剂量组;High:蚓激酶高剂量组;与假手术组比较,* $P < 0.05$,
$P < 0.01$;与模型组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$

图 1 免疫组化法检测大鼠肾脏 TGF β1、NOX4、FAK、Src 表达变化(200×)

Fig 1 Immunohistochemistry was used to detect the expression of TGF β1,NOX4,FAK,Src on renal interstitial fibrosis in UUO rats(200×)

2.2 蚓激酶对UUO大鼠肾脏TGFβ1、NOX4、FAK、Src、α-SMA蛋白表达的影响 与假手术组相比,模型组TGFβ1、NOX4、FAK、Src、α-SMA蛋白表达水平均显著升高($F=8.873, 11.18, 6.902, 8.679, 5.672, P<0.05$ 或 $P<0.01$ 或 $P<0.001$);与模型组相比,蚓激酶低、中、高剂量组TGFβ1、NOX4、FAK、Src和α-SMA蛋白表达水平均有不同程度下降($P<0.05$ 或 $P<0.01$),见图2。

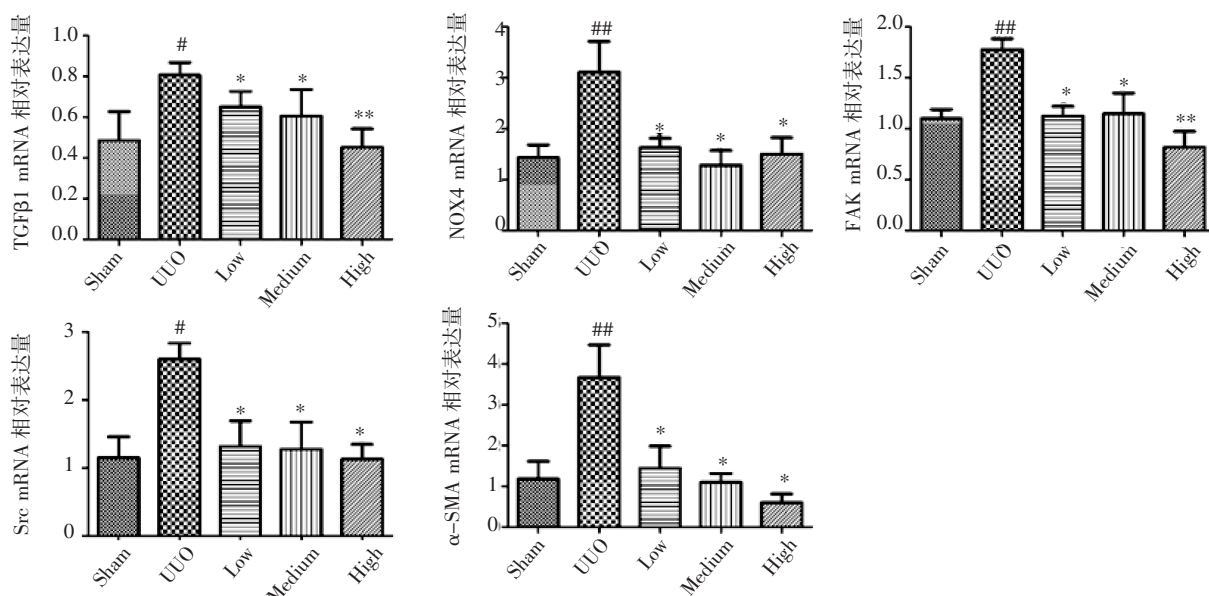
2.3 蚓激酶对UUO大鼠肾脏TGFβ1、NOX4、FAK、Src、α-SMA在mRNA水平上表达的影响 RT-PCR结果显示:模型组大鼠肾脏TGFβ1、NOX4、FAK、Src、α-SMA在mRNA表达上的水平均较假手术组上升($F=5.546, 4.285, 6.626, 3.911, 5.914, P<0.05$ 或 $P<0.01$),与模型组相比,蚓激酶剂量组上述mRNA表达水平均有不同程度下降($P<0.05$ 或 $P<0.01$),见图3。



注:Sham:假手术组;UUO:模型组;Low:蚓激酶低剂量组;Medium:蚓激酶中剂量组;High:蚓激酶高剂量组;与假手术组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$,*** $P<0.001$;与模型组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$

图2 Western印迹法检测大鼠肾脏TGFβ1、NOX4、FAK、Src、α-SMA蛋白表达变化

Fig 2 Western blotting was used to detect the protein expression of TGFβ1, NOX4, FAK, Src, α-SMA on renal interstitial fibrosis in UUO rats



注:Sham:假手术组;UUO:模型组;Low:蚓激酶低剂量组;Medium:蚓激酶中剂量组;High:蚓激酶高剂量组;与假手术组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$,*** $P<0.001$;与模型组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$

图3 RT-PCR检测大鼠肾脏TGFβ1、NOX4、FAK、Src、α-SMA mRNA表达变化

Fig 3 RT-PCR was used to detect the mRNA of TGFβ1, NOX4, FAK, Src, α-SMA on renal interstitial fibrosis in UUO rats

3 讨论

CKD 患病率和死亡率逐年攀升,如何有效预防并延缓 CKD 进展为终末期肾病是当前研究的热点。RIF 是所有进展至终末期 CKD 的共同途径和结果,肾小球硬化和肾小管间质纤维化征是其主要特征。UUO 是经典的肾间质纤维化模型,建模后第 2 天,梗阻侧肾脏即可见部分肾小管上皮细胞空泡变性,部分管腔扩张,少量视野中可见肾间质水肿和少量炎性细胞浸润,随着梗阻时间的延长,肾小管损伤及间质纤维化逐渐加重^[12]。TGF β 1 是诱导肾纤维化最关键的细胞因子,在直接刺激细胞发生 EMT 的同时,还可抑制胶原纤维降解,致使 ECM 过度堆积,参与肾纤维化全过程^[13]。在本研究中,UUO 大鼠肾组织 TGF β 1 水平显著增加,提示输尿管梗阻损伤后 TGF β 1 信号被激活,并参与了 RIF 过程。蚓激酶组 TGF β 1 基因和蛋白表达水平均明显降低,说明蚓激酶抑制 TGF β 1 表达,从而减轻肾纤维化。

氧化应激在肾间质纤维化中具有重要作用,NOX4 主要表达在肾小管上皮细胞,是细胞内氧化活性蛋白,在缺血缺氧状态下,NOX4 迅速磷酸化,并诱导 ROS 产生^[14]。Zhou 等^[15]发现阻断 TGF β 1 诱导的纤维基因和蛋白表达,可抑制 NOX4 介导的 ROS 生成。本实验结果显示,UUO 大鼠肾组织中 NOX4 蛋白和 mRNA 水平均显著上升,这可能是 UUO 大鼠梗阻侧在缺血缺氧状态下刺激了 NOX4 的活化。蚓激酶各治疗组 NOX4 表达均明显降低,说明蚓激酶通过抗氧化应激而起到治疗作用。

FAK 是一种细胞质酪氨酸激酶,可调节细胞黏附和增殖,Src 属于非受体酪氨酸激酶,影响细胞增殖、分化和转移运动。作为生长因子和整合素下游介导信号的重要调节因子,二者在癌症、纤维化等疾病的发病机制中起着关键作用^[16-17]。Zhang 等^[18]研究发现整合素 β 1、FAK、Src 激酶和适配蛋白 Grb2 在 TGF β 1 刺激后迅速激活,并增强整合素与 FAK 或 Src 激酶的相互作用,促进整合素 β 1、FAK 和 Src 激酶,复合物的形成,FAK 抑制剂 TAE226 和 Src 激酶抑制剂 PP2 处理后,TGF β 1 诱导的足细胞凋亡显著降低。本研究结果显示 UUO 大鼠肾脏 FAK、Src 表达水平均显著上调,表明 FAK、Src 在肾间质纤维化过程中起重要作用,蚓激酶可通过降低 FAK、Src 的表达而起到抗肾间质纤维化作用。

UUO 大鼠肾脏梗阻侧在缺血缺氧环境下,组织中 TGF β 1 水平明显上调,NOX4 表达显著上升,FAK 和 Src 磷酸化,导致细胞发生 EMT,由此肌成纤维细胞标志物 α -SMA 表达水平显著增加,提示 TGF β 1、NOX4、FAK、Src 与肾间质纤维化发展联系密切。蚓激酶干预后,UUO 大鼠 TGF β 1、NOX4、FAK、

Src 蛋白和基因表达水平均显著下调。综上,蚓激酶可能通过抑制 TGF β 1 信号通路,降低 NOX4 活性,减轻氧化应激损伤,阻抑 FAK 和 Src 激酶磷酸化,抑制细胞表型转化,多靶点作用,减轻 UUO 大鼠肾脏损害,延缓肾纤维化进程。本研究尚不足以完全阐明蚓激酶治疗肾纤维化的作用机制,其具体机制仍需进一步探讨。

参考文献:

- [1] Nogueira A, Pires M J, Oliveira P A. Pathophysiological mechanisms of renal fibrosis: a review of animal models and therapeutic strategies[J]. *In Vivo*, 2017, 31(1):1
- [2] Humphreys B D. Mechanisms of renal fibrosis[J]. *Annu Rev Physiol*, 2018, 80(1):309
- [3] Chan S C, Zhang Y, Shao A, et al. Mechanism of fibrosis in HNF1B-related autosomal dominant tubulointerstitial kidney disease[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2018, 29(10):2493
- [4] 郑亚威, 吴力菲, 赵宇浩, 等. 活血化瘀类中药注射剂治疗高血压肾病的网状 Meta 分析[J]. *中国中药杂志*, 2020, 45(20):4997
- [5] 魏晓露, 李春雨, 苏玮莲, 等. 扶肾降浊方对肾间质纤维化大鼠的治疗作用及 TGF- β 1, HGF, Col I 蛋白表达的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2016, 22(6):114
- [6] Li Z, Hong Z, Peng Z, et al. Acetylshikonin from Zicao ameliorates renal dysfunction and fibrosis in diabetic mice by inhibiting TGF- β 1/Smad pathway[J]. *Hum Cell*, 2018, 31(3):199
- [7] Wang Y, Zhao H, Wang Q, et al. Chinese herbal medicine in ameliorating diabetic kidney disease via activating autophagy[J]. *J Diabetes Res*, 2019:9030893
- [8] Zhou X, Bai C, Sun X, et al. Puerarin attenuates renal fibrosis by reducing oxidative stress induced-epithelial cell apoptosis via MAPK signal pathways *in vivo* and *in vitro*[J]. *Ren Fail*, 2017, 39(1):423
- [9] 黄庆, 李志武, 马志国, 等. 地龙的研究进展[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2018, 24(13):220
- [10] 申坤, 李春雨, 苏玮莲, 等. 蚓激酶对 UUO 模型大鼠肾间质纤维化的影响[J]. *中药新药与临床药理*, 2018, 29(4):404
- [11] 陈香美. 肾脏病学实验技术操作规程[M]. 北京:人民军医出版社, 2011
- [12] 谢盛彬, 王伟铭, 陈楠. UUO 模型大鼠肾间质纤维化动态进展及 α -SMA、TGF- β 1 和 VDR 表达变化[J]. *上海交通大学学报(医学版)*, 2010, 30(7):752
- [13] Loboda A, Sobczak M, Jozkowicz A, et al. TGF- β 1/smads and miR-21 in renal fibrosis and inflammation[J]. *Mediators Inflamm*, 2016(7):8319283
- [14] Wermuth P J, Mendoza F, Jimenez S A. Abrogation of transforming growth factor- β -induced tissue fibrosis in mice with a global genetic deletion of Nox4[J]. *Lab Invest*, 2019, 99(4):470
- [15] Zhou B, Mu J, Gong Y, et al. Brd4 inhibition attenuates unilateral ureteral obstruction-induced fibrosis by blocking TGF- β -mediated Nox4 expression[J]. *Redox Biol*, 2017, 11:390
- [16] Lv P C, Jiang A Q, Zhang W M, et al. FAK inhibitors in cancer, a patent review[J]. *Expert Opin Ther Pat*, 2018, 28(2):139
- [17] Wang J, Zhuang S. Src family kinases in chronic kidney disease[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2017, 313(3):F721
- [18] Zhang Y J, Tian Z L, Yu X Y, et al. Activation of integrin β 1-focal adhesion kinase-RasGTP pathway plays a critical role in TGF β 1-induced podocyte injury[J]. *Cell Signal*, 2013, 25(12):2769

(2020-11-04 收稿)