

Exendin-4 对高糖培养肾小球系膜细胞 ECM 分泌的影响及相关机制

林晓璐 张红 夏小慧 陈娟 张日东 章向成 李伟

【摘要】 目的 研究exendin-4 对高糖培养大鼠肾小球系膜细胞(GMCs)细胞外基质分泌的影响及相关机制。**方法** 体外培养GMCs,分为4组:正常对照组(NC组)、正常对照+exendin-4组(NCE组)、高糖组(HG组)、高糖+exendin-4组(HGE组);HGE组细胞分别给予3,5,10,15,30 nmol/L exendin-4 培养12,24,48 h,采用细胞增殖与活性检测试剂盒(Cell Counting Kit-8, CCK8)法测定细胞增殖情况,确定exendin-4 的最适作用时间与浓度。ELISA测定细胞上清中细胞外基质蛋白纤维连接蛋白(FN)和Ⅳ型胶原蛋白水平。RT-PCR检测FN、Ⅳ型胶原蛋白及单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、细胞间黏附分子-1(ICAM-1)、转化生长因子- β_1 (TGF- β_1) mRNA的表达。Western印迹测定核因子- κ B 的表达。**结果** (1)高糖培养的GMCs给予10 nmol/L exendin-4 培养24 h后,其细胞增殖率较3 nmol/L、5 nmol/L的exendin-4 明显降低($F=120.808$, $P<0.05$);与15 nmol/L、30 nmol/L相比,10 nmol/L(HGE组)的exendin-4 对GMCs增殖率无明显变化(P 均 >0.05)。(2)与NC组、NCE组相比,HG组FN、Ⅳ型胶原蛋白分泌及mRNA以及MCP-1、TNF- α 、ICAM-1、TGF- β_1 mRNA的表达均显著升高($F=6.894\sim166.914$, P 均 <0.05);与HG组相比,HGE组FN、Ⅳ型胶原蛋白分泌及mRNA以及TNF- α 、MCP-1、ICAM-1、TGF- β_1 mRNA表达量明显降低($F=6.894\sim166.914$, P 均 <0.05)。(3)与NC组、NCE相比,HG组核因子- κ B 蛋白的表达明显增多($F=133.1$, $P<0.05$)。与HG组相比,HGE组核因子- κ B 蛋白的表达则明显受到抑制($F=133.1$, $P<0.05$)。**结论** Exendin-4 抑制高糖培养GMCs的细胞外基质分泌,与其抑制核因子- κ B 介导的炎性反应有关。

【关键词】 Exendin-4;肾小球系膜细胞;炎症;核因子- κ B

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81200595,81400807);江苏省卫计委科研项目(H201253)

Effects and mechanism of exendin-4 on extracellular matrix secretion of mesangial cells cultured in high glucose Lin Xiaolu*, Zhang Hong, Xia Xiaohui, Chen Juan, Zhang Ridong, Zhang Xiangcheng, Li Wei.

*Graduated School of Xuzhou Medical College, Xuzhou 221000, China

Corresponding author: Li Wei, Email: Liwei.190@hotmail.com

【Abstract】 Objective To explore the effects and mechanism of exendin-4 on the secretion of extracellular matrix in high glucose-cultured glomerular mesangial cells (GMCs). **Methods** GMCs were cultured *in vitro* and divided into 4 groups: normal control (NC) group, normal control with exendin-4 (NCE) group, high glucose (HG) group, high glucose with exendin-4 (HGE) group. Cells in HGE group were treated with 3, 5, 10, 15 or 30 nmol/L exendin-4 for about 12, 24 or 48 hours, respectively. The proliferation and cell activity of GMCs were used to assess the most suitable culture time and concentration using Cell Counting Kit-8. The levels of fibronectin (FN) and collagen type IV in the cell supernatant were measured by ELISA. The levels of collagen type IV, FN, monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1), tumor necrosis factor (TNF)- α , intercellular cell adhesion molecule-1 (ICAM-1), transforming growth factor- β_1 (TGF- β_1) were evaluated by RT-PCR. The expression of nuclear factor- κ B (NF- κ B) in each group was analyzed by Western blotting. **Results** (1) After treated by 10 nmol/L exendin-4 for 24 hours, the growth rate of

GMCs cultured in high glucose was significantly decreased compared with 3 nmol/L or 5 nmol/L ($F=120.808$, $P<0.05$), but not different from 15 nmol/L or 20 nmol/L (all $P>0.05$). (2) Compared with NC group and NCE group, the expression of FN, collagen type IV, as well as their mRNA level and the inflammatory mediators such as MCP-1, TNF- α , ICAM-1 and TGF- β_1 were significantly increased in HG group ($F=6.894-166.914$, all $P<0.05$). Compared with HG group, the protein and mRNA level of FN and collagen type IV, and the expression of TNF- α , MCP-1, ICAM-1 and TGF- β_1 were inhibited greatly in HGE group ($F=6.894-166.914$, all $P<0.05$). (3) Compared with NC group and NCE group, the expression of NF- κ B increased significantly in HG group ($F=133.1$, $P<0.05$). Compared with HG group, the expression of NF- κ B was suppressed significantly in HGE group ($F=133.1$, $P<0.05$). **Conclusion** Exendin-4 inhibits the secretion of extracellular matrix of GMCs cultured in high glucose, and the mechanism is associated with the inhibition of inflammation induced by NF- κ B.

【Key words】 Exendin-4; Glomerular mesangial cells; Inflammation; Nuclear factor- κ B

Fund program: National Natural Science Foundation of China(81200595,81400807); Jiangsu Provincial Commission of Health and Family Planning(H201253)

糖尿病肾病(DN)是糖尿病慢性微血管并发症之一,其基本病理改变为系膜细胞增生、基底膜增厚、细胞外基质(ECM)积聚及肾小球硬化、肾脏纤维化,最终导致肾功能衰竭。代谢紊乱和血流动力学异常作为启动子,激活了肾组织内多种炎性分子及炎性信号通路,这些因素共同导致了肾脏的结构和功能的异常^[1]。更好地了解 DN 中的炎性反应,将有助于找到新的治疗人类糖尿病肾脏疾病的新策略。

胰高血糖素样肽(GLP)-1 与 GLP-1 受体(GLP-1R)结合后,通过促进胰岛 β 细胞分泌胰岛素、抑制胰岛 α 细胞分泌胰高血糖素、抑制食欲、延缓胃排空等途径降低血糖^[2]。Exendin-4 与人 GLP-1 有 53% 的同源性,与 GLP-1R 高度亲和,其特殊的分子结构使还其能有效抵抗二肽基肽酶 IV 的降解^[3-4]。国内、外研究发现,exendin-4 干预治疗可改善糖尿病大鼠尿白蛋白排泄、肾小球肥大、系膜基质扩张,不仅能抑制 ECM 成分的合成,还能增强 ECM 成分的降解^[5-6]。目前,exendin-4 发挥肾脏保护作用的具体机制尚未研究透彻。本研究旨在通过建立体外模型,观察 exendin-4 对高糖环境下的大鼠肾小球系膜细胞(GMCs) ECM 分泌及炎性反应信号的影响,初步探讨其中的机制。

1 材料与方法

1.1 主要试剂 低糖及高糖 DMEM 培养基、胎牛血清购自 Gibco 公司,exendin-4 购自 Ana Spec 公司,细胞增殖与活性检测试剂盒(CCK8)购自上海七海复泰生物科技有限公司,ELISA 试剂盒购自美国 RB SCIENTIFIC 公司,Trizol 总 RNA 抽提试剂盒购自美国 Invitrogen 公司,反转录试剂盒、BCA 蛋白浓度测定试剂盒(增强型)购自上海碧云天生物技术研究,

兔抗核因子- κ B p65 单克隆抗体购自德国 CST 公司,磷酸酶标记山羊抗兔 IgG 购自上海优宁维生物科技有限公司。PCR 引物由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。

1.2 实验方法

1.2.1 细胞培养 选取大鼠 GMCs HBZY-1(细胞株名称,徐州医学院药理学实验室),在无菌条件下 0.25% 胰酶消化 2 min,观察细胞分散成拉网状,终止消化。加入 DMEM 培养液反复轻柔吹打,并均匀接种,置 37℃、5% CO₂ 温箱中孵育,传代,3~6 代细胞用于实验。当细胞接近亚融合状态时改用无血清培养液培养 24 h 以同步化,随后以 GMCs 为实验对象。采用含 10% 胎牛血清的完全培养基培养,置于 37℃、5% CO₂ 的培养箱内。

1.2.2 实验分组 (1) 正常对照组(NC 组):采用含糖 5.6 mmol/L 的 DMEM 培养基培养。(2) 正常对照 + exendin-4 组(NCE 组):采用 exendin-4 (10 nmol/L) 预处理 24 h,弃去培养基,然后加入低糖(5.6 mmol/L)培养基和 exendin-4 (10 nmol/L) 共孵育。(3) 高糖组(HG 组):采用含糖 30 mmol/L 的 DMEM 培养基培养。(4) 高糖 + exendin-4 组(HGE 组):分别采用 exendin-4 (3, 5, 10, 15, 30 nmol/L) 预处理 24 h,弃去培养基,然后加入高糖(30 mmol/L)培养基和 exendin-4 (3, 5, 10, 15, 30 nmol/L) 共孵育,记为 HGE3 组、HGE5 组、HGE 组、HGE15 组、HGE30 组。细胞同步化 24 h 后分别按上述要求处理细胞用于实验。

1.2.3 CCK-8 法测定 GMCs 的增殖情况 以确定 exendin-4 的最适作用时间与浓度 取对数生长期的 GMCs,按每孔 3 000 个细胞悬液 100 μ l 接种在 96 孔培养板上,待细胞贴壁后,换用无血清的培养基饥

饿 24 h,使细胞同步于 G₀ 期后,HGE组细胞分别予 3,5,10,15,30 nmol/L exendin-4 培养,每组设 5 个复孔,另外设空白对照孔(只有培养液,无细胞)。分别将培养板放入37℃、5% CO₂ 恒温培养箱中培养 12,24,48 h后,选择450 nm波长,在酶联免疫检测仪上测定各孔吸光值,记录结果,所得exendin-4 最适作用时间与浓度结果在以下的实验数据中均用HGE组表示。

1.2.4 ELISA 测定细胞上清中ECM纤维连接蛋白(FN)和Ⅳ型胶原蛋白水平 收集 24 h 处理组细胞上清液,按ELISA试剂盒说明书操作,相同标本设 3 个复孔,重复 3 次,在酶标仪450 nm测定吸光度值,根据标准曲线及吸光度值计算各样本的相应浓度。

1.2.5 RT-PCR 检测 FN、Ⅳ型胶原蛋白、单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)、肿瘤坏死因子-α(TNF-α)、细胞间黏附分子-1(ICAM-1)、转化生长因子-β₁(TGF-β₁) mRNA表达 按照 Trizol 法提取组织总 RNA,采用紫外分光光度法测定RNA在260 nm和280 nm的吸光度,计算RNA含量,逆转录合成cDNA。PCR引物序列见表 1,反应体系为25 μl,反应条件:94℃ 3 min,94℃ 30 s,55℃ 30 s,72℃ 1 min,72℃ 5 min 30 个循环。取各样本目的基因PCR产物6 μl、β-actin产物2 μl,用2.0% 琼脂糖凝胶电泳分离,110 V电泳50 min,EB 染色。凝胶成像分析系统采集电泳图像,用Image J软件计算目的基因相对于内参β-actin的灰度值。

1.2.6 Western 印迹检测核因子-κB 蛋白的表达 取 GMCs 消化后,用 PBS 清洗 3 遍后,加入裂解液,裂解 30 min 后移入 1.5 ml EP 管中,于 4℃ 下 12 000 r/min($r=9.5$ cm),离心10 min,取上清分装于0.5 ml离心管中并置于-80℃保存。采用BCA法测定总蛋白浓度,取 15 μl(7.5 μg)蛋白样品进行 SDS-PAGE电泳,转膜,BSA封闭 2 h,4℃置于一抗(1:1 000)孵育过夜,TBST摇动漂洗10 min×3 次,加入二抗(1:1 000)并于室温下孵育2 h,TBST洗膜 3 次各10 min,显色,扫描仪记录实验结果。应用 Image J软件分析目的蛋白及内参蛋白灰度值,计算相对灰度值。

1.3 统计学处理 所有正态分布的计量数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,两组间比较采用 t 检验。应用 SPSS16.0 软件进行统计学处理, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

表 1 目的基因及内参基因引物序列

基因名称	引物	引物序列	产物长度(bp)
FN	上游引物	5'-GAGTCCAGTCCACAGCCATT-3'	200
	下游引物	5'-GAGCCCTGACACAATCACG-3'	
MCP-1	上游引物	5'-TCCACCACTATGCAGGCTC-3'	100
	下游引物	5'-GGGCATTAAGTCATCTGGCT-3'	
TNF-α	上游引物	5'-CGTCAGCCGATTTGCCATTTTCAT-3'	381
	下游引物	5'-GGACCCAGAGCCACAATCCCT-3'	
ICAM-1	上游引物	5'-ATGACGCTCACCTTTAGCA-3'	108
	下游引物	5'-CTCCCAGGCATTCTCTTTGA-3'	
TGF-β ₁	上游引物	5'-TCCCGTGGCTTCTAGTGCTGA-3'	345
	下游引物	5'-TGTGTGTGATGCTTTGGTTTGTGTC-3'	
Ⅳ型胶原蛋白	上游引物	5'-GCCCTACGTTAGCAGATGTACC-3'	217
	下游引物	5'-TATAAATGGACTGGCTCGGAAT-3'	
β-actin	上游引物	5'-CCCGCGAGTACAACCTCTT-3'	442
	下游引物	5'-AAGGTCTCAAACATGATCTGGGT-3'	

注:FN:纤维连接蛋白;MCP-1:单核细胞趋化蛋白-1;TNF-α:肿瘤坏死因子-α;ICAM-1:细胞间黏附分子-1;TGF-β₁:转化生长因子-β₁;β-actin:β-肌动蛋白

2 结果

2.1 Exendin-4 最适作用时间与浓度 高糖培养的 GMCs给予10 nmol/L的exendin-4 培养,其HGE组细胞增殖率较HGE3组、HGE5组明显降低($P<0.05$);与HGE15组、HGE30组相比,10 nmol/L的 exendin-4 HGE组对GMCs增殖率无明显变化($P>0.05$)。同时高糖培养下GMCs给予10 nmol/L的exendin-4 处理 24 h,其细胞增殖率较 12 h、48 h 均明显降低($P<0.05$),见表 2。

2.2 Exendin-4 对GMCs细胞上清 FN 和Ⅳ型胶原蛋白的影响 与 NG 组、NGE组相比,HG 组 FN、Ⅳ型胶原蛋白的表达升高($F=72.139、140.519,P$ 均 <0.05);与 HG 组相比,HGE组的FN及Ⅳ型胶原蛋白表达降低($F=72.139、140.519,P$ 均 <0.05),见图 1。

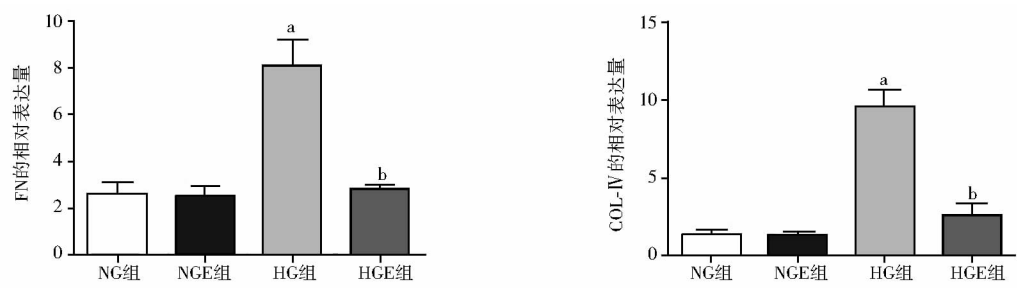
2.3 Exendin-4 对 GMCs FN、Ⅳ型胶原蛋白、MCP-1、TNF-α、ICAM-1、TGF-β₁ mRNA表达的影响 与 NG 组、NGE组相比,HG 组 FN、Ⅳ型胶原蛋白、MCP-1、TNF-α、ICAM-1、TGF-β₁ mRNA 的表达升高($F=6.894 \sim 166.914,P$ 均 <0.05);与 HG 组相比,HGE组 FN、Ⅳ型胶原蛋白、MCP-1、TNF-α、ICAM-1、TGF-β₁ mRNA表达降低($F=6.894 \sim 166.914,P$ 均 <0.05),见图 2。

2.4 Exendin-4 对 GMCs 核因子-κB 表达的影响 与 NG 组、NGE组相比,HG组GMCs中核因子-κB的表达量明显增多($F=133.1,P<0.05$);与 HG 组相比,HGE组核因子-κB 的表达量降低($F=133.1,P<0.05$),见图 3。

表 2 Exendin-4 对 GMCs 增殖的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	OD 值			F 值	P 值
	12 h	24 h	48 h		
NG 组	1.41 ± 0.23	1.25 ± 0.08	1.18 ± 0.07	2.781	0.102
HG 组	1.61 ± 0.20 ^a	1.45 ± 0.14 ^a	1.26 ± 0.16 ^a	4.947	0.027
HGE3 组	1.53 ± 0.19 ^b	1.17 ± 0.08 ^b	1.17 ± 0.12 ^b	10.316	0.002
HGE5 组	1.11 ± 0.14 ^b	0.69 ± 0.15 ^b	0.85 ± 0.08 ^b	12.671	0.001
HGE 组	0.67 ± 0.13 ^b	0.30 ± 0.03 ^b	0.54 ± 0.04 ^b	24.024	0.000
HGE15 组	0.62 ± 0.12	0.27 ± 0.60	0.85 ± 0.14	33.416	0.000
HGE30 组	0.58 ± 0.13	0.26 ± 0.06	0.91 ± 0.14	35.760	0.000
F 值	29.302	120.808	23.165		
P 值	0.000	0.000	0.000		

注:与 NG 组相比,^a $P < 0.05$;与 HG 组相比,^b $P < 0.05$;NG 组:低糖组;HG 组:高糖组;HGE3、HGE5、HGE、HGE15、HGE30 组:高糖加 3、5、10、15、30 nmol/L exendin-4 组;GMCs:肾小球系膜细胞



注:与 NG 组、NGE 组相比,^a $P < 0.05$;与 HG 组相比,^b $P < 0.05$;NG 组:低糖组;NGE 组:低糖加 exendin-4 (10 nmol/L) 组;HG 组:高糖组;HGE 组:高糖加 exendin-4 (10 nmol/L) 组;FN:纤维连接蛋白;COL-IV:IV 型胶原蛋白

图 1 Exendin-4 对高糖条件下系膜细胞 FN、IV 型胶原蛋白的影响

3 讨论

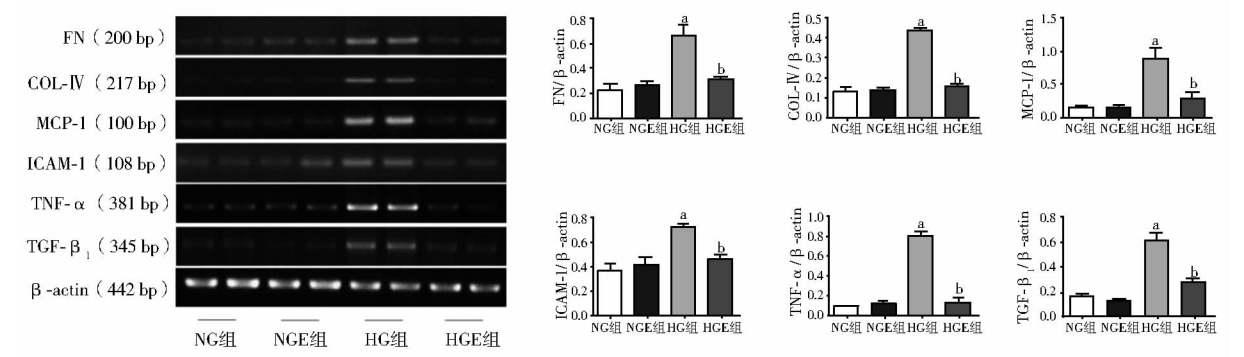
DN 是糖尿病最常见的微血管并发症,早期出现肾小球内高压以及肾小球滤过率增加,肾小球 ECM 合成增加及基底膜增厚,导致肾小球系膜区扩张,逐渐发展成为肾脏的纤维化和硬化,最终导致肾功能衰竭。DN 的发病机制复杂,迄今尚未完全清楚。由高血糖介导的代谢异常和血流动力学改变是导致 DN 的主要原因。最近越来越多的研究发现,氧化应激、蛋白质非酶糖基化、蛋白激酶 C 途径以及肾素-血管紧张素系统激活、炎症反应(如炎症细胞、炎症细胞因子激活)等途径也与 DN 的发生、发展有关^[7]。这些途径均可以引起核因子- κ B 活性增强,活化后的核因子- κ B 进一步启动许多与 DN 相关基因的转录。因此,核因子- κ B 在 DN 发生、发展中起重要作用^[8]。

ECM 是肾小球系膜区围绕系膜细胞的非弥散的固相介质,能够调节系膜细胞增生和分泌各种活性物质,其中 FN 和 IV 型胶原蛋白是构成 ECM 的重要成分。本实验选取大鼠 GMCs,并对细胞上清中 FN 和 IV 型胶原蛋白的分泌及表达进行测定,证实高糖可使 FN 和 IV 型胶原蛋白的含量明显升高,这与

Nahman 等^[9]的研究结果一致。

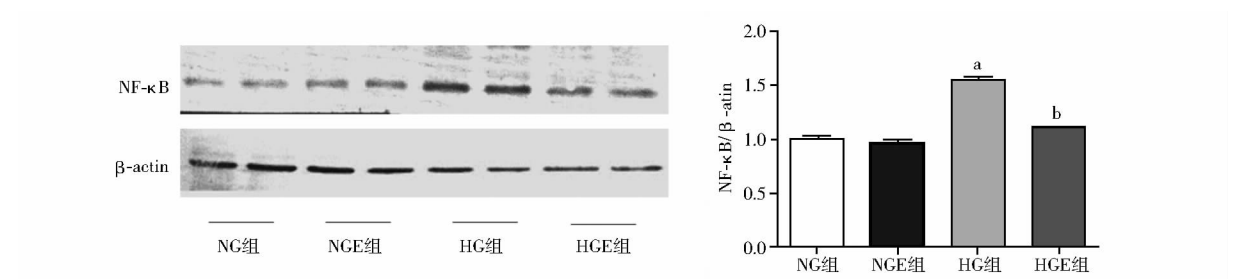
核因子- κ B 在 GMCs、毛细血管内皮细胞、肾小管上皮细胞和经血液循环进入肾脏的免疫细胞中都存在,其作为一个重要的转录因子,可以被许多细胞外刺激激活,活化后的核因子- κ B 进入细胞核内,与多种炎症因子启动子区域中 κ B 序列结合,参与细胞凋亡、炎症反应等多种条件下的基因调控^[10]。近年来研究亦表明,核因子- κ B 在 GMCs 活化、增生和炎症介质产生中处于中心地位^[11]。

有研究表明,核因子- κ B 可诱导多种细胞因子(如白细胞介素-2、白细胞介素-6)、黏附因子[ICAM-1、血管细胞黏附分子(VCAM)-1、趋化因子(MCP-1、C3)]等编码基因的表达^[12]。本研究发现,在高糖诱导的 GMCs 中炎症相关因子 MCP-1、ICAM-1 表达明显升高,给予 exendin-4 干预后 MCP-1、ICAM-1 mRNA 的表达受到抑制。而已有研究表明,在 DN 动物模型中, MCP-1、ICAM-1 表达明显增加,敲除 MCP-1 基因的 1 型糖尿病和 2 型糖尿病大鼠,其肾损伤明显减轻^[13]。而敲除 ICAM-1 基因小鼠 DN 的发生延迟^[14]。因此,exendin-4 可以通过减少



注:与 NG 组、NGE 组相比,^a*P* < 0.05;与 HG 组相比,^b*P* < 0.05;NG 组:低糖组;NGE 组:低糖加 exendin-4 (10 nmol/L) 组;HG 组:高糖组;HGE 组:高糖加 exendin-4 (10 nmol/L) 组;FN:纤维连接蛋白;COL-IV:Ⅳ型胶原蛋白;MCP-1:单核细胞趋化蛋白-1;ICAM-1:细胞间黏附分子-1;TNF-α:肿瘤坏死因子-α;TGF-β₁:转化生长因子-β₁

图 2 Exendin-4 对高糖条件下系膜细胞 FN、Ⅳ型胶原蛋白、MCP-1、TNF-α、ICAM-1、TGF-β₁ mRNA 的影响



注:与 NG 组相比,^a*P* < 0.05;与 HG 组相比,^b*P* < 0.05;NG:低糖组;NGE 组:低糖加 exendin-4 (10 nmol/L) 组;HG:高糖组;HGE 组:高糖加 exendin-4 (10 nmol/L) 组;NF-κB:核因子-κB

图 3 Exendin-4 对高糖培养肾小球系膜细胞核因子-κB 蛋白表达的影响

黏附因子与趋化因子的表达来对 GMCs 进行保护,且这种机制与抑制核因子-κB 通路有关。

TNF-α 在肾组织中主要由 GMCs、肾小球细胞和内皮细胞、肾间质树突状细胞等产生,在实验性糖尿病大鼠肾脏中 TNF-α 的表达明显增多^[15]。TNF-α 作为一种高效的促炎细胞因子,可以直接刺激系膜细胞产生多种炎症介质如 MCP-1 和 ICAM-1^[16]。其还可通过膜受体逐级激活,最后使游离的核因子-κB 激活,这两种因子相互作用,进一步加重肾脏损害。本研究发现大鼠 GMCs 在高糖的影响下 TNF-α mRNA 表达较 NC 组明显升高,而给予 exendin-4 干预后,其表达受抑制,同时与核因子-κB 的表达有关。

TGF-β₁ 是一种多功能、能多向调节的中心细胞因子,它不仅可以直接促使肾脏肥大,还可以通过诱导 ECM 沉积而具有强烈促纤维化作用使肾小球硬化,并且能诱导炎症细胞浸润和成纤维细胞增生。大量研究已经证实,TGF-β₁ 与 DN 的发生、发展关系密切^[17-18]。Mirza 等^[19] 研究发现,TGF-β₁ 的活化剂

转谷氨酰胺酶的前体由核因子-κB 调控,进一步研究表明,缺乏 TGF-β₁ 的大鼠会表现出异常的核因子-κB 激活(主要是通过 Toll 样受体 4),最后会因严重炎症反应综合征而死亡^[20]。由此推测,肾组织中核因子-κB 的活化,可促使 TGF-β₁ 表达增加,导致 ECM 合成增加,在 DN 的发病过程中具有重要作用。

作为 GLP-1 的类似物,exendin-4 不仅具有降血糖的作用,而且对于 DN 也有一定的保护作用^[21]。目前应用于临床的 exendin-4 类药物为人工合成多肽产物艾塞那肽(exenatide),其与 exendin-4 有 50% 的结构同源性。本研究发现,和 ECM 的分泌、炎症相关介质变化类似,高糖作用下核因子-κB 的活性升高,经 exendin-4 干预后活性则明显被抑制,说明 exendin-4 抑制高糖培养下大鼠 GMCs ECM 的分泌,与其抑制核因子-κB 介导的炎症反应有关,其可有效阻止 DN 的进一步发展。这一研究结果为 exendin-4 对 DN 的保护作用提供了强有力的理论依据,但其具体的分子机制尚不明确,需深入研究。

参 考 文 献

- [1] 张红, 章向成, 朱大龙. 炎症反应与糖尿病肾病[J]. 国际内分泌代谢杂志, 2015, 35(1): 49-52. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 1673-4157. 2015. 01. 012.
- [2] McCray BA, Taylor JP. The role of autophagy in age-related neurodegeneration[J]. Neurosignals, 2008, 16(1): 75-84.
- [3] Rautou PE, Mansouri A, Lebre C, et al. Autophagy in liver diseases[J]. J Hepatol, 2010, 53(6): 1123-1134. DOI: 10. 1016/j. jhep. 2010. 07. 006.
- [4] Kume S, Thomas MC, Koya D. Nutrient sensing, autophagy, and diabetic nephropathy[J]. Diabetes, 2012, 61(1): 23-29. DOI: 10. 2337/db11-0555.
- [5] Hartleben B, Gödel M, Meyer-Schwesinger C, et al. Autophagy influences glomerular disease susceptibility and maintains podocyte homeostasis in aging mice[J]. J Clin Invest, 2010, 120(4): 1084-1096. DOI: 10. 1172/JCI39492.
- [6] Bachar-Wikstrom E, Wikstrom JD, Ariav Y, et al. Stimulation of autophagy improves endoplasmic reticulum stress-induced diabetes[J]. Diabetes, 2013, 62(4): 1227-1237. DOI: 10. 2337/db12-1474.
- [7] Bachar-Wikstrom E, Wikstrom JD, Ariav Y, et al. Stimulation of autophagy improves endoplasmic reticulum stress-induced diabetes[J]. Diabetes, 2013, 62(4): 1227-1237. DOI: 10. 2337/db12-1474.
- [8] Mezzano S, Aros C, Droguett A, et al. NF-kappaB activation and overexpression of regulated genes in human diabetic nephropathy[J]. Nephrol Dial Transplant, 2004, 19(10): 2505-2512.
- [9] Nahman NS Jr, Leonhart KL, Cosio FG, et al. Effects of high glucose on cellular proliferation and fibronectin production by cultured human mesangial cells[J]. Kidney Int, 1992, 41(2): 396-402.
- [10] Vallabhapurapu S, Karin M. Regulation and function of NF-kappaB transcription factors in the immune system[J]. Annu Rev Immunol, 2009, 27: 693-733. DOI: 10. 1146/annurev. immunol. 021908. 132641.
- [11] Baldwin AS Jr. Series introduction: the transcription factor NF-kappaB and human disease[J]. J Clin Invest, 2001, 107(1): 3-6.
- [12] Chen FE, Ghosh G. Regulation of DNA binding by Rel/NF-kappaB transcription factors: structural views[J]. Oncogene, 1999, 18(49): 6845-6852.
- [13] Chow FY, Nikolic-Paterson DJ, Ma FY, et al. Monocyte chemoattractant protein-1-induced tissue inflammation is critical for the development of renal injury but not type 2 diabetes in obese db/db mice[J]. Diabetologia, 2007, 50(2): 471-480. DOI: 10. 1007/s00125-006-0497-8.
- [14] Güler S, Cakir B, Demirbas B, et al. Plasma soluble intercellular adhesion molecule 1 levels are increased in type 2 diabetic patients with nephropathy[J]. Horm Res, 2002, 58(2): 67-70.
- [15] Mensah-Brown EP, Obineche EN, Galadari S, et al. Streptozotocin-induced diabetic nephropathy in rats: the role of inflammatory cytokines[J]. Cytokine, 2005, 31(3): 180-190. DOI: 10. 1016/j. cyto. 2005. 04. 006.
- [16] Sheryanna A, Bhargal G, McDaid J, et al. Inhibition of p38 mitogen-activated protein kinase is effective in the treatment of experimental crescentic glomerulonephritis and suppresses monocyte chemoattractant protein-1 but not IL-1beta or IL-6[J]. J Am Soc Nephrol, 2007, 18(4): 1167-1179. DOI: 10. 1681/ASN. 2006010050.
- [17] De Borst MH, Prakash J, Melenhorst WB, et al. Glomerular and tubular induction of the transcription factor c-Jun in human renal disease[J]. J Pathol, 2007, 213(2): 219-228. DOI: 10. 1002/path. 2228.
- [18] Sakai N, Wada T, Furuichi K, et al. Involvement of extracellular signal-regulated kinase and p38 in human diabetic nephropathy[J]. Am J Kidney Dis, 2005, 45(1): 54-65.
- [19] Mirza A, Liu SL, Frizell E, et al. A role for tissue transglutaminase in hepatic injury and fibrogenesis, and its regulation by NF-kappaB[J]. Am J Physiol, 1997, 272(2 Pt 1): G281-G288.
- [20] McCartney-Francis N, Jin W, Wahl SM. Aberrant Toll receptor expression and endotoxin hypersensitivity in mice lacking a functional TGF-beta 1 signaling pathway[J]. J Immunol, 2004, 172(6): 3814-3821.
- [21] Kodera R, Shikata K, Kataoka HU, et al. Glucagon-like peptide-1 receptor agonist ameliorates renal injury through its anti-inflammatory action without lowering blood glucose level in a rat model of type 1 diabetes[J]. Diabetologia, 2011, 54(4): 965-978. DOI: 10. 1007/s00125-010-2028-x.

(收稿日期: 2015-10-28)