

· 基础研究 ·

肾苏Ⅱ方对局灶节段性肾小球硬化大鼠
Notch-P53 通路及足细胞凋亡的影响尚懿纯¹ 曹式丽² 杨洪涛² 李 洁² 窦一田²

摘要 **目的** 观察肾苏Ⅱ方对局灶节段性肾小球硬化(focal segmental glomerulosclerosis, FSGS)大鼠肾脏功能、病理、足细胞数量、Notch-P53 凋亡通路标志蛋白的影响。**方法** 采用左肾切除加阿霉素注射法诱发 SD 大鼠 FSGS 模型,依体重随机分为 3 组,模型组、贝那普利组和肾苏Ⅱ方组,每组 12 只,另设对照组(12 只)。贝那普利组予贝那普利[9.25 mg/(kg·d)]、肾苏Ⅱ方组予肾苏Ⅱ方[9.71 g/(kg·d)],对照组、模型组予等量生理盐水,均连续灌胃 12 周。检测大鼠肌酐(serum creatinine, SCr)、血清尿素氮(blood urine nitrogen, BUN)、高密度脂蛋白(high density lipoprotein, HDL)、载脂蛋白 A1 (apolipoprotein-A1, Apo-A1) 水平。观察肾小球硬化改变、足细胞数量分析、Notch-P53 凋亡通路关键位点的 Notch1、Hes-1、P53 及 Bad 蛋白表达。**结果** 与模型组比较,贝那普利组和肾苏Ⅱ方组治疗 4、8、12 周, HDL 明显上升($P < 0.05$);治疗 8、12 周, SCr 明显下降($P < 0.05$)、Apo-A1 明显上升($P < 0.05$);治疗 12 周, BUN、肾小球硬化指数、肾小球系膜基质相对面积、Notch1、Hes-1、P53、Bad 蛋白明显减少($P < 0.05$),足细胞数量明显增加($P < 0.05$)。**结论** 肾苏Ⅱ方可能通过调控 Notch-P53 通路,阻抑足细胞凋亡进程,进而延缓 FSGS 大鼠疾病进展。

关键词 局灶节段性肾小球硬化;肾苏Ⅱ方;足细胞;凋亡;Notch-P53 通路

Effect of Shensu II Recipe on Notch-P53 Pathway and Podocyte Apoptosis in Rats with Focal Segmental Glomerulosclerosis SHANG Yi-chun¹, CAO Shi-li², YANG Hong-tao², LI Jie², and DOU Yi-tian² 1 School of Traditional Chinese Medicine, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin (300193); 2 Department of Nephrology, First Teaching Hospital, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin (300193)

ABSTRACT **Objective** To observe the effects of Shensu II Recipe (S II R) on renal function, pathology, the number of podocytes, and key positions of Notch-P53 apoptosis pathway in rats with focal segmental glomerulosclerosis (FSGS). **Methods** FSGS model was induced in SD rats by injecting Adriamycin and left nephrectomy. They were randomly divided into the model group, the Benazepril group, and the S II R group according to body weight, 12 in each group. Besides, another 12 rats was recruited as the control group. Benazepril [9.25 mg/(kg·d)] and S II R [9.71 g/(kg·d)] were respectively given to rats in the Benazepril group and the S II R group by gastrogavage. Equal volume of normal saline was respectively given to rats in the control group and the model group by gastrogavage. All medication lasted for 12 weeks. Levels of serum creatinine (SCr), blood urine nitrogen (BUN), high density lipoprotein (HDL), apolipoprotein-A1 (Apo-A1) were detected. The changes of glomerulosclerosis were observed. The number of podocyte, the protein expressions of Notch1, Hes-1, P53, and Bad were also determined. **Results** Compared with the model group, HDL significantly increased after 4-, 8-, and 12- week treat-

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No. 81403333);天津市应用基础与前沿技术研究计划资助项目(No. 14JCQNJC11400);天津市高等学校科技发展基金资助项目(No. 20130210)

作者单位:1. 天津中医药大学中医学院(天津 300193);2. 天津中医药大学第一附属医院肾病科(天津 300193)

通讯作者:窦一田, Tel:022-27987020, E-mail:hczar1745@163.com

DOI: 10.7661/j. cjim. 20170630. 143

ment ($P < 0.05$); SCr significantly decreased ($P < 0.05$) and Apo-A1 significantly increased ($P < 0.05$) after 8- and 12- week treatment; BUN, glomerulosclerosis index, the relative area of glomerular mesangial matrix, Notch1, Hes-1, P53, and Bad protein significantly decreased ($P < 0.05$), and the number of podocytes significantly increased ($P < 0.05$) after 12- week treatment in the rest two groups. Conclusion

S II R postponed the development of FSGS rats possibly through regulating notch-P53 signaling pathway and inhibiting apoptosis process of podocytes.

KEYWORDS focal segmental glomerulosclerosis; Shensu II Recipe; podocyte; apoptosis; Notch-P53 pathway

局灶节段性肾小球硬化(focal segmental glomerulosclerosis, FSGS)系最具代表性的足细胞病,作为临床难治性肾病综合征的常见病理类型,既往研究表明肾苏Ⅱ方治疗 FSGS 具有积极效果^[1]。足细胞凋亡等环节最终导致足细胞数的减少,启动了 FSGS 的进程^[2]。Notch 通路是一条高度保守并广泛地参与组织器官的发育、稳态与病理状态的发生以及各胚层多种细胞维持原始状态、分化和凋亡的信号转导通路,有研究显示 Notch 通路通过 P53 途径在足细胞凋亡进程中发挥重要作用^[3]。因此,本研究通过观察肾苏Ⅱ方对 FSGS 大鼠 Notch-P53 信号通路的影响,探讨肾苏Ⅱ方干预足细胞凋亡的效果及其可能机制,以期寻找可有效阻抑肾小球硬化的中医药干预途径。

材料与方法

1 动物 2 月龄雄性 SD 大鼠 48 只,中国医学科学院放射医学研究所实验动物中心提供,体重(180 ± 20) g, SPF/VAF 级,合格证号 SCXK 京 2009-0004。12 h 光照、室温 24 ℃、45% 相对湿度条件下,于天津中医药大学第一附属医院动物实验中心适应性饲养 1 周,实验全程均予以普通饲料进食,自由进水。遵守国家有关实验动物保护与使用准则。

2 药物、试剂及仪器 肾苏Ⅱ方组成:柴胡 12 g 黄芩 10 g 生黄芪 30 g 当归 10 g 女贞子 15 g 泽兰 15 g 水蛭 10 g 细辛 3 g。水煎浓缩至生药 1.05 g/mL,密封后于 4 ℃ 条件下保存待用。药物采购及加工由天津中医药大学药厂协助完成,并经天津市药品检验所核定。盐酸多柔比星(盐酸阿霉素, Doxorubicin Hydrochloride),10 mg/支,深圳万乐药业有限公司提供,批号:0707E1,制备为 0.1 mg/mL 混悬液。盐酸贝那普利:由瑞士诺华制药有限公司提供,10 mg/片,批号:X1167,制备为 1 mg/mL 混悬液。血清尿素氮(BUN)、肌酐(SCr)、高密度脂蛋白(HDL)及载脂蛋白 A1(Apo-A1)试剂盒由上海复星长征医学科学有限公司提供;威廉氏瘤-1(Wilm's

tumor-1, WT-1)(bs-6983R)免疫组化试剂盒由北京博奥森生物技术有限公司提供。Notch1(Abcam ab167441), Hes-1(Abcam ab70576), P53(Abcam ab26), Bad(Abcam ab32445), 甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)(Abcam ab8245)抗体由美国 Abcam 公司提供。

3 造模、分组及干预方法 依体重分层,随机分为对照组(12 只)和造模组(36 只)。造模组大鼠常规消毒后腹腔注射 1.5% 戊巴比妥钠 50 mg/kg 麻醉。背部切开后暴露出左肾,剥离肾脏附属组织,左肾门血管结扎后切除左肾,于第 1、5 周分别以 3、2 mL/kg 经尾静脉注射配制阿霉素混悬液;对照组予相同麻醉及手术切口后缝合,于相同时间分别以 3、2 mL/kg 经尾静脉注射生理盐水。模型复制需 9 周。于第 9 周末开始,将造模组按体重分层随机分为模型组、贝那普利组及肾苏Ⅱ方组,每组 12 只。灌药剂量按照成人与大鼠折算系数为 6.25 折算。对照组和模型组;贝那普利组予盐酸贝那普利悬浊液,肾苏Ⅱ方组予肾苏Ⅱ方,生理盐水灌胃剂量均为 1.04 mL/(100 g·d),连续灌胃 12 周。

实验过程中因术后切口感染、体质虚弱及灌胃时进入气管,共计死亡 5 只,其中,模型组死亡 2 只、贝那普利组死亡 1 只、肾苏Ⅱ方组死亡 2 只。

4 检测指标及方法

4.1 肾脏功能学指标 各组大鼠于治疗前、治疗 4、8 周目内眦静脉取血、治疗 12 周股动脉取血,离心 10 min(3 000 r/min),分离后 -20 ℃ 保存。全自动生化分析仪检测大鼠血清检测大鼠 SCr、BUN、HDL 及 Apo-A1。

4.2 病理形态学观察 于治疗第 84 天末处死大鼠,快速开腹,取出肾脏,剥离周围组织。经肾门切开后 10% 甲醛溶液固定,脱水、透明、石蜡包埋,3 μm 标准切片,进行碘酸雪夫(periodic acid-schiff stain, PAS)染色,切片于放大 400 倍视野下随机选取

上、下、左、右、中共 10 个肾小球,采用 Reji 目测法根据肾小球硬化程度分析各组肾小球硬化程度;利用病理图像分析系统测量肾小球系膜区基质相对面积。

4.3 足细胞数量 采用免疫组化 SP 法检测足细胞标志蛋白 WT-1 表达。Disector/fractionator 法^[4]计数足细胞数量。

4.4 Western blot 法检测 Notch1、Hes-1、P53、Bad 蛋白表达 4 ℃取肾脏皮质后提取总蛋白:加 400 μL 蛋白裂解液于匀浆器中进行匀浆,裂解 30 min 后,移至 1.5 mL 离心管中离心 20 min (12 000 r/min),SDS-PAGE 凝胶电泳转膜,室温封闭 1 h,4 ℃ Notch1、Hes-1、P53、Bad 一抗反应过夜。洗膜后室温避光辣根过氧化物标记的养抗兔或羊抗小鼠二抗反应 1 h。洗膜后 ECL 试剂盒发光,X 光胶片曝光。美国 UVP 分析仪对胶片拍照,测定条带灰度(内参 GAPDH)。

5 统计学方法 应用 SPSS 17.0 统计软件分析,各组实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。两两比较采用 *t* 检

验,多组间比较单因素方差分析, *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

结 果

1 各组 SCr、BUN、HDL、Apo-A1 比较(表 1) 与对照组比较,模型组 SCr 和 BUN 升高,HDL 和 Apo-A1 下降(*P* < 0.05);与模型组比较,贝那普利组和肾苏Ⅱ方组治疗 4、8、12 周,HDL 明显上升(*P* < 0.05);治疗 8、12 周,SCr 明显下降,Apo-A1 明显上升(*P* < 0.05);治疗 12 周 BUN 明显下降(*P* < 0.05)。

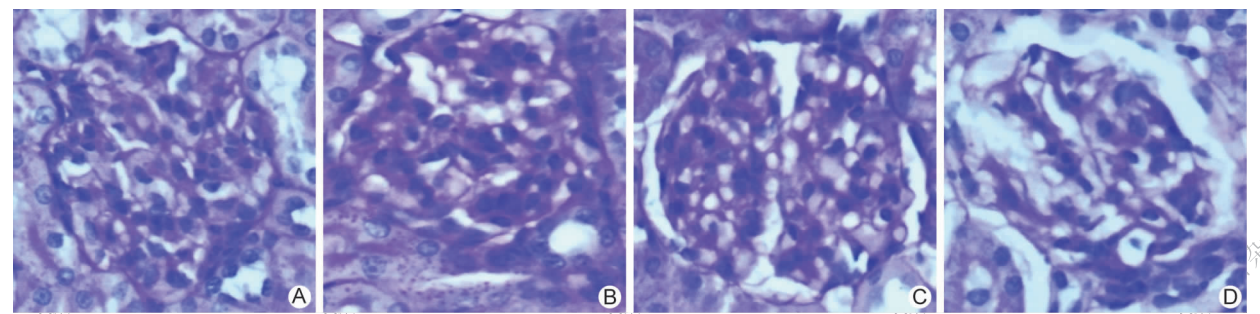
2 各组肾小球硬化评价比较(图 1,表 2) 治疗后模型组较对照组,出现肾小球硬化,基质面积增加(*P* < 0.05)。与模型组比较,贝那普利组和肾苏Ⅱ方组肾小球硬化指数及基质面积明显减少(*P* < 0.05)。

3 各组肾小球足细胞数量比较(表 3,图 2) 模型组足细胞数,较对照组明显减少(*P* < 0.05);贝那普利组及肾苏Ⅱ方组较模型组增多(*P* < 0.05);肾苏Ⅱ方组较贝那普利组增多(*P* < 0.05)。

表 1 各组不同时间 SCr、BUN、HDL 及 Apo-A1 比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	时间	SCr (μmol/L)	BUN (mmol/L)	HDL (mmol/L)	Apo-A1 (g/L)
对照	12	治疗前	35.84 ± 3.38	7.32 ± 0.21	1.86 ± 0.28	0.15 ± 0.00
		治疗 4 周	35.37 ± 4.34	7.21 ± 0.26	1.90 ± 0.35	0.14 ± 0.01
		治疗 8 周	34.67 ± 4.34	7.35 ± 0.18	1.81 ± 0.14	0.14 ± 0.00
		治疗 12 周	35.02 ± 2.32	7.23 ± 0.17	1.85 ± 0.14	0.15 ± 0.01
模型	10	治疗前	45.28 ± 5.64 *	9.84 ± 0.42 *	0.83 ± 0.24 *	0.10 ± 0.01 *
		治疗 4 周	50.55 ± 5.81 *	10.21 ± 0.51 *	0.75 ± 0.09 *	0.09 ± 0.01 *
		治疗 8 周	55.52 ± 3.71 *	12.03 ± 2.13 *	0.62 ± 0.17 *	0.09 ± 0.01 *
		治疗 12 周	71.38 ± 18.58 *	16.56 ± 2.12 *	0.56 ± 0.11 *	0.10 ± 0.00 *
贝那普利	11	治疗前	45.12 ± 7.45	9.21 ± 0.51	0.75 ± 0.35	0.10 ± 0.01
		治疗 4 周	45.76 ± 4.96	10.01 ± 1.21	0.96 ± 0.06 [△]	0.10 ± 0.01
		治疗 8 周	40.52 ± 3.48 [△]	11.82 ± 0.78	1.09 ± 0.38 [△]	0.14 ± 0.01 [△]
		治疗 12 周	53.21 ± 1.23 [△]	11.24 ± 2.35 [△]	1.31 ± 0.12 [△]	0.13 ± 0.01 [△]
肾苏Ⅱ方	10	治疗前	45.21 ± 7.54	9.43 ± 0.46	0.80 ± 0.27	0.10 ± 0.00
		治疗 4 周	45.28 ± 2.57	9.94 ± 1.75	1.05 ± 0.25 [△]	0.09 ± 0.00
		治疗 8 周	40.12 ± 2.16 [△]	11.91 ± 0.69	1.11 ± 0.26 [△]	0.15 ± 0.01 [△]
		治疗 12 周	52.76 ± 2.51 [△]	11.56 ± 1.78 [△]	1.36 ± 0.15 [△]	0.14 ± 0.01 [△]

注:与对照组同期比较,**P* < 0.05;与模型组同期比较,[△]*P* < 0.05



注:A 为对照组;B 为模型组;C 为贝那普利组;D 为肾苏Ⅱ方组;图 2 同

图 1 各组肾小球硬化评价结果 (PAS, ×400)

表 2 各组肾小球硬化评价比较 ($\bar{x} \pm s$)			
组别	n	肾小球硬化指数	肾小球系膜基质相对面积(%)
对照	12	0	2.97 ± 1.23
模型	10	2.89 ± 0.31 *	50.91 ± 13.27 *
贝那普利	11	2.19 ± 0.35 Δ	20.45 ± 12.30 Δ
肾苏Ⅱ方	10	2.01 ± 0.27 Δ	21.15 ± 12.59 Δ

注:与对照组比较,* $P < 0.05$;与模型组比较, $\Delta P < 0.05$

表 3 各组肾小球足细胞数量比较 (个/肾小球, $\bar{x} \pm s$)		
组别	n	足细胞数量
对照	12	45 ± 7
模型	10	20 ± 3 *
贝那普利	11	29 ± 5 Δ
肾苏Ⅱ方	10	36 ± 6 Δ ▲

注:与对照组比较,* $P < 0.05$;与模型组比较, $\Delta P < 0.05$;与贝那普利组比较,▲ $P < 0.05$

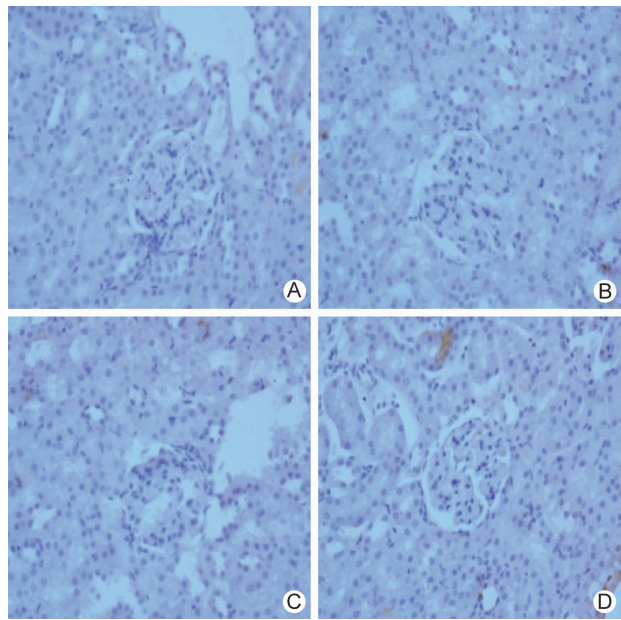


图 2 各组肾脏 WT-1 表达 (免疫组化染色, ×200)

4 各组 Notch1、Hes-1、P53、Bad 蛋白表达比较(表 4,图 3) 与对照组比较,模型组 Notch1、Hes-1、P53 及 Bad 蛋白均增加($P < 0.05$);与模型组比较,贝那普利组和肾苏Ⅱ方组上述指标明显减少($P < 0.05$)。

表 4 各组 Notch1、Hes-1、P53、Bad 蛋白表达比较 (% , $\bar{x} \pm s$)					
组别	n	Notch1	Hes-1	P53	Bad
对照	12	16.07 ± 0.37	14.95 ± 0.07	15.46 ± 0.52	13.04 ± 0.02
模型	10	29.85 ± 1.06 *	30.72 ± 1.43 *	28.93 ± 0.28 *	29.40 ± 1.30 *
贝那普利	11	19.29 ± 2.13 Δ	18.13 ± 1.92 Δ	16.15 ± 2.34 * Δ	16.94 ± 1.28 Δ
肾苏Ⅱ方	10	18.23 ± 0.56 Δ	18.01 ± 1.11 Δ	15.35 ± 0.76 Δ	16.62 ± 1.73 Δ

注:与对照组比较,* $P < 0.05$;与模型组比较, $\Delta P < 0.05$

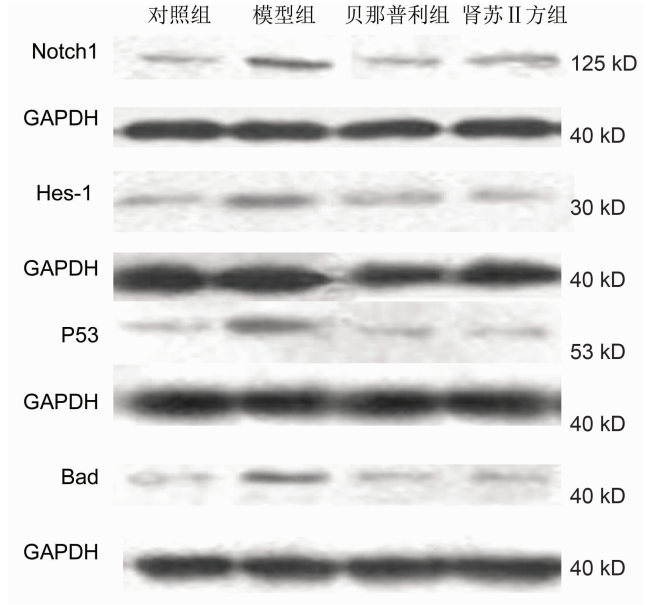


图 3 各组肾脏 Notch1、Hes-1、P53、Bad 蛋白表达

讨 论

足细胞作为一种高度分化细胞,是肾小球固有细胞的重要组成部分,与内皮细胞、表面膜结构、基底膜及其细胞下间隙共同构成了肾小球滤过屏障^[5]。FSGS 作为最具代表性的足细胞病,中心环节即是足细胞损伤^[6]。病理学研究发现,足细胞向间充质细胞转分化、脱落与凋亡,作为 FSGS 足细胞损伤的不同形式,按照损伤的强度和时间不同程度而进行,最终导致了足细胞数量的减少,启动了 FSGS 的进程^[7]。足细胞凋亡是足细胞数量减少的重要原因。因此,如何干预足细胞凋亡是现阶段防治 FSGS 研究中亟待解决的重要问题之一。目前认为,足细胞内信号传导失衡、蛋白表达异常等多种原因都可导致足细胞凋亡。过往研究主要集中激活转化生长因子- β_1 (transforming growth factor- β_1 , TGF- β_1) 介导的 P38 丝裂原活化蛋白激酶及 Smad7 信号传导通路上^[8,9]。而随着对高度保守的 Notch 信号通路不断深入地研究后发现,虽然 Notch 信号通路在足细胞发育的关键时期发挥着激发足细胞前体分化成熟的重要作用^[10],但当足细胞成熟后,Notch 通路激活后可诱导足细胞跳过 G2/M 期检查点,通过有丝分裂灾难导致细胞骨架的破坏,最终导致足细胞凋亡^[11]。而 P53 作为生命活动中重要的转录调控因子,在细胞凋亡中发挥着重要的作用,以转录非依赖的方式通过与 Bcl-2 家族结合,扰乱 Bcl-2 家族中促凋亡蛋白与抗凋亡蛋白表达平衡^[12]。另外 P53 还可直接与 Bad 蛋白相互作用,通

过 P53 转录依赖的细胞凋亡通路抑制 Bad 的磷酸化,积极参与足细胞凋亡^[13,14],使足细胞数目大量减少,基底膜屏障功能障碍,最终导致蛋白尿的发生^[15]。

肾苏Ⅱ方系天津中医药大学第一附属医院肾脏科根据慢性肾脏病的中医病机发展趋势,以疗效确切的经方对药,经反复临床实践与实验研究,不断筛选组合而成的,针对 FSGS 病变具疗效优势的中药复方制剂。肾苏Ⅱ号方以柴胡、黄芩辛开苦降,散泄并调,枢转气机;泽兰、水蛭辛咸并举,破血消癥,祛瘀畅络;黄芪、当归、女贞子辛甘合用,益气和血,扶正理虚;更用细辛辛润入肾,畅利真气。诸药协同,辛通畅络,养脏疏导,调节气血津液运行,渗灌机体三焦。临床研究显示,该方可较好地抑制肾小球硬化患者的肾功能减退,减少尿蛋白排泄量、改善高凝状态^[16]。同时,现代药理学研究亦证实^[1,17],肾苏系列复方的主要组成药物多可延缓肾小球硬化进程。

本实验结果显示,FSGS 模型大鼠经肾苏Ⅱ方干预后,血清 BUN、SCr 降低,HDL 及其主要的 Apo-A₁ 水平升高,而有研究发现,HDL 能通过抑制调节 CD36/Na/K-ATP 酶依赖性的分泌,减少肾小球和肾小管间质巨噬细胞聚集及慢性炎症、氧化应激、间质纤维化状态^[19]。而 Apo-A1 下降是 FSGS 复发及慢性肾脏病合并心血管系统疾病进展的主要危险因素^[20-22]。由此可见肾苏Ⅱ方可有效改善肾脏功能,调节脂质代谢紊乱。FSGS 以足细胞损伤为特征,WT-1 作为足细胞的特异性标志蛋白,随着肾小球的成熟,局限表达于足细胞细胞核,对维持肾小球毛细血管襻的结构及足细胞表型起着重要作用^[23]。目前通过 WT-1 标记足细胞测量足细胞数目的方法已经被广泛认可。而 WT-1 表达出现下降可负性调控参与诱导下调 nephrin 蛋白表达的 Wnt/ β -catenin 通路^[24],上调细胞凋亡蛋白 Caspase-3 表达,最终导致足细胞凋亡的发生^[254]。因足细胞及肾小管上皮细胞拥有共同的攻击靶点,故肾小管间质纤维化亦是 FSGS 预后的重要指标^[26],实验结果显示,肾苏Ⅱ方能够有效增加足细胞数,降低肾小球硬化指数及系膜基质相对面积,抑制肾小球硬化和肾小管间质纤维化。有研究证实:高糖可以上调 Notch 信号通路在足细胞中的表达,伴随着 P53 凋亡途径的变化,随后导致足细胞凋亡^[27]。而通过应用 Notch 信号通路化学抑制剂或特定的小发夹 RNA 干预后,可抑制足细胞中 P53 途径的启动,防止细胞凋亡。Niranjan T 等^[28]的进一步研究发现,通路同源受体 Notch1 的足细胞内域 (intracellular domain of Notch1, ICN1) 过表达,可导致 P53、P38

磷酸化水平失衡。而后应用信号通路阻滞剂干扰后证实发现,ICN1 通过 P53 而非 P38 通路诱导足细胞凋亡。上述研究内容说明,Notch 信号通路通过 P53 途径诱导足细胞凋亡。Western blot 法检测 Notch-P53 通路关键位点蛋白表达后发现,在肾苏Ⅱ方及血管紧张素转化酶抑制剂干预后,Notch 信号通路同源受体 Notch1、下游 Hes-1 及 P53、Bad 蛋白表达升高幅度较模型组显著下降,提示肾苏Ⅱ方可抑制模型大鼠肾脏 Notch 信号通路的异常激活,从而抑制 P53 凋亡途径的活性,减少足细胞的凋亡,恢复足细胞数量,不但有助于延缓 FSGS 的进展,又可改善 FSGS 预后情况。尽管本实验初步证实肾苏Ⅱ方可通过干预 Notch-P53 通路以减缓足细胞凋亡,抑制 FSGS 模型大鼠病变进程。但最新研究发现,在早期阿霉素肾病模型及暴露在阿霉素环境中的足细胞的体外实验中,阻断 P53 的负调控因子并未增强 P53 依赖性足细胞凋亡,导致蛋白尿及肾小球硬化的产生,而是出现肾脏细胞因子和趋化因子表达的减少,血浆肌酐和尿素氮水平的下降^[29]。同样的体外细胞培养也显示,阻断 P53 的负调控因子可抑制细胞 G2/M 期阻滞,防止出现异常核分裂和异倍体,预防细胞脱落及有丝分裂灾难。此外,近年来足细胞上皮间质转化现象的研究,有理由认为足细胞上皮间质转化可能较足细胞凋亡更早地始动了 FSGS^[30]。提示我们需要进一步深入研究 P53 蛋白及足细胞 EMT 在 FSGS 的作用,为中医药在肾脏病的现代化研究提供科学依据。

参 考 文 献

- [1] 窦一田,杨洪涛,曹式丽,等. 肾苏Ⅱ号方对局灶节段性肾小球硬化大鼠 TGF- β 1 及 PAI-1 表达的影响[J]. 中国中西医结合杂志, 2011, 31(11): 1531-1537.
- [2] Camici M. Urinary detection of podocyte injury[J]. Biomed Pharmacother, 2007, 61(5): 245-249.
- [3] Ohashi T, Uchida K, Uchida S, et al. Dexamethasone increases the phosphorylation of nephrin in cultured podocytes[J]. Clin Exp Nephrol, 2011, 15(5): 688-693.
- [4] Lemley KV, Bertram JF, Nicholas SB, et al. Estimation of glomerular podocyte number: a selection of valid methods[J]. J Am Soc Nephrol, 2013, 24(8): 1193-1202.
- [5] Salmon AH, Neal CR, Harper SJ. New aspects of glomerular filtration barrier structure and function: five layers (at least) not three[J]. Curr Opin Nephrol Hypertens, 2009, 18(3): 197-205.
- [6] Kowalewska J. Pathology of recurrent diseases in kidney allografts: membranous nephropathy and

- focal segmental glomerulosclerosis [J]. *Curr Opin Organ Transplant*, 2013, 18(3): 313–318.
- [7] Liu Y. New insights into epithelial-mesenchymal transition in kidney fibrosis [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2010, 21(2): 212–222.
 - [8] Pereira RL, Reis VO, Semedo P, et al. Invariant natural killer T cell agonist modulates experimental focal and segmental glomerulosclerosis [J]. *PLoS One*, 2012, 7(3): e32454.
 - [9] Herman-Edelstein M, Weinstein T, Gaftor U. TGF- β_1 dependent podocyte dysfunction [J]. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 2013, 22(1): 93–99.
 - [10] Grouls S, Iglesias DM, Wentzensen N, et al. Lineage specification of parietal epithelial cells requires β -catenin/Wnt signaling [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2012, 23(1): 63–72.
 - [11] Lasagni L, Ballerini L, Angelotti ML, et al. Notch activation differentially regulates renal progenitors-proliferation and differentiation toward the podocyte lineage in glomerular disorders [J]. *Stem Cells*, 2010, 28(9): 1674–1685.
 - [12] Luo S, Rubinsztein DC. Apoptosis blocks Beclin 1-dependent autophagosome synthesis: An effect rescued by Bcl-xL [J]. *Cell Death Differ*, 2010, 17(2): 268–277.
 - [13] Ma B, Shi J, Jia L, et al. Over-expression of PU-MA correlates with the apoptosis of spinal cord cells in rat neuropathic intermittent claudication model [J]. *PLoS One*, 2013, 8(5): e56580.
 - [14] Das A, Gopalakrishnan B, Voss OH, et al. Inhibition of ROS-induced apoptosis in endothelial cells by nitron spin traps via induction of phase II enzymes and suppression of mitochondria-dependent pro-apoptotic signaling [J]. *Biochem Pharmacol*, 2012, 84(4): 486–497.
 - [15] Oh J, Beckmann J, Bloch J, et al. Stimulation of the calcium-sensing receptor stabilizes the podocyte cytoskeleton, improves cell survival and reduces toxin-induced glomerulosclerosis [J]. *Kidney Int*, 2011, 80(5): 483–492.
 - [16] 黄文政, 黄建新. 三焦理论与慢性肾炎临床实践 [J]. *世界中医药*, 2013, 8(9): 1010–1014.
 - [17] 窦一田, 任桐, 曹式丽, 等. 辛通络法干预局灶节段性肾小球硬化大鼠细胞外基质积聚的实验研究 [J]. *时珍国医国药*, 2011, 22(9): 2070–2072.
 - [18] Kennedy DJ, Chen Y, Huang W, et al. CD36 and Na/K-ATPase- α_1 form a proinflammatory signaling loop in kidney [J]. *Hypertension*, 2013, 61(1): 216–224.
 - [19] Navab KD, Elboudwarej O, Gharif M, et al. Chronic inflammatory disorders and accelerated atherosclerosis: chronic kidney disease [J]. *Curr Pharm Des*, 2011, 17(1): 17–20.
 - [20] Cho JA, Lee SJ, Reid EA, et al. Metabolic syndrome component combinations and chronic kidney disease: The severance cohort study [J]. *Maturitas*, 2013, 75(1): 74–80.
 - [21] Lopez-Hellin J, Cantarell C, Jimeno L, et al. A form of apolipoprotein a-I is found specifically in relapses of focal segmental glomerulosclerosis following transplantation [J]. *Am J Transplant*, 2013, 13(2): 493–500.
 - [22] Mühlberger I, Mönks K, Fechete R, et al. Molecular pathways and crosstalk characterizing the cardiorenal syndrome [J]. *OMICS*, 2012, 16(3): 105–112.
 - [23] Kalani A, Mohan A, Godbole MM, et al. Wilm's tumor-1 protein levels in urinary exosomes from diabetic patients with or without proteinuria [J]. *PLoS One*, 2013, 8(3): e60177.
 - [24] He W, Kang YS, Dai C, et al. Blockade of Wnt/ β -catenin signaling by paricalcitol ameliorates proteinuria and kidney injury [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2011, 22(1): 90–103.
 - [25] Tunçdemir M, Öztürk M. The effects of angiotensin-II receptor blockers on podocyte damage and glomerular apoptosis in a rat model of experimental streptozotocin-induced diabetic nephropathy [J]. *Acta Histochem*, 2011, 113(8): 826–832.
 - [26] Bantis C, Heering PJ, Stangou M, et al. Influence of aldosterone synthase gene C-344T polymorphism on focal segmental glomerulosclerosis [J]. *Nephrology (Carlton)*, 2011, 16(8): 730–735.
 - [27] Gao F, Yao M, Shi Y, et al. Notch pathway is involved in high glucose-induced apoptosis in podocytes via Bcl-2 and p53 pathways [J]. *J Cell Biochem*, 2013, 114(5): 1029–1038.
 - [28] Niranjana T, Murea M, Susztak K. The pathogenic role of Notch activation in podocytes [J]. *Nephron Exp Nephrol*, 2009, 111(4): e73–79.
 - [29] Mulay SR, Thomasova D, Ryu M, et al. Podocyte loss involves MDM2-driven mitotic catastrophe [J]. *J Pathol*, 2013, 230(3): 322–335.
 - [30] Chen J, Chen JK, Harris RC. EGF receptor deletion in podocytes attenuates diabetic nephropathy [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2015, 26(5): 1115–1125.

(收稿:2015-09-23 修回:2017-06-18)

责任编辑:李焕荣

英文责编:张晶晶