

白藜芦醇对 TGF- β_1 诱导的肾小球足细胞转分化抑制作用研究

杨汝春 朱晓玲 张华琴 李卫东

摘要 **目的** 研究白藜芦醇(Resveratrol)对转化生长因子 β_1 (transforming growth factor- β_1 , TGF- β_1) 诱导的肾小球足细胞转分化的影响。**方法** 体外分化条件下培养小鼠足细胞 10 天,分为正常组、模型组和白藜芦醇高、低剂量组。白藜芦醇高、低剂量组分别用 5、2 $\mu\text{mol/L}$ 白藜芦醇干预 30 min 后,模型组和干预组各用 5 ng/mL TGF- β_1 继续诱导 72 h,正常组常规培养。分别采用免疫细胞化学、流式细胞术、Western blot 技术等检测足细胞表型蛋白分子上皮钙黏蛋白(E-cadherin)、胎盘钙黏蛋白(P-cadherin)、紧密连接蛋白(zonula occludens-1, ZO-1)、肾小球足细胞相关蛋白 1(NEPH1)和 α -平滑肌肌动蛋白(α -smooth muscle actin, α -SMA)表达。用蛋白滤过试验检测单层足细胞的蛋白滤过功能。**结果** 与正常组比较,模型组 E-cadherin⁺ 细胞百分率、P-cadherin、ZO-1、NEPH1 蛋白表达及蛋白浓度均显著降低($P < 0.05$), α -SMA 蛋白表达升高($P < 0.05$), 透过单层足细胞的蛋白浓度显著增高($P < 0.05$)。与模型组比较,白藜芦醇高、低剂量组 E-cadherin⁺ 细胞百分率均升高($P < 0.05$), 透过单层足细胞的蛋白浓度均降低($P < 0.05$); 白藜芦醇低剂量组 P-cadherin 及 NEPH1 蛋白表达均升高($P < 0.05$); 白藜芦醇高剂量组 P-cadherin、ZO-1 及 NEPH1 蛋白表达均升高, α -SMA 蛋白表达降低($P < 0.05$)。白藜芦醇浓度与 E-cadherin⁺、P-cadherin 及 NEPH1 蛋白表达水平呈显著正相关($r_{\text{E-cadherin}^+} = 0.772$, $r_{\text{P-cadherin}} = 0.756$, $r_{\text{NEPH1}} = 0.809$, $P < 0.05$)。**结论** 白藜芦醇显著抑制 TGF- β_1 诱导的足细胞表型异常可能是其维持肾小球滤过屏障的完整性,降低蛋白尿的重要机制。

关键词 白藜芦醇;足细胞;转分化;转化生长因子 β_1

Study of Resveratrol Suppressing TGF- β_1 Induced Transdifferentiation of Podocytes YANG Ru-chun, ZHU Xiao-ling, ZHANG Hua-qin, and LI Wei-dong Laboratory of Nephropathy, Hangzhou Municipal Hospital of Traditional Chinese Medicine, Hangzhou (310007), China

ABSTRACT **Objective** To explore the effect of resveratrol on transforming growth factor- β_1 (TGF- β_1) induced transdifferentiation of podocytes. **Methods** Mouse podocytes *in vitro* cultured under differentiating conditions for 10 days were divided into the normal group, the model group, the high dose resveratrol group, and the low dose resveratrol group. The podocytes in the high and low dose resveratrol groups were intervened with 5 $\mu\text{mol/L}$ and 2 $\mu\text{mol/L}$ resveratrol respectively for 30 min. Those in the model group and the two resveratrol treated groups were continually incubated with 5 ng/mL TGF- β_1 for 72 h. Those in the normal group were routinely cultured. The protein expression of podocyte phenotypic protein molecules such as E-cadherin, P-cadherin, zonula occludens-1 (ZO-1), NEPH1, and α -smooth muscle-actin (α -SMA) were detected by immunocytochemistry, flow cytometry (FCM), and Western blot. A simple albumin influx assay was used to evaluate the filtration barrier function of podocyte monolayer. **Results** Compared with the normal control group, E-cadherin⁺ percentage rate, the protein expression of P-cadherin, ZO-1, and NEPH1 significantly decreased in the model group ($P < 0.05$), but the expression of α -SMA and albumin permeability across podocyte monolayers increased significantly ($P < 0.05$). Compared with the model group, E-cadherin⁺ percentage rate significantly increased ($P < 0.05$) and albumin permeability across podocyte monolayers decreased significantly ($P < 0.05$) in the high and low dose

基金项目:浙江省自然科学基金资助项目(No.Y2091073);杭州市重点专科专项科技项目(No.20091233Q17)

作者单位:杭州市中医院肾内科,浙江省肾脏病防治技术研究重点实验室(杭州 310007)

通讯作者:杨汝春, Tel: 0571-85827871, E-mail: yangruchunhz@163.com

DOI: 10.7661/CJIM.2013.12.1677

resveratrol groups. In the low dose resveratrol group, the expression of P-cadherin and NEPH1 significantly increased ($P < 0.05$). In the high dose resveratrol group, the expression of P-cadherin, ZO-1, and NEPH1 increased significantly, and the expression of α -SMA decreased significantly ($P < 0.05$). The correlations between resveratrol concentrations and the expression of E-cadherin⁺, P-cadherin, and NEPH1 were significantly positive ($r_{E-cadherin} = 0.772, r_{P-cadherin} = 0.756, r_{NEPH1} = 0.809, P < 0.05$). Conclusion The role of resveratrol in inhibiting TGF- β_1 induced phenotype abnormality might be an important mechanism for preserving the integrality of glomerular filtration barrier and decreasing proteinuria.

KEYWORDS resveratrol; podocyte; transdifferentiation; transforming growth factor-beta,

肾小球足细胞(podocyte)损伤是决定蛋白尿发生的关键因素^[1,2]。最新研究表明,足细胞在病理损伤因素刺激下可发生上皮细胞向间充质细胞的逆转(epithelial-to-mesenchymal transition, EMT),导致细胞表型去分化,从而失去复杂的足细胞形态学结构和高度特异性功能,最终损害了肾小球滤过屏障的完整性而引发蛋白尿^[3,4]。抑制足细胞逆向分化,维持足细胞正常形态对于阻断肾病进展异常关键。但目前尚无针对足细胞表型去分化进行干预的措施。近年来研究显示,白藜芦醇具有显著降低蛋白尿和肾保护的功能^[5]。目前尚无白藜芦醇对足细胞的干预作用的相关研究,本项研究将在体外观察白藜芦醇对转化生长因子 β_1 (transforming growth factor- β_1 , TGF- β_1) 诱导足细胞转分化的抑制作用。

材料与方法

1 细胞 永生化温度敏感小鼠足细胞株由 Dr. Peter Mundel (MountSinai School of Medicine, New York, NY) 惠赠。

2 药物 白藜芦醇(ALEXIX Biochemicals, 瑞士), 浓度 $\geq 98.0\%$, 批号:L20708/a。

3 主要试剂及仪器 RPMI1640 (GIBCO, 批号:1098831), 胎牛血清(GIBCO, 批号:623311), 重组鼠干扰素 γ (Recombinant Murine interferon- γ , γ -IFN, 美国 PeproTech Inc, Cat. No. 315-05, 批号: Y12606051), 重组人 TGF- β_1 (美国 PeproTech Inc, Cat.No. 100-21, 批号:72690767A2), 大鼠 I 型胶原(R&D Systems, Inc, Cat. No. 3440-100-01, 批号:15557E8), 鼠抗 α -平滑肌肌动蛋白(alpha-smooth actin, α -SMA) 单克隆抗体(DBS, Mob 001, 批号:E991), 鼠抗 β -肌动蛋白(β -actin)单克隆抗体(BioVision, 3598-100, 批号:1208), 兔抗 Nephrin (Santa Cruz, SC-19000, 批号: C2107), 大鼠抗胎盘钙黏蛋白(P-cadherin, R&D, MAB761, 批号: GRW0107021), 兔抗上皮钙

黏蛋白(E-cadherin, Cell signaling, 24E10, 批号: 3195s), 兔抗紧密连接蛋白(zonula occludens-1, ZO-1, Invitrogen, 61-7300, 批号:690090A), 肾小球足细胞相关蛋白1(Nephrin Related Protein 1, NEPH1, Santa Cruz, SC-33136, 批号: B2206), ECL 显色剂(Santa Cruz, 批号:1138725)。Ranging Cell Culture insert 3.0 μ m PET transparent (Millipore, Cat: PIRP12R48, 批号:09130116), 低温低速离心机(Heraeus, LEGENT RT, 德国), 二氧化碳(CO₂)恒温培养箱(Heraeus Cell 150, 德国), 倒置显微镜(Olympus, IX70, 日本), 凝胶成像分析系统(Bio-Rad, UVP 1 000, 美国), 制冰机(Scotsman, AF100, 意大利), 低温高速离心机(Heraeus, Biofuge Stratos, 德国), 垂直电泳仪及电转膜系统(Bio-Rad, 美国), 流式细胞仪(Beckman Coulter, FC 500MPL, 美国)。

4 细胞培养及鉴定 将复苏的细胞用含有 γ -干扰素(γ -IFN) 100 U/mL 和 10% 胎牛血清的 RPMI1640 培养基培养, 置 33 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 培养箱中孵育, 使细胞增殖传代。诱导分化^[3]时, 将培养液换成不含 γ -IFN 的培养基培养, 并转移至 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 培养箱中培养 2 周, 采用免疫荧光技术检测 Nephrin 和 Podocin 的表达鉴定足细胞。

5 实验分组及干预方法 实验分为正常组、模型组和白藜芦醇高、低剂量组, 根据检测细胞存活率选择白藜芦醇最佳干预浓度。白藜芦醇高、低剂量组分别加入白藜芦醇至 5.2 μ mol/L, 30 min 后, 模型组与干预组中均加入 TGF- β_1 至 5 ng/mL, 继续培养 72 h, 正常组常规培养。

6 检测指标及方法

6.1 细胞存活率检测 采用四唑盐(MTT)比色试验。分别用不同浓度白藜芦醇孵育足细胞, 72 h 后用 PBS 洗 2 次, 加入 MTT (5 g/L), 继续培养 2 h, 小心吸弃 MTT, 加入二甲基亚砷, 充分吹打均匀; 酶标仪 570 nm 检测吸光度(absorbance, A)。

6.2 Podocin、Nephrin 表达检测 采用免疫荧光技术。将小鼠足细胞接种于明胶处理的预置玻片上,待细胞长至 80% 融合时,用 TGF-β₁ 刺激 48 h。取出玻片,PBS 洗 3 次;晾干后加丙酮固定 5 min,风干;PBS 洗 3 次,0.3% Triton X-100 破膜 3 min;PBS 洗 3 次,用 5% 牛血清白蛋白(BSA)封闭 30 min;加兔抗小鼠 α-actinin-4 一抗(1:25 稀释),4 °C 过夜;PBS 洗 3 次,加 FITC-抗兔二抗(1:200 稀释)37 °C 避光 1 h;加核染液染色 6~7 min;PBS 洗 3 次,晾干后封片。

6.3 E-cadherin 表达检测 采用流式细胞术检测。用 PBS 洗细胞 2 次,胰酶/EDTA 消化并收集细胞;4% 多聚甲醛 37 °C 固定细胞 15 min,冰浴 1 min;用含 0.5% BSA 的 PBS 洗细胞 1 次;用 100 μL 含 0.5% BSA 的 PBS 悬浮细胞(胞内蛋白用 100 μL 破膜剂悬浮细胞,室温 20 min),并包被 10 min;加一抗,室温 1 h;含 0.5% BSA 的 PBS 洗 1 次;加 FITC-二抗,避光 30 min;含 0.5% BSA 的 PBS 洗 1 次;用 PBS 悬浮细胞后,上流式细胞仪检测。

6.4 P-cadherin、α-SMA、ZO-1、NEPH1 表达检测 采用 Western-blot 检测。收集处理好的足细胞用预冷的 PBS 洗细胞 2 次,加入细胞裂解液[含有 50 mmol/L Tris-HCl (pH 7.4)、150 mmol/L NaCl、1% NP-40、0.5% 脱氧胆酸钠、0.1% SDS、钒酸钠、氟化钠、EDTA、亮抑酶肽及 PMSF],4 °C 10 000 r/min 离心 5 min,取上清,用 BCA 蛋白质分析试剂盒检测蛋白浓度。采用 Western-blot 技术检测上述指标蛋白表达水平。在聚丙烯酰胺(SDS-PAGE)凝胶上电泳分离蛋白,转移至硝酸纤维素膜,5% 脱脂奶粉封闭 1 h,加入一抗,4 °C 过夜,去一抗,PBST 缓冲液洗 3 次,每次 10 min,再加入相应辣根过氧化物酶标记的二抗,室温孵育 1.5 h,ECL 试剂显色并曝光成像,凝胶成像系统成像,用 Bio Rad quantity one 软件对条带进行半定量分析,目标蛋白质相对含量分别用其与 β-actin 特异性条带的积分光密度之比值表示。

6.5 单层足细胞白蛋白滤过功能检测 参考文献[3]。建立双层培养小室,上层为直径 3 μm 的半透膜,铺有 I 型胶原。将足细胞传代培养于双层培养小室的上层,37 °C 分化培养 10 天,根据不同分组,用不同试剂刺激或干预 72 h。细胞用含有 1 mmol/L MgCl₂ 和 1 mmol/L CaCl₂ 的 PBS 洗 2 次。上层换无血清 RPMI1640 培养液 150 μL,下层换含 40 mg/mL 牛血清白蛋白的 RPMI1640 1 mL,37 °C

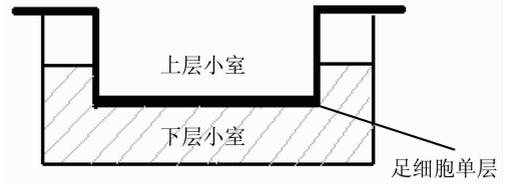


图 1 双层培养小室简图

培养 4 h 后用 BCA 蛋白质分析试剂盒检测上层培养液蛋白浓度。双层培养小室见图 1。

7 统计学方法 用 SPSS 13.0 软件对数据进行分析处理,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,方差齐者,多组间采用单因素方差分析,组间两两比较用 LSD 法;如方差不齐,采用 Tamhane's T₂, P < 0.05 为差异有统计学意义。

结 果

1 足细胞标志蛋白 Nephrin、Podocin 的表达 (图 2) 免疫荧光技术检测到在 37 °C 分化的小鼠足细胞胞质膜处有 Nephrin、Podocin 表达,Nephrin 表达较弱。

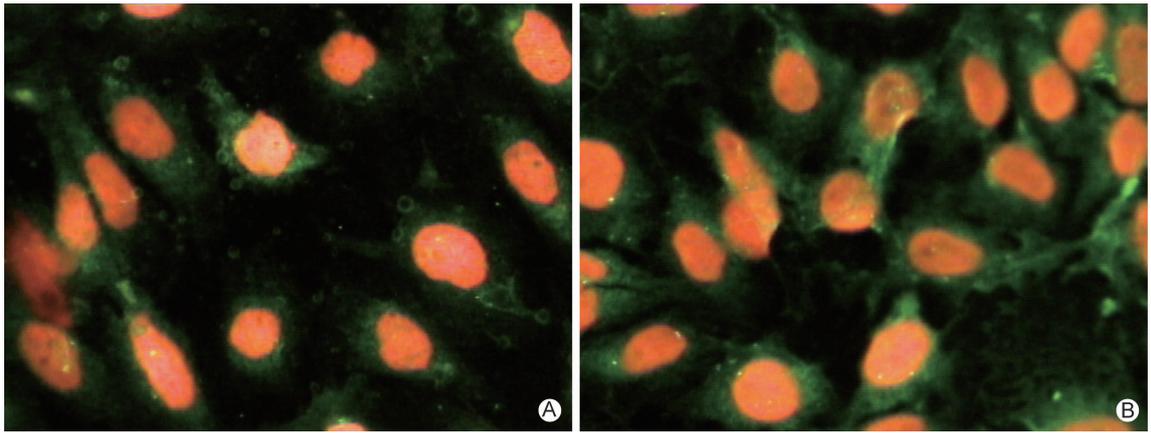
2 各组足细胞 E-cadherin⁺ 细胞百分率比较 (表 1,图 3) 与正常组比较,模型组 E-cadherin⁺ 细胞百分率显著降低(P < 0.05);与模型组比较,白藜芦醇高、低剂量组 E-cadherin⁺ 细胞百分率均升高(P < 0.05)。白藜芦醇浓度与 E-cadherin⁺ 细胞百分率呈显著正相关(r = 0.772, P < 0.05)。

表 1 各组足细胞 E-cadherin⁺ 细胞百分率比较 (% , $\bar{x} \pm s$)

组别	剂量(μmol/L)	n	E-cadherin ⁺ 细胞百分率
正常	—	3	20.5 ± 5.5*
模型	—	3	2.8 ± 0.8
白藜芦醇低剂量	2	3	5.5 ± 0.8*
高剂量	5	3	8.1 ± 3.1*

注:与模型组比较,*P < 0.05

3 各组足细胞 P-cadherin、ZO-1、NEPH1 及 α-SMA 蛋白表达比较 (表 2,图 4) 与正常组比较,模型组 P-cadherin、ZO-1、NEPH1 蛋白表达显著降低,α-SMA 蛋白表达升高(P < 0.05)。与模型组比较,白藜芦醇低剂量组 P-cadherin 及 NEPH1 蛋白表达均升高(P < 0.05),白藜芦醇高剂量组 P-cadherin、ZO-1 及 NEPH1 蛋白表达均升高,α-SMA 蛋白表达降低(P < 0.05)。白藜芦醇浓度与 P-cadherin 及 NEPH1 蛋白表达水平呈显著正相关(r_{P-cadherin} = 0.756, r_{NEPH1} = 0.809, P < 0.05),具有剂量依赖性。



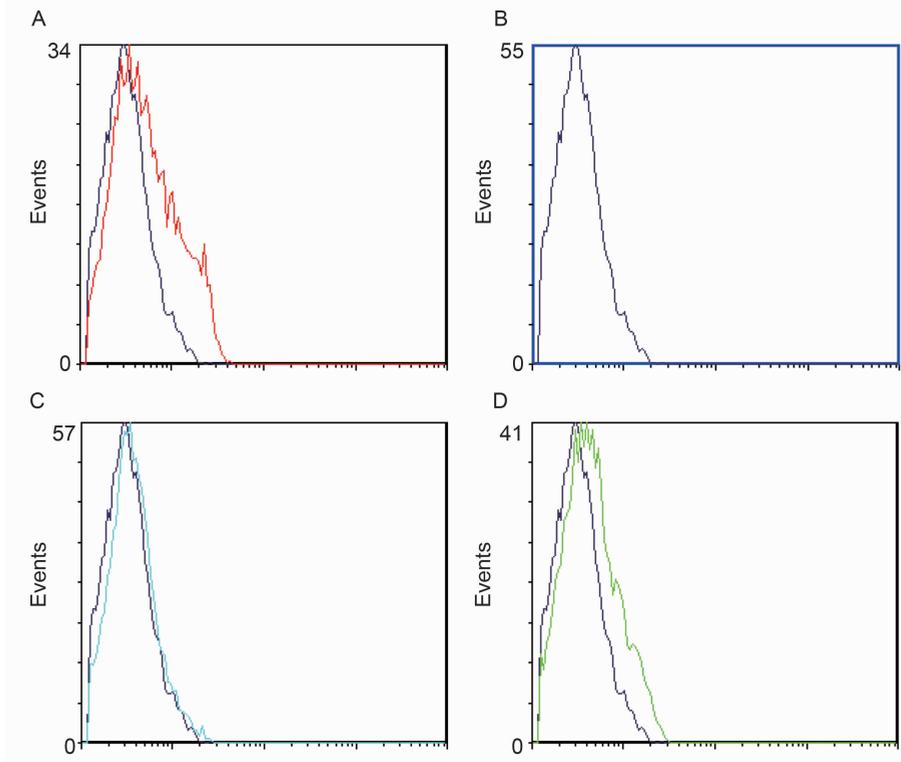
注:A 为 Nephryn; B 为 Podocin

图 2 足细胞 Nephryn、Podocin 表达 (×400)

表 2 各组足细胞 P-cadherin、ZO-1、NEPH1 及 α-SMA 蛋白表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量(μmol/L)	n	P-cadherin	ZO-1	NEPH1	α-SMA
正常	—	3	1.00 ± 0.00 *	1.00 ± 0.00 *	1.00 ± 0.00 *	1.00 ± 0.00 *
模型	—	3	0.31 ± 0.09	0.43 ± 0.14	0.63 ± 0.12	2.00 ± 0.30
白藜芦醇低剂量	2	3	0.62 ± 0.18 *	0.52 ± 0.10	1.07 ± 0.16 *	1.70 ± 0.40
高剂量	5	3	0.70 ± 0.10 *	0.58 ± 0.07 *	1.20 ± 0.18 *	1.50 ± 0.30 *

注:与模型组比较, *P<0.05

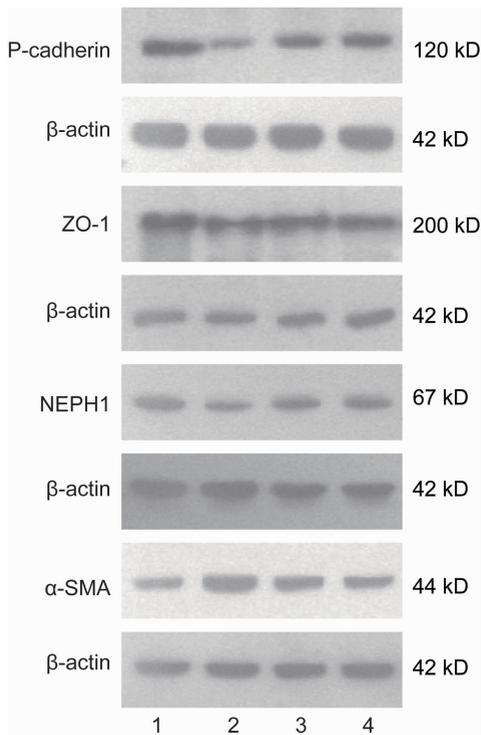


注:A 为正常组;B 为模型组;C 为白藜芦醇低剂量组;D 为高剂量组;模型组作为参照

图 3 各组足细胞 E-cadherin 表达比较

4 各组透过单层足细胞的蛋白浓度比较(表 3) 与正常组比较,模型组透过单层足细胞的蛋白浓度升

高(P<0.05);与模型组比较,白藜芦醇高、低剂量组蛋白浓度降低(P<0.05)。



注:1 为正常组;2 为模型组;3 为白藜芦醇低剂量组;4 为白藜芦醇高剂量组

图 4 各组足细胞 P-cadherin、ZO-1、NEPH1 及 α -SMA 蛋白表达

表 3 各组透过单层足细胞的蛋白浓度比较 (mg/mL, $\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 ($\mu\text{mol/L}$)	n	蛋白浓度
正常	—	3	6.36 \pm 0.29*
模型	—	3	9.15 \pm 0.29
白藜芦醇低剂量	2	3	7.50 \pm 0.29*
高剂量	5	3	7.25 \pm 0.30*

注:与模型组比较, * $P < 0.05$

5 各组足细胞存活率比较(表 4) 各组足细胞存活率比较,差异无统计学意义。

表 4 各组足细胞存活率比较 (% , $\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 ($\mu\text{mol/L}$)	n	存活率
正常	—	3	100.0 \pm 2.2
白藜芦醇低剂量	2	3	102.1 \pm 2.8
高剂量	5	3	100.4 \pm 3.6

讨 论

足细胞是肾小球脏层上皮细胞,象“八爪鱼”附着于肾小球基底膜(GBM)的外侧,与基底膜、血管内皮细胞共同构成肾小球滤过屏障,是阻止蛋白质丢失的最后一道防线。由于足细胞属终末分化细胞,体外原代培养的足细胞不能传代生长,因此限制了足细胞的体外研究。由 H-2K^b-tsA58 转基因小鼠建立的足细胞系是目前被普遍接受的、接近体内足

细胞生理特性的细胞系,为足细胞的研究提供了条件。本研究在 37 °C 分化的足细胞上采用免疫荧光技术检测到肾小球足细胞标志蛋白 Neph rin、Podocin 的表达,明确了肾小球足细胞来源,并标志了足细胞体外分化成熟。

以往认为,受肾足细胞增殖能力的限制,足细胞脱落或凋亡不可避免的导致足细胞密度降低和肾小球滤过受损,引发蛋白尿。然而蛋白尿往往发生在多数原发性肾小球疾病的早期,在一些表现为大量蛋白尿的肾脏疾病中,足细胞并未脱落或凋亡,而是牢牢地附着在基底膜上^[6]。足细胞脱落或凋亡导致的足细胞缺损通常发生在表现为大量蛋白尿的慢性肾脏疾病的晚期^[7]。在获得性肾小球疾病的研究中发现,足细胞特异性表型的异常可能是最早导致肾小球滤过屏障完整性损伤的“罪魁祸首”。

在本项研究中,5 mg/mL 的 TGF- β_1 可诱导小鼠足细胞上皮细胞标志 E-cadherin 表达较正常组细胞显著降低,足细胞裂孔隔膜组成分子 P-cadherin、ZO-1 以及 NEPH1 等表达均显著下调,而 α -SMA 表达水平显著增加。本研究亦发现,TGF- β_1 诱导可使透过单层足细胞的蛋白滤过量显著增加。

足细胞属于上皮细胞,表达上皮细胞标志 E-cadherin,与其他肾脏上皮细胞不同的是,足细胞亦表达肌成纤维细胞标志物 α -SMA。Chen CA 等^[8]也在体外分化的足细胞中检测到 α -SMA 的表达。Saleem MA 等^[9]发现,成熟的足细胞具有平滑肌细胞的关键表型,可表达平滑肌细胞标志蛋白 smoothelin、钙调蛋白和心肌蛋白等,并且在体外观察到足细胞活跃的收缩过程。 α -SMA 可能与 smoothelin 等一样参与了足细胞的收缩运动。在 TGF- β_1 诱导下,足细胞中 E-cadherin 表达降低, α -SMA 表达则在原来的基础上进一步显著增高,提示足细胞的上皮表型发生了改变。

P-cadherin 和 NEPH1 既是足细胞表型分子,亦是裂孔隔膜(slit diaphragm, SD)的重要组成分子,与 Neph rin、FAT 等一起构成 SD 的拉链式结构。Reise J 等^[10]认为 SD 是以 P-cadherin 为基础的黏附连接,并提出 P-cadherin 是 SD 的核心蛋白,而 SD 特异的选择通透功能则是由其他蛋白如 Neph rin 实现的。NEPH1 不仅是 SD 上的重要组成蛋白,还参与了信号传导,与 Neph rin、Podocin、ZO-1 等有着密切的结构和功能上的联系。ZO-1 是一种连接蛋白,在足细胞足突部位表达,一侧嵌入到裂孔隔膜的胞膜表面,另一侧则链接在细胞内 actin 骨架上。ZO-1 作为裂孔隔膜的组成元件,通过连接裂孔隔膜和细胞骨架对

维持足突结构和裂孔隔膜的完整性以及肾小球滤过功能起着关键性作用。高糖环境或 AGEs 等诱导足细胞 ZO-1 的表达异常,同时伴随着蛋白尿的产生^[11]。

TGF- β_1 诱导的足细胞 P-cadherin、NEPH1、ZO-1 这些蛋白表达水平显著降低,一方面提示足细胞特异性表型发生转化,另一方面这些组成 SD 的蛋白分子的异常使 SD 结构完整性和稳定性遭到破坏,从而导致透过单层足细胞蛋白的滤过量增加。

有效抑制足细胞表型转化将有利于促进足细胞恢复正常表型或延缓足细胞脱落或凋亡的进程。本研究采用白藜芦醇预先干预 30 min,观察其对足细胞损害的预防作用,方法借鉴于刘志红等^[12]研究。该研究显示,白藜芦醇干预可显著抑制 TGF- β_1 对足细胞上皮细胞标志 E-cadherin 以及裂孔隔膜组成分子 P-cadherin、NEPH1 和细胞连接蛋白 ZO-1 蛋白表达的诱导作用,并具有剂量依赖性;白藜芦醇干预还可降低肌成纤维细胞标志 α -SMA 的表达水平。提示白藜芦醇具有维持足细胞上皮表型和裂孔隔膜完整性的作用。白藜芦醇干预可显著降低透过单层足细胞的牛血清白蛋白量,可能与其维持足细胞正常表型的作用有关。而 2 μ mol/L 或 5 μ mol/L 白藜芦醇有效浓度对足细胞存活率无显著影响,提示无显著细胞毒性。

白藜芦醇是一种植物抗毒素,存在于约 72 种植物中,其中在新鲜葡萄皮中的含量最高,具有天然、多功能、无毒副作用等特点,可作为促进人体健康的天然植物添加剂。本研究也表明在有效浓度范围内,白藜芦醇对足细胞无显著毒性。有研究显示,白藜芦醇具有降低蛋白尿和肾脏保护作用。白藜芦醇可显著降低顺铂诱导的中毒性肾损害所产生的蛋白尿,对肾脏结构和功能均有显著改善作用^[13]。白藜芦醇在 5/6 肾切除慢性肾衰大鼠模型中也有显著的降低蛋白尿和肾保护功能^[5]。白藜芦醇降低蛋白尿、改善肾脏结构和功能的作用可能与其保护足细胞的作用有关。

但目前白藜芦醇抑制 TGF- β_1 诱导的足细胞表型转化的分子机制及信号途径尚未阐明,而且对肾脏病模型动物及患者的足细胞损伤的干预作用也不明确,需要进一步进行探讨。尽管白藜芦醇对肾脏疾病具有保护作用,但研究尚处在体外实验和动物实验阶段,尚需临床试验加以研究和证实。

参 考 文 献

- [1] Tryggvason K, Wartiovaara J. Molecular basis of glomerular permselectivity[J]. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 2001, 10(4): 543-549.
- [2] Asanuma K, Mundel P. The role of podocytes in glomerular pathobiology [J]. *Clin Exp Nephrol*, 2003, 7(3): 255-259.
- [3] Li Y, Kang YS, Dai C, et al. Epithelial-to-mesenchymal transition is a potential pathway leading to podocyte dysfunction and proteinuria [J]. *Am J Pathol*, 2008, 172(2): 299-308.
- [4] Yamauchi Y, Iwano M, Suzuki D, et al. Epithelial-mesenchymal transition as a potential explanation for podocyte depletion in diabetic nephropathy [J]. *Am J Kidney Dis*, 2009, 54(4): 653-664.
- [5] Chander V, Chopro K. Possible role of nitric oxide in the protective effect of resveratrol in 5/6th nephrectomized rats [J]. *J Surg Res*, 2006, 133(2): 129-135.
- [6] Lahdenkari AT, Lounatmaa K, Patrakka J, et al. Podocytes are firmly attached to glomerular basement membrane in kidneys with heavy proteinuria [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2004, 15(10): 2611-2618.
- [7] El-Aouni C, Herbach N, Blattner SM, et al. Podocyte-specific deletion of integrin-linked kinase results in severe glomerular basement membrane alterations and progressive glomerulosclerosis [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2006, 17(5): 1334-1344.
- [8] Chen CA, Hwang JC, Guh JY, et al. TGF-beta, and integrin synergistically facilitate the differentiation of rat podocytes by increasing alpha-smooth muscle actin expression [J]. *Transl Res*, 2006, 148(3): 134-141.
- [9] Saleem MA, Zavadil J, Bailly M, et al. The molecular and functional phenotype of glomerular podocytes reveals key features of contractile smooth muscle cells [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2008, 295(4): F959-F970.
- [10] Reiser J, Kriz W, Kretzler M, et al. The glomerular slit diaphragm is a modified adhere junction [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2000, 11(1): 1-8.
- [11] Ha TS, Choi JY, Park HY, et al. Ginseng total saponin improves podocyte hyperpermeability induced by high glucose and advanced glycosylation endproducts [J]. *J Korean Med Sci*, 2011, 26(10): 1316-1321.
- [12] Zheng CX, Chen ZH, Zeng CH, et al. Triptolide protects podocytes from puromycin aminonucleoside induced injury *in vivo* and *in vitro* [J]. *Kidney Int*, 2008, 74(5): 596-612.
- [13] Do Amaral CL, Francescato HD, Coimbra TM, et al. Resveratrol attenuates cisplatin-induced nephrotoxicity in rats [J]. *Arch Toxicol*, 2008, 82(6): 363-370.