

温阳活血利水方含药血清对嘌呤霉素损伤小鼠永生系足细胞组织蛋白酶 L 表达的影响

邱雯雯^{1,2} 袁 军^{3,4} 杨 柳^{1,2}

摘要 目的 观察温阳活血利水方含药血清对嘌呤霉素损伤的小鼠永生系足细胞组织蛋白酶 L (Cathepsin L, CatL) 表达的影响。**方法** 体外培养小鼠永生系足细胞,将其分为正常对照组、模型组、地塞米松组、10%温阳活血利水方血清组(简称 10% 中药血清组)、20% 中药血清组及中药血清空白对照组。正常对照组以培养液孵育足细胞 24 h,模型组应用嘌呤霉素 45 mg/L 作用于足细胞 24 h;在模型组干预基础上,地塞米松组加用地塞米松 1 μmol/L 共孵育 24 h;10%及 20% 中药血清组分别加用 10%及 20% 的中药血清共孵育 24 h,并设中药血清空白对照组(单用中药血清孵育 24 h)。采用细胞免疫荧光染色观察各组足细胞 CatL 及其底物 Synaptopodin 荧光表达改变;异硫氰酸荧光素(FITC)-鬼笔毒环肽(phalloidin)染色标记足细胞纤维肌动蛋白(F-actin),并采用 F-actin 外周环评分(cortical F-actin score, CFS)半定量分析足细胞 F-actin 分布。**结果** 与正常对照组比较,模型组足细胞 Synaptopodin 表达水平明显降低, CatL 表达水平升高, F-actin 排列紊乱,逐渐向细胞外周分布形成 F-actin 环, CFS 评分明显升高 ($P < 0.01$)。与模型组比较,地塞米松组、10%、20% 中药血清组足细胞 Synaptopodin 蛋白表达升高, CatL 表达水平降低, CFS 评分亦降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。与地塞米松组比较,10% 中药血清组 Synaptopodin 表达降低 ($P < 0.05$), 20% 中药血清组 CFS 评分明显降低 ($P < 0.05$)。**结论** 温阳活血利水方能上调嘌呤霉素损伤的足细胞 Synaptopodin 表达,下调 CatL 表达水平,减少骨架蛋白 F-actin 的重构,有助于稳定足细胞 actin 骨架,改善足细胞融合。

关键词 温阳活血利水方;嘌呤霉素;足细胞;组织蛋白酶 L

Effect of Wenyang Huoxue Lishui Recipe Containing Serum on Expression of Cathepsin L in Puromycin Aminonucleoside-induced Injury of Mouse Glomerular Podocytes QIU Wen-wen^{1,2}, YUAN Jun^{3,4}, and YANG Liu^{1,2} 1 Clinical College of Chinese Medicine, Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan (430061); 2 Graduate School, Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan (430061); 3 Clinical Medical College, Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan (430061); 4 Department of Nephrology, Hubei Provincial Hospital of Chinese Medicine, Wuhan (430061)

ABSTRACT Objective To observe the effect of Wenyang Huoxue Lishui Recipe (WHLR) containing serum on the expression of cathepsin L (CatL) in puromycin aminonucleoside-induced injury of mouse glomerular podocytes. **Methods** Mouse podocyte cells (MPCs) *in vitro* cultured were divided into the normal control group, the model group, the dexamethasone (DEX) group, 10% WHLR containing serum group, 20% WHLR containing serum group, the vehicle serum control group. MPCs in the normal control group were cultured at 37 °C culture solution for 24 h. 45 mg/L puromycin was acted on MPCs in the model group for 24 h. On the basis of puromycin intervention, 1 μmol/L DEX was co-incubated in MPCs of the DEX group for 24 h; 10% or 20% WHLR containing serum was co-incubated in MPCs of the 10% WHLR containing serum group and 20% WHLR containing serum group for 24 h. The vehicle serum

基金项目:2012 年教育部高等学校博士学科点专项科研基金(新教师类)资助项目(No. 20124230120003)

作者单位:1.湖北中医药大学中医临床学院(武汉 430061);2.湖北中医药大学研究生院(武汉 430061);3.湖北中医药大学临床医学院(武汉 430061);4.湖北省中医院肾内科(武汉 430061)

通讯作者:袁 军, Tel: 027-88929221, E-mail: 18986225252@126.com

DOI: 10.7661/CJIM.2016.05.0602

control group was also set up by incubating with WHLR containing serum alone for 24 h. The expression of CatL and its substrate Synaptopodin in podocytes were detected by cell immunofluorescence staining. FITC-conjugated phalloidin was used to stain F-actin. A cortical F-actin score index (CFS index) was designed to quantify the degree of cytoskeletal reorganization in cultured podocytes. Results Compared with the normal control group, the expression of synaptopodin significantly decreased and the expression of CatL significantly increased in the model group. F-actin arranged in disorder, gradually forming pericellular F-actin ring. CFS index was obviously elevated ($P < 0.01$). Compared with the model group, the expression of synaptopodin increased, the expression of CatL decreased, and CFS index also decreased in the DEX group, 10% WHLR containing serum group, and 20% WHLR containing serum group ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Compared with the DEX group, the expression of synaptopodin decreased in 10% WHLR containing serum group, CFS index also decreased in 20% WHLR containing serum group ($P < 0.05$). Conclusions WHLR could up-regulate the expression of synaptopodin, down-regulate the expression of CatL, and alleviate cytoskeletal reorganization of F-actin. It was helpful to stabilize the cytoskeleton of F-actin and improve the merging of podocytes.

KEYWORDS Wenyang Huoxue Lishui Recipe; puromycin; podocyte; cathepsin L

蛋白尿是肾脏疾病的主要指标和预后标记物,其中肾小球型蛋白尿最常见,约占 90%^[1]。足细胞是肾小球滤过屏障的最外层,其损伤会导致显著的蛋白尿。足细胞作为一种具有特殊动力学的上皮细胞,其细胞骨架的结构和功能完整是其发挥生理功能的前提条件。足细胞骨架蛋白结构的变化导致足细胞融合和肾小球滤过屏障受损,进而导致蛋白尿。近年来研究发现组织蛋白酶 L (cathepsin L, CatL) 蛋白水解途径参与了足细胞骨架蛋白的调控。足细胞 CatL 的底物为 Synaptopodin。Synaptopodin 正常情况下通过控制 actin 骨架蛋白来维持肾小球超滤屏障。

既往动物实验结果表明,温阳活血利水方能改善阿霉素肾病模型大鼠蛋白尿^[2-4]。本研究中笔者通过观察温阳活血利水方对嘌呤霉素损伤的小鼠永生系足细胞 CatL 及其底物 Synaptopodin 表达和对小鼠足细胞骨架重构的影响,探讨其作用机制。

材料与方法

1 动物与细胞 SPF 级雄性 Wistar 大鼠 20 只,体重(200 ± 20) g,购自武汉大学中南医院动物实验中心,动物生产许可证号:SCXK(鄂)2008-0004。大鼠饲养于 SPF 动物实验室,动物饲养许可证号:SYXK(鄂)2012-0068。足细胞系 MPC5 为武汉大学人民医院丁国华教授赠予。

2 药物、试剂及仪器 温阳活血利水方由制附子 10 g 肉桂 5 g 生黄芪 30 g 麻黄 6 g 鹿角胶 10 g 猪苓 10 g 川芎 10 g 红花 5 g 益母草 10 g 水蛭 3 g 怀牛膝 10 g 组成。采用配方颗粒

剂(华润三九医药股份有限公司)进行配制,由湖北省中医院药剂科制备,用三蒸水冲化后,使其浓度为 200%。高压灭菌分装,4 ℃ 保存备用。嘌呤霉素(25 mg/支, Sigma 公司)。地塞米松磷酸钠注射液(1 mL:5 mg, 10 支,湖北天药药业股份有限公司生产,生产批号:H42020019)。胎牛血清(Gibco 公司),改良型 RPMI-1640 培养液(HyClone 公司),I 型胶原(BD Biosciences 公司),重组小鼠 γ -干扰素(PEPRO Tech 公司),0.25%胰蛋白酶—EDTA,山羊抗兔抗体,4%多聚甲醛(武汉谷歌生物科技有限公司),兔抗大鼠 Synaptopodin 多克隆抗体,兔抗大鼠 CatL 多克隆抗体(美国 Abcam 公司),Triton X-100(Solarbio 公司)。荧光显微镜(日本尼康 80i);激光共聚焦显微镜(德国蔡司 LSM 510 META)。

3 含药血清制备 SPF 级雄性 Wistar 大鼠 20 只,适应性喂养 3 天后,每日灌服温阳活血利水方 3 mL(每毫升含生药 2 g,3 mL 相当于临床给药剂量的 5.75 倍),分 2 次(每次间隔 4 h)连续给药 7 天。末次给药后 1 h,大鼠经 10%水合氯醛(0.3 mL/100 g 体重)腹腔注射麻醉,碘伏消毒手术部位后,腹主动脉采血,4 ℃ 冰箱静置 4 h 后,3 000 r/min 离心 30 min,收集血清于 EP 管中,56 ℃ 水浴灭活补体 30 min, -70 ℃ 冻存,经 0.22 μ m 滤网抽滤除菌分装待用。

4 足细胞培养 参照参考文献[5]进行足细胞培养。细胞在 10 U/mL 重组小鼠 γ -干扰素(γ -IFN)诱导下于 33 ℃ 使其增殖;继而接种至涂有 10 mg/L I 型胶原的 25 cm² 培养瓶中,置于 37 ℃ 无 γ -IFN 的 RPMI-1640 培养液中继续培养 1~2 周,使其分化成熟,达 70%~80% 融合时加入 2 mL 0.125% (用超

纯水稀释)胰蛋白酶消化,加入后轻轻摇匀,37 ℃ 培养箱放置约 90 s,待细胞变成圆球形,并且有部分脱落即可。吸净胰酶,室温放置约 60~90 s。加入 37 ℃ 培养液 3 mL,轻轻吹打,至所有细胞脱落,移入离心管。以 1 200 r/min 离心 5 min。弃上清,加入 10 mL 37 ℃ 培养液,吹打均匀制备细胞悬液。于超净工作台内,打开 6 孔板,放置 TC 处理 6 孔板方形细胞爬片(购于上海卧宏生物科技有限公司)。将细胞悬液滴加至细胞爬片上,置于 CO₂ 浓度为 5% 的培养箱中于 37 ℃ 培养至细胞固着(约 2 h)。加入 2 mL 细胞培养液继续培养约 6 h 后进行下一步实验。

5 实验分组 采用无血清的 RPMI-1640 培养液培养 24 h 使细胞生长同步化后,将其分成 6 组:正常对照组、模型组、地塞米松组、10% 温阳活血利水方血清组(简称 10% 中药血清组)、20% 中药血清组及中药血清空白对照组。模型组应用 45 mg/L 嘌呤霉素作用于足细胞 24 h;在模型组基础上,地塞米松组加用 1 μmol/L 地塞米松共孵育 24 h;10% 及 20% 中药血清组分别加用 10%、20% 中药含药血清共孵育 24 h,并设正常对照组(即用 37 ℃ 培养液孵育 24 h)及中药血清空白对照组(单用温阳活血利水方含药血清孵育 24 h)。

6 观察指标及检测方法

6.1 细胞免疫荧光染色检测 CatL 及 Synaptopodin 荧光表达 足细胞弃去培养基,用 PBS 洗 3 次,每次 5 min。以 4% 多聚甲醛固定 30 min, PBS 洗 3 次,每次 5 min。0.5% (体积分数) Triton X-100 室温孵育 15 min, PBS 洗 3 次,每次 5 min。5% (体积分数) 的牛血清白蛋白(BSA)室温孵育 30 min, PBS 洗 3 次,每次 5 min。去除 PBS,然后分别滴加一抗兔抗大鼠 Synaptopodin(1:100)多克隆抗体、一抗兔抗大鼠 CatL(1:100)多克隆抗体覆盖爬片,4 ℃ 孵育过夜后, PBS 洗涤 3 次,每次 5 min。滴加 FITC 标记山羊抗兔的荧光二抗,避光室温孵育 45 min, PBS 洗涤 3 次,每次 5 min。滴加 DAPI 染液,避光室温孵育 10 min 后用 PBS 洗涤 3 次,每次 5 min。封片后,荧光显微镜下观察荧光并拍照,采用 Image Pro Plus 软件分析荧光强度。蛋白表达水平与荧光强度成正比。

6.2 FITC-phalloidin 标记足细胞 F 肌动蛋白(F-actin)细胞骨架 细胞骨架 F-actin 染色采用直接免疫荧光染色法:弃培养基,4 ℃ 预冷 PBS 轻洗,0.1% Triton X-100 加 2% 多聚甲醛,4 ℃ 冰上固定 30 min,弃上清, PBS 清洗 3 次,每次 5 min。FITC-

phalloidin(1:1 000,1% DMSO 稀释),4 ℃ 避光孵育过夜,次日 PBS 漂洗 3 次,每次 5 min。去除 PBS 后滴加 DAPI 染液,避光室温孵育 10 min 后用 PBS 洗涤 3 次,每次 5 min。封片后,应用激光共聚焦显微镜观察荧光并拍照。采用 F-actin 外周环评分(cortical F-actin score,CFS)^[6]评价 F-actin 分布:F-actin 形成正常应力纤维,计 0 分;F-actin 外周环 < 1/2 胞膜边缘,计 1 分;F-actin 外周环 > 1/2 胞膜边缘,计 2 分;F-actin 形成完整外周环,计 3 分;每个视野计数 100 个细胞,取平均值(mCFS)。

7 统计学方法 采用 SPSS 17.0 统计软件包进行统计分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD-*t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 各组足细胞 Synaptopodin 表达水平比较(图 1、表 1) 中药血清空白对照组与正常对照组 Synaptopodin 表达水平比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。与正常对照组比较,模型组 Synaptopodin 表达水平明显下降($P < 0.01$)。与模型组比较,地塞米松,10%、20% 的中药血清组 Synaptopodin 表达水平明显升高($P < 0.01$)。与地塞米松组比较,10% 中药血清组 Synaptopodin 表达水平降低($P < 0.05$),而 20% 中药血清组与地塞米松组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。

2 各组足细胞 CatL 表达水平比较(图 2、表 1) 在正常足细胞的细胞质中有少许 CatL 表达。单纯中药血清与足细胞共孵育,对 CatL 表达水平无影响。

与正常对照组比较,模型组 CatL 表达升高($P < 0.01$);与模型组比较,地塞米松,10%、20% 中药血清组 CatL 表达水平明显降低($P < 0.01$)。地塞米松组,10%、20% 中药血清组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。

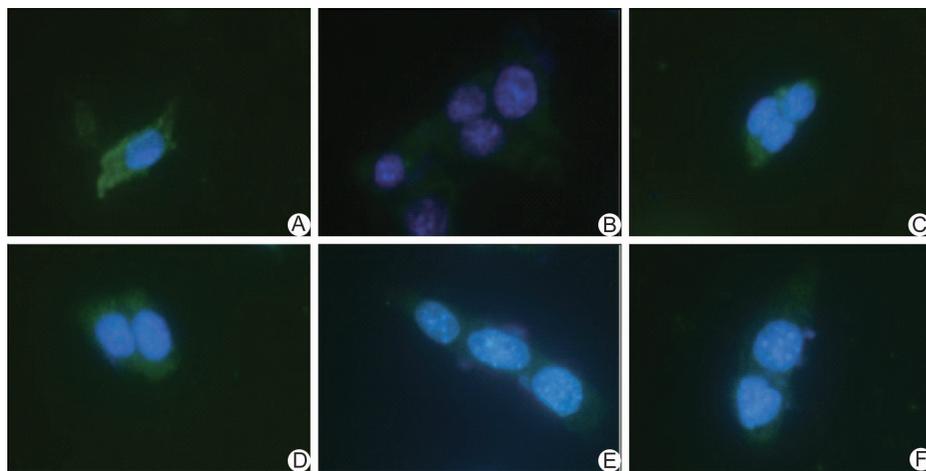
3 各组足细胞骨架蛋白 F-actin 分布及 CFS 评分比较(图 3、表 1) 嘌呤霉素作用 24 h 后,模型组足细胞 F-actin 排列出现紊乱,从有序的平行状纤维束重构为杂乱无序的网状物,形成核外周环;各干预组能一定程度上改善 F-actin 排列紊乱。

与正常对照组比较,模型组 CFS 评分明显升高($P < 0.01$);与模型组比较,地塞米松组,10%、20% 中药血清组 CFS 评分明显降低(均 $P < 0.01$)。与地塞米松组比较,20% 中药血清组 CFS 评分明显降低($P < 0.05$)。

表 1 各组足细胞 Synaptopodin、CatL 荧光表达定量及 CFS 评分比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	Synaptopodin(荧光强度)	Cat L(荧光强度)	mCFS 评分(分)
正常对照	5	0.201 ± 0.014	0.025 ± 0.006	0.310 ± 0.132
模型	5	0.026 ± 0.008*	0.256 ± 0.069*	2.126 ± 0.620*
中药血清空白对照	5	0.184 ± 0.017	0.055 ± 0.070	0.482 ± 0.151
地塞米松	5	0.098 ± 0.010 ^{△△}	0.095 ± 0.009 ^{△△}	1.266 ± 0.278 [△]
10% 中药血清	5	0.058 ± 0.009 ^{△△▲}	0.103 ± 0.012 ^{△△}	1.086 ± 0.244 ^{△△}
20% 中药血清	5	0.093 ± 0.017 ^{△△}	0.080 ± 0.004 ^{△△}	0.736 ± 0.096 ^{△△▲}

注:与正常对照组比较, *P < 0.01; 与模型组比较, [△]P < 0.05, ^{△△}P < 0.01; 与地塞米松组比较, [▲]P < 0.05



注:A 为正常对照组; B 为模型组; C 为中药血清空白对照组; D 为地塞米松组; E 为 10% 中药血清组; F 为 20% 中药血清组; 下图同

图 1 各组足细胞 Synaptopodin 荧光表达 (×1 000)

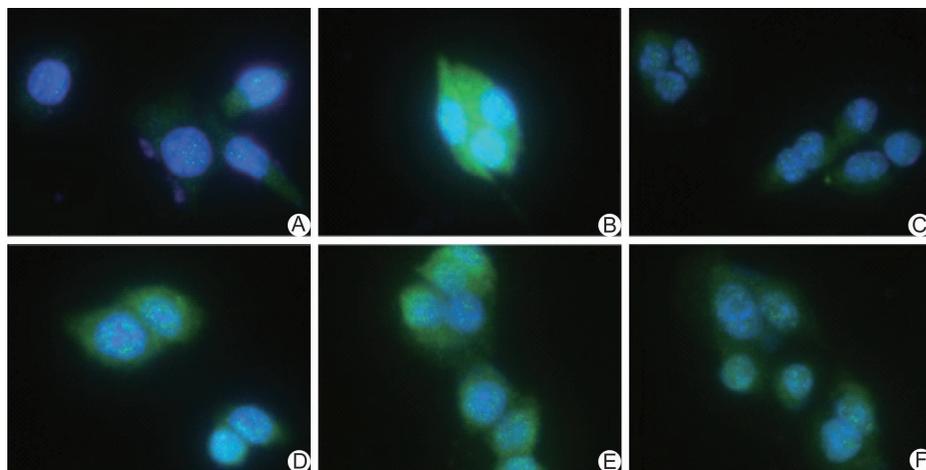


图 2 各组足细胞 CatL 荧光表达 (×1 000)

讨 论

蛋白尿是肾脏疾病主要的临床表现,也是肾脏病持续性进展的重要因素^[7]。临床研究证实,蛋白尿的量及持续时间均直接影响肾脏疾病的预后^[8-10]。足细胞作为肾小球滤过屏障的最外层在维持正常的肾脏滤过屏障中发挥重要的作用,足细胞的损伤会导致

显著的蛋白尿,如局灶节段性肾小球硬化(focal segmental glomerulosclerosis, FSGS)、微小病变肾病综合征(minimal change nephritic syndrome, MCD)和膜性肾病(membranous nephropathy, MN)等蛋白尿肾病中均有不同程度的足细胞损伤、脱落、丢失^[11]。根据足细胞的形态特点,可将其分为 3 个组成部分:胞体、主突和足突。足突是足细胞功能

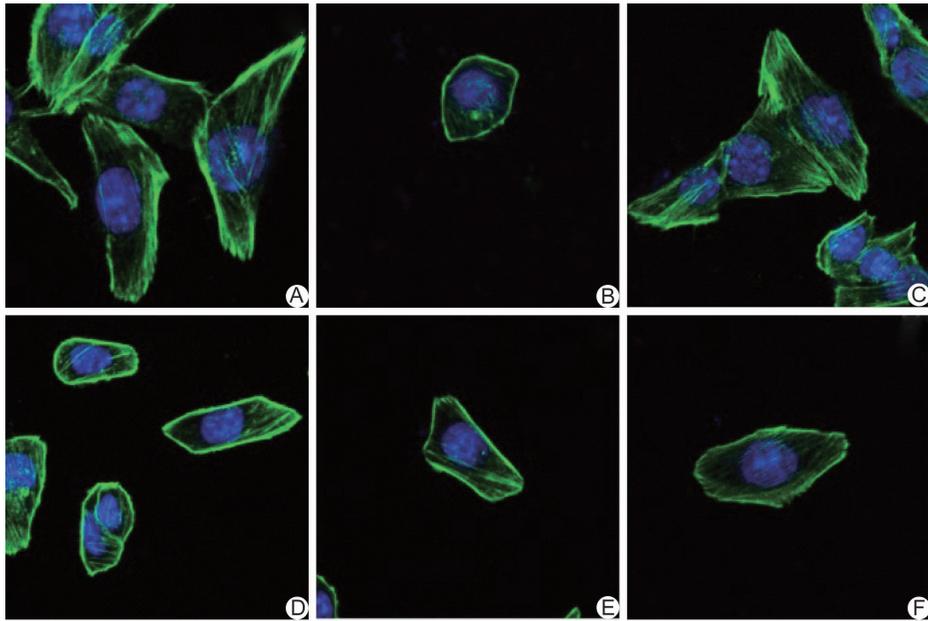


图3 各组足细胞骨架蛋白 F-actin 分布改变 (×600)

的主要代表者,足细胞足突的细胞骨架以 F-actin 为主构成微丝,微丝形成环状束呈纵向排列。F-actin 及肌动蛋白结合蛋白最终决定了足突的形态结构,其中肌动蛋白结合蛋白参与调节 F-actin 聚合和解聚的动态平衡过程,对于维持肾小球正常的滤过功能有着重要作用^[12]。足细胞 actin 网架结构的变化是足突融合、消失和蛋白尿发生的先决条件,也是足突融合蛋白质相互作用的最后公共通路^[13]。足细胞骨架重排引起足细胞活动力升高是导致足突融合发生的分子基础。

肾病综合征表现为大量蛋白尿和不同程度水肿,属中医学“水肿病”范畴,属阳气虚衰、阴水寒湿内盛的表里同病之证,同时还有血瘀和水湿病理产物。据此本实验拟定温阳活血利水方治疗肾病综合征,温阳活血利水方温阳、活血、利水三者兼顾。本课题组既往研究表明,以温阳活血利水为法则制定的温阳活血利水方能减少微小病变肾病综合征模型大鼠蛋白尿,改善足细胞足突融合^[2-4, 14]。

近几年来经典的嘌呤霉素致小鼠肾小球足细胞损伤模型已成为研究足细胞相关蛋白尿发生分子机制的热点^[15]。本研究通过温阳活血利水方含药血清干预嘌呤霉素损伤的足细胞,探讨温阳活血利水方稳定足细胞骨架及其结合蛋白的影响。本实验中,嘌呤霉素作用 24 h 后,足细胞 F-actin 排列出现紊乱,从有序平行纤维束重构为杂乱无序的网状物,形成核外周环,CFS 评分明显升高,提示嘌呤霉素导致足细胞骨架蛋白出现紊乱,细胞形态出现变

化。既往研究表明,地塞米松可增加足细胞骨架 F-actin 的稳定性^[16],并抑制嘌呤霉素引起的足细胞凋亡^[17],本研究结果表明地塞米松能稳定足细胞骨架,而 20% 温阳活血利水方含药血清在此方面作用优于地塞米松。

研究发现,细胞质内 CatL 蛋白水解途径参与了足细胞骨架蛋白的调控^[18],在多种原因导致的蛋白尿发展起重要的作用^[19]。在至少两种蛋白尿动物模型中,如脂多糖(LPS)小鼠模型以及嘌呤霉素小鼠模型中,CatL 在肾脏中表达增多,这两种动物模型均有足细胞足突融合^[21]。同样在体外实验中,LPS 和嘌呤霉素处理的足细胞细胞浆中 CatL 表达也增高^[21]。CatL 基因的敲除能保护由 LPS 诱导足突融合和蛋白尿^[21]。同样,CatL 的抑制剂能减少实验大鼠的蛋白尿^[20]。Synaptopodin 为足细胞 CatL 蛋白水解的底物之一。正常情况下,足细胞 Synaptopodin 将 actin 交联成保持极性一致并具有一定张力的束样肌动蛋白微丝。足细胞肌动蛋白相关蛋白(如 Synaptopodin)在稳定肌动蛋白细胞骨架确保维持肾小球滤过功能起关键作用^[11],其通过影响 F-actin 的聚集和解聚,从而调节足细胞的“可塑性”。CatL 能水解 actin 骨架蛋白关联结合器 Synaptopodin,导致足细胞微丝系统重排,继而出现蛋白尿^[13, 20-22]。本实验中,温阳活血利水方含药血清可明显降低嘌呤霉素损伤的小鼠足细胞 CatL 的表达并升高 Synaptopodin 表达,与地塞米松作用相当,而这有助于减轻 F-actin 的重构,稳定肌动蛋白细胞骨架,进而确保维持肾小球正常滤过屏障,

从而减少蛋白尿。

综上所述,温阳活血利水方可能通过降低肾小球内 CatL 表达以及升高 Synaptopodin 表达,从而稳定肌动蛋白细胞骨架,确保维持肾小球滤过功能,改善足细胞足突融合,减少蛋白尿。

参 考 文 献

- [1] Bergon E, Granados R, Fernandez-Segoviano P, et al. Classification of renal proteinuria: a simple algorithm [J]. Clin Chem Lab Med, 2002, 40(11): 1143-1150.
- [2] 袁军, 鲁艳芳, 黄琼霞, 等. 温阳活血利水方对阿霉素肾病大鼠肾小球足细胞 podocin 表达的影响[J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2010, 11(6): 492-495.
- [3] 袁军, 鲁艳芳, 黄琼霞, 等. 温阳活血利水方对阿霉素肾病大鼠肾小球足细胞 nephrin 表达的影响[J]. 临床肾脏病杂志, 2012, 12(6): 281-285.
- [4] 袁军, 杨柳, 肖浪, 等. 温阳活血利水方对阿霉素肾病大鼠肾脏足细胞 CD2AP、synaptopodin、 α -actinin-4 表达的影响[J]. 光明中医, 2013, 28(10): 2041-2045.
- [5] Yuan H, Ren ZL, Hu FQ, et al. Renin induces apoptosis in podocytes through a receptor-mediated, angiotensin II-independent mechanism [J]. Am J Med Sci, 2012, 344(6): 441-446.
- [6] Hsu HH, Hoffmann S, Endlich N, et al. Mechanisms of angiotensin II signaling on cytoskeleton of podocytes [J]. J Mol Med (Berl), 2008, 86(12): 1379-1394.
- [7] Zandi-Nejad K, Eddy AA, Glasscock RJ, et al. Why is proteinuria an ominous biomarker of progressive kidney disease? [J]. Kidney Int Suppl, 2004, 11(92): 876-889.
- [8] Yuan H, Takeuchi E, Salant DJ. Podocyte slit-diaphragm protein nephrin is linked to the actin cytoskeleton [J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2002, 282(4): F585-F591.
- [9] Chang WX, Arai S, Tamura Y, et al. Time-dependent risk factors associated with the decline of estimated GFR in CKD patients [J]. Clin Exp Nephrol, 2015, 20(1): 58-70.
- [10] Liu Q, Lv J, Li H, et al. Validation of chronic kidney disease risk categorization system in Chinese patients with kidney disease: a Cohort study [J]. Nephrology (Carlton), 2015, 20(12): 936-944.
- [11] Huang J, Liu G, Zhang YM, et al. Urinary soluble urokinase receptor levels are elevated and pathogenic in patients with primary focal segmental glomerulosclerosis [J]. BMC Med, 2014, 12(1): 81.
- [12] Oh J, Reiser J, Mundel P. Dynamic (re)organization of the podocyte actin cytoskeleton in the nephrotic syndrome [J]. Pediatr Nephrol, 2004, 19(2): 130-137.
- [13] Chuang PY, He JC. Signaling in regulation of podocyte phenotypes [J]. Nephron Physiol, 2009, 111(2): 9-15.
- [14] 郭明慧, 袁军, 杨柳, 等. 温阳活血利水方对阿霉素肾病大鼠肾小球足细胞 CD2AP、Coractin、Arp2/3 表达的影响[J]. 湖北中医药大学学报, 2014, 16(3): 5-8.
- [15] 刘淑芳, 丁洁, 范青锋, 等. 嘌呤霉素致足细胞损伤细胞模型的建立[J]. 北京大学学报(医学版), 2008, 40(6): 586-589.
- [16] Ransom RF, Lam NG, Hallett MA, et al. Glucocorticoids protect and enhance recovery of cultured murine podocytes via actin filament stabilization [J]. Kidney Int, 2005, 68(6): 2473-2483.
- [17] Wada T, Pippin JW, Marshall CB, et al. Dexamethasone prevents podocyte apoptosis induced by puromycin aminonucleoside: role of p53 and Bcl-2-related family proteins [J]. J Am Soc Nephrol, 2005, 16(9): 2615-2625.
- [18] Kistler AD, Peev V, Forst AL, et al. Enzymatic disease of the podocyte [J]. Pediatr Nephrol, 2010, 25(6): 1017-1023.
- [19] Mundel P, Reiser J. Proteinuria: an enzymatic disease of the podocyte [J]. Kidney Int, 2010, 77(7): 571-580.
- [20] Sever S, Altintas MM, Nankoe SR, et al. Proteolytic processing of dynamin by cytoplasmic cathepsin L is a mechanism for proteinuric kidney disease [J]. J Clin Invest, 2007, 117(8): 2095-2104.
- [21] Faul C, Donnelly M, Merscher-Gomez S, et al. The actin cytoskeleton of kidney podocytes is a direct target of the antiproteinuric effect of cyclosporine A [J]. Nat Med, 2008, 14(9): 931-938.
- [22] Yaddanapudi S, Altintas MM, Kistler AD, et al. CD2AP in mouse and human podocytes controls a proteolytic program that regulates cytoskeletal structure and cellular survival [J]. J Clin Invest, 2011, 121(10): 3965-3980.

(收稿:2014-09-05 修回:2015-08-07)