

doi: 10.3969/j.issn.1002-7386.2021.06.001

· 论著 ·

抑制脑信号蛋白 3A 对糖尿病肾病大鼠的影响及作用机制研究

帅欢 唐继军 凌利平

【摘要】 目的 研究抑制脑信号蛋白 3A 对糖尿病肾病大鼠的影响及作用机制。方法 选取 40 只 SD 健康大鼠,其中 10 只作为正常组,剩余 30 只大鼠建立糖尿病肾病模型,建模成功后分为模型组、上调组、下调组,每组 10 只。进行细胞转染建立稳定转染的脑信号蛋白 3A 上调组、脑信号蛋白 3A 下调组。检测 4 组大鼠肾损伤情况,尿素氮(BUN)、血清肌酐(Scr)、尿酸(UA)水平、血糖、糖化血红蛋白、24 h 尿微蛋白、血脂水平、氧化抗氧化酶水平、肾小球结构指标以及肾组织 TGF- β 1/Smad6/BMP7、 α -SMA、E-Cadherin 蛋白表达量,并作组间比较。结果 下调组大鼠 BUN、Scr、UA、血糖、糖化血红蛋白、24 h 尿微蛋白、TG、TC、LDL-C、HDL-C、肾小球基底膜厚度、足突宽度以及肾组织中 TGF- β 1、 α -SMA 蛋白表达量均低于模型组,且 GSH-Px、GSH、CAT 水平以及 Smad6、BMP7、E-Cadherin 蛋白表达量高于模型组,差异有统计学意义($P < 0.05$);下调组大鼠 BUN、Scr、UA、血糖、糖化血红蛋白、24 h 尿微蛋白、TG、TC、LDL-C、HDL-C、肾小球基底膜厚度、足突宽度以及肾组织中 TGF- β 1、 α -SMA 蛋白表达量均低于上调组,且 GSH-Px、GSH、CAT 水平以及 Smad6、BMP7、E-Cadherin 蛋白表达量高于上调组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 抑制脑信号蛋白 3A 能够减少糖尿病肾病,减少肾小球内皮细胞和足突细胞的损伤,降低对肾小球基膜的损害,其作用机制可能与调控 TGF- β 1/Smad6/BMP7 信号通路有关。

【关键词】 脑信号蛋白 3A; 糖尿病肾病; 肾损伤

【中图分类号】 R 587.2 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1002-7386(2021)06-0805-05

Effects of inhibiting brain signal protein 3A on the rats with diabetic nephropathy and its action mechanism SHUAI Huan, TANG Jijun, LING Liping. Department of Blood Dialysis, The First Affiliated Hospital of Hunan Traditional Chinese Medical School, Hu'nan, Zhuzhou 412000, China

【Abstract】 Objective To investigate the effects of inhibiting brain signal protein 3A on the rats with diabetic nephropathy and its action mechanism. **Methods** A total of 40 healthy SD rats were enrolled in the study, in which, 10 rats were enrolled as control group and the other 30 rats were enrolled as diabetic nephropathy group. After successful modeling, the rats were divided into model group, up-regulation group and down-regulation group, with 10 rats in each group. The cell transfection was performed to establish stable up-regulation of brain signal protein 3A and down-regulation of brain signal protein 3A. The renal injury, urea nitrogen (BUN), serum creatinine (Scr), uric acid (UA), blood glucose, glycosylated hemoglobin, 24-hour urinary microprotein, blood lipid, oxidative antioxidant enzymes, glomerular structure and the expression levels of TGF- β 1/Smad6/BMP7, α -SMA and E-Cadherin in kidney tissue were detected and compared among the four groups. **Results** The BUN, Scr, UA, blood sugar, glycated hemoglobin, 24-hour urinary microprotein, TG, TC, LDL-C, HDL-C, glomerular basement membrane thickness, foot process width and the expression levels of TGF- β 1, BMP7 and α -SMA in kidney tissue of rats in down-regulation group were significantly lower than those in model group, however, the expression levels of GSH-Px, GSH, CAT and Smad6, E-Cadherin were significantly higher than those in model group ($P < 0.05$). **Conclusion** Inhibiting brain signal protein 3A can relieve the damage of glomerular endothelial cells and podocytes and the damage of glomerular basement membrane and its action mechanism may be related to the regulation of TGF- β 1/Smad6/BMP7 signaling pathway.

【Key words】 brain signal protein 3A; diabetic nephropathy; renal injury

糖尿病肾病是糖尿病中常见的一种微血管并发症,且常伴随炎症状态。严重时可直接导致肾功能不全,是导致患者残疾和死亡的重要因素之一^[1]。因此早期的预防和治疗是减少和避免糖尿病肾病发生的关键。有研究表明,脑信号蛋白 3A 的表达能够作为诊

断糖尿病肾病的发生及蛋白尿严重程度的重要指标^[2]。脑信号蛋白 3A 是能够通过调节神经生长导向轴突生长方向,随着更多的研究证明,其还能够参与细胞的迁移、肿瘤生长和免疫反应等多种生物学功能^[3]。但目前笔者所见临床上对脑信号蛋白 3A 于糖尿病肾病影响机制研究较少,因此在本文研究中为寻找治疗糖尿病肾病方向,建立糖尿病肾病模型大鼠,通过抑制脑信号蛋白 3A 的表达,观察下调脑信号蛋

项目来源:湖南省教育厅科学研究项目(编号:18C0441)

作者单位:412000 湖南省株洲市 湖南中医药高等专科学校附属第一医院(湖南省直中医院) 血透室

白 3A 对糖尿病肾病大鼠的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 研究动物: 选取 SPF 级 40 只 SD 健康大鼠(北京维通利华实验动物有限公司, 合格证号: SCXK20060009), 由基尔顿生物科技(上海)有限公司提供, 鼠龄(3.5±0.2)个月, 体重(219.7±8.5)g。大鼠均养殖在干净笼子里, 室温(22.1±1.8)℃, 相对湿度 35%~40%, 每天光照 12 h, 喂饮纯净水, 饲养时间 1 周。本实验均获得医院伦理委员会批准。

1.1.2 主要试剂: 大鼠抗小鼠 TGF-β1 抗体(上海一基实业有限公司); 小鼠抗大鼠 α-SMA 抗体(沈阳万类生物科技有限公司); 兔抗大鼠骨形成蛋白(BMP7)抗体、E-Cadherin 抗体(武汉菲恩生物科技有限公司); 兔抗小鼠 Smad6 抗体(上海恒斐生物科技有限公司); 24 h 尿微蛋白 ELISA 试剂盒(南京卡米洛生物工程有

1.2 方法

1.2.1 分组、建模及给药: 随机选取 40 只大鼠中 10 只作为正常组, 剩余大鼠参照陈卫东等^[4]研究实验中糖尿病肾病模型大鼠建立方法建立模型, 30 只大鼠均通过高糖高脂饲料喂养 4 周后, 进行腹腔注射, 一次性注射 55 mg/kg 的链脲佐菌素, 正常组给予普通饲料喂养, 腹腔注射枸橼酸盐缓冲液, 72 h 后使用血糖仪测定血糖, 血糖≥16.7 mmol/L, 则表示糖尿病模型建造成功, 24 h 尿量大于造模前 50% 且 24 h 尿蛋白排泄率>30 mg/24 h, 表示糖尿病肾病模型制备成功。将建模成功的 30 只糖尿病肾病模型大鼠随机分为模型组、上调组、下调组, 每组 10 只。

1.2.2 细胞转染: 取大鼠过上调组、下调组大鼠肾脏组织细胞, 在培养瓶中进行融合, 融合率在 75% 时, 行胰酶消化, 之后使用细胞计数法对消化后的细胞密度进行测量, 然后将细胞植于六孔板中, 大约种植 4×10^5 个细胞, 加入新鲜培养基, 进行培养, 并在 5% CO₂、37℃ 的培养箱中孵育, 当融合率在 40%~80% 时, 取 1.5 μl DNA 溶于 100 μl 双抗培养基中, 进行混合, 混合后进行离心处理, 并在 EP 管中加入 12 μl 的 PolyFect Reagent, 上下颠倒 5 次, 混匀处理, 之后进行静置 5~10 min, 对转染复合物起到促进作用, 并吸去六孔板加入, 在含有转染复合体的 EP 管中加入含有血清和双抗的 600 μl 完全培养基, 颠倒 2 次, 进行摇晃, 促进复合物的均匀分布, 然后之后进行培养 24 h 后换液处理, 倒置, 使用荧光显微镜下对荧光亮度进行观察, 然后进行收集, 提取 RNA, 将转染效率最高的质

粒组、空载组稀释液接种于 10 mm² 培养皿中, 使用 40 μl 嘌呤霉素至每孔常规培养, 培养 3 天后弃去培养液, 选取 PCR 验证筛选的细胞消化处理并稀释, 稀释后置于 24 孔板中, 建立稳定转染的脑信号蛋白 3A 上调组(上调组)、脑信号蛋白 3A 下调组(下调组)。

1.2.3 切片及染色: 取大鼠肾脏组织, 在 4% 多聚甲醛进行固定、脱水透明, 浸蜡包埋, 脱蜡、HE 染色, 之后脱水、透明, 待封片晾干后在显微镜下观察大鼠肾脏组织病理学表现。

1.2.4 BUN、Scr、UA、血糖、糖化血红蛋白、24 h 尿微蛋白、血脂水平检测: 采用 Olympus AU640 全自动生化测定仪对尿素氮(BUN)、血清肌酐(Scr)、尿酸(UA)、血糖、三酰甘油(TG)、总胆固醇(TC)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、高密度脂蛋白(HDL-C)水平进行检测; 采用 TOSOH 公司生产的 G7 糖化血红蛋白分析仪对糖化血红蛋白进行检测; 采用放射免疫法对 24 h 尿微蛋白水平进行检测。

1.2.5 GSH-Px、GSH、CAT 水平检测: 采用 DNTB 比色法对超氧化物歧化酶(GSH-Px)活性进行检测; 采用 Beutler 改良法对谷胱甘肽(GSH)含量进行检测; 采用容量法对过氧化氢酶(CAT)活性进行检测。

1.2.6 肾小球结构指标检测: 采用 ImageJ1.40 图像分析软件对肾小球基底膜厚度、足突宽度进行测量。

1.2.7 TGF-β1/Smad6/BMP7 通路蛋白检测: 使用蛋白免疫印迹(Western blot)对 TGF-β1/Smad6/BMP7 中 TGF-β1、BMP7、α-SMA、Smad6、E-Cadherin 通路蛋白进行检测, 提取大鼠肺组织中的样品总蛋白, 将其与上样缓冲液按比例混合, 煮沸 5 min 后, 进行电泳, 并将蛋白电转至 PVDF 膜, 使用 5% 的脱脂奶粉封闭 1~2 h, 然后加入一抗溶液 TBST(TGF-β1、BMP7、α-SMA、Smad6、E-Cadherin 按照 1:1 000 稀释), 在 4℃ 条件下进行震荡过夜, 再次洗涤, 放入二抗溶液 TBST(TGF-β1、BMP7、α-SMA、Smad6、E-Cadherin 按照 1:5 000 稀释), 室内震荡 120 min 后, 洗涤, 显色成像, 使用软件分析蛋白条带灰度值。内参蛋白是 GAPDH。

1.3 统计学分析 应用 SPSS 19.0 统计软件, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 描述, 多组间比较采用 *F* 值检验, 2 组间比较采用独立样本 *t* 检验, *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 肾脏组织病理学观察 正常组大鼠肾小管间质结构正常; 模型组肾小球肥大, 重度系膜细胞增生, 肾间质炎性细胞浸润; 上调组肾小球严重肥大, 伴随重度增生和大量炎性细胞浸润; 下调组大鼠少量胶原纤维化, 间质轻度纤维化, 少量炎性细胞浸润。见图 1。

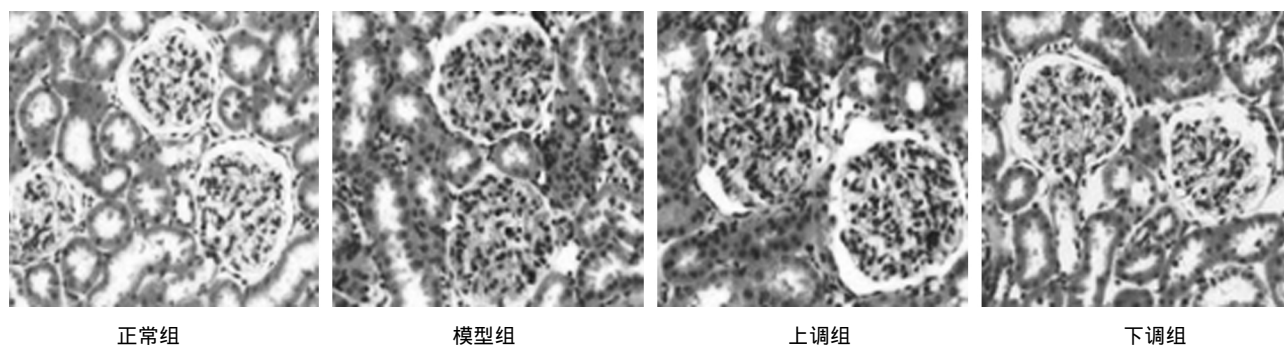


图 1 4 组大鼠肾组织细胞损伤情况(HE ×400)

2.2 4 组大鼠 BUN、Scr、UA 水平比较 模型组、上调组、下调组大鼠 BUN、Scr、UA 水平高于正常组, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 上调组大鼠 BUN、Scr、UA 水平高于模型组, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 下调组大鼠 BUN、Scr、UA 水平低于模型组, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 下调组大鼠 BUN、Scr、UA 水平低于上调组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 4 组大鼠 BUN、Scr、UA 水平比较 $n = 9, \bar{x} \pm s$

组别	BUN($\mu\text{mol/L}$)	Scr(mmol/L)	UA($\mu\text{mol/L}$)
正常组	5.11 $\pm$ 0.42	52.33 $\pm$ 5.12	4.16 $\pm$ 0.33
模型组	17.89 $\pm$ 1.25*	98.99 $\pm$ 8.12*	18.25 $\pm$ 2.85*
上调组	21.22 $\pm$ 2.11* #	125.66 $\pm$ 11.25* #	23.45 $\pm$ 3.45* #
下调组	13.15 $\pm$ 1.15* # Δ	86.33 $\pm$ 9.86* # Δ	11.15 $\pm$ 3.11* # Δ
F 值	33.697	26.697	25.047
P 值	0.001	0.001	0.001

注: 与正常组比较, * $P < 0.05$; 与模型组比较, # $P < 0.05$; 与上调组比较, $\Delta P < 0.05$

2.3 4 组大鼠血糖、糖化血红蛋白、24 h 尿微蛋白比较 模型组、上调组、下调组大鼠血糖、糖化血红蛋白、24 h 尿微蛋白高于正常组, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 上调组、大鼠血糖、糖化血红蛋白、24 h 尿微蛋白高于模型组, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 下调组大鼠血糖、糖化血红蛋白、24 h 尿微蛋白低于模型组,

差异有统计学意义($P < 0.05$); 下调组大鼠血糖、糖化血红蛋白、24 h 尿微蛋白低于上调组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 4 组大鼠血糖、糖化血红蛋白、24 h 尿微蛋白比较

$n = 9, \bar{x} \pm s$			
组别	血糖(mmol/L)	糖化血红蛋白(g/ml)	24 h 尿微蛋白(mg/24 h)
正常组	5.11 $\pm$ 0.22	21.13 $\pm$ 3.15	9.88 $\pm$ 1.12
模型组	29.66 $\pm$ 2.15*	45.22 $\pm$ 3.26*	56.66 $\pm$ 3.15*
上调组	34.15 $\pm$ 5.12* #	61.16 $\pm$ 4.11* #	68.99 $\pm$ 5.11* #
下调组	16.15 $\pm$ 1.21* # Δ	31.22 $\pm$ 2.33* # Δ	41.12 $\pm$ 4.11* # Δ
F 值	25.500	34.787	50.847
P 值	0.001	0.001	0.001

注: 与正常组比较, * $P < 0.05$; 与模型组比较, # $P < 0.05$; 与上调组比较, $\Delta P < 0.05$

2.4 4 组大鼠血脂水平比较 模型组、上调组、下调组大鼠 TG、TC、LDL-C、HDL-C 水平高于正常组, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 上调组、大鼠 TG、TC、LDL-C、HDL-C 水平高于模型组, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 下调组大鼠 TG、TC、LDL-C、HDL-C 水平低于模型组, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 下调组大鼠 TG、TC、LDL-C、HDL-C 水平低于上调组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 4 组大鼠血脂水平比较

 $n = 9, \mu\text{mol/L}, \bar{x} \pm s$

组别	TG	TC	LDL-C	HDL-C
正常组	1.31 $\pm$ 0.03	0.91 $\pm$ 0.02	0.35 $\pm$ 0.01	2.56 $\pm$ 0.01
模型组	5.12 $\pm$ 1.26*	2.56 $\pm$ 0.04*	0.74 $\pm$ 0.02*	0.89 $\pm$ 0.01*
上调组	8.33 $\pm$ 1.11* #	3.45 $\pm$ 0.05* #	0.99 $\pm$ 0.04* #	0.71 $\pm$ 0.01* #
下调组	3.19 $\pm$ 0.15* # Δ	1.22 $\pm$ 0.01* # Δ	0.51 $\pm$ 0.01* # Δ	1.21 $\pm$ 0.02* # Δ
F 值	28.449	212.250	69.850	588.666
P 值	0.001	0.001	0.001	0.001

注: 与正常组比较, * $P < 0.05$; 与模型组比较, # $P < 0.05$; 与上调组比较, $\Delta P < 0.05$

2.5 4 组大鼠氧化抗氧化酶水平比较 模型组、上调组、下调组大鼠 GSH-Px、GSH、CAT 水平低于正常组, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 上调组大鼠 GSH-Px、GSH、CAT 水平低于模型组, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 下调组大鼠 GSH-Px、GSH、CAT 水平高于模型组, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 下调组大鼠 GSH-Px、GSH、CAT 水平高于上调组($P < 0.05$)。见表 4。

表 4 4 组大鼠氧化抗氧化酶水平比较 $n = 9, \bar{x} \pm s$

组别	GSH-Px(U/mg)	GSH(mg/g)	CAT($\mu\text{mol/g}$)
正常组	152.45 $\pm$ 21.22	3.77 $\pm$ 1.25	63.45 $\pm$ 4.21
模型组	55.21 $\pm$ 5.46*	0.45 $\pm$ 0.12*	23.45 $\pm$ 1.26*
上调组	45.26 $\pm$ 2.45* #	0.26 $\pm$ 0.01* #	16.88 $\pm$ 1.33* #
下调组	98.45 $\pm$ 9.88* # Δ	2.85 $\pm$ 0.13* # Δ	45.88 $\pm$ 3.56* # Δ
F 值	22.581	12.636	47.466
P 值	0.001	0.001	0.001

注: 与正常组比较, * $P < 0.05$; 与模型组比较, # $P < 0.05$; 与上调组比较, $\Delta P < 0.05$

2.6 4 组大鼠肾小球结构指标比较 模型组、上调组、下调组大鼠肾小球基底膜厚度、足突宽度高于正常组,差异有统计学意义($P < 0.05$);上调组大鼠肾小球基底膜厚度、足突宽度高于模型组($P < 0.05$);下调组大鼠肾小球基底膜厚度、足突宽度低于模型组($P < 0.05$);下调组大鼠肾小球基底膜厚度、足突宽度低于上调组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 5。

表 5 4 组大鼠肾小球结构指标比较 $n = 9, \bar{x} \pm s$

组别	肾小球基底膜厚度(μm)	足突宽度(nm)
正常组	0.15 ± 0.01	256.35 ± 13.45
模型组	$0.35 \pm 0.03^*$	$389.45 \pm 15.44^*$
上调组	$0.42 \pm 0.05^{* \#}$	$401.88 \pm 19.89^{* \#}$
下调组	$0.21 \pm 0.02^{* \# \Delta}$	$289.66 \pm 12.15^{* \# \Delta}$
F 值	23.828	27.275
P 值	0.001	0.001

注:与正常组比较, $^* P < 0.05$;与模型组比较, $^{\#} P < 0.05$;与上调组比较, $^{\Delta} P < 0.05$

表 6 4 组大鼠肾组织 TGF- $\beta 1$ /Smad6/BMP7 信号通路蛋白表达量比较

$n = 9, \bar{x} \pm s$

组别	TGF- $\beta 1$	Smad6	BMP7	α -SMA	E-Cadherin
正常组	0.15 ± 0.01	0.45 ± 0.02	0.36 ± 0.01	0.15 ± 0.01	0.45 ± 0.01
模型组	$0.38 \pm 0.01^*$	$0.23 \pm 0.01^*$	$0.13 \pm 0.01^*$	$0.38 \pm 0.02^*$	$0.16 \pm 0.02^*$
上调组	$0.48 \pm 0.02^{* \#}$	$0.18 \pm 0.01^{* \#}$	$0.11 \pm 0.01^{* \#}$	$0.45 \pm 0.01^{* \#}$	$0.13 \pm 0.01^{* \#}$
下调组	$0.21 \pm 0.01^{* \# \Delta}$	$0.33 \pm 0.01^{* \# \Delta}$	$0.21 \pm 0.02^{* \# \Delta}$	$0.21 \pm 0.02^{* \# \Delta}$	$0.26 \pm 0.04^{* \# \Delta}$
F 值	66.411	54.336	79.550	95.459	101.823
P 值	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001

注:与正常组比较, $^* P < 0.05$;与模型组比较, $^{\#} P < 0.05$;与上调组比较, $^{\Delta} P < 0.05$

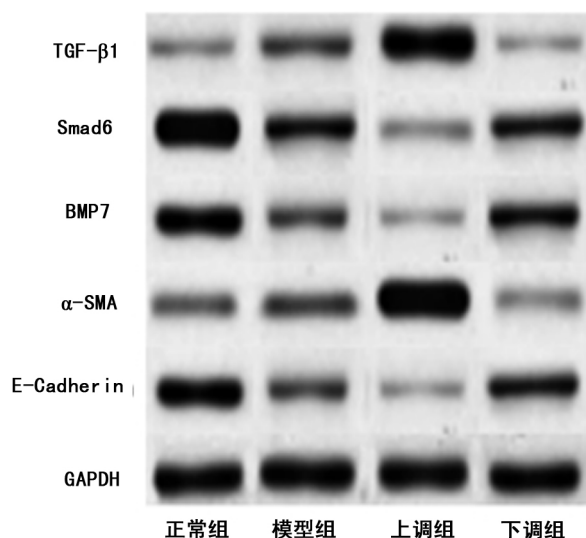


图 2 肾组织中 TGF- $\beta 1$ /Smad6/BMP7 通路蛋白 Western blot 图

3 讨论

糖尿病肾病是指糖尿病微血管病变最终导致肾小球硬化一种疾病,又称为糖尿病肾小球综合征。高血糖是引起肾脏微血管病变的主要原因之一,而高血压和高血脂是导致疾病加重的重要因素^[5,6]。张馨元等^[7]研究表明,足细胞的表现遗传修饰、氧化应激、糖代谢异常、血流动力学改变、炎症细胞因子、胰岛素抵抗等损伤机制及相关蛋白的影响作用,对糖尿病肾病的调控机制及疾病进展具有重要意义。

2.7 4 组大鼠肾组织 TGF- $\beta 1$ /Smad6/BMP7 信号通路蛋白表达量比较 模型组、上调组、下调组大鼠肾组织中 TGF- $\beta 1$ 、 α -SMA 蛋白表达量高于正常组,且 Smad6、BMP7、E-Cadherin 蛋白表达量低于正常组,差异有统计学意义($P < 0.05$);上调组大鼠肾组织中 TGF- $\beta 1$ 、 α -SMA 蛋白表达量高于模型组,且 Smad6、BMP7、E-Cadherin 蛋白表达量低于模型组,具有统计学差异($P < 0.05$);下调组大鼠肾组织中 TGF- $\beta 1$ 、 α -SMA 蛋白表达量低于模型组,且 Smad6、BMP7、E-Cadherin 蛋白表达量高于模型组,差异有统计学意义($P < 0.05$);下调组大鼠肾组织中 TGF- $\beta 1$ 、 α -SMA 蛋白表达量低于上调组,且 Smad6、BMP7、E-Cadherin 蛋白表达量高于上调组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 6,图 2。

脑信号蛋白 3A 是由多个不同功能的亚群组成,其所有成员均有一个高度保守的氨基酸序列,由 500 多个氨基酸组成,被称为 Sema 结构域^[8]。其结构域是脑信号蛋白发挥作用的重要结构。有研究表明,脑信号蛋白 3A 是抑制神经轴突延伸发展的重要结构,且包含这多种氨基酸序列^[9]。糖尿病是糖尿病肾病重要的并发症之一,目前,其发病率仅次于肾小球炎,呈逐年上升趋势。本研究发现,下调组大鼠 BUN、Scr、UA 水平低于上调组,此结果说明,抑制脑信号蛋白 3A 的表达,能够降低对肾组织中 BUN、Scr、UA 水平,且减少对肾组织的损伤。有研究表明,脑信号蛋白 3A 在足突细胞及集合管内皮细胞中均呈现出高表达^[10]。脑信号蛋白 3A 的过度表达可直接导致肾小球内皮细胞损伤,并对肾小球基膜也会造成一定的损害。脑信号蛋白 3A 在正常机体内并不表达,在尿链佐菌素至糖尿病肾病大鼠模型中,随着时间的增加其表达显著升高。孙艺欣^[11]等研究表明, Sema 3A 与早期肾损伤的发生密切相关,可作为 CIAKI 的早期生物标志物。因此在本文中通过抑制脑信号蛋白 3A 表达,观察对糖尿病肾病大鼠的影响,结果显示,抑制脑信号蛋白 3A 能够降低对肾组织的损伤,效果显著。

糖尿病的发生会对肾脏产生严重的损伤,时肾小球体积增大,系膜细胞发生增生、肥大等情况,部分肾

小管组织出现空泡变性,出现细胞凋亡情况。糖尿病肾病的发生会对血糖、血脂水平造成严重的影响。有研究表明,血糖波动幅度过大会加剧 DN 患者机体炎症状态,损害患者肝肾功能^[12]。本研究发现,下调组大鼠血糖、糖化血红蛋白、24 h 尿微蛋白、血脂水平均低于上调组,此结果说明,抑制脑信号蛋白 3A,能够降低血糖、糖化血红蛋白、24 h 尿微蛋白、血脂表达水平,降低肾组织损伤程度。与张莉等^[13]研究结果一致。糖尿病肾病蛋白尿的发生是一个复杂的病理过程,其关系到肾小球的过滤状态、足细胞凋亡、肾小管损伤等。在本文研究中发现,下调组大鼠氧化抗氧化酶水平高于上调组,且肾小球基底膜厚度、足突宽度低于上调组,由此可得,抑制脑信号蛋白 3A 能够提高氧化抗氧化酶水平,且减少对肾小管结构指标的损伤。廖正^[14]的研究表明,Sema3A 过表达可诱导肾足细胞足突消失或发育延迟,抑制输尿管芽分支和肾小球血管正常形成,导致肾小球发育不良和蛋白尿。与本文研究结果保持一致。

肾小管上皮细胞间质化,在一定条件下其过程是可逆的。TGF- β 1/Smad6/BMP7 信号通路能够参与细胞间质化的过程,TGF- β 1 具有促进细胞外基质的合成和沉积,进而诱导细胞的凋亡,参与炎症的发生,能够在多个方面加快糖尿病肾病的病程进展^[15]。Smads 蛋白家族是 TGF- β 1 受体激酶的底物,也是其通路中重要的信号传导分子^[16]。BMP7 能够通过抑制肾小管上皮细胞胶原和 α -SMA 的表达,逆转细胞间质。Smad6 和 BMP7 在糖尿病肾病肾纤维化的进展中发挥着重要作用,是保护肾脏组织的重要因子^[17]。 α -SMA 是一种肌纤维细胞蛋白,其主要寄存与正常肾血管的平滑及细胞中,若其他其细胞中表达,则说明上皮间质发生病变^[18,19]。e-cadherin 是属于跨膜蛋白,也是钙粘附蛋白 E,是一种钙依赖性的跨膜蛋白,且能够参与细胞与细胞之间的黏附,其主要分布于人和动物的上皮细胞,能够维持细胞的极性和完整性^[20]。因此本研究中对 TGF- β 1/Smad6/BMP7 通路蛋白表达量进行检测,结果显示,下调组大鼠肾组织中 TGF- β 1、BMP7、 α -SMA 蛋白表达量低于上调组,且 Smad6、E-Cadherin 蛋白表达量高于下调组,此结果说明,抑制脑信号蛋白 3A 可有效改善大鼠肾组织 TGF- β 1、BMP7、 α -SMA、Smad6、E-Cadherin 蛋白表达量,减少肾损伤。

综上所述,抑制脑信号蛋白 3A 能够减少肾小球

内皮细胞和足突细胞的损伤,降低对肾小球基膜的损害,其作用机制可能与调控 TGF- β 1/Smad6/BMP7 信号通路有关。

参考文献

- 1 吴静,高永棣,俞佳丽,等. HMGN1 在糖尿病肾病小鼠肾小管上皮-间充质转化中的作用. 中华内分泌代谢杂志, 2019, 35: 697-702.
- 2 张国艳,张佳田,李明,等. 炎症细胞因子与糖尿病肾病. 中国老年学杂志, 2019, 39: 2819-2822.
- 3 左志博,郭万新,陈彩萍,等. SEMA3A 和 SEMA3F 在三阴性乳腺癌中的表达及其与脉管生成的关系. 诊断病理学杂志, 2019, 26: 359-363.
- 4 陈卫东,张继强,张燕,等. 雷公藤多苷对糖尿病肾病大鼠肾基质金属蛋白酶-9 和基质金属蛋白酶抑制剂-1 表达的影响. 中国临床药理学杂志, 2015, 31: 1157-1161.
- 5 饶姣雨,魏崧丞,王小康,等. 番石榴叶总三萜对糖尿病肾病大鼠肾损伤的改善作用及机制研究. 中国临床药理学杂志, 2019, 35: 1617-1620.
- 6 董艳芳,吕树泉,王晓蕴,等. 中西医结合分期分型辨证治疗老年糖尿病肾病的疗效. 中国老年学杂志, 2019, 39: 3379-3383.
- 7 张馨元,米焱. 足细胞损伤与糖尿病肾病. 肾脏病与透析肾移植杂志, 2019, 28: 161-165.
- 8 张洁琼,严军,叶剑. Sema3A 对小鼠原代视网膜神经节细胞轴突生长的抑制作用. 中华实验眼科杂志, 2019, 37: 180-184.
- 9 郭君红,宋晓婕,周洁琼,等. 血清 Semaphorin3A 的水平与绝经后骨质疏松女性的骨密度和骨转换指标关系的研究. 实用医学杂志, 2018, 34: 3081-3084.
- 10 田漫漫,赵双平. 尿 Sema3A 对重症监护病房患者急性肾损伤的早期诊断价值. 中华医学杂志, 2015, 95: 1457-1462.
- 11 张芝欣,宁莉,魏殿军. Semaphorin 3A 早期诊断对比剂急性肾损伤的价值. 检验医学, 2018, 33: 997-1003.
- 12 饶姣雨,魏崧丞,王小康,等. 番石榴叶总三萜对糖尿病肾病大鼠肾损伤的改善作用及机制研究. 中国临床药理学杂志, 2019, 35: 1617-1620.
- 13 张莉,王丽英,张敏. 血糖波动与糖尿病肾病机体炎症及肝肾功能的关系. 中国实验诊断学, 2018, 22: 2057-2060.
- 14 廖正. 信号素 3A 与肾脏疾病. 肾脏病与透析肾移植杂志, 2017, 26: 540-544.
- 15 Delaney K, Kasprzycka P, Ciemerych MA, et al. The role of TGF- β 1 during skeletal muscle regeneration. Cell Biol Int, 2017, 41: 706-715.
- 16 Kloth K, Bierhals T, Johannsen J, et al. Biallelic variants in SMAD6 are associated with a complex cardiovascular phenotype. Hum Genet, 2019, 138: 625-634.
- 17 Tanigawa S, Naganuma H, Kaku Y, et al. Activin Is Superior to BMP7 for Efficient Maintenance of Human iPSC-Derived Nephron Progenitors. Stem Cell Reports, 2019, 13: 322-337.
- 18 Anggorowati N, Ratna Kurniasari Ch, Damayanti K, et al. Histochemical and Immunohistochemical Study of α -SMA, Collagen, and PCNA in Epithelial Ovarian Neoplasm. Asian Pac J Cancer Prev, 2017, 18: 667-671.
- 19 Shinde AV, Humeres C, Frangogiannis NG. The role of α -smooth muscle actin in fibroblast-mediated matrix contraction and remodeling. Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis, 2017, 1863: 298-309.
- 20 Niu XY, Zhang ZQ, Ma PL. MiRNA-221-5p promotes breast cancer progression by regulating E-cadherin expression. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2019, 23: 6983-6990.

(收稿日期: 2020-07-13)