

蔡承敏,何玉茂,余亚东. 缬沙坦对高糖诱导大鼠肾小球系膜细胞活性损伤的干预作用 [J]. 中国比较医学杂志, 2021, 31(1): 35-42.

Cai CM, He YM, Yu YD. Intervention of valsartan on high glucose-induced injury of rat glomerular mesangial cells activity [J]. Chin J Comp Med, 2021, 31(1): 35-42.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856. 2021.01.006

缬沙坦对高糖诱导大鼠肾小球系膜细胞活性损伤的干预作用

蔡承敏*, 何玉茂, 余亚东

(九江市中医医院, 江西 九江 332000)

【摘要】 目的 探讨缬沙坦对高糖诱导的大鼠肾细胞增殖和凋亡的影响与机制。方法 利用高糖诱导大鼠肾小球系膜细胞 HBZY-1 损伤,并给予不同浓度的缬沙坦。Western blot 检测增殖凋亡相关蛋白细胞周期蛋白 D1 (CyclinD1)、活化的天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶 3 (Cleaved caspase-3)、Bcl-2 相关 X 蛋白 (Bax)、B 细胞淋巴瘤/白血病-2 (Bcl-2) 和 NOTCH1 信号通路蛋白 jagged1、NOTCH1 的表达,噻唑蓝 (MTT) 比色法测定细胞增殖活力,流式细胞仪评估细胞周期与凋亡。采用 NOTCH1 信号通路激活剂 Jagged 1/Fc 融合蛋白和缬沙坦处理高糖诱导的 HBZY-1,观察其对细胞的增殖、周期和凋亡的影响。**结果** 高糖诱导的 HBZY-1 中 CyclinD1、Bcl-2 蛋白表达水平、24 h、48 h 和 72 h 的细胞增殖活力、S 期细胞比例显著降低,G0~G1 期细胞比例、Cleaved caspase-3、Bax、jagged1 和 NOTCH1 蛋白表达水平、细胞凋亡率明显升高 ($P<0.05$)。0.01、0.1、1 $\mu\text{mol/L}$ 缬沙坦显著提高 CyclinD1、Bcl-2 蛋白表达水平、24 h、48 h、72 h 的细胞增殖活力和 S 期细胞比例,明显降低 G0~G1 期细胞比例、Cleaved caspase-3、Bax、jagged1、NOTCH1 蛋白表达水平与细胞凋亡率,且均呈浓度依赖性 ($P<0.05$)。NOTCH1 信号通路激活剂 Jagged 1/Fc 融合蛋白部分逆转缬沙坦对高糖处理的 HBZY-1 增殖、周期和凋亡的影响。**结论** 缬沙坦通过抑制 NOTCH1 信号通路,促进高糖处理的大鼠肾小球系膜细胞增殖与周期,并减轻细胞凋亡。

【关键词】 缬沙坦;NOTCH1 信号通路;高糖;大鼠肾小球系膜细胞;增殖;凋亡

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2021) 01-0035-08

Intervention of valsartan on high glucose-induced injury of rat glomerular mesangial cells activity

CAI Chengmin*, HE Yumao, YU Yadong

(Jiujiang Hospital of Traditional Chinese Medicine, Jiujiang 332000, China)

【Abstract】 Objective To investigate the effect and mechanism of valsartan on high glucose-induced rat kidney cell proliferation and apoptosis. **Methods** High glucose was used to induce HBZY-1 damage in rat mesangial cells, and different concentrations of valsartan were given. Western blot detected of proliferation and apoptosis-related proteins CyclinD1, Cleaved caspase-3, Bcl-2 related X protein (Bax), B cell lymphoma/leukemia-2 (Bcl-2), and NOTCH1 signaling pathway protein jagged1, NOTCH1 expression, MTT colorimetric method was performed to determine cell proliferation activity, and flow cytometry was applied to evaluate cell cycle and apoptosis. The high glucose-induced HBZY-

【基金项目】 江西省卫生计生委科技计划资助项目 (20167148)。

【作者简介】 蔡承敏 (1978—), 女, 副主任医师, 本科, 研究方向: 肾内科临床。E-mail: har8lw@163.com

I was treated with NOTCH1 signaling pathway activators Jagged 1/Fc fusion protein and valsartan, and its effects on cell proliferation, cell cycle and apoptosis were observed. **Results** The expression level of CyclinD1, Bcl-2 protein, cell proliferation activity at 24 h, 48 h and 72 h, and S-phase cell ratio in HBZY-1 induced by high glucose were significantly decreased, and G0-G1-phase cell ratio, Cleaved caspase-3, Bax, jagged1 and NOTCH1 protein expression levels and apoptosis rate were greatly increased ($P < 0.05$). 0.01, 0.1, 1 $\mu\text{mol/L}$ valsartan obviously improved the expression levels of CyclinD1, Bcl-2, cell proliferation activity at 24 h, 48 h and 72 h, and S-phase cell ratio, while dramatically reduced G0-G1-phase cell ratio, the expression levels of Cleaved caspase-3, Bax, jagged1, NOTCH1 and the apoptosis rate, all in a concentration-dependent manner ($P < 0.05$). NOTCH1 signaling pathway activator Jagged 1/Fc fusion protein partially reversed the effects of valsartan on the proliferation, cell cycle and apoptosis of HBZY-1 treated with high glucose. **Conclusions** Valsartan can promote the proliferation and cell cycle of rat mesangial cells treated with high glucose by inhibiting the NOTCH1 signaling pathway, and reduce the apoptosis.

【Keywords】 valsartan; NOTCH1 signaling pathway; high glucose; rat mesangial cells; proliferation; apoptosis

糖尿病肾病是糖尿病最严重的微血管并发症之一。它已经成为终末期肾病发展的主要危险因素^[1]。但是,糖尿病肾病的发病机理尚未完全确定,并且尚无用于预防和治疗糖尿病肾病发生的药物,这已成为世界范围内公共卫生的负担。最近,肾小球系膜细胞功能障碍已被证明在糖尿病肾病的发病机制中起着至关重要的作用^[2]。缬沙坦(valsartan, Val)是血管紧张素 II 受体拮抗剂抗高血压类药物,对糖尿病大鼠足细胞损伤具有显著的保护作用^[3],通过上调骨形态发生蛋白-7(BMP-7)的表达发挥保护糖尿病肾病的功能^[4]。在糖尿病小鼠肾小球组织中,缬沙坦影响 NOTCH1 信号通路表达^[5]。尽管缬沙坦的临床使用有所增加,但其对糖尿病肾病治疗作用的潜在机制仍不清楚,需要进一步研究。作为高度保守的信号调节剂,NOTCH 信号通路在诸如细胞增殖,分化,凋亡和成熟等生理过程中起着重要作用^[6]。NOTCH1 蛋白是 NOTCH1 蛋白家族中具有代表性的受体,其下游细胞内结构域被认为是治疗各种肾疾病的关键靶标^[7]。根据上述研究结果,推测缬沙坦对糖尿病肾病治疗作用与 NOTCH1 信号传导途径有关。因此,当前的研究建立了高葡萄糖(HG)诱导的大鼠肾小球系膜细胞 HBZY-1 损伤模型,模拟糖尿病肾病来对细胞增殖、周期和凋亡进行评估,采用不同浓度缬沙坦干预细胞,并结合 NOTCH1 信号通路,以确定缬沙坦对糖尿病肾病治疗作用的潜在机制。

1 材料和方法

1.1 实验细胞

大鼠肾小球系膜细胞 HBZY-1 购自美国模式培养物保存中心(ATCC)。

1.2 主要试剂

缬沙坦购自北京诺华制药公司, Dulbecco's modified eagle medium (DMEM 培养基) 购自美国 Gibco 公司; NOTCH1 信号通路激活剂 Jagged 1/Fc 融合蛋白购自美国 R&D System 公司;磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS) 购自上海君瑞生物公司;噻唑蓝(methyl thiazolyl tetrazolium, MTT) 购自美国 Sigma 公司;二喹啉甲酸(bicinchoninic acid, BCA) 蛋白质分析试剂盒、细胞周期检测试剂盒、Annexin V-FITC/碘化丙啶(propidium iodide, PI) 细胞凋亡试剂盒购自南京凯基生物公司;兔抗细胞周期蛋白 D1(CyclinD1) 抗体、兔抗活化的天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶 3(Cleaved caspase-3) 抗体、兔抗 Bcl-2 相关 X 蛋白(Bcl-2 associated X protein, Bax) 抗体、兔抗 B 细胞淋巴瘤/白血病-2(B cell lymphoma/leukemia-2, Bcl-2) 抗体、兔抗 jagged1 抗体、兔抗 NOTCH1 抗体、辣根过氧化物酶(HRP) 标记的 II 抗购自上海艾博抗公司。

1.3 实验方法

1.3.1 细胞培养

大鼠肾小球系膜细胞 HBZY-1 在含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基中培养,并置于饱和湿润、37℃、5% CO₂ 的培养箱中生长。

1.3.2 细胞分组与处理

将 HBZY-1 分为 NC 组(即对照组,未处理的细胞),HG 组(即模型组,30 mmol/L 葡萄糖处理细胞 48 h),Val 1 $\mu\text{mol/L}$ 组(1 $\mu\text{mol/L}$ 缬沙坦处理细胞 48 h),HG+Val 0.01 $\mu\text{mol/L}$ 组(30 mmol/L 葡萄糖和 0.01 $\mu\text{mol/L}$ 缬沙坦处理细胞 48 h^[8]),HG+Val 0.1 $\mu\text{mol/L}$ 组(30 mmol/L 葡萄糖和 0.1 $\mu\text{mol/L}$ 缬沙坦处理细胞 48 h),HG+Val 1 $\mu\text{mol/L}$ 组(30 mmol/L 葡萄糖和 1 $\mu\text{mol/L}$ 缬沙坦处理细胞 48 h),

HG+Val+PBS 组 (30 mmol/L 葡萄糖、0.01 μmol/L 缬沙坦和与激活剂等量的 PBS 处理细胞 48 h), HG+Val+Jagged 1/Fc 组 (30 mmol/L 葡萄糖、0.01 μmol/L 缬沙坦和终浓度为 2 μg/mL NOTCH1 信号通路激活剂 Jagged 1/Fc 融合蛋白处理细胞 48 h^[9])。其中,缬沙坦使用培养基配制出 0.01、0.1、1 μmol/L 的浓度。

1.3.3 Western blot 检测 CyclinD1、Cleaved caspase-3、Bax、Bcl-2、jagged1 和 NOTCH1 的表达

收集不同处理的 HBZY-1,在 RIPA 缓冲液中进行蛋白的抽提。使用 BCA 蛋白质分析试剂盒对蛋白定量。然后取 50 μg 蛋白进行 SDS-PAGE 电泳。蛋白分离后,转至聚偏二氟乙烯膜,然后用 5% 脱脂奶粉封闭膜 2 h。随后将膜与 I 抗在 4℃ 孵育过夜,并与 HRP 标记的 II 抗 (1:5000) 室温孵育 2 h。I 抗包括抗 CyclinD1、Cleaved caspase-3、Bax、Bcl-2、jagged1、NOTCH1 (均为 1:1000 稀释) 和抗 β 肌动蛋白 (β-actin) (1:2000 稀释)。通过增强的化学发光系统显影、曝光。以 β-actin 为对照,采用凝胶成像分析各蛋白的表达水平。

1.3.4 MTT 比色法检测细胞增殖活力

各组 HBZY-1 经不同的处理后,分别在 96 孔板中接种 24 h、48 h 和 72 h。接下来,每孔细胞中加入 20 μL 5 mg/mL 的 MTT 溶液,并继续孵育。4 h 后,加入 200 μL 的二甲基亚砷充分溶解反应结晶。在 Bio Tek 酶标仪读取 450 nm 的吸光度,以实验组与对照组吸光度的比值表示细胞的增殖活力。

1.3.5 流式细胞术检测细胞周期与凋亡

各组 HBZY-1 经不同的处理后,根据细胞周期检测试剂盒的指示,收集 1×10⁵ 个细胞,经 70% 冷乙醇固定后,加入 500 μL PI/RNase A 染色工作液,避光孵育 30~60 min,于流式细胞仪检测波长 488 nm 处的红色荧光,分析细胞周期。遵循 Annexin V-FITC/PI 试剂盒的规程,HBZY-1 使用 binding buffer 重悬,收集 1×10⁵ 个细胞,加入 5 μL Annexin V-FITC 混匀和 5 μL PI 工作液混匀,之后避光反应 15 min,通过 FACSCalibur 流式细胞仪评估细胞凋亡。

1.4 统计学方法

数据采用 SPSS 22.0 软件进行统计与分析,计量资料表示为平均数±标准差 ($\bar{x} \pm s$)。两组间数据比较采用 *t* 检验,多组间数据比较用单因素方差分析,组间多重比较用 SNK-*q* 检验,*P*<0.05 表示差异显著。

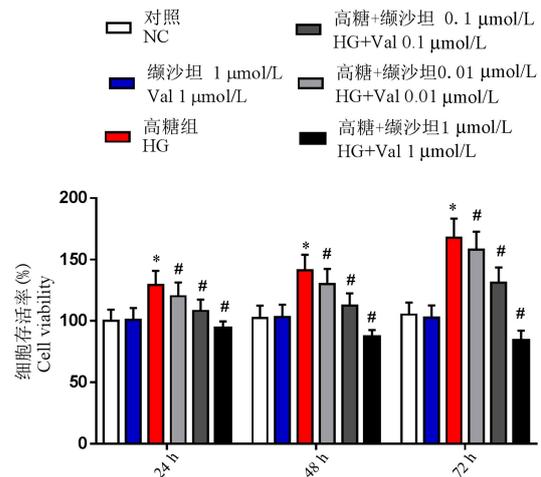
2 结果

2.1 缬沙坦促进高糖处理大鼠肾小球系膜细胞 HBZY-1 增殖

MTT 检测结果见图 1。与 NC 组相比较,Val 1 μmol/L 组大鼠肾小球系膜细胞 HBZY-1 24 h、48 h 和 72 h 的增殖活力无显著变化 (*P*>0.05),而 HG 组大鼠肾小球系膜细胞 HBZY-1 24 h、48 h 和 72 h 的增殖活力明显降低 (*P*<0.05)。与 HG 组相比较,HG+Val 0.01 μmol/L 组、HG+Val 0.1 μmol/L 组和 HG+Val 1 μmol/L 组 HBZY-1 24 h、48 h 和 72 h 的细胞增殖活力显著升高,且呈浓度依赖性 (*P*<0.05)。

2.2 缬沙坦促进高糖处理大鼠肾小球系膜细胞 HBZY-1 细胞周期

Western blot 和流式细胞术检测结果见图 2。与 NC 组相比较,HG 组大鼠肾小球系膜细胞 HBZY-1 中 CyclinD1 蛋白表达显著降低,G0-G1 期细胞比例明显增加,S 期细胞比例显著减少 (*P*<0.05),G2-M 期细胞比例无明显变化 (*P*>0.05)。与 HG 组相比较,HG+Val 0.01 μmol/L 组、HG+Val 0.1 μmol/L 组和 HG+Val 1 μmol/L 组 HBZY-1 的 CyclinD1 蛋白表达和 S 期细胞比例显著升高,G0-G1 期细胞比例明显降低,且呈浓度依赖性 (*P*<0.05),同时,G2-M

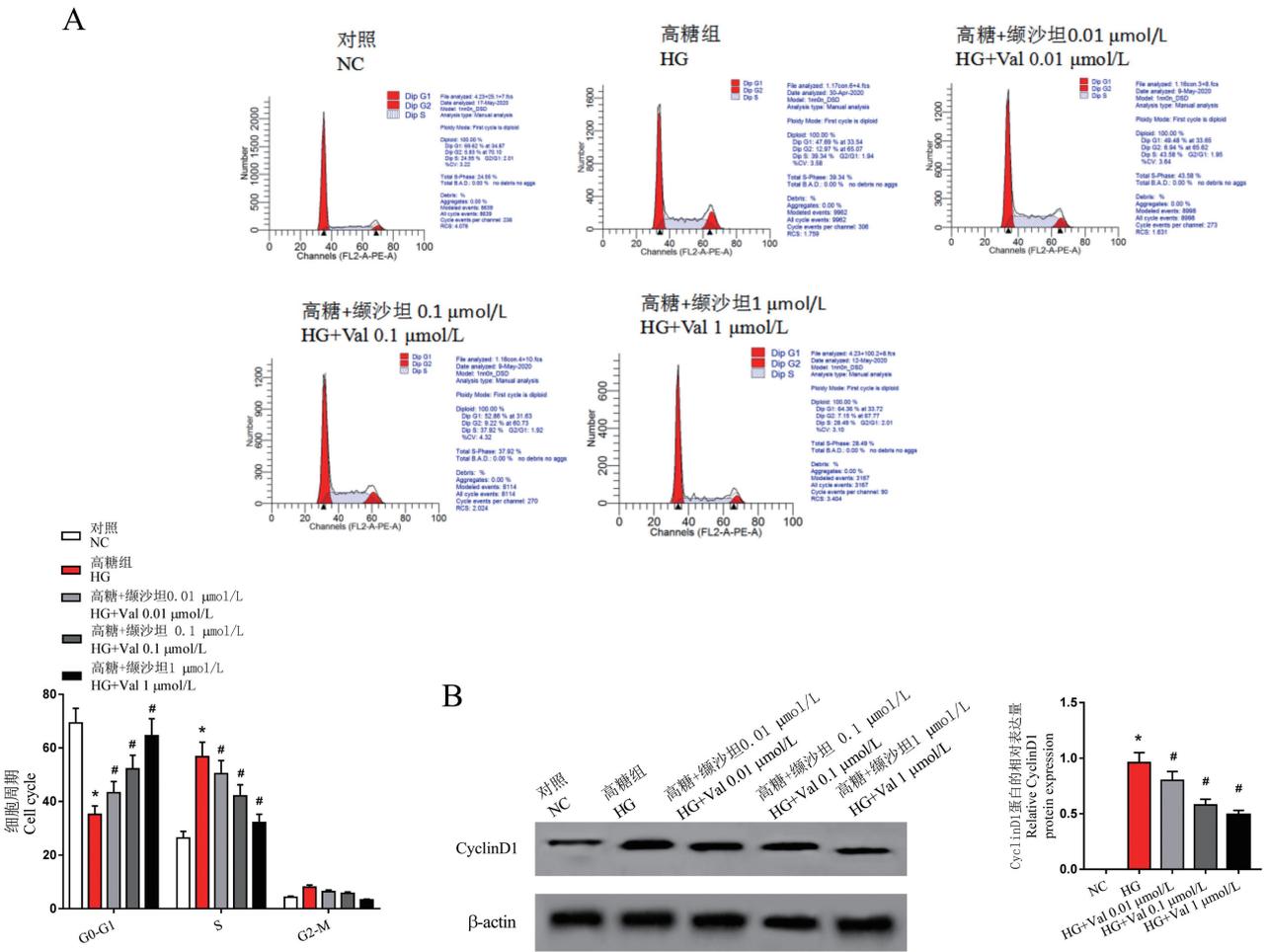


注:与 NC 组相比较,**P*<0.05;与 HG 组相比较,#*P*<0.05。

图 1 缬沙坦促进高糖处理大鼠肾小球系膜细胞 HBZY-1 增殖

Note. Compared with NC group, **P*<0.05. Compared with HG group, #*P*<0.05.

Figure 1 Valsartan promoted the proliferation of rat glomerular mesangial cells HBZY-1 after high glucose treatment



注:A:流式细胞术检测大鼠肾小球系膜细胞 HBZY-1 细胞周期;B:Western blot 检测 CyclinD1 蛋白的表达。与 NC 组相比较, * $P < 0.05$; 与 HG 组相比较, # $P < 0.05$ 。

图 2 缬沙坦促进高糖处理大鼠肾小球系膜细胞 HBZY-1 (48 h) 细胞周期和 CyclinD1 蛋白的表达

Note. A, Flow cytometry to detect the cell cycle of rat glomerular mesangial cells HBZY-1. B, Western blot to detect the expression of CyclinD1 protein. Compared with NC group, * $P < 0.05$. Compared with HG group, # $P < 0.05$.

Figure 2 Valsartan promoted the cell cycle and CyclinD1 protein expression in rat glomerular mesangial cells HBZY-1 (48 h) treated with high glucose

期细胞比例无显著变化($P > 0.05$)。

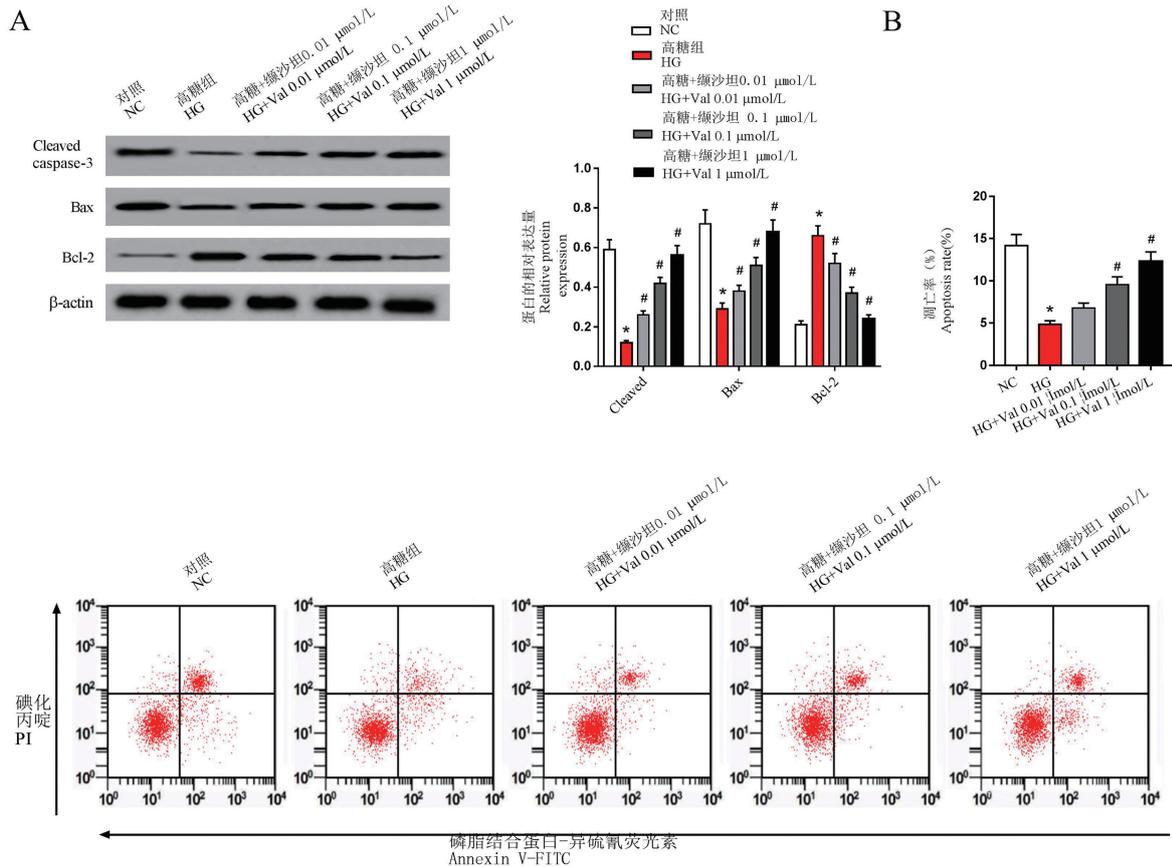
2.3 缬沙坦抑制高糖处理大鼠肾小球系膜细胞 HBZY-1 凋亡

Western blot 检测和流式细胞术检测结果见图 3。与 NC 组相比较, HG 组大鼠肾小球系膜细胞 HBZY-1 的 Cleaved caspase-3、Bax 蛋白表达水平明显增加, Bcl-2 蛋白表达水平显著减少, 细胞凋亡率明显升高 ($P < 0.05$)。与 HG 组相比较, HG + Val 0.01 μmol/L 组、HG + Val 0.1 μmol/L 组和 HG + Val 1 μmol/L 组 Cleaved caspase-3、Bax 蛋白表达水平显

著降低, Bcl-2 蛋白表达水平明显升高, 细胞凋亡率显著减少, 均呈浓度依赖性 ($P < 0.05$)。

2.4 缬沙坦抑制高糖处理大鼠肾小球系膜细胞 HBZY-1 NOTCH1 信号通路

Western blot 检测结果见图 4。与 NC 组相比较, HG 组大鼠肾小球系膜细胞 HBZY-1 中 jagged1 和 NOTCH1 蛋白表达水平显著升高 ($P < 0.05$)。与 HG 组相比较, HG + Val 0.01 μmol/L 组、HG + Val 0.1 μmol/L 组和 HG + Val 1 μmol/L 组 jagged1 和 NOTCH1 蛋白表达水平明显降低, 且呈浓度依赖性 ($P < 0.05$)。



注:A:Western blot 检测缬沙坦抑制高糖处理 48 h 大鼠肾小球系膜细胞 HBZY-1 Cleaved caspase-3、Bax 和 Bcl-2 蛋白的表达;B:流式细胞术检测大鼠肾小球系膜细胞 HBZY-1 凋亡。与 NC 组相比较, * $P < 0.05$; 与 HG 组相比较, # $P < 0.05$ 。

图 3 缬沙坦抑制高糖处理大鼠肾小球系膜细胞 HBZY-1 凋亡

Note. A, Western blot detection of valsartan inhibits the expression of HBZY-1 Cleaved caspase-3, Bax and Bcl-2 protein in rat glomerular mesangial cells treated with high glucose for 48 h. B, flow cytometry detection of rat kidney HBZY-1 apoptosis of mesangial cells. Compared with NC group, * $P < 0.05$. Compared with HG group, # $P < 0.05$.

Figure 3 Valsartan inhibited the apoptosis of HBZY-1 glomerular mesangial cells in rats treated with high glucose

2.5 NOTCH1 信号通路激活剂部分逆转缬沙坦对高糖处理的大鼠肾小球系膜细胞 HBZY-1 的增殖和细胞周期的影响

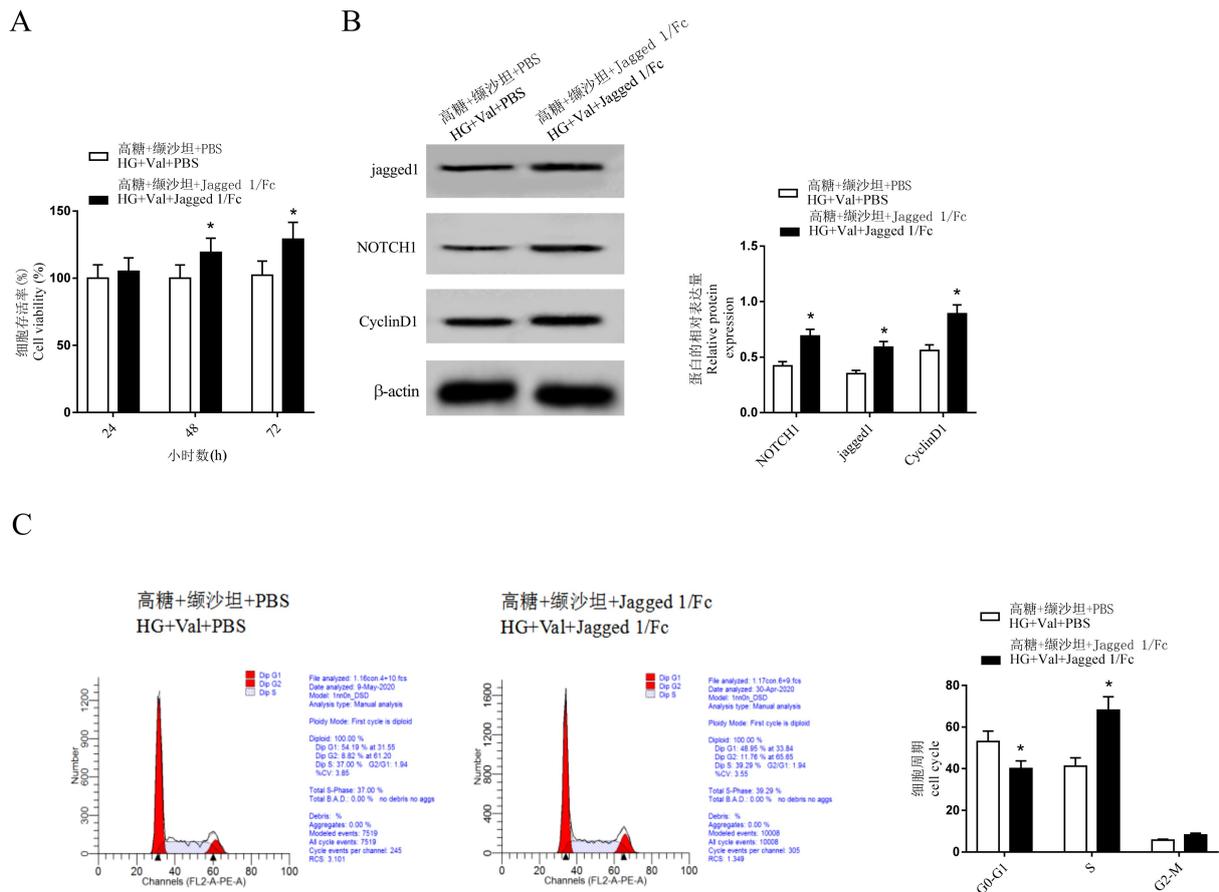
Western blot 检测、MTT 检测和流式细胞术检测结果见图 5。与 HG+Val+PBS 组相比较, HG+Val+Jagged 1/Fc 组大鼠肾小球系膜细胞 HBZY-1 的 NOTCH1、jagged1 蛋白表达水平明显升高, CyclinD1 蛋白表达水平降低, 且 24 h、48 h 和 72 h 的细胞增殖活力明显降低, G0-G1 期细胞比例显著增加, S 期细胞比例明显减少 ($P < 0.05$), G2-M 期细胞比例无显著变化 ($P > 0.05$)。

2.6 NOTCH1 信号通路激活剂部分逆转缬沙坦对高糖处理的大鼠肾小球系膜细胞 HBZY-1 凋亡的影响

Western blot 检测和流式细胞术检测结果见图 6。与 HG + Val + PBS 组相比较, HG + Val + Jagged 1/Fc 组大鼠肾小球系膜细胞 HBZY-1 的 Cleaved caspase-3、Bax 蛋白表达水平升高, Bcl-2 蛋白表达水平降低, 且细胞凋亡率显著增加 ($P < 0.05$)。

3 讨论

临床上, 糖尿病肾病具有多种症状特征, 例如蛋白尿。作为肾小球的固有细胞之一, 肾小球系膜细胞在糖尿病肾病的发病机理中发挥着重要的作用^[9]。越来越多的证据已经确认, 肾小球系膜细胞凋亡有助于蛋白尿的加重和糖尿病性肾小球硬化的发展^[10]。因此, 确定导致肾小球系膜细胞凋亡的



注:与 NC 组相比较, * $P < 0.05$; 与 HG 组相比较, # $P < 0.05$ 。

图 4 Western blot 检测大鼠肾小球系膜细胞 HBZY-1 jagged1 和 NOTCH1 蛋白的表达

Note. Compared with NC group, * $P < 0.05$. Compared with HG group, # $P < 0.05$.

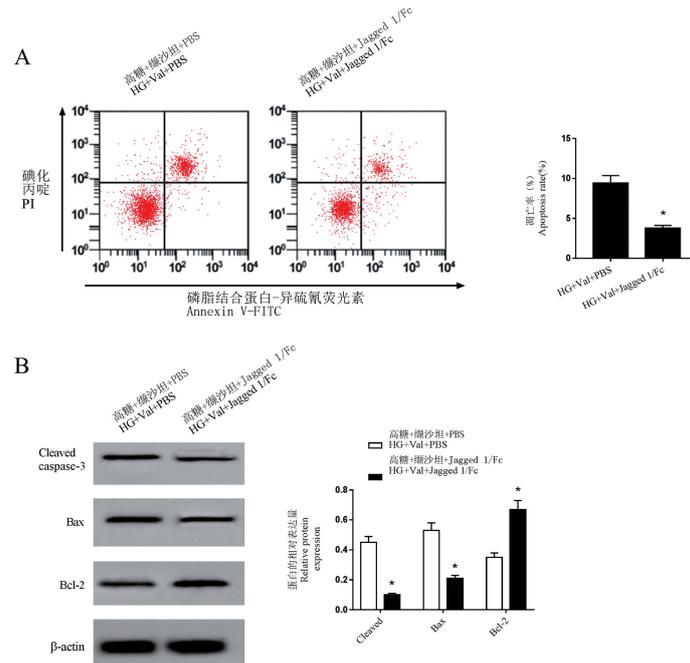
Figure 4 Western blot detected the expression of HBZY-1 jagged1 and NOTCH1 proteins in rat glomerular mesangial cells

可能机制对于深入了解糖尿病肾病的发病机理是十分必要的。本研究实验结果表明,大鼠肾小球系膜细胞暴露于高糖条件下可导致细胞增殖减少,阻滞细胞周期,且细胞凋亡增加^[11]。而缬沙坦的处理可以减轻高糖诱导的大鼠肾小球系膜细胞损伤,并且,可以抑制高糖诱导的大鼠肾小球系膜细胞中 NOTCH1 信号通路活性,证明了缬沙坦在预防或治疗糖尿病肾病方面的潜力。

缬沙坦是临床常用的降血压药物,此外,其在糖尿病肾病中的功能得到了广泛关注。各种研究已经证明,缬沙坦可以保护高糖刺激的肾小球足细胞或系膜细胞损伤,产生治疗糖尿病肾病的功效^[12-13]。目前的研究评估了缬沙坦在高糖损伤大鼠肾小球系膜细胞中的作用。与 HG 模型组相比,0.01、0.1、1 $\mu\text{mol/L}$ 缬沙坦干预细胞 48 h 后,细胞的增殖活力、S 期细胞比例、细胞增殖相关蛋白

CyclinD1 蛋白表达明显增强,G0-G1 期细胞比例、细胞的凋亡率、促凋亡蛋白 Bax、凋亡执行蛋白酶 Cleaved caspase-3 蛋白表达显著降低,抗凋亡蛋白 Bcl-2 表达显著提高。当前研究的结果表明,缬沙坦对高糖诱导大鼠肾小球系膜细胞 HBZY-1 损伤表现出治疗作用。值得注意的是,缬沙坦的浓度越高,其治疗效果越显著。

NOTCH 信号通路在维持进化过程中起着高度保守的信号调节系统的作用,并在细胞的正常增殖和分化中发挥重要作用。在脊椎动物中,配体(Delta-like 或 Jagged 蛋白)激活跨膜受体 NOTCH1-4。激活后,NOTCH 细胞内结构域(NICD)的切割允许其易位至细胞核,从而通过途径核效应子 RBPJ 激活目标基因,例如 HES bHLH 转录因子^[14]。该通路的失调与多种疾病有关,包括糖尿病肾病。越来越多的研究检测到,糖尿病肾病中 NOTCH1 信号传

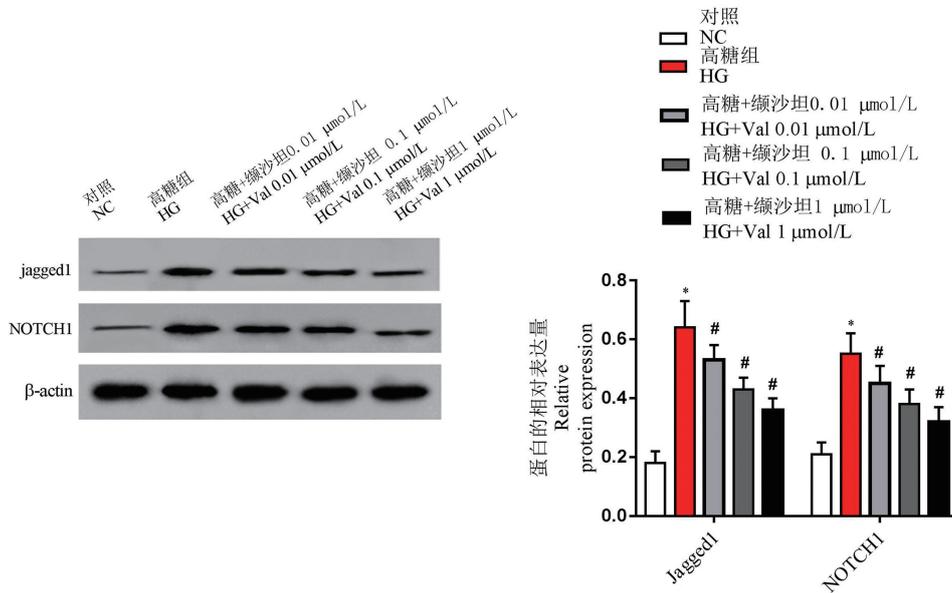


注:A:MTT 检测细胞增殖活性;B:Western blot 检测大鼠肾小球系膜 HBZY-1 jagged1、NOTCH1、CyclinD1 蛋白的表达;C:流式细胞术检测大鼠肾小球系膜细胞 HBZY-1 的细胞周期。与 HG+Val+PBS 组相比较, * P<0.05。

图 5 NOTCH1 信号通路激活剂部分逆转缬沙坦对高糖处理的大鼠肾小球系膜细胞 HBZY-1 的增殖和周期的影响

Note. A, MTT detection of cell proliferation activity. B, Western blot detection of rat mesangial HBZY-1 jagged1, NOTCH1, CyclinD1 protein expression. C, Flow cytometry detection of rat mesangial cells HBZY-1 cell cycle. Compared with the HG+Val+PBS group, * P<0.05.

Figure 5 The NOTCH1 signaling pathway activator partially reversed the effect of valsartan on the proliferation and cycle of rat glomerular mesangial cells HBZY-1 treated with high glucose



注:A:流式细胞术检测大鼠肾小球系膜细胞 HBZY-1 凋亡;B:Western blot 检测大鼠肾小球系膜 HBZY-1 Cleaved caspase-3、Bax 和 Bcl-2 蛋白的表达。与 HG+Val+PBS 组相比较, * P<0.05。

图 6 NOTCH1 信号通路激活剂部分逆转缬沙坦对高糖处理的大鼠肾小球系膜细胞 HBZY-1 凋亡的影响

Note. A, Flow cytometry to detect rat glomerular mesangial cells HBZY-1 apoptosis. B, Western blot to detect rat glomerular mesangial cells HBZY-1 Cleaved caspase-3, Bax and Bcl-2 protein expression. Compared with the HG+Val+PBS group, * P<0.05.

Figure 6 The NOTCH1 signaling pathway activator partially reversed the effect of valsartan on the apoptosis of rat glomerular mesangial cells HBZY-1 treated with high glucose

导途径转导的异常激活^[15]。在糖尿病肾病的病理过程中,高血糖和血液动力学改变会诱导 NOTCH 信号通路的 jagged1 配体和 NOTCH1 受体表达增加,从而导致受体结构发生改变^[16]。一些研究已证明,阻断 NOTCH1 信号传导途径对糖尿病肾病是一种有效的治疗策略^[17]。本研究表明,不同浓度的缬沙坦均可抑制高糖诱导的 NOTCH1 信号通路活性,降低 jagged1、NOTCH1 蛋白表达,并呈浓度依赖性,与文献^[5]报道的缬沙坦降低糖尿病小鼠肾小球组织中 jagged1、Notch1 表达的结果相同。进一步的研究发现,NOTCH1 信号通路激活剂 Jagged 1/Fc 融合蛋白处理细胞后,缬沙坦对高糖诱导的大鼠肾小球系膜细胞 HBZY-1 增殖、周期的促进作用被部分逆转,其对细胞凋亡的抑制作用也被部分逆转。由此可见,缬沙坦可以保护大鼠肾小球系膜细胞免受高糖诱导的损伤,其潜在机制是通过抑制 NOTCH1 传导途径来实现的。

综上所述,0.01、0.1、1 $\mu\text{mol/L}$ 浓度的缬沙坦可以浓度依赖性的促进高糖诱导的大鼠肾小球系膜细胞增殖和周期,并抑制期凋亡,其发挥保护作用的机制与抑制 NOTCH1 信号通路活性有关,这为糖尿病肾病治疗药物的开发提供了新的途径和依据。

参考文献:

- [1] Li S, Li W, Wu R, et al. Epigenome and transcriptome study of moringa isothiocyanate in mouse kidney mesangial cells induced by high glucose, a potential model for diabetic-induced nephropathy [J]. AAPS J, 2019, 22(1): 8.
- [2] Yunlei D, Qiuling F, Xu W, et al. Transient high-glucose stimulation induces persistent inflammatory factor secretion from rat glomerular mesangial cells via an epigenetic mechanism [J]. Cell Physiol Biochem, 2018, 49(5): 1747-1754.
- [3] 李明慧, 马瑞霞, 阎文静, 等. Ang II 上调 TRPC6、NFAT2 介导 2 型糖尿病肾病足细胞损伤 [J]. 青岛大学学报(医学版), 2019, 55(3): 299-302, 307.
- [4] 栾健, 王艳, 马瑞霞. 缬沙坦对糖尿病肾病大鼠肾组织 BMP-7 表达的影响 [J]. 山东医药, 2010, 50(17): 28-29.
- [5] 王晓梅, 丁洋, 赵玉峰, 等. 缬沙坦对糖尿病小鼠肾小球组织中 Notch 信号通路表达及细胞外基质生成的影响 [J]. 临

床与实验病理学杂志, 2014, 30(4): 397-400.

- [6] Zhang Z, Wang H. lncRNA SNHG1 suppresses gastric cancer cell proliferation and promotes apoptosis via Notch1 pathway [J]. J BUON, 2020, 25(1): 302-307.
- [7] He Y, Zhang M, Wu Y, et al. Aberrant activation of Notch-1 signaling inhibits podocyte restoration after islet transplantation in a rat model of diabetic nephropathy [J]. Cell Death Dis, 2018, 9(10): 950-964.
- [8] 史永红, 段惠军, 王丽晖, 等. 缬沙坦对高糖培养系膜细胞信号转导和转录活化因子 1,3 表达的影响 [J]. 中国药理学通报, 2006, 22(2): 203-206.
- [9] Chen HM, Dai JJ, Zhu R, et al. RCAN1.4 mediates high glucose-induced matrix production by stimulating mitochondrial fission in mesangial cells [J]. Biosci Rep, 2020, 40(1): BSR20192759.
- [10] Wang Y, He Z, Yang Q, et al. XBP1 inhibits mesangial cell apoptosis in response to oxidative stress via the PTEN/AKT pathway in diabetic nephropathy [J]. FEBS Open Bio. 2019, 9(7): 1249-1258.
- [11] Wang Z, Li Y, Wang Y, et al. Pyrroloquinoline quinone protects HK-2 cells against high glucose-induced oxidative stress and apoptosis through Sirt3 and PI3K/Akt/FoxO3a signaling pathway [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2019, 508(2): 398-404.
- [12] 朱伶俐, 叶迅. 缬沙坦抑制高糖环境下足细胞损伤的机制探究 [J]. 中国现代医生, 2017, 55(33): 35-39.
- [13] 袁琴, 吕川, 吴灿, 等. 缬沙坦抑制高糖刺激下系膜细胞血管紧张素 II-Notch 通路 [J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2016, 32(1): 5-9.
- [14] Cheung L, Le Tissier P, Goldsmith SG, et al. NOTCH activity differentially affects alternative cell fate acquisition and maintenance [J]. Elife, 2018, 7: e33318.
- [15] Nishad R, Mukhi D, Tahaseen SV, et al. Growth hormone induces Notch1 signaling in podocytes and contributes to proteinuria in diabetic nephropathy [J]. J Biol Chem, 2019, 294(44): 16109-16122.
- [16] Wei B, Liu YS, Guan HX. MicroRNA-145-5p attenuates high glucose-induced apoptosis by targeting the Notch signaling pathway in podocytes [J]. Exp Ther Med, 2020, 19(3): 1915-1924.
- [17] Tian H, Yang J, Xie Z, et al. Gliquidone Alleviates diabetic nephropathy by inhibiting Notch/Snail signaling pathway [J]. Cell Physiol Biochem, 2018, 51(5): 2085-2097.

[收稿日期]2020-06-08