

· 基础研究 ·

达格列净通过 Rffl 抑制 STAT1/TGF- β 1 信号通路改善糖尿病肾病肾小管上皮细胞 EMT 和纤维化

徐 洋,王 敏,张恒璐,周 莉,陆卫平*

南京医科大学附属淮安第一医院内分泌科,江苏 淮安 223300

[摘要] 目的:探讨达格列净对糖尿病肾病肾小管上皮细胞的上皮细胞-间充质转化和纤维化的影响及分子机制。方法:体外培养人肾小管上皮细胞 HK-2,分为对照组、高糖组、低剂量达格列净+高糖组和高剂量达格列净+高糖组。用 Western blot 与 RT-PCR 分别检测 E3 泛素连接酶 Rffl 的表达水平。Western blot 检测各组上皮细胞钙黏蛋白(epithelial cadherin, E-cadherin)、 α -平滑肌肌动蛋白(α -smooth muscle actin, α -SMA)、纤连蛋白(Fibronectin)、转化生长因子- β 1(transforming growth factor β 1, TGF- β 1)、信号转导与转录激活因子 1(signal transducer and activator of transcription 1, STAT1)的表达水平。在 HK-2 细胞中过表达 Rffl 后,Western blot 检测 E-cadherin、 α -SMA、Fibronectin、TGF- β 1、STAT1 的表达水平。结果:高糖组中 Rffl 的表达水平显著低于对照组,加入达格列净后 Rffl 表达升高;与对照组相比,高糖组细胞中 E-cadherin 表达水平降低,Fibronectin、 α -SMA 表达水平升高,过表达 Rffl 后 E-cadherin 表达水平升高,Fibronectin、 α -SMA 表达水平降低;与高糖组相比,低剂量达格列净+高糖组和高剂量达格列净+高糖组中 E-cadherin 表达水平均升高,Fibronectin、 α -SMA 表达水平均降低,且呈一定的剂量依赖性;与对照组相比,高糖组细胞中 STAT1、TGF- β 1 的表达水平升高,而在过表达 Rffl 或达格列净作用后则明显降低。结论:达格列净通过上调 Rffl 的表达抑制 STAT1/TGF- β 1 信号通路,改善糖尿病肾病肾小管上皮细胞的上皮细胞-间充质转化和纤维化。

[关键词] 达格列净;糖尿病肾病;Rffl;TGF- β 1;EMT;纤维化

[中图分类号] R587.2

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2023)09-1201-07

doi: 10.7655/NYDXBNS20230903

Dapagliflozin improves renal tubular epithelial EMT and fibrosis in diabetic nephropathy by inhibiting STAT1/TGF- β 1 signaling pathway via Rffl

XU Yang, WANG Min, ZHANG Henglu, ZHOU Li, LU Weiping*

Department of Endocrinology and Metabolism, the Affiliated Huai'an No.1 People's Hospital of Nanjing Medical University, Huai'an 223300, China

[Abstract] **Objective:** The current study aims to investigate the effect and molecular mechanism of dapagliflozin on epithelial-mesenchymal transformation and fibrosis of renal tubular epithelial cells in diabetic kidney disease. **Methods:** Human renal tubular epithelial cells HK-2 were cultured *in vitro* and divided into control group, high glucose group, low dose dapagliflozin + high glucose group and high dose dapagliflozin + high glucose group. The expression levels of Rffl were detected by Western blot and RT-PCR, respectively. The expression levels of epithelial cadherin (E-cadherin), α -smooth muscle actin (α -SMA), Fibronectin, transforming growth factor β 1 (TGF- β 1) and signal transducer and activator of transcription 1 (STAT1) were detected by Western blot. After Rffl was overexpressed in HK-2 cells, the expression levels of E-cadherin, α -SMA, Fibronectin, TGF- β 1 and STAT1 were detected by Western blot. **Results:** The expression level of Rffl was significantly lower in the high glucose group than in the control group, and the expression of Rffl was increased after adding dapagliflozin. Compared with the control group, the expression level of E-Cadherin in the high glucose group was decreased, while the expression level of Fibronectin and α -SMA was increased. After Rffl was overexpressed in cells, the expression level of E-Cadherin was increased, while the expression levels of Fibronectin and α -SMA were decreased. Compared with high glucose group, the expression levels of E-Cadherin in low-dose dapagliflozin + high glucose group and high-dose

[基金项目] 国家自然科学基金(81800644);淮安市“533英才”工程科研项目资助计划(HAA201744)

*通信作者(Corresponding author), E-mail:hyhalwp@sina.com

dapagliflozin+high glucose group were increased, but the expression levels of Fibronectin and α -SMA were decreased in a dose-dependent manner. Compared with the control group, the expression levels of STAT1 and TGF- β 1 were increased in the high glucose group, but significantly decreased after overexpression of Rffl or addition of dapagliflozin. **Conclusion:** Dapagliflozin inhibits STAT1/TGF- β 1 signaling pathway by up-regulating Rffl expression, and improves epithelial-mesenchymal transformation and fibrosis of renal tubular epithelial cells in diabetic kidney disease.

[Key words] dapagliflozin; diabetic kidney disease; Rffl; TGF- β 1; EMT; fibrosis

[J Nanjing Med Univ, 2023, 43(09): 1201-1207]

糖尿病肾病(diabetic kidney disease, DKD)是糖尿病最常见的微血管并发症之一,是终末期肾病(end stage renal disease, ESRD)发生的主要原因^[1]。DKD的病理特征是肾小球硬化、细胞外基质(extracellular matrix, ECM)合成增加、肾小管萎缩和肾小管间质纤维化^[2]。越来越多的研究表明肾小管上皮细胞的上皮细胞-间充质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)及纤维化在DKD的进展中起重要作用,然而目前DKD的治疗仍以控制血糖、血压、调节血脂为主要治疗原则,在抗纤维化方面效果并不明显^[3]。

达格列净是一种钠-葡萄糖协同转运蛋白2(sodium-glucose transporter 2, SGLT-2)抑制剂,可以抑制葡萄糖的重吸收,促进尿糖排出,降低血糖。近年来研究发现,达格列净还具有肾脏保护作用^[4],然而其具体机制尚未明确。转化生长因子- β 1(transforming growth factor β 1, TGF- β 1)是作用最强的致纤维化细胞因子,通过介导多种信号参与肾纤维化的发生发展^[5]。信号转导与转录激活因子1(signal transducer and activator of transcription 1, STAT1)是STAT转录因子家族成员,与高糖诱导的氧化应激、TGF- β 1的表达以及ECM蛋白IV型胶原蛋白和纤连蛋白(Fibronectin)的产生有关^[6]。泛素蛋白酶体系是细胞内蛋白质降解的主要途径,可以严格调控TGF- β 超家族信号转导。Rffl是一种能抑制内体再循环的E3泛素连接酶,可通过调控PRR5L降解促进mTORC2介导的PKC- δ 磷酸化从而延缓肺纤维化进展^[7]。然而Rffl在肾纤维化中的作用还未见报道。设想达格列净的肾保护机制可能与上调Rffl的表达抑制STAT1/TGF- β 1通路相关。

本研究通过高糖培养肾小管上皮细胞模拟糖尿病肾病环境,探讨达格列净是否通过上调Rffl的表达抑制STAT1/TGF- β 1信号通路从而改善DKD肾小管上皮细胞的EMT和纤维化,为DKD的治疗提供理论基础。

1 材料和方法

1.1 材料

人肾小管上皮细胞HK-2细胞(上海中乔新舟公司);胎牛血清、DMEM高糖培养基(含有4.5 g/L D-葡萄糖)、DMEM低糖培养基(含有1 g/L D-葡萄糖)、0.25%胰蛋白酶、链霉素、青霉素(Gibco公司,美国);达格列净(Med Chem Express公司,美国);鼠抗上皮细胞钙黏蛋白(epithelial cadherin, E-cadherin)、纤连蛋白(Fibronectin)、STAT1、 α -Tubulin单克隆抗体,兔抗 α -平滑肌肌动蛋白(α -smooth muscle actin, α -SMA)、TGF- β 1、Rffl多克隆抗体、山羊抗兔二抗、山羊抗鼠二抗(Proteintech公司,美国);Trizol/质粒转染试剂Lipofectamine™2000脂质体(Invitrogen公司,美国),RT-PCR试剂(南京诺唯赞公司),RT-PCR引物(南京金斯瑞公司);大肠杆菌DH5 α (北京擎科生物科技有限公司);空载质粒PCDH和重组PCDH-Rffl质粒(广州易锦生物技术有限公司);PCR仪(Eppendorf公司,德国)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养

人肾小管上皮细胞HK-2在37℃、5%CO₂的培养箱中用含有10%胎牛血清、1%青霉素(100 U/mL)和链霉素(100 μ g/mL)的DMEM培养基培养。细胞生长融合至80%时,用0.25%的胰酶消化细胞,细胞收缩变圆后加入完全培养基终止消化,传代。传代后的细胞在37℃、5%CO₂的培养箱中培养24 h后换液1次,以去除死亡的细胞,以后每2 d换液1次。取对数生长期的细胞用于实验研究。

1.2.2 分组

收集对数期HK-2细胞,使用含4.5 g/L葡萄糖的DMEM高糖培养基培养48 h,记作高糖组(HG组);使用含有1 g/L葡萄糖的DMEM低糖培养基培养48 h,记作对照组(NC组)。收集对数期HK-2细胞接种于6孔板,分为低剂量达格列净+高糖组(Dap-L

组,使用含有5 μ mol/L达格列净的DMEM高糖培养基培养48 h),高剂量达格列净+高糖组(Dap-H组,使用含有10 μ mol/L达格列净的DMEM高糖培养基培养48 h),PCDH组(PCDH转至HK-2细胞,使用DMEM高糖培养基培养48 h),PCDH-Rffl组(PCDH-Rffl转至HK-2细胞,DMEM高糖培养基培养48 h)。

1.2.3 Western blot 检测

取按照上述分组培养48 h的各组细胞,加入适量的RIPA细胞裂解液提取细胞中的蛋白,BCA试剂盒对蛋白进行定量,蛋白样品与上样缓冲液按照1:5的比例充分混匀,100 $^{\circ}$ C煮沸变性10 min,每个样品取50 μ g进行聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)分离,90 V低温电转移2 h,5%的脱脂奶粉37 $^{\circ}$ C封闭1 h,分别加入E-cadherin、 α -SMA、Fibronectin、Rffl、TGF- β 1、 α -Tubulin抗体,所有抗体均按照说明书稀释,4 $^{\circ}$ C过夜,TBST洗涤,分别加入1:5 000稀释的HRP标记的羊抗鼠IgG、羊抗兔IgG,室温孵育1 h,暗室内曝光显影,应用Image J软件分析各条带灰度值。

1.2.4 RT-PCR 检测

采用TRIzol法提取细胞中总RNA,参照反转录试剂盒合成cDNA。以cDNA为模板进行qRT-PCR反应,PCR循环条件:95 $^{\circ}$ C 30 s 预变性;95 $^{\circ}$ C 10 s,60 $^{\circ}$ C 30 s共40个循环;95 $^{\circ}$ C 15 s,60 $^{\circ}$ C 60 s,95 $^{\circ}$ C 15 s采集溶解曲线。以 β 肌动蛋白(β -actin)为内参,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算Rffl mRNA的相对表达量。

1.3 统计学方法

所有实验数据采用SPSS 21.0软件进行分析,符合正态分布的计量资料用均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组比较采用 t 检验,多组间差异比较采用单因素方差分析,两两比较采用LSD- t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

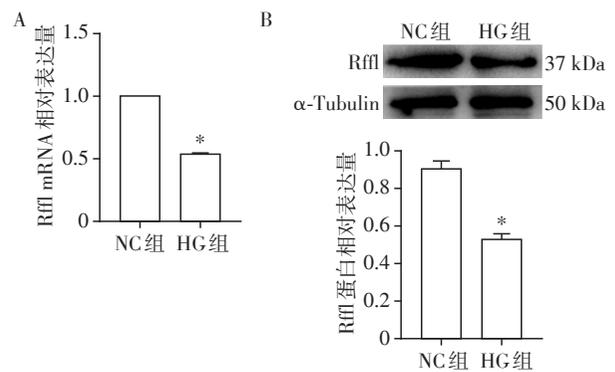
2 结果

2.1 Rffl在高糖培养的HK-2细胞中低表达

qRT-PCR检测了低糖和高糖培养的HK-2细胞Rffl的表达水平,结果显示HG组细胞中Rffl mRNA水平较NC组明显降低。Western blot检测结果证明HG组细胞中Rffl蛋白表达较NC组明显下调,差异有统计学意义($P < 0.05$,图1)。

2.2 在高糖培养的HK-2细胞中过表达Rffl

qRT-PCR结果显示,转染重组质粒PCDH-Rffl后,HK-2中Rffl的表达水平与PCDH组相比明显上升。Western blot结果与qPCR结果一致,表明成功构建过表达Rffl的HK-2细胞($P < 0.05$,图2)。



A: qRT-PCR检测Rffl mRNA的相对表达量;B: Western blot检测Rffl蛋白的相对表达量;与NC组比较,* $P < 0.05$, $n=3$ 。

图1 不同浓度葡萄糖培养的HK-2中Rffl的表达水平

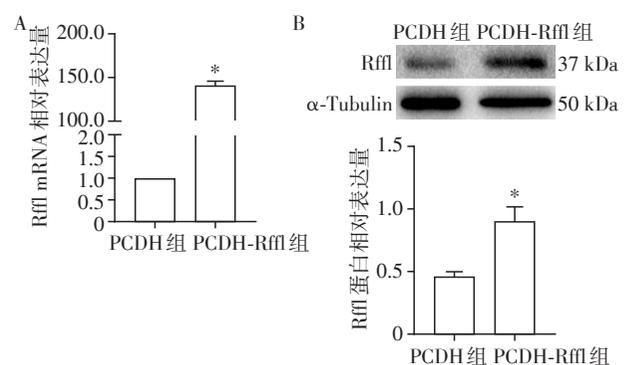
Figure 1 Rffl expression level in HK-2 cultured at different glucose concentrations

2.3 过表达Rffl抑制高糖环境中HK-2细胞的EMT和纤维化

与NC组相比,HG组细胞中E-cadherin蛋白表达水平降低,Fibronectin、 α -SMA蛋白表达水平升高($P < 0.05$, $n=3$);与PCDH组相比,PCDH-Rffl组细胞中E-cadherin蛋白表达水平升高,Fibronectin、 α -SMA蛋白表达水平降低($P < 0.05$, $n=3$,图3),提示过表达Rffl抑制高糖环境中HK-2的EMT和纤维化。

2.4 达格列净抑制高糖处理的HK-2细胞的EMT和纤维化

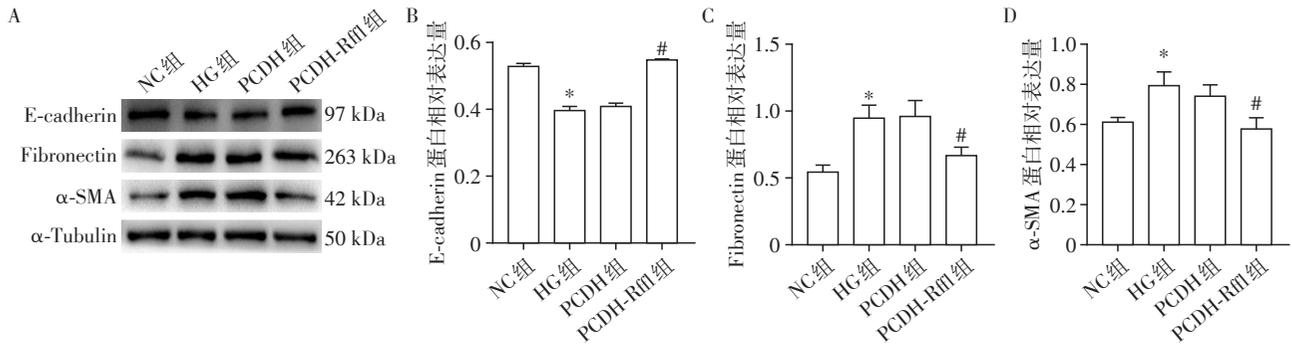
与NC组相比,HG组细胞中E-cadherin蛋白表达水平降低,Fibronectin、 α -SMA蛋白表达水平升高($P < 0.05$, $n=3$);与HG组相比,Dap-L组及Dap-H组细胞中E-cadherin表达水平均升高,Fibronectin、 α -SMA表达均降低($P < 0.05$, $n=3$);与Dap-L组相比,



A: qRT-PCR检测Rffl mRNA的相对表达量;B: Western blot检测Rffl蛋白的相对表达量;与PCDH组比较,* $P < 0.05$, $n=3$ 。

图2 重组质粒PCDH-Rffl转染后Rffl在HK-2中的表达水平

Figure 2 Expression level of Rffl in HK-2 after transfected with recombinant plasmid PCDH-Rffl



A: Western blot检测各组E-cadherin、Fibronectin、 α -SMA蛋白表达;B:各组E-cadherin蛋白表达的定量分析;C:各组Fibronectin蛋白表达的定量分析;D:各组 α -SMA蛋白表达的定量分析。与NC组比较,* $P < 0.05$;与PCDH组比较,# $P < 0.05$, $n=3$ 。

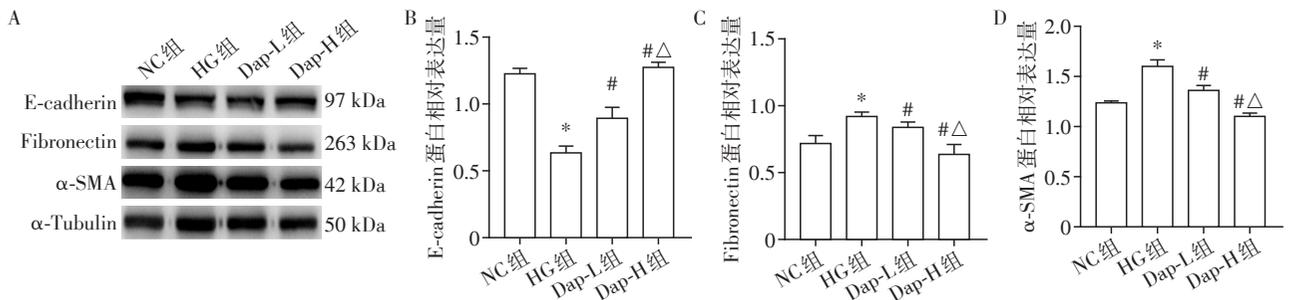
图3 Western blot检测过表达Rffl对HK-2中E-cadherin、Fibronectin、 α -SMA表达的影响

Figure 3 The effects of Rffl overexpression on the expression of E-cadherin, Fibronectin and α -SMA in HK-2 detected by Western blot

Dap-H组细胞中E-cadherin表达水平升高,Fibronectin、 α -SMA表达均降低($P < 0.05$, $n=3$,图4),提示达格列净抑制高糖处理的HK-2的EMT和纤维化,且达格列净的浓度越高,抑制作用越强。

2.5 达格列净促进高糖培养的HK-2细胞中Rffl的表达

与NC组相比,HG组细胞中Rffl蛋白表达水平降低($P < 0.05$, $n=3$);Dap-L组及Dap-H组细胞中Rffl表达



A: Western blot检测各组E-cadherin、Fibronectin、 α -SMA蛋白表达;B:各组E-cadherin蛋白表达的定量分析;C:各组Fibronectin蛋白表达的定量分析;D:各组 α -SMA蛋白表达的定量分析。与NC组比较,* $P < 0.05$;与HG组比较,# $P < 0.05$;与Dap-L组比较,Δ $P < 0.05$, $n=3$ 。

图4 Western blot检测达格列净对HK-2中E-cadherin、Fibronectin、 α -SMA表达的影响

Figure 4 The effects of dapagliflozin on the expression of E-cadherin, Fibronectin and α -SMA in HK-2 detected by Western blot

均高于HG组($P < 0.05$, $n=3$);与Dap-L组相比,Dap-H组细胞中Rffl表达水平升高($P < 0.05$, $n=3$,图5),提示达格列净促进高糖培养的HK-2中Rffl的表达,且达格列净的浓度越高,促Rffl表达的作用越明显。

2.6 过表达Rffl抑制高糖培养的HK-2细胞中STAT1、TGF- β 1的表达

相对于NC组,HG组细胞中STAT1、TGF- β 1的表达水平升高($P < 0.05$, $n=3$);与PCDH组相比,PCDH-Rffl组细胞中STAT1、TGF- β 1蛋白表达水平均降低($P < 0.05$, $n=3$,图6),提示过表达Rffl抑制高糖培养的HK-2中STAT1、TGF- β 1的表达。

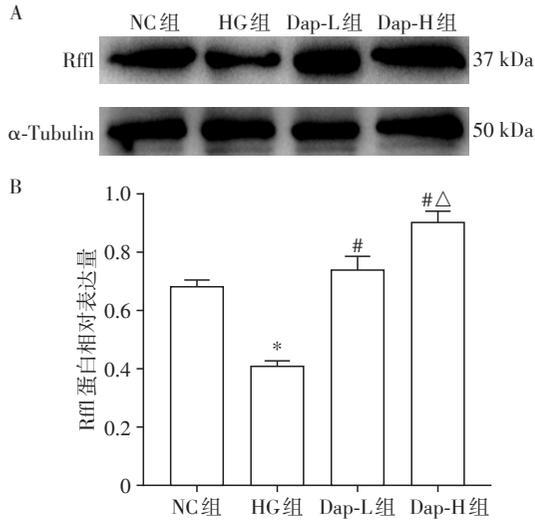
2.7 达格列净抑制高糖培养的HK-2细胞中STAT1、TGF- β 1的表达

与NC组相比,HG组细胞中STAT1、TGF- β 1的

表达水平升高($P < 0.05$, $n=3$);相比HG组,Dap-L组及Dap-H组细胞中STAT1、TGF- β 1表达均降低($P < 0.05$, $n=3$);与Dap-L组相比,Dap-H组细胞中STAT1、TGF- β 1表达均降低($P < 0.05$, $n=3$,图7),提示达格列净抑制高糖培养的HK-2中STAT1、TGF- β 1的表达,达格列净的浓度越高,抑制作用越显著。

3 讨论

糖尿病是世界范围内日益严重的公共卫生疾病,在全球普通人群中的患病率约为10%。根据国际糖尿病联合会的数据,到2035年,全球糖尿病患者的数量将从2013年的3.82亿增加到5.92亿,其中大约40%的糖尿病患者会发展为DKD^[8]。DKD是糖尿病最严重的微血管并发症之一,是导致ESRD



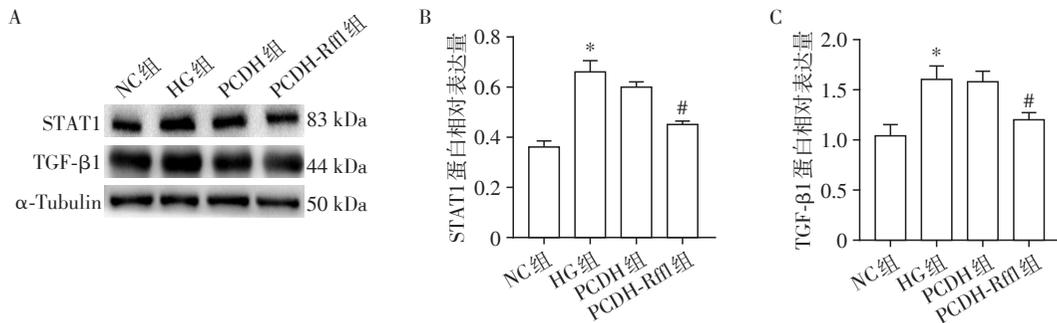
A: Western blot 检测各组 Rffl 蛋白表达; B: 各组 Rffl 蛋白表达的定量分析; 与 NC 组比较, * $P < 0.05$; 与 HG 组比较, # $P < 0.05$; 与 Dap-L 组比较, △ $P < 0.05$, $n=3$ 。

图5 Western blot检测达格列净对HK-2中Rffl表达的影响
Figure 5 The effect of dapagliflozin on Rffl expression in HK-2 detected by Western blot

的主要因素,显著增加了糖尿病患者的病死率。肾小管上皮细胞 EMT 及肾纤维化是 DKD 进展到

ESRD 的主要病理基础和共同途径,然而目前针对 DKD 的治疗方式在抑制 EMT、抗纤维化方面效果有限。如何有效抑制肾小管上皮细胞 EMT 及肾纤维化,从而阻止和延缓 DKD 向终末期肾病发展,是目前亟待解决的难题。

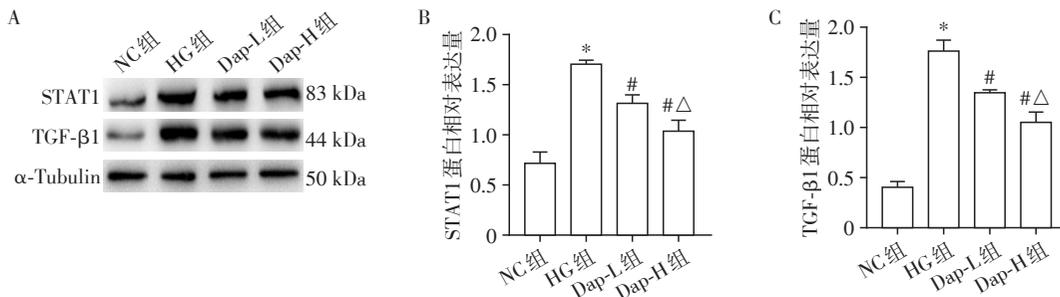
肾小管上皮细胞 EMT 在肾脏纤维化中发挥重要作用^[9-10],而抑制 EMT 可以在一定程度上延缓肾纤维化进展。在 EMT 过程中,上皮细胞的迁移、侵袭、抗凋亡能力增强,促进细胞外基质沉积,加剧肾间质细胞纤维化,严重危害肾脏功能^[11]。E-cadherin 作为细胞黏附连接的中心成分,是维持上皮细胞完整性所必需的。 α -SMA 是肌纤维成熟细胞表达的一个特征蛋白,在肾组织中可直接反映纤维化程度^[12]。Fibronectin 是肾纤维化中一种主要的 ECM 成分,其合成增加会促进 ECM 积聚,加快肾间质纤维化的进展^[13]。肾 EMT 常以 E-cadherin 表达量降低, α -SMA、Fibronectin 等间质标志物表达量升高为主要特征^[14-16]。泛素化修饰是一种重要的蛋白质翻译后修饰,它是泛素分子在一系列酶的作用下,与靶蛋白质共价结合的修饰过程。E3 泛素连接酶 MARCH7 能够调控 E-cadherin 和 β -catenin 的表达。在卵巢癌



A: Western blot 检测各组 STAT1、TGF- β 1 蛋白表达; B: 各组 STAT1 蛋白表达的定量分析; C: 各组 TGF- β 1 蛋白表达的定量分析; 与 NC 组比较, * $P < 0.05$; 与 PCDH 组比较, # $P < 0.05$, $n=3$ 。

图6 Western blot检测过表达Rffl对HK-2中STAT1、TGF- β 1表达的影响

Figure 6 The effects of Rffl overexpression on the expression of STAT1 and TGF- β 1 in HK-2 detected by Western blot



A: Western blot 检测各组 STAT1、TGF- β 1 蛋白表达; B: 各组 STAT1 蛋白表达的定量分析; C: 各组 TGF- β 1 蛋白表达的定量分析; 与 NC 组比较, * $P < 0.05$; 与 HG 组比较, # $P < 0.05$; 与 Dap-L 组比较, △ $P < 0.05$, $n=3$ 。

图7 Western blot检测达格列净对HK-2中STAT1、TGF- β 1表达的影响

Figure 7 The effects of dapagliflozin on STAT1 and TGF- β 1 expression in HK-2 detected by Western blot

中,USP7通过逆转MARCH7自身的泛素化,并稳定MARCH7,从而介导E-cadherin和 β -catenin的表达^[17]。TGF- β 可以诱导EMT发生,在乳腺上皮细胞中,野生型p53可以调控TGF- β 信号产生的EMT^[18],而E3泛素连接酶Rff1可通过使MDM2变得稳定来促进p53的降解^[19]。Rff1还可通过PRR5L降解促进mTORC2介导的PKC- δ 磷酸化从而影响肺纤维化进展^[7]。本研究结果显示,高糖处理后肾小管上皮细胞中E-cadherin表达水平降低,Fibronectin、 α -SMA表达水平升高,而Rff1过表达可逆转高糖诱导的肾小管上皮细胞EMT,提示Rff1高表达具有一定的抑制高糖处理的肾小管上皮细胞HK-2发生纤维化的作用。

SGLT-2抑制剂是一种不依赖胰岛素水平的新型降糖药,除降糖作用外,它还具备降低血压、改善肾小球高滤过、减少蛋白尿、改善氧化应激、抑制炎症等肾脏保护作用^[20-21]。对18周的单侧肾切除db/db小鼠进行4周达格列净治疗,肾脏TGF- β 1、纤溶酶原激活物抑制物1、IV型胶原以及Fibronectin的表达均显著降低^[22]。研究表明,达格列净可以通过抑制高糖毒性,进而降低O-GlcNAc糖基化修饰和减少肾小管缺氧^[23]或抑制STAT1/TGF- β 1通路激活^[24],从而改善肾小管间质纤维化。本研究结果显示,与高糖组相比,低剂量达格列净+高糖组及高剂量达格列净+高糖组中E-cadherin表达水平均升高,Fibronectin、 α -SMA表达水平均降低,并呈现出一定的剂量依赖性,提示达格列净具有抑制高糖处理的肾小管上皮细胞HK-2发生纤维化的作用。

TGF- β 1在EMT和组织纤维化中起重要调节作用,可以正向调控EMT,是肾间质纤维化及肾小球硬化的重要细胞因子^[25]。高血糖会诱导激活DKD中STAT1和TGF- β 1,并参与肾小管间质纤维化的过程^[24]。抑制STAT1可以抑制肝纤维化的进展^[26],此外,STAT信号通路在肾纤维化中起着至关重要的作用,激活STAT可诱导EMT并导致肾损害缓解^[27]。本研究表明,高糖处理后肾小管上皮细胞中STAT1、TGF- β 1的表达水平升高,过表达Rff1后STAT1、TGF- β 1表达水平降低,这表明在肾小管上皮细胞HK-2中E3泛素连接酶Rff1对STAT1/TGF- β 1通路具有一定的抑制作用。此外,本研究发现达格列净同样可逆转STAT1、TGF- β 1的表达水平,并呈现出一定的剂量依赖性,这表明达格列净改善EMT的作用可能与抑制高血糖诱导的STAT1/TGF- β 1通路相关。

本研究发现,达格列净可缓解高血糖条件下肾

小管上皮细胞EMT和纤维化,并抑制了促纤维化因子STAT1和TGF- β 1的表达。本研究初步探索达格列净对DKD肾小管上皮细胞EMT和纤维化的改善作用及其可能机制,但详细作用机制有待进一步深入探究。

[参考文献]

- [1] ZOJA C, ZANCHI C, BENIGNI A. Key pathways in renal disease progression of experimental diabetes [J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2015, 30:54-59
- [2] JIANG Z H, TANG Y Z, SONG H N, et al. miRNA-342 suppresses renal interstitial fibrosis in diabetic nephropathy by targeting SOX6 [J]. *Int J Mol Med*, 2020, 45(1): 45-52
- [3] ZANCHI C, MACCONI D, TRIONFINI P, et al. MicroRNA 184 is a downstream effector of albuminuria driving renal fibrosis in rats with diabetic nephropathy [J]. *Diabetologia*, 2017, 60(6): 1114-1125
- [4] HEERSPINK H J L, STEFANSSON B V, CORREA-ROTTER B V, et al. Dapagliflozin in patients with chronic kidney disease [J]. *N Engl J Med*, 2020, 383(15): 1436-1446
- [5] LI Y, LI L, ZENG O, et al. H₂S improves renal fibrosis in STZ-induced diabetic rats by ameliorating TGF- β 1 expression [J]. *Ren Fail*, 2017, 39(1): 265-272
- [6] MARRERO M B, BANES-BERCELI A K, STERN D M, et al. Role of the JAK/STAT signaling pathway in diabetic nephropathy [J]. *Am J Physiol Ren Physiol*, 2006, 290(4): F762-F768
- [7] GAN X, WANG J, WANG C, et al. PRR5L degradation promotes mTORC2-mediated PKC-delta phosphorylation and cell migration downstream of Galpha12 [J]. *Nat Cell Biol*, 2012, 14(7): 686-696
- [8] SHI Y, HU F B. The global implications of diabetes and cancer [J]. *Lancet*, 2014, 383(9933): 1947-1948
- [9] CHEN Y Y, PENG X F, LIU G Y, et al. Protein arginine methyltransferase-1 induces ER stress and epithelial-mesenchymal transition in renal tubular epithelial cells and contributes to diabetic nephropathy [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2019, 1865(10): 2563-2575
- [10] 钟涛, 张国新, 周迪夷, 等. 灵芝多糖对糖尿病肾病小鼠肾小管上皮细胞间充质转化的抑制作用 [J]. *中国医药导报*, 2020, 17(6): 9-12
- [11] LU Q, CHEN Y B, YANG H, et al. Inactivation of TSC1 promotes epithelial-mesenchymal transition of renal tubular epithelial cells in mouse diabetic nephropathy [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2019, 40(12): 1555-1567
- [12] ZHAO L, ZHAO J, WANG X, et al. Serum response factor induces endothelial-mesenchymal transition in glomerular

- endothelial cells to aggravate proteinuria in diabetic nephropathy[J]. *Physiol Genomics*, 2016, 48(10): 711-718
- [13] LOK S W Y, YIU W H, LI H Y, et al. The PAR-1 antagonist vorapaxar ameliorates kidney injury and tubulointerstitial fibrosis[J]. *Clin Sci*, 2020, 134(21):2873-2891
- [14] GONG E Y, JO H A, PARK S H, et al. VSIG4 induces epithelial-mesenchymal transition of renal tubular cells under high-glucose conditions[J]. *Life (Basel)*, 2020, 10(12):354-364
- [15] PEERAPEN P, THONGBOONKERD V. Protective roles of trigonelline against oxalate-induced epithelial-to-mesenchymal transition in renal tubular epithelial cells: An *in vitro* study[J]. *Food Chem Toxicol*, 2020, 135: 110915
- [16] WANG Y N, ZHAO S L, SU Y Y, et al. Astragaloside IV attenuates high glucose-induced EMT by inhibiting the TGF- β /Smad pathway in renal proximal tubular epithelial cells[J]. *Biosci Rep*, 2020, 40(6):20190987
- [17] ZHANG L, WANG H, TIAN L, et al. Expression of USP7 and MARCH7 is correlated with poor prognosis in epithelial ovarian cancer[J]. *Tohoku J Exp Med*, 2016, 239(3): 165-175
- [18] TERMEN S, TAN E J, HELDIN C H, et al. p53 regulates epithelial-mesenchymal transition induced by transforming growth factor beta[J]. *Cell Physiol*, 2013, 228(4):801
- [19] YANG W, DICKER D T, CHEN J, et al. CARPs enhance p53 turnover by degrading 14-3-3 sigma and stabilizing MDM2[J]. *Cell Cycle*, 2008, 7(5):670-682
- [20] DEKKERS-CLAIRE C J, SERGEI P, LAVERMAN G D, et al. Effects of the SGLT-2 inhibitor dapagliflozin on glomerular and tubular injury markers[J]. *Diabetes Obes Metab*, 2018, 20(8):1988-1993
- [21] CHRISTOPH W, LACHIN J M, INZUCCHI S E, et al. Empagliflozin and clinical outcomes in patients with type 2 diabetes mellitus, established cardiovascular disease, and chronic kidney disease[J]. *Circulation*, 2018, 137(2): 119-129
- [22] TANG L, WU Y, TIAN M, et al. Dapagliflozin slows the progression of the renal and liver fibrosis associated with type 2 diabetes[J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2017, 313(5):E563-E576
- [23] JUDIT H, BALOGH D B, ADAM H, et al. Reduced O-GlcNAcylation and tubular hypoxia contribute to the antifibrotic effect of SGLT2 inhibitor dapagliflozin in the diabetic kidney[J]. *Am J Physiol Ren Physiol*, 2020, 318(4):1017-1029
- [24] HUANG F J, ZHAO Y Y, WANG Q Z, et al. Dapagliflozin attenuates renal tubulointerstitial fibrosis associated with type 1 diabetes by regulating STAT1/TGF β 1 signaling[J]. *Front Endocrinol(Lausanne)*, 2019, 10:441
- [25] 林远灿, 骆海莺, 刘慧芳, 等. 垂盆草总黄酮通过TGF- β 1/Smad2/3通路干预肝星状细胞上皮间质转化的分子机制[J]. *中药材*, 2020, 43(1):202-205
- [26] ZHANG H Y, CHEN F Y, FAN X, et al. Quantitative proteomic analysis on activated hepatic stellate cells reversion reveal STAT1 as a key regulator between liver fibrosis and recovery[J]. *Sci Rep*, 2017, 7:44910
- [27] KAOWINN S, KAEWPIBOON C, KOH S S, et al. STAT1-HDAC4 signaling induces epithelial-mesenchymal transition and sphere formation of cancer cells overexpressing the oncogene, CUG2[J]. *Oncol Rep*, 2018, 40(5):2619-2627

[收稿日期] 2023-02-27
(本文编辑:陈汐敏)