

## SRT1720 对实验性肾病大鼠足细胞的保护作用

程 珊, 张爱华, 黄松明\*

(南京医科大学附属南京儿童医院肾脏科, 江苏 南京 210008)

**[摘要]** 目的: 探讨沉默信息调节因子2相关酶1 (silent mating type information regulation 2 homolog 1, SIRT1) 激活剂 SRT1720 对嘌呤霉素氨基核苷肾病 (puromycin aminonucleoside nephrosis, PAN) 大鼠足细胞损伤的保护作用。方法: 雄性 SD 大鼠一次性腹腔注射 150 mg/kg 嘌呤霉素氨基核苷建立 PAN 肾病大鼠模型, 设正常对照组、模型组、SRT1720 治疗组 [模型组大鼠给予 SRT1720 100 mg/(kg·d) 灌胃]。Bradford 法检测大鼠的 24 h 尿蛋白总量; 应用透射电镜观察足细胞超微结构; 实时定量 RT-PCR、Western blot 检测足细胞裂孔隔膜蛋白 Nephrin 及 Podocin 的表达。结果: ①与正常对照组相比, PAN 注射后第 3 天, 模型组大鼠尿蛋白的排泄量开始增加 ( $P < 0.01$ ), 至第 7 天达最高峰, 尿蛋白总量达 259.73 mg/24 h; SRT1720 治疗组在治疗 3 d 后尿蛋白明显降低 ( $P < 0.01$ ), 第 7 天则降到 52.47 mg/24 h; ②模型组大鼠血清白蛋白显著降低 [ $(22.14 \pm 3.05)$  g/L] 而胆固醇则显著升高 [ $(7.03 \pm 1.64)$  mmol/L], SRT1720 治疗后显著提高模型组大鼠血清白蛋白水平 [ $(35.48 \pm 3.96)$  g/L] 并降低胆固醇水平 [ $(2.81 \pm 0.41)$  mmol/L]; ③透射电镜结果显示模型组大鼠肾小球足细胞足突广泛融合、消失, SRT1720 治疗显著减轻足细胞足突的融合; ④与正常对照组相比, 模型组大鼠肾组织中 Nephrin 和 Podocin 核酸和蛋白表达均显著降低, SRT1720 治疗组肾组织中 Nephrin 和 Podocin 表达显著上调, 能够恢复到正常组的 85%~90%。结论: SRT1720 能够降低 PAN 大鼠蛋白尿, 改善低蛋白血症和高胆固醇血症, 并明显减轻足细胞损伤。

**[关键词]** SRT1720; 嘌呤霉素氨基核苷肾病; 足细胞

**[中图分类号]** R392.12

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-4368(2013)06-738-06

**doi:** 10.7655/NYDXBNS20130605

## Protective effect of SRT1720 on podocyte injury in rats with experimental nephropathy

Cheng Shan, Zhang Aihua, Huang Songming\*

(Department of Nephrology, Nanjing Children's Hospital, Affiliated to NJMU, Nanjing 210008, China)

**[Abstract]** **Objective:** To explore the protective effect of silent mating type information regulation 2 homolog 1 (Sirt1) activator SRT1720 on podocyte injury in puromycin aminonucleoside (PAN) induced minimal change nephrotic rats. **Methods:** One single dose of puromycin aminonucleoside (150 mg/kg) was injected peroidly into male SD rats to induce the minimal change nephrosis. There are three groups: control group, PAN group, and SRT1720 treatment group. Twenty-four hours urine protein excretion was detected by Bradford method. Podocyte injury was observed by transmission electron microscope (TEM). The expressions of podocyte slit diaphragm nephrin and podocin were determined by real time RT-PCR and Western blot. **Results:** ① Compared with the control group, urine protein excretion in PAN rats began to increase after three days of puromycin aminonucleoside injection ( $P < 0.01$ ), and reached a peak to 259.73 mg/24 h at the seventh day. After the treatment of SRT1720 for 3 days, urine protein excretion was significantly decreased ( $P < 0.01$ ), and dropped to 52.47 mg/24 h in the seventh day. ② Serum albumin levels were significantly decreased [ $(22.14 \pm 3.05)$  g/L] and serum cholesterol levels increased [ $(7.03 \pm 1.64)$  mmol/L] in PAN rats as compared with the controls SRT1720 treatment significantly increased serum albumin [ $(35.48 \pm 3.96)$  g/L] and decreased cholesterol [ $(2.81 \pm 0.41)$  mmol/L]. ③ TEM results showed that podocyte foot processes in PAN groups fused and disappeared widely, and the foot processes fusion was markedly alleviated after SRT1720 treatment. ④ Compared to the control group, obvious reduction of nephrin and podocin mRNA and protein in PAN rats was detected ( $P < 0.05$ ), and the expressions of nephrin and podocin in SRT1720 treatment group were significantly raised ( $P < 0.05$ ), capable restored to 80%~85% of control group. **Conclusion:** SRT1720 could decrease urine pro-

**[基金项目]** 国家自然科学基金(81270797); 南京市科技发展基金(201104011)

\*通信作者 (Corresponding author), E-mail: smhuang@njmu.edu.cn

tein excretion, protective against hypoalbuminuria and hypercholesterol, and podocyte injury in PAN rats.

[Key words] SRT1720; puromycin aminonucleoside nephrosis; podocyte

[Acta Univ Med Nanjing, 2013, 33(6): 738-743]

原发性肾病综合征 (nephrotic syndrome, NS) 是儿童常见的泌尿系统疾病, 以大量蛋白尿、低白蛋白血症、高脂血症和不同程度水肿为主要临床特点。主要分为原发性、继发性两种, 其中原发性占 90%。国外文献报道 18 岁以下人群 NS 发生率为 1.15/10 万~11.60/10 万<sup>[1]</sup>; 1982 年我国的调查结果显示, NS 占同期住院泌尿系疾病患儿的 21%。如不采取积极有效的治疗, 患儿往往会死于感染等多种并发症。目前糖皮质激素是治疗 NS 公认的首选药物, 但部分患儿表现为频繁复发而不得不反复使用激素, 结果可能导致一系列糖皮质激素不良反应, 如肥胖、生长抑制、高血压、糖尿病、骨质疏松等; 临床加用免疫抑制剂和(或)细胞毒药物有望控制病情, 但同时不可避免地带来了这些药物的不良反应; 部分免疫抑制剂价格昂贵, 患者不能承担而导致治疗中断。因此, NS 已经严重影响到患儿的生活质量和身心健康, 给整个社会和家庭带来了不利影响。

SRT1720, 其中文全称为 N-[2-[3-(1-哌嗪基甲基)咪唑并[2,1-B]噻唑-6-基]苯基]-2-噻啉甲酰胺, 分子式为 C<sub>25</sub>H<sub>23</sub>N<sub>7</sub>O<sub>5</sub>, 是由葛兰素史克公司开发的一种新化学实体药物, 它和红酒中存在的天然植物抗毒素白藜芦醇一样, 均属于烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD<sup>+</sup>)依赖性脱乙酰基酶, 是沉默信息调节因子 2 相关酶 1 (silent mating type information regulation 2 homolog 1, SIRT1) 的激活剂。SRT1720 在体内的代谢时间比白藜芦醇更长, 因而它与 SIRT1 之间的结合能力也比后者强 1 000 倍左右<sup>[2]</sup>。已有研究证明了 SRT1720 能够缓解多种代谢性及慢性疾病, 如肥胖、哮喘、2 型糖尿病、多发性骨髓瘤等<sup>[1,3-5]</sup>, 能够减轻肝脏脂肪堆积<sup>[6]</sup>, 并且能够诱导肾小管细胞的线粒体合成及缓解氧化剂造成的肾小管损伤<sup>[7]</sup>。

儿童原发性肾病综合征主要病理类型为微小病变, 其病理改变主要以电镜下肾小球足细胞足突融合为特征。本课题组前期研究发现线粒体功能障碍在足细胞损伤中发挥重要作用, SIRT1 激动剂白藜芦醇可显著减轻足细胞损伤。本研究采用一次性腹腔注射嘌呤霉素氨基核苷制备微小病变型肾病 (PAN) 大鼠模型, 观察 SIRT1 激动剂 SRT1720 对蛋

白尿及足细胞损伤的保护作用。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

氨基核苷嘌呤霉素(Sigma 公司, 美国); SRT1720 (葛兰素史克公司, 美国); SuperScript III RNase H-Reverse Transcriptase 试剂盒 (Invitrogen 公司, 美国); 山羊抗 Nephlin、Podocin 抗体、辣根过氧化物酶标记抗山羊和小鼠二抗(Santa Cruz 公司, 美国)。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 动物模型制备及实验分组

雄性 SD 大鼠 24 只, 体重 80~100 g。随机分为 3 组, 正常对照组、模型组和 SRT1720 治疗组, 每组 8 只。正常对照组: 腹腔注射生理盐水; 模型组、SRT1720 治疗组予一次性腹腔注射嘌呤霉素氨基核苷, 剂量 150 mg/kg。从注射当天(第 0 天)起, SRT1720 治疗组给予 100 mg/(kg·d) 灌胃, 1 次/d, 其他组灌服等量生理盐水。用代谢笼隔日(分别为第 1、3、5、7 天)收集大鼠 24 h 尿液, 检测 24 h 尿蛋白总量, 第 8 天集中处死所有大鼠, 留取血清测定血尿素氮(BUN)、肌酐(Cr)、总蛋白(TP)、白蛋白(Alb)和胆固醇(TCh), 取肾组织进行超微结构检查。

#### 1.2.2 大鼠 24h 尿蛋白含量测定

应用 Bradford 法测定 24 h 尿蛋白总量(mg/24 h)。

#### 1.2.3 肾脏超微结构检查

采用透射电镜观察。取约 1 mm<sup>3</sup> 的肾皮质, 经 2.5% 戊二醛固定、1% 锇酸后固定、脱水、环氧树脂 618 包埋, 超薄切片后醋酸铀-柠檬酸铅染色, JEM-1010 透射电镜下观察。

#### 1.2.4 实时定量 RT-PCR

取肾皮质, TRIzol 一步抽提法提取总 RNA。逆转录以随机六核苷酸寡聚物(PdN6)为引物, 采用 Invitrogen 公司的 SuperScript III RNase H-Reverse Transcriptase 试剂盒进行。实时定量 PCR 在美国 ABI PRISM 7000 SDS 上进行。引物序列为: Nephlin: 上游 5'-GGAGGACAGGATCAGGAATG'AA-3', 下游 5'-CCCGTCCCCAGTCCA-3'; Podocin: 上游 5'-GTGAGGAGGGCACGGAAG-3', 下游 5'-AGGG-

AGGCCGAGGACAAGA-3'; GAPDH: 上游 5'-GTCT-TCACTACCATGGAGAAGG-3', 下游 5'-TCAT-GGATGACCTTGGCCAG-3'。实时定量 PCR 采用 SYBR Green master mix (Applied Biosystems, 美国) 试剂盒在 96 孔板上进行, 每管的反应总体积为 25  $\mu$ l, PCR 的温度循环设计为: 95 $^{\circ}$ C, 10 min; 随后以 95 $^{\circ}$ C, 15 s 和 60 $^{\circ}$ C, 1 min 循环 40 次。mRNA 表达量采用管家基因 GAPDH 校正。

1.2.5 大鼠肾组织蛋白质提取及免疫印迹

冰上称取 100 mg 肾皮质, 加入冰预冷的蛋白质裂解缓冲液 1 ml [50 mmol/L Tris-HCl (pH7.4)、150 mmol/L NaCl、1% Triton X-100、0.25% 脱氧胆酸钠、1 mmol/L EDTA、1 mmol/L DTT、5% 甘油、100  $\mu$ g/ml PMSF、1  $\mu$ g/ml Aprotinin、1  $\mu$ g/ml Leupeptin、1  $\mu$ g/ml Pepstatin] 冰上匀浆, 4 $^{\circ}$ C 孵育 1 h, 16 000 g 4 $^{\circ}$ C 离心 15 min, 取上清。Bradford 法测蛋白浓度。取 30  $\mu$ g 总蛋白加上样缓冲液煮沸 5 min 后上 SDS 聚丙烯酰胺凝胶 (10%) 电泳, 转移至硝酸纤维素膜, 室温封闭 1 h, 加 1:1 000 山羊抗 Nephlin 或 Podocin 抗体室温反应 2 h, 辣根过氧化物酶标记的二抗室温作用 1 h, 化学发光后自显影、定影。

1.3 统计学方法

结果以均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 采用 SPSS 11.5 统计软件进行统计学分析。组间比较采用单因素方差分析, 均数间的两两比较采用 SNK-*q* 检验,  $P \leq 0.05$  表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 SRT1720 对实验性肾病大鼠 24 h 尿蛋白总量的影响

实验前, 各组大鼠尿蛋白排泄量无明显差别。嘌呤霉素氨基核苷注射后第 3 天, 模型组大鼠尿蛋白的排泄量开始增加, 至第 7 天达最高峰, 尿蛋白总量达 259.73 mg/24 h; SRT1720 治疗组在治疗 3 d 后对大鼠实验性肾病模型有明显降低尿蛋白的作用 ( $P < 0.05$ , 表 1)。

2.2 SRT1720 对实验性肾病大鼠血生化的影响

与正常对照组相比, 模型组大鼠出现明显的低白蛋白血症和高胆固醇血症 ( $P < 0.05$ )。SRT1720 治疗后 TP 和 Alb 较模型组显著升高 ( $P < 0.05$ ), 而 Tch 则显著降低 ( $P < 0.05$ )。3 组大鼠 BUN 和 Cr 均在正常范围且无显著差异 (表 2)。

表 1 SRT1720 对实验性肾病大鼠尿蛋白排泄的影响

Table 1 Effect of SRT1720 on urinary protein excretion in PAN-induced nephrosis in rats (n=8)

组别	24 h 尿蛋白总量 (mg/24 h)			
	第 1 天	第 3 天	第 5 天	第 7 天
正常对照组	3.71 $\pm$ 1.28	4.85 $\pm$ 1.93	4.23 $\pm$ 1.65	3.87 $\pm$ 1.63
模型组	6.05 $\pm$ 2.19	18.74 $\pm$ 4.28*	158.97 $\pm$ 35.68*	259.73 $\pm$ 70.38*
SRT1720 治疗组	6.64 $\pm$ 2.01	17.84 $\pm$ 4.17	55.38 $\pm$ 8.35#	52.47 $\pm$ 10.39#

与对照组比较, \* $P < 0.01$ ; 与模型组相比较, # $P < 0.01$ 。

表 2 SRT1720 对实验性肾病大鼠血生化的影响

Table 2 Effect of SRT1720 on the blood biochemical parameters in PAN-induced nephrosis in rats (n=8)

组别	TP (g/L)	Alb (g/L)	TCh (mmol/L)	BUN (mmol/L)	Cr (mol/L)
正常对照组	64.28 $\pm$ 7.14	38.55 $\pm$ 2.27	2.54 $\pm$ 0.38	7.51 $\pm$ 1.12	55.69 $\pm$ 8.71
模型组	41.35 $\pm$ 4.09*	22.14 $\pm$ 3.05*	7.03 $\pm$ 1.64*	7.93 $\pm$ 1.19	53.28 $\pm$ 7.95
SRT1720 治疗组	62.71 $\pm$ 7.38#	35.48 $\pm$ 3.96#	2.81 $\pm$ 0.41#	7.74 $\pm$ 1.25	56.03 $\pm$ 8.14

与对照组比较, \* $P < 0.01$ ; 与模型组相比较, # $P < 0.01$ 。

2.3 肾小球足细胞超微结构的变化

对照组肾小球足细胞足突形态正常。模型组足细胞足突广泛融合、消失。SRT1720 治疗后, 显著减轻足细胞足突的融合。

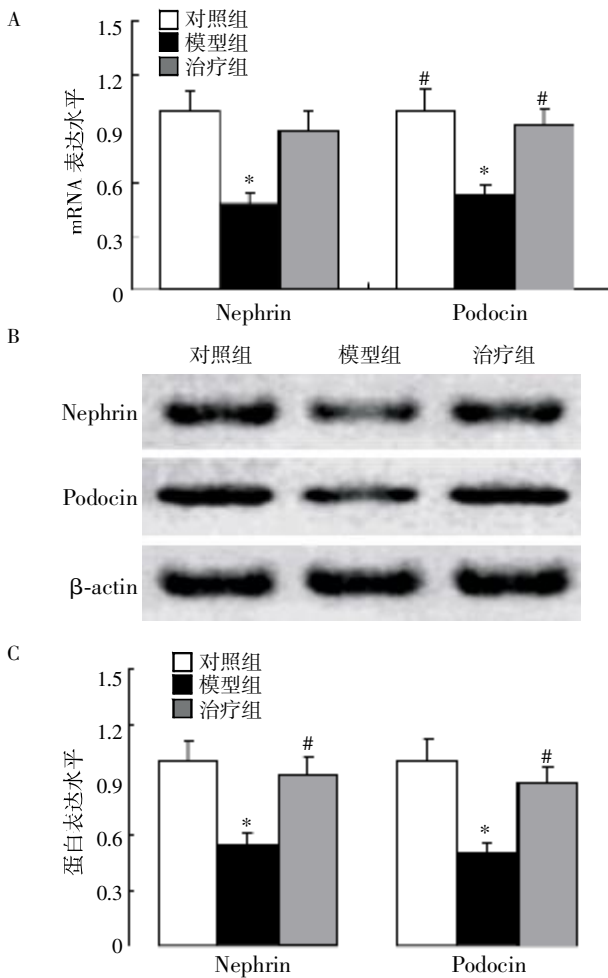
2.4 肾小球足细胞标志蛋白 Nephlin 和 Podocin 表达的变化

实时定量 RT-PCR 和 Western blot 检测结果显示, 模型组大鼠肾组织中 Nephlin 和 Podocin 表达显

著降低, 是正常对照组的 35%~42%, SRT1720 治疗后, 肾组织中 Nephlin 和 Podocin 表达显著上调, 其肾组织中 Nephlin 和 Podocin 表达恢复到正常对照组的 88%~90% (图 1)。

3 讨论

嘌呤霉素氨基核苷肾病是实验性肾病综合征动物模型, 其早期病理改变主要为足细胞的损伤。足细



A: 实时定量 RT-PCR 检测肾组织中 Nephrin 和 Podocin mRNA 表达; B: Western blot 检测肾组织中 Nephrin 和 Podocin 蛋白表达; C: Nephrin 和 Podocin 蛋白表达的定量分析。与对照组比较, \* $P < 0.01$ ; 与模型组相比较, # $P < 0.01$ 。

图 1 SRT1720 对实验性肾病大鼠肾组织中 Nephrin 和 Podocin 表达的影响

Figure 1 Effect of SRT1720 on the expression of Nephrin and podocin in PAN-induced nephrosis in rats

胞,即肾小球脏层上皮细胞,是高度分化的终末细胞,其结构复杂,可分为胞体、初级突起和次级突起(足突),相邻足细胞与足突之间由裂孔隔膜相连,共同构成肾小球滤过屏障的最后一道防线<sup>[8]</sup>。足细胞损伤与蛋白尿的发生关系密切,已有研究证明足细胞及足细胞表面分子参与了多种肾脏疾病的发生发展:微小病变时足细胞 Toll 样受体(Toll-like receptors, TLRs)及血管生成素样 4 (angiopoietin-like 4, ANGPTL4)的改变<sup>[9-10]</sup>;阿霉素肾病时出现足突的融合、Nephrin 的表达下降、血管内皮生长因子(VEGF)及 TGF- $\beta$ 1 的表达升高,这些改变可能是蛋白尿形成和肾小球发生局灶节段性硬化的重要因素<sup>[11]</sup>;膜性肾病时 II、III、IV 期患者的 Nephrin 磷酸化较正常

人有所降低<sup>[12]</sup>;Tian 等<sup>[13]</sup>的研究表明 IgA 肾病时足细胞表面的上皮细胞蛋白 1 (glomerular epithelial protein 1, GLEPP1) 的表达下降可能是足细胞损伤的标志之一。现公认足突的融合和消失是蛋白尿形成的启动机制之一,而尿蛋白的排泄又可加重足细胞损伤。本研究结果显示, PAN 注射 3 d 后出现尿蛋白的排泄量增加,足细胞足突广泛融合、消失,说明足细胞的损伤和蛋白尿的形成参与了微小病变型肾病综合征的发病过程。

沉默信息调节因子 2 (silent information regulator 2, Sir2) 是在研究酵母菌转录沉默时发现的一个广泛存在于各种物种的基因,近来研究发现 Sir2 具有组蛋白去乙酰化酶活性,其活性依赖 NAD<sup>+</sup>。目前在哺乳动物中已发现 7 个 Sir2 同源基因,也称为 Sirtuins,分别命名为 SIRT1-7,其中 SIRT1、SIRT6、SIRT7 主要表达于细胞核, SIRT2 表达于胞浆,而 SIRT3、SIRT4、SIRT5 定位于线粒体<sup>[14]</sup>。研究发现 SIRT1 在 DNA 损伤修复、细胞周期控制、抑制细胞凋亡、有机体的能量代谢、线粒体功能保护、炎症反应、抵抗氧化应激和延长细胞寿命方面起着重要作用<sup>[2,15-17]</sup>,并且能够缓解缺血再灌注引起的急性肾损伤<sup>[18]</sup>。SRT1720 是 SIRT1 的激活剂,已有研究表明它能够缓解多种代谢性及慢性疾病。Milne 等<sup>[2]</sup>的研究表明 SRT1720 能够通过提高体内葡萄糖稳定性及增加胰岛素敏感性而治疗 2 型糖尿病。Robin 等<sup>[3]</sup>证明了 SRT1720 能够通过 SIRT1 及 PGC-1 $\alpha$  途径改善线粒体呼吸链功能,从而提高肥胖老鼠的生存率及延长寿命。Ichikawa 等<sup>[5]</sup>证实了 SRT1720 通过抑制炎症细胞浸润及炎症因子的表达而起到缓解哮喘的作用。Chauhan 等<sup>[4]</sup>用 SRT1720 刺激多发性骨髓瘤细胞,发现它能够抑制骨髓瘤细胞的增殖及促进其凋亡。SRT1720 还能减轻脂肪肝的程度<sup>[6]</sup>,诱导肾小管细胞线粒体的生物合成及缓解氧化应激造成的肾小管损伤等<sup>[7]</sup>。本课题组前期研究发现线粒体功能障碍在肾小球足细胞早期损伤中发挥重要作用,应用 SIRT1 激动剂白藜芦醇或过表达 SIRT1 可减轻体内外足细胞的损伤。本研究进一步观察了 SIRT1 的另一个激动剂 SRT1720 对 PAN 大鼠蛋白尿及足细胞的保护作用。结果发现, SRT1720 可明显降低 PAN 大鼠的蛋白尿,升高血清总蛋白和白蛋白水平,而显著降低了血清总胆固醇水平。肾脏超微结构也发现, SRT1720 显著减轻足细胞足突的融合,提示 SRT1720 对 PAN 具有治疗作用。

近年来,已先后确定了多个位于足细胞及裂孔

隔膜的蛋白分子如 Nephrin、Podocin、ZO-1、P-cadherin 等,这些分子有序组合,构成拉链样结构,并证实了这些分子对维系裂孔隔膜正常结构和滤过屏障的功能起关键作用<sup>[19-21]</sup>。Nephrin 作为第一个被发现的足细胞裂孔隔膜蛋白,是免疫球蛋白超家族的一种细胞黏附分子,是裂孔膜上拉链状结构的一部分。Nephrin 通过介导上皮细胞与基质的相互作用影响 GBM 的通透性和基质的沉积而参与足细胞的重要功能。Podocin 是由 NPHS2 基因编码的位于裂孔隔膜上的一种跨膜蛋白,呈发夹样结构插入足细胞膜,通过激活瞬时受体电位阳离子通道蛋白而参与细胞信号转导,可增强 Nephrin 的信号转导。Nephrin 及 Podocin 的表达下降或发生突变均可引起足细胞损伤和蛋白尿。研究证明,在许多肾脏疾病时都会检测到 Nephrin 和(或)Podocin 的表达下降,如微小病变型肾病大鼠模型中 Nephrin 的表达下降<sup>[22]</sup>,狼疮性肾炎时 Nephrin 及 Podocin 表达都下降<sup>[23]</sup>,阿霉素肾病时 Nephrin 的表达下降及尿蛋白的排泄增加<sup>[24]</sup>,糖尿病肾病时出现 Nephrin 及 Podocin 表达下降<sup>[25]</sup>。本研究发现 PAN 大鼠肾组织中 Nephrin 和 Podocin 表达显著下降,SRT1720 治疗后 Nephrin 及 Podocin 的表达显著上调,提示 SRT1720 可通过上调 Nephrin 和 Podocin 表达,减轻足细胞损伤,降低蛋白尿,从而发挥肾脏保护作用。

#### [参考文献]

- [1] El BL, Rodrigues PR, Kuik DJ, et al. Nephrotic syndrome in The Netherlands: a population-based cohort study and a review of the literature [J]. *Pediatr Nephrol*, 2011, 26 (8): 1241-1246
- [2] Milne JC, Lambert PD, Schenk S, et al. Small molecule activators of SIRT1 as therapeutics for the treatment of type 2 diabetes [J]. *Nature*, 2007, 450(7170): 712-716
- [3] Minor RK, Baur JA, Gomes AP, et al. Erratum: CORRIGENDUM; SRT1720 improves survival and healthspan of obese mice [J]. *Sci Rep*, 2011, 1: 70-79
- [4] Chauhan D, Bandi M, Singh AV, et al. Preclinical evaluation of a novel SIRT1 modulator SRT1720 in multiple myeloma cells [J]. *Br J Haematol*, 2011, 155 (5): 588-598
- [5] Ichikawa T, Hayashi R, Suzuki K, et al. Sirtuin 1 activator SRT1720 suppresses inflammation in an ovalbumin-induced mouse model of asthma [J]. *Respirology*, 2013, 18(2): 332-339
- [6] Yamazaki Y, Usui I, Kanatani Y, et al. Treatment with SRT1720, a SIRT1 activator, ameliorates fatty liver with reduced expression of lipogenic enzymes in MSG mice [J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2009, 297 (5): E1179-E1186
- [7] Funk JA, Odejinmi S, Schnellmann RG. SRT1720 induces mitochondrial biogenesis and rescues mitochondrial function after oxidant injury in renal proximal tubule cells [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2010, 333(2): 593-601
- [8] Asanuma K, Mundel P. The role of podocytes in glomerular pathobiology [J]. *Clin Exp Nephrol*, 2003, 7(4): 255-259
- [9] Srivastava T, Sharma M, Yew KH, et al. LPS and PAN-induced podocyte injury in an in vitro model of minimal change disease; changes in TLR profile [J]. *J Cell Commun Signal*, 2012, 7(1): 49-60
- [10] Clement LC, Avila-Casado C, Mace C, et al. Podocyte-secreted angiotensin-like-4 mediates proteinuria in glucocorticoid-sensitive nephrotic syndrome [J]. *Nat Med*, 2011, 17(1): 117-122
- [11] Yang W, Wang J, Shi L, et al. Podocyte injury and overexpression of vascular endothelial growth factor and transforming growth factor-beta 1 in adriamycin-induced nephropathy in rats [J]. *Cytokine*, 2012, 59(2): 370-376
- [12] Ohashi T, Uchida K, Asamiya Y, et al. Phosphorylation status of nephrin in human membranous nephropathy [J]. *Clin Exp Nephrol*, 2010, 14(1): 51-55
- [13] Tian J, Wang HP, Mao YY, et al. Reduced glomerular epithelial protein 1 expression and podocyte injury in immunoglobulin A nephropathy [J]. *J Int Med Res*, 2007, 35 (3): 338-345
- [14] Balcerczyk A, Pirola L. Therapeutic potential of activators and inhibitors of sirtuins [J]. *Biofactors*, 2010, 36 (5): 383-393
- [15] Dioum EM, Chen R, Alexander MS, et al. Regulation of hypoxia-inducible factor 2alpha signaling by the stress-responsive deacetylase sirtuin 1 [J]. *Science*, 2009, 324 (5932): 1289-1293
- [16] Guarani V, Potente M. SIRT1-a metabolic sensor that controls blood vessel growth [J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2010, 10(2): 139-145
- [17] Lappas M, Mitton A, Lim R, et al. SIRT1 is a novel regulator of key pathways of human labor [J]. *Biol Reprod*, 2011, 84(1): 167-178
- [18] Fan H, Yang HC, You L, et al. The histone deacetylase, SIRT1, contributes to the resistance of young mice to ischemia/reperfusion-induced acute kidney injury [J]. *Kidney Int*, 2013, 83(3): 404-413
- [19] Roselli S, Gribouval O, Boute N, et al. Podocin localizes in the kidney to the slit diaphragm area [J]. *Am J Pathol*,

- 2002,160(1):131-139
- [20] Kestila M, Lenkkeri U, Mannikko M, et al. Positionally cloned gene for a novel glomerular protein--nephrin--is mutated in congenital nephrotic syndrome [J]. *Mol Cell*, 1998,1(4):575-582
- [21] Benzing T. Signaling at the slit diaphragm [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2004, 15(6):1382-1391
- [22] 徐 茵, 张爱华, 黄松明, 等. Nephin 在微小病变型肾病大鼠模型中的表达[J]. *南京医科大学学报:自然科学版*, 2005, 25(4):217-220
- [23] Moysiadis DK, Perysinaki GS, Bertias G, et al. Early treatment with glucocorticoids or cyclophosphamide re-
- tains the slit diaphragm proteins nephrin and podocin in experimental lupus nephritis [J]. *Lupus*, 2012, 21(11): 1196-1207
- [24] Qi Y, Xiao H, Xu C, et al. Cyprinus carpio decoction Improves nutrition and immunity and reduces proteinuria through nephrin and CD2AP expressions in rats with adriamycin-induced nephropathy[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2012, 2012:237482
- [25] Jim B, Ghanta M, Qipo A, et al. Dysregulated nephrin in diabetic nephropathy of type 2 diabetes: a cross sectional study[J]. *PLoS One*, 2012, 7(5):e36041
- [收稿日期] 2013-01-30

## 本刊来稿题名和作者署名的注意事项

### 1. 题名

- (1) 题名应以简明、确切的词语反映文章中最重要特点内容, 要符合编制题录、索引和检索的有关原则, 并有助于选定关键词。
- (2) 中文题名一般不超过 20 个字, 必要时可加副题名。
- (3) 英文题名应与中文题名含义一致。
- (4) 题名应避免使用非公用的缩写词、字符、代号, 尽量不出现数学式或化学式。

### 2. 作者署名和工作单位

- (1) 文章都应有作者署名, 这是文责自负和拥有著作权的标志;
- (2) 作者姓名署于题名下方;
- (3) 英文摘要中附与中文同样的作者姓名与排列顺序, 写法为: 姓前名后, 姓全部大写, 名的首字母大写, 其余字母小写, 名间加连字符, 如 ZHOU Ping, SHI Hong-lei;
- (4) 作者单位需注明全称(标注到二级或三级单位, 如“南京医科大学第一附属医院心内科”, “南京医科大学公共卫生学院流行病学与统计学系”)、所在城市及邮政编码;
- (5) 对于有基金课题资助的论文需在课题负责人的名字后加上标“\*”, 并在论文首页下补充基金的名称、编号, 以及课题负责人的 E-mail。
- (6) 本刊对于没有课题资助的文章一律不标注通讯作者。

(本刊编辑: 接雅俐)