

RNA 干扰沉默 p300 基因对亚溶解型 C5b-9 诱导大鼠肾小球系膜细胞凋亡和 ATF3 乙酰化的影响

张 婧,何风霞,邱 文,赵 聃,卢燕来,王迎伟*

(南京医科大学免疫学系,江苏 南京 211166)

[摘要] 目的:构建大鼠 p300 基因短发夹状小干扰 RNA(short hairpin RNA, shRNA)真核表达质粒,观察沉默 p300 基因对亚溶解型(sublytic)C5b-9 诱导大鼠肾小球系膜细胞(glomerular mesangial cell, GMC)凋亡和激活转录因子 3(activating transcription factor 3, ATF3)乙酰化水平的影响。方法:用 DNA 重组技术针对 p300 基因不同位点设计 3 个 shRNA 序列,然后分别克隆到真核表达载体 pGCsi-U6/Neo/GFP/shRNA 中,经电转染入 GMC,再给予 sublytic C5b-9 刺激。Western blot 筛选干涉效果最佳的 p300 shRNA,流式细胞术检测 GMC 凋亡率,免疫沉淀(immunoprecipitation, IP)和 Western blot 联合检查 ATF3 乙酰化水平。结果:核酸测序表明 p300 shRNA 重组质粒构建成功。Western blot 显示 p300 shRNA-2 具有最佳沉默效率。p300 shRNA 处理 GMC 后,由 sublytic C5b-9 诱导的 GMC 凋亡率显著下降,同时 ATF3 乙酰化水平也明显降低。结论:成功构建了大鼠 p300 shRNA 真核表达质粒,并初步证实了 p300 能够促进 sublytic C5b-9 诱导的 GMC 凋亡,其机制可能与 p300 乙酰化修饰 ATF3 有关。

[关键词] RNA 干扰;p300;亚溶解型 C5b-9;凋亡;乙酰化

[中图分类号] R692.3+1

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2017)03-0275-06

doi:10.7655/NYDXBNS20170304

Effect of silencing p300 gene by RNA interference on apoptosis and ATF3 acetylation in rat glomerular mesangial cells stimulated by sublytic C5b-9

Zhang Jing, He Fengxia, Qiu Wen, Zhao Dan, Lu Yanlai, Wang Yingwei*

(Department of Immunology, NJMU, Nanjing 211166, China)

[Abstract] **Objective:** To construct rat p300 short hairpin RNA (shRNA) eukaryotic expression vector, and investigate the effect of silencing p300 gene on the apoptosis and activating transcription factor 3(ATF3) acetylation in rat glomerular mesangial cells (GMCs) stimulated by sublytic C5b-9. **Methods:** Three kinds of shRNAs targeting p300 gene were synthesized and cloned into eukaryotic expression vector pGCsi-U6/Neo/GFP/shRNA. The recombinant plasmids were transfected into cultured GMCs by Neon™ transfection system. P300 protein in the transfected cells was detected by Western blot to find out the optimal shRNA against p300 gene. The cell apoptosis was measured by flow cytometry and the acetylation of ATF3 was evaluated by Western blot combined with immunoprecipitation (IP) assays. **Results:** It was verified by nucleotide sequencing that the constructed p300 shRNAs were correct. Western blot assay showed that the p300 shRNA-2 was able to silence the target gene most effectively. Knockdown of p300 by shRNA in the GMCs reduced the number of GMC apoptosis as well as the level of ATF3 acetylation induced by sublytic C5b-9. **Conclusion:** The rat eukaryotic expression vector p300 shRNA was successfully constructed. It was preliminarily confirmed that p300 could promote GMC apoptosis triggered by sublytic C5b-9 through p300-regulated ATF3 acetylation.

[Key words] RNA interference; p300; sublytic C5b-9; apoptosis; acetylation

[Acta Univ Med Nanjing, 2017, 37(03):275-280]

我国系膜增生性肾小球肾炎 (mesangial proliferative glomerulonephritis, MsPGN) 的发病率约占临床肾活检病例的 50%^[1]。大鼠 Thy-1 肾炎 (Thy-1 nephritis, Thy-1N) 的病理变化类似于人类 MsPGN, 多年来一直被用作 MsPGN 的动物模型^[2]。Thy-1N 病变特点是具有补体依赖性, 尤其是补体亚溶解型 (sublytic) C5b-9 依赖性。我们以往研究表明, Thy-1N

erative glomerulonephritis, MsPGN) 的发病率约占临床肾活检病例的 50%^[1]。大鼠 Thy-1 肾炎 (Thy-1 nephritis, Thy-1N) 的病理变化类似于人类 MsPGN, 多年来一直被用作 MsPGN 的动物模型^[2]。Thy-1N 病变特点是具有补体依赖性, 尤其是补体亚溶解型 (sublytic) C5b-9 依赖性。我们以往研究表明, Thy-1N

[基金项目] 江苏省高校自然科学研究面上项目 (14KJB310006); 南京医科大学基础医学院优势学科教师培养基金 (JX10131802/007)

*通信作者 (Corresponding author), E-mail: wangyw1508@njmu.edu.cn

发病早期,部分肾小球系膜细胞(glomerular mesangial cell,GMC)呈现凋亡病变^[3]。另外,体外用 sublytic C5b-9 刺激 GMC 细胞株亦能诱导其发生凋亡^[4],但上述凋亡过程中所涉及的关键因子及作用机制目前尚未完全澄清。

p300 是一种能与腺病毒癌蛋白 E1A 相互作用的蛋白质,因其分子量为 300 kDa,故命名为 p300。有研究发现,p300 参与了细胞凋亡过程。缺少 p300 的细胞表现出对电离辐射的敏感性降低^[5]。p300 的相互作用蛋白 JMY 能增加依赖于 p53 的细胞凋亡,若 E1A 与 p300 结合阻止其功能,则抑制依赖于 p53 的细胞凋亡过程^[6]。目前认为,p300 是一种转录辅激活因子,它不仅能在转录因子和基本转录复合物之间起到桥梁作用,也可为多种转录因子相互作用提供支架^[7]。更重要的是,p300 还具有乙酰转移酶活性,能通过乙酰化组蛋白或转录因子的方式参与靶基因的转录调控。已发现 p300 乙酰化修饰的转录因子有很多,如 C/EBP β 、NF- κ B p65、c-Jun、ATF2 和 IRF-3 等。有文献报道,转录因子发生乙酰化修饰可以促进细胞凋亡。比如乙酰化的 p53 可以促进心肌细胞、神经细胞或乳腺癌细胞等凋亡^[8]。

激活转录因子 3 (activating transcription factor 3,ATF3)属于含亮氨酸拉链结构的转录因子,参与机体多种细胞进程,包括应激反应、炎症反应、肿瘤发生等^[9]。此外,有文献报道 ATF3 也可以促进细胞凋亡。在 HeLa 细胞中,过表达 ATF3 能促进抗肿瘤药(姜黄素)诱导的细胞凋亡^[10]。ATF3 转基因小鼠可发生胰岛 β 细胞凋亡病变,导致胰岛发育缺陷;而 ATF3 基因敲除小鼠来源的胰岛细胞则能部分抵抗细胞因子和一氧化氮诱导的凋亡^[11]。本课题组以往研究已发现,ATF3 可以通过启动下游靶基因(如 Gadd45 α 和 KLF6 基因)的转录,从而促进 sublytic C5b-9 诱导的 GMC 凋亡^[12]。

鉴于我们的前期实验结果显示,Thy-1N 大鼠早期肾组织中和 sublytic C5b-9 刺激培养的 GMC 内均可见 p300 表达增多,同时 ATF3 乙酰化水平明显升高。因此推测,p300 或许可以通过乙酰化修饰 ATF3 增强其靶基因的转录,从而促进由 sublytic C5b-9 诱导的 GMC 凋亡。为了验证这一推测,本研究拟在体外以 p300 为切入点,应用短发夹状小干扰 RNA (short hairpin RNA,shRNA)沉默 p300 基因,再观察 GMC 凋亡和 ATF3 乙酰化水平的变化,希望能揭示 p300 在 Thy-1N 病变早期 GMC 凋亡中的作用,进而为今后临床防治人类 MsPGN 提供有用的理论和实

验依据。

1 材料和方法

1.1 材料

大鼠 GMC 细胞株 (HBZY-1)(武汉大学中国典型培养物保藏中心),pGCsi-U6/Neo/GFP/shRNA 载体(上海吉凯基因化学技术有限公司);限制性内切酶 *Bam*H I 和 *Hind* III (NEB 公司,美国),MEM 培养基和胎牛血清(Gibco 公司,美国),NeonTM 细胞电转染系统和配套试剂盒 (Invitrogen 公司,美国);兔 p300 多克隆抗体和兔 ATF3 多克隆抗体(Santa Cruz 公司,美国),小鼠赖氨酸乙酰化单克隆抗体(Cell Signaling Technology 公司,美国);ECL 化学发光试剂盒(Pierce 公司,美国),AV-APC/7-AAD 双染流式细胞分析试剂盒(BD 公司,美国);细胞裂解液和 Protein G Agarose(杭州碧云天生物技术研究所以)。

1.2 方法

1.2.1 p300 shRNA 的设计

根据 Tuschl 的设计原则,分别选取 p300 cDNA 序列上 3 个部位作为目标序列,经 BLAST 检测,证实与其他基因编码序列无同源性(表 1)。合成的 DNA 片段两端设计有 *Bam*H I 和 *Hind* III 酶切位点,便于与 pGCsi-U6/Neo/GFP/shRNA 载体克隆连接。通用阴性对照为 pGCsi-U6/Neo/GFP/NON,即 control shRNA (shCTR)。以上序列委托上海吉凯基因化学技术有限公司合成。

表 1 p300 shRNA 的干扰序列

Table 1 p300 shRNA interference sequences

shRNA	序列(5'→3')	位点
p300 shRNA-1	CCAAATAACCTTTCTCCAT	844~862
p300 shRNA-2	GCTCTATAGAGCGAGCTTA	1 388~1 406
p300 shRNA-3	CCACCTGTTCATAAACTT	1 746~1 764

1.2.2 p300 shRNA 表达质粒的构建与鉴定

将质粒 pGCsi-U6/Neo/GFP/shRNA 用 *Bam*H I 和 *Hind* III 双酶切,1%琼脂糖凝胶电泳回收大片段。将线性化的 pGCsi-U6/Neo/GFP 和合成的各 shRNA 在 T4 DNA 连接酶的作用下,22℃水浴过夜;取连接产物转化感受态细胞 DH5 α ,涂布于含氨苄青霉素抗性的 LB 平板上,37℃温箱培养过夜;挑取单克隆菌落,接种于含氨苄青霉素抗性的 LB 培养液,摇菌送上海吉凯基因化学技术有限公司测序,以证实目的 DNA 片段克隆入 pGCsi-U6/Neo/GFP 中。构建的重组质粒分别命名为 p300 shRNA-1、p300 shRNA-2

和 p300 shRNA-3。

1.2.3 p300 shRNA 电转染 GMC

复苏大鼠 GMC, 用含 10%FBS 的 MEM 完全培养液培养。待细胞生长至 70%~90% 密度时, 用 Neon™ 细胞电转染系统进行质粒转染(具体步骤见 Neon™ 电转系统说明书)。将转染后的细胞置于 37℃、5%CO₂ 孵箱中孵育 48 h, 荧光显微镜观察绿色荧光蛋白(green fluorescent protein,GFP)的表达情况。

1.2.4 p300 shRNA 干扰效果的免疫印迹鉴定

每 25 cm² 培养瓶 GMC 中加入 0.5 mL 蛋白裂解液,4℃、12 000 r/min 离心 5 min, 收集上清沸水浴 5 min 使蛋白变性; 每组蛋白取 200 μg 上样于 8% 的 SDS-PAGE 胶, 电泳后湿转至 PVDF 膜上;5% 脱脂奶粉室温封闭 1 h; 加入一抗,4℃ 孵育过夜, TBST 洗涤 3 次; 加入 HRP 标记的二抗, 室温孵育 1 h, TBST 洗涤 3 次; 加入 ECL 发光液, 自动成像系统曝光。成像结果用 Quantity One 软件扫描灰度值, 对比内参 β-actin 做半定量分析。

1.2.5 GMC 凋亡情况的流式检测

用无 EDTA 胰酶消化收集细胞, 并用冷 PBS 洗涤。弃上清, 200 μL 结合缓冲液重悬, 加入 AV-APC/7-AAD 荧光染料, 室温避光孵育 15 min, 流式细胞仪检测 GMC 凋亡数量。

1.2.6 ATF3 乙酰化水平的免疫沉淀(IP)检测

每 1 mg 细胞裂解蛋白中加入 1 μg 兔 IgG 和 20 μL Protein G Agarose,4℃ 缓慢摇动 2 h; 接着 4℃、1 000 r/min 离心 5 min; 取上清加入 2 μg p300 抗体,4℃ 缓慢摇动过夜; 加入 40 μL Protein G Agarose,4℃ 缓慢摇动 3 h;4℃、1 000 r/min 离心 5 min 后小心吸除上清, 用 1 mL PBS 缓冲液重复洗涤沉淀 5 次; 加入 40 μL 1×SDS-PAGE 电泳上样缓冲液

重悬沉淀, 沸水浴处理 5 min, 所获得的上清可用于后续 Western blot 检测。

1.3 统计学方法

所得数据以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示, 采用 SPSS 16.0 软件进行方差分析和 Bonfferoni 检验, $P\leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 p300 shRNA 质粒的构建与鉴定

将上海吉凯基因化学技术有限公司合成的 3 个针对 p300 基因不同靶点的 shRNA 质粒进行 DNA 测序, 测序结果经 BLAST 比对证实, 目的 DNA 片段已正确克隆入 pGCsi-U6/Neo/GFP/shRNA 载体。表明重组 p300 shRNA-1、p300 shRNA-2 和 p300 shRNA-3 质粒均构建成功。

2.2 p300 shRNA 最佳沉默效率靶点的筛选

将 p300 shRNA 质粒电转染入大鼠 GMC 后, 用荧光显微镜观察表达 GFP 的细胞占总 GMC 的百分比, 以此确定转染效率。结果显示, 质粒转染 GMC 48 h 后, 转染效率约为 70%(图 1)。

将已成功构建的 3 个针对不同靶点的 p300 shRNA 质粒及其阴性对照 control shRNA 质粒分别电转染 GMC, 转染后 48 h 再用 sublytic C5b-9(即用终浓度为 5% 的抗大鼠胸腺细胞血清致敏 GMC 后 30 min, 加入终浓度为 4% 的正常人血清共同孵育形成) 刺激细胞 3 h, Western blot 检查 p300 蛋白的表达情况。结果发现, 与 control shRNA+sublytic C5b-9 组相比, p300 shRNA-2 和 p300 shRNA-3 均能明显下调由 sublytic C5b-9 诱导的 p300 蛋白表达, 其中 p300 shRNA-2 处理组的 p300 蛋白表达降低更为显著, 而 p300 shRNA-1+sublytic C5b-9 组的 p300 蛋白的表达量与 sublytic C5b-9 组无明显差异(图 2)。提

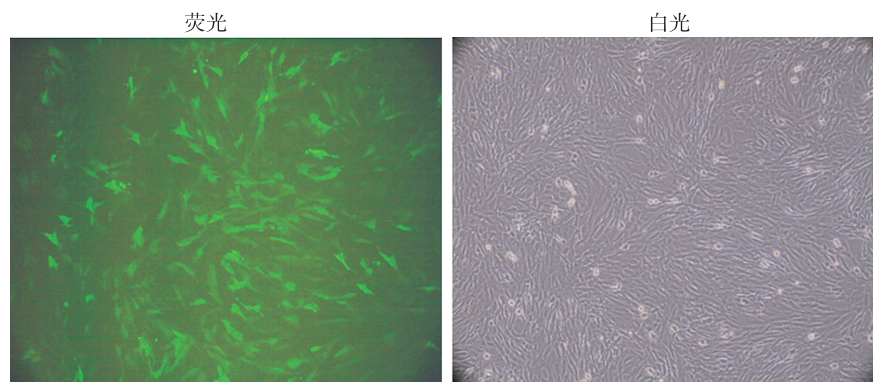
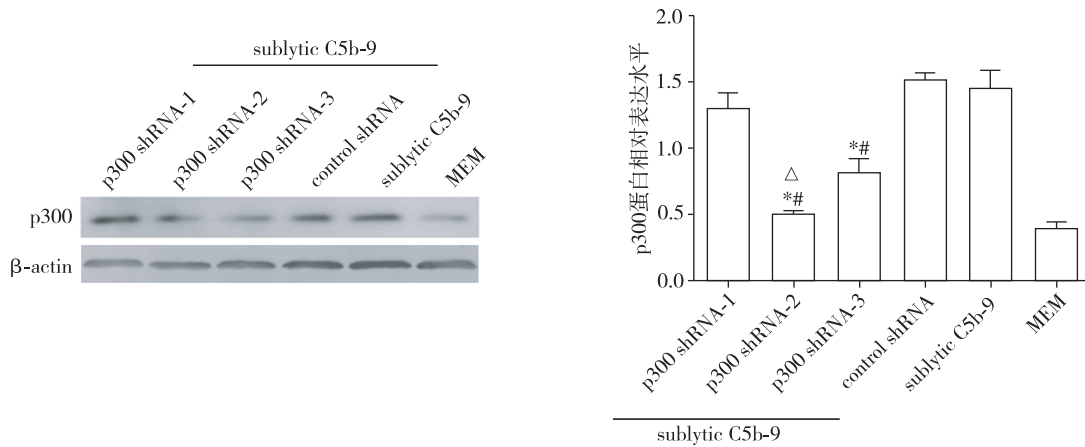


图 1 shRNA 质粒电转染 GMC 48 h 时 GFP 的表达情况(×200)

Figure 1 Efficiency of shRNA transfection was observed by fluorescence of GFP at 48 h after transfection (×200)



与 control shRNA+sublytic C5b-9 组比较, * $P < 0.01$; 与 sublytic C5b-9 组比较, # $P < 0.01$; 与 p300 shRNA-3+sublytic C5b-9 组比较, $\Delta P < 0.05$ 。

图 2 针对不同靶点的 shRNA 转入 GMC 后 p300 蛋白表达水平

Figure 2 Expression level of p300 protein in GMCs transfected with different shRNAs

示 p300 shRNA-2 质粒阻断 p300 蛋白在 GMC 中的内源性表达效果最好(约 70%),故后续实验全部选取 p300 shRNA-2 用以沉默 p300 基因,并统一简化命名为 shp300,同时阴性对照 control shRNA 也简化命名为 shCTR。

2.3 沉默 p300 基因对 sublytic C5b-9 诱导 GMC 凋亡的影响

用已筛选出的具有最佳干扰效率的 shp300 质粒和其阴性对照 shCTR 质粒分别转染 GMC 48 h,再给予 sublytic C5b-9 刺激 3 h,收集细胞进行 AV-APC/7-AAD 染色,利用流式细胞仪检测凋亡细胞数目。结果表明,与 shCTR 相比,沉默 p300 能显著减少 sublytic C5b-9 诱导的 GMC 凋亡(图 3)。提示在 sublytic C5b-9 刺激所致的 GMC 凋亡中,p300 的表达对其有促进作用。

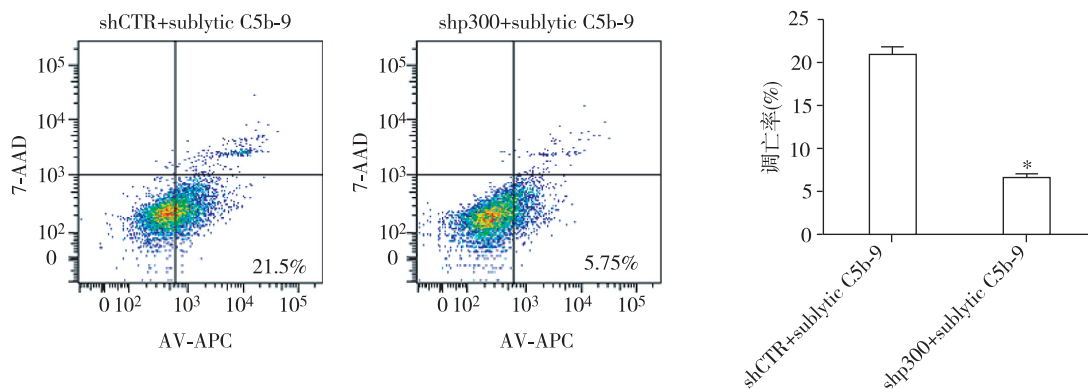
2.4 沉默 p300 基因对 sublytic C5b-9 诱导 GMC 中 ATF3 乙酰化水平的影响

先将 shp300 质粒及其阴性对照 shCTR 质粒分

别电转染入 GMC,继续培养 48 h 后再给予 sublytic C5b-9 刺激 3 h,提取细胞总蛋白,Western blot 检测结果发现,使用 p300 的 shRNA 质粒来沉默 GMC 中 p300 基因对 ATF3 蛋白的表达并无明显影响(图 4)。接着用 ATF3 抗体对各分组蛋白进行 IP 反应,再用 Western blot 分别检查 IP 产物中 ATF3 和乙酰化赖氨酸的含量。结果显示,在转染了 shp300 质粒的 GMC 中,ATF3 的乙酰化水平也显著下调,而 shCTR 则无明显抑制效应(图 4)。提示具有乙酰基转移酶活性的 p300 对 ATF3 蛋白的乙酰化修饰可能发挥了一定的调控作用。

3 讨论

Thy-1N 发病过程包括 GMC 呈现早期凋亡和后期增生等多种改变^[2-3]。有文献报道,GMC 的凋亡不仅可为其后续的增生腾出空间,而且其凋亡细胞及碎片能被入侵肾小球的巨噬细胞吞噬,吞噬过程中释放的 TGF- β 等细胞因子可促进 GMC 增生^[13]。另



与 shCTR+sublytic C5b-9 组比较, * $P < 0.01$ 。

图 3 沉默 p300 基因对 sublytic C5b-9 诱导 GMC 凋亡的影响

Figure 3 Effect of p300 gene knockdown on GMC apoptosis induced by sublytic C5b-9

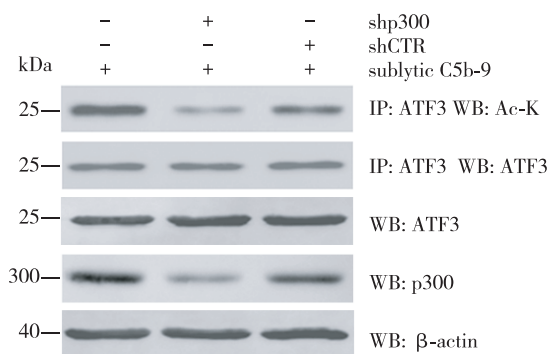


图 4 沉默 p300 基因对 sublytic C5b-9 诱导 GMC 中 ATF3 乙酰化水平的影响

Figure 4 Effect of p300 gene knockdown on ATF3 acetylation induced by sublytic C5b-9 in GMCs

外,GMC 本身虽非典型的吞噬细胞,但体内外实验均证明其具有吞噬功能。肾小球内残存的 GMC 在吞噬凋亡碎片时亦能释放促炎或促增殖因子,最终加剧 GMC 的增生改变^[14]。因此阐明 Thy-1N 发病早期的 GMC 凋亡过程对控制其后续的继发性增生病变十分关键。

Thy-1N 大鼠 GMC 出现一系列损伤的主要启动因素是补体 C5b-9 复合物^[15]。补体 C5b-9 攻击靶细胞的作用分为溶解型(lytic)和亚溶解型(sublytic)两种。不同于 lytic C5b-9 直接使靶细胞穿孔溶解,sublytic C5b-9 能激活有核细胞内多条信号转导途径,导致细胞产生多种应激效应。有文献报道,sublytic C5b-9 可通过上调转录因子 C/EBP β 促进 GMC 分泌促炎因子 IL-6^[16],可活化 PI3K-AKT 信号介导 GMC 增殖^[2],可激活 caspase 级联反应诱导 GMC 凋亡^[4]。目前有关 sublytic C5b-9 介导 GMC 凋亡的具体机制仍未完全阐明,值得进一步研究。

本课题组以往的研究结果已经显示,转录因子 ATF3 可通过激活下游靶基因 Gadd45 α 的转录,从而促进 sublytic C5b-9 诱导的 GMC 凋亡^[12]。但在此过程中,调控 ATF3 转录活性的机制尚不明了。我们前期实验发现,在大鼠 Thy-1N 发病早期的肾组织和体外受 sublytic C5b-9 攻击的大鼠 GMC 中均可见 p300 表达上调,并且其表达时相基本同步于 ATF3 的表达。p300 是一种转录辅激活因子,通过调控基因转录,从而参与细胞凋亡进程。有文献报道,p300 招募 C-Jun 和 PARP-1 形成蛋白复合物,并结合于 RhoB 基因启动子上,促进抗癌药 NSC126188 诱导的胃癌细胞凋亡^[17]。硫磺选择性促进 p53 和 p300 的相互作用,通过增加 p53 转录活性和激活线粒体凋亡途径诱导非小细胞肺癌的细胞凋亡^[18]。另外,

p300 还具有乙酰转移酶活性,可乙酰化多种转录因子,在不同水平上改变其活性,如 DNA 结合能力、转录活性、与其他蛋白的相互作用以及核运输和蛋白质代谢等^[19]。Vanden Berghe 等^[20]报道,在 TNF α 介导的小鼠纤维肉瘤细胞中,当 NF- κ B p65 亚单位被募集的 p300 乙酰化修饰后能够提高 IL-6 启动子活性。我们前期实验也发现,sublytic C5b-9 可以刺激 GMC 中 ATF3 乙酰化水平升高。因此本研究推测,由 sublytic C5b-9 诱导升高的 p300 能促进 GMC 凋亡,而在此过程中,p300 可通过乙酰化修饰转录因子 ATF3 促进其转录活性的方式,进而诱导 GMC 的凋亡病变。

为验证上述推测,我们首先针对大鼠 p300 基因的 3 个不同位点设计合成了 3 段 shRNA,选择 pGCsi-U6/Neo/GFP/shRNA 载体介导 p300 shRNA 的表达。测序鉴定结果表明重组质粒构建正确。荧光显微镜观察显示,shRNA 电转染 GMC 后 48 h,GFP 阳性细胞数占总细胞数的 70%左右,达到了基因沉默实验的要求。Western blot 筛选结果表明 p300 shRNA-2 质粒具有最佳沉默效率,可用于后续的干扰实验。之后我们用 shp300 预先沉默 GMC 中 p300 基因的表达,然后再给予 sublytic C5b-9 刺激,流式细胞术分析结果显示,沉默 p300 能显著减少 sublytic C5b-9 诱导 GMC 凋亡的比例。提示 p300 促进了 sublytic C5b-9 诱导的 GMC 凋亡。

为了进一步明确 p300 诱导 GMC 凋亡的方式,仍用 shp300 预先沉默 GMC 中 p300 基因的表达,然后再给予 sublytic C5b-9 刺激,观察 p300 表达对 ATF3 乙酰化水平的影响。IP 和 Western blot 结果显示,沉默 p300 后,由 sublytic C5b-9 诱导的 GMC 中 ATF3 乙酰化水平显著下降。提示 p300 可通过乙酰化 ATF3 促进其转录激活,进而诱导 GMC 的凋亡病变。值得一提的是,除了乙酰化修饰转录因子,p300 还可以通过其他方式发挥调控作用,比如 p300 能乙酰化组蛋白使得染色质结构松弛,有利于转录因子的结合,能在转录因子和基本转录复合物之间搭建桥梁,能为整合多种转录因子提供支架等^[7,21]。那么 p300 是否能通过其他机制参与 sublytic C5b-9 诱导的 GMC 凋亡? 这也有待于今后深入研究。

综上所述,本研究成功构建了大鼠 p300 shRNA 表达质粒,证实了 sublytic C5b-9 诱生的 p300 可促进 GMC 凋亡,并初步探讨了其调控机制,即 p300 可通过乙酰化修饰 ATF3 从而诱导 GMC 凋亡。上述实验结果为揭示 Thy-1N 中 GMC 凋亡的关键因子

与调控机制提供了新启示。

[参考文献]

- [1] 周梦雅,何风霞,张婧,等. 转录因子 ATF3 对大鼠 Gadd45 β / γ 基因启动活性的影响及其可能的结合部位[J]. 南京医科大学学报(自然科学版),2016,36(1):26-32
- [2] Qiu W,Zhang Y,Liu X,et al. Sublytic C5b-9 complexes induce proliferative changes of glomerular mesangial cells in rat Thy-1 nephritis through TRAF6-mediated PI3K-dependent Akt1 activation[J]. J Pathol,2012,226(4):19-632
- [3] Qiu W,Zhou J,Zhu G,et al. Sublytic C5b-9 triggers glomerular mesangial cell apoptosis via XAF1 gene activation mediated by p300-dependent IRF-1 acetylation[J]. Cell Death Dis,2014,5:e1176
- [4] Liu L,Qiu W,Wang H,et al. Sublytic C5b-9 complexes induce apoptosis of glomerular mesangial cells in rats with Thy-1 nephritis through role of interferon regulatory factor-1-dependent caspase 8 activation[J]. J Biol Chem,2012,287(20):16410-16423
- [5] Bordonaro M,Lazarova DL. CREB-binding protein,p300, butyrate, and Wnt signaling in colorectal cancer[J]. World J Gastroenterol,2015,21(27):8238-8248
- [6] Adighibe O,Turley H,Leek R,et al. JMY protein,a regulator of P53 and cytoplasmic actin filaments,is expressed in normal and neoplastic tissues[J]. Virchows Archiv,2014,465(6):715-722
- [7] Chen JH,Li Q. Life and death of transcriptional co-activator p300[J]. Epigenetics,2011,6(8):957-961
- [8] Ai ZB,Li CY,Li LT,et al. Resveratrol inhibits beta-amyloid-induced neuronal apoptosis via regulation of p53 acetylation in PC12 cells[J]. Mol Med Rep,2015,11(4):2429-2434
- [9] Zhou H,Guo H,Zong J,et al. ATF3 regulates multiple targets and may play a dual role in cardiac hypertrophy and injury[J]. Int J Cardiol,2014,174(3):838-839
- [10] Yan CH,Jamaluddin MS,Aggarwal B,et al. Gene expression profiling identifies activating transcription factor 3 as a novel contributor to the proapoptotic effect of curcumin[J]. Mol Cancer Ther,2005,4(2):233-241
- [11] Cunha DA,Hekerman P,Ladriere LA,et al. Initiation and execution of lipotoxic ER stress in pancreatic beta-cells[J]. J Cell Sci,2008,121(14):2308-2318
- [12] Xu K,Zhou Y,Qiu W,et al. Activating transcription factor 3 (ATF3) promotes sublytic C5b-9-induced glomerular mesangial cells apoptosis through up-regulation of Gadd45 α and KLF6 gene expression[J]. Immunobiology,2011,216(8):871-881
- [13] Xu YY,Wang J,Pan TY,et al. Role of the ER stress in prostaglandin E2/E-prostanoid 2 receptor involved TGF-beta 1-induced mice mesangial cell injury[J]. Mol Cell Biochem,2016,411(1/2):43-55
- [14] He DQ,Li JQ,Zhao JY,et al. C/EBP homologous protein induces mesangial cell apoptosis under hyperglycemia[J]. Mol Med Rep,2013,7(2):445-448
- [15] Cantaluppi V,Medica D,Mannari C,et al. Endothelial progenitor cell-derived extracellular vesicles protect from complement-mediated mesangial injury in experimental anti-Thy1.1 glomerulonephritis[J]. Nephrol Dial Transplant,2015,30(3):410-422
- [16] Zhang J,Li Y,Shan K,et al. Sublytic C5b-9 induces IL-6 and TGF- β 1 production by glomerular mesangial cells in rat Thy-1 nephritis through p300-mediated C/EBP β acetylation[J]. FASEB J,2014,28(3):1511-1525
- [17] Kim BK,Im JY,Han G,et al. p300 cooperates with c-Jun and PARP-1 at the p300 binding site to activate RhoB transcription in NSC126188-mediated apoptosis[J]. Biochim Biophys Acta,2014,1839(5):364-373
- [18] Saha S,Bhattacharjee P,Guha D,et al. Sulphur alters NF kappa B-p300 cross-talk in favour of p53-p300 to induce apoptosis in non-small cell lung carcinoma[J]. Int J Oncol,2015,47(2):573-582
- [19] Kotla S,Rao GN. Reactive oxygen species(ROS) mediate p300-dependent STAT1 protein interaction with peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR)- γ in CD36 protein expression and foam cell formation[J]. J Biol Chem,2015,290(51):30306-30320
- [20] Vanden Berghe W,De BK,Boone E,et al. The nuclear factor-kappaB engages CBP/p300 and histone acetyltransferase activity for transcriptional activation of the interleukin-6 gene promoter[J]. J Biol Chem,1999,274(45):32091-32098
- [21] Zhao J,Li X,Guo M,et al. The comm stress responsive transcription factor ATF3 binds genomic sites enriched with p300 and H3K27ac for transcriptional regulation[J]. BMC Genomics,2016,17(1):335

[收稿日期] 2016-07-08