



TAK1 抑制剂对糖尿病大鼠 MAPK 与 NF- κ B 信号通路的影响及其对肾脏保护机制

欧阳春, 张里克*, 卢远航, 李先林

(湖北省中山医院, 武汉 430030)

【摘要】 目的 探讨 TAK1 抑制剂对糖尿病大鼠 MAPK 及 NF- κ B 信号通路的影响及其对肾脏的保护机制。**方法** 将 48 只大鼠按照随机数字表法分为 DN 组、TAK1 组和对照组, 每组 16 只。对照组大鼠正常喂养, 不做任何处理; DN 组、TAK1 组通过向大鼠腹腔注射 1% 50 mg/kg STZ 建立 DN 大鼠模型。每组分别于 4 周、8 周时处死 8 只大鼠, 观察各组大鼠肾脏组织病理变化, 检测血清 TNF- α 、MCP-1、IL-1 β 表达, 肾脏组织 p38MAPK、NF- κ Bp63 蛋白表达及 p38MAPK、NF- κ Bp63 mRNA 表达。**结果** 4 周、8 周时, DN 组、TAK1 组大鼠体质量、血糖、UAER 均显著高于对照组 ($P < 0.05$), DN 组大鼠体质量、UAER 显著高于 TAK1 组 ($P < 0.05$)。DN 组、TAK1 组血清 TNF- α 、MCP-1、IL-1 β 水平显著高于对照组 ($P < 0.05$), DN 组大鼠上述指标高于 TAK1 组 ($P < 0.05$); DN 组、TAK1 组 p38MAPK、NF- κ Bp63 蛋白及 mRNA 表达水平显著高于对照组 ($P < 0.05$), 其中 DN 组上述指标高于 TAK1 组 ($P < 0.05$)。**结论** TAK1 通过激活 MAPK 及 NF- κ B 信号通路来诱导炎症反应, 并参与糖尿病肾脏损伤; TAK1 抑制剂能够下调炎症因子的表达和释放而发挥抗炎作用。

【关键词】 糖尿病肾病; 转化生长因子 β 激活激酶-1; 炎症反应; 信号通路

【中图分类号】 R-332 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2017) 01-0067-06

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2017.01.014

Regulatory effect of TAK1 inhibitors on MAPK and NF- κ B signaling pathway in diabetic rats and its renal protection mechanism

OU Yang-chun, ZHANG Li-ke*, LU Yuan-hang, LI Xian-lin

(Zhongshan Hospital of Hubei Province, Wuhan 430030, China)

【Abstract】 Objective To explore the regulatory effect of TAK1 inhibitors on MAPK and NF- κ B signaling pathway in diabetic rats and its renal protection mechanism. **Methods** A total of 48 rats accorded to the random number table method were divided into DN group, TAK1 group and control group, each group with 16 rats, control group with normal fed, DN group and TAK1 group by the intraperitoneal injection of 1% 50 mg/kg STZ DN model rat. 8 rats were killed in each group at 4 weeks and 8 weeks respectively, the pathological changes of renal tissue were observed, serum TNF- α , MCP-1, IL-1 β levels were detected by enzyme linked immunosorbent assay, p38MAPK, NF- κ Bp63 protein expression were detected by Western blotting, p38MAPK, NF- κ Bp63 mRNA levels in renal tissue were detected by real time fluorescence quantitative PCR. **Results** At 4 weeks and 8 weeks, the body weight, blood glucose and UAER of DN group and TAK1 group were significantly higher than those in control group ($P < 0.05$). The body weight and UAER of DN group were significantly higher than those of TAK1 group ($P < 0.05$). The serum TNF- α , MCP-1, IL-1 β levels in DN group and TAK1 group were significantly higher than those in control group ($P < 0.05$), and DN group serum TNF- α , MCP-1, IL-1 β levels were

[作者简介] 欧阳春 (1970 -), 男, 副主任技师, 研究方向: 临床输血研究。E-mail: 68471104@qq.com

[通讯作者] 张里克 (1969 -), 男, 副主任技师, 研究方向: 临床输血研究。E-mail: 3257550384@qq.com

significantly higher than those in TAK1 group ($P < 0.05$). The expression levels of p38MAPK, NF- κ Bp63 protein and mRNA in DN group, TAK1 group were significantly higher than those in control group ($P < 0.05$), and p38MAPK, NF- κ Bp63 protein and mRNA in DN group was significantly higher than that in TAK1 group ($P < 0.05$). **Conclusions** TAK1 induces inflammation by activating MAPK and NF- κ B signaling pathways, and participates in diabetic renal injury. TAK1 inhibitors with anti-inflammatory effect by down regulate the expression of inflammatory factors.

【Key words】 Diabetic nephropathy; Transforming growth factor β activated kinase-1; Inflammatory reaction; Signal pathway

糖尿病肾病^[1] (diabetic nephropathy, DN) 是糖尿病常见的微血管并发症, DN 的发病机制复杂, 包括肾血流动力学异常、糖代谢紊乱、遗传因素、炎症反应等。国外研究证实^[2], 糖尿病高血糖环境下, 单核细胞趋化因子-1 (monocyte chemotactic protein-1, MCP-1)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 等炎症因子释放增加, 导致肾脏炎症反应加重, 最终发生肾脏病变。Ellina 等^[3] 对糖尿病大鼠进行持续观察, 结果发现随着糖尿病病情的加重, 肾脏周围大量浸润巨噬细胞, 提示巨噬细胞浸润于 DN 的发病密切相关。MAPK 和 NF- κ B 信号通路是参与激活巨噬细胞的细胞内转导通路, 而转化生长因子 β 激活激酶-1 (transforming growth factor β activated kinase-1, TAK1) 是 MAPK 和 NF- κ B 信号通路共同的上游调节因子^[4,5]。Corporeau 等^[6] 将输尿管梗阻小鼠 TAK1 基因敲除后, 小鼠肾脏组织 JNK、NF- κ B 信号通路受到抑制, 炎症因子也显著降低, 肾脏组织损害显著减轻, 提示 TAK1 能够调节肾脏炎症反应。本研究旨在探讨 TAK1 对 DN 大鼠 MAPK 和 NF- κ B 信号通路的调节作用及其机制, 为 DN 的防治提供新的治疗思路。

1 材料和方法

1.1 实验动物

48 只 SPF 级 SD 大鼠 6~8 周龄, 体重 180~240 g, 均为雄性, 购自武汉大学医学院实验动物中心 [SCXK(鄂)2014-0005] [SYXK(鄂)2014-0022]; 所有大鼠均于动物房检疫合格, 标准化饲养房饲养, 室温 20~22℃, 相对湿度 50%, 每天交替进行 12 h 光照、12 h 黑暗处理, 喂养 1 周后进行实验。48 只大鼠按照随机数字表法分为 DN 组、TAK1 组和对照组, 各 16 只。3 组大鼠周龄、体质量比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 具有可比性。本实验大鼠处置方法经过动物伦理学批准。

1.2 主要仪器与试剂

TAK1 抑制剂 5Z-7-oxozeaenol 购自美国 MCE 公

司 (纯度 > 99.99%); 免疫组化试剂盒购自上海拜力生物科技有限公司; 糖原染色液 (PAS) 购自上海研域生物科技有限公司; TNF- α 、MCP-1、白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β) 试剂盒购自上海基免生物技术有限公司; 小鼠抗人 p38MAPK 多克隆抗体、兔抗小鼠 NF- κ Bp63 多克隆抗体、辣根过氧化物酶标记的羊抗兔 IgG 二抗、 β -肌动蛋白 (β -actin) 抗体、链脲佐菌素 (Streptozotocin, STZ) 均购自美国购自 Sigma 公司; PVDF 膜、磷酸缓冲盐溶液 (PBS)、RPMI 1640 培养基购自美国 Santa Cruz 公司; BCA 蛋白浓度测定试剂盒购自武汉博士德生物工程有限公司。

7600-020 全自动生化分析仪购自日本日立公司; 9700 型 PCR 仪购自美国 ABI 公司; TS100-F 倒置显微镜购自尼康公司; Odyssey 成像系统及图像分析软件购自美国 LI-COR 公司。

1.3 实验方法

1.3.1 动物模型制备

对照组大鼠正常喂养, 不做任何处理; DN 组、TAK1 组建立 DN 大鼠模型^[7]: 向大鼠腹腔注射 1% STZ, 注射剂量 50 mg/kg, 注射 72 h 后连续 3 d 尾静脉采血测定血糖, 每日采血 1 次; 造模成功标准: 连续 3 次血糖 ≥ 16.6 mmol/L、24 h 尿蛋白排泄率 (urinary albumin excretion rates, UAER) > 30 mg、尿量 $\geq 150\%$ 原尿量。DN 大鼠模型建立后, 对照组大鼠、DN 组大鼠正常喂养, TAK1 组腹腔注射 5Z-7-oxozeaenol 2 mg/kg, 每隔 1 d 注射 1 次; 检测 5Z-7-oxozeaenol 注射 4 周、8 周大鼠体质量、血糖、UAER。上述两个时段每组分别处死 8 只大鼠, 处死后从心脏取血, 置于肝素抗凝管中, -20℃ 保存待检; 另取大鼠双肾组织, 将肾包膜完全剥离, 矢状纵行将肾脏剖开, 其中一部分用丙酮固定, 做冰冻切片, 置于 -80℃ 冰箱保存; 另外一部分用 5% 多聚甲醛固定, 液氮保存。

1.3.2 肾脏组织病理学检查

取石蜡切片, 脱蜡至水, 蒸馏水冲洗后, 70% 乙

醇洗脱;再将切片置于高碘酸乙醇溶液浸泡 10 min, 70% 乙醇洗脱, 置入还原液中 1 min, 再用 70% 乙醇洗脱, 置于品红溶液中 60 min, 自来水下冲洗 10 min, 苏木素复染 3 min, 1% 盐酸酒精分化, 再次自来水冲洗, 甩干后透明、封固;显微镜下观察染色情况。

1.3.3 血清 TNF- α 、MCP-1、IL-1 β 检测

分别取各时段全血 1 mL, 5000 r/min 离心 10 min (离心半径 8 cm), 吸取上清液, 置于无菌 EP 管中, -20℃ 冰箱保存。采用酶联免疫吸附试验检测血清 TNF- α 、MCP-1、IL-1 β 表达水平, 所有检测操作均严格按照试剂盒说明书要求。

1.3.4 肾脏组织 p38MAPK、NF- κ Bp63 蛋白检测 (Westernblot)

将肾脏组织取出, 剪碎后充分研磨, 加入 RIPA 裂解液, 冰水浴上静置 30 min, 充分裂解后于冷冻离心机上以 4℃、12000 r/min 离心 10 min, 提取总蛋白; BCA 法检测总蛋白浓度。取 50 μ g 总蛋白, 100℃ 水浴上变性 5 min, 采用 10% 十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE) 电泳分离蛋白, 湿转法将电泳带电转移至 PVDF 膜上, 37℃ 条件下加入 5% 脱脂奶粉封闭 1.5 ~ 2 h, 再分别加入 1:1000 稀释的 p38MAPK 多克隆抗体、1:500 稀释的 NF- κ Bp63 多克隆抗体、1:5000 稀释的 β -actin 抗体, 4℃ 孵育过夜。PBS 冲洗 3 次, 待洗膜后再加入 1:2000 稀释的辣根过氧化物酶标记的羊抗兔 IgG 二抗, 37℃ 振摇孵育 1 h, PBS 冲洗 3 次; 采用 ECL 化学发光试剂显影、曝光, 凝胶成像系统对条带进行分析, 半定量分析灰度条带, 目的条带与 β -actin 条带积分吸光度值之比为目的蛋白相对表达量。

1.3.5 肾脏组织 p38MAPK、NF- κ Bp63 mRNA (Quantitative Real-time PCR)

采用 Trizol 试剂盒提取肾脏组织总 RNA, 提取方法按照试剂盒说明书; 标准步骤将总 RNA 逆转录成 cDNA, 再将 cDNA 进行实时荧光定量 PCR 实验, 引物委托南京金斯瑞生物科技有限公司设计合成, p38MAPK: Forward: 5'-GGGTCAAAGATCACGTGCA CAG-3', Reverse: 5'-TTGTCAAAGCAGACGGAGGTC-3' 扩增片段长度 226 bp; NF- κ Bp63: Forward: 5'-TTGACCGGTAAATGTCAACGTAAT-3', Reverse: 5'-TGAGACTGGCACTGAGAGTGGTTG-3', 扩增片段长度 304 bp; GAPDH: Forward: 5'-GGTGAACGTGC GTCTCAAGC-3', Reverse: 5'-GTCCGGTGGTGAAGA TCGTC-3', 扩增片段长度 117 bp; PCR 反应体系:

ddH₂O 13 μ L、缓冲液 2.5 μ L、dNTP1 μ L、上下游引物各 0.5 μ L、cDNA 3 μ L、Taq 酶 0.5 μ L, 总反应体系 21 μ L; 反应条件: 95℃ 预变性 2 min, 95℃ 变性 15 s, 60℃ 退火 30 s, 72℃ 延伸 1 min, 40 个循环后 72℃ 5 min; 以 GAPDH 为内参照进行校正, 测量目的基因 CT 值, $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法分析目的基因相对表达量。

1.4 统计学方法

采用 SPSS19.0 统计学软件进行数据处理, 计量资料采用均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多组间比较采用 ANOVA 单因素方差分析, 组间两两比较采用最小显著性差异 (LSD) 检验, 以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠一般情况比较

4 周、8 周时, 对照组大鼠毛发有光泽, 行动自如, 进食、饮食正常; DN 组大鼠出现明显多尿、多饮、多食、偏瘦, 毛发杂乱且无光泽, 大鼠行动偏少; TAK1 组亦有 DN 组大鼠表现, 但症状较 DN 组明显减轻。4 周、8 周时, DN 组、TAK1 组大鼠体质量、血糖、UAER 均显著高于对照组 ($P < 0.05$), DN 组大鼠体质量、UAER 显著高于 TAK1 组 ($P < 0.05$), 见表 1。

2.2 各组大鼠肾脏组织病理学变化

对照组大鼠肾脏组织上皮细胞连接紧密、形态规则、排列整齐、边缘完整, 细胞间隙未见水肿和炎性浸润; DN 组肾脏组织可见大面积上皮细胞坏死, 部分上皮细胞发生脱落, 基底膜部分裸露, 管腔内存在大量脱落细胞及碎片; TAK1 组肾脏组织上皮细胞坏死面积缩小, 管腔内脱落细胞数量减少; 上皮细胞坏面积较 DN 组显著缩小, 见图 1。

2.3 各组大鼠血清 TNF- α 、MCP-1、IL-1 β 含量比较

4 周、8 周时, DN 组、TAK1 组血清 TNF- α 、MCP-1、IL-1 β 显著高于对照组 ($P < 0.05$), DN 组大鼠血清 TNF- α 、MCP-1、IL-1 β 显著高于 TAK1 组 ($P < 0.05$), 见表 2。

2.4 各组大鼠肾脏组织 p38MAPK、NF- κ Bp63 蛋白表达

免疫印迹结果显示, 4 周、8 周时, DN 组、TAK1 组 p38MAPK、NF- κ Bp63 蛋白表达水平显著高于对照组 ($P < 0.05$), 其中 DN 组 p38MAPK、NF- κ Bp63 蛋白表达显著高于 TAK1 组 ($P < 0.05$), 见图 2-3。

2.5 各组大鼠肾脏组织 p38MAPK、NF-κBp63 mRNA 表达

实时荧光定量 PCR 结果显示,4 周、8 周时,DN 组、TAK1 组 p38MAPK、NF-κBp63 mRNA 表达水平显著高于对照组($P < 0.05$),其中 DN 组 p38MAPK、NF-κBp63 mRNA 表达显著高于 TAK1 组($P < 0.05$),见图 4。

表 1 各组大鼠一般情况($n = 8$)

Tab. 1 Comparison of general situation in earch group

组别 Groups	体质量 Body weight(g)		血糖 Blood sugar(mmol/L)		24 h 尿蛋白排泄率 Urinary albumin excretion rates(μg/24 h)	
	4 周 4 week	8 周 8 week	4 周 4 week	8 周 8 week	4 周 4 week	8 周 8 week
对照组 Contol group	204.6 ± 10.4	211.1 ± 10.8	7.21 ± 0.43	7.14 ± 0.38	16.87 ± 2.04	17.03 ± 2.31
DN 组 DN group	307.3 ± 13.1 ^a	311.6 ± 13.9 ^a	34.31 ± 6.32 ^a	35.08 ± 6.03 ^a	973.48 ± 83.28 ^a	997.31 ± 87.37 ^a
TAK1 组 TAK1 group	274.6 ± 11.4 ^{ab}	276.1 ± 12.5 ^{ab}	35.17 ± 6.78 ^a	35.04 ± 6.32 ^a	479.31 ± 37.06 ^{ab}	483.48 ± 39.41 ^{ab}

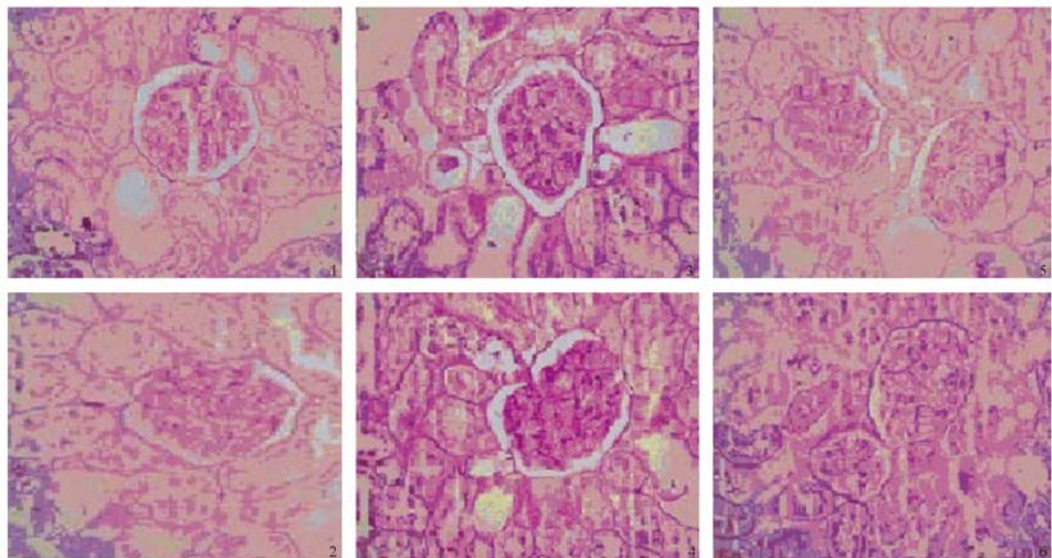
注:与对照组比较,^a $P < 0.05$;与 DN 组比较,^b $P < 0.05$ 。
Note. ^a $P < 0.05$ vs. the control group. ^b $P < 0.05$ vs. the DN group.

表 2 各组大鼠血清 TNF-α、MCP-1、IL-1β 含量比较($n = 8, \text{ng/L}$)

Tab. 2 Comparison of TNF-α, MCP-1 and IL-1β in earch group

组别 Groups	肿瘤坏死因子-α TNF-α		单核细胞趋化因子-1 MCP-1		白细胞介素-1 βIL-1β	
	4 周 4weeks	8 周 8weeks	4 周 4weeks	8 周 8weeks	4 周 4weeks	8 周 8weeks
对照组 Contol group	13.1 ± 1.7	12.9 ± 1.4	169.5 ± 12.7	171.4 ± 13.4	51.7 ± 6.1	49.5 ± 5.7
DN 组 DN Group	104.2 ± 11.5 ^a	85.4 ± 7.6 ^a	636.4 ± 43.1 ^a	645.9 ± 44.5 ^a	714.3 ± 41.3 ^a	729.4 ± 31.6 ^a
TAK1 组 TAK1 Group	87.4 ± 8.4 ^{ab}	85.5 ± 4.7 ^{ab}	437.1 ± 23.6 ^{ab}	447.6 ± 24.5 ^{ab}	974.6 ± 81.7 ^{ab}	816.5 ± 64.8 ^{ab}

注:与对照组比较,^a $P < 0.05$;与 DN 组比较,^b $P < 0.05$ 。
Note. ^a $P < 0.05$ vs. the control group. ^b $P < 0.05$ vs. the DN group.



注:(1)对照组 4 周;(2)对照组 8 周;(3)DN 组 4 周;(4)DN 组 8 周;(5)TAK1 组 4 周;(6)TAK1 组 8 周。

图 1 各组大鼠肾脏组织病理学变化(PAS 染色, × 100)

Note. (1)Control group in 4 weeks. (2) Control group in 8 weeks. (3)DN group in 4 weeks. (4)DN group in 8 weeks. (5) TAK1 group in 4 weeks. (6)TAK1 group in 8 weeks.

Fig. 1 Pathological changes of the rat kidney tissue in each group

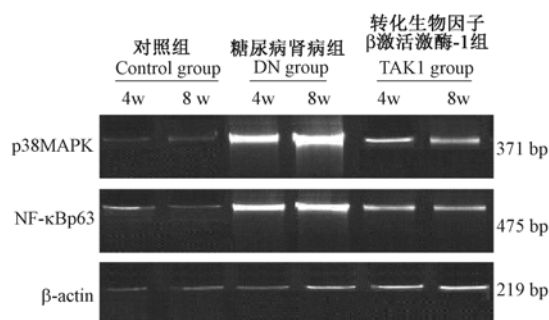
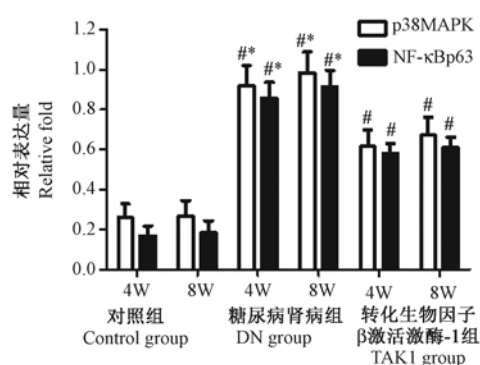


图 2 三组大鼠肾脏组织 p38MAPK、NF-κBp63 蛋白表达水平

Fig. 2 Protein expression of p38MAPK, NF-κBp63 of the rats kidney tissue in three groups



注:与对照组比较, $^{\#}P < 0.05$;与 TAK1 组比较, $^{*}P < 0.05$ 。

图 3 三组大鼠肾脏组织 p38MAPK、NF-κBp63 蛋白表达水平

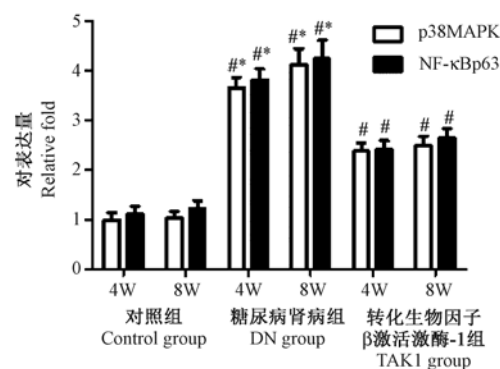
Note. $^{\#}P < 0.05$ vs. the control group.

$^{*}P < 0.05$ vs. the DTAKI group.

Fig. 3 Protein expression of p38MAPK, NF-κBp63 of the rats kidney tissue in three groups

3 讨论

局部炎症反应对 DN 的发病起关键作用。国外研究证实^[8,9]糖尿病的高血糖环境会导致肾脏组织处于微炎症反应中,炎症反应释放的炎症因子会加速肾小球硬化,并导致肾小管萎缩、间质纤维化,加速 DN 的病情进展。本研究显示 4 周时 DN 大鼠即开始出现体重增加、贪食等症状,同时伴有微量白蛋白尿。给予 TAK1 抑制剂后, DN 大鼠体质量、UAER 均明显降低,而 TAK1 组、DN 组大鼠血糖比较差异无统计学意义。说明 TAK1 抑制剂对 DN 肾脏具有保护作用,而这种保护作用并不依赖于血糖的降低。李媛媛等^[10]证实 TAK1 是调节多条炎症反应信号通路的关键因子, TAK1 可以下调丝裂原活化蛋白激酶的活性,诱导下游靶基因释放 TNF- α 、



注:与对照组比较, $^{\#}P < 0.05$,与 TAK1 组比较, $^{*}P < 0.05$ 。

图 4 三组大鼠肾脏组织 p38MAPK、NF-κBp63 mRNA 表达水平

Note. $^{\#}P < 0.05$ vs. the control group.

$^{*}P < 0.05$ vs. the DTAKI group.

Fig. 4 Expression of p38MAPK, NF-κBp63 mRNA of the rats kidney tissue in three groups

MCP-1 等炎症因子,并促进炎症因子在肾小球外基质聚集,最终诱导肾脏发生病变。Medici 等^[11]报道称 TAK1 是 MAPK 和 NF- κ B 信号通路上游共同的调节因子,其主要参与调节相应下游信号分子的表达来介导炎症反应。

p38MAPK 是 MAPK 家族成员之一,亦是细胞信号转导的交汇点^[12]。当 p38MAPK 与 TAB 结合后,发生自身磷酸化反应而被激活。陈子等^[13]报道称与正常人群比较,慢性肾炎肾组织 p38MAPK 磷酸化水平显著升高,并介导一系列肾脏局部炎症反应。王晓天等^[14]对 DN 大鼠肾脏组织进行观察,结果显示在肾脏损伤的开始阶段 p38MAPK 即出现明显磷酸化,且随着时间的延长,磷酸化水平不断增加。本研究显示,4 周、8 周时 DN 组大鼠 p38MAPK 蛋白和 mRNA 表达显著增强,提示 p38MAPK 参与了糖尿病肾脏损伤。给予 TAK1 抑制剂后, p38MAPK 蛋白和 mRNA 显著降低,提示 TAK1 可能通过促进 p38MAPK 表达介导的肾脏损伤。

Huvel 等^[15]报道称 TAK1 能够激活 I κ B 激酶,降解 I κ B 蛋白,使 NF- κ B 从 IKK 复合物中解离并转移至细胞内,与 DNA 相应位点结合后诱导 NF- κ B 级联反应。Ka 等^[16]对 DN 患者 NF- κ B 表达进行检测,结果显示与正常人群比较, DN 患者外周血 NF- κ B 蛋白和 mRNA 表达水平显著增加,且病情越重、UAER 越高,外周血 NF- κ B 表达越高。Bhattacharya 等^[17]通过 STZ 诱导糖尿病小鼠模型,结果显示 STZ 诱导 2 周后肾脏组织 NF-κBp63 表达即开始显著增加,至 3 周时 TNF- α 、MCP-1、IL-1 β 等细胞因子也开

始逐渐增加,4 周时小鼠肾脏组织开始出现肾小球硬化、胶原合成增加等;给予 NF- κ B 抑制剂 PDTC 后,相关指标均明显降低,说明 NF- κ B 是诱导 DN 肾脏炎症反应的主要机制,而 TAK1 参与了 NF- κ B 的激活。本研究显示,4 周、8 周时 DN 组大鼠 NF- κ Bp63 蛋白和 mRNA 表达显著增强,经 TAK1 抑制剂后,NF- κ Bp63 蛋白和 mRNA 显著降低,说明 TAK1 抑制剂亦可以减弱 NF- κ Bp63 介导的炎症反应而发挥肾脏的保护作用。

Tone 等^[18]研究显示,血糖升高会刺激肾脏系膜细胞释放 MCP-1,并促进单核细胞在炎症反应部位聚集,导致肾脏损伤加重。IL-1 β 是体内炎症反应的关键因子,在慢性炎症的起始阶段,IL-1 β 释放逐渐增加,并调节下游炎症因子的级联反应^[19],导致体内炎症因子大量释放。Elsherbiny 等^[20]报道称 IL-1 β 能够刺激肾小球上皮细胞、系膜细胞和内皮细胞释放 TNF- α ,进而介导肾脏的炎症反应和组织损伤。本研究显示 DN 组血清 TNF- α 、MCP-1、IL-1 β 显著高于 TAK1 组,TAK1 组大鼠血清 TNF- α 、MCP-1、IL-1 β 显著低于 TAK1 组,说明 TAK1 抑制剂可能通过下调炎症因子的表达和释放而发挥抗炎作用。

综上所述,TAK1 通过激活 MAPK 及 NF- κ B 信号通路来诱导炎症反应,并参与糖尿病肾脏损伤;TAK1 抑制剂能够下调炎症因子的表达和释放而发挥抗炎作用。

参考文献:

- [1] Somania R, Singhai AK, Shivgunde P, *et al.* Asparagus racemosus Willd (Liliaceae) ameliorates early diabetic nephropathy in STZ induced diabetic rats[J]. Indian J Exp Biol, 2012,50(7):469-475.
- [2] Verhave JC, Bouchard J, Goupil R, *et al.* Clinical value of inflammatory urinary biomarkers in overt diabetic nephropathy: A prospective study[J]. Diabetes Res Clin Pract, 2013, 101(3): 333-340.
- [3] Ellina O, Chatzigeorgiou A, Kouyanou S, *et al.* Extracellular matrix-associated (GAGs, CTGF), angiogenic (VEGF) and inflammatory factors (MCP-1, CD40, IFN- γ) in type 1 diabetes mellitus nephropathy[J]. Clin Chem Lab Med, 2012,50(1):167-174.
- [4] Singh V, Barbosa FL, Torricelli AA, *et al.* Transforming growth factor β and platelet-derived growth factor modulation of myofibroblast development from corneal fibroblasts invitro [J]. Exp Eye Res, 2014,120:152-160.
- [5] Michalska M, Kozakiewicz M, Bodek KH. Polymer angiogenic factor carrier. Part I. Chitosan-alginate membrane as carrier PDGF-AB and TGF-beta[J]. Polim Med, 2008,38(4):19-28.
- [6] Corporeau C, Groisillier A, Jeudy A, *et al.* A Functional Study of Transforming Growth Factor-Beta from the Gonad of Pacific Oyster Crassostrea gigas[J]. Mar Biotechnol (NY), 2011,13(5):971-980.
- [7] Omran OM. Effects of thymoquinone on STZ-induced diabetic nephropathy: An immunohistochemical study[J]. Ultrastruct Pathol, 2014,38(1):26-33.
- [8] Celec P, Hodosy J, Gardlik R, *et al.* The effects of anti-inflammatory and anti-angiogenic DNA vaccination on diabetic nephropathy in rats [J]. Hum Gene Ther, 2012,23(2):158-166.
- [9] Alipour MR, Khamaneh AM, Yousefzadeh N, *et al.* Upregulation of microRNA - 146a was not accompanied by downregulation of pro-inflammatory markers in diabetic kidney [J]. Mol Biol Rep, 2013,40(11):6477-6483.
- [10] 李媛媛,徐兴欣,邵云侠,等. 转化生长因子 β 激活激酶 1 抑制剂对糖尿病小鼠肾脏的保护作用及机制[J]. 中华肾脏病杂志, 2015,31(11):848-854.
- [11] Medici D, Potenta S, Kalluri R. Transforming growth factor-beta 2 promotes Snail-mediated endothelial-mesenchymal transition through convergence of Smad-dependent and Smad-independent signalling[J]. Biochem J, 2011,437(3):515-520.
- [12] Tran P, Ho SM, Kim BG, *et al.* TGF- β -activated kinase 1 (TAK1) and apoptosis signal-regulating kinase 1 (ASK1) interact with the promyogenic receptor Cdo to promote myogenic differentiation via activation of p38MAPK pathway [J]. J Biol Chem, 2012,287(15):11602-11615.
- [13] 陈子摇,黄胜华,连希艳. p38MAPK 与肾脏疾病关系的研究进展[J]. 海南医学, 2015,26(22):3344-3346.
- [14] 王晓天,李向阳,秦苏萍,等. p38MAPK 介导的 Fas/FasL 凋亡信号通路在大鼠抗 GBM 肾炎中的作用[J]. 中国免疫学杂志, 2012,28(11):979-985.
- [15] Huvet A, Fleury E, Corporeau C, *et al.* In Vivo RNA Interference of a Gonad-Specific Transforming Growth Factor-beta in the Pacific Oyster Crassostrea gigas [J]. Mar Biotechnol (NY), 2012,14(4):402-410.
- [16] Ka SM, Yeh YC, Huang XR, *et al.* Kidney-targeting Smad7 gene transfer inhibits renal TGF- β /MAD homologue (SMAD) and nuclear factor κ B (NF- κ B) signalling pathways, and improves diabetic nephropathy in mice[J]. Diabetologia, 2012,55(2):509-519.
- [17] Bhattacharya S, Manna P, Gachhui R, *et al.* D-Saccharic acid 1, 4-lactone protects diabetic rat kidney by ameliorating hyperglycemia-mediated oxidative stress and renal inflammatory cytokines via NF- κ B and PKC signaling [J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2013,267(1):16-29.
- [18] Tone A, Shikata K, Nakagawa K, *et al.* Renoprotective effects of clarithromycin via reduction of urinary MCP-1 levels in type 2 diabetic patients[J]. Clin Exp Nephrol, 2011,15(1):79-85.
- [19] Dabhi B, Mistry KN. Oxidative stress and its association with TNF-alpha-308 G/C and IL-1 alpha-889 C/T gene polymorphisms in patients with diabetes and diabetic nephropathy [J]. Gene, 2015,562(2):197-202.
- [20] Elsherbiny NM, Abd El Galil KH, Gabr MM, *et al.* Reno-protective effect of NECA in diabetic nephropathy: Implication of IL-18 and ICAM-1[J]. Eur Cytokine Netw, 2012,23(3):78-86.

[收稿日期]2016-06-21