

山奈酚对高糖诱导大鼠肾系膜细胞增殖的影响

陈 妮¹, 韩鹏定¹, 陈 文^{2△}, 邓 艳³

1. 海南医学院第二附属医院 药学部(海口 541004); 2. 海南医学院第二附属医院 肾内科(海口 541004);

3. 深圳市研究院 生物医学部(深圳 518057)

【摘要】 目的 探讨山奈酚对高糖诱导大鼠肾系膜细胞(HBZY-1)增殖、纤维化的影响,并研究其相关的作用机制。**方法** 将 HBZY-1 细胞分为正常糖浓度组〔葡萄糖(Glu)5.5 mmol/L〕即对照组、高糖(Glu 25 mmol/L)组、10 μ mol/L 山奈酚+高糖组和 30 μ mol/L 山奈酚+高糖组。分组处理细胞后,采用 MTT 实验检测正常糖浓度和高糖下山奈酚对 HBZY-1 细胞增殖的影响;流式细胞仪检测各组细胞周期变化;Real-time PCR 检测各组细胞纤维连接蛋白(FN)、结缔组织生长因子(CTGF)mRNA 的表达,Western blot 检测 FN、CTGF、细胞周期相关蛋白以及 p38 MAPK 信号通路蛋白的表达。**结果** 山奈酚(10、30 μ mol/L)对正常糖浓度培养的 HBZY-1 细胞增殖影响不大($P>0.05$),高糖能够增强细胞的增殖能力($P<0.05$),而山奈酚(10、30 μ mol/L)可抑制高糖引起的增强细胞增殖作用($P<0.05$)。高糖能减少 G_0/G_1 期细胞比例,增加 S 期细胞比例,并降低细胞周期相关蛋白 p21^{Cip1} 以及 p27^{Kip1} 蛋白表达,山奈酚(10、30 μ mol/L)能够阻止高糖引起的细胞周期改变以及细胞周期相关蛋白表达的下调。山奈酚(10、30 μ mol/L)同时能够抑制高糖引起的细胞 FN、CTGF mRNA 和蛋白表达水平的上调。高糖能够增加磷酸化 p38 丝裂原活化蛋白激酶(p-p38 MAPK)蛋白水平,而山奈酚(10、30 μ mol/L)处理能够剂量依赖性的抑制高糖诱导的 p-p38MAPK 蛋白的表达上调。**结论** 山奈酚对高糖诱导的 HBZY-1 细胞增殖起抑制作用,其作用机理可能是通过调控 p38 MAPK 信号通路,对高糖培养下的 HBZY-1 细胞起到保护作用。

【关键词】 山奈酚 高糖 大鼠肾系膜细胞 p38 MAPK 信号通路

Investigation the Inhibitory Effects of Kaempferol on Rat Renal Mesangial Cells Proliferation under High Glucose Condition

Condition CHEN Ni¹, HAN Peng-ding¹, CHEN Wen^{2△}, DENG Yan³. 1. Department of Pharmacy, the Second Affiliated Hospital of Hainan Medical University, Haikou 541004, China; 2. Department of Nephrology, the Second Affiliated Hospital of Hainan Medical University, Haikou 541004, China; 3. Department of Biomedical Sciences, the Research Institute of Shenzhen City, Shenzhen 518057, China

△ Corresponding author, E-mail: dr_chenwen@outlook.com

【Abstract】 Objective To investigate the protective effects of kaempferol on rat renal mesangial cells under high glucose condition and explore its mechanism. **Methods** The HBZY-1 cells were divided into normal glucose group (5.5 mmol/L), high glucose group (25 mmol/L), 10 μ mol/L kaempferol + high glucose group, and 30 μ mol/L kaempferol + high glucose group. Cell proliferative ability was measured by MTT; cell cycle was analyzed by flow cytometry; mRNA and protein levels were determined by Real-time PCR and Western blot, respectively. **Results** Kaempferol had no effect on the proliferative ability of rat renal mesangial cells under normal glucose (5.5 mmol/L) condition. High glucose (25 mmol/L) enhanced the cell proliferative ability, and this effect was antagonized by kaempferol (10-30 μ mol/L) treatment. High glucose reduced the cell population at G_0/G_1 phase with an associated increase in S phase, and had no effect on G_2/M phase; and kaempferol treatment restored high glucose-induced changes in cell cycle. Kaempferol also prevented high glucose-induced increase in fibronectin and connective tissue growth factor mRNA and protein expression levels. Kaempferol also prevented high glucose-induced increase in fibronectin and connective tissue growth factor mRNA and protein expression levels. Further, high glucose caused an increase in protein level of phosphorylated p38 mitogen-activated protein kinases (p38 MAPK), which was antagonized by kaempferol treatment. **Conclusion** Our results suggest that kaempferol exerts its protective effect on rat renal mesangial cells under high glucose condition via p38 MAPK signaling pathway.

【Key words】 Kaempferol High glucose Rat renal mesangial cell p38 MAPK signaling pathway

病肾病主要病理改变为肾脏肥大,肾小球、肾小管基底膜增厚,肾小管间质纤维化以及肾小管间质动脉硬化^[2]。众多研究已经证实,糖尿病肾病的发展与肾系膜细胞的异常增殖有关,而且这种异常增殖常伴随着细胞外基质的聚集。因此通过抑制肾系膜细胞增殖以及细胞外基质聚集对改善糖尿病肾病肾脏纤维化尤为重要^[3-4]。山奈酚(kaempferol)属于黄酮类化合物,其主要来源于小檗科植物诃儿七以及姜科植物山奈的根茎中^[5]。研究发现,山奈酚能够通过不同的机制抑制多种肿瘤细胞的增殖和诱导其凋亡^[6],但尚未见其对肾系膜细胞影响的报道。

过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 辅激活因子-1 α (peroxisome proliferators activated receptor- γ coactivator-1 α , PGC-1 α)是近年来备受关注的转录调控辅助激活因子,有研究发现,山奈酚是雌激素相关受体 α 的反向激动剂,雌激素相关受体 α 需要与PGC-1 α 共同协调发挥作用;而最新的研究发现PGC-1 α 与糖尿病肾病的发病有关^[7-8]。因此,本研究通过体外培养大鼠肾系膜细胞,观察山奈酚对高糖环境下大鼠肾系膜细胞增殖的影响,并探讨其作用机制。

1 材料和方法

1.1 材料

大鼠肾系膜细胞株(HBZY-1)购自武汉大学细胞培养中心;DMEM培养液和胎牛血清购自美国HyClone公司;TRIzol试剂盒购于Invitrogen公司;荧光定量PCR试剂盒购于TaKaRa公司;纤维连接蛋白(fibronectin, FN)、结缔组织生长因子(connective tissue growth factor, CTGF)、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)mRNA引物由由上海捷瑞生物工程有限公司合成;p21^{Cip1}抗体、p27^{Kip1}抗体、FN抗体、CTGF抗体、磷酸化p38丝裂原活化蛋白激酶(p38 mitogen-activated protein kinases, p38 MAPK)抗体、p38MAPK抗体、GAPDH抗体和辣根过氧化物酶标记的二抗均购自美国Abcam公司;BCA蛋白浓度检测试剂盒购自Bio-Rad公司。

1.2 细胞培养及分组

HBZY-1细胞在37℃、体积分数5% CO₂条件下在含有10%胎牛血清的DMEM培养基培养。传代6~9次的HBZY-1细胞用做体外实验。本研究选取葡萄糖(Glu)浓度5.5 mmol/L模拟正常生理状态糖浓度,选取Glu 25 mmol/L为高糖浓度,实验分组为:对照组(a组, Glu 5.5 mmol/L),高糖组

(b组, Glu 25 mmol/L), 10 μ mol/L 山奈酚+高糖组(c组), 30 μ mol/L 山奈酚+高糖组(d组)。

1.3 MTT法检测正常糖浓度、高糖浓度下HBZY-1细胞增殖能力

首先观察正常糖浓度下山奈酚对HBZY-1细胞增殖的影响。分组为:对照组(Glu 5.5 mmol/L), 10 μ mol/L 山奈酚+Glu (5.5 mmol/L)组, 30 μ mol/L山奈酚+Glu (5.5 mmol/L)组。然后按1.2实验分组观察高糖浓度下山奈酚对HBZY-1细胞增殖的影响。取对数生长期的HBZY-1细胞,以 5×10^4 /孔接种于96孔培养板培养,按照以上分组将各组细胞培养48 h后,于每孔加入20 μ L四甲基偶氮唑盐溶液,继续培养4 h后移除上清液,再于每孔加入150 μ L二甲基亚砷(DMSO),用酶联免疫标记分析仪测量570 nm波长处各孔的吸光度(A)值。

1.4 流成细胞学检测HBZY-1细胞周期

将HBZY-1细胞接种于6孔培养板,在无胎牛血清的培养基培养(饥饿处理)24 h后,按照1.2分组对细胞处理24 h。将分组培养的细胞用PBS洗涤,加入70%冷乙醇固定后重新收集细胞,PBS洗去固定液,加入RNA酶反应过夜,然后再与碘化丙啶(PI)染液在黑暗条件下于4℃培育30 min,最后用流式细胞仪对细胞周期进行分析。

1.5 Real-time PCR检测HBZY-1细胞的FN、CTGF mRNA表达

按照1.2分组处理24 h后的HBZY-1细胞用TRIzol试剂盒进行mRNA的提取,将5 μ g mRNA反转录为cDNA,采用荧光定量PCR仪扩增检测相关mRNA的表达水平。FN mRNA引物 F: 5'-TTATGACGACGGAAGACCT-3', R: 5'-GCTGGATGGAAAGATTACTC-3'; CTGF mRNA引物 F: 5'-GGTAAGGTCCGATTCCTACCAGG-3', R: 5'-GGTGGTCCGCGATGATGTC-3'; GAPDH mRNA引物 F: 5'-TGCACCACCAACTGCTAA GC-3', R: 5'-GGCATGGACTGTGGTACTGAG-3'。反应条件95℃预变性5 min,然后95℃ 10 s, 60℃ 25 s, 72℃ 20 s, 45个循环。最72℃延伸2 min。目的基因的表达水平以GAPDH作为内参,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法计算。

1.6 Western blot检测HBZY-1细胞的细胞周期相关蛋白(p21^{Cip1}和p27^{Kip1})、FN、CTGF和p38 MAPK信号通路蛋白表达

将HBZY-1细胞按1.2分组处理24 h后,利用含有蛋白酶抑制剂的RIPA缓冲液裂解细胞并提取

蛋白。将提取的蛋白采用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒测定蛋白浓度。取 20 μg 等量总蛋白上样, 100 g/L SDS-PAGE 凝胶电泳之后利用半干法转移至醋酸纤维素膜, 然后再利用含有 5% 脱脂奶粉的 TBST 室温封闭 1 h, 细胞裂解液 TBST 3 次 5 min 洗涤之后分别与不同的抗体 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜, 抗体包括: p21^{Cip1} 抗体 (1 : 1 000 稀释)、p27^{Kip1} 抗体 (1 : 1 000 稀释)、FN 抗体 (1 : 1 500 稀释)、CTGF 抗体 (1 : 2 000)、磷酸化 p38 MAPK (p-p38 MAPK) 抗体 (1 : 500)、p38 MAPK 抗体 (1 : 500)、GAPDH 抗体 (1 : 3 000)。孵育过后利用 TBST 洗膜 3 次; 然后用 1 : 3 000 稀释的辣根过氧化物酶标记的二抗室温孵育 1 h, 再利用 TBST 洗涤 3 次后进行曝光显影, 用凝胶成像仪测量各显色条带的灰度值, 以目的条带与 GAPDH 灰度值的比值为目的蛋白的相对表达量。

1.7 统计学方法

所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。采用 t 检验或单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 山奈酚对不同糖浓度下 HBZY-1 细胞增殖的影响

MTT 结果显示, 山奈酚 (10、30 $\mu\text{mol/L}$) 对正常糖浓度下 HBZY-1 细胞增殖没有明显影响, Glu 5.5 mmol/L 时各组细胞 A 值差异无统计学意义 ($P > 0.05$, 图 1A); 高糖环境下促进 HBZY-1 细胞增殖, b 组与 a 组 (正常糖浓度) 比较, 差异有统计学

意义 ($P < 0.05$), 使用山奈酚 (10、30 $\mu\text{mol/L}$) 处理经高糖培养液培养的 HBZY-1, 细胞增殖能力均受到抑制 ($P < 0.05$), 且以 30 $\mu\text{mol/L}$ 山奈酚更为明显, 见图 1B。

2.2 山奈酚对高糖培养的 HBZY-1 细胞周期以及细胞周期相关蛋白的影响

见图 2。与对照组相比, 高糖处理 HBZY-1 细胞能够减少 G_0/G_1 期细胞所占比例, 增加 S 期细胞所占比例, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$), 而对 G_2/M 期细胞所占比例影响不大 ($P > 0.05$)。山奈酚 (10、30 $\mu\text{mol/L}$) 处理能够拮抗高糖引起的细胞周期改变。进一步的 Western blot 实验结果发现,

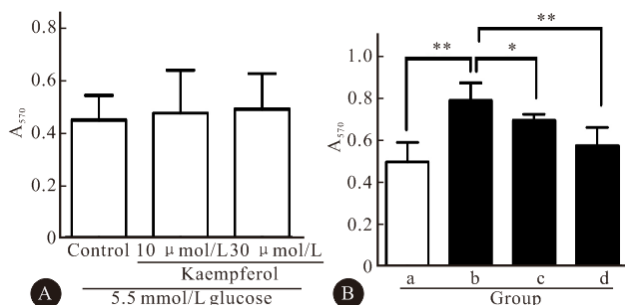


图 1 山奈酚对正常糖浓度(A)和高糖(B)下 HBZY-1 细胞增殖的影响

Fig 1 The effect of kaempferol on the proliferation of rat glomerular mesangial cells cultured under normal glucose (A, Glu 5.5 mmol/L) and high glucose (B, Glu 25 mmol/L) condition

a: Control group, Glu 5.5 mmol/L; b: Glu-H group, Glu 25 mmol/L; c: 10 $\mu\text{mol/L}$ kaempferol + Glu-H group; d: 30 $\mu\text{mol/L}$ kaempferol + Glu-H group; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

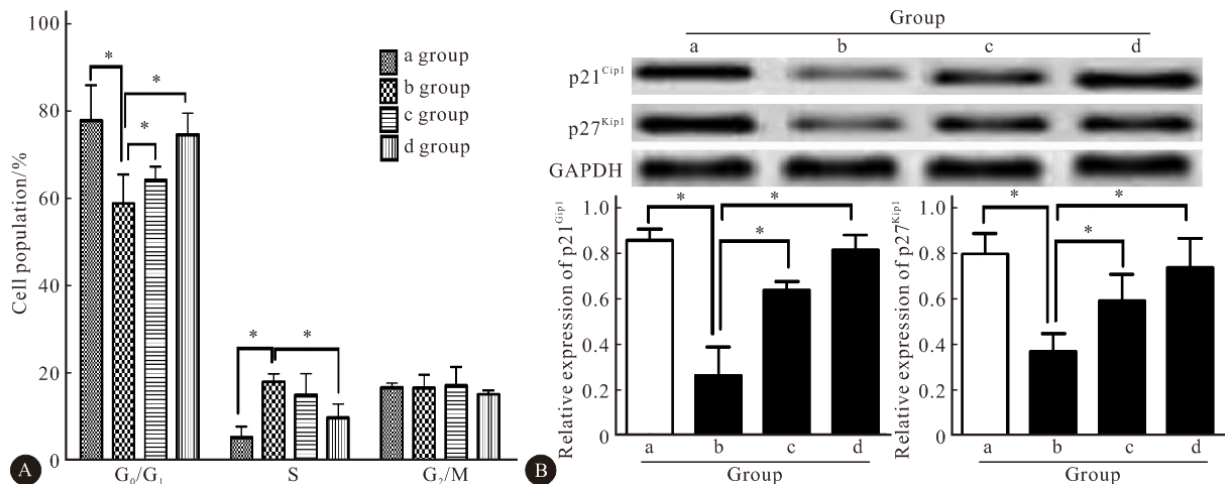


图 2 山奈酚对高糖培养的 HBZY-1 细胞周期(A)以及细胞周期相关蛋白表达(B)的影响

Fig 2 Effect of kaempferol on the cell cycle (A) and cell cycle-related proteins (B) of rat glomerular mesangial cell under high glucose condition

a, b, c and d denote the same as fig 1; * $P < 0.05$

与对照组相比,高糖处理的 HBZY-1 细胞能够降低细胞周期相关蛋白 p21^{Cip1} 以及 p27^{Kip1} 蛋白表达。山奈酚(10、30 μmol/L)处理高糖培养的 HBZY-1 细胞后,能够使 p21^{Cip1} 以及 p27^{Kip1} 蛋白表达得到恢复,且以 30 μmol/L 山奈酚更为明显。

2.3 山奈酚对高糖培养的 HBZY-1 细胞中 FN 和 CTGF 基因和蛋白表达的影响

Real-time PCR 和 Western blot 检测结果显示(图 3),与对照组相比,高糖处理 HBZY-1 细胞能够上调 FN、CTGF mRNA 和蛋白的表达水平(P

均 <0.05)。山奈酚(10、30 μmol/L)处理后能够拮抗高糖引起的 FN、CTGF mRNA 和蛋白表达改变,且以 30 μmol/L 山奈酚更为明显。

2.4 山奈酚对高糖培养的 HBZY-1 细胞 p38 MAPK 信号通路的影响

Western blot 检测结果显示(图 4),与对照组相比,高糖处理 HBZY-1 细胞能够增加 p-p38 MAPK 蛋白表达($P<0.05$),对 p38 MAPK 蛋白表达影响不大($P>0.05$)。山奈酚(10、30 μmol/L)处理后能拮抗高糖所致的 p-p38 MAPK 蛋白表达改变,且

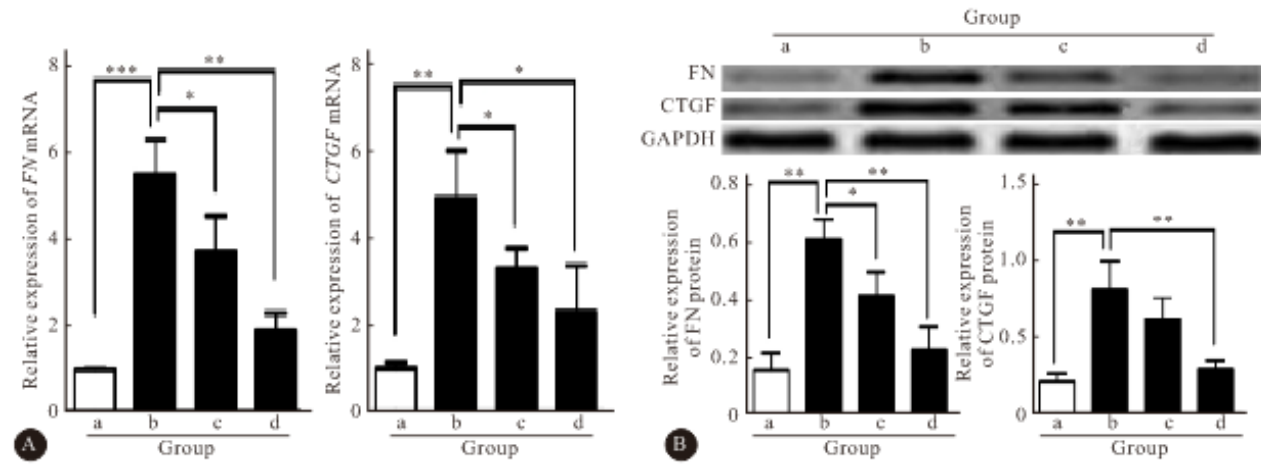


图 3 山奈酚对高糖培养的 HBZY-1 细胞中 FN、CTGF 基因(A)和蛋白(B)表达的影响
Fig 3 The effect of kaempferol on the mRNA (A) and the protein (B) expression levels of FN, CTGF in HBZY-1 cell under high glucose condition were determined by qRT-PCR and Western blot

a, b, c and d denote the same as fig 1; * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$

以 30 μmol/L 山奈酚更为明显。

3 讨论

研究发现肾系膜细胞的异常增殖在糖尿病肾病的早期肾脏肥大以及后期肾小球纤维化中起关键作用。肾系膜细胞的增殖与糖尿病肾病病变相关的刺激有关,而高糖是肾系膜细胞增殖很有效的刺激物^[9]。本研究高糖培养 HBZY-1 细胞能够有效促进细胞增殖,而山奈酚可以抑制由高糖培养引起的细胞增殖。山奈酚是雌激素相关受体的反向激动剂,且雌激素相关受体需要与 PCG-1 α 协同作用才对细胞增殖有效,同时最新的研究表明 PCG-1 α 与高糖培养下肾系膜细胞的增殖有关^[8, 10],因此山奈酚对高糖引起 HBZY-1 细胞增殖的抑制可能是通过作用于雌激素相关受体实现,需要进一步的研究证实。

本研究发现高糖处理可以引起 HBZY-1 细胞

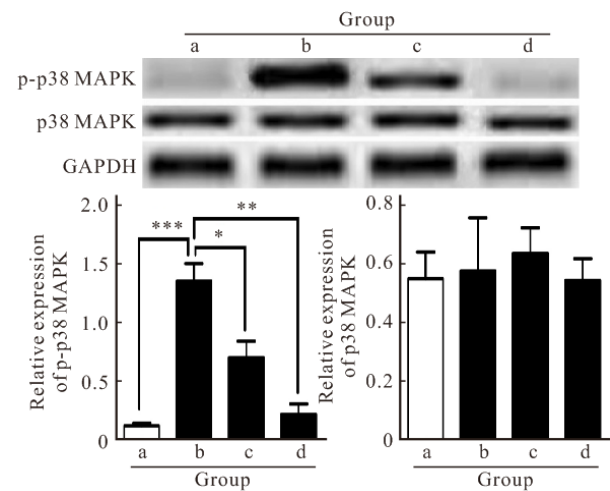


图 4 山奈酚对高糖培养的 HBZY-1 细胞 p38 MAPK 信号通路的影响
Fig 4 Effect of kaempferol on p38 MAPK signaling in HBZY-1 cell under high glucose condition

a, b, c and d denote the same as fig 1; * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$

周期在 G_1 期阻滞,并且增加 S 期细胞比例,而山奈酚处理可以增加高糖条件下 G_1 期细胞比例,同时降低 S 期细胞比例。 $p21^{Cip1}$ 和 $p27^{Kip1}$ 蛋白属于 Cip/Kip 蛋白家族, $p21^{Cip1}$ 和 $p27^{Kip1}$ 对细胞的周期调控是双向的,在高表达时, $p21^{Cip1}$ 和 $p27^{Kip1}$ 抑制 cyclin/cdk 复合物的形成,从而阻止 G_1 到 S 期的转变;在低表达时, $p21^{Cip1}$ 和 $p27^{Kip1}$ 可以促进 cyclin/cdk 复合物的形成,最终促使细胞通过 G_1/S 关卡进入 DNA 合成期^[11]。有研究发现 $p21^{Cip1}$ 以及 $p27^{Kip1}$ 蛋白与高糖引起的肾系膜细胞 G_1 期阻滞有关^[12]。本研究结果显示,山奈酚可以反转高糖对 $p21^{Cip1}$ 以及 $p27^{Kip1}$ 蛋白表达水平的下调,从而阻止细胞进入 DNA 合成期,减少细胞的增殖。结果提示山奈酚通过抑制细胞周期进展从而抑制高糖引起的 HBZY-1 细胞增殖。

FN 是肾细胞外基质的主要成分。它是一种比较大的糖蛋白,在细胞黏附、移动、增殖等方面起着极其重要的作用。FN 的过度合成与肾小球基底膜增厚以及细胞外基质聚集有关;有研究表明高糖可以使 FN 在扩张的肾小球系膜基质表达上调^[13]。CTGF 能够诱导细胞外基质蛋白的合成,其在纤维化组织中高表达,CTGF 蛋白的高表达可以促进细胞增殖和细胞外基质的合成以及积聚,从而参与纤维化的发生发展^[14]。在高糖条件下,CTGF 在肾脏细胞的表达明显增加^[13]。本研究也同时发现高糖可以诱导 HBZY-1 细胞中的 FN、CTGF 的表达上调,而高糖引起的这种上调可以被山奈酚所抑制。因此这些结果提示山奈酚抑制高糖诱导的 HBZY-1 细胞增殖至少有一部分是通过抑制细胞外基质聚集而起效果的。

很多研究发现,细胞 MAPK 家族在糖尿病肾病的发展中起到很重要的作用,这些蛋白激酶包括细胞外信号调节激酶 1/2 (extracellular signal regulated kinase 1/2, ERK1/2)、p38 MAPK 以及氨基末端激酶或应激活化激酶 (c-Jun NH2-terminal kinase, JNK)^[15-17]。p38 MAPK 的活化可以通过直接磷酸化糖原合成激酶 (GSK-3 β) 的 C 末端而抑制其活性,进而导致 β -catenin 的蓄积和转移,诱导下游靶基因的表达;而 p38 MAPK 的活化与转化生长因子 $\beta 1$ (transforming growth factor $\beta 1$, TGF- $\beta 1$) 过表达有关^[18]。研究发现^[19-20],糖尿病大鼠的肾小球以及高糖培养肾系膜细胞的 p38 MAPK 活性上升,而被激活的 p38 MAPK 能够上调 CTGF 蛋白的表达,从而促进肾系膜细胞增殖以

及细胞基质的聚集,抑制 p38 MAPK 信号通路可以拮抗高糖诱导的 FN 表达上调。本研究结果与前期研究结果一致,山奈酚可以有效的抑制高糖引起的大鼠肾系膜细胞中 p38 MAPK 蛋白的磷酸化,这些结果提示山奈酚通过抑制 p38 MAPK 信号通路活性从而拮抗高糖诱导的 HBZY-1 细胞的增殖。由于山奈酚是雌激素相关受体的反向激动剂,因此本研究的结果提示,山奈酚可能通过抑制雌激素相关受体的活性来抑制高糖诱导的大鼠肾系膜细胞 p38 MAPK 信号通路,从而进一步影响与肾系膜细胞纤维化相关因子的表达以及细胞的增殖,这些推论尚需要进一步的实验验证。

综上所述,本研究首次发现山奈酚对高糖诱导的 HBZY-1 细胞增殖起抑制作用,并通过分子生物学实验初步证实其作用的分子机制可能是通过抑制 p38 MAPK 信号通路,从而抑制 HBZY-1 细胞的增殖以及细胞外基质的聚集。但尚需进一步研究除 p38 MAPK 以外的其他信号通路是否参与了其作用机制,以及通过体内实验验证结果。

参 考 文 献

- [1] YANG W, LU J, WENG J, *et al.* Prevalence of diabetes among men and women in China. *N Engl J Med*, 2010, 362 (12):1090-1101.
- [2] GNUDI L. Angiopietins and diabetic nephropathy. *Diabetologia*, 2016, 59(8):1616-1620.
- [3] COVE-SMITH A, HENDRY BM. The regulation of mesangial cell proliferation. *Nephron Exp Nephrol*, 2008, 108 (4):e74-e79.
- [4] KAWANAMI D, MATOBA K, UTSUNOMIYA K. Signaling pathways in diabetic nephropathy. *Histol Histopathol*, 2016, 31(10):1059-1067.
- [5] JANG YS, WANG Z, LEE JM, *et al.* Screening of korean natural products for anti-adipogenesis properties and isolation of kaempferol-3-o-rutinoside as a potent anti-adipogenetic compound from solidago virgaurea. *Molecules*, 2016, 21(2): pii:E226[2016-10-11]. <http://www.mdpi.com/1420-3049/21/2/226>. doi:10.3390/molecules21020226.
- [6] KIM SH, CHOI KC. Anti-cancer effect and underlying mechanism (s) of kaempferol, a phytoestrogen, on the regulation of apoptosis in diverse cancer cell models. *Toxicol Res*, 2013, 29(4):229-234.
- [7] GUO K, LU J, HUANG Y, *et al.* Protective role of PGC-1 α in diabetic nephropathy is associated with the inhibition of ROS through mitochondrial dynamic remodeling. *PLoS One*, 2015, 10(4):e0125176[2016-10-11]. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0125176>.
- [8] WANG J, FANG F, HUANG Z, *et al.* Kaempferol is an estrogen-related receptor alpha and gamma inverse agonist. *FEBS Lett*, 2009, 583(4):643-647. (下转第 548 页)

- mesenchymal stem cells inhibits growth of breast cancer cells via depression of Wnt signaling. *Cancer Lett*, 2008, 269(1): 67-77.
- [7] JIANG YG, LUO Y, HE DL, *et al*. Role of Wnt/ β -catenin signaling pathway in epithelial-mesenchymal transition of human prostate cancer induced by hypoxia-inducible factor-1 α . *Int J Urol*, 2007, 14(11): 1034-1039.
- [8] DWYER RM, KHAN S, BARRY FP, *et al*. Advances in mesenchymal stem cell-mediated gene therapy for cancer. *Stem Cell Res Ther*, 2010, 1(3): 25.
- [9] GLENNIE S, SOEIRO I, DYSON PJ, *et al*. Bone marrow mesenchymal stem cells induce division arrest anergy of activated T cells. *Blood*, 2005, 105(7): 2821-2827.
- [10] AGGARWAL S, PITTENGER MF. Human mesenchymal stem cells modulate allogeneic immune cell responses. *Blood*, 2005, 105(4): 1815-1822.
- [11] CORCIONE A, BENVENUTO F, FERRETTI E, *et al*. Human mesenchymal stem cells modulate B-cell functions. *Blood*, 2006, 107(1): 367-372.
- [12] SOTIROPOULOU PA, PEREZ SA, GRITZAPIS AD, *et al*. Interactions between human mesenchymal stem cells and natural killer cells. *Stem Cells*, 2006, 24(1): 74-85.
- [13] MOSES MA, WIEDERSCHAIN D, LOUGHLIN KR, *et al*. Increased incidence of matrix metalloproteinases in urine of cancer patients. *Cancer Res*, 1998, 58(7): 1395-1399.
- [14] GOHJI K, FUJIMOTO N, HARA I, *et al*. Serum matrix metalloproteinase-2 and its density in men with prostate cancer as a new predictor of disease extension. *Int J Cancer*, 1998, 79(1): 96-101.
- [15] STEARNS ME, RHIM J, WANG M. Interleukin 10 (IL-10) inhibition of primary human prostate cancer-induced angiogenesis: IL-10 stimulation of tissue inhibitor of metalloproteinase-1 and inhibition of matrix metalloproteinase (MMP)-2/MMP-9 secretion. *Clin Cancer Res*, 1999, 5(1): 189-196.
- [16] ZHANG L, SHI J, FENG J, *et al*. Type IV collagenase (matrix metalloproteinase-2 and -9) in prostate cancer. *Prostate Cancer Prostatic Dis*, 2004, 7(4): 327-332.

(2016-10-10 收稿, 2017-02-25 修回)

编辑 余琳

(上接第 530 页)

- [9] LI XQ, TIAN W, LIU XX, *et al*. Corosolic acid inhibits the proliferation of glomerular mesangial cells and protects against diabetic renal damage. *Sci Rep*, 2016, 6: 26854 [2016-10-11]. <http://www.nature.com/articles/srep26854>. doi: 10.1038/srep26854.
- [10] JIANG XY, LU DB, JIANG YZ, *et al*. PGC-1 α prevents apoptosis in adipose-derived stem cells by reducing reactive oxygen species production in a diabetic microenvironment. *Diabetes Res Clin Pract*, 2013, 100(3): 368-375.
- [11] LABAER J, GARRETT MD, STEVENSON LF, *et al*. New functional activities for the p21 family of CDK inhibitors. *Genes Dev*, 1997, 11(7): 847-862.
- [12] LIU CM, QI XL, YANG YF, *et al*. Betulinic acid inhibits cell proliferation and fibronectin accumulation in rat glomerular mesangial cells cultured under high glucose condition. *Biomed Pharmacother*, 2016, 80: 338-342 [2016-10-11]. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopha.2016.02.040>.
- [13] ZHU L, ZHAO S, LIU S, *et al*. PTEN regulates renal extracellular matrix deposit via increased CTGF in diabetes mellitus. *J Cell Biochem*, 2016, 117(5): 1187-1198.
- [14] KLAASSEN I, VAN GEEST RJ, KUIPER EJ, *et al*. The role of CTGF in diabetic retinopathy. *Exp Eye Res*, 2015, 133: 37-48 [2016-10-11]. <http://dx.org/10.1016/j.exer.2014.10.016>.
- [15] BAI X, HOU X, TIAN J, *et al*. CDK5 promotes renal tubulointerstitial fibrosis in diabetic nephropathy via erk1/2/ppargamma pathway. *Oncotarget*, 2016, 7(24): 36510-36528.
- [16] WANG X, SHI L, HAN Z, *et al*. Follistatin-like 3 suppresses cell proliferation and fibronectin expression via p38MAPK pathway in rat mesangial cells cultured under high glucose. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8(9): 15214-15221.
- [17] WANG Y, WANG Y, LUO M, *et al*. Novel curcumin analog C66 prevents diabetic nephropathy via JNK pathway with the involvement of p300/CBP-mediated histone acetylation. *Biochim Biophys Acta*, 2015, 1852(1): 34-46.
- [18] TULI R, TULI S, NANDI S, *et al*. Transforming growth factor-beta-mediated chondrogenesis of human mesenchymal progenitor cells involves N-cadherin and mitogen-activated protein kinase and Wnt signaling cross-talk. *J Biol Chem*, 2003, 278(42): 41227-41236.
- [19] LIU W, LAN T, XIE X, *et al*. S1P2 receptor mediates sphingosine-1-phosphate-induced fibronectin expression via MAPK signaling pathway in mesangial cells under high glucose condition. *Exp Cell Res*, 2012, 318(8): 936-943.
- [20] LI X, LIU W, WANG Q, *et al*. Emodin suppresses cell proliferation and fibronectin expression via p38MAPK pathway in rat mesangial cells cultured under high glucose. *Mol Cell Endocrinol*, 2009, 307(1/2): 157-162.

(2017-01-15 收稿, 2017-05-12 修回)

编辑 沈进