

[文章编号] 1000-4718(2008)04-0737-06

## 锌指转录因子 Snail 1 在糖尿病大鼠肾组织中的表达\*

方开云, 姜晶磊, 肖 瑛, 石明隽, 桂华珍, 郭 兵, 张国忠<sup>Δ</sup>  
(贵阳医学院 病理生理学教研室, 贵州 贵阳 550004)

**[摘要]** 目的: 观察锌指转录因子 Snail 1 在糖尿病大鼠肾组织中的表达并探讨其与糖尿病肾病(DN)发生、发展的关系。方法: 链脲佐菌素(STZ)诱发大鼠糖尿病(DM), 分为2、4、8、12、16、20、24周以及16周A、20周A和24周A组, 其中A组动物从第13周起用胰岛素控制血糖至正常水平, 每个时点均设鼠龄匹配的正常对照组。测定各组血糖、24 h尿蛋白、血肌酐(Scr)、肾脏指数。PAS染色光镜观察肾脏病理改变。免疫组化、RT-PCR方法检测肾皮质 Snail 1 和纤连蛋白(FN)的蛋白及 mRNA 水平, Western blotting 检测 Snail 1 蛋白表达。结果: DM 各组大鼠的血糖、24 h尿蛋白、血肌酐、肾脏指数明显高于正常对照组( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), A组上述指标均明显低于DM组( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。Snail 1 免疫组化阳性染色见于各组 DM 大鼠肾小管, 正常对照组未见阳性表达, A组见弱阳性表达, 并随治疗时间延长而减少。DM组肾皮质 Snail 1、FN 蛋白和 mRNA 的表达水平高于正常对照组( $P < 0.01$ ), 而A组显著低于DM组( $P < 0.01$ )。Snail 1 与 FN mRNA 的表达水平呈显著正相关( $P < 0.01$ ), Snail 1 蛋白表达水平与血糖、尿蛋白、血肌酐、肾脏指数亦呈正相关( $P < 0.01$ )。结论: Snail 1 基因和蛋白在 DM 大鼠肾组织过度表达, 提示 Snail 1 可能参与了 DN 的发生、发展机制。

**[关键词]** 锌; 转录因子 Snail 1; 纤连蛋白类; 糖尿病肾病; 大鼠

**[中图分类号]** R363 **[文献标识码]** A

### Expression of zinc - finger transcription factor Snail 1 in the kidney of diabetic rats

FANG Kai - yun, LOU Jing - lei, XIAO Ying, SHI Ming - juan, GUI Hua - zhen, GUO Bing, ZHANG Guo - zhong

(Department of Pathophysiology, Guiyang Medical College, Guiyang 550004, China. E-mail: zgz107@163.com)

**[ABSTRACT]** **AIM:** To explore the expression of Snail 1 in renal tissues of diabetic rats, and to investigate its contribution to the progression of diabetic nephropathy. **METHODS:** Streptozotocin - induced diabetic rats were randomly divided into 2, 4, 8, 12, 16, 20, 24 weeks groups and 16 week A, 20 week A and 24 week A groups. A groups were treated with insulin to control blood glucose to normal level from the 13th week. Control groups were set up in age - matched time points. Blood glucose, 24 h urine protein, serum creatinine (Scr) and kidney index of rats were measured. Periodic acid - silver (PAS) staining was used to observe the renal pathological changes. The mRNA and protein expressions of Snail 1 and FN in renal cortex were detected by RT - PCR and immunohistochemical staining, respectively. Western blotting was employed to detect the expression of Snail 1 protein in the renal cortex. **RESULTS:** The levels of blood glucose, Scr, kidney weight index were increased remarkably in diabetic rats as compared with those in control groups ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), and decreased remarkably in the insulin - treated rats as compared with those in the diabetic rats ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). The Snail 1 protein was not detected by immunohistochemical staining in normal renal tissues. However, strongly positive staining was observed in renal tubules of diabetic rats. A time - dependent loss of Snail 1 expression was detected in the kidney in insulin - treated rats. The Snail 1 protein and mRNA of Snail 1 and FN were significantly up - regulated in the diabetic rats as compared with those in controls ( $P < 0.01$ ), while down - regulated in the insulin - treated diabetic rats ( $P < 0.01$ ). A close positive relationship existed between the mRNA expression of Snail 1 and FN ( $r = 0.800$ ,  $P < 0.01$ ). The level of Snail 1 protein expression was positively correlated with blood glucose, urine protein, Scr, kidney index ( $r = 0.877$ ,  $0.694$ ,  $0.522$ ,  $0.875$ ,  $P < 0.01$ ). **CONCLUSION:** These findings suggest that Snail 1

[收稿日期] 2007-01-18 [修回日期] 2007-09-28

\* [基金项目] 贵州省高层次人才特助经费资助项目(No. 2004-0517); 贵州省省长基金资助项目(No. 2005-303)

<sup>Δ</sup> 通讯作者 Tel: 0851-6908348; E-mail: zgz107@163.com

gene and protein expression are up-regulated in the kidney of rats with diabetes and may be involved in the pathogenesis of diabetic nephropathy.

[KEY WORDS] Zinc; Transcription factor Snail 1; Fibronectins; Diabetic nephropathies; Rats

糖尿病肾病(Diabetic nephropathy, DN)肾间质纤维化是导致终末期肾脏病的主要原因之一,但其发病机制尚未完全阐明<sup>[1]</sup>。近年的研究发现上皮细胞-间充质细胞转变(epithelial-mesenchymal transition, EMT)在DN肾间质纤维化发生、发展中起着不容忽视的作用<sup>[2,3]</sup>。Snail 1属于锌指转录因子Snail超家族成员,大量研究证实Snail基因在正常胚胎发育和肿瘤浸润、转移的EMT中起着重要作用<sup>[4,5]</sup>,作为调节EMT关键的转录因子,Snail 1是否参与DN的发生、发展,目前国内外尚未检索到有关报道。我们通过动态观察Snail 1基因和蛋白在糖尿病(diabetes mellitus, DM)及用胰岛素控制血糖后大鼠肾组织中的表达,初步探讨Snail 1与DN发生、发展的关系。

## 材 料 和 方 法

### 1 材料

1.1 动物 Sprague-Dawley (SD)大鼠,雄性,体重(180-200)g,由上海实验动物中心提供。

1.2 主要试剂 链脲佐菌素(STZ, Sigma),羊抗大鼠Snail 1多克隆抗体、驴抗羊IgG-HRP、TBS Blotto A Blocking Reagent(Santa Cruz),兔抗大鼠纤连蛋白(fibronectin, FN)多克隆抗体、小鼠抗大鼠 $\beta$ -actin单克隆抗体、羊抗小鼠IgG-HRP、SABC试剂盒、DAB显色试剂盒、ECM试剂盒(武汉博士德),EZ Spin Column RNA Purification Kit(BBI),RevertAid™ First Strand cDNA Synthesis Kit(Fermentas),Taq酶(TaKaRa),Snail 1、FN、 $\beta$ -actin引物合成(上海生工)。

### 2 实验方法

2.1 动物模型及分组 大鼠随机分成糖尿病2周(2weeks DM)、4周(4weeks DM)、8周(8weeks DM)、12周(12weeks DM)、16周(16weeks DM)、20周(20weeks DM)、24周(24weeks DM)、16周A(16weeks A)、20周A(20weeks A)、24周A(24weeks A)组( $n=8$ ),其中A组为胰岛素治疗组,每一时点均设与鼠龄匹配的正常对照组( $n=6$ )。糖尿病组予以尾静脉注射STZ 55 mg/kg,72 h后测血糖,血糖 $\geq 16.7$  mmol/L者入选。对照组注射相同体积枸橼酸盐缓冲液。胰岛素治疗组从第13周开始皮下注射精蛋白锌胰岛素,实行个体化剂量,以血糖控制在4-7 mmol/L,尿糖阴性为准。所有大鼠予标准饲料喂

养,自由饮水。于处死前1 d用代谢笼收集24 h尿测尿蛋白;股动脉取血测血糖、血肌酐。处死大鼠,取双肾,分别于4%多聚甲醛固定(用于病理及免疫组化染色)及-80℃保存(用于Western blotting和RT-PCR检测)。

2.2 生化指标测定 氧化酶法测血清葡萄糖,考马斯亮蓝法测尿蛋白,苦味酸法测血清肌酐,均按试剂盒说明书操作。

2.3 肾组织病理检查 将多聚甲醛固定之肾组织制成3  $\mu$ m厚的石蜡切片,行PAS染色,光镜下观察肾组织形态结构变化。以肾重(mg)与体重(g)比值作为肾脏指数。

2.4 免疫组化 石蜡切片脱蜡水化,经微波热修复及5% BSA封闭后,分别加入Snail 1抗体(1:200)、FN抗体(1:100),4℃孵育过夜。加入生物素化II抗,室温下孵育30 min;滴加SABC试剂,室温下孵育30 min;DAB显色。PBS代替I抗,作阴性对照。每张切片从肾皮质外侧向内,自上向下随机取10个高倍(400倍)视野,计数阳性染色的肾小管数,取均值表示Snail 1表达程度。FN的表达则参考郭兵等<sup>[6]</sup>方法计数,以10个高倍视野的阳性点数取均值。

2.5 Western blotting 取-80℃保存的肾皮质100 mg,加裂解液匀浆,离心取上清测定蛋白含量,每泳道加160  $\mu$ g蛋白质,经SDS-PAGE垂直凝胶电泳后,电转移至PVDF膜。用TBS Blotto A Blocking Reagent室温封闭2 h, TBST洗膜后加Snail 1抗体(1:200)4℃孵育过夜;洗膜后加驴抗羊IgG-HRP室温孵育2 h, TBST洗膜后用ECL试剂按说明曝光显影。将孵育Snail 1抗体的膜用抗体剥脱液剥脱后,按同样的方法与 $\beta$ -actin抗体(1:300)孵育,II抗用羊抗小鼠IgG-HRP。用Bio-Rad Chemo Doc XRS凝胶成像系统及Quantity One软件进行图像分析。以 $\beta$ -actin蛋白条带作内参照,计算Snail 1蛋白条带与 $\beta$ -actin蛋白条带灰度的百分值为Snail 1蛋白表达的相对水平。

2.6 RT-PCR 按EZ Spin Column RNA Purification Kit说明提取总RNA,用核酸蛋白分析仪检测含量, RNA的吸光度(A)260 nm/280 nm比值均在1.9-2.0。逆转录合成cDNA。PCR的引物序列、退火温度及扩增片段长度见表1。PCR产物经1.5%琼脂糖凝胶电泳,用Bio-Rad Chemo Doc XRS凝胶成像系统及Quantity One软件进行图像分析。以 $\beta$ -actin

作内参照,计算 Snail 1、FN 与  $\beta$ -actin 吸光度的比值表示其相对量。

表 1 PCR 引物序列及扩增条件

Tab 1 Sequences and conditions of primers used in PCR

Gene	Primer sequences	Annealing temperature(°C)	Cycles	Amplified fragment(bp)
Snail 1	Forward 5'-GTT CCA GCA GCC CTA CGA CGA-3'	62.4	45	412
	Reverse 5'-GCC CAG GCT GAG GTA CTC C-3'			
FN	Forward 5'-GCA AGC CTG AAC CTG AAG AGA CC-3'	62	45	446
	Reverse 5'-CCT GGT GTC CTG ATC ATT GCA TC-3'			
$\beta$ -actin	Forward 5'-GAA ATC GTG CGT GAC ATT AAG-3'	57.3	45	490
	Reverse 5'-CTA GAA GCA TTT GCG GTG GA-3'			

### 3 统计学处理

数据以均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示,用 SPSS 11.5 统计软件处理。组间比较采用方差齐性检验,做单因素方差分析,用 Pearson 方法进行相关分析。

## 结 果

### 1 生化指标测定结果

在 DM 发生、发展过程中,有少数大鼠死亡,实验结束时各组动物为 6 例,下同。糖尿病组各时点的血糖、24 h 尿蛋白、Scr、肾脏指数均明显高于对照组 ( $P < 0.05, P < 0.01$ ),胰岛素治疗组上述各指标明显低于相应时点糖尿病组 ( $P < 0.05, P < 0.01$ ),与对照组相比无显著差异,见表 2。

### 2 肾组织病理变化

PAS 染色见正常大鼠肾小球及肾小管结构清晰,肾小管上皮细胞排列整齐,基底膜完整,间质中未见炎症细胞浸润(图 1A)。DM 组大鼠 4 周后可见肾小管上皮细胞变性,部分肾小管腔内有细胞和管型,肾小管管腔扩张,上皮细胞萎缩,间质有较多细胞浸润,肾小管基底膜不规则增厚,肾小管-间质内紫红色染色物明显增多(图 1B)。治疗组大鼠肾脏病变均有不同程度改善,肾小球系膜区和肾小管-间质 PAS 染色阳性物质明显减少,肾小管上皮细胞病变明显改善(图 1C)。

### 3 免疫组化结果(表 3)

正常对照组肾小管及肾小球均无 Snail 1 蛋白表达(图 2A),糖尿病各组肾小球亦未见有 Snail 1 表达,而在各组糖尿病大鼠肾小管上皮细胞的胞浆和细胞核 Snail 1 表达十分显著(图 2B),8 周、12 周达高峰,而后稍有下降。胰岛素治疗组从 16 周开始 Snail 1 的表达就明显少于同期 DM 非治疗组,至 24 周基本未见其表达(图 2C)。

正常对照组大鼠肾小管基底膜及肾小球可见 FN 表达,肾间质无阳性信号(图 3A);DM 组大鼠肾

表 2 对照组(C)、糖尿病组(DM)、胰岛素治疗组(A)大鼠血糖、24 h 尿蛋白、血肌酐(Scr)、肾脏指数

Tab 2 The levels of blood glucose, 24h urine protein, Scr and kidney index in control (C), diabetes mellitus (DM) and insulin-treated DM (A) rats ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

Group	Blood glucose (mmol/L)	24 h urine protein (mg)	Scr ( $\mu$ mol/L)	Kidney index (mg/g)
2weeks C	6.72 $\pm$ 3.37	2.01 $\pm$ 1.21	58.86 $\pm$ 7.40	6.09 $\pm$ 0.48
DM	22.20 $\pm$ 2.73 *	21.40 $\pm$ 5.66 *	72.97 $\pm$ 8.61 <sup>A</sup>	11.27 $\pm$ 0.58 <sup>A</sup>
4weeks C	7.61 $\pm$ 0.55	5.28 $\pm$ 2.22	53.21 $\pm$ 3.21	5.85 $\pm$ 0.58
DM	23.49 $\pm$ 2.34 *	33.35 $\pm$ 7.80 *	74.68 $\pm$ 6.27 <sup>A</sup>	12.02 $\pm$ 0.83 *
8weeks C	7.89 $\pm$ 1.46	7.73 $\pm$ 1.22	54.93 $\pm$ 7.95	5.91 $\pm$ 0.41
DM	25.61 $\pm$ 2.66 *	26.45 $\pm$ 5.86 *	99.44 $\pm$ 23.21 *	13.21 $\pm$ 1.59 *
12weeks C	7.00 $\pm$ 0.71	3.41 $\pm$ 1.71	51.14 $\pm$ 10.43	5.69 $\pm$ 0.52
DM	23.43 $\pm$ 2.56 *	22.10 $\pm$ 7.31 *	97.80 $\pm$ 21.87 *	12.59 $\pm$ 2.46 *
16weeks C	8.04 $\pm$ 1.27	6.65 $\pm$ 1.24	73.46 $\pm$ 12.68	5.64 $\pm$ 0.26
DM	27.15 $\pm$ 1.20 *	26.38 $\pm$ 18.34 *	118.07 $\pm$ 11.88 *	10.39 $\pm$ 0.79 *
A	6.85 $\pm$ 3.48 <sup>#</sup>	5.23 $\pm$ 2.09 <sup>#</sup>	72.70 $\pm$ 6.55 <sup>#</sup>	8.42 $\pm$ 1.36 <sup>#</sup>
20weeks C	6.76 $\pm$ 0.49	7.28 $\pm$ 2.00	75.25 $\pm$ 29.80	5.76 $\pm$ 0.20
DM	18.51 $\pm$ 2.61 *	31.40 $\pm$ 7.44 *	114.14 $\pm$ 36.55 *	9.57 $\pm$ 0.93 *
A	5.32 $\pm$ 4.55 <sup>#</sup>	7.33 $\pm$ 2.88 <sup>#</sup>	88.00 $\pm$ 15.64 <sup>#</sup>	7.02 $\pm$ 0.28 <sup>#</sup>
24weeks C	7.96 $\pm$ 1.25	3.76 $\pm$ 1.19	89.72 $\pm$ 8.10	5.63 $\pm$ 0.38
DM	23.33 $\pm$ 2.63 *	49.35 $\pm$ 31.86 *	116.37 $\pm$ 38.28 *	10.27 $\pm$ 0.93 *
A	8.41 $\pm$ 0.74 <sup>#</sup>	6.25 $\pm$ 1.80 <sup>#</sup>	85.46 $\pm$ 14.63 <sup>#</sup>	6.33 $\pm$ 0.65 **

<sup>A</sup> $P < 0.05, *$   $P < 0.01$  vs control groups; <sup>#</sup> $P < 0.01$  vs DM group at identical time point.

小球及肾小管基底膜 FN 表达从 2 周开始逐渐增多,12 周后持续在较高水平,主要表达在肾小管周围肾间质中(图 3B),胰岛素治疗组大鼠肾组织 FN 表达明显减少(图 3C)。

### 4 Western blotting 结果

Western blotting 显示(图 4),正常对照组大鼠肾皮质未检测到 Snail 1 蛋白表达,而 DM 组大鼠 2 周开始即可检测到 Snail 1 蛋白表达,并随病程的延长而增加,12 周达高峰,16 周后稍有下降。胰岛素治疗组表达则明显下降,24 周 A 几乎检测不到其表达。

### 5 Snail 1、FN mRNA 表达

Snail 1 mRNA 在对照组有微弱表达(图 5),各时点 DM 组 Snail 1 mRNA 水平较对照组显著增加 ( $P < 0.01$ ),且随病程延长呈递增趋势,16 周后维持在较高水平。治疗组 Snail 1 mRNA 表达与同时点 DM 组相比较,明显下降 ( $P < 0.01$ ),与对照组比较差异无显著。

FN mRNA 在正常对照组有少量表达(图 5),各时点 DM 组 FN mRNA 表达较对照组显著增加 ( $P < 0.01$ ),且随病程延长逐渐增多,治疗组 FN mRNA 较糖尿病组显著降低 ( $P < 0.01$ )。

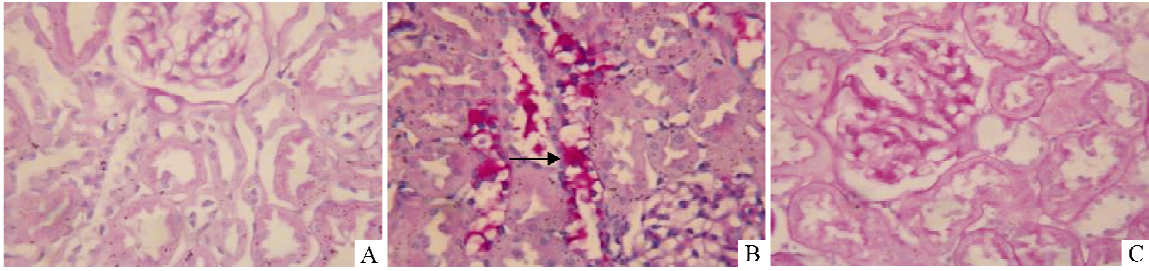


Fig 1 The histological changes of kidney in control (A), DM (B) and insulin - treated (C) rats at 16 weeks (PAS,  $\times 400$ ).

图 1 PAS 染色显示 16 周正常组 (C)、DM 组 (A) 及胰岛素治疗组 (C) 大鼠肾脏组织形态学变化

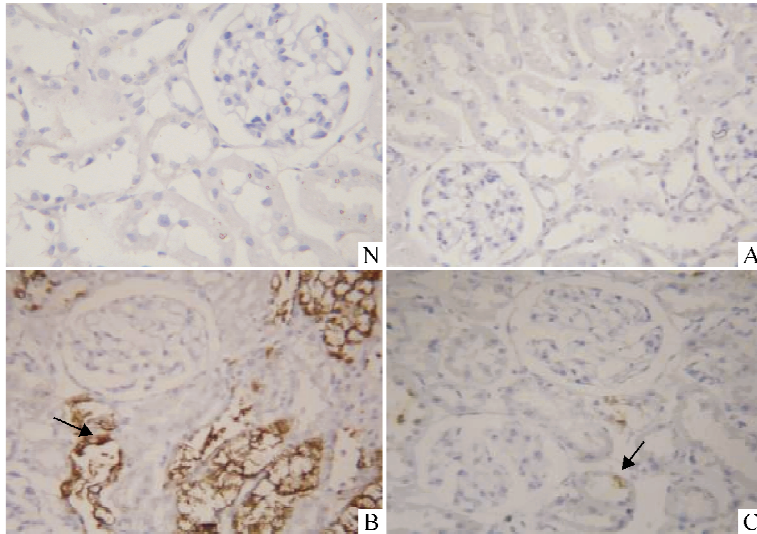


Fig 2 The changes of Snail 1 protein in the kidney of control (A), DM (B) and insulin - treated (C) rats at 16 weeks (SABC,  $\times 400$ ). N: negative control.

图 2 免疫组化显示 16 周正常组 (A)、DM 组 (B) 及胰岛素治疗组 (C) Snail 1 蛋白表达

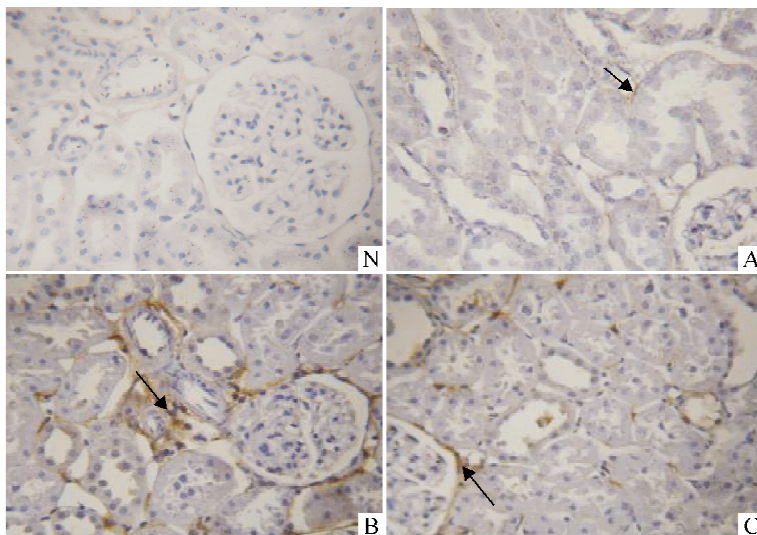


Fig 3 The changes of fibronectin (FN) protein in the kidney of control (A), DM (B) and insulin - treated (C) rats at 16 weeks (SABC,  $\times 400$ ). N: negative control.

图 3 免疫组化显示 16 周正常组 (A)、DM 组 (B) 及胰岛素治疗组 (C) FN 蛋白表达

## 6 相关性分析

糖尿病组 Snail 1 蛋白表达水平与血糖、24 h 尿蛋白量、Scr、肾脏指数呈正相关 ( $r = 0.877, 0.694,$

$0.522, 0.875, P < 0.01$ ); 肾皮质 Snail 1 mRNA 与 FNmRNA 的表达水平亦呈正相关 ( $r = 0.800, P < 0.01$ )。



**表 3 Snail 1 和 FN 在对照组 (C)、糖尿病组 (DM)、胰岛素治疗组 (A) 大鼠肾小管阳性表达程度**

Tab 3 Immunohistochemistry - positive expression of Snail 1 and FN in the tubules of kidney from control (C), diabetes mellitus (DM) and insulin - treated DM (A) rats ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 6$ )

Group	Snail 1	FN
2week C	0.00 ± 0.00	2.83 ± 1.47
2week DM	9.33 ± 2.25*	11.67 ± 1.63*
4weeks C	0.00 ± 0.00	2.42 ± 1.20
4weeks DM	9.50 ± 1.05*	13.33 ± 5.24*
8weeks C	0.00 ± 0.00	3.00 ± 2.10
8weeks DM	18.50 ± 3.45*	22.17 ± 2.79*
12weeks C	0.00 ± 0.00	2.67 ± 1.63
12weeks DM	14.83 ± 5.04*	22.17 ± 2.32*
16weeks C	0.00 ± 0.00	2.33 ± 1.03
16weeks DM	12.17 ± 2.56*	20.33 ± 3.08*
16weeks A	1.83 ± 0.68#	14.33 ± 3.35#
20weeks C	0.00 ± 0.00	2.83 ± 1.47
20weeks DM	11.50 ± 2.67*	21.67 ± 2.16*
20weeks A	1.67 ± 0.82#	11.17 ± 1.03#
24weeks C	0.00 ± 0.00	3.00 ± 1.41
24weeks DM	11.83 ± 3.43*	22.00 ± 3.34*
24weeks A	1.00 ± 0.632#	9.33 ± 1.03#

\*  $P < 0.01$  vs control groups; #  $P < 0.01$  vs DM group at identical time points.

### 讨 论

STZ 能特异性破坏胰岛  $\beta$  细胞而广泛用于诱导 I 型糖尿病的模式制作, 但大剂量 (150 - 200mg/kg) STZ 破坏胰岛  $\beta$  细胞的同时也能损伤肾脏而导致蛋白尿<sup>[7]</sup>。相对而言小剂量 STZ 的肾毒性要小得多, 因此在实验中我们采用小剂量 STZ, 同时用胰岛素控制血糖后, DM 大鼠尿蛋白显著降低, 因此可排除

STZ 的肾毒性对实验结果的影响。

小剂量 STZ 注射后实验组大鼠血糖均  $\geq 16.7$  mmol/L 而被纳入 DM 组。2 周后 DM 大鼠即有肾脏受累的表现, 出现明显的蛋白尿, 并随病程进展细胞外基质明显增多, 提示已发生了糖尿病肾病并出现肾脏纤维化。这一结果与我们既往的研究结果一致<sup>[8]</sup>。

Snail 家族属锌指转录因子, 1984 年首次在黑腹果蝇胚胎中发现, 目前其家族成员有 50 多种, 脊椎动物有 3 种, 即 Snail 1 (previously Snail)、Snail 2 (previously Slug) 和 Snail 3 (previously Smuc)。近期发现 Snail 基因在胚胎发育及肿瘤浸润、转移机制中起着关键作用<sup>[9]</sup>。然而, 关于 Snail 基因在脏器纤维化中的作用研究却很少<sup>[10,11]</sup>, 在 DN 的研究中未检索到相关报道。通过动态观察, 我们发现从 2 周至 24 周, Snail 1 蛋白在所有 DM 大鼠高表达, 胰岛素治疗组的表达则明显减少, 这表明了糖尿病状态促进了肾脏 Snail 1 的表达。并且胰岛素治疗组大鼠在肾脏 Snail 1 表达回降的同时肾功能及肾脏病理改变逐渐改善。分析结果表明, Snail 1 蛋白表达的变化趋势与肾功能的改变密切相关, 提示 Snail 1 与 DN 的发生、发展有关。

免疫组化显示, Snail 1 仅表达于肾小管细胞及间质细胞, 未观察到肾小球有任何阳性表达。Sato 等<sup>[10]</sup>用 UUO 模型采用原位杂交方法也同样只在肾小管上皮细胞检测到 Snail 1 mRNA 的表达。这可能意味着 Snail 1 参与肾小管间质病变的发生、发展。

过多的细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 沉积是肾脏纤维化重要的病理变化, 而 FN 是 ECM 的重要组成部分, 免疫组化和 RT - PCR 结果显示随 DM 的病程延长肾皮质 FN 蛋白和 mRNA 表达水平逐渐增多, 这与本实验室以前的研究结果一致<sup>[6]</sup>。文献提示 Snail1 基因可以上调间充质细胞标志物,

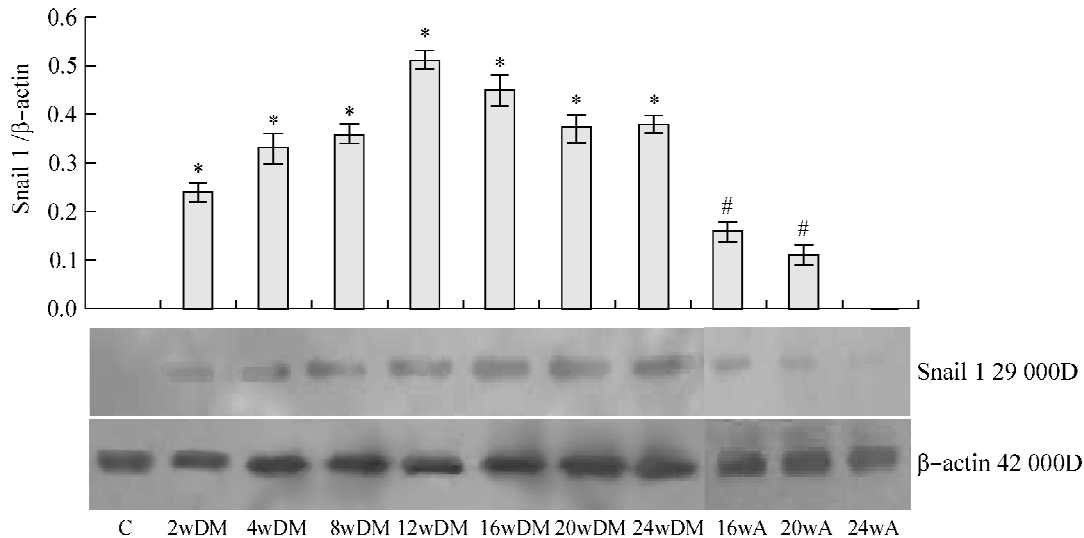


Fig 4 Western blotting results showed the expression of Snail 1 protein in kidney cortex of control (C), DM and insulin - treated (A) rats. \*  $P < 0.01$  vs control group; #  $P < 0.01$  vs DM group at identical time points.  $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 6$ .

图 4 Western blotting 结果显示对照组 (C)、糖尿病 (DM) 和胰岛素治疗组 (A) 大鼠肾皮质 Snail 1 蛋白表达水平

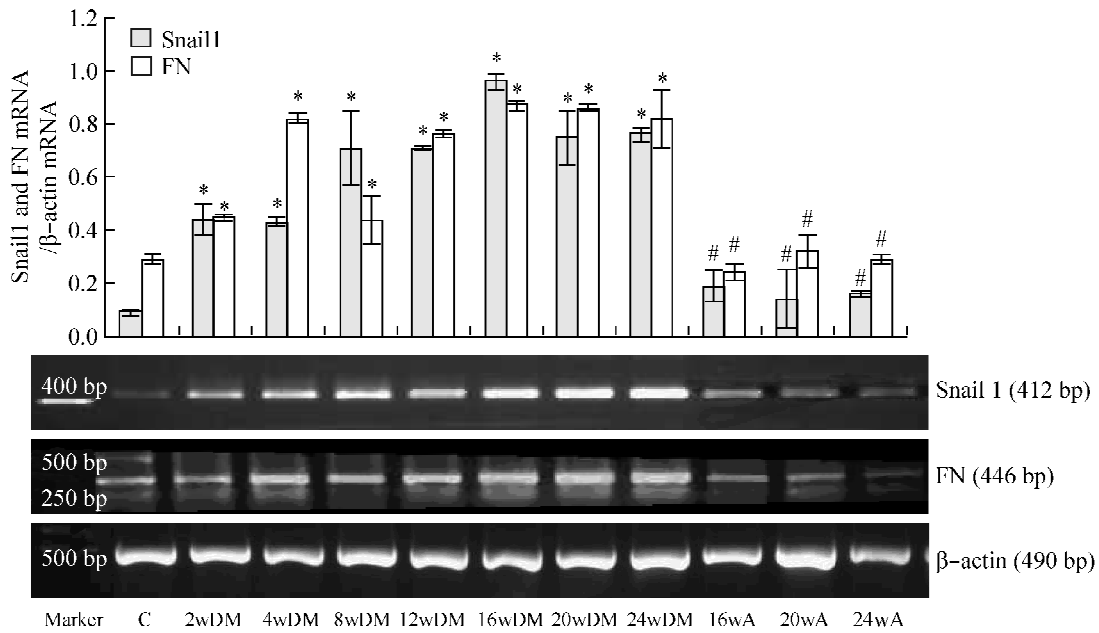


Fig 5 Expression levels of Snail 1 and FN mRNA in renal cortex of control (C), DM and insulin - treated(A) rats. \*  $P < 0.01$  vs control group; #  $P < 0.01$  vs DM group at identical time point.  $\bar{x} \pm s$ .  $n = 6 - 8$ .

图5 对照组(C)、糖尿病(DM)和胰岛素治疗组(A)大鼠肾皮质 Snail 1 和 FN mRNA 表达水平

其中包括 FN<sup>[12,13]</sup>。研究表明 Snail 1 能与 E - cadherin 启动子特异性 E - box 元件结合,抑制 E - cadherin 转录,从而触发 EMT,使上皮细胞丧失细胞间紧密黏附性,继而 FN、vitronectin、成纤维细胞特异性蛋白 - 1 (fibroblast - specific protein - 1, FSP1) 等基因表达上调。我们的研究发现肾皮质 Snail 1 和 FN mRNA 表达水平呈显著正相关,提示了 Snail 1 参与 DN 肾脏 FN 生成增多的机制。

总之,我们的研究首次观察到 Snail 1 基因和蛋白在 DN 大鼠肾组织表达显著上调,可能在 DN 的发生、发展乃至纤维化过程中起重要作用。关于 Snail 1 在 DN 肾脏纤维化中的确切作用机制,有待进一步研究。

【参 考 文 献】

[1] 叶 迅, 李 红, 张晋红, 等. 糖尿病大鼠肾皮质细胞表型转化的探讨[J]. 中国病理生理杂志, 2007, 23 (8): 1645 - 1647.

[2] Li JH, Wang W, Huang XR, et al. Advanced glycation end products induce tubular epithelial - myofibroblast transition through the RAGE - ERK1/2 MAP kinase signaling pathway[J]. Am J Pathol, 2004, 164(4): 1389 - 1397.

[3] Burns WC, Twigg SM, Forbes JM, et al. Connective tissue growth factor plays an important role in advanced glycation end product - induced tubular epithelial - to - mesenchymal transition: implications for diabetic renal disease [J]. J Am Soc Nephrol, 2006, 17(9): 2484 - 2494.

[4] Nieto, MA. The snail superfamily of zinc - finger transcription factors[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2002, 3(3): 155 - 166.

[5] Vega S, Morales AV, Ocaña OH, et al. Snail blocks the

cell cycle and confers resistance to cell death[J]. Genes Dev, 2004, 18(10): 1131 - 1143.

[6] 郭 兵, 肖 瑛, 万昌武, 等. 糖尿病大鼠肾小管 TGF - β<sub>1</sub> 和 MAPK1/3 表达的动态观察[J]. 中国病理生理杂志, 2004, 20(9): 1681 - 1685.

[7] Breyer MD, Bottinger E, Brosius III FC, et al. Mouse models of diabetic nephropathy[J]. J Am Soc Nephrol, 2005, 16(1): 27 - 45.

[8] 杨 勤, 谢汝佳, 韩 冰, 等. 转化生长因子胞内信号蛋白 Smad2/3 在糖尿病大鼠肾脏表达的动态观察及意义研究[J]. 中国病理生理杂志, 2006, 22(10): 1879 - 1884.

[9] Barrallo - Gimeno A, Nieto MA. The Snail genes as inducers of cell movement and survival: implications in development and cancer[J]. Development, 2005, 132(14): 3151 - 3161.

[10] Sato M, Muragaki Y, Saika S, et al. Targeted disruption of TGF - beta1/Smad3 signaling protects against renal tubulointerstitial fibrosis induced by unilateral ureteral obstruction[J]. J Clin Invest, 2003, 112(10): 1486 - 1494.

[11] Margetts PJ, Bonniaud P, Liu Limin, et al. Transient overexpression of TGF - β<sub>1</sub> induces epithelial mesenchymal transition in the rodent peritoneum [J]. J Am Soc Nephrol, 2005, 16(2): 425 - 436.

[12] Guaita S, Puig I, Franci C, et al. Snail induction of epithelial to mesenchymal transition in tumor cells is accompanied by MUC1 repression and ZEB1 expression[J]. J Biol Chem, 2002, 277(42): 39209 - 39216.

[13] Zhou BP, Deng J, Xia W, et al. Dual regulation of Snail by GSK - 3β - mediated phosphorylation in control of epithelial - mesenchymal transition[J]. Nat Cell Biol, 2004, 6(10): 931 - 940.