

## · 基础研究 ·

# SiRNA 干扰对高糖环境下大鼠肾小管上皮细胞 Toll 样受体 4/转接子髓分化因子 88 信号通路的影响

吕金雷 杨玉娟 吕柳青 王瑜 杨柳 陈钦开 时军

**【摘要】** 目的 通过 siRNA (RNAi) 干扰选择性下调 TLR4 基因的表达, 探讨高糖对大鼠肾小管上皮细胞 (NRK-52E) Toll 样受体 4 (toll-like receptor 4, TLR4) 及其转接子髓分化因子 88 (myeloid differentiation factor 88, MyD88) 和炎性因子分泌的影响。方法 设计并合成 3 对针对大鼠 TLR4 基因的特异性 siRNA 片段, 以带有红色荧光的 BLOCK-IT Alexa Fluor 作为阴性对照, 荧光显微镜下观察细胞转染效率, 实时定量 PCR 检测 TLR4 mRNA 的表达变化。挑选基因沉默效率最佳的 siRNA 用于进一步实验, 细胞被分 5 组: (1) 正常糖对照组 (NG); (2) 高糖组 (HG); (3) HG+血管紧张素 II (Ang II)+空转组; (4) HG+Ang II+siRNA 组; (5) HG+Ang II+厄贝沙坦 (IrB) 组。采用实时定量 PCR 法检测 TLR4、MyD88 mRNA 的表达, Western 印迹检测 TLR4、MyD88 及核因子 kappa B (NF- $\kappa$ B) 蛋白表达; ELISA 法检测巨噬细胞趋化蛋白 1 (MCP-1)、白细胞介素 6 (IL-6) 的表达。结果 与 NG 组比较, 高糖组 TLR4/MyD88 mRNA 及 TLR4、MyD88、NF- $\kappa$ B 蛋白表达水平明显上调 (均  $P < 0.01$ ), 细胞上清 MCP-1、IL-6 水平亦升高 ( $P < 0.01$ ); 空转组与高糖组比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); SiRNA 组、ARB 组 TLR4、MyD88 mRNA 明显下调, TLR4、MyD88 及 NF- $\kappa$ B 蛋白明显下调, MCP-1、IL-6 表达亦下调 (均  $P < 0.01$ )。结论 高糖上调小管上皮细胞 TLR4/MyD88 信号及炎性细胞因子表达, Ang II 可增强此效应; 特异性基因沉默可阻断由高糖及 Ang II 诱导的 TLR4 信号通路的激活, 并下调炎性介质的释放; TLR4 信号通路在高糖、高肾素环境肾小管上皮细胞炎性反应机制中发挥关键作用。

**【关键词】** 高糖; 血管紧张素 II; 小干扰 RNA; TLR4 信号; 细胞因子

**Impact of TLR4-siRNA transfection on the expression of TLR4/MyD88 Signaling in rat tubular epithelial cells under high glucose condition** LV Jin-lei, YANG Yu-Juan, LV Liu-qing, WANG Yu, YANG Liu, CHEN Qin-kai, SHI Jun. Division of Nephrology, The First Affiliated Hospital of Nanchang University; Division of Nephrology, The Second Hospital of Huangshi City, Nanchang 330006, China  
Corresponding author: CHEN Qin-kai, Email: qinkaich@163.com

**【Abstract】 Objective** To observe the expression of toll like receptor 4 (TLR4) Signaling and the release of inflammation factors in rat tubular epithelial cell (NRK-52E) under high glucose condition after TLR4 - siRNA transfection. **Methods** Three TLR4 - siRNA sequences were designed and synthesized. The transfection efficiency was observed by fluorescence microscope after transfection, and the expression of TLR4 mRNA was detected by real time PCR. The most effective siRNA was selected to be used for forward experiments. After transfection for 24 h, cells were stimulated with 25 mmol/L glucose and/or  $10^{-7}$  mmol/L Angiotension II (Ang II) for 12 h, 24 h; cells without stimulation were as normal control. Real - time PCR was used to analyze TLR4 and myeloid differentiation factor 88

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-7097.2013.11.008

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81060063); 江西省教育厅科学基金项目 (JJJ11354)

作者单位: 330006 南昌大学附属第一医院肾内科 (吕金雷、杨玉娟、王瑜、杨柳、陈钦开), 移植科 (时军); 湖北省黄石市二医院 (吕柳青)

通信作者: 陈钦开, Email: qinkaich@163.com

(MyD88) mRNA expression; Western blot was used to observe TLR4/MyD88 and NF- $\kappa$ B protein expression. ELISA assay was used to detect the concentration of monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1), interleukin-6(IL-6) in cell supernatant after cells were stimulated for 24 h. **Results** TLR4/MyD88 mRNA and TLR4/MyD88/NF- $\kappa$ B protein were highly expressed under high glucose or Ang II co-incubated NRK-52E( $P < 0.01$ ), the MCP-1 and IL-6 levels were also increased markedly compared with normal control group ( $P < 0.01$ ). TLR4/MyD88 mRNA and TLR4/MyD88/NF- $\kappa$ B protein expressions were obviously inhibited in cells that were transfected with TLR4-siRNA compared with high glucose group( $P < 0.01$ ), MCP-1 and IL-6 production decreased remarkably compared with high glucose or Ang II co-stimulated group( $P < 0.01$ ). **Conclusions** High glucose can lead to the activation of TLR4/MyD88/NF- $\kappa$ B signaling and the secretion of inflammation factors in NRK-52E, Ang II further augments these effects. The effect can be blocked efficiently by specific siRNA gene silence. TLR4 signaling plays a pivotal role in the innate-immune inflammatory reaction in NRK-52E.

**【Key word】** High-glucose; Angiotension II; siRNA; TLR4 signaling

糖尿病肾病(DN)的发病机制涉及糖、脂质代谢异常,血流动力学改变,遗传易感因素及氧化应激等众多因素。近年来,天然免疫Toll样受体(Toll like receptors, TLRs)在肾脏疾病中的作用越来越受到关注<sup>[1-2]</sup>,有学者认为DN是天然免疫受体介导的炎性反应性疾病<sup>[3-4]</sup>。TLR4为TLRs家族成员,为I型跨膜蛋白,与相应配体结合后可激活核因子 $\kappa$ B,诱导炎性因子释放<sup>[5]</sup>。之前我们及国外学者的研究已证实高糖和血管紧张素II刺激肾小管上皮细胞和系膜细胞TLR4表达增加,引起炎性因子上调和细胞凋亡等病理生理变化<sup>[6-8]</sup>。我们应用siRNA技术特异性地下调高糖环境中肾小管上皮细胞TLR4的表达,观察高糖和高肾素环境下小管上皮细胞TLR4信号通路及相关炎症介质表达变化,探讨高糖和Ang II引起小管上皮细胞持续炎性反应的具体机制,为防治DN炎性病变寻找关键的调控靶点。

**材料和方法**

**一、细胞和试剂**

1. 细胞及基因序列:大鼠肾小管上皮细胞(NRK-52E,中国科学院上海生命科学院细胞库)。目的基因TLR4 siRNA由美国invitrogen公司设计并合成,合成基因序列见表1。以带有红色荧光的BLOCK-IT Alexa Fluor作为阴性对照。

2. 试剂:DMEM培养基、胎牛血清、胰蛋白酶(美国HyClone);RNA提取试剂盒、血管紧张素II(美国Sigma),反转录试剂、PCR试剂及PCR引物合成(美国invitrogen);大鼠IL-6、MCP-1 ELISA试

**表1 基因引物序列**

基因	引物序列
siRNA1	正义链:5'-UUUACAGCCAGCAAUAAGUAUCAGG dTdT-3' 反义链:3'-dTdT GCUGAGGCAGCAGGUCGAAUUGUAU-5'
siRNA2	正义链:5'-AUACAAUUCGACCUCGUGCCUCAGCdTdT-3' 反义链:3'-dTdT GCUGAGGCAGCAGGUCGAAUUGUAU-5'
siRNA3	正义链:5'-AUAUUAGGAAGUACCUCUAUGCAGG dTdT-3' 反义链:3'-dTdT CCUGCAUAGAGGUACUCCUAAUUAU-5'
TLR4	上游:TCGGTGGTCACTGTGCTTGTGG 下游:AAAGCTGAAAG-CGGGGCACTCC
MyD88	上游:TCAACAAGCGAGCGCACCGT 下游:TGAGCGCGACCAACGGTAGA
$\beta$ -actin	上游:CACCCGCGAGTACAACCTTC 下游:CCCATACCCACCATCACACC

剂盒(上海西唐);TLR4抗体、MyD88抗体、NF- $\kappa$ Bp65抗体(美国Abcam);辣根酶标记山羊抗小鼠IgG、辣根酶标记山羊抗兔IgG(中山金桥)。

**二、方法**

1. 细胞培养:NRK-52E细胞长至70%~80%融合时,用0.25%胰酶在37 $^{\circ}$ C、5%CO<sub>2</sub>的培养箱中消化,细胞重悬和计数后均匀接种于6孔板,每孔(2~3) $\times 10^5$ 个细胞,置37 $^{\circ}$ C、5%CO<sub>2</sub>温箱中孵育。于细胞长至40%~50%融合时转染,以带有红色荧光的BLOCK-IT Alexa Fluor作为阴性对照,3对siRNA转染。细胞被分为以下6组分别培养和转染:(1)对照组:正常糖浓度组(GS 5.6 mmol/L, NG);(2)高糖组(GS 25 mmol/L, HG);(3)HG+空转组;(4)HG+siRNA-1组;(5)HG+siRNA-2组;(6)HG+siRNA-3组。分别于转染后24、48 h后在荧光显微镜下观察细胞转染率,挑选最佳时间及基

因沉默效果最佳的 siRNA 进行下一步分组实验。

2. 分组: 细胞转染 24 h 后按以下分组干预: (1) 对照组: 正常糖浓度组 (GS 5.6 mmol/L, NG); (2) 高糖组 (25 mmol/L, HG); (3) HG+血管紧张素 II ( $10^{-7}$  mmol/L, Ang II)+空转组; (4) HG+Ang II+厄贝沙坦 ( $10^{-5}$  mmol/L, IrB) 组; (5) HG+siRNA-2 组; (6) HG+siRNA-3 组。12 h 后收获细胞并提取总蛋白和 RNA, 检测 TLR4、MyD88 mRNA 及 TLR4、MyD88、NF- $\kappa$ B 蛋白的表达, 留取 24 h 细胞上清液检测细胞因子水平。

3. 实时定量 PCR 法检测 TLR4、MyD88 mRNA 表达: 转染后的细胞接种于 6 孔板并按上述分组干预 12 h 后, 按总 RNA 提取试剂盒、逆转录试剂盒说明分别提取细胞总 RNA 及合成 cDNA 模板, 引物由美国 invitrogen 合成, 引物序列见表 1。 $\beta$ -actin mRNA 作为内参照, SDS 软件分析 cDNA 扩增的相对表达量, 实时定量 PCR 仪 (ABI7500) 检测出相对的表达量 RQ 值 ( $RQ \text{ 值} = 2^{-\Delta\Delta CT}$ ) 用于统计分析。相同实验条件下重复实验 3 次。

4. Western 印迹检测 TLR4、MyD88、NF- $\kappa$ B 蛋白的表达: 转染后的细胞接种于 6 孔板并按上述分组干预 12 h 后, 100 ml 细胞裂解液提取总蛋白, BCA 法检测蛋白浓度。取 30 mg 蛋白样品 SDS-PAGE 电泳 3 h, 200 mA 转膜 90 min 至 NC 膜上, 置 5% 脱脂牛奶封闭 30 min, 分别用鼠抗大鼠 TLR4 单抗 (1:1000)、羊抗大鼠 MyD88 多抗 (1:1000)、羊抗大鼠 NF- $\kappa$ B 多抗 (1:1000)、鼠抗大鼠  $\beta$ -actin 多抗 (1:2000) 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜, 辣根过氧化物酶标记抗鼠、抗羊 IgG (1:5000) 室温 1 h, ECL 显色成像。相同实验条件重复 3 次。Gelpro32 软件比较目的条带相对灰度值。

5. ELISA 检测细胞上清液 IL-6、MCP-1 水平: 收集 24 h 上述处理组细胞上清液, 按 ELISA 试剂盒说明书操作, 相同标本设 3 个复孔, 重复 3 次, 在酶标仪 450 nm 测定吸光度 A 值, 根据标准曲线及 A 值计算各样本的相应浓度。

### 三、统计学处理

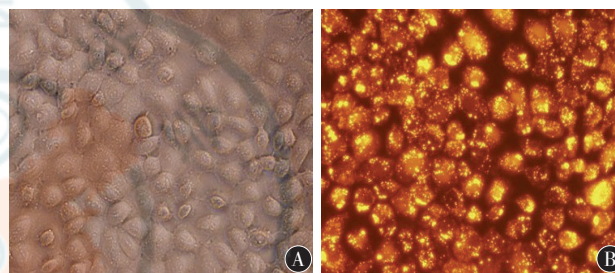
应用 SPSS 18.0 软件进行统计学数据处理, 计量数据用  $\bar{x} \pm s$  表示, 用单因素方差分析比较各组间的差异。

## 结 果

### 1. 基因沉默效果最佳的 siRNA 序列的筛选:

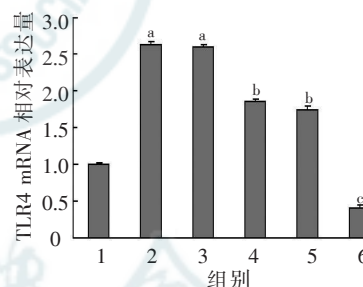
以带有红色荧光的 BLOCK-IT Alexa Fluor 显示转染效率, 结果表明 24 h、48 h 的转染率差异无统计学意义, 但转染 48 h 后细胞死亡率明显上升, 本实验细胞均采用转染 24 h。

实时荧光定量 PCR 检测结果显示, 与对照组比较, HG 及 HG+空转组 TLR4、MyD88 mRNA 表达增加 (均  $P < 0.01$ ); HG 和 HG+空转组组间差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 排除了转染试剂的作用。3 对 siRNA 转染后均可下调 TLR4 mRNA 的表达, 其中以转染 siRNA-3 组的 TLR4 mRNA 表达最低。因此, 本实验采用 siRNA-3 用于后续实验。见图 1, 图 2。



注: A: 转染前; B: 转染 24 h

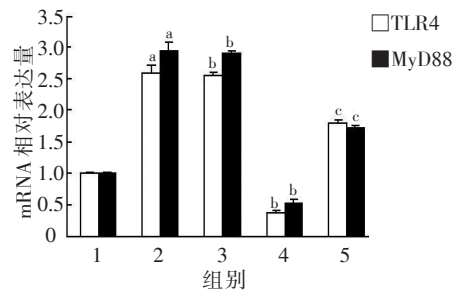
图 1 NRK-52E 细胞转染结果鉴定 (荧光显微镜  $\times 200$ )



注: 1: 对照组; 2: 高糖组; 3: HG+空转组; 4: HG+siRNA-1 组; 5: HG+siRNA-2 组; 6: HG+siRNA-3 组; 与对照组比较,  $^a P < 0.01$ ; 与 HG 和空转组比较,  $^b P < 0.05$ ,  $^c P < 0.01$

图 2 高糖和 SiRNA 转染对 NRK-52E 细胞 TLR4 mRNA 表达的影响 (实时定量 PCR)

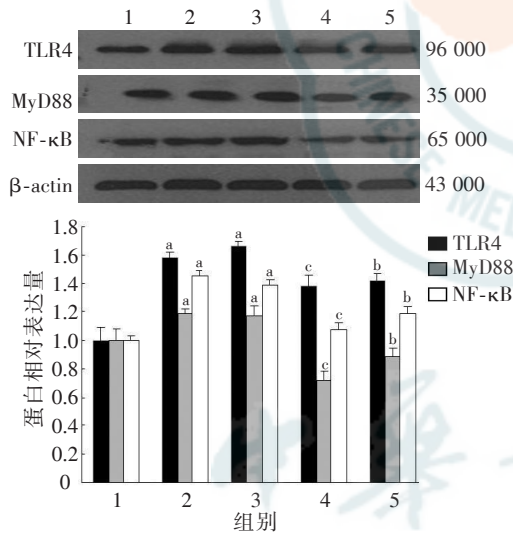
2. 细胞转染后 TLR4/MyD88 表达改变: 实时荧光定量 PCR 检测结果显示: 与对照组比较, 12 h HG 及 HG+Ang II+空转组的 TLR4、MyD88 mRNA 表达明显增加 (均  $P < 0.01$ ); 与高糖组比较, HG+Ang II+siRNA 组及 HG+Ang II+IrB 组 TLR4、MyD88 mRNA 表达明显下降 (均  $P < 0.01$ ); 与对照组比较, siRNA 组 TLR4 mRNA 的表达较亦明显下降 ( $P < 0.01$ )。见图 3。



注: 1: 对照组; 2: 高糖组; 3: HG+Ang II + 空转组; 4: HG+Ang II + siRNA 组; 5: HG+Ang II + Irb 组。与对照组比较, <sup>a</sup>*P* < 0.01; 与 HG 和空转组比较, <sup>b</sup>*P* < 0.01, <sup>c</sup>*P* < 0.05

图 3 各组细胞 TLR4/MyD88 mRNA 表达变化(实时定量 PCR)

3. 各组细胞 TLR4、MyD88、NF-κBp56 蛋白的表达: 与对照组比较, 高糖组及 HG+Ang II + 空转组 TLR4、MyD88 蛋白表达显著增加(均 *P* < 0.01), 与高糖组及 HG+Ang II + 空转组比较, HG+Ang II + siRNA 组及 HG+Ang II + Irb 组蛋白表达下调(均 *P* < 0.01)。见图 4。



注: 1: 对照组; 2: 高糖组; 3: HG+ Ang II + 空转组; 4: HG+Ang II + siRNA 组; 5: HG+Ang II + Irb 组; 与对照组比较, <sup>a</sup>*P* < 0.01; 与 HG 或空转组比较, <sup>b</sup>*P* < 0.05, <sup>c</sup>*P* < 0.01

图 4 各组细胞 TLR4、MyD88、NF-κB 蛋白表达水平比较 (Western 印迹)

4. 各组细胞上清 IL-6、MCP-1 水平变化: 与对照组比较, 高糖组及 HG+Ang II + 空转组细胞上清 IL-6、MCP-1 的水平升高, 组间比较差异有统计学意义(均 *P* < 0.01); 与高糖组及 HG+Ang II + 空转组比较, HG+Ang II + siRNA 组及 HG+Ang II + Irb 组 IL-6、MCP-1 水平下降(均 *P* < 0.01)。见表 2。

表 2 各组细胞上清 MCP-1、IL-6 水平比较 (pg/L, n=3)

组别	MCP-1	IL-6
对照组	2049.92±59.21	53.53±2.65
高糖组	5309.86±267.07 <sup>a</sup>	95.98±3.29 <sup>a</sup>
HG+Ang II + 空转组	5540.19±118.74 <sup>a</sup>	103.81±3.72 <sup>a</sup>
HG+Ang II + siRNA 组	2630.94±149.54 <sup>b</sup>	70.03±3.08 <sup>b</sup>
HG+Ang II + Irb 组	3507.87±104.50 <sup>b</sup>	82.52±2.69 <sup>b</sup>

注: 与对照组比较, <sup>a</sup>*P* < 0.01; 与 HG 和空转组比较, <sup>b</sup>*P* < 0.01

## 讨 论

自 1998 年 Pickup 等<sup>[9]</sup>首次提出 2 型糖尿病是一种先天性免疫性疾病引起的炎症反应, 炎症学说逐渐受到研究者的重视。DN 患者或 DN 动物模型中均发现有炎症因子的表达<sup>[10-11]</sup>。TLR4 是天然免疫炎症反应中的一个关键因素, 是识别细胞外抗原信息并向细胞内传递, 从而引发炎症反应的一种关键跨膜蛋白<sup>[5]</sup>, 研究其信号通路在 DN 免疫炎症反应中的作用机制具有重要意义。

RNAi 作为沉默特定基因功能的新技术, 为基因功能研究提供了一个高效、简便的方法。研究表明, 针对 TLR4 mRNA 的 siRNA 可有效地抑制缺氧/复氧诱导的肾小管上皮细胞凋亡及炎症反应<sup>[12]</sup>; siRNA 抑制 TLR4 的表达后, 对 2 型糖尿病模型肾脏有直接保护作用<sup>[13]</sup>。我们的研究发现, 血管紧张素受体拮抗剂 (ARB) 可以显著降低肾小管上皮细胞 TLR4 的表达而调节细胞免疫反应<sup>[7]</sup>。为了排除血管紧张素受体的影响, 我们设计了针对 TLR4 的特异 siRNA, 可有效地转染进入大鼠肾小管上皮细胞, 在高糖和高 Ang II 环境下仍然有效地下调 TLR4 及其下游因子的表达, 说明高糖可能刺激 TLR4 识别内源性分子并激活其下游信号通路, 产生相应的生物效应如激活炎症介质。

TLR4 可识别内源和外源性配体, 外源性配体主要为细菌脂多糖, 内源性配体在机体应激或组织损伤时释放, 可导致多种炎症介质的释放<sup>[5]</sup>。本实验通过免疫印迹等多种方法发现: 高糖环境下大鼠肾小管上皮细胞 TLR4 表达上调, 同时 NF-κB 以及炎症细胞因子 IL-6、MCP-1 表达亦增加。Lin 等<sup>[14]</sup>指出 DN 状态下的肾脏主要是 TLR4 表达增加, 而不是如正常肾脏或者其他原因引起的肾脏疾病中 TLR2 和 TLR4 表达同时升高, TLR4 敲除的大鼠较野鼠的蛋白尿、肾脏损害及 NF-κB 的激

活明显减轻,说明 TLR4 主导了 DN 的炎性反应。近期的临床研究也证实 TLR4 表达增加参与了 DN 的发生、发展<sup>[15-16]</sup>;与上述研究不同的是,我们进一步发现转接子 MyD88 的表达随 TLR4 同步变化,说明其信号通路是 MyD88 依赖型的。除了高糖因素,我们之前以及本实验还模拟了 DN 发病机制中另一个高危因素—肾素的激活<sup>[7, 17]</sup>,结果发现 Ang II 可进一步上调高糖环境刺激大鼠肾小管上皮细胞 TLR4/MyD88/NF- $\kappa$ B 及炎性因子表达,提示 Ang II 可通过 TLR4 信号途径增强高糖环境下小管上皮细胞炎性级联反应。结合我们的前期研究<sup>[7]</sup>,进一步证实了 TLR4 信号通路主导了高糖、高肾素状态下的肾小管上皮细胞免疫炎性反应。目前认为这种天然免疫受体介导的炎性反应可能是 1、2 型糖尿病导致 DN 发生、发展的共同特征<sup>[18]</sup>。

本实验结果显示,高糖可诱导大鼠肾小管上皮细胞 TLR4 信号表达上调,并激活其下游细胞因子的表达,Ang II 可增强此效应;通过 siRNA 可显著下调 TLR4 信号及其下游因子的表达。TLR4/MyD88 信号通路对高糖及高肾素环境下的肾小管上皮细胞炎性反应的激活起重要的作用,ARB 类药物可部分阻断肾小管上皮细胞的 TLR4 信号表达。siRNA 转染技术可有效地调控 TLR4 及其下游因子的表达,为糖尿病肾病的治疗提供了一个新的思路。

#### 参 考 文 献

- [1] Anders HJ, Schlondorff D. Toll - like receptors: emerging concepts in kidney disease. *Curr Opin Nephrol*, 2007, 16: 177-183.
- [2] Zhang B, Ramesh G, Uematsu S, et al. TLR4 signaling mediates inflammation and tissue injury in nephrotoxicity. *J Am Soc Nephrol*, 2008, 19: 923-932.
- [3] Mora C, Navarro JF. Inflammation and diabetic nephropathy. *Curr Diab Rep*, 2006, 6: 463-468.
- [4] Marc Y. Donath S. Type 2 diabetes as an inflammatory disease. *Nat Rev Immunol*, 2011, 2: 98-107.
- [5] 吕金雷, 丁国华. 天然免疫分子在肾脏炎性反应及间质纤维化中的作用. *中华肾脏病杂志*, 2007, 23: 685-688.
- [6] Kaur H, Chien A, Jialal I, et al. Hyperglycemia induced Toll like receptor 4 expression and activity in mesangial cells: relevance to diabetic nephropathy. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2012, 30: F1145-F1150.
- [7] 吕金雷, 贾汝汉, 丁国华, 等. 血管紧张素 II 通过 TLR4/MyD88 途径诱导大鼠肾小管上皮细胞炎性因子释放. *中华肾脏病杂志*, 2010, 26: 780-785.
- [8] Lv J, Jia R, Yang D, et al. Candesartan attenuates Angiotensin II-induced mesangial cell apoptosis via TLR4/MyD88 pathway. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 380: 81-86.
- [9] Pickup JC, Crook MA. Is type II diabetes mellitus a disease of the innate immune system? *Diabetologia*, 1998, 41: 1241-1248.
- [10] Tuttle KR. Linking metabolism and immunology: diabetic nephropathy is an inflammatory disease. *J Am Soc Nephrol*, 2005, 16: 1537-1538.
- [11] Dasu MR, Devaraj S, Rockwood J, et al. Increased toll - like receptor (TLR) activation and TLR ligands in recently diagnosed type 2 diabetic subjects. *Diabetes Care*, 2010, 33: 861-868.
- [12] 刘秀娟, 黄国明, 丁仲如, 等. TLR4 基因小干扰 RNA 对缺氧复氧诱导肾小管上皮细胞凋亡的影响. *中华临床医师杂志*, 2011, 5: 6648-6652.
- [13] Cha JJ, Hyun YY, Lee MH, et al. Renal protective effects of toll-like receptor 4 signaling blockade in type 2 diabetic mice. *Endocrinology*, 2013, 154: 2144-2155.
- [14] Lin M, Yiu WH, Wu HJ, et al. Toll-like receptor 4 promotes tubular inflammation in diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol*, 2012, 23: 86-102.
- [15] Yang M, Gan H, Shen Q, et al. Proinflammatory CD14 + CD16 + monocytes are associated with microinflammation in patients with type 2 diabetes mellitus and diabetic nephropathy uremia. *Inflammation*, 2012, 35: 388-396.
- [16] Jialal I, Kaur H. The role of Toll-like receptors in diabetes-induced inflammation: implications for vascular complications. *Curr Diab Rep*, 2012, 12: 172-179.
- [17] Ruiz-Ortega M, Ruperez M, Esteban V, et al. Angiotensin II: a key factor in the inflammatory and fibrotic response in kidney diseases. *Nephrol Dial Transplant*, 2006, 21: 16-20.
- [18] Odegaard JI and Chawla A. Connecting Type 1 and Type 2 Diabetes through Innate Immunity. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2012, 2: a007724

(收稿日期: 2013-09-06)

(本文编辑: 孙玉玲)