

· 基础研究 ·

红细胞生成素抑制 C3a 介导的肾小管上皮细胞间充质转分化

张凤霞 万建新 傅槟槟 崔炯 许艳芳 尤丹瑜

【摘要】目的 观察红细胞生成素 (EPO) 对补体成分 C3 片段 C3a 介导的肾小管上皮细胞间充质转分化 (EMT) 的影响。**方法** 将人近端肾小管上皮细胞 (HK-2) 分为 6 组: 对照组、EPO 组、TGF- β 组、TGF- β +EPO 组、C3a 组、EPO+C3a 组, 分别用 RT-PCR、Western 印迹和细胞免疫荧光方法检测 HK-2 细胞 α -SMA、E-cadherin、C3 的 mRNA 和蛋白表达。**结果** 与对照组和 EPO 组比较, C3a 或 TGF- β 干预 HK2 细胞后, α -SMA mRNA 和蛋白表达增强 (均 $P < 0.05$), E-cadherin mRNA 和蛋白表达减少 (均 $P < 0.05$), 补体 C3 mRNA 和蛋白表达增强 (均 $P < 0.05$); 而同时给予 EPO 干预后, C3a 或 TGF- β 的上述作用可被明显减弱 (均 $P < 0.05$)。**结论** EPO 可抑制 C3a 介导的肾小管上皮细胞 EMT。

【关键词】 红细胞生成素; 补体 C3a; 上皮细胞; 上皮间充质转分化

Erythropoietin inhibits complement 3a-induced renal tubular epithelial to mesenchymal transition ZHANG Feng-xia, WAN Jian-xin, FU Bin-bin, CUI Jiong, XU Yan-fang, YOU Dan-yu. Department of Nephrology, the First Affiliated Hospital, Fujian Medical University, Fuzhou 350005, China

Corresponding author: WAN Jian-xin, Email: wanjx@263.net

【Abstract】 Objective To investigate the effects of erythropoietin (EPO) on complement 3a (C3a)-induced renal tubular epithelial to mesenchymal transition. **Methods** The HK-2 cells were divided into 6 groups namely control group, EPO group, TGF- β group, TGF- β +EPO group, C3a group and EPO+C3a group. The mRNA and protein expressions of α -SMA, E-cadherin and C3 were investigated by RT-PCR, Western blot and immunofluorescence respectively. **Results** Compared with control group and EPO group, the mRNA and protein expressions of α -SMA in HK-2 cells were up-regulated after the intervention of C3a or TGF- β (all $P < 0.05$). On the contrast, the mRNA and protein expressions of E-cadherin were down-regulated ($P < 0.05$), the mRNA and protein expressions of C3 were enhanced (all $P < 0.05$). However, all those above effects of C3a or TGF- β were inhibited after the intervention of EPO (all $P < 0.05$). **Conclusion** EPO is capable of suppressing the epithelial to mesenchymal transition induced by C3a.

【Key words】 Erythropoietin; Complement 3a; Epithelial cells; Epithelial to mesenchymal transition

肾小管上皮细胞发生上皮间充质转分化 (EMT) 是肾间质纤维化的重要机制。转化生长因子- β (TGF- β) 是目前公认引起 EMT 的细胞因子。

我们先前的研究表明补体 C3 片段 C3a 可促进肾小球系膜细胞的增殖并使其表型发生转化^[1]。最近, Tang 等^[2]还发现 C3a 可促进肾小管上皮细胞发生 EMT。这些研究资料表明补体 C3 及其片段 C3a 参与了细胞的表型转化过程。红细胞生成素 (EPO) 被认为不仅具有造血效应, 还是一种具细胞保护作用的细胞因子^[3-5]。最近, Park 等^[6]报道 EPO 能通过抑制 TGF- β 诱导的肾小管上皮 EMT

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-7097.2012.02.007

基金项目: 福建省卫生厅青年科研基金 (2008-2-23)

作者单位: 350005 福州, 福建医科大学附属第一医院肾内科

通信作者: 万建新, Email: wanjx@263.net

来改善单侧输尿管梗阻小鼠的肾间质纤维化。本研究旨在进一步探讨 C3a 在肾小管上皮细胞 EMT 过程中的作用, 以及 EPO 对 C3a 介导的肾小管上皮细胞 EMT 的影响。

材料与方 法

一、主要试剂与材料

人近端肾小管上皮细胞株(HK-2)购自中国医学科学院基础医学研究所细胞中心。C3a(德国 Merk), 胎牛血清(美国 Gibco), DEME/F12 培养基(美国 Hyclone), 胰蛋白酶(美国 Gibco), 小鼠抗 α -SMA 单克隆抗体(美国 Sigma), 小鼠抗 E-cadherin、C3 单克隆抗体(美国 Santa Cruz), FITC 标记的羊抗小鼠 IgG(北京中杉), Trizol Reagent 总 RNA 抽取提试剂盒(美国 MRC), M-MuLV 反转录酶、RNasin、Oligo(dT)18(美国 Promega), Premix Taq、DNA Marker(北京天根), dNTP 和琼脂糖二乙基焦碳酸乙酯(美国 DEPC Invitrogen), 主要引物的合成(美国 Invitrogen)。

二、方法

1. HK-2 细胞培养及分组: HK-2 培养于 37°C、5%CO₂ 培养箱(美国 Shel Lab), 培养基成分包括 DMEM-F12 培养基(美国 Hyclone)、10%胎牛血清(FBS, 美国 Gibco)、2.5 g/L HEPES、1.8 g/L 碳酸氢钠、青霉素 1×10⁵U/L、链霉素 100 mg/L。每 3~5 天传代 1 次, 选择生长良好的 4~8 代细胞进行实验。取 HK-2 细胞以 1×10⁵/ml 的密度接种于六孔板中, 待细胞长至 80%~90%融合时, 更换 0.2% FBS 培养基继续培养细胞 48 h。弃上清液, 根据实验分组更换为含或不含干预因素的无血清培养基, 干预时间 48 h。细胞分为 6 组: 对照组, 无血清培养基; EPO 组, 无血清培养基+10 U/ml EPO; TGF- β 组, 无血清培养基+3 μ g/L TGF- β ; TGF- β + EPO 组, 无血清培养基+3 μ g/L TGF- β + 10 U/ml EPO; C3a 组: 无血清培养基+0.1 μ mol/L C3a; C3a+EPO 组, 无血清培养基+0.1 μ mol/L C3a+10 U/ml EPO。

2. RT-PCR: HK-2 细胞总 RNA 的提取和 cDNA 的合成按试剂盒的说明书进行。用于扩增的引物 C3、 α -SMA、E-cadherin 以及内参照 β -actin 序列和碱基对见表 1。引物设计采用 Primer 3 软件自动生成设计并做出选择。PCR 扩增条件见表 2。PCR 产物的检测与分析采用琼脂糖凝胶

表 1 各种目的基因的 PCR 引物序列及产物大小

目的基因	引物序列	产物长度(bp)
C3	正义 5'-GCTGAAGCACCTCATTGTGA-3'	169
	反义 5'-CTGGGTGTACCCCTTCTTGA-3'	
α -SMA	正义 5'-GCTCACGGAGGCACCCCTGAA-3'	590
	反义 5'-CTGATAGGACATGTGTAGCAT-3'	
E-cadherin	正义 5'-ACCGTGGATGTGCTGGATG-3'	456
	反义 5'-GGGAGATGTATTGGGAGGAAG-3'	
β -actin	正义 5'-CTCCATCCTGGCCTCGCTGT-3'	268
	反义 5'-GCTGTACCTTCACCGTTC-3'	

表 2 目的基因的 PCR 反应条件

目的基因	变性	退火	延伸	循环数
C3	94°C, 30 s	58°C, 30 s	72°C, 60 s	35
α -SMA	94°C, 30 s	53°C, 30 s	72°C, 60 s	30
E-cadherin	94°C, 30 s	55°C, 30 s	72°C, 60 s	30
β -actin	94°C, 30 s	59°C, 30 s	72°C, 60 s	28

电泳, 图像用 White/Ultraviolet Transilluminator 系统专用软件分析其吸光度 A 值, 以内参 β -actin A 值进行校正, 做 PCR 产物的半定量分析, 比值表示其相对含量。

3. Western 印迹: HK-2 细胞用裂解缓冲液处理, 按 Bradford 蛋白定量试剂盒说明书测定蛋白含量, 并按经典方法配制 10% SDS-PAGE 分离胶和 5% 浓缩胶进行蛋白电泳。将电泳的凝胶以相同大小的硝酸纤维素膜(NC 膜)进行转膜。将封闭好的 NC 膜分别放入用封闭液稀释的一抗中孵育。一抗浓度分别为小鼠抗 C3 单克隆抗体 1:1000、小鼠抗 α -SMA 单克隆抗体 1:1000、小鼠抗 E-cadherin 单克隆抗体 1:1500 和小鼠抗 β -actin 多克隆抗体 1:1000。TIPC 标记山羊抗小鼠 IgG 做为二抗(1:2000), 增强化学发光使胶片显影, 扫描后用 White/Ultraviolet Transilluminator 系统软件分析, 蛋白表达量用 A 来表示。以 β -actin 为内参照, 进行半定量分析, 比值表示其相对含量。

4. 免疫荧光: HK-2 细胞分别用小鼠抗 α -SMA 单克隆抗体 1:400、小鼠抗 E-cadherin 单克隆抗体 1:50、和小鼠抗 C3 单克隆抗体 1:100 进行免疫染色, 放置 4°C 冰箱过夜, α -SMA 检测组中滴加 DyLight™488 标记的羊抗小鼠 IgG (1:100),

E-cadherin 检测组和 C3 检测组中滴加 DyLight™594 标记的羊抗小鼠 IgG (1:150), 作为第二抗体孵育 1 h 后用 PBS 缓冲液漂洗。DAPI 孵育 10 min 进行核染色。滴抗荧光淬灭封片液于载玻片上, 盖上贴有细胞的盖玻片, 在暗室立即用荧光显微镜观察并拍照。

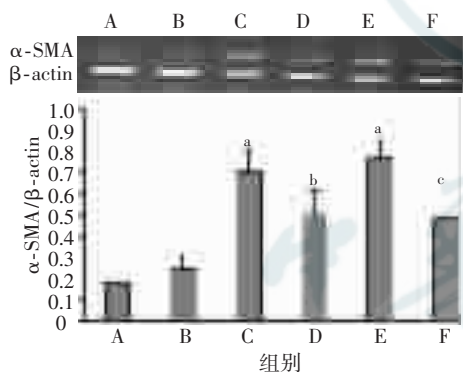
三、统计学处理

以上实验均重复 3 次, 所有计量数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间比较采用单因素方差分析。采用 SPSS 12.0 软件进行统计分析。

结 果

一、EPO 对 HK-2 细胞 α -SMA 表达的影响

1. EPO 对 HK-2 细胞 α -SMA mRNA 表达的影响: RT-PCR 结果显示, 对照组和 EPO 组的 HK-2 细胞只表达少量的 α -SMA mRNA; 经 TGF- β 刺激后, α -SMA mRNA 表达明显增加 ($P < 0.05$), EPO+TGF- β 组 α -SMA mRNA 较 TGF- β 组明显减少 ($P < 0.05$); C3a 组较对照组 α -SMA mRNA 表达明显增加 ($P < 0.05$); EPO+C3a 组 α -SMA mRNA 较 C3a 组明显减少 ($P < 0.05$)。见图 1。

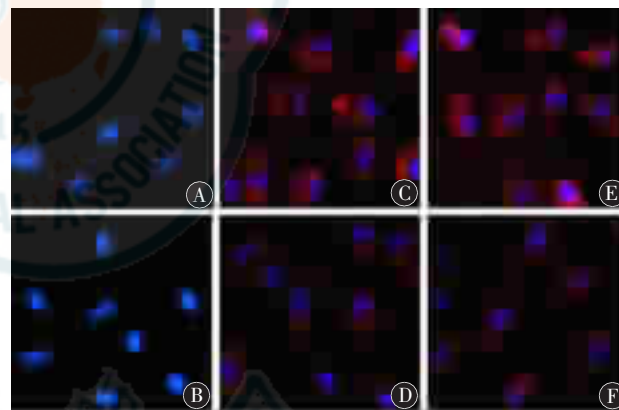
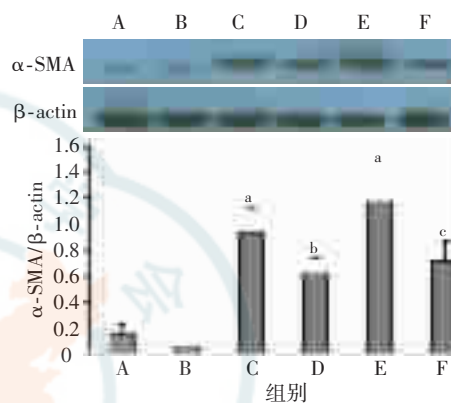


注: A: 对照组; B: EPO 组; C: TGF- β 组; D: TGF- β +EPO 组; E: C3a 组; F: C3a+EPO 组; 与对照组和 EPO 组比较, ^a $P < 0.05$; 与 TGF- β 组比较, ^b $P < 0.05$; 与 C3a 组比较, ^c $P < 0.05$

图 1 EPO 对 HK-2 细胞 α -SMA mRNA 表达的影响 (RT-PCR)

2. EPO 对 HK-2 细胞 α -SMA 蛋白表达的影响: Western 印迹结果显示对照组和 EPO 组 HK-2 细胞表达少量的 α -SMA 蛋白; 经 TGF- β 刺激后, α -SMA 蛋白表达明显增加 ($P < 0.01$); EPO+TGF- β 组 α -SMA 蛋白较 TGF- β 组减少 ($P < 0.05$); C3a 组较对照组 α -SMA 蛋白表达明显增

加 ($P < 0.01$); EPO+C3a 组 α -SMA 蛋白较 C3a 组减少 ($P < 0.05$)。见图 2。免疫荧光染色未见对照组和 EPO 组 HK-2 细胞表达 α -SMA; TGF- β 刺激 48 h 后, 细胞可见大量红色荧光信号; 先用 EPO 干预再经 TGF- β 刺激的细胞红色荧光信号明显减少; 用 C3a 刺激的细胞可见大量红色荧光信号; 用 EPO 先干预后再经 C3a 刺激的细胞红色荧光信号同样明显减少。见图 2。



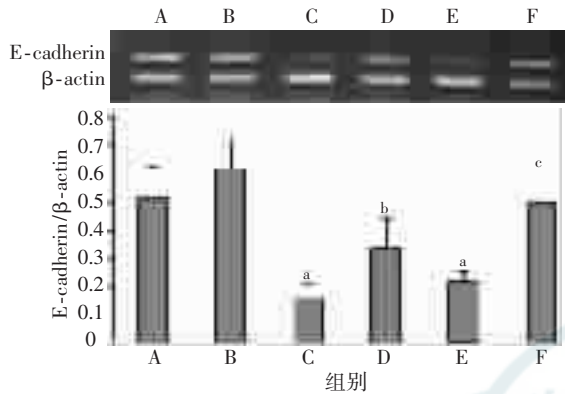
注: A: 对照组; B: EPO 组; C: TGF- β 组; D: TGF- β +EPO 组; E: C3a 组; F: C3a+EPO 组; 与对照组和 EPO 组比较, ^a $P < 0.05$; 与 TGF- β 组比较, ^b $P < 0.05$; 与 C3a 组比较, ^c $P < 0.05$

图 2 EPO 对 HK-2 细胞 α -SMA 蛋白表达的影响 (Western 印迹, 免疫荧光 $\times 400$)

二、EPO 对 HK-2 细胞 E-cadherin 表达的影响

1. EPO 对 HK-2 细胞 E-cadherin mRNA 表达的影响: RT-PCR 结果显示, 对照组和 EPO 组的 HK-2 细胞表达大量的 E-cadherin mRNA; 经 TGF- β 刺激后, E-cadherin mRNA 表达明显减少 ($P < 0.01$); EPO+TGF- β 组 E-cadherin mRNA 较 TGF- β 组增加 ($P < 0.05$); C3a 组较对照组

E-cadherin mRNA 表达明显减少 ($P < 0.01$); EPO+C3a 组 E-cadherin mRNA 较 C3a 组增加 ($P < 0.05$)。见图 3。



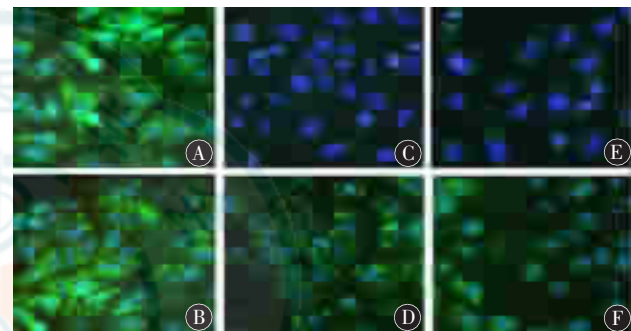
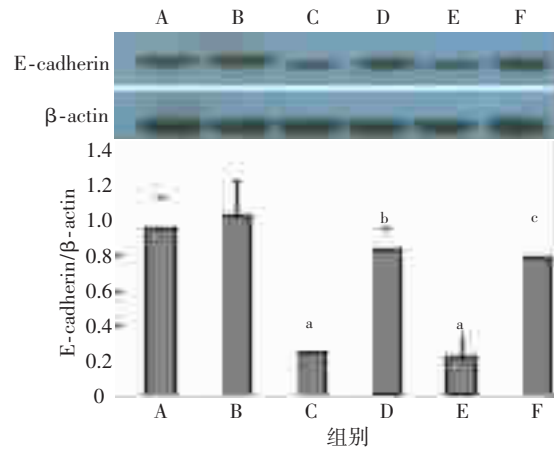
注:A: 对照组;B: EPO 组;C: TGF- β 组;D: TGF- β +EPO 组; E: C3a 组;F: C3a+EPO 组。与对照组和 EPO 组比较,^a $P < 0.05$; 与 TGF- β 组比较,^b $P < 0.05$;与 C3a 组比较,^c $P < 0.05$

图 3 EPO 对 HK-2 细胞 E-cadherin mRNA 表达的影响 (RT-PCR)

2. EPO 对 HK-2 细胞 E-cadherin 蛋白表达的影响: Western 印迹结果可见对照组和 EPO 组 HK-2 细胞表达大量的 E-cadherin 蛋白;经 TGF- β 刺激后,E-cadherin 蛋白表达明显减少 ($P < 0.01$);EPO+TGF- β 组 E-cadherin 蛋白较 TGF- β 组增加 ($P < 0.05$);C3a 组较对照组 E-cadherin 蛋白表达明显减少 ($P < 0.01$);EPO+C3a 组 E-cadherin 蛋白较 C3a 组增加 ($P < 0.05$)。见图 4。免疫荧光染色见正常对照组和 EPO 组 HK-2 细胞有大量的 E-cadherin 表达;TGF- β 刺激 48 h 后,细胞可见到绿色荧光信号减少;先用 EPO 干预再经 TGF- β 刺激的细胞绿色荧光信号增多;用 C3a 刺激的细胞可见绿色荧光信号较对照组减少;用 EPO 先干预后再经 C3a 刺激的细胞绿色荧光信号增加。见图 4。

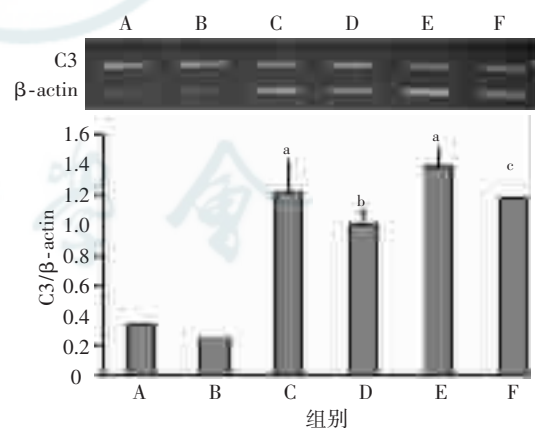
三、C3 在 HK-2 细胞 EMT 过程中的变化

1. C3 mRNA 在 HK-2 细胞 EMT 过程中的变化: RT-PCR 结果显示,对照组和 EPO 组的 HK-2 细胞只表达少量的 C3 mRNA;经 TGF- β 刺激后, C3 mRNA 表达明显增加($P < 0.05$),EPO+TGF- β 组 C3 mRNA 较 TGF- β 组明显减少 ($P < 0.05$); C3a 组较对照组 C3 mRNA 表达明显增加 ($P < 0.05$);EPO+C3a 组 C3 mRNA 较 C3a 组明显减少 ($P < 0.05$)。见图 5。



注:A: 对照组;B: EPO 组;C: TGF- β 组;D: TGF- β +EPO 组; E: C3a 组;F: C3a+EPO 组;与对照组和 EPO 组比较,^a $P < 0.05$; 与 TGF- β 组比较,^b $P < 0.05$;与 C3a 组比较,^c $P < 0.05$

图 4 EPO 对 HK-2 细胞 E-cadherin 蛋白表达的影响 (Western 印迹,免疫荧光 $\times 400$)

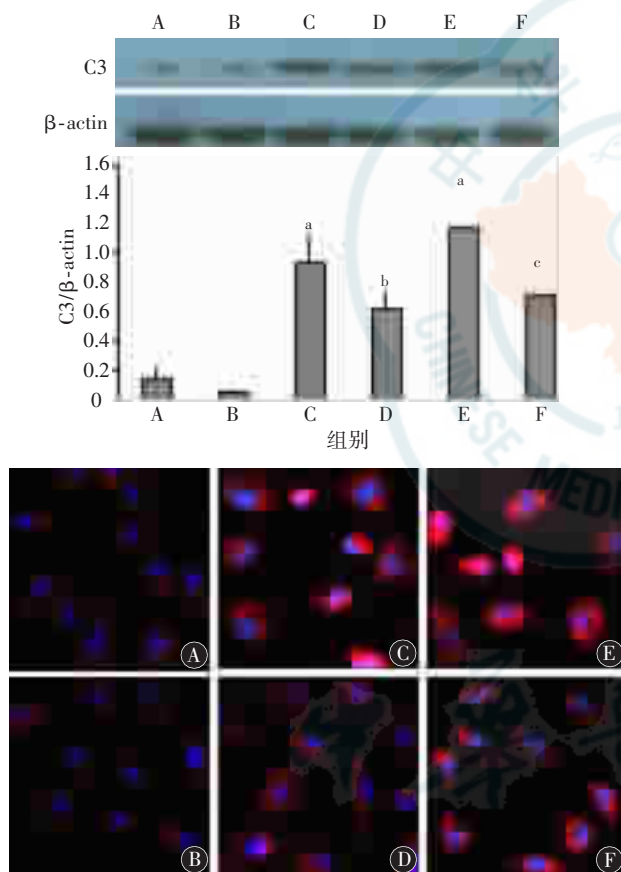


注:A: 对照组;B: EPO 组;C: TGF- β 组;D: TGF- β +EPO 组; E: C3a 组;F: C3a+EPO 组;与对照组和 EPO 组比较,^a $P < 0.05$; 与 TGF- β 组比较,^b $P < 0.05$;与 C3a 组比较,^c $P < 0.05$

图 5 C3 mRNA 在 HK-2 细胞 EMT 过程中的变化 (RT-PCR)

2. C3 蛋白在 HK-2 细胞 EMT 过程中的变化: Western 印迹结果可见对照组和 EPO 组的 HK-2 细胞表达少量的 C3 蛋白;经 TGF- β 刺激

后, C3 蛋白表达明显增加 ($P < 0.01$); EPO + TGF- β 组 C3 蛋白较 TGF- β 组减少 ($P < 0.05$); C3a 组较对照组 C3 蛋白表达明显增加 ($P < 0.01$); EPO + C3a 组 C3 蛋白较 C3a 组减少 ($P < 0.05$)。见图 6。免疫荧光染色可见对照组和 EPO 组 HK-2 细胞只表达少量的 C3; TGF- β 刺激 48h 后, 细胞可见到大量红色荧光信号; 先用 EPO 干预再经 TGF- β 刺激的细胞红色荧光信号明显减少; 用 C3a 刺激的细胞可见大量红色荧光信号; 用 EPO 先干预后再经 C3a 刺激的细胞红色荧光信号同样明显减少。见图 6。



注: A: 对照组; B: EPO 组; C: TGF- β 组; D: TGF- β +EPO 组; E: C3a 组; F: C3a+EPO 组; 与对照组和 EPO 组比较, ^a $P < 0.05$; 与 TGF- β 组比较, ^b $P < 0.05$; 与 C3a 组比较, ^c $P < 0.05$

图 6 C3 蛋白在 HK-2 细胞 EMT 过程中的变化 (Western 印迹, 免疫荧光 $\times 400$)

讨 论

肾小管上皮细胞发生 EMT 是肾纤维化的重要机制。研究表明肾小管上皮细胞发生 EMT 是

可逆的。因此, 从临床角度来说, 发现一种能延缓或抑制肾脏发生 EMT 的药物就显得十分重要。

肾小管上皮细胞发生 EMT 时, 其细胞表型发生明显的变化, 包括上皮表型减弱或消失, 获得间充质细胞的表型^[7-8]。E-cadherin 是肾小管上皮保持其上皮特性的标志性蛋白, 作为一种细胞间黏附蛋白维持着上皮细胞结构完整性和极性, 而 α -SMA 是肌成纤维细胞的特征性标志蛋白。本研究通过检测 α -SMA 和 E-cadherin 的变化来反应肾小管上皮细胞发生 EMT 的程度。

TGF- β 是诱导肾小管上皮细胞发生 EMT 最重要的细胞因子^[9]。在过去的研究中, TGF- β 诱导 EMT 的机制已经阐述得非常清楚, 人们希望通过抑制 TGF- β 诱导的 EMT 来实现抗肾间质纤维化。因此, 本研究用 TGF- β 刺激 HK-2 细胞作为诱导 EMT 的阳性对照, 结果表明 EPO 能抑制 TGF- β 诱导的 EMT。

虽然 TGF- β 可单独诱导肾小管上皮细胞 EMT, 但在体内诱导 EMT 的产生是一个复杂和综合的过程。近年研究发现肾脏局部补体 C3 与肾小管间质损伤有密切关系。尽管补体的激活可以增加免疫应答, 减轻炎症反应, 但是过度的补体激活可以导致组织的损伤。许多研究均发现, 补体系统的激活与肾小管间质的损伤有关, 但补体诱导的肾损伤机制目前仍然不十分清楚。Tang 等^[2]将小鼠肾脏近端小管上皮细胞暴露在血浆蛋白后, 发现该种细胞表现出间质细胞特征, 即 E-cadherin 表达减少, α -SMA 和 I 型胶原表达增加; 再将该种细胞暴露于外源性 C3a 之中, 细胞表现出类似的特征。这表明 C3a 与血浆蛋白一样, 都可以促进肾小管上皮细胞发生 EMT。研究还发现 C3a 受体缺乏的小鼠肾脏几乎不受损伤, 小鼠 I 型胶原和 α -SMA 的表达明显减少, 肾功能基本正常, 生存率明显改善。Sheerin 等^[10]的研究发现与 C3+/+ 相比, C3-/- 小鼠可以避免阿霉素肾病小鼠补体的激活以及小管损伤引起的肾衰竭。说明 C3 在阿霉素肾病肾间质损伤中起着重要的作用。作者进一步用 C3+/+ 小鼠肾移植给 C3-/- 小鼠, 结果表明起作用的 C3 是肾脏局部合成的 C3, 而不是循环中的 C3。本研究表明 C3a 与 TGF- β 一样, 可上调 α -SMA mRNA 和蛋白的表达, 抑制 E-cadherin mRNA 和蛋白的表达, 即 C3a

和 TGF β 一样都可以诱导肾小管上皮细胞发生 EMT。但到目前为止, C3a 导致肾小管上皮细胞间充质转分化的作用位点和途径尚不清楚。既往的研究表明, 补体 C3a 可促进血管平滑肌细胞增殖并促进其细胞表型向合成表型发生转化^[11]。进一步的研究发现, 补体 C3a 可通过 Erk 信号通路提高血管平滑肌细胞转录因子 KLF5 基因启动子的活性^[12]。C3a 诱导 EMT 是否也像 TGF- β 那样具有非 Smad 依赖的信号途径, 如 RhoA、p38 丝氨酸激酶和磷脂酰肌醇-3 激酶/Akt 等途径^[13-14], 有待于进一步的研究。

红细胞生成素被认为是一种具有造血效应外的细胞保护作用的细胞因子。有报道 EPO 能够通过改善贫血来延缓慢性肾衰竭的进展, 还可以通过促进血管生成、减少氧化应激和抗细胞凋亡等非造血效应来实现肾脏保护^[15]。然而 EPO 在慢性肾衰竭中的作用是否与抑制肾小管 EMT 有关, 目前尚不十分清楚。最近, Park 等^[6]报道 EPO 能通过抑制 TGF- β 诱导的肾小管 EMT 来改善 UUO 小鼠的肾间质纤维化。本实验与 Park 的研究不同的是, 我们用的是 HK-2 细胞, 而不是 MDCK 细胞。HK-2 细胞来源于人类肾脏近端小管上皮细胞, MDCK 来源于犬肾远端小管上皮细胞。而在体内发生肾脏 EMT 的细胞主要来自近端小管。故 HK-2 细胞能够更直接的反应肾脏发生 EMT 的变化。推测 EPO 可能通过抑制 C3a 与 C3a 受体结合, 经过复杂的胞内信号传导和调节通路最终影响肾小管上皮细胞的转分化。但要验证此推测, 还需要更多的实验加以证实。

参 考 文 献

[1] Wan JX, Fukuda N, Endo M, et al. Complement 3 is involved in changing the phenotype of human glomerular mesangial cells. *J Cell Physiol*, 2007, 213: 495-501.
 [2] Tang Z, Lu B, Hatch E, et al. C3a mediates epithelial to mesenchymal transition in proteinuric nephropathy. *J Am Soc Nephrol*, 2009, 20: 593-603.
 [3] Calvillo L, Latini R, Kajstura J, et al. Recombinant human erythropoietin protects the myocardium from ischemia-reper-

fusion injury and promotes beneficial remodeling. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100: 4802-4806.
 [4] Vaziri ND, Zhou XJ, Liao SY. Erythropoietin enhances recovery from cisplatin-induced acute renal failure. *Am J Physiol Renal Physiol*, 1994, 266: F360-366.
 [5] Bagnis C, Beaufile H, Jacquiaud C, et al. Erythropoietin enhances recovery after cisplatin-induced acute renal failure in the rat. *Nephrol Dial Transplant*, 2001, 16: 932-938.
 [6] Park SH, Choi MJ, Song IK, et al. Erythropoietin decreases renal fibrosis in mice with ureteral obstruction: role of inhibiting TGF- β induced epithelial-to-mesenchymal transition. *J Am Soc Nephrol*, 2007, 18: 1497-1507.
 [7] Wu Y, Zhou BP. New insights of epithelial mesenchymal transition in cancer metastasis. *Acta Biochim Biophys Sin*, 2008, 40: 643-650.
 [8] Strutz FM. EMT and proteinuria as progression factors. *Kidney Int*, 2009, 75: 475-481.
 [9] Yang J, Liu Y. Dissection of key events in tubular epithelial to myofibroblast transition and its implications in renal interstitial fibrosis. *Am J Pathol*, 2001, 159: 1465-1475.
 [10] Sheerin NS, Risley P, Abe K, et al. Synthesis of complement protein C3 in the kidney is an important mediator of local tissue injury. *FASEB J*, 2008, 22:1065-1072.
 [11] Lin ZH, Fukuda N, Jin XQ, et al. Complement 3 is involved in the synthetic phenotype and exaggerated growth of vascular smooth muscle cells from spontaneously hypertensive rats. *Hypertension*, 2004, 44: 42-47.
 [12] Yao EH, Fukuda N, Ueno T, et al. Complement 3 activates the KLF5 gene in rat vascular smooth muscle cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 367: 468-473.
 [13] Docherty NG, O Sullivan OE, Healy DA, et al. TGF- β 1-induced EMT can occur independently of its proapoptotic effects and is aided by EGF receptor activation. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2006, 290: F1202-F1212.
 [14] Legate KR, Montanez E, Kudlacek O, et al. The tIPP of integrin signalling. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2006, 7: 20-31.
 [15] Kang DH, Park EY, Yu ES, et al. Renoprotective effect of erythropoietin (EPO): Possibly via an amelioration of angiogenesis in the kidney. *Kidney Int*, 2005, 67: 1683.

(收稿日期: 2011-07-18)

(本文编辑: 王欣)