

ROS 介导棕榈酸诱导的肾小球足细胞骨架及裂孔隔膜损伤

吴 玥, 刘 婷, 杜晓刚

(重庆医科大学附属第一医院肾内科, 重庆 400016)

【摘要】目的:探讨棕榈酸(palmitic acid, PA)对足细胞肌动蛋白纤维骨架及裂孔隔膜蛋白损伤的影响。**方法:**应用 PA 刺激体外培养的条件永生性小鼠肾小球足细胞株,分为对照组(1% BSA)和 PA(150 $\mu\text{mol/L}$)组。采用 Alexa 549-phalloidin 染色观察足细胞肌动蛋白纤维骨架的变化;免疫荧光染色法观察检测足细胞裂孔隔膜蛋白 Nephlin 和 Podocin 的表达;油红“O”、透射电镜以及 BODIPY 染色检测 PA 刺激下足细胞内脂质积聚情况。应用不同浓度 PA 刺激足细胞,分为对照组(1% BSA)、50 $\mu\text{mol/L}$ PA 组、150 $\mu\text{mol/L}$ PA 组、300 $\mu\text{mol/L}$ PA 组。采用 Western blot 检测足细胞裂孔隔膜蛋白 Nephlin 和 Podocin 的表达。进一步应用氧自由基清除剂 N-乙酰半胱氨酸(N-acetyl cysteine, NAC)预处理足细胞,分为对照组(1% BSA)、PA(150 $\mu\text{mol/L}$)组、NAC 组、PA(150 $\mu\text{mol/L}$) + NAC 组。采用 DCFH-DA 染色检测细胞内活性氧(reactive oxygen species, ROS)产生; Alexa 549-phalloidin 染色观察足细胞肌动蛋白纤维骨架的变化; Western blot 检测足细胞裂孔隔膜蛋白 Nephlin 和 Podocin 的表达。**结果:**Western blot 结果示 300 $\mu\text{mol/L}$ PA 组足细胞内 Nephlin 和 Podocin 的表达(0.360 ± 0.030 , 0.900 ± 0.040)分别与对照(Ctr)组(1.000 ± 0.030 , 1.000 ± 0.030)和 50 $\mu\text{mol/L}$ PA 组(0.912 ± 0.020 , 0.900 ± 0.040)相比都明显减少($P=0.000$, $P=0.000$; $P=0.000$, $P=0.003$)。免疫荧光显示与 Ctr 组相比, PA 组足细胞 Nephlin($t=6.014$, $P=0.010$)和 Podocin($t=6.171$, $P=0.010$)蛋白的表达减少。使用 NAC 预处理足细胞清除 ROS, 与 PA 组(1.21 ± 0.04 , 1.30 ± 0.03)相比, PA+NAC 组 Nephlin(2.87 ± 0.05)和 Podocin(2.69 ± 0.06)的表达减少($P=0.000$, $P=0.000$)。**结论:**ROS 介导了棕榈酸诱导的足细胞骨架及裂孔隔膜损伤。

【关键词】棕榈酸; 足细胞; 肌动蛋白纤维; 裂孔隔膜蛋白; 活性氧

【中图分类号】R334.1; R322.61; R361.3

【文献标志码】A

【收稿日期】2018-02-27

Role of ROS in palmitic acid induced actin cytoskeleton and slit diaphragm injury in podocytes

Wu Yue, Liu Ting, Du Xiaogang

(Department of Nephrology, The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University)

【Abstract】Objective: To investigate the effect of palmitic acid (PA) on actin cytoskeleton and slit diaphragm injury in podocytes.

Methods: Conditioned immortalized mouse glomerular podocyte strains stimulated with PA in vitro were divided into control group (1% BSA) and PA (150 $\mu\text{mol/L}$) group. Alexa 549-phalloidin staining was used to observe the change of the actin cytoskeleton of the podocyte. Immunofluorescence staining was used to detect the expression of Nephlin and Podocin. The oil red “O”, transmission electron microscope and BODIPY staining were used to detect intracellular lipid accumulation with PA stimulation. The podocytes were stimulated with different concentrations of PA and divided into control group (1% BSA), 50 $\mu\text{mol/L}$ PA group, 150 $\mu\text{mol/L}$ PA group, and 300 $\mu\text{mol/L}$ PA group. The expression of Nephlin and Podocin was measured by Western blot. The podocytes were further treated with oxygen free radical scavenger N-acetylcysteine (NAC) and divided into control group (1% BSA), PA (150 $\mu\text{mol/L}$)

group, NAC group, PA (150 $\mu\text{mol/L}$) + NAC group. DCFH-DA staining was used to detect the generation of reactive oxygen species (ROS) in the cells. Alexa 549-phalloidin staining was used to observe the changes of the actin cytoskeleton of the podocyte. Western blot was used to detect the expression of Nephlin and Podocin. **Results:** Western blot results showed that the expression of Nephlin and Podocin in the podocyte of the

作者介绍: 吴 玥, Email: 18723335469@163.com,

研究方向: 肾小球足细胞自噬与凋亡的关系。

通信作者: 杜晓刚, Email: cqmudxg@163.com。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (编号: 81370816); 重庆市自然科学基金重点资助项目 (编号: cstc2012jjA10136); 重庆市卫生局资助项目 (编号: 2011-1-016)。

优先出版: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20180606.1138.002.html>
(2018-06-06)

300 $\mu\text{mol/L}$ PA group ($0.360 \pm 0.030, 0.900 \pm 0.040$), was significantly decreased ($P=0.000, P=0.000; P=0.000, P=0.003$) compared with those of control group ($1.000 \pm 0.030, 1.000 \pm 0.030$) and the 50 $\mu\text{mol/L}$ PA group ($0.912 \pm 0.020, 0.900 \pm 0.040$). Immunofluorescence revealed a decrease in the expression of Nephhrin ($t=6.014, P=0.010$) and Podocin ($t=6.171, P=0.010$) protein in the podocyte of the PA group compared with those of control group. With the pretreatment of podocytes with NAC to clear ROS, expression of Nephhrin (2.87 ± 0.05) and Podocin (2.69 ± 0.06) decreased in PA+NAC group ($P=0.000, P=0.000$), when compared with that of PA group ($1.21 \pm 0.04, 1.30 \pm 0.03$). **Conclusion:** ROS mediated palmitic acid induces cytoskeletal structure injury in podocytes.

【Key words】palmitic acid; podocytes; actin cytoskeleton; slit diaphragm; reactive oxygen species

蛋白尿是慢性肾脏病(chronic kidney disease, CKD)持续进展的危险因素,而肾小球性蛋白尿的发生与肾小球滤过屏障受损密切相关。肾小球滤过屏障由内皮细胞窗孔、肾小球基底膜(glomerular basement membrane, GBM)和脏层上皮细胞即足细胞足突(foot process, FP)间的裂孔隔膜(slit diaphragm, SD)组成。研究发现, Nephhrin 和 Podocin 是 2 个主要的裂孔隔膜蛋白,其表达下降与蛋白尿的发生及肾小球疾病进展密切相关^[1-2]。细胞骨架蛋白是维持正常细胞形态的分子基础。其中,肌动蛋白纤维(F-actin)是最主要的足细胞足突骨架结构蛋白,它与微管和中等纤维及其相关结合蛋白相互交联形成排列有序的应力纤维和网架结构,以维持足细胞和足突的高度“动态”结构而抵抗来自尿囊腔和肾小球毛细血管的压力变化,其损伤则是导致蛋白尿的重要原因^[3]。足细胞细胞骨架的重排必然导致足细胞足突的损伤,进而累及足突裂孔隔膜蛋白的表达^[4]。然而,诱导肌动蛋白纤维及裂孔隔膜损伤的具体因素目前研究不明。

慢性肾脏病常常合并有脂代谢异常,这是加重肾脏病持续进展的重要因素^[5-6]。近来研究显示,脂代谢紊乱可诱导肾小球足细胞的损伤和凋亡,进而影响肾小球滤过屏障^[7-9]。本课题组前期研究证实,棕榈酸可以诱导足细胞凋亡增加^[10-11],但其对肾小球足细胞细胞骨架及其裂孔隔膜蛋白的影响及其机制还需进一步研究。本文采用 PA 刺激体外培养的条件永生性小鼠足细胞株来模拟高脂环境,以研究高脂对足细胞细胞骨架及裂孔膜蛋白的影响及其机制,对于进一步明确脂质肾毒性的机制,具有重要的意义。

1 材料与方法

1.1 材料

RPMI1640、胎牛血清(美国 Gibco),小鼠重组干扰素 γ (interferon- γ , IFN- γ , 美国 Perprotech)和棕榈酸(palmitic acid, 美国 Sigma), Nephhrin 和 Podocin 抗体(美国 Santa), β -actin 单克隆抗体(美国 Sigma),二脒基苯基吡啶(DAPI, 美国 Invitrogen), Oil Red O(美国 Sigma), BODIPY(美国 Invitrogen), 苏木素(中国,博士德), DCFH-DA (美国 Invitrogen), N-乙酰半胱氨酸(NAC, 美国 Sigma)。

1.2 肾小球足细胞株培养和处理

条件永生性小鼠足细胞系(MPC5 细胞)由复旦大学上海医学院生理学教研室陆利民教授惠赠,本实验室保存。未分化足细胞用含 10 U/mL IFN- γ , 10%灭活的胎牛血清、1 000 U/L 青霉素和 100 $\mu\text{g/mL}$ 链霉素的 RPMI1640 培养基在 33 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 培养箱中传代培养,用不含 IFN- γ 的 RPMI1640 完全培养基在 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 培养箱中诱导分化 10~14 d 后用于后续实验。实验分组一:正常对照组(采用 1%牛血清白蛋白刺激细胞), PA 组(150 $\mu\text{mol/L}$ 棕榈酸诱导);实验分组二:不同浓度 PA(0、50、150、300 $\mu\text{mol/L}$)刺激 24 h;实验分组三: NAC(150 $\mu\text{mol/L}$)预处理足细胞 1 h, PA(150 $\mu\text{mol/L}$)刺激足细胞 24 h。

1.3 F-actin 染色观察足细胞肌动纤维骨架

足细胞接种于用 1%多聚赖氨酸包被的爬片 12 孔板中,待细胞贴壁后,用 150 $\mu\text{mol/L}$ PA 刺激足细胞 24 h。PBS 润洗 3 次, 4%多聚甲醛固定 10 min, 0.25% Triton-X100 通透 3 min, PBS 润洗爬片 3 次, 5%山羊血清室温封闭 1 h 后, Alexa 549-phalloidin 染料 37 $^{\circ}\text{C}$ 避光孵育 1 h, DAPI 染核 5 min, 抗荧光淬灭剂封片, 荧光显微镜下采集图像。

1.4 细胞免疫荧光

足细胞接种于用 1%多聚赖氨酸包被的爬片 12 孔板中,待细胞贴壁后,用 150 $\mu\text{mol/L}$ PA 刺激足细胞 24 h。PBS 润洗 3 次, 4%多聚甲醛固定 30 min, 0.25% Triton-X100 通透

15 min, PBS 润洗爬片 3 次, 5% 山羊血清室温封闭 1 h 后, 加入一抗 (Nephrin, 1:200; Podocin, 1:200) 4 °C 孵育过夜。PBS 清洗爬片 3 次, 荧光二抗 (1:400) 37 °C 避光染色 1 h。DAPI 染核 5 min, 抗荧光淬灭剂封片, 荧光显微镜下采集图像, 荧光图像采用 Image J 软件进行半定量分析。

1.5 油红“O”染色观察足细胞脂滴

细胞经 150 $\mu\text{mol/L}$ PA 处理 24 h 后, 去除细胞培养液, PBS 润洗 3 次, 4% 多聚甲醛固定 30 min, 油红避光染 10 min, 流水冲洗, PBS 润洗 1 次, 60% 异丙醇漂洗 1~2 s。淡苏木素染 3 min, 甘油明胶封片, 荧光显微镜下采集图像。

1.6 BODIPY 染色观察足细胞内脂滴的水平

足细胞经 150 $\mu\text{mol/L}$ PA 处理后, 去除细胞培养液, PBS 润洗 3 次, 4% 多聚甲醛固定 30 min, 加入用 PBS 稀释好的 BODIPY 染色工作液 500 μL , 在 37 °C 避光孵育 30 min, DAPI 染核 5 min, 抗荧光淬灭剂封片, 荧光显微镜下采集图像。

1.7 透射电子显微镜观察足细胞内脂滴形成

足细胞接种于用 1% 多聚赖氨酸包被的培养皿中, 待细胞贴壁后, 用 150 $\mu\text{mol/L}$ PA 刺激足细胞 24 h。0.25% 胰酶消化细胞收集细胞悬液, 12 000 g 离心 10 min, 用吸管将离心后 EP 管中上清液缓缓吸出, 再沿管壁缓缓加入预冷的 4% 戊二醛固定液, 在 4 °C 固定 12 h 后直接在 EP 管中进行常规电镜样品固定、脱水和包埋。超薄切片后在 JEM-1200 EXII 透射电镜下观察拍照。

1.8 DCFH-DA 染色观察足细胞 ROS 水平

足细胞接种于用 1% 多聚赖氨酸包被的爬片 12 孔板中, 待细胞贴壁后, 150 $\mu\text{mol/L}$ NAC 预处理足细胞 1 h, 再用 150 $\mu\text{mol/L}$ PA 刺激足细胞 24 h。PBS 润洗 3 次, DCFH-DA 染料 37 °C 避光孵育 30 min, 荧光显微镜下采集图像。

1.9 Western blot 检测 Nephrin 和 Podocin 蛋白的表达

按照分组处理足细胞后, 预冷的 PBS 润洗 1 次, 加入含有蛋白酶抑制剂的 RIPA 裂解液, 冰上裂解 10 min, 超声 10 次, 4 °C 离心机、12 000 g 离心 20 min, 收集上清, BCA 法测定蛋白浓度, 等量蛋白上样, 10% SDS-PAGE 电泳, 250 mA 湿转 2 h, 5% 脱脂牛奶 4 °C 封闭 3 h。一抗分别为 Nephrin (1:1 000)、Podocin (1:1 000)、 β -actin (1:5 000), 4 °C 孵育过夜。摇床上用 TBST 洗膜 6 次, 每次 5 min, 洗涤完毕后加入相应的辣根过氧化物酶标记的二抗室温孵育 1 h, ECL 化学发光试剂盒 (美国 Advanta) 显色, 图片使用 Fusion 软件进行灰度定量分析。

1.10 统计学分析

采用 SPSS 22.0 统计软件进行数据分析。实验均重复 3 次, 正态分布计量资料数据以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。两组间的比较采用 t 检验; 多组间比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用的是 LSD- t 法, 检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 棕榈酸诱导足细胞肌动蛋白纤维骨架损伤及裂孔隔膜蛋白表达下调

本文通过 Alexa 549-phalloidin 染色发现, 150 $\mu\text{mol/L}$ PA 刺激后, 可导致已分化的足细胞明显的肌动蛋白纤维紊乱、断裂, 足细胞足突减少 (图 1A)。采用 Western blot, 经单因素方差分析, 各组细胞 Nephrin 和 Podocin 蛋白的表达量差异有统计学意义 ($F=7.698, P=0.010; F=10.830, P=0.000$)。300 $\mu\text{mol/L}$ PA 组足细胞内 Nephrin 和 Podocin 蛋白的表达与 Ctr 组相比明显减少 ($P=0.000, P=0.000$), 同时与 50 $\mu\text{mol/L}$ PA 组相比也明显减少 ($P=0.000, P=0.003$)。150 $\mu\text{mol/L}$ PA 组 Podocin 的表达较 Ctr 组 ($P=0.000$) 和 50 $\mu\text{mol/L}$ PA 组 ($P=0.005$) 明显增加 (图 1B、C, 表 1)。进一步通过免疫荧光染色结果显示, PA 组足细胞 Nephrin ($t=6.014, P=0.002$) 和 Podocin ($t=6.171, P=0.010$) 表达强度较 Ctr 组均明显减弱, 半定量分析显示差异有统计学意义 (图 1D、E)。

表 1 不同浓度 PA 刺激对足细胞 Nephrin 和 Podocin 蛋白表达的影响 ($n=3$)

组别	Nephrin	Podocin
0 $\mu\text{mol/L}$ PA 组	1.000 $\pm$ 0.050	1.000 $\pm$ 0.040
50 $\mu\text{mol/L}$ PA 组	0.912 $\pm$ 0.020	0.900 $\pm$ 0.040
150 $\mu\text{mol/L}$ PA 组	0.798 $\pm$ 0.032	0.380 $\pm$ 0.040 ^{ab}
300 $\mu\text{mol/L}$ PA 组	0.360 $\pm$ 0.030 ^{ab}	0.400 $\pm$ 0.050 ^{ab}
F 值	7.698	10.830
P 值	0.010	0.000

注: a, 与 Ctr 组比较, $P < 0.05$; b, 与 50 mol/L PA 组比较, $P < 0.05$

2.2 棕榈酸诱导足细胞内脂质积聚

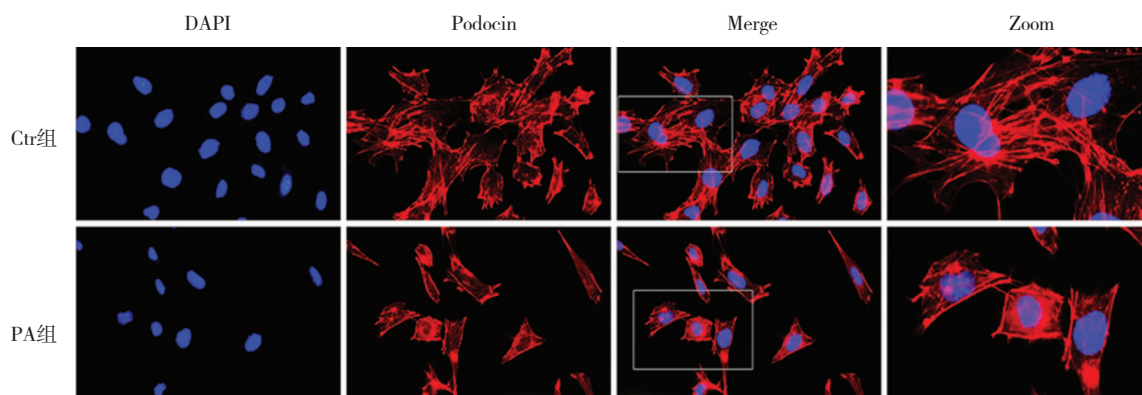
油红“O”染色和 BODIPY 染色结果显示, PA 可以导致足细胞内脂质积聚增多 (图 2A、C), 进一步通过电镜观察可见到足细胞内有明显的脂滴形成 (图 2B), 表明高脂环境下足细胞内脂质积聚明显增多。

2.3 棕榈酸诱导足细胞内 ROS 产生增加

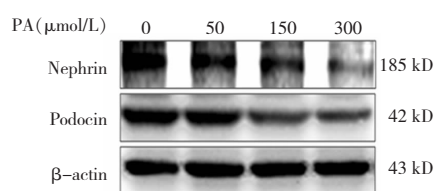
本研究通过 DCFH-DA 染色发现, 与 Ctr 组比较, PA (150 $\mu\text{mol/L}$) 刺激 24 h 后, 已分化的足细胞内 ROS 产生明显增多, 而经 NAC 预处理可明显减弱 PA 诱导的足细胞内 ROS 表达 (图 3)。

2.4 清除 ROS 改善棕榈酸诱导的足细胞肌动蛋白骨架及裂孔隔膜蛋白损伤作用

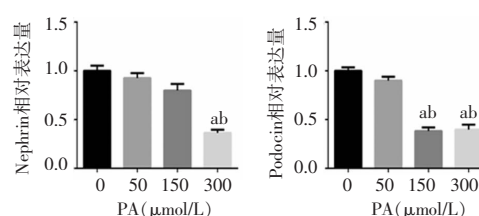
采用 Alexa 549-phalloidin 染色发现, 经 NAC 预处理可明显改善 PA 诱导的足细胞肌动蛋白纤维细胞骨架损伤 (图 4A); 使用 NAC 预处理足细胞清除 ROS 后, 采用 Western blot, 经单因素方差分析, 各组细胞 Nephrin 和 Podocin 蛋白表达量的差异有统计学意义 ($F=13.478, P=0.000; F=15.970, P=0.000$)。



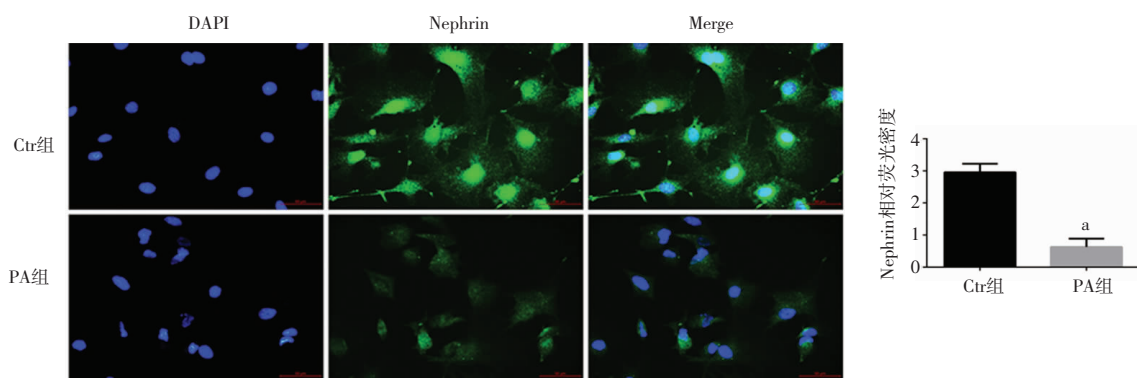
A. Alexa 549-phalloidin 染色



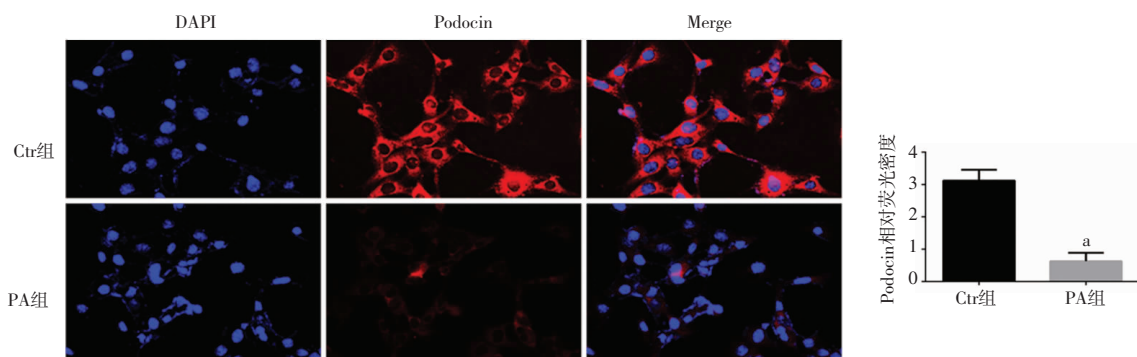
B. Western blot 条带



C. Western blot 蛋白定量



D. Nephlin 蛋白免疫荧光



E. Podocin 蛋白免疫荧光

a: 与 Ctr 组比较, $P < 0.05$; b: 与 50 mol/L PA 组比较, $P < 0.05$

图 1 棕榈酸诱导足细胞肌动蛋白纤维骨架及裂孔隔膜损伤($n=3$)

PA组 Nephlin 和 Podocin 蛋白的表达与 Ctr 组相比明显减少 ($P=0.000, P=0.000$), 同时与 NAC 组相比也明显减少 ($P=0.000$,

$P=0.000$)。PA+NAC 组 Nephlin 和 Podocin 蛋白的表达较 PA 组明显增加 ($P=0.000, P=0.000$) (图 4B、C, 表 2)。

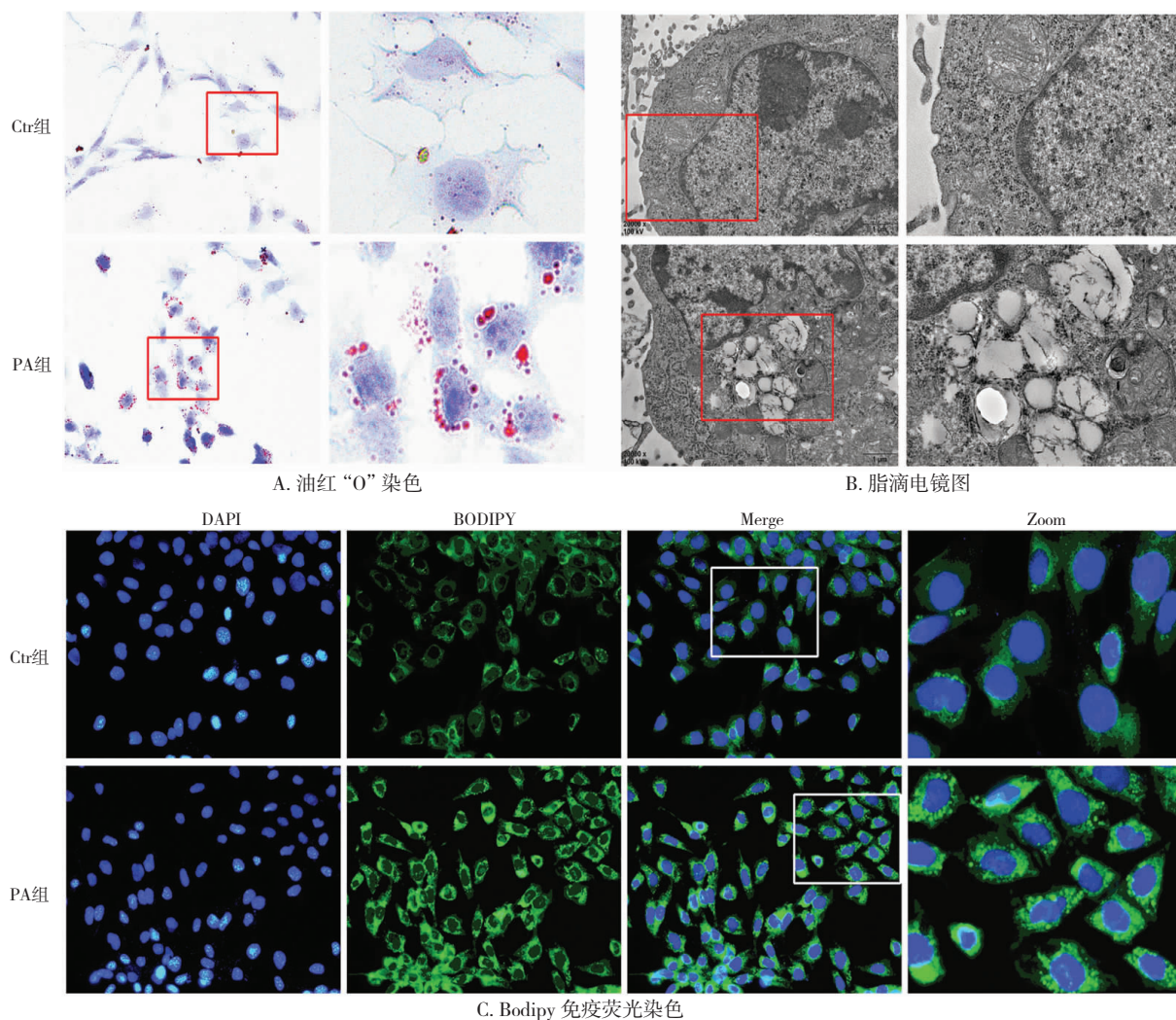


图 2 棕榈酸诱导足细胞内脂质积聚 (150 mol/L, 24 h)

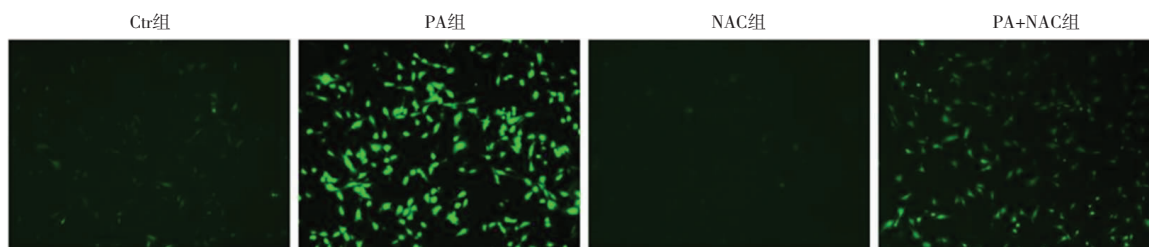
150 $\mu\text{mol/L}$ NAC 预处理足细胞 1 h, 150 $\mu\text{mol/L}$ 棕榈酸刺激足细胞 24 h, DCFH-DA 染色观察足细胞内 ROS 的变化 (细胞免疫荧光 200 $\times$)

图 3 棕榈酸诱导足细胞内 ROS 表达增加

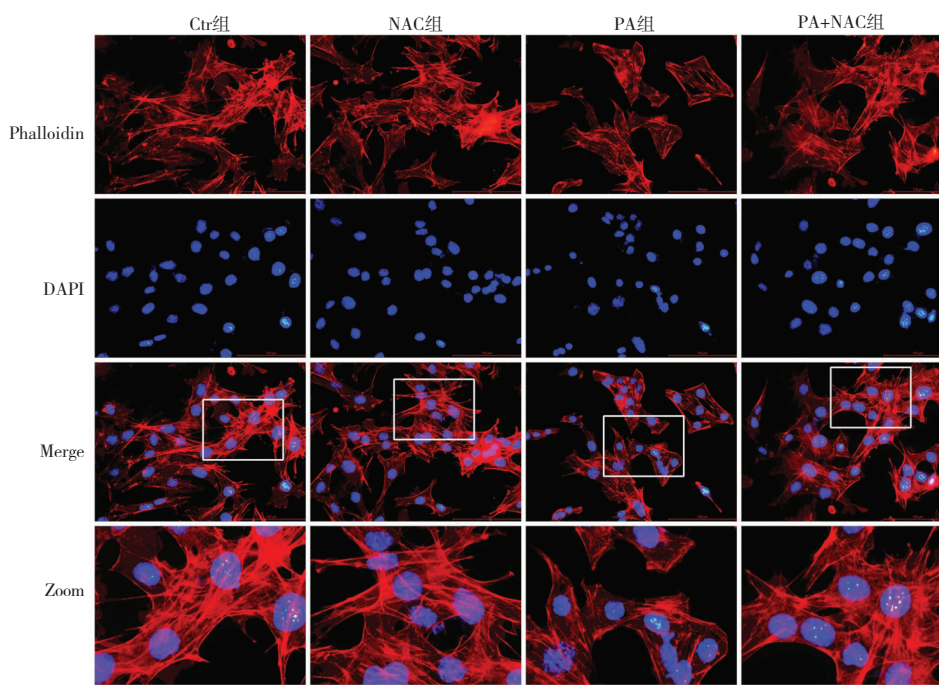
表 2 NAC 清除 ROS 对足细胞 Nephlin 和 Podocin 蛋白表达的影响 ($n=3, \bar{x} \pm s$)

组别	Nephlin	Podocin
Ctrl组	3.450 ± 0.080	3.440 ± 0.080
NAC组	3.620 ± 0.070	3.390 ± 0.060
PA组	1.210 ± 0.040^{ab}	1.300 ± 0.030^{ab}
PA+NAC 组	2.870 ± 0.050^c	2.690 ± 0.060^c
F 值	13.478	15.970
P 值	0.000	0.000

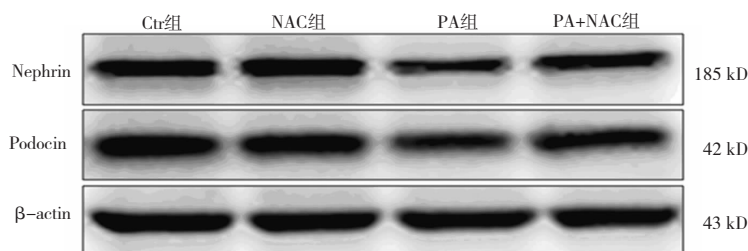
注: a, 与 Ctrl 组比较, $P < 0.05$; b, 与 NAC 组比较, $P < 0.05$; c, 与 PA 组比较, $P < 0.05$

3 讨论

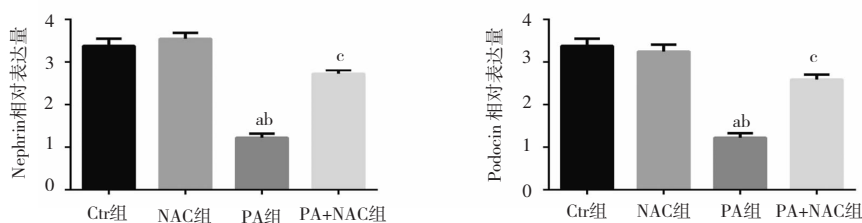
肾小球足细胞是终末分化的脏层上皮细胞, 由胞体、初级突起、足突构成, 在维持正常的肾小球滤过屏障功能当中发挥了重要作用^[12]。足突由高度平行收缩的肌动蛋白纤维束与相应的肌动蛋白组成^[13], 肌动蛋白重排是细胞架构、结构、空间组成的重要调节器, 介导了细胞分裂、分化、迁移等重要生



A. Alexa 549 phalloidin 染色



B. Western blot 条带



150 mol/L NAC 预处理足细胞 1 h, 150 mol/L 棕榈酸刺激足细胞 24 h; a: 与 Ctr 组比较, $P < 0.05$; b: 与 NAC 组比较, $P < 0.05$; c: 与 PA 组比较, $P < 0.05$

C. Western blot 蛋白定量

图 4 清除 ROS 改善棕榈酸诱导的足细胞肌动蛋白纤维及裂孔隔膜损伤 ($n=3$)

物活动^[14]。毗邻足细胞的足突之间形成的裂孔隔膜构成肾小球滤过的最后一道屏障。近来对裂孔隔膜组成分子如 Nephhrin、Podocin 和 CD2AP 以及离子通道蛋白 TRPC6 的研究发现,足细胞足突及其裂孔隔膜结构和功能异常是蛋白尿发生的重要原因^[15]。

慢性肾脏病包括糖尿病肾病、肾病综合征等,常常合并有脂代谢紊乱。自 1982 年 Moorhead 第一次提出脂质肾毒性假说以来,越来越多的基础研究和临床证据均表明脂质在早期就可以直接或间接

损伤肾单位。本研究采用体外培养足细胞,通过 PA 诱导足细胞模拟高脂环境,研究结果发现,PA 可诱导足细胞 F-actin 细胞骨架明显紊乱、断裂、发生重排,裂孔隔膜蛋白 Nephhrin、Podocin 表达水平呈剂量依赖性减弱,表明 PA 可诱导足细胞细胞骨架及裂孔隔膜损伤,这可能是脂代谢紊乱参与肾损害的重要表现之一,但其具体机制尚不清楚。

活性氧(reactive oxygen species, ROS)是外源性氧化剂或细胞内有氧代谢过程中产生的具有很高

生物活性的含氧化合物的总称,包括超氧阴离子($O_2^{\cdot-}$)、过氧化氢(H_2O_2)、羟自由基($HO\cdot$)、一氧化氮(NO)等^[16-17]。大量研究表明,适量水平的 ROS 有利于细胞增殖和分化^[18],然而过量 ROS 聚集可致氧化应激、氧化,破坏蛋白质、脂质、碳水化合物和 DNA,导致细胞损伤和凋亡^[19-20]。有研究显示,ROS 可通过多种信号通路损伤植物细胞骨架^[21],但 ROS 在 PA 诱导下足细胞肌动蛋白纤维骨架及裂孔隔膜损伤中的作用尚不清楚。本研究结果显示,PA 诱导下足细胞内脂质积聚,同时 ROS 产生明显增加。为进一步研究 ROS 在 PA 诱导足细胞损伤中的作用,本实验采用 ROS 清除剂 N-乙酰半胱氨酸(N-acetyl cysteine, NAC)预处理足细胞,结果显示,采用 NAC 清除足细胞内 ROS 能明显改善 PA 诱导的足细胞肌动蛋白微丝重排及 Nephron、Podocin 表达下调,表明 ROS 参与了 PA 诱导的足细胞细胞骨架及裂孔隔膜蛋白的损伤。

综上所述,本文研究了 PA 对肾小球足细胞的肌动蛋白纤维及裂孔隔膜损伤的影响及机制。结果表明 PA 可明显诱导足细胞肌动蛋白微丝骨架重排,下调肾小球足细胞裂孔隔膜蛋白 Nephron 和 Podocin 的表达。ROS 在其中发挥了重要作用,表明脂代谢紊乱可通过氧化应激参与肾损害的发生。但是,其具体信号调控途径仍需进一步研究。

参 考 文 献

- [1] Xing Y, Ding J, Fan Q, et al. Diversities of podocyte molecular changes induced by different antiproteinuria drugs[J]. *Exp Biol Med* (Maywood), 2006, 231(5): 585-593.
- [2] Mao J, Zhang Y, Du L, et al. Expression profile of nephrin, podocin, and CD2AP in Chinese children with MCNS and IgA nephropathy[J]. *Pediatr Nephrol*, 2006, 21(11): 1666-1675.
- [3] Perico L, Conti S, Benigni A, et al. Podocyte-actin dynamics in health and disease[J]. *Nat Rev Nephrol*, 2016, 12(11): 692-710.
- [4] Ha TS. Roles of adaptor proteins in podocyte biology[J]. *World J Nephrol*, 2013, 2(1): 1-10.
- [5] Wheeler DC, Bernard DB. Lipid abnormalities in the nephrotic syndrome: causes, consequences, and treatment[J]. *Am J Kidney Dis*, 1994, 23(3): 331-346.
- [6] Srivastava SP, Shi S, Koya D, et al. Lipid mediators in diabetic nephropathy[J]. *Fibrogenesis Tissue Repair*, 2014, 7: 12.
- [7] Sieber J, Lindenmeyer MT, Kampe K, et al. Regulation of podocyte survival and endoplasmic reticulum stress by fatty acids[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2010, 299(4): F821-829.
- [8] Kampe K, Sieber J, Orellana JM, et al. Susceptibility of podocytes to palmitic acid is regulated by fatty acid oxidation and inversely depends on acetyl-CoA carboxylases 1 and 2[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2014, 306(4): F401-409.
- [9] Xu S, Nam SM, Kim JH, et al. Palmitate induces ER calcium depletion and apoptosis in mouse podocytes subsequent to mitochondrial oxidative stress[J]. *Cell Death Dis*, 2015, 6: e1976.
- [10] Hua W, Huang HZ, Tan LT, et al. CD36 mediated fatty acid-induced podocyte apoptosis via oxidative stress[J]. *PLoS One*, 2015, 10(5): e0127507.
- [11] Jiang XS, Chen XM, Wan JM, et al. Autophagy protects against palmitic acid-induced apoptosis in podocytes in vitro[J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 42764.
- [12] Pavenstadt H, Kriz W, Kretzler M. Cell biology of the glomerular podocyte[J]. *Physiol Rev*, 2003, 83(1): 253-307.
- [13] Faul C, Asanuma K, Yanagida-Asanuma E, et al. Actin up: regulation of podocyte structure and function by components of the actin cytoskeleton[J]. *Trends Cell Biol*, 2007, 17(9): 428-437.
- [14] Ballestrem C, Wehrle-Haller B, Imhof BA. Actin dynamics in living mammalian cells[J]. *J Cell Sci*, 1998, 111(Pt 12): 1649-1658.
- [15] Mukerji N, Damodaran TV, Winn MP. TRPC6 and FSGS: the latest TRP channelopathy[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2007, 1772(8): 859-868.
- [16] Cao W, Li M, Wu T, et al. alphaMSH prevents ROS-induced apoptosis by inhibiting Foxo1/mTORC2 in mice adipose tissue[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(25): 40872-40884.
- [17] Halliwell B. Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life[J]. *Plant Physiol*, 2006, 141(2): 312-322.
- [18] Prieto-Bermejo R, Hernandez-Hernandez A. The importance of NADPH oxidases and redox signaling in angiogenesis[J]. *Antioxidants (Basel)*, 2017, 6(2): E32.
- [19] Perry G, Raina AK, Nunomura A, et al. How important is oxidative damage? Lessons from Alzheimer's disease[J]. *Free Radic Biol Med*, 2000, 28(5): 831-834.
- [20] Circu ML, Aw TY. Reactive oxygen species, cellular redox systems, and apoptosis[J]. *Free Radic Biol Med*, 2010, 48(6): 749-762.
- [21] Livanos P, Galatis B, Apostolakis P. The interplay between ROS and tubulin cytoskeleton in plants[J]. *Plant Signal Behav*, 2014, 9(1): e28069.

(责任编辑:冉明会)