

雷公藤内酯醇保护脂多糖诱导足细胞损伤的体外研究

齐芳艳¹ 刘俊朝¹ 俞建^{1△} 徐虹² 韩新利² 汪永红¹ 孙雯¹

(¹复旦大学附属儿科医院中医科, ²肾脏科 上海 201102)

【摘要】 目的 探究雷公藤内酯醇(triptolide, TPL)对脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)诱导的足细胞损伤模型的保护作用。**方法** 以LPS诱导的足细胞损伤模型为研究对象,设立空白对照组、药物组、模型组和实验组。采用免疫荧光法观察足细胞肌动蛋白细胞骨架的形态及粘着斑蛋白 Vinculin的表达,激光共聚焦显微镜采集图像;Western blot检测各组血管生成素样蛋白3(angiotensin-like protein 3, Angptl3)、CD2-相关蛋白(CD2-associated protein, CD2AP)、Synaptopodin以及Palladin的表达。**结果** TPL可以使足细胞细胞骨架排列趋于整齐,部分丝状结构完整,提高足细胞CD2AP ($P<0.05$)和Synaptopodin($P<0.001$)、Palladin ($P<0.05$)及Vinculin的表达,同时可降低足细胞Angptl3的表达($P<0.05$)。**结论** TPL可在一定程度上保护足细胞骨架,缓解LPS造成的细胞损伤。

【关键词】 足细胞; 雷公藤内酯醇(TPL); 脂多糖(LPS); 细胞骨架

【中图分类号】 R967 **【文献标志码】** A **doi:** 10.3969/j.issn.1672-8467.2020.05.006

The research of triptolide protecting the podocyte cytoskeleton against lipopolysaccharide-induced injury *in vitro*

QI Fang-yan¹, LIU Jun-chao¹, YU Jian^{1△}, XU Hong², HAN Xin-li², WANG Yong-hong¹, SUN Wen¹

(¹Department of Traditional Chinese Medicine, ²Department of Nephrology, Children's Hospital,

Fudan University, Shanghai 201102, China)

【Abstract】 Objective To explore the protective effect of triptolide (TPL) on lipopolysaccharide (LPS)-induced podocyte injury. **Methods** An LPS-induced podocyte injury model *in vitro* was adopted in the experiment. The podocytes were divided into 4 groups: blank control group, drug group, model group, and experimental group. We observed the rearrangement of the podocyte cytoskeleton and detected the expression of focal adhesion protein Vinculin by immunofluorescence. The expression of CD2-associated protein (CD2AP), synaptopodin, palladin, angiotensin-like protein 3 (Angptl3) were detected by Western Blot. **Results** *In vitro* LPS-induced podocyte injury, TPL intervention resulted in a relatively neat podocyte cytoskeletal arrangement, a partial intact filamentous structure, and increased expressions of CD2AP ($P<0.05$), Synaptopodin ($P<0.001$), Palladin ($P<0.05$) and Vinculin. Meanwhile, it significantly reversed LPS-induced upregulation of Angptl3 ($P<0.05$). **Conclusion** TPL is effective for protecting the podocyte cytoskeleton to some extent and alleviating the cell damage caused by LPS stimulation.

【Key words】 podocyte; triptolide (TPL); lipopolysaccharide (LPS); cytoskeleton

* This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (8157150258).

国家自然科学基金(8157150258)

[△]Corresponding author E-mail: yuj@shmu.edu.cn

网络首发时间:2020-07-20 11:15:47 网络首发地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1885.R.20200717.0830.008.html>

足细胞又称为肾小球脏层上皮细胞,是高度特化的、终末分化的上皮细胞^[1],参与构成肾小球滤过屏障,在肾小球滤过功能中发挥关键作用^[2]。具有大量足突是足细胞的显著特点,这一结构的维系由细胞内肌动蛋白细胞骨架承担^[3],相邻足细胞之间的足突可互相交叉重叠形成裂孔隔膜(the slit diaphragm, SD)。各种病理因素可导致足细胞损伤,使细胞骨架发生重排,出现广泛的足突融合^[4],这是临床上产生蛋白尿的重要基础。脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)是脂质A与革兰阴性细菌细胞壁寡糖的复合物,其诱导的足细胞损伤模型被广泛应用于肾脏疾病研究^[5-6]。LPS主要通过NF- κ B信号通路导致足突融合及细胞骨架改变,从而造成足细胞损伤^[5]。

中医药用于肾脏疾病的治疗已有数千年历史,雷公藤内酯醇(triptolide, TPL)^[7]是中草药雷公藤的主要活性成分之一,TPL生物学作用包括免疫抑制、抗炎、抗癌等^[8-11]。TPL可提高Nephrin等足细胞保护性蛋白的表达,从而对嘌呤霉素氨基核苷(purinomycin aminophenol, PAN)诱导的足细胞损伤模型起保护作用^[12-13]。

经典足细胞损伤模型中,可出现足细胞骨架相关蛋白质分子表达降低,如CD2-相关蛋白(CD2-associated protein, CD2AP)、突触极蛋白(Synaptopodin)、Palladin、黏着斑蛋白(Vinculin)等。CD2AP表达于SD,可与Nephrin、Podocin结合^[14],SH3-1结构域Y10位的酪氨酸磷酸化过程对其与Nephrin的结合起关键作用^[15]。Lehtonen等^[16]的研究证明,CD2AP与足细胞细胞骨架肌动蛋白密切相关,可参与维持细胞骨架稳定。Synaptopodin是一种富含脯氨酸的肌动蛋白相关蛋白质分子,参与调控足细胞足突的肌动蛋白形态及其运动^[17]。Palladin在参与稳定细胞骨架和维持黏着斑功能中发挥关键的作用^[18]。Artelt等^[19]研究表明,足细胞中Palladin与细胞骨架关系密切,其表达降低可引起足细胞肌动蛋白丝形成减少以及肌动蛋白相关蛋白质分子的表达异常。Vinculin是主要定位于黏着斑的衔接蛋白质分子^[20],Lausecker等^[21]研究表明,Vinculin参与维系足细胞足突结构和稳定细胞间连接,维持肾小球滤过屏障功能完整,并参与调节肾小球滤过作用。血管生成素样蛋白3(angiotensin-like protein 3, Angptl3)基因最早由

Conklin等^[22]发现,生理情况下主要表达于肝脏,肾脏表达微弱,参与脂质代谢^[23]。实验证明,Angptl3可介导足细胞损伤^[24-26]。上述蛋白质分子与足细胞细胞骨架构成及功能维持均有一定关系,其表达水平的高低可在一定程度上反映对细胞骨架的影响程度。

因此,我们利用TPL处理LPS诱导的足细胞损伤模型,通过观察细胞骨架变化及检测不同处理组足细胞CD2AP、Synaptopodin、Palladin、Vinculin以及Angptl3的表达变化,从而探讨TPL是否对足细胞细胞骨架具有保护作用。

材 料 和 方 法

细胞培养 小鼠条件永生化足细胞株(MPC5),由美国Peter Mundel教授构建、浙江大学毛建华教授转赠。培养方法参考文献^[27],MPC5复苏后用含10%胎牛血清、100 IU/mL青霉素、100 mg/mL链霉素、10 IU/mL γ -IFN的RPMI 1640培养基(美国Gibco公司),于33℃、5%CO₂细胞培养箱内培养;诱导分化时,转移至37℃、5%CO₂培养箱内,加入不含 γ -IFN的1640培养基中继续培养;分化14天时,用0.25%Trypsin-EDTA(美国Gibco公司)消化传代培养足细胞,细胞汇合达80%时进行干预实验。LPS(美国Sigma公司)诱导足细胞损伤,根据给予或不给予TPL(上海融禾医药科技有限公司),检测纯度99.03%)处理24 h,分为空白对照组(生理盐水)、药物组(TPL 3 ng/mL)、模型组(LPS 25 μ g/mL)及实验组(LPS 25 μ g/mL+TPL 3 ng/mL)。药物作用浓度的选择参考文献^[12],由前期预实验确定最终浓度,结果未展示。

Western blot检测 将收集的细胞溶解于含有蛋白酶抑制剂PMSF的RIPA缓冲液(上海碧云天生物技术有限公司)中,冰上裂解后4℃11 000 \times g离心取上清,加入加样缓冲液(北京索莱宝科技有限公司)100℃加热10 min,确定蛋白上样量,配制8%分离胶、浓缩胶,Marker,电泳分离蛋白,转膜,根据目的蛋白分子量裁剪条带,5%脱脂奶粉封闭30 min, TBST洗膜,加入针对Angptl3、Synaptopodin、CD2AP、Palladin和GAPDH的一抗在4℃孵育过夜,洗膜后使用山羊抗兔IgG-HRP二抗60 min,洗膜10 min \times 3次,显色、曝光(Tanon-5200)。将蛋白表达标准化为GAPDH作为管家蛋白质。

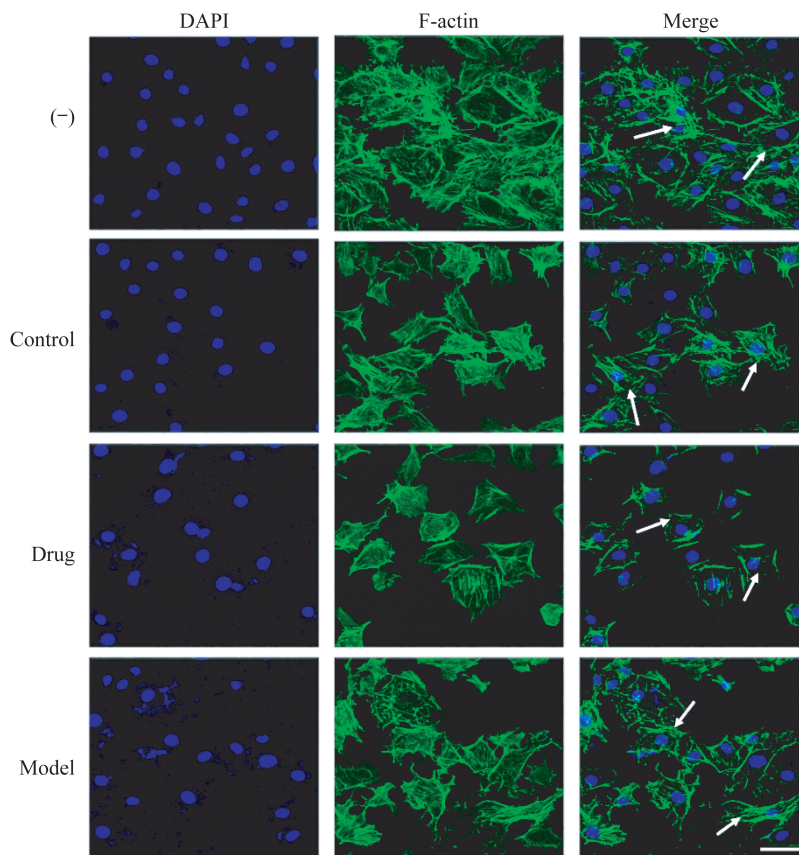
足细胞细胞骨架观察 药物处理 24 h, 预冷的 PBS 清洗, 4% 多聚甲醛室温固定 10 min, 0.2% Triton-X 100 PBS 室温破膜 10 min, PBS 洗片后加入 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 FITC 标记的鬼笔环肽(美国 Sigma 公司), 室温避光孵育 40 min, PBS 清洗后加入 DAPI 染液, 室温避光孵育 20 min, PBS 清洗 2 次, 抗淬灭封片剂封片, 玻片于激光共聚焦显微镜(Leica SP8)下观察并采集图像

足细胞免疫荧光 药物处理 24 h, 预冷的 PBS 清洗, 4% 多聚甲醛室温固定 10 min, 0.2% Triton-X 100 PBS 室温破膜 10 min, PBS 洗片后加入 3% BSA-PBS 室温封闭 30 min, 加入 3% BSA-PBS 配制的 Vinculin 一抗 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜, PBS 清洗后加入 FITC 标记的荧光二抗及 DAPI 染液, 室温避光孵育 1 h, PBS 清洗 3 次, 抗淬灭封片剂封片, 于激光共聚焦显微镜(Leica SP8)下观察并采集图像。

统计学分析 数据采用 GraphPad Prism 7 统计软件处理, 多组间比较采用单因素方差分析, 两组间比较采用独立样本 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。每个实验至少重复 3 次。

结 果

TPL 对足细胞细胞骨架的影响 足细胞骨架重排是检测足细胞功能的重要指标之一, 因此我们检测了各组的细胞骨架情况。如图 1 所示, 通过免疫荧光染色观察不同处理组细胞骨架排列情况, 药物组与空白对照组无明显差异, 模型组足细胞细胞骨架呈短棒状无序排列, 甚至正常的丝状结构消失, 细胞形态改变较为明显, 而实验组可见足细胞细胞骨架排列趋于整齐, 部分丝状结构完整。



Green: F-actin combined with FITC-labeled phalloidin; Blue: DAPI stained nucleus; Arrows: Podocyte cytoskeleton. (-): saline; Control group: 3 ng/mL TPL; Drug group: 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ LPS; Model group: 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ LPS+3 ng/mL TPL. Scale bar=50 μm , $n=3$.

图 1 激光共聚焦显微镜拍摄足细胞骨架

Fig 1 Cytoskeleton in podocyte visualized by the confocal microscope

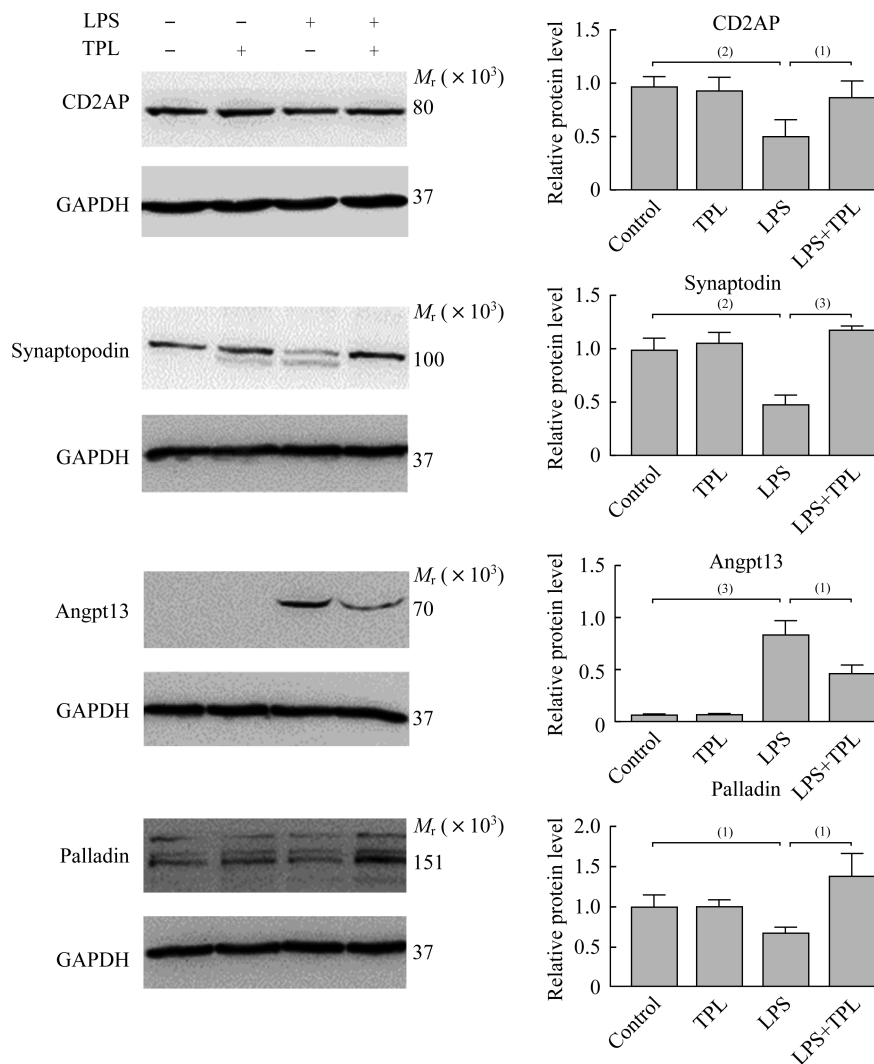
TPL 对足细胞 CD2AP 和 Synaptopodin 表达的影响 应用 Western blot 分别检测空白对照组、药物

组、模型组及实验组足细胞 CD2AP 和 Synaptopodin 的表达情况(图 2)。与空白对照组相比, 药物组

CD2AP及Synaptopodin表达无明显差异,模型组表达明显降低($P<0.01$);与模型组相比,实验组足细胞CD2AP($P<0.05$)及Synaptopodin($P<0.001$)的表达明显增高。

TPL对足细胞Palladin及Angptl3表达的影响
应用Western blot分别检测空白对照组、药物组、模型组及实验组足细胞Palladin及Angptl3的表达情

况(图2)。与空白对照组相比,药物组Palladin表达无明显差异,模型组足细胞Palladin表达明显降低($P<0.05$);与模型组相比,实验组Palladin的表达明显增高($P<0.05$)。与空白对照组相比,药物组Angptl3表达无明显差异,模型组Angptl3的表达明显增高($P<0.001$);与模型组相比,实验组Angptl3的表达明显降低($P<0.05$)。



(-): Saline; Control group: 3 ng/mL TPL; Drug group: 25 μ g/mL LPS; Model group: 25 μ g/mL LPS+3 ng/mL TPL. ⁽¹⁾ $P<0.005$, ⁽²⁾ $P<0.01$, ⁽³⁾ $P<0.001$, $n=3$.

图2 Western blot检测足细胞中相关蛋白质表达情况

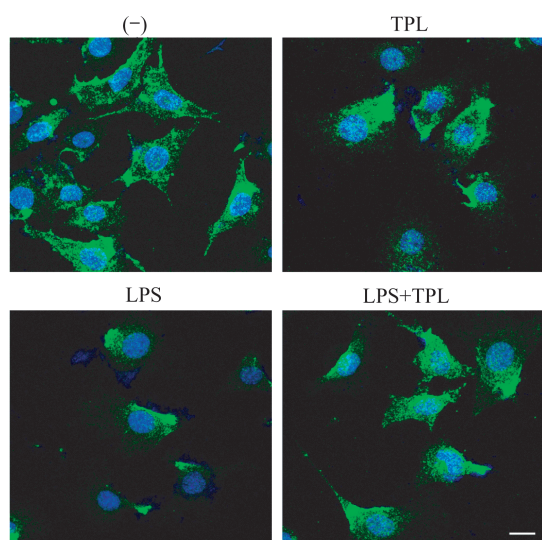
Fig 2 Expression of related proteins in podocyte detected by Western blot

TPL对足细胞黏着斑蛋白Vinculin表达的影响
足细胞失黏附是其功能损伤的另一个重要表现,黏着斑蛋白Vinculin的表达情况可以反映足细胞的黏附功能。应用免疫荧光法检测不同组Vinculin的表达情况(图3)。与空白对照组相比,药物组Vinculin表达无明显降低,模型组的Vinculin表

达明显降低;与模型组相比,实验组Vinculin表达相对较高。

讨论

足细胞足突融合是产生蛋白尿的重要病理生



Green: FITC-labeled vinculin; Blue: DAPI-stained nucleus. (-): Saline; Control group: 3 ng/mL TPL; Drug group: 25 μ g/mL LPS; Model group: 25 μ g/mL LPS+3 ng/mL TPL. Scale bar=50 μ m, $n=3$.

图3 免疫荧光法检测足细胞中 Vinculin 的表达

Fig 3 Expression of Vinculin in podocyte detected by Immunofluorescence

理基础之一,与足细胞细胞骨架结构损伤及细胞-细胞连接缺失密切相关^[28-29]。CD2AP作为足细胞重要的固有蛋白质分子之一^[30],与足细胞细胞骨架的维系关系密切^[16];Synaptopodin在参与调节足细胞骨架重排及足细胞的运动过程中发挥重要的作用^[17,31],Huber等^[32]研究表明,Synaptopodin与CD2AP之间有直接的相互作用。本实验探究TPL对LPS诱导的足细胞损伤模型的保护作用,药物作用浓度参考Zheng等^[12]的研究,最终浓度由前期预实验确定,研究结果提示TPL可缓解LPS诱导的足细胞骨架损伤,保持足细胞细胞骨架结构的相对完整,并使足细胞CD2AP、Synaptopodin的表达增高,所以我们认为TPL对足细胞骨架的保护作用与其使CD2AP和Synaptopodin的表达增高有一定的关系。

Artelt等^[19]研究提示,Palladin的表达降低与肌动蛋白纤维的减少有关,同时也与足细胞特异性的肌动蛋白结合蛋白Synaptopodin和 α -actinin-4的表达降低有关。Atherton等^[33]的研究表明,Vinculin在整合素介导的肌动蛋白丝与细胞外基质的连接中发挥重要作用,有研究证明^[34-35]Vinculin对维持足突正常结构十分重要;Palladin对足细胞的影响可能与Vinculin有关^[19]。我们的研究证明,TPL不仅可以减轻LPS造成的足细胞Palladin表达降低,同时可

以有效保护Vinculin的表达。Palladin及Vinculin的表达增高与保护足细胞细胞骨架结构完整性有一定的关系,但TPL与上述两种蛋白质分子的表达有无直接联系,尚需进一步试验证明。

徐虹课题组对Angptl3基因在肾脏疾病中的作用做了大量研究。在足细胞损害严重的病理类型中,如微小病变型肾病(minimal change disease, MCD)和膜性肾病(membranous nephropathy, MN)肾脏组织中Angptl3的表达明显增高^[36]。肾病损伤动物模型中Angptl3主要在肾小球足细胞足突部位表达增高^[37]。进一步的体外研究表明,Angptl3可与足细胞表面的整合素 α V β 3结合,最终通过 α V β 3/FAK/PI3K信号通路导致足细胞骨架重排和足细胞迁移增加^[25]。最新研究表明,抗ANGPTL3-CCD抗体可以改善小鼠阿霉素模型中的蛋白尿及足细胞功能损伤^[38]。本研究中,空白对照组及药物组足细胞Angptl3几乎不表达,模型组中Angptl3的表达明显增高,实验组Angptl3的表达显著降低,说明TPL可以降低足细胞Angptl3的表达。目前尚无关于通过降低Angptl3的表达而保护足细胞药物的报道,我们推测TPL对足细胞的保护与影响Angptl3的表达可能有一定的联系。

传统中医药治疗肾病历史悠久,雷公藤在肾脏疾病及免疫性疾病的治疗中应用颇为广泛。Zheng等^[12]研究发现,TPL可以保护足细胞减轻嘌呤霉素导致的细胞骨架损伤以及Nephrin和Podocin的异常表达,作用机制主要与影响p38 MAPK信号通路、参与抑制ROS的产生以及RhoA活性恢复等有关。在被动性Heymann肾炎(PHN)膜性肾病大鼠模型中,TPL可以明显减少蛋白尿,减轻免疫介导的肾脏损伤^[13]。体外膜攻击复合物C5b-9诱导的足细胞损伤模型中,TPL可以减轻C5b-9介导的足细胞损伤,其中可能涉及与MAPK相关的多条信号通路。上述围绕TPL的实验研究主要涉及嘌呤霉素、阿霉素以及C5b-9诱导的损伤模型。本研究以LPS诱导的足细胞损伤模型为研究对象,探究TPL对足细胞细胞骨架的保护作用,结果提示TPL对足细胞骨架有一定的保护作用,可通过调节重要蛋白质分子的表达,在一定程度上缓解LPS造成的足细胞损伤。临床上应用较多的雷公藤多苷是从植物雷公藤中提取的含多种成分的混合物,减轻了部分雷公藤的毒性作用,其主要不良反应包括肝肾功能损害

和消化系统症状等。本研究中所用 TPL 试剂是从中药雷公藤中提取的高纯度的单一物质。文献表明 TPL 有一定的细胞毒性^[39],目前临床中尚无应用,其毒副作用研究尚需进一步实验。

足细胞损伤是多数肾脏疾病发生、发展的重要病理生理机制,探究如何保护足细胞功能结构的完整已成为研究治疗肾脏疾病药物的重要方向之一。足细胞正常细胞骨架的维持、足细胞骨架异常重排过程涉及众多分子间的相互作用及多条信号通路调控^[40]。我们的研究初步提示,TPL 对 LPS 造成的足细胞损伤有较好的保护作用,可能与其提高 CD2AP、Synaptopodin、Palladin、Vinculin 表达以及降低 Angptl3 表达有一定的关系,但具体机制有待进一步探究,特别是明确相关分子之间的相互关系,将有助于更好地探讨足细胞的保护作用。

参 考 文 献

- [1] SHANKLAND SJ. Cell cycle regulatory proteins in glomerular disease[J]. *Kidney Int*, 1999, 56(4): 1208-1215.
- [2] GREKA A, MUNDEL P. Cell biology and pathology of podocytes[J]. *Annu Rev Physiol*, 2012, 74: 299-323.
- [3] MUNDEL P, SHANKLAND SJ. Podocyte biology and response to injury[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2002, 13(12): 3005-3015.
- [4] SHANKLAND SJ. The podocyte's response to injury: role in proteinuria and glomerulosclerosis[J]. *Kidney Int*, 2006, 69(12): 2131-2147.
- [5] SRIVASTAVA T, SHARMA M, YEW KH, et al. LPS and PAN-induced podocyte injury in an *in vitro* model of minimal change disease: changes in TLR profile[J]. *J Cell Commun Signal*, 2013, 7(1): 49-60.
- [6] PIPPIN JW, BRINKKOETTER PT, CORMACK-ABOUD FC, et al. Inducible rodent models of acquired podocyte diseases[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2009, 296(2): F213-F229.
- [7] WANG Y, LU JJ, HE L, et al. Triptolide (TPL) inhibits global transcription by inducing proteasome-dependent degradation of RNA polymerase II (Pol II) [J]. *PLoS One*, 2011, 6(9): e23993.
- [8] CORSON TW, CREWS CM. Molecular understanding and modern application of traditional medicines: triumphs and trials[J]. *Cell*, 2007, 130(5): 769-774.
- [9] BAO X, CUI J, WU Y, et al. The roles of endogenous reactive oxygen species and nitric oxide in triptolide-induced apoptotic cell death in macrophages[J]. *J Mol Med (Berl)*, 2007, 85(1): 85-98.
- [10] FIDLER JM, LI K, CHUNG C, et al. PG490-88, a derivative of triptolide, causes tumor regression and sensitizes tumors to chemotherapy[J]. *Mol Cancer Ther*, 2003, 2(9): 855-862.
- [11] EFFERTH T, LI PC, KONKIMALLA VS, et al. From traditional Chinese medicine to rational cancer therapy[J]. *Trends Mol Med*, 2007, 13(8): 353-361.
- [12] ZHENG CX, CHEN ZH, ZENG CH, et al. Triptolide protects podocytes from puromycin aminonucleoside induced injury *in vivo* and *in vitro* [J]. *Kidney Int*, 2008, 74(5): 596-612.
- [13] CHEN ZH, QIN WS, ZENG CH, et al. Triptolide reduces proteinuria in experimental membranous nephropathy and protects against C5b-9-induced podocyte injury *in vitro* [J]. *Kidney Int*, 2010, 77(11): 974-988.
- [14] SHIH N Y, LI J, COTRAN R, et al. CD2AP localizes to the slit diaphragm and binds to nephrin via a novel C-terminal domain [J]. *Am J Pathol*, 2001, 159(6): 2303-2308.
- [15] TOSSIDOU I, TENG B, WORTHMANN K, et al. Tyrosine phosphorylation of CD2AP affects stability of the slit diaphragm complex [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2019, 30(7): 1220-1237.
- [16] LEHTONEN S, ZHAO F, LEHTONEN E. CD2-associated protein directly interacts with the actin cytoskeleton [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2002, 283(4): F734-F743.
- [17] MUNDEL P, HEID HW, MUNDEL TM, et al. Synaptopodin: an actin-associated protein in telencephalic dendrites and renal podocytes [J]. *J Cell Biol*, 1997, 139(1): 193-204.
- [18] PARAST MM, OTEY CA. Characterization of palladin, a novel protein localized to stress fibers and cell adhesions [J]. *J Cell Biol*, 2000, 150(3): 643-656.
- [19] ARTELT N, LUDWIG TA, ROGGE H, et al. The role of palladin in podocytes [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2018, 29(6): 1662-1678.
- [20] HERNANDEZ-VARAS P, BERGE U, LOCK JG, et al. A plastic relationship between vinculin-mediated tension and adhesion complex area defines adhesion size and lifetime [J]. *Nat Commun*, 2015, 6: 7524.
- [21] LAUSECKER F, TIAN X, INOUE K, et al. Vinculin is required to maintain glomerular barrier integrity [J]. *Kidney Int*, 2018, 93(3): 643-655.
- [22] CONKLIN D, GILBERTSON D, TAFT DW, et al. Identification of a mammalian angiopoietin-related protein expressed specifically in liver [J]. *Genomics*, 1999, 62(3):

- 477-482.
- [23] KOISHI R, ANDO Y, ONO M, *et al.* Angptl3 regulates lipid metabolism in mice [J]. *Nat Genet*, 2002, 30 (2) : 151-157.
- [24] GAO X, XU H, LIU H, *et al.* Angiopoietin-like protein 3 regulates the motility and permeability of podocytes by altering nephrin expression in vitro [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 399(1):31-36.
- [25] LIN Y, RAO J, ZHA XL, *et al.* Angiopoietin-like 3 induces podocyte F-actin rearrangement through integrin α (V) β (3)/FAK/PI3K pathway-mediated Rac1 activation[J]. *Biomed Res Int*, 2013, 2013:135608.
- [26] LIU J, GAO X, ZHAI Y, *et al.* A novel role of angiopoietin-like-3 associated with podocyte injury [J]. *Pediatr Res*, 2015, 77(6):732-739.
- [27] SALEEM MA, O'HARE MJ, REISER J, *et al.* A conditionally immortalized human podocyte cell line demonstrating nephrin and podocin expression [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2002, 13(3):630-638.
- [28] ICHIMURA K, KURIHARA H, SAKAI T. Actin filament organization of foot processes in rat podocytes[J]. *J Histochem Cytochem*, 2003, 51(12):1589-1600.
- [29] OH J, REISER J, MUNDEL P. Dynamic (re)organization of the podocyte actin cytoskeleton in the nephrotic syndrome[J]. *Pediatr Nephrol*, 2004, 19(2):130-137.
- [30] REN Q, YOU YS. CD2-associated protein participates in podocyte apoptosis via PI3K/Akt signaling pathway [J]. *J Recept Signal Transduct Res*, 2016, 36(3):288-291.
- [31] ASANUMA K, YANAGIDA-ASANUMA E, FAUL C, *et al.* Synaptopodin orchestrates actin organization and cell motility via regulation of RhoA signalling [J]. *Nat Cell Biol*, 2006, 8(5):485-491.
- [32] HUBER TB, KWONG C, WU H, *et al.* Bigenic mouse models of focal segmental glomerulosclerosis involving pairwise interaction of CD2AP, Fyn, and synaptopodin[J]. *J Clin Invest*, 2006, 116(5):1337-1345.
- [33] ATHERTON P, STUTCHBURY B, JETHWA D, *et al.* Mechanosensitive components of integrin adhesions: Role of vinculin[J]. *Exp Cell Res*, 2016, 343(1):21-27.
- [34] MIAO J, FAN Q, CUI Q, *et al.* Newly identified cytoskeletal components are associated with dynamic changes of podocyte foot processes [J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2009, 24(11):3297-3305.
- [35] BABAYEVA S, MILLER M, ZILBER Y, *et al.* Plasma from a case of recurrent idiopathic FSGS perturbs non-muscle myosin II A (MYH9 protein) in human podocytes [J]. *Pediatr Nephrol*, 2011, 26(7):1071-1081.
- [36] 饶佳,徐虹,孙利,等.儿童原发性肾病综合征中血管生成素样蛋白3的表达[J].中华肾脏病杂志,2006,22(5):286-290.
- [37] 武建文,徐虹,赵晓晴,等.阿霉素肾病大鼠肾组织中血管生成素样蛋白3基因表达[J].中华肾脏病杂志,2006,22(1):37-42.
- [38] HAN X, DAI R, ZHAI Y, *et al.* Anti-proteinuria effect of antibody against ANGPTL3 coil-coiled domain on adriamycin-induced nephropathy in mice [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 516(3):812-818.
- [39] XI C, PENG S, WU Z, *et al.* Toxicity of triptolide and the molecular mechanisms involved[J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 90:531-541.
- [40] 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.

(收稿日期:2019-09-01; 编辑:王蔚)