

万古霉素诱导人肾小管上皮细胞损伤及其 Smad4 表达的研究

高瑞¹, 肖晓琳², 许建春¹, 宋玮^{1*}

1. 天津市第五中心医院 药剂科, 天津 300450

2. 天津市第五中心医院 中心实验室, 天津 300450

摘要: **目的** 研究万古霉素诱导人肾小管上皮细胞 (HK-2) 损伤及其 Smad 同源物 4 (Smad4) 表达, 并探讨其潜在的作用机制。**方法** 使用不同终浓度 (0、1、2、3、4、5 mmol/L) 的万古霉素溶液作用于 HK-2 细胞 24 h, 显微镜下观察万古霉素对细胞形态的影响; 蛋白质免疫印迹法检测 Smad4、B 淋巴细胞瘤-2 (Bcl-2) 相关 X 蛋白 (Bax)、Bcl-2 的蛋白水平; TUNEL 法检测 HK-2 细胞凋亡情况; CCK8 法检测 HK-2 细胞活力来研究万古霉素对肾脏的毒性作用。构建 Smad4 过表达质粒, 通过 CCK8 法和 TUNEL 实验检测 Smad4 过表达对万古霉素诱导的 HK-2 细胞损伤的影响。**结果** 与对照组比较, 随着万古霉素浓度升高, HK-2 细胞逐渐变形, 数量逐渐减少; 细胞活力显著降低, 凋亡率显著增加 ($P < 0.05$ 、 0.01)。与对照组比较, 促凋亡蛋白 Bax 表达显著增高, 而抗凋亡蛋白 Smad4、Bcl-2 表达则显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001)。过表达 Smad4 后, 使万古霉素诱导的 HK-2 的细胞活力显著增加, 凋亡率显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.001)。**结论** 万古霉素能够诱导人肾小管上皮细胞损伤, 其作用机制可能与调控 Smad4 的蛋白降解密切相关。

关键词: 万古霉素; 人肾近曲小管上皮细胞; 肾损伤; Smad 同源物 4; B 淋巴细胞瘤-2; B 淋巴细胞瘤-2 相关 X 蛋白

中图分类号: R965 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2024)01-0008-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2024.01.002

Injury human renal tubular epithelial cell induced by vancomycin and its expression of Smad4

GAO Rui¹, XIAO Xiaolin², XU Jianchun¹, SONG Wei¹

1. Department of Pharmacy, The Fifth Central Hospital of Tianjin, Tianjin 300450, China

2. Central Laboratory, The Fifth Central Hospital of Tianjin, Tianjin 300450, China

Abstract: Objective To study the injury of human renal tubular epithelial cells (HK-2) induced by vancomycin and the expression of Smad4, and to explore the potential mechanism of action. **Methods** HK-2 cells were treated with vancomycin solution at different final concentrations (0, 1, 2, 3, 4, and 5 mmol/L) for 24 h, and the effect of vancomycin on cell morphology was observed under microscope. The protein levels of Smad4, Bax, and Bcl-2 were detected by Western blotting. The apoptosis of HK-2 cells was detected by TUNEL method. The activity of HK-2 cells was detected by CCK8 method to study the toxic effect of vancomycin on kidney. Smad4 overexpression plasmid was constructed, and the effect of Smad4 overexpression on vancomycin-induced HK-2 cell damage was detected by CCK8 assay and TUNEL assay. **Results** Compared with the control group, with the increase of vancomycin concentration, the number of HK-2 cells was gradually deformed and decreased. The cell viability was significantly decreased and the apoptosis rate was significantly increased ($P < 0.05$, 0.01). Compared with the control group, the expressions of pro-apoptotic protein Bax were significantly increased, while the expressions of anti-apoptotic proteins Smad4 and Bcl-2 were significantly decreased ($P < 0.05$, 0.01 , 0.001). After overexpression of Smad4, vancomycin-induced HK-2 cell viability was significantly increased, and apoptosis rate was significantly decreased ($P < 0.05$, 0.001). **Conclusion** Vancomycin can induce the injury of human renal tubular epithelial cells, and its mechanism may be closely related to the regulation of Smad4 protein degradation.

Key words: vancomycin; HK-2 cell; kidney injury; Smad4; Bcl-2; Bax

收稿日期: 2023-10-28

基金项目: 天津市滨海新区卫健委科技项目 (2019BWKQ029)

作者简介: 高瑞, 女, 主管药师, 硕士, 研究方向为药物代谢动力学。E-mail: gaoruiyeah@126.com

*通信作者: 宋玮, 女, 主任药师, 研究方向为药理学及药事管理。E-mail: zhihong36@163.com

肾脏疾病分为急性肾损伤和慢性肾脏疾病 2 种类型。急性肾脏损伤通常起病急, 于 7 d 内肾脏功能减退。由于肾功能损伤程度不同, 临床表现为血肌酐极微量的升高, 以及无尿的急性肾功能衰竭。急性肾功能衰竭是重症患者死亡的主要原因之一, 因急性肾衰竭死亡的重症患者人数可达到 50%^[1]。据统计约 20% 急性肾脏损伤是药物毒性引起, 其中抗生素导致的肾损伤最为常见。万古霉素能有效治疗革兰阳性菌, 尤其是耐甲氧西林金黄色葡萄球菌引起的感染, 在危重患者的抗感染治疗中具有重要地位。然而, 万古霉素作为首选药的同时所导致的不良反应限制该药物在临床的广泛应用, 其中最主要的不良反应为急性肾脏损伤^[2-4]。

万古霉素引起急性肾损伤的机理目前还远未明确。研究表明, 万古霉素引起肾损伤可能与万古霉素诱导的肾小管上皮细胞引起的氧化应激^[5]、细胞自噬^[6]、阻塞性管型形成^[7]和基因调控^[8-9]等因素有关。还有研究证实万古霉素引起肾损伤还可能与其有抑制 P-糖蛋白 (P-gp) 功能和 P-gp 在细胞膜上的表达相关^[10]。

除上述机制外, 研究还发现, Smad 介导的转化生长因子- β (TGF- β) 途径是调控肾脏疾病中多种病理过程的重要信号通路^[11]。Smad 蛋白家族根据其结构与功能分 3 个亚型: 调节型、共享型、抑制型蛋白。其中, Smad4 是哺乳动物中唯一存在的共享型 Smad 蛋白。Smad4 作为受体调节型 Smad 蛋白共同结合体, 影响 Smad2/3 在胞浆和胞核中的定位, 在肾脏疾病中具有重要作用, 且 Smad4 在肾脏纤维化和肾脏炎症中发挥截然相反的作用^[12]。Tsushima 等^[13]证实肾小球系膜细胞内 Smad4 截短突变可抑制 TGF- β 诱导的细胞外基质沉积。Meng 等^[14]指出肾小管上皮细胞特异性敲除 Smad4 基因能抑制 Smad3 反应启动活性, 降低 Smad3 和靶基因的结合能力, 进而减弱单侧输尿管结扎诱导的肾脏纤维化; 然而敲除 Smad4 基因后 Smad7 转录受到抑制, Smad7 蛋白表达减少, 进而抑制靶基因核因子 κ B (NF- κ B) 的抑制蛋白 (I κ B) 表达, 促进肾脏炎症反应。目前关于 Smad4 蛋白在万古霉素诱导的急性肾脏损伤中的作用尚无报道。实验通过研究万古霉素诱导人肾小管上皮细胞损伤及其 Smad4 的表达, 希望能为对抗万古霉素肾毒性寻找新的作用靶点。

1 试剂与仪器

HK-2 细胞购自美国 ATCC 公司。

万古霉素 (货号 V2002) 购自美国 Sigma 公司。DMEM/F-12 培养基 (货号 11330032)、胎牛血清 (货号 10091-148)、胰蛋白酶 (货号 25200-056) 均购自美国 Gibco 公司, Anti-Smad4 (货号 ab244370)、Anti-B 淋巴细胞瘤-2 (Bcl-2) (货号 ab272102)、Anti-Bcl-2 相关 X 蛋白 (Bax, 货号 ab10813)、Anti- β -actin (货号 ab227387) 抗体均购自美国 Abcam 公司, 辣根过氧化物酶 (HRP) 二抗购自美国 Jackson 公司。CCK-8 试剂盒 (货号 CA1210)、TUNEL 试剂盒 (货号 T2191) 均购自索莱宝公司, Smad4 过表达质粒 [pcDNA3.1(+)-Flag-Smad4, PPL00733-2b] 购自 PPL 质粒与蛋白共享库。

二氧化碳培养箱购自美国 Thermo scientific 公司, 电泳仪、转膜仪购自英国 Cleaver scientific 公司, 倒置荧光显微镜购自日本 Olympus 公司, 全自动酶标仪购自美国 BIO-TEK 公司, 台式高速离心机、低温高速离心机购自德国 Eppendorf 公司, 脱色摇床购自北京沃德生物医学仪器公司, 超纯水仪购自德国 Merck Millipore 公司。

2 方法

2.1 显微镜观察万古霉素对 HK-2 细胞形态的影响

HK-2 细胞使用 DMEM/F12 培养基 (含 10% 胎牛血清、100 U/mL 青链霉素和 100 μ g/mL 链霉素), 于 37 $^{\circ}$ C、含 5% CO₂ 的细胞培养箱内培养。取对数生长期的 HK-2 细胞接种于 6 孔板, 经含 0.2% 胎牛血清的 DMEM/F12 培养基同步静止 12 h 后, 加入不同浓度 (0、1、2、3、4、5 mmol/L) 的万古霉素处理 24 h, 观察不同浓度万古霉素对 HK-2 细胞形态的影响。

2.2 CCK-8 法检测万古霉素对 HK-2 细胞活力的影响

HK-2 细胞使用 DMEM/F12 培养基 (含 10% 胎牛血清、100 U/mL 青链霉素和 100 μ g/mL 链霉素), 于 37 $^{\circ}$ C、含 5% CO₂ 的细胞培养箱内培养。取对数生长期的 HK-2 细胞接种于 3 块 96 孔板, 经含 0.2% 胎牛血清的 DMEM/F12 培养基同步静止 12 h 后, 分别加入不同终浓度 (0、1、2、3、4、5 mmol/L) 的万古霉素依次处理 6、12、24 h 后, 分别加入浓度为 10% 的 CCK-8 溶液, 继续培养 2 h, 取出 96 孔板, 在酶标仪上检测各孔在波长为 450 nm 处的吸光度 (A) 值。同时折算出存活率作图分析。

2.3 TUNEL 染色检测细胞的凋亡情况

取对数生长期的 HK-2 细胞接种于 6 孔板 (底

部放置多聚赖氨酸包被的盖玻片), 经含 0.2%胎牛血清的 DMEM/F12 培养基同步静止 12 h 后, 加入不同终浓度 (0、1、2、3、4、5 mmol/L) 的万古霉素处理 24 h 后用 4%多聚甲醛固定, 3%双氧水封闭 10 min, 0.1% Triton-100 穿透 3 min, 用原位细胞死亡监测试剂盒监测, 用 TUNEL 反应混合液标记凋亡细胞, 细胞核用 4', 6-二脒基-2 苯基吲哚 (DAPI) 染色, 荧光显微镜随机获取图像, 并检测细胞凋亡情况。

2.4 蛋白质印迹 (Western blotting) 检测 HK-2 细胞中 Smad4 蛋白的表达

取对数生长期的 HK-2 细胞接种于 6 孔板, 经含 0.2%胎牛血清的 DMEM/F12 培养基同步静止 12 h 后, 加入不同终浓度 (0、1、2、3、4、5 mmol/L) 的万古霉素处理 24 h, 收集蛋白。将等量的蛋白裂解物在十二烷基磺酸钠聚丙烯酰胺凝胶上进行电泳, 并转移到聚偏二氟乙烯 (PVDF) 膜上。5%的牛奶室温封闭 1 h, 在 4 °C 用不同的一抗对膜进行过夜孵育, 将一抗清洗干净, 用二抗在室温孵育 1 h, 通过增强化学发光液 ECL 并使用 C-Digit 印迹扫描仪成像, 检测 Smad4 的蛋白表达水平。

2.5 Western blotting 检测 HK-2 细胞凋亡相关蛋白 Bax、Bcl-2 的表达

取对数生长期的 HK-2 细胞接种于 6 孔板, 经含 0.2%胎牛血清的 DMEM/F12 培养基同步静止 12 h 后, 加入不同终浓度的万古霉素 (0、1、2、3、4、5 mmol/L) 处理 24 h, 收集蛋白。按 2.4 项下方法, 通过增强化学发光液 ECL 并使用 C-Digit 印迹扫描仪成像, 检测 Bax 和 Bcl-2 的蛋白水平的表达, 采用 Image PRO Plus 6.0 分析软件测定相关蛋白条

带的灰度值。

2.6 过表达 Smad4 质粒转染及验证

根据 lipofectamine™2000 (invitrogen) 说明书操作步骤, 将 pcDNA3.1(+)-Flag-Smad4 过表达质粒转染至 HK-2 细胞 48 h, 收集细胞, 提取总蛋白质。通过 Western blotting 验证 Smad4 的过表达情况。同时设置空载对照组。

2.7 过表达 Smad4 对 HK-2 细胞损伤的影响

取上述转染 48 h 并验证 Smad4 过表达后的 HK-2 细胞, 随机分为对照组 (DMEM/F-12 培养基)、万古霉素 2 mmol/L 组。同时空载组也随机分为对照组 (DMEM/F-12 培养基)、万古霉素组 (2 mmol/L), 共同培养 24 h, 显微镜下观察 HK-2 细胞形态变化情况; 同时将上述分组细胞用 4%多聚甲醛固定, 3%双氧水封闭 10 min, 0.1% Triton-100 穿透 3 min, 用原位细胞死亡监测试剂盒监测, 用 TUNEL 反应混合液标记凋亡细胞, 细胞核用 4', 6-二脒基-2 苯基吲哚染色, 荧光显微镜获取图像, 检测万古霉素诱导的过表达 HK-2 细胞凋亡情况。

2.8 统计学分析

本研所得数据采用 SPSS 22.0 软件进行统计分析, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 进一步两两比较采用 SNK-q 检验。

3 结果

3.1 显微镜下观察万古霉素对 HK-2 细胞形态的影响

显微镜下显示, 随着万古霉素浓度的逐渐升高, HK-2 细胞的活性细胞数量逐渐变少, 细胞体积逐渐萎缩变圆, 而细胞凋亡数量逐渐增多, 如图 1 所示。

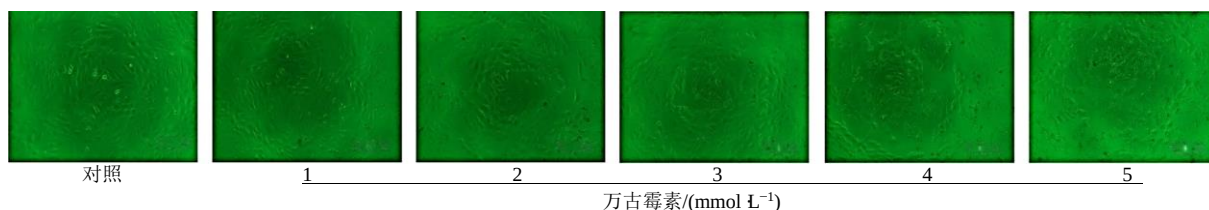


图 1 万古霉素对 HK-2 细胞形态的影响 (×100)

Fig. 1 Effect of vancomycin on HK-2 cell morphology (×100)

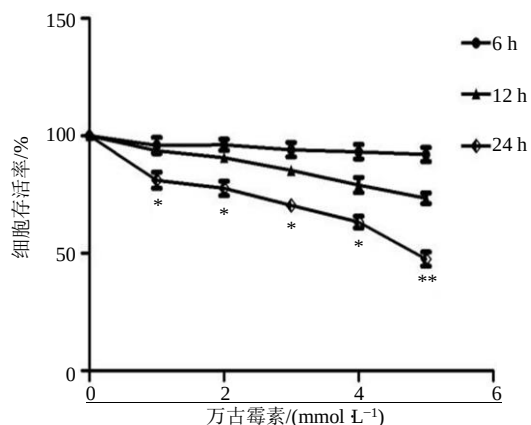
3.2 CCK-8 法检测万古霉素对 HK-2 细胞存活率的影响

结果显示, 随着万古霉素浓度升高, 作用时间增长, HK-2 细胞增殖能力逐步降低; 与 6 h 组相比, 12 h 组不同浓度万古霉素对 HK-2 细胞存活无

显著影响, 而 24 h 组不同浓度万古霉素可显著抑制 HK-2 细胞存活 ($P < 0.05$ 、 0.01), 见图 2。

3.3 TUNEL 染色检测细胞凋亡

结果显示, 随着万古霉素浓度升高, TUNEL 阳性细胞逐渐增多, 见图 3。



与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ 。

* $P < 0.05$ ** $P < 0.05$ vs control group.

图 2 万古霉素对 HK-2 细胞活力的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

Fig. 2 Effect of vancomycin on the viability of HK-2 cells ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

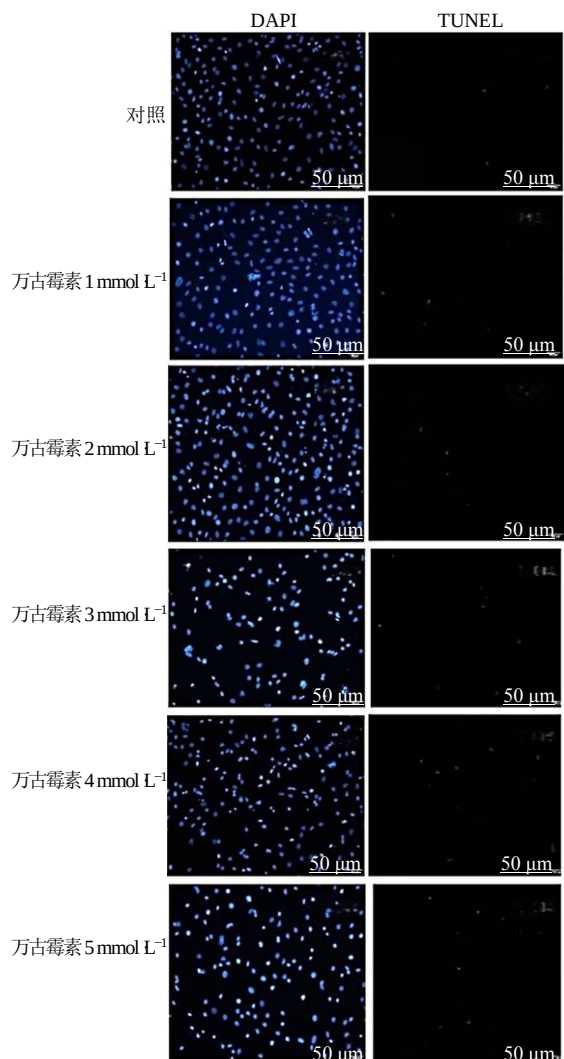


图 3 万古霉素对 HK-2 细胞凋亡的影响

Fig. 3 Effect of vancomycin on apoptosis of HK-2 cells

3.4 Western blotting 检测 HK-2 细胞 Bax、Bcl-2、Smad4 蛋白的表达

免疫蛋白印迹结果显示, 与对照组相比, 随着万古霉素浓度升高, Bax 蛋白表达显著升高, Smad4、Bcl-2 表达显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001), 见图 4、5。

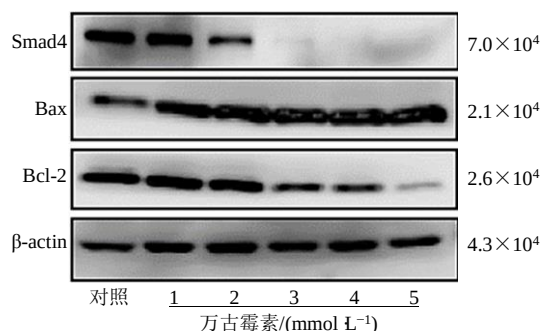


图 4 万古霉素对 HK-2 细胞中 Smad4、Bax、Bcl-2 蛋白表达的影响

Fig. 4 Effects of vancomycin on Smad4, Bax, and Bcl-2 protein expression in HK-2 cells

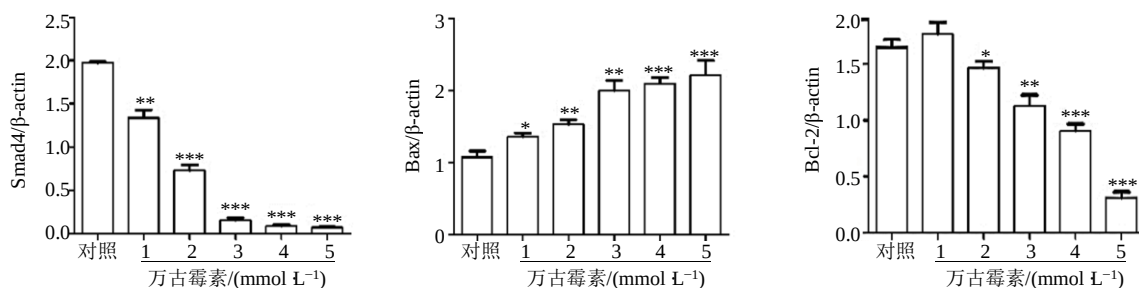
3.5 过表达 Smad4 对万古霉素诱导的 HK-2 细胞损伤的影响

Western blotting 检测 HK-2 细胞中 Smad4 蛋白的表达水平。与对照组相比, 发现 Smad4 过表达的 HK-2 细胞中 Smad4 蛋白表显著增高 ($P < 0.01$), 见图 6。

显微镜下显示, 空载对照组 HK-2 细胞状态良好, 呈正常梭形、背景清晰, 贴壁正常; 空载万古霉素 2 mmol/L 组 HK-2 细胞失去正常形态, 出现较多凋亡小体, 活性细胞数量减少, 凋亡数量明显增多。转染对照组细胞形态较好, 基本无凋亡; 转染万古霉素 2 mmol/L 组 HK-2 细胞与空载万古霉素 2 mmol/L 组相比, 活性细胞数量增多, 凋亡数量减少, 见图 7。TUNEL 法检测过表达 HK-2 细胞凋亡情况, 发现荧光显微镜下, 与空载对照组相比, 转染组阳性凋亡 HK-2 细胞数量无显著变化; 空载万古霉素 2 mmol/L 组阳性凋亡 HK-2 细胞数量显著增多 ($P < 0.001$)。与空载万古霉素 2 mmol/L 组相比, 转染万古霉素 2 mmol/L 组阳性凋亡 HK-2 细胞数量显著减少 ($P < 0.05$), 见图 8。

4 讨论

万古霉素是治疗耐甲氧西林金黄色葡萄球菌引起严重感染的一线抗生素, 然而肾毒性是万古霉素治疗常见的不良反应^[15]。万古霉素可诱导急性肾

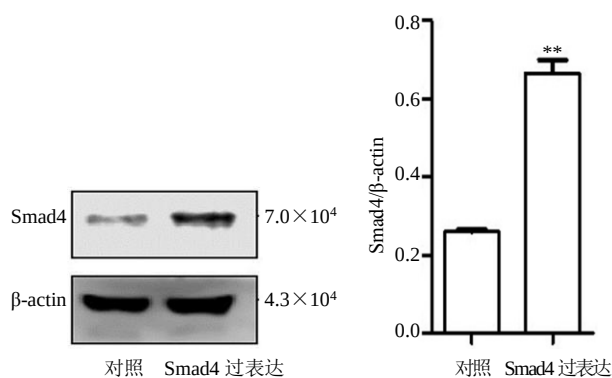


与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ 。

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs control group.

图 5 HK-2 细胞中 Smad4、Bax、Bcl-2 蛋白表达量化结果 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

Fig. 5 Quantitative results of Smad4, Bax, and Bcl-2 protein expression in HK-2 cells ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)



与对照组比较: ** $P < 0.01$ 。

** $P < 0.01$ vs control group.

图 6 HK-2 细胞中构建的过表达 Smad4 蛋白表达情况 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

Fig. 6 Expression of overexpressed Smad4 protein constructed in HK-2 cells ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

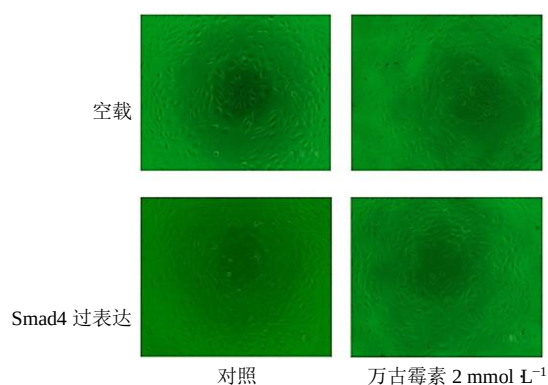
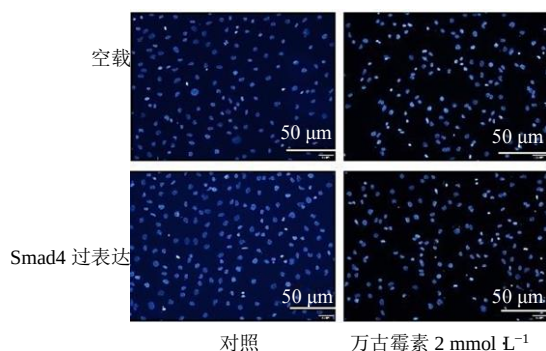


图 7 过表达 Smad4 对万古霉素诱导的 HK-2 细胞损伤的形态学变化 ($\times 100$)

Fig. 7 Morphological changes of vancomycin-induced HK-2 cell injury induced by overexpression of Smad4 ($\times 100$)



与对照组比较: *** $P < 0.001$; 与空载万古霉素 2 mmol L⁻¹ 组比较: # $P < 0.05$ 。

*** $P < 0.001$ vs control group; # $P < 0.05$ vs blank load vancomycin 2 mmol L⁻¹ group.

图 8 万古霉素诱导对过表达 Smad4 的 HK-2 细胞凋亡情况的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

Fig. 8 Effect of vancomycin induction on apoptosis of HK-2 cells overexpressing Smad4 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

损伤逐渐转变为慢性肾病,在早期主要表现为肾功能不全和肾细胞凋亡,在后期肾脏纤维化和炎症明

显加重^[16]。

本研究通过加入不同浓度的万古霉素处理 HK-

2 细胞,发现万古霉素抑制 HK-2 细胞的细胞活力,促进促凋亡蛋白 Bax 表达,抑制抗凋亡蛋白 Bcl-2 表达,抑制 HK-2 细胞中 Smad4 蛋白表达,且呈剂量相关性。研究结果表明,万古霉素可能通过调控 Smad4 蛋白降解导致急性肾脏损伤。

此外,Smad 蛋白家族是 TGF- β 下游最重要的信号转导蛋白,在调节细胞的增殖、分化、迁移等过程中发挥重要作用。Shen 等^[17]研究发现抑制 Smad4 信号通路可发挥抗纤维化作用。另外,氧化应激在急慢性肾损伤的发展过程中起着关键作用,醉茄素 A 可通过抑制 Smad4 表达,降低 TGF- β 及其下游信号分子水平,对肾损伤模型大鼠具有潜在的肾保护作用^[18]。Zhang 等^[19]研究发现大黄可通过抑制 TGF- β /Smad 通路,改善慢性肾脏疾病异常代谢,预防肾损伤。本研究还发现,过表达 Smad4 可降低万古霉素诱导的 HK-2 细胞的损伤,再次提示万古霉素可能通过调控 Smad4 蛋白降解导致急性肾脏损伤。

综上所述,万古霉素可能通过调控 Smad4 蛋白降解导致急性肾脏损伤,为对抗万古霉素肾毒性寻找了新的作用靶点。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Ehrmann S, Helms J, Joret A, et al. Nephrotoxic drug burden among 1 001 critically ill patients: Impact on acute kidney injury [J]. *Ann Intensive Care*, 2019, 9(1): 106.
- [2] Ray A S, Haikal A, Hammoud K A, et al. Vancomycin and the risk of AKI: A systematic review and Meta-analysis [J]. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2016, 11(12): 2132-2140.
- [3] Chen J, Wang J, Li H, et al. p53 activates miR-192-5p to mediate vancomycin induced AKI [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 38868.
- [4] Wang J, Li H, Qiu S, et al. MBD2 upregulates miR-301a-5p to induce kidney cell apoptosis during vancomycin-induced AKI [J]. *Cell Death Dis*, 2017, 8(10): e3120.
- [5] Sakamoto Y, Yano T, Hanada Y, et al. Vancomycin induces reactive oxygen species-dependent apoptosis via mitochondrial cardiolipin peroxidation in renal tubular epithelial cells [J]. *Eur J Pharmacol*, 2017, 800: 48-56.
- [6] Xu X, Pan J, Li H, et al. Atg7 mediates renal tubular cell apoptosis in vancomycin nephrotoxicity through activation of PKC- δ [J]. *FASEB J*, 2019, 33(3): 4513-4524.
- [7] Stokes M B. Vaneomycin in the kidney-a novel cast nephropathy [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2017, 28(6): 1669-1670.
- [8] Wang J, Li H L, Qiu S F, et al. MBD2 upregulates miR-301a-5p to induce kidney cell apoptosis during vancomycin-induced AKI [J]. *Cell Death Dis*, 2017, 8(10): e3120.
- [9] Chen J, Wang J, Li H, et al. p53 activates miR-192-5p to mediate vancomycin induced AKI [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 38868.
- [10] Im D S, Shin H J, Yang K J, et al. Cilastatin attenuates vancomycin-induced nephrotoxicity via P-glycoprotein [J]. *Toxicol Lett*, 2017, 277: 9-17.
- [11] Sureshbabu A, Muhsin S A, Choi M E. TGF- β signaling in the kidney: Profibrotic and protective effects [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2016, 310(7): 596-606.
- [12] Lan H Y. Diverse roles of TGF-beta/Smads in renal fibrosis and inflammation [J]. *Int J Biol Sci*, 2011, 7(7): 1056-1067.
- [13] Tsuchida K, Zhu Y, Siva S, et al. Role of Smad4 on TGF-beta-induced extracellular matrix stimulation in mesangial cells [J]. *Kidney Int*, 2003, 63(6): 2000-2009.
- [14] Meng X M, Huang X R, Xiao J, et al. Disruption of Smad4 impairs TGF- β /Smad3 and Smad7 transcriptional regulation during renal inflammation and fibrosis *in vivo* and *in vitro* [J]. *Kidney Int*, 2012, 81(3): 266-279.
- [15] 黄秀, 张洋洋, 朱晓宇, 等. TGF- β 1/Smads 信号通路及其与肾脏纤维化关系的研究进展 [J]. *山东医药*, 2019, 59(21): 103-107.
- [16] 史秋香, 吴艳峰, 谢丽华. 过表达 miRNA-21 对肾小管上皮细胞 TGF- β /Smad 信号通路 Smad7 蛋白的影响 [J]. *贵州医科大学学报*, 2017, 42(10): 1134-1138.
- [17] Shen H, He Q, Dong Y, et al. Upregulation of miRNA-1228-3p alleviates TGF- β -induced fibrosis in renal tubular epithelial cells [J]. *Histol Histopathol*, 2020, 35(10): 1125-1133.
- [18] Peddakkulappagari C S, Saifi M A, Khurana A, et al. Withaferin A ameliorates renal injury due to its potent effect on inflammatory signaling [J]. *Biofactors*, 2019, 45(5): 750-762.
- [19] Zhang Z H, Li M H, Liu D, et al. Rhubarb protect against tubulointerstitial fibrosis by inhibiting TGF- β /Smad pathway and improving abnormal metabolome in chronic kidney disease [J]. *Front Pharmacol*, 2018, 9: 1029.

[责任编辑 高源]