

Notch 通路在糖尿病肾病大鼠的表达及化瘀通络中药的干预作用

刘利飞¹, 李雅纯¹, 国芳¹, 陈志强^{1,2*}

1. 河北医科大学, 河北 石家庄 050017

2. 河北省中医院, 河北 石家庄 050017

摘要: **目的** 探讨 Notch 通路在糖尿病肾病 (DN) 大鼠肾脏的表达以及化瘀通络中药对其的干预作用。**方法** 60 只 SD 雄性大鼠, 随机取 10 只为对照组, 其余大鼠给予高糖高脂饲料喂养联合 ip 小剂量链脲佐菌素 (STZ) 制备 DN 模型。成模大鼠随机分为模型组、厄贝沙坦组、化瘀通络中药组, 厄贝沙坦组、化瘀通络中药组均 ig 给药, 于 16 周末检测大鼠 24 h 尿蛋白定量, Real-time PCR 法检测 Notch1、Jagged1 和 Hey1 mRNA 的表达, 免疫组化及 Western blotting 法检测 Notch1、Jagged1 和 Hey1 蛋白的表达。**结果** 与对照组比较, 模型组大鼠 24 h 尿蛋白定量及 Notch1、Jagged1、Hey1 mRNA 和蛋白的表达量明显升高 ($P < 0.01$)。与模型组比较, 化瘀通络中药组及厄贝沙坦组大鼠 24 h 尿蛋白定量及 Notch1、Jagged1、Hey1 mRNA 和蛋白的表达量降低 ($P < 0.01$)。**结论** 化瘀通络中药可以减少 DN 大鼠 24 h 尿蛋白定量, 且能够抑制 DN 大鼠肾脏 Notch 通路中 Notch1、Jagged1 和 Hey1 的高表达, 该作用可能是其减少蛋白尿排泄的主要途径之一。

关键词: 糖尿病肾病; 化瘀通络中药; 蛋白尿; Notch 通路; 足细胞损伤

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2018)08-1866-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.08.020

Expression of Notch pathway in diabetic nephropathy rats and intervention effect of Chinese materia medica for dispersing blood stasis and dredging collateral

LIU Li-fei¹, LI Ya-chun¹, GUO Fang¹, CHEN Zhi-qiang^{1,2}

1. Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017, China

2. Hebei Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shijiazhuang 050017, China

Abstract: Objective To investigate the expression of Notch pathway in the kidney of diabetic nephropathy (DN) rats and the intervention effect of Chinese materia medica (CMM) for dispersing blood stasis and dredging collateral. **Methods** Sixty male Sprague-Dawley rats, in which ten rats were randomly selected as control group ($n = 10$), and the other rats were fed with high glucose and high fat diet combined with low-dose streptozotocin (STZ) ip injection as DN models. The model rats were randomly divided into model group, irbesartan group, and Huayu Tongluo Granules (HTG) group. The rats in each group were ig administered with corresponding drugs. At the end of the 16 weeks, the 24 h urinary protein was detected. The expression of Notch1, Jagged1, and Hey1 mRNA and protein in renal tissue was detected by real-time PCR, and immunohistochemical staining and western blotting assay, respectively. **Results** Compared with the control group, 24 h urinary protein, the mRNA and protein expression of Notch1, Jagged1, and Hey1 in model group was significantly increased ($P < 0.01$). Compared with the model group, 24 h urinary protein and Notch1, Jagged1, Hey1 mRNA, and protein expression of HTG group and irbesartan group was significantly decreased ($P < 0.01$). **Conclusion** CMM for dispersing blood stasis and dredging collateral can reduce 24 h urinary protein in DN rats and inhibit the high expression of Notch1, Jagged1, and Hey1 in the kidney tissue of DN rats, which may be one of the main ways to reduce proteinuria excretion.

Key words: diabetic nephropathy; Chinese materia medica for dispersing blood stasis and dredging collateral; proteinuria; Notch pathway; podocyte injury

糖尿病肾病 (DN) 是糖尿病的常见并发症, 蛋白尿是 DN 早期的主要临床表现。近年来研究证实, 足细胞中 Notch 通路的激活是导致肾小球疾病及蛋白尿的重要途径之一^[1-2]。Notch 通路可能通过调控

收稿日期: 2018-02-10

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81373804, 81173419)

作者简介: 刘利飞 (1982—), 男, 在读博士, 研究方向为中西医结合治疗肾脏病。Tel: 15633868241 E-mail: 947354645@qq.com

*通信作者 陈志强 (1962—), 男, 博士生导师, 教授, 研究方向为中西医结合治疗肾脏病。Tel: (0311)69095003 E-mail: chenzhiqiang2011@163.com

足细胞相关结构蛋白参与足细胞损伤过程,诱导足细胞凋亡,破坏肾小球滤过膜,最终造成蛋白尿^[3-4]。在不同的 DN 模型中,阻断 Notch 通路均可明显改善肾小球损伤^[1,5-6]。本课题组前期研究证实化癍通络中药能够减少足细胞裂孔膜 nephrin、podocin、CD2AP 等蛋白的丢失,保护足细胞,减少蛋白尿^[7-9]。在此基础上,本实验采用 SD 大鼠 DN 模型,探索其肾脏是否存在 Notch 通路的异常表达,以及化癍通络中药对 Notch 通路的干预作用,以期证实 Notch 通路是化癍通络中药减轻足细胞损伤、减少蛋白尿的作用靶点之一。

1 材料

1.1 动物

清洁级雄性 SD 大鼠 60 只,体质量(100±20)g,购于河北医科大学实验动物中心,动物许可证号 SCXK(冀)2013-1-003。

1.2 药物

化癍通络中药配方颗粒:丹参(1.8 g/袋,相当于临床使用饮片量 10 g,批号 6030601)、川芎(1.3 g/袋,相当于临床使用饮片量 6 g,批号 6030531)、水蛭(1.5 g/袋,相当于临床使用饮片量 3 g,批号 504441T)、全蝎(1.0 g/袋,相当于临床使用饮片量 3 g,批号 5094671)、地龙(1.0 g/袋,相当于临床使用饮片量 10 g,批号 5112591),均由广东一方制药有限公司惠赠。

1.3 试剂

链脲佐菌素(STZ,批号 07171414, Alexis 公司); TRIzol Reagent (Life technologies 公司); Fast Quant cDNA 第一链合成试剂盒(北京 Tiangen 公司); Platinum SYBR Green qPCR Super Mix-UDG (美国 Invitrogen 公司); 引物(上海生工生物工程公司); 兔多克隆抗体 Notch1、兔多克隆抗体 Hey1 (Gene Tex 公司); 兔单克隆抗体 Jagged1 (Abcam 公司);

1.4 仪器

NanoDrop2000C 紫外分光光度计(美国 Thermo Scientific 公司); BX63+DP72 正置研究级显微镜(日本 Olympus 株式会社); Eco 实时定量 PCR 仪(美国 Illumina 公司); Odyssey 红外激光扫描仪(美国 LI-COR 公司)。

2 方法

2.1 模型制备、分组及给药

60 只大鼠适应性喂养 1 周,随机取 10 只作为对照组,其余 50 只大鼠给予高糖高脂饲料喂养联合

小剂量 ip STZ 复制 DN 模型^[10]。高糖高脂喂养 6 周后大鼠禁食不禁水 12 h,按 35 mg/kg 一次性 ip 1% STZ 溶液,72 h 后尾静脉采血测血糖,血糖≥16.7 mmol/L 为造模成功。造模过程中 3 只大鼠死亡,5 只大鼠血糖<16.7 mmol/L,予以剔除。将剩余大鼠随机分为模型组、厄贝沙坦组、化癍通络中药配方颗粒剂组(以下简称化癍通络组),每组 14 只。

大鼠造模成功后即给予相应药物干预,根据药物成人临床使用剂量及人与大鼠体表面积法计算大鼠药物 ig 给药剂量^[11]。厄贝沙坦组给予厄贝沙坦片 13.5 mg/kg,化癍通络组给予化癍通络中药配方颗粒剂(按丹参-川芎-地龙-水蛭-全蝎 15:12:10:6:6 混合)4.41 g/kg,对照组及模型组大鼠予以相应体积的纯净水,每日给药 1 次,连续给药 16 周。

2.2 观察指标及测定

2.2.1 大鼠死亡情况 观察实验期间大鼠的死亡情况。

2.2.2 大鼠 24 h 尿蛋白定量检测 于给药 16 周末,清洁代谢笼收集各组大鼠 24 h 尿液,3 500 r/min 离心 10 min,ELISA 法检测尿蛋白浓度。

2.2.3 Real-time PCR 法检测大鼠肾组织 Notch1、Jagged1、Hey1 mRNA 表达 TRIzol Reagent 法提取大鼠肾皮质总 RNA,按 FastQuant cDNA 第一链合成试剂盒操作,将 RNA 反转录为 cDNA。用 Primer 5.0 软件设计引物如下:β-actin 上游 5'-ACCCGCG-AGTACAACCTTCT-3',下游 5'-TTCAGGGTCAG-GATGCCTCT-3'; Notch1 上游 5'-CTGTCCCCTGT-CAAGCTGAT-3',下游 5'-CCATCCTGGGTTGTG-CTCTT-3'; Jagged1 上游 5'-TTTCGACAAGCTGGC-TTCCA-3',下游:5'-CCGGGCACATTCCTGGTTT-3'; Hey1 上游 5'-TGGTGCTCAGCCTCCAAACT-3',下游 5'-AATCTCTGTCCCCAAGGTCTA-3'。PCR 反应体系为 SYBR Green qPCR SuperMix 5 μL,DEPC 水 2 μL,上、下游引物和 cDNA 各 1 μL,每个样本 3 个复孔。扩增条件为孵育(50 °C, 2 min)、预变性(95 °C, 10 min),循环条件为变性(95 °C, 10 s)、退火和延伸(60 °C, 30 s),共 40 个循环,最终读取 Ct 值,按照公式 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算相对表达量。

2.2.4 免疫组织化学法检测大鼠肾组织 Notch1、Hey1 蛋白的表达 大鼠肾组织常规石蜡包埋,切片,60 °C 烤片过夜。切片脱蜡至水,高压修复 3 min,自然冷却至室温,清除内源性过氧化物酶,依次滴加稀释的一抗(Notch1 1:300、Hey1 1:50)、抗

兔生物素化二抗、HRP 标记链亲和素，显微镜下观察 DAB 显色程度，中性树胶封片。阳性结果呈棕黄或棕褐色，镜下×400 倍放大拍照，数据采用 Image-ProPlus version 6.0 图像处理软件分析。每张切片取 10 个视野进行测量，选取有染色的区域，测量该区域的积分吸光度 (A) 值，并测量有效染色区域的面积 (S)，以 A/S 来表示该蛋白的表达量。

2.2.5 Western blotting 法检测大鼠肾组织 Notch1 和 Jagged1 蛋白的表达 RIPA 裂解液提取肾皮质蛋白，按 BCA 蛋白定量法测定蛋白浓度。5×上样缓冲液稀释蛋白样品，干浴器中 100 °C 变性 5 min，上样量为 100 μg/孔，4 °C、100 V 电泳 2 h，转膜 1 h 后，5%脱脂奶粉封闭液室温摇床封闭 1 h，TBST 稀释的一抗 (Notch1 1 : 500, Jagged1 1 : 300) 4 °C 摇床孵育 15 h。洗膜，避光加入稀释的荧光二抗 (1 : 8 000)，37 °C 摇床避光孵育 1.5 h 后洗膜。红外激光扫描仪拍照、分析条带的灰度值，以目的条带与 β-actin 灰度值比值表示蛋白的表达量。

2.3 统计学方法

数据采用 SPSS 21.0 统计软件进行统计学处理，所有实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示，方差齐采用单因素方差分析，两两比较采用 SNK-*q* 检验；方差不齐采用秩和检验，组间比较用 Mann-Whitney 法。

3 结果

3.1 各组大鼠死亡情况

干预 16 周内，模型组大鼠死亡 6 只、厄贝沙坦

组死亡 4 只、化癥通络组死亡 3 只。

3.2 化癥通络中药对大鼠 24 h 尿蛋白定量的影响

如表 1 所示，与对照组比较，模型组大鼠 24 h 尿蛋白定量显著增多 ($P < 0.01$)。与模型组比较，厄贝沙坦组、化癥通络组大鼠 24 h 尿蛋白定量显著减少 ($P < 0.01$)。与厄贝沙坦组比较，化癥通络组 24 h 尿蛋白定量显著减少 ($P < 0.01$)。

3.3 化癥通络中药对大鼠肾组织 Notch1、Jagged1 和 Hey1 mRNA 表达的影响

如表 2 所示，与对照组比较，模型组大鼠肾组织中 Notch1、Jagged1、Hey1 mRNA 表达水平均显著升高 ($P < 0.01$)。与模型组比较，厄贝沙坦组、化癥通络组大鼠 Notch1、Jagged1、Hey1 mRNA 表达水平均显著降低 ($P < 0.01$)。厄贝沙坦组与化癥通络组大鼠 3 种蛋白 mRNA 表达水平无显著差异。

表 1 化癥通络中药对大鼠 24 h 尿蛋白定量的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Effect of HTG on 24 h UTP of rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	剂量/(g·kg ⁻¹)	24 h 尿蛋白定量/mg
对照	10	—	4.13 ± 0.94
模型	8	—	29.07 ± 5.51**
化癥通络	11	4.410 0	18.12 ± 2.63**△△##
厄贝沙坦	10	0.013 5	22.42 ± 2.77**△△

与对照组比较：** $P < 0.01$ ；与模型组比较：△△ $P < 0.01$ ；与厄贝沙坦组比较：## $P < 0.01$ ，下同

** $P < 0.01$ vs control group; △△ $P < 0.01$ vs model group; ## $P < 0.01$ vs irbesartan group, same as below

表 2 化癥通络中药对大鼠肾组织 Notch1、Jagged1、Hey1 mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Effect of HTG on Notch1, Jagged1, and Hey1 mRNA expression of rat renal tissue ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	剂量/(g·kg ⁻¹)	mRNA 相对表达量		
			Notch1	Jagged1	Hey1
对照	10	—	1.04 ± 0.15	1.01 ± 0.17	1.04 ± 0.08
模型	8	—	1.49 ± 0.22**	1.64 ± 0.15**	1.75 ± 0.12**
化癥通络	11	4.410 0	1.19 ± 0.17**△△	1.25 ± 0.25**△△	1.40 ± 0.19**△△
厄贝沙坦	10	0.013 5	1.25 ± 0.16**△△	1.30 ± 0.15**△△	1.44 ± 0.18**△△

3.4 化癥通络中药对大鼠肾组织 Notch1、Jagged1 和 Hey1 蛋白表达的影响

免疫组化结果显示，对照组大鼠肾组织 Hey1 蛋白仅微弱表达于部分肾小球、肾小管；Notch1 蛋白在部分肾小球、肾小管上皮细胞有少量表达。模型组大鼠肾组织 Notch1 和 Hey1 蛋白在肾小球及肾小管均有表达，较对照组明显增多。与模型组比较，厄贝沙坦组、化癥通络组大鼠 Notch1 和 Hey1 蛋白表达量明

显减少，且程度相当，结果见图 1 和表 3。

Western blotting 结果显示，与对照组比较，模型组大鼠肾组织 Notch1 和 Jagged1 蛋白的表达量均显著增多 ($P < 0.01$)。与模型组比较，厄贝沙坦组、化癥通络组大鼠肾组织 Notch1 和 Jagged1 蛋白的表达量均显著减少 ($P < 0.01$)。与厄贝沙坦组比较，化癥通络组 2 种蛋白的表达量无显著差异，结果见图 2 和表 3。

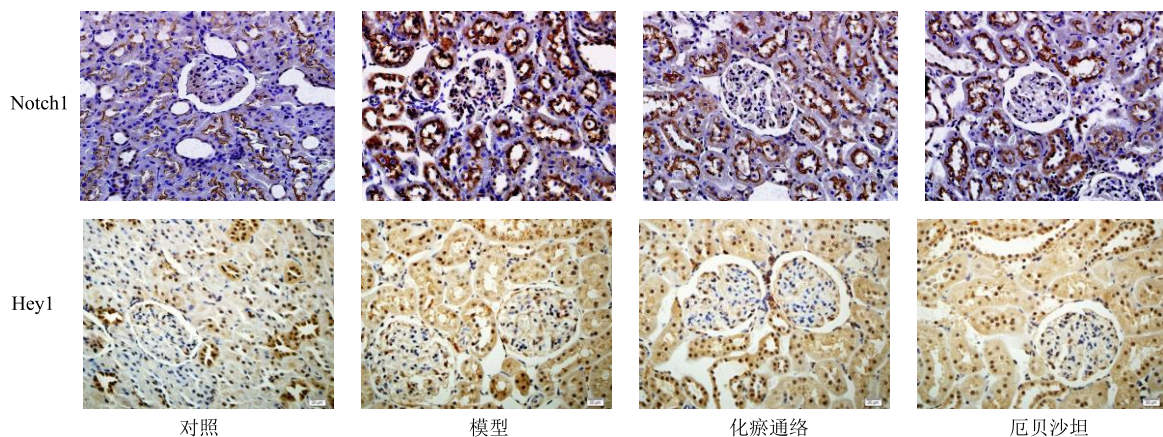


图 1 化痰通络中药对大鼠肾组织 Notch1 和 Hey1 蛋白表达的影响 (免疫组化法)

Fig. 1 Effect of HTG on Notch1 and Hey1 protein expression of rat renal tissue (immunohistochemical staining)

表 3 化痰通络中药对大鼠肾组织 Notch1、Hey1 和 Jagged1 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Effect of HTG on Notch1, Hey1, and Jagged1 protein expression of rat renal tissue ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	剂量/(g·kg ⁻¹)	蛋白相对表达量 (免疫组化法)		蛋白相对表达量 (Western blotting 法)	
			Notch1	Hey1	Notch1	Jagged1
对照	10	—	0.072 4±0.028 9	0.077 7±0.029 8	0.040 5±0.016 8	0.046 5±0.026 2
模型	8	—	0.291 1±0.045 8**	0.362 6±0.046 3**	0.160 0±0.024 7**	0.364 8±0.042 3**
化痰通络	11	4.410 0	0.132 3±0.018 7***△△	0.171 5±0.017 3***△△	0.080 6±0.021 0***△△	0.097 6±0.025 5***△△
厄贝沙坦	10	0.013 5	0.134 7±0.021 0***△△	0.180 6±0.020 9***△△	0.076 3±0.024 9***△△	0.092 8±0.026 0***△△

4 讨论

DN 在中医学中属于水肿、尿浊等范畴，病位在肾脏，由糖尿病迁延日久发展而来。清代叶天士明确提出“久病入络”“初病气结在经，久则血伤入络”，肾脏为络脉组织丰富的器官，肾脏的肾小球由毛细血管网组成，迂曲细长，并且因其特殊结构使之易于受损，易致瘀血阻络^[12]。祝勇等^[13]首先将活血化瘀法用于糖尿病及并发症的治疗；吴以岭院士^[14]从络病学说论治 DN，认为络息成积是糖尿病的主要病机。通过长期的临床观察，本课题组发现于 DN 早中期阶段在辨证论治的基础上加用化痰通络中药后，临床疗效明显提高，因此认为瘀血阻络证为 DN 的一个独立病机，目前已成业内专家共识。但目前单独针对化痰通络中药干预 DN 的深入基础研究并不多见，鉴于此本课题组前期开展了化痰通络中药干预 DN 的系列基础研究，证实化痰通络中药可以抑制 DN 大鼠肾脏肾素-血管紧张素 (RAS) 系统的激活，减少足细胞相关蛋白的丢失，保护肾小球电荷屏障，以减少蛋白尿^[8-9,15]。本实验选取化痰通络中药对 DN 大鼠进行干预，旨在观察其对肾脏瘀血阻络证的作用及其机制。

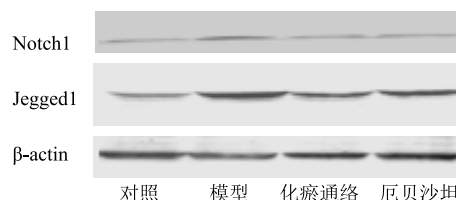


图 2 化痰通络中药对大鼠肾组织 Notch1 和 Jagged1 蛋白表达的影响 (Western blotting)

Fig. 2 Effect of HTG on Notch1 and Jagged1 protein expression of rat renal tissue (Western blotting)

目前蛋白尿的发生机制与足细胞的关系受到广泛关注。目前足细胞损伤与 Wnt 通路、Notch 通路的激活^[16-17]，骨架蛋白的调控^[18]，转化生长因子-β (TGF-β) /骨形成蛋白 (BMP-7) 通路的表达^[19]及自噬不合理调控^[20-22]等因素有密切关系。据报道^[23]，Notch1 激活的转基因小鼠 2 周后即发展为足细胞性重度蛋白尿和进行性肾小球硬化症。Waters 等^[2]发现持续激活的 Notch 信号通路导致足细胞分化障碍，足细胞足突消失，Wt1、Nphs1、Nphs2 蛋白表达量减少，Pax2 蛋白表达量增加；已分化成熟的足细胞表现出增殖趋势；肾小球滤过屏障损伤而引起早发蛋白尿。DN 时 Notch 通路的异常激活及其成员的

异常表达,参与了足细胞的损伤及蛋白尿的发生^[24]。本研究就 Notch 通路是否参与了 STZ 诱导的 DN 大鼠病程的进展,以及化癥通络中药对该通路的激活是否产生干预作用进行探讨。

实验结果显示,模型组大鼠出现明显的 DN 病理损伤及大量蛋白尿,Notch 通路在 DN 大鼠肾脏存在明显高表达,提示该通路的激活参与了 DN 大鼠病程的进展。通过对该通路中 Notch1、Jagged1、Hey1 基因及蛋白水平的检测,发现化癥通络中药对该通路的过表达具有明显的抑制作用。本课题组前期研究^[7-8,15]证明化癥通络中药可以减少足细胞及电荷屏障相关蛋白的丢失,以保护足细胞、减少蛋白尿。据此推测化癥通络中药抑制 Notch 通路在 DN 大鼠的高表达,这可能是其保护肾脏足细胞、减少蛋白尿的主要途径之一。

参考文献

- [1] Niranjan T, Bielez B, Gruenwald A, *et al.* The Notch pathway in podocytes plays a role in the development of glomerular disease [J]. *Nat Med*, 2008, 14(3): 290-298.
- [2] Waters A M, Wu M Y, Onay T, *et al.* Ectopic notch activation in developing podocytes causes glomerulosclerosis [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2008, 19(6): 1139-1157.
- [3] 高峰,刘淑霞,赵玉峰,等. Notch 信号通路在糖尿病小鼠肾组织的表达及意义 [J]. *中国组织化学与细胞化学杂志*, 2014, 23(5): 445-449.
- [4] 高峰,张涛,王晓梅,等. 血管紧张素-对足细胞 Notch 通路及 Nephin 表达的影响 [J]. *中国药理学通报*, 2015, 31(2): 247-250.
- [5] Ahn S H, Susztak K. Getting a notch closer to understanding diabetic kidney disease [J]. *Diabetes*, 2010, 59(8): 1865-1867.
- [6] Lin C L, Wang F S, Hsu Y C, *et al.* Modulation of notch-1 signaling alleviates vascular endothelial growth factor-mediated diabetic nephropathy [J]. *Diabete*, 2010, 59(8): 1915-1925.
- [7] 徐晶,马二卫,白璐,等. 糖尿病肾病大鼠模型瘀血阻络证的确认 [J]. *中国中西医结合肾病杂志*, 2014, 15(1): 12-15.
- [8] 曹晨,郝世梦,孟泽松,等. 化癥通络中药对糖尿病肾病代谢指标及裂孔膜蛋白 nephrin 的影响 [J]. *中国中西医结合肾病杂志*, 2016, 17(6): 484-487.
- [9] 方敬,陈志强,郭倩,等. 化癥通络中药对糖尿病肾病大鼠肾脏足细胞裂孔膜蛋白 podocin、CD2AP 的调节作用 [J]. *中国中西医结合杂志*, 2016, 36(7): 835-841.
- [10] 李志杰,张悦. 糖尿病肾病动物模型的研究进展 [J]. *生命科学*, 2011, 23(1): 90-95.
- [11] 陈奇. *中药药理研究方法学* [M]. 第3版. 北京: 人民卫生出版社, 2011.
- [12] 吴以岭,魏聪,贾振华,等. 从络病学说探讨糖尿病肾病的病机 [J]. *中国中医基础医学杂志*, 2007, 13(9): 659-660.
- [13] 祝勇,祝肇刚,王玉光,等. 从痰论消渴: 祝谌予医话医案精读 [J]. *环球中医药*, 2012, 10(10): 742-743.
- [14] 吴以岭,魏聪,贾振华,等. 从络病学说论治糖尿病肾病及相关研究 [J]. *上海中医药大学学报*, 2007, 21(5): 5-8.
- [15] 郭倩,张肖,刘利飞,等. 化癥通络中药对糖尿病肾病大鼠肾小球电荷屏障的影响 [J]. *中医杂志*, 2016, 57(8): 671-675.
- [16] Clevers H, Nusse R. Wnt/beta-catenin signaling and disease [J]. *Cell*, 2012, 149(6): 1192-1205.
- [17] Sharma S, Sirin Y, Susztak K. The story of Notch and chronic kidney disease [J]. *Curr Opin Nephrol Hypert*, 2011, 20(1): 56-61.
- [18] Sonneveld R, Ferre S, Hoenderop J G, *et al.* Vitamin D downregulates TRPC6 expression in podocyte injury and proteinuric glomerular disease [J]. *Am J Pathol*, 2013, 182(4): 1196-1204.
- [19] Wang D, Dai C, Li Y, *et al.* Canonical Wnt/beta-catenin signaling mediates transforming growth factor-beta1-driven podocyte injury and proteinuria [J]. *Kidney Int*, 2011, 80(11): 1159-1169.
- [20] Narita M, Young A R, Arakawa S, *et al.* Spatial coupling of mTOR and autophagy augments secretory phenotypes [J]. *Science*, 2011, 332(6032): 966-970.
- [21] Godel M, Hartleben B, Herbach N, *et al.* Role of mTOR in podocyte function and diabetic nephropathy in humans and mice [J]. *J Clin Invest*, 2011, 121(6): 2197-2209.
- [22] Fang L, Zhou Y, Cao H, *et al.* Autophagy attenuates diabetic glomerular damage through protection of hyperglycemia-induced podocyte injury [J]. *PLoS One*, 2013, 8(4): e60546.
- [23] Bielez B, Sirin Y, Si H, *et al.* Epithelial Notch signaling regulates interstitial fibrosis development in the kidneys of mice and humans [J]. *J Clin Invest*, 2010, 120(11): 4040-4054.
- [24] Murea M, Park J K, Sharma S, *et al.* Expression of Notch pathway proteins correlates with albuminuria, glomerulosclerosis, and renal function [J]. *Kidney Int*, 2010, 78(5): 514-522.