



[DOI]10.3969/j.issn.1001-9057.2021.04.015

http://www.lcnkzz.com/CN/10.3969/j.issn.1001-9057.2021.04.015

· 临床基础研究 ·

隐花色素 1 基因在肿瘤坏死因子 α 诱导的肾小管上皮细胞凋亡中的作用研究

李锴 朱志辉

【摘要】 **目的** 探讨隐花色素 1 (CRY1) 对肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 诱导的肾小管上皮细胞凋亡的影响。**方法** 采用 10 ng/ml 的 TNF- α 处理肾小管上皮细胞 HK-2, 分别培养 0 h (0 h 组)、12 h (12 h 组)、24 h (24 h 组)、48 h (48 h 组), 并以正常培养的细胞作为对照 (NC) 组。将 si-con、si-CRY1 质粒转染至 HK-2 中后 (si-con 组和 si-CRY1 组) 再用 10 ng/ml 的 TNF- α 培养 24 h, 分别记为 TNF- α + si-con 组和 TNF- α + si-CRY1 组。采用蛋白质免疫印迹法 (Western Blot) 检测裂解半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3 (Cleaved caspase-3)、Bcl-2 相关 X 蛋白 (Bax)、B 细胞淋巴瘤/白血病-2 (Bcl-2)、CRY1、p38 丝裂原活化蛋白激酶 (p38 MAPK) 和磷酸化 p38 MAPK (p-p38 MAPK) 蛋白表达水平; 采用流式细胞术检测细胞凋亡率; 采用酶联免疫吸附试验 (ELISA) 检测白细胞介素-1 β (IL-1 β)、干扰素 γ (IFN- γ)、白细胞介素-6 (IL-6) 水平; 采用实时荧光定量聚合酶链反应 (RT-qPCR) 检测 CRY1 mRNA 表达水平。**结果** 与 0 h 组相比, 12 h、24 h、48 h 组肾小管上皮细胞细胞凋亡率、Cleaved caspase-3、Bax、CRY1 表达水平、IL-1 β 、IFN- γ 、IL-6 水平显著升高, Bcl-2 表达水平显著降低; 与 si-con 组相比, si-CRY1 组肾小管上皮细胞凋亡率、CRY1、Cleaved caspase-3、Bax 表达水平、IL-1 β 、IFN- γ 、IL-6 水平显著降低, Bcl-2 表达水平显著升高; 与 TNF- α + si-con 组相比, TNF- α + si-CRY1 组肾小管上皮细胞细胞凋亡率、CRY1、Cleaved caspase-3、Bax 表达水平、IL-1 β 、IFN- γ 、IL-6 水平显著降低, Bcl-2 表达水平显著升高; 与 si-con 组相比, si-CRY1 组肾小管上皮细胞 p-p38 MAPK 表达水平显著降低; 与 NC 组相比, TNF- α 组肾小管上皮细胞 p-p38 MAPK 表达水平显著升高; 与 TNF- α + si-con 组相比, TNF- α + si-CRY1 组肾小管上皮细胞 p-p38 MAPK 表达水平显著降低 ($P < 0.05$)。**结论** CRY1 可抑制 TNF- α 诱导的肾小管上皮细胞凋亡和炎症因子分泌, 其机制可能与 p38 MAPK 信号通路有关。

【关键词】 隐花色素 1; 肿瘤坏死因子- α ; 肾小管上皮细胞; 凋亡; p38 丝裂原活化蛋白激酶信号通路

[中图分类号] R692.5

[文献标识码] A

Role of cryptochrome 1 gene in tumor necrosis factor- α -induced apoptosis of renal tubular epithelial cells Li Kai*, Zhu Zhihui. * Department of Endocrinology and Nephrology, People's Hospital of Hanzhong City, Shaanxi Province, Hanzhong 723000, China

【Abstract】 **Objective** To investigate the effect of cryptochrome 1 (CRY1) on tumor necrosis factor- α (TNF- α)-induced apoptosis of renal tubular epithelial cells. **Methods** Renal tubular epithelial cells HK-2 were treated with 10 ng/ml TNF- α , and cultured for 0 h (0 h group), 12 h (12 h group), 24 h (24 h group), 48 h (48 h group), and normal cultured cells were used as control (NC) group. After transfecting si-con and si-CRY1 plasmids into HK-2 (si-con group and si-CRY1 group), they were cultured with 10 ng/ml TNF- α for 24 h, denoted as TNF- α + si-con group and TNF- α + si-CRY1 group, respectively. Western blotting was used to detect cleaved caspase-3, Bcl-2 associated X protein (Bax), B cell lymphoma/leukemia-2 (Bcl-2), CRY1, p38 mitogen-activated protein kinase (p38 MAPK) and phosphorylated p38 MAPK (p-p38 MAPK) protein expression levels. Flow cytometry was used to detect apoptosis rate. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect interleukin-1 β (IL-1 β), interferon- γ (IFN- γ), interleukin-6 (IL-6) levels. Real-time quantitative PCR (RT-qPCR) was used to detect CRY1 mRNA expression.

Results Compared with the 0 h group, the apoptosis rates of renal tubular epithelial cells, the expression levels of Cleaved caspase-3, Bax, CRY1 and the levels of IL-1 β , IFN- γ , IL-6 in the 12 h, 24 h, and 48 h group were significantly increased, the expression level of Bcl-2 was significantly reduced; compared with

作者单位: 723000 陕西省汉中市人民医院内分泌肾脏病科(李锴); 陕西省汉中市勉县医院肾病内科(朱志辉)

通讯作者: 朱志辉, E-mail: zzhmxh@163.com

the si-con group, the renal tubular epithelial cell apoptosis rate, CRY1, Cleaved caspase-3, Bax expression level, IL-1 β , IFN- γ , IL-6 levels were significantly reduced in si-CRY1 group, and Bcl-2 expression level was significantly increased; compared with the TNF- α + si-con group, the apoptosis rate of renal tubular epithelial cells, CRY1, Cleaved caspase-3, Bax expression levels, IL-1 β , IFN- γ , IL-6 levels were decreased significantly in the TNF- α + si-CRY1 group, and the expression level of Bcl-2 was increased significantly; compared with the si-con group, the expression level of p-p38 MAPK in the renal tubular epithelial cells of the si-CRY1 group was significantly decreased; compared with the NC group, the p-p38 MAPK expression in the renal tubular epithelial cells of the TNF- α group was significantly increased; compared with the TNF- α + si-con group, the expression level of p-p38 MAPK in renal tubular epithelial cells in the TNF- α + si-CRY1 group was significantly decreased ($P < 0.05$). **Conclusion** CRY1 can inhibit the apoptosis and the secretion of inflammatory factors of renal tubular epithelial cells induced by TNF- α , its mechanism may be related to p38 MAPK signaling pathway.

[Key words] Cryptoflorin 1; Tumor necrosis factor- α ; Renal tubular epithelial cells; Apoptosis; p38 mitogen-activated protein kinase signaling pathway

急性肾损伤是临床上常见多发的疾病,其发病机制复杂,主要病理变化为肾小管上皮细胞凋亡,因此,减少肾小管上皮细胞凋亡可延缓急性肾损伤的发生发展^[1-2]。肾小管上皮细胞损伤时可合成和分泌炎症因子,而炎症因子反过来可加重急性肾损伤,抑制肾小管上皮细胞中炎症因子的产生是延缓急性肾损伤的有效方法^[3-4]。隐花色素 1 (CRY1) 属于生物钟基因家族,可调控小鼠昼夜节律,CRY1 和 CRY2 的靶向突变延缓了 p53 无效突变小鼠的早期肿瘤形成^[5]。有研究发现,CRY1 在大肠癌患者组织中异常表达,影响其总体生存率^[6]。CRY1 过表达减轻了小鼠模型中睡眠剥夺引起的血管炎症^[7]。p38 丝裂原活化蛋白激酶(p38 MAPK) 信号通路是 MAPK 的重要通路之一,介导多种转录因子的表达,参与炎症介质的产生,与肾小球疾病的发生发展相关^[8]。p38 MAPK 信号通路的活化可诱导肾小球内皮细胞内炎症因子的表达^[9]。抑制 p38 MAPK 信号通路活化可减轻肾小管上皮细胞凋亡及纤维化,发挥肾脏保护作用^[10]。CRY1 虽属于生物钟基因家族,但其也可调节炎症反应,但 CRY1 对肾小管上皮细胞凋亡的影响及其机制还尚未清楚。研究发现肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 是一种由单核巨噬细胞产生的可诱导细胞凋亡和免疫调节的细胞活性因子,可诱导肾小管上皮细胞凋亡^[11]。本实验通过用 TNF- α 诱导肾小管上皮细胞凋亡,研究 CRY1 基因对 TNF- α 诱导的肾小管上皮细胞凋亡的影响、机制及与 p38MAPK 信号通路的相关性。

材料与方法

1. 材料:人肾小管上皮细胞 HK-2 购自上海名劭生物科技有限公司。胎牛血清、Dulbecco 改良 Eagle 培养基 (DMEM) 购自美国 Gibco 公司;TNF- α 购自上海生博生物医药科技有限公司;蛋白提取试剂盒、二辛可宁酸 (BCA) 试剂盒、膜联蛋白 V-异硫氰酸荧光素 (Annexin V-FITC) 和碘化丙锭 (PI) 试剂盒均购自碧云

天生物技术研究所;Cleaved caspase-3、Bax、Bcl-2、CRY1、p-p38 MAPK 和 p38 MAPK 等抗体均购自美国 Abcam 公司;酶联免疫吸附试验 (ELISA) 检测试剂盒购自上海联科生物技术有限公司;RNA 提取试剂盒、反转录试剂盒和荧光定量试剂盒购自日本 Takara 公司;Lipofectamine™ 2000 转染试剂盒购自美国 Invitrogen 公司;CRY1 干扰质粒 (si-CRY1) 及其阴性对照质粒 (si-con) 均购自北京源生思创生物科技有限公司。Thermo FC 酶标仪购自美国 Thermo 公司;FACS caliber 流式细胞仪购自美国 BD 公司。

2. 方法

(1) 细胞培养:人肾小管上皮细胞 HK-2 培养于含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基,置于 37 °C、5% CO₂ 的恒温箱,每 2 d 换液一次,当细胞融合至 90% 时用胰蛋白酶消化传代。

(2) 细胞转染和分组:取对数生长期细胞无血清培养 12 h 后加入 10 ng/ml 的 TNF- α 分别培养 0 h (0 h 组)、12 h (12 h 组)、24 h (24 h 组)、48 h (48 h 组),其中 24 h 组也为 TNF- α 组,以正常培养的细胞作为对照 (NC) 组。用 50 μ l 无血清培养基稀释 1.0 μ g 的 CRY1 干扰质粒 (si-CRY1) 及其阴性对照质粒 (si-con),轻轻混匀。将 3 μ l 脂质体用 50 μ l 无血清培养基稀释,轻轻混匀,室温孵育 5 min。将稀释的 si-con、si-CRY1 质粒和稀释的脂质体轻轻混合,室温孵育 20 min,形成脂质体复合物。6 h 后将复合物加入到含 HK-2 细胞和培养基中,震荡培养板轻轻混合,在 37 °C CO₂ 孵箱中培养,分别记为 si-con 组及 si-CRY1 组。将 si-con 组、si-CRY1 组细胞加入 10 ng/ml 的 TNF- α 培养 24 h,分别记为 TNF- α + si-con 组及 TNF- α + si-CRY1 组。转染按照 Lipofectamine™ 2000 试剂盒说明书进行操作。

(3) 蛋白质免疫印迹法 (Western blot) 检测裂解半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3 (Cleaved caspase-3)、Bcl-2 相关 X 蛋白 (Bax)、B 细胞淋巴瘤/白血病-2 (Bcl-2)、CRY1、p38 MAPK 和磷酸化 p38 MAPK (p-p38 MAPK)

蛋白表达水平:提取各组细胞蛋白,采用 BCA 试剂盒测定蛋白浓度。各组细胞蛋白上样量 50 μg,经电泳将蛋白转移至 PVDF 上,5% 脱脂牛奶室温封闭 90 min,加入一抗,于 4 ℃ 孵育过夜,PBS 洗涤 3 次,加入二抗室温孵育 2 h,PBS 洗涤 3 次,暗室中曝光显影,定影,将胶片用 Quantity One 凝胶分析软件处理,测定各组蛋白条带的灰度值,以目的条带和肌动蛋白(β-actin)条带的比值作为 Cleaved caspase-3、Bax、Bcl-2、CRY1、p-p38 MAPK 和 p38 MAPK 蛋白表达水平。

(4)流式细胞术检测细胞凋亡率:采用不含乙二胺四乙酸(EDTA)的胰酶消化各组细胞,然后离心收集细胞,PBS 漂洗 2 次,加结合缓冲液重悬细胞。依据试剂盒说明书先后分别加入 Annexin V-FITC 和 PI 避光孵育 15 min。流式细胞仪检测激发波长 488 nm 和发射波长 530 nm 处的荧光强度,实验重复 3 次。细胞凋亡率为 AnnexinV + PI-和 AnnexinV + PI + 两个象限的细胞数占总细胞数的比例。

(5)ELISA 检测白细胞介素-1β(IL-1β)、干扰素 γ(IFN-γ)及 IL-6 水平:收集各组细胞离心取上清液,按照 ELISA 试剂盒说明书检测 IL-1β、IFN-γ、IL-6 水平。

(6)实时荧光定量聚合酶链反应(RT-qPCR)检测 CRY1 mRNA 表达水平:提取各组细胞 RNA,用反转录试剂盒将 RNA 反转录成 cDNA,按照荧光定量试剂盒使用说明进行 PCR,每个样品设 3 个重复,循环条件为 95 ℃ 5 min,95 ℃ 30 s,60 ℃ 30 s;72 ℃ 30 s,共 40 个循环;60 ℃ 延长 5 min。相对表达水平用 2^{-ΔΔCt}法计算。CRY1 以 β-actin 为内参进行 PCR 扩增,CRY1 上游引物序列:5'-CCGGCAGAAGTAACCTTTGA-3',下游引物序列:5'-TAAGTCGCTTCGCATGTTG-3';β-actin 上游引物序列:5'-GATCATTGCTCCTCCTGAGC-3',下游引物序列:5'-ACTCCTGCTTGCTGATCCAC-3'。

3. 统计学处理:应用 SPSS 20.0 软件进行统计分析。正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组比较采用 *t* 检验,多组间比较采用单因素方差分析。以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

结 果

1. 不同时间点 TNF-α 对肾小管上皮细胞凋亡、炎症因子及 CRY1 表达的影响:与 0 h 组相比,12 h、24 h、48 h 组肾小管上皮细胞细胞凋亡率、Cleaved caspase-3、Bax、CRY1 表达水平显著升高,Bcl-2 表达水平降低、IL-1β、IFN-γ、IL-6 水平显著升高(*P* < 0.05)。见图 1。

2. 抑制 CRY1 表达对 TNF-α 诱导的肾小管上皮细胞凋亡率和炎症因子水平的影响:与 si-con 组相比,si-CRY1 组肾小管上皮细胞凋亡率、CRY1、Cleaved

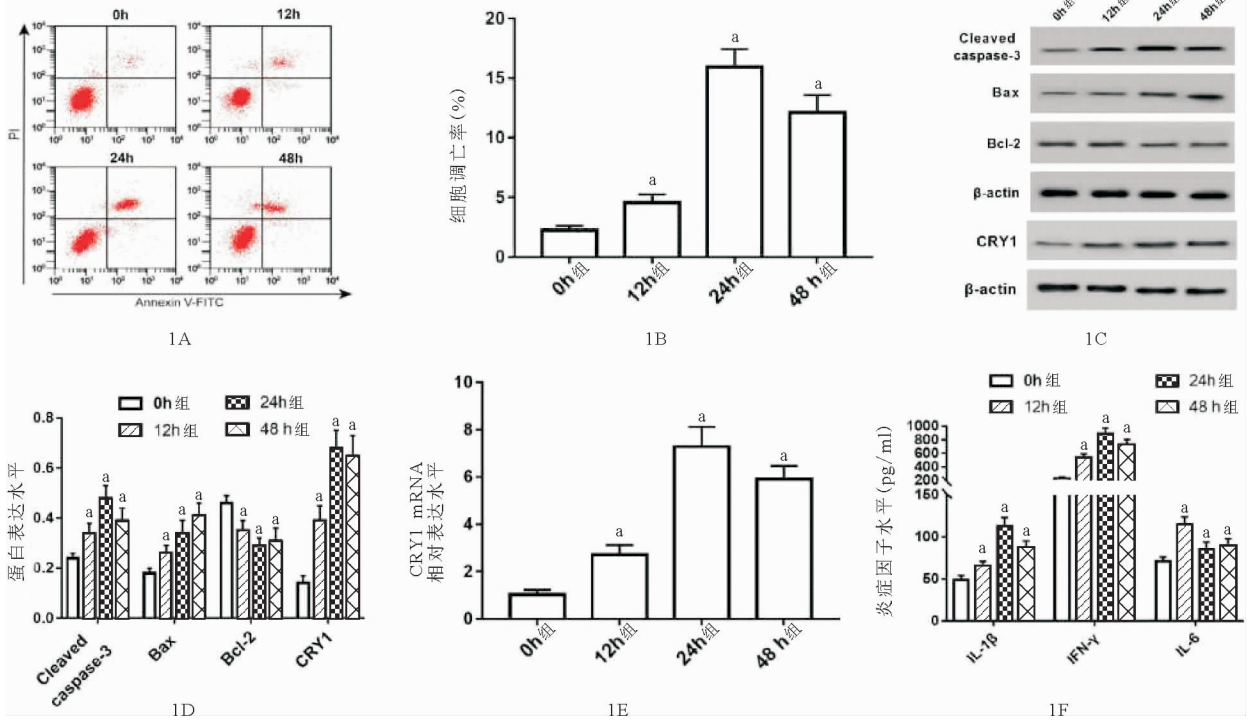
caspase-3、Bax 表达水平、IL-1β、IFN-γ、IL-6 水平显著降低,Bcl-2 表达水平显著升高(*P* < 0.05)。与 NC 组相比,TNF-α 组肾小管上皮细胞凋亡率、CRY1、Cleaved caspase-3、Bax 表达水平、IL-1β、IFN-γ、IL-6 水平显著升高,Bcl-2 表达水平显著降低(*P* < 0.05)。与 TNF-α + si-con 组相比,TNF-α + si-CRY1 组肾小管上皮细胞凋亡率、CRY1、Cleaved caspase-3、Bax 表达水平、IL-1β、IFN-γ、IL-6 水平显著降低,Bcl-2 表达水平显著升高(*P* < 0.05)。见图 2。

3. 抑制 CRY1 表达对 TNF-α 诱导的肾小管上皮细胞中 p38 MAPK 通路的影响:与 si-con 组相比,si-CRY1 组肾小管上皮细胞中 p-p38 MAPK 表达水平显著降低(*P* < 0.05);与 NC 组相比,TNF-α 组肾小管上皮细胞中 p-p38 MAPK 表达水平显著升高(*P* < 0.05);与 TNF-α + si-con 组相比,TNF-α + si-CRY1 组肾小管上皮细胞中 p-p38 MAPK 表达水平显著降低(*P* < 0.05)。而 p38 MAPK 表达水平在各组间差异无统计学意义(*P* > 0.05)。见图 3。

讨 论

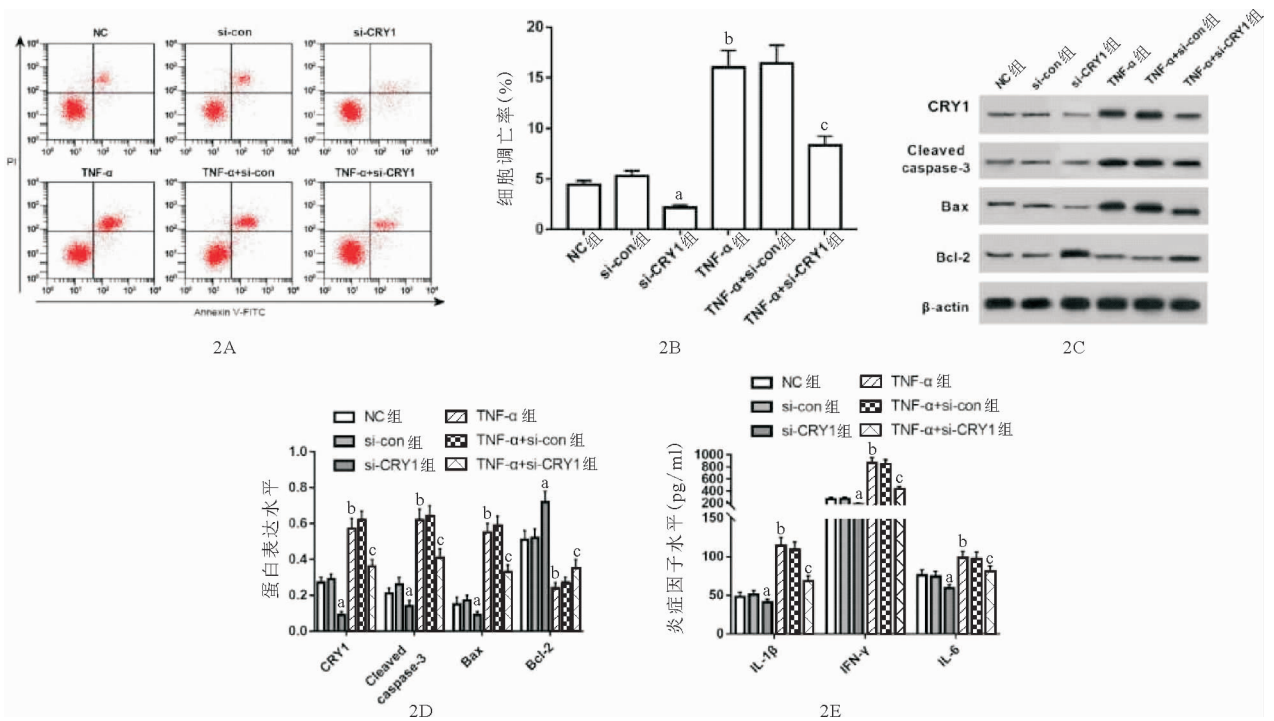
肾小管上皮细胞凋亡和炎症反应是导致急性肾损伤的主要原因^[12]。研究发现,高水平的 TNF-α 可介导肾脏损伤和肾纤维化^[13],且 TNF-α 可诱导肾小管上皮细胞上皮间质转化^[14]。因此,本实验采用 TNF-α 处理肾小管上皮细胞,结果显示 TNF-α 处理后 12 h、24 h、48 h 肾小管上皮细胞中 Cleaved caspase-3、Bax 表达水平显著升高,Bcl-2 表达水平显著降低,细胞凋亡率显著升高,说明 TNF-α 可诱导肾小管上皮细胞凋亡。此外,本实验还检测了炎症因子水平,结果显示,TNF-α 处理的肾小管上皮细胞中 IL-1β、IL-6 及 IFN-γ 水平显著升高。IL-1β、IL-6、IFN-γ 均是促炎细胞因子,说明 TNF-α 可诱导肾小管上皮细胞炎症反应的产生。综上,TNF-α 可诱导肾小管上皮细胞凋亡和炎症反应的产生,说明肾小管上皮细胞损伤模型建立成功。

有研究发现,TNF-α 增强了类风湿性滑膜细胞中 CRY1 mRNA 的表达水平^[15]。CRY1 是隐花色素家族成员之一,而隐花色素可通过上调促炎性细胞因子 TNF-α 的表达影响关节炎的发生^[16]。白藜芦醇可通过靶向昼夜节律调节剂 CRY1 预防丙烯酰胺诱导的肝细胞线粒体功能障碍和炎症反应^[17]。抑制 CRY1 可通过抑制 Toll 样受体(TLR)/核因子-κB(NF-κB)通路减轻慢性肾脏病大鼠的肾小球硬化和肾小管上皮损伤^[18]。以上研究结果均表明 CRY1 与细胞炎症反应有关。本实验结果显示,TNF-α 处理的肾小管上皮细胞中 CRY1 高表达,说明高 CRY1 可能与肾小管上皮



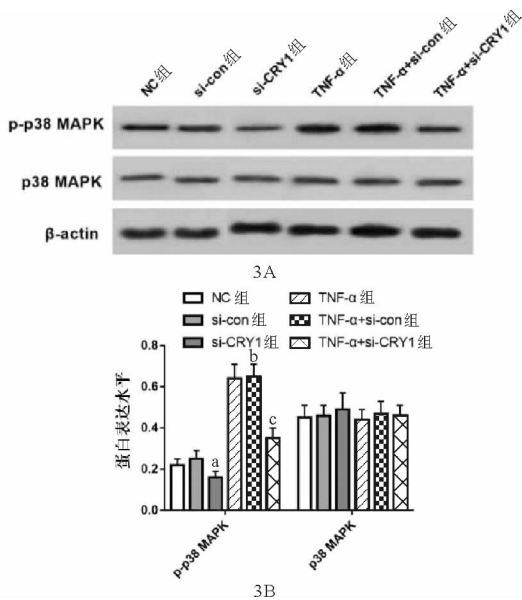
注：与 0 h 组比较，^a*P* < 0.05

图 1 TNF- α 诱导处理不同时间组肾小管上皮细胞凋亡率、Cleaved caspase-3、Bax、Bcl-2 蛋白、CRY1 表达水平和炎症因子水平的比较 (A: 流式细胞术检测不同时间组肾小管上皮细胞凋亡率; B: 不同时间组细胞凋亡率比较; C: Western blot 检测不同时间组 Cleaved caspase-3、Bax、Bcl-2、CRY1 表达水平; D: 不同时间组 Cleaved caspase-3、Bax、Bcl-2、CRY1 蛋白表达水平比较; E: 不同时间组 CRY1 mRNA 表达水平比较; F: 不同时间组炎症因子 IL-1 β 、IFN- γ 、IL-6 水平比较)



注：与 si-con 组比较，^a*P* < 0.05；与 NC 组比较，^b*P* < 0.05；与 TNF- α + si-con 组比较，^c*P* < 0.05

图 2 抑制 CRY1 表达后 TNF- α 诱导肾小管上皮细胞凋亡率、cleaved caspase-3、Bax、Bcl-2 蛋白、CRY1 表达水平及炎症因子水平比较 (A: 流式细胞检测不同组别细胞凋亡率; B: 不同组别细胞凋亡率比较; C: Western Blot 检测不同组别 CRY1、cleaved caspase-3、Bax、Bcl-2 表达水平; D: 不同组别 CRY1、Cleaved caspase-3、Bax、Bcl-2 蛋白表达水平比较; E: 不同组别炎症因子 IL-1 β 、IFN- γ 、IL-6 水平比较)



注:与 si-con 组比较, ^a $P < 0.05$; 与 NC 组比较, ^b $P < 0.05$; 与 TNF-α + si-con 组比较, ^c $P < 0.05$

图 3 抑制 CRY1 表达后 TNF-α 诱导肾小管上皮细胞 p-p38 MAPK 和 p38 MAPK 蛋白表达水平比较 (A: Western Blot 检测不同组别 p-p38 MAPK 和 p38 MAPK 蛋白表达结果; B: 不同组别 p-p38 MAPK 和 p38 MAPK 蛋白表达水平比较)

细胞凋亡和炎症反应的产生有关。因此,本实验为进一步研究 CRY1 对肾小管上皮细胞凋亡和炎症反应的影响,转染 CRY1 的抑制表达载体 si-CRY1 至肾小管上皮细胞及 TNF-α 处理的肾小管上皮细胞中,然后检测细胞凋亡情况、凋亡相关蛋白表达及炎症因子水平,结果显示,肾小管上皮细胞中 Cleaved caspase-3、Bax 表达水平显著降低, Bcl-2 表达水平显著升高,细胞凋亡率显著降低, IL-1β、IFN-γ、IL-6 水平显著降低。说明抑制 CRY1 表达可抑制肾小管上皮细胞凋亡和炎症因子分泌,并可减轻 TNF-α 诱导的肾小管上皮细胞凋亡和炎症因子分泌。本实验结果提示抑制 CRY1 表达具有减轻肾小管上皮损伤的作用,与 Liu 等^[18]的研究结果相符。

研究发现抑制 p38 MAPK 信号通路可减轻缺氧复氧肾小管上皮细胞炎症反应^[19],抑制 p38 MAPK 信号通路可减少肾小管上皮细胞凋亡^[20]。说明 p38 MAPK 信号通路可能与炎症反应及肾小管上皮细胞凋亡有关。本实验为研究 CRY1 对肾小管上皮细胞炎症反应和凋亡的影响机制及与 p38 MAPK 信号通路的相关性,转染 CRY1 的抑制表达载体 si-CRY1 至肾小管上皮细胞及 TNF-α 处理的肾小管上皮细胞中,然后检测 p-p38 MAPK 及 p38 MAPK 蛋白表达水平,结果显示, TNF-α 处理的肾小管上皮细胞中 p-p38 MAPK 表达水平显著升高,说明 TNF-α 激活了 p38 MAPK 信号通路。而抑制 CRY1 表达后,正常肾小管上皮细胞及 TNF-α

处理的肾小管上皮细胞中 p-p38 MAPK 表达水平均显著降低,说明抑制 CRY1 表达可抑制 p38 MAPK 信号通路激活。CRY1 可能通过抑制 p38 MAPK 信号通路激活抑制 TNF-α 诱导的肾小管上皮细胞凋亡和炎症反应。

综上,CRY1 可抑制 TNF-α 诱导的肾小管上皮细胞凋亡和炎症因子分泌,其机制可能与 p38 MAPK 信号通路有关。可以为保护肾小管上皮细胞损伤、减少肾损伤疾病的发生提供理论参考依据。

参考文献

- [1] Sun Y, Peng PA, Ma Y, et al. Valsartan protects against contrast-induced acute kidney injury in rats by inhibiting endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis[J]. *Curr Vasc Pharmacol*, 2017, 15(2):174-183.
- [2] 李湛,毛永辉. 肿瘤相关性急性肾损伤的研究进展[J]. *临床内科杂志*, 2020, 37(3):145-147.
- [3] Shi M, Zeng X, Guo F, et al. Anti-inflammatory pyranochalcone derivative attenuates LPS-induced acute kidney injury via inhibiting TLR4/NF-κB pathway[J]. *Molecules*, 2017, 22(10):1683.
- [4] 张中菊,王力宁. 高尿酸血症与肾脏疾病关系的研究进展[J]. *中国医药*, 2019, 14(3):471-473.
- [5] Lee JH, Gaddameedhi S, Ozturk N, et al. DNA damage-specific control of cell death by cryptochrome in p53-mutant ras-transformed cells[J]. *Cancer Res*, 2013, 73(2):785-791.
- [6] Mazzoccoli G, Colangelo T, Panza A, et al. Deregulated expression of cryptochrome genes in human colorectal cancer[J]. *Mol Cancer*, 2016, 15(1):1-20.
- [7] Qin B, Deng YL. Overexpression of circadian clock protein cryptochrome (CRY) 1 alleviates sleep deprivation-induced vascular inflammation in a mouse model[J]. *Immunol Lett*, 2015, 163(1):76-83.
- [8] 程闰夏,杨琳琳,林云,等. p38MAPK 信号通路及肾小球疾病关系的研究进展[J]. *山东医药*, 2018, 58(14):98-101.
- [9] 张晓雪,王璐瑶,尚进,等. 高糖环境下趋化素与其受体 ChemR23 通过活化 p38MAPK 促进肾小球内皮细胞炎症因子 IL-6、TNF-α 的表达[J]. *中华肾脏病杂志*, 2017, 33(7):524-530.
- [10] 刘高虹,兰青,张湾,等. 西格列汀对高糖诱导的肾小管上皮细胞凋亡和 p38 丝裂原活化蛋白激酶通路的影响[J]. *中华糖尿病杂志*, 2019, 11(4):282-286.
- [11] 牛蕴夷. SOCS-1 对 TNF-α 诱导人近端肾小管上此细胞凋亡的影响[D]. 石家庄:河北医科大学, 2011.
- [12] 姜雪,李世军. 急性肾损伤肾小管上皮细胞修复的分子机制[J]. *肾脏病与透析肾移植杂志*, 2019, 28(1):83-87.
- [13] Wen Y, Lu X, Ren J, et al. KLF4 in macrophages attenuates TNF-α mediated kidney injury and fibrosis[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2019, 30(10):1925-1938.
- [14] Adachi T, Arito M, Suematsu N, et al. Roles of layilin in TNF-α-induced epithelial-mesenchymal transformation of renal tubular epithelial cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2015, 467(1):63-69.
- [15] Yoshida K, Hashimoto A, Okano T, et al. TNF-α modulates expression of the circadian clock gene Per2 in rheumatoid synovial cells[J]. *Scand J Rheumatol*, 2013, 42(4):276-280.
- [16] Akira H, Takashi Y, Ken T, et al. Mammalian clock gene Cryptochrome regulates arthritis via proinflammatory cytokine TNF-alpha [J]. *J Immunol*, 2010, 184(3):1560-1565.
- [17] Tan X, Li L, Wang J, et al. Resveratrol prevents acrylamide-induced mitochondrial dysfunction and inflammatory responses via targeting circadian regulator bmal1 and cry1 in hepatocytes[J]. *J Agric Food Chem*, 2019, 67(31):8510-8519.
- [18] Liu L, Pang XL, Shang WJ, et al. Over-expressed microRNA-181a reduces glomerular sclerosis and renal tubular epithelial injury in rats with chronic kidney disease via down-regulation of the TLR/NF-κB pathway by binding to CRY1[J]. *Mol Med*, 2018, 24(1):49.
- [19] 陈伟,谢林伸. 黄芪多糖抑制 p38MAPK 信号通路减轻缺氧复氧肾小管上皮细胞炎症反应[J]. *免疫学杂志*, 2019, 35(7):593-598.
- [20] 杨邱,李亚,李勇泉. 紫杉醇通过 p38MAPK 通路对大鼠肾小管上皮细胞株自噬和凋亡的影响[J]. *内蒙古医学杂志*, 2017, 49(7):779-780.

(收稿日期:2020-04-25)

(本文编辑:余晓曼)