



[DOI] 10.3969/j.issn.1001-9057.2024.11.014

<http://www.lcnkzz.com/CN/10.3969/j.issn.1001-9057.2024.11.014>

· 临床研究 ·

热休克转录因子 2 在高糖诱导的足细胞焦亡与损伤中的作用

杨美琳 卢上伟 申宁 柴守宇 王荣 吕智美

[摘要] **目的** 探讨热休克转录因子 2(HSF2)在糖尿病肾脏疾病(DKD)足细胞焦亡与损伤发生中的作用机制。**方法** 将 12 只 C57BL/6J 雄性小鼠随机均分为对照组和 DKD 组,采用免疫组化(IHC)染色检测 DKD 组小鼠肾脏组织中 HSF2 的表达。体外培养永生化人足细胞,构建高糖诱导的足细胞损伤模型,将足细胞分为低糖组(LG 组)、高糖组(HG 组)、高渗组(HO 组)、高糖 + 过表达对照组(HG + OE-NC 组)、高糖 + HSF2 过表达组(HG + OE-HSF2 组)、低糖 + 敲低对照组(LG + si-NC 组)、低糖 + HSF2 敲低组(LG + si-HSF2 组)、空白对照组(con 组)、敲低对照组(si-NC 组)、HSF2 敲低组(si-HSF2 组)、HSF2 敲低 + ROS 抑制剂组(si-HSF2 + MT 组)。采用实时荧光定量聚合酶链反应(RT-qPCR)、蛋白质印迹法(Western blot)及免疫荧光检测足细胞损伤相关蛋白 zo-1、synaptopodin 的表达水平;Western blot 评估足细胞中 HSF2 蛋白、NOD 样受体蛋白 3(NLRP3)炎症小体和焦亡相关蛋白 cleaved-Caspase-1、IL-1 β 蛋白的表达水平;线粒体超氧化物红色荧光探针试剂盒检测足细胞线粒体超氧化物(mtROS)水平。**结果** 与对照组相比,DKD 组小鼠肾组织中 HSF2 表达显著降低($P < 0.05$)。HG 组足细胞 NLRP3、Cleaved-Caspase-1、IL-1 β 相对表达水平均高于 LG 组、HO 组和 HG + OE-HSF2 组,HSF2 表达水平均低于 LG 组和 HO 组,synaptopodin、zo-1 蛋白和 mRNA 相对表达水平均低于 LG 组和 HG + OE-HSF2 组($P < 0.05$)。与 LG + si-NC 组相比,LG + si-HSF2 组足细胞 synaptopodin、zo-1 蛋白和 mRNA 相对表达水平均显著降低,NLRP3、IL-1 β 、Cleaved-Caspase-1 相对表达水平均显著升高($P < 0.05$)。与 LG 组相比,HG 组及 LG + si-HSF2 组足细胞 mtROS 均明显增加;与 HG 组相比,HG + OE-HSF2 组足细胞 mtROS 明显减少;与 con 组相比,si-HSF2 组和 si-HSF2 + MT 组足细胞 mtROS 均明显增加($P < 0.05$)。**结论** HSF2 通过调控 ROS/NLRP3 信号通路介导高糖诱导的足细胞焦亡与损伤。

[关键词] 足细胞; 热休克转录因子 2; 细胞焦亡; NOD 样受体蛋白 3 炎症小体; 活性氧**[中图分类号]** R364**[文献标识码]** A

Role of heat shock transcription factor 2 in high glucose - induced podocyte pyroptosis and injury

Yang Meilin*, Lu Shangwei, Shen Ning, Chai Shouyu, Wang Rong, Lu Zhimei. * Department of Nephrology, Shandong Provincial Hospital Affiliated to Shandong First Medical University, Jinan, 250021, China

[Abstract] **Objective** To investigate the role and its mechanism of heat shock transcription factor 2 (HSF2) in the development of podocyte pyroptosis and injury in diabetic kidney disease. **Methods** Twelve C57BL/6J male mice were randomly and equally divided into control and DKD groups, and immunohistochemical (IHC) staining was used to detect the expression of HSF2 in the kidney tissues of mice in the DKD group. In vitro culture of immortalized human podocytes was performed to construct a model of high glucose-induced podocyte injury, and the podocytes were divided into a low glucose group (LG group), a high glucose group (HG group), a hyperosmotic group (HO group), a high glucose overexpression control group (HG + OE-NC group), and a high glucose HSF2 overexpression group (HG + OE-HSF2 group), low glucose + knockdown control group (LG + si-NC group), low glucose + HSF2 knockdown group (LG + si-HSF2 group), blank control group (con group), knockdown control group (si-NC group), HSF2 knockdown group (si-HSF2 group), HSF2 knockdown + ROS inhibitor group (si-HSF2 + MT group). Real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction (RT-qPCR),

基金项目:国家自然科学基金资助项目(82370721、82070744、81873615、81770723);山东省自然科学基金联合基金资助项目(ZR2022LSW020, ZR2023LZY014)

作者单位:250021 山东济南,山东第一医科大学附属省立医院肾内科

通讯作者:王荣, E-mail: wangrong_sd@126.com; 吕智美, E-mail: lyuzhimei@126.com

protein blotting (Western blot) and immunofluorescence were used to detect the expression level of foot cell injury-related proteins synaptopodin and zo-1; Western blot was used to assess HSF2 protein in foot cells, NOD-like receptor protein 3 (NLRP3) inflammatory vesicles and the expression levels of the focal death-associated proteins cleaved-Caspase-1 and IL-1 β proteins in foot cells were assessed by Western blotting; the mitochondrial superoxide red fluorescent probe kit was used to detect the mitochondrial superoxide (mtROS) levels in foot cells. **Results** Compared with the control group, HSF2 expression was significantly lower in the renal tissues of mice in the DKD group ($P < 0.05$). The relative expression levels of podocyte NLRP3, Cleaved-Caspase-1, IL-1 β relative expression levels were higher than those in the LG group, HO group and HG + OE -HSF2 group, HSF2 expression levels were lower than those in the LG group and HO group, and the relative expression levels of synaptopodin, zo-1 protein and mRNA were lower than those in the LG group and HG + OE -HSF2 group ($P < 0.05$). Compared with the LG + si-NC group, the relative expression levels of foot cell synaptopodin, zo-1 protein and mRNA were significantly lower in the LG + si-HSF2 group, and the relative expression levels of NLRP3, Cleaved-Caspase-1, IL-1 β relative expression levels were significantly higher ($P < 0.05$). Compared with the LG group, mtROS of foot cells were significantly increased in the HG group and the LG + si-HSF2 group; compared with the HG group, mtROS of foot cells were significantly decreased in the HG + OE-HSF2 group; compared with the con group, mtROS of foot cells were significantly increased in the si-HSF2 group and the si-HSF2 + MT groups both had significantly increased foot cell mtROS ($P < 0.05$). **Conclusion** HSF2 mediates high glucose-induced podocyte pyroptosis and injury by regulating the ROS/NLRP3 signalling pathway.

[**Key words**] Podocytes; Heat shock transcription factor 2; cell pyroptosis; NOD-like receptor protein 3 inflammasome; Reactive oxygen species

糖尿病肾脏疾病(DKD)是糖尿病最常见的并发症之一,是终末期肾病(ESRD)的首要原因^[1]。足细胞损伤是DKD发生发展的关键环节^[2]。细胞焦亡是近年来新发现的一种与炎症过程密切相关的程序性细胞死亡方式,其主要是由半胱氨酸蛋白酶(如Caspase-1、4、5、11)和大量促炎细胞因子的释放所触发^[3,4]。细胞焦亡的发生通常伴随着NOD样受体蛋白3(NLRP3)炎症小体的激活和促炎细胞因子的释放,已有证据表明NLRP3炎症小体介导的细胞焦亡是DKD的主要致病机制,抑制NLRP3炎症小体激活不仅可减轻DKD小鼠的肾脏炎症反应和纤维化^[5],且对高糖诱导的足细胞亦可发挥保护作用^[6]。活性氧(ROS)作为介导体内氧化还原反应的重要调控因子^[7],线粒体ROS可作为上游启动因子激活NLRP3炎症小体诱导足细胞焦亡的发生,是介导DKD发生发展的重要机制^[8]。热休克转录因子(HSFs)最初发现是受热应激调控的基因直接转录激活因子,可以编码热休克蛋白^[9-10]。近来有研究表明HSF2可通过抑制NLRP3炎症小体的激活,减轻肠道炎症因子IL-1 β 的分泌^[11];且HSF2可通过促进线粒体自噬降低肠上皮细胞中线粒体和线粒体衍生的ROS(mtROS)水平,调控NLRP3炎症小体的激活^[12]。但HSF2在DKD NLRP3炎症小体的激活中的生物学作用和潜在的分子机制尚未有研究明确。本研究通过构建链脲佐菌素(STZ)小鼠模型以及高糖诱导的人足细胞损伤模型,探究HSF2在DKD足细胞焦亡和损伤过程中的作用及调控机制。

材料与方法

1. 材料:C57BL/6J小鼠购自北京维通利华实验动

物技术有限公司,动物饲养及动物实验经山东第一医科大学附属省立医院医学伦理委员会批准后进行。永生化人足细胞系由美国Peter Mundel教授惠赠;青霉素—链霉素混合物和线粒体ROS抑制剂Mito-TEMPO(MT)均购于美国Sigma公司;RPMI-1640培养基和胎牛血清(FBS)均购于美国Gibco公司;HSF2的过表达质粒以及HSF2小干扰RNA(siRNA)均购于铂尚生物技术有限公司;线粒体超氧化物红色荧光探针试剂盒购自上海翌圣生物科技有限公司;放射免疫沉淀法(RIPA)裂解液购自上海碧云天生物技术有限公司;辣根过氧化物酶(HRP)标记的山羊抗兔/抗鼠二抗购自武汉三鹰生物技术有限公司。

2. 方法

(1)动物实验造模及分组:将12只8周龄雄性小鼠随机分为对照组和DKD组。DKD组小鼠予高脂饮食4周,禁食不禁水12h后腹腔注射STZ 55 mg/kg,连续5d,建立DKD小鼠模型;收集DKD小鼠血液和尿液,若空腹血糖 ≥ 16.7 mmol/L且24h尿蛋白 ≥ 30 mg,则DKD模型成功建立。对照组小鼠禁食不禁水12h后注射同体积柠檬酸钠缓冲液。在注射STZ 12周后,处死两组小鼠并获取其肾脏组织,石蜡包埋切片,采用免疫组化染色观察HSF2表达情况。

(2)细胞培养、转染及分组:采用含1%青霉素-链霉素的混合物和10%FBS的RPMI1640培养基培养足细胞,放置于37℃、5%CO₂培养箱。采用低葡萄糖(5.5 mmol/L, LG)、高葡萄糖(30 mmol/L, HG)或高渗透压(低葡萄糖5.5 mmol/L + 甘露醇24.5 mmol/L, HO)分别刺激分化的人足细胞24h,作为低糖组(LG组)、高糖组(HG组)、高渗组(HO组)。当足细胞特异性损

伤蛋白 synaptopodin、zo-1 显著下降,表明该环境下已经产生足细胞损伤,可认为已达到建立高糖损伤细胞模型的目的。采用 HSF2 过表达载体 (OE-HSF2)、HSF2 敲低小干扰 (si-HSF2) 和对照组空载体 (si-NC、OE-NC) 分别转染足细胞,按照说明书所述步骤添加转染试剂将 siRNA 或过表达质粒转染到人足细胞中,并将其分为高糖 + 过表达对照组 (HG + OE-NC 组)、高糖 + HSF2 过表达组 (HG + OE-HSF2 组)、低糖 + 敲低对照组 (LG + si-NC 组)、低糖 + HSF2 敲低组 (LG + si-HSF2 组)、对照组 (con 组)、敲低对照组 (si-NC 组)、HSF2 敲低组 (si-HSF2 组)、HSF2 敲低抑制组 (si-HSF2 + MT 组)。

(3)实时定量聚合酶链反应 (RT-qPCR):采用总 RNA 试剂提取盒从培养的足细胞中提取总 RNA,然检测样品 RNA 纯度并进行逆转录和 DNA 扩增。使用 SYBR Green 预混液和 LightCycler © 480 实时荧光定量 PCR 系统通过 qPCR 测定 zo-1、synaptopodin mRNA 表达水平。

(4)Western blot:采用 RIPA 裂解缓冲液裂解细胞得到蛋白样品,在 10% 凝胶上通过聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE) 分离。将蛋白质转移到 PVDF 膜上,在摇床上用 5% 脱脂牛奶室温封闭 2 h,与对应抗体在 4℃ 下孵育过夜。次日用 TBST 洗涤膜,与相应 HRP 标记的二抗在室温下孵育 1 h。使用增强型化学发光试剂 (ECL) 试剂观察蛋白质图像,计算焦亡相关蛋白 (NLRP3、Cleaved-Caspase-1、IL-1β) 相对表达水平。

(5)免疫荧光染色:将细胞铺在 24 孔载玻片中进行不同干预;用 0.3% Triton X-100 渗透,与 5% BSA 在室温下孵育 30 min。将细胞与 synaptopodin (1:400)、zo-1 (1:2 000) 抗体在 4℃ 孵育过夜。在 37℃ 避光与二抗 (1:200) 孵育 1 h。与 DAPI 孵育 10 min 后,用荧光显微镜观察细胞。

(6)ROS 水平检测:采用 MitoSOX 红色线粒体超氧化物试剂盒检测线粒体 ROS 水平。

3. 统计学处理:应用 Graphpad prism 8 软件进行统计分析。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD 检验。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

结 果

1. 对照组和 DKD 组小鼠肾脏组织中 HSF2 表达情况比较:与对照组相比,DKD 组小鼠肾组织中 HSF2 表达显著降低 [(0.083 ± 0.020) 比 (0.19 ± 0.018) , $P < 0.05$]。见图 1。

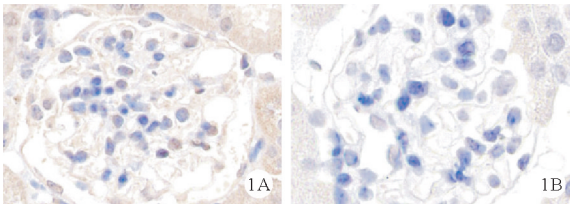


图 1 小鼠肾脏组织中 HSF2 表达情况 (A:对照组;B:DKD 组;免疫组化染色;×400)

2. LG 组、HG 组、HO 组足细胞损伤与焦亡相关蛋白及 HSF2 相对表达水平比较:HG 组足细胞焦亡相关蛋白 NLRP3、cleaved-Caspase-1、IL1-β 相对表达水平均高于 LG 组和 HO 组,HSF2 表达水平均低于 LG 组和 HO 组 ($P < 0.05$);LG 组和 HO 组足细胞上述指标比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 1。HG 组足细胞损伤相关蛋白 synaptopodin、zo-1 蛋白相对表达水平均低于 LG 组。见图 2。

表 1 LG 组、HG 组、HO 组足细胞中焦亡相关蛋白及 HSF2 相对表达水平比较 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	NLRP3	IL-1β	cleaved-Caspase-1	HSF2
LG 组	0.40 ± 0.03	0.62 ± 0.07	0.44 ± 0.05	0.98 ± 0.11
HG 组	0.94 ± 0.08 ^a	1.14 ± 0.12 ^a	0.89 ± 0.13 ^a	0.32 ± 0.07 ^a
HO 组	0.52 ± 0.09	0.58 ± 0.02	0.43 ± 0.13	0.84 ± 0.06
F 值	49.710	47.080	16.390	57.450
P 值	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与 LG 组比较,^a $P < 0.05$

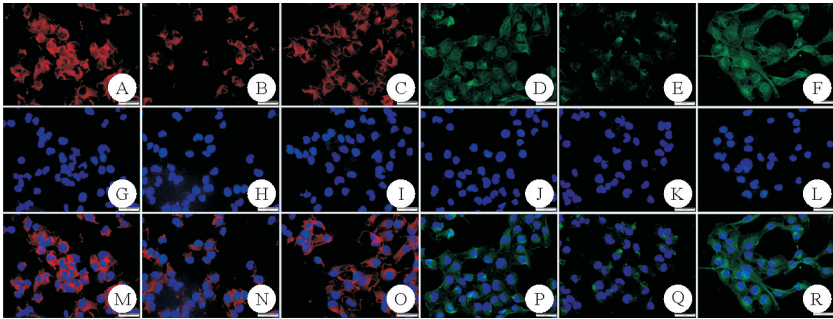


图 2 不同组别足细胞 zo-1 及 synaptopodin 蛋白表达情况 (A ~ C: zo-1 蛋白表达情况;D ~ F:synaptopodin 蛋白表达情况;G ~ I:zo-1 蛋白 DAPI 核染;J ~ L: synaptopodin 蛋白 DAPI 核染;M ~ O:细胞核与 zo-1 蛋白的 Merge 结果;P ~ R:细胞核与 synaptopodin 蛋白的 Merge 结果;免疫荧光染色;×400)

3. LG 组、HG 组、HG + OE-NC 组及 HG + OE-HSF2 组足细胞中焦亡相关蛋白、synaptopodin、zo-1 蛋白和 mRNA 相对表达水平比较:HG 组足细胞 synaptopodin、zo-1 蛋白和 mRNA 相对表达水平均显著低于 LG 组和 HG + OE-HSF2 组, NLRP3、Cleaved-Caspase-1、IL-1 β 相对表达水平均显著高于 LG 组和 HG + OE-HSF2 组($P < 0.05$)。其余各组上述指标比较差异均无统计学意义($P > 0.05$)。见表 2。

4. LG 组、HG 组、LG + si-NC 组及 LG + si-HSF2 组足细胞中焦亡相关蛋白、synaptopodin、zo-1 蛋白和 mRNA 相对表达水平比较:HG 组足细胞 synaptopodin、zo-1 蛋白和 mRNA 相对表达水平均显著低于 LG 组, NLRP3、Cleaved-Caspase-1、IL-1 β 相对表达水平均显著高于 LG 组;与 LG + si-NC 组相比, LG + si-HSF2 组足细胞 synaptopodin、zo-1 蛋白和 mRNA 相对表达水平均显著降低, NLRP3、Cleaved-Caspase-1、IL-1 β 相对表达水平均显著升高($P < 0.05$)。其余各组上述指标比较差异均无统计学意义($P > 0.05$)。见表 3。

5. 不同组别足细胞 mtROS 水平比较:与 LG 组相比, HG 组及 LG + si-HSF2 组足细胞 mtROS 均明显增加;与 HG 组相比, HG + OE-HSF2 组足细胞 mtROS 明显减少;与 con 组相比, si-HSF2 组和 si-HSF2 + MT 组 mtROS 均明显增加。见图 3。

6. con 组、si-NC 组、si-HSF2 组及 si-HSF2 + MT 组足细胞损伤与焦亡相关蛋白相对表达水平比较: si-HSF2 组足细胞 NLRP3、Cleaved-Caspase-1、IL-1 β 蛋白相对表达水平均显著高于 con 组和 si-HSF2 + MT 组

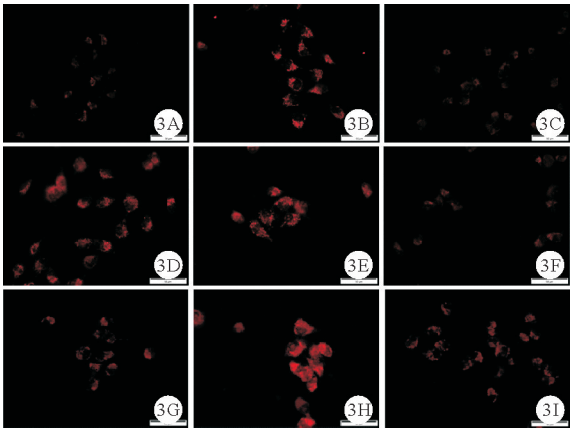


图3 不同组别足细胞 ROS 水平(A:LG 组;B:HG 组;C:LG + si-NC 组;D:LG + si-HSF2 组;E:HG + OE-NC 组;F:HG + OE-HSF2 组;G: con 组;H:si-NC 组;I:si-HSF2 + MT 组;线性体超氧化物红色荧光探针染色;×400)

($P < 0.05$)。其余各组上述指标比较差异均无统计学意义($P > 0.05$)。见表 4。si-HSF2 组 synaptopodin、zo-1 蛋白相对表达水平显著低于 con 组和 si-HSF2 + MT 组($P < 0.05$)。见图 4。

表4 con 组、si-NC 组、si-HSF2 组及 si-HSF2 + MT 组足细胞焦亡相关蛋白相对表达水平比较($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	NLRP3	cleaved-Caspase-1	IL-1 β
con 组	0.41 \pm 0.04	0.40 \pm 0.04	0.35 \pm 0.01
si-NC 组	0.56 \pm 0.02	0.44 \pm 0.02	0.58 \pm 0.01
si-HSF2 组	1.39 \pm 0.06 ^a	1.37 \pm 0.18 ^a	1.31 \pm 0.07 ^a
si-HSF2 + MT 组	0.71 \pm 0.06 ^b	0.70 \pm 0.12 ^b	0.62 \pm 0.05 ^b
F 值	227.400	48.580	289.400
P 值	<0.001	<0.001	<0.001

注:与 con 组比较, ^a $P < 0.05$;与 si-HSF2 组比较, ^b $P < 0.05$

表2 LG 组、HG 组、HG + OE-NC 组及 HG + OE-HSF2 组足细胞焦亡相关蛋白、synaptopodin、zo-1 蛋白和 mRNA 水平比较($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	蛋白相对表达水平					mRNA 相对表达水平	
	NLRP3	cleaved-Caspase-1	IL-1 β	synaptopodin	zo-1	synaptopodin	zo-1
LG 组	0.49 \pm 0.08	0.57 \pm 0.07	0.53 \pm 0.08	0.96 \pm 0.03	1.11 \pm 0.14	1.00 \pm 0.00	1.00 \pm 0.00
HG 组	0.98 \pm 0.18 ^a	1.04 \pm 0.17 ^a	1.09 \pm 0.09 ^a	0.40 \pm 0.08 ^a	0.51 \pm 0.10 ^a	0.47 \pm 0.07 ^a	0.49 \pm 0.05 ^a
HG + OE-NC 组	1.19 \pm 0.04	1.12 \pm 0.10	1.19 \pm 0.07	0.42 \pm 0.07	0.56 \pm 0.05	0.50 \pm 0.02	0.50 \pm 0.08
HG + OE-HSF2 组	0.40 \pm 0.04 ^b	0.43 \pm 0.03 ^b	0.60 \pm 0.05 ^b	0.85 \pm 0.03 ^b	0.98 \pm 0.10 ^b	1.00 \pm 0.07 ^b	1.07 \pm 0.07 ^b
F 值	41.580	31.120	58.660	79.860	62.730	105.500	81.520
P 值	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与 LG 组比较, ^a $P < 0.05$;与 HG 组比较, ^b $P < 0.05$

表3 LG 组、HG 组、LG + si-NC 组及 LG + si-HSF2 组足细胞焦亡相关蛋白、synaptopodin、zo-1 蛋白和 mRNA 水平比较($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	蛋白相对表达水平					mRNA 相对表达水平	
	NLRP3	cleaved-Caspase-1	IL-1 β	synaptopodin	zo-1	synaptopodin	zo-1
LG 组	0.48 \pm 0.07	0.54 \pm 0.02	0.44 \pm 0.02	0.95 \pm 0.08	1.06 \pm 0.06	1.00 \pm 0.00	1.00 \pm 0.00
HG 组	1.18 \pm 0.02 ^a	1.26 \pm 0.04 ^a	1.35 \pm 0.08 ^a	0.44 \pm 0.05 ^a	0.62 \pm 0.08 ^a	0.46 \pm 0.09 ^a	0.43 \pm 0.03 ^a
LG + si-NC 组	0.60 \pm 0.06	0.48 \pm 0.01	0.53 \pm 0.03	1.21 \pm 0.13	1.25 \pm 0.22	1.00 \pm 0.09	0.98 \pm 0.09
LG + si-HSF2 组	1.14 \pm 0.08 ^b	1.23 \pm 0.09 ^b	1.27 \pm 0.07 ^b	0.53 \pm 0.06 ^b	0.51 \pm 0.09 ^b	0.52 \pm 0.04 ^b	0.52 \pm 0.06 ^b
F 值	104.800	193.500	223.100	50.840	22.300	55.220	92.100
P 值	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与 LG 组比较, ^a $P < 0.05$;与 LG + si-NC 组比较, ^b $P < 0.05$

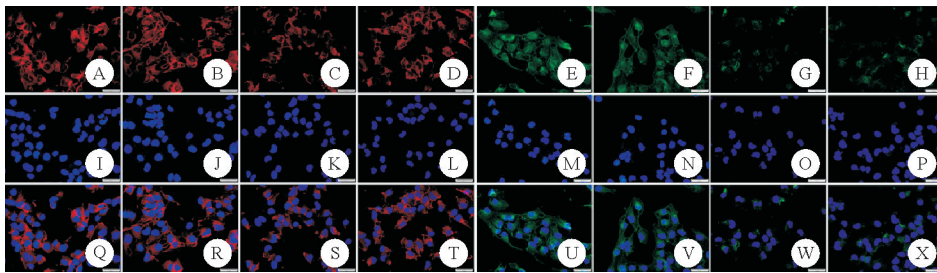


图4 不同组别足细胞 zo-1 及 synaptopodin 蛋白表达情况 (A~D: zo-1 蛋白表达情况;E~H: synaptopodin 蛋白表达情况;I~L: zo-1 蛋白 DAPI 核染;M~P: synaptopodin 蛋白 DAPI 核染;Q~T: 细胞核与 zo-1 的 Merge 结果;U~X: 细胞核与 synaptopodin 蛋白的 Merge 结果;免疫荧光染色;×400)

讨 论

DKD 作为 ESRD 的首要原因,是肾脏病领域亟待解决的重大难题之一。足细胞损伤在介导 DKD 尿蛋白排泄、肾小球硬化和肾功能衰竭中起着关键作用^[13]。深入研究足细胞损伤发生机制将为 DKD 等继发性肾脏病提供更好的防治方案。本研究证实,HSF2 可通过 ROS 通路介导 NLRP3 炎症小体的激活,导致足细胞焦亡及损伤,进一步揭示了足细胞焦亡与损伤的新调控机制,为 DKD 的预防提供了新的靶点。

HSF 参与调控热休克蛋白的表达,在肾脏抗炎和抗氧化中发挥重要作用。有研究发现,HSF2 可调控肠上皮细胞 NLRP3 炎症小体的激活^[11],参与肠道炎症发生。HSF2 在 DKD 发生中的生物学作用及其对 NLRP3 炎症小体的激活的潜在的分子机制,尚缺乏研究。本研究发现,高糖诱导足细胞中 NLRP3 炎症小体以及相关焦亡蛋白表达增加,证实高糖条件下足细胞焦亡发生,与之前的研究结果一致^[6]。本研究证实,高糖下 HSF2 明显降低,且 HSF2 过表达可显著抑制 NLRP3 炎症小体表达,及足细胞焦亡的发生,而 HSF2 敲除后则结果相反。这提示,足细胞 HSF2 与 NLRP3 炎症小体介导的细胞焦亡间的密切联系,但具体的调控机制仍需进一步探讨。

NLRP3 炎症小体可以通过多种途径被激活,氧化应激作为 DKD 发生发展的关键因素。研究表明 ROS 的过度累积可以激活 NLRP3/Caspase-1 通路,诱导细胞焦亡的发生^[14]。我们研究发现,HSF2 过表达,可明显抑制高糖下诱导的 ROS 产生,提示高糖条件下,HSF2 可通过调控 ROS 影响 NLRP3 炎症小体激活,促进焦亡发生;通过线粒体 ROS 抑制剂 Mito-TEMPO,进一步充分证实 HSF2 介导的 ROS 产生,进而参与足细胞焦亡。而 HSF2 是否还通过其他未知的通路来调控足细胞焦亡的发生,仍需要进一步研究。其次,在本研究中虽在 STZ 小鼠和人足细胞中均发现了 HSF2 的表达减少,但尚未构建 HSF2 特异性敲除的 DKD 动物模

型进行验证。此外,除足细胞外,DKD 中的细胞焦亡还涉及肾小管上皮细胞、内皮细胞等,但我们并未阐明 HSF2 在其他肾脏细胞中的细胞焦亡调节机制。因此,未来我们需要进一步设计完善的 DKD 动物模型来进行验证,探讨更为全面的研究。

综上所述,本研究用高糖诱导足细胞损伤模型,发现 HSF2 通过抑制足细胞的焦亡与损伤而发挥保护作用,其具体机制是 HSF2 通过降低 ROS 水平,抑制 NLRP3 炎症小体的激活以及足细胞焦亡,研究将为 DKD 的诊断和治疗提供新的靶点。

参 考 文 献

- [1] Alicic RZ, Rooney MT, Tuttle KR. Diabetic Kidney Disease: Challenges, Progress, and Possibilities [J]. Clin J Am Soc Nephrol, 2017, 12 (12): 2032-2045.
- [2] Mohandes S, Doka T, Hu H, et al. Molecular pathways that drive diabetic kidney disease [J]. J Clin Invest, 2023, 133 (4): e165654.
- [3] Zhang KJ, Wu Q, Jiang SM, et al. Pyroptosis: A New Frontier in Kidney Diseases [J]. Oxid Med Cell Longev, 2021, 2021: 6686617.
- [4] Rao Z, Zhu Y, Yang P, et al. Pyroptosis in inflammatory diseases and cancer [J]. Theranostics, 2022, 12 (9): 4310-4329.
- [5] Wu M, Yang Z, Zhang C, et al. Inhibition of NLRP3 inflammasome ameliorates podocyte injury through increasing Nrf2-mediated inhibition of NLRP3 activation [J]. Drug Dev Res, 2022, 83 (7): 1697-1706.
- [6] Zhang Q, Hu Y, Hu JE, et al. Solasonine alleviates high glucose-induced podocyte injury through increasing Nrf2-mediated inhibition of NLRP3 activation [J]. Drug Dev Res, 2022, 83 (7): 1697-1706.
- [7] 崔洪臣. 氧化应激与糖尿病肾病 [J]. 临床内科杂志, 2015, 32 (1): 65-66.
- [8] Gao Y, Ma Y, Xie D, et al. ManNac protects against podocyte pyroptosis via inhibiting mitochondrial damage and ROS/NLRP3 signaling pathway in diabetic kidney injury model [J]. Int Immunopharmacol, 2022, 107: 108711.
- [9] Gomez-Pastor R, Burchfiel ET, Thiele DJ. Regulation of heat shock transcription factors and their roles in physiology and disease [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2018, 19 (1): 4-19.
- [10] Driedonks N, Xu J, Peters JL, et al. Multi-Level Interactions Between Heat Shock Factors, Heat Shock Proteins, and the Redox System Regulate Acclimation to Heat [J]. Front Plant Sci, 2015, 6: 999.
- [11] Zhang F, Zhao W, Zhou J, et al. Heat shock transcription factor 2 reduces the secretion of IL-1 β by inhibiting NLRP3 inflammasome activation in ulcerative colitis [J]. Gene, 2021, 768: 145299.
- [12] Liang H, Zhang F, Wang W, et al. Heat Shock Transcription Factor 2 Promotes Mitophagy of Intestinal Epithelial Cells Through PARL/PINK1/Parkin Pathway in Ulcerative Colitis [J]. Front Pharmacol, 2022, 13: 893426.
- [13] Li X, Zhang Y, Xing X, et al. Podocyte injury of diabetic nephropathy: Novel mechanism discovery and therapeutic prospects [J]. Biomed Pharmacother, 2023, 168: 115670.
- [14] Li Y, Wang J, Huang D, et al. Baicalin Alleviates Contrast-Induced Acute Kidney Injury Through ROS/NLRP3/Caspase-1/GSDMD Pathway-Mediated Pyroptosis in vitro [J]. Drug Des Devel Ther, 2022, 16: 3353-3364.

(收稿日期: 2024-08-20)

(本文编辑: 李丹青)