

# TGF- $\beta$ 1对话Hedgehog-Gli1信号调控肾小管 上皮细胞表型转化和胶原累积

梁勇<sup>1</sup> 陆红<sup>2</sup> 林成成<sup>1</sup> 王斯璐<sup>1</sup> 夏鹏<sup>3</sup> 吴存造<sup>3</sup> 陈必成<sup>1</sup> 白永恒<sup>1\*</sup>  
(<sup>1</sup>温州医科大学附属第一医院外科实验室, 温州 325000; <sup>2</sup>温州医科大学附属第一医院医学检验中心, 温州 325000;  
<sup>3</sup>温州医科大学附属第一医院移植科, 温州 325000)

**摘要** 该研究旨在探讨Hedgehog-Gli1(HH)信号在肾小管上皮细胞表型转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)和胶原累积中的作用及与TGF- $\beta$ 1信号的对话机制。该实验通过体外培养大鼠肾小管上皮细胞NRK-52E, 以溶剂作为对照组, 以1~50 ng/mL重组蛋白sonic hedgehog(Shh)或5 ng/mL TGF- $\beta$ 1作为诱导组, 以加入或不加入HH信号特异性阻断剂环靶明(cyclopamine, Cyp) 5  $\mu$ mol/L为干预组。细胞培养24 h, 采用ELISA、qRT-PCR、免疫细胞荧光染色和Western blot等方法检测HH信号相关分子(Ptch1、Smo和Gli1)、TGF- $\beta$ 1、EMT相关分子(Rac1蛋白、肌成纤维细胞标志物 $\alpha$ -SMA和上皮细胞标志物E-cadherin)、III型胶原mRNA或蛋白的表达。结果发现, 外源性Shh上调Smo和Gli1表达, 抑制Ptch1表达, 继而激活HH信号; HH信号活化抑制肾小管上皮细胞E-cadherin的表达, 上调 $\alpha$ -SMA、III型胶原和TGF- $\beta$ 1的表达。环靶明干预后, Smo表达下调, 进而抑制HH信号、EMT和胶原累积, 并下调TGF- $\beta$ 1的表达。应用TGF- $\beta$ 1诱导小管上皮细胞EMT, 同时也上调HH信号分子Smo和Gli1的表达, 下调Ptch1的表达, 提示TGF- $\beta$ 1可诱导HH信号活化。综上所述, HH信号和TGF- $\beta$ 1均参与了肾小管上皮细胞EMT和胶原累积过程。HH信号活化可促进TGF- $\beta$ 1的表达, 同时TGF- $\beta$ 1能激活HH信号, 推测TGF- $\beta$ 1与HH信号可能存在交叉对话以调控EMT和胶原累积。

**关键词** TGF- $\beta$ 1; Hedgehog-Gli1信号; 肾小管上皮细胞; 上皮-间质表型转化; 胶原累积

## Dialogue between TGF- $\beta$ 1 and Hedgehog-Gli1 Signaling Regulates Phenotypic Changes of Renal Tubular Epithelial Cells and Collagen Deposition

Liang Yong<sup>1</sup>, Lu Hong<sup>2</sup>, Lin Chengcheng<sup>1</sup>, Wang Silu<sup>1</sup>, Xia Peng<sup>3</sup>, Wu Cunzao<sup>3</sup>, Chen Bicheng<sup>1</sup>, Bai Yongheng<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>Surgery Laboratory, the First Affiliated Hospital of Wenzhou Medical University, Wenzhou, 325000, China;

<sup>2</sup>Department of Laboratory Medicine, the First Affiliated Hospital of Wenzhou Medical University, Wenzhou, 325000, China;

<sup>3</sup>Department of Transplantation, the First Affiliated Hospital of Wenzhou Medical University, Wenzhou, 325000, China)

**Abstract** The aim of this study was to investigate effect of Hedgehog-Gli1 (HH) signaling in phenotypic changes of renal tubular epithelial cells and its association with TGF- $\beta$ 1. Rat renal tubular epithelial cells (NRK-52E) were treated with 1~50 ng/mL of exogenous recombinant sonic hedgehog (Shh), or 5 ng/mL of TGF- $\beta$ 1, or HH signaling inhibitor cyclopamine (5  $\mu$ mol/L) for 24 hours. qRT-PCR, immunofluorescence staining and Western blot

收稿日期: 2014-07-28 接受日期: 2014-10-20

浙江省自然科学基金(批准号: LQ12H05001、LY12H05004)、温州市科技计划项目(批准号: Y20110028)和浙江省临床医学“重中之重”一级学科开放基金资助的课题

\*通讯作者。Tel: 0577-88069338, E-mail: greatsailor@163.com

Received: July 28, 2014 Accepted: October 20, 2014

This work was supported by the Natural Science Foundation of Zhejiang Province (Grant No.LQ12H05001, LY12H05004), Wenzhou Municipal Science and Technology Plan Project (Grant No.Y20110028) and the Opening Project of Zhejiang Provincial Top Key Discipline of Clinical Medicine

\*Corresponding author. Tel: +86-577-88069338, E-mail: greatsailor@163.com

网络出版时间: 2014-12-30 17:00 URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20141230.1700.002.html>

were performed to detect mRNA or protein expressions of HH signaling-related molecules (Ptch1, Smo and Gli1), TGF- $\beta$ 1, EMT markers ( $\alpha$ -SMA, E-cadherin and Rac1) and type III collagen. The levels of TGF- $\beta$ 1 were detected by ELISA assay. Our results showed that Shh increased the expression of Smo and Gli1 and decreased the expression of Ptch1, suggesting that HH signaling was activated. Activated HH signaling resulted in down-regulated expression of E-cadherin and up-regulated expression of  $\alpha$ -SMA and type III collagen. In Shh-treated NRK-52E cells, the levels of TGF- $\beta$ 1 were also enhanced, but inhibited by cyclopamine. Cyclopamine also inhibited EMT and ECM deposition. In cultured NRK-52E cells, recombinant TGF- $\beta$ 1 not only induced EMT, but also increased the activity of HH signaling. Thus, these findings suggested that both HH signaling and TGF- $\beta$ 1 were involved in EMT and ECM accumulation *in vitro*. Activation of HH signaling can promote TGF- $\beta$ 1 expression, and TGF- $\beta$ 1 also can activate HH signaling, suggesting that cross-talk between HH signaling and TGF- $\beta$ 1 regulates renal EMT and ECM deposition.

**Keywords** TGF- $\beta$ 1; Hedgehog-Gli1 signaling; renal tubular epithelial cells; Epithelial-mesenchymal transition; collagen deposition

Hedgehog-Gli1(HH)信号通路是一条进化保守的、与干细胞增殖分化密切相关的信号通路。正常表达的HH信号在人类发育过程中起着重要作用,但持续异常激活的HH信号可导致胰腺癌和胃癌等多种肿瘤的发生<sup>[1]</sup>。最近研究发现,HH信号活化与组织纤维化的发生密切相关<sup>[2]</sup>。我们前期的研究结果显示,输尿管梗阻或者马兜铃酸诱导肾小管上皮细胞表型转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)和细胞外基质(extracellular matrix, ECM)累积过程中,HH信号均存在不同程度的活化,同时伴有转化生长因子TGF- $\beta$ 1的高表达<sup>[3-4]</sup>。但HH信号与TGF- $\beta$ 1之间的相互关系及影响EMT和ECM累积的分子机制目前尚不清楚。本研究分别通过外源性重组蛋白活化HH信号和诱导TGF- $\beta$ 1高表达,并进行药物干预,以观察两者间的对话,评价其对EMT和ECM累积的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要试剂及仪器

DMEM细胞培养液(美国Hyclone公司);胎牛血清(杭州四季青公司);胰蛋白酶和Trizol提取液(美国Gibco公司);兔抗鼠 $\alpha$ -SMA、Rac1、Ptch1、Smo、Gli1抗体(美国Santa Cruz公司);E-cadherin抗体(美国Abcam公司);III型胶原和 $\beta$ -actin抗体(Bioworld公司);TGF- $\beta$ 1 ELISA检测试剂盒(上海西唐生物公司);重组蛋白Shh和TGF- $\beta$ 1(美国PeproTech公司);qRT-PCR试剂(美国Promega公司);MYCYCLER梯度PCR仪(美国BIO-ROD公司);7500定量PCR仪(美国Applied Biosystems公司);Varioskan Flash全波长多功能

扫描仪(美国Thermo Scientific公司);DM4000 B LED荧光正置显微镜(德国Leica公司)。

### 1.2 细胞培养

大鼠肾小管上皮细胞NRK-52E购于中科院上海生命科学研究院细胞库。NRK-52E细胞培养在含5%小牛血清的DMEM培养液中并置于37 °C、5% CO<sub>2</sub>培养箱内。实验时,将细胞按适当浓度接种于6孔板中,待细胞生长至50%~70%融合时,换成无血清DMEM培养液并开始正式实验。对照组:只加入溶剂;诱导组:加入重组蛋白sonic hedgehog(Shh) 1, 10, 25, 50 ng/mL或TGF- $\beta$ 1 5 ng/mL;干预组:加入或不加入HH信号的阻断剂环靶明(cyclopamine, Cyp) 5  $\mu$ mol/L。干预的细胞分别培养24 h后,用倒置相差显微镜观察细胞形态学变化。

### 1.3 qRT-PCR检测mRNA表达

采用Trizol试剂提取已处理细胞的RNA,于波长260 nm/280 nm处测定吸光度值以确定样本纯度和浓度。根据试剂说明书将RNA逆转录成cDNA。应用Primer 5.0软件设计针对TGF- $\beta$ 1和TGF- $\beta$ 1R mRNA的特异性引物,以 $\beta$ -actin作为内参对照,采用相对定量法计算获得结果。引物由上海捷瑞公司合成,其序列为:TGF- $\beta$ 1: 5'-AGG CGG TGC TCG CTT TGT-3'(正向)和5'-GAT TGC GTT GTT GCG GTC C-3'(反向);TGF- $\beta$ 1R: 5'-TGA TCC ATC CGT TGA AGA AA-3'(正向)和5'-CTA GCT GCT CCA TTG GCA TA-3'(反向); $\beta$ -actin: 5'-CCC ATC TAT GAG GGT TAC GC-3'(正向)和5'-TTT AAT GTC ACG CAC GAT TTC-3'(反向)。取逆转录产物1  $\mu$ L,进行PCR扩增。PCR扩增体系:5  $\mu$ L 2 $\times$ SYBR Green

荧光定量试剂、2  $\mu\text{L}$ 引物(上、下游各1  $\mu\text{L}$ , 终浓度200 nmol/L)、2  $\mu\text{L}$ 反应缓冲液、1  $\mu\text{L}$  cDNA。扩增程序为: 95  $^{\circ}\text{C}$  5 min; 95  $^{\circ}\text{C}$  10 s, 60  $^{\circ}\text{C}$  35 s, 40个循环。采用溶解曲线评价PCR结果可靠性, 采用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 计算相对mRNA表达量。 $\Delta\Delta\text{Ct}=[\text{Ct}_{\text{目的基因(待测样品)}}-\text{Ct}_{\text{内参(待测样品)}}]-[\text{Ct}_{\text{目的基因(校正样品)}}-\text{Ct}_{\text{内参(校正样品)}}]$ 。

#### 1.4 ELISA检测TGF- $\beta$ 1含量

收集药物干预后的细胞培养上清液, 采用双抗体夹心ABC-ELISA法检测TGF- $\beta$ 1含量, 即用抗大鼠TGF- $\beta$ 1单抗包被于酶标板上, 标准品和样品中的TGF- $\beta$ 1与单抗结合, 加入生物素化的抗大鼠TGF- $\beta$ 1, 形成免疫复合物并连接在板上, 辣根过氧化物酶标记的Streptavidin与生物素结合, 加入底物工作液显蓝色, 最后加终止液硫酸, 于450 nm处测吸光度值( $D$ 值), 通过绘制标准曲线求出浓度。

#### 1.5 Western blot检测EMT相关分子表达情况

取对数生长期的NRK-52E细胞, 药物处理24 h, 收集细胞, 用PBS洗2次, 加入蛋白抽提液抽提总蛋白, BCA法测定蛋白浓度。取蛋白20~100  $\mu\text{g}$ , 经10% SDS-PAGE电泳分离, 常规转移至PVDF膜, 5%脱脂奶粉37  $^{\circ}\text{C}$ 封闭1.5 h, 鼠抗人Rac1和 $\alpha$ -SMA抗体4  $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜, 1:5 000稀释的HRP标记的二抗室温孵育

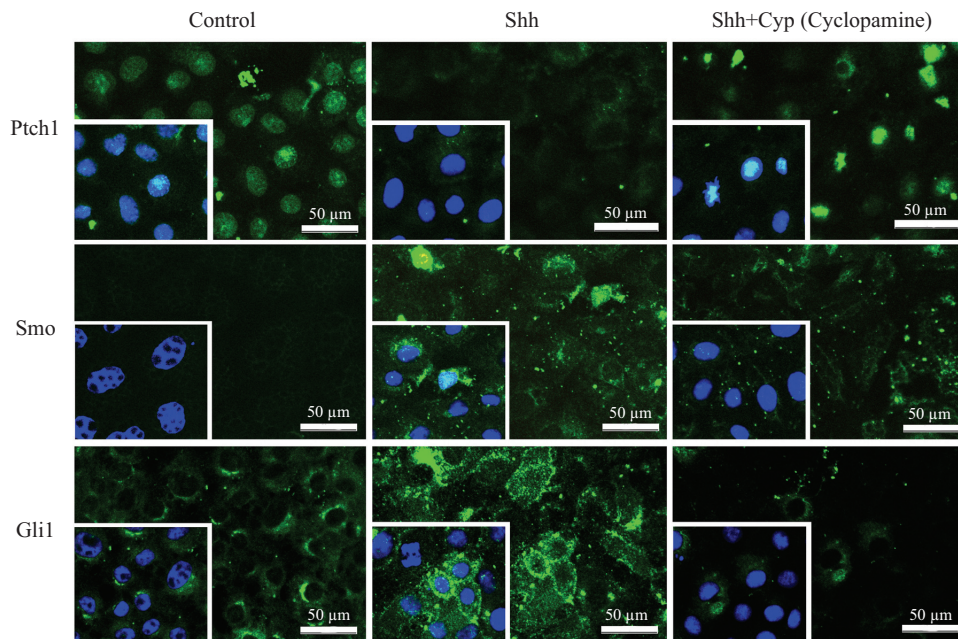
1.5 h, 暗室曝光, X光胶片显影、定影、曝光。目的条带用Image-Pro Plus 6.0软件进行灰度值分析, 以内参照 $\beta$ -actin校正。

#### 1.6 细胞免疫荧光染色检测HH信号、EMT和ECM成分相关分子的表达

细胞经胰酶消化收集后, 分别以 $2 \times 10^5$ 细胞接种于含载玻片的6孔板中, 常规培养。培养细胞至60%~70%融合后, 分别用药物处理24 h, 弃去培养基, PBS清洗细胞3次, 用4%多聚甲醛固定30 min, 0.3% Triton-X(1 mL/孔)破膜, 室温20 min。0.5%正常山羊血清封闭。各细胞爬片滴加针对Ptch1、Smo、Gli1、 $\alpha$ -SMA、E-cadherin和III胶原的一抗工作液, 4  $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜, PBS冲洗3次。滴加Dylight 488(绿色)或594(红色)标记的二抗工作液, 37  $^{\circ}\text{C}$ 孵育60 min, 同上洗涤。滴加DAPI于盖玻片上, 室温染色5 min, 同上洗涤。细胞胞质绿色或红色和胞核蓝色为阳性着色。每组取10张片, 每张片子取10个高倍视野(400 $\times$ ), 运用Image-Pro Plus 6.0软件分析积分光密度(integral optical density, IOD)值。

#### 1.7 统计处理

采用SPSS 13.0软件包进行统计学分析, 结果以均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示, 两样本比较采用 $t$ 检验和精



细胞免疫荧光染色检测Cyp干预Shh处理NRK-52E细胞中Ptch1、Smo和Gli1的表达。左下角框内为融合细胞核后的细胞免疫荧光图。

Expressions of Ptch1, Smo and Gli1 in Shh with or without Cyp-treated NRK-52E cells determined by immunofluorescence staining. Immunofluorescence staining merged with nucleus in the lower-left corner.

图1 Cyclopamine干预Shh对HH信号的影响

Fig.1 Effect of Shh with or without Cyclopamine on HH signaling pathway

确概率法,  $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 重组蛋白Shh对HH信号的影响

细胞免疫荧光染色结果显示, 10 ng/mL Shh作用NRK-52E细胞24 h后, Ptch1蛋白的表达明显下降, 而Smo和Gli1蛋白的表达明显升高, 这说明Shh诱导HH信号通路的活化(图1)。

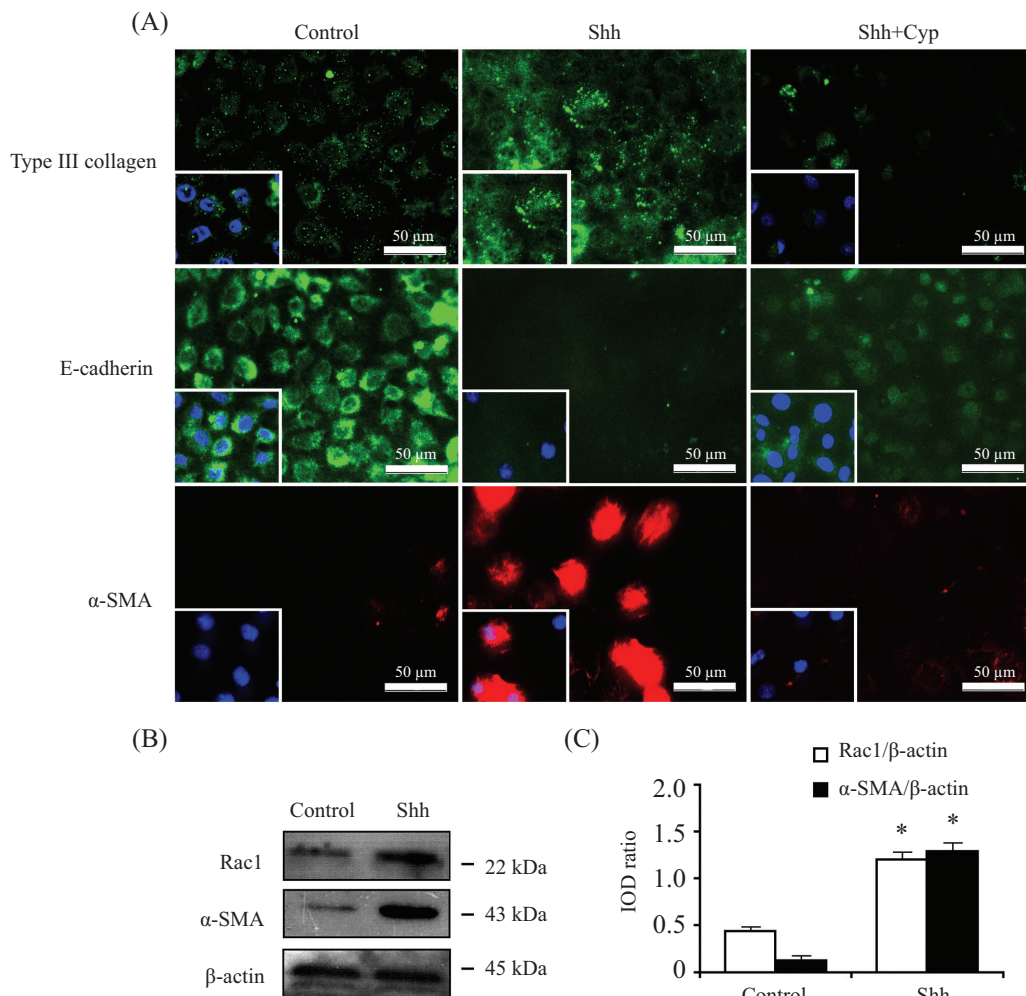
### 2.2 重组蛋白Shh对EMT和ECM累积的影响

细胞免疫荧光染色结果显示, 10 ng/mL的Shh上调了肌成纤维细胞标志物 $\alpha$ -SMA和ECM成分III型胶原蛋白的表达水平, 并下调了上皮细胞标志物E-cadherin蛋白的表达水平(图2A)。此外, Western blot

检测结果显示, Rac1和 $\alpha$ -SMA蛋白在10 ng/mL的Shh作用后, 其表达水平也明显上升(图2B和图2C)。这些结果提示, 活化HH信号可促进肾小管上皮细胞的EMT和ECM累积进程。

### 2.3 重组蛋白Shh对TGF- $\beta$ 1及其受体表达的影响

ELISA结果显示, 随着重组蛋白Shh的浓度增加, NRK-52E细胞中TGF- $\beta$ 1蛋白的分泌表达量显著上调(图3A); qRT-PCR检测结果显示, Shh提高了TGF- $\beta$ 1 mRNA的表达量, 且促进其受体TGF- $\beta$ 1R mRNA的表达(图3B), 这些结果提示, 重组蛋白Shh显著上调TGF- $\beta$ 1表达。然而研究发现, Shh加入量一旦超过10 ng/mL之后, TGF- $\beta$ 1表达量的增加逐渐趋于平缓, 这提示活化HH信号对TGF- $\beta$ 1信号具有

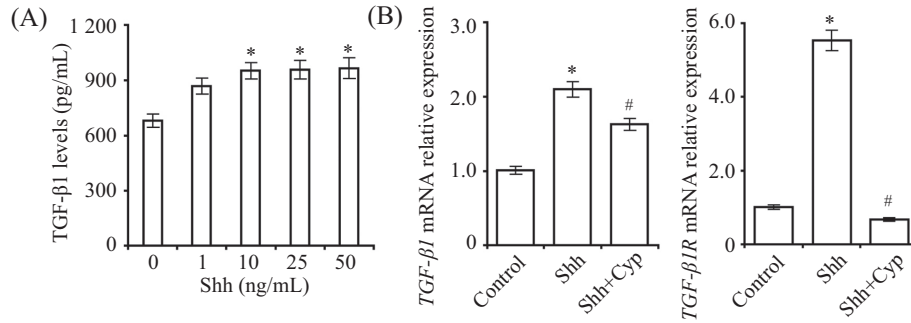


A: 细胞免疫荧光检测Cyp干预Shh过程中NRK-52E细胞中III型胶原、E-cadherin和 $\alpha$ -SMA的表达。左下角框内为融合细胞核后的细胞免疫荧光图; B: Western blot检测Rac1和 $\alpha$ -SMA蛋白的表达; C: 为B图经换算后蛋白表达量的IOD值,  $*P < 0.05$ , 与对照组相比较。

A: expressions of type III collagen, E-cadherin and  $\alpha$ -SMA in Shh with or without Cyp-treated NRK-52E cells determined by immunofluorescence staining. Immunofluorescence staining merged with nucleus in the lower-left corner; B: expressions of Rac1 and  $\alpha$ -SMA determined by Western blot; C: IOD value based on expression levels in Fig.2B.  $*P < 0.05$  vs control group.

图2 Cyclopamine干预Shh对EMT和胶原累积的影响

Fig.2 Effect of Shh with or without Cyclopamine on EMT and ECM accumulation

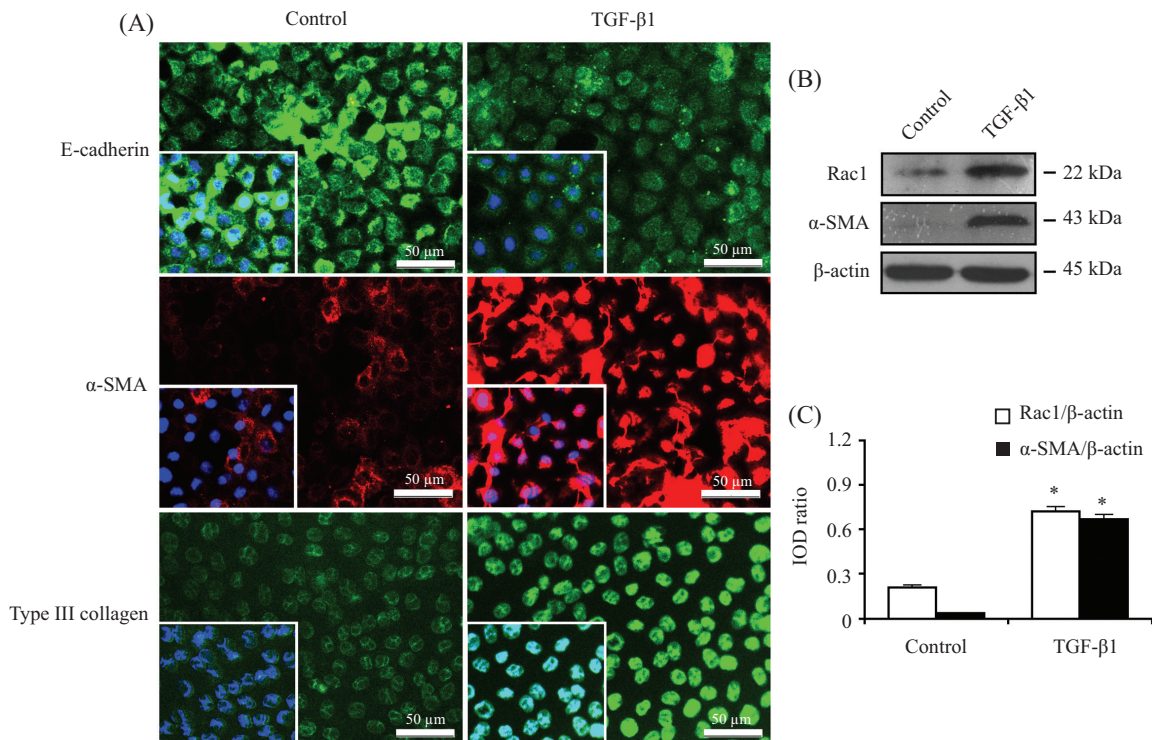


A: ELISA检测Shh诱导后TGF-β1的含量; B: qRT-PCR检测TGF-β1和TGF-β1R mRNA的表达。\* $P < 0.05$ , 与对照组比较; # $P < 0.05$ , 与Shh干预组比较。

A: TGF-β1 levels in Shh-treated NRK-52E cells determined by ELISA assay; B: mRNA expressions of TGF-β1 and TGF-β1R determined by qRT-PCR. \* $P < 0.05$  vs control group; # $P < 0.05$  vs the Shh group.

图3 Cyclopamine干预Shh对TGF-β1和TGF-β1R表达的影响

Fig.3 Effect of Shh with or without Cyclopamine on expressions of TGF-β1 and TGF-β1R



A: 细胞免疫荧光染色检测TGF-β1诱导NRK-52E细胞中E-cadherin、α-SMA和III型胶原的表达。左下角框内为融合细胞核后的细胞免疫荧光图; B: Western blot检测Rac1和α-SMA蛋白的表达; C: 根据B图计算所得蛋白表达量的IOD值。\* $P < 0.05$ , 与对照组相比较。

A: expressions of type III collagen, E-cadherin and α-SMA in TGF-β1-treated NRK-52E cells determined by immunofluorescence staining. Immunofluorescence staining merged with nucleus in the lower-left corner; B: expressions of Rac1 and α-SMA determined by Western blot; C: IOD value based on expression levels in Fig.4B. \* $P < 0.05$  vs control group.

图4 TGF-β1对EMT和胶原累积的影响

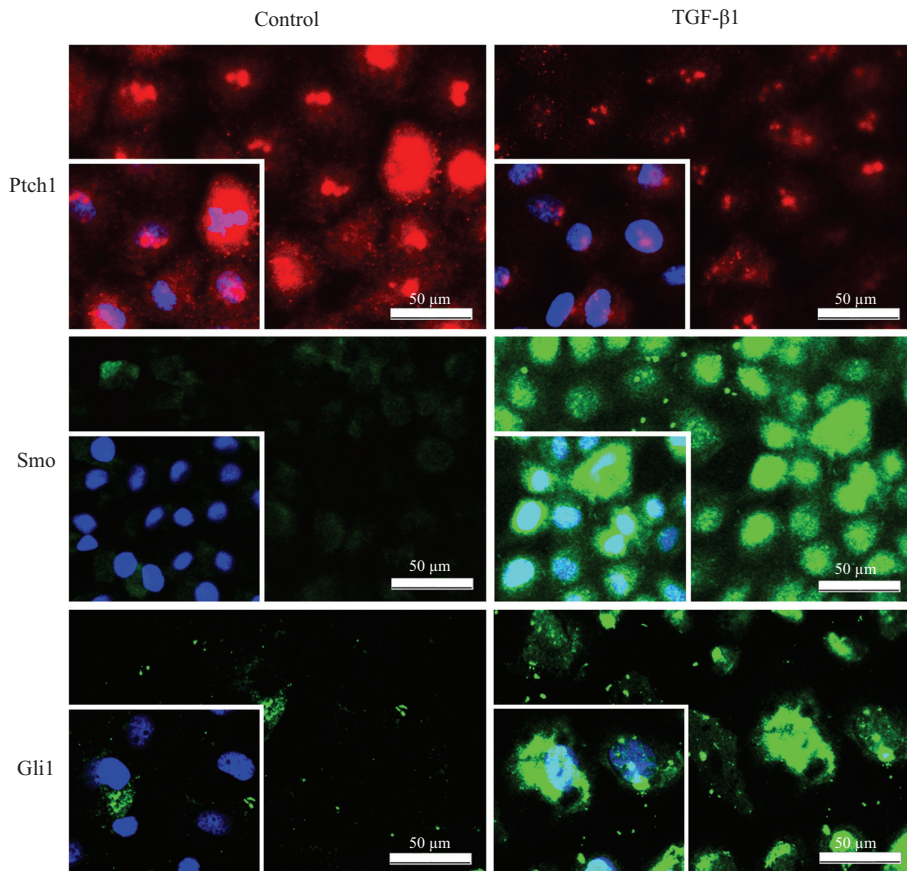
Fig.4 Effects of TGF-β1 on EMT and ECM accumulation

一定浓度的依赖性。

## 2.4 环靶明干预HH信号对TGF-β1表达、EMT及ECM累积的影响

环靶明为HH信号通路特异性的阻断剂。结果证实, 在5 μmol/L的环靶明作用下, 重组蛋白Shh诱

导Smo和Gli1蛋白的高表达明显被抑制, 而被Shh所抑制的Ptch1蛋白, 其表达上调。结果提示, 环靶明抑制了由Shh所引起的HH信号通路活化(图1)。此外, 研究发现, 环靶明除上调E-cadherin蛋白的表达和下调α-SMA与III型胶原蛋白的表达外(图2), 也下调



细胞免疫荧光染色检测TGF- $\beta$ 1诱导NRK-52E细胞中Ptch1、Smo和Gli1的表达。左下角框内为融合细胞核后的细胞免疫荧光图。

Expressions of Ptch1, Smo and Gli1 in TGF- $\beta$ 1-treated NRK-52E cells determined by immunofluorescence staining. Immunofluorescence staining merged with nucleus in the lower-left corner.

图5 TGF- $\beta$ 1对EMT和HH信号的影响

Fig.5 Effects of TGF- $\beta$ 1 on EMT and HH signaling

TGF- $\beta$ 1和TGF- $\beta$ 1R mRNA的表达(图3B)。这些结果提示, HH信号通路阻断剂环靶明抑制TGF- $\beta$ 1表达、EMT及ECM累积。

### 2.5 TGF- $\beta$ 1对EMT和胶原累积的影响

如图4A所示, TGF- $\beta$ 1可诱导NRK-52E细胞由上皮细胞(表达E-cadherin)向肌成纤维细胞(表达 $\alpha$ -SMA和III型胶原)转化。Western blot检测结果显示, 在TGF- $\beta$ 1诱导后, Rac1蛋白和 $\alpha$ -SMA蛋白表达量明显上升(图4B和4C)。 $\alpha$ -SMA和E-cadherin是EMT的重要标志, Rac1蛋白是促进上皮细胞EMT进程的关键分子, 提示存在EMT过程; III型胶原表达升高, 提示存在ECM累积过程。

### 2.6 TGF- $\beta$ 1对HH信号的影响

细胞免疫荧光染色结果显示, TGF- $\beta$ 1诱导后, HH信号通路相关分子Ptch1表达显著下调, 而Smo和Gli1的表达显著上调, 提示HH信号通路被激活(图5)。

## 3 讨论

HH通路主要由配体sonic hedgehog(Shh)、膜受体Patched(Ptch)、信号开关蛋白Smoothened(Smo)及下游的转录因子Gli组成。感受器蛋白Ptch是位于细胞膜上的跨膜蛋白, 能特异性结合Shh蛋白。当不存在Shh蛋白时, Ptch可抑制Smo的活性, 进而抑制下游基因的转录表达。当存在Shh蛋白并与Ptch结合时, Smo的抑制效应被解除, 便可激活下游的转录调节因子Gli, 进而诱导目标基因的表达, 这些目标基因中包含与细胞周期相关的基因, 如*c-Myc*、*cyclin C*和*cyclin D*等。正常表达的HH信号在人类发育过程中起着重要作用, 但持续激活的HH信号则可引起胰腺肿瘤等增殖性疾病的发生<sup>[1]</sup>。

最近的研究显示, HH信号活化与EMT的发生及胶原累积关系密切<sup>[2,5]</sup>。通过外源性重组蛋白Shh作用于肾小管上皮细胞后, 我们发现其不仅能诱导HH信号的活化, 同时能上调 $\alpha$ -SMA、Rac1蛋白和

III型胶原的表达,抑制E-cadherin表达。应用环靶明特异性阻断HH信号可以有效抑制上述改变。肌成纤维细胞标志物 $\alpha$ -SMA和上皮细胞标志物E-cadherin是EMT的重要标志<sup>[6]</sup>, $\alpha$ -SMA表达的升高和E-cadherin表达的下调提示小管上皮细胞发生EMT转变。此外,Rac1为小G蛋白家族成员之一,在调节细胞周期、细胞间黏附和细胞动力方面具有十分重要的作用<sup>[7]</sup>。Rac1表达的升高可诱导上皮细胞去极化,促进细胞游走和迁移,进而促进EMT的发生。调控HH信号影响EMT相关分子的表达,提示HH信号对于EMT的发生至关重要。然而HH信号如何被激活?我们推测,这可能与上皮细胞的异常增殖有关。当损伤或诱导因素存在时,上皮细胞通过旁分泌或者自分泌途径活化与增殖相关的信号通路,如HH信号,进而异常增殖并转化为耐受力更强的肌成纤维细胞。此过程即为EMT,形成的肌成纤维细胞可表达胶原成分,在局部累积从而导致纤维化样改变。

除了HH信号外,TGF- $\beta$ 1也是诱导小管上皮细胞EMT和胶原累积的重要原因之一<sup>[6]</sup>,我们的实验也证实了这一结论。TGF- $\beta$ 1对EMT的影响,可能是通过其受体TGF- $\beta$ 1R的介导、活化Smad信号通路来实现的<sup>[8]</sup>。虽然TGF- $\beta$ 1和HH信号对于EMT作用相似,但两者的关系尚不明确。我们通过Shh活化HH信号,观察到TGF- $\beta$ 1表达明显升高,而用环靶明靶向干预HH信号,高表达的TGF- $\beta$ 1显著下调,这些结果提示,TGF- $\beta$ 1可能为HH信号的下游分子。而应用TGF- $\beta$ 1诱导EMT时,我们发现HH信号也被激活。这种相互激活关系说明TGF- $\beta$ 1与HH信号存在交叉对话机制。

综上所述,通过体外实验,我们初步证实了HH信号和TGF- $\beta$ 1信号均参与了肾小管上皮细胞EMT进程。可能的机制为活化的HH信号对话TGF- $\beta$ 1,诱

导EMT及胶原累积的发生。然而,HH信号各分子在肾脏疾病中的具体功能和定位及信号干预措施尚需今后的研究加以阐释。HH信号与TGF- $\beta$ 1交叉对话调控EMT和胶原累积反应的机制,可能为肾脏疾病的治疗开辟一条崭新的途径。

### 参考文献 (References)

- 1 Kelleher FC, McDermott R. Aberrations and therapeutics involving the developmental pathway Hedgehog in pancreatic cancer. *Vitam Horm* 2012; 88: 355-78.
- 2 Omenetti A, Porrello A, Jung Y, Yang L, Popov Y, Choi SS, *et al.* Hedgehog signaling regulates epithelial-mesenchymal transition during biliary fibrosis in rodents and humans. *J Clin Invest* 2008; 118(10): 3331-42.
- 3 白永恒, 陆红, 周琴, 林成成, 梁勇, 洪炜龙, 等. Sonic Hedgehog信号通路在单侧输尿管梗大鼠肾组织中的表达变化及意义. *中国病理生理杂志(Bai Yongheng, Lu Hong, Zhou Qin, Lin Chengcheng, Liang Yong, Hong Weilong, et al. Expression of Sonic hedgehog pathway in kidney tissues of rats with unilateral ureteral obstruction. Chinese Journal of Pathophysiology)* 2012; 28(12): 2227-32.
- 4 白永恒, 洪炜龙, 刘彪, 陆红, 林成成, 夏鹏, 等. Sonic Hedgehog信号参与马兜铃酸损伤肾小管上皮细胞的体外实验研究. *中华肾脏病杂志(Bai Yongheng, Hong Weilong, Liu Biao, Lu Hong, Lin Chengcheng, Xia Peng, et al. Sonic hedgehog signaling is involved in aristolochic acid-induced renal tubular epithelial cells injury in vitro. Chinese Journal of Nephrology)* 2013; 29(4): 288-92.
- 5 Ding H, Zhou D, Hao S, Zhou L, He W, Nie J, *et al.* Sonic hedgehog signaling mediates epithelial-mesenchymal communication and promotes renal fibrosis. *J Am Soc Nephrol* 2012; 23(5): 801-13.
- 6 Liu Y. New insights into epithelial-mesenchymal transition in kidney fibrosis. *J Am Soc Nephrol* 2009; 21(2): 212-22.
- 7 Tsai J, Kam LC. Lateral mobility of E-cadherin enhances Rac1 response in epithelial cells. *Cell Mol Bioeng* 2010; 3(1): 84-90.
- 8 Wendt MK, Allington TM, Schiemann WP. Mechanisms of epithelial-mesenchymal transition by TGF- $\beta$ . *Future Oncol* 2009; 5(8): 1145-68.