

SOCS1在糖尿病小鼠肾小管间质病变中的作用

李科军¹ 杜云霞² 封晓娟² 张 玮² 刘青娟^{2*}

(¹河北省人民医院眼科, 石家庄 050000; ²河北医科大学病理教研室, 石家庄 050017)

摘要 该文探讨了细胞因子信号传导抑制蛋白1(suppressors of cytokine signaling 1, SOCS1)在糖尿病小鼠肾小管间质病变中的作用。通过腹腔注射链脲佐菌素(streptozotocin, STZ)诱发糖尿病小鼠模型,于成模后8周给予尾静脉快速注射pEF-FLAG-I/mSOCS1质粒(1 mg/kg),每隔7 d注射一次。于成模后12周收集标本,检测各组动物的血糖、24 h尿蛋白;应用RT-PCR检测肾组织中SOCS1、角蛋白18(cytokeratin, CK18)和 α -平滑肌肌动蛋白(α -smooth muscle actin, α -SMA) mRNA的表达;应用免疫组化或Western blot检测SOCS1、CK18、 α -SMA和纤维黏连蛋白(fibronectin, FN)的表达;酶联免疫吸附实验检测肾组织中白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)和转化生长因子- β 1(transforming growth factor- β 1, TGF- β 1)的表达;流式细胞术检测肾皮质中巨噬细胞标志蛋白CD68的表达。结果发现,与对照组相比,糖尿病小鼠肾组织中IL-1 β 、TGF- β 1及FN的表达增强,巨噬细胞的数量增多;此外,肾小管上皮细胞自身标志蛋白CK18的表达减少而肌成纤维细胞标志蛋白 α -SMA的表达增强。SOCS1质粒转染能降低24 h尿蛋白、抑制肾组织中CD68、IL-1 β 、TGF- β 1和 α -SMA的表达,同时部分恢复CK18的表达。结果表明,SOCS1可能通过抑制肾组织炎症反应和肾小管上皮细胞转分化从而缓解糖尿病小鼠肾小管间质病变。

关键词 糖尿病肾病;细胞因子信号传导抑制蛋白1;炎症;上皮-间充质细胞转分化

The Role of SOCS1 in Tubulointerstitium Injury of Mice with Diabetes

Li Kejun¹, Du Yunxia², Feng Xiaojuan², Zhang Wei², Liu Qingjuan^{2*}

(¹Department of Ophthalmology, People's Hospital of Hebei Province, Shijiazhuang 050000, China;

²Department of Pathology, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017, China)

Abstract The aim of this study is to investigate the role of SOCS1 on diabetic renal injury. The diabetic mice were induced by intraperitoneal injection of STZ at a dose of 150 mg/kg body weight. The mice of transfection group were received an injection of SOCS1 plasmid or empty vector every 7 days. At 12 weeks after STZ injection, specimens were collected to detect the blood glucose and 24 hours urine protein. RT-PCR analysis was used to detect the expression of SOCS1, CK18 and α -SMA mRNA. Immunohistochemistry or Western blot analysis was used to determine the expression of SOCS1, CK18, α -SMA and FN. The expression of CD68 was detected by flow cytometry. The secretion level of IL-1 β and TGF- β 1 was detected by ELISA. The results suggested that overexpression of SOCS1 in kidney ameliorated excretion of urine protein and inhibited the expression of CD68, IL-1 β , TGF- β 1 and FN. In addition, SOCS1 overexpression increased the expression of CK18 and decreased the expression of α -SMA in tubular epithelial cells. All of the results indicated that overexpression of SOCS1 could reduce the inflammatory response and inhibit the tubular epithelial-mesenchymal transdifferentiation in renal tissue

收稿日期: 2015-04-02 接受日期: 2015-06-02

教育部高等学校博士学科点专项科研基金(批准号: 2013132320001)资助的课题

*通讯作者。Tel: 0311-86265734, E-mail: liujq246@163.com

Received: April 2, 2015 Accepted: June 2, 2015

This work was supported by the Doctoral Program of the Education Ministry of China (Grant No.2013132320001)

*Corresponding author. Tel: +86-311-86265734, E-mail: liujq246@163.com

网络出版时间: 2015-07-01 16:59

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20150701.1659.003.html>

of diabetic mice and relieve renal tubular interstitial damage.

Keywords diabetic nephropathy; inflammation; SOCS1; epithelial-mesenchymal transdifferentiation

随着人民生活水平的提高和人口老龄化的加剧,糖尿病(diabetes mellitus, DM)发病率逐年上升,作为其慢性微血管并发症之一的糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)已成为肾脏疾病乃至整个医学界尤为关注的问题,但有关其发病机制尚未完全阐明。近年来大量研究表明,糖尿病肾组织中存在炎细胞浸润和多种炎症介质水平的上升,从而提出了DN的炎症发病机制,认为炎细胞及其产生的炎性细胞因子在糖尿病肾损害的发病过程中起关键作用,并且炎症环境可通过诱导肾小管上皮细胞转分化、促使细胞外基质分泌增多,从而参与肾小管间质病变进展^[1-2]。因此,抑制炎症反应有可能成为阻止糖尿病肾小管间质病变进展的一种新的治疗策略。

细胞因子信号传导抑制蛋白(suppressors of cytokine signaling, SOCS)是一类可被多种细胞因子诱导产生并对细胞因子信号通路具有负反馈调节作用的蛋白分子。有研究表明,SOCS1可抑制脂多糖诱导的白细胞介素-6的合成^[3]。本实验室之前的研究结果亦表明,SOCS1可通过抑制肾组织中单核细胞趋化蛋白-1的表达缓解肾损伤^[4],提示SOCS1具有抗炎作用。本实验旨在探讨过表达SOCS1是否可通过抑制糖尿病小鼠肾组织炎症反应进而抑制肾小管上皮细胞转分化从而缓解肾小管间质病变。

1 材料与方法

1.1 材料

PCR3.1 SOCS1真核表达载体和PCR3.1空载体由德国Maximilians大学Dr.Auernhammer惠赠。雄性CD-1小鼠购自北京维通利华实验技术公司(合格证编号:0126327)。链脲佐菌素(streptozotocin, STZ)购自Sigma公司。TransIT-EE Hydrodynamic Delivery Solution购自美国Mirus公司。兔抗SOCS1、CK18和 α -SMA多克隆抗体购自Abcam公司,兔抗CD68多克隆抗体购自北京博奥森生物技术有限公司。ELISA试剂盒购自R&D公司。

1.2 方法

1.2.1 动物模型制备及分组 选取体重20~25 g的雄性CD-1小鼠,将小鼠随机分为对照组(Control组)、糖

尿病组(DM组)、SOCS1质粒转染组(DM+S1组)和空载体转染组(DM+V组)。DM组、DM+S1组和DM+V组小鼠单次腹腔注射STZ 150 mg/kg(STZ溶于0.1 mol/L 柠檬酸盐缓冲液中, pH4.5)。对照组只注射相同体积的枸橼酸盐缓冲液,72 h后尾尖取血,血糖仪测定血糖,尿糖试纸测定尿糖,血糖 ≥ 16.7 mmol/L,且尿糖+++~++++者确定为DM模型成功。成模后当天DM+S1组小鼠尾静脉快速注射pEF-FLAG-I/mSOCS1质粒(1 mg/kg),DM+V组用同种剂量和方法注射pEF-FLAG-I空质粒,此后每隔7 d注射1次,实验期间动物自由进食、饮水,不使用胰岛素及其他降糖药物。

1.2.2 标本收集 DM模型成功后,每周测血糖1次,不符合标准者弃去。于注射STZ后12周每组取6只小鼠,尾静脉取血,再次测定血糖;称重后收集24 h尿液,用于测定尿蛋白。切取肾脏,取部分肾皮质经福尔马林固定后用于免疫组织化学染色;部分肾皮质经液氮速冻后保存于 -80 °C冰箱备用。

1.2.3 尿蛋白检测 每个样本取20 μ L尿液,用西门子IMMULIPE1000全自动免疫发光分析仪检测尿蛋白浓度,计算24 h尿蛋白量。

1.2.4 逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR) Trizol法提取总RNA,在逆转录酶的作用下合成cDNA,以cDNA为模板进行PCR扩增。各指标的引物分别为:18S *rRNA*上游引物:5'-ACA CGG ACA GGA TTG ACA GA-3',下游引物:5'-GGA CAT CTA AGG GCA TCA CAG-3'(238 bp);CK18上游引物:5'-CGC TCG TTC ACG AGT GGA CCC GGT-3',下游引物:5'-CCA GCT GCC GAC GGA GGT TGA TGA-3'(388 bp); α -SMA上游引物:5'-CTG AAG AGC ATC CGA CAC-3',下游引物:5'-GAC TCC ATC CCA ATG AAA G-3'(520 bp)。引物由上海捷锐生物公司合成。扩增条件:95 °C预变性5 min;进入循环,94 °C变性45 s,55 °C退火60 s,72 °C延伸60 s;36个循环后,72 °C延伸10 min。PCR产物在2%琼脂糖凝胶中电泳,然后置于凝胶图像分析系统进行吸光度扫描,以18S *rRNA*校正,用目的基因的吸光度与18S *rRNA*吸光度的比值代表目的基因的相对表达含量。

1.2.5 免疫组化 取肾组织进行4 μ m切片,常规脱蜡至水,一抗SOCS1、CK18或 α -SMA(1:100)稀释,

二抗为生物素化羊抗兔IgG, 以PBS代替一抗作为阴性对照, DAB显色, 光镜观察阳性信号。

1.2.6 Western blot 取肾组织匀浆后离心, 取上清液作为待测样品, 用考马斯亮蓝测定蛋白浓度。每个样品取50 μ g蛋白, 10% SDS-PAGE凝胶电泳后电转移至PVDF膜, 5%脱脂奶粉37 $^{\circ}$ C封闭2 h; 分别加入SOCS1、CK18、 α -SMA和FN抗体(1:500稀释), 4 $^{\circ}$ C过夜; 洗膜后加入辣根酶标记的羊抗兔二抗(1:5 000稀释), 37 $^{\circ}$ C孵育1.5 h; 洗膜后用ECL化学发光法显影。以 β -actin作为内参。Western blot条带信号强度应用LabWork 4.5图像分析软件进行定量分析, 测定各条带的吸光度(D)值。

1.2.7 流式细胞术 将组织标本用网搓法制成单细胞悬液, 生理盐水洗涤后离心, 弃上清。依次加入CD68(1:100稀释, 37 $^{\circ}$ C温浴30 min), 羊抗兔单克隆FITC-IgG(1:100稀释, 37 $^{\circ}$ C温浴30 min)后上机分析。将测得的数据进行分析, 以荧光指数(FI)表示所测指标的相对含量, FI>1.0为阳性表达。FI=(各处理组样品的平均荧光强度-对照样品平均荧光强度)/正常组织平均荧光强度。

1.2.8 酶联免疫吸附实验(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 取肾组织匀浆后离心, 取上清液作为待测样品。将稀释后的标准品、待测样品各50 μ L于反应孔内, 立即加入50 μ L相应抗体, 37 $^{\circ}$ C

孵育45 min, 再加入100 μ L的亲合链酶素-HRP, 37 $^{\circ}$ C孵育30 min, 然后加入底物A、B, 37 $^{\circ}$ C孵育5 min, 终止反应后, 在450 nm波长处测定各孔的D值。样品含量根据其D值由标准曲线换算出相应浓度。

1.3 统计学分析

所得数据用 $\bar{x}\pm s$ 表示, 用SPSS 13.0进行统计分析, 多组间数据间的两两比较采用方差分析SNK检验, $P<0.05$ 认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 SOCS1质粒转染效率的鉴定

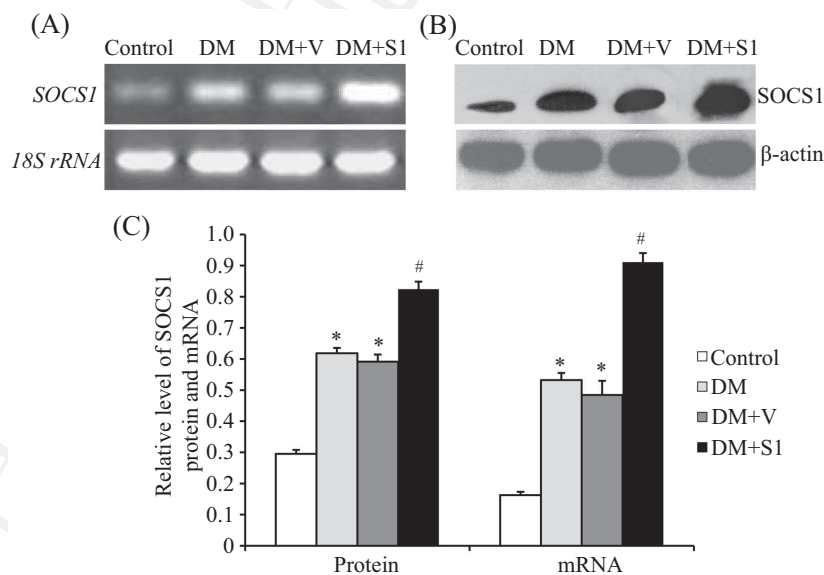
RT-PCR及Western blot结果表明, SOCS1质粒转染组小鼠肾组织中SOCS1蛋白及mRNA的表达均明显增强(图1)。免疫组化染色显示, SOCS1阳性着色主要定位于肾小管上皮细胞(图2)。上述结果提示, SOCS1质粒转染成功, 且在肾小管上皮细胞中其蛋白水平获得高效表达。

2.2 SOCS1对血糖及尿蛋白的影响

糖尿病组小鼠血糖(Glu)及24 h尿蛋白(Upro)均明显高于对照组小鼠; 与糖尿病组小鼠相比, SOCS1质粒转染组小鼠的24 h尿蛋白明显降低, 但血糖无明显变化, 而空载体转染对血糖及24 h尿蛋白无明显影响(表1)。

2.3 SOCS1对CD68和IL-1 β 表达的影响

糖尿病组小鼠肾组织中CD68和IL-1 β 的表达明



A: *SOCS1* mRNA表达; B: SOCS1蛋白表达; C: 结果分析。* $P<0.05$, 与对照组比较; # $P<0.05$, 与糖尿病组比较。

A: the expression of *SOCS1* mRNA; B: the expression of SOCS1 protein; C: the results represented as a bar graph. * $P<0.05$ vs control group; # $P<0.05$ vs DM group.

图1 各组动物肾组织中SOCS1蛋白及mRNA的表达

Fig.1 The expression of SOCS1 protein and mRNA in renal tissue

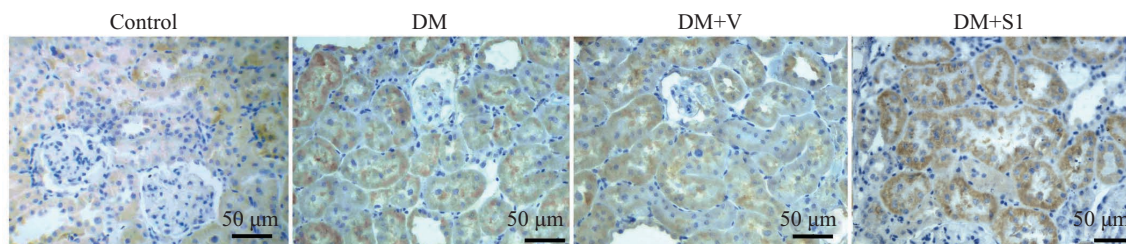


图2 免疫组化检测肾组织中SOCS1蛋白的表达

Fig.2 The expression of SOCS1 protein in renal tissue detected by immunohistochemistry

显高于对照组小鼠; SOCS1质粒转染可降低CD68的和IL-1 β 表达, 而空载体转染不影响CD68和IL-1 β 的表达(表2)。

2.4 SOCS1对CK18、 α -SMA表达的影响

免疫组织化学结果显示, 与对照组相比, 糖尿病组小鼠肾小管上皮细胞中CK18的阳性信号减弱并出现 α -SMA的阳性信号; 经SOCS1质粒处理后, CK18和 α -SMA的信号强度均有所恢复(图3); 经Western blot(图4)和RT-PCR(图5)检测CK18和 α -SMA蛋白和mRNA的表达, 亦得到与组化相同结果, 即SOCS1过表达可从基因水平改变CK18和 α -SMA mRNA的表达, 进而影响蛋白表达水平。

2.5 SOCS1对TGF- β 1和FN表达的影响

分别应用ELISA(表2)和Western blot(图4)检测

表1 血糖及24 h尿蛋白排泄的情况($\bar{x}\pm s, n=6$)Table 1 The level of glycemia and urinary protein of 24 h ($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别 Group	血糖(mmol/L) Glycemia (mmol/L)	尿蛋白(mg/24 h) Urinary protein (mg/24 h)
Control	5.4 \pm 0.5	5.7 \pm 0.7
DM	23.4 \pm 3.2*	34.7 \pm 4.0*
DM+V	23.7 \pm 4.0*	34.9 \pm 4.7*
DM+S1	25.0 \pm 5.9*	21.0 \pm 2.7**

* $P<0.05$, 与对照组比较; # $P<0.05$, 与空载体转染组比较。

* $P<0.05$ vs control group; # $P<0.05$ vs DM+V group.

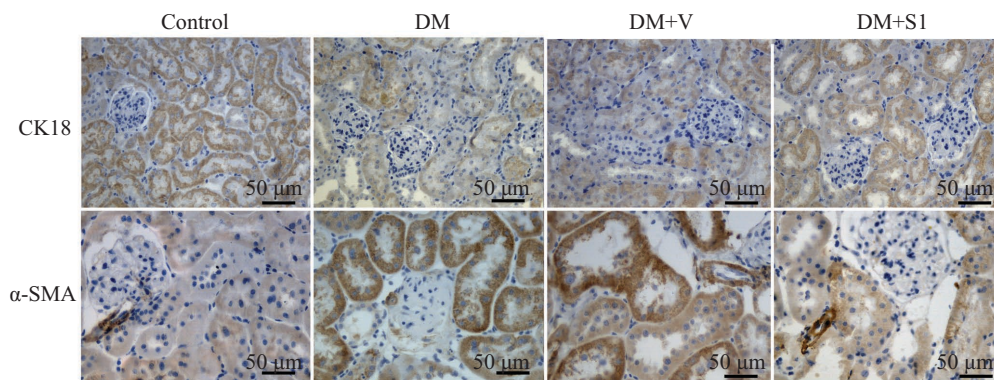
TGF- β 1和FN表达, 结果显示, 糖尿病组小鼠肾组织中TGF- β 1和FN的表达明显高于对照小鼠, 而SOCS1质粒转染可抑制二者的表达, 但空载体转染对其没有影响。

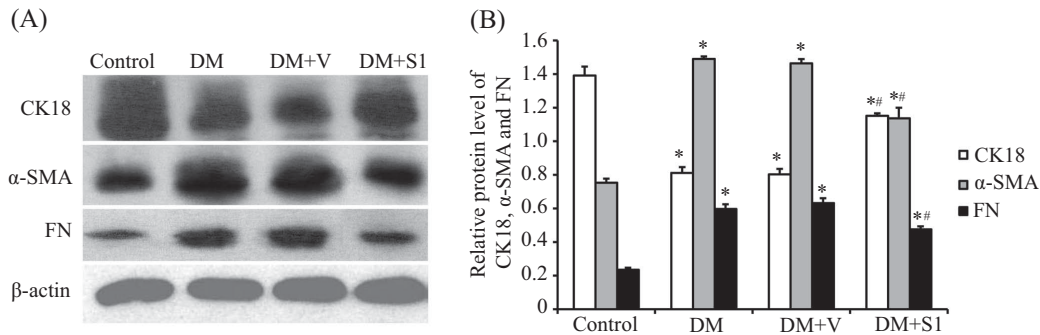
表2 肾组织中CD68、IL-1 β 和TGF- β 1的表达($\bar{x}\pm s, n=6$)Table 2 The expression of CD68, IL-1 β and TGF- β 1 in renal tissue ($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别 Group	CD68水平(FI) The level of CD68 (FI)	IL-1 β 水平(pg/mL) The level of IL-1 β (pg/mL)	TGF- β 1水平(pg/mL) The level of TGF- β 1 (pg/mL)
Control	1.00 \pm 0.06	5.06 \pm 0.84	9.35 \pm 0.61
DM	1.73 \pm 0.07*	14.02 \pm 1.91*	27.82 \pm 1.19*
DM+V	1.71 \pm 0.53*	14.30 \pm 2.52*	27.95 \pm 0.76*
DM+S1	1.46 \pm 0.14**	8.16 \pm 2.04**	15.99 \pm 0.93**

* $P<0.05$, 与对照组比较; # $P<0.05$, 与空载体转染组比较。

* $P<0.05$ vs control group; # $P<0.05$ vs DM+V group.

图3 免疫组化检测各组动物肾组织中CK18和 α -SMA的表达Fig.3 The expression of CK18 and α -SMA in renal tissue detected by immunohistochemistry

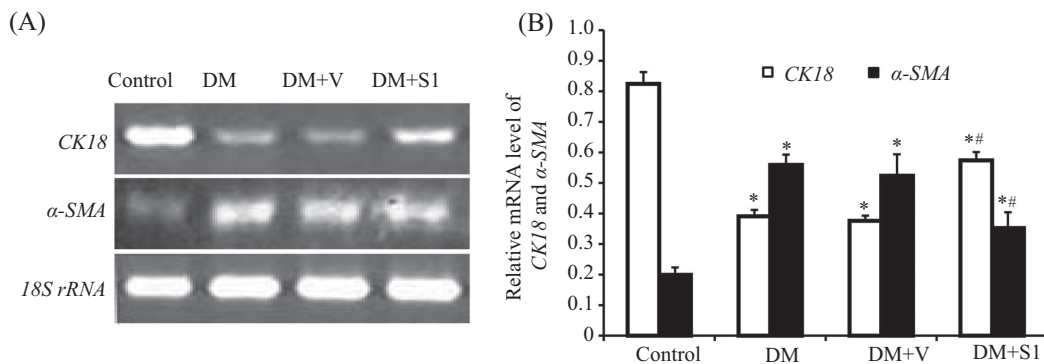


A: CK18、 α -SMA和FN蛋白表达; B: 结果分析。* $P < 0.05$, 与对照组比较; # $P < 0.05$, 与空载体转染组比较。

A: the protein expression of CK18, α -SMA and FN; B: the results represented as a bar graph. * $P < 0.05$ vs control group; # $P < 0.05$ vs DM+V group.

图4 Western blot检测各组动物肾组织中CK18、 α -SMA和FN的表达

Fig.4 The expression of CK18, α -SMA and FN in renal tissue detected by Western blot



A: *CK18*和 α -SMA mRNA表达; B: 结果分析。* $P < 0.05$, 与对照组比较; # $P < 0.05$, 与空载体转染组比较。

A: the expression of *CK18* and α -SMA mRNA; B: the results represented as a bar graph. * $P < 0.05$ vs control group; # $P < 0.05$ vs DM+V group.

图5 RT-PCR检测各组动物肾组织中*CK18*和 α -SMA mRNA的表达

Fig.5 The expression of *CK18* and α -SMA mRNA in renal tissue detected by RT-PCR

3 讨论

糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)是糖尿病常见而严重的并发症,是糖尿病患者的主要死因之一。DN的病因及发病机制非常复杂,涉及到遗传、代谢、生长因子、细胞因子等多种因素。以往认为, DN是一种非炎性疾病,但近来越来越多的实验表明,免疫机制和炎性细胞因子在DN的发生发展过程中起重要作用^[1]。无论是1型还是2型糖尿病,早期肾组织中均出现单核/巨噬细胞浸润和活化,其可通过释放多种炎性细胞因子参与DN进展中肾小球及小管间质的损伤^[5-6]。白细胞介素-1 β (IL-1 β)是具有多种生物学活性的细胞因子,在肾脏疾病中, IL-1 β 主要由浸润的巨噬细胞分泌。研究表明, IL-1 β 通过诱导肿瘤细胞EMT促进肿瘤的浸润和转移^[7-8];糖尿病患者血液和尿液中IL-1 β 的水平增高并与肾组织结构损伤及功能改变有关,可作为糖尿病肾损伤的早期辅助诊断标准^[9-10]。我们之前的体外研究亦证实, IL-1 β 可诱导肾小管上皮细胞转化为肌成纤维细

胞^[11]。但有关IL-1 β 在糖尿病鼠肾组织中的表达及作用未见报道。因此,我们应用STZ诱导CD-1小鼠糖尿病模型,检测其肾组织中CD68(巨噬细胞标志蛋白)和IL-1 β 的表达。结果表明,糖尿病小鼠肾组织中巨噬细胞数量增加、IL-1 β 水平增高,同时还检测到纤维化相关蛋白TGF- β 1和FN的高表达及小管上皮细胞转分化的表现。

综合上述结果,我们推测,糖尿病鼠肾组织出现炎症反应,表现为巨噬细胞浸润及细胞因子表达增多,其中IL-1 β 的水平明显上调,可能通过诱导小管上皮细胞转分化、上调TGF- β 1和FN的水平从而参与糖尿病肾小管间质病变的进展。由此考虑,控制炎症反应、抑制肾小管上皮细胞转分化可能是阻止DN肾小管间质病变进展的一种新的治疗策略。

SOCS是新近发现的一种可被多种细胞因子诱导产生并对细胞因子信号通路具有负反馈调节作用的蛋白分子。在多种疾病模型中都证实SOCS具有抗炎作用^[12-13]。应用糖尿病模型研究亦表明, SOCS

可通过抑制炎症因子如: 单核细胞趋化因子-1、细胞间黏附分子-1和白介素-6等的表达从而缓解糖尿病肾损伤^[14-15]。本实验探讨了过表达SOCS对糖尿病鼠肾组织巨噬细胞浸润及IL-1 β 表达的影响及其与肾小管间质病变的关系。应用转染试剂TransIT-EE Hydrodynamic Delivery Solution介导进行SOCS1基因体内转染, 转染后肾组织中SOCS1 mRNA和蛋白表达明显增强, 提示SOCS1转染成功并在蛋白水平上获得了高效表达。之后进一步检测了SOCS1过表达对糖尿病小鼠肾组织炎症反应、肾小管上皮细胞转分化及TGF- β 1、FN表达的影响。结果显示, 肾组织过表达SOCS1可降低CD68和IL-1 β 的水平、抑制肾小管上皮细胞转分化并下调TGF- β 1及FN的表达。结果提示, SOCS1能缓解DN肾小管间质病变, 该作用可能是通过SOCS1的抗炎作用, 即通过减少巨噬细胞浸润和IL-1 β 的表达而发挥的。

参考文献 (References)

- 1 Navarro JF, More C. The role of inflammatory cytokines in diabetic nephropathy. *Am Soc Nephrol* 2008; 19(3): 433-42.
- 2 Tuttle KR. Linking metabolism and immunology: Diabetic nephropathy is an inflammation disease. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16(6): 1537-8.
- 3 Nakagawa R, Naka T, Tsutsui H, Fujimoto M, Kimura A, Abe T, *et al.* SOCS1 participates in negative regulation of LPS response. *Immunity* 2002; 17(5): 677-87.
- 4 Shi Y, Du C, Zhang Y, Ren Y, Hao J, Zhao S, *et al.* Suppressor of cytokine signaling-1 ameliorates expression of MCP-1 in diabetic nephropathy. *Am J Nephrol* 2010; 31(5): 380-8.
- 5 Galkina E, Ley K. Leukocyte recruitment and vascular injury in diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17(2): 368-77.
- 6 Chow F, Ozols E, Nikolic-Paterson DJ, Atkins RC, Tesch GH. Macrophages in mouse type 2 diabetic nephropathy: Correlation with diabetic state and progressive renal injury. *Kidney Int* 2004; 65(1): 116-28.
- 7 Li Y, Wang L, Pappan L, Galliher-Beckley, Shi J. IL-1 β promotes stemness and invasiveness of colon cancer cells through Zeb1 activation. *Mol Cancer* 2012; 23(11): 1-13.
- 8 Lee CH, Chang JS, Syu SH, Wong TS, Chan JY, Tang YC, *et al.* IL-1 β promotes malignant transformation and tumor aggressiveness in oral cancer. *J Cell Physiol* 2015; 230(4): 875-84.
- 9 Bondar'IA, Klimontov W, Nadeev AP. Urinary excretion of proinflammatory cytokines and transforming growth factor beta at early stages of diabetic nephropathy. *Ter Arkh* 2008; 80(1): 52-6.
- 10 Liu J, Zhao Z, Willcox MD, Xu B, Shi B. Multiplex bead analysis of urinary cytokines of type 2 diabetic patients with normo- and microalbuminuria. *J Immunoassay Immunochem* 2010; 31(4): 279-89.
- 11 刘青娟, 刘淑霞, 郝军, 李航, 曹延萍, 吴海江, 等. AG490对肾小管上皮细胞转分化影响的实验研究. *中国药理学通报* (Liu Qingjuan, Liu Shuxia, Hao Jun, Li Hang, Cao Yanping, Wu Haijiang, *et al.* Experimental study about the role of AG490 on tubular epithelial-myofibroblast transdifferentiation. *Chinese Pharmacological Bulletin* 2009; 25(9): 1235-7.
- 12 Recio C, Oguiza A, Mallavia B, Lazaro I, Ortiz-Muñoz G, Lopez-Franco O, *et al.* Gene delivery of suppressors of cytokine signaling (SOCS) inhibits inflammation and atherosclerosis development in mice. *Basic Res Cardiol* 2015; 110(2): 8.
- 13 Bourdonnay E, Zaslona Z, Penke LR, Speth JM, Schneider DJ, Przybranowski S, *et al.* Transcellular delivery of vesicular SOCS proteins from macrophages to epithelial cells blunts inflammatory signaling. *J Exp Med* 2015; 212(5): 729-42.
- 14 Ortiz-Muñoz G, Lopez-Parra V, Lopez-Franco O, Fernandez-Vizarra P, Mallavia B, Flores C, *et al.* Suppressors of cytokine signaling abrogate diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2010; 21(5): 763-72.
- 15 Shi Y, Du C, Zhang Y, Ren Y, Hao J, Zhao S, *et al.* Suppressor of cytokine signaling-1 ameliorates expression of MCP-1 in diabetic nephropathy. *Am J Nephrol* 2010; 31(5): 380-8.