

炎症状态下高脂通过NPC1介导内质网应激致足细胞损伤机制研究

熊晓 肖蕾 杨雪钧 闫俊丽 阳海平 李秋*

(重庆医科大学附属儿童医院肾脏免疫科, 儿童发育疾病研究教育部重点实验室, 儿科学重庆市重点实验室, 儿童发育重大疾病国家国际科技合作基地, 重庆 400014)

摘要 该研究观察了炎症状态下高脂介导的内质网应激(endoplasmic reticulum stress, ERS)在足细胞损伤中的作用, 并探讨了胞内胆固醇转运蛋白C型1类尼曼-匹克蛋白(Niemann-pick C1 protein, NPC1)介导脂质紊乱致ERS的分子机制。将足细胞分为对照组、高脂组(low-density lipoprotein, LDL)、高脂+炎症因子组(LDL+IL-1 β)、衣霉素干预组(TM)、4-苯基丁酸(4-PBA)干预组、辛伐他汀干预组(Statin)。流式细胞术检测足细胞凋亡, 油红O染色检测足细胞胞内脂质沉积, 荧光定量PCR检测NPC1、葡萄糖调节蛋白78(glucose-regulated protein 78, GRP78)、蛋白激酶R样内质网激酶(protein kinase R-like endoplasmic reticulum kinase, PERK)和活化转录因子6(activating transcription factor 6, ATF6) mRNA水平; 荧光免疫技术分析GRP78的表达。结果表明, 在高脂基础上, 随炎症因子浓度增大和处理时间延长, 足细胞的凋亡率明显上升。胞内脂质沉积以及GRP78、PERK、ATF6、NPC1 mRNA的表达在高脂加炎症因子组明显上升。与高脂加炎症因子组比较, 小剂量衣霉素预处理和4-PBA能降低细胞凋亡比例, 降低GRP78、PERK和ATF6 mRNA的表达, 且4-PBA明显减弱GRP78荧光表达。辛伐他汀和4-PBA可以降低胞内脂质沉积和NPC1 mRNA的表达。以上结果说明, 炎症状态下脂质可能通过NPC1过度转运到内质网并诱发ERS引起足细胞损伤, 缓解内质网应激和降低胞内脂质沉积能减轻足细胞损伤。

关键词 炎症; 高脂; 足细胞; 胆固醇转运; 内质网应激; 细胞凋亡

High-lipid Induced Endoplasmic Reticulum Stress and Inflammatory Factor Caused the Podocyte Injure through NPC1 and Its Mechanism

Xiong Xiao, Xiao Lei, Yang Xuejun, Yan Junli, Yang Haiping, Li Qiu*

(Department of Nephroimmunology, Children's Hospital of Chongqing Medical University, Ministry of Education Key Laboratory of Child Development and Disorders, Chongqing Key Laboratory of Pediatrics, China International Science and Technology Cooperation Base of Child Development and Critical Disorders, Chongqing 400014, China)

Abstract The goals of this study is to investigate the role of lipid-induced endoplasmic reticulum stress (ERS) in podocyte injury under inflammatory condition and to explore whether it is related to intracellular cholesterol transporters Niemann-pick C1 protein (NPC1). Podocytes were cultured and divided into control group, low-density lipoprotein (LDL) group, IL-1 β +LDL group, tunicamycin group (TM), 4-phenyl butyric acid (4-PBA)

收稿日期: 2015-09-16 接受日期: 2015-12-11

国家自然科学基金(批准号: 81270802)资助的课题

*通讯作者。Tel: 023-63603929, E-mail: liqiu809@126.com

Received: September 16, 2015 Accepted: December 11, 2015

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.81270802)

*Corresponding author. Tel: +86-23-63603929, E-mail: liqiu809@126.com

网络出版时间: 2016-01-08 15:19:33

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20160108.1519.010.html>

group and statin group. The apoptosis of podocytes was measured by flow cytometry. The accumulation of lipid droplet in the cells was detected by oil red O staining. The mRNA levels of *NPC1*, glucose-regulated protein78 (*GRP78*), protein kinase R-like endoplasmic reticulum kinase (*PERK*) and activating transcription factor 6 (*ATF6*) were determined by real-time PCR. *GRP78* protein level was detected by immunofluorescence assay. We found that inflammation increased the rate of lipid-induced apoptosis in a time and dose dependent manners. Co-treatment of cells with high levels of lipid and IL-1 β significantly increased the intracellular lipid accumulation and the levels of *GRP78*, *PERK*, *ATF6*, *NPC1* mRNA. Pretreatment of cells with low concentrations of TM and 4-PBA significantly decreased apoptosis rate and down-regulated *GRP78*, *PERK*, *ATF6* expression, while statin and 4-PBA treatment can reduce *NPC1* expression and intracellular lipid accumulation. These results suggested that lipid might be transported to ER by NPC1 and its accumulation in ER promotes podocyte injury through activating ERS under inflammatory conditions. Reduction of ERS and the intracellular accumulation of lipid droplet can alleviate the damages on podocytes.

Keywords inflammation; high lipid; podocytes; cholesterol traffic; endoplasmic reticulum stress; apoptosis

足细胞属于肾脏固有细胞,是肾小球滤过屏障的主要组成部分之一。足细胞损伤及丢失会造成大量蛋白尿,是多种肾脏疾病发展的关键因素。研究发现,凋亡是足细胞损伤的重要方式之一^[1]。而近期的研究表明,内质网应激是独立于线粒体途径诱导细胞凋亡的新途径^[2],并且在糖尿病肾病、肾纤维化、孤立性蛋白尿等疾病中发挥重要的致病作用^[3]。C型1类尼曼-匹克蛋白(Niemann-pick C1 protein, NPC1)是表达于核内体/溶酶体膜的蛋白,介导游离胆固醇从晚期核内体释放,并向内质网转运^[4]。而脂质代谢紊乱或持续的高脂血症是肾损害的独立危险因素^[5]。同时有研究表明,内质网应激(endoplasmic reticulum stress, ERS)在代谢性疾病、炎症以及细胞凋亡的信号网络中发挥重要作用^[6]。但目前对肾脂质代谢紊乱致内质网应激和肾小球足细胞凋亡的关系尚不明确。本研究将探讨炎症高脂状态下细胞内胆固醇转运紊乱是否加重肾小球足细胞ERS以及诱导细胞损伤的分子机制。

1 材料与方法

1.1 细胞系

小鼠肾脏足细胞系由英国伦敦大学皇家自由医学院肾脏病中心脂质研究单位Dr. Xiong Z. Ruan惠赠。

1.2 主要试剂

重组IL-1 β 细胞因子购自PeproTech公司; RPMI1640培养基购自Gibco公司;胎牛血清、鼠尾I型胶原蛋白购自Millipore公司; 4-PBA、辛伐他汀、

衣霉素、油红O购自Sigma公司;低密度脂蛋白(low-density lipoprotein, LDL)本实验室自备;核酸提取试剂盒购自北京百泰克生物技术有限公司; RT-PCR逆转录试剂盒、实时定量PCR试剂盒购自TaKaRa公司; PCR引物由美国Invitrogen公司合成;抗GRP78抗体和FITC标记二抗购自美国Abcam公司。

1.3 细胞培养及分组

足细胞用RPMI1640培养基加入10%胎牛血清、100 U/mL青霉素、100 U/mL链霉素培养于包被有I型胶原的60 mm培养皿,在33 °C、5% CO₂、含 γ -干扰素条件下诱导增生,待其长至约85%,使用0.05%胰蛋白酶-EDTA(Gibco公司)消化细胞后传代。继而接种到涂有I型胶原的培养皿,在37 °C、5% CO₂无 γ -干扰素条件下培养10 d,使其分化,每2 d换液1次,后续实验所用细胞为37 °C分化成熟的细胞。分组如下:对照组、高脂组(200 μ g/mL LDL)、高脂+炎症因子组(200 μ g/mL LDL+20 ng/mL IL-1 β)、衣霉素干预组(200 μ g/mL LDL+20 ng/mL IL-1 β +100 ng/mL TM)、4-PBA干预组(200 μ g/mL LDL+20 ng/mL IL-1 β +5 μ mol/mL 4-PBA)和辛伐他汀干预组(200 μ g/mL LDL+20 ng/mL IL-1 β +5 nmol/mL辛伐他汀)。培养48 h后,检测相关指标。

1.4 流式细胞术检测不同状态下足细胞的凋亡

Annexin V/PI(欣博盛生物科技有限公司)双染色流式细胞术检测细胞凋亡。右下象限(Annexin V阳性, PI阴性)代表早期凋亡细胞,右上象限(Annexin V阳性, PI阳性)代表晚期凋亡细胞。首先,制成单个细胞悬液,取总数为1 \times 10⁶/mL细胞待检,取1 mL

细胞用PBS离心洗涤, 1 000 r/min离心5 min, 弃上清液。将细胞重悬浮于200 μ L结合缓冲液。加入5 μ L Annexin V-FITC, 轻轻混匀后再加入10 μ L PI, 混匀, 避光室温反应10 min。加入300 μ L结合缓冲液, 轻轻混匀, 立即上流式细胞仪检测。

1.5 实时定量PCR检测

将足细胞以 5×10^5 /孔的浓度接种于6孔板, 培养48 h后, 分别提取细胞的总RNA, 并逆转录为cDNA。以逆转录的cDNA为模板, 检测*GRP78*、*ATF6*、*PERK*、*NPC1* mRNA的表达量变化情况。相关基因PCR引物序列见表1。

1.6 足细胞胞内脂质沉积

足细胞以 5×10^4 /孔的浓度接种于放置有盖玻片的24孔板, 以LDL、LDL+IL-1 β 、TM、4-PBA、Statin处理48 h后, 弃培养基, PBS洗涤3次, 4%多聚甲醛固定30 min, ddH₂O冲洗2次, 1,2-丙二醇孵育2 min, 室温下油红O工作液染色30 min, ddH₂O洗3次, 苏木素复染1~2 min, 自来水冲洗5 min, 风干, 中性树胶封片。

1.7 免疫荧光法检测GRP78的表达

将足细胞以 5×10^4 /孔的浓度接种于放置有盖玻片的24孔板, 以LDL、LDL+IL-1 β 、TM、4-PBA、Statin处理48 h后, 弃掉原培养液, PBS洗3次, 每次5 min。用预冷的4%多聚甲醛固定15 min后吸掉固定液, PBS洗3次, 每次5 min。吸去孔板内剩余液体, 按300 μ L/孔加入0.5% Triton处理10 min后, PBS洗3次, 每次5 min, 室温下以BSA封闭30 min。吸出封闭液加一抗置于4 $^{\circ}$ C冰箱孵育过夜。PBS洗3次后避光加二抗孵育60 min, PBS洗3次, 每次5 min, 避光加DAPI染液孵育30 min。最后PBS洗3次, 封片, 在荧光显微镜下(488 nm波长激发光)观察并拍

照。

1.8 数据统计

所用统计结果为至少3次独立重复实验数据。所有数据均用Graphpad Prism 5.01统计软件进行统计分析处理。计量资料结果用mean \pm S.D.表示。多组间比较用方差分析, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 炎症因子对高脂诱导足细胞凋亡的影响

分别用高脂(200 μ g/mL LDL)、高脂+不同浓度炎症因子(5、10、20 ng/mL IL-1 β)处理足细胞12、24、48、72 h, 经AV-PI染色后, 流式细胞仪检测, 统计细胞凋亡比例。如图1所示, 当足细胞加载200 μ g/mL LDL时, 12、24、48、72 h四个时间点细胞的凋亡率并无显著升高($P > 0.05$); 而5、10、20 ng/mL IL-1 β 均可以进一步增加高脂状态下足细胞的凋亡率, 其中20 ng/mL IL-1 β 在12、24、48、72 h四个时间点细胞的凋亡率为(10.30%、15.20%、20.50%、27.80%), 分别与对应时间点未经处理组比较(2.25%、3.12%、3.54%、4.51%), 出现显著差异($P < 0.05$ 、 $P < 0.01$ 、 $P < 0.001$ 、 $P < 0.001$)。说明随炎症因子浓度增大, 干预时间延长, 高脂诱导的足细胞凋亡逐渐加剧。

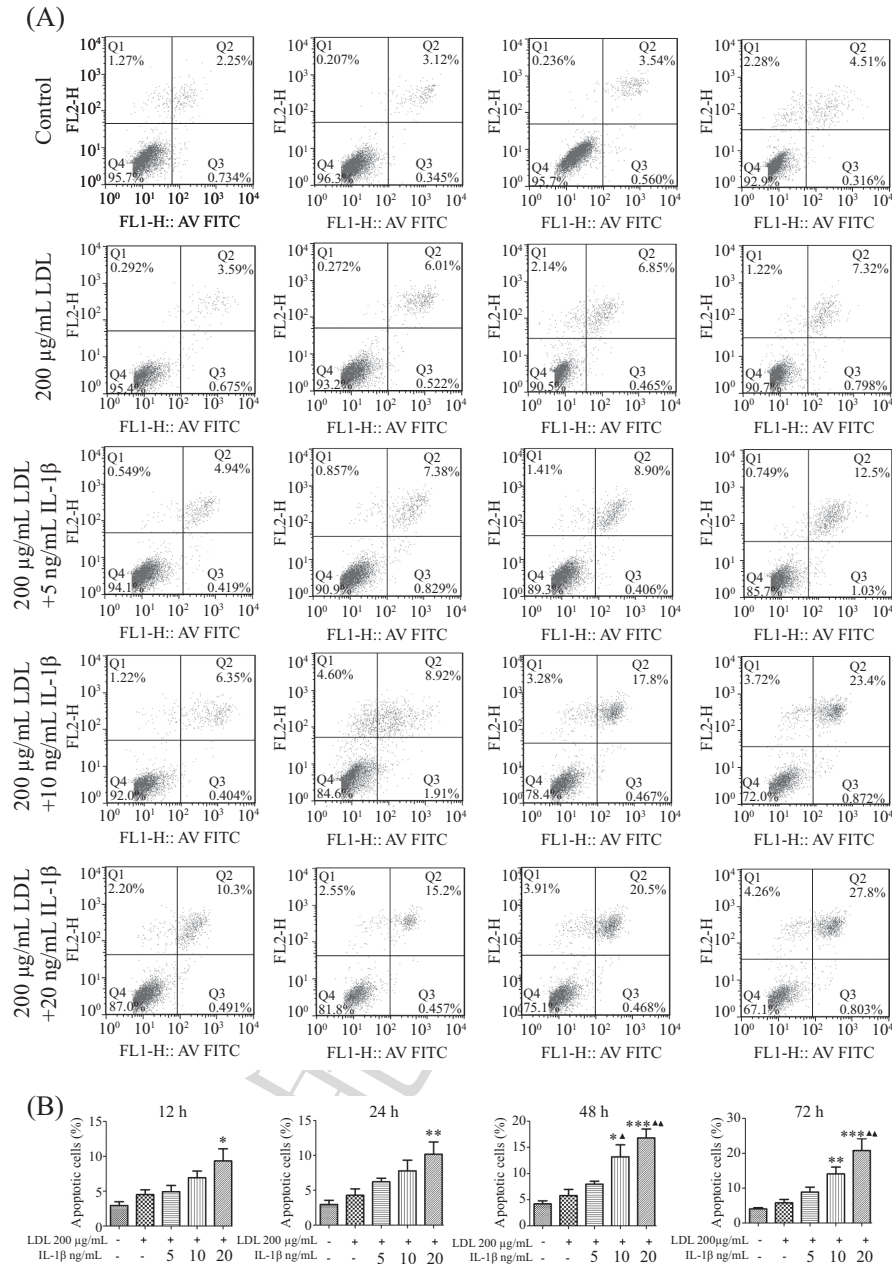
2.2 TM、4-PBA、Statin对高脂加炎症状态下足细胞凋亡的影响

分组培养细胞48 h后, 用Annexin V/PI双染色流式细胞术检测细胞凋亡。结果显示, 与对照组(3.35%)和LDL组(6.10%)比较, IL-1 β +LDL组细胞凋亡比例达17.70%, 凋亡率上升均极显著($P < 0.001$)。小剂量TM预处理和加入ERS阻断剂4-PBA后, 明显降低IL-1 β +LDL组细胞凋亡比例($P < 0.05$)。辛伐他汀虽然可以减低细胞凋亡比例, 但是差异没有统计

表1 荧光定量PCR引物序列

Table 1 Primer sequences for real-time PCR

基因 Genes	引物序列 Sequences	正、反义链 Orientation
<i>GRP78</i>	5'-GGT ATT GAA ACT GTG GGA GGA GTC-3'	Sense
	5'-ATT GTC TTT TGT TAG GGG TCG TTC-3'	Anti-sense
<i>PERK</i>	5'-TGG TTG GGT CTG ATG AAT TTG AC-3'	Sense
	5'-AAC CGT TAT CGT ATG GAT ACT GGA G-3'	Anti-sense
<i>ATF6</i>	5'-CAC AGA CTC GTG TTC TTC AAC TCA G-3'	Sense
	5'-GTT TTG TTT CCA GGA CCA GTG AC-3'	Anti-sense
<i>NPC1</i>	5'-CCA AGT AGG CGA CGA CTT CTA TAT C-3'	Sense
	5'-CGT GGA GCA AAC TCG TAT CAT TC-3'	Anti-sense
<i>GAPDH</i>	5'-CCT GGA GAA ACC TGC CAA GTA TG-3'	Sense
	5'-GGT CCT CAG TGT AGC CCA AGA TG-3'	Anti-sense



A: 对照组、200 μg/mL LDL以及200 μg/mL LDL+不同浓度(5、10、20 ng/mL) IL-1β作用足细胞12、24、48、72 h,用流式细胞术分析细胞凋亡比例。B: 对照组、LDL组以及LDL+不同浓度炎症处理足细胞不同时间点的凋亡比例统计图。* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, 与对照组比较; ▲ $P < 0.05$, ▲▲ $P < 0.01$, 与高脂组比较。

A: podocytes were exposed to control, 200 μg/mL LDL, 200 μg/mL LDL+IL-1β (5, 10, 20 ng/mL) for 12, 24, 48, 72 h. Apoptotic ratios were analyzed by flow cytometry. B: the apoptosis ratio of control group, LDL group, and LDL+IL-1β (5, 10, 20 ng/mL) group in 12, 24, 48, 72 h. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ vs control group; ▲ $P < 0.05$, ▲▲ $P < 0.01$ vs LDL group.

图1 炎症因子和高脂对足细胞凋亡的影响

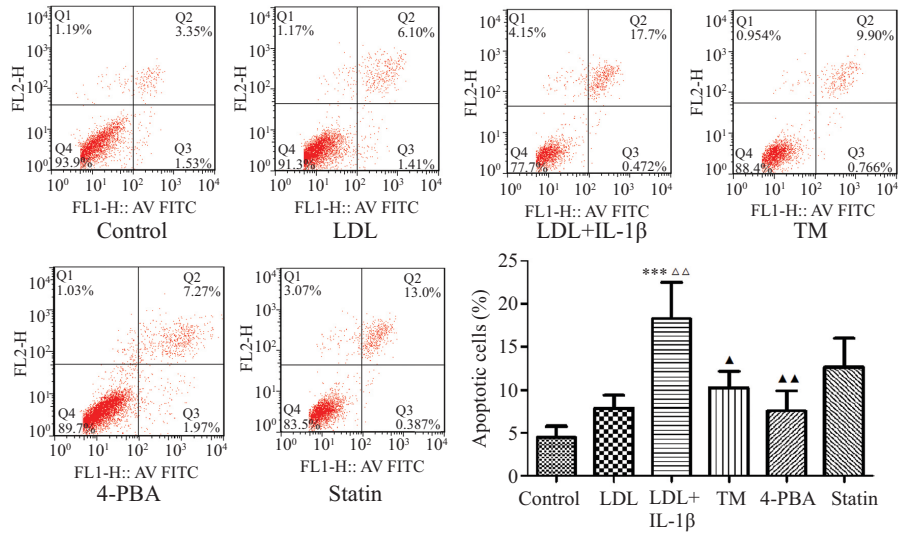
Fig.1 Impact of IL-1β and LDL on cell apoptosis of podocytes

学意义(图2)。

2.3 不同组别足细胞胞内脂质沉积情况

油红O是一种脂溶性染料,能溶于组织和细胞中的脂类,使其被染成红色,苏木素复染细胞核,使细胞核被染成蓝色。染色结果显示,正常组足细胞中胞质区域可见少量红染颗粒,与对照组相比,LDL

组及IL-1β+LDL组胞质中红染颗粒大小、数目明显增多,其中IL-1β+LDL组较LDL组更加明显;表明炎症应激进一步加强了胞内胆固醇的沉积。小剂量TM预处理后,细胞核周围仍能见到较多红染颗粒;经4-PBA干预可以明显降低足细胞胞内脂质沉积;他汀类药物干预组较IL-1β+LDL组红染颗粒显著减

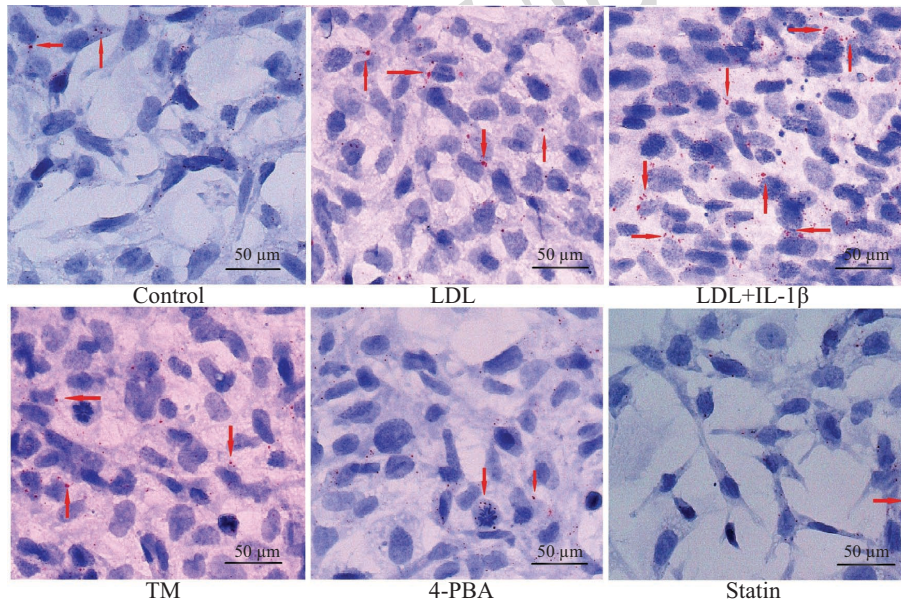


*** $P < 0.001$, 与对照组比较; $\Delta\Delta P < 0.01$, 与高脂组比较; $\blacktriangle P < 0.05$, $\blacktriangle\blacktriangle P < 0.01$, 与高脂+炎症因子组比较。

*** $P < 0.001$ vs control group; $\Delta\Delta P < 0.05$ vs LDL group; $\blacktriangle P < 0.05$, $\blacktriangle\blacktriangle P < 0.01$ vs LDL+IL-1 β group.

图2 TM、4-PBA、Statin对高脂加炎症状态下足细胞凋亡的影响

Fig.2 Impact of TM, 4-PBA, Statin on cell apoptosis of podocytes under LDL and inflammation condition



红色箭头所指为被油红O染成红色的脂质颗粒。
The red arrow for lipid particles by oil red O staining.

图3 各组足细胞油红O染色结果

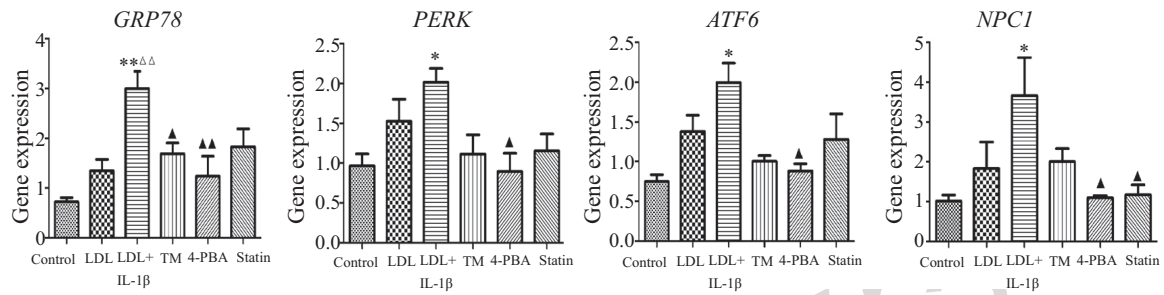
Fig.3 Lipid accumulation in podocytes of different groups (oil red O staining)

少(图3)。

2.4 不同组别GRP78、PERK、ATF6、NPC1 mRNA的表达情况

荧光定量PCR检测GRP78、PERK、ATF6、NPC1 mRNA的表达(图4)。结果发现, 在IL-1 β +LDL组, GRP78表达量(3.01 \pm 0.60)较对照组(0.72 \pm 0.17)和LDL组(1.34 \pm 0.45)显著上升($P < 0.01$); PERK、ATF6表达量(2.02 \pm 0.29、1.99 \pm 0.42)较对照组(0.96 \pm 0.26、

0.74 \pm 0.15)和LDL组(1.53 \pm 0.48、1.38 \pm 0.35)明显上升($P < 0.05$); NPC1 mRNA表达量(3.67 \pm 1.24)较对照组(1.02 \pm 0.29)和LDL组(1.83 \pm 1.02)明显上升($P < 0.05$)。小剂量TM预处理和4-PBA可以降低高脂加炎症状态下GRP78(1.68 \pm 0.43、1.23 \pm 0.65)的表达($P < 0.05$ 、 $P < 0.01$); 4-PBA可以降低PERK(0.89 \pm 0.39)和ATF6(0.87 \pm 0.16)的表达($P < 0.05$); 同时4-PBA和辛伐他汀可以降低NPC1(1.10 \pm 0.09、1.17 \pm 0.49)的表达

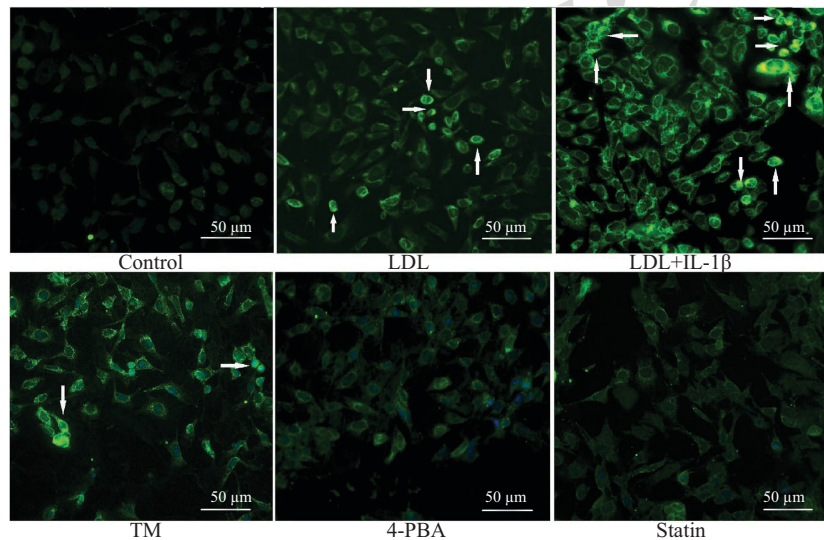


* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, 与对照组比较; $\Delta\Delta P < 0.01$, 与高脂组比较; $\blacktriangle P < 0.05$, $\blacktriangle\blacktriangle P < 0.01$, 与高脂+炎症因子组比较。

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs control group; $\Delta\Delta P < 0.05$ vs high lipid group; $\blacktriangle P < 0.05$, $\blacktriangle\blacktriangle P < 0.01$ vs high lipid+inflammation group.

图4 各组足细胞GRP78、PERK、ATF6、NPC1 mRNA的表达

Fig.4 Expression of GRP78, PERK, ATF6 and NPC1 mRNA in podocytes of different groups



白色箭头所指为GRP78表达阳性区域。

The white arrow for GRP78 positive area.

图5 TM、4-PBA、Statin对高脂加炎症状态下足细胞GRP78表达的影响

Fig.5 Impact of TM, 4-PBA, Statin on GRP78 expression of podocytes under LDL and inflammation condition

($P < 0.05$)。

2.5 TM、4-PBA、Statin对高脂加炎症状态下足细胞GRP78表达的影响

GRP78表达于胞质的内质网膜上, 正常情况下几乎不表达或极低表达。各组足细胞处理48 h后进行荧光染色, 在激光共聚焦显微镜下观察其表达情况, FITC激发呈绿光。与对照组相比, LDL组绿色荧光增强; IL-1 β +LDL组则成明显的强绿色荧光, GRP78表达较对照组显著升高; 小剂量TM预处理预先激活了ERS, 因而伴有GRP78的表达升高, 但是较IL-1 β +LDL组荧光强度弱; 4-PBA和辛伐他汀可以降低IL-1 β +LDL组荧光强度(图5)。

3 讨论

足细胞作为肾小球滤过膜的一部分, 其损伤是

许多肾小球疾病发展至终末期肾病的一个重要过程, 但是足细胞损伤机制目前并不清楚^[7]。脂质代谢紊乱或持续高脂血症是肾损害的独立危险因素, 可致慢性肾病或肾小球硬化。本课题组既往研究已证实, 炎症可以进一步增加高脂状态下足细胞内胆固醇水平和脂滴沉积水平^[8]。英国Ruan等^[9]也指出, 炎症是脂质代谢异常造成肾损伤的关键, 炎症因子通过影响细胞水平胆固醇稳态是加速脂质介导肾损伤的中心环节, 那么炎症是如何加重细胞内胆固醇代谢紊乱并导致细胞损伤的, 目前并不清楚。

胞内胆固醇主要来自循环中的LDL, 通过细胞膜上的LDL受体进入细胞, 与早期核内体/溶酶体结合, 转运至晚期核内体(次级溶酶体)并水解为游离胆固醇。NPC1属于晚期核内体上的膜蛋白, 介导游离胆固醇从溶酶体释放并向内质网转运^[10]。有

研究发现,肥胖人群皮下脂肪组织的NPC1表达显著升高,并随着体重的减轻而降低^[11]。上调NPC1的表达能够促进细胞内胆固醇的转运和流出,减少泡沫细胞的形成以及缓解动脉粥样硬化^[12]。而NPC1缺陷直接导致低密度脂蛋白胆固醇向内质网转运延迟以及内质网固醇感受器SCAP[sterol regulatory element binding protein (SREBP) cleavage-activating protein]的活化延迟^[13]。而当内质网上胆固醇过载时,可引起内质网蛋白质加工运输障碍及摄取释放Ca²⁺障碍而导致ERS的发生。当应激持续发生时,内质网分子伴侣蛋白GRP78活化表达增强,其中偶联的ATF6与GRP78解离,并被裂解为有核转录活性的片段ATF6 P50进入细胞核,通过调节CHOP的转录表达调控细胞的凋亡^[14];而PERK通过真核细胞翻译起始因子eIF2 α 以及活化转录因ATF4(activating transcription factor 4)调控CHOP的转录和表达,进而调节细胞的凋亡^[15]。那么NPC1是否通过介导炎症状态下胞内脂质重新分布引起了ERS呢?目前的研究尚少。我们的研究发现,给予高脂和炎症因子刺激后,足细胞胞内脂质沉积和NPC1的表达水平较正常情况下明显增多,随着胞内脂质增多,GRP78、PERK、ATF6的表达显著上调,同时细胞凋亡比例明显升高。结果可能提示,炎症加高脂状态下胞内胆固醇增多并通过NPC1向内质网转运进而诱发了ERS,加重了足细胞的凋亡。

有文献报道,衣霉素可以阻碍内质网内新生蛋白质的糖基化过程,使新生蛋白质不能够正确折叠从而堆积在内质网中诱发ERS^[16]。有研究发现,小剂量衣霉素引起适度内质网应激的同时,可以激活适度的自噬,从而减少巨噬细胞的凋亡,可能有助于减轻动脉粥样硬化程度^[17]。有学者在足细胞使用衣霉素诱导ERS时,发现在ERS发生早期内细胞以自噬为主,而长期持续存在ERS时,细胞则主要表现为凋亡状态。他们提出适度的自噬能够保护足细胞不受凋亡的影响,并且可能是维持这种高分化细胞株长期存活的机制之一^[18]。Inagi等^[19]在肾炎大鼠中也发现,用小剂量衣霉素注射入大鼠体内后,能降低内质网应激相关蛋白的表达,进而显著减轻大鼠肾组织的损伤和蛋白尿水平。本实验经小剂量衣霉素干预后发现,适度的ERS同样对足细胞起保护作用。4-PBA是人工合成的小分子化合物,在稳定内质网蛋白质构象、改善内质网折叠能力、运输突变蛋白

等方面发挥作用,能有效缓解ERS的发生。我们的研究发现,经4-PBA处理后,4-PBA通过降低GRP78的表达,缓解了ERS发生的强度,从而降低足细胞在应激状态下的凋亡比例。另外还发现,4-PBA亦能明显降低足细胞胞内脂质沉积水平,但其具体分子机制尚不清楚,其是否在调控足细胞内质网膜上脂质代谢相关蛋白及转运胆固醇合成蛋白等方面发挥作用,还有待进一步的研究。他汀类药物目前广泛应用于临床,依靠其降脂和非降脂作用缓解心血管以及肾脏疾病的发展。有研究发现,高胰岛素血症和氧化应激导致了肥胖大鼠足细胞的损伤,使用他汀类药物治疗后能够缓解足细胞的损伤,从而改善蛋白尿症状^[20]。本实验发现,辛伐他汀干预后,能够降低高脂加炎症因子状态下NPC1的表达,显著减少足细胞胞内脂质异常沉积,进而减轻足细胞的损伤。

综上,我们认为,炎症因子能够显著增强高脂负荷下足细胞胞内胆固醇转运蛋白NPC1的表达,并引起细胞内脂质代谢紊乱,进而诱导ERS致细胞损伤。这一发现有可能为干预肾局部脂质代谢紊乱介导的一系列病理生理改变提供新的治疗靶点及干预手段。

参考文献 (References)

- 1 Tharoux PL, Huber TB. How many ways can a podocyte die. *Semin Nephrol* 2012; 32(4): 394-404.
- 2 Tabas I, Ron D. Integrating the mechanisms of apoptosis induced by endoplasmic reticulum stress. *Nat Cell Biol* 2011; 13(3): 184-90.
- 3 Taniguchi M, Yoshida H. Endoplasmic reticulum stress in kidney function and disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2015; 24(4): 345-50.
- 4 laea DB, Maxfield FR. Cholesterol trafficking and distribution. *Essays Biochem* 2015; 57: 43-55.
- 5 Moorhead JF, Chan MK, El-Nahas M, Varghese Z. Lipid nephrotoxicity in chronic progressive glomerular and tubulointerstitial disease. *Lancet* 1982; 2(8311): 1309-11.
- 6 Cao SS, Luo KL, Shi L. Endoplasmic reticulum stress interacts with inflammation in human diseases. *J Cell Physiol* 2016; 231(2): 288-94.
- 7 Haraldsson B. A new era of podocyte-targeted therapy for proteinuric kidney disease. *N Engl J Med* 2013; 369(25): 2453-4.
- 8 Gaofu Zhang, Qiu Li, Li Wang. Interleukin-1 β enhances the intracellular accumulation of cholesterol by up-regulating the expression of low-density lipoprotein receptor and 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase in podocytes. *Mol Cell Biochem* 2011; 346: 197-204.
- 9 Ruan XZ, Varghese Z, Moorhead JF. Inflammation modifies lipid-mediated renal injury. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18(1): 27-32.

- 10 Vance JE. Transfer of cholesterol by the NPC team. *Cell Metab* 2010; 12(2): 105-6.
- 11 Bambace C, Dahlman I, Arner P, Kulyte A. NPC1 in human white adipose tissue and obesity. *BMC Endocr Disord* 2013; 13: 5.
- 12 Yu XH, Jiang N, Yao PB, Zheng ZL, Cayabyab FS, Tang CK. NPC1 intracellular cholesterol trafficking and atherosclerosis. *Clin Chim Acta* 2014; 429: 69-75.
- 13 Retraction of the paper: "Niemann-Pick type C1 protein influences the delivery of cholesterol to the SREBP:SCAP complex". *Braz J Med Biol Res* 2008; 41(5): 437.
- 14 Hirsch I, Weiwad M, Prell E, Ferrari DM. ERp29 deficiency affects sensitivity to apoptosis via impairment of the ATF6-CHOP pathway of stress response. *Apoptosis* 2014; 19(5): 801-15.
- 15 Liu Z, Lv Y, Zhao N, Guan G, Wang J. Protein kinase R-like ER kinase and its role in endoplasmic reticulum stress-decided cell fate. *Cell Death Dis* 2015; 6: e1822.
- 16 Tanaka M, Yamazaki M, Chiba K. Neuroprotective action of genipin on tunicamycin-induced cytotoxicity in neuro2a cells. *Biol Pharm Bull* 2009; 32(7): 1220-3.
- 17 马美娟, 李妍, 张英梅, 闫浩, 刘敏, 张乐, 等. 不同程度内质网应激对巨噬细胞自噬的影响. *现代生物医学进展*(Ma Meijuan, Li Yan, Zhang Yingmei, Yan Hao, Liu Min, Zhang Le, *et al.* Effects of the different degree of the endoplasmic reticulum stress on macrophage's autophagy. *Progress in Modern Biomedicine*) 2014; 14(2): 209-13.
- 18 Cheng YC, Chang JM, Chen CA, Chen HC. Autophagy modulates endoplasmic reticulum stress-induced cell death in podocytes: A protective role. *Exp Biol Med (Maywood)* 2015; 240(4): 467-76.
- 19 Inagi R, Kumagai T, Nishi H, Kawakami T, Miyata T, Fujita T, *et al.* Preconditioning with endoplasmic reticulum stress ameliorates mesangioproliferative glomerulonephritis. *J Am Soc Nephrol* 2008; 19(5): 915-22.
- 20 Whaley-Connell A, de Marco VG, Lastra G, Lastra G, Manrique C, Nistala R, Cooper SA, *et al.* Insulin resistance, oxidative stress, and podocyte injury: Role of rosuvastatin modulation of filtration barrier injury. *Am J Nephrol* 2008; 28(1): 67-75.