

· 基础研究 ·

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2024.17.004

网络首发 [https://link.cnki.net/urlid/50.1097.R.20240617.1311.019\(2024-06-17\)](https://link.cnki.net/urlid/50.1097.R.20240617.1311.019(2024-06-17))火把花根片对高糖诱导肾小管上皮间充质转化的影响及机制探讨^{*}刘召燕,秦吉林,陈晓晓,胡爽爽,杨靖倩,郭明好,马东红[△]

(新乡医学院第一附属医院肾脏病医院肾内科,河南新乡 453100)

[摘要] **目的** 研究火把花根片(CRT)对高糖诱导的肾小管上皮细胞(HK-2)上皮-间充质转化(EMT)的影响并探讨其可能的作用机制。**方法** 体外培养 HK-2,将 HK-2 分为以下 5 组:对照组(CON 组)、高渗组(MA 组)、高糖组(HG 组)、高糖+火把花根片组(HG+CRT 组)、高糖+PI3K 抑制剂组(HG+LY29400 组)、高糖+火把花根片+PI3K 抑制剂组(HG+CRT+LY29400 组)。采用实时荧光定量 PCR(qPCR)检测各组 E-钙黏蛋白(E-cadherin)、 α -平滑肌肌动蛋白(α -SMA)、磷酸酶和张力蛋白同系物(PTEN)mRNA 表达水平;采用 Western blot 检测各组 PTEN、磷脂酰肌醇 3 激酶(PI3K)、蛋白激酶 B(Akt)、磷酸化蛋白激酶 B(p-Akt)、E-cadherin、 α -SMA 的蛋白表达水平。**结果** 与 CON 组比较,HG 组细胞 α -SMA 的蛋白及 mRNA 表达水平、p-Akt 的蛋白表达水平、p-Akt/Akt 比值升高,E-cadherin、PTEN 的蛋白及 mRNA 表达水平降低,差异有统计学意义($P<0.05$)。与 HG 组比较,HG+CRT 组细胞中 α -SMA 的蛋白及 mRNA 表达水平降低,E-cadherin 的蛋白及 mRNA 表达水平相对增加,差异有统计学意义($P<0.05$);与 HG 组比较,HG+LY29400 组 PI3K、p-Akt、 α -SMA 蛋白表达水平和 p-Akt/Akt 比值降低,PTEN 的蛋白及 mRNA 表达水平、E-cadherin 的蛋白表达水平升高,差异有统计学意义($P<0.05$)。与 HG+CRT 组比较,HG+CRT+LY29400 组 E-cadherin、 α -SMA、PTEN、PI3K、Akt 的蛋白表达水平及 p-Akt/Akt 比值差异均无统计学意义($P>0.05$),而 p-Akt 蛋白表达升高($P<0.05$)。**结论** 在体外,CRT 可以通过 PTEN/PI3K/Akt 信号通路逆转高糖诱导的肾小管上皮细胞 EMT。

[关键词] 糖尿病肾病;上皮-间充质转化;张力蛋白同系物;磷脂酰肌醇 3 激酶;蛋白激酶 B;火把花根片**[中图分类号]** R587.2**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2024)17-2577-06Effect and mechanism of colquhounia root tablet on renal tubular epithelial mesenchymal transition induced by high glucose^{*}

LIU Zhaoyan, QIN Jilin, CHEN Xiaoxiao, HU Shuangshuang, YANG Jingqian,

GUO Minghao, MA Donghong[△]

(Department of Nephrology, Nephrology Hospital, First Affiliated Hospital of Xinxiang Medical College, Xinxiang, Henan 453100, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the effect of colquhounia root tablet (CRT) on hyperglucose-induced epithelial-mesenchymal transition (EMT) in renal tubular epithelial cells (HK-2), and to explore its possible action mechanism. **Methods** HK-2 was cultured in vitro, and HK-2 was divided into the following five groups: control group (CON group), hyperosmolar group (MA group), high glucose group (HG group), high sugar + CRT group (HG + CRT group), high sugar + phosphatidylinositol 3 kinase inhibitor group (HG + LY29400 group), high sugar + CRT + phosphatidylinositol 3 kinase inhibitor group (HG + CRT + LY29400). The real time immunofluorescence quantitative PCR (qPCR) was used to detect the mRNA expression levels of E-cadherin, α -smooth muscle actin (α -SMA) and phosphatase and tensin homolog (PTEN) in each group. Western-blot was used to detect the protein expression levels of PTEN, phosphatidylinositol 3 kinase (PI3K), protein kinase B (Akt), phosphorylated protein kinase B (p-Akt), E-cadherin and α -SMA in each group. **Results** Compared with the CON group, the protein and mRNA expression levels of α -SMA, p-Akt protein expression level and p-Akt/Akt ratio in the HG group were increased, the protein and mRNA expression levels of E-cadherin and PTEN were decreased, and the differences were statistically significant ($P<$

0.05). Compared with the HG group, the α -SMA protein and mRNA expression levels in the HG+CRT group were decreased, while the E-cadherin protein and mRNA expression levels were increased, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). Compared with the HG+CRT group, there was no significant difference in the E cadherin, α SMA, PTEN, PI3K and Akt protein expression levels and p-Akt/Akt ratio in the HG+CRT+LY29400 group had no significant differences ($P>0.05$), while the expression level of p-Akt protein was increased, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). **Conclusion** In vitro, CRT could reverse hyperglucose-induced renal tubular epithelial cell EMT via the PTEN/PI3K/Akt signaling pathway.

[Key words] diabetic nephropathy; EMT; PTEN; PI3K; Akt; colquhounia root slices

糖尿病肾病(diabetic kidney disease, DKD)是引起慢性肾衰竭的主要原因,其病理生理机制复杂,治疗手段有限,部分患者的肾功能会逐渐进展至终末期,因此,寻找新的治疗方法迫在眉睫。上皮-间充质转化(epithelial mesenchymal transition, EMT)是指上皮细胞逐渐向间质细胞转变的过程。研究发现,肾小管间质纤维化在 DKD 发病过程中发挥了十分重要的作用,而肾小管上皮细胞(renal tubular epithelial cell, HK-2)发生的 EMT 是导致 DKD 患者肾脏纤维化及肾功能受损的常见原因^[1]。磷脂酰肌醇 3 激酶/蛋白激酶 B(phosphatidyl inositol 3-kinase/protein kinase B, PI3K/Akt)信号通路在细胞增殖、分化、代谢等方面都扮演了重要角色^[2]。有研究表明,PI3K/Akt 通路与 DKD 的细胞外基质(extracellular matrix, ECM)积聚和肾小管间质纤维化密切相关, Akt 的异常激活参与了高糖诱导的 HK-2 中 EMT 的发生^[3]。1997 年, LI 等^[4]在研究染色体 10q23 时发现了磷酸酶和张力蛋白同系物(phosphatase and tense homology deleted on chromosome ten, PTEN),它是一种由 403 个氨基酸组成的蛋白质,具有蛋白磷酸酶和脂质磷酸酶双活性,在信号转导过程中,负向调节 PI3K/Akt 信号通路。火把花根片(colquhounia root tablet, CRT)在治疗 DKD 方面的具体机制尚不完全清楚,因此,本研究在构建体外 HK-2 纤维化模型的基础上,探究 CRT 对 EMT 及 PTEN/PI3K/Akt 通路的影响,为火把花根治疗 DKD 提供新的理论支撑。

1 材料与方法

1.1 材料

HK-2 购于武汉普诺赛生命科技有限公司; CRT 购于重庆市药研院制药有限公司;总 RNA 抽提试剂(Trizol)购于美国 Invitrogen 公司;逆转录试剂盒、实时荧光定量(qPCR)试剂盒(NovoStart® SYBR qPCR SuperMix Plus、ROX Reference Dye II)购于苏州近岸蛋白质科技股份有限公司;二辛可宁酸(bicinchoninic acid, BCA)试剂盒、电化学发光试剂盒均购于美国 Abbkine 公司; α -平滑肌肌动蛋白(α -smooth muscle actin, α -SMA)兔单克隆抗体、PTEN 兔单克隆抗体、PI3K 兔单克隆抗体、Akt 兔单克隆抗体、p-Akt 兔单克隆抗体均购于美国 Cell Signaling Technology 公司; E-钙黏蛋白(E-cadherin)兔单克隆

重组抗体购于杭州华安生物有限公司; GAPDH 兔多克隆抗体购于武汉三鹰有限公司; PI3K 抑制剂(LY29400)购于美国 Selleck Chemicals 公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞分组及干预方法

将 HK-2 均匀种植于含 5 mL 完全培养基(10% 胎牛血清、90% 基础培养基, 100 U/mL 青-链霉素)的 T25 瓶中, 培养条件: 37 ℃、5% CO₂, 2 d 更换 1 次培养基, 细胞铺满培养瓶底部 90% 时进行 1:2 传代, 取第 3 代活力在 95% 以上的细胞用于实验。将细胞分为以下组别: 对照组(CON 组)、高渗组(MA 组)、高糖组(HG 组)、高糖+火把花根片组(HG+CRT 组)、高糖+PI3K 抑制剂组(HG+LY29400 组)、高糖+火把花根片+PI3K 抑制剂组(HG+CRT+LY29400 组), 分别培养 48 h 后进行后续实验。

1.2.2 qPCR 检测各组 α -SMA、E-cadherin、PTEN 的 mRNA 表达水平

以 TRIzol 法分别提取各组的总 RNA, 采用逆转录试剂盒获取 cDNA。反应体系(20 μ L): 2 $\times$ No-voStart® SYBR qPCR SuperMix Plus 10 μ L, 正、反向引物各 2 μ L, 模板 cDNA 2 μ L, ROX Reference Dye II 0.4 μ L, 无酶无菌水补足至 20 μ L。扩增条件: 95 ℃ 1 min 预变性, 95 ℃ 20 s 变性, 60 ℃ 1 min 退火, 共 45 次循环, 分别进行 3 次独立样本实验。引物序列见表 1。

表 1 相关基因的引物序列		
基因	方向	引物序列(5'-3')
α -SMA	正向	GTG TTG CCC CTG AAG AGC AT
	反向	GCT GGG ACA TTG AAA GTC TCA
E-cadherin	正向	AAA GGC CCA TTT CCT AAA AAC CT
	反向	TGC GTT CTC TAT CCA GAG GCT
PTEN	正向	TTT GAA GAC CAT AAC CCA CCA C
	反向	ATT ACA CCA GTT CGT CCC TTT C
GAPDH	正向	TTT GGT ATC GTG GAA GGA CTC AT
	反向	CAG TAG AGG CAG GGA TGA TGT

1.2.4 免疫荧光法检测各组 α -SMA、E-cadherin 蛋白的表达

磷酸盐缓冲液洗涤各组细胞爬片, 加入 4% 多聚

甲醛溶液 20 min, 洗涤后加入 0.2% 聚乙二醇辛基苯基醚破膜 10 min, 洗涤后加入 5% 牛血清白蛋白溶液封闭 30 min, 分别加入稀释后的 α -SMA、E-cadherin 一抗溶液置于湿盒中 4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜。磷酸盐缓冲液清洗后加入对应的荧光二抗, 避光于室温下反应 1 h。磷酸盐缓冲液洗涤后加入二氨基苯基吡啶避光作用 10 min, 防淬灭剂封片, 荧光显微镜下拍照。

1.2.5 Western blot 检测各组相关蛋白的表达

冰上裂解细胞, 检测目标蛋白 (PTEN、PI3K、Akt、p-Akt、E-cadherin、 α -SMA) 水平, 100 $^{\circ}\text{C}$ 水浴锅 10 min 充分变性。将变性后的目标蛋白于 10% 分离胶电泳分离, 电转移到聚偏二氟乙烯膜上, 5% 脱脂奶粉处理 90 min, 在 4 $^{\circ}\text{C}$ 下一抗孵育过夜, 在室温下二抗孵育 1 h, 1 $\times$ 缓冲盐溶液漂洗后, 扫描仪曝光, 使用 Image J 软件测量灰度值。

1.3 统计学处理

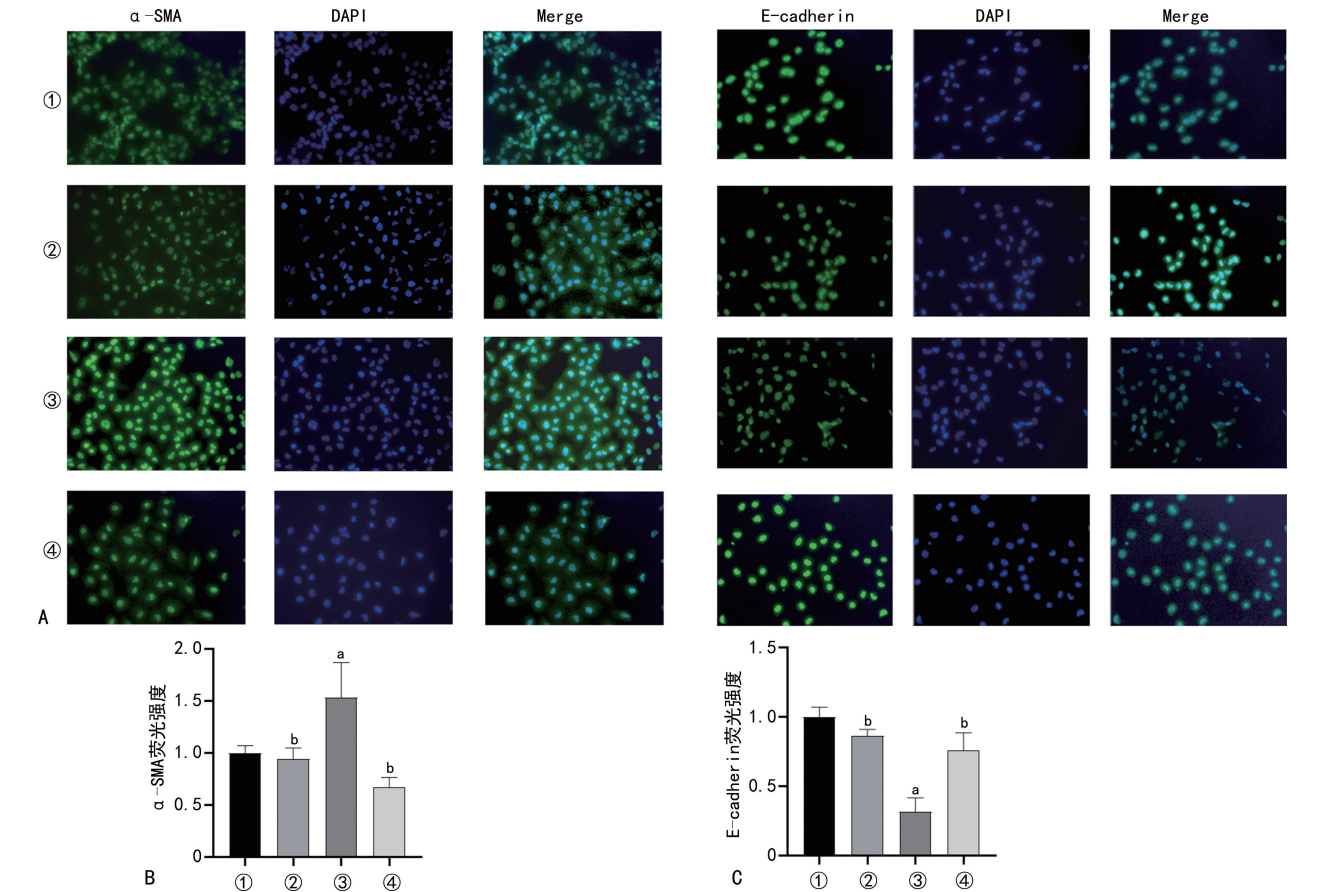
使用 SPSS23.0 软件进行数据处理, GraphPad

Prism8 软件绘制统计图表。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用 t 检验, 多组间比较采用单因素方差分析。计数资料以例数或百分比表示, 组间比较采用 χ^2 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 CRT 对高糖诱导下 HK-2 中 EMT 的影响

与 CON 组比较, HG 组 α -SMA 的荧光强度增强, E-cadherin 的荧光强度减弱, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$); 与 HG 组比较, HG+CRT 组 α -SMA 的荧光强度减弱, E-cadherin 的荧光强度增强, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见图 1。与 CON 组比较, HG 组细胞 α -SMA 的蛋白及 mRNA 表达水平升高, E-cadherin 的蛋白及 mRNA 表达水平降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 与 HG 组比较, HG+CRT 组细胞中 α -SMA 的蛋白及 mRNA 表达水平降低, E-cadherin 的蛋白及 mRNA 表达水平升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见图 2。



A: 免疫荧光检测各组 HK-2 中 α -SMA、E-cadherin 的表达 (40 $\times$); B: 各组间 α -SMA 荧光强度比较; C: 各组间 E-cadherin 荧光强度比较; ^a: $P < 0.05$, 与 CON 组比较; ^b: $P < 0.05$, 与 HG 组比较; ①: CON 组; ②: MA 组; ③: HG 组; ④: HG+CRT 组。

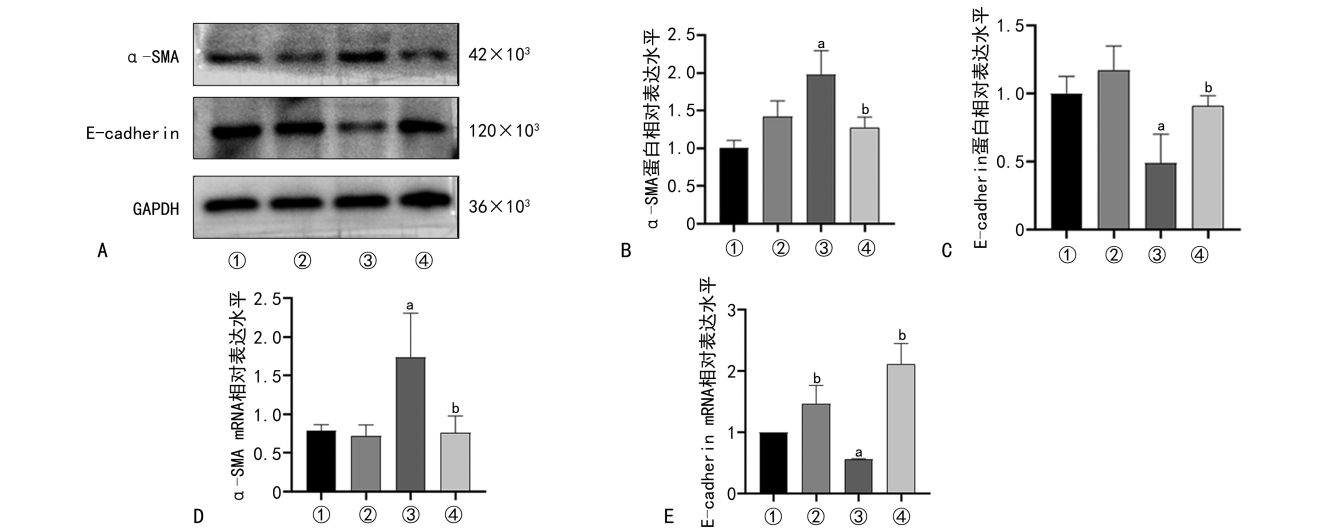
图 1 免疫荧光检测各组细胞 α -SMA、E-cadherin 荧光强度

2.2 PTEN/PI3K/Akt 通路参与高糖诱导 HK-2 中 EMT 的发生

与 CON 组比较, HG 组 p-Akt 的蛋白表达水平、p-Akt/Akt 比值升高, PTEN 的蛋白及 mRNA 表达水平降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 与 HG 组

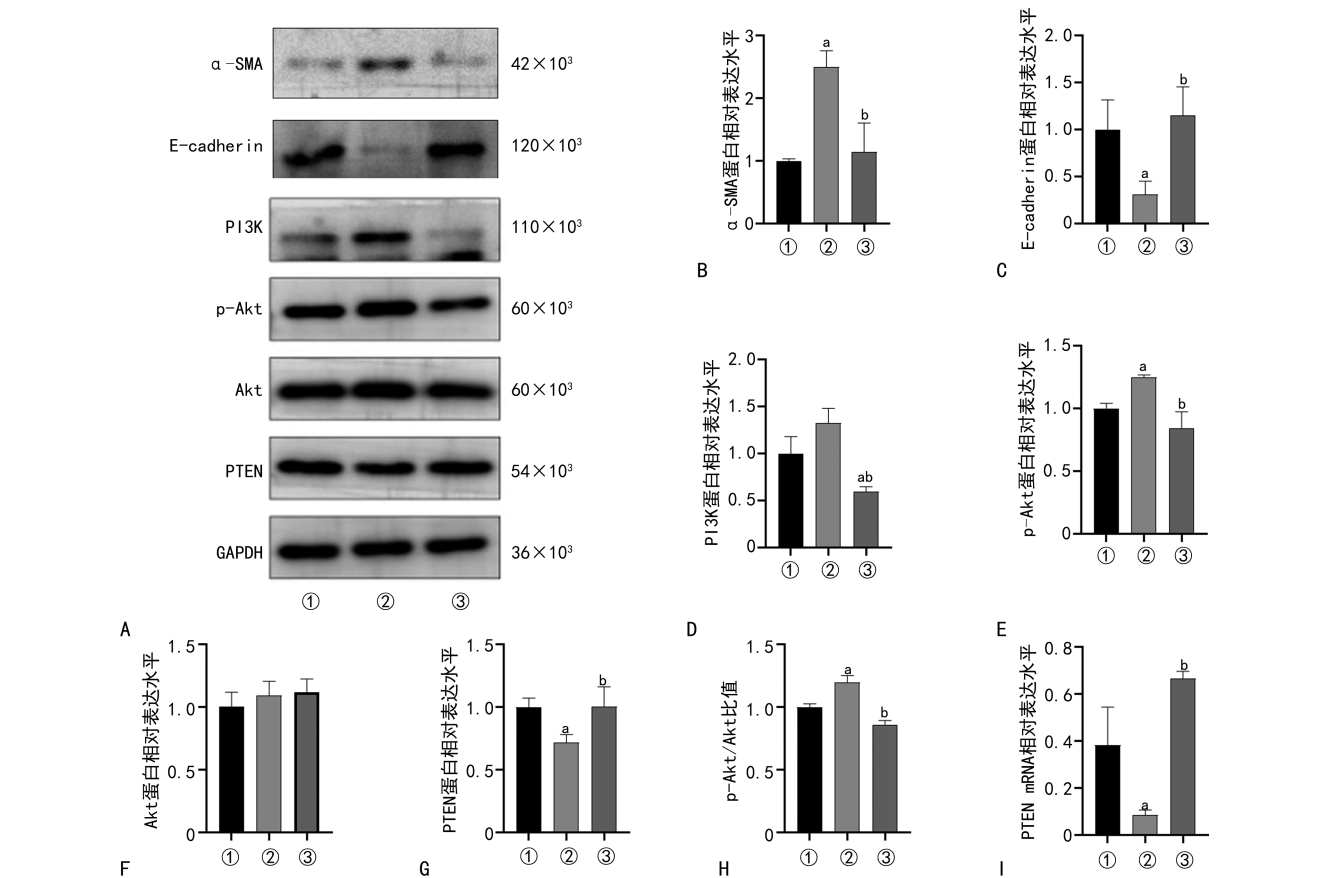
比较, HG+LY29400 组 PI3K、p-Akt 蛋白表达水平、p-Akt/Akt 比值降低, PTEN 的蛋白及 mRNA 表达水平升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 与 HG 组比较, HG+LY29400 组 α -SMA 的蛋白表达水平下降, E-cadherin 的蛋白表达水平上升, 差异有统计学意

义($P<0.05$),见图 3。



A: Western blot 检测各组 HK-2 中 α-SMA 和 E-cadherin 蛋白表达;B:各组 α-SMA 灰度值与 GAPDH 灰度值比值的比较;C:各组 E-cadherin 灰度值与 GAPDH 灰度值比值的比较;D:各组 α-SMA 的 mRNA 表达水平比较;E:各组 E-cadherin 的 mRNA 表达水平比较;^a: $P<0.05$,与 CON 组比较;^b: $P<0.05$,与 HG 组比较;①:CON 组;②:MA 组;③:HG 组;④:HG+CRT 组。

图 2 CRT 对高糖诱导下 HK-2 中 EMT 的影响



A: Western blot 检测 CON 组、HG 组、HG+LY29400 组 HK-2 中 α-SMA、E-cadherin、PI3K、p-Akt、Akt、PTEN 的蛋白表达;B~H:分别为 CON 组、HG 组、HG+LY29400 组 α-SMA、E-cadherin、PI3K、p-Akt、Akt、PTEN 蛋白表达水平和 p-Akt/Akt 比值的比较;I:CON 组、HG 组、HG+LY29400 组 PTEN mRNA 表达水平比较;^a: $P<0.05$,与 CON 组比较;^b: $P<0.05$,与 HG 组比较;①CON 组;②:HG 组;③:HG+LY29400 组。

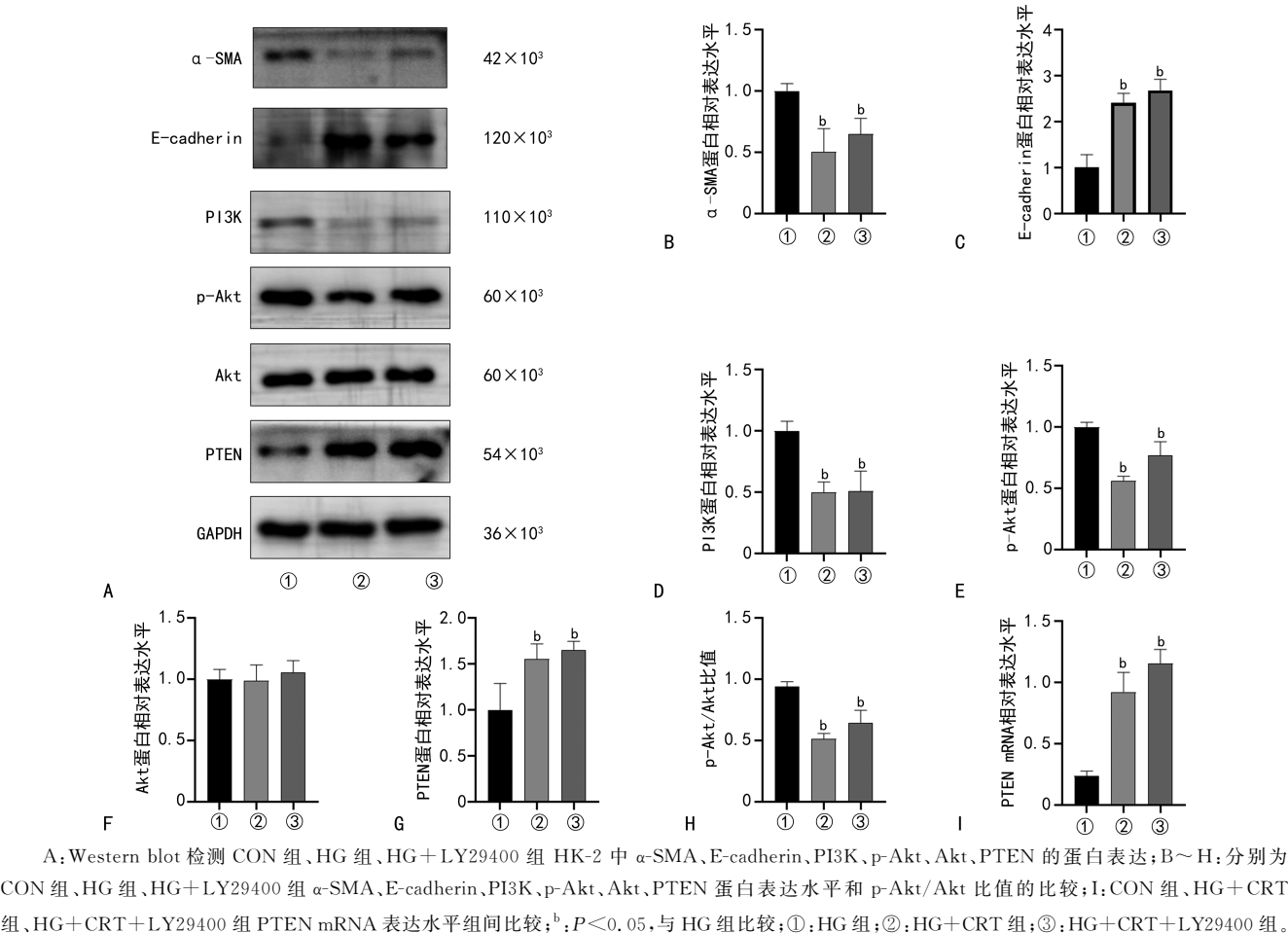
图 3 PTEN/PI3K/Akt 通路参与高糖诱导 HK-2 中 EMT 的发生

2.3 CRT 通过影响 PTEN/PI3K/Akt 信号通路逆转高糖诱导下 HK-2 中 EMT 的发生

与 HG 组比较,HG+CRT 组及 HG+CRT+LY29400 组 PI3K、p-Akt 蛋白表达水平、p-Akt/Akt

比值降低,PTEN 的蛋白及 mRNA 表达水平升高,差异有统计学意义($P<0.05$);与 HG 组比较,HG+CRT 组及 HG+CRT+LY29400 组 α -SMA 的蛋白表达水平降低,E-cadherin 的蛋白表达水平升高,差异有统计学意义($P<0.05$);与 HG+CRT 组比较,

HG+CRT+LY29400 组 E-cadherin、 α -SMA、PTEN、PI3K、Akt 的蛋白表达水平及 p-Akt/Akt 比值差异均无统计学意义($P>0.05$),而 p-Akt 蛋白表达升高($P<0.05$),见图 4。



A: Western blot 检测 CON 组、HG 组、HG+LY29400 组 HK-2 中 α -SMA、E-cadherin、PI3K、p-Akt、Akt、PTEN 的蛋白表达;B~H:分别为 CON 组、HG 组、HG+LY29400 组 α -SMA、E-cadherin、PI3K、p-Akt、Akt、PTEN 蛋白表达水平和 p-Akt/Akt 比值的比较;I:CON 组、HG+CRT 组、HG+CRT+LY29400 组 PTEN mRNA 表达水平组间比较;^b: $P<0.05$,与 HG 组比较;①:HG 组;②:HG+CRT 组;③:HG+CRT+LY29400 组。

图 4 CRT 通过影响 PTEN/PI3K/Akt 信号通路逆转高糖诱导下 HK-2 中 EMT 的发生

3 讨 论

DKD 并非单纯的代谢性疾病,其发病过程中包含一系列免疫、炎症反应,肾脏病理特征表现为肾小球基底膜增厚、系膜扩张、肾小管间质纤维化、肾小球硬化等^[5]。既往研究表明,CRT 能够减少炎症细胞因子表达,降低血管通透性,减轻组织水肿^[6-7],并通过抑制 T 细胞的生成和黏附、增加调节性 T 细胞所占比例发挥免疫抑制作用^[8]。此外,CRT 还能通过抑制 CD36 的表达和腺苷 5'-单磷酸活化蛋白激酶(adenosine 5'-monophosphate-activated protein kinase, AMPK)通路的激活,促进自噬并抑制细胞凋亡^[9]。CRT 目前已应用于临床,可在一定程度上减少蛋白尿^[10-12],但具体的作用机制尚不清楚,笔者就此展开了研究。

HK-2 是肾小管间质中重要的细胞类型,糖尿病高糖的环境会使其丧失上皮细胞特点,增强运动及迁移能力,表现出间充质细胞的特征^[13],进一步引发

ECM 异常堆积、肾小管间质纤维化,最终导致肾功能异常。笔者在研究中观察到正常的 HK-2 大多为鹅卵石样,使用高糖干预 48 h 后,细胞更加倾向于梭形,突触明显增多,细胞排列变得紊乱,这与既往的研究结果一致^[14]。使用适当浓度 CRT 与高糖共处理 HK-2 48 h 后,细胞的形态更加趋于正常,本研究中 CRT 逆转了高糖诱导的 HK-2 中,EMT 生物标志物表达异常,提示 CRT 可能抑制 EMT 的发生。

EMT 在整个 DKD 发生、发展过程中发挥作用,与肾小管间质纤维化密切相关,因此抑制肾小管 EMT 是预防肾间质纤维化的关键^[15]。研究表明,PI3K/Akt 通路在 EMT 中起着至关重要的作用,糖尿病患者高糖的内环境使该信号通路被异常激活,加速肾脏的纤维化进程^[16]。PTEN 是 PI3K/Akt 通路公认的负性调控因子,在信号转导过程中,它将磷脂酰肌醇(3,4,5)-三磷酸降解为磷脂酰肌醇二磷酸,并以这种方式对抗 PI3K 的作用,从而发挥一系列生理

功能^[17]。ZHENG 等^[18]研究表明,PTEN 在多种脏器纤维化过程中均扮演着重要角色,增加 PTEN 的表达可以减轻大鼠的肝纤维化;MIYOSHI 等^[19]研究表明,PTEN 可以通过阻止肺泡上皮细胞的 EMT,减轻急性肺损伤,延缓肺纤维化;XU 等^[20]证明 PTEN 可以通过负向调控 PI3K/Akt 通路,发挥抗纤维化、保护肾脏的作用。本研究结果表明,高糖干预下,PTEN 的表达水平降低,PI3K/Akt 通路的活性升高,应用 PI3K 抑制剂 LY29400 后,PTEN 的表达水平有所升高,PI3K/Akt 通路的活性被抑制,LY29400 可以通过抑制 Akt 的活化减轻高糖诱导的 HK-2 中发生的 EMT,这与 LIANG 等^[21]和 ZHANG 等^[22]的研究结果一致。使用 CRT 干预后,同样可以促进 PTEN 的表达,促进 PI3K/Akt 通路的失活,阻止 HK-2 向间充质细胞转化,这可能是 CRT 抗纤维化、保护肾脏的原因之一。

综上所述,本研究证实高糖在体外可增加 HK-2 中 α -SMA 的表达,抑制 E-cadherin 的表达,一定浓度的 CRT 可以逆转此过程,CRT 可能通过影响 PTEN/PI3K/Akt 信号通路的激活,干扰 EMT 过程,从而保护肾脏,这也为临床 CRT 治疗 DKD 提供了新的实验室证据。

参考文献

- [1] LOEFFLER I, LIEBISCH M, ALLERT S, et al. FSP1-specific SMAD2 knockout in renal tubular, endothelial, and interstitial cells reduces fibrosis and epithelial-to-mesenchymal transition in murine STZ-induced diabetic nephropathy[J]. *Cell Tissue Res*, 2018, 372(1): 115-133.
- [2] PENG Y, WANG Y, ZHOU C, et al. PI3K/Akt/mTOR pathway and its role in cancer therapeutics: are we making headway? [J]. *Front Oncol*, 2022, 12: 819128.
- [3] XUE M, CHENG Y, HAN F, et al. Triptolide attenuates renal tubular epithelial-mesenchymal transition via the miR-188-5p-mediated PI3K/Akt pathway in diabetic kidney disease[J]. *Int J Biol Sci*, 2018, 14(11): 1545-1557.
- [4] LI J, YEN C, LIAW D, et al. PTEN, a putative protein tyrosine phosphatase gene mutated in human brain, breast, and prostate cancer [J]. *Science*, 1997, 275(5308): 1943-1947.
- [5] SINHA S K, NICHOLAS S B. Pathomechanisms of diabetic kidney disease[J]. *J Clin Med*, 2023, 12(23): 7349.
- [6] 张建勇, 赵建军, 陈应华, 等. 火把花根片对哮喘豚鼠气道炎症的作用[J]. *贵州医药*, 2001, 25(10): 890-892.
- [7] MA Z, LIU Y, LI C, et al. Repurposing a clinically approved prescription Colquhounia root tablet to treat diabetic kidney disease via suppressing PI3K/Akt/NF- κ B activation[J]. *Chin Med*, 2022, 17(1): 2.
- [8] 胡娟, 杨武斌, 米本中, 等. 火把花根片对 Lewis 大鼠佐剂性关节炎影响及机制研究[J]. *中药药理与临床*, 2017, 33(5): 82-87.
- [9] LI H, WANG B, WU C, et al. Colquhounia root tablet promotes autophagy and inhibits apoptosis in diabetic nephropathy by suppressing CD36 expression in vivo and in vitro[J]. *J Diabetes Res*, 2023, 2023: 4617653.
- [10] 李旻瑶. 火把花根片治疗糖尿病肾病大量蛋白尿 70 例临床疗效观察[J]. *中国医院药学杂志*, 2014, 34(20): 1762-1764.
- [11] 王秀琴, 潘兆宝, 高瑞灏, 等. 火把花根片联合缬沙坦对糖尿病肾病患者肾功能和脂代谢指标的影响[J]. *中华全科医学*, 2016, 14(11): 1860-1862.
- [12] 王丽娟, 余江毅, 罗玫, 等. 火把花根片干预临床期糖尿病肾病的近期疗效及对血清 HGF 水平的影响[J]. *南京中医药大学学报*, 2015, 31(5): 424-427.
- [13] ZENG J, BAO X. Tanshinone II A attenuates high glucose-induced epithelial-to-mesenchymal transition in HK-2 cells through VDR/Wnt/beta-catenin signaling pathway[J]. *Folia Histochem Cytobiol*, 2021, 59(4): 259-270.
- [14] GRIGGS L A, HASSAN N T, MALIK R S, et al. Fibronectin fibrils regulate TGF-beta1-induced epithelial-mesenchymal transition [J]. *Matrix Biol*, 2017, 60-61: 157-175.
- [15] LI Y, HU Q, LI C, et al. PTEN-induced partial epithelial-mesenchymal transition drives diabetic kidney disease[J]. *J Clin Invest*, 2019, 129(3): 1129-1151.
- [16] XIE X, XIA W, FEI X, et al. Relaxin inhibits high glucose-induced matrix accumulation in human mesangial cells by interfering with TGF-beta1 production and mesangial cells phenotypic transition[J]. *Biol Pharm Bull*, 2015, 38(10): 1464-1469.
- [17] MAEHAMA T, DIXON J E. The tumor suppressor, PTEN/MMAC1, dephosphorylates the lipid second messenger, phosphatidylinositol 3, 4, 5-trisphosphate[J]. *J Biol Chem*, 1998, 273(22): 13375-13378.

(下转第 2587 页)