

论著·基础研究

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2022.05.004

网络首发 <https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20211123.1626.006.html>(2021-11-23)

MSS4 在缺血再灌注损伤大鼠肾脏中的表达及作用*

谭 微,邓军辉,吴志芬,郑卢权,付碧琼,杨聚荣[△]

(重庆医科大学附属第三医院肾内科 401120)

[摘要] **目的** 探索 MSS4 在缺血再灌注损伤(IRI)大鼠肾脏中的表达情况,以及在缺氧/复氧大鼠肾小管上皮细胞中的作用。**方法** 雄性成年 SD 大鼠分为假手术组和 IRI 组,分别予以假手术和肾脏缺血再灌注处理(双侧肾蒂夹闭 45 min 后再灌注),分别于术后 0、12、24、48、72 h 收集血液及肾组织标本。自动分析法检测各组大鼠血尿素氮、血肌酐水平,肾组织 PAS 染色评估肾小管损伤情况,Western blot 检测肾脏组织中 MSS4 的表达水平,免疫荧光染色检测 MSS4、Vimentin 在肾组织中的定位及表达情况。大鼠肾小管上皮细胞(NKR-52E)分为对照组和复氧组,对照组正常培养,复氧组缺氧 6 h 后分别复氧 0、12、24、48、72 h。免疫荧光检测各时间点 MSS4 和 α -SMA 的表达,大鼠肾小管上皮细胞转染 siRNA MSS4 后检测缺氧/复氧后 α -SMA 的表达变化。**结果** 与假手术比较,IRI 组血尿素氮、血肌酐及肾小管损伤评分术后 12 h 明显升高($P<0.05$),72 h 肾功能恢复正常,肾小管损伤未完全恢复。MSS4 的表达水平在 IRI 后 48 h 开始升高,72 h 更明显($P<0.05$)。肾组织免疫荧光染色显示 MSS4 与 Vimentin 均定位于肾小管上皮细胞,72 h 表达水平明显高于假手术组($P<0.01$)。细胞免疫荧光染色显示,与对照组比较,复氧组复氧 72 h 后 MSS4 及 α -SMA 的表达水平明显增加($P<0.05$),转染 siRNA MSS4 后 α -SMA 的表达明显降低($P<0.01$)。**结论** MSS4 在 IRI 大鼠肾脏中表达增加,参与 AKI 后肾小管上皮细胞上皮间质转化的调控。

[关键词] MSS4;缺血再灌注;缺氧/复氧;急性肾损伤;上皮间质转化**[中图法分类号]** R332.6+1**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2022)05-0741-07

Expression and effect of MSS4 in rat kidney after ischemia-reperfusion injury*

TAN Wei, DENG Junhui, WU Zhifen, ZHENG Luquan, FU Biqiong, YANG Jurong[△]

(Department of Nephrology, the Third Affiliated Hospital of Chongqing

Medical University, Chongqing 401120, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the expression of MSS4 in rat kidneys after ischemia-reperfusion injury (IRI), and to explore its role in rat renal tubular epithelial cells after hypoxia/reoxygenation (H/R). **Methods** Sprague dawley (SD) male adult rats were divided into the sham operation group and the IRI group, which were treated with the sham operation and renal ischemia reperfusion respectively (bilateral renal pedicles were clamped for 45 minutes and then reperfused). Blood and kidney tissue samples were collected at 0, 12, 24, 48, and 72 hours after the surgery. Then, the levels of serum urea nitrogen and serum creatinine in rats were measured by an automatic analyzer, and the renal injury was evaluated by PAS staining. Western blot was used to detect the expression of MSS4 in kidney tissues, and immunofluorescence staining was used to detect the localization and expression of MSS4 and Vimentin in kidney tissues. Rat renal tubular epithelial cells (NKR-52E) were divided into the control group and the reoxygenation group. The control group was cultured normally. The reoxygenation group was hypoxic for 6 hours and reoxygenated for 0, 12, 24, 48, 72 hours. The expression of MSS4 and α -SMA at each time point was detected by immunofluorescence, and the changes in the expression of α -SMA after H/R were detected after the NKR-52E cells were transfected with siRNA MSS4. **Results** Compared with the sham operation group, the serum creatinine, serum urea nitrogen, and renal tubular injury scores in the IRI group were significantly increased at 12 hours after the operation ($P<0.05$), the renal function returned to normal at 72 hours, but the tubular injury was not fully recovered. The

* 基金项目:重庆市教育委员会科学技术研究项目(KJQN202000439);重庆医科大学附属第三医院科研孵化项目(KY08029)。 作者简介:谭微(1987—),主治医师,硕士,主要从事急性肾损伤修复及纤维化研究。 [△] 通信作者, E-mail: cyfsysnk@hospital.cqmu.edu.cn。

expression level of MSS4 began to increase at 48 hours after IRI, and was more obvious at 72 hours ($P < 0.05$). Immunofluorescence staining showed that both MSS4 and Vimentin were located in renal tubular epithelial cells, and their expression was more significant 72 hours after IRI compared with the sham operation group ($P < 0.01$). Compared with the control group, the expression of MSS4 and α -SMA in the reoxygenation group increased after 6 hours of hypoxia and reoxygenation for 72 hours ($P < 0.05$), and the expression of α -SMA decreased significantly after transfection of siRNA MSS4 ($P < 0.01$). **Conclusion** The expression of MSS4 has been increased in the kidney of IRI rats, and MSS4 regulates the epithelial-mesenchymal transition (EMT) of renal tubular epithelial cells after AKI.

[Key words] MSS4; ischemia-reperfusion; hypoxia/reoxygenation; acute kidney injury; epithelial-mesenchymal transition

急性肾损伤(acute kidney injury, AKI)是全球的公共健康问题,每年约 1 300 万人发生 AKI,我国成人 AKI 的发病率约为 11.6%,儿童 20.0%,严重 AKI 患者病死率高达 50%,全球每年约 200 万人因 AKI 死亡^[1-2],如何改善 AKI 预后是当前全球面临的挑战。

MSS4,又名 PIP5K1B,属于磷脂酰肌醇 4-磷酸 5-激酶(phosphatidylinositol-4-phosphate 5-kinase, PIP5K)家族成员,广泛分布于哺乳动物体内。通过与小 G 蛋白结合在体内代谢中发挥广泛的重要作用^[3-4]。既往研究报道 MSS4 与上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)密切相关^[5-8], EMT 是 AKI 后肾小管上皮细胞修复和肾纤维化的重要因素,其表型及标志物的改变在 AKI 后早期即可检测^[9-10]。目前 MSS4 在 AKI 后的表达及作用均未知。因此,本研究拟通过大鼠缺血再灌注损伤(ischemia/reperfusion injury, IRI)构建 AKI 模型,检测 MSS4 及其相关指标的表达变化,了解 MSS4 在 AKI 肾脏中的表达变化及作用,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

30 只无特殊病原体(SPF)级雄性 SD 大鼠,8 周龄,体重 220 g 左右,购买并饲养于重庆医科大学实验动物中心,环境温度为 $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$,湿度为 50%~70%,12 h 光照阴暗交替。

1.1.2 试剂与仪器

RIPA 裂解液、PMSF、脱脂奶粉、抗体稀释液、十二烷基硫酸钠-聚丙烯凝胶电泳(SDS-PAGE)凝胶制备试剂盒、SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液($5\times$)、BCA 蛋白浓度测定试剂盒购自碧云天生物有限公司;Schiff 染液、苏木素染液、DAPI 购自中山金桥生物有限公司;一抗:MSS4($1:200$, SC-514169, 美国 Santa 公司),波形蛋白(Vimentin, $1:200$, #5741, 美国 Cell Signaling Technology 公司), α -SMA($1:500$, #19245, 美国 Cell Signaling Technology 公司), β -actin($1:5\,000$, AC004, 武汉爱博泰克生物科技有限公

司);二抗:抗鼠 IgG(H+L, Alexa Fluor[®] 594 Conjugate, $1:1\,000$, #8890, 美国 Cell Signaling Technology 公司);抗兔 IgG(H+L, Alexa Fluor[®] 488 Conjugate, $1:1\,000$, #4412, 美国 Cell Signaling Technology 公司);lipofectamin 3000(美国 Thermo Fisher 公司)。

1.2 方法

1.2.1 大鼠 IRI 模型构建

30 只大鼠分为假手术组(5 只)和 IRI 组(25 只)。大鼠予以腹腔注射 3%戊巴比妥钠(30 mg/kg)麻醉, IRI 组做背部两侧切口,游离双侧肾蒂,使用血管夹夹闭双侧肾蒂,观察肾脏颜色变黑后计时 45 min,移去血管夹,确认肾脏颜色变鲜红后,缝合两侧切口;假手术组大鼠做背部两侧切口,游离双侧肾蒂后缝合切口。IRI 组术后 0、12、24、48、72 h 再次腹腔注射戊巴比妥钠麻醉,经大鼠眼眶采血 2 mL,并打开胸腔行心脏灌注后,取肾组织标本,去除肾脏包膜,部分肾脏固定于 4%多聚甲醛,用于肾脏病理组织染色或免疫荧光染色,剩余部分保存于一 80°C 冰箱,用于 Western blot 检测。

1.2.2 细胞缺氧/复氧模型构建

采用大鼠肾小管上皮细胞 NKR-52E 细胞构建缺氧/复氧模型, NKR-52E 细胞生长至 80%,分为对照组和复氧组,对照组继续原培养基培养,复氧组更换为无糖无血清培养基,于 1% O_2 、94% N_2 、5% CO_2 的恒温培养箱(Thermo SCIENTIFIC)中培养 6 h,然后更换为上述正常培养基,置正常培养箱中,分别继续培养 0、12、24、48、72 h。

1.2.3 肾功能检测

采集的血液于离心机离心($3\,000\text{ r/min}$, 10 min)后取上清液,采用自动分析仪(德国 Beckman 5800)检测大鼠血尿素氮、肌酐水平。

1.2.4 肾组织 PAS 染色

肾组织用 4%多聚甲醛固定过夜,冲洗、脱水、石蜡包埋后切片,行 PAS 染色观察肾脏病理损伤程度。将切片浸入高碘酸氧化液中 10~20 min,蒸馏水洗 2 次;Schiff 液染色 10~30 min,流水冲洗 5 min;苏木

素染细胞核 3~5 min,在盐酸乙醇中分化,自来水洗至细胞核变蓝;然后脱水、透明、封固。双盲情况下由 2 名肾脏病理医师在 200 倍光学显微镜下观察并评分,每个标本至少观察 10 个不重复视野。肾小管损伤的严重程度由组织学评分系统量化:0 分代表没有损伤,1 分(0%~<11%)和 2 分(11%~<21%)为轻度损伤,3 分(21%~<41%)和 4 分(41%~<61%)为中度损伤,5 分(61%~75%)和 6 分(>75%)为重度损伤。

1.2.5 免疫荧光染色

大鼠肾脏组织直接 OCT 包埋,冰冻切片机切片 6 μm ,空气干燥 2 min 后,−20 $^{\circ}\text{C}$ 储存。染色前自−20 $^{\circ}\text{C}$ 取出,室温放置使其干燥后,用冷丙酮于 4 $^{\circ}\text{C}$ 固定 10 min,0.01 mol/L 磷酸盐缓冲液(PBS)清洗后加入 1.2% 过氧化氢作用 30 min,PBS 清洗后加入 0.3% Triton X-100 作用 30 min,加入稀释至工作浓度的一抗,4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜,次日清洗后加入荧光二抗,室温避光孵育 1 h,清洗后 DAPI 染核 5 min,抗淬灭剂封片,荧光显微镜下观察。

大鼠肾小管上皮细胞爬片后行免疫荧光染色。4%多聚甲醛(PBS 配制)固定 20 min,除去多聚甲醛清洗后加入 0.5% Triton X-100 室温通透 20 min,清洗后 3% H_2O_2 孵育 15 min,清洗后 3% H_2O_2 孵育 15 min,清洗后 10% 与二抗同源的血清封闭 0.5 h,滴加足够量适宜浓度的一抗,4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜,次日清洗后加入荧光二抗,室温避光孵育 1 h,清洗后 DAPI 染核 5 min,取出爬片吸干其上液体,抗淬灭剂封片,荧光显微镜下观察。使用 ImageJ 软件对免疫荧光强度进行定量。各组实验重复 3 次。

1.2.6 Western blot 检测

各组大鼠肾组织经充分碾磨后,加入含 1% PMSF 的 RIPA(碧云天)冰上裂解 40~60 min,4 $^{\circ}\text{C}$ 13 400 r/min 离心 15 min,取上清液采用 BCA 法测定蛋白浓度后,将上清液与 SDS 缓冲液混匀,100 $^{\circ}\text{C}$ 加热 6 min 至蛋白变性。采用 SDS-PAGE 电泳法从每个样品中分离出 80 μg 蛋白,湿转法将蛋白转移到聚偏氟乙烯膜上,使用 5% 脱脂牛奶常温封闭 1.5 h,4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育一抗过夜。次日洗膜后加入相应的二抗,室温避光孵育 2 h。再次避光洗膜后,采用双色红外激光成像系统(Odyssey CLX, Gene Company Limited)显影。使用 ImageJ 软件对蛋白条带的强度进行定量。各组实验重复 3 次。

1.2.7 转染 siRNA

NKR-52E 细胞转染小干扰 RNA(small interfering RNA, siRNA) MSS4 沉默 MSS4, siRNA MSS4 正向序列 5'-GCU UUA CUC AAA CAG CAA ATT-3',作为对照的 NKR-52E 细胞转染 siRNA

negative control(NC), siRNA NC 正向序列 5'-UUU GCU GUU UGA GUA AAG CTT-3'。随后,分别将 NKR-52E 细胞接种贴壁,密度达到 70% 无血清饥饿 12 h,将稀释的 siRNA 和 Lipo 3000 试剂混合后室温放置,形成 siRNA/lipo 3000 混合物,每个 6 孔板中加入 1.9 mL 无血清培养基及 100 μL siRNA/lipo-3000 混合液,37 $^{\circ}\text{C}$ 温育 24 h 后再缺氧 6 h 复氧 48、72 h,免疫荧光染色以 α -SMA 表达水平变化来表示。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 20.0 软件进行数据分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,比较采用 t 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 IRI 后肾功能及 PAS 染色肾损伤情况

与假手术组比较,IRI 组血尿素氮、血肌酐水平明显升高,差异有统计学意义($P < 0.05$),12 h 最高,72 h 恢复正常。肾组织 PAS 染色结果显示,假手术组肾小管上皮细胞排列紧密整齐,细胞形态规则,刷状缘完整,管腔清晰;IRI 组 12 h 后可见肾小管上皮细胞大量坏死、脱落,基底膜裸露,至 72 h 仍可见少部分小管上皮细胞排列紊乱、间质增宽。肾小管损伤评分 12 h 最高,72 h 仍高于假手术组,见图 1。

2.2 IRI 后肾脏中 MSS4 的表达变化

与假手术组比较,IRI 组 48、72 h 的 MSS4 表达水平明显增加,差异有统计学意义($P < 0.05$),见图 2。

2.3 IRI 后肾脏 MSS4 的定位及表达情况

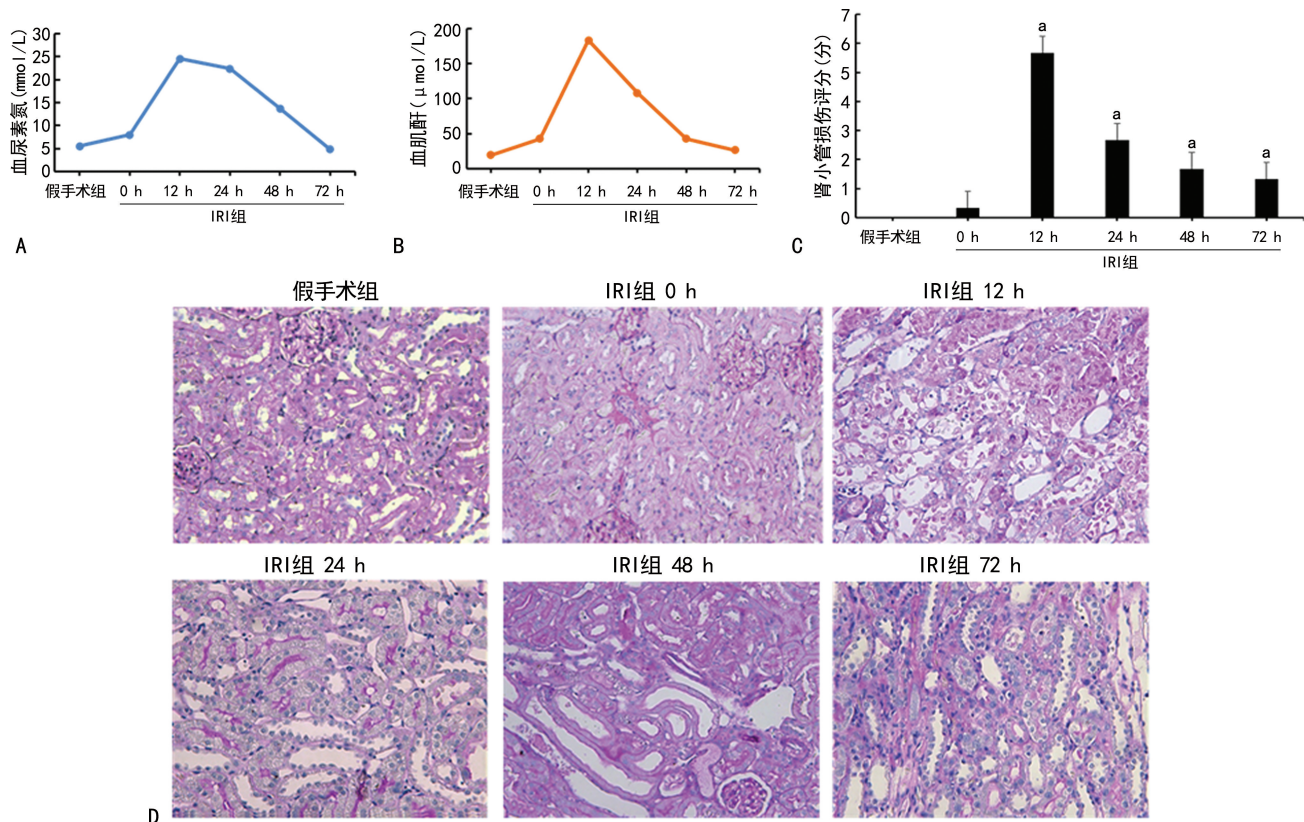
肾组织免疫荧光显示,与 Vimentin 定位一致,MSS4 主要表达于肾小管上皮细胞,且 IRI 组 48、72 h 的 MSS4 及 Vimentin 表达水平高于假手术组,差异有统计学意义($P < 0.05$),见图 3。

2.4 NKR-52E 细胞缺氧/复氧后 MSS4、 α -SMA 的表达情况

细胞免疫荧光显示,随复氧时间的延长,复氧组 MSS4、 α -SMA 表达水平增加,复氧组 72 h 明显高于 0 h($P < 0.05$)。对照组常规培养,培养时间与复氧组 72 h 一致,复氧组 72 h MSS4、 α -SMA 表达仍高于对照组($P < 0.05$),见图 4。

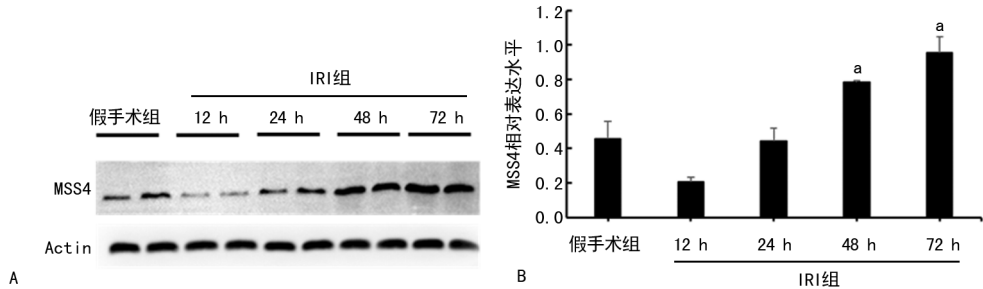
2.5 沉默 MSS4 对 NKR-52E 细胞缺氧/复氧后 α -SMA 表达的影响

转染 siRNA MSS4 的 NKR-52E 细胞 MSS4 蛋白表达水平明显降低($P < 0.05$)。细胞免疫荧光染色显示,NKR-52E 细胞缺氧 6 h 复氧 48、72 h 后,转染 siRNA MSS4 的 NKR-52E 细胞 α -SMA 表达水平降低($P < 0.05$),见图 5。



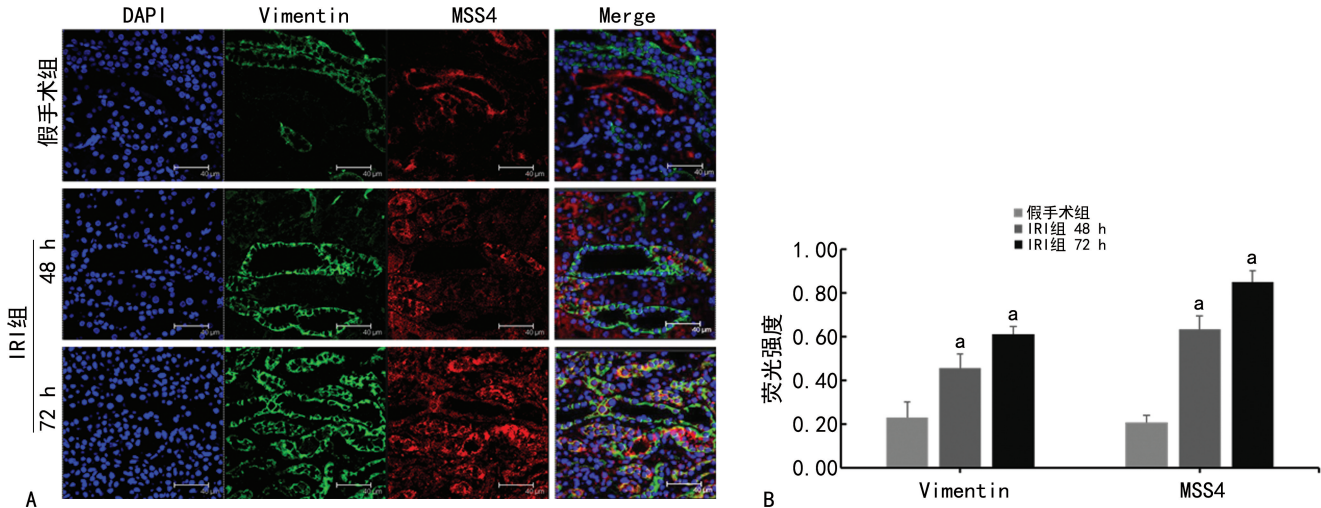
A: 血尿素氮; B: 血肌酐; C: 肾小管损伤评分; D: 肾脏 PAS 染色 (×200); ^a: $P < 0.05$, 与假手术组比较。

图 1 两组肾功能、肾组织 PAS 染色情况



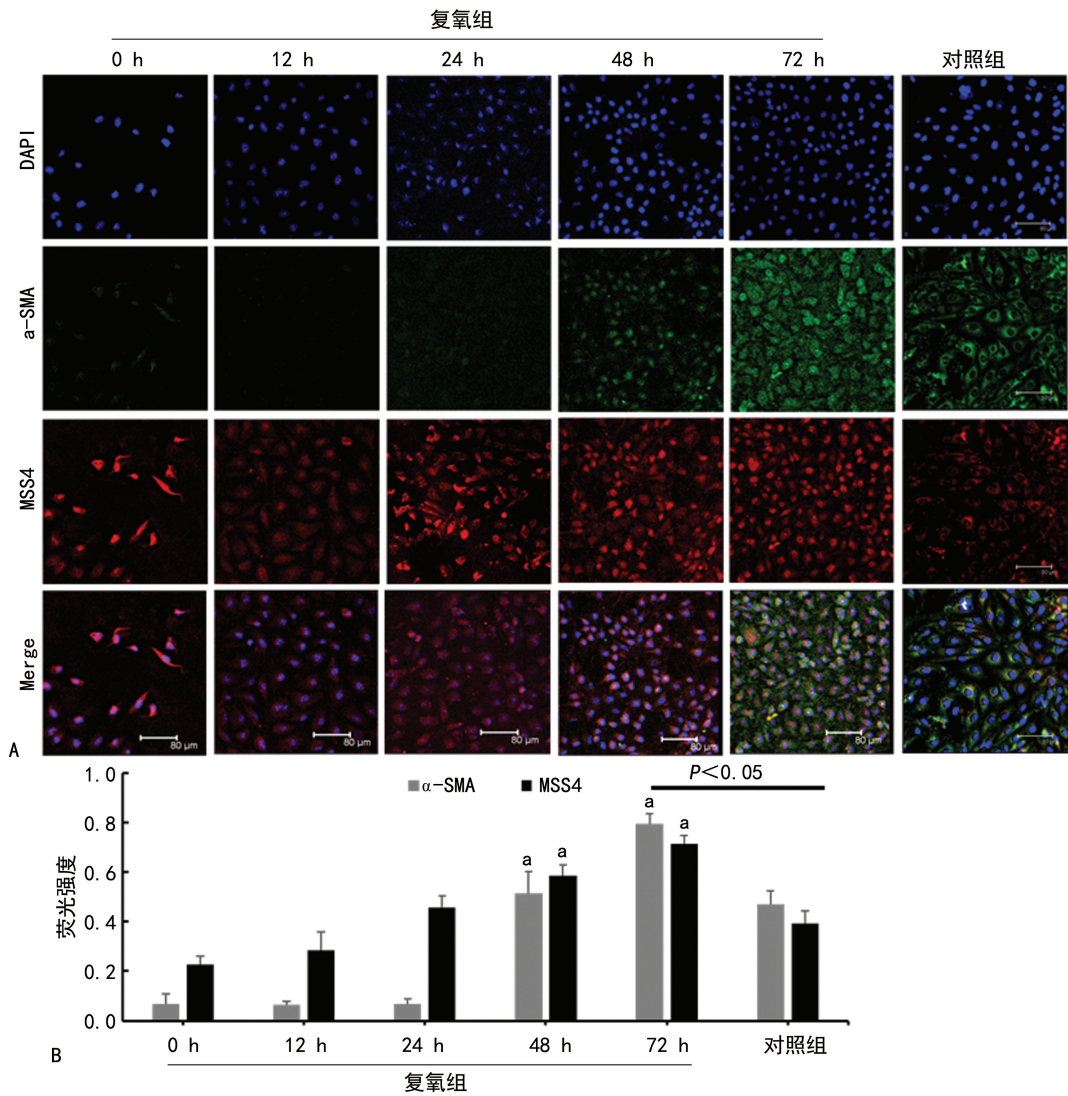
A: Western blot 蛋白条带; B: MSS4 灰度值与 β -actin 灰度值的比值柱形图; ^a: $P < 0.05$, 与假手术组比较。

图 2 大鼠 IRI 后不同时间点大鼠肾脏 MSS4 的表达变化情况



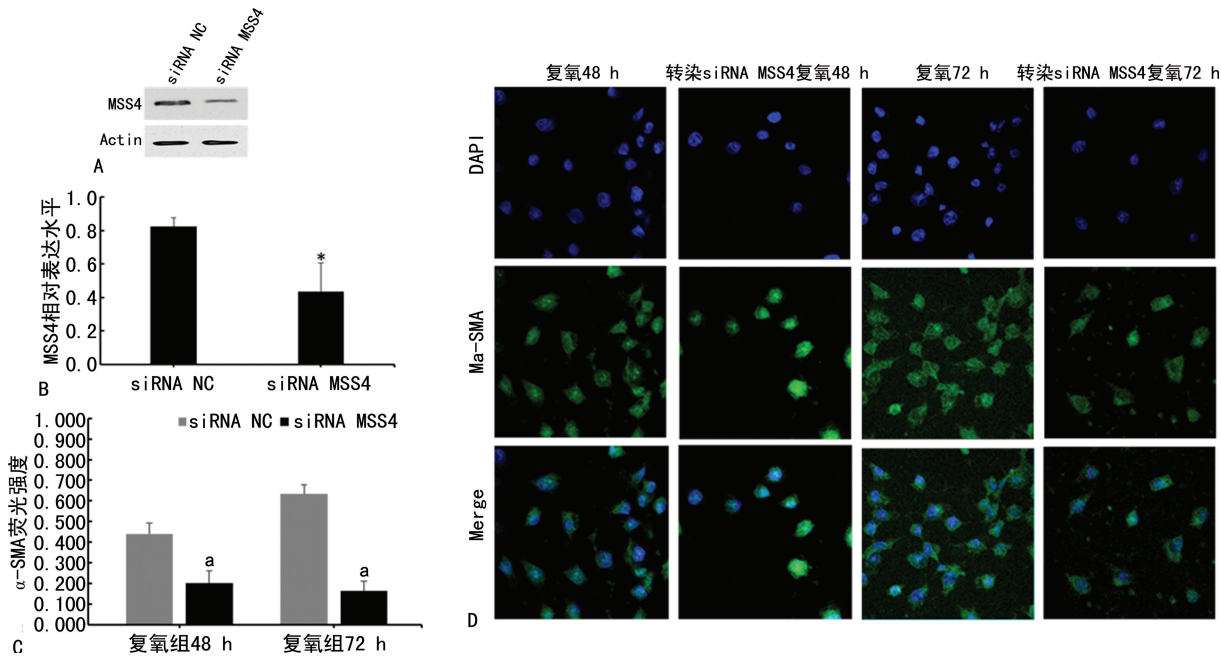
A: 免疫荧光染色 (×400); B: 免疫荧光强度分析; ^a: $P < 0.05$, 与假手术组比较。

图 3 IRI 后肾脏 MSS4 的定位及表达情况



A:免疫荧光染色($\times 800$);B:免疫荧光强度分析;^a: $P < 0.05$,与复氧组 0 h 比较。

图 4 NKR-52E 细胞缺氧/复氧后免疫荧光染色



A:Western blot 蛋白条带;B:MSS4 灰度值与 β -actin 灰度值的比值柱形图;C: α -SMA 免疫荧光强度分析;D:免疫荧光染色($\times 1\,000$);^a: $P < 0.05$,与 siRNA NC 比较。

图 5 免疫荧光检测沉默 MSS4 后 NKR-52E 细胞缺氧/复氧 α -SMA 表达

3 讨 论

临床上 AKI 的最常见病因是 IRI,以双侧受累为主。动物模型中可采取单侧或双侧肾动脉夹闭构建 AKI 模型^[12],本研究中采用夹闭双侧肾动脉 45 min 成功构建了 IRI 诱导的大鼠 AKI 模型,IRI 组大鼠血尿素氮、血肌酐水平在术后 12 h 明显升高,72 h 恢复。

肾小管上皮细胞是 AKI 时关键的靶细胞,也是修复的主要参与者。AKI 后肾小管上皮细胞的修复分为完全修复和不完全修复,前者肾脏功能、结构完全恢复,后者肾小管上皮细胞修复障碍,启动纤维化^[11]。EMT 是指肾小管上皮细胞失去上皮细胞的表型和特性,成为间充质细胞,从而具有强大的增殖和多向分化潜能。在完全修复中,AKI 后肾小管上皮细胞首先受累发生去分化,细胞骨架的完整性和极性破坏,上皮细胞标志(E-钙黏蛋白、急性单核细胞等)消失,出现 Vimentin 及其他间充质细胞的表型,随后在各种修复机制的作用下发生去分化的肾小管上皮细胞增殖、移行,并进行再分化,从而再生修复,Vimentin 等随即消失,而 E-钙黏蛋白重新表达,肾小管结构重建,肾脏功能恢复。而在不完全修复中,肾小管上皮细胞发生 EMT 后不能恢复上皮细胞表型,从而分化为肌成纤维细胞,分泌大量胶原蛋白、层粘连蛋白等细胞外基质,参与肾间质纤维化^[12-13]。既往研究表明,AKI 后早期即可观察到 EMT 表型及细胞形态的改变。在小鼠缺血再灌注 AKI 模型中,再灌注 72 h 上皮表型 E-钙黏蛋白表达降低,间质细胞表型 α -SMA 表达明显升高,在 HK-2 细胞的缺氧/复氧 24 h 后也观察到 α -SMA 的表达上调^[9];盲肠结扎穿刺 48 h 及脂多糖处理 HK-2 细胞 48 h 模拟体内外脓毒血症 AKI 模型,亦观察到 α -SMA、Vimentin 升高,E-钙黏蛋白表达降低,肾小管上皮细胞出现分支及间隙增加、纺锤形等间质细胞形态^[10]。本研究在缺血再灌注体内和缺氧/复氧体外模型中均观察到 AKI 后 72 h α -SMA、Vimentin 的表达明显升高,证实了肾小管上皮细胞 EMT 的发生。

进一步探究 MSS4 的表达及其与 EMT 的关系,免疫荧光双染色 MSS4 和 Vimentin,发现两者均定位于肾小管上皮细胞,表达水平具有一致性,均在 AKI 后 72 h 明显增加。体外实验中,缺氧/复氧后 MSS4 与 α -SMA 的表达高峰一致,利用 siRNA 沉默 MSS4,可抑制大鼠肾小管上皮细胞表达 α -SMA。证实 MSS4 参与调控 AKI 后肾小管上皮细胞 EMT,但其机制尚不清楚。

MSS4 是 1988 年在酵母中发现的,其与哺乳动物体内的 PIP5K 同源,是具有双重底物特异性的一种脂质激酶,除了可将 PI(4)P 转换为 PI(4,5)P₂/PI(3)P

转换为 PI(3,4)P₂ 以外,还为磷酸肌醇代谢与肌动蛋白细胞骨架之间提供了联系,若 MSS4 缺乏,细胞在极化细胞生长过程中无法形成肌动蛋白,且无法正确定位其细胞骨架。EMT 以细胞骨架的重塑为基础,在此过程中,MSS4 调控肌动蛋白丝装配在维持细胞的形态和运动中起着重要作用。EMT 发生时,一旦细胞受到上皮向间质形态转变信号,接收的信息以力的形式发生传递,细胞内骨架开始重新排列,细胞需要承受严重的变形,细胞形状的改变导致内部骨架网络重新排列。上皮细胞的角蛋白逐渐减少直至被骨架蛋白、波形蛋白代替。在关于肿瘤细胞的研究中已明确,可通过调节肌动蛋白细胞骨架重塑来调节 EMT^[5-8]。MSS4 还参与凋亡的调控^[15],具有明显的抗凋亡作用。受外界刺激后,细胞内 MSS4 的表达水平迅速改变,上调的 MSS4 通过与真核细胞翻译起始复合物的成员及具有明显促凋亡特性的蛋白质相互作用,来防止细胞程序性死亡。而对凋亡的抵抗与 EMT 的发生密切相关^[16-17]。早期的研究还发现,MSS4 还可以通过驱动 MT1-MMP/整合素蛋白复合物的协同作用,调节 MT1-MMP 在新形成的丝状伪足和片状脂质体中的表达和激活。这促进了前 MMPs 向 MMPs 的转化,导致 ECM 蛋白的裂解和重塑^[18]。M1-MMP 的激活进一步诱导 EMT 的发生^[19]。但上述 MSS4 与 EMT 的相关机制均是在肿瘤细胞中研究的,在肾脏中 MSS4 对 EMT 的调控机制还需进一步验证。

本研究尚存在一定局限性,仅证实了 MSS4 与 EMT 的相关性,未能明确其宏观作用为促修复还是纤维化。在今后的实验中,需构建不同损伤程度的动物模型,并延长 AKI 后观察时间,以进一步明确 MSS4 在 AKI 后的作用。

综上所述,在 IRI 所致大鼠 AKI 肾脏中,MSS4 表达于肾小管上皮细胞,AKI 后 72 h 明显增加,参与调控肾小管上皮细胞 EMT,但其调节机制及在 AKI 远期进程中的作用尚待进一步研究。

参考文献

- [1] XU X, NIE S, LIU Z, et al. Epidemiology and clinical correlates of aki in chinese hospitalized adults[J]. Clin J Am Soc Nephrol, 2015, 10(9): 1510-1518.
- [2] XU X, NIE S, ZHANG A, et al. Acute kidney injury among hospitalized children in China[J]. Clin J Am Soc Nephrol, 2018, 13(12): 1791-1800.
- [3] GULBRANSON D R, DAVIS E M, DEMMITT

- B A, et al. RABIF/MSS4 is a Rab-stabilizing holdase chaperone required for GLUT4 exocytosis[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2017, 114 (39):E8224-8233.
- [4] WU L, XU D, ZHOU L, et al. Rab8a-AS160-MSS4 regulatory circuit controls lipid droplet fusion and growth[J]. *Dev Cell*, 2014, 30 (4): 378-393.
- [5] PENG J M, BERA R, CHIOU C Y, et al. Actin cytoskeleton remodeling drives epithelial-mesenchymal transition for hepatoma invasion and metastasis in mice[J]. *Hepatology*, 2018, 67 (6):2226-2243.
- [6] HUANG D, CAO L, ZHENG S. CAPZA1 modulates EMT by regulating actin cytoskeleton remodelling in hepatocellular carcinoma[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2017, 36(1):13.
- [7] SOUSA-SQUIAVINATO A C M, ROCHA M R, BARCELLOS-DE-SOUZA P, et al. Cofilin-1 signaling mediates epithelial-mesenchymal transition by promoting actin cytoskeleton reorganization and cell-cell adhesion regulation in colorectal cancer cells[J]. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res*, 2019, 1866(3):418-429.
- [8] 刘扬, 王金佩, 黄国友, 等. 肿瘤上皮-间质转化 (EMT) 的生物力学特性研究进展[J]. *西南民族大学学报(自然科学版)*, 2020, 46(6):571-577.
- [9] WANG W, WANG A, LUO G, et al. S1P1 receptor inhibits kidney epithelial mesenchymal transition triggered by ischemia/reperfusion injury via the PI3K/Akt pathway[J]. *Acta Biochim Biophys Sin*, 2018, 50(7):651-657.
- [10] WANG X, LI Y, ZHAO Z, et al. IGFBP7 regulates sepsis-induced epithelial-mesenchymal transition through ERK1/2 signaling[J]. *Acta Biochim Biophys Sin*, 2019, 51(8):799-806.
- [11] 杨莉. 急性肾损伤发病与修复的机制[J/CD]. *中华肾病研究电子杂志*, 2013, 2(3):120-124.
- [12] 陈金颖, 杨陈, 刘华锋. 肾小管上皮细胞损伤在急性肾损伤向慢性肾脏病转化中的作用[J]. *中华肾脏病杂志*, 2017, 33(2):155-160.
- [13] LOVISA S, LEBLEU V S, TAMPE B, et al. Epithelial-to-mesenchymal transition induces cell cycle arrest and parenchymal damage in renal fibrosis[J]. *Nat Med*, 2015, 21 (9): 998-1009.
- [14] WALTER B M, NORDHOFF C, VARGA G, et al. Mss4 protein is a regulator of stress response and apoptosis[J]. *Cell Death Dis*, 2012, 3 (4): e297.
- [15] SU Z, YANG Z, XU Y, et al. Apoptosis, autophagy, necroptosis, and cancer metastasis[J]. *Mol Cancer*, 2015, 14:48.
- [16] HAN Q, ZHANG W, MENG J, et al. LncRNA-LET inhibits cell viability, migration and EMT while induces apoptosis by up-regulation of TIMP2 in human granulosa-like tumor cell line KGN[J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 100: 250-256.
- [17] KNOBLAUCH A, WILL C, GONCHARENKO G, et al. The binding of Mss4 to alpha-integrin subunits regulates matrix metalloproteinase activation and fibronectin remodeling[J]. *FASEB J*, 2007, 21(2):497-510.
- [18] JIANG W, ZHANG Y, KANE K T, et al. CD44 regulates pancreatic cancer invasion through MT1-MMP[J]. *Mol Cancer Res*, 2015, 13(1):9-15.
- [19] NGUYEN H L, KADAM P, HELKIN A, et al. MT1-MMP activation of TGF- β signaling enables intercellular activation of an epithelial-mesenchymal transition program in cancer[J]. *Curr Cancer Drug Targets*, 2016, 16 (7): 618-630.

(收稿日期:2021-06-18 修回日期:2021-10-03)