

文章编号 1006-8147(2019)03-0205-06

论 著

# 雷公藤甲素通过调节 TGF- $\beta$ 1 信号通路和 Hippo 信号通路影响肾小管上皮细胞的上皮-间充质转化

臧 勇<sup>1</sup>, 田 园<sup>1,2</sup>, 李卫东<sup>1</sup>

(1. 天津医科大学基础医学院遗传学系, 天津 300070; 2. 贵阳市第一人民医院输血科, 贵阳 550002)

**摘要** 目的: 研究雷公藤甲素(TP)对肾小管纤维化抑制作用的机制。方法: 将 HK-2 分成 3 组, 阴性对照组不做处理, TGF- $\beta$ 1 组用 TGF- $\beta$ 1 处理, TGF- $\beta$ 1+TP 组用 TGF- $\beta$ 1 和 TP 处理, 培养 48 h 观察细胞的形态, 利用 RNA 测序技术检测各组中 mRNA 的表达, 通过 KEGG 基因富集筛选相关通路, 用 Western blot 检测 EMT 相关蛋白及富集所得信号通路中重要蛋白的表达。结果: TP 处理可致 HK-2 形态改变。RNA 测序和 KEGG 富集分析显示, TP 显著影响 TGF- $\beta$  信号通路和 Hippo 信号通路相关基因的表达。Western blot 结果表明 TP 可影响 HK-2 细胞 EMT 相关蛋白、TGF- $\beta$ 1 信号通路和 Hippo 信号通路中的重要指标蛋白的表达。结论: TP 可通过调节 TGF- $\beta$ 1 信号通路和 Hippo 信号通路抑制肾小管上皮细胞发生上皮-间充质转化。

**关键词** 雷公藤甲素; 上皮间充质转化; 纤维化; 肾小管上皮细胞

中图分类号 R915

文献标志码 A

## Triptolide affects epithelial-mesenchymal transition of renal tubular epithelial cells by regulating TGF- $\beta$ 1 and Hippo signaling pathways

ZANG Yong<sup>1</sup>, TIAN Yuan<sup>1,2</sup>, LI Wei-dong<sup>1</sup>

(1. Department of Genetics, School of Basic Medical Sciences, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China; 2. Department of Blood Transfusion, The First People's Hospital of Guiyang, Guiyang 550002, China)

**Abstract Objective:** To investigate the mechanism of the inhibition of triptolide (TP) on renal tubular fibrosis, by using renal tubular epithelial cells (HK-2) as a model system to identify TP regulated signaling pathways through RNA sequencing and Western blot. **Methods:** HK-2 cells were divided into 3 groups: the untreated normal control group, the TGF- $\beta$ 1 group (cells were stimulated by 20 ng/mL TGF- $\beta$ 1), and the TGF- $\beta$ 1+TP group (cells were stimulated by 20 ng/mL TGF- $\beta$ 1 and 10 nmol/L TP). Cells were observed by microscope after cultured for 48 h. RNA sequencing was performed to detect mRNA expressions in different groups. KEGG pathway enrichment was performed to analyze the differential expressed genes. Western blot was used to detect the various proteins of EMT, TGF- $\beta$ 1, and Hippo pathway markers. **Results:** HK-2 cells morphology changed significantly when stimulated by TP. RNA sequencing and KEGG pathway enrichment analyses showed that TP had impacts on TGF- $\beta$  and Hippo signaling pathways. Expressions of marker proteins of EMT, TGF- $\beta$ 1, and Hippo signaling pathways, such as E-cadherin, N-cadherin, Vimentin, Smad2/3, TGF- $\beta$ 1, and TAZ were changed significantly when HK-2 cells were stimulated by TP ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** TP may affect the expressions of TGF- $\beta$ 1 and Hippo signaling pathway hallmark genes, and inhibited the occurrence of EMT that induced by TGF- $\beta$ 1.

**Key words** triptolide; epithelial mesenchymal transformation; fibrosis; renal tubular epithelial cells

导致慢性肾病(chronic kidney disease, CKD)的原因多种多样,但发生慢性肾病过程却有共同的途径,即细胞外基质积累、肾小管上皮细胞和其他组织发生纤维化导致终末期肾功能衰竭<sup>[1-2]</sup>。细胞上皮-间充质转化(epithelial mesenchymal transformation, EMT)是组织发生纤维化的一种重要方式,在这个过程中,内皮细胞失去粘附性和顶-基底极性,形成高度侵袭性、转移性的纺锤形间充质

细胞<sup>[2]</sup>。雷公藤甲素(triptolide, TP),又称雷公藤内酯醇,是从中药雷公藤中分离出来的一种二萜三环氧化合物,具有抗炎、调节免疫的作用<sup>[3]</sup>。TP 在临床中被用于治疗肾小球肾炎、IgA 肾病和膜性肾病,其可能的机制是具有免疫抑制和抗炎的作用。笔者的前期研究也发现了 TP 可以通过调节 HIF1  $\alpha$  通路影响血管内皮的增殖。在本研究中,笔者希望通过研究 TP 对肾小管上皮细胞 EMT 的影响及其作用通路,进一步探究 TP 对 TGF- $\beta$  所致 EMT 的抑制作用及可能的分子机制。实验中,使用 TGF- $\beta$ 1 和 TGF- $\beta$ 1+TP 诱导肾小管 HK-2 细胞,采用 RNA 测序技术检测空白对照组、TGF- $\beta$  组、TGF- $\beta$ +TP 组

基金项目 国家重点研发计划项目资助(2017YFC1001900)

作者简介 臧勇(1992-),男,硕士在读,研究方向:病理与病理生理学;  
通信作者:李卫东, E-mail:liweidong98@tmu.edu.cn; 田园, E-mail: 1129424744@qq.com。

中 mRNA 的表达,通过 KEGG 基因富集筛选出 20 条显著性 Q 值最小的通路。其中富集的通路中 Hippo 和 TGF- $\beta$  信号通路与细胞黏附、细胞极性、EMT 等相关。因此本研究选取了上述两条信号通路进行进一步的探究。在光学显微镜和荧光显微镜下观察 3 组细胞形态改变;Western blot 检测 EMT 相关蛋白表达水平的改变,以确定 TP 能否抑制肾小管内皮细胞发生内皮间充质转化,并通过比较 3 组细胞 TGF- $\beta$ 1 信号通路和 Hippo 信号通路中的重要标志蛋白的表达水平,进一步解释 TP 通过调节 TGF- $\beta$ 1 信号通路和 Hippo 信号通路抑制肾小管纤维化。

## 1 材料与方法

1.1 实验材料 人近曲肾小管细胞系(HK-2 细胞)购自中国北纳公司;胎牛血清(FBS)购自中国四季青公司;TP 购自中国上海源叶公司;DMEM 培养基购自中国上海培源生物公司;重组 TGF- $\beta$ 1 从美国 B&D Systems 公司购买;抗体 Vimentin, Smad2/3, TGF- $\beta$ R1, GAPDH 从美国 Cell Signaling Technology 公司购买;抗体 E-cadherin 从美国 Immuno Way 购买,抗体 N-cadherin 从中国博奥森公司购买。

### 1.2 方法

1.2.1 细胞培养 HK-2 细胞用含 10% FBS、1%青霉素和链霉素的 DMEM 高糖培养基,在 5% CO<sub>2</sub>, 37 °C 培养箱中培养。

1.2.2 细胞处理与鉴定 将细胞分成 3 组后用无 FBS 和双抗的 DMEM 培养基饥饿培养 4 h 后做以下处理,阴性对照组(NC)用含 10% FBS、1%青霉素和链霉素的 DMEM 高糖培养基培养;TGF- $\beta$ 1 组用含 20 ng/mL TGF- $\beta$ 1、10% FBS、1%青霉素和链霉素的 DMEM 高糖培养基培养;TGF- $\beta$ 1+TP 组用含 20 ng/mL TGF- $\beta$ 1、10 nmol/L TP、10% FBS、1%青霉素和链霉素的 DMEM 高糖培养基培养。细胞培养 48 h。通过显微镜观察细胞的形态以及 Western blot 结果来确定传代后细胞保持了其上皮细胞的生物学特性。

1.2.3 RNA 样品制备和 RNA 测序 按上述的操作处理各组细胞,每组两个重复。用 Trizol 充分裂解细胞,每个样品细胞数目至少  $5 \times 10^6$ ,将裂解后的溶液转移到 15 mL 离心管中并送至北京百迈克生物科技有限公司进行测序分析,实验流程如下:(1)RNA 样品提取与检测;(2)mRNA 富集,反转录;(3)末端修复、3'加 A;(4)连接接头;(5)PCR 富集;(6)文库构建;(7)上机检测。将得到的数据进行过滤处理,并用指定的参考基因组进行序列比较,对获得的比较结果进行文库的质量评估。在计算出单个基因的表达量后,筛选出差异表达的基因,并用 KEGG 数据

库对差异基因进行富集。

1.2.4 免疫印记检测蛋白表达水平 用含有蛋白酶抑制剂的 RIPA 收取细胞后置于预冷的 EP 管静置 20 min,4 °C 12 000 r/min 离心 20 min,收取上清。使用 BCA 试剂盒测定蛋白浓度后,将得到的蛋白质和 4×loading buffer 1:3 混合,并在 100 °C 加热 5 min。用 10% SDS-PAGE 分离蛋白,后用湿转法将蛋白转移大 PVDF 膜上。根据蛋白 marker 裁剪 PVDF 膜,用牛奶封闭 2 h,分别用相应抗体孵育过夜。将用一抗孵育过的 PVDF 膜用 TBST 清洗后和相应的二抗孵育 2 h。蛋白条带用增强化学发光法检测,在暗室中曝光胶片,显示条带。用 Image J 软件定量蛋白表达水平。每组 3 个重复。

1.2.5 免疫荧光 采取上述方法分组处理,将细胞种在 24 孔板中,细胞密度为 10 000/孔,将细胞爬片用 PBS 清洗,4%多聚甲醛固定 15 min,PBS 清洗。用 5%的牛血清白蛋白(BSA)封闭 30 min 后加入相应抗体 4 °C 孵育过夜,PBS 清洗,荧光二抗孵育 2 h。用含有 DAPI 的防淬灭封片剂封片,用荧光显微镜观察。

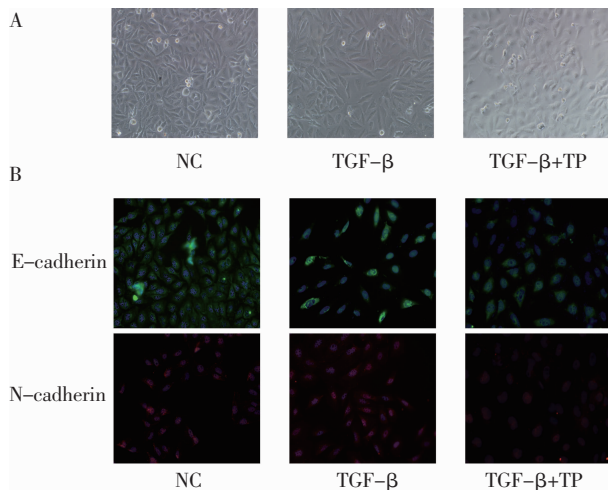
1.3 统计学处理 采用 SPSS22.0 统计软件进行统计学分析,其中两组样本比较采用独立样本 *t* 检验,统计相应结果  $P < 0.05$ 。采用 Image J、Graph Pad Prism 6、Adobe Photoshop CS6、Adobe illustrator CS6 对相关的图像做处理。

## 2 结果

2.1 显微镜下观察 HK-2 形态变化和荧光显微镜下 E-cadherin、N-cadherin 的表达 显微镜下观察到 NC 组的细胞呈现出铺路石状,细胞间连接紧密;在 TGF- $\beta$ 1 组中细胞变成长梭形,细胞间紧密连接消失;TGF- $\beta$ 1+TP 组的细胞呈现出铺路石状,细胞间未出现紧密连接(图 1A)。TGF- $\beta$ 1 诱导 HK-2 细胞 48 h 后,E-cadherin 表达水平下降,N-cadherin 表达水平上升。TGF- $\beta$ 1 和 TP 共同刺激 HK-2 细胞 48 h,E-cadherin 和 N-cadherin 表达变化不明显(图 1B)。

2.2 KEGG 基因富集通路 对 RNA 测序的结果进行质控后,利用 KEGG 进行通路富集,两两对照显著性 Q 值最小前 20 个通路,Q 值越小且 EF 值越大代表通路的参考价值越大。由此笔者筛选出与 EMT 关系密切的两条通路即 TGF- $\beta$ 1 信号通路和 Hippo 信号通路(图 2)。

2.3 Western blot 检测细胞中 E-cadherin 和 Vimentin、N-cadherin 的表达水平 TGF- $\beta$ 1 组和 NC 组比较,TGF- $\beta$ 1 诱导 HK-2 时,细胞中的 E-cadherin 表达水平下降,Vimentin、N-cadherin 表达水平上升,说明 HK-2 发生了 EMT。当 TGF- $\beta$ 1 和 TP 共同诱



A. HK-2 细胞分别经过未处理、20 ng/mL TGF- $\beta$ 1、20 ng/mL TGF- $\beta$ 1 和 10 nmol/L TP 诱导 48 h 后,细胞形态的改变(200 $\times$ );B. HK-2 细胞分别经过未处理、20 ng/mL TGF- $\beta$ 1、20 ng/mL TGF- $\beta$ 1 和 10 nmol/L TP 诱导 48 h 后 E-cadherin、N-cadherin 的表达(200 $\times$ )

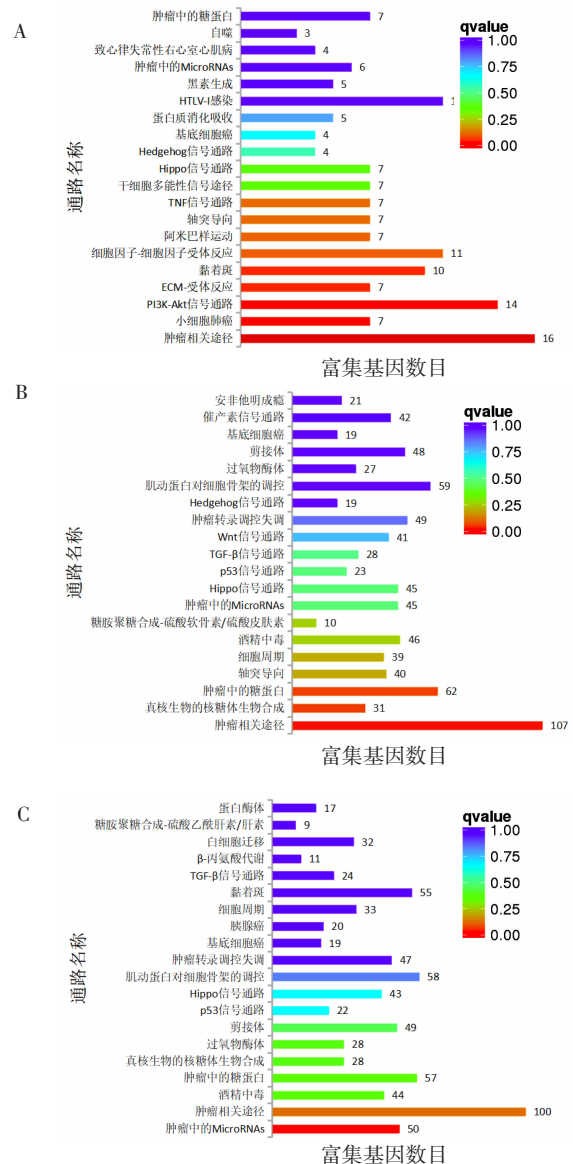
图 1 HK-2 细胞形态的改变和荧光显微镜下观察 HK-2 细胞 E-cadherin、N-cadherin 的表达

Fig 1 Morphological changes of HK-2 cells and expressions of E-cadherin and N-cadherin of HK-2 cells under fluorescence microscope

导 HK-2 时与 TGF- $\beta$ 1 组相比,E-cadherin 的表达水平上升,Vimentin、N-cadherin 表达水平下降(图 3)。说明 TP 抑制了 HK-2 发生 EMT。

2.4 Western blot 检测细胞中 TGF- $\beta$ 1 信号通路关键蛋白 Smad2/3、TGF- $\beta$ 1 的表达水平 TGF- $\beta$ 1 组和 NC 组比较,TGF- $\beta$ 1 诱导 HK-2 时,细胞中的 Smad2/3、TGF- $\beta$ 1 表达水平上升,当 TGF- $\beta$ 1 和 TP 共同诱导 HK-2 时与 TGF- $\beta$ 1 组相比,Smad2/3、TGF- $\beta$ 1 表达水平下降(图 4)。

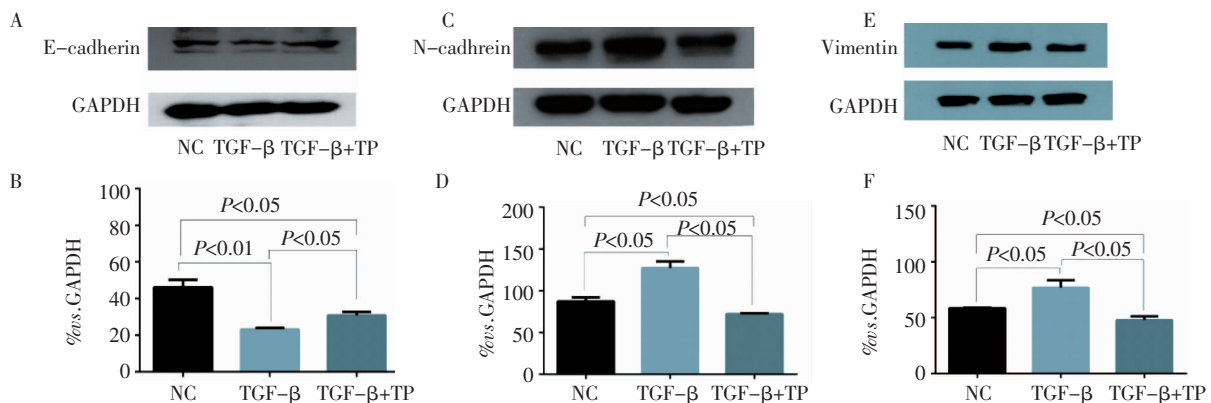
2.5 Western blot 检测细胞中 Hippo 信号通路中关键蛋白 TAZ 的表达水平 与 NC 组比较,用 TGF- $\beta$ 1 诱导 HK-2 时,细胞中的 TAZ 表达水平上升,用 TGF- $\beta$ 1 和 TP 共同诱导 HK-2 时 TAZ 表达水平下降(图 5)。



A. NC 组与 TGF- $\beta$ 1 组的比较;B. NC 组与 TGF- $\beta$ 1+TP 组的比较;C. TGF- $\beta$ 1 组与 TGF- $\beta$ 1+TP 组的比较

图 2 利用 KEGG 进行通路富集,成对对照中显著性 Q 值最小的前 20 个通路

Fig 2 KEGG pathway enrichment analysis shows the first 20 pathways with the most significant Q values

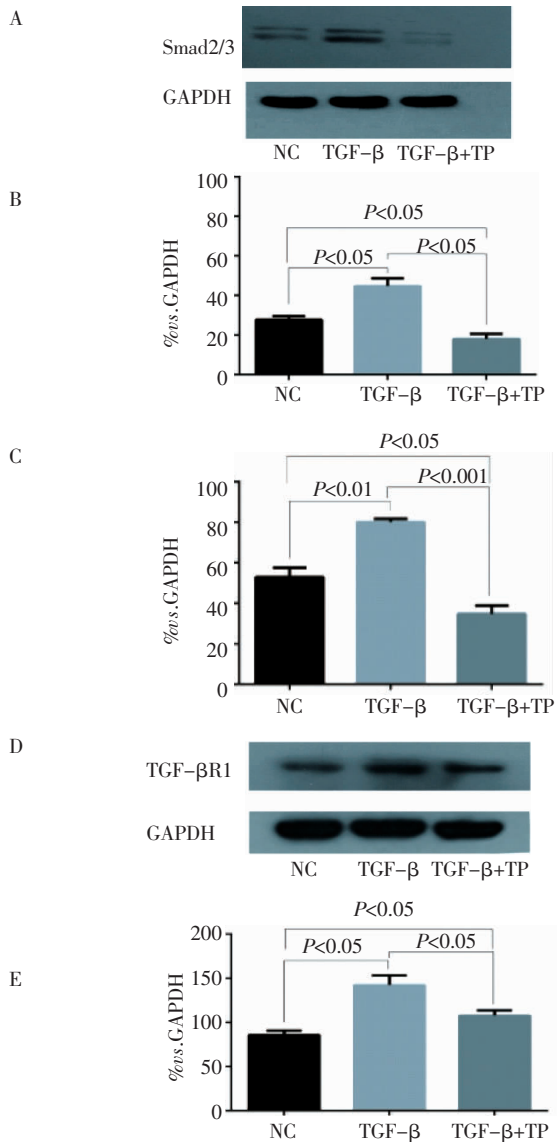


A, B. E-cadherin 在不同处理组中的表达;C, D. N-cadherin 在不同处理组中的表达;E, F. Vimentin 在不同处理组中的表达

图 3 细胞发生 EMT 过程中标志蛋白的表达水平

Fig 3 Expressions of protein markers in the process of EMT

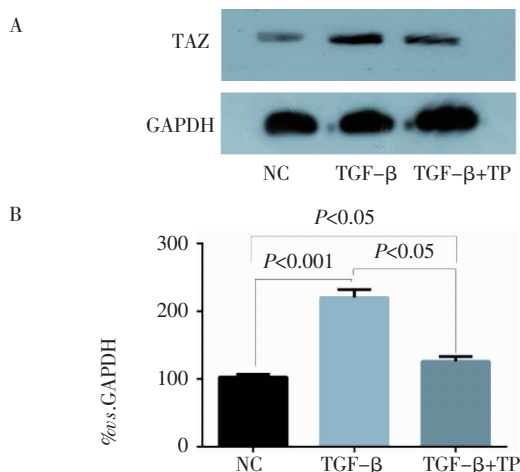




A, B. Smad2 在不同处理组中的表达; A, C. Smad3 在不同处理组中的表达; D, E. TGF-βR1 在不同处理组中的表达

图 4 细胞中 TGF-β1 信号通路中标志蛋白的表达水平

Fig 4 Expressions of protein markers in the TGF-β1 signaling pathway



A, B. TAZ 在不同处理组中的表达水平

图 5 细胞中 Hippo 信号通路中标志蛋白的表达

Fig 5 Expression of protein markers in the Hippo signaling pathway

### 3 讨论

导致慢性肾病的病因多种多样,如高血压、糖尿病、肾盂肾炎、过敏性紫癜等,慢性肾病如果没有得到及时的治疗便会逐渐发展成为慢性肾功能不全乃至肾衰竭。慢性肾病的发展有一个共同的过程,即发生肾小管纤维化<sup>[1]</sup>,而 EMT 是一种常见的组织纤维化形式<sup>[4]</sup>。肾小管发生 EMT 是慢性肾病过程中的一个重要环节。有研究表明,抑制肾小管发生 EMT 可以有效地抑制肾脏发生纤维化,达到保护肾脏的目的<sup>[5]</sup>。

TP 具有抗炎、免疫抑制作用,可用于治疗自身免疫性疾病、系统性红斑狼疮等疾病<sup>[3,6]</sup>。TP 在临床上被用于治疗原发、继发性肾脏疾病以及蛋白尿已经有近 40 年的历史<sup>[7]</sup>,有研究表明 TP 可以减少多囊肾病<sup>[8]</sup>、膜性肾病<sup>[3]</sup>和 IgA 肾病<sup>[9]</sup>导致的蛋白尿,改善肾功能。有研究发现,利用 TP 处理 Heymann 肾炎模型大鼠可以改善大鼠的肾功能<sup>[3]</sup>。TP 用于治疗 DN 模型大鼠时,可能的机制是抗炎、抗氧化、免疫调节等<sup>[10]</sup>。尽管 TP 可以用于治疗慢性肾病,但是在这一过程中 TP 抑制 EMT 的机制尚不清楚。

为了研究 TP 延缓慢性肾病过程中,抑制肾小管上皮发生 EMT 的机制,本研究中采用了 HK-2 作为实验细胞模型<sup>[11]</sup>。HK-2 细胞是人肾小管上皮细胞,该细胞系被广泛地应用于各类肾损伤研究,如糖尿病肾病、慢性肾病以及药物导致的肾毒性等<sup>[5-6]</sup>。N-cadherin 和 Vimentin 是上皮细胞的重要蛋白标志,E-cadherin 是间充质细胞的重要蛋白标志;细胞形态学也是区分上皮细胞和间充质细胞的重要指标<sup>[12]</sup>。在 EMT 的过程中,细胞中 N-cadherin 和 Vimentin 蛋白的表达将明显增加,E-cadherin 蛋白在细胞中的表达将减少。N-cadherin 介导细胞极性,减少细胞间的紧密连接<sup>[13]</sup>。Vimentin 是各种细胞类型中最丰富的中间丝蛋白,它在细胞迁移和维持细胞形态方面起着重要作用<sup>[14]</sup>。E-cadherin 对与细胞维持黏附性起到重要作用,比如细胞间的紧密连接<sup>[15]</sup>。在正常肾组织中,肾小管上皮细胞和成纤维细胞被基底膜分隔开,发生 EMT 的过程中,细胞极性和粘附性的改变导致肾小管结构和功能的改变<sup>[2]</sup>。

KEGG 数据库是处理基因组数据常用的数据库<sup>[16]</sup>。本研究通过 RNA 测序检测 3 组细胞中 mRNA 的表达水平,并通过 KEGG 数据库富集出了多条信号通路。富集结果表明 TP 对 TGF-β1 信号通路和 Hippo 信号通路有影响,而这两条通路和细胞极性、细胞粘附性以及 EMT 有关<sup>[17-18]</sup>。

TGF-β1 是启动和维持 EMT 最有效的生长因

子<sup>[19]</sup>。本研究中,用 20 ng/mL 的 TGF- $\beta$ 1 诱导 HK-2 细胞 48 h,细胞发生了典型的 EMT,表现为镜下细胞形态发生明显变化,细胞形态呈现为纺锤形,邻近细胞间的紧密连接丢失;蛋白水平表现为 E-cadherin 表达显著降低,N-cadherin 和 Vimentin 表达明显增加。当 TP 和 TGF- $\beta$ 1 共同刺激 HK-2 细胞时,HK-2 明显地保持了其上皮细胞的特性,即细胞形态维持铺路石状,蛋白水平表现为 E-cadherin,N-cadherin 和 Vimentin 表达水平和 NC 组的水平接近。上述现象可以说明 TP 能够抑制甚至逆转 EMT 在 HK-2 细胞中的发生。

研究表明,在 TGF- $\beta$  信号通路中许多和纤维化相关的基因受到 Smad 2/3 的调控,在利用 siRNA 减少 Smad 2/3 蛋白表达的细胞模型和利用基因敲除技术敲除 Smad 2/3 基因的大鼠模型中,TGF- $\beta$ 1 诱导的纤维化现象都有所减轻<sup>[20]</sup>。有临床研究采集 DN 患者的肾组织进行活检,发现 TGF- $\beta$  和 Smad 在 DN 肾组织中表达明显升高,说明 TGF- $\beta$  和 Smad 信号通路参与了 DN 的发生<sup>[21]</sup>。TGF- $\beta$ 1 是细胞因子 TGF- $\beta$ 1 的受体,当 TGF- $\beta$ 1 与细胞表面的 TGF- $\beta$ 1 和 TGF- $\beta$ 2 组成的复合体结合后,TGF- $\beta$ 1 和 TGF- $\beta$ 2 被活化;活化的 TGF- $\beta$ 1 可以磷酸化 Smad2 蛋白,从而调节下游蛋白达到调节上皮至间充质转化的目的<sup>[22]</sup>。20 ng/mL 的 TGF- $\beta$ 1 可诱导 HK-2 发生 EMT,显著增加了 Smad2/3、TGF- $\beta$ 1 蛋白和 mRNA 的表达;而用 20 ng/mL 的 TGF- $\beta$ 1 和 10 nmol/L 的 TP 共同诱导 HK-2 后和未处理的 HK-2 相比 Smad2/3、TGF- $\beta$ 1 蛋白和 mRNA 的表达水平相近。这些结果表明 TP 可通过调节 TGF- $\beta$  和 Smad2/3 信号途径抑制肾小管上皮细胞纤维化。

有研究表明,Hippo 信号通路在多种器官和组织的纤维化中具有调节作用<sup>[23]</sup>。TAZ 是 Hippo 信号通路的关键效应因子。在小鼠肾缺血再灌注模型中,肾纤维化的过程中转录辅助因子 TAZ 发挥着重要作用,TAZ 激活导致了细胞的转移和纤维化<sup>[24]</sup>。Hippo 信号通路与细胞极性、细胞连接有关。细胞间连接与细胞表面的钙粘连蛋白有关,当细胞间钙粘连蛋白密度增加时,Hippo 信号通路可被激活,TAZ 表达水平下降<sup>[25-26]</sup>。在本研究中,20 ng/mL 的 TGF- $\beta$ 1 可诱导 HK-2 发生 EMT,显著增强 TAZ 蛋白和 mRNA 的表达;而用 20 ng/mL 的 TGF- $\beta$ 1 和 10 nmol/L 的 TP 共同诱导 HK-2 后和未处理的 HK-2 的 TAZ 蛋白和 mRNA 的表达水平相近。这些结果提示 TP 可通过调节 Hippo 信号通路抑制肾小管上皮细胞纤维化,结合 TP 对 E-cadherin、N-cadherin 和

Vimentin 表达的影响笔者推测 TP 对肾小管上皮细胞极性和粘附性有一定影响。

综上所述,TP 可通过调节 TGF- $\beta$  和 Hippo 信号通路来抑制肾小管上皮细胞发生 EMT,从而减轻肾小管上皮细胞的纤维化。

#### 参考文献:

- [1] Yang J, Shultz R W, Mars W M, et al. Disruption of tissue-type plasminogen activator gene in mice reduces renal interstitial fibrosis in obstructive nephropathy[J]. *J Clin Invest*, 2002, 110(10): 1525
- [2] Yang J, Liu Y. Dissection of key events in tubular epithelial to myofibroblast transition and its implications in renal interstitial fibrosis[J]. *Am J Pathol*, 2001, 159(4): 1465
- [3] Chen Z H, Qin W S, Zeng C H, et al. Triptolide reduces proteinuria in experimental membranous nephropathy and protects against C5b-9-induced podocyte injury in vitro[J]. *Kidney Int*, 2010, 77(11): 974
- [4] He J, Xu Y, Koya D, et al. Role of the endothelial-to-mesenchymal transition in renal fibrosis of chronic kidney disease[J]. *Clin Exp Nephrol*, 2013, 17(4): 488
- [5] Hazzan M, Hertig A, Buob D, et al. Epithelial-to-mesenchymal transition predicts cyclosporine nephrotoxicity in renal transplant recipients[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2011, 22(7): 1375
- [6] Liu Q. Triptolide and its expanding multiple pharmacological functions[J]. *Int Immunopharmacol*, 2011, 11(3): 377
- [7] 蔡奕,李帆,王继周. 前列地尔脂球载体制剂联合洛沙坦、雷公藤多甙对 2 型糖尿病肾病肾脏血流动力学的干预作用[J]. *今日药学*, 2012, 22(8): 478
- [8] Leuenroth S J, Okuhara D, Shotwell J D, et al. Triptolide is a traditional Chinese medicine-derived inhibitor of polycystic kidney disease[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2007, 104(11): 4389
- [9] He L, Peng X, Liu G, et al. Anti-inflammatory effects of triptolide on IgA nephropathy in rats[J]. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 2015, 37(5): 421
- [10] Sun G D, Li C Y, Cui W P, et al. Review of herbal traditional Chinese medicine for the treatment of diabetic nephropathy[J]. *J Diabetes Res*, 2016, 2016: 5749857
- [11] Liu W J, Luo M N, Tan J, et al. Autophagy activation reduces renal tubular injury induced by urinary proteins[J]. *Autophagy*, 2014, 10(2): 243
- [12] Dhawan U, Sue M W, Lan K C, et al. Nanochip-induced epithelial-to-mesenchymal transition: impact of physical microenvironment on cancer metastasis[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2018, 10(14): 11474
- [13] Labernadie A, Kato T, Brugues A, et al. A mechanically active heterotypic E-cadherin/N-cadherin adhesion enables fibroblasts to drive cancer cell invasion[J]. *Nat Cell Biol*, 2017, 19(3): 224
- [14] Tang D D, Bai Y, Gunst S J. Silencing of p21-activated kinase attenuates vimentin phosphorylation on Ser-56 and reorientation of the vimentin network during stimulation of smooth muscle cells by 5-hydroxytryptamine[J]. *Biochem J*, 2005, 388(Pt 3): 773
- [15] Indra I, Choi J, Chen C S, et al. Spatial and temporal organization of cadherin in punctate adherens junctions[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2018, 115(19): E4406
- [16] Kanehisa M, Goto S, Sato Y, et al. Data, information, knowledge and principle: back to metabolism in KEGG[J]. *Nucleic Acids Res*, 2014, 42(Database issue): D199

(下转第 224 页)

- [8] Du X, Shi B, Tang Y, et al. Label-free dendrimer-like silica nanohybrids for traceable and controlled gene delivery[J]. *Biomaterials*, 2014, 35(21): 5580
- [9] Tao C, Zhu Y, Xu Y, et al. Mesoporous silica nanoparticles for enhancing the delivery efficiency of immunostimulatory DNA drugs[J]. *Dalton T*, 2014, 43(13): 5142
- [10] Zhang Y, Zhi Z, Jiang T, et al. Spherical mesoporous silica nanoparticles for loading and release of the poorly water-soluble drug telmisartan[J]. *J Control Release*, 2010, 145(3): 257
- [11] Yu K, Zhang X, Tong H, et al. Synthesis of fibrous monodisperse core-shell Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/SiO<sub>2</sub>/KCC-1[J]. *Mater Lett*, 2013, 106(9):151
- [12] Nandiyanto A B D. Synthesis of spherical mesoporous silica nanoparticles with nanometer-size controllable pores and outer diameters[J]. *Micropor Mesopor Mat*, 2009, 120(3): 447
- [13] Yue Q, Li J, Luo W, et al. An interface coassembly in biliquid phase: toward core-shell magnetic mesoporous silica microspheres with tunable pore size[J]. *J Am Chem Soc*, 2015, 137(41):13282
- [14] Shen D K, Chen L, Yang J P, et al. Ultradispersed palladium nanoparticles in three-dimensional dendritic mesoporous silica nanospheres: toward active and stable heterogeneous catalysts[J]. *ACS Appl Mater Inter*, 2015, 7(31):17450
- [15] Yang J, Shen D, Wei Y, et al. Monodisperse core-shell structured magnetic mesoporous aluminosilicate nanospheres with large dendritic mesochannels[J]. *Nano Res*, 2015, 8(8): 2503
- [16] Zhang K, Xu L, Jiang J, et al. Facile large-scale synthesis of monodisperse mesoporous silica nanospheres with tunable pore structure[J]. *J Am Chem Soc*, 2013, 135(7): 2427
- [17] Yang Y, Bernardi S, Song H, et al. Anion assisted synthesis of large pore dendritic hollow mesoporous organosilica nanoparticles: understanding the composition gradient[J]. *Chem Mater*, 2016, 28(3): 704
- [18] Niedermayer S, Weiss V, Herrmann A, et al. Multifunctional polymer-capped mesoporous silica nanoparticles for pH-responsive targeted drug delivery[J]. *Nanoscale*, 2015, 7(17): 7953
- [19] Pan L, He Q, Liu J, et al. Nuclear-targeted drug delivery of TAT peptide-conjugated monodisperse mesoporous silica nanoparticles[J]. *J Am Chem Soc*, 2012, 134(13): 5722
- [20] Huang C, Chu C, Wang X, et al. Ultra-high loading of sinoporphyrin sodium in ferritin for single-wave motivated photothermal and photodynamic co-therapy[J]. *Biomater Sci*, 2017, 5(8): 1512
- [21] Tian J, Chen J, Ge C, et al. Synthesis of PEGylated ferrocene nanoconjugates as the radiosensitizer of cancer cells[J]. *Bioconjug Chem*, 2016, 27(6):1518
- [22] Wang P, Tang H, Zhang P. Highly efficient and biocompatible nanoparticle-based photosensitizer for treatment of acne vulgaris[J]. *Nanomedicine*, 2018, 13(20): 26

(2018-12-20 收稿)

(上接第 209 页)

- [17] Genevet A, Tapon N. The Hippo pathway and apico-basal cell polarity[J]. *Biochem J*, 2011, 436(2): 213
- [18] Narimatsu M, Labibi B, Wrana J L, et al. Analysis of Hippo and TGF $\beta$  signaling in polarizing epithelial cells and mouse embryos[J]. *Differentiation*, 2016, 91(4/5): 109
- [19] Lamouille S, Xu J, Derynck R. Molecular mechanisms of epithelial-mesenchymal transition[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2014, 15(3): 178
- [20] Uemura M, Swenson E S, Gaca M D, et al. Smad2 and Smad3 play different roles in rat hepatic stellate cell function and  $\alpha$ -smooth muscle actin organization[J]. *Mol Biol Cell*, 2005, 16(9): 4214
- [21] 房勃龙, 韩鸿玲, 张鹏, 等. TGF- $\beta$ 、Smad 信号通路蛋白及  $\alpha$ -SMA 在糖尿病肾病患者肾组织中的表达和意义[J]. *天津医药*, 2013, 41(11): 1067
- [22] Wieser R, Wrana J L, Massague J. GS domain mutations that constitutively activate T $\beta$ R-I, the downstream signaling component in the TGF- $\beta$  receptor complex[J]. *EMBO J*, 1995, 14(10): 2199
- [23] Hermann A, Wennmann D O, Gromnitsa S, et al. WW and C2 domain-containing proteins regulate hepatic cell differentiation and tumorigenesis through the hippo signaling pathway[J]. *Hepatology*, 2018, 67(4): 1546
- [24] Xu J, Li P X, Wu J, et al. Involvement of the Hippo pathway in regeneration and fibrogenesis after ischaemic acute kidney injury: YAP is the key effector[J]. *Clin Sci (Lond)*, 2016, 130(5): 349
- [25] Hirate Y, Hirahara S, Inoue K, et al. Polarity-dependent distribution of angiomin localizes Hippo signaling in preimplantation embryos[J]. *Curr Biol*, 2013, 23(13): 1181
- [26] Aragona M, Panciera T, Manfrin A, et al. A mechanical checkpoint controls multicellular growth through YAP/TAZ regulation by actin-processing factors[J]. *Cell*, 2013, 154(5):1047

(2018-10-16 收稿)