

文章编号 1006-8147(2021)04-0338-05

论著

# 白藜芦醇改善高糖引起肾小球系膜细胞损伤的作用研究

王琳, 刘亚珊, 刘瑞卿, 高爱娇, 唐慧欣, 申艳娜  
(天津医科大学医学检验学院, 天津 300203)

**摘要** 目的:探讨白藜芦醇(RSV)对体外高糖刺激引起大鼠肾小球系膜细胞(RGMCs)损伤的影响及其潜在分子保护机制。方法:取处于对数生长期的 RGMCs,分为甘露醇高渗透压对照组(OC)、正常对照组(NG)、高糖组(HG)以及高糖 RSV 处理组,分别处理 24、48 h。试剂盒检测不同时间各组细胞上清液中 LDH 的水平;Western 印迹法检测不同时间各组凋亡相关 B 淋巴细胞瘤-2 基因(Bcl-2)、Bcl-2 相关 X 蛋白(Bax)、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶(Caspase)-1、Caspase-1 活性片段(p20)、Gasdermin E(GSDME)、GSDME 活性片段(GSDME-N)、Caspase-3、Caspase-3 活性片段(p17)、炎症相关细胞因子白细胞介素-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )及其活化形式(mIL-1 $\beta$ )的表达;ELISA 检测不同时间各组细胞培养上清 IL-1 $\beta$  的水平。结果:LDH 结果显示,RSV 可降低高糖刺激 48 h 后细胞的死亡率( $F=31.48, P<0.05$ )。Western 印迹法结果显示,仅在 RSV 处理 24 h 后,Bax 表达较 HG 组显著降低,同时伴随 Bcl-2 表达升高( $F=143.1, P<0.05$ );RSV 处理 24 h 后 HG 组 p20、mIL-1 $\beta$  表达降低( $F=26.74, 25.76$ , 均  $P<0.05$ );此外,RSV 处理 48 h 后 p17、GSDME-N 的表达较 HG 组明显下降( $F=25.84, 18.49$ , 均  $P<0.05$ )。ELISA 结果显示,与 HG 组相比,RSV 处理 48 h 后上清中 IL-1 $\beta$  的水平显著降低( $F=80.22, P<0.01$ )。上述指标在 OC 组及 NG 组间的变化均无统计学意义(均  $P>0.05$ )。结论:RSV 可通过减少炎症因子的产生及抑制细胞早期凋亡、晚期焦亡过程来改善高糖引起的 RGMCs 损伤。

**关键词** 白藜芦醇;糖尿病肾病;细胞死亡;GSDME

中图分类号 R392.5

文献标志码 A

## Effect of resveratrol on glomerular mesangial cell injury induced by high glucose

WANG Lin, LIU Ya-shan, LIU Rui-qing, GAO Ai-jiao, TANG Hui-xin, SHEN Yan-na

(School of Medical Laboratory, Tianjin Medical University, Tianjin 300203, China)

**Abstract Objective:** To investigate the effect of resveratrol(RSV) on the injury of rat glomerular mesangial cells(RGMCs) induced by high glucose *in vitro* and its potential molecular protection mechanism. **Methods:** RGMCs in logarithmic growth phase were divided into mannitol hypertonic control group(OC), normal control group(NG), high glucose group(HG) and high glucose with RSV treatment group, and RGMCs were cultured for 24 h and 48 h respectively. The levels of LDH in the supernatant of each group were detected by the LDH release assay kit. The protein levels of apoptosis related B-cell lymphoma-2 gene(Bcl-2), Bcl-2 associated X protein(Bax), cysteine-containing aspartate specific protease 1(Caspase-1), Caspase-1 activated fragment(p20), Gasdermin E(GSDME), Gasdermin E activated fragment(GSDME-N), Caspase-3, Caspase-3 activated fragment(p17), inflammatory related cytokines interleukin-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ ) and mature form of IL-1 $\beta$ (mIL-1 $\beta$ ) were detected by Western blotting analysis. The levels of IL-1 $\beta$  in the supernatant were detected by ELISA analysis. **Results:** LDH assay showed that RSV reduced the cell death rate after 48 h of high glucose stimulation( $F=31.48, P<0.05$ ). Western blotting analysis showed that the expression of Bax in RSV treatment group was significantly lower than that in HG group only at 24 h and the expression of Bcl-2 was increased ( $F=143.1, P<0.05$ ). RSV also decreased the expression of p20 and mIL-1 $\beta$  in HG group at 24 h ( $F=26.74, 25.76$ , all  $P<0.05$ ). Moreover, RSV significantly decreased the expression of p17 and GSDME-N in HG group at 48 h( $F=25.84, 18.49$ , all  $P<0.05$ ). ELISA analysis showed that IL-1 $\beta$  level in the supernatant of RGMCs with RSV treatment for 48 h was significantly reduced than that in HG group ( $F=80.22, P<0.01$ ). There were no significant difference in above related indexes between OC group and NG group (all  $P>0.05$ ). **Conclusion:** RSV can improve the damage in RGMCs induced by high glucose via reducing the production of inflammatory factors, inhibiting the early apoptotic and late pyroptosis.

**Key words** resveratrol; diabetic nephropathy; cell death; GSDME

糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)是以渐进性肾功能损伤为特征的一种微血管病性合并症。

基金项目 国家自然科学基金(32071263, 81772252)

作者简介 王琳(1997-),女,硕士在读,研究方向:糖尿病肾病发病机制;通信作者:申艳娜, E-mail: shenyanna@sina.com。

与单纯糖尿病相比, DN 的死亡风险高 3~12 倍,是引起糖尿病患者死亡的主要并发症之一<sup>[1]</sup>。新近研究表明 DN 也是一种炎症性疾病,炎症反应以及肾脏细胞发生的程序性死亡(programmed cell death, PCD)被认为是导致 DN 进展的主要原因之一<sup>[2-3]</sup>。其中凋

亡造成的肾细胞损伤在减少肾小球数量和肾小管密度方面发挥关键作用<sup>[4-5]</sup>。而焦亡作为一种新的炎症性PCD,可通过调节胰岛 $\beta$ 细胞存活、加重心肌缺血/再灌注损伤等方式参与到糖尿病及其并发症的发病机制中<sup>[6-7]</sup>,但焦亡在DN中的作用分子机制仍未完全阐明。

白藜芦醇(resveratrol, RSV)是一种天然多酚类物质,可降低多种疾病中的炎症反应<sup>[8-10]</sup>,但其在DN中的作用机制尚不明确。本研究以大鼠肾小球系膜细胞(rat glomerular mesangial cells, RGCs)为研究对象,旨在探究RSV对体外高糖刺激引起RGC损伤的潜在分子保护机制,从而为临床治疗DN提供新的思路。

## 1 材料与方法

**1.1 材料与仪器** RGCs细胞株购自上海中乔新舟生物科技有限公司;RSV(纯度 $\geq 99\%$ )购自德国Sigma-Aldrich公司,用二甲基亚砜(DMSO)配成25  $\mu\text{mol/L}$ 的储存液;高糖和正常糖DMEM培养基、胎牛血清、青霉素及链霉素购自美国Gibco公司;LDH试剂盒购自南京建成生物工程研究所;ELISA试剂盒购自中国Bio-Swamp公司; $\beta$ -actin抗体购自美国Affinity公司;B淋巴细胞瘤-2基因(Bcl-2)、Bcl-2相关X蛋白(Bax)抗体购自美国Santa-Cruz公司;半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶(Caspase)-1抗体购自美国CST公司;Gasdermin E(GSDME)、Caspase-3、白细胞介素(IL)-1 $\beta$ 抗体购自美国Abcam公司;辣根过氧化物酶标记的酶标二抗购自美国Promega公司;硝酸纤维素膜购自美国Millipore公司;Triton X-100购自北京索莱宝科技有限公司;电泳仪、电源、垂直电泳槽以及凝胶成像仪购自美国Bio-Rad公司;CO<sub>2</sub>培养箱购自美国SHELLAB公司;低温高速离心机购自德国Hettich公司;酶标仪购自美国BioTek公司。

## 1.2 方法

**1.2.1 细胞培养及干预** RGCs接种于正常糖DMEM培养基(含10%胎牛血清和1%青霉素和链霉素),置于37℃、5%的CO<sub>2</sub>培养箱中培养。取对数生长期细胞,将其接种于60 mm培养皿中生长,待细胞汇合度达到80%时进行实验。进行实验前,将细胞铺在相应孔板并用不含有血清的培养基培养过夜。实验时弃去培养皿中的培养基,更换为正常糖(含5.5 mmol/L D-葡萄糖)、高糖(含25 mmol/L D-葡萄糖)、甘露醇高渗对照(含5.5 mmol/L D-葡萄糖+19.5 mmol/L甘露醇)以及高糖并含有25  $\mu\text{mol/L}$  RSV的新鲜培养基分别处理24、48 h,在相应的时

间点收集上清和蛋白。RSV经二甲基亚砜(DMSO)稀释至25  $\mu\text{mol/L}$ 后,放置-20℃储存。

**1.2.2 LDH试剂盒检测不同时间点各组RGCs LDH的释放水平** 将细胞以 $5 \times 10^4$  /mL的密度均匀接种于48孔板中,分别设置空白孔、标准孔、测定孔、对照孔。每组细胞平行设置2个复孔,在不同处理条件下(同1.2.1),分别收取每孔细胞上清液和1% Triton X-100裂解的胞内LDH各20  $\mu\text{L}$ 置于96孔板中,严格按照LDH试剂盒说明书操作进行,使用酶标仪于450 nm波长处读取各组细胞OD值。LDH活性(U/L)=(测定OD值-对照OD值)/(标准OD值-空白OD值) $\times$ 标准品浓度 $\times 1\,000$ 。其中LDH释放水平=上清中LDH/(胞内+上清)LDH。

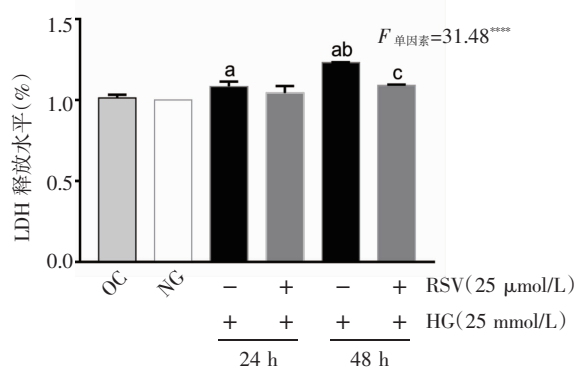
**1.2.3 Western印迹法检测不同时间点各组RGCs死亡相关蛋白的表达** 将细胞以 $2 \times 10^5$  /mL的密度均匀接种于6孔板中,分为上述各组。在相应的时间点从细胞培养箱中取出细胞,弃上清,用无菌PBS清洗3次,加入细胞裂解液冰上裂解10 min,4℃,12 000 r/min离心10 min,取上清液,BCA法测定蛋白浓度。经SDS-PAGE凝胶电泳分离后,将蛋白转移到PVDF膜上,根据抗体说明书用脱脂奶粉或牛血清白蛋白V(BSA)室温封闭2 h,一抗 $\beta$ -actin(1:5 000)、Bcl-2(1:1 000)、Bax(1:1 000)、Caspase-1(1:1 000)、Caspase-3(1:1 000)、GSDME(1:1 000)、IL-1 $\beta$ (1:1 000)4℃过夜孵育。转天用TBST缓冲液洗3次,每次10 min,用带有HRP标记的羊抗兔或羊抗鼠IgG(1:5 000)二抗室温孵育1 h, TBST缓冲液洗3次,每次10 min。使用化学发光成像系统采集图像,Image J软件进行分析统计,其中以 $\beta$ -actin为内参,以目的蛋白条带与 $\beta$ -actin条带灰度值的比值反映目的蛋白表达水平。

**1.2.4 ELISA检测不同时间点各组RGCs培养上清中IL-1 $\beta$ 的水平** 收集不同时间点各组培养上清液于1.5 mL EP管中,置于冰上备用。提前配制标准品溶液和1 $\times$ 洗液,在酶标包被板上分别设空白孔(空白孔不加样品、酶标试剂、生物素标记的IL-1 $\beta$ 抗体,其余各步骤相同)、待测样品孔、标准孔。严格按照试剂盒说明书依次加入样品、生物素标记的抗IL-1 $\beta$ 抗体(其中标准孔中加入不同浓度标准品)、酶标试剂,每组均设两个平行孔。用封板膜封板,37℃孵育30 min后用1 $\times$ 洗液冲洗5次,拍干。每孔先后加入显色剂A液和B液,37℃室温避光显色10 min,加入终止液以终止反应(此时蓝色立转黄色)。最后以空白孔调零,在450 nm波长处测量各孔吸光度,并根据标准品绘制的标准曲线计算样品浓度。

1.3 统计学处理 采用 Image J、SPSS13.0 数据分析软件对上述 Western 印迹法结果进行数据采集和分析,采用 GraphPad Prism 5.01(America)作图软件绘制统计图。对所有数据进行统计学分析,计量资料以  $\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$  表示。所有实验至少重复 3 次,组间比较采用析因设计方差分析,其他采用单因素方差分析,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 RSV 对高糖引起 RGMCs 死亡的影响 LDH 实验结果显示,与 NG 组相比,随高糖处理时间的延长,RGMCs 死亡率逐渐上升,且在 48 h 达到最高 ( $P < 0.0001$ ),而 RSV 处理后则明显降低其死亡率 ( $P < 0.05$ ) (其中 RSV 处理因素  $F$  值为 12.56,时间因素  $F$  值为 11.19,两者存在交互作用  $F$  值为 3.455),见图 1。



注:\*\*\*\* $P < 0.0001$ ;与 NG 组比较,\* $P < 0.05$ ;与 HG 24 h 不加 RSV 组比较;<sup>b</sup> $P < 0.05$ ,与 HG 48 h 不加 RSV 组比较,\* $P < 0.05$

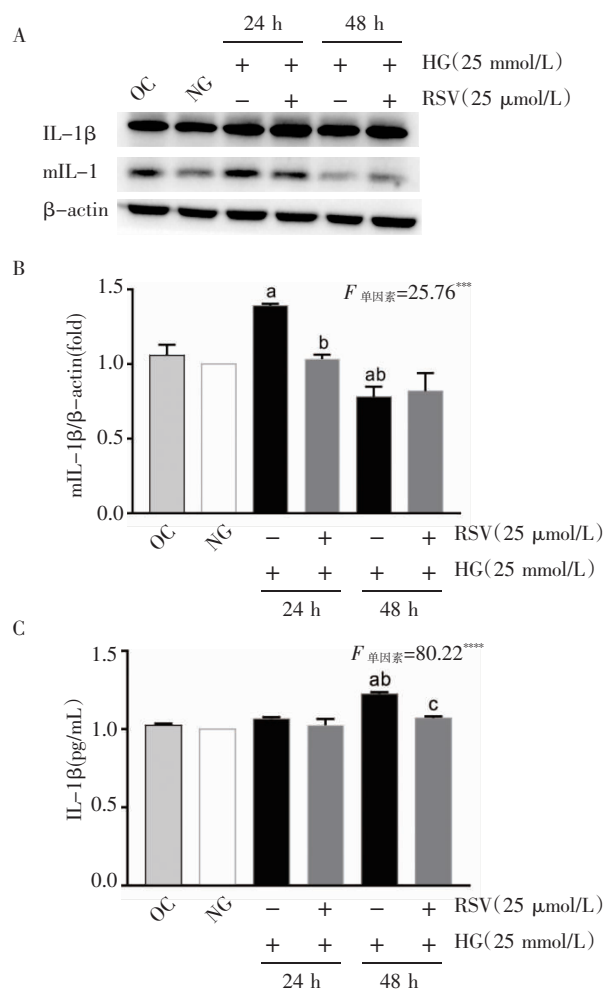
图 1 不同时间点各组 LDH 的释放水平

Fig 1 The release level of LDH in each group at different time points

2.2 RSV 对高糖引起 RGMCs 炎症因子表达的影响 Western 印迹法结果显示,与 NG 组相比,HG 组 RGMCs 胞内 mIL-1 $\beta$  的水平在 24 h 明显升高 ( $P < 0.01$ ),RSV 处理后则降低 ( $P < 0.05$ ) (其中 RSV 处理因素  $F$  值为 33.61,时间因素  $F$  值为 5.029,两者存在交互作用  $F$  值为 7.748),而在高糖刺激 48 h 时,HG 组 RGMCs 胞内 mIL-1 $\beta$  含量明显降低 ( $P < 0.05$ ),甚至低于 NG 组,见图 2A、2B。ELISA 检测显示 HG 组 RGMCs 上清液中 IL-1 $\beta$  的含量相比于 NG 组显著升高 ( $P < 0.0001$ ),且 RSV 降低其上清中的含量 ( $P < 0.01$ ) (其中 RSV 处理因素  $F$  值为 20.39,时间因素  $F$  值为 18.11,两者存在交互作用  $F$  值为 6.117),见图 2C。

2.3 RSV 对高糖引起 RGMCs 胞内死亡相关蛋白表达的影响 Western 印迹法检测显示与 NG 组相比,HG 组 RGMCs 仅在 24 h 检测到 Bax 的表达升高 ( $P < 0.0001$ ),Bcl-2 则没有明显变化,而 RSV 可降低 Bax 的表达 ( $P < 0.001$ ),升高 Bcl-2 的表达 ( $P <$

0.05) (其中 RSV 处理因素  $F$  值分别为 30.4、14.52,时间因素  $F$  值分别为 51.58、9.9,两者存在交互作用  $F$  值分别为 24.68、6.008),且 HG 组 RGMCs 的 Bax/Bcl-2 比值在 24 h 明显高于 NG 组 ( $P < 0.0001$ ),RSV 处理后比值明显降低 ( $P < 0.0001$ ) (其中 RSV 处理因素  $F$  值为 15.3,时间因素  $F$  值为 135.7,两者存在交互作用  $F$  值为 59.8),见图 3;与 NG 组相比,HG 组 RGMCs 在 24 h 检测到 p20、p17、GSDME-N 的表达升高,其中 p20、p17 的升高有统计学意义 (均  $P < 0.01$ ),而 RSV 处理后 p20 的表达下降 ( $P < 0.01$ ) (其中 RSV 处理因素  $F$  值为 18.59,时间因素  $F$  值为 28.68,两者存在交互作用  $F$  值为 3.352);此外,HG 组 RGMCs 可在 48 h 检测到 p17、GSDME-N 的表达显著升高 (均  $P < 0.001$ ),RSV 处理后其表达均降低 (均  $P < 0.05$ ) (其中 RSV 处理因素  $F$  值分别为 2.712、1.372,时间因素  $F$  值分别为 5.802、1.424,两者存在交互作用  $F$  值分别为 27、19.87),见图 4。

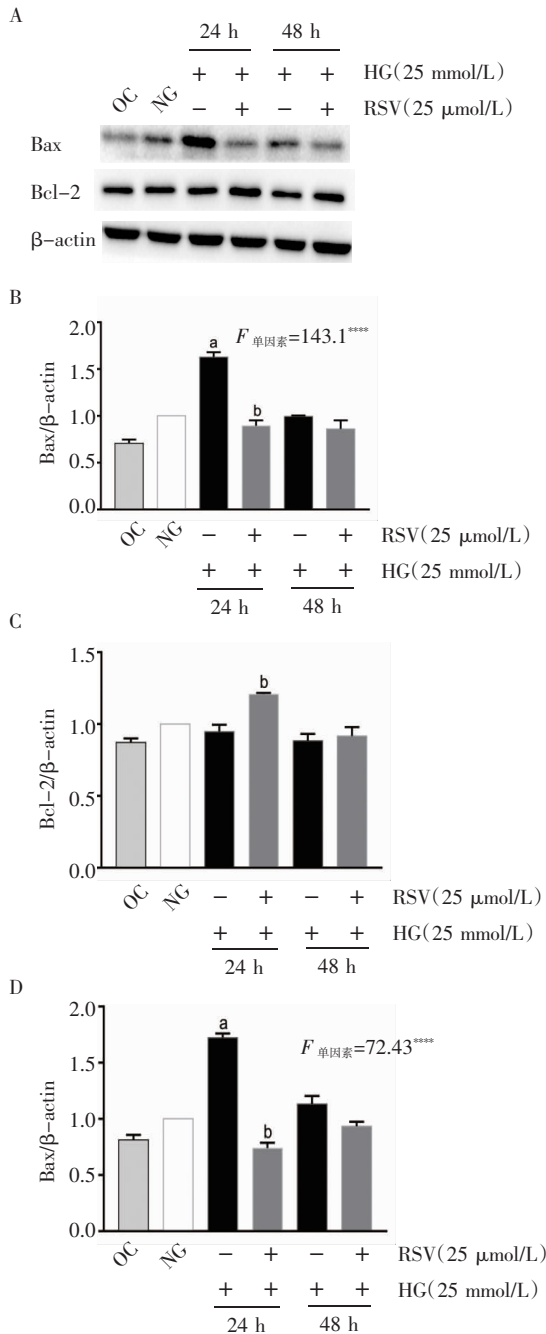


注:\*\*\* $P < 0.001$ ,\*\*\*\* $P < 0.0001$ ;与 NG 组比较,\* $P < 0.05$ ;与 HG 24 h 不加 RSV 组比较;<sup>b</sup> $P < 0.05$ ;与 HG 48 h 不加 RSV 组比较,\* $P < 0.05$

图 2 RSV 对高糖引起 RGMCs 炎症因子表达的影响

Fig 2 Effect of RSV on the expression of inflammatory factors in RGMCs induced by high glucose





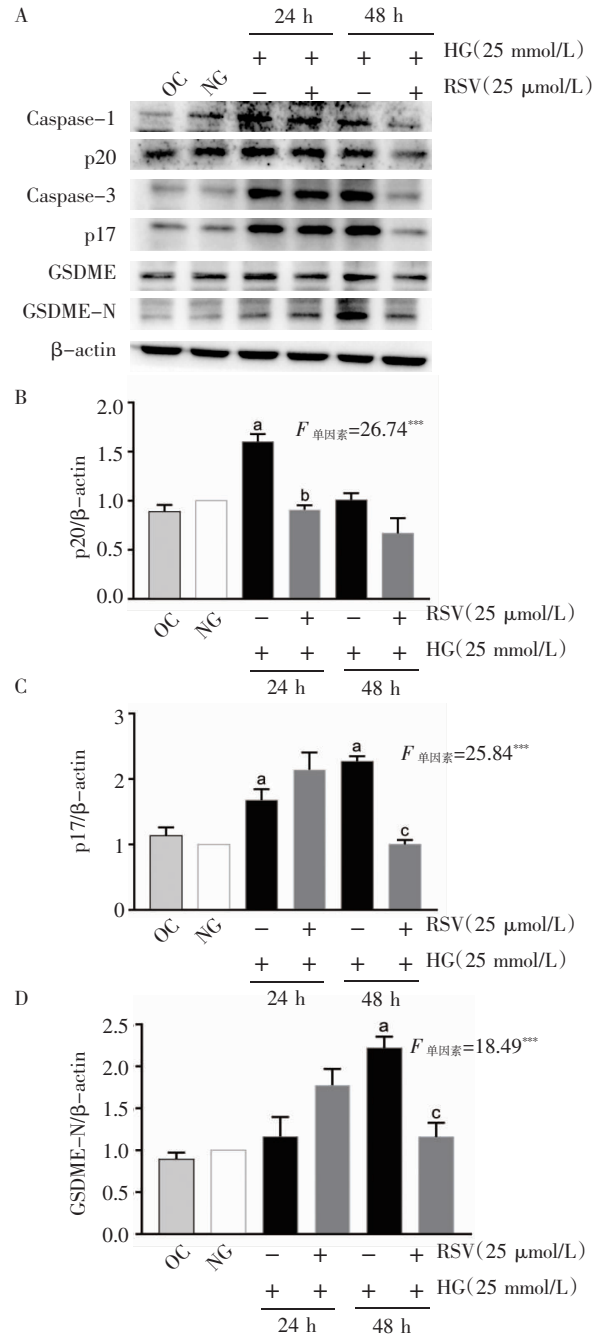
注:\*\*\* $P<0.001$ ,\*\*\*\* $P<0.0001$ ;与NG组比较,<sup>a</sup> $P<0.05$ ;与HG 24 h不加RSV组比较,<sup>b</sup> $P<0.05$

图3 RSV可抑制高糖引起的早期细胞凋亡

Fig 3 RSV inhibit early apoptosis induced by high glucose

### 3 讨论

近年来,RSV因在改善糖尿病心脏功能和肾脏功能保护方面具有潜在的治疗价值<sup>[11-12]</sup>,在DN相关研究中引起越来越多的关注。研究发现RSV可通过减少氧化应激介导的足细胞凋亡改善高糖引起的肾脏损伤<sup>[13]</sup>,也可通过调控SIRT1/FOXO3a通路改善高血糖引起的肾小管氧化应激损伤<sup>[14]</sup>,然而少有在肾小球系膜细胞方面的研究。糖尿病肾小球病变的演变包括早期、短暂的肾小球系膜细胞增生以及随后的



注:\*\*\* $P<0.001$ ,\*\*\*\* $P<0.0001$ ;与NG组比较,<sup>a</sup> $P<0.05$ ;与HG 24 h不加RSV组比较,<sup>b</sup> $P<0.05$ ;与HG 48 h不加RSV组比较,<sup>c</sup> $P<0.05$

图4 RSV可抑制高糖引起的晚期细胞焦亡并减少炎症反应

Fig 4 RSV inhibit late pyroptosis and reduce inflammatory response induced by high glucose

细胞肥大,后缓慢发展为肾小球硬化<sup>[15]</sup>,同样,本研究早期成功构建了糖尿病大鼠模型,其肾脏PAS和HE染色显示肾小球肥大和系膜扩张<sup>[16]</sup>。因此,在这里笔者在体外水平选择了RGMCs进行进一步的探究。

本研究发现在高糖刺激后,随着时间的延长RGMCs死亡率逐渐上升,且在48 h达到最高,RSV处理后则明显降低其死亡率。由于细胞死亡往往伴随炎症反应,笔者在24 h检测到HG组胞内mIL-1 $\beta$ 、p20显著升高,表明高糖处理24 h后细胞内发生了炎症

反应,而在48 h时,HG组胞内mIL-1 $\beta$ 含量大大降低甚至低于NG组,同时ELISA检测发现其上清中IL-1 $\beta$ 的含量明显升高,表明48 h时RGMCs细胞膜发生破损导致mIL-1 $\beta$ 被释放到胞外,而胞内和上清中IL-1 $\beta$ 含量在RSV处理后均降低,提示RSV减少了炎症因子IL-1 $\beta$ 的生成和向胞外的释放。

由于炎症反应和PCD在DN的发生过程中有重要作用,而PCD包括细胞凋亡及焦亡等多种模式,因此笔者进一步检测了相关蛋白的表达,发现在24 h,HG组Bax的表达升高,而RSV处理后其表达降低,同时Bcl-2的表达升高,表明RSV一方面通过降低促凋亡蛋白的表达,另一方面增强抗凋亡蛋白的表达来减少高糖诱导的早期细胞凋亡。

细胞焦亡是近年来新发现的一种半胱氨酸天门冬氨酸依赖的炎症性PCD形式,其机制多与gasdermins(GSDMs)家族有关,其中作为成员之一的GSDME在肾脏中的选择性表达。笔者发现HG组RGMCs在48 h检测到明显活化的Caspase-3和GSDME,在以往的研究中Caspase-3主要通过调控细胞凋亡而特异性调节程序性细胞死亡<sup>[17-18]</sup>。GSDME作为新发现的焦亡相关分子,可在肿瘤中发挥作用<sup>[9]</sup>。而最近研究证明,GSDME能被Caspase-3特异性裂解,形成GSDME的N-末端结构域,后者可与质膜特异性靶向结合成孔,并在Caspase-3活化剂(如化疗药物)的作用下引发溶解细胞死亡<sup>[20]</sup>。所以推测48 h时高糖处理进一步激活了Caspase-3,引起GSDME的活化,产生具有活性的N-末端引起膜成孔,从而导致mIL-1 $\beta$ 释放到胞外,而最终其活化均被RSV所抑制。

综上所述,本研究在体外实验证明了RSV可改善高糖引起的RGMCs损伤,其可减少炎症相关分子的表达,抑制高糖刺激引起的细胞早期凋亡和晚期GSDME介导的焦亡。而对于Caspase-3是否在上游调控GSDME信号通路、Caspase-3在凋亡和焦亡之间如何转换以及是否有其他分子的参与,需进一步的研究。

#### 参考文献:

- [1] Levin A, Tonelli M, Bonventre J, et al. Global kidney health 2017 and beyond: a roadmap for closing gaps in care, research, and policy[J]. *Lancet*, 2017, 390(10105): 1888
- [2] Zhang Z, Shao X, Jiang N, et al. Caspase-11-mediated tubular epithelial pyroptosis underlies contrast-induced acute kidney injury[J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(10): 983
- [3] Yuan S, Liu X, Zhu X, et al. The role of TLR4 on PGC-1 $\alpha$ -mediated oxidative stress in tubular cell in diabetic kidney disease[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2018, 2018: 6296802
- [4] Burlaka I, Nilsson L M, Scott L, et al. Prevention of apoptosis averts glomerular tubular disconnection and podocyte loss in proteinuric kidney disease[J]. *Kidney Int*, 2016, 90(1): 135
- [5] Cao X, Fan Q. LncRNA MIR503HG promotes high-glucose-induced proximal tubular cell apoptosis by targeting miR-503-5p/Bcl-2 pathway[J]. *Diabetes Metab Syndr Obes*, 2020, 13: 4507
- [6] Rojas J, Bermudez V, Palmar J, et al. Pancreatic beta cell death: novel potential mechanisms in diabetes therapy[J]. *J Diabetes Res*, 2018, 2018: 9601801
- [7] Qiu Z, Lei S, Zhao B, et al. NLRP3 inflammasome activation-mediated pyroptosis aggravates myocardial ischemia/reperfusion injury in diabetic rats[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2017, 2017: 9743280
- [8] Wang Y, Shi Y, Huang Y, et al. Resveratrol mediates mechanical allodynia through modulating inflammatory response via the TREM2-autophagy axis in SNI rat model[J]. *J Neuroinflammation*, 2020, 17(1): 311
- [9] Pan H, Zhou X, Ma Y, et al. Resveratrol alleviates intestinal mucosal barrier dysfunction in dextran sulfate sodium-induced colitis mice by enhancing autophagy[J]. *World J Gastroenterol*, 2020, 26(33): 4945
- [10] Nie Q, Zhang J, He B, et al. A novel mechanism of protection against isoproterenol-induced cardiac inflammation via regulation of the SIRT1/NRF2 signaling pathway with a natural SIRT1 agonist[J]. *Eur J Pharmacol*, 2020, 886: 173398
- [11] Xu G, Zhao X, Fu J, et al. Resveratrol increase myocardial Nrf2 expression in type 2 diabetic rats and alleviate myocardial ischemia/reperfusion injury (MIRI)[J]. *Ann Palliat Med*, 2019, 8(5): 565
- [12] Qiao Y, Gao K, Wang Y, et al. Resveratrol ameliorates diabetic nephropathy in rats through negative regulation of the p38 MAPK/TGF- $\beta$ 1 pathway[J]. *Exp Ther Med*, 2017, 13(6): 3223
- [13] Wang F, Li R, Zhao L, et al. Resveratrol ameliorates renal damage by inhibiting oxidative stress-mediated apoptosis of podocytes in diabetic nephropathy[J]. *Eur J Pharmacol*, 2020, 885: 173387
- [14] Wang X, Meng L, Zhao L, et al. Resveratrol ameliorates hyperglycemia-induced renal tubular oxidative stress damage via modulating the SIRT1/FOXO3a pathway[J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2017, 126: 172
- [15] Young B A, Johnson R J, Alpers C E, et al. Cellular events in the evolution of experimental diabetic nephropathy[J]. *Kidney Int*, 1995, 47(3): 935
- [16] Qiao Y, Tian X, Men L, et al. Spleen tyrosine kinase promotes NLR family pyrin domain containing 3 inflammasome-mediated IL-1 $\beta$  secretion via c-Jun N-terminal kinase activation and cell apoptosis during diabetic nephropathy[J]. *Mol Med Rep*, 2018, 18(2): 1995
- [17] Miao N, Wang B, Xu D, et al. Caspase-11 promotes cisplatin-induced renal tubular apoptosis through a caspase-3-dependent pathway[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2018, 314(2): F269
- [18] Qiu X, Zhuang M, Lu Z, et al. RIPK1 suppresses apoptosis mediated by TNF and caspase-3 in intervertebral discs[J]. *J Transl Med*, 2019, 17(1): 135
- [19] Zhang Z, Zhang Y, Xia S, et al. Gasdermin E suppresses tumour growth by activating anti-tumour immunity[J]. *Nature*, 2020, 579(7799): 415
- [20] Wang Y, Yin B, Li D, et al. GSDME mediates caspase-3-dependent pyroptosis in gastric cancer[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 495(1): 1418