

链脲佐菌素诱导的 1 型糖尿病小鼠肾脏 COX-2/PGE2/EPs 的表达

韦晓虹^{1,2}, 徐芬^{2,3}, 周丹莉¹, 梁华^{2,3}, 许海霞^{2,3}, 胡芳¹, 曾映娟¹, 孙辽^{1*}

(中山大学 1.附属第五医院内分泌与代谢病科, 广东 珠海 519000; 2.广东省糖尿病防治重点实验室, 广东 广州 510000; 3.附属第三医院内分泌与代谢病科, 广东 广州 510000)

摘要:【目的】探讨链脲佐菌素(STZ)诱导的 1 型糖尿病小鼠肾脏 COX-2/PGE2/EPs 的表达情况。【方法】多次小剂量腹腔注射 STZ 诱导 1 型糖尿病小鼠模型, 实验分为两组: 正常对照组(NC)和糖尿病组(DM)。ELISA 法检测血清和尿液中前列腺素 E2(PGE2)的表达水平; RT-qPCR 法检测肾组织环氧合酶-2(COX-2)、膜结合型前列腺素 E2 合成酶-1(mPGES-1)、各型 EP 受体(EP1、EP2、EP3、EP4)的 mRNA 表达水平; Western blot 法检测相应蛋白表达水平。【结果】随着周龄增加, DM 组小鼠逐渐出现明显多饮、多尿、体质量下降等糖尿病消耗症状; 与 NC 组小鼠相比, DM 组小鼠空腹血糖(FBG)和 24 h 尿蛋白排泄量均显著增加($P < 0.05$); 肾脏 COX-2 和 EP4 表达水平明显上调($P < 0.05$), 而 mPGES-1、EP1、EP2、EP3 mRNA 表达无显著变化($P > 0.05$); 同时, DM 组小鼠 24 h 尿 PGE2 定量显著高于 NC 组 ($P < 0.05$)。【结论】1 型糖尿病小鼠肾脏组织中, 早期即可检测到 COX-2 和 EP4 表达上调, 伴 24 h 尿 PGE2 定量增加, 提示 COX-2/PGE2/EP4 信号轴激活可能参与了糖尿病肾病的发生发展。

关键词:糖尿病肾病; 环氧合酶-2; 前列腺素 E2; 膜结合型前列腺素 E2 合成酶-1; 4 型前列腺素 E2 受体

中图分类号: R587.2

文献标志码: A

文章编号: 1672-3554(2015)01-0088-09

Expression of COX-2/PGE2/EPs in Kidney Tissues of STZ-induced Type 1 Diabetes

WEI Xiao-hong^{1,2}, XU Fen^{2,3}, ZHOU Dan-li¹, LIANG Hua^{2,3}, XU Hai-xia^{2,3}, HU Fang¹, ZENG Ying-juan¹, SUN Liao^{1*}

(1. Department of Endocrinology & Metabolism, The Fifth Affiliated Hospital, Zhuhai 519000, China; 2. Key Lab of Diabetology of Guangdong Province, Guangzhou 510000, China; 3. Department of Endocrinology & Metabolism, The Third Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510000, China)

Corresponding author: SUN Liao, E-mail: sunliao_sx@126.com

Abstract:【Objective】 To explore the expression of COX-2/PGE2/EPs in the kidney tissues of STZ-induced type 1 diabetes.【Methods】 Multiple low-dose STZ intraperitoneal injections were used to induce type 1 diabetes. Mice were divided into two groups: normal control (NC) and diabetes mellitus (DM). Urine and serum PGE2 concentrations were determined by the enzyme-linked immunoassay (ELISA). Real-time PCR was performed to assess the mRNA expression levels of cyclooxygenase-2 (COX-2), microsomal PGE synthase-1 (mPGES-1) and EP receptors (EP1, EP2, EP3, and EP4). Western blot was used to measure the protein expression levels.【Results】 Associated with the increase of weeks, DM mice appeared polydipsia, polyuria, weight loss and the other diabetic symptoms. Fasting blood glucose level and 24h-urinary protein output were significantly elevated in DM mice comparing with the control groups ($P < 0.05$). Comparing to the NC group, the mRNA and protein expression levels of COX-2 and EP4 in the kidney tissues of DM mice were significantly up regulated, while the mRNA expression of mPGES-1, EP1, EP2, EP3 were not significantly altered between the two groups. Diabetes induced a significant rise in the excretion of PGE2 in the urine comparing with the control

收稿日期: 2014-09-09

基金项目: 2013 年珠海市科技计划重点项目(2013D0401990008)

作者简介: 韦晓虹, 硕士研究生, E-mail: weixiaoh@163.com; * 通信作者: 孙辽, 医学博士、博士后, 硕士生导师, 主任医师, E-mail: sunliao_sx@126.com。

mice.【Conclusion】In the early diabetes, renal COX-2 and EP4 expressions were up regulated, and the 24 h urine excretion rate of PGE2 was obviously increased, suggesting that the activation of COX-2/PGE2/EP4 pathway may play an important role in the occurrence and development of diabetic nephropathy.

Key words: diabetic nephropathy; cyclooxygenase-2; prostaglandin E2; microsomal PGE synthase-1; EP4 receptor

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2015, 36(1):88-96]

糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)是发达国家终末期肾病(end stage renal disease, ESRD)的首要原因。中国临床流行病学研究显示:DN已经成为仅次于原发性肾小球疾病的第二大 ESRD 病因,造成公共资源的沉重负担^[1]。慢性炎症贯穿 DN 发生发展的全过程^[2],抗炎药物可能是 DN 新治疗策略。已有国外研究发现,环氧合酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2)诱导合成增加的前列腺素 E2(prostaglandin E2, PGE2)是最主要脂质炎症介质,在 DN 发生发展中发挥重要的作用^[3-6],但具体机制目前尚不清楚。国内相关报道有限。本研究拟通过链脲佐菌素(streptozotocin, STZ)诱导建立 1 型糖尿病小鼠模型,初步探讨肾脏 COX-2/PGE2/EPs 表达情况,为进一步研究 COX-2/PGE2/EPs 信号轴在 DN 发生发展中的作用提供依据,以期对 DN 防治提供新思路。

1 材料与方 法

1.1 实验动物分组及标本收集

11 只 7-8 周龄 SPF 级健康雄性 C57BL 小鼠购自广东省医学实验动物中心(质量合格证明编号:44007200001523),于中山大学(北校区)实验动物中心屏障系统中饲养。适应性喂养 1 周后,根据体质量按随机数字表法分为正常对照组(NC, 5 只)和动物造模组(STZ, 6 只)。根据美国 AMDCC 推荐^[7],按 50 mg/kg 给予造模组小鼠腹腔注射新鲜配制 STZ,连续 5 天,NC 组小鼠给予腹腔注射等体积的柠檬酸钠缓冲液。末次注射后 1 周,使用快速测血糖法测量造模组小鼠空腹血糖,以空腹血糖 > 11.1 mmol/L 认为造模成功,归为 1 型糖尿病组(DM, 5 只)。实验期间小鼠自由取食(标准普通饲料)和饮水,每周测量体质量、空腹血糖(禁食:7:00AM-1:00PM),实验期间糖尿病小鼠均未

予胰岛素治疗。造模成功后 4 周,使用小鼠代谢笼收集小鼠 24 h 尿液,水合氯醛麻醉后处死小鼠,收集小鼠血液、肾脏组织标本。

1.2 主要试剂

链脲佐菌素(Sigma, USA);RIPA 细胞裂解液、蛋白酶抑制剂、Pierce BCA 蛋白定量分析试剂盒(Thermo Scientific, USA);肌酐测定试剂盒(上海科华生物工程股份有限公司);小鼠 PGE2 ELISA kit (Cayman chemical, USA);RT-qPCR 引物设计和合成(Invitrogen, USA);TRIzol RNA 提取试剂(Invitrogen, USA);PrimeScript RT Reagent Kit Perfect Real Time 试剂盒(TaKaRa, 日本);SYBR Premix Ex Taq™ 试剂盒(Roche, 瑞士);PVDF 膜(Millipore, USA);兔抗鼠 COX-2 多抗、兔抗鼠 mPGES-1 多抗、兔抗鼠 EP4 单抗(Abcam, USA);兔抗鼠 β -actin 单抗(Cell Signaling Technology, USA);荧光标记羊抗兔二抗(Odyssey, USA)。

表 1 引物序列

Table 1 Sequence of Primers

Gene ID	Primer name	Sequence(5'-3')
5912281	COX-2-F	TGAGCAACTATTCCAAACCAGC
	COX-2-R	GCACGTAGTCTTCGATCACTATC
64292	mPGES-1-F	GGATGCGCTGAAACGTGGA
	mPGES-1-R	CAGGAATGAGTACACGAAGCC
19216	EP1-F	GGGCTTAACCTGAGCCTAGC
	EP1-R	GTGATGTGCCATTATCGCCTG
19217	EP2-F	CGTTATCCTCAACCTCATTCCG
	EP2-R	TCCGTCTCCTCTGCCATCG
19218	EP3-F	CCGGAGCACTCTGCTGAAG
	EP3-R	CCCCACTAAGTCGGTGAGC
19219	EP4-F	ACCATTCCTAGATCGAACCGT
	EP4-R	CACCACCCCGAAGATGAACAT
11461	ACTB-F	TGTTACCAACTGGGACGACATG
	ACTB-R	CTGGATGGCTACGTACATGGCT

1.3 实时荧光定量 PCR(RT-qPCR)检测基因表达

TRIzol 法提取小鼠肾脏组织总 RNA, 应用 ND-2000 超微量分光光度计(Nanodrop, USA)测定 RNA 浓度和纯度。根据试剂盒说明书,取等量 500 ngRNA/10 μ L 反应体系逆转录成 cDNA。RT-qPCR 扩增体系:SYBR Premix Ex Taq (2 \times)10 μ L, 上下游引物各 0.5 μ L, cDNA 2 μ L, 加去离子水至总体积 20 μ L。扩增条件:95 $^{\circ}$ C 预变性 5 min, 95 $^{\circ}$ C 变性 5 s, 60 $^{\circ}$ C 退火 20 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 20 s, 共循环 40 次, 95 $^{\circ}$ C 反应 5 s, 65 $^{\circ}$ C 反应 1 min。反应结束后常规进行溶解曲线分析, 确定 PCR 扩增特异性, 得出 Ct 后使用($2^{-\Delta\Delta Ct}$)比较法计算目的基因表达的相对变化量。

1.4 免疫印迹(WB)法检测肾脏组织蛋白表达

根据试剂盒说明书提取小鼠肾脏组织总蛋白, BCA 法测定蛋白浓度, 取 40 μ g 蛋白样品上样进行 SDS-PAGE 电泳, 100V 恒压 90 min 将蛋白转移到 PVDF 膜, 5% 脱脂奶粉室温封闭 1 h, 加入一抗 (稀释比例 COX-2, 1:1 000; EP4, 1:500; mPGES-1, 1:1 000; β -actin, 1:1 000), 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜。1 \times TBS 缓冲液洗膜 3 次, 加入荧光二抗(兔抗 1:10 000)室温避光孵育 1 h, 1 \times TBS 洗膜后, 使用 Odyssey 红外荧光成像系统(LI-COR, USA)扫描并分析灰度值, 计算目的蛋白与内参蛋白的相对表达量。

1.5 酶联免疫吸附法(ELISA)检测血清和尿液中 PGE2 表达水平

按照试剂盒说明书, 向 96 孔酶标板中加入待测样品、标准品稀释液、PGE2 单抗、示踪剂, 仔细贴膜后 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜(18 h)。次日弃掉酶标板中液

体, 加入洗板液洗板 3 次后, 每孔加入 200 μ L Ellman's 工作液。室温避光孵育 90 min 后, 在酶标仪上测定 405 nm 光密度值。绘制标准曲线, 并计算各样品 PGE2 浓度值。

1.6 其他指标测定

使用 Pierce BCA 蛋白定量分析试剂盒测定小鼠 24 h 尿蛋白排泄量, 按试剂盒说明书进行; 使用日立生化分析仪测定小鼠血清肌酐水平。

1.7 统计学方法

应用 SPSS 13.0 统计软件进行分析。各组数据计量资料以均数 \pm 标准差表示, 两组定量资料比较使用 *t* 检验, 重复测量资料采用重复测量方差分析并用 Multivariate 进行组间两两比较。以 $P < 0.05$ (双侧) 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 1 型糖尿病小鼠模型建立

DM 组小鼠逐渐出现多饮、多食、体质量下降等糖尿病消耗症状, 随着周龄增加, 与 NC 组相比, DM 组小鼠体质量出现明显下降, 并持续整个实验观察期($P < 0.001$, 重复测量方差分析)(表 2, 图 1A)。DM 组小鼠空腹血糖明显高于 NC 组($P < 0.001$, 重复测量方差分析)(表 2, 图 1B)。

2.2 糖尿病小鼠早期出现肾脏功能改变

在第 4 周使用小鼠代谢笼收集 24 h 尿液后, 处死小鼠后取得血清和肾脏标本。DM 组 24 h 尿总量(图 2A)和尿蛋白排泄量(图 2B)明显高于 NC 组。DM 组小鼠肾脏指数(肾脏湿重/体质量)与 NC 组相比明显升高 ($P < 0.001$, *t* 检验)(图 2C),

表 2 小鼠体质量和空腹血糖变化

Table 2 Characteristics of animals on body weight and fasting blood glucose

Time (week)	Body weight(g)			FBG(mmol/L)		
	NC	DM	<i>P</i>	NC	DM	<i>P</i>
0	24.00 \pm 0.46	24.68 \pm 1.04	0.216	8.74 \pm 1.48	8.54 \pm 0.73	0.793
1	25.46 \pm 0.80	22.54 \pm 1.15	0.002 ²⁾			
2	27.46 \pm 0.18	22.16 \pm 0.88	0.000 ³⁾	9.38 \pm 1.64	17.10 \pm 5.69	0.019 ¹⁾
3	28.40 \pm 0.58	21.02 \pm 0.73	0.000 ³⁾		21.08 \pm 3.49	
4	28.64 \pm 0.32	21.96 \pm 1.06	0.000 ³⁾	7.00 \pm 1.04	24.14 \pm 3.34	0.000 ³⁾

Values are means \pm S.E. for $n = 5$ per group. 1) $P < 0.05$, 2) $P < 0.01$, 3) $P < 0.001$ compared with non-diabetic control at the same time point, repeated measures data of ANOVA. FBG, fasting blood glucose.

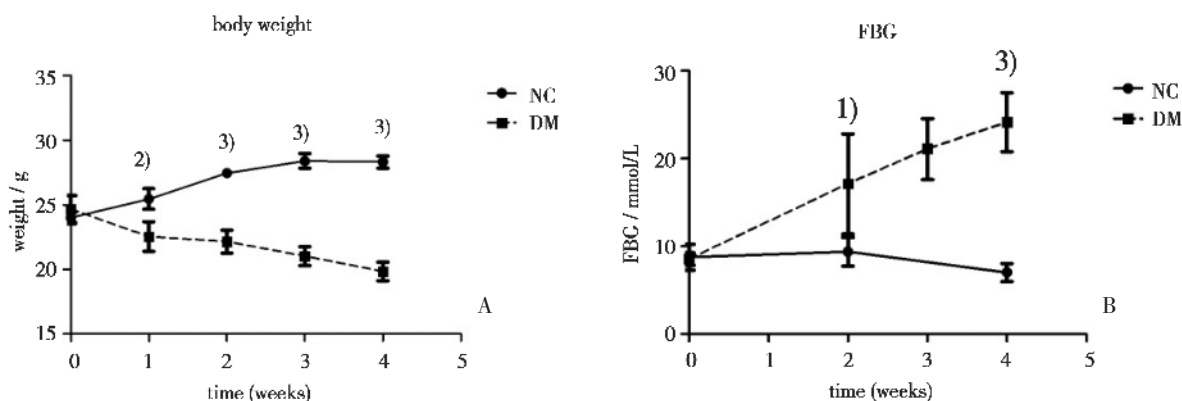


图 1 STZ 诱导的 1 型糖尿病小鼠体质量和空腹血糖变化

Fig.1 Characteristics of STZ-induced type 1 diabetes on body weight and fasting blood glucose

Values are means ± S.E. for $N = 5$ per group. 1) $P < 0.05$, 2) $P < 0.01$, 3) $P < 0.001$ compared with non-diabetic control at the same time point, repeated measures data of ANOVA. FBC, fasting blood glucose.

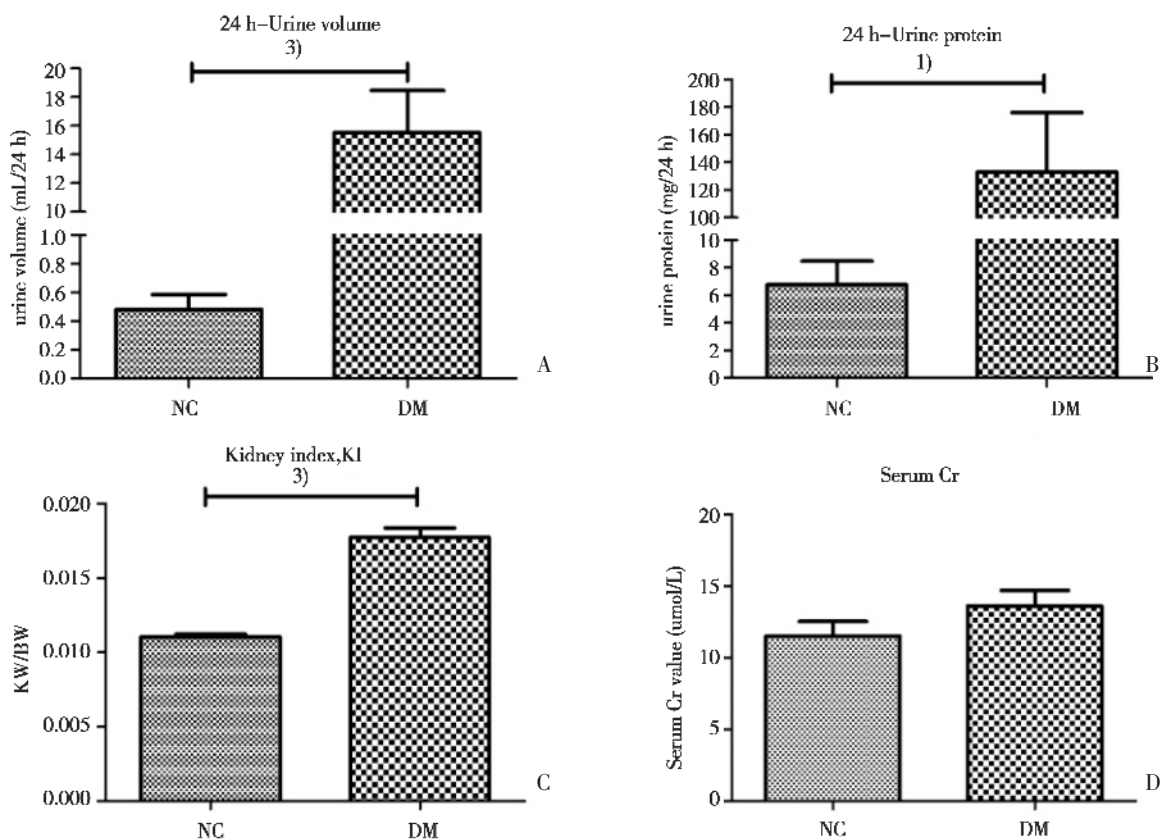


图 2 STZ 诱导 4 周后, 糖尿病小鼠肾脏功能的改变情况

Fig.2 4 weeks after the last STZ injection, the changes of renal function in the diabetic mice over the control ones

A-B: Diabetic induced a significantly rise in the 24 h-urine volume and the excretion rate of protein in the urine over control mice. C: The ratio of kidney to body weight was increased in diabetic mice comparing with the controls. D: Serum Cr values were not significantly changed between two groups. Values are mean ± S.E. for $N = 5$ per group. 1) $P < 0.05$, 2) $P < 0.01$, 3) $P < 0.001$ compared with non-diabetic control, t test. KW, kidney weight; BW, body weight.

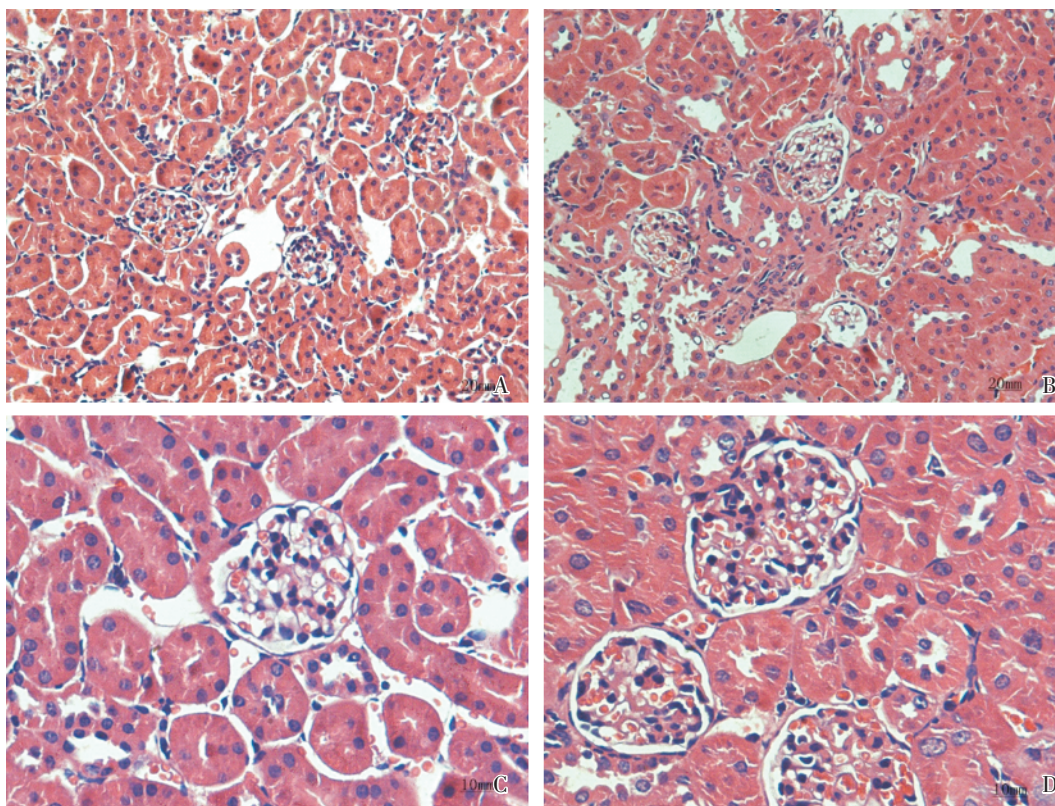


图 3 肾脏组织病理检查(HE 染色)

Fig.3 The pathology of kidney tissue (HE staining)

Diabetes increased glomerular expansion and tubular damage. A-C: Control non-diabetic kidney showed normal structure. B-D: Diabetic kidney showed glomerular expansion and tubular atrophy. For each kidney, digital images were taken using a color camera mounted on a light microscope (ZEISS, German). A-B: 20X objectives; C-D: 40X objectives. N = 4-5 for each group.

差别有统计意义。血清肌酐水平在两组之间没有显著变化($P > 0.05$, t 检验)(图 2D)。HE 染色发现 DM 组小鼠肾小球系膜区基质积聚增多,肾小管上皮细胞稍肥大(图 3)。

2.3 糖尿病小鼠肾脏组织 COX-2 表达上调和 PGE2 合成增加

STZ 诱导糖尿病 4 周后,小鼠肾脏组织 COX-2 mRNA 和蛋白表达水平明显上调(图 4A, 4C),而 mPGE2 mRNA 和蛋白表达水平在两组之间没有明显变化(图 4B, 4C)。与 NC 组相比,DM 组小鼠 24 h 尿液中 PGE2 的排泄量明显增加(图 4D),而血清 PGE2 水平在两组之间没有明显变化(图 4E)。

2.4 糖尿病小鼠肾脏组织 EP4 表达上调

各型 EP 受体在 NC 组和 DM 组肾脏组织都可以检测到其 mRNA 表达,只有 EP4 mRNA 和蛋白表达水平在 DM 组明显升高($P < 0.05$, t 检验),

而 EP1 mRNA 表达水平在两组之间没有明显变化,EP2、EP3 的 mRNA 表达水平在 DM 组有升高趋势,但差别没有统计学意义($P > 0.05$, t 检验)(图 5)。

3 讨论

DN 是糖尿病最常见微血管并发症之一,是导致 ESRD 的主要病因。循证医学研究表明:血糖、血压、血脂等多重危险因素综合管理和肾素-血管紧张素系统(RAAS)阻滞药仅能部分减少蛋白尿,延缓病程,仍有近 1/3 的患者发展至 ESRD,需要接受肾脏替代治疗。目前仍缺乏能有效阻遏 DN 发病和发展的治疗策略。深入了解 DN 发病的病理生理机制,研发有效阻止 DN 发生发展的药物,是目前研究的热点。

近年研究发现,肾脏局部炎症反应是肾脏损

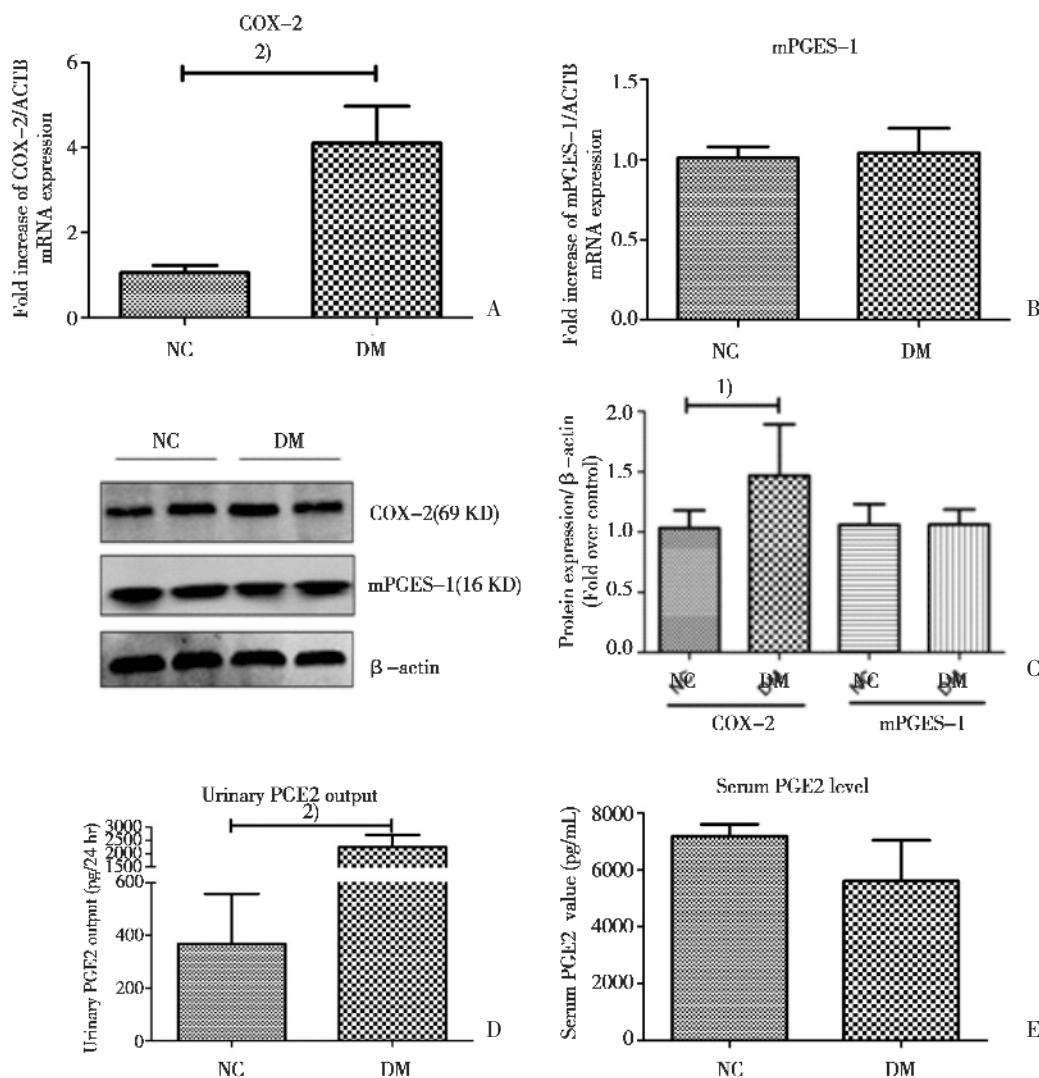


图 4 糖尿病小鼠肾脏组织 COX-2、mPGES-1 表达情况及 PGE2 表达水平

Fig.4 Quantification of expression of COX-2 and mPGES-1 in the kidney by RT-qPCR and Western blot analysis, and the level of PGE2 by ELISA

A-C: Diabetes significantly increased COX-2 mRNA and protein expression in the diabetic kidney comparing with the non-diabetic control, while the mPGES-1 expression was not altered.

D-E: 24 h urinary PGE2 excretion rate was increased in the diabetic mice, while the serum level of PGE2 was comparable between the two groups. Values are mean \pm S.E. for N = 5 per group. 1) $P < 0.05$, 2) $P < 0.01$, 3) $P < 0.001$ compared with non-diabetic control, t test.

伤的主要原因，炎症反应贯穿 DN 发生发展的全过程^[2,8]。脂质炎症介质 PGE2 除了介导炎症，还是肾脏生理稳态关键调节分子，参与肾脏血流动力学、肾素分泌和肾小管水钠转运等过程的调节^[9,10]。多项研究发现，COX-2 活性和 PGE2 合成增加，在 DN 病理生理过程中发挥重要的作用^[3-6,11]。我们研究发现，糖尿病小鼠肾脏组织 COX-2 表达水平和尿液中 PGE2 的排泄明显增加，此发现与既往多

项研究结果一致。在我们研究中，血清 PGE2 水平在两组动物之间并没有明显变化，提示糖尿病早期肾脏尿液 PGE2 排泄增加主要依赖于肾脏局部 PGE2 合成增加。COX-2 抑制剂可以通过改善肾小球肥大、蛋白尿和肾小球硬化等过程发挥肾脏保护功能^[5,11]。但是，由于 COX-2 抑制剂同时抑制了具有抗血栓作用的 PGI2 合成，增加发生心脑血管栓塞风险，限制其在 DN 患者中的长期应用^[12]。

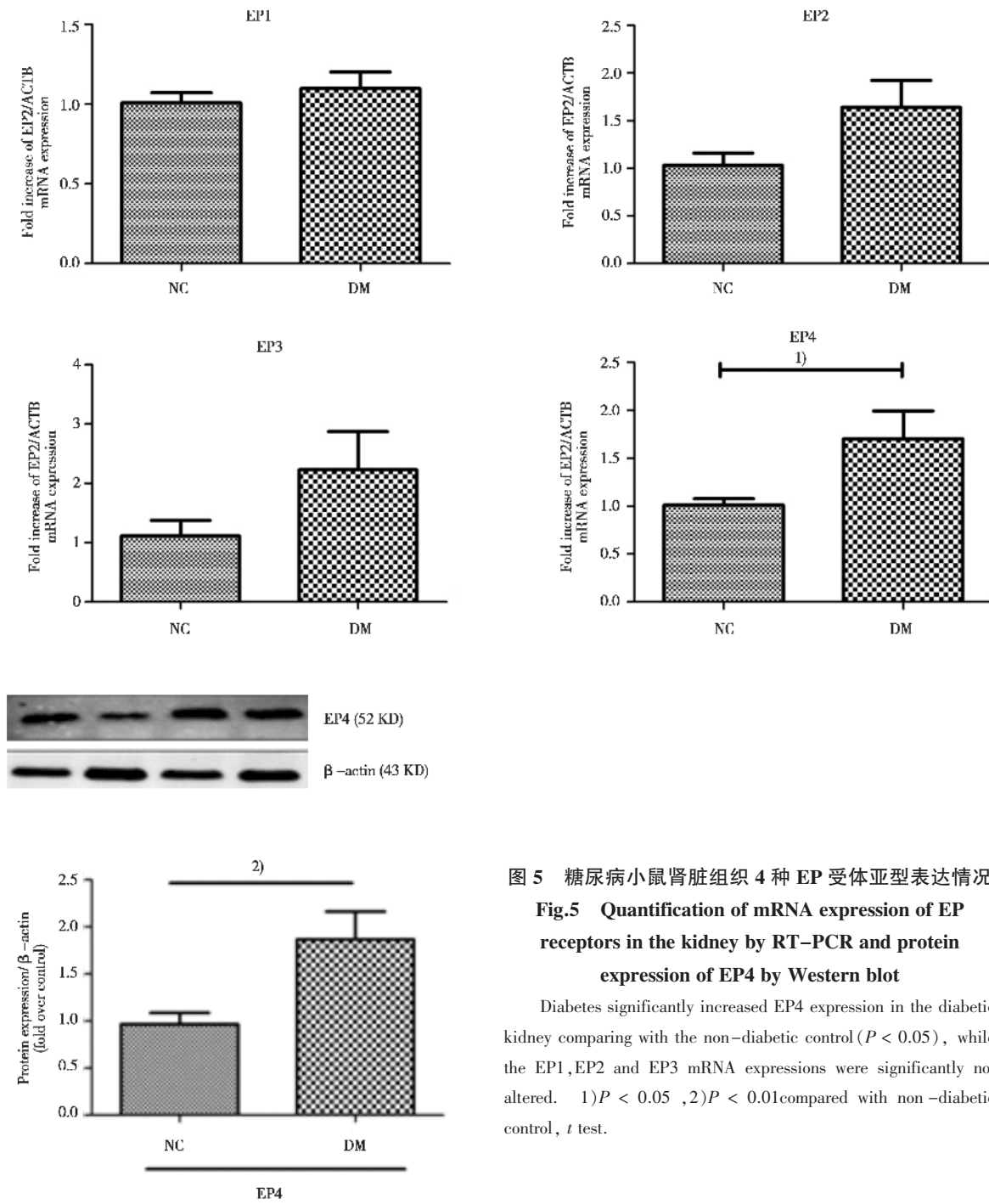


图 5 糖尿病小鼠肾脏组织 4 种 EP 受体亚型表达情况
Fig.5 Quantification of mRNA expression of EP receptors in the kidney by RT-PCR and protein expression of EP4 by Western blot

Diabetes significantly increased EP4 expression in the diabetic kidney comparing with the non-diabetic control ($P < 0.05$), while the EP1, EP2 and EP3 mRNA expressions were significantly not altered. 1) $P < 0.05$, 2) $P < 0.01$ compared with non-diabetic control, *t* test.

PGE2 的合成涉及一系列的酶促反应,即细胞膜磷脂经磷脂酶 A2(PLA2)催化释放花生四烯酸,经过环氧合酶(COX-1, COX-2)催化生成共同催化底物 PGH2, 再通过特异性终末合成酶催化生成相应的前列腺素。合成 PGE2 的终末合成酶主要有 3 种亚型(mPGES-1, mPGES-2, cPGES), 其中 cPGES 与 COX-1 同属结构酶,呈基础低水平表

达, 主要与 COX-1 协同合成 PGE2 维持细胞内环境稳定, 而 mPGES-2 的生物学效应不清楚, 有待进一步研究。mPGES-1 是 PGE2 主要终末合成酶, 70-80%PGE2 源于 mPGES-1 催化合成。mPGES-1 和 COX-2 同属诱导酶, 炎症等病理介质可诱导其表达, COX-2/mPGES-1 是诱导 PGE2 合成的主要酶促通路。

mPGES-1 源性 PGE2 合成在许多病理生理状态下发挥重要作用,mPGES-1 有可能成为抗炎药物新靶点^[13-15]。既往有研究发现在 2 型糖尿病 db/db 小鼠模型中肾小球 mPGES-1 表达明显增加,mPGES-1 源性 PGE2 合成也明显增加^[3],提示 mPGES-1 在 2 型糖尿病发生发展中发挥重要作用。但是在本研究中,STZ 诱导的 1 型糖尿病小鼠肾脏组织 mPGES-1 表达水平并没有明显变化。最近国外学者研究发现:在 STZ 诱导 1 型糖尿病小鼠中,mPGES-1 与 DM 的发生、DM 相关 PGE2 合成和肾小球损伤等无关,肾组织 PGE2 诱导合成增加也并不依赖于目前已知的另外两种终末合成酶亚型(mPGES-2 和 cPGES)的表达增加,表达增加的 COX-2 可能通过某种未发现的 PGE2 合成酶诱导糖尿病小鼠肾脏 PGE2 的合成^[5]。提示 mPGES-1 在不同发生机制的疾病发生发展过程中可能发挥不同的作用。

PGE2 通过 4 种不同受体亚型 EPs(EP1、EP2、EP3、EP4) 介导下游信号通路发挥其广泛生物学效应。EPs 均属 G 蛋白偶联受体,其中 EP1 与 Gq 蛋白偶联调节细胞内钙浓度,EP3 与 Gi 蛋白偶联减少细胞内 cAMP 合成,而 EP2 和 EP4 主要与 Gs 蛋白偶联增加 cAMP 合成,通过 cAMP/PKA 信号通路发挥作用^[9, 10]。在糖尿病动物模型研究中发现,肾脏组织 PGE2 的 4 种受体亚型表达发生改变^[16],主要是通过 EP1 和(或)EP4 介导^[17]。在我们研究中,糖尿病小鼠肾脏可以同时表达 4 种 EP 受体亚型,而只有 EP4 表达水平在糖尿病小鼠中明显上调。既往研究发现多种非糖尿病肾脏疾病^[18-23]通过 PGE2/EP4 轴调节,上调 EP4 通过抗炎、抗细胞凋亡和转分化等机制改善肾功能和肾脏病理损害。目前 EP4 与 DN 的具体关系尚不清楚,最近两项研究发现:在 2 型糖尿病 db/db 小鼠^[3]和 STZ 诱导 1 型糖尿病小鼠^[4]动物模型中,EP4 则介导其肾脏病理损伤过程。上述研究和我们的研究提示 EP4 可能成为 DN 治疗的潜在新靶点且在慢性肾脏疾病中的效应存在作用差异。有关 EP4 在足细胞中作用的研究发现:EP4 可以拮抗急性应激诱导的足细胞凋亡^[20];足细胞特异性过表达 EP4 却促进机械张力诱导足细胞损伤^[24],除了机械拉伸,PGE2/EP4 在足细胞中启动正反馈

机制,通过非 PKA 依赖的 cAMP/AMPK 信号通路增加 p38AMPK 活性和 COX-2 的表达,损害足细胞和肾小球滤过屏障^[25],这种作用差异提示 EP4 在慢性肾脏疾病中的效应与疾病病理生理机制有关且具有组织细胞特异性。

PGE2 在 DN 的发生发展中发挥重要调节作用,我们研究发现在 STZ 诱导的 1 型糖尿病小鼠模型中,早期肾脏存在 COX-2/PGE2/EP4 信号轴激活。需进一步的实验研究探讨 PGE2/EP4 在 DN 中作用及其具体分子机制,为 EP4 能否成为 DN 治疗新靶点提供实验依据。

参考文献

- [1] Liu Z H. Nephrology in china [J]. Nat Rev Nephrol, 2013, 9(9): 523-528.
- [2] Wada J, Makino H. Inflammation and the pathogenesis of diabetic nephropathy [J]. Clin Sci (Lond), 2013, 124(3): 139-152.
- [3] Sun Y, Jia Z, Liu G, et al. PPARgamma Agonist Rosiglitazone Suppresses Renal mPGES-1/PGE2 Pathway in db/db Mice [J]. PPAR Res, 2013, 2013 (61): 2971-2991.
- [4] Mohamed R, Jayakumar C, Ramesh G. Chronic administration of EP4-selective agonist exacerbates albuminuria and fibrosis of the kidney in streptozotocin-induced diabetic mice through IL-6 [J]. Lab Invest, 2013, 93(8): 933-945.
- [5] Jia Z, Sun Y, Liu S, et al. COX-2 but Not mPGES-1 contributes to renal PGE2 induction and diabetic proteinuria in mice with Type-1 diabetes [J]. PLoS ONE, 2014, 9(7): e93182.
- [6] Mohamed R, Jayakumar C, Ranganathan PV, et al. Kidney proximal tubular epithelial-specific overexpression of netrin-1 suppresses inflammation and albuminuria through suppression of COX-2-mediated PGE2 production in streptozotocin-induced diabetic mice [J]. Am J Pathol, 2012, 181(6): 1991-2002.
- [7] Brosius FR, Alpers CE, Bottinger EP, et al. Mouse models of diabetic nephropathy [J]. J Am Soc Nephrol, 2009, 20(12): 2503-2512.
- [8] Rivero A, Mora C, Muros M, et al. Pathogenic perspectives for the role of inflammation in diabetic nephropathy [J]. Clin Sci (Lond), 2009, 116(6): 479-492.

- [9] Konya V, Marsche G, Schuligoi R, et al. E-type prostanoid receptor 4 (EP4) in disease and therapy [J]. *Pharmacol Ther*, 2013, 138(3): 485–502.
- [10] Yokoyama U, Iwatsubo K, Umemura M, et al. The prostanoid EP4 receptor and its signaling pathway [J]. *Pharmacol Rev*, 2013, 65(3): 1010–1052.
- [11] Cheng H F, Wang C J, Moeckel G W, et al. Cyclooxygenase -2 inhibitor blocks expression of mediators of renal injury in a model of diabetes and hypertension [J]. *Kidney Int*, 2002, 62(3): 929–939.
- [12] Grosser T, Yu Y, Fitzgerald GA. Emotion recollected in tranquility: lessons learned from the COX-2 saga [J]. *Annu Rev Med*, 2010, 61(9): 17–33.
- [13] Jia Z, Wang H, Yang T. Microsomal prostaglandin E synthase 1 deletion retards renal disease progression but exacerbates anemia in mice with renal mass reduction [J]. *Hypertension*, 2012, 59(1): 122–128.
- [14] Francois H, Facemire C, Kumar A, et al. Role of microsomal prostaglandin E synthase 1 in the kidney [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2007, 18(5): 1466–1475.
- [15] Samuelsson B, Morgenstern R, Jakobsson PJ. Membrane prostaglandin E synthase-1: a novel therapeutic target [J]. *Pharmacol Rev*, 2007, 59(3): 207–224.
- [16] Nasrallah R, Xiong H, Hebert RL. Renal prostaglandin E2 receptor (EP) expression profile is altered in streptozotocin and B6 -Ins2Akita type I diabetic mice [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2007, 292 (1): F278–F284.
- [17] Makino H, Tanaka I, Mukoyama M, et al. Prevention of diabetic nephropathy in rats by prostaglandin E receptor EP1-selective antagonist [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2002, 13(7): 1757–1765.
- [18] Vukicevic S, Simic P, Borovecki F, et al. Role of EP2 and EP4 receptor-selective agonists of prostaglandin E (2) in acute and chronic kidney failure [J]. *Kidney Int*, 2006, 70(6): 1099–1106.
- [19] Nagamatsu T, Imai H, Yokoi M, et al. Protective effect of prostaglandin EP4 -receptor agonist on anti -glomerular basement membrane antibody -associated nephritis [J]. *J Pharmacol Sci*, 2006, 102 (2): 182–188.
- [20] Aoudjit L. Prostaglandin E2 promotes cell survival of glomerular epithelial cells via the EP4 receptor [J]. *AJP: Renal Physiology*, 2006, 290(6): F1534–F1542.
- [21] Leduc M, Hou X, Hamel D, et al. Restoration of renal function by a novel prostaglandin EP4 receptor-derived peptide in models of acute renal failure [J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2013, 304(1): R10–R22.
- [22] Li J H, Chou C L, Li B, et al. A selective EP4 PGE2 receptor agonist alleviates disease in a new mouse model of X-linked nephrogenic diabetes insipidus [J]. *J Clin Invest*, 2009, 119(10): 3115–3126.
- [23] Nakagawa N, Yuhki K, Kawabe J, et al. The intrinsic prostaglandin E2 -EP4 system of the renal tubular epithelium limits the development of tubulointerstitial fibrosis in mice [J]. *Kidney Int*, 2012, 82 (2): 158–171.
- [24] Stitt-Cavanagh E M, Faour W H, Takami K, et al. A maladaptive role for EP4 receptors in podocytes [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2010, 21(10): 1678–1690.
- [25] Faour W H, Thibodeau J F, Kennedy C R. Mechanical stretch and prostaglandin E2 modulate critical signaling pathways in mouse podocytes [J]. *Cell Signal*, 2010, 22 (8): 1222–1230.

(编辑 孙慧兰)