

血管紧张素 II 对足细胞葡萄糖转运蛋白 1 的表达及膜转位的影响

王泽彬¹, 傅君舟², 于力³, 梁鸣², 周姗姗²

(1.广州医科大学附属第二医院肾内科,广东 广州 510260; 2. 广州市第一人民医院肾内科,广东 广州 510180; 3. 广州市第一人民医院儿科,广东 广州 510180)

摘要:【目的】观察血管紧张素 II(AngII)对体外培养的小鼠足细胞葡萄糖转运蛋白 1(GLUT1)的表达及膜转位的影响。【方法】AngII 对 GLUT1mRNA 和 GLUT1 蛋白表达的检测将体外培养的足细胞分为 4 组:对照组(C)、低剂量组(AngII 10^{-10} mol/L)、中剂量组(AngII 10^{-8} mol/L)及高剂量组(AngII 10^{-6} mol/L),用 RT-PCR、Western blot 检测 GLUT1mRNA 和 GLUT1 蛋白的表达;AngII 对 GLUT1 足细胞膜分布检测也将足细胞分为 4 组:C 组、胰岛素(Ins) 10^{-6} mol/L 组、AngII 10^{-6} mol/L+Ins 10^{-6} mol/L 组及氯沙坦(LO) 10^{-6} mol/L+AngII 10^{-6} mol/L+Ins 10^{-6} mol/L 组,Western blot 检测 GLUT1 在胞膜的蛋白表达及间接免疫荧光观察 GLUT1 在胞膜的分布。【结果】mRNA 与蛋白表达分组中,与对照组相比,AngII 低、中、高浓度 3 组 GLUT1mRNA 水平分别增加了 5.89%、21.46%、30.95%(P 皆 < 0.01),各组之间差别亦有统计学意义($P < 0.01$);蛋白表达水平分别增加了 8.40%、11.79%、20.57%(P 皆 < 0.01),各组之间差别亦有统计学意义($P < 0.01$),Spearman 相关分析显示 AngII 浓度与 GLUT1 蛋白表达呈正相关($r = 0.934, P < 0.001$)。足细胞胞膜分布检测中,与对照组相比,足细胞胞膜 GLUT1 蛋白表达 Ins 10^{-6} mol/L 组增加了 16.33%($P < 0.01$)、AngII 10^{-6} mol/L+Ins 10^{-6} mol/L 组增加了 3.27%($P > 0.05$),LO 10^{-6} mol/L+AngII 10^{-6} mol/L+Ins 10^{-6} mol/L 组增加了 11.33%($P < 0.01$);免疫荧光显示 Ins 组 GLUT1 在胞膜上的分布明显多于对照组及 AngII +Ins 组,而 LO 干预后,胞膜的荧光强度增加。【结论】AngII 能剂量依赖性地增加足细胞胞内 GLUT1 的表达及合成;AngII 能够阻碍胰岛素诱发的 GLUT1 向足细胞胞膜的膜转位,氯沙坦可部分阻断 AngII 的作用。

关键词: 足细胞;葡萄糖转运蛋白 1;血管紧张素 II;氯沙坦

中图分类号:R69

文献标志码:A

文章编号:1672-3554(2015)02-0189-06

Effect of Angiotensin II on Expression and Translocation of Glucose Transporter-1 in Cultured Mouse Podocyte Cells

WANG Ze-bin¹, FU Jun-zhou², YU Li³, LIANG Mi², ZHOU Shan-shan²

(1.Department of Nephrology, The Second Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, Guangzhou 510060, China;
2. Department of Nephrology, The First Municipal Hospital of Guangzhou; 3.Department of Paediatrics, The First Municipal Hospital of Guangzhou, Guangzhou 510000, China)

Corresponding to: FU Jun-zhou, E-mail: fujzhou@163.com

Abstract: 【Objective】 To investigate the effect of angiotensin II (AngII) on the expression and the translocation of Glucose Transporter-1 (GLUT-1) in cultured mouse podocyte cells. 【Methods】 Method one, The expression of mRNA and protein of GLUT1: Cultured mouse podocyte cells in vitro were randomly divided into normal control group(C), AngII at the concentration of 10^{-10} mol/L (low concentration group), 10^{-8} mol/L (middle concentration group), 10^{-6} mol/L (high concentration group). The expression of mRNA and protein of GLUT1 were detected by semi-quantitative RT-PCR and Western blot respectively. Method two, the distribution of GLUT1 in the plasma membrane (translocation) of podocyte: Podocyte Cells were divided into normal control group (C), insulin

收稿日期:2014-10-06

基金项目:广东省自然科学基金(S2011010003081)

作者简介:王泽彬,讲师,硕士研究生,研究方向:肾小球疾病发病机制,E-mail:m13138640860@163.com; * 通信作者:傅君舟,教授,硕士生导师,Email:fujzhou@163.com

10^{-6} mol/L, AngII 10^{-6} mol/L plus insulin 10^{-6} mol/L and losartan (LO) 10^{-6} mol/L plus AngII 10^{-6} mol/L and insulin 10^{-6} mol/L groups. The way of Western blot and immunocytofluorescence were used. 【Results】 Compared to control group, AngII at the concentration of low, middle, and high groups increased GLUT1 transcription by 5.89% ($P < 0.01$), 21.46% ($P < 0.01$), and 30.95% ($P < 0.01$), respectively, and increased GLUT1 protein expression by 8.40% ($P < 0.01$), 11.79% ($P < 0.01$), and 20.57% ($P < 0.01$), respectively, and spearman rank correlation discovered positive correlation between AngII concentration and GLUT1 protein expression ($R = 0.934, P < 0.01$). Compared to control group, the amount of GLUT1 in the plasma membrane was increased by 16.33% in insulin group ($P < 0.01$), by 3.27% in the AngII 10^{-6} mol/L plus insulin 10^{-6} mol/L group ($P > 0.05$), and by 11.33% in the LO 10^{-6} mol/L plus AngII 10^{-6} mol/L and insulin 10^{-6} mol/L group ($P < 0.01$). Immunocytofluorescence indicated the expression of GLUT1 in the plasma membrane of insulin group was the strongest in the four groups and losartan could increase the GLUT1 expression in the plasma membrane partly. 【Conclusion】 AngII increases the expression of GLUT1, which is concentration dependent. Ang II prohibits the insulin-induced increasing of GLUT1 in the plasma membrane (translocation), and losartan could partly blocks the effect of AngII on the function of insulin.

Key words: podocyte; glucose transporter 1; angiotensin II; losartan

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2015, 36(2): 189-194]

足细胞位于肾小球滤过屏障(由内皮细胞、基底膜及足细胞构成)的最外层,是阻止血浆蛋白排出的重要屏障,足细胞的足突之间相互交错,通过裂孔隔膜这一结构形成有效的分子屏障,阻止蛋白的排出^[1]。目前的研究表明^[2],足细胞损伤是早期糖尿病肾病微量白蛋白尿产生的重要原因,而胰岛素抵抗是糖尿病患者^[3],甚至是非糖尿病患者^[4]微量白蛋白尿产生的独立危险因素。新近的研究^[5]显示足细胞是肾小球滤过屏障中唯一对胰岛素作用起反应的细胞,足细胞胞质内的葡萄糖转运蛋白 1(GLUT1)须转位到细胞膜上方能产生转运葡萄糖的作用, GLUT1 的这种移动是实现葡萄糖摄取的重要步骤,同时也是足细胞细胞利用葡萄糖重要的限速步骤。Tejada 等^[6]从糖尿病大鼠上提取出足细胞,结果发现足细胞对胰岛素刺激无反应,说明糖尿病大鼠体内足细胞存在胰岛素抵抗。而足细胞的胰岛素抵抗有可能与糖尿病肾病早期足细胞的结构及功能异常有密切关系。已有研究揭示 AngII 在血管平滑肌细胞能通过阻止 GLUT1 的膜转位引起胰岛素抵抗^[7]。目前尚未见 AngII 对足细胞 GLUT1 膜转位的相关研究。本研究观察 AngII 作用下小鼠足细胞 GLUT1 的表达和分布,探讨 AngII 对足细胞 GLUT1 表达及膜转位的影响。

1 材料与方法

1.1 主要试剂

RPMI 1640 培养基、胰蛋白酶、I 型胶原(美国

Gibco),胎牛血清(Hyclone), γ -干扰素(PEPROTECH INC)RNA 提取试剂盒、Taq Platinum PCR MasterMix (TIANGEN),MMLV 逆转录酶(Promega)。

1.2 足细胞的来源及分组

小鼠 MPC5 足细胞株由美国 Mundel 教授惠赠,北京大学第一医院丁洁教授转赠,本实验所用的足细胞为 13 ~ 14 代。分组一:分别用低(AngII 10^{-10} mol/L)、中(AngII 10^{-8} mol/L)、高剂(AngII 10^{-6} mol/L)量的血管紧张素 II(AngII)处理足细胞,将足细胞分为正常对照组、低剂量组、中剂量组、高剂量组;分组二:为了研究 AngII 对足细胞 GLUT1 膜转位的抵抗作用,在 Ins 作用基础上,加用 AngII 刺激足细胞,再用氯沙坦(LO)阻断 AngII 的作用,分成正常对照组、胰岛素(Ins) 10^{-6} mol/L 组、AngII 10^{-6} mol/L + Ins 10^{-6} mol/L 组、LO 10^{-6} mol/L + AngII 10^{-6} mol/L + Ins 10^{-6} mol/L 组。

1.3 细胞培养

用含 10% 的胎牛血清, 20 U/mL γ -干扰素的 1640 培养液,在 33℃ 的培养箱(体积分数 5% 的 CO₂)中培养传代,然后细胞转入不含 γ -干扰素的 10% 胎牛血清 1640 培养液中培养 8 ~ 10 d,使足细胞成熟分化。待细胞长满培养瓶约 80%,换无血清培养液孵育 24 h,使细胞同步于 G₀ 期,按分组计划加入各组刺激药物培养液,作用 4 h,每组设 3 复瓶。

1.4 总 RNA 的提取

用 TIANGEN 总 RNA 提取试剂盒,按说明书操作,提取各组细胞的总 RNA,用紫外分光光度计测 260 nm 的紫外吸收值,根据 OD₂₆₀ 的值计算

RNA 的浓度。

1.5 GLUT1mRNA 的检测

引物合成: 用 Prime Primer5.0 软件设计 GLUT1 寡核苷酸引物: 正义链 5'-TAGGAGGC TTTACGCTGG-3', 反义链 5'-ATTGAGTGGTTGGG TAGGAA-3', cDNA 长度为 127 bp。按文献[3]合成 GAPDH 引物: 正义链 5'-CTCATGACCACAGTCC ATGC-3', 反义链 5'-CACATTGGGGGTAGGAAC ACcDNA-3', 长度为 201 bp。逆转录 PCR (RT-PCR): 取各组细胞 5 μ g 的 RNA 逆转录成 cDNA, 然后进行 PCR, 反应, 扩增条件: 95 $^{\circ}$ C 预变性 5 min, 95 $^{\circ}$ C 30 s, 55 $^{\circ}$ C 30 s, 72 $^{\circ}$ C 30 s, 29 次循环, 72 $^{\circ}$ C 延伸 5 min, 取 5 μ L 的 PCR 产物于 2% 的聚丙烯酰胺凝胶中电泳, 紫外灯下凝胶成像系统成像, 用 Image-J 图像分析处理系统进行灰度分析, 待测指标与 GAPDH 的灰度比值表示其相对含量。

1.6 Western blot 检测 GLUT1 蛋白的表达

GLUT1 蛋白的提取。总蛋白的提取: 25 cm^2 培养瓶中的各组细胞以预冷的 PBS 液洗两次, 加入 100 μ L 含蛋白酶抑制剂的细胞裂解液 (cell signaling technology 公司), 冰上裂解 30 min, 刮匀收集样本, 4 $^{\circ}$ C 12 000 r/min ($r = 6$ cm) 离心 15 min, 取上清, 以 BCA 法测定蛋白浓度, 每个样品加入 5 $\times$ SDS 上样缓冲液煮沸 5 min 使蛋白变性。膜蛋白的提取: 用细胞膜蛋白提取试剂盒, 按说明书操作, 提取各组细胞的膜蛋白。以 BCA 法测定蛋白浓度, 每个样品加入 5 $\times$ SDS 上样缓冲液煮沸 5 min 使蛋白变性。

WesternBlot: 每孔加 20 μ g 总蛋白进行 8% SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳, 湿转仪湿转至 PVDF 膜。5% 脱脂奶粉室温封闭 60 min, 加一抗 (5% 脱脂奶粉稀释为 1:400) 4 $^{\circ}$ C 过夜。然后加入辣根过氧化物酶 (HRP) 标记的羊抗兔 IgG (5% 脱脂奶粉稀释为 1:2 000, 北京中杉金桥生物公司) 室温反应 60 min, 用 ECL 化学发光剂 (上海碧云天生物公司) 在化学发光成像系统上曝光并摄像。以 β -actin 为内参, 采用 Image J 图像处理软件进行半定量分析。羊抗兔 GAPDH 多克隆抗体购自北京中杉金桥生物公司。

1.7 间接免疫荧光染色检测 GLUT1 蛋白分布

取出各组玻片, 用 PBS 冲洗, 95% 的乙醇固定 30 min, 0.1% Triton X-100 室温透化 10 min, BSA 封闭。滴加一抗 (兔抗鼠 GLUT1 抗体, SANTA 公

司), 4 $^{\circ}$ C 过夜, PBS 冲洗, 滴加二抗 (TRITC 标记的羊抗兔抗体杉金桥), 室温 2 h, 防荧光衰减液封片, 用荧光显微镜观察和记录各组足细胞 GLUT1 的蛋白分布。

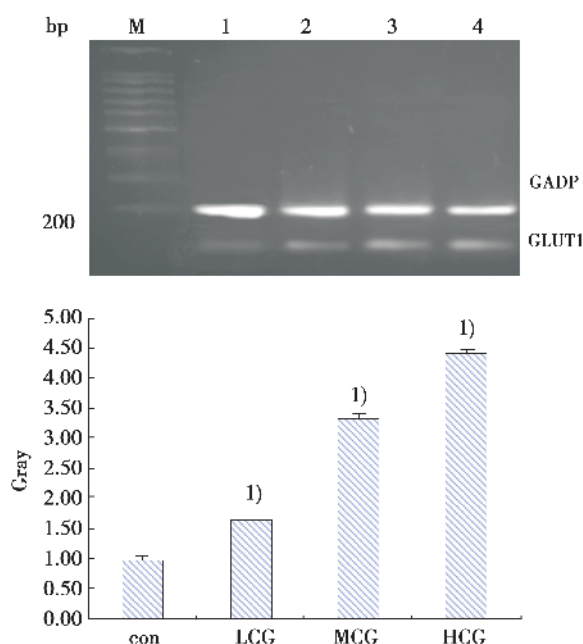
1.8 统计学分析

各组计量资料用以表示, 采用 SPSS 13.0 统计软件进行统计学分析。多组间的比较采用方差分析, 总体差异显著后进行 Post Hoc 两两比较, 数据间相关性采用 Spearman 相关分析。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 AngII 对足细胞 GLUT1mRNA 表达的影响

AngII 10^{-10} 、 10^{-8} 、 10^{-6} mol/L 组与对照组相比, GLUT1mRNA 的表达分别增加了 5.89%、21.46%、30.95%, 差异有统计学意义 ($F=156.24$, $P < 0.001$), 各组与对照组的差异均有统计学意义 ($P < 0.01$), 各组之间的差异也有显著性 ($P < 0.01$, 图 1)。



M: marker, 1: CON, 2: Low concentration group (LCG), 3: Middle concentration group (MCG), 4: High concentration group (HCG), 1) $P < 0.01$

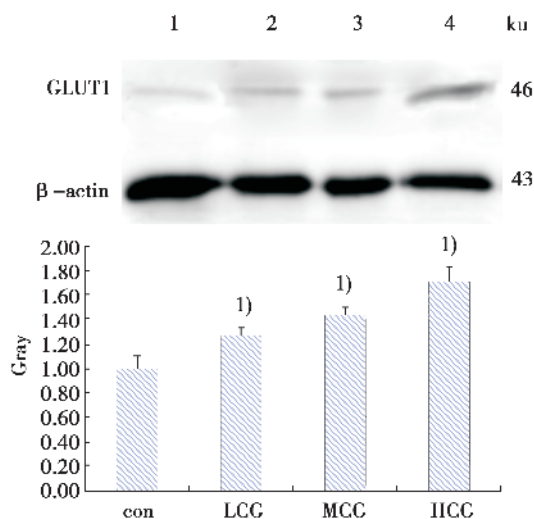
图 1 各组足细胞 GLUT1mRNA 的表达

Fig.1 The expression of GLUT1 mRNA in each groups

2.2 AngII 对足细胞 GLUT1 蛋白表达的影响

AngII 10^{-10} 、 10^{-8} 、 10^{-6} mol/L 组与对照组相比,

分别增加了 8.40% ($P < 0.01$)、11.79% ($P < 0.01$)、20.57% ($P < 0.01$), 差异有统计学意义 ($F = 101.67$, $P < 0.001$), 各组之间的差异均有统计学意义 ($P < 0.01$, 图 2)。Spearman 相关分析显示 AngII 与 GLUT1 蛋白表达呈剂量依赖 ($r = 0.934$, $P < 0.001$)。



1: CON; 2: low concentration group (LCG); 3: middle concentration group (MCC); 4: high concentration group (HCC), 1) $P < 0.01$

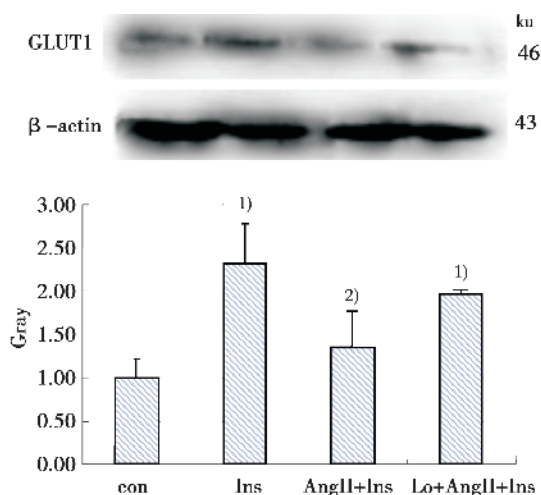
图 2 各组足细胞 GLUT1 蛋白的表达

Fig.2 The expression of GLUT1 protein in each groups

2.3 AngII 对足细胞 GLUT1 蛋白易位的影响

与对照组相比, Ins 组胞膜的 GLUT1 蛋白表达明显增加, 增加了 16.33% ($P < 0.01$); AngII+Ins 组的胞膜蛋白增加了 3.27% ($P > 0.05$); LO +

AngII+Ins 组胞膜蛋白增加了 11.93% ($P < 0.01$)。差异有统计学意义 ($F = 67.40$, $P < 0.001$, 图 3)。



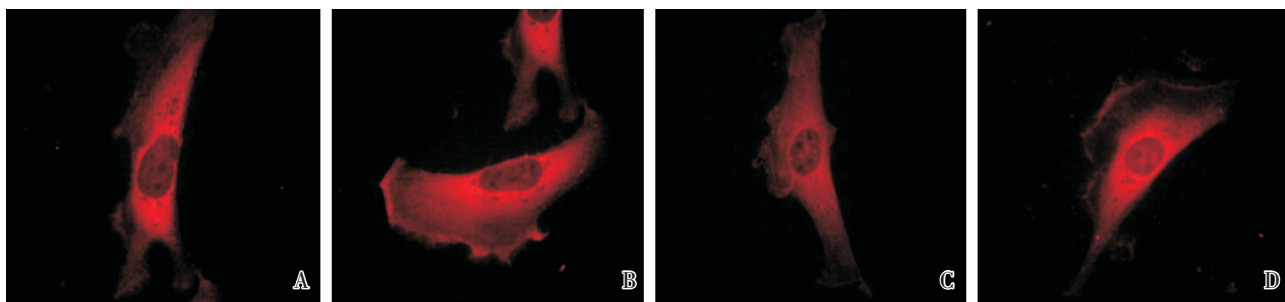
1: CON; 2: Ins 10^{-6} mol/L; 3: AngII 10^{-6} mol/L + Ins 10^{-6} mol/L; 4: LO 10^{-6} mol/L + AngII 10^{-6} mol/L + Ins 10^{-6} mol/L; compared with control group, 1) $P < 0.01$; compared with Ins group, 2) $P < 0.05$

图 3 各组足细胞胞膜 GLUT1 蛋白的表达

Fig.3 The expression of GLUT1 protein at podocyte membrane in each groups

2.4 GLUT1 在足细胞胞膜的分布

间接免疫荧光检测发现 Ins 刺激组足细胞胞膜上 GLUT1 蛋白的荧光最强; AngII 作用用于足细胞, 再用 Ins 刺激, 胞膜上并没有 GLUT1 蛋白的聚集; 用氯沙坦阻断 AngII 的作用, Ins 刺激后能够引起 GLUT1 蛋白在胞膜上的重新聚集 (图 4)。



A: CON; B: Ins; C: Ang+Ins; D: LO+Ang+Ins. $\times 400$

图 4 各组足细胞胞膜 GLUT1 的荧光

Fig.4 GLUT1 immunofluorescence at podocyte membrane in each groups

3 讨论

足细胞在糖尿病肾病早期就已经出现结构及

功能的异常。足细胞损伤是发生糖尿病风险及糖尿病肾病进展的独立风险因子^[8], 是糖尿病肾病蛋白尿产生的重要原因, 而并非糖尿病肾病后期大量蛋白尿引发的后果^[9]; 目前发现, 足细胞包含

胰岛素信号传导途径的相关分子结构^[5],例如 GLUT1 及 GLUT4,胰岛素信号途径对足细胞葡萄糖的利用,结构及功能的完整具有重要作用, GLUT1 及 GLUT4 在足细胞膜上的表达下降会导致足细胞对葡萄糖的吸收减少,从而导致胰岛素抵抗。近几年来, GLUT 在糖尿病肾病并发症中的作用开始受到人们的重视,既往的研究认为 GLUT1 和 GLUT4 主要在系膜细胞上^[10]表达,是促进系膜细胞增生,导致肾小球硬化的重要原因,而随着 GLUT1 和 GLUT4 在足细胞上表达被发现后,胰岛素信号途径对足细胞的作用也越来越受到人们的重视。在糖尿病肾病的早期, AngII 就能够通过多种途径损伤足细胞,例如 AngII 能够激活肿瘤坏死因子 β (TFG- β)^[11]、血管内皮生长因子 (VEGF)^[12] 等细胞因子途径,及激活活性氧簇 (ROS)^[13]而导致足细胞损伤。而最新有限的^[14]研究表明, AngII 能够刺激足细胞 GLUT1 的表达,而影响糖尿病肾病的发生发展。但 GLUT1 生成后,更为重要的是需要通过膜转运运送到细胞膜,才能促进细胞对葡萄糖的吸收及利用^[15],目前 AngII 对足细胞 GLUT1 膜转位的影响未见相关报道。本研究除了探讨 AngII 对足细胞 GLUT1 表达作用,还进一步地研究 AngII 对 GLUT1 膜转位的影响。

本实验的结果显示,在体外培养的足细胞, AngII 能够剂量依赖性的显著增加 GLUT1 mRNA 和蛋白水平。这与 Yu 等^[14]的研究结果相一致,他们通过 AngII 刺激足细胞,引起足细胞的 GLUT1 表达显著增加;当使用氯沙坦阻断 AngII 的作用后, GLUT1 的表达显著降低,说明 GLUT1 增加可以损伤足细胞。但 Zhang 等人^[16]在足细胞特异性高表达 GLUT1 的转基因糖尿病大鼠模型上却发现,足细胞高表达的 GLUT1 并不会导致早期糖尿病肾病的发生,而且能够通过减少足细胞分泌 VEGF 而减少纤维连接蛋白合成及系膜基质的增生。造成这两个实验之间的差异,可能与 AngII 除了对 GLUT1 在足细胞表达的影响外,还有对 GLUT1 膜转位的影响。

在生物体内,葡萄糖无法自由通过细胞膜的脂质双层结构,必须借助于细胞膜上的 GLUT, GLUT 在组织细胞摄取利用葡萄糖过程中起重要作用,胰岛素能够刺激 GLUT 囊泡从胞浆内转移至胞膜^[17],在脂肪细胞、心肌细胞及骨骼肌细胞,主要通过 GLUT4 及部分依赖 GLUT1 进行葡萄糖

的摄取^[18-19]。Masori 等^[7]发现在血管平滑肌细胞, AngII 能够通过下调 GLUT1 胞膜上的表达而减少其对葡萄糖的摄取,而导致平滑肌细胞收缩障碍。本研究中, Western blot 及间接免疫荧光对胞膜 GLUT1 检测表明,胰岛素能够促使足细胞内 GLUT1 转移致细胞膜;用 AngII 处理细胞后,胰岛素的这种膜转位作用减弱;而氯沙坦阻断 AngII 对 GLUT1 膜转位的影响。

我们既往的^[20]研究表明, AngII 能够破坏足细胞细胞骨架 F-actin 的结构,使其从有序排列变成松散形态。Richard J.M. Coward 等人的实验已经证实, GLUT1 的实现膜转位的重要原因是胰岛素刺激足细胞,使得足细胞的 F-actin 从松散状态变成有序排列,从而实现 GLUT1 囊泡从胞浆转移至胞膜。我们认为, AngII 阻碍了足细胞 F-actin 形成有序排列,从而影响了 GLUT1 的膜转位。此外, AngII 还能够下调裂孔隔膜相关分子 nephrin 的表达,导致蛋白尿的发生^[2],而 nephrin 是足细胞胰岛素信号传导分子,与 GLUT1 的转位关系密切^[21], nephrin 表达下降也会导致 GLUT1 在足细胞中的膜转位障碍。足细胞是肾小球滤过屏障重要组成部分,其伸出的足突紧紧贴附在基底膜上,足突间呈相互交叉嵌合,并形成宽约 40 nm 的滤过裂,裂孔由极薄的裂孔隔膜相连,成为阻止蛋白等大分子滤过的最后屏障。足细胞通过不断的运动调节,保持这种结构的完整。 AngII 通过阻碍胰岛素刺激后 GLUT1 的膜转位而导致足细胞摄取葡萄糖障碍,引起足细胞的胰岛素抵抗,导致足细胞的能量代谢障碍,不能提供足够的能量维持这种运动,从而影响足细胞的结构和功能。

本研究证实了 AngII 能够刺激足细胞 GLUT1 的表达,并且能够阻碍 GLUT1 在足细胞的膜转位。氯沙坦能够阻断 AngII 的这种作用。但本实验仅就 AngII 对 GLUT1 影响的现象进行了研究,并未进行相关分子机制的研究,尚需做更深入的研究以明确 AngII 对足细胞 GLUT 1 的影响,为糖尿病肾病的防治提供更多的理论依据。

参考文献

- [1] Haraldsson B, Nystrom J, Deen WM. Properties of the glomerular barrier and mechanisms of proteinuria [J]. *Physiol Rev*, 2008, 88(2): 451-487.
- [2] Wolf G, Chen S, Ziyadeh FN. From the periphery of the

- glomerular capillary wall toward the center of disease: Podocyte injury comes of age in diabetic nephropathy [J]. *Diabetes*, 2005, 54(6): 1626–1634.
- [3] Parvanova AI, Trevisan R, Iliev IP, et al. Insulin resistance and microalbuminuria: A cross-sectional, case-control study of 158 patients with type 2 diabetes and different degrees of urinary albumin excretion [J]. *Diabetes*, 2006, 55(5): 1456–1462.
- [4] Wagenknecht LE, D'Agostino RB Jr, Haffner SM, et al. Impaired glucose tolerance, type 2 diabetes, and carotid wall thickness: The insulin resistance atherosclerosis study [J]. *Diabetes Care*, 1998, 21(11): 1812–1818.
- [5] Coward RJ, Welsh GI, Yang J, et al. The human glomerular podocyte is a novel target for insulin action [J]. *Diabetes*, 2005, 54(11): 3095–3102.
- [6] Tejada T, Catanuto P, Ijaz A, et al. Failure to phosphorylate akt in podocytes from mice with early diabetic nephropathy promotes cell death [J]. *Kidney Int*, 2008, 73(12): 1385–1393.
- [7] Masori M, Hamamoto A, Mawatari K, et al. Angiotensin II decreases glucose uptake by downregulation of GLUT1 in the cell membrane of the vascular smooth muscle cell line A10 [J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2007, 50(3): 267–273.
- [8] Meyer TW, Bennett PH, Nelson RG. Podocyte number predicts long-term urinary albumin excretion in Pima Indians with type II diabetes and microalbuminuria [J]. *Diabetologia*, 1999, 42(11): 1341–1344.
- [9] Verzola D, Gandolfo MT, Ferrario F, et al. Apoptosis in the kidneys of patients with type II diabetic nephropathy [J]. *Kidney Int*, 2007, 72(10): 1262–1272.
- [10] Heilig CW, Brosius FC 3rd, Cunningham C. Role for GLUT1 in diabetic glomerulosclerosis [J]. *Expert Rev Mol Med*, 2006, 8(4): 1–18.
- [11] Vega-Warner V, Ransom RF, Vincent AM, et al. Induction of antioxidant enzymes in murine podocytes precedes injury by puromycin aminonucleoside [J]. *Kidney Int*, 2004, 66(5): 1881–1889.
- [12] Chen S, Kasama Y, Lee JS, et al. Podocyte-derived vascular endothelial growth factor mediates the stimulation of α 3 (IV) collagen production by transforming growth factor- β 1 in mouse podocytes [J]. *Diabetes*, 2004, 53(11): 2939–2949.
- [13] Schiffer M, Mundel P, Shaw AS, et al. A novel role for the adaptor molecule c2-associated protein in transforming growth factor- β -induced apoptosis [J]. *Journal Bio Chem*, 2004, 279(35): 37004–37012.
- [14] Yu SY, Qi R, Zhao H. Losartan reverses glomerular podocytes injury induced by AngII via stabilizing the expression of GLUT1 [J]. *Mol Biol Rep*, 2013, 40(11): 6295–6301.
- [15] Sun L, Zeng X, Yan C, et al. Crystal structure of a bacterial homologue of glucose transporters GLUT1–4 [J]. *Nature*, 2012, 490(7420): 361–366.
- [16] Zhang H, Schin M, Saha J, et al. Podocyte-specific overexpression of GLUT1 surprisingly reduces mesangial matrix expansion in diabetic nephropathy in mice [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2010, 299(1): F91–98.
- [17] Holten MK, Zacho M, Gaster M, et al. Strength training increases insulin-mediated glucose uptake, GLUT4 content, and insulin signaling in skeletal muscle in patients with type 2 diabetes [J]. *Diabetes*, 2004, 53(2): 294–305.
- [18] Shepherd PR, Kahn BB. Glucose transporters and insulin action—implications for insulin resistance and diabetes mellitus [J]. *N Engl J Med*, 1999, 341(4): 248–257.
- [19] Kappel VD, Cazarolli LH, Pereira DF, et al. Involvement of GLUT-4 in the stimulatory effect of rutin on glucose uptake in rat soleus muscle [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2013, 65(8): 1179–1186.
- [20] 詹俊琳, 王泽彬, 傅君舟. 血管紧张素 II 对足细胞骨架的影响 [J]. *国际医药卫生导报*, 2010, 16(18): 2201–2204.
- Zhan JL, Wang ZB, Fu JZ. The influence of angiotensin-II on F-actin in Podocytes [J]. *Imhgn*, 2010, 16(18): 2201–2204.
- [21] Coward RJ, Welsh GI, Koziell A, et al. Nephron is critical for the action of insulin on human glomerular podocytes [J]. *Diabetes*, 2007, 56(4): 1127–1135.

(编辑 孙慧兰)