

论著·实验研究

干扰素 α 对乙型肝炎病毒X蛋白诱导小鼠足细胞系凋亡的影响及分子机制研究

孙永红 雷晓燕 陈星星 崔维静 刘璟

(甘肃省人民医院儿科, 甘肃 兰州 730000)

[摘要] **目的** 观察干扰素 α (INF- α)对乙型肝炎病毒X (HBx)蛋白诱导的小鼠足细胞系 (MPC5) 凋亡的影响及其分子机制。**方法** 以携带HBx基因的pEX质粒转染MPC5细胞,采用逆转录PCR检测不同时间点HBx mRNA表达水平。将MPC5细胞分为对照组:正常条件下培养的MPC5细胞;INF- α 组:正常MPC5细胞与INF- α 共培养;HBx组:HBx诱导的MPC5细胞;HBx+INF- α 组:HBx诱导的MPC5细胞与INF- α 共培养。不同实验条件下干预48 h后,采用流式细胞术检测各组MPC5细胞凋亡情况;采用实时荧光定量PCR法和Western blot法检测足细胞裂孔隔膜相关蛋白(nephrin、CD2AP、synaptopodin)和细胞骨架相关蛋白(TRPC6)的mRNA及其蛋白的表达。**结果** pEX-HBx转染MPC5细胞后48 h HBx mRNA表达最高($P<0.05$)。HBx组MPC5细胞凋亡率显著高于对照组、INF- α 组和HBx+INF- α 组($P<0.05$)。与对照组和INF- α 组相比,HBx组nephrin、synaptopodin、CD2AP mRNA及其蛋白的表达水平明显降低,TRPC6 mRNA及其蛋白的表达水平明显增高($P<0.05$)。与HBx组相比,HBx+INF- α 组nephrin、synaptopodin、CD2AP mRNA及其蛋白的表达水平明显增高,TRPC6 mRNA及其蛋白的表达水平明显降低($P<0.05$)。**结论** INF- α 可抑制HBx诱导的MPC5细胞凋亡,其机制可能与INF- α 可调节HBx诱导的足细胞裂孔隔膜相关蛋白(CD2AP、nephrin、synaptopodin)和细胞骨架相关蛋白(TRPC6)的异常表达恢复正常有关。**[中国当代儿科杂志, 2019, 21(9): 930-935]**

[关键词] 干扰素 α ; 乙肝病毒X蛋白; 细胞凋亡; 足细胞系; 小鼠

Effect and molecular mechanism of interferon- α on podocyte apoptosis induced by hepatitis B virus X protein

SUN Yong-Hong, LEI Xiao-Yan, CHEN Xing-Xing, CUI Wei-Jing, LIU Jing. Department of Pediatrics, Gansu Province People's Hospital, Lanzhou 730000, China (Lei X-Y, Email: leixiaoyan601@163.com)

Abstract: Objective To investigate the effect and molecular mechanism of interferon- α (INF- α) on the apoptosis of the mouse podocyte cell line MPC5 induced by hepatitis B virus X (HBx) protein. **Methods** MPC5 cells were transfected with the pEX plasmid carrying the HBx gene. RT-PCR was used to measure the mRNA expression of HBx at different time points. MPC5 cells were divided into 4 groups: control group (MPC5 cells cultured under normal conditions), INF- α group (MPC5 cells cultured with INF- α), HBx group (MPC5 cells induced by HBx), and HBx+INF- α group (MPC5 cells induced by HBx and cultured with INF- α). After 48 hours of intervention under different experimental conditions, flow cytometry was used to measure the apoptosis of MPC5 cells, and quantitative real-time PCR and Western blot were used to measure the mRNA and protein expression of slit diaphragm-related proteins (nephrin, CD2AP, and synaptopodin) and the cytoskeleton-related protein transient receptor potential cation channel 6 (TRPC6). **Results** MPC5 cells transfected by pEX-HBx had the highest expression of HBx mRNA at 48 hours after transfection ($P<0.05$). Compared with the control, INF- α and HBx+INF- α groups, the HBx group had a significant increase in the apoptosis rate of MPC5 cells ($P<0.05$). Compared with the control and INF- α groups, the HBx group had significant reductions in the mRNA and protein expression of nephrin, synaptopodin, and CD2AP and significant increases in the mRNA and protein

[收稿日期] 2019-03-18; [接受日期] 2019-07-22

[基金项目] 国家自然科学基金(81760133); 甘肃省国际科技合作专项(18YF1WA040); 甘肃省自然科学基金(1606RJ2A107); 甘肃省人民医院内科研基金(17GSSY1-1; 18GSSY3-4)。

[作者简介] 孙永红,男,硕士,副主任医师。

[通信作者] 雷晓燕,女,主任医师。Email: leixiaoyan601@163.com。

expression of TRPC6 ($P<0.05$). Compared with the HBx group, the HBx+INF- α group had significant increases in the mRNA and protein expression of nephrin, synaptopodin, and CD2AP and significant reductions in the mRNA and protein expression of TRPC6 ($P<0.05$). **Conclusions** INF- α can inhibit the apoptosis of podocytes induced by HBx, possibly through improving the abnormal expression of slit diaphragm-related proteins (CD2AP, nephrin, and synaptopodin) and cytoskeleton-related protein (TRPC6) induced by HBx. [Chin J Contemp Pediatr, 2019, 21(9): 930-935]

Key words: Interferon- α ; Hepatitis B virus X protein; Apoptosis; Podocyte cell line; Mice

乙型肝炎病毒相关性肾炎 (HBV-GN) 病变主要位于肾小球毛细血管袢, 足细胞病变为其突出表现, 足细胞凋亡、增殖功能丧失是导致足细胞减少的主要机制。足细胞足突之间的裂孔隔膜 (SD) 是维持滤过屏障的完整性和防止尿蛋白产生的关键因素。肾小球足细胞裂孔隔膜相关蛋白 (CD2AP) 主要定位于 SD 上, 是足细胞胞内重要的接头蛋白; 足细胞去氧肾上腺素 (nephrin) 是 SD 的主要结构蛋白, 对维持细胞形态和稳定滤过屏障起重要作用, 突触足蛋白 (synaptopodin) 可通过 A-肌动蛋白与足细胞表达的紧密连结蛋白相互作用, 进而与细胞骨架蛋白相连接。瞬时受体电位阳离子通道蛋白 (TRPC6) 编码基因突变, 会导致肾小球滤过屏障紊乱和肌动蛋白细胞骨架重排, 导致肾脏疾病的发生。TRPC6 在足细胞中主要分布于初级足突和 SD 处, 并且和足细胞 SD 相关蛋白 (CD2AP、nephrin) 存在共定位分布且能够相互作用, 共同维持 SD 的正常功能和稳定性^[1]。所以足细胞 SD 相关蛋白和细胞骨架相关蛋白功能的维持对肾脏疾病的治疗至关重要。

乙型肝炎病毒 X (HBx) 蛋白通过激活 STAT3/JAK2 信号通路, 下调足细胞中 nephrin 蛋白表达, 从而抑制小鼠足细胞增殖, 促进其凋亡的发生, 足细胞的凋亡在 HBV-GN 尿蛋白形成中发挥至关重要的作用^[2-3]。临床上干扰素 α (INF- α) 治疗 HBV-GN 的过程中, 我们发现: (1) HBV-GN 患儿经干扰素治疗后, 体内尿蛋白水平明显下降。(2) HBV-GN 初治患儿血清干扰素水平明显低于慢性乙型肝炎无肾损害者。实验研究证实 HBx 在 HBV-GN 患者肾组织中分布于肾小管和足细胞, 与 HBV-DNA 在肾组织内的分布区域一致^[4], 且外源性 HBx 表达可直接诱导足细胞凋亡^[5]。因此我们推测 INF- α 可能通过下调 HBx 基因, 抑制足细胞凋亡, 从而改善 HBV-GN 尿蛋白水平。本研究利用基因转染技术, 从细胞学角度研究 HBx 转染小鼠足细胞系 (MPC5) 后, 利用 INF- α 与 HBx 诱导 MPC5 共培养, 采用流式细胞术检测 MPC5 的调

亡情况, 同时采用 Western blot 法检测足细胞 SD 相关蛋白 (CD2AP、nephrin、synaptopodin) 和细胞骨架相关蛋白 (TRPC6) 的表达水平, 为干扰素治疗 HBV-GN 提供体外细胞实验依据。

1 材料与方法

1.1 足细胞和质粒

小鼠足细胞系 (mouse podocyte clone 5, MPC5, 美国 CHI Scientific 公司); pEX-HBx 质粒 (上海吉玛制药技术有限公司)。

1.2 主要试剂和酶

胎牛血清、DMEM 培养基 (美国 Gibco 公司); Lipofectamine[®]LTX & PLUS 转染试剂盒 (美国 Invitrogen 公司); MTT 试剂盒 (美国 Biomol 公司); 4% 多聚甲醛 (北京索莱宝科技有限公司); 胰蛋白酶、NC 膜 (武汉博士德生物工程有限公司); 兔抗小鼠 synaptopodin 多克隆抗体 (美国 Santa Cruz 公司); 兔抗小鼠 nephrin、TRPC6 多克隆抗体 (美国 Abcam 公司); 兔抗小鼠 CD2AP 多克隆抗体 (美国 Cell signaling 公司)。

1.3 MPC5 培养

将 3 份冻存的足细胞复苏后, 分别置于含 10% 胎牛血清的低糖 DMEM 培养基中, 5% CO₂、37℃ 的饱和湿度培养箱内培养, 3~4 d 待细胞融合至 70% 左右传代, 取对数生长期细胞进行以下实验。

1.4 pEX-HBx 质粒转染

感受态细胞的制备、限制性内切酶酶切、载体 DNA 与片段 DNA 的连接及转化参照文献^[6]。实验分为 3 组, 即 HBx 转染组 (脂质体 + HBx 质粒), 阴性对照组 (脂质体 + 空质粒), 空白对照组 (脂质体)。将 MPC5 细胞以 5×10^4 个/cm² 浓度接种于 6 孔板上, 每组 3 个复孔, 待细胞生长融合约为 70% 时, 分别对各组进行不同处理。采用脂质体转染试剂盒开始转染 (具体步骤参照说明书), 选择转染效率最高的条件进行后续实验。

1.5 逆转录 PCR 法检测 HBx mRNA 的表达

分别于 MPC5 细胞转染 12、24、48、72 h 后用胰酶消化并经 PBS 洗后收集细胞，采用 TRIzol（美国 Invitrogen 公司）提取细胞的总 RNA 并逆转录为 cDNA。HBx 及内参基因 ABL 引物由上海生工生物工程股份有限公司设计合成（表 1）。逆转录 PCR（RT-PCR）反应体系（20 μL）：25 ng

cDNA 3 μL，0.1 mmol/L dNTP 3 μL，2 mmol/L MgCl₂ 2 μL，0.5 μmol/L 上、下游引物各 2 μL，0.5 U Taq DNA 聚合酶（美国 MBI Fermentas 公司）3 μL，ddH₂O 补足剩余体积。反应条件：95 °C 预变性 10 min；95 °C 变性 15 s，60 °C 退火 60 s，循环 40 次。扩增产物经 1.5% 琼脂糖凝胶电泳，结果以目的基因相对于内参基因的比值表示，实验独立重复 3 次。

表 1 RT-PCR 引物序列

基因名称	引物序列	片段长度 (bp)
HBx	上游引物: 5'-TGGGACGACCCTTCTCGGG-3'	195
	下游引物: 5'-GGGCAACATTCGGTGGGCGT-3'	
ABL	上游引物: 5'-TCCTCCAGCTGTATCTGGAAGA-3'	118
	下游引物: 5'-TCCAACGAGCGGCTTCAC-3'	

1.6 分组与 INF-α 共培养

将 MPC5 细胞分为 4 组：对照组：正常条件下培养的 MPC5 细胞；INF-α 组：正常 MPC5 细胞与 INF-α 共培养；HBx 组：HBx 诱导的 MPC5 细胞；HBx+INF-α 组：HBx 诱导的 MPC5 细胞与 INF-α 共培养。用 0.25% 胰蛋白酶溶液消化并收集各组足细胞，用预冷的缓冲液冲洗 2 次，使得细胞的终浓度为 1.0 × 10⁷ 个/mL。取 INF-α 加入 10% 胎牛血清的 DMEM 完全培养基，37 °C、5%CO₂ 培养箱内培养。

1.7 流式细胞术检测细胞凋亡

取各组细胞培养 48 h，消化后，1000 r/min 离心 10 min，弃酶消化液，加入细胞培养液悬浮细胞，收集 10⁶ 个细胞，加入结合缓冲液 200 μL 重悬细胞，分别加入 PI 和 Annexin-V 各 5 μL，放在室温条件下反应 30 min，用流式细胞仪分别检测各组细胞凋亡情况，实验独立重复 3 次。

1.8 实时荧光定量 PCR 法检测 mRNA 表达水平

MPC5 细胞总 RNA 的提取和 cDNA 的合成按试剂盒说明书操作。nephin、CD2AP、synaptopodin、TRPC6 及内参 β-actin 序列的引物设计采用 Primer 3 软件，合成由上海生工生物工程技术有限公司完成，各引物序列及片段长度见表 2。实时荧光定量 PCR（qRT-PCR）反应体系（25 μL）包括：10 × Buffer 2.5 μL，dNTP（10 mmol/L）0.5 μL，MgCl₂（25 mmol/L）4.0 μL，上下游引物（10 pmol/μL）各 0.5 μL，Taq DNA 聚合酶 1.0 μL，

20 × EvaGreen 1.2 μL，50 × ROX 0.6 μL，cDNA 模板 2.0 μL，ddH₂O 12.2 μL。反应在 ABI7300 扩增仪（美国 ABI 公司）上进行，扩增条件为：94 °C 预变性 4 min；94 °C 变性 30 s，退火见表 2，72 °C 延伸 30 s，收集荧光见表 2，循环 40 次。以 β-actin 为内参照，2^{-ΔΔCt} 法计算目的基因相对表达水平。实验独立重复 3 次。

1.9 Western blot 法检测蛋白表达水平

各组 MPC5 细胞用蛋白裂解液处理，按 Bradford 蛋白定量试剂盒说明书操作，测定蛋白含量。SDS-PAGE 分离蛋白，电泳后移至硝酸纤维素膜，5% 脱脂奶粉-TBST 室温封闭 90 min，加入第一抗体分别为免抗小鼠 nephin（1:200），免抗小鼠 CD2AP（1:1000），免抗小鼠 synaptopodin（1:500），4 °C 孵育过夜，以 FITC 标记的山羊抗大鼠 IgG 为第二抗体（1:2000），37 °C 孵育 2 h，用增强化学发光法使胶片显影，扫描后用 QuantityOne 系统软件分析，蛋白表达量用灰度值来表示。以 β-actin 为内参，蛋白相对表达量以目的蛋白/β-actin 比值表示。实验独立重复 3 次。

1.10 统计学分析

采用 SPSS 20.0 统计软件对数据进行统计学分析，计量资料以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示，多组间比较采用单因素方差分析，组间两两比较采用 SNK-q 检验，P < 0.05 为差异有统计学意义。

表2 qRT-PCR 引物序列及反应条件

基因	序列	片段长度 (bp)	退火	收集荧光
nephrin	上游引物: 5'-CAGGGAAGACAGCAACAAACA-3' 下游引物: 5'-CAGGTTTTTCAGATAGAGCCCAGA-3'	197	58℃ 30 s	80℃ 30 s
CD2AP	上游引物: 5'-AGGAATTCAGCCACATCCACA-3' 下游引物: 5'-CGATCAATTCAGTTCGTCCTC-3'	113	57℃ 30 s	71℃ 34 s
synaptopodin	上游引物: 5'-GCTCGAATTCGGATGCAAATAAAC-3' 下游引物: 5'-CAGGCCACAGTGAGATGTGAAGA-3'	132	58℃ 30 s	80℃ 30 s
TRPC6	上游引物: 5'-GCGATTGCATAAAGACCTTCAGAGA-3' 下游引物: 5'-GCGATTGCATAAAGACCTTCAGAGA-3'	155	60℃ 30 s	76℃ 30 s
β-actin	上游引物: 5'-CTCCATCCTGGCCTCGTGT-3' 下游引物: 5'-GCTGTCACCTTCACCGTTCC-3'	268	60℃ 30 s	80℃ 30 s

2 结果

2.1 pEX-HBx 质粒转染 MPC5 细胞的鉴定及转染效率的验证

分别于 pEX-HBx 转染 MPC5 细胞后 12、24、48、72 h, RT-PCR 法检测各组 HBx mRNA 表达水平。结果显示, 48 h 时 HBx 转染组 HBx mRNA 表达最高, 与 12 h、24 h 及 72 h 比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 同时其表达水平较同时期空白对照及阴性对照组显著增加 ($P < 0.05$), 而阴性对照组和空白对照组各时间点 HBx mRNA 表达水平比较差异无统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 3。

2.2 INF-α 对 HBx 诱导足细胞凋亡的影响

流式细胞术检测结果显示: 足细胞凋亡率在对照组 ($4.86\% \pm 0.55\%$)、INF-α 组 ($4.65\% \pm 0.43\%$)、HBx 组 ($10.82\% \pm 0.45\%$) 和 HBx+INF-α 组 ($4.91\% \pm 0.37\%$) 间比较差异有统计学意义 ($F=8.351$, $P < 0.01$)。其中 HBx 组足细胞凋亡率明显高于对

照组、INF-α 组和 HBx+INF-α 组 ($P < 0.05$), 而对照组、INF-α 组和 HBx+INF-α 组足细胞凋亡率比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。说明 HBx 可促进足细胞凋亡, 但与 INF-α 共培养后足细胞凋亡明显被抑制。

2.3 INF-α 对 HBx 诱导的足细胞功能蛋白的影响

与对照组相比, INF-α 组足细胞 TRPC6、CD2AP、nephrin 和 synaptopodin 的 mRNA 及其蛋白表达水平差异均无统计学意义 ($P > 0.05$); 与对照组和 INF-α 组相比, HBx 组足细胞 CD2AP、nephrin 和 synaptopodin 的 mRNA 及其蛋白表达水平明显降低, TRPC6 mRNA 及其蛋白表达水平明显增高 ($P < 0.05$)。与 HBx 组相比, HBx+INF-α 组足细胞 CD2AP、nephrin 和 synaptopodin 的 mRNA 及其蛋白表达水平明显增高, 且高于对照组和 INF-α 组 ($P < 0.05$); TRPC6 mRNA 及其蛋白表达水平明显降低, 且低于对照组和 INF-α 组 ($P < 0.05$)。见表 4, 图 1。

表3 HBx 基因在 MPC5 细胞中的转染效率 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

组别	12 h	24 h	48 h	72 h	F 值	P 值
空白对照组	0.48 ± 0.14	0.51 ± 0.12	0.54 ± 0.12	0.44 ± 0.10	0.024	0.078
阴性对照组	0.53 ± 0.13	0.65 ± 0.11	0.64 ± 0.20	0.58 ± 0.21	0.031	0.069
HBx 转染组	0.64 ± 0.11 ^{d,e}	18.30 ± 0.25 ^{a,d,e}	593.42 ± 0.56 ^{a,b,d,e}	88.59 ± 0.33 ^{a,b,c,d,e}	12.634	0.001
F 值	1.642	2.841	13.397	6.309		
P 值	0.041	0.031	<0.001	0.005		

注: a 示与同组 12 h 比较, $P < 0.05$; b 示与同组 24 h 比较, $P < 0.05$; c 示与同组 48 h 比较, $P < 0.05$; d 示与空白对照组比较, $P < 0.05$; e 示与阴性对照组比较, $P < 0.05$ 。

表4 各组足细胞 TRPC6、CD2AP、nephrin 及 synaptopodin mRNA 及其蛋白相对表达量的比较 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	mRNA				蛋白			
	TRPC6	CD2AP	nephrin	synaptopodin	TRPC6	CD2AP	nephrin	synaptopodin
对照组	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
INF- α 组	0.90 \pm 0.10	1.00 \pm 0.11	1.00 \pm 0.11	1.00 \pm 0.11	1.00 \pm 0.01	1.00 \pm 0.19	0.90 \pm 0.11	0.90 \pm 0.10
HBx 组	1.20 \pm 0.13 ^{a,b}	0.30 \pm 0.04 ^{a,b}	0.20 \pm 0.15 ^{a,b}	0.30 \pm 0.02 ^{a,b}	1.70 \pm 0.14 ^{a,b}	0.40 \pm 0.13 ^{a,b}	0.20 \pm 0.11 ^{a,b}	0.20 \pm 0.06 ^{a,b}
HBx+INF- α 组	0.30 \pm 0.01 ^{a,b,c}	1.30 \pm 0.01 ^{a,b,c}	1.40 \pm 0.10 ^{a,b,c}	1.30 \pm 0.03 ^{a,b,c}	0.50 \pm 0.08 ^{a,b,c}	1.20 \pm 0.21 ^{a,b,c}	1.30 \pm 0.11 ^{a,b,c}	1.30 \pm 0.10 ^{a,b,c}
F 值	0.974	0.845	0.871	0.746	0.772	0.904	0.632	0.687
P 值	0.024	0.036	0.032	0.040	0.032	0.022	0.041	0.036

注: a 示与对照组比较, $P < 0.05$; b 示与 INF- α 组比较, $P < 0.05$; c 示与 HBx 组比较, $P < 0.05$ 。

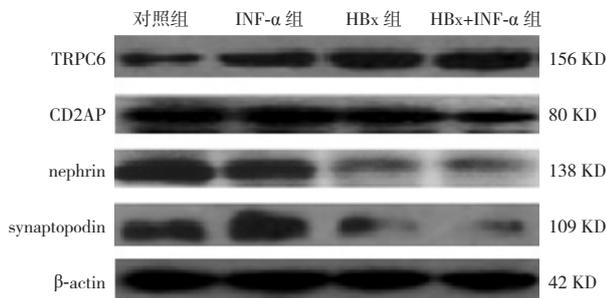


图1 Western blot 法检测各组足细胞 TRPC6、CD2AP、nephrin 及 synaptopodin 蛋白表达

3 讨论

足细胞是维持肾小球滤过膜完整性的主要细胞, 目前已有大量研究表明, 足细胞的损伤、脱落及功能异常在局灶节段性肾小球硬化、膜性肾等疾病中扮演着重要的角色, 因此, 维持足细胞结构和功能的完整性, 保护足细胞不受损伤, 已成为改善蛋白尿的潜在治疗方法^[6-7]。足细胞凋亡是足细胞缺失的一种主要方式, 足细胞损伤是蛋白尿相关疾病的共同特征, 也是导致肾小球硬化和慢性肾脏病发展的重要机制之一^[8]。

本研究结果一方面显示: HBx 转染足细胞后发现足细胞凋亡率较空白及阴性对照组均显著增加, 这说明了 HBx 可能通过促进足细胞凋亡、抑制其增殖、加速其损伤从而参与蛋白尿的形成。另一方面显示: HBx 转染组中 nephrin 蛋白表达较阴性对照及空白对照组均下降, 这说明 HBx 除了抑制足细胞增殖、促进其凋亡外, 还可能通过对 nephrin 蛋白的调节引起蛋白尿的产生^[9-10]。前期研究发现 HBV-GN 足细胞凋亡可能与 HBx 能上调 STAT3、JAK2 表达, 从而激活 STAT3/JAK2 信号

通路有关^[11-12]。

干扰素是一类具有抗病毒、免疫调节及抗肿瘤作用的细胞因子^[13]。临床发现慢性乙型肝炎合并肾损害者较没有肾损害者血清干扰素水平低, 儿童 HBV-GN 给予干扰素治疗后, 病毒水平抑制后尿蛋白明显缓解, 但干扰素缓解蛋白尿机制仍不十分清楚。因此本研究设计了上述实验, 探讨干扰素是否能调节 HBx 的功能, 为 HBV-GN 的治疗提供新的理论指导。

该研究通过将干扰素与 HBx 诱导足细胞共培养, 发现与干扰素共培养的足细胞生长状态较好, CD2AP、nephrin、synaptopodin 的表达水平升高, TRPC6 的表达水平下降。Russo 等^[14]研究发现 CD2AP 基因敲除小鼠出现蛋白尿, 可能与肾小球滤过功能障碍有关, CD2AP 主要定位于足细胞 SD 上, 是足细胞胞内重要的接头蛋白, 一旦 CD2AP 受到损伤, 细胞骨架的稳定性就会遭到破坏, 进而足突融合消失, 产生大量的蛋白尿。nephrin 是 SD 的主要结构蛋白, 对维持细胞形态和稳定滤过屏障起重要作用。Kim 等^[15]发现 synaptopodin 可通过 A-肌动蛋白 4 与足细胞表达的紧密连结蛋白 MACI-1 相互作用, 进而与细胞骨架蛋白相连接, synaptopodin 是足细胞分化成熟的经典标志之一。synaptopodin 在多种肾脏疾病中表达减少, 伴有足细胞的结构和功能变化及蛋白尿的产生^[16]。Wilson 等^[17]研究发现 TRPC6 的编码基因突变, 会导致肾小球滤过屏障紊乱和肌动蛋白细胞骨架重排, 导致肾脏疾病的发生。TRPC6 在足细胞中主要分布于初级足突和 SD 处, 并且和足细胞 SD 相关蛋白 nephrin、podocin 存在共定位分布且能够相互作用, 共同维持 SD 的正常功能。该研究发现, 干扰素对

足细胞SD相关蛋白及细胞骨架相关蛋白的功能有一定程度的保护作用,从而维持SD的结构稳定和足细胞正常功能,对损伤的足细胞起一定的修复作用,其机制有待进一步研究。

总之,该研究表明干扰素可以改善HBx诱导的足细胞凋亡,通过对CD2AP、nephrin、synaptopodin蛋白的调节,从而维持足细胞SD的完整性及细胞骨架蛋白的稳定性,该研究为干扰素治疗HBV-GN蛋白尿提供实验依据,同时为HBV-GN今后靶向治疗提供思路。

[参 考 文 献]

- [1] Mundel P, Reiser J. Proteinuria: an enzymatic disease of the podocyte[J]. *Kidney Int*, 2010, 77(7): 571-580.
- [2] Clippinger AJ, Gearhart TL, Bouchard MJ. Hepatitis B virus X protein modulates apoptosis in primary rat hepatocytes by regulating both NF-kappaB and the mitochondrial permeability transition pore[J]. *J Virol*, 2009, 83(10): 4718-4731.
- [3] 蒋伟, 罗从娟, 董晖, 等. X基因突变对乙型肝炎病毒相关性肾炎患者尿蛋白及肾脏病理的影响[J]. *国际流行病学传染病学杂志*, 2018, 45(2): 85-88.
- [4] 张瑜, 周建华, 王洪涛. 乙型肝炎病毒相关性膜性肾病患者足细胞缺失的研究[J]. *中华儿科杂志*, 2007, 45(5): 344-348.
- [5] 雷晓燕, 孙永红, 陈星星, 等. 乙肝病毒X蛋白抑制小鼠足细胞系MPC5增殖并促进其凋亡[J]. *基础医学与临床*, 2019, 39(5): 617-622.
- [6] Asanuma K. The role of podocyte injury in chronic kidney disease[J]. *Nihon Rinsho Meneki Gakkai Kaishi*, 2015, 38(1): 26-36.
- [7] 朱晓娜, 王玉环, 吴娟娟, 等. VEGF及TRPC6的表达与糖尿病肾病大鼠足细胞损伤的相关机制[J]. *南方医科大学学报*, 2018, 38(3): 296-304.
- [8] Cai B, Cai JP, Luo YL, et al. The specific roles of JAK/STAT signaling pathway in sepsis[J]. *Inflammation*, 2015, 38(4): 1599-1608.
- [9] Zhang Y, Chen Y, Yang F. HBx transfection limits proliferative capacity of podocytes through cell cycle regulation[J]. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2014, 46(12): 1016-1023.
- [10] 蒋伟, 董晖, 马瑞霞, 等. HBx基因在乙型肝炎病毒相关性肾炎致病机制中的研究进展[J]. *中华临床感染杂志*, 2014, 7(3): 277-281.
- [11] Ma Y, Yang Q, Zhong Z, et al. Role of c-Abl and nephrin in podocyte cytoskeletal remodeling induced by angiotensin II[J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(2): 185.
- [12] Kato T, Mizuno S, Kamimoto M. The decreases of nephrin and nuclear WT1 in podocytes may cause albuminuria during the experimental sepsis in mice[J]. *Biomed Res*, 2010, 31(6): 363-369.
- [13] Lin SM, Lin CJ, Hsu CW, et al. Prospective randomized controlled study of interferon-alpha in preventing hepatocellular carcinoma recurrence after medical ablation therapy for primary tumors[J]. *Cancer*, 2004, 100(2): 376-382.
- [14] Russo LM, Srivatsan S, Seaman M, et al. Albuminuria associated with CD2AP knockout mice is primarily due to dysfunction of the renal degradation pathway processing of filtered albumin[J]. *FEBS Lett*, 2013, 587(22): 3738-3741.
- [15] Kim EY, Suh JM, Chiu YH, et al. Regulation of podocyte BK(Ca) channels by synaptopodin, Rho, and actin microfilaments[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2010, 299(3): F594-F604.
- [16] Zuo Y, Yang HC, Pothoff SA, et al. Protective effects of PPAR γ agonist in acute nephrotic syndrome[J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2012, 27(1): 174-181.
- [17] Wilson C, Dryer SE. A mutation in TRPC6 channels abolishes their activation by hypoosmotic stretch but does not affect activation by diacylglycerol or G protein signaling cascades[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2014, 306(9): F1018-F1025.

(本文编辑: 万静)