

TRPC1 与 BK- α 的表达对大鼠糖尿病肾病的影响

刘红明, 陈志松, 邹立芳, 杨智雄, 喻卓, 胡伟
(昆明医科大学第一附属医院心脏内二科, 云南昆明 650032)

[摘要] **目的** 探究瞬时受体电位 C1 (transient receptor potential channel 1, TRPC1) 蛋白和大电导钙离子激活钾通道 α 亚单位 (large conductance Ca^{2+} -activated K^+ channel α subunit, BK- α) 蛋白对大鼠糖尿病肾病 (diabetic kidney disease, DKD) 的影响。**方法** 将 SD 大鼠随机分为对照组 ($n=15$) 和模型组 ($n=15$)。利用高脂饲料和链脲佐菌素 (streptozocin, STZ) 构建 DKD 模型。采用血糖分析仪检测大鼠血糖变化; 采用全自动生化分析仪检测大鼠肾功能水平; HE 染色检测肾组织的病理变化以确定建模成功。实时荧光定量 PCR (RT-qPCR) 和蛋白免疫印迹分别检测肾组织 TRPC1 和 BK- α 的 mRNA 和蛋白表达水平; 免疫组化检测 TRPC1 和 BK- α 的分布和表达情况。**结果** 模型组大鼠空腹血糖 (fasting plasma glucose, FPG)、尿白蛋白排泄率 (urinary albumin excretion rates, UAER)、血尿素氮 (blood urea nitrogen, BUN) 和肌酐 (creatinine, Cr) 均显著高于对照组 ($P < 0.01$); 模型组大鼠肾小管内壁细胞出现膨胀现象, 部分细胞脱离; 可见肾小管发生病变或死亡; 此外, 在许多肾小管及肾间质区域发现有中性白细胞及其残骸; 以上 HE 染色结果提示, DKD 模型复制成功。TRPC1 和 BK- α 在肾小球部位最为丰富, 且模型组大鼠肾组织中 TRPC1 和 BK- α 的 mRNA 和蛋白水平都显著高于对照组 ($P < 0.05$)。**结论** 大鼠糖尿病肾病影响 TRPC1 和 BK- α 在肾组织中的分布和表达。

[关键词] 大鼠糖尿病肾病; 瞬时受体电位 C1 蛋白; 大电导钙离子激活钾通道 α 亚单位蛋白

[中图分类号] R361.2 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 2095-610X(2024)06-0015-07

Exploring the Effect of TRPC1 and BK- α expression on Diabetic Nephropathy

LIU Hongming, CHEN Zhisong, ZOU Lifang, YANG Zhixiong, YU Zhuo, HU Wei
(The 2nd Department of Cardiology, the 1st Affiliated Hospital of Kunming Medical University,
Kunming Yunnan 650032, China)

[Abstract] **Objective** To explore the effect of transient receptor potential channel 1 (TRPC1) protein and large conductivity Ca^{2+} activated K^+ channel α subunit (BK- α) protein on diabetic nephropathy (DKD). **Methods** SD rats were randomly divided into a control group ($n=15$) and a model group ($n=15$). Construct a DKD model using high-fat feed and streptozocin (STZ). Using a blood glucose analyzer to detect changes in blood glucose levels in rats; Using a fully automatic biochemical analyzer to detect the renal function level of rats; HE staining was used to detect pathological changes in renal tissue to confirm successful modeling. Real time fluorescence quantitative PCR (RT-qPCR) and Western blotting were used to detect the mRNA and protein expression levels of TRPC1 and BK- α in renal tissue, respectively; Immunohistochemical detection of the distribution and expression of TRPC1 and BK- α . **Results** The fasting plasma glucose (FPG), urinary albumin excretion rate (UAER), blood urea nitrogen (BUN), and creatinine (Cr) in the model group were significantly higher than those in the control group ($P < 0.01$);

[收稿日期] 2023-09-23

[基金项目] 云南省科技厅基础研究计划基金资助项目(202001AY070001-184); 云南省心脑血管临床医学研究中心子课题基金资助项目(ZX2019-03-01); 云南省放射与治疗临床医学研究中心子课题基金资助项目(202102AA100067)。

[作者简介] 刘红明(1973~), 男, 湖北随州人, 医学硕士, 副主任医师, 主要从事冠心病介入和先心病介入的临床及科研工作。

[通信作者] 喻卓, E-mail: 13987190577@163.com; 胡伟, E-mail: 2205577459@qq.com

the inner wall cells of the renal tubules in the model group showed swelling, with some cells detached; visible renal tubular lesions or death. In addition, neutrophils and their debris were found in many renal tubules and interstitial regions; the above HE staining results indicate that the DKD model has been successfully replicated. TRPC1 and BK- α were most abundant in the glomerulus, and the mRNA and protein levels of TRPC1 and BK- α in the renal tissue of the model group rats were significantly higher than those in the control group ($P < 0.05$). **Conclusion** Diabetic nephropathy affects the distribution and expression of TRPC1 and BK- α in renal tissue.

[**Key words**] Diabetic nephropathy; Transient receptor potential channel 1; Large conductance Ca^{2+} -activated K^{+} channel α subunit

糖尿病(diabetes mellitus, DM)是1种由胰岛素缺乏导致的代谢病症,随着患病人数不断增加且持续时间较长,已成为当今世界的一个主要公共健康挑战^[1]。据相关报道,截止2021年,全球的DM患者数量为5.366亿成年人;预计到2045年这一数字将升至7.832亿^[2]。糖尿病肾病(diabetic kidney disease, DKD)在DM患者中有着较高的发病率,其中在1型DM患者中的发病率为30%,而在2型DM患者中的发病率高达40%^[3]。因此,非常有必要寻找1种高效的诊断与治疗方式来缓解这种疾病长期对全球医疗系统的压力^[4]。

冠状动脉血管平滑肌细胞(smooth muscle cells, SMC)中有2个重要离子通道为瞬时受体电位C1(transient receptor potential canonical 1, TRPC1)通道和大电导钙激活钾(large conductance Ca^{2+} -activated K^{+} channel, BK)通道^[5-6]。当肌浆网中的钙被耗竭时,会导致TRPC1通道开放,引发钙内流、细胞去极化和血管收缩,在高血压的发病过程中发挥重要作用。TRPC1表达水平的异常和基因结构的改变与肾小球硬化、肾细胞癌、非家族性肾脏疾病、糖尿病肾病及多囊肾等多种肾脏疾病的发生发展密切相关,可以作为其诊治的重要潜在靶点。

Zhang等^[7]发现,在STZ诱导的DM大鼠模型的肾组织中的TRPC1表达水平显著低于对照组。在高血压发病过程中,作为微动脉血管舒张调节的BK通道,可以通过调节其组成蛋白的表达水平实现其功能^[8]。当平滑肌细胞中的钙离子浓度发生波动并触发BK通道后,会引发平滑肌细胞膜电位出现超极化现象,进而造成血管舒张^[9]。然而,在高血压病程中,BK通道的 β 亚基表现出降低的情况,这会导致BK通道蛋白质对于钙离子的敏感程度下降,最终无法再对平滑肌细胞膜产生调控效应^[10]。研究发现,BK通道参与足细胞的信号转导过程,同时可以与细胞膜蛋白相

偶联从而在许多重要的生理过程中发挥作用^[11-12]。因此,TRPC1和BK通道通过参与肾皮质的生理活动发挥其调节DKD的重要作用。综上所述,本研究通过构建大鼠DKD模型,采用病理学、免疫组织化学、分子生物学、蛋白免疫印迹学等方法深入研究TRPC1与BK- α 通道蛋白在糖尿病肾病的表达情况,以期能为DKD的诊疗提供新的分子靶点。

1 材料与方法

1.1 实验动物

SD大鼠,30只,雄性,200~220g,6~8周,购买于成都达硕动物有限公司,许可证编号(SCXKC,川22008-23)。将大鼠随机分为对照组和模型组,每组15只。大鼠在24℃和(60.0±10.0)%相对湿度下适应性饲养1周,光照/黑暗周期为12h。本次动物实验方案经昆明医科大学实验动物权利与伦理管理委员会批准SCXL(滇)2015-0002,动物伦理批准文号:Kmmu20231388。

1.2 试剂与仪器

链脲佐菌素(Sigma,批号:18833-66-4);苏木素伊红(HE)染色试剂盒(索莱宝,批号:G1120);总RNA提取试剂盒(天根生化科技有限公司,批号:DP419);TIANScrip II cDNA第一链合成试剂盒(天根生化科技有限公司,批号:KR107);FastFire快速荧光定量PCR预混试剂(天根生化科技有限公司,批号:FP207);Anti-TRPC1抗体(abcam,批号:ab192031);Anti-BK- α 抗体(abcam,批号:ab244891);Anti- β -actin抗体(abcam,批号:ab8226);山羊抗兔二抗(赛维尔,批号:G1213);通用二步法检测试剂盒(中杉金桥,批号:PV-9000)。

组织包埋机(武汉俊杰,型号:JB-L5);病理切片机(Leica,型号:RM2235);正置荧光显微镜(Nikon,型号:MF53);荧光定量PCR仪(ABI,

型号: Step one plus); 低温高速离心机(湖南湘仪, 型号: TG20.5); 蛋白电泳系统(Bio-Rad, 型号: 1658001); ECL 发光成像分析系统(Bio-Rad, 型号: Gel Docxrs+).

1.3 实验方法

1.3.1 糖尿病肾病模型构建 30 只雄性 SD 大鼠, 经过 1 周的适应性喂养后, 按照随机双盲原则随机分为对照组和模型组, 每组 15 只。对照组给予普通饲料喂养外, 其余各组给予高脂高糖饲料喂养 6 周, 见表 1, 禁食 12 h 后腹腔注射 STZ (30 mg/kg · 次), 72 h 后连续 3 次经尾静脉取血测 FPG ≥ 16.7 mmol/L, 则造模成功。如果造模未成功, 则在 1 周后再次注射 STZ, 剂量与第一次注射一致。对照组注射等体积的生理盐水。每只动物均可自由获得水和食物。采集大鼠血液、收集大鼠尿液, 处死后获得肾组织, 利用尖锐的手术刀迅速地将肾组织切割成 2 部分, 一部分放入 10 倍于组织体积的 10% 中性福尔马林溶液中固定 72 h, 另一部分则存储在 -80 °C 的冰箱中以备后续使用。

表 1 高糖高脂饲料配料表(%)

Tab. 1 Ingredients of High Sugar and High Fat Feed (%)

成分	添加比例
猪油	10.0
胆固醇	2.5
蔗糖	20.0
胆酸盐	1.0
常规饲料	66.5

1.3.2 生化指标检测 造模成功后, 尾静脉采血, 样本 4 °C 放置 1 ~ 2 h。样本在 4 °C, 1500 r/min 离心 10 min, 小心分离收集上层血清, 血清分装后置于 -80 °C 备用。采用血糖分析仪检测大鼠的空腹血糖(FPG); 采用全自动生化分析仪检测血尿素氮(BUN)、肌酐(Cr)。

造模成功后, 尾静脉采血后, 将其转入代谢笼内, 禁食不禁水, 留取 24 h 尿液, 记录每只大鼠的尿量。室温下, 2000 r/min 离心 10 min, 取上清置于 -80 °C 备用。采用 ELISA 法检测尿微量白蛋白含量, 计算尿微量白蛋白排泄率。计算公式如下:

$UAER(\mu\text{g}/24\text{ h}) = \text{尿微量白蛋白}(\mu\text{g}/\text{mL}) \times \text{尿量}(\text{mL}/24\text{ h})$ 。

1.3.3 苏木素伊红(HE)染色 将组织用 4% 多聚甲醛溶液固定, 石蜡包埋, 切片。(1)烤片: 将组

织片放入 64 °C 恒温箱中烘烤 1 h; (2)脱蜡: 将玻片放入到二甲苯中 I (10 min) - 二甲苯 II (10 min); (3)水化: 100% 酒精 I (5 min) - 100% 酒精 II (5 min) - 95% 酒精 (5 min) - 80% 酒精 (3 min) - 70% 酒精 (2 min); PBS 冲洗 3 次, 每次 5 min; (4)苏木素复染: 将玻片放到苏木素中染色 5 min, 蒸馏水冲洗, 放入到酒精-盐酸溶液中进行分化, 分化 10 ~ 15 s, 放入到自来水中返蓝, 返蓝至少 15 min; (5)伊红染色: 将玻片放入到伊红中染色 5 ~ 10 s, 放入到蒸馏水中洗 1 次; (6)脱水: 95% 酒精 (5 ~ 10 s) - 100% 酒精 I (5 min) - 100% 酒精 II (5 min); (7)透明: 二甲苯 I (10 min) - 二甲苯 II (10 min); (8)封片: 用中性树胶进行封片; (9)拍片: 选择中间和 4 周不少于 5 个视野进行拍照和分析。观察肾组织的基本结构, 分析病变情况、分辨细胞种类以及炎症细胞浸润情况等。

1.3.4 实时荧光定量 PCR(RT-qPCR)检测 使用 RNA 提取试剂盒分离提取肾组织中的总 RNA。取 1 μg 总 RNA 使用 TIANScript II cDNA 第一链合成试剂盒通过 PCR 仪制备互补 DNA, 并使用 FastFire 快速荧光定量 PCR 预混试剂通过荧光定量 PCR 仪进行扩增检测 TRPC1、BK- α 和甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)的 CT 值。采用 $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 法以 GAPDH 作为内参来分析肾组织中 TRPC1、BK- α 的相对表达量。采用 NCBI 在线引物设计数据库进行 TRPC1、BK- α 和 GAPDH 引物设计, 见表 2, 由上海捷瑞生物工程有限公司进行合成。

1.3.5 Western blot 检测 取肾组织 50 mg, 加入 0.5 mL 含有 PMSF 的 RIPA 裂解物(索莱宝, 批号: R0010)在冰上用组织匀浆器研磨裂解 30 min。在 4 °C、12000 r/min 下离心 20 min, 得到上清液, 即总蛋白质。BCA 蛋白质测定试剂盒(索莱宝, 批号: PC0020)用于测定蛋白质浓度。使用 SDS-PAGE 分离等量的蛋白质样品, 然后转移到聚偏二氟乙烯(PVDF)膜(Millipore, 批号: IPVH00010)上。在室温下用 5% 脱脂乳密封膜 1 h 后, 将其与一抗 TRPC1 (1 : 1000)、BK- α (1 : 1000) 和 β -actin (1 : 2000) 在 4 °C 下孵育过夜。然后将膜与二抗在室温下孵育 2 h。ECL 试剂(Millipore, 批号: WBKLS0100)显示蛋白质条带, 用化学发光成像系统观察条带并扫描图像。使用 Image J 软件对扫描图像进行量化。目标条带的灰度值与 β -actin 条带的灰度值的比率表示蛋白质的相对表达水平。

表 2 TRPC1 和 BK- α 引物序列信息
Tab. 2 TRPC1 and BK- α primer sequence information

Gene	Sequence(5'→3')	Length(bp)
BK- α	TTGAAGATGAGCAACCGCCA	20
	TCATGCCTCATCAGCTTCGG	20
TRPC1	CGTTCTGAGTTACCTTCGGCT	21
	AGCTGTGTCAGTCCAATCGT	20
GAPDH	GTGGAGTCTACTGGCGTCTT	20
	TGCTGACAATCTTGAGGGA	19

1.3.6 免疫组化检测 组织包埋切片后, 进行脱蜡: 二甲苯 I、二甲苯 II 各 5 min, 复水: 4 个梯度(100%、95%、90%、80%)乙醇各 4 min, PBS 冲洗 2 次(3 min/次)。抗原修复: 将切片浸没于抗原修复液中, 高压锅中修复 2 min; 灭活: 使用 3% 的 H₂O₂ 使内源性过氧化物酶失去活性; 一抗孵育: 按 1:150 比例稀释一抗(阴性对照加等体积的 PBS), 4 ℃ 过夜, PBS 冲洗 3 次; 孵育二抗: 加入羊抗小鼠/兔 IgG 聚合物, 37 ℃ 孵育 30 min, PBS 冲洗 3 次; DAB 显色: 滴加现配的 DAB 试剂, 室温显色 1~3 min; 苏木素复染: 苏木素染液中染色 40 s, PBS 冲洗 3 次; 随后进行脱水、中性树胶封片。显微镜观察并拍照, 采用软件 image J Plus 对阳性细胞的平均光密度进行

分析。

1.4 统计学处理

利用 SPSS20.0 软件进行统计分析。计量资料以平均值 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, t 检验用于比较组间差异。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 DKD 模型的大鼠理化指标

造模 6 周后, 对大鼠的血液和尿液的理化指标进行检测。实验结果提示, 模型组的空腹血糖(FPG)、尿白蛋白排泄率(UAER)、血尿素氮(BUN)和肌酐(Cr)均显著高于对照组($P < 0.05$), 见表 3。

表 3 不同组大鼠的理化指标比较 [$(\bar{x} \pm s)$, $n=15$]

Tab. 3 Comparison of physical and chemical indicators of different groups of rats [$(\bar{x} \pm s)$, $n=15$]

组别	空腹血糖 (FPG, mmol/L)	尿白蛋白排泄率 (UAER, mg/24 h)	血尿素氮 (BUN, mmol/L)	肌酐 (Cr, μ mol/L)
对照组	5.968 \pm 1.36	11.09 \pm 0.91	6.403 \pm 0.63	4.028 \pm 1.29
模型组	21.61 \pm 2.52	33.01 \pm 1.62	26.36 \pm 1.38	19.85 \pm 1.61
t	3.261	2.485	4.069	3.012
P	0.003**	0.012**	<0.001**	0.009**

与对照组比较, ** $P < 0.01$ 。

2.2 大鼠肾组织 HE 染色

HE 染色结果提示, 对照组大鼠肾组织中的肾小球形态完好且没有显著的损伤, 而肾小管则有序地分布并呈现出明晰的外观; 模型的大鼠肾小管内壁细胞出现了膨胀现象, 并且有部分细胞发生了脱离, 同时还可看到一些肾小管发生病变或死亡的情况, 甚至有些地方可以看到肾小管被分解的现象, 此外, 在许多肾小管及肾间质区域都能够发现中性白细胞与中性白细胞残骸的存在, 见图 1。以上实验结果提示, DKD 模型复制成功。

2.3 TRPC1 与 BK- α 在大鼠肾组织中的分布及表达 免疫组化结果提示, TRPC1 与 BK- α 蛋白在

肾组织中主要表达于肾小管上皮细胞的细胞质中, TRPC1 与 BK- α 蛋白在模型组肾组织中的表达水平显著高于对照组($P < 0.01$)。TRPC1 与 BK- α 蛋白在肾小球部位表达最为丰富, 然后是皮质部和髓质部肾小管, 但几乎没有出现在髓质部, 见图 2。

2.4 大鼠肾组织中 TRPC1 与 BK- α mRNA 的表达情况

RT-qPCR 结果显示, 和对照组比较, 模型组 TRPC1 的 mRNA 表达显著增加($P < 0.01$)。和对照组比较, 模型组 BK- α 的 mRNA 表达显著增加($P < 0.05$), 见图 3。

2.5 大鼠肾组织中 TRPC1 与 BK- α 蛋白表达情况

Western blot 结果显示, 与对照组相比, 模型组 TRPC1 的蛋白质表达显著增加 ($P < 0.01$)。与对照组相比, 模型组 BK- α 的蛋白表达显著增加 ($P < 0.01$), 见图 4。

3 讨论

BK 通道有 2 个结构部分, 一是由单基因 KCNMA 编码的 BK- α 亚基是 BK 的基本结构功能部分, 二是由 KCNMB 的 1~44 种基因编码的

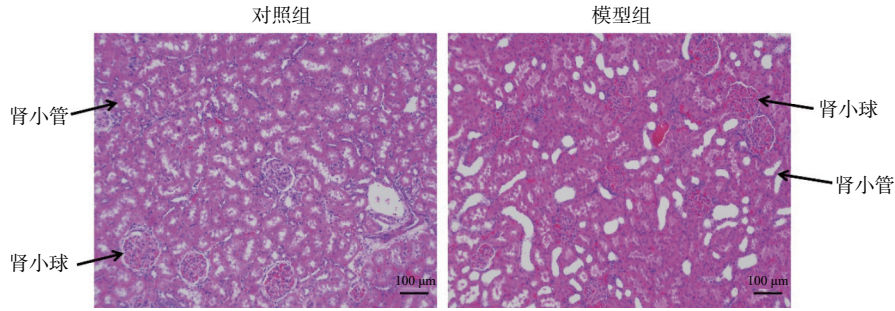


图 1 各组大鼠肾组织 HE 染色 (100 \times)
Fig. 1 HE staining of renal tissue in each group of rats (100 \times)

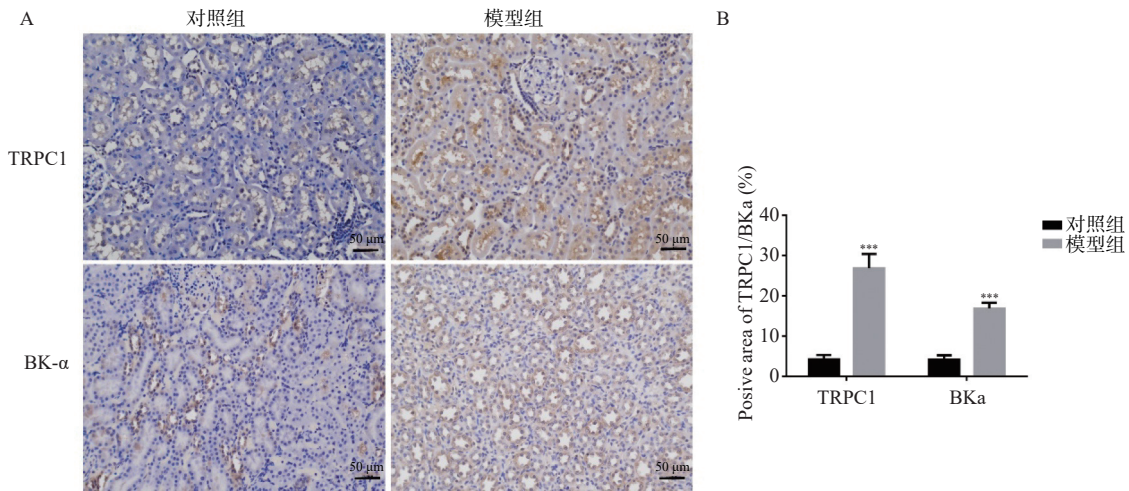


图 2 各组大鼠肾组织 TRPC1 与 BK- α 蛋白表达水平 (100 \times) [$(\bar{x} \pm s)$, $n=15$]

Fig. 2 Protein expression level of TRPC1 and BK- α in renal tissue of rats in each group [$(\bar{x} \pm s)$, $n=15$]

A: 大鼠肾组织肾组织中 TRPC1 与 BK- α 蛋白表达; B: BTRPC1 与 BK- α 表达阳性面积统计学分析。与对照组比较, $***P < 0.001$ 。

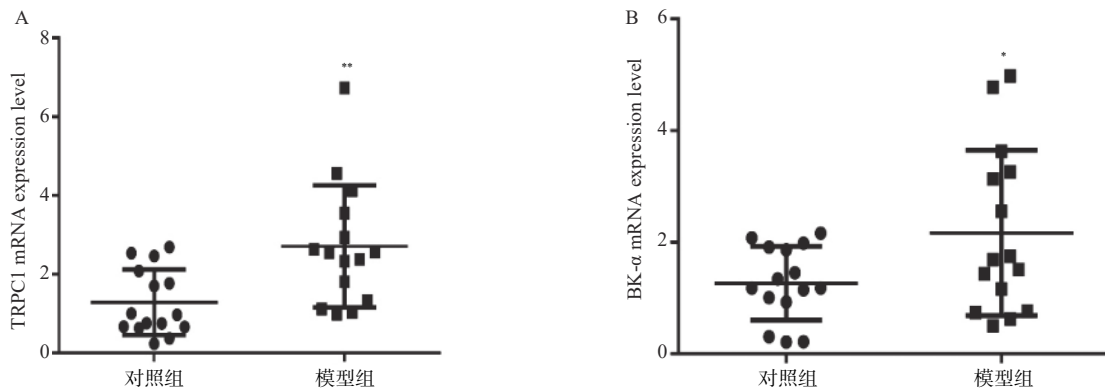


图 3 各组大鼠肾组织中的 TRPC1 与 BK- α 的 mRNA 表达 [$(\bar{x} \pm s)$, $n=15$]

Fig. 3 mRNA expression levels of TRPC1 and BK- α in renal tissue of rats [$(\bar{x} \pm s)$, $n=15$]

A: 大鼠肾组织中 TRPC1 的 mRNA 表达; B: 大鼠肾组织中 BK- α 的 mRNA 表达。与对照组比较, $*P < 0.05$, $**P < 0.01$ 。

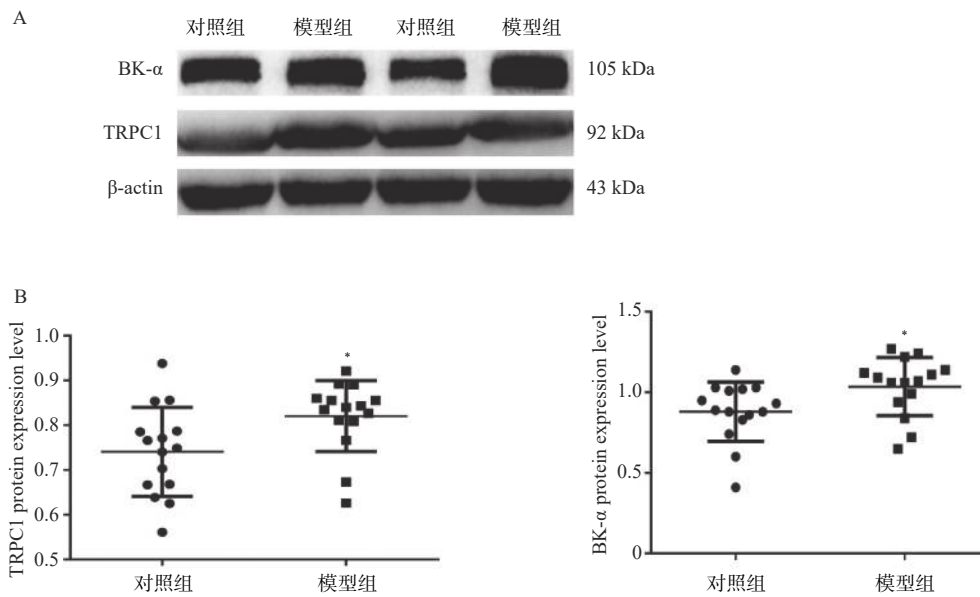


图 4 各组大鼠肾组织中的 TRPC1 与 BK- α 蛋白表达水平 $[(\bar{x} \pm s), n=15]$

Fig. 4 Protein expression levels of TRPC1 and BK- α in renal tissue of rats $[(\bar{x} \pm s), n=15]$

A: TRPC1 与 BK- α 的蛋白表达电泳图; B: TRPC1 与 BK- α 的统计学分析 $(\bar{x} \pm s, n=15)$; 与对照组比较, $*P < 0.05$ 。

BK- β 亚基。有研究表明, 缺失 $\beta 1$ 亚基会降低钙离子敏感性, 抑制通道开放, 增加平滑肌张力^[13]。BK- α 亚基和 BK- $\beta 1$ 亚基均参与类固醇诱导的 BK 活性修饰: $\beta 1$ 亚基对雌二醇和胆烷进行识别, 导致 BK 增强, 而 α 亚基则足以抑制胆固醇或孕烯醇酮对 BK 的抑制^[14]。在 DKD 患者中, 钾离子通道的功能异常可能与肾脏损伤有关, BK 通道在调节肾小管的电解质传递和尿液浓缩中起重要作用, 而 DKD 可能导致这些通道功能的异常, 从而加剧肾脏损伤^[15]。本研究通过 RT-qPCR、Western blot 和 IHC 检测了 DKD 大鼠肾组织中 BK 通道 α 亚基的 mRNA 和蛋白水平的变化情况, 实验结果表明, DKD 大鼠肾组织中 BK 通道 α 亚单位的 mRNA 和蛋白表达水平都显著高于对照组 ($P < 0.05$), 这说明 DKD 肾病显著增加了肾组织中 BK 通道数量, 从而对肾组织微血管中的钾离子水平起着显著的调控作用, 该结果与已有研究报道相一致^[16-17]。

本研究结果表明, DKD 大鼠的肾组织比对照组受到更为严重的损害, 这种损害进一步影响到肾功能, 表现为血尿素氮、血肌酐和尿蛋白排泄率的增加。Western blot 和 RT-qPCR 结果发现肾组织 BK- α 亚单位表达升高, 可能改变了 BK 通道活性, 进而导致血管舒缩异常, 加重糖尿病肾脏病变程度。综上所述, BK 通道对于保持血管平滑肌细胞的膜电位并调整其压力有着关键性的影响, 并且这种影响也直接涉及到糖尿病肾病的产生及进展过程。然而, 关于 BK 通道是如何

对肾脏疾病造成影响, 以及二者之间是否存在明确的关系, 仍需要更深入的研究来阐明。综上所述, 研究糖尿病肾病大鼠中 TRPC1 与 BK- α 表达水平对于指导临床实践和深入了解疾病机制具有重要意义, 有望为糖尿病肾病的治疗和管理提供新的思路和方法。

[参考文献]

- [1] Guan Z, Li H, Liu R, et al. Artificial intelligence in diabetes management: Advancements, opportunities, and challenges[J]. *Cell Rep Med*, 2023, 4(10): 101213.
- [2] Sun H, Saeedi P, Karuranga S, et al. IDF diamonds atlas: Global, regional and country-level diabetes prevalence estimates for 2021 and projects for 2045[J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2021, 183: 109119.
- [3] Reutens A T. Epidemiology of diabetic kidney disease[J]. *Med Clin North Am*, 2013, 97(1): 1-18.
- [4] Nathan D M. Diabetes: advantages in diagnosis and treatment[J]. *JAMA*, 2015, 314(10): 1052-1062.
- [5] Moraes R D A, Webb R C, Silva D F. Vascular dysfunction in diabetes and obesity: Focus on TRP channels[J]. *Front Physiol*, 2021, 12(5): 1-23.
- [6] Qian L L, Liu X Y, Yu Z M, et al. BK channel dysfunction in diabetic coronary artery: Role of the E3 ubiquitin ligases[J]. *Front Physiol*, 2020, 11(5): 1-7.

- [7] Ma R, Pluznick J L, Sansom S C. Ion channels in mesangial cells: Function, malfunction, or fiction[J]. *Physiology*, 2005, 20(4): 102–111.
- [8] Dopico A M, Bukiya A N, Jaggar J H. Calcium and voltage-gated BK channels in vascular smooth muscle[J]. *Pflugers Arch*, 2018, 470(9): 1271–1289.
- [9] Toth P, Csiszar A, Tucsek Z, et al. Role of 20-HETE, TRPC channels, and BKCa in dysregulation of pressure-induced Ca^{2+} signaling and myogenic constriction of cerebral arteries in aged hypertensive mice [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2013, 305(12): 698–708.
- [10] Saskia P, JÖRG F, Michaeli F. Mice with disrupted BK channel $\beta 1$ subunit gene feature abnormal Ca^{2+} spark/STOC coupling and elevated blood pressure [J]. *Circ Res*, 2000, 87(11): E53–60.
- [11] Dryer S E, Reise J. TRPC6 channels and their binding partners in podocytes: role in glomerular filtration and pathophysiology[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2010, 299(4): F689–70134.
- [12] Kim B Y, Choi K J, Dryer S E. Nephricin binds to the COOH terminus of a large-conductance Ca^{2+} -activated K^{+} channel isoform and regulates its expression on the cell surface[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2008, 295(1): F235–246.
- [13] Qian L, Liu X, Wang R, et al. Role of BK(Ca) channels in diabetic vascular complications[J]. *Chin Med J*, 2014, 127(9): 1775–1781.
- [14] Mysiewicz S C, Hawks S M, Bukiya A N, et al. Differential functional contribution of BK channel subunits to aldosterone-induced channel activation in vascular smooth muscle and eventual cerebral artery dilation[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, 24(10): 8704.
- [15] 宋阿会, 刘英莉. BK 通道在肾脏钾离子代谢中的作用[J]. *国际泌尿系统杂志*, 2018, 38(4): 692–695.
- [16] Wang R X, Shi H F, Chai Q, et al. Molecular mechanisms of diabetic coronary dysfunction due to large conductance Ca^{2+} -activated K^{+} channel impairment[J]. *Chin Med J*, 2012, 125(4): 2548–2555.
- [17] Wen J, Cheng J, Li P Y, et al. Changes of large conductance Ca^{2+} -activated K^{+} channel impairment of mesenteric artery smooth muscle cells in diabetic patient[J]. *Chongqing Med*, 2014, 43(18): 2312–2315.