

# BK<sub>Ca</sub>在高糖诱导的肾小球系膜细胞损伤中的作用及机制

张 雪<sup>1</sup>, 葛 沛<sup>2</sup>, 顾 立<sup>1</sup>, 李 华<sup>1</sup>, 张 丹<sup>1</sup>, 黄远琼<sup>3</sup>, 陈美娟<sup>1</sup>

1.西南医科大学药学院(泸州 646000); 2.西南医科大学附属医院药学部(泸州 646000); 3.泸州市中医医院 肾内科(泸州 646000)

**【摘要】目的** 探讨大电导钙激活钾通道(large conductance calcium-activated potassium channel, BK<sub>Ca</sub>)在糖尿病肾病中的作用及其机制。**方法** ①用激动剂NS11021和抑制剂Tet及BK<sub>Ca</sub>-siRNA干预后观察糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)细胞模型的细胞增殖率、上清液中IV型胶原蛋白(collagen IV, ColIV)及纤连蛋白(fibronectin, FN)的表达变化,揭示BK<sub>Ca</sub>的作用;②用激动剂NS11021和抑制剂Tet及BK<sub>Ca</sub>-siRNA干预后观察DN细胞模型TGF-β<sub>1</sub>、Smad2/3的含量变化;用激动剂TGF-β<sub>1</sub>、抑制剂SB431542干预TGF-β<sub>1</sub>/Smad2/3信号通路后,观察BK<sub>Ca</sub>作用的变化,揭示BK<sub>Ca</sub>作用与该信号通路相关性。**结果** ①与高糖组比较,药理学激动BK<sub>Ca</sub>使模型细胞BK<sub>Ca</sub>β亚基蛋白表达增加、细胞增殖率增高,差异均具有统计学意义( $P < 0.05$ );与高糖组比较,药理学和基因抑制BK<sub>Ca</sub>,使其α、β亚基蛋白表达减少,从而出现模型细胞增殖率下降、ColIV和FN分泌明显减少( $P < 0.01$ )。②与高糖组比较,药理学激动BK<sub>Ca</sub>引起Smad2/3含量增高,药理学和基因抑制BK<sub>Ca</sub>,引起TGF-β<sub>1</sub>、Smad2/3含量明显降低,差异均具有统计学意义( $P < 0.05$ );与NS11021组比较,用SB431542阻断TGF-β<sub>1</sub>/Smad2/3信号通路后,细胞增殖率明显降低,ColIV和FN分泌减少,差异均具有统计学意义( $P < 0.05$ )。**结论** 高糖诱导的DN细胞模型存在BK<sub>Ca</sub>高表达,抑制BK<sub>Ca</sub>后细胞增殖率、ColIV和FN的分泌明显降低,从而改善DN病变,此作用与TGF-β<sub>1</sub>/Smad2/3信号通路相关。

**【关键词】** 糖尿病肾病;大电导钙激活钾通道;胶原IV;纤连蛋白;TGF-β<sub>1</sub>;Smad2/3

**【中图分类号】** R96

文献标志码 A

DOI: 10.3969/j.issn.2096-3351.2024.02.008

## The role and mechanism of BK<sub>Ca</sub> in mesangial cell injury induced by high glucose

ZHANG Xue<sup>1</sup>, GE Pei<sup>2</sup>, GU Li<sup>1</sup>, LI Hua<sup>1</sup>, ZHANG Dan<sup>1</sup>, HUANG Yuanqiong<sup>3</sup>, CHEN Meijuan<sup>1</sup>

1.Department of Pharmacy, Southwest Medical University, Luzhou 646000, China; 2. Department of Pharmacy, The Affiliated Hospital of Southwest Medical University, Luzhou 646000, China; 3. Department of Nephrology, Luzhou Traditional Chinese Medicine Hospital, Luzhou 646000, China

**【Abstract】 Objective** To explore the role and mechanism of BK<sub>Ca</sub> (large conductance calcium-activated potassium channel, BK<sub>Ca</sub>) in DN (diabetic nephropathy, DN). **Methods** ①After the intervention of agonist NS11021 and inhibitor Tet and BK<sub>Ca</sub>-siRNA, the changes of cell proliferation rate, collagen IV (ColIV) and fibronectin (FN) in the DN cell model were observed to reveal the role of BK<sub>Ca</sub>; ②After the intervention of agonist NS11021 and inhibitor Tet and BK<sub>Ca</sub>-siRNA on BK<sub>Ca</sub>, the changes of TGF-β<sub>1</sub> (Transforming growth factor beta 1) and Smad2/3 were observed in DN cell model; After the intervention of agonist TGF-β<sub>1</sub> and inhibitor SB431542 on TGF-β<sub>1</sub>/Smad2/3 signaling pathway, we observed the change of effects of BK<sub>Ca</sub> on model cells, in order to reveal the correlation between BK<sub>Ca</sub> action and this signaling pathway. **Results** ①Compared with high glucose group, pharmacologically excited BK<sub>Ca</sub> increased the proliferation rate of model cells, and the expression of BK<sub>Ca</sub> β subunit protein was enhanced, the differences were statistically significant ( $P < 0.05$ ); compared with high glucose group, pharmacological and genetic inhibition of BK<sub>Ca</sub> decreased the expression of α and β subunit protein, the proliferation rate of model cells decreased, and the secretion of ColIV and FN decreased significantly ( $P < 0.01$ ). ②Compared with the high glucose group, the content of Smad2/3 was increased due to the pharmacological excitation of BK<sub>Ca</sub>, the content of TGF-β<sub>1</sub> and Smad2/3 was significantly decreased due to the pharmacological and gene inhibition of BK<sub>Ca</sub> (the differences were statistically significant ( $P < 0.05$ )); compared with NS11021 group, after blocking TGF-β<sub>1</sub>/Smad2/3 signaling pathway with SB431542, the cell proliferation rate was significantly decreased, and the secretion of ColIV and FN were decreased, and the differences were statistically significant ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** BK<sub>Ca</sub> was highly expressed in DN cell models induced by high glucose, and cell proliferation rate, ColIV and FN secretion were significantly reduced after BK<sub>Ca</sub> inhibition, thus improving DN lesions. This effect was related to TGF-β<sub>1</sub>/Smad2/3 signaling pathway.

**【Key words】** Diabetic nephropathy; BK<sub>Ca</sub>; ColIV; FN; TGF-β<sub>1</sub>; Smad2/3

**基金项目:** 四川省科技厅基金项目(2023NSFSC0666); 泸州市科技局-西南医科大学联合基金项目(2019LZXNYDJ50); 西南医科大学-泸州市中医医院基地项目(2018-LH005)

**通信作者:** 陈美娟, E-mail: chenmeijuan1969@sina.com

**引用本文:** 张雪, 葛沛, 顾立, 等. BK<sub>Ca</sub>在高糖诱导的肾小球系膜细胞损伤中的作用及机制[J]. 西南医科大学学报, 2023, 46(2): 136-140. DOI: 10.3969/j.issn.2096-3351.2024.02.008.

糖尿病(diabetes mellitus, DM)中,2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)约占总病例的90%,其主要并发症(心、脑、肾、眼、神经等部位病变)是导致患者残疾和死亡的主要原因,其死亡率仅低于肿瘤、心血管疾病,居于第三位。T2DM患者64%合并糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN),目前已成为终末期肾病的第二原因<sup>[1]</sup>,仅次于各种肾小球肾炎。DN最主要的病理改变是肾小球硬化,以基底膜增厚和系膜基质增多为主要病变,其中系膜细胞(mesangial cells, MCs)能分泌系膜基质,并在应激状态下转变表型为成纤维细胞,是参与DN的肾小球硬化的重要因素之一<sup>[2]</sup>。而转化生长因子 $\beta_1$ (transforming growth factor beta 1, TGF $\beta_1$ )作为糖尿病肾病中细胞外基质(extracellular matrix, ECM)合成和降解的关键调节因子<sup>[3]</sup>,可激活Smad(drosophila mothers against decapentaplegic protein)信号通路,通过磷酸化Smad2/3并转位入细胞核调节TGF- $\beta_1$ 靶基因转录,如IV型胶原蛋白(collagen IV, Col IV)、纤连蛋白(fibronectin, FN)<sup>[4]</sup>表达增多,从而引起ECM沉积,最终导致肾小球硬化,这一过程构成了DN肾小球硬化发生发展的经典信号通路。

目前围绕DN发生的生化机制研究较多<sup>[5-6]</sup>,代谢紊乱如糖基化终产物(advanced glycation end products, AGEs)增多、血流动力学异常如肾素-血管紧张素-醛固酮系统(renin-angiotensin-aldosterone system, RAAS)过高、氧化应激等致病因子既独立,又相互促进,通过不同的胞内信号通路,诱导共同的下游因子TGF $\beta_1$ 高表达,并通过TGF $\beta_1$ -Smad2/3通路,促进Col IV、FN沉积,最终导致肾小球硬化。基于该机制,尽管采取如血压、血糖控制及RAAS阻断的策略,但最终发展成进行性肾损伤的患者数量仍然很多,而针对多元醇通路的依帕司他仅用于DM神经病变,针对AGEs的药物尚在研制阶段,可见目前尚无有效措施能完全阻止DN的发生与发展,因此,寻找阻抑DN肾小球硬化进程的其他分子靶点或路径将是可能取得突破的领域。

大电导钙激活钾通道(large-conductance calcium-activated potassium channels, BK<sub>Ca</sub>)是血管平滑肌上表达密度最高、最重要的钙激活钾通道,主导控制动脉平滑肌的膜电位,以往认为BK<sub>Ca</sub>参与癫痫、哮喘、高血压等疾病发生<sup>[7]</sup>。近年发现分布在除血管外的气管、胃肠道、脑、肾及免疫细胞的BK<sub>Ca</sub>,在细胞增殖、炎症免疫等过程中具有重要作用<sup>[8]</sup>。最近,在肾小球足细胞和系膜细胞中也发现有BK通道亚型表达<sup>[9]</sup>。我们先前的研究也发现DN大鼠肾动脉上BK<sub>Ca</sub> $\beta_1$ 亚基的基因、蛋白表达确实存在异常,并与肾脏病变程度呈正相关<sup>[10]</sup>,可见BK<sub>Ca</sub>参与细胞增殖和迁移,与MCs的这部分功能和作用有较高的相似性,值得进一步探究其内在联系,但目前尚无BK<sub>Ca</sub>与MCs存在相关性的研究报道。因此,假

设BK<sub>Ca</sub>可能通过TGF- $\beta_1$ -Smad2/3途径促进高糖诱导的大鼠肾小球系膜细胞HBZY-1增殖并高表达Col IV、FN,从而导致DN的发生发展。本研究首次探讨了BK<sub>Ca</sub>在DN中的作用,并初步探讨其可能作用机制,为DN的临床治疗和药物研发提供新靶点、新思路。

## 1 材料与方法

### 1.1 细胞株

大鼠肾小球系膜细胞EC(HBZY-1),购于上海中乔新舟生物科技有限公司,批号:ZQ0540。

### 1.2 药品

粉防己碱(Tet),购自中国药品生物制品检定所,批号:110713-201613;NS11021购自Sigma公司,批号:023M4736V;TGF- $\beta_1$ 购自北京义翘神州科技股份有限公司,批号:LC12AU0608;SB431542(TGF- $\beta$ /Smad抑制剂)购自上海碧云天生物技术有限公司,批号:SF7890。

### 1.3 HBZY-1细胞形态学特征及实验分组

在显微镜下观察HBZY-1细胞在高糖和低糖环境下的形态特征,选择对数生长期的细胞进行实验;BK<sub>Ca</sub>-siRNA转染细胞并观察转染结果,以BK<sub>Ca</sub>激动剂NS11021和抑制剂Tet干预系膜细胞。实验共分为9组:低糖对照组(NG, 5.5 mmol/L葡萄糖),高糖对照组(HG, 24.5 mmol/L葡萄糖),BK<sub>Ca</sub>-siRNA组(HG + BK<sub>Ca</sub>基因抑制),Tet组(HG + Tet 10  $\mu$ M),NS11021组(HG + NS11021 10  $\mu$ M),TGF- $\beta_1$ 组(HG + TGF- $\beta_1$  2 ng/mL),SB431542组(HG + SB431542 10  $\mu$ M),NS11021+SB431542组(HG + NS11021 10  $\mu$ M + SB431542 10  $\mu$ M),Tet + TGF- $\beta_1$ 组(HG + Tet 10  $\mu$ M + TGF- $\beta_1$  2 ng/mL)。

### 1.4 系膜细胞增殖

以MTT测定干预后48 h细胞存活率以计算增殖率,当HBZY-1细胞的汇合达到80%时开始实验,PBS润洗、胰酶消化离心后用低糖DMEM完全培养基重悬,计数细胞并将密度调节至 $5 \times 10^4$ 后接种于96孔板中,每孔100  $\mu$ L,37  $^{\circ}$ C、5% CO<sub>2</sub>培养箱培养;24 h后,按照实验设计加入相应干预药物;孵育24/48 h后,每孔加5  $\mu$ L MTT溶液,继续培养4 h使其充分反应;吸弃上清液,每孔加DMSO 150  $\mu$ L,摇床振荡10 min,待结晶完全溶解后,酶标仪检测各孔490 nm波长处的OD值(吸光度);细胞存活率=(OD给药孔 - OD空白孔)/(OD对照孔 - OD空白孔) $\times 100\%$ 。

### 1.5 HBZY-1细胞BK<sub>Ca</sub>- $\alpha$ 、 $\beta$ , Col IV, FN蛋白表达

按密度 $12 \times 10^4$ 接种,24 h后按“1.3实验分组”干预,再培养48 h后作为待测样本,采用Western Blot测BK<sub>Ca</sub>- $\alpha$ 、 $\beta$ 、Col IV、FN。

### 1.6 ELISA法检测HBZY-1细胞TGF- $\beta_1$ 、Smad2/3表达

以 $12 \times 10^4$ 的密度接种HBZY-1细胞于6孔板中,

每孔 2 mL, 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 培养箱孵育; 24 h 后, 弃去旧培养液, 按 1.3 分组干预后再培养 48 h; 吸取细胞培养液, 4°C、8000 rpm/min 离心 15 min, 只取上清液, 分装后-80°C 保存备用。

### 1.7 统计学分析

应用 SPSS 17.0 软件对实验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, 两两比较采用 LSD-t 检验,  $P < 0.05$  表示差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 DN 细胞模型建立

高糖诱导的 HBZY-1 细胞损伤明显。倒置显微镜下观察 HBZY-1 细胞, 正常组 (低糖对照组) HBZY-1 细胞呈长梭形、纺锤形或不规则形, 立体感强, 部分细胞甚至可见 (卵) 圆形的细胞核 (图 1A); 高糖对照组细胞饱满密集, 增殖显著, 融合趋势明显并且细胞重叠生长 (图 1B)。与低糖对照组比较, 高糖对照组 BK<sub>Ca</sub>-α、β 亚基蛋白表达增强 ( $P < 0.01$ , 图 2), 细胞增殖率高 ( $P <$

0.01, 图 3), ColIV 和 FN 分泌增多 ( $P < 0.01$ , 图 4)。

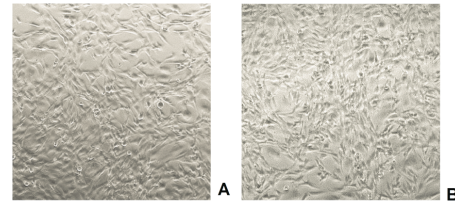


图 1 倒置显微镜下观察低糖、高糖对照组 HBZY-1 细胞形态 (× 200)  
Figure 1 Morphology of HBZY-1 cells in low-glucose group and high-glucose group was observed by inverted microscope (× 200)  
注: A. 低糖对照组; B. 高糖对照组。

### 2.2 BK<sub>Ca</sub> 对 DN 细胞模型的作用

2.2.1 激动或抑制 BK<sub>Ca</sub> 对肾小球系膜细胞 BK<sub>Ca</sub>-α、β 蛋白表达影响 与 NG 组比较, HG 组在干预 48 h 后的 BK<sub>Ca</sub>-α、β 蛋白表达量均升高 ( $P < 0.01$ )。与 HG 组比较, NS11021 组细胞 BK<sub>Ca</sub>-α 蛋白表达量差别无意义 ( $P > 0.05$ ), BK<sub>Ca</sub>-β 蛋白表达量升高 ( $P < 0.01$ ); Tet 降低细胞 BK<sub>Ca</sub>-α、β 蛋白表达量 ( $P < 0.05$ ); BK<sub>Ca</sub>-siRNA 降低细胞 BK<sub>Ca</sub>-α、β 蛋白表达量 ( $P < 0.01$ ); 见图 2 各组的对比结果。

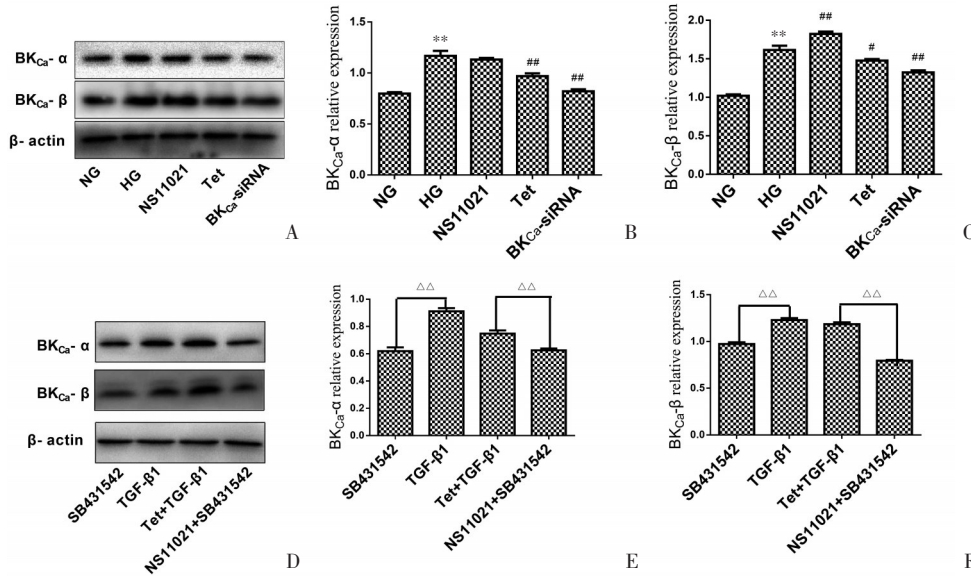


图 2 采用 Western Blot 检测各组对 BK<sub>Ca</sub>-α 和 β 蛋白表达的影响

Figure 2 The effects of each group on the expression of BK<sub>Ca</sub>-α and β protein were detected by Western Blot  
注: 与 NG 组比较 \*\* $P < 0.01$ ; 与 HG 组比较 # $P < 0.05$ , ## $P < 0.01$ ;  $\Delta\Delta P < 0.01$ 。

### 2.2.2 激动或抑制 BK<sub>Ca</sub> 对肾小球系膜细胞增殖的影响

与 NG 组比较, HG 组细胞增殖明显增多 ( $P < 0.01$ )。与 HG 组比较, 药理性激动剂 NS11021 促进细胞增殖 ( $P < 0.01$ ); Tet、BK<sub>Ca</sub>-siRNA 抑制细胞增殖 ( $P < 0.01$ ), Tet 与 BK<sub>Ca</sub>-siRNA 相较, 抑制作用差异不具有统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 见图 3。

2.2.3 激动或抑制 BK<sub>Ca</sub> 对肾小球系膜细胞 ColIV、FN 蛋白表达的影响 与 NG 组比较, HG 组在干预 48 h 后的 ColIV、FN 表达量均升高 ( $P < 0.01$ )。与 HG 组比较, NS11021 组细胞 ColIV、FN 表达量差异不具有统计学意义 ( $P > 0.05$ ); Tet、BK<sub>Ca</sub>-siRNA 组均出现细胞 ColIV、FN 表达量降低 ( $P < 0.01$ ), 见图 4A、B、C。

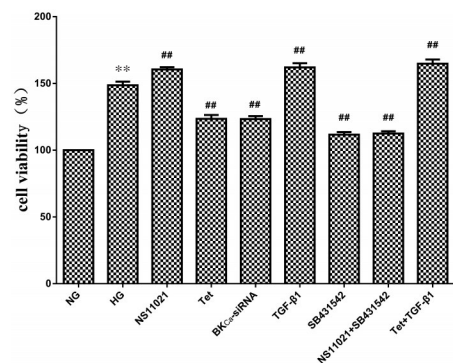


图 3 不同干预措施对细胞活力的影响

Figure 3 The effects of different interventions on cell viability  
注: 与 NG 组比较 \*\* $P < 0.01$ ; 与 HG 组比较 ## $P < 0.01$ 。

### 2.3 BK<sub>Ca</sub>对DN细胞模型的作用与TGF-β<sub>1</sub>/Smad2/3通路的相关性

**2.3.1 同步激动或抑制BK<sub>Ca</sub>与TGF-β<sub>1</sub>/Smad2/3通路的作用变化** 与高糖组比较,药理性激动BK<sub>Ca</sub>与通路激动组TGF-β<sub>1</sub>作用变化一致,均促进细胞增殖( $P < 0.01$ ,图3),ColIV、FN表达有增高的趋势( $P > 0.05$ ,图4);药理性抑制Tet和BK<sub>Ca</sub>-siRNA与通路抑制组SB431542都明显抑制细胞增殖( $P < 0.01$ ,图3),减少ColIV、FN表达( $P < 0.01$ ,图4)。

**2.3.2 激动或抑制BK<sub>Ca</sub>同时抑制或激动TGF-β<sub>1</sub>/Smad2/3通路的作用变化** 与高糖组、NS11021组比

较,NS11021+SB431542细胞增殖率降低( $P < 0.01$ ,图3),ColIV、FN表达量均减少( $P < 0.01$ ,图4.D.E.F);与高糖组、Tet组比较,Tet+TGF-β<sub>1</sub>细胞增殖率提高( $P < 0.01$ ,图3),ColIV、FN表达量均增加( $P < 0.01$ ,图4.D.E.F)。

**2.3.3 激动或抑制BK<sub>Ca</sub>对肾小球系膜细胞上清液TGF-β<sub>1</sub>、Smad2/3的含量影响** 与NG组相比,HG组TGF-β<sub>1</sub>、Smad2/3表达量均增多( $P < 0.01$ )。与HG组比较,NS11021组Smad2/3表达量增多( $P < 0.05$ ),TGF-β<sub>1</sub>表达量变化无统计学意义( $P > 0.05$ );Tet、BK<sub>Ca</sub>-siRNA组TGF-β<sub>1</sub>、Smad2/3表达量均减少( $P < 0.01$ ),见图5。

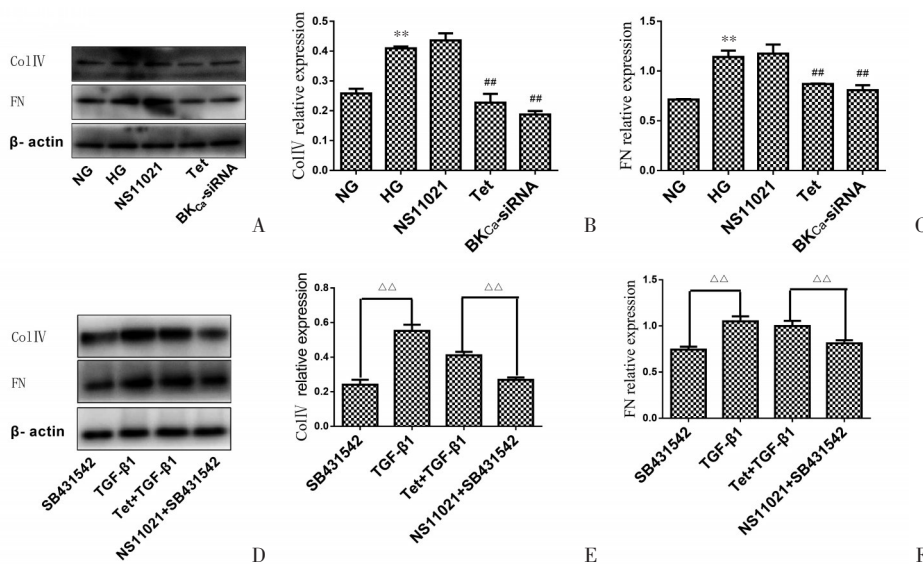


图4 采用Western Blot检测各组对IV型胶原和纤连蛋白表达的影响

Figure 4 The effects of each group on the expression of collagen IV and fibronectin were detected by Western Blot

注:与NG组比较\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.01$ ;与HG组比较# $P < 0.05$ ,## $P < 0.01$ ;△△ $P < 0.01$ 。

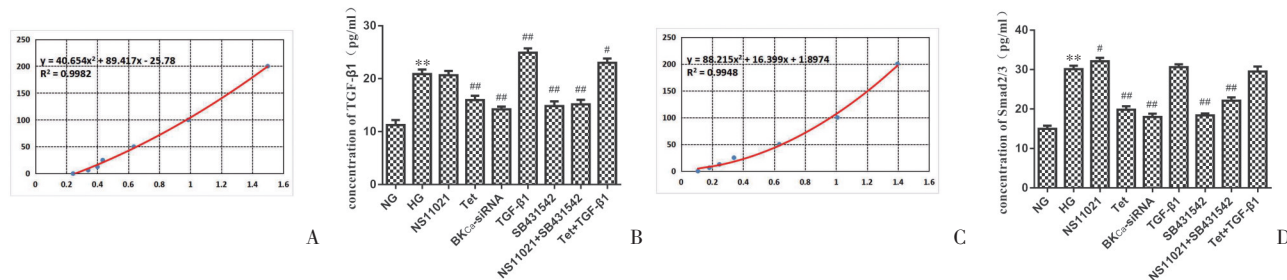


图5 各干预组TGF-β<sub>1</sub>和Smad2/3的表达

Figure 5 The expression of TGF-β<sub>1</sub> and Smad2/3 in each intervention group

注:A. 各组TGF-β<sub>1</sub>浓度定量图;B. 各组Smad2/3浓度定量图;与NG组比较\*\* $P < 0.01$ ;与HG组比较# $P < 0.05$ ,## $P < 0.01$ 。

## 3 讨论

DM是目前全球发病率最高的三大疾病之一, DN则是DM的最常见并发症之一, 目前的研究证据表明, DN的病变核心在肾小球<sup>[11-12]</sup>。MCs是肾小球中最活跃的固有细胞, 可以在肾小球受到损伤时受某些细胞因子的调控异常生长、分泌细胞外基质, 是导致肾小球硬化的重要致病因素<sup>[13-14]</sup>。DN的肾小球病变包括MCs增殖和肥大、ECM以异常增加的系膜基质形式过度积聚及肾小球基底膜增厚, 并最终导致结节性肾小球硬

化<sup>[15-16]</sup>, 可见MCs的异常增殖以及ECM的异常积聚对肾小球病变过程起到了关键作用。本课题组前期研究发现DN大鼠肾动脉上β<sub>1</sub>亚基的基因、蛋白表达确实存在异常, 并与肾脏病变程度相关<sup>[10]</sup>, 而文献报道存在于血管外的BK<sub>Ca</sub>能参与细胞增殖和迁移, HUANG等在肾小球足细胞和系膜细胞中发现有BK通道亚型表达<sup>[9]</sup>, 而系膜细胞中是否有BK<sub>Ca</sub>高表达, 并与DN肾脏病变有无相关性尚无报道。本实验首先发现, 与NG组比较, 模型组BK<sub>Ca</sub>-α、β蛋白表达量均升高, 阻断剂Tet, 尤其BK<sub>Ca</sub>-siRNA对其下调明显; 进而通过MTT、

Western Blot法证实其作用:与HG组对比,NS11021激动BK<sub>Ca</sub>可以显著促进HBZY-1细胞增殖,相反,Tet及BK<sub>Ca</sub>-siRNA会明显抑制其增殖,提示可以通过抑制BK<sub>Ca</sub>的方式部分抑制HBZY-1细胞的增殖,进而改善肾小球病变情况。与HG组相比,NS11021促进HBZY-1细胞分泌ColIV和FN的作用不强,具体原因有待进一步研究,怀疑是高糖环境BK<sub>Ca</sub>的开放率较高导致激动剂的作用不强;但是,Tet及BK<sub>Ca</sub>-siRNA会明显抑制细胞分泌ColIV和FN,提示可以通过抑制BK<sub>Ca</sub>的方式部分抑制HBZY-1细胞ECM中的ColIV和FN的分泌,从另一个方面改善肾小球病变情况。

TGF- $\beta$ 是DN发生发展的中心因子之一,可以诱导系膜细胞增殖和胶原分泌,甚至从转录水平直接诱导Col、FN等ECM的合成<sup>[17-19]</sup>。进而促进肾脏的纤维化进程。目前在哺乳动物中鉴定出了TGF- $\beta_{1,2,3}$ 三种亚型<sup>[20-21]</sup>,以TGF- $\beta_1$ 与肾脏关系最密切<sup>[22-23]</sup>。而作为TGF- $\beta$ 信号通路的主要下游效应蛋白,Smad2和Smad3可以在磷酸化后与Smad4结合,再转入细胞核调控基因转录,其中以Smad3作用更大,是公认的致纤维化因子<sup>[24-25]</sup>。那么BK<sub>Ca</sub>的作用是否与TGF- $\beta_1$ /Smad2/3通路有关?本实验发现:激动BK<sub>Ca</sub>使Smad2/3表达量增多,TGF- $\beta_1$ 变化不明显,抑制或下调BK<sub>Ca</sub>,TGF- $\beta_1$ 、Smad2/3表达量均减少;药理性激动BK<sub>Ca</sub>与通路激动组TGF- $\beta_1$ 作用相似,使增殖率提高,ColIV、FN分泌增多,抑制或下调BK<sub>Ca</sub>与通路抑制组SB431542作用与之相反,提示同步激动或抑制BK<sub>Ca</sub>与TGF- $\beta_1$ /Smad2/3通路的作用变化一致,说明BK<sub>Ca</sub>作用与该通路存在相关性;实验进一步发现:激动BK<sub>Ca</sub>同时抑制TGF- $\beta_1$ /Smad2/3通路使细胞增殖率降低,ColIV、FN表达量均减少,反之抑制BK<sub>Ca</sub>同时激动该通路,出现相反的作用,提示TGF- $\beta_1$ /Smad2/3与BK<sub>Ca</sub>调控细胞增殖、ColIV和FN的分泌是同一条信号通路,且TGF- $\beta_1$ /Smad2/3在BK<sub>Ca</sub>的下游。

## 4 结论

本研究探讨了BK<sub>Ca</sub>在糖尿病肾病中的重要作用及其机制,发现高糖诱导的DN细胞模型存在BK<sub>Ca</sub>高表达,抑制BK<sub>Ca</sub>后细胞增殖率、ColIV和FN的分泌明显降低,从而改善DN病变,此作用与TGF- $\beta_1$ /Smad2/3信号通路的活化相关。这一结果提示,BK<sub>Ca</sub>可能是临床实践中预防和治疗DN的潜在靶点。

## 5 参考文献

- 王莹,周静威,王珍,等. 糖尿病肾病中西医治疗进展[J]. 中国全科医学,2022,25(12): 1411-1417.
- 王玉洁,王健,周静威. 清热消癥方对糖尿病肾病大鼠肾损伤的保护作用研究[J]. 中国全科医学,2022,25(29): 3678-3685.
- 任亚丽,卢学超,解其华,等. CTRP3、TGF- $\beta_1$ 在糖尿病肾病中的表达及相关性研究[J]. 扬州大学学报(农业与生命科学版),2022,43(2): 92-97,103.

- 侯甜,秦雅芝,张妍,等. 特立帕肽通过cAMP/PKA/CREB信号通路调控高糖微环境下的成骨细胞分化[J]. 南方医科大学学报,2023,43(1): 39-45.
- 李晶,冯涛,陈晨,等. 糖肾灌肠方在大鼠糖尿病肾病JAK/STAT信号通路内的作用[J]. 中国老年学杂志,2022,42(13): 3271-3273.
- 魏华娟,赵然然,李世媛,等. 通络解毒汤对糖尿病肾病大鼠抗氧化通路的作用机制[J]. 陕西中医,2022,43(12): 1669-1672.
- TAO J, LAN Z, WANG YM, *et al.* Large-conductance calcium-activated potassium channels in Glomerulus: from cell signal integration to disease[J]. *Front Physiol*,2016,7: 248.
- GÜVEN C, PARLAR A. Glabridin relaxes vascular smooth muscles by activating BK (Ca) channels and inhibiting phosphodiesterase in human saphenous vein[J]. *Curr Med Sci*,2021,41(2): 381-389.
- HUANG CL, ZHANG L, SHI Y, *et al.* The KCa<sub>3.1</sub> blocker TRAM34 reverses renal damage in a mouse model of established diabetic nephropathy[J]. *PLoS One*,2018,13(2): e0192800.
- 刘欢,葛李,荆文荣,等. 2型糖尿病肾病大鼠肾动脉BK<sub>Ca</sub>通道mRNA表达变化[J]. 中国药理学杂志,2017,52(12): 1034-1037.
- TUNG CW, HSU YC, SHIH YH, *et al.* Glomerular mesangial cell and podocyte injuries in diabetic nephropathy[J]. *Nephrology*,2018,23(4): 32-37.
- ALICIC RZ, JOHNSON EJ, TUTTLE KR. SGLT2 inhibition for the prevention and treatment of diabetic kidney disease: a review[J]. *Am J Kidney Dis*,2018,72(2): 267-277.
- 张路遥,杨康. 不同运动干预2型糖尿病模型小鼠的肾间质纤维化[J]. 中国组织工程研究,2023,27(2): 200-207.
- 付平,陈馨韵. 中药治疗糖尿病肾病的疗效及作用机制[J]. 西南医科大学学报,2022,45(6): 466-473.
- 黄小倩,古远云,陈辉,等. 控糖膳治疗2型糖尿病的临床研究[J]. 西南医科大学学报,2021,44(6): 654-658.
- 李卓席,黄成虎,胡永梅,等. 2型糖尿病合并高尿酸血症患者微血管病变研究[J]. 实用临床医药杂志,2022,26(21): 65-69.
- 包伊特格乐,金惠戎,魏宇轩,等. 氧化应激-NLRP3-TGF- $\beta_3$ 通路参与糖尿病胃轻瘫大鼠胃平滑肌细胞外基质的重构[J]. 中国病理生理杂志,2022,38(4): 698-703.
- 杨沁之,罗茂. LncRNAs在糖尿病及其并发症中的作用研究进展[J]. 西南医科大学学报,2022,45(6): 539-544.
- XU JL, GAN XX, NI J, *et al.* SND p102 promotes extracellular matrix accumulation and cell proliferation in rat glomerular mesangial cells via the AT1R/ERK/Smad3 pathway[J]. *Acta Pharmacol Sin*,2018,39(9): 1513-1521.
- 王晨,程龙,石璐,等. TGF- $\beta$ 相关信号通路在糖尿病病理机制中的作用及中医药干预研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2022,28(21): 254-263.
- 段洪霞,葛李,崔传宝,等. 2型糖尿病大鼠肠系膜动脉平滑肌细胞大电导钙激活钾通道 $\alpha_1\beta_1$ 亚基蛋白及mRNA表达水平变化[J]. 中国现代医学杂志,2016,26(16): 1-5.
- LIU BJ, HE XJ, LI ST, *et al.* Deletion of diacylglycerol-responsive TRPC genes attenuates diabetic nephropathy by inhibiting activation of the TGF $\beta$ 1 signaling pathway[J]. *Am J Transl Res*,2017,9(12): 5619-5630.
- SUN ZQ, MA YL, CHEN F, *et al.* MiR-133b and miR-199b knockdown attenuate TGF- $\beta$ -induced epithelial to mesenchymal transition and renal fibrosis by targeting SIRT1 in diabetic nephropathy[J]. *Eur J Pharmacol*,2018,837: 96-104.
- TANG PMK, NIKOLIC-PATERSON DJ, LAN HY. Macrophages: versatile players in renal inflammation and fibrosis[J]. *Nat Rev Nephrol*,2019,15(3): 144-158.
- DELANAYE P, SCHEEN AJ. Preventing and treating kidney disease in patients with type 2 diabetes[J]. *Expert Opin Pharmacother*,2019,20(3): 277-294.

(利益冲突:无)

(收稿日期:2023-01-31;修回日期:2023-06-08)