DOI:10.16016/j.1000-5404.201511064

骨化三醇对晚期糖基终末产物诱导的 NRK52E 细胞 EMT 的影响

莫念春[1,2],蔡 稀[1],谢树钦[1],钟 玲[1] (400010 重庆,重庆医科大学附属第二医院肾内科[1],重庆医科大学病毒性肝炎所,感染性疾病分子生物学教育部重点实验室[2])

[摘要] **目的** 探讨骨化三醇对晚期糖基化终末产物(advanced glycation end products,AGEs)诱导的肾小管上皮细胞间质转化(epithelial-mesenchymal transition,EMT)的作用及可能机制。**方法** 先单独用骨化三醇刺激细胞,再采用 AGEs 处理 NRK52E 细胞,建立由 AGEs 诱导的细胞 EMT 模型。分为 4 组:对照组、模型组、低剂量骨化三醇(10nmol/L)预处理的模型组、高剂量骨化三醇(100nmol/L)预处理的模型组。利用 Western blot、逆转录实时定量 PCR 等方法检测 E-cadherin、α-SMA、AGEs 特异性受体(receptor for advanced glycation end products,RAGE)及 NF-κB 的磷酸化等的表达。**结果** 骨化三醇单独刺激时,大鼠肾小管上皮细胞上的 E-cadherin 和 α-SMA 的表达未发生明显变化;较对照组,AGEs 培养后,NRK52E 细胞 E-cadherin 表达显著下调,α-SMA 表达明显上调,AGEs 特异性受体显著表达增多,NF-κB 途径活化;以上变化都能够被骨化三醇所逆转($P<0.05$),抗 RAGE 中和抗体(AF1616)可抑制 AGEs 引起的 E-cadherin 下调和 α-SMA 上调,骨化三醇抑制 AGEs 诱导 RAGE 的上调能够被 NF-κB 磷酸化抑制剂(IMD0354)部分阻断。**结论** 骨化三醇通过降低 RAGE 的表达和阻断 NF-κB 的磷酸化来抑制肾小管上皮细胞上皮间质转化。

[关键词] 糖尿病肾病;晚期糖基化终末产物;骨化三醇;上皮细胞间质转化
[中图法分类号] R322.61; R329.24; R977.6 [文献标志码] A

Role of calcitriol on epithelial-mesenchymal transition of NRK52E cells induced by advanced glycation end products

Mo Nianchun[1,2], Cai Xi[1], Xie Shuqin[1], Zhong Ling[1] ([1]Department of Nephropathy; [2]Institute for Viral Hepatitis, Key Laboratory of Molecular Biology for Infectious Diseases of Ministry of Education, the Second Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing Medical University, Chongqing, 400010, China)

[**Abstract**] **Objective** To investigate the role of calcitriol on advanced glycation end products (AGEs) induced epithelial-mesenchymal transition (EMT) in renal tubular epithelial cells and explore the possible mechanism. **Methods** NRK52E cells were pretreated with calcitriol and divided into 4 groups upon the addition of AGEs, i.e., control group, AGEs group, AGEs groups pretreated with low (10 nmol/L) and high (100 nmol/L) concentration of calcitriol. The expression of E-cadherin, alpha smooth muscle actin (α-SMA), receptor for AGE (RAGE) and phosphorylation of nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells (NF-κB) were measured by Western blotting and reverse real-time quantitative polymerase chain reaction (RT-PCR). **Results** Calcitriol alone had no obvious effect on the expression of E-cadherin and α-SMA in rat renal tubular epithelial cells. AGEs down-regulated E-cadherin and up-regulated α-SMA in comparison to the control. AGEs also enhanced the expression of RAGE and phosphorylation of NF-κB. Calcitriol could significantly reverse all the aforementioned effects induced by AGEs ($P<0.05$). When

[基金项目] 重庆市卫生局医学科研项目(2012-1-034)
[通信作者] 钟 玲,E-mail:lzhi92@sina.com
[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20160304.1011.002.html(2016-03-04)

treated with anti-RAGE antibody AF1616, AGEs-induced reduction in E-cadherin and increase in α-SMA were inhibited. Furthermore, NF-κB inhibitor IMD0354 partly attenuated AGEs-induced up-regulation of RAGE *via* inhibition of calcitriol. **Conclusion** Mechanistically, calcitriol suppresses EMT in renal tubular epithelial cells through downregulation of RAGE and blockage of NF-κB phosphorylation.

[**Key words**] diabetic nephropathy; advanced glycation end products; calcitriol; epithelial-mesenchymal transition

Supported by the Project of Medical Research of Chongqing Municipal Health Bureau(2012-1-034). Corresponding author: Zhong Ling, E-mail:lzhi92@sina.com

糖尿病肾病(diabetic nephropathy)是致终末期肾病的主要疾病之一。目前一些药物只能延缓其进展,但不能治愈。糖尿病肾病的病理涉及较多因素[1],病理机制尚不明确。肾脏发生纤维化是肾脏疾病发展不可逆的关键过程,细胞发生细胞间质转化(epithelial-mesenchymal transition,EMT)是组织发生纤维化的重要机制。晚期糖基化终末产物(advanced glycation end products,AGEs)为蛋白质、脂质和核酸上的游离氨基酸和还原糖之间发生的非酶促反应的产物。目前研究表明其能够导致 EMT[2-3],但机制研究较少。

近年维生素 D 被广泛关注,除调节钙磷代谢和促进骨的再建外,还能调节细胞增生和分化,并促进免疫调节[4]。糖尿病肾病患者体内维生素 D 严重缺乏时,肾脏细胞更易发生 EMT[5],维生素 D 可通过多条途径对肾脏产生保护作用,如抑制肾素血管紧张素系统[6],抑制炎症级联反应与细胞凋亡,减少尿蛋白[7-8]等,减轻疾病表现。其与 AGEs 诱导的上皮细胞 EMT 之间的关系尚不明确。本研究观察骨化三醇对 AGEs 处理后的细胞的上皮标志物 E-cadherin、间质标志物 α-SAM、AGEs 特异受体 RAGE 和 NF-κB 磷酸化表达的变化,以探讨骨化三醇可改善糖尿病肾病的可能机制,最终为治疗糖尿病肾病提供一个新的治疗靶点。

1 材料与方法

1.1 主要材料

大鼠肾小球上皮细胞(NRK52E)为重庆医科大学病毒性肝炎研究所保存,AGE-BSA、BSA(Millipore),RNA 抽提试剂盒(百泰克),逆转录以及荧光定量 PCR 试剂盒(TaKaRa)。DMEM 高糖培养基、青链霉素、胎牛血清(Gibco),蛋白裂解液、PMSF(索莱宝),BCA 法蛋白定量试剂盒、SDS-PAGE 凝胶配制试剂盒(ATGene),加强型 ECL 检测试剂盒(凯基),抗 AGER 抗体(Santa Cruz),抗 E-cadherin 多克隆抗体、抗 NF-κBp65 多克隆抗体、抗磷酸化 NF-κBp65 多克隆抗体(Bioword),抗 α-SMA 多克隆抗体(Abcam),goat anti rabbit lgG HRP(索莱宝),荧光标记二抗(中杉),Calcitriol(Cayman)。IMD0354(Abmol),抗 RAGE 中和抗体 AF1616(R&D System)。

1.2 细胞培养

NRK52E 细胞的培养基为含有 10% FBS 和 1% PS 的 DMEM 高糖培养基,培养条件为 37 ℃、5% CO_2、饱和湿度无菌培养箱,待细胞长至面积覆盖培养瓶底面积 70% ~80% 开始传代,传代频率为 2 ~3 d 1 次。

1.3 Western blot 分析

等量蛋白提取液上样,SDS-PAGE 凝胶电泳后,转至 PVDF 膜上,5% BSA 封闭,与相应的一抗二抗反应后,加强型 ECL 显影,获取条带,软件 ImageJ 检测条带灰度值,GAPDH 为内参进行定量分析。

1.4 逆转录实时定量 PCR 分析

RAGE、E-cadherin、α-SMA 等基因表达用荧光定量 PCR 检测。按 RNA 抽提试剂盒实验步骤提取 NRK52E 细胞的总 RNA,逆转录试剂盒步骤合成 cDNA,cDNA 为模板进行荧光定量 PCR,PCR 引物序列:E-cadherin 上游:5′-TGCTGCCACCAGATGACGATAC-3′,下游:5′-TGTGCAGCTGGCTCAAATCA-3′,片段大小 98 bp;α-SMA 上游:5′-CTCCCAGCACCATGAAGATCAA-3′,下游:5′-GGGCGTGACTTAGAAGCATTTG-3′,片段大小 175 bp;RAGE 上游:5′-TGAACTCACAGCCAATGTC-CCTAA-3′,下游:5′-CGAAGCGTGAAGAGTCCCGT-3′,片段大小 173 bp。相对定量测定目的基因的表达,以管家基因 GAPDH 为内参,上游引物:5′-CATCACTGC-CACCCAGAAGACTG-3′,下游引物:5′-ATGCCAGT-GAGCTTCCCGTTCAG-3′,片段大小 152 bp。

1.5 免疫荧光化学检测

将细胞接种于 24 孔板,均匀贴壁后不同药物处理,4% 多聚甲醛固定,0.3% TritonX-100 透化,5% 山羊血清封闭,孵育相应浓度一抗、二抗 DIPI 避光染核,反复冲洗后荧光显微镜观察拍照。

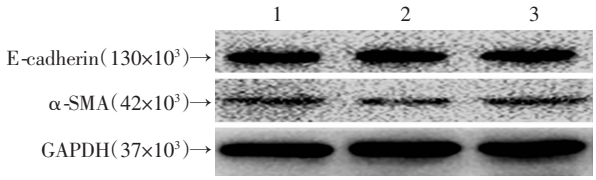
1.6 统计学处理

采用 SPSS 20.0 统计软件,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间差异用单因素方差分析比较。$P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2　结果

2.1　骨化三醇对 NRK52E 上皮细胞 E-cadherin、α-SMA 蛋白表达的影响

Western blot 检测骨化三醇对肾小管上皮细胞标志蛋白的表达,无论是低剂量组(10 nmol/L)还是高剂量组(100 nmol/L)骨化三醇,单独刺激时都不能引起 E-cadherin、α-SMA 蛋白表达的改变(图 1)。

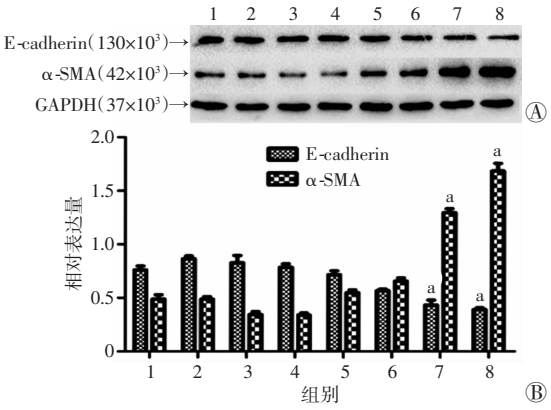


1~3:0、10、100 nmol/L 骨化三醇

图 1　Western blot 检测不同浓度骨化三醇刺激 NRK52E 细胞 24 h 后 E-cadherin、α-SMA 的蛋白水平

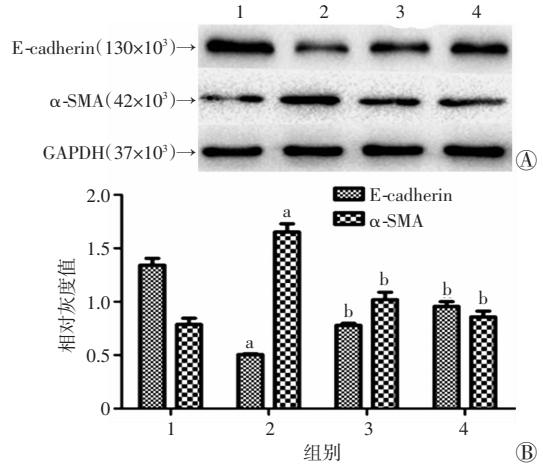
2.2　骨化三醇对 AGEs 诱导的肾小管上皮细胞的转分化作用

不同浓度(0、100、200、300 μg/mL)的 AGE-BSA 较相应浓度 BSA 处理组上皮标志物 E-cadherin 呈浓度依赖性下调,间质标志物 α-SMA 呈浓度依赖性上调;不同浓度 BSA 组间没有明显改变(图 2)。AGEs 处理 NRK52E 细胞 48 h 引起细胞形态的改变,正常的 NRK52E 呈鹅卵石上皮细胞样,呈多边形、三角形,而 AGEs 组呈梭形细长间质细胞样表型,失去上皮细胞极性,这种形态改变能被骨化三醇所抑制(图 3)。200 μg/mL AGEs 降低肾小管上皮细胞上皮标志物 E-cadherin 的表达、增加间质标志物 α-SMA 的表达,预先用骨化三醇处理 NRK52E 细胞可减轻 AGEs 引起的 EMT(图 4A、B)。逆转录实时定量 PCR(图 5)检测和免疫荧光(图 4C)也揭示了同样的结果。高浓度的骨化三醇较低浓度改善 EMT 的能力更胜。



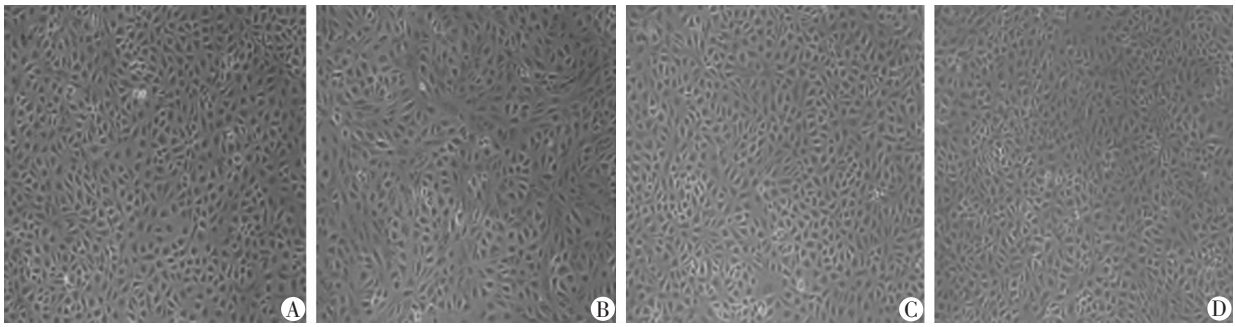
A:Western blot 检测　1~4:0、100、200、300 μg/mL BSA;5~8:0、100、200、300 μg/mL AGE-BSA;B:E-cadherin/GADPH 和 α-SMA/GADPH 的相对灰度值　a:$P<0.05$,与各自对照组比较

图 2　Western blot 检测不同浓度 BSA 和 AGE-BSA 处理 NRK52E 细胞 48 h 后 E-cadherin、α-SMA 的蛋白水平



A:Western blot 检测　1~4:对照组、AGEs 处理组、10 nmol/L 骨化三醇预处理+AGEs 组、100 nmol/L 骨化三醇预处理+AGEs 组;B:E-cadherin/GADPH 和 α-SMA/GADPH 的相对灰度值　a:$P<0.05$,与对照组比较;b:$P<0.05$,与 AGEs 处理组比较

图 4　Western blot 检测不同药物刺激 NRK52E 细胞后 E-cadherin、α-SMA 蛋白水平的变化



A:NRK52E 细胞的正常形态;B:AGEs 培养的 NRK52E 细胞形态;C:10 nmol/L 骨化三醇和 AGEs 共同培养的 NRK52E 细胞形态;D:100 nmol/L 骨化三醇和 AGEs 培养的 NRK52E 细胞形态

图 3　显微镜观察 NRK52E 细胞的正常表型和各个处理后细胞形态变化　(×100)

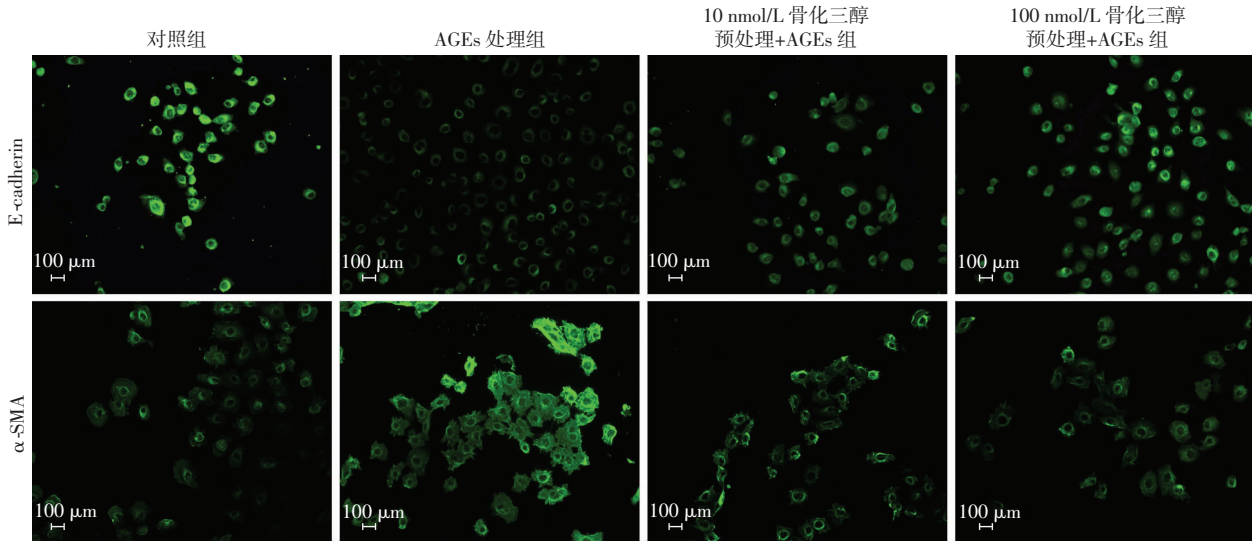
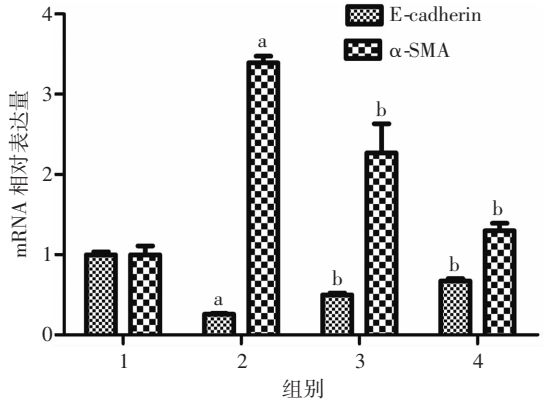


图 6　免疫荧光检测不同药物刺激 NRK52E 细胞后 E-cadherin、α-SMA 的荧光强度　（间接染色法）



1～4:对照组、AGEs 处理组、10 nmol/L 骨化三醇预处理 + AGEs 组、100 nmol/L 骨化三醇预处理 + AGEs 组 a:$P<0.05$,与对照组比较;b:$P<0.05$,与 AGEs 处理组比较

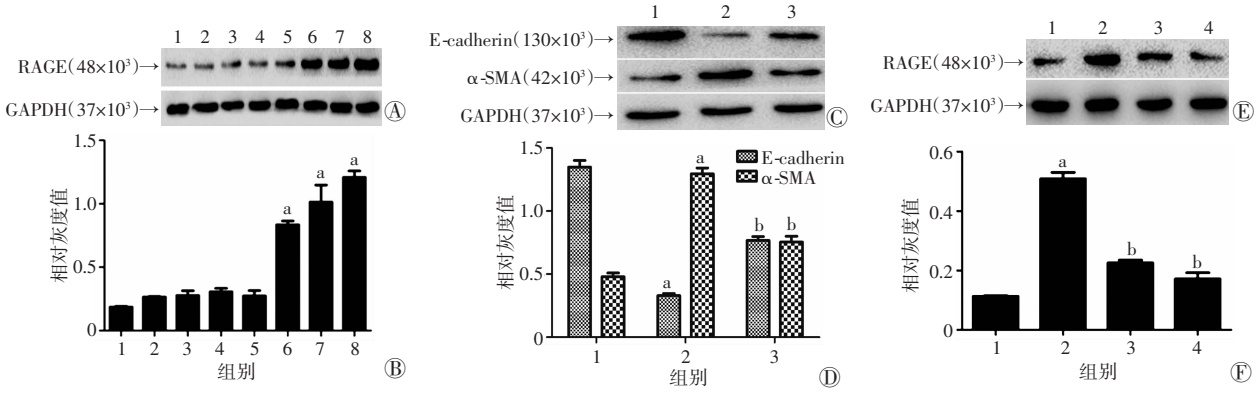
图 5　荧光定量 PCR 检测不同药物刺激 NRK52E 细胞后 E-cadherin、α-SMA mRNA 水平的变化

2.3　骨化三醇抑制 AGE-BSA 诱导的 RAGE 上调

不同浓度 AGE-BSA(0、100、200、300 g/mL,处理 NRK52E 细胞 48 h 后,浓度依赖性上调 RAGE 的表达,对照组 BSA 则没有明显变化(图 7A、B);抗 RAGE 中和抗体(AF1616,50 g/mL,预处理细胞可中和 AGEs 诱导 E-cadherin 下调及 α-SMA 的上调(图 7C、D);低浓度、高浓度骨化三醇和 AGEs 共处理细胞抑制 RAGE 表达增多(图 7E、F)。

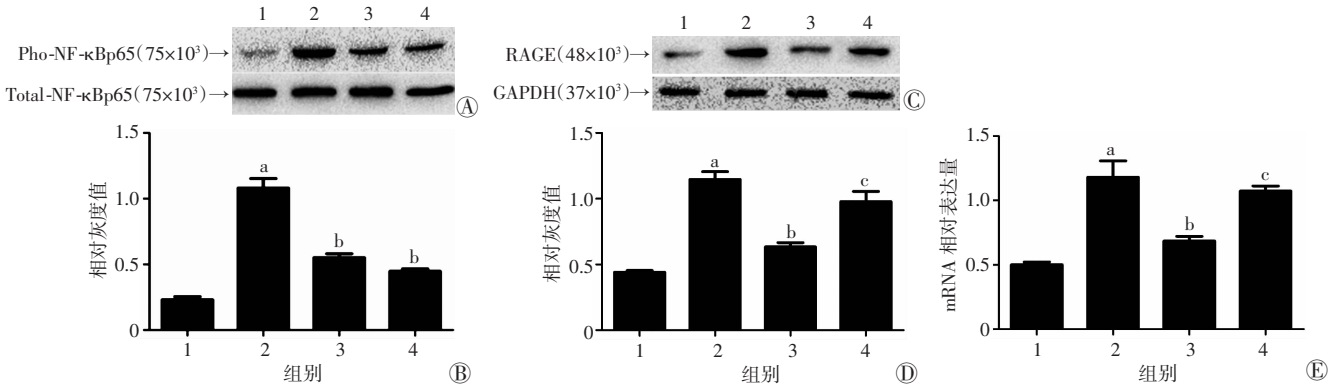
2.4　骨化三醇抑制 NF-κB 的磷酸化

为了探索骨化三醇下调 RAGE 的机制,检测 NF-κB 磷酸化水平,发现 AGEs 可以显著激活 NF-κB,而激活水平被骨化三醇所缓解(图 8A、B);IMD0354(0.5 mol/L)抑制 NF-κB 的磷酸化后,骨化三醇对 RAGE 蛋白水平的下调作用也被部分抑制(图 8C、D);在 mRNA 水平也得到一致结果(图 8E)。



A:Western blot 检测　1～4:0、100、200、300 μg/mL BSA;5～8:0、100、200、300 μg/mL AGE-BSA;B:RAGE/GAPDH 的相对灰度值;C:Western blot 检测　1～3:对照组、200 μg/mL AGE-BSA 处理组、50 g/mL 抗 RAGE 中和抗体预处理组;D:E-cadherin/GADPH 和 α-SMA/GADPH 的相对灰度值;E:Western blot 检测　1～4:对照组、AGEs 处理组、10 nmol/L 骨化三醇预处理 + AGEs 组、100 nmol/L 骨化三醇预处理 + AGEs 组;F:RAGE/GAPDH 的相对灰度值;a:$P<0.05$,与对照组比较;b:$P<0.05$,与 AGEs 处理组比较

图 7　Western blot 检测不同药物刺激 NRK52E 细胞后 E-cadherin、α-SMA、RAGE 蛋白水平的变化



A:Western blot 检测 1~4:对照组、AGEs 处理组、10 nmol/L 骨化三醇预处理 + AGEs 组、100 nmol/L 骨化三醇预处理 + AGEs 组;B:Pho-NF-κB/totalNF-κB 的相对灰度值;C、E:分别为 Western blot 检测和荧光定量 PCR 检测 1~4:对照组、AGEs 处理组、100 nmol/L 骨化三醇预处理 + AGEs 组、100 nmol/L 骨化三醇 + IMD0354 预处理后,再加 AGEs 组;D:RAGE/GAPDH 的相对灰度值;a:$P<0.05$,与对照组比较;b:$P<0.05$,与 AGEs 处理组比较;c:$P<0.05$,与 AGEs + 100 Calcitriol 处理组比较

图 8 阻断 NF-κB 磷酸化后骨化三醇对 AGEs 诱导的 RAGE 表达变化的影响

3 讨论

糖尿病肾病的病理机制复杂。目前较多研究表明,AGEs 是糖尿病肾病主要发病因素之一,AGEs 发挥生物作用主要是通过 RAGE 实现的。AGEs/RAGE 轴主要介导细胞内的氧化应激,进而诱导细胞的损伤。AGEs 能够诱导肾脏实质细胞的 EMT。而肾小管的 EMT 是肾小管间质纤维化的重要机制[9-10]。众所周知,纤维化是许多器官走向终末期的一个不可逆的关键进程。

近年研究发现,活性维生素 D 对肾脏发挥着重要的保护作用,通过抑制肾素血管紧张素系统[11-12]、改善 TGF-β 诱导的 Smad2 的磷酸化[13],抑制脂质过氧化等改善肾功能[14],但并不明确活性维生素 D 对 AGEs 诱导的 EMT 作用是否有影响。本课题用骨化三醇预处理 NRK52E 细胞探讨其对 AGEs 诱导的 EMT 的作用及其机制。

首先,AGEs 条件培养的 NRK52E 细胞发生了 EMT,主要表现为上皮标志物 E-cadherin 的显著下调和间质标志物 α-SMA 的显著上调,且呈浓度依赖。相对应的 BSA 刺激组没有显著差异,此变化能够被抗 RAGE 中和抗体部分阻断;其次,骨化三醇预培养细胞可以逆转 AGEs 诱导肾小管上皮细胞的转分化作用,NF-κB 磷酸化抑制剂能部分抑制骨化三醇的逆转作用。RAGE 是糖尿病肾病中最重要以及最常见的 AGEs 的受体。糖尿病肾病中,AGE 通过各种病理机制促进疾病的进展,其中与其特异受体相互结合并且激活一系列下游信号通路是很重要且最主要的一条致病途径。AGEs/RAGE/NF-κB 轴在各种细胞的炎症微环境中发挥关键作用。本研究中,AGEs 能够激活 RAGE/NF-κB 通路,骨化三醇可阻断其通路,相对于低剂量的骨化三醇来说,高剂量对 AGEs 诱导的 p65 的活化的阻断作用更显著。

NF-κB 是一个转录因子蛋白家族,在静息细胞中,NF-κB 以无活性的状态存在于细胞质,当收到胞外信号刺激时,NF-κB 发生磷酸化暴露定位位点,迅速定位到细胞核,与特异序列结合,诱导相关基因转录。AGEs 可促进 NF-κB 的磷酸化,这可能是因为 AGEs 可以上调 RAGE,RAGE 的启动子基因包含了 NF-κB 的结合区[15],所以 NF-κB 的激活是依赖 AGE-RAGE 轴的。维生素 D 在可抑制多种细胞 NF-κB 的 p65 的磷酸化,如肠道上皮细胞[16],单核巨噬细胞,肺微血管内皮细胞[17]等。在本研究中,骨化三醇也能发挥抑制 p65 活化作用。文献报道,骨化三醇能抑制糖尿病环境心脏组织 RAGE 的表达[18]。我们猜想肾脏 AGEs 在与 RAGE 相互作用以后,激活了 NF-κB 的信号通路,促进其入核[19],诱导 RAGE 基因的转录,这组成一个正反馈的环状通路,这可能是当高糖得到控制后,疾病继续发展的一个原因。而骨化三醇部分抑制了 p65 的活性,从而缓解了 RAGE 的上调而达到逆转肾小管上皮细胞的 EMT。

综上所述,本研究证实体外 AGEs 可以诱导肾小管上皮细胞转分化,促进 RAGE 的上调,也激活 NF-κB 的转录活性,这一系列的过程都可以被骨化三醇所逆转。但是目前尚未进行动物实验验证,也没有针对性对 RAGE 沉默或者过表达,进而观察下游改变,或者探讨骨化三醇在其过表达或者基因沉默时,下游表达的影响,有待于进一步研究。

参考文献:

[1] Brosius F C 3rd, Alpers C E. New targets for treatment of diabetic nephropathy: what we have learned from animal models [J]. Curr Opin Nephrol Hypertens, 2013, 22(1): 17 - 25. DOI: 10.1097/MNH.0b013e32835b3766

[2] 孙辽, 余学清, 祝胜郎, 等. AGEs 对肾小管上皮细胞转分化、1 型胶原合成及 smad 信号通路的影响[J]. 中国病理生理杂志, 2006, 12(12): 2429 - 2433. DOI: 10.3321/j.issn: 1000-4718.2006.12.030

[3] Yang Y S, Wang C J, Huang C N, *et al*. Polyphenols of Hibiscus sabdariffa improved diabetic nephropathy via attenuating renal epithelial mesenchymal transition[J]. J Agric Food Chem, 2013, 61(31): 7545 - 7551. DOI: 10.1021/jf4020735

[4] Liu W C, Zheng C M, Lu C L, *et al*. Vitamin D and immune function in chronic kidney disease[J]. Clin Chim Acta, 2015, 450: 135 - 144. DOI: 10.1016/j.cca.2015.08.011

[5] Xiong M, Gong J, Liu Y, *et al*. Loss of vitamin D receptor in chronic kidney disease: a potential mechanism linking inflammation to epithelial-to-mesenchymal transition[J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2012, 303(7): F1107 - F1115. DOI: 10.1152/ajprenal.00151.2012

[6] Dong J, Wong S L, Lau C W, *et al*. Calcitriol protects renovascular function in hypertension by down-regulating angiotensin Ⅱ type 1 receptors and reducing oxidative stress[J]. Eur Heart J, 2012, 33(23): 2980 - 2990. DOI: 10.1093/eurheartj/ehr459

[7] Agarwal R. Vitamin D. proteinuria, diabetic nephropathy, and progression of CKD[J]. Clin J Am Soc Nephrol, 2009, 4(9): 1523 - 1528. DOI: 10.2215/CJN.02010309

[8] Shin J I, Park H Y, Park S J, *et al*. Role of vitamin D in improvement in changes of podocyte P-cadherin/beta-catenin complex induced by diabetic conditions[J]. Iran J Kidney Dis, 2015, 9(3): 194 - 201.

[9] Bai Y H, Wang J P, Yang M, *et al*. SiRNA-HMGA2 weakened AGEs-induced epithelial-to-mesenchymal transition in Tubular epithelial cells[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2015, 457(4): 730 - 735. DOI: 10.1016/j.bbrc.2015.01.063

[10] Zeisberg M, Kalluri R. The role of epithelial-to-mesenchymal transition in renal fibrosis[J]. J Mol Med (Berl), 2004, 82(3): 175 - 181. DOI: 10.1007/s00109-003-0517-9

[11] Koroshi A, Idrizi A. Renoprotective effects of Vitamin D and renin-angiotensin system[J]. Hippokratia, 2011, 15(4): 308 - 311.

[12] 成彩联, 郑振达, 石成钢, 等. 晚期糖基化终产物对足细胞内肾素-血管紧张素系统的影响[J]. 第三军医大学学报, 2013, 35(17): 1779 - 1782. DOI: 10.16016/j.1000-5404.2013.17.015

[13] Hills C E, Squires P E. TGF-beta1-induced epithelial-to-mesenchymal transition and therapeutic intervention in diabetic nephropathy[J]. Am J Nephrol, 2009, 31(1): 68 - 74. DOI: 10.1159/000256659

[14] Zitman-Gal T, Golan E, Green J, *et al*. Vitamin D receptor activation in a diabetic-like environment: potential role in the activity of the endothelial pro-inflammatory and thioredoxin pathways[J]. J Steroid Biochem Mol Biol, 2012, 132(1/2): 1 - 7. DOI: 10.1016/j.jsbmb.2012.04.003

[15] Xie J, Mendez J D, Mendez-Valenzuela V, *et al*. Cellular signalling of the receptor for advanced glycation end products (RAGE)[J]. Cell Signal, 2013, 25(11): 2185 - 2197. DOI: 10.1016/j.cellsig.2013.06.013

[16] Chen S, Jing Z, Chen G, *et al*. 1, 25-Dihydroxyvitamin D3 preserves intestinal epithelial barrier function from TNF-α induced injury via suppression of NF-kB p65 mediated MLCK-P-MLC signaling pathway[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2015, 460(3): 873 - 878. DOI: 10.1016/j.bbrc.2015.03.125

[17] Zhang M, Dong M, Liu W, *et al*. 1α, 25-dihydroxyvitamin D3 ameliorates seawater aspiration-induced acute lung injury via NF-κB and RhoA/Rho kinase pathways[J]. PLoS One, 2014, 9(8): e104507. DOI: 10.1371/journal.pone.0104507

[18] Lee T W, Kao Y H, Lee T I, *et al*. Calcitriol modulates receptor for advanced glycation end products (RAGE) in diabetic hearts[J]. Int J Cardiol, 2014, 173(2): 236 - 241. DOI: 10.1016/j.ijcard.2014.02.041

[19] 吴丽丽, 王立群, 王达, 等. 形态学观察晚期糖基化终末产物诱导微血管内皮细胞核因子 κB 入核及其机制[J]. 中国动脉硬化杂志, 2013, 21(3): 198 - 202.

(**收稿**:2015-11-10;**修回**:2015-12-07)

(编辑 龙 亮)