DOI:10.16016/j.1000-5404.202004076

半乳糖凝集素3调控高糖下肾小球系膜细胞增殖的研究

林子越[1],张攀扬[1],崇馨煜[1],孙 艳[1],彭 睿[2],张 政[1] 400016 重庆,重庆医科大学基础医学院:细胞生物学及遗传学教研室[1],生物信息学教研室[2]

[摘要] **目的** 探究半乳糖凝集素3(galectin-3,Gal-3)对高糖培养的肾小球系膜细胞(mesangial cells,MCs)增殖的作用及机制。**方法** 实时定量PCR(qRT-PCR)检测Gal-3在糖尿病肾病(diabetic nephropathy,DN)、正常小鼠肾脏组织和高低糖条件下MCs中的表达;构建、合成Gal-3过表达质粒和siRNA,qRT-PCR和Western blot检测转染效率;在高糖培养的MCs中转染Gal-3-siRNA;在低糖培养的MCs中转染Gal-3过表达质粒,通过5-乙基-2′-脱氧尿嘧啶核苷(5-Ethynyl-2′-deoxyuridine, EdU)检测MCs的增殖能力,通过Western blot检测高低表达Gal-3对Mek和磷酸化Mek表达的影响。**结果** qRT-PCR结果显示:与正常小鼠相比,Gal-3在DN小鼠肾脏组织中表达显著升高($P<0.01$),且与低糖下的MCs相比,高糖条件下的MCs中Gal-3表达显著升高($P<0.01$)。过表达Gal-3后,MCs增殖能力显著提高($P<0.01$)且磷酸化Mek表达上调($P<0.01$),而在siRNA沉默Gal-3后,MCs增殖能力显著降低($P<0.01$)且磷酸化Mek表达下调($P<0.001$)。**结论** Gal-3在DN中显著上调,并且可能通过调控Mek磷酸化影响MCs的增殖,进而在DN中发挥重要的调节作用。

[关键词] 糖尿病肾病;galectin-3;肾小球系膜细胞;细胞增殖;Mek
[中图法分类号] R322.61;R329.28;R589.1 [文献标志码] A

Galectin-3 regulates proliferation of glomerular mesangial cells under high glucose condition

LIN Ziyue[1], ZHANG Panyang[1], CHONG Xinyu[1], SUN Yan[1], PENG Rui[2], ZHANG Zheng[1] [1]Department of Cell Biology and Genetics, [2]Department of Bioinformatics, College of Basic Medical Sciences, Chongqing Medical University, Chongqing, 400016, China

[**Abstract**] **Objective** To investigate the effect and underlying mechanism of galectin-3 (Gal-3) on the proliferation of mesangial cells (MCs) cultured under high glucose condition. **Methods** Real-time quantitative PCR (qRT-PCR) was used to detect the expression of Gal-3 in normal and diabetic nephropathy (DN) mouse kidney tissues and MCs under low and high glucose conditions. Gal-3 overexpression plasmid and siRNA were constructed and synthesized. qRT-PCR and Western blotting were used to detect the transfection efficiency. And Gal-3 overexpression plasmid or siRNA was transfected into MCs under low and high glucose condition, respectively. Further, 5-Ethynyl-2′-deoxyuridine (EdU) was used to detect the cell proliferation ability, and Western blot assay was used to measure the expression of Mek and phosphorylated Mek after overexpression or downexpression of Gal-3 in MCs. **Results** qRT-PCR results showed that Gal-3 expression was significantly higher in the kidney tissues of DN mice than those of the normal mice($P<0.01$), and so was the expression level in MCs under high glucose condition when compared with the cells under low glucose condition ($P<0.01$). In addition, overexpression of Gal-3 resulted in enhanced proliferation ability of MCs ($P<0.01$) and the up-regulation of phosphorylated Mek ($P<0.01$). While, Gal-3 silencing induced the opposite results in the proliferation ability ($P<0.01$) and phosphorylated Mek expression ($P<0.001$).

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81970702)
[通信作者] 张 政,E-mail:zhangzheng92@163.com

Conclusion Gal-3 is significantly up-regulated in DN, and may affect the proliferation of MCs by regulating Mek phosphorylation, and thus plays an important regulatory role in DN.

[**Key words**] diabetic nephropathy; galectin-3; glomerular mesangial cells; proliferation; Mek

Supported by the General Program of National Natural Science Foundation of China (81970702) Corresponding author: ZHANG Zheng, E-mail: zhangzheng92@163.com

糖尿病肾病(diabetic nephropathy,DN)作为糖尿病的主要微血管并发症之一,是终末期肾脏疾病的主要原因,它的典型特征是肾脏增生、基底膜增厚、间质纤维化和细胞外基质大量积累[1]。DN 一旦发展为终末期肾病,其病死率显著高于其他非 DN 的终末期肾病患者,严重影响糖尿病患者的健康[2]。因此,早期预防及治疗 DN 对于病情的发展具有重大意义。肾小球系膜病变是 DN 最突出的病理改变之一[3],在其病程的早期就存在肾小球系膜细胞(mesangial cells,MCs)增殖,细胞外基质合成增多[4]。但这种高增殖状态的具体形成机制目前还无定论,其具体机制仍不清楚。

半乳糖凝集素 3(galectin-3, Gal-3)又名 Lgals3,是半乳糖结合素家族的一员,相比其他成员,Gal-3 特殊的 N-结构域允许 Gal-3 不与碳水化合物靶标结合形成多聚体复合物[5]。Gal-3 在多种细胞和组织中表达,广泛存在于细胞核、细胞质、细胞表面及细胞外基质[6]。人 Gal-3 基因定位于 14q21~22,由 6 个外显子和 5 个内含子组成,其蛋白相对分子质量为 31×10^3,参与多种生物学活动,包括细胞生长、细胞凋亡、mRNA 前剪接、血管生成、炎症、和纤维化等[7-8]。研究表明,Gal-3 作为肾脏疾病、神经退行性疾病和肿瘤形成的诊断或预后生物标志物起着重要作用[9]。特别在糖尿病肾病中,KIKUCHI 等[10]发现 Gal-3 在 DN 患者中显著高表达; HODEIB 等[11]发现血清 Gal-3 是 2 型糖尿病患者 DN 进展的重要预测因子,可作为糖尿病肾病的预后生物标志物;德国研究者在糖尿病透析患者中通过随访发现基线血清 Gal-3 水平随肾功能下降而增加,并且与肾功能受损患者的临床终点、感染和全因病死率独立相关[12]。然而,在 DN 中表达异常的 Gal-3 是否参与 MCs 增殖呢? 目前尚不清楚。

本研究通过二代测序发现 Gal-3 在 DN 中显著上调,进一步通过构建 Gal-3 过表达质粒和 siRNA,研究 Gal-3 对高糖下 MCs 增殖的作用及机制。以期为探索 DN 中 MCs 增殖的具体机制提供实验依据,为后续 DN 的早期诊断和治疗提供新的分子靶点。

1 材料与方法

1.1 实验动物及试剂

4 周龄雄性 2 型糖尿病模型小鼠(db/db 小鼠)(BKS.Cg^{-}+$Lepr^{db}$/ +$Lepr^{db}$/J)购自南京大学模式动物研究所,作为 DN 组($n=10$)。正常对照 C57BL/6J 小鼠为重庆医科大学实验动物中心提供,周龄、性别与 DN 组小鼠同质,为正常组($n=10$)。小鼠饲养于重庆医科大学实验动物中心,12 周龄时检测血糖和尿白蛋白后处死,取肾脏皮质保存于液氮用于后续实验。所有操作经重庆医科大学伦理委员会同意。

小鼠 MCs(SV40-MES14)由本实验室保存。转染试剂 Lipofectamine® 2000 购自美国 Invitrogen 公司; TB Green® Premix Ex Taq^{TM} Ⅱ、逆转录试剂盒、TRIzol 试剂购自日本 TaKaRa 公司;DMEM 高糖和低糖培养基购自美国 Gibco 公司;山羊抗鼠 Gal-3, Mek, p-Mek 和二抗山羊抗鼠 IgG 购自英国 Abcam 公司; EdU 试剂盒购自中国 Thermofisher 公司;胎牛血清、青霉素-链霉素溶液,SDS-PAGE 相关试剂及细胞裂解液、蛋白定量试剂盒购自中国碧云天生物技术有限公司;PVDF 膜购自美国 Millipore 公司。

1.2 二代测序

12 周龄 DN 组小鼠($n=3$)和正常组小鼠($n=3$)肾脏组织送华大基因公司进行二代测序检测。组织提取总 RNA 后,将其打断成短片段后为模板,用六碱基随机引物合成 cDNA 第 1 链,并加入缓冲液、dNTPs、RNase H 和 DNA polymerase I,合成 cDNA 第 2 链,经过 QiaQuick PCR 试剂盒纯化后,通过 UNG(Uracil-N-Glycosylase)酶降解第 2 条链。然后用琼脂糖凝胶电泳进行片段大小选择,进行 PCR 扩增。建好的测序文库用 Illumina HiSeq™ 2000 进行测序,对其结果进行信息分析。

1.3 Gal-3 过表达质粒构建及 siRNA 合成

Gal-3 过表达质粒由吉玛基因合成。根据 Ensembl 数据库小鼠 Gal-3 的基因序列,用 Primer Premier 6.0 设计引物,并根据 EX-Mm03620-M98 载体多克隆位点,分别在 Gal-3 上下游引物加入 BsrGI 和 *Sa*1 Ⅰ位点,BLAST 在线分析引物特异性,PCR 扩增 Gal-3。其上游引物:5′-AGAGTGGCAAACCATTCA-3′,下游引物:5′-TCACGAGCAGTCCTAAGA-3′。PCR 产物纯化后,BsrGI 和 *Sa*1 Ⅰ酶切 1 h, T4 连接酶 4 ℃过夜连接入 EX-Mm03620-M98 表达载体,连接产物转化 *E. coli* DH5α 感受态细胞,将 200 μL 已转化的感受态细胞转移到含有 Ampicillin 固体 LB 琼脂糖培养基上,挑取阳性单克隆在恒温摇床中 37 ℃、250 r/min 振荡过夜后,提取质粒进行 PCR、酶切、测序鉴定。

同时,根据 Ensembl 数据库中公布的小鼠 Gal-3 mRNA 序列,通过 Oligo 软件设计 3 条 siRNA 靶序列,具体如下:siRNA-1:5′-GCUUAACGAUGCCUUAGCU-3′(sense),5′-AGCUAAGGCAUCGUUAAGC-3′(antisense);siRNA-2:5′-CCUCCGGGAAAUCAGCCAA-3′(sense),5′-UUGGCUGAUUUCCCGGAGG-3′(antisense);siRNA-3:5′-UCAUUGUGUGUAACACGAATT-3′(sense),5′- UUCGUGUUACACACAAUGATT-3′(antisense)。上述引物由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。

1.4　细胞培养及转染

小鼠 MCs 分别用含有 15% 灭活的胎牛血清的 DMEM 高糖(25 mmol/L)和低糖(5 mmol/L)培养基,在含 5%CO_2、37 ℃的培养箱中培养,分别命名为高糖组和低糖组。MCs 接种于 6 孔板中,每组设 3 个平行孔,待细胞生长到 70%~80% 时,运用 Lipofectamine 2000 将质粒及 siRNA 等转染入细胞,具体操作按操作手册进行,24~48 h 后收获细胞,准备后续实验。根据转染物的不同,将高糖组细胞分为未处理组(转染时仅加入脂质体 Lipofectamine 2000)、对照组(转染 siRNA 的阴性对照)以及 siRNA 组(转染 Gal-3 siRNA);低糖组细胞分为未处理组(转染时仅加入脂质体 Lipofectamine 2000)、空载组(转染空载质粒)以及 Gal-3 组(转染 Gal-3 过表达质粒)。

1.5　实时定量 PCR(qRT-PCR)检测 Gal-3 的表达

运用 TRIzol 提取小鼠肾脏组织 RNA 和 MCs 总 RNA,通过逆转录试剂盒将总 RNA 逆转录为 cDNA 后,使用 TB Green® Premix Ex *Taq*™ Ⅱ进行扩增检测,体系为 10 μL,每组设置 3 个复孔。反应条件为:95 ℃预变性 3 min,95 ℃ 5 s,55 ℃ 34 s,72 ℃ 60 s,40 个循环。实验结果以内参基因 β-actin 为参考,用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 公式对 Gal-3 基因表达进行相对定量分析。

1.6　Western blot 检测 Gal-3、Mek、磷酸化 Mek 的表达

在低糖和高糖培养的 MCs 中分别转染 Gal-3 过表达质粒及 siRNA,48 h 后 PBS 洗 3 次,收集细胞,根据细胞量加入 RIPA 裂解液,测定细胞蛋白浓度。SDS-PAGE 凝胶电泳,切胶,转膜,封闭,加入一抗抗体(Gal-3,1∶1 000;β-actin,1∶1 000;Mek,1∶3 000;p-Mek1∶3 000;GAPDH,1∶3 000),4℃摇床过夜,加入二抗(山羊抗鼠,1∶5 000)常温摇床 2 h 后显影。

1.7　5-乙基-2′-脱氧尿嘧啶核苷(5-Ethynyl-2′-deoxyuridine,EdU)检测 MCs 的增殖能力

将不同组的 MCs 接种于 24 孔板内。待每孔内细胞生长至 70%进行转染,转染 24 h 后,根据 EdU 实验试剂盒说明书进行操作。EdU 实验主要包括:EdU 标记、细胞固定、Apollo 染色、DAPI 染色等,最后用共聚焦显微镜获取图像,使用 Image pro 软件进行活细胞计数分析。

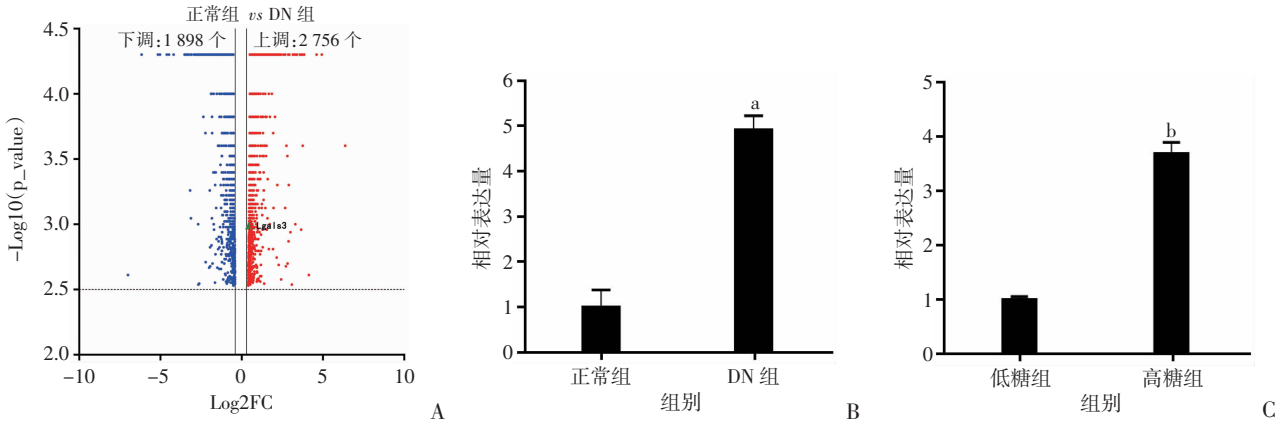
1.8　统计学分析

采用 SPSS 21.0 统计软件,实验数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示。两组数据比较采用非配对 t 检验,多组间数据比较采用单因素方差分析,$P<0.05$ 被认为差异具有统计学意义。

2　结果

2.1　Gal-3 在 DN 小鼠和 MCs 中高表达

运用二代测序检测 DN 组及正常组小鼠肾脏组织基因表达情况,结果显示:4 654 个基因呈差异表达(校正 P 值 $q<0.01$),其中 2 756 个基因呈上调,1 898 个基因呈下调(图 1A)。采用 qRT-PCR 检测正常组和 DN 组小鼠肾组织,以及高低糖培养的 MCs 中 Gal-3 的表达,结果显示:Gal-3 表达在 DN 组显著高于正常组($P<0.01$,图 1B);高糖培养条件下的 MCs 中 Gal-3 表达显著高于低糖培养条件下的 MCs($P<0.01$,图 1C)。提示 Gal-3 可能参与高糖下 MCs 的病理生理改变。



A:二代测序检测 DN 及正常小鼠肾脏组织基因表达情况;B:qRT-PCR 检测 DN 组及正常小组鼠肾脏组织中 Gal-3 水平 a:$P<0.01$,与正常组比较;C:qRT-PCR 检测低糖和高糖培养的小鼠 MCs 中 Gal-3 水平 b:$P<0.01$,与低糖组比较

图 1　Gal-3 在 DN 小鼠肾脏组织和 MCs 中的表达

2.2 过表达质粒和 siRNA 的转染效率

运用 qRT-PCR 检测转染了过表达质粒的低糖组 MCs 中 Gal-3 的表达,结果显示:表达质粒组可显著高表达 Gal-3(图 2A,$P<0.01$)。同时,转染 Gal-3 的 siRNA-1、siRNA-2 和 siRNA-3 入高糖培养的 MCs 中,qRT-PCR 检测结果显示:siRNA-3 可显著沉默 Gal-3 的表达(图 2B,$P<0.01$)。采用 Western blot 检测转染过表达质粒和 siRNA-3 后 MCs 的 Gal-3 的表达,结果显示:转染过表达质粒显著增加 Gal-3 蛋白水平,转染 Gal-3 siRNA-3 可明显沉默 Gal-3 蛋白水平(图 2C、D)。提示 Gal-3 过表达质粒和 siRNA-3(后称其为 Gal-3 siRNA)是可用于后续高低表达 Gal-3 的良好工具。

2.3 Gal-3 促进 MCs 增殖

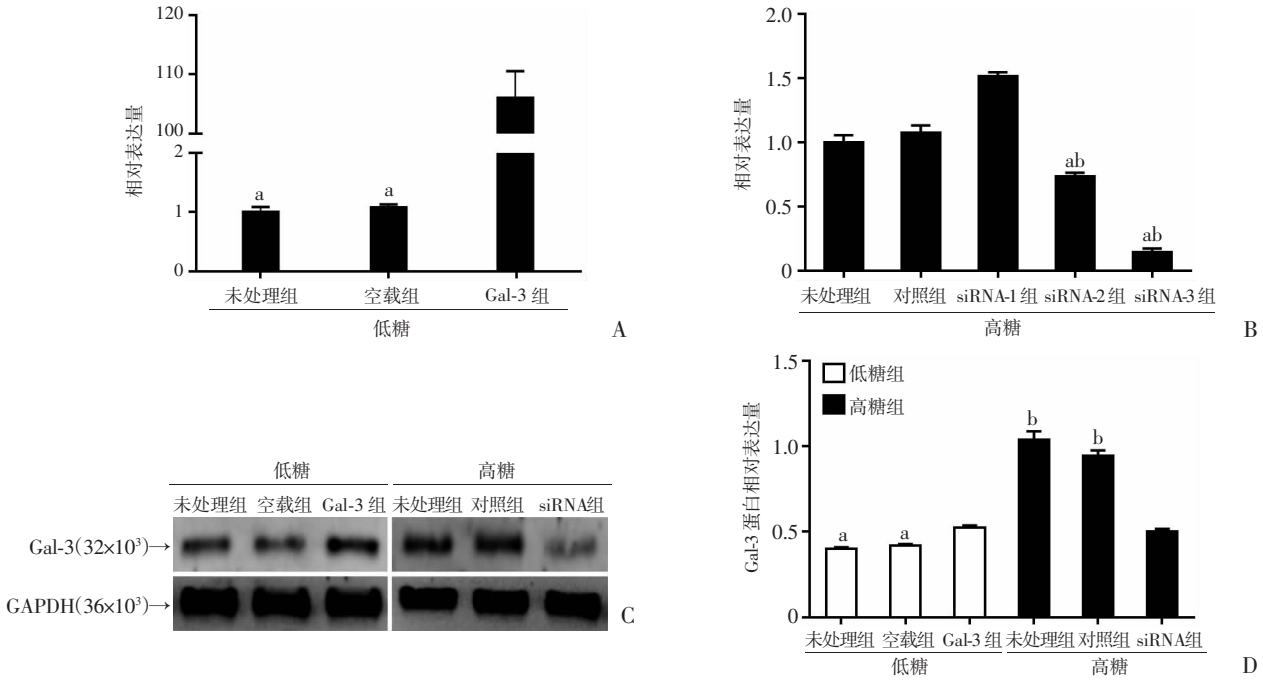
EdU 检测结果显示:低糖培养的 MCs 的增殖能力低于高糖培养的 MCs,但转染过表达质粒后,其细胞增殖能力较空载组及未处理组显著提高;同时,在转染 Gal-3 siRNA 的高糖 MCs 中,其增殖能力较对照组及未处理组均显著明显下降($P<0.01$, 图 3)。表明过表达 Gal-3 可促进 MCs 增殖,而沉默 Gal-3 后可抑制 MCs 增殖,表明 Gal-3 可能对 MCs 的增殖存在调控作用。

2.4 Gal-3 调控 DN 的 Mek 信号途径

运用 Western blot 检测转染 Gal-3 过表达质粒入低糖培养的 MCs 和转染 Gal-3 siRNA 入高糖培养的 MCs 后 Mek 和磷酸化 Mek 的表达。结果显示:低糖培养的 MCs 的 Mek 磷酸化水平低于高糖培养的 MCs,但在低糖组 MCs 中转染过表达质粒后,磷酸化 Mek 较空载组及未处理组显著上调($P<0.01$);同时,在高糖 MCs 中转染 siRNA 后,磷酸化 Mek 较对照组及未处理组显著明显下降($P<0.001$)(图 4)。提示 Gal-3 可能通过调控 Mek 磷酸化进而影响 MCs 的增殖。

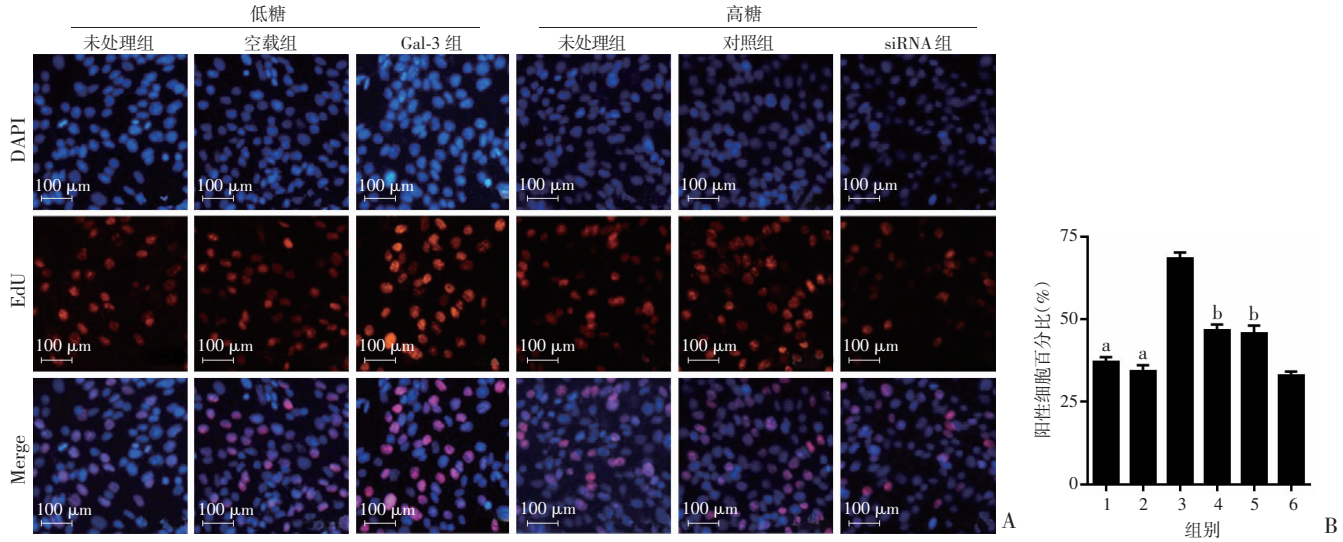
3 讨论

DN 是继发于糖尿病的进展性肾脏疾病,在我国已成为慢性肾脏疾病的主要疾病类型,并诱发患者终末期肾功能衰竭,严重影响人类健康[13]。近年来,Gal-3 在 DN 发展中的作用引起了广泛关注。新近研究表明,Gal-3 在成人正常肾脏中一般呈现低表达水平,但在 DN 患者中的平均表达水平要显著高于其他非 DN 的糖尿病患者[11];TAN 等[14]报道通过对 DN 患者与其他肾病患者进行肾活检,发现 DN 患者肾脏内 Gal-3 的表达显著高于其他肾脏疾病患者。随着新测序技术的改进,二代测序已越来越多地应用于癌症和代谢性疾病的基因组和转录组学研究领域[15]。在 DN 研究领域,已经广泛运用二代测序研究分析其基因组



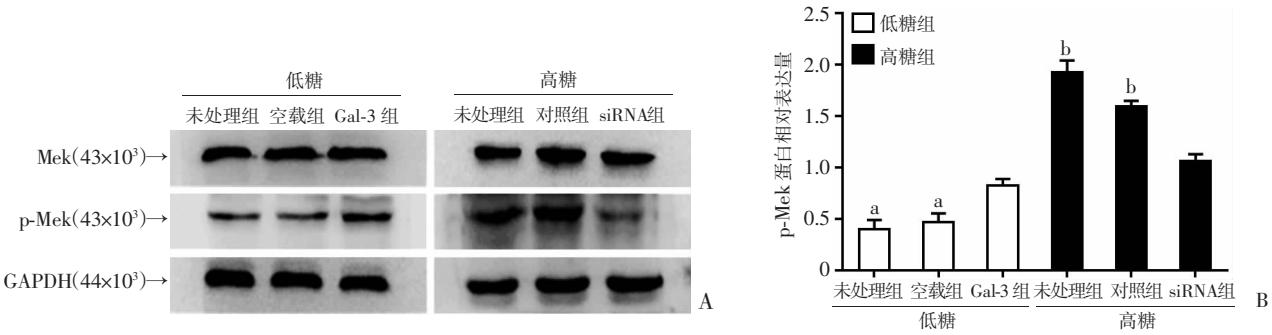
A:qRT-PCR 检测低糖培养的 MCs 中 Gal-3 过表达效率 a: $P<0.01$, 与 Gal-3 组比较;B:qRT-PCR 检测高糖培养的 MCs 中 Gal-3-siRNA 敲低效率 a:$P<0.01$, 与未处理组比较;b:$P<0.01$, 与对照组比较;C:Western blot 检测转染过表达质粒和 siRNAs 后 Gal-3 蛋白的表达;D:半定量分析结果 a:$P<0.001$, 与 Gal-3 组比较; b:$P<0.001$, 与 siRNA 组比较

图 2 qRT- PCR 和 Western blot 检测转染过表达质粒和 siRNAs 后 MCs 中 Gal-3 的表达



A:EdU 检测转染 Gal-3 过表达质粒和 siRNA 后 MCs 增殖; B:定量分析转染 Gal-3 过表达质粒和 siRNA 后 MCs 增殖 1:低糖未处理组;2:低糖空载组;3:低糖 Gal-3 组;4:高糖未处理组;5:高糖对照组;6:高糖 siRNA 组;a: $P<0.01$, 与低糖 Gal-3 组比较;b: $P<0.01$, 与 siRNA 组比较

图 3 EdU 检测在低高糖条件下的 MCs 中转染 Gal-3 过表达质粒和 siRNAs 后 MCs 的增殖能力



A:Western blot 检测转染 Gal-3 过表达质粒和 siRNA 后 Mek 和 p-Mek 的表达; B:半定量分析转染 Gal-3 过表达质粒和 siRNA 后 p-Mek 的表达 a: $P<0.01$, 与 Gal-3 组比较;b: $P<0.001$, 与 siRNA 组比较

图 4 Western blot 检测转染 Gal-3 过表达质粒和 siRNA 后 Mek 和 p-Mek 的表达

和转录组表达以识别与 DN 相关的罕见或常见遗传变异[16]。有意思的是,本研究应用二代测序检测 DN 相关基因表达情况,结果发现 4 654 个基因呈差异表达($q<0.01$),其中 2 756 个基因呈上调,1 898 个基因呈下调。在上调基因中,发现了 Gal-3 的身影,引起了我们的关注。进一步运用 qRT-PCR 在体内外验证 Gal-3 的表达,结果显示 Gal-3 不仅在 DN 小鼠的肾脏组织中高表达,在高糖培养的 MCs 中也呈现表达增高。以上结果提示 Gal-3 确实在 DN 中具有重要意义。众所周知,系膜增生是 DN 进展的重要病理变化之一,Gal-3 是否参与 DN 中 MCs 增殖? 其具体制如何? 需进一步探索。

为了研究 Gal-3 对 MCs 增殖的影响,本研究采用过表达质粒高表达 Gal-3 和 siRNA 沉默 Gal-3, 应用 qRT-PCR 和 Western blot 检验其表达效率以保证后续实验。结果显示 Gal-3 过表达及沉默效率良好,为后续研究 Gal-3 在 MCs 内的功能奠定了良好基础。进一步应用 EdU 细胞增殖实验检测高低表达 Gal-3 后 MCs 增殖能力的变化。结果表明:在高糖培养的 MCs 中,其增殖能力显著高于低糖组细胞,然而在高糖组沉默 Gal-3 后,其增殖能力较未处理组和空载组显著降低;反之,在低糖组过表达 Gal-3 后,其增殖能力较未处理组和对照组显著提高。结合相关研究报道:Gal-3 基因敲除后可明显抑制肾癌细胞的增殖[17],Gal-3 可促进急性肾脏疾病中的细胞增殖[18],并可导致 DN 患者体内肾纤维化等[19]。由此提示:Gal-3 参与调节 DNMCs

增殖,可能在 DN 发展中起重要作用。

为了深入研究 Gal-3 调控 MCs 增殖的机制,本研究运用 Western blot 检测了高低表达 Gal-3 后 MCs 中的 Mek 和 p-Mek 的表达。结果显示:在 MCs 中高表达 Gal-3 后 p-Mek 的表达增高,而沉默 Gal-3 后,p-Mek 的表达降低,提示 Gal-3 可能通过 Mek 信号传导调控 MCs 增殖。以往的研究报道:Gal-3 的下调导致 Mek/Erk 信号通路活性显著降低,并抑制肝癌细胞的增殖、迁移和侵袭[20]。Mek 信号通路是 DN 的经典信号通路,已有研究报道关键基因可通过调控 Mek 信号通路影响 DN 中肾纤维化[21]、MCs 的增殖[22]、肾小球血管内皮细胞的内皮-间质转化[23]。以上结果提示:Gal-3 可能通过提高 Mek 磷酸化水平,激活 Mek,从而调控高糖下 MCs 的增殖,进而影响 DN 的发生、发展。

综上所述,本研究发现 Gal-3 在 DN 小鼠肾脏组织及高糖培养的 MCs 中表达显著上调;高低表达 Gal-3 后可调控 MCs 的增殖能力;且其机制可能与 Gal-3 调控 Mek 的磷酸化有关。因此,Gal-3 可能通过激活 Mek 途径,刺激 MCs 增殖,影响 DN 的发生、发展,为 DN 病因的阐述和临床疾病诊治的分子试剂开发提供了新的实验室依据,为进一步理解 DN 发病机制和找到潜在分子治疗靶点奠定了理论基础。本研究仅探索了 Gal-3 通过 Mek 参与 MCs 的增殖,但 Gal-3 调控 Mek 活性后如何参与 DN 病情发展,其下游分子机制如何仍有待深入研究,并且 Gal-3 是否参与 DN 的炎症、纤维化等病理过程也有待于进一步研究。

参考文献:

[1] LI A L, PENG R, SUN Y, *et al*. LincRNA 1700020I14Rik alleviates cell proliferation and fibrosis in diabetic nephropathy via miR-34a-5p/Sirt1/HIF-1α signaling[J]. Cell Death Dis, 2018, 9(5): 461. DOI:10.1038/s41419-018-0527-8.

[2] GIORDA C B, CARNÀ P, SALOMONE M, *et al*. Ten-year comparative analysis of incidence, prognosis, and associated factors for dialysis and renal transplantation in type 1 and type 2 diabetes versus non-diabetes[J]. Acta Diabetol, 2018, 55(7): 733-740. DOI:10.1007/s00592-018-1142-y.

[3] NAJAFIAN B, ALPERS C E, FOGO A B. Pathology of human diabetic nephropathy[J]. Contrib Nephrol, 2011, 170: 36-47. DOI:10.1159/000324942.

[4] BU X, ZHOU Y, ZHANG H, *et al*. Systemic administration of naked plasmid encoding HGF attenuates puromycin aminonucleoside-induced damage of murine glomerular podocytes[J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2011, 301(4): F784-F792. DOI:10.1152/ajprenal.00210.2011.

[5] CHAUDOIN T R, BONASERA S J. Mice lacking galectin-3 (Lgals3) function have decreased home cage movement[J]. BMC Neurosci, 2018, 19(1): 27. DOI:10.1186/s12868-018-0428-x.

[6] MENDONÇA BELMONT T F,DO Ó K P,SOARES DA SILVA A, *et al*. Single nucleotide polymorphisms at +191 and +292 of galectin-3 gene (LGALS3) related to lower GAL-3 serum levels are associated with frequent respiratory tract infection and vaso-occlusive crisis in children with sickle cell Anemia[J]. PLoS ONE, 2016, 11(9): e0162297. DOI:10.1371/journal.pone.0162297.

[7] KNIGHTS A J, YIK J J, MAT JUSOH H, *et al*. Krüppel-like factor 3 (KLF3/BKLF) is required for widespread repression of the inflammatory modulator galectin-3 (Lgals3)[J]. J Biol Chem, 2016, 291(31): 16048-16058. DOI:10.1074/jbc.M116.715748.

[8] HU C Y, CHANG S K, WU C S, *et al*. Galectin-3 gene (LGALS3) +292C allele is a genetic predisposition factor for rheumatoid arthritis in Taiwan[J]. Clin Rheumatol, 2011, 30(9): 1227-1233. DOI:10.1007/s10067-011-1741-2.

[9] HARA A, NIWA M, NOGUCHI K, *et al*. Galectin-3 as a next-generation biomarker for detecting early stage of various diseases[J]. Biomolecules, 2020, 10(3): E389. DOI:10.3390/biom10030389.

[10] KIKUCHI Y, KOBAYASHI S, HEMMI N, *et al*. Galectin-3-positive cell infiltration in human diabetic nephropathy[J]. Nephrol Dial Transplant, 2004, 19(3): 602-607. DOI: 10.1093/ndt/gfg603.

[11] HODEIB H, HAGRAS M M, ABDELHAI D, *et al*. Galectin-3 as a prognostic biomarker for diabetic nephropathy[J]. Diabetes Metab Syndr Obes, 2019, 12: 325-331. DOI:10.2147/DMSO.S194410.

[12] DRECHSLER C, DELGADO G, WANNER C, *et al*. Galectin-3, renal function, and clinical outcomes: results from the LURIC and 4D studies[J]. J Am Soc Nephrol, 2015, 26(9): 2213-2221. DOI:10.1681/ASN.2014010093.

[13] WEI T T, SHU Q, NING J, *et al*. The protective effect of basic fibroblast growth factor on diabetic nephropathy through remodeling metabolic phenotype and suppressing oxidative stress in mice[J]. Front Pharmacol, 2020, 11: 66. DOI:10.3389/fphar.2020.00066.

[14] TAN K C B, CHEUNG C L, LEE A C H, *et al*. Galectin-3 is independently associated with progression of nephropathy in type 2 diabetes mellitus[J]. Diabetologia, 2018, 61(5): 1212-1219. DOI:10.1007/s00125-018-4552-z.

[15] SABOUR L, SABOUR M, GHORBIAN S. Clinical applications of next-generation sequencing in cancer diagnosis[J]. Pathol Oncol Res, 2017, 23(2): 225-234. DOI:10.1007/

s12253-016-0124-z.

[16] TSAI Y C, KUO M C, HUNG W W, *et al*. High glucose induces mesangial cell apoptosis through miR-15b-5p and promotes diabetic nephropathy by extracellular vesicle delivery [J]. Mol Ther, 2020, 28(3): 963-974. DOI:10.1016/j.ymthe.2020.01.014.

[17] XU Y Y, LI C F, SUN J H, *et al*. Antitumor effects of galectin-3 inhibition in human renal carcinoma cells[J]. Exp Biol Med (Maywood), 2016, 241(13): 1365-1373. DOI: 10.1177/1535370216630839.

[18] GHORBANI A, BHAMBHANI V, CHRISTENSON R H, *et al*. Longitudinal change in galectin-3 and incident cardiovascular outcomes[J]. J Am Coll Cardiol, 2018, 72(25): 3246-3254. DOI:10.1016/j.jacc.2018.09.076.

[19] RAVANI P, BARRETT B J. Galectin-3 and new-onset CKD: marker or mediator? [J]. J Am Soc Nephrol, 2013, 24(9): 1342-1344. DOI:10.1681/ASN.2013050552.

[20] ZHENG D T, HU Z Z, HE F, *et al*. Downregulation of galectin-3 causes a decrease in uPAR levels and inhibits the proliferation, migration and invasion of hepatocellular carcinoma cells[J]. Oncol Rep, 2014, 32(1): 411-418. DOI: 10.3892/or.2014.3170.

[21] HUANG H, NI H, MA K, *et al*. ANGPTL2 regulates autophagy through the MEK/ERK/Nrf-1 pathway and affects the progression of renal fibrosis in diabetic nephropathy[J]. Am J Transl Res, 2019,11(9):5472-5486.

[22] CHEN W Y, PENG R, SUN Y, *et al*. The topological key lncRNA H2k2 from the CeRNA network promotes mesangial cell proliferation in diabetic nephropathy *via* the miR-449a/b/Trim11/Mek signaling pathway[J]. FASEB J, 2019, 33(10): 11492-11506. DOI:10.1096/fj.201900522r.

[23] SHANG J, ZHANG Y, JIANG Y M, *et al*. NOD2 promotes endothelial-to-mesenchymal transition of glomerular endothelial cells *via* MEK/ERK signaling pathway in diabetic nephropathy[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2017, 484(2): 435-441. DOI:10.1016/j.bbrc.2017.01.155.

(**收稿**:2020-04-08;**修回**:2020-05-13)

(编辑 吴培红)