

糖尿病肾病的蛋白组学研究进展

李露露, 范秋灵, 汪旭, 徐莉, 杨莹

中国医科大学附属第一医院肾脏内科, 辽宁 沈阳 110001

摘要: 糖尿病肾病是糖尿病主要的晚期并发症,是终末期肾病的主要原因。目前的治疗策略在一定程度上可减缓但不能阻止其进展,因此迫切需要进一步寻求新的糖尿病肾病的早期诊断标准。本文就蛋白组学在糖尿病肾病发病机制及诊断中的作用和研究进展进行综述。

关键词: 糖尿病肾病; 蛋白组学; 生物标志物; 慢性肾脏疾病 273 评分; 早期诊断

中图分类号: R 587.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-8182(2018)10-1423-04

糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)作为糖尿病主要的晚期并发症,发生于大约 30%~40% 的糖尿病患者^[1],伴随着严重的心血管并发症和死亡率。从 2011 年起我国住院患者中糖尿病相关慢性肾脏病患者比例开始超过肾小球肾炎相关慢性肾脏病,且两者之间的差距不断增大^[2]。DN 的确切发病机制尚未完全阐明,临床应用的药物不能有效地逆转 DN 的进展。目前 DN 诊断和风险评估的主要指标是微量白蛋白尿和肾小球滤过率估计值(estimated glomerular filtration rate, eGFR)。然而当尿微量白蛋白达到诊断阈值时,肾小球系膜和肾小球基底膜(glomerular basement membrane, GBM)可能已经发生显著的结构改变,提示其并不是一个早期、敏感且必要的诊断标志物^[3]。糖尿病患者的 eGFR 在早期高滤过阶段计算不准确,进展期又常低估肾小球滤过率的下降^[4]。因此阐明 DN 的发病机制,寻找新的关键治疗靶点,早期识别 DN 的高危患者,进行针对性的预防和治疗,成为亟待解决的公共卫生问题。近十几年来,随着技术的进步,无需预设假说的高通量的蛋白组学研究为阐明 DN 的发病机制、发现新的生物标志物提供了重要的线索和依据。

1 蛋白组学及研究方法

蛋白是生命功能的执行者,具有时空性和可调节性的动态变化。基因组告诉我们理论上能够发生什么, mRNA 告诉我们可能发生什么,表观遗传学告诉我们环境影响了发生,而蛋白质组能够告诉我们正在发生什么。蛋白组学是以蛋白质组为研究对象,整合蛋白质提取、分离、质谱分析和生物信息学等技术,对组织和细胞中的蛋白质表达谱及表达水平、蛋白修饰与功能及蛋白之间的相互作用等进行高通量的筛选和分析的一门新兴学科^[5-7]。一般来说,完整的蛋白组学研究的技术平台主要包括前期的样本提取纯化,中期的蛋白分离和分析鉴定,以及后期的数据分析。

近十几年来,研究者们分别对 DN 患者激光捕获显微切割

(LCM)的肾活检组织、尿液(包括尿可溶性蛋白和尿外泌体)、血浆、粪便进行蛋白组学分析,寻找关键的发病机制和新的生物标志物。并且利用 DN 的动物模型、体外高糖培养的足细胞、系膜细胞和肾小管上皮细胞等,进行发病机制和药物治疗靶点的蛋白组学研究。目前 DN 蛋白组学研究应用的蛋白质分离技术主要包括双向电泳(2-DE)、双向荧光差异凝胶电泳(2D-DIGE)、液相色谱(LC)或毛细管电泳(CE), LC 和 CE 有互补性,可同时应用于尿液蛋白组学研究^[8-9]。蛋白分离后再以不同的质谱分析方法进行蛋白分析及鉴定,目前主要应用的鉴定技术有基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱(MALDI-TOF-MS)、电喷雾串联质谱(ESI-MS/MS)、表面增强激光解吸电离飞行时间质谱(SELDI-TOF-MS)、液相色谱-质谱联用仪、亲和层析耦联质谱技术(MDLC-ESI-MS/MS)、串联亲和纯化(TAP Tag)耦联质谱技术和蛋白质芯片等技术^[10-11],同时又进行了糖化和磷酸化的亚蛋白质组分析。

2 临床蛋白组学研究

2.1 肾组织蛋白组学研究 由于肾活检不是 DN 患者的常规检查,而且经活检分离的肾小球数量少,因此肾组织蛋白组学研究少有报道。最近方法学的改进已经允许应用福尔马林固定石蜡包埋(FFPE)的肾组织标本进行蛋白质组学分析^[12]。同时冰冻切片酒精固定后通过 LCM 分离 75 个横断面的肾小球,能够获得 7 000 个细胞,应用液相色谱串联质谱,平均每个肾活检标本可发现 350(250~450)个蛋白质。结果表明 DN 患者肾小球中足细胞蛋白特别是裂孔隔膜蛋白显著减少,肾小球中存在补体成分,包括外源凝集素途径、膜攻击复合体(C5b-9)、抗氧化蛋白显著减少,肾小球细胞的代谢途径被明显抑制^[13]。Qi 等^[14]对有极长的糖尿病病史(最长持续时间 ≥ 50 年)却不出现 DN 的患者和具有组织学特征的 DN 患者的肾小球进行蛋白组学分析以发现 DN 的保护因子。结果发现不发生 DN 的糖尿病患者肾小球中丙酮酸激酶 M2(PKM2)

DOI: 10.13429/j.cnki.cjcr.2018.10.032

基金项目: 国家自然科学基金项目(81270808); 国家自然科学基金项目(81770724); 辽宁省自然科学基金指导计划(201602821); 沈阳市科学技术计划(F16-205-1-40)

通讯作者: 范秋灵, E-mail: cmufql@163.com

的表达和活性上调。PKM2 激活可以通过增加葡萄糖代谢流出,抑制毒性葡萄糖代谢产物的产生,诱导线粒体生物合成以恢复线粒体功能从而保护肾脏。

2.2 血浆蛋白组学研究 应用 2-DE、ESI-Q-TOF/MS/MS 等发现 DN 患者血浆前激肽释放酶、补体因子 C4B3、糖化的丝氨酸蛋白酶抑制剂等升高,可能是 DN 潜在的生物标志物^[15]。然而由于血液与所有器官和组织的紧密接触,以及血液蛋白质组的复杂性(含有超过 10 000 个核心蛋白质^[16],含量差异巨大的多种溶质和许多高丰度蛋白质),肾脏疾病理想的蛋白质组生物标志物来自尿液而不是血液。

2.3 尿液蛋白组学研究 尿液中包含将近 2 000 余个蛋白质^[17-18],其样本复杂性远低于血浆。尿液蛋白质约 70% 来自肾组织(剩余 30% 来源于血浆)^[19],因此尿液蛋白组学是肾脏疾病理想的无创性生物标志物,又称为液体活检。除可溶性尿蛋白组外,尿液中含有 40 ~ 100 nm 的小囊泡即外泌体,正常从所有肾单位节段的细胞分泌,可能含有反映肾脏功能异常和结构损伤的蛋白、mRNA 和 microRNA 标志物^[20]。外泌体膜可以保护翻译后修饰(PTM),可保护蛋白质成分免受自发降解以及蛋白酶或磷酸酶导致的去磷酸化的影响。目前的研究表明,无并发症的糖尿病患者尿蛋白组/肽组学提示肾脏纤维化的早期激活和肾小管损伤的重要性,新发 DN 患者尿蛋白/肽组学主要以炎症介导的肾小球选择通透性和肾小管重吸收功能的损害为特征,这些过程在明显的临床 DN 阶段仍持续起主要作用,提示损伤修复、进行性纤维化和慢性炎症的重要性^[21]。

2.4 有望应用到临床的 DN 尿蛋白组学标志物-慢性肾脏疾病(CKD) 273 发现新的临床生物标志物的标准流程为:(1)初步发现和验证;(2)对结果进行评估;(3)在新的队列和新收集的样本中进行评估;(4)在临床试验中评估;(5)在临床实践中实施;(6)证明验证的生物标志物的成本效益^[22]。对 Phima 印第安 2 型糖尿病(T2DM)患者进行的 10 年前后的对照研究证实,可以利用尿蛋白质谱预测 T2DM 患者是否发展为 DN^[23]。然而目前还没有出现一个超越尿白蛋白排泄率的尿蛋白组学生物标志物。

一项横断面研究中比较不同原发疾病的 CKD 患者与健康对照组患者,发现 273 个肽(后来被称为 CKD273 评分)与 CKD 相关^[24],几个随后的队列研究证实其与糖尿病患者相关。CKD273 评分是一个基于毛细管电泳-质谱(CE-MS)的尿肽分类器,主要包括 94 个胶原 alpha-1(I)、37 个胶原 alpha-1(III)、18 个 α 1-抗胰蛋白酶、10 个尿调节素、9 个胶原 alpha-2(I)、7 个血清白蛋白、4 个纤维蛋白原 alpha、3 个多聚免疫球蛋白受体 3 alpha-2-HS-糖蛋白以及 2 个骨桥蛋白、钠/钾转运 ATP 酶 γ 和转甲状腺素蛋白片断等^[25]。在一项 35 例 1 型或 2 型糖尿病患者的前瞻性研究中,CKD273 评分能够平均提前 5 年预测出后续进展为大量白蛋白尿的风险,精确度优于基线白蛋白尿^[26]。此外在 88 例 T2DM 患者的病例-对照研究(PREVENT trial)中,CKD273 评分能够独立于任何其他肾脏危险因素预测出微量或大量白蛋白尿的发生^[27]。一项大规模纵向的多中心研究证实 CKD273 评分在白蛋白尿和

基线 eGFR 的基础上改善了预测 eGFR 加速下降的能力。此外坎地沙坦对 T1DM(DIRECT-Protect 1)和 T2DM(DIRECT-Protect 2)视网膜病变影响的研究中均表明,CKD273 评分独立于治疗和其他身体或生化指标,改善了预测微量白蛋白尿发生风险的能力^[28]。上述研究在外部队列中验证了 CKD273 评分,但尚需确定这个新的蛋白组学标记物能否指导治疗。正在进行的蛋白质组学预测和肾素血管紧张素醛固酮系统抑制阻止正常白蛋白尿 T2DM 患者发生。DN 试验(PRIORITY; ClinicalTrials.gov NCT02040441)观察在通过 CKD273 评分识别的高危人群中开始治疗能否阻止 T2DM 微量白蛋白尿的发生^[25,29]。PRIORITY 试验的主要目的是确认尿蛋白质组学标志物能否预测微量白蛋白尿的发展,同时评估通过 CKD273 评分确定的高危患者能否从螺内酯治疗中获益。PRIORITY 试验证明不同中心 CKD273 评分具有高度一致性,且独立于年龄和性别,此外使用不同的尿液储存容器不影响评分。CKD273 评分最高三分位数的患者比最低三分位数的患者更有可能在使用螺内酯治疗后尿白蛋白降低,分别减少了 -64% 和 -13%^[30]。CKD273 评分有望成为临床广泛应用的 DN 尿蛋白组学标志物。

3 课题组的蛋白组学和生物标志物研究

我们课题组应用肾脏灌注磁珠分离 20 周自发 T2DM KKAy 小鼠和年龄匹配的 C57BL/6 小鼠的肾小球,2D-DIGE 及 MALDI-TOF MS 分析 T2DM KKAy 小鼠肾小球蛋白的表达变化,观察血管紧张素受体拮抗剂氯沙坦对 DN 肾小球蛋白质表达谱的影响。

结果发现,KKAy 小鼠与其年龄匹配的 C57BL/6 小鼠相比,19 种蛋白质存在差异性表达,KKAy 小鼠肾小球中 17 种蛋白质显著上调,2 种蛋白质显著下调。其中 Prohibitin(抑制素)和膜联蛋白 A2 上调^[31]。史雨等^[32]发现肾病综合征儿童血清 Prohibitin 水平明显升高,与肾小球和肾间质损伤成正比。已有研究发现在氧化应激和线粒体功能障碍相关疾病中,如胰岛素抵抗/T2DM,肥胖症和癌症等,Prohibitin 可能是治疗靶点^[33]。Prohibitin 和膜联蛋白 A2 均为细胞表面受体,Prohibitin 可以与膜联蛋白 A2 相互作用,且该相互作用似乎以 Ca^{2+} 依赖性方式调节, Ca^{2+} 增加阻碍其结合。Baran 等^[34]报道膜联蛋白 A2 可以作为 $1\alpha,25$ -二羟维生素 D_3 的快速作用的受体。Mooso 等^[35]证明,在前列腺癌中 Prohibitin 调节维生素 D 受体对骨化三醇 [$1,25(OH)_2D_3$] 的反应。进一步研究 Prohibitin 和膜联蛋白 A2 的上调是否与早期 DN 期间维生素 D 不足有关,可能有助于了解 DN 的病理生理机制。蛋白质组学分析是检测肾脏疾病中新蛋白质最有力和最有用的工具之一,但仍需要对结果行进一步分析。

KKAy 氯沙坦治疗组和非治疗组小鼠肾小球中存在差异表达的蛋白质 41 种,其中 28 种蛋白质的表达上调,包括钙结合蛋白、抑制素、亚硫酸盐氧化酶、ATP 合酶亚单位 β 等,13 种蛋白的表达下调,包括硒结合蛋白 1、6000 热休克蛋白、14-3-3 蛋白 ϵ 等。这些蛋白广泛参与 DN 肾小球内蛋白的糖基化、乙酰化、磷酸化修饰调节,与细胞的增殖、黏附、定位和形态密切

相关,涉及到细胞信号转导、能量代谢和氧化应激。20 周龄糖尿病 KKAy 小鼠肾小球中线粒体氧化呼吸链成员 ATP 合酶亚单位 d、GRP75、硒结合蛋白 1 (selenium-binding protein 1, SBP1) 表达上调,氯沙坦治疗可抑制其表达,可能通过减少线粒体活性氧簇产生,抑制氧化应激反应,发挥保护的肾脏功能^[36-37]。

体外高糖(30 mmol/L)培养人肾小球系膜细胞(HMCs),二维差异凝胶电泳(DIGE)分离和分析两组的总蛋白。挑取差异表达的斑点并用胰蛋白酶消化,并采用 MALDI-TOF MS 进行蛋白质鉴定。与正常糖组相比,高糖组 907 个蛋白下调,147 个蛋白斑点表达增加超过 1.5 倍。对其中 96 个差异蛋白质斑点进行 MALDI-TOF MS 分析,发现磷脂酰乙醇胺结合蛋白 1(PEBP-1)、颗粒溶素和 ATP 合成酶、H⁺ 转运蛋白、线粒体 FO 复合物和亚基 F2 蛋白仅在高糖组中表达,表明其可能与糖尿病肾小球系膜损伤有关^[38],PEBPs 调节丝裂原活化蛋白激酶途径,被称为 raf 激酶抑制蛋白。颗粒溶素是由人细胞毒性 T 淋巴细胞(CTL)和自然杀伤(NK)细胞表达的细胞溶解分子,具有抵抗各种肿瘤和微生物(包括结核分枝杆菌)活性的作用。颗粒溶素表达是人肾移植中急性排斥反应和类固醇抗性的标志物^[39],并且早期和延迟急性肾移植排斥反应中尿沉渣中的颗粒溶素 mRNA 表达增加^[40],而在 DN 中的作用需要进一步研究探讨。高糖环境下,24 种蛋白表达上调,包括嗜酸性粒细胞阳离子蛋白、G 蛋白信号调节子(RGS)膜相互作用蛋白 16(MIR16)等。O-GlcNAc 转移酶相互作用蛋白 106 kDa 同种型 1,蛋白酶体 β6 亚基前体和 NEFA 相互作用核蛋白 NIP30 等 5 个蛋白质表达下调^[38]。其中,Bcl-3 与包含 10 种蛋白的 COMM 结构域表达增加,Bcl-3 是 NF-κB 抑制剂(IκB)家族的成员,在调节 NF-κB 途径中起重要作用。COMM 结构域在细胞核中影响 NF-κB 与染色质的结合。深入研究 Bcl-3 与 COMM 结构域的功能和相互作用,可为进一步阐述 NF-κB 通路在 DN 发病机制中的作用提供新思路。此外,高糖培养的 HMCs 中一些上调的蛋白质,如过氧化还原酶-6、儿茶酚胺位甲基转移酶(COMT)、G 蛋白偶联受体 78 和亲环蛋白 A 等可能参与氧化应激。过氧化还原酶-6 是过氧化物酶类的成员,过氧化还原酶-6 的上调表明硫醇抗氧化途径的活性增加。G 蛋白是重要的信号成分,在调节氧化剂生产中起重要作用^[41]。细胞内亲环蛋白 A 和 cyclophilin A/CD147 受体介导的 ERK1/2 信号可以保护神经元免受氧化应激^[42],COMT 酶催化各种内源和异生物质的甲基化,防止氧化还原,是治疗 DN 的新治疗靶点^[43]。高糖培养下,HMCs 中转运驱动蛋白结合蛋白 1(O-GlcNAc 转移酶相互作用蛋白 106kDa 同种型 1)和蛋白酶体 β6 亚基前体的表达下调,这两种蛋白质都与 STAT3 信号转导通路有关^[44]。目前研究发现,JAK2/STAT3 信号转导通路在 DN 发病机制中起重要作用。总而言之,高糖影响 HMCs 中 32 种蛋白质的表达,它们广泛参与调节细胞骨架、葡萄糖代谢、细胞分裂、基因转录、信号转导、蛋白磷酸化、细胞增殖、细胞凋亡等过程。深入研究这些蛋白质的功能和相互作用关系,可以提高对 DN 发病机制的认识,有望发现新的治疗靶点。

4 结语与展望

目前常用的蛋白组学数据库包括 Sys-BodyFluid、MAPU、HKUPP、Urinary Exosome Protein Database、Urinary Protein Biomarker Database 和 Mosaique 数据库^[45]。结合基因组、转录组、表观遗传学组、蛋白组、多肽组和代谢组的系统生物学研究有望为 DN 患者的早期诊断、早期干预和精准治疗带来新依据和新策略。

参考文献

- [1] Bakris GL, Williams M, Dworkin L, et al. Preserving renal function in adults with hypertension and diabetes: a consensus approach. National Kidney Foundation Hypertension and Diabetes Executive Committees Working Group[J]. Am J Kidney Dis, 2000, 36(3): 646-661.
- [2] Zhang L, Long J, Jiang W, et al. Trends in chronic kidney disease in China[J]. N Engl J Med, 2016, 375(9): 905-906.
- [3] Fioretto P, Steffes MW, Mauer M. Glomerular structure in nonproteinuric IDDM patients with various levels of albuminuria[J]. Diabetes, 1994, 43(11): 1358-1364.
- [4] Currie G, Delles C. Urinary proteomics for diagnosis and monitoring of diabetic nephropathy[J]. Curr Diab Rep, 2016, 16(11): 104.
- [5] Wilkins MR, Pasquali C, Appel RD, et al. From proteins to proteomes; large scale protein identification by two-dimensional electrophoresis and amino acid analysis[J]. Biotechnology (NY), 1996, 14(1): 61-65.
- [6] Van Eyk JE. Overview: the maturing of proteomics in cardiovascular research[J]. Circ Res, 2011, 108(4): 490-498.
- [7] Lindsey ML, Mayr M, Gomes AV, et al. Transformative impact of proteomics on cardiovascular health and disease: a scientific statement from the American Heart Association[J]. Circulation, 2015, 132(9): 852-872.
- [8] Mullen W, Albalat A, Gonzalez J, et al. Performance of different separation methods interfaced in the same MS-reflection TOF detector: a comparison of performance between CE versus HPLC for biomarker analysis[J]. Electrophoresis, 2012, 33(4): 567-574.
- [9] Klein J, Papadopoulos T, Mischak H et al. Comparison of CE-MS/MS and LC-MS/MS sequencing demonstrates significant complementarity in natural peptide identification[J]. Electrophoresis, 2014, 35(7): 1060-1064.
- [10] Thongboonkerd V. Current status of renal and urinary proteomics: ready for routine clinical application? [J]. Nephrol Dial Transplant, 2010, 25(1): 11-16.
- [11] 达瑞, 刘永琦. 差异蛋白组学分析与鉴定方法的研究进展[J]. 吉林医学, 2010, 31(33): 6106-6107.
- [12] Murray GI. Has the proteome of formalin-fixed wax-embedded tissue been unlocked [J]. Nephrol Dial Transplant, 2012, 27(9): 3395-3398.
- [13] Satoskar AA, Shapiro JP, Bott CN, et al. Characterization of glomerular diseases using proteomic analysis of laser capture microdissected glomeruli[J]. Mod Pathol, 2012, 25(5): 709-721.
- [14] Qi W, Keenan HA, Li Q, et al. Pyruvate kinase M2 activation may protect against the progression of diabetic glomerular pathology and

- mitochondrial dysfunction[J]. *Nat Med*,2017,23(6):753-762.
- [15] Kim MR, Yu SA, Kim MY, et al. Analysis of glycated serum proteins in type 2 diabetes patients with nephropathy[J]. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*,2014,19(1):83-92.
- [16] Anderson NL, Anderson NG. The human plasma proteome: history, character, and diagnostic prospects[J]. *Mol Cell Proteomics*,2002,1(11):845-867.
- [17] Adachi J, Kumar C, Zhang Y, et al. The human urinary proteome contains more than 1 500 proteins, including a large proportion of membrane proteins[J]. *Genome Biol*,2006,7(9):R80.
- [18] Husi H, Stephens N, Cronshaw A, et al. Proteomic analysis of urinary upper gastrointestinal cancer markers [J]. *Proteomics Clin Appl*, 2011,5(5/6):289-299.
- [19] Davis MT, Spahr CS, McGinley MD, et al. Towards defining the urinary proteome using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. II. Limitations of complex mixture analyses [J]. *Proteomics*, 2001,1(1):108-117.
- [20] Alvarez ML, Khosroheidari M, Kanchi Ravi R, et al. Comparison of protein, microRNA, and mRNA yields using different methods of urinary exosome isolation for the discovery of kidney disease biomarkers [J]. *Kidney Int*,2012,82(9):1024-1032.
- [21] Van JA, Scholey JW, Konvalinka A. Insights into diabetic kidney disease using urinary proteomics and bioinformatics [J]. *J Am Soc Nephrol*,2017,28(4):1050-1061.
- [22] Mischak H, Ioannidis JP, Argiles A, et al. Implementation of proteomic biomarkers: making it work [J]. *Eur J Clin Invest*,2012,42(9):1027-1036.
- [23] Otu HH, Can H, Spentzos D, et al. Prediction of diabetic nephropathy using urine proteomic profiling 10 years prior to development of nephropathy[J]. *Diabetes Care*,2007,30(3):638-643.
- [24] Good DM, Zürgbig P, Argilés A, et al. Naturally occurring human urinary peptides for use in diagnosis of chronic kidney disease[J]. *Mol Cell Proteomics*,2010,9(11):2424-2437.
- [25] Siwy J, Schanstra JP, Argiles A et al. Multicentre prospective validation of a urinary peptidome-based classifier for the diagnosis of type 2 diabetic nephropathy [J]. *Nephrol Dial Transplant*,2014,29(8):1563-1570.
- [26] Zürgbig P, Jerums G, Hovind P, et al. Urinary proteomics for early diagnosis in diabetic nephropathy [J]. *Diabetes*,2012,61(12):3304-3313.
- [27] Roscioni SS, de Zeeuw D, Hellemons ME, et al. A urinary peptide biomarker set predicts worsening of albuminuria in type 2 diabetes mellitus[J]. *Diabetologia*,2013,56(2):259-267.
- [28] Lindhardt M, Persson F, Zürgbig P, et al. Urinary proteomics predict onset of microalbuminuria in normoalbuminuric type 2 diabetic patients, a sub-study of the DIRECT-Protect 2 study [J]. *Nephrol Dial Transplant*,2017,32(11):1866-1873.
- [29] Lindhardt M, Persson F, Currie G, et al. Proteomic prediction and renin-angiotensin-aldosterone system inhibition prevention of early diabetic nephropathy in Type 2 diabetic patients with normoalbuminuria (PRIORITY): essential study design and rationale of a randomised clinical multicentre trial [J]. *BMJ Open*,2016,6(3):e010310.
- [30] Pena MJ, Mischak H, Heerspink HJ. Proteomics for prediction of disease progression and response to therapy in diabetic kidney disease [J]. *Diabetologia*,2016,59(9):1819-1831.
- [31] Liu X, Yang G, Fan Q, et al. Proteomic profile in glomeruli of type-2 diabetic KKAy mice using 2-dimensional differential gel electrophoresis [J]. *Med Sci Monit*,2014,20:2705-2713.
- [32] 史雨, 黄文彦, 徐虹, 等. 肾病综合征患儿血清抗增殖蛋白水平 [J]. *临床儿科杂志*,2010,28(3):264-268.
- [33] Theiss AL, Sitarman SV. The role and therapeutic potential of prohibitin in disease [J]. *Biochim Biophys Acta*,2011,1813(6):1137-1143.
- [34] Baran DT, Quail JM, Ray R, et al. Binding of 1 α ,25-dihydroxyvitamin D(3) to annexin II: effect of vitamin D metabolites and calcium [J]. *J Cell Biochem*,2000,80(2):259-265.
- [35] Mooso B, Madhav A, Johnson S, et al. Androgen receptor regulation of Vitamin D receptor in response of castration-resistant prostate cancer cells to 1 α -Hydroxyvitamin D5-a calcitriol analog [J]. *Genes Cancer*, 2010,1(9):927-940.
- [36] Fan QL, Yang G, Liu XD, et al. Effect of losartan on the glomerular protein expression profile of type 2 diabetic KKAy mice [J]. *J Nephrol*,2013,26(3):517-526.
- [37] 范秋灵, 杨刚, 刘晓丹, 等. 氯沙坦对自发性 2 型糖尿病 KKAy 小鼠肾小球蛋白表达谱影响的研究 [J]. *中华肾脏病杂志*,2012,28(6):476-483.
- [38] Fan Q, Du S, Yang G, et al. Protein expression profile of human renal mesangial cells under high glucose [J]. *Am J Nephrol*,2011,34(1):18-25.
- [39] Sarwal MM, Jani A, Chang S, et al. Granulysin expression is a marker for acute rejection and steroid resistance in human renal transplantation [J]. *Hum Immunol*,2001,62(1):21-31.
- [40] Kotsch K, Mashreghi MF, Bold G, et al. Enhanced granulysin mRNA expression in urinary sediment in early and delayed acute renal allograft rejection [J]. *Transplantation*,2004,77(12):1866-1875.
- [41] Marty C, Ye RD. Heterotrimeric G protein signaling outside the realm of seven transmembrane domain receptors [J]. *Mol Pharmacol*,2010,78(1):12-18.
- [42] Boulos S, Meloni BP, Arthur PG, et al. Evidence that intracellular cyclophilin A and cyclophilin A/CD147 receptor-mediated ERK1/2 signalling can protect neurons against in vitro oxidative and ischemic injury [J]. *Neurobiol Dis*,2007,25(1):54-64.
- [43] Lal MA, Körner A, Matsuo Y, et al. Combined antioxidant and COMT inhibitor treatment reverses renal abnormalities in diabetic rats [J]. *Diabetes*,2000,49(8):1381-1389.
- [44] Rayanade RJ, Patel K, Ndubuisi M, et al. Proteasome- and p53-dependent masking of signal transducer and activator of transcription (STAT) factors [J]. *J Biol Chem*,1997,272(8):4659-4662.
- [45] Kalantari S, Jafari A, Moradpoor R, et al. Human urine proteomics: analytical techniques and clinical applications in renal diseases [J]. *Int J Proteomics*,2015,2015:782798.