

TLR4/PI3K 调控内质网应激和自噬介导足细胞损伤的分子机制*

谢志娟¹,戴新贵¹,张平¹,陈建英^{2△}

(1. 南华大学附属第一医院肾内科,湖南衡阳 421001;2. 湖南省人民医院风湿免疫科,长沙 410005)

[摘要] **目的** 探讨 Toll 样受体 4(TLR4)/磷脂酰肌醇 3-激酶(PI3K)通过调控内质网应激和自噬介导足细胞损伤的分子机制。**方法** 通过转化生长因子 β_1 (TGF- β_1)刺激小鼠肾足细胞系建立足细胞损伤模型,分别用 TLR4-siRNA 和 3-甲基腺嘌呤(3-MA)处理该模型,蛋白免疫印迹(Western blot)法检测 TLR4、髓样分化因子 88(MyD88)、葡萄糖调控蛋白(GRP78)、C/EBP 同源蛋白(CHOP)、PI3K,以及自噬蛋白 beclin-1 和微管相关蛋白 1 轻链 3B(LC3B)的水平。**结果** TGF- β_1 诱导的小鼠肾足细胞损伤后 TLR4、MyD88、CHOP、PI3K 和 GRP78 的蛋白表达在 6、12、24、36、48 h 时间段明显升高,在刺激 24 h 后达到峰值,分别为 0.57 ± 0.07 、 0.65 ± 0.06 、 0.50 ± 0.04 、 2.01 ± 0.18 及 2.09 ± 0.17 ;与 TGF- β_1 联合 siRNA 处理组比较,TGF- β_1 联合 siRNA-TLR4 处理组小鼠肾足细胞 TLR4、MyD88、CHOP、LC3-II、beclin-1、PI3K 和 GRP78 蛋白水平明显降低或减弱,其水平分别为 0.35 ± 0.03 、 0.42 ± 0.04 、 0.31 ± 0.03 、 0.22 ± 0.01 、 0.29 ± 0.02 、 1.29 ± 0.10 及 1.44 ± 0.13 ;与 TGF- β_1 组比较,TGF- β_1 联合应用 PI3K 特异性抑制剂(2.5 mmol/L 3-MA)组小鼠肾足细胞后结果显示 PI3K 的活化水平、自噬蛋白(LC3-II 和 beclin-1)及内质网应激蛋白(CHOP 和 GRP78)显著减弱,其水平分别为 0.24 ± 0.02 、 0.33 ± 0.01 、 0.42 ± 0.02 、 1.25 ± 0.11 及 1.21 ± 0.12 ,而 TLR4 和 MyD88 的表达水平无显著性变化。**结论** TLR4 通过 PI3K 信号通路调控 TGF- β_1 诱导小鼠肾足细胞损伤的内质网应激和自噬反应。

[关键词] 转化生长因子 β_1 ;足细胞损伤;TLR4/PI3K;自噬;内质网应激

[中图分类号] R329.2

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2020)12-1902-05

Molecular mechanism of TLR4/PI3K regulating endoplasmic reticulum stress and autophagy mediated podocyte injury*

XIE Zhijuan¹,DAI Xingui¹,ZHANG Ping¹,CHEN Jianying^{2△}

(1. Department of Nephrology, First Affiliated Hospital of University of South China, Hengyang, Hunan 421001, China; 2. Department of Rheumatism and Immunology, Hunan Provincial People's Hospital, Changsha, Hunan 410005, China)

[Abstract] **Objective** To explore the molecular mechanism of Toll-like receptor 4 (TLR4) and phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) for mediating podocyte injury by regulating endoplasmic reticulum stress (ERS) and autophagy. **Methods** The podocytes injury model was established by TGF- β_1 stimulating mouse kidney podocytes. The model was treated by TLR4-siRNA and 3-MA. Then the levels of TLR4, MyD88, C/EBP homologous protein (CHOP), PI3K, autophagy protein beclin-1 and LC3B were detected by using the Western blot. **Results** The protein expression levels of TLR4, MyD88, CHOP, PI3K and GRP78 were increased at 6, 12, 24, 36, 48 h after mouse kidney podocytes injury induced by TGF- β_1 , reaching the peak values at 24 h after stimulation, which were 0.57 ± 0.07 , 0.65 ± 0.06 , 0.50 ± 0.04 , 2.01 ± 0.18 and 2.09 ± 0.17 respectively; compared with the TGF- β_1 combined with small interfering RNA treatment group, the results after stimulating treating mouse kidney podocytes by in TGF- β_1 combined with siRNA-TLR4 pre-treatment group TGF- β_1 showed that the expression levels of TLR4, MyD88, CHOP, LC3-II, beclin-1, PI3K and GRP78 protein were significantly decreased or weakened, which were 0.35 ± 0.03 , 0.42 ± 0.04 , 0.31 ± 0.03 , 0.22 ± 0.01 , 0.29 ± 0.02 , 1.29 ± 0.10 and 1.44 ± 0.13 respectively; compared with the TGF- β_1 group, the results after stimulating reating mouse kidney podocytes by TGF- β_1 combined with P13K specific inhibitor 2.5 mL 3-MA pre-treating TGF- β_1 showed that the P13K activation level, LC3-II, beclin-1, CHOP and GRP78 were significantly

* 基金项目:湖南省自然科学基金项目(2018JJ2014)。

作者简介:谢志娟(1976—),硕士,副主任医师,主要从事慢性肾小球肾炎及慢性

肾衰竭疾病的研究。△ 通信作者,E-mail:jancy998@163.com。

weakened, which were 0.24 ± 0.02 , 0.33 ± 0.01 , 0.42 ± 0.02 , 1.25 ± 0.11 and 1.21 ± 0.12 respectively, however, the expression levels of TLR4 and MyD88 had no significant change. **Conclusion** TLR4 modulates TGF- β_1 for inducing ERS and autophagy of mouse kidney podocytes injury via PI3K signaling pathway.

[Key words] TGF- β_1 ; podocyte injury; TLR4/PI3K; autophagy; ERS

足细胞损伤与自噬、焦亡、细胞器氧化应激、NOD 样受体蛋白 3 (NLRP3) 炎性小体活化等因素密切相关^[1-3]。诸多体外研究对足细胞损伤的机制进行了探讨,其中复合免疫蛋白 Toll 样受体 4 (TLR4) 是近年研究的亮点,其可介导 Smad/NF- κ B/miR-22/STAT3 信号通路参与肾损伤的调控^[4-5]。文献报道:TLR4 介导的信号通路在调控细胞增殖、凋亡与内质网应激中扮演重要的角色,也是生物代谢通路的关键靶点^[3-6]。最近研究发现,TLR4/CD44 信号途径介导肾巨噬细胞自噬反应,促进肾缺血再灌注损伤^[7]。据此,笔者提出新的科学设想:TLR4 是否可介导内质网应激-自噬途径促进足细胞损伤?许武军等^[8]研究发现,在脓毒症诱导的急性肾损伤大鼠中 TLR4、髓样分化因子 88 (MyD88) 和磷脂酰肌醇 3-激酶 (PI3K) 的表达水平上调。然而 TLR4/PI3K 信号轴是否靶向调控转化生长因子 β_1 (TGF- β_1) 诱导内质网应激-自噬途径促进足细胞损伤的研究目前未见报道。因此,本研究旨在探讨 TLR4/PI3K 调控内质网应激和自噬抗足细胞损伤的分子机制,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

采用细胞培养箱 (Cell Signalin, USA); 冷冻高速离心机及台式冷冻离心机 (德国公司生产); 超净工作台 (苏信净化设备厂); 反转录试剂盒 (Santa Cruz, USA); PI3K 特异性抑制剂 3-甲基腺嘌呤 (3-MA)、实时荧光定量 PCR 试剂盒及引物 (Sigma, USA); DMEM 培养液 (Sigma-Aldrich, USA); 20% 胎牛血清 (FBS, Gibco, USA); 鼠 TLR4 小干扰 RNA (siRNA) 寡聚核苷酸片段 (Sigma, USA); GRP78、GAPDH、CHOP、MyD88、LC3B、Beclin-1、TLR4 及 PI3K 等兔抗多克隆抗体 (Santa Cruz, USA)。

1.2 方法

1.2.1 小鼠肾足细胞培养

足细胞购自中科院细胞库,用 10% FBS 的 DMEM 培养基,放置在 37 °C、5% CO₂ 细胞培养箱中培养,细胞换培养基每天 1 次,待细胞密度达到 70%~80% 时进行细胞传代培养,于培养瓶中吸出培养液,加磷酸盐缓冲液 (PBS) 到瓶中清洗细胞表面 2 次,弃掉清洗液,加入 0.25% 胰蛋白酶 1 mL,将消化液均匀覆盖于细胞表面,消化时间为 2 min 左右。将细胞分为如下 2 组:正常组 (即 0 h 组) 及 TGF- β_1 组 (分别为 6、12、24、36、48 h 组),每组细胞予以干预后并检测各项指标。

1.2.2 分组

为进一步观察 siRNA 干扰 TLR4 (转染方法见试剂盒说明书操作) 是否参与 TGF- β_1 诱导足细胞损伤的内质网应激及自噬反应,将其分为如下 4 组: TGF- β_1 联合 siRNA 处理组、siRNA 处理组、TGF- β_1 联合 siRNA-TLR4 处理组、siRNA-TLR4 处理组;同时,也进一步观察 PI3K 是否参与 TGF- β_1 诱导足细胞损伤的内质网应激及自噬反应,也将其分为如下 4 组:对照组、TGF- β_1 组、TGF- β_1 联合 PI3K 特异性抑制剂 (2.5 mmol/L 3-MA) 组、PI3K 特异性抑制剂组。

1.2.3 蛋白免疫印迹 (Western blot) 法检测

收集细胞后将其用 PBS 洗涤 3 次,加入裂解液裂解悬浮细胞,然后置于冰上 30 min 后,在 4 °C 下以 10 000 r/min 离心 10 min,提取上清液,用蛋白质定量 (BCA) 法测定蛋白质水平,随后采用十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE),电转蛋白至硝酸纤维素膜;5% 脱脂牛奶封闭 1 h 后,加入一抗 (GRP78、TLR4、CHOP、LC3B、Beclin-1、MyD88 及 PI3K),4 °C 孵育 12 h 后,用 TBST 洗膜 3 次,每次 20 min。加入辣根过氧化物酶标记的二抗,室温孵育 2 h,用 TBST 洗膜 3 次,每次 10 min,然后用化学发光法显色,采集图像 (UVP 型凝胶图像分析系统),分析条带吸光度 (Image J 软件)。以对照组为参照计算蛋白的表达水平。

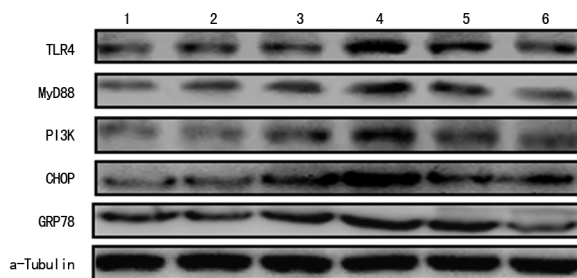
1.3 统计学处理

采用 SPSS19.0 软件进行分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间采用 LSD-*t* 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 多种信号通路参与 TGF- β_1 诱导的小鼠肾足细胞损伤

结果显示:TGF- β_1 诱导的小鼠肾足细胞损伤后,TLR4、MyD88、CHOP、PI3K 和 GRP78 的表达水平升高,在刺激 24 h 后达到峰值,见图 1 及表 1。



1: 0 h; 2: 6 h; 3: 12 h; 4: 24 h; 5: 36 h; 6: 48 h。

图 1 TGF- β_1 对肾足细胞中 TLR4、MyD88、CHOP、PI3K 和 GRP78 蛋白表达水平的时效关系

表 1 TGF- β_1 诱导的肾足细胞不同时间的 TLR4、MyD88、CHOP、PI3K 和 GRP78 蛋白表达水平($\bar{x} \pm s$)

组别	时间(h)	TLR4	MyD88	PI3K	CHOP	GRP78
正常组	0	0.24 \pm 0.01	0.41 \pm 0.03	0.34 \pm 0.02	0.99 \pm 0.11	1.00 \pm 0.07
TGF- β_1 组	6	0.27 \pm 0.02	0.49 \pm 0.04	0.36 \pm 0.02	1.12 \pm 0.13	1.21 \pm 0.10 ^b
	12	0.30 \pm 0.03 ^b	0.52 \pm 0.05 ^b	0.40 \pm 0.03 ^b	1.45 \pm 0.14 ^b	1.48 \pm 0.13 ^a
	24	0.57 \pm 0.07 ^a	0.65 \pm 0.06 ^a	0.50 \pm 0.04 ^a	2.01 \pm 0.18 ^a	2.09 \pm 0.17 ^a
	36	0.41 \pm 0.04 ^a	0.56 \pm 0.05 ^b	0.45 \pm 0.04 ^b	1.62 \pm 0.15 ^a	1.57 \pm 0.14 ^a
	48	0.31 \pm 0.04 ^b	0.51 \pm 0.05 ^b	0.43 \pm 0.04 ^b	1.53 \pm 0.14 ^a	1.44 \pm 0.13 ^a

^a: $P < 0.01$; ^b: $P < 0.05$, 与正常组比较。

表 2 沉默 TLR4 对 TGF- β_1 诱导的肾足细胞 TLR4、MyD88、CHOP、LC3- II、beclin-1、PI3K 和 GRP78 蛋白表达水平的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	TLR4	MyD88	PI3K	LC3- II	beclin-1	CHOP	GRP78
TGF- β_1 联合 siRNA 组	0.48 \pm 0.04	0.62 \pm 0.06	0.44 \pm 0.04	0.33 \pm 0.02	0.40 \pm 0.03	1.79 \pm 0.16	1.82 \pm 0.17
siRNA 组	0.39 \pm 0.03	0.51 \pm 0.05	0.37 \pm 0.03	0.27 \pm 0.02	0.35 \pm 0.02	1.54 \pm 0.15	1.67 \pm 0.16
TGF- β_1 联合 siRNA-TLR4 组	0.35 \pm 0.03 ^b	0.42 \pm 0.04 ^b	0.31 \pm 0.03 ^b	0.22 \pm 0.01 ^b	0.29 \pm 0.02 ^a	1.29 \pm 0.10 ^b	1.44 \pm 0.13 ^b
siRNA-TLR4 组	0.24 \pm 0.03	0.31 \pm 0.03	0.25 \pm 0.02	0.18 \pm 0.01	0.21 \pm 0.01	0.86 \pm 0.09	0.93 \pm 0.11

^a: $P < 0.01$; ^b: $P < 0.05$, 与 TGF- β_1 联合小干扰 RNA 组比较。

表 3 各组肾足细胞 TLR4、MyD88、CHOP、LC3- II、Beclin-1、PI3K 和 GRP78 蛋白表达水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	TLR4	MyD88	PI3K	LC3B	Beclin-1	CHOP	GRP78
对照组	0.36 \pm 0.02	0.39 \pm 0.03	0.16 \pm 0.01	0.32 \pm 0.02	0.41 \pm 0.02	1.07 \pm 0.11	1.03 \pm 0.12
TGF- β_1 组	0.49 \pm 0.05 ^a	0.52 \pm 0.06 ^a	0.38 \pm 0.03 ^a	0.41 \pm 0.03 ^a	0.50 \pm 0.03 ^a	1.72 \pm 0.14 ^a	1.66 \pm 0.13 ^a
TGF- β_1 联合 PI3K 特异性抑制剂组	0.42 \pm 0.04	0.41 \pm 0.05	0.24 \pm 0.02 ^b	0.33 \pm 0.01 ^b	0.42 \pm 0.02 ^b	1.25 \pm 0.12 ^b	1.21 \pm 0.11 ^b
PI3K 特异性抑制剂组	0.39 \pm 0.02	0.40 \pm 0.04	0.20 \pm 0.02	0.31 \pm 0.01	0.39 \pm 0.02	1.11 \pm 0.11	1.13 \pm 0.11

^a: $P < 0.05$, 与对照组比较; ^b: $P < 0.05$, 与 TGF- β_1 组比较。

2.2 TLR4 调控小鼠肾足细胞 PI3K 和内质网应激信号通路促进自噬作用

与 TGF- β_1 联合 siRNA 组比较, TGF- β_1 联合 siRNA-TLR4 组的 TLR4、MyD88、CHOP、LC3- II、Beclin-1、PI3K 和 GRP78 蛋白水平明显降低或减弱 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 见图 2、表 2。

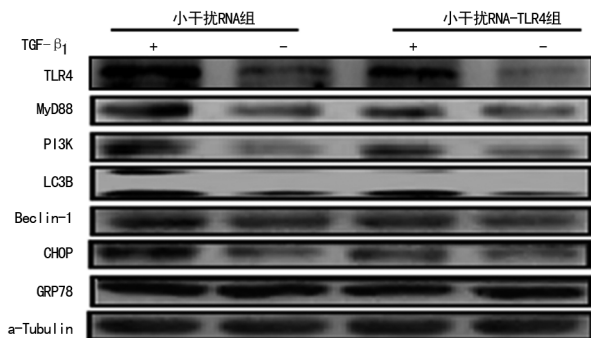


图 2 沉默 TLR4 对 TGF- β_1 诱导的肾足细胞 TLR4、MyD88、CHOP、LC3- II、beclin-1、PI3K 和 GRP78 蛋白表达水平的影响

2.3 PI3K 信号通路调控小鼠肾足细胞内质网应激-自噬途径

与对照组比较, TGF- β_1 组 TLR4、MyD88、PI3K、自噬蛋白 (LC3B 和 Beclin-1) 及内质网应激蛋白 (CHOP 和 GRP78) 表达水平明显升高; TGF- β_1 联合

PI3K 特异性抑制剂组处理 TGF- β_1 刺激小鼠肾足细胞 PI3K 蛋白、自噬蛋白 (LC3B 和 Beclin-1) 及内质网应激蛋白 (CHOP 和 GRP78) 与 TGF- β_1 组比较, 表达水平明显减弱。然而, TLR4 和 MyD88 的表达水平差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。同时, 与 TGF- β_1 联合 PI3K 特异性抑制剂组比较, PI3K 特异性抑制剂组各蛋白的表达水平差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见图 3、表 3。

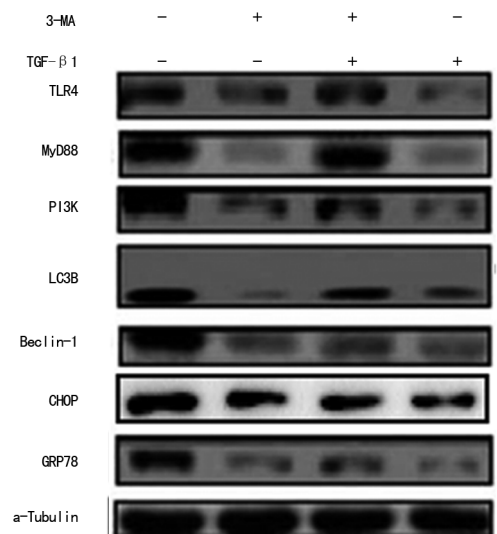


图 3 Western blot 检测 TLR4、MyD88、CHOP、LC3- II、Beclin-1、PI3K 和 GRP78 蛋白表达水平

3 讨 论

足细胞损伤在糖尿病肾病的病理进展中扮演着重要的角色^[9-10]。目前,TLR4 信号通路和内质网应激-凋亡途径介导足细胞损伤的发病机制已成为研究的热点。炎症上游因子 TLR4 可被内源性配体甄别及锚定结合后识别细胞表面抗原,启动信号转导功能及激活自噬反应^[11];TLR4 与其下游靶向信号分子 MyD88 发生融合效应调控细胞氧化应激及 Th1 活化^[12-13];活化的 TLR4 介导 PI3K 信号通路调控自噬反应与氧化应激之间的平衡^[14-15]。最近研究发现:TLR4/PI3K 信号轴在调节 NLRP3 炎症小体活化、激活内质网应激、诱导细胞增殖与凋亡发挥重要作用^[11-16]。为此,本研究应用 TGF- β_1 诱导足细胞损伤来探讨 TLR4/PI3K 信号轴和内质网应激信号通路对足细胞损伤的影响。结果证实,TGF- β_1 刺激小鼠肾足细胞 0、6、12、24、36、48 h 后 TLR4、MyD88、CHOP、PI3K 和 GRP78 蛋白呈高表达趋势,提示 TGF- β_1 能够介导 TLR4/PI3K 及内质网应激信号通路诱导小鼠肾足细胞损伤。文献^[13]研究结果也发现,TLR4 信号通路介导了脂多糖诱导的炎性肾损伤。

本实验结果也发现,TGF- β_1 呈时间依赖性刺激小鼠肾足细胞介导 TLR4 受体激活接头蛋白 MyD88,进而诱导内质网应激信号通路和活化 PI3K,24 h 达到峰值并随后逐渐下降以上显示 TLR4 可能参与足细胞损伤,且蛋白不稳定的变化趋势也表明了其机制复杂化及多样性。笔者进一步发现,沉默 TLR4 可抑制 PI3K 蛋白的表达及内质网应激因子的分泌,证实了 TLR4 参与 TGF- β_1 诱导足细胞损伤的分子机制。笔者还观察到沉默 TLR4 后,自噬相关蛋白 LC3-II 和 Beclin-1 的表达水平也显著减少,提示在 TGF- β_1 诱导小鼠肾足细胞损伤后,TLR4 诱导自噬的活化参与小鼠肾足细胞损伤的发病机制。

黎妮等^[17]研究报道,PI3K 信号通路调控 TGF- β_1 诱导的小鼠肾足细胞的活性氧(ROS)含量及细胞的自噬水平,从而促进小鼠肾缺血再灌注损伤。虽然笔者上一步实验证实 siRNA-TLR4 对 TGF- β_1 诱导足细胞损伤,那么靶向沉默其分子伴侣 PI3K 是否有类似的实验结果?实验结果发现,通过 PI3K 特异性抑制剂 3-MA 预处理 TGF- β_1 刺激小鼠肾足细胞后,内质网应激信号通路的活化及 PI3K 蛋白水平明显减弱,提示抑制 PI3K 信号通路能够下调内质网应激。而且,实验结果也证实抑制 PI3K 还能显著阻碍 LC3-II 和 Beclin-1 的蛋白表达。证实 TLR4 能够通过 PI3K 信号通路调控 TGF- β_1 诱导小鼠肾足细胞的内质网应激-自噬途径这一过程。目前研究显示,内质网应激-自噬途径在多种疾病的发生、发展中扮演着重要

的角色,因此通过何种方式靶向调控 TLR4/PI3K 信号通路介导自噬和内质网应激之间的稳态可能成为治疗肾脏疾病的一种新策略^[18-23]。

综上所述,TLR4/PI3K 信号通路介导内质网应激与自噬之间的稳态促进 TGF- β_1 诱导肾足细胞损伤,同时也为足细胞损伤后靶向基因治疗提供了新方向。

参考文献

- [1] 肖瑛,袁质平,彭灿,等. α -硫辛酸抑制炎症信号 TLR4 和 NLRP3 的活化在糖尿病大鼠肾组织纤维化中的保护作用[J]. 中国药理学通报, 2019,35(3):335-340.
- [2] 易婷婷,栗萍,张明慧,等. 黄芪对糖尿病肾病小鼠内质网应激中蛋白激酶 R 样内质网激酶通路的影响[J]. 中国临床药理学杂志, 2019,35(8):785-787.
- [3] 王蔚东. 内质网应激与肾脏疾病[J]. 中山大学学报(医学科学版), 2017,38(2):196-203.
- [4] PANCHAPAKESAN U, POLLOCK C. The role of toll-like receptors in diabetic kidney disease[J]. Curr Opin Nephrol Hypertens, 2018, 27(1):30-34.
- [5] XU Z, ZOU C P, YU W H, et al. Inhibition of TLR4-mediated STAT3 activation attenuates Angiotensin II induced renal fibrosis and dysfunction[J]. Br J Pharmacol, 2019, 176(14):2627-2641.
- [6] SHEN J, LIU L, ZHANG F, et al. LncRNA TapSAKI promotes inflammation injury in HK-2 cells and urine derived sepsis-induced kidney injury[J]. J Pharm Pharmacol, 2019, 71(5):839-848.
- [7] POLUZZI C, NASTASE M V, ZENG-BROUWERS J, et al. Biglycan evokes autophagy in macrophages via a novel CD44/Toll-like receptor 4 signaling axis in ischemia/reperfusion injury[J]. Kidney Int, 2019, 95(3):540-562.
- [8] 许武军,谢娟娟,陈仙. H₂S 通过抑制 TLR4/MyD88/PI3K 信号通路减轻尿源性脓毒症诱导的急性肾损伤[J]. 中国病理生理杂志, 2019, 35(2):243-247.
- [9] 张馨元,米焱,王彩丽. 足细胞损伤与糖尿病肾病[J]. 肾脏病与透析肾移植杂志, 2019, 28(2):161-165.
- [10] 单娟萍,董梁,董志超,等. 白藜芦醇抑制顺铂诱

- 导肾小管上皮细胞凋亡的体外研究[J]. 中华全科医学, 2017, 15 (8): 1334-1336.
- [11] LI R, GUO Y, ZHANG Y, et al. Salidroside ameliorates renal interstitial fibrosis by inhibiting the TLR4/NF- κ B and MAPK signaling pathways[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(5): 1191-1208.
- [12] ZHANG H, WEI X, LU S, et al. Protective effect of DMDD, isolated from the root of *Averrhoa carambola* L on high glucose induced EMT in HK-2 cells by inhibiting the TLR4-BAMBI-Smad2/3 signaling pathway [J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 113(4): 108-205.
- [13] CHEN M, LU X, LU C, et al. Soluble uric acid increases PDZK1 and ABCG2 expression in human intestinal cell lines via the TLR4-NLRP3 inflammasome and PI3K/Akt signaling pathway[J]. *Arthritis Res Ther*, 2018, 20(1): 108-132.
- [14] HAN W, MA Q, LIU Y, et al. Huangkui capsule alleviates renal tubular epithelial-mesenchymal transition in diabetic nephropathy via inhibiting NLRP3 inflammasome activation and TLR4/NF- κ B signaling[J]. *Phytomedicine*, 2018, 57(8): 203-214.
- [15] QIU Y, WU Y, ZHAO H, et al. Maresin 1 mitigates renal ischemia/reperfusion injury in mice via inhibition of the TLR4/MAPK/NF- κ B pathways and activation of the Nrf2 pathway [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2019, 13(8): 739-745.
- [16] OKLA M, WANG W, KANG I, et al. Activation of Toll-like receptor 4 (TLR4) attenuates adaptive thermogenesis via endoplasmic reticulum stress [J]. *J Biol Chem*, 2015, 290(44): 26476-26490.
- [17] 黎妮, 黄巧, 陈文莉, 等. 番茄红素减轻 TGF- β_1 诱导小鼠足细胞损伤及其机制[J]. 东南大学学报, 2018, 37(2): 229-234.
- [18] 龚慧琴, 文红艳, 姚平波, 等. PCSK9 表达下调对人脐静脉内皮细胞内质网应激-自噬途径的影响 [J]. 山东医药, 2018, 58(17): 27-29.
- [19] CHEN M, LU X, LU C, et al. Soluble uric acid increases PDZK1 and ABCG2 expression in human intestinal cell lines via the TLR4-NLRP3 inflammasome and PI3K/Akt signaling pathway [J]. *Arthritis Res Ther*, 2018, 20(1): 108-132.
- [20] KOH W, SHIN J S, LEE J, et al. Anti-inflammatory effect of Cortex Eucommiae via modulation of the toll-like receptor 4 pathway in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264. 7 macrophages [J]. *J Ethnopharmacol*, 2017, 209(11): 255-263.
- [21] MOHAMED A F, SAFAR M M, ZAKI H F, et al. Telluric acid ameliorates endotoxemic kidney injury in mice: involvement of TLR4, Nrf2, and PI3K/Akt signaling pathways [J]. *Inflammation*, 2017, 40(5): 1742-1752.
- [22] WATTS B A, GEORGE T, SHERWOOD E R, et al. Monophosphoryl lipid A induces protection against LPS in medullary thick ascending limb through a TLR4-TRIF-PI3K signaling pathway [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2017, 313(1): F103-F115.
- [23] DING T, CHEN W, LI J, et al. High glucose induces mouse mesangial cell overproliferation via inhibition of hydrogen sulfide synthesis in a TLR4-dependent manner [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 41(3): 1035-1043.

(收稿日期: 2019-12-18 修回日期: 2020-03-02)