

## · 专题报道 ·

亚硒酸钠对大鼠肾小球系膜细胞表达 p38 丝裂原活化蛋白激酶和过氧化物酶体增殖物激活受体  $\gamma$  的影响魏倩萍<sup>1</sup>, 邓华聪<sup>1\*</sup>, 赵 劼<sup>2</sup>

(1. 重庆医科大学附属第一医院内分泌科, 重庆 400016; 2. 重庆医科大学超声工程研究所)

**[摘要]** **目的:**观察亚硒酸钠对大鼠肾小球系膜细胞系 HBZY-1 表达 p38 丝裂原活化蛋白激酶(p38 mitogen-activated protein kinase, p38MAPK)和过氧化物酶体增殖物激活受体  $\gamma$  (peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$ , PPAR $\gamma$ )的影响,从而研究 p38MAPK 和 PPAR $\gamma$  在糖尿病肾病形成中的作用及硒在防治糖尿病肾病中的作用机制。**方法:**在以下 3 种条件下培养细胞系:(1)分别以一定浓度高葡萄糖、高胰岛素、过氧化氢和 AGEs 刺激细胞系 HBZY-1 一定时间;(2)先给予 p38MAPK 特异性抑制剂 SB203580 或亚硒酸钠预处理细胞后,再分别以高葡萄糖、高胰岛素、过氧化氢和糖基化终产物 4 种因素孵育细胞系 HBZY-1;(3)以不加任何刺激培养细胞系作为对照。RT-PCR 法观察各种情况下细胞系 HBZY-1 PPAR $\gamma$  mRNA 的表达,Western 印迹法观察磷酸化 p38MAPK 的表达。**结果:**4 种刺激因素均可作为独立因素激活 p38MAPK,使其磷酸化表达量增加,PPAR $\gamma$  表达量显著减少;SB203580 能显著增加细胞系 HBZY-1 PPAR $\gamma$  表达;亚硒酸钠能明显抑制细胞系 HBZY-1 p38MAPK 磷酸化表达,而显著增加细胞系 HBZY-1 PPAR $\gamma$  表达( $P < 0.01$ )。**结论:**在大鼠肾小球系膜细胞,p38MAPK 对 PPAR $\gamma$  具有拮抗作用,亚硒酸钠明显增加细胞系 HBZY-1 PPAR $\gamma$  表达,并具有类似 PPAR $\gamma$  激动剂的作用。

**[关键词]** 亚硒酸钠;p38 丝裂原活化蛋白激酶;过氧化物酶体增殖物激活受体  $\gamma$ ; 糖尿病肾病;肾小球系膜细胞

**[中图分类号]** R 587.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2006)06-0594-05

### Influence of sodium selenite on expression of p38 mitogen-activated protein kinase and peroxisome proliferator-activated receptor $\gamma$ in rat mesangial cells line HBZY-1

WEI Qian-ping<sup>1</sup>, DENG Hua-cong<sup>1\*</sup>, ZHAO Jie<sup>2</sup> (1. Department of Endocrinology, the First Affiliated Hospital, Chongqing University of Medical Sciences, Chongqing 400016, China; 2. Institute of Ultrasonic Engineering, Chongqing University of Medical Sciences)

**[ABSTRACT]** **Objective:** To observe the influences of sodium selenite on expression of p38 mitogen-activated protein kinase (p38MAPK) and peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  (PPAR $\gamma$ ) in rat mesangial cells line HBZY-1, so as to study the role of p38MAPK and PPAR $\gamma$  in diabetic nephropathy and the mechanism by which sodium selenite prevents diabetic nephropathy. **Methods:** Rat mesangial cell line HBZY-1 was incubated with high glucose, high insulin, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and advanced glycosylation end products (AGEs) separately before and after HBZY-1 cells were pre-treated with SB203580 (p38MAPK special inhibitor) or sodium selenite. Cells receiving no stimulation were taken as control. The expression of p38MAPK protein and PPAR $\gamma$  mRNA was detected respectively by immunohistochemistry assay and RT-PCR in all groups and the results were compared. **Results:** High glucose, high insulin, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and AGEs all activated p38MAPK, increased phospho-p38MAPK expression and decreased the expression of PPAR $\gamma$  mRNA in rat mesangial cells line HBZY-1. The expressions of phospho-p38MAPK protein was markedly inhibited by sodium selenite, while the expression of PPAR $\gamma$  mRNA was significantly increased by SB203580 or sodium selenite in rat mesangial cells lines HBZY-1 ( $P < 0.01$ ). **Conclusion:** p38MAPK may antagonize the expression of PPAR $\gamma$  in rat mesangial cells lines HBZY-1. Sodium selenite, with a similar effect to the agonist of PPAR $\gamma$ , can obviously increase the expression of PPAR $\gamma$ .

**[KEY WORDS]** sodium selenite; p38 mitogen-activated protein kinase; peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$ ; diabetic nephropathy; mesangial cells

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2006, 27(6): 594-598]

糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)是糖尿病血管并发症中最常见的慢性并发症,也是糖尿病患者死亡的主要原因,其危害性极大。近来国外研究<sup>[1-3]</sup>证实,在肾小球、系膜细胞和内皮细胞均有过氧化物酶体增殖物激活受体  $\gamma$  (peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$ ) 的表达,其表达水平与糖尿病肾病的严重程度密切相关。

**[基金项目]** 国家自然科学基金(30570744)。Supported by National Natural Science Foundation of China(30570744)。

**[作者简介]** 魏倩萍,博士,副教授。

E-mail: wqp68894940@163.com

\* Corresponding author. E-mail: deng\_huacong@yahoo.com.cn

erator-activated receptor  $\gamma$ , PPAR $\gamma$ )mRNA 和蛋白表达。PPAR $\gamma$  基因调控着与脂肪生成、糖尿病、肥胖相关基因的表达,并参与了多种细胞生理活动,包括细胞周期调控、免疫调节、炎症、肿瘤细胞的分化等相关蛋白的转录调控<sup>[4]</sup>。研究<sup>[2]</sup>显示,PPAR $\gamma$  的激活对肾脏具有直接保护作用,但其作用机制尚未完全明确;p38 丝裂原活化蛋白激酶(p38 mitogen-activated protein kinase, p38MAPK)是一种 38 000 的酪氨酸磷酸化蛋白激酶,属丝裂素活化蛋白激酶(MAPK)家族,MAPK 激活的蛋白激酶-2/3(MAPKAP-K2/K3)是 p38MAPK 主要作用底物,p38MAPK 是各种细胞外信号刺激细胞内信号传递的共同通路<sup>[5]</sup>, p38MAPK 活化介导了细胞的炎症反应、增殖、凋亡、生长、分化及细胞间功能同步等多种生理过程,并在细胞恶化、转化等病理过程中起重要作用<sup>[6,7]</sup>。提示其可能是导致糖尿病肾病的关键途径。硒是机体一种必需微量元素,其作为一种抗氧化剂可预防氧化应激;硒缺乏可加剧糖尿病肾病的氧化应激,还可产生拟高血糖病理状态,从而加剧糖尿病肾病的发生和发展,因此硒不仅可以预防氧化应激,而且还能阻止肾脏损害<sup>[8]</sup>。但其是否作用于 p38MAPK 和 PPAR $\gamma$  未见文献报道。本研究在体外模拟糖尿病状态,探讨糖尿病时存在的各种应激如高葡萄糖、高胰岛素、过氧化氢和糖基化终产物(advanced glycosylation end products, AGEs)对大鼠肾小球系膜细胞系 HBZY-1 p38MAPK 和 PPAR $\gamma$  表达的影响,以及亚硒酸钠对其表达的作用,从而进一步探讨二者在糖尿病肾病形成中的作用及硒在防治糖尿病肾病中的作用机制。

## 1 材料和方法

1.1 材料 大鼠肾小球系膜细胞系 HBZY-1(中国典型培养物保藏中心, CCTCC); 新生牛血清及 RPMI 1640 培养液(北京中山生物技术有限公司); 蛋白质相对分子质量标记物(Bio-Rad 公司); SB203580、磷酸化 p38MAPK 兔多抗((Promega 公司); 第二抗体为辣根过氧化物酶标记的羊抗兔 IgG(北京中山生物技术有限公司)。柱离心式总 RNA 抽提试剂盒、RT-PCR 两步法试剂盒、PCR 相对分子质量标准(TaKaRa 公司); PCR 引物合成(上海生物工程公司); 亚硒酸钠(Karolinska Institute 赠送)。

1.2 大鼠肾小球系膜细胞系 HBZY-1 的培养 细胞系 HBZY-1 培养于含 20% 灭活新生牛血清的

RPMI 1640 培养液中,培养条件为 37℃,饱和湿度 5% CO<sub>2</sub>,每 2~3 d 用 0.02% 依地酸(EDTA)消化传代,待细胞系 HBZY-1 长至培养瓶底 40% 后用于实验。

1.3 体外制备 AGEs 参考文献<sup>[9]</sup>,按牛血清白蛋白(bovine serum albumin, BSA)50 mg/ml 与葡萄糖 90 mg/ml,在体外于 37℃ 孵育 60 d,制备结束后 AGEs 用考马斯亮蓝法测定蛋白含量,并测定其荧光强度。-70℃ 避光保存备用。

1.4 实验分组 细胞系 HBZY-1 长满培养瓶底 40% 后分为两大组,以无血清培养液饥饿细胞系 HBZY-1 24 h,然后进行干预。

1.4.1 第一大组 分组及刺激条件如下:(1)对照组:无任何刺激因素孵育细胞系 HBZY-1;(2)高糖组(high glucose, HG 组):用 25 mmol/L 葡萄糖刺激 HBZY-1 细胞 72 h;(3)高胰岛素组(high insulin, HI 组):用 100 nmol/L 的胰岛素刺激 HBZY-1 细胞 24 h;(4)过氧化氢组(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>组):用 100  $\mu$ mol/L 的过氧化氢刺激 HBZY-1 细胞 1 h;(5)AGEs 组:用 100 mg/L 的 AGEs 刺激 HBZY-1 细胞 6 h。(6)SB-HG 组、(7)SB-HI 组、(8)SB-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组及(9)SB-AGEs 组:用 10  $\mu$ mol/L 的 SB203580 预处理 HBZY-1 细胞 30 min 后,再以上述相同浓度的高葡萄糖、高胰岛素、过氧化氢和 AGEs 分别孵育相同的时间。

1.4.2 第二大组 (1)对照组:用等体积的 PBS 孵育细胞系 HBZY-1 相应时间;(2)高糖组、(3)高胰岛素组、(4)过氧化氢组、(5)AGEs 组分组情况与上述第一大组中的(2)~(5)相同;(6)亚硒酸钠-高糖组(Se-HG 组)、(7)亚硒酸钠-胰岛素组(Se-HI 组)、(8)亚硒酸钠-过氧化氢组(Se-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组)及(9)亚硒酸钠-AGEs 组(Se-AGEs 组):用 100 nmol/L 亚硒酸钠刺激细胞系 HBZY-1 48 h 后,分别再以上述(2)~(5)相同浓度的高葡萄糖、高胰岛素、过氧化氢和 AGEs 孵育相同时间。

1.5 RT-PCR 法检测 PPAR $\gamma$  mRNA 表达 以柱离心式总 RNA 抽提试剂盒提取大鼠肾小球系膜细胞系 HBZY-1 总 RNA,测定总 RNA 浓度,计算其纯度,  $D_{260}/D_{280}$  均在 1.8~2.0 之间。PPAR $\gamma$ <sup>[10]</sup> 上游引物:5' - TGA CCA CTC CCA TTC CTT TG-3',下游引物 5' - TTT CCT GTC AAG ATC GCC CT-3';扩增片段长度 642 bp。 $\beta$ -actin 作为内参照

物,上游引物 5'-TCC TCT GAC TTC AAC AGC GAC ACC-3',下游引物 5'-TCT CTC TTC CTC TTG TGC TCT TGG-3',扩增片段长度 228 bp。以两步法 RT-PCR 试剂盒进行逆转录扩增,扩增条件:94℃变性 30 s,55℃退火 1 min,72℃延伸 1 min,共 35 个循环,72℃最后延伸 7 min。每次 PCR 反应至少重复 3 次。PCR 产物于 1.5% 琼脂糖凝胶电泳,结果经图像分析系统扫描存图,并对目的条带进行密度分析。

**1.6 Western 印迹法检测磷酸化 p38MAPK 蛋白表达** 培养的细胞系 HBZY-1,经 4℃胞质蛋白提取液[0.5 mol/L 蔗糖,10 mmol/L HEPES(pH 7.9),1.5 mmol/L MgCl<sub>2</sub>,10 mmol/L KCl,1 mmol/L EDTA,10% 甘油,1 mmol/L DTT,1 mmol/L PMSF,5 μg/ml Aprotinin 和 5 μg/ml Leupeptin]裂解,提取物在冰上孵育 2 h,然后 12 000×g 4℃离心 10 min。上清中的胞质蛋白浓度经考马斯亮蓝法定量;沉淀加入 4℃预冷的核蛋白提取液,震荡混匀,冰浴 1 h;12 000×g 4℃离心 30 min;取上清为核蛋白,其蛋白浓度经考马斯亮蓝法定量。

磷酸化 p38MAPK 蛋白表达量采用 Western 印迹法检测,核蛋白中加入等体积 2×上样缓冲液(114 mmol/L, pH 6.8,9% 甘油,2.7% SDS,0.02% 溴酚蓝,4.5% 巯基乙醇),煮沸 5 min;进行 10% SDS-PAGE,将蛋白转至 PVDF 膜后用 5% BSA[以 TBST(10 mmol/L Tris, pH 8.0,150 mmol/L NaCl 和 0.05% Tween 20)稀释]室温下封闭 2 h,用 1:2 000 抗磷酸化 p38MAPK 兔多抗 4℃孵育过夜,PBS 充分洗涤,再用辣根过氧化物酶标记的羊抗兔 IgG 1:5 000,37℃孵育 1 h,PBS 充分洗涤,DAB 显色试剂盒显色。结果经图像分析系统对目的条带进行扫描存图并进行密度分析。

**1.7 统计学处理** 所有数据用  $\bar{x} \pm s$  表示,多组间计量资料比较采用 SAS 统计分析软件包进行 *F* 检验,再作两两比较 *t* 检验。

## 2 结果

HG、HI、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 和 AGEs 组均可使大鼠肾小球系膜细胞 HBZY-1 PPAR $\gamma$  mRNA 表达显著减少,与对照组比差异显著( $P < 0.01$ );而各预处理组大鼠肾小球系膜细胞系 HBZY-1 PPAR $\gamma$  mRNA 表达量分别较相应未经 SB203580 预处理各组明显增加

( $P < 0.01$ ),但与对照组比较仍有显著差异( $P < 0.01$ )。HG、HI、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 和 AGEs 均可作为独立因素激活 p38MAPK,细胞系 HBZY-1 磷酸化 p38MAPK 蛋白表达明显增加,而 PPAR $\gamma$  mRNA 表达明显减少,与对照组比较有显著差异( $P < 0.01$ )。亚硒酸钠预处理细胞系 HBZY-1 后,磷酸化 p38MAPK 蛋白表达量分别较相应未经亚硒酸钠预处理各组显著减少( $P < 0.01$ ),但与对照组比较仍有显著差异( $P < 0.01$ );而 PPAR $\gamma$  mRNA 表达量分别较相应未经亚硒酸钠预处理各组明显增加( $P < 0.01$ ),但与对照组比较仍有显著差异( $P < 0.01$ ),详见图 1~3 及表 1。

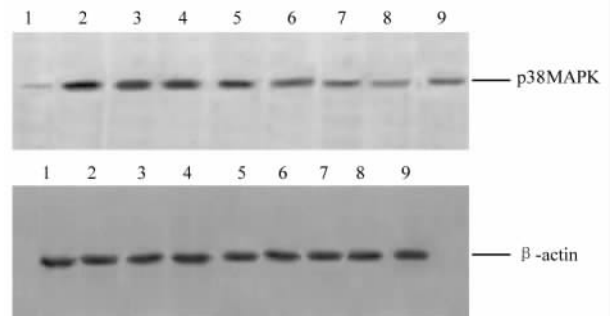


图 1 Western 印迹法检测亚硒酸钠预处理各组 HBZY-1 细胞磷酸化 p38MAPK 蛋白表达

Fig 1 Protein expression of phospho-p38MAPK in HBZY-1 cells of selenite pre-treatment groups by Western blot

1: Control group; 2: HG group; 3: HI group; 4: H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> group; 5: AGEs group; 6: Selenite-HG group; 7: Selenite-HI group; 8: Selenite-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> group; 9: Selenite-AGEs group

## 3 讨论

近来国外研究发现,PPAR $\gamma$  的激活可能具有直接的肾脏保护作用,其作用机制尚未完全阐明,可能由以下几点:(1)对血糖的调节:长期高血糖可直接影响肾脏细胞外基质的合成/降解及糖化状态,PPAR $\gamma$  的激活可通过降低血糖而延缓 DN 的发展。(2)对系膜细胞的直接作用:多种动物和人类肾小球系膜细胞都有 PPAR $\gamma$  mRNA 的表达;有学者发现体外培养的系膜细胞不仅可以表达 PPAR $\gamma$ ,还能产生 PPAR $\gamma$  内源性配体 15d-PGJ<sub>2</sub> 的前体<sup>[1]</sup>,从而表明,肾小球系膜细胞中可能存在 PPAR $\gamma$  旁分泌系统;Nicholas 等<sup>[2]</sup>发现,PPAR $\gamma$  激活可抑制肾小球系膜细胞的增殖,减少高滤过率和蛋白尿,降低纤溶酶原激活物抑制物(PAI)-1 的表达,从而减少 ECM

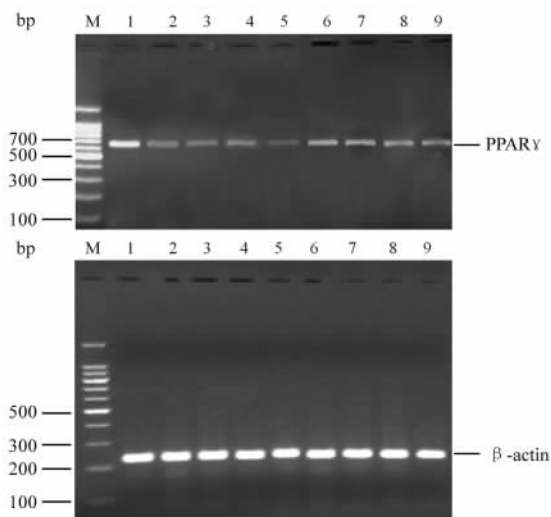


图 2 RT-PCR 法检测 SB203580 预处理各组 HBZY-1 细胞 PPAR $\gamma$  mRNA 表达

Fig 2 Expression of PPAR $\gamma$  mRNA in HBZY-1 cells of SB203580 pre-treatment groups by RT-PCR

M: Marker; 1: Control group; 2: HG group; 3: HI group; 4: H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> group; 5: AGEs group; 6: SB-HG group; 7: SB-HI group; 8: SB-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> group; 9: SB-AGEs group

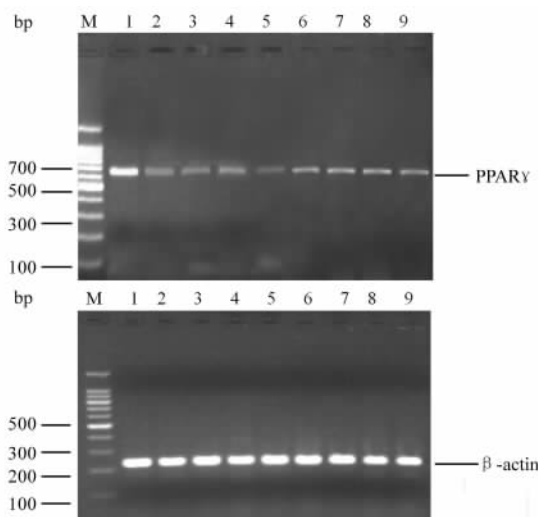


图 3 RT-PCR 法检测亚硒酸钠预处理各组 HBZY-1 细胞 PPAR $\gamma$  mRNA 表达

Fig 3 mRNA expression of PPAR $\gamma$  in HBZY-1 cells of selenite pre-treatment groups by RT-PCR

M: Marker; 1: Control group; 2: HG group; 3: HI group; 4: H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> group; 5: AGEs group; 6: Selenite-HG group; 7: Selenite-HI group; 8: Selenite-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> group; 9: Selenite-AGEs group

表 1 各组 HBZY-1 细胞磷酸化 p38MAPK 蛋白及 PPAR $\gamma$  mRNA 半定量结果  
Tab 1 Expression of phospho-p38MAPK protein and PPAR $\gamma$  mRNA in HBZY-1 cells

(n=6,  $\bar{x} \pm s$ )

Group	p38MAPK	PPAR $\gamma$ mRNA	
		Selenite pre-treatment	SB203580 pre-treatment
Control	0.296 8±0.014 0	1.092 9±0.024 3	1.110 3±0.024 8
HG	1.564 2±0.055 3**	0.436 0±0.019 8**	0.377 3±0.018 4**
HI	1.474 2±0.042 0**	0.532 6±0.020 9**	0.399 5±0.017 6**
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	1.469 1±0.050 6**	0.370 8±0.027 4**	0.388 7±0.020 2**
AGEs	1.359 2±0.045 7**	0.551 8±0.028 4**	0.426 1±0.016 4**
Se-HG	0.450 1±0.017 9** $\Delta\Delta$	0.882 4±0.016 2** $\Delta\Delta$	0.897 3±0.020 1** $\Delta\Delta$
Se-HI	0.353 5±0.014 3** $\Delta\Delta$	0.807 0±0.028 8** $\Delta\Delta$	0.871 0±0.017 2** $\Delta\Delta$
Se-H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	0.377 5±0.015 0** $\Delta\Delta$	0.720 6±0.012 9** $\Delta\Delta$	0.789 7±0.017 7** $\Delta\Delta$
Se-AGEs	0.429 2±0.015 1** $\Delta\Delta$	0.830 6±0.021 5** $\Delta\Delta$	0.851 9±0.021 7** $\Delta\Delta$

\*\* P<0.01 vs control group;  $\Delta\Delta$  P<0.01 vs corresponding stimulating group; HG: High glucose; HI: High insulin; Se: Selenite

在肾小球的聚积,并可抑制 PKC/细胞外信号调节激酶(ERK)通路;Tsuchiya 等<sup>[12]</sup>研究显示,PPAR $\gamma$  的激活可诱导大鼠系膜细胞凋亡,并可降低丝裂原活化蛋白(MAP)激酶活性。上述结果表明,PPAR $\gamma$  的激活对糖尿病肾小球具有直接保护作用,其机制可能是通过抑制 DN 早期系膜增殖而发挥作用,表明 PPAR $\gamma$  在延缓 DN 过程中具有一定的作用。因此,肾小球 PPAR $\gamma$  的激活可能将成为 DN 治疗的一个新靶点。

本研究结果显示,正常对照组大鼠肾小球系膜细胞可见 PPAR $\gamma$  mRNA 功能性表达, p38MAPK

只有微量表达;高葡萄糖、高胰岛素、过氧化氢及 AGEs 均可激活 p38MAPK,使其磷酸化表达明显增加,而 PPAR $\gamma$  mRNA 表达显著减少; p38MAPK 特异性抑制剂 SB203580 可通过抑制 p38MAPK,而上调大鼠肾小球系膜细胞 PPAR $\gamma$  mRNA 的表达,提示在大鼠肾小球系膜细胞, p38MAPK 对 PPAR $\gamma$  具有拮抗作用,其机制尚未完全明确,结合文献<sup>[13,14]</sup>和本实验结果我们认为可能有以下几种几点:(1)4 种刺激因素通过直接激活 p38MAPK 和 AP-1 信号通路,从而导致系膜细胞 PPAR $\gamma$  表达减少;(2)4 种刺激因素通过激活 PKC-p38MAPK 通路,继而激活

NF- $\kappa$ B,而NF- $\kappa$ B对PPAR $\gamma$ 的活性具有抑制作用,从而使其PPAR $\gamma$ 表达下调;(3)4种刺激因素激活二脂酰甘油-蛋白激酶C-细胞外信号调节激酶(DAG-PKC-ERK)途径,从而下调PPAR $\gamma$ 表达;其确切机制尚需进一步研究。

硒是机体必需微量元素之一,近年来硒与心血管疾病,肾脏疾病以及癌症的关系已引起人们普遍关注,研究表明,硒是谷胱甘肽过氧化物酶的重要组成部分,该酶的主要功能是清除体内脂质过氧化物,维持细胞膜的完整性,缺硒可出现拟高血糖症病理状态,引起白蛋白尿和肾小球硬化从而加剧糖尿病肾病的发生发展;补充硒不仅可预防氧化应激,而且也可防止肾脏损伤<sup>[15,16]</sup>。本研究结果发现亚硒酸钠能抑制p38MAPK磷酸化,增加PPAR $\gamma$ 在系膜细胞的表达,与SB203580所产生的作用类似,但其机制有待进一步研究。

总之,本研究结果表明,p38MAPK对PPAR $\gamma$ 具有拮抗作用;亚硒酸钠具有类似SB203580所产生的作用,可抑制p38MAPK信号通路而上调PPAR $\gamma$ 基因表达,提示其可能成为治疗糖尿病肾病的一条新途径。

## [参考文献]

- [1] Nicholas SB, Kawano Y, Wakino S, et al. Expression and function of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma in mesangial cells[J]. Hypertension, 2001, 37(2 Part 2):722-727.
- [2] Guan Y. Peroxisome proliferator-activated receptor family and its relationship to renal complications of the metabolic syndrome[J]. J Am Soc Nephrol, 2004, 15:2801-2815.
- [3] Hsueh WA, Nicholas SB. Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma in the renal mesangium[J]. Curr Opin Nephrol Hypertens, 2002, 11:191-195.
- [4] Escher P, Wahli W. Peroxisome proliferator-activated receptors: insight into multiple cellular functions[J]. Mut Res, 2000, 448:121-138.
- [5] Igarashi M, Wakasaki H, Takahara N, et al. Glucose or diabetes activates p38 mitogen-activated protein kinase via different pathways[J]. J Clin Invest, 1999, 103:185-195.
- [6] Kang SW, Natarajan R, Shahed A, et al. Role of 12-lipoxygenase in the stimulation of p38 mitogen-activated protein kinase and collagen alpha 5(IV) in experimental diabetic nephropathy and in glucose-stimulated podocytes[J]. J Am Soc Nephrol, 2003, 14:3178-3187.
- [7] Dai T, Natarajan R, Nast CC, et al. Glucose and diabetes: Effects on podocyte and glomerular p38MAPK, heat shock protein 25, and actin cytoskeleton[J]. Kidney Int, 2006, 69:806-814.
- [8] Reddi AS, Bollineni JS. Selenium-deficient diet induces renal oxidative stress and injury via TGF-beta 1 in normal and diabetic rats[J]. Kidney Int, 2001, 59:1342-1353.
- [9] Makita Z, Vlassara H, Cerami A, et al. Immunochemical detection of advanced glycosylation end products *in vivo* [J]. J Boil Chem, 1992, 267:5133-5138.
- [10] Masamune A, Satoh K, Sakai Y, et al. Ligands of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma induce apoptosis in AR42J cells[J]. Pancreas, 2002, 24:130-138.
- [11] Reilly CM, Oates JC, Cook JA, et al. Inhibition of mesangial cell nitric oxide in MRL/lpr mice by prostaglandin J2 and proliferator activation receptor-gamma agonists[J]. J Immunol, 2000, 164:1498-1504.
- [12] Tsuchiya T, Shimizu KH, Shimomura K, et al. Troglitazone inhibits isolated cell proliferation, and induces apoptosis in isolated rat mesangial cells[J]. Am J Nephrol, 2003, 23:222-228.
- [13] Purves T, Middlemas A, Agthong S, et al. A role for mitogen-activated protein kinases in the etiology of diabetic neuropathy[J]. FASEB J, 2001, 15:2508-2514.
- [14] Gardner OS, Shiao CW, Chen CS, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma-independent activation of p38MAPK by thiazolidinediones involves calcium/calmodulin-dependent protein kinase II and protein kinase R: correlation with endoplasmic reticulum stress[J]. J Biol Chem, 2005, 280:10109-10118.
- [15] Ersoz G, Yakaryilmaz A, Turan B. Effect of sodium selenite treatment on platelet aggregation of streptozotocin-induced diabetic rats[J]. J Thromb Res, 2003, 111:363-367.
- [16] Sheng XQ, Huang KX, Xu HB. New experimental observation on the relationship of selenium and diabetes mellitus[J]. Biol Trace Elem Res, 2004, 99:241-253.

[收稿日期] 2005-12-21

[修回日期] 2006-03-09

[本文编辑] 孙岩

## 致读者

临床试验注册制度,是指将临床试验的研究计划预先注册,并在国际互联网上公告,任何人均可免费查询任何临床试验的设计细节和各项标准,以及试验结果,使临床试验信息完全透明化,以利公众充分了解和评估各临床试验,及其证据强度。世界卫生组织(WHO)于2003年开始筹建国际临床试验注册平台(ICTRP),将对全球各国临床试验注册中心颁发统一标准和注册号,并在2006年6月全球同步发布ICTRP公告。本刊是获WHO授权首发ICTRP公告中文版的期刊之一,但因出刊时间限制,本刊将于下月即2006年第7期刊出此公告,同期发表的还有《中国临床试验注册和发表机制及其实施说明》,敬请各位读者关注。