

DOI:10.3724/SP.J.1008.2014.00722

· 论 著 ·

SIRT1 对高糖诱导的系膜细胞 NF- κ B p65 乙酰化及 MCP-1 表达的影响

杜月光^{1*}, 柴可夫², 汪丽佩¹

1. 浙江中医药大学病理生理学教研室, 杭州 310053

2. 浙江中医药大学中医临床基础研究所, 杭州 310053

[摘要] **目的** 探讨沉默信息调节因子 1(SIRT1)对高糖诱导的大鼠肾小球系膜细胞(RMC)核因子 κ B(NF- κ B) p65 蛋白乙酰化及单核细胞趋化蛋白 1(MCP-1)表达的影响。**方法** 构建干扰 SIRT1 基因的 shRNA 慢病毒质粒 pTRC-shSIRT1 并进行鉴定。将 RMC 分为高糖组(用高糖培养液培养)、白藜芦醇(SIRT1 激活剂)+高糖组(用含 1 μ mol/L 白藜芦醇的低糖培养液培养 24 h 后,换用高糖培养液培养)、SIRT1 RNAi 组(添加干扰病毒 pTRC-shSIRT1 感染 4 h 后,换用低糖培养液培养)、SIRT1 RNAi+高糖组(添加干扰病毒 pTRC-shSIRT1 感染 4 h 后,换用高糖培养液培养),同时设正常对照组和甘露醇高渗对照组。以实时荧光定量 PCR 检测 SIRT1、MCP-1 的 mRNA 表达,蛋白质印迹法检测 SIRT1 和 NF- κ B p65 乙酰化蛋白的表达,ELISA 技术检测 MCP-1 蛋白含量。**结果** 质粒测序证实干扰 SIRT1 基因的 shRNA 慢病毒载体构建成功,且能抑制 RMC 中 SIRT1 基因表达($P<0.01$)。高糖刺激使 RMC SIRT1 基因表达降低,NF- κ B p65 蛋白乙酰化增强,MCP-1 mRNA 和蛋白水平增高;SIRT1 激活剂白藜芦醇可逆转高糖引起的变化;而沉默 SIRT1 可促进高糖诱导的 RMC NF- κ B p65 乙酰化及 MCP-1 mRNA 和蛋白表达($P<0.05$ 或 0.01)。**结论** SIRT1 可抑制高糖诱导的 RMC MCP-1 表达,其机制可能与 NF- κ B p65 去乙酰化有关。

[关键词] RNA 干扰;沉默信息调节因子 1;NF- κ B;单核细胞趋化蛋白 1;肾小球系膜细胞;糖尿病肾病

[中图分类号] R587.24 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2014)07-0722-05

Effect of SIRT1 on high glucose-induced NF- κ B p65 subunit acetylation and MCP-1 expression in rat mesangial cells

DU Yue-guang^{1*}, CHAI Ke-fu², WANG Li-pei¹

1. Department of Pathophysiology, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, Zhejiang, China

2. TCM Clinical Research Institute, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, Zhejiang, China

[Abstract] **Objective** To explore the effect of silent information regulator 1(SIRT1) on high glucose-induced nuclear factor- κ B (NF- κ B) p65 subunit acetylation and monocyte chemoattractant protein 1 (MCP-1) expression in rat mesangial cells (RMCs). **Methods** The lentiviral shRNA plasmid pTRC-shSIRT1 was constructed for interference of SIRT1 gene and was identified. The RMCs were divided into high glucose group (treated with high glucose culture medium), resveratrol (SIRT1 activator)+high glucose group (treated with low glucose culture medium containing 1 μ mol/L resveratrol for 24 h, and then with high glucose culture medium), SIRT1 RNAi group (4 h after viral pTRC-shSIRT1 infection, and then treated with low-glucose culture medium), SIRT1 RNAi + high glucose group (4 h after viral pTRC-shSIRT1 infection, and then treated with high glucose culture medium); we also established normal control group and hypertonic mannitol control group. The mRNA expression of SIRT1 and MCP-1 gene was analyzed by real-time quantitative PCR; the protein expression of SIRT1 and the acetylation of NF- κ B p65 subunit were observed by Western blotting analysis. The protein level of MCP-1 in the supernatants was detected by ELISA. **Results** DNA sequencing confirmed the successful construction of the plasmid pTRC-shSIRT1, which could knocked down SIRT1 mRNA expression($P<0.01$). High glucose decreased SIRT1 expression and promoted acetylation of NF- κ B p65 subunit, and increased MCP-1 mRNA and protein expression. Resveratrol, an activator of SIRT1, could reverse the above changes induced by high glucose. Conversely, silencing SIRT1 gene significantly accelerated the high glucose-induced acetylation of NF- κ B p65 subunit and MCP-1 expression at both mRNA and protein levels($P<0.01$ or $P<0.05$). **Conclusion**

[收稿日期] 2013-12-09 **[接受日期]** 2014-03-08

[基金项目] 浙江省自然科学基金(Y2110849). Supported by Natural Science Foundation of Zhejiang Province(Y2110849).

[作者简介] 杜月光,博士,教授。

* 通信作者(Corresponding author). Tel: 0571-86633140, E-mail: duyueguang@163.com

SIRT1 can inhibit high glucose-induced MCP-1 mRNA and protein expression in RMCs, which may involve NF- κ B p65 deacetylation.

[Key words] RNA interference; silent information regulator 1; NF- κ B; monocyte chemoattractant protein 1; mesangial cells; diabetic nephropathy

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2014, 35(7): 722-726]

糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)是常见的糖尿病微血管并发症之一。近年研究发现,炎症是DN持续发展的关键因素,其中核因子 κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)及单核细胞趋化蛋白1(monocyte chemoattractant protein 1, MCP-1)起重要的介导作用^[1-2],但其确切的分子机制仍不明确。沉默信息调节因子1(silent information regulator 1, SIRT1)是一种依赖烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD⁺)的组蛋白去乙酰化酶,通过对组蛋白、多种转录因子的翻译后修饰(去乙酰化),调节相关基因转录活性,参与细胞衰老、寿命延长、抗氧化应激和能量代谢等多种细胞功能活动的调节,与衰老相关性疾病、代谢性疾病等密切相关^[3]。研究表明,SIRT1可使NF- κ B亚单位RelA/p65去乙酰化,进而抑制其转录活性,减少炎症因子的产生,防止炎症引起的损伤^[4-5]。在对肾脏疾病的研究中发现,SIRT1可以通过抑制肾脏固有细胞的凋亡、炎症反应、自噬等多种途径,延缓多种肾脏疾病包括DN的进展^[6]。本研究通过观察沉默SIRT1基因和激活SIRT1对高糖诱导的系膜细胞NF- κ B p65蛋白乙酰化水平及MCP-1表达的影响,从炎症角度探讨SIRT1对高糖诱导的系膜细胞损伤的保护作用。

1 材料和方法

1.1 实验材料 大鼠肾小球系膜细胞株(rat mesangial cells, RMC)由杭州市中医院肾病中心惠赠, HEK293T细胞株购自ATCC,感受态细胞JM109购自杭州浩基生物科技有限公司。低糖DMEM培养基、高糖DMEM培养基购自Hyclone公司,胎牛血清购自普飞生物公司。限制性内切酶Age I、EcoR I和T₄ DNA连接酶购自Fermentas公司; 10×M Buffer、实时荧光定量PCR试剂盒SYBR[®] Premix Ex Taq[™] (Perfect Real Time)购自TaKaRa公司;慢病毒载体系统购自杭州浩基生物科技有限公司,包括pTRC-EGFP、pTRC-Scramble-EGFP、pHelper和pVSVG, pTRC-EGFP载体含有能持续表达小RNA的元件,同时能表达增强型绿色荧光蛋白(EGFP);抗SIRT1抗体购自Abcam公司

(ab104833);抗乙酰化NF- κ B p65抗体购自Santa Cruz(PA5-17264);MCP-1(MJE00)ELISA检测试剂盒购自R&D公司。

1.2 shSIRT慢病毒载体的构建和鉴定 根据SIRT1(XM_003751934.1)基因信息,利用RNAi在线设计软件,设计合成针对SIRT1基因的有效寡核苷酸靶序列5'-CCT GAA AGA ACT GTA CCA CAA-3'(位于SIRT1基因的1 573~1 593 bp处),并合成针对靶序列的两条互补单链寡脱氧核苷酸(DNA Oligo):正向5'-CCG GCC TGA AAG AAC TGT ACC ACA ACT CGA GTT GTG GTA CAG TTC TTT CAG GTT TTT G-3';反向5'-AAT TCA AAA ACC TGA AAG AAC TGT ACC ACA ACT CGA GTT GTG GTA CAG TTC TTT CAG G-3'(内含Age I和EcoR I酶切位点),经退火形成双链DNA,与经Age I、EcoR I双酶切后的pTRC-EGFP连接,转化感受态细胞JM109,转移到含Amp抗性的LB琼脂培养基上37℃培养,挑选阳性克隆,送Invitrogen公司测序。

取状态良好、处于对数生长期的RMC接种于6孔板中,每孔细胞数约为 5×10^4 个,加入pTRC-shSIRT1病毒及助转剂至终浓度8 μ g/mL,轻轻摇晃混匀,放入37℃ 5%CO₂培养箱培养4~6 h后,更换完全培养液继续培养。同时设置未感染组和空载体(pTRC-scramble-EGFP病毒)对照组。3 d后通过荧光倒置显微镜观察报告基因EGFP的表达情况及SIRT1 mRNA和蛋白的表达情况。

1.3 实验分组 处于对数生长期的RMC用含10% FBS和青链霉素的低糖DMEM培养液培养,待贴壁生长到融合度在50%~70%,换无血清培养液。根据加入刺激物的不同分为:(1)高糖组,用高糖培养液培养;(2)白藜芦醇(SIRT1激活剂)+高糖组,用含1 μ mol/L白藜芦醇的低糖培养液培养24 h后,换用高糖培养液培养;SIRT1 RNAi组,加入干扰病毒pTRC-shSIRT1感染4 h后,换用低糖培养液培养;SIRT1 RNAi+高糖组,添加干扰病毒感染4 h后,换用高糖培养液培养,同时设正常对照组和甘露醇高渗对照组,每组设3个复孔。

1.4 实时荧光定量 PCR 检测 SIRT1 和 MCP-1 mRNA 的表达 收集细胞,用 TRIzol 提取 RNA,测定并计算 RNA 的纯度和浓度;取 RNA 在反转录酶的作用下合成 cDNA,用 SYBR Green 嵌合荧光法进行实时 PCR 扩增。荧光引物采用 Primer Premier 6.0 和 Beacon designer 软件进行设计,由上海生物工程有限公司负责合成。18S (基因序列号: M11188)上游引物为 5'-GAA TTC CCA GTA AGT GCG GGT CAT A-3', 下游引物为 5'-CGA GGG CCT CAC TAA ACC ATC-3', 扩增产物长度为 105 bp; SIRT1 (基因序列号: XM_003751934.1) 上游引物为 5'- CAG GTA CAG GAA TTG CTC CAC CA-3', 下游引物为 5'-CTG ATC TCC TTG TTC AAG TTC ACA G-3', 扩增产物长度为 85 bp; MCP-1(基因序列号: M57441) 上游引物为 5'-CAC CTG CTG CTA CTC ATT CAC TG-3', 下游引物为 5'-CTT CTT TGG GAC ACC TGC TGC T-3', 扩增产物长度为 93 bp。反应体系: ddH₂O 10.5 μL, SYBR[®] Premix Ex Taq[™] (2×) 12.5 μL, 上游引物(10 μmol/L) 0.5 μL, 下游引物(10 μmol/L) 0.5 μL, 模板 cDNA 1.0 μL, 总体系量 25 μL。反应条件: 95℃ 预变性 1 min; 95℃ 变性 10 s, 62℃ 退火延伸 25 s, 45 个循环。在每个循环的延伸阶段读取光密度值。每个样品重复 3 次, 取其循环阈值(Ct) 均值, 分别计算各组的 ΔCt(Ct_{内参基因} - Ct_{目的基因}), 再以正常组细胞为 1 进行均一化, 以 2^{-ΔΔCt} 表示基因的相对表达水平。

1.5 蛋白质印迹法检测 SIRT1 和 NF-κB p65 乙酰化蛋白的表达 收集细胞, 采用总蛋白提取试剂盒提取细胞总蛋白, 用 BCA 法对提取的蛋白进行浓度测定。取 60 μg 总蛋白进行 SDS-PAGE。电泳完毕后将蛋白转移到 PVDF 膜上。将膜放入 T-TBS(含 3% 脱脂奶粉) 封闭 1 h 后, 分别加入一抗(SIRT1: 1 : 1 000; 乙酰化 NF-κB p65: 1 : 500) 4℃ 孵育过夜, 洗膜, 然后用二抗(1 : 5 000) 室温孵育 1 h, 在暗室中用增强化学发光检测试剂显色, 拍片晾干。采用 Bandscan 5.0 软件分析条带的光密度值, 目的蛋白相对表达量 = 目的蛋白光密度值 / 内参 β-actin 光密度值。

1.6 ELISA 检测细胞上清液中 MCP-1 蛋白含量 收集细胞培养上清液, 按照 MCP-1 ELISA 试剂盒说明书操作测定其浓度。

1.7 统计学处理 采用 SPSS 11.0 统计软件进行统计学分析, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间差异的比较采用方差分析。检验水准(α) 为 0.05。

2 结果

2.1 干扰 SIRT1 基因的 shSIRT 慢病毒载体构建成功 测序结果表明设计合成的寡核苷酸已经正确插入到 pTRC-EGFP 载体中。将 pTRC-shSIRT1 病毒感染 RMC 后, 绝大多数细胞表达绿色荧光蛋白, 细胞感染效率在 90% 以上(图 1A)。实时荧光定量 PCR 和蛋白质印迹结果显示, 与空载体对照组和未感染组相比, pTRC-shSIRT1 病毒感染组 SIRT1 mRNA 和蛋白表达水平均明显下调(图 1B、1C)。

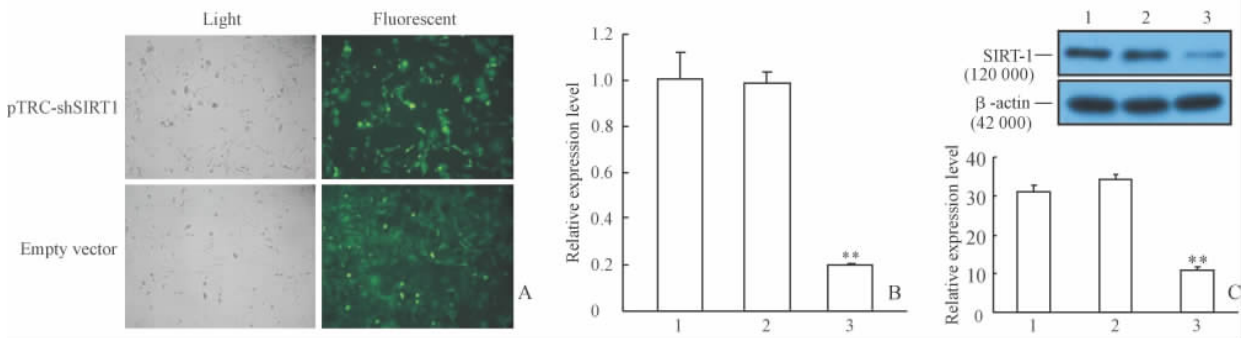


图 1 pTRC-shSIRT1 病毒感染 RMC 后 EGFP 和 SIRT1 的表达

Fig 1 Expression of EGFP and SIRT1 in RMCs after infection with pTRC-shSIRT1 infection

A: Expression of EGFP in RMCs under fluorescent microscope; B: SIRT1 mRNA expression detected by real-time PCR; C: SIRT1 protein expression detected by Western blotting analysis. 1: Non-transfected group; 2: Empty vector; 3: pTRC-shSIRT1 transfected group. RMCs: Rat mesangial cells; EGFP: Green fluorescent protein; SIRT1: Silent information regulator 1. Original magnification: ×100(A). ** P<0.01 vs non-transfected group and empty vector group; n=3, $\bar{x} \pm s$

2.2 激活和沉默 SIRT1 对高糖诱导的系膜细胞 SIRT1 表达的影响 实时荧光定量 PCR 结果和蛋白质印迹结果显示, 高糖刺激可抑制 SIRT1 mRNA

和蛋白的表达, 与正常对照组比较差异有统计学意义(P<0.01)。采用 SIRT1 激活剂白藜芦醇预处理可使高糖介导的 SIRT1 mRNA 和蛋白表达增加, 与

高糖组比较差异有统计学意义 ($P < 0.01$); 通过 SIRT1 RNAi 干扰可使高糖介导的 SIRT1 mRNA 和蛋白表达进一步减少, 其中 SIRT1 蛋白表达与高糖组比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。结果详见表 1、图 2A。

2.3 激活和沉默 SIRT1 对高糖诱导的 RMC 乙酰化 NF- κ B p65 蛋白表达的影响 蛋白质印迹结果 (图

2B) 显示, 高糖诱导 24 h 后可使乙酰化 NF- κ B p65 蛋白表达增加, 与正常对照组比较差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。以 RNA 干扰技术使 SIRT1 沉默后, 可促进高糖诱导的 RMC NF- κ B 蛋白乙酰化水平, 与高糖组比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。相反, 白藜芦醇干预可以降低高糖诱导的 NF- κ B 蛋白乙酰化水平, 与高糖组比较差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。

表 1 各组细胞 MCP-1 mRNA、MCP-1 蛋白和 SIRT1 mRNA 的表达情况

Tab 1 Expression of MCP-1 mRNA, MCP-1 protein and SIRT1 mRNA in each group

$n=3, \bar{x} \pm s$

Group	SIRT1 mRNA	MCP-1 protein $\mu\text{g}/(\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1})$	MCP-1 mRNA
Normal control	1.000 \pm 0.012	146.87 \pm 7.65	1.000 \pm 0.014
Mannitol	1.050 \pm 0.022	148.39 \pm 7.34	0.865 \pm 0.003
High glucose	0.474 \pm 0.014 **	195.49 \pm 13.97 **	1.923 \pm 0.023 **
Resveratrol+high glucose	0.734 \pm 0.023 $\Delta\Delta$	150.35 \pm 6.80 Δ	1.128 \pm 0.016 $\Delta\Delta$
SIRT1 RNAi	0.284 \pm 0.010 **	207.87 \pm 9.25 **	1.963 \pm 0.013 **
SIRT1 RNAi+high glucose	0.291 \pm 0.015 Δ	208.13 \pm 8.15 Δ	1.956 \pm 0.021 Δ

SIRT1: Silent information regulator 1; MCP-1: Monocyte chemoattractant protein 1. ** $P < 0.01$ vs normal control group; $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$ vs high glucose group. $n=3, \bar{x} \pm s$

2.4 激活和沉默 SIRT1 对高糖诱导的系膜细胞 MCP-1 mRNA 和蛋白表达的影响 实时荧光定量 PCR 结果和 ELISA 结果显示, 高糖诱导 24 h 后可促进 MCP-1 mRNA 和蛋白的表达, 与正常对照组比较差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。以 RNA 干扰

技术使 SIRT1 沉默可进一步上调高糖诱导的 RMC MCP-1 表达水平, 与高糖组比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。相反, 白藜芦醇干预可使高糖诱导的 MCP-1 表达降低, 与高糖组比较差异有统计学意义 ($P < 0.05, P < 0.01$)。结果见表 1。

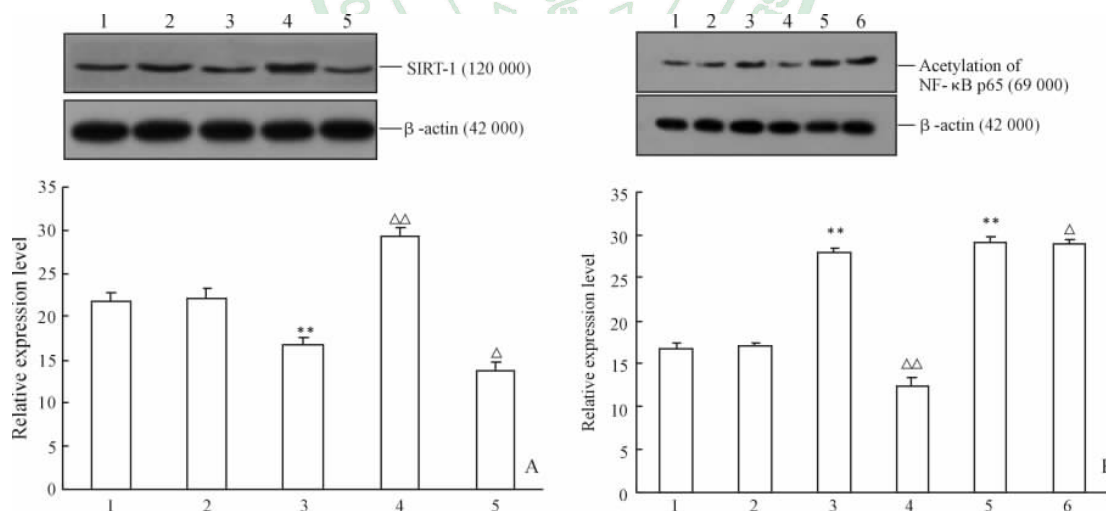


图 2 各组细胞 SIRT1 蛋白表达 (A) 及 NF- κ B p65 乙酰化水平 (B)

Fig 2 Expression of SIRT1 protein (A) and acetylation of NF- κ B p65 (B) in each group

1: Normal control group; 2: Mannitol group; 3: High glucose group; 4: Resveratrol+high glucose group; 5: SIRT1 RNAi group; 6: SIRT1 RNAi + high glucose group. SIRT1: Silent information regulator 1; NF- κ B p65: Nuclear factor- κ B p65 subunit. ** $P < 0.01$ vs normal control group; $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$ vs high glucose group. $n=3, \bar{x} \pm s$

3 讨论

糖尿病时由高糖诱发的多元醇通路活跃、肾素-血管紧张素系统 (RAS) 活性增加、糖基化产物 (ad-

vanced glycation end-products, AGEs) 的形成、蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC) 和氧化应激以及各种细胞因子介导的炎症反应都可引起肾脏的损伤^[2], 其中炎症反应是关键因素。NF- κ B 是调控炎

症反应的关键蛋白^[7],由 p50 和 p65 两个蛋白亚基组成。在静息状态下,NF- κ B 与其抑制因子 I κ B 相结合,使 NF- κ B 以无活性的形式存在于胞质中;当细胞受到各种刺激后,I κ B 发生酶解,NF- κ B 被活化。近年诸多研究表明,NF- κ B p65 310 赖氨酸乙酰化水平对 NF- κ B 的活性至关重要:NF- κ B p65 310 赖氨酸乙酰化,RelA/p65 亚单位不能与 I κ B α 结合,进入核内,与 DNA 相关元件结合,刺激相关基因表达;相反,RelA/p65 亚单位去乙酰化,允许 NF- κ B/I κ B α 相互作用,进而抑制 NF- κ B 活性^[8-9]。研究表明,SIRT1 激活能使 NF- κ B 的 RelA/p65 亚单位去乙酰化,进而抑制 NF- κ B 的转录活性,从而改善炎症^[4-5]。Yoshizaki 等^[10] 研究结果显示,SIRT1 的激活使 RelA/p65 亚单位去乙酰化,从而抑制 TNF- α 诱导的炎症反应,而敲除 3T3-L1 脂肪细胞 SIRT1 基因,可增加 NF- κ B p65 的乙酰化水平,增强与炎症相关因子基因增强子的结合。

肾小球系膜细胞是肾小球固有细胞中反应最活跃的细胞,在 DN 早期即可分泌大量炎症因子,致使细胞外基质(extracellular matrix, ECM)积聚,导致肾小球硬化。研究发现,限制热量摄入可通过激活 SIRT1 进而抑制炎症和促进自噬改善 DN;SIRT1 的激活剂白藜芦醇可以通过 p53 途径和 FOX 途径减轻高糖诱导的系膜细胞氧化应激水平、维持正常的线粒体结构和功能,阻断 TGF- β ₁ 诱导的系膜细胞凋亡^[11-13]。但是系膜细胞中,SIRT1 与 NF- κ B p65 之间是否存在相互作用尚未见报道。本研究分别采用沉默 SIRT1 处理和白藜芦醇干预,观察高糖诱导的 RMC NF- κ B p65 的乙酰化水平及 MCP-1 表达的变化。结果显示,高糖刺激使 RMC 表达 SIRT1 减少。由于 SIRT1 含量的降低,SIRT1 介导的抗炎作用被削弱,即 NF- κ B p65 乙酰化水平升高,MCP-1 基因及蛋白表达增加。白藜芦醇预处理能逆转高糖诱导引起的 SIRT1 表达降低,使 NF- κ B p65 乙酰化水平降低,MCP-1 基因及蛋白表达减少。而沉默 SIRT1 基因却促进了高糖的作用,使 NF- κ B p65 乙酰化水平和 MCP-1 表达进一步升高。这提示 SIRT1 可通过 NF- κ B p65 亚单位去乙酰化在高糖诱导的系膜细胞炎症损伤中起保护作用。这可能为将来 DM 的治疗提供一种新的策略。

4 利益冲突

所有作者声明本文不涉及任何利益冲突。

[参考文献]

[1] Navarro-González J F, Mora-Fernández C, Muros de

Fuentes M, García-Pérez J. Inflammatory molecules and pathways in the pathogenesis of diabetic nephropathy [J]. Nat Rev Nephrol, 2011, 7: 327-340.

- [2] Luis-Rodríguez D, Martínez-Castelao A, Górriz J L, De-Álvarez F, Navarro-González J F. Pathophysiological role and therapeutic implications of inflammation in diabetic nephropathy [J]. World J Diabetes, 2012, 3: 7-18.
- [3] Kong X X, Wang R, Liu X J, Zhu L L, Shao D, Chang Y S, et al. Function of SIRT1 in physiology [J]. Biochemistry (Mosc), 2009, 74: 703-708.
- [4] Zhu X, Liu Q, Wang M, Liang M, Yang X, Xu X, et al. Activation of SIRT1 by resveratrol inhibits TNF- α induced inflammation in fibroblasts [J]. PLoS One, 2011, 6: e27081.
- [5] Jung Y J, Lee J E, Lee A S, Kang K P, Lee S, Park S K, et al. SIRT1 overexpression decreases cisplatin-induced acetylation of NF- κ B p65 subunit and cytotoxicity in renal proximal tubule cells [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2012, 419: 206-210.
- [6] Kume S, Kitada M, Kanasaki K, Maegawa H, Koya D. Anti-aging molecule, SIRT1; a novel therapeutic target for diabetic nephropathy [J]. Arch Pharm Res, 2013, 36: 230-236.
- [7] Schmitz M L, Mattioli I, Buss H, Kracht M. NF- κ B: a multifaceted transcription factor regulated at several levels [J]. ChemBiochem, 2004, 5: 1348-1358.
- [8] Chen L F, Fischle W, Verdin E, Greene W C. Duration of nuclear NF- κ B action regulated by reversible acetylation [J]. Science, 2001, 293: 1653-1657.
- [9] Kiernan R, Brès V, Ng R W, Coudart M P, El Messaoudi S, Sardet C, et al. Post-activation turn-off of NF- κ B-dependent transcription is regulated by acetylation of p65 [J]. J Biol Chem, 2003, 278: 2758-2766.
- [10] Yoshizaki T, Milne J C, Imamura T, Schenk S, Sonoda N, Babendure J L, et al. SIRT1 exerts anti-inflammatory effects and improves insulin sensitivity in adipocytes [J]. Mol Cell Biol, 2009, 29: 1363-1374.
- [11] Kitada M, Takeda A, Nagai T, Ito H, Kanasaki K, Koya D. Dietary restriction ameliorates diabetic nephropathy through anti-inflammatory effects and regulation of the autophagy *via* restoration of SIRT1 in diabetic Wistar fatty (fa/fa) rats; a model of type 2 diabetes [J]. Exp Diabetes Res, 2011, 2011: 908185.
- [12] Xu Y, Nie L, Yin Y G, Tang J L, Zhou J Y, Li D D, et al. Resveratrol protects against hyperglycemia-induced oxidative damage to mitochondria by activating SIRT1 in rat mesangial cells [J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2012, 259: 395-401.
- [13] Kume S, Haneda M, Kanasaki K, Sugimoto T, Araki S, Isshiki K, et al. SIRT1 inhibits transforming growth factor beta-induced apoptosis in glomerular mesangial cells *via* Smad7 deacetylation [J]. J Biol Chem, 2007, 282: 151-158.

[本文编辑] 孙 岩