

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2022. 11. 022

综 述

Nephrin 在足细胞狭缝隔膜上的作用研究进展

吴慧敏综述 钟建审校

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(82060820)

作者单位: 530001 南宁, 广西中医药大学研究生院(吴慧敏); 530023 南宁, 广西中医药大学第一附属医院肾病科(钟建)

通信作者: 钟建, E-mail: zhongjian@medmail.com.cn

【摘要】 Nephrin 是第一个被确定为狭缝隔膜(SD) 细胞外成分分子, 被认为是 SD 细胞外部分的主体, Nephrin 不仅作为细胞外 SD 过滤网络的核心成分, 而且通过其短胞内区域的相互作用介导足细胞中重要的细胞信号通路。它与 SD 上的其他组成蛋白在结构和功能上有着密切的联系, 在 SD 的结构组织、功能调节等方面有重要作用。Nephrin 在足细胞狭缝隔膜上的功能障碍与几种肾小球性蛋白尿的发生有关, Nephrin 可能成为治疗肾小球性蛋白尿新疗法的目标。文章就 Nephrin、SD 的特征及二者之间的联系进行综述。

【关键词】 Nephrin; 狭缝隔膜; 蛋白尿**【中图分类号】** R692 **【文献标识码】** A

Research progress on the role of Nephrin on the slit membrane of podocytes Wu Huimin*, Zhong Jian.* Graduate School of Guangxi University of traditional Chinese Medicine, Guangxi Province Nanni 530001, China

Corresponding author: Zhong Jian, E-mail: zhongjian@medmail.com.cn

Funding program: National Natural Science Foundation of China (82060820)

【Abstract】 Nephrin is the first molecule identified as the extracellular component of the slit septum (SD), and is considered to be the main body of the extracellular part of SD. Nephrin not only acts as the core component of the extracellular SD filtering network, but also mediates important cellular signaling pathways in podocytes through the interaction of its short intracellular regions. It is closely related to other components of SD in structure and function, and plays an important role in the structure, organization and function regulation of SD. The dysfunction of Nephrin on the foot cell slit membrane is related to the occurrence of several glomerular albuminuria, and Nephrin may become the target of new therapy for glomerular albuminuria. This article reviews the characteristics of Nephrin and SD and the relationship between them.

【Key words】 Nephrin; The slit diaphragm; Proteinuria

蛋白尿是肾脏疾病最重要的症状之一, 其中大部分为肾小球性蛋白尿。肾小球性蛋白尿与肾小球滤过屏障的病理损伤有关, 肾小球滤过屏障由 3 层组成: 肾小球内皮细胞、肾小球基底膜(glomerular basement membrane, GBM) 和肾小球脏上皮细胞(足细胞)。过去 20 余年的研究表明, 第三层足细胞是最后的屏障^[1]。足细胞是 GBM 外层终末分化的上皮细胞, 对于肾小球滤过屏障的完整性至关重要, 它们是阻止蛋白质和大分子进入尿液的主要屏障。

1 狭缝隔膜的特征

狭缝隔膜(slit diaphragms, SD) 是足细胞间一种特殊的细胞-细胞连接, 与突触有共同的特点。足细胞的足突覆盖 GBM 的外侧, 邻近足细胞的足突重叠呈交叉指状。在相邻的交叉指状足突之间形成的“滤过缝”是一个高度专门化的缝隙连接, 称为狭缝隔膜, SD 具有大小和电荷选择性滤过作用, 所以滤过屏障的选择性滤过作用依赖于 SD 的完整性, 它形成了蛋白质泄漏的主要尺寸屏障。早期的电子显微镜研究表明^[2], 狭缝膜片

呈现出拉链状的亚结构, 交替周期性的跨桥从对侧足细胞质膜延伸出来, 证明相邻足突是指间的。发育分析显示, 毛细血管袢阶段出现 SD, 并逐渐取代紧密连接。Nephrin、NEPH1、P-cadherin、FAT 和 Ephrin-B1 为形成狭缝隔膜分子筛的细胞外成分。其中 ZO-1、podocin、CD2AP、MAGI 和 Par 复合物等胞质蛋白被鉴定为连接 SD 和细胞骨架的支架蛋白。SD 不仅起到防止蛋白尿的过滤器作用, 还起到复杂的信号中枢的作用, 将不同的化学和机械刺激转移到足细胞。足细胞骨架失调或 SD 的完整性丧失可导致足细胞足突消失, 这是足细胞疾病中最常见的病理学发现^[3-4]。

2 Nephrin 的特征

Nephrin 是在研究先天性肾病综合征芬兰型时发现的, 它是第一个被确定为 SD 细胞外成分分子^[5], Nephrin 被认为是 SD 细胞外部分的主体。编码 Nephrin 的基因 NPHS1 由 Kestila 及其同事首次克隆。人类 Nephrin 被分配到染色体 19, 由 19q13.1 上的 NPHS1 基因编码, 具有端粒到着丝粒的取向。

NPHS1 主要定位于肾小球,但在睾丸、中枢神经系统、胰腺、胎盘、心脏和淋巴组织中也有表达^[6-7]。NPHS1 基因大小为 26 kb,共包含 29 个外显子,由 1 241 个残基的跨膜蛋白组成,含胞内区、跨膜区和胞外区 3 个功能域。胞内区含 9 个酪氨酸 (tyrosine, Tyr) 残基,其中 Tyr1176、Tyr1193、Tyr1210 具有被胞内酪氨酸激酶 Src 磷酸化的潜力,与含 SH2、SH3 结构的结合蛋白的亲合力显著增加,参与多种细胞信号转导^[8]。Nephrin 有 1 个很长的细胞外结构域,由 8 个 C2 型 IgG 样结构域 (Ig 区) 及 1 个 III 型纤维蛋白区域组成。每个 Ig 区含 2 个半胱氨酸残基,可与 Nephrin 分子或其他蛋白形成二硫键,与对侧足突的 Nephrin 分子或与其他 SD 蛋白发生嗜同性或异性结合,正是这些 IgG—IgG 界面形成了围绕肾小球毛细血管的拉链状 SD 网,形成了筛状结构^[9]。

Nephrin 是足细胞中维持 SD 正常结构的关键分子。Nephrin 与许多其他足细胞和 SD 蛋白相互作用,还介导足细胞中重要的细胞信号通路。Nephrin 的缺失或氨基酸序列的改变^[10-11],会导致 SD 的破坏,进而产生大量尿蛋白。在许多成人发病的肾小球疾病中,Nephrin 的表达发生改变^[12-14]。一项关于诱导性 Nephrin 基因敲除的小鼠模型研究,观察到获得性长期 Nephrin 敲除影响肾小球足细胞、系膜细胞和基质、GBM 和内皮细胞的所有成分,这表明 Nephrin 在基础条件下及在肾小球疾病中对肾小球功能至关重要^[7]。这些研究表明,Nephrin 是 SD 的关键功能分子,其功能障碍是人类肾小球疾病蛋白尿的常见致病机制之一。

3 Nephrin 与 SD 上其他分子的联系

3.1 Nephrin 与 SD 细胞外成分其他分子的联系

3.1.1 Nephrin 与 NEPH1: NEPH1 是 SD 细胞外成分的另一个关键分子。通过基因捕获鉴定出 NEPH1 为 Nephrin 相关蛋白。它是一种跨膜蛋白,包含 5 个细胞外 IgG 结构域^[15]。NEPH1 敲除小鼠肾小球足细胞足突消失,产生蛋白尿,在大量足突消失和蛋白尿为特征的实验动物模型中,如原发性局灶性节段性肾小球硬化、微小病变肾病综合征及阿霉素肾病和嘌呤霉素氨基核苷肾病,NEPH1 降低^[16],说明 NEPH1 对维持 SD 的屏障功能也是必不可少的。

NEPH1 和 Nephrin 相互作用鉴于 NEPH1 和 Nephrin 的共定位和结构相似性。Nephrin 的细胞质结构域直接与 NEPH1 的细胞质结构域相互作用,形成顺式同源寡聚体^[17]。一项利用高分辨率超微结构的成像研究显示^[18],SD 中可能的 Nephrin 和 NEPH1 成分的排列:单个 NEPH1 分子似乎以 23 nm 的宽度形成靠近肾小球基底膜连接的下部,而单个 Nephrin 分子以 45 nm 的宽度在更顶端形成相邻的连接。这些 Nephrin 和 NEPH1 复合物间隔 7 nm,形成 2 层结构,将 SD 与其他类似 Nephrin—Nephrin 的细胞—细胞黏附模块区分开来。通过这些结构,结合 Nephrin 和 NEPH1 重复 Ig 折叠固有的灵活性,表明 SD 可能代表高度动态的细胞—细胞连接,在肾滤过装置内形成可调节的屏障。

3.1.2 Nephrin 与 Ephrin-B1: Ephrin-B1 是 Eph-Ephrin 家族中的一种蛋白。Ephrin 和 Eph 是作为受体—配体对发挥作用的

膜结合蛋白。Ephrins 分为 2 个亚类,B 型 Ephrins 有 1 个跨膜结构域和 1 个包含 4 个酪氨酸残基的短细胞质区域,C 端有 1 个 PDZ 结构域结合基序。Fukusumi 等^[19]研究表明,Ephrin-B1 在 SD 上表达,Ephrin-B1 参与维持 SD 分子的正确分子排列和 SD 的屏障功能。Ephrin-B1 细胞特异性条件敲除 (cell specific conditional knockout,CKO) 小鼠改变了 SD 成分的表达,足突消失并出现轻度但显著的蛋白尿,提示 Ephrin-B1 在维持 SD 的结构和屏障功能方面起着关键作用。

Ephrin-B1 通过其胞外结构域与 Nephrin 结合,Ephrin-B1—Nephrin 复合物在维持 SD 的结构和屏障功能方面起着至关重要的作用^[20]。细胞外 Nephrin 刺激不仅使 Nephrin 磷酸化,而且使 Nephrin 结合的 Ephrin-B1 磷酸化^[21]。这表明 SD 上的 Ephrin-B1 作为信号分子传递 Nephrin 检测到的信号。

3.2 Nephrin 与 SD 细胞骨架连接的多种支架蛋白的联系

3.2.1 Nephrin 与 CD2AP: CD2AP 是最初在 T 淋巴细胞分子 CD2 中发现的一种具有多个蛋白质—蛋白质相互作用结构域的细胞内蛋白^[22],包括 3 个 Src 同源 3 (Src homology 3, SH3) 结构域和富含脯氨酸和盘绕的线圈区域,它与参与各种信号传导和囊泡转运过程的许多蛋白质相互作用,从而参与细胞骨架重塑的调节、胞质分裂、细胞凋亡和内吞作用。在肾小球中,CD2AP 是一种 80 kDa 的 SD 相关支架蛋白^[23],CD2AP 直接与肌动蛋白相互作用,表明 CD2AP 可能起到将膜蛋白 (如 Nephrin) 连接到肌动蛋白细胞骨架的作用,从而稳定狭缝隔膜,被认为是 SD 复合物的“稳定剂”。缺乏 CD2AP 的小鼠出现足突缺失、严重蛋白尿及肾小球硬化等形态学改变^[24]。

CD2AP 可以通过其 C 末端结构域与 Nephrin 相互作用。CD2AP 的 N 端结构域可以与 p85 结合,并促进 Nephrin 诱导的 AKT 信号传导,从而保护足细胞免于凋亡^[25]。最近,Tossidou 等^[26]报道 CD2AP 是 VEGF-A 刺激的受体酪氨酸激酶的磷酸化靶点,并证明了 CD2AP SH3-1 结构域 Y10 位酪氨酸的磷酸化可以改变 CD2AP 对 Nephrin 的亲合力,对 CD2AP 的功能发挥是不可或缺的。并表明 CD2AP 和 Nephrin 之间存在一种精细调节的亲平衡,这种平衡受体酪氨酸激酶刺激的影响。

3.2.2 Nephrin 与 Podocin: Podocin (由 NPHS2 编码) 仅在足细胞中表达,在 SD 复合体中作为支架蛋白。Podocin 是一种完整的膜蛋白,其 N 端和 C 端结构域都指向胞浆。Podocin 缺陷小鼠在产前或出生后 5 周内死亡^[6]。电子显微镜显示足突与巨大系膜硬化融合,Nephrin 表达显著降低。

Podocin 通过其 C 末端结构域与位于质膜特定脂筏微结构域的 Nephrin 的细胞质部分结合,使其能够形成 SD 并执行其信号传递功能。Podocin 可与 Nephrin、NEPH1 和 CD2AP 相互作用。

3.2.3 Nephrin 与 MAGI 蛋白: MAGI 蛋白 (MAGI-1, MAGI-2, MAGI-3) 属于膜相关鸟苷酸激酶蛋白 (MAGUK) 家族,具有分子支架功能,通过连接细胞表面受体和细胞骨架来协调信号复合物。MAGI-1 与连接黏附分子 4 (junctional adhesion molecule 4, JAM4) 相互作用,共同提供了紧密连接的黏附机制,并且 MAGI-1 和 JAM-4 都在足细胞中表达^[27]。免疫电镜显示,MAGI-1 的

定位局限于 SD 而 JAM4 分布在 SD 和根尖膜上。

体外相互作用实验表明, MAGI-1 通过中间 PDZ 结构域和 Nephrin 羧基末端结合^[28]。据了解, MAGI-1 在 SD 上与 Nephrin 和 JAM4 形成一个三部复合体。MAGI-2 也在足细胞中表达, 是在足细胞中表达的多域支架蛋白之一^[29]。Shirata 等^[30]报道, MAGI2-CKO 小鼠表现出 SD 破坏, 足突形态异常和足细胞凋亡, 导致足细胞丢失。Yamada 等^[31]最近的一项研究表明, MAGI-2 通过 PDZ 结构域与其他支架蛋白一起协调 Nephrin 和 NEPH1 的定位。

3.2.4 Nephrin 与 Par-3/Par-6/ aPKC: 在几种细胞类型中, Par-3/Par-6/ aPKC 是调节细胞极性的核心。Par-3 和 aPKC 在足细胞 SD 上表达, 而 NEPH1—Nephrin 复合物与 Par-3 复合物结合。

最近, Takamura 等^[20]证实, Par-3 与 Nephrin 相互作用, 而 Par-6 与 SD 上的另一种跨膜蛋白 Ephrin-B1 结合, Ephrin-B1 通过胞外部分与 Nephrin 相互作用。使用显性阴性 aPKC 结构的小鼠显示出显著的蛋白尿, 并且在使用 aPKC 抑制剂的隔离肾小球中检测到足突结构的缺失。这些观察清楚地表明, NEPH1—Nephrin—Par 复合物对于维持 SD 的屏障功能是必不可少的。

3.2.5 Nephrin 与 NHERF2: Na^+/H^+ 交换调节因子 2 (Na^+/H^+ exchanger regulatory factor 2, NHERF2) 是 NHERF 蛋白质的一种亚型, 最初通过使用 Na^+/H^+ 交换器 3 (NHE3) 的细胞质尾部进行双杂交筛选来鉴定^[32]。NHERF 蛋白质是将质膜蛋白与 ezrin/radixin/moesin (ERM) 家族成员连接起来的支架蛋白, 从而将其与肌动蛋白细胞骨架连接起来。NHERF2 的功能是调节其结合膜蛋白的表面表达^[33]。

最近 Fukusumi 等^[21]研究发现, NHERF2 不仅在根尖膜上表达, 而且在 SD 上也表达, NHERF2 通过 Ephrin-B1 与 Nephrin—Ephrin-B1 复合物相互作用, Nephrin—Ephrin-B1—NHERF2 复合物与 ezrin 相互作用。Nephrin—Ephrin-B1—NHERF2—ezrin—actin 的连接是连接 SD 与肌动蛋白细胞骨架的关键连接之一, 并且这种连接在维持交叉指状足突和 SD 方面起着重要作用。并发现刺激 SD、Nephrin 和 Ephrin-B1 的磷酸化可导致 NHERF2 和 ezrin 的去磷酸化, 并破坏 Nephrin—Ephrin-B1—NHERF2—ezrin—actin 复合物。Ephrin-B1 的磷酸化和随后的 NHERF2—ezrin—actin 复合物。Ephrin-B1 的磷酸化和随后的 NHERF2 的去磷酸化是导致蛋白尿和足突消失的关键起始事件。

4 Nephrin 磷酸化在 SD 建立的信号平台

狭缝隔膜的作用不仅是一个屏障, 也是一个信号平台, 将信号传递到细胞内部。Nephrin 是 SD 细胞外结构域的关键跨膜蛋白。Nephrin 除了作为物理屏障的作用外, 还在 SD 内发挥着中央信号平台的作用。Nephrin 具有几个酪氨酸残基, 这些酪氨酸通常相互独立协调信号传播, 但有时也可以协同工作。将诱导信号通路的酪氨酸残基分为 2 组。A 类酪氨酸包括 Y1114 (YEES) 和 Y1138/9 (YYRS), 而 B 类酪氨酸是 YDxV 基序, 包括 Y1176 (YDEV)、Y1193 (YDEV) 和 Y1217 (YDQV) (人类编号系统)。Nephrin 的酪氨酸残基可被 Src 家族激酶磷酸化, 包括 Src、Fyn、Lyn 和 Yes^[34]。A 类酪氨酸的磷酸化诱导与 p85/PI3K

的结合, 最终导致 Akt 和 Rac1 的激活和 Cofilin 的招募, 从而影响着足细胞内肌动蛋白和局部黏附动力学^[35]。B 类酪氨酸磷酸化的影响是最广泛的。B 类酪氨酸磷酸化导致 Nck、PLC- γ 1 和 ShcA 的招募。Nck 是一种含 SH2/SH3 的适配蛋白, Nck 随后招募 Pak 和 N-W Asp^[8], 允许在 Nephrin 上聚合肌动蛋白。也有报道 Nephrin 在这个基团的酪氨酸残基处磷酸化, 与另一个含有蛋白 PLC- γ 1 的 SH2/SH3 相连^[36]。至于 Nephrin 酪氨酸的磷酸化是否与足细胞损伤的促进或保护有关, 目前尚缺乏共识, 了解到磷酸化在基线、损伤和恢复中存在位点特异性差异。

酪氨酸磷酸化的 Nephrin 诱导 2 种形式的肌动蛋白结构^[9]。一种形式是板状足, 其中观察到二维肌动蛋白网格。板状足与足细胞的足突消失有关, 并由第一组酪氨酸的磷酸化介导。另一种形式是肌动蛋白聚合物的生长(在 Nephrin 产生肌动蛋白尾) 这被认为与足突的稳定和 SD 结构的维持有关。肌动蛋白尾部的产生基本上是通过 B 类酪氨酸的磷酸化来介导的。B 类酪氨酸磷酸化水平的降低在人类肾小球疾病中被检测到。最近的研究表明, 与人类 B 类酪氨酸残基相对应的小鼠编号系统的 3 个酪氨酸残基 Y1191、Y1208 和 Y1232 在敲入小鼠后转化为苯丙氨酸, 发生进行性蛋白尿并伴有结构变化^[37]。结果表明, 这些酪氨酸的磷酸化可稳定足细胞形态。

Nephrin 酪氨酸的磷酸化受多种酪氨酸磷酸酶的负调控。在几种致病状态下也能检测到酪氨酸磷酸酶水平的改变。蛋白酪氨酸磷酸酶 1B (protein tyrosine phosphatase 1B, PTP-1B) 可直接去磷酸化 B 类的酪氨酸, 在大鼠嘌呤霉素氨基核苷肾病 (PAN) 中上调^[38]。含 SH2 结构域的磷酸酶 1 (phosphatase 1 of SH2 domain, SHP-1) 在糖尿病肾病模型中升高, SHP-1 可以使 B 类的酪氨酸脱磷酸化^[39]。Cl-Ten 最近被鉴定为 Nephrin 酪氨酸磷酸酶, 靶向 A 类酪氨酸 (Y1114 和 Y1138), 在糖尿病肾病中也上调^[40]。最近的一项研究表明^[41], Nephrin 信号通路导致整合素 β 1 的激活。这一发现提示 Nephrin 介导的信号调节足细胞附着在肾小球基底膜上。最近 Martin 等^[42]的研究发现, 足细胞损伤后, Nephrin 磷酸化出现短暂上升, 并与表面 Nephrin 减少相关, 导致过滤屏障渗漏。揭示了足细胞损伤期间 Nephrin 酪氨酸磷酸化的瞬时变化、Nephrin 定位和肾小球滤过屏障完整性之间的体内相关性。总之, Nephrin 磷酸化决定了集群内效应蛋白的组成, 以动态调节 Nephrin 周转和足细胞健康。

5 总结

综上所述, 足细胞是肾小球滤过最后的屏障, 足细胞细胞骨架失调或 SD 的完整性丧失可导致足细胞足突消失, 导致蛋白质泄漏。Nephrin 是 SD 上重要的组成蛋白, 它与 SD 上的其他组成蛋白在结构和功能上有着密切的联系, 对维持 SD 的正常结构和功能发挥着关键性作用, Nephrin 应该是蛋白尿新疗法最重要的靶点。Nephrin 也在 SD 内发挥着中央信号平台的作用, Nephrin 的磷酸化调控该区域的几个保守酪氨酸残基影响信号转导通路, 信号通路的改变是足细胞损伤的重要途径之一。虽然 Nephrin 信号通路的病理意义尚不明确, 但多项研究表明 Nephrin 各酪氨酸残基的磷酸化水平受到严格调控。Nephrin 的磷酸化水平受 PTP-1B 和 Cl-Ten 等磷酸酶活性的调

控。这些磷酸酶可能成为蛋白尿新的治疗靶点。

参考文献

- [1] Menzel S ,Moeller MJ. Role of the podocyte in proteinuria [J]. *Pediatric Nephrology* 2011 ,26(10) : 1775-1780. DOI: 10. 1007/s00467-010-1725-5.
- [2] Garg P. A review of podocyte biology [J]. *American Journal of Nephrology* 2018 ,47(1) : 3-13. DOI: 10. 1159/000481633.
- [3] Yu SM ,Nissaisorakarn P ,Husain I ,et al. Proteinuric kidney diseases: A podocyte's slit diaphragm and cytoskeleton approach [J]. *Frontiers in Medicine* 2018 ,5: 221. DOI: 10. 3389/fmed. 2018. 00221.
- [4] 雷静 ,何平. 膜性肾病足细胞损伤机制及治疗进展 [J]. *中国医师进修杂志* ,2019 ,42(6) : 567-572. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 1673-4904. 2019. 06. 022.
- Lei J ,He P. Podocyte injury mechanism and treatment progress in membranous nephropathy [J]. *Chinese Journal of Medical Continuing* 2019 ,42(6) : 567-572. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 1673-4904. 2019. 06. 022.
- [5] Tanigawa S ,Islam M ,Sharmin S ,et al. Organoids from nephrotic disease-derived iPSCs identify impaired NEPHRIN localization and slit diaphragm formation in kidney podocytes [J]. *Stem Cell Reports* , 2018 ,11(3) : 727-740. DOI: 10. 1016/j. stemcr. 2018. 08. 003.
- [6] Li X ,He JC. An update: The role of Neph1 inside and outside the kidney [J]. *Science China Life Sciences* , 2015 ,58(7) : 649-657. DOI: 10. 1007/s11427-015-4844-1.
- [7] Li X ,Chuang PY ,DAgati VD ,et al. Neph1 preserves podocyte viability and glomerular structure and function in adult kidneys [J]. *Journal of the American Society of Nephrology* 2015 ,26(10) : 2361-2377. DOI: 10. 1681/ASN. 2014040405.
- [8] Venkatarreddy M ,Cook L ,Abuarquob K ,et al. Neph1 regulates lamellipodia formation by assembling a protein complex that includes Ship2 ,filamin and lamellipodin [J]. *PLoS One* ,2011 ,6(12) : e28710. DOI: 10. 1371/journal. pone. 0028710.
- [9] Martin CE ,Jones N. Neph1 signaling in the podocyte: An updated view of signal regulation at the slit diaphragm and beyond [J]. *Frontiers in Endocrinology* , 2018 ,9: 302. DOI: 10. 3389/fendo. 2018. 00302.
- [10] Kandasamy Y ,Smith R ,Lumbers ER ,et al. Neph1-a biomarker of early glomerular injury [J]. *Biomarker Research* , 2014 ,2(1) : 1-8. DOI: 10. 1186/2050-7771-2-21.
- [11] 李涵 ,葛许华 ,缪红军. 足细胞损伤机制的研究进展 [J]. *南京医科大学学报: 自然科学版* ,2022 ,42(2) : 291-295.
- Li H ,Ge XH ,Miao HJ. Research progress of podocyte injury mechanism [J]. *Journal of Nanjing Medical University: Natural Science Edition* 2022 ,42(2) : 291-295.
- [12] George B ,Holzman LB. Signaling from the podocyte intercellular junction to the actin cytoskeleton [J]. *Seminars in Nephrology* , 2012 ,32(4) : 307-318. DOI: 10. 1016/j. semnephrol. 2012. 06. 002.
- [13] 崔静 ,李文娜 ,娄景秋 ,等. 特发性膜性肾病患者肾组织 M 型磷脂酶 A2 受体和 Neph1 的表达及其对预后的影响 [J]. *临床与实验病理学杂志* ,2015 ,31(3) : 333-335. DOI: 10. 13315/j. cnki. cjcep. 2015. 03. 026.
- Cui J ,Li WN ,Lou JQ ,et al. Expression of M-type phospholipase A2 receptor and nephrin in renal tissue of patients with idiopathic membranous nephropathy and its influence on prognosis [J]. *Journal of Clinical and Experimental Pathology* ,2015 ,31(3) : 333-335. DOI: 10. 13315/j. cnki. cjcep. 2015. 03. 026.
- [14] 王颖超 ,赵宗江 ,赵敬 ,等. 糖肾平对糖尿病肾病大鼠足细胞 nephrin 与 CD2AP 蛋白及其 mRNA 表达的影响 [J]. *中国中西医结合肾病杂志* 2014 ,15(2) : 107-109.
- Wang YC ,Zhao ZJ ,Zhao J ,et al. Effects of Tangshenping on nephrin and Cd in podocytes of rats with diabetes nephropathy 2AP protein and its mRNA expression [J]. *Chinese Journal of Integrated Chinese and Western Medicine in Nephropathy* 2014 ,15(2) : 107-109.
- [15] Arif E ,Rathore YS ,Kumari B ,et al. Slit diaphragm protein Neph1 and its signaling [J]. *Journal of Biological Chemistry* ,2014 ,289(14) : 9502-9518. DOI: 10. 1074/jbc. M113. 505743.
- [16] Hulkko J ,Patrakka J ,Lal M ,et al. Neph1 is reduced in primary focal segmental glomerulosclerosis , minimal change nephrotic syndrome , and corresponding experimental animal models of adriamycin-induced nephropathy and puromycin aminonucleoside nephrosis [J]. *Nephron Extra* 2014 ,4(3) : 146-154. DOI: 10. 1159/000365091.
- [17] Heikkila E ,Ristola M ,Havana M ,et al. Trans-interaction of nephrin and Neph1/Neph3 induces cell adhesion that associates with decreased tyrosine phosphorylation of nephrin [J]. *Biochemical Journal* , 2011 ,435(3) : 619-628. DOI: 10. 1042/BJ20101599.
- [18] Grahammer F ,Wigge C ,Schell C ,et al. A flexible , multilayered protein scaffold maintains the slit in between glomerular podocytes [J]. *JCI Insight* 2016 ,1(9) : e86177. DOI: 10. 1172/jci. insight. 86177.
- [19] Fukusumi Y ,Zhang Y ,Yamagishi R ,et al. Neph1-binding Ephrin-B1 at the slit diaphragm controls podocyte function through the JNK pathway [J]. *Journal of the American Society of Nephrology* 2018 ,29(5) : 1462-1474. DOI: 10. 1681/ASN. 2017090993.
- [20] Takamura S ,Fukusumi Y ,Zhang Y ,et al. Partitioning-Defective-6-Ephrin-B1 interaction is regulated by Neph1-mediated signal and is crucial in maintaining slit diaphragm of podocyte [J]. *The American Journal of Pathology* ,2020 ,190(2) : 333-346. DOI: 10. 1016/j. ajpath. 2019. 10. 015.
- [21] Fukusumi Y ,Yasuda H ,Zhang Y ,et al. Neph1-Ephrin-B1-Na⁺ / H⁺ exchanger regulatory factor 2-Ezrin-Actin axis is critical in podocyte injury [J]. *The American Journal of Pathology* ,2021 ,191(7) : 1209-1226. DOI: 10. 1016/j. ajpath. 2021. 04. 004.
- [22] Wasik AA ,Polianskyte-Prause Z ,Dong M ,et al. Septin 7 forms a complex with CD2AP and nephrin and regulates glucose transporter trafficking [J]. *Molecular Biology of the Cell* ,2012 ,23(17) : 3370-3379. DOI: 10. 1091/mbc. e11-12-1010.
- [23] 王进雅. miR-939 阻断剂通过调控 CD2AP 治疗肾病综合征的作用及机制 [D]. 南京: 南京医科大学 2019.
- [24] Tossidou I ,Niedenthal R ,Klaus M ,et al. CD2AP regulates SUMOylation of CIN85 in podocytes [J]. *Molecular and Cellular Biology* , 2012 ,32(6) : 1068-1079. DOI: 10. 1128/MCB. 06106-11.
- [25] Ha TS ,Hong EJ ,Han GD. Diabetic conditions downregulate the expression of CD2AP in podocytes via PI3K/Akt signalling [J]. *Diabetes/metabolism Research and Reviews* ,2015 ,31(1) : 50-60. DOI: 10. 1002/dmrr. 2562

- [26] Tossidou I ,Teng B ,Worthmann K ,et al. Tyrosine phosphorylation of CD2AP affects stability of the slit diaphragm complex [J]. *Journal of the American Society of Nephrology* 2019 ,30(7) : 1220-1237. DOI: 10. 1681/ASN. 2018080860.
- [27] Van Itallie CM ,Anderson JM. Architecture of tight junctions and principles of molecular composition [J]. *Seminars in Cell & Developmental Biology* 2014 ,36: 157-165. DOI: 10. 1016/j. semcdb. 2014. 08. 011.
- [28] Excoffon KJ ,Avila CL ,Alghamri MS ,et al. The magic of MAGI-1: A scaffolding protein with multi signalosomes and functional plasticity [J]. *Biology of the Cell* ,2022 ,114 (7) : 185-198. DOI: 10. 1111/ boc. 202200014.
- [29] Empitu MA ,Kadariswantiningsih IN ,Aizawa M ,et al. MAGI-2 and scaffold proteins in glomerulopathy [J]. *American Journal of Physiology-Renal Physiology* 2018 ,315(5) : F1336-F1344. DOI: 10. 1152/ ajprenal. 00292. 2018.
- [30] Shirata N ,Ihara K ,Yamamoto-Nonaka K ,et al. Glomerulosclerosis induced by deficiency of membrane-associated guanylate kinase inverted 2 in kidney podocytes [J]. *Journal of the American Society of Nephrology* , 2017 , 28 (9) : 2654-2669. DOI: 10. 1681/ ASN. 2016121356.
- [31] Yamada H ,Shirata N ,Makino S ,et al. MAGI-2 orchestrates the localization of backbone proteins in the slit diaphragm of podocytes [J]. *Kidney International* 2021 ,99(2) : 382-395. DOI: 10. 1016/j. kint. 2020. 09. 027.
- [32] Sarker R ,Valkhoff VE ,Zachos NC ,et al. NHERF1 and NHERF2 are necessary for multiple but usually separate aspects of basal and acute regulation of NHE3 activity [J]. *American Journal of Physiology-Cell Physiology* , 2011 ,300 (4) : C771-C782. DOI: 10. 1152/ ajpcell. 00119. 2010.
- [33] Kostovska I ,Trajkovska KT ,Cekovska S ,et al. Nephlin and podocalyxin-new podocyte proteins for early detection of secondary nephropathies [J]. *BANTAO Journal* 2016 ,14(1) : 11-16. DOI: 10. 1515/ bj-2016-0003.
- [34] Amata I ,Maffei M ,Pons M. Phosphorylation of unique domains of Src family kinases [J]. *Frontiers in genetics* , 2014 ,5: 181. DOI: 10. 3389/fgene. 2014. 00181.
- [35] Huang G ,Lv J ,Li T ,et al. Notoginsenoside R1 ameliorates podocyte injury in rats with diabetic nephropathy by activating the PI3K/Akt signaling pathway [J]. *International Journal of Molecular Medicine* , 2016 ,38(4) : 1179-1189. DOI: 10. 3892/ijmm. 2016. 2713.
- [36] Kanda S ,Harita Y ,Shibagaki Y ,et al. Tyrosine phosphorylation-dependent activation of TRPC6 regulated by PLC- γ 1 and nephrin: effect of mutations associated with focal segmental glomerulosclerosis [J]. *Molecular Biology of the Cell* ,2011 ,22(11) : 1824-1835. DOI: 10. 1091/mbc. e10-12-0929.
- [37] New LA ,Martin CE ,Scott RP ,et al. Nephrin tyrosine phosphorylation is required to stabilize and restore podocyte foot process architecture [J]. *Journal of the American Society of Nephrology* 2016 ,27(8) : 2422-2435. DOI: 10. 1681/ASN. 2015091048.
- [38] Aoudjit L ,Jiang R ,Lee TH ,et al. Podocyte protein , nephrin , is a substrate of protein tyrosine phosphatase 1B [J]. *Journal of Signal Transduction* 2011 2011: 376543. DOI: 10. 1155/2011/376543.
- [39] Denhez B ,Lizotte F ,Guimond M ,et al. Increased SHP-1 protein expression by high glucose levels reduces nephrin phosphorylation in podocytes [J]. *Journal of Biological Chemistry* ,2015 ,290(1) : 350-358. DOI: 10. 1074/jbc. M114. 612721.
- [40] Lee J ,Koh A ,Jeong H ,et al. C1-Fen is a PTPase of nephrin , regulating podocyte hypertrophy through mTORC1 activation [J]. *Scientific Reports* 2017 ,7(1) : 1-13. DOI: 10. 1038/s41598-017-42382-8.
- [41] Dlugos CP ,Picciotto C ,Lepa C ,et al. Nephrin signaling results in integrin β 1 activation [J]. *Journal of the American Society of Nephrology* 2019 ,30(6) : 1006-1019. DOI: 10. 1681/ASN. 2018040362.
- [42] Martin CE ,New LA ,Phippen NJ ,et al. Multivalent nephrin-Nck interactions define a threshold for clustering and tyrosine-dependent nephrin endocytosis [J]. *Journal of Cell Science* ,2020 ,133(4) : s236877. DOI: 10. 1242/jcs. 236877.

(收稿日期: 2022 - 06 - 11)

(上接 1219 页)

- [34] Qi L ,Chi X ,Zhang X ,et al. Kindlin-2 suppresses transcription factor GATA4 through interaction with SUV39H1 to attenuate hypertrophy [J]. *Cell Death & Disease* 2019 ,10(12) : 890. DOI: 10. 1038/s41419-019-2121-0.
- [35] Yaseen I ,Choudhury M ,Sritharan M ,et al. Histone methyltransferase SUV39H1 participates in host defense by methylating mycobacterial histone-like protein HupB [J]. *Embo Journal* , 2018 ,37(2) : 183-200. DOI: 10. 15252/embj. 201796918.
- [36] Lo Cigno I ,Calati F ,Borgogna C ,et al. Human papillomavirus E7 oncoprotein subverts host innate immunity via SUV39H1-mediated epigenetic silencing of immune sensor genes [J]. *Journal Of Virology* , 2020 ,94(4) : e01812-194. DOI: 10. 1128/JVI. 01812-19.
- [37] Miao Y ,Lv Q ,Qiao S ,et al. Alpinetin improves intestinal barrier homeostasis via regulating AhR/suv39h1/TSC2/mTORC1/autophagy pathway [J]. *Toxicology And Applied Pharmacology* , 2019 ,384: 114772. DOI: 10. 1016/j. taap. 2019. 114772.
- [38] Weng X ,Zhang Y ,Li Z ,et al. Class II transactivator (CIIA) mediates IFN- γ induced eNOS repression by enlisting SUV39H1 [J]. *Biochimica Et Biophysica Acta-gene Regulatory Mechanisms* 2019 , 1862(2) : 163-172. DOI: 10. 1016/j. bbagrm. 2019. 01. 005.

(收稿日期: 2022 - 01 - 07)