

Sirt1 对高糖诱导的足细胞外泌体释放的影响

丁琳 周燕 刘珊珊 刘南池 马瑞霞

(青岛大学附属医院肾内科, 山东 青岛 266003)

[摘要] **目的** 探讨烟酰胺腺嘌呤二核苷酸依赖的去乙酰化酶 1(Sirt1)对高糖诱导的足细胞外泌体释放的影响。**方法** 将永生化小鼠足细胞 MPC5 分为正常糖组(5.5 mmol/L 葡萄糖, A 组)、高渗组(5.5 mmol/L 葡萄糖+24.5 mmol/L 甘露醇, B 组)、高糖组(30.0 mmol/L 葡萄糖, C 组)、高糖+Sirt1 过表达慢病毒转染组(Sirt1 过表达慢病毒转染+30.0 mmol/L 葡萄糖, D 组)、高糖+阴性慢病毒转染组(阴性慢病毒转染+30.0 mmol/L 葡萄糖, E 组)、高糖+外泌体分泌抑制剂组(GW4869+30.0 mmol/L 葡萄糖, F 组)6 组。采用免疫印迹法检测各组细胞 Sirt1、足细胞裂孔膜蛋白(Nephrin、Podocin)及 CD63、CD81、Alix 的表达水平,采用实时荧光定量 PCR(RT-qPCR)检测 D、E 组细胞 *Sirt1* mRNA 表达水平,使用透射电子显微镜观察足细胞外泌体形态,采用纳米粒子跟踪分析技术检测外泌体的粒径和浓度。**结果** RT-qPCR 结果显示, D 组足细胞 *Sirt1* mRNA 相对表达量显著高于 E 组($t=14.580, P<0.01$)。纳米粒子跟踪分析及免疫印迹结果显示, A~C 组间足细胞 Sirt1、Nephrin 和 Podocin 蛋白相对表达量比较差异均具有显著性($F=49.84\sim 106.40, P<0.01$); 与 A 组相比, C 组足细胞外泌体分泌显著增加($t=14.550, P<0.01$), Nephrin、Podocin、Sirt1 相对表达量显著减少($t=7.446\sim 15.110, P<0.01$); 与 E 组相比, D 组足细胞外泌体分泌显著减少($t=74.610, P<0.01$), Nephrin、Podocin、Sirt1 相对表达量显著增加($t=4.657\sim 32.860, P<0.05$); 与 C 组相比, F 组足细胞外泌体分泌显著减少($t=16.300, P<0.05$), Nephrin、Podocin 相对表达量显著增加($t=3.790, 8.151, P<0.01$), Sirt1 表达水平无统计学差异($P>0.05$)。**结论** 高糖诱导的足细胞 Sirt1 减少可促进外泌体分泌及足细胞损伤。

[关键词] 糖尿病肾病; 血糖; 足细胞; 外泌体; 抗衰老酶 1

[中图分类号] R587.24 **[文献标志码]** A

Effect of Sirt1 on high glucose-induced exosome release from podocytes DING Lin, ZHOU Yan, LIU

Shanshan, LIU Nanchi, MA Ruixia (Department of Nephrology, The Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao 266003, China)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the effect of nicotinamide adenine dinucleotide-dependent deacetylase 1 (Sirt1) on high glucose-induced exosome release from podocytes. **Methods** Immortalized mouse podocytes MPC5 were divided into six groups: normal glucose group (5.5 mmol/L glucose, group A), high mannitol group (5.5 mmol/L glucose+24.5 mmol/L mannitol, group B), high glucose group (30.0 mmol/L glucose, group C), high glucose+Sirt1-overexpressed lentivirus transfection group (Sirt1-overexpressed lentivirus transfection+30.0 mmol/L glucose, group D), high glucose+negative lentivirus transfection group (negative lentivirus transfection+30.0 mmol/L glucose, group E), and high glucose+exosome secretion inhibitor group (GW4869+30.0 mmol/L glucose, group F). Western blot was used to analyze the expression levels of Nephrin, Podocin, Sirt1, CD63, CD81, and Alix in each group. Real-time quantitative polymerase chain reaction was used to analyze the expression level of *Sirt1* mRNA in D and E group. The morphology of podocyte exosomes was observed by a transmission electron microscope. The particle size and concentration of exosomes were determined by nanoparticle tracking analysis. **Results** The results of RT-qPCR showed that the relative expression of *Sirt1* mRNA was significantly increased in group D compared with that in group E ($t=14.580, P<0.01$). The results of nanoparticle tracking analysis and Western blot showed that the relative expression of Sirt1, Nephrin, and Podocin proteins in podocytes among groups A to C was significantly different ($F=49.84\sim 106.40, P<0.01$). Compared with group A, group C had significantly increased secretion of podocyte exosomes ($t=14.550, P<0.01$) and significantly reduced expression of Sirt1, Nephrin, and Podocin ($t=7.446\sim 15.110, P<0.01$). Compared with group E, group D had significantly reduced release of podocyte exosomes ($t=74.610, P<0.01$) and significantly increased relative expression of Sirt1, Nephrin, and Podocin ($t=4.657\sim 32.860, P<0.05$). Compared with group C, group F had significantly reduced release of podocyte exosomes

($t=16.300, P<0.05$) and significantly increased relative expression of Nephrin and Podocin ($t=3.790, 8.151, P<0.01$), but showed no significant change in the expression level of Sirt1 ($P>0.05$). **Conclusion** Loss of Sirt1 in high glucose-treated podocytes promotes exosome secretion and podocyte injury.

[收稿日期] 2023-08-23; **[修订日期]** 2023-11-17

[基金项目] 山东省自然科学基金项目(ZR2022MH161); 青岛市医药卫生科研计划项目(2021-WJZD189); 青岛市民生科技计划项目(16-6-2-20-snh); 青岛大学附属医院临床医学+X 项目(3390); 青岛市医疗卫生重点学科建设项目

[通讯作者] 马瑞霞, Email: anita1685@163.com

[KEY WORDS] Diabetic nephropathies; Blood glucose; Podocytes; Exosomes; Sirtuin 1

糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)是糖尿病最常见并发症,已成为导致慢性肾脏病和终末期肾病的首要原因^[1]。DN 以肾小球肥大、肾小球基底膜增厚、系膜区扩张、足细胞损伤为特征性表现,其中足细胞损伤是 DN 发病的中心环节^[2]。外泌体是细胞主动分泌的直径约为 50~150 nm 的均一膜性囊泡结构,其可携带丰富的生物活性分子,能够在可溶性分子之外介导细胞间新型对话^[3]。既往研究发现在高糖环境刺激下,足细胞分泌外泌体增加,但其具体机制尚不清楚^[4]。烟酰胺腺嘌呤二核苷酸依赖的去乙酰化酶 1(Sirt1)是去乙酰化酶家族成员,可促进高糖环境下肾脏细胞稳态,对 DN 发病时的肾细胞氧化应激、细胞凋亡、肾组织炎症、肾脏纤维化等有改善作用^[5]。但 Sirt1 是否影响 DN 足细胞外泌体分泌目前尚无研究报道。本研究拟通过体外实验阐明 Sirt1 在 DN 足细胞外泌体分泌中的作用。

1 材料与方法

1.1 细胞、试剂与仪器

永生化小鼠足细胞 MPC5 由东南大学肾脏病研究所惠赠。ECL 化学发光底物购买于北京 Bio-sharp 公司,IFN- γ 购自美国 PeproTech 公司,慢病毒购买于上海吉玛基因,直标抗体 GAPDH、 β -actin 购买于上海 Abway 公司,Sirt1、Nephrin 抗体购自英国 Abcam 公司,Podocin 抗体购自美国 Invitrogen 公司,CD63、CD81、Alix 抗体购买于上海 Santa Cruz 公司。Nano-drop 2000 购买于美国 Thermo Fisher 公司,逆转录仪购自德国 Eppendorf 公司。

1.2 足细胞分组与处理

足细胞 MPC5 复苏后以 Mundel 法^[6]培养,分为以下 6 组:①正常糖组(A 组):在含 5.5 mmol/L 葡萄糖的 RPMI 1640 培养基当中培养 48 h;②高渗组(B 组):在含 5.5 mmol/L 葡萄糖和 24.5 mmol/L 甘露醇的 RPMI 1640 培养基中培养 48 h;③高糖组(C 组):在含 30.0 mmol/L 葡萄糖的 RPMI 1640 培养基中培养 48 h;④高糖+Sirt1 过表达慢病毒转染组(D 组):足细胞转染 Sirt1 过表达慢病毒后,在含 30.0 mmol/L 葡萄糖的 RPMI 1640 培养基中培养 48 h;⑤高糖+阴性慢病毒转染组(E 组):足细胞转染阴性慢病毒后在含 30.0 mmol/L 葡萄糖的 RPMI 1640 培养基中培养 48 h;⑥高糖+外泌体分泌抑制剂组(F 组):在含有 30.0 mmol/L 葡萄糖的 RPMI

1640 培养基中加 GW4869 后培养 48 h。

1.3 足细胞外泌体提取与鉴定

将 A、C、D、E、F 组足细胞在不含胎牛血清的培养基中培养 48 h 后,分别收集等量细胞上清液,使用差速离心法^[7]分离足细胞外泌体。使用透射电子显微镜观察外泌体形态,然后使用纳米粒子跟踪分析(NTA)技术检测外泌体粒径和浓度。

1.4 免疫印迹法检测各组足细胞 Nephrin、Podocin、Sirt1 及外泌体相关标记蛋白相对表达量

RIPA 裂解液、PMSF、碱性磷酸酶抑制剂按照 100:1:1 比例配置后用于提取各组培养 48 h 的足细胞总蛋白,采用 BCA 法测定蛋白的浓度,在提取的总蛋白中加入上样缓冲液和双蒸水,制成等浓度等体积的蛋白样本,充分混匀,100 °C 水浴加热 5 min。将处理好的蛋白样本经聚丙烯酰胺凝胶电泳后转移至聚偏氟乙烯膜上,以快速封闭液室温封闭 15 min 以后,分别加入一抗(Nephrin、Podocin、Sirt1、CD63、CD81 及 Alix 以 1:1 000 稀释,直标 GAPDH、 β -actin 以 1:10 000 稀释)4 °C 孵育过夜。洗膜后加入对应的二抗(以 1:3 000 稀释),室温孵育 1 h,再洗膜以后使用超敏 ECL 化学发光液显影。采用 Image J 软件检测各个目的条带的灰度值,以 β -actin 为内参蛋白,计算各目标蛋白相对表达量。每组实验重复 3 次,结果取均值。

1.5 RT-qPCR 法检测 D、E 组足细胞 Sirt1 mRNA 表达水平

提取 D、E 组培养 48 h 的足细胞总 RNA 后,用 Nano-drop 2000 检测两组足细胞 RNA 的浓度和纯度,用 HiScript III RT SuperMix 在逆转录仪中逆转录成 mRNA,然后在 7300 RT-qPCR 检测系统中使用 PCR 试剂盒进行检测。实验所用引物序列由上海捷瑞生物工程有限公司设计合成,Sirt1 引物的序列为 F:5'-GCTGACGACTTCGACGACG-3',R:5'-TCGGTCAACAGGAGGTTGTCT-3', β -actin 引物序列为 F:5'-GGGAAATCGTGCGTGAC-3',R:5'-AGGCTGGAAAAGAGCCT-3'。以 β -actin 作为内参基因,采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 计算细胞 Sirt1 mRNA 的相对表达水平。

1.6 统计学分析

使用 GraphPad Prism 8.0 进行数据分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用独立样本 t 检验,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较

采用 LSD-*t* 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有显著意义。

2 结 果

2.1 各组足细胞 Sirt1、Nephrin、Podocin 表达水平比较

RT-qPCR 结果显示, D、E 组 *Sirt1* mRNA 相对表达水平分别为 15.50 ± 2.43 、 1.01 ± 0.17 , D 组足细胞 *Sirt1* mRNA 相对表达量显著高于 E 组 ($t = 14.580, P < 0.05$)。免疫印迹法分析显示, A~C 多组间足细胞 Sirt1、Nephrin 和 Podocin 蛋白相对表达量比较差异均有显著性 ($F = 49.84 \sim 106.40, P < 0.01$); 与 A 组相比, C 组足细胞 Sirt1、Nephrin 以及 Podocin 相对表达量显著降低 ($t = 7.446 \sim 15.110, P < 0.01$), B 组足细胞 Sirt1、Nephrin 和 Podocin 相对表达量无显著差异 ($P > 0.05$); 与 E 组相比, D 组足细胞 Sirt1、Nephrin 和 Podocin 相对表达量均显著升高 ($t = 4.657 \sim 32.860, P < 0.05$); 与 C 组相比, F 组足细胞 Nephrin、Podocin 相对表达量显著升高 ($t = 3.790, 8.151, P < 0.01$), *Sirt1* 表达水平无统计学差异 ($P > 0.05$)。见表 1、图 1。

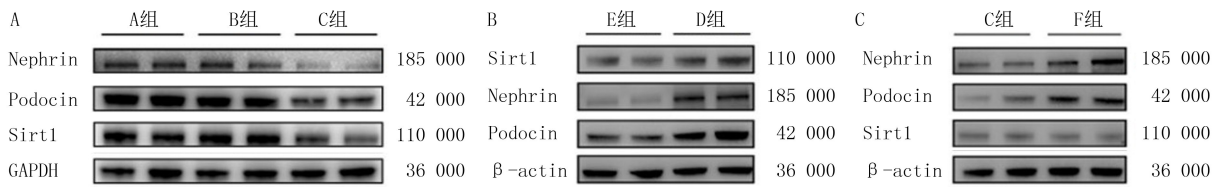
2.2 足细胞外泌体提取及体分泌情况

透射电镜下可见各组足细胞外泌体呈现典型的

茶托样结构(图 2A)。NTA 检测结果显示, A、C、D、E、F 组足细胞外泌体浓度分别为 $(61.30 \pm 1.50) \times 10^6 / L$ 、 $(87.00 \pm 2.60) \times 10^6 / L$ 、 $(21.2 \pm 0.30) \times 10^6 / L$ 、 $(66.00 \pm 1.00) \times 10^6 / L$ 和 $(6.40 \pm 0.46) \times 10^6 / L$; 与 A 组相比, C 组足细胞外泌体分泌显著增加 ($t = 14.550, P < 0.01$); 与 E 组相比, D 组足细胞外泌体分泌显著减少 ($t = 74.610, P < 0.01$); 与 C 组相比, F 组足细胞外泌体分泌量显著减少 ($t = 16.300, P < 0.05$)。免疫印迹法结果显示, 与 A 组相比, C 组足细胞外泌体相关标志蛋白 Alix、CD63 以及 CD81 表达增加(图 2B); 与 E 组相比, D 组足细胞 Alix、CD63 以及 CD81 表达减少(图 2C)。

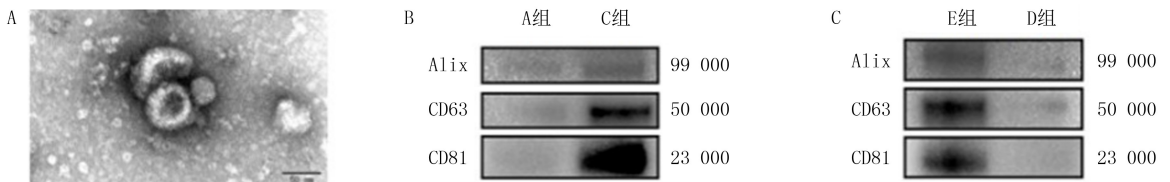
表 1 A~F 组足细胞 Sirt1、Nephrin 和 Podocin 蛋白相对表达量比较 ($n = 3, \bar{x} \pm s$)

分组	Sirt1	Nephrin	Podocin
A 组	1.02 ± 0.03	1.20 ± 0.02	1.16 ± 0.09
B 组	0.98 ± 0.11	1.14 ± 0.03	0.99 ± 0.05
C 组	0.46 ± 0.07	0.33 ± 0.19	0.40 ± 0.14
D 组	1.04 ± 0.11	1.10 ± 0.21	1.10 ± 0.01
E 组	0.71 ± 0.05	0.57 ± 0.08	0.54 ± 0.03
F 组	1.04 ± 0.06	0.83 ± 0.24	0.99 ± 0.02



A: A~C 组足细胞 Sirt1、Nephrin、Podocin 免疫印迹结果, B: D、E 组足细胞 Sirt1、Nephrin 和 Podocin 免疫印迹结果, C: C、F 组足细胞 Sirt1、Nephrin 和 Podocin 免疫印迹结果

图 1 免疫印迹法检测 A~F 组足细胞 Sirt1、Nephrin 和 Podocin 蛋白表达水平



A: 足细胞外泌体电镜下形态, B: A、C 组足细胞外泌体 Alix、CD63、CD81 免疫印迹结果, C: D、E 组足细胞外泌体 Alix、CD63、CD81 免疫印迹结果

图 2 足细胞外泌体分泌情况

3 讨 论

DN 是糖尿病患者严重微血管并发症, 是一种慢性进行性疾病, 是终末期肾脏病的常见病因, 近年来其发病率与日俱增^[6]。目前 DN 的发病机制尚不完全清楚。研究显示, 足细胞是位于肾小球基底膜外表面的终末分化细胞, 在维持肾小球滤过屏障的结构和功能方面发挥重要作用^[8]。越来越多的证据

表明, 肾小球足细胞在 DN 的发病过程中起关键作用^[9-12], 但其具体机制仍不十分清楚。

外泌体是一种直径为 50~150 nm 的细胞外囊泡, 通过细胞内吞过程形成, 并且由细胞内多泡体(MVBs)释放^[3]。越来越多的证据表明, 外泌体介导细胞间通讯, 参与各种肾脏疾病的发生发展^[13-14]。由于足细胞可分泌含有多种因子的外泌体^[15-16], 且足细胞功能受外泌体的调节^[17-18], 因此外泌体分泌

异常可能是 DN 足细胞功能障碍的重要机制。既往研究发现,在体外高糖环境刺激下,足细胞分泌外泌体增加。此外链脲佐菌素诱导 6、12 周小鼠体内尿足细胞外泌体分泌增加,且先于尿蛋白升高^[4]。但 DN 足细胞外泌体分泌增加的具体机制尚不清楚,本研究发现其可能与 Sirt1 表达的减少有关。

Sirt1 是烟酰胺腺嘌呤二核苷酸依赖的去乙酰化酶家族成员,在机体衰老、炎症中发挥着重要作用^[19]。研究发现,Sirt1 可维持高糖环境下肾脏细胞的稳态,对 DN 发病时的肾细胞氧化应激、细胞凋亡、肾组织炎症、肾脏纤维化等有改善作用^[20]。既往研究表明,Sirt1 在 DN 患者足细胞和肾小球细胞中表达降低,且糖尿病小鼠 Sirt1 全身敲除及足细胞特异性敲除均可加速 DN 的进展^[21]。此外,Sirt1 活性增高可以预防糖尿病诱导的足细胞损伤,并有效缓解 DN 的进展^[22]。关于 Sirt1 与外泌体分泌间的关系,LATIFKAR 等^[23]发现在乳腺癌细胞中,Sirt1 的缺失可能通过影响 V 型质子 ATP 酶催化亚基 A(ATP6V1A)mRNA 的稳定性,来影响溶酶体膜上 ATP6V1A 的表达,造成溶酶体酸化功能障碍,进而引起 MVBs 与质膜融合,增加外泌体释放。上述过程中能够在细胞水平上促进癌细胞的浸润,但是 Sirt1 在 DN 足细胞外泌体分泌中的作用尚未见报道。在本研究中高糖诱导的足细胞 Nephlin、Podocin 以及 Sirt1 表达减少,足细胞外泌体分泌增加。对足细胞转染 Sirt1 过表达慢病毒后,发现高糖环境下足细胞外泌体释放减少,Nephlin、Podocin 及 Sirt1 表达增加,足细胞损伤减轻。此外,外泌体释放抑制剂 GW4869 干预高糖诱导的足细胞后,足细胞损伤也有所减轻。以上结果提示 Sirt1 可能通过抑制外泌体分泌减轻 DN 足细胞损伤,但上述结论还需进一步体内实验验证,且需对 Sirt1 下游机制进行探讨。

综上所述,本研究发现高糖诱导的足细胞外泌体分泌增加与 Sirt1 的减少有关,而过表达 Sirt1 可减轻足细胞的损伤,减少外泌体分泌。本研究首次研究了 Sirt1 与 DN 足细胞外泌体分泌的关系,补充了足细胞外泌体释放的具体分子机制,为 DN 治疗新靶点提供了理论依据。

作者声明:丁琳、马瑞霞参与了研究设计;丁琳、周燕、刘珊珊、刘南池、马瑞霞参与了论文的写作和修改。所有作者均阅读并同意发表该论文,且均声明不存在利益冲突。

[参考文献]

- [1] MA R C W. Epidemiology of diabetes and diabetic complications in China[J]. *Diabetologia*, 2018,61(6):1249-1260.
- [2] KATO M, NATARAJAN R. Epigenetics and epigenomics in diabetic kidney disease and metabolic memory[J]. *Nat Rev Nephrol*, 2019,15(6):327-345.
- [3] KALLURI R, LEBLEU V S. The biology, function, and biomedical applications of exosomes [J]. *Science*, 2020, 367(6478):eaau6977.
- [4] BURGER D, THIBODEAU J F, HOLTERMAN C E, et al. Urinary podocyte microparticles identify prealbuminuric diabetic glomerular injury[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2014,25(7):1401-1407.
- [5] WANG S, YANG Y K, HE X Y, et al. Cdk5-mediated phosphorylation of Sirt1 contributes to podocyte mitochondrial dysfunction in diabetic nephropathy[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2021,34(3):171-190.
- [6] SHANKLAND S J, PIPPIN J W, REISER J, et al. Podocytes in culture: Past, present, and future[J]. *Kidney Int*, 2007,72(1):26-36.
- [7] CAO J Y, WANG B, TANG T T, et al. Exosomal miR-125b-5p deriving from mesenchymal stem cells promotes tubular repair by suppression of p53 in ischemic acute kidney injury[J]. *Theranostics*, 2021,11(11):5248-5266.
- [8] NAGATA M. Podocyte injury and its consequences[J]. *Kidney Int*, 2016,89(6):1221-1230.
- [9] LU J, CHEN P P, ZHANG J X, et al. GPR43 deficiency protects against podocyte insulin resistance in diabetic nephropathy through the restoration of AMPK α activity[J]. *Theranostics*, 2021,11(10):4728-4742.
- [10] LIU J, SUN M C, XIA Y, et al. Phloretin ameliorates diabetic nephropathy by inhibiting nephrin and podocin reduction through a non-hypoglycemic effect[J]. *Food Funct*, 2022,13(12):6613-6622.
- [11] JIANG L, WU Y. Pos-372 mettl3-mediated m6a modification of timp2 mRNA promotes podocyte injury in diabetic nephropathy[J]. *Kidney Int Rep*, 2022,7(2):S168.
- [12] WU M, YANG Z F, ZHANG C Y, et al. Inhibition of NLRP3 inflammasome ameliorates podocyte damage by suppressing lipid accumulation in diabetic nephropathy[J]. *Metabolism*, 2021,118:154748.
- [13] LV L L, FENG Y, WU M, et al. Exosomal miRNA-19b-3p of tubular epithelial cells promotes M1 macrophage activation in kidney injury[J]. *Cell Death Differ*, 2020, 27(1):210-226.
- [14] LI Z L, LV L L, TANG T T, et al. HIF-1 α inducing exosomal microRNA-23a expression mediates the cross-talk between tubular epithelial cells and macrophages in tubulointerstitial inflammation[J]. *Kidney Int*, 2019,95(2):388-404.
- [15] HONG J N, BHAT O M, LI G B, et al. Lysosomal regulation of extracellular vesicle excretion during d-ribose-induced NLRP3 inflammasome activation in podocytes[J]. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res*, 2019,1866(5):849-860. (下转第 10 页)

3811.

- [10] CARNEMOLLA A, FOSSALE E, AGOSTONI E, et al. Rrs1 is involved in endoplasmic reticulum stress response in Huntington disease[J]. *J Biol Chem*, 2009, 284(27):18167-18173.
- [11] SONG J L, MA Z L, HUA Y N, et al. Functional role of RRS1 in breast cancer cell proliferation[J]. *J Cell Mol Med*, 2018, 22(12):6304-6313.
- [12] HUA Y N, SONG J L, MA Z L, et al. Effect of RRS1 gene knockdown on BT549 cell line proliferation and apoptosis in breast cancer[J]. *Neoplasma*, 2019, 66(1):28-32.
- [13] WANG J T, LI Z, ZUO C Z, et al. Knockdown of RRS1 by lentiviral-mediated RNAi promotes apoptosis and suppresses proliferation of human hepatocellular carcinoma cells[J]. *Oncol Rep*, 2017, 38(4):2166-2172.
- [14] CAO P B, YANG A Q, LI P Y, et al. Genomic gain of RRS1 promotes hepatocellular carcinoma through reducing the RPL11-MDM2-p53 signaling [J]. *Sci Adv*, 2021, 7(35): eabf4304.
- [15] WU X L, YANG Z W, HE L, et al. RRS1 silencing suppresses colorectal cancer cell proliferation and tumorigenesis by inhibiting G2/M progression and angiogenesis[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(47):82968-82980.
- [16] MA Y L, YAN F, WEI W J, et al. microRNA-598 inhibits the growth and maintenance of gastric cancer stem-like cells by down-regulating RRS1 [J]. *Cell Cycle*, 2019, 18(20):2757-2769.
- [17] CHEN F, JIN Y Q, FENG L, et al. RRS1 gene expression involved in the progression of papillary thyroid carcinoma[J]. *Cancer Cell Int*, 2018, 18:20.
- [18] SIEGEL R, NAISHADHAM D, JEMAL A. Cancer statistics, 2012[J]. *CA A Cancer J Clin*, 2012, 62(1):10-29.
- [19] HAO S J, HA L, CHENG G, et al. A spontaneous 3D bone-on-a-chip for bone metastasis study of breast cancer cells[J]. *Small*, 2018, 14(12):e1702787.
- [20] WATASE C, SHIINO S, SHIMOI T, et al. Breast cancer brain metastasis-overview of disease state, treatment options and future perspectives[J]. *Cancers (Basel)*, 2021, 13(5):1078.
- [21] WU Q, LI J J, ZHU S, et al. Breast cancer subtypes predict the preferential site of distant metastases: A SEER based study[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(17):27990-27996.
- [22] XU Y Y, YE S, ZHANG N, et al. The FTO/miR-181b-3p/ARL5B signaling pathway regulates cell migration and invasion in breast cancer[J]. *Cancer Commun (Lond)*, 2020, 40(10):484-500.
- [23] YI D D, WANG R, SHI X B, et al. METTL14 promotes the migration and invasion of breast cancer cells by modulating N6-methyladenosine and hsa-miR-146a-5p expression[J]. *Oncol Rep*, 2020, 43(5):1375-1386.
- [24] PENZO M, MONTANARO L, TRERÉ D, et al. The ribosome biogenesis-cancer connection[J]. *Cells*, 2019, 8(1):E55.
- [25] NAIT SLIMANE S, MARCEL V, FENOUIL T, et al. Ribosome biogenesis alterations in colorectal cancer [J]. *Cells*, 2020, 9(11):E2361.
- [26] YAN X J, WU S, LIU Q, et al. RRS1 promotes retinoblastoma cell proliferation and invasion via activating the AKT/mTOR signaling pathway[J]. *Biomed Res Int*, 2020:2420437.
- [27] DONATI G, PEDDIGARI S, MERCER C A, et al. 5S ribosomal RNA is an essential component of a nascent ribosomal precursor complex that regulates the Hdm2-p53 checkpoint[J]. *Cell Rep*, 2013, 4(1):87-98.
- [28] NISHIMURA K, KUMAZAWA T, KURODA T, et al. Perturbation of ribosome biogenesis drives cells into senescence through 5S RNP-mediated p53 activation[J]. *Cell Rep*, 2015, 10(8):1310-1323.
- [29] MICIC J, LI Y, WU S, et al. Coupling of 5S RNP rotation with maturation of functional centers during large ribosomal subunit assembly[J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1):3751.

(本文编辑 耿波 厉建强)

(上接第 4 页)

- [16] ZHOU H, KAJIYAMA H, TSUJI T, et al. Urinary exosomal Wilms' tumor-1 as a potential biomarker for podocyte injury[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2013, 305(4):F553-F559.
- [17] JIN J, WANG Y G, ZHAO L, et al. Exosomal miRNA-215-5p derived from adipose-derived stem cells attenuates epithelial-mesenchymal transition of podocytes by inhibiting ZEB2 [J]. *Biomed Res Int*, 2020, 2020:2685305.
- [18] WU X M, GAO Y B, XU L P, et al. Exosomes from high glucose-treated glomerular endothelial cells trigger the epithelial-mesenchymal transition and dysfunction of podocytes[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1):9371.
- [19] D'ONOFRIO N, SERVILLO L, BALESTRIERI M L. SIRT1 and SIRT6 signaling pathways in cardiovascular disease protection[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2018, 28(8):711-732.
- [20] AHMED H H, TAHA F M, OMAR H S, et al. Hydrogen sulfide modulates SIRT1 and suppresses oxidative stress in diabetic nephropathy[J]. *Mol Cell Biochem*, 2019, 457(1-2):1-9.
- [21] LIU R J, ZHONG Y F, LI X Z, et al. Role of transcription factor acetylation in diabetic kidney disease [J]. *Diabetes*, 2014, 63(7):2440-2453.
- [22] HONG Q, ZHANG L, DAS B, et al. Increased podocyte Sirtuin-1 function attenuates diabetic kidney injury[J]. *Kidney Int*, 2018, 93(6):1330-1343.
- [23] LATIFKAR A, LING L, HINGORANI A, et al. Loss of sirtuin 1 alters the secretome of breast cancer cells by impairing lysosomal integrity[J]. *Dev Cell*, 2019, 49(3):393-408.

(本文编辑 范睿心 厉建强)