

# 基于单细胞RNA测序技术的糖尿病肾病研究进展

宋钰晖, 王玉荣\*

中国药科大学基础医学与临床药学学院分子医学研究室, 江苏 南京

收稿日期: 2024年3月19日; 录用日期: 2024年4月19日; 发布日期: 2024年4月29日

## 摘要

单细胞RNA测序技术为糖尿病肾病的研究提供了全面、动态的视角, 为肾脏中复杂的基因网络和细胞相互作用的研究提供了新的途径, 不仅揭示了肾脏中各种细胞类型的存在和功能差异, 还在细胞通讯的研究中发挥了重要作用。然而, 其在糖尿病肾病领域中的应用仍需面对技术局限性以及对因果关系的理解等挑战。未来, 单细胞RNA测序技术的深入研究和发​​展, 结合其他技术的创新将推动我们对糖尿病肾病的理解并为其诊治提供理论和实验基础。

## 关键词

单细胞RNA测序, 糖尿病肾病

# Research Progress of Diabetic Kidney Disease Based on Single-Cell RNA Sequencing

Yuhui Song, Yurong Wang\*

Laboratory of Molecular Medicine, School of Basic Medicine and Clinical Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing Jiangsu

Received: Mar. 19<sup>th</sup>, 2024; accepted: Apr. 19<sup>th</sup>, 2024; published: Apr. 29<sup>th</sup>, 2024

## Abstract

Single-cell RNA sequencing technology has provided a comprehensive and dynamic perspective on  
\*通讯作者。

diabetic nephropathy, offering a new way to study the complex gene networks and cellular interactions in the kidney, which not only reveals the differences in the existence and functions of various cell types in the kidney, but also plays an important role in the study of cellular communication. However, its application in the field of diabetic nephropathy still needs to face challenges such as technical limitations and understanding of causal relationships. In the future, in-depth research and development of single-cell RNA sequencing technology, combined with other technological innovations, will advance our understanding of diabetic nephropathy and provide a theoretical and experimental basis for its diagnosis and treatment.

## Keywords

Single-Cell RNA Sequencing, Diabetic Kidney Disease

Copyright © 2024 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

长期以来, 糖尿病肾病(Diabetic Kidney Disease, DKD)是糖尿病微血管并发症之一, 其发病机制的多种因素性质、肾脏结构异常、个体差异大、缺乏精确的临床生物标志物, 以及不同的遗传背景共同导致了临床诊断及治疗 DKD 的困难[1] [2] [3]。此外, 目前尚未开发出与人类 DKD 病理学密切相符的成熟动物模型来有效复现该疾病, 严重制约了该领域的研究工作[4]。而单细胞 RNA 测序技术的出现为肾脏研究提供了一个全新、全面和动态的视角, 对糖尿病肾脏中复杂的基因网络和细胞相互作用的研究提供了有效途径[5]。目前, 单细胞组学与生物信息学及计算生物学的结合正在重新塑造 DKD 的研究模式, 将其从局部和静态生物学为主的研究过渡到对肾脏生物学的全局和动态理解[6] [7]。细胞异质性的探究是单细胞 RNA 研究中的重要主题, 因此, 以下将从肾脏细胞类型的角度介绍单细胞测序在糖尿病肾病中应用的研究进展。

## 2. 近端小管

PT (Proximal Tubule, 近端小管)细胞是肾脏细胞中占比最大的细胞群, 与健康肾脏相比, 也是 DKD 进展过程中差异表达基因数目最多的肾脏细胞类型之一[8]。高糖环境下, PCT (Proximal Convolved Tubule, 近曲小管)和 PST (Proximal Straight Tubule, 近直小管)细胞中脂肪酸氧化异常[8], PCT 细胞的白蛋白转运蛋白 LRP2, 血管生成调节因子 NRP1, VCAM1 和 HIF1A 的表达显著增加, 对环境中营养和氧供应变化产生适应性反应, 并参与 DKD 病理过程中炎症及血管重构相关的调节作用[9]。而且 PT 细胞的代谢相关基因显著变化, 磷酸烯醇丙酮酸羧激酶 1 编码基因 PCK1 上调和胰岛素受体编码基因 INSR 下调可能在 DKD 中发挥重要调节作用[9]。这些结果表明 PT 细胞可能通过调节糖代谢、酸碱平衡和其他代谢过程以适应 DKD 所引起的病理变化, 并且在 DKD 药物治疗过程中发挥重要作用。

另一方面, PT 细胞所高表达的代谢基因可能通过影响细胞环境进而影响细胞分化及功能, 参与 DKD 的病理生理过程。Poonam Dhillon 的研究中发现在慢性肾脏疾病(Chronic Kidney Disease, CKD)中, PT 细胞的亚群数量显著增加, PCT 细胞经历影响其表型特征的转录变化, 并且代谢是其分化的主要驱动因素之一, 脂肪酸氧化和氧化磷酸化直接驱动 PT 细胞的分化[10]。Jinshan Wu 的研究中也同样发现 db/db 小鼠肾脏中存在表达多种发育相关基因的肾祖细胞或未分化细胞的 PT 细胞亚群[11]。在 DKD 模型小鼠中

还可分离得到损伤 PT 细胞, 这种细胞在 DKD 前期和后期表现出不同的转录变化, 而 SGLT2i (Sodium-Glucose Cotransporter 2 Inhibitor, 钠葡萄糖共转运体 2 抑制剂)治疗可能通过调节选择性剪接来激活保护性代谢开关, 改善 PT 细胞 S1 段的富集饥饿拟态和低氧反应, 部分逆转代谢紊乱[8]。

PT 细胞在健康和疾病条件下存在不同的分化状态, CKD 和 DKD 模型小鼠中都分离出高表达 Notch2 和 Lgr4 的增殖 PT 细胞, 这些细胞被认为是小管细胞损伤和修复的标志[10] [11]。从 DKD 动物模型中鉴定出的表达 Haver1, Vcam1 和 C3 等典型损伤标志物的 PT 细胞亚群显著增加, 并表现出脂肪酸氧化异常, 而这种变化能够通过联合治疗得到显著改善[8]。同样, 在另一项研究中鉴定出一类表达 APOC3、GC、KCNK1 的 PT 细胞亚群, 这些细胞在 DKD 中显著增加, 而在 IgA 肾病(Immunoglobulin A, 免疫球蛋白 A), 急性肾损伤, 局灶节段性肾小球硬化的 CKD 患者肾脏中缺失[11], 这种差异在一定程度上反映了 DKD 病理过程中的细胞异质性或者说特定的病理机制。因此, 这类细胞可能成为 DKD 诊断或评估的潜在标记物, 对该类细胞的深入研究有望为开发新的治疗策略或治疗药物提供线索。此外, 在 PCT 段还鉴定出了另一类 PT 细胞亚群, 这类细胞与前一种细胞在功能和代谢调节方面存在显著差异, 并且在 DKD 中显著减少, 在治疗组中显著增加[11], 这种细胞数量上的互补关系可能表明两者共同参与了 DKD 的发展和调节。

此外, DKD 诱导了肾脏细胞通讯的增强, 而 PT 细胞是细胞间通讯变化最显著的细胞类型之一[8]。配体 - 受体对的研究表明, SPP1 (Osteopontin-1, 骨桥蛋白-1)是最显著高表达的枢纽基因[12], 介导病理性的细胞交流, 包括 PT 细胞亚型之间、PT 细胞与内皮细胞之间以及成纤维细胞之间的交流[8] [12]。在 ACEi (Angiotensin-Converting Enzyme inhibitor, 血管紧张素 II 转换酶抑制剂)与降糖药物的联合治疗下, 它们的细胞内信号受到显著抑制, 这一变化由免疫荧光证明与损伤标志物 Haver1 的表达降低相关[8]。这意味着 PT 细胞可能通过细胞表面受体或分泌蛋白的表达, 对肾细胞和免疫细胞等广泛的细胞类型产生影响, 以适应 DKD 诱导的肾小管微环境变化。

### 3. 足细胞

足细胞生长和分化的失调被认为是 DKD 发病机制的核心[13], 足细胞的丧失也是 DKD 的早期特征[14] [15]。与健康人群相比, 糖尿病患者足细胞中, 内皮细胞增殖和离子稳态调节通路相关基因显著变化[9], 这表明足细胞可能与内皮细胞相互作用, 通过调控其增殖和修复过程, 维持肾小球的正常结构和功能[16]。此外, 原发性膜性肾病中自身抗体的靶点 PLA2R1 和 THSD7A 在 DKD 患者中显著上调, 然而 PLA2R1 的表达在晚期糖尿病中显著下调, 这暗示了炎症和免疫机制可能在 DKD 的不同病程中发挥着不同的作用[9]。在单侧肾切除联合肾素诱导的 db/db 小鼠模型中, 足细胞是 ACEi 与罗格列酮联合治疗后最早发生转录变化的细胞类型, 并且短期给药后就有较多的疾病相关基因被修复[8], 这与 DKD 病理检查中大量肾单位肾小管萎缩的现象[17]一同潜在表明, 早期足细胞的损伤可能是可逆的[18], 相对而言, 肾小管的损伤更难以修复。同时, DKD 的足细胞中肌动蛋白细胞骨架和细胞粘附通路相关的基因显著变化, 与细胞分化、增值相关的 Tmsb4x 和 Rasl11a 上调, 但参与损伤纤维化形成的 Sorbs2 并无显著变化[8]。此外, 细胞通讯研究表明, 足细胞通过 Vegfa 与肾小球内皮细胞的表面受体 Flt1 和 Kdr 进行细胞间交流, DKD 加强了内皮细胞向足细胞的信号传输[15], 而在逆转信号传输方面, ACEi 和降糖药物的联合使用相比于单独给药表现出显著的疗效[8]。

### 4. 内皮细胞

内皮细胞也是 DKD 进展过程中差异表达基因数目最多的细胞类型之一, 其数量在 DKD 中显著增加, 并表现出强烈的血管增殖特征[8] [9]。DKD 患者的内皮细胞中编码细胞外基质和葡萄糖转运蛋白的

COL4A1, SLC2A3 和 SLC2A14, 以及编码血管生成调节因子的 VEGFC, VCAM, NR4A1, MYH9, ITGB1 等基因显著变化, 碳水化合物代谢和运输表达谱改变, 炎症和免疫反应加剧, 血管内皮细胞的迁移增加, 获得部分间质特征[9]。此外, 编码潜在转化生长因子  $\beta$  结合蛋白的 LTBP1 表达上调, 这可能通过靶向调控潜在的 TGF- $\beta$  复合物, 通过 Smad 蛋白、MAPK (Mitogen-Activated Protein Kinases, 丝裂原活化蛋白激酶)、PI3K (Phosphatidylinositol-3-kinase, 磷脂酰肌醇 3-激酶)参与的信号转导途径引起肾损伤[8] [9] [19]。同样的, 在动物模型中也有与此相一致的发现, 源于内皮细胞的 Bmp6 信号通路在 DKD 中上调, 同样作为 TGF- $\beta$  超家族的一员, 其信号通路也通过 Smad 启动信号转导级联, 可能对血管重塑具有重要作用, 而这一变化能够被 SGLT2i 显著改善[8]。

## 5. 系膜细胞

单细胞 RNA 研究揭示了传统上被认为是系膜细胞标志物的 Gata3 和 Pdgfrb 同样在血管平滑肌细胞和基质细胞中表达, 同时, 部分系膜细胞也表达 Tek, Kdr, Flt1, WT1 等内皮细胞和足细胞的标志物[5] [20]。表达基底膜重要组分的 COL4A1 和 COL4A2, 及其调控基因 MYH9, NR4A1, SLIT3, ADAMTS12 在早期 DKD 患者中显著上调, 这表征了其血管生成的特征与肾小球基底膜增厚与重构的病理过程[9]。系膜细胞在 DKD 中也有着最多的差异基因数量, 但与 PT 不同, 这些基因主要参与细胞外基质分子、细胞粘附因子、细胞增殖以及对机械应激、趋化因子和血压的细胞反应相关的非血糖依赖性通路[14]。DKD 环境下的肾小球滤过膜受到持续高血压或肾小球内压增加的影响, 导致滤过膜的结构受损或肾小球的形态发生变化, 这种机械刺激将通过细胞骨架的重构, 并最终导致机械敏感性转录通路 MRTF-SRF 的激活[14]。而系膜细胞在这个过程中表现出极高的敏感性, 编码感知和机械信号转导的跨膜蛋白的基因及 MRTF-SRF 的转录靶基因在肾小球中显著变化, 但转录因子 SRF 仅在系膜细胞中高度激活[14]。此外, 该通路在此前的研究中也证实参与器官纤维化过程, 而参与损伤纤维化形成的 Sorbs2 仅在系膜细胞中上调, 而在足细胞和肾小球内皮细胞中没有改变[8] [14], 这表现了系膜细胞在机械损伤及纤维化方面的重要作用。

系膜细胞处于肾小球细胞通讯的中心, 作为信息发送者, 通过胞内基质及 BMP、FGF、VEGF 等生长因子途径与肾小球内皮细胞和足细胞进行通信[14] [21]。单细胞研究表明, 在 DKD 中, 系膜细胞所表达的调节胰岛  $\beta$  细胞胰岛素分泌的 NAMPT 下调, 而编码细胞通信网络的 Ccn1 显著上调, 并通过与足细胞的 ITGAV、ITGB3、ITGB5 和内皮细胞的 ITGB3 所表达的细胞外蛋白的相互作用来调节 DKD 相关的修复[9]。DKD 中的高糖环境通过激活 TGF- $\beta$  和 VEGF 促使系膜细胞的增殖和基质的产生, 进而导致基质胶原的转录激活并促进纤维化[22], 而细胞间的相互作用进一步介导了系膜基质的扩张[13], 同时这种增殖过程又有助于通过整合素途径来加强细胞间的相互作用, 因此当系膜细胞受到刺激, 肾小球内的细胞通讯也会得到显著增强[14] [23]。

## 6. 髓袢

髓袢(Loop of Henle, LOH)重吸收约 25%的  $\text{Na}^+$ , 是利尿药物治疗的靶点[5]。LOH 所高表达的 Umod 基因与肾功能有着极强的相关性, 也是肾脏中表达最多的基因之一[24]。LOH 通常被分为 DTL (Descending Thin Limb, 髓袢降支细段), ATL (Ascending Thin Limb, 髓袢升支细段)和 TAL (Thick Ascending Limb, 髓袢升支粗段)三段[25]。TAL 与 CKD 和 UACR 显著相关, 与 eGFR 也较为相关, 是 DKD 进展过程中差异表达基因数目最多的细胞类型之一[8]。它属于一种近髓质细胞, 与皮质的交界处富集着大量的线粒体, 具有很强的代谢活性, 其基底外侧膜上的  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATP 酶驱动  $\text{Na}^+$ 的重吸收, 是 LOH 完成重吸收的主要部分[5] [9]。在 DKD 中, TAL 的数量减少, BCL2, CACNB4, CREB3L2 和 PDK2 等细胞存



活相关基因降低[12], 由 ATP1A1, ATP1B1, FXYD2 编码的  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase 亚基表达显著降低, 调节  $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$ - $\text{Cl}^-$  共转运体的 WNK1 与 STK39 的表达减少, 基底外侧上表达钾离子通道蛋白的 KCNJ16 减少[9]。这些变化使得 TAL 中的离子转运抑制, 阻碍了  $\text{Na}^+$  和  $\text{K}^+$  的重吸收并驱动了  $\text{Ca}^{2+}$  的排泄。

TAL 贯穿整个外髓质和皮质, 不同的管周环境使其形成不同的细胞亚群。单细胞 RNA 研究中鉴定出三种独立的 MTAL (medulla TAL, 髓质 TAL) 亚群与三种 CTAL (cortex TAL, 皮质 TAL) 亚群, 它们分别表达 *Cacnb2*, *Tmem207*, *Rgs7* 和 *Thsd4*, *Sfrp1*, *Nrxn3* [26] [27]。此外, 还鉴定出一种表达 *Nos1* 的致密斑细胞亚群, 位于 TAL 与 DCT (Distal Convolutd Tubule, 远曲小管) 的交汇处[28], 这种细胞是球管反馈的关键节点, 能够通过感知  $\text{Na}^+$  浓度改变血管的舒张与收缩, 调节肾小球的滤过率[29]。

## 7. 远曲小管

DCT 是调节溶质转运的重要节段, 主要负责调节血液的  $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ 、 $\text{Ca}^{2+}$  和 pH 值, *Slc12a3* 是该节段的关键标志物, 也是噻嗪类利尿剂的关键靶标[30]。DKD 中, DCT 细胞的比例增加, *PI3K/Akt/mTOR*、*N* 代谢和自噬通路显著激活[14], 离子转运调节、钙介导的信号传导和对类固醇激素相关基因显著变化, 蛋白聚糖结合相关的基因富集, 这表明 DCT 在细胞表面受体或细胞内信号通路中发挥作用[9]。此外, DCT 细胞的基因表达与上游 TAL 及下游的 CD-PC (Collecting Duct Principal Cells, 集合管主细胞) 相关, DKD 环境下其编码钙选择通道和基底侧的质膜钙 ATPase 的 *TRPV5* 与 *ATP2B4* 显著上调[9], 可能与上游 TAL 的钙离子排泄的增加相关, 而调节细胞代谢和离子通道功能的 *NEDD4L* 的下调与 *SGK1* 的上调又促进了下游 CD-PC 细胞的标志物 *ENaC* 的表面表达[9]。

## 8. 集合管

集合管 (Collecting Duct, CD) 是肾单位的最终段, 由 CD-PC (Collecting Duct Principal Cells, 集合管主细胞) 和 CD-IC (Collecting Duct Intercalated Cell, 集合管闰细胞) 两种细胞组成, 前者表达高水平的 *Aqp2* 和 *Avpr2*, 主要负责重吸收水分, 以及通过 *Nr3c2* 调节  $\text{Na}^+$  和  $\text{K}^+$ , 后者表达高水平的 *Atp6v1g3*, *Atp6v0d2*, *Atp6v1b1*, 主要负责酸和碱分泌[5]。单细胞 RNA 研究证实了 CD-IC 到 CD-PC 的转变由 Notch 信号通路驱动, 并且这种细胞命运的转变可能导致了 CKD 的代谢性酸中毒[31]。

通常认为 PC 细胞不会驱动 DKD, 但是单细胞研究发现, PC 细胞不仅与 CKD 显著相关, 还是 DKD 中差异表达基因数目最多的细胞类型[8]。在 DKD 中, CD-PC 细胞的数量由于 Notch 信号通路的激活而增加, 离子转运, 能量产生和氧化应激通路显著变化, 并表现出代谢损伤, 钠钾转运平衡受损以及钙离子平衡破坏的特征[9] [12] [14] [31]。同时, CD-PC 细胞中细胞周期对染色体复制的控制降低, *MT1* 参与的半胱氨酸和甲硫氨酸代谢通路受损[12], 编码血管加压素受体的 *AVPR2* 特异性下调[8], 表明水重吸收缺陷及氨基酸代谢的异常。此外, *Spp1* 也是 CD-PC 细胞中最显著上调的基因之一[32], 其受体 *CD44* 在巨噬细胞中也表现出明显的上调[32], 这表明 CD-PC 可能通过 *Spp1* 的表达介导巨噬细胞浸润和攻击肾脏导致肾炎损伤。并且, *Spp1* 信号通路也被证明是 CD-PC 与 CD-IC, DCT, TAL 和 MCD (Medullary Collecting Duct, 髓质集合管细胞) 相互作用的中介[12]。而在 DKD 的 CD-IC 细胞中, *S1P* (Sphingosine-1-Phosphate, 磷酸鞘氨醇) 的信号传导受到抑制[12], 其亚群 IC-A 细胞中编码胰岛素受体底物的 *IRS1* 表达降低, IC-B 细胞则表现出免疫细胞的激活[9]。

## 9. 免疫细胞

单细胞研究发现, 在 DKD 中, 巨噬细胞激活相关的基因高表达, 细胞通讯的传入和传出均显著增强[32]。免疫细胞的标记基因 *EIF4B*、*RICTOR* 和 *PRKCB* 上调, 并在 *mTOR* 途径中显著富集[33]。巨噬细

胞数量和浸润增加[8] [11], 并通过对 T 细胞的作用, 影响其他的肾脏细胞类型[13], 这可能表明, 一方面, 巨噬细胞通过释放白介素, TNF- $\alpha$  等促炎性细胞因子促成 DKD 的免疫环境。另一方面, M1 主导的巨噬细胞通过 CD74 和 CD44 表面抗原的表达, 以 Spp1 通路攻击肾间质细胞并激活 T 细胞, 以及通过 H2-Aa 等表面抗原的表达, 以 MHC-2 (Major Histocompatibility Complex, 主要组织相容性复合体)激活 T 细胞[15] [32], T 细胞再以 MHC-1 通路影响其他的肾脏细胞, 从而引发 DKD 的免疫反应。

## 10. 结论与展望

单细胞 RNA 测序建立了人体肾脏的单细胞参考图谱, 为 DKD 的研究提供了蓝图。它不仅发现了参与肾脏病变过程中特异的细胞亚群, 而且揭示了细胞与细胞之间相互作用的机制, 使我们完整了解了 DKD 过程的所有分子特点及关键基因的表达与调控。在 DKD 中, 包括内皮细胞、系膜细胞、PCT、DCT 在内的多种细胞类型表现出血管生成的特征, 这可能是异常血管生成的早期迹象。肾小球细胞似乎对高糖的反应更为敏感, 在药物诱导加速的 DKD 模型中率先发生转录变化, 并主要产生下游与血糖依赖性相独立的通路。然而肾小管细胞主要介导血糖依赖性反应通路, 它们承受更多的代谢压力, 需要处理多余的葡萄糖和其他代谢产物, 这导致了大量代谢相关基因的转录变化。此外, 相比于肾小球细胞, 负责离子转运的, 高代谢活性的肾小管细胞对于药物表现出更高的敏感性, 这可能由于水, 钠、钾、钙等离子的转运, 排泄和重吸收是一个动态平衡的过程, 一旦肾小管细胞中的离子通道和运输蛋白的表达改变, 体液电解质平衡就会破坏并重新趋于新的平衡。

然而, 单细胞 RNA 测序在 DKD 领域的应用仍存在一些局限性, 一方面, 肾脏是一个具有复杂空间结构的组织, 而单细胞测序技术需要将其打散成细胞悬液, 这导致了空间信息的破坏; 另一方面, 单细胞测序技术无法解决因果关系的问题, 即我们难以确定哪些分子变化是最上游的, 哪些是最下游的。因此, 只有将单细胞测序技术与空间转录组学、基因编辑技术等其他强大的技术相结合才能提供更清晰的信息和概念, 同时算法的进一步发展也将有助于挖掘单细胞 RNA 测序数据的更多信息。

## 参考文献

- [1] Vallon, V. and Komers, R. (2011) Pathophysiology of the Diabetic Kidney. *Comprehensive Physiology*, **1**, 1175-1232. <https://doi.org/10.1002/cphy.c100049>
- [2] Ricciardi, C.A. and Gnudi, L. (2021) Kidney Disease in Diabetes: From Mechanisms to Clinical Presentation and Treatment Strategies. *Metabolism*, **124**, Article ID: 154890. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2021.154890>
- [3] Reidy, K., Kang, H.M., Hostetter, T. and Susztak, K. (2014) Molecular Mechanisms of Diabetic Kidney Disease. *Journal of Clinical Investigation*, **124**, 2333-2340. <https://doi.org/10.1172/JCI72271>
- [4] Azushima, K., Gurley, S.B. and Coffman, T.M. (2018) Modelling Diabetic Nephropathy in Mice. *Nature Reviews Nephrology*, **14**, 48-56. <https://doi.org/10.1038/nrneph.2017.142>
- [5] Balzer, M.S., Rohacs, T. and Susztak, K. (2022) How Many Cell Types Are in the Kidney and What Do They Do? *Annual Review of Physiology*, **84**, 507-531. <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-052521-121841>
- [6] Wang, P., Chen, Y., Yong, J., Cui, Y., Wang, R., Wen, L., Qiao, J. and Tang, F. (2018) Dissecting the Global Dynamic Molecular Profiles of Human Fetal Kidney Development by Single-Cell RNA Sequencing. *Cell Reports*, **24**, 3554-3567.E3553. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.08.056>
- [7] Lake, B.B., Menon, R., Winfree, S., Hu, Q., Melo Ferreira, R., Kalhor, K., Barwinska, D., Otto, E.A., Ferkowicz, M., Diep, D., et al. (2023) An Atlas of Healthy and Injured Cell States and Niches in the Human Kidney. *Nature*, **619**, 585-594.
- [8] Wu, H., Gonzalez Villalobos, R., Yao, X., Reilly, D., Chen, T., Rankin, M., Myshkin, E., Breyer, M.D., Humphreys, B.D. (2022) Mapping the Single-Cell Transcriptomic Response of Murine Diabetic Kidney Disease to Therapies. *Cell Metabolism*, **34**, 1064-1078.E1066. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2022.05.010>
- [9] Wilson, P.C., Wu, H., Kirita, Y., Uchimura, K., Ledru, N., Rennke, H.G., Welling, P.A., Waikar, S.S. and Humphreys, B.D. (2019) The Single-Cell Transcriptomic Landscape of Early Human Diabetic Nephropathy. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **116**, 19619-19625. <https://doi.org/10.1073/pnas.1908706116>

- [10] Dhillon, P., Park, J., Hurtado Del Pozo, C., Li, L., Doke, T., Huang, S., Zhao, J., Kang, H.M., Shrestha, R., Balzer, M.S., *et al.* (2021) The Nuclear Receptor ESRR $\alpha$  Protects From Kidney Disease by Coupling Metabolism and Differentiation. *Cell Metabolism*, **33**, 379-394.E378. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2020.11.011>
- [11] Wu, J., Sun, Z., Yang, S., Fu, J., Fan, Y., Wang, N., Hu, J., Ma, L., Peng, C., Wang, Z., *et al.* (2022) Kidney Single-Cell Transcriptome Profile Reveals Distinct Response of Proximal Tubule Cells to SGLT2i and ARB Treatment in Diabetic Mice. *Molecular Therapy*, **30**, 1741-1753. <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2021.10.013>
- [12] Tsai, Y.C., Kuo, M.C., Huang, J.C., Chang, W.A., Wu, L.Y., Huang, Y.C., Chang, C.Y., Lee, S.C. and Hsu, Y.L. (2023) Single-Cell Transcriptomic Profiles in the Pathophysiology within the Microenvironment of Early Diabetic Kidney Disease. *Cell Death & Disease*, **14**, Article No. 442. <https://doi.org/10.1038/s41419-023-05947-1>
- [13] Thomas, M.C., Brownlee, M., Susztak, K., Sharma, K., Jandeleit-Dahm, K.A., Zoungas, S., Rossing, P., Groop, P.H. and Cooper, M.E. (2015) Diabetic Kidney Disease. *Nature Reviews Disease Primers*, **1**, Article No. 15018. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2015.18>
- [14] Liu, S., Zhao, Y., Lu, S., Zhang, T., Lindenmeyer, M.T., Nair, V., Gies, S.E., Wu, G., Nelson, R.G., Czogalla, J., *et al.* (2023) Single-Cell Transcriptomics Reveals a Mechanosensitive Injury Signaling Pathway in Early Diabetic Nephropathy. *Genome Medicine*, **15**, Article No. 2. <https://doi.org/10.1186/s13073-022-01145-4>
- [15] Fu, J., Akat, K.M., Sun, Z., Zhang, W., Schlondorff, D., Liu, Z., Tuschl, T., Lee, K. and He, J.C. (2019) Single-Cell RNA Profiling of Glomerular Cells Shows Dynamic Changes in Experimental Diabetic Kidney Disease. *Journal of the American Society of Nephrology*, **30**, 533-545. <https://doi.org/10.1681/ASN.2018090896>
- [16] 宋凯云, 刘必成, 汤日宁. 内皮-足细胞对话在糖尿病肾病中的研究进展[J]. 中华肾脏病杂志, 2019, 35(3): 231-235. <https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.1001-7097.2019.03.014>
- [17] Najafian, B., Kim, Y., Crosson, J.T. and Mauer, M. (2003) Atubular Glomeruli and Glomerulotubular Junction Abnormalities in Diabetic Nephropathy. *Journal of the American Society of Nephrology*, **14**, 908-917. <https://doi.org/10.1097/01.ASN.0000057854.32413.81>
- [18] Xu, T., Sheng, Z. and Yao, L. (2017) Obesity-Related Glomerulopathy: Pathogenesis, Pathologic, Clinical Characteristics and Treatment. *Frontiers in Medicine*, **11**, 340-348. <https://doi.org/10.1007/s11684-017-0570-3>
- [19] Lan, H.Y. (2011) Diverse Roles of TGF- $\beta$ /Smads in Renal Fibrosis and Inflammation. *International Journal of Biological Sciences*, **7**, 1056-1067. <https://doi.org/10.7150/ijbs.7.1056>
- [20] Lu, Y., Ye, Y., Yang, Q. and Shi, S. (2017) Single-Cell RNA-Sequence Analysis of Mouse Glomerular Mesangial Cells Uncover Mesangial Cell Essential Genes. *Kidney International*, **92**, 504-513. <https://doi.org/10.1016/j.kint.2017.01.016>
- [21] Schlöndorff, D. and Banas, B. (2009) The Mesangial Cell Revisited: No Cell Is an Island. *Journal of the American Society of Nephrology*, **20**, 1179-1187. <https://doi.org/10.1681/ASN.2008050549>
- [22] Murphy, M., Hickey, F. and Godson, C. (2013) IHG-1 Amplifies TGF- $\beta$ 1 Signalling and Mitochondrial Biogenesis and Is Increased in Diabetic Kidney Disease. *Current Opinion in Nephrology and Hypertension*, **22**, 77-84. <https://doi.org/10.1097/MNH.0b013e32835b54b0>
- [23] Wei, Y., Gao, X., Li, A., Liang, M. and Jiang, Z. (2021) Single-Nucleus Transcriptomic Analysis Reveals Important Cell Cross-Talk in Diabetic Kidney Disease. *Frontiers in Medicine (Lausanne)*, **8**, Article ID: 657956. <https://doi.org/10.3389/fmed.2021.657956>
- [24] Olden, M., Corre, T., Hayward, C., Toniolo, D., Ulivi, S., Gasparini, P., Pistis, G., Hwang, S.J., Bergmann, S., Campbell, H., *et al.* (2014) Common Variants in UMOD Associate with Urinary Uromodulin Levels: A Meta-Analysis. *Journal of the American Society of Nephrology*, **25**, 1869-1882. <https://doi.org/10.1681/ASN.2013070781>
- [25] Pannabecker, T.L. (2012) Structure and Function of the Thin Limbs of the Loop of Henle. *Comprehensive Physiology*, **2**, 2063-2086. <https://doi.org/10.1002/cphy.c110019>
- [26] Chen, L., Chou, C.L. and Knepper, M.A. (2021) Targeted Single-Cell RNA-Seq Identifies Minority Cell Types of Kidney Distal Nephron. *Journal of the American Society of Nephrology*, **32**, 886-896. <https://doi.org/10.1681/ASN.2020101407>
- [27] Kirita, Y., Wu, H., Uchimura, K., Wilson, P.C. and Humphreys, B.D. (2020) Cell Profiling of Mouse Acute Kidney Injury Reveals Conserved Cellular Responses to Injury. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **117**, 15874-15883. <https://doi.org/10.1073/pnas.2005477117>
- [28] Burg, M.B. (1982) Thick Ascending Limb of Henle's Loop. *Kidney International*, **22**, 454-464. <https://doi.org/10.1038/ki.1982.198>
- [29] Zhang, J., Wei, J., Jiang, S., Xu, L., Wang, L., Cheng, F., Buggs, J., Koepsell, H., Vallon, V. and Liu, R. (2019) Macula Densa SGLT1-NOS1-Tubuloglomerular Feedback Pathway, a New Mechanism for Glomerular Hyperfiltration during Hyperglycemia. *Journal of the American Society of Nephrology*, **30**, 578-593. <https://doi.org/10.1681/ASN.2018080844>

- [30] McCormick, J.A. and Ellison, D.H. (2015) Distal Convolutd Tubule. *Comprehensive Physiology*, **5**, 45-98. <https://doi.org/10.1002/cphy.c140002>
- [31] Park, J., Shrestha, R., Qiu, C., Kondo, A., Huang, S., Werth, M., Li, M., Barasch, J. and SusztÁK, K. (2018) Single-Cell Transcriptomics of the Mouse Kidney Reveals Potential Cellular Targets of Kidney Disease. *Science*, **360**, 758-763. <https://doi.org/10.1126/science.aar2131>
- [32] Wu, C., Tao, Y., Li, N., Fei, J., Wang, Y., Wu, J. and Gu, H.F. (2023) Prediction of Cellular Targets in Diabetic Kidney Diseases with Single-Cell Transcriptomic Analysis of Db/Db Mouse Kidneys. *Journal of Cell Communication and Signaling*, **17**, 169-188. <https://doi.org/10.1007/s12079-022-00685-z>
- [33] Lu, X., Li, L., Suo, L., Huang, P., Wang, H., Han, S. and Cao, M. (2022) Single-Cell RNA Sequencing Profiles Identify Important Pathophysiologic Factors in the Progression of Diabetic Nephropathy. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, **10**, Article ID: 798316. <https://doi.org/10.3389/fcell.2022.798316>