

前列环素衍生物对慢性肾衰大鼠肾脏局部RAS系统关键因子表达的影响

罗来敏*,周红霞

南昌大学第一附属医院肾内科,江西 南昌 330006

[摘要] 目的:建立慢性肾衰竭(chronic renal failure, CRF)大鼠模型,研究前列环素(prostacyclin, PGI₂)衍生物对CRF大鼠肾脏局部肾素-血管紧张素系统(renin angiotensin system, RAS)关键因子血管紧张素Ⅱ(angiotensin Ⅱ, Ang Ⅱ)、血管紧张素(1-7)[angiotensin(1-7), Ang-(1-7)]、血管紧张素转化酶2(angiotensin converting enzyme 2, ACE2)、血管紧张素1型受体(angiotensin Ⅱ type 1 receptor, AT1R)表达的影响,探索PGI₂衍生物对大鼠CRF的可能保护机制。方法:清洁级雄性大鼠30只,按1:2分为假手术组及手术组。手术组行5/6肾切除术,第5周通过生化及病理检查确定造模成功,再将手术组按1:1随机分成模型组及治疗组。术后第5周,治疗组予PGI₂衍生物贝前列素钠片(beraprost sodium, BPS)0.6 mg/(kg·d),分2次灌胃,模型组和假手术组大鼠给予等量蒸馏水。治疗4周后检测大鼠血清肌酐、尿素氮,收集24 h尿液测24 h尿蛋白量(24 hUPE)。随后处死大鼠,HE及Masson染色观察各组大鼠肾脏病理改变,采用实时定量聚合酶链反应(qRT-PCR)、Western blot、免疫荧光检测肾组织ACE2、AT1R表达,ELISA检测肾组织中Ang Ⅱ、Ang(1-7)浓度及血清中ACE2、Ang Ⅱ、Ang(1-7)、AT1R的浓度变化。结果:术后5周和9周时手术组尿蛋白、血清肌酐、尿素氮均高于假手术组,差异有统计学意义。与术后5周时相比,术后9周时治疗组血清肌酐、尿素氮不同于模型组的明显下降,而仅仅是轻度下降,且高于模型组术后9周水平,蛋白尿的变化则相反。肾脏病理可见手术组出现系膜细胞增生、基质增生,肾间质炎性细胞浸润,间质纤维化,肾小球硬化等改变,而治疗组上述变化有所改善。手术组肾脏局部Ang Ⅱ、AT1R较假手术组上调,而Ang(1-7)、ACE2则下调;与模型组相比,给予PGI₂后,治疗组这4种RAS系统因子的变化趋势均减弱,差异有统计学意义,而血清中这4种RAS系统因子的变化与肾脏局部不同。结论:PGI₂衍生物能减少CRF大鼠模型24 h尿蛋白定量,减轻肾脏慢性纤维化,可能延缓慢性肾脏病进展,其机制可能是通过调控CRF大鼠模型肾脏局部RAS系统关键因子Ang Ⅱ、ACE2、Ang(1-7)、AT1R来实现的。

[关键词] 慢性肾衰竭;前列环素;Ang Ⅱ;Ang(1-7);ACE2;AT1R

[中图分类号] R692.5

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2018)03-310-07

doi: 10.7655/NYDXBNS20180306

Effects of prostacyclin derivatives on the expression of key factors in renal local RAS system of rats with chronic renal failure

Luo Laimin*, Zhou Hongxia

Department of Nephrology, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, China

[Abstract] **Objective:** To establish a chronic renal failure (CRF) rat model and to investigate the effects of prostacyclin (PGI₂) derivatives on the expressions of key factors in renal local renin angiotensin system (RAS) of CRF rats, including angiotensin Ⅱ (Ang Ⅱ), angiotensin(1-7)[Ang-(1-7)], angiotensin converting enzyme 2(ACE2), and angiotensin Ⅱ type 1 receptor(AT1R), thereby to explore the potential protective mechanism of prostacyclin derivatives on CRF. **Methods:** A total of 30 SD male rats were divided into the sham operation group and the operation group at a ratio of 1:2. Rats in the operation group underwent 5/6 nephrectomy followed by biochemical and pathological examinations 5 weeks after the surgery to determine the success of modeling, and then the operation group was further randomized into the model group and the treatment group at a ratio of 1:1. Rats in the treatment group were given beraprost sodium(BPS), a PGI₂ derivative at a dosage of 0.6 mg/(kg·d) through two intragastric administrations from the fifth week after operation, and those in the model group and the sham operation group received same volume of distilled water. After 4 weeks of

[基金项目] 江西省科学技术厅科技支撑计划(20133BBG70060)

*通信作者(Corresponding author), E-mail:llm090626@163.com

treatment, serum creatinine(Scr)and urea nitrogen(BUN)were detected, and 24-hour urine protein excretion(24 hUPE)was measured. The rats were then sacrificed and pathological changes of renal tissues in rats were observed by HE and Masson staining. Expressions of ACE2 and AT1R in renal tissues were detected by real-time quantitative polymerase chain reaction(qRT-PCR), Western blot and immunofluorescence, and enzyme linked immunosorbent assay(ELISA)was employed to measure the expressions of Ang II and Ang(1-7)in kidney and ACE2, Ang II, Ang(1-7)and AT1 in serum. **Results:**24hUPE, Scr and BUN levels were higher in the operation group at 5 weeks and 9 weeks than those in the sham group, with statistical significance. Compared to levels at 5 weeks, Scr and BUN were remarkably decreased in the treatment group at 9 weeks, significantly different from those in the model group with mild reduction, but still higher than those of the model group at 9 weeks, whereas urine protein changed in the opposite direction. Renal pathology showed mesangial cell proliferation and matrix hyperplasia in the operation group, accompanied with changes such as renal interstitial inflammatory cell infiltration, interstitial fibrosis and glomerular sclerosis, on the contrary, above changes were improved in the treatment group. Ang II and AT1R in the kidney of the operation group were up-regulated than those in the sham operation group, but Ang(1-7)and ACE2 were down-regulated at the same time. Meanwhile, there were statistical differences in changes of the four factors in RAS in the treatment group, yet no such changes in the kidney were found in the serum. **Conclusion:**Prostacyclin derivatives reduce the 24 hUPE, relieve the chronic renal fibrosis, and possibly delay the progress of chronic kidney disease via a potential mechanism of regulating the expressions of key factors Ang II, ACE2, Ang(1-7) and AT1R in renal local RAS system in the CRF rat model.

[**Key words**] chronic renal failure; prostacyclin; Ang II; Ang(1-7); ACE2; AT1R

[Acta Univ Med Nanjing, 2018, 38(03): 310-316]

慢性肾脏病(chronic kidney disease, CKD)的进展,可致终末期肾脏病(end-stage kidney disease, ESRD)的发生。其发病率呈上升趋势,已然是关乎全球的公共卫生问题。在CKD发病机制中,肾素-血管紧张素系统(renin angiotensin system, RAS)的激活,血管紧张素II(angiotensin II, Ang II)与血管紧张素1型受体(angiotensin II type 1 receptor, AT1R)结合上调是重要机制之一^[1-3]。在RAS系统中血管紧张素转化酶2(angiotensin converting enzyme 2, ACE2)—血管紧张素(1-7)[angiotensin(1-7), Ang(1-7)]—Mas轴是RAS的补充,以ACE2、Ang(1-7)为代表能通过不同方式下调RAS系统特别是Ang II的表达,进而为CKD的治疗提供了新的治疗位点。前列环素衍生物(prostaglandin I₂, PGI₂)是公认最强的扩血管和抑制血小板聚集的物质,研究发现PGI₂具有改善大鼠肾脏血流、延缓CKD进展的作用。研究表明,PGI₂与RAS系统具有一定相关性。贝前列素钠(beraprost sodium, BPS)是世界上第1种可以口服给药的前列环素衍生物,具有结构稳定、半衰期长、口服方便等优点,因此本研究通过建立慢性肾衰(chronic renal failure, CRF)大鼠模型,给予PGI₂制剂——BPS干预,观察大鼠血尿生化、肾脏病理及局部RAS系统关键因子表达等变化,探讨PGI₂衍生物延缓CRF模型大鼠病情进展的可能保护机制。

1 材料和方法

1.1 材料

兔抗ACE2多克隆抗体(上海塞齐生物有限公司)。兔抗AT1R多克隆抗体(武汉三鹰生物技术有限公司)。大鼠Ang II、ACE2、AT1R ELISA试剂盒(武汉伊莱瑞特生物科技有限公司)。大鼠Ang(1-7) ELISA试剂盒(Abbexa公司,英国)。

1.2 方法

1.2.1 动物分组及处理

清洁级雄性SD大鼠30只,重量250~300 g,购自湖南长沙斯莱克景达有限公司,许可证号:SCXK(湘)2013-0004。自由进食、饮水喂养1周后,按1:2随机分为假手术组及手术组。手术组制成5/6肾切除CRF模型,模型制作如下:大鼠用10%水合氯醛按照0.3 mL/100 g进行腹腔内注射麻醉后,俯卧位固定于自制大鼠手术台上。大鼠经备皮后消毒,选取左肋缘下腰部横切口进入,切开皮肤,刀片纵向切开皮肤约2 cm,剪开第1肌层,纵向钝性分离第2层肌层后,可见白色脂肪结缔组织,可以此组织作为作用力点,带出肾脏,小心分离肾包膜,保护好肾门结构,使用动脉夹夹住肾蒂血管,用直剪剪掉肾上下极各1/3,使用明胶海绵(与创面大小相似)压住两创面止血约5 min后,放回体内,分层缝合切口。1周后切除整个右肾。两次手术共切除肾脏约5/6。假手

术组仅剥离肾包膜。术后5周行眼眶采血检测肌酐 (serum creatinine, Scr)、尿素氮 (blood urea nitrogen, BUN), 并置于代谢笼中收集24 h尿液检测24 h尿蛋白定量 (24 hUPE), 每组随机取1只大鼠处死, 取肾脏进行病理检查。Scr、BUN、24 hUPE及病理证实模型成功后手术组按1:1比例随机分为模型组及治疗组。术后第5周开始 (第29天) 治疗组每天给予BPS (北京泰德制药股份有限公司提供) 灌胃, 剂量 $0.6 \text{ mg}/(\text{kg}\cdot\text{d})^{[4]}$, 分2次灌入, 模型组和对照组大鼠分别予等容量蒸馏水作对照, 治疗持续4周后处死大鼠。实验结束前大鼠禁食禁水, 并将大鼠置于代谢笼中留取24 h尿液测24 hUPE, 采用心脏采血方法取血, 分离血清检测Scr、BUN, 并留取肾组织。

1.2.2 肾脏病变观察

肾组织经过13%酸性福尔马林溶液固定, 脱水透明, 常规制备石蜡切片 ($4\sim 6 \mu\text{m}$), 进行HE及Masson染色, 光镜下观察大鼠肾脏病理改变, 采集图像, 分别采用王会玲等^[5]和Raij等^[6]的方法对肾小管间质和肾小球病变情况进行半定量评分。

1.2.3 免疫荧光检测大鼠肾脏ACE2、AT1R蛋白表达

将新鲜的肾脏组织经过速冻、固定、切片后置于 $-20 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存, 从冰箱取出冰冻切片恢复至室温, 血清封闭30 min, 孵一抗 (ACE2: 1:50, AT1R: 1:150) 于 $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 湿盒中孵育过夜。PBST冲洗切片3次, 滴加荧光二抗 (1:100), $20\sim 37 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 孵育1 h, PBST冲洗切片4次, 复染核, 用含抗荧光淬灭剂的封片液封片, 阳性染色为红光, 使用荧光显微镜观察采集图像, Image-pro plus 6.0分析图片中ACE2、AT1R蛋白的荧光表达强度, 根据公式平均光密度=区域累积光密度值/区域面积, 算出平均荧光强度值。

1.2.4 实时荧光定量聚合酶链反应 (qRT-PCR) 检测大鼠肾脏ACE2、AT1R mRNA表达变化

TRIzol法提取RNA, 逆转录成cDNA, 具体步骤参照说明书进行, 各引物序列, β -actin引物5'-CACGATGGAGGGGCCGACTCATC-3'(F), 5'-TAAAGACCTCTATGCCAACACACT-3'(R), 240 bp。ACE2引物5'-TTCCCAGAGAACAGTGGACC-3'(F), 5'-TGTGTAGTGGGCCATCATGT-3'(R), 219 bp。AT1R引物5'-CACCATCTGCATAGCGTATT-3'(F), 5'-TTCGTAGACAGGCTTGAGTG-3'(R), 141 bp。扩增反应条件: $50 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 2 min, $95 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 10 min; $95 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 30 s, $60 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 30 s, 扩增40个循环。对目的基因ACE2、AT1R和管家基因 β -actin进行qPCR反应, 每个样品重复3次, 取其平均值为Ct值, 表示此样本的表达水平。最终数据

以 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 进行分析。

1.2.5 ELISA检测肾组织Ang II、Ang(1-7)浓度及血清中ACE2、AT1R、Ang(1-7)、AT1R的浓度

按照ELISA试剂盒说明书步骤操作, 根据标准品做标准曲线, 推测出各个检测因子的浓度。

1.3 统计学方法

采用SPSS17.0统计软件对所得结果进行统计分析, 以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示计量资料; 多个样本均数间的比较采用单因素方差分析, 各组间比较采用LSD检验, 组内比较采用配对样本 t 检验, $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3组大鼠术后5、9周时的血清Scr、BUN、24 hUPE

术后5周, 模型组和治疗组大鼠Scr、BUN、24 hUPE值均较假手术组显著上升 ($P < 0.05$)。

术后9周, 与假手术组相比, 模型组Scr、24 hUPE、BUN显著上升 ($P < 0.05$); 与模型组相比, 治疗组Scr显著增加、BUN有所升高、24 hUPE显著减少 (表1)。

2.2 肾脏病理学改变

术后5周时, 假手术组肾脏病理见肾小球系膜细胞和基质轻度增生, 肾小管和肾间质及小动脉未见特殊病变; 手术组肾脏病理可见肾小球系膜细胞和基质弥漫轻度增生, 局灶节段性中-重度加重, 肾小管上皮细胞空泡及颗粒变性, 多灶状萎缩, 肾间质多灶状淋巴、单核细胞浸润伴纤维化明显, 小动脉管壁增厚, 玻璃样变, 结合生化及病理结果表明造模成功^[7]。术后9周时模型组病理与术后5周时相当, 而治疗组肾小球、肾小管及间质病变有所改善 (图1, 表2)。

2.3 各组大鼠肾组织ACE2、AT1R的表达

2.3.1 各组大鼠肾组织中ACE2、AT1R蛋白表达

假手术组大鼠肾组织可见明显ACE2蛋白 (红光) 沉积, 少量AT1R蛋白 (红光) 沉积主要见于肾间质。与假手术组相比, 模型组ACE2在肾组织表达明显减少 ($P < 0.05$), AT1R在肾组织表达明显增加 ($P < 0.05$); 与模型组相比, 治疗组ACE2表达明显增加 ($P < 0.05$), AT1R表达较模型组明显减少 ($P < 0.05$, 图2)。

2.3.2 各组大鼠肾组织中ACE2、AT1R mRNA的表达

模型组ACE2 mRNA表达较假手术组明显下调 ($P < 0.05$), AT1R mRNA表达较假手术组明显上调 ($P < 0.05$), 治疗组ACE2和AT1R mRNA的表达分别较模型组明显上调和下调 ($P < 0.05$, 图3、表3)。

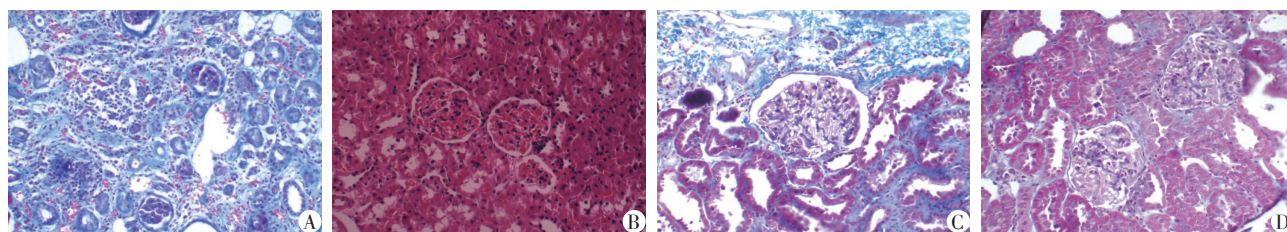
表1 3组大鼠实验室结果的比较

Table 1 Comparison of laboratory results of rats in 3 groups

($\bar{x} \pm s, n=9$)

指标	组别	术后5周	术后9周	t值	P值
24 hUPE(mg)	假手术组	6.80 ± 1.30	6.80 ± 2.77	0.000	1.000
	模型组	50.42 ± 8.65*	97.8 ± 17.35* [△]	4.177	0.014
	治疗组	46.40 ± 10.92*	23.8 ± 6.65* ^{△#}	3.352	0.029
	F值	44.498	85.023		
	P值	< 0.01	< 0.01		
Scr(μmol/L)	假手术组	22.80 ± 3.95	22.20 ± 1.42	0.413	0.701
	模型组	89.14 ± 12.42*	45.50 ± 25.06* [△]	4.223	0.013
	治疗组	95.52 ± 16.8*	75.98 ± 8.88* [#]	4.161	0.014
	F值	53.619	15.385		
	P值	< 0.01	< 0.01		
BUN(mmol/L)	假手术组	5.80 ± 0.35	6.14 ± 0.55	1.198	0.297
	模型组	14.74 ± 3.91*	8.92 ± 3.93* [△]	3.112	0.036
	治疗组	15.80 ± 3.69*	12.1 ± 2.20*	4.124	0.015
	F值	15.598	6.473		
	P值	< 0.01	0.012		

同一时间点,与假手术组相比,*P < 0.05;与模型组相比,#P < 0.05;与术后5周相比,△P < 0.05。



A: 正常肾组织(HE); B: 术后5周模型组肾组织(Masson); C: 术后9周模型组肾组织(Masson); D: 术后9周治疗组肾组织(Masson)。

图1 肾组织病理表现(×200)

Figure 1 The pathological observation on kidney tissues(×200)

表2 术后9周时3组大鼠肾脏病理评分结果的比较

Table 2 Comparison of renal pathological scores of rats in 3 groups at 9 weeks after surgery ($\bar{x} \pm s, n=9$)

指标	假手术组	模型组	治疗组	F值	P值
肾小管间质损伤评分	0.22 ± 0.44	3.11 ± 1.76*	1.78 ± 0.97 [#]	13.281	< 0.01
肾间质纤维化评分	0.22 ± 0.17	4.78 ± 1.39*	3.22 ± 1.09 [#]	45.695	< 0.01
肾小球硬化评分	0.11 ± 0.33	1.33 ± 0.87*	0.78 ± 0.67 [#]	7.745	0.003
总分	0.54 ± 0.61	9.22 ± 3.19*	5.89 ± 2.26 [#]	33.001	< 0.01

与假手术组相比,*P < 0.05;与模型组相比,#P < 0.05。

2.4 ELISA法检测肾组织Ang II、Ang(1-7)浓度和血清中Ang II、Ang(1-7)、ACE2、AT1R的浓度变化

模型组肾组织中Ang II浓度较假手术组明显升高(P < 0.05), Ang(1-7)浓度较假手术组明显下降(P < 0.05), 治疗组Ang II和Ang(1-7)的表达分别较模型组明显下降和升高(P < 0.05, 表4)。

术后9周时模型组血清Ang II、Ang(1-7)、ACE2、AT1R浓度均较假手术组有明显变化。与模型组相比,治疗组血清Ang II、Ang(1-7)浓度变化差

异有统计学意义,而ACE2、AT1R浓度差异无统计学意义(表5)。

3 讨论

PGI₂是前列环素家族中的重要成员,通过与IP受体或核过氧化物酶体增殖物激活受体(peroxisome proliferators-activated receptors, PPARs)结合而改变靶基因转录^[8],共同调节肾血流(renal blood flow, RBF)、肾小球滤过率(glomerular filtration rate,

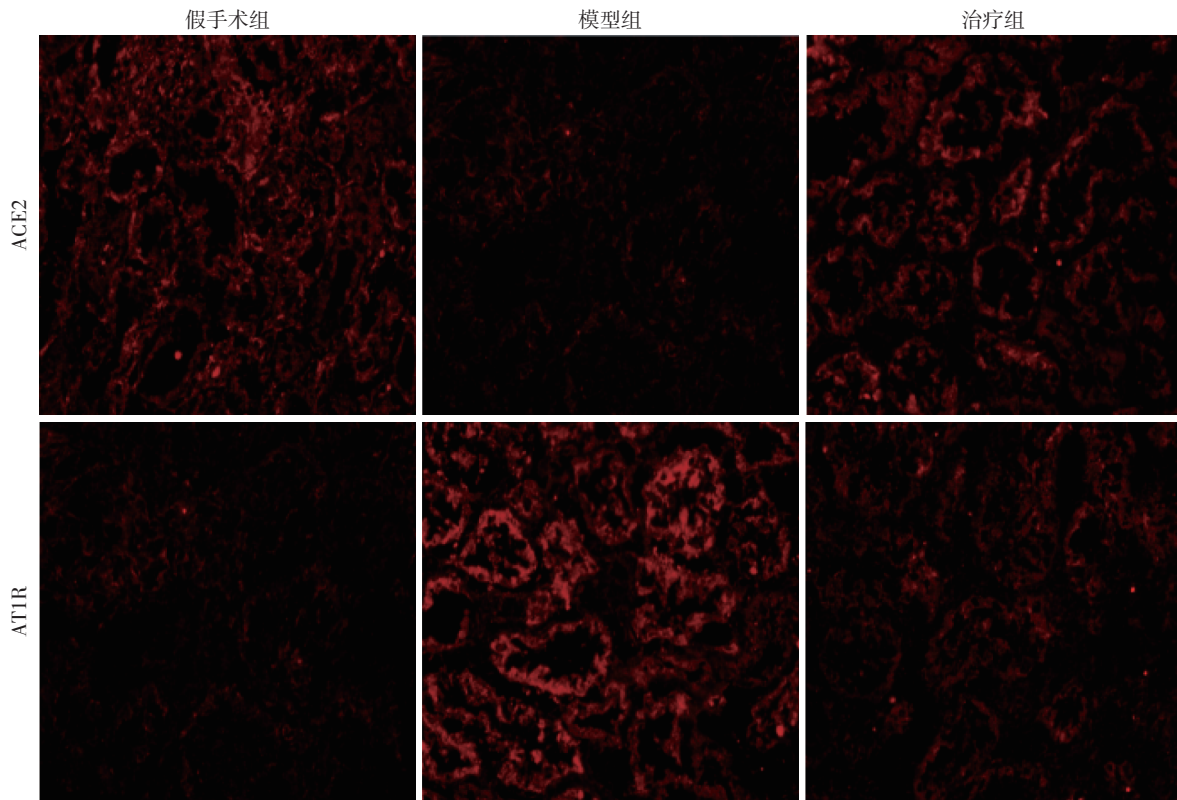
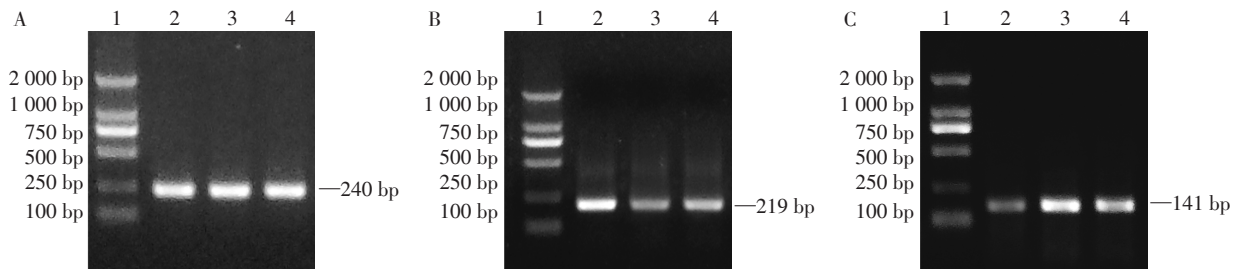


图2 术后9周时3组大鼠肾组织ACE2、AT1R蛋白表达(×400)

Figure 2 Expression of ACE2 and AT1R proteins in renal tissues of rats in 3 groups at 9 weeks after surgery (×400)



A: 各组β-actin扩增结果; B: 各组ACE2扩增结果; C: 各组AT1R扩增结果。1: Marker; 2: 假手术组; 3: 模型组; 4: 治疗组。

图3 各组大鼠肾组织ACE2、AT1R mRNA表达变化

Figure 3 Expression of ACE2 and AT1R mRNA in renal tissues of rats in each group

表3 术后9周3组大鼠肾组织ACE2、AT1R mRNA水平
Table 3 Comparison of the levels of ACE2 and AT1R mRNA in the renal tissues of rtas in 3 groups at 9 weeks after surgery ($\bar{x} \pm s, n=9$)

组别	ACE2 mRNA	AT1R mRNA
假手术组	1.113 ± 0.257	0.804 ± 0.164
模型组	0.489 ± 0.154 [*]	1.530 ± 0.312 [*]
治疗组	0.938 ± 0.252 [#]	0.602 ± 0.068 [#]
F值	10.121	9.984
P值	0.003	0.003

与假手术组比较, * $P < 0.01$; 与模型组比较, # $P < 0.05$ 。

表4 术后9周3组大鼠肾脏局部Ang II、Ang(1-7)浓度
Table 4 Comparison of Ang II and Ang(1-7) concentrations in the renal tissues of rtas in 3 groups at 9 weeks after surgery ($\bar{x} \pm s, n=9, \text{pg/mL}$)

组别	Ang II	Ang(1-7)
假手术组	971.74 ± 63.06	18.44 ± 2.08
模型组	1 417.06 ± 120.06 [*]	11.23 ± 2.25 [*]
治疗组	1 142.17 ± 209.04 [#]	15.22 ± 1.26 [#]
F值	12.197	17.830
P值	< 0.01	< 0.01

与假手术组比较, * $P < 0.01$; 与模型组比较, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ 。

GFR)、肾素分泌和肾小管的管运状态。此外研究还发现 PGI₂有抗利尿、改善红细胞滤过率、抑制血液

黏度上升、抗炎、抑制活性氧产生、抑制 IL-1 产生、调节细胞凋亡、抑制细胞纤维化、抗增殖等作用,这

表5 术后9周时3组大鼠血清中Ang II、Ang(1-7)、ACE2、AT1R浓度

Table 5 Comparison of the concentrations of Ang II, Ang(1-7), ACE2 and AT1R in the serum of rats in 3 groups at 9 weeks after surgery ($\bar{x} \pm s, n=9, \text{pg/mL}$)

组别	Ang II	Ang(1-7)	ACE2	AT1R
假手术组	645.91 ± 96.83	29.52 ± 1.64	6.95 ± 1.09	64.41 ± 36.14
模型组	930.98 ± 151.63*	20.87 ± 2.05*	4.50 ± 1.17*	131.80 ± 45.68*
治疗组	663.68 ± 201.82#	27.15 ± 0.91#	5.06 ± 0.74	92.95 ± 33.00
F值	5.955	34.630	7.079	3.456
P值	0.016	< 0.01	0.009	0.065

与假手术组比较,* $P < 0.05$;与模型组比较,# $P < 0.05$ 。

一系列生理作用均提示 PGI₂ 对肾脏具有保护作用。本研究肾组织光镜结果显示手术组肾组织损伤明显,存在明显慢性纤维化改变,治疗组较模型组显著缓解,实验室检查结果显示治疗组 24 hUPE 较模型组明显减少,因此笔者猜测 PGI₂ 衍生物可以减轻肾脏纤维化,改善肾小球滤过膜的通透性减少蛋白尿。特别有意思的是,本研究发现,模型组和治疗组术后 5 周时 Scr、BUN 相比无差异($P > 0.05$),术后 9 周时两组 Scr、BUN 均较 5 周时下降,但治疗组下降的程度小于模型组,且 Scr 水平明显高于模型组($P < 0.05$),考虑两组残存肾小球均代偿性增加滤过,但在治疗组,PGI₂ 能减弱这种代偿机制。与此同时治疗组术后 9 周的 24 hUPE 明显少于术后 5 周,而模型组术后 9 周的 24 hUPE 却高于术后 5 周,表明 PGI₂ 制剂能减轻 CRF 大鼠蛋白尿,这与血管紧张素转换酶抑制剂(angiotensin-converting enzyme inhibitor, ACEI)和血管紧张素受体拮抗剂(angiotensin receptor blocker, ARB)类药物在 CRF 患者使用时早期引起肾小球滤过率降低的结果类似,由此推测前列环素衍生物可能像 ACEI 和 ARB 一样,舒张肾小球血管,缓解肾小球的高灌注、高压、高滤过,降低肾小球滤过率,致 Scr、BUN 水平轻度升高,并能有效减少蛋白尿,也间接提示 PGI₂ 衍生物可能和 ACEI 及 ARB 类药物类似,是通过影响肾脏部分 RAS 系统的活性来发挥肾脏保护作用的。

RAS 系统为人体内重要的调控系统,存在于外周循环系统中,也遍及心脏、肾脏、肝脏等局部组织中,参与对靶器官的共同调节。大量研究提示,局部 RAS 独立于循环 RAS,因为局部可表达 RAS 的各种成分,并以自分泌、旁分泌和胞内分泌的方式调节器官、组织或细胞的功能及结构。Ang II 被认为是 RAS 系统中的重要效应因子,目前研究认识到 Ang II 与 AT1R 结合对肾脏细胞具有直接损害效应^[9-10]。研究发现,除了 ACE 与 Ang II、AT1R 的分

支,系统还具有 1 个由 ACE2、Ang-(1-7)和 Mas 受体组成的反调节轴。ACE2 在肾脏高度表达,小鼠肾脏 ACE2 的表达量高于心脏 20 倍,在肾脏主要表达于肾小管^[11],可转化 Ang I 为 Ang(1-9),也可直接将 Ang II 转化为 Ang(1-7),Ang(1-7)通过与 Mas 受体结合后可刺激 NO 及前列腺素释放、拮抗 Ang II 介导的生物作用^[12],调节水电解质平衡而发挥利尿^[13]、抗炎^[14]、抗细胞增殖^[15]作用,从而发挥肾脏保护作用。本研究发现与假手术组相比,手术组大鼠肾组织及血清 Ang II 及 AT1R 表达上调,ACE2、Ang(1-7)表达下调,提示行 5/6 肾大部分切除术后可激活外周循环及肾脏局部的 RAS 系统,ACE—Ang II—AT1R 轴与 ACE2—Ang-(1-7)—MAS 轴平衡稳态遭到破坏,出现 Ang II 及 AT1R 的激活,ACE2、Ang(1-7)表达下降,提示 Ang II 可降低 ACE2 的表达,导致 Ang(1-7)生成降低,Ang II 与 AT1R 结合促使大鼠 CRF 进展,印证了 Dilauro 等^[16]的研究,给予 PGI₂ 衍生物干预后,与模型组相比,治疗组肾组织 Ang II、AT1R 下调、ACE2、Ang(1-7)上调,血清中 Ang II 下调、Ang(1-7)上调,而血清中 ACE2、AT1R 未见明显变化,表明 PGI₂ 衍生物可调控循环及局部 RAS 系统的多个关键因子,但调节肾脏局部 RAS 系统强于外周循环 RAS 系统,特别是肾脏局部 ACE2、AT1R 的表达明显强于外周,PGI₂ 制剂通过下调肾脏组织中 AT1R 的表达,阻断了肾脏局部的 Ang II 与肾脏中 AT1R 的结合,通过上调肾脏 ACE2 的表达浓度,灭活 Ang II 的激活,催化肾脏 Ang II 向 Ang(1-7)转化,使肾脏中 Ang(1-7)浓度增加,从而抑制 RAS 系统的激活延缓了大鼠 CRF 的进展

综上所述,本研究证实了 PGI₂ 衍生物可以直接作用于肾脏 RAS 系统,上调肾脏组织中 ACE2、Ang-(1-7)的表达,拮抗 Ang II、AT1R 的生成,明显抑制 CRF 大鼠模型血液及肾脏局部 RAS 系统的活性,特别是能抑制 Ang II、AT1R 和促进 ACE2、Ang(1-7)在

肾脏局部的表达,减少蛋白尿,延缓CKD进展。其可能机制为负性调节ACE—Ang II—AT1R轴抑制细胞增殖与纤维化,促进ACE2—Ang-(1-7)—MAS轴发挥其对RAS系统激活的负向调节作用^[17]。

[参考文献]

[1] Border WA, Noble NA. Interactions of transforming growth factor-beta and angiotensin II in renal fibrosis[J]. Hypertension, 1998, 31(1 Pt 2): 181-188

[2] Luft FC. Proinflammatory effects of angiotensin II and endothelin; targets for progression of cardiovascular and renal diseases [J]. Curr Opin Nephrol Hypertens, 2002, 11(1): 59-66

[3] Benigni A, Tomasoni S, Gagliardini E, et al. Blocking angiotensin II synthesis/activity preserves glomerular nephrin in rats with severe nephrosis [J]. J Am Soc Nephrol, 2001, 12(5): 941-948

[4] Yamaguchi S, Inada C, Tamura M, et al. Beraprost sodium improves survival rates in anti-glomerular basement membrane glomerulonephritis and 5/6 nephrectomized chronic kidney disease rats [J]. Eur J Pharmacol, 2013, 714(1/3): 325-331

[5] 王会玲,张金元. 马兜铃酸致大鼠肾小管间质微血管病变中血管内皮生长因子表达的研究[J]. 解放军医学杂志, 2007, 32(9): 946-950

[6] Raji L, Azar S, Keane W. Mesangial immune injury, hypertension, and progressive glomerular damage in Dahl rats[J]. Kidney Int, 1984, 26(2): 137-143

[7] 马林林,解汝娟. 用改良的5/6肾切除法制作的大鼠慢性肾衰竭模型[J]. 中国伤残医学, 2010, 18(6): 5-7

[8] Kubis N, Levy BI. Angiogenic effect of prostaglandin I 2 in relation with its effect on PPAR nuclear receptors [J]. J Mol Cell Cardiol, 2004, 36(3): 331-332

[9] Lai KN, Leung JC, Tang SC. The renin-angiotensin system [J]. Contrib Nephrol, 2011, 170: 135-144

[10] Cheng CL, Tang Y, Zheng Z, et al. Advanced glycation end-products activate the renin-angiotensin system through the RAGE/PI3-K signaling pathway in podocytes [J]. Clin Invest Med, 2012, 35(5): E282

[11] Lely AT, Hamming I, Van Goor H, et al. Renal ACE2 expression in human kidney disease [J]. J Pathol, 2004, 204(5): 587-593

[12] Viberti G. Microalbuminuria reduction with VAL sartin (MARVAL) study investigators: microalbuminuria reduction with valsartan in patients with type 2 diabetes mellitus: a blood pressure-independent effect [J]. Circulation, 2002, 106(6): 672-678

[13] De Souza AM, Lopes AG, Pizzino CP, et al. Angiotensin II and angiotensin-(1-7) inhibit the inner cortex Na⁺-ATPase activity through AT2 receptor [J]. Regul Pept, 2004, 120(1/3): 167-175

[14] Nie W, Yan H, Li S, et al. Angiotensin-(1-7) enhances angiotensin II induced phosphorylation of ERK1/2 in mouse bone marrow-derived dendritic cells [J]. Mol Immunol, 2009, 46(3): 355-361

[15] Tallant EA, Clark MA. Molecular mechanisms of inhibition of vascular growth by angiotensin-(1-7) [J]. Hypertension, 2003, 42(4): 574-579

[16] Dilauro M, Zimpelmann J, Robertson SJ, et al. Effect of ACE2 and angiotensin-(1-7) in a mouse model of early chronic kidney disease [J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2010, 298(6): F1523-F1532

[17] Verdecchia P, Dagenais G, Healey J, et al. Blood pressure and other determinants of new-onset atrial fibrillation in patients at high cardiovascular risk in the ongoing telmisartan alone and in combination with ramipril global endpoint trial/telmisartan randomized assessment study in ACE intolerant subjects with cardiovascular disease studies [J]. J Hypertens, 2012, 30(5): 1004-1014

[收稿日期] 2017-02-21

