

· 基础研究 ·

TIR/BB环拟似物 AS-1 对小鼠肾缺血再灌注损伤的保护作用研究

刁爱芹¹, 张光际¹, 王 卉¹, 潘爱萍¹, 袁海建¹, 李建涛^{2*}¹泰州职业技术学院医学技术学院, 江苏 泰州 225300; ²南京医科大学病理生理学系, 江苏 南京 210029

[摘要] 目的: 研究TIR/BB环拟似物AS-1对小鼠肾脏缺血再灌注损伤的保护作用及机制。方法: 雄性C57BL/6小鼠随机分成4组: 假手术组(sham)、肾缺血再灌注组(RIR)、AS-1+肾缺血再灌注组(AS-1+RIR)、溶剂+肾缺血再灌注组(溶剂+RIR)。采用夹闭双侧肾动、静脉45 min, 再灌注24 h的方法构建肾缺血再灌注损伤模型。AS-1+RIR组与溶剂+RIR组在术前30 min按剂量50 mg/kg分别腹腔注射AS-1和溶剂, 再灌注24 h后检测肾功能参数、血清炎症因子、凋亡指标及磷酸化NF- κ B p65(p-p65)表达水平。结果: 与假手术组比较, 缺血再灌注组血清肌酐(Scr)、尿素氮(BUN)、TNF- α 、IL-6、p-p65、Cleaved caspase3及Bax的表达水平均明显提高($P < 0.01$), 肾间质CD68⁺和MPO炎症细胞浸润增多, Bcl-2的表达量明显降低($P < 0.01$), Bcl-2/Bax的比值也降低。给予AS-1处理后可以使Scr、BUN、TNF- α 、IL-6、p-p65、Cleaved caspase3、及Bax的水平明显降低($P < 0.01$), CD68⁺和MPO炎症细胞浸润减少; Bcl-2的表达量升高($P < 0.01$), Bcl-2/Bax的比值也升高。结论: TIR/BB环拟似物AS-1对小鼠肾缺血再灌注损伤有保护作用, 其机制可能与其抑制NF- κ B信号通路的活化, 产生抗炎作用和抗凋亡作用有关。

[关键词] TIR/BB环拟似物AS-1; 肾脏; 缺血再灌注损伤**[中图分类号]** R329.26**[文献标志码]** A**[文章编号]** 1007-4368(2022)08-1080-07**doi:** 10.7655/NYDXBNS20220805

Protective effect of TIR/BB-loop mimetic AS-1 on renal ischemia/reperfusion injury in mice

DIAO Aiqin¹, ZHANG Guangji¹, WANG Hui¹, PAN Aiping¹, YUAN Haijian¹, LI Jiantao^{2*}¹Medical Institute of Taizhou Polytechnic College, Taizhou 225300; ²Department of Pathophysiology, Nanjing Medical University, Nanjing 211166, China

[Abstract] **Objective:** To explore the effect and mechanism of TIR/BB-loop mimetic AS-1 on renal ischemia/reperfusion injury in mice. **Methods:** Male C57BL/6 mice were randomly and equally divided into four groups: sham operation group (Sham group), renal ischemia/reperfusion injury group (RIR group), AS-1+renal ischemia/reperfusion injury group (AS-1+RIR group), vehicle+renal ischemia/reperfusion injury group (vehicle+RIR group). The renal ischemia/reperfusion injury model was constructed by clipping bilateral renal veins for 45 min and reperfusion for 24 h. The AS-1+RIR group and vehicle+RIR group were intraperitoneally injected with 50 mg/kg AS-1 and vehicle 30 minutes before operation. After 24 h reperfusion, renal functional parameters, serum mediator concentrations, markers of apoptosis indexes and expression of phosphorylated NF- κ B p65 were determined. **Results:** Serum creatinine (Scr), blood urea nitrogen (BUN), TNF- α , IL-6, Cleaved caspase3, Bax and p-NF- κ B p65 were significantly increased after renal IR compared with the sham group ($P < 0.01$). The expression of Bcl-2 and the ratio of Bcl-2/Bax were significantly decreased ($P < 0.01$). After treatment with AS-1, the levels of Scr, BUN, TNF- α , IL-6, cleaved caspase 3, Bax and P-p65 were significantly decreased ($P < 0.01$), the expression of Bcl-2 was increased ($P < 0.01$), and the ratio of Bcl-2/Bax was also increased. **Conclusion:** TIR/BB loop analogue AS-1 has protective effect on renal ischemia-reperfusion injury in mice. The mechanism may be related to its anti-inflammatory and anti apoptotic effects by inhibiting the activation of NF- κ B signaling pathway.

[Key words] TIR/BB-loop mimetic AS-1; kidney; ischemia/reperfusion injury

[J Nanjing Med Univ, 2022, 42(08): 1080-1086]

[基金项目] 泰州市科技支撑计划(社会发展)项目(TS201912); 泰州职业技术学院科研项目(TZYKY-18-21); 泰州职业技术学院大学生创新创业训练计划项目(YJDC2020001)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: ljt@njmu.edu.cn

急性肾损伤(acute kidney injury, AKI)是一组以急性肾功能减退为主要表现的临床综合征,具有发病率高、病情凶险、预后差的特点,严重的急性肾损伤会发展为急性肾衰竭,导致肾功能在短时间内急剧减退,肾小球滤过率下降、血肌酐及尿素氮迅速上升,并导致水、电解质及酸碱平衡失调,临床上能采取的治疗措施非常有限,除肾替代治疗外尚缺乏有效的治疗手段^[1-2]。肾缺血再灌注(renal ischemia-reperfusion, RIR)是引起急性肾损伤的常见原因,当肾部分切除术、肾移植、肾积水等手术恢复供血供氧时,机体启动一系列炎症反应、自由基、氧化应激等刺激因素,使细胞代谢功能障碍及结构破坏更加严重^[3-4]。炎症和细胞凋亡是RIR损伤常见的病理生理过程,一方面肾缺血再灌注损伤发生后能激活TLRs介导的信号通路,激活NF- κ B介导的炎症反应,促进一系列炎症介质、细胞因子等的表达,导致肾损伤^[5];另一方面肾短暂缺血缺氧时凋亡是肾小管上皮细胞主要的死亡模式,缺氧时,细胞内的凋亡信号通路被激活,众多与凋亡相关的基因被诱导表达,而肾小管上皮细胞的凋亡可导致肾组织的结构萎缩和肾细胞数目的减少,也能导致并加重肾损伤^[5-6]。因此,如何减轻炎症和肾小管上皮细胞凋亡对防治肾缺血再灌注损伤具有重要意义。

近年来,研究发现,一种模拟MyD88和IL-1R/IL-1R受体同源区域(toll IL-1 receptor homology, TIR)BB环状拟似物氯化肉桂基-L-缬氨酰吡咯烷(hydrocinnamoyl-L-valyl pyrrolidine, AS-1)能发挥抗炎作用用于退热^[7],并能改善压力负荷诱导的心肌肥大^[8]、减轻大鼠心肌缺血再灌注损伤^[9],也能保护非酒精性脂肪性肝炎^[10],但其在肾缺血再灌注损伤中是否具有保护作用还不清楚。因此,本研究将采用整体小鼠肾缺血再灌注损伤模型,探讨AS-1对肾缺血再灌注损伤是否也具有保护作用,如具有保护作用,其作用机制是否与减轻炎症和细胞凋亡相关,以期为临床开发防治急性肾损伤或急性肾衰竭类药物提供理论基础及实验依据。

1 材料和方法

1.1 材料

SPF级8~10周雄性C57BL/6小鼠,体重18~22 g,由南京医科大学实验动物中心提供,将其置于温度(22±2)℃、湿度62%~65%、12 h光照和黑暗交替的房间中,给予标准食物和水喂养。

1.2 方法

1.2.1 模型建立

所有小鼠术前禁食12 h,自由饮水。用10%水合氯醛(0.4 mL/100 g)腹腔内注射麻醉,待麻醉起效时用手术剪刀剪去腹部鼠毛,然后碘伏消毒,在剑突下约0.5 cm沿腹正中线切开皮肤和肌肉,暴露腹腔,找到并游离双侧肾蒂,用无创动脉夹夹闭双侧肾蒂。观察肾脏颜色变化,确认血流阻断,夹闭45 min后取下动脉夹,小鼠肾脏颜色在短时间内由暗褐色逐渐变为鲜红色,提示再灌注良好,逐层缝合,苏醒后继续自由饮水,12 h后自由进食。

1.2.2 动物分组

将40只小鼠随机分成4组($n=10$):假手术组(sham组)、肾缺血再灌注组(RIR组)、AS-1+肾缺血再灌注组(AS-1+RIR组)、溶剂+肾缺血再灌注组(溶剂+RIR组)。各组分别做如下处理:sham组与手术组操作一样,但不夹闭小鼠双侧肾动、静脉;RIR组在小鼠肾脏缺血45 min后恢复血液供应;AS-1+RIR组在术前30 min按剂量50 mg/kg腹腔注射AS-1;溶剂+RIR组在术前30 min按剂量50 mg/kg腹腔注射溶剂。

1.2.3 血清肌酐(Scr)、尿素氮(BUN)测定

术后24 h取各组小鼠眼球血,静置后在室温下离心10 min(3 000 r/min),取上清获得血清,检测Scr、BUN。

1.2.4 肾组织HE染色

术后24 h处死各组小鼠取肾组织,在10%福尔马林中固定,病理切片后标准HE染色,在普通光学显微镜下观察各组肾组织病理变化,通过计算肾小管损伤面积半定量评估肾小管间质损伤程度。每张切片在200倍光镜下随机选取皮髓质交界部10个不重叠视野观察肾损伤并评分。评估参数包括:肾小管上皮细胞变形、坏死,刷状缘脱落,管型形成,炎症细胞浸润。评分标准:1分($\leq 10\%$);2分(11%~25%);3分(26%~45%);4分(46%~75%);5分($\geq 76\%$)^[11]。

1.2.5 ELISA法检测小鼠血清IL-6、TNF- α 水平

按ELISA试剂盒说明书操作,取各组小鼠眼球血清,检测肾缺血再灌注后24 h的IL-6、TNF- α 水平,用多功能微孔板检测仪($\lambda=450$ nm)测定吸光度(A)。

1.2.6 免疫组织化学染色

取各组肾组织石蜡切片予以常规脱蜡处理,煮沸的枸橼酸缓冲液抗原修复,免疫组化染色步骤则完全参考SP的试剂盒说明书进行,CD68和MPO抗

体浓度均为1:100。

1.2.7 Western blot

取一定量的肾组织,加入预冷蛋白裂解液和蛋白磷酸酶抑制剂,充分研磨裂解后,12 000 r/min离心30 min,取上清液,BCA法测蛋白浓度。蛋白煮沸冷却后每组取80 μg上样,经电泳、转膜、5%脱脂奶粉溶液封闭1 h后,加入一抗:Caspase 3(1:1 000)、Bcl-2(1:1 000)、Bax(1:1 000)、p-p65(1:1 000),4℃封闭孵育过夜(摇床)。次日复温30 min,TBST洗膜3次,分别加入相应的HRP标记的二抗(1:3 000),常温孵育2 h(摇床),TBST洗膜3次,采用ECL化学发光试剂盒(Thermo公司,美国)显色曝光。

1.3 统计学方法

采用GraphPad Prism 5统计软件分析。计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,实验数据经单因素方差分析(one-way ANOVA)比较,组间两两比较采用 t 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 AS-1改善肾缺血再灌注损伤的肾功能。

各组小鼠血清Scr及BUN水平比较见表1。与sham组相比,RIR组Scr和BUN均显著升高($P < 0.01$)。与溶剂+RIR组相比,AS-1处理后可以明显降低肾再灌注损伤后Scr及BUN水平($P < 0.01$)。与RIR组相比,溶剂+RIR组的Scr和BUN表达量无明显变化。

表1 血清Scr及BUN水平

Table 1 The levels of serum Scr and BUN ($\bar{x} \pm s$)		
组别	Scr(μmol/L)	BUN(μmol/L)
sham($n=7$)	8.07 ± 1.67	11.88 ± 1.58
RIR($n=7$)	65.48 ± 5.20**	89.03 ± 5.57**
AS-1+RIR($n=7$)	16.18 ± 1.95##	16.26 ± 3.47##
溶剂+RIR($n=7$)	67.75 ± 2.98**	91.1 ± 4.90**

与sham组相比,** $P < 0.01$;与RIR组和溶剂+RIR组相比,## $P < 0.01$ 。

2.2 AS-1改善肾缺血再灌注损伤的肾组织形态。

肾组织HE染色结果见图1。光镜下sham组肾小球、肾小管结构清晰,未见明显炎性细胞浸润。与sham组相比,RIR组肾小球毛细血管瘀血,肾小囊囊腔扩张,肾间质毛细血管扩张、弥漫性充血,肾小管扩张严重、上皮细胞变形坏死或消失、刷状边缘脱落,管壁变薄,部分呈蛋白管型,部分肾小管上皮细胞萎缩,细胞浆内可见大小不一的空泡,结构紊乱。AS-1处理后,肾间质毛细血管充血减轻、炎

性细胞浸润减少,上皮细胞变形坏死减少,表明肾组织损伤有所减轻。与RIR组相比,溶剂+RIR组的肾组织损伤没有明显变化,仍然损伤较严重。

2.3 AS-1降低肾缺血再灌注损伤的肾组织炎症因子表达

各组小鼠血清炎症因子TNF-α、IL-6表达水平见图2。肾缺血再灌注损伤后,与sham组相比,RIR组TNF-α的表达量升高了107.22%(86.225±4.277 vs. 178.671±6.303, $n=7$, $P < 0.01$),IL-6的表达量升高了117.68%(101.980±6.159 vs. 221.994±7.512, $n=7$, $P < 0.01$)。AS-1处理后,与溶剂+RIR组相比,TNF-α的表达量降低了36.67%(178.671±6.303 vs. 113.144±6.700, $n=7$, $P < 0.01$),IL-6的表达量降低了29.60%(221.994±7.512 vs. 156.272±3.652, $n=7$, $P < 0.01$)。与RIR组相比,溶剂+RIR组的TNF-α、IL-6表达量无明显变化。

2.4 AS-1减轻肾缺血再灌注损伤的肾组织CD68⁺和MPO炎症细胞浸润

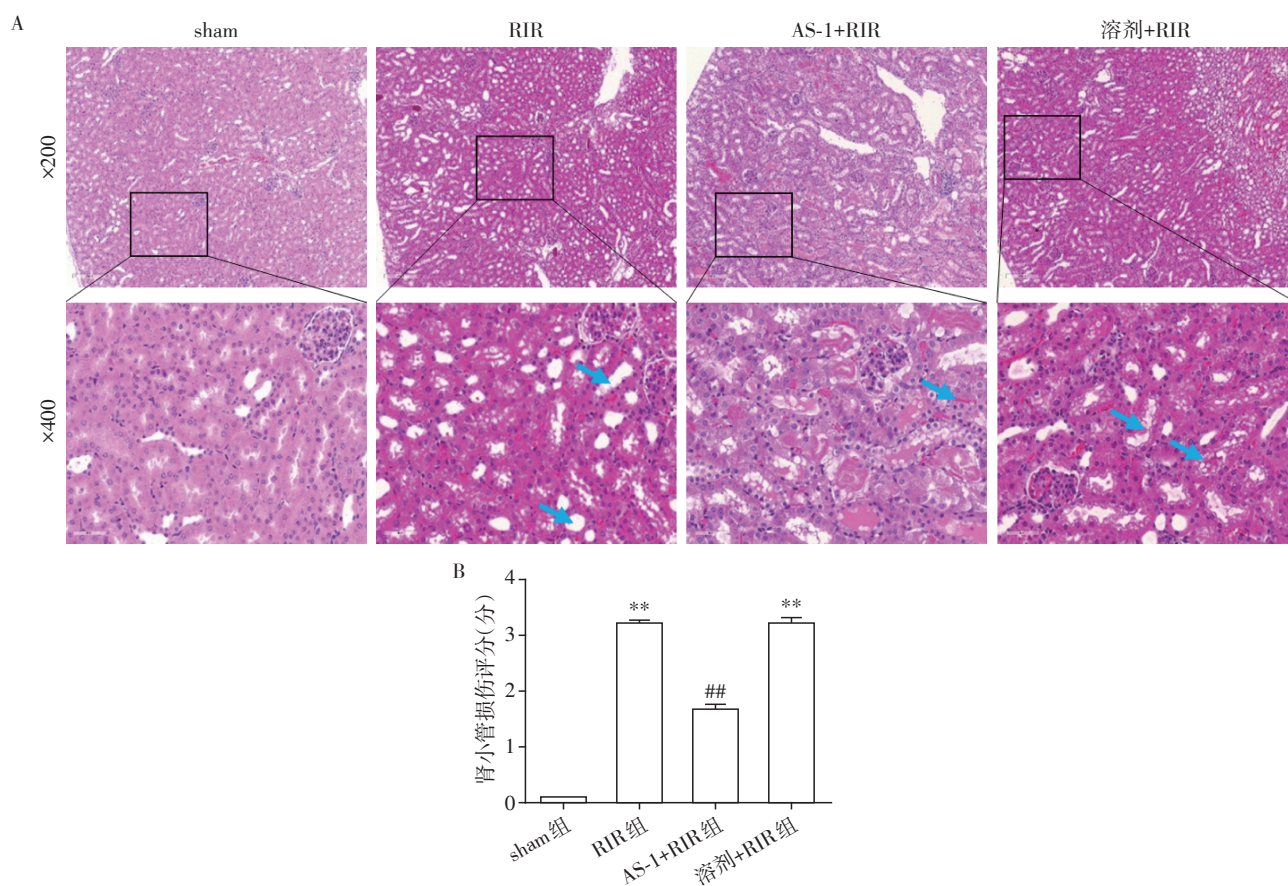
肾组织CD68⁺和MPO免疫组化(图3)显示,与sham组相比,RIR组CD68⁺和MPO炎症细胞明显增多。AS-1处理后,炎性细胞浸润减少。与RIR组相比,溶剂+RIR组的炎性细胞浸润没有明显变化。

2.5 AS-1减轻肾缺血再灌注损伤引起的细胞凋亡

各组小鼠Cleaved caspase3、Bcl-2、Bax的蛋白表达水平见图4。Western blot结果显示,肾缺血再灌注损伤后,与sham组相比,RIR组的Cleaved caspase3升高了110.01%(1.000±0.125 vs. 2.100±0.085, $n=3$, $P < 0.01$),Bax的表达量升高了54.47%(1.000±0.050 vs. 1.545±0.031, $n=3$, $P < 0.01$),Bcl-2的表达量降低了41.85%(1.000±0.062 vs. 0.582±0.047, $n=3$, $P < 0.01$)、Bcl-2/Bax的比值降低了62.37%(1.000±0.059 vs. 0.376±0.029, $n=3$, $P < 0.01$)。与RIR+溶剂组相比,AS-1处理后,Cleaved caspase3的表达量下降了22.29%(1.934±0.103 vs. 1.503±0.060, $n=3$, $P < 0.01$)、Bax的表达量下降了26.05%(1.507±0.070 vs. 1.115±0.031, $n=3$, $P < 0.01$)、Bcl-2的表达量升高了18.65%(0.566±0.027 vs. 0.696±0.025, $n=3$, $P < 0.01$)、Bcl-2/Bax的比值升高了39.78%(0.376±0.018 vs. 0.624±0.008, $n=3$, $P < 0.01$)。与RIR组相比,溶剂+RIR组的Cleaved caspase3、Bax、Bcl-2、Bcl-2/Bax表达量无明显变化。

2.6 AS-1抑制肾缺血再灌注损伤的肾组织NF-κBp65的磷酸化

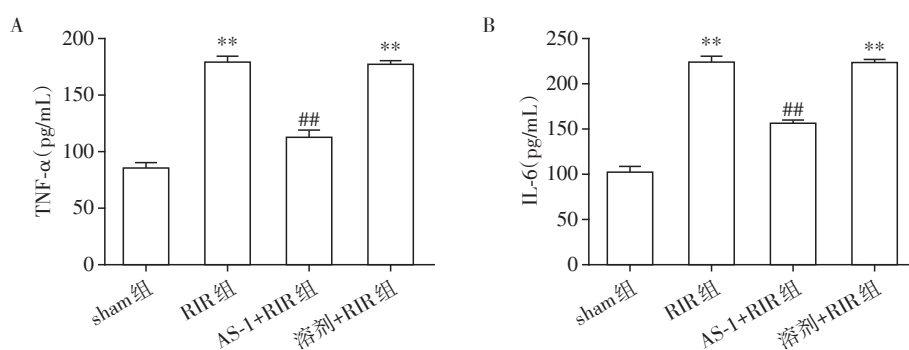
各组小鼠在缺血45 min再灌注24 h后 p-p65蛋



A:肾脏组织HE染色结果;B:肾小管损伤评分,与sham组比较,** $P < 0.01$;与溶剂+RIR组和RIR组比较,## $P < 0.01$ ($n=7$)。

图1 肾组织病理变化

Figure 1 The histopathological changes of kidney tissues



A:术后24 h各组小鼠TNF- α 表达水平;B:术后24 h各组小鼠IL-6表达水平。与sham组比较,** $P < 0.01$;与溶剂+RIR组和RIR组比较,## $P < 0.01$ ($n=7$)。

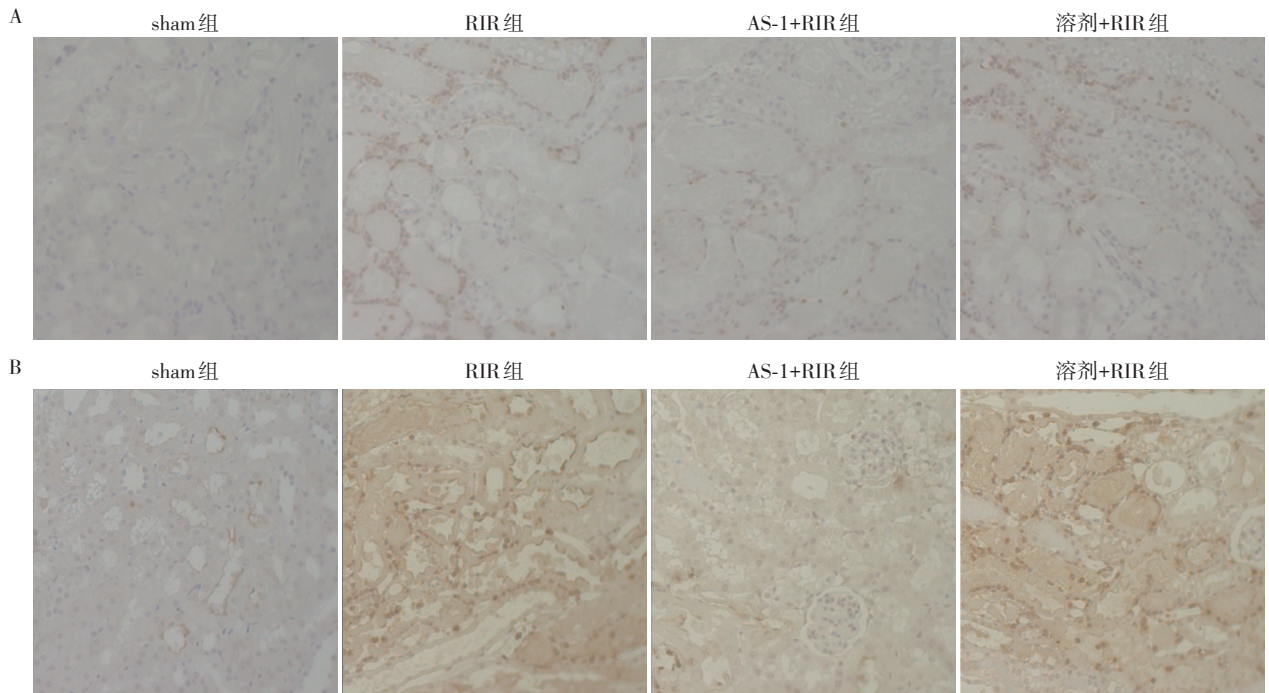
图2 血清炎症因子的表达水平

Figure 2 The levels of serum inflammatory factors

白表达如图5所示,结果显示,与sham组相比,RIR组的p-p65升高了64.97% (1.000 ± 0.054 vs. 1.650 ± 0.061 , $n=3$, $P < 0.01$),而经AS-1处理后,与溶剂+RIR组相比,AS-1介入后p-p65的表达量下降了35.41% (1.707 ± 0.036 vs. 1.103 ± 0.021 , $n=3$, $P < 0.01$)。与RIR组相比,溶剂+RIR组的p-p65表达量无显著变化。

3 讨论

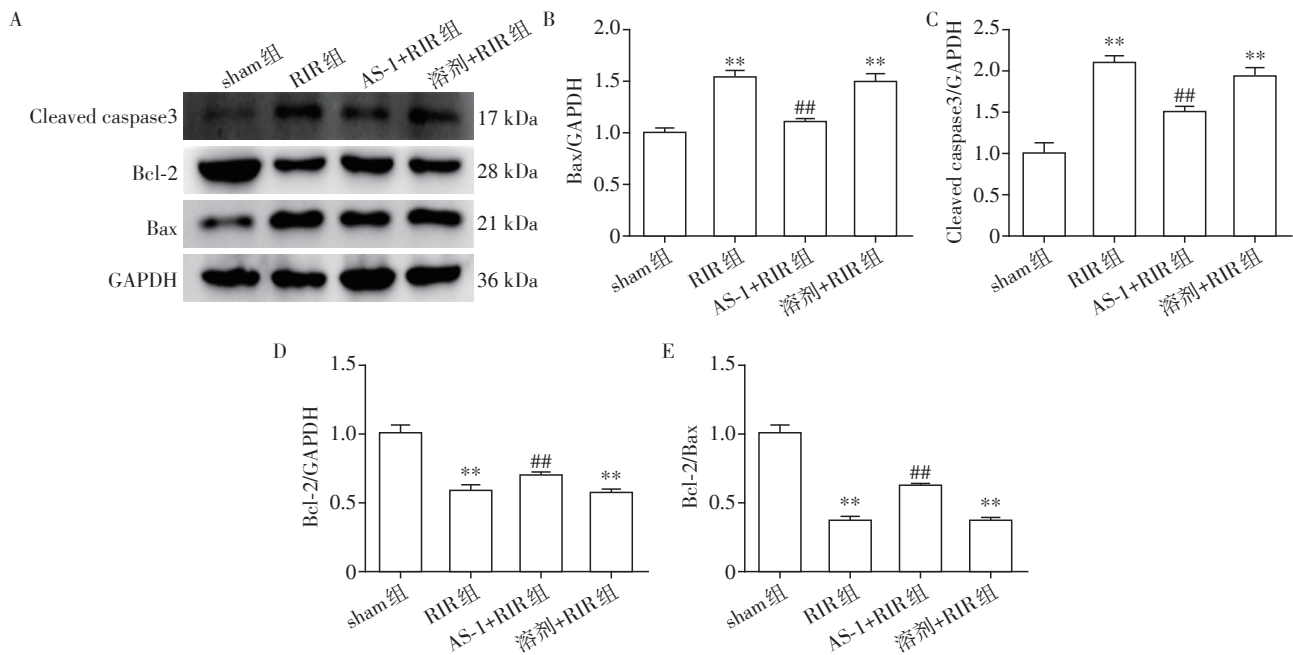
本研究探讨了TIR/BB环拟似物AS-1对小鼠肾缺血再灌注损伤的影响。研究发现小鼠肾缺血再灌注模型建立后肾功能指标血清Scr和BUN的水平明显升高,肾组织明显损伤;同时伴有炎症因子TNF- α 、IL-6的表达增加、肾组织炎症细胞浸润增多;伴有凋



A:各组小鼠肾脏巨噬细胞浸润情况;B:各组小鼠肾脏中性粒细胞浸润情况。

图3 各组小鼠肾脏炎性细胞浸润情况(免疫组化,×400)

Figure 3 Immunohistochemical detection of the infiltration of inflammatory cells in mice kidney of each group (IHC,×400)



A:目的蛋白 Western blot 检测图;B:不同处理组 Cleaved caspase3 的蛋白表达;C:不同处理组 Bax 的蛋白表达;D:不同处理组 Bcl-2 的蛋白表达;E:不同处理组 Bcl-2/Bax 比值变化。与 sham 组比较,** $P < 0.01$;与溶剂+RIR 和 RIR 组比较,** $P < 0.05$,### $P < 0.01$ ($n=7$)。

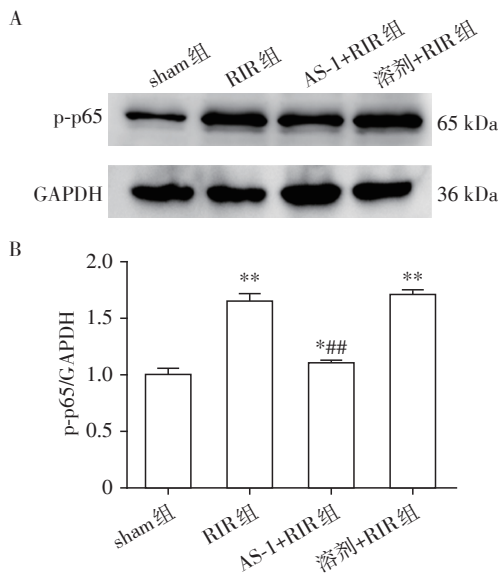
图4 凋亡指标检测结果

Figure 4 The results of apoptosis index

亡相关因子 Cleaved caspase 3、Bax 的表达增加及 Bcl-2 的表达下降。AS-1 可降低肾缺血再灌注引起的血清 Scr、BUN 的水平升高,减轻肾组织损伤程度;降低 TNF- α 、IL-6、Cleaved caspase3、Bax 的蛋白

表达及增加 Bcl-2 的表达,并减少炎性细胞浸润,发挥抗炎和抗凋亡作用。

AKI 在临床非常常见,且患病率呈逐年升高趋势,发达国家 AKI 的发病率占入院患者的 3.2%~



A: 目的蛋白 Western blot 检测图; B: 不同处理组 NF- κ B p-65 的蛋白表达。与 sham 组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与溶剂+RIR 和 RIR 组比较, ### $P < 0.01$ ($n=7$)。

图5 NF- κ B p65 的磷酸化水平

Figure 5 The levels of NF- κ B p65 phosphorylation

9.6%,病死率占入院患者的20%,在ICU患者中病死率甚至达到50%,全球每年死于AKI的患者有近200万^[1]。肾脏缺血再灌注损伤是肾脏外科手术中无法避免的病理生理过程,也是引起术后AKI或肾功能不全的主要原因,因此减轻肾脏缺血再灌注损伤是目前临床研究的热点,相关实验性研究有着重要的临床治疗指导意义。已有研究报道提示,TIR/BB环拟似物AS-1主要通过抑制IL-1R与MyD88的结合发挥其调控多种病理生理学进程的作用,Zhu等^[8]发现AS-1可以抑制心肌肥大诱导的NF- κ B结合活性的增加及MAPK信号的激活,同时抑制心肌肥大诱导的细胞凋亡,发挥心脏保护作用;Cao等^[9]研究发现AS-1能抑制心肌缺血再灌注损伤诱导的NF- κ B的核转录活性,降低心肌组织中炎症因子(IL-1 α 、IL-1 β 、IL-6、TNF- α)的表达水平,保护缺血再灌注引起的心功能损伤。周扬等^[10]研究也发现AS-1能减少创伤失血性休克大鼠再灌注引起的IL-1 β 、TNF- α 的表达发挥肝脏保护作用。因此,本文考虑研究AS-1对肾缺血再灌注的保护作用。本研究依据相关文献报道采用左、右肾蒂结扎缺血45 min,恢复灌注24 h建立小鼠肾缺血再灌注模型^[12-13]。与假手术组比较,手术组肾功能指标血清Scr和BUN水平明显升高,肾组织病理形态有明显的损伤,表明模型制备成功,肾功能明显受损。与手术组和溶剂组相比,术前30 min腹腔注射AS-1处

理后,能有效增加肾脏肌酐及尿素氮清除能力,血清肌酐和尿素氮水平明显降低,肾组织病理形态损伤有所减轻,表明AS-1对小鼠肾缺血再灌注损伤具有保护作用。

缺血再灌注损伤的病理反应与炎症反应密切相关,炎症反应可以显著恶化肾缺血再灌注损伤。在缺血缺氧状态下,血小板、巨噬细胞、肾小管上皮细胞等细胞活化,释放大促炎因子如TNF- α 、IL-6、黏附分子及其他趋化因子,在这些细胞因子、趋化因子及黏附分子的相互作用下,导致血管内皮细胞活化,血管通透性增加,大量炎性细胞浸润和聚集于组织间,增加氧自由基生产,造成炎症反应的级联放大反应,引起肾脏组织的损伤和功能的受损^[14-15]。因此,TNF- α 、IL-6等含量的升高及炎性细胞浸润增多可以作为炎症反应的指标。本研究中,小鼠肾缺血再灌注损伤后促炎因子TNF- α 、IL-6的表达明显增加,CD68⁺和MPO炎症细胞浸润增多,而给予AS-1处理后,能有效减少促炎因子的释放并减轻炎症细胞的浸润,表明AS-1减轻肾缺血再灌注损伤、改善肾脏功能的作用可能与其抗炎症反应有关。

细胞凋亡也是肾缺血再灌注损伤的重要发病机制之一,肾缺血再灌注后可引起氧自由基大量聚集,诱发肾小管上皮细胞的凋亡,肾细胞的凋亡可导致肾组织的结构萎缩和肾细胞数目的减少,甚至诱发肾功能的急剧下降^[16]。Caspase蛋白酶家族在肾缺血再灌注损伤诱导的细胞凋亡中发挥着重要的作用,被认为是细胞凋亡过程中的关键环节和执行者,Caspase 3是Caspase家族中最主要的效应靶点,细胞凋亡发生时,Cleaved caspase3的表达明显增加^[17],本研究中,小鼠肾缺血再灌注损伤后Cleaved caspase3的表达明显升高,而给予AS-1处理后,能明显抑制其表达升高的现象。Bcl-2家族在细胞凋亡中也发挥着重要的决定作用,其是促凋亡和抗凋亡基因家族中的主要成员,包括促凋亡基因如Bax、Bak等和抗凋亡基因如Bcl-2等,细胞凋亡的发生与Bcl-2和Bax表达的上调或下调密切相关,相关研究表明,在缺血再灌注损伤过程中存在Bcl-2的表达下调和Bax的表达上调、两者的比值降低,而通过预处理干预措施使Bcl-2表达上调和Bax表达下调、两者的比值升高后,能够减轻缺血再灌注损伤诱导的细胞凋亡^[17]。本研究中,小鼠肾缺血再灌注损伤24 h后,Bcl-2的表达明显减少,Bax的表达明显增加,两者的比值降低。而给予AS-1处理后,能明显上调Bcl-2的表达、下调Bax,使Bcl-2/Bax的比值显

著增加,说明AS-1对缺血再灌注诱导的肾损伤保护作用与其抗凋亡相关。

NF- κ B作为一种核转录因子在肾缺血再灌注损伤的过程中发挥着关键性作用。NF- κ B的活化可引起促炎细胞因子及黏附分子等炎症介质的过量表达,引起一系列炎性级联反应,结合相关受体,也会激活相关凋亡基因,导致细胞凋亡,加重肾组织的损伤^[15,18]。本研究中小鼠肾缺血再灌注损伤后p-p65蛋白表达增加,说明NF- κ B被活化,NF- κ B信号通路被激活,引发炎症级联反应,而给予AS-1处理后,与肾缺血再灌注组和溶剂+缺血再灌注损伤组相比,p-p65蛋白表达降低,说明NF- κ B信号通路的活化程度被抑制,表明AS-1可能通过抑制NF- κ B信号通路的活化减轻肾局部炎症反应和凋亡损伤,进而改善肾脏功能。

综上所述,TIR/BB环拟似物AS-1预处理对小鼠缺血再灌注引起的肾功能损伤有保护作用,其机制可能与其抑制NF- κ B信号通路的活化产生抗炎和抗凋亡作用有关,可为临床开发应用防治急性肾损伤或急性肾衰竭类药物提供理论基础及实验依据。

[参考文献]

- [1] CHEN J, LI G, WANG S, et al. Urinary nephrin as a biomarker of glomerular maturation and injury is associated with acute kidney injury and mortality in critically ill neonates[J]. *Neonatology*, 2019, 116(1):58-66
- [2] ABD-ELLATIF R N, HEGAB I I, ATEF M M, et al. Dacerein protects against glycerol-induced acute kidney injury: modulating oxidative stress, inflammation, apoptosis and necroptosis[J]. *Chem Biol Interact*, 2019, 306:47-53
- [3] YINGJIE K, HAIHONG Y, LINGWEI C, et al. Apoptosis repressor with caspase recruitment domain deficiency accelerates ischemia/reperfusion (I/R)-induced acute kidney injury by suppressing inflammation and apoptosis: the role of AKT/mTOR signaling[J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 112:108681
- [4] KIANIAN F, SEIFI B, KADKHODAEI M, et al. Protective effects of celecoxib on ischemia reperfusion-induced acute kidney injury: comparing between male and female rats[J]. *Iran J Basic Med Sci*, 2019, 22(1):43-48
- [5] JUN J H, SONG J W, SHIN E J, et al. Ethyl pyruvate is renoprotective against ischemia-reperfusion injury under hyperglycemia[J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2018, 155(4):1650-1658
- [6] FILIPPO F, GIUSEPPE R, MARCO D, et al. Recent advances in the pathogenetic mechanisms of sepsis-associated acute kidney injury[J]. *J Nephrol*, 2018, 31(3):351-359
- [7] BARTFAI T, BEHRENS M M, GAIDAROVA S, et al. A low molecular weight mimetic of the Toll/TL-1 receptor-resistance domain inhibits TL-1 receptor-mediated responses[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(13):7971-7976
- [8] ZHU Y, LI T, SONG J, et al. The TIR/BB-loop mimetic AS-1 prevents cardiac hypertrophy by inhibiting IL-1R-mediated MyD88-dependent signaling[J]. *Basic Res Cardiol*, 2011, 106(5):787-99
- [9] CAO Z, HU Y, WU W et al. The TIR/BB-loop mimetic AS-1 protects the myocardium from ischaemia/reperfusion injury[J]. *Cardiovasc Res*, 2009, 84(3):442-451
- [10] WANG X, GAO Y, SONG J, et al. The TIR/BB-loop mimetic AS-1 prevents non-alcoholic steatohepatitis and hepatic insulin resistance by inhibiting NLRP3-ASC inflammasome activation[J]. *Br J Pharmacol*, 2017, 174(12):1841-1856
- [11] JABLONSKI P, HOWDEN B O, RAE D A, et al. An experimental model for assessment of renal recovery from warm ischemia[J]. *Transplantation*, 1983, 35(3):198-204
- [12] 王莉芳,冯正平,李晓春,等.胃饥饿素对小鼠肾缺血再灌注损伤模型的保护作用[J]. *中国药业*, 2020, 29(13):21-24
- [13] 张婷,史国辉.不同剂量重组人促红细胞生成素对大鼠肾脏缺血再灌注损伤保护作用的研究[J]. *临床肾脏病学杂志*, 2015, 15(11):687-691
- [14] 邱云,高素敏,吴一晨,等.七氟烷后处理对小鼠肾脏缺血再灌注损伤的保护作用及机制[J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2018, 38(8):1077-1080
- [15] MELAMED M L, EUSTACE J A, PLANTINGA L C, et al. Third-generation parathyroid hormone assays and all-cause mortality in incident dialysis patients: the CHOICE study[J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2008, 23(5):1650-1658
- [16] 刘华,冯玉,杨静,等.厄贝沙坦对肾缺血再灌注损伤小鼠细胞凋亡的影响及其机制[J]. *实用药物与临床*, 2020, 23(8):684-687
- [17] LIU H, WANG L, WENG X D, et al. Inhibition of Brd4 alleviates renal ischemia/reperfusion injury-induced apoptosis and endoplasmic reticulum stress by blocking FoxO4-mediated oxidative stress[J]. *Redox Biol*, 2019, 24:101195
- [18] JUN J H, SONG J W, SHIN E J, et al. Ethyl pyruvate is renoprotective against ischemia-reperfusion injury under hyperglycemia[J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2018, 155(4):1650-1658

[收稿日期] 2021-07-13

(本文编辑:唐震)