

• 基础研究 •

低谷蛋白大米延缓慢性肾脏病小鼠肾功能进展

季 明¹, 乔汉连², 马梦青¹, 陶新星³, 王肇炜¹, 曹长春^{1*}

¹南京医科大学附属逸夫医院肾内科, 江苏 南京 211166; ²新沂市人民医院中医科, 江苏 新沂 221400; ³江苏宜盛堂生命科技有限公司, 江苏 南京 210000

[摘 要] 目的: 评价低谷蛋白(low-glutelin, LG)大米喂养对慢性肾脏病(chronic kidney disease, CKD)小鼠肾功能的影响, 为CKD患者日常饮食和营养干预提供新的手段和理论依据。方法: 使用阿霉素诱导的CKD小鼠模型和高脂高糖饮食联合链脲佐菌素诱导的糖尿病肾病(diabetic kidney disease, DKD)小鼠模型, 每个模型小鼠都分别喂养LG大米(含谷蛋白2.43 g/100 g、醇溶蛋白4.47 g/100 g、总蛋白8.15 g/100 g)和正常谷蛋白(normal-glutelin, NG)大米(含谷蛋白4.85 g/100 g、醇溶蛋白1.78 g/100 g、总蛋白7.79 g/100 g), 分为LG-CKD组、NG-CKD组, 以及LG-DKD组、NG-DKD组, 同时给正常小鼠喂食LG大米或NG大米作为对照; 各组小鼠连续喂养16周并定期监测食量、体重、24 h尿蛋白(24-hour urinary protein, 24 h UPro)以及尿微量白蛋白/尿肌酐比值(urinary albumin-to-creatinine ratio, mAlb/Cr)、空腹血糖(fasting blood glucose, FBG)、总胆固醇(total cholesterol, TC)、甘油三酯(triglyceride, TG)以及血清尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)、肌酐(serum creatinine, sCr)以及胱抑素C(cystatin C, Cys C)的变化; 观察肾小球病理改变和肾间质纤维化程度。结果: 喂养16周后, 无论是LG-CKD组与NG-CKD组比较, 还是LG-DKD组与NG-DKD组比较, 小鼠的摄食量、体重变化差异皆无统计学意义; 喂养16周时, 与NG-CKD组相比, LG-CKD组小鼠的BUN、sCr、Cys C水平皆明显下降, 差异有统计学意义(P 值分别为0.004、0.030和0.010); 喂养8周时, LG-CKD组与NG-CKD组比较, 尿量、尿mAlb/Cr和24 h UPro差异均无统计学意义; 而在16周时, LG-CKD组mAlb/Cr和24 h UPro相比8周时明显降低(P 值分别0.040和0.001), 尿量较8周时增多($P=0.043$), NG-CKD组尿量较LG-CKD组明显降低($P=0.002$); 喂养16周时, 与NG-DKD组相比, LG-DKD小鼠的FBG下降, 差异有统计学意义($P=0.002$); 肾脏组织学研究提示, 无论是CKD还是DKD小鼠, LG喂养小鼠的肾脏病理损伤程度皆较其相应的NG喂养小鼠轻, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 小鼠肾脏转录组富集分析发现, JAK-STAT通路参与调控CKD肾损伤的发病机制。结论: LG大米可控制DKD小鼠血糖波动、延缓CKD和DKD小鼠的肾功能恶化及肾组织纤维化进展。

[关键词] 低谷蛋白大米; 慢性肾脏病; 糖尿病肾病; 肾功能

[中图分类号] S-3

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2024)11-1491-09

doi: 10.7655/NYDXBNSN240826

Low gluten rice delayed renal function progression in mice with chronic kidney disease

Ji Ming¹, Qiao Hanlian², Ma Mengqing¹, Tao Xinxing³, Wang Zhaowei¹, Cao Changchun^{1*}

¹Department of Nephrology, the Affiliated Sir Run Run Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 211166;

²Department of Traditional Chinese Medicine, Xinyi People's Hospital, Xinyi 221400; ³Jiangsu Yishengtang Life Science and Technology Co, Ltd, Nanjing 210000, China

[Abstract] **Objective:** To evaluate the effects of low-glutelin (LG) rice feeding on renal function in a chronic kidney disease (CKD) mouse model, and to provide a new dietary and nutritional intervention approach for CKD patients. **Methods:** The CKD mouse model induced by doxorubicin and diabetic nephropathy (DKD) mouse model induced by high fat and high sugar diet combined with streptozotocin were studied. Mice in each model were fed either LG rice (glutelin 2.43 g/100 g, non-absorbed albumin 4.47 g/100 g, total protein 8.15 g/100 g) or normal-glutelin (NG) rice (glutelin 4.85 g/100 g, albumin 1.78 g/100 g, total protein 7.79 g/100 g), and were divided into LG-CKD group, NG-CKD group, LG-DKD group, and NG-DKD group. Normal mice were fed with LG rice or NG rice as controls. The mice in each group were continuously fed for 16 weeks, and parameters including food intake, body weight, 24-hour

[基金项目] 上海市“科技创新行动计划”长三角科技创新共同体领域项目(21002411500)

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

urinary protein (24 h UPro), urinary albumin-to-creatinine ratio (mAlb/Cr), fasting blood glucose (FBG), total cholesterol (TC), triglyceride (TG), blood urea nitrogen (BUN), serum creatinine (sCr), and cystatin C (Cys C) were regularly monitored. Renal histopathological changes and degree of renal interstitial fibrosis were examined. **Results:** At week 16, there was no statistically significant difference in food intake and weight changes between LG-CKD and NG-CKD groups, and between LG-DKD and NG-DKD groups. At 16 weeks, the levels of BUN, sCr, and Cys C were significantly lower in LG-CKD than in NG-CKD ($P=0.004$, 0.030 and 0.010 , respectively); the quantity of mAlb/Cr and 24 h UPro in LG-CKD group was significantly decreased ($P=0.040$ and 0.001 , respectively), but the urine volume was significantly increased ($P=0.043$), compared with those indexes at 8 weeks. The urine volume in NG-CKD group was significantly decreased, compared with the LG-CKD group at 16 weeks ($P=0.002$). FBG was significantly lower in LG-DKD than in NG-DKD at 16 weeks ($P=0.002$). Renal histological study indicated that the kidney pathological injury degree of LG feeding mice was less than that of NG feeding mice, in both CKD and DKD mice, with statistical significance ($P < 0.05$). The transcriptome analysis revealed the JAK-STAT pathway was involved in regulating CKD related kidney injury. **Conclusion:** LG rice feeding may control blood glucose fluctuations in DKD, delay the progression of renal dysfunction and fibrosis in CKD and DKD mouse models.

[**Key words**] low glutelin rice; chronic kidney disease; diabetic kidney disease; renal function
[J Nanjing Med Univ, 2024, 44(11): 1491-1498, 1509]

流行病学调查显示,全球约有14.3%的人群患慢性肾脏病(chronic kidney disease, CKD)^[1],2022年亚洲成年CKD患者总数已高达4.343亿,我国CKD患者总数高达1.598亿,占全国人口的10.8%,其中晚期[依据估算肾小球滤过率(estimated glomerular filtration rate, eGFR)<30 mL/(min·1.73 m²)标准]患者数量突破2 640万^[2],2040年CKD或将成为前5位死亡原因之一^[3]。CKD进展至终末期肾病(end stage renal disease, ESRD)后依赖透析或肾移植维持生命,给患者家庭和社会带来沉重负担。根据中国CKD营养治疗临床实践指南(2021版),CKD 1~2期糖尿病肾病(diabetic kidney disease, DKD)患者避免高蛋白摄入[>1.3 g/(kg·d)],建议蛋白质摄入量为0.8 g/(kg·d),建议CKD 3~5期非糖尿病患者低蛋白饮食[0.6 g/(kg·d)]或极低蛋白饮食[0.3 g/(kg·d)],联合补充酮酸制剂^[4]。我国广大居民习惯以大米为主食,稻米蛋白质含量约占糙米干质量的8%~10%,其中主要为可溶性谷蛋白(含量60%~75%),已超过KDOQI(Kidney Disease Outcome Quality Initiative)指南中关于肾脏疾病患者4%可溶性蛋白摄入量的要求^[5],因而长期食用正常谷蛋白大米会加重CKD患者的肾脏负担,更易发生ESRD。因此,本研究旨在研究低谷蛋白(low-glutelin, LG)大米延缓CKD小鼠

肾功能恶化的作用,为CKD患者日常饮食和营养干预提供新的手段和理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

本研究大米选用LG大米(LG香粳,江苏农科院)和正常谷蛋白(normal-glutelin, NG)大米(南粳46,江苏农科院),采用全自动凯氏定氮仪(Kjeltec 8400, FOSS公司,丹麦)测量米粉中的全氮含量,再乘以换算系数5.95计算总蛋白含量。取精米粉0.5 g,用提取液按顺序依次提取4种蛋白质,即清蛋白(10 mmol/L Tris-HCl, pH 7.5)、球蛋白(1 mol/L NaCl, 10 mmol/L Tris-HCl, pH 7.5)、醇溶蛋白(体积分数为55%的正丙醇, 10 mmol/L Tris-HCl, pH7.5)和谷蛋白(质量分数为0.24%的CuSO₄·5H₂O, 1.68%的KOH, 0.5%的酒石酸钾钠和体积分数为50%的异丙醇)。每次提取液用量为25 mL,室温下振荡2 h,其后于4 000 g离心10 min。清蛋白、球蛋白和醇溶蛋白的测定采用考马斯亮蓝法,谷蛋白的测定采用双缩脲法,分别计算4种蛋白的含量和所占比例,用凯氏定氮仪测定的总蛋白含量对各组分含量进行换算^[6]。每个样品测定3次,取平均值。各组大米蛋白含量见表1。

表1 两组大米蛋白含量
Table 1 Rice protein content of the two groups (g/100 g)

Variety(strain)	Albumin	Globulin	Alcohol-soluble protein	Glutelin	Total protein
Low glutelin rice	0.53 ± 0.02	0.72 ± 0.04	4.47 ± 0.03	2.43 ± 0.05	8.15 ± 0.14
Normal glutelin rice	0.51 ± 0.13	0.65 ± 0.05	1.78 ± 0.03	4.85 ± 0.12	7.79 ± 0.16

1.2 方法

1.2.1 实验小鼠分组

6~8周龄无特定病原体(specific pathogen free, SPF)雄性BALB/c小鼠购自南京医科大学实验动物中心, 体重23~25 g, 共96只。采用随机数字法分为CKD、CKD-Control组, 以及DKD、DKD-Control组, 每组又分为LG大米喂养组(分别为LG-CKD、LG-CKD-Control和LG-DKD、LG-DKD-Control)和NG大米喂养组(NG-CKD、NG-CKD-Control和NG-DKD、NG-DKD-Control), 每组12只。小鼠饲养于SPF屏障中, 适应性饲养1周, 保持恒温25℃, 相对湿度70%的环境, 12 h光/暗循环, 自由摄入大米和水。本研究符合3R原则, 已通过南京医科大学动物伦理委员会批准(IACUC-2311001)。

1.2.2 阿霉素诱导的CKD小鼠模型的构建

用随机数字法将SPF级BALB/c小鼠分为对照组(CKD-Control)和CKD组。CKD组小鼠尾静脉单次注射阿霉素(10 mg/kg), CKD-Control组小鼠尾静脉单次注射同体积生理盐水。造模8周检查24 h尿蛋白(24-hour urinary protein, 24 h UPro)定量, CKD组与CKD-Control组有显著差异, 且差异 ≥ 50 mg^[7]确认为模型成功。

1.2.3 DKD小鼠模型的构建

通过高脂高糖饲料喂养小鼠4周, 再连续5 d腹腔注射55 mg/kg链脲佐菌素建立小鼠DKD模型^[8]; 另取24只小鼠作为对照组(DKD-Control), 以基础饲料喂养, 同时腹腔注射相应剂量的柠檬酸钠缓冲液。注射结束1周后测量小鼠随机血糖和24 h UPro, 以血糖 ≥ 16.7 mmol/L, 且24 h UPro ≥ 30 mg/dL为DKD小鼠模型建立成功的标准^[9]。

1.2.4 血液学相关指标的检测

在造模成功后, 分别喂养LG大米和NG大米, 每周测量小鼠体重, 第16周后眼眶取血, 3 000 r/min、4℃离心10 min(离心半径10 cm), 分离血清, 于-18℃冰箱保存待测。血常规检测使用全自动血细胞分析仪。参照试剂盒说明书操作, 检测血尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)、肌酐(serum creatinine, sCr)、胱抑素(cystatin C, Cys C)、空腹血糖(fasting blood glucose, FBG)、总胆固醇(total cholesterol, TC)、甘油三酯(triglyceride, TG)、视黄醇结合蛋白(retinol binding protein, RBP)等指标。

1.2.5 尿微量白蛋白/尿肌酐比值(urinary albumin-to-creatinine ratio, mAlb/Cr)、24 h UPro定量检测

在造模成功后, 分别喂养LG大米和NG大米,

于第8周和16周分别收集小鼠尿液, 将小鼠转移至代谢笼, 禁食不禁水, 收集24 h尿液后测定尿量, 混匀后取1 mL, 2 000 r/min、4℃离心(离心半径10 cm)10 min, 去除沉渣后留取上清液于-20℃冰箱保存。参照试剂盒说明书操作流程, 测定mAlb/Cr、24 h UPro等指标。

1.2.6 Masson 染色

在造模成功后, 分别喂养小鼠LG大米和NG大米16周, 异氟烷吸入麻醉小鼠后颈椎脱位法处死。肾组织用4%多聚甲醛固定, 梯度乙醇脱水, 二甲苯透明, 浸蜡包埋, 4 μm切片, Masson、HE染色后光镜下观察肾组织病理学变化^[10]。肾间质纤维化评分依据Masson染色, 按阳性区域面积评分: 0分, 无; 1分, $<25\%$; 2分, $\geq 25\% \sim 50\%$; 3分, $\geq 50\% \sim 75\%$; 4分, $\geq 75\%$ 。200倍光学显微镜下每张切片随机观察10个不重叠视野, 取平均值作为肾小管损伤的指标。

1.2.7 转录组学分析

喂养16周处死小鼠后取出肾脏, 将左肾立即浸入RNAlater溶液中, 4℃过夜后转至-80℃保存。使用RNeasy Mini Kit提取总RNA。RNA完整性通过Agilent 2100生物分析仪评估, 仅RIN值 >8 的样本用于后续实验。利用NEBNext Ultra II Directional RNA Library Prep Kit构建文库。在Illumina NovaSeq 6000平台上进行150 bp双端测序, 每个样本产生约40 million读段。原始数据经FastQC质控和Trimmomatic过滤后, 使用STAR将清洁读段比对到小鼠参考基因组(GRCm39)。采用FeatureCount进行基因表达定量。差异表达分析使用DESeq2进行, 设置标准为 $\log_2$ FoldChange ≥ 1 且调整后P值(FDR) <0.05 。使用clusterProfiler进行KEGG富集分析。对差异表达基因进行GO富集分析, 对其功能进行描述(结合GO注释结果)。根据GO分析的结果结合生物学意义挑选用于后续研究的基因。利用KEGG数据库对差异蛋白编码基因进行Pathway分析。

1.3 统计学方法

使用SPSS 22.0软件进行统计学分析, 符合正态分布的数据用均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 偏态分布数据则以中位数(四分位数)[$M(P_{25}, P_{75})$]表示, 两独立样本的比较采用t检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组小鼠摄食和体重变化

每日记录每只小鼠摄食量, 汇总分析后可见同

一时间点 LG-CKD 组和 NG-CKD 组、LG-DKD 组和 NG-DKD 组小鼠的平均摄食量差异无统计学意义(图1),但 DKD 小鼠的摄食量明显高于 CKD 小鼠,表明 LG 大米或 NG 大米的口感、性状并未影响小鼠的正常进食。监测各组小鼠体重发现,随着喂养时间的延长,各组小鼠均能正常生长发育,干预8周后,NG-DKD 小鼠的体重较 LG-DKD 小鼠下降,但差异无统计学意义,考虑与糖尿病进展相关;NG-DKD-Control 组体重下降考虑与进食 NG 大米有关(图2)。

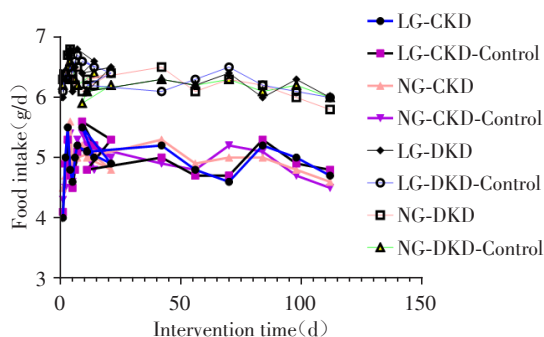


图1 各组小鼠摄食量变化趋势($n=12$)

Figure 1 Food intake of mice in each group($n=12$)

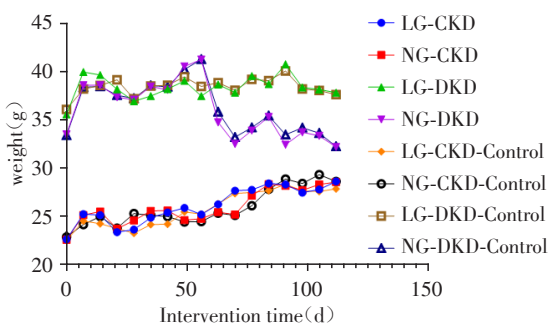


图2 各组小鼠饮食干预后体重的变化趋势($n=12$)

Figure 2 The change trend of body weight of mice in each group after dietary intervention($n=12$)

2.2 LG 干预对 CKD 小鼠血清指标的影响

采用不同蛋白水平的大米喂养 CKD 和 DKD 小

鼠 16 周,比较 LG 大米喂养组和 NG 大米喂养组,两组小鼠的红细胞(red blood cell, RBC)、白细胞(white blood cell, WBC)、血红蛋白(hemoglobin, Hb)、血小板(platelet, PLT)等血常规指标,差异无统计学意义(图3),血清总蛋白(total protein, TP)、白蛋白(albumin, ALB)、丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)、血钾(K^+)、血钠(Na^+)等指标差异也均无统计学意义(图4),表明 LG 大米喂养小鼠并未造成低蛋白血症等营养不良表现。

2.3 LG 干预对 CKD 小鼠肾功能的影响

不同大米喂养 16 周, LG-CKD 组较 NG-CKD 组小鼠的 BUN、sCr、Cys C 水平降低,差异均有统计学意义(P 值分别是 0.004、0.030、0.010),尿酸(uric acid, UA)的差异没有统计学意义,表明喂养 LG 大米可延缓 CKD 小鼠肾功能恶化的进展(图5)。

2.4 LG 干预对 CKD 小鼠尿液的影响

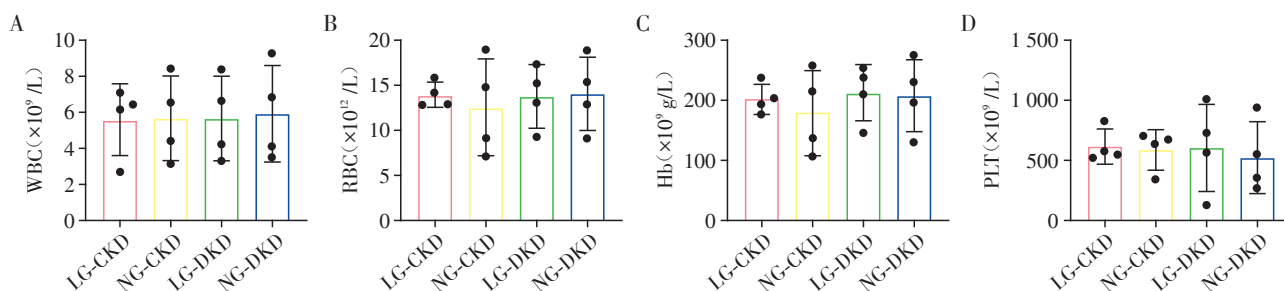
采用 LG 或 NG 大米喂养 CKD 及 CKD-Control 小鼠,8 周时 LG-CKD 与 NG-CKD 组尿量、mAlb/Cr、24 h UPro 差异无统计学意义。第 16 周 LG-CKD 组 mAlb/Cr 和 24 h UPro 定量较 8 周时明显降低(P 值分别 0.040 和 0.001),尿量较 8 周时增加($P=0.043$),而 NG-CKD 组尿量较 LG-CKD 组明显降低($P=0.002$,图6),结果表明长期 LG 饮食干预可降低小鼠 24 h UPro,对肾脏具有一定的保护作用。

2.5 LG 干预对 DKD 小鼠血糖、血脂影响

不同大米喂养 16 周, LG-DKD 组较 NG-DKD 组的 FBG 下降,差异有统计学意义($P=0.002$),TC、TG、RBP 水平组间差异无统计学意义,表明采用 LG 大米喂养可改善 DKD 小鼠的血糖变化(图7)。

2.6 LG 对 CKD 和 DKD 小鼠肾脏病理的影响

喂养 16 周后,与 LG-CKD-Control 组比较, LG-CKD 组肾小球间质未见系膜细胞增生,毛细血管袢无塌陷,肾小管基底膜增厚不明显,未见肾小管管型,未



A: WBC among different groups. B: RBC among different groups. C: Hb among different groups. D: PLT among different groups($n=4$).

图3 不同饮食干预 16 周对 CKD 小鼠血常规的影响

Figure 3 Effects of different dietary interventions on blood routine indexes of mice in each group for 16 weeks

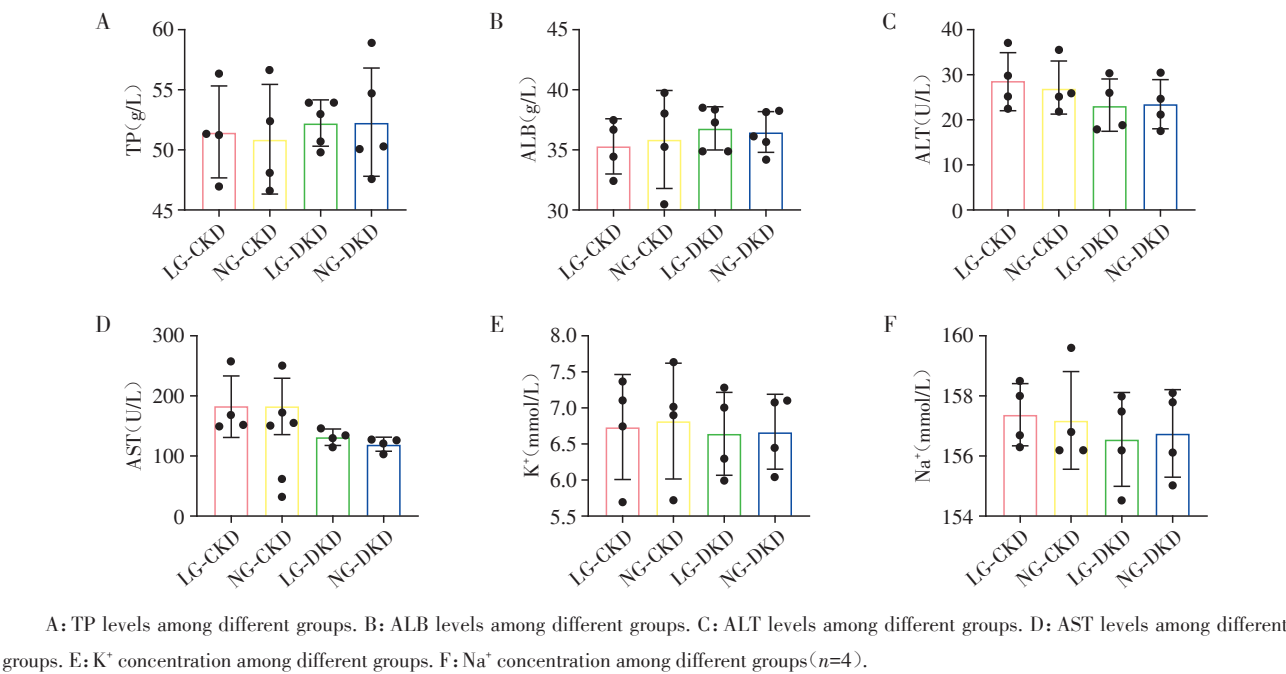


图4 不同饮食干预16周对血清营养学指标的影响

Figure 4 Effects of different dietary interventions on serum nutritional indexes for 16 weeks

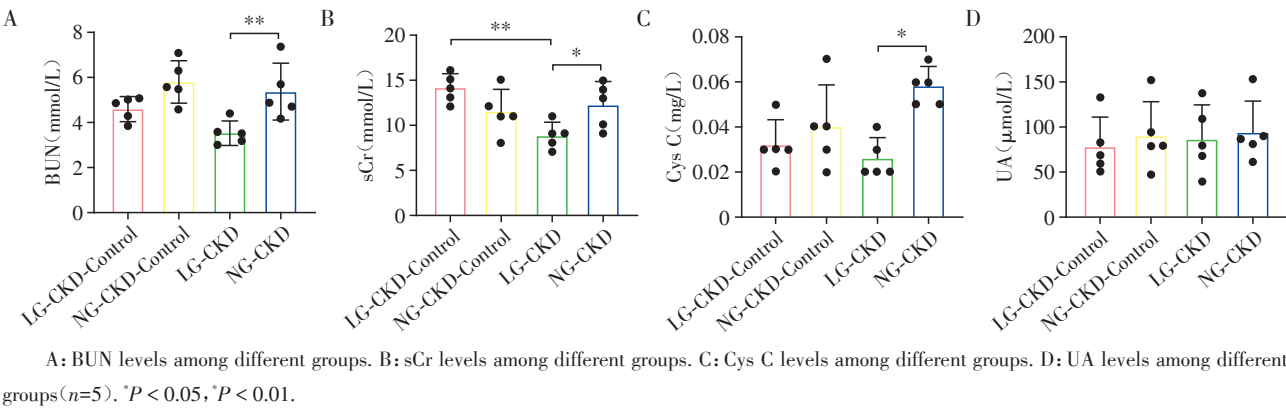


图5 不同饮食干预16周对CDK小鼠肾功能指标的影响

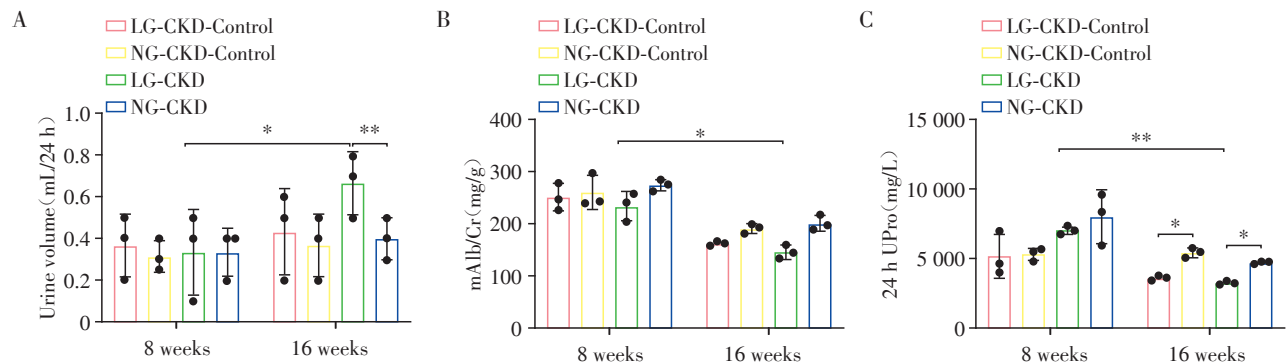
Figure 5 Effects of different dietary interventions on renal function indexes in CKD mice for 16 weeks

出现空泡样病变,管腔扩张,部分肾小球纤维化及间质纤维无增生,提示LG大米喂养延缓CKD小鼠的肾功能恶化。与LG-DKD-Control组比较,LG-DKD组小鼠未见明显肾小球萎缩、无基膜增厚,肾小球内无空泡形成,肾小囊未见变窄,肾小管水肿不明显(图8、9)。NG-CKD-Control与NG-DKD-Control组肾组织肾小球结构完整,清晰、肾小管上皮细胞排列规则,Masson染色未见间质纤维化。NG-CKD组HE染色可见肾小管出现不同程度的扩张与变形,Masson染色显示明显的纤维化增生。NG-DKD组HE染色可见肾组织肾小球体积增大且基底膜增厚,肾小管结构紊乱,且部分空泡变性,Masson染色显示肾小管间质轻度纤维化。NG-CKD与NG-DKD组的病理

结果也提示造模成功(图10、11)。Masson评分显示,LG大米喂养的LG-CKD-Control组、LG-DKD-Control组、LG-CKD组、LG-DKD组分别是(5.5±0.5)、(5.3±0.5)、(5.2±0.4)、(7.2±0.4)分,差异有统计学意义($P < 0.05$);NG大米喂养的NG-CKD-Control组、NG-DKD-Control组、NG-CKD组、NG-DKD组分别是(5.4±0.5)、(5.6±0.8)、(14.2±0.7)、(11.8±0.6)分,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

2.7 基于RNA-Seq的LG-CKD组和NG-CKD组小鼠肾脏转录组分析

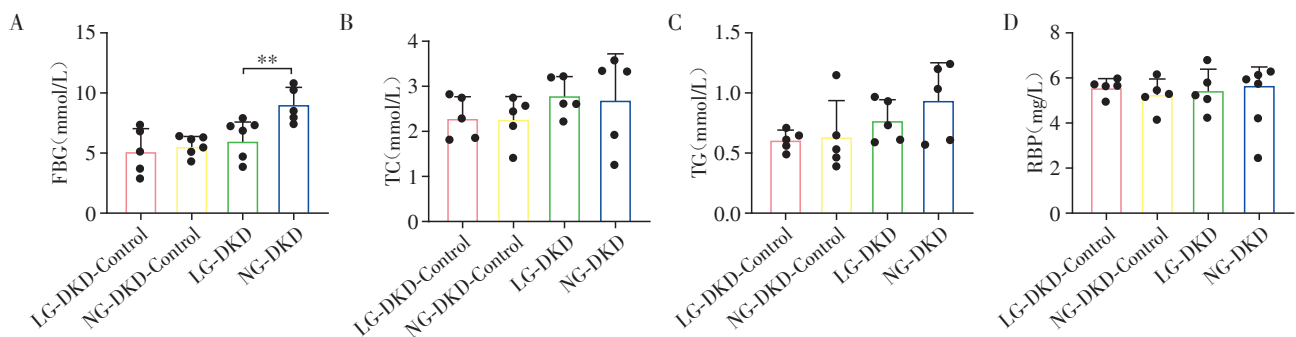
LG或NG大米喂养16周后的LG-CKD组和NG-CKD组小鼠,差异表达基因4026个,其中上调2152个,下调1874个,富集分析和热图分析发现



A: Urine volume among different groups. B: Urinary mAlb/Cr levels among different groups. C: 24 h UPro levels among different groups ($n=3$). * $P < 0.05$ and ** $P < 0.01$.

图6 不同饮食干预8、16周对CKD组小鼠尿液的影响

Figure 6 Effects of different dietary interventions on urine of mice in CKD group for 8 weeks and 16 weeks



A: FBG levels among different groups. B: TC levels among different groups. C: TG levels among different groups. D: RBP levels among different groups ($n=5$). ** $P < 0.01$.

图7 不同饮食干预16周对DKD小鼠血糖、血脂指标的影响

Figure 7 Effects of different dietary interventions on blood glucose and lipid indexes in DKD mice for 16 weeks

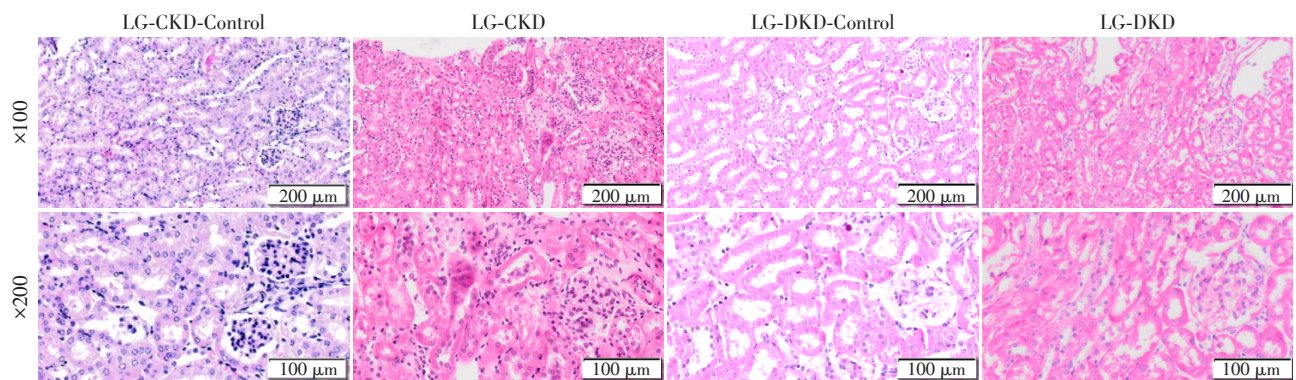


图8 LG大米喂养的CKD和DKD小鼠肾脏病理变化(HE染色)

Figure 8 Pathological changes of the kidney in CKD and DKD mice fed with LG rice(HE staining)

JAK-STAT通路是延缓CKD小鼠肾纤维化进展的潜在机制(图12)。

3 讨论

我国是亚洲CKD发病率最高的国家^[2],营养治疗是CKD的主要干预措施之一,在延缓CKD进展及

并发症防治中均发挥重要作用。鉴于我国居民饮食习惯以大米为主的特点,研发LG大米为CKD患者提供了切实可行的预防与治疗新途径,对改善CKD患者预后、提升其生活质量具有重要意义。

目前CKD患者的最主要病因是糖尿病,因此本研究选用了CKD模型以及DKD模型。本研究结果

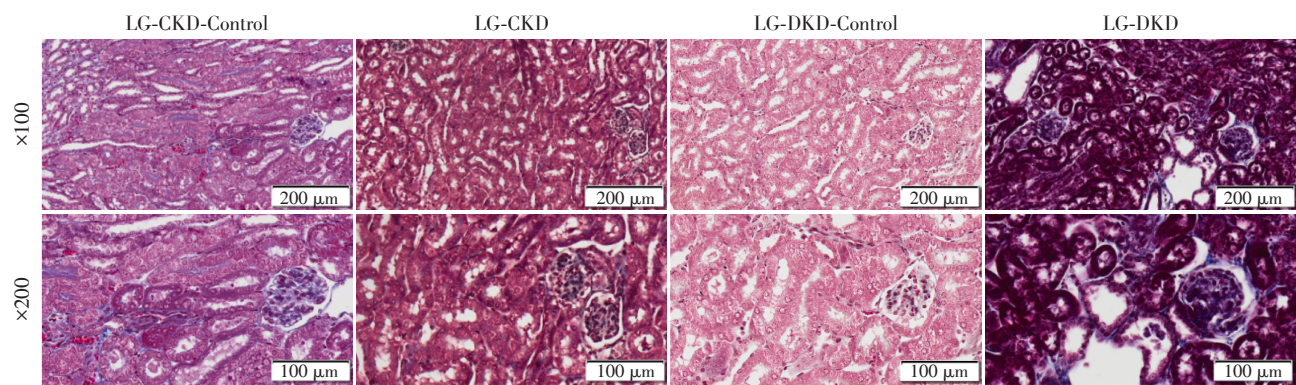


图9 LG大米喂养的CKD和DKD小鼠肾脏病理变化(Masson染色)
Figure 9 Pathological changes of the kidney in CKD and DKD mice fed with LG rice(Masson staining)

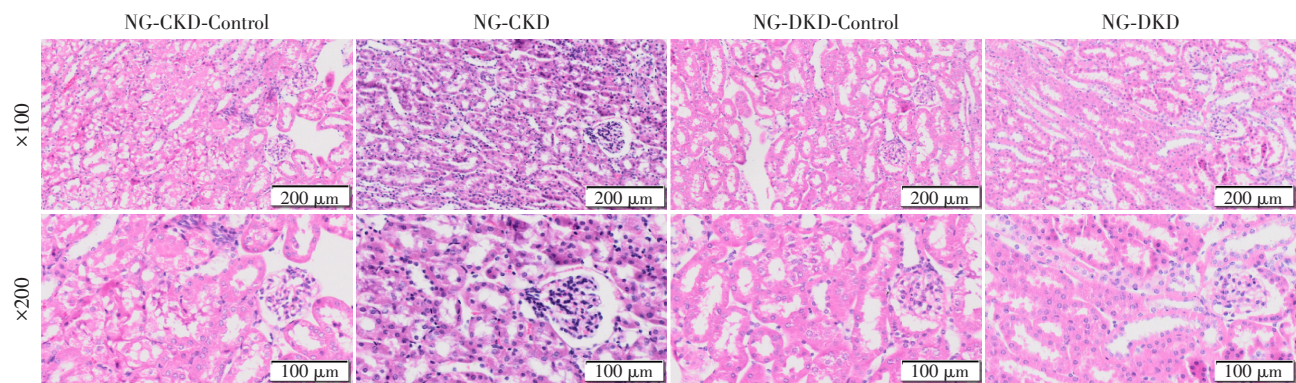


图10 NG大米喂养的CKD和DKD小鼠肾脏病理变化(HE染色)
Figure 10 Pathological changes of the kidney in CKD and DKD mice fed with NG rice(HE staining)

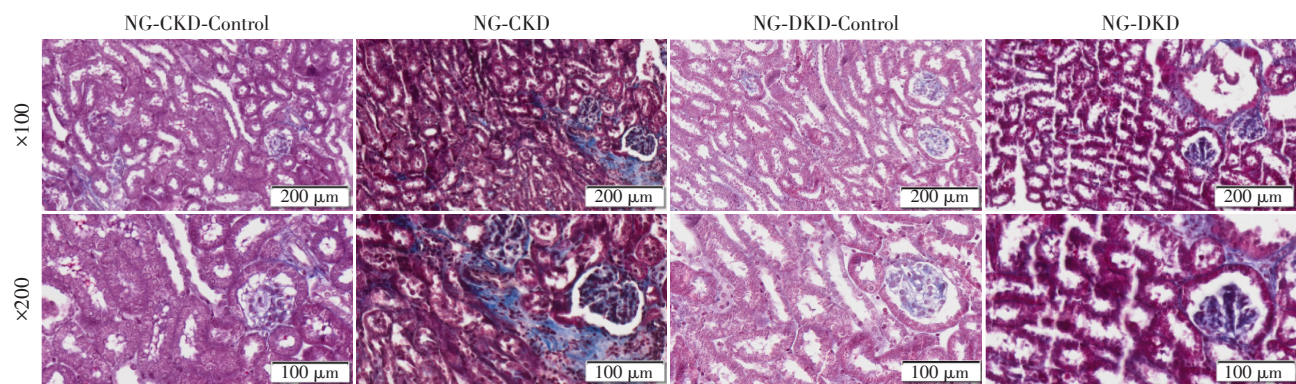


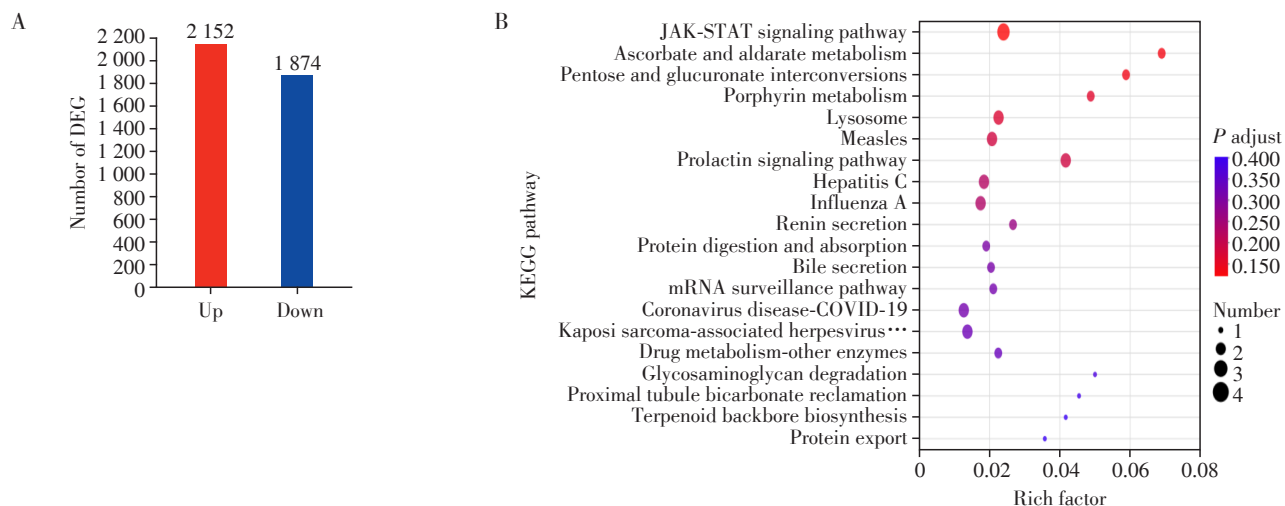
图11 NG大米喂养的CKD和DKD小鼠肾脏病理变化(Masson染色)
Figure 11 Pathological changes of the kidney in CKD and DKD mice fed with NG rice(Masson staining)

表明用LG大米喂养小鼠并未有低蛋白血症、贫血等营养不良表现。LG大米中谷蛋白水平明显低于NG大米,但是脂肪、碳水化合物等其他营养物质含量与NG大米基本一致,因此这两种模型都显示出良好的适应性,避免了单纯低蛋白饮食带来的体重减轻、贫血,也避免了人为剔除蛋白质,食物口感降低和蛋白摄入不足,出现营养不良等不良反应。

本研究结果,CKD模型中LG-CKD组较NG-CKD

组BUN、sCr、Cys C皆明显下降,16周时LG-CKD组mAlb/Cr和24h Upro较8周时明显降低,表明LG大米可延缓肾功能恶化,LG-DKD组血糖指标改善。

LG大米在CKD和DKD患者中的治疗机制,初步分析如下:本研究中供试样品LG大米由具有低直链淀粉含量基因Wxmp和香味基因fgr的优良食味粳稻品种南粳46与含LG基因Lgc1的日本粳稻品种Lgc-1杂交、回交,是通过分子标记辅助选育的特



A: Different expression of genes between the LG-CKD group and NG-CKD group. B: KEGG enrichment analysis of the LG-CKD group and NG-CKD group.

图12 基于RNA-Seq的LG-CKD组和NG-CKD组的小鼠肾脏转录组分析

Figure 12 RNA-Seq-based transcriptome analysis of the kidney tissues in mice between LG-CKD group and NG-CKD group

殊营养功能大米,其不能被人体消化吸收的醇溶蛋白(4.47 g)比NG大米的醇溶蛋白(1.78 g)明显增加^[6],使蛋白吸收明显下降,减少氨基酸的摄入,减轻氮质血症和肾组织病理损伤,从而延缓ESRD的进展。研究表明,JAK-STAT通路激活可致足细胞特异性损伤,系膜扩张、肾小球基底膜增厚和小管间质纤维化^[11],CD8⁺组织常驻记忆T细胞(tissue-resident memory T cell, TRM)在CKD中的比例增加,促进足细胞损伤和肾小球硬化^[12]。据报道,JAK/STAT通路抑制剂Tofacitinib可有效抑制MRL/lpr小鼠肾CD8⁺ TRM细胞产生肿瘤坏死因子- α 、干扰素- γ 和颗粒酶B,从而抑制CD8⁺ TRM细胞功能,改善肾功能^[13]。本研究转录组学结果与其他研究一致,表明JAK-STAT通路是参与CKD的调控基因。CKD中JAK2、STAT1、STAT3和STAT5的高表达,而抑制JAK/STAT通路可以减少转化生长因子- β 和纤维连接蛋白的合成,抑制STAT3可以减缓肾纤维化的进展,减少巨噬细胞和炎症细胞因子的产生^[14]。Kitada等^[15]研究表明, LG饮食通过限制氨基酸降低mTORC1活性来调节肾脏自噬,减轻肾小管间质损伤^[16],增加血液中的成纤维细胞生长因子-21的含量,降低血糖浓度,促进胰岛 β 细胞再生^[17]。LG饮食既能控制DKD小鼠的血糖波动,又能延缓DKD肾功能受损的症状,因此,作为必不可少的主食, LG大米的应用就显得尤为重要。

综上所述,基于CKD和DKD的严峻形势和居民自我健康管理意识的不断增强,饮食干预对慢性病

的预防和治疗具有可观的研究价值。然而,本研究也存在一定缺陷,仅研究了LG大米在阿霉素诱导的CKD小鼠和高脂高糖饮食联合链脲佐菌素诱导的DKD模型小鼠中的作用,未进行其他CKD模型、糖尿病模型及大鼠模型的研究,未来将完善相关临床研究,进一步阐明食用LG大米改善CKD和DKD肾功能的机制。

利益冲突:

本研究所用大米的蛋白含量检测为江苏宜盛堂生命科技有限公司提供,但该公司未参与本项目的其他研究。

[参考文献]

- [1] ENE-IORDACHE B, PERICO N, BIKBOV B, et al. Chronic kidney disease and cardiovascular risk in six regions of the world (ISN-KDDC): a cross-sectional study[J]. Lancet Glob Health, 2016, 4(5): 307-319
- [2] LIYANAGE T, TOYAMA T, HOCKHAM C, et al. Prevalence of chronic kidney disease in Asia: a systematic review and analysis[J]. BMJ Glob Health, 2022, 7(1): e007525
- [3] ORTIZ A, SANCHEZ-NIÑO M D, CRESPO-BARRIO M, et al. The Spanish society of nephrology (SENEFRO) commentary to the Spain GBD 2016 report: keeping chronic kidney disease out of sight of health authorities will only magnify the problem[J]. Nefrologia, 2019, 39(1): 29-34
- [4] 中国医师协会肾脏内科医师分会, 中国中西医结合学会肾脏病专业委员会营养治疗指南专家协作组. 中

(下转第1509页)

ovarian cancer cell lines as combined CSCs- and ECM-related models of drug resistance development[J]. *Int J Mol Sci*,2018,20(1):54

[29] YE M, SONG Y, PAN S, et al. Evolving roles of lysyl oxidase family in tumorigenesis and cancer therapy (review)[J]. *Pharmacol Ther*,2020,215: 107633

[30] LIU Y F, SUN B J, LIN Y, et al. Lysyl oxidase promotes the formation of vasculogenic mimicry in gastric cancer through PDGF-PDGFR pathway[J]. *J Cancer*, 2024, 15(7):1816-1825

[收稿日期] 2024-05-28
(本文编辑:戴王娟)

(上接第1498页)

国慢性肾脏病营养治疗临床实践指南(2021版)[J]. *中华医学杂志*,2021,101(8):539-559

[5] IKIZLER T A, BURROWES J D, BYHAM-GRAY L D, et al. KDOQI clinical practice guideline for nutrition in CKD:2020 update[J]. *Am J Kidney Dis*,2020,76(3 Suppl 1):S1-S107

[6] 陈 涛,赵庆勇,朱 镇,等. 利用分子标记辅助选择培育优良食味、低谷蛋白香粳稻新品系[J]. *中国水稻科学*,2023,37(1):55-65

[7] 杨 涛. 阿霉素联合羟基脲诱导大鼠CKD肾阳虚证模型的建立与评价及真武汤干预机制研究[D]. 北京:北京中医药大学,2020:35

[8] LU Q Y, YANG L J, XIAO J J, et al. Empagliflozin attenuates the renal tubular ferroptosis in diabetic kidney disease through AMPK/NRF2 pathway[J]. *Free Radic Biol Med*,2023,195:89-102

[9] 任宇晴,唐 堂,李 颖,等. 降糖丸抑制TGF-β1改善糖尿病肾病小鼠肾损伤及纤维化[J]. *中国药理学通报*,2023,39(10):1988-1993

[10] 刘 苏,徐巍龙,查 敏,等. miR-296-5p在糖尿病肾病db/db小鼠血浆外泌体中的表达及功能[J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*,2022,42(1):14-22

[11] ZHANG H Y, NAIR V, SAHA J, et al. Podocyte-specific JAK2 overexpression worsens diabetic kidney disease in mice[J]. *Kidney Int*,2017,92(4):909-921

[12] LI L, TANG W, ZHANG Y, et al. Targeting tissue-resident memory CD8⁺ T cells in the kidney is a potential therapeutic strategy to ameliorate podocyte injury and glomerulosclerosis[J]. *Mol Ther*,2022,30(8):2746-2759

[13] ZHOU M J, GUO C H, LI X, et al. JAK/STAT signaling controls the fate of CD8⁺CD103⁺ tissue-resident memory T cell in lupus nephritis[J]. *J Autoimmun*,2020,109:102424

[14] ZHANG Y Q, JIN D, KANG X M, et al. Signaling pathways involved in diabetic renal fibrosis [J]. *Front Cell Dev Biol*,2021,9:696542

[15] KITADA M, OGURA Y, MONNO I, et al. A low-protein diet for diabetic kidney disease: its effect and molecular mechanism, an approach from animal studies[J]. *Nutrients*,2018,10(5):544

[16] KITADA M, OGURA Y, SUZUKI T, et al. A very-low-protein diet ameliorates advanced diabetic nephropathy through autophagy induction by suppression of the mTORC1 pathway in Wistar fatty rats, an animal model of type 2 diabetes and obesity [J]. *Diabetologia*, 2016, 59(6):1307-1317

[17] WEI S Y, LI C C, LUO X M, et al. Intermittent protein restriction protects islet β cells and improves glucose homeostasis in diabetic mice [J]. *Sci Bull*, 2022, 67(7):733-747

[收稿日期] 2024-08-07
(本文编辑:陈汐敏)