

文丹,廖媛,李健春,等. 异甘草素通过 Smad3/Arid2-IR/NF-κB 轴改善顺铂诱导的急性肾损伤小鼠炎症反应 [J]. 中国比较医学杂志, 2020, 30(6): 25-30,46.

Wen D, Liao Y, Li JC, et al. Effect of isoliquiritigenin on cisplatin-induced acute kidney injury in mice with inflammation through the Smad3/Arid2-IR/NF-κB axis [J]. Chin J Comp Med, 2020, 30(6): 25-30,46.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856. 2020.06.004

异甘草素通过 Smad3/Arid2-IR/NF-κB 轴改善顺铂诱导的急性肾损伤小鼠炎症反应

文 丹^{1,2}, 廖 媛², 李健春², 张宇韦², 樊均明^{2,3,4*}

(1.西南医科大学附属医院肾内科,四川 泸州 646000; 2.西南医科大学附属中医医院中西医结合研究中心,四川 泸州 646000; 3.西南医科大学附属中医医院肾内科,四川 泸州 646000; 4.成都医学院,成都 610000)

【摘要】 目的 研究异甘草素(ISO)对顺铂诱导的急性肾损伤(AKI)小鼠的作用并探讨潜在调控机制。**方法** 30只C57BL/6雄性小鼠随机分为空白对照组(NC组),模型组(AKI组),异甘草素药物低剂量(ISO-L)和高剂量(ISO-H)处理组,厄贝沙坦阳性对照组(Irb组)。通过单次腹腔注射顺铂(20 mg/kg)建立AKI模型。在干预过程中,NC组和AKI组予以生理盐水,而ISO-L组和ISO-H组分别予以异甘草素7.5 mg/kg、30 mg/kg,Irb组予以20 mg/kg厄贝沙坦,药物灌胃3 d后处死小鼠,收集血清检测肌酐、尿素氮,HE和PAS染色检测病理改变,免疫组化和免疫印迹法检测炎症关键因子(IL-6、IL-1β)和Smad3、NF-κB等关键蛋白活性,Real-time PCR检测炎症因子和长链非编码Arid2-IR改变情况。**结果** 与AKI组比,异甘草素干预能明显改善小鼠肌酐和尿素氮($P < 0.05$),且呈浓度依赖性调节;病理染色结果显示药物干预后肾炎性细胞浸润减少,肾损伤明显改善;而炎症因子、Smad3、NF-κB活性和长链非编码Arid2-IR等表达均出现显著下调($P < 0.05$),表明异甘草素可以抑制Smad3/Arid2-IR/NF-κB轴的活化。**结论** 异甘草素可有效减轻AKI小鼠肾炎症反应,其机制可能与调节Smad3/Arid2-IR/NF-κB轴有关。

【关键词】 长链非编码RNA(LncRNA);Arid2-IR;异甘草素;急性肾损伤;炎症

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2020)06-0025-06

Effect of isoliquiritigenin on cisplatin-induced acute kidney injury in mice with inflammation through the Smad3/Arid2-IR/NF-κB axis

WEN Dan^{1,2}, LIAO Yuan², LI Jianchun², ZHANG Yuwei², FAN Junming^{2,3,4*}

(1. Department of Nephrology, the Affiliated Traditional Medicine Hospital of Southwest Medical University, Luzhou 646000, China. 2. Research Center of Integrated Chinese and Western Medicine, Affiliated to Traditional Medicine Hospital of Southwest Medical University, Luzhou 646000. 3. Department of Nephrology, the Affiliated Traditional Chinese Medicine Hospital of Southwest Medical University, Luzhou 646000. 4. Chengdu Medical College, Chengdu 610000)

【Abstract】 Objective To investigate the effects of isoliquiritigenin (ISO) on cisplatin-induced acute kidney injury (AKI) in mice and explore the potential mechanism. **Methods** Thirty C57BL/6 male mice were randomly divided into a blank control group, model group, ISO-L and ISO-H groups and a positive control group. A single intraperitoneal

【基金项目】四川省卫生健康委员会科研课题(川卫办发[2018]53号);四川省泸州市科技基础条件平台项目(2018LZXNYD-PT03)。

【作者简介】文丹(1994—),女,研究生,研究方向:中医药防治糖尿病肾病。E-mail:343991854@qq.com

【通信作者】樊均明(1962—),男,教授,博士,从事中西医结合治疗肾病方面的研究。E-mail:junmingfan@163.com

injection of cisplatin (20 mg/kg) was applied to establish the AKI model. During the intervention, both blank control group and model group were treated with an equivalent volume of saline, while ISO-L group and ISO-H group were administered by gavage with 7.5 mg/kg and 30 mg/kg ISO, respectively, while the positive control group was administered by gavage with 20 mg/kg irbesartan. After 3 days, serum was collected to determine the levels of serum creatinine (SCr) and blood urea nitrogen (BUN). HE and PAS staining were used to detect pathological kidney changes, while immunohistochemical and western blot analyses were used to detect inflammatory cytokines' (IL-6 and IL-1 β) expression and the activity of Smad3 and NF- κ B. Real-time PCR was used to detect changes in inflammatory cytokines and long noncoding Arid2-IR.

Results Compared with the model group, ISO intervention significantly reduced the SCr and BUN levels in AKI mice ($P < 0.05$), in a concentration-dependent manner. Histopathological staining indicated that ISO intervention significantly reduced the infiltration of inflammatory cells and vacuolar degeneration of renal tubular epithelial cells. Furthermore, it significantly improved renal injury. Additionally, ISO significantly downregulated ($P < 0.05$) inflammatory cytokines expression, the activity of Smad3 and NF- κ B, and long noncoding Arid2-IR expression, suggesting that ISO inhibited the activation of the Smad3/Arid2-IR/NF- κ B axis. **Conclusions** ISO effectively reduced kidney inflammation in AKI mice, possibly through regulation of the Smad3/Arid2-IR/NF- κ B axis.

[Keywords] long noncoding RNA (LncRNA); Arid2-IR; isoliquiritigenin; acute kidney injury; inflammation

急性肾损伤(acute kidney injury, AKI)是由多种因素导致的肾功能短时间内急剧降低的临床综合征,是一种发病率及死亡率均较高的临床危重疾病。在临床实践中,顺铂被广泛应用于各类癌症的化疗^[1],这是导致 AKI 的重要因素,有研究指出约 1/3 患者在接受顺铂化疗后发生 AKI^[2],严重的不良反应大大限制了其临床使用。顺铂所致 AKI 的特征性病理改变是肾小管-间质急性损伤、炎症反应^[3],反复注射也可导致慢性肾功能不全^[4]。核因子- κ B(nuclear factor kappa-B, NF- κ B)是介导应激反应促肾炎症和纤维化^[5]的靶分子,受药理学试剂等病理性因素激活时可促进下游各种炎细胞因子的表达,进而介导白细胞的趋化和黏附,导致肾急性充血水肿、大量炎症细胞浸润,对肾组织形成不可逆损害^[6-7]。目前尚无可用于减轻 AKI 发生时炎症水平、保持器官功能、提升患者存活率的特效治疗药物,而通过抑制 NF- κ B 通路可能是一种减轻 AKI 所致肾炎症、维护免疫系统功能的方法。

越来越多的证据表明,长链非编码 RNA(long noncoding RNAs, LncRNAs)在肾疾病中起着关键作用^[8-9],Smad3 在 TGF- β 1 介导肾炎症和纤维化过程中是一个关键的中介^[10],最近有研究发现 LncRNA Arid2-IR 的启动子区域存在与 Smad3 相结合位点,在肾炎症病变时可检测到 Arid2-IR 表达增加,而过表达 Arid2-IR 可调控后续 NF- κ B 分子介导的炎症反应^[11],据此推断 Arid2-IR 是一种新型促 Smad3/NF- κ B 依赖的与肾炎症相关的长链非编码 RNA,通过下调 Arid2-IR 的表达进而抑制 Smad3/NF- κ B 信号通路活性可能是治疗 AKI 肾炎症的一种新方法。

异甘草素(isoliquiritigenin, ISO)在近代研究中发现具有优良的抗肿瘤、抗氧化以及抗炎作用^[12],在肝和肺部炎症中都可以减轻炎症反应对组织的损害^[13-14],但目前关于其在 AKI 动物模型中的作用报道甚少。本研究拟通过观察异甘草素对顺铂诱导 AKI 小鼠肾的抗炎作用,并通过检测异甘草素对 Arid2-IR/Smad3/NF- κ B 信号轴的影响,探讨其作用机制,为开发异甘草素在防治 AKI 相关疾病方面的药物价值奠定基础。

1 材料和方法

1.1 实验动物

健康的 SPF 级 C57BL/6 雄性小鼠 30 只,体重 18~22 g,8 周龄,购于成都达硕实验动物有限公司[SCXK(川)2015-030],本动物实验中的无菌手术全程于西南医科大学 SPF 实验动物中心完成[SYXK(川)2018-065]。小鼠笼置于安静环境,室温 23℃~26℃,相对湿度 45%~55%,明暗交替 12 h,全实验过程予以普通饲料和自由饮水,正式实验前予以适应新喂养一周,实验过程中的所有操作符合西南医科大学动物伦理学标准和要求(2017DW027),实验过程中已遵守动物实验的 3R 原则。

1.2 主要试剂与仪器

顺铂溶液(国药准字 20040803,批号 19030,江苏豪森公司);异甘草素(纯度:HPLC >95%)(批号 PRF9082923,四川普瑞法公司);总 RNA 提取试剂盒(批号 Q5111,北京天根生化科技);逆转录试剂盒 Go Script TM reverse Transcription System(批号

A5001,美国 Promega 公司);NF-κB 兔单抗(批号 AD120519,北京博奥森公司);Smad3 兔单抗(货号 9513S)、p-Smad3 兔单抗(货号 9520S)、p-NF-κB 兔单抗(货号 3033)购于美国 CST 公司;IL-6 鼠单抗(货号 ab9324,Abcam 公司);IL-1β 鼠单抗(货号 sC-52012,Santa Cruz 公司);ECL 凝胶成像系统(美国 BIO-RAD 公司);酶标仪(美国 Bio Tek 公司);Light Cycler[®] 480II PCR 仪(瑞士 Roche 公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 实验动物分组与处理

30 只体重 18~22 g 的 SPF 级 C57BL/6 雄性小鼠随机分为 NC 组、AKI 组、ISO-L 组、ISO-H 组和 Irb 组。除 NC 组外,其余各组均接受腹腔单次注射顺铂 20 mg/kg,NC 组腹腔注射等量生理盐水。顺铂注射后 24 h 后,ISO-L 和 ISO-H 组分别灌胃异甘草素溶液 7.5 mg/kg、30 mg/kg 3 d,Irb 组灌胃厄贝沙坦溶液 20 mg/kg 3 d,NC 组和 AKI 组以等量生理盐水灌胃 3 d。灌胃 3 d 后处死小鼠,取血置于 4℃ 过夜;剖取右肾,剥去包膜并用 PBS 冲净血污,于 4% 多聚甲醛固定 24 h,乙醇梯度脱水、石蜡包埋保存;左肾组织即可存储于-80℃ 冰箱。

1.3.2 血清肌酐、血尿素氮检测

采集血于 4℃ 静置过夜后,于 3500 r/min 离心 10 min 后吸取上层血清,按照说明书操作检测血清肌酐、尿素氮检测。

1.3.3 肾形态学检查

采用 HE、PAS 等常规病理染色观察肾的病理变化:切片于 65℃ 条件下烤 2 h 后,二甲苯脱蜡,经乙醇复水。HE、PAS 染色严格按照说明书步骤操作。于光镜下通过 HE 染色观察肾结构病理改变,PAS 染色观察肾组织的损伤产物沉积程度。

1.3.4 免疫组织化学染色

采用免疫组织化学法检测肾中炎症指标 IL-6、IL-1β 的表达:切片经上述常规处理后,滴加过氧化氢阻断剂 10 min,5% BSA 封闭 15 min,滴加一抗(1:150),4℃ 过夜,加二抗后常温孵育 1 h,以 DAB 显色剂显色,拍照后使用 Image J 软件对切片中阳性区域进行量化。

1.3.5 Western blot 法测定蛋白水平

切取各组左肾皮质 30 mg 于 500 μL IP 蛋白裂解液和 10×PMSF 混合液中,在冰上研磨,经机械匀浆后,冰上摇晃裂解 30 min,提取总蛋白,考马斯亮蓝法测蛋白浓度,加 5×Loading Buffer 后于 100℃ 煮

10 min 后上样,经 SDS-PAGE 胶电泳分离,于恒压 100 V 转膜,5% BSA 室温封闭 1 h,加一抗 IL-1β(1:1 000)、IL-6(1:1 000)、p-Smad3(1:1 000)、Smad3(1:1 000)、p-NF-κB(1:1 000)、NF-κB(1:1 000)、GAPDH(1:50 000)于 4℃ 摇床过夜,后加 HRP 标记二抗(1:3 000)于室温孵育 1 h,滴加 ECL 发光液于 Bio-rad 凝胶成像系统成像。以目的蛋白与内参蛋白 GAPDH 的 IOD 值的比值作为其蛋白的相对表达量。

1.3.6 炎症因子和 Arid2-IR 的基因检测

取各组左肾皮质 25 mg,用灭菌处理的眼科剪在提前预冷的裂解液 RZ 中剪碎至无肉眼可见颗粒,按照 RNA simple Total RNA Kit 试剂盒说明书操作从肾中提取肾组织总 RNA,最后加入 30 μL Nuclease-Free Water 混匀, Thermo Fisher NANODROP 2000 分光分度计上测 RNA 浓度。制备逆转录反应体系,按照 Go Script[™] reverse Transcription System 试剂盒推荐比例配置:4 μL 5×Reaction Buffer,1 μL PCR Nucleotide Mix(核苷酸混合物),1 μL Go Script[™] Reverse Transcriptase(逆转录酶),1 μL MgCl₂(终浓度 2.5 mmol/L,逆转录酶活性增强剂),8 μL Nuclease-Free Water,吹打混匀。将 5 μL cDNA 加入逆转录体系,混匀并离心后逆转录程序如下:25℃ 5 min,4℃ 1 h,70℃ 15 min;逆转录完毕加入 80 μL Nuclease-Free Water,-20℃ 保存备用。在 LightCycler[®] 480 II 上机检测 Arid2-IR、IL-1β 和 IL-6 的表达量,上机结果分析采用 2^{-ΔΔC_t} 进行分析,引物序列如表 1,检测到的基因相对水平以 GAPDH 正常化。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 19.0 对计量数据进行统计分析,组间两两比较用 *t* 检验,多组间用单因素方差分析,组间多重比较采用 LSD-*t* 检验,当 *P* < 0.05 示为差异具有统计学意义。

表 1 Real-time PCR 所用引物序列
Table 1 The primer sequences of Real-time

基因 Gene		序列(5'-3') Sequence
Arid2-IR	Arid2-IR-F	AGCAGGCTAAGTCAGGGTGA
	Arid2-IR-R	GGGTGAGCTGCCATGTATT
IL-6	IL-6-F	AAAGAGTTGTGCAATGGCAATTCT
	IL-6-R	AAGTGCATCATCGTTGTTCATACA
IL-1β	IL-1β-F	TGCCACCTTTTGACAGTGATG
	IL-1β-R	AAGGTCCACGGGAAAGACAC
GAPDH	GAPDH -F	CGAGTCAACGGATTTGCTCGTAT
	GAPDH -R	AGCCTTCTCCATGGTGGTGAAGAG

2 结果

2.1 异甘草素对 AKI 小鼠一般情况的影响

各组小鼠均无死亡现象,AKI 组小鼠体重较 NC 组活动减弱;相比 AKI 组,异甘草素及 Irb 干预可以明显改善小鼠活动度。

2.2 异甘草素对 AKI 小鼠肌酐、尿素氮的影响

与 NC 组相比,AKI 组的血清肌酐和尿素氮明显增加;与 AKI 组相比,异甘草素干预可使血清肌酐和尿素氮均有下降($P < 0.05$),且 ISO-H 组的血清肌酐和尿素氮低于 Irb 组,见图 1A、1B。

2.3 异甘草素对 AKI 小鼠肾组织结构改变

HE 染色可见,AKI 组小鼠肾肾小管上皮细胞大量萎缩坏死,致小管间出现明显间隙,肾结构破坏严重;异甘草素干预可明显减少肾组织中肾小管上皮细胞的坏死,减小肾小管间病理性间隙,使肾结构恢复良好。PAS 染色可见 AKI 组小鼠肾有明显紫红色糖原相关复合物的沉积,异甘草素干预可明显减少沉积物,见图 1C。

2.4 异甘草素对 AKI 小鼠炎症指标的影响

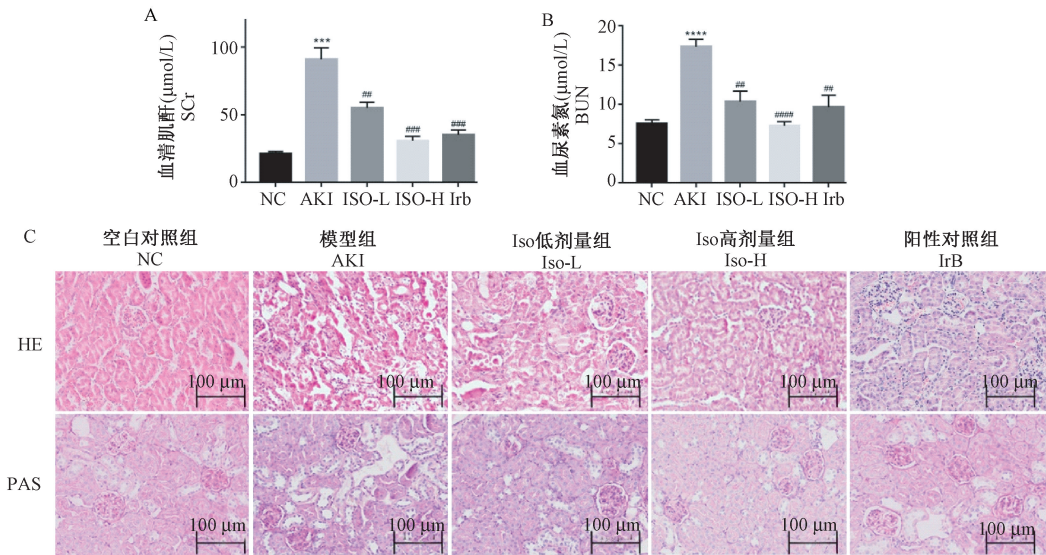
与 NC 组相比,AKI 组小鼠肾中 IL-6、IL-1 β 在基因与蛋白水平的表达均出现明显升高;与 AKI 组相比,异甘草素和厄贝沙坦干预均可显著下调 IL-6、IL-1 β 在基因和蛋白水平的表达,见图 2。

2.5 异甘草素对 AKI 小鼠 Arid2-IR 表达和 Smad3、NF- κ B 活性的影响

Real-time PCR 结果显示,与 NC 组相比,AKI 组肾组织 Arid2-IR 在基因水平表达显著升高,在异甘草素干预之后其表达均明显下调。Western blot 结果提示,与 NC 组相比,AKI 组肾组织中 p-Smad3 和 p-NF- κ B 表达明显增加,在异甘草素干预以后, p-Smad3 和 p-NF- κ B 表达明显减少,表明异甘草素干预可以抑制 AKI 小鼠肾中 Smad3/NF- κ B 信号通路的活性,见图 3。

3 讨论

AKI 病理变化过程中所涉及的机制包括氧化应激、炎症和凋亡等^[15],其中炎症是一个消除病原体和介导受损组织修复的复杂过程,炎症水平过高可引起免疫系统紊乱、纤维化和组织损伤,其相关的机制涉及细胞因子的释放、中性粒细胞和巨噬细胞的聚集、损伤相关分子的释放^[16]。本研究在顺铂诱导 AKI 小鼠模型上探讨异甘草素对 AKI 小鼠肾的保护作用及机制研究。研究结果显示,AKI 造模后,肾病理结构严重损伤,肾中炎症因子的表达均显著上调;异甘草素干预后,受损的肾生理结构部分得到恢复,且炎症因子的表达显著下降,提示异甘草素具有较好的抗炎、改善肾结构的效果。

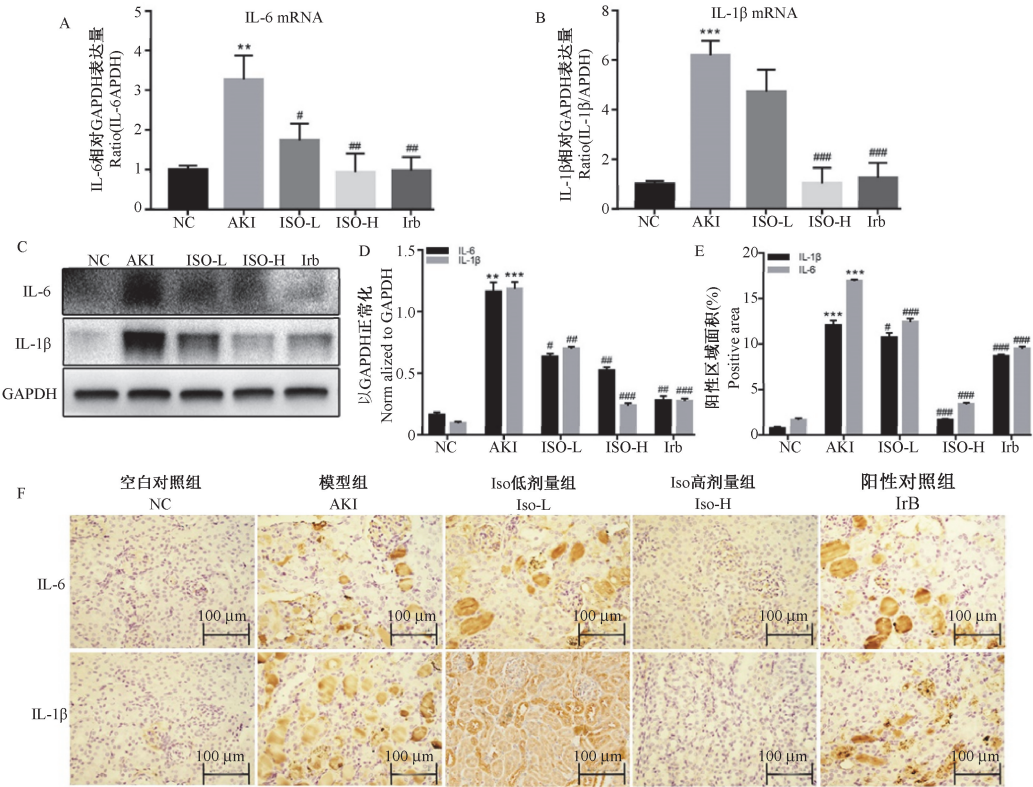


注:A、B:各组小鼠血清肌酐、血尿素氮结果;C:各组小鼠 HE 和 PAS 染色结果。与 NC 组相比,*** $P < 0.001$,**** $P < 0.0001$;与 AKI 组相比,## $P < 0.01$,### $P < 0.001$,#### $P < 0.0001$ 。

图 1 异甘草素对顺铂诱导 AKI 小鼠肾病理结构的影响(HE、PAS)

Note. A, B, SCr and BUN results of mice. C, HE and PAS staining results. Compared with control group, *** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$. Compared with AKI group, ## $P < 0.01$, ### $P < 0.001$, #### $P < 0.0001$.

Figure 1 Effect of isoliquiritigenin on renal morphology in AKI kidneys induced by cisplatin

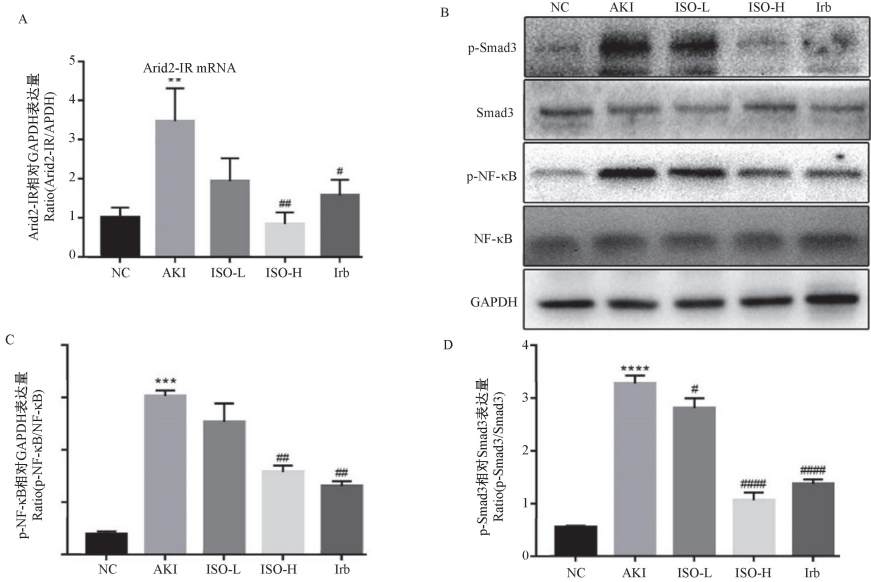


注:A、B:各组小鼠炎症指标 Real-time PCR 结果;C、D:各组小鼠炎症指标 Western blot 结果;E、F:各组小鼠炎症指标 IHC 结果。与 NC 组相比, ^{**} $P < 0.05$, ^{***} $P < 0.01$;与 AKI 组相比, [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$, ^{###} $P < 0.001$ 。

图 2 异甘草素对顺铂诱导 AKI 小鼠肾炎症水平的影响 (IHC)

Notes. A、B, Real-time PCR results of IL-1β and IL-6. C、D, Western blot result of IL-6 and IL-1β. E、F, IHC results of IL-6 and IL-1β. Compared with control group, ^{*} $P < 0.01$, ^{**} $P < 0.05$. Compared with AKI group, [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$, ^{###} $P < 0.001$.

Figure 2 Effect of isoliquiritigenin on renal inflammatory markers in AKI kidneys induced by cisplatin



注:A:各组小鼠 Arid2-IR 的 Real-time PCR 结果;B-D:各组小鼠炎症通路相关 Western blot 结果。与 NC 组相比, ^{**} $P < 0.05$, ^{***} $P < 0.001$, ^{****} $P < 0.0001$;与 AKI 组相比, [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$, ^{###} $P < 0.001$, ^{####} $P < 0.0001$ 。

图 3 异甘草素对顺铂诱导 AKI 小鼠肾 Smad3/Arid2-IR/NF-κB 轴水平的影响

Notes. A, Real-time PCR results of Arid2-IR. B-D, Western blot results of p-Smad3, Smad3, p-NF-κB and NF-κB. Compared with control group, ^{**} $P < 0.05$, ^{***} $P < 0.001$, ^{****} $P < 0.0001$. Compared with AKI group, [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$, ^{###} $P < 0.001$, ^{####} $P < 0.0001$.

Figure 3 Effect of isoliquiritigenin on the activity of Smad3/Arid2-IR/NF-κB axis and in AKI kidneys induced by cisplatin

异甘草素是一种易溶于有机溶剂的异黄酮类化合物,提取自豆科植物甘草,其结构式见图 4,在传统医学中用作生命增强剂,用于治疗咳嗽、流感以及解毒^[17]。已有研究表明异甘草素具有广泛的药理活性,在抗炎、抗氧化、抗癌细胞增殖等方面疗效卓越,主要通过调控 MAPK、PI3K/AKT 等通路实现抗炎作用^[18],但对顺铂诱导 AKI 所致肾炎症中的具体作用机制尚不明确。有研究显示异甘草素可通过下调 NF- κ B 通路减轻骨关节炎炎症水平,在后续恢复过程中可下调 TGF- β 1/Smad3 通路介导的病理性纤维化^[19]。我们在研究中同样发现,异甘草素作用后,AKI 小鼠肾组织中 NF- κ B 和 Smad3 的活化程度出现显著下降,推测 NF- κ B 是介导肾炎症的重要分子,它可通过在细胞核内活化并诱导多种炎症介质基因的表达,和 Smad3 共同导致肾损害及后续修复过程中的肾间质纤维化。我们的研究结果显示,异甘草素能有效缓解 AKI 急性病程中的炎症,以及减少修复过程中病理性纤维化。

LncRNA 是一种人类非编码蛋白序列编码的、转录后长度大于 200 个碱基的 RNA 序列,已证实与包括肿瘤、异常代谢和炎症等多种病理生理过程相关^[20]。前面我们提到,AKI 所致的肾损伤主要涉及炎症、凋亡等,近年来随着检测技术的发展,越来越多与 AKI 相关的 LncRNA 被逐渐发现。如有研究显示 MEG3 可通过结合 miR181b-5p 使 TNF α 活化,导致肾炎症性损伤^[21];PRINS 可通过结合 HIF-1 α 蛋白来加剧 NF- κ B 介导的肾小管细胞损伤^[22];GAS5 在缺血再灌注的肾中可直接通过调节 p53 和 TSP-1 表达来介导细胞的损伤和凋亡^[23]。近期有研究发现,Arid2-IR 是一种可以被高表达 Smad3 所调控、并介导肾炎症的 LncRNA,当病变肾中缺失 Smad3 时,可以解除 Arid2-IR 的上调,减少肾小管上皮细胞凋亡和炎症^[11],同时 Arid2-IR 表达的上调可加剧 NF- κ B 介导的肾炎症^[24]。那么,异甘草素的抗炎作用

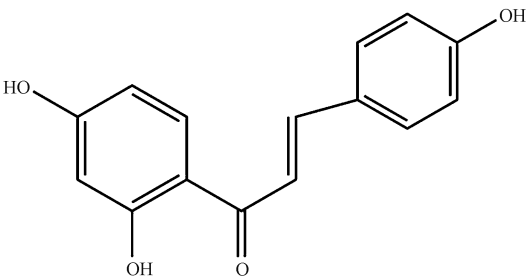


图 4 异甘草素分子式

Figure 4 Constitutional formula of isoliquiritigenin

是否与调控 LncRNA 有关呢?在本研究中我们重点关注了 Arid2-IR 在 AKI 发生中的作用,结果发现,Arid2-IR 在 AKI 肾中表达明显升高,表明上游的靶基因 Arid2-IR 被激活。给予异甘草素 3 d 后,Smad3 蛋白磷酸化水平表达明显下降,表明异甘草素可以降低 AKI 肾炎症中 Smad3 的活性。值得关注的是,异甘草素治疗后也可明显抑制 Arid2-IR 的表达,同时下调 NF- κ B 的活性。表明 Arid2-IR 可能在 Smad3/NF- κ B 介导的肾炎症过程中发挥调控作用。

基于以上分析,我们初步得出,异甘草素可通过调节 Smad3/Arid2-IR/NF- κ B 轴改善 AKI 小鼠肾功能,显著减轻肾炎症反应,维护肾结构,延缓了疾病病理生理进程,这可能是异甘草素保护 AKI 的一个新机制,为异甘草素在治疗 AKI 提供了科学依据。但关于 Arid2-IR 在肾损伤中的确切作用机制尚需细胞水平的验证。

参考文献:

- [1] Huang YC, Tsai MS, Hsieh PC, et al. Galangin ameliorates cisplatin-induced nephrotoxicity by attenuating oxidative stress, inflammation and cell death in mice through inhibition of ERK and NF-kappaB signaling [J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2017, 329: 128-139.
- [2] Raimann JG, Riella MC, Levin NW. International society of nephrology's Oby25 initiative (zero preventable deaths from acute kidney injury by 2025); focus on diagnosis of acute kidney injury in low-income countries [J]. Clin Kidney J, 2018, 11 (1): 12-19.
- [3] 钱超, 陆清响, 张晓春. 癌症患者顺铂化疗相关肾毒性的临床进展 [J]. 实用癌症杂志, 2014, 29(5): 607-609.
- [4] 黄统生, 郭赞, 杨陈, 等. 反复注射顺铂诱导小鼠慢性肾功能不全模型的建立 [J]. 中国实验动物学报, 2018, 26(1): 20-28.
- [5] 刘捡娣, 谢龙, 肖坤, 等. Tempol 对心肌梗厚大鼠 NF- κ B 信号通路的影响 [J]. 中国比较医学杂志, 2018, 28(1): 64-69.
- [6] Hsu DZ, Chen SJ, Chu PY, et al. Therapeutic effects of sesame oil on monosodium urate crystal-induced acute inflammatory response in rats [J]. Springerplus, 2013, 2: 659.
- [7] Nicotra L, Loram LC, Watkins LR, et al. Toll-like receptors in chronic pain [J]. Exp Neurol, 2012, 234(2): 316-329.
- [8] Lorenzen JM, Haller H, Thum T. MicroRNAs as mediators and therapeutic targets in chronic kidney disease [J]. Nat Rev Nephrol, 2011, 7(5): 286-294.
- [9] Hagiwara S, McClelland A, Kantharidis P. MicroRNA in diabetic nephropathy: renin angiotensin, aGE/RAGE, and oxidative stress pathway [J]. J Diabetes Res, 2013, 2013: 173783.

CRISPR-Cas systems [J]. *Methods Mol Biol*, 2015, 1311: 47-75.

[11] Ma Y, Zhang L, Huang X. Genome modification by CRISPR/Cas9 [J]. *FEBS J*, 2014, 281(23): 5186-5193.

[12] Cong L, Ran FA, Cox D, et al. Multiplex genome engineering using CRISPR/Cas systems [J]. *Science*, 2013, 339(6121): 819-823.

[13] Fu Y, Foden JA, Khayter C, et al. High-frequency off-target mutagenesis induced by CRISPR-Cas nucleases in human cells [J]. *Nat Biotechnol*, 2013, 31(9): 822-826.

[14] Hu B, Wen C, Zhang M, et al. Identification and characterization of two LBP/BPI genes involved in innate immunity from *Hyriopsis cumingii* [J]. *Fish Shellfish Immunol*, 2017, 60: 436-446.

[15] Baron OL, Deleury E, Reichhart JM, et al. The LBP/BPI multigenic family in invertebrates: Evolutionary history and evidences of specialization in mollusks [J]. *Dev Comp Immunol*, 2016, 57: 20-30.

[16] 张欣然, 刘翠, 钱智勇, 等. BPI-BD3 融合抗菌肽修饰 C3H10T1/2 细胞对小鼠感染创面愈合的影响 [J]. *解放军医学杂志*, 2015, 40(9): 722-726.

[17] 郭玲, 许晴, 吕喆, 等. 杀菌/渗透增强蛋白在小鼠组织器官和细胞中的分布 [J]. *首都医科大学学报*, 2009, 30(5): 671-676.

[18] 高北. 鱼类来源的两种抗菌肽 BPI 和 LEAP2 的 cDNA 克隆及重组表达载体的构建 [D]. 上海: 上海海洋大学; 2013.

[19] 彭海英, 朱家勇. 杀菌蛋白 rBPI23 与 haFGF 融合基因及真核表达质粒的构建 [J]. *临床和实验医学杂志*, 2009, 8(12): 8-11.

[收稿日期] 2019-11-28

(上接第 30 页)

[10] Chen B, Huang S, Su Y, et al. Macrophage Smad3 protects the infarcted heart, stimulating phagocytosis and regulating inflammation [J]. *Circ Res*, 2019, 125(1): 55-70.

[11] Zhou Q, Huang XR, Yu J, et al. Long noncoding RNA Arid2-IR is a novel therapeutic target for renal inflammation [J]. *Mol Ther*, 2015, 23(6): 1034-1043.

[12] 魏海霞, 孔伟, 巩萍. 异甘草素的药效学研究进展 [J]. *药物生物技术*, 2019, 26(5): 467-470.

[13] Traboulsi H, Cloutier A, Boyapelly K, et al. The flavonoid isoliquiritigenin reduces lung inflammation and mouse morbidity during influenza virus infection [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2015, 59(10): 6317-6327.

[14] Chen X, Cai X, Le R, et al. Isoliquiritigenin protects against sepsis-induced lung and liver injury by reducing inflammatory responses [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 496(2): 245-252.

[15] Ma ZN, Li YZ, Li W, et al. Nephroprotective effects of saponins from leaves of *panax quinquefolius* against cisplatin-induced acute kidney injury [J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(7): 1407.

[16] Rabb H, Griffin MD, McKay DB, et al. Inflammation in AKI: current understanding, key questions, and knowledge gaps [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2016, 27(2): 371-379.

[17] Ramalingam M, Kim H, Lee Y, et al. Phytochemical and pharmacological role of liquiritigenin and isoliquiritigenin from *radix glycyrrhizae* in human health and disease models [J]. *Front Aging Neurosci*, 2018, 10: 348.

[18] Peng F, Du Q, Peng C, et al. A review: the pharmacology of isoliquiritigenin [J]. *Phytother Res*, 2015, 29(7): 969-977.

[19] 纪保超. 基于 NF- κ B 及 RANKL-RANK-TRAF6 信号通路探究异甘草素对骨关节炎的作用及机制 [D]. 乌鲁木齐: 新疆医科大学, 2018.

[20] 金亮, 金爱, 赵立智. 长链非编码 RNA LINC00152 对人脑胶质瘤裸鼠移植瘤生长的影响及机制探讨 [J]. *中国比较医学杂志*, 2019, 29(11): 28-33, 49.

[21] Pang X, Feng G, Shang W, et al. Inhibition of lncRNA MEG3 protects renal tubular from hypoxia-induced kidney injury in acute renal allografts by regulating miR-181b/TNF- α signaling pathway [J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120(8): 12822-12831.

[22] Yu TM, Palanisamy K, Sun KT, et al. RANTES mediates kidney ischemia reperfusion injury through a possible role of HIF-1 α and lncRNA PRINS [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 18424.

[23] Geng X, Xu X, Fang Y, et al. Effect of long non-coding RNA growth arrest-specific 5 on apoptosis in renal ischaemia/reperfusion injury [J]. *Nephrology (Carlton)*, 2019, 24(4): 405-413.

[24] Xiao H, Yang H, Zeng Y. Long non-coding RNA Arid2-IR affects advanced glycation end products-induced human retinal endothelial cell injury by binding to Smad3 [J]. *Int Ophthalmol*, 2020, 40(5): 1123-1133.

[收稿日期] 2020-02-07