

符海内,汪洪林,张林静,等. 基于 LIGHT/HVEM 通路研究白藜芦醇对子痫前期大鼠肾损伤的保护作用研究 [J]. 中国比较医学杂志, 2021, 31(6): 77-82.

Fu HN, Wang HL, Zhang LJ, et al. Protective effect of resveratrol on renal injury in rats with preeclampsia based on LIGHT/HVEM pathway [J]. Chin J Comp Med, 2021, 31(6): 77-82.

doi: 10. 3969/ j. issn. 1671-7856. 2021. 06. 012

基于 LIGHT/HVEM 通路研究白藜芦醇对子痫前期大鼠肾损伤的保护作用研究

符海内^{1*}, 汪洪林¹, 张林静¹, 张 蕾³, 符大天²

(1.海南省妇幼保健院(海南省妇女儿童医学中心)妇产科,海口 570206;
2.海南省妇幼保健院(海南省妇女儿童医学中心)药剂科,海口 570206;
3.海南医学院第一附属医院药剂科,海口 570102)

【摘要】 目的 探讨白藜芦醇(RSV)对子痫前期(PE)大鼠淋巴毒素类似物(LIGHT)/疱疹病毒介入体(HVEM)通路的影响,及对肾损伤的保护作用。**方法** 将 50 只 SD 孕鼠随机分为正常孕鼠组(Normal 组)、子痫前期模型组(PE 组)、白藜芦醇(RSV)低(50 mg/kg)、高(200 mg/kg)剂量组、LIGHT/HVEM 通路阻断剂(淋巴毒素 β 受体,LTβR-Ig 融合蛋白,1600 μg/kg,LTβR-Ig 组),每组 10 只。除 Normal 组外,其余各组大鼠腹腔注射亚硝基左旋精氨酸甲酯(L-NAME,300 mg/kg,共 5 d,每天 1 次)建立大鼠子痫前期模型,造模成功后开始给药,RSV 各剂量组灌胃给予相应剂量 RSV 溶液,LTβR-Ig 组经尾静脉注射 LTβR-Ig 溶液,Normal 组和 PE 组灌胃+尾静脉注射给予等量生理盐水,各组连续给药 5 d,每天 1 次。末次给药后收集大鼠 24 h 尿液,并取血液,酶联免疫吸附(ELISA)试剂盒检测肾功能指标血清肌酐(Scr)、血尿素氮(BUN)及尿液中 24 h 尿蛋白量;苏木精-伊红(HE)染色检测各组大鼠肾组织病理变化;实时荧光定量聚合酶链式反应(qRT-PCR)检测肾组织 LIGHT、HVEM mRNA 相对水平;蛋白免疫印迹法(Western blot)检测肾组织 LIGHT、HVEM、核转录因子-κB(NF-κB)、白细胞介素-6(IL-6)蛋白相对表达水平。**结果** 与 Normal 组相比,PE 组大鼠出现肾小球内皮细胞弥漫性增生等病理损伤,血清 Scr、BUN 及尿液中 24 h 尿蛋白量、肾组织 LIGHT mRNA 及蛋白、HVEM mRNA 及蛋白、NF-κB、IL-6 蛋白表达升高($P<0.05$);与 PE 组相比,RSV 低、高剂量组、LTβR-Ig 组大鼠肾组织病理损伤缓解,血清 Scr、BUN 及尿液中 24 h 尿蛋白量、肾组织 LIGHT mRNA 及蛋白、HVEM mRNA 及蛋白、NF-κB、IL-6 蛋白降低($P<0.05$),且 RSV 高剂量组上述指标变化均优于 RSV 低剂量组;LTβR-Ig 组上述指标变化与 RSV 高剂量组相比差异不明显($P>0.05$)。**结论** RSV 可抑制 PE 大鼠肾组织 LIGHT/HVEM 通路蛋白表达,改善 PE 肾损伤。

【关键词】 白藜芦醇;子痫前期;肾损伤;淋巴毒素类似物/疱疹病毒介入体

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2021) 06-0077-06

Protective effect of resveratrol on renal injury in rats with preeclampsia based on LIGHT/HVEM pathway

FU Hainei^{1*}, WANG Honglin¹, ZHANG Linjing¹, ZHANG Lei³, FU Datian²

(1. Department of Obstetrics and Gynecology, Hainan Maternal and Child Health Hospital(Hainan Women and Children Medical Center), Haikou 570206, China. 2. Department of Pharmacy, Hainan Maternal and Child Health Hospital(Hainan Women and Children Medical Center), Haikou 570206.
3. Departement of Pharmacy, the First Affiliated Hospital of Hainan Medical University, Haikou 570102)

[基金项目] 海南省重点研发计划项目(ZDYF2017093)。

[作者简介] 符海内(1984—),女,本科,主治医师,研究方向:主要从事妇产科疾病基础与临床研究。E-mail:jinying196912@163.com

[Abstract] Objective To investigate the effect of resveratrol (RSV) on the lymphotoxin analog (LIGHT)/herpesvirus entry mediator (HVEM) pathway in rats with preeclampsia (PE) and its protective effect on kidney injury. **Methods** Fifty pregnant Sprague-Dawley rats were randomly divided into 5 groups of 10 rats each; the normal group, PE model group, RSV low dose group (50 mg/kg), RSV high dose group (200 mg/kg), and LIGHT/HVEM pathway blocker group (lymphotoxin beta receptor-immunoglobulin fusion protein [LTβR-Ig], 1600 μg/kg). All rats except those in the normal group were intraperitoneally injected with nitroso-L-arginine methyl ester (300 mg/kg, once daily for 5 days) to establish a rat model of PE. After successful establishment of the model, RSV solution was given by gavage to the rats in the RSV low and high dose groups, LTβR-Ig solution was injected via the tail vein to the rats in the LIGHT/HVEM pathway blocker group, and the same amount of normal saline was given by gavage and tail vein injection to the rats in the Normal and PE groups. Each group was treated once a day for 5 consecutive days. After the last administration, 24-hour urine was collected and blood samples were obtained, and the serum creatinine (Scr), blood urea nitrogen (BUN), and 24-hour urinary protein were measured as renal function indices using enzyme-linked immunosorbent assay. Hematoxylin-eosin staining was used to detect the pathological changes of renal tissue. Real-time fluorescent quantitative polymerase chain reaction was used to detect the relative levels of LIGHT and HVEM mRNA in renal tissue. Western blot was used to detect the relative expression levels of LIGHT, HVEM, nuclear factor kappa B (NF-κB), interleukin-6 (IL-6) in renal tissue. **Results** Compared with the rats in the Normal group, those in the PE group exhibited pathological damage such as diffuse proliferation of glomerular endothelial cells and higher levels of Scr, BUN, 24-hour urine protein, renal tissue LIGHT mRNA and protein, HVEM mRNA and protein, and NF-κB and IL-6 protein expressions ($P < 0.05$). Compared with the PE group, the pathological damage of renal tissue was alleviated in the RSV low dose group, RSV high dose group, and LIGHT/HVEM pathway blocker group; additionally, the Scr, BUN, 24-hour urine protein, renal tissue LIGHT mRNA and protein, HVEM mRNA and protein, and NF-κB and IL-6 protein expressions were lower ($P < 0.05$). The changes in these indicators in the RSV high dose group were better than those in the RSV low dose group. No significant difference was observed between the LIGHT/HVEM pathway blocker group and RSV high dose group ($P > 0.05$). **Conclusions** RSV can inhibit the protein expression of the LIGHT/HVEM pathway in renal tissue of rats with PE and improve PE-induced renal injury.

[Keywords] resveratrol; preeclampsia; renal injury; lymphotoxin analog/herpesvirus entry mediator

子痫前期 (preeclampsia, PE) 是指妊娠期间特有的严重并发症, 以血压升高、蛋白尿及肾损伤等为最主要病理表现的疾病^[1-2]。PE 发病率较高, 是导致孕产妇和围生儿患病及死亡的主要原因之一, 可累及全身多器官系统, 肾是其损伤的主要靶器官之一^[3-4]。PE 机制复杂, 是临床研究的热点之一。近来研究发现, 淋巴毒素类似物 (lymphotoxin analog, LIGHT)/疱疹病毒介入体 (herpes virus entry mediator, HVEM) 不仅可调节线粒体功能, 参与胰岛细胞、肿瘤细胞及神经细胞的损伤^[5-6], 还可通过调节免疫炎症反应, 参与肾损伤过程^[7-8]。但 LIGHT/HVEM 是否参与调控 PE 肾损伤过程, 还未见报道。白藜芦醇 (Resveratrol, RSV) 是从葡萄、藜芦、虎杖等植物中提取的一种芪类结构的非黄酮类多酚化合物, 具有抗肿瘤、抗心血管疾病、抗炎免疫和雌激素样活性等药理作用, 对冠心病、阿尔茨海默病、糖尿病肾病等多种疾病具有明显的改善作用^[9-10]。但 RSV 对 PE 肾损伤的保护作用未见报道。本研究建立大鼠 PE 肾损伤模型, 通过阻断 LIGHT/HVEM 通

路表达, 探讨 RSV 对 PE 肾损伤的保护机制, 为临床合理用药提供参考。

1 材料和方法

1.1 实验动物

清洁级同遗传背景 SD 大鼠, 雄性 30 只, 雌性 60 只, 8 周龄, 体重 200~220 g, 购自广东省医学实验动物中心 [SCXK (粤) 2019-0002], 所有大鼠于海南省妇女儿童医学中心实验室中进行常规饲养 [SYXK (琼) 2019-0012], 大鼠在室温, 50% 相对湿度的环境下自由饮食进水。本实验经医院伦理委员会批准 (IACUC-01 (20190916)), 实验严格遵循 3R 原则。

1.2 主要试剂与仪器

白藜芦醇 (原料药, 高效液相色谱 (HPLC) 纯度 99%, 批号: D0051, 购自上海宝曼生物科技有限公司); 亚硝基左旋精氨酸甲酯 (L-nitro arginine methyl ester, L-NAME) 试剂 (HPLC 纯度 $\geq 98\%$, 批号: MB3015, 购自美仑生物科技有限公司); 淋巴毒素 β

受体(lymphotoxin β receptor, LT β R-Ig)融合蛋白(批号:YBA481Hu01,购自上海钰博生物科技有限公司);苏木精-伊红(HE)染色液(批号:G1120,购自北京索莱宝科技有限公司);血清肌酐(serum creatinine, Scr)、酶联免疫吸附(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)试剂盒(批号:LM-12785-ES,购自上海联迈生物工程有限公司);血尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)、ELISA 试剂盒(批号:LM-13351-ES,购自上海联迈生物工程有限公司);尿蛋白 ELISA 试剂盒(批号:JS15437,购自青岛捷世康生物科技有限公司);TRIzol 试剂盒、逆转录试剂盒、实时荧光定量 PCR 试剂盒、蛋白提取试剂盒(批号分别为:R0024FT、D7176M、C0298S、SF1009,均购自碧云天生物技术研究);LIGHT 抗体、HVEM 抗体、核转录因子- κ B(NF- κ B)抗体、白细胞介素-6(IL-6)、 β -actin 抗体、HRP 羊抗鼠二抗(批号分别为:ab134930、ab185711、ab209795、ab233706、ab101123、ab13055,均购自美国 Abcam 公司);智能无创血压计(型号:BP-2010A,购自北京软隆生物技术有限公司);光学显微镜(型号:SMZ745,购自日本尼康公司);实时荧光定量 PCR 仪(型号:SLAN-96P,购自上海宏石医疗科技有限公司);凝胶成像仪(型号:GIS-500,购自杭州米欧仪器有限公司)等。

1.3 实验方法

1.3.1 大鼠 PE 模型建立及分组给药

取大鼠雄性 30 只,雌性 60 只,按 2:1 合笼过夜,所有雌性大鼠于次日早晨发现有阴道栓者视为受孕成功,并将其定为妊娠第 1 天,取受孕大鼠 50 只,随机分为正常孕鼠组(Normal 组)、子痫前期模型组(PE 组)、白藜芦醇(RSV)低(50mg/kg)、高(200 mg/kg)剂量组、LIGHT/HVEM 通路阻断剂(淋巴毒素 β 受体, LT β R-Ig 融合蛋白, 1600 μ g/kg, LT β R-Ig 组),每组 10 只;除 Normal 组外,其余大鼠均参照文献^[11]方法建立 PE 模型;雌性大鼠在妊娠第 10 天,按 300 mg/kg 的剂量腹腔注射 L-NAME 溶液 5 d,每天 1 次,建立 PE 模型,并通过测血压、24 h 尿蛋白和透射电镜法观察肾结构确认子痫前期大鼠造模成功。造模成功后开始给药,RSV 低、高剂量组参照文献^[12]设置剂量,并用生理盐水配成 5 mg/mL、20 mg/mL 的溶液,按 10 mL/kg 剂量灌胃给药;LT β R-Ig 组参照文献^[13]设置剂量,并用生理盐水配成 16 μ g/ μ L 溶液,按 100 μ L/kg 剂量经尾静脉

注射给药;Normal 组和 PE 组灌胃+尾静脉注射给予等量生理盐水;各组连续给药 5 d,每天 1 次。

1.3.2 大鼠血压及妊娠情况观察

末次给药 12 h 后,观察妊娠情况,有无流产现象。将大鼠置于系统固定容器内,于封闭安静环境中,接好智能无创血压计电源并打开主机,设定温度至 39℃,将感应器固定于大鼠尾根部(松紧适度),待大鼠安静后,用尾套充气系统自动加压放气,并于血压仪显示屏上,观察血压波形变化并记录,每只大鼠测量时间为 30 min。

1.3.3 标本采集

末次给药 24 h 后,收集尿液置于-80℃冰箱保存。麻醉大鼠,取腹主动脉血 3 mL,4℃静置 30 min,3000 r/min 离心 10 min,取上清液置于-80℃冰箱保存。处死大鼠,取左肾组织,剪取部分组织,置于-80℃保存;其余组织迅速置于 4%多聚甲醛溶液中固定 24 h,经脱水、透明、浸蜡包埋后切成 4 μ m 切片,备用。

1.3.4 肾组织 HE 染色

取 1.3.3 项下石蜡切片,按 HE 试剂盒说明书方法染色后,在显微镜下观察肾组织变化。

1.3.5 各组大鼠肾功能指标血清肌酐(Scr)、血尿素氮(BUN)及尿液中 24 h 尿蛋白量

取血清和尿液标本,按 ELISA 试剂盒说明方法检测 Scr、BUN 及尿蛋白含量,具体操作按说明书方法进行。

1.3.6 实时荧光定量聚合酶链式反应(qRT-PCR)检测各组大鼠肾组织 LIGHT mRNA、HVEM mRNA 相对表达水平

取-80℃保存的左肾组织,4℃解冻,机械匀浆分离后取上清液,TRIzol 法抽提总 RNA,以总 RNA 为模板逆转录合成 cDNA,PCR 试剂盒进行扩增,94℃ 1 min,94℃ 20 s,60℃ 20 s,72℃ 25 s,共进行 36 个循环,严格按试剂盒说明建立反应体系,引物由生工生物工程(上海)股份有限公司合成,引物设计见表 1。以 β -actin 为内参基因,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 算法计算 LIGHT mRNA、HVEM mRNA 相对表达量。

1.3.7 蛋白免疫印迹(Western blot)法检测肾组织 LIGHT、HVEM、NF- κ B、IL-6 蛋白相对表达水平

取-80℃保存的肾组织,4℃解冻后,机械匀浆分离取上清液,提取蛋白,BCA 法测蛋白总浓度后,取 50 μ g 蛋白行电泳和转膜反应,滴加 5%脱脂牛奶 37℃封闭 1 h,滴加 [LIGHT (1:1000)、HVEM (1:

1000)、NF-κB(1:1000)、IL-6(1:1000)、β-actin(内参)(1:2000)]一抗 4℃ 孵育过夜,滴加二抗(1:2000),37℃ 孵育 1 h,增强化学发光法显色,凝胶成像仪观察拍照,以 Image J 软件分析计算蛋白相对表达水平。

1.4 统计学方法

以 SPSS 22.0 软件对实验数据进行统计分析,计量资料以平均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较进行单因素方差分析,进一步两组间比较行 SNK-*q* 检验, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠血压及妊娠情况观察结果

与 Normal 组相比,PE 组大鼠血压稍有升高,但升高不明显,且受孕 20 d 时,有 3 只大鼠流产;与 PE 组相比,RSV 低、高剂量组、LTβR-Ig 组大鼠血压变化均不明显,且无流产现象。

2.2 各组大鼠肾功能指标血清 Scr、BUN 及尿液中 24 h 尿蛋白量检测结果

与 Normal 组相比,PE 组大鼠血清 Scr、BUN 及尿液中 24 h 尿蛋白量升高($P<0.05$);与 PE 组相比,RSV 低、高剂量组、LTβR-Ig 组大鼠血清 Scr、BUN 及尿液中 24 h 尿蛋白量降低($P<0.05$),且 RSV 高剂量组大鼠血清 Scr、BUN 及尿液中 24 h 尿蛋白量均低于 RSV 低剂量组;LTβR-Ig 组与 RSV 高剂量组上述指标比较差异不显著($P>0.05$)。见表 2。

2.3 各组大鼠肾组织 HE 染色结果

Normal 组大鼠肾组织形态正常。与 Normal 组相比,PE 组大鼠肾组织可见肾小球内皮细胞弥漫性增生、肿胀、空泡样变性,基底膜增厚及炎性浸润等病理损伤。与 PE 组相比,RSV 低、高剂量组、LTβR-Ig 组大鼠上述病理损伤程度逐渐减轻。见图 1。

2.4 各组大鼠肾组织 LIGHT mRNA、HVEM mRNA 相对水平检测结果

与 Normal 组相比,PE 组大鼠肾组织 LIGHT mRNA、HVEM mRNA 相对水平升高($P<0.05$);与 PE 组相比,RSV 低、高剂量组、LTβR-Ig 组大鼠肾组织 LIGHT mRNA、HVEM mRNA 相对水平降低($P<0.05$),且 RSV 高剂量组大鼠肾组织 LIGHT mRNA、HVEM mRNA 相对水平均低于 RSV 低剂量组;LTβR-Ig 组与 RSV 高剂量组,上述指标比较差异不显著($P>0.05$)。见图 2。

2.5 各组大鼠肾组织 LIGHT、HVEM、NF-κB、IL-6 蛋白表达结果

与 Normal 组相比,PE 组大鼠肾组织 LIGHT、HVEM、NF-κB、IL-6 蛋白表达升高($P<0.05$);与 PE 组相比,RSV 低、高剂量组、LTβR-Ig 组大鼠肾组织 LIGHT、HVEM、NF-κB、IL-6 蛋白降低($P<0.05$),且 RSV 高剂量组大鼠肾组织 LIGHT、HVEM、NF-κB、IL-6 蛋白均低于 RSV 低剂量组,LTβR-Ig 组与 RSV 高剂量组上述指标比较差异不显著($P>0.05$)。见图 3、图 4。

3 讨论

PE 肾损伤发生较早且较为严重,其病理生理变化为肾小球扩张、血管痉挛、肾血流量减少、肾小球滤过率下降,而出现蛋白尿,继续恶化并累及肾小管,造成肾功能异常,从而引起母体内多种血清学指标改变^[4]。PE 机制复杂,动物模型是研究 PE 发病机理与开发诊治手段的主要工具,在大鼠饮水中

表 1 qRT-PCR 引物序列

Table 1 qRT-PCR primer sequences

基因名称 Gene name	序列(5'-3') Sequence	产物长度 Product length
LIGHT	F:AACGCCAGCTTGATAGGTATTG	216 bp
	R:GGATGTGCGCTTGTATAGTCCA	
HVEM	F:GGAGCTGACGGGCACACAGT	283 bp
	R:CCTCGACTGCCGTGTGTGTCA	
β-actin	F:AACCCCTAAGGCCAACCGTGAAAAAG	132 bp
	R:GCTCGAAGTCTAGGGCAACAACATA	

表 2 各组大鼠血清 Scr、BUN 及尿液中 24 h 尿蛋白量比较($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 2 Comparison of serum Scr, BUN and 24 h urine protein in rats of each group

组别 Groups	Scr (μmol/L)	BUN (μmol/L)	尿液中 24 h 尿蛋白量 (mg) 24 h urinary protein in urine
Normal 组 Normal group	3.09±0.11	10.86±1.29	16.03±2.01
PE 组 PE group	5.98±0.14 ^a	39.61±2.12 ^a	120.21±3.24 ^a
RSV 低剂量组 RSV low dose group	4.89±0.13 ^{ab}	30.32±1.82 ^{ab}	99.16±3.03 ^{ab}
RSV 高剂量组 RSV high dose group	4.41±0.12 ^{abc}	26.67±1.36 ^{abc}	63.19±2.52 ^{abc}
LTβR-Ig 组 LTβR-Ig group	4.46±0.11 ^{abc}	27.78±1.39 ^{abc}	64.14±2.28 ^{abc}

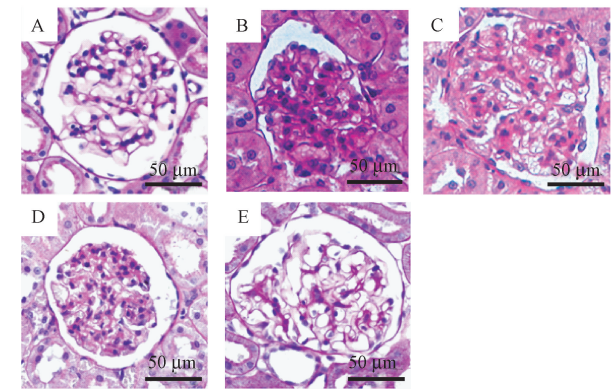
注:与 Normal 组相比,^a $P<0.05$;与 PE 组相比,^b $P<0.05$;与 RSV 低剂量组相比,^c $P<0.05$ 。
Note. Compared with Normal group,^a $P<0.05$. Compared with PE group,^b $P<0.05$. Compared with RSV low dose group,^c $P<0.05$.

加入 L-NAME,虽不能使大鼠血压升高,但可使大鼠在孕晚期出现蛋白尿和肾小球滤过率降低等 PE 肾损伤现象^[14]。本研究通过腔注射 L-NAME 后发现,与 Normal 组相比,PE 组大鼠尿液中 24 h 尿蛋白量、肾功能指标血清 Scr、BUN 含量升高,肾组织出现肾小球内皮细胞弥漫性增生、肿胀、空泡样变性,基底膜增厚,且有局灶节段性肾小球硬化及膜增生性肾小球肾炎病变。提示 PE 组孕鼠出现蛋白尿、肾功能损伤及肾病理变化,表明造模成功。

RSV 是我国传统中药虎杖中的主要活性成分,现代药理学研究发现,白藜芦醇可抑制肾炎症反应等多种药理作用,从而在肾病防治研究中倍受关注^[10]。He 等^[15]研究发现,RSV 可通过调节单磷酸腺苷活化蛋白激酶 (AMPK)/还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸氧化酶 (NOX)/活性氧簇 (ROS) 通路降低氧化应激反应,减少肾纤维化;Shao 等^[16]发现

RSV 可通过沉默信息调控因子 1 (Sirt1)/缺氧诱导因子-1 α (HIF-1 α) 信号途径降低肾小球系膜细胞炎症反应,减少肾损害。然而 RSV 对 PE 过程中肾损伤的作用,却未见报道。本研究发现,与 PE 组相比,RSV 低、高剂量组大鼠肾组织病理损伤明显改善,尿液中 24 h 尿蛋白量、肾功能指标血清 Scr、BUN 含量均减低,且 RSV 高剂量组上述指标变化均优于 RSV 低剂量组,表明 RSV 肾损伤也具有改善作用,但具体分子机制还不甚明确,本研究对此进行继续探究。

LIGHT 是 T 细胞活化共刺激分子,HVEM 是 LIGHT 的配体之一,LIGHT 与 HVEM 结合后,可活化 NF- κ B 核转录因子或通过激活 N 端激酶 (JNK)/转录因子激活蛋白-1 (AP-1) 途径诱导基因转录,并调控细胞生存、细胞因子表达及细胞增殖等生理活动^[17-18]。近来研究发现,LIGHT/HVEM 通路参



注:A:Normal 组;B:PE 组;C:RSV 低剂量组;D:RSV 高剂量组;E:LT β R-Ig 组。下同。

图 1 各组大鼠肾组织 HE 染色图

Note. A, Normal group. B, PE group. C, RSV low dose group. D, RSV high dose group. E, LT β R-Ig group.The same as below.

Figure 1 HE staining of renal tissue in each group

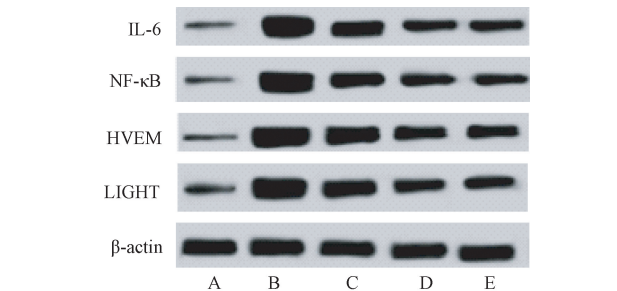
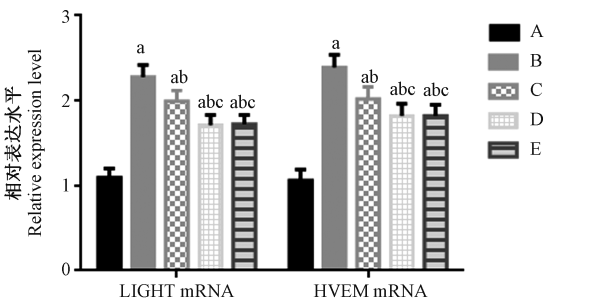


图 3 各组大鼠肾组织 LIGHT、HVEM、NF- κ B、IL-6 蛋白表达免疫印迹图

Figure 3 Western blot of LIGHT, HVEM, NF- κ B and IL-6 protein expression in renal tissue of rats in each group



注:与 Normal 组相比,^a $P < 0.05$;与 PE 组相比,^b $P < 0.05$;与 RSV 低剂量组相比,^c $P < 0.05$ 。下图同。

图 2 各组大鼠肾组织 LIGHT mRNA、HVEM mRNA 相对水平比较 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Note. Compared with Normal group, ^a $P < 0.05$. Compared with PE group, ^b $P < 0.05$. Compared with RSV low dose group, ^c $P < 0.05$. The same as below.

Figure 2 Comparison of the relative levels of LIGHT mRNA and HVEM mRNA in kidney tissue of rats in each group

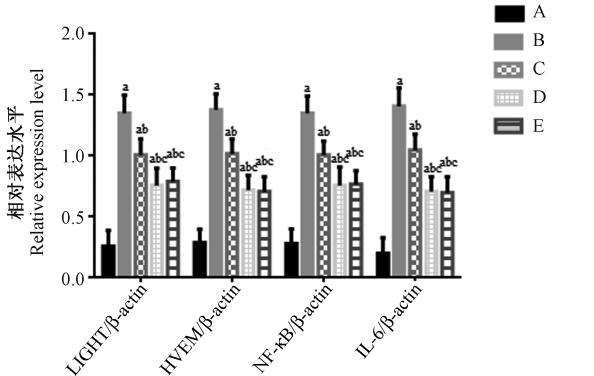


图 4 各组大鼠肾组织 LIGHT、HVEM、NF- κ B、IL-6 蛋白相对水平比较 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Figure 4 Comparison of relative levels of LIGHT, HVEM, NF- κ B and IL-6 protein in kidney tissues of rats in each group

与 PE 病理过程及肾损伤过程, Wang 等^[19]发现在 PE 怀孕小鼠模型中 LIGHT 显著升高,向怀孕小鼠中注入重组 LIGHT 会诱发小鼠 PE 高血压和蛋白尿形成,而抑制 LIGHT、HVEM 及 LT β R 表达可阻止 PE 所致高血压、蛋白尿、胎盘血管生成受损和内皮功能损伤等; Wang 等^[20]在人类和小鼠试验研究中发现, LIGHT 信号传导激活可导致胎盘凋亡,血管活性因子分泌增加以及子痫前期母体蛋白尿升高; Wang 等^[8]发现 HVEM/LIGHT 通路参与肾移植排斥反应过程。本研究发现,与 Normal 组相比, PE 组大鼠肾组织中 HVEM mRNA 及蛋白、LIGHT mRNA 及蛋白均升高, NF- κ B 及 IL-6 蛋白也明显升高;与 PE 组相比, RSV 低、高剂量组大鼠肾组织 HVEM mRNA 及蛋白、LIGHT mRNA 及蛋白、NF- κ B 及 IL-6 蛋白均依次降低,提示 LIGHT/HVEM 通路可能参与 PE 肾损伤过程,而 RSV 可抑制 LIGHT/HVEM 通路激活,减少炎症因子释放。另外本研究用 LT β R-Ig 阻断 LIGHT/HVEM 通路,结果发现,与 PE 组相比, LT β R-Ig 组大鼠肾组织 HVEM mRNA 及蛋白、LIGHT mRNA 及蛋白、NF- κ B 及 IL-6 蛋白亦明显降低,且大鼠尿液中 24 h 尿蛋白量、血清 Scr、BUN 含量均减低,肾组织损伤明显减轻,表明抑制 HVEM/LIGHT 通路可缓解 PE 肾损伤。RSV 高剂量组各项指标与 LT β R-Ig 组无明显差异,推测 RSV 改善 PE 肾损伤的作用可能与抑制 LIGHT/HVEM 通路有关。

综上所述, RSV 可抑制 PE 大鼠肾组织 LIGHT/HVEM 通路,减轻 PE 所致肾损伤,可能为阐明 RSV 改善 PE 肾损伤作用提供一定参考,但 LIGHT/HVEM 通路靶点较多, RSV 通过抑制 LIGHT/HVEM 通路激活改善 PE 肾损伤机制也较为复杂,这需要后续继续研究。

参考文献:

- [1] Duhig KE, Webster LM, Sharp A, et al. Diagnostic accuracy of repeat placental growth factor measurements in women with suspected preeclampsia: A case series study [J]. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 2020, 99(8): 994-1002.
- [2] Granger JP, Spradley FT, Bakrania BA, et al. The endothelin system: a critical player in the pathophysiology of preeclampsia [J]. *Curr Hypertens Rep*, 2018, 20(4): 32.
- [3] Conti-Ramsden FI, Nathan HL, De Greeff A, et al. Pregnancy-related acute kidney injury in preeclampsia: risk factors and renal outcomes [J]. *Hypertension*, 2019, 74(5): 1144-1151.
- [4] 原梦昕, 赫英东, 陈倩, 等. 慢性肾脏病孕妇妊娠风险预测模型的构建及验证 [J]. *中华妇产科杂志*, 2020, 55(3): 172-176.
- [5] Gindzienska-Sieskiewicz E, Distler O, Reszec J, et al. Increased expression of the TNF superfamily member LIGHT/TNFSF14 and its receptors (HVEM and LT β R) in patients with systemic sclerosis [J]. *Rheumatology (Oxford)*, 2019, 58(3): 502-510.
- [6] Seo GY, Shui JW, Takahashi D, et al. LIGHT-HVEM signaling in innate lymphoid cell subsets protects against enteric bacterial infection [J]. *Cell Host Microbe*, 2018, 24(2): 249-260.
- [7] 杨雁, 钟渝, 孟利, 等. LIGHT/TNFSF14 减轻顺铂诱导的小鼠急性肾损伤及机制 [J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2019, 35(10): 897-902.
- [8] Wang Z, Wang K, Yang H, et al. Associations between HVEM/LIGHT/BTLA/CD160 polymorphisms and the occurrence of antibody-mediate rejection in renal transplant recipients [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(59): 100079-100094.
- [9] 邓洁, 唐曼, 文红波, 等. 白藜芦醇保护心血管作用机制的研究进展 [J]. *医学综述*, 2018, 24(1): 2759-2764.
- [10] 邓艳辉, 伍飞臻, 李强, 等. 白藜芦醇抗糖尿病肾病的分子作用机制研究进展 [J]. *中药药理与临床*, 2018, 34(1): 186-190.
- [11] 金娅, 孙成娟, 张为远, 等. AKR1C3 对子痫前期大鼠肾损伤的影响 [J]. *中华医学杂志*, 2015, 95(1): 30-33.
- [12] 余伟, 张秀, 黄乔, 等. 白藜芦醇对奥沙利铂所致大鼠周围神经毒性的保护作用及机制研究 [J]. *中药新药与临床药理*, 2019, 30(1): 20-25.
- [13] 周倩, 崔淑芳, 樊克兴, 等. LT β R-Ig 融合蛋白的真核表达及其体外生物学功能的研究 [J]. *同济大学学报(医学版)*, 2007, 28(3): 11-15.
- [14] 肖仲琳, 杨青, 张键, 等. 子痫前期动物模型的研究进展 [J]. *生物化学与生物物理进展*, 2016, 43(6): 563-569.
- [15] He T, Xiong J, Nie L, et al. Resveratrol inhibits renal interstitial fibrosis in diabetic nephropathy by regulating AMPK/NOX4/ROS pathway [J]. *J Mol Med (Berl)*, 2016, 94(12): 1359-1371.
- [16] Shao Y, Lv C, Wu C, et al. Mir-217 promotes inflammation and fibrosis in high glucose cultured rat glomerular mesangial cells via Sirt1/HIF-1 α signaling pathway [J]. *Diabetes Metab Res Rev*, 2016, 32(6): 534-543.
- [17] Herro R, Shui JW, Zahner S, et al. LIGHT-HVEM signaling in keratinocytes controls development of dermatitis [J]. *J Exp Med*, 2018, 215(2): 415-422.
- [18] 谭田畅, 夏丽坤. CD160/BTLA-HVEM-LIGHT/LT- α 共信号通路与单纯疱疹病毒性角膜炎的研究 [J]. *中华实验眼科杂志*, 2018, 36(7): 564-569.
- [19] Wang W, Irani RA, Zhang Y, et al. Light, a TNF superfamily member, contributes to pathophysiology in a mouse model of preeclampsia [J]. *Pregnancy Hypertens*, 2012, 2(3): 214.
- [20] Wang W, Parchim NF, Iriyama T, et al. Excess LIGHT contributes to placental impairment, increased secretion of vasoactive factors, hypertension, and proteinuria in preeclampsia [J]. *Hypertension*, 2014, 63(3): 595-606.