

白藜芦醇对肾纤维化大鼠肾组织 ORP150、GRP78、GRP94 蛋白表达的影响

张 翠¹, 王丹枫¹, 张思琪¹, 张腾娇¹, 周艳岩²

1. 哈尔滨商业大学药学院, 黑龙江 哈尔滨 150076

2. 扬子江药业集团北京海燕药业有限公司, 北京 102206

摘要: 目的 探讨白藜芦醇对单侧输尿管梗阻 (UUO) 大鼠肾组织内质网应激分子伴侣氧调节蛋白 150 (ORP150) 和葡萄糖调节蛋白 78 (GRP78)、GRP94 表达的影响。方法 采用 UUO 大鼠模型, 利用随机数字表将大鼠分为假手术组、模型组、依那普利组和白藜芦醇高、中、低剂量组, 每组各 10 只; 术后 2 周将大鼠处死并收集血清和肾组织, 检测肌酐 (Scr)、血尿素氮 (BUN) 水平; 采用 HE 染色观察大鼠肾组织的损害程度并计算损伤参数; 采用 Masson 染色检测大鼠肾间质胶原沉积面积值; 采用 TUNEL 法检测大鼠肾组织中原位细胞凋亡情况; Western blotting 法测定大鼠肾组织 ORP150、GRP78、GRP94 蛋白表达水平。结果 与模型组比较, 各治疗组大鼠血清中 Scr、BUN 均显著降低, 肾小管损伤程度明显减轻, 肾间质胶原相对面积降低, 肾组织中 ORP150 蛋白表达水平显著升高 ($P < 0.05$ 、 0.01), 原位细胞凋亡指数和 GRP78、GRP94 蛋白表达水平显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01)。白藜芦醇高剂量组和依那普利组比较各检测指标均差异显著 ($P < 0.05$)。结论 白藜芦醇对 UUO 大鼠肾功能具有保护作用, 能够减轻肾脏肾盂积水, 降低肾间质胶原沉积面积, 诱导内质网应激过程中的关键信号分子 ORP150 的表达, 下调分子伴侣 GRP78、GRP94 的表达, 减缓凋亡的发展, 抑制因细胞凋亡沉积而带来的肾间质纤维化进程。

关键词: 白藜芦醇; 肾间质纤维化; 单侧输尿管梗阻; 氧调节蛋白 150; 内质网应激; 葡萄糖调节蛋白 78; 葡萄糖调节蛋白 94

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2018)02-0406-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.02.022

Effects of resveratrol on expression of renal fibrosis proteins ORP150, GRP78, and GRP94 in rat kidney tissue

ZHANG Cui¹, WANG Dan-feng¹, ZHANG Si-qi¹, ZHANG Teng-jiao¹, ZHOU Yan-yan²

1. College of Pharmacy, Harbin University of Commerce, Harbin 150076, China

2. Beijing Haiyan Pharmaceutical Co., Yangtze River Pharmaceutical Group, Beijing 102206, China

Abstract: Objective To assess the effect of resveratrol on the expression of endoplasmic reticulum stress molecular partners 150-KD oxygen-regulated protein (ORP150) in renal tissues of rats with unilateral ureteral obstruction (UUO). **Methods** The UUO rat model of renal interstitial fibrosis was established. The rats were randomly divided into sham operation group, model group, enalapril group, the high-dose, medium-dose and low-dose groups of resveratrol, each group of 10. After 14 d of surgery, rats were sacrificed to collect serum and kidney tissue to detect the level of serum Scr and blood urea nitrogen (BUN); Pathological changes were stained by HE to evaluate of renal tubular damage index, renal interstitial collagen deposition area was detected by Masson staining, apoptosis of in situ cell in renal tissue was determined by TUNEL assay, and using the western blot for the detection of protein expression of ORP150, GRP78, and GRP94 in renal tissue. **Results** After comparison of the treatment groups with model group, BUN and Scr levels in serum were significantly reduced in high-dose resveratrol group, the damage degree of renal tubules was significantly reduced, the relative area of the renal interstitial collagen decreased, In addition, the expression of ORP150 was increased ($P < 0.05$, 0.01), GRP78 and GRP94 proteins expression were significantly reduced, ($P < 0.05$, 0.01). Moreover, the resveratrol high-dose group seems more effective than enalapril groups in reversing the phenotype ($P < 0.05$). **Conclusion** Resveratrol was able to protect renal function, alleviate hydronephrosis, reduce interstitial injury of renal tubular, induce the expression of the key endoplasmic reticulum stress signal molecule ORP150 and the down-regulated molecular partner GRP78 and GRP94, delay the apoptosis of renal tubular epithelial cell of rats after UUO and inhibit renal interstitial fibrosis caused by apoptosis deposition.

收稿日期: 2017-07-20

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81373547); 黑龙江省自然科学基金项目 (D201147); 哈尔滨商业大学研究团队支持项目 (2016TD008); 哈尔滨商业大学研究生创新科研项目 (YJSCX2017-445HSD)

作者简介: 张 翠 (1958—), 女, 教授, 博士后, 博士生导师, 主要从事中医疗法治疗肾病研究。Tel: (0451)84838207 E-mail: zhangcuiliulu@163.com

Key words: resveratrol; renal interstitial fibrosis; unilateral ureteral obstruction (UUO); ORP150; endoplasmic reticulum stress (ERS); GRP78; GRP94

近年来,慢性肾病(chronic kidney disease, CKD)在人群中发病率呈明显上升趋势,被公认为 21 世纪全球性医学难题^[1]。CKD 在向末期肾衰竭发展的过程中,必须经过一定程度肾间质纤维化(renal interstitial fibrosis, RIF)的生理病理改变,因此延缓 RIF 进程,逆转肾损伤,是治疗 CKD 的关键^[2]。RIF 与内质网应激(endoplasmic reticulum stress, ERS)密切相关,氧调节蛋白 150 (150-KD oxygen-regulated protein, ORP150)在抑制细胞死亡中起关键作用,过久或过强的 ERS 破坏了 ORP150 和葡萄糖调节蛋白 78 (glucose regulated protein, GRP78)、GRP94 的平衡,对内质网蛋白折叠功能造成不可逆的损伤,破坏了细胞正常活动,使其在凋亡及分裂端失衡,伴胞外基质的沉积,最终造成 RIF^[3-4]。

白藜芦醇(resveratrol, RSV)又称芪三酚,是常见的酚类抗氧化剂^[5]。RSV 具有多种生物学活性,如抗菌、抗癌、抗衰老、抗肿瘤、调控细胞周期、调节脂代谢、抑制血小板聚集等^[6-8]。据文献报道 RSV 对 RIF 有治疗作用^[9]。本研究探讨 RSV 干预 RIF 大鼠 ORP150、GRP78、GRP94 蛋白的表达情况,以阐明 RSV 防治大鼠 RIF 的作用机制。

1 材料

1.1 动物、药品及试剂

清洁级健康雄性 Wistar 大鼠 60 只,体质量(190±20)g,购于长春市亿斯实验动物技术有限责任公司,动物合格证号 SCXK(吉)-2015-0004; RSV(批号 326001,质量分数 99%),购自上海笛柏化学品技术有限公司;马来酸依那普利(批号 150201)购自上海现代制药股份有限公司;肌酐(Scr)试剂盒、血尿素氮(BUN)测定试剂盒购于中生北控生物科技股份有限公司;TUNEL 细胞凋亡原位检测试剂盒购自德国罗氏公司;碱性磷酸酯酶标记马抗小鼠 IgG(H+L)、碱性磷酸酯酶标记山羊抗兔 IgG(H+L)购于北京中山金桥生物科技有限公司;GRP78-BiP、GRP94、ORP150 抗体购于 Cell Signaling Technology 公司;β-actin 抗体、BCIP/NBT 碱性磷酸酯酶显色试剂盒购于 Beyotime 公司。

1.2 仪器

sigma3K30 低温高速离心机(美国 Sigma 公司);Nikon DXM1200F 全自动照相系统(日本 Nikon 公司);Leica 石蜡组织切片机(德国 Leica 公司);PHY-III 病理组织漂烘仪(常州中威电子仪器厂);BM-VII 水浴式生物组织包埋机(孝感市宏业医用仪器有限公司);YT-6C 生物组织摊烤片机(湖北省孝感市亚光医用电子技术研究所);Glamour 2000 型全自动生化分析仪(美国 MD 仪器公司);Mini-PROTEAN Tetra 电泳槽、Trans-Blot SD 半干转印槽(Bio-Rad 公司)。

2 方法

2.1 动物分组及给药

将 60 只大鼠随机分为假手术组、模型组、依那普利组 and RSV 高、中、低剂量组,每组 10 只。假手术组、模型组 ig 给予等体积生理盐水;依那普利组 ig 剂量为 0.45 mg/kg;RSV 高、中、低剂量组 ig 剂量分别为 40、20、10 mg/kg^[10];在手术前 1 d 开始给药,每天给药 1 次,共给药 14 d。

2.2 单侧输尿管梗阻(UUO)模型制备

采用标准 UUO 法制备大鼠模型,手术前一天禁食,10%水合氯醛对大鼠进行麻醉,实验设备高温消毒,去毛后由大鼠左腹部依次剪开外皮、内皮至腹膜后,分离左侧输尿管,管上下两端分别结扎并在中间剪断,逐层缝合肌肉及皮肤。假手术组剥离输尿管(但并不结扎和切断输尿管)后即缝合腹腔。

2.3 血清中 Scr、BUN 水平检测

于术后第 14 天大鼠采用摘眼球取血法取血,约 3 mL,不抗凝,置普通试管中,血液收集后 2 500 r/min、离心 10 min 分离血清,将血清保存于-20℃冰箱,用 Glamour 2000 型全自动生化分析仪检测血清中肾功能指标 Scr、BUN。

2.4 HE 染色检测肾小管间质病理改变

于术后第 14 天处死大鼠,取梗阻侧肾组织,经 4%多聚甲醛固定,石蜡包埋,切片,二甲苯浸润 5 min,100%、95%、85%、75%乙醇(各 1 min)脱蜡处理,自来水、蒸馏水各冲洗 2 min,浸入苏木素液 10 min,自来水洗 10 min,1%盐酸酒精分化脱色 5 s,自来水冲洗切片 30 min 以上,浸入 1%氨水

溶液中处理,切片后用自来水稍微洗,用0.5%伊红水溶液复染3 min,水冲洗;依次经过70%、80%、95%乙醇脱水,再转入100%乙醇中完全脱水5 min;二甲苯浸润2次,每次5 min,盖玻片蘸有中性树脂封片,放入干燥箱中2~3 d。

根据文献方法^[11],对肾小管间质的病理改变进行半定量分析。将HE染色组织切片放在400倍光镜下,每个切片随机选择10个不含肾小球的视野。肾小管间质病变程度由8个参数判定,即蛋白管型、间质纤维化程度、小管萎缩、间质浸润、红细胞管型、间质水肿、小管细胞空泡变性、小管扩张。每个参数分为4个等级,正常-0分,轻度损伤-1分,中度损伤-2分,重度损伤-3分,每个样本小管间质损伤总评分为0~24分。

2.5 Masson 染色检测肾纤维化面积

取大鼠肾组织切片,趁热经二甲苯和乙醇脱蜡,自来水、蒸馏水冲洗。苏木素染色5 min;自来水洗后,盐酸酒精分化;流水冲洗10 min;丽春红酸性品红溶液染色10 min;0.2%醋酸-水溶液洗5 min;1%磷酸钼分化5 min;亮绿液染3 min;自来水冲洗,60℃烘干切片,二甲苯处理切片使组织透明,盖玻片蘸有中性树脂封片,干燥箱中烘干。

取Masson染色切片,每张切片在高倍镜400倍下随机选取10个视野,测定间质纤维化面积占同视野小管间质总面积的百分比。取百分比的平均值作为每张切片的最终肾间质相对面积,作为衡量肾小管损伤的指标。

2.6 TUNEL 法检测肾组织中原位细胞凋亡

取大鼠肾组织切片,经过二甲苯、乙醇脱蜡,蒸馏水冲洗2次,3%过氧化氢浸泡10 min,蒸馏水冲洗2次,PBS漂洗3次(各5 min),每张切片滴加Proteinase K工作液,37℃放置15~30 min,PBS漂洗3次(各5 min),滴加1滴TUNEL反应混合液覆盖(阴性对照组仅加入1滴荧光素标记的dUTP),37℃下暗湿盒反应1 h。PBS漂洗3次(各5 min),加1滴converter-POD于标本上,37℃下暗湿盒反应30 min,PBS漂洗3次(各5 min),在组织处加DAB,25℃反应10 min,自来水冲洗2 min,苏木素复染,自来水冲洗10 min,蒸馏水再冲洗2遍,切片经80%、85%、90%、95%、100%乙醇(各3 min)和二甲苯脱水,透明后用蘸有中性树胶的盖玻片封片,显微镜下观察。

显微镜下,细胞核中呈棕黄色至黄棕色为阳性

细胞,被判定为凋亡细胞。光镜下随机选取10个非重叠的高倍视野($\times 400$)(避开肾小球及大血管),采用Image多媒体彩色病理图像分析软件计数凋亡细胞的阳性表达,以阳性细胞数与总细胞数的比值作为凋亡指数。

2.7 Western blotting 法检测各组大鼠肾组织 ORP150、GRP78、GRP94 蛋白表达水平

取20 mg大鼠肾组织,加入细胞裂解液并进行匀浆处理,放入高速离心机12 000 r/min,离心10 min,取上清液。BCA试剂盒测定蛋白量;蛋白按照5:1的比例加入SDS-PAGE蛋白上样缓冲液,在沸水中煮5 min左右;配制12%分离胶和5%浓缩胶,按蛋白含量上样,浓缩胶采用恒压80 V(30 min),分离胶采用恒压120 V,待溴酚蓝移至分离胶底部时,终止电泳。将蛋白转到NC膜上,封闭1 h,孵育一抗(1:1 000)过夜、孵育二抗(1:10 000)1 h,BCIP/NBT碱性磷酸酯酶显色试剂盒显色,凝胶图像分析仪分析条带,记录灰度值。

2.8 统计学处理

所有数据采用SPSS 19.0统计分析软件进行统计学处理,结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示。组间比较采用单因素方差分析,组内比较采用 t 检验。

3 结果

3.1 RSV 对 UUO 大鼠血清中 Scr、BUN 水平的影响

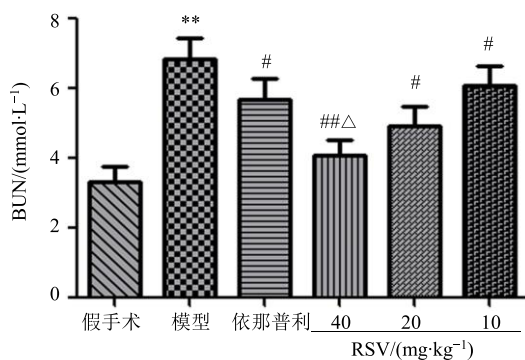
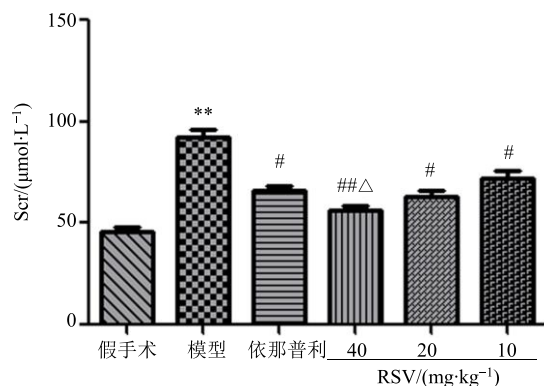
术后14 d,与假手术组相比,模型组大鼠血清中Scr、BUN水平显著升高($P < 0.01$),说明造模成功。与模型组比较,各治疗组大鼠血清中的Scr、BUN水平均有不同程度的降低($P < 0.05$ 、 0.01)。RSV高剂量组大鼠血清中的Scr、BUN水平显著低于依那普利组($P < 0.05$)。见图1。

3.2 RSV 对 UUO 大鼠肾脏质量的影响

与假手术组比较,模型组大鼠左侧肾脏质量显著增加($P < 0.01$),肾盂积水现象严重。与模型组比较,RSV各剂量组大鼠左侧肾脏质量显著降低($P < 0.05$ 、 0.01)。RSV高剂量组大鼠左侧肾脏质量显著低于依那普利组($P < 0.05$)。见图2。

3.3 RSV 对 UUO 大鼠肾小管损伤指数的影响

如图3、4所示,与假手术组比较,模型组大鼠肾小管损伤指数显著增加($P < 0.01$)。与模型组比较,各治疗组大鼠肾小管扩张及肾小管变性脱落的情况有不同程度的减轻($P < 0.05$ 、 0.01)。与依那普利组相比,RSV高剂量组大鼠肾小管损伤指数显著降低($P < 0.05$)。



与假手术组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$
与依那普利组比较: △ $P < 0.05$; 下同
** $P < 0.01$ vs Sham group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ vs model group; △ $P < 0.05$ vs Enalapril group, same as below

图 1 RSV 对 UUO 大鼠血清中 Scr、BUN 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)
Fig. 1 Effects of RSV on Scr and BUN levels in serum of UUO rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

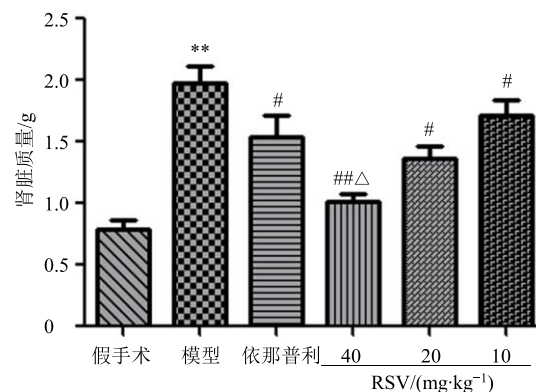


图 2 RSV 对 UUO 大鼠肾脏质量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)
Fig. 2 Effect of RSV on weight of kidney of UUO rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

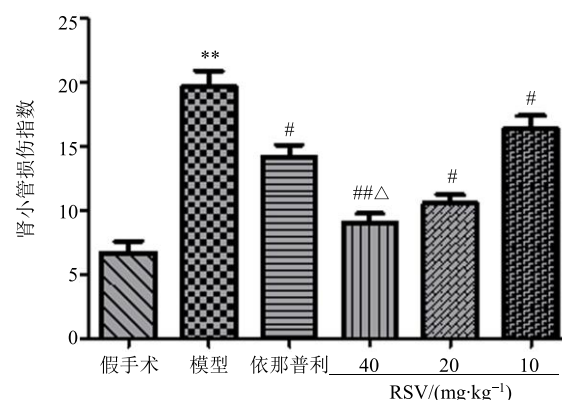


图 3 RSV 对 UUO 大鼠肾小管损伤指数的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)
Fig. 3 Effect of RSV on renal tubular damage index of UUO rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

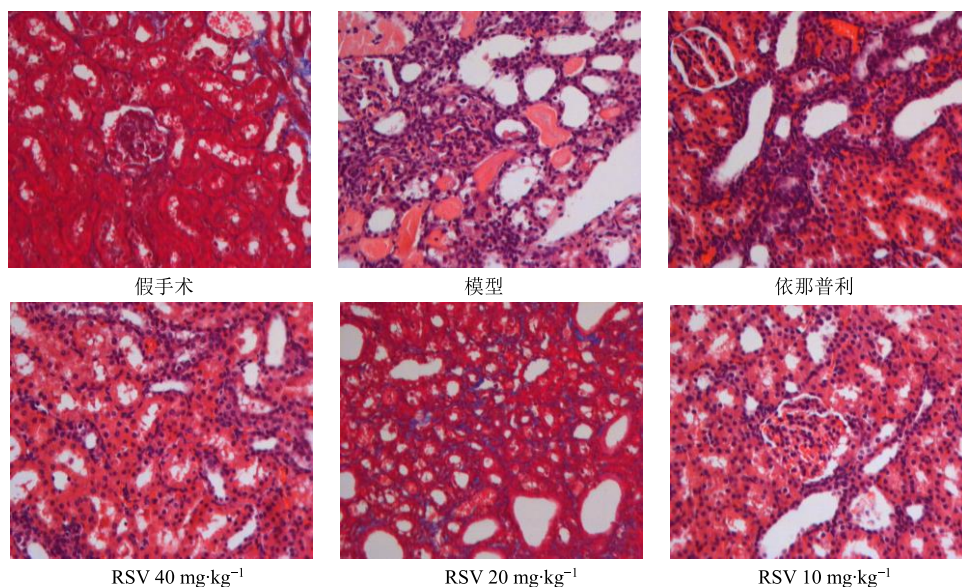


图 4 RSV 对 UUO 大鼠肾小管损伤的影响 (×400, HE)
Fig. 4 Effect of RSV on renal tubular damage of UUO rats (×400, HE)

3.4 RSV 对 UUO 大鼠肾组织胶原分布面积的影响

Masson 染色结果显示,与假手术组比较,模型组大鼠肾组织的胶原分布面积显著增大 ($P<0.01$)。与模型组比较,各治疗组大鼠胶原分布面积均有不同程度的减小 ($P<0.05$ 、 0.01)。与依那普利组相比,RSV 高剂量组大鼠肾组织胶原分布面积显著减少 ($P<0.05$)。见图 5、6。

3.5 RSV 对 UUO 大鼠肾小管上皮细胞凋亡的影响

术后 14 d,假手术组大鼠肾小管上皮仅能观察到少量凋亡细胞。与假手术组相比,模型组大鼠肾小管上皮细胞见大量黄棕色颗粒分布,凋亡细胞显著增加 ($P<0.01$)。各治疗组与模型组比较均有显著差异 ($P<0.05$ 、 0.01),其中 RSV 高剂量组大鼠的肾小管上皮细胞凋亡指数与依那普利组比较明显下降 ($P<0.05$)。见图 7、8。

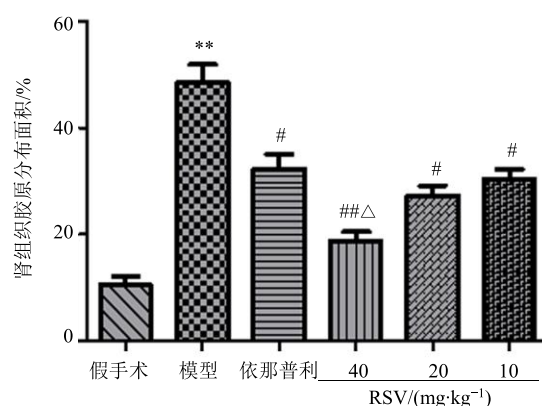


图 5 RSV 对 UUO 大鼠肾组织胶原分布面积的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Fig. 5 Effect of RSV on collagen distribution area in UUO rats ($\bar{x} \pm s, n=10$)

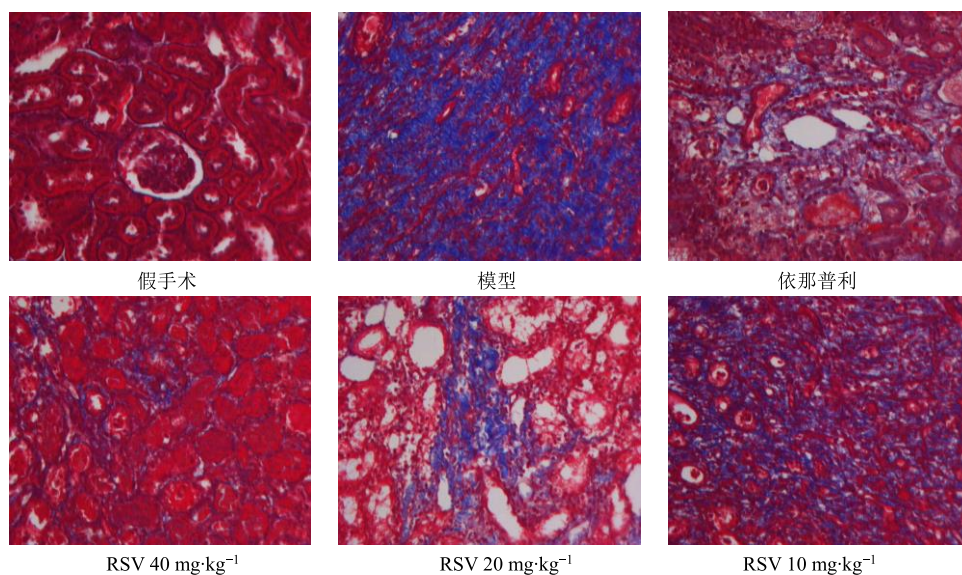


图 6 RSV 对 UUO 大鼠肾组织胶原分布面积的影响 ($\times 400$, Masson)

Fig. 6 Effect of RSV on collagen distribution area in UUO rats ($\times 400$, Masson)

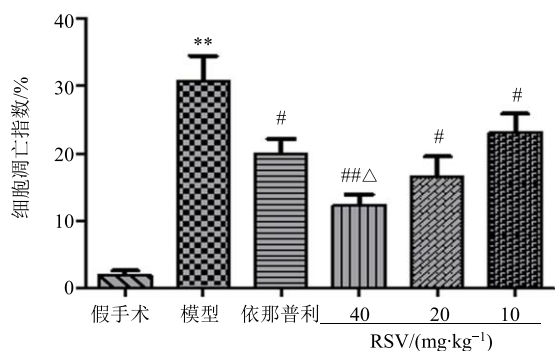


图 7 RSV 对 UUO 大鼠肾小管上皮细胞凋亡的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Fig. 7 Effect of RSV on renal tubular epithelial cell apoptosis index of UUO rats ($\bar{x} \pm s, n=10$)

3.6 RSV 对 UUO 大鼠肾组织 ORP150、GRP78、GRP94 蛋白表达的影响

假手术组大鼠肾组织 ORP150、GRP78、GRP94 蛋白表达量均较少。与假手术组比较,模型组大鼠肾组织 ORP150、GRP78、GRP94 蛋白表达水平显著升高 ($P<0.05$ 、 0.01)。与模型组比较,RSV 高、中剂量组,依那普利组大鼠肾组织 ORP150 蛋白表达水平显著升高 ($P<0.05$ 、 0.01);各治疗组 GRP78 和 GRP94 的蛋白表达均显著降低 ($P<0.05$ 、 0.01)。与依那普利组比较,RSV 高剂量组大鼠肾组织 ORP150 蛋白表达显著升高 ($P<0.05$),GRP78、GRP94 蛋白表达显著降低 ($P<0.01$)。见图 9。

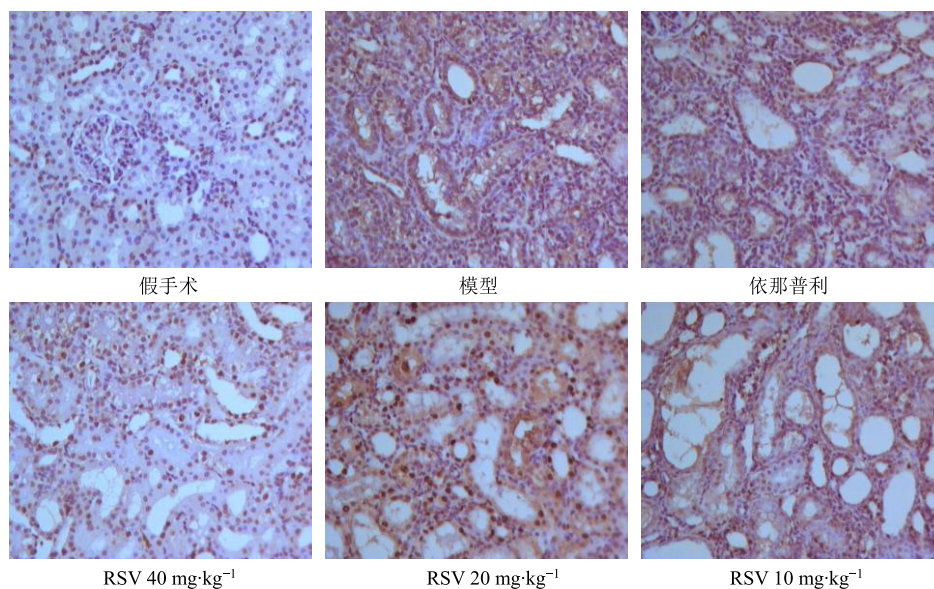
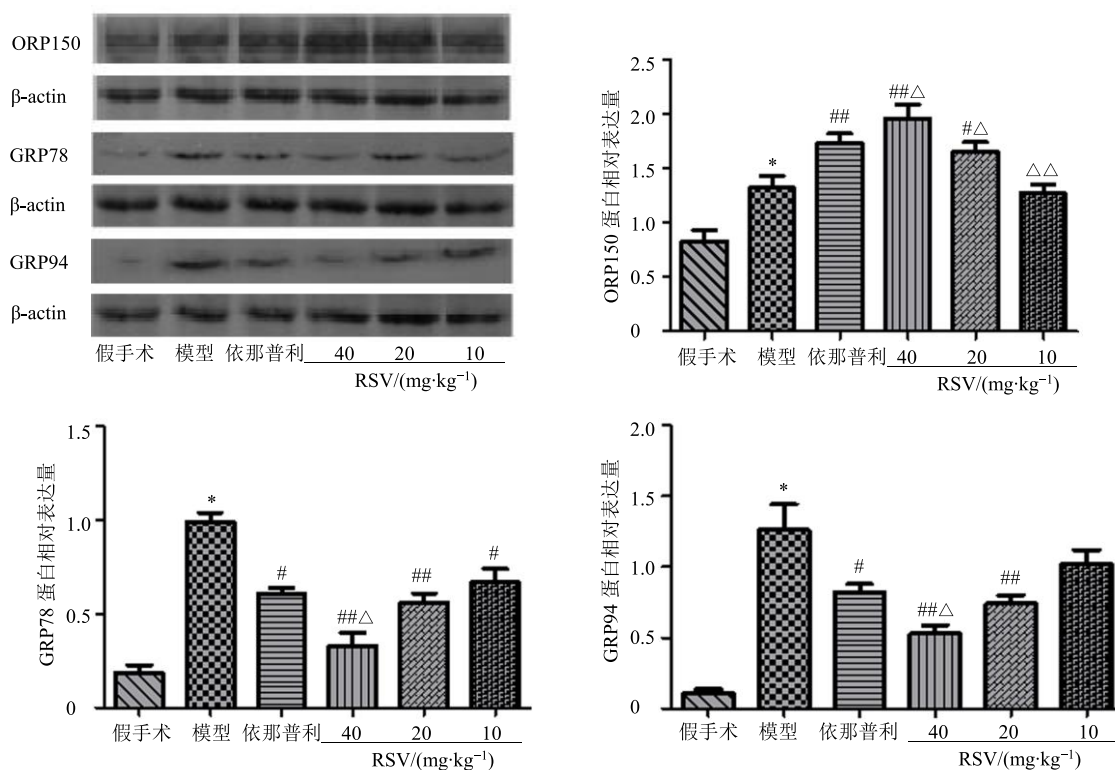


图 8 RSV 对 UUO 大鼠肾小管上皮细胞凋亡的影响 (×400, TUNEL)

Fig. 8 Effect of RSV on renal tubular epithelial cell apoptosis in UUO rats (×400, TUNEL)



与假手术组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$; 与依那普利组比较: △ $P < 0.05$ △△ $P < 0.01$

* $P < 0.05$ vs Sham group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ vs model group; △ $P < 0.05$ △△ $P < 0.01$ vs Enalapril group

图 9 RSV 对 UUO 大鼠肾组织 ORP150、GRP78、GRP94 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Fig. 9 Effect of RSV on expression of ORP150, GRP78, and GRP94 in renal tissue of UUO rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

4 讨论

随着人们生活水平的不断提高,越来越多的人开始重视健康问题。据统计,2012 年中国的 CKD

总患病率高达 10.8%^[12],且患者数逐年递增。各种原因引起的 CKD 发展为终末期的共同途径是 RIF^[2],针对 CKD 的治疗可以缓解或抑制早期的

RIF。因此,寻找抗 RIF 的新型低毒、高效药物,已成为治疗 CKD 的热点之一。

本研究结果表明,术后 14 d,与假手术组相比,模型组大鼠血清 Scr、BUN 水平显著升高,肾小管损伤指数增高,Masson 染色显示肾间质胶原蛋白沉积增多。称定大鼠左侧肾组织质量,与假手术组比较,模型组梗阻侧肾脏的质量显著增加 ($P<0.01$);各治疗组与模型组相比,大鼠肾脏质量显著减轻,肾小管损伤指数、胶原分布面积均显著减小 ($P<0.05$ 、 0.01),说明 RSV 能抑制肌成纤维细胞的过度增殖,保护肾小管的结构,使肾间质胶原蛋白分泌较少,保护肾脏的实质结构不被细胞外基质 (ECM) 所取代。通过 TUNEL 标记法观察肾小管上皮细胞凋亡情况,RSV 对肾小管上皮细胞凋亡有显著的抑制作用,RSV 高剂量组的疗效优于阳性对照药依那普利,表明 RSV 对治疗肾病有显著作用。

ORP150、GRP78、GRP94 蛋白是 ERS 的 3 种标志性蛋白^[13],不仅可以通过抑制错误蛋白的合成以维持细胞的内质网稳态,还可介导细胞凋亡途径,尽快消除受损细胞。ORP150 蛋白是一种具有抗凋亡作用的内质网固有伴侣蛋白^[14],由缺氧和氧化应激诱导产生,发挥保护性作用,可对抗 ERS 诱导的细胞凋亡。ORP150 蛋白表达的上调与 ERS 相关的许多疾病有关。一些研究显示缺血再灌注后,ORP150 蛋白在肾小管上皮细胞的过度表达可以维持肾功能,表明 ORP150 是一种可诱导的内质网分子伴侣,在细胞应激条件下具有细胞保护特性^[15]。GRP78 又名免疫球蛋白重链结合蛋白,在未折叠蛋白反应 (unfolded protein response, UPR) 信号传导通路中处于核心地位,被认为是 ERS 和 UPR 起始的标志性分子。其可以阻止内质网内新生肽的异常聚集,参与 UPR 调控,启动 ERS 相关性细胞凋亡,参与内质网钙稳态的调节。通过与半胱氨酸蛋白酶的相互作用,GRP78 具有抗细胞凋亡特性,使细胞在应激状态下被激活。GRP94 是热休克蛋白 90 家族的成员,是内质网内数量最多的糖蛋白,可结合未折叠的多肽链,阻止蛋白质狙击,抑制错误折叠蛋白质的分泌。GRP94 通过维持细胞质,内质网和线粒体之间的细胞内钙平衡来调节细胞凋亡。有研究表明,肾缺血再灌注损伤早期,ERS 的标志性蛋白 GRP78 和 GRP94 的表达明显上升,而且增加的 GRP78 主要位于皮质区肾小管细胞,由此可见,ERS 在早期即被启动并参加了肾缺血再灌注损伤的

发生发展^[16]。

模型组与假手术组大鼠肾组织 ORP150、GRP78、GRP94 蛋白表达水平的变化可以说明过度的 ERS 会介导一系列蛋白表达差异,那么通过调节 ERS 通路中关键信号蛋白的表达,能否减轻 ERS 进而延缓 RIF? 本实验结果显示,与假手术组比较,模型组大鼠肾组织中 ORP150、GRP78、GRP94 蛋白表达明显升高。与模型组比较,RSV 各剂量均可提高 ORP150 蛋白的表达水平,降低 GRP94、GRP78 蛋白的表达水平,其中 RSV 高剂量组大鼠肾组织中 ORP150、GRP78、GRP94 蛋白的表达水平与阳性药依那普利相比差异显著,说明 RSV 能够抑制 UUO 后的 UPR,阻断 ERS 信号转导途径,进而阻止细胞凋亡,减弱 RIF 的发生和发展。

上述研究表明,RSV 可通过提高 ORP150 蛋白在内质网中的表达,降低 ERS 分子伴侣 GRP78、GRP94 蛋白的表达水平,进而抑制肾小管上皮细胞的凋亡,对 RIF 起到治疗作用。

参考文献

- [1] Lin B, Shao L, Luo O, *et al.* Prevalence of chronic kidney disease and its association with metabolic disease: A cross-sectional survey in Zhejiang province, Eastern China [J]. *BMC Nephrol*, 2015, doi: 10.1186/1471-2369-15-36.
- [2] 朱可可, 杨波. 肾间质纤维化发病机制研究进展 [J]. *广东医学*, 2015, 36(2): 324-326.
- [3] 顾铜, 李均. 肾小管上皮细胞凋亡与肾纤维化及中药组分的干预进展 [J]. *中国老年学杂志*, 2014, 34(17): 5011-5014.
- [4] 邹朝霞, 李均. 内质网应激与肾脏纤维化 [J]. *海南医学*, 2017, 28(4): 615-617.
- [5] Li J H, Qu X L, Ricardo S D, *et al.* Resveratrol inhibits renal fibrosis in the obstructed kidney [J]. *Am J Pathol*, 2010, 177(3): 1065-1071.
- [6] 李先宽, 李赫宇, 李帅, 等. 白藜芦醇研究进展 [J]. *中草药*, 2016, 47(14): 2568-2578.
- [7] Polycarpou E, Meira L B, Carrington S, *et al.* Resveratrol 3-O-D-glucuronide and resveratrol 4'-O-D-glucuronide inhibit colon cancer cell growth: evidence for a role of A3 adenosine receptors, cyclin D1 depletion, and G1 cell cycle arrest [J]. *Mol Nutr Food Res*, 2013, 57(10): 1708-1717.
- [8] 刘顺, 李赫宇, 赵玲. 白藜芦醇降尿酸、抗炎作用研究进展 [J]. *药物评价研究*, 2016, 39(2): 304-307.
- [9] 陈薪薪, 全欢, 陈宇, 等. 白藜芦醇对小鼠纤维化

- TGF- β_1 /Smads 信号转导通路的干预研究 [J]. 中华中医药学刊, 2016, 34(5): 1224-1227.
- [10] Liang J, Tian S F, Han J X, *et al.* Resveratrol as a therapeutic agent for renal fibrosis induced by unilateral ureteral obstruction [J]. *Ren Fail*, 2014, 36(2): 285-291.
- [11] Radford G, Donadio J. Predicting renal outcome in IgA nephropathy [J]. *J Am Soc Nephrol*, 1997, 8(2): 199-207.
- [12] Zhang L, Wang F, Wang L, *et al.* Prevalence of chronic kidney disease in China: A cross-sectional survey [J]. *Lancet*, 2012, 379(9818): 815-822.
- [13] Bando Y. The functional role of stress proteins in ER stress mediated cell death [J]. *Anat Sci Int*, 2012, 87(1): 14-23.
- [14] Wang Y, Wu Z, Li D, *et al.* Involvement of oxygen-regulated protein 150 in AMP-activated protein kinase-mediated alleviation of lipid-induced endoplasmic reticulum stress [J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(13): 11119-11131.
- [15] Kusaczuk M, Cechowska-Pasko M. Molecular chaperone ORP150 in ER stress-related diseases [J]. *Curr Pharm Design*, 2013, 19(15): 2807-2818.
- [16] 于杜娟. NSCLC 中 GRP78/94 及肺癌相关因子蛋白表达及临床意义 [D]. 长春: 吉林大学, 2013.