

[文章编号] 1007-7669(2024)04-0285-06

[DOI号] 10.14109/j.cnki.xyylc.2024.04.09

## 金丝桃苷调控 Nrf2/HO-1/NQO1 通路减轻大鼠肾缺血再灌注损伤

唐玲<sup>1</sup>, 唐荣伟<sup>1</sup>, 赵臻怡<sup>2</sup>, 廖廷<sup>3</sup>, 董芸<sup>1</sup>, 李德科<sup>4</sup>

(1. 达州中医药职业学院 中医教研室, 四川 达州 635000; 2. 川北医学院附属医院 风湿免疫科, 四川 南充 637000; 3. 四川省医疗卫生与健康促进会 学术活动部, 四川 成都 610000; 4. 达州职业技术学院 中医教研室, 四川 达州 635000)

[关键词] 金丝桃苷; 再灌注损伤; 血红素加氧酶-1; 氧化性应激; 炎症; 凋亡

[摘要] 目的 探究金丝桃苷对大鼠肾缺血再灌注 (IR) 损伤及核因子 E2 相关因子 2 (Nrf2) / 血红素加氧酶-1 (HO-1) / 醌氧化还原酶 1 (NQO1) 信号通路的调节。方法 以结扎双肾动脉 60 min 再恢复灌注 120 min 构建肾 IR 大鼠模型, 将 40 只 SD 大鼠随机均分为对照组, 模型组, 金丝桃苷 12.5、25、50 mg·kg<sup>-1</sup> 组, 留取大鼠血液和肾脏组织标本, 检测 24 h 蛋白尿、血肌酐及尿素氮、超氧化物歧化酶 (SOD) 和丙二醛 (MDA) 水平, HE 染色观察肾脏组织病变, 免疫组化法检测 caspase-3 表达, qRT-PCR 法检测诱导型一氧化氮合酶 (iNOS)、白细胞介素 (IL)-6、IL-10 mRNA 表达, Western blot 法检测肾组织中 Bcl-2、Bax、Nrf2、HO-1、NQO1 蛋白表达。另取 32 只大鼠随机均分为对照组、模型组、金丝桃苷 50 mg·kg<sup>-1</sup> 组和金丝桃苷 +ML385 (30 mg·kg<sup>-1</sup>) 组, 进行上述检测。结果 与模型组比较, 金丝桃苷 25、50 mg·kg<sup>-1</sup> 组 24 h 蛋白尿、血肌酐、尿素氮、MDA 水平均显著下降, SOD 水平显著升高 ( $P<0.05$ )。模型组肾脏组织出现明显病理损伤, 炎症细胞浸润严重, 金丝桃苷组肾脏组织病理损伤均减轻, 50 mg·kg<sup>-1</sup> 组改善更为明显。与模型组比较, 金丝桃苷 25、50 mg·kg<sup>-1</sup> 组 Bax/Bcl-2、caspase-3 蛋白表达和 iNOS、IL-6 mRNA 表达显著下降, IL-10 mRNA 和 p-Nrf2/Nrf2、HO-1 及 NQO1 蛋白表达显著上调 ( $P<0.05$ ), 金丝桃苷 12.5 mg·kg<sup>-1</sup> 组 Bax/Bcl-2 表达显著下降 ( $P<0.05$ )。ML385 可部分阻断金丝桃苷对肾 IR 大鼠的改善作用。结论 金丝桃苷可能通过上调 Nrf2/HO-1/NQO1 信号通路, 抑制肾脏细胞的凋亡、过度的氧化应激和炎症反应, 减轻肾脏 IR 损伤。

[中图分类号] R977.7

[文献标志码] A

## Hyperoside regulates Nrf2/HO-1/NQO1 signaling pathway to alleviate renal ischemia-reperfusion injury in rats

TANG Ling<sup>1</sup>, TANG Rong-wei<sup>1</sup>, ZHAO Zhen-yi<sup>2</sup>, LIAO Ting<sup>3</sup>, DONG Yun<sup>1</sup>, LI De-ke<sup>4</sup>

(1. TCM Teaching-Research Office, Dazhou Vocational College of Traditional Chinese Medicine, Dazhou SICHUAN 635000, China; 2. Department of Rheumatology and Immunology, Affiliated Hospital of North Sichuan Medical College, Nanchong SICHUAN 637000, China; 3. Department of Academic Activities, Sichuan Medical and Health Care Promotion Institute, Chengdu SICHUAN 610000, China; 4. TCM Teaching-Research Office, Dazhou Vocational and Technical College, Dazhou SICHUAN 635000, China)

[KEY WORDS] hyperoside; reperfusion injury; heme oxygenase-1; oxidative stress; inflammation; apoptosis

[收稿日期] 2022-09-29

[接受日期] 2023-12-09

[基金项目] 四川省中医药管理局中医药科研专项项目 (2021MS485)

[作者简介] 唐玲, 女, 副教授, 学士, 主要从事中西医结合的研究, E-mail: T144217335@163.com

[**ABSTRACT**] **AIM** To explore the regulation effect of hyperoside on renal ischemia-reperfusion (IR) injury and nuclear factor E2 related factor 2 (Nrf2) / heme oxygenase 1 (HO-1) / quinone oxidoreductase 1 (NQO1) signaling pathway in rats. **METHODS** The models of renal IR rat were constructed by ligating bilateral renal arteries (60 minutes) and recovering perfusion (120 minutes). Forty SD rats were randomly divided into control group, model group and hyperoside 12.5, 25, 50 mg · kg<sup>-1</sup> groups. The samples of blood and renal tissues were collected to detect levels of 24 h proteinuria, serum creatinine, blood urea nitrogen and superoxide dismutase (SOD), malondialdehyde (MDA). The renal tissue lesions were observed by HE staining. The expression of caspase-3 was detected by immunohistochemistry. The expression of inducible nitric oxide synthase (iNOS), interleukin (IL) -6 and *IL-10* mRNA was detected by qRT-PCR. The expression of Bcl-2, Bax, Nrf2, HO-1 and NQO1 proteins in renal tissues was detected by Western blot. A total of 32 rats were randomly and averagely divided into control group, model group, hyperoside (50 mg · kg<sup>-1</sup>) group and hyperoside+ML385 (30 mg · kg<sup>-1</sup>) group for relevant detection. **RESULTS** Compared with the model group, the levels of 24 h proteinuria, serum creatinine and blood urea nitrogen, and MDA were significantly decreased, while the levels of SOD were significantly increased in the hyperoside 25 and 50 mg · kg<sup>-1</sup> groups ( $P < 0.05$ ). HE staining showed that there was obvious pathological injury of renal tissues and inflammatory cells infiltration was severe in the model group. The pathological injury were relieved in the hyperoside groups, and the improvement were more significant in the hyperoside 50 mg · kg<sup>-1</sup> group. Compared with the model group, the expression of Bax/Bcl-2, caspase-3, *iNOS* and *IL-6* mRNA were decreased significantly, while the expression of *IL-10* mRNA, p-Nrf2/Nrf2, HO-1 and NQO1 and SOD were significantly upregulated in the hyperoside 25 and 50 mg · kg<sup>-1</sup> groups ( $P < 0.05$ ). The expression of Bax/Bcl-2 decreased significantly in the hyperoside 12.5 mg · kg<sup>-1</sup> group ( $P < 0.05$ ). ML385 can partially block the improvement effect of hyperoside on renal IR rats. **CONCLUSION** Hyperoside may inhibit apoptosis of renal cells, excessive oxidative stress and inflammatory response by up-regulating Nrf2/HO-1/NQO1 signaling pathways, and relieve renal IR injury.

肾缺血再灌注 (ischemia-reperfusion, IR) 损伤是指肾脏组织在缺血后恢复血流灌注过程中, 缺血损伤无法恢复至正常状态, 甚至恶化的病理表现<sup>[1]</sup>。肾 IR 损伤多继发于肾脏手术、心肺复苏、休克等, 是引起急性肾损伤的重要因素<sup>[2]</sup>。金丝桃苷属于黄酮醇苷类化合物, 具有多种生理活性, 如抗炎、利尿、局部镇痛等<sup>[3]</sup>。研究证实, 金丝桃苷可介导多种信号途径, 在脑 IR 损伤中起保护作用, 如磷脂酰肌醇-3 激酶 / 蛋白激酶 B 信号通路、一氧化氮信号通路、氧化应激信号通路等<sup>[4]</sup>。WU 等<sup>[5]</sup> 研究表明, 金丝桃苷可改善肾 IR 损伤, 可能与调节线粒体裂变、氧化应激和凋亡有关。KWON 等<sup>[6]</sup> 研究发现, 金丝桃苷可激活核因子 E2 相关因子 2 (Nrf2) / 血红素加氧酶 -1 (HO-1) 信号途径, 抑制 6-羟基多巴胺诱导的氧化应激。经典氧化应激通路 Nrf2/HO-1/ 醌氧化还原酶 1 (NQO1) 在肾 IR 损伤中有重要作用<sup>[6]</sup>, 本研究通过建立肾 IR 损伤大鼠模型, 观察金丝桃苷对肾 IR 损伤的影响及与 Nrf2/HO-1/NQO1 通路相关的分子机制。

### 材料与方 法

**药品、试剂与仪器** 金丝桃苷 (上海源叶生物科技有限公司, 规格为 100 mg, 批号为 190601), Nrf2 抑

制剂 ML385 (上海泽叶生物科技有限公司, 纯度为 99.59%, 批号为 191025), 肌酐、尿素氮、超氧化物歧化酶 (SOD) 和丙二醛 (MDA) 试剂盒 (上海碧云天生物技术有限公司), 引物合成 (北京赛百盛基因技术有限公司), 兔 Bcl-2、Bax、Nrf2、HO-1、NQO1、内参 Actin 蛋白抗体 (美国 Abcam 公司), 免疫组化试剂盒、辣根过氧化物酶标记山羊抗兔 IgG 蛋白二抗、ECL 发光剂 (武汉博士德生物工程有限公司)。垂直电泳仪 (北京六一仪器厂), 多功能酶标仪、PCR 仪 (美国 Bio-Rad)。

**实验动物、制模与分组** 健康 SD 大鼠, 雄性, 6~8 周龄, 体重 180~200 g, 由川北医学院提供, 动物许可证号: SCXK (川) 2018-18。

将 40 只 SD 大鼠随机分为对照组, 模型组, 金丝桃苷 12.5、25、50 mg · kg<sup>-1</sup> 组, 每组 8 只。将大鼠固定于操作台, 腹腔注射戊巴比妥 (60 mg · kg<sup>-1</sup>) 麻醉, 腹部备皮后消毒, 于剑突下 1.5 cm 处切口打开腹腔, 小心分离肾动脉并夹闭, 夹闭 60 min 后松开, 恢复血流再灌注 120 min, 充分夹闭后肾脏呈苍白色, 表明缺血成功, 恢复灌注后肾脏呈鲜红色, 表明再灌注成功<sup>[5]</sup>。对照组大鼠仅分离肾动脉, 但不作结扎处理, 其余组均建立肾 IR 损伤模型。金丝桃苷组于造模前

7 d 分别灌胃给予 12.5、25、50 mg · kg<sup>-1</sup> 金丝桃苷, 每日 1 次, 连续给药 7 d, 对照组和模型组灌胃给予同等容积的生理盐水。另取 32 只大鼠随机为对照组、模型组、金丝桃苷 (50 mg · kg<sup>-1</sup>) 组和金丝桃苷 + ML385 (灌胃金丝桃苷 50 mg · kg<sup>-1</sup> 后 30 min 腹腔注射 Nrf2 抑制剂 ML385 30 mg · kg<sup>-1</sup>) 组。

**观察指标** 实验结束后, 采集大鼠 24 h 尿液检测尿蛋白, 另取血液和肾脏组织标本用于后续病理和分子生物学检测。

**1 肾功能及氧化应激指标** 取血液样本 2 mL, 室温静置 60 min 后, 1 500 × g 离心 10 min, 参照试剂盒说明书操作, 检测血肌酐、尿素氮、SOD 和 MDA 水平。留取 24 h 尿液, 应用全自动生化分析仪 (焦酚红 / 钼酸盐法) 检测尿蛋白含量。

**2 肾脏组织病理改变** 取新鲜的肾脏组织制成石蜡切片, 行常规 HE 染色, 于 400 倍视野下观察大鼠肾脏组织病理变化。免疫组化染色按试剂盒说明书操作, caspase-3 一抗稀释比为 1:200, 黄色至棕褐色指示 caspase-3 阳性表达, 计算各视野下阳性面积占比。

**3 诱导型一氧化氮合酶 (iNOS)、白细胞介素 (IL)-6、IL-10 的 mRNA 表达** 采用 qRT-PCR 法。iNOS 上游引物: 5'-CAGCTGGCTGTACAAACCTT-3', 下游引物: 5'-CATTGGAAGTGAAGCGTTTCG-3'; IL-6 上游引物: 5'-AGCGATGATGCACTGTCAGA-3', 下游引物: 5'-GGAACTCCAGAAGACGAGAGC-3'; IL-10 上游引物: 5'-TCAGGGTGGCGACTCTAT-3', 下游引物: 5'-TGGGCTTCTTTCTAAATCGTTC-3'; 内参 GADPH 上游引物: 5'-GGTGAAGGTCGGTGTGAACG-3', 下游引物: 5'-CTCGCTCCTGGAAGATGCTG-3'<sup>[7,8]</sup>。取适量肾脏组织提取总 RNA, 反转录合成 cDNA 链, 应用 PCR 仪扩增, 反应参数: 95 °C 60 s、95 °C 30 s、60 °C 40 s、72 °C 2 min, 共 35 个循环。采用 2<sup>-ΔΔCT</sup> 法, 对目的基因进行相对定量。

**4 Bcl-2、Bax、Nrf2、HO-1 及 NQO1 蛋白表达** 采用 Western blot 法检测。取适量肾脏组织提取总蛋白, 检测蛋白浓度, 取等量蛋白进行 10% SDS-PAGE 凝胶电泳, 电转至硝酸纤维素膜上, 室温下于脱脂牛奶中封

闭 2 h, 加入相应的蛋白一抗, 4 °C 下孵育过夜, 再加入相应的 HRP 标记蛋白二抗, 室温下孵育 1 h, 最后加入 ECL 发光剂进行显色, 应用凝胶成像系统扫描各蛋白条带的灰度值, 以 Actin 为内参, 定量分析 Bcl-2、Bax、Nrf2、HO-1 及 NQO1 蛋白相对表达量。

**统计学方法** 采用统计学软件 SPSS 18.0 分析处理, 数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 组间比较采用单因素方差分析, 多重比较采用 LSD-*t* 检验, 以  $P < 0.05$  为差异有显著意义。

## 结 果

**肾功能及氧化应激指标** 与对照组比较, 模型组 24 h 蛋白尿、血肌酐、尿素氮、MDA 水平升高, SOD 水平下降 ( $P < 0.01$ ); 与模型组比较, 金丝桃苷 25、50 mg · kg<sup>-1</sup> 组 24 h 蛋白尿、血肌酐、尿素氮、MDA 水平显著下降, SOD 水平显著升高 ( $P < 0.05$ ), 见表 1。

**肾脏组织病理学改变** HE 染色显示, 模型组肾小管上皮细胞大量坏死, 暴露基底膜, 炎症细胞浸润严重。金丝桃苷各剂量组上述病理改变均有所减轻, 高剂量改善更显著。见图 1。

**肾脏组织凋亡及炎症指标** 与对照组比较, 模型组 Bax/Bcl-2、caspase-3 阳性表达率以及 iNOS、IL-6 及 IL-10 mRNA 表达水平均显著升高 ( $P < 0.01$ )。与模型组比较, 金丝桃苷 25、50 mg · kg<sup>-1</sup> 组 Bax/Bcl-2、caspase-3 阳性表达率以及 iNOS、IL-6 mRNA 显著下降 ( $P < 0.01$ ), IL-10 mRNA 显著升高 ( $P < 0.05$ ); 金丝桃苷 12.5 mg · kg<sup>-1</sup> 组 Bax/Bcl-2 表达显著下降 ( $P < 0.05$ )。见图 2、图 3 和表 2。

**肾脏组织 Nrf2/HO-1/NQO1 信号通路表达** 与对照组比较, 模型组 p-Nrf2/Nrf2、HO-1 及 NQO1 表达显著下调 ( $P < 0.01$ )。与模型组比较, 金丝桃苷 25、50 mg · kg<sup>-1</sup> 组 p-Nrf2/Nrf2、HO-1 及 NQO1 表达显著上调 ( $P < 0.01$ )。见图 4、表 3。

**金丝桃苷通过 Nrf2/HO-1/NQO1 信号通路对肾 IR 大鼠的影响** 与金丝桃苷组比较, 金丝桃苷 + ML385 组肾脏组织病理损伤加重, SOD 水平和 p-Nrf2/Nrf2、HO-1、NQO1 蛋白表达及 IL-10 mRNA 表达水平显著下降 ( $P < 0.05$ ), MDA 水平、Bax/Bcl-2 和 IL-6 mRNA

表 1 各组肾功能及氧化应激指标比较

组别	24 h 尿蛋白 /mg	血肌酐 /mg · dL <sup>-1</sup>	尿素氮 /mg · dL <sup>-1</sup>	SOD/U · mL <sup>-1</sup>	MDA/mmol · dL <sup>-1</sup>
对照	5.15 ± 1.37	0.13 ± 0.04	8.44 ± 2.75	4.26 ± 0.47	2.56 ± 0.32
模型	34.72 ± 5.64 <sup>c</sup>	0.78 ± 0.09 <sup>c</sup>	37.95 ± 6.32 <sup>c</sup>	2.18 ± 0.62 <sup>c</sup>	4.64 ± 0.57 <sup>c</sup>
金丝桃苷 12.5 mg · kg <sup>-1</sup>	33.29 ± 4.31 <sup>d</sup>	0.76 ± 0.12 <sup>d</sup>	36.28 ± 7.04 <sup>d</sup>	2.39 ± 0.54 <sup>d</sup>	4.51 ± 0.44 <sup>d</sup>
金丝桃苷 25 mg · kg <sup>-1</sup>	23.95 ± 4.28 <sup>f</sup>	0.45 ± 0.10 <sup>f</sup>	22.31 ± 4.69 <sup>f</sup>	3.16 ± 1.01 <sup>e</sup>	3.82 ± 0.60 <sup>e</sup>
金丝桃苷 50 mg · kg <sup>-1</sup>	8.63 ± 2.15 <sup>f</sup>	0.22 ± 0.07 <sup>f</sup>	12.24 ± 3.85 <sup>f</sup>	3.87 ± 0.69 <sup>f</sup>	2.98 ± 0.42 <sup>f</sup>

SOD: 超氧化物歧化酶, MDA: 丙二醛。经单因素方差分析: 与对照组比较, <sup>c</sup> $P < 0.01$ ; 与模型组比较, <sup>d</sup> $P > 0.05$ , <sup>e</sup> $P < 0.05$ , <sup>f</sup> $P < 0.01$

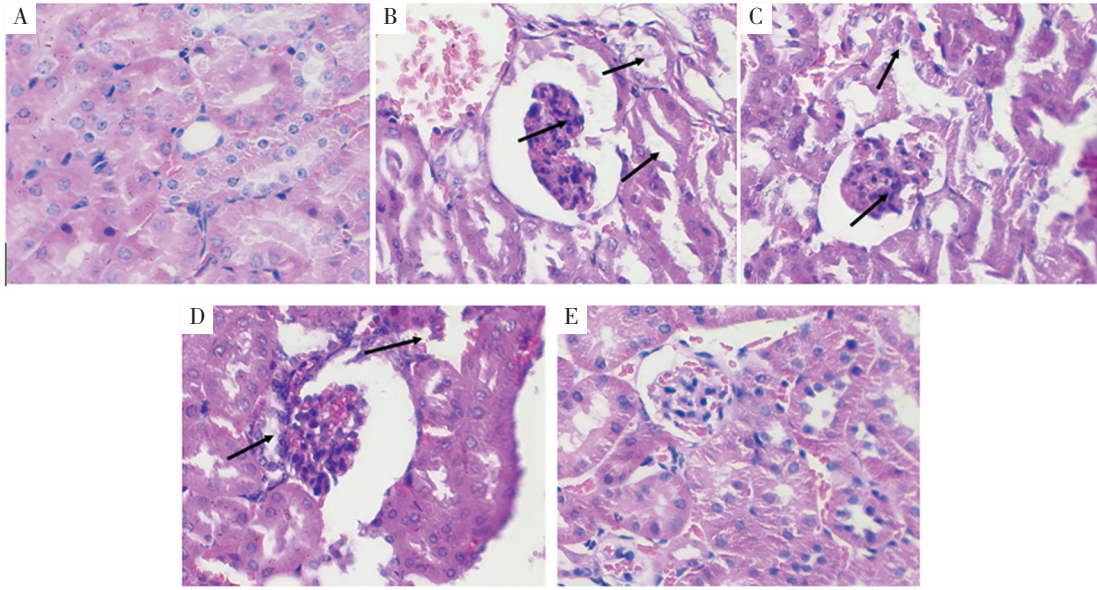


图 1 各组肾组织病理学改变 (HE 染色, ×400) 箭头标识为坏死肾小管上皮细胞、暴露的基底膜及浸润炎症细胞。A: 对照组, B: 模型组, C: 金丝桃苷 12.5 mg · kg<sup>-1</sup> 组, D: 金丝桃苷 25 mg · kg<sup>-1</sup> 组, E: 金丝桃苷 50 mg · kg<sup>-1</sup> 组

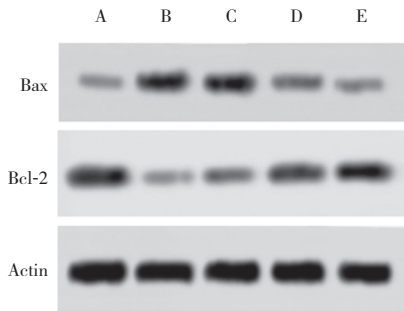


图 2 各组肾组织 Bax、Bcl-2 蛋白印迹图 A: 对照组, B: 模型组, C: 金丝桃苷 12.5 mg · kg<sup>-1</sup> 组, D: 金丝桃苷 25 mg · kg<sup>-1</sup> 组, E: 金丝桃苷 50 mg · kg<sup>-1</sup> 组

水平显著升高 ( $P < 0.05$ )。见图 5、图 6 和表 4。

### 讨 论

肾脏是 IR 损伤容易危及的器官之一。肾 IR 损伤的发生机制尚不完全清楚, 但细胞凋亡、过度激活的氧化反应和炎症反应是其主要的病理机制<sup>[9]</sup>。细胞凋亡主要表现为促凋亡蛋白 Bax、凋亡执行蛋白 caspase-3 上调, 抗凋亡蛋白 Bcl-2 的下调。氧化应激涉及 SOD 活性降低, 氧化应激因子 iNOS 和代谢终产物 MDA 的增加。促炎性细胞因子 IL-6 的增加是炎症反应的主要表现, IL-10 属于多功能细胞因子, 随着

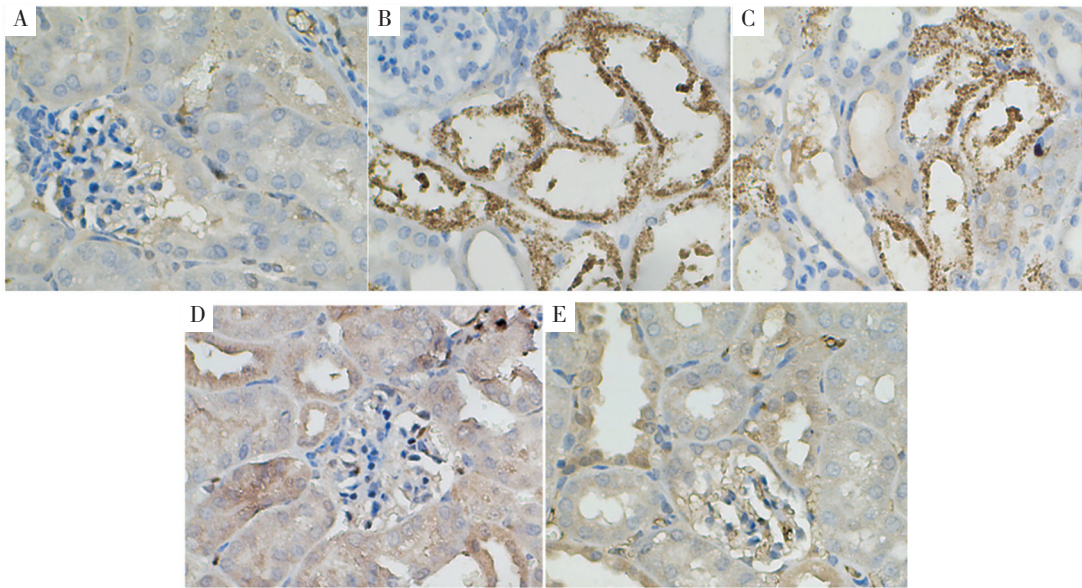


图 3 各组肾组织 caspase-3 表达 (免疫组化, ×400) A: 对照组, B: 模型组, C: 金丝桃苷 12.5 mg · kg<sup>-1</sup> 组, D: 金丝桃苷 25 mg · kg<sup>-1</sup> 组, E: 金丝桃苷 50 mg · kg<sup>-1</sup> 组

表 2 各组肾组织凋亡指标比较

组别	Bax/Bcl-2	caspase-3 阳性表达率 /%	iNOS mRNA	IL-6 mRNA	IL-10 mRNA
对照	0.03 ± 0.01	2.34 ± 0.75	1.00 ± 0.13	1.00 ± 0.15	1.00 ± 0.12
模型	7.50 ± 0.54 <sup>c</sup>	57.82 ± 5.84 <sup>c</sup>	2.15 ± 0.34 <sup>c</sup>	26.27 ± 3.49 <sup>c</sup>	1.50 ± 0.12 <sup>c</sup>
金丝桃苷 12.5 mg · kg <sup>-1</sup>	6.20 ± 0.60 <sup>c</sup>	53.69 ± 7.92 <sup>d</sup>	2.04 ± 0.27 <sup>d</sup>	23.42 ± 4.54 <sup>d</sup>	1.55 ± 0.20 <sup>d</sup>
金丝桃苷 25 mg · kg <sup>-1</sup>	0.10 ± 0.03 <sup>f</sup>	26.45 ± 6.41 <sup>f</sup>	1.54 ± 0.35 <sup>f</sup>	16.73 ± 3.47 <sup>f</sup>	2.49 ± 0.51 <sup>f</sup>
金丝桃苷 50 mg · kg <sup>-1</sup>	0.06 ± 0.02 <sup>f</sup>	11.32 ± 3.33 <sup>f</sup>	1.33 ± 0.30 <sup>f</sup>	9.26 ± 2.83 <sup>f</sup>	3.86 ± 0.73 <sup>f</sup>

iNOS: 诱导型一氧化氮合酶, IL: 白细胞介素。经单因素方差分析: 与对照组比较, <sup>c</sup>*P*<0.01; 与模型组比较, <sup>d</sup>*P*>0.05, <sup>e</sup>*P*<0.05, <sup>f</sup>*P*<0.01

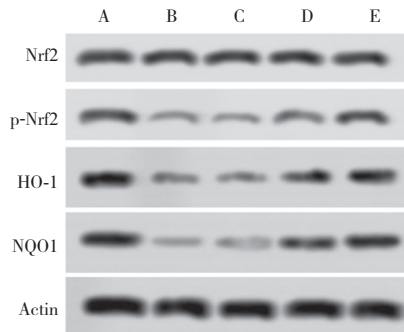


图 4 各组肾组织 Nrf2/HO-1/NQO1 蛋白印迹图 A: 对照组, B: 模型组, C: 金丝桃苷 12.5 mg · kg<sup>-1</sup> 组, D: 金丝桃苷 25 mg · kg<sup>-1</sup> 组, E: 金丝桃苷 50 mg · kg<sup>-1</sup> 组

表 3 各组肾组织 Nrf2/HO-1/NQO1 蛋白表达比较 *n*=8,  $\bar{x} \pm s$

组别	p-Nrf2/Nrf2	HO-1	NQO1
对照	0.76 ± 0.09	0.58 ± 0.12	0.40 ± 0.06
模型	0.04 ± 0.01 <sup>c</sup>	0.05 ± 0.02 <sup>c</sup>	0.02 ± 0.01 <sup>c</sup>
金丝桃苷 12.5 mg · kg <sup>-1</sup>	0.04 ± 0.01 <sup>d</sup>	0.06 ± 0.02 <sup>d</sup>	0.03 ± 0.01 <sup>d</sup>
金丝桃苷 25 mg · kg <sup>-1</sup>	0.20 ± 0.06 <sup>f</sup>	0.25 ± 0.07 <sup>f</sup>	0.20 ± 0.05 <sup>f</sup>
金丝桃苷 50 mg · kg <sup>-1</sup>	0.66 ± 0.09 <sup>f</sup>	0.44 ± 0.07 <sup>f</sup>	0.38 ± 0.08 <sup>f</sup>

Nrf2: 核因子 E2 相关因子 2, HO-1: 血红素加氧酶-1, NQO1: 醌氧化还原酶 1。经单因素方差分析: 与对照组比较, <sup>c</sup>*P*<0.01; 与模型组比较, <sup>d</sup>*P*>0.05, <sup>f</sup>*P*<0.01

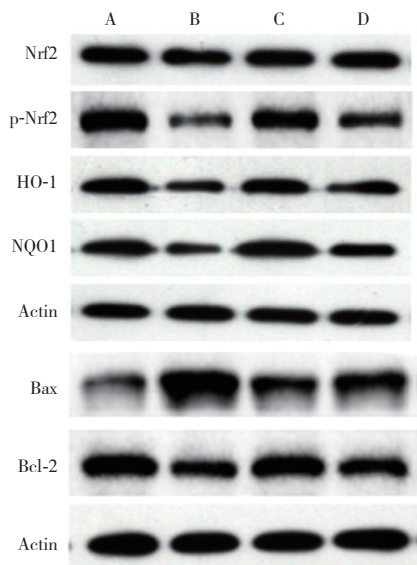


图 5 金丝桃苷对大鼠肾组织 Nrf2/HO-1/NQO1 蛋白及 Bax、Bcl-2 蛋白表达的影响 A: 对照组, B: 模型组, C: 金丝桃苷组, D: 金丝桃苷 + ML385 组。Nrf2: 核因子 E2 相关因子 2, HO-1: 血红素加氧酶-1, NQO1: 醌氧化还原酶 1

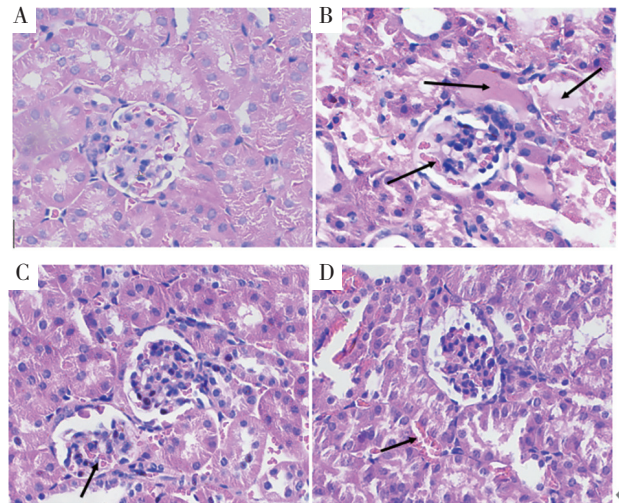


图 6 金丝桃苷通过 Nrf2/HO-1/NQO1 信号通路对大鼠肾组织病理学改变 A: 对照组, B: 模型组, C: 金丝桃苷组, D: 金丝桃苷 + ML385 组。Nrf2: 核因子 E2 相关因子 2, HO-1: 血红素加氧酶-1, NQO1: 醌氧化还原酶 1

炎症损伤的进展, 具有抗自由基、免疫抑制、抗炎及抗凋亡等作用<sup>[10, 11]</sup>。本研究中大鼠肾 IR 损伤后肾脏组织出现明显的病理变化, 金丝桃苷各剂量组肾组织病理损伤明显减轻, 24 h 蛋白尿、血肌酐和尿素氮明显降低, 同时伴随着凋亡、氧化应激及炎症反应的下调, 提示金丝桃苷能有效减轻肾 IR 损伤。

正常生理状态下, 体内存在氧化 - 抗氧化机制, 维持动态平衡状态。Nrf2 是体内抗氧化反应的关键转录因子, 当体内触发氧化应激时, Nrf2 可与 Kelch 样环氧氯丙烷相关蛋白 1 解联, 激活其下游 HO-1、NQO1 等多种抗氧化基因的表达, 启动抗氧化, 快速清除活性氧, 从而减轻氧化损伤<sup>[12]</sup>。LI 等<sup>[13]</sup> 在肾 IR 损伤中证实, Nrf2/HO-1/NQO1 信号通路激活可调控 SOD/MDA 变化, 抑制 caspase-3 的表达, 从而减轻凋亡与氧化应激反应。本研究结果发现, 肾脏 IR 能抑制 Nrf2/HO-1/NQO1 信号通路, 给予金丝桃苷后, Nrf2 磷酸化、HO-1、NQO1 表达明显上调, 而且给予 Nrf2 抑制剂 ML385 后可减弱金丝桃苷对肾 IR 大鼠的改善作用, 表明金丝桃苷可能通过激活 Nrf2/HO-1/NQO1 信号通路, 在肾 IR 中发挥保护作用。但金丝桃

表 4 各组氧化应激和炎症指标水平及肾组织 Nrf2/HO-1/NQO1 蛋白表达比较

n=8,  $\bar{x} \pm s$

组别	SOD/U · mL <sup>-1</sup>	MDA/mmol · dL <sup>-1</sup>	IL-6 mRNA	IL-10 mRNA
对照	4.53 ± 0.57	2.77 ± 0.32	1.00 ± 0.17	1.00 ± 0.14
模型	1.96 ± 0.62 <sup>c</sup>	4.75 ± 0.66 <sup>c</sup>	28.25 ± 4.62 <sup>c</sup>	1.62 ± 0.38 <sup>c</sup>
金丝桃苷	3.92 ± 0.41 <sup>f</sup>	3.04 ± 0.43 <sup>f</sup>	11.78 ± 3.25 <sup>f</sup>	3.67 ± 0.57 <sup>f</sup>
金丝桃苷 +ML385	3.80 ± 0.35 <sup>h</sup>	4.21 ± 0.47 <sup>h</sup>	18.64 ± 3.14 <sup>h</sup>	2.49 ± 0.33 <sup>h</sup>
组别	Bax/Bcl-2	p-Nrf2/Nrf2	HO-1	NQO1
对照	0.04 ± 0.02	0.83 ± 0.08	0.75 ± 0.06	0.72 ± 0.07
模型	6.53 ± 0.48 <sup>c</sup>	0.11 ± 0.02 <sup>c</sup>	0.22 ± 0.03 <sup>c</sup>	0.17 ± 0.02 <sup>c</sup>
金丝桃苷	0.23 ± 0.04 <sup>f</sup>	0.70 ± 0.04 <sup>f</sup>	0.61 ± 0.05 <sup>f</sup>	0.64 ± 0.05 <sup>f</sup>
金丝桃苷 +ML385	0.92 ± 0.07 <sup>h</sup>	0.33 ± 0.03 <sup>h</sup>	0.30 ± 0.04 <sup>h</sup>	0.28 ± 0.03 <sup>h</sup>

SOD: 超氧化物歧化酶, MDA: 丙二醛, IL: 白细胞介素, Nrf2: 核因子 E2 相关因子 2, HO-1: 血红素加氧酶 -1, NQO1: 醌氧化还原酶 1。经单因素方差分析: 与对照组比较, <sup>c</sup>P<0.01; 与模型组比较, <sup>f</sup>P<0.01; 与金丝桃苷组比较, <sup>h</sup>P<0.05

昔是否还依赖其他分子途径, 还需要进一步研究。

综上所述, 金丝桃苷可有效减轻肾 IR 损伤, 其机制可能是通过上调 Nrf2/HO-1/NQO1 信号通路, 抑制肾脏细胞的凋亡、氧化应激和炎症反应。

[ 参考文献 ]

[ 1 ] SHIVA N, SHARMA N, KULKARNI YA, *et al.* Renal ischemia/reperfusion injury: an insight on *in vitro* and *in vivo* models [ J ] . Life Sci, 2020, 256 : 117860.

[ 2 ] 韩梅, 高梦颖, 郭鹏, 等. TNF-α 及 IL-1β 在脓毒症急性肾损伤中的价值及与 NGAL 的关系 [ J ] . 分子诊断与治疗杂志, 2021, 13 ( 1 ) : 34-37. HAN M, GAO MY, GUO P, *et al.* The value of TNF-α and IL-1β in septic acute kidney injury and their relationship with NGAL [ J ] . J Mol Diagn Ther, 2021, 13 ( 1 ) : 34-37.

[ 3 ] NIE X, SHENG W, HOU D, *et al.* Effect of hyperin and icariin on steroid hormone secretion in rat ovarian granulosa cells [ J ] . Clin Chim Acta, 2019, 495: 646-651.

[ 4 ] 江飞飞, 陈立志, 徐晏雯, 等. 金丝桃苷保护大鼠脑缺血再灌注损伤的机制研究 [ J ] . 中国现代应用药学, 2021, 38 ( 12 ) : 1448-1453. JIANG FF, CHEN ZZ, XU YW, *et al.* Study on mechanism of hyperoside protecting cerebral ischemia reperfusion injury in rats [ J ] . Chin J Mod Appl Pharm, 2021, 38 ( 12 ) : 1448-1453.

[ 5 ] WU L, LI Q, LIU S, *et al.* Protective effect of hyperoside against renal ischemia-reperfusion injury via modulating mitochondrial fission, oxidative stress, and apoptosis [ J ] . Free Rad Res, 2019, 53 ( 7 ) : 727-736.

[ 6 ] KWON SH, LEE SR, PARK YJ, *et al.* Suppression of

6-hydroxydopamine-induced oxidative stress by hyperoside via activation of Nrf2/HO-1 signaling in dopaminergic neurons [ J ] . Int J Mol Sci, 2019, 20 ( 23 ) : 5832.

[ 7 ] SOLIMAN E, SHEWAIKH SM, FAHMY A, *et al.* Entacapone scavenges peroxynitrite and protects against kidney and liver injuries induced by renal ischemia/reperfusion in rats [ J ] . Int Urol Nephrol, 2021, 53 ( 8 ) : 1713-1721.

[ 8 ] SUN X, WEI Z, LI Y, *et al.* Renal denervation restrains the inflammatory response in myocardial ischemia-reperfusion injury [ J ] . Basic Res Cardiol, 2020, 115 ( 2 ) : 15.

[ 9 ] JIANG GP, LIAO YJ, HUANG LL, *et al.* Effects and molecular mechanism of pachymic acid on ferroptosis in renal ischemia reperfusion injury [ J ] . Mol Med Rep, 2020, 23 ( 1 ) : 63.

[ 10 ] NEZAMOLESAMI S, SHEIBANI M, JAHANSHAHI F, *et al.* Protective effect of dapsone against renal ischemia-reperfusion injury in rat [ J ] . Immunopharmacol Immunotoxicol, 2020, 42 ( 3 ) : 272-279.

[ 11 ] CHIBA T, CERQUEIRA DM, LI Y, *et al.* Endothelial-derived miR-1792 promotes angiogenesis to protect against renal ischemia-reperfusion injury [ J ] . J Am Soc Nephrol, 2021, 32 ( 3 ) : 553-562.

[ 12 ] 邵坤, 朱芳恒. 乳腺癌中 miR-141 表达与临床病理特征、Keap1/Nrf2 通路及预后的关系 [ J ] . 分子诊断与治疗杂志, 2021, 13 ( 1 ) : 72-75. SHAO K, ZHU FH. Relationship between the expression of miR-141 and clinicopathological features, Keap1/Nrf2 pathway and prognosis in breast cancer [ J ] . J Mol Diagn Ther, 2021, 13 ( 1 ) : 72-75.

[ 13 ] LI Z, ZHU J, WAN Z, *et al.* Theaflavin ameliorates renal ischemia/reperfusion injury by activating the Nrf2 signalling pathway *in vivo* and *in vitro* [ J ] . Biomed Pharmacother, 2021, 134 : 111097.