



中国临床医学

Chinese Journal of Clinical Medicine

ISSN 1008-6358

CN 31-1794/R

法尼酯X受体激动剂GW4064减轻小鼠脓毒症诱导的炎症反应和急性肾损伤

任婷, 徐素娟, 汪小燕, 邹周平, 丁小强, 贾平

引用本文:

任婷,徐素娟,汪小燕,邹周平,丁小强,贾平. 法尼酯X受体激动剂GW4064减轻小鼠脓毒症诱导的炎症反应和急性肾损伤[J]. 中国临床医学, 2022, 29(3): 365–371.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.12025/j.issn.1008-6358.2022.20212744>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

MitoK_{ATP}通道在异氟醚对急性肺损伤保护作用中的影响

Effect of MitoK_{ATP} channel on protective effect of isoflurane on acute lung injury

中国临床医学. 2020, 27(3): 510–514 <https://doi.org/10.12025/j.issn.1008-6358.2020.20200596>

黄芩苷对马兜铃酸诱导小鼠急性肾损伤的保护作用

Protective effect of baicalin on acute kidney injury induced by aristolochic acid in mice

中国临床医学. 2019, 26(3): 432–436 <https://doi.org/10.12025/j.issn.1008-6358.2019.20190278>

过表达锌指蛋白A20可抑制肺泡巨噬细胞炎症反应

A20 regulates the inflammatory responses of alveolar macrophage

中国临床医学. 2016, 23(6): 715–719 <https://doi.org/10.12025/j.issn.1008-6358.2016.20160822>

PPAR γ 激动剂对COPD大鼠炎症及血管重塑指标的影响

Effects of PPAR γ agonists on inflammation and vascular remodeling in COPD rats

中国临床医学. 2020, 27(4): 670–673 <https://doi.org/10.12025/j.issn.1008-6358.2020.20191756>

高尿酸对大鼠肾小球足细胞的损害作用

The effect of hyperuricemia on glomerular podocyte in rates and its mechanisms

中国临床医学. 2019, 26(6): 855–861 <https://doi.org/10.12025/j.issn.1008-6358.2019.20190668>

DOI: 10.12025/j.issn.1008-6358.2022.20212744

· 论 著 ·

法尼酯 X 受体激动剂 GW4064 减轻小鼠脓毒症诱导的炎症反应和急性肾损伤



任 婷¹, 徐素娟¹, 汪小燕¹, 邹周平¹, 丁小强^{1,2,3}, 贾 平^{1,2,3*}

1. 复旦大学附属中山医院肾内科, 上海 200032

2. 上海市肾病与透析研究所, 上海 200032

3. 上海市肾脏疾病与血液净化重点实验室, 上海 200032

引用本文 任 婷, 徐素娟, 汪小燕, 等. 法尼酯 X 受体激动剂 GW4064 减轻小鼠脓毒症诱导的炎症反应和急性肾损伤 [J]. 中国临床医学, 2022, 29(3): 365-371. REN T, XU S J, WANG X Y, et al. FXR agonist GW4064 reduces sepsis-induced inflammation and acute kidney injury in mice [J]. Chinese Journal of Clinical Medicine, 2022, 29(3): 365-371.

[摘要] **目的** 利用小鼠脓毒症体内外模型, 探讨法尼酯 X 受体 (farnesoid X receptor, FXR) 对脓毒症诱导的炎症反应和急性肾损伤的干预作用。**方法** 构建小鼠脓毒症模型, 并随机分为 4 组: 生理盐水 (normal saline, NS) 组、脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 组、LPS+溶剂对照组 (dimethyl sulfoxide, DMSO) 和 LPS+FXR 激动剂 (GW4064) 组, 每组 5~8 只。LPS 组小鼠腹腔注射 LPS (10 mg/kg), NS 组小鼠腹腔注射等量生理盐水, 后 2 组分别在 LPS 注射前 5 d 连续腹腔注射 GW4064 或 DMSO。LPS 注射后 24 h 留取血和肾脏标本, 检测肾功能和炎症因子表达。在体外, 利用 LPS 处理小鼠原代肾小管上皮细胞, 分为 4 组: NS 组、LPS 组、LPS+溶剂对照组和 LPS+GW4064 组, RT-PCR 测定上皮细胞促炎因子表达。**结果** 在小鼠脓毒症模型中, 与 NS 对照组相比, LPS 组小鼠肾脏促炎细胞因子白细胞介素 6 (interleukin 6, IL-6)、趋化因子配体 2 (C-C motif chemokine ligand 2, CCL2) 表达显著上调 ($P<0.01$), 血肌酐明显升高 ($P<0.01$); 与 LPS 组和溶剂对照组小鼠相比, GW4064 干预组血肌酐明显下降, 肾脏病理损伤减轻, 促炎细胞因子 IL-6、CCL2 表达下调。同时, LPS 抑制肾脏 FXR 蛋白和 FXR mRNA 表达 ($P<0.05$)。在小鼠体外实验中, LPS 呈剂量依赖性抑制肾小管上皮细胞 FXR 表达 ($P<0.05$); 与 LPS 组和溶剂对照组相比, GW4064 干预组可明显抑制肾小管上皮细胞促炎因子 IL-6 和 CCL2 表达 ($P<0.05$)。**结论** LPS 可抑制肾脏 FXR 表达, FXR 激活可减少 LPS 诱导的肾小管上皮细胞促炎因子生成, 减轻肾脏炎症反应和急性肾损伤。

[关键词] 法尼酯 X 受体; 脂多糖; 急性肾损伤; 炎症反应

[中图分类号] R 692 **[文献标志码]** A

FXR agonist GW4064 reduces sepsis-induced inflammation and acute kidney injury in mice

REN Ting¹, XU Su-juan¹, WANG Xiao-yan¹, ZOU Zhou-ping¹, DING Xiao-qiang^{1,2,3}, JIA Ping^{1,2,3*}

1. Department of Nephrology, Zhongshan Hospital, Fudan University, Shanghai 200032, China

2. Kidney and Dialysis Institute of Shanghai, Shanghai 200032, China

3. Kidney and Blood Purification Laboratory of Shanghai, Shanghai 200032, China

[Abstract] **Objective** To explore the effect of farnesoid X receptor (FXR) on lipopolysaccharide (LPS)-induced inflammation and acute kidney injury (AKI) *via* sepsis model *in vivo* and *in vitro*. **Methods** Mouse sepsis model was established through LPS administration, and the experimental animals were randomly divided into four groups: normal saline (NS) group, LPS group, LPS+DMSO group, and LPS+GW4064 group. Each group contained 5-8 mice. Mice in LPS group were intraperitoneally injected with LPS at a dose of 10 mg/kg, and mice in NS group were injected with the equal volume of saline. The latter two groups were injected consecutively with GW4064 or vehicle for 5 days before LPS injection. Blood and kidney tissue were collected 24

[收稿日期] 2021-12-01 **[接受日期]** 2022-03-22

[基金项目] 国家自然科学基金 (82170695), 上海市科学技术委员会基金 (14DZ2260200). Supported by National Natural Science Foundation of China (82170695) and Science and Technology Commission of Shanghai Municipality (14DZ2260200).

[作者简介] 任 婷, 硕士生. E-mail: renting_97@163.com

*通信作者 (Corresponding author). Tel: 021-64041990, E-mail: jia.ping1@zs-hospital.sh.cn

hours after LPS injection to detect renal function and inflammatory factor expression. Primary tubular epithelial cells (PTECs) were isolated and treated with LPS *in vitro* and divided into four groups: NS group, LPS group, LPS+DMSO group, LPS+GW4064 group. The expression of proinflammatory factors was determined by RT-PCR. **Results** Compared with NS group, the expression of renal pro-inflammatory cytokines interleukin6(IL-6) and C-C motif chemokine ligand 2 (CCL2) in LPS group was significantly up-regulated ($P<0.01$), and the serum creatine level was increased ($P<0.01$). Compared with LPS group and vehicle group, serum creatine level in GW4064 intervention group was decreased ($P<0.05$), renal pathological injury was alleviated and the expression of inflammatory factors (IL-6 and CCL2) was down-regulated ($P<0.05$). At the same time, LPS inhibited FXR expression in protein and mRNA levels in kidney. Also LPS inhibited the expression of FXR in PTECs *in vitro* ($P<0.05$). Compared with LPS group and DMSO group, GW4064 intervention group significantly inhibited pro-inflammatory cytokines expression in PTECs ($P<0.05$). **Conclusions** LPS inhibits renal FXR expression. Activation of FXR reduces LPS-induced pro-inflammatory cytokines production in PTECs, and alleviates LPS-induced inflammation and AKI.

[**Key Words**] farnesoid X receptor; lipopolysaccharide; acute kidney injury; inflammation

急性肾损伤 (acute kidney injury, AKI) 是一种由多种因素引起、以肾功能迅速下降为特征的综合症^[1]。脓毒症是引起 AKI 的主要原因之一,尤其在重症监护室,超过 50% 的 AKI 由脓毒症引起^[2],且此类患者死亡率高达 60%^[3]。脓毒症 AKI 发病机制复杂,主要包括肾血流动力学改变、免疫细胞活化、促炎因子大量生成和内分泌失调等^[4]。目前尚缺乏有效的防治措施。

法尼酯 X 受体 (farnesoid X receptor, FXR) 属于配体激活的核受体转录因子超家族,主要在肝、肠、肾和脂肪组织中表达^[5]。近年来,FXR 在胆汁代谢^[6]、免疫调节、脂质代谢^[7]等多方面的作用已被证实,尤其是 FXR 作为胆汁酸稳态的主要调节剂,在调节胆固醇、脂质和葡萄糖代谢中发挥重要作用。同时,越来越多的文献^[8-9]表明 FXR 在调节免疫炎症反应的作用。FXR 作为多种疾病的重要靶点,其在 AKI 中的作用鲜有报道。合成药物 GW4064 作为 FXR 的高亲和力激动剂,表现出较高的受体特异性和有效性^[10]。本研究通过构建小鼠脓毒症 AKI 模型,观察脓毒症对肾脏 FXR 表达的影响,及 FXR 激活对脓毒症诱导的炎症反应和 AKI 的干预作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物和主要试剂 采用 6~8 周龄 C57BL/6 雄性小鼠,体质量 18~22 g,购自上海杰斯捷实验动物有限公司。DMEM/F12 培养基和 DMEM 高糖培养基购于美国 Gibco 公司,胎牛血清购于美国 Gibco 公司,反转录试剂和实时荧光

定量 PCR 试剂购于 TaKaRa 公司,Trizol 购于美国 Sigma-Aldrich 公司,胶原酶 IV 购于美国 Sigma-Aldrich 公司,胰蛋白酶抑制剂、胰岛素、转铁蛋白和氢化可的松均购于索莱宝公司,percoll 液购于 Coolaber 公司,脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 和 GW4064 购于美国 Sigma-Aldrich 公司,FXR 抗体购于 R&D 和 Biorbyt 公司, β -actin 抗体购于中杉金桥公司,肌酐检测试剂盒购于 BioAssay Systems 公司。本研究引物由生工生物工程股份有限公司合成。

1.2 动物模型和实验分组 小鼠随机分为 4 组:生理盐水 (normal saline, NS) 组、LPS 组、LPS+溶剂对照组 (dimethyl sulfoxide, DMSO) 和 LPS+FXR 激动剂 (GW4064) 组,每组 5~8 只。LPS 组小鼠腹腔注射 LPS,剂量为 10 mg/kg,NS 组小鼠腹腔注射等量生理盐水,后 2 组分别在 LPS 注射前 5 d 始连续腹腔注射 GW4064 30 mg/kg 或 DMSO。麻醉后颈椎脱臼处死小鼠,取其肾脏组织进行后续实验。本研究通过复旦大学附属中山医院动物实验伦理审查委员会批准 (2021-406)。

1.3 小鼠原代肾小管上皮细胞 (primary tubular epithelial cells, PTECs) 分离和提取 颈椎脱臼 6~8 周龄 C57 野生型雄性小鼠,放至 75% 的乙醇中浸泡 5 min,取出小鼠肾脏,放入 4℃ 预冷的 Hanks 液中。在超净台中剥离肾包膜,Hanks 液晃洗肾脏 3~5 遍,在 5 mL 灭菌 EP 管中将肾脏剪碎成 1 mm³ 大小,将剪碎的肾脏组织放入 5 mL 细胞消化液 (1.5 mg/mL 胶原酶 IV+1.5 mg/mL 胰蛋白酶抑制剂) 中,37℃,120 rpm 消化 1 h;加入

FBS 终止消化; 过 40 μm 筛网, 100 $\times$ g, 4 $^{\circ}\text{C}$ 离心 3 min, 弃上清液; 适量 Hanks 液重悬后, 100 $\times$ g, 4 $^{\circ}\text{C}$ 离心 3 min, 弃上清; 适量 DMEM/F12 培养基重悬后, 100 $\times$ g, 4 $^{\circ}\text{C}$ 离心 3 min, 弃上清; 用 5 mL DMEM/F12 重悬沉淀, 加入 50% percoll 液上方, 14 000 r/min , 4 $^{\circ}\text{C}$ 离心 1 h; 最上面一层为近端肾小管细胞, 缓慢吸取最上层液体, 1 000 r/min , 4 $^{\circ}\text{C}$ 离心 5 min, 弃上清; 用含 10%FBS 的原代细胞培养液 (DMEM/F12 培养基+维生素 C+氢化可的松+胰岛素+转铁蛋白) 培养 24 h 后换液^[11]。

1.4 细胞培养和处理 取小鼠 PTECs 先于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5%CO₂ 的培养箱中培养 3~4 d, 待细胞扩增至 60%~70%, 随机分为 4 组: NS 组、LPS 组、LPS+溶剂对照组和 LPS+GW4064 组。LPS 组细胞加入 1 000 ng/mL LPS, 培养 24 h; NS 组加入等量生理盐水; LPS+GW4064 组以 5 $\mu\text{mol/L}$ GW4064^[12] 预处理细胞 24 h, LPS+溶剂对照组给予等量 DMSO 后, 加入 1 $\mu\text{g/mL}$ LPS 继续培养 24 h。

1.5 免疫组化染色 小鼠肾组织石蜡切片经二甲苯脱蜡, 梯度乙醇脱水, 抗原修复, 3%BSA 室温封闭 30 min, 加入抗 FXR 抗体 (1 : 200, orb156973, Biorbyt 公司) 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜, 带有生物标记的二抗 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 1 h, DAB 显色, 光镜下观察肾组织切片染色。

1.6 Western 免疫印迹法 提取小鼠 PTECs 蛋白后, 经 8%SDS-PAGE 电泳, 300 mA 湿转 90 min, 5%脱脂奶粉室温封闭 1 h, 加入抗 FXR 抗体 (1 : 1 000, PP-A9033-00, R&D 公司) 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜; β -actin 抗体为内参 (1 : 1 000, TA-09, 北京中杉金桥生物技术有限公司)。采用 TBST 洗膜 3 遍, 每遍 10 min, 二抗室温孵育 1 h, TBST 洗膜 3 遍, 每遍 5 min, 最后利用 ECL 显影。

1.7 RT-PCR 检测 小鼠肾组织或细胞内加入 TRIzol, 然后采用氯仿、异丙醇分离 RNA, DEPC 水配置的 75% 乙醇洗涤后, 溶于 DEPC 水中, 检测 RNA 浓度, 以 500 ng 体系按照 PrimeScript RT Master Mix 试剂盒 (TaKaRa 公司, 日本) 说明进行逆转录, 采用 SYBR Premix Ex Taq (TaKaRa 公司, 日本) 进行 PCR 反应。采用 β -actin 作为内参。引物序列见表 1。

表 1 基因引物序列表

基因名称	方向	基因序列
β -actin	F	AGCCATGTACGTAGCCATCC
	R	GCTGTGGTGGTGAAGCTGTA
IL-6	F	TAGTCCTTCCTACCCCAATTCC
	R	TTGGTCCTTAGCCACTCCTTC
CCL2	F	GCTACAAGAGGATCACCAGCAG
	R	GTCTGGACCCATTCTTCTTGG
FXR	F	TGGGTACCAGGGAGAGACTG
	R	CGGAAGAAACCTTTGCAGCC

1.8 血清肌酐水平检测 采用肌酐测定试剂盒 (BioAssay Systems) 配置标准液, 吸取标准品和血清样本 30 μL 至 96 孔板中; A 液和 B 液按 1 : 1 配置肌酐测定工作液, 每孔 200 μL , 510 nm 测定 0 min 时的吸光度; 37 $^{\circ}\text{C}$ 避光孵育 5 min, 再次测定 5 min 时的吸光度, 根据标准品的浓度计算每个样品的浓度。

1.9 统计学处理 采用 GraphPad 软件, 正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组之间比较采用单因素方差分析, 2 组之间比较采用 t 检验。检验水准 (α) 为 0.05。

2 结果

2.1 LPS 诱导小鼠肾脏炎症反应和 AKI 结果 (图 1A) 显示: 与 NS 组相比, LPS 组小鼠在 LPS 注射 6 h 后肾组织出现水肿, 炎性细胞浸润; 12 h 后出现散在空泡变性; 24 h 后表现为广泛的空泡变性, 并伴有散在肾小管上皮细胞坏死脱落。血清肌酐检测结果 (图 1B) 显示: LPS 注射后 12 h、24 h, LPS 组小鼠血肌酐浓度明显高于 NS 组 ($P < 0.01$)。通过 RT-PCR 检测肾组织匀浆中炎症因子和趋化因子表达水平 (图 1C、1D) 发现, LPS 处理后 6 h、12 h 和 24 h 肾脏促炎细胞因子白细胞介素 6 (interleukin 6, IL-6) 和趋化因子配体 2 (C-C motif chemokine ligand 2, CCL2) 均明显上调 ($P < 0.01$)。

2.2 GW4064 对小鼠脓毒症 AKI 和炎症反应的减轻作用 LPS 组和 LPS+溶剂对照组小鼠肾脏病理 H-E 染色 (图 2A) 显示, 2 组小鼠均有肾间质水肿、明显的炎细胞浸润和肾小管上皮细胞变性, 并有散在的细胞坏死, 而 LPS+GW4064 组小鼠肾组织损伤明显减轻, 仅表现为肾脏间质水肿和少

量炎性细胞浸润。肾脏组织切片F4/80免疫组化染色(图2B、2C)显示,与NS组比较,LPS组和LPS+溶剂对照组小鼠肾脏均有明显的巨噬细胞浸润;而与LPS组和LPS+溶剂对照组比较,LPS+

GW4064组小鼠肾脏巨噬细胞浸润明显减少,血肌酐水平(图2D)也显著下降($P<0.05$),肾组织匀浆中促炎因子IL-6(图2E)和趋化因子CCL2(图2F)表达明显下调($P<0.05$)。

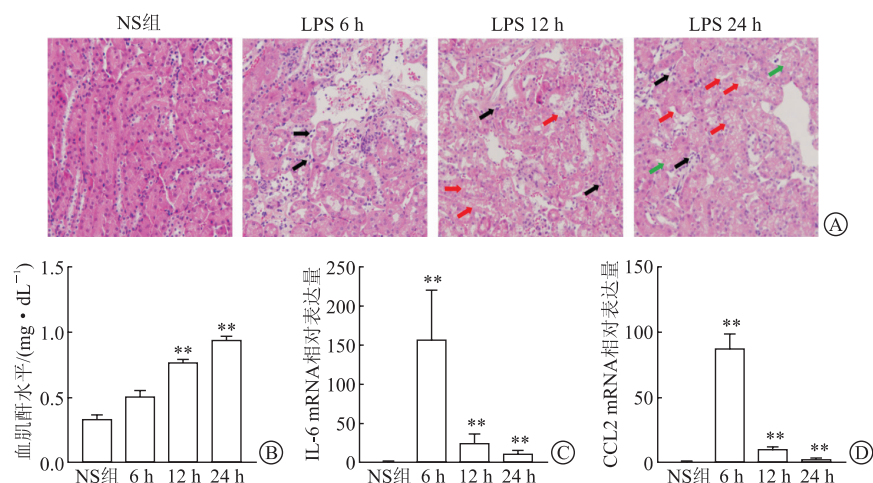


图1 LPS诱导小鼠肾脏炎症反应和AKI

A: 脓毒症小鼠肾脏H-E染色($\times 100$),黑色箭头为炎症细胞浸润,红色箭头为空泡变性,绿色箭头为肾小管上皮细胞脱落坏死;B: 血清肌酐水平;C: 肾脏IL-6 mRNA表达;D: 肾脏CCL2 mRNA表达。 $P<0.01$ 与NS组相比。

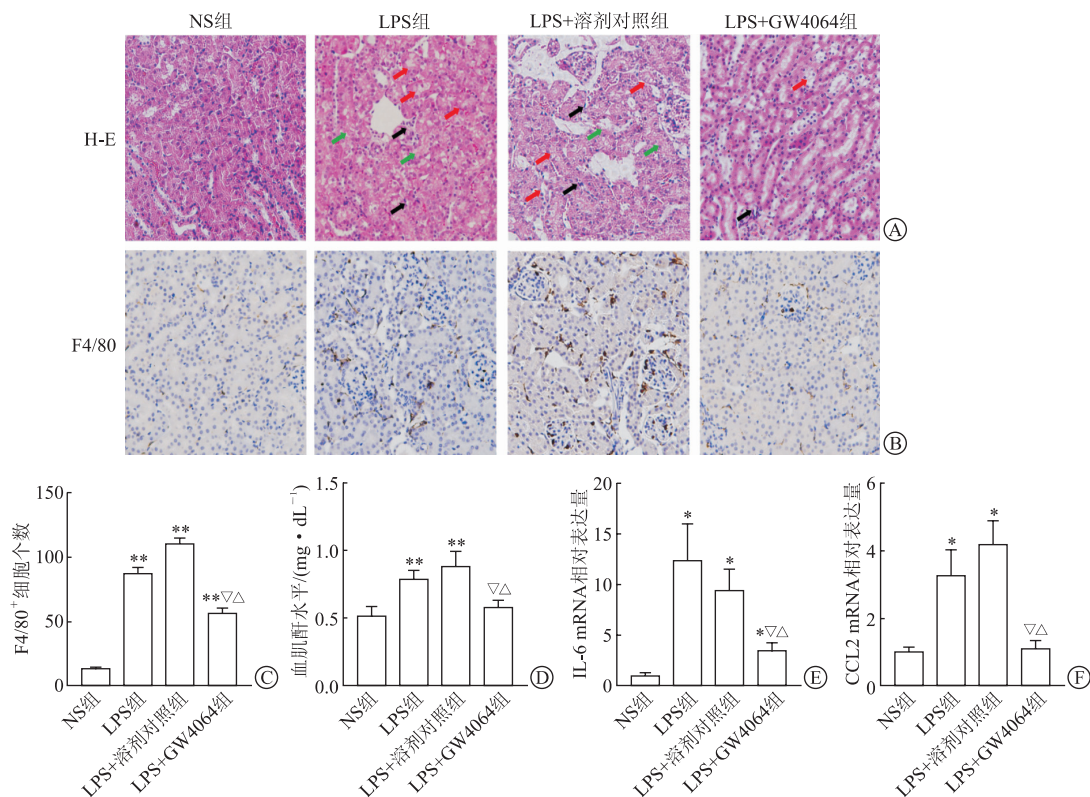


图2 GW4064对小鼠脓毒症AKI和炎症反应的减轻作用

A: 肾脏病理H-E染色($\times 100$),黑色箭头为炎症细胞浸润,红色箭头为空泡变性,绿色箭头为肾小管上皮细胞脱落坏死;B: F4/80免疫组化染色,棕色提示阳性染色细胞;C: 定量分析免疫组化染色阳性细胞(高倍镜视野, $\times 100$);D: 血清肌酐水平;E: 肾脏IL-6 mRNA表达;F: 肾脏CCL2 mRNA表达。 $P<0.05$ 与NS组相比, $**P<0.01$ 与NS组相比, $▽P<0.05$ 与LPS组相比, $▽△P<0.05$ 与LPS+溶剂对照组相比。

2.3 LPS 对小鼠肾脏和 PTECs 的 FXR 表达的抑制作用 肾组织切片免疫组化染色结果 (图 3A) 显示, FXR 主要表达于正常肾小管上皮细胞胞核内, 经 LPS 处理后 FXR 表达明显下调。检测 LPS 处理不同时间点小鼠肾脏 FXR mRNA 水平 (图 3B) 显示, LPS 处理 12 h 后 FXR 表达水平明显下调 ($P <$

0.05)。进一步分离 PTECs, 在体外检测 LPS 对上皮细胞 FXR 表达的影响, Western 免疫印迹法和 RT-PCR 结果 (图 3C、3D) 均显示, 与 NS 组相比, LPS 500 ng/mL 和 1 000 ng/mL 处理 PTECs 后 FXR 蛋白和 mRNA 水平明显下调。

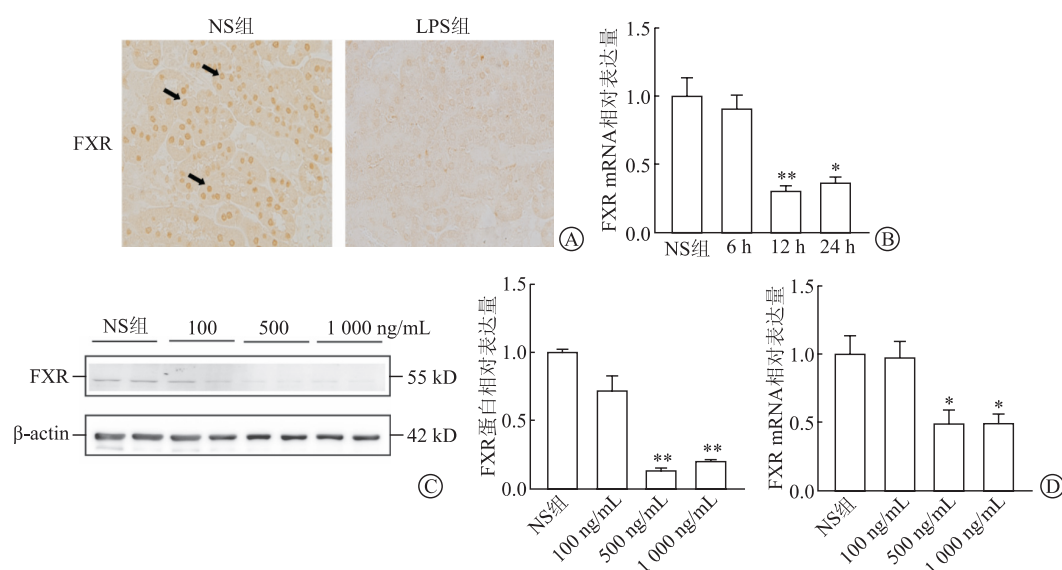


图3 LPS 对小鼠肾脏和 PTECs 的 FXR 表达的抑制作用

A: 肾脏 FXR 免疫组化染色 ($\times 200$), 棕色染色提示 FXR 表达, 黑色箭头为阳性染色细胞; B: LPS 注射后不同时间肾脏 FXR 的表达; C: LPS 对肾小管上皮细胞 FXR 蛋白表达的影响, Western 免疫印迹法检测蛋白表达; D: LPS 抑制 PTECs 的 FXR mRNA 表达。* $P < 0.05$ 与 NS 组相比, ** $P < 0.01$ 与 NS 组相比。

2.4 FXR 对 LPS 诱导的肾小管上皮细胞促炎因子的抑制作用 利用 RT-PCR 检测 PTECs 促炎因子表达水平结果 (图 4A) 显示, 与 NS 组相比, 不同浓度的 LPS 处理 PTECs 后, 炎症因子 IL-6 表达均显著上调 ($P < 0.01$)。相较于 NS 组, 1 000 ng/mL

LPS 处理 PTECs 趋化因子 CCL2 的 mRNA 水平也显著上调 ($P < 0.01$), 见图 4B。与 LPS 组和 LPS + 溶剂对照组相比, LPS + GW4064 组炎症因子 IL-6 表达 (图 4C) 明显下调 ($P < 0.05$); 趋化因子 CCL2 的生成 (图 4D) 也明显减少 ($P < 0.01$)。

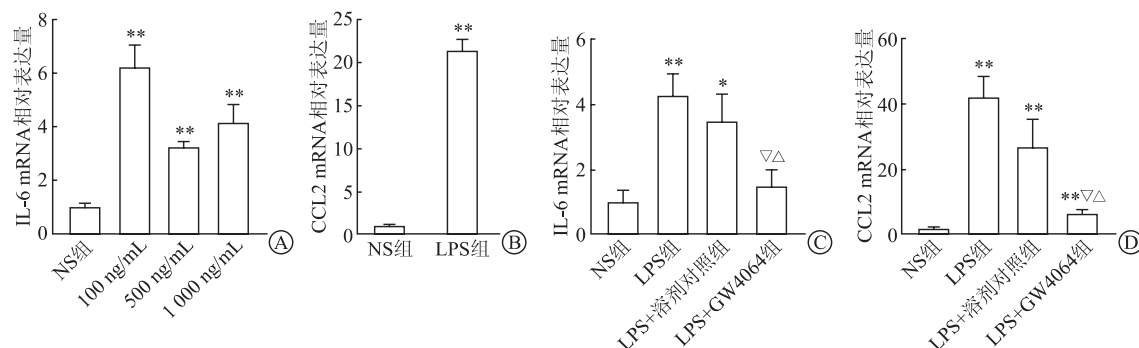


图4 FXR 对 LPS 诱导的肾小管上皮细胞促炎因子的抑制作用

A: LPS 诱导 PTECs 的 IL-6 mRNA 表达; B: LPS 诱导 PTECs 的 CCL2 mRNA 表达; C: GW4064 抑制 LPS 诱导的 PTECs IL-6 上调; D: GW4064 抑制 LPS 诱导的 PTECs 的 CCL2 上调。* $P < 0.05$ 与 NS 组相比, ** $P < 0.01$ 与 NS 组相比, ∇ $P < 0.05$ 与 LPS 组相比, Δ $P < 0.05$ 与 LPS + 溶剂对照组相比。

3 讨论

脓毒症 AKI 仍是危急重症领域的常见疾病,具有高发病率和高死亡率的特点。临床研究^[13]发现,脓毒症患者合并 AKI 死亡率明显高于单纯脓毒症患者。炎症反应在脓毒症 AKI 发生中发挥重要作用,促炎因子 IL-6 作为机体免疫应答的重要介质,在脓毒症小鼠肾脏中显著上调^[14]。脓毒症一方面诱导肾小管上皮细胞生成多种促炎因子^[15],另一方面,肾脏产生的趋化因子如 CCL2 可调节中性粒细胞和单核/巨噬细胞募集到肾组织^[16],引起炎细胞浸润并分泌促炎细胞因子,进一步加重炎症反应,促进 AKI 发生。而抑制促炎因子和趋化因子的生成,可减轻脓毒症引起的 AKI。已有研究^[17]证实,巨噬细胞在脓毒症诱导 AKI 发生中发挥重要作用。在小鼠脓毒症模型中, LPS 引起巨噬细胞浸润肾脏组织,活化的巨噬细胞产生如 TNF- α 等多种炎症细胞因子,促进 AKI 发生。Gong 等^[18]研究证实, Fractalkine (CX3CL1) 敲除可通过抑制 Wnt/ β -catenin 通路抑制巨噬细胞活化,减少多种炎症细胞因子的产生,减轻炎症反应。本研究结果显示, LPS 诱导小鼠肾脏巨噬细胞浸润和炎症反应,而 FXR 激动剂 GW4064 可明显抑制肾脏巨噬细胞浸润。脓毒症 AKI 肾脏病理损伤除了炎症反应外,还可表现为细胞凋亡与非特异性改变,如肾小管上皮细胞空泡样变性、细胞肿胀和刷状缘消失等^[19]。本研究发现, LPS 促进肾脏和肾小管上皮细胞炎症因子 IL-6 和趋化因子 CCL2 表达增加,肾间质水肿、炎细胞浸润,细胞空泡样变性,肾小管坏死脱落,进而引起肾功能损伤。

FXR 是核受体超家族成员,在肠肝循环调节和脂质稳态中发挥重要作用。既往 FXR 的研究主要集中在肝脏,在肝脏中参与调节代谢^[20],具有抗炎特性^[21]。另外, FXR 激活可减少肝脏促纤维化相关基因表达^[22]。在中枢神经系统自身免疫性疾病中, FXR 通过激活抗炎巨噬细胞,抑制 T 细胞介导的自身免疫,以 IL-10 依赖的方式抑制神经组织的炎症损伤^[23]。在肾脏方面, Wang 等^[22,24]研究证实 FXR/TGR5 双激动剂可抑制糖尿病肾病和肥胖相关肾病的进展; FXR 与 YAP 之间交互作

用可以抑制肾脏纤维化^[25]。Kim 等^[26]研究表明, FXR 通过调控细胞自噬和凋亡抑制 AKI 向慢性肾脏病的进展。本研究通过构建小鼠脓毒症体内外模型发现, LPS 抑制肾脏和肾小管上皮细胞 FXR 表达;采用 FXR 激动剂 (GW4064) 可显著降低脓毒症小鼠血清肌酐浓度; FXR 激活可显著抑制肾脏和 PTECs 炎症因子 IL-6 和趋化因子 CCL2 生成,减轻 LPS 诱导的肾脏炎症反应。

综上所述,本研究利用小鼠体内外模型证实 FXR 对 LPS 诱导 AKI 的保护作用,表明 FXR 激活可减少 LPS 诱导的肾小管上皮细胞促炎因子生成,减轻肾脏炎症反应和 AKI,为临床防治脓毒症急性肾损伤提供新的思路和手段。

利益冲突: 所有作者声明不存在利益冲突。

参考文献

- [1] CHEN Y, JIN S, TENG X, et al. Hydrogen sulfide attenuates LPS-Induced acute kidney injury by inhibiting inflammation and oxidative stress[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2018;6717212.
- [2] VINCENT J L, OPAL S M, MARSHALL J C, et al. Sepsis definitions: time for change[J]. *Lancet*, 2013, 381(9868): 774-775.
- [3] PLOTNIKOV E Y, PEVZNER I B, ZOROVA L D, et al. Mitochondrial damage and mitochondria-targeted antioxidant protection in LPS-induced acute kidney injury[J]. *Antioxidants (Basel)*, 2019, 8(6):176.
- [4] DELLEPIANE S, MARENGO M, CANTALUPPI V. Detrimental cross-talk between sepsis and acute kidney injury: new pathogenic mechanisms, early biomarkers and targeted therapies[J]. *Crit Care*, 2016, 20:61.
- [5] LEFEBVRE P, CARIOU B, LIEN F, et al. Role of bile acids and bile acid receptors in metabolic regulation[J]. *Physiol Rev*, 2009, 89(1): 147-191.
- [6] CARINO A, BIAGIOLI M, MARCHIANÒ S, et al. Opposite effects of the FXR agonist obeticholic acid on Mafg and Nrf2 mediate the development of acute liver injury in rodent models of cholestasis[J]. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids*, 2020, 1865(9): 158733.
- [7] IRACHETA-VELLVE A, CALEND A C D, PETRASEK J, et al. FXR and TGR5 agonists ameliorate liver injury, steatosis, and inflammation after binge or prolonged alcohol feeding in mice[J]. *Hepatol Commun*, 2018, 2(11): 1379-1391.

- [8] SHAIK F B, PRASAD D V, NARALA V R. Role of farnesoid X receptor in inflammation and resolution[J]. *Inflamm Res*, 2015, 64(1): 9-20.
- [9] XU S J, LEE E, SUN Z X, et al. Perilipin 2 impacts acute kidney injury *via* regulation of PPAR α [J]. *J Immunol Res*, 2021:9972704.
- [10] CAO S, MENG X Y, LI Y X, et al. Bile acids elevated in chronic periaortitis could activate farnesoid-X-receptor to suppress IL-6 production by macrophages[J]. *Front Immunol*, 2021, 12:632864.
- [11] BAGSHAW S M, UCHINO S, BELLOMO R, et al. Septic acute kidney injury in critically ill patients: clinical characteristics and outcomes[J]. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2007, 2(3): 431-439.
- [12] REN Q, GUO F, TAO S, et al. Flavonoid fisetin alleviates kidney inflammation and apoptosis via inhibiting Src-mediated NF- κ B p65 and MAPK signaling pathways in septic AKI mice[J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 122:109772.
- [13] WANG W, ZOLTY E, FALK S, et al. Pentoxifylline protects against endotoxin-induced acute renal failure in mice[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2006, 291(5): F1090-F1095.
- [14] MAIER S, EMMANUILIDIS K, ENTLEUTNER M, et al. Massive chemokine transcription in acute renal failure due to polymicrobial sepsis[J]. *Shock*, 2000, 14(2): 187-192.
- [15] WU Y M, SHI Q, ZHU P F, et al. Rhodomeroterpene alleviates macrophage infiltration and the inflammatory response in renal tissue to improve acute kidney injury [J]. *FASEB J*, 2021, 35(11): e21985.
- [16] GONG Q M, JIANG Y, PAN X H, et al. Fractalkine aggravates LPS-induced macrophage activation and acute kidney injury *via* Wnt/ β -catenin signalling pathway[J]. *J Cell Mol Med*, 2021, 25(14): 6963-6975.
- [17] GAROFALO A M, LORENTE-ROS M, GONCALVEZ G, et al. Histopathological changes of organ dysfunction in sepsis[J]. *Intensive Care Med Exp*, 2019, 7(Suppl 1): 45.
- [18] RENG A B, MENCARELLI A, MIGLIORATI M, et al. SHP-dependent and -independent induction of peroxisome proliferator-activated receptor- γ by the bile acid sensor farnesoid X receptor counter-regulates the pro-inflammatory phenotype of liver myofibroblasts [J]. *Inflamm Res*, 2011, 60(6): 577-587.
- [19] ZHANG S W, LIU Q Y, WANG J, et al. Suppression of interleukin-6-induced C-reactive protein expression by FXR agonists [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 379(2): 476-479.
- [20] ZHANG S W, WANG J, LIU Q Y, et al. Farnesoid X receptor agonist WAY-362450 attenuates liver inflammation and fibrosis in murine model of non-alcoholic steatohepatitis[J]. *J Hepatol*, 2009, 51(2): 380-388.
- [21] HUCKE S, HEROLD M, LIEBMANN M, et al. The farnesoid-X-receptor in myeloid cells controls CNS autoimmunity in an IL-10-dependent fashion[J]. *Acta Neuropathol*, 2016, 132(3): 413-431.
- [22] WANG X X, WANG D, LUO Y, et al. FXR/TGR5 dual agonist prevents progression of nephropathy in diabetes and obesity[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2018, 29(1): 118-137.
- [23] KIM D H, CHOI H I, PARK J S, et al. Src-mediated crosstalk between FXR and YAP protects against renal fibrosis[J]. *FASEB J*, 2019, 33(10): 11109-11122.
- [24] KIM D H, PARK J S, CHOI H I, et al. The critical role of FXR is associated with the regulation of autophagy and apoptosis in the progression of AKI to CKD[J]. *Cell Death Dis*, 2021, 12(4): 320.

[本文编辑] 翟铨铨