

DOI:10.12025/j.issn.1008-6358.2019.20190668

# 高尿酸对大鼠肾小球足细胞的损害作用

王 昱, 王 娇, 缪 妙, 鲍晓荣\*

复旦大学附属金山医院肾内科, 上海 201508

**【摘要】 目的:**探讨高尿酸对大鼠足细胞的损害作用及其可能机制。**方法:**40 只雄性 SD 大鼠随机平均分为 4 组,即对照组、轻微高尿酸组、高尿酸组、别嘌醇干预组。饲养 24 周后处死大鼠,心脏取血检测肌酐、尿酸水平,左肾切除后行病理检查,并检测血管紧张素 II (Ang II)、白细胞介素 6 (IL-6)、超氧化物歧化酶 (SOD)、nephrin、podocin 在肾组织中的表达情况。**结果:**各组大鼠血肌酐水平差异无统计学意义;对照组、轻微高尿酸组、高尿酸组、别嘌醇干预组血尿酸水平分别为  $(65.04 \pm 5.26)$ 、 $(106.87 \pm 11.00)$ 、 $(147.23 \pm 25.75)$ 、 $(89.78 \pm 11.67) \mu\text{mol/L}$ ,每两组间差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。苏木精-伊红 (H-E) 染色显示轻微高尿酸组、高尿酸组肾小球系膜区有核细胞数略增多,但各组大鼠肾组织病理学改变均不明显。电镜显示:轻微高尿酸组、高尿酸组存在不同程度足突融合及足突细胞病理改变。免疫组化染色显示:Ang II 主要表达于肾小球系膜区,少量表达于肾小管上皮细胞,组间差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ );IL-6 主要表达于肾小管上皮细胞,少量表达于肾小球,组间差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ );SOD 在肾小球及小管内均表达,组间差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。Western 印迹及 RT-PCR 显示,每两组大鼠肾组织 nephrin、podocin 蛋白及 mRNA 表达差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。血尿酸水平与肾组织 nephrin、podocin、SOD 表达负相关 ( $P < 0.05$ ),与肾组织 Ang II 及 IL-6 的表达正相关 ( $P < 0.05$ );肾组织 Ang II、IL-6 的表达与 nephrin、podocin 的表达负相关 ( $P < 0.05$ );肾组织 SOD 的表达与 nephrin、podocin 的表达正相关 ( $P < 0.05$ )。**结论:**高尿酸血症可导致肾小球足细胞病变,其可能机制包括诱发氧化应激、激活 RAS 系统及微炎症反应;别嘌醇可通过降低血尿酸水平或通过减轻氧化应激反应、调控 RAS 活性及微炎症反应来减轻足细胞损伤。

**【关键词】** 尿酸;足细胞;氧化应激;RAS 系统;微炎症;别嘌醇

**【中图分类号】** R 692.3<sup>+</sup>1 **【文献标志码】** A

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

WANG Yu, WANG Jiao, MIAO Miao, BAO Xiao-rong\*

Department of Nephrology, Jinshan Hospital, Fudan University, Shanghai 201508, China

**【Abstract】 Objective:** To investigate the effect of hyperuricemia on podocyte and its possible mechanisms. **Methods:** A total of 40 male SD rats were randomly divided into four groups, including control group (group A), mild hyperuricemia group (group B), hyperuricemia group (group C), and allopurinol group (group D). Twenty-four weeks later, all rats were sacrificed, and heart blood was taken for detecting creatinine and uric acid. The left kidneys were collected for pathological examination, as well as detection of the expression levels of angiotensin II (Ang II), interleukin-6 (IL-6), superoxide dismutase (SOD), nephrin, podocin using immunohistochemical staining, Western blotting, and RT-PCR. **Results:** There were no obvious differences in Scr levels among the four group, while the levels of uric acid in groups A, B, C, and D were  $(65.04 \pm 5.26)$ ,  $(106.87 \pm 11.00)$ ,  $(147.23 \pm 25.75)$ , and  $(89.78 \pm 11.67) \mu\text{mol/L}$ , and significant differences statistically were found between either two of the four groups. No obvious renal histopathological abnormalities were observed by H-E staining in all four groups. The number of nucleated cells in the glomerular mesangial area was slightly higher in group B and C. Different degrees of podocytopenia and pathological changes of podocytes were also observed in group B and C using electron microscope. Immunohistochemical staining showed that Ang II was mainly expressed in the glomerular mesangial area and a few in the renal tubular epithelial cells, and the differences of the Ang II expression were statistically significant between either two groups ( $P < 0.05$ ). IL-6 was mainly expressed in renal tubular epithelial cells and a few in the glomerular mesangial area,

**【收稿日期】** 2019-05-05

**【接受日期】** 2019-10-09

**【基金项目】** 上海市卫计委青年基金 (20164Y0266), 上海市金山区卫计委优秀青年人才项目 (JSYQ201604). Supported by Youth Fund of Shanghai Municipal Commission of Health and Family Planning (20164Y0266) and Excellent Young Talents Project of Health and Family Planning Commission of Jinshan District in Shanghai (JSYQ201604).

**【作者简介】** 王 昱, 硕士, 副主任医师. E-mail: wangyu\_syd@sina.com

\* 通信作者 (Corresponding author). Tel: 021-34189990-5374, E-mail: 18930819984@126.com

and the differences of the IL-6 expression were statistically significant between either two groups ( $P < 0.05$ ). SOD was expressed in glomerular and tubular cells, the differences of the SOD expressions were statistically significant between either two groups ( $P < 0.05$ ). Western blotting and real-time PCR results showed that the levels of protein and mRNA of nephrin and podocin in the renal tissues were different between either two groups ( $P < 0.05$ ). Correlation analysis showed that there were negative correlations between serum uric acid and the expression of nephrin, podocin, SOD in kidney tissue, and there were positive correlations between serum uric acid and the expression of Ang II and IL-6 in kidney tissue ( $P < 0.05$ ). There were negative correlations between the expression levels of Ang II, IL-6, nephrin, and podocin in kidney tissue ( $P < 0.05$ ). There were positive correlations between the expression levels of SOD, nephrin and podocin in kidney tissue ( $P < 0.05$ ).

**Conclusions:** Hyperuricemia can lead to podocytes injury, and the probable mechanisms include activation of the RAS system, oxidative stress, micro-inflammatory response. Allopurinol could reduce the podocyte injury through lowering uric acid or lowering the activation of the RAS system, oxidative stress, and micro-inflammatory response.

**[Key Words]** uric acid; podocyte; oxidative stress; RAS; micro-inflammatory; allopurinol

高尿酸血症与慢性肾脏病(chronic kidney disease, CKD)之间关系密切,互相影响。一方面随着 CKD 进展,肾功能不断丢失,尿酸从肾脏排泄出现障碍,导致体内尿酸水平进一步增高;另一方面,高尿酸血症能造成肾脏损害,并且是 CKD 进展的重要因素<sup>[1]</sup>。一般认为,尿酸造成的肾脏损伤主要位于小管及间质部位,其主要机制为尿酸盐结晶沉积在肾组织导致局部发生炎症反应,出现肾小管萎缩及间质纤维化<sup>[2]</sup>。然而,近年来也有研究<sup>[3-4]</sup>发现,尿酸亦可损伤肾小球系膜细胞。这就提示尿酸导致的肾损害并非局限于肾小管-间质部位。足细胞作为肾小球的固有细胞,在肾脏病进展中发挥重要作用。尿酸对足细胞是否有损害作用及其机制如何目前尚不清楚,本研究拟就此进行探讨。

## 1 材料与方法

1.1 动物及模型的建立 雄性 SD 大鼠 40 只,体质量 163~212 g,6~7 周龄,随机分为 4 组,每组 10 只,即对照组、轻微高尿酸组、高尿酸组、别嘌醇干预组。所有大鼠正常喂养。其中,轻微高尿酸组、高尿酸组、别嘌醇干预组均以尿酸酶抑制剂—氧嗪酸钾灌胃,剂量分别为每日 400、800、400 mg/kg;别嘌醇干预组再以别嘌醇灌胃,剂量为 25 mg/kg。喂养期间每周称大鼠体质量,以调整给药剂量。对照组每日予以等容量蒸馏水灌胃。

1.2 检测方法 所有大鼠饲养 24 周后处死。心脏内取血,离心后取血清待检。分离出左肾并切除,0.9%氯化钠液冲洗后,分别行苏木精-伊红(H-E)染色、免疫组化检测、Western 印迹、RT-PCR、电镜检查。血清指标尿酸(UA)、肌酐(Scr)用生化分析仪检测。H-E 染色试剂盒购自江苏凯基生物技术

股份有限公司,染色后在光镜下观察肾小球及肾小管、肾间质病变。

1.2.1 免疫组化法检测 Ang II、IL-6、SOD 在肾组织中的表达 多聚赖氨酸溶液、免疫组化笔、PBS、Triton-X100、Ang II 抗体、IL-6 抗体、SOD 抗体、柠檬酸钠缓冲液、50×TAE 电泳缓冲液购自江苏凯基生物技术股份有限公司。DAB Kit、EliVision plus 试剂盒购自福州迈新生物技术开发公司。苏木精染色液购自南京建成生物工程研究所。中性树胶购自国药集团化学试剂有限公司。

肾组织经二甲苯冲洗 2 次,每次 5 min,先后予以 100%乙醇、95%乙醇、85%乙醇、70%乙醇各冲洗 3 min,PBS 冲洗 3 次(每次 3 min)。将抗原修复缓冲液加热至沸腾,将组织切片放到已沸腾的缓冲液中 20 min,自然冷却后,PBS 冲洗 3 次(每次 5 min);3%  $H_2O_2$ ,15~25℃孵育 10 min,PBS 冲洗 3 次(每次 5 min)。滴加即用型山羊血清 50~100  $\mu$ L,室温孵育 20 min。滴加一抗(1:200 稀释)50~100  $\mu$ L,37℃湿盒孵育 2 h,PBS 浸洗 3 次,滴加增强剂 50  $\mu$ L,室温湿盒孵育 30 min。PBS 浸洗 3 次;滴加通用型 IgG 抗体-Fab 段-HRP 多聚体 50  $\mu$ L,37℃孵育 30 min。PBS 浸洗 3 次;用新鲜配制的 DAB 显色液室温下显色 5~10 min,蒸馏水冲洗 10 min 终止显色。苏木精复染,蒸馏水冲洗 5 min。0.1% HCl 分化,自来水冲洗,蓝化。切片经梯度乙醇脱水干燥,二甲苯透明,中性树胶封固,晾干后观察。各指标的表达情况用平均光密度值表示。平均光密度值=积分光密度(OD)/阳性面积分布(AREA)。

1.2.2 Western 印迹法检测 nephrin、podocin 在肾组织中的表达 取 100 mg 固体组织置于培养皿

中,手术剪剪碎成约 3 mm×3 mm 的小块,用预冷 Lysis Buffer 细胞裂解液提取蛋白。根据凯基 Braford 蛋白含量检测试剂盒说明测定所提取蛋白的浓度,取等量组织蛋白样本于沸水中煮 5 min,使蛋白变性后进行 SDS-PAGE 凝胶电泳,转入 NC 膜,转膜完毕后,用含 5% 脱脂奶粉的封闭液摇床震荡 2 h;用特异抗 nephrin、podocin 抗体孵育(用 5% 的封闭液 1:500 稀释,抗体购自武汉博士德生物工程有限公司),以  $\beta$ -actin 作内参(1:1 500,南京凯基公司),洗膜后,二抗孵育(1:2 000,南京凯基公司),室温摇床振荡反应 1~2 h;ECL(南京凯基公司)化学发光法曝光,使用 G:BOX chemiXR5 成像。运用 Gelpro 软件进行灰度值分析。

1.2.3 RT-PCR 法检测 nephrin mRNA、podocin mRNA 在肾组织中的表达 细胞样本用冷 PBS 洗 3 次,六孔板中每孔加入 1 mL TRIzol(美国 Invitrogen 公司),对总 RNA 进行纯度的测定,定量后反转录成 cDNA(42℃ 1 h,70℃ 10 min,然后置于冰上 5 min),cDNA 置于-20℃ 保存。使用时稀释 10 倍,按照反转录试剂盒(日本 TOYOBO)说明书进行 PCR 扩增,反应条件:95℃ 变性 5 min;变性 95℃ 15 s,退火 60℃ 20 s,延伸 72℃ 40 s,扩增定量程序 40 个循环。熔解曲线:60~95℃,加热速率为 0.1℃/s,内参基因为 GAPDH。每个样品均设 3 个复孔,重复实验 2 次。引物序列:nephrin 上游引物 5'-GCT GGC CCA TCA CTG TCA TT-3',下游引物 5'-TCA GTG ACT TTG TTC TTG TGC T-3';podocin 上游引物 5'-AAG AAG TCA AAG GCC

GGG AG-3',下游引物 5'-TCC ACA TTC ACT ACC GTG GC-3';GAPDH 上游引物 5'-GGC CTT CCG TGT TCC TAC C-3',下游引物 5'-CGC CTG CTT CAC CAC CTT C-3'。

1.2.4 电镜下观察足细胞的超微形态 肾组织标本用 PBS 洗涤后置于 EP 管,用 2.5% 戊二醛(磷酸缓冲液配制)固定 2 h;4℃ 冰箱内先后予以 50% 乙醇、70% 乙醇、90% 乙醇、90% 乙醇+90% 丙酮(1:1)、90% 丙酮脱水 15~20 min,再于室温下用 100% 丙酮脱水 3 次(每次 15~20 min);室温下纯丙酮+包埋液(2:1)放置 3 h,丙酮+包埋液(1:2)过夜,纯包埋液于室温下放置 3 h,37℃ 烘箱内过夜,45℃ 烘箱及 60℃ 烘箱内分别放置 12、24 h。用超薄切片机切成 50~60 nm 薄片,3% 醋酸铀-枸橼酸铅双染色。切片在透射电镜下观察、拍片。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 23.0 统计软件包进行分析,所有数据以  $\bar{x} \pm s$  表示。组间比较采用  $t$  检验,变量间相关性采用单因素相关分析。检验水准( $\alpha$ )为 0.05。

## 2 结果

2.1 各组血肌酐及尿酸水平的比较 结果(表 1)表明:两两相比,血肌酐水平差异均无统计学意义,血尿酸水平差异有统计学意义( $P<0.05$ )。

2.2 H-E 染色后观察各组肾小球病理表现 结果(图 1)表明:各组大鼠肾小球均未见明显病理学异常;轻微高尿酸组、高尿酸组肾小球系膜区有核细胞数略多。

表 1 各组间大鼠血肌酐及尿酸水平的比较

| $n=10, c_B/(\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$ |            |               |                        |                                |
|-------------------------------------------------|------------|---------------|------------------------|--------------------------------|
| 指标                                              | 对照组        | 轻微高尿酸组        | 高尿酸组                   | 别嘌醇干预组                         |
| 血肌酐                                             | 38.20±5.73 | 37.50±4.86    | 35.50±4.38             | 35.90±6.47                     |
| 血尿酸                                             | 65.04±5.26 | 106.87±11.00* | 147.23±25.75* $\Delta$ | 89.78±11.67* $\Delta$ $\nabla$ |

\*  $P<0.01$  与对照组相比; $\Delta$   $P<0.01$  与轻微高尿酸组相比; $\nabla$   $P<0.01$  与高尿酸组相比

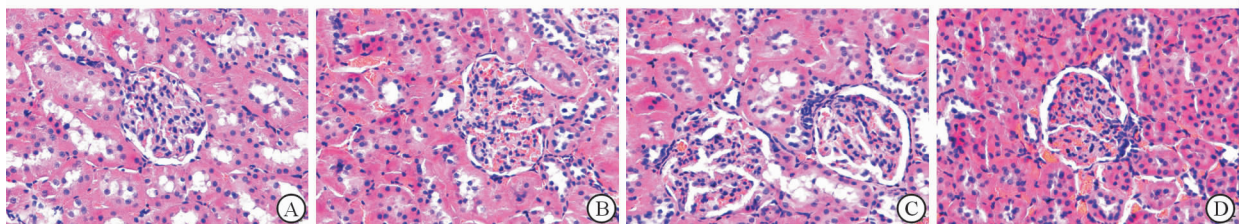


图 1 大鼠肾脏 H-E 染色结果

A: 对照组;B: 轻微高尿酸组;C: 高尿酸组;D: 别嘌醇干预组。Original magnification: ×200

2.3 免疫组化检测 Ang II、IL-6、SOD 在肾组织中的表达 结果(图 2、图 3)表明:Ang II 主要表达于肾小球系膜区,少量表达于肾小管上皮细胞;对照组、轻微高尿酸组、高尿酸组、别嘌醇干预组 Ang II 表达水平分别为  $0.19 \pm 0.04$ 、 $0.28 \pm 0.06$ 、 $0.37 \pm 0.09$ 、 $0.24 \pm 0.05$ 。IL-6 主要表达于肾小管上皮细胞,少量表达于肾小球;对照组、轻微高尿酸组、高

尿酸组、别嘌醇干预组 IL-6 的表达水平分别为  $0.22 \pm 0.02$ 、 $0.25 \pm 0.02$ 、 $0.29 \pm 0.04$ 、 $0.23 \pm 0.01$ 。SOD 在肾小球及肾小管内均表达;对照组、轻微高尿酸组、高尿酸组、别嘌醇干预组 SOD 的表达水平分别为  $0.30 \pm 0.05$ 、 $0.22 \pm 0.05$ 、 $0.18 \pm 0.03$ 、 $0.26 \pm 0.02$ 。各组两两比较 Ang II、IL-6、SOD 差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。

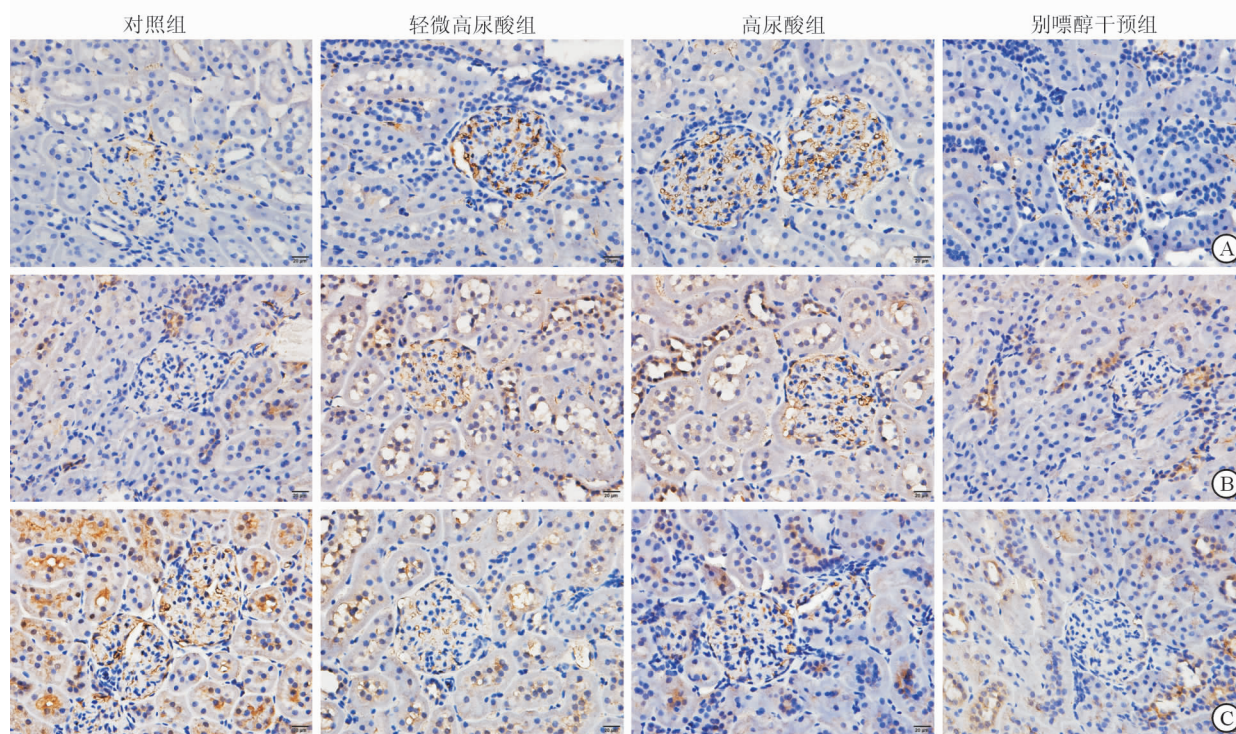


图 2 免疫组化检测各组肾组织 Ang II、IL-6、SOD 的表达

A: Ang II; B: IL-6; C: SOD. Original magnification:  $\times 200$

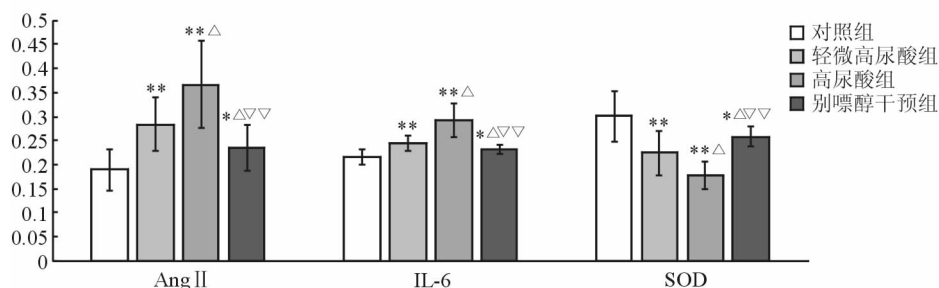


图 3 各组大鼠肾组织 Ang II、IL-6、SOD 表达的比较

\*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$  与对照组相比;  $\Delta$   $P < 0.05$  与轻微高尿酸组相比;  $\nabla$   $P < 0.01$  与高尿酸组相比

2.4 Western 印迹检测 nephrin、podocin 在肾组织中的表达 结果(图 4)表明:对照组、轻微高尿酸组、高尿酸组、别嘌醇干预组大鼠肾组织 nephrin 相对表达水平分别为  $0.49 \pm 0.03$ 、 $0.44 \pm 0.02$ 、 $0.38 \pm 0.04$ 、 $0.46 \pm 0.02$ , podocin 相对表达水平分别为  $0.36 \pm 0.03$ 、 $0.31 \pm 0.01$ 、 $0.28 \pm 0.03$ 、 $0.33 \pm 0.02$ , 各组间两两相比差异均有统计学意义( $P <$

$0.05$ )。

2.5 RT-PCR 法检测 nephrin mRNA、podocin mRNA 在肾组织中的表达 结果(图 5)表明:对照组、轻微高尿酸组、高尿酸组、别嘌醇干预组大鼠肾组织 nephrin mRNA 表达水平分别为  $1.02 \pm 0.05$ 、 $0.60 \pm 0.04$ 、 $0.48 \pm 0.03$ 、 $0.71 \pm 0.05$ , podocin mRNA 表达水平分别为  $0.99 \pm 0.03$ 、 $0.62 \pm 0.03$ 、

0.47±0.03、0.74±0.03, 各组间两两相比差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。

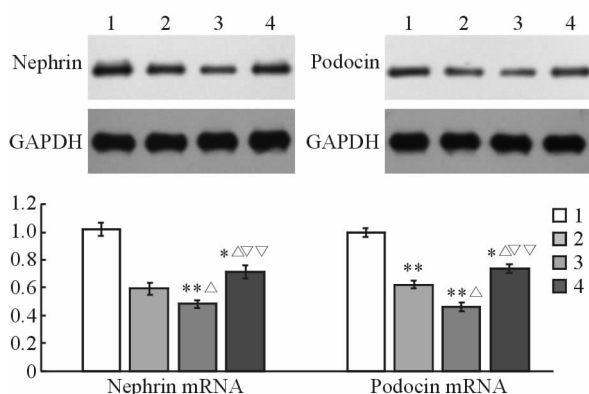


图 4 Western 印迹检测各组肾组织 nephrin、podocin 的表达

1: 对照组; 2: 轻微高尿酸组; 3: 高尿酸组; 4: 别嘌呤醇干预组。

\*  $P<0.05$ , \*\*  $P<0.01$  与对照组相比;  $\Delta$   $P<0.05$  与轻微高尿酸组相比;  $\nabla$   $P<0.01$  与高尿酸组相比

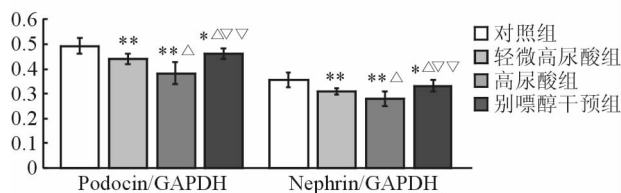


图 5 RT-PCR 法检测肾组织 nephrin、podocin 的表达

\*  $P<0.05$ , \*\*  $P<0.01$  与对照组相比;  $\Delta$   $P<0.05$  与轻微高尿酸组相比;  $\nabla$   $P<0.01$  与高尿酸组相比

2.6 电镜观察各组肾脏病理形态 结果(图 6)显示: 对照组肾小球基本正常, 系膜区少量电子致密物沉积, 足细胞未见明显病变, 肾小管上皮细胞未

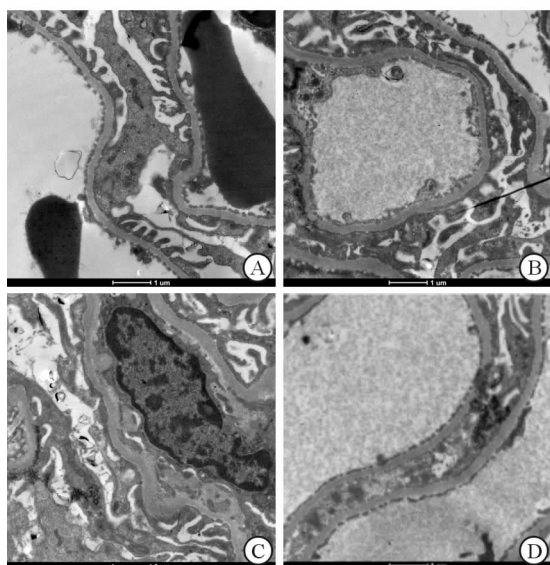


图 6 各组大鼠肾脏病理(电镜)

A: 对照组; B: 轻微高尿酸组; C: 高尿酸组; D: 别嘌呤醇干预组。

Original magnification:  $\times 1\,000$

见异常; 轻微高尿酸组肾小球基本正常, 足细胞形态基本正常, 有足突融合现象, 肾小管上皮细胞轻度萎缩; 高尿酸组肾小球系膜区增生、基质略增多, 足细胞胞体基本正常, 足突融合较明显, 高尔基体略肿胀, 肾小管上皮细胞肿胀、萎缩较明显; 别嘌呤醇干预组肾小球系膜略增生, 足细胞胞体基本正常, 部分足突有融合现象, 肾小管上皮细胞略肿胀。

2.7 相关性分析 结果(图 7)显示: 血尿酸水平与肾组织中 nephrin、podocin、SOD 的表达负相关, 而与肾组织中 Ang II 及 IL-6 的表达正相关。肾组织中 Ang II、IL-6 的表达与 nephrin、podocin 的表达负相关; 肾组织中 SOD 的表达与 nephrin、podocin 的表达正相关( $P<0.05$ )。

### 3 讨论

大量研究已证实高尿酸血症对肾脏存在损害作用。美国 Jackson 心脏研究<sup>[5]</sup>数据显示, 血尿酸增高与肾功能迅速下降及 CKD 发生相关。国内一项队列研究<sup>[6]</sup>显示, 血尿酸水平与估算肾小球滤过率(eGFR)下降和 CKD 发生的可能性增加独立相关。目前认为尿酸导致肾脏损害机制较为复杂, 尿酸盐沉积可能直接导致肾脏损害, 也可能通过小管-间质病变<sup>[7]</sup>、血管病变等引起肾脏损害。也有研究<sup>[8]</sup>表明, 尿酸升高是肾小球损伤的独立危险因素, 而不是肾小管损伤的独立危险因素。因此有必要进一步研究尿酸与肾小球病变之间的关系。

足细胞是肾小球内主要的固有细胞之一, 由细胞体、主突和足突组成。足细胞发生损害时, 其特异性蛋白如 nephrin、podocin 等出现表达异常<sup>[9]</sup>, 提示通过检测其表达情况可反映足细胞损伤程度。近年研究<sup>[10]</sup>表明, 足细胞损伤与肾小球疾病的进展关系密切, 是糖尿病肾病、IgA 肾病、狼疮性肾炎、局灶节段硬化性肾病综合征等多种肾脏病进展的重要机制之一。导致足细胞损伤的因素众多、机制复杂, 包括中毒、感染、血流动力学改变、代谢性因素(如高糖刺激、蛋白负荷过重)等。然而, 高尿酸血症是否与足细胞损伤有关, 目前鲜有研究。

本研究通过氧嗪酸钾灌胃的方法成功建立高尿酸血症大鼠模型。电镜观察各组大鼠肾小球足细胞病变, 可见高尿酸血症大鼠存在不同程度的足突融合, 且随着尿酸水平升高, 足突融合更趋严重。高尿酸血症大鼠肾小球足细胞内线粒体、高尔基体等细胞器也存在程度轻重不一的损害。本研究通

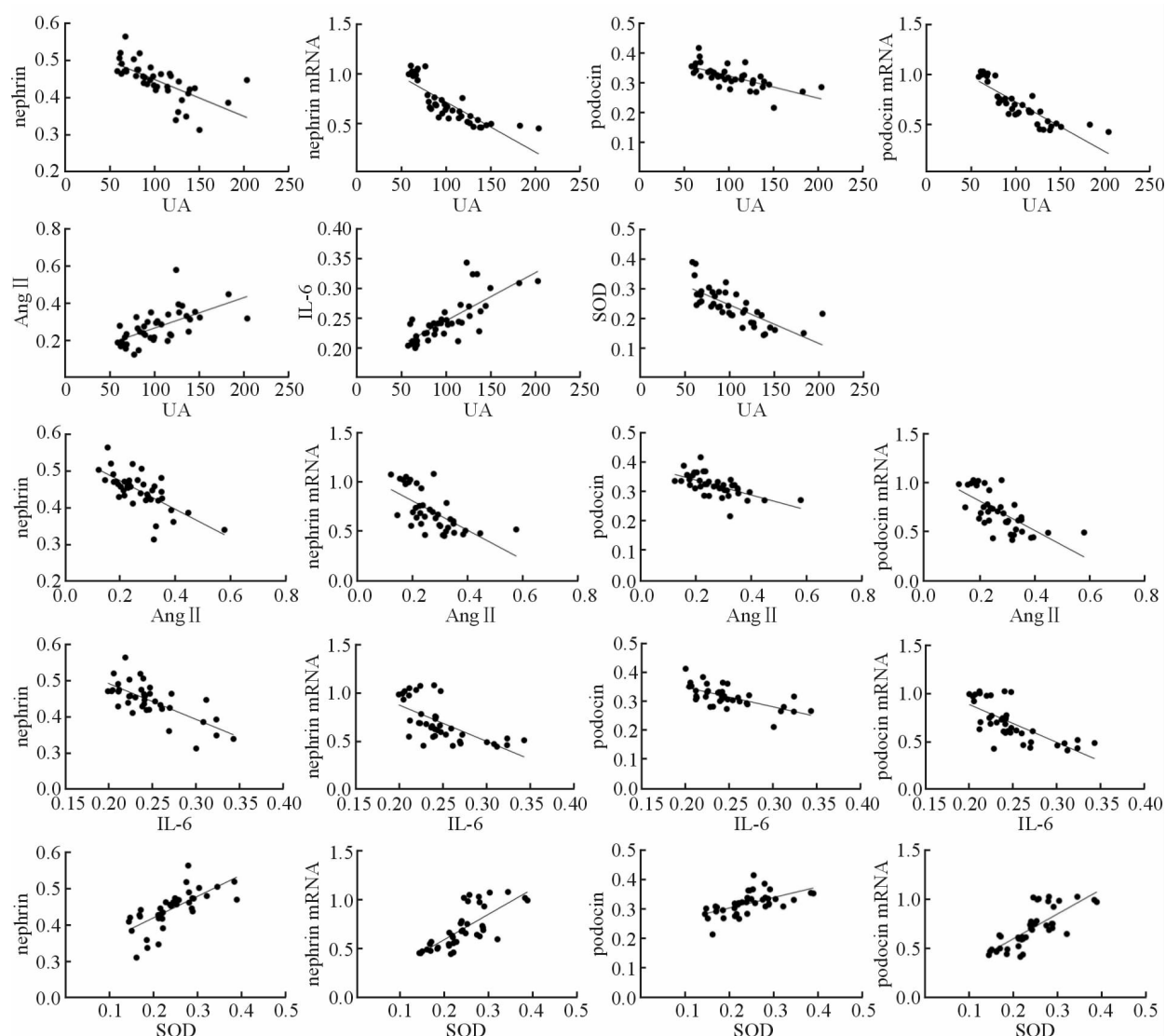


图 7 血尿酸水平与肾组织中各指标的相关性分析

过 Western 印迹及 RT-PCR 法发现,轻微高尿酸组、高尿酸组 nephrin、podocin 的表达均显著低于对照组,其中高尿酸组表达更低,别嘌醇干预血尿酸水平,nephrin、podocin 的表达回升。相关性分析显示,血尿酸水平与肾组织中 nephrin、podocin 的表达负相关。上述结果显示,高尿酸血症可造成足细胞损害,且血尿酸水平与足细胞损害严重程度有关。

进一步研究显示,轻微高尿酸组、高尿酸组肾组织 Ang II、IL-6 的表达较对照组增加,其中高尿酸组增加更明显,别嘌醇干预组肾组织 Ang II、IL-6 的表达水平回落;SOD 的表达水平呈相反变化,各组间比较差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。相关性分析显示,血尿酸水平与肾组织 Ang II、IL-6、SOD 的表达水平相关,而肾组织中 Ang II、IL-6、SOD 的表达水平与肾组织 nephrin、podocin 的表达亦相关。

上述结果提示,尿酸可通过活化 RAS 系统,促进微炎症状态及氧化应激,从而导致足细胞损害,且损害严重程度与尿酸水平、RAS 系统活性、微炎症状态、氧化应激水平正相关。

氧化应激反应是导致足细胞损伤的一个重要因素<sup>[11-13]</sup>。多项实验<sup>[14-15]</sup>已证实,通过降低氧化应激反应可改善肾小球足细胞损伤。氧化应激水平增强可通过扰乱内质网稳态、激活足细胞内质网应激进而导致足细胞损伤,自噬也参与其中<sup>[16]</sup>。RAS 系统活化也是导致足细胞损伤的重要机制之一<sup>[17]</sup>。RAS 系统活化可通过增加钙内流和活性氧的生成促进足细胞损伤,并可通过促进足细胞自噬、诱导足细胞肥大、增加细胞凋亡、改变肾小球基底膜表面电荷屏障等机制导致足细胞损伤<sup>[18-21]</sup>。肾脏局部微炎症反应水平可改善肾脏病变<sup>[22]</sup>。在某些病

理状态下,足细胞表面炎症因子表达异常,可加重足细胞损害及肾脏病理损伤<sup>[23]</sup>。

综上所述,本研究采用氧嗪酸钾灌胃的方法成功建立高尿酸血症大鼠模型,研究表明高尿酸血症可导致肾小球足细胞损害,且两者间存在线性相关,用别嘌醇降低血尿酸水平后,足细胞损害减轻。其可能机制包括高尿酸血症导致的氧化应激反应、RAS 活化、微炎症反应等。本研究进一步阐明了尿酸的肾毒性,并提示可通过调控体内氧化应激状态、RAS 活性、微炎症反应等措施来减轻尿酸所导致的足细胞损害、延缓 CKD 进展。然而,导致足细胞损伤的原因、机制众多,且不同原因、机制之间互相影响、互相作用,因此相关机制有待通过体外实验等进一步证实。

## 参考文献

- [1] 徐夏莲,许佳瑞,王一梅,等. 术前血尿酸水平对心脏手术后急性肾损伤发生的影响[J]. 中国临床医学,2019,26(3):450-455.
- [2] 王洪云,许冬梅. 慢性高尿酸血症肾损害发病机制的研究进展[J]. 国际泌尿系统杂志,2011,31(1):109-112.
- [3] 彭俊琼,袁伟杰,张威,等. 尿酸通过激活 p38 信号通路上调大鼠肾小球系膜细胞前列腺素 E2 的表达[J]. 中华肾脏病杂志,2013,29(6):454-457.
- [4] LI S, ZHAO F, CHENG S, et al. Uric acid-induced endoplasmic reticulum stress triggers phenotypic change in rat glomerular mesangial cells[J]. Nephrology (Carlton), 2013, 18(10):682-689.
- [5] MWASONGWE S E, FÜLÖP T, KATZ R, et al. Relation of uric acid level to rapid kidney function decline and development of kidney disease; The Jackson Heart Study[J]. J Clin Hypertens (Greenwich), 2018, 20(4):775-783.
- [6] YE M, HU K, JIN J, et al. The association between time-mean serum uric acid levels and the incidence of chronic kidney disease in the general population; a retrospective study[J]. BMC Nephrol, 2018, 19(1):190.
- [7] MILANESI S, VERZOLA D, CAPPADONA F, et al. Uric acid and angiotensin II additively promote inflammation and oxidative stress in human proximal tubule cells by activation of toll-like receptor 4[J]. J Cell Physiol, 2019, 234(7):10868-10876.
- [8] KONTA T, KAMEI K, ICHIKAWA K, et al. The association between serum uric acid and renal damage; The Takahata Study-New Insights[J]. Contrib Nephrol, 2018, 192:34-40.
- [9] CELLESI F, LI M, RASTALDI M P. Podocyte injury and repair mechanisms[J]. Curr Opin Nephrol Hypertens, 2015, 24(3):239-244.
- [10] 张丽萍,裴华颖,王建荣,等. 足细胞损伤对 IgA 肾病肾小球硬化的作用[J]. 中国临床医学,2008,15(3):395-396.
- [11] BHATTI A B, USMAN M. Drug targets for oxidative podocyte injury in diabetic nephropathy[J]. Cureus, 2015, 7(12):e393.
- [12] MO H, WU Q, MIAO J, et al. C-X-C chemokine receptor type 4 plays a crucial role in mediating oxidative stress-induced podocyte injury[J]. Antioxid Redox Signal, 2017, 27(6):345-362.
- [13] RAIJ L, TIAN R, WONG J S, et al. Podocyte injury: the role of proteinuria, urinary plasminogen, and oxidative stress[J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2016, 311(6):F1308-F1317.
- [14] LIU X, CAO W, QI J, et al. Leonurine ameliorates adriamycin-induced podocyte injury via suppression of oxidative stress[J]. Free Radic Res, 2018, 52(9):952-960.
- [15] WANG B, XU X, HE X, et al. Berberine improved aldosterone-induced podocyte injury via inhibiting oxidative stress and endoplasmic reticulum stress pathways both *in vivo* and *in vitro*[J]. Cell Physiol Biochem, 2016, 39(1):217-228.
- [16] YUAN Y, XU X, ZHAO C, et al. The roles of oxidative stress, endoplasmic reticulum stress, and autophagy in aldosterone/mineralocorticoid receptor-induced podocyte injury[J]. Lab Invest, 2015, 95(12):1374-1386.
- [17] CHEN L, CHEN D Q, WANG M, et al. Role of RAS/Wnt/ $\beta$ -catenin axis activation in the pathogenesis of podocyte injury and tubulo-interstitial nephropathy[J]. Chem Biol Interact, 2017, 273:56-72.
- [18] YACOB R, CAMPBELL K N. Inhibition of RAS in diabetic nephropathy[J]. Int J Nephrol Renovasc Dis, 2015, 8:29-40.
- [19] MÁRQUEZ E, RIERA M, PASCUAL J, et al. Renin-angiotensin system within the diabetic podocyte[J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2015, 308(1):F1-F10.
- [20] CAMPBELL K N, RAIJ L, MUNDEL P. Role of angiotensin II in the development of nephropathy and podocytopathy of diabetes[J]. Curr Diabetes Rev, 2011, 7(1):3-7.
- [21] MAO N, TAN R Z, WANG S Q, et al. Ginsenoside Rg1 inhibits angiotensin II-induced podocyte autophagy via AMPK/mTOR/PI3K pathway[J]. Cell Biol Int, 2016, 40(8):917-925.
- [22] XUE H Y, YUAN L, CAO Y J, et al. Resveratrol ameliorates renal injury in spontaneously hypertensive rats by inhibiting renal micro-inflammation [J]. Biosci Rep, 2016, 36(3):e00339.
- [23] 刘琳,陈茂盛,金娟,等. 雷公藤甲素对足细胞炎症反应及胞吞作用的研究[J]. 中国中西医结合肾病杂志,2018,19(2):105-108.

[本文编辑] 姬静芳