

自噬抑制急性肾损伤诱导急性肺损伤的分子机制

袁琦, 简禄勇, 郭华慧, 张星炜, 曹海虹, 黄仁发
(广州中医药大学深圳医院(福田)肾内科, 广东 深圳 518000)

摘要 **目的** 探讨自噬在急性肾损伤(AKI)诱导急性肺损伤(ALI)中的调节作用。**方法** 选取48只雄性Sprague-Dawley大鼠,按照随机数字表法分为假手术(sham)组、缺血再灌注损伤(IRI)组、3-甲基腺嘌呤(3-MA)组和雷帕霉素(RA)组。除sham组外,其余组均建立由IRI诱导的大鼠AKI模型。AKI模型的建立采取先切除右肾,再分离左肾动脉,动脉夹夹闭左肾动脉的方式,随后分别进行12、24、48和72 h的再灌注。3-MA组、RA组在IRI处理前后12 h通过腹腔注射3-MA(15 mg/kg, 1 mL)或RA(2 mg/kg, 1 mL),评估大鼠肺和肾脏组织的结构和功能情况,并测量自噬相关蛋白的表达水平、氧化应激水平和细胞凋亡水平。**结果** 肾IRI可导致AKI后ALI,血尿素氮(BUN)、肌酐(Cr)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)水平均显著升高;此外,与IRI组相比,RA组P62和caspase-3表达显著降低,LC3-II/LC3-I、Beclin-1、Bcl-2和ULK1表达增加。自噬能够通过抑制炎症和氧化应激,减少肾脏和肺组织的病理损伤,有效改善AKI诱导的ALI。**结论** 自噬在AKI诱导ALI的调节中起重要作用,可作为AKI治疗的新靶点,降低并发症的死亡率。

关键词 自噬; 凋亡; 急性肾损伤; 急性肺损伤; 缺血再灌注损伤

中图分类号 R231 **文献标志码** A **文章编号** 0258-4646(2024)06-0501-08

网络出版地址 <https://link.cnki.net/urlid/21.1227.R.20240529.1511.020>

DOI: 10.12007/j.issn.0258-4646.2024.06.004

Molecular mechanism whereby autophagy inhibits acute lung injury induced by acute kidney injury

YUAN Qi, JIAN Luyong, GUO Huahui, ZHANG Xingwei, CAO Haihong, HUANG Renfa

(Department of Nephropathy, Shenzhen Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine (Futian), Shenzhen 518000, China)

Abstract **Objective** This study aimed to explore the regulatory role of autophagy in acute kidney injury (AKI)-induced acute liver injury (ALI). **Methods** Forty-eight male Sprague-Dawley rats were randomly divided into four groups: sham operation group, IRI group, 3-MA group and RA group. Except for the sham operation group, a rat model of AKI induced by IRI was established in all groups. The AKI model was established by removing the right kidney, separating the left renal artery, and clamping the left renal artery, followed by reperfusion for 12, 24, 48, or 72 h. The 3-MA and RA groups were intraperitoneally injected with 3-MA (15 mg/kg, 1 mL) or RA (2 mg/kg, 1 mL) 12 h before and after IRI treatment. The structure and function of the rat lung and kidney tissues were evaluated, and the expression levels of autophagy-related proteins, oxidative stress, and apoptosis were measured. **Results** Renal IRI led to ALI after AKI, and the levels of blood urea nitrogen, creatinine, tumor necrosis factor- α , and interleukin-1 β were all significantly increased. In addition, compared to the IRI group, the expression levels of P62 and caspase-3 significantly decreased in the RA group, whereas the expression levels of LC3-II/LC3-I, Beclin-1, Bcl-2, and ULK1 increased. Autophagy reduced pathological damage to kidney and lung tissues by inhibiting inflammation and oxidative stress and effectively ameliorated AKI-induced ALI. **Conclusion** Autophagy plays an important role in the regulation of ALI induced by AKI and can be used as a new target for AKI treatment and to reduce complication-related mortality.

Keywords autophagy; apoptosis; acute kidney injury; acute lung injury; ischemic reperfusion injury

急性肾损伤(acute kidney injury, AKI)的发病机制涉及多种应激因素,包括缺氧、炎症、氧化剂损伤

和其他破坏性损伤^[1]。缺血-再灌注损伤(ischemia reperfusion injury, IRI)是AKI最常见的病理生理过程,能够诱导炎症细胞的募集。随着大量炎症细胞因子的释放,炎症级联反应启动并参与了AKI的发生和发展^[2]。急性肺损伤(acute lung injury, ALI)的肺泡上皮和毛细血管内皮的最初损伤是炎症细胞因子传播导致高渗透性肺泡组织、炎症细胞因子释放入血,引起继发性器官损伤,从而推动ALI的发

基金项目: 广东省自然科学基金(2020A1515010566); 深圳市科学技术研究开发基金(JCYJ20190809102413156)

作者简介: 袁琦(1997-),女,医师,硕士。

通信作者: 黄仁发, E-mail: huangrenfa1972@163.com

收稿日期: 2023-07-14

网络出版时间: 2024-05-31 11:22:07

生^[3]。本研究旨在探讨器官间的串扰机制,进一步为AKI-ALI及多器官损伤的治疗寻找新的靶点。

通过降解受损的线粒体,自噬可以显著维持线粒体的稳态,这与肾细胞的存活和肾功能的稳定密切相关^[4]。自噬的增强能有效地削弱脓毒症诱导的ALI模型和IRI肺组织的炎症和氧化应激,提示自噬通过抗炎和抗氧化作用参与了ALI的过程^[5],基于此,本研究假设自噬通过炎症和氧化应激在AKI诱导ALI的发展中起作用,并通过研究肾脏和肺组织中与自噬相关的蛋白质水平,来确定自噬在AKI诱导ALI中的具体作用机制。

1 材料与方法

1.1 试剂及抗体

3-MA为自噬的抑制剂^[6],RA为自噬的诱导剂^[7];白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)和髓过氧化物酶(myeloperoxidase, MPO)用于ELISA实验测定炎症及氧化应激水平;Beclin-1、Bcl-2、LC3- II /LC3- I、ULK1、P62、caspase-3抗体用于免疫组织化学和Western blotting检测。

1.2 方法

1.2.1 动物分组及处理:48只成年雄性Sprague-Dawley大鼠,体重(200 \pm 20)g,购自广东省医学实验动物中心[动物许可证编号为SCXK(广东)2018-0002]。大鼠饲养于中国科学院动物实验所(广州中医药大学),标准动物房饲养,温度为(25 \pm 2) $^{\circ}$ C,湿度为(55 \pm 5)%,12 h的光/暗循环,所有大鼠不受限制地摄入标准饮食和水,均经适应性饲养1周后投入实验。将大鼠随机分为假手术组(sham组)、缺血再灌注损伤组(IRI组)、3-甲基腺嘌呤组(3-MA组)和雷帕霉素组(RA组),每组12只;3-MA组、RA组在IRI处理前后12h通过腹腔注射3-MA(15 mg/kg, 1 mL)或RA(2 mg/kg, 1 mL),用等体积的生理盐水处理sham组和IRI组。

1.2.2 IRI致AKI大鼠模型的建立:通过腹腔注射2%戊巴比妥钠(0.3 mL/100 g)麻醉大鼠,双侧腹部切口充分暴露双侧肾蒂血管,切除并收集右肾作为对照。稳定10 min后分离并使用无创性微血管夹左肾

动脉,观察肾脏颜色由鲜红色变为苍白,再变为暗红色^[8]。60 min后松开血管夹恢复灌注,肾脏颜色再次转为鲜红色。待肾脏血流恢复后,逐层缝合腹部伤口。sham组的大鼠进行相同的手术操作,但不夹闭左肾血管。在手术过程中,大鼠均放置在37 $^{\circ}$ C恒温台上。分别于再灌注后12、24、48和72 h,麻醉后处死,收集腹主动脉血和支气管肺泡灌洗液。

1.2.3 样本保存:于4 $^{\circ}$ C以3 000 r/min分离腹主动脉血和肺泡灌洗液,离心后取血清和上清液冷冻于-80 $^{\circ}$ C冰箱。肺和肾脏的组织样本被冷冻保存在液氮中用于后续实验。本研究中用于动物实验的所有实验程序均符合广州中医药大学动物伦理委员会的规范要求(批准号:20201011002)。实验动物在解剖取样前麻醉,实验结束后处死。

1.3 实验步骤

1.3.1 肺组织干湿比重的评估:肺含水量(%)=(湿重-干重)/湿重 \times 100。收集右肺部分用于计算肺含水量。

1.3.2 肾功能评估:使用生化自动分析仪(德国罗氏COBAS C501)检测血尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)和血肌酐(creatinine, Cr)水平。

1.3.3 炎性细胞因子及氧化应激标志物的检测:使用ELISA试剂盒(J&L Biomedical公司,上海,中国)分析血清及肺泡灌洗液中IL-1 β 、TNF- α 、SOD、MDA和MPO水平,具体操作按照试剂盒说明书进行。

1.3.4 组织学和超微结构观察:使用PAS染色试剂盒对肾脏组织切片进行染色。生物显微镜下观察组织损伤程度。呈现毛刷样消失、空泡化、管型形成、肾小管扩张和破裂、细胞裂解和细胞坏死等组织病理学变化的肾脏组织判定为损伤。由病理学家以盲法检查组织损伤并按损伤小管的百分比进行评分。使用HE染色试剂盒对肺组织切片进行染色。根据中性粒细胞浸润和肺结构的变化情况对组织病理学变化进行评分^[9]。为了分析超微结构和更直观观察自噬体情况,将样品聚合、切割并在透射电子显微镜(TECNA-10,荷兰Philips公司)下观察。

1.3.5 TUNEL细胞凋亡分析:石蜡包埋的肾脏和肺组织切片用原位凋亡检测试剂盒(北京ROCHE公司)染色,通过计数TUNEL阳性细胞评估肾脏和肺组织的凋亡情况,计算凋亡率(%)=阳性细胞数/细胞总数 \times 100。

1.3.6 免疫组织化学染色:通过免疫组织化学染色检测肾脏和肺组织中ULK1、Beclin-1、P62、Bcl-2、caspase-3、LC3- II/LC3- I 蛋白表达水平;肾脏和肺组织石蜡包埋后脱蜡至水,10%过氧化氢酶处理10 min以阻断内源性过氧化物酶的活性,柠檬酸缓冲液(pH6)中煮沸样品1.5 min,随后静置3 min,进行抗原修复,冷却后加入一抗37 °C恒温箱中孵育2 h。免疫组织化学染色的一抗分别为ULK1 (1 : 300)、Beclin-1 (1 : 200)、P62 (1 : 200)、Bcl-2 (1 : 100)、caspase-3 (1 : 100) 和LC3- II/LC3- I (1 : 100) (武汉博士得公司)。孵育结束后 PBS 洗涤,继续在37 °C恒温下加入二抗(1 : 5 000)孵育30 min,孵育结束后 PBS 洗涤。与3,3'-二氨基联苯胺反应,并用苏木精复染后显示,二甲苯透明。最后,使用生物显微镜观察,Image J软件对肾脏和肺组织进行半定量分析。

1.3.7 Western blotting检测:提取各实验组组织的总蛋白,BCA法检测蛋白浓度:根据分子量大小调配不同浓度的分离胶,上样后电泳分离,湿转膜法进行转膜。10%脱脂奶粉室温下封闭1 h,TBST洗膜后,一抗4 °C摇床孵育过夜(一抗同上),TBST洗膜后加入二抗封膜,室温摇床孵育1 h,TBST洗膜,使用ECL发光试剂盒检测蛋白质表达水平,ImageJ软件测定各显色条带灰度值。

1.4 统计学分析

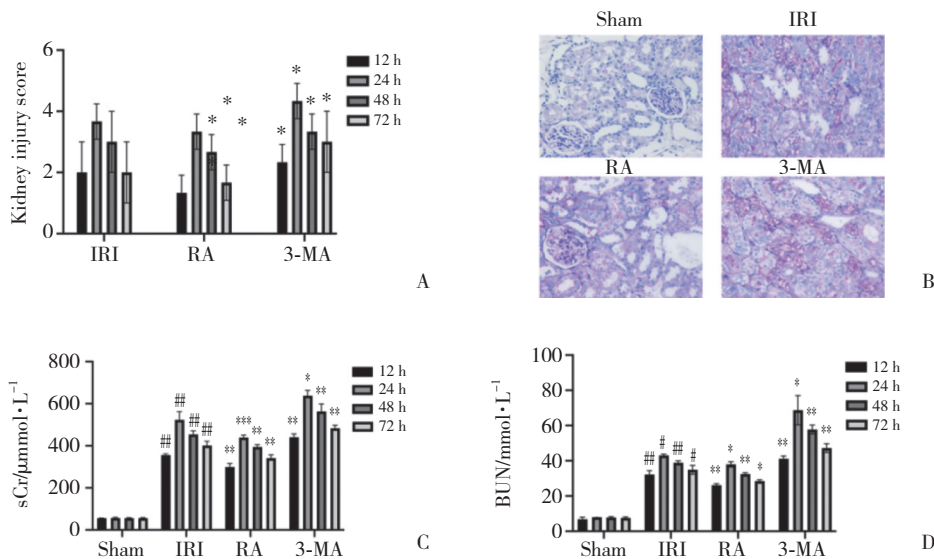
采用SPSS 26.0软件进行统计分析,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。配对t检验用于比较组内平均值,组间比较采用单因素方差分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 肺和肾脏组织功能评估

与sham组相比,IRI组大鼠再灌注后BUN和Cr水平均显著升高($P < 0.05$),并且两者均在24 h达到峰值。此外,与IRI组的大鼠相比,3-MA组和RA组的大鼠表现出显著的高和低BUN和Cr水平($P < 0.05$)。大鼠肾脏病理切片结果显示,sham组中肾小球和肾小管结构完整,IRI组出现实质性病理变化,包括肾小管间质损伤,近端小管刷状缘的消失以及肾间质炎症细胞的浸润等,对肾损伤的程度进行评分,结果显示,sham组肾损伤评分为0,与IRI组相比,3-MA组肾脏损伤评分显著升高,RA组肾脏组织病理学半定量评分显著降低(均 $P < 0.05$)。见图1。

与sham组大鼠相比,IRI组大鼠W/D比值明显升高(均 $P < 0.05$)。与IRI组大鼠相比,3-MA组大鼠W/D比值上升,RA组W/D比值下降(均 $P < 0.01$)。此外,sham组肺组织未见明显炎症细胞浸润及组织损伤,评分为0,IRI组大鼠肺泡腔内有少量炎症细胞浸润,肺泡间隔轻度增宽,肺组织损伤评分显著升高;



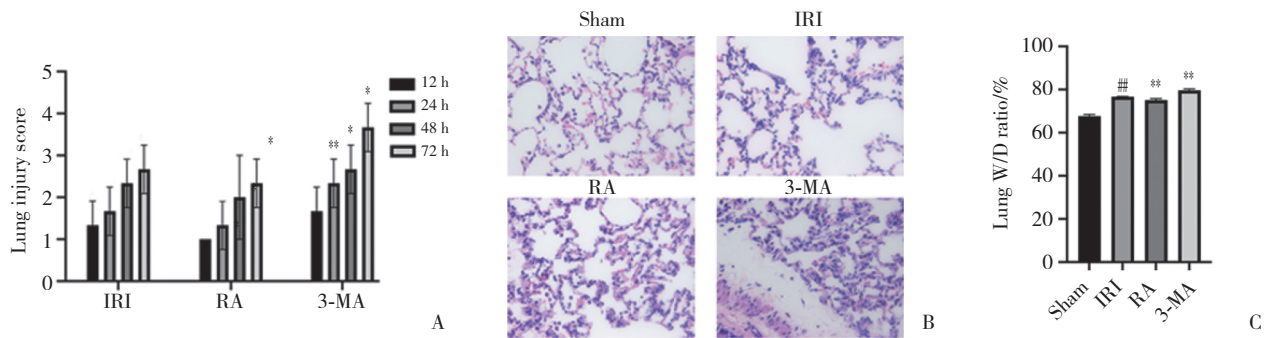
A, results of semi-quantitative scores according to PAS staining of the kidney; B, representative images showing the results of PAS staining of the kidney tissues at 24 h (×200); C, Cr content of rats in each group at each time point; D, BUN content of rats in each group at each time point. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ vs. IRI group; # $P < 0.05$, ### $P < 0.01$ vs. sham group.

图1 肾脏组织功能评估

Fig.1 Evaluation of renal tissue function

与IRI组的大鼠相比,3-MA组的大鼠表现为大量炎症细胞浸润,肺组织损伤加重,组织损伤评分显著

升高,而RA组则表现为相反结果(均 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。见图2。



A, results of semi-quantitative scores according to HE staining of the lungs; B, representative images showing HE staining of lung tissues at 24 h ($\times 200$); C, lung water content of rats in each group at 24 h. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs. IRI group; ## $P < 0.01$ vs. sham group.

图2 肺组织功能评估

Fig.2 Evaluation of lung tissue function

2.2 自噬对炎症和氧化应激的影响

与sham组大鼠相比,IRI组的大鼠血清以及肺泡灌洗液中炎症细胞因子IL-1 β 和TNF- α 显著升高(均 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);与IRI组相比,3-MA组炎症细胞因子显著增加,RA组显著减少(均 $P < 0.05$ 或 $P <$

0.01)。IRI组血清和肺泡灌洗液中MDA和MPO与sham组相比显著升高;与IRI组相比,3-MA组氧化应激因子MDA和MPO显著增加,RA组显著减少,SOD水平则表现出相反趋势(均 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。见表1。

表1 各组大鼠炎症细胞因子和氧化应激的水平 ($\bar{x} \pm s$)

Tab.1 Levels of inflammatory cytokines and oxidative stress in each group ($\bar{x} \pm s$)

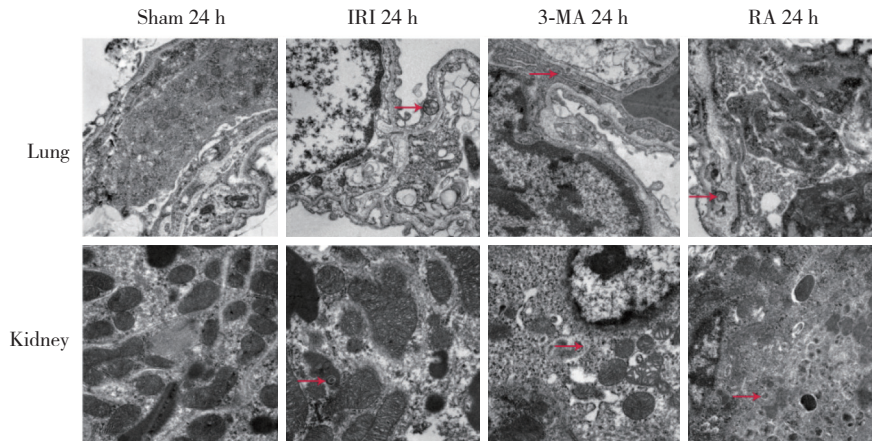
Index	Sham group	IRI group	RA group	3-MA group
Serum				
TNF- α (pg/mL)	35.03 \pm 4.53	217.39 \pm 14.28 ¹⁾	197.24 \pm 14.15 ²⁾	275.99 \pm 19.04 ²⁾
IL-1 β (pg/mL)	48.50 \pm 9.72	265.16 \pm 14.26 ¹⁾	226.34 \pm 10.71 ²⁾	319.07 \pm 13.07 ²⁾
SOD (U/mL)	298.10 \pm 8.20	58.38 \pm 12.73 ¹⁾	200.38 \pm 19.64 ²⁾	21.87 \pm 3.77 ²⁾
MDA (U/mL)	10.28 \pm 2.74	51.65 \pm 1.78 ¹⁾	40.41 \pm 3.03 ²⁾	64.54 \pm 3.64 ²⁾
MPO (U/mL)	35.04 \pm 12.18	265.00 \pm 15.08 ¹⁾	233.92 \pm 8.44 ²⁾	328.02 \pm 13.18 ²⁾
BALF				
TNF- α (pg/mL)	22.72 \pm 4.67	114.43 \pm 7.51 ¹⁾	87.22 \pm 7.35 ²⁾	128.78 \pm 10.67 ²⁾
IL-1 β (pg/mL)	2.90 \pm 0.69	26.32 \pm 1.52 ¹⁾	25.42 \pm 2.30 ²⁾	30.50 \pm 2.07 ²⁾
SOD (U/mL)	40.34 \pm 10.01	10.61 \pm 2.32 ¹⁾	36.43 \pm 3.57 ²⁾	3.97 \pm 0.69 ²⁾
MDA (U/mL)	6.76 \pm 2.33	30.96 \pm 1.07 ¹⁾	24.22 \pm 1.81 ²⁾	38.59 \pm 2.08 ²⁾
MPO (U/mL)	20.65 \pm 8.19	160.77 \pm 7.23 ¹⁾	158.51 \pm 9.41 ²⁾	204.23 \pm 12.81 ²⁾

1) $P < 0.01$ vs. sham group; 2) $P < 0.05$ vs. IRI group.

2.3 自噬与凋亡对AKL诱导ALI的影响

与IRI组大鼠相比,sham组大鼠组织中几乎没有观察到自噬体,RA组大鼠组织中自噬体显著增加,3-MA组大鼠组织中自噬体数量显著减少,组织损伤最为严重,所有时间点的趋势均一致。见图3。

TUNEL结果显示,sham组几乎未见TUNEL阳性细胞,IRI组肾脏和肺组织中TUNEL阳性细胞的比例显著增加,并在术后24 h达到高峰(均 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与IRI组相比,3-MA组凋亡细胞比例显著升高,RA组TUNEL阳性细胞比例显著降低(均 $P < 0.05$



Red arrows indicate the autophagosome.

图3 肺和肾脏组织中自噬体情况 ×2 500

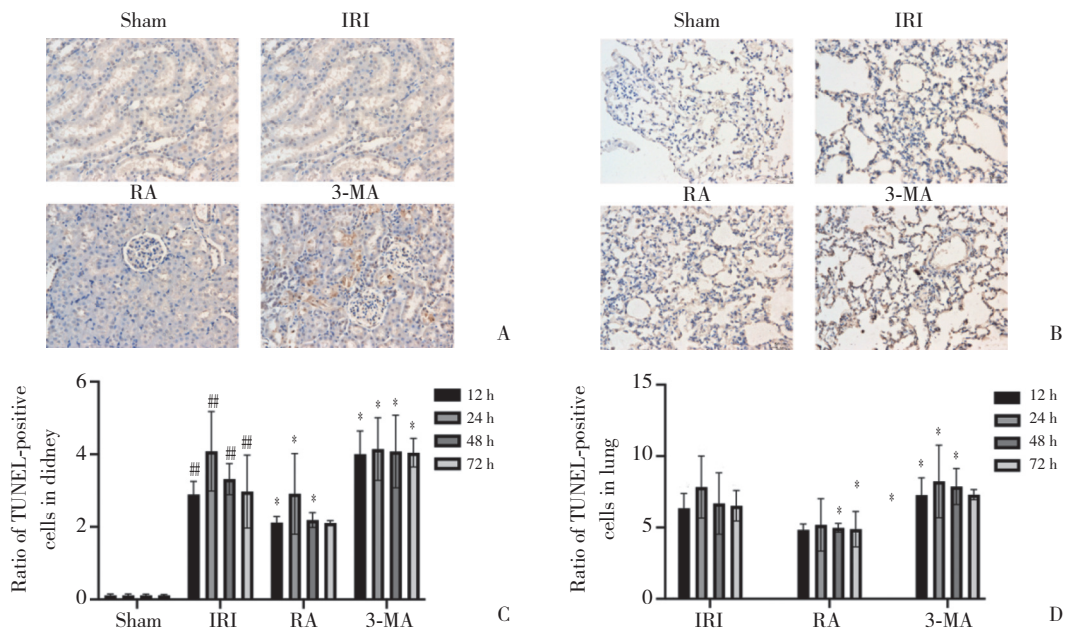
Fig.3 Autophagy in lung and kidney tissues ×2 500

或 $P < 0.01$)。TUNEL阳性细胞多出现在肾皮质及全部肺组织。见图4。

2.4 自噬对肾脏和肺组织细胞的影响以及凋亡的影响

免疫组织化学和Western blotting分析结果显示,与sham组大鼠相比,任何时间点IRI组大鼠ULK1、LC3- II /LC3- I 和Beclin-1蛋白表达均上调(均 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与IRI组的大鼠相比,RA组的大鼠ULK1、LC3- II /LC3- I 和Beclin-1蛋白表达上调,3-MA组以上蛋白表达下调,P62则表达为相反的趋势(均 $P <$

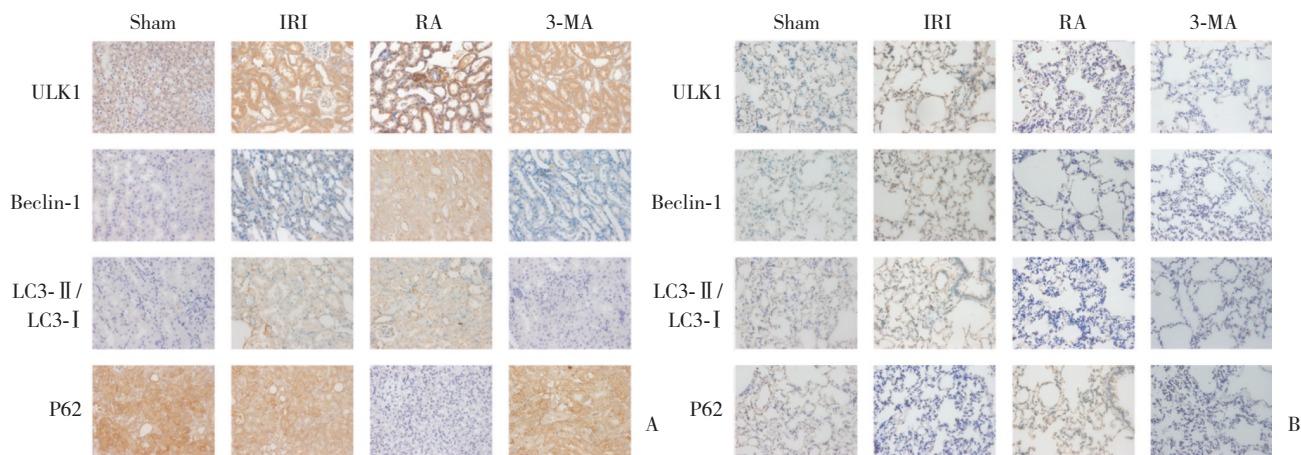
0.05或 $P < 0.01$)。这些结果表明IRI能诱导自噬,RA能激活自噬,3-MA能有效地抑制自噬,由于24 h肾脏损伤存在峰值,因此选择24 h图像进行表述。见图5、6。凋亡方面,免疫组织化学和Western blotting分析显示,与IRI组相比,在任何时间点RA组的Bcl-2表达显著上调,而caspase-3的表达显著下调;3-MA能够显著抑制caspase-3的降解,并抑制Bcl-2的表达(均 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。以上结果表明,促进自噬可抑制凋亡,而抑制自噬会促进细胞凋亡的发生。见图7。



A and B, representative images showing TUNEL-positive cells in the kidney and lung tissues at 24 h (×200); C and D, ratio of TUNEL-positive cells in the kidney and lung tissues. ### $P < 0.01$ vs. sham group; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, vs. IRI group.

图4 凋亡细胞的数量及分布情况

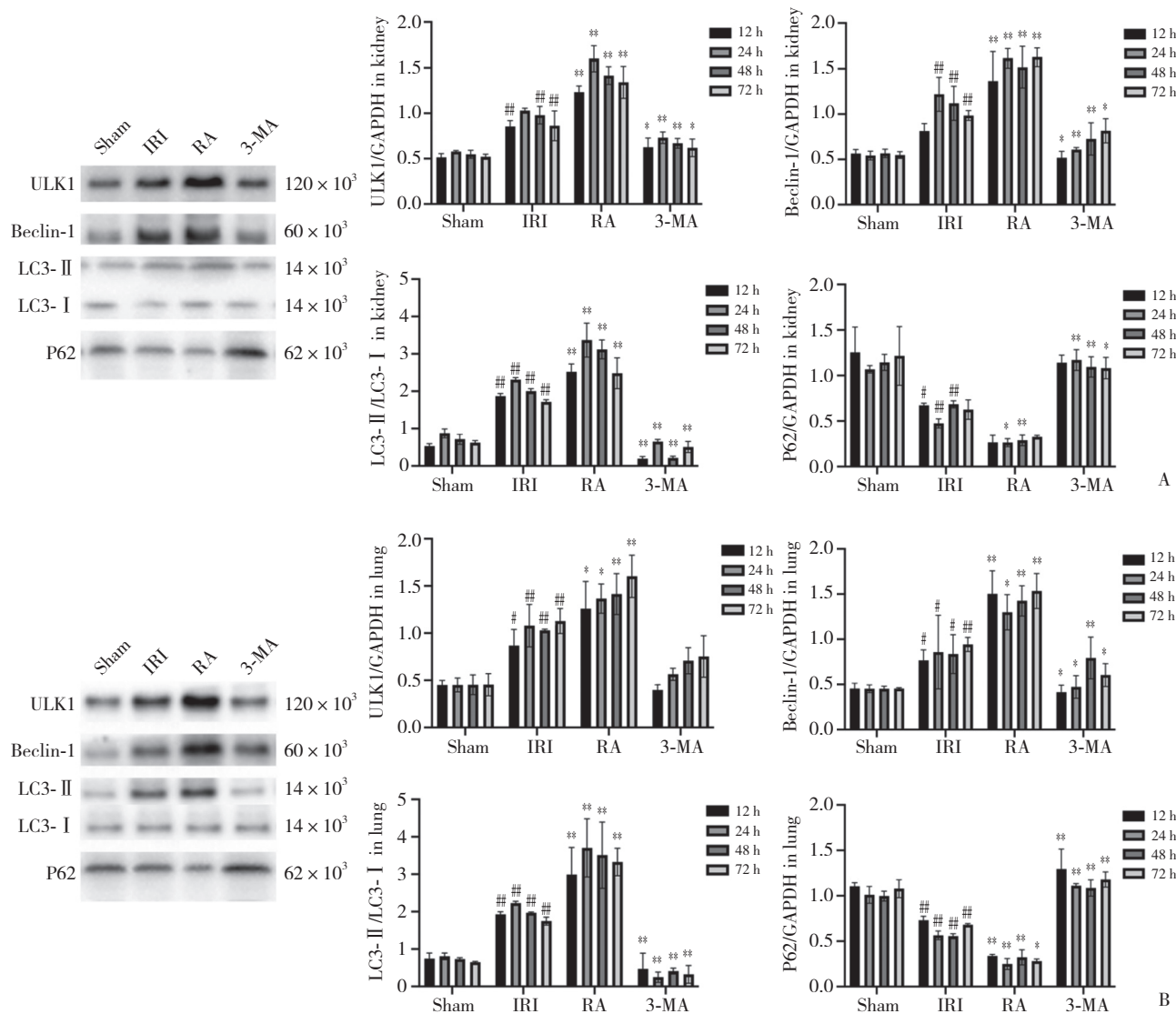
Fig.4 Quantity and distribution of apoptotic cells



A, representative images showing the IHC results of kidney tissues; B, representative images showing the IHC results of lung tissues.

图5 自噬相关蛋白表达水平免疫组织化学结果 × 400

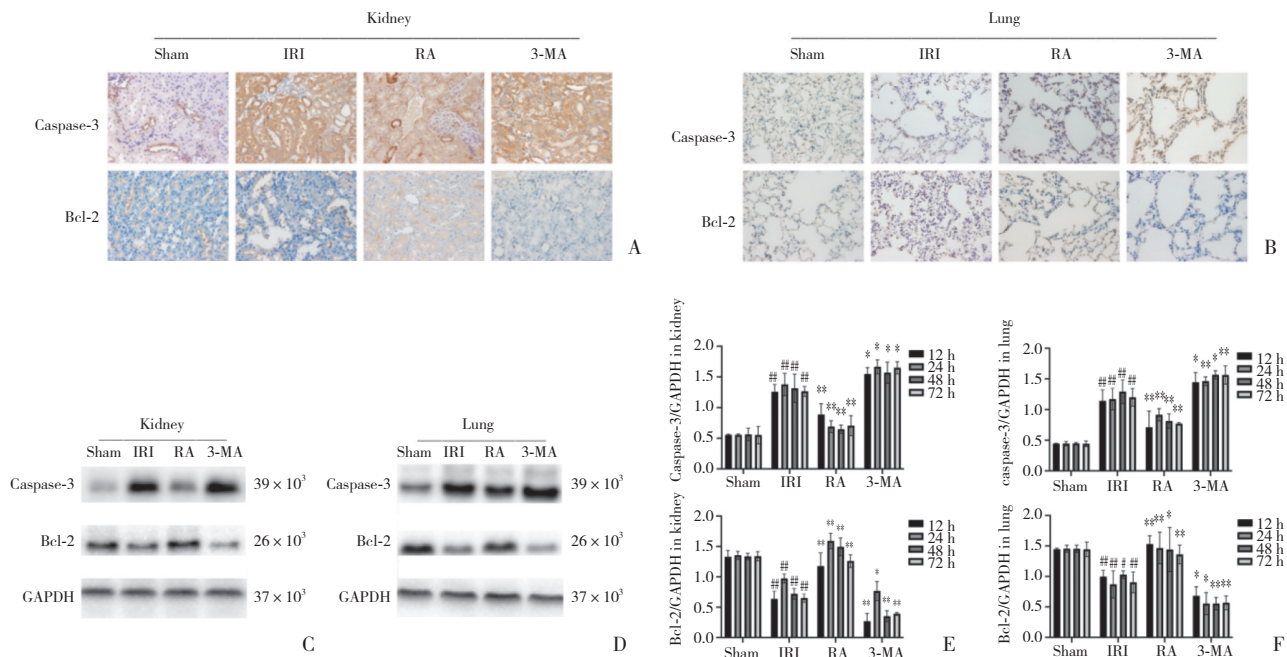
Fig.5 Expression level of autophagy-related proteins by immunohistochemistry × 400



A, Western blotting images and relative expression levels of ULK1, Beclin-1, LC3- II/LC3- I, and P62 in the kidney; B, Western blotting images and relative expression levels of ULK1, Beclin-1, LC3- II/LC3- I, and P62 in the lung. # $P < 0.05$; ## $P < 0.01$ vs. sham group; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs. IRI group.

图6 自噬相关蛋白表达水平Western blotting结果

Fig.6 Expression levels of autophagy-related proteins by Western blotting



A and B, representative images showing the expression levels of apoptosis-associated proteins in the kidney and lung tissues after IRI using immunohistochemistry (× 400); C and D, representative blots showing the expression levels of Bcl-2 and caspase-3 proteins in the kidney and lung tissues after IRI; E and F, relative expression levels of Bcl-2 and caspase-3 in kidney and lung tissues. #*P* < 0.05; ##*P* < 0.01 vs. sham group; **P* < 0.05, ***P* < 0.01 vs. IRI group.

图7 免疫组织化学和Western blotting凋亡相关蛋白表达情况

Fig.7 Expression levels of apoptosis-related proteins by immunohistochemistry and Western blotting

3 讨论

AKI是临床上常见的一种急危重症,会导致全身释放的促炎细胞因子显著增加,从而引起广泛的细胞损伤、组织损伤,以及远隔器官损伤。ALI是与AKI相关的最易出现及最严重的远隔器官功能障碍之一^[10]。既往研究^[11-12]证实,自噬可以保护AKI大鼠,减少肾脏损伤。本研究结果显示,自噬可以通过减少炎症和氧化应激来降低IRI后的肾脏损伤水平,同时,自噬的上调改善了细胞凋亡状况,AKI诱导的ALI也随之得到改善。由此可见,自噬可以通过抑制炎症、氧化应激和细胞凋亡来保护大鼠免受AKI诱导的ALI。

自噬的调控机制复杂,其启动的标志为自噬体的形成,启动过程主要依赖于ULK1复合物^[13],ULK1激酶活性主要由mTORC1和AMPK调控^[14]。Beclin-1能够参与机体的自噬凋亡炎症等反应,是这些通路的主要协调分子和中心环节。自噬程度的变化可以通过LC3-Ⅱ在一段时间的积累量来准确衡量,P62在自噬的初始阶段,对于错误折叠蛋白质形

成的聚集体的自噬降解途径起重要作用。有研究^[15]表明,自噬的激活与LC3-Ⅱ/LC3-Ⅰ比值呈正相关,与P62的表达呈负相关。本研究中,RA组Beclin-1、ULK1和LC3-Ⅱ/LC3-Ⅰ的表达增加,而P62的表达减少,联合透射电镜结果以及肺肾损伤指标提示,RA能促进自噬,减轻IRI引起的肺和肾脏的损害。在3-MA组中这些蛋白的表达显示出相反的趋势,表明抑制自噬对肺和肾脏的损伤有促进作用。

炎症和氧化应激是AKI诱导的器官损伤的主要原因。IRI后肾脏产生大量活性氧物质,MDA的表达增加。一旦超过抗氧化酶如SOD的清除能力,就会引起肾小管上皮细胞和肺内皮细胞的凋亡^[16]。因此,MDA的增加和SOD的减少表明氧化应激和细胞凋亡的增加。研究^[17]表明,IRI可诱导TNF-α的分泌,从而增加炎症细胞因子如IL-6、IL-8、单核细胞趋化蛋白-1的产生,并激活炎症反应,中性粒细胞弹性蛋白酶是ALI中炎症级联反应的最终效应器,与IL-1β存在正相关^[18]。本研究结果显示,3-MA组IL-1β、TNF-α以及氧化应激的标志物表达显著升高,SOD的表达显著降低。由此推断,促进自噬降低了IRI后

肺和肾脏中氧化损伤和炎症反应的水平,并在肺和肾脏的损伤中发挥了保护作用。

自噬和凋亡可能由共同的上游信号触发,这些信号会导致自噬和凋亡的结合。caspase-3负责多种细胞内蛋白质的蛋白水解降解的最终执行^[19]。Bcl-2蛋白家族的成员负责细胞凋亡的调节,并对内源性和外源性细胞凋亡途径的调节至关重要^[20]。Bcl-2可以与Beclin-1结合参与细胞凋亡过程。当促进自噬时,细胞凋亡的程度也会相应降低。本研究结果显示,caspase-3的减少、Bcl-2和Beclin-1的增加,代表促进自噬时肺和肾脏组织中的凋亡表达减少,由此推测自噬不仅通过抗炎和抗氧化在肺和肾脏沟通中发挥作用,还在抑制细胞凋亡中起保护作用。

综上所述,自噬可以对IRI诱导的AKI及随后诱导的ALI起到保护作用,其机制可能是通过对炎症、氧化应激和细胞凋亡等实现。本研究可为自噬治疗ALI及随后产生的并发症奠定理论基础,为开发AKI的治疗药物提供实验依据及新的研究思路。

参考文献:

- [1] SU LJ, ZHANG JH, GOMEZ H, et al. Mitochondria ROS and mitophagy in acute kidney injury [J]. *Autophagy*, 2023, 19 (2) : 401-414. DOI: 10.1080/15548627.2022.2084862.
- [2] WANG YN, LIU HB, SUN N, et al. Irisin: a promising target for ischemia-reperfusion injury therapy [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2021, 2021 : 5391706. DOI: 10.1155/2021/5391706.
- [3] KHAMISSI FZ, NING L, KEFALOYIANNI E, et al. Identification of kidney injury released circulating osteopontin as causal agent of respiratory failure [J]. *Sci Adv*, 2022, 8 (8) : eabm5900. DOI: 10.1126/sciadv.abm5900.
- [4] BHATIA D, CHUNG KP, NAKAHIRA K, et al. Mitophagy-dependent macrophage reprogramming protects against kidney fibrosis [J]. *JCI Insight*, 2019, 4 (23) : e132826. DOI: 10.1172/jci.insight.132826.
- [5] MENG L, ZHAO X, ZHANG HX. HIPK1 interference attenuates inflammation and oxidative stress of acute lung injury via autophagy [J]. *Med Sci Monit*, 2019, 25 : 827-835. DOI: 10.12659/MSM.912507.
- [6] LIU H, LEI H, SHI Y, et al. Autophagy inhibitor 3-methyladenine alleviates overload-exercise-induced cardiac injury in rats [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2017, 38 (7) : 990-997. DOI: 10.1038/aps.2016.169.
- [7] ZHAO J, WANG HG, YANG HJ, et al. Autophagy induction by rapamycin ameliorates experimental colitis and improves intestinal epithelial barrier function in IL-10 knockout mice [J]. *Int Immunopharmacol*, 2020, 81 : 105977. DOI: 10.1016/j.intimp.2019.105977.
- [8] SAKAI KJ, NOZAKI Y, MURAO Y, et al. Protective effect and mechanism of IL-10 on renal ischemia-reperfusion injury [J]. *Lab Invest*, 2019, 99 (5) : 671-683. DOI: 10.1038/s41374-018-0162-0.
- [9] OZDULGER A, CINEL I, KOKSEL O, et al. The protective effect of N-acetylcysteine on apoptotic lung injury in cecal ligation and puncture-induced sepsis model [J]. *Shock*, 2003, 19 (4) : 366-372. DOI: 10.1097/00024382-200304000-00012.
- [10] TEIXEIRA JP, AMBRUSO S, GRIFFIN BR, et al. Pulmonary consequences of acute kidney injury [J]. *Semin Nephrol*, 2019, 39 (1) : 3-16. DOI: 10.1016/j.semnephrol.2018.10.001.
- [11] JI J, ZHOU XS, XU P, et al. Deficiency of apoptosis-stimulating protein two of p53 ameliorates acute kidney injury induced by ischemia reperfusion in mice through upregulation of autophagy [J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 23 (4) : 2457-2467. DOI: 10.1111/jcmm.14094.
- [12] GONG L, PAN QJ, YANG NL. Autophagy and inflammation regulation in acute kidney injury [J]. *Front Physiol*, 2020, 11 : 576463. DOI: 10.3389/fphys.2020.576463.
- [13] CASAS K, BYKHOVSKAYA Y, MENGESHA E, et al. Gene responsible for mitochondrial myopathy and sideroblastic anemia (MSA) maps to chromosome 12q24.33 [J]. *Am J Med Genet A*, 2004, 127A (1) : 44-49. DOI: 10.1002/ajmg.a.20652.
- [14] LOSIER TT, AKUMA M, MCKEE-MUIR OC, et al. AMPK promotes xenophagy through priming of autophagic kinases upon detection of bacterial outer membrane vesicles [J]. *Cell Rep*, 2019, 26 (8) : 2150-2165.e5. DOI: 10.1016/j.celrep.2019.01.062.
- [15] CAO WY, LI JH, YANG KP, et al. An overview of autophagy: mechanism, regulation and research progress [J]. *Bull Cancer*, 2021, 108 (3) : 304-322. DOI: 10.1016/j.bulcan.2020.11.004.
- [16] ABOUTALEB N, JAMALI H, ABOLHASANI M, et al. Lavender oil (*Lavandula angustifolia*) attenuates renal ischemia/reperfusion injury in rats through suppression of inflammation, oxidative stress and apoptosis [J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 110 : 9-19. DOI: 10.1016/j.biopha.2018.11.045.
- [17] GUMBERT SD, KORK F, JACKSON ML, et al. Perioperative acute kidney injury [J]. *Anesthesiology*, 2020, 132 (1) : 180-204. DOI: 10.1097/ALN.0000000000002968.
- [18] LEE JM, YEO CD, LEE HY, et al. Inhibition of neutrophil elastase contributes to attenuation of lipopolysaccharide-induced acute lung injury during neutropenia recovery in mice [J]. *J Anesth*, 2017, 31 (3) : 397-404. DOI: 10.1007/s00540-017-2311-9.
- [19] XU XB, LAI YY, HUA ZC. Apoptosis and apoptotic body: disease message and therapeutic target potentials [J]. *Biosci Rep*, 2019, 39 (1) : BSR20180992. DOI: 10.1042/BSR20180992.
- [20] CORY S, ADAMS JM. The Bcl2 family: regulators of the cellular life-or-death switch [J]. *Nat Rev Cancer*, 2002, 2 (9) : 647-656. DOI: 10.1038/nrc883.

(编辑 于 溪)