

丁酸钠通过调控 TGF- β 1/SGK1 信号通路改善 UUO 大鼠肾间质纤维化

黄越熙^{1,2}, 丁文飞^{1,2}, 刘江^{1,2}, 陈镜伊^{1,2}, 吴蔚桦^{1,2}, 康婷^{1,2}, 欧三桃^{1,2}

1. 西南医科大学附属第一医院 肾病内科(泸州市 646000) 2. 四川省肾脏疾病临床医学研究中心(泸州市 646000)

【摘要】目的 探讨丁酸钠对单侧输尿管梗阻(unilateral ureteral obstruction, UUO)诱导的肾间质纤维化的影响及其作用机制。**方法** 将大鼠随机分为假手术组、UUO组及UUO+丁酸钠低剂量组(每日1 g/kg)、UUO+丁酸钠高剂量组(每日2 g/kg), 每组10只。在术后第7 d、14 d, 每组分别随机选取5只大鼠处死, HE染色观察大鼠肾脏组织形态, Masson染色观察大鼠肾间质纤维化情况, 免疫组化和RT-PCR方法检测I型胶原(collagen I, Col-1)、 α -平滑肌肌动蛋白(α -smooth muscle actin, α -SMA)、肿瘤坏死因子- α (tumour necrosis factor alpha, TNF- α)、白介素6(interleukin 6, IL-6)、转化生长因子 β 1(transforming growth factor- β 1, TGF- β 1)、血清/糖皮质激素调节的激酶1(serum/glucocorticoid regulated kinase 1, SGK1)、结缔组织生长因子(connective tissue growth factor, CTGF)和p65的表达水平。**结果** 与假手术组相比, UUO组的HE染色可见肾小管扩张、炎症细胞浸润等病理改变, Masson染色可见蓝色胶原沉积明显增多, 且随着时间延长, 其肾脏病变加重; 经丁酸钠干预后可减轻肾脏的损伤、病理改变以及肾间质纤维化程度, 且UUO+丁酸钠高剂量组较UUO+丁酸钠低剂量组改善更明显。此外, 与假手术组相比, UUO组大鼠肾组织中 α -SMA、Col-1、TNF- α 及IL-6的蛋白及mRNA表达水平显著增加($P < 0.05$); 丁酸钠干预后UUO模型中 α -SMA、Col-1、IL-6及TNF- α 的蛋白及mRNA表达水平降低, 且UUO+丁酸钠高剂量组较UUO+丁酸钠低剂量组下降明显。同时, 与假手术组相比, UUO组大鼠TGF- β 1、SGK1及其下游靶点p65和CTGF的蛋白及mRNA表达水平均显著上调($P < 0.05$); 经过丁酸钠干预后, 可以改善UUO模型中TGF- β 1/SGK1信号通路的变化, 且UUO+丁酸钠高剂量组改善更明显。**结论** 丁酸钠可能通过改善炎症及调节TGF- β 1/SGK1信号通路明显改善UUO大鼠的肾间质纤维化。

【关键词】 丁酸钠; 单侧输尿管梗阻; 肾间质纤维化; 炎症; TGF- β 1/SGK1信号通路

【中图分类号】 R692

文献标志码 A

DOI: 10.3969/j.issn.2096-3351.2024.06.010

Sodium butyrate ameliorates renal interstitial fibrosis in UUO rats by regulating the TGF- β 1/SGK1 signaling pathway

HUANG Yuexi^{1,2}, DING Wenfei^{1,2}, LIU Jiang^{1,2}, CHEN Jingyi^{1,2}, WU Weihua^{1,2}, KANG Ting^{1,2}, OU Santao^{1,2}

1. Department of Nephrology, The Affiliated Hospital, Southwest Medical University, Luzhou 646000, China; 2. Sichuan Clinical Research Center for Nephropathy, Luzhou 646000, China

【Abstract】Objective To investigate the effect of sodium butyrate on renal interstitial fibrosis induced by unilateral ureteral obstruction (UUO) and its mechanism. **Methods** The rats were randomly divided into four groups: the sham operation group, the UUO group, the UUO+sodium butyrate low-dose group (1g/kg per day), and the UUO+sodium butyrate high-dose group (2g/kg per day), with 10 rats in each group. On the 7th and 14th postoperative days, 5 rats in each group were randomly selected for execution, and the renal tissue morphology was observed by HE staining, and the interstitial fibrosis was observed by Masson staining. The level of expression of α -smooth muscle actin (α -SMA), collagen I (Col-I), tumour necrosis factor alpha (TNF- α), interleukin 6 (IL-6), transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1), serum/glucocorticoid regulated kinase 1 (SGK1), p65, and connective tissue growth factor (CTGF) were detected by immunohistochemistry and RT-PCR. **Results** Compared with the sham group, HE staining showed pathological changes such as dilated renal tubules and inflammatory cell infiltration in the UUO group. Masson staining showed a significant increase in blue collagen deposition and aggravation of renal lesions with time in the UUO group. But intervention with sodium butyrate reduced renal damage, pathological changes and the degree of interstitial fibrosis. The improvement was significant in the UUO+sodium butyrate high-dose group compared to the UUO+sodium butyrate low-dose group. In addition, the expression levels of proteins and mRNAs of α -SMA, Col-I, TNF- α , and IL-6 in the renal tissues of rats in the UUO group were significantly higher than those in the sham group ($P < 0.05$), whereas sodium butyrate intervention reduced the protein and mRNA expression of α -SMA, Col-I, TNF- α , and IL-6 in the UUO model, and the UUO+sodium butyrate high-dose group decreased significantly compared with the UUO+sodium butyrate low-dose group. Meanwhile, compared to the sham-operated group, the expression levels of proteins and mRNAs of TGF- β 1,

基金项目:四川省自然科学基金项目(2023NSFSC1530)

通信作者:欧三桃, E-mail:ousantao@163.com

引用本文:黄越熙, 丁文飞, 刘江, 等. 丁酸钠通过调控 TGF- β 1/SGK1 信号通路改善 UUO 大鼠肾间质纤维化[J]. 西南医科大学学报, 2024, 47(2): 93-97. DOI: 10.3969/j.issn.2096-3351.2024.06.010.

SGK1, and their downstream targets p65 and CTGF were significantly up-regulated in UUO rats ($P < 0.05$), while the changes of TGF- β 1/SGK1 signaling pathway in UUO model could be improved after sodium butyrate intervention, and the improvement was more obvious in the UUO+sodium butyrate high-dose group. **Conclusion** Sodium butyrate may significantly ameliorate renal interstitial fibrosis in UUO rats by reducing inflammation and modulating the TGF- β 1/SGK1 signaling pathway.

【Key words】 Sodium butyrate; Unilateral ureteral obstruction model; Renal interstitial fibrosis; Inflammation; TGF- β 1/SGK1 signaling pathway

全球约有15%的成年人患有慢性肾脏病(chronic kidney disease, CKD)^[1], 其中有4.9万~7万的终末期肾脏病(end-stage kidney disease, ESKD)患者需要肾脏替代治疗^[2-3], 给社会带来了巨大的经济负担。肾间质纤维化(renal interstitial fibrosis, RIF)是所有CKD进展的共同结果^[4-6], 因此早期预防、及时干预RIF是延缓肾衰竭的关键环节。不断有学者对RIF机制进行探索, 出现了越来越多针对关键机制靶点的药物, 如肾素-血管紧张素系统(renin-angiotensin system, RAS)阻断剂、钠-葡萄糖协同转运蛋白2(sodium-dependent glucose transporters 2, SGLT-2)抑制剂、托伐普坦和非奈利酮等^[7-8]。然而, 这些药物尚无法逆转或阻止RIF的进展。丁酸钠(sodium butyrate, NaBu)是短链脂肪酸(short-chain fatty acid, SCFA)的一种, 主要由结肠中的细菌发酵难以消化的纤维产生^[9-10], 被广泛用于炎症性肠病、肥胖、结直肠癌等的研究中^[11]。近年研究发现, 丁酸钠可改善甚至阻断肝^[12]、肺^[9]、皮肤^[9]等器官的纤维化, 非常具有应用前景。然而, 其在肾间质纤维化中的相关研究仍然较少。转化生长因子 β 1(transforming growth factor- β 1, TGF- β 1)被认为是参与细胞外基质沉积、成纤维细胞激活和表型转化的最强致纤维化因子^[13-14], 而血清/糖皮质激素调节的激酶1(serum/glucocorticoid regulated kinase 1, SGK1)作为TGF- β 1的一个新转录靶点, 参与组织纤维化的发生发展^[15]。目前在肾脏疾病中, 丁酸钠与TGF- β 1/SGK1信号通路的相关研究较少。因此, 本研究拟通过建立单侧输尿管梗阻(unilateral ureteral obstruction, UUO)模型, 探讨丁酸钠是否通过干预TGF- β 1/SGK1信号通路改善UUO大鼠肾间质纤维化, 旨在为改善CKD患者RIF提供新的治疗手段。

1 材料与方法

1.1 实验动物

于西南医科大学实验动物中心[SCXK(川)2018-17]购买40只SPF级雄性SD大鼠(6周龄, 体重 200 ± 20 g), 饲养于西南医科大学附属中医医院中西医结合研究中心动物房[SYXK(川)2018-065]。室温 $18 \sim 25$ °C, 自然光源12 h交替照明, 普通饲料喂养及自由饮水2 w后随机分组进行造模。本实验由西南医科大学实验动物伦理委员会审核批准(批号: swmu20220135)。

1.2 主要仪器及试剂

I型胶原(collagen I, Col-I)多克隆抗体和结缔组织生长因子(connective tissue growth factor, CTGF)多克隆抗体(三鹰生物技术有限公司, 武汉); p65(Ser536)抗体(艾比玛特生物医药有限公司, 上海); SGK1、NF κ Bp65抗体(博士德生物工程有限公司, 武汉); α -平滑肌肌动蛋白(alpha-smooth muscle actin, α -SMA)抗体(CST公司, 美国); 白介素6(interleukin 6, IL-6)抗体(肿瘤坏死因子- α (tumour necrosis factor alpha, TNF- α)抗体(Affinity公司, 美国); 丁酸钠(麦克林生化科技有限公司, 上海); PCR引物(生工生物工程股份有限公司, 上海)。

1.3 实验方法

1.3.1 实验分组及动物模型的建立 40只SD大鼠按随机数字表法分为4组, 每组10只, 即假手术组(Sham组)、UUO组、UUO+丁酸钠低剂量组(UUO+LSB组)、UUO+丁酸钠高剂量组(UUO+HSB组)。全体大鼠4%戊巴比妥钠(50 mg/kg)行腹腔注射麻醉后, 俯卧位固定于手术台, 备皮、消毒, 左侧背部肾区切口, 游离输尿管。除Sham组外, 其余各组在输尿管上1/3处和肾门处结扎。完成手术后逐层缝合背部肌肉及皮肤, 碘伏消毒, 并用纱布包扎伤口。于造模后第1 d开始, UUO+LSB组每日灌胃丁酸钠1 g/kg, UUO+HSB组每日灌胃丁酸钠2 g/kg, 剂量参考文献^[16-17]。UUO组及Sham组灌胃等量的生理盐水, 直至实验结束。

1.3.2 标本采集 分别于术后7 d、14 d处死大鼠, 负压采血针采取腹主动脉血液标本。分离左侧肾脏, 用刀片将肾脏切割成多个部分, 部分固定于4%多聚甲醛中, 用于石蜡包埋切片; 剩余组织分别放于冻存管及RNAlater中, 置于-80 °C冰箱, 用于提取RNA及蛋白。

1.3.3 肾组织HE染色 固定的肾组织经脱水、透明、浸蜡、包埋、组织切片等操作后, 制成厚度约4 μ m的切片, 再经脱蜡复水、HE染色、中性树脂封片后, 置于显微镜下观察肾脏组织形态。

1.3.4 肾组织Masson染色 肾组织石蜡切片脱蜡复水后, 放入Bouin液, 37 °C孵育2 h, 水洗后将切片依次予以天青石蓝染料、Mayer苏木素染色液、酸性乙醇、丽春红品红染色液、磷钼酸溶液、苯胺蓝染色液染和弱酸溶液处理, 最后脱水、透明、中性树脂封固。高倍镜下, 每张切片随机选取5个不重叠视野, 用Image-Pro Plus 6.0

软件分析蓝染面积占视野的百分比,应用 GraphPad Prism 8.0 绘制柱状图。

1.3.5 免疫组化 肾组织石蜡切片经脱蜡复水、抗原修复、阻断内源性过氧化物酶后,依次予以一抗、反应增强液、增强酶标羊抗小鼠/兔 IgG 聚合物处理,最后 DAB 显色、复染、中性树胶封片。高倍镜下,每张切片随机选取 5 个不重叠视野,以出现棕黄色颗粒为阳性信号,用 Image-Pro Plus 6.0 软件计算阳性面积,应用 GraphPad Prism 8.0 绘制柱状图。

1.3.6 qRT-PCR 检测 采用 Trizol 法提取肾组织 RNA,用分光光度计检测 RNA 的纯度和浓度。选取 OD260/OD280 比值在 1.8 ~ 2.2 的样本,取 RNA 1 μ g,采用 HiScript III RT SuperMix for qPCR 试剂盒,将 RNA 逆转录为 cDNA。按试剂说明书要求配制 qPCR 混合液(10 μ L),引物见表 1。根据试剂说明书进行 qPCR 反应:①预变性:95 $^{\circ}$ C 30 s;②循环反应:95 $^{\circ}$ C 3 ~ 10 s,60 $^{\circ}$ C 10 ~ 30 s,40 个循环;③融解曲线:95 $^{\circ}$ C 15 s,60 $^{\circ}$ C 60 s,95 $^{\circ}$ C 15 s。每个样本设置 3 个复孔,以 GAPDH 为内参,采用(2^{- $\Delta\Delta$ CT})方法计算基因相对表达量。

基因	序列
TGF- β 1	正向引物(5' to 3')
	反向引物(5' to 3')
SGK1	正向引物(5' to 3')
	反向引物(5' to 3')
RELA	正向引物(5' to 3')
	反向引物(5' to 3')
TNF- α	正向引物(5' to 3')
	反向引物(5' to 3')
IL-6	正向引物(5' to 3')
	反向引物(5' to 3')
CTGF	正向引物(5' to 3')
	反向引物(5' to 3')
Col-1	正向引物(5' to 3')
	反向引物(5' to 3')
α -SMA	正向引物(5' to 3')
	反向引物(5' to 3')
GAPDH	正向引物(5' to 3')
	反向引物(5' to 3')

1.4 统计学分析

采用 SPSS 22.0 软件进行统计学分析,GraphPad Prism 8.0 作图,数据均用平均值 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,符合正态分布的两组间比较采用独立样本 *t* 检验,不符合正态分布的两组间比较采用 Mann-Whitney U 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠肾组织病理染色结果

HE 及 Masson 染色显示,Sham 组肾脏结构完整清

晰,未见明显异常,肾间质未见明显蓝色胶原纤维沉积;UUO 组、UUO+LSB 组、UUO+HSB 组可见肾小管扩张、炎性细胞浸润、肾间质蓝色胶原纤维沉积等病理改变,且随时间进展,上述病理改变更加明显;UUO+LSB 组、UUO+HSB 组大鼠肾脏组织病理学改变及间质的蓝染面积较 UUO 组有所改善,但两组之间差异无统计学意义($P > 0.05$),见图 1。

2.2 各组大鼠肾组织纤维化指标 Col-1、 α -SMA 检测结果

免疫组化结果显示,UUO 组 Col-1 和 α -SMA 蛋白表达较 Sham 组增多($P < 0.01$),UUO+LSB 组、UUO+HSB 组 Col-1 和 α -SMA 蛋白表达较 UUO 组减少,且 UUO+HSB 组变化更明显,见图 2A-D。此外,UUO 组 Col-1 和 α -SMA mRNA 水平较 Sham 组显著上调($P < 0.01$),经丁酸钠干预后,其表达水平均显著下调($P < 0.01$),且 UUO+HSB 组较 UUO+LSB 组下调更明显,见图 2E-F。

2.3 各组大鼠肾组织炎症指标 TNF- α 、IL-6 检测结果

免疫组化结果显示,UUO 组 TNF- α 及 IL-6 阳性蛋白表达较 Sham 组增多($P < 0.05$),而 UUO+LSB 组、UUO+HSB 组阳性蛋白表达较 UUO 组减少,且 UUO+HSB 组减少更明显($P < 0.05$),见图 3A-D。RT-PCR 结果显示,UUO 组 TNF- α 及 IL-6 mRNA 表达水平较 Sham 组明显上调($P < 0.05$),而丁酸钠干预后,其表达水平较 UUO 组明显下调($P < 0.05$),其中 UUO+HSB 组 IL-6 mRNA 表达水平较 UUO+LSB 组降低更明显($P < 0.01$),见图 3E-F。

2.4 各组大鼠肾脏组织中 TGF- β 1、SGK1、P65 和 CTGF 蛋白及 mRNA 表达变化

免疫组化结果显示,与 Sham 组相比,UUO 组肾脏中 TGF- β 1、SGK1、P65 和 CTGF 蛋白的表达均增加($P < 0.01$);丁酸钠干预后可降低上述蛋白的表达水平,其中 UUO+LSB 组、UUO+HSB 组 14 d 时 TGF- β 1、SGK1、P65 和 CTGF 蛋白的表达均低于 UUO 组($P < 0.05$),而 UUO+LSB 组与 UUO+HSB 组之间差异无统计学意义,见图 4A-D、图 5A-D。RT-PCR 结果显示,UUO 组 TGF- β 1、SGK1、P65 和 CTGF mRNA 的表达均高于 Sham 组($P < 0.05$);UUO+LSB 组、UUO+HSB 组 TGF- β 1、SGK1、P65 和 CTGF mRNA 表达均低于 UUO 组,其中 UUO+HSB 组各时间点 TGF- β 1 和 14 d CTGF mRNA 表达均明显低于 UUO+LSB 组($P < 0.05$),其余指标两组之间差异无统计学意义,见图 4E-F、图 5E-F。

3 讨论

RIF 是 CKD 进展的最终共同结局^[18-19],是肾脏领域的主要关注点之一,但目前对其缺乏有效的治疗手段。

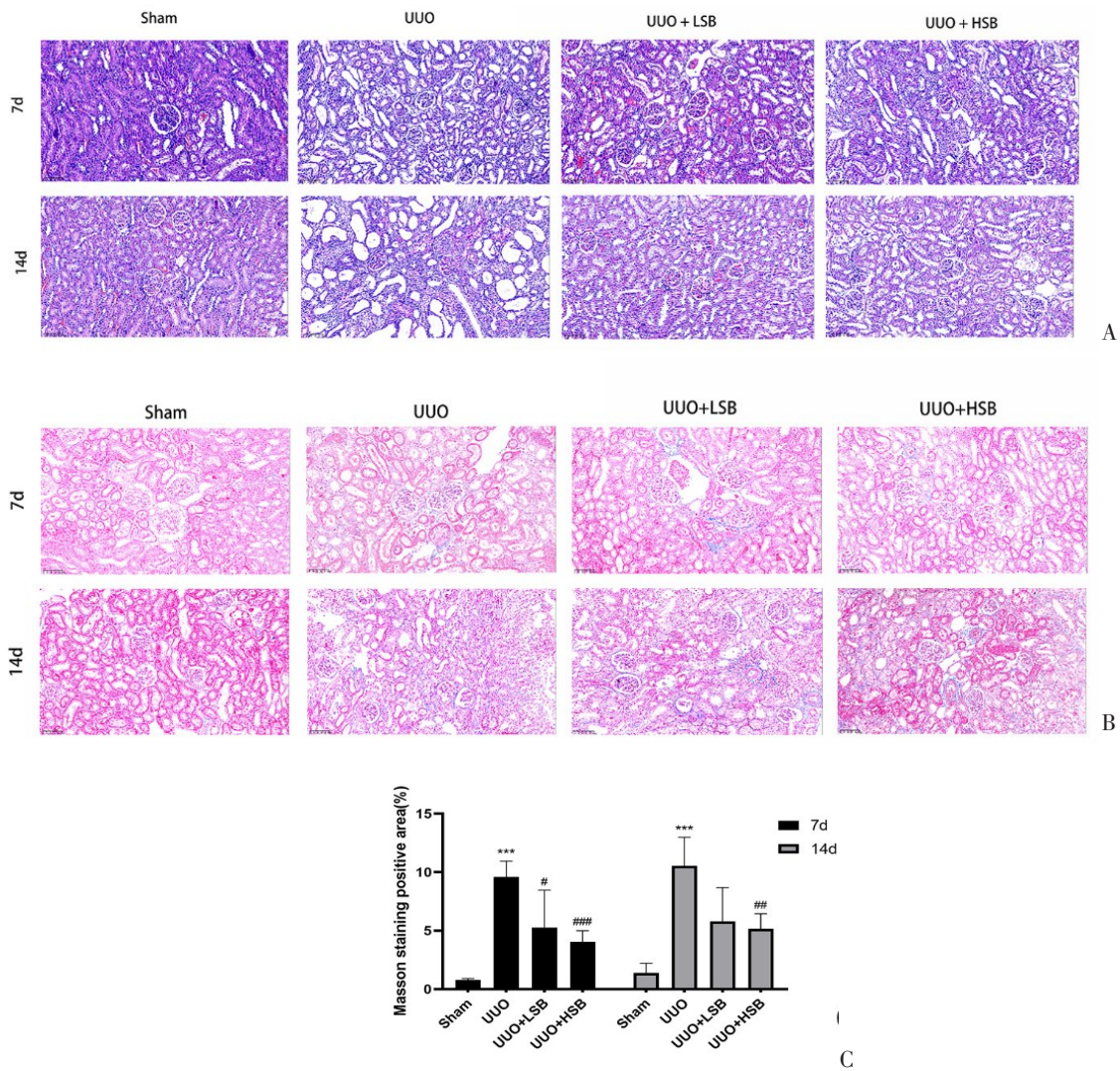


图1 各组大鼠肾组织病理染色结果

Figure 1 Histopathologic staining results of the kidneys of rats in each group

注:各组大鼠病理染色(A:HE染色,B:Masson染色,×200)及肾间质纤维化面积比(C)。*代表与Sham组相比,#代表与UUO组相比。* $P < 0.05$,** $P < 0.01$,*** $P < 0.001$;# $P < 0.05$,## $P < 0.01$,### $P < 0.001$ 。

因此,寻找新的治疗RIF药物具有重要意义。近期研究发现,丁酸钠在改善肾损伤方面可能有效,如丁酸钠可通过抑制MR/SGK1途径改善脱氧皮质酮乙酸酯(deoxycorticosterone acetate, DOCA)/盐诱导的高血压和肾损伤^[16];通过调节HES1/PPAR α 缓解肾缺血再灌注损伤^[20];通过调节肠道通透性和粘蛋白表达来改善CKD大鼠的胰岛素抵抗和肾衰竭^[21]。但丁酸钠在肾间质纤维化中的研究较少,作用机制也尚不完全明确^[22-23]。

本研究采用单侧输尿管梗阻建立肾间质纤维化模型并使用不同剂量的丁酸钠进行干预。 α -SMA是成熟肌成纤维细胞的标志^[24-25],可反映肾间质纤维化程度^[26-27]。Col-I是细胞外基质的主要成分之一^[28-29],可反映细胞外基质成分沉积。研究结果显示,UUO组大鼠肾脏Masson染色提示明显胶原沉积, α -SMA和Col-I表达明显增加,表明RIF模型构建成功。而经丁酸钠干预后,UUO模型大鼠的RIF程度减轻, α -SMA和Col-

I表达下调,且UUO+HSB组下调更明显,提示丁酸钠可通过改善肾间质纤维化发挥肾脏保护作用。KHAN等^[22]也发现糖尿病肾病大鼠经丁酸钠治疗后,肾脏中 α -SMA和Col-I的表达显著降低,且胶原沉积等肾纤维化改变也明显减轻,进一步验证了丁酸钠可改善肾间质纤维化。

现有大量证据表明,炎症反应在RIF的发生和发展中起核心作用^[30-31]。其中,TNF- α 是炎症反应的主要调节因子^[32],可刺激IL-1 β 和单核细胞趋化蛋白-1(monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1)等多种炎症介质的释放,在肾小球炎症和纤维化中具有突出的作用^[33-34]。而IL-6是一种多效性促炎细胞因子,水平的升高与RIF有关,其反式信号通路在介导RIF过程中起关键作用^[35-36]。本研究发现UUO模型大鼠肾间质纤维化时存在炎症反应,且炎症反应随RIF的加重而增加,这与既往研究一致^[37-39]。LIU等^[40]发现Mito-

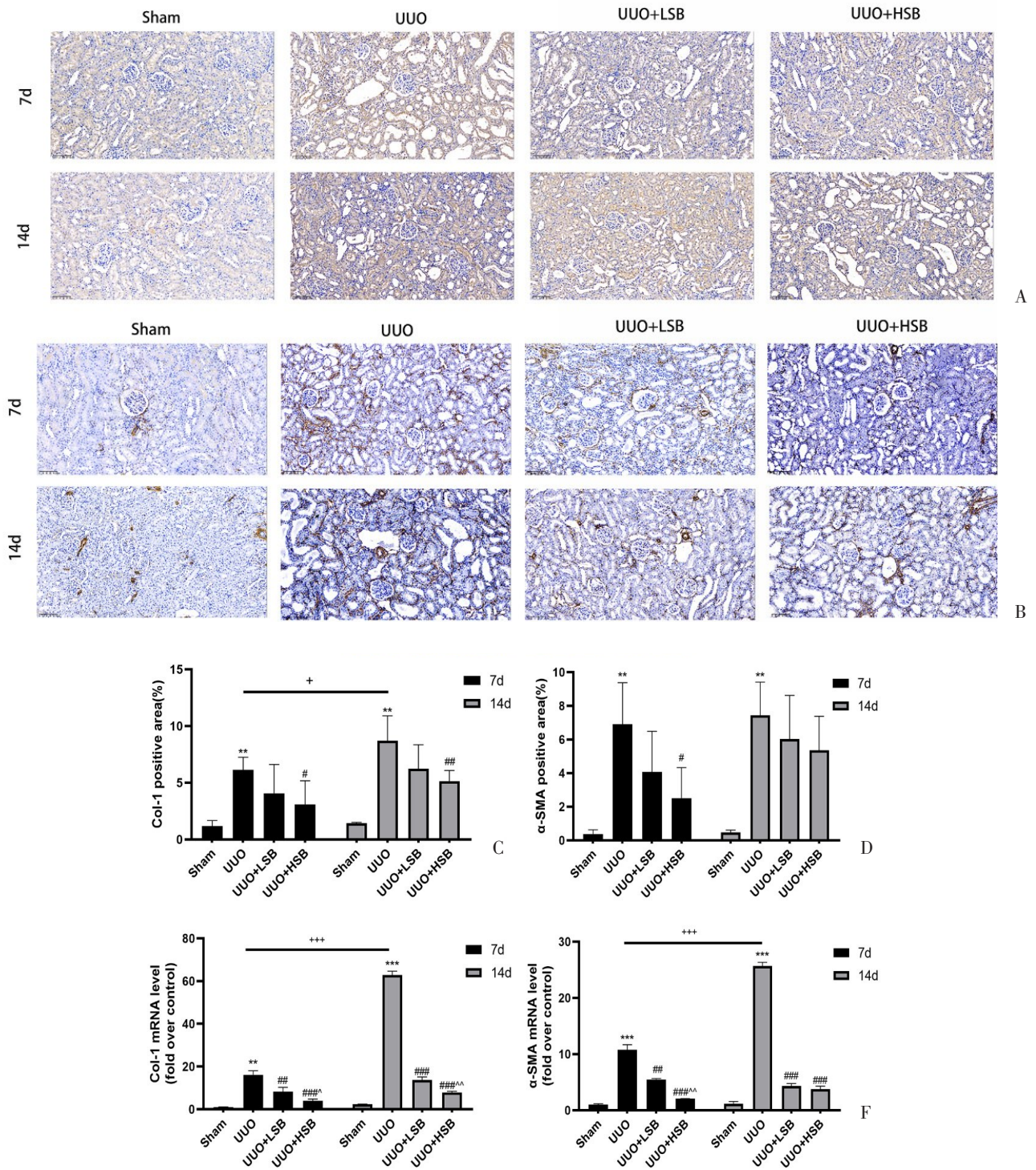


图2 各组大鼠Col-I、α-SMA检测结果

Figure 2 Results of fibrosis markers COL-I and α-SMA in renal tissue of rats in each group

注: 各组大鼠免疫组化染色(A: Col-I, B: α-SMA, ×200)、阳性面积比(C: Col-I, D: α-SMA)及mRNA表达水平(E: Col-I, F: α-SMA)。*代表与Sham组相比, #代表与UUO组相比, ^代表与UUO+LSB组相比, +代表与UUO 7d组相比。**P* < 0.05, ***P* < 0.01, ****P* < 0.001; #*P* < 0.05, ##*P* < 0.01, ###*P* < 0.001; ^*P* < 0.05, ^^*P* < 0.01, ^^#*P* < 0.001。

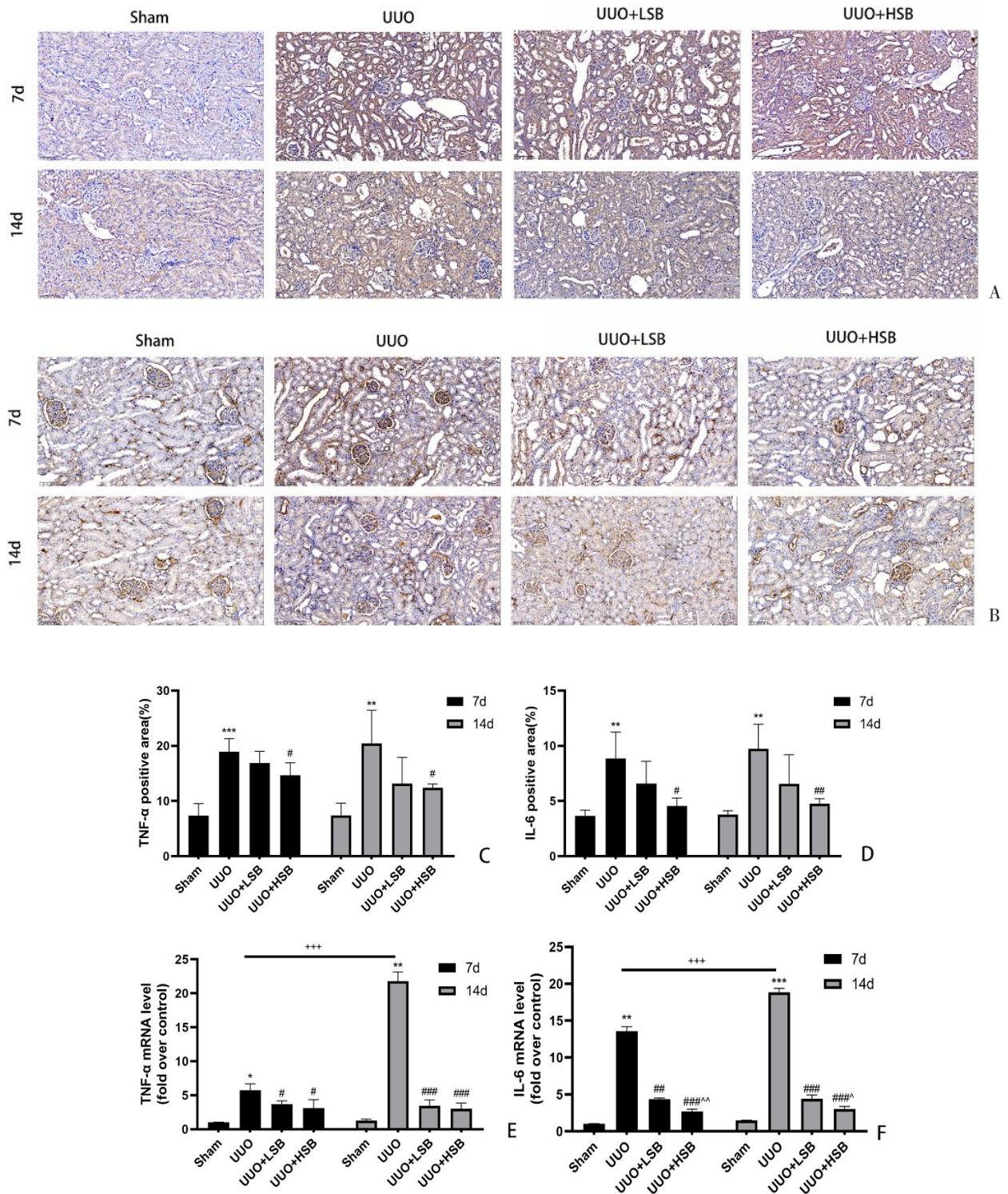


图3 各组大鼠肾组织炎症指标TNF-α、IL-6检测结果

Figure 3 Inflammatory markers TNF-α and IL-6 levels in each rat group

注: 各组大鼠免疫组化染色(A: TNF-α, B: IL-6, ×200)、阳性面积比(C: TNF-α, D: IL-6)及mRNA表达水平(E: TNF-α, F: IL-6)。*代表与Sham组相比, #代表与UUO组相比, ^代表与UUO+LSB组相比, +代表与UUO 7d组相比。*P < 0.05, **P < 0.01, ***P < 0.001; #P < 0.05, ##P < 0.01, ###P < 0.001; ^P < 0.05, ^^P < 0.01, ^^P < 0.01, ***P < 0.001。

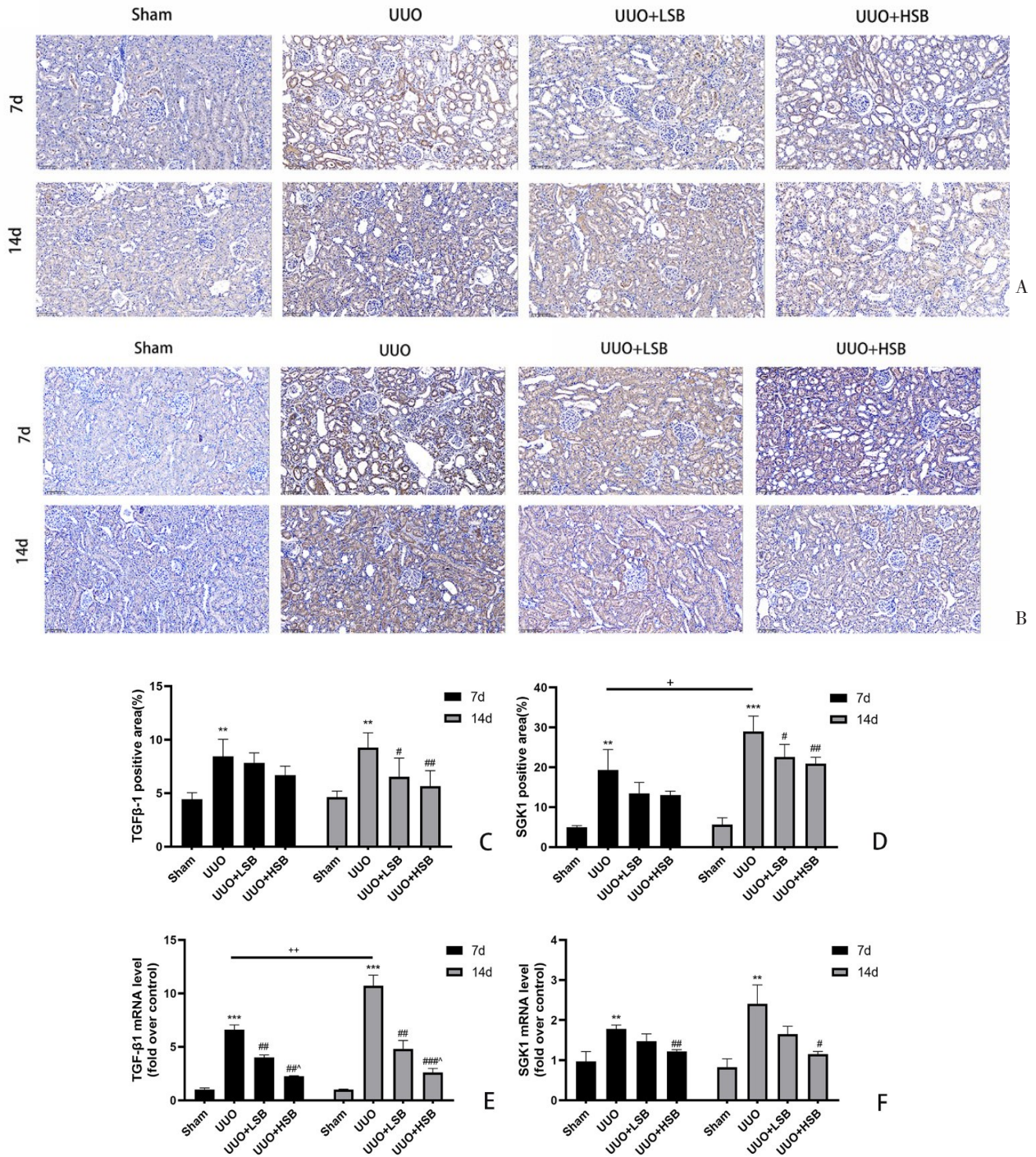


图4 各组大鼠肾脏组织中TGF-β1和SGK1蛋白及mRNA表达水平

Figure 4 TGF-β1 and SGK1 protein and mRNA expression levels in kidney tissues of rats in each group

注：各组大鼠免疫组化染色(×200)(A: TGF-β1, B: SGK1; 比例尺为100μm)、阳性面积比(C: TGF-β1, D: SGK1)及mRNA表达水平(E: TGF-β1, F: SGK1)。*代表与Sham组相比, #代表与UUO组相比, ^代表与UUO+LSB组相比, +代表与UUO7d组相比。**P* < 0.05, ***P* < 0.01, ****P* < 0.001; #*P* < 0.05, ##*P* < 0.01, ###*P* < 0.001; ^*P* < 0.05; +*P* < 0.05, ***P* < 0.01。

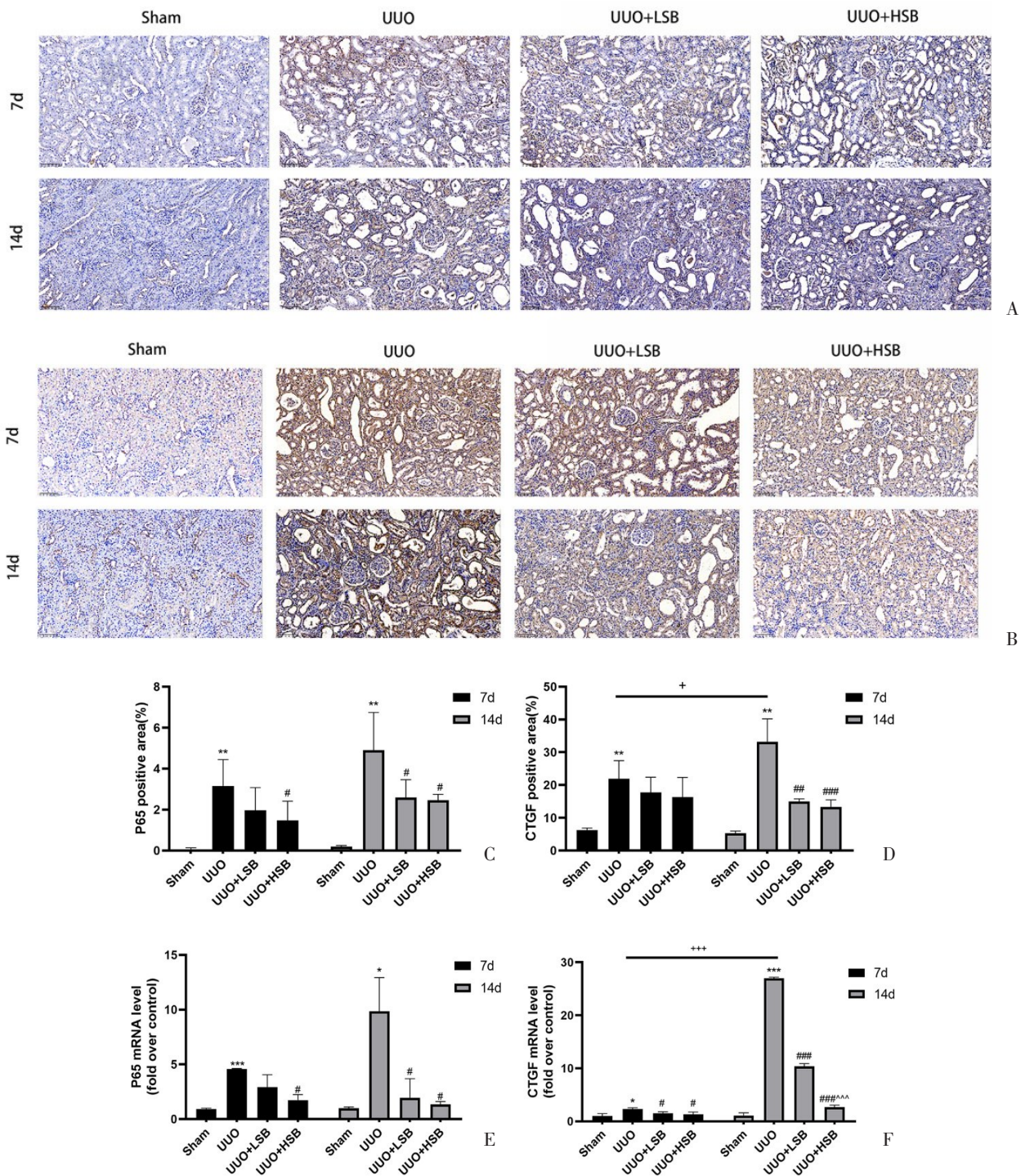


图5 各组大鼠肾脏组织中P65和CTGF蛋白及mRNA表达水平

Figure 5 P65 and CTGF protein and mRNA expression levels in kidney tissues of rats in each group

注：各组大鼠免疫组化染色(×200)(A: p65, B: CTGF; 比例尺为 100μm)和阳性面积比(C: p65, D: CTGF)及mRNA表达水平(E: p65, F: CTGF)。*代表与Sham组相比,#代表与UUO组相比,^代表与UUO+LSB组相比,+代表与UUO7d组相比。* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$, ### $P < 0.001$; ^ $P < 0.05$, ^^ $P < 0.01$, ^^ $P < 0.001$; + $P < 0.05$, ++ $P < 0.01$, +++ $P < 0.001$ 。

TEMPO 可通过减少炎症来改善 RIF; LI 等^[41]发现 PTPN2 通过抑制 STAT 诱导的早期糖尿病肾病的炎症来改善肾脏损伤和纤维化; HASSAN 等^[42]研究发现硝呋齐特通过抑制 STAT-3/NF- κ B 信号传导、氧化应激和炎症来抑制 UO 大鼠的 RIF。在本研究中, 丁酸钠干预可降低 TNF- α 及 IL-6 表达水平, 提示丁酸钠可以减少炎症反应; α -SMA 和 Col-I 这两种纤维化标志物的表达也降低, 表明丁酸钠可能通过减少炎症反应改善肾间质纤维化。

TGF- β 在肾间质纤维化的发病机制中起着核心作用^[43], 其中, TGF- β 1 是 TGF- β 家族成员中最丰富的亚型^[44]。SGK1 是蛋白激酶亚家族的成员, 可作为 TGF- β 1 的转录靶点, 其过量表达会使 I κ B 激酶 (I κ B kinases, IKKs) 磷酸化并激活, 而激活的 IKK 诱导 I κ B 磷酸化, 使 NF κ B 二聚体 (p65 和 p50) 从细胞质中释放出来, 并刺激 CTGF 的表达, 且 NF- κ B 及 CTGF 在肾间质纤维化及炎症反应中也起着关键作用^[45-53]。近年来, 研究发现 SGK1 在各种纤维化疾病中表达显著上调^[5]。本研究结果也显示, UO 组 SGK1、TGF- β 1、p65 和 CTGF 的蛋白和 mRNA 表达水平较 Sham 组明显升高, 表明肾间质纤维化时存在 TGF- β 1/SGK1 通路的激活。而经丁酸钠干预后, 上述变化发生逆转, 表明丁酸钠可能通过抑制 TGF- β 1/SGK1 通路, 减少炎症反应并改善肾间质纤维化。但本研究未进一步使用丁酸钠抑制剂予以证实, 未来还需要探索丁酸钠的最佳治疗剂量。

4 结论与启示

丁酸钠可改善 UO 大鼠的肾间质纤维化及炎症反应, 其机制可能与 TGF- β 1/SGK1 信号通路的抑制有关。本研究为丁酸钠的临床应用提供了重要的实验依据, 并为 CKD 肾间质纤维化的防治提供了新方向, 值得进一步深入研究。

5 参考文献

- LOHIA S, VLAHOU A, ZOIDAKIS J. Microbiome in chronic kidney disease (CKD): an omics perspective [J]. *Toxins*, 2022, 14(3): 176.
- LV JC, ZHANG LX. Prevalence and Disease Burden of Chronic Kidney Disease [J]. *Adv Exp Med Biol*. 2019; 1165:3-15.
- 李玉连, 张玺. 血液透析患者 TG/HDL 比值与死亡风险的相关性分析[J]. *中国中西医结合肾病杂志*, 2021, 22(6): 505-509.
- QIU Y, CAO YR, TU GW, et al. Myeloid-derived suppressor cells alleviate renal fibrosis progression via regulation of CCL5-CCR5 axis [J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 698894.
- 范惠. 中医药干预肾纤维化 TGF- β 1/Smad 信号转导通路的体外研究概况[J]. *泸州医学院学报*, 2017, 40(2): 221-224.
- 罗冠峰, 刘华熙, 谢钊, 等. 肾病 III 号方治疗慢性肾脏病大鼠肾脏纤维化的作用机制: 基于网络药理学和分子对接技术[J]. *南方医科大学学报*, 2023, 43(06): 924-934.
- HUANG RS, FU P, MA L. Kidney fibrosis: from mechanisms to therapeutic medicines [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2023, 8(1): 129.
- 周莉, 封卫征, 王雅萍, 等. 周端教授治疗慢性心力衰竭经验总结[J]. *世界临床药物*, 2023, 44(11): 1238-1242.
- PARK HJ, JEONG OY, CHUN SH, et al. Butyrate Improves Skin/Lung Fibrosis and Intestinal Dysbiosis in Bleomycin-Induced Mouse Models [J]. *Int J Mol Sci*. 2021 Mar 9; 22(5): 2765.
- 林志民, 蔡志根, 施珊红, 等. 丁酸钠对大鼠系膜细胞增殖和凋亡的影响[J]. *中国临床药理学杂志*, 2023, 39(23): 3439-3443.
- KAŹMIERCZAK-SIEDLECKA K, MARANO L, MEROLA E, et al. Sodium butyrate in both prevention and supportive treatment of colorectal cancer[J]. *Front Cell Infect Microbiol*. 2022 Oct 26; 12:1023806.
- CHEN H, LI G, ZHANG J, et al. Sodium butyrate ameliorates Schistosoma japonicum-induced liver fibrosis by inhibiting HMGB1 expression [J]. *Exp Parasitol*. 2021 Dec; 231:108171.
- MIAO XJ, BI TT, TANG JM, et al. Regulatory mechanism of TGF- β 1/SGK1 pathway in tubulointerstitial fibrosis of diabetic nephropathy[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23(23): 10482-10488.
- 李琰, 刘佑晖, 蔡虎志, 等. 柚皮素通过下调 Akt/mTOR 信号通路抑制 TGF- β 1 诱导的 NRK-49F 细胞纤维化[J]. *中国病理生理杂志*, 2023, 39(11): 2011-2019.
- LU RQ, ZHANG YY, ZHAO HQ, et al. SGK1, a critical regulator of immune modulation and fibrosis and a potential therapeutic target in chronic graft-versus-host disease[J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 822303.
- WU CY, CHEN ZD, ZHANG LL, et al. Sodium butyrate ameliorates deoxycorticosterone acetate/salt-induced hypertension and renal damage by inhibiting the MR/SGK1 pathway [J]. *Hypertens Res*, 2021, 44: 168-178.
- HERRICK KJ, HIPPE AR, KALSCHUR KF, et al. Single-dose infusion of sodium butyrate, but not lactose, increases plasma β -hydroxybutyrate and insulin in lactating dairy cows[J]. *J Dairy Sci*, 2017, 100(1): 757-768.
- 高可利, 杨静, 朱永俊. 巨噬细胞极化参与肾间质纤维化的机制研究进展[J]. *临床肾脏病杂志*, 2023, 23(11): 962-966.
- 古文清, 潘文斌, 朱茜, 等. KIF3A 在单侧输尿管梗阻小鼠肾脏中的表达及意义[J]. *南方医科大学学报*, 2020, 40(02): 219-224.
- WANG Q, MA XY. Gut microbial sodium butyrate alleviates renal ischemia-reperfusion injury by regulating HES1/PPAR α [J]. *Mol Immunol*, 2022, 150: 20-28.
- GONZALEZ A, KRIEG R, MASSEY HD, et al. Sodium butyrate ameliorates insulin resistance and renal failure in CKD rats by modulating intestinal permeability and mucin expression[J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2019, 34(5): 783-794.
- KHAN S, JENA G. Sodium butyrate, a HDAC inhibitor ameliorates eNOS, iNOS and TGF- β 1-induced fibrogenesis, apoptosis and DNA damage in the kidney of juvenile diabetic rats[J]. *Food Chem Toxicol*, 2014, 73: 127-139.
- KUMAR P, GOGULAMUDI VR, PERIASAMY R, et al. Inhibition of HDAC enhances STAT acetylation, blocks NF- κ B, and suppresses the renal inflammation and fibrosis in *Npr1* haplotype male mice[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2017, 313(3): F781-F795.
- SHINDE AV, HUMERES C, FRANGOGIANNIS NG. The role of α -smooth muscle actin in fibroblast-mediated matrix contraction and remodeling [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2017, 1863(1): 298-309.
- 刘畅, 朱春玲, 严瑞, 等. 水飞蓟宾对肾间质纤维化模型大鼠肾小管上皮-间充质转化的影响[J]. *贵州医科大学学报*, 2018, 43(04): 394-399+405.
- MARTÍNEZ-KLIMOVA E, APARICIO-TREJO OE, TAPIA E, et al. Unilateral ureteral obstruction as a model to investigate

- fibrosis-attenuating treatments[J]. *Biomolecules*, 2019, 9 (4): 141.
- [27] 黄越熙,毛海霞,张丽玲,等.慢性肾病大鼠血清Bcl-3、Gal-3、TGF- β 1与肾间质纤维化的关系[J].西部医学,2023,35(02):176-181.
- [28] BAI Y, WANG W, YIN P, *et al.* Ruxolitinib alleviates renal interstitial fibrosis in UUO mice [J]. *Int J Biol Sci*, 2020, 16(2): 194-203.
- [29] 李志阳,梁丹,肖雅文,等.氧化苦参碱通过抑制CHK1/2磷酸化改善糖尿病大鼠肾组织的纤维化和炎症[J].南方医科大学学报,2021,41(10):1519-1526.
- [30] MENG XM. Inflammatory mediators and renal fibrosis [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2019, 1165: 381-406.
- [31] BLACK LM, LEVER JM, AGARWAL A. Renal inflammation and fibrosis: a double-edged sword [J]. *J Histochem Cytochem*, 2019, 67(9): 663-681.
- [32] LV WS, BOOZ GW, WANG YG, *et al.* Inflammation and renal fibrosis: recent developments on key signaling molecules as potential therapeutic targets [J]. *Eur J Pharmacol*, 2018, 820: 65-76.
- [33] 邱波,刘善军,袁良东等.氯沙坦钾联合泼尼松对湿热型慢性肾炎患者血清TNF- α 、IL-6和IL-17的影响[J].检验医学与临床,2022,19(18):2553-2555.
- [34] 熊英,刘宗泽,李佑敬,等.复方鳖甲软肝片对小鼠肾纤维化的防治作用[J].贵州医科大学学报,2019,44(02):163-168.
- [35] CHEN W, YUAN H, CAO WM, *et al.* Blocking interleukin-6 trans-signaling protects against renal fibrosis by suppressing STAT3 activation [J]. *Theranostics*, 2019, 9(14): 3980-3991.
- [36] 李宛哲,张圆圆,靳培培,等.基于IL-6/MMP-9/COL-IV信号通路探讨加味真武汤对慢性肾功能衰竭大鼠肾间质纤维化的影响[J].中国实验方剂学杂志,2023,29(16):114-122.
- [37] WANG JY, GE SK, WANG YQ, *et al.* Puerarin alleviates UUO-induced inflammation and fibrosis by regulating the NF- κ B P65/STAT3 and TGF β 1/smads signaling pathways [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2021, 15: 3697-3708.
- [38] MAO Y, YU JL, DA JJ, *et al.* Acteoside alleviates UUO-induced inflammation and fibrosis by regulating the HMGN1/TLR4/TREM1 signaling pathway[J]. *PeerJ*, 2023, 11: e14765.
- [39] LIU EP, LV L, ZHAN YH, *et al.* METTL3/N6-methyladenosine/miR-21-5p promotes obstructive renal fibrosis by regulating inflammation through SPRY1/ERK/NF- κ B pathway activation[J]. *J Cell Mol Med*, 2021, 25(16): 7660-7674.
- [40] LIU YQ, WANG YD, DING W, *et al.* Mito-TEMPO alleviates renal fibrosis by reducing inflammation, mitochondrial dysfunction, and endoplasmic reticulum stress[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2018, 2018: 5828120.
- [41] LI Y, ZHOU HM, LI YL, *et al.* PTPN2 improved renal injury and fibrosis by suppressing STAT-induced inflammation in early diabetic nephropathy[J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 23(6): 4179-4195.
- [42] HASSAN NME, SAID E, SHEHATOU GSG. Nifuroxazide suppresses UUO-induced renal fibrosis in rats via inhibiting STAT-3/NF- κ B signaling, oxidative stress and inflammation[J]. *Life Sci*, 2021, 272: 119241.
- [43] HWANG SH, LEE YM, CHOI Y, *et al.* Role of human primary renal fibroblast in TGF- β 1-mediated fibrosis-mimicking devices[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(19): 10758.
- [44] LOBODA A, SOBCZAK M, JOZKOWICZ A, *et al.* TGF- β 1/smads and miR-21 in renal fibrosis and inflammation[J]. *Mediators Inflamm*, 2016, 2016: 8319283.
- [45] 李红,马凯玲.基于核因子- κ B、单核细胞趋化蛋白-1研究益肾宁延缓大鼠肾间质纤维化的作用机制[J].中国处方药,2023,21(11):15-18.
- [46] YU H, LIN LB, ZHANG ZQ, *et al.* Targeting NF- κ B pathway for the therapy of diseases: mechanism and clinical study[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2020, 5(1): 209.
- [47] WANG ZH, CHEN Z, LI BS, *et al.* Curcumin attenuates renal interstitial fibrosis of obstructive nephropathy by suppressing epithelial-mesenchymal transition through inhibition of the TLR4/NF- κ B and PI3K/AKT signalling pathways[J]. *Pharm Biol*, 2020, 58(1): 828-837.
- [48] KUNNUMAKKARA AB, SHABNAM B, GIRISA S, *et al.* Inflammation, NF- κ B, and chronic diseases: how are they linked?[J]. *Crit Rev Immunol*, 2020, 40(1): 1-39.
- [49] LI R, GUO YJ, ZHANG YM, *et al.* Salidroside ameliorates renal interstitial fibrosis by inhibiting the TLR4/NF- κ B and MAPK signaling pathways[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(5): 1103.
- [50] LIAO Y, TAN RZ, LI JC, *et al.* Isoliquiritigenin attenuates UUO-induced renal inflammation and fibrosis by inhibiting mincle/syk/NF-kappa B signaling pathway[J]. *Drug Des Devel Ther*, 2020, 14: 1455-1468.
- [51] 白继琼,秦中豪,白晓辉.厄贝沙坦胶囊对糖尿病肾病患者血清TGF- β 1、CTGF及纤维化指标的影响[J].医学理论与实践,2021,34(14):2433-2434.
- [52] TODA N, MUKOYAMA M, YANAGITA M, *et al.* CTGF in kidney fibrosis and glomerulonephritis[J]. *Inflamm Regen*, 2018, 38: 14.
- [53] YIN Q, LIU H. Connective tissue growth factor and renal fibrosis[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2019, 1165: 365-380.

(利益冲突:无)

(收稿日期:2024-02-06;修回日期:2024-08-28)