



DOI:10.11714/j.issn.2095-6959.2014.02.012

http://www.lcblzz.com/gjblxx/fileup/PDF/201402182.pdf

活性氧与肾纤维化的研究进展

覃娇¹, 陶立坚² 综述

(1. 长沙市中心医院肾内科, 长沙 410004; 2. 中南大学湘雅医院肾内科, 长沙 410008)

[摘要] 肾纤维化是各种慢性肾疾病进行性发展的主要病理基础, 活性氧在肾纤维化的发生和发展中扮演着重要的角色。有关抗氧化治疗肾纤维化的研究较多, N-乙酰半胱氨酸、血管紧张素转换酶抑制剂、氟非尼酮、维生素E等被认为有一定的肾保护作用, 这也为肾纤维化的临床防治提供新的研究方向和治疗靶点。

[关键词] 活性氧; 肾纤维化; NADPH氧化酶

Progress in study on reactive oxygen species and renal fibrosis

QIN Jiao, TAO Lijian

(1. Department of Nephrology, Changsha Central Hospital, Changsha 410004;

2. Department of Nephrology, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008, China)

Abstract Renal fibrosis is a major histological feature in many chronic kidney diseases. More and more studies have demonstrated that reactive oxygen species play significant role in the development of renal fibrosis. The therapeutical effect of drugs with antioxidative activities on renal fibrosis is well studied. N-acetylcysteine, angiotensin-converting enzyme inhibitors, fluorofenidone and vitamin E are able to protect kidney, at least partially, from fibrosis, which may provide novel thoughts for therapeutic targets of renal fibrosis.

Key words reactive oxygen species; renal fibrosis; nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase

肾纤维化是各种慢性肾疾病的终末阶段, 其实质是细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的过多沉积, 进而导致肾结构的破坏及肾功能的进行性下降^[1]。氧化应激是指机体在多种有害刺激时, 体内活性氧(reactive oxygen species, ROS)的产生过多, 氧化系统与抗氧化系统失衡, 从而导致组

织损伤。氧化应激反应是肾纤维化形成的关键因素之一, 贯穿肾纤维化发生发展的始终, 氧化应激反应的持续存在可刺激各种细胞因子、激活多条信号通路等, 对肾纤维化ECM的发生发展起着重要作用。

收稿日期 (Date of reception): 2013-09-18

通信作者 (Corresponding author): 陶立坚, Email: taolj@csu.edu.cn

基金项目 (Foundation item): 国家自然科学基金 (81001467)。This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (81001467).

1 肾纤维化与氧化应激的发病机制

肾纤维化是各种慢性肾疾病进展到终末期肾衰竭的共同转归及主要病理基础^[2]。与肾小球硬化相比, 肾间质纤维化与肾功能减退关系更为密切^[3], 它是以ECM(如胶原I, II, III, IV型及纤维连接蛋白)在肾间质过多的积聚及肾间质成纤维细胞增生为主要特征。肾纤维化的发生是一个非常复杂的病理过程, 可归纳为两方面因素: 一方面, 慢性肾疾病伴随的危险因素, 包括高血压、贫血、高血糖、蛋白尿及代谢紊乱等, 这些危险因素如得不到良好的控制则进展为肾纤维化; 另一方面, 肾纤维化发病过程中有多种细胞、细胞因子、ECM及多条通路的参与, 如炎症反应或非炎症的损伤、氧化应激的损伤、肾固有细胞表型转变、血管活性物质的分泌、多种细胞因子的作用、ECM合成与降解的失衡等^[4]。

氧化应激反应在肾间质纤维化发生、发展的各阶段都起着重要的作用。1) 肾纤维化始动阶段: 各种能导致肾纤维化的始动因素如炎症、低氧、细胞因子都会影响肾固有细胞(包括肾小管上皮细胞、肾小球系膜、足细胞)及炎症浸润细胞(巨噬细胞)的氧化还原状态, 刺激上述细胞产生大量活性氧^[5]。2) 肾纤维化发展阶段: 多种刺激因素导致多种致纤维化信号产生后, 活性氧作为重要的细胞内第二信使, 活化多条信号转导通路, 诱导多种影响免疫调节、炎症反应等过程的介质传递, 并放大各种致纤维化信号^[6-7]。氧化应激反应造成的肾损害, 一方面表现为肾局部活性氧的产生增多; 另一方面表现为氧自由基的清除减少。肾间质内的氧化及抗氧化系统失衡可造成肾组织的进一步损伤, 最终导致肾小管萎缩及间质纤维化。肾局部组织氧自由基的产生及清除失衡是慢性肾间质纤维化的重要致病机制之一^[8]。

2 活性氧在肾纤维化发病机制中的作用

活性氧主要包括过氧化氢(H_2O_2)、超氧自由基(O_2^-)、氢氧自由基($\cdot OH$)、过氧化亚硝酸盐($ONOO^-$)、单线态分子氧($\cdot O_2$)等。活性氧可以由多种氧化酶(NADPH氧化酶、细胞色素P-450酶、脂肪氧化酶、线粒体细胞色素氧化酶、环氧合酶和一氧化氮合酶等)催化 O_2 生成^[9]。活性氧是肾正常生理过程及信号转导系统所必需的, 体内氧化还原反应的失衡、活性氧的过多产生, 可通过产

生NO来影响其生物学活性, 还可通过NADPH氧化酶的激活来促进炎症及纤维化反应, 最终导致肾功能的损害^[10]。肾的大多数固有细胞及炎症浸润细胞均能产生活性氧, 从而增加肾细胞的氧耗量^[11-13]。活性氧促进炎症细胞在肾聚集, 介导趋化因子[单核细胞趋化蛋白-1(monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1)等]和细胞间黏附分子大量释放, 促进肾纤维化的发生^[14-15]; 活性氧也可诱导血管紧张素II(angiotensin II, Ang II)、转化生长因子- $\beta 1$ (transforming growth factor- $\beta 1$, TGF- $\beta 1$)、表皮生长因子等致纤维化关键细胞因子的产生^[16-19], 并进一步介导其下游的致纤维化效应^[20]。在链脲菌素诱导的糖尿病肾病模型、肾缺血再灌注模型和Wistar大鼠的实验模型^[21-22]中, 8-羟基双氧鸟苷均明显增加, 提示氧化DNA的损害; 而糖尿病肾病模型中谷胱甘肽过氧化物酶明显减少, 肾组织内丙二醛和一氧化氮合酶增加, 提示活性氧能造成这些模型动物的氧化脂质损伤及DNA和蛋白损害, 在肾纤维化的发病机制中是关键因素。线粒体和NADPH氧化酶还参与了氧化应激反应中糖尿病病活性氧的过量产生, 并能产生信号放大作用, 刺激蛋白激酶C、TGF- $\beta 1$ 及AngII的产生, 产生的这些细胞因子又能反作用于活性氧, 起到级联放大的作用, 从而促进肾纤维化的发展^[23]。

2.1 产生活性氧的主要酶系

活性氧可以由多种氧化酶催化 O_2 生成, 如NADPH氧化酶、细胞色素P-450酶、线粒体细胞色素氧化酶、环氧合酶、血红素氧化酶、脂肪氧化酶和一氧化氮合酶等。NADPH氧化酶的结构较为复杂, 由2个胞膜亚基(gp91phox, p22phox), 3个胞浆亚基(p67-phox, p47-phox, p40-phox)和一个小分子G蛋白(rac1或rac2)组成。NADPH氧化酶的亚单位gp91phox至少有5种亚型, 被命名为Nox1~5, Nox1, Nox2和Nox4在肾组织中广泛表达, 是肾产生活性氧的主要来源^[24]。生理情况下, NADPH氧化酶的表达与活性较低, 当机体受到环境中如表皮生长因子、血小板衍生因子、肿瘤坏死因子、炎症介质、重金属及毒物等刺激时, NADPH氧化酶表达异常激活, 活性氧产生明显增多, 其产生的活性氧作为第二信使, 直接或间接与信号转导途径中的蛋白激酶、蛋白磷酸酶、转录因子等起作用, 参与调节细胞的增殖、分化、凋亡等生物过程^[25]。非吞噬细胞中NADPH氧化酶活性的调节至少发生在两个水平上: 一是

NADPH氧化酶亚基(Nox, p22-phox, p47-phox和p67-phox等)的过度表达;二是翻译后修饰,包括磷酸化和膜易位。体外实验^[26-27]发现:在刺激因素作用下, p47-phox的s304和s328位丝氨酸被磷酸化后活性增加,同时与p67-phox发生膜易位,从胞浆移至胞膜,与包膜亚基gp91phox结合后,导致NADPH氧化酶的活化。目前在多种肾脏疾病模型[5/6肾切除模型、Ang II所致肾损伤模型、糖尿病肾病模型、IgA肾病模型、14 d单侧输尿管梗阻(unilateral ureteral obstruction, UUU)肾模型]中, NADPH氧化酶的表达均明显升高^[28-30]。同时有研究^[31]发现:血管紧张素受体拮抗剂可以通过减少大鼠肾皮质中p22-phox和p47-phox的mRNA水平起到抗氧化的作用,从而调节肾小球的损伤,说明依赖于NADPH氧化酶活化作用产生的活性氧与多种肾组织病变紧密相关,是肾纤维化形成中的重要因素。

2.2 活性氧对肾纤维化ECM的影响

肾小球的肥大及系膜细胞的增生是糖尿病肾病早期的病理特征,活性氧可调节肾小球系膜细胞中Ang II介导的信号通路和蛋白质的合成,参与肾小球肥大和ECM沉积,促进糖尿病肾小球硬化的发生,其中Nox4是活性氧产生的主要来源^[32-33]。AngII还可通过诱导TGF- β 1,导致胞外信号调节激酶(extracellular signal regulated kinase, ERK)的激活及活性氧的产生。活性氧也可通过c-Jun氨基末端激酶/丝裂原活化蛋白激酶(c-jun N-terminal kinase/mitogen-activated protein kinase, JNK/MAPK)通路刺激TGF- β 1以活性形式大量释放;而TGF- β 1可诱导胶原蛋白和纤维连接蛋白的大量释放,从而调控ECM的沉积。Sugiyama等^[30]发现替米沙坦能减轻过氧化氢血症单侧输尿管结扎大鼠的肾间质纤维化损伤,推测其可能通过降低肾组织中NADPH氧化酶活性和脂质过氧化产物使I型胶原和IV型胶原含量减少,替米沙坦抗纤维化作用至少部分通过其抗氧化作用来实现。TGF- β /Smad通路的激活在多种器官和组织的纤维化过程中发挥着重要作用,在单侧输尿管结扎大鼠肾间质纤维化模型中, TGF- β 1引起I型胶原蛋白表达增多的同时伴随着H₂O₂的过多产生,脂溶性抗氧化剂维生素E能减少UUU大鼠肾组织中TGF- β 1的过度表达^[34]。在衰老相关性肾间质纤维化模型中, Cruz等^[35]观察到活性氧、TGF- β 1以及胶原蛋白表达上调,予以抗氧化剂taurine治疗后, TGF- β 1和胶原的表达

明显下降,推测氧化应激可诱导衰老相关性肾纤维化,这一过程可能与TGF- β 1通路密切相关。

2.3 活性氧对肾固有细胞的影响

TGF- β 1可上调诱导NADPH氧化酶亚单位p67-phox的表达,并引起细胞内活性氧增加,抑制NADPH氧化酶的活性可减少细胞内活性氧的产生,还可抑制TGF- β 1诱导的肾小管上皮细胞炎症因子的释放,减轻肾小管上皮细胞的转分化。H₂O₂和TGF- β 1可通过减少肾小管上皮细胞E-钙黏蛋白及增加平滑肌肌动蛋白(α -smooth muscle actin, α -SMA)表达而上调纤溶酶原激活物抑制剂和纤维连接蛋白的表达,诱导肾小管上皮细胞发生细胞-间充质细胞转分化,而N-乙酰半胱氨酸(N-acetylcysteine, NAC)和过氧化氢酶能有效抑制TGF- β 1诱导的肾小管上皮细胞转分化^[36]。NF- κ B和激活蛋白1(activator protein-1, AP-1)是核转录因子中重要的转录因子,广泛存在于肾组织各种细胞中^[37]。细胞处于静息状态时, NF- κ B-I κ Bs复合物在胞浆和胞核之间处于一种动态平衡的状态,活性氧可通过激活NF- κ B活化 α -SMA的表达来促进肾小管上皮细胞转分化。I κ B在P50-P65异源二聚体上的剪切受氧化还原反应调控,可能是活性氧激活NF- κ B的机制之一。

AP-1抑制剂可有效减少体外培养的系膜细胞中高糖诱导的纤维连接蛋白分泌,提示活性氧介导的AP-1活化在系膜细胞高糖诱导的TGF- β 、纤维连接蛋白表达中起重要作用。H₂O₂可活化NF- κ B和AP-1,而NF- κ B是MCP-1表达所必需的。在高糖诱导的系膜细胞中, p38MAPK的磷酸化可被NADPH氧化酶抑制剂阻断,提示高糖环境下系膜细胞中p38MAPK通路的激活是由NADPH氧化酶产生的活性氧所介导^[38]。活性氧还可通过对p38MAPK途径的激活而促使Smad2的磷酸化,抗氧化剂可明显抑制糖尿病大鼠肾皮质p38MAPK的磷酸化。在醛固酮诱导的系膜细胞增殖模型中,氧化应激可以诱导磷脂酰肌醇3激酶/丝苏氨酸蛋白激酶通路的激活,阻断该信号通路可完全抑制醛固酮诱导的系膜细胞增殖^[39]。

NF- κ B是氧化应激的一个细胞内靶点,高糖可以通过自身氧化代谢和晚期糖基化终末产物的生成引起组织内活性氧的产生,促使PKC的磷酸化,随后促进NF- κ B的活化并引发一系列细胞因子的转录^[40]。NF- κ B可由高糖和外源性的H₂O₂激活,激活后可上调MCP-1的表达,单核细胞引起的炎症反

应则会造成糖尿病肾小管和肾小球的损伤, NF- κ B可能是氧化应激引起肾损伤的始动因素之一^[41]。NF- κ B激活后进入到细胞核, 在核内与其受体结合后调节MCP-1的转录活性, 上调多种炎症因子的表达, 使肾发生炎症反应, 从而引起肾细胞增殖及组织局部单核/巨噬细胞浸润增加, 后者又通过分泌炎性介质、活性氧、NO及基质金属蛋白酶等促进肾纤维化的发展^[42]。

2.4 活性氧对肾小球血流动力学的影响

在活性氧持续刺激下, 肾近端肾小管及肾小球局部的Ang II明显增多; Ang II对肾出球小动脉有选择性收缩作用, 可导致肾内跨膜压增高, 进而促进硫酸肝素糖蛋白转运, 降低基底膜滤过屏障负电荷, 使尿蛋白排出增加^[43]。活性氧与肾细胞膜上的不饱和脂肪酸及胆固醇结合后, 产生脂质过氧化产物MDA。MDA具有很强的连接作用, 可与具有游离碱基的蛋白质发生交联作用, 形成scKiff碱基产物, 导致血管内皮细胞受损, 肾血管通透性增加。在培养的肾小球系膜细胞及肾小管上皮细胞中, AngII可通过激活膜结合的NADH/NADPH氧化酶, 导致活性氧和过氧化物生成增加, 亦可与其受体引起氧化应激反应^[44-45]。研究^[46]指出: NO可抑制平滑肌细胞收缩, 调节血管舒缩节律, 参与血压及局部血流量的调节, 也参与肾小球的高滤过; 活性氧可使NO失活并促进诸多缩血管因子产生, 从而导致肾血流量减少、球管失衡、水钠潴留, 最终导致肾衰竭。

3 抗氧化治疗

抗氧化系统分为内源性和外源性, 均能起到清除活性氧、保护肾的作用。现有的抗氧化剂有抗氧化酶系、链阻滞抗氧化剂和转运金属结合蛋白等。

3.1 抗氧化酶系

血管紧张素II1型受体拮抗剂及血管紧张素转化酶抑制剂(angiotensin converting enzyme inhibitors, ACEI)类药物在抗肾脏氧化应激损伤方面也起着重要的作用。Ang II通过激活NADPH氧化酶介导活性氧的大量产生, 活性氧又作为Ang II的信号分子介导Ang II的致纤维化作用。因此氧化应激是Ang II致纤维化作用中的重要环节, 作用于肾素-血管紧张素系统(renin-angiotensin system,

RAS)的ACEI和血管紧张素受体拮抗剂类药物目前显示出良好的抗纤维化活性, 其部分是通过抗氧化应激实现的, 此类药物可减少糖尿病肾病大鼠体内脂质过氧化产物, 增加SOD等抗氧化酶的活性, 并可抑制大鼠单侧输尿管结扎模型中NADPH氧化酶的表达和胶原的产生^[47-48]。

GSH是一种广泛存在于各种动物组织的高活性三肽, 是细胞内最重要的保护剂, 可保护细胞免受体内外氧自由基和各种细胞毒素物质的损害。NAC脱乙酰基后成为GSH合成的前体, 能促进GSH的合成, 提高组织内GSH含量, 从而有助于保护细胞不因体内GSH水平过低而导致的细胞毒素损害。目前GSH已被广泛用于慢性支气管炎、肺结核、肺炎、缺血性疾病、糖尿病心脏病及造影剂肾病等多种疾病的研究, 其抗氧化应激的能力可能与阻断低密度脂蛋白(low density lipoprotein, LDL)氧化为氧化型低密度脂蛋白(oxidized low density lipoprotein, ox-LDL)有关, 通过降低胆固醇而对足细胞起到保护作用^[49]。Rhyu等^[50]发现: NAC和过氧化氢酶均可减少TGF- β 1诱导肾小管上皮细胞活性氧的增多, 抑制p38 MAPK, smad2和ERK磷酸化及肾小管上皮细胞转分化。NAC对肾的保护作用可能涉及: 1) NAC分子活性巯基捕获电子, 抑制超氧阴离子生成; 2) NAC阻断细胞内活性氧自由基引发的c-Jun N末端激酶、p38MAPK及NF- κ B的活化, 从而抑制炎症因子及氧化应激的产生。在动物实验中, de Araujo等^[51]发现: NAC加镁治疗可减少缺血再灌注大鼠肾小管坏死, 保护肾功能。另有研究^[52]发现, NAC可减少环孢素肾病模型中氧化产物MDA含量, 改善肾功能, 减轻肾间质纤维化程度。

氟非尼酮(flurofenidone, AKF-PD)是一种非肽类的小分子化合物, 其化学结构是1-(3-氟苯基)-5-甲基-2-(1H)吡啶酮。研究^[53-55]显示: AKF-PD能够延缓肾、肝及心等多种器官的纤维化进程, 对TGF- β 1等致肾纤维化因子具有抑制作用, 并能明显减少成纤维细胞的增生和活性。AKF-PD抗纤维化的机制也与抑制氧化应激反应有关, 它能抑制NADPH-依赖的肾小管上皮细胞内活性氧产生, 并减少AngII诱导的肾小管上皮细胞NADPH氧化酶亚单位p47-phox及Nox4的表达^[56]。

4-羟基-2,2,6,6-四甲基哌啶与夹竹桃麻素(apocynin)均为NADPH氧化酶抑制剂, 可抑制NADPH氧化酶各亚基的聚集而特异性抑制NADPH氧化酶的活性。鉴于NADPH氧化酶是Ang II诱导氧

化应激反应产生的关键酶系, 而氧化应激在肾间质纤维化发展过程中的重要作用, Zhao等^[57]应用夹竹桃麻素及4-羟基-2,2,6,6-四甲基哌啶共同治疗Ang II诱导的大鼠高血压及肾间质纤维化模型, 结果显示两药共同治疗不仅可显著降低肾氧化应激反应水平, 还抑制了肾组织中TGF- β 1及金属蛋白酶组织抑制剂I/II表达上调, 并能减少I型胶原的合成。夹竹桃麻素通过抑制巨噬细胞NADPH氧化酶阻碍LDL氧化反应, 从而减少活性氧的产生。4-羟基-2,2,6,6-四甲基哌啶是一种氧自由基清除剂, 有类似SOD歧化超氧阴离子的作用。但也有研究^[58]显示, 4-羟基-2,2,6,6-四甲基哌啶不能改善嘌呤霉素所致大鼠急性肾损伤、肾间质内纤维化及炎症的浸润, 提示抗氧化剂对肾间质纤维化的疗效还有待进一步研究。

3.2 阻滞抗氧化剂

维生素E(vitamin E, Vit E)作为膜脂质双层中主要的抗氧化剂, 能减少UUO大鼠的血浆和肾皮质中ox-LDL和MDA的含量, 并能降低大鼠肾组织中TGF- β 1 mRNA表达^[59]。研究^[60]显示: 尿毒症患者体内氧化应激水平明显增高, 服用Vit E后氧化应激水平降低且患者的贫血程度也得到改善。Vit E还能抑制氯化汞诱导大鼠肾间质纤维化的作用, 并通过其抗氧化作用显著抑制5/6肾切除所致肾纤维化, 延缓肾功能的进行性恶化, 但对代偿性肾小球肥大和毛细血管增生无明显影响。Vit E是体内重要的抗氧化剂, 对二酰基甘油-白激酶C代谢通路具有较强的抑制作用。

活性维生素D3[1,25(OH)2D3 (1,25-dihydroxyvitamin D3, calcitriol, 骨化三醇)]为维生素D3的活性形式, 其生物学效应为调节钙磷代谢和骨重建, 调节细胞增生与分化和免疫等。骨化三醇能够减轻单侧输尿管结扎诱导的肾间质纤维化, 阻断锌指转录因子生成^[61], 通过减少TGF- β 1产生及其受体表达, 抑制细胞凋亡。维生素D3还可通过抑制糖尿病大鼠肾TGF- β 1, NF- κ B和MCP-1等细胞因子的表达抑制巨噬细胞浸润, 发挥对糖尿病大鼠肾的保护作用。

银杏叶提取物(extract of Ginkgo biloba, EGb)主要含有黄酮甙类和萜烯内酯类等生理活性物质。黄酮类分子中含有还原性羟基功能基团, 通过对自由基起氢原子供体的作用而终止自由基链式反应, 直接清除O²⁻, OH⁻, H₂O₂, 烷类自由基和脂类自由基, 通过阻止自由基反应和脂质过

氧化反应, 抑制血清过氧化脂质及其代谢产物MDA、共轭二烯等活性毒性物质的生成; 黄酮类还参与调节和提高SOD、过氧化氢酶、谷胱甘肽过氧化物酶等抗氧化酶的活性^[62-63]。因此, EGb可视为一种广谱氧自由基清除剂。

维生素C(vitamin C, Vit C)又称L-抗坏血酸, 是一种水溶性自由基清除剂, 具有较强的抗氧化作用, 它所参与的反应比脂溶性自由基清除剂Vit E要多, 其清除自由基的机制较Vit E更为丰富。还原型Vit C是氢原子供体, 给出一个氢原子成为半脱氢维生素C, 再给出一个氢原子, 变成为双脱氢维生素C(即氧化型维生素C)。Vit C除了直接发挥清除自由基的功能之外, 还可以协助Vit E和GSH清除自由基, 在脂类过氧化连锁反应中起关键作用, 而使氧化型GSH还原为还原型GSH, 进而发挥抗氧化作用。研究^[64]显示: Vit C能够显著抑制雷公藤甲素对大鼠肾造成的结构与功能损害, 其机制是通过通过对Bcl-2家族成员表达的调控抑制雷公藤甲素诱导的肾小管上皮细胞凋亡。Vit C和Vit E联合治疗有保护糖尿病肾病的作用, 其机制可能与葡萄糖竞争性结合蛋白, 从而减少蛋白糖基化水平, 减少与自由基的直接反应有关^[65]。

3.3 其他

3.3.1 调脂药物

慢性肾疾病均存在脂质代谢异常, 早期肾小球硬化的一个重要表现就是单核、巨噬细胞的浸润, 然后吸收过多脂质形成泡沫细胞, 而单核/巨噬细胞的浸润受MCP-1等细胞因子的调控。在肾疾病的发展过程中, ox-LDL与单核/巨噬细胞起着关键作用, ox-LDL能诱导体外培养的肾小球内皮细胞产ICAM-1, 促进血循环中单核/巨噬细胞与内皮细胞黏附。这些黏附的单核/巨噬细胞进一步向肾小球系膜区游走、浸润、聚集, 可能是引发肾损害的重要原因。有研究^[66]发现活化的外周血单核细胞可刺激人近端肾小管上皮细胞转分化, 普伐他汀、辛伐他汀和洛伐他汀可以减少肾小管上皮细胞转分化, 减少纤维连接蛋白的表达; 氟伐他汀可抑制肾成纤维细胞增殖, 减少结缔组织生长因子及III型胶原mRNA表达。研究^[67]显示: 氟伐他汀治疗单侧输尿管结扎小鼠后梗阻侧肾间质纤维化胶原形成的同时还伴随着糖基化终末产物下降和多种氧化应激反应标志物产生的减少, 提示氟伐他汀的抗肾纤维化机制与抗氧化应激作用相关。

3.3.2 中药

随着近年来对肾纤维化发病机制的深入研究,尤其是细胞生物学、分子生物学的研究,针对单味药物及其有效提取物抗肾氧化应激的研究也日渐深入,目前已开发的药物有下列几类。1)黄酮类:黄酮类物质羟基位置上的羟基化程度是衡量黄酮抗氧化活性的一个重要方面,如水飞蓟素、银杏黄酮、三羟基查尔酮等。2)多糖类:多糖类在体内可以抑制脂质过氧化和蛋白氧化,防止含硫基蛋白的失活。其中五味子多糖、灵芝多糖以及螺旋藻多糖具有相当强的抗氧化活性。3)多酚类物质:多酚类物质抗氧化的活性与其酚类的含量有关。4)生物碱类:生物碱类抗氧化活性主要与电位因素和立体结构因素有关^[68-69]。

4 结 语

氧化应激与肾纤维化的关系密切,活性氧在肾纤维化的发病机制中扮演着重要的角色,探讨活性氧在肾纤维化发病机制中的作用,对于寻找能够有效抑制或缓解氧化应激反应的药物,预防、控制和治疗肾纤维化具有重要意义。

参 考 文 献

- 孙剑,陶立坚,金欧,等. P27在大鼠肾间质纤维化中的表达及依那普利对其干预后的影响[J]. 中南大学学报:医学版, 2006, 31(5): 671-675.
SUN Jian, TAO Lijian, JIN Ou, et al. Expression of p27 in rat kidney with unilateral ureteral obstruction and the therapeutic effect of enalapril[J]. Journal of Central South University. Medical Science, 2006, 31(5): 671-675.
- Hewitson TD. Fibrosis in the kidney: is a problem shared a problem halved?[J]. Fibrogenesis Tissue Repair, 2012, 5 (Suppl 1):S14
- Farris AB, Colvin RB. Renal interstitial fibrosis: mechanisms and evaluation[J]. Curr Opin Nephrol Hypertens, 2012, 21(3): 289-300.
- Zeisberg M, Strutz F, Müller GA. Renal fibrosis: an update[J]. Curr Opin Nephrol Hypertens, 2001,10(3):315-320.
- Bosmans JL, Holvoet P, Dauwe SE, et al. Oxidative modification of low-density lipoproteins and the outcome of renal allografts at 1 1/2 years[J]. Kidney Int, 2001, 59(6): 2346-2356.
- Gloire G, Legrand-Poels S, Piette J. NF-kappaB activation by reactive oxygen species: fifteen years later[J]. Biochem Pharmacol, 2006, 72(11): 1493-1505.
- Bao W, Behm DJ, Nerurkar SS, et al. Effects of p38 MAPK Inhibitor on angiotensin II-dependent hypertension, organ damage, and superoxide anion production[J]. J Cardiovasc Pharmacol, 2007, 49(6): 362-368.
- Scheuer H, Gwinner W, Hohbach J, et al. Oxidant stress in hyperlipidemia-induced renal damage[J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2000, 278(1): F63-F74.
- Rahal A, Kumar A, Singh V, et al. Oxidative stress, prooxidants, and antioxidants: the interplay[J]. Biomed Res Int, 2014, 2014: 761264.
- Watanabe H, Miyamoto Y, Honda D, et al. p-Cresyl sulfate causes renal tubular cell damage by inducing oxidative stress by activation of NADPH oxidase[J]. Kidney Int, 2013, 83(4): 582-592.
- Vásquez-Vivar J, Kalyanaraman B. Generation of superoxide from nitric oxide synthase[J]. FEBS Lett, 2000, 481(3): 305-306.
- Jan G. Oxidative stress in chronic renal failure[J]. Nephrol Dial Transplant, 2001, 16(1): 2135-2137.
- Halliwell B. Antioxidant defence mechanisms: from the beginning to the end (of the beginning)[J]. Free Radic Res, 1999, 31(4): 261-272.
- Peake JM, Gobe GC, Fassett RG, et al. The effects of dietary fish oil on inflammation, fibrosis and oxidative stress associated with obstructive renal injury in rats[J]. Mol Nutr Food Res, 2011, 55(3): 400-410.
- Yamagishi S, Matsui T. Advanced glycation end products, oxidative stress and diabetic nephropathy[J]. Oxid Med Cell Longev, 2010, 3(2): 101-108.
- Jiang Z, Seo JY, Ha H, et al. Reactive oxygen species mediate TGF-beta1-induced plasminogen activator inhibitor-1 upregulation in mesangial cells[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2003, 309(4): 961-966.
- Touyz RMJ, He G, El Mabrouk M, et al. Differential activation of extracellular signal-regulated protein kinase 1/2 and p38 mitogen-activated-protein kinase by AT1 receptors in vascular smooth muscle cells from Wistar-Kyoto rats and spontaneously hypertensive rats[J]. J Hypertens, 2001, 19(3 Pt 2): 553-559.
- Hannken T, Schroeder R, Zahner G, et al. Reactive oxygen species stimulate p44/42 mitogen-activated protein kinase and induce p27(Kip1): role in angiotensin II-mediated hypertrophy of proximal tubular cells[J]. J Am Soc Nephrol, 2000, 11(8): 1387-1397.
- Zhang H, Jiang Z, Chang J, et al. Role of NAD(P)H oxidase in transforming growth factor-beta1-induced monocyte chemoattractant protein-1 and interleukin-6 expression in rat renal tubular epithelial cells[J]. Nephrology (Carlton), 2009, 14(3): 302-310.
- López-Novoa JM, Rodríguez-Peña AB, Ortiz A, et al. Etiopathology of chronic tubular, glomerular and renovascular nephropathies: Clinical implications[J]. J Transl Med, 2011, 9(13): 2-26.
- 李雪竹, 严海东, 王俊, 等. 银杏叶提取物、 α -硫辛酸对糖尿病大鼠肾组织中糖基化终产物及其受体RAGE表达的影响[J]. 中国

- 中西医结合杂志, 2011, 31(4): 525-531.
- LI Xuezu, YAN Haidong, WANG Jun, et al. Extract of Ginkgo biloba and alpha-lipoic acid attenuate advanced glycation end products accumulation and RAGE expression in diabetic nephropathy rats [J]. Chinese Journal of Integrative Medicine, 2011, 31(4): 525-531.
22. Kusaka J, Koga H, Hagiwara S, et al. Age-dependent responses to renal ischemia-reperfusion injury[J]. J Surg Res, 2012, 172(1): 153-158.
 23. Lee HB, Yu MR, Yang Y, et al. Reactive oxygen species-regulated signaling pathways in diabetic nephropathy[J]. J Am Soc Nephrol, 2003, 14(8 Suppl 3): S241-S245.
 24. Geiszt M, Kopp JB, Várnai P, et al. Identification of renox, an NAD(P)H oxidase in kidney[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2000, 97(14): 8010-8014.
 25. Bedard K, Krause KH. The NOX family of ROS-generating NADPH oxidases: physiology and pathophysiology[J]. Physiol Rev, 2007, 87(1): 245-313.
 26. Achar E, Maciel TT, Collares CF, et al. Amitriptyline attenuates interstitial inflammation and ameliorates the progression of renal fibrosis[J]. Kidney Int, 2009, 75(6): 596-604.
 27. Dusi S, Della Bianca V, Grzeskowiak M, et al. Relationship between phosphorylation and translocation to the plasma membrane of p47phox and p67phox and activation of the NADPH oxidase in normal and Ca(2+)-depleted human neutrophils[J]. Biochem J, 1993, 290(Pt 1): 173-178.
 28. Cruz C, Correa-Rotter R, Sánchez-González DJ, et al. Renoprotective and antihypertensive effects of S-allylcysteine in 5/6 nephrectomized rats[J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2007, 293(5): F1691-F1698.
 29. Shao D, Liu J, Ni J, et al. Suppression of XBP1S mediates high glucose-induced oxidative stress and extracellular matrix synthesis in renal mesangial cell and kidney of diabetic rats[J]. PLoS One, 2013, 8(2): e56124.
 30. Sugiyama H, Kobayashi M, Wang DH, et al. Telmisartan inhibits both oxidative stress and renal fibrosis after unilateral ureteral obstruction in acatalasemic mice[J]. Nephrol Dial Transplant, 2005, 20(12): 2670-2680.
 31. Namikoshi T, Tomita N, Satoh M, et al. Olmesartan ameliorates renovascular injury and oxidative stress in Zucker obese rats enhanced by dietary protein[J]. Am J Hypertens, 2007, 20(10): 1085-1091.
 32. Gorin Y, Block K, Hernandez J, et al. Nox4 NAD(P)H oxidase mediates hypertrophy and fibronectin expression in the diabetic kidney[J]. J Biol Chem, 2005, 280(47): 39616-39626.
 33. Asaba K, Tojo A, Onozato ML, et al. Effects of NADPH oxidase inhibitor in diabetic nephropathy[J]. Kidney Int, 2005, 67(5): 1890-1898.
 34. Tasanarong A, Kongkham S, Duangchana S, et al. Vitamin E ameliorates renal fibrosis by inhibition of TGF-beta/Smad2/3 signaling pathway in UUO mice[J]. J Med Assoc Thai, 2011, 94(Suppl 7): S1-S9.
 35. Cruz CI, Ruiz-Torres P, del Moral RG, et al. Age-related progressive renal fibrosis in rats and its prevention with ACE inhibitors and taurine[J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2000, 278(1): F122-F129.
 36. Lee YJ, Han HJ. Troglitazone ameliorates high glucose-induced EMT and dysfunction of SGLTs through PI3K/Akt, GSK-3 β , Snail1, and β -catenin in renal proximal tubule cells[J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2010, 298(5): F1263-F1275.
 37. Guijarro C, Egido J. Transcription factor-kappa B (NF-kappa B) and renal disease[J]. Kidney Int, 2001, 59(2): 415-424.
 38. Sakamoto K, Kuribayashi F, Nakamura M, et al. Involvement of p38 MAP kinase in not only activation of the phagocyte NADPH oxidase induced by formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine but also determination of the extent of the activity[J]. J Biochem, 2006, 140(5): 739-745.
 39. Lee GT, Ha H, Jung M, et al. Delayed treatment with lithospermate B attenuates experimental diabetic renal injury[J]. J Am Soc Nephrol, 2003, 14(3): 709-720.
 40. Kumar A, Hawkins KS, Hannan MA, et al. Activation of PKC-beta(1) in glomerular mesangial cells is associated with specific NF-kappaB subunit translocation[J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2001, 281(4): F613-F619.
 41. Gruden G, Setti G, Hayward A, et al. Mechanical stretch induces monocyte chemoattractant activity via an NF-kappaB-dependent monocyte chemoattractant protein-1-mediated pathway in human mesangial cells: inhibition by riglitazone[J]. J Am Soc Nephrol, 2005, 16(3): 688-696.
 42. Ma FY, Tesch GH, Ozols E, et al. TGF- β 1-activated kinase-1 regulates inflammation and fibrosis in the obstructed kidney[J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2011, 300(6): 1410-1421.
 43. Hsieh TJ, Zhang SL, Filep JG, et al. High glucose stimulates angiotensinogen gene expression via reactive oxygen species generation in rat kidney proximal tubular cells[J]. Endocrinology, 2002, 143(8): 2975-2985.
 44. Qin J, Xie YY, Huang L, et al. Fluorofenidone inhibits NADPH oxidase via PI3K/ Akt pathway in the pathogenesis of renal interstitial fibrosis[J]. Nephrology (Carlton), 2013, 18(10): 690-699.
 45. Gill PS, Wilcox CS. NADPH oxidases in the kidney[J]. Antioxid Redox Signal, 2006, 8(9/10): 1597-1607.
 46. Araujo M, Welch WJ. Oxidative stress and nitric oxide in kidney function[J]. Curr Opin Nephrol Hypertens, 2006, 15(1): 72-77.
 47. 王琳娜, 陶立坚, 宁旺斌. 依那普利对单侧输尿管梗阻大鼠肾间质纤维化的防治作用[J]. 中南大学学报: 医学版, 2008, 33(9): 842-848。

- WANG Linna, TAO Lijian, NING Wangbin. Effect of enalapril on renal interstitial fibrosis in rats with unilateral ureteral obstruction[J]. Journal of Central South University. Medical Science, 2008, 33(9): 842-848.
48. Onozato ML, Tojo A, Goto A, et al. Oxidative stress and nitric oxide synthase in rat diabetic nephropathy: effects of ACEI and ARB[J]. Kidney Int, 2002, 61(1): 186-194.
49. Carbonell N, Blasco M, Sanjuán R, et al. Intravenous N-acetylcysteine for preventing contrast-induced nephropathy: a randomised trial[J]. Int J Cardiol, 2007, 115(1): 57-62.
50. Rhyu DY, Yang Y, Ha H, et al. Role of reactive oxygen species in TGF-beta1-induced mitogen-activated protein kinase activation and epithelial-mesenchymal transition in renal tubular epithelial cells[J]. J Am Soc Nephrol, 2005, 16(3): 667-675.
51. de Araujo M, Andrade L, Coimbra TM, et al. Magnesium supplementation combined with N-acetylcysteine protects against postischemic acute renal failure[J]. J Am Soc Nephrol, 2005, 16(11): 3339-3349.
52. Duru M, Nacar A, Yönden Z, et al. Protective effects of N-acetylcysteine on cyclosporine-A-induced nephrotoxicity[J]. Ren Fail, 2008, 30(4): 453-459.
53. Li BX, Tang YT, Wang W, et al. Fluorofenidone attenuates renal interstitial fibrosis in the rat model of obstructive nephropathy[J]. Mol Cell Biochem, 2011, 354(1/2): 263-273.
54. Peng Y, Yang H, Zhu T, et al. The antihepatic fibrotic effects of fluorofenidone via MAPK signalling pathways[J]. Eur J Clin Invest, 2013, 43(4): 358-368.
55. Chen LX, Yang K, Sun M, et al. Fluorofenidone inhibits transforming growth factor-beta1-induced cardiac myofibroblast differentiation[J]. Pharmazie, 2012, 67(5): 452-456.
56. Peng ZZ, Hu GY, Shen H, et al. Fluorofenidone attenuates collagen I and transforming growth factor- beta1 expression through a nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase-dependent way in NRK-52E cells[J]. Nephrology (Carlton), 2009, 14 (6): 565-572.
57. Zhao W, Chen SS, Chen Y, et al. Kidney fibrosis in hypertensive rats: role of oxidative stress[J]. Am J Nephrol, 2008, 28(4): 548-554.
58. Drukker A, Eddy AA. Failure of antioxidant therapy to attenuate interstitial disease in rats with reversible nephrotic syndrome[J]. J Am Soc Nephrol, 1998, 9(2): 243-251.
59. Saborio P, Krieg RJ Jr, Kuemmerle NB, et al. Alpha-tocopherol modulates lipoprotein cytotoxicity in obstructive nephropathy[J]. Pediatr Nephrol, 2000, 14(8/9): 740-746.
60. Himmelfarb J, Stenvinkel P, Ikizler TA, et al. The elephant in uremia: oxidant stress as a unifying concept of cardiovascular disease in uremia[J]. Kidney Int, 2002, 62(5): 1524-1538.
61. Tan X, Li Y, Liu Y. Therapeutic role and potential mechanisms of active Vitamin D in renal interstitial fibrosis[J]. J Steroid Biochem Mol Biol, 2007, 103(3/5): 491-496.
62. Martin R, Mozet C, Martin H, et al. The effect of Ginkgo biloba extract (EGb 761) on parameters of oxidative stress in different regions of aging rat brains after acute hypoxia[J]. Aging Clin Exp Res, 2011, 23(4): 255-263.
63. Mozet C, Martin R, Welt K, et al. Cardioprotective effect of EGb 761 on myocardial ultrastructure of young and old rat heart and antioxidant status during acute hypoxia[J]. Aging Clin Exp Res, 2009, 21(1): 14-21.
64. Yang F, Zhuo L, Ananda S, et al. Role of reactive oxygen species in triptolide-induced apoptosis of renal tubular cells and renal injury in rats[J]. J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci, 2011, 31(3): 335-341.
65. Patel S, Mason RM, Suzuki J, et al. Inhibitory effect of statins on renal epithelial-to-mesenchymal transition[J]. Am J Nephrol, 2006, 26(4): 381-387.
66. Seok YM, Kim J, Park MJ, et al. Wen-pi-tang-Hab-Wu-ling-san attenuates kidney fibrosis induced by ischemia/reperfusion in mice[J]. Phytother Res, 2008, 22(8): 1057-1063.
67. Yan F, Zhang QY, Jiao L, et al. Synergistic hepatoprotective effect of Schisandrae lignans with Astragalus polysaccharides on chronic liver injury in rats[J]. Phytomedicine, 2009, 16(9): 805-813.
68. Stiborová M, Rupertová M, Frei E. Cytochrome P450- and peroxidase-mediated oxidation of anticancer alkaloid ellipticine dictates its anti-tumor efficiency[J]. Biochim Biophys Acta, 2011, 1814(1):175-185.
69. Coskun ZK, Kerem M, Gurbuz N, et al. The study of biochemical and histopathological effects of spirulina in rats with TNBS-induced colitis[J]. Bratisl Lek Listy, 2011, 112(5): 235-243.

(本文编辑 平静波)

本文引用: 覃娇, 陶立坚. 活性氧与肾纤维化的研究进展[J]. 临床与病理杂志, 2014, 34(2): 182-189. DOI:10.11714/j.issn.2095-6959.2014.02.012

Cite this article as: QIN Jiao, TAO Lijian. Progress in study on reactive oxygen species and renal fibrosis[J]. Journal of Clinical and Pathological Research, 2014, 34(2): 182-189. DOI:10.11714/j.issn.2095-6959.2014.02.012