doi:10.11659/jjssx.05E024062

·基础研究·

精氨酸酶II在2型糖尿病肾病大鼠肾组织中的表达及作用

李 秀[1],张海英[2],江玉波[3],王少清[3],莫梓沂[4],薛世圆[5],刘 畅[1] (1.成都医学院基础医学院,四川 成都 610500;2.成都市郫都区人民医院内分泌代谢科,四川 成都 611730;3.成都医学院第二附属医院肾内科,四川 成都 610057;4.成都医学院药学院,四川 成都 610500;5.成都医学院临床医学院,四川 成都 610500)

[摘 要] **目的** 探讨精氨酸酶Ⅱ(ArgⅡ)在糖尿病肾病(DN)大鼠肾组织中的表达及其在DN发生过程中的作用。**方法** 10只雄性SD大鼠随机分为对照组和模型组,每组5只。采用高糖高脂饲料饲养和腹腔注射小剂量链脲佐菌素(45 mg/kg)制作大鼠DN模型,继续饲养11周后处死。测定大鼠体质量和血、尿生化指标;取右肾称重并进行病理学检查,观察肾组织病理学变化和ArgⅡ、$CD68^+$蛋白表达,免疫荧光双染色法观察ArgⅡ与肾巨噬细胞活化标志因子$CD68^+$的分布和表达情况;Western blot检测肾组织中ArgⅡ、NF-κB、TNF-α、IL-6蛋白表达情况。**结果** 与对照组相比,模型组肾质量/体质量、24 h尿量、24 h尿蛋白、空腹血糖、尿素氮和胰岛素水平均明显增高($P<0.05$)。肾组织病理学结果显示:模型组大鼠肾小球系膜细胞坏死,血管扩张,肾小管上皮细胞脂肪变性、淤血。与对照组比较,模型组大鼠肾组织ArgⅡ、$CD68^+$、NF-κB、TNF-α、IL-6蛋白表达均明显升高($P<0.05$)。免疫荧光双染色显示,ArgⅡ和$CD68^+$共表达于肾组织中,且模型组大鼠ArgⅡ、$CD68^+$荧光强度强于对照组($P<0.01$)。**结论** ArgⅡ在DN中表达增高,其可能参与了DN炎性病变的发生。

[关键词]精氨酸酶Ⅱ;糖尿病肾病;肾巨噬细胞;免疫炎症

[中图分类号]R364.5 [文献标志码]A [收稿日期]2024-05-13

Expression and role of Arginase Ⅱ in the kidney tissues of rats with type 2 diabetic nephropathy

LI Xiu[1], ZHANG Hai-ying[2], JIANG Yu-bo[3], WANG Shao-qing[3], MO Zi-yi[4], XUE Shi-yuan[5], LIU Chang[1] (1. School of Basic Medicine, Chengdu Medical College, Chengdu Sichuan 610500, China; 2. Department of Endocrinology and Metabolism, Pidu District People's Hospital of Chengdu, Chengdu Sichuan 611730, China; 3. Department of Nephrology, Second Affiliated Hospital of Chengdu Medical College, Chengdu Sichuan 610057, China; 4. School of Pharmacy, Chengdu Medical College, Chengdu Sichuan 610500, China; 5. School of Clinical Medicine, Chengdu Medical College, Chengdu Sichuan 610500, China)

Abstract: Objective To investigate the expression of arginase Ⅱ (ArgⅡ) in kidney tissue of rats with diabetic nephropathy (DN)

[基金项目]四川省自然科学基金(2022NSFSC0759);发育与再生四川省重点实验室开放课题(23LHPDZYB16;24LHFYSZ1-47);四川省大学生创新创业训练计划(S202313705059);成都医学院科研基金项目(CYZYB20-15);成都医学院-成都医学院第一附属中医医院新都区中医医院临床科学研究基金项目(2022LHZYYB-21);成都医学院-成都医学院第二附属医院核工业416医院临床科学研究基金项目(2022LHFSZYB-15)

[通信作者]刘 畅,E-mail:liuchang198507@126.com

[13] Wang SM, Liu GQ, Xian HB, et al. LncRNA NEAT1 alleviates sepsis-induced myocardial injury by regulating the TLR2/NF-κB signaling pathway[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2019, 23(11): 4898-4907. doi: 10.26355/eurrev_201906_18078.

[14] Dai W, Wang M, Wang P, et al. lncRNA NEAT1 ameliorates LPS-induced inflammation in MG63 cells by activating autophagy and suppressing the NLRP3 inflammasome[J]. Int J Mol Med, 2021, 47(2): 607-620. doi: 10.3892/ijmm.2020.4827.

[15] Liang J, Liu C, Xu D, et al. LncRNA NEAT1 facilitates glioma progression via stabilizing PGK1[J]. J Transl Med, 2022, 20(1): 80. doi: 10.1186/s12967-022-03273-2.

[16] Wang Z, Hao J, Chen D. Long noncoding RNA nuclear enriched abundant transcript 1 (NEAT1) regulates proliferation, apoptosis, and inflammation of chondrocytes via the miR-181a/glycerol-3-phosphate dehydrogenase 1-like (GPD1L) axis[J]. Med Sci Monit, 2019, 25: 8084-8094. doi: 10.12659/MSM.918416.

[17] Xiao P, Zhu X, Sun J, et al. LncRNA NEAT1 regulates chondrocyte proliferation and apoptosis via targeting miR-543/PLA2G4A axis[J]. Hum Cell, 2021, 34(1): 60-75. doi: 10.1007/s13577-020-00433-8.

[18] Zhang HS, Ouyang B, Ji XY, et al. Gastrodin alleviates cerebral ischaemia/reperfusion injury by inhibiting pyroptosis by regulating the lncRNA NEAT1/miR-22-3p axis[J]. Neurochem Res, 2021, 46(7): 1747-1758. doi: 10.1007/s11064-021-03285-2.

[19] Prinz F, Kapeller A, Pichler M, et al. The implications of the long non-coding RNA NEAT1 in non-cancerous diseases[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(3): 627. doi: 10.3390/ijms20030627.

[20] Huang F, Su Z, Yang J, et al. Downregulation of lncRNA NEAT1 interacts with miR-374b-5p/PGAP1 axis to aggravate the development of osteoarthritis[J]. J Orthop Surg Res, 2023, 18(1): 670. doi: 10.1186/s13018-023-04147-z.

[21] Yuan X, Li T, Shi L, et al. Human umbilical cord mesenchymal stem cells deliver exogenous miR-26a-5p via exosomes to inhibit nucleus pulposus cell pyroptosis through METTL14/NLRP3[J]. Mol Med, 2021, 27(1): 91. doi: 10.1186/s10020-021-00355-7.

(编辑:龙小芬)

and its significance in the development of DN. **Methods** A total of 10 male SD rats were randomly divided into the control group and the model group, with 5 rats in each group. An rat model of DN was developed by feeding with high-sugar and high-fat diet combined with intraperitoneal injection of low-dose streptozotocin (45 mg/kg), and they were sacrificed after 11 weeks of continued feeding. The body weight, and biochemical indexes of blood and urine of rats were determined. The right kidney was weighed and histopathological examination was performed. The pathological changes of kidney tissues and protein expression of Arg Ⅱ and $CD68^+$ were observed, and the immunofluorescence double staining was used to observe the distribution and expression of Arg Ⅱ and a marker of renal macrophage activation $CD68^+$; the protein expression of Arg Ⅱ, NF-κB, TNF-α and IL-6 in kidney tissues was determined by Western blot. **Results** Compared with the control group, the ratio of kidney weight to body weight, 24-hour urine volume, 24-hour urine protein, fasting blood glucose, urea nitrogen and insulin level in the model group were significantly increased ($P<0.05$). The renal histopathology showed that the mesangial cells of the renal glomerular were necrotic with vascular dilatation, and the renal tubular epithelial cells were steatosis and congestion. Compared with the control group, the protein expression of Arg Ⅱ, $CD68^+$, NF-κB, TNF-α and IL-6 in the kidney tissues of the model group were significantly increased ($P<0.05$). Immunofluorescence double staining demonstrated the co-expression of Arg Ⅱ and $CD68^+$ in renal tissue, and the fluorescence intensities of both Arg Ⅱ and $CD68^+$ in the model group were significantly stronger than those in the control group ($P<0.01$). **Conclusion** The expression of Arg Ⅱ is increased in DN, which may be participated in the occurrence of inflammatory lesions in DN.

Keywords: arginase Ⅱ; diabetic nephropathy; renal macrophages; immune inflammation

糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)是糖尿病患者最常见且最严重的并发症之一。约1/3糖尿病患者可发展为DN,进而发展为终末期肾病(end-stage kidney disease, ESKD),严重影响糖尿病患者的生存质量,其发病率目前仍在逐年攀升,是导致糖尿病患者死亡的主要原因[1]。流行病学研究显示,DN已成为肾衰竭患者进行血液透析治疗或肾移植的首要原因[2]。DN早期治疗可获得较好的效果,一旦错过最佳治疗时间,会很快发展为尿毒症、肾功能衰竭,故早期诊断DN并了解其发病机制对于其早期预防和治疗有重要意义[3]。近年来的研究发现,DN的发生与肾巨噬细胞浸润为主的炎症细胞激活导致的慢性低度炎症密切相关,其中核蛋白因子κB(nuclear factor-kappaB, NF-κB)在各种炎症因子相互作用和影响的复杂网络中起着重要的调控作用[4-6]。持续高糖环境下,NF-κB被激活,诱导炎症因子生成,炎症因子又可激活胞质中的NF-κB,从而促进肾小球硬化及肾小管间质纤维化[7]。

研究发现,精氨酸酶Ⅱ(arginase Ⅱ, ArgⅡ)是导致不同炎症性疾病发生的重要分子之一[8-9]。近年来国内外许多学者也发现,ArgⅡ参与了动脉粥样硬化、心血管衰老发生发展过程,成为治疗心血管疾病潜在点之一[10-12]。Huang等[13]发现,ArgⅡ对于肥胖性肾病的氧化应激与炎症反应具有重要作用。然而ArgⅡ在DN中的作用机制目前尚未见报道。

本研究采用高糖高脂饮食和小剂量链脲佐菌素(streptozotocin, STZ)腹腔注射建立2型糖尿病肾病大鼠模型,分析ArgⅡ在DN大鼠肾组织中的表达及参与DN炎性病变的作用机制,以期为DN的防治提供理论基础和治疗靶点。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物 8周龄雄性SD大鼠10只,体质量(150±15)g,由成都达硕实验动物有限公司提供[生产许可证号:SCXK(川)2020-030]。所有大鼠均饲养于成都医学院SPF级实验动物中心[动物使用许可证号:SYXK(川)2020-0196],饲料由成都达硕实验动物有限公司提供,饲养环境:温度(22±1)℃,湿度60%,光暗周期12 h/12 h,自由饮水和进食。所有操作均符合成都医学院实验动物伦理要求(批准号:成医动伦[2022]第049号)。

1.1.2 主要试剂 STZ购自美国AbMole公司;HE染色液购自武汉塞维尔生物科技有限公司;ELISA试剂盒购自上海茁彩生物科技有限公司;BCA蛋白浓度测定试剂盒(增强型)购自上海碧云天生物技术有限公司;DAB试剂盒购自北京中杉金桥生物有限公司;P65、ArgⅡ、β-actin抗体购自美国abclonal公司;TNF-α抗体购自武汉博士德生物工程有限公司;内参GAPDH抗体、生物素化山羊抗兔IgG(H+L)购自美国Affinity公司;IL-6抗体购自北京博奥森生物技术有限公司;内参Tublinβ抗体购自北京中杉金桥生物技术有限公司;生物素化山羊抗鼠IgG(H+L)购自美国Abcam公司;免疫荧光抗体ArgⅡ、$CD68^+$购自美国Abcam公司;DAPI染色试剂购自武汉塞维尔生物科技有限公司;尿素氮、肌肝、胰岛素、尿蛋白定量试剂盒购自南京建成生物工程研究所。

1.1.3 主要仪器 血糖仪(美国强生有限公司);

全自动生化分析仪(德国Bayer公司);酶标仪(美国ThermoFisher仪器有限公司);转轮切片机(德国MICROM公司);包埋机(常州郊区中威电子仪器厂);修复仪(美国Thermo Shandon公司);干燥箱(北京中兴伟业仪器设备厂);组化笔(北京兰杰柯科技有限公司);脱色摇床(上海程捷仪器设备有限公司);倒置相差显微镜(德国LEICA公司);数字切片扫描仪(日本OLYMPUS公司);电泳转膜仪(美国Bio-Rad,Power-Pac™ HC公司);水平脱色摇床(江苏科析仪器有限公司);凝胶成像及分析系统(美国Bio-Rad Laboratories公司);高速低温离心机(美国Thermo FisherScientific公司)。

1.2 方法

1.2.1 DN大鼠模型制备与分组 将10只SD雄性大鼠随机分为对照组(普通饲料喂养,能量含量:12%脂肪、28%蛋白质、60%碳水化合物)和模型组(高糖高脂饲料喂养,能量含量:55%脂肪、21%蛋白质、24%碳水化合物)。2组大鼠饲养4周后禁食12 h,模型组大鼠按照体质量(45 mg/kg)一次性腹腔小剂量注射1% STZ,对照组大鼠注射等剂量枸橼酸盐缓冲液。24 h后,大鼠尾静脉采血测定空腹血糖,若空腹血糖≥16.7 mmol/L,且出现多饮、多食、多尿症状,则说明糖尿病大鼠模型制作成功;继续饲养7周,期间定期监测24 h尿蛋白,当24 h尿蛋白≥30 mg,则说明DN大鼠模型制作成功[14]。

1.2.2 血尿相关生化指标检测 从第7周开始,每周一8:00取24 h尿标本,记录24 h尿量,同时取10 mL尿标本测定24 h尿蛋白。第12周所有大鼠禁食12 h后,给予2.5%异氟烷麻醉后心脏取血,检测血清尿素氮、肌酐、血糖、胰岛素水平。

1.2.3 肾组织病理学检测 2组大鼠称重、麻醉后摘取双肾,右肾称重后用4%多聚甲醛固定、梯度乙醇脱水、透明、浸蜡包埋后制作切片并进行HE染色,光镜下观察肾组织病理改变。左肾冻存于液氮灌中,然后-80 ℃保存,后续进行蛋白检测。

1.2.4 免疫组织化学检测 右肾经生理盐水冲洗、多聚甲醛固定、脱水透明、浸蜡包埋、切片,按照DAB试剂盒说明书进行实验。石蜡切片脱蜡至水、微波抗原修复、阻断内源性过氧化物酶、血清封闭后,滴加ArgⅡ和CD68$^+$一抗过夜,次日加入二抗37 ℃孵育30 min,DAB显色8~10 min,苏木精复染10 min,梯度乙醇脱水后中性树胶封片,然后在倒置相差显微镜下观察并采集图像,先在低倍镜(×100)下调试观察,确定肾组织结构,然后转高倍镜(×400)下观察肾组织ArgⅡ和CD68$^+$表达。ArgⅡ、CD68$^+$免疫反应阳性细胞表达判定标准:以胞浆出现棕黄色颗粒为阳性反应。使用Halo数据分析系统计算每张图像阳性细胞面积占比。

1.2.5 免疫荧光双染色法 右肾经生理盐水冲洗、多聚甲醛固定、脱水透明、浸蜡包埋、切片,石蜡切片脱蜡至水、微波抗原修复、阻断内源性过氧化物酶、血清封闭后,滴加ArgⅡ一抗过夜,次日加入二抗37 ℃孵育30 min,微波抗原修复,滴加CD68$^+$一抗过夜,次日滴加DAPI,室温孵育10 min,抗荧光衰减封片剂封片。使用数字扫描浏览软件对切片进行图像采集,每张切片先于低倍镜下观察全部肾组织,再分别采集低倍镜(×100)及高倍镜(×200)下肾组织ArgⅡ和CD68$^+$表达图像,共采集3个视野。然后使用ImageJ图像分析系统测定所采集全部图像的荧光强度和面积,并计算每张图像的平均荧光强度。

1.2.6 Western blot检测 于-80 ℃冰箱取出肾组织,洗涤、剪碎、裂解、离心,取上清液后用BCA试剂盒测定蛋白浓度。煮沸5 min使蛋白变性后进行SDS-PAGE电泳,然后放入电转槽100 V稳压转膜,5%脱脂奶粉封闭1 h,加入适当浓度的ArgⅡ、NF-κB、TNF-α、IL-6一抗4 ℃过夜,次日加入适当浓度的二抗37 ℃摇床孵育1 h,ECL显色,凝胶电泳图像分析仪采集图像。

1.3 统计学分析

数据使用SPSS 25.0软件进行统计学分析,计量资料以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,2组间比较采用独立样本t检验。以$P<0.05$为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠体质量和右肾大体结果

与对照组相比,模型组大鼠体质量明显减轻,肾质量/体质量明显增高,差异均有统计学意义($P<0.05$);2组大鼠肾质量比较差异无统计学意义($P>0.05$),见表1。

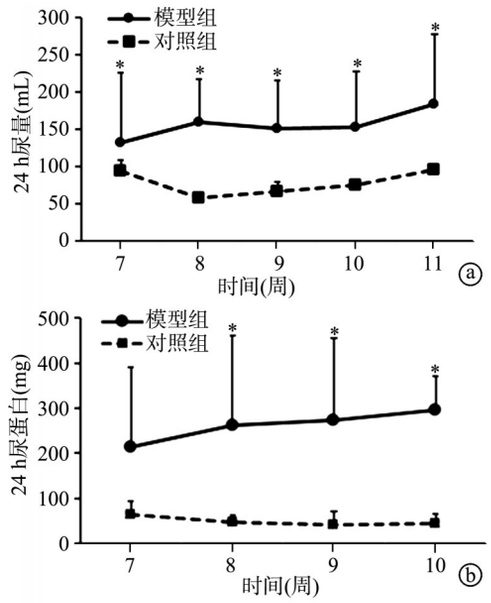
表1 大鼠体质量、肾质量、肾质量/体质量结果($\bar{x}\pm s$)

组别	n	体质量(g)	肾质量(g)	肾质量/体质量
模型组	5	412.00±12.11*	2.10±0.46	0.52±0.10**
对照组	5	530.00±24.29	1.96±0.13	0.37±0.01

*:与对照组比较,$P<0.05$;**:与对照组比较,$P<0.01$

2.2 大鼠尿生化相关指标

与对照组相比,在第7周时模型组大鼠24 h尿量开始出现明显增高,差异有统计学意义($P<0.05$)。在第8周时,模型组大鼠24 h尿量和24 h尿蛋白明显升高,且随着时间的推移模型组上述2个指标高于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$),见图1。



a:24 h尿量;b:24 h尿蛋白　*:与对照组比较,$P<0.05$

图1　2组大鼠的24 h尿量和尿蛋白的变化

2.3　大鼠血生化相关指标

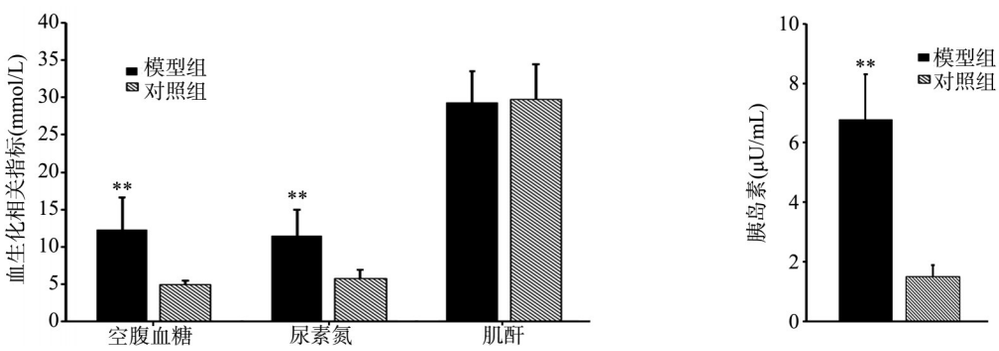
与对照组相比,模型组大鼠的空腹血糖、尿素氮和胰岛素水平均明显增高,差异具有统计学意义($P<0.05$);2组大鼠肌酐比较差异无统计学意义($P>0.05$),见图2。

2.4　大鼠肾组织的病理改变

肾组织HE染色结果显示:对照组大鼠肾小球基底膜完整,无变性、坏死;肾小管结构完整,管腔内无细胞管型或蛋白管型,间质无充血及炎症细胞浸润;髓质集合管结构完整,未见变性、坏死或脱落。模型组大鼠肾组织可见明显病理改变,部分肾组织见肾小球系膜细胞坏死、血管扩张、肾小管上皮细胞脂肪变性、淤血等病理改变(图3)。

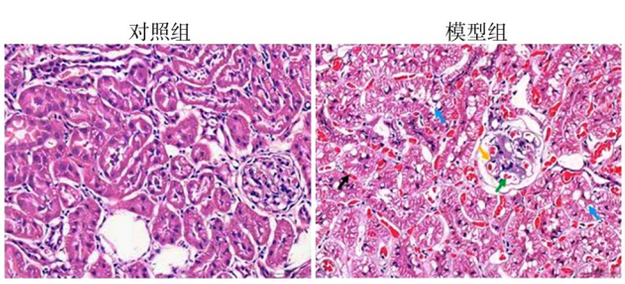
2.5　大鼠肾组织ArgII、CD68$^+$蛋白免疫组化检测结果

与对照组相比,模型组大鼠肾组织ArgⅡ、CD68$^+$蛋白表达增高,差异具有统计学意义($P<0.01$),见图4。



**:与对照组比较,$P<0.01$

图2　2组大鼠血生化相关指标的变化



黄色箭头:肾小球系膜细胞坏死;绿色箭头:肾小球血管扩张;蓝色箭头:肾小管上皮细胞脂肪变性;黑色箭头:淤血

图3　大鼠肾组织病理改变(×400)

2.6　大鼠肾组织ArgII、CD68$^+$免疫荧光双染色结果

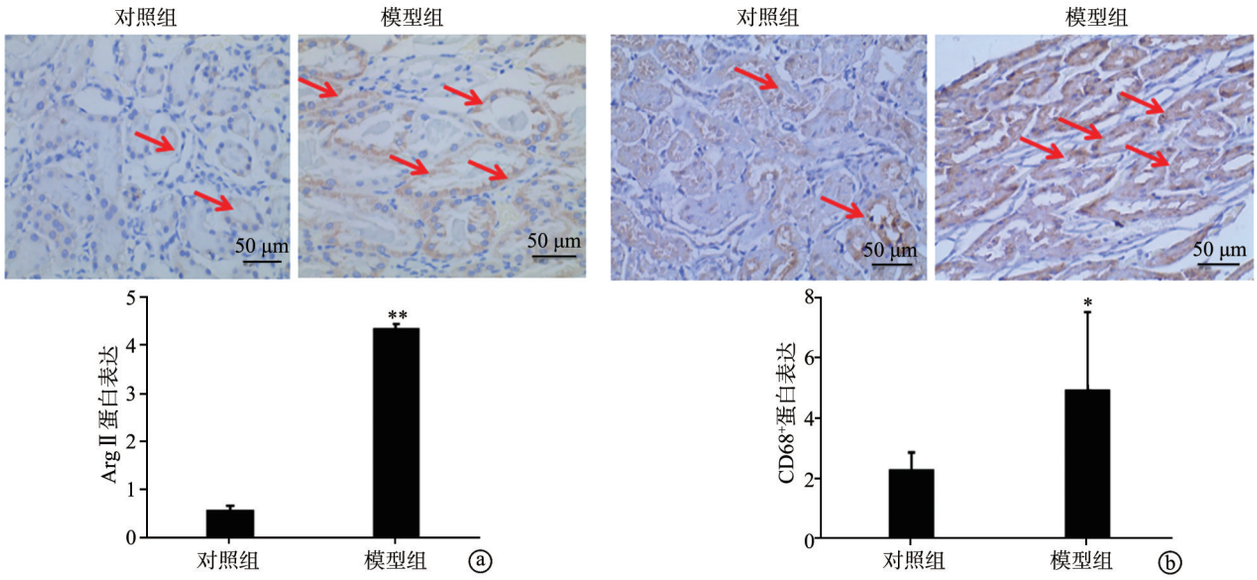
免疫荧光双染色显示,ArgⅡ可表达于CD68$^+$阳性标记的巨噬细胞胞浆中。与对照组相比,模型组大鼠肾组织ArgⅡ和CD68$^+$荧光强度明显增强($P<0.01$),见图5。这表明ArgⅡ与肾巨噬细胞的活化有关。

2.7　大鼠肾组织ArgII、NF-κB、TNF-α、IL-6蛋白表达

与对照组相比,模型组ArgⅡ、NF-κB、TNF-α、IL-6蛋白表达均显著增加($P<0.05$),见图6。以上结果表明ArgⅡ参与了DN肾组织的炎症反应。

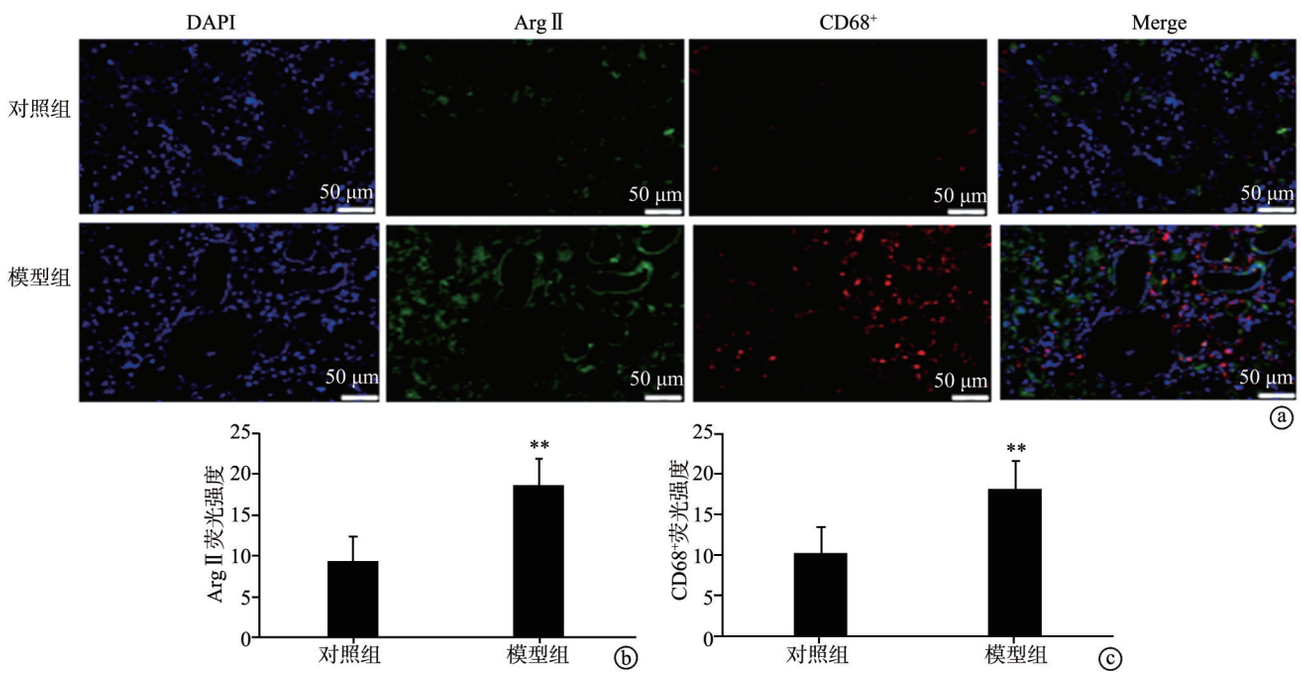
3　讨论

DN作为引起ESRD的主要病因,对人类的生命健康构成了很大的威胁。近年来的研究证实,肾慢性低度炎症是DN早期的表现[15],基于此,探讨炎症反应如何促进DN炎性病变逐渐受到重视。研究发现,以肾巨噬细胞浸润为主的炎症细胞的激活及各种炎症细胞因子的表达增加是导致肾纤维化发生发展的主要原因[16]。一项关于1型和2型DN动物模型的分析表明,90%的浸润细胞为表达CD68$^+$的巨噬细胞[17]。巨噬细胞的浸润、募集和活化可导致大量促炎因子、促纤维化因子和抗血管生成因子(如IL-1、IL-6、TNF-α、转化生长因子β、血管内皮生长因子等)的生成与释放,与肾固有细胞相互作用共同参与DN免疫炎性损



a:大鼠肾组织ArgII的免疫组化染色结果;b:大鼠肾组织CD68⁺免疫组化染色结果　红色箭头:阳性细胞;*:与对照组比较,$P<0.05$;**:与对照组比较,$P<0.01$

图4　各组大鼠肾组织免疫组化染色结果

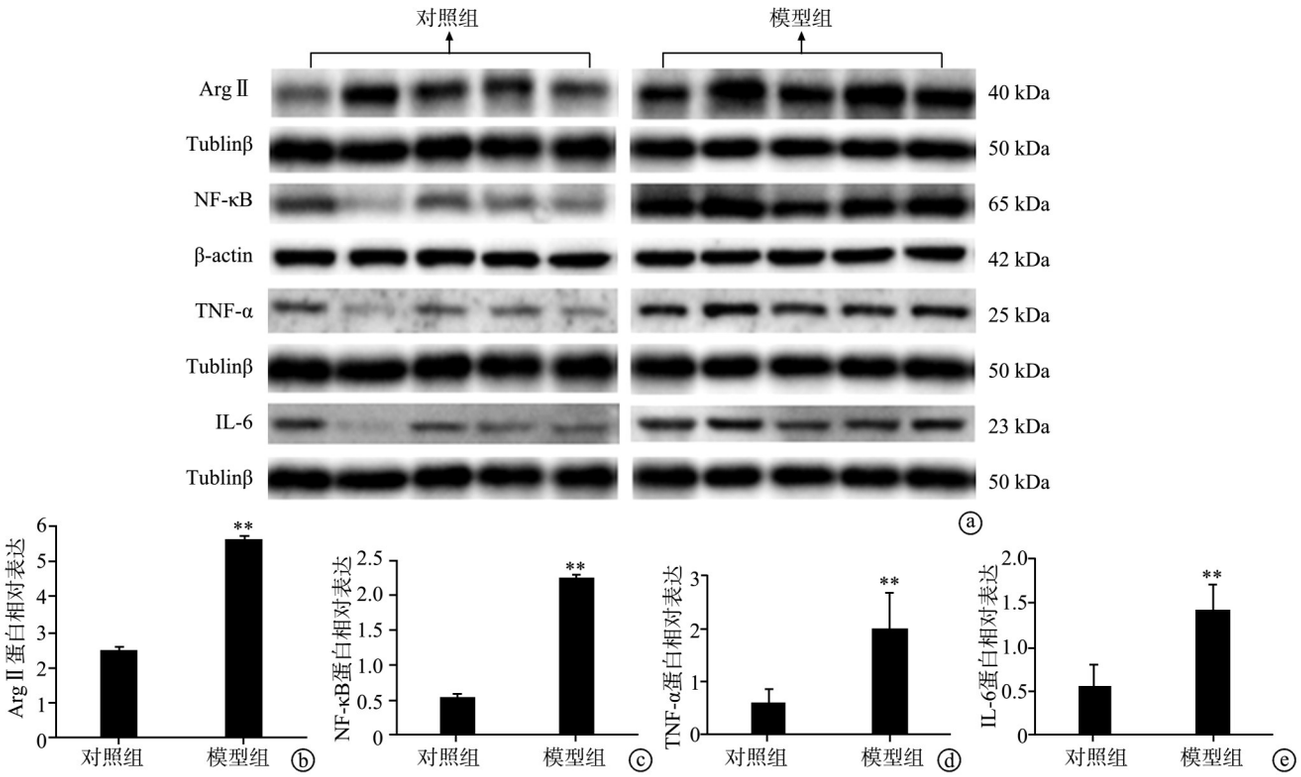


a:大鼠肾组织ArgII(绿色)和CD68⁺(红色)免疫荧光双染色;b:大鼠肾组织ArgII荧光强度;c:大鼠肾组织CD68⁺荧光强度　**:与对照组比较,$P<0.01$

图5　各组大鼠肾组织免疫荧光共染色结果

伤的发生过程,加重肾损伤及炎症反应[18-19]。本实验模拟2型糖尿病的发病过程,并在此基础上持续高糖高脂饲料喂养使糖尿病发展为DN[20],结果显示,大鼠出现肾质量/体质量明显增高,空腹血糖、尿素氮、胰岛素、24 h尿蛋白明显增加,说明大鼠出现了2型糖尿病伴胰岛素抵抗和肾损伤等并发症;病理结果显示,肾组织出现肾小球系膜细胞坏死、血管扩张,肾小管上皮细胞脂肪变性,淤血等明显的病理改变。同时,我们对肾组织巨噬细胞活化标志因子CD68⁺进行了检测,结果显示,模型组大鼠CD68⁺表达明显升高,提示DN肾组织存在巨噬细胞浸润的炎症反应。

ArgⅡ是一种线粒体酶,在肾和前列腺中尤为丰富,某些刺激因素(如脂多糖、TNF-α、氧化型低密度脂蛋白和缺氧等)可诱导ArgⅡ从线粒体移位到胞



a:蛋白灰度图;b:ArgII蛋白表达;c:NF-κB蛋白表达;d:TNF-α蛋白表达;e:IL-6蛋白表达 **:与对照组比较,$P<0.01$

图6 2组大鼠肾组织ArgⅡ、NF-κB、TNF-α和IL-6蛋白表达

浆[21-22]。在肾相关疾病研究中,ArgⅡ在肥胖小鼠肾组织中的表达增加[13]。精氨酸酶抑制剂可有效降低血糖,逆转糖尿病大鼠的病理进程[23],提示ArgⅡ预防和治疗慢性肾疾病具有一定优势。本研究结果显示,在模型组大鼠的肾组织中ArgⅡ蛋白表达较对照组大鼠明显增加,说明持续高血糖可促进肾组织中ArgⅡ的表达。2型DN是一种慢性低度炎症代谢性疾病,其部分机制是肥胖引起机体慢性炎症反应,导致胰岛素抵抗、血糖异常甚至DN的发生。ArgⅡ在机体的慢性炎症过程中也起着一定的作用。我们前期的研究发现,在肝细胞中,ArgⅡ通过诱导肝巨噬细胞炎症反应和TNF-α、IL-6的释放,促进固醇调节元件结合蛋白-1c的表达,进一步增强脂肪合成相关酶的活性,增加肝脂肪的生成,最终导致糖尿病性脂肪肝的发生[24]。研究证明,ArgⅡ与mTOR-核糖体蛋白S6激酶β-1相互作用促发炎症反应和氧化应激[25-26]。这些研究均提示,ArgⅡ在炎症的发生发展过程中起着一定作用。本研究发现,DN大鼠出现肾损伤的同时伴有ArgⅡ表达明显增加,说明ArgⅡ可能参与了DN的发生。同时本研究探讨了DN肾组织巨噬细胞标志因子$CD68^+$与ArgⅡ是否存在共表达的情况,免疫荧光双染色结果表明,肾组织中$CD68^+$与ArgⅡ存在共定位,且模型组大鼠ArgⅡ和$CD68^+$荧光强度明显增强,提示ArgⅡ可能参与了巨噬细胞活化相关的炎症病变的发生。然而在DN中,ArgⅡ的促炎作用机制尚不清楚。本研究参考相关文献资料[27-28],对能够参与炎症反应的多种信号传导途径的多向性转录因子NF-κB及相关炎症因子进行了检测发现,模型组大鼠在高糖状态下,肾组织NF-κB表达明显增加,炎症因子TNF-α、IL-6的表达也明显增加,提示ArgⅡ表达增高可能参与了DN炎性病变的发生,可为进一步研究DN的防治提供新的思路。

[参考文献]

[1] Thipsawat S. Early detection of diabetic nephropathy in patient with type 2 diabetes mellitus: a review of the literature[J]. Diab Vasc Dis Res, 2021, 18(6): 14791641211058856. doi: 10.1177/14791641211058856.

[2] 金 李,王晓培,王志刚,等. 2型糖尿病合并肾损害患者临床及病理特点分析[J]. 中华肾脏病杂志, 2023, 39(7): 532-535. doi: 10.3760/cma.j.cn441217-20221124-01144.

[3] Hu QC, Jiang L, Yan Q, et al. A natural products solution to diabetic nephropathy therapy[J]. J Adv Res, 2023, 241: 108314. doi: 10.1016/j.pharmthera.2022.108314.

[4] Tessari P. Nitric oxide in the normal kidney and in patients with diabetic nephropathy[J]. Pharmacol Ther, 2023, 28(3): 257-268. doi: 10.1007/s40620-014-0136-2.

[5] Ke GB, Chen XQ, Liao RY, et al. Receptor activator of NF-κB mediates podocyte injury in diabetic nephropathy[J]. Kidney Int, 2021, 100(2): 377-390. doi: 10.1016/j.kint.2021.04.036.

[6] Li HD, You YK, Shao BY, et al. Roles and crosstalks of macrophages in diabetic nephropathy[J]. Front Immunol, 2022, 13: 1015142. doi: 10.3389/fimmu.2022.1015142.

[7] Anthoney N, Foldi I, Hidalgo A. The interplay of renin-angiotensin system and toll-like receptor 4 in the Inflammation of diabetic nephropathy [J]. J Immunol Res, 2020, 2020: 6193407. doi: 10.1155/2020/6193407.

[8] Huang J, Liu C, Ming XF, et al. Inhibition of p38mapk reduces adipose tissue inflammation in aging mediated by arginase-Ⅱ[J]. Pharmacology, 2020, 105(9/10): 491-504. doi: 10.1159/000507635.

[9] Zhu C, Potenza DM, Yang Y, et al. Role of pulmonary epithelial arginase-Ⅱ in activation of fibroblasts and lung inflammaging Ⅱ[J]. Aging Cell, 2023, 22(4): e13790. doi: 10.1111/acel.13790.

[10] López V, Uribe E, Moraga FA. Activation of arginase Ⅱ by asymmetric dimethylarginine and homocysteine in hypertensive rats induced by hypoxia: a new model of nitric oxide synthesis regulation in hypertensive processes?[J]. Hypertens Res, 2021, 44(3): 263-275. doi: 10.1038/s41440-020-00574-1.

[11] Wu Z, Yu Y, Liu C, et al. Role of p38 mitogen-activated protein kinase in vascular endothelial aging: interaction with arginase-Ⅱ and S6K1 signaling pathway[J]. Aging (Albany NY), 2015, 7(1): 70-81. doi: 10.18632/aging.100722.

[12] Serna E, Mauricio MD, San-Miguel T, et al. Glucose 6-P dehydrogenase overexpression improves aging-induced endothelial dysfunction in aorta from mice: role of arginase Ⅱ[J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(4): 3622. doi: 10.3390/ijms24043622.

[13] Huang J, Rajapakse A, Xiong Y, et al. Genetic targeting of arginase-Ⅱ in mouse prevents renal oxidative stress and inflammation in diet-induced obesity[J]. Front Physiol, 2016, 7: 560. doi: 10.3389/fphys.2016.00560.

[14] 苑天彤,姜 雪,李 雪,等. 何首乌提取物二苯乙烯苷对糖尿病肾病模型大鼠肾组织血管内皮生长因子干预研究[J]. 中华中医药学刊, 2023, 41(4): 218-220. doi: 10.13193/j.issn.1673-7717.2023.04.045.

[15] Rayego-Mateos S, Rodrigues-Diez RR, Fernandez-Fernandez B, et al. Targeting inflammation to treat diabetic kidney disease: the road to 2030[J]. Kidney Int, 2023, 103(2): 282-296. doi: 10.1016/j.kint.2022.10.030.

[16] Luo LH, Wang SJ, Hu YL, et al. Precisely regulating M2 subtype macrophages for renal fibrosis resolution[J]. ACS Nano, 2023, 17(22): 22508-22526. doi: 10.1021/acsnano.3c05998.

[17] Ma TK, Li X, Zhu YH, et al. Excessive activation of notch signaling in macrophages promote kidney inflammation, fibrosis, and necroptosis [J]. Front Immunol, 2022, 13: 835879. doi: 10.3389/fimmu.2022.835879.

[18] Ganesh RN, Garcia G, Truong L. Monocytes and macrophages in kidney disease and homeostasis[J]. Int J Mol Sci, 2024, 25(7): 3763. doi: 10.3390/ijms25073763.

[19] Meng XM, Jin J, Lan HY. Driving role of macrophages in transition from acute kidney injury to chronic kidney disease[J]. Chin Med J (Engl), 2022, 135(7): 757-766. doi: 10.1097/CM9.0000000000002100.

[20] Kishore L, Singh R. Ameliorative effect of cephalandraindica homeopathic preparation in STZ induced diabetic nephropathy rats [J]. J Ayurveda Integr Med, 2019, 10(4): 255-261. doi: 10.1016/j.jaim.2017.07.010.

[21] Ajalbert G, Brenna A, Ming XF, et al. Elevation of arginase-Ⅱ in podocytes contributes to age-associated albuminuria in male mice[J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(13): 11228. doi: 10.3390/ijms241311228.

[22] 刘 畅,罗 蓉,杜吉佩,等. 精氨酸酶Ⅱ:一种"不同寻常"的酶[J]. 中国比较医学杂志, 2020, 30(9): 85-90. doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2020.09.016.

[23] Javrushyan H, Nadiryan E, Grigoryan A, et al. Antihyperglycemic activity of L-norvaline and L-arginine in high-fat diet and streptozotocin-treated male rats[J]. Exp Mol Pathol, 2022, 126: 104763. doi: 10.1016/j.yexmp.2022.104763.

[24] Liu C, Rajapakse AG, Riedo E, et al. Targeting arginase-Ⅱ protects mice from high-fat-diet-induced hepatic steatosis through suppression of macrophage inflammation[J]. Sci Rep, 2016, 6: 20405. doi: 10.1038/srep20405.

[25] Polis B, Srikanth KD, Elliott E. L-norvaline reverses cognitive decline and synaptic loss in a murine model of Alzheimer's disease [J]. Neurotherapeutics, 2018, 15(4): 1036-1054. doi: 10.1007/s13311-018-0669-5.

[26] Polis B, Srikanth KD, Gurevich V, et al. L-norvaline, a new therapeutic agent against Alzheimer's disease[J]. Neural Regen Res, 2019, 14(9): 1562-1572. doi: 10.4103/1673-5374.255980.

[27] Choi WS, Yang JI, Kim W, et al. Critical role for arginase Ⅱ in osteoarthritis pathogenesis[J]. Ann Rheum Dis, 2019, 78(3): 421-428. doi: 10.1136/annrheumdis-2018-214282.

[28] Li FD, Sun XF, Zheng B, et al. Arginase Ⅱ promotes intervertebral disc degeneration through exacerbating senescence and apoptosis caused by oxidative stress and inflammation via the NF-κB pathway [J]. Front Cell Dev Biol, 2021, 9: 737809. doi: 10.3389/fcell.2021.737809.

(编辑:龙小芬)