

# 尿酸盐在慢性肾病并发肾间质纤维化中的作用及机制

杨萍<sup>1</sup>, 徐德苹<sup>1,2</sup>, 童子文<sup>1</sup>, 陈琼<sup>1,3</sup>, 徐如月<sup>1</sup>, 周海胜<sup>1,4</sup>

**摘要** 目的 探讨尿酸盐在慢性肾病并发肾间质纤维化过程中的作用及机制。方法 利用 0.2% 腺嘌呤的饲料喂养小鼠 9 周, 构建慢性肾病小鼠模型。造模结束后, 小鼠眼眶后静脉丛采血, 检测肾功能和血尿酸含量; HE 染色和 PAS 染色分析肾脏组织病理变化; Masson 染色观察肾脏纤维化程度; 尿酸盐染色观察肾组织中尿酸盐沉积; Western blot 和免疫组化检测目标分子的表达变化。利用不同浓度尿酸刺激原代培养小鼠肾小管上皮细胞(mRTECs)及人肾小管上皮细胞系(HKC); 划痕实验观察尿酸对细胞迁移的影响。结果 动物水平上, 生化分析检测结果显示, 模型组小鼠血清尿素氮( $P=0.0064$ )、肌酐( $P=0.0080$ )、血尿酸( $P=0.0007$ )水平较对照组明显增加; HE 和 PAS 染色结果显示, 模型组小鼠出现严重肾小管损伤及炎症细胞浸润; Masson 染色结果显示, 模型组胶原沉积明显增加; 尿酸盐染色结果显示, 与对照组比较, 模型组小鼠肾组织出现大量尿酸盐结晶; Western blot 和免疫组化结果显示, 模型组小鼠波形蛋白、平滑肌肌动蛋白和转化生长因子 $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$ )水平较对照组升高, E 钙黏蛋白水平较对照组降低。细胞水平上, 划痕结果显示, 尿酸刺激促进肾小管上皮细胞迁移; Western blot 检测结果与免疫组化一致。结论 尿酸可通过促进肾小管上皮细胞分泌 TGF- $\beta 1$ , 进而促进上皮-间质细胞转分化, 加速肾间质纤维化的发生。

**关键词** 尿酸盐; 高尿酸血症; 慢性肾病; 肾间质纤维化; 上皮-间质细胞转分化

中图分类号 R 34

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2024)07-1206-07  
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2024.07.015

血液中尿酸浓度过高会引发高尿酸血症。研究<sup>[1]</sup>发现, 高尿酸血症与慢性肾功能损伤相关, 其是慢性肾病的独立危险因素之一。长期高腺嘌呤饮

食会引发嘌呤代谢紊乱, 血液中高浓度尿酸盐易在肾脏组织中发生尿酸盐沉积, 引起肾脏的慢性损伤, 最终导致高尿酸性肾病并发肾间质纤维化。肾小管上皮-间质细胞转分化(epithelial-mesenchymal transdifferentiation, EMT)是引起肾间质纤维化的重要机制<sup>[2-4]</sup>。研究<sup>[5-6]</sup>显示, 在尿酸酶抑制剂及腺嘌呤等诱发的高尿酸血症大鼠模型及高尿酸诱导的细胞模型中发现尿酸可促进大鼠肾小管上皮细胞发生 EMT。为了探讨高尿酸对慢性肾病并发肾间质纤维化的作用和机制, 该研究利用高腺嘌呤饮食喂养小鼠, 建立高尿酸血症小鼠模型, 由此产生肾脏损伤及其并发肾间质纤维化作用, 同时以肾小管上皮细胞为研究对象研究尿酸引起的肾间质纤维化的机制, 旨在为尿酸引起的肾间质纤维化的研究提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 实验动物** C57BL/6J 小鼠购自安徽医科大学实验动物中心, 饲养于 SPF 级动物房, 饲养环境维持在温度 23~25℃, 湿度 40%~70%, 12 h 明暗交替, 小鼠自由饮食和进水。

**1.1.2 细胞株** 人肾小管上皮细胞系 HKC 由安徽医科大学生物化学实验室保存。

**1.1.3 抗体与主要试剂** DMEM/F12 培养基购自美国 Hyclone 公司; 胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)购自美国 ExCell 公司; 兔源 E 钙黏蛋白(E-cadherin)抗体、兔源波形蛋白(Vimentin)抗体、兔源转化生长因子 $\beta 1$ (transforming growth factor beta 1, TGF- $\beta 1$ )抗体购自武汉三鹰生物技术有限公司; 兔源 $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白( $\alpha$ -smooth muscle actin,  $\alpha$ -SMA)购自北京博奥森生物技术有限公司; 兔源 GAPDH 抗体购自安徽朵能生物技术有限公司; 抗鼠或兔抗体购自美国 Cell Signaling Technology 公司; 免疫组化试剂盒和 DAB 显色液购自北京中杉金桥生物技术有限公司; PAS 染色试剂盒、改良 Masson 三色染色试剂盒、尿酸盐染色试剂盒和 II 型胶原酶购自北京索莱宝科技有限公司; 尿酸盐购自美国

2024-02-25 接收

基金项目: 国家自然科学基金(编号: 82071832); 安徽医科大学研究生科研与实践创新项目(编号: YJS20230003)

作者单位: <sup>1</sup>安徽医科大学生物化学教研室, 合肥 230032

<sup>2</sup>安徽医科大学附属合肥医院检验科, 合肥 230011

<sup>3</sup>安徽省第二人民医院检验科, 合肥 230041

<sup>4</sup>安徽医科大学科研实验中心, 合肥 230032

作者简介: 杨萍, 女, 硕士研究生;

周海胜, 男, 教授, 博士生导师, 责任作者, E-mail: haishengs@ahmu.edu.cn

Sigma 公司; 普通小鼠饲料和含有 0.2% 腺嘌呤饲料 (高腺嘌呤饲料) 购自戴茨生物科技有限公司。

## 1.2 方法

**1.2.1 慢性肾病小鼠模型的建立及分组** 8 周龄 C57BL/6J 雌鼠和雄鼠各 4 只, 体质量 18 ~ 22 g, 适应性喂养 1 周后随机均分为对照组和模型组。对照组喂食普通饲料, 模型组喂食含 0.2% 腺嘌呤饲料。9 周后, 异氟烷麻醉小鼠, 收集血清进行后续生化分析, 处死, 取双侧肾脏, 一侧肾脏冷冻于 -80 °C 冰箱用于后续提取蛋白质; 另外一侧肾脏用 4% 多聚甲醛固定用于后续组织学分析。

**1.2.2 小鼠肾组织病理学检查** 小鼠肾脏经固定、脱水、包埋、切片后进行 HE 染色、Masson 染色、PAS 染色和尿酸盐染色, 中性树脂封片, 镜下拍照观察。

**1.2.3 免疫组化** 将组织切片常规脱蜡至水, 经枸橼酸盐缓冲液修复, 3% 过氧化氢阻断内源性过氧化物酶, 用 10% 山羊血清封闭 30 min, 一抗 4 °C 孵育过夜, 第 2 天取出复温, 二抗孵育 40 min, DAB 显色, 经苏木精染核、盐酸乙醇分化、脱水, 最后封片, 拍照。

**1.2.4 小鼠肾小管上皮细胞原代培养** 取 3 周龄左右 C57BL/6J 小鼠肾脏, 分离肾皮质, 剪刀剪碎, 用 0.1% 的 II 型胶原酶于 37 °C 培养箱消化 30 min 后加入完全培养基终止消化, 经 60 μm 滤器过滤, 1 000 r/min 离心后用含 10% FBS 的 DMEM/F12 培养基重悬, 置于 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 细胞培养箱中静置培养 2 d 后更换新鲜培养基, 稳定传 2 ~ 3 代后, 取对数期的细胞做后续实验。

**1.2.5 细胞划痕实验** HKC 细胞和原代培养小鼠肾小管上皮细胞 (mRTECs) 铺于 6 孔板, 待细胞密度达到 90% 左右, 用灭菌过的 10 μl 枪头在铺满细胞的培养皿上划线, 用 PBS 将漂浮的细胞清洗干净, 然后将这 2 种细胞分别用含 800 μmol/L 尿酸溶液的 2% FBS 完全培养基培养。在划痕后 0、12、24 h 对同一拍摄视野进行拍照。

**1.2.6 Western blot 检测** 取冻存小鼠肾组织及尿酸处理的细胞, 裂解液裂解提取总蛋白。SDS-PAGE 凝胶电泳, 转膜, 5% 脱脂奶粉封闭 2 h, 一抗 4 °C 孵育过夜, 第 2 天二抗室温孵育 2 h, 洗膜, 加入 ECL 显影液显影, 拍照, 用 ImageJ 软件进行灰度分析。

**1.3 统计学处理** 实验数据采用 GraphPad Prism 9.0 软件进行分析。结果以  $\bar{x} \pm s$  表示, 采用独立样本 *t* 检验和单因素方差分析进行统计学分析, *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 高尿酸血症并发肾损伤小鼠模型的建立** 用高腺嘌呤饲料和正常饲料喂养 C57BL/6J 小鼠 9 周, 采集血标本检测血尿酸盐浓度。结果显示与对照组小鼠比较, 模型组小鼠血尿酸含量增高 [(140.80 ± 5.38) μmol/L vs (100.00 ± 3.58) μmol/L], 差异有统计学意义 (*t* = 6.308, *P* = 0.000 7, 图 1A), 提示较长时间喂食高腺嘌呤的小鼠, 可以产生高尿酸血症。

同时为了观察高腺嘌呤饲料喂养的小鼠, 是否造成肾功能损伤, 对小鼠血肌酐和血尿素氮等肾功能进行检测。结果显示: 与对照组小鼠比较, 模型组小鼠血液中肌酐 [(78.75 ± 10.78) μmol/L vs (10.65 ± 0.19) μmol/L, *t* = 6.32, *P* = 0.008 0, 图 1B] 和尿素氮 [(45.98 ± 6.01) mmol/L vs (5.60 ± 0.58) mmol/L, *t* = 6.68, *P* = 0.006 4, 图 1C] 水平均显著升高, 差异有统计学意义。因此, 高腺嘌呤饲料喂食小鼠, 可以引起肾功能损伤。

肉眼观察分离的肾脏大体形态, 对照组小鼠肾脏大小适中, 颜色呈浅褐色, 表面光滑, 未见异常; 模型组小鼠双肾体积缩小, 质地变硬, 表面凹凸不平, 外观显示黄白色 (图 1D)。为了进一步观察肾脏组织结构, 对肾组织切片进行 HE 染色, 结果显示: 对照组小鼠肾组织结构正常, 肾小管上皮细胞排列整齐, 管内无尿酸盐结晶, 肾小球大小均匀, 肾间质无炎症细胞浸润, 未发现明显病理损伤; 模型组小鼠肾脏中观察到肾小管扩张, 肾间质内可见棕色尿酸盐结晶, 肾小球体积变大, 肾间质可见大量炎症细胞浸润 (图 1E)。结果均证实高尿酸血症可引起肾脏损伤。

**2.2 高尿酸血症并发肾间质纤维化** 为了观察高尿酸血症是否引起尿酸盐在肾脏组织中发生沉积, 利用肾组织切片进行尿酸盐染色。结果显示: 对照组小鼠肾组织中未见尿酸盐结晶, 模型组小鼠肾小管及间质可见大面积针状尿酸盐结晶 (图 2A), 表明模型组小鼠肾组织出现严重尿酸盐沉积。

为了验证高尿酸血症及尿酸盐的沉积, 是否引起肾间质纤维化, 对肾组织切片进行 Masson 染色。结果显示: 对照组小鼠肾小球系膜区及肾间质可见少量蓝色胶原纤维; 模型组小鼠肾小球系膜区及肾间质可见大面积蓝色胶原纤维沉积, 与对照组比较, 其胶原沉积增加, 出现明显纤维化 (图 2B)。同时, 对肾脏组织切片进行 PAS 染色, 结果显示: 与对照

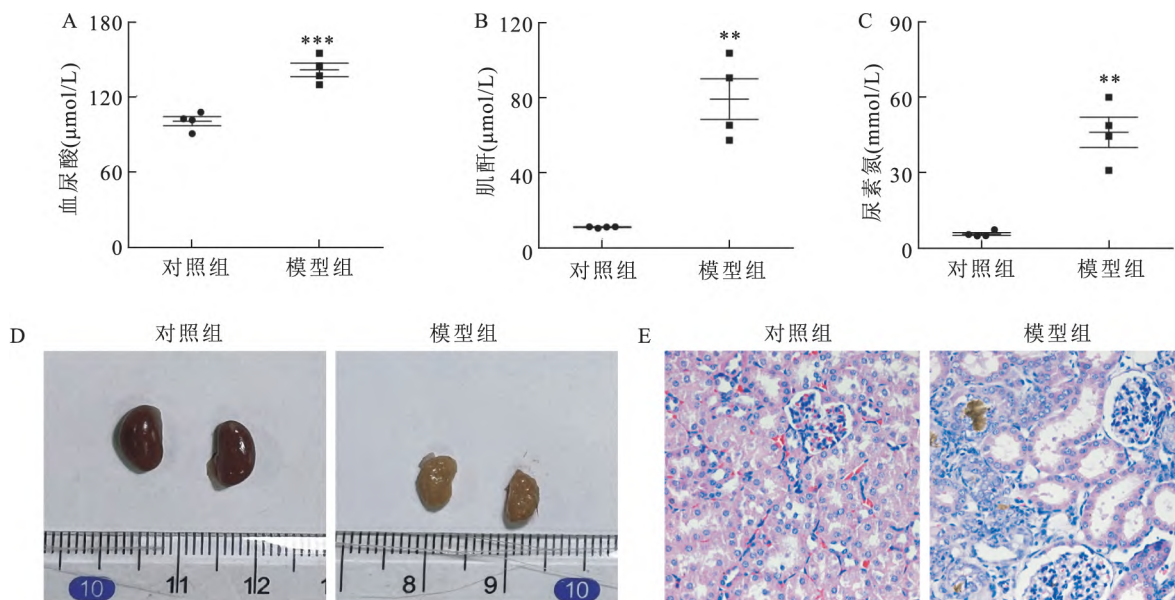


图1 高尿酸血症并发肾损伤模型建立

A: 两组小鼠血清尿酸含量比较; B: 两组小鼠血清肌酐含量比较; C: 两组小鼠血清尿素氮含量比较; D: 两组小鼠肾脏大体形态图; E: 两组小鼠肾组织切片 HE 染色 ×400; 与对照组比较: \*\*  $P < 0.01$ , \*\*\*  $P < 0.001$

组比较, 模型组小鼠出现明显的肾小管刷状缘缺失, 小管基底膜增厚, 间质炎症细胞浸润(图2C)。

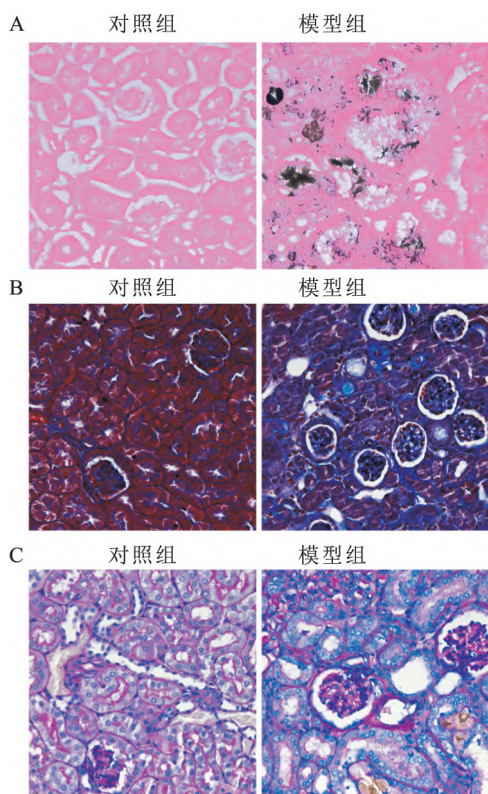


图2 高尿酸血症并发肾间质纤维化 ×400

A: 两组小鼠肾组织切片尿酸盐染色; B: 两组小鼠肾组织切片 Masson 染色; C: 两组小鼠肾组织切片 PAS 染色

2.3 高尿酸血症并发肾间质纤维化与 TGF-β1 诱发 EMT 的关系 利用小鼠新鲜肾组织, 提取总蛋白进行 Western blot 分析。结果显示: 模型组小鼠肾组织中 E-cadherin 表达下降, 伴随 Vimentin、α-SMA、TGF-β1 水平升高(图3A)。相对定量并进行统计分析证实: 与对照组比较, 模型组 E-cadherin ( $t = 4.124$ ,  $P = 0.0146$ )、Vimentin ( $t = 6.638$ ,  $P = 0.0207$ )、α-SMA ( $t = 14.4$ ,  $P = 0.0001$ ) 和 TGF-β1 ( $t = 17.16$ ,  $P < 0.0001$ ) 表达均差异有统计学意义(图3B)。

同时, 在组织水平利用免疫组化方法检测肾组织中 EMT 相关标记分子的表达变化。结果显示: 模型组的肾组织中, E-cadherin 减少, 而 Vimentin 及 α-SMA 表达均增加; 且在模型组小鼠肾组织中检测到高水平表达的 TGF-β1(图3C)。通过检测免疫组化染色的光密度, 比较分析结果证实: 与对照组比较, 模型组 E-cadherin 表达下降 ( $t = 15.11$ ,  $P = 0.0001$ )、Vimentin ( $t = 11.8$ ,  $P = 0.0003$ )、α-SMA ( $t = 7.361$ ,  $P = 0.0018$ ) 和 TGF-β1 ( $t = 15.12$ ,  $P = 0.0001$ ) 表达升高, 均差异有统计学意义(图3D)。

2.4 尿酸促进肾小管上皮细胞迁移 利用细胞划痕观察尿酸刺激对肾小管上皮细胞迁移的影响。结果显示: 在刺激后的 12 h 和 24 h, mRTECs 细胞与 HKC 细胞均出现不同程度融合。与正常对照组比较, mRTECs 及 HKC 使用尿酸处理 24 h 后其融合程

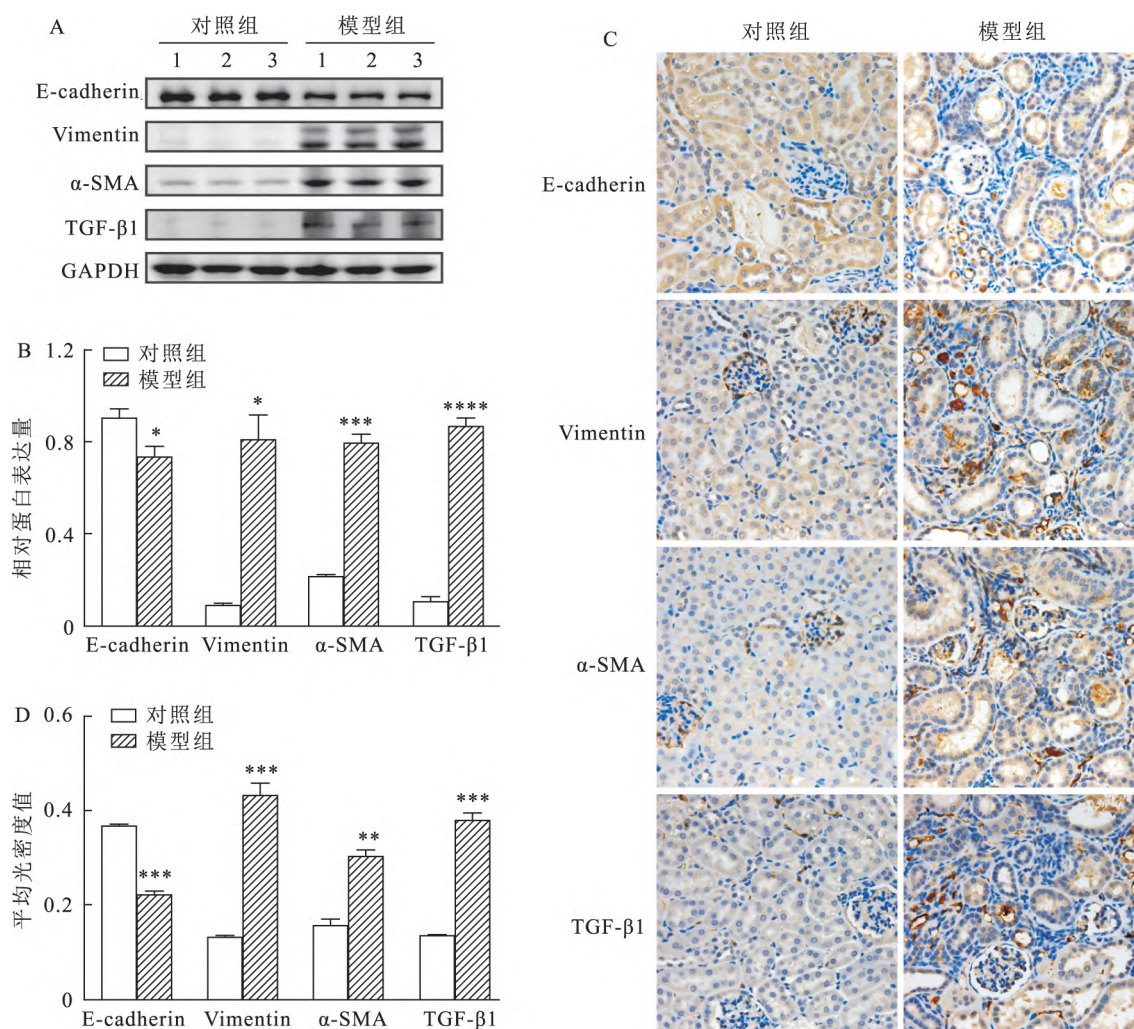


图3 高尿酸血症并发肾间质纤维化与 TGF-β1 诱发的 EMT 关系

A: Western blot 检测小鼠肾组织 TGF-β1 和 EMT 相关标记分子表达水平; B: 以 GAPDH 作为内参, E-cadherin、Vimentin、α-SMA 和 TGF-β1 蛋白相对定量分析; C: IHC 检测小鼠肾组织 TGF-β1 和 EMT 相关标记分子表达水平 ×400; D: 两组小鼠肾组织切片免疫组化相关指标的平均光密度值分析; 与对照组比较: \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ , \*\*\*  $P < 0.001$ , \*\*\*\*  $P < 0.0001$

度均明显增加, 差异有统计学意义 ( $t = 6.787$ ,  $P = 0.0025$ ;  $t = 6.262$ ,  $P = 0.0033$ )。见图 4。

**2.5 尿酸对 EMT 的影响** 利用 Western blot 检测 EMT 相关分子 E-cadherin、Vimentin 的表达以及 TGF-β1 的表达水平。结果显示: 使用 800 μmol/L 和 1 600 μmol/L 尿酸刺激 48 h 后, mRTECs 及 HKC 细胞均出现 E-cadherin 表达下降 ( $F = 25.09$ ,  $P = 0.0012$ ;  $F = 17.61$ ,  $P = 0.0031$ ), Vimentin 显著增加 ( $F = 25.06$ ,  $P = 0.0012$ ;  $F = 65.44$ ,  $P < 0.0001$ ); 同时伴随有 TGF-β1 ( $F = 20.61$ ,  $P = 0.0021$ ;  $F = 19.98$ ,  $P = 0.0022$ ) 表达升高, 差异有统计学意义。见图 5。结果提示, 尿酸可能通过促进肾小管上皮细胞 TGF-β1 的分泌, 进而促进肾小管上皮细胞发生 EMT。

### 3 讨论

高尿酸血症通常与很多代谢性疾病相关, 比如 2 型糖尿病、心血管疾病、慢性肾病等<sup>[7]</sup>。研究<sup>[1]</sup>发现高尿酸血症是慢性肾病的独立危险因素之一, 尿酸水平升高可通过多种机制促进肾纤维化的发展。尿酸肾小球滤过率下降是慢性肾病的重要危险因素之一。在痛风患者中发现, 早期降低血尿酸水平可减缓慢性肾病进展, 改善肾功能<sup>[8]</sup>。为了研究高尿酸血症及其对肾脏损伤, 常见方法包括有基因诱导模型(例如, Uox 基因敲除的 C57BL/6J 小鼠更容易发生高尿酸性肾病)和环境诱导模型(例如, 药物或饮食诱导)<sup>[9]</sup>。其中, 高腺嘌呤饲料喂食小鼠建立高尿酸血症及慢性肾病的小鼠模型, 其原理是长期

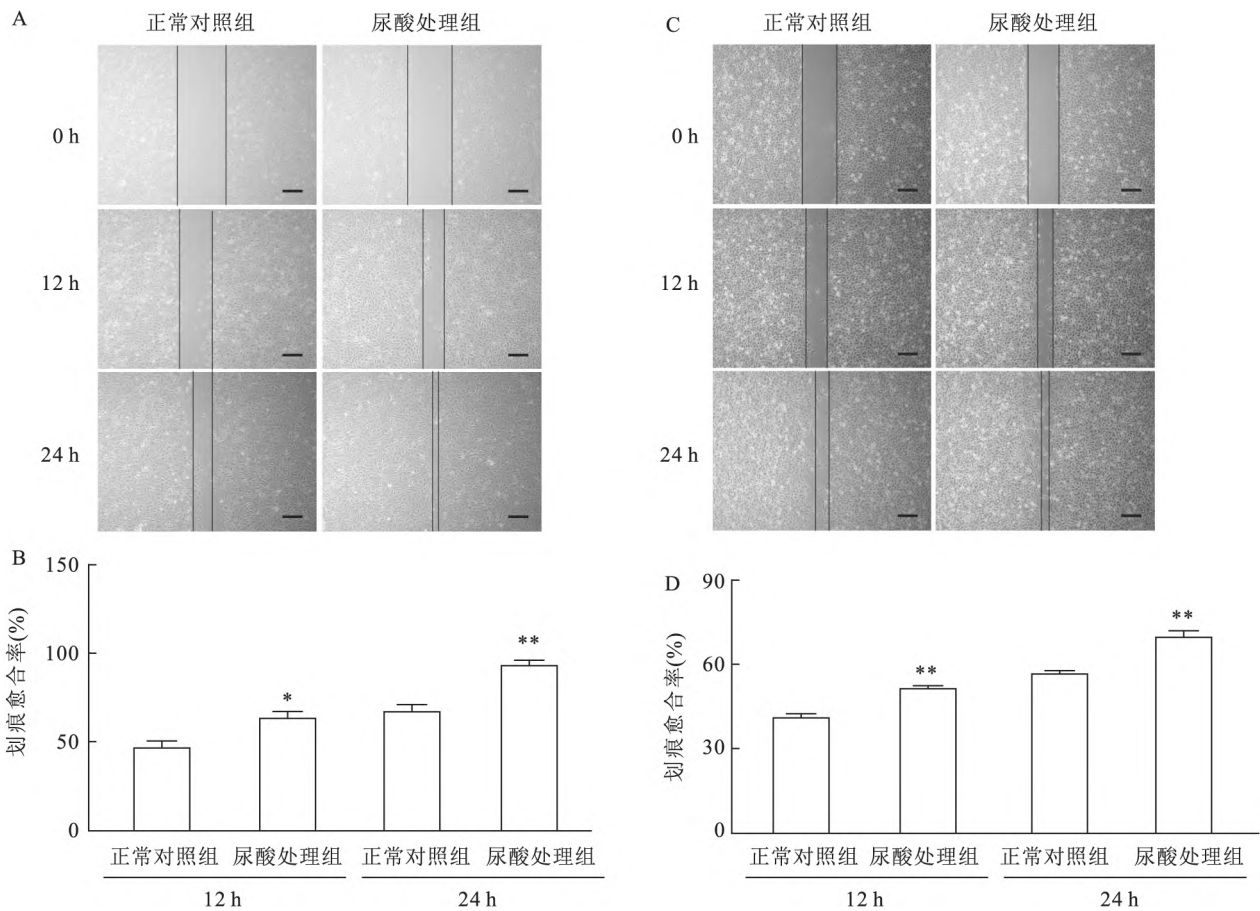


图4 尿酸对肾小管上皮细胞迁移的影响

A: 细胞划痕检测尿酸对原代 mRTECs 细胞迁移能力的影响 ×100; B: 尿酸处理 12 h 和 24 h 后各组原代 mRTECs 细胞的划痕愈合率比较; C: 细胞划痕检测尿酸对 HKC 细胞迁移能力的影响 ×100; D: 尿酸处理 12 h 和 24 h 后各组 HKC 细胞的划痕愈合率比较; 与对应正常对照组比较: \* P < 0.05, \*\* P < 0.01

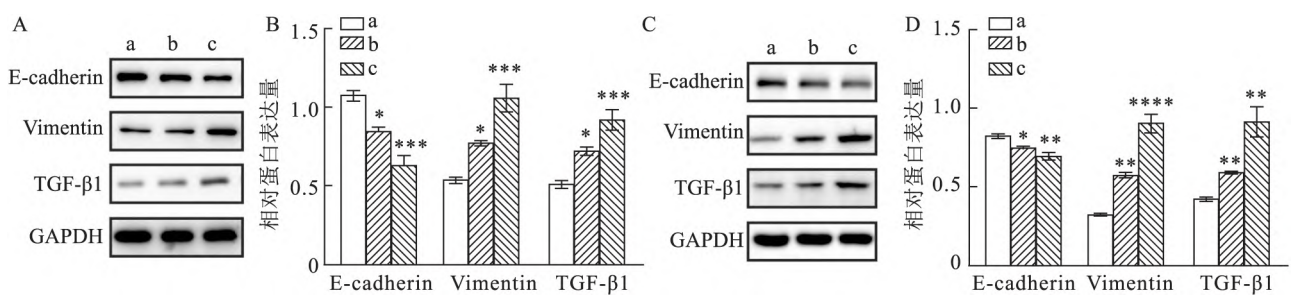


图5 尿酸对 EMT 的影响

A: Western blot 检测原代 mRTECs 细胞 TGF-β1 和 EMT 相关标记分子表达; B: 图 A 以 GAPDH 作为内参 ,E-cadherin、Vimentin 和 TGF-β1 蛋白的相对定量分析; C: Western blot 检测 HKC 细胞 TGF-β1 和 EMT 相关标记分子表达; D: 图 C 以 GAPDH 作为内参 ,E-cadherin、Vimentin 和 TGF-β1 蛋白的相对定量分析; a: PBS 处理组; b: 800 μmol/L 尿酸处理组; c: 1 600 μmol/L 尿酸处理组; 与 PBS 处理组比较: \* P < 0.05, \*\* P < 0.01, \*\*\* P < 0.001, \*\*\*\* P < 0.000 1

高嘌呤饮食引起体内嘌呤增多 ,嘌呤经肝脏代谢成尿酸 ,尿酸浓度不断增加形成尿酸盐结晶 ,并在肾脏间质及小管堆积引发慢性肾病<sup>[10-11]</sup>。

在高嘌呤饲料喂食小鼠造成小鼠肾脏损伤时 ,伴随肾间质纤维化是其主要病理变化。早期研

究<sup>[10-12]</sup>发现 ,高尿酸血症会引起尿酸盐沉积于肾脏 ,可能通过促进局部炎症、氧化应激、内皮功能缺失、EMT 以及内质网应激最终引起肾间质纤维化。EMT 是引起肾间质纤维化重要机制之一 ,已经证实诱发 EMT 与尿酸盐活化 PI3K/P-Akt 信号通路、激

活内质网应激等环节有关<sup>[12-14]</sup>。由于长期高嘌呤呤会引发高尿酸血症,导致高尿酸性肾病。本研究中发现体内尿酸盐沉积肾脏能促进 EMT 的发生,引起细胞外基质过度分泌,进一步导致肾间质纤维化。此外通过细胞实验发现尿酸可促进肾小管上皮细胞迁移;尿酸能诱导小鼠及人肾小管上皮细胞标记分子 E-cadherin 下调,间质细胞标记分子 Vimentin 上调。该结果表明尿酸可能诱导肾小管上皮细胞发生 EMT,从而促进肾间质纤维化的发展。

TGF- $\beta$ 1 是一类抑炎因子,在抑制炎症及组织修复中发挥重要的作用;同时 TGF- $\beta$ 1 也是促进上皮细胞发生 EMT 重要的细胞因子。当肾脏受损严重时,肾脏启动修复功能,分泌大量 TGF- $\beta$ 1,诱发肾小管上皮细胞、巨噬细胞等向肌成纤维细胞转分化,引起胶原纤维大量分泌并沉积于肾脏,加重肾脏纤维化<sup>[15]</sup>。免疫组化以及 Western blot 均证实高尿酸盐刺激时,肾小管上皮细胞 TGF- $\beta$ 1 的表达显著增加,这是高尿酸盐诱发 EMT 促进肾间质纤维化的主要原因。但是高浓度尿酸盐调节 TGF- $\beta$ 1 分泌的机制有待进一步研究。

综上所述,长期高嘌呤呤饲料喂养小鼠,可以建立高尿酸性肾病小鼠模型。在此模型中,尿酸盐大量沉积于小管及间质,可能通过促进肾小管上皮细胞分泌 TGF- $\beta$ 1 进而促进 EMT,最终促进肾间质纤维化的形成。

### 参考文献

- [1] Ponticelli C, Podestà M A, Moroni G. Hyperuricemia as a trigger of immune response in hypertension and chronic kidney disease [J]. *Kidney Int* 2020, 98(5): 1149–59.
- [2] Huang R, Fu P, Ma L. Kidney fibrosis: From mechanisms to therapeutic medicines [J]. *Signal Transduct Target Ther* 2023, 8(1): 129.
- [3] Yamashita N, Kramann R. Mechanisms of kidney fibrosis and routes towards therapy [J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2024, 35(1): 31–48.
- [4] 童子文,徐德萃,王喆,等. Sirt6 缺失调控 NF- $\kappa$ B 并参与慢性肾病小鼠发生肾间质纤维化 [J]. *安徽医科大学学报* 2023, 58(5): 724–30.
- [5] Shi Y, Tao M, Ma X, et al. Delayed treatment with an autophagy inhibitor 3-MA alleviates the progression of hyperuricemic nephropathy [J]. *Cell Death Dis* 2020, 11(6): 467–87.
- [6] Cui D, Liu S, Tang M, et al. Phloretin ameliorates hyperuricemia-induced chronic renal dysfunction through inhibiting NLRP3 inflammasome and uric acid reabsorption [J]. *Phytomedicine* 2020, 45: 66153111.
- [7] Borghi C, Agabiti-Rosei E, Johnson R J, et al. Hyperuricaemia and gout in cardiovascular, metabolic and kidney disease [J]. *Eur J Intern Med* 2020, 80: 1–11.
- [8] Sato Y, Feig D I, Stack A G, et al. The case for uric acid-lowering treatment in patients with hyperuricaemia and CKD [J]. *Nat Rev Nephrol* 2019, 15(12): 767–75.
- [9] Lu J, Dalbeth N, Yin H, et al. Mouse models for human hyperuricaemia: A critical review [J]. *Nat Rev Rheumatol* 2019, 15(7): 413–26.
- [10] Anders H J, Li Q, Steiger S. Asymptomatic hyperuricaemia in chronic kidney disease: Mechanisms and clinical implications [J]. *Clin Kidney J* 2023, 16(6): 928–38.
- [11] Cai H, Wang J, Luo Y, et al. Linderaggregata intervenes adenine-induced chronic kidney disease by mediating metabolism and TGF- $\beta$ /Smad signaling pathway [J]. *Biomed Pharmacother* 2021, 12: 134111098.
- [12] Xiong X Y, Bai L, Bai S J, et al. Uric acid induced epithelial-mesenchymal transition of renal tubular cells through PI3K/p-Akt signaling pathway [J]. *J Cell Physiol* 2019, 234(9): 15563–9.
- [13] Balakumar P, Alqahtani A, Khan N A, et al. Mechanistic insights into hyperuricemia-associated renal abnormalities with special emphasis on epithelial-to-mesenchymal transition: Pathologic implications and putative pharmacologic targets [J]. *Pharmacol Res* 2020, 14: 161105209.
- [14] Liu Y, Gong S, Li K, et al. Coptisine protects against hyperuricemic nephropathy through alleviating inflammation, oxidative stress and mitochondrial apoptosis via PI3K/Akt signaling pathway [J]. *Biomed Pharmacother* 2022, 17: 156113941.
- [15] Peng D, Fu M, Wang M, et al. Targeting TGF- $\beta$  signal transduction for fibrosis and cancer therapy [J]. *Mol Cancer* 2022, 21(1): 104.

## The role and mechanism of urate in the development of interstitial fibrosis in chronic kidney disease

Yang Ping<sup>1</sup>, Xu Deping<sup>1,2</sup>, Tong Ziwen<sup>1</sup>, Chen Qiong<sup>1,3</sup>, Xu Ruyue<sup>1</sup>, Zhou Haisheng<sup>1,4</sup>

(<sup>1</sup>Dept of Biochemistry, Anhui Medical University, Hefei 230032; <sup>2</sup>Dept of Clinical Laboratory, The Affiliated Hefei Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230011; <sup>3</sup>Dept of Clinical Laboratory, The Second People's Hospital of Anhui Province, Hefei 230041; <sup>4</sup>Center Scientific Research, Anhui Medical University, Hefei 230032)

**Abstract Objective** To investigate the role and mechanism of urate in chronic kidney disease complicated with

renal interstitial fibrosis(CKD-RIF). **Methods** Mice were continuously fed with a diet containing 0.2% adenine for a duration of 9 weeks to establish mice models with CKD-RIF. By the end of the 9-week experimental periods, collected blood samples from the posterior orbital venous plexus of mice to measure renal functions and serum urate concentrations prior to euthanizing the mice. Hematoxylin-eosin (HE) staining and periodic acid-Schiff staining (PAS) were used to investigate the pathological alternations in kidney tissues. Masson's trichrome staining was used to observe the extent of renal fibrosis. Urate staining was used to detect urate deposition in renal tissues. Western blot and immunohistochemistry were used to detect the expression of target molecules. Scratch tests were used to examine the migration abilities of cells treated with different concentrations of uric acid. **Results** The kidney function analysis showed that a significant increase in the levels of serum urea nitrogen ( $P=0.0064$ ), creatinine ( $P=0.0080$ ) and urate ( $P=0.0007$ ) in the CKD-RIF mice compared with the normal control group. The results of HE staining and PAS staining showed a significance of renal tubule injury and infiltration of inflammatory cells in the model group. Masson's trichrome staining showed that a marked increase in collagen deposition in the model group. The results of urate staining showed a significant presence of urate crystals in kidney tissue of the model group when compared to the control group. Animal tissue immunoblotting and immunohistochemistry analysis showed a significant increase in the expression levels of vimentin,  $\alpha$ -SMA and TGF- $\beta$ 1 in the model group in comparison to the control group. Conversely, in the model group, E-cadherin levels exhibited a dramatic reduction compared to the control group. The findings from the scratching tests showed that uric acid significantly enhanced cell migration. Western blot analysis showed a dramatic increase in the expression levels of vimentin and  $\alpha$ -SMA, while E-cadherin exhibited significant decrease in the cells subjected to uric acid treatment. **Conclusion** Urate stimulates the secretion of TGF- $\beta$ 1 by renal tubule epithelial cells and induces epithelial-mesenchymal transdifferentiation, thereby exacerbating renal interstitial fibrosis in CKD.

**Key words** urate; hyperuricemia; chronic kidney disease; renal interstitial fibrosis; epithelial-mesenchymal trans-differentiation

(上接第1205页)

concentration group, polydatin medium concentration group, and polydatin high concentration group, respectively; a control group was set as another group. CCK-8, monocyte-endothelial cell adhesion, scratch and Transwell assays were used to detect cell viability, adhesion, migration and invasive ability; ELISA was used to detect interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor-alpha (TNF- $\alpha$ ) levels in the cell supernatant; Western blot was used to detect the expression of proteins related to the JAK2/STAT3 signaling pathway levels of JAK2/STAT3 signaling pathway related proteins. **Results** Compared with the control group, the model group showed decreased cell survival ( $P < 0.01$ ), increased cell adhesion, migration and invasion ( $P < 0.001$ ,  $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), increased levels of IL-6 and TNF- $\alpha$  in the cell supernatant ( $P < 0.001$ ), and increased levels of phosphorylation of JAK2 and STAT3 proteins in the cells ( $P < 0.05$ ). Compared with the model group, LPS damage to cells was attenuated after polydatin intervention, cell survival was increased in polydatin low-, medium- and high- concentration groups ( $P < 0.05$ ), cell adhesion, migration and invasion decreased ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.05$ ,  $P < 0.001$ ), IL-6 and TNF- $\alpha$  levels in cell supernatants decreased ( $P < 0.05$ ), and the levels of cellular JAK2 and STAT3 protein phosphorylation levels decreased ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Polydatin seems to reduce the inflammatory injury of human umbilical vein endothelial cells induced by LPS, reducing the secretion of inflammatory factors, and inhibiting the ability of cell adhesion, migration and invasion, which may be related to the down-regulation of JAK2/STAT3 signal pathway by polydatin.

**Key words** atherosclerosis; human umbilical vein endothelial cells; polydatin; JAK2/STAT3 signaling pathway