

兰索拉唑通过增强肾小管上皮细胞焦亡促进 顺铂诱导的急性肾损伤

徐起, 吴永贵

(安徽医科大学第一附属医院肾脏内科, 合肥 230022)

摘要 目的 探讨兰索拉唑(LPZ)对顺铂(CIS)诱导的小鼠急性肾损伤与肾小管上皮细胞损伤的影响。方法 将C57BL/6J小鼠与肾小管上皮细胞分为以下4组:正常对照(NC)组、兰索拉唑(LPZ)组、顺铂(CIS)组和顺铂+兰索拉唑(CIS+LPZ)组。动物实验采用生理盐水溶解LPZ(25 mg/kg),连续3 d腹腔注射小鼠LPZ后,腹腔注射顺铂(20 mg/kg)一次。继续喂养小鼠3 d,收集小鼠血清检测血肌酐(CRE)和尿素氮(BUN)水平。采用HE染色、PAS染色观察肾脏病理,透射电镜观察肾脏超微结构改变。Western blot、免疫组化检测肾损伤因子-1(KIM-1)、中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(NGAL)与焦亡相关蛋白表达水平的改变。细胞实验选用顺铂(20 μ mol/L)与LPZ(5 μ mol/L)刺激细胞24 h后,采用Western blot、Real-time PCR检测KIM-1、NGAL以及焦亡相关因子的表达。结果 与NC组相比,CIS组CRE和BUN水平升高,LPZ处理后加重了小鼠的血清学指标($P < 0.001$)。肾脏组织病理学检查显示,与CIS组相比,LPZ+CIS组小鼠肾组织肾小管扩张明显、炎症细胞浸润和糖原沉积增加($P < 0.001$)。电镜结果表明CIS组小鼠线粒体肿胀,膜密度增加,线粒体嵴减少或缺失,LPZ+CIS组加重了这些变化。体内、体外实验均证实LPZ处理后促进了CIS诱导的小鼠急性肾损伤与肾小管上皮细胞中肾损伤因子KIM-1、NGAL与肾脏焦亡关键因子(Caspase 1、GSDMD、NLRP3和IL-18)的表达水平的升高($P < 0.001$)。结论 LPZ通过增强肾小管上皮细胞焦亡促进顺铂诱导的肾脏损伤。

关键词 急性肾损伤;兰索拉唑;焦亡;顺铂;炎症

中图分类号 R 285.5

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2024)11-1911-09

doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2024.11.004

急性肾损伤(acute kidney injury, AKI)近年来发病率明显升高,AKI是由药物毒性如顺铂(cisplatin, CIS)、缺血再灌注损伤和脓毒症等多因素引起的临床综合征^[1],使用CIS的癌症患者容易发生AKI^[2]。因此在CIS治疗期间应尽可能减少促进AKI进展的危险因素。细胞焦亡是一种新发现的细胞程序性死亡方式^[3],在拮抗感染和内源性危险信号中发挥重要作用,当细胞焦亡引起过度炎症反应时,可导致AKI的发生发展。质子泵抑制剂(proton pump inhibitor, PPI)是治疗消化道疾病的最常用药物之一,但它们会引起一些不良肾脏事件。最近的大型临床队列研究显示,PPI可增加AKI或慢性肾脏疾病(chronic kidney diseases, CKD)进展到终末期肾病(end stage renal disease, ESRD)的风险^[4]。CIS可

引起胃肠道反应,常与PPI联用^[5]。目前仍缺乏针对化疗患者消化道不适的安全有效的治疗方法,因此,识别潜在机制并制定有效的治疗方案至关重要。兰索拉唑(lansoprazole, LPZ)是最常用的PPI之一,该研究旨在探讨其对CIS诱导的AKI的作用及机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组 24只雄性C57BL/6J小鼠(约6~8周龄,20~22 g)购自安徽医科大学实验动物中心。将小鼠随机分为4组(每组6只):NC组、LPZ组、CIS组和CIS+LPZ组。采用生理盐水溶解LPZ(25 mg/kg)与CIS(20 mg/kg)^[6],LPZ组采用LPZ连续腹腔注射3 d,继续饲养3 d。CIS组采用腹腔注射CIS单次,继续饲养3 d。CIS+LPZ采用小鼠连续腹腔注射3 d LPZ后注射CIS单次,正常喂养小鼠3 d。5%异氟醚吸入麻醉,眼球取血,给予小鼠安乐死。随后,收集肾脏和血液样本进行组织学分析和生化检测。实验动物均经过安徽医科大学动物研究伦理委员会批准(LLSC20240199),并符合

2024-08-20 接收

基金项目:国家自然科学基金项目(编号:81770722);2023年度安徽

医科大学基础与临床提升计划项目(编号:2023xkjT034)

作者简介:徐起,男,博士研究生;

吴永贵,男,教授,博士生导师,通信作者,E-mail: wuyong-

gui@medmail.com.cn

美国国立卫生研究院 (National Institutes of Health, NIH) 实验动物管理和使用指南。

1.2 主要仪器 石蜡包埋机、石蜡切片机和冰冻切片机购自德国莱卡微系统(上海)贸易有限公司;多功能酶标仪购自美国 PE 公司;荧光定量 PCR 仪-ABI 购自美国赛默飞世尔科技有限公司;正置荧光显微镜购自日本 OLYMPUS 有限公司;电泳仪和转膜仪购自美国 Bio-Rad 公司;Western blot 显影系统 Amersham Imager 600 购自美国通用公司;NanoDrop 2000 超微量分光光度计购自赛默飞世尔科技有限公司;透射电镜购自日本电子公司(JEM 1400)。

1.3 抗体与试剂 顺铂(CAS 15663-27-1)购自阿拉丁生物技术研究所(上海),兰索拉唑购自 Sigma-Aldrich 公司。KIM-1 和 NGAL 抗体购自 Cell Signaling Technology(美国);NLRP3、IL-18 抗体从 Abcam Biotechnology(英国)获得。ASC、Caspase-1、GSDMD 和 IL-1 β 取自 Abclonal 生物技术公司(美国)。苏木精-伊红(HE)染色试剂盒和过碘酸希夫(PAS)染色试剂盒购自碧云天生物科技有限公司(南京)。Lipofectamine3000 由 SciencBio Technology(美国)提供。尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)、肌酐(creatinine, CRE)、谷丙转氨酶(alanine transaminase, ALT)试剂盒购自南京建成生物工程研究所。

1.4 方法

1.4.1 一般生化指标的检测 收集血清样本,按照说明书检测血清 BUN、CRE、ALT 水平。

1.4.2 肾脏组织病理形态学观察 切除肾脏后,在 4% 多聚甲醛中固定 16 h。将脱水后的肾脏组织包埋在石蜡块中,切成 4 μm 厚的切片。组织切片脱蜡后进行 HE 和 PAS 染色,组织学分析,评价肾脏结构。使用 Zeiss X10 显微镜在比例尺 = 50 μm 放大下观察染色切片。光镜下随机选取 10 个视野,计数肾小管损伤面积的百分比,半定量评估肾小管损伤程度,评分根据皮髓交界肾小管上皮细胞坏死、脱落、刷状缘脱落、裸基底膜及管型形成,按面积分为:0 分(无);1 分(<25%);2 分(26%~50%);3 分(51%~75%);4 分(>75%)。

1.4.3 肾脏组织电镜 将肾脏组织切成 2 mm \times 2 mm 大小,先依次放置于 3% 戊二醛和 1% 锇酸中进行固定处理,用丙酮对其脱水,最后用环氧树脂对组织进行包埋。定位,制作超薄切片。用醋酸铀和枸橼酸铅对切片进行双重染色。然后在透射电镜下观察肾脏细胞线粒体形态和结构并拍照。

1.4.4 免疫组化染色 采用热诱导抗原修复法进

行免疫组织化学染色。肾组织切片在 95 $^{\circ}\text{C}$ 微波中加热 20 min,加入 3% H_2O_2 孵育。在 37 $^{\circ}\text{C}$ 下用山羊血清封闭切片 30 min,然后在 4 $^{\circ}\text{C}$ 下用 KIM-1 (1:200)、NGAL (1:200)、NLRP3 (1:200)、Caspase-1 (1:200)、GSDMD (1:200) 等抗体孵育 24 h。切片使用 PBS 清洗后,与对应的二抗原液在 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 30 min。使用 DAB 显色,切片于显微镜下观察,采用 Image-Pro Plus 6.0 软件对免疫组织化学染色图像进行定量分析。

1.4.5 细胞培养 肾小管上皮细胞(mouse renal tubular epithelial cells, MTEC)细胞来源于中国科学院细胞库(上海)。所有细胞保证处于第 6 代和第 15 代之间的,并在 HyCloneTM DMEM/F12 培养基中生长,培养基中含有 5% FBS (Gibco, 美国),在 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 的潮湿气氛下生长。使用 20 $\mu\text{mol/L}$ CIS^[7] 和 5 $\mu\text{mol/L}$ LPZ 处理^[6],孵育 24 h 后收集细胞用于进一步分析。

1.4.6 Real-time PCR 实验 使用 TRIzol 试剂从肾组织和细胞中提取 RNA。使用 NanoDrop 2000 分光光度计检测 RNA 的浓度和纯度。将 RNA 逆转录成 cDNA 并进行扩增。PCR 循环条件如下:65 $^{\circ}\text{C}$ 、30 s,95 $^{\circ}\text{C}$ 、5 min,60 $^{\circ}\text{C}$ 、10 s,72 $^{\circ}\text{C}$ 、5 s,共 40 个循环。采用 SYBR Green RT-PCR 检测 KIM-1、NGAL、Caspase-1、GSDMD、IL-1 β 、IL-18、 β -actin 的 mRNA 水平。以 $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 法分析测定基因表达水平。引物序列见表 1。

表 1 实时定量 PCR 目的基因引物序列
Tab.1 Sequence of target gene primers for real-time quantitative PCR

Mouse gene	Forward primer (5'-3')	Reverse primer (5'-3')
KIM-1	CAGGAAGCCGAGAAAA	GAGACACGGAAGGCAACCAC
NGAL	ACAACCACTTCGCCATGGTA	AGCTCTTGGTTCTTCCATACAG
Caspase-1	GCCTGTTCCTGTGATGTGG	TGCCACAGACATTCATACAGTTTC
GSDMD	ATGCCATCGGCCCTTGAGAAA	AGGCTGTCCACCGGAATG
IL-1 β	TCATTGTGGCTGTGGAGAAG	AGGCCACAGGTATTTTGT
IL-18	GACAGCCTGTGTTCCAGGAT	TGTTCTTACAGGAGGGGTAGAC
β -actin	CGCCGCCAGCTCACCATG	CACGATGGAGGGGAAGACGG

1.4.7 Western blot 实验 取适量肾脏组织,加入裂解液(RIPA:PMSF=100:1)提取蛋白,并进行 BCA 蛋白定量分析。蛋白进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶(SDS-PAGE)电泳,随后将蛋白转移至硝酸纤维素膜上。配制 1 \times 快速封闭液,封闭 15~30 min。将膜分别放入抗 β -actin (1:5 000)、抗 GPX4 (1:500) 和抗 ACSL4 (1:1 000) 一抗中 4

℃孵育过夜。用 TBST 洗膜 3 次,每次 10 min。加入 HRP 标记的山羊抗兔/小鼠 IgG 二抗(1:5 000)孵育 50 min。TBST 洗膜 3 次,使用化学发光系统曝光条带。使用 Image J 测量条带的灰度值。

1.4.8 免疫荧光染色 将 MTEC 细胞生长在玻璃玻片上,37 ℃丙酮固定 10 min,然后用 10% 牛血清白蛋白(碧云天,北京)在 37 ℃封闭 10 min。然后将细胞与一抗 KIM-1(1:200)、NGAL(1:200)、GSDMD(1:200)孵育过夜,PBS 洗涤 3 次,最后与山羊抗兔 IgG-rhodamine 抗体(1:200)(博奥森,北京)在 37 ℃避光孵育 1 h。用 DAPI 对细胞核进行复染。使用荧光倒置显微镜(蔡司,德国)拍摄图像。

1.5 统计学处理 采用 SPSS23.0 软件进行分析,所有实验数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示。多组间均数比较采用单因素方差分析,两两比较行 LSD 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 LPZ 加重 CIS 诱导的小鼠肾脏损伤

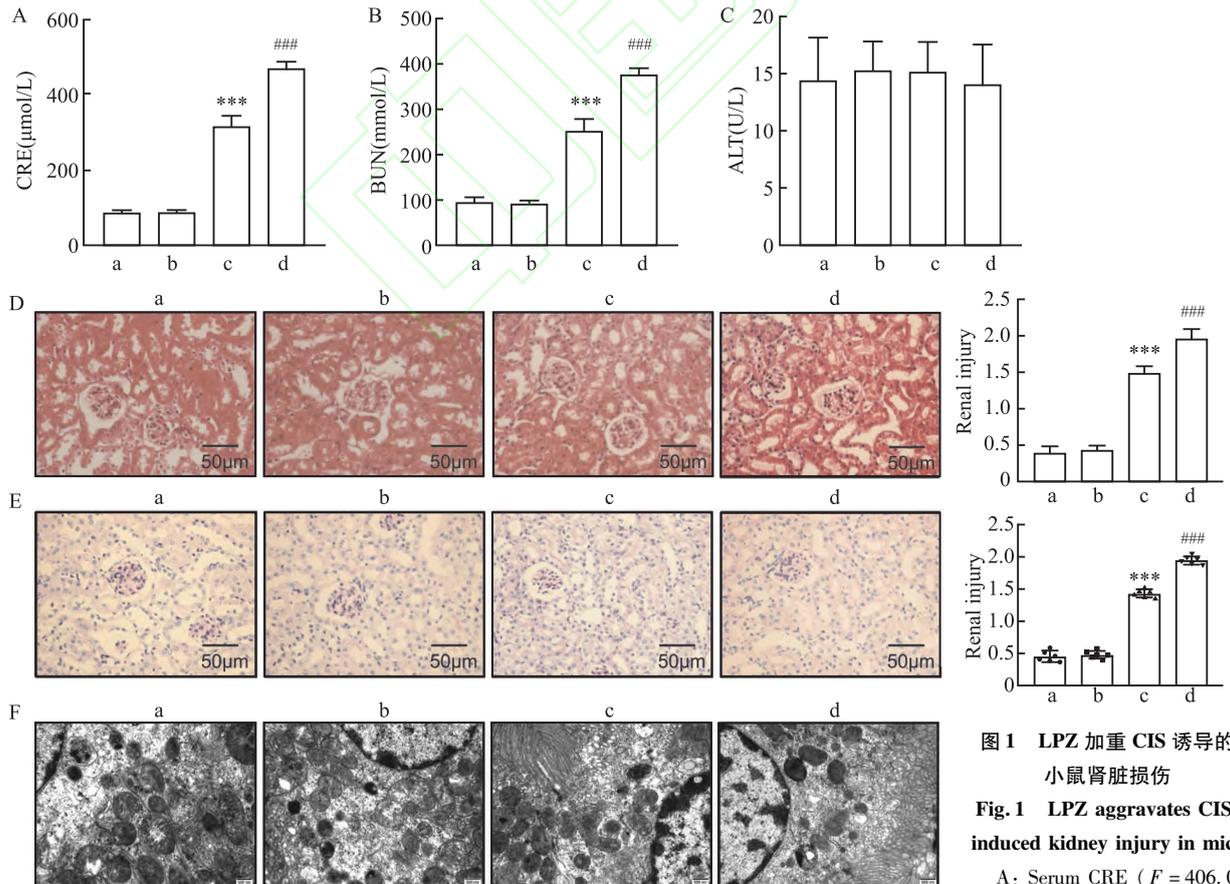


图1 LPZ加重CIS诱导的小鼠肾脏损伤

Fig.1 LPZ aggravates CIS-induced kidney injury in mice

A: Serum CRE ($F = 406.0$);

B: Urea nitrogen ($F = 705.7$); C: ALT ($F = 0.005430$); D: HE staining was used to observe the morphology of renal tubules and inflammatory cell infiltration in each group ($F = 459.5$) $\times 400$; E: PAS staining was used to observe the scale of glycogen deposition in mouse kidney tissue ($F = 672.8$) $\times 400$; F: The ultrastructure change scale of kidney tissue was observed by transmission electron microscopy (TEM) $\times 2500$; a: NC; b: LPZ; c: CIS; d: CIS + PZ; the scale = 500 nm; *** $P < 0.001$ vs NC group; ### $P < 0.001$ vs CIS group.

组相比均增加,差异有统计学意义($P < 0.001, P < 0.001$),见图 2A - C。Real-time PCR 表明 CIS 小鼠肾脏组织 KIM-1 和 NGAL 的 RNA 水平增加,LPZ 进一步加重了 CIS 诱导的小鼠肾脏肾损伤因子的表达,见图 2D。

2.3 LPZ 加重 CIS 诱导的小鼠肾组织焦亡水平

免疫组化检测显示与 NC 组相比,CIS 组小鼠肾脏肾组织中焦亡蛋白 Caspase-1、GSDMD、NLRP3 水平显著升高($P < 0.001, P < 0.001, P < 0.001$),而 CIS 和 LPZ 处理增加了 Caspase-1、GSDMD、NLRP3 水平,差异有统计学意义($P < 0.001, P < 0.001, P < 0.001$),见图 3A - C。Real-time PCR 检测与 NC 组相比,CIS 组小鼠肾脏肾组织中焦亡关键基因 Caspase-1、GSDMD、IL-1 β 、IL-18 水平显著升高($P < 0.001, P < 0.001, P < 0.001, P < 0.001$),而 CIS 和 LPZ 处理增加了 Caspase-1、GSDMD、IL-1 β 、IL-18 水平,差异有

统计学意义($P < 0.001, P < 0.001, P < 0.001, P < 0.001$),见图 3D。

2.4 LPZ 加重 CIS 诱导的肾小管上皮细胞损伤

免疫荧光检测肾损伤因子 KIM-1 与 NGAL 表达,与 NC 组相比,CIS 刺激组肾小管上皮细胞中 KIM-1 与 NGAL 表达升高,而 LPZ + CIS 组加重了肾小管上皮细胞中 KIM-1 与 NGAL 表达,见图 4A。Western blot 检测表明,CIS 刺激组肾小管上皮细胞中 KIM-1 与 NGAL 表达升高,而 LPZ + CIS 组加重了肾小管上皮细胞中 KIM-1 与 NGAL 蛋白与 RNA 的表达,差异有统计学意义($P < 0.001, P < 0.001$),见图 4B。

2.5 LPZ 加重 CIS 诱导的肾小管上皮细胞焦亡

免疫荧光检测各组肾小管上皮细胞焦亡关键蛋白 GSDMD 蛋白水平的表达,与 NC 组相比,CIS 组 GSDMD 的表达升高,与 CIS 组相比,CIS + LPZ 组加重了 GSDMD 的表达,见图 5A。Western blot 结果表明

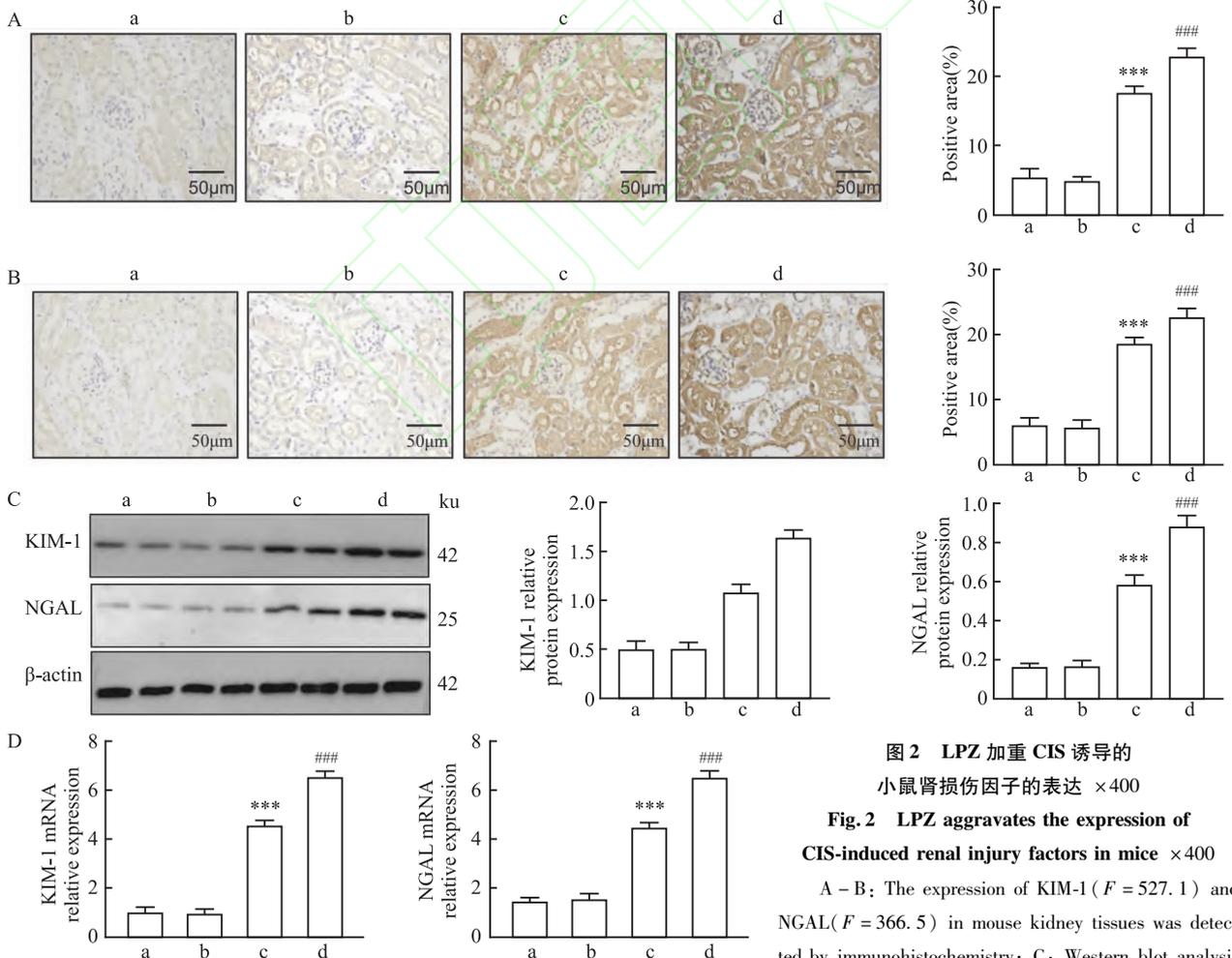


图2 LPZ 加重 CIS 诱导的小鼠肾损伤因子的表达 ×400

Fig. 2 LPZ aggravates the expression of CIS-induced renal injury factors in mice ×400

A - B: The expression of KIM-1 ($F = 527.1$) and NGAL ($F = 366.5$) in mouse kidney tissues was detected by immunohistochemistry; C: Western blot analysis was performed to detect the expression changes of KIM-1 ($F = 333.3$) and NGAL ($F = 491.1$) in mouse kidney tissues; D: Real-time PCR was used to detect the expression of KIM-1 ($F = 364.8$) and NGAL ($F = 329.3$) in mouse kidney tissues; a; NC; b; LPZ; c; CIS; d; CIS + PZ; *** $P < 0.001$ vs NC group; ### $P < 0.001$ vs CIS group.

组相比均增加,差异有统计学意义($P < 0.001, P < 0.001$),见图 2A - C。Real-time PCR 表明 CIS 小鼠肾脏组织 KIM-1 和 NGAL 的 RNA 水平增加,LPZ 进一步加重了 CIS 诱导的小鼠肾脏肾损伤因子的表达,见图 2D。

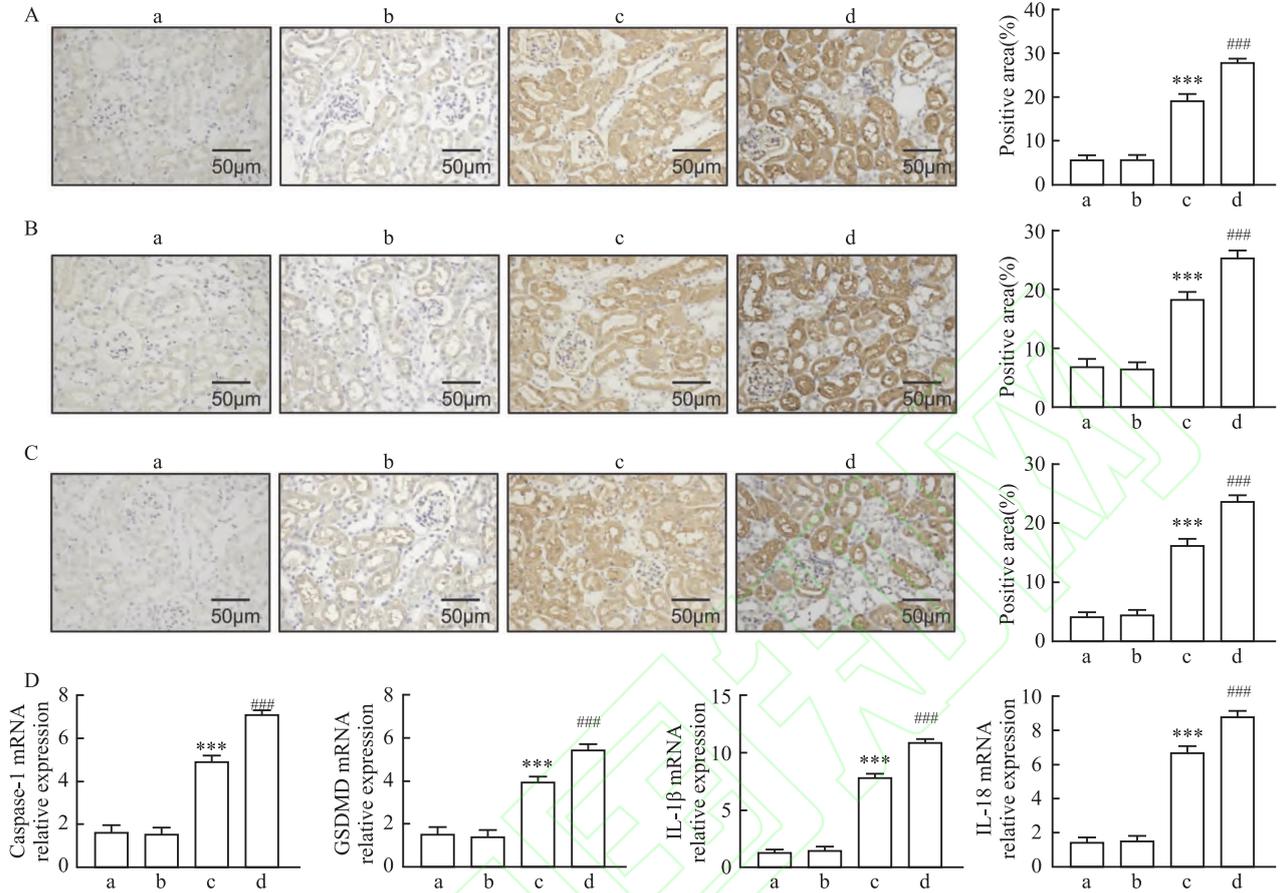


图3 LPZ加重CIS诱导的小鼠肾组织焦亡水平 ×400

Fig. 3 LPZ aggravates the level of renal scorch death induced by CIS ×400

A: NLRP3 expression was detected by immunohistochemistry ($F = 695.8$); B: Immunohistochemical method was used to detect the expression of Caspase-1 ($F = 409.5$); C: GSDMD expression was detected by immunohistochemistry ($F = 732.0$); D: Real-time PCR was used to detect the effects of LPZ on the expression of Caspase-1 ($F = 665.9$), GSDMD ($F = 319.8$), IL-1 β ($F = 2116$) and IL-18 ($F = 1075$) in kidney tissue induced by CIS; a: NC; b: LPZ; c: CIS; d: CIS + LPZ; *** $P < 0.001$ vs NC group; ### $P < 0.001$ vs CIS group.

与NC组相比,CIS组NLRP3、Caspase-1、GSDMD、IL-1 β 、IL-18的表达升高,与CIS组相比,CIS + LPZ组加重了NLRP3、Caspase-1、GSDMD、IL-1 β 、IL-18的表达,差异有统计学意义($P < 0.001$, $P < 0.001$, $P < 0.001$, $P < 0.001$, $P < 0.001$),见图5B。

3 讨论

CIS是许多恶性肿瘤,如肺癌和卵巢癌的有效一线化疗药物。然而,由于其肾毒性,CIS在临床上的应用受到限制^[8]。已有研究^[9]表明,20%~40%使用CIS的癌症患者会发生AKI。由于目前尚缺乏预防和治疗CIS诱导的AKI的有效方法,因此在CIS治疗期间应尽可能减少促进AKI进展的危险因素。在临床实践中,CIS作为一种高致吐性化疗药物,常与PPI联合使用。PPI是治疗多种适应证(包括胃食管反流病和胃十二指肠疾病)最常用的药物

之一^[10-11]。有证据^[4]表明,在接受CIS治疗的癌症患者中,约65%接受了PPI治疗。虽然PPI被认为具有高度安全性和良好的耐受性,但它们会引起一些不良肾脏事件。最近的大型临床队列研究显示,PPI可增加AKI、CKD进展到ESRD的发生风险^[5]。因此,为了评估PPI与CIS联合用药的效果,课题组使用LPZ在CIS诱导的AKI小鼠与细胞中进行实验。显示LPZ可以通过增强肾小管上皮细胞的焦亡促进CIS诱导的AKI。

本研究中,LPZ处理后增加了CIS诱导的小鼠的CRE和BUN水平,同时小鼠肾组织肾小管扩张明显、炎症细胞浸润和糖原沉积增加。本实验也证实LPZ处理后促进了CIS组肾脏损伤因子KIM-1、NGAL的表达。NGAL和KIM-1是近年诊断AKI的新的生物标志物^[12]。NGAL最早被报道于先天性心脏病患儿体外循环术后合并AKI时具有早期提

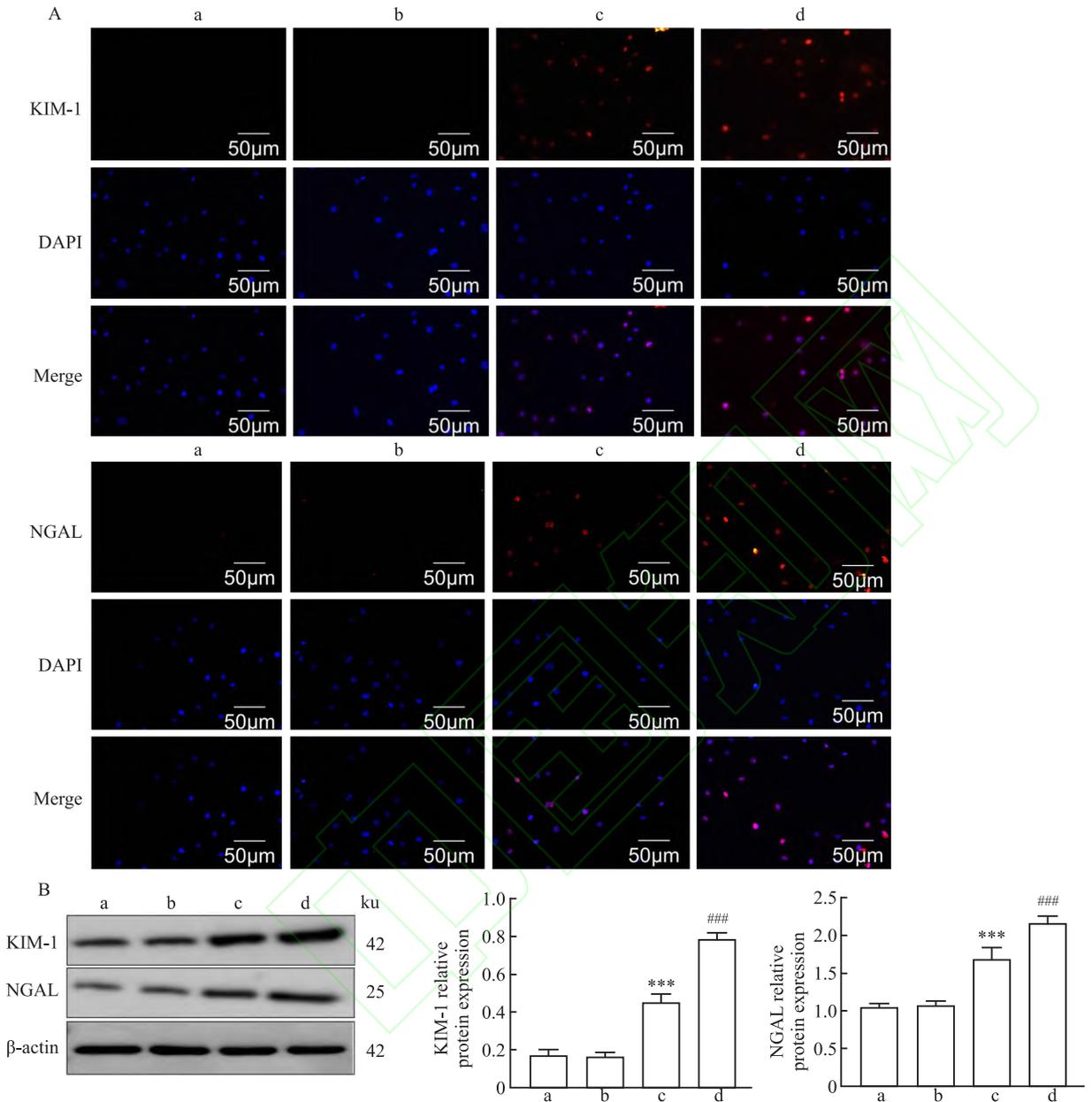


图4 LPZ加重CIS诱导的肾小管上皮细胞损伤 ×400

Fig. 4 LPZ aggravates CIS-induced renal tubular epithelial cell injury ×400

A: Immunofluorescence detection of renal injury factor KIM-1 and NGAL; B: Western blot analysis was performed to detect KIM-1 ($F = 262.8$) and NGAL ($F = 103.7$) expression in each group; a: NC; b: LPZ; c: CIS; d: CIS + PZ. *** $P < 0.001$ vs NC group; ### $P < 0.001$ vs CIS group.

示的作用,近年来的研究逐渐关注当其他疾病合并AKI时它是否同样具有良好的诊断价值。KIM-1被认为是一种潜在的AKI标志物,正常情况下,肾脏组织几乎不表达KIM-1蛋白,但是在肾脏损伤后数小时内KIM-1的表达水平显著升高。而本研究也证实LPZ处理后促进了CIS诱导的肾小管上皮细胞中KIM-1和NGAL的表达。

本研究中,PPI与CIS联合用药增加了肾小管上皮细胞焦亡水平,包括焦亡关键分子GSDMD、

Caspase-1、NLRP3的表达。细胞焦亡是一种新的程序性细胞死亡方式,其特征为依赖于半胱天冬酶-1(Caspase-1),并伴有大量促炎症因子的释放^[13]。它是一种重要的天然免疫反应,在拮抗感染和内源性危险信号中发挥重要作用。然而,当细胞焦亡引起过度炎症反应时,可导致炎症环境,从而导致多种疾病,如AKI、糖尿病、冠心病等。在经典细胞焦亡途径中,NLRP3、NLRC4、AIM2、Pyrin等炎症小体被激活后将活化并裂解Pro-Caspase-1形成具有活性的

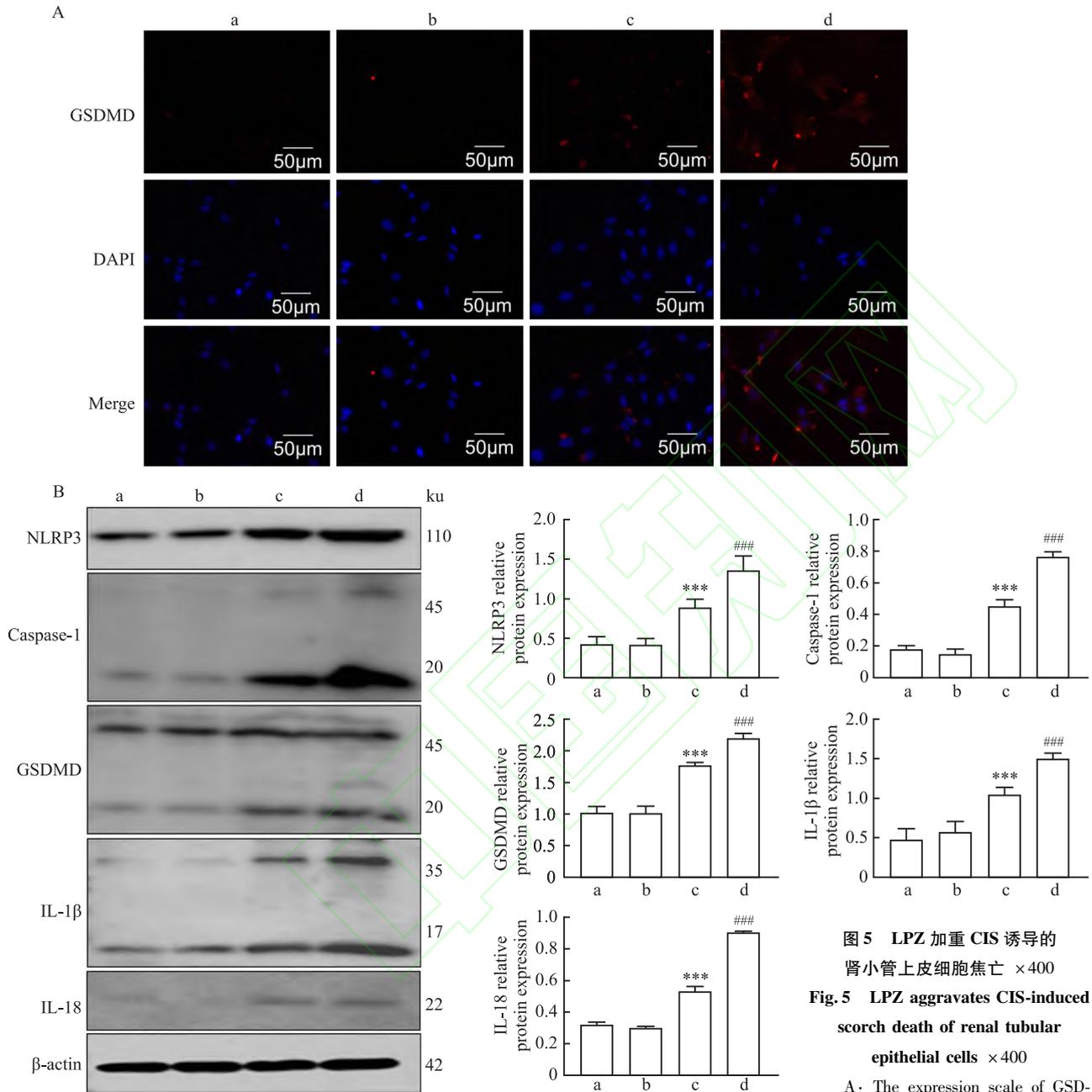


图5 LPZ加重CIS诱导的肾小管上皮细胞焦亡 ×400

Fig.5 LPZ aggravates CIS-induced scorch death of renal tubular epithelial cells ×400

A: The expression scale of GSD-

MD protein level in renal tubular epithelial cells detected by immunofluorescence; B;Western blot analysis was performed to detect the expression of NLRP3 ($F=61.74$), Caspase-1 ($F=472.8$), GSDMD ($F=5615$), IL-1β ($F=28.70$) and IL-18 ($F=289.7$); a;NC;b;LPZ;c;CIS;d;CIS + PZ; *** $P < 0.001$ vs NC group; ### $P < 0.001$ vs CIS group.

Caspase-1, Caspase-1 可以裂解 GSDMD 蛋白形成具有活性的 N 端与 C 端, N 端促使细胞膜穿孔、细胞死亡;同时 Caspase-1 还可以处理 pro-IL-1β 形成有活性的 IL-1β, 释放到细胞外扩大炎症反应^[14]。研究^[14]表明在 AKI 发生时, 依赖 Gasdermin D 发生的细胞焦亡是肾小管上皮细胞死亡、丢失的重要方式, 也是触发肾脏炎症反应发生的重要原因。本研究显示 PPI 与 CIS 联合用药进一步增加了肾小管上皮细胞焦亡水平。

越来越多的研究发现, PPI 与 AKI 存在关联, 尤其是急性间质性肾炎(AIN)。1 项纳入 133 例 AIN 患者的回顾性研究中, 药物相关性 AIN 有 95 例(占 73%), 其中 PPI 可能是主要原因之一^[15]。然而, 也有一项回顾性队列研究^[16]表明, 与未用药者相比, PPI 联合用药可减轻抗肿瘤药物 CIS 和氟尿嘧啶引起的肾毒性, 表现为 BUN 而非血清肌酐 CRE 的降低和肾功能衰竭的延迟发生。然而, 考虑到数据的样本量较小, 需要对 PPI 联合 CIS 治疗的肾脏结局

进行进一步研究。此外,本研究尚未深入探究 PPI 加重 CIS 诱导焦亡的具体机制和其主要调控的蛋白,这需要后续的进一步实验研究。

参考文献

- [1] Mercado M G, Smith D K, Guard E L. Acute kidney injury: Diagnosis and management [J]. *Am Fam Physician*, 2019, 100 (11): 687 - 94.
- [2] Holditch S J, Brown C N, Lombardi A M, et al. Recent advances in models, mechanisms, biomarkers, and interventions in cisplatin-induced acute kidney injury [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20 (12): 3011. doi:10.3390/ijms20123011.
- [3] Elias E E, Lyons B, Muruve D A. Gasdermins and pyroptosis in the kidney [J]. *Nat Rev Nephrol*, 2023, 19(5): 337 - 50. doi: 10.1038/s41581-022-00662-0.
- [4] Xie Y, Bowe B, Li T, et al. Long-term kidney outcomes among users of proton pump inhibitors without intervening acute kidney injury [J]. *Kidney Int*, 2017, 91(6): 1482 - 94. doi:10.1016/j.kint.2016.12.021.
- [5] Hart E, Dunn T E, Feuerstein S, et al. Proton pump inhibitors and risk of acute and chronic kidney disease: a retrospective cohort study [J]. *Pharmacotherapy*, 2019, 39(4): 443 - 53. doi:10.1002/phar.2235.
- [6] Ye L, Pang W, Huang Y, et al. Lansoprazole promotes cisplatin-induced acute kidney injury *via* enhancing tubular necroptosis [J]. *J Cell Mol Med*, 2021, 25(5): 2703 - 13. doi:10.1111/jcmm.16302.
- [7] Zhang M Y, Ma L J, Jiang L, et al. Paeoniflorin protects against cisplatin-induced acute kidney injury through targeting Hsp90AA1-Akt protein-protein interaction [J]. *J Ethnopharmacol*, 2023, 310: 116422. doi:10.1016/j.jep.2023.116422.
- [8] 王锦妮, 汪靓婧, 王美茜, 等. 汉黄芩素对脂多糖诱导的急性肾损伤小鼠的保护作用 [J]. *安徽医科大学学报*, 2024, 59 (8): 1411 - 6. doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2024.08.018.
- [8] Wang J N, Wang J J, Wang M X, et al. Protective effect of wogonin on lipopolysaccharide-induced acute kidney injury in mice [J]. *Acta Univ Med Anhui*, 2024, 59(8): 1411 - 6. doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2024.08.018.
- [9] Ozkok A, Edelstein C L. Pathophysiology of cisplatin-induced acute kidney injury [J]. *Biomed Res Int*, 2014, 2014: 967826. doi:10.1155/2014/967826.
- [10] Edinoff A N, Wu N W, Parker K, et al. Proton pump inhibitors, kidney damage, and mortality: an updated narrative review [J]. *Adv Ther*, 2023, 40(6): 2693 - 709. doi:10.1007/s12325-023-02476-3.
- [11] Li Y, Xiong M, Yang M, et al. Proton pump inhibitors and the risk of hospital-acquired acute kidney injury in children [J]. *Ann Transl Med*, 2020, 8(21): 1438. doi:10.21037/atm-20-2284.
- [12] Tanase D M, Gosav E M, Radu S, et al. The predictive role of the biomarker kidney molecule-1 (KIM-1) in acute kidney injury (AKI) cisplatin-induced nephrotoxicity [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(20): 5238. doi:10.3390/ijms20205238.
- [13] Xiong J, Ran L, Zhu Y, et al. DUSP2-mediated inhibition of tubular epithelial cell pyroptosis confers nephroprotection in acute kidney injury [J]. *Theranostics*, 2022, 12(11): 5069 - 85. doi: 10.7150/thno.72291.
- [14] Miao N, Yin F, Xie H, et al. The cleavage of gasdermin D by caspase-11 promotes tubular epithelial cell pyroptosis and urinary IL-18 excretion in acute kidney injury [J]. *Kidney Int*, 2019, 96 (5): 1105 - 20. doi:10.1016/j.kint.2019.04.035.
- [15] Muriithi A K, Leung N, Valeri A M, et al. Biopsy-proven acute interstitial nephritis, 1993 - 2011: A case series [J]. *Am J Kidney Dis*, 2014, 64(4): 558 - 66. doi:10.1053/j.ajkd.2014.04.027.
- [16] Ikemura K, Oshima K, Enokiya T, et al. Co-administration of proton pump inhibitors ameliorates nephrotoxicity in patients receiving chemotherapy with cisplatin and fluorouracil: a retrospective cohort study [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2017, 79 (5): 943 - 9. doi:10.1007/s00280-017-3296-7.

Lansoprazole promotes cisplatin-induced acute kidney injury by enhancing pyroptosis of renal tubular epithelial cells

Xu Qi, Wu Yonggui

(Dept of Nephrology, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022)

Abstract Objective To investigate the effect of lansoprazole (LPZ) on cisplatin-induced acute kidney injury in mice and renal tubular epithelial cell injury. **Methods** C57BL/6J mice and renal tubular epithelial cells were divided into normal control (NC) group, lansoprazole (LPZ) group, cisplatin (CIS) group and cisplatin + lansoprazole (CIS + LPZ) group. In animal experiments, LPZ (25 mg/kg) was dissolved in normal saline, and the mice were intraperitoneally injected with LPZ for three consecutive days followed by cisplatin (20 mg/kg). Mice were fed normally for 3 days, and serum samples were collected to detect serum creatinine (CRE) and blood urea

网络出版时间： 网络出版地址：

胰腺星状细胞通过旁分泌效应 促进胰腺癌细胞的 PIK3C2A 表达及生长

岳 展¹, 甄可妙², 崔皓哲², 应万涛^{1,2}

[¹ 安徽医科大学基础医学院, 合肥 230032; ² 医学蛋白质全国重点实验室, 北京蛋白质组研究中心, 国家蛋白质科学中心(北京), 军事科学院军事医学研究院生命组学研究所, 北京 102206]

摘要 **目的** 研究胰腺星状细胞(PSC)的分泌蛋白对胰腺导管腺癌细胞(PANC-1)的作用及调控机制。**方法** 通过间接共培养的方式,收集 PSC 的条件培养基(CM),分别培养 PANC-1 细胞 0、2、24 h。CCK-8 检测不同刺激时段 PANC-1 细胞的增殖表型。运用蛋白质组学手段,分析 PANC-1 细胞在蛋白水平上发生的变化,并用 Western blot 验证变化最显著的蛋白。**结果** 与对照组相比,经 PSC 来源的 CM 刺激后,PANC-1 细胞增殖速度加快;蛋白质组学数据分析结果表明,PANC-1 细胞在 PSC 的 CM 分别培养 0、2、24 h 后,代谢相关通路的蛋白表达不断升高;基于 Western blot 验证了 PIK3C2A 在 PANC-1 细胞中的升高趋势,表明 PSC 的 CM 可能通过上调 PIK3C2A 的表达从而促进 PANC-1 细胞的增殖。**结论** PSC 的 CM 可能通过旁分泌效应上调 PIK3C2A 的表达从而促进 PANC-1 细胞的增殖,提升了肿瘤微环境中 PSC 与胰腺癌细胞之间的交互对话机制的认识。

关键词 胰腺星状细胞;条件培养基;间接共培养;蛋白质组学

中图分类号 Q 735.9

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2024)11-1919-07

doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2024.11.005

2024-02-12 接收

基金项目:国家重点研发计划项目(编号:2021YFA1301602)

作者简介:岳 展,女,硕士研究生;

应万涛,男,研究员,博士生导师,通信作者,E-mail:yingwantao@ncpsb.org.cn

胰腺导管腺癌(pancreatic ductal adenocarcinoma, PDAC)恶性程度高,预后差,起病隐匿,其侵袭性和对化疗的耐药反应与结缔组织高度增生的微环境密切相关^[1],胰腺星状细胞(pancreatic stellate cell, PSC)是 PDAC 微环境中数量最多的细胞类型。

nitrogen (BUN) levels. HE staining and PAS staining were used to observe renal pathology, and transmission electron microscopy was used to observe renal ultrastructure. Western blot and immunohistochemistry were used to detect the changes in the expression levels of KIM-1, NGAL and pyroptosis-related proteins. In the cell experiment, the cells were treated with cisplatin (20 $\mu\text{mol/L}$) and LPZ (5 $\mu\text{mol/L}$) for 24 hours, and the expressions of KIM-1, NGAL and pyroptosis-related factors were detected by Western blot and Real-time PCR. **Results** Compared with the NC group, CRE and BUN levels increased in the CIS group, and LPZ treatment aggravated the serological indicators of the mice ($P < 0.001$). Histopathological examination showed that compared with the CIS group, the LPZ + CIS group had obvious renal tubular dilatation, inflammatory cell infiltration and glycogen deposition in the renal tissue ($P < 0.001$). Electron microscopy showed swelling of mitochondria, increased membrane density and decreased or absent mitochondrial crista in CIS group, which were aggravated by LPZ + CIS group. *In vivo* and *in vitro* experiments confirmed that LPZ treatment promoted CIS-induced acute kidney injury in mice and increased the expression levels of kidney injury factors KIM-1, NGAL and key factors of renal pyroptosis (Caspase 1, GSDMD, NLRP3 and IL-18) in renal tubular epithelial cells ($P < 0.001$). **Conclusion** Lansoprazole promotes cisplatin-induced acute kidney injury by enhancing pyroptosis of renal tubular epithelial cells

Key words acute kidney injury; lansoprazole; pyroptosis; cisplatin; inflammation

Fund program National Natural Science Foundation of China (No. 81770722); 2023 Basic and Clinical Promotion Plan of Anhui Medical University (No. 2023xkjT034)

Corresponding author Wu Yonggui, E-mail: wuyonggui@medmail.com.cn