

• 基础研究 •

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2024.13.002

网络首发 [https://link.cnki.net/urlid/50.1097.R.20240412.1952.020\(2024-04-12\)](https://link.cnki.net/urlid/50.1097.R.20240412.1952.020(2024-04-12))

罗沙司他对腹膜纤维化的影响研究*

肖伍豪,黄意雄,钟 玮,刘抗寒[△]

(湖南省人民医院/湖南师范大学附属第一医院肾内科,长沙 410005)

[摘要] **目的** 研究罗沙司他对腹膜纤维化的影响。**方法** 采用 5.6 mmol/L 葡萄糖溶液(N 组)、138 mmol/L 葡萄糖溶液(C 组)、138 mmol/L 葡萄糖溶液联合 5 μ mol/L 罗沙司他(R 组)培养人腹膜间皮细胞(HPMCs);选取 24 只同一批次 8~10 周龄的 SD 成年雄性大鼠作为研究对象。腹腔注射 4.25% 高糖腹透液建立大鼠腹膜纤维化模型,分为正常组(RN 组)、模型组(RC 组)、罗沙司他常规剂量组(RR-N 组)和罗沙司他高剂量组(RR-H 组)。观察腹膜组织形态,检测低氧诱导因子-1 α (HIF-1 α)、1 型胶原蛋白(Col-1)、血管内皮生长因子(VEGF)、E-钙粘蛋白(E-cad)的表达情况。**结果** 与 N 组细胞比较,C 组和 R 组 HPMC 中 HIF-1 α 、Col-1、VEGF 表达增高,E-cad 表达减少($P<0.05$);与 C 组比较,R 组的 HIF-1 α 、Col-1、VEGF 表达增高,E-cad 表达减少($P<0.05$)。与 RN 组大鼠比较,RC 组大鼠腹膜结构紊乱,大量胶原纤维沉积,致密层增厚;RR-N、RR-H 组大鼠血管增生明显,但致密层厚度与 RC 组无明显差异;与 RN 比较,RC 组腹膜组织 HIF-1 α 、Col-1、VEGF 表达增高,E-cad 表达减少($P<0.05$);与 RC 组比较,RR-N 组 HIF-1 α 、Col-1、VEGF、E-cad 表达无明显差异;与 RC 组及 RR-N 组比较,RR-H 组腹膜组织 HIF-1 α 、VEGF 表达增高,E-cad 表达减少,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 罗沙司他可以引起腹膜细胞 HIF-1 α 表达增高,增加纤维化信号蛋白表达;常规剂量罗沙司他不增加大鼠腹膜组织纤维化,而大剂量的罗沙司他可能存在增加腹膜纤维化的风险。

[关键词] 罗沙司他;缺氧诱导因子;腹膜透析;腹膜纤维化**[中图分类号]** R572.2**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2024)13-1927-08

Study on effect of roxadustat on peritoneal fibrosis*

XIAO Wuhao, HUANG Yixiong, ZHONG Wei, LIU Kanghan[△]

(Department of Nephrology, Hunan Provincial People's Hospital/the First Affiliated Hospital of Hunan Normal University, Changsha, Hunan 410005, China)

[Abstract] **Objective** To study the effect of roxadustat on peritoneal fibrosis. **Methods** The human peritoneal mesothelial cells (HPMCs) were cultured with 5.6 mmol/L (N group), 138 mmol/L (C group) or 138 mmol/L glucose solution combined with 5 μ mol/L roxadustat (R group). A total of 24 SD adult male rats aged 8–10 weeks from the same batch were selected as the study subjects. 4.25% high-glucose peritoneal dialysis solution was intraperitoneally injected to construct the rat peritoneal fibrosis model, which was divided into the normal group (RN group), model group (RC group), roxadustat conventional dose group (RR-N group) and roxadustat high-dose group (RR-H group). The morphology of peritoneal tissues was observed, and the expression levels of HIF-1 α , Col-1, VEGF and E-cadherin were detected. **Results** Compared with the group N, the expression levels of HIF-1 α , Col-1 and VEGF in HPMC in the group C and group R were increased and the expression level of E-cad was decreased ($P<0.05$); compared with the group C, the expression levels of HIF-1 α , Col-1 and VEGF in the group R were increased and the expression level of E-cad was decreased ($P<0.05$). Compared with the RN group, the peritoneal structure in the group RC was disordered, a large number of collagen fibers were deposited, and the dense layer was thickened; the angiogenesis in the RR-N group and RR-H group was obvious, but there was no significant difference in the thickness of the dense layer compared with the RC group; compared with the RN group, the expression levels of HIF-1 α , Col-1 and VEGF in the peritoneal tissue of the group RC were increased, and the expression level of E-cad was decreased ($P<0.05$); compared with the group RC, the expression levels of HIF-1 α , Col-1, VEGF and E-cad in the RR-N group had no significant difference; compared with the group RC group and RR-N group, the expression levels of HIF-1 α and VEGF in

* 基金项目:湖南省卫生健康委员会科研计划项目(202103051068);湖南省中医药管理局项目(2021102)。 [△] 通信作者, E-mail: liukanghan@163.com。

peritoneal tissue in the RR-H group were increased, the expression level of E-cad was decreased, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion** Roxadustat could cause an increase of HIF-1 α expression level in peritoneal cells and increase the expression level of fibrosis signaling proteins; while conventional dose roxadustat does not increase the peritoneal tissue fibrosis in rats, while high-dose roxadustat may have the risk of aggravating peritoneal fibrosis.

[Key words] roxadustat; hypoxia-inducible factor; peritoneal dialysis; peritoneal fibrosis

腹膜透析(peritoneal dialysis, PD)是终末期肾脏病(end stage renal disease, ESRD)患者肾脏替代治疗方法之一,腹膜纤维化是 PD 患者退出治疗的重要原因^[1]。低氧诱导因子(hypoxia-inducible factor, HIF)作为细胞感知和适应氧的重要蛋白,是激活和调控促红细胞生成素(erythropoietin, EPO)表达的关键转录因子^[2]。罗沙司他作为口服脯氨酰羟化酶抑制剂(prolyl hydroxylase inhibitor, PHI),能够稳定 HIF-1 α 表达,使 HIF 表达量增加,促使内源性 EPO 表达升高,纠正肾性贫血。HIF 除了调节红细胞生成外,在纤维化、血管生成、细胞增殖凋亡等多种病理生理过程中也发挥了重要作用^[3]。研究证实,缺氧条件下腹膜组织 HIF-1 α 水平升高,参与腹膜纤维化^[4-6],而抑制 HIF-1 α 的表达可明显改善腹膜功能,延缓纤维化进展^[7-9]。然而,PD 患者使用罗沙司他是否会导致腹膜组织 HIF-1 α 蓄积,进而增加腹膜纤维化的风险还有待研究证明,基于此,本研究使用 4.25% 高糖腹透液建立大鼠腹膜纤维化模型^[10],并用 138 mmol/L 葡萄糖处理人腹膜间皮细胞(human peritoneal mesothelial cells, HPMCs)^[11],给予罗沙司他干预,观察罗沙司他在体内、体外对高糖诱导腹膜纤维化的影响,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

选取 24 只同一批次 8~10 周龄的 SD 成年雄性大鼠作为研究对象,大鼠购于湖南斯莱克景达实验动物有限公司(许可证号:SCXK 湘 2019-0004),体重为 200~250 g。HPMCs(BNCC358140)购于北京北纳创联生物科技研究院。罗沙司他(FG-4592)购于英国 Biorbyt 公司。4.25% 低钙 PD 液购于百特(中国)投资有限公司。DEME 培养基、胎牛血清购于美国 Gibco 公司。1 型胶原蛋白(collagen-1, Col-1)抗体、E-钙粘蛋白(E-cadherin, E-cad)抗体、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)抗体、GAPDH 抗体、Marker 购于美国 Proteintech 公司。HIF-1 α 抗体购于美国 Thermo Fisher 公司。辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)标记的二抗购于长沙艾碧维生物科技有限公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞 CCK-8 检测

取对数生长期的 HPMCs 制备成细胞悬液,根据

细胞计数结果进一步稀释。将细胞种于 96 孔板,每孔放置 100 μ L,细胞个数为 3×10^3 个,各设置 3 个复孔。另用 10% DMSO 溶剂稀释罗沙司他,分别选取 0、1、5、10、50、100、150、200 μ mol/L 浓度的罗沙司他处理 HPMCs 24、48、72 h。每个孔加入 10 μ L CCK-8 溶液,培箱中培养 2 h 后用酶标仪测定 450 nm 处的吸光度 [$A_{(450)}$],测定不同剂量罗沙司他对间皮细胞活力的影响,并选取最佳药物干预浓度用于后续实验。

1.2.2 细胞分组

取对数生长期的 HPMCs 分别于 5.6 mmol/L 葡萄糖溶液(N 组)、138 mmol/L 葡萄糖溶液(C 组)、138 mmol/L 葡萄糖溶液+最佳浓度罗沙司他(R 组)中培养,观察高糖及罗沙司他干预下 HPMCs 形态学改变。

1.2.3 细胞免疫荧光染色

细胞接种至盖玻片,4% 多聚甲醛常温下固定 15 min,磷酸盐缓冲液(phosphate buffer saline, PBS)洗涤 3 次,加入 PBST 室温作用 15 min,用 5% 脱脂奶粉封闭 30 min,加入一抗(1:100)在 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜, PBST 洗涤 3 次后避光加入二抗(1:250),室温孵育 1 h,再用 PBS 洗涤 4 次,滴加封片剂进行封片,4 $^{\circ}$ C 放置 1 h,在荧光显微镜下观察。

1.2.4 动物分组

大鼠统一适应性饲养 1 周,将 24 只 SD 雄性大鼠随机分为 4 组,每组 6 只,各组大鼠间体重无差异。罗沙司他的实验剂量参考 BECK 等^[12]的研究报道。(1)RN 组:不予特殊处理;(2)RC 组:每天腹腔注射药物,给予 4.25% 葡萄糖腹透液(100 mL/kg);(3)RR-N 组:每天腹腔注射药物,给予 4.25% 葡萄糖腹透液(100 mL/kg)+灌胃针口服给药,给予罗沙司他[(2.5 mg/kg,每周 3 次(three times a week, TIW))];(4)RR-H 组:每天腹腔注射药物,给予 4.25% 葡萄糖腹透液(100 mL/kg)+灌胃针口服给药,给予罗沙司他(10 mg/kg TIW)。大鼠在给药干预 6 周后行安乐死,收集大鼠腹膜组织标本。动物实验符合本院动物伦理委员会规范(审批号:2020 第卫 39 号)。

1.2.5 马松(Masson)和苏木精-伊红(hematoxylin-eosin, HE)染色

取腹膜壁层组织,用 10% 甲醛固定后石蜡包埋。切片至 4 μ m,按说明书进行染色,脱水至透明,中性树脂封片。对每个大鼠腹膜壁层组织标本随机选取

10 个视野,测得腹膜组织致密层厚度,取平均值。

1.2.6 免疫组织化学染色

取腹膜壁层组织包埋切片,3%双氧水中孵育 30 min,山羊血清封闭,于 HIF-1α (5 μg/mL)、Col-1 (1 : 1 000)、E-cad(1 : 2 000)一抗中 4 ℃过夜孵育,洗涤后与二抗孵育 1 h,苏木素染色,镜下观察。采用 Image Pro Plus 6.0 计算 HIF-1α、Col-1、E-cad 的平均A₍₄₅₀₎。

1.2.7 腹膜组织蛋白提取和 Western blot 试验

提取细胞、腹膜组织标本蛋白,电泳、转膜、封闭,加一抗 Col-1 (1 : 2 000)、E-cad(1 : 4 000)、VEGF (1 : 2 000)、HIF-1α(1 μg/mL)、GAPDH(1 : 5 000),4 ℃下过夜孵育,后予二抗(1 : 5 000)在室温下孵育 90 min。采用电化学发光法显影,GAPDH 作为内参,以目的蛋白与 GAPDH 灰度值的比值评估目的蛋白表达水平。

1.2.8 大鼠 Hb 检测

在用药前、干预后 6 周,经大鼠眶后神经丛采血,检测大鼠 Hb 情况,评价罗沙司他治疗贫血效果。

1.3 统计学处理

采用 SPSS27.0 软件对数据进行统计分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,方差齐采用 LSD 检验,方差不齐采用 Brown-For-

sythe 检验。实验结果用 GraphPad Prism8 作图。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 罗沙司他对 HPMCs 的影响

2.1.1 不同浓度罗沙司他对 HPMCs 活力的影响

24~72 h 内,HPMCs 经 5~10 μmol/L 罗沙司他干预后细胞活力明显增加,未产生不良反应;5 μmol/L 下细胞活力最高,选取该浓度进行细胞干预,见图 1。

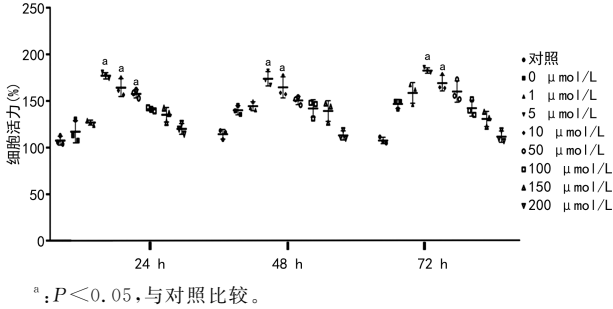


图 1 不同浓度下罗沙司他 HPMCs CCK-8 试验

2.1.2 高糖和罗沙司他对 HPMCs 形态学的影响

N 组 HPMCs 贴壁生长,排列紧密,细胞呈多边形、椭圆形,融合后呈典型的鹅卵石状;C 组 HPMCs 呈长梭形;R 组细胞同样呈长梭形,且长梭形细胞比例相较 C 组明显增加,见图 2。

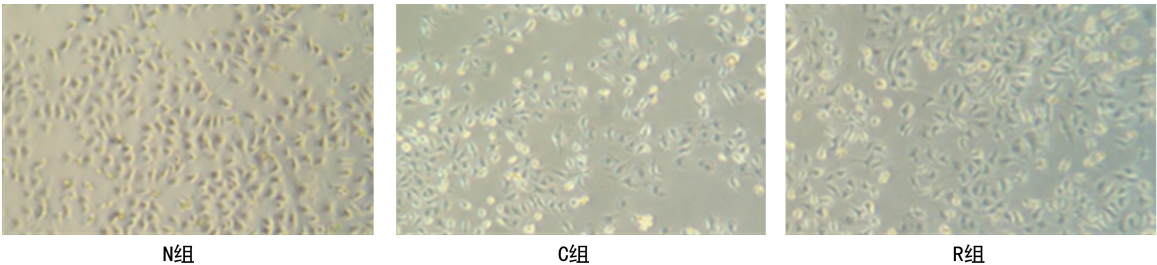


图 2 高糖及罗沙司他对 HPMCs 形态学的影响(100×)

2.1.3 免疫荧光检测各组细胞 HIF-1α、Col-1、E-cad 蛋白表达情况

N 组中,HPMCs 可见 E-cad 表达,细胞外基质中少量 Col-1 蛋白表达,几乎没有 HIF-1α 表达;C 组中,细胞膜上 E-cad 表达明显减少,Col-1 蛋白表达增加,有少量 HIF-1α 表达;R 组中,细胞核内 HIF-1α 表达明显增加,Col-1 表达明显增加,E-cad 表达明显减少,见图 3。

2.1.4 Western blot 检测各组细胞 HIF-1α、VEGF、Col-1、E-cad 蛋白表达情况

与 N 组比较,C 组细胞 HIF-1α、VEGF、Col-1 蛋白表达增加,E-cad 蛋白表达减少,差异有统计学意义 ($P < 0.05$);与 C 组比较,R 组细胞的 HIF-1α、VEGF、Col-1 表达进一步增加,E-cad 表达减少,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),见图 4。

2.2 罗沙司他对大鼠腹膜组织的影响

2.2.1 罗沙司他对大鼠腹膜组织病理学变化

RN 组大鼠腹膜组织结构完整,致密层厚度为 $(21.85 \pm 1.95) \mu\text{m}$ 。RC 组大鼠腹膜组织明显增厚,上皮细胞排列紊乱,由扁平状变为圆柱状,可见部分间皮缺失;间皮下可见大量纤维组织增生,伴有炎症细胞浸润,新生毛细血管增多;致密层明显增厚,厚度为 $(108.54 \pm 1.33) \mu\text{m}$,高于 RN 组,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。RR-N 组大鼠腹膜组织呈现出与 C 组类似的改变;致密层厚度为 $(108.92 \pm 2.25) \mu\text{m}$,与 RC 组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。与 RC 组大鼠比较,RR-H 组大鼠腹膜组织明显增厚,组织结构更加紊乱,血管增生更加明显,局部区域出血;致密层厚度为 $(113.20 \pm 4.52) \mu\text{m}$,与 RC 组、RR-N 组比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$),见图 5、6。

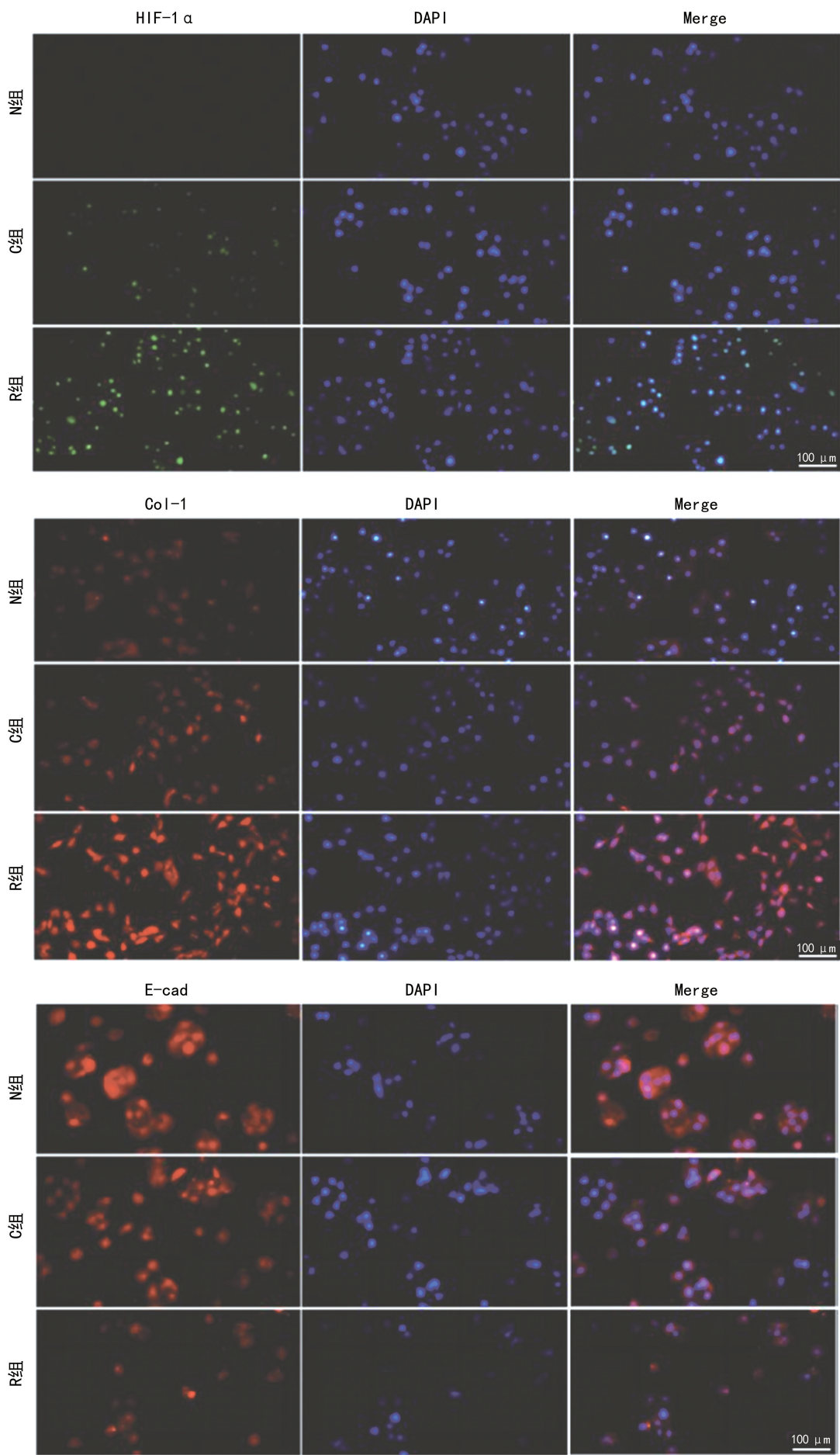
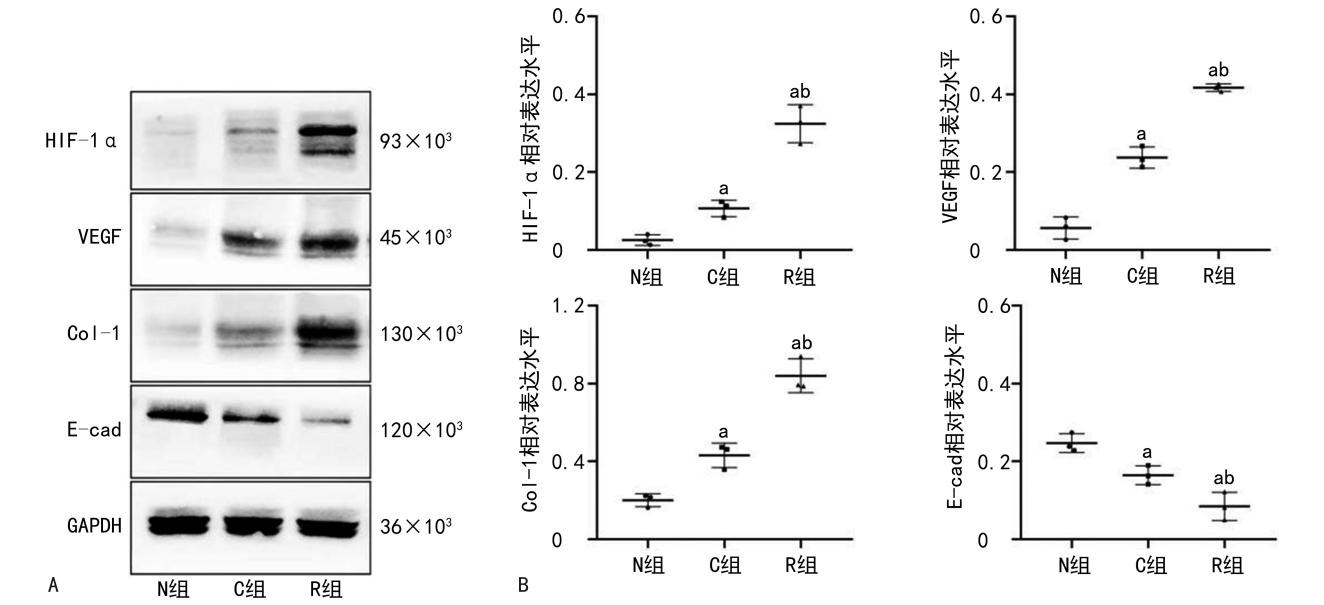


图 3 各组细胞 HIF-1 α 、Col-1、E-cad 表达情况(400 $\times$)

2.2.2 免疫组织化学检测各组大鼠腹膜组织 HIF-1 α 、Col-1、E-cad 的分布和表达情况

与 RN 组比较,RC 组、RR-N 组、RR-H 组大鼠腹膜组织 HIF-1 α 、Col-1 表达增加,E-cad 表达减少,差异有统计学意义($P<0.05$);RC 组、RR-N 组大鼠腹

膜组织 HIF-1 α 、Col-1、E-cad 表达比较差异无统计学意义($P>0.05$);与 RC 组比较,RR-H 组大鼠腹膜组织 HIF-1 α 表达增加、E-cad 表达减少,差异有统计学意义($P<0.05$),两组 Col-1 表达差异无统计学意义($P>0.05$),见图 7。



A: Western blot 图; B: 各组细胞 HIF-1 α 、VEGF、Col-1、E-cad 表达情况。^a: $P<0.05$, 与 N 组比较; ^b: $P<0.05$, 与 C 组比较。

图 4 Western blot 检测各组细胞 HIF-1 α 、VEGF、Col-1、E-cad 表达情况

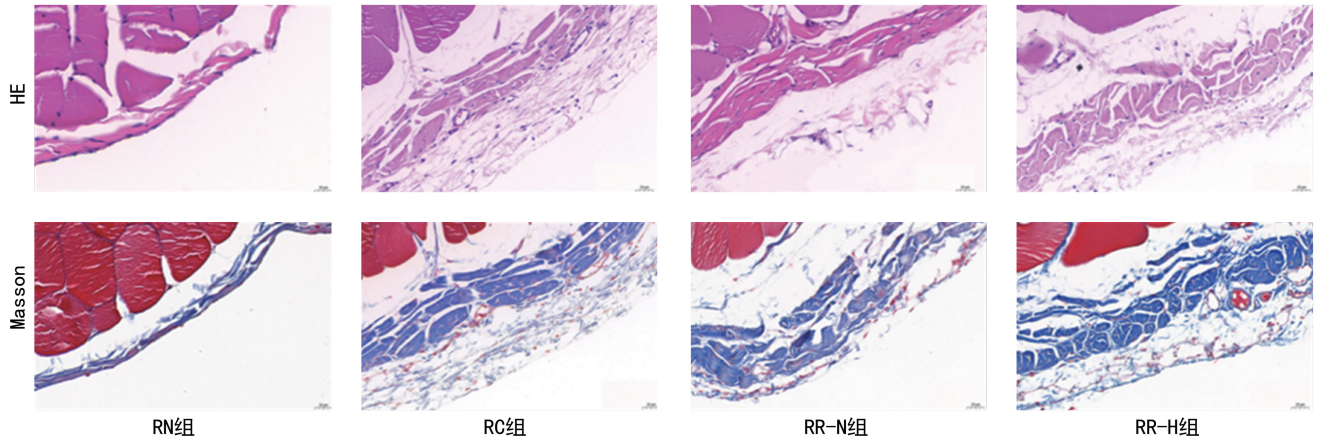
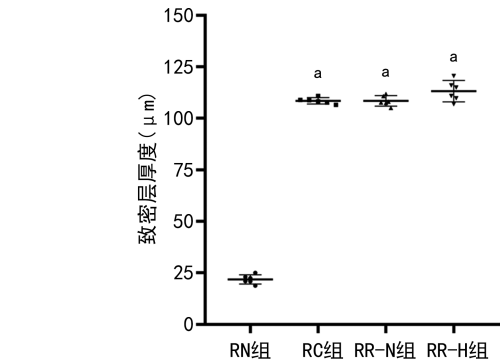


图 5 各组大鼠腹膜组织 HE、Masson 染色图(200 $\times$)



^a: $P<0.05$, 与 RN 组比较。

图 6 各组大鼠腹膜组织致密层厚度比较

2.2.3 Western blot 检测各组大鼠腹膜组织 HIF-1 α 、Col-1、VEGF、E-cad 表达情况

与 RN 组比较,RC 组大鼠腹膜组织 HIF-1 α 、Col-1、VEGF 表达增加,E-cad 表达减少,差异有统计学意义($P<0.05$);RC 组、RR-N 组大鼠腹膜组织 HIF-1 α 、Col-1、VEGF、E-cad 表达差异无统计学意义($P>0.05$);与 RC 组比较,RR-H 组大鼠腹膜组织 HIF-1 α 、VEGF 表达上调,E-cad 表达下调,差异有统计学意义($P<0.05$),两组 Col-1 表达差异无统计学意义($P>0.05$),见图 8。

2.2.4 罗沙司他对大鼠 Hb 水平的影响

干预前各组大鼠 Hb 水平差异无统计学意义

($P>0.05$);经罗沙司他干预 6 周后,与 RC 组比较,RR-N 组、RR-H 组大鼠 Hb 水平明显升高,且 RR-H 组大鼠 Hb 水平高于 RR-N 组,差异均有统计学意义($P<0.05$),见表 1。

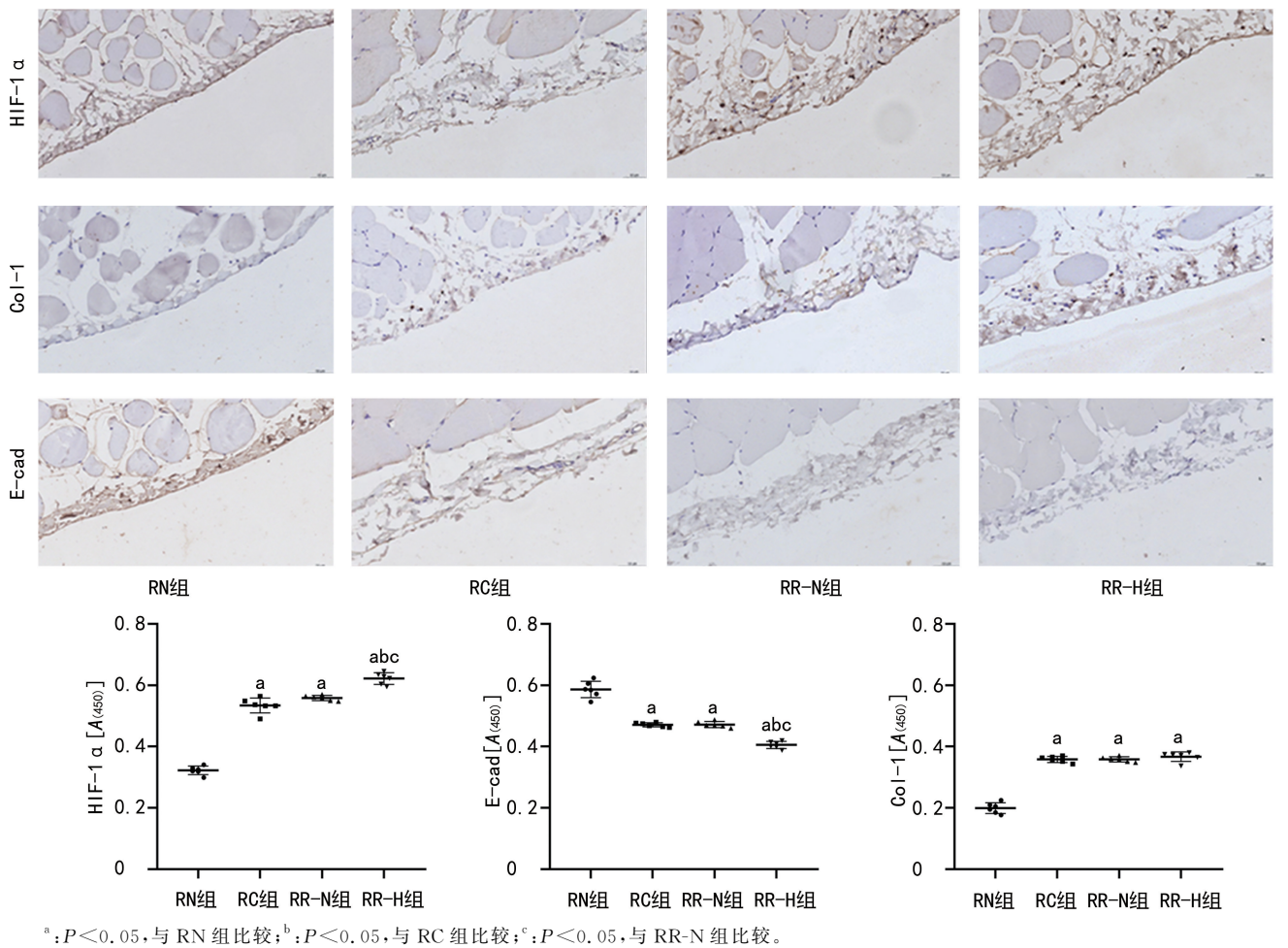
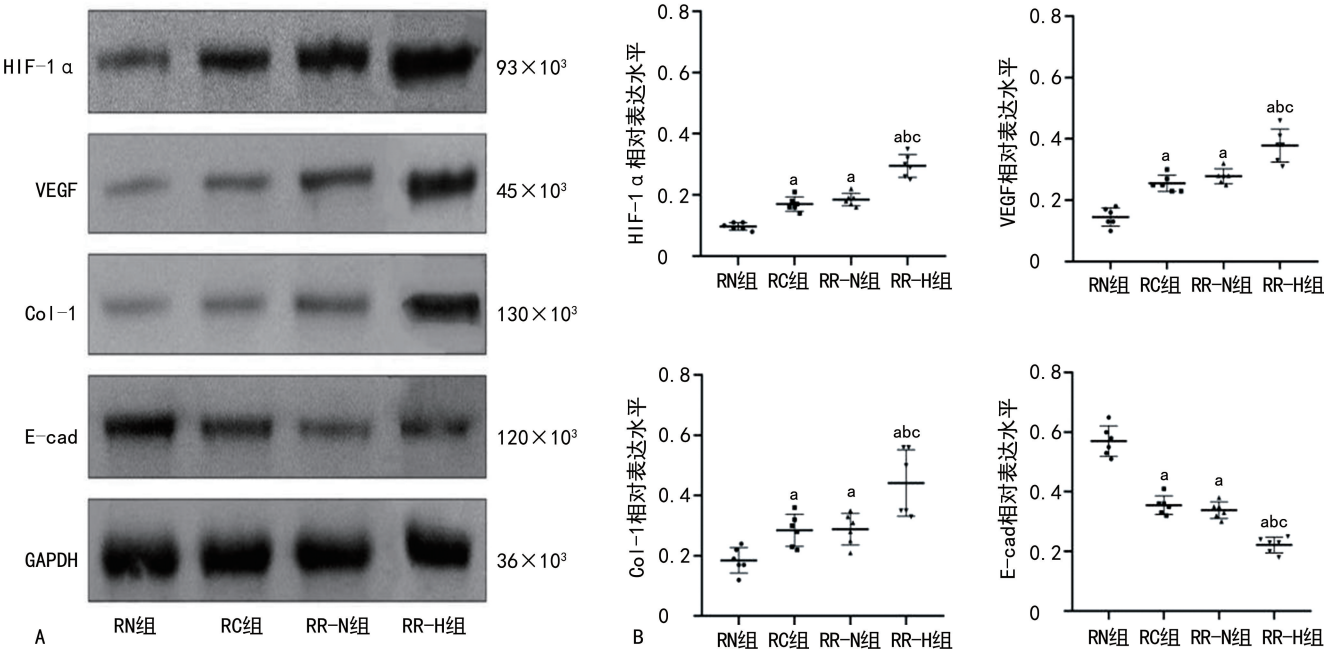


图 7 免疫组织化学大鼠腹膜组织 HIF-1 α 、Col-1、E-cad 表达情况 (200 $\times$)



A: Western blot 图; B: 各组大鼠腹膜组织 HIF-1 α 、VEGF、Col-1、E-cad 表达情况。^a: $P<0.05$, 与 RN 组比较; ^b: $P<0.05$, 与 RC 组比较; ^c: $P<0.05$, 与 RR-N 组比较。

图 8 Western blot 检测各组大鼠腹膜组织 HIF-1 α 、VEGF、Col-1、E-cad 表达情况

表 1 各组大鼠干预前后 Hb 水平比较($\bar{x}\pm s$,g/L)

项目	RN 组($n=6$)	RC 组($n=6$)	RR-N 组($n=6$)	RR-H 组($n=6$)
用药前	132.20 $\pm$ 5.70	130.39 $\pm$ 8.90	130.80 $\pm$ 7.05	131.65 $\pm$ 6.15
干预后 6 周	132.77 $\pm$ 6.85	133.26 $\pm$ 7.30	139.35 $\pm$ 6.60 ^a	144.37 $\pm$ 8.21 ^{ab}

^a: $P<0.05$,与 RC 组比较;^b: $P<0.05$,与 RR-N 组比较。

3 讨 论

腹膜上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition,EMT)是指腹膜细胞转变成具有迁移能力的间充质表型,与腹膜纤维化进展密切相关。在 EMT 进程中,E-cad、细胞角蛋白表达特征性下调,Col-1、转化生长因子- β 1(transforming growth factor- β ,TGF- β 1)、纤维连接蛋白等促纤维化分子表达增加,参与纤维化进程^[13]。研究表明,HIF-1 α 的过度激活会导致 EMT,从而增加肾纤维化、腹膜纤维化风险。HIF-1 α 在体外可以通过上调赖氨酰氧化酶表达诱导上皮细胞迁移、促纤维化基因表达,导致 EMT,并且 HIF-1 α 表达的增加与慢性肾脏病患者的肾小管间质损伤有关^[14]。VHL 基因编码蛋白具有 E3 泛素连接酶的功能,能够降解 HIF-1 α ^[15]。在 VHL 肿瘤抑制因子缺失的小鼠 5/6 肾脏切除模型中,16 周后局限于小鼠近端小管周围可见轻度纤维化,20 周后肾间质广泛纤维化,伴 Col-1 明显表达,而未敲除 VHL 基因的小鼠没有发生明显纤维化^[16]。同时,予以抗 HIF-1 α 药物干预或敲除小鼠模型中 HIF-1 α 基因表达,可以有效抑制其肾纤维化的进展^[17-18]。小鼠予 4.25% 高糖腹透液腹腔给药 4 周,HIF-1 α 、Col-1、纤维连接蛋白及 α -平滑肌肌动蛋白(α -smooth muscle actin, α -SMA)在腹膜组中表达明显升高,介导腹膜纤维化^[19]。HIF-1 α 可以通过调节炎症细胞因子和 VEGF 的表达诱导纤维化,而抑制 HIF-1 α 表达可以减轻腹膜组织的炎症及纤维化进展^[20-21]。

罗沙司他能够稳定 HIF-1 α 表达,使 HIF-1 α 表达水平增加,促使内源性 EPO 在生理浓度范围内的表达升高,纠正肾性贫血。然而,临床上随着罗沙司他的广泛使用,其对纤维化疾病的影响受到关注。KA-BEI 等^[22]发现单侧输尿管梗阻模型小鼠经低剂量罗沙司他(12.5 mg/kg)口服干预 3 d 和 7 d 后,纤溶酶原激活物抑制剂-1(plasminogen activator inhibitor,PAI-1)、结缔组织生长因子(connective tissue growth factor,CTGF)等促纤维化因子、细胞外基质的表达无明显影响;而给予高剂量罗沙司他(50 mg/kg)口服给药干预 3 d 后,PAI-1、CTGF 等促纤维化因子表达明显增高,但在干预 7 d 后上述表达差异消失,提示罗沙司他对单侧输尿管梗阻模型小鼠肾间质纤维化没有影响。

本研究中,CCK-8 检测结果表明,24~72 h 时间内,HPMCs 经 5~10 μ mol/L 罗沙司他干预后细胞活力增加,未产生明显不良反应。与 N 组比较,C 组细胞形态发生改变,细胞变细变长,呈长梭形,HIF-1 α 、Col-1 表达增加,E-cad 表达减少。而采用 5 μ mol/L 罗沙司他干预后,与 C 组比较,R 组细胞 HIF-1 α 、Col-1 蛋白表达明显增加,E-cad 表达明显减少,提示罗沙司他有可能增加 HPMC 纤维化和 EMT 过程。

动物实验中,RR-N 组大鼠腹膜组织呈现与 RC 组类似的改变,两组致密层厚度比较差异无统计学意义($P>0.05$)。与 RC 组大鼠比较,RR-H 组大鼠腹膜组织明显增厚,组织结构更加紊乱,血管增生更加明显,局部区域出血,但 RR-H 组大鼠致密层厚度与 RC 组、RR-N 组比较差异无统计学意义($P>0.05$)。RC 组、RR-N 组大鼠腹膜组织中 HIF-1 α 、VEGF、E-cad、Col-1 表达差异无统计学意义($P>0.05$)。而与 RC 组比较,RR-H 组大鼠腹膜组织中 HIF-1 α 、VEGF 表达增加,E-cad 减少,差异有统计学意义($P<0.05$)。上述结果表明,RR-N 组接受 2.5 mg/kg TIW 罗沙司他干预,并未增加腹膜纤维化;而 RR-H 组接受 10 mg/kg TIW 罗沙司他干预,则可能加重腹膜纤维化。

罗沙司他治疗慢性肾脏病患者肾性贫血,其血药浓度-时间曲线下面积(area under curve,AUC)随给药剂量增高而增加,但慢性肾脏病患者采用 2 mg/kg TIW 剂量治疗时,其血浆药物浓度通常在给药间期恢复至低水平,没有明显的药物蓄积^[23]。因此,间歇性服用常规剂量的罗沙司他不会使 HIF 在组织内连续表达,不太可能影响所有的 HIF 依赖性表达通路。在 HIF-PHI 的所有 II a 期研究中,均没有发现体内 VEGF 水平的变化^[24]。另一项短期临床研究发现,慢性肾脏病患者服用罗沙司他 2 周后,血清 HIF-1 α 水平较服药前明显增加,但在 4 周时表达减少;TGF- β 1 和纤维连接蛋白血清水平在服药 2 周时无明显变化,但在 4 周时均明显减少,而 VEGF 在服药 2 周及 4 周时表达无明显差异^[25]。这些证据表明,慢性肾脏病患者接受罗沙司他治疗具有良好的安全性。BECK 等^[12]分别选取 2.5 mg/kg TIW,5 mg/kg TIW,10 mg/kg TIW 作为低、中、高剂量干预 SD 大鼠,均不影响大鼠的死亡率,大鼠也无明显不良反应;2.5 mg/kg

TIW 组 AUC、血药峰浓度与临床中患者使用的最大剂量大致相当,而 10 mg/kg TIW 组的 AUC 为成人的 3.6~4.5 倍,血药峰浓度为成人的 4.0~5.4 倍。RR-N 组接受 2.5 mg/Kg TIW 罗沙司他干预,并未增加其腹膜纤维化,也提示临床中使用的罗沙司他剂量不会增加腹膜纤维化的风险。罗沙司他对慢性肾脏病患者腹膜纤维化的影响,仍需要进行更长期的观察。

参考文献

- [1] WILKIE M, DAVIES S. Insights on peritoneal dialysis in China[J]. *Perit Dial Int*, 2018, 38 (Suppl. 2):16-18.
- [2] VOIT R A, SANKARAN V G. Stabilizing HIF to ameliorate anemia[J]. *Cell*, 2020, 180(1):6.
- [3] LIU J, WEI Q, GUO C, et al. Hypoxia, HIF, and associated signaling networks in chronic kidney disease[J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(5):950.
- [4] MORISHITA Y, OOKAWARA S, HIRAHARA I, et al. HIF-1 α mediates hypoxia-induced epithelial-mesenchymal transition in peritoneal mesothelial cells[J]. *Ren Fail*, 2016, 38(2):282-289.
- [5] SHENTU Y, JIANG H, LIU X, et al. Nestin promotes peritoneal fibrosis by protecting HIF-1 α from proteasomal degradation [J]. *Front Physiol*, 2020, 11:517912.
- [6] KREDIET R T, PARIKOVA A. Glucose-induced pseudohypoxia and advanced glycosylation end products explain peritoneal damage in long-term peritoneal dialysis [J]. *Perit Dial Int*, 2024, 44(1):6-15.
- [7] WILSON R B, ARCHID R, REYMOND M A. Reprogramming of mesothelial-mesenchymal transition in chronic peritoneal diseases by estrogen receptor modulation and TGF- β 1 inhibition[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(11):4158.
- [8] LI J, GUO Z Y, GAO X H, et al. Low molecular weight heparin (LMWH) improves peritoneal function and inhibits peritoneal fibrosis possibly through suppression of HIF-1 α , VEGF and TGF- β 1[J]. *PLoS One*, 2015, 10(2):e0118481.
- [9] WANG J, LV X, ANIWAN A S, et al. Canagliflozin alleviates high glucose-induced peritoneal fibrosis via HIF-1 α inhibition[J]. *Front Pharmacol*, 2023, 14:1152611.
- [10] 王乙安, 宴玥, 赵恒, 等. 腹膜纤维化大鼠模型构建及其腹膜组织中热休克蛋白的表达变化[J]. *山东医药*, 2017, 57(37):25-28.
- [11] LIU J, FENG Y, SUN C, et al. Valsartan ameliorates high glucose-induced peritoneal fibrosis by blocking mTORC1 signaling[J]. *Exp Biol Med*, 2020, 245(11):983-993.
- [12] BECK J, HENSCHER C, CHOU J, et al. Evaluation of the carcinogenic potential of roxadustat (FG-4592), a small molecule inhibitor of hypoxia-inducible factor prolyl hydroxylase in CD-1 mice and sprague dawley rats[J]. *Int J Toxicol*, 2017, 36(6):427-439.
- [13] STRIPPOLI R, MORENO-VICENTE R, BATTISTELLI C, et al. Molecular mechanisms underlying peritoneal EMT and fibrosis[J]. *Stem Cells Int*, 2016, 2016:3543678.
- [14] WANG K, LIAO Q, CHEN X. Research progress on the mechanism of renal interstitial fibrosis in obstructive nephropathy[J]. *Heliyon*, 2023, 9(8):e18723.
- [15] STROWITZKI M J, CUMMINS E P, TAYLOR C T. Protein hydroxylation by hypoxia-inducible factor (HIF) hydroxylases: unique or ubiquitous? [J]. *Cells*, 2019, 8(5):384.
- [16] FORESTO-NETO O, SILVA A, CIPPELLI M, et al. The impact of hypoxia-inducible factors in the pathogenesis of kidney diseases: a link through cell metabolism[J]. *Kidney Res Clin Pract*, 2023, 42(5):561-578.
- [17] BAUMANN B, HAYASHIDA T, LIANG X, et al. Hypoxia-inducible factor-1 α promotes glomerulosclerosis and regulates Col1A2 expression through interactions with Smad3[J]. *Kidney Int*, 2016, 90(4):797-808.
- [18] ZHAO H, JIANG N, HAN Y, et al. Aristolochic acid induces renal fibrosis by arresting proximal tubular cells in G2/M phase mediated by HIF-1 α [J]. *FASEB J*, 2020, 34(9):12599-12614.
- [19] YANG X, BAO M, FANG Y, et al. STAT 3/HIF-1 α signaling activation mediates peritoneal fibrosis induced by high glucose[J]. *J Transl Med*, 2021, 19(1):283. (下转第 1940 页)

cade reduces stemness enrichment of glioblastoma via the down-regulation of SOX2 [J]. *Phytomedicine*,2023,114:154764.

[15] CHICO M A, MESAS C, DOELLO K, et al. Cancer stem cells in sarcomas: in vitro isolation and role as prognostic markers: a systematic review[J]. *Cancers*,2023,15(9):2449.

[16] XU K, ZHANG Z, PEI H, et al. FOXO3a induces temozolomide resistance in glioblastoma cells via the regulation of β -catenin nuclear accumulation[J]. *Oncol Rep*,2017,37(4):2391-2397.

[17] XU K, PEI H, ZHANG Z, et al. FOXO3a mediates glioma cell invasion by regulating MMP9 expression[J]. *Oncol Rep*,2016,36(5):3044-3050.

[18] HUANG W S, WANG J P, WANG T, et al. ShRNA-mediated gene silencing of β -catenin inhibits growth of human colon cancer cells [J]. *World J Gastroenterol*,2007,13(48):6581-6587.

[19] DOAN P, MUSA A, MURUGESAN A, et al. Glioblastoma multiforme stem cell cycle arrest by alkylaminophenol through the modulation of EGFR and CSC signaling pathways [J]. *Cells*,2020,9(3):681.

[20] KIM D S. Cancer stem cell plasticity in glioblastoma multiforme: a perspective on future directions in oncolytic virotherapy[J]. *Future Oncol*,2020,16(28):2251-2264.

[21] MONTEMURRO N, PAHWA B, TAYAL A, et al. Macrophages in recurrent glioblastoma as a prognostic factor in the synergistic system of the tumor microenvironment [J]. *Neurol Int*,2023,15(2):595-608.

[22] 王昕雯, 曹长春, 朱亮, 等. ERK5 抑制剂 XMD17-109 通过下调 ITPRIIP 表达抑制胶质瘤进展 [J]. *重庆医学*,2023,52(23):3546-3553.

[23] CHU C W, KO H J, CHOU C H, et al. Thioridazine enhances p62-mediated autophagy and apoptosis through wnt/ β -catenin signaling pathway in glioma cells[J]. *Int J Mol Sci*,2019,20(3):473.

[24] HUANG G Q, LIANG M, LIU H Y, et al. CircRNA hsa-circRNA-104348 promotes hepatocellular carcinoma progression through modulating miR-187-3P/RTKN2 axis and activating wnt/ β -catenin pathway [J]. *Cell Death Dis*,2020,11(12):1065.

[25] 陈锡贤, 孙海峰, 成江, 等. 脑神经胶质瘤细胞癌胚抗原相关细胞黏附分子 1 对替莫唑胺化疗敏感性的作用及其机制研究[J]. *中国现代医学杂志*,2023,33(4):27-32.

(收稿日期:2023-12-18 修回日期:2024-03-29)

(编辑:袁皓伟)

(上接第 1934 页)

[20] GONZALEZ-MATEO G T, AGUIRRE A R, LOUREIRO J, et al. Rapamycin protects from type- I peritoneal membrane failure inhibiting the angiogenesis, lymphangiogenesis, and endo-MT[J]. *Biomed Res Int*,2015,2015:989560.

[21] SHI Y, LI J, CHEN H, et al. Inhibition of EZH2 suppresses peritoneal angiogenesis by targeting a VEGFR2/ERK1/2/HIF-1 α -dependent signaling pathway[J]. *J Pathol*,2022,258(2):164-178.

[22] KABEI K, TATEISHI Y, SHIOTA M, et al. Effects of orally active hypoxia inducible factor alpha prolyl hydroxylase inhibitor, FG4592 on renal fibrogenic potential in mouse unilateral ureteral obstruction model [J]. *J Pharmacol Sci*,2020,142(3):93-100.

[23] PROVENZANO R, TUMLIN J, ZABANEH R, et al. Oral hypoxia-inducible factor prolyl hydroxylase inhibitor roxadustat (FG-4592) for treatment of anemia in chronic kidney disease: a placebo-controlled study of pharmacokinetic and pharmacodynamic profiles in hemodialysis patients[J]. *J Clin Pharmacol*,2020,60(11):1432-1440.

[24] LOCATELLI F, FISHBANE S, BLOCK G A, et al. Targeting hypoxia-inducible factors for the treatment of anemia in chronic kidney disease patients[J]. *Am J Nephrol*,2017,45(3):187-199.

[25] ZHENG F, ZHANG P, ZHAO M, et al. Effect of roxadustat on factors associated with renal fibrosis and efficacy[J]. *Comput Math Methods Med*,2022,2022:4764254.

(收稿日期:2023-10-25 修回日期:2024-03-29)

(编辑:张芃捷)