

异鼠李素抗 UUO 大鼠肾脏纤维化作用及机制

李艺文¹, 唐志书^{1*}, 张 珍^{1*}, 宋忠兴¹, 王昌利^{1,2}, 马虎强¹

[1. 陕西中医药大学, 陕西省中药资源产业化省部共建协同创新中心/秦药特色资源研究开发国家重点实验室(培育)/陕西中药产业技术研究院, 陕西 咸阳 712083; 2. 内蒙古海天制药有限公司, 内蒙 通辽 028000]

摘要: **目的** 研究异鼠李素对单侧输尿管梗阻(UUO)大鼠肾脏纤维化的影响及机制。**方法** 大鼠分为假手术组、模型组、异鼠李素组(10、30 mg/kg)和依那普利(阳性药)组, UUO 手术后连续给药 2 周, Masson 染色检测异鼠李素对胶原纤维沉积的影响, 免疫组化检测异鼠李素对 α -SMA 表达和分布的影响, 试剂盒检测异鼠李素对血清内源性硫化氢(H_2S)水平的影响。建立血管紧张素 II(Ang II)诱导的 NRK-52E 细胞纤维化模型, CCK-8 检测异鼠李素对 NRK-52E 细胞增殖的影响, Western blot 检测异鼠李素对 α -SMA、E-cadherin、TGF- β 1、Cx43 表达的影响, 试剂盒检测异鼠李素对活性氧和超氧化物水平的影响。**结果** 在大鼠 UUO 肾脏纤维化模型中, 异鼠李素可改善大鼠肾脏形态及皮质厚度, 抑制胶原纤维沉积, 降低 α -SMA 表达, 升高血清 H_2S 水平; 在 NRK-52E 细胞纤维化模型中, 异鼠李素可抑制大鼠 NRK-52E 细胞增殖, 降低 α -SMA、TGF- β 1、Cx43 表达, 升高 E-cadherin 表达, 降低细胞 ROS 水平。**结论** 异鼠李素能抑制上皮细胞-间充质转化(EMT)形成, 降低细胞外基质(ECM)沉积, 从而对 UUO 所致的大鼠肾脏纤维化具有保护作用。

关键词: 异鼠李素; 单侧输尿管梗阻(UUO); 肾脏纤维化; 上皮细胞-间充质转化; 细胞外基质; 硫化氢

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2021)11-3172-06

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2021.11.046

肾脏纤维化是所有慢性肾脏病变发展至终末期肾脏疾病的最后共同通路, 是慢性肾脏病的主要病理基础。目前临床上用于治疗的一线药物主要有血管紧张素转换酶抑制剂(ACEI)和血管紧张素受体拮抗剂(ARB)等, 尽管有这些药物, 但是仍不能有效阻止肾纤维化发生发展, 还会出现一系列的不良反应, 如 ACEI 所致咳嗽和严重的高钾血症等^[1]。因此, 寻找有效减缓肾脏纤维化进程的活性成分已成为抗肾脏纤维化治疗的关键。

异鼠李素是从银杏、沙棘等药用植物中分离提纯的黄酮类化合物, 研究表明, 异鼠李素具有广泛的药理作用, 在治疗心脑血管疾病、抑制脂肪细胞分化、抗病毒、抗炎、耐缺氧、降糖等方面扮演了较为重要的角色^[2]。近年来, 有关异鼠李素的研究越来越多。Yang 等^[3]发现异鼠李素通过抑制 TGF- β /Smad 信号转导和减少氧化应激, 从而减缓肝脏纤维化; Zheng 等^[4]发现异鼠李素通过抑制内质网应激和上皮细胞-间充质转化(EMT)的形成保护争光霉素诱导的肺纤维化; Liu 等^[5]人发现异鼠李素通过 TGF- β 1/

Smad3 和 TGF- β 1/p38 MAPK 通路抑制自噬和细胞外基质(ECM)的形成进而抑制肝脏纤维化, 也有研究报道异鼠李素可减轻小鼠非酒精性脂肪肝炎引起的脂肪变性和肝脏纤维化^[6]。异鼠李素具有抗肺纤维化和肝纤维化的作用, 那么是否具有抗肾脏纤维化的作用研究还未见报道, 本研究建立单侧输尿管梗阻(unilateral ureteral obstructive, UUO)大鼠肾脏纤维化和 NRK-52E 细胞纤维化模型, 从体内和体外研究了异鼠李素对肾脏纤维化的作用及其机制。

1 材料

1.1 细胞株 大鼠肾小管上皮细胞 NRK-52E, 购自中国科学院上海生命科学研究院细胞研究所。

1.2 动物 雄性 SD 大鼠, 体质量(200 $\pm$ 10) g, 购自成都达硕实验动物有限公司, 动物生产许可证号 SCXK(川)2020-030。

1.3 试剂与药物 异鼠李素对照品, 中国食品药品检定研究院(批号 110860-2016115, 纯度 99.8%)。血管紧张素 II(批号 4474-91-3), 购自美国 Medchem Express 公司; α -

收稿日期: 2020-10-11

基金项目: 国家自然科学基金青年项目(8210143038); 陕西省教育厅协同创新项目(21JY012); 陕西省科技厅一般项目-社会发展领域(2021SF-368); 内蒙古自治区 2019 年度重大科技专项(2019ZD005); 名贵中药资源可持续利用能力建设项目(2060302); 陕西中医药大学校级基金(2020GP16)

作者简介: 李艺文(1998—), 女, 硕士生, 从事中药抗肾脏纤维化研究。Tel: 15809296274

* **通信作者:** 唐志书(1972—), 男, 教授, 硕士生导师, 从事中药制剂制备技术的研究。E-mail: tzs6565@163.com

张 珍(1986—), 女, 博士, 讲师, 从事慢性肾病发病机制及中药抗肾脏纤维化研究。E-mail: zhzh626@outlook.com

SMA、E-cadherin、Connexin 43 (货号 14968s、14472s、3512s), 购自美国 Cell Signaling Technology 公司; β -actin (货号 361438ws), 购自美国 CMCTAG 公司; TGF- β 1 (货号 21898-1-AP), 购自美国 Proteintech 公司; 山羊抗小鼠二抗、山羊抗兔二抗 (HRP 标记, 货号 102618190226、121918190213), 购自上海碧云天生物技术有限公司; ROS/超氧化物检测试剂盒, 购自美国 Enzo Life Sciences 公司; 内源性 H₂S 检测试剂盒 (货号 A146-1-1), 购自南京建成生物工程研究所。

1.4 仪器 311 型细胞培养箱 (美国 Thermo 公司); SW-CJ-2FD 型超净工作台 (江苏苏净集团有限公司); DSZ2000X 型倒置显微镜 (重庆澳浦光电技术有限公司); LD5-2A 型低速离心机 (北京雷博尔离心机有限公司); Thermo Multiskan GO 多功能酶标仪 (美国 Thermo 公司); Western blot 曝光仪器 ChemiDoc XRS+ (美国 Bio-Rad 公司)。

2 方法

2.1 造模、分组及给药 造模组用 1% 戊巴比妥钠 (35 mg/kg) 麻醉大鼠, 在腹部左侧切口, 分离左侧输尿管, 输尿管在近端中上 1/3 处双结扎, 然后在 2 个结扎处之间将输尿管剪断, 最后逐层缝合腹腔; 假手术组只需将输尿管分离出来, 不进行结扎和剪断输尿管操作。实验分为假手术组、UUO 组、依那普利+UUO 组、异鼠李素 (10、30 mg/kg) + UUO 组, 每组 10 只, 手术前 3 天给药, 术后连续给药 2 周。

2.2 取材 术后 2 周, 用 1% 戊巴比妥钠 (35 mg/kg) 麻醉大鼠, 摘除眼球采血, 分离血清, 密闭保存于 -80 ℃ 冰箱。摘取肾脏, 除去肾包膜, 用 4 ℃ 生理盐水冲洗, 从中间纵切, 1/2 固定于 4% 多聚甲醛缓冲液, 1/2 制备蛋白匀浆。

2.3 肾组织形态学观察

2.3.1 肾脏皮质厚度测量 将固定后的 1/2 肾脏取出, 观察 UUO 导致大鼠肾脏大小和肾盂扩张情况, 肾脏纵切面测量肾皮质厚度。

2.3.2 Masson 染色 大鼠肾组织用 4% 多聚甲醛缓冲液固定 24 h, 石蜡包埋、切片, 进行 Masson 染色。观察肾小管扩张、管型形成和间质细胞外基质沉积, 并采用 Image J 软件对胶原纤维的蓝色阳性染色进行定量分析。

2.3.3 免疫组化 石蜡切片脱蜡、水化后, 置于枸橼酸缓冲液中煮沸 15 min, 置 3% H₂O₂ 中灭活, 3% BSA 室温封闭 1 h, 孵育 α -SMA 一抗, 置于 4 ℃ 冰箱中过夜, 室温孵育二抗 1 h, 按 DAB 显色试剂盒说明配制显色液, 滴加后镜下控制反应时间, 洗涤、苏木素复染、脱水、透明、封片, 阳性表达呈棕黄色或深棕色染色。采用 Image J 软件, 对阳性表达进行定量分析。

2.4 细胞培养 NRK-52E 细胞置于含 5% 胎牛血清的高糖 DMEM 培养基中, 加入双抗 (青霉素 100 U/mL、链霉素 0.1 mg/mL), 置于 37 ℃、5% CO₂ 饱和湿度培养箱内常规

培养。

2.5 细胞增殖检测 取对数生长期 NRK-52E 细胞, 以 2.5×10⁸/mL 密度接种在 96 孔培养板中, 培养 24 h 至细胞贴壁并长满。加入异鼠李素 (0、1、2.5、5、10、25、50 μ mol/L), 72 h 后每孔加入 10 μ L CCK-8 检测溶液, 显色后采用多功能酶标仪在 450 nm 处检测各孔吸光度, 进行统计分析。

2.6 Western blot 检测 将细胞接种于 12 孔培养板中, 长满后加药刺激, 刺激结束后加入含蛋白酶抑制剂的 RIPA 裂解液, 提取总蛋白, 采用 BCA 试剂盒定量, 取 50 μ g 蛋白样品, 经 10% SDS -PAGE 电泳、转膜、封闭, 一抗 4 ℃ 过夜, PBST 洗膜, 加入二抗, 孵育 1 h, 洗膜后 ECL 发光试剂显影, 凝胶成像系统拍照。采用 Image J 软件, 对所得条带进行定量, 以 β -actin 为内参, 实验重复 3 次。

2.7 血清 H₂S 水平检测 取 600 μ L 血清, 按照内源性 H₂S 检测试剂盒说明操作, 显色后在 665 nm 波长处检测吸光度, 并进行统计分析。

2.8 活性氧、超氧化物水平检测 将细胞接种于 96 孔培养板中, 长满后加药刺激 24 h, 加入活性氧 (ROS) 检测试剂 (绿色) 或超氧化物检测试剂 (橙色) 与细胞孵育 20 min, 按照试剂盒说明书进行后续操作, 在荧光显微镜下拍照。采用多功能酶标仪, 检测 ROS (490/525 nm)、超氧化物 (550/620 nm) 水平。

2.9 统计学分析 通过 SPSS 17.0 软件进行处理, 数据以 ($\bar{x}\pm s$) 表示, 组间两两比较采用 *t* 检验。*P*<0.05 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 异鼠李素改善 UUO 大鼠肾组织形态和皮质厚度 表 1、图 1 显示, UUO 大鼠肾脏增大、肾盂扩张、皮质变薄, 在造模第 14 天更明显; 给予异鼠李素干预后, 可显著改善大鼠肾脏形态和皮质厚度 (*P*<0.01)。

表 1 异鼠李素对 UUO 大鼠肾脏皮质厚度的影响 (cm, $\bar{x}\pm s$, *n*=4)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	造模第 14 天
假手术组	—	0.36±0.01
UUO 组	—	0.17±0.02 ^{##}
依那普利组	10	0.25±0.01 ^{**}
异鼠李素组	10	0.31±0.01 ^{**}
异鼠李素组	30	0.33±0.01 ^{**}

注: 与假手术组比较, ^{##}*P*<0.01; 与 UUO 组比较, ^{**}*P*<0.01。

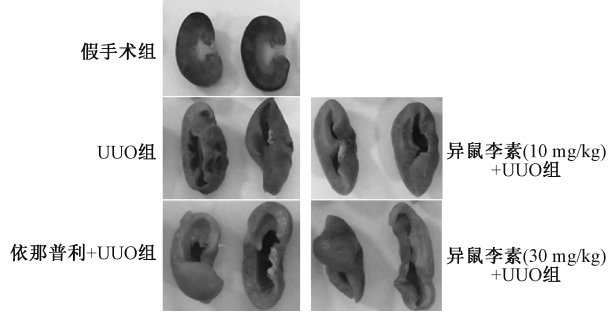
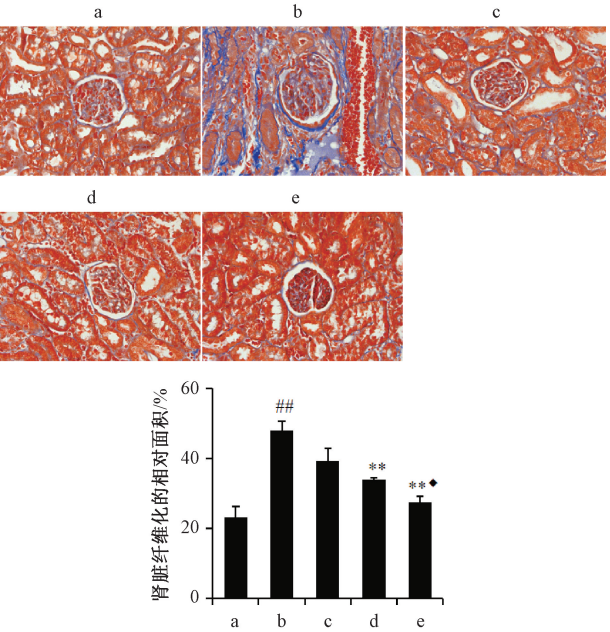


图 1 异鼠李素对 UUO 大鼠肾脏形态的影响

3.2 异鼠李素减少 UUO 大鼠胶原纤维的沉积 图 2 显示,与假手术组比较, UUO 组大鼠肾脏胶原纤维大量沉积 ($P<0.01$),表明造模成功;与 UUO 组比较,异鼠李素高、低剂量组大鼠胶原纤维减少 ($P<0.01$),其中高剂量组效果优于依那普利组 ($P<0.05$)。



注: a~e 分别为假手术组、UUO 组、依那普利组、异鼠李素 (10 mg/kg) 组、异鼠李素 (30 mg/kg) 组。与假手术组比较,^{##} $P<0.01$;与 UUO 组比较,^{**} $P<0.01$;与依那普利组比较,[♦] $P<0.05$ 。

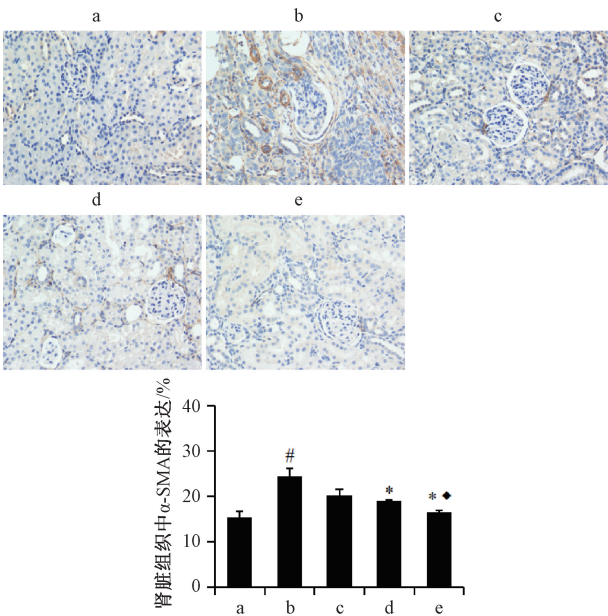
图 2 异鼠李素对 UUO 大鼠肾脏组织胶原纤维沉积的影响 ($\bar{x}\pm s, n=4$)

3.3 异鼠李素抑制 UUO 大鼠 α -SMA 蛋白表达 图 3 显示,与假手术组比较, UUO 组大鼠肾脏组织 α -SMA 表达升高 ($P<0.05$);与 UUO 组比较,异鼠李素高、低剂量组大鼠肾脏组织 α -SMA 表达降低 ($P<0.05$),其中高剂量组效果优于依那普利组 ($P<0.05$)。

3.4 异鼠李素升高 UUO 大鼠血清 H_2S 水平 图 4 显示,与假手术组比较, UUO 组大鼠血清 H_2S 水平下降 ($P<0.01$);与 UUO 组比较,异鼠李素组大鼠血清 H_2S 水平上升 ($P<0.05$)。

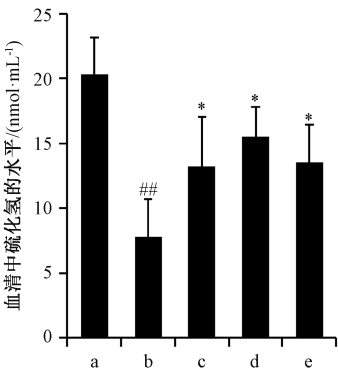
3.5 异鼠李素抑制 UUO 大鼠 NRK-52E 细胞的增殖 图 5 显示,与对照组比较, 2.5~50 $\mu\text{mol/L}$ 异鼠李素对 UUO 大鼠 NRK-52E 细胞有抑制作用 ($P<0.05, P<0.01$),在 50 $\mu\text{mol/L}$ 下最明显。

3.6 异鼠李素抑制 NRK-52E 细胞上皮细胞-间充质转化的形成 图 6A~6C 显示,不同浓度 (1.0×10^{-9} 、 1.0×10^{-8} 、 1.0×10^{-7} mol/L) Ang II 能升高 α -SMA 表达,降低 E-cadherin 表达 ($P<0.05, P<0.01$),表明模型建立成功;图 6D~6F 显示,10、25、50 $\mu\text{mol/L}$ 异鼠李素干预后,可抑制 α -SMA 表达升高、E-cadherin 表达降低 ($P<0.01$);图 6G~6H 显示,异鼠李素能降低 TGF- β 1 表达 ($P<0.01$)。



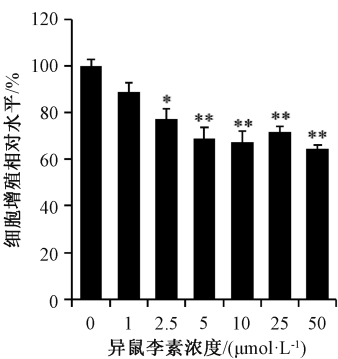
注: a~e 分别为假手术组、UUO 组、依那普利组、异鼠李素 (10 mg/kg) 组、异鼠李素 (30 mg/kg) 组。与假手术组比较,[#] $P<0.05$;与 UUO 组比较,^{*} $P<0.05$;与依那普利组比较,[♦] $P<0.05$ 。

图 3 异鼠李素对 UUO 大鼠肾脏组织 α -SMA 表达的影响 ($\bar{x}\pm s, n=4$)



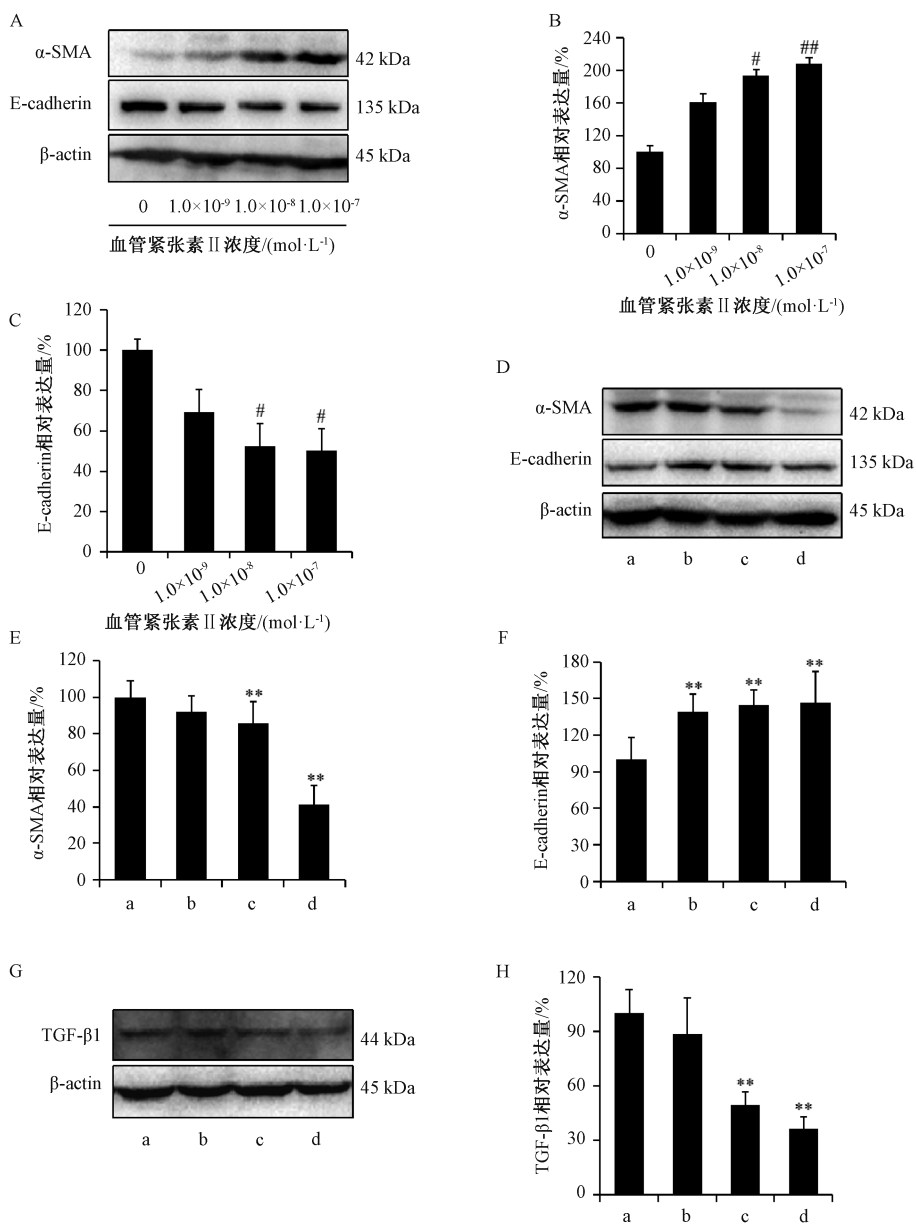
注: a~e 分别为假手术组、UUO 组、依那普利组、异鼠李素 (10 mg/kg) 组、异鼠李素 (30 mg/kg) 组。与假手术组比较,^{##} $P<0.01$;与 UUO 组比较,^{*} $P<0.05$ 。

图 4 异鼠李素对 UUO 大鼠血清 H_2S 水平的影响 ($\bar{x}\pm s, n=7$)



注: 与对照组 (异鼠李素 0 $\mu\text{mol/L}$) 比较, ^{*} $P<0.05$, ^{**} $P<0.01$ 。

图 5 异鼠李素对 NRK-52E 细胞增殖的影响 ($\bar{x}\pm s, n=4$)



注：与血管紧张素 II（0 μmol/L）组比较，#*P*<0.05，##*P*<0.01。a~d 分别为血管紧张素 II（1.0×10⁻⁸ mol/L）组、血管紧张素 II（1.0×10⁻⁸ mol/L）+异鼠李素（10 μmol/L）组、血管紧张素 II（1.0×10⁻⁸ mol/L）+异鼠李素（25 μmol/L）组、血管紧张素 II（1.0×10⁻⁸ mol/L）+异鼠李素（50 μmol/L）组。与 a 组比较，**P*<0.05，***P*<0.01。

图 6 异鼠李素对血管紧张素 II 诱导 NRK-52E 细胞上皮细胞-间充质转化形成的影响 ($\bar{x}\pm s$, *n*=3)

3.7 异鼠李素降低 NRK-52E 细胞活性氧水平 图 7 显示，异鼠李素干预 24 h 后可抑制 ROS 的产生 (*P*<0.05, *P*<0.01)，并呈剂量依赖性，但对超氧化物水平无明显影响 (*P*>0.05)。

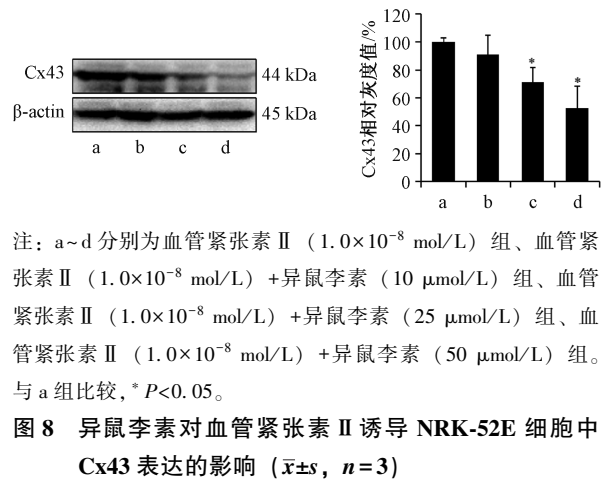
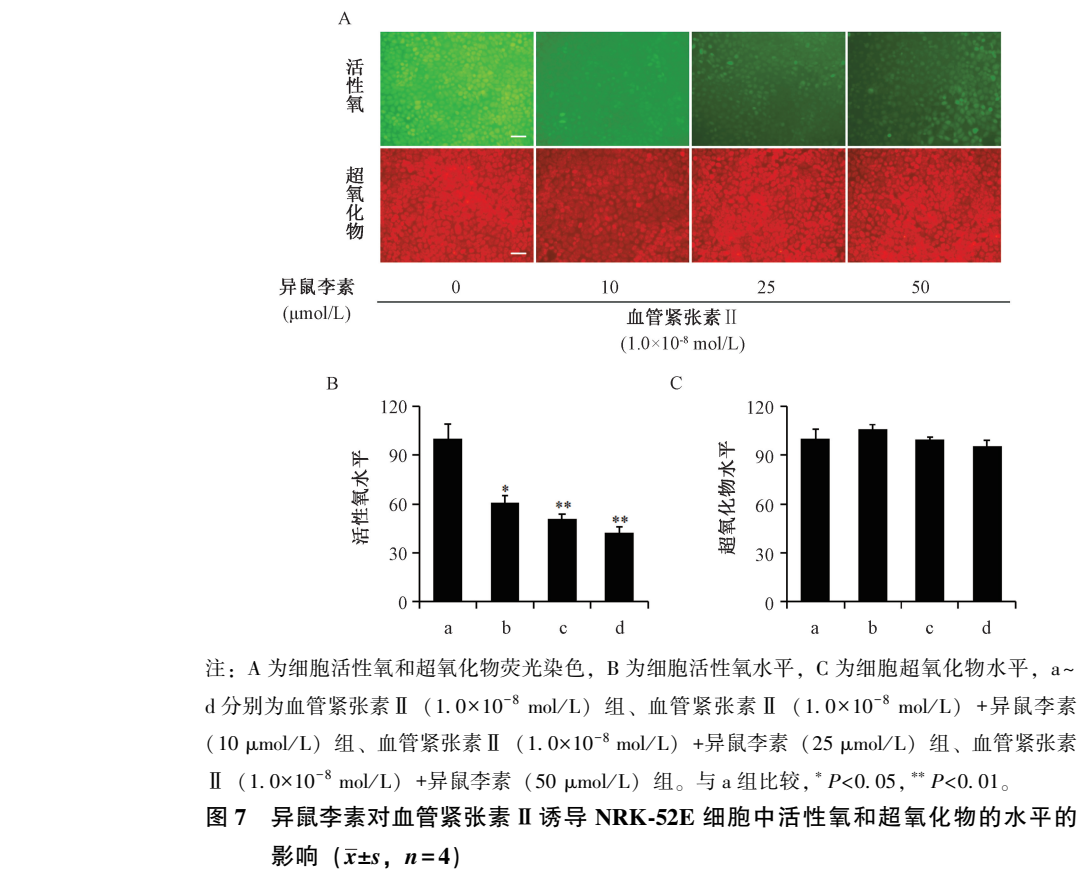
4 讨论

在肾脏纤维化进展过程中，许多细胞因子和信号通路参与其中，其中 TGF-β1 在纤维化的进展中起关键作用。TGF-β1 主要介导 TGF-β1/Smads 和非 Smad 信号通路的激活，从而引起 EMT 的形成，它的形成表现为上皮标志物 E-cadherin 表达下降，肌成纤维细胞标志 α-SMA 表达增加，使系膜细胞和肾小管上皮细胞等转化成肌成纤维细胞，最

终导致 ECM 进行性积聚，而 ECM 的降解减少，将导致肾小球硬化、肾小管间质纤维化，最终导致肾功能丧失^[1,7]。

3.8 异鼠李素抑制 NRK-52E 细胞中 Cx43 的表达 图 8 显示，异鼠李素能抑制细胞间隙连接蛋白 Cx43 表达 (*P*<0.05)，并呈剂量依赖性。

肾脏纤维化是所有慢性肾脏病主要病理基础，本研究建立经典的大鼠 UUO 模型，通过单侧结扎大鼠输尿管，造成一个典型的肾间质纤维化病理变化。异鼠李素给予干预，结果表明异鼠李素抑制 UUO 大鼠肾脏组织中胶原纤维的形成和 α-SMA 的表达，其中异鼠李素高剂量（30 mg/kg）组效果强于异鼠李素低剂量（10 mg/kg）组，且高、低剂量组



效果均强于阳性药依那普利（10 mg/kg），提示异鼠李素可有效抑制 EMT 的形成和 ECM 的沉积，具有抗肾脏纤维化的作用。

H₂S 是继一氧化氮、一氧化碳后发现的第三种人体内重要的气体信号分子。临床研究表明慢性肾脏病患者血清 H₂S 水平下降^[8]，动物实验研究表明 UUO 大鼠的 H₂S 水平相比于假手术组降低，H₂S 具有显著的抗肾脏纤维化作用^[9]。本研究发现异鼠李素可上调 UUO 大鼠血清 H₂S 水平，异鼠李素对 H₂S 相关酶表达的影响以及如何通过上调 H₂S 具有抗肾脏纤维化的作用还需进一步的研究。

肾小管上皮细胞在肾脏纤维化的形成中起重要作用。

因此，本研究建立 Ang II 诱导的肾小管上皮细胞 NRK-52E 细胞纤维化模型，明确异鼠李素对 NRK-52 细胞纤维化的影响及其机制。结果表明异鼠李素抑制肾小管上皮细胞 NRK-52E 的增殖，抑制 α-SMA 的表达，上调 E-cadherin 的表达，10~50 μmol/L 浓度范围内呈剂量依赖性，提示异鼠李素抑制 Ang II 诱导的 NRK-52E 细胞 EMT 的形成。除此之外，异鼠李素降低 TGF-β1 的表达。但是异鼠李素抗肾脏纤维化作用是否通过 TGF-β1/Smads 信号通路或者其他途径还需进一步的研究证实。

氧化应激是引起肾脏纤维化的重要因素。肾脏在各种诱因（感染、损伤、化学物质和辐射等）下引起自由基和超氧化物等的过度生成诱导各种细胞因子的分泌和释放，进而引发肾脏纤维化的发生发展^[10]。异鼠李素是否影响氧化应激而具有抗肾脏纤维化的作用，本研究检测异鼠李素对 ROS 和超氧化物的影响，结果发现在异鼠李素刺激 24 h 时，可显著抑制 ROS 的产生，但对超氧化物无明显影响。表明异鼠李素可能通过抑制氧化应激而具有抗肾脏纤维化的作用。

细胞间隙连接或称缝隙连接，广泛分布于多种细胞，影响细胞的代谢、繁殖、迁移和生存，在维持组织完整性中起重要的作用。Cx43 蛋白是主要的间隙连接组成蛋白^[11]。1989 年 Beyer 等^[12]首次在大鼠肾脏中发现 Cx43 的存在，从此开启了 Cx43 与肾脏疾病的相关研究。近年来有研究证实 Cx43 在高血压性肾病和梗阻性肾病的早期表达增加，抑制 Cx43 表达降低了炎症细胞浸润和肾纤维化，并明

显改善了肾脏的结构和功能，Cx43 被认为是治疗慢性肾脏病的新靶点^[11, 13-15]。本研究中发现异鼠李素剂量依赖地抑制 Ang II 诱导的 Cx43 表达，表明异鼠李素抗肾脏纤维化作用很可能是通过 Cx43 调控。除此之外，异鼠李素对 Cx43 的调节作用，也提示异鼠李素很可能对 Cx43 介导的其他相关疾病也有治疗作用，如心血管疾病、肿瘤、创伤愈合及某些生殖、消化、神经系统相关疾病等。

综上所述，异鼠李素对大鼠 UUO 模型肾间质纤维化及 Ang II 诱导的 NRK-52E 细胞纤维化具有保护作用，主要通过抑制 EMT 的形成和降低 ECM 的沉积。本研究发现异鼠李素抗肾脏纤维化作用可能与降低 TGF-β1 的表达，升高内源性 H₂S 水平和抑制氧化应激有关。异鼠李素有可能发展为潜在的抗肾脏纤维化的治疗药物。

参考文献：

[1] Humphreys B D. Mechanisms of renal fibrosis[J]. *Annu Rev Physiol*, 2018, 10(80): 309-326.

[2] 周浩楠, 胡 娜, 董 琦, 等. 沙棘化学成分及药理作用的研究进展[J]. *华西药学杂志*, 2020, 35(2): 211-217.

[3] Yang J H, Kim S C, Kim K M, *et al.* Isorhamnetin attenuates liver fibrosis by inhibiting TGF-β/Smad signaling and relieving oxidative stress[J]. *Eur J Pharmacol*, 2016, 783: 92-102.

[4] Zheng Q, Tong M, Ou B Q, *et al.* Isorhamnetin protects against bleomycin-induced pulmonary fibrosis by inhibiting endoplasmic reticulum stress and epithelial-mesenchymal transition[J]. *Int J Mol Med*, 2019, 43(1): 117-126.

[5] Liu N, Feng J, Lu X Y, *et al.* Isorhamnetin inhibits liver fibrosis by reducing autophagy and inhibiting extracellular matrix formation *via* the TGF-β1/Smad3 and TGF-β1/p38 MAPK pathways[J]. *Mediators Inflammation*, 2019, 2019: 6175091.

[6] Ganbold M, Owada Y, Ozawa Y, *et al.* Isorhamnetin

alleviates steatosis and fibrosis in mice with nonalcoholic steatohepatitis[J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 16210.

[7] Meng X M, Nikolic-Paterson D J, Lan H Y. TGF-β: the master regulator of fibrosis[J]. *Nat Rev Nephrol*, 2016, 12(6): 325-338.

[8] Pau B D, Snyder S H. H₂S signalling through protein sulfhydration and beyond[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2012, 13(8): 499-507.

[9] Song K, Wang F, Li Q, *et al.* Hydrogen sulfide inhibits the renal fibrosis of obstructive nephropathy [J]. *Kidney Int*, 2014, 85(6): 1318-1329.

[10] Richter K, Konzack A, Pihlajaniemi T, *et al.* Redox-fibrosis: Impact of TGFβ1 on ROS generators, mediators and functional consequences[J]. *Redox Biol*, 2015, 6: 344-352.

[11] Chi Y, Zhang X L, Zhang Z, *et al.* Connexin43 hemichannels contributes to the disassembly of cell junctions through modulation of intracellular oxidative status [J]. *Redox Biol*, 2016, 9: 198-209.

[12] Beyer E C, Kistler J, Paul D L. Antisera directed against connexin43 peptides react with a 43-kD protein localized to gap junctions in myocardium and other tissues [J]. *J Cell Biol*, 1989, 108(2): 595-605.

[13] Price G W, Chadjichristos C E, Kavvadas P, *et al.* Blocking connexin-43 mediated hemichannel activity protects against early tubular injury in experimental chronic kidney disease[J]. *Cell Commun Signal*, 2020, 18(1): 79.

[14] 范英南, 王立军, 李 明, 等. 间隙连接蛋白 43 与疾病关系的研究进展 [J]. *辽宁医学院学报*, 2009, 30(5): 474-476.

[15] 汪 琪, 李玉斌. 慢性肾脏病治疗的新靶点—连接蛋白 43 [J]. *海南医学*, 2019, 30(8): 1066-1069.