



and  $10\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  urine protein, respectively; while the cells in the sEH inhibitor combined urine protein group were given  $1\text{ }\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  sEH inhibitor and  $10\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  urine protein. All the cells in each group were cultured for 24 hours. RAW264. 7 cells were divided into group A, group B, group C, group D, interferon gamma (IFN- $\gamma$ ) positive control group and interleukin (IL)-4 positive control group. The cells of group A, group B, group C and group D were respectively added to the HK-2 cell cultured medium of the normal control group, sEH inhibitor group, urine protein group and sEH inhibitor combined urine protein group; then the cells were cultured for 24 h. IFN- $\gamma$  and IL-4 were respectively added in IFN- $\gamma$  positive control group and IL-4 positive control group. The expression of sEH protein in HK-2 cells was measured by Western blot. The expression of monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1), IL-6, colony stimulating factor-1 (CSF-1), tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) mRNA in the HK-2 cells and the expression of inducible nitric oxide synthase (iNOS), arginase (Arg-1), IL-10 mRNA in the RAW264. 7 cells were measured by real-time polymerase chain reaction. The levels of 14, 15-epoxyeicosatrienoic acids (14, 15 EET) and 14, 15-dihydroxyeicosatrienoic acid (14, 15-DHET) in the supernate of HK-2 cell medium in each group were detected by enzyme linked immunosorbent assay, and the 14, 15-EET/14, 15-DHET was accounted. **Results** There was no significance in the expression of sEH protein, and MCP-1, IL-6, CSF-1, TNF- $\alpha$  mRNA, 14, 15-EET/14, 15-DHET between the normal control group and the sEH inhibitor group ( $P > 0.05$ ). The expressions of sEH protein and MCP-1, IL-6, CSF-1, TNF- $\alpha$  mRNA in the urine protein group were significantly higher than those in the normal control group ( $P < 0.05$ ), while the 14, 15-EET/14, 15-DHET was significantly lower than that in the normal control group ( $P < 0.05$ ). Compared with the urine protein group, the 14, 15-EET/14, 15-DHET in sEH inhibitor combined urine protein group increased significantly ( $P < 0.05$ ), while the expression of MCP-1, IL-6, CSF-1 and TNF- $\alpha$  mRNA decreased significantly ( $P < 0.05$ ). There was no significant difference in the expression of sEH protein between the sEH inhibitor combined urine protein group and the urine protein group ( $P > 0.05$ ). There was no significant difference in the expression of IL-6, iNOS, Arg-1 and IL-10 mRNA between the group A and the group B ( $P > 0.05$ ). Compared with the group A, the expression of iNOS and IL-6 mRNA in RAW264. 7 cells in the IFN- $\gamma$  positive control group increased significantly ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ); the expression of Arg-1 and IL-10 mRNA in RAW264. 7 cells in the IL-4 positive control group increased significantly ( $P < 0.05$ ). Compared with the group C, the expression of iNOS and IL-6 mRNA in RAW264. 7 cells in the group D decreased significantly ( $P < 0.05$ ), while the expression of Arg-1 and IL-10 mRNA increased significantly ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** The sEH in tubular epithelial cells could promote M1 macrophage polarization.

**Key words:** soluble epoxide hydrolase; renal tubular epithelial cell; macrophage polarization

肾间质纤维化是慢性肾脏病 (chronic kidney disease, CKD) 进展的共同途径。持续炎症细胞浸润可促进肾损伤, 导致肾小管间质纤维化<sup>[1]</sup>。巨噬细胞在调节肾脏炎症及纤维化中发挥重要作用, 且与疾病进展有关。血液中的单核细胞经过不同途径分化为 M1 型或 M2 型巨噬细胞, M1 型巨噬细胞具有促进炎症反应的作用, 引起肾脏纤维化, M2 型巨噬细胞发挥抗炎作用, 促进肾脏修复<sup>[2-3]</sup>。环氧二十碳三烯酸 (epoxyeicosatrienoic acids, EETs) 是花生四烯酸经细胞色素 P450 作用后的代谢产物, 主要在心血管和肾脏循环中发挥舒张血管、抗炎等效应, 其中 14, 15-环氧二十碳三烯酸 (14, 15-epoxyeicosatrienoic acids, 14, 15-EET) 的活性最强。EETs 被可溶性表氧化物水解酶 (soluble epoxide hydrolase, sEH) 催化形成脱氢二十碳三烯酸 (dihydroxyeicosatrienoic acids, DHET), 从而降低或失去活性<sup>[4]</sup>。在顺铂导致的急性肾损伤、单侧输尿管结扎导致的肾脏纤维化等多种动物模型中, 通过抑制 sEH 的表达可增加

EETs 水平, 减轻巨噬细胞浸润, 改善肾功能, 保护肾脏<sup>[5-9]</sup>。巨噬细胞极化是单核细胞活化后一系列功能状态的 2 个极端, 在感染、代谢和免疫等多种疾病的发生、发展中起重要作用, 但关于 sEH 如何调控肾组织中巨噬细胞极化的作用机制尚不明确。本研究选用肾小管上皮细胞系及巨噬细胞系为研究对象, 观察蛋白尿刺激对肾小管上皮细胞产生 sEH 和巨噬细胞极化相关炎性因子的影响, 探讨肾小管上皮细胞中 sEH 对巨噬细胞极化的作用, 为延缓 CKD 进展提供新的治疗靶点。

## 1 材料与方法

**1.1 主要试剂与仪器** 人近端肾小管上皮细胞系 HK-2 细胞、小鼠巨噬细胞系 RAW264. 7 细胞购自美国 ATCC 公司。高糖达尔伯克改良伊格培养基 (Dulbecco's modified Eagle medium, DMEM)、胎牛血清购自美国 Hyclone 公司, sEH 抑制剂 12-(3-金刚烷-1-羟基-脲基) 正十二烷酸 [12-(3-adamantan-1-yl-

ureido)-dodecanoic acid, AUDA]、14,15-EET/14,15-DHET 酶联免疫吸附试验测定 (enzyme linked immunosorbent assay, ELISA) 试剂盒、兔抗小鼠 sEH 抗体购自美国 Caymann 公司,干扰素- $\gamma$  (interferon- $\gamma$ 、IFN- $\gamma$ )、白细胞介素 (interleukin, IL)-4 购自美国 Perotech 公司,二辛可宁酸 (bicinchoninic acid, BCA) 蛋白检测试剂盒购自美国 Pierce 公司,兔抗小鼠  $\beta$ -actin 购自美国 Santa Cruz 公司,辣根过氧化物酶标记山羊抗兔 IgG 购自北京中杉金桥生物技术有限公司,实时荧光定量聚合酶链式反应 (polymerase chain reaction, PCR) 试剂盒购自美国 Thermo 公司。蛋白质电泳、转膜及凝胶成像分析系统购自美国 Bio-Rad 公司,实时定量 PCR 仪购自美国 Stratagene 公司。

**1.2 细胞培养** 人近端肾小管上皮细胞系 HK-2 细胞及小鼠巨噬细胞系 RAW264.7 细胞置于含体积分数 10% 胎牛血清的 DMEM 中,在 37 °C、含体积分数 5% CO<sub>2</sub> 的培养箱中培养。待细胞生长至 80% ~ 85% 融合时,给予无胎牛血清的 DMEM 静置 24 h,将细胞同步静止于 G<sub>0</sub> 期。

**1.3 尿蛋白提取** 收集病理诊断为 IgA 肾病患者 (初治患者肾穿刺前)晨尿 250 mL,采用 NH<sub>4</sub>SO<sub>4</sub> 沉淀法提取尿蛋白。选用截留相对分子质量为 3 500 的透析袋透析 NH<sub>4</sub>SO<sub>4</sub> 蛋白质溶液。浓缩尿蛋白溶液:将蛋白质溶液置于透析袋中,放置在聚乙二醇 8000 粉末中;将 50 ~ 100 mL 溶液浓缩至 5 ~ 10 mL 待用。尿蛋白粉末冻干:取 1 ~ 2 mL 浓缩的蛋白质溶液置于清洁的青霉素小瓶内,倾斜放置于 -20 °C 冰箱过夜,然后转至 -80 °C 冰箱冻存 1 d;然后置于冻干机内 6 ~ 10 h,得到蛋白质粉末。

**1.4 尿蛋白溶液制备** 此操作严格在超净工作台中进行。取一定量的蛋白质粉末置于干净的 10 mL 离心管中,称质量后用 DMEM 溶解为浓度为 1 000 g · L<sup>-1</sup> 的尿蛋白溶液,利用 22  $\mu$ m 滤器过滤尿蛋白溶液,将尿蛋白溶液加入含有 DMEM 的无菌培养瓶中,置于 37 °C、含体积分数 5 % CO<sub>2</sub> 的培养箱中培养 3 d,进行验菌实验;经验菌实验阴性,保证无菌后可用于处理细胞。

**1.5 实验分组** 将人近端肾小管上皮细胞系 HK-2 细胞分为正常对照组、sEH 抑制剂组、尿蛋白组和 sEH 抑制剂联合尿蛋白组。正常对照组细胞不给予任何干预处理,sEH 抑制剂组细胞给予 1  $\mu$ mol · L<sup>-1</sup>

AUDA,尿蛋白组细胞给予 10 g · L<sup>-1</sup> 尿蛋白,sEH 抑制剂联合尿蛋白组细胞给予 10 g · L<sup>-1</sup> 尿蛋白和 1  $\mu$ mol · L<sup>-1</sup> AUDA,各组细胞均培养 24 h,实验重复 3 次。将小鼠巨噬细胞系 RAW264.7 细胞分为 A 组、B 组、C 组、D 组、M1 型巨噬细胞阳性对照组 (IFN- $\gamma$  阳性对照组)、M2 型巨噬细胞阳性对照组 (IL-4 阳性对照组)。分别取正常对照组、sEH 抑制剂组、尿蛋白组和 sEH 抑制剂联合尿蛋白组培养 24 h 的 HK-2 细胞培养基上清液,1 500 r · min<sup>-1</sup> 离心 3 min,取上清液备用。A、B、C、D 组细胞分别加入正常对照组、sEH 抑制剂组、尿蛋白组、sEH 抑制剂联合尿蛋白组培养 24 h 的 HK-2 细胞培养基上清液孵育 24 h;IFN- $\gamma$  阳性对照组和 IL-4 阳性对照组细胞均加入孵育 24 h 的正常对照组 HK-2 细胞培养基,并分别加入 M1 型巨噬细胞诱导剂 IFN- $\gamma$  (100  $\mu$ g · L<sup>-1</sup>) 和 M2 型巨噬细胞诱导剂 IL-4 (20  $\mu$ g · L<sup>-1</sup>) 孵育 24 h。

**1.6 Western blot 法检测 HK-2 细胞中 sEH 蛋白表达** 细胞培养皿应用磷酸盐缓冲液洗 3 次,加入预冷的放射免疫沉淀裂解液和蛋白酶抑制剂的全细胞裂解液,刮下细胞,超声粉碎后于 4 °C 下 13 000 × g 离心 15 min,取上清液置于 -80 °C 冰箱备用。使用 BCA 蛋白检测试剂盒检测各组上清液中蛋白浓度,每组取 50  $\mu$ g 上样,聚丙烯酰胺凝胶电泳分离蛋白,电泳后将蛋白转移至硝酸纤维膜上,室温下 30 g · L<sup>-1</sup> 牛血清白蛋白封闭 1 h,加一抗 sEH,4 °C 下震荡过夜,以  $\beta$ -actin 为内参。次日,Tris 洗膜缓冲液洗膜,辣根过氧化物酶标记山羊抗兔 IgG 室温孵育 1 h。Tris 洗膜缓冲液洗膜,用含有辣根过氧化物酶底物的化学发光液显色并扫描结果,应用 Image J 图像分析软件进行半定量分析。

**1.7 RT-PCR 检测 HK-2 细胞中单核细胞趋化蛋白-1 (monocyte chemotactic protein-1, MCP-1)、IL-6、集落刺激因子-1 (colony stimulating factor-1, CSF-1)、肿瘤坏死因子- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ ) mRNA 表达及 RAW264.7 细胞中诱导型氮氧化物合酶 (inducible nitric oxide synthase, iNOS)、IL-6、精氨酸酶-1 (arginase, Arg-1)、IL-10 mRNA 表达** 弃去细胞培养液,用 TRIzol RNA 提取液按照氯仿-异丙醇法提取细胞总 RNA,使用分光光度仪测定 RNA 浓度。取总 RNA 2  $\mu$ g 进行反转

录,将合成的 cDNA 保存于 -20 ℃ 冰箱备用。实验所用引物均由上海生工生物工程股份有限公司合成。IL-6 上游引物序列为 5'-ACAACCACGGCCTTC-CCTACTT-3',下游引物序列为 5'-CACGATTTCCAGAGAACATGTG-3';MCP-1 上游引物序列为 5'-AGGTCCCTGTCATGCTTCTG-3',下游引物序列为 5'-TCTGGACCCATTCTTCTTG-3';CSF-1 上游引物序列为 5'-CGGGCATCATCCTAGTCTTGCTGACTGT-3',下游引物序列为 5'-ATAGTGGCAGTATGTGGGGGGCATCCTC-3';TNF-α 上游引物序列为 5'-CCAGACCCTCACACTCAGATC-3',下游引物序列为 5'-CACTTGGTGGTTTGCTACGAC-3';iNOS 上游引物序列为 5'-GTTCTCAGCCCCAACAATACAAGA-3',下游引物序列为 5'-GTGGACGGGTCGATGTCAC-3';Arg-1 上游引物序列为 5'-CTCCAAGCCAAAGTCCTTAGAG-3',下游引物序列为 5'-GGAG-CTGTCATTAGGGACATC-3';IL-10 上游引物序列为 5'-GCAGCTCTAGGAGCATGTGG-3',下游引物序列为 5'-ACAGCCGGGAAGACAATAACT-3';内参基因 18 S 上游引物序列为 5'-ACCGCAGCTAGGAATAATGGA-3',下游引物序列为 5'-GCCTCAGTTCCGAAAACCA-3'。将 cDNA 用 SYBR Green 染料进行实时定量 PCR。PCR 扩增条件为:95 ℃ 预变性 30 s,95 ℃ 变性 5 s,62 ℃ 延伸 20 s,共 40 个循环。结果分析采用  $2^{-\Delta\Delta CT}$  (Livak 法),18 S 作为内参基因。所有试验均重复 3 次。

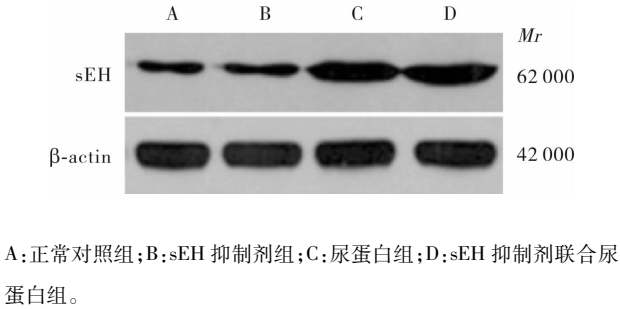
**1.8 ELISA 测定各组 HK-2 细胞培养上清液中 14,15-EET 和 14,15-DHET 水平** 收集各组细胞培养上清液,3 000 × g 离心 5 min,取上清液,用 0.1 mmol · L<sup>-1</sup> 苯基膦处理,乙酸调整 pH 值至 3 ~ 4,加入等体积乙酸乙酯,充分混匀,12 000 × g 离心 10 min,取上清液;按上述方法操作 3 次,留取有机相上清液;应用氮气贴着上清液面将有机相吹干;加入 20 μL 二甲基甲酰胺溶解 14,15-DHET,余步骤详见 ELISA 试剂盒说明书,测定 HK-2 细胞培养液中 14,15-EET 和 14,15-DHET 水平,计算 14,15-EET/14,15-DHET。

**1.9 统计学处理** 应用 SPSS 13.0 软件进行统计分析,计量资料以均数 ± 标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示,两组间比较采用独立样本 *t* 检验;多组间比较,当方差齐时应用单因素方差分析 (one way ANOVA),不齐时采

用秩和检验;*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

**2.1 尿蛋白及 sEH 抑制剂对 HK-2 细胞中 sEH 蛋白表达的影响** 结果见图 1 和表 1。正常对照组与 sEH 抑制剂组 HK-2 细胞中 sEH 蛋白及细胞培养上清液中 14,15-EET/14,15-DHET 比较差异均无统计学意义 (*P* > 0.05)。与正常对照组比较,蛋白尿组 HK-2 细胞中 sEH 蛋白表达显著增加 (*P* < 0.05);尿蛋白组 HK-2 细胞上清液中 14,15-EET/14,15-DHET 显著降低 (*P* < 0.05)。sEH 抑制剂联合尿蛋白组与尿蛋白组 HK-2 细胞中 sEH 蛋白表达比较差异无统计学意义 (*P* > 0.05),sEH 抑制剂联合尿蛋白组 HK-2 细胞上清液中 14,15-EET/14,15-DHET 显著高于尿蛋白组 (*P* < 0.05)。



A: 正常对照组;B:sEH 抑制剂组;C:尿蛋白组;D:sEH 抑制剂联合尿蛋白组。

图 1 各组 HK-2 细胞中 sEH 蛋白表达 (Western blot)  
Fig. 1 Expression of sEH protein in HK-2 cells in each group (Western blot)

表 1 各组 HK-2 细胞中 sEH 蛋白表达及上清液中 14,15-EET/14,15-DHET 比较

Tab.1 Comparison of the expression of sEH protein and the ratio of 14,15-EET /14,15-DHET in supernatant in HK-2 cells among the groups ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	sEH 蛋白	14,15-EET/14,15-DHET
正常对照组	0.29 ± 0.01	1.43 ± 0.45
sEH 抑制剂组	0.31 ± 0.01	1.78 ± 0.92
尿蛋白组	1.12 ± 0.05 <sup>a</sup>	0.35 ± 0.18 <sup>a</sup>
sEH 抑制剂联合尿蛋白组	1.09 ± 0.06	0.89 ± 0.21 <sup>b</sup>

注:与正常对照组比较<sup>a</sup>*P* < 0.05;与尿蛋白组比较<sup>b</sup>*P* < 0.05。

**2.2 各组 HK-2 细胞中 MCP-1、IL-6、CSF-1 及 TNF-α mRNA 表达比较** 结果见表 2。正常对照组与 sEH 抑制剂组 HK-2 细胞中 MCP-1、IL-6、CSF-1 及 TNF-α mRNA 表达比较差异无统计学意义 (*P* > 0.05)。与正常对照组比较,尿蛋白组 HK-2 细胞中 MCP-1、IL-6、CSF-1 及 TNF-α mRNA 表达均显著增加 (*P* < 0.05)。与尿蛋白组比较,sEH 抑制剂联合

尿蛋白组 HK-2 细胞中 MCP-1、IL-6、CSF-1 及 TNF- $\alpha$  mRNA 表达均显著降低( $P < 0.05$ )。

表 2 各组 HK-2 细胞中 MCP-1、IL-6、CSF-1 及 TNF- $\alpha$  mRNA 表达比较

Tab.2 Comparison of the expression of MCP-1,IL-6,CSF-1 and TNF- $\alpha$  mRNA in HK-2 cells among the groups ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	MCP-1 mRNA	IL-6 mRNA	CSF-1 mRNA	TNF- $\alpha$ mRNA
正常对照组	1.00 $\pm$ 0.00	1.00 $\pm$ 0.00	1.00 $\pm$ 0.00	1.00 $\pm$ 0.00
sEH 抑制剂组	1.24 $\pm$ 0.30	0.82 $\pm$ 0.11	0.91 $\pm$ 0.35	1.21 $\pm$ 0.23
尿蛋白组	5.41 $\pm$ 1.24 <sup>a</sup>	2.76 $\pm$ 0.93 <sup>a</sup>	4.72 $\pm$ 1.42 <sup>a</sup>	3.15 $\pm$ 0.65 <sup>a</sup>
sEH 抑制剂联合尿蛋白组	2.84 $\pm$ 0.97 <sup>b</sup>	1.83 $\pm$ 0.54 <sup>b</sup>	2.43 $\pm$ 1.12 <sup>b</sup>	1.93 $\pm$ 0.41 <sup>b</sup>

注:与正常对照组比较<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与尿蛋白组比较<sup>b</sup> $P < 0.05$ 。

2.3 各组 HK-2 细胞培养 24 h 的培养基对 RAW264.7 细胞极化作用的影响 结果见表 3。A 组与 B 组 RAW264.7 细胞中 IL-6、iNOS、Arg-1 及 IL-10 mRNA 表达比较差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。与 A 组比较,C 组和 IFN- $\gamma$  阳性对照组 RAW264.7 细胞中 iNOS、IL-6 mRNA 表达显著增加

( $P < 0.05$ , $P < 0.01$ );IL-4 阳性对照组 RAW264.7 细胞中 Arg-1、IL-10 mRNA 表达显著增加( $P < 0.05$ )。与 C 组比较,D 组 RAW264.7 细胞中 iNOS、IL-6 mRNA 表达显著降低( $P < 0.05$ ),Arg-1、IL-10 mRNA 表达显著增加( $P < 0.05$ )。

表 3 各组 RAW264.7 细胞中 IL-6、iNOS、IL-10 及 Arg-1 mRNA 表达比较

Tab.3 Comparison of the expression of IL-6,iNOS,IL-10 and Arg-1 mRNA in RAW264.7 cells among the groups ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	iNOS mRNA	IL-6 mRNA	Arg-1 mRNA	IL-10 mRNA
A 组	1.00 $\pm$ 0.00	1.00 $\pm$ 0.00	1.00 $\pm$ 0.00	1.00 $\pm$ 0.00
B 组	1.05 $\pm$ 0.48	0.89 $\pm$ 0.50	1.05 $\pm$ 0.48	0.89 $\pm$ 0.53
C 组	3.21 $\pm$ 1.34 <sup>a</sup>	4.51 $\pm$ 1.52 <sup>a</sup>	0.52 $\pm$ 0.67	0.41 $\pm$ 0.51
D 组	2.09 $\pm$ 0.43 <sup>c</sup>	1.75 $\pm$ 1.21 <sup>c</sup>	1.38 $\pm$ 0.82 <sup>c</sup>	1.19 $\pm$ 0.92 <sup>c</sup>
INF- $\gamma$ 阳性对照组	5.73 $\pm$ 1.38 <sup>b</sup>	5.97 $\pm$ 2.36 <sup>b</sup>	1.42 $\pm$ 0.51	1.15 $\pm$ 0.84
IL-4 阳性对照组	1.53 $\pm$ 0.93	0.85 $\pm$ 0.54	3.28 $\pm$ 1.18 <sup>a</sup>	2.71 $\pm$ 0.37 <sup>a</sup>

注:与 A 组比较<sup>a</sup> $P < 0.05$ ,<sup>b</sup> $P < 0.01$ ;与 C 组比较<sup>c</sup> $P < 0.05$ 。

### 3 讨论

近年来,CKD 患病率逐渐增加,已成为威胁全球人民健康的重要公共问题之一。我国 CKD 总患病率为 10.8%<sup>[10]</sup>。肾小管间质纤维化是 CKD 进展的共同途径,其主要特征包括炎性细胞浸润、炎性因子释放、肌成纤维细胞活化和细胞外基质沉积<sup>[11]</sup>。炎性细胞的募集处于核心环节。巨噬细胞在炎症反应中发挥重要作用,且与疾病预后密切相关。巨噬细胞是具有吞噬功能的免疫细胞,可根据局部微环境分化为经典活化 M1 型和替代活化 M2 型巨噬细胞<sup>[2]</sup>。M1 型巨噬细胞以表达高水平的致炎细胞因子、活性氧等产物为特征,促进炎症反应,如果炎症持续存在,可促进炎症蔓延,导致脏器纤维化。M2 型巨噬细胞主要发挥抗炎作用,通过促进细胞增殖、减少细胞凋亡、促进血管新生而发挥组织修复作用<sup>[3]</sup>。

M1 及 M2 型巨噬细胞在多种急、慢性肾脏疾病动物模型中发挥不同作用。在 小鼠急性肾损伤模型

中,造模前敲除巨噬细胞可减轻肾损伤,造模后 3 ~ 5 d 敲除巨噬细胞则延缓肾小管增殖修复,加重肾损伤<sup>[12]</sup>。如果 M1 型巨噬细胞不能及时转变为 M2 型,将阻碍肾小管修复,肾损伤持续存在,加重肾病进展<sup>[13-14]</sup>。在小鼠慢性炎性肾病模型中,注射 M2 型巨噬细胞后可减轻肾脏炎症反应,促进肾组织修复<sup>[15]</sup>。在单侧输尿管结扎肾纤维化小鼠模型中,早期干预 M1 型巨噬细胞可发挥改善肾损伤、延缓肾纤维化的作用<sup>[16]</sup>。

近年来,EETs 与巨噬细胞的关系已有相关研究,但在肾脏中的作用仍不明确。有研究显示,在脂多糖介导的心功能不全动物模型中,EETs 通过抑制 NF- $\kappa$ B 而诱导巨噬细胞极化<sup>[17]</sup>。在高脂饮食导致的脂肪肝模型中,sEH 抑制剂促进巨噬细胞向抗炎的 M2 型极化,可改善肝脏炎症状态及胰岛素抵抗<sup>[18]</sup>。在高脂喂养的小鼠中给予 sEH 抑制剂或外源性补充 EETs 可抑制脂肪细胞募集巨噬细胞,抑制巨噬细胞向 M1 型极化,改善脂肪炎症状态及胰岛素抵抗<sup>[19]</sup>。

本研究通过应用 sEH 抑制剂,增加肾小管上皮细胞 EETs 水平,可减少 MCP-1、IL-6、CSF-1 和 TNF- $\alpha$  等诱导 M1 型巨噬细胞极化细胞因子的表达,增加 Arg-1、IL-10 等诱导 M2 型巨噬细胞极化细胞因子的表达。利用肾小管上皮细胞的条件培养基孵育巨噬细胞,发现 sEH 抑制剂可抑制巨噬细胞向 M1 型极化,促进其向 M2 型极化,说明肾小管 EET、sEH 参与了肾间质巨噬细胞的极化。本研究将 EETs 及 sEH 抑制剂在肾小管上皮细胞的抗炎作用扩展到肾间质巨噬细胞,但尚缺乏深入的机制探讨。本研究将为明确 EETs 在肾脏的生理作用研究以及为 sEH 抑制剂作为一种有效的肾脏治疗药物的临床推广提供理论基础。

**参考文献:**

[1] BOOR P,OSTENDORF T,FLOEGE J. Renal fibrosis;novel insights into mechanisms and therapeutic targets [J]. *Nat Rev Nephrol*, 2010,6(11):643-656.

[2] GUTERAS R,FLAQUER M,CRUZADO J M. Macrophage in chronic kidney disease[J]. *Clin Kidney J*,2016,9(6):765-771.

[3] SICA A,MANTOYANI A. Macrophage plasticity and polarization; *in vivo* veritas[J]. *J Clin Invest*,2012,122(3):787-795.

[4] FAN F,ROMAN R J. Effect of cytochrome P450 metabolites of arachidonic acid in nephrology [J]. *J Am Soc Nephrol*,2017,28(10):2845-2855.

[5] HASHIMOTO T,FANG Y I,OHATA H, *et al*. Change in soluble epoxide hydrolase (sEH) during cisplatin-induced acute renal failure in mice[J]. *J Toxicol Sci*,2015,40(4):451-457.

[6] BETTAICH A,KOIKE S,CHAHED S, *et al*. Podocyte-specific soluble epoxide hydrolase deficiency in mice attenuates acute kidney injury[J]. *FEBS J*,2017,284(13):1970-1986.

[7] KIM J,IMIG J D,YANG J, *et al*. Inhibition of soluble epoxide hydrolase prevents renal interstitial fibrosis and inflammation[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*,2014,307(8):F971-F980.

[8] WANG Q,PANG W,CUI Z, *et al*. Upregulation of soluble epoxide hydrolase in proximal tubular cells mediated proteinuria-induced renal damage[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*,2013,304(2):

F168-F176.

[9] ROCHE C,GUERROT D,HAROUKI N, *et al*. Impact of soluble epoxide hydrolase inhibition on early kidney damage in hyperglycemic overweight mice[J]. *Prostaglandins Other Lipid Mediat*,2015,120:148-154.

[10] ZHANG L,WANG F,WANG L, *et al*. Prevalence of chronic kidney disease in China;a cross-sectional survey[J]. *Lancet*,2012,379(9818):815-822.

[11] ROCKEY D C,BELL P D,HILL J A. Fibrosis-A common pathway to organ injury and failure [J]. *N Engl J Med*,2015,373(1):96.

[12] LEE S,HUEN S,NISHINO H, *et al*. Distinct macrophage phenotypes contribute to kidney injury and repair[J]. *J Am Soc Nephrol*,2011,22(2):317-326.

[13] LECH M,GROBMAYR R,RYU M, *et al*. Macrophage phenotype controls long-term AKI outcomes;kidney regeneration versus atrophy[J]. *J Am Soc Nephrol*,2014,25(2):292-230.

[14] ANDERS H J,RYU M. Renal microenvironments and macrophage phenotypes determine progression or resolution of renal inflammation and fibrosis[J]. *Kidney Int*,2011,80(9):915-925.

[15] WANG Y,WANG Y P,ZHENG G, *et al*. *Ex vivo* programmed macrophages ameliorate experimental chronic inflammatory renal disease[J]. *Kidney Int*,2007,72(3):290-299.

[16] TIAN S,ZHANG L,TANG J, *et al*. HMGB1 exacerbates renal tubulointerstitial fibrosis through facilitating M1 macrophage phenotype at the early stage of obstructive injury[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*,2015,308(1):F69-F75.

[17] DAI M,WU L,HE Z, *et al*. Epoxyeicosatrienoic acids regulate macrophage polarization and prevent LPS-induced cardiac dysfunction[J]. *J Cell Physiol*,2015,230(9):2108-2119.

[18] LOPEZ C,ALCARAZ J,GARCIA V, *et al*. Inhibition of soluble epoxide hydrolase modulates inflammation and autophagy in obese adipose tissue and liver;role for omega-3 epoxides[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*,2015,112(2):536-541.

[19] DAI M,WU L,WANG P, *et al*. CYP2J2 and its metabolites EETs attenuate insulin resistance via regulating macrophage polarization in adipose tissue[J]. *Sci Rep*,2017,7:46743.

( 本文编辑:杨 博 英文编辑:杨 博 )