

氯硝柳胺磷酸酯通过抑制 Wnt/ β -catenin 通路 抑制肾脏组织纤维化

常晓燕, 吴启美, 江肖, 吴永贵

摘要 目的 探讨氯硝柳胺磷酸酯(P-NICLO)抑制肾脏组织纤维化的作用及其可能机制。方法 构建体内试验(UUO模型)及体外实验(TGF- β 1体外刺激NRK-52E细胞导致细胞转分化)模型,予以一定浓度P-NICLO干预,然后通过病理染色,Western blot及Real-time PCR等生物信息学方法检测P-NICLO对不同模型组肾脏组织纤维化的抑制作用及其对Wnt/ β -catenin信号通路的影响。结果 体内及体外实验均表明,P-NICLO可以明显抑制模型组肾脏组织纤维化,模型组Wnt/ β -catenin信号通路也被明显抑制,差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 P-NICLO可能通过抑制Wnt/ β -catenin信号通路而抑制肾脏组织纤维化。

关键词 P-NICLO; 肾脏纤维化; Wnt/ β -catenin

中图分类号 R 961

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2018)10-1538-06
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2018.10.011

现阶段慢性肾脏病(chronic kidney disease, CKD)已经成为全球性公共健康问题,其患病率和病死率极高,其中很大一部分患者可进展至终末期肾脏病(end stage renal disease, ESRD)。肾脏纤维化是各种慢性肾脏病进展至ESRD的共同途径;肾脏纤维化是一个动态进展过程,包括启动、活化、持续、进展等,在此过程中涉及多种信号通路及细胞因子的活化,其中Wnt/ β -Catenin信号通路是被证实参与肾脏组织纤维化的重要信号通路^[1]。

该研究所涉及到的一种药物氯硝柳胺,商品名:灭绦灵、荡绦灵、硝硫苯酯、育米生等,为美国FDA已批准用药,既往主要用于肠道寄生虫感染,哺乳动物低毒性。氯硝柳胺难溶于水,肠道中很难吸收,前期的研究^[2-3]在其原有的侧链上加一磷酸基团,即氯硝柳胺磷酸酯(phosphate niclosamide, P-NICLO),该衍生物可明显增加药物水溶性而不明显影响其化学效应,大大扩展了其研究应用范围^[2-3]。该文中所提及的用药均为氯硝柳胺的水溶性衍生物即P-NICLO。既往研究^[2-3]显示,氯硝柳胺在肿瘤细胞

中可以通过显著抑制Wnt/ β -Catenin信号通路的活化而抑制肿瘤细胞的增殖。肾脏纤维化进展过程中,Wnt/ β -Catenin信号通路也处于活化状态,P-NICLO在肾脏组织纤维化过程中是否有类似抑制Wnt/ β -Catenin信号通路的作用尚未可知。该研究旨在探讨P-NICLO是否通过抑制Wnt/ β -Catenin信号通路的活化而抑制肾脏组织纤维化。

1 材料与方法

1.1 实验动物与细胞 雄性BALB/c小鼠20~25g,购自并饲养于安徽医科大学实验动物中心。大鼠肾小管上皮细胞株NRK-52E美国ATCC来源细胞株。该研究动物实验经安徽医科大学实验动物中心伦理委员会批准(批准号:20170371)。

1.2 主要试剂与仪器 Wnt/ β -Catenin信号通路相关抗体anti- β -Catenin、anti-active- β -Catenin(即anti-ABC)购自美国Millipore公司;抗纤溶酶原激活物抑制剂-1(plasminogen activator inhibitor-1, PALI)即anti-PALI购自美国Santa Cruz公司;抗基质金属蛋白酶-7(matrix metalloproteinase-7, MMP7)即anti-MMP7购自美国GeneTex公司;anti-Snai购自美国Cell signaling公司;Real-Time PCR仪(7500Fast)购自美国ABI公司;Bio-Rad电泳仪购自美国BIO-RAD公司;TRIzol试剂及TaKaRa试剂盒(Cat. No: RR047A)购自美国Invitrogen公司。

1.3 实验动物及细胞模型建立

1.3.1 动物模型及分组 雄性BALB/c小鼠20~25g,行左侧输尿管结扎术后,随机分为3组:Sham组、单侧输尿管梗阻模型(unilateral ureteral obstruction, UUO)组、UUO+P-NICLO组,每组5只。用药组P-NICLO用0.9%氯化钠注射液溶解,术后第7天开始30mg/kg剂量腹腔注射,每日1次;UUO阳性对照组予以相应剂量的生理盐水腹腔注射,术后第14天处死小鼠取组织。

1.3.2 细胞模型及分组 大鼠肾小管上皮细胞NRK52E传代分皿后,分组如下:①CTRL(Control)组:无血清DMEM/F12培养液培养24h;②TGF β 1组:含10ng/ml TGF β 1无血清DMEM/F12培养液

2018-05-23 接收

基金项目:国家自然科学基金青年基金(编号:81700606)

作者单位:安徽医科大学第一附属医院肾脏内科,合肥 230022

作者简介:常晓燕,女,住院医师,博士,责任作者,E-mail:414271931

@qq.com

培养 24 h 收取蛋白; ③ P-NICLO 药物干预组: P-NICLO 按照浓度梯度预处理细胞 1 h 后加 TGF β 1 10 ng/ml 继续无血清 DMEM/F12 培养液培养 24 h 后收细胞。所有实验重复 3 次。

1.4 样本制备

1.4.1 动物实验标本制备 所有小鼠术后第 14 天处死, 处死小鼠时, 左心室抽血, 右心房切一小口, 予以约 20 ml 冰 PBS 灌注左心室至肾脏苍白色, 收集两侧肾脏备用。取左侧病变肾脏上极置于 10% 福尔马林溶液中固定 4 $^{\circ}$ C 至少放置 24 h 后, 脱水, 石蜡包埋, 做常规病理检测。收集其余左侧病变肾脏皮质部分, 用液氮冷冻, 转移至 -80 $^{\circ}$ C 保存备蛋白及组织 RNA 的提取。

1.4.2 细胞实验标本收集 Western 及 IP 细胞裂解液裂解细胞, 提取细胞蛋白, 行 Western blot 检测纤维化相关指标: α -SMA、Fibronectin (FN)、Collagen I (COL1) 以及 β -Catenin 信号通路相关指标: β -Catenin、active- β -Catenin 以及 β -Catenin 信号通路靶蛋白 PAL1、MMP7、Snail 等的表达。

1.5 实验方法

1.5.1 光镜 标本取出后, 进行脱水, 包埋, 切片, Masson 染色。肾脏皮质部位显微镜 400 \times 视野下随机选取至少 15 个视野, 然后应用 Image pro-Plus6.0 软件, 计算阳性染色区域的积分光密度 (integrated option density IOD) 值, 阳性染色区域的 IOD/图片总面积所得出的数值再进行统计学分析。

1.5.2 Western blot 超声震荡打碎的肾脏组织或收集的细胞, 用 Western 或 IP 裂解液冰上裂解 30 min (裂解液中需加入一定比例的蛋白酶抑制剂) 提取总蛋白, 经聚丙烯酰胺凝胶电泳分离, 后转印至 PVDF 膜, 5% BSA 室温封闭 2 h, 按照说明书分别加入一定

浓度的一抗及二抗封闭, 加 DAB 显色液, 曝光显影并拍照保存, 以 GAPDH 为内参验证蛋白含量。

1.5.3 Real-time PCR 根据 TRIzol 试剂说明书及 TaKaRa 试剂盒说明书进行操用, 具体步骤如下: TRIzol 裂解液裂解组织或细胞, 然后提取 RNA 并逆转录成 cDNA, 最后按照说明书依次将反应体系加入 7500 Fast Real-time PCR 的反应体系中, 行 PCR 扩增检测。动物实验 Real-time PCR 引物: GAPDH F: 5'-GGTGAAGGTCGGTGTGAACG-3'; R: 5'-CTC GCTCCTGGAAGATGGTG-3'; MMP7 F: 5'-TAGGCGG AGATGCTCACTTT-3'; R: 5'-TTCTGAATGCCTGCAA TGTC-3'; PAL1 F: 5'-GTTTCATCGCTGCACCCTTTG-3'; R: 5'-CTGCTCTTGGTCGGAAAGACT-3'; Snail F: 5'-ATTCTCCTGCTCCCACTGC-3'; R: 5'-GACTCTTG GTGCTTGTGGAG-3'。

1.6 统计学处理 使用 SPSS 19.0 统计软件进行分析, 实验数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多个样本均数的比较采用 One-way ANOVA, 方差齐时两两比较采用 LSD, 方差不齐时两两比较采用 Dunnett's T3 法, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 P-NICLO 对肾脏纤维化的干预作用 实验过程中, 小鼠无明显厌食、腹泻、活动度下降等不良反应, 无发生死亡, 提示 P-NICLO 毒性相对较低。MAS-SON 染色显示 UUO + P-NICLO 组肾脏组织胶原纤维沉积明显减轻, 与 UUO 组比较差异有统计学意义。Western blot 结果也表明, 动物模型中 UUO + P-NICLO 组纤维化指标 α -SMA、Fibronectin、Collagen I 表达均显著降低, 与 UUO 组比较差异有统计学意义 (图 1、表 1)。细胞实验进一步证实了上述论点,

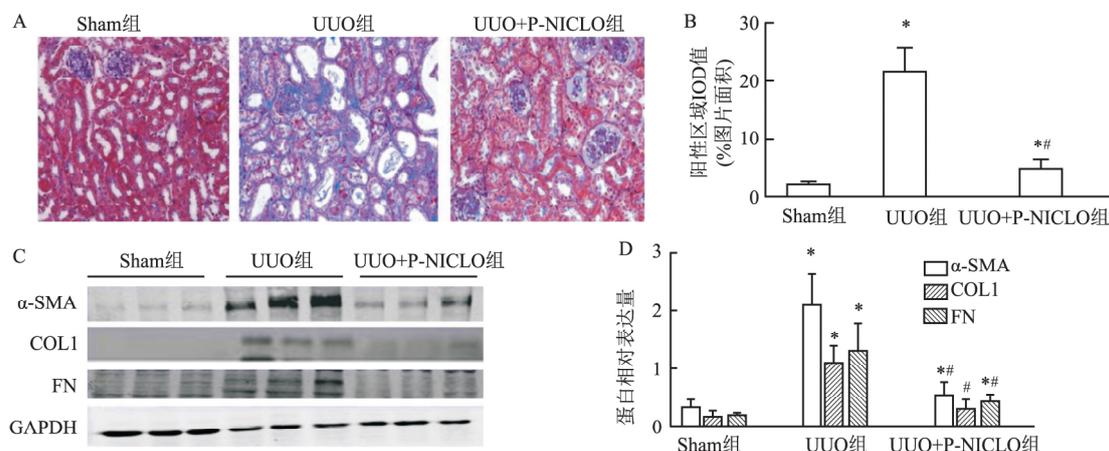


图 1 P-NICLO 对 UUO 模型肾脏组织纤维化的干预作用

A、B: 各组小鼠肾脏皮质 (Masson 染色 $\times 400$) 及其胶原纤维沉积的定量分析; C、D: Western blot 检测各组小鼠纤维化蛋白表达及其定量分析; 与 Sham 组比较: * $P < 0.05$; 与 UUO 组比较: # $P < 0.05$

表1 Western blot 检测各组动物肾脏组织纤维化蛋白的表达($\bar{x} \pm s$)

项目	Sham 组	UUO 组	UUO + P-NICLO 组	F 值	P 值
α -SMA/GAPDH	0.316 ± 0.148	2.589 ± 0.541*	0.528 ± 0.240*#	63.465	<0.001
COL1/GAPDH	0.173 ± 0.095	1.192 ± 0.269*	0.303 ± 0.155#	43.888	<0.001
FN/GAPDH	0.197 ± 0.464	1.346 ± 0.484*	0.421 ± 0.131*#	22.004	<0.001

与 Sham 组比较: * $P < 0.05$; 与 UUO 组比较: # $P < 0.05$

表2 Western blot 检测各组 NRK52E 细胞促纤维化因子的表达($\bar{x} \pm s$)

项目	CTRL 组	TGF β 1 组	TGF β 1 + P-NICLO	F 值	P 值			
			0.2 μ mol/L 组	0.4 μ mol/L 组	0.8 μ mol/L 组	1.6 μ mol/L 组		
α -SMA/GAPDH	0.164 ± 0.017	0.236 ± 0.042*	0.204 ± 0.028*	0.189 ± 0.021#	0.143 ± 0.055#	0.083 ± 0.043#	6.348	0.004
COL1/GAPDH	0.110 ± 0.018	0.166 ± 0.054*	0.115 ± 0.029*	0.094 ± 0.021#	0.104 ± 0.028#	0.082 ± 0.012#	2.823	0.045
FN/GAPDH	0.345 ± 0.196	0.747 ± 0.091*	0.531 ± 0.241*	0.383 ± 0.178*	0.375 ± 0.097#	0.227 ± 0.114#	3.713	0.029

与 CTRL 组比较: * $P < 0.05$; 与 TGF β 1 组比较: # $P < 0.05$

表3 Western blot 检测各组动物肾脏组织 β -Catenin 信号通路相关蛋白的表达($\bar{x} \pm s$)

项目	Sham 组	UUO 组	UUO + P-NICLO 组	F 值	P 值
Active- β -catenin/GAPDH	0.095 ± 0.041	0.310 ± 0.083*	0.133 ± 0.057*#	16.514	<0.001
MMP7/GAPDH	0.268 ± 0.149	1.395 ± 0.297*	0.460 ± 0.115*#	44.079	<0.001
Snail/GAPDH	0.047 ± 0.030	0.152 ± 0.047*	0.079 ± 0.012#	13.251	0.001

与 Sham 组比较: * $P < 0.05$; 与 UUO 组比较: # $P < 0.05$

表4 Western blot 检测各组 NRK52E 细胞 β -Catenin 信号通路相关蛋白的表达($\bar{x} \pm s$)

项目	CTRL 组	TGF β 1 组	TGF β 1 + P-NICLO	F 值	P 值			
			0.2 μ mol/L 组	0.4 μ mol/L 组	0.8 μ mol/L 组	1.6 μ mol/L 组		
β -catenin/GAPDH	0.050 ± 0.007	0.071 ± 0.005*	0.062 ± 0.025*	0.022 ± 0.010#	0.013 ± 0.003#	0.008 ± 0.002#	16.756	<0.001
MMP7/GAPDH	0.084 ± 0.009	0.181 ± 0.023*	0.168 ± 0.078*	0.095 ± 0.024	0.048 ± 0.018#	0.050 ± 0.013#	7.673	0.002
Snail/GAPDH	0.015 ± 0.006	0.063 ± 0.002*	0.066 ± 0.010*	0.0390 ± 0.024	0.024 ± 0.010#	0.020 ± 0.003#	10.649	<0.001

与 CTRL 组比较: * $P < 0.05$; 与 TGF β 1 组比较: # $P < 0.05$

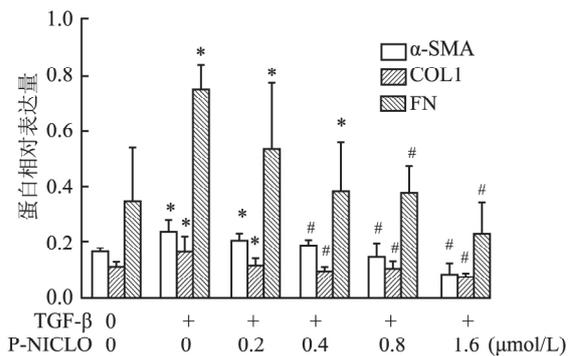
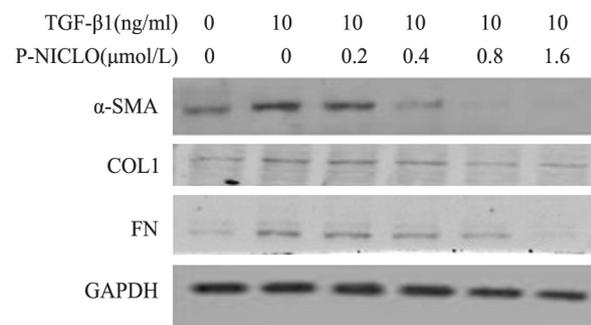


图2 P-NICLO 对 NRK52E 细胞促纤维化因子表达的影响

与 CTRL 组比较: * $P < 0.05$; 与 TGF β 1 组比较: # $P < 0.05$

TGF β 1 体外刺激 NRK52E 细胞,使其活化产生促纤维化因子, P-NICLO 预处理细胞可以明显下调纤维化相关蛋白的表达水平,与 TGF β 1 组比较差异有统计学意义(图2、表2)。

2.2 P-NICLO 对肾脏纤维化 β -Catenin 信号通路的干预作用 体内实验(图3、表3)及体外实验(图4、表4)都证实 P-NICLO 可以使总 β -Catenin 及活化

的 β -Catenin 表达均显著下调,进而抑制其下游信号通路的活化,使其靶基因(PAL1、MMP7、Snail)表达水平均显著下调,与 UUO 组比较差异有统计学意义。

3 讨论

肾脏纤维化是各种慢性肾脏病进展至 ESRD 的共同途径,但目前临床上尚缺乏有效抑制肾脏组织

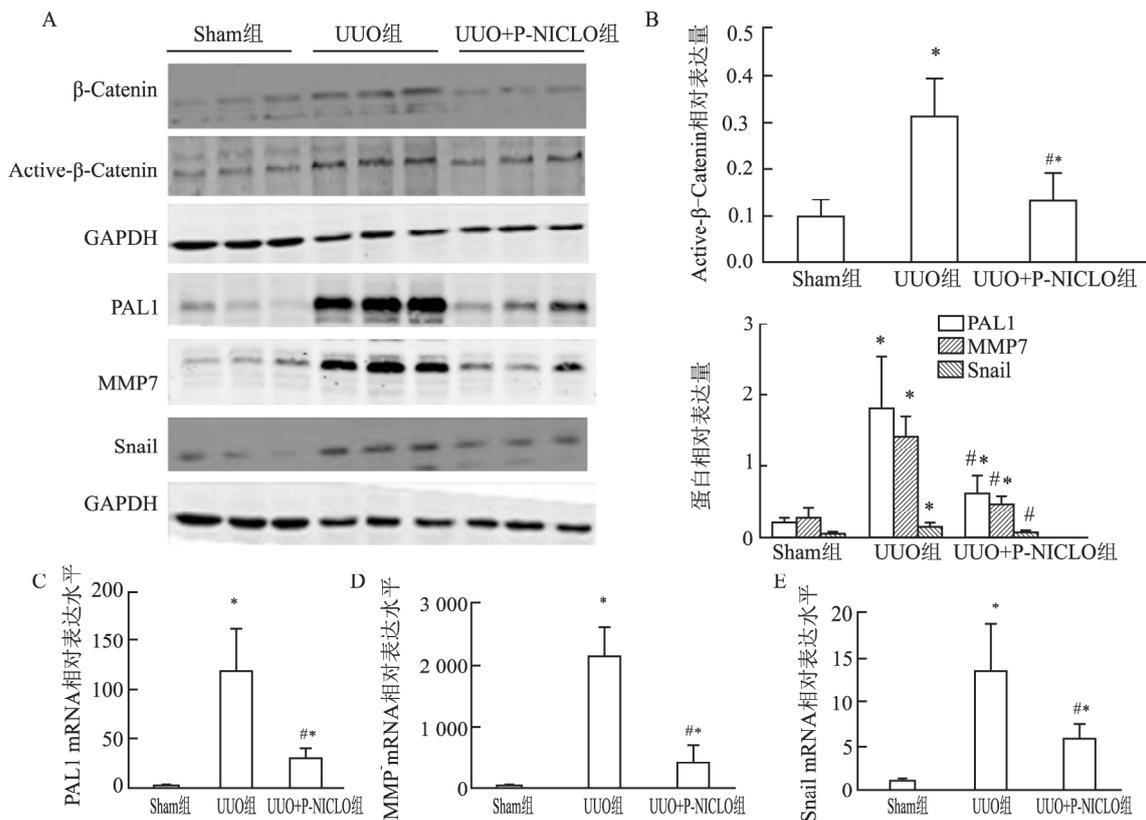


图3 P-NICLO对UUO模型β-Catenin信号通路活化的影响

A、B: Western blots 示各组小鼠 β-Catenin 信号通路相关蛋白的表达及其定量分析; C ~ E: Real-time PCR 示各组小鼠 β-Catenin 信号通路靶基因 PAL1 (C)、MMP7 (D)、Snail (E) mRNA 水平的表达; 与 Sham 组比较: * P < 0.05; 与 UUO 模型组比较: # P < 0.05

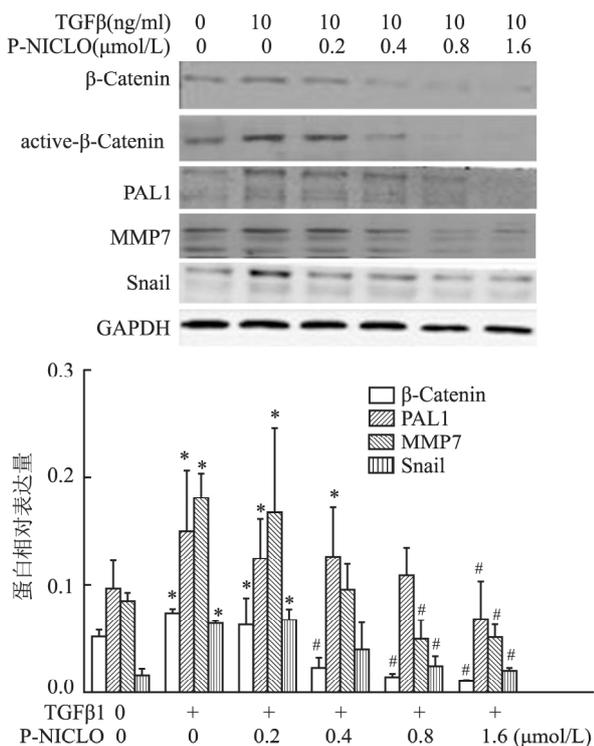


图4 P-NICLO对NRK52E细胞β-Catenin信号通路活化的影响
与 CTRL 组比较: * P < 0.05; 与 TGFβ1 组比较: # P < 0.05

纤维化的药物 如何更有效地抑制肾脏组织纤维化, 延缓 CKD 进展至 ESRD 需要肾脏替代治疗的时间无疑是当前肾脏病卫生战略重点之一。

研究^[4]显示肾脏组织纤维化发生及进展涉及肾脏组织的所有细胞成分,如小管、小管间质、肾小球、血管内及募集到肾脏组织的骨髓源性细胞(如单核细胞、纤维细胞)等。肾脏组织纤维化是一个动态进展过程,包括启动、活化、持续、进展等,在此过程中涉及多条信号通路及细胞因子的活化^[1]。目前研究比较多的与肾脏组织纤维化相关的信号通路包括 TGFβ/Smad 信号通路、Wnt/β-Catenin 信号通路、NF-κB 信号通路、RASS 信号通路等。这些信号通路在肾脏组织纤维化的发生及进展过程中均有不同程度的活化,参与调节肾脏组织纤维化发生及发展,且各条信号通路并不是孤立存在而是相互关联相互影响,存在“串话”效应^[1,5],大量基础实验及临床研究通过制备靶向抑制上述信号通路的药物,用于抗肾脏纤维化治疗,并已取得一定成效^[6-7]。

该研究所涉及的 Wnt/β-Catenin 信号通路是一种经典的信号通路,在动物的生长发育及病理生理变化中发挥重要作用。在此信号通路中,β-Catenin

是一种细胞骨架蛋白,与 E-钙黏蛋白(E-cadherin)、 α -连环蛋白(α -catenin)等形成黏附复合体,在细胞-细胞黏附中起重要作用^[8-9]。 β -Catenin 除形成复合体外,还是 Wnt/ β -Catenin 信号转导通路中关键调节因子。Wnt 蛋白同时与跨膜卷曲蛋白受体 Frizzled(Fzd) 和低密度脂蛋白受体相关蛋白(LRP) 结合,然后激活下游 disheveled(Dsh) 蛋白,Dsh 活化后,进一步激活 ZW3/GSK3,使 β -Catenin 磷酸化减少,无法及时降解而在胞质内堆积,过度堆积的 β -Catenin 可转位入核,与核转录因子即 T 细胞因子(TCF)/淋巴增强结合因子(LEF) 结合组成复合物,再募集共活化因子环磷酸腺苷(cAMP) 效应元件结合蛋白(cAMP-response element binding protein, CREB) 结合蛋白(CBP),从而激活 Wnt/ β -Catenin 靶基因的转录,包括常见的 Snail、PAL1、MMP7 等^[8]。细胞内 β -Catenin 水平是 Wnt 信号通路中的重要调节靶点。 β -Catenin 在细胞内的水平受正性调节因子和负性调节因子的竞争性调节,负性调节因子是由 GSK/ZW3、Axin 及 APC 一组蛋白组成的复合体,主要作用是破坏 β -Catenin 的稳定性,使 β -Catenin 在细胞内降解处于高水平,从而关闭 Wnt 途径。正性调节因子包括另一类拮抗类的蛋白,包括 Disheveled 及 TCF-Grouch-CBP 等,在对 Wnt 信号反应时被活化,起拮抗破坏复合物的作用,使细胞内的 β -Catenin 水平升高,从而启动 Wnt 信号^[8-9]。

Wnt/ β -Catenin 信号通路在肾脏发育过程中处于活化状态,肾脏发育成熟后处于静止状态,肾脏疾病时重新活化^[8-9]。在很多肾纤维化模型中均可以发现 Wnt/ β -Catenin 信号通路的激活,而选择性的抑制这一通路可以明显减轻肾脏纤维化。如近年来研究^[9-10]显示小分子肽类化合物 ICG-001,可特异性的干扰 Wnt/ β -Catenin 信号通路。ICG-001 通过结合 CBP 从而干扰 β -Catenin/CBP 的相互作用,已经证明其在小鼠模型上能够逆转甚至阻断肾脏纤维化,但只处于临床前研究,需进一步验证。Wnt/ β -Catenin 信号通路还可以直接调控 RASS 相关蛋白基因而影响肾脏病的进展。研究^[10-11]表明选择性抑制 Wnt/ β -Catenin 信号通路的活化是肾脏纤维化治疗的另一个重要靶点。

既往研究 Wnt/ β -Catenin 信号通路特异性抑制物大多为新合成化合物,其性能及安全性还有待进一步验证。本研究所涉及的药物 P-NICLO 是 FDA 已批准用药即氯硝柳胺的水溶性衍生物,该药物在肾脏组织纤维化防治中的作用尚无相关研究。既往研究^[12-13]氯硝柳胺药理作用时显示,在肿瘤细胞中,氯硝柳胺可以通过抑制 β -Catenin 信号通路的活

性抑制肿瘤细胞的增生。Chen et al^[12]发现在人类骨肉瘤 U2OS 细胞中,氯硝柳胺主要通过促进 Wnt 受体 Fzd1 内吞,抑制 Wnt 信号调节蛋白 Dsh 的表达等多方面抑制 β -Catenin 信号通路;在人类结肠癌细胞系中,也发现类似作用^[13];但是在人类前列腺癌和乳腺癌细胞中,氯硝柳胺主要通过促进 Wnt 共受体 LRP6 的降解而抑制 β -Catenin 信号通路的活化,而对 Dsh 蛋白表达无影响;表明氯硝柳胺抑制 β -Catenin 信号通路的作用机制具有细胞特异性^[13-14]。

该研究通过设计体内体外实验证实肾脏纤维化模型中 P-NICLO 可特异性抑制 β -Catenin 总蛋白及活化 β -Catenin 蛋白形成,进而抑制下游靶蛋白 PA-LI1、MMP7、Snail 等表达,最终抑制肾脏组织纤维化,为肾脏纤维化的防治提供新的思路。但 P-NICLO 如何抑制 β -Catenin 总蛋白及活化 β -Catenin 蛋白的形成,其抑制 Wnt/ β -Catenin 信号通路的活化是否还有其他机制参与尚未可知,有待进一步研究证实。

参考文献

- [1] Humphreys B D. Mechanisms of Renal Fibrosis [J]. *Annu Rev Physiol*, 2018, 80: 309-26.
- [2] Li Y, Li P K, Roberts M J, et al. Multi-targeted therapy of cancer by niclosamide: A new application for an old drug [J]. *Cancer Letters*, 2014, 349(1): 8-14.
- [3] Pan J X, Ding K, Wang C Y. Niclosamide, an old antihelminthic agent, demonstrates antitumor activity by blocking multiple signaling pathways of cancer stem cells [J]. *Chin J Cancer*, 2012, 31(4): 178-84.
- [4] Zeisberg M, Neilson E G. Mechanisms of tubulointerstitial fibrosis [J]. *J Am Soc Nephrol* 2010, 21(11): 1819-34.
- [5] Liu Y. Cellular and molecular mechanisms of renal fibrosis [J]. *Nat Rev Nephrol* 2011, 7(12): 684-96.
- [6] Chuang P Y, Menon M C, He J C. Molecular targets for treatment of kidney fibrosis [J]. *J Mol Med (Berl)* 2013, 91(5): 549-59.
- [7] Ai J, Nie J, He J, et al. GQ5 Hinders renal fibrosis in obstructive nephropathy by selectively inhibiting TGF- β -induced Smad3 phosphorylation [J]. *J Am Soc Nephrol* 2015, 26(8): 1827-38.
- [8] He W, Kang Y S, Dai C, et al. Blockade of Wnt/ β -catenin signaling by paricalcitol ameliorates proteinuria and kidney injury [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2011, 22(1): 90-103.
- [9] Pulkkinen K, Murugan S, Vainio S. Wnt signaling in kidney development and disease [J]. *Organogenesis* 2008, 4(2): 55-9.
- [10] Hao S, He W, Li Y, et al. Targeted inhibition of β -catenin/CBP signaling ameliorates renal interstitial fibrosis [J]. *J Am Soc Nephrol* 2011, 22(9): 1642-53.
- [11] Zhou L, Li Y, Hao S, et al. Multiple genes of the renin-angiotensin system are novel targets of Wnt/ β -catenin signaling [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2015, 26(1): 107-20.
- [12] Chen M, Wang J, Lu J, et al. The anti-helminthic niclosamide inhibits Wnt/Frizzled1 signaling [J]. *Biochemistry* 2009, 48(43): 10267-74.

网络出版时间: 2018-8-10 15:55 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.r.20180808.1718.012.html>

阿托伐他汀与人血清白蛋白相互作用机制的研究

董哲¹ 李阳² 谢立娟¹ 刘宗瑞¹

摘要 目的 模拟人体生理条件 (pH 7.4) 下阿托伐他汀 (atorvastatin) 和人血清白蛋白 (HSA) 的相互作用的过程。方法 采用圆二色谱、荧光光谱、等温滴定量热法和分子对接模拟法,测定结合方式、结合位点数、热力学参数和分子结合距离等相关信息。结果 在 25 °C 下,随着 atorvastatin 逐渐加入到 HSA 中, α -螺旋含量从 58.34% 逐渐减少到 28.13% ($C_{\text{atorvastatin}}/C_{\text{HSA}} = 10.0$); atorvastatin 以静态淬灭的方式淬灭了 HSA 的内源性荧光;通过疏水-疏水和氢键作用结合了血清白蛋白且结合比为 1:1;分子对接结果表明,与 HSA 最有可能的结合位点为 214 位色氨酸残基附近。结论 为阐述他汀类药物的药代动力学行为机制提供科学依据。
关键词 阿托伐他汀;人血清白蛋白;等温滴定量热法;分子对接

中图分类号 O 657.3

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2018)10-1543-05
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2018.10.012

阿托伐他汀 (atorvastatin) 通用商品名为立普妥 (Lipitor),是由美国辉瑞公司研发的降脂药^[1]。分子内的 3-羟基己内酯与 HMG-CoA 还原酶的底物具有类似的结构,可以作为高选择性和竞争性的抑制剂^[2]。其进入体内无需代谢即可发挥作用,具有见效快、消除半衰期长、代谢慢和降脂作用强等特点^[3]。众所周知,药物从给药部位吸收进入人体,通过血液由循环系统运送至体内各脏器组织中,经过不同酶的代谢后排出体外,那么血液就成为体内药物转运的枢纽^[4]。血液中含量约占 60% 的蛋白质是人血清白蛋白 (human serum albumin, HSA),有助于携带、转化和转运多种内源或外源性物质,如调节血浆中的血渗值和 pH 值,减少体内自由基等生理功能^[5]。一般来说,血清白蛋白和药物之间的结合作用较强,血浆中游离药物浓度就会较低;而血清白蛋白与药物的结合作用较弱,则可能会导致药物

2017-06-20 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:21661026);内蒙古自治区自然科学基金项目(编号:2018BS02001)

作者单位:¹ 内蒙古民族大学天然产物化学及功能分子合成自治区重点实验室 通辽 028000² 通辽市医院骨一科 通辽 028000

作者简介:董哲,男,实验师,责任作者, E-mail: dongzhe@imun.edu.cn

[13] Osada T, Chen M, Yang X Y, et al. Antihelminth compound niclosamide downregulates Wnt signaling and elicits antitumor responses in tumors with activating APC mutations [J]. *Cancer Res*, 2011, 71(12): 4172-82.

[14] Londoño-Joshi A I, Arend R C, Aristizabal L, et al. Effect of niclosamide on basal-like breast cancers [J]. *Mol Cancer Ther*, 2014, 13(4): 800-11.

Phosphate niclosamide mitigates renal fibrosis through inhibiting Wnt/ β -catenin signaling pathway

Chang Xiaoyan, Wu Qimei, Jiang Xiao, et al

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

Abstract Objective To explore the effect of p-niclosamide (P-NICLO) on renal fibrosis and its possible mechanism. **Methods** *In vivo* experiments (UUO model) and *in vitro* experiments (TGF- β 1 stimulated NRK-52E cells *in vitro*), models were given P-NICLO intervention at a certain concentration to detect the inhibitory effect of P-NICLO on renal fibrosis in different model groups and its effect on Wnt/ β -catenin signaling pathway by pathological staining, Western blot and Real-time PCR. **Results** Both *in vivo* and *in vitro* experiments showed that P-NICLO could significantly inhibit renal fibrosis and Wnt/ β -catenin signaling pathway in model group. **Conclusion** P-NICLO may mitigate renal fibrosis through inhibiting the Wnt/ β -catenin signaling pathway.

Key words P-NICLO; renal fibrosis; Wnt/ β -catenin