

鞣花酸干预膜性肾病大鼠模型的实验研究*

周翔 刘志文 成平 张三勇 许向青 姜文玲 唐程远 贺理宇

(中南大学湘雅二医院肾内科·肾脏疾病与血液净化学湖南省重点实验室, 湖南 长沙 410011)

【摘要】 目的 探讨鞣花酸在特发性膜性肾病治疗中可能的意义及作用机制。**方法** 将 SD 大鼠(SPF 级、8 周龄)随机分为实验组、模型组和对照组, 实验组和模型组各 8 只大鼠, 对照组 6 只大鼠。实验组和模型组通过注射阳离子化牛血清白蛋白构建特发性膜性肾病大鼠模型。造模成功后, 实验组按 200 mg/kg 体重腹腔注入鞣花酸, 注射频率为 1 次/日、持续 4 周, 模型组注入等体积生理盐水。四周后各组大鼠行异氟烷麻醉后处死, 收集各组血液、尿液和肾脏标本进行进一步的生化、病理及分子生物学分析。**结果** 采用鞣花酸干预的特发性膜性肾病大鼠的肾功能指标(血肌酐、尿素氮、血清白蛋白、24 h 尿蛋白和血胆固醇)和肾小管性尿蛋白各组分(α 1-MG、 β 2-MG、RPB、NAG 和 NGAL)与模型组相比均显著好转($P < 0.05$), 且病理损伤明显减轻; 实验组还原谷胱甘肽(GSH)、过氧化酶(CAT)较对照组及模型组均显著上调($P < 0.05$)。与模型组相比, 实验组大鼠 Mst1 mRNA 表达下降($P < 0.05$), Nrf2 mRNA 表达增加($P < 0.05$)。**结论** 鞣花酸可能通过 Mst1-Nrf2 通路减轻肾组织的氧化应激从而缓解 C-BSA 诱导的膜性肾病大鼠发生肾脏病理损伤。

【关键词】 膜性肾病; 鞣花酸; 肾功能; Mst1-Nrf2 通路

【中图分类号】 R692.6 **【文献标志码】** A **DOI:**10. 3969/j. issn. 1672-3511. 2023. 02. 002

Experimental study of ellagic acid on rats with membranous nephropathy

ZHOU Xiang, LIU Zhiwen, CHENG Ping, ZHANG Sanyong, XU Xiangqing, JIANG Wenling, TANG Chengyuan, HE Liyu

(Department of Nephrology, The Second Xiangya Hospital of Central South University, Hunan Key Laboratory of Kidney Disease and Blood Purification, Changsha 410011, China)

【Abstract】 Objective To explore the possible significance and mechanism of ellagic acid in the treatment of IMN, and look for potential options for the treatment of IMN. **Methods** SD rats (SPF, 8 weeks) were randomly divided into experimental group, model group and control group, with 8 rats in the experimental group and 8 rats in the model group and 6 rats in the control group. The experimental group and model group were injected with cationic bovine serum albumin (BSA) to construct a rat model of idiopathic membranous nephropathy. After successful modeling, the experimental group was intraperitoneally injected ellagic acid at the rate of 200mg/kg body weight once a day for 4 weeks, and the model group was injected with normal saline of the same volume. Four weeks later, the rats in each group were anesthetized with isoflurane and killed. Blood, urine and kidney samples were collected for further biochemical, pathological and molecular biological analysis. **Results** The renal function indexes (serum creatinine, urea nitrogen, serum albumin, 24-hour urine protein and blood cholesterol) and the components of renal tubular urine protein (α 1-MG, β 2-MG, RPB, NAG and NGAL) of rats with idiopathic membranous nephropathy treated with ellagic acid were significantly improved, and the P values were all less than 0.05 compared with model group. Compared with model group, Mst1 mRNA expression of experimental rats decreased ($P < 0.05$), while Nrf2 mRNA expression increased ($P < 0.05$). **Conclusion** Ellagic acid may alleviate oxidative stress in renal tissue through the MST1-NRF2 pathway and thus alleviate renal pathological damage in C-BSA induced IMN.

【Key words】 Membranous nephropathy; Ellagic acid; Kidney function; Mst1-Nrf2 pathway

基金项目:国家自然科学基金(81870500)

引用本文:周翔, 刘志文, 成平, 等. 鞣花酸干预膜性肾病大鼠模型的实验研究[J]. 西部医学, 2023, 35(2):162-166, 171. DOI:10. 3969/j. issn. 1672-3511. 2023. 02. 002

膜性肾病(Membranous nephropathy, MN)是一种免疫复合物沉积于肾小球基底膜并伴基底膜增厚等病理改变为特征的肾小球疾病^[1-2],根据病因分类,大约有五分之四的患者无明确病因称之为特发性膜性肾病(Idiopathic membranous nephropathy, IMN),另外 20% 的 MN 常常继发于其他疾病,如系统性红斑狼疮、血管炎、类风湿性关节炎、乙型病毒性肝炎等,称之为继发性膜性肾病。此外,药物、毒物、肿瘤或环境因素等也可以引起继发性膜性肾病^[3]。鞣花酸(Ellagic acid, EA)是一种存在于各种软质水果、坚果和其他植物组织中的天然多酚,有研究^[4-5]证实,EA 在溃疡性结肠炎、结肠癌等多种疾病中具有抗氧化和抗炎等作用。在肾脏疾病中,亦有研究^[6]报道,EA 可以通过抑制肾组织氧化应激而对 STZ 诱导的糖尿病大鼠发挥肾脏保护作用。哺乳动物不育系 20 样激酶(Mammalian sterile 20-like kinase 1, MST1)基因是 Hippo 信号通路中的关键基因^[7],核因子 E2 相关因子 2(NF-E2-related factor 2, Nrf2)是一种重要的细胞抗氧化转录因子^[8]。且已有文献^[9]报道, Mst1-Nrf2 通路可以调控机体的氧化应激,既往采用丙二醛(Malondialdehyde, MDA)、还原型谷胱甘肽(Reduced glutathione, GSH)和过氧化酶(Catalase, CAT)这 3 个比较公认的机体抗氧化能力作为监测指标的研究^[10]提示,EA 可能通过 Mst1-Nrf2 通路抑制炎症反应和氧化应激从而缓解阿霉素诱导的大鼠局灶节段性肾小球硬化。EA 是否可通过 Mst1-Nrf2 通路改善 MN 的肾脏损伤尚少文献报道。通过尾静脉注射阳离子化牛血清白蛋白(Cationic bovine serum albumin, C-BSA)构建的 MN 大鼠模型是应用广泛且成熟的动物模型之一^[11-12],本研究中利用此模型来评估 EA 在 MN 干预治疗中可能的作用和机制,以期为临床 MN 的治疗提供新思路。

1 资料与方法

1.1 实验动物 SD 大鼠(SPF 级、8 周龄)购自于湖南斯莱克景达公司,在保证正常饮食饮水、昼夜规律等适宜其生长的常规环境中饲养。实验动物的饲养和处理均遵循医院医学实验动物伦理委员会的规范和条例。

1.2 主要试剂及仪器 鞣花酸购自于美国 Sigma 公司;C-BSA 购自于美国 Chondrex 公司;GSH-PX 试剂盒、GSH 检测试剂盒、MDA 检测试剂盒和 CAT 检测试剂盒购自于南京建成生物公司;HE 染色液、苏木素分色液、多聚甲醛等购自于武汉塞维尔生物公司;cDNA 合成试剂盒、SYBR green QPCR 扩增试剂盒购自于 TaKaRa 公司。使用的主要仪器包括美国

Roche 公司生产的实时荧光定量 PCR 仪、美国赛默飞公司生产的 NanoDrop 2000 分光光度计、美国 MD 公司生产的多功能酶标仪、重庆博士泰生产的全自动特定蛋白分析仪、德国徕卡公司生产的荧光显微镜及石蜡切片机等。

1.3 方法

1.3.1 膜性肾病大鼠模型的构建、药物干预及标本处理 将刚购置的大鼠随机分为对照组、模型组、实验组,实验组和模型组各 8 只,对照组 6 只。MN 大鼠模型制备过程如下:①预免疫处理:将 1 mg C-BSA 与 0.5 mL 磷酸盐缓冲液(PBS)和等量弗氏不完全佐剂充分震荡,得到混合液体。之后每次将 0.1 mL 混合液体注射于模型组和实验组大鼠的腹股沟、腋下等皮下部位,隔日一次,共注射 3 次,对照组不注射 C-BSA,其余处理同模型组。②正式免疫处理:将 2.5 mg C-BSA 与 1 mL 的 PBS 充分混匀得到混合液体,实验组和模型组大鼠注射 0.5 mL 混合液体,对照组大鼠单纯注射同剂量 PBS。都通过大鼠尾静脉注射,且注射频率为连续 4 周、每周 3 次。4 周后通过特定蛋白分析仪测定的各组大鼠 24 h 尿蛋白定量结果,若模型组结果大于 20 mg/L 则考虑构建成功。③药物干预:造模成功后,实验组按 200 mg/kg 体重腹腔注入鞣花酸,注射频率为每日一次、持续 4 周,模型组注入等体积生理盐水。④四周后各组大鼠行异氟烷麻醉后处死,收集 24 h 尿液,常温下 2000 rpm、离心 10 min,取上清液-80℃冻存。通过腹主动脉收集血液,常温下 4000 rpm、离心 10 min,取上层血清-80℃冻存。摘取肾脏标本剪成小块后分为两份,一份用多聚甲醛固定后,石蜡包埋;其余分装后-80℃冻存。

1.3.2 生化指标检测方法 ①利用全自动生化仪测定血清胆固醇(Cholesterol, CHO)、血肌酐(Scr)、尿素氮(BUN)、白蛋白(Alb)。②利用重庆博士泰全自动特定蛋白分析仪检测尿总蛋白(Urinary total protein n, UTP)、尿白蛋白(Urinary albumin, Ualb)、尿 1-MG、尿 2-MG、尿 NAG、尿 NGAL 和尿 RBP 等。③采用 TBA 法按试剂盒说明书步骤测定肾组织中 MDA。④采用 DTNB 法按试剂盒说明书步骤测定肾组织中 GSH。⑤采用钼酸铵法按试剂盒说明书步骤测定肾组织中 CAT 的活性。

1.3.3 石蜡切片的免疫 荧光肾组织石蜡包埋后切片,按常规免疫组化操作顺序脱蜡、水化、封闭、加抗体、封片等步骤后,使用荧光显微镜观察。

1.3.4 实时荧光定量 PCR 肾组织用 Trizol 处理后提取总 RNA 并测定 RNA 浓度,再用常规 PCR 仪反转录为 cDNA,再根据试剂说明书流程采用 RT-PCR

检测,使用 Roche 专业软件进行相对定量法分析。

1.4 统计学分析 数据通过统计软件 GraphPad Prism 7.0 和 SPSS 22.0 分析,采用单因素方差分析比较多组数据间的关系(实验组,模型组和对照组),所有数据均表示采用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 鞣花酸对 C-BSA 诱导的大鼠膜性肾病模型常用临床指标的改善作用 分别检测 3 组大鼠模型的 Scr、BUN、Alb、24 h UTP、CHO 和肾小管性尿蛋白各

指标水平($\alpha 1$ -MG、 $\beta 2$ -MG、RPB、NAG 和 NGAL)。与对照组相比,模型组大鼠的 Scr、BUN、Alb、24 h UTP 及 CHO 水平均明显恶化加重($P < 0.05$)。但当使用了鞣花酸干预后,与模型组大鼠相比,实验组大鼠各项指标均显著好转($P < 0.05$)(见表 1)。对于肾小管性尿蛋白,与对照组相比,模型组大鼠的尿 $\alpha 1$ -MG、尿 $\beta 2$ -MG、尿 RPB、尿 NAG 和尿 NGAL 水平均明显升高($P < 0.05$),但当使用了鞣花酸干预后,与模型组相比,实验组大鼠各项指标均明显下降($P < 0.05$)。见表 2。

表 1 3 组大鼠模型肌酐、尿素氮、血清白蛋白、24 h 尿总蛋白和血胆固醇检测结果($\bar{x} \pm s$)
Table 1 Results of serum creatinine, blood urea nitrogen, serum albumin, 24-hour urine protein and blood cholesterol in rat models of the three groups

组别	n	Scr(mg/dl)	BUN (mg/dl)	Alb(mg/dl)	24 h UTP(mg/L)	CHO(mmol/L)
对照组	6	0.45±0.21	34.8±2.9	40.2±3.9	37.6±3.3	1.5±0.6
模型组	8	1.42±0.17 ^①	142.5±11.8 ^①	24.1±2.3 ^①	943.8±34.9 ^①	7.8±2.7 ^①
实验组	8	0.83±0.16 ^②	84.6±8.4 ^②	31.7±3.2 ^②	543.2±42.6 ^②	4.4±1.9 ^②

注:与对照组比较,① $P < 0.05$;与模型组比较,② $P < 0.05$

表 2 3 组大鼠模型肾小管性尿蛋白检测结果($\bar{x} \pm s$)
Table 2 Results of renal tubular urinary protein in rat models of the three groups

组别	n	$\alpha 1$ -MG(mg/L)	$\beta 2$ -MG (mg/L)	RPB(mg/L)	NAG (U/L)	NGAL (ng/mL)
对照组	6	3.7±0.8	0.17±0.04	0.12±0.03	5.4±1.1	9.1±0.3
模型组	8	49.8±7.6 ^①	9.52±0.93 ^①	4.91±0.83 ^①	22.9±3.4 ^①	152.8±12.6 ^①
实验组	8	22.4±8.2 ^②	6.55±1.12 ^②	2.36±0.55 ^②	15.8±2.9 ^②	69.8±9.7 ^②

注:与对照组比较,① $P < 0.05$;与模型组比较,② $P < 0.05$

2.2 鞣花酸缓解 C-BSA 诱导的大鼠膜性肾病的肾脏病理损伤 各组采用 HE 染色和 IgG 免疫荧光检测来衡量其病理损伤程度。结果显示,对照组大鼠肾脏组织中肾小球和肾小管结构完整清晰,免疫荧光染色

IgG 沉积较少;模型组大鼠肾小球体积明显增大,部分肾小管萎缩消失;免疫荧光染色示 IgG 沿系膜区及毛细血管壁呈颗粒样沉积。但当使用了鞣花酸干预后,上述病理损伤明显减轻。见图 1。

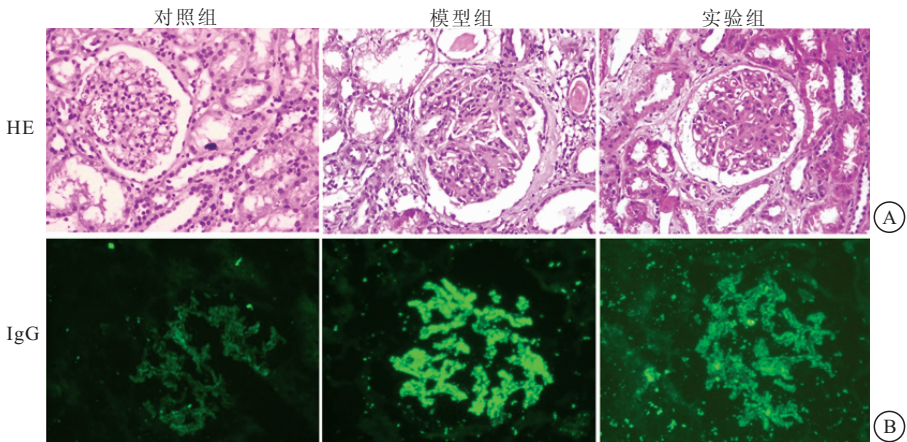


图 1 鞣花酸缓解 C-BSA 诱导的大鼠膜性肾病的肾脏病理损伤(400×)
Figure 1 Ellagic acid alleviates renal pathological damage induced by C-BSA in rats with MN
注:A. HE 染色;B. IgG 的免疫荧光

2.3 鞣花酸缓解 C-BSA 诱导的大鼠膜性肾病的氧化应激 模型组 MDA 含量明显高于对照组($P < 0.05$),实验组 MDA 水平较模型组明显降低($P < 0.05$)。与

对照组相比,模型组的 GSH 和 CAT 的水平均显著降低,抗氧化能力减弱(均 $P < 0.05$),而在使用了鞣花酸干预后,GSH 和 CAT 的水平均显著上调($P < 0.05$)。

说明使用鞣花酸干预后可以显著提升 C-BSA 诱导的大鼠膜性肾病的抗氧化能力。见表 3。

表 3 3 组大鼠模型血清丙二醛、谷胱甘肽和过氧化氢酶检测结果($\bar{x}\pm s$)
Table 3 Results of serum malondialdehyde, glutathione and catalase in rat models of the three groups

组别	n	MDA(nmol/ml)	GSH(mg/ml)	CAT(U/mL)
对照组	6	30.53±1.78	5.87±0.23	77.9±3.8
模型组	8	49.87±1.83 ^①	3.32±0.19 ^①	47.2±4.6 ^①
实验组	8	36.55±1.46 ^②	4.22±0.17 ^②	60.3±5.9 ^②

注:与对照组比较,① $P<0.05$;与模型组比较,② $P<0.05$

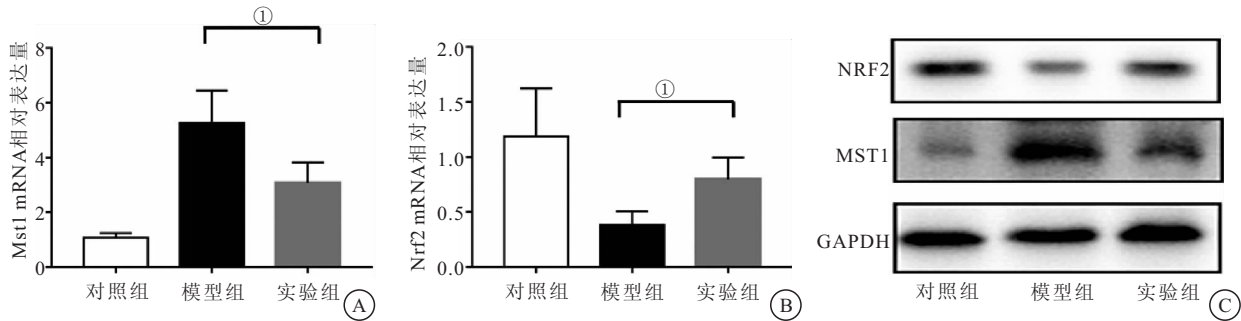


图 2 鞣花酸可抑制 Mst1 的表达,促进 Nrf2 的表达($n=4$)

Figure 2 Ellagic acid inhibited the expression of Mst1 and promoted the expression of Nrf2

注:A. RT-PCR 检测 Mst1 mRNA 的表达;B. RT-PCR 检测 Nrf2 mRNA 的表达;C. 蛋白免疫印迹检测 MST1 和 NRF2 蛋白的表达。GAPDH 作为内对照。与模型组比较,① $P<0.05$

2.5 Mst1 和 Nrf2 mRNA 表达与 MN 大鼠肾脏氧化应激指标的相关性分析 为进一步明确 Mst1 和 Nrf2 mRNA 表达与 MN 大鼠肾脏氧化应激的相关性,分别分析了 MN 大鼠 Mst1 和 Nrf2 mRNA 表达与氧化应激指标 MDA、GSH 和 CAT 的相关性。Spearman's 相关分析显示, Mst1 mRNA 表达与 MDA 呈正相关($r=0.7539$) (见图 3A),与 GSH 和

2.4 鞣花酸可抑制 Mst1 的表达,促进 Nrf2 的表达 与对照组比较,模型组 Mst1 mRNA 表达升高, Nrf2 mRNA 表达下降(均 $P<0.05$),但当使用了鞣花酸干预后,与模型组相比,Mst1 mRNA 表达下降, Nrf2 mRNA 表达升高(均 $P<0.05$)。同时,通过蛋白免疫印迹也进一步确定鞣花酸治疗可以抑制 MN 大鼠 MST1 蛋白表达、促进 NRF2 蛋白表达($P<0.05$)。提示鞣花酸可能通过 Mst1-Nrf2 通路对 C-BSA 诱导的 MN 大鼠发挥肾脏保护作用。见图 2。

CAT 呈负相关($r=-0.9117$ 和 $r=-0.8478$) (见图 3B、图 3C)。Nrf2 mRNA 表达与 MDA 呈负相关($r=-0.7267$) (见图 3D),与 GSH 和 CAT 呈正相关($r=0.8012$ 和 $r=0.7423$) (见图 3E、图 3F)。结果提示 Mst1 和 Nrf2 参与调控了 C-BSA 诱导的 MN 大鼠的氧化应激。

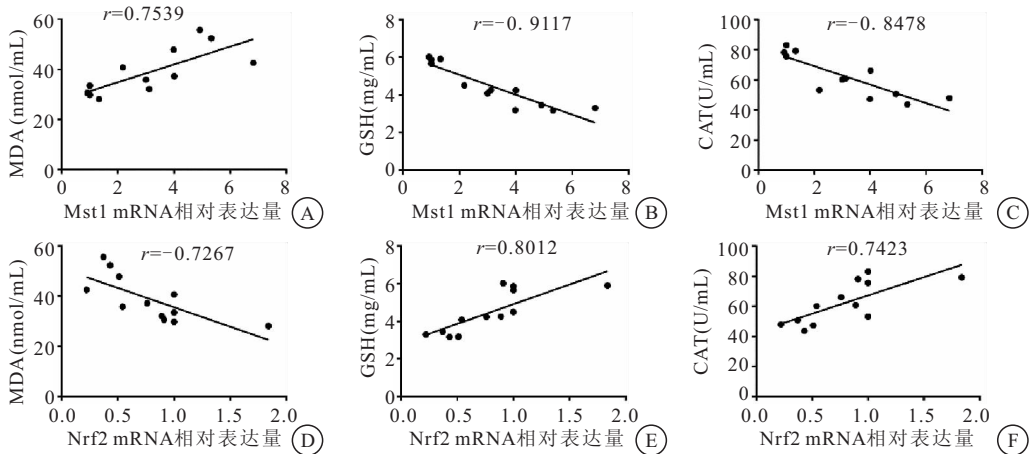


图 3 Mst1 和 Nrf2 mRNA 表达与 MN 大鼠肾脏氧化应激指标的相关性分析

Figure 3 Correlation analysis of Mst1 and Nrf2 mRNA expression and renal oxidative stress index in MN rats

注:A~C. Mst1 mRNA 表达与氧化应激指标 MDA、GSH 和 CAT 的相关性分析;D~F. Nrf2 mRNA 表达与氧化应激指标 MDA、GSH 和 CAT 的相关性分析

3 讨论

膜性肾病临床通常伴随有大量蛋白尿,其他表现为没有症状或不是肾脏疾病引起的蛋白尿^[13-14]。目前在临床上 IMN 的治疗十分困难,预后不佳,因此,找到一个切实可行的治疗方案具有十分重要的意义^[15]。尽管关于 IMN 的发病机制截至目前也没有被完全阐明,但既往已有研究证实氧化应激在 IMN 的进程中有重要价值^[16-17]。有研究^[18]证实,Mst1 缺乏可以减轻细胞氧化应激,Nrf2 基因激活后能够抑制线粒体活性氧(ROS)和炎症因子的产生^[19],所以 Mst1-Nrf2 通路参与了细胞氧化应激和炎症反应等多种生物学反应^[20]。尽管目前关于 Mst1-Nrf2 通路介导的抗氧化作用的研究得到了很大的进展,但关于 Mst-Nrf2 通路在膜性肾病中的作用尚不明确。

鞣花酸是植物天然多酚化合物,已有研究^[21-23]证实,EA 在多种疾病中具有抗氧化和抗炎等作用。在肾脏疾病中,有文献^[6]报道,鞣花酸可以通过抑制肾组织氧化应激而对 STZ 诱导的糖尿病大鼠发挥肾脏保护作用。既往研究^[10]也提示鞣花酸可能通过 Mst1-Nrf2 通路抑制炎症反应和氧化应激从而缓解阿霉素诱导的大鼠局灶节段性肾小球硬化。那么 EA 是否可通过 Mst1-Nrf2 通路抑制氧化应激和炎症反应而改善 MN 的肾脏损伤尚未有研究证实。

在本研究中,采用了应用广泛且成熟的膜性肾病大鼠模型^[11-12],待模型构建成功后,通过鞣花酸的干预而分析鞣花酸 MN 大鼠的治疗作用。结果发现与膜性肾病大鼠组相比,鞣花酸干预组的 Scr、BUN、Alb、总蛋白定量、CHO 和肾小管性尿蛋白各组均显著好转。同时,通过免疫荧光检测等也发现通过鞣花酸的干预治疗对减轻膜性肾病大鼠的肾脏病理损伤作用明显。此外,实验组肾组织 GSH 和 CAT 的水平均显著上调,而 MDA 水平降低,说明使用鞣花酸干预后可以显著提升 C-BSA 诱导的大鼠膜性肾病的抗氧化能力。在机制上分析,与模型组相比,发现实验组大鼠 Mst1 mRNA 表达下降,Nrf2 mRNA 表达增加,提示鞣花酸可能通过 Mst1-Nrf2 通路对膜性肾病大鼠发挥肾脏保护作用。但是本实验研究仅仅检测了 Mst1 和 Nrf2 的转录水平变化,关于鞣花酸是否真正通过 Mst1-Nrf2 通路而发挥肾脏保护作用尚需进一步的研究。

4 结论

本研究结果提示,鞣花酸可能通过 Mst1-Nrf2 通路减轻肾组织的氧化应激从而缓解 C-BSA 诱导的膜性肾病大鼠的肾脏病变,在膜性肾病的防治中具备潜在临床运用价值,但其具体的作用机制仍需进一步深

入研究。

【参考文献】

- [1] TOMAS N M, HUBER T B, HOXHA E. Perspectives in Membranous Nephropathy[J]. Cell Tissue Res, 2021, 385(2): 405-422.
- [2] COUSER W G. Primary Membranous Nephropathy[J]. Clin J Am Soc Nephrol, 2017, 12(6): 983-997.
- [3] KRONBICHLER A, OH J, MEIJERS B, *et al.* Recent Progress in Deciphering the Etiopathogenesis of Primary Membranous Nephropathy[J]. Biomed Res Int, 2017, 2017: 1936372.
- [4] DEROSA G, MAFFIOLI P, SAHEBKAR A. Ellagic Acid and its Role in Chronic Diseases[J]. Adv Exp Med Biol, 2016, 928: 473-479.
- [5] BARADARAN R V, GHADIRI M, RAMEZANI M, *et al.* Anti-inflammatory and Anti-Cancer Activities of Pomegranate and its Constituent, Ellagic Acid: Evidence From Cellular, Animal, and Clinical Studies[J]. Phytother Res, 2020, 34(4): 685-720.
- [6] AHAD A, GANAI A A, MUJEEB M, *et al.* Ellagic Acid, an NF-kappaB Inhibitor, Ameliorates Renal Function in Experimental Diabetic Nephropathy[J]. Chem Biol Interact, 2014, 219: 64-75.
- [7] FALLAHI E, O'DRISCOLL N A, MATAILLANAS D. The MST/Hippo Pathway and Cell Death: A Non-Canonical Affair[J]. Genes (Basel), 2016, 7(6): 28.
- [8] HU R, SAW C L, YU R, *et al.* Regulation of NF-E2-related Factor 2 Signaling for Cancer Chemoprevention: Antioxidant Coupled with Antiinflammatory[J]. Antioxid Redox Signal, 2010, 13(11): 1679-1698.
- [9] WANG P, GENG J, GAO J, *et al.* Macrophage Achieves Self-Protection Against Oxidative Stress-Induced Ageing through the Mst-Nrf2 Axis[J]. Nat Commun, 2019, 10(1): 755.
- [10] 周翔, 成平, 陆衡程, 等. 鞣花酸缓解阿霉素诱导的大鼠局灶节段性肾小球硬化[J]. 河北医药, 2021, 43(12): 1780-1782.
- [11] CHEN J S, CHEN A, CHANG L C, *et al.* Mouse Model of Membranous Nephropathy Induced by Cationic Bovine Serum Albumin: Antigen Dose-Response Relations and Strain Differences[J]. Nephrol Dial Transplant, 2004, 19(11): 2721-2728.
- [12] JIANG H X, FENG Z, ZHU Z B, *et al.* Advances of the Experimental Models of Idiopathic Membranous Nephropathy (Review)[J]. Mol Med Rep, 2020, 21(5): 1993-2005.
- [13] RONCO P, DEBIEC H. Membranous Nephropathy: Current Understanding of Various Causes in Light of New Target Antigens[J]. Curr Opin Nephrol Hypertens, 2021, 30(3): 287-293.
- [14] MORONI G, PONTICELLI C. Secondary Membranous Nephropathy. A Narrative Review[J]. Front Med (Lausanne), 2020, 7: 611317.
- [15] WU L, LAI J, LING Y, *et al.* A Review of the Current Practice of Diagnosis and Treatment of Idiopathic Membranous Nephropathy in China[J]. Med Sci Monit, 2021, 27: e930097.
- [16] GU Y, XU H, TANG D. Mechanisms of Primary Membranous Nephropathy[J]. Biomolecules, 2021, 11(4): 513.

- [4] 苗天培. 基底细胞样型与非基底细胞样型三阴性乳腺癌的临床病理差异分析[D]. 河北: 河北大学, 2020.
- [5] BALIC M, THOMSEN C, HARBECK N, *et al.* St. Gallen/Vienna 2019: A Brief Summary of the Consensus Discussion on the Optimal Primary Breast Cancer Treatment[J]. *Breast Care (Basel)*, 2019, 14(2): 103-110.
- [6] DABBS DJ, CHIVUKULA M, CARTER G, *et al.* Basal phenotype of ductal carcinoma in situ: recognition and immunohistochemical profile[J]. *Modern Pathology*, 2006, 19(11): 1506-1511.
- [7] LIVASY, C A, KARACA G, NANDA R, *et al.* Phenotypic evaluation of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma[J]. *Modern Pathology*, 2005, 19(2): 264-271.
- [8] PENG Y, TANG P, CHEN B Y, *et al.* Update on Immunohistochemical Analysis in Breast Lesions[J]. *Archives of pathology & laboratory medicine (1976)*, 2017, 141(8): 1033-1051.
- [9] 任新瑜, 袁礼, 梁智勇, 等. 联合检测 CK5/6、CK14 和表皮生长因子受体对基底样三阴乳腺癌的诊断价值[J]. *协和医学杂志*, 2017, 8(21): 154-160.
- [10] 谢培煜. Sox10 蛋白、S100 蛋白、Melan A 在黑素细胞肿瘤中的表达及其诊断意义[D]. 福建: 福建医科大学, 2017.
- [11] IVANOV SV, PANACCIONE A, SEWELL A, *et al.* Diagnostic SOX10 gene signatures in salivary adenoid cystic and breast basal-like carcinomas[J]. *British journal of cancer*, 2013, 109(2): 444-451.
- [12] NELSONER, SHARMA R, ARGANI P, *et al.* Utility of Sox10 labeling in metastatic breast carcinomas[J]. *Human pathology*, 2017, 67: 205-210.
- [13] CIMINO-MATHEWSA, SUBHAWONG A P, ELWOOD H, *et al.* Neural crest transcription factor Sox10 is preferentially expressed in triple-negative and metaplastic breast carcinomas[J]. *Human pathology*, 2013, 44(6): 959-965.
- [14] HARBHAJANKA A, CHAHAR S, MISKIMEN K, *et al.* Clinicopathological, Immunohistochemical and molecular correlation of neural crest transcription factor SOX10 expression in triple negative breast carcinoma[J]. *Human Pathology*, 2018, 80: 163-169.
- [15] 霍德政. 跨种族比较研究在乳腺癌遗传流行病学研究的意义[C]. 全国肿瘤流行病学和肿瘤病因学学术会议论文集, 2015.
- [16] 张佳玉, 翟志伟, 李文倩, 等. 基底细胞样乳腺癌的诊治研究进展[J]. *现代肿瘤医学*, 2018, 26(23): 3882-3884.
- [17] 王昭君, 卢鸯鸯, 戴燕燕, 等. CK5/6 在浸润性乳腺癌中的表达及预后意义[J]. *医学研究杂志*, 2020, 49(12): 99-103.
- [18] CHIASY, THIKE A A, CHEOK P Y, *et al.* Utility of mammaglobin and gross cystic disease fluid protein-15 (GCDPF-15) in confirming a breast origin for recurrent tumors[J]. *The Breast*, 2010, 19(5): 355-359.
- [19] LUOMH, HUANG Y H, NI Y B, *et al.* Expression of mammaglobin and gross cystic disease fluid protein-15 in breast carcinomas[J]. *Human Pathology*, 2013, 44(7): 1241-1250.
- [20] KRINGS G, NYSTROM M, MEHDI I, *et al.* Diagnostic utility and sensitivities of GATA3 antibodies in triple-negative breast cancer[J]. *Human pathology*, 2014, 45(11): 2225-2232.
- [21] 杨宇琼. GATA3、GCDPF15 和 Mammaglobin 在原发和配对转移乳腺癌中替代分子分型的比较研究[D]. 桂林: 桂林医学院, 2017.
- [22] 彭辉, 李伟平, 杨海峰, 等. 1009 例乳腺癌 GATA3 免疫组化染色结果分析[J]. *临床与实验病理学杂志*, 2018, 34(12): 1369-1371.
- [23] TOZBIKIAN G H, ZYNGERDL. A combination of GATA3 and SOX10 is useful for the diagnosis of metastatic triple-negative breast cancer[J]. *Human pathology*, 2019, 85: 221-227.
- [24] APHIVATANASIRI C, LI J, CHAN R, *et al.* Combined SOX10 GATA3 is most sensitive in detecting primary and metastatic breast cancers; a comparative study of breast markers in multiple tumors[J]. *Breast cancer research and treatment*, 2020, 184(1): 11-21.
- [25] QAZI M S, MCGREGOR S M. Combined use of SOX10 and GATA3 in mammary carcinoma[J]. *Pathology, research and practice*, 2020, 216(2): 152801-152801.
- [26] 李杰, 李芳, 刘月平, 等. 三阴型乳腺癌中 AR、SOX10、EGFR 和 PD-L1 的表达及临床意义[J]. *临床与实验病理学杂志*, 2021, 37(3): 344-347.

(收稿日期: 2022-01-11; 修回日期: 2022-05-15; 编辑: 王小菊)

(上接第 166 页)

- [17] XU Z, CHEN L, XIANG H, *et al.* Advances in Pathogenesis of Idiopathic Membranous Nephropathy[J]. *Kidney Dis (Basel)*, 2020, 6(5): 330-345.
- [18] WANG Y, YANG Q, SHEN S, *et al.* Mst1 Promotes Mitochondrial Dysfunction and Apoptosis in Oxidative Stress-Induced Rheumatoid Arthritis Synoviocytes[J]. *Aging (Albany NY)*, 2020, 12(16): 16211-16223.
- [19] KASAI S, SHIMIZU S, TATARA Y, *et al.* Regulation of Nrf2 by Mitochondrial Reactive Oxygen Species in Physiology and Pathology[J]. *Biomolecules*, 2020, 10(2): 320.
- [20] WANG Y, LI J, GAO Y, *et al.* Hippo Kinases Regulate Cell

Junctions to Inhibit Tumor Metastasis in Response to Oxidative Stress[J]. *Redox Biol*, 2019, 26: 101233.

- [21] ZHAO L, MEHMOOD A, SOLIMAN M M, *et al.* Protective Effects of Ellagic Acid Against Alcoholic Liver Disease in Mice[J]. *Front Nutr*, 2021, 8: 744520.
- [22] CECI C, LACAL P M, TENTORI L, *et al.* Experimental Evidence of the Antitumor, Antimetastatic and Antiangiogenic Activity of Ellagic Acid[J]. *Nutrients*, 2018, 10(11): 1756.
- [23] LI X, HUANG K, LIU X, *et al.* Ellagic Acid Attenuates BLM-Induced Pulmonary Fibrosis via Inhibiting Wnt Signaling Pathway[J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12(12): 639574.

(收稿日期: 2022-04-12; 修回日期: 2022-06-05; 编辑: 王小菊)