

# Gal-3 通过 ERK1/2 通路诱导血管平滑肌细胞增殖促进大鼠动静脉内瘘狭窄发生的机制\*

孙利军 阮琳 赵文婷 任广伟

(河北医科大学第一医院肾内科, 河北 石家庄 050031)

**【摘要】** 目的 探讨半乳糖凝集素-3(Gal-3)诱导血管平滑肌细胞增殖及促进大鼠动静脉内瘘(AVF)狭窄发生的作用,并探讨可能机制。**方法** 取 30 只 AVF 大鼠,随机数字法分为 AVF 组、柑橘果胶组、联合组,每组 10 只;另取 10 只大鼠行假手术,设为假手术组。联合组灌胃柑橘果胶生理盐水溶液(含柑橘果胶 0.15 mg/kg),尾静脉注射表皮生长因子[细胞外信号调节激酶(ERK)通路激动剂(EGF)](10  $\mu$ g/kg);柑橘果胶组灌胃柑橘果胶生理盐水溶液(0.15 mg/kg),尾静脉注射等体积 PBS;假手术组、AVF 组灌胃等量生理盐水,尾静脉注射等体积 PBS。每日 1 次。干预 4 周。MTT 法检测血管平滑肌细胞增殖能力;ELISA 法检测血清炎症因子[肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、白介素-6(IL-6)]水平;ELISA 法检测血管组织转化生长因子- $\beta$ 1(TGF- $\beta$ 1)、血管内皮细胞生长因子(VEGF)水平;Western blot 法检测血管组织 p38 丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)、p-p38 MAPK、ERK1/2、p-ERK1/2 蛋白表达量。**结果** 与 AVF 组比较,柑橘果胶组 24、48、72 h 吸光度值,血清 TNF- $\alpha$ 、IL-6 水平,血管组织 TGF- $\beta$ 1、VEGF 水平,p-p38 MAPK/p38 MAPK、p-ERK1/2/ERK1/2 降低( $P < 0.05$ );与柑橘果胶组比较,联合组 24、48、72 h 吸光度值,血清 TNF- $\alpha$ 、IL-6 水平,血管组织 TGF- $\beta$ 1、VEGF 水平,p-p38 MAPK/p38 MAPK、p-ERK1/2/ERK1/2 升高( $P < 0.05$ )。**结论** Gal-3 抑制剂改良柑橘果胶可抑制血管平滑肌细胞增殖及炎症反应,缓解 AVF 狭窄,并抑制 ERK 信号通路活性。

**【关键词】** 血液透析;半乳糖凝集素-3;细胞外信号调节激酶;血管平滑肌细胞;细胞增殖;动静脉内瘘狭窄

**【中图分类号】** R459.5 **【文献标志码】** A **DOI:**10. 3969/j. issn. 1672-3511. 2023. 03. 004

## Mechanism of Galectin-3-induced vascular smooth muscle cell proliferation through ERK1/2 pathway to promote arteriovenous fistula stenosis in rats

SUN Lijun, RUAN Lin, ZHAO Wenting, REN Guangwei

(Department of Nephrology, The First Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050031, China)

**【Abstract】 Objective** To explore the effect of Galectin-3 (Gal-3) on the proliferation of vascular smooth muscle cells and the stenosis of arteriovenous fistula (AVF) in rats and explore the possible mechanism. **Methods** Thirty AVF rats were selected and randomly divided into AVF group, citrus pectin group and combination group, 10 in each group. Another 10 rats were sham-operated and set as the sham-operated group. The combination group was given citrus pectin (0.15 mg/kg) by gavage, and epidermal growth factor [extracellular signal-regulated kinase (ERK) pathway agonist (EGF)] (10  $\mu$ g/kg) was injected into the tail vein. In the citrus pectin group, citrus pectin (0.15 mg/kg) was administered by gavage, and an equal volume of PBS was injected into the tail vein. The sham operation group and the AVF group were given the same volume of normal saline, and the same volume of PBS was injected into the tail vein. One time a day. Intervention for 4 weeks. The proliferation ability of vascular smooth muscle cells was detected by MTT method. The levels of serum inflammatory factors tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) and interleukin-6 (IL-6) were detected. The levels of vascular tissue transforming growth factor- $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1) and vascular endothelial growth factor (VEGF) were detected. Western blot was used to detect the protein expressions of p38 mitogen-activated protein kinase (MAPK), p-

基金项目:河北省重点研发计划项目(21377747D)

通讯作者:任广伟,E-mail:pian06698144477702@163.com

引用本文:孙利军,阮琳,赵文婷,等. Gal-3 通过 ERK1/2 通路诱导血管平滑肌细胞增殖促进大鼠动静脉内瘘狭窄发生的机制[J]. 西部医学,

2023,35(3):331-335,340. DOI:10. 3969/j. issn. 1672-3511. 2023. 03. 004

p38 MAPK, ERK1/2 and p-ERK1/2 in vascular tissue. **Results** Compared with the AVF group, the absorbance values at 24, 48, and 72 h, serum TNF- $\alpha$ , IL-6 levels, vascular tissue TGF- $\beta$ 1, VEGF levels, p-p38 MAPK/p38 MAPK, p-ERK1/2/ERK1/2 were decreased in the citrus pectin group ( $P < 0.05$ ). Compared with the citrus pectin group, the absorbance values at 24, 48, and 72 h, serum TNF- $\alpha$ , IL-6 levels, vascular tissue TGF- $\beta$ 1, VEGF levels, p-p38 MAPK/p38 MAPK, p-ERK1/2/ERK1/2 were increased in the combined group ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Gal-3 inhibitor modified citrus pectin can inhibit the proliferation and inflammatory response of vascular smooth muscle cells, and relieve AVF stenosis, and inhibit the activity of ERK signaling pathway.

**【Key words】** Hemodialysis; Galectin-3; Extracellular signal-regulated kinase; Vascular smooth muscle cells; Cell proliferation; Arteriovenous fistula stenosis

血液透析是终末期肾衰竭患者主要肾脏替代方案,安全、稳定的血管通路是保证透析顺利、高效进行的必要条件。自体动静脉内瘘(Arteriovenous fistula, AVF)是首选及最常用的血管通路方案,具有手术成熟度高、耐受性强、感染率低、副作用低等优点,被称为尿毒症患者的“生命通路”<sup>[1-2]</sup>。但血管管腔狭窄或堵塞、血栓形成造成的通道内血流量下降容易造成 AVF 失功,据统计,造瘘 1 年后畅通率仅为 60%,是造瘘患者住院率居高不下的主要原因<sup>[3-4]</sup>。内膜增生是引起 AVF 血管狭窄致失功的重要原因,而炎症反应、血管平滑肌细胞增生和迁移增强以及氧化应激反应等病理改变是造成内膜增生的主要机制<sup>[5]</sup>。目前,临床对 AVF 狭窄尚无明确有效治疗药物,或通过紫杉醇及雷帕霉素作用于血管吻合处,用以抑制平滑肌细胞增殖,从而延缓 AVF 狭窄<sup>[6]</sup>。半乳糖凝集素-3 (Galectin-3, Gal-3)是反映缺血性血管疾病严重程度的标志性指标之一<sup>[7]</sup>。前期研究结果显示,其高表达可促进血管内膜增生。然而,关于其对 AVF 狭窄的影响作用研究尚少,且缺乏对应的机制研究。本研究通过建立 AVF 大鼠模型,观察 Gal-3 抑制剂改良柑橘果胶对其血管平滑肌细胞增殖及内瘘狭窄的发生影响。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

1.1.1 实验动物 SD 大鼠 40 只,SPF 级,雄性,6 周龄,体质量(170 $\pm$ 15)g,购于上海南方模式生物科技股份有限公司[生产许可 SCXK(沪)2017-0010]。本实验大鼠的处理符合动物伦理委员会要求,并经医院伦理委员会审核通过。

1.1.2 药物、主要试剂及仪器 Gal-3 抑制剂改良柑橘果胶(纯度:99%,上海联迈生物工程有限公司),细胞外信号调节激酶(Extracellular signal-regulated kinase, ERK)通路激动剂表皮生长因子(Epidermal growth factor, EGF)(美国 Sigma 公司),PBS(南京森贝伽生物科技有限公司),肿瘤坏死因子- $\alpha$ (Tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、白介素-6 (Interleukin-6,

IL-6)、转化生长因子- $\beta$ 1 (Transforming growth factor- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 1)、血管内皮细胞生长因子(Vascularendothelial growth factor, VEGF)试剂盒(上海酶联生物科技有限公司),兔抗大鼠 p38 丝裂原活化蛋白激酶(Mitogen-activated protein kinase, MAPK)、p-p38 MAPK、ERK1/2、p-ERK1/2 一抗[艾比玛特医药科技(上海)有限公司]。3550UV 酶标仪(美国 Bio-Rad 公司),BX53 显微镜(日本 Olympus 株式会社)。

### 1.2 方 法

1.2.1 建立 AVF 模型 大鼠适应性喂养 1 周后,根据文献<sup>[8]</sup>建立 5/6 肾切除大鼠 AVF 模型,腹腔注射戊巴比妥钠麻醉,开腹弧形切除 2/3 右肾,一周后切除左肾,术后一周颈部备皮,颈正中右侧切开一 1.5 cm 斜切口,剪开皮下肌肉组织,分离右颈外静脉,结扎分支游离静脉 8 mm,结扎远端并经肝素钠冲洗;分离右颈动脉阻断血流,结扎远端后离断,将断端与静脉端经导管吻合,动脉血成功自吻合口流入,静脉扩张良好即表明建模成功,逐层缝合切口,连续 3 d 腹腔注射青霉素 10 万 IU/只预防感染。

1.2.2 干预及分组 30 只大鼠建立 AVF 模型,全部成功,随机数字法分为 AVF 组、柑橘果胶(Gal-3 抑制剂)组、联合组,每组各 10 只;另取 10 只大鼠仅剥离肾脏包膜,分离右颈外静脉及颈动脉,设为假手术组。联合组灌胃柑橘果胶生理盐水溶液(含柑橘果胶 0.15 mg/kg)<sup>[9]</sup>,2 h 后尾静脉注射 EGF(10  $\mu$ g/kg)<sup>[10]</sup>;柑橘果胶组灌胃柑橘果胶生理盐水溶液(0.15 mg/kg),2 h 后尾静脉注射等体积 PBS;假手术组、AVF 组灌胃等量生理盐水,2 h 后尾静脉注射等体积 PBS。每日 1 次。干预 4 周。

1.2.3 组织取材 末次干预结束后,戊巴比妥钠麻醉,无菌环境下抽取腹主动脉血,低温离心机分离血清,置于 4  $^{\circ}$ C 冰箱冷藏保存,采血后剥离颈动脉及内瘘血管,切取主动脉血管及吻合处中心 1.5 cm 内瘘血管(假手术组切取同位置静脉血管),剥离主动脉血管内外膜,剪碎后胶原酶消化得到原代血管平滑肌细胞,接种于无菌培养皿传代培养,取 P3 代对数期细胞

用于后续实验;切取部分吻合处内瘘血管组织,固定于 4%多聚甲醛 24 h,常规脱水、透明、浸蜡、包埋,切为 4  $\mu\text{m}$  厚度病理切片用于 HE 染色,另一份置于 -80  $^{\circ}\text{C}$  冰箱冷冻保存,用于生长因子及组织蛋白检测。

1.2.4 MTT 法检测血管平滑肌细胞增殖能力 取 P3 代对数期血管平滑肌细胞,胰酶消化、重悬,调整细胞密度为  $1 \times 10^6$  个/mL 接种至 96 孔板,加入 DMEM 培养液常规培养,待培养至 24、36、72 h 时,分别加入新制备 MTT 溶液 20  $\mu\text{L}$ ,2 h 后吸弃上清,加入 DMSO 振荡 20 min,待晶体全部溶解,经酶标仪测定 490 nm 波长位置各孔吸光度值。

1.2.5 ELISA 法检测血清炎症因子水平 取冷藏保存血清,经 ELISA 法测定血清炎症因子 TNF- $\alpha$ 、IL-6 含量,根据试剂盒说明书要求设计并操作实验,在 450 nm 波长位置经酶标仪测定吸光度值,绘出标准曲线计算血清 TNF- $\alpha$ 、IL-6 浓度。

1.2.6 ELISA 法检测内瘘血管组织 TGF- $\beta$ 1、VEGF 水平 取冷冻保存内瘘血管组织,低温研钵研磨,生理盐水匀浆,低温离心 10 min(3000 r/min,  $r=8$  cm)取上清,经 ELISA 法测定血管组织匀浆液 TGF- $\beta$ 1、VEGF 含量,根据试剂盒说明书要求设计并操作实验,在 450 nm 波长位置经酶标仪测定吸光度值,绘出标准曲线计算血管组织匀浆液 TGF- $\beta$ 1、VEGF 浓度。

1.2.7 HE 染色观察内瘘血管组织形态改变 取内瘘血管组织切片,脱蜡复水,蒸馏水冲洗,常规 HE 染色,脱水、透明、干燥后,滴加中性树脂封固,光镜下观察内瘘血管组织形态改变,随机选取 5 个不重复视野拍照记录。

1.2.8 Western blot 法检测血管组织 p38 MAPK、p-p38 MAPK、ERK1/2、p-ERK1/2 蛋白表达量 取冷冻保存内瘘血管组织,研磨、匀浆后加入 RIPA 液裂解细胞,低温离心 12 min(10000 r/min,  $r=10$  cm)取上清,BCA 试剂盒测定蛋白浓度。取 50  $\mu\text{g}$  待测样品,与适量上样缓冲液混匀,100  $^{\circ}\text{C}$  变性蛋白,恒压 80 V 行上样电泳分离,跑胶结束后转移至 PVDF 膜,加入 BSA 封闭液(溶于 TBST)封闭,将膜转移至兔抗大鼠 p38 MAPK、p-p38 MAPK、ERK1/2、p-ERK1/2 一抗(稀释比例 1:500)中孵育过夜, TBST 清洗,转移至二抗(稀释比例 1:2000)中室温孵育 2 h, TBST 清洗,浸入 ECL 液发光,置于暗盒显色,经成像分析仪扫描并分析蛋白条带灰度值,以 GAPDH 为内参蛋白,分析 p38 MAPK、p-p38 MAPK、ERK1/2、p-ERK1/2 蛋白相对表达水平。计算 p-p38 MAPK/p38 MAPK、p-ERK1/2/ERK1/2。

1.3 统计学分析 采用 SPSS 25.0 统计软件分析数

据,计量资料以均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,多样本资料比较采用单因素方差分析,两两样本采用 LSD- $t$  比较。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 各组大鼠血管平滑肌细胞增殖能力比较 与假手术组比较,AVF 组 24、48、72 h 吸光度值均升高( $P < 0.05$ );与 AVF 组比较,柑橘果胶组 24、48、72 h 吸光度值均降低( $P < 0.05$ );与柑橘果胶组比较,联合组 24、48、72 h 吸光度值均升高( $P < 0.05$ )。见表 1。

表 1 各组大鼠血管平滑肌细胞 MTT 吸光度值比较( $\bar{x} \pm s$ )

Table 1 Comparison of MTT absorbance values of rat vascular smooth muscle cells in each group

组别	<i>n</i>	24 h	48 h	72 h
假手术组	10	0.10 $\pm$ 0.01	0.18 $\pm$ 0.01	0.37 $\pm$ 0.02
AVF 组	10	0.54 $\pm$ 0.04 <sup>①</sup>	0.77 $\pm$ 0.04 <sup>①</sup>	0.94 $\pm$ 0.07 <sup>①</sup>
柑橘果胶组	10	0.21 $\pm$ 0.01 <sup>②</sup>	0.41 $\pm$ 0.03 <sup>②</sup>	0.54 $\pm$ 0.04 <sup>②</sup>
联合组	10	0.35 $\pm$ 0.02 <sup>③</sup>	0.56 $\pm$ 0.03 <sup>③</sup>	0.68 $\pm$ 0.04 <sup>③</sup>

注:与假手术组比较,① $P < 0.05$ ;与 AVF 组比较,② $P < 0.05$ ;与柑橘果胶组比较,③ $P < 0.05$ 。

2.2 各组大鼠血清炎症因子 TNF- $\alpha$ 、IL-6 水平比较 与假手术组比较,AVF 组血清 TNF- $\alpha$ 、IL-6 水平均升高( $P < 0.05$ );与 AVF 组比较,柑橘果胶组血清 TNF- $\alpha$ 、IL-6 水平均降低( $P < 0.05$ );与柑橘果胶组比较,联合组血清 TNF- $\alpha$ 、IL-6 水平均升高( $P < 0.05$ )。见表 2。

表 2 各组大鼠血清炎症因子 TNF- $\alpha$ 、IL-6 水平比较( $\bar{x} \pm s$ , pg/mL)

Table 2 Comparison of the levels of serum inflammatory factors TNF- $\alpha$  and IL-6 in each group of rats

组别	<i>n</i>	TNF- $\alpha$	IL-6
假手术组	10	36.79 $\pm$ 2.24	26.11 $\pm$ 1.29
AVF 组	10	187.87 $\pm$ 13.10 <sup>①</sup>	84.94 $\pm$ 5.06 <sup>①</sup>
柑橘果胶组	10	73.87 $\pm$ 6.46 <sup>②</sup>	47.75 $\pm$ 3.88 <sup>②</sup>
联合组	10	118.54 $\pm$ 8.51 <sup>③</sup>	69.29 $\pm$ 4.84 <sup>③</sup>

注:与假手术组比较,① $P < 0.05$ ;与 AVF 组比较,② $P < 0.05$ ;与柑橘果胶组比较,③ $P < 0.05$ 。

2.3 各组大鼠内瘘血管组织 TGF- $\beta$ 1、VEGF 水平比较 与假手术组比较,AVF 组内瘘血管组织 TGF- $\beta$ 1、VEGF 水平均升高( $P < 0.05$ );与 AVF 组比较,柑橘果胶组内瘘血管组织 TGF- $\beta$ 1、VEGF 水平均降低( $P < 0.05$ );与柑橘果胶组比较,联合组内瘘血管组织 TGF- $\beta$ 1、VEGF 水平均升高( $P < 0.05$ )。见表 3。

2.4 内瘘血管组织病理变化 HE 染色结果显示,假手术组静脉血管内膜厚度、管腔宽度正常;AVF 组吻合处血管内膜增生明显,可见大量平滑肌细胞及成纤维细胞堆积,管腔狭窄明显几近封闭;柑橘果胶组、联合组吻合处血管内膜增厚,管腔稍有狭窄,可见部分

表 3 各组大鼠内瘘血管组织 TGF-β1、VEGF 水平比较( $\bar{x} \pm s$ , pg/mL)

Table 3 Comparison of TGF-β1 and VEGF levels in internal fistula vascular tissue of rats in each group

组别	n	TGF-β1	VEGF
假手术组	10	49.71±3.37	49.25±2.33
AVF 组	10	139.70±7.25 <sup>①</sup>	117.30±7.86 <sup>①</sup>
柑橘果胶组	10	68.85±3.71 <sup>②</sup>	64.45±5.14 <sup>②</sup>
联合组	10	93.25±6.06 <sup>③</sup>	84.98±6.37 <sup>③</sup>

注:与假手术组比较,①P<0.05;与 AVF 组比较,②P<0.05;与柑橘果胶组比较,③P<0.05。

平滑肌细胞及成纤维细胞堆积,柑橘果胶组病理改善较联合组更为明显。见图 1。

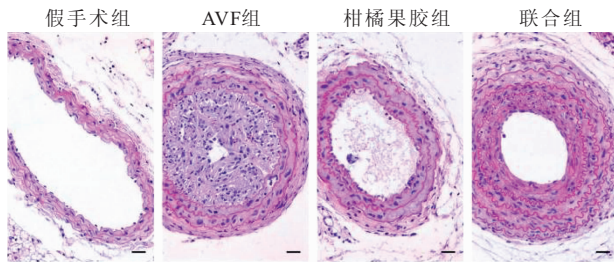


图 1 内瘘血管内膜及管腔(100×, 标尺 100 μm)

Figure 1 Intima and lumen of internal fistula

2.5 各组大鼠内瘘血管组织 p-p38 MAPK/p38 MAPK、p-ERK1/2/ERK1/2 比较 与假手术组比较, AVF 组内瘘血管组织 p-p38 MAPK/p38 MAPK、p-ERK1/2/ERK1/2 均升高(P<0.05);与 AVF 组比较,柑橘果胶组内瘘血管组织 p-p38 MAPK/p38 MAPK、p-ERK1/2/ERK1/2 均降低(P<0.05);与柑橘果胶组比较,联合组内瘘血管组织 p-p38 MAPK/p38 MAPK、p-ERK1/2/ERK1/2 均升高(P<0.05)。见表 4、图 2。

表 4 各组大鼠内瘘血管组织 p-p38 MAPK/p38 MAPK、p-ERK1/2/ERK1/2 比较( $\bar{x} \pm s$ )

Table 4 Comparison of p-p38 MAPK/p38 MAPK and p-ERK1/2/ERK1/2 in internal fistula vascular tissue of rats in each group

组别	n	p-p38 MAPK/p38 MAPK	p-ERK1/2/ERK1/2
假手术组	10	0.11±0.01	0.06±0.01
AVF 组	10	0.52±0.03 <sup>①</sup>	0.57±0.03 <sup>①</sup>
柑橘果胶组	10	0.24±0.02 <sup>②</sup>	0.14±0.01 <sup>②</sup>
联合组	10	0.39±0.03 <sup>③</sup>	0.29±0.03 <sup>③</sup>

注:与假手术组比较,①P<0.05;与 AVF 组比较,②P<0.05;与柑橘果胶组比较,③P<0.05。

### 3 讨论

AVF 是指将静脉和动脉连通,使动脉血在静脉血管流动,从而达到增厚静脉血管壁(可承受反复穿刺),增加血流量(可使血液透析更加充分)的功效<sup>[11]</sup>。

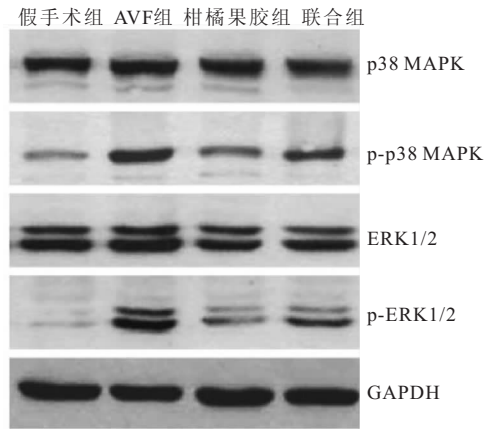


图 2 内瘘血管组织 p38 MAPK、p-p38 MAPK、ERK1/2、p-ERK1/2 蛋白表达

Figure 2 Expression of p38 MAPK, p-p38 MAPK, ERK1/2, and p-ERK1/2 protein in vascular tissue of internal fistula

临床研究表明,AVF 失功与诸多因素相关,高龄、糖尿病史、高 BMI 值、吸烟史、高脂血症、高血压等均是其失功的危险因素,其失功机制尚未完全阐明,多认为与血管内皮损伤、过量炎症反应、氧化应激损伤及血流动力学异常等因素相关,其中炎症反应被认为是其重要机制之一<sup>[12]</sup>。内瘘穿刺诱发局部炎症反应,作用于血管内膜,诱发氧化应激高表达,吞噬细胞聚于穿刺处,加剧内皮损伤并大量释放相应趋化因子,改变平滑肌细胞表型,促进其增殖及迁移,同时增加细胞外基质合成分泌,导致内膜异常增生及血管壁重构,引发内瘘血管狭窄,AVF 失功<sup>[13]</sup>。因此,抑制炎症反应及平滑肌细胞增殖是治疗 AVF 狭窄的关键。

TNF-α、IL-6 是急性期反应重要细胞因子,二者联合作用可促进免疫细胞增殖分化,诱导中性粒细胞脱颗粒,促进细胞氧化代谢从而加重内皮损伤,并刺激内皮细胞合成凝血酶,加重纤维蛋白沉积<sup>[14]</sup>。TGF-β1 是由血小板分泌的一种高效促纤维化细胞因子,可促进细胞外基质蛋白合成并阻止新生基质降解,从而加重血管内皮增生<sup>[15]</sup>。研究发现,动静脉内瘘血管内膜 TGF-β1 过度活化不利于内瘘成熟<sup>[16]</sup>。VEGF 是机体重要的血管生成因子,可驱动平滑肌细胞、成纤维细胞在内膜聚集,并促进其增殖,同时诱导免疫细胞聚于损伤部位,增强局部炎症反应<sup>[17]</sup>。Gal-3 是一种糖粘蛋白凝集素,在机体内广泛分布,作为血管生成的重要介质之一,可与内皮细胞直接结合,激活细胞周期蛋白,并抑制相关蛋白质水解酶活性,从而激活成纤维细胞,增加胞外基质,并与其他整合素联合作用介导血管内皮细胞迁移<sup>[18]</sup>。改良柑橘果胶是 Gal-3 特异性抑制剂,可抗炎、抗氧化、降血脂<sup>[19]</sup>。Cao 等<sup>[20]</sup>研究认为,外源性 Gal-3 可增加肺动

脉平滑肌细胞增殖及迁移能力,增厚血管内壁并加速肺血管重构,其抑制剂可减弱这些作用,从而治疗由此引发肺动脉高压,提示 Gal-3 抑制剂或可成为抑制血管内膜增生潜在治疗药物。本研究结果显示,与 AVF 组比较,柑橘果胶组 24、48、72 h 吸光度值,血清 TNF- $\alpha$ 、IL-6 水平,内瘘血管组织 TGF- $\beta$ 1、VEGF 水平均降低,管腔增宽,提示 Gal-3 抑制剂可抑制血管平滑肌细胞增殖及炎症反应,缓解 AVF 狭窄。

ERK 属于丝裂原活化蛋白激酶家族成员,广泛参与多种胞外刺激传导途径,在细胞增殖、迁移、变性等多个细胞过程中扮演重要角色,其中 p38 MAPK、ERK1/2 是该通路主要效应蛋白<sup>[21]</sup>。p38 MAPK 被上游蛋白激活并磷酸化,由胞质转移至核内,促进下游酶蛋白转录,引发 MAPK 三级酶促连接反应,最终活化底物蛋白 ERK1/2,介导多个促增殖因子胞内信息传递,发挥其促进血管内皮细胞增殖、迁移,加剧内膜增生的作用<sup>[22]</sup>。Pan 等<sup>[23]</sup>报道,抑制 ERK 通路可减少球囊损伤大鼠血管新内膜形成,从而改善血管内膜增生及其诱发的血管再狭窄。水蛭素通过抑制 ERK/MAPK 信号通路可诱导 VEGF 表达,从而促进大鼠缺血皮瓣新生血管形成<sup>[24]</sup>。本研究结果显示,与假手术组比较,AVF 组内瘘血管组织 p-p38 MAPK/p38 MAPK、p-ERK1/2/ERK1/2 升高,经 Gal-3 抑制剂干预后均降低,且在 Gal-3 抑制剂基础上增用 ERK 通路激动剂 EGF 可减弱 Gal-3 抑制剂对 AVF 狭窄的治疗作用,提示 ERK 通路在 AVF 狭窄中被异常激活,Gal-3 抑制剂可抑制该通路活性。

#### 4 结论

Gal-3 抑制剂改良柑橘果胶可抑制血管平滑肌细胞增殖及炎症反应,缓解 AVF 狭窄,并抑制 ERK 信号通路活性。

#### 【参考文献】

[1] HUO C, WANG L, WANG Q, *et al.* Hydroxysafflor yellow a inhibits the viability and migration of vascular smooth muscle cells induced by serum from rats with chronic renal failure via inactivation of the PI3K/Akt signaling pathway[J]. *Exp Ther Med*, 2021, 22(2): 850.

[2] 程艺,王卉,刘辉,等. 血液透析自体动静脉内瘘失功患者血浆 Lp-PLA2 水平变化及意义[J]. *临床肾脏病杂志*, 2020, 20(1): 42-46.

[3] 朱晓影,周美玲,吴靖. 球囊扩张治疗血透患者动静脉内瘘狭窄的效果观察及围手术期护理[J]. *中国现代医生*, 2017, 55(2): 146-149.

[4] 阮强,李昭辉,黄强,等. Fogarty 导管取栓联合高压球囊腔内成形术在老年血液透析患者自体动静脉内瘘狭窄伴血栓形成中的应用[J]. *中华老年多器官疾病杂志*, 2021, 20(12): 903-907.

[5] 张燕子,隋晓露,许云鹏,等. 大鼠动静脉内瘘失功时血管内膜病理改变和血管剪切应力的相关研究[J]. *中国血液净化*, 2022, 21(5): 356-360.

[6] CSIKY B, SCHÖMIG M, ESPOSITO C, *et al.* Roxadustat for the maintenance treatment of anemia in patients with end-stage kidney disease on stable dialysis: a european phase 3, randomized, open-label, active-controlled study (PYRENEES) [J]. *Adv Ther*, 2021, 38(10): 5361-5380.

[7] 邓虹,王旭,闻建帆,等. 血清半乳糖凝集素-3、正五聚体蛋白-3 水平与慢性心力衰竭患者心室重构及预后的关系[J]. *中国老年学杂志*, 2020, 40(19): 4057-4059.

[8] 郑尘非,张周伦,徐利驾,等. 5/6 肾切除大鼠自体动静脉内瘘模型的建立[J]. *中华肾脏病杂志*, 2012, 28(4): 331-332.

[9] 王宏刚,杨光,姜乐. Galectin-3 抑制剂通过降低 Gal-3 的表达和心肌纤维化改善大鼠缺血性心力衰竭的机制研究[J]. *临床和实验医学杂志*, 2021, 20(15): 1578-1582.

[10] LIU C H, HUA N, FU X, *et al.* Metformin regulates atrial SK2 and SK3 expression through inhibiting the PKC/ERK signaling pathway in type 2 diabetic rats[J]. *BMC Cardiovasc Disord*, 2018, 18(1): 236.

[11] YANG H H, XU Y X, CHEN J Y, *et al.* N-Butylidenephthalide Inhibits the phenotypic switch of VSMCs through Activation of AMPK and prevents stenosis in an arteriovenous fistula rat model[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(19): 7403.

[12] SHIH Y C, CHEN P Y, KO T M, *et al.* MMP-9 deletion attenuates arteriovenous fistula neointima through reduced perioperative vascular inflammation[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(11): 5448.

[13] HERNANDEZ D R, APPLEWHITE B, MARTINEZ L, *et al.* Inhibition of lysyl oxidase with  $\beta$ -aminopropionitrile improves venous adaptation after arteriovenous fistula creation[J]. *Kidney360*, 2021, 2(2): 270-278.

[14] KOH S S, OOI S C, LUI N M, *et al.* Effect of ergothioneine on 7-ketocholesterol-induced endothelial injury[J]. *Neuromolecular Med*, 2021, 23(1): 184-198.

[15] WANG P, YANG Y, WANG D, *et al.* Cinnamaldehyde ameliorates vascular dysfunction in diabetic mice by activating Nrf2 [J]. *Am J Hypertens*, 2020, 33(7): 610-619.

[16] 舒英,殷俊,陈媛媛,等. 初次与再次动静脉内瘘术血液透析患者血管 TGF- $\beta$ 1Smad3 的表达及临床意义[J]. *西部医学*, 2021, 33(2): 266-270.

[17] PAN L, PENG Z, ZHANG R, *et al.* JANEX-1 improves acute pulmonary embolism through VEGF and FAK in pulmonary artery smooth muscle cells[J]. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2020, 245(15): 1395-1403.

[18] WESLEY U V, SUTTON I C, CUNNINGHAM K, *et al.* Galectin-3 protects against ischemic stroke by promoting neuroangiogenesis via apoptosis inhibition and Akt/Caspase regulation [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2021, 41(4): 857-873.

[19] SUN J, ZHANG L, FANG J, *et al.* Galectin-3 mediates high-glucose-induced cardiomyocyte injury by the NADPH oxidase/reactive oxygen species pathway[J]. *Can J Physiol Pharmacol*, 2020, 98(11): 826-833.

- women with systemic lupus erythematosus, and are associated with inflammatory oxidised lipids[J]. *Ann Rheum Dis*, 2011, 70(9): 1619-1624.
- [14] WANG Y, YU H, HE J. Role of dyslipidemia in accelerating inflammation, autoimmunity, and atherosclerosis in systemic lupus erythematosus and other autoimmune diseases[J]. *Discov Med*, 2020, 30(159): 49-56.
- [15] HASSAN S Z, GHEITA T A, KENAWY S A, *et al*. Oxidative stress in systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis patients: relationship to disease manifestations and activity[J]. *Int J Rheum Dis*, 2011, 14(4): 325-331.
- [16] SUCIU C F, PRETE M, RUSCITTI P, *et al*. Oxidized low density lipoproteins: The bridge between atherosclerosis and autoimmunity. Possible implications in accelerated atherosclerosis and for immune intervention in autoimmune rheumatic disorders[J]. *Autoimmun Rev*, 2018, 17(4): 366-375.
- [17] SMALLWOOD M J, NISSIM A, KNIGHT A R, *et al*. Oxidative stress in autoimmune rheumatic diseases[J]. *Free Radic Biol Med*, 2018, 125: 3-14.
- [18] NIEVA J, WENTWORTH P J R. The antibody-catalyzed water oxidation pathway—a new chemical arm to immune defense? [J]. *Trends Biochem Sci*, 2004, 29(5): 274-278.
- [19] BABIOR B M, TAKEUCHI C, RUEDI J, *et al*. Investigating antibody-catalyzed ozone generation by human neutrophils[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(6): 3031-3034.
- [20] PENG K J, HUANG Y S, AN L N, *et al*. Effect of ozone produced from antibody-catalyzed water oxidation on pathogenesis of atherosclerosis[J]. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2006, 38(6): 417-422.
- [21] SHAH A, GRAY K, FIGG N, *et al*. Defective base excision repair of oxidative DNA damage in vascular smooth muscle cells promotes atherosclerosis[J]. *Circulation*, 2018, 138(14): 1446-1462.
- [22] DE MARCH M, DE BIASIO A. The dark side of the ring: role of the DNA sliding surface of PCNA[J]. *Crit Rev Biochem Mol Biol*, 2017, 52(6): 663-673.

(收稿日期:2022-05-09;修回日期:2022-12-22;编辑:刘灵敏)

(上接第 335 页)

- [20] CAO N, TANG X, GAO R, *et al*. Galectin-3 participates in PSMC migration and proliferation by interacting with TGF- $\beta$ 1 [J]. *Life Sci*, 2021, 274: 119347.
- [21] 陈燕伟, 马善波, 张蕊. 血府逐瘀汤联合替莫唑胺对脑胶质瘤大鼠 ERK/MAPK 信号通路的调节作用[J]. *西部医学*, 2021, 33(9): 1258-1263.
- [22] KANG H, TONG C, LI C, *et al*. miR-497 plays a key role in Tanshinone IIA-attenuated proliferation in OCI-AML3 cells via the MAPK/ERK1/2 pathway[J]. *Cytotechnology*, 2020, 72(3): 427-432.
- [23] PAN L, NI H, JIN W, *et al*. Inhibition of ERK or Akt ameliorates intimal hyperplasia via up-regulation of Cx37 and down-regulation of Cx43 in balloon injury rat model[J]. *Cardiovasc Diagn Ther*, 2020, 10(4): 658-666.
- [24] 高栋梁, 张雷, 王亚康, 等. 水蛭素对大鼠缺血皮瓣血管生成的促进作用及机制[J]. *西部医学*, 2020, 32(11): 1584-1588.

(收稿日期:2022-05-26;修回日期:2022-12-13;编辑:刘灵敏)