

DOI:10.3724/SP.J.1008.2011.00155

重组人促红细胞生成素促进小鼠缺血再灌注损伤肾脏 HO-1 表达

张 顺¹, 李 炎², 张 明¹, 张建军^{1*}

1. 上海交通大学医学院附属仁济医院器官移植中心, 上海 200127
2. 广东省第二人民医院器官移植中心, 广州 510317

[摘要] **目的** 观察重组人促红细胞生成素(rhEPO)对小鼠缺血再灌注损伤(IR)肾脏血红素加氧酶-1(HO-1) mRNA表达的影响,探讨 rhEPO 对 IR 的保护作用。**方法** 90 只雄性 C57BL/6 小鼠随机分为 3 组:假手术组($n=30$)、IR 组($n=30$)及 rhEPO 干预组($n=30$),分别于再灌注 1、2、3、6、24、48 h 处死小鼠取相应标本,处死前留血标本进行肾功能检测(血肌酐),采用 PAS 染色评估肾组织形态学改变、TUNEL 染色分析并比较各组凋亡细胞数量的变化,Real-time PCR 检测肾脏组织中 HO-1、白细胞介素 6(IL-6)mRNA 表达。**结果** 再灌注 3、6、24 h, rhEPO 干预组 HO-1 mRNA 表达高于 IR 组,差异有统计学意义($P<0.05$);再灌注 6、24、48 h rhEPO 干预组 IL-6 mRNA 表达低于 IR 组,差异有统计学意义($P<0.05$)。rhEPO 干预组 24 h 血肌酐含量与 IR 组相比降低($P<0.05$);rhEPO 干预组肾脏病变与 IR 组比较减轻。TUNEL 染色示:与假手术组相比,IR 组凋亡细胞数量增多($P<0.05$),rhEPO 处理后凋亡细胞数量少于 IR 组($P<0.05$)。**结论** rhEPO 可能通过促进小鼠肾脏 HO-1 表达对抗缺血再灌注损伤,减轻炎症损伤,改善肾功能。

[关键词] 再灌注损伤;缺血;肾;红细胞生成素;血红素加氧酶

[中图分类号] R 692 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2011)02-0155-05

Recombinant human erythropoietin promotes expression of HO-1 mRNA after renal ischemia reperfusion injury in mice

ZHANG Shun¹, LI Yan², ZHANG Ming¹, ZHANG Jian-jun^{1*}

1. Transplantation Center, Renji Hospital, Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai 200127, China
2. Transplantation Center, the Second People's Hospital of Guangdong, Guangzhou 510317, Guangdong, China

[Abstract] **Objective** To investigate the effects of recombinant human erythropoietin (rhEPO) on the expression of heme oxygenase-1(HO-1) mRNA after renal ischemia/reperfusion (IR) in mice. **Methods** Ninety male C57BL/6 mice were randomly divided into three groups, namely, the sham operation group ($n=30$), renal IR group ($n=30$), and rhEPO treatment group ($n=30$). Mice were sacrificed at 1, 2, 3, 6, 24, and 48 h after renal reperfusion, and the renal function was evaluated by determining blood creatinine. Histological damages were observed using a semi-quantitative histomorphological scoring system from 0 to 4. Cell apoptosis was analyzed by TUNEL staining in each group. HO-1 and IL-6 mRNA expression was examined by real-time PCR. **Results** Compared with renal IR group, the expression of HO-1 mRNA was significantly higher in rhEPO treatment group at 3, 6, and 24 h after reperfusion($P<0.05$). The expression of IL-6 mRNA was significantly lower in the rhEPO treatment group at 6, 24, and 48 h after reperfusion($P<0.05$). Serum creatinine level in the rhEPO treatment group was significantly lower than that in the renal IR group at 24 h after reperfusion($P<0.05$). Compared with the renal IR group, renal histology injury was greatly attenuated by rhEPO in rhEPO treatment group. TUNEL staining analysis indicated that the apoptotic cells in the IR group were significantly more than those in the sham operation group($P<0.05$), and those in the rhEPO treatment group was significantly less than those in the IR group($P<0.05$). **Conclusion** rhEPO can attenuate renal ischemia/reperfusion injury in mice, probably through promoting the renal expression of HO-1 mRNA.

[Key words] reperfusion injury; ischemia; kidney; erythropoietin; heme oxygenase-1

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2011, 32(2):155-159]

缺血再灌注(ischemia reperfusion, IR)损伤是器官移植中不可避免的损伤,可导致移植功能延迟恢复(delayed graft function, DGF),甚至功能丧失。供肾摘除前和摘除过程中,经历了短暂的热缺

[收稿日期] 2010-12-08 **[接受日期]** 2011-01-04

[基金项目] 上海市科委基金(09410706300). Supported by Grant of Shanghai Science and Technology Committee (09410706300).

[作者简介] 张 顺, 硕士生. E-mail: v2zs@hotmail.com

* 通信作者(Corresponding author). Tel: 021-68383755, E-mail: zhangjianjun@medmail.com.cn

血阶段,随后的低温保存过程中,供肾又经历了冷缺血阶段,直到移植后在受者体内恢复血流灌注,导致缺血再灌注损伤(IRI)^[1-2]。IRI不仅影响到移植肾早期功能的恢复,而且关系到移植肾的长期存活率^[1]。因此,减轻缺血再灌注损伤对移植肾的影响,提高其长期存活率是肾移植领域的研究热点之一。

促红细胞生成素(erythropoietin, EPO)不仅能改善和纠正贫血,还能显著减轻肾脏 IRI,保护肾脏结构和功能^[2]。因此,本实验拟通过建立小鼠肾缺血再灌注损伤模型,观察 EPO 对急性肾缺血再灌注损伤的保护作用,并探讨其可能的保护机制。

1 材料和方法

1.1 主要试剂 重组人促红细胞生成素(麒麟鲲鹏生物药业有限公司); TRIzol 试剂(Invitrogen 公司); PrimeScript[®] RT reagent Kit 及 SYBR[®] Premix Ex Taq[™](TaKaRa 公司)。TUNEL 检测试剂盒(Chemicon International 公司)。

1.2 实验动物及分组 雄性 C57BL/6 小鼠 90 只, 18~25 g(SPF 级,中国科学院上海实验动物中心),于无特殊病原体(SPF)级环境饲养,自由进食、饮水。根据实验设计,用随机数字表法将小鼠分为假手术(Sham)组、缺血再灌注(IR)损伤组、重组人促红细胞生成素(rhEPO)干预+IR 组,每组随机分配 30 只小鼠。

1.3 模型制作与标本收集 1%戊巴比妥钠(60 mg/kg)腹腔注射麻醉小鼠,置于带有温度控制的动物加热板上,维持小鼠体温在(36±0.3)℃,常规消毒皮肤,取腹正中切口,钝性分离双侧肾蒂,切除右侧肾脏后,无创动脉夹持续夹闭左侧肾蒂造成肾脏缺血,肾脏颜色由鲜红色逐渐转为暗紫色,持续夹闭 20 min 后松开动脉夹,恢复血流,肾脏颜色由暗紫色逐渐转为鲜红色,表明再灌注成功,双层缝合伤口。假手术组只分离肾蒂,切除右侧肾脏后,未夹闭左侧肾蒂,关腹。rhEPO 干预组为夹闭左侧肾蒂前 5 min 腹腔注射 rhEPO 5 000 IU/kg。各组术后均皮下给予 0.4 ml 0.9%氯化钠溶液补充体液。再灌注 1、2、3、6、24、48 h 后处死小鼠(每个时间点 5 只),切取左肾,剖成两半,一半留作病理,另一半置入液氮中做 Real-time PCR 用。

1.4 肾功能检测 小鼠再灌注 1、6、24 h 后再次麻醉并处死,获取腹主动脉血。血液样本室温静置 2 h 后分离血清,采用 Siemens Dade Behring Dimension Xpand 自动生化分析仪测定小鼠血清肌酐(Scr)水平。

1.5 肾组织学观察及定量分析 10%中性甲醛固定肾组织,脱水后进行石蜡包埋,切片厚度为 5 μm,

进行 PAS 染色,显微镜下观察肾脏病理改变。对出现的肾小管上皮细胞坏死、肾小管扩张、刷状缘脱落、管型的百分数进行半定量计数评估损伤程度,评分如下,0 分:正常;1 分:小于 25% 的损伤改变;3 分:损伤占标本的 50%~75%;4 分:损伤大于 75%^[3]。每只小鼠肾组织至少随机选择 3 个无重叠视野(×200),分数越高代表损伤程度越重。

1.6 TUNEL 染色分析细胞凋亡 取部分保存的肾脏组织,石蜡包埋切片后,按照 TUNEL 检测试剂盒说明操作,光学显微镜下观察。阳性染色结果为细胞核呈棕黄色或棕褐色。凋亡细胞定量:每只小鼠肾组织至少随机选择 3 个无重叠视野(×200),根据平均计数凋亡细胞数来评判细胞凋亡程度。

1.7 RT-PCR 检测血红素加氧酶-1(HO-1)、IL-6 mRNA 表达 取冻存肾组织约 50 mg,匀浆机匀浆后,TRIzol 法提取肾组织总 RNA,用 PrimeScript[®] RT reagent Kit 试剂盒反转录合成 cDNA。实时荧光相对定量 PCR;采用 SYBR Green 荧光染料法行实时定量 PCR 反应。反应体系 25 μl,包括 SYBR[®] Premix Ex Taq[™] 12.5 μl;10 μmol/L 引物各 0.5 μl;模板 1 μl 加双蒸水至 25 μl。反应条件:第一步 95℃ 30 s,第二步以 95℃ 5 s,60℃ 30 s 循环 40 次。靶基因的定量分析采用相对定量法,利用监测得到的 Ct 值和计算得到的扩增效率,以 β-actin 为参照,算待测基因 mRNA 相对表达量。实验重复 3 次。引物由 TaKaRa 公司设计及提供,序列见表 1。

表 1 PCR 引物序列

Tab 1 Sequence of primers for PCR

Gene	Primers(5'→3')
HO-1	Sense: TGC AGG TGA TGC TGA CAG AGG Anti-sense: GGG ATG AGC TAG TGC TGA TCT GG
IL-6	Sense: CCA CTT CAC AAG TCG GAG GCT TA Anti-sense: GCA AGT GCA TCA TCG TTG TTC ATA C
β-actin	Sense: CAT CCG TAA AGA CCT CTA TGC CAA C Anti-sense: ATG GAG CCA CCG ATC CAC A

1.8 统计学处理 采用 SPSS 11.0 统计软件包进行统计分析,各数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较用 *t* 检验、方差分析,检验水准(α)为 0.05。

2 结果

2.1 模型建立情况 所有实验小鼠均于术后 70 min 内清醒,2 h 内进水。实验小鼠术后存活率 100%,未出现腹腔感染等情况。

2.2 血浆肌酐水平检测 各组小鼠再灌注 1、6、24 h 血肌酐水平见图 1。IR 组小鼠再灌注 24 h 血肌

酞水平明显高于假手术组及 rhEPO 干预组(均 $P < 0.05$)。与 IR 组相比, rhEPO 干预组再灌注 24 h 血肌酐明显降低 ($P < 0.05$), 而 1 h 和 6 h IR 组与 rhEPO 干预组差异无统计学意义。

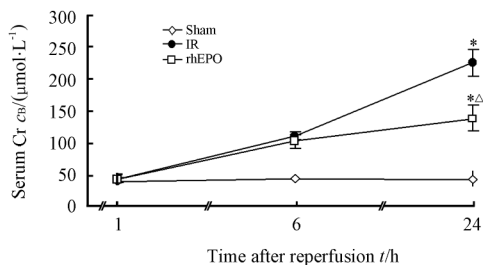


图1 各组血肌酐水平检测结果

Fig 1 Serum levels of blood creatinine analysis in mice

* $P < 0.05$ vs Sham group, $\Delta P < 0.05$ vs IR group; $n = 5$, $\bar{x} \pm s$

2.3 肾组织病理学检测 再灌注 24 h 肾组织 PAS 染色结果(图 2); IR 组肾脏病理变化明显, 皮髓交界处可见大片状坏死和出血。高倍镜观察可见广泛的肾小管上皮细胞坏死, 小管腔内有管型形成, 有炎症细胞浸润。肾集合管上皮细胞空泡变性和坏死, 腔内可见管型和坏死脱落的细胞, 肾间质血管高度扩张充血, 可见灶性出血。假手术组示病理结构基本正常。rhEPO 干预组与 IR 组相比损伤程度减轻, 大片坏死区明显减少, 仅见局灶性小管坏死, 很少见管型和坏死细胞, 间质充血、出血明显减轻。

2.4 肾脏组织病理学半定量评分 组织病理学评分结果表明: 经缺血 20 min 再灌注 24 h, IR 组为 (2.7 ± 0.53) 分, rhEPO 干预组为 (1.8 ± 0.54) 分, 假手术组为 0 分, 组间差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

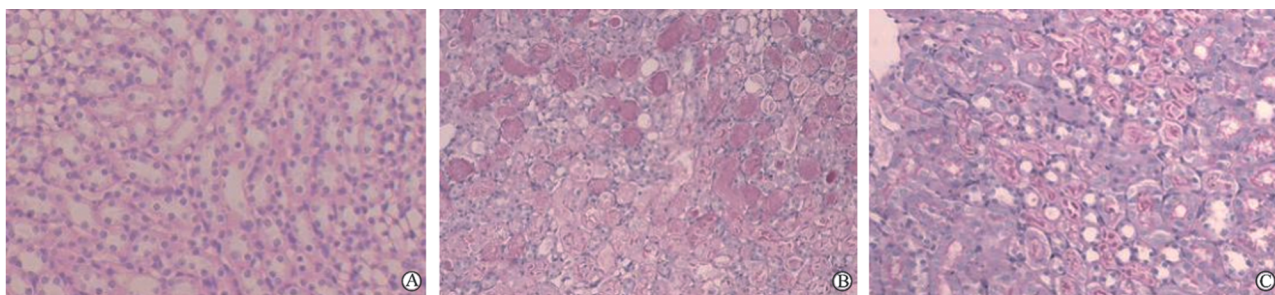


图2 PAS染色观察各组小鼠肾组织损伤情况

Fig 2 Renal histology injury of mice in different groups by PAS staining

A: Sham group; B: IR group; C: rhEPO+IR group. Original magnification: $\times 100$

2.5 TUNEL 染色评估 24 h 各组细胞凋亡情况 染色分析显示(图 3): 假手术组、IR 组和 EPO 干预组再灌注 24 h 平均凋亡细胞数为每视野 (1 ± 1)、(63 ± 15)、(15 ± 4) 个; 统计分析显示, IR 组凋亡

细胞数多于假手术组及 EPO 干预组 ($P < 0.05$), EPO 干预可以减少肾 IR 损伤组织中凋亡细胞的数量, 组间差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

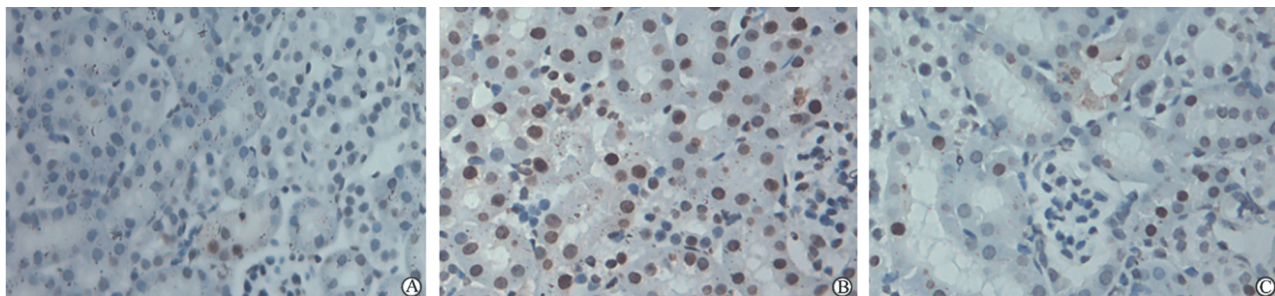


图3 TUNEL染色观察各组小鼠肾组织中的凋亡细胞

Fig 3 Apoptotic cells in renal tissues of mice in different groups by TUNEL staining

A: Sham group; B: IR group; C: rhEPO+IR group. Original magnification: $\times 200$

2.6 rhEPO 对肾组织 HO-1 mRNA 及 IL-6 mRNA 动态表达的影响 Real-time PCR 结果(图 4)显示: HO-1 mRNA 表达于再灌注后开始上升, 并于再灌注 3 h rhEPO 干预组与 IR 组出现统计学差异 ($P <$

0.05), 于 24 h 达到峰值, 48 h 开始下降。IL-6 mRNA 同样在再灌注后表达增高, 6 h 组间出现明显差异, 24 h IR 组达到峰值, rhEPO 干预组表达最低; 48 h IR 组开始下降, rhEPO 干预组开始升高 ($P < 0.05$)。

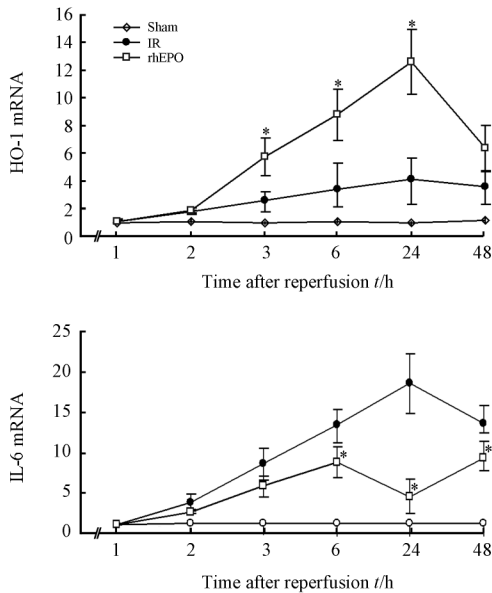


图4 Real-time PCR检测肾组织缺血再灌注后HO-1、IL-6 mRNA的动态表达

Fig 4 Changes of HO-1 and IL-6 mRNA expression at different time points after renal ischemia reperfusion by real-time PCR

* P < 0.05 vs IR group; n = 5, $\bar{x} \pm s$

3 讨论

IR是引起急性肾功能衰竭(ARF)的重要原因之一,如何防治肾脏急性IR是临床上迫切需要解决的问题。本实验通过建立小鼠ARF模型,从大体观察肾脏缺血再灌注过程:IR组小鼠出现血肌酐升高、肾功能受损表现;肾组织病理切片可见IR组小鼠肾小管上皮细胞坏死、脱落,提示IR是急性肾小管坏死及进一步导致急性肾功能衰竭的诱因之一。而细胞凋亡是肾脏在缺血再灌注后细胞死亡的主要机制,IR组凋亡细胞数量明显多于假手术组及EPO干预组,减少凋亡可能会逆转过度凋亡导致的相应组织病理学变化,促进肾小管上皮细胞再生。rhEPO干预后IR组肾功能损害程度有所减轻,提示rhEPO可能部分对抗肾脏缺血再灌注损伤。

EPO是一种糖基化蛋白质激素,大约90%的是由肾脏近曲小管附近的细胞合成和分泌,它的基本生理功能是刺激骨髓红细胞的生成和释放^[4]。EPO除了通过促使红系祖细胞增生、分化来调节红细胞生成外,还有许多非造血作用,如抗凋亡、抑制炎症因子释放、促进血管生成。目前临床上主要用EPO治疗肾性贫血^[5]及肿瘤等各种慢性疾病所导致的贫血。近年来研究发现EPO对抗组织器官缺血再灌注损伤方面效果显著。这些研究主要集中于脑^[6]、心脏^[7]、肝脏^[8]等器官组织,而关于EPO对肾脏IRI保护作用的研究较少。

HO-1是哺乳动物细胞内普遍存在的酶,是血

红素代谢的限速酶,可以催化血红素生成胆红素、游离铁和一氧化碳(CO)。近年来的研究表明,生成的胆红素能清除活性氧,而被认为是内源性抗氧化剂,可以增强细胞抗氧化损伤的能力。游离铁能诱导铁蛋白的合成,后者可减少活性氧的产生。CO能激活血管平滑肌细胞的可溶性鸟苷酸环化酶(sGC)使细胞内环鸟苷酸(cGMP)浓度升高引起血管平滑肌舒张^[9]。此外,CO还具有抑制血小板聚集的作用。低浓度的CO能有效地抑制由脂多糖介导的前炎症细胞因子,如TNF- α 、IL-6和抗炎因子IL-10的表达升高。HO-1还可以通过上调细胞周期抑制蛋白p21来影响肾小管上皮细胞周期调整的能力从而防御细胞凋亡^[10],也可以通过阻止细胞自我吞噬来减轻肾小管损伤^[11]。关于EPO与HO-1的关系,现有研究发现EPO在脑、心脏缺血性损伤中通过ERK(细胞外调节蛋白激酶)通路发挥保护作用^[12-13],ERK可通过Nrt2(神经紧张素受体2)上调HO-1^[14],很多抗氧化物能够在氧化应激导致的损伤中通过ERK/Nrt2途径上调HO-1的表达来发挥保护作用^[15-17]。Janus激酶2(JAK2)的激活在其中也可能发挥一定的作用。EPO能够磷酸化激活JAK2的主要区域,当与EPO结合后,形成二聚体,JAK2发生自体磷酸化,受体激活。JAK2激活后,可导致几种下游转导途径,包括促分裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase MAPKs)、磷脂酰肌醇3激酶(phosphatidylinositol 3-kinases,PI3K)、信号转导子和转录激活子5(signal transducers and activators of transcription 5,STAT-5)等的磷酸化^[18]。这些都提示EPO可能通过ERK通路来上调HO-1的表达。

IL-6是急性炎症反应最重要的介质之一,参与了炎症时多种细胞活动:细胞增殖、分化和凋亡等。与其他组织细胞相比,肾小管上皮细胞表达较高水平的IL-6受体,IL-6与其受体结合后活化Janus激酶/信号转导子和转录激活子(JAK/STAT)信号通路,促进凋亡相关分子caspase-1及caspase-3表达升高,进而诱导肾小管上皮细胞凋亡,其他的如中性粒细胞、巨噬细胞和部分T淋巴细胞亚群等也表达IL-6受体,再灌注时大量内源性IL-6与受体结合后活化此类免疫细胞,促进其向炎症部位聚集,进而加重组织损伤^[19]。临床研究也发现,细胞因子IL-6等对肾脏IRI损伤有明显的加重作用^[20-21]。而我们研究发现经过rhEPO干预后的小鼠IL-6 mRNA表达水平下降,提示EPO处理后可能抑制IL-6表达对肾脏缺血再灌注损伤,而这一过程HO-1可能参与其中^[22]。

再灌注早期,rhEPO未能显示出其肾保护作用,可能与其调节HO-1 mRNA合成有关。rhEPO

干预组中 HO-1 mRNA 3 h 时已出现表达增高,但可能受蛋白质合成等多种因素影响,尚未及时合成。6 h 时 IL-6 mRNA 出现再灌注后的第 1 次峰值,此后持续下降直到 24 h,这与 6 h 时 rhEPO 干预组肌酐未见减轻结果相一致。当再灌注 24 h 时,HO-1 mRNA 表达达到顶峰,而 IL-6 mRNA 为谷底,说明 rhEPO 在再灌注 24 h 时抗肾 IRI 的效果达到最大。考虑 rhEPO 的保护作用 24 h 已开始下降,是否可以多次间隔给药,减缓 HO-1 表达下降趋势,而对肾组织提供更长时间保护,还有待进一步研究。

有关 EPO 减轻肾 IRI 的研究尚处于体外试验及动物实验阶段,相信随着研究不断深入及 EPO 对缺血/缺氧损伤器官保护作用机制的进一步阐明,EPO 必将在器官移植领域发挥更大的作用。

[参 考 文 献]

- [1] Lafrance J P, Miller D R. Acute kidney injury associates with increased long-term mortality[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2010, 21: 345-352.
- [2] Patel N S, Sharples E J, Cuzzocrea S, Chatterjee P K, Britti D, Yaqoob M M, et al. Pretreatment with EPO reduces the injury and dysfunction caused by ischemia/reperfusion in the mouse kidney *in vivo*[J]. *Kidney Int*, 2004, 66: 983-989.
- [3] Thakar C V, Zahedi K, Revelo M P, Wang Z, Burnham C E, Barone S, et al. Identification of thrombospondin 1 (TSP-1) as a novel mediator of cell injury in kidney ischemia[J]. *J Clin Invest*, 2005, 115: 3451-3459.
- [4] Krantz S B. Erythropoietin[J]. *Blood*, 1991, 77: 419-434.
- [5] Cody J, Daly C, Campbell M, Donaldson C, Khan I, Rabinathan K, et al. Recombinant human erythropoietin for chronic renal failure anaemia in pre-dialysis patients[J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2005, (3): CD003266.
- [6] Pankratova S, Kiryushko D, Sonn K, Soroka V, Köhler L B, Rathje M, et al. Neuroprotective properties of a novel, non-haematopoietic agonist of the erythropoietin receptor [J]. *Brain*, 2010, 133(Pt 8): 2281-2294.
- [7] Parsa C J, Matsumoto A, Kim J, Riel R U, Pascal L S, Walton G B, et al. A novel protective effect of erythropoietin in the infarcted heart[J]. *J Clin Invest*, 2003, 112: 999-1007.
- [8] Greif F, Ben-Ari Z, Taya R, Pappo O, Kurtzwalld E, Cheporko Y, et al. Dual effect of erythropoietin on liver protection and regeneration after subtotal hepatectomy in rats [J]. *Liver Transpl*, 2010, 16: 631-638.
- [9] Ndisang J F, Zhao W, Wang R. Selective regulation of blood pressure by heme oxygenase-1 in hypertension[J]. *Hypertension*, 2002, 40: 315-321.
- [10] Inguaggiato P, Gonzalez-Michaca L, Croatt A J, Haggard J J, Alam J, Nath K A. Cellular overexpression of heme oxygenase-1 up-regulates p21 and confers resistance to apoptosis[J]. *Kidney Int*, 2001, 60: 2181-2191.
- [11] Bolisetty S, Traylor A M, Kim J, Joseph R, Ricart K, Landar A, et al. Heme oxygenase-1 inhibits renal tubular macroautophagy in acute kidney injury[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2010, 21: 1702-1712.
- [12] Kilic E, Kilic U, Soliz J, Bassetti C L, Gassmann M, Hermann D M. Brain-derived erythropoietin protects from focal cerebral ischemia by dual activation of ERK-1/-2 and Akt pathways[J]. *FASEB J*, 2005, 19: 2026-2028.
- [13] Chan C Y, Chen Y S, Lee H H, Huang H S, Lai Y L, Chen C F, et al. Erythropoietin protects post-ischemic hearts by preventing extracellular matrix degradation: role of Jak2-ERK pathway[J]. *Life Sci*, 2007, 81: 717-723.
- [14] Kim J W, Li M H, Jang J H, Na H K, Song N Y, Lee C, et al. 15-Deoxy-Delta(12,14)-prostaglandin J(2) rescues PC12 cells from H₂O₂-induced apoptosis through Nrf2-mediated upregulation of heme oxygenase-1: potential roles of Akt and ERK1/2 [J]. *Biochem Pharmacol*, 2008, 76: 1577-1589.
- [15] Kietzmann T, Samoylenko A, Immenschuh S. Transcriptional regulation of heme oxygenase-1 gene expression by MAP kinases of the JNK and p38 pathways in primary cultures of rat hepatocytes[J]. *J Biol Chem*, 2003, 278: 17927-17936.
- [16] Choi B M, Kim B R. Upregulation of heme oxygenase-1 by brazilin via the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt and ERK pathways and its protective effect against oxidative injury[J]. *Eur J Pharmacol*, 2008, 580(1-2): 12-18.
- [17] Hwang Y P, Kim H G, Han E H, Jeong H G. Metallothionein-III protects against 6-hydroxydopamine-induced oxidative stress by increasing expression of heme oxygenase-1 in a PI3K and ERK/Nrf2-dependent manner [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2008, 231: 318-327.
- [18] Sturiale A, Campo S, Crasc E, Aloisi C, Buemi M. Experimental models of acute renal failure and erythropoietin: what evidence of a direct effect[J]? *Ren Fail*, 2007, 29: 379-386.
- [19] Nechemia-Arbely Y, Barkan D, Pizov G, Shriki A, Rose-John S, Galun E, et al. IL-6/IL-6R axis plays a critical role in acute kidney injury[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2008, 19: 1106-1115.
- [20] Liu K D, Altmann C, Smits G, Krawczeski C D, Edelstein C L, Devarajan P, et al. Serum interleukin-6 and interleukin-8 are early biomarkers of acute kidney injury and predict prolonged mechanical ventilation in children undergoing cardiac surgery: a case-control study[J]. *Crit Care*, 2009, 13: R104.
- [21] Domanski L, Pawlik A, Safranow K, Jakubowska K, Dziedziczko V, Chlubek D, et al. Purine and cytokine concentrations in the renal vein of the allograft during reperfusion [J]. *Transplant Proc*, 2007, 39: 1319-1322.
- [22] Elmarakby A A, Faulkner J, Posey S P, Sullivan J C. Induction of hemeoxygenase-1 attenuates the hypertension and renal inflammation in spontaneously hypertensive rats[J]. *Pharmacol Res*, 2010, 62: 400-407.

[本文编辑] 贾泽军