

· 基础研究 ·

机械敏感通道 Piezo 1 和 Piezo 2 促进幼鼠神经源性膀胱纤维化的初步研究

吕磊¹, 张艳平¹, 李琦², 王俊魁³, 杨帅¹, 周钊凯¹, 李帅¹, 文一博¹, 刘亚凯⁴, 司国威⁴, 刘星辰⁵, 文建国¹

(郑州大学第一附属医院:1.泌尿外科,河南省小儿尿动力国际联合实验室,2.小儿外科,3.超声科,河南郑州 450052;4.新乡医学院第一附属医院泌尿外科,河南新乡 453000;5.信阳市中心医院妇科,河南信阳 464000)

A preliminary study of mechanosensitive channels Piezo 1 and Piezo 2 promoting neurogenic bladder fibrosis in young rats

LYU Lei¹, ZHANG Yanping¹, LI Qi², WANG Junkui³, YANG Shuai¹, ZHOU Zhaokai¹, LI Shuai¹, WEN Yibo¹, LIU Yakai⁴, SI Guowei⁴, LIU Xingchen⁵, WEN Jianguo¹

(1.Department of Urology, Henan Joint International Paediatric Urodynamic Laboratory, 2.Department of Pediatric Surgery, 3.Department of Ultrasound, The First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052; 4.Department of Urology, The First Affiliated Hospital of Xinxiang Medical College, Xinxiang 453000; 5.Department of Gynecology, Xinyang Central Hospital, Xinyang 464000, China)

ABSTRACT: Objective To explore the changes of mechanosensitive channels Piezos (Piezo 1 and Piezo 2) in neurogenic bladder (NB) of young rats and their effects, so as to provide reference for clinical search of new therapeutic targets. Methods A total of 30 female young SD rats were divided into 5 groups based on random number table method: sham operation group (sham), 2-week nerve transection group (NB-2W), 6-week nerve transection group (NB-6W), 2-week nerve transection + Piezos inhibitor group (NB-P-2W) and 6-week nerve transection + Piezos inhibitor group (NB-P-6W), with 6 rats in each group. The NB models were constructed by transecting the L6 and S1 spinal nerves of young rats. The NB-2W and NB-6W groups were not intervened after modeling, while the NB-P-2W and NB-P-6W groups were intraperitoneally injected with Piezos inhibitor GsMTx4 (10 mg/kg) every 2 days after modeling. Bladder cystometry and ultrasound were performed after 2 and 6 weeks of transection. The expressions of Piezos and fibrosis-related indexes (Collagen I and α -smooth muscle actin) were detected in bladder tissues. Results The results of bladder cystometry showed that the basal bladder pressure in NB-2W group was significantly increased, while it was slightly decreased but was still higher in NB-6W group than in the sham group ($P < 0.05$). Basal bladder pressure was lower in NB-P-2W group than in NB-2W group, but was higher than that in the sham group; basal bladder pressure was lower in NB-P-6W group than in NB-6W group, but higher than that in the sham group ($P < 0.05$). Compared with the sham group, the NB-2W and NB-6W groups had firstly increased and then decreased maximum cystometric capacity (MCC) ($P < 0.05$). Compared with NB-2W group, NB-P-2W group had lower bladder leakage point pressure (BLPP), but higher MCC and bladder compliance (BC) ($P < 0.05$). Compared with NB-6W group, NB-P-6W group had significantly lower BLPP but higher MCC and BC ($P < 0.05$). HE and MASSON staining and ultrasound results showed that, with the extension of nerve transection time, bladder fibrosis gradually worsened, the bladder wall became rough and thickened, calculi were visible inside, and hydronephrosis gradually appeared; the degree of fibrosis in NB-P-2W and NB-P-6W groups was less than that in NB-2W and NB-6W groups, and no hydronephrosis was observed in the upper urinary tract. In addition, Western blotting and immunohistochemical results showed that NB-2W and NB-6W groups had significantly higher relative expression levels of Piezos, Collagen I and α -SMA than the sham group ($P < 0.01$), while NB-P-2W and NB-P-6W groups had lower relative expression levels of Piezos, Collagen I and α -SMA than NB-2W and NB-6W groups ($P < 0.01$). Conclusion The increased expressions of mechanosensitive channels Piezos in NB young rats may be involved in the progression of bladder fibrosis, but its mechanism needs further study.

收稿日期: 2024-08-28

修回日期: 2024-10-30

基金项目: 国家自然科学基金项目(No. U1904208; No. 82470807)

通信作者: 文一博, 主治医师。E-mail: wenyibo163@163.com; 文建国, 教授, 主任医师。E-mail: jgwen@zzu.edu.cn

作者简介: 吕磊, 博士研究生在读。研究方向: 神经源性膀胱的基础和临床研究。E-mail: lvlei720@126.com

KEY WORDS: Piezo 1; Piezo 2; neurogenic bladder; bladder fibrosis; young rat; mechanosensitive channel

摘要: **目的** 探究机械敏感通道 Piezos(Piezo 1 和 Piezo 2)在神经源性膀胱(NB)幼鼠中的变化及其对膀胱纤维化的作用,为临床寻找治疗 NB 的新靶点提供参考。**方法** 将 30 只雌性幼年 SD 大鼠按随机数表法分为 5 组:假手术组(Sham 组)、神经离断 2 周组(NB-2W 组)、神经离断 6 周组(NB-6W 组)、神经离断+Piezos 抑制剂 2 周组(NB-P-2W 组)和神经离断+Piezos 抑制剂 6 周组(NB-P-6W 组),每组 6 只。通过离断幼鼠 L6 及 S1 脊神经构建 NB 动物模型,神经离断组造模后不进行干预,神经离断+Piezos 抑制剂组则在造模后每 2 天腹腔注射 Piezos 抑制剂 GsMTx4(10 mg/kg)。在离断后 2 周和 6 周进行幼鼠膀胱测压和超声检查,并取膀胱组织检测 Piezos 及纤维化相关指标 I 型胶原蛋白(Collagen I)及 α -平滑肌肌动蛋白(α -SMA)的相对表达水平。**结果** 膀胱测压显示,NB-2W 组幼鼠基础膀胱压力明显升高,NB-6W 组略有下降但仍高于 Sham 组($P<0.05$)。NB-P-2W 组的基础膀胱压力低于 NB-2W 组但较 Sham 组高,NB-P-6W 组的基础膀胱压力低于 NB-6W 组但高于 Sham 组($P<0.05$)。与 Sham 组比较,NB-2W 组和 NB-6W 组最大膀胱测压容量(MCC)出现先升高后下降趋势($P<0.05$)。与 NB-2W 组比较,NB-P-2W 组的漏尿点压(BLPP)更低,MCC 和膀胱顺应性(BC)更高($P<0.05$);与 NB-6W 组比较,NB-P-6W 组的 BLPP 更低,MCC 和 BC 更高($P<0.05$)。HE、MASSON 染色及超声结果显示,随着神经离断时间延长,膀胱纤维化逐渐加重,膀胱壁粗糙增厚,内可见结石,肾脏逐渐出现肾盂扩张积水,而 NB-P-2W 组和 NB-P-6W 组纤维化程度轻于 NB-2W 组和 NB-6W 组,未见上尿路扩张积水。此外,Western blot 及免疫组化结果显示 NB-2W 组和 NB-6W 组的 Piezos、Collagen I 及 α -SMA 的相对表达水平明显高于 Sham 组($P<0.01$);NB-P-2W 组和 NB-P-6W 组的 Piezos、Collagen I 及 α -SMA 的相对表达水平则分别低于 NB-2W 组和 NB-6W 组($P<0.01$)。**结论** 机械敏感通道 Piezos 在 NB 幼鼠中表达升高,可能参与膀胱纤维化进展,但其机制有待进一步研究。

关键词: Piezo 1; Piezo 2; 神经源性膀胱; 膀胱纤维化; 幼鼠; 机械敏感通道

中图分类号: R694

文献标志码: A

DOI: 10.3969/j.issn.1009-8291.2025.04.014

神经源性膀胱(neurogenic bladder, NB)是指各种原因导致的控制膀胱排尿的神经受损造成排尿功能障碍,进而产生一系列下尿路症状及并发症的疾病^[1-2],常表现为膀胱内高压、顺应性下降、膀胱壁纤维化、膀胱输尿管反流、肾积水和肾功能损伤,最终发展为终末期肾病^[3]。膀胱纤维化是 NB 的主要病理改变,其发生、发展机制尚不完全明确。NB 的治疗目标是帮助患者排尿以维持膀胱低压,缓解患者症状及预防并发症发生^[4-5],主要治疗方法包括清洁间歇导尿、 α 受体阻滞剂及手术干预等,但上述方法对延缓和治疗膀胱纤维化的直接作用有限。因而研究膀胱纤维化发生、发展的机制,开发预防及治疗膀胱纤维化的新方法,有重要的临床意义^[6-7]。文献调查发现,机械敏感通道 Piezos(包括 Piezo 1 和 Piezo 2)可感知膀胱压力^[8-10],其对器官纤维化的作用也引起了临床的关注^[11-12]。多项研究表明 Piezos 可能参与多种器官的纤维化过程^[13-15],但其在 NB 中的作用尚未见报道。基于此,本文拟探究 Piezos 在 NB 中的变化及其是否影响膀胱纤维化,以期临床寻找治疗 NB 的新靶点提供参考。

1 资料与方法

1.1 NB 幼鼠模型的构建及膀胱标本留取 根据预实验结果并遵循实验动物 3R 原则(替代、减少和优化),选择健康无特定病原体(specific pathogen free, SPF)级雌性幼年 SD 大鼠 30 只进行实验,大鼠体质

量 160~180 g,6 周龄,购自郑州大学动物中心同一批次[动物实验许可证号:SYXK(豫)2021-0017],所有动物在 SPF 条件下饲养。适应 1 周后,将幼鼠按随机数表法分为 5 组:假手术组(Sham 组)、神经离断 2 周组(NB-2W 组)、神经离断 6 周组(NB-6W 组)、神经离断+Piezos 抑制剂 2 周组(NB-P-2W 组)和神经离断+Piezos 抑制剂 6 周组(NB-P-6W 组),每组 6 只,各组体质量无显著差异。采用郑州大学第一附属医院泌尿外科(后文简称“本团队”)之前研究中所采用的方法构建幼鼠 NB 模型^[16],主要步骤包括异氟烷气体麻醉下行腰骶部正中切口,打开椎管显露脊髓及双侧 L4 到 S1 的神经前后根,从 L6 水平离断马尾神经并剪断双侧 L6 及 S1 的前后根,并各剪除一段神经,形成长约 1 cm 的缺损,将离断神经的近端结扎并缝在邻近肌肉组织内避免可能存在的自发性神经再生。术后连续腹腔注射青霉素 3 d,神经离断组造模后不进行干预,神经离断+Piezos 抑制剂组则在造模后每 2 天腹腔注射 Piezos 抑制剂 GsMTx4(MCE, HY-P1410)10 mg/kg。造模后 2 周和 6 周进行膀胱测压和超声检查,随后对幼鼠实施 CO₂ 吸入法进行安乐死处理,所有幼鼠无中途死亡,留取幼鼠膀胱标本,一半常规福尔马林固定,石蜡包埋;另一半立即放入液氮, -80 ℃ 冰箱保存。本研究经郑州大学第一附属医院伦理委员会批准(2023-KY-0480-001)。

1.2 膀胱测压 参考本团队以往研究进行幼鼠膀胱

测压^[17],主要步骤包括幼鼠取仰卧位行低流量异氟烷轻微麻醉,使用T型管分别连接灌注泵和直径1 mm的硬膜外导管,另一端连接BL-420S生物机能实验系统(成都泰盟)测压通道,硬膜外导管经幼鼠尿道插入膀胱约1 cm,以12 mL/h的速度灌注室温(20℃)生理盐水并同步记录膀胱压力容积曲线。主要测定参数有膀胱基础压力(即膀胱空虚时膀胱内压力)、充盈末期压力(即储尿期最大膀胱压力)、膀胱漏尿点压力(即充盈性尿失禁时膀胱内的压力)(bladder leak point pressure,BLPP)、最大膀胱测压容量(maximum cystometric capacity,MCC)和膀胱顺应性(即最大膀胱测压容量/充盈期压力差)(bladder compliance,BC)等。

1.3 动物超声 使用低流量异氟烷吸入维持幼鼠麻醉,肾脏和膀胱部位备皮后采用彩色多普勒超声仪(mindray)及高频超声探头(L20-5U)进行检查。

1.4 苏木素-伊红(hematoxylin-eosin,HE)染色 将留取的膀胱标本常规使用福尔马林固定,石蜡包埋,切片按照HE标准程序进行苏木素和伊红染色,然后使用显微镜镜检,并采集和分析图像。

1.5 MASSON染色 将留取的膀胱标本用福尔马林固定,石蜡包埋,切片按照MASSON的标准程序分别用重铬酸钾、铁苏木素染色、丽春红酸性品红、磷钼酸和苯胺蓝染色等处理后使用显微镜镜检,图像采集分析。

1.6 蛋白印迹法(Western blot,WB) 将膀胱标本匀浆后提取总蛋白,上样后进行凝胶电泳,100 V转移1 h至膜上,脱脂奶粉封闭液室温封闭2 h,分别使用Piezo 1(proteintech,15939-1-AP)、Piezo 2(novusbio,NBP1-78624)、I型胶原蛋白(Collagen I)(proteintech,14695-1-AP)和 α -平滑肌肌动蛋白(α -smooth muscle actin, α -SMA)(proteintech,14395-1-AP)等一抗进行4℃孵育过夜。洗膜3次后二抗室温孵育1 h,再次洗膜3次,用超敏化学发光液进行显影,用Image J软件进行分析。

表1 神经源性膀胱幼鼠神经离断后不同时间膀胱测压结果

指标	Sham组	NB-2W组	NB-P-2W组	NB-6W组	NB-P-6W组
基础压力/cmH ₂ O	2.22±1.19	7.90±2.03 ^a	5.91±0.35 ^{ab}	5.48±0.54 ^{ab}	4.69±0.46 ^{abc}
充盈末期压力/cmH ₂ O	10.86±1.78	—	—	—	—
BLPP/cmH ₂ O	—	34.53±4.64	28.31±1.80 ^b	22.23±4.96 ^b	13.63±1.87 ^{bc}
MCC/mL	0.99±0.56	6.28±0.87 ^a	7.31±0.32 ^{ab}	3.89±0.43 ^{ab}	4.83±0.78 ^{abc}
BC/(mL/cmH ₂ O)	0.11±0.05	0.24±0.06 ^a	0.33±0.03 ^{ab}	0.25±0.08 ^a	0.56±0.15 ^{abc}

^a与Sham组比较, $P<0.05$;^b与NB-2W组比较, $P<0.05$;^c与NB-6W组比较, $P<0.05$ 。NB:神经源性膀胱;BLPP:膀胱漏尿点压力;MCC:最大膀胱测压容量;BC:膀胱顺应性;1 cmH₂O=0.098 kPa;—表示无数据。

1.7 免疫组织化学染色 将石蜡包埋组织标本制成4 μ m厚切片,脱蜡至水后进行抗原修复,用双氧水溶液室温避光孵育25 min后洗涤3次,封闭30 min后加一抗4℃孵育过夜,洗涤3次后二抗室温孵育50 min滴加显色液,终止显色后进行苏木素复染3 min左右,最后脱水封片,光镜下观察膀胱组织中Piezos蛋白表达情况。

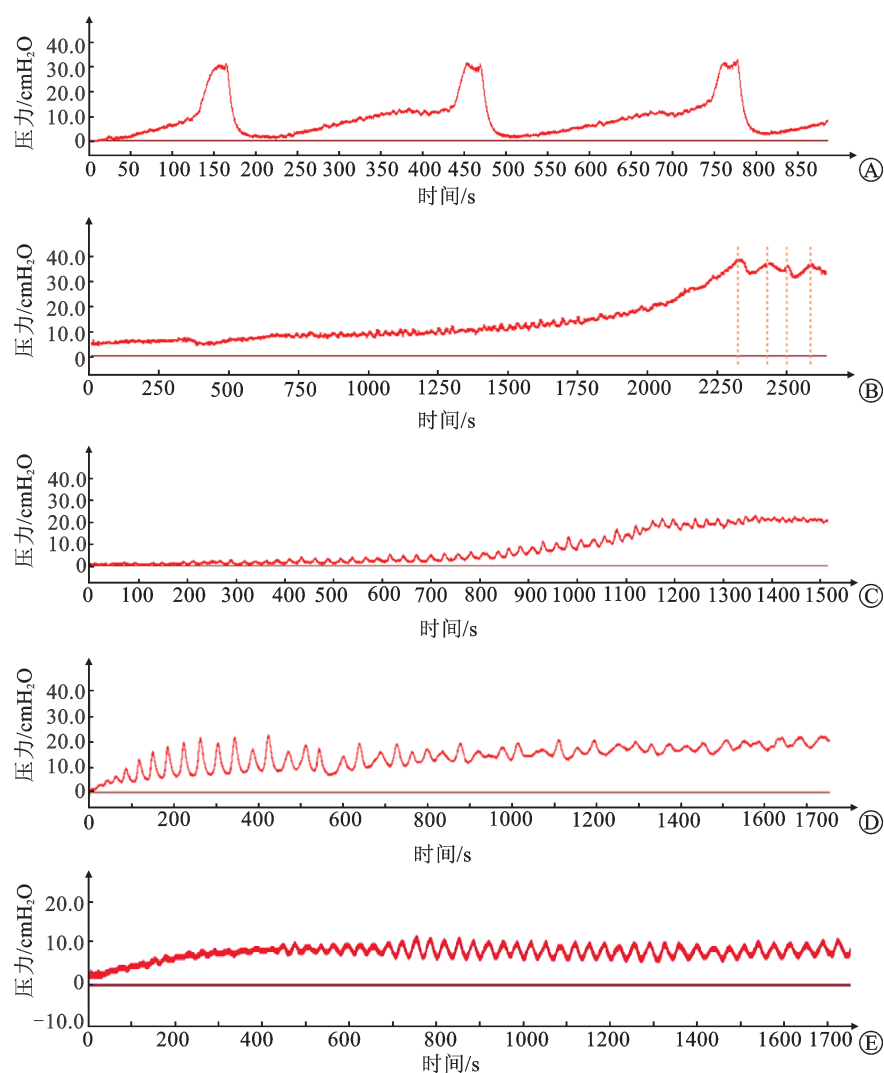
1.8 统计学方法 采用GraphPad Prism 9统计软件分析数据及作图,计量资料均符合正态分布或近似正态分布并符合方差齐性,以 $\bar{x}\pm s$ 表示,多组间数据比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用Tukey检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 NB幼鼠模型构建及膀胱功能和上尿路改变

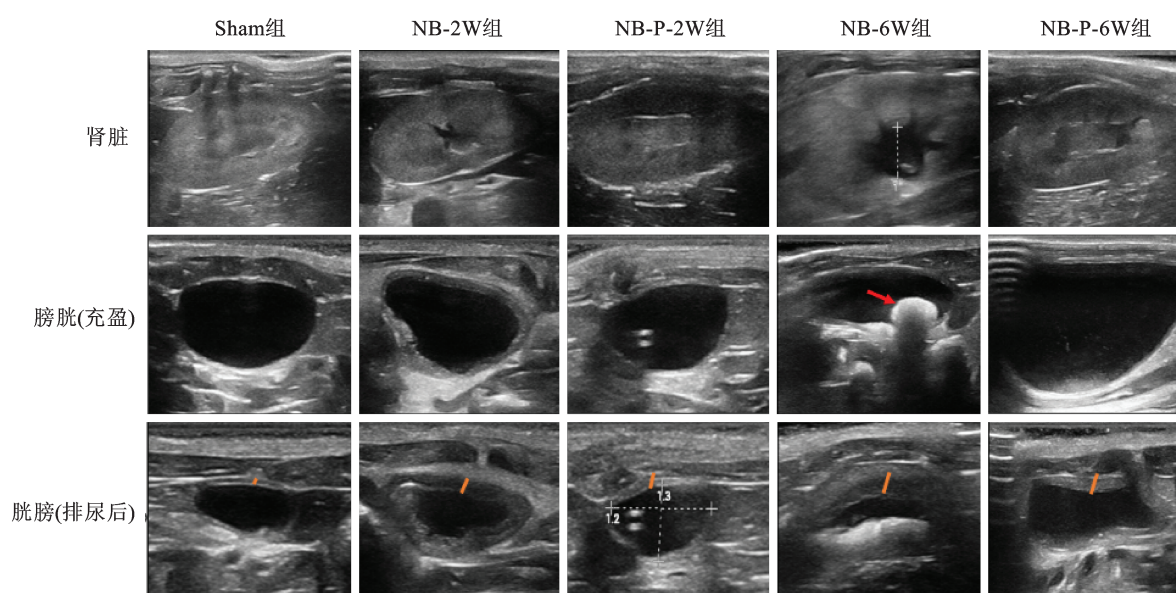
通过离断幼鼠L6及S1脊神经建立膀胱瘫痪NB模型,并通过膀胱测压评估各组幼鼠膀胱压力随时间的变化情况(表1、图1),超声评估各组幼鼠的上尿路情况(图2)。

膀胱测压结果显示,Sham组幼鼠有明显的充盈期和排尿期,排尿期逼尿肌明显收缩,出现压力高峰,随着神经离断后时间延长。NB-2W和NB-6W组基础压力较Sham组升高,排尿期出现间歇性尿失禁,逼尿肌无明显收缩,而NB-P-2W和NB-P-6W组膀胱压力分别较NB-2W和NB-6W组低(图1)。与Sham组比较,NB-2W组和NB-6W组MCC出现先升高后下降趋势;NB-6W组BLPP明显低于NB-2W组;与NB-2W组比较,NB-P-2W组的BLPP更低,MCC和BC更高;与NB-6W组比较,NB-P-6W组的BLPP更低,MCC和BC更高(P 均 <0.05 ,表1)。超声结果显示,NB组幼鼠均出现尿潴留、膀胱壁粗糙增厚,NB-6W组出现肾积水,可见结石(红色箭头),而NB-P-2W、NB-P-6W和Sham组幼鼠无肾积水(图2)。



A: Sham 组; B: NB-2W 组; C: NB-P-2W 组; D: NB-6W 组; E: NB-P-6W 组; 1 cmH₂O = 0.098 kPa。

图 1 神经源性膀胱幼鼠神经离断后不同时间膀胱压力随时间的变化(每组 1 只代表)

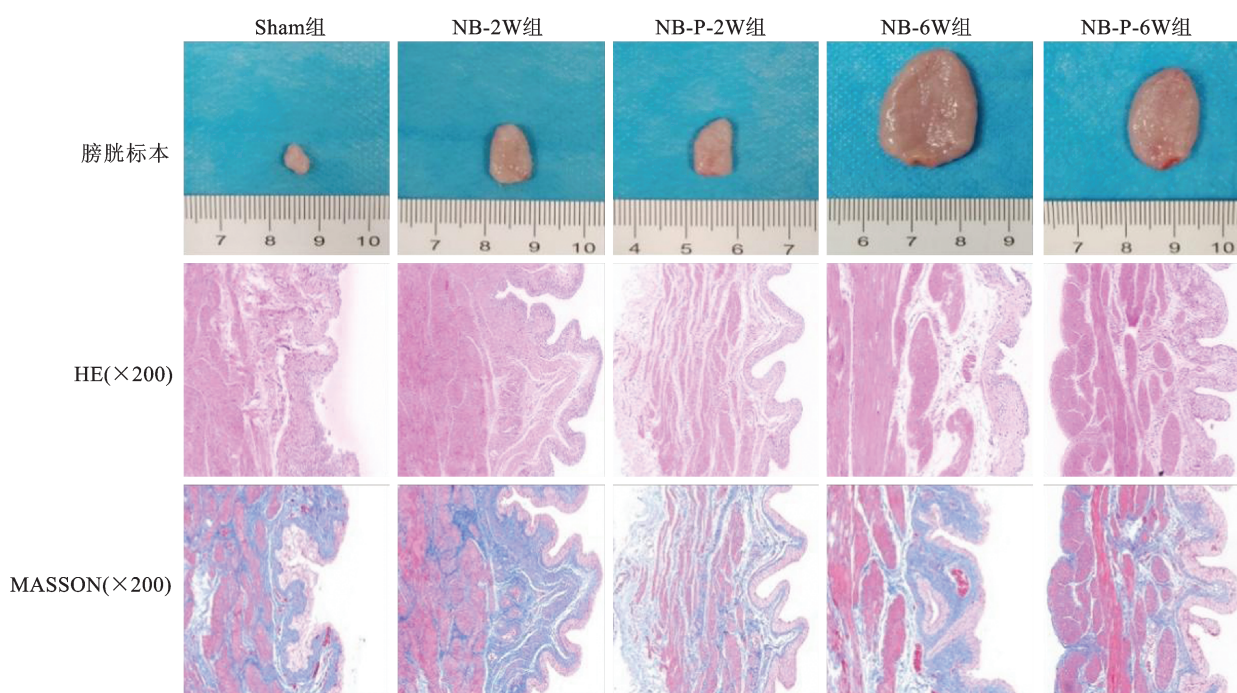


红色箭头指膀胱内结石,黄色横线指膀胱壁厚度。

图 2 神经源性膀胱幼鼠神经离断后不同时间肾脏及膀胱超声图(每组 1 只代表)

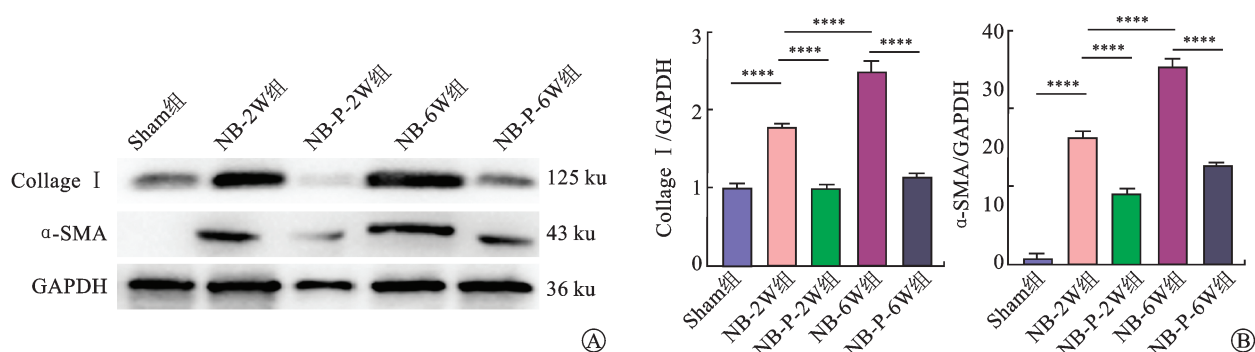
2.2 NB 幼鼠模型膀胱纤维化改变 膀胱组织大体标本显示 NB-6W 组较 NB-2W 组和 Sham 组膀胱重量明显增加 $[(0.99 \pm 0.28) \text{ g vs. } (0.28 \pm 0.06) \text{ g vs. } (0.05 \pm 0.01) \text{ g}; F = 54.11, P < 0.000 1]$;图 3)。HE 和 MASSON 染色显示,随着神经离断时间延长,膀胱纤维化逐渐加重,炎症浸润、膀胱壁增厚、胶原沉积和肌束增厚程度也明显更重。NB-P-2W 组和 NB-P-6W 组膀胱重量较对应的 NB-2W 组和 NB-6W 组轻

$[(0.19 \pm 0.02) \text{ g vs. } (0.28 \pm 0.06) \text{ g}, t = 3.46, P < 0.01; (0.59 \pm 0.07) \text{ g vs. } (0.99 \pm 0.28) \text{ g}, t = 3.49, P < 0.01]$,炎症和纤维化程度也较轻(图 3)。WB 结果显示,NB-2W 组和 NB-6W 组的 Collagen I 和 α -SMA 相对表达水平较 Sham 组明显升高,而 NB-P-2W 组和 NB-P-6W 组的 Collagen I 和 α -SMA 相对表达水平则低于对应的 NB-2W 组和 NB-6W 组(P 均 <0.05 ,图 4A、B)。



膀胱标本显示 NB 组(NB-2W 组和 NB-6W 组)膀胱增大,Piezos 抑制组(NB-P-2W 组和 NB-P-6W 组)相对较小;HE 染色显示膀胱上皮层逐渐增厚和炎症浸润加重;MASSON 染色显示 NB 组胶原沉积(蓝色)和肌束增厚(红色),而 Piezos 抑制组相对较轻。

图 3 神经源性膀胱幼鼠膀胱大体标本、HE 及 MASSON 染色结果代表图



A:蛋白印迹图;B:相对表达水平图;Collagen I : I 型胶原蛋白; α -SMA: α 平滑肌肌动蛋白;GAPDH:3-磷酸甘油醛脱氢酶;**** $P < 0.000 1$ 。

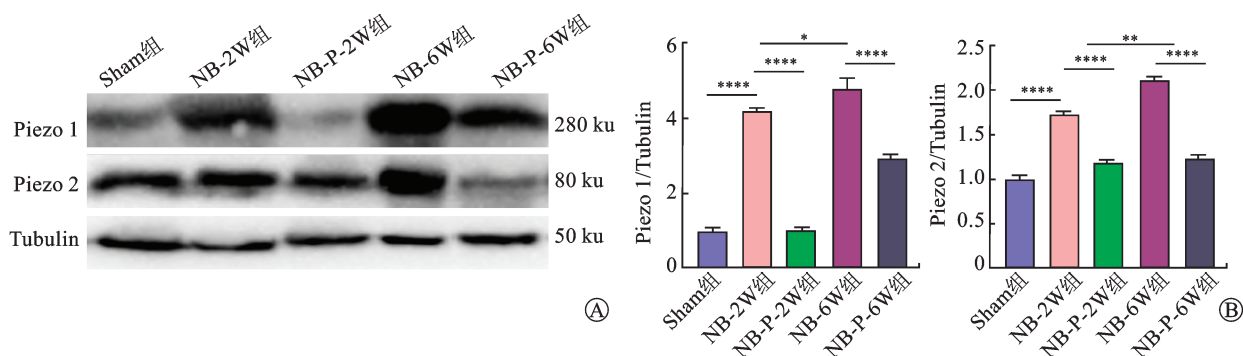
图 4 神经源性膀胱幼鼠膀胱 Collagen I 和 α -SMA 蛋白印迹表达图

2.3 NB 幼鼠膀胱组织中 Piezos 表达及其与纤维化关系 WB 结果显示,NB-2W 组和 NB-6W 组幼鼠膀胱组织中 Piezos(Piezors 1 和 Piezos 2)蛋白相对表达水平较 Sham 组明显升高,而 NB-P-2W 和 NB-P-6W

组 Piezos 蛋白相对表达水平低于对应的 NB-2W 组和 NB-6W 组(P 均 <0.05 ,图 5A、B)。为了进一步研究 Piezos 蛋白在膀胱组织中的定位情况,本团队对幼鼠组织切片进行了免疫组化检测,结果显示与

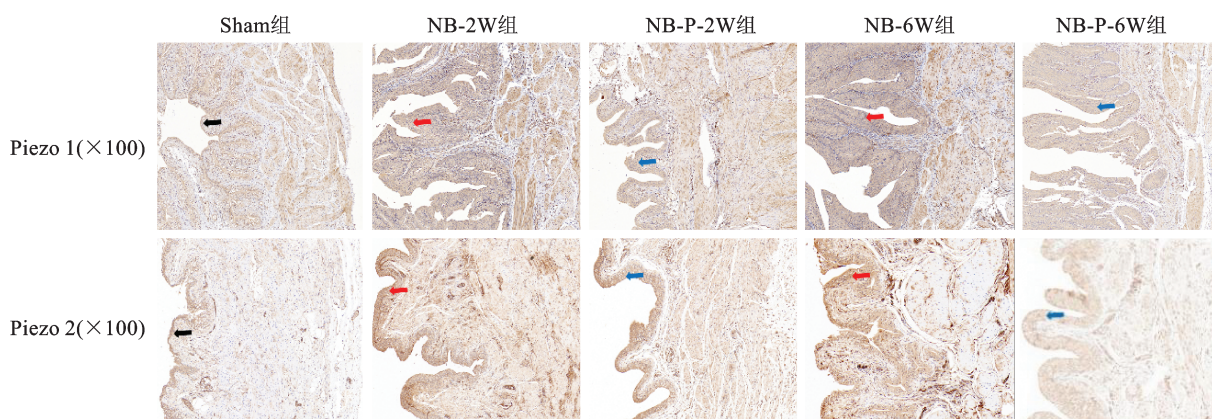
Sham 组相比,纤维化程度较重的 NB-2W 组和 NB-6W 组的 Piezos 在上皮层表达逐渐增加(棕色),而纤

维化程度较轻的 NB-P-2W 组和 NB-P-6W 组的表达相对增加较少(图 6)。



A: 蛋白印迹图; B: 相对表达水平图; Tubulin: 微管蛋白; * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$; **** $P < 0.0001$ 。

图 5 神经源性膀胱幼鼠膀胱 Piezo 1 和 Piezo 2 蛋白印迹表达图



免疫组化显示: 相较于 Sham 组(黑色箭头), NB-2W 组和 NB-6W 组(红色箭头)的 Piezos 在上皮层表达逐渐增加, 而 NB-P-2W 组和 NB-P-6W 组(蓝色箭头)相对增加较少。

图 6 神经源性膀胱幼鼠膀胱 Piezo 1 和 Piezo 2 表达免疫组化代表图

3 讨论

儿童 NB 临床多见, 多为腰骶部脊髓神经发育不良所致, 常伴随终生^[3], 临床常表现为尿失禁和排尿困难, 并伴有膀胱感知功能异常^[18]。该病常随病程延长出现膀胱容量及顺应性下降, 膀胱压力升高, 同时伴有膀胱感知功能的改变, 继而发生膀胱纤维化, 引起膀胱挛缩和上尿路损害, 最终导致肾功能不全, 严重影响患者生活质量^[3,5]。尿动力主要表现为膀胱高压、顺应性下降、逼尿肌过度活动或无收缩^[16,19]。本研究发现 NB 幼鼠膀胱组织中机械敏感通道 Piezos 表达升高并与纤维化程度变化趋势一致, 通过腹腔注射 Piezos 抑制剂可以减轻膀胱纤维化程度。

正常膀胱感觉是指能主观感知膀胱的充盈和尿意, 并随着膀胱充盈尿意感觉逐渐增强, 直到出现强烈尿意感^[20]。NB 患者常见的膀胱感觉异常有膀胱过度敏感(表现为尿急、尿痛等症状)或膀胱感觉减弱或缺如(表现为尿潴留或充盈性尿失禁)。WYN-DAELE 等^[18]观察了 170 例脊髓损伤患者, 有 74 例

(43.5%) 尿动力报告膀胱感觉缺如。文献报道 Piezos 在膀胱感知功能中起重要作用^[8,10]。Piezo 1 主要存在于非神经元细胞中^[21], 在尿路上皮细胞中丰富表达^[22]。Piezo 2 主要在初级感觉神经元细胞中表达, 是启动初级感觉神经元和特殊细胞类型(如麦克尔细胞)去极化的主要机械传导通道, 介导轻触觉、痛觉、本体感受等^[8-9,23-25]。Piezos 能够在储尿阶段感受细胞膜机械力变化, 将细胞膜感受到的机械信号转化为电信号或化学信号, 刺激激活传入神经将这些感觉信息不断地发送到中枢神经系统, 产生膀胱充盈感觉从而触发排尿反射^[23]。NB 患者常出现早期膀胱过度活动, 后期出现膀胱活动不足和感觉缺如。本研究结果显示, Piezos 的相对表达水平在 NB 幼鼠造模后 2 周和 6 周时均较 Sham 组明显升高, 这是否与 NB 的临床表现变化相对应仍待进一步探究。

文献报道 Piezo 1 在肺纤维化^[26-27]、心脏纤维化^[14]和肾脏纤维化^[15]等疾病发展中通过感知压力变化发挥着重要作用。文献报道小鼠胸段脊髓损伤 6 周后 L6 至 S1 背根神经节中的 Piezo 2 升高, 通过鞘内注射 GxMTx4 可以改善排尿^[28-29], 但感知蛋白

Piezos 在 NB 中的表达情况及其与膀胱纤维化的关系尚未见报道。本研究结果发现,NB 幼鼠(NB-2W 组和 NB-6W 组)膀胱组织 Piezos 的相对表达水平均高于 Sham 组,膀胱组织纤维化程度也明显增加,两者变化趋势一致,腹腔注射 Piezos 抑制剂 GsMTx4 (NB-P-2W 组和 NB-P-6W 组)在相同时间点可以减小膀胱压力,减轻膀胱纤维化,这表明 Piezos 的升高可能参与 NB 幼鼠模型膀胱组织的纤维化,抑制 Piezos 可以减轻其进展。免疫组化结果显示 Piezos 的激活主要发生在膀胱上皮细胞中,NB-2W 组和 NB-6W 组上皮层 Piezos 的表达较 Sham 组增加,提示膀胱上皮层可能通过感受压力引起纤维化发展。这些结果证实膀胱压力升高介导的 Piezos 上调可能参与脊髓损伤后膀胱纤维化和排尿功能障碍。NB 的主要治疗目标是降低膀胱内压力,但患者多由于排尿困难或尿失禁就诊,此时膀胱可能已经维持相当长时间的高压状态^[30],因此如何减轻膀胱高压引起的相关纤维化进展对于改善患者预后至关重要。

本研究仍存在一定的局限性:首先,为了提高幼鼠模型的存活率及经尿道测压的可能性和一致性,本研究只使用了雌性幼鼠,可能会造成性别偏倚。其次,只使用了 Piezos 抑制剂在体内验证,未分组研究药物剂量的影响,观察时间也有待延长。最后,未分别干预 Piezo 1 或 Piezo 2 以探究二者之间的作用差异。因此,我们计划在后续研究中增加不同药物剂量分组,或使用混合性别的 Piezo 1 或 Piezo 2 基因敲除幼鼠模型,以充分阐明 Piezos 在 NB 纤维化中的作用。

综上所述,本研究发现机械敏感通道 Piezos 在 NB 幼鼠中感知压力变化并可能参与膀胱纤维化进展,抑制 Piezos 可以减轻纤维化。抑制 Piezos 通路可能成为开发改善 NB 相关膀胱纤维化新药的潜在靶点。

声明 所有作者均声明不存在利益冲突。

作者贡献 吕磊、张艳平、李琦:研究实施、文章起草;王俊魁、杨帅、周钊凯、李帅、刘亚凯、司国威、刘星辰:部分实验实施、文章修改;文一博、文建国:研究设计、实施,文章审核、修改及基金申请。

参考文献:

- [1] PARK JS, LEE YS, LEE CN, et al. Efficacy and safety of mirabegron, a β_3 -adrenoceptor agonist, for treating neurogenic bladder in pediatric patients with spina bifida: a retrospective pilot study [J]. *World J Urol*, 2019, 37(8): 1665-1670.
- [2] 汲风平, 张艳平, 马源, 等. 儿童神经源性膀胱纤维化研究进展

- [J]. *中华实用儿科临床杂志*, 2021, 36(13): 1037-1040.
- [3] SAGER C, BARROSO UJR, BASTOS JMN, et al. Management of neurogenic bladder dysfunction in children update and recommendations on medical treatment [J]. *Int Braz J Urol*, 2022, 48(1): 31-51.
- [4] STEIN R, BOGAERT G, DOGAN HS, et al. EAU/ESPU guidelines on the management of neurogenic bladder in children and adolescent part II operative management [J]. *Neurourol Urodyn*, 2020, 39(2): 498-506.
- [5] STEIN R, BOGAERT G, DOGAN HS, et al. EAU/ESPU guidelines on the management of neurogenic bladder in children and adolescent part I diagnostics and conservative treatment [J]. *Neurourol Urodyn*, 2020, 39(1): 45-57.
- [6] YADAV P, ALSABBAN A, DE LOS REYES T, et al. A systematic review of paediatric neurogenic lower urinary tract dysfunction guidelines using the Appraisal of Guidelines and Research Evaluation (AGREE) II instrument [J]. *BJU Int*, 2023, 131(5): 520-529.
- [7] WIENER JS, CHAUDHRY R. Neurogenic lower urinary tract dysfunction [J]. *Urol Clin North Am*, 2023, 50(3): 415-432.
- [8] MARSHALL KL, SAADE D, GHITANI N, et al. Piezo 2 in sensory neurons and urothelial cells coordinates urination [J]. *Nature*, 2020, 588(7837): 290-295.
- [9] THOMAS T. Piezo 2 in urinary function [J]. *Nat Rev Urol*, 2020, 17(12): 658.
- [10] DALGHI MG, RUIZ WG, CLAYTON DR, et al. Functional roles for Piezo 1 and Piezo 2 in urothelial mechanotransduction and lower urinary tract interoception [J]. *JCI Insight*, 2021, 6(19): e152984.
- [11] XU Y, HUANG Y, CHENG X, et al. Mechanotransductive receptor Piezo 1 as a promising target in the treatment of fibrosis diseases [J]. *Front Mol Biosci*, 2023, 10: 1270979.
- [12] LI Z, LIN D, LUO C, et al. The expression and function of Piezo channels in bladder [J]. *Bladder*, 2023, 10: e21200008.
- [13] OCHIAI K, MOCHIDA Y, NAGASE T, et al. Upregulation of Piezo 2 in the mesangial, renin, and perivascular mesenchymal cells of the kidney of Dahl salt-sensitive hypertensive rats and its reversal by esaxerenone [J]. *Hypertens Res*, 2023, 46(5): 1234-1246.
- [14] BRAIDOTTI N, CHEN SN, LONG CS, et al. Piezo 1 channel as a potential target for hindering cardiac fibrotic remodeling [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(15): 8065.
- [15] ZHAO X, KONG Y, LIANG B, et al. Mechanosensitive Piezo 1 channels mediate renal fibrosis [J]. *JCI Insight*, 2022, 7(7): e152330.
- [16] 蒲青崧, 杨兴欢, 王俊魁, 等. 大鼠腰骶神经离断后不同时间膀胱形态功能变化及其对上尿路扩张的影响 [J]. *中华泌尿外科杂志*, 2023, 44(5): 369-375.
- [17] CHEN Y, MA Y, HE Y, et al. The TGF- β 1 pathway is early involved in neurogenic bladder fibrosis of juvenile rats [J]. *Pediatr Res*, 2021, 90(4): 759-767.

(下转第 363 页)

- [62] ZHANG ZY, PAN X, FAN Y, et al. DDD score for renal tumor: an intuitive and comprehensive anatomical scoring system to access the outcomes of retroperitoneal laparoscopic partial nephrectomy[J]. *Int J Urol*, 2019, 26(4): 451-456.
- [63] ZHU J, PAN X, XIE JY, et al. The DDD score outperforms the RENAL score in predicting high-grade renal cell carcinoma[J]. *Int J Urol*, 2024, 31(5): 536-543.
- [64] FICARRA V, PORPIGLIA F, CRESTANI A, et al. The simplified PADUA renal (SPARE) nephrometry system: a novel classification of parenchymal renal tumours suitable for partial nephrectomy[J]. *BJU Int*, 2019, 124(4): 621-628.
- [65] WEPRIN S, FALAGARIO U, VECCIA A, et al. Simplified PADUA renal (SPARE) nephrometry scoring system: external validation, interobserver variability, and comparison with RENAL and PADUA in a single-center robotic partial nephrectomy series[J]. *Eur Urol Focus*, 2021, 7(3): 591-597.
- [66] DIANA P, LUGHEZZANI G, ULERI A, et al. Multi-institutional retrospective validation and comparison of the simplified PADUA renal nephrometry system for the prediction of surgical success of robot-assisted partial nephrectomy[J]. *Eur Urol Focus*, 2021, 7(5): 1100-1106.
- [67] FRANK I, BLUTE ML, CHEVILLE JC, et al. An outcome prediction model for patients with clear cell renal cell carcinoma treated with radical nephrectomy based on tumor stage, size, grade and necrosis: the SSIGN score[J]. *J Urol*, 2002, 168(6): 2395-2400.
- [68] USHER-SMITH JA, LI L, ROBERTS L, et al. Risk models for recurrence and survival after kidney cancer: a systematic review [J]. *BJU Int*, 2022, 130(5): 562-579.
- [69] SHIN TY, KOMNINOS C, KIM DW, et al. A novel mathematical model to predict the severity of postoperative functional reduction before partial nephrectomy: the importance of calculating resected and ischemic volume[J]. *J Urol*, 2015, 193(2): 423-429.
- [70] SHAH PH, GEORGE AK, MOREIRA DM, et al. To clamp or not to clamp? Long-term functional outcomes for elective off-clamp laparoscopic partial nephrectomy[J]. *BJU Int*, 2016, 117(2): 293-299.
- [71] ZHANG Z, ZHAO J, DONG W, et al. Acute ipsilateral renal dysfunction after partial nephrectomy in patients with a contralateral kidney: spectrum score to unmask ischemic injury[J]. *Eur Urol*, 2016, 70(4): 692-698.
- [72] LEE Z, UZZO R, ASGHAR A, et al. Functional parenchymal volume-based spectrum score is able to quantify ischemic injury after partial nephrectomy[J]. *Urology*, 2018, 120: 150-155.
- [73] 张志凌. 肾部分切除术后急性肾损伤及其对手术侧肾脏的远期影响[J]. *现代泌尿外科杂志*, 2024, 29(9): 766-770.
- [74] ZHANG R, WU G, HUANG J, et al. Peritumoral artery scoring system: a novel scoring system to predict renal function outcome after laparoscopic partial nephrectomy [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 2853.
- [75] XIAO Y, SHAN ZJ, YANG JF, et al. Nephrometric scoring system: recent advances and outlooks[J]. *Urol Oncol*, 2023, 41(1): 15-26.
- (编辑 郭楚君)
- ~~~~~
- (上接第 349 页)
- [18] WYNDAELE JJ, WYNDAELE M, ROSIER P. Sensations reported during urodynamic bladder filling in spinal cord injury patients give additional important information[J]. *Int Neurourol J*, 2022, 26(Suppl 1): S30-S37.
- [19] LYU L, YAO YX, LIU EP, et al. A Study of urodynamic parameters at different bladder filling stages for predicting upper urinary tract dilatation[J]. *Int Neurourol J*, 2022, 26(1): 52-59.
- [20] AUSTIN PF, BAUER SB, BOWER W, et al. The standardization of terminology of lower urinary tract function in children and adolescents: update report from the standardization committee of the International Children's Continence Society [J]. *Neurourol Urodyn*, 2016, 35(4): 471-481.
- [21] SONG S, ZHANG H, WANG X, et al. The role of mechanosensitive Piezo 1 channel in diseases[J]. *Prog Biophys Mol Biol*, 2022, 172: 39-49.
- [22] MIYAMOTO T, MOCHIZUKI T, NAKAGOMI H, et al. Functional role for Piezo1 in stretch-evoked Ca^{2+} influx and ATP release in urothelial cell cultures[J]. *J Biol Chem*, 2014, 289(23): 16565-16575.
- [23] LI X, HU J, ZHAO X, et al. Piezo channels in the urinary system [J]. *Exp Mol Med*, 2022, 54(6): 697-710.
- [24] SZCZOT M, NICKOLLS AR, LAM RM, et al. The form and function of Piezo 2[J]. *Annu Rev Biochem*, 2021, 90: 507-534.
- [25] GAILLY P, DEVUYST O. Piezo 2, a mechanosensor in the urinary bladder[J]. *Kidney Int*, 2021, 100(1): 9-11.
- [26] XU H, HE Y, HONG T, et al. Piezo 1 in vascular remodeling of atherosclerosis and pulmonary arterial hypertension: a potential therapeutic target[J]. *Front Cardiovasc Med*, 2022, 9: 1021540.
- [27] CHEN J, MIAO J, ZHOU D, et al. Upregulation of mechanosensitive channel Piezo 1 involved in high shear stress-induced pulmonary hypertension[J]. *Thromb Res*, 2022, 218: 52-63.
- [28] SHIMIZU N, SAITO T, WADA N, et al. Molecular mechanisms of neurogenic lower urinary tract dysfunction after spinal cord injury[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(9): 7885.
- [29] SAITO T, GOTOH D, WADA N, et al. Time-dependent progression of neurogenic lower urinary tract dysfunction after spinal cord injury in the mouse model[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2021, 321(1): F26-F32.
- [30] HOBBS KT, KRISCHAK M, TEJWANI R, et al. The importance of early diagnosis and management of pediatric neurogenic bladder dysfunction[J]. *Res Rep Urol*, 2021, 13: 647-657.
- (编辑 闫玉梅)