

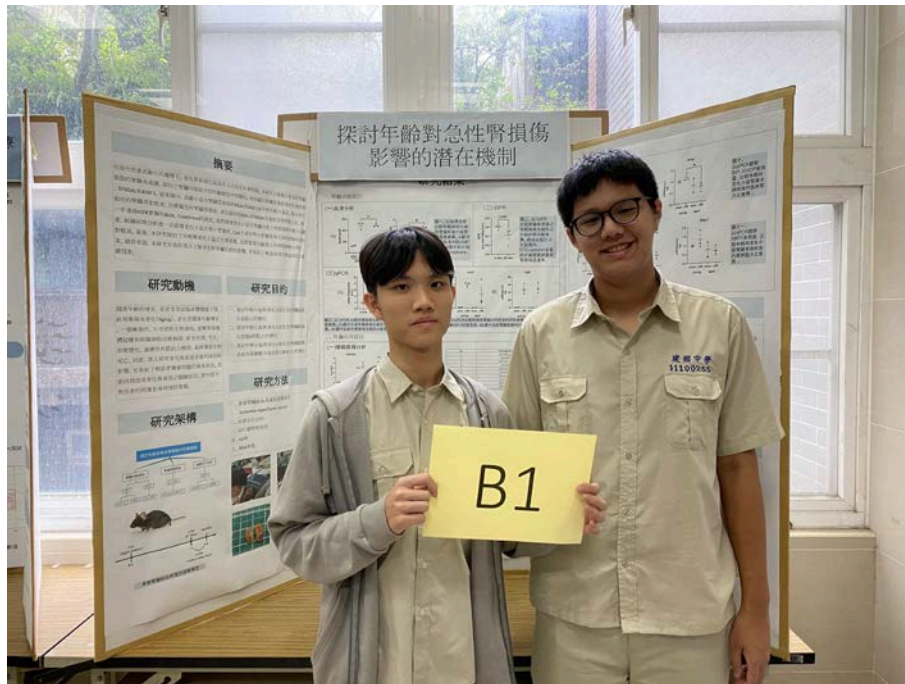
2025年臺灣國際科學展覽會 優勝作品專輯

作品編號	050008
參展科別	動物學
作品名稱	探討年齡影響急性腎損傷的潛在機制

就讀學校	臺北市立建國高級中學
指導教師	姜至剛 劉玉山
作者姓名	林暄恩 吳哲宇

關鍵詞	<u>老化、急性腎臟損傷、內質網壓力</u>
-----	------------------------

作者簡介



大家好，我們是林暄恩與吳哲宇，目前就讀建中數理資優班，對生物研究充滿熱情。我們從小對生命奧秘的好奇心驅使著不斷探索，累積了解剖動物、DNA萃取、科展研究等豐富經驗，並透過科學營與高階生物知識的學習，逐步領悟科學探究的魅力。我們特別對遺傳與動物學領域產生濃厚興趣，期待未來能共同為生物學界做出貢獻！

2025 年臺灣國際科學展覽會

研究報告

區別：

科別：動物學科

作品名稱：探討年齡影響急性腎損傷的潛在機制

關鍵詞：老化、急性腎臟損傷、內質網壓力

編號：

摘要

在現代社會高齡化的趨勢下，老化與衰弱成為引人注目的社會問題，近期也被認為是造成死亡的主要原因。本研究探討了不同年齡小鼠腎臟功能及分子機制的變化。結果顯示，老化小鼠腎絲球過濾率較差，腎損傷指標 NGAL 和 KIM-1 增加，顯示老化影響腎功能。此外，老化小鼠的抗氧化能力下降，CHOP 蛋白顯著上升，顯示內質網壓力增加。急性腎損傷實驗進一步發現，老化小鼠的腎功能下降及組織損傷較年輕小鼠嚴重，且脂質代謝及粒線體生合成指標呈下降趨勢。這些變化是否由於適應性未折疊蛋白 XBP1 表現下降造成，仍須更進一步研究釐清。總結，本研究探討年輕與老化小鼠腎臟之分子機轉差異，有助於深入了解老化對腎臟功能的影響和造成急性腎損傷與衰弱症之關鍵因素。

Abstract

In an aging society, aging and frailty are prominent issues increasingly linked to mortality. Our previous studies indicated that reduction of XBP1 expression in the unfolded protein response (UPR) contribute to chronic kidney disease(CKD) after renal injury, suggesting a connection with aging. This study examined age-related changes in renal function, antioxidant capacity, and UPR in mice. We found that aged mice showed impaired renal function, with lower glomerular filtration rate and higher levels of injury markers NGAL and KIM-1. Molecular analysis revealed decreased antioxidant activity and increased CHOP expression in aged mice.

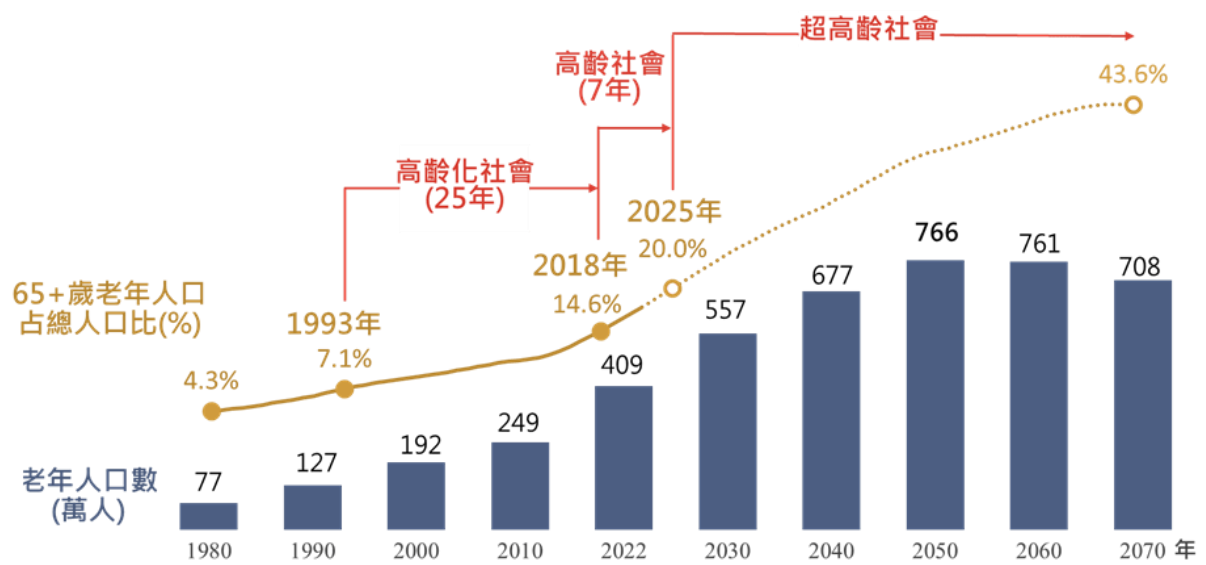
Using an acute kidney injury (AKI) model, we found that aged mice had more severe functional decline, higher serum BUN and creatinine, and greater tissue damage than young mice. Although antioxidant and UPR responses did not significantly worsen post-injury in aged mice, there was a trend of lower XBP1 expression and reduced lipid metabolism and mitochondrial activity. These findings suggest aging negatively affects renal function, likely due to impaired UPR, lipid metabolism, and mitochondrial function, warranting further investigation.

In conclusion, this study provides insights into how aging impacts renal function and the mechanisms contributing to frailty and injury.

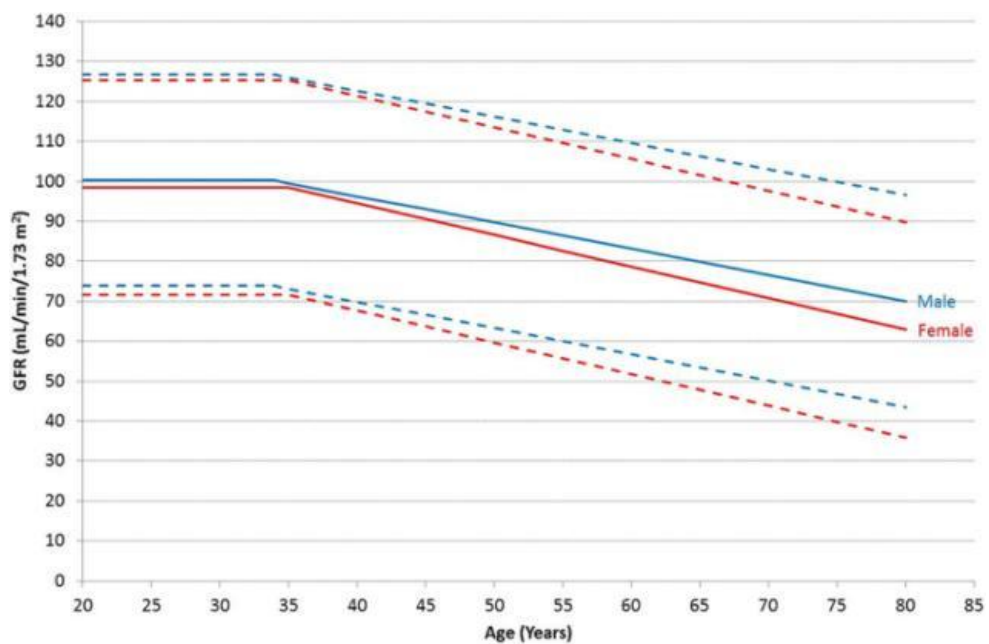
壹、前言

一、研究動機

隨著現代社會的快速發展，我國已於 1993 年成為高齡化社會，2018 年轉為高齡社會，推估將於 2025 年邁入超高齡社會，如圖一所示（衛生福利部，2021；圖一）。由此可見，人們的老化已成為社會上不容忽視的問題。隨著年齡的增長，長者常常面臨身體機能下降，包括虛弱無力、體重下降、肌肉萎縮、頻繁跌倒、行動不便等情形，此現象稱為老化（Ageing）或衰弱症（Frailty）（Cooper C, Dere W, Evans W, 2012）。老化是隨著年齡增長，一個漸進的、不可逆的生物過程，逐漸導致機體結構和組織細胞功能衰退，產生生理、生化、形態變化，適應性和抵抗力減弱，最終導致生物死亡。衰弱症則是一個臨床表徵，代表病人處於一個失衡的健康狀態，如果遭受外界壓力，就難以維持身體的恆定，進而導致後續的失能。許多研究指出處在衰弱狀態的老人，日常活動功能和認知功能退化較快、容易跌倒，住院率和死亡率也較高。這種衰弱狀態代表著生理機能儲備量的降低，以及對壓力的抗性減弱，使得長者變得更加脆弱，難以應對疾病或壓力事件，且復原能力也受到影響。研究也指出數據顯示人類的腎絲球過濾率會隨著年齡的增加而遞減（Gaetano Alfano, 2022；圖二）。文獻指出腎衰竭乃造成衰弱症的因素之一，衰弱症在患有慢性腎臟病（Chronic Kidney Disease, CKD）的人群中很常見。在社區居住的老年人口中，衰弱症的患病率報告為 11%，而在依賴腎臟透析的 CKD 患者中，研究報告顯示衰弱症的患病率超過 60%。更有研究指出衰弱症與腎功能逐漸惡化密切相關（Jacqueline Wright, 1985-ongoing）。此外，衰弱症在 CKD 的所有階段都與不良臨床結果獨立相關，並反覆顯示與增加的死亡風險和住院風險密切相關。最後也有文獻指出急性腎臟病（Acute Kidney Injury, AKI）會造成 CKD 的發展。因此，我們認為深入研究急性腎臟病前後衰弱狀態的成因和影響，有助於了解長者健康問題的根本原因。若能找到造成老化與衰弱之關鍵原因，即可提升對長者的照護並尋找預防策略。



圖一、台灣老年人口比例呈現上升的趨勢（衛生福利部，2021）



圖二、腎絲球過濾率隨著年齡增加而降低（Gaetano Alfano, 2022）

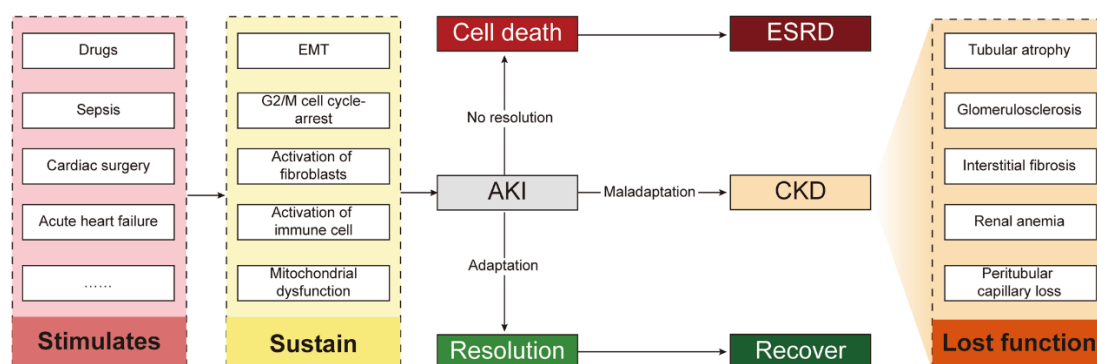
二、文獻回顧

（一）急性腎損傷之影響

在對急性腎臟病到慢性腎臟病及腎衰竭的過程有了初步了解後，我們閱讀了更多文獻已更瞭解這些相關部分。

1. AKI 到 CKD 進展：

腎臟損傷，如感染、腎毒性藥物和低灌流量，會引起腎臟一系列反應，包括免疫系統的反應和細胞代謝的重組。持續和嚴重的損傷可能導致細胞死亡、器官衰竭，並進展至末期腎臟疾病（End-Stage Renal Failure, ESRD）。此外，對細胞修復的不同反應將決定不同的預後。一些細胞能夠修復、再生，而不適應性細胞通過 AKI 發生腎小管萎縮、腎間質纖維化和腎小球硬化，逐漸進入 CKD 並最終進入 ESRD 階段。上皮細胞間質轉換（Epithelial-Mesenchymal Transition, EMT）是這些轉變的一部分。



圖三、AKI 到 CKD 進展 (Runzhi Guo, 2023)

2. AKI 長期影響：

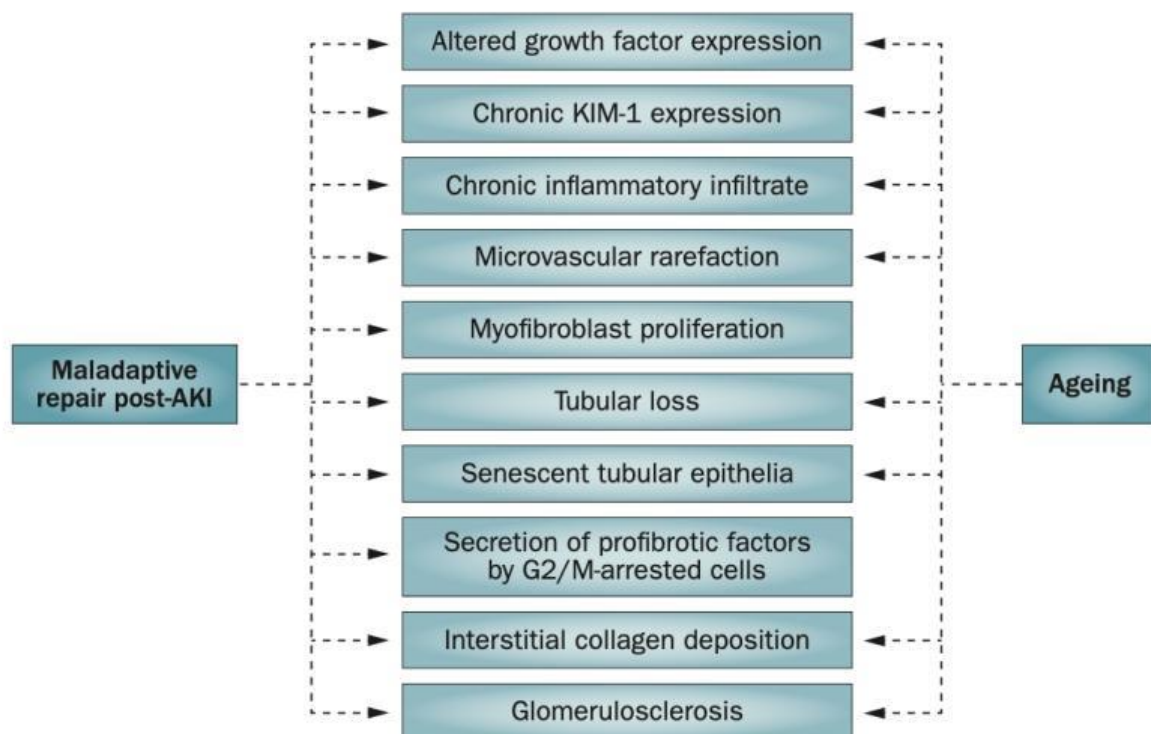
不可逆的腎元損失、纖維化和 CKD，根據 AKI 的嚴重程度，腎元受到不同程度不可逆的破壞及損失，這代表發生 AKI 後很可能導致 CKD 和腎臟壽命的減少。即使腎絲球過濾率（Glomerular Filtration Rate, GFR）似乎完全恢復，AKI 後的蛋白尿是 CKD 的臨床指標。AKI 對腎臟壽命的影響在年長者中最為明顯，並且通常與先前損傷或慢性腎病引起的預期 CKD 相關，稱為 AKI 合併 CKD。

3. AKI 後可能面臨風險

AKI 後可能會面臨高血壓。一項研究發現，與未經歷 AKI 的個體相比，經歷 AKI 的人患高血壓的風險增加了 22%。AKI 後的 CKD 與心血管和腦血管的發病率和死亡率增加相關的研究發現，AKI 使後續心衰風險增加了 58%，心肌梗塞風險增加了 40%，中風風險增加了 15%（John A. Kellum, 2021）。

4. AKI 後與老化造成共同機制

研究指出腎臟老化的特徵包括腎小管喪失、腎絲球硬化和間質膠原蛋白的沉積等。在老化的腎臟中，老化細胞和 G2/M 期停滯細胞的數量也逐漸增加，而所有這些細胞變化在年輕患者急性腎損傷後也會發生。這些共同的特徵似乎導向急性腎臟損傷後在功能上相當於腎臟的加速老化的結論（David A. Ferenbach, 2015；圖四）。



圖四、AKI 與老化對腎臟造成的影響（David A. Ferenbach, 2015）

（二）腎功能指標

1. 腎絲球過濾率（Glomerular Filtration Rate, GFR）

腎絲球過濾是指腎臟在單位時間內清除血漿中某一物質的能力，它會隨著年齡的老化而逐漸衰退。腎絲球過濾率愈小代表腎功能愈差。

2. 血清尿素氮（BUN）

尿素（urea）是體內蛋白質代謝後的產物，因為分子小容易自腎絲球過濾，可以檢測血中尿素氮來代表腎臟排除代謝廢物的功能是不是正常。如果尿素氮異常升高，暗示腎臟可能受損。

3. 肌酸酐（creatinine）

肌酸酐源自於肌肉組織代謝，雖然也會自尿液排出，但是比較少受食物等環境因素的影響。臨床上，常合併檢查尿素氮和肌酸酐來觀察患者的腎功能狀態，尤其是肌酸酐更具代表性。值得一提的是：在腎功能受損初期，尿素氮和肌酸酐因為分子小容易自腎絲球過濾排出；尤其腎小管還有主動分泌排出肌酸酐的能力，所以疾病初期兩者都不會立即升高。一直要到腎功能下降到只剩原本的三分之一或更低時，肌酸酐才會較明顯上升。

（三）未折疊蛋白反應（Unfolded Protein Response, UPR）

1. 簡介

內質網（ER）負責蛋白質的合成、加工和運輸，對於維持細胞的平衡至關重要。蛋白質由於各種原因不能正常折疊成二級結構，進而在內質網中累積，導致內質網壓力（ER stress），而 UPR 是細胞為移除這些影響而做出的反應，現已發現它在所有哺乳動物物種以及酵母和蠕蟲生物之間是高度保留的。

2. 目的

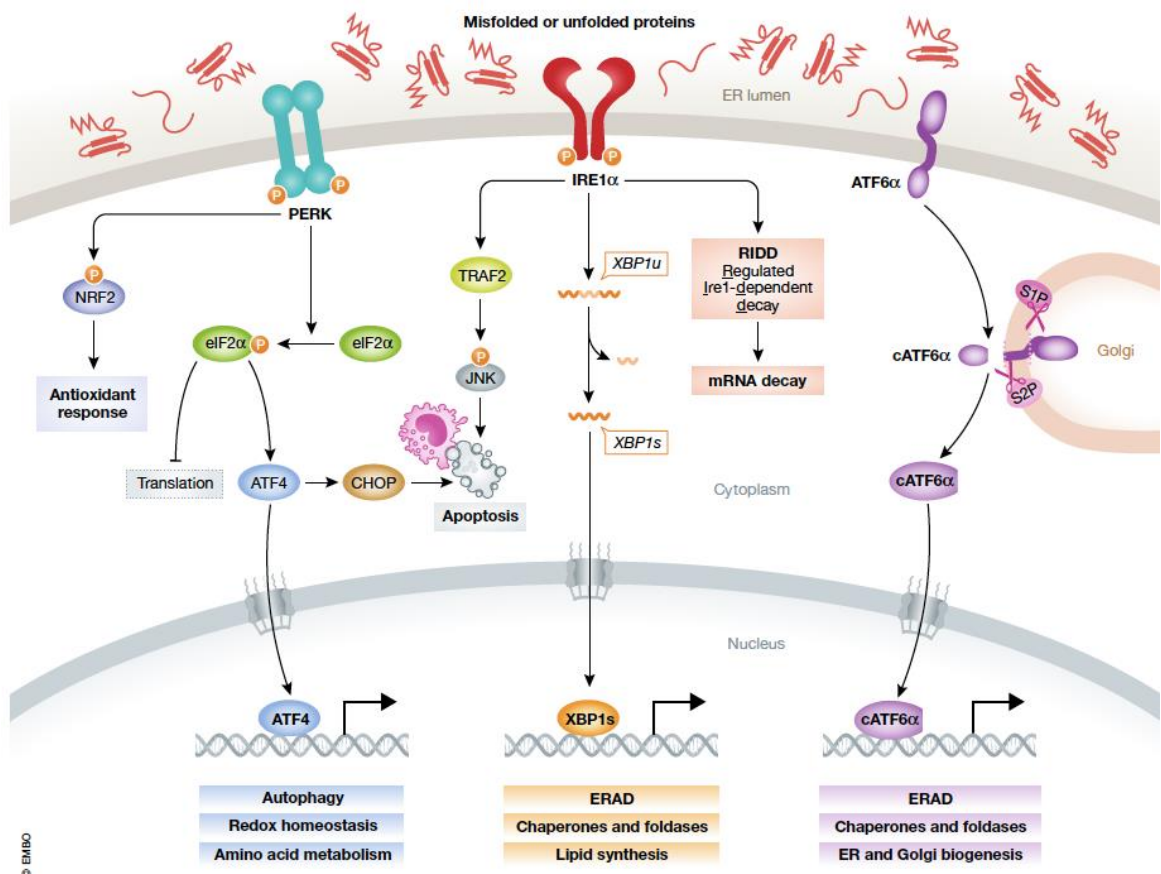
- （1）通過停止蛋白質轉譯來恢復細胞的正常功能。
- （2）正向調控蛋白質折疊相關分子伴侶蛋白（chaperone protein）。
- （3）上調負責辨認內質網中未折疊蛋白的訊號傳遞進行泛素（ubiquitin）所引導的蛋白質降解。

3. 重要性

當內質網壓力未得到緩解時，UPR 可誘導細胞凋亡並導致細胞死亡。已知 UPR 持續過度活化與許多人類疾病有關，包括癌症、高血糖症、自體免疫性疾病、肝病、視網膜病變、急性肺損傷和神經退化。在慢性腎臟病中，UPR 的活化也會導致疾病發展與腎臟纖維化（Chih-Kang Chiang, 2011）。因此，了解 UPR 訊號的完整機制對於評估其在各種疾病下的生物學效應，以及發展針對 UPR 相關疾病的預防和治療措施至關重要。

4. 分子機制

UPR 訊號透過位於內質網的三種主要效應蛋白進行調節：inositol-requiring enzyme 1（IRE1） 、 activating transcription factor 6（ATF6）和 protein kinase RNA-like ER kinase（PERK）。這些蛋白質透過與 glucose response protein 78（GRP78/Bip）結合而保持在未活化膜結合狀態。在與未折疊蛋白相互作用後， GRP78 從 UPR 效應蛋白中釋放出來，從而導致這些效應蛋白的活化（圖五）。



圖五、UPR 三種反應路徑的過程（Tingting Zhang, 2015）

(1) Inositol-Requiring Enzyme 1 Alpha (IRE1 α)

IRE1 α 是一種內質網常駐蛋白，在所有組織類型中普遍都會表現。它是一種在內質網中的單次 I 型跨膜蛋白，會與其他幾種蛋白質相互作用，包括 GRP78、DAB2IP、TRAF2 和 TAOK3。在 UPR 活化後，IRE1 α 經歷二聚化 (dimerization) /自磷酸化 (autophosphorylation) 修飾後活化 (例如 phospho-Ser724 IRE1 α) IRE1 α 的活化形式隨後誘導轉錄因子 XBP1 的 mRNA 剪接。從 XBP1 中去除內含子會導致 XBP1 的活化態 (XBP1-S, XBP1 splicing form) 的表現，進而正向調控 ER 伴護蛋白，以及 ER 相關蛋白降解 (ER-associated protein degradation, ERAD) 路徑和脂質代謝的基因。

透過非 XBP1 依賴性路徑，IRE1 與腫瘤壞死因子 (TNF) 受體相關因子 2 (Tumour necrosis factor receptor-associated factor 2, TRAF2) 結合並誘導 JUN 氨基末端酶 (JUN amino-terminal kinase, JNK) 活化。已知這種相互作用可調節自噬作用和細胞凋亡。IRE1 的內切核糖核酸酶活性還誘導調節型 IRE1 依賴衰解 (Regulated IRE1-Dependent mRNA Decay, RIDD)，且與脂質合成代謝和細胞凋亡有關。IRE1 α 還參與細胞週期停滯、胰島素代謝、血管生成和巨自噬作用 (Macroautophagy) 調節的過程。

(2) Activating Transcription Factor 6 (ATF6)

ATF6 是一種跨膜醣蛋白和轉錄活化蛋白，可在發生內質網壓力時活化啟動 UPR。在感受到內質網壓力後，p90 被轉運到高基氏體，在那裡透過 S1P 蛋白酶 (site 1 protease) 和 S2P 蛋白酶 (site 2 protease) 進行加工，釋放 N 端加工的 cAMP 依賴性 ATF-6 α 形式 (cytosolic/cleaved-ATF6, p50)。切割的 p50 形式的 ATF6 轉移到細胞核，在細胞核中它與 ERSE (ER stress response element) 上的 DNA 結合，以調節 ER 相關蛋白降解 (ERAD) 和 UPR 基因。

除了透過 ERSE 和 ERAD 調控內質網壓力反應外，p50 還調控 XBP1 蛋白的轉錄，以及誘導細胞凋亡、調控 RNA 聚合酶 1 啟動子的轉錄、眼睛組織發育和視覺感知 (visual perception)。

(3) Protein kinase RNA-like ER Kinase (PERK)

在內質網壓力反應和 UPR 活化時，PERK 會抑制新蛋白質的轉譯作用。具體來說，內質網壓力導致 PERK 在內質網腔內的結構域 (N 端) 寡聚化 (oligomerization)，這促進了 PERK 在細胞質結構域 (C 端) 在 Thr-982 處的反式自磷酸化 (trans-

autophosphorylation)。因此，通常將 Thr-982 位點的磷酸化形式的 PERK 評估為內質網壓力的程度。

活化的 PERK 使 eIF2 α (eukaryotic translation initiation factor 2 α) 磷酸化，從而抑制蛋白質的轉譯以維持體內平衡。然而 Phospho-eIF2 α 並不會影響 ATF4 的轉譯。在累積後，ATF4 移動至細胞核，在那裡它誘導 ER 伴護蛋白、自噬/凋亡基因（尤其是 CHOP）、氧化反應基因的表現，並活化氨基酸代謝訊息傳遞路徑。PERK 在 UPR 期間促進細胞週期退出 (cell cycle exit)，並參與粒線體形態和功能的調節。

(4) X-box binding protein 1 (XBP1)

在內質網壓力時，BiP 解離後 IRE1 α 被激活，導致 IRE1 α 構象變化。它促進其二聚化和反式自磷酸化，然後活化激酶和 RNase 結構域。與傳統的 mRNA 剪接不同，XBP1 mRNA 是透過 IRE1 α RNase 進行剪接，導致未剪接的 XBP1 (XBPlu) 切開 26 個核苷酸，生成剪接的 XBP1 (XBP1s)。XBP1s 是一種轉錄因子，調節參與蛋白質折疊品質控制的基因，以透過增強蛋白質折疊能力、啟動內質網相關降解 (ERAD) 和減少內質網中的蛋白質負載來減輕內質網壓力。

近期的研究指出，代表適應性 UPR 的 XBP1 表現量會隨著腎臟病發展過程逐漸下降，其功能可能與保護腎臟細胞，避免腎臟病變引起的腎臟纖維化有關 (Chih-Kang Chiang, 2011) (Jia-Huang Chen, 2022)。

(四) 脂質代謝能力

1. 脂質氧化途徑 (FAO pathway)

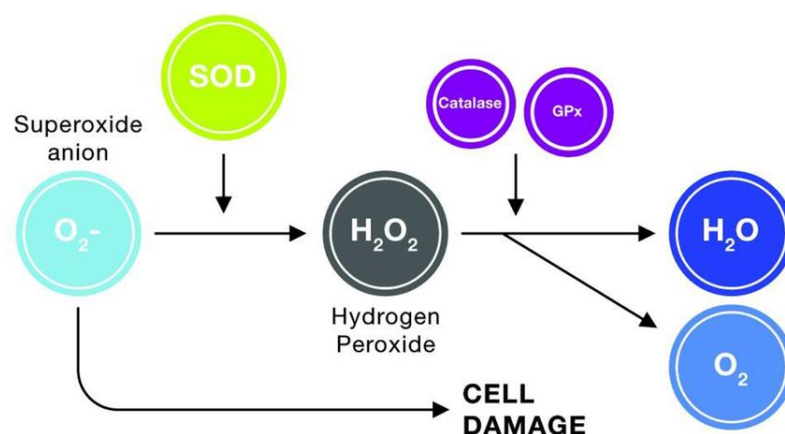
在急性和糖尿病性腎病的背景下，小管上脂質積聚引起了相當大的關注。三酸甘油脂的過度積聚會誘導細胞脂毒性，可能促進腎纖維化的發展。近曲小管上皮細胞具高能量消耗和大量的粒線體，對於高代謝細胞來說，脂肪酸氧化是首選的能源來源，因為脂肪酸的氧化比葡萄糖的氧化產生更多的 ATP 分子。長鏈脂肪酸的攝取是 CD36 來促進的。脂肪酸的代謝需要將它們運輸到粒線體中，由 CPT1 介導，CPT1 被認為是脂肪酸氧化的限速酶。過氧化物酶體增生激活受體 (PPARs) 和 PPAR- γ 共激活因子-1 α (PGC α ; PPARGC1A) 是調節參與脂肪酸攝取和氧化的蛋白質表達的關鍵轉錄因子。通常脂肪酸的攝取、氧化和合成都維持著緊密的平衡，以避免細胞內脂質積聚 (Zijing Zhu, 2022)。

2. PPAR α

在大鼠老化過程中，隨著腎小管上皮區域脂質的積累，PPAR α 和 FAO 途徑相關蛋白的表達顯著降低。有研究指出，肝臟中的 PPAR α 表現會直接受到適應性未折疊蛋白 XBP1 的調控（Rong Wu, 2014）。但在腎臟中，這部分的機轉還不清楚。

（五）抗氧化能力

超氧化物歧化酶（SOD）和過氧化氫酶（catalase）是兩種重要的抗氧化酶，能保護細胞免受活性氧（ROS）的損害（Christine J. Weydert, 2010；圖六）。SOD 將超氧化物轉化為氧氣和過氧化氫，從而減少對酶、DNA 和脂質的破壞。隨著氧化壓力的增加，SOD 濃度會上升，幫助動物更有效地應對壓力。過氧化氫酶則進一步將過氧化氫轉化為水和氧氣，主要在高濃度的過氧化氫環境中活躍，並存在於動物細胞的主要 ROS 產生部位。這兩種酶協同作用來解毒 ROS。此外，microRNA 作為重要的轉錄後調控元件，通過與 mRNA 互補結合來調節基因表達，從而影響蛋白質的生成。



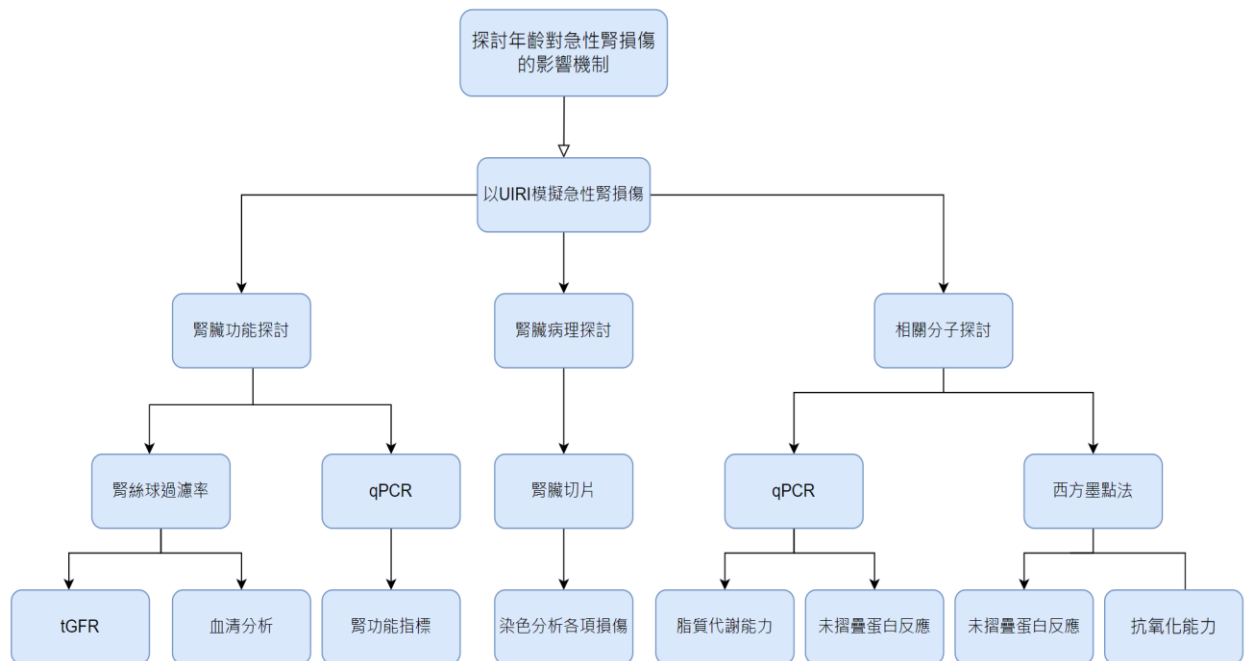
圖六、SOD 和 catalase 在抗氧化壓力過程之角色（Christine J. Weydert, 2010）

三、研究目的

- （一）比較年輕小鼠與老化小鼠遭受急性腎臟損傷前後在腎臟功能上的變化
- （二）比較年輕小鼠與老化小鼠遭受急性腎臟損傷前後在病理（型態）上的變化
- （三）比較年輕小鼠與老化小鼠遭受急性腎臟損傷前後造成未折疊蛋白反應、脂質代謝能力和抗氧化能力分子上的變化

貳、研究方法與過程

一、研究架構圖



圖七、研究架構圖

二、實驗設備與器材

(一) 設備

離心機 (Thermo pico 21)	離心機 (himac CT15RE)	Transdermal GFR Monitor
均質機	均質珠	防爆 eppenforf
USB Dual Battery Charger	Small Patch 3x3 cm	Large Patch 3x6 cm
MB Studio Software	creatinine 檢測片	BUN 檢測片
自動生化分析儀		

（二）藥品

RIPA Lysis and Extraction Buffer	酒精	ddH ₂ O
Acrylamide	Tris-HCl	SDS
APS	TEMED	Load marker
Western Blot Transfer Buffer	CH ₃ OH	脫脂牛奶
TBST buffer	HCHO	NEO clear buffer
10x citrate buffer	0.05% Tween 20	10x citrate buffer
0.05% Tween 20	10x citrate buffer	citric acid
雙氧水	PBS	0.1% Triton X-100
含 3% BSA 的 PBS	GENEzol Reagent	絕對酒精
wash buffer	DNase I	DNase I reaction buffer
pre-wash buffer	DEPC-Treated water	

三、研究方法

（一）單側腎臟缺血再灌流損傷模型（Ischemia-reperfusion injury）

為了模擬哺乳類動物腎臟器官的老化機制，因此選擇使用同為哺乳類的實驗小鼠作為研究對象。單側腎臟缺血再灌流損傷模型的手術流程從小鼠的麻醉和固定開始。根據小鼠的體重準備麻醉藥物和止痛劑，並使用測溫儀保持小鼠體溫在 37.5 °C。剃除手術部位的毛髮後，進行酒精消毒，然後用紙膠帶輕輕固定四肢。手術從腎臟部位的側腹切口開始，約 1 cm。用鑷子找到腎臟，避免直接夾取臟器，透過推擠或托舉暴露腎臟，隨後劃開腎動脈旁的脂肪組織，並使用微型動脈夾夾住腎動脈，保持缺血狀態 27~30 分鐘。期間補充溫鹽水，並觀察腎臟。時間到後，移除血管夾，腎臟應恢復鮮紅色。然後將腎臟放回原位，開始縫合傷口，從肌肉層開始，確保穩固綁結，接著縫合外皮或使用縫合釘。手術結束後，腹腔注射止痛藥及 0.9% 生理食鹽水，將小鼠放置於隔離空間觀察，確認無異常後返回飼養籠子進行恢復。

在我們的實驗中總共有年輕 (young) 和老化 (aged) 兩組，而其又各分為 Sham 和 UIRI 組，所有小鼠皆在首日摘除右腎，透過單獨觀察左腎來使受損後功能差異更加明顯。7 日以後，Sham 組左腎不做處理；UIRI 組左腎則進行 IRI 手術。

(二) 血清生化分析

小鼠麻醉後，首先進行心臟採血 ($\geq 100 \mu\text{L}$)。血液置於常溫 30 分鐘，使其凝血後，離心取上清液檢體，使用自動生化分析儀分析 BUN 及 Creatinine 在血液中的變化。過程為準備檢體與檢測片，使用自動生化分析儀前先刷條碼、放適量檢測片。取 $10 \mu\text{L}$ 檢體至檢測片上並測量。

(三) 切片處理

首先，將經甲醛固定的組織移至包埋盒，並保存於 70% 酒精中，後續交由動物中心進行包埋和切片及 H&E 染色。H&E stain 是組織染色常用的染色方法之一，這種染色方法的原理是靠組織結構對不同染料的結合程度不同。其可以將嗜鹼性結構染成藍紫色，而伊紅可以將嗜酸性結構染成粉紅色。

(四) tGFR 經皮檢測法

將老鼠氣麻，剃毛並抹上除毛膏。在老鼠背上裝上感測器 (Transdermal GFR monitor) 測 Basal line，確認沒有漏光後即可從尾靜脈注射 $0.5 \mu\text{L}$ 螢光類菊粉左旋糖 (FITC-Sinistrin)。等待 1.5 小時後，便可拆除裝置察看結果，並進行數據分析。

選擇 FITC-Sinistrin 乃因 Sinistrin 為植物儲存能量的分子，無法被動物利用，故其會隨著時間慢慢被腎臟代謝，從血中過濾掉。再將其掛上 FITC 的螢光特性後注入動物體內以方便觀察。

(五) RNA 萃取

在裝有樣本的 Eppendorf 管內加入半匙均質株和 $200 \mu\text{L}$ GENEzol Reagent，均質後重複三次冷卻，確認溶液均勻。接著再加入 $500 \mu\text{L}$ GENEzol Reagent 並以 14.5 速離心

60 秒，將上清液移至新 Eppendorf 管，加入 700 μ L 絕對酒精混合。將混合液加入 column，離心並倒掉廢液，重複上步驟一次。之後加入 400 μ L wash buffer、DNaseI 和反應緩衝液靜置 15 分鐘，進行清洗和離心。最後加入 50 μ L DEPC 水，離心，即完成基因提取。

（六）西方墨點法

首先，配製標準蛋白溶液，將標準品和樣品加入 96 孔盤中，加入試劑後在培養箱中孵育，並在 562 nm 測定吸光值。接著，配製樣品溶液並進行電泳，將蛋白轉移至 PVDF 膜上。轉漬後，使用 5% 牛奶進行封閉，再加入一抗並過夜處理。次日，用二抗反應 1 小時，進行冷光檢測並拍攝圖像。最後，使用 Stripping buffer 去除抗體並進行阻斷，重複抗體反應，完成西方墨點法實驗。

參、研究結果與討論

為了解年齡對腎臟受損後功能的影響，實驗使用了年輕小鼠與老化小鼠並分別模擬急性腎臟損傷。實驗總共有年輕（young）和老化（aged）兩組，而其又各分為 Sham 和 UIRI 組，所有小鼠皆在首日摘除右腎，透過單獨觀察左腎來使受損後功能差異更加明顯。Sham 組左腎不做處理；UIRI 組左腎則進行 IRI 手術。

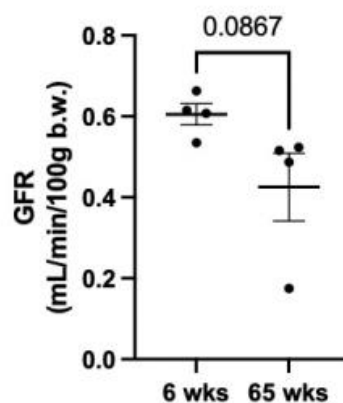
一、腎臟功能

（一）腎絲球過濾率

為了分析腎臟損傷程度在年輕小鼠與老化老鼠間的差異，測定其腎絲球過濾率（GFR），並且以 tGFR 經皮檢測法及尿素氮（BUN）、肌酸酐（Creatinine）的測量來了解受損前後腎臟功能上的變化。

1. tGFR

分析 tGFR 結果後發現，功能上來看，老化小鼠的腎臟受損情形較年輕小鼠嚴重。結果顯示年齡對小鼠腎絲球過濾率有很大的影響。跟年輕的組別比起來，老化組別的腎絲球過濾率有下降的趨勢，強調了老化組別腎臟功能的退化。



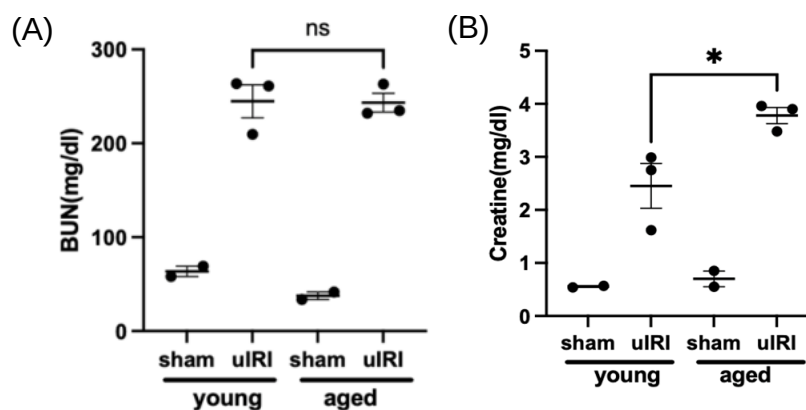
圖八、以 tGFR 比較腎臟未受損之年輕與老化組別之小鼠的腎功能差異

（藉由比較打入小鼠體內 FITC-sinistrin 含量的半衰期來測量其腎絲球過濾葡萄糖之效率）

2. 血清分析

由血清分析的結果可發現，不論年輕小鼠或是老化小鼠，UIRI 組別血清中的 BUN 濃度都明顯高於 Sham 組別的，可見 UIRI 後小鼠腎臟皆嚴重受損。除此之外，我們觀察到年輕與老化小鼠受損後的 BUN 濃度在統計上未有顯著差異。

同樣的，不論年輕小鼠或是老化小鼠，在經歷 UIRI 後血清中 creatinine 濃度都有顯著上升，但跟 BUN 不一樣的是，年輕與老化小鼠受損後的 creatinine 濃度也有統計上的顯著差異。



圖九、以血清比較年輕與老化組別受損前後小鼠腎臟濃度差異。

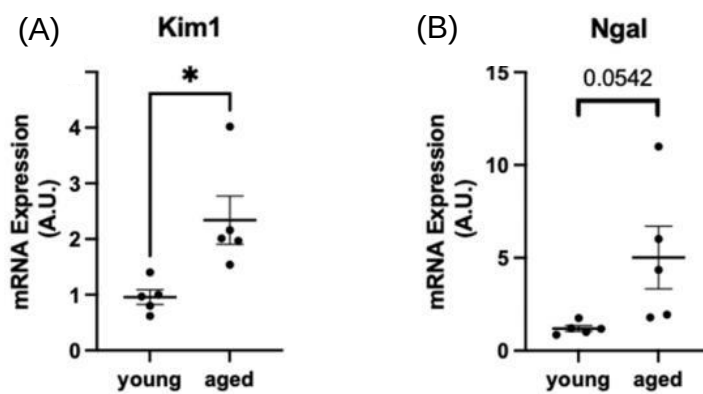
(A)圖中比較血清中 BUN 的含量；

(B)圖中比較血清中 Creatinine 的含量。

(二) 腎功能指標

為了觀察腎臟受損前後之情形，實驗設計選擇使用常見之腎功能損傷程度指標 NGAL (Neutrophil Gelatinase Associated Lipocalin) 和 KIM-1 (Kidney Injury Molecule1) 來觀察。

由 qPCR 的結果可發現，腎臟受損前，老化組別小鼠腎臟組織中的 NGAL 和 KIM-1 含量都高於年輕組別，驗證了老化組別在腎臟受損前腎臟功能就已經比年輕組別差。

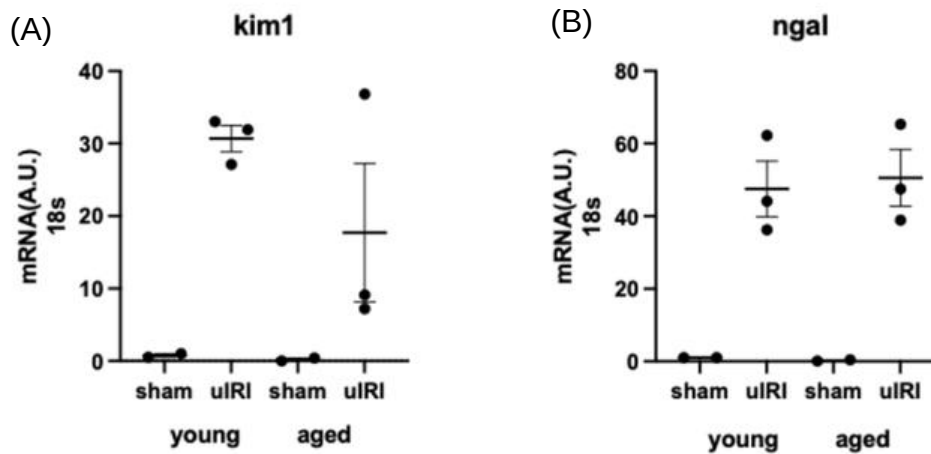


圖十、以 qPCR 比較年輕與老化組別之小鼠在腎臟受損前之腎損傷指標。

(A)圖中比較年輕與老化組別小鼠腎臟組織 KIM-1 的表現量；

(B)圖中比較年輕與老化組別小鼠腎臟組織 NGAL 的含量。

接著比較 UIRI 前後的 KIM-1 和 NGAL 含量差異，可發現有進行 UIRI 的組別小鼠腎臟組織中的 KIM-1 和 NGAL 含量較 Sham 組別都有明顯的上升。由此推得，UIRI 後，無論是年輕小鼠或老化小鼠，腎臟都會受到極大的損傷。



圖十一、以 qPCR 比較各組別腎臟 UIRI 前後的功能差異。

(A)圖中比較腎臟組織 KIM-1 的表現量。

(B)圖中比較腎臟組織 NGAL 的含量。

二、腎臟病理結果

為直接觀察各組別小鼠腎臟組織受損情形，在將小鼠腎臟摘除後，委託國立台灣大學醫學院實驗動物中心進行切片與染色，並將切片置於顯微鏡底下觀察，評比各小鼠切片損傷嚴重程度。

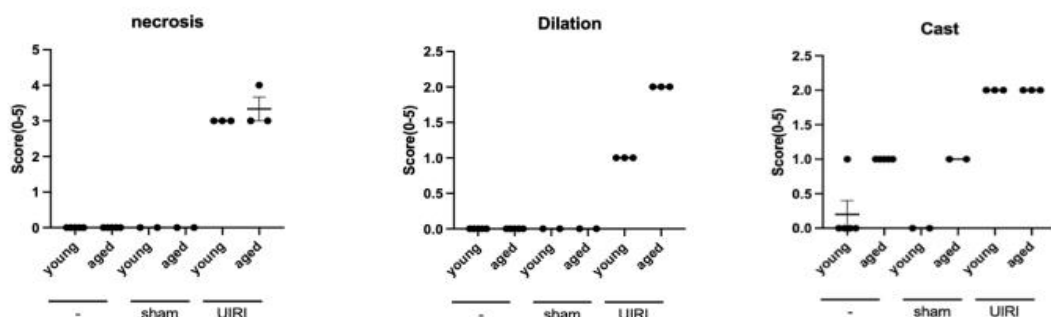
No.	Pathological number
1	230710#1 young-IRI
2	230710#2 young
3	230712#3 young-IRI
4	230712#4 young
5	230713#5 young-IRI
6	230710#6 aged-IRI
7	230710#7 aged-sham
8	230712#8 aged-IRI
9	230712#9 aged-sham
10	230713#10 aged-IRI

圖十二、小鼠腎臟切片編號

Organ	Histopathological findings	Pathological number																			
		1		2		3		4		5		6		7		8		9		10	
		C	T	C	T	C	T	C	T	C	T	C	T	C	T	C	T	C	T	C	T
Kidney	Necrosis, renal tubule	0	3	0	0	0	3	0	0	0	3	0	3	0	0	0	3	0	0	0	4
	Cast, renal tubule	0	2	0	0	0	2	0	0	1	2	1	2	1	1	1	2	1	1	1	2
	Basophilia, renal tubule	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	1	1	0
	Infiltration, mononuclear cell and neutrophil	0	2	1	1	1	2	1	1	1	2	1	2	1	1	1	2	1	1	1	2
	Dilation, renal tubule	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	2	0	0	0	2	0	0	0	2
	Mineralization, papilla	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	Osseous metaplasia	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
	Hypertrophy, renal tubule	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0

圖十三、各小鼠切片損傷嚴重程度評比

（根據 Shackelford 等人（2002 年）在《毒理病理學》中描述的方法，使用 HE 染色的病變程度根據嚴重程度分為 1 到 5 級：1 = 輕微（<1%）；2：輕度（1-25%）；3 = 中度（26-50%）；4 = 中度/嚴重（51-75%）；5 = 嚴重/高度（76-100%）。0：無顯著病變。）



圖十四、年輕與老化小鼠損傷前後 necrosis、dilation、cast formation 損傷程度比較

(一) 腎小管壞死 (necrosis)

腎小管壞死時常伴隨著急性腎損傷，是其最常見的病因之一。腎小管壞死涉及了上皮細胞的脫落和壞死。

從年輕與老化小鼠 UIRI 前後腎臟壞死程度分析，發現年輕與老化小鼠腎小管壞死的嚴重程度，都有顯著提高，都從原本的 0 變為 3 單位，老化小鼠第 10 組 UIRI 後腎小管壞死的嚴重程度高達 4 單位，可得知年輕與老化小鼠都有嚴重的損傷，但老化小鼠的損傷程度略高於年輕小鼠。

(二) 圓柱體 (cast formation)

當發生 AKI，細胞修復不及而脫落於尿液中，腎小管上皮細胞會剝落。而經過染色後，可見腎小管中剝落的上皮細胞，在顯微鏡下的觀察重點為腎小管組織有破碎的壞死細胞，可藉此分析腎臟的損傷程度。

我們發現年輕與老化小鼠 UIRI 前後腎小管出現的 cast formation 都有提升，年輕小鼠的 cast formation 由 0 變為 2 單位，老化小鼠 cast formation 由 1 單位變為 2 單位。而老化小鼠腎小管內的 cast formation 就已大於年輕小鼠，都由 0 變為 1，可見老化對腎小管的影響。

(三) 腎小管擴張 (dilation)

腎損傷會導致腎小管擴張，經分析後我們可以發現，年輕與老化小鼠的腎小管擴張皆為 0，而年輕與老化小鼠腎小管的擴張程度經過 UIRI 後都有提升，年輕小鼠經過損

傷後由 0 變為 1 單位，老化小鼠則由 0 變為 2 單位。而老化小鼠的腎小管擴張程度大於年輕小鼠，由 1 單位變為 2 單位，表示發生 AKI 後，老化小鼠發生的損傷較年輕小鼠嚴重，而此損傷來自腎小管上皮細胞的損傷。

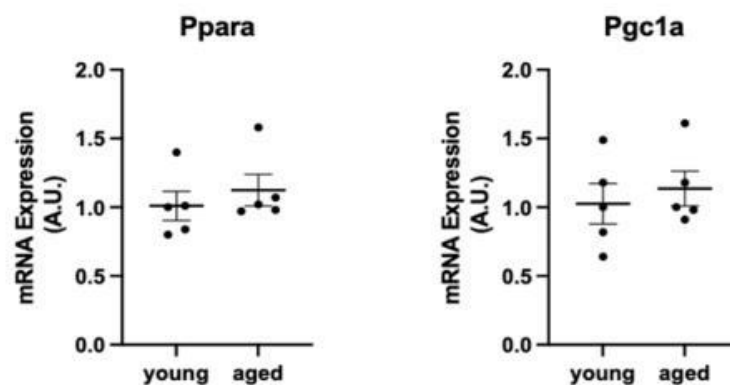
三、相關分子探討

為進一步探討造成年輕與老化小鼠腎臟損傷程度有差異之原因，我們選擇了脂質代謝能力與未折疊蛋白反應與抗氧化能力三個面向進行研究。

（一）脂質代謝能力

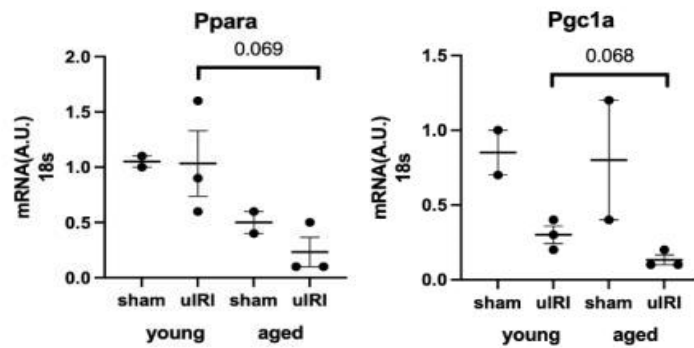
下圖為做完 qPCR 後所得的各項關於脂質代謝的 mRNA 含量比較，PPAR α 與 PGC1 皆可表示組織的粒腺體及脂質代謝能力。

下圖利用未損傷的腎臟組織做研究，可觀察到老化組別與年輕組別的 PPAR α 與 PGC1 的含量未出現明顯差異。



圖十五、以 qPCR 比較腎臟未受損之年輕與老化小鼠脂質代謝能力

下圖利用損傷後的腎臟組織做研究，可觀察到年輕小鼠受損後的 $\text{PPAR}\alpha$ 下降幅度不明顯，但老化小鼠有很明顯的下降，比較損傷後年輕與老化小鼠之間的差異統計分析後為 $p\text{ value}=0.069$ ；年輕小鼠受損後的 PGC1 下降幅度明顯低於老化小鼠，統計分析後的差異為 $p\text{ value}=0.068$ 。

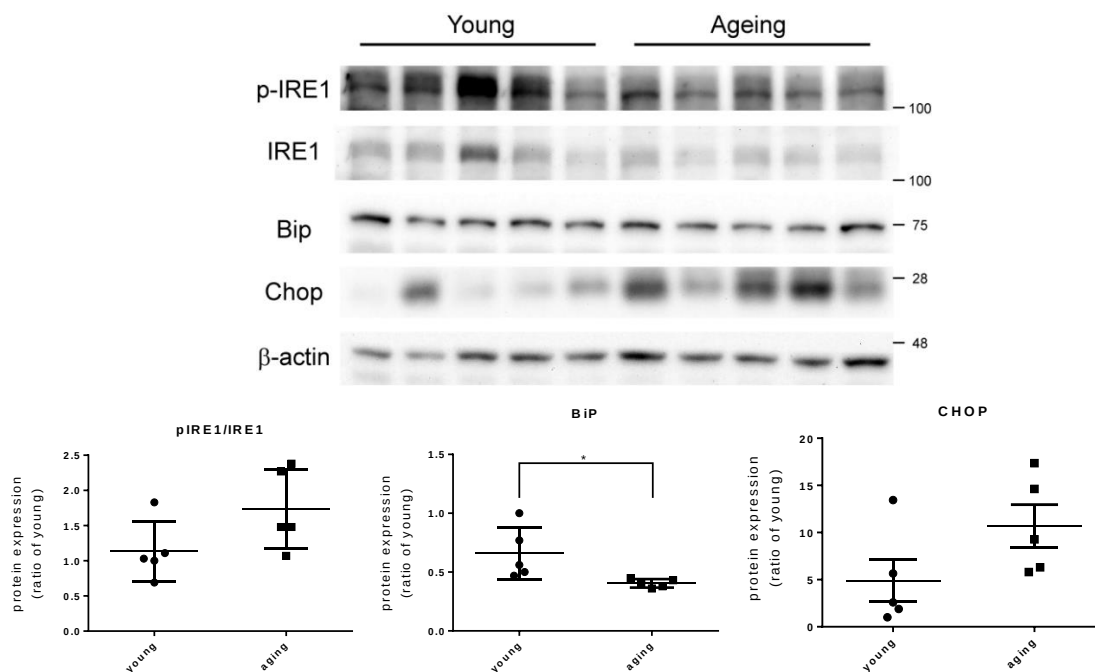


圖十六、以 qPCR 比較年輕與老化小鼠腎臟損傷後粒線體功能與脂質代謝能力之差異

(二) 未折疊蛋白反應

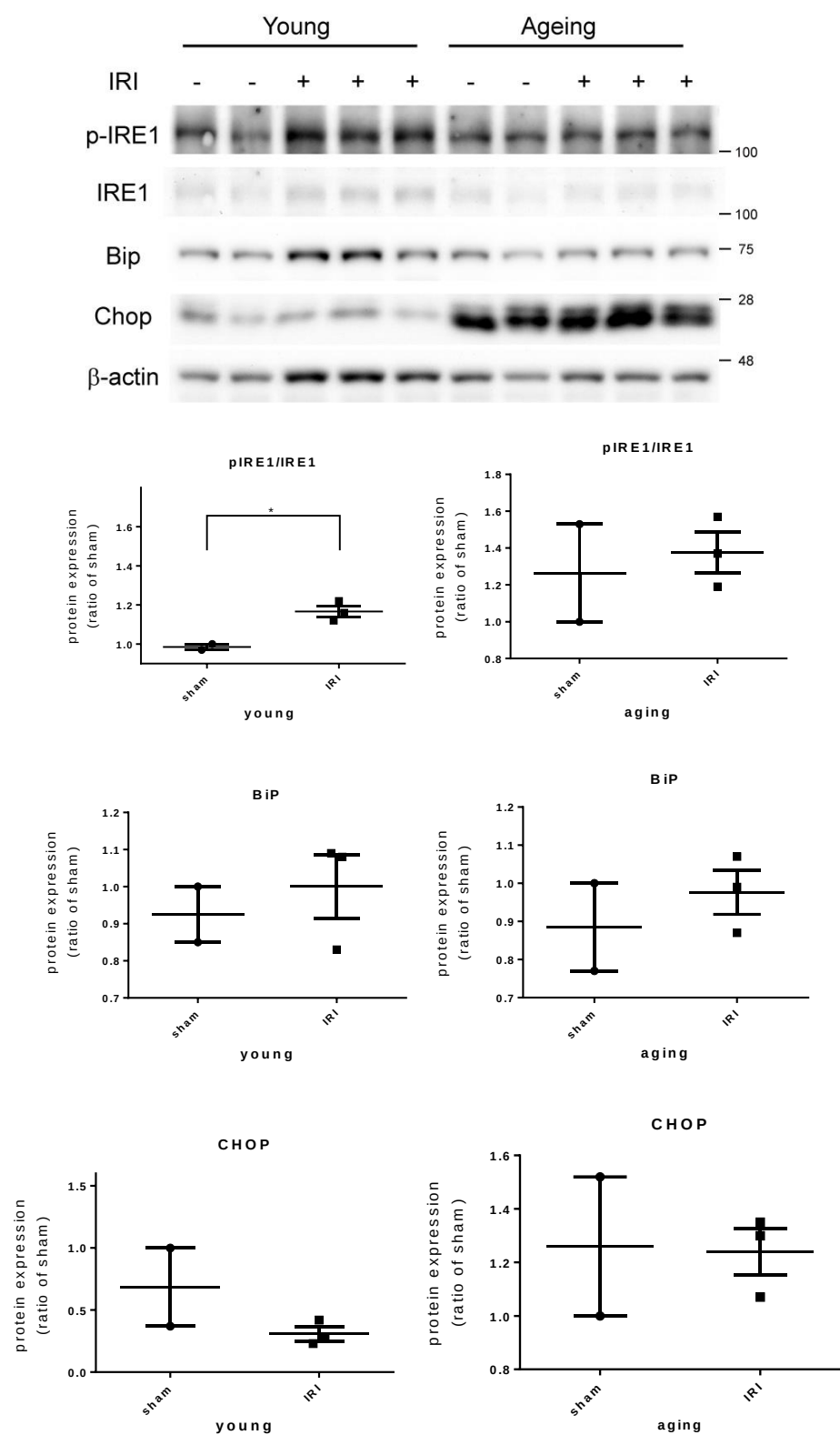
在比較年輕與老化組別損傷前後未折疊蛋白反應所受影響時，其中關鍵的蛋白包括 Bip、CHOP 和 IRE1 α 。Bip 為啟動未折疊蛋白反應的關鍵伴護蛋白，CHOP 則是與內質網壓力啟動細胞凋亡有相關的蛋白，而 IRE1 α 則可誘導轉錄因子 XBP1 的 mRNA 剪接，進而正向調控 ER 伴護蛋白以及 ER 相關蛋白的降解以降低內質網壓力。

下圖以西方墨點法定量並比較 IRE1 α 、Bip 和 CHOP 蛋白的含量，以及在未受損傷年輕與老化小鼠 IRE1 α 活化比例。我們發現老化組別的 IRE1 α 及 Bip 表現量都有顯著下降的趨勢。Chop 則是明顯上調。另外，老化組別 IRE1 α 之活化比例 (pIRE1/IRE1) 較年輕組別略高。



圖十七、以西方墨點法比較年輕與老化小鼠 IRE1 α 活化比例以及 Bip、CHOP 含量

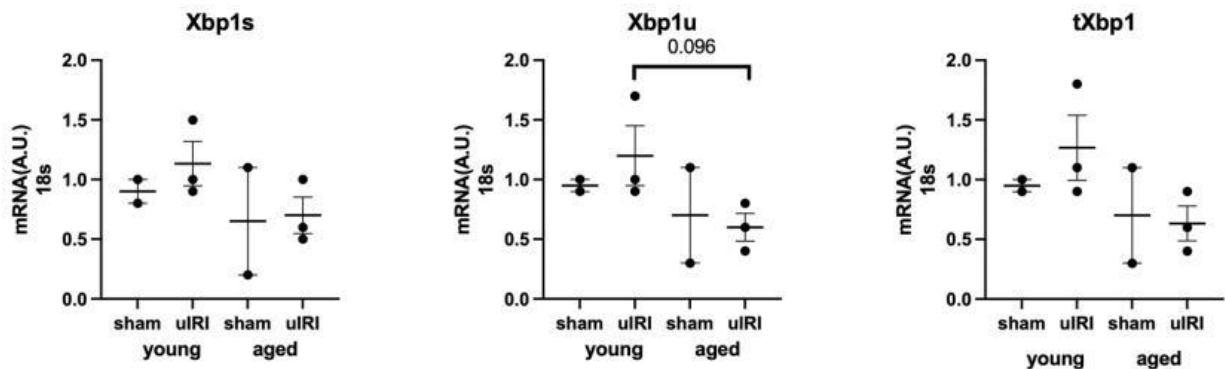
接著比較在損傷後這些蛋白在老化與年輕小鼠間的含量變化。在 IRE1 α 活化比例的比較中，可發現年輕組別上升且有顯著差異，而老化組別則大約維持相同。在 Bip 含量的比較中，可在年輕組別中觀察到稍微上升的趨勢，而老化組別也僅略略上升，兩者皆未達顯著差異。最後在 CHOP 蛋白的含量比較中，年輕組別略有下降但差異不大，而老化組別則是維持相同。



圖十八、以西方墨點法比較損傷前後 IRE1 α 活化比例以及 Bip、CHOP 含量

在未折疊蛋白反應中的 IRE1 α 路徑，會剪去 XBP1 内含子產生 XBP1s，而未剪切 RNA 則以 XBP1u 表示，tXBP1 則是兩種 XBP1 的總和。這三種 RNA 都可表示內質網壓力的嚴重程度。

年輕與老化小鼠的 XBP1s 變化皆不明顯，而老化小鼠的 XBP1s 含量則略低於年輕小鼠，但並未呈顯著差異。年輕小鼠的 XBP1u 在損傷後有上升的趨勢，老化小鼠的 XBP1u 則略有下降，但都未達統計差異。比較損傷後的年輕與老化小鼠 XBP1s 和 XBP1u 的差異，可以看到損傷後的老化小鼠 XBP1s 和 XBP1u 含量低於損傷後的年輕小鼠，XBP1u 的統計結果 p value=0.096。再來則是 tXBP1，老化小鼠的 tXBP1 在損傷後有上升的趨勢，老化小鼠的 tXBP1 則略有下降，大致趨勢與 XBP1u 吻合。



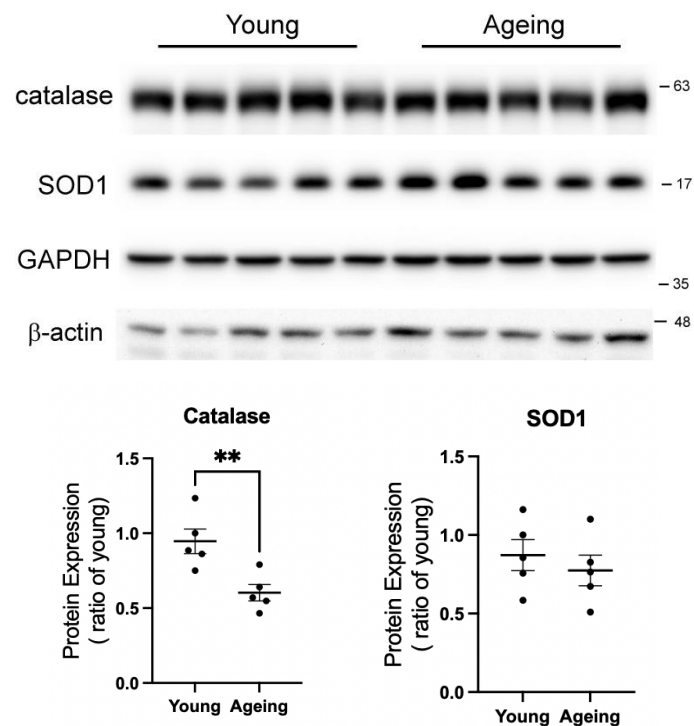
圖十九、以 qPCR 比較年輕與老化小鼠腎臟受損前後未折疊蛋白反應（XBP1）之差異

XBP1s 和 XBP1u 之比較結果與 IRE1 α 、Bip 和 CHOP 所呈現的結果吻合。在年輕組別中，損傷後 adaptive UPR 途徑活化；而老化組別變化皆不大，推測可能為其慢性 UPR 造成適應力較差。

(三) 抗氧化能力差異

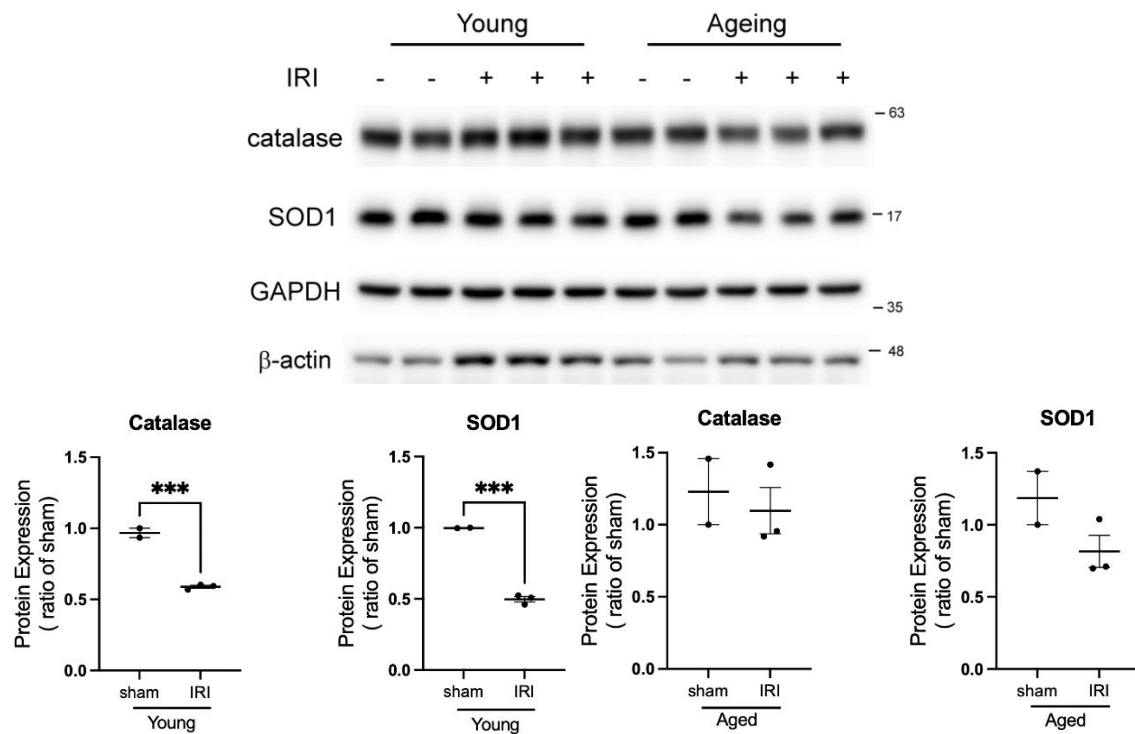
下圖為以西方墨點法所檢測到之過氧化氫酶(Catalase)和超氧化物歧化酶(SOD1)蛋白質含量比較，Catalase 可去除體內的過氧化氫以防止細胞中毒，而 SOD1 則是以去除體內自由基來降低氧化壓力。

在年輕與老化損傷組別的比較中，可發現年輕組別的 Catalase 含量高於老化組別且有達顯著差異，而 SOD1 含量差異則不大。



圖二十、以西方墨點法比較損傷前年輕與老化小鼠 Catalase 和 SOD1 含量差異

然而比較急性腎損傷後年輕與老化組別 Catalase 和 SOD1 的含量，可發現無論是 Catalase 還是 SOD1，都是年輕組別顯著地下降，而老化組別略有下降但變化不大。由此可推得年輕組別之抗氧化能力受急性腎損傷影響較大，而老化組別在損傷後抗氧化能力並未有進一步下降。



圖二十一、以西方墨點法比較年輕與老化小鼠受損傷後 Catalase 和 SOD1 含量差異

四、結果討論

本研究旨在探討年齡與小鼠腎臟受損後功能之關聯，並探討造成年輕與老化鼠受損後差異之原因。結果顯示老化鼠腎功能確實比年輕鼠差，且在腎臟損傷後老化鼠腎功能下降之趨勢較年輕鼠高，而造成此趨勢的理由極有可能為脂質代謝能力、適應性未折疊蛋白反應之活化以及抗氧化能力的改變。以下針對研究結果，分別進行討論：

（一）在腎臟損傷後，老化小鼠腎臟受損程度會較年輕鼠嚴重

在 tGFR 實驗中，以體內 FITC-Sinistrin 含量之半衰期來看，不但看出年輕鼠在受損前腎絲球過濾率較老化小鼠好，藉由 qPCR 我們也發現腎功能指標 KIM1 及 NGAL 的含量皆低於老化小鼠。我們更從 Creatinine 含量差異發現 UIRI 損傷後老化鼠腎功能下降之趨勢較年輕小鼠大。從組織病理分析來看，也可觀察到相同的趨勢。更加支持了 UIRI 損傷後老化小鼠腎功能下降程度會較年輕小鼠大的推論。

（二）造成老化小鼠與年輕小鼠腎功能受損差異之原因－脂質代謝能力

藉由 qPCR 的實驗，我們發現腎損傷前，PPAR α 和 PGC1 的含量皆在兩組中並無差異。但觀察到年輕小鼠受損後的 PPAR α 下降幅度不明顯，老化小鼠有很明顯的下降（統計分析後為 p value=0.069）可以得知老化小鼠在腎臟細胞受損後，脂質代謝能力下降更嚴重；年輕小鼠受損後的 PGC1 下降明顯少於老化小鼠（統計分析後的差異為 p value=0.068）也可推論老化小鼠在損傷後，粒線體生成相關機轉也更為缺失。

總結實驗結果發現，脂質代謝能力和粒線體生成機轉的差異，可能為造成損傷程度不一致的原因。脂質代謝能力和粒線體生成機轉較差的老化小鼠損傷時，可能會使其損傷程度更為嚴重。

（三）造成老化小鼠與年輕小鼠腎功能受損差異之原因－未折疊蛋白反應

藉由西方墨點法比較 IRE1 α 、Bip、CHOP 含量以及 IRE1 α 活化比例差異，發現急性腎損傷後年輕小鼠的 UPR 反應活化較老化小鼠明顯，看出在面臨內質網壓力時，年輕小鼠更能有效地以未折疊蛋白反應去降低內質網壓力。相較之下，老化小鼠的 IRE1 α 活化比例並未上升，推測老化小鼠應對內質網壓力的能力，導致內質網壓力對腎臟造成損傷。

在 IRE1 路徑相關 RNA 的分析中，年輕和老化小鼠的 XBP1s 上升均不明顯，且老化小鼠的 XBP1s 含量略低於年輕小鼠。在未剪切的 XBP1u 以及 tXBP1 方面，老化小鼠在損傷後表現含量都略低於年輕小鼠。比較損傷後的 XBP1u 含量時，老化小鼠的趨勢較年輕小鼠為低，存在一定的趨勢差異（p value=0.096）。可得知，老化小鼠與年輕小鼠內質網壓力在經過 UIRI 後，老化小鼠應對內質網壓力的適應性 UPR 相關分子表現較差，符合我們的推測且與西方墨點法之結果吻合。

內質網壓力是心臟老化的主要特徵（Wenxing Zhan, 2022），而在老化小鼠的組別中，我們也觀察到了內質網壓力上升的趨勢。此外，我們還發現老化小鼠的 IRE1 α 含量也較低。總結來說，藉由損傷後未折疊蛋白反應 IRE1 α 途徑的活化，發現了年輕小鼠較老化小鼠能更好的應對內質網壓力，而老化小鼠我們則推測是因為慢性 UPR 而適應力較差。

（四）造成老化小鼠與年輕小鼠腎功能受損差異之原因－抗氧化能力

藉由西方墨點法看影響抗氧化壓力之能力的 Catalase 和 SOD1 兩大酵素，在年輕與老化組別間的比較中發現年輕組別能較好的清除自由基並降低氧化壓力。在急性腎損傷以後，年輕組別的 Catalase 和 SOD1 含量顯著地下降，老化組別卻沒有變化。這樣的結果指出了年輕小鼠之抗氧化能力受急性腎損傷影響較大，而老化小鼠之抗氧化能力並未有下降推測原因為其本身功能就已較差，故無法再有進一步的下降。

肆、結論與應用

一、結論

- (一) 在受到相同的急性腎臟損傷後，老化小鼠的腎功能下降趨勢大於年輕小鼠。
- (二) 造成老化小鼠腎功能在受到急性腎損傷後下降趨勢大於年輕小鼠之原因與脂質代謝能力和粒線體生合成有密切關係，老化小鼠脂質代謝能力和粒線體生合成下降較年輕小鼠嚴重。
- (三) 造成老化小鼠腎功能在受到急性腎損傷後下降趨勢大於年輕小鼠之原因與未折疊蛋白反應 (UPR) 之 IRE1 α 途徑有極高的關聯，老化小鼠損傷後 UPR 修復內質網壓力的能力較弱。
- (四) 在受到急性腎損傷後，年輕小鼠之抗氧化能力下降明顯於老化小鼠，故抗氧化能力並非造成急性腎損傷後老化小鼠腎功能下降趨勢大於年輕小鼠的主要原因，但可能和損傷前，老化小鼠腎功能較差有關。

二、應用

本研究旨在深入了解腎衰竭與老化和衰弱狀態的關聯。在我們的研究過程中，已觀察到受到急性腎臟損傷後，相關分子於不同年齡之老鼠之間的變化：脂質代謝能力與粒線體功能，與腎臟功能呈現正相關；老化與未折疊蛋白反應 IRE1 α 途徑之關聯已有出現趨勢；而我們也觀察到抗氧化能力並非主要影響損傷後腎功能之因素。上述三項影響腎功能因素與腎臟功能的詳細分子機制待未來的深入探討，未來將進行更多相關實驗以進一步觀察其與老化的關係。若能找到連結老化與腎臟急性損傷後相關之分子機制，有助於了解長者健康問題的根本原因，並且找到造成老化與衰弱之關鍵原因。更進一步，我們的研究若能發展成為藥物篩選平台，可進行轉譯醫學相關研究，提升對長者的照護並尋找預防策略。

伍、參考文獻

1. 衛生福利部（2021），高齡社會白皮書
2. 衛福部國民健康署（2004），認識你的腎臟
3. Cooper, C., Dere, W., Evans, W. et al. Frailty and sarcopenia: definitions and outcome parameters. *Osteoporos Int* 23, 1839–1848 (2012). <https://doi.org/10.1007/s00198-012-1913-1>
4. Alfano, G.; Perrone, R.; Fontana, F.; Ligabue, G.; Giovanella, S.; Ferrari, A.; Gregorini, M.; Cappelli, G.; Magistroni, R.; Donati, G. Rethinking Chronic Kidney Disease in the Aging Population. *Life* 2022, 12, 1724. <https://doi.org/10.3390/life12111724>
5. 陳佳煌（2022），內質網壓力於急性腎損傷至慢性腎臟病轉換：專注於早期硫酸吡啶酚移除與 XBP1s 作用（未出版的博士論文），國立臺灣大學醫學院毒理學研究所
6. Jia-Huang Chen(2022), The down-regulation of XBP1, an unfolded protein response effector, promotes acute kidney injury to chronic kidney disease transition ·from <https://jbiomedsci.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12929-022-00828-9>
7. Jacqueline Wright, Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study, from <https://www.nhlbi.nih.gov/science/atherosclerosis-risk-communities-aric-study>
8. Zijing Zhu, Jijia Hu, Zhaowei Chen, Jun Feng, Xueyan Yang, Wei Liang, Guohua Ding, Transition of acute kidney injury to chronic kidney disease: role of metabolic reprogramming, 2022, from <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2022.155194>.
9. Guo, R., Duan, J., Pan, S. et al. The Road from AKI to CKD: Molecular Mechanisms and Therapeutic Targets of Ferroptosis. *Cell Death Dis* 14, 426 (2023). <https://doi.org/10.1038/s41419-023-05969-9>
10. Ferenbach, D., Bonventre, J. Mechanisms of maladaptive repair after AKI leading to accelerated kidney ageing and CKD. *Nat Rev Nephrol* 11, 264–276 (2015). <https://doi.org/10.1038/nrneph.2015.3>
11. Zhang T, Li N, Sun C, Jin Y, Sheng X. MYC and the unfolded protein response in cancer: synthetic lethal partners in crime? *EMBO Mol Med*. 2020 May 8;12(5):e11845. doi: 10.15252/emmm.201911845. Epub 2020 Apr 20. PMID: 32310340; PMCID: PMC7207169.

12. Unfolded Protein Response (UPR) and Endoplasmic Reticulum (ER) Stress FAQs ,Novus Biologicals, from <https://www.novusbio.com/support/upr-and-er-stress-faqs>
13. Weydert CJ, Cullen JJ. Measurement of superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase in cultured cells and tissue. *Nat Protoc.* 2010 Jan;5(1):51-66. doi: 10.1038/nprot.2009.197. Epub 2009 Dec 17. PMID: 20057381; PMCID: PMC2830880.Zhu Z, Hu J, Chen Z, Feng J, Yang X, Liang W, Ding G. Transition of acute kidney injury to chronic kidney disease: role of metabolic reprogramming. *Metabolism.* 2022 Jun;131:155194. doi: 10.1016/j.metabol.2022.155194. Epub 2022 Mar 26. PMID: 35346693.
14. Zhang R, Zeng J, Deng Z, Yin G, Wang L, Tan J. PGC1 α plays a pivotal role in renal fibrosis via regulation of fatty acid metabolism in renal tissue. *Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban.* 2022 Jun 28;47(6):786-793. English, Chinese. doi: 10.11817/j.issn.1672-7347.2022.200953. PMID: 35837779; PMCID: PMC10930027.
15. John A. Kellum(2021), Acute kidney injury, *Nature*
16. MediBeacon, tGFR, from <https://www.medibeacon.com/focus-areas/nephrology/>
17. Rachel Harwood(2022), Murine models of renal ischemia reperfusion injury: An opportunity for refinement using noninvasive monitoring methods
18. Claudio Hetz(2020), Mechanisms, regulation and functions of the unfolded protein response, *Nature*
19. Andrew C Nixon(2017), Frailty and chronic kidney disease: current evidence and continuing uncertainties
20. The ARIC investigators(1989), The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study: design and objectives. The ARIC investigators
21. Runzhi Guo(2023), The Road from AKI to CKD: Molecular Mechanisms and Therapeutic Targets of Ferroptosis
22. Zhan, W.; Chen, L.; Liu, H.; Long, C.; Liu, J.; Ding, S.; Wu, Q.; Chen, S. *Pcsk6* Deficiency Promotes Cardiomyocyte Senescence by Modulating Ddit3-Mediated ER Stress. *Genes* 2022, 13, 711. <https://doi.org/10.3390/genes13040711>
23. Chiang CK, Hsu SP, Wu CT, Huang JW, Cheng HT, Chang YW, Hung KY, Wu KD, Liu SH. Endoplasmic reticulum stress implicated in the development of renal fibrosis. *Mol Med.* 2011;17(11-12):1295-305. doi: 10.2119/molmed.2011.00131. Epub 2011 Aug 19. PMID: 21863214; PMCID: PMC3324175.

24. Wu R, Zhang QH, Lu YJ, Ren K, Yi GH. Involvement of the IRE1 α -XBP1 pathway and XBP1s-dependent transcriptional reprogramming in metabolic diseases. *DNA Cell Biol.* 2015 Jan;34(1):6-18. doi: 10.1089/dna.2014.2552. PMID: 25216212; PMCID: PMC4281841.

【評語】 050008

本研究比較年輕與老年小鼠在急性腎損傷（AKI）前後的腎功能差異，探討脂質代謝、抗氧化能力與 UPR 在損傷後的變化。年輕小鼠的損傷後恢復能力較強，UPR 活性較高，而老年小鼠的脂質代謝能力與抗氧化能力較差。

缺點與改進建議：

1. 樣本量不足：

分組數和樣本量均不足，統計效能受限，需增加樣本數與時間分段。

2. 測試指標不完整：

對腎功能測試的標準參數（如 BUN、Creatinine）描述不足，建議補充相關測試。

3. 變異性問題：

部分數據變異性過高且統計不顯著，需重新測試或擴充數據

4. 臨床應用不足：

結果在臨床人類模型中的適用性未充分驗證，建議增加臨床相關實驗。