

过氧化物酶体增殖剂激活受体- γ 对实验性胰腺炎大鼠核转录因子- κ B 表达的影响

裴红红 乔万海 柏玲 缪菲 常建同

【关键词】 过氧化物酶体增殖剂激活受体- γ ; 胰腺炎, 实验性; 核转录因子- κ B

近年来,随着对急性胰腺炎(AP)发病机制认识的不断深入,与细胞因子表达直接相关的核转录因子- κ B(NF- κ B)在 AP 发病机制中的作用日益引起人们的重视。研究发现,过氧化物酶体增殖剂激活受体- γ (PPAR- γ)是一个细胞增殖和炎症反应的调节剂,可调节炎症相关基因的表达,参与机体的炎症反应过程,可能通过抑制 NF- κ B 的活化表达发挥其抗炎作用^[1]。而 NF- κ B 活化是 AP 发生发展的重要机制之一^[2]。本研究旨在观察 PPAR- γ 配体罗格列酮和 PPAR- γ 抑制剂 GW9662 对实验性 AP 时 NF- κ B 表达的影响,报告如下。

1 材料与方法

1.1 主要实验材料:罗格列酮购自天津葛兰素史克有限公司;牛磺胆酸钠和 GW9662 及其溶剂二甲亚砜均购自美国 Sigma 公司;兔抗鼠 NF- κ B P65 单克隆抗体购自武汉博士德生物工程公司。

1.2 动物分组与模型制备:40 只健康雄性 SD 大鼠,体重(250±30)g,购自陕西省中医研究所动物中心。按照随机数字表法分为假手术组(Sham 组)、AP 模型组(AP 组)、罗格列酮处理组(ROSI 组)、GW9662 处理组(GW9662 组)4 组,每组 10 只。用质量分数为 3%的戊巴比妥(40 mg/kg)经腹腔注射麻醉大鼠后行股静脉置管,供实验中给药和采血。采用逆行胰胆管内注射质量分数为 4%的牛磺胆酸钠 1 ml/kg 复制大鼠出血坏死性胰腺炎模型,5 min 左右制模成功,间断缝合皮肤关闭腹腔,术后自由饮水、禁食。Sham 组动物腹腔麻醉后行股静脉

表 1 各组大鼠血清淀粉酶、胰腺组织病理学评分及胰腺组织 NF- κ B 表达结果的比较($\bar{x}\pm s$)

组别	动物数	淀粉酶(U/L)	病理学评分(分)	NF- κ B 表达评分(分)
Sham 组	10	199±25	3.8±0.8	0.5±0.2
AP 组	10	603±76 ^a	17.0±2.4 ^a	7.4±1.2 ^a
ROSI 组	10	210±14 ^b	6.3±0.9 ^b	3.8±0.9 ^b
GW9662 组	10	588±18 ^{ac}	13.0±1.2 ^{ac}	6.3±1.0 ^{ac}

注:与 Sham 组比较,^a $P<0.05$;与 AP 组比较,^b $P<0.05$;与 ROSI 组比较,^c $P<0.05$

置管,仅翻动胰腺后关闭腹腔。ROSI 组于制模成功后 10 min 经股静脉注射罗格列酮 0.3 mg/kg。GW9662 组于制模成功后 10 min 经股静脉注射 GW9662 0.3 mg/kg,10 min 后股静脉重复注射罗格列酮 0.3 mg/kg。

1.3 检测指标及方法

1.3.1 血清淀粉酶检测:各组动物于实验 6 h 经股静脉置管取血 2 ml,用全自动生化分析仪检测血清淀粉酶含量。

1.3.2 胰腺组织病理学评分及 NF- κ B 活性表达测定:各组于实验 6 h 处死动物,取胰腺组织,石蜡包埋、切片,行苏木素-伊红(HE)染色,光镜下病理学评分及免疫组化染色检测胰腺组织 NF- κ B 的表达,以磷酸盐缓冲液(PBS)代替一抗作为阴性对照。NF- κ B 表达的阳性评分标准:观察镜下 5 个高倍视野染色结果,细胞膜和(或)细胞质含棕黄色颗粒者为阳性细胞,以免疫组化着色强度评分(0 分:无;1 分:弱;2 分:中;3 分:强)和阳性细胞率评分(0 分:<5%;1 分:5%~10%;2 分:10%~20%;3 分:20%~50%;4 分:>50%)之和作为该标本评分值。

1.4 统计学处理:数据以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,应用 SPSS 13.0 统计软件进行单因素方差分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血清淀粉酶检测结果(表 1):实验动物于 6 h 检测血清淀粉酶,AP 组和 GW9662 组均较 Sham 组和 ROSI 组显

著升高(P 均<0.05)。

2.2 胰腺组织病理学评分结果(表 1):Sham 组基本正常。AP 组胰腺出血、坏死改变明显,有大量炎性细胞浸润,病理学评分较 Sham 组显著升高($P<0.05$)。ROSI 组胰腺细胞灶性坏死、炎性细胞浸润较 AP 组明显减轻,病理学评分较 AP 组显著下降($P<0.05$)。GW9662 组有较多炎性细胞浸润,存在胰腺出血、坏死,病理学评分较 ROSI 组显著升高($P<0.05$)。

2.3 免疫组化检测胰腺组织 NF- κ B 的表达结果(表 1):Sham 组偶见 NF- κ B 活化表达的胰腺细胞。AP 组与 GW9662 组胰腺细胞中可见 NF- κ B 活化表达显著增高(P 均<0.05)。而 ROSI 组胰腺细胞中 NF- κ B 活化表达明显减少,与 AP 组和 GW9662 组比较差异有统计学意义(P 均<0.05)。

3 讨论

AP 的始发涉及消化酶的胰内激活和随后的胰腺自身消化,使单核/巨噬细胞在胰腺内激活并“瀑布式”释放大炎症介质,如肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)、IL-6、IL-8 等。研究表明:TNF- α 和 IL-1 β 等所启动的级联反应开始于 NF- κ B 的活化,继而激活靶细胞产生炎症介质^[3]。NF- κ B 活化是 AP 的共同机制,NF- κ B 在实验性 AP 制模成功后 1 h 开始升高,3 h 达高峰,6 h 后则开始下降^[4]。选择适当的时机抑制 NF- κ B 活化,有可能成为抗炎治疗的新策略。近年来发现 PPAR- γ 是一个细胞

基金项目:陕西省科技发展计划项目(2005K14-G4(1));陕西省西安市科技计划项目(GG06188)

作者单位:710004 陕西,西安交通大学医学院第二附属医院急诊外科

作者简介:裴红红(1969-),男(汉族),甘肃省人,博士研究生,副主任医师,Email:phhboy12345@yahoo.com.cn.

增殖和炎症反应的调节剂,可调节炎症基因的相关表达,参与机体的炎症反应过程,且抗炎作用广泛而强大,包括抑制 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 的分泌及细胞间黏附分子-1(ICAM-1)、NF- κ B 的表达等。早在 1998 年, Jiang 等^[5]的研究发现,用 PPAR- γ 激活剂作用于人的外周血单核细胞时,可使单核细胞的 P65/P50 表达下降,首次提出 PPAR- γ 可能通过抑制 NF- κ B 调节炎症反应。最近 Hashimoto 等^[6]对 AP 大鼠干预使用 PPAR- γ 激动剂 15d-PGJ2 后,环氧合酶-2(COX-2)、ICAM-1、IL-6 表达下调, NF- κ B 活性下降,胰腺组织病理学改变明显减轻,认为 15d-PGJ2 发挥效应是通过抑制 NF- κ B 的抑制蛋白(I κ B)而实现的,第一次在实验动物层面证明 PPAR- γ 配体可能是 AP 的治疗靶点。

我们的实验中分别应用 PPAR- γ 配体(激动剂)罗格列酮和 PPAR- γ 抑制剂

GW9662 对实验性 AP 大鼠进行处理,结果表明:AP 组和 GW9662 组大鼠在血清淀粉酶、胰腺组织病理学评分及胰腺组织 NF- κ B 表达评分方面均较 Sham 组及 ROSI 组明显升高。提示 PPAR- γ 配体罗格列酮可能是通过抑制 AP 时 NF- κ B 活化而对实验性 AP 大鼠胰腺组织起保护作用,从而减轻胰腺组织损伤。应用 PPAR- γ 抑制剂 GW9662 预处理 AP 大鼠,通过选择性结合 PPAR- γ ,使配体罗格列酮失去抑制 NF- κ B 活化的作用,从而使 NF- κ B 表达明显升高。证实 PPAR- γ 可通过抑制 NF- κ B 活化表达而发挥抗炎及保护胰腺组织的作用。

参考文献

[1] 裴红红,杨正安,秦兆寅.核因子- κ B 与急性胰腺炎[J].中国危重病急救医学,2001,13(4):248-249.
 [2] 袁盛丹,吕品,苗雄鹰,等.过氧化物酶体增殖物激活受体激动剂治疗急性胰

腺炎的实验研究[J].中国现代医学杂志,2007,17(5):539-542.
 [3] 裴红红,秦兆寅,李小珍,等.实验性胰腺炎时核因子- κ B 与 p53、bcl-2 表达的关系[J].中国急救医学,2003,23(6):375-376.
 [4] 裴红红,秦兆寅,杨正安,等.急性坏死性胰腺炎大鼠核因子- κ B 的表达及其意义[J].中国危重病急救医学,2002,14(6):365-367.
 [5] Jiang C, Ting A T, Seed B. PPAR gamma agonists inhibit production of monocyte inflammatory cytokines [J]. Nature,1998,391(6662):82-86.
 [6] Hashimoto K, Ethridge R T, Saito H, et al. The PPARgamma ligand, 15d-PGJ2, attenuates the severity of cerulein-induced acute pancreatitis [J]. Pancreas,2003,27(1):58-66.

(收稿日期:2007-09-05

修回日期:2007-12-20)

(本文编辑:李银平)

• 启事 •

第八届呼吸支持技术(2008)暨第二届呼吸治疗高级研修班通知

呼吸支持技术高级研修班是北京朝阳医院-北京呼吸疾病研究所王辰教授负责的国家级继续教育项目。自 1999 年开办以来,已经成功举办 7 届,培养学员 2 000 余人。多年的探索与改进,研修班确立了以“呼吸支持”为核心,以“实用”为宗旨,兼顾相关领域及新发展的办学风格,以其特色鲜明、内容丰富、讲解生动而受到历届学员的一致好评,目前已发展成国内一流的高水平研修班。

本届研修班邀请王辰、席修明、刘大为、陈荣昌、杜斌、邱海波等国内知名专家授课,并对授课内容进行大幅调整与补充,力求贴近临床。将呼吸支持的热点、难点问题通过专题讲座(六大专题)、互动答疑、病例讨论、现场演示(通气模式、力学波形)、PK[肺复张、气道压力释放通气(APRV)]等多种形式详细讲解,使学员能切实掌握实用的呼吸支持技术。

举办时间:研修班将于 2008 年 10 月 19—26 日在北京京东宾馆举行。学费及资料费共 1 200 元/人,食宿由会务组统一安排,费用自理。

联系人:呼吸支持技术高级研修班会务组,杜敏捷医生。

联系方式:手机:13521332329;电话:010-85231893;传真:010-65060167。通信地址:北京市朝阳区工体南路 8 号,北京朝阳医院-北京呼吸疾病研究所办公室,邮编:100020。Email:sunbing@vip.sohu.net(请注明邮件主题为“2008 呼吸支持技术高级研修班”)。您可通过邮寄回执、传真或者发送 Email 报名参加;如需邀请信,请来电来函告知。详情更新请登陆北京朝阳医院网站(www.bjcyh.com.cn)、北京呼吸疾病研究所网站(www.birm.cn)查询,可经网站下载报名表。

(北京朝阳医院-北京呼吸疾病研究所)

《急诊医学》本科统编教材(第一版)

教育部、卫生部普通高等教育“十一五”国家级规划教材《急诊医学》,已由人民卫生出版社出版。此教材由解放军军医进修学院、解放军总医院沈洪教授主编,我国 10 余位知名急诊医学教授参加了编写作为本科第七轮新增统编教材。教材从准备到编写受到了裘法祖院士、陈灏珠院士的关心和肯定。也得到急诊前辈邵孝洪、王一镗教授的具体指教。作为急诊医学教学主打教材,突出介绍了心肺脑复苏、休克、多器官功能障碍综合征、水和电解质及酸碱平衡紊乱等急诊常见临床综合征的理论及诊治;详述了环境及理化因素损伤、创伤和灾害事故急救、急性中毒的急诊专业问题;从急诊实际出发,从患者就诊的常见症状入手,叙述如何进行病情控制及可能病因的判断,列举了可能突发生命危险性常见疾病的临床特点、诊断与鉴别诊断和救治流程;介绍了急危重症的监护理念和方法,以及急诊检查和抢救技术。此教材可以引导学生实现从书本知识走向临床实践这一必经过程,也可帮助年轻医生在急诊临床实践中学用结合,为急症的判断和处理提供了学习路径。

(人民卫生出版社)