

## • 论著 •

脓毒症大鼠有核细胞过氧化物酶体增殖物  
激活受体  $\gamma$  活性与白细胞介素-6 的关系

曾勉 贺云鹏 黄晓梅 卢桂芳 关开洋

**【摘要】** 目的 观察脓毒症时有核细胞过氧化物酶体增殖物激活受体  $\gamma$ (PPAR $\gamma$ )活性、血浆促炎介质白细胞介素-6(IL-6)的变化,探讨两者的关系。方法 按随机数字表法将 90 只 SD 大鼠分为正常对照组、假手术组、脓毒症组,每组再分为术后 12、24、48 h 3 个亚组,每组 10 只。采用盲肠结扎穿孔术(CLP)制作大鼠脓毒症模型,用酶联免疫吸附法(ELISA)测定有核细胞 PPAR $\gamma$  活性及血浆 IL-6 水平。结果 脓毒症组术后 12、24、48 h 有核细胞 PPAR $\gamma$  活性(A 值:  $0.279 \pm 0.004$ 、 $0.264 \pm 0.009$ 、 $0.245 \pm 0.012$ )较正常对照组( $0.292 \pm 0.007$ 、 $0.293 \pm 0.004$ 、 $0.293 \pm 0.005$ )和假手术组( $0.295 \pm 0.008$ 、 $0.295 \pm 0.006$ 、 $0.294 \pm 0.007$ )明显下降,而血浆 IL-6 水平( $\text{ng/L}$ ;  $365.25 \pm 15.53$ 、 $507.16 \pm 20.86$ 、 $437.89 \pm 25.09$ )较正常对照组( $43.54 \pm 11.10$ 、 $48.82 \pm 10.62$ 、 $42.96 \pm 9.52$ )和假手术组( $42.43 \pm 6.77$ 、 $40.32 \pm 6.48$ 、 $44.10 \pm 9.36$ )明显升高(均  $P < 0.05$ ),且脓毒症组随病情加重 PPAR $\gamma$  活性逐渐下降,IL-6 于 24 h 达高峰后下降,组内各时间点间两两比较差异均有统计学意义(均  $P < 0.05$ )。脓毒症大鼠 12 h 时有核细胞 PPAR $\gamma$  活性与血浆 IL-6 水平呈显著负相关( $r = -0.703$ ,  $P = 0.023$ )。结论 脓毒症有核细胞 PPAR $\gamma$  活性下降,血浆促炎介质 IL-6 升高,且两者呈负相关。

**【关键词】** 过氧化物酶体增殖物激活受体  $\gamma$ ; 炎症介质; 脓毒症

**The relationship of peroxisome proliferator activated receptor  $\gamma$  ligands activity in nucleated cell and interleukin-6 level in septic rats** ZENG Mian\*, HE Yun-peng, HUANG Xiao-mei, LU Gui-fang, GUAN Kai-pan. \* Medical Intensive Care Unit, the First Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, Guangdong, China

Corresponding author: ZENG Mian, Email: zengmian2004@163.com

**【Abstract】** **Objective** To observe the relationship between activity of peroxisome proliferator activated receptor  $\gamma$  (PPAR $\gamma$ ) in nucleated cell and level of pro-inflammatory mediator interleukin-6 (IL-6) in plasma of rats with sepsis. **Methods** According to the random number table, 90 male Sprague-Dawley (SD) rats were randomly divided into three groups, namely control group, sham operation group and sepsis group. Each group was further divided into three subgroups according to postoperative time points, i. e. 12, 24 and 48-hour subgroups. Each subgroup consisted of 10 rats. Sepsis was reproduced by cecal ligation and puncture (CLP). The PPAR $\gamma$  activity in nucleated cells and IL-6 level in plasma were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). **Results** The PPAR $\gamma$  activity in nucleated cells was significantly decreased at 12, 24 and 48 hours in sepsis group (A value:  $0.279 \pm 0.004$ ,  $0.264 \pm 0.009$ ,  $0.245 \pm 0.012$ ) compared with control group ( $0.292 \pm 0.007$ ,  $0.293 \pm 0.004$ ,  $0.293 \pm 0.005$ ) and sham operation group ( $0.295 \pm 0.008$ ,  $0.295 \pm 0.006$ ,  $0.294 \pm 0.007$ ), while the IL-6 level was significantly increased in sepsis group ( $\text{ng/L}$ ;  $365.25 \pm 15.53$ ,  $507.16 \pm 20.86$ ,  $437.89 \pm 25.09$ ) compared with control group ( $43.54 \pm 11.10$ ,  $48.82 \pm 10.62$ ,  $42.96 \pm 9.52$ ) and sham operation group ( $42.43 \pm 6.77$ ,  $40.32 \pm 6.48$ ,  $44.10 \pm 9.36$ , all  $P < 0.05$ ). When septic condition became worse, the PPAR $\gamma$  activity in nucleated cells of sepsis group lowered, and IL-6 level was gradually elevated after operation, reaching the peak at 24 hours, and then gradually lowered, and the difference of the value between any two time points was all statistically significant (all  $P < 0.05$ ). There was a negative correlation between the PPAR $\gamma$  activity in nucleated cells and IL-6 level in 12-hour subgroup of sepsis group ( $r = -0.703$ ,  $P = 0.023$ ). **Conclusion** In septic rats, the PPAR $\gamma$  activity in nucleated cells was lowered while the pro-inflammatory mediator IL-6 level in plasma elevated, and there was a negative correlation between PPAR $\gamma$  activity and IL-6 level.

**【Key words】** Peroxisome proliferator activated receptor  $\gamma$ ; Pro-inflammatory mediator; Sepsis

DOI:10.3760/cma.j.issn.1003-0603.2011.05.014

基金项目,广东省科技计划基金项目(2008B030301057)

作者单位,510080 广东,广州中山大学附属第一医院 MICU(曾勉、卢桂芳、关开洋),珠海中山大学附属第五医院 ICU(贺云鹏),珠海市人民医院呼吸内科(黄晓梅)

通信作者:曾勉,Email:zengmian2004@163.com

已发现脓毒症的炎症应答可分为两个互为联系的阶段,分别为全身炎症反应综合征(SIRS)和代偿性抗炎反应综合征(CARS)。过氧化物酶体增殖物激活受体(PPARs)是一类依赖配体激活的核转录因子,参与了脂肪代谢、糖稳态、炎症反应、细胞分化

与凋亡等许多生理反应的调节,如在淋巴细胞、单核/巨噬细胞及树突细胞中发现 PPARs 具有抗炎作用。本研究中采用盲肠结扎穿孔术(CLP)制作大鼠脓毒症模型,观察脓毒症时有核细胞 PPAR $\gamma$  活性及与血浆促炎介质白细胞介素-6(IL-6)的关系。

### 1 材料与方 法

1.1 动物分组与模型制备:SPF 级雄性 SD 大鼠 90 只,体重 280~300 g,由广东省医学实验动物中心提供,动物使用许可证号:SCXK(粤)2003-0002。按随机数字表法将大鼠分为正常对照组、假手术组、脓毒症组,每组 30 只。采用 CLP 法制作大鼠脓毒症模型,以制模后 10 h 大鼠血中培养出大肠埃希菌证实模型建立成功。假手术组仅穿线、不结扎。实验过程中动物处置方法符合动物伦理学标准。

1.2 检测指标及其方法:各组分别于术后 12、24、48 h 腹腔注射水合氯醛麻醉 10 只大鼠,颈总动脉采血,乙二胺四乙酸(EDTA)抗凝,离心取上清液于 -80 °C 保存待检炎症指标;从沉淀血细胞中分离有核细胞,于 -80 °C 保存以提取细胞总蛋白。

1.2.1 有核细胞总蛋白的提取:用组织蛋白提取液裂解有核细胞后,离心取上清液至预冷的塑料管中,即为抽提得到的有核细胞总蛋白,-80 °C 冻存用于测定 PPAR $\gamma$  活性。

1.2.2 指标测定:有核细胞 PPAR $\gamma$  活性及血浆 IL-6 水平均采用酶联免疫吸附法(ELISA)检测,按试剂盒(深圳晶美生物工程有限公司)说明书操作。

1.3 统计学处理:使用 SPSS 13.0 软件进行统计学处理。数据以均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示,采用析因设计的方差分析(ANOVA),组间比较采用 SNK- $q$  检验;PPAR $\gamma$  活性与 IL-6 相关性采用 Pearson 相关分析, $P<0.05$  为差异有统计学意义。

### 2 结 果

2.1 有核细胞 PPAR $\gamma$  活性(表 1):假手术组术后各时间点 PPAR $\gamma$  活性与正常对照组比较无明显差异,且两组组内各时间点间两两比较差异也无统计学意义(均  $P>0.05$ )。脓毒症组 PPAR $\gamma$  活性随术后时间延长逐渐下降,组内各时间点间两两比较差异均有统计学意义(均  $P<0.05$ );且术后各时间点 PPAR $\gamma$  活性均明显低于正常对照组和假手术组(均  $P<0.05$ )。

2.2 血浆 IL-6 水平(表 2):假手术组与正常对照组术后各时间点 IL-6 水平比较差异均无统计学意义(均  $P>0.05$ )。脓毒症组血浆 IL-6 水平随术后时间延长逐渐升高,24 h 达高峰后逐步下降,组内各

时间点间两两比较差异均有统计学意义(均  $P<0.05$ );且术后各时间点血浆 IL-6 水平均较正常对照组和假手术组明显升高(均  $P<0.05$ )。

表 1 各组大鼠有核细胞 PPAR $\gamma$  活性变化( $\bar{x}\pm s, n=10$ )

组别	PPAR $\gamma$ 活性(A 值)		
	术后 12 h	术后 24 h	术后 48 h
正常对照组	0.292 $\pm$ 0.007	0.293 $\pm$ 0.004	0.293 $\pm$ 0.005
假手术组	0.295 $\pm$ 0.008	0.295 $\pm$ 0.006	0.294 $\pm$ 0.007
脓毒症组	0.279 $\pm$ 0.004 <sup>a</sup>	0.264 $\pm$ 0.009 <sup>ab</sup>	0.245 $\pm$ 0.012 <sup>abc</sup>

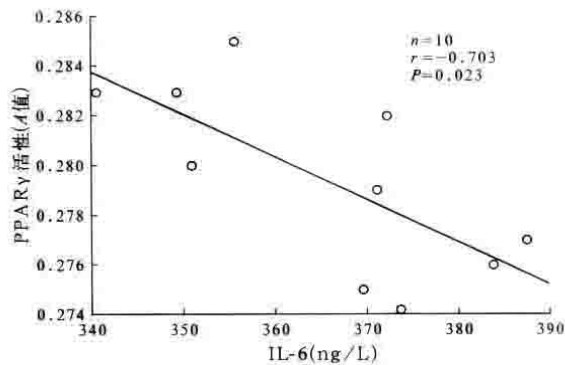
注,PPAR $\gamma$ ,过氧化物酶体增殖物激活受体  $\gamma$ ,与正常对照组和假手术组比较,<sup>a</sup> $P<0.05$ ;与本组术后 12 h 比较,<sup>b</sup> $P<0.05$ ;与本组术后 24 h 比较,<sup>c</sup> $P<0.05$

表 2 各组大鼠血浆 IL-6 水平变化( $\bar{x}\pm s, n=10$ )

组别	IL-6(ng/L)		
	术后 12 h	术后 24 h	术后 48 h
正常对照组	43.54 $\pm$ 11.10	48.82 $\pm$ 10.62	42.96 $\pm$ 9.52
假手术组	42.43 $\pm$ 6.77	40.32 $\pm$ 6.48	44.10 $\pm$ 9.36
脓毒症组	365.25 $\pm$ 15.53 <sup>a</sup>	507.16 $\pm$ 20.86 <sup>ab</sup>	437.89 $\pm$ 25.09 <sup>abc</sup>

注,IL-6,白细胞介素-6;与正常对照组和假手术组比较,<sup>a</sup> $P<0.05$ ;与本组术后 12 h 比较,<sup>b</sup> $P<0.05$ ;与本组术后 24 h 比较,<sup>c</sup> $P<0.05$

2.3 脓毒症时有核细胞 PPAR $\gamma$  活性与血浆 IL-6 水平的相关性(图 1):脓毒症大鼠 12 h 时有核细胞 PPAR $\gamma$  活性与血浆 IL-6 水平呈显著负相关( $r=-0.703, P=0.023$ )。



注,PPAR $\gamma$ ,过氧化物酶体增殖物激活受体  $\gamma$ ,IL-6,白细胞介素-6

图 1 脓毒症大鼠 12 h 时有核细胞 PPAR $\gamma$  活性与血浆 IL-6 水平相关性散点图

### 3 讨 论

尽管目前我们提高了对脓毒症的认识,改善了支持治疗以及拥有了更有力的抗菌药物,严重脓毒症和感染性休克仍然是重症监护病房(ICU)中非心脏疾病患者的重要死亡原因,拮抗内毒素、阻断或减弱其介导的各种损伤具有重要意义<sup>[1]</sup>。

本研究结果显示,脓毒症组血浆促炎介质 IL-6 在术后逐渐升高,24 h 达高峰,48 h 相对下降,但各时间点均较正常对照组及假手术组明显升高。提示在脓毒症初期,大量促炎介质产生并释放入血;后期其水平相对下降可能是机体为限制炎症的发展,对炎症反应进行了自身调节。在 CLP 建立的大鼠脓毒症模型中,蒋丽<sup>[2]</sup>发现促炎介质肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 升高;程应东等<sup>[3]</sup>发现血清 IL-6 水平于术后 3 h 显著高于对照组,12 h 达峰值;邵义明等<sup>[4]</sup>发现术后 6 h 血浆 IL-6 水平即显著升高并达高峰,至 12 h 开始下降。以上研究均显示脓毒症大鼠体内出现炎症介质升高,与本研究结果类似;但各研究间促炎介质及抗炎介质于 CLP 术后出现峰值的时间有差异,考虑为结扎盲肠末端的体积、穿孔的数量等不同,与术后脓毒症严重程度及持续时间差异性有关。

近年来,在许多细胞如 T、B 淋巴细胞、单核/巨噬细胞以及树突细胞中发现配体活化的 PPAR $\gamma$  有抗炎作用而使其成为研究热点<sup>[5-9]</sup>。激活的 PPAR $\gamma$  可以通过抑制核转录因子- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B)、激活蛋白-1 (AP-1) 及信号转导和转录激活因子-1 (STAT-1) 的活化,降低 NF- $\kappa$ B 等与 DNA 的结合活性;限制丝裂素活化蛋白激酶 (MAPK),抑制其下游的信号转导而抑制炎症基因的表达;阻断促炎基因的转录,从不同水平调控细胞内多条炎症信号转导途径,对促炎介质基因如 IL-6、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  的转录抑制是其抗炎效应的分子基础<sup>[10]</sup>。但对脓毒症时 PPAR $\gamma$  表达的变化仍存争议。Von Knethen 和 Brüne<sup>[11]</sup>发现用脂多糖 (LPS) 或  $\gamma$ -干扰素 (IFN- $\gamma$ ) 刺激 RAW264.7 巨噬细胞,在 2 h 内 PPAR $\gamma$  DNA 结合和转录激活增加,并于 15 h 达到高峰,故认为炎症刺激可导致内源性 PPAR $\gamma$  配体的合成增加,通过自分泌或旁分泌的途径活化 PPAR $\gamma$ 。然而一些学者认为,在内毒素休克模型中无内源性 PPAR $\gamma$  配体(激动剂)的合成<sup>[12]</sup>。本实验中直接观察脓毒症大鼠有核细胞 PPAR $\gamma$  活性,结果显示:脓毒症大鼠 PPAR $\gamma$  活性明显降低,并且随着疾病的进展、恶化呈进行性下降。提示脓毒症、严重感染可导致 PPAR $\gamma$  活性下降,其水平降低与疾病的严重程度相关,下降机制可能与机体炎症失控有关。脓毒症时 SIRS/CARS 失衡,大量炎症因子释放可能抑制了大鼠内源性 PPAR $\gamma$  配体生成,使 PPAR $\gamma$  活性进行性下降。本研究也证明脓毒症大鼠有核细胞 PPAR $\gamma$  活性与血浆 IL-6 水平呈负相关。由此推测,补充外源性的 PPAR $\gamma$  配体有助于减轻炎症反应,可能成为脓毒症

治疗的一种辅助方法。

参考文献

- [1] 王文江,姚咏明. 中医药抗内毒素血症治疗的研究进展. 中国中西医结合急救杂志, 2004, 11, 317-320.
- [2] 蒋丽. 大黄对脓毒症大鼠核因子- $\kappa$ B 活化的抑制作用. 中国中西医结合急救杂志, 2004, 11, 364-367.
- [3] 程应东,余争平,姚榛祥,等. 脓毒症早期外周血前炎症细胞因子变化的规律与意义. 重庆医学, 2005, 34, 249-251.
- [4] 邵义明,姚华国,梁小仲,等. 高迁移率族蛋白 B1 表达水平与大鼠脓毒症严重程度及预后关系的实验研究. 中国危重病急救医学, 2006, 18, 668-672.
- [5] Wang HM, Zhao YX, Zhang S, et al. PPAR $\gamma$  agonist curcumin reduces the amyloid-beta-stimulated inflammatory responses in primary astrocytes. J Alzheimers Dis, 2010, 20, 1189-1199.
- [6] Glatz T, Stöck I, Nguyen-Ngoc M, et al. Peroxisome-proliferator-activated receptors gamma and peroxisome-proliferator-activated receptors beta/delta and the regulation of interleukin 1 receptor antagonist expression by pioglitazone in ischaemic brain. J Hypertens, 2010, 28, 1488-1497.
- [7] Uji Y, Yamamoto H, Tsuchihashi H, et al. Adiponectin deficiency is associated with severe polymicrobial sepsis, high inflammatory cytokine levels, and high mortality. Surgery, 2009, 145, 550-557.
- [8] Appel S, Mirakaj V, Bringmann A, et al. PPAR- $\gamma$  agonist inhibit toll-like receptor-mediated activation of dendritic cells via the MAP kinase and NF- $\kappa$ B pathways. Blood, 2005, 106, 3888-3894.
- [9] Cuzzocrea S, Pisano B, Dugo L, et al. Rosiglitazone, a ligand of the peroxisome proliferator-activated receptor-gamma, reduces acute inflammation. Eur J Pharmacol, 2004, 483, 79-93.
- [10] Straus DS, Glass CK. Cyclopentenone prostaglandins, new insights on biological activities and cellular targets. Med Res Rev, 2001, 21, 185-210.
- [11] Von Knethen AA, Brüne B. Delayed activation of PPAR $\gamma$  by LPS and IFN-gamma attenuates the oxidative burst in macrophages. FASEB J, 2001, 15, 535-544.
- [12] 王建春,姜鹏,黄建,等. 急性肺损伤大鼠肺组织 PPAR- $\gamma$  表达的研究. 第三军医大学学报, 2008, 30, 468-471.

(收稿日期, 2010-06-03)

(本文编辑, 李银平)

• 广告目次 •

①深圳迈瑞; 监护仪 .....	(封二)
②广东天普药业; 天普洛安 .....	(插页)
③珠海健帆; 血液灌流器 .....	(插页)
④天津生化制药; 琥珀氢可 .....	(插页)
⑤天津红日药业; 血必净注射液 .....	(插页)
⑥北京极远; 美国萨勃心肺复苏器 .....	(插页)
⑦廊坊爱尔; 炭肾 .....	(插页)
⑧德尔格; Smart Care™智能化自动脱机系统 .....	(插页)
⑨南京臣功药业有限公司 .....	(插页)
⑩赛诺菲安万特(北京)制药; 注射用替考拉宁 .....	(插页)
⑪恩华药业; 力月西 .....	(插页)
⑫第一制药; 克倍宁 .....	(封三)
⑬江苏新晨医药有限公司 .....	(封底)