

# 过氧化物酶体增殖物激活受体- $\gamma$ /核转录因子- $\kappa$ B 转导通路在脓毒症所致凝血功能障碍中的作用

孙艺铸 王静 于鲁欣 戴琳

**【摘要】** 目的 探讨过氧化物酶体增殖物激活受体- $\gamma$ /核转录因子- $\kappa$ B (PPAR- $\gamma$ /NF- $\kappa$ B) 转导通路是否参与脓毒症所致凝血功能障碍。方法 健康雄性SD大鼠40只,按随机数字表法分为对照组、脂多糖(LPS)刺激组、PPAR- $\gamma$ 选择性激动剂罗格列酮(ROSI)预处理组、PPAR- $\gamma$ 选择性拮抗剂2-氯-5-硝基苯胺(GW9662)预处理组4组,每组10只。经舌下静脉注射6 mg/kg LPS制备脓毒症大鼠模型,对照组注射生理盐水2 mL/kg; ROSI预处理组经舌下静脉注射0.3 mg/kg ROSI后30 min注射LPS; GW9662预处理组经舌下静脉注射0.3 mg/kg GW9662,15 min后给予0.3 mg/kg ROSI,30 min后再注射LPS。各组于制模后4 h取血,采用免疫细胞化学法结合图像分析法检测外周血单个核细胞(PBMC)内PPAR- $\gamma$ 和NF- $\kappa$ Bp65的表达活性,并检测血浆凝血酶原时间(PT)、活化部分凝血活酶时间(APTT)、纤维蛋白原(FIB)、D-二聚体水平。结果 ① PPAR- $\gamma$ /NF- $\kappa$ B通路:对照组大鼠PBMC内PPAR- $\gamma$ 、NF- $\kappa$ Bp65表达均较少,主要位于细胞质。LPS刺激组PPAR- $\gamma$ 表达(灰度值)稍有增高,但与对照组比较差异无统计学意义( $111.01 \pm 4.06$ 比 $98.46 \pm 5.99$ ,  $P > 0.05$ ); ROSI预处理组PPAR- $\gamma$ 表达(灰度值)较LPS刺激组明显升高( $214.38 \pm 5.79$ 比 $111.01 \pm 4.06$ ,  $P < 0.01$ ),有核移位; GW9662预处理组PPAR- $\gamma$ 表达(灰度值)较少,与对照组比较差异无统计学意义( $44.21 \pm 2.64$ 比 $98.46 \pm 5.99$ ,  $P > 0.05$ )。LPS刺激组PBMC内NF- $\kappa$ Bp65表达(灰度值)较对照组显著升高( $249.48 \pm 6.86$ 比 $105.81 \pm 10.19$ ,  $P < 0.01$ ),出现核移位; ROSI预处理组NF- $\kappa$ Bp65表达(灰度值)较LPS刺激组显著降低( $102.47 \pm 8.05$ 比 $249.48 \pm 6.86$ ,  $P < 0.01$ ),NF- $\kappa$ Bp65从胞核移位至胞质; GW9662预处理组NF- $\kappa$ Bp65表达(灰度值)与LPS刺激组比较差异无统计学意义( $214.84 \pm 7.91$ 比 $249.48 \pm 6.86$ ,  $P > 0.05$ )。② 凝血功能:与对照组比较, LPS刺激组PT、APTT明显延长, FIB明显降低, D-二聚体明显升高[PT(s):  $18.32 \pm 2.03$ 比 $12.22 \pm 1.38$ , APTT(s):  $40.05 \pm 2.72$ 比 $26.64 \pm 2.73$ , FIB(g/L):  $1.65 \pm 0.51$ 比 $3.60 \pm 0.37$ , D-二聚体(mg/L):  $2.58 \pm 0.73$ 比 $0.37 \pm 0.06$ , 均 $P < 0.01$ ]; 与LPS刺激组比较, ROSI预处理组PT、APTT明显缩短, FIB明显升高, D-二聚体明显降低[PT(s):  $13.93 \pm 1.67$ 比 $18.32 \pm 2.03$ , APTT(s):  $30.29 \pm 0.86$ 比 $40.05 \pm 2.72$ , FIB(g/L):  $3.18 \pm 0.69$ 比 $1.65 \pm 0.51$ , D-二聚体(mg/L):  $0.40 \pm 0.12$ 比 $2.58 \pm 0.73$ , 均 $P < 0.01$ ]; GW9662预处理组各指标与LPS刺激组比较差异均无统计学意义。结论 PPAR- $\gamma$ 选择性激动剂ROSI能够减轻脓毒症大鼠凝血功能障碍; PPAR- $\gamma$ /NF- $\kappa$ B转导通路在脓毒症引起的凝血功能障碍中有一定的作用。

**【关键词】** 过氧化物酶体增殖物激活受体- $\gamma$ ; 核转录因子- $\kappa$ B; 脓毒症; 凝血; 罗格列酮

**The role of peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$ /nuclear factor- $\kappa$ B transduction pathway on coagulation disorders induced by sepsis** Sun Yizhu\*, Wang Jing, Yu Luxin, Dai Lin. \*Department of Critical Care Medicine, Yantai Yuhuangding Hospital Affiliated to Qingdao University Medical College, Yantai 264000, Shandong, China

Corresponding author: Dai Lin, Department of Electrocardio, Yantaishan Hospital, Yantai 264001, Shandong, China, Email: sunyizhu@126.com

**【Abstract】 Objective** To determine the role of activated status of peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$ /nuclear factor- $\kappa$ B (PPAR- $\gamma$ /NF- $\kappa$ B) in coagulation disorders induced by sepsis. **Methods** Forty male Sprague-Dawley (SD) rats were randomly divided into four groups,  $n = 10$  in each group: control group,

DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2015.06.020

基金项目:山东省自然科学基金(Y2008K151)

作者单位:264000 山东烟台,青岛大学医学院附属烟台毓璜顶医院重症医学科(孙艺铸、王静、于鲁欣);264001 山东烟台,烟台山医院心电科(戴琳)

通讯作者:戴琳, Email: dailin1962@126.com

lipopolysaccharide (LPS) challenged group, rosiglitazone (ROSI, selective agonist of PPAR- $\gamma$ ) pretreatment group, and GW9662 (PPAR- $\gamma$  antagonist) pretreatment group. The sepsis model was reproduced by injection of 6 mg/kg LPS via sublingual vein, and the rats in control group were injected with 2 mL/kg normal saline. The rats in ROSI pretreatment group were given 0.3 mg/kg ROSI by sublingual venous injection followed by injection of LPS 30 minutes later; and in GW9662 pretreatment group rats were given 0.3 mg/kg GW9662 by sublingual venous injection followed by 0.3 mg/kg ROSI 15 minutes later, followed by injection of LPS 30 minutes later. Blood was collected at 4 hours after LPS administration, and the expressions of PPAR- $\gamma$  and NF- $\kappa$ Bp65 in peripheral blood mononuclear cell (PBMC) were determined with immunocytochemical technique and graph analysis. Plasma prothrombin time (PT), activated partial thromboplastin time (APTT), fibrinogen (FIB), and D-dimer were determined simultaneously. **Results**

① PPAR- $\gamma$ /NF- $\kappa$ B pathway: the expressions of PPAR- $\gamma$  and NF- $\kappa$ Bp65 were lowered in control group, and they were expressed in cytoplasm. In LPS challenged group the expression of PPAR- $\gamma$  (gray value) was slightly increased but with no significant difference as compared with control group ( $111.01 \pm 4.06$  vs.  $98.46 \pm 5.99$ ,  $P > 0.05$ ). In ROSI pretreatment group the expression of PPAR- $\gamma$  (gray value) was significantly higher than that in LPS challenged group ( $214.38 \pm 5.79$  vs.  $111.01 \pm 4.06$ ,  $P < 0.01$ ), with dislocation into nuclei. In GW9662 pretreatment group the expression of PPAR- $\gamma$  (gray value) was lowered but without significant difference compared with that of control group ( $44.21 \pm 2.64$  vs.  $98.46 \pm 5.99$ ,  $P > 0.05$ ). In LPS challenged group the expression of NF- $\kappa$ Bp65 (gray value) was significantly higher than that in control group ( $249.48 \pm 6.86$  vs.  $105.81 \pm 10.19$ ,  $P < 0.01$ ), and it was translocated into the nuclei. In ROSI pretreatment group the expression of NF- $\kappa$ Bp65 (gray value) was significantly lower than that in LPS challenged group ( $102.47 \pm 8.05$  vs.  $249.48 \pm 6.86$ ,  $P < 0.01$ ), and it lied in cytoplasm. In GW9662 pretreatment group the expression of NF- $\kappa$ Bp65 (gray value) showed no significant difference as compared with that of LPS challenged group ( $214.84 \pm 7.91$  vs.  $249.48 \pm 6.86$ ,  $P > 0.05$ ). ② Coagulation: compared with control group, PT and APTT were significantly prolonged, FIB was significantly decreased, and D-dimer was significantly increased in LPS challenged group [PT (s):  $18.32 \pm 2.03$  vs.  $12.22 \pm 1.38$ , APTT (s):  $40.05 \pm 2.72$  vs.  $26.64 \pm 2.73$ , FIB (g/L):  $1.65 \pm 0.51$  vs.  $3.60 \pm 0.37$ , D-dimer (mg/L):  $2.58 \pm 0.73$  vs.  $0.37 \pm 0.06$ , all  $P < 0.01$ ]. Compared with LPS challenged group, APTT and PT were significantly shortened, FIB was significantly increased, and D-dimer was significantly lowered in ROSI pretreatment group [PT (s):  $13.93 \pm 1.67$  vs.  $18.32 \pm 2.03$ , APTT (s):  $30.29 \pm 0.86$  vs.  $40.05 \pm 2.72$ , FIB (g/L):  $3.18 \pm 0.69$  vs.  $1.65 \pm 0.51$ , D-dimer (mg/L):  $0.40 \pm 0.12$  vs.  $2.58 \pm 0.73$ , all  $P < 0.01$ ]. All parameters in GW9662 pretreatment group showed no significant difference as compared with those of LPS challenged group. **Conclusions** PPAR- $\gamma$  agonist ROSI may ameliorate coagulation disorders in septic rats. PPAR- $\gamma$ /NF- $\kappa$ B transduction pathway plays an important role in septic coagulopathy.

**【Key words】** Peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$ ; Nuclear factor- $\kappa$ B; Sepsis; Coagulation; Rosiglitazone

脓毒症 (sepsis) 是由感染引起的全身炎症反应综合征,临床上常见于休克、严重创伤、中毒、感染等,其所致的脓毒性休克和多器官功能障碍综合征 (MODS) 是危重症患者的主要致死原因。目前研究发现,炎症反应失衡和凝血功能紊乱是脓毒症的两个重要发病机制<sup>[1]</sup>。因此,如何早期调节失衡的炎症反应,诊断并纠正凝血紊乱,是脓毒症研究的难点和热点<sup>[2-3]</sup>。但是,参与脓毒症的炎性介质浩如烟海,临床缺乏早期诊断凝血紊乱的灵敏且有效的监测指标,难以确定炎症反应和凝血系统的结合点<sup>[4-5]</sup>,进而无法很好地解决这一问题。

过氧化物酶体增殖物激活受体 (PPARs) 是一类依赖配体活化的转录因子,属于核激素受体超家族成员<sup>[6]</sup>。PPARs 作用非常广泛,不仅在脂质代谢、糖代谢中发挥作用,同时还作用于细胞增殖分化、凋亡、创伤愈合和炎症调控过程<sup>[7]</sup>。迄今发现 PPARs

有 PPAR- $\alpha$ 、PPAR- $\beta$  和 PPAR- $\gamma$  3 种亚型。其中 PPAR- $\gamma$  及其配体在体内、外实验中显示出抗炎与免疫调节作用而备受关注,且其抗炎作用主要是通过促使核转录因子 - $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) 活性下调而实现的<sup>[8-9]</sup>。NF- $\kappa$ B 作为一种具有广泛生物学活性的核转录因子,能与多种细胞基因的启动子和增强子中的  $\kappa$ B 序列位点发生特异结合。NF- $\kappa$ B 活化往往受感染、创伤、氧化应激、内毒素等多种刺激,从而启动和调控众多炎性介质的基因转录,在应激反应、免疫应答及细胞凋亡的调节中起主导作用<sup>[10]</sup>。罗格列酮 (ROSI) 作为一种外源性人工合成的配体,是 PPAR- $\gamma$  的选择性激动剂;而 2-氯-5-硝基苯胺 (GW9662) 是有选择性的 PPAR- $\gamma$  拮抗剂<sup>[11]</sup>。

信号转导通路是凝血与炎症相互影响的病理生理基础。已有研究证实,通过 PPAR- $\gamma$ /NF- $\kappa$ B 通路可干扰脓毒症的炎症反应。那么在脓毒症引起的

凝血功能障碍中是否也存在 PPAR- $\gamma$  / NF- $\kappa$ B 通路的调节尚未明确,故进行本实验,探讨对凝血和炎症反应都极其重要的信号转导机制,可能在脓毒症的治疗上取得新突破。

1 材料与方法

1.1 药物与试剂: ROSI (葛兰素史克有限公司),脂多糖 (LPS)、GW9662 (美国 Sigma 公司), PPAR- $\gamma$ 、NF- $\kappa$ Bp65 免疫组化试剂盒及大鼠淋巴细胞分离液 (武汉博士德生物工程有限公司)。

1.2 实验动物分组及处理:健康雄性 SD 大鼠 40 只, 体重 (250 $\pm$ 40) g, 由山东绿叶制药股份有限公司实验动物中心提供, 动物合格证号: SCXK (普) 2009-0009。按随机数字表法将大鼠分为对照组、LPS 刺激组、ROSI 预处理组、GW9662 预处理组 4 组, 每组 10 只。实验大鼠术前麻醉, 参照文献<sup>[12]</sup>方法经舌下静脉注射 LPS 6 mg/kg 制备脓毒症动物模型; 对照组则注射生理盐水 2 mL/kg; ROSI 预处理组经舌下静脉注射 ROSI 0.3 mg/kg 后 30 min 注射 LPS; GW9662 预处理组经舌下静脉注射 GW9662 0.3 mg/kg, 15 min 后给予 ROSI 0.3 mg/kg, 30 min 后注射 LPS。

本实验中动物处置方法符合动物伦理学标准。

1.3 检测指标及方法:制模后 4 h, 经腹主动脉置管, 取血 4 mL 用于外周血单个核细胞 (PBMC) 分离和凝血功能指标检测。

1.3.1 大鼠 PBMC 的分离: Hank 液与抗凝血按 1 : 1 混匀, 加入大鼠淋巴细胞分离液, 离心 15 min, 收集灰白色界面层的细胞即为单个核细胞。再加入 Hank 液 5 mL, 离心取上清液, Hank 液反复洗 2 次。

1.3.2 转录因子 PPAR- $\gamma$ 、NF- $\kappa$ Bp65 蛋白表达检测: 采用免疫细胞化学法检测 PBMC 内 PPAR- $\gamma$ 、NF- $\kappa$ Bp65 表达, 按试剂盒说明书操作。用 Q550CW 图像信号采集与分析系统对 PPAR- $\gamma$  和 NF- $\kappa$ B 的免疫细胞涂片进行图像分析, 细胞质或细胞核染呈棕黄色或有棕黄色颗粒沉积为免疫反应阳性细胞。每张涂片随机选取 5 个不重叠的高倍视野, 测定阳性细胞的平均灰度值。

1.3.3 凝血指标检测: 凝血酶原时间 (PT) 及活化部分凝血活酶时间 (APTT) 测定用凝固法; 纤维蛋白原 (FIB) 测定用克劳斯 (Clouse) 法; D-二聚体测定采用双抗体夹心酶联免疫吸附试验 (ELISA)。

1.4 统计学处理: 应用 SPSS 16.0 软件进行统计分析, 计量资料以均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 多组

间比较采用单因素方差分析, 两组间比较采用成组 *t* 检验, *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PBMC 内 PPAR- $\gamma$  蛋白表达 (表 1 ; 图 1) : 对照组 PPAR- $\gamma$  主要位于胞质, 表达量较少。LPS 刺激组 PPAR- $\gamma$  表达较对照组稍有增多, 但差异无统计学意义 (*P* > 0.05), 主要位于胞质。ROSI 预处理组 PPAR- $\gamma$  表达明显高于 LPS 刺激组 (*P* < 0.01), 且有核移位。GW9662 预处理组 PPAR- $\gamma$  主要位于胞质, 表达量少于对照组, 但差异无统计学意义 (*P* > 0.05)。

表 1 ROSI 预处理对脓毒症大鼠外周血单个核细胞 (PBMC) 中转录因子 PPAR- $\gamma$  和 NF- $\kappa$ Bp65 蛋白表达的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	动物数 (只)	PPAR- $\gamma$ (灰度值)	NF- $\kappa$ Bp65 (灰度值)
对照组	10	98.46 $\pm$ 5.99	105.81 $\pm$ 10.19
LPS 刺激组	10	111.01 $\pm$ 4.06	249.48 $\pm$ 6.86 <sup>a</sup>
ROSI 预处理组	10	214.38 $\pm$ 5.79 <sup>ab</sup>	102.47 $\pm$ 8.05 <sup>b</sup>
GW9662 预处理组	10	44.21 $\pm$ 2.64 <sup>c</sup>	214.84 $\pm$ 7.91 <sup>c</sup>

注: PPAR- $\gamma$  为过氧化物酶体增殖物激活受体- $\gamma$ , ROSI 为罗格列酮 (PPAR- $\gamma$  选择性激动剂), GW9662 为 2-氯-5-硝基苯胺 (PPAR- $\gamma$  选择性拮抗剂), NF- $\kappa$ Bp65 为核转录因子- $\kappa$ Bp65, LPS 为脂多糖; 与对照组比较, <sup>a</sup>*P* < 0.01; 与 LPS 刺激组比较, <sup>b</sup>*P* < 0.01; 与 ROSI 预处理组比较, <sup>c</sup>*P* < 0.01

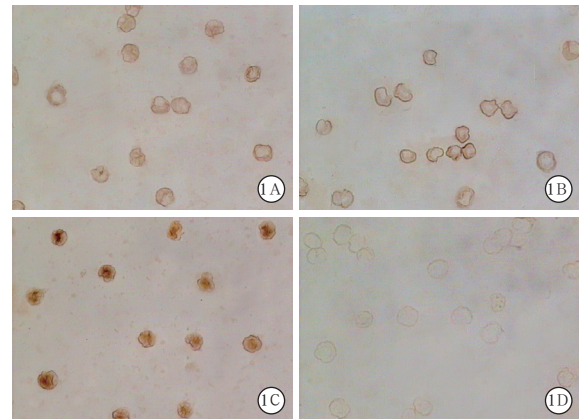


图 1 光镜下观察各组大鼠外周血单个核细胞 (PBMC) 内过氧化物酶体增殖物激活受体- $\gamma$  (PPAR- $\gamma$ ) 的表达 细胞质或细胞核呈棕黄色或有棕黄色颗粒沉积为 PPAR- $\gamma$  阳性细胞。对照组 (A) PPAR- $\gamma$  主要位于胞质, 表达量较少; 脂多糖 (LPS) 刺激组 (B) PPAR- $\gamma$  表达稍有增多, 主要位于胞质; PPAR- $\gamma$  选择性激动剂罗格列酮 (ROSI) 预处理组 (C) PPAR- $\gamma$  表达显著增加, 且有核移位; PPAR- $\gamma$  选择性拮抗剂 2-氯-5-硝基苯胺 (GW9662) 预处理组 (D) PPAR- $\gamma$  表达明显降低, 主要位于胞质 免疫细胞化学 高倍放大

2.2 PBMC 内 NF- $\kappa$ Bp65 蛋白表达 (表 1 ; 图 2) :



对照组 PBMC 内 NF- $\kappa$ Bp65 主要位于胞质,表达量较少。LPS 刺激组 NF- $\kappa$ Bp65 主要位于胞核,并观察到核移位,表达量较对照组明显升高 ( $P < 0.01$ )。ROSI 预处理组 NF- $\kappa$ Bp65 从胞核移位至胞质,表达量较 LPS 刺激组明显降低 ( $P < 0.01$ )。GW9662 预处理组 NF- $\kappa$ Bp65 主要位于胞核,但表达量与 LPS 刺激组比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。表明 NF- $\kappa$ B 活化依赖于 PPAR- $\gamma$ 。

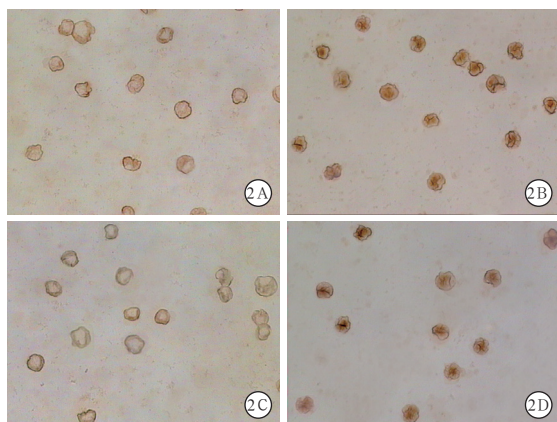


图2 光镜下观察各组大鼠外周血单个核细胞(PBMC)内核转录因子- $\kappa$ Bp65(NF- $\kappa$ Bp65)的表达。细胞质或细胞核呈棕黄色或有棕黄色颗粒沉积为NF- $\kappa$ Bp65阳性细胞。对照组(A)NF- $\kappa$ Bp65主要位于胞质,表达量较少;脂多糖(LPS)刺激组(B)NF- $\kappa$ Bp65表达显著增加,且有核移位;PPAR- $\gamma$ 选择性激动剂罗格列酮(ROSI)预处理组(C)NF- $\kappa$ Bp65表达减少,从胞核移位至胞质;PPAR- $\gamma$ 选择性拮抗剂2-氯-5-硝基苯胺(GW9662)预处理组(D)NF- $\kappa$ Bp65主要表达于胞核。免疫细胞化学 高倍放大

**2.3 PPAR- $\gamma$  对脓毒症凝血功能的影响(表2):**与对照组比较,LPS刺激组和GW9662预处理组PT、APTT明显延长,FIB明显降低,D-二聚体明显升高(均 $P < 0.01$ );GW9662预处理组与LPS刺激组各指标差异无统计学意义(均 $P > 0.05$ )。与LPS刺激组比较,ROSI预处理组PT、APTT明显缩短,FIB明显升高,D-二聚体明显下降(均 $P < 0.01$ )。

表2 ROSI预处理对脓毒症大鼠凝血功能的影响( $\bar{x} \pm s$ )

组别	动物数 (只)	PT (s)	APTT (s)	FIB (g/L)	D-二聚体 (mg/L)
对照组	10	12.22 ± 1.38	26.64 ± 2.73	3.60 ± 0.37	0.37 ± 0.06
LPS刺激组	10	18.32 ± 2.03 <sup>a</sup>	40.05 ± 2.72 <sup>a</sup>	1.65 ± 0.51 <sup>a</sup>	2.58 ± 0.73 <sup>a</sup>
ROSI预处理组	10	13.93 ± 1.67 <sup>b</sup>	30.29 ± 0.86 <sup>b</sup>	3.18 ± 0.69 <sup>b</sup>	0.40 ± 0.12 <sup>b</sup>
GW9662预处理组	10	17.88 ± 1.94 <sup>ac</sup>	38.52 ± 1.72 <sup>ac</sup>	1.82 ± 0.48 <sup>ac</sup>	2.28 ± 0.51 <sup>ac</sup>

注:PPAR- $\gamma$ 为过氧化物酶体增殖物激活受体- $\gamma$ ,ROSI为罗格列酮(PPAR- $\gamma$ 选择性激动剂),GW9662为2-氯-5-硝基苯胺(PPAR- $\gamma$ 选择性拮抗剂),LPS为脂多糖,PT为凝血酶原时间,APTT为活化部分凝血活酶时间,FIB为纤维蛋白原;与对照组比较,<sup>a</sup> $P < 0.01$ ;与LPS刺激组比较,<sup>b</sup> $P < 0.01$ ;与ROSI预处理组比较,<sup>c</sup> $P < 0.01$

### 3 讨论

脓毒症是宿主防御系统对入侵病原微生物产生的过度炎症反应<sup>[13-15]</sup>。脓毒症时炎症反应和凝血的关系很复杂<sup>[16]</sup>,感染通过多种分子和细胞机制促进凝血机制活化,其主要机制可能是促炎细胞因子如白细胞介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )促进组织因子(TF)在内皮细胞和单核细胞表达,启动外源性凝血途径,同时,因子X $\alpha$ (FX $\alpha$ )、凝血酶、TF-FXII $\alpha$ 复合物抑制内源性抗凝物质如抗活化蛋白C、抗凝血酶等作用的发挥,并促进全身炎症。炎症反应和凝血之间紧密的联系是导致器官功能障碍和死亡的原因<sup>[17]</sup>。

近年研究发现,PPAR- $\gamma$ 也是调控炎症反应的关键点<sup>[18]</sup>,PPAR- $\gamma$ 通过反式抑制,结合作用于多种核转录因子和(或)胞质辅助蛋白,在促炎介质合成及抗炎介质的调节和产生中均发挥作用,是维持细胞促炎与抗炎过程动态平衡的重要调节点<sup>[19]</sup>。PPAR- $\gamma$ 被配体活化后,能抑制炎症性疾病的炎症反应,这给我们提供了一种新的治疗思路<sup>[20-21]</sup>。研究表明,NF- $\kappa$ B可调节众多炎性介质的释放,其作用犹如核内炎性介质基因转录的启动开关<sup>[22]</sup>,在脓毒症中发挥重要作用,炎症反应关键性的控制点可能是位于胞质中的NF- $\kappa$ B。PPAR- $\gamma$ 激动剂可能通过抗炎途径在一定程度上抑制脓毒症和MODS的发生发展,其对炎性介质的抑制作用发生在转录水平,对NF- $\kappa$ B抑制作用显著<sup>[23]</sup>。PPAR- $\gamma$ 对NF- $\kappa$ B的作用机制可能为<sup>[24]</sup>:①PPAR- $\gamma$ 可以通过竞争结合协同活化因子p300和CREB结合蛋白(CBP)来抑制NF- $\kappa$ B;②PPAR- $\gamma$ 可以直接与NF- $\kappa$ B的亚基p65/p50结合,发生蛋白质-蛋白质相互作用,形成转录抑制复合物,降低NF- $\kappa$ B与DNA的结合活性,抑制NF- $\kappa$ B DNA合成,从而抑制其表达;③PPAR- $\gamma$ -维甲酸X受体(RXR)复合物通过直接结合转录因子,促使NF- $\kappa$ B移出胞核,阻止其诱导基因表达发挥抑制功能;④PPAR- $\gamma$ 可诱导NF- $\kappa$ B抑制蛋白(I $\kappa$ B)表达;⑤抑制NF- $\kappa$ B抑制蛋白激酶(IKK)的活性,从而阻止I $\kappa$ B的降解。

本研究显示,对脓毒症大鼠采用PPAR- $\gamma$ 激动剂ROSI预处理后,PBMC内NF- $\kappa$ Bp65蛋白表达明显下调;经PPAR- $\gamma$ 选择性拮抗

剂 GW9662 预处理后, NF- $\kappa$ Bp65 蛋白表达显著升高, 说明 ROSI 的保护作用具有 PPAR- $\gamma$  依赖性, 其保护作用可能是通过抑制 NF- $\kappa$ B 活性实现的。采用 PPAR- $\gamma$  激动剂 ROSI 预处理后, 脓毒症引起的凝血功能障碍明显减轻; GW9662 预处理后凝血指标仍异常, 表明 PPAR- $\gamma$  参与了脓毒症的凝血障碍, 并且可能是通过抑制 NF- $\kappa$ B 的活性实现的。PPAR- $\gamma$ /NF- $\kappa$ B 转导通路在脓毒症引起的凝血功能障碍中起重要作用, 这有助于更好地认识脓毒症, 指导临床治疗。

### 参考文献

- [1] Wang Z, Su F, Rogiers P, et al. Beneficial effects of recombinant human activated protein C in a ewe model of septic shock [J]. Crit Care Med, 2007, 35 (11): 2594-2600.
- [2] 张李萍, 钱义明. 改善脓毒症凝血异常的治疗研究进展[J]. 医药前沿, 2013, 2 (4): 46-47.
- [3] 徐秋萍. 重症感染伴随的凝血功能紊乱[J]. 现代实用医学, 2013, 25 (12): 1323-1325.
- [4] Tu J, Shan Q, Jin H, et al. Endothelin-1-mediated coronary vasoconstriction deteriorates myocardial depression in hearts isolated from lipopolysaccharide-treated rats: interaction with nitric oxide [J]. Clin Exp Pharmacol Physiol, 2004, 31 (9): 571-574.
- [5] 韩宇, 高传玉, 秦秉玉, 等. 抗凝治疗对脓毒症凝血和炎症指标的影响及其意义[J]. 中华危重病急救医学, 2015, 27 (2): 102-105.
- [6] Mangelsdorf DJ, Thummel C, Beato M, et al. The nuclear receptor superfamily: the second decade [J]. Cell, 1995, 83 (6): 835-839.
- [7] Fajas L, Auboeuf D, Raspé E, et al. The organization, promoter analysis, and expression of the human PPARgamma gene [J]. J Biol Chem, 1997, 272 (30): 18779-18789.
- [8] Moraes LA, Piqueras L, Bishop-Bailey D. Peroxisome proliferator-activated receptors and inflammation [J]. Pharmacol Ther, 2006, 110 (3): 371-385.
- [9] 王立明, 周婷, 乔万海. PPAR- $\gamma$  与炎症反应[J]. 中国医药指南, 2012, 10 (26): 49-51.
- [10] Philpott DJ, Yamaoka S, Israël A, et al. Invasive Shigella flexneri activates NF- $\kappa$ B through a lipopolysaccharide-dependent

- innate intracellular response and leads to IL-8 expression in epithelial cells [J]. J Immunol, 2000, 165 (2): 903-914.
- [11] Leesnitzer LM, Parks DJ, Bledsoe RK, et al. Functional consequences of cysteine modification in the ligand binding sites of peroxisome proliferator activated receptors by GW9662 [J]. Biochemistry, 2002, 41 (21): 6640-6650.
  - [12] 乔万海, 王静, 师猛, 罗格列酮对脂多糖诱导的多器官功能障碍综合征大鼠保护作用的研究[J]. 中国急救医学, 2007, 27 (6): 550-552.
  - [13] Kollias G, Douni E, Kassiotis G, et al. On the role of tumor necrosis factor and receptors in models of multiorgan failure, rheumatoid arthritis, multiple sclerosis and inflammatory bowel disease [J]. Immunol Rev, 1999, 169: 175-194.
  - [14] 吕汪润, 秦魏婷, 张锦丽, 等. 苦柯胺 B 对脂多糖诱导的脓毒症小鼠小肠炎症反应的抑制作用及分子机制[J]. 中华危重病急救医学, 2015, 27 (2): 121-126.
  - [15] Aird WC. The role of the endothelium in severe sepsis and multiple organ dysfunction syndrome [J]. Blood, 2003, 101 (10): 3765-3777.
  - [16] 孙茜, 李银平. 血必净治疗脓毒症凝血功能障碍的研究进展[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2014, 21 (6): 476-480.
  - [17] 李旭, 马晓春. 脓毒症内皮细胞损伤和凝血功能障碍相关的生物标记物[J]. 中华危重病急救医学, 2011, 23 (2): 117-121.
  - [18] Su CG, Wen X, Bailey ST, et al. A novel therapy for colitis utilizing PPAR-gamma ligands to inhibit the epithelial inflammatory response [J]. J Clin Invest, 1999, 104 (4): 383-389.
  - [19] Lemberger T, Desvergne B, Wahli W. Peroxisome proliferator-activated receptors: a nuclear receptor signaling pathway in lipid physiology [J]. Annu Rev Cell Dev Biol, 1996, 12: 335-363.
  - [20] Katayama K, Wada K, Nakajima A, et al. A novel PPAR gamma gene therapy to control inflammation associated with inflammatory bowel disease in a murine model [J]. Gastroenterology, 2003, 124 (5): 1315-1324.
  - [21] Cuzzocrea S, Pisano B, Dugo L, et al. Rosiglitazone, a ligand of the peroxisome proliferator-activated receptor-gamma, reduces acute inflammation [J]. Eur J Pharmacol, 2004, 483 (1): 79-93.
  - [22] Lee JI, Burckart GJ. Nuclear factor kappa B: important transcription factor and therapeutic target [J]. J Clin Pharmacol, 1998, 38 (11): 981-993.
  - [23] Moraes LA, Piqueras L, Bishop-Bailey D. Peroxisome proliferator-activated receptors and inflammation [J]. Pharmacol Ther, 2006, 110 (3): 371-385.
  - [24] Aranda A, Pascual A. Nuclear hormone receptors and gene expression [J]. Physiol Rev, 2001, 81 (3): 1269-1304.

(收稿日期: 2014-11-04)

(本文编辑: 李银平)

## • 科研新闻速递 •

### 脓毒症相关多器官功能障碍综合征的表征

脓毒症可以造成机体各系统器官发生破坏性的改变, 如果对脓毒症有意义的不同临床表现特征进行有效识别, 可以改善对脓毒症患者的治疗和预后。因此, 有学者试图通过研究确定严重脓毒症或脓毒性休克的临床表征来进行诊断。他们回顾性研究了 3 家医院 2006 年至 2013 年直接从急诊转入重症加强治疗病房 (ICU) 确诊为严重脓毒症或脓毒性休克的 2 533 例患者。总体病死率为 17%, 急性生理学与慢性健康状况评分系统 II (APACHE II) 评分平均 24 分, 序贯器官衰竭评分 (SOFA) 平均 8 分, ICU 住院时间平均 5.4 d。研究者确定了 4 种不同的表征: ① 休克且肌酐升高; ② 出现最少的多器官功能障碍综合征 (MODS); ③ 休克患者低氧血症和精神状态的改变; ④ 肝脏疾病。存在这些表征的患者病死率 (95% 可信区间) 分别为 11% (8%~14%)、12% (11%~14%)、28% (25%~32%) 和 21% (16%~26%),  $P < 0.000 1$ 。该研究确定了严重脓毒症或脓毒性休克患者 MODS 4 个不同的表征, 这些表征可能反映了潜在的病理生理学差异, 可能促进潜在目标性治疗或定向研究。

喻文, 罗红敏, 编译自《Intensive Care Med》, 2015-04-08 (电子版)