

选择性环氧合酶 2 抑制剂对梗阻性肾病大鼠肾组织中核因子 κ B 和转化生长因子 β_1 的调节

何平, 杨旭, 李德天[△]

(中国医科大学附属盛京医院肾内科, 辽宁 沈阳 110004)

[摘要] 目的:探讨塞来昔布与吲哚美辛比较对单侧输尿管梗阻(UUO)大鼠模型肾脏的保护作用及可能机制。方法:将塞来昔布和吲哚美辛应用于 UUO 大鼠,4 周后测定血清肌酐及尿素氮水平,放射免疫法测定大鼠尿液血栓烷素 B₂(TXB₂)浓度,免疫组化法检测肾脏核因子 κ B (NF- κ B)和转化生长因子 β_1 (TGF- β_1)的表达。结果:塞来昔布及吲哚美辛均降低尿 TXB₂ 浓度,塞来昔布组更为显著;与对照组相比,其余 3 组 NF- κ B 及 TGF- β_1 的蛋白表达水平均显著上升,肾间质纤维化严重;塞来昔布治疗后,上述蛋白表达水平显著下调,肾间质纤维化程度明显减轻。结论:塞来昔布能减轻 UUO 大鼠肾间质纤维化,下调 NF- κ B 的表达,减少肾间质单核巨噬细胞浸润可能是其机制之一。

[关键词] 肾间质纤维化;塞来昔布;梗阻性肾病;核因子 κ B;转化生长因子 β_1

[中图分类号] R693 [文献标识码] A [文章编号] 0258-4646(2007)02-0143-02

Effect of celecoxib on activation of nuclear factor-kappa B and transforming growth factor- β_1 in obstructive nephropathy

HE Ping, YANG Xu, LI De-tian[△]

(Department of Nephrology, Shengjing Hospital, China Medical University, Shenyang 110004, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the protective effects of celecoxib and indomethacin on renal interstitial fibrosis following unilateral ureteral obstruction (UUO) in rat kidney and the mechanism. **Methods:** Twenty-four Wistar rats were randomly and equally divided into UUO group, celecoxib group, indomethacin group, and sham operation group. The concentration of thromboxane-B₂ (TXB₂) in the urine was detected by radioimmunoassay after 4 weeks, and the expressions of nuclear factor-kappa B (NF- κ B) and transforming growth factor- β_1 (TGF- β_1) were determined by immunohistochemical method. **Results:** Both celecoxib and indomethacin, especially celecoxib, reduced the concentration of TXB₂. Compared with sham operation group, the levels of NF- κ B and TGF- β_1 were significantly increased and the renal interstitial fibrosis was more severe in other 3 groups. Celecoxib significantly suppressed the expression of NF- κ B and TGF- β_1 and improved renal interstitial fibrosis. **Conclusion:** Celecoxib could ameliorate the renal interstitial fibrosis in UUO rats, and the possible mechanism may include down-regulating the expression of NF- κ B and reducing the renal macrophage infiltration.

[Key words] renal fibrosis; obstructive nephropathy; celecoxib; nuclear factor-kappa B; transforming growth factor- β_1

单侧输尿管梗阻(unilateral ureteral obstruction, UUO)是研究肾间质纤维化比较成熟的模型^[1]。现已知某些局部化学因子及黏附分子的表达增加是导致 UUO 早期单核巨噬细胞浸润的两个重要因素。这些分子的启动子中均含有核因子 κ B (nuclear factor-kappa B, NF- κ B)的结合位点,提示其活性增加可能参与了 UUO 的发生和发展。本研究通过观察塞来昔布(celecoxib)对 UUO 大鼠肾脏的作用,探讨其对 NF- κ B 和转化生长因子 β_1 (transforming growth factor- β_1 , TGF- β_1)表达的影响及其可能机制。

1 材料与方法

1.1 动物模型制作及分组 雄性 Wistar 大鼠 24 只,8 周龄,体质量 180 ~ 220 g,本院动物实验室提供。

[作者简介] 何平(1978 -),女,讲师,硕士。

[△]Corresponding Author's E-mail: lidt@cmu2h.com

随机分为:模型组,塞来昔布治疗组,吲哚美辛治疗组和假手术组为对照组。按照文献[1]建立 UUO 模型,假手术组除不结扎离断输尿管外,其余处理同 UUO 组。手术前 24 h 开始以灌胃方式给药,分别予塞来昔布(商品名:西乐葆,辉瑞公司)100 mg/(kg·d)及吲哚美辛(消炎痛)2 mg/(kg·d);同时对对照组和模型组给予等量生理盐水灌胃。4 周末将大鼠放入代谢笼中收集 24 h 尿液。取梗阻侧肾组织用 4%多聚甲醛固定,石蜡包埋,制成 3 μ m 连续切片,HE 染色。

1.2 尿血栓烷素 B₂ (thromboxane-B₂, TXB₂) 浓度放射免疫法检测(TXB₂ 放免药盒,解放军总医院科研开发中心放免所)。

1.3 免疫组织化学 S-P 法,试剂购自北京中山公司,按说明书操作。PBS 代替一抗作阴性对照,以镜下细胞浆/细胞核中有棕黄色颗粒为阳性。

1.4 统计学处理 各组数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组资料

间比较采用单因素方差分析,相关分析采用直线相关。

2 结果

2.1 血清肌酐、尿素氮水平及尿 TXB₂ 浓度 4 周后,除对照组外,其余 3 组大鼠肾功均有损伤,尿 TXB₂ 浓度大幅度升高。其中塞来昔布组肾脏功能损伤最轻,尿 TXB₂ 浓度最低($P < 0.01$)。见表 1。

2.2 光镜观察 对照组无明显病理改变。模型组肾

小管上皮细胞变性坏死,肾小管严重扩张或萎缩,肾间质大量炎性细胞浸润,间质间隙明显增宽,肾髓质厚度减少 1/2 以上。塞来昔布组间质内可见炎性细胞浸润,肾间质容量明显低于模型组,肾髓质宽度减少约 1/3。吲哚美辛组与模型组未见明显区别。

2.3 免疫组化结果 模型组 NF- κ B 在肾小管上皮细胞核中呈高水平表达,其胞核阳性细胞数为(19.73 ± 2.28),较对照组(0.40 ± 0.51)明显增多($P < 0.05$),吲哚美

表 1 各组大鼠肌酐、尿素氮水平及尿 TXB₂ 浓度($\bar{x} \pm s$)

Tab.1 Levels of serum creatinine, blood urea nitrogen, and urinary thromboxane-B₂($\bar{x} \pm s$)

组别	n	BUN(mmol/L)	Scr(μmol/L)	尿 TXB ₂ 浓度(pg/ml)
模型组	6	12.93 ± 1.67 ¹⁾	86.17 ± 12.17 ¹⁾	706.33 ± 87.09 ¹⁾
吲哚美辛组	6	11.05 ± 1.15 ¹⁾	82.17 ± 9.06 ¹⁾	379.86 ± 73.62 ^{1),2)}
塞来昔布组	6	10.06 ± 0.95 ^{1),2)}	72.33 ± 6.41 ^{1),2)}	180.63 ± 41.77 ^{1),3)}
对照组	6	6.22 ± 0.90	53.83 ± 5.95	86.83 ± 23.33

注: 1)与对照组相比, $P < 0.05$;与模型组相比,2) $P < 0.05$,3) $P < 0.01$

辛组与模型组无明显区别。塞来昔布组为 (9.13 ± 1.81)较模型组明显减轻,差异显著($P < 0.05$),(见图 1)。

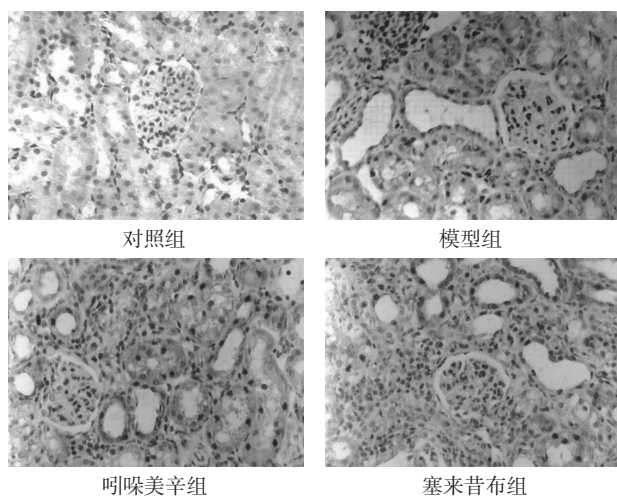


图 1 各组大鼠肾组织 NF- κ B 的表达 免疫组化 × 400

Fig.1 Expression of NF- κ B in renal tissues × 400

与对照组比较,TGF- β_1 在其余 3 组表达水平均明显升高($P < 0.05$)。塞来昔布干预后,该组 TGF- β_1 表达低于模型组及吲哚美辛组,差异显著($P < 0.05$)。

3 讨论

环氧酶(cyclooxygenase,COX)是前列腺素合成的限速酶,目前发现其同工酶有 3 种。COX-1 主要参与生理过程。COX-2 在生理条件下低水平表达,而在限盐、肾大部切和单侧输尿管梗阻等致病因素的诱导下能大量生成,其产物 TXA₂(为 TXB₂ 的前体)的产生也增多,并有重要的致病作用^[2,3]。本实验中,模型组与对照组比较大鼠尿 TXB₂ 浓度大幅度增加,塞来昔布干预后,尿 TXB₂ 浓度明显下降,进一步证实了在肾间质纤维化进程中,COX-2 起了十分重要的作用。

TASHIRO 等的研究表明,NF- κ B 在 UUO 模型肾间质纤维化进展中起至关重要的作用,使用其抑制剂可以显著改善肾间质炎症及纤维化程度^[4]。本实验中,我们观察到塞来昔布治疗 4 周后,肾组织中 NF- κ B 活性明显降低,其对 NF- κ B 活性影响的机制可能为:单侧输尿管梗阻后,肾脏局部肾素-血管紧张素系统(rennin-angiotensin system,RAS)兴奋^[5]。而特异性 COX-2 抑制剂使促进肾素释放的前列腺素减少,部分抑制了 RAS 系统,RAS 的最终产物血管紧张素 II 减少,至少部分阻断激活的 NF- κ B 调控的 MCP-1、VCAM-1、ICAM-1、E-selectin 等的表达增加,减轻了单核巨噬细胞浸润。同时,减少了肾组织中 TGF- β_1 的表达和随后的细胞外基质沉积,最终减轻了肾组织结构 and 功能的损害。

参考文献:

[1] GAO X, MAE H, AYABE N, et al. Hepatocyte growth factor gene therapy retards the progression of chronic obstructive nephropathy[J]. Kidney Int, 2002, 62(4): 1238-1240.

[2] MORIYAMA T, KAWADA N, NAGATOYA K, et al. Fluvastatin suppresses oxidative stress and fibrosis in the interstitium of mouse[J]. Kidney Int, 2001, 59(6): 2059-2062.

[3] HUI FANG C, HARRIS RC. Cyclooxygenases, the kidney, and hypertension [J]. Hypertension, 2004, 43(3): 525-530.

[4] MIYAJIMA A, ITO K, ASONO T, et al. Does cyclooxygenase-2 inhibitor prevent renal tissue damage in unilateral ureteral obstruction [J]. J Urol, 2001, 166(3): 1124-1129.

[5] TASHIRO K, TAMADA S, KUWABARA N, et al. Attenuation of renal fibrosis by proteasome inhibition in rat obstructive nephropathy: possible role of nuclear factor kappaB [J]. Int J Mol Med, 2003, 12(4): 587-592.

[收稿日期] 2005-11-21