

PAI-1 对炎症性肠病大鼠模型内质网应激的相关影响研究

黄海涛 张磊 王霞 王晖 杨晶 吕文

【摘要】 目的 探究纤溶酶原激活剂抑制物-1(PAI-1)基因对炎症性肠病(IBD)大鼠模型内质网应激的相关影响。方法 将 Wistar 大鼠 24 只分为正常对照(control)组、IBD 大鼠模型(IBD)组、Knockout PAI-1 正常大鼠模型(Knockout PAI-1 control)组、Knockout PAI-1+IBD 大鼠模型(Knockout PAI-1+IBD)组,每组 6 只。采用 2,4,6-三硝基苯磺酸(TNBS)/无水乙醇法进行 IBD 造模,3d 后腹腔注射 3%戊巴比妥钠 1.5ml/kg 麻醉,迅速剖腹,剪下肛门以上 7~8cm 结肠,HE 染色检测各组大鼠结肠组织病理情况,qRT-PCR 检测 PAI-1、IL-6、IFN- γ 和重链结合蛋白(BIP)转录水平;Western blot 检测各组大鼠 PAI-1、IL-6、IL-10、IFN- γ 、BIP、p-IRE1 α 、p-JNK 及 JNK 蛋白表达水平。结果 control 组与 Knockout PAI-1 control 组镜下未见明显炎症活动;Knock out PAI-1+IBD 组的肠壁炎症程度较 Knockout PAI-1 control 组轻。基因转录表达方面,与 control 组相比较,IBD 大鼠组 PAI-1、IL-6、IFN- γ 和 BIP 转录水平均明显上调(均 $P<0.01$),IL-6、IL-10、IFN- γ 、BIP、p-IRE1 α 、JNK 蛋白表达水平明显上调;而 Knockout PAI-1+IBD 组与 IBD 组相比,炎症情况减轻,IL-6、IFN- γ 和 BIP 转录表达水平明显下调($P<0.01$),IL-6、IL-10、IFN- γ 、BIP、p-IRE1 α 、JNK 蛋白表达水平显著下调,PAI-1 转录水平及蛋白表达水平无统计学差异。结论 抑制 PAI-1 基因的表达可能改善了 IBD 大鼠组织炎症及内质网应激水平。

【关键词】 纤溶酶原激活剂抑制物-1 炎症性肠病 内质网应激

Effect of PAI-1 on endoplasmic reticulum stress in rats with inflammatory bowel disease HUANG Haitao, ZHANG Lei, WANG Xia, et al. Department of Gastroenterology, Affiliated Hangzhou First People's Hospital, Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou 310006, China

【Abstract】 Objective To investigate the effect of plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) on endoplasmic reticulum stress in rats with inflammatory bowel disease (IBD). Methods Twenty-four Wistar rats were divided into four groups with 6 in each group: control group, IBD group, PAI-1 knockout group and PAI-1 knockout+IBD group. The IBD model was induced by 2,4,6-trinitrobenzene sulfonic acid (TNBS)/absolute ethanol method. The pathological grade was evaluated using HE staining. The gene transcriptional levels of PAI-1, IL-6, IFN- γ , BIP were measured by quantitative real-time PCR (qRT-PCR). The protein expression levels of PAI-1, IL-6, IL-10, IFN- γ , BIP, p-IRE1 α , p-JNK, JNK were measured by Western blot. Results HE staining showed that there was no significant inflammatory activity in control group and PAI-1 knockout group, and the degree of intestinal wall inflammation in the PAI-1 knockout + IBD group was lighter than that in the IBD group. Compared with IBD group, the mRNA expression levels of PAI-1, IL-6, IFN- γ , BIP and the protein expression levels of PAI-1, IL-6, IL-10, IFN- γ , BIP, p-IRE1 α , p-JNK in PAI-1 knockout+IBD group were down-regulated ($P<0.01$). Conclusion Inhibition of the PAI-1 expression may improve tissue inflammation and endoplasmic reticulum stress in IBD rats.

【Key words】 Plasminogen activator inhibitor-1 Inflammatory bowel disease Endoplasmic reticulum stress

DOI:10.12056/j.issn.1006-2785.2019.41.19.2019-1281

基金项目:杭州市科委基金项目(20150733Q08);浙江省省级公益性技术应用研究计划(实验动物平台)项目(2016F81SA100021)

作者单位:310006 浙江大学医学院附属杭州市第一人民医院消化内科(黄海涛、王霞、王晖、杨晶、吕文);萧山区第一人民医院消化内科(张磊)

通信作者:吕文,E-mail:670960912@qq.com

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)主要包括克罗恩病(Crohn's disease, CD)和溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC),它们以肠黏膜慢性复发性炎症为特征,主要累及回肠末端和结肠,属自身免疫相关性疾病,但其病因与发病机制尚不完全清楚,目前认为其发生、发展主要与遗传易感性、外部环境、感染介质、肠道菌群及免疫系统的功能障碍等多因素相互作用有关^[1]。有研究表明,长期、严重的内质网应激

(endoplasmic reticulum stress, ERS) 超过细胞自身的调节能力, 而激活未折叠蛋白反应 (unfolded protein response, UPR) 将引起大量未折叠和错误折叠的蛋白在内质网内沉积^[2], 诱导细胞凋亡, 最终导致炎症反应引起免疫失衡, 其中细胞因子 TNF- α 、IL-1、IL-6、IFN- γ 和重链结合蛋白 (BIP) 等的交互协同作用以及内质网诱导的转录调控, 在 IBD 的发病中发挥关键作用^[3]。纤溶酶原激活物抑制剂-1 (plasminogen activator inhibitor 1, PAI-1) 是组织型纤溶酶原激活物 (tissue-type plasminogen activator, tPA) 和尿激酶型纤溶酶原激活物 (urokinase plasminogen activator, uPA) 的不可逆抑制剂。已有研究表明, PAI-1 参与 IBD 发生的炎症反应过程^[4], 但其具体基因表达与相关细胞因子参与的内质网应激过程的关系尚不明确。因此, 本研究选择 Wistar 大鼠并使用 2,4,6-三硝基苯磺酸 (TNBS)/无水乙醇造模法获得 IBD 大鼠, 并进一步运用基因敲除手段获得 PAI-1 基因敲除 IBD 大鼠模型, 对正常对照组、IBD 大鼠模型组、PAI-1 基因敲除 IBD 大鼠模型组间的 PAI-1 基因表达和炎症因子引起的 ERS 水平进行比较, 探讨 PAI-1 基因在 IBD 发病中的作用及相关机制, 现报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 8 周龄 (体重 180~220g) Wistar 大鼠共 24 只由浙江中医药大学实验动物中心提供, 许可证编号: SYXK(浙)2018-0012, 在标准的无菌恒温 (23~25℃) 环境中控制饮食进行饲养, 并且动物实验经由我院动物管理和使用委员会批准。TNBS (美国 Sigma 公司); HE 染色液 (G1120) (美国 Solarbio 公司); PCR 引物 (上海生工生物有限公司); BCA 蛋白浓度测定试剂盒 (P0012) (上海碧云天公司); Anti-PAI-1 抗体 (MA-33H1F7)、Anti-IL-10 抗体 (2G101H7)、Anti-IL-6 抗体 (C7H24L3)、Anti-IFN- γ 抗体 (18H3L15)、Anti-BIP 抗体 (PA5-22967)、Anti-p-IRE1 α 抗体 (PA1-16927)、Anti-p-JNK 抗体 (PA5-37698) (美国 Thermo Fisher 公司); Anti-JNK 抗体 (ab179461)、Anti-p-JNK 抗体 (ab124956) (美国 Abcam 公司); ECL 化学发光液 (WBKLS0500) (德国 Merck millipore 公司)。

1.2 造模及基因敲除

1.2.1 IBD 大鼠造模 Wistar 大鼠适应性饲养 1 周, 术前大鼠禁食不禁水 24h, 用 10% 水合氯醛 0.4ml/100g 腹腔注射麻醉, 麻醉后用直径约 1.5mm 灌肠管由肛门轻柔插入约 8~10cm 处的肠腔内, IBD 大鼠模型组快速注入 2:1 体积比的 TNBS (150mg/kg)-无水乙醇液 0.25 ml。正

常对照组灌肠液采用等剂量 0.9% 氯化钠溶液, 其余操作同 IBD 大鼠。IBD 大鼠模型组每天称量体重及观察大便性状, 造模第 3 天 IBD 大鼠出现稀便、血便、体重下降、活动度差情况, 为造模成功。

1.2.2 构建 PAI-1 基因敲除模式大鼠 根据 PAI-1 基因 (NCBI ID:24617) 结构, 使用 Cas9/sgRNA 注射受精卵的方法构建基因敲除大鼠。为获得可遗传基因突变型, F0 代鉴定阳性大鼠分别与野生型大鼠交配获得 F1 代大鼠, PCR 鉴定 F1 阳性大鼠为目的大鼠。

1.3 分组及检测样本收集 将 24 只大鼠随机分为正常对照 (control) 组、IBD 大鼠模型 (IBD) 组, Knockout PAI-1 正常大鼠模型 (Knockout PAI-1 control) 组、Knockout PAI-1+IBD 大鼠模型 (Knockout PAI-1+IBD) 组, 每组 6 只。3d 后腹腔注射 3% 戊巴比妥钠 1.5ml/kg 麻醉, 迅速剖腹, 剪下肛门以上 7~8cm 结肠, 再沿肠系膜边缘剪开肠腔, 予预冷的生理盐水冲洗干净, 然后取各组相同结肠组织进行检测。

1.4 病理检查 结肠组织样本用 10% 甲醛固定后, 进行脱水、石蜡包埋、切片, 采用 HE 染色, 并在光镜下观察组织染色情况。

1.5 qRT-PCR 检测 采用 TRIZOL 法提取结肠组织的总 RNA, 并在 Nanodrop 分光光度计上测定其浓度与纯度。根据 Takara 反转录与扩增试剂盒合成 cDNA, 再进行 qPCR 扩增 (引物见表 1)。扩增条件为: 95℃ 预变性 5min, 95℃ 变性 15s, 58℃ 退火 30s, 72℃ 延伸 20s, 共 40 个热循环。以看家基因 β -actin mRNA 为内参, 采用 2^{- $\Delta\Delta$ Ct} 法计算分析目的基因 mRNA 的相对转录水平。

表 1 qPCR 引物

目的基因	引物
PAI-1	Forward: 5' -ACAGCCTTTGTCATCTCAGCC-3'
	Reverse: 5' -CCGAACCACAAAGAGAAAGGA-3'
IL-6	Forward: 5' -TGTGCAATGGCAATTCTGAT-3'
	Reverse: 5' -GGTACTCCAGAAGACCAGAGGA-3'
IL-10	Forward: 5' -AAGGCAGTGGAGCAGGTGAA-3'
	Reverse: 5' -CCAGCAGACTCAATACACAC-3'
IFN- γ	Forward: 5' -GCATCTTGGCTTTGCAGCT-3'
	Reverse: 5' -CCTTTTTTGGCCTTGCTGTTG-3'
BIP	Forward: 5' -CTCCACGGCTCCGATAATCA-3'
	Reverse: 5' -TCCAGTCAGATCAAATGTACCCAGA-3'
β -actin	Forward: 5' -AGCTGCGTTTTACACCCCTT-3'
	Reverse: 5' -AAGCCATGCCAATGTTGTCT-3'

1.6 Western blot 检查 液氮研磨结肠组织, 加入 RIPA 蛋白裂解液充分裂解细胞。离心收集上清液, 采用 BCA

试剂盒定量总蛋白浓度,以确定蛋白的上样量。加样, SDS-PAGE 电泳分离蛋白,将胶上的蛋白转移到甲醇活化的 PVDF 膜上。PVDF 膜用 5% 脱脂牛奶室温封闭,洗涤,再与特异性一抗(PAI-1、IL-6、IL-10、IFN- γ 、BIP、p-IRE1 α 、p-JNK、JNK 蛋白)室温孵育 2h 或 4 $^{\circ}$ C 过夜,洗涤,然后 PVDF 膜与连接有辣根过氧化物酶的二抗一起室温孵育 1h。最后,ECL 化学发光试剂与 PVDF 膜作用后进行显影和定影,检测 PAI-1、IL-6、IL-10、IFN- γ 、BIP、p-IRE1 α 、p-JNK、JNK 蛋白表达。

1.7 统计学处理 采用 SPSS 19.0 统计软件。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD- t 法。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 病理检查 各组大鼠病理变化情况见图 1(插页)。control 组与 Knockout PAI-1 control 组的肠壁未见增厚、充血或炎性细胞浸润。在 IBD 组中,肠壁明显增厚,腺体受损,肠壁明显充血和炎性细胞浸润。Knockout PAI-1+IBD 组的肠壁轻度增厚充血,可见小溃疡,病理组织学显示肠黏膜坏死脱落,少量中性粒细胞、淋巴细胞浸润,各层结构尚清晰。

2.2 qRT-PCR 检测 PAI-1、IL-6、IL-10、IFN- γ 、BIP 转录水平 与 control 组比较,IBD 组大鼠小肠组织中的 PAI-1、IL-6、IL-10、IFN- γ 和 BIP 基因转录水平均明显上调(均 $P < 0.01$);Knockout PAI-1 control 组 PAI-1 基因转录水平下调($P < 0.01$),IL-6、IL-10、IFN- γ 和 BIP 基因转录水平与 control 组比较均无统计学差异(均 $P > 0.05$)。与 Knockout PAI-1 control 组相比较,Knockout PAI-1+IBD 组 PAI-1 基因转录水平无统计学差异($P > 0.05$),IL-6、IL-10、IFN- γ 和 BIP 基因转录水平均明显上调(均 $P < 0.01$)。与 IBD 组相比较,Knockout PAI-1+IBD 组 PAI-1、IL-6、IL-10、IFN- γ 和 BIP 基因转录水平均明显下调(均 $P < 0.01$)。见表 2。

2.3 Western blot 检测 PAI-1、IL-6、IL-10、IFN- γ 、BIP、p-IRE1 α 、p-JNK 及 JNK 蛋白表达 与 control 组比较,IBD 组大鼠结肠组织中的 PAI-1 显著升高,IL-6、IL-

10、IFN- γ 、BIP、p-IRE1 α 、JNK 蛋白表达水平均明显上调;Knockout PAI-1 control 组 PAI-1 蛋白表达明显下调,IL-6、IL-10、IFN- γ 、BIP、p-IRE1 α 、JNK 蛋白水平与 control 组比较均无统计学差异。与 Knockout PAI-1 control 组相比较,Knockout PAI-1+IBD 组 PAI-1 表达无统计学差异,IL-6、IL-10、IFN- γ 、BIP、p-IRE1 α 、JNK 蛋白水平明显上调。与 IBD 组相比较,Knockout PAI-1+IBD 组 PAI-1、IL-6、IL-10、IFN- γ 、BIP、p-IRE1 α 、JNK 蛋白水平显著下调。见图 2 和表 3。

3 讨论

目前 IBD 已成为研究的热点,主要原因在于 IBD 的确切病因以及致病机制不十分明确,遗传易感性、外部环境、感染介质、肠道菌群及免疫功能障碍等多种因素均被认为与其相关^[1],临床上缺乏有效的靶向治疗。

ERS 通常由内质网中未折叠或错误折叠蛋白过度积累诱导,产生 UPR^[7-8]。UPR 可通过多种途径使核因子- κ B(NF- κ B)入核增加,参与多种炎症相关基因的转录调控。NF- κ B 调控的炎症因子表达可激发 IBD 的两个阶段,即固有免疫介导的诱导期和获得性免疫应答介导的慢性炎症效应期。在 ERS 信号通路中,IRE1 α 是决定细胞命运的关键蛋白,IRE1 α 不仅具有细胞保护功能,还能够激活凋亡信号激酶 ASK1,促进细胞通过 JNK 和 p38 MAPK 信号通路凋亡。ERS 时与 PERK 结合的 BIP 由于应付大量的未折叠蛋白而使得内质网内 PERK 蛋白暴露,发生自身磷酸化与二聚化,活化的 PERK 蛋白进一步使内质网外侧的 eIF2A 发生磷酸化修饰,使得蛋白合成启动过程暂停。本研究通过测定 BIP、p-IRE1 α 、p-JNK 水平来反映 IBD 的 ERS 水平。本研究发现,在 IBD 模型大鼠中,IL-6、IFN- γ 、BIP、p-IRE1 α 、p-JNK 表达水平均上调(均 $P < 0.01$),反映 ERS 与 IBD 有密切关系,说明 ERS 参与了 IBD 炎症反应。

PAI-1 基因位于第七号染色体长臂,PAI-1 蛋白由 379 个氨基酸残基组成,分子量大约为 52kd。PAI-1 是丝氨酸蛋白酶抑制剂(SERPINS)超家族的糖蛋白。PAI-1 是纤维蛋白溶解系统的关键抑制剂,它通过灭

表 2 qRT-PCR 检测各组大鼠组织 PAI-1、IL-6、IL-10、IFN- γ 、BIP 转录水平

组别	PAI-1	IL-6	IL-10	IFN- γ	BIP
control 组	0.97 \pm 0.21	0.80 \pm 0.22	1.12 \pm 0.13	1.13 \pm 0.27	1.24 \pm 0.34
IBD 组	4.13 \pm 0.65*	5.89 \pm 0.67*	4.20 \pm 1.42*	8.02 \pm 0.58*	11.08 \pm 0.70*
Knockout PAI-1 control 组	0.26 \pm 0.07*	0.74 \pm 0.10 $^{\Delta}$	1.33 \pm 0.10 $^{\Delta}$	0.97 \pm 0.28 $^{\Delta}$	1.16 \pm 0.09 $^{\Delta}$
Knockout PAI-1+IBD 组	0.21 \pm 0.06*	3.28 \pm 0.51*	1.64 \pm 0.64*	3.10 \pm 1.21*	2.99 \pm 0.30*

注:与 control 组比较,* $P < 0.01$;与 Knock out PAI-1+IBD 组比较, $^{\Delta}P < 0.01$

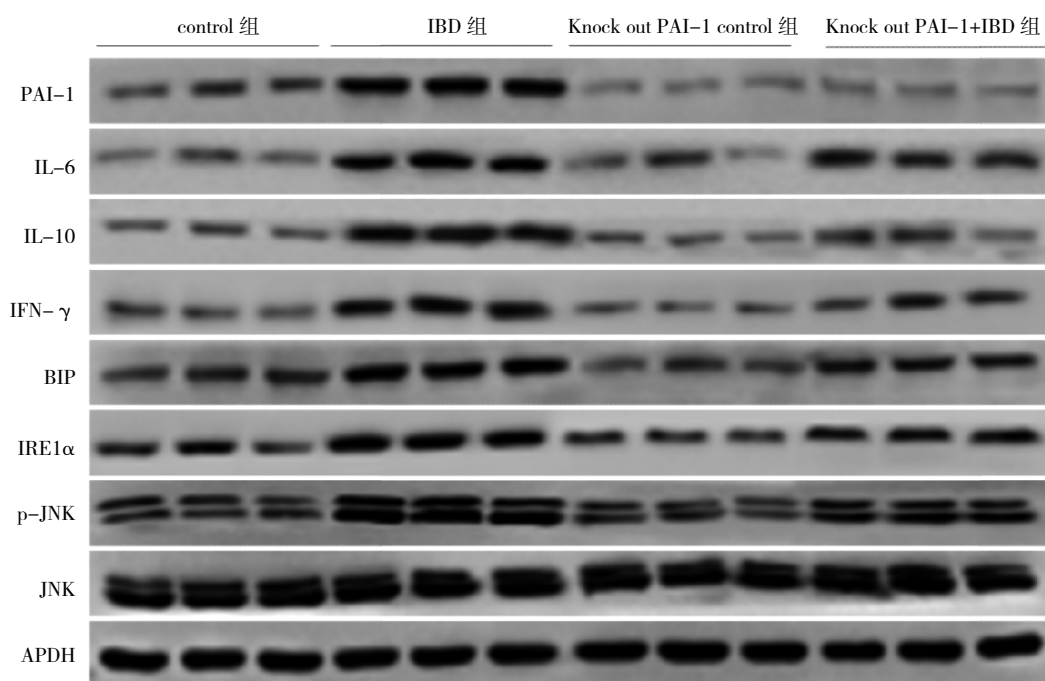


图 2 Western blot 检测各组大鼠结肠组织中 PAI-1、IL-6、IL-10、IFN- γ 、BIP、p-IRE1 α 、p-JNK、JNK 蛋白水平电泳图

表 3 Western blot 检测各蛋白表达的比较

组别	PAI-1/GAPDH	IL-6/GAPDH	IL-10/GAPDH	IFN- γ /GAPDH	BIP/GAPDH	p-IRE1 α /GAPDH	p-JNK/JNK
control 组	0.57 \pm 0.11	0.38 \pm 0.10	0.46 \pm 0.08	0.36 \pm 0.04	0.46 \pm 0.05	0.65 \pm 0.14	0.56 \pm 0.08
IBD 组	1.08 \pm 0.06**	0.88 \pm 0.09**	0.93 \pm 0.11**	0.76 \pm 0.09**	0.79 \pm 0.06**	0.92 \pm 0.10**	0.92 \pm 0.12**
Knock out PAI-1 control 组	0.26 \pm 0.02**	0.33 \pm 0.10	0.35 \pm 0.10	0.32 \pm 0.03	0.39 \pm 0.08	0.63 \pm 0.05	0.67 \pm 0.18
Knock out PAI-1 +IBD 组	0.25 \pm 0.03	0.59 \pm 0.08 $\Delta\Delta\Delta$	0.48 \pm 0.14 $\Delta\Delta$	0.53 \pm 0.10 $\Delta\Delta$	0.66 \pm 0.03 $\Delta\Delta$	0.86 \pm 0.03 $\Delta\Delta\Delta$	1.27 \pm 0.17 $\Delta\Delta$

注:与 control 组比较,* P <0.05,** P <0.01;与 IBD 组比较, Δ P <0.05, $\Delta\Delta$ P <0.01;与 Knockout PAI-1 control 组, Δ P <0.05

活 uPA,并参与细胞迁移、侵袭和黏附的调节。有研究发现,在细胞中过表达 uPA 可诱导 IL-6、IFN- γ 和 BIP、p-IRE1 α 、p-JNK、CHOP、GRP78 等多种内质网应激蛋白的表达变化^[9-10],增强 JNK 等信号通路的激活,使得细胞内质网产生应激和炎症反应。有研究表明,PAI-1 基因能够参与调控炎症反应,并在 ERS 变化中起作用,尤其在 IBD 的免疫炎症调控失衡上具有一定作用^[4-6]。国外文献报道在 IBD 患者血液中 PAI-1 水平升高^[13],还有文献报道由人、大鼠和小鼠肠制备的精确切割肠切片(PCIS)的离体模型中 PAI-1 的基因表达均增加^[14]。本研究发现,IBD 能引起大鼠结肠组织病变,敲除 PAI-1 基因后,HR 染色后镜下炎症浸润情况得到改善。而与此同时在 IBD 大鼠模型中,PAI-1 基因表达水平也明显上调(P <0.05),同时 IL-6、IFN- γ 、BIP、p-IRE1 α 、p-JNK 表达水平上升(P <0.01)。同时 Knockout PAI-1+IBD 组中,在 PAI-1 基因敲除后,其转录表达显著下降(P <0.05),ERS 相关的炎症因子 IL-6、

IFN- γ 、BIP、p-IRE1 α 、p-JNK 表达水平遂随之下降(P <0.01)。从实验看 PAI-1 基因与 IBD 大鼠炎症反应及 ERS 呈正相关,这给我们带来了强烈的关联性思考,在 IBD 疾病的发生、发展中 PAI-1 基因很可能起到至关重要的作用。笔者认为 PAI-1 基因可能影响 IBD 发生、发展中 ERS 水平及相关表达产物。结合文献我们分析,出现上述结果的原因可能有两方面:一方面,PAI-1 是 uPA 活性以及纤溶酶产生的主要调节剂,PAI-1 与 uPA 以 1:1 比例形成复合物灭活 uPA 的活性,在 IBD 造模中由于肠道炎症程度加重,PAI-1 为抑制炎症而出现高表达。另一方面,PAI-1 可以与血浆和细胞外基质的玻璃体结合蛋白、纤溶酶原激活剂及/受体(Upa/Upar)复合物结合,参与炎症细胞的轴附和脱离,从而促进炎性的发生^[11],PAI-1 还能与炎性及细胞因子如肿瘤坏死因子- α 、转化生长因子 p、IL-1、IL-6 等相互作用,使炎症因子渗出增加促进炎性的发生、发

(下转第 2099 页)

j.issn.1001-0408.2016.23.06.

- [2] 周虹, 蔡文杰, 林志强. 我院 2011-2013 年抗肿瘤药使用分析[J]. 中国药房, 2014, 25(46): 4325-4328. DOI: 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.46.02.
- [3] 任媛媛, 高宁, 杜晓琅, 等. 2010-2015 年天津市肿瘤医院植物来源的抗肿瘤药及其衍生物类药物使用情况分析[J]. 现代药物与临床, 2016, 31(10): 1662-1667. DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2016.10.036.
- [4] 曹凯风, 王莉文, 赵志刚. 北京地区 26 家医院 2011~2013 年妇产科抗生素类抗肿瘤药使用情况[J]. 中国医药导报, 2015, 12(8): 49-52.
- [5] 蒋程, 郑造乾, 王小军, 等. 基于多变量数据分析的细菌耐药性研究[J]. 中国现代应用药学, 2014, 31(11): 1400-1404. DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2014.11.026.
- [6] Hu CX, Wang JX, Zheng C, et al. Raman spectra exploring breast tissues: Comparison of principal component analysis and support

vector machine-recursive feature elimination[J]. Med Phys, 2013, 40(6): 1-7. DOI: 10.1118/1.4804054.

- [7] An Q, Lu NW, Dong YM. Chromatographic fingerprint coupled with hierarchical clustering analysis and principal component analysis for quality evaluation and original discrimination of rhizomes of *Helleborus thibetanus* Franch by HPLC-DAD[J]. Anal Methods, 2013, 5(20): 5775-5784. DOI: 10.1039/c3ay40979a.
- [8] Fan G, Tao LH, Yue QH, et al. Metabolic discrimination of *Rhizoma Coptidis* from different species using H-1 NMR spectroscopy and principal component analysis[J]. Planta Med, 2012, 78(6): 641-648. DOI: 10.1055/s-0031-1298240.

(收稿日期: 2017-10-18)

(本文编辑: 严玮雯)

(上接第 2044 页)

展^[12]。因而随着炎症程度加重, PAI-1 早起为抑制炎症反应而升高, 随后过表达后反而促进了炎症的发展。本实验结果提示, 在 Knockout PAI-1+IBD 组, 由于 PAI-1 基因敲除后, PAI-1 低表达, 同时炎症及 ERS 相关指标也明显下降, 说明去除了 PAI-1 基因过表达因素后, 炎症及 ERS 程度减轻, 更加提示了 PAI-1 的过高表达可能促进了大鼠 IBD 炎症和 ERS 的发生、发展。

但是内质网应激有多种途径诱导细胞凋亡, 引起炎症反应。而 PAI-1 是通过哪条信号通路促进 IBD 内质网应激的, 有待下一步研究。但是, 我们探索的 PAI-1 基因对相关炎症因子表达及 ERS 的影响已给此类疾病提供了新的治疗靶点和思路。

综上所述, 本研究着眼于 PAI-1 基因及构建 PAI-1 基因敲除的 IBD 大鼠模型, 探索了 PAI-1 在炎症反应及 ERS 上的相互作用, 总结出 PAI-1 基因的表达与 IBD 大鼠组织炎症及 ERS 水平有关, 其很可能促进了 IBD 的发生、发展。

4 参考文献

- [1] Matthias A Engel, Markus F Neurath. New pathophysiological insights and modern treatment of IBD[J]. Journal of Gastroenterology, 2010, 45(6): 571-583. DOI: 10.1007/s00535-010-0219-3.
- [2] Corazzari M, Rapino F, Ciccocanti F, et al. Oncogenic BRAF induces chronic ER stress condition resulting in increased basal autophagy and apoptotic resistance of cutaneous melanoma[J]. Cell Death & Differentiation, 2015, 22(6): 946-958. DOI: 10.1038/cdd.2014.183.
- [3] Abdel Salam AG, Ata HM, Aalman TM, et al. Potential therapeutic utility of mesenchymal stem cells in inflammatory bowel disease in mice[J]. Int Immunopharmacol, 2014, 22(2): 515-521. DOI: 10.1016/j.intimp.2014.07.030.

- [4] Shaghghi Z, Bonyadi M, Somi MH, et al. Association of plasminogen activator inhibitor-1 gene polymorphism with inflammatory bowel disease in Iranian Azeri Turkish patients[J]. Saudi J Gastroenterol, 2014, 20(1): 54-58. DOI: 10.4103/1319-3767.126322.

- [5] Iba T, Thachil J. Clinical significance of measuring plasminogen activator inhibitor-1 in sepsis[J]. J Intensive Care, 2017, 5: 56. DOI: 10.1186/s40560-017-0250-z.

- [6] Ole D Laerum, Martin Illemann, Arne Skarstein, et al. Crohn's Disease But Not Chronic Ulcerative Colitis Induces the Expression of PAI-1 in Enteric Neurons[J]. Am J Gastroenterol, 2008, 103(9): 2350-2358. DOI: 10.1111/j.1572-0241.2008.01930.x.

- [7] 李凯, 吴正祥. 内质网应激相关机制及其在炎症性肠病中的作用[J]. 胃肠病学和肝病学, 2015, 24(3): 253-256. DOI: 10.3969/j.issn.1006-5709.2015.03.004.

- [8] 陈瑜瑜, 王辉, 黄美近, 等. 蛋白激酶受体在炎症性肠病大鼠模型结肠组织中表达[J]. 岭南现代临床外科, 2009, 9(4): 273-276. DOI: 10.3969/j.issn.1009-976X.2009.04.012.

- [9] Richardson CE, Kooistra T, Kim DH. An essential role for XBP-1 in host protection against immune activation in *C.elegans*[J]. Nature, 2010, 463(7284): 1092-1095. DOI: 10.1038/nature08762.

- [10] Sano R, Reed JC. ER stress-induced cell death mechanisms[J]. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research, 2013, 1833(12): 3460-3470. DOI: 10.1016/j.bbamcr.2013.06.028.

- [11] Zorio E, Gilbert Estelles J, Espanaf, et al. Fibrinolysis: the key to new pathogenetic mechanisms[J]. Curr Med Chem, 2008, 15(9): 923-929. DOI: 10.2174/092986708783955455.

- [12] Bollen L, Vande Casteele N, Peeters M, et al. The Occurrence of Thrombosis in Inflammatory Bowel Disease Is Reflected in the Clot Lysis Profile[J]. Inflamm Bowel Dis, 2015, 21(11): 2540-2548. DOI: 10.1097/mib.0000000000000531.

- [13] Pham BT, van Haften WT, Oosterhuis D, et al. Precision-cut rat, mouse, and human intestinal slices as novel models for the early-onset of intestinal fibrosis[J]. Physiol Rep, 2015, 3(4): 1-13. DOI: 10.14814/phy2.12323.

(收稿日期: 2019-04-26)

(本文编辑: 严玮雯)