

• 论 著 • doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2018.36.003

吡格列酮对肥胖哮喘大鼠气道重塑的影响及与瘦素的关系*

陈治宇¹, 邓 俊², 梁宇佳², 刘春风², 王宋平^{2△}

(1. 四川省自贡市第四人民医院呼吸内科 643000; 2. 西南医科大学附属医院呼吸内一科, 四川泸州 646000)

[摘要] **目的** 探讨吡格列酮对肥胖哮喘大鼠气道重构及炎症的影响及与瘦素的关系。**方法** 将 40 只 SD 大鼠随机分为正常组(A 组), 肥胖哮喘组(B 组), 瘦素+肥胖哮喘组(C 组), 吡格列酮+瘦素+肥胖哮喘组(D 组), 各 10 只。卵清蛋白致敏激发及高脂饮食建立肥胖哮喘模型, 测定各组大鼠体质量及血糖水平, 计数支气管肺泡灌洗液(BALF)白细胞、中性粒细胞、嗜酸性细胞; 酶联免疫吸附试验(ELISA)双抗体夹心法测 BALF 中干扰素 γ (IFN- γ)、白细胞介素(IL)-13、8-异前列腺素 $F2\alpha$ (8-iso-PGF 2α)、转化生长因子- β_1 (TGF- β_1)、基质金属蛋白酶-9(MMP-9)及其组织抑制剂(TIMP-1)水平; Image-Pro Plus 图像分析软件测量并计算气道壁及平滑肌厚度, 实时荧光定量 PCR 测肺组织瘦素、脂联素受体、过氧化物酶体增殖物激活受体- γ (PPAR- γ) mRNA 水平。**结果** B、C、D 组大鼠体质量较 A 组明显升高($P<0.01$); C 组白细胞及中性粒细胞计数较 A、B 组明显升高, D 组较 C 组降低, 差异有统计学意义($P<0.05$)。C 组支气管壁厚度、平滑肌厚度较 B 组增厚, D 组气道重塑改变较 C 组减轻, 差异有统计学意义($P<0.05$); BALF 中 D 组 TGF- β_1 、MMP-9 及 TIMP-1 水平较 C 组降低, C 组 TGF- β_1 、MMP-9 及 TIMP-1 水平较 A、B 组明显升高, 差异有统计学意义($P<0.05$)。B、C 组 IFN- γ 、8-iso-PGF 2α 水平较 A 组升高, D 组较 C 组降低, 差异有统计学意义($P<0.05$)。BALF 中 B、C 组 IL-13 水平较 A 组降低, D 组较 C 组升高, 差异有统计学意义($P<0.05$)。肺组织中 B、C 组瘦素 mRNA 表达水平较 A 组升高, D 组较 C 组降低; C 组 PPAR- γ mRNA 表达水平较 D 组降低, 差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 吡格列酮可以通过下调肺组织中瘦素表达及上调脂联素表达, 抑制肥胖哮喘大鼠气道重塑及气道炎症。

[关键词] 肥胖; 哮喘; 吡格列酮; 瘦素; 干扰素 γ

[中图分类号] R562.2+5

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2018)36-4570-05

Effects of pioglitazone on airway remodeling in obese asthmatic rats and its relationship with leptin*

CHEN Zhiyu¹, DENG Jun², LIANG Yujia², LIU Chunfeng², WANG Songping^{2△}

(1. Department of Respiration, Zigong Municipal Fourth People's Hospital, Zigong, Sichuan 643000, China;
2. Department of Respiration, Affiliated Hospital of Southwest Medical University, Luzhou, Sichuan 646000, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the effect of pioglitazone on airway remodeling and inflammation in obese asthmatic rats and its relationship with leptin. **Methods** Forty SD rats were randomly divided into the normal group (group A), obese asthma group (group B), leptin+obese asthma group (group C), pioglitazone+leptin+obese asthma group (group D), 10 cases in each group. The ovalbumin sensitization and high-fat diet were used to establish the obese asthma model. The body mass and blood glucose levels were measured in each group, and leukocytes, neutrophils and eosinophils in bronchoalveolar lavage fluid (BALF) were counted. Th enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) double antibody sandwich assay was used to detect levels of interferon gamma (IFN- γ), interleukin (IL)-13, 8-isoprostane $F2\alpha$ (8-iso-PGF 2α), transforming growth factor- β_1 (TGF- β_1), matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) and its tissue inhibitor (TIMP-1) in BALF. The Image-Pro Plus image analysis software was adopted to measure and calculate the thickness of airway wall and airway smooth muscle. The levels of leptin, adiponectin receptor, and peroxide proliferator activation receptor- γ (PPAR- γ) mRNA in lung tissue were detected by using the real time fluorescence PCR. **Results** The rat body mass in the group B, C and D was significantly increased compared with the group A ($P<0.01$). The leukocyte and neutrophil counts in the group C were significantly increased compared with the group A and B, while those in the group D were decreased compared with the group C, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). The thickness of airway wall and thickness of airway smooth muscle in the group C were thickened

* 基金项目: 四川省卫生计生科研项目(110341)。 作者简介: 陈治宇(1992—), 住院医师, 硕士, 主要从事呼吸系统疾病的诊断与治疗研究。

△ 通信作者, E-mail: 1932261683@qq.com。

compared with the group B, and the airway remodeling change in the group D was slighter than that in the group C ($P < 0.01$). The levels of TGF- β_1 , MMP-9 and TIMP-1 in BALF of the group D were decreased compared with the group C, while the levels of TGF- β_1 , MMP-9 and TIMP-1 in the group C were significantly increased compared with the group A and B, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). The levels of IFN- γ and 8-iso-PGF2 α in the group B and C were higher than those in the group A, and those in the group D were decreased compared with the group C, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). The levels of IL-13 in BALF of the group B and C were lower than those in the group A, and those in the group D were higher than those in the group C, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). The expression level of leptin mRNA in lung tissue of the group B and C were higher than those of the group A, while the group D was lower than the group C. The expression level of PPAR- γ mRNA in the group C was lower than that in the group D, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion** Pioglitazone can inhibit the airway remodeling and airway inflammation in obese asthma rats by down-regulating leptin expression and up-regulating adiponectin expression in lung tissue.

[Key words] obesity; asthma; pioglitazone; leptin; interferon- γ

随着经济水平提高,肥胖哮喘患病人数明显增加。ULRIK^[1]研究发现,肥胖是哮喘的独立危险因素,肥胖哮喘治疗效果不佳,可进展为重症哮喘。肥胖对哮喘的影响除了胸腹脂肪堆积引起的机械效应导致呼吸肌功能紊乱,同时也可以通过内分泌途径分泌大量促炎因子,如瘦素、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素(IL)-6。研究显示,瘦素可加重哮喘气道炎症^[2],但其具体机制不明。吡格列酮是一种胰岛素增敏剂,对肥胖哮喘的气道炎症及重构有一定抑制作用,但机制亦不明确^[3]。本研究利用吡格列酮作用于内源性及外源性瘦素干预的大鼠,探讨吡格列酮是否可以通过降低肺组织中瘦素水平从而抑制哮喘的气道重构及炎症病变,为肥胖哮喘的治疗提供一种新的思路。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 取 3~4 周龄雌性 SD 大鼠 40 只,体质量(80 ± 5) g,清洁级,由西南医科大学中心实验室提供,饲养于西南医科大学动物房,恒温 25℃,标准无卵清蛋白饲料,自由摄食和饮水,12 h 黑暗交替,实验大鼠适应性喂养 1 周,1 周后采用成组设计方法,将其分为空白组(A 组)、肥胖哮喘组(B 组)、瘦素+肥胖哮喘组(C 组)、吡格列酮+瘦素+肥胖哮喘组(D 组),每组 10 只。

1.1.2 主要实验药物及器材 卵清蛋白(OVA)、氢氧化铝(美国 Sigma 公司),盐酸吡格列酮片(天津武田药品有限公司),大鼠重组瘦素(美国 Prospec 公司),60% kcal 高脂饮食(美国 Research Diets 公司),StepOne™ Real-Time PCR 仪(美国 Life Technologies 公司),大鼠转化生长因子- β_1 (TGF- β_1)酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒、大鼠基质金属蛋白酶-9(MMP-9)及其组织抑制剂(TIMP-1)ELISA 试剂盒(苏州卡文生物科学有限公司),光学显微镜(日本 Olympus 公司)等。

1.2 方法

1.2.1 肥胖哮喘气道模型建立 参考文献[4]报道的方法,并加以改进制作慢性肥胖哮喘模型。B、C、D 组均给予 60% kcal 高脂饮食喂养 8 周,共计 19 周。A 组给予普通饲料喂养,自由饮水,人为控制大鼠饮水量,每周称重,B、C、D 组大鼠以体质量超过 A 组大鼠体质量 1/3 为肥胖标准,第 9 周起 B、C、D 组在 0、7、14 d 腹腔注射 0.5 mL 生理盐水致敏液[OVA 1 mg 和氢氧化铝 25 μ g]致敏,第 21 天对 B、C、D 组大鼠经腹腔注射 50 mg/kg 戊巴比妥钠麻醉后,经鼻滴入 0.2% OVA 激发,3 次/周,持续 8 周,实验时间共 19 周,A 组给予相同容积生理盐水致敏和激发,21 d 起 C、D 组每次激发前 1 h 腹腔注射大鼠重组瘦素 1.75 μ g $\cdot$ g⁻¹ $\cdot$ d⁻¹,溶解于 0.5 mL 生理盐水中,A、B 组给予相同剂量生理盐水注射,D 组每次激发前 30 min 给予吡格列酮 10 mg $\cdot$ kg⁻¹ $\cdot$ d⁻¹灌胃,A、B、C 组给予相同容积生理盐水灌胃。

1.2.2 标本处理和采集 实验大鼠末次激发后 24 h,戊巴比妥钠麻醉大鼠,心脏取血 3 mL,静置离心后使用生化分析仪测定血糖,打开胸腔,分离气管,结扎左肺门,用冷生理盐水 3 mL 灌洗右肺,连续 3 次,每次停留 30 s,收集肺泡灌洗液(BALF,回收率大于 80%视为成功),以计数白细胞、中性粒细胞、嗜酸性粒细胞数量,离心后取上清液用 ELISA 测定干扰素 γ (IFN- γ)、IL-13、8-异前列腺素 F2 α (8-iso-PGF2 α)、TGF- β_1 、MMP-9、TIMP-1,取新鲜左肺上叶放入-80℃冰箱保存,用于实时荧光定量 PCR 检测,左肺下叶用 4%多聚甲醛固定、常规制备病理石蜡切片,苏木素-伊红(HE)、Masson 染色后镜下观察各组肺组织上皮细胞损伤程度及胶原沉积情况,并使用 Image-Pro Plus 图像分析软件分析并测量气道重塑(气道壁厚度、平滑肌厚度)相关指标。

1.2.3 肺组织中瘦素、脂联素受体、过氧化物酶体增殖物激活受体- γ (PPAR- γ)mRNA 的表达 提取大鼠肺

组织总 RNA,采用 PrimeScript™ RT reagent Kit with gDNA Eraser 合成 cDNA,在 StepOne™ Real-Time PCR 仪上使用 SYBR® Premix Ex Taq™ 试剂盒完成实时荧光定量 PCR,反应程序:95 ℃,1 min 预变性;95 ℃ 15 s,58 ℃ 20 s,72 ℃ 45 s,40 个循环,每个样品均作 3 个复孔,引物均由武汉金开瑞生物工程有限公司合成。实验后观察 PCR 熔解曲线确定扩增产物的特异性,引物序列见表 1。

表 1 实时免疫荧光检测引物序列		
基因	引物序列	产物大小(bp)
GAPDH		234
	正向 5'-TGAAGGTTGGAGCCAAAAG-3'	
	反向 5'-AGTCTTCTGGGTGGCAGTGAT-3'	
脂联素受体 1		242
	正向 5'-GGGACTTGGCTTGAGTGGTG-3'	
	反向 5'-AAGTGGACGAAAGCTGCTGC-3'	
脂联素受体 2		217
	正向 5'-TAGGCCTGAGTGGAAATCATCC -3'	
	反向 5'-CAGCAACCACAAAGATGTGGA-3'	
PPAR-γ		226
	正向 5'-GCTTGTGAAGGATGCAAGGG-3'	
	反向 5'-GATATCACTGGAGATCTCCGCC -3'	
瘦素		100
	正向 5'-TCTCCGAGACCTCCTCCATCT-3'	
	反向 5'-TTCCAGGACGCCATCCAG-3'	

1.3 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计软件进行统计分析,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* 检验;计数资料以例数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验或 Fisher 确切概率法;用 Pearson 相关分析法进行相关性分析;以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组大鼠体质量及血糖的变化 实验开始时各组大鼠体质量相当,高脂饮食喂养 9 周后,B、C、D 组较 A 组小鼠体质量增加,差异有统计学意义($P < 0.01$),随着喂养时间延长体质量亦增加,造模结束时

B、C、D 组体质量均较 A 组增加约 1/3,肥胖大鼠造模成功。4 组小鼠血糖水平比较,差异有统计学意义($P < 0.01$),D 组血糖(Glu)较 C 组降低,差异有统计学意义($P < 0.01$),见表 2。

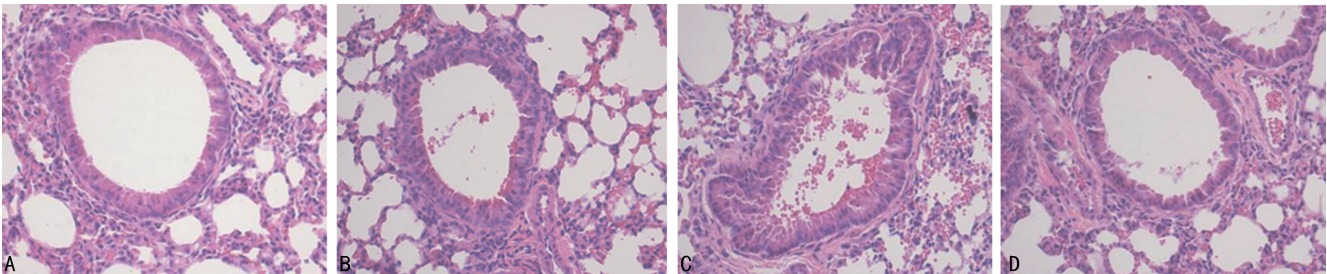
2.2 支气管 BALF 中细胞计数及肺组织病理改变 C 组 BALF 中白细胞、中性粒细胞计数较 A、B 组明显升高,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 3。HE 染色 A 组镜检示气道上皮排列较整齐,管腔光滑,未见炎性细胞浸润,B、C、D 组气道上皮均可见炎性细胞浸润及气道上皮肿胀、断裂,管腔可见明显黏液分泌,其中 C 组较 B 组明显,D 组上皮细胞破坏情况较 C 组有所改善(图 1)。Masson 染色镜检气道上皮可见 A 组气管腔光滑,气道上皮有少许胶原沉积,B、C、D 组均可见较多胶原沉积,其中 C 组沉积量最多,D 组较 C 组沉积量有所减少(图 2)。

表 2 不同组大鼠体质量及 Glu 水平比较($\bar{x}\pm s$)					
组别	<i>n</i>	0 周(g)	9 周(g)	19 周(g)	Glu (mmol/L)
A 组	10	80.2±3.3	261.2±7.1	365.3±12.1	6.27±0.54
B 组	10	81.4±2.9	290.5±6.5 *	542.2±11.7 *	6.95±0.74 *
C 组	10	79.7±2.5	291.3±5.7 *	547.6±10.5 *	7.12±0.95 *
D 组	10	80.7±5.1	287.8±4.6 *	544.2±9.7 *	6.45±0.63 *
<i>F</i>		1.427	86.456	90.257	18.335
<i>P</i>		>0.05	<0.01	<0.01	<0.01

* :*P*<0.01,与 A 组比较;# :*P*<0.01,与 B 组比较;△ :*P*<0.01,与 C 组比较

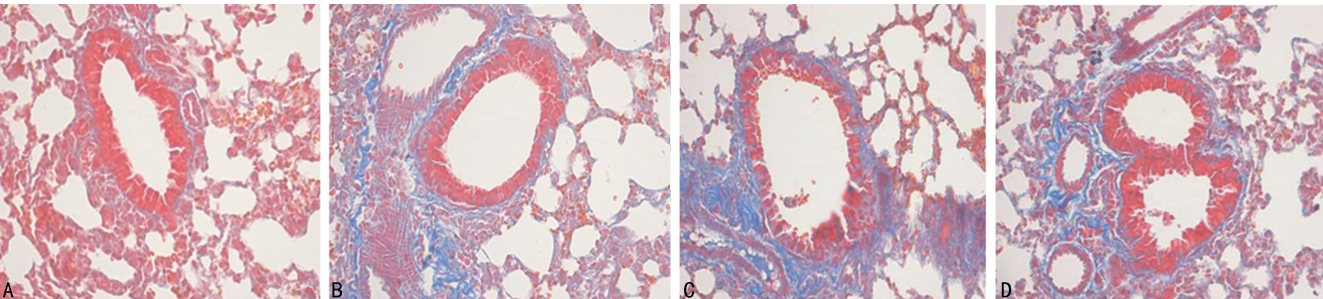
表 3 不同组大鼠支气管 BALF 中细胞计数比较($\bar{x} \pm s, \times 10^6 / \text{mL}$)				
组别	<i>n</i>	白细胞	中性粒细胞	嗜酸性粒细胞
A 组	10	8.53±4.62	0.22±0.18	1.23±0.62
B 组	10	40.22±6.05*	14.17±6.20*	8.65±2.76*
C 组	10	52.43±6.55*#	21.32±5.31*#	6.57±1.62*#
D 组	10	45.36±5.72*△	15.26±5.52*△	4.36±2.31*△
<i>F</i>		57.426	68.942	56.683
<i>P</i>		<0.05	<0.05	<0.05

*: $P < 0.05$,与 A 组比较;#: $P < 0.05$,与 B 组比较;△: $P < 0.05$,与 C 组比较



A: A 组;B: B 组;C: C 组;D: D 组

图 1 各组大鼠肺组织 HE 染色(×100)



A:A 组;B:B 组;C:C 组;D:D 组

图 2 各组大鼠肺组织 Masson 染色(×100)

2.3 气道的形态学改变 在大鼠的支气管壁厚度测量中,B、C、D 组较 A 组明显增厚,且 C 组较 B 组亦明显增厚,D 组经吡格列酮干预后气道壁厚度较 C 组减小,差异有统计学意义($P<0.05$);气管平滑肌厚度变化趋势与支气管壁厚度变化趋势大致相同($P<0.05$),见表 4。

组别	<i>n</i>	支气管壁厚度	平滑肌厚度
A 组	10	64.26±8.51	21.67±5.27
B 组	10	125.18±9.49*	67.46±7.65*
C 组	10	143.83±12.91*#	83.70±6.16*#
D 组	10	129.43±10.52*△	71.68±4.63*△
<i>F</i>		56.436	76.543
<i>P</i>		<0.05	<0.05

*: $P<0.05$,与 A 组比较;#: $P<0.05$,与 B 组比较;△: $P<0.05$,与 C 组比较

2.4 各组大鼠 BALF 中 IFN- γ 、IL-13、8-iso-PGF2 α 、TGF- β_1 、MMP-9 及 TIMP-1 水平比较 在 BALF 中,C 组 IFN- γ 、8-iso-PGF2 水平较 A、B 组升高,D 组较 C 组降低,差异均有统计学意义($P<0.05$);C 组 IL-13 水平较 B 组降低,D 组经吡格列酮干预 IL-13 水平升高,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 5。B、C、D 组 TGF- β_1 、MMP-9 及 TIMP-1 水平较 A 组明显升高,C 组 TGF- β_1 、MMP-9 及 TIMP-1 水平较 B 组升高,D 组 TGF- β_1 、MMP-9 及 TIMP-1 水平较 C 组降低,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 6。

表 5 各组大鼠 BALF 中 IFN- γ 、IL-13 及 8-iso-PGF2 水平比较($\bar{x}\pm s$,ng/L)				
组别	<i>n</i>	IFN- γ	IL-13	8-iso-PGF2
A 组	10	16.20±1.54	63.22±1.53	17.65±5.78
B 组	10	20.03±1.43*	57.25±1.26*	63.33±7.75*
C 组	10	22.45±1.71*#	51.32±2.73*#	72.54±6.89*#
D 组	10	20.74±1.83*△	55.63±1.72*△	65.42±5.94*△
<i>F</i>		67.396	78.246	56.785
<i>P</i>		<0.05	<0.05	<0.05

*: $P<0.05$,与 A 组比较;#: $P<0.05$,与 B 组比较;△: $P<0.05$,与 C 组比较

2.5 肺组织中瘦素、脂联素受体及 PPAR- γ mRNA 表达水平比较 瘦素 mRNA 在 C 组表达水平最高,

明显高于 A、B 组,D 组瘦素 mRNA 表达水平较 C 组降低,差异均有统计学意义($P<0.05$)。C 组脂联素受体 1、2 的 mRNA 表达水平均低于 B、D 组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。D 组 PPAR- γ mRNA 表达水平较 C 组升高,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 7。

表 6 各组大鼠 BALF 中 TGF- β_1 、MMP-9 及 TIMP-1 水平比较($\bar{x}\pm s$,ng/mL)				
组别	<i>n</i>	TGF- β_1	MMP-9	TIMP-1
A 组	10	1.03±0.32	1.87±0.15	1.74±0.12
B 组	10	2.36±0.17*	4.17±0.31*	5.87±0.25*
C 组	10	2.78±1.23*#	5.32±0.18*#	6.35±0.13*#
D 组	10	2.49±1.15*△	4.76±0.57*△	4.53±0.75*△
<i>F</i>		32.964	65.324	78.435
<i>P</i>		<0.05	<0.05	<0.05

*: $P<0.05$,与 A 组比较;#: $P<0.05$,与 B 组比较;△: $P<0.05$,与 C 组比较

表 7 各组大鼠肺组织瘦素、脂联素受体及 PPAR- γ mRNA 相对表达水平比较($\bar{x}\pm s$)					
组别	<i>n</i>	脂联素受体 1	脂联素受体 2	PPAR- γ	瘦素
A 组	10	0.99±0.125	1.00±0.11	2.12±0.14	1.32±0.05
B 组	10	0.67±0.073*	0.86±0.07*	1.56±0.02*	1.62±0.07*
C 组	10	0.43±0.31*#	0.54±0.13*#	1.02±0.16*#	1.98±0.08*#
D 组	10	0.59±0.14*△	0.79±0.05*△	1.47±0.25*△	1.59±0.06*△
<i>F</i>		45.652	56.931	89.215	36.518
<i>P</i>		<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

*: $P<0.05$,与 A 组比较;#: $P<0.05$,与 B 组比较;△: $P<0.05$,与 C 组比较

3 讨 论

肥胖引起哮喘加重的原因除了胸腹脂肪堆积引起呼吸肌功能障碍的机械性因素,还存在内分泌因素的参与,脂肪组织具有内分泌功能,可分泌瘦素、TNF- α 等促炎因子,也可分泌脂联素、PPAR- γ 等抗炎因子^[5-6]。研究显示,肥胖哮喘急性发作时血清瘦素水平明显升高^[7],可以推测肥胖哮喘与体内瘦素水平之间存在一定的联系^[8]。肥胖哮喘主要以气道黏液分泌过多、气道重塑病变为主,易导致气道受限进行加重,激素治疗不佳。

吡格列酮是 PPAR- γ 受体激动剂,是胰岛素增敏剂,主要机制是与脂肪细胞 PPAR- γ 受体结合增加体内组织对胰岛素的敏感性。研究发现 PPAR- γ 广泛

表达于气道上皮细胞、巨噬细胞、T 淋巴细胞等, PPAR- γ 受体激动剂对哮喘的气道炎症有一定的抑制作用, 已知的机制可能参与调解脂联素/丝裂原活化蛋白激酶(Adipo/MAPK)通路, 以及与上调 Adipo 水平及抑制核因子- κ B(NF- κ B)等因子相关^[9-10]。此外, 研究发现吡格列酮在血管平滑肌中可抑制瘦素表达, 从而抑制血管平滑肌增殖达到抗动脉粥样硬化的作用^[11-12]。TGF- β_1 是一种促纤维化因子, 主要促进细胞外基质的产生及抑制其降解, 基质金属蛋白酶类(MMPs)是一类可降解细胞外基质的蛋白酶, 作用于肺组织中Ⅳ型胶原纤维, 而 TIMP-1 可以抑制 MMP-9 产生, 促进细胞外基质的胶原沉积, 促进气道重塑进展, 气道中 MMP-9、TIMP-1 水平升高可提示气道重塑的发生^[11]。

本实验利用高脂饮食、OVA 建立肥胖哮喘模型, 并加用 PPAR- γ 激动剂吡格列酮干预, 实验结果显示, 肥胖哮喘组 Glu 水平明显升高, 符合 BOLINDER 等^[12]关于肥胖可引起 Glu 升高的研究, 吡格列酮干预组大鼠 Glu 有所降低, 其中机制可能是吡格列酮通过增加机体对胰岛素的敏感性降低血糖^[13], 内外源性瘦素共同作用的 C 组支气管壁及平滑肌厚度, TGF- β_1 、MMP-9、TIMP-1 水平明显高于 A、B 组, 说明肥胖哮喘引起气道重塑可能与瘦素相关, 瘦素水平越高, 气道重塑程度越严重, 与 SINGH 等^[14]研究结果一致; 经吡格列酮干预后 D 组气道上皮破坏程度、气道重塑程度、TGF- β_1 、MMP-9、TIMP-1 水平较 C 组降低, 且肺组织中 PPAR- γ 、脂联素受体 1、2 mRNA 表达水平较 C 组明显升高, 而 D 组瘦素 mRNA 表达水平较 C 组降低, 提示吡格列酮可以通过抑制肺组织中瘦素表达及上调脂联素的表达, 进而降低肥胖哮喘大鼠气道相关促纤维化及促炎因子水平, 达到抑制肥胖哮喘气道重塑及炎症病变的作用。

瘦素是白色脂肪组织分泌的蛋白, 被发现广泛表达于气道上皮细胞、Ⅱ型肺泡上皮细胞、巨噬细胞。研究中发现, 肥胖哮喘模型中瘦素水平较单纯肥胖组高, 单纯肥胖组较空白组瘦素水平升高, 表明肥胖促进体内瘦素水平升高, 哮喘炎症使肥胖模型组瘦素水平更高^[15]。本实验发现, B 组中气道重塑及炎症程度较 A 组明显升高, 且瘦素 mRNA 表达水平升高, 说明肥胖哮喘气道重塑及炎症加重与瘦素水平上调相关, 与 ZHENG 等^[16]研究结果一致; 而在 SUTHERLAND^[17]的研究中发现, 单纯肥胖小鼠体内瘦素水平升高, 但气道炎性病变较正常组无明显变化, 考虑瘦素不是哮喘的始发因素, 而是与哮喘气道炎症相互促进。本研究结果显示, C、B 组 BALF 中炎性细胞以中性粒细胞计数升高为主, 可以推测瘦素升高可促进气道内中性粒细胞增加, 与普通型哮喘气道内嗜酸性粒细胞为主不同, 解释了肥胖哮喘对激素的抵抗作用。IFN- γ 由辅助性 T 淋巴细胞 1(Th1)分泌, 促使初始 T 淋巴细胞(Th0)向 Th1 分化, 而 IL-13 由辅助性 T 淋巴细胞 2

(Th2)分泌, 有募集气道内嗜酸性粒细胞的作用。LEIRIA 等^[18]研究显示, 普通哮喘气道内主要是 Th1/Th2 细胞因子调节失衡, 以 Th2 偏移为主; 而本次实验中发现, 肥胖哮喘大鼠气道内 IFN- γ 水平明显升高, IL-13 水平降低, 加用外源性瘦素后更加明显, 说明瘦素引起肥胖哮喘模型气道重构与 Th1 优势表达相关, 而吡格列酮干预后可以同时降低 IFN- γ 、IL-13 水平, 以 IFN- γ 水平降低明显, 说明吡格列酮可以通过抑制 Th1 表达, 促进 Th1/Th2 细胞因子平衡, 抑制哮喘气道重构及炎症病变。8-iso-PGF2 是氧化应激反应重要的细胞因子, 本实验发现经吡格列酮干预后, 气道内 8-iso-PGF2 水平和瘦素 mRNA 水平下降, 提示吡格列酮抑制气道内瘦素表达与降低气道内氧化应激水平相关。

综上所述, 本实验证实吡格列酮通过上调肥胖哮喘大鼠肺组织中 PPAR- γ 水平, 抑制肺组织中瘦素表达, 达到改善肥胖哮喘大鼠气道重塑及气道炎症病变程度的作用, 其机制可能是通过降低肥胖哮喘大鼠肺组织中氧化应激水平, 改善 Th1/Th2 细胞因子偏移, 降低促肺纤维化因子水平、上调气道内脂联素水平, 为肥胖哮喘的药物治疗提供了新的方向。

参考文献

- [1] ULRIK C S. Asthma and obesity: is weight reduction the key to achieve asthma control? [J]. Curr Opin Pulm Med, 2016, 22(1): 69-73.
- [2] BODINI A, TENERO L, SANDRR M, et al. Serum and exhaled breath condensate leptin levels in asthmatic and obesity children: a pilot study[J]. J Breath Res, 2017, 11(4): 46005.
- [3] DIXON A E, SUBRAMANIAN M, DESARNO M, et al. A pilot randomized controlled trial of pioglitazone for the treatment of poorly controlled asthma in obesity [J]. Respir Res, 2015, 16: 143.
- [4] LEDFORD J G, LUGOGO N, AGADA N, et al. Increased tissue eosinophilia in obese asthma may be due to decreased surfactant protein-A levels[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2015, 191: A2496.
- [5] KIM J Y, SOHN J H, LEE J H, et al. Obesity increases airway hyperresponsiveness via the TNF- α pathway and treating obesity induces recovery[J]. PLoS One, 2015, 10(2): e0116540.
- [6] NIGRO E, DANIELE A, SCUDIERO O, et al. Adiponectin in asthma: implications for phenotyping[J]. Curr Protein Pept Sci, 2015, 16(3): 182-187.
- [7] REHMAN K A, AWAN F R. Leptin resistance: a possible interface between obesity and pulmonary-related disorders[J]. Int J Endocrinol Metab, 2016, 14(1): e32586.
- [8] SCOTT H A, GIBSON P G, GARG M L, et al. Sex hormones and systemic inflammation are modulators of the obese-asthma phenotype[J]. Allergy, 2016, 71(7): 1037-1047.
- [9] EL-NAA M M, EL-REFAEI M F, NASIF W A, et al. In-vivo antioxidant and anti-inflammatory (下转第 4579 页)

殖,其主要机制与调控 Wnt5a 基因表达有关。本实验中 PA 上调 Wnt5a 基因表达抑制 INS-1 细胞增殖的具体机制并未阐明,有待进一步研究探索。

参考文献

[1] CNOP M,WELSH N,JONAS J C,et al. Mechanisms of pancreatic β -cell death in type 1 and type 2 diabetes[J]. Diabetes,2005,54(Suppl 2):S97-107.

[2] MAEDLER K, OBERHOLZER J, BUCHER P, et al. Monounsaturated fatty acids prevent the deleterious effects of palmitate and high glucose on human pancreatic beta-cell turnover and function[J]. Diabetes,2003,52(3):726-733.

[3] MAEDLER K, SPINAS G A, DYNTER D, et al. Distinct effects of saturated and monounsaturated fatty acids on beta-cell turnover and function[J]. Diabetes,2001,50(1):69-76.

[4] KROEMER G, REED J C. Mitochondrial control of cell death[J]. Nat Med,2000,6(5):513-519.

[5] MOON R T, KOHN A D, DE FERRARI G V, et al. WNT and beta-catenin signalling: diseases and therapies [J]. Nat Rev Genet,2004,5(9):691-701.

[6] WU X, LIANG W, GUAN H, et al. Exendin-4 promotes pancreatic β -cell proliferation via inhibiting the expression of Wnt5a[J]. Endocrine,2017,55(2):398-409.

[7] 田丰,张亚杰,王琳. 非经典 Wnt 信号通路在 2 型糖尿病大鼠非酒精性脂肪性肝炎发生与发展中的作用[J]. 中华肝病杂志,2013,21(7):537-542.

[8] SHARMA R B, ALONSO L C. Lipotoxicity in the pancreatic beta cell: not just survival and function, but proliferation as well? [J]. Curr Diab Rep,2014,14(6):492.

[9] LETIC-GAVRILOVIC A, SHIBAIKE S, NIINA M, et al. Localization of chromogranin A and B, beta-endorphin and enkephalins in the submandibular glands of mice[J]. Shikakiso Igakkai Zasshi,1989,31(4):453-462.

[10] HELLER R S, KLEIN T, LING Z D, et al. Expression of Wnt, frizzled, sFRP, and DKK genes in adult human pancreas[J]. Gene Expr,2003,11(3/4):141-147.

[11] KATOH M, KATOH M. Transcriptional mechanisms of WNT5A based on NF- κ B, Hedgehog, TGFbeta, and Notch signaling cascades[J]. Int J Mol Med,2009,23(6):763-769.

[12] AJUWON K M, SPURLOCK M E. Palmitate activates the NF- κ B transcription factor and induces IL-6 and TNF- α expression in 3T3-L1 adipocytes [J]. J Nutr,2005,135(8):1841-1846.

[13] MALONEY E, SWEET I R, HOCKENBERRY D M, et al. Activation of NF- κ B by palmitate in endothelial cells[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol,2009,29(9):1370-1375.

[14] MARTINEZ S C, TANABE K, CRAS-MÉNEUR C, et al. Inhibition of Foxo1 protects pancreatic islet beta-cells against fatty acid and endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis[J]. Diabetes,2008,57(4):846-859.

[15] EL-GOHARY Y, TULACHAN S, WIERSCH J, et al. A smad signaling network regulates islet cell proliferation [J]. Diabetes,2014,63(1):224-236.

(收稿日期:2018-06-12 修回日期:2018-08-25)

(上接第 4574 页)

activity of rosiglitazone, a peroxisome proliferator-activated receptor-gamma (PPAR- γ) agonists in animal model of bronchial asthma [J]. J Pharm Pharmacol,2015,67(10):1421-1430.

[10] ZIZZO G, COHEN P L. The PPAR-gamma antagonist GW9662 elicits differentiation of M2c-like cells and up-regulation of the MerTK/Gas6 axis: a key role for PPAR-gamma in human macrophage polarization[J]. J Inflamm (Lond),2015,12:36.

[11] IDA S, MURATA K, KANEKO R. Effects of pioglitazone treatment on blood leptin levels in patients with type 2 diabetes[J]. J Diabetes Investig,2018,9(4):917-924.

[12] BOLINDER J, LJUNGGREN Ö, JOHANSSON L, et al. Dapagliflozin maintains glycaemic control while reducing weight and body fat mass over 2 years in patients with type 2 diabetes mellitus inadequately controlled on metformin[J]. Diabetes Obes Metab,2014,16(2):159-169.

[13] FORST T, GUTHRIE R, GOLDENBERG R, et al. Efficacy and safety of canagliflozin over 52 weeks in patients

with type 2 diabetes on background metformin and pioglitazone[J]. Diabetes Obes Metab,2014,16(5):467-477.

[14] SINGH M, GUPTA N, KUMAR R. Effect of obesity and metabolic syndrome on severity, quality of Life, sleep quality and inflammatory markers in patients of asthma in India[J]. Pneumonol Alergol Pol,2016,84(5):258-264.

[15] SALAH A, RAGAB M, MANSOUR W, et al. Leptin and adiponectin are valuable serum markers explaining obesity/bronchial asthma interrelationship[J]. Egypt J Chest Dis Tuberc,2015,64(3):529-533.

[16] ZHENG H, ZHANG X, CASTILLO E F, et al. Leptin enhances TH2 and ILC2 responses in allergic airway disease [J]. J Biol Chem,2016,291(42):22043-22052.

[17] SUTHERLAND E R. Linking obesity and asthma[J]. Ann N Y Acad Sci,2014,1311:31-41.

[18] LEIRIA L O, MARTINS M A, SAAD M J. Obesity and asthma: beyond T(H)2 inflammation[J]. Metabolism,2015,64(2):172-181.

(收稿日期:2018-05-22 修回日期:2018-08-15)