

罗格列酮调控 PPAR γ / NLRP3 介导的细胞焦亡 减轻大鼠对比剂诱导的急性肾损伤

吴佳易, 郑行春, 黄津华, 陈恩

摘要: **目的** 探讨罗格列酮(RSG)减轻大鼠对比剂诱导的急性肾损伤(CI-AKI)的作用机制。**方法** 雄性 SD 大鼠随机分为对照组(Control 组)、CI-AKI 模型组(Model 组)、RSG 治疗组[RSG 组, 40 mg/(kg·d)]和过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPAR γ)抑制剂组(T0070907 组, 0.15 mg/mL), 每组各 6 只。建立 CI-AKI 大鼠模型, 给药 3 d 后收集各组大鼠的血清和肾脏组织。检测肾功能指标血清肌酐(Scr)和血尿素氮(BUN)水平; ELISA 检测白细胞介素-1 β (IL-1 β)、IL-18、活性氧(ROS)和一氧化氮(NO)含量; 苏木精-伊红(H-E)染色观察肾组织病理学变化; 免疫组织化学(IHC)染色检测 PPAR γ 、NLRP3 蛋白表达; TUNEL 染色检测肾组织细胞焦亡指数; Western-blot 检测肾组织NLRP3、凋亡相关斑点样蛋白(ASC)、含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶-1(Caspase-1)、消皮素 D (GSDMD)、IL-1 β 和 IL-18 蛋白表达。**结果** 与 Control 组比较, Model 组大鼠的 Scr、BUN、IL-1 β 、IL-18、ROS 和 NO 含量均增加($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 肾组织出现明显的病理损伤, 细胞焦亡指数、NLRP3、ASC、Caspase-1、GSDMD、IL-1 β 和 IL-18 蛋白表达升高($P < 0.01$), PPAR γ 蛋白表达降低($P < 0.01$), 差别均有统计学意义。与 Model 组比较, RSG 组大鼠血清的 Scr、BUN、IL-1 β 、IL-18、ROS 和 NO 含量均降低, 差别有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 肾组织病理损伤减轻, 细胞焦亡指数、NLRP3、ASC、Caspase-1、GSDMD、IL-1 β 和 IL-18 蛋白表达降低, PPAR γ 蛋白表达升高, 差别均有统计学意义($P < 0.01$)。与 RSG 组比较, T0070907 可逆转 RSG 对 CI-AKI 大鼠上述指标的影响。**结论** RSG 能够改善大鼠 CI-AKI, 促进 PPAR γ 表达, 抑制 NLRP3 炎症小体活化介导的细胞焦亡。

关键词: 罗格列酮; 对比剂诱导的急性肾损伤; PPAR γ /NLRP3 通路; 细胞焦亡

文献标志码: A **文章编号:** 1672-4194(2024)01-0013-07

随着介入诊疗技术的广泛发展, 含碘对比剂的使用日益频繁, 而碘对比剂会诱发不同程度的急性肾损伤(acute kidney injury, AKI), 已成为介入治疗术后重要的并发症之一^[1-2]。目前尚缺少逆转对比剂诱导的 AKI(contrast-induced acute kidney injury, CI-AKI)过程的有效措施, 维生素 C、N-乙酰半胱氨酸等药物具有防治 CI-AKI 作用^[3-4], 但未广泛应用于临床。罗格列酮(rosiglitazone, RSG)作为过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (peroxisome proliferator activated receptor γ , PPAR γ)的人工合成配体, 能够通过激活 PPAR γ 参与调控下游靶基因而发挥作用^[5]。既往研究发现, RSG 能够通过抑制氧化应激和炎症反应, 改善脂多糖诱导的大鼠 AKI^[6]。笔者课题组前期研究发现, RSG 能够调控过氧化物酶体增殖物, 激活 PPAR γ /NOD 样受体蛋白 3 (NOD-like receptor pyrin domain 3, NLRP3)通路, 改善大鼠 CI-AKI^[7], 但有关 PPAR γ /NLRP3 通路介导的下游信号因子作用于 CI-AKI 的机制尚不清楚。炎症和氧化应激与 CI-AKI 发生密切相关, 而肾小管上皮细胞的坏死和损伤易诱发强烈的宿主免

疫反应和促进炎症因子[如白细胞介素-1 β (interleukin, IL-1 β)、IL-18]释放, 加重组织损伤^[8]。此外, 对比剂可引起肾小管上皮细胞焦亡, 而抑制细胞焦亡能够明显改善 CI-AKI^[9], 表明作为炎症相关程序性细胞死亡方式, 细胞焦亡可能是 CI-AKI 发生的重要分子机制。NLRP3 炎症小体作为炎症反应的核心, 可介导细胞焦亡发生, 诱导机体炎症级联反应^[10]。本研究拟通过构建 CI-AKI 大鼠模型, 以 PPAR γ /NLRP3 通路为切入点, 探讨 RSG 对 CI-AKI 大鼠细胞焦亡的影响, 进一步阐明 RSG 对 CI-AKI 的保护机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物 24 只 SPF 级雄性 SD 大鼠(250~300 g)[长沙市天勤生物技术有限公司, 许可证号 SCXK(湘)2019-0014]。大鼠适应性喂养 1 周, 自由饮水, 昼夜交替光照, 温度维持在 20~25℃, 相对湿度为 60%~70%。本研究的动物饲养及实验场所由中洪博元生物技术有限公司动物实验中心提供, 经其实验动物伦理委员会审批(2021022301), 动物实验符合 3R 原则。

1.1.2 药品与试剂 二甲亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO, 批号: D8370, 北京 Solarbio 公司); 玉米

收稿日期: 2023-09-22

资助项目: 福建省自然科学基金项目(2020J011018)

作者单位: 福建医科大学 附属协和医院心血管内科, 福州 350001

作者简介: 吴佳易, 男, 主治医师, 医学硕士。Email: wjym6@163.com

油(批号:8001-30-7)、RSG(批号:y26M9C56713)(上海源叶生物科技有限公司);呋塞米(批号:20200902,山西芮城县维尔富兽药有限公司);碘海醇(批号:20100661,江苏扬子江药业集团有限公司);PPAR γ 抑制剂 T0070907(批号:HY-13202/CS-0462,美国 MedChemExpress 公司);血尿素氮(blood urea nitrogen, BUN,批号:C013-1-1)、血清肌酐(serum creatinine, Scr,批号:C011-2-1)(南京建成生物工程研究所);二喹啉甲酸(bicinchoninic acid, BCA)蛋白定量试剂盒(批号:E-BC-K318-M,美国 Elabscience 公司);蛋白 Marker(批号:26617,美国 Thermo 公司);聚偏二氟乙烯(polyvinylidene fluoride, PVDF)膜(批号:IPVH00010,美国 Millipore 公司);Rabbit Anti-PPAR γ (批号:AF6284,美国 Affinity 公司);Rabbit Anti-NLRP3(批号:15101,美国 Cell Signaling Technology 公司);Rabbit Anti ASC(批号:bs-6741R,北京博奥森生物公司);Mouse Monoclonal Anti-Actin(批号:TA-09)、HRP 标记的山羊抗鼠 IgG(批号:ZB-2305)、山羊抗兔 IgG(批号:ZB-2301)(北京中杉金桥公司);二氨基联苯胺(diaminobenzidine, DAB)显色试剂盒(批号:CW0125)、中性树脂(批号:CW0136)(北京康为世纪生物公司);苏木精-伊红(hematoxylin and eosin, H-E)染色试剂盒(批号:AR1180-1,武汉博生德生物公司);IL-1 β 试剂盒(批号:MM-0046R2)、IL-18 试剂盒(批号:MM-0194R2)(武汉酶免生物科技有限公司);一氧化氮(nitric oxide, NO)试剂盒(批号:SU-B30968)、活性氧(reactive oxygen species, ROS)试剂盒(批号:SU-B30451)(厦门仑昌硕生物科技有限公司)。

1.1.3 仪器 全自动样品快速研磨仪(Tiss-12 型,上海净信实业发展有限公司);蛋白垂直电泳仪(DYY-6C 型)、全自动酶标仪(WD-2102B 型)(北京六一仪器厂);恒温摇床(TC-100B,上海领成生物科技有限公司);成像系统[Chemi DocTM XRS⁺, 伯乐生命医学产品(上海)有限公司];热恒温培养箱(DHP-9054 型,山东博科生物公司)。

1.2 方法

1.2.1 CI-AKI 模型构建及分组给药

1.2.1.1 分组 SD 大鼠随机分为 4 组:对照组(Control 组)、CI-AKI 模型组(Model 组)、RSG 治疗(RSG 组)和 PPAR γ 抑制剂组(T0070907 组),每组各 6 只大鼠。

1.2.1.2 建立 CI-AKI 模型 大鼠造模前禁水 72 h,自由饮食。禁水 72 h 后,Control 组尾静脉注射生理盐水;其余 3 组尾静脉注射呋塞米(10 mL/kg),

等待 20 min 后尾静脉注射碘海醇(11.7 mL/kg),注射完毕恢复自由饮水饮食 24 h^[11]。

1.2.1.3 药物干预 RSG 组和 T0070907 组于造模前 3 d、造模当天(尾静脉注射碘海醇前 1 h)以 40 mg/(kg·d) RSG 灌胃, T0070907 组于 RSG 灌胃前 20 min,腹腔注射 0.15 mg/mL PPAR γ 抑制剂 T0070907 溶液。其余 2 组均使用等量生理盐水灌胃,各组大鼠未予水化治疗。

1.2.1.4 标本处理 造模 24 h 后,采血、取肾脏标本进行下一步分析。

1.2.2 Scr 和 BUN 含量检测 取保存的血清样本,按照试剂盒说明书测定各组大鼠 Scr 和 BUN 含量。

1.2.3 肾组织病理学染色 大鼠麻醉后,颈椎脱臼处死,摘取左肾,组织固定、石蜡包埋、切片, H-E 染色, 200 倍显微镜下观察其形态变化。

1.2.4 IL-1 β 、IL-18、ROS 和 NO 含量检测 将各组样品复温至室温,按照 ELISA 试剂盒说明分别检测大鼠腹主动脉血清样本中 IL-1 β 、IL-18、ROS 和 NO 的含量。

1.2.5 TUNEL 染色检测肾组织细胞焦亡 组织固定、切片制作过程同 H-E 染色。按照 TUNEL 染色试剂盒进行染色, 400 倍显微镜下观察染色情况并计数。TUNEL 阳性表示其为焦亡细胞,呈现棕褐色,细胞核呈蓝色。实验结果以 TUNEL 染色阳性细胞比例表示。

1.2.6 免疫组织化学(immunohistochemical, IHC)染色检测肾组织 PPAR γ 、NLRP3 表达 石蜡切片置于二甲苯中脱蜡后,用梯度乙醇水化, 10 mmol/L 柠檬酸盐缓冲液(pH 值=6.0)煮沸 3 min 抗原修复, 3% H₂O₂ 液室温孵育 10 min 阻断非特异性位点,再于 5% 牛血清白蛋白中 37℃ 孵育 30 min 阻断非特异性结合。将切片置于特异性抗体中, 4℃ 孵育过夜,加入相应的二抗, 37℃ 孵育 30 min。免疫染色后,用 DAB 显色 5~10 min,显微镜下观察染色程度,苏木精复染 3 min,盐酸酒精分化,水冲洗 1 min,脱水、透明、封片,采用 Image-ProPlus 5.0 软件进行图像分析。

1.2.7 Western-blot 检测肾组织焦亡相关蛋白表达

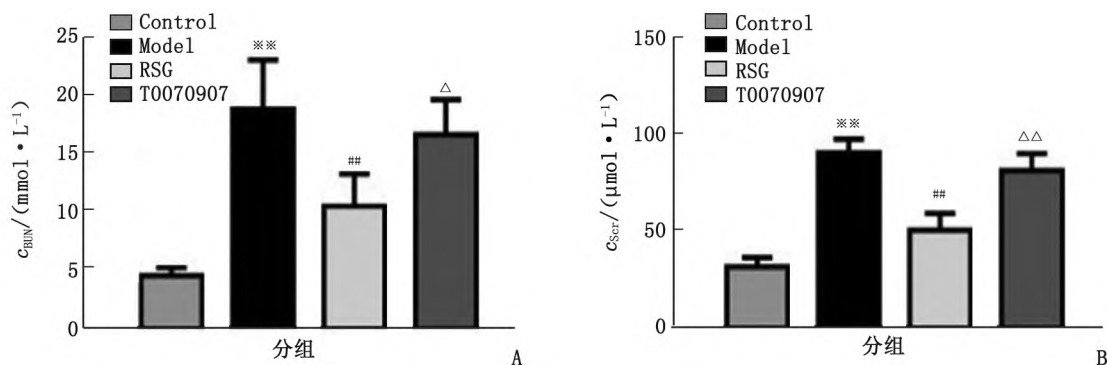
末次给药结束后处死大鼠,取适量的肾组织样品, 4℃ 下裂解 30 min,离心 10 min(12 000 r/min)。BCA 法测定各组蛋白质浓度,蛋白上样,行凝胶电泳试验。湿转法转至 PVDF 膜上, 6% BSA 室温封闭 60 min,分别加凋亡相关斑点样蛋白(apoptosis-associated speck-like protein containing CARD, ASC)、含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶-1(cysteiny l aspartate specific proteinase-1, Caspase-1)、

NLRP3、消皮素 D(gasdermin D, GSDMD)、IL-1 β 和 IL-18 一抗(稀释比例均为 1:1 000)。4 $^{\circ}$ C 下孵育过夜。次日取出 PVDF 膜,在 TBST(tris buffered saline with Tween-20)洗涤后加入二抗,孵育 2 h。TBST 洗涤 3 次后滴加显影液,采用 Image-Pro Plus 6.0 软件进行分析。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 19.0 软件进行统计分析。数据以 $\bar{X} \pm S$ 表示,满足正态分布且方差齐性,多组间比较采用方差分析,组间两两比较采用 LSD- t 检验。双侧检验, $P < 0.05$ 为差别有统计学意义。

2 结果

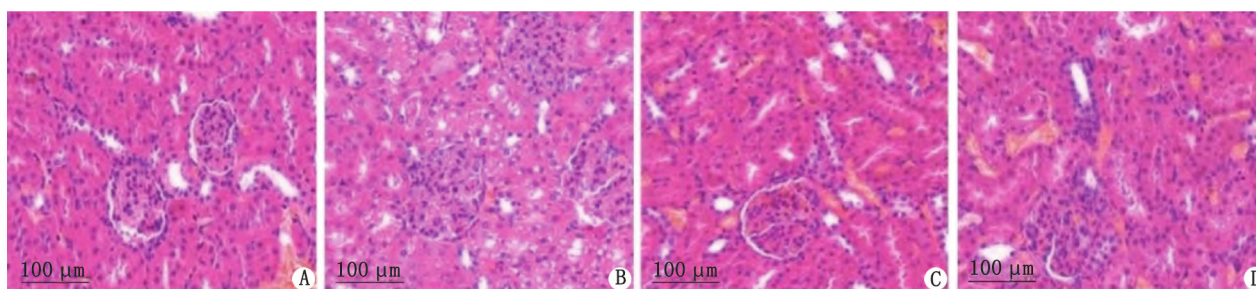
2.1 肾功能 Scr 和 BUN 的变化 与 Control 组比



BUN:血尿素氮;Scr:血清肌酐;PPAR γ :过氧化物酶体增殖物激活受体 γ ;RSG:罗格列酮。Control:对照组;Model:模型组;RSG:RSG 治疗组;T0070907:PPAR γ 抑制剂组。A:BUN 水平;B:Scr 水平。与 Control 组比较, **: $P < 0.01$;与 Model 组比较, ##: $P < 0.01$;与 RSG 组比较, Δ : $P < 0.05$, $\Delta\Delta$: $P < 0.01$ 。

图 1 各组大鼠血清 BUN 和 Scr 含量变化

Fig. 1 Changes of serum BUN and Scr contents of rats in each group



RSG:罗格列酮;PPAR γ :过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 。A:对照组;B:模型组;C:RSG 组;D:PPAR γ 抑制剂组。

图 2 各组大鼠肾组织病理学变化(H-E 染色 $\times 200$)

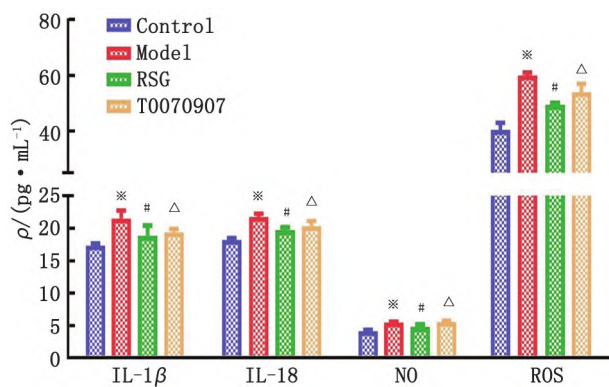
Fig. 2 Renal histopathological changes of rats in each group (H-E staining $\times 200$)

2.3 大鼠血清 IL-1 β 、IL-18、ROS 和 NO 检测 与 Control 组比较,Model 组大鼠的 IL-1 β 、IL-18、ROS 和 NO 含量均升高,差别有统计学意义($P < 0.05$)。与 Model 组比较,RSG 组大鼠的 IL-1 β 、IL-18、ROS 和 NO 含量均降低,差别有统计学意义($P < 0.05$)。与 RSG 组比较,T0070907 组大鼠的 IL-1 β 、IL-18、ROS 和 NO 含量均升高,差别有统计学意义($P < 0.05$,图 3)。

较,Model 组大鼠血清 Scr 和 BUN 含量升高,差别有统计学意义($P < 0.01$)。与 Model 组比较,RSG 组大鼠血清 Scr 和 BUN 含量降低,差别有统计学意义($P < 0.01$)。与 RSG 组比较,T0070907 组大鼠血清 Scr 和 BUN 含量升高,差别有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$,图 1)。

2.2 大鼠肾组织形态学变化 H-E 染色显示,Control 组大鼠肾组织肾小管结构清晰,肾小管上皮细胞排列整齐。Model 组大鼠肾小管结构紊乱,可见明显扩张,部分肾小管上皮细胞出现坏死。与 Model 组比较,RSG 组大鼠肾组织病理性损伤明显减轻,肾小管结构较为清晰,肾小管上皮细胞排列相对规则。与 RSG 组比较,T0070907 组大鼠肾组织病理性损伤加重,与 Model 组相似(图 2)。

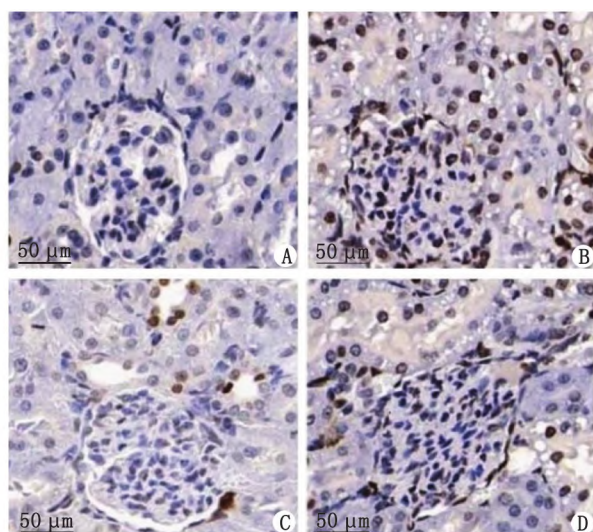
2.4 大鼠肾组织的细胞焦亡率比较 与 Control 组比较,Model 组细胞焦亡率升高,差别有统计学意义($P < 0.01$)。与 Model 组比较,RSG 组细胞焦亡率降低,差别有统计学意义($P < 0.01$)。与 RSG 组比较,T0070907 组细胞焦亡率升高,差别有统计学意义($P < 0.01$,图 4)。



IL-1β: 白细胞介素-1β; IL-18: 白细胞介素-18; ROS: 活性氧; NO: 一氧化氮; RSG: 罗格列酮; PPARγ: 过氧化物酶体增殖物激活受体 γ。Control: 对照组; Model: 模型组; RSG: RSG 治疗组; T0070907: PPARγ 抑制剂组。与 Control 组比较, *: $P < 0.05$; 与 Model 组比较, #: $P < 0.05$; 与 RSG 组比较, △: $P < 0.05$ 。

图 3 各组大鼠血清 IL-1β、IL-18、ROS 和 NO 含量比较

Fig. 3 Comparison of serum IL-1β, IL-18, ROS and NO contents of rats in each group



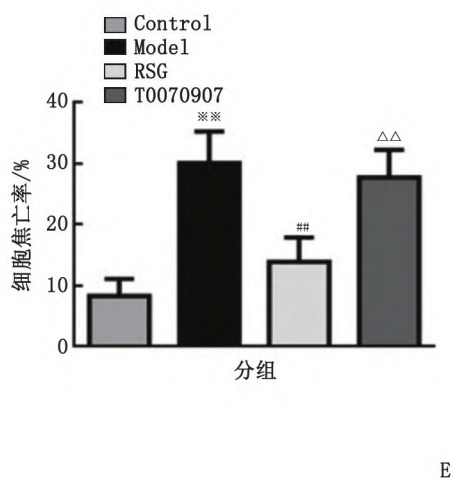
RSG: 罗格列酮; PPARγ: 过氧化物酶体增殖物激活受体 γ。Control: 对照组; Model: 模型组; RSG: RSG 治疗组; T0070907: PPARγ 抑制剂组。A: Control; B: Model; C: RSG; D: T0070907; E: 细胞焦亡率。与 Control 组比较, **: $P < 0.01$; 与 Model 组比较, ##: $P < 0.01$; 与 RSG 组比较, △△: $P < 0.01$ 。

图 4 各组大鼠肾组织细胞焦亡率比较(TUNEL 染色 ×400)

Fig. 4 Comparison of pyroptosis rate of renal cells in each group (TUNEL staining ×400)

2.5 大鼠肾组织 PPARγ、NLRP3 蛋白表达 IHC 染色检测显示,与 Control 组比较,Model 组大鼠肾组织 PPARγ 蛋白表达降低,NLRP3 蛋白表达增加,差别有统计学意义($P < 0.01$)。与 Model 组比较,RSG 组大鼠肾组织 PPARγ 蛋白表达增加,NLRP3 蛋白表达降低,差别有统计学意义($P < 0.01$)。与 RSG 组比较,T0070907 组大鼠肾组织 PPARγ 表达降低,NLRP3 蛋白表达增加,差别有统计学意义($P < 0.01$,图 5)。

2.6 大鼠肾组织焦亡相关蛋白表达 与 Control 组比较,Model 组大鼠肾组织 NLRP3 炎症小体及焦亡相关蛋白(NLRP3、ASC、Caspase-1、GSDMD、IL-1β 和 IL-18)表达升高,差别有统计学意义($P < 0.01$)。与 Model 组比较,RSG 组上述蛋白表达均降低,差别有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与 RSG 组比较,T0070907 组大鼠的肾组织 NLRP3 炎症小体及焦亡相关蛋白表达均增加,差别有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$,图 6)。

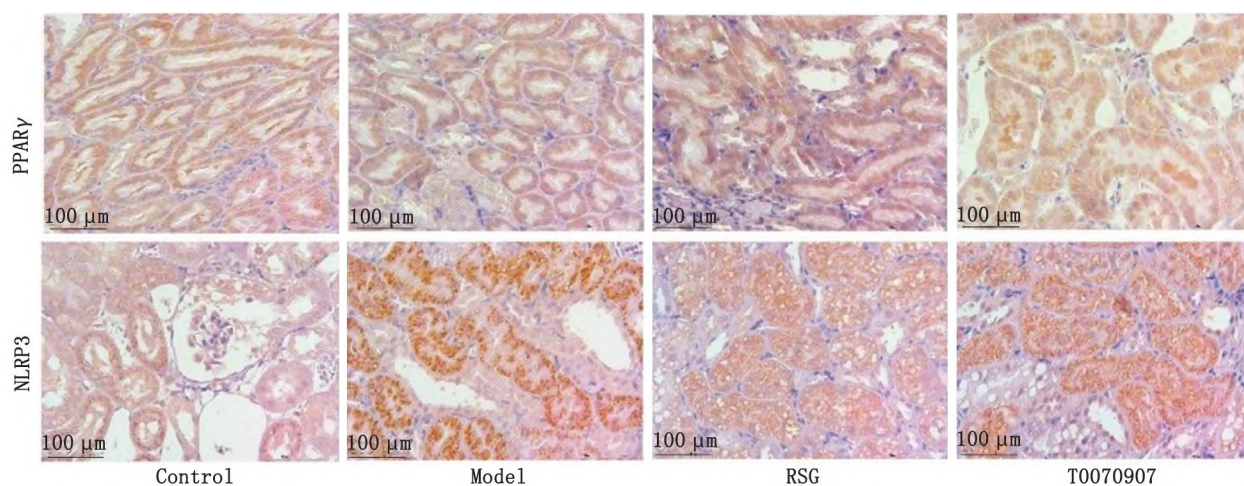


E

3 讨论

本研究建立 CI-AKI 大鼠模型,结果显示,CI-AKI 组大鼠肾组织呈现明显的病理损伤,而给予 RSG 干预后 CI-AKI 大鼠肾组织病理性损伤明显减轻,表明 RSG 具有治疗 CI-AKI 的作用。Scr 和 BUN 是反映 CI-AKI 肾小球滤过功能的关键性指标^[12]。本研究结果显示,与 Model 组比较,RSG 能够降低大鼠 Scr 和 BUN 水平,再次表明 RSG 可

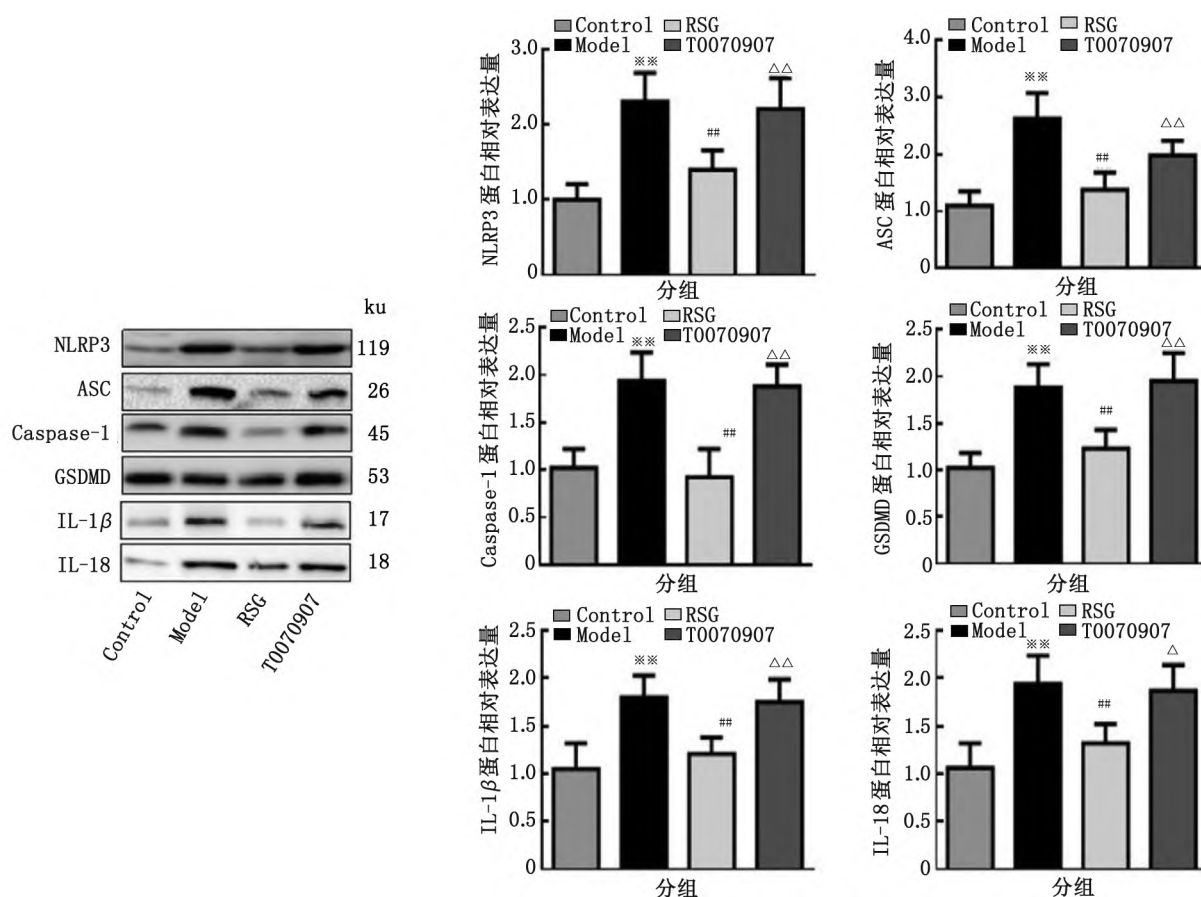
减轻 CI-AKI。炎症和氧化应激是 CI-AKI 病变的重要机制,两者相互调节,促进 CI-AKI 发生、发展,如 ROS 释放增加,能够促进炎症细胞因子如 IL-1β、IL-18 等释放增加,并最终诱发急性肾小管坏死^[13]。本研究结果显示,与 Control 组比较,Model 组大鼠血清 IL-1β、IL-18、ROS 和 NO 水平均明显增加,而 RSG 能够降低 CI-AKI 大鼠血清 IL-1β、IL-18、ROS 和 NO 的含量,表明 RSG 能够通过抑制氧化应激和炎症反应,改善 CI-AKI。



RSG: 罗格列酮; IHC: 免疫组织化学; PPAR γ : 过氧化物酶体增殖物激活受体 γ ; NLRP3: NOD 样受体蛋白 3。Control: 对照组; Model: 模型组; RSG: RSG 治疗组; T0070907: PPAR γ 抑制剂组。

图 5 IHC 检测各组大鼠肾组织 PPAR γ 、NLRP3 蛋白表达(IHC 染色 $\times 200$)

Fig. 5 Immunohistochemical detection of PPAR γ and NLRP3 protein expression in kidney tissue of rats in each group (IHC staining $\times 200$)



NLRP3: NOD 样受体蛋白 3; ASC: 凋亡相关斑点样蛋白; Caspase-1: 含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶-1; GSDMD: 消皮素 D; IL-1 β : 白细胞介素-1 β ; IL-18: 白细胞介素-18; RSG: 罗格列酮; PPAR γ : 过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 。Control: 对照组; Model: 模型组; RSG: RSG 治疗组; T0070907: PPAR γ 抑制剂组。与 Control 组比较, ^{***}: $P < 0.01$; 与 Model 组比较, ^{##}: $P < 0.01$; 与 RSG 组比较, [△]: $P < 0.05$, ^{△△}: $P < 0.01$ 。

图 6 各组大鼠肾组织焦亡相关蛋白表达变化

Fig. 6 The expression of pyroptosis related proteins in renal tissues of rats in each group

NLRP3 能够通过 ASC 与 Caspase-1 组合形成 NLRP3 炎症小体蛋白复合物^[14],参与免疫应答,影响炎症性疾病的发生、发展^[15]。既往文献报道,抑制 NLRP3 炎症小体激活可减轻顺铂所致的肾损伤^[16]。另外,在 CI-AKI 大鼠肾组织中 NLRP3 表达明显增加,而抑制 NLRP3 能够降低炎症因子 IL-1 β 、IL-18 表达,改善 CI-AKI^[17],提示 NLRP3 炎症小体可能是 CI-AKI 的关键调控分子。核受体超家族成员之一 PPAR γ 能够参与机体炎症反应、免疫调节和细胞凋亡等过程,激活 PPAR γ 能够显著抑制炎症反应^[18-19]。笔者课题组前期研究已发现,RSG 能够通过上调 PPAR γ 表达,抑制 NLRP3 表达,改善大鼠 CI-AKI^[7];给予 PPAR γ 抑制剂 T0070907 处理后能够逆转 RSG 对 CI-AKI 的保护作用,促进肾小管上皮细胞焦亡。本研究结果显示,与 Control 组比较,Model 组大鼠肾组织 PPAR γ 表达降低,NLRP3 炎症小体明显活化。与 Model 组比较,RSG 能够上调 PPAR γ 表达,抑制 NLRP3 炎症小体活化,而 T0070907 可逆转 RSG 对 CI-AKI 的保护作用,再次证实 RSG 可通过调控 PPAR γ /NLRP3 通路改善 CI-AKI。但目前有关 RSG 调控 PPAR γ /NLRP3 通路的下游机制还有待进一步研究。

此外,细胞焦亡也影响 CI-AKI 疾病的发生、发展。机体受到外界刺激后会诱导 NLRP3 炎症小体活化,进而促进 Caspase-1 剪切形成活化型 Caspase-1 (cleaved-Caspase-1)。一方面,cleaved-Caspase-1 促进前体 IL-1 β 和 IL-18 形成成熟型 IL-1 β 和 IL-18;另一方面,cleaved-Caspase-1 能够促进 GSDMD 发生切割,形成具有细胞毒性的 GSDMD-N,并募集至细胞膜上,与磷脂酰肌醇、磷脂酸等特异性结合,从而形成 10~20 nm 的细胞焦亡小孔。焦亡小孔的形成会导致细胞内、外离子失衡,致使细胞肿胀,细胞膜破裂,大量炎症因子如 IL-1 β 、IL-18 等释放增加,诱导炎症级联反应^[20-21]。既往研究发现,在 CI-AKI 大鼠肾组织中 NLRP3 炎症小体和焦亡相关蛋白表达均明显升高,而通过药理学干预或基因沉默等方式抑制细胞焦亡能够改善 CI-AKI^[17,22]。本研究结果显示,RSG 能够抑制 NLRP3 炎症小体活化及焦亡相关蛋白表达,表明 RSG 可通过抑制细胞焦亡,改善 CI-AKI。为进一步明确 RSG 可通过 PPAR γ /NLRP3 通路介导细胞途径,参与 CI-AKI 的保护作用,本研究于大鼠腹腔注射 PPAR γ 抑制剂 T0070907,结果显示,RSG 对 CI-AKI 的保护作用被阻断,NLRP3 炎症小体被活化,焦亡相关蛋白表达增加,促炎因子释放增多,

表明 RSG 可通过调控 PPAR γ /NLRP3 通路介导细胞焦亡,改善大鼠 CI-AKI。

本研究的局限性在于,水化是目前临床上预防和治疗 CI-AKI 的主要措施,生理盐水在一定程度上可减轻 CI-AKI,而本研究未单独设置注射等量生理盐水组,从而不能完全排除水对 CI-AKI 的影响。

综上所述,本研究探讨 RSG 对大鼠 CI-AKI 的作用机制,结果显示,RSG 能够改善大鼠 CI-AKI,促进 PPAR γ 表达,抑制 NLRP3 炎症小体活化介导的细胞焦亡。以上结果进一步丰富了 RSG 治疗 CI-AKI 的机制,为其在临床应用提供了可能。

参考文献:

- [1] IORDACHE A M,DOCEA A O,BUGA A M,et al. Sildenafil and tadalafil reduce the risk of contrast-induced nephropathy by modulating the oxidant/antioxidant balance in a murine model[J]. Food Chem Toxicol,2020,135:111038.
- [2] 任克,王永芳. 碘对比剂诱导急性肾损伤研究进展[J]. 中国医学影像技术,2020,36(7):1084-1087.
- [3] BRUECK M,CENGIZ H,HOELTGEN R,et al. Usefulness of N-acetylcysteine or ascorbic-acid versus placebo to prevent contrast-induced acute kidney injury in patients undergoing elective cardiac catheterization: A single-center, prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled trial[J]. J Invasive Cardiol,2013,25(6):276-283.
- [4] MCCULLOUGH P A,AKRAWINTHAWONG K. Ascorbic acid for the prevention of contrast-induced acute kidney injury[J]. J Am Coll Cardiol,2013,62(23):2176-2177.
- [5] PENG J,WANG K,XIANG W W,et al. Rosiglitazone polarizes microglia and protects against pilocarpine-induced status epilepticus[J]. CNS Neurosci Ther,2019,25(12):1363-1372.
- [6] 魏啸,付林,博庆丽,等. 罗格列酮对细菌脂多糖所致急性肾损伤和炎症反应的保护作用[J]. 安徽医科大学学报,2020,55(3):368-373.
- [7] WU J Y,HUANG J H,CHEN E,et al. Rosiglitazone alleviates contrast-induced acute kidney injury in rats via the PPAR γ /NLRP3 signaling pathway[J]. Dis Markers,2022,2022:4158692.
- [8] TAN X X,ZHENG X H,HUANG Z N,et al. Involvement of S100A8/A9-TLR4-NLRP3 inflammasome pathway in contrast-induced acute kidney injury[J]. Cell Physiol Biochem,2017,43(1):209-222.
- [9] CHEN F,LU J C,YANG X C,et al. Acetylbritannilactone attenuates contrast-induced acute kidney injury through its anti-pyroptosis effects[J]. Biosci Rep,2020,40(2):BSR20193253.
- [10] BAROJA-MAZO A,MARTIN-SANCHEZ F,GOMEZ A I,et al. The NLRP3 inflammasome is released as a particulate danger signal that amplifies the inflammatory response[J]. Nat Immunol,2014,15(8):738-748.
- [11] LIU K,ZHOU L Y,LI D Y,et al. A novel rat model of contrast-induced nephropathy based on dehydration[J]. J Pharmacol Sci,2019,141(1):49-55.

- [12] YAN S X,GAO M,YANG T H,et al. The preventive effects of different doses of atorvastatin on contrast-induced acute kidney injury after CT perfusion[J]. J Clin Lab Anal,2022,36(7):e24386.
- [13] 张驰昊,郑迪,张成,等. 虾青素通过上调 PINK1/parkin 通路增强线粒体自噬并减轻大鼠对比剂急性肾损伤[J]. 中国病理生理杂志,2022,38(8):1430-1439.
- [14] SUN L B,MA W,GAO W L,et al. Propofol directly induces caspase-1-dependent macrophage pyroptosis through the NLRP3-ASC inflammasome [J]. Cell Death Dis, 2019, 10(8):54.
- [15] VAJJHALA P R,MIRAMS R E,HILL J M. Multiple binding sites on the pyrin domain of ASC protein allow self-association and interaction with NLRP3 protein[J]. J Biol Chem, 2012,287(50):41732-41743.
- [16] KIM H J,LEE D W,RAVICHANDRAN K,et al. NLRP3 inflammasome knockout mice are protected against ischemic but not cisplatin-induced acute kidney injury[J]. J Pharmacol Exp Ther,2013,346(3):465-472.
- [17] ZHU X Y,LI S,LIN Q S,et al. α Klotho protein has therapeutic activity in contrast-induced acute kidney injury by limiting NLRP3 inflammasome-mediated pyroptosis and promoting autophagy[J]. Pharmacol Res,2021,167:105531.
- [18] 杨艳,周禹,隗雅姿,等. PPAR γ 在自身免疫性疾病中的研究进展[J]. 药理学,2022,57(10):3124-3132.
- [19] 江建锋,白强,贺春香,等. 地黄饮子含药血清通过 PPAR γ /NF- κ B 信号通路抑制 LPS 诱导的 BV2 细胞炎症反应[J]. 世界科学技术-中医药现代化,2021,23(5):1610-1616.
- [20] FINK S L,COOKSON B T. Caspase-1-dependent pore formation during pyroptosis leads to osmotic lysis of infected host macrophages[J]. Cell Microbiol,2006,8(11):1812-1825.
- [21] LIU Z J,GAN L,XU Y T,et al. Melatonin alleviates inflammasome-induced pyroptosis through inhibiting NF- κ B/GSDMD signal in mice adipose tissue[J]. J Pineal Res,2017,63(1):10.
- [22] 张珍. 细胞焦亡在对比剂所致急性肾损伤中的作用及机制研究[D]. 上海:上海交通大学,2020.

Rosiglitazone Regulates PPAR γ /NLRP3 Mediated Pyroptosis Pathway Alleviates Acute Renal Injury Induced by Contrast-Induced Acute Kidney Injury in Rats

WU Jiayi, ZHENG Xingchun, HUANG Jinhua, CHEN En

Department of Cardiology, Fujian Medical University Union Hospital, Fuzhou 350001, China

ABSTRACT: **Objective** To investigate the mechanism of rosiglitazone (RSG) in relieving contrast induced acute renal injury (CI-AKI) in rats. **Methods** Male SD rats were randomly divided into control group (Control), CI-AKI model group (Model), RSG treatment group [RSG, 40 mg/(kg·d)], peroxisome proliferator activated receptor γ (PPAR γ) inhibitor group (T0070907, 0.15 mg/mL), 6 in each group. CI-AKI rat model was established and the serum and kidney tissues of rats in each group were collected 3 days after administration, and the indexes of renal function, the levels of serum creatinine (Scr) and blood urea nitrogen (BUN) were measured; Determination of interleukin-1 β (IL-1 β), IL-18, reactive oxygen species (ROS) and nitric oxide (NO) content by ELISA; Hematoxylin-eosin (H-E) staining was used to observe the renal histopathological changes; Immunohistochemical (IHC) staining examination PPAR γ , NLRP3 protein expression; TUNEL staining was used to detect the pyroptosis index of renal tissue; Detection of NLRP3, apoptosis-associated speck-like protein containing CARD (ASC), cysteinyl aspartate specific proteinase-1 (Caspase-1), gasdermin D (GSDMD), IL-1 β and IL-18 protein expression in renal tissue by Western-blot. **Results** Compared with control group, the contents of Scr, BUN, IL-1 β , IL-18, ROS and NO were significantly increased ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), renal tissue showed obvious pathological damage, the index of pyroptosis, the protein expression of NLRP3, ASC, Caspase-1, GSDMD, IL-1 β and IL-18 were increased ($P < 0.01$), the protein expression PPAR γ was decreased in model group ($P < 0.01$). Compared with model group, the contents of serum Scr, BUN, IL-1 β , IL-18, ROS and NO were significantly decreased ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Alleviation of pathological damage of renal tissue, the index of pyroptosis, the protein expression of NLRP3, ASC, Caspase-1, GSDMD, IL-1 β and IL-18 were decreased ($P < 0.01$), the protein expression PPAR γ was increased in RSG group ($P < 0.01$). Compared with RSG group, T0070907 can reverse the above index changes of CI-AKI rats treated with RSG. **Conclusion** RSG can improve rat CI-AKI, and promote PPAR γ expression, inhibit the activation of NLRP3 inflammasome mediated pyroptosis.

KEY WORDS: rosiglitazone; contrast-induced acute kidney injury; PPAR γ /NLRP3 pathway; pyroptosis

(编辑:张慧茹)