

非必须,也可能无需行针对 B19 感染的相关治疗,但根除 B19 后 ITP 患儿的小血小板恢复情况以及 B19 与持续性 ITP 或者慢性 ITP 患儿中的作用机制尚需进一步开展大样本、多中心的临床研究以证实。

参考文献

- 1 祁怀山,鲁智勇,杨丽萍,等. 儿童特发性血小板减少性紫癜与细小病毒 B19 感染关系探讨[J]. 临床儿科杂志,2006,24(7):582-584
- 2 Aktepe OC, Yetgin S, Olcay L, *et al.* Human parvovirus B19 associated with idiopathic thrombocytopenic purpura[J]. *Pediatric Hematology and Oncology*,2004,21(5):421-426
- 3 Van Elsascker A, Niele AM, Weiland HT, *et al.* Pavovirus B19 infection and idiopathic thrombocytopenic purpura[J]. *Ann Hematol*, 1996,72(3):141
- 4 中华医学会儿科学分会血液学组,《中华儿科杂志》编辑委员会. 儿童原发性免疫性血小板减少症诊疗建议[J]. 中华儿科杂志, 2013, 51(5): 382-384
- 5 胡群. “儿童原发性免疫性血小板减少症诊疗建议”解读[J]. 中华儿科杂志, 2013, 51(5): 389-391
- 6 束晓梅,冒青,李娟,等. 人细小病毒 B19 感染与儿童急性特发性血小板减少性紫癜发病关系的探讨[J]. 中国实用儿科杂志, 2003,18(4):230-231
- 7 Neunert C, Lim W, Crowther M, *et al.* The American Society of Hematology 2011 evidence-based practice guideline for immune thrombocytopenia[J]. *Blood*, 2011, 117(16):4190-4207
- 8 侯明. 成人特发性血小板减少性紫癜诊断治疗专家共识[J]. 中华血液学杂志,2009,30(9):647-648
- 9 张笃飞,陈桂芳,谢跃琦,等. 特发性血小板减少性紫癜患儿血清微小病毒 B19 检测及意义[J]. 中国小儿血液与肿瘤杂志,2007,12(3):119-120,123
- 10 乔丽津,贾万英,李静岩,等. 小儿特发性血小板减少性紫癜的有关临床特点[J]. 中国小儿血液与肿瘤杂志,2007,12(1):21-24
- 11 伍星,瞿文,王珺,等. 免疫性血小板减少症 125 例临床分析[J]. 中国实验血液学杂志,2011,19(2):450-454
- 12 郑岩. 120 例儿科患微小病毒 B19 感染的近期研究[J]. 中国优生与遗传杂志,2007,15(8):37-38

(收稿日期:2015-02-25)

(修回日期:2015-03-04)

SOCSs 在慢加急性肝衰竭大鼠肝组织中的表达变化及意义

王柯尹 杨乃彬 倪顺兰 谢新生 余 晓 卢明芹

摘 要 目的 探讨细胞因子信号转导抑制因子(suppressors of cytokine signaling,SOCSs)在慢加急性肝衰竭(acute on chronic liver failure,ACLF)大鼠肝组织中的表达及其在 ACLF 发生中的作用。**方法** 健康 SD 大鼠随机分组,ACLF 组大鼠腹腔注射 1.5ml/kg 的 50% 四氯化碳花生油溶液,每 3 天 1 次,10 次后改为 2ml/kg,每 3 天 1 次,9 次后给予 250mg/kg D-氨基半乳糖(D-GalN)联合 50μg/kg 脂多糖(LPS)急性攻击,给药后 0、6、12、24h 留取大鼠血及肝组织。血生化检测 ALT、AST 水平和 ELISA 法检测 TNF-α、IL-6 水平。HE 染色下观察肝脏病理学变化。RT-PCR 检测大鼠肝组织 SOCS-1、SOCS-3mRNA 表达。**结果** 大鼠慢加急性肝衰竭模型复制成功,ACLF 组血清 ALT 和 AST 水平逐渐上升,在 12h 升高最明显,血清 TNF-α、IL-6 水平在造模后 0h 即明显高于对照组,至 6h 达峰值($P<0.05$),肝组织 SOCS-1、SOCS-3mRNA 水平于造模后 0h 开始升高,12h 升高最为显著,之后逐渐下降,与正常对照组相比,各时间点差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** SOCSs 在慢加急性肝衰竭过程中升高,其变化与 TNF-α、IL-6 改变相关,提示 SOCSs 可能参与慢加急性肝衰竭中的炎症及免疫调节过程。

关键词 慢加急性肝衰竭 细胞因子 细胞因子信号转导抑制因子

中图分类号 R575

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2015.10.030

Expression of SOCSs in Rats with Acute-on-chronic Liver Failure and Its Significance. Wang Keyin, Yang Naibin, Ni Shunlan, *et al.* Department of Infection Disease, The First Hospital of Jiaxing, Zhejiang 314000, China

Abstract Objective To investigate the expression of SOCSs in liver tissues of rats with acute on chronic liver failure(ACLF) and the function of SOCSs in ACLF. **Methods** The SD male rats were randomly divided into two groups. Rats in ACLF group were intraperitoneally injected with: 1.5ml/kg of 50% carbon tetrachloride peanut oil solution, every 3 days for the first month; 2ml/kg of 50% car-

作者单位:314000 嘉兴市第一医院感染科(王柯尹、谢新生、余晓);325000 温州医科大学附属第一医院感染科(杨乃彬、倪顺兰、卢明芹)

通讯作者:卢明芹,电子信箱:LMQ0906@163.com

bon tetrachloride peanut oil solution, every 3 days for another two months; then 250mg/kg D-GalN and 50 μ g/kg LPS at once. Rats in normal group were intraperitoneally injected with 0.9% NaCl solution. Liver tissue and blood were collected on 0, 6, 12, 24 hours after the final injection. The level of ALT, AST were detected by automatic biochemical analyzer and TNF- α , IL-6 were determined by ELISA. The liver pathologic changes were observed with HE staining by microscope. SOCS-1, SOCS-3 mRNA of liver tissues were determined by RT-PCR. **Results** ACLF model of rats were successfully built. The level of ALT and AST in model group peaked at 12 hours. The level of TNF- α , IL-6 were obviously higher than those in control group and peaked at 6h ($P < 0.05$). SOCS-1, SOCS-3 mRNA began to rise after modeling, peaked at 12h and decreased gradually. Compared with the normal group, difference in all time point were statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion** The level of SOCSs in ACLF group were upregulated and the upregulation was associated with IFN- α , IL-6, suggesting that SOCSs may participate in the process of inflammation and immune regulation in ACLF.

Key words Acute-on-chronic liver failure; Cytokines; Suppressors of cytokine signalings

慢加急性肝衰竭 (acute on chronic liver failure, ACLF) 是在慢性肝病基础及急性损伤因素作用下出现的肝功能急剧恶化, 表现为黄疸、腹腔积液、凝血功能障碍、肝性脑病等, 预后差, 病死率高^[1]。其发病机制十分复杂, 涉及感染、炎症反应、免疫损伤、器官衰竭等, 其中 TNF- α , IL-6 等细胞因子在肝脏免疫和炎症反应中起重要作用, 可直接参与引起肝细胞的坏死, 加重肝衰竭病变过程^[2]。研究发现, Janus 激酶/信号转导因子和转录激活因子 (janus kinase/signal transduction and activators of transcription, JAK/STAT) 通路是细胞因子发挥生物学效应的信号转导通路之一, 参与机体炎症反应, 免疫调节及细胞损伤、凋亡等过程^[3]。SOCSs 是一种细胞因子信号转导抑制因子, 对 JAK-STA 途径进行负反馈抑制, 在维持机体内稳态等起着重要作用, 近年研究表明, SOCSs 表达上调可能与肝细胞损伤炎症过程相关。本研究通过检测慢加急性肝衰竭大鼠各时间点肝组织 SOCS-1, SOCS-3 mRNA 和血清 TNF- α , IL-6 表达的动态变化, 探讨 SOCSs 在 ACLF 临床转归中的作用。

材料与方法

1. 试验动物: 清洁级 SD 大鼠 30 只, 雄性, 体重 180 ~ 200g, 由中国科学院上海实验动物中心提供。试验前 1 周领取动物, 分笼饲养, 自由进食、饮水, 室温约 23 $^{\circ}$ C, 间隔 12h 照明。

2. 试剂: 四氯化碳购自天津博迪股份有限公司; D-GalN 购自南通吕生物制品有限公司; LPS 购自上海闪晶生物技术有限公司; RNA 提取试剂、RT-PCR 试剂盒由大连宝生物公司提供; TNF- α , IL-6 试剂盒购自美国 Genzyme 公司。

3. 方法: (1) 动物模型建立与分组: 清洁级雄性 SD 大鼠 30 只, 实验前 1 日下午禁食, 饮水不限, 随机分为: 慢加急性肝衰竭组 (ACLF 组, $n = 24$): 腹腔注射 1.5ml/kg 的 50% 四氯化碳花生油溶液, 每 3 天 1 次, 注射 10 次后改为 2ml/kg, 每 3 天 1 次, 共 9 次。D-GalN 溶于无菌生理盐水, 配成 10% 的溶

液, 用 1mol/L 的 NaOH 调节 pH 值至 7.0, 给予 250mg/kg D-GalN 联合 50 μ g/kg LPS 急性攻击, 分别于给药后 0、6、12、24h 4 个时间点处死大鼠, 每次处死 6 只。正常对照组 ($n = 6$): 腹腔注射同等剂量花生油。(2) 取标本: 以 10% 水合氯醛麻醉, 采集大鼠门静脉血, 离心 10min 后留取上清液, 存放 -80 $^{\circ}$ C 冰箱供检测使用。(3) 肝组织病理检查: 肝组织标本用 100ml/L 甲醛固定, 逐级乙醇脱水, 石蜡包埋, 制备切片, 经 HE 染色光镜下观察病理变化。(4) 肝功能检测: 采用全自动生化分析仪检测 ALT、AST 水平。(5) 血清 TNF- α , IL-6 测定: 按试剂盒说明书采用 ELISA 法检测。(6) RT-PCR 法检测肝组织 SOCS-1, SOCS-3 mRNA 表达: 肝组织匀浆, Trizol 法提取肝组织总 RNA, 用紫外线分光光度计测定吸光度后计算样本 A260/A280 比值, 介于 1.8 ~ 2.0 的用于反转录, 取样本 PCR 产物 5 μ l 和溴酚蓝缓冲液 1 μ l 混匀, 取标志物 2.5 μ l 作相对分子质量标准, 进行琼脂糖凝胶稳压电泳 (100V 27min), 采用凝胶图像系统, 用 Gel-Pro3.1 软件对电泳条带进行密度扫描, 以 SOCS-1, SOCS-3 与 β -actin 吸光度比值作为目的基因 mRNA 的相对表达量, 引物由上海捷瑞公司合成。SOCS-1 PCR 反应条件: 95 $^{\circ}$ C 5min, 95 $^{\circ}$ C 30s, 63 $^{\circ}$ C 30s, 72 $^{\circ}$ C 17s, 35 个循环; 4 $^{\circ}$ C 3min。内参 β -actin PCR 反应条件: 95 $^{\circ}$ C 5min, 95 $^{\circ}$ C 30s, 58.4 $^{\circ}$ C 30s, 72 $^{\circ}$ C 6s, 35 个循环; 4 $^{\circ}$ C 5min。SOCS-3 PCR 反应条件: 95 $^{\circ}$ C 5min, 95 $^{\circ}$ C 30s, 61 $^{\circ}$ C 30s, 72 $^{\circ}$ C 27s, 35 个循环; 4 $^{\circ}$ C 3min。内参 β -actin PCR 反应条件: 95 $^{\circ}$ C 5min, 95 $^{\circ}$ C 30s, 58.4 $^{\circ}$ C 30s, 72 $^{\circ}$ C 6s, 35 个循环; 4 $^{\circ}$ C 5min。序列见表 1。

4. 统计学方法: 数据用均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 采用 SPSS 17.0 统计学软件处理, 多组样本均数比较行方差齐性检验, 组间差异采用单因素方差分析 (one-way ANOVA), 方差齐性者两两比较采用 LSD 法, 不齐者用 Dunnett's T3 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 一般情况: 对照组大鼠反应灵敏, 摄食饮水量多, 模型组 0h 开始活动、进食减少, 6h 精神萎靡, 动作迟缓, 对刺激反应减弱, 12h 后逐渐出现呼吸气促、肢体发抖、口鼻出血。

表 1 PCR 引物序列 ($\bar{x} \pm s$)

引物	序列(5'→3')	扩增片段长度(bp)
SOCS-1	Forprimer CCACTCTGATTACCGGCGCATC	350
	Revprimer GCTCCTGCAGCGGCCGACG	
SOCS-3	Forprimer ATGGTCACCCACAGCAAGTTTC	514
	Revprimer CGCCCCAGAATAGATGTAGTAAG	
β -actin	Forprimer CACCCGCGAGTACAACCTTC	223
	Revprimer CCCATACCCACCATCACACC	

2. 血清学变化: ACLF 组血清 ALT 和 AST 在造模后很快上升, 12h 达高峰, 与正常对照组相比, 差异有统计学意义 (ALT: $F = 71.937, 286.218, 456.977, 297.659, P < 0.05$; AST: $F = 68.050, 195.495, 440.675, 664.438, P < 0.05$, 表 2)。ACLF 组大鼠血

清 TNF- α 、IL-6 均在造模后 0h 即有所上升, 至 6h 达峰值, 之后逐渐下降, 与对照组相比, 差异有统计学意义 (TNF- α : $F = 367.468, 463.177, 874.417, 283.401, P < 0.05$; IL-6: $F = 757.885, 803.649, 698.713, 477.883, (P < 0.05)$, 详见表 2)。

表 2 各组大鼠血清 ALT、AST、TNF- α 、IL-6 检测结果 ($\bar{x} \pm s$)

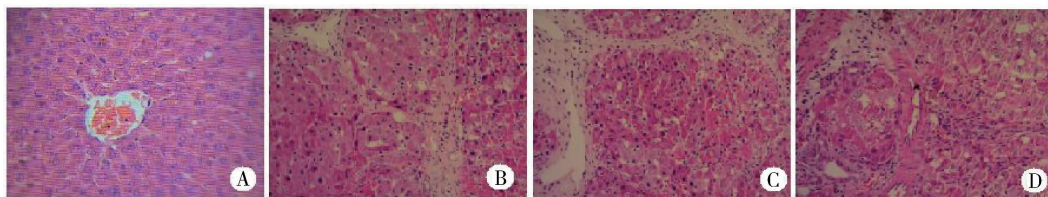
组别	ALT(U/L)	AST(U/L)	IFN- α (pg/ml)	IL-6(pg/ml)
正常对照组	29.03 $\pm$ 3.9	35.2 $\pm$ 7.0	11.4 $\pm$ 2.4	11.4 $\pm$ 2.7
慢加急性肝衰竭组				
0h	157.9 $\pm$ 37.0	181.5 $\pm$ 42.8	75.5 $\pm$ 7.8	64.3 $\pm$ 3.8
6h	649.3 $\pm$ 89.7	783.2 $\pm$ 130.9	109.2 $\pm$ 10.9	86.2 $\pm$ 5.8
12h	1142.6 $\pm$ 127.5	1343.9 $\pm$ 152.5	89.9 $\pm$ 6.1	74.9 $\pm$ 5.2
24h	876.7 $\pm$ 120.3	1026.0 $\pm$ 93.9	60.6 $\pm$ 6.8	55.9 $\pm$ 4.1

与正常对照组比较, $P < 0.05$

3. 肝脏形态、病理学变化: 正常对照组大鼠肝脏呈鲜红色, 形态正常, 表面光滑, 病理显示肝小叶结构完整, 未见肝细胞变性、坏死。实验组肝脏体积缩小, 表明呈细颗粒或结节状, 病理示显示纤维组织增生, 同时存在坏死、凋亡及再生肝细胞, 再生肝细胞排列紊乱, 形成肝内假小叶, 伴有肝细胞再生结节, 存在炎性细胞浸润。6h 时可见大量肝细胞坏死, 炎性浸润及出血明显, 肝窦或间质内见出血灶。12h 后显示肝细胞大片坏死、凋亡, 坏死区及汇管区有大量炎性细胞浸润, 肝窦明显扩张充血, 残存肝细胞可见水肿、嗜

酸性变(图 1)。

4. 肝组织 SOCS-1、SOCS-3 mRNA 表达: 正常大鼠肝组织中存在少量 SOCS-1、SOCS-3 mRNA 表达, ACLF 组 SOCS-1、SOCS-3 mRNA 表达均于造模后立即开始逐渐增加, 12h 达到高峰, 24h 开始下降, 与正常对照组 (0.718 ± 0.102) 各时间点相比, 差异有统计学意义 (SOCS-1: $F = 28.734, 80.533, 409.701, 220.445, P < 0.05$; SOCS-3: $F = 40.433, 101.544, 319.141, 191.229, P < 0.05$, 图 2, 表 3)。

图 1 大鼠肝组织 HE 染色 ($\times 200$)

A. 正常对照组; B. ACLF 组 0h; C. ACLF 组 6h; D. ACLF 组 12h

讨 论

慢加急性肝衰竭是一种病因复杂、治疗困难的疾病, 目前认为免疫系统过度激活介导局部炎症反应,

诱发细胞因子的大量分泌是造成其病理损害的中心环节。肝衰竭时循环中高水平的内毒素可激活库普弗细胞释放 TNF- α 、IL-6 等多种炎性介质, 细胞因

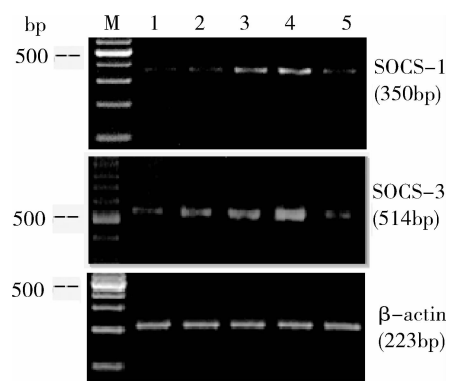


图 2 RT-PCR 法检测肝组织 SOCS-1、SOCS-3 mRNA 表达水平

1. 正常对照组; 2. 0h; 3. 6h; 4. 12h; 5. 24h;

M. 标志物; β -actin. β -肌动蛋白

表 3 各组肝组织 SOCS-1、SOCS-3 mRNA 表达
(与 β -actin 灰度比值, $\bar{x} \pm s$)

组别	SOCS-1 mRNA	SOCS-3 mRNA
正常对照组	0.718 $\pm$ 0.102	0.740 $\pm$ 0.086
慢加急性肝衰竭组		
0h	1.213 $\pm$ 0.202 *	1.122 $\pm$ 0.119 *
6h	1.698 $\pm$ 0.248 *	1.395 $\pm$ 0.134 *
12h	2.533 $\pm$ 0.195 *	2.142 $\pm$ 0.172 *
24h	2.145 $\pm$ 0.173 *	1.702 $\pm$ 0.147 *

与正常对照组比较, * $P < 0.05$

子网络失衡,启动一系列级联反应,造成组织缺血缺氧甚至多器官衰竭。Mao 等^[4]发现 ACLF 患者肝内 TNF- α 表达较慢乙肝患者明显升高。Elsing 等^[5]在慢加急性肝衰竭中 大鼠肝组织中检测到高浓度的 TNF- α 、IL-6 浸润,提示 TNF- α 、IL-6 等促炎因子可能导致肝细胞坏死或凋亡,抑制肝细胞再生,参与肝脏炎性损伤。本实验结果显示,慢加急性肝衰竭大鼠血清 TNF- α 、IL-6 水平显著升高,提示 TNF- α 、IL-6 等细胞因子可能通过引发多种化学介质释放,创建一个促炎性的周围环境,加重组织损伤,促进肝衰竭的发生、发展。

研究表明,当细胞因子作用于靶细胞表面受体,需要信号转导通路的活化,才能启动靶细胞发挥相应的生理效应,其中 JAK/STAT 信号转导途径是一条重要途径,它通过 TNF- α 与细胞膜上的 INFAR-1 绑定形成二聚体,激活细胞质中 Jak-1 和 Tyk2,使 STAT1 和 STAT2 磷酸化,参与细胞凋亡、致炎因子信号转导及调控等多种生物学过程^[6,7]。SOCS-1、SOCS-3 属于 SOCS 家族,目前已经被认为是强有力的细胞因子信号转导抑制因子,可介导 SH2 和 KIR

功能区与 JAKs 直接结合抑制其酪氨酸激酶活性,对 JAK/STAT 信号通路进行负调控^[8,9]。有报道显示 SOCS 蛋白参与 T 细胞的分化和调控,在天然免疫和获得性免疫中扮演重要角色,与炎症和免疫反应密切相关^[10]。研究证实,JAK/STAT 信号通路在肝脏炎性反应中发挥着重要作用,TNF- α 、IL-6 等细胞因子可有效刺激 STAT 活化,诱导目的基因表达^[11-13]。另一方面,SOCSs 可对 STAT 信号进行负调控,抑制上述细胞因子的信号转导过程,推测 SOCSs 参与了对肝细胞炎性反应的特异性调控,与慢加急性肝衰竭的发生、发展之间存在着某些联系,但具体联系到目前为止尚不十分明确^[14]。

本实验结果显示,ACLF 组大鼠血清血清 TNF- α 、IL-6 水平在造模后 0h 开始升高,6h 达高峰,与对照组比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$),ACLF 组 SOCS-1、SOCS-3 mRNA 于造模后即高于对照组,12h 达峰值,之后逐渐下降,与对照组比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$),这提示 SOCSsmRNA 的表达水平随着肝脏损伤程度加重而增加,肝损害越明显,SOCSs 表达越多,但略晚于 TNF- α 、IL-6 表达,考虑发生肝衰竭时,大量肝细胞损伤,TNF- α 、IL-6 等炎性因子释放,与相应的受体结合导致 JAKs 的激活,激活的 JAKs 将受体上特定的酪氨酸残基磷酸化,诱导 STATs 活化,进一步刺激 SOCSs mRNA 表达上调。笔者的研究结果显示,造模 12h 后肝组织 TNF- α 和 IL-6 表达水平下降,可能与 SOCSs 通过阻止访问信号传感器、抑制 STAT 受体结合位点转录等方式对细胞内信号转导途径进行负反馈环调节有关^[15]。据此推测,在慢加急性肝衰竭发生、发展中,SOCSs 表达水平的改变与 TNF- α 、IL-6 等细胞因子的变化密切相关,影响慢加急性肝衰竭整个病理生理过程,但目前国内外关于 SOCSs 在慢加急性肝衰竭发病机制中的影响报道较少,因此,仍有待于通过更深一步研究两者之间的具体关系,从而减轻甚至阻止各种因素对肝脏造成的破坏,为发现慢加急性肝衰竭治疗手段开拓新的领域。

参考文献

1 Sarin SK,Kumar A,Almeida JA,et al. Acute-on-chronic liver failure:consensus recommendations of the Asian Pacific Association for the Study of the Liver (APASL) [J]. Hepatol Int,2009,3(1): 269-282

2 Jalan R,Gines P,Olson JC,et al. Acute-on chronic liver failure[J]. Hepatol,2012,57(6):1336-1348

3 Harrison DA. The JAK/STAT pathway[J]. Cold Spring Harb Perspect

- Biol, 2012, 4(3): 1-3
- 4 Mao W L, Chen Y, Chen YM, *et al.* Changes of serum cytokine levels in patients with acute on chronic liver failure treated by plasma exchange[J]. J Clin Gastroenterol, 2011, 45(6): 551-555
- 5 Elsing C, Harenberg S, Stremmel W, *et al.* Serum levels of soluble Fas, nitric oxide and cytokines in acute decompensated cirrhotic hepatic patients[J]. World J Gastroenterol, 2007, 13(3): 421-425
- 6 Pan J, Ju J. Current perspectives on the JAK/STAT signaling pathway and its activating factors in liver fibrosis[J]. J Clin Hepatol, 2013, 29(5): 393-396
- 7 Radaeva S, Jaruga B, Hong F, *et al.* Interferon- α activates multiple STAT signals and down-regulates c-Met in primary human hepatocytes[J]. Gastroenterology, 2002, 122(4): 1020-1034
- 8 Giordanetto F, Kroemer RT. A three-dimensional model of suppressor of cytokine signaling-1 (SOCS-1)[J]. Protein Eng, 2003, 16(2): 115-124
- 9 Qiu X, Guo G, Chen K, *et al.* A requirement for SOCS-1 and SOCS-3 phosphorylation in Bcr-Abl-induced tumorigenesis[J]. Neoplasia, 2012, 14(6): 547-558
- 10 Tamiya T, Kashiwagi I. Suppression of cytokine signaling (SOCS) proteins and JAK/STAT pathways: regulation of T cell inflammation by SOCS1 and SOCS3[J]. Arterioscler Thromb Vase Biol, 2011, 31(5): 980-985
- 11 Kamiya A, Kinoshita T, Ito Y, *et al.* Fetal liver development requires a paracrine action of oncostatin M through the gp130 signal transducer[J]. EMBO J, 1999, 18(8): 2127-2136
- 12 Dill MT, Makowska Z, Trincucci G, *et al.* Pegylated IFN- α regulates hepatic gene expression through transient Jak/STAT activation[J]. J Clin Invest, 2014, 124(4): 1568-1581
- 13 Cressman DE, DeAngelis RA, Ciliberto G, *et al.* Liver failure and defective hepatocyte regeneration in interleukin-6-deficient mice[J]. Science, 1996, 274(5291): 1379-1383
- 14 Hong F, Jaruga B, Kim WH, *et al.* Opposing roles of STAT1 and STAT3 in T cell-mediated hepatitis: regulation by SOCS[J]. J Clin Invest, 2002, 110(10): 1503-1513
- 15 Krebs DL, Hilton DJ. SOCS proteins: negative regulators of cytokine signaling[J]. Stem Cells, 2001, 19(5): 378-387

(收稿日期: 2015-01-21)

(修回日期: 2015-02-12)

白藜芦醇通过下调 p-ERK1/2 抑制脂多糖诱导的 H9c2 细胞损伤

叶婷婷 王光宇 李丽 马建 魏盟

摘要 目的 探讨白藜芦醇(resveratrol, RSV)是否通过下调 p-ERK1/2 发挥对脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)诱导的 H9c2 细胞氧化损伤的保护作用及机制。**方法** 将 H9c2 细胞分为实验(Con)组, 脂多糖(LPS)组, 脂多糖+白藜芦醇 5 $\mu\text{mol/L}$ (L+R5)组, 脂多糖+白藜芦醇 10 $\mu\text{mol/L}$ (L+R10)组, 脂多糖+白藜芦醇 20 $\mu\text{mol/L}$ (L+R20)组, 脂多糖+白藜芦醇 50 $\mu\text{mol/L}$ (L+R50)组。其中对照组不做任何处理, L+R5 组、L+R10 组、L+R20 组、L+R50 组分别用 5、10、20、50 $\mu\text{mol/L}$ 的白藜芦醇预先处理 24h, 然后将 LPS 组、L+R5 组、L+R10 组、L+R20 组、L+R50 组和 10 $\mu\text{g/ml}$ 的脂多糖共同孵育 20min 和 12h。MTT 比色法检测 H9c2 细胞活力, Western blot 法检测 p-ERK1/2, ERK1/2 蛋白表达。**结果** LPS 降低 H9c2 细胞活力, 诱导细胞凋亡。RSV 上调 p-ERK1/2 蛋白表达, 成剂量依赖性。RSV 预处理能明显降低 LPS 对 H9c2 细胞的损伤。**结论** 白藜芦醇可能通过下调 p-ERK1/2 来减轻 LPS 引起的 H9c2 细胞损伤, 发挥其保护作用。

关键词 白藜芦醇 脂多糖 ERK1/2 H9c2 细胞**中图分类号** R5 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2015.10.031

Resveratrol Protects H9c2 Cells from Damage Induced by Lipopolysaccharide via Down-regulating the Phosphorylation of ERK1/2. Ye Tingting, Wang Guangyu, Li Li, *et al.* Department of Cardiology, Shanghai Jiaotong University Affiliated Sixth People's Hospital, Shanghai 200233, China

Abstract Objective To investigate whether resveratrol (RSV) protects H9c2 cells against lipopolysaccharide (LPS) induced oxidative injury partly through ERK1/2 signaling pathway. **Methods** H9c2 cells were divided into six groups: control, LPS (10 $\mu\text{g/ml}$ lipopolysaccharide), L+R5 (10 $\mu\text{g/ml}$ lipopolysaccharide + 5 $\mu\text{mol/L}$ resveratrol), L+R10 (10 $\mu\text{g/ml}$ lipopolysaccharide + 10 $\mu\text{mol/L}$ res-

作者单位: 200233 上海交通大学附属第六人民医院

通讯作者: 魏盟, 教授, 主任医师, 博士生导师, 电子信箱: weimeng19571223@163.com