

DOI:10.3724/SP.J.1008.2011.00144

## 罗格列酮对大鼠腹膜透析相关性腹膜纤维化的影响

林沁<sup>1\*</sup>, 邹忠东<sup>2</sup>, 项协隆<sup>1</sup>, 韦永光<sup>1</sup>, 郑丰<sup>1</sup>

1. 南京军区福州总医院肾内科, 福州 350025

2. 南京军区福州总医院普通外科, 福州 350025

**[摘要]** **目的** 观察罗格列酮(rosiglitazone, RGZ)对腹膜透析所致腹膜纤维化的影响。**方法** 50只SD大鼠随机分为6组:空白对照组( $n=5$ )、生理盐水(NS)组、模型组、二甲亚砜(DMSO)组、低浓度RGZ组、高浓度RGZ组(后5组 $n=9$ )。除空白对照组外其余大鼠均置入腹透管,除空白组和NS组外其余组均采用高糖腹膜透析液+红霉素制作慢性腹膜透析无菌性腹膜纤维化的大鼠模型。DMSO组、低浓度RGZ组、高浓度RGZ组分别采用DMSO、1.5 mg/kg RGZ、15 mg/kg RGZ治疗。透析5周后行1 h腹膜平衡试验,检测血糖及血脂,计算超滤量(UF)、初始腹透液与透出液葡萄糖比值( $D_1/D_0$ )、透出液与血浆尿素氮比值( $D/P_{urea}$ );处死大鼠,取壁层腹膜行H-E及Masson染色,观察腹膜形态改变,半定量计算腹膜单位面积血管数及炎症细胞数;免疫组化检测腹膜转化生长因子(TGF- $\beta_1$ )和 $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白( $\alpha$ -SMA)的表达情况。**结果** 与空白对照组相比,模型组和DMSO组间皮下基质增厚,血管增生及炎症细胞浸润增加( $P<0.05$ );TGF- $\beta_1$ 、 $\alpha$ -SMA表达水平增高( $P<0.05$ );RGZ能改善上述病理改变,下调TGF- $\beta_1$ 、 $\alpha$ -SMA表达( $P<0.05$ );与空白对照组比较,NS组、模型组、DMSO组、低浓度RGZ组及高浓度RGZ组的超滤量和 $D_1/D_0$ 减少, $D/P_{urea}$ 增加( $P<0.05$ ),其中以DMSO组及模型组改变最为显著。两种剂量RGZ间差异无统计学意义( $P>0.05$ )。**结论** 在大鼠腹膜透析模型中加用罗格列酮能有效保护腹膜功能,抑制腹膜纤维化。

**[关键词]** 罗格列酮;腹膜纤维化;腹膜透析**[中图分类号]** R 459.51**[文献标志码]** A**[文章编号]** 0258-879X(2011)02-0144-06

### Influence of rosiglitazone on peritoneal fibrosis induced by peritoneal dialysate in rats

LIN Qin<sup>1\*</sup>, ZOU Zhong-dong<sup>2</sup>, XIANG Xie-long<sup>1</sup>, WEI Yong-guang<sup>1</sup>, ZHENG Feng<sup>1</sup>

1. Department of Nephrology, Fuzhou General Hospital, PLA Nanjing Military Area Command, Fuzhou 350025, Fujian, China

2. Department of General Surgery, Fuzhou General Hospital, PLA Nanjing Military Area Command, Fuzhou 350025, Fujian, China

**[Abstract]** **Objective** To investigate the effect of rosiglitazone (RGZ) in prevention of peritoneal fibrosis induced by peritoneal dialysis in rats. **Methods** Fifty SD rats were randomly divided into six groups: control group ( $n=5$ ), normal saline (NS) group ( $n=9$ ), model group ( $n=9$ ), dimethyl sulfoxide(DMSO) group ( $n=9$ ), low-dose RGZ group ( $n=9$ ), and high-dose RGZ group ( $n=9$ ). Peritoneal catheters were implanted in the last five groups, and peritoneal fibrosis models were induced in the last four groups by high-glucose peritoneal dialysate and erythromycin with rats. Animals in the low-dose RGZ and high-dose RGZ groups were treated with 1.5 mg/kg RGZ and 15 mg/kg RGZ, respectively. The one hour peritoneal equilibration test was performed and the plasma glucose and serum lipids were estimated five weeks after dialysis. The ultrafiltration volume (UF), dialysate-to-plasma urea ratio ( $D/P_{urea}$ ), and glucose reabsorption ( $D_1/D_0$ ) were calculated. The visceral peritoneum tissues of rats were stained with hematoxylin-eosin(H-E) and Masson trichrome staining to observe the changes of peritoneal morphology. Blood vessels and leukocytes of peritoneum were quantified as  $n/mm^2$  within the histological sections with H-E staining. The expression of TGF- $\beta_1$  and  $\alpha$ -SMA in the parietal peritoneum was detected by immunohistochemistry assay. **Results** Compared with the control group, the numbers of peritoneal vessels, leukocytes, peritoneal thickness, and the expressions of TGF- $\beta_1$  and  $\alpha$ -SMA were significantly higher in the model group and DMSO group ( $P<0.05$ ). Administration of RGZ improved the above changes and significantly decreased the expression of TGF- $\beta_1$  and  $\alpha$ -SMA in the model and DMSO groups ( $P<0.05$ ). Compared with the control group, the UF and  $D_1/D_0$  were significantly lower and  $D/P_{urea}$  was significantly higher in the rest five groups ( $P<0.05$ ), and there were no significant differences between the low-dose RGZ group and the high-dose RGZ group ( $P>0.05$ ). **Conclusion** Administration of rosiglitazone can effectively

**[收稿日期]** 2010-11-26**[接受日期]** 2010-12-28**[基金项目]** 福建省科技厅重点资助项目(2008Y0085), Supported by Commission of Science and Technology of Fujian Province(2008Y0085).**[作者简介]** 林沁,博士,副教授、副主任医师,硕士生导师。

\* 通信作者(Corresponding author). Tel: 0591-22859727, E-mail: lqin69@hotmail.com

protect the ultrafiltration function of peritoneum during peritoneal dialysis and delay the progression of peritoneal fibrosis.

[Key words] rosiglitazone; peritoneal fibrosis; peritoneal dialysis

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2011, 32(2): 144-149]

腹膜透析(peritoneal dialysis, PD)是终末期肾病的有效治疗方法之一,以其简便及能较好地保护残余肾功能等优点而受到欢迎。但长期腹膜透析治疗常出现腹膜纤维化,而腹膜功能与腹膜纤维化的严重程度密切相关,由腹膜纤维化最终导致的腹膜超滤衰竭是持续性非卧床腹膜透析患者退出治疗的主要原因<sup>[1]</sup>。因此预防和延缓腹膜纤维化仍是保证长期腹膜透析患者透析成功的关键。

罗格列酮(rosiglitazone, RGZ)是一种在2型糖尿病中广泛使用的胰岛素增敏剂,属噻唑烷二酮类药物,其在肾脏<sup>[2]</sup>、肝脏<sup>[3]</sup>及肺<sup>[4]</sup>等多个器官被证实有抗纤维化作用。体外研究发现噻唑烷二酮类药物能够抑制高糖或脂多糖诱导的腹膜间皮细胞分泌转化生长因子 $\beta_1$ (transforming growth factor  $\beta_1$ , TGF- $\beta_1$ )和纤维连接蛋白(fibronectin, FN)表达,由此可能改善腹膜纤维化<sup>[5]</sup>。有资料显示RGZ能够缓解脂多糖诱导的大鼠腹膜炎反应<sup>[6]</sup>。近来Bozkurt等<sup>[7]</sup>证实通过口服RGZ能改善葡萄糖酸氯己定诱导的大鼠包裹性腹膜硬化。但关于腹腔给予RGZ对无菌性腹膜纤维化的防治作用,国内外报道尚少。本研究采用高糖+红霉素制作慢性腹膜透析无菌性腹膜纤维化的大鼠模型<sup>[8]</sup>,腹腔给予RGZ,观察其对腹膜结构和功能的作用,为今后可能的临床应用提供依据。

## 1 材料和方法

1.1 动物模型的建立 SPF级雄性SD大鼠(购自上海斯莱克实验动物有限责任公司)50只,体质量160~180 g,采用随机数字表法将大鼠随机分为6组。适应性饲养7 d后,除空白对照组外其余大鼠均在腹腔内插入自制腹透管,按实验分组进行每日1次的腹膜透析,共持续5周。分组如下:(1)空白对照组( $n=5$ ),未予任何处理;(2)生理盐水(NS)组( $n=9$ ),以0.9% NS 20 ml+与治疗药物(RGZ)等体积的0.9% NS;(3)模型组( $n=9$ ),含4.25%葡萄糖的腹膜透析液(PDF) 20 ml+红霉素6.25万单位(第7、14、21、28天加入PDF中)+与治疗药物(RGZ)等体积的0.9% NS;(4)二甲基亚砜(DMSO)组(因RGZ需用DMSO溶解后使用,故设计此溶媒对照组)( $n=9$ ),含4.25%葡萄糖的PDF 20 ml+红霉素6.25万单位(第7、14、21、28天加入PDF中)+与治疗药物(RGZ)等体积的含DMSO的0.9% NS;(5)低浓度RGZ组( $n=$

9),含4.25%葡萄糖的PDF 20 ml+红霉素6.25万单位(第7、14、21、28天加入PDF中)+RGZ 1.5 mg/kg;(6)高浓度RGZ组( $n=9$ ),含4.25%葡萄糖的PDF 20 ml+红霉素6.25万单位(第7、14、21、28天加入PDF中)+RGZ 15 mg/kg。

1.2 腹水培养、细胞计数及生化检测 停止透析48 h后,大鼠行1 h腹膜平衡试验(每只大鼠腹腔注射含4.25%葡萄糖的PDF 25 ml)。1 h后沿腹白线打开腹腔,准确计量腹腔内的液体量,计算超滤量(UF)。在无菌条件下用一次性无菌注射器抽取腹水进行腹水培养、白细胞计数及生化检测,同时经下腔静脉采血。采用终点法测定透出液尿素氮( $D_{urea}$ )、血浆尿素氮( $P_{urea}$ )、初始腹透液葡萄糖( $D_0$ )及透出液葡萄糖( $D_1$ ),并计算透出液与血浆尿素氮的比值( $D/P_{urea}$ )、初始腹透液与透出液葡萄糖比值( $D_1/D_0$ )。采用血细胞计数板高倍镜下计算腹膜透出液中白细胞数。使用全自动生化分析仪检测血糖、血脂、血尿素氮及腹透液中尿素氮和葡萄糖的含量。

1.3 常规组织病理学检查 取腹部切口对侧壁层腹膜,经10%中性甲醛溶液固定后制成4  $\mu$ m石蜡切片,行H-E染色及Masson染色。H-E染色后在200倍镜下,对每张切片随机选取10个不同视野,采用半定量分析方法计算单位面积腹膜组织中的血管数。在400倍镜下,对每张切片随机选取10个不同视野,采用半定量分析方法计算单位面积腹膜组织中炎症细胞数。Masson染色后每张切片随机选取10个不重叠高倍镜视野,采用Image-Pro Plus 6.0图像分析系统测量间皮下蓝绿色的纤维组织厚度,每视野随机测量3个数值,取平均值作为判断厚度的标准。

1.4 免疫组化染色 4  $\mu$ m石蜡切片60℃烤片过夜,常规脱蜡水化,3%  $H_2O_2$ 室温孵育10 min,蒸馏水洗3 min $\times$ 3次,抗原热修复30 min,自然冷却后PBS洗3 min $\times$ 3次,正常非免疫动物血清封闭,37℃下孵育20 min,倾去血清,勿洗,滴加适当稀释的一抗,4℃过夜,室温下复温1 h后PBS洗2 min $\times$ 3次,滴加超敏二步法检测试剂盒中Polymer Helper,37℃孵育20 min,PBS洗2 min $\times$ 3次,滴加相应辣根过氧化物酶标记二抗,37℃孵育20 min,PBS洗2 min $\times$ 3次,DAB显色,在显微镜下观察,当目标部位已显色而背景不明显时,自来水冲洗终止反应。苏木精复染,流水洗,烤干,封片。 $\alpha$ -平滑肌肌动蛋

白(smooth muscle actin, SMA)未行抗原热修复及苏木精复染。镜下观察细胞,以出现棕褐色为阳性反应。同一个指标所有组织切片均予同一次染色。每张切片在400倍下随机选择10个不同随机视野进行图像采集。使用Image-Pro Plus 6.0图像分析系统对结果进行分析。阳性强度量化为壁层腹膜内所有阳性染色的累积光密度(D)值除以壁层腹膜面积(area)而得出的平均光密度值(mean density),平均光密度值越大,即抗原的表达水平越高,反之则抗原表达水平越低。

1.5 统计学处理 采用SPSS 11.5统计软件包,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析。检

验水准( $\alpha$ )为0.05。

## 2 结果

2.1 实验大鼠一般情况 在45只大鼠行5周腹膜透析期间,相继有4只大鼠出现腹透管部分或完全堵塞,5只大鼠诊断为腹膜炎(腹水培养阳性或腹水常规白细胞总数大于 $1\ 000 \times 10^6/\text{ml}$ ),均不纳入分析,其余大鼠均顺利完成透析。开始实验时及处死前各组大鼠体质量差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。

2.2 大鼠血糖、血脂情况 经透析治疗5周后,各组大鼠血糖、三酰甘油、总胆固醇及低密度脂蛋白胆固醇差异均无统计学意义( $P > 0.05$ ,表1)。

表1 各组大鼠血糖和血脂情况

Tab 1 Levels of plasma glucose and serum lipids in each group

( $\bar{x} \pm s, c_B/[\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}]$ )

Group	n	Plasma glucose	Triglyceride	Total cholesterol	Low density lipoprotein cholesterol
Control	5	11.20±1.46	0.64±0.11	1.60±0.25	0.47±0.06
Normal saline	8	10.08±1.48	0.71±0.14	1.57±0.22	0.54±0.04
Model	9	11.70±0.80	0.63±0.20	1.64±0.15	0.46±0.05
DMSO	6	10.44±0.73	0.66±0.18	1.58±0.26	0.50±0.08
Low-dose RGZ (1.5 mg/kg)	7	10.69±0.98	0.67±0.14	1.72±0.13	0.52±0.10
High-dose RGZ (15 mg/kg)	6	11.02±0.98	0.70±0.11	1.63±0.21	0.44±0.06

2.3 腹膜功能改变 与空白对照组比较,NS组、模型组、DMSO组、低浓度RGZ组及高浓度RGZ组的超滤量(UF)和初始腹透液与透出液葡萄糖比值( $D_1/D_0$ )明显减少,透出液与血浆尿素氮比值( $D/P_{\text{urea}}$ )

明显增加( $P < 0.05$ );与NS组、低浓度RGZ组及高浓度RGZ组比较,DMSO组及模型组的超滤量和 $D_1/D_0$ 明显减少, $D/P_{\text{urea}}$ 明显增加( $P < 0.05$ ,表2)。

表2 各组腹膜功能检测结果

Tab 2 Peritoneum function of animals in each group

( $\bar{x} \pm s$ )

Group	n	UF V/ml	$D_1/D_0$	$D/P_{\text{urea}}$
Control	5	11.8±2.1	0.76±0.02	0.56±0.03
Normal saline	8	9.3±2.3* $\Delta$	0.65±0.13* $\Delta$	0.65±0.07* $\Delta$
Model	9	6.7±0.8*	0.54±0.07*	0.73±0.03*
DMSO	6	6.5±1.7*	0.52±0.07*	0.75±0.06*
Low-dose RGZ (1.5 mg/kg)	7	8.9±1.1* $\Delta$	0.63±0.05* $\Delta$	0.65±0.02* $\Delta$
High-dose RGZ (15 mg/kg)	6	9.2±1.1* $\Delta$	0.66±0.10* $\Delta$	0.65±0.07* $\Delta$

UF: Ultrafiltration volume;  $D_1/D_0$ : Glucose reabsorption;  $D/P_{\text{urea}}$ : Dialysate-to-plasma urea ratio; \*  $P < 0.05$  vs Control group;  $\Delta P < 0.05$  vs Model group and DMSO group

2.4 腹膜大体形态学改变 肉眼观察空白对照组大鼠肠系膜清晰、薄而透明,肠系膜血管少;模型组及DMSO组大鼠肠系膜浑浊、增厚而不透明,肠系膜血管明显增多;NS组、低浓度RGZ组及高浓度RGZ组则介于两者之间。

2.5 壁层腹膜H-E染色改变 空白对照组壁层腹膜表面覆盖一层完整扁平的腹膜间皮细胞,间皮下

基质薄,间皮下基质内少见成纤维细胞、炎症细胞及血管;模型组和DMSO组腹膜表面间皮细胞肿胀,核增大,部分间皮细胞脱落,基质裸露,间皮下基质明显增厚,并可见成纤维细胞增生、血管明显增多,伴有大量炎症细胞浸润,主要以淋巴及单核细胞为主;NS组上述改变无模型组及DMSO组严重;而高、低浓度RGZ组上述改变与模型组及DMSO组

相比明显改善 ( $P < 0.05$ , 图 1)。各组炎症细胞和血管计数半定量分析结果见表 3。

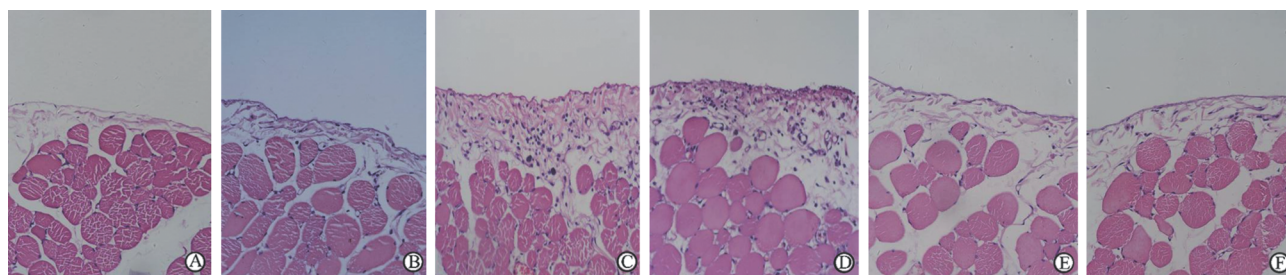


图 1 大鼠壁层腹膜 H-E 染色

Fig 1 H-E staining of anterior abdominal wall

A: Control group; B: Normal saline group; C: Model group; D: DMSO group; E: Low-dose (1.5 mg/kg) RGZ group; F: High-dose (15 mg/kg) RGZ group. Original magnification:  $\times 200$

2.6 壁层腹膜 Masson 染色改变 间皮下基质厚度与空白对照组  $15.2 \mu\text{m}$  相比,模型组和 DMSO 组染成绿色的间皮下基质明显增厚 ( $P < 0.05$ ); NS

组、低浓度 RGZ 组及高浓度 RGZ 组比模型组和 DMSO 组薄 ( $P < 0.05$ ), 但较空白对照组仍厚 ( $P < 0.05$ ), 结果详见图 2、表 3。

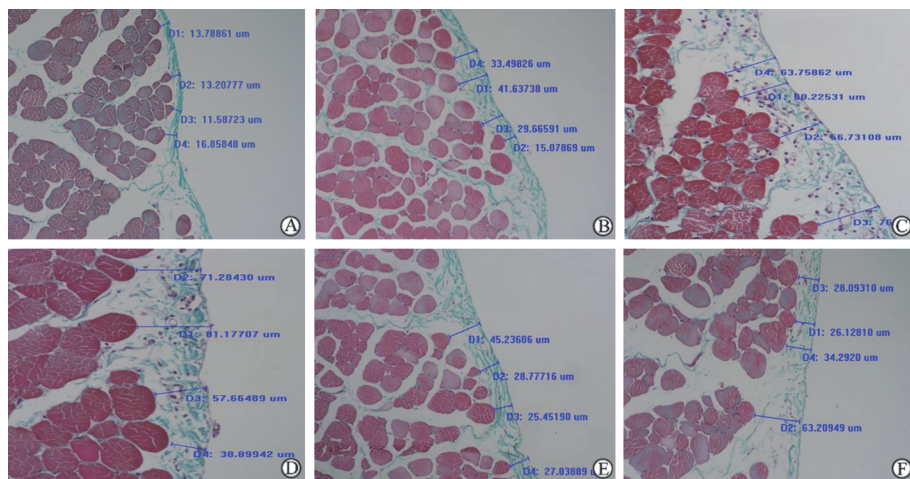


图 2 壁层腹膜 Masson 染色

Fig 2 Masson trichrome staining of anterior abdominal wall

A: Control group; B: Normal saline group; C: Model group; D: DMSO group; E: Low-dose (1.5 mg/kg) RGZ group; F: High-dose (15 mg/kg) RGZ group. Original magnification:  $\times 200$

表 3 各组大鼠腹膜组织学检测结果

Tab 3 Morphological results of rat peritoneum in each groups

Group	n	Thickness of peritoneum $d/\mu\text{m}$	Inflammatory cells ( $n/\text{mm}^{-2}$ )	Vessels ( $n/\text{mm}^{-2}$ )
Control	5	$15.2 \pm 3.1$	$149.5 \pm 39.7$	$28.3 \pm 3.0$
Normal saline	8	$35.4 \pm 7.2^* \Delta$	$244.8 \pm 19.1^* \Delta$	$40.3 \pm 4.9^* \Delta$
Model	9	$54.2 \pm 7.3^*$	$487.3 \pm 24.3^*$	$60.3 \pm 13.8^*$
DMSO	6	$48.5 \pm 5.3^*$	$500.8 \pm 19.7^*$	$66.4 \pm 15.2^*$
Low-dose RGZ (1.5 mg/kg)	7	$37.4 \pm 3.0^* \Delta$	$306.9 \pm 9.1^* \Delta$	$45.7 \pm 12.9^* \Delta$
High-dose RGZ (15 mg/kg)	6	$33.2 \pm 5.7^* \Delta$	$308.4 \pm 28.9^* \Delta$	$46.3 \pm 6.4^* \Delta$

\*  $P < 0.05$  vs Control group;  $\Delta P < 0.05$  vs Model group and DMSO group

2.7 各组大鼠壁层腹膜 TGF-β<sub>1</sub> 和 α-SMA 表达情况 TGF-β<sub>1</sub> 和 α-SMA 在空白对照组壁层腹膜中几无表达或仅微弱表达于血管内皮细胞;模型组和 DMSO 组可见于腹膜间皮细胞、浸润的炎症细胞及血管内皮细胞大量表达; NS 组、低浓度 RGZ 组及高浓度 RGZ 组可见于间皮细胞及炎症细胞处表达。

模型组和 DMSO 组 TGF-β<sub>1</sub> 和 α-SMA 表达量显著高于其他各组 ( $P < 0.05$ ); NS 组、低浓度 RGZ 组及高浓度 RGZ 组显著高于空白对照组 ( $P < 0.05$ ), 低浓度 RGZ 组及高浓度 RGZ 组间比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。结果详见图 3、表 4。

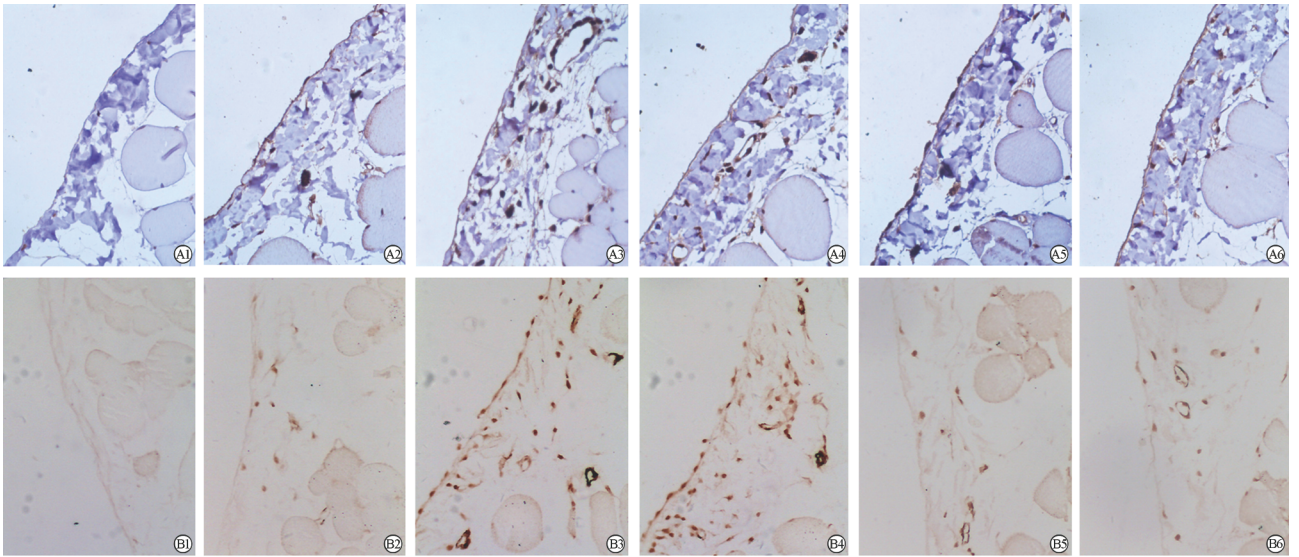


图 3 壁层腹膜 TGF-β<sub>1</sub> 及 α-SMA 免疫组化染色

Fig 3 Immunohistochemistry staining for TGF-β<sub>1</sub> and α-SMA in anterior abdominal wall

A1-A6: TGF-β<sub>1</sub>; B1-B6: α-SMA. A1, B1: Control group; A2, B2: Normal saline group; A3, B3: Model group; A4, B4: DMSO group; A5, B5: Low-dose (1.5 mg/kg) RGZ group; A6, B6: High-dose (15 mg/kg) RGZ group. Original magnification: ×400

表 4 各组大鼠 TGF-β<sub>1</sub> 及 α-SMA 平均光密度值

Tab 4 Average optical densities of TGF-β<sub>1</sub> and α-SMA in each group

( $\bar{x} \pm s$ )

Group	n	TGF-β <sub>1</sub>	α-SMA
Control	5	0.003 6 ± 0.000 6	0.000 8 ± 0.000 3
Normal saline	8	0.011 4 ± 0.002 6*△	0.005 7 ± 0.000 8*△
Model	9	0.031 9 ± 0.003 1*	0.009 6 ± 0.001 3*
DMSO	6	0.032 6 ± 0.002 4*	0.009 0 ± 0.001 2*
Low-dose RGZ	7	0.010 7 ± 0.001 7*△	0.006 1 ± 0.000 9*△
High-dose RGZ	6	0.011 7 ± 0.002 6*△	0.007 0 ± 0.001 1*△

\*  $P < 0.05$  vs Control group; △  $P < 0.05$  vs Model group and DMSO group. Low-dose: 1.5 mg/kg; High-dose: 15 mg/kg

### 3 讨论

腹膜纤维化是由多种病因共同作用引起,目前研究认为透析液中高糖、高渗透压、低 pH 值、葡萄糖降解产物 (glucose degradation products, GDPs)、糖基化终末产物 (advanced glycation end products, AGEs) 以及反复出现的细菌性腹膜炎等都参与了腹膜纤维化的发生发展<sup>[9]</sup>。腹膜纤维化是腹膜透析技

术失败的常见原因之一,所以明确腹膜纤维化的发病机制及寻找包括药物治疗在内的预防和延缓腹膜纤维化的有效方法成为腹膜透析相关研究的热点之一。

目前对于生理盐水灌注对腹膜是否有损害作用尚无统一观点。李建飞等<sup>[10]</sup>报道予大鼠腹腔注射生理盐水 4 周后发现其腹膜功能、腹膜厚度、腹膜 TGF-β<sub>1</sub>、结缔组织生长因子 (connective tissue growth factor, CTGF) 表达与正常大鼠无明显区别,提示生理盐水不会引起腹膜纤维化。但本实验中与空白对照组相比, NS 组大鼠亦出现了壁层腹膜间皮下基质增厚、血管新生、腹膜炎症细胞浸润,超滤量和 D<sub>1</sub>/D<sub>0</sub> 减少、D/P<sub>urea</sub> 增加。其原因可能为插入腹透管出现的损伤引起了腹膜纤维增生反应,而每日灌入生理盐水使这种纤维增生反应持续更久<sup>[11]</sup>。

有研究发现大鼠腹腔注射 1.5 mg/kg RGZ 可以明显减少因高糖透析液及脂多糖诱导的腹膜增厚及炎症细胞浸润,而 0.15 mg/kg 则无明显作用<sup>[10]</sup>。另外有文献报道 0.1 mg/kg 和 0.15 mg/kg RGZ 均不能明显减少腹膜厚度<sup>[7,12]</sup>。结合 RGZ 在啮齿类

动物中控制肠道慢性炎症中的常用剂量为 20~40 mg/kg,考虑抗纤维化作用可能需要较大剂量,因此在预实验中曾采用 30 mg/kg,但 RGZ 在腹透液中出现部分析出,故本实验最终采用了 1.5 mg/kg 和 15 mg/kg 两种浓度,观察 15 mg/kg 是否对改善腹膜纤维化有更好的作用,但病理常规检查及腹膜平衡试验提示两种剂量并无明显差别。考虑其可能原因:(1)RGZ 干预时间不够长,差异还不能显现;(2)高浓度 RGZ 浓度仍不够高;(3)1.5 mg/kg 已是饱和浓度。

各种腹膜损害因素作用于腹膜间皮细胞产生多种细胞因子,在腹膜纤维化起始、发展和维持过程中包括 TGF- $\beta_1$ 、CTGF、成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factors, FGF)、血小板源性生长因子(platelet-derived growth factor, PDGF)在内的各种细胞因子发挥了关键作用,其中以 TGF- $\beta_1$  尤为重要,是腹膜纤维化病理过程中的中心介质,其参与腹膜纤维化起始到维持全过程,诱导上皮-间充质细胞转分化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)<sup>[14]</sup>和血管新生<sup>[15]</sup>,而腹膜间皮细胞发生 EMT 在腹膜纤维化过程起关键作用<sup>[16]</sup>。本实验中模型组大鼠腹膜在腹透管、高糖腹膜透析液及红霉素这 3 种腹膜损害因素共同作用下,腹膜间皮细胞受损,腹膜炎细胞浸润, TGF- $\beta_1$  表达上调。在细胞因子和损害因素作用下腹膜间皮细胞发生 EMT 并分化为成纤维细胞,表现为腹膜间皮细胞表达  $\alpha$ -SMA,并产生过量细胞外基质沉积于腹膜,最终腹膜纤维化而超滤衰竭。在腹腔给予 RGZ 5 周后炎症细胞浸润数和血管数明显减少,EMT 及腹膜纤维化减轻。大鼠腹腔注射 RGZ 后,壁层腹膜 TGF- $\beta_1$  表达明显降低。研究结果与 Song 等<sup>[6]</sup>报道基本一致。

本实验结果提示,腹腔给予大鼠 RGZ 能较好地改善腹膜功能,增加腹膜超滤量,改善腹膜的高滤过状态, RGZ 能减少腹膜炎细胞浸润和血管过度增生,并通过下调 TGF- $\beta_1$  表达而抑制腹膜间皮细胞 EMT,对腹膜透析相关性腹膜纤维化具有较好的保护作用。然而 RGZ 如何下调 TGF- $\beta_1$  表达的具体机制仍有待进一步的研究探明。此外,本实验中大鼠腹膜透析持续 5 周,仅是一个短期实验,需要设计长期实验来观察 RGZ 对腹膜纤维化的长期作用。

## [参考文献]

[1] Garosi G. Different aspects of peritoneal damage: fibrosis and sclerosis[J]. *Contrib Nephrol*, 2009, 163: 45-53.

- [2] 林沁,马骥,顾勇,杨海春,朱蔚钰,林善锁. 单侧输尿管梗阻大鼠肾脏过氧化物酶体增生生物激活受体- $\gamma$  的表达及其意义[J]. *肾脏病与透析肾移植杂志*, 2003, 12: 126-131.
- [3] Zhao C, Chen W, Yang L, Chen L, Stimpson S A, Diehl A M. PPAR $\gamma$  agonists prevent TGF $\beta$ 1/Smad3 -signaling in human hepatic stellate cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, 350: 385-391.
- [4] Burgess H A, Daugherty L E, Thatcher T H, Lakatos H F, Ray D M, Redonnet M, et al. PPAR $\gamma$  agonists inhibit TGF- $\beta$ 1 induced pulmonary myofibroblast differentiation and collagen production: implications for therapy of lung fibrosis[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2005, 288: L1146-L1153.
- [5] 刘虹,彭佑铭,刘伏友,刘映红,李玲艳,李军,等. Troglitazone 对人腹膜间皮细胞 TGF- $\beta$ 1 和纤维连接蛋白表达的影响[J]. *中南大学学报:医学版*, 2007, 32: 473-479.
- [6] Song S H, Kwak I S, Yang B Y, Lee D W, Lee S B, Lee M Y. Role of rosiglitazone in lipopolysaccharide-induced peritonitis: a rat peritoneal dialysis model[J]. *Nephrology (Carlton)*, 2009, 14: 155-163.
- [7] Bozkurt D, Taskin H, Sezak M, Bicak S, Sen S, Ok E, et al. Rosiglitazone, a peroxisome proliferator activated receptor agonist, improves peritoneal alterations resulting from an encapsulated peritoneal sclerosis model[J]. *Adv Perit Dial*, 2008, 24: 32-38.
- [8] 卓莉,刘伏友,彭佑铭,周凌辉,刘映红,刘虹,等. 一种新型腹膜纤维化大鼠模型的构建[J]. *中华肾脏病杂志*, 2005, 21: 495-497.
- [9] Kaneko K, Hamada C, Tomino Y. Peritoneal fibrosis intervention[J]. *Perit Dial Int*, 2007, 27: S82-S86.
- [10] 李建飞,刘伏友,刘虹,彭佑铭,李萍. 高糖透析液对大鼠腹膜结缔组织生长因子表达的作用[J]. *中国血液净化*, 2008, 7: 29-32.
- [11] Margetts P J, Kolb M, Yu L, Hoff C M, Gaudie J. A chronic inflammatory infusion model of peritoneal dialysis in rats[J]. *Perit Dial Int*, 2001, 21: S368-S372.
- [12] Yao Q, Pawlaczyk K, Ayala E R, Kuzlan M, Styzynski A, Breborowicz A, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$  agonists diminish peritoneal functional and morphological changes induced by bioincompatible peritoneal dialysis solution[J]. *Blood Purif*, 2006, 24(5-6): 575-582.
- [13] Su C G, Wen X, Bailey S T, Jiang W, Rangwala S M, Keibaugh S A, et al. A novel therapy for colitis utilizing PPAR- $\gamma$  ligands to inhibit the epithelial inflammatory response[J]. *J Clin Invest*, 1999, 104: 383-389.
- [14] Yang J, Liu Y. Dissection of key events in tubular epithelial to myofibroblast transition and its implications in renal interstitial fibrosis[J]. *Am J Pathol*, 2001, 159: 1465-1475.
- [15] Pepper M S. Transforming growth factor- $\beta$ ; vasculogenesis, angiogenesis, and vessel wall integrity[J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 1997, 8: 21-43.
- [16] Lee H B, Ha H. Mechanisms of epithelial-mesenchymal transition of peritoneal mesothelial cells during peritoneal dialysis[J]. *J Korean Med Sci*, 2007, 22: 943-945.