

COX-2 在 MCD 饮食诱导的脂肪性肝纤维化中的作用及与 PPAR α 的关系

王世研¹, 高向东¹, 李宝琴², 贾彦红²

(1. 中国药科大学 生命科学与技术学院, 江苏 南京 210009; 2. 河北医科大学 第一医院, 河北 石家庄 050031)

摘要:探讨了 COX-2 在胆碱蛋氨酸缺乏(MCD)诱导的脂肪性肝纤维化模型中的表达变化以及与过氧化物酶体增殖物激活受体 α (PPAR α)的相互作用. 雄性野生型小鼠(C57BL/6N)或 PPAR α ^{-/-} 分别给予 MCD 饮食, MCD 对照饮食 8 或 9 周. 第 1 治疗组给予 MCD 饮食 51 d 后加用选择性 PPAR α 激动剂匹立尼酸(Wy-14,643)5 d 或 12 d. 第 2 治疗组给予 MCD 饮食 7 周后加用选择性 COX-2 抑制剂(塞来昔布)1 或 2 周. COX-2 在 MCD 饮食诱导的脂肪性肝纤维化模型中被大量诱导表达, 选择性 PPAR α 激动剂(Wy-14,643)的短期治疗显著降低 COX-2 表达和炎症因子 TNF- α 和 IL-6 以及重要致纤维化细胞因子 TGF- β 1 mRNA 表达量. 选择性 COX-2 抑制剂塞来昔布的短期治疗可明显减少脂肪性肝纤维化野生型小鼠的脂肪病变和炎症反应, 降低血清 ALT 水平, 但是塞来昔布对 PPAR α ^{-/-} 小鼠无效. 因此, COX-2 在脂肪性肝纤维化病理进程中有十分重要的作用. 选择性激动剂 PPAR α 显著下调 COX-2 表达, 而选择性 COX-2 抑制剂通过对 PPAR α 激活而改善脂肪性肝纤维化病变.

关键词:环氧化酶; 过氧化物酶体增殖物激活受体 α ; 脂肪性肝纤维化; 胆碱蛋氨酸缺乏饮食; 塞来昔布

中图分类号: Q 786

文献标识码: A

文章编号: 1000-1565(2008)04-0414-09

Role of COX-2 in MCD Diet Induced Fibrosis and Its Corelation with PPAR α

WANG Shi-yan¹, GAO Xiang-dong¹, LI Bao-qin², JIA Yan-hong²

(1. College of Life Science and Technology, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China;

2. The First Affiliated Hospital, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050031; China)

Abstract: We explored whether COX-2 can exert a proinflammatory role and has a interaction with PPAR α in MCD diet-induced fibrosis. Male wide-type mice (C57BL/6N background) or PPAR α ^{-/-} were fed MCD diet or control diet for 8 weeks or 9 weeks. In mice fed MCD diet, expression of COX-2 mRNA and protein were massively induced. Induction of COX-2 was completely prevented by 5-day or 12-day treatment of PPAR α agonist Wy-14,643. Wy-14,643 also significantly down-regulated expression of proinflammatory factors TNF- α and IL-6 mRNA and important profibrogenic cytokine TGF- β 1 mRNA. After one-week or two-week treatment of selective COX-2 inhibitor Celecoxib, serum ALT levels were significantly reduced and steatohepatitis were less severe in wide-type mice but not in PPAR α ^{-/-} mice. COX-2 plays a very important role in the progression of

收稿日期: 2008-01-15

第一作者: 王世研(1982-), 女, 河北保定人, 中国药科大学在读硕士研究生, 主要从事消化系统疾病机理的研究

通讯作者: 高向东(1963-), 女, 河北安平人, 中国药科大学教授, 主要从事生物新药、多糖的结构与功能研究及衰老的分子生物学研究.

steatohepatitis and fibrosis. Activation of PPAR α down-regulates the expression of COX-2 while treatment of selective COX-2 inhibitor ameliorates fibrosing steatohepatitis via activating PPAR α .

Key words: Cyclooxygenase; peroxisome proliferator activated receptor alpha; steatohepatitis; fibrosis; methionine and choline deficient diet; Celecoxib

非酒精性脂肪肝病(NAFLD)是一种进展性肝疾病,其发展始于脂肪肝,经脂肪性肝炎,而后演变成肝纤维化和肝硬化^[1]. NAFLD的病理分子机制尚不完全清楚,也无有效治疗方法. 目前,认为肝过度摄入脂肪和氧化应激在NAFLD的病理发展过程中有十分重要的作用^[1-2]. 过度的脂肪堆积可直接内质网应激(ER)或脂质过氧化引发氧化应激,激活炎症反应性通路中的关键因子 c-jun 氨基末端激酶(JNK)和核因子 NF- κ B^[3]. JNK 和 NF- κ B 进而激发炎症反应,导致产生大量的前炎症因子 TNF- α , IL-6 等^[4]. 这些前炎症因子可进一步扩大氧化应激反应^[5]. 因此,这些因子在扩大炎症反应和肝损伤中起着重要作用.

环氧化酶(COX)是花生四烯酸转变成前列腺素 H₂ 的关键限速酶,而前列腺素 H₂ 是多种活性化合物(如多种前列腺素,前列环素和血栓素)的前体化合物. 在正常肝细胞中,COX-1 呈组成性表达,而 COX-2 表达量极低. COX-2 可迅速被多种因子诱导表达,这些因子包括氧化应激、多种细胞因子等^[6]. 近年来研究发现,COX-2 在肝硬化^[7]、肝癌^[8]中表达上调. 而 COX-2 在酒精性脂肪肝炎模型^[9]、非酒精性脂肪性肝炎模型^[6]和肝纤维化模型^[10,11]中也有重要作用. 但是,COX-2 在 MCD 饮食诱导的脂肪性肝纤维化模型中的表达和作用还未有研究报道. MCD 引起的脂肪性肝炎模型最初由 Shinozuka 提出,在该模型中脂肪性肝炎发展速度较快,3 周左右可见明显的脂肪性肝炎病变,8 周可见肝纤维化,其引起的病理病变与人类的非酒精性脂肪性肝炎类似^[12].

过氧化物酶体增殖物激活受体 α (PPAR α)在肝脏的脂肪氧化,代谢和炎症反应中都有重要作用^[13]. PPAR α 可通过调节脂代谢相关重要基因如肝型脂肪酸结合蛋白、酰基辅酶 A 氧化酶和细胞色素 P450 等加速肝脂肪摄取,促进脂肪氧化^[14-15]. Wy-14,643 的短期治疗可大大逆转 MCD 饮食诱导的脂肪性肝炎和肝纤维化^[16],但 PPAR α 对脂肪性肝纤维化模型中 COX-2 及相关炎症因子的表达变化的影响还尚未被研究.

因此,在此研究中笔者将探讨 COX-2 在 MCD 饮食诱导的脂肪性肝纤维化模型中的作用以及与 PPAR α 之间的相互作用关系.

1 方法

1.1 饮食和药物

MCD 饮食和 MCD 对照饮食(MCD 饮食加蛋氨酸(3 mg/g)和氯化胆碱(2 mg/g)购于美国(ICN, Aurora, OH). 选择性 PPAR α 激动剂 Wy-14,643 购于 Chemsyn Laboratories, Lenexa, KS; 选择性 COX-2 抑制剂塞来昔布(Celecoxib)购于 Searle&Co. (Caguas, Puerto Rico).

1.2 动物处理方法

选用雄性 8~10 周大的野生型(C57BL/6N)和 PPAR $\alpha^{-/-}$ C57BL/6N 小鼠并分组如下:

实验一

野生型 C57BL/6N 小鼠随机分为 5 组. 组 1:MCD 对照饮食 8 周;组 2:MCD 饮食 8 周;组 3:MCD 饮食 51 d 后加用质量分数为 0.1% 的 Wy-14,643 5 d(共 8 周);组 4:MCD 饮食 9 周;组 5:MCD 饮食 51 d 后加用质量分数为 0.1% 的 Wy-14,643 12 d(共 9 周).

实验二

野生型和 PPAR $\alpha^{-/-}$ C57BL/6N 小鼠分别随机各分为 6 组. 组 I:MCD 对照饮食 8 周;组 II:MCD 饮食 8 周;组 III:MCD 饮食 7 周后加用质量分数为 0.15% 的塞来昔布 1 周(共 8 周);组 IV:MCD 对照饮食 9 周;组 V:MCD 饮食 9 周;组 VI:MCD 饮食 7 周后加用质量分数为 0.15% 塞来昔布 2 周(共 9 周).

实验时间结束时,实验小鼠麻醉后心脏取血并处死,迅速切下肝脏,称重,并从肝叶切取 2 块 1 cm×2 cm 大小肝组织,乙醇脱水后,放入体积分数为 10% 中性甲醛液固定,石蜡包埋,切片后用于苏木素-伊红染色.血液标本取血清置于-80℃冰箱保存.其他肝脏组织迅速置于液氮中冻存备用.

1.3 肝组织相关基因 mRNA 表达的测定

肝组织总 RNA 提取用 TRIzol 试剂盒(Invitrogen, Carlsbad, CA)一步提取法.使用 SuperScript™Ⅲ 反转录酶试剂盒(Invitrogen)对 5 μg 总 RNA 进行逆转录合成 cDNA. COX-1 和甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)的 PCR 反应条件:94℃初始变性 3 min, 94℃模版变性 20 s, 55℃引物退火 30 s, 72℃引物延伸 30 s, 27 个循环后 72℃延伸 5 min. COX-2 的 PCR 反应条件:94℃初始变性 3 min, 94℃模版变性 20 s, 57℃引物退火 30 s, 72℃引物延伸 30 s, 30 个循环后 72℃延伸 5 min. 1.5% 琼脂糖凝胶电泳分离 PCR 产物,溴化乙锭(EB)溶液中染色,清水漂洗后置于紫外透射仪上观察电泳条带结果,并照相记录.使用 SYBR Green(SYBR-Green Master Mix, Applied Biosystems, Foster, CA)实时荧光定量方法测定 TNF-α, IL-6, IL-1β 和 TGF-β mRNA 表达水平. ABI Prism 7000 型定量 PCR 仪(ABI PRISM® 7700 Sequence Detection System, Applied Biosystems)实施实时荧光定量 PCR 反应.其中, GAPDH mRNA 作为内参.引物序列设计见表 1.

表 1 肝组织炎症相关基因的引物序列

Tab.1 Primer sequence of the genes related with steatohepatitis

基因	Genebank 序列号	引物序列
COX-1	NM017043	F 5'-CTTGCACAACACTTCACCCACC-3'
		R 5'-AGCAACCCAAACACCTCTGG-3'
COX-2	XM192868	F TGCTGGAAAAGGTTCTTCTACGG-3'
		R GAACCCAGGTCCTCGCTTATG-3'
GAPDH	XM132897	F 5'-AACGACCCCTTCATTGAC-3'
		R 5'-TCCACGACATACTCAGCA-3'
TNF-α	NM013693	F 5'-CACGTCGTAGCAAACCAACAA-3'
		R 5'-CCCATTCCCTTCACAGAGCAA-3'
IL-6	NM031168	F 5'-GCCTATTGAAAATTTCTCTCTG-3'
		R 5'-GTTTGCCGAGTAGATCTC-3'
IL-1β	BC011437	F 5'-GACAGTGATGAGAATGACC-3'
		R 5'-CTCCACTTTGCTCTTGAC-3'
TGF-β	NM011577	F 5'-ATGCTAAAGAGGTCACCC-3'
		R 5'-CAAAGACAGCCACTCAG-3'

1.4 Western-blot 免疫印迹法检测肝组织 COX-2 蛋白表达

将肝组织放入含蛋白酶抑制剂(Protease inhibitor cocktail, Roche, Indianapolis, IN)的 CytoBuster™蛋白抽提试剂(Cytobuster protein extraction buffer, Novagen)中匀浆化,离心并取上清液,即得肝组织蛋白.通过 Bio-Rad 蛋白测定试剂盒(Bradford Protein Assay, Bio-rad, Hercules, CA, USA)测定蛋白含量.取蛋白 25 mg 在 50 g/L 的 SDS-聚丙烯酰胺凝胶(SDS-PAGE)积层胶和 120 g/L 分离胶电泳,电转移法将蛋白转移至聚偏二氟乙烯膜(PVDF 膜, Amersham Corporation, Louisville, KY)上,而后将膜浸入 50 g/L 脱脂奶粉溶液中 1 h, TBST 液洗 3 遍后浸入含 COX-1 或 COX-2 抗体(稀释倍数 1:1 000, Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA)或 β 肌动蛋白抗体(β-actin)(稀释倍数 1:5 000, Santa Cruz Biotechnology)的 TBST 液中 4℃过夜.与二

抗孵育后,用增强化学发光法(ECL,Amersham Corporation,Louisville,KY)进行显影. β -actin作为内参.应用激光光密度扫描仪读取X线胶片显示的特异蛋白信号相对积分吸光度值.通过图象分析系统分析比较COX-2蛋白条带与内参蛋白的光密度值,取二者比值.

1.5 肝组织病理学检查

HE切片光镜下评估肝脏脂肪变性程度和炎症活动情况.肝脏脂肪变性标准按肝小叶内含脂滴细胞数占总细胞数的百分比,计分为0:0%;1:1%~25%;2:26%~50%;3:51%~75%;4:>75%.炎症活动情况依次计分为0:无炎症反应;1:轻度炎症反应;2:中度炎症反应;3:重度炎症反应.

1.6 血清ALT检测

使用分光光度法(Spectrophotometric assay kits,sigma)对血清ALT水平进行检测.

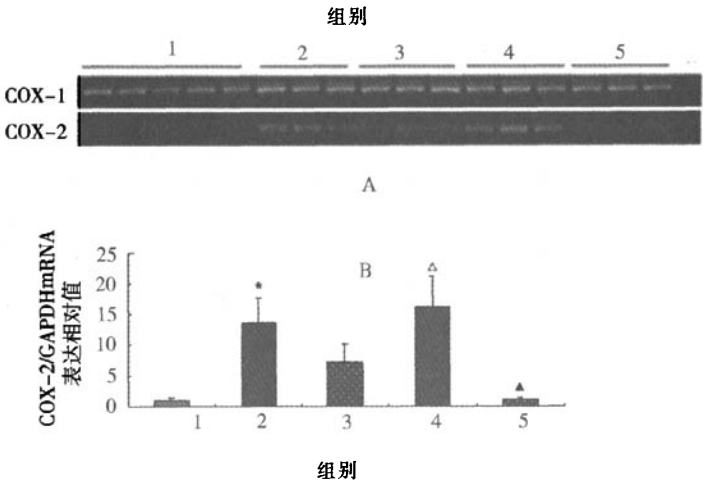
1.7 统计方法

使用SPSS11.5软件(10.0版)进行统计学分析.记数资料用平均值 \pm SE表示.2组之间的比较用独立T检验,多于2组的组群比较用单因子变异分析(1-Way ANOVA).统计学显著性用双侧检验 $P<0.05$.

2 结果

2.1 脂肪性肝纤维化过程中COX-2表达显著上调

长期给予MCD饮食(8到9周)可引起严重的脂肪性肝炎和渐进性的肝纤维化.MCD对照饮食组和MCD饮食组(8周组和9周组)的COX-1 mRNA和蛋白表达没有变化(图1A).COX-2 mRNA在MCD对照饮食组中表达量极低,而在MCD饮食组(8周组和9周组)中显著升高分别达13.5倍($p=0.045$)和16.1倍($p=0.012$)(图1).Westernblot结果显示,与mRNA结果趋势一致,COX-2蛋白表达量在长期给予MCD饮食(8周和9周)后,相比于MCD对照饮食组明显上调(图2).

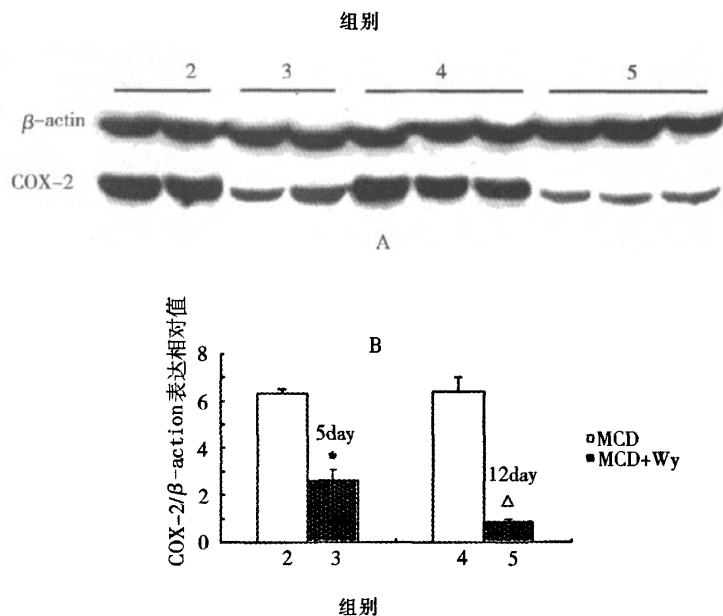


A. COX-2 mRNA 半定量 PCR 表达结果;B. COX-2 mRNA 定量 PCR 表达结果

组1:对照组;组2:MCD饮食8周;组3:MCD饮食8周后加用5d Wy-14,643;组4:MCD饮食9周;组5:MCD饮食9周后加用12d Wy-14,643.* $P<0.05$,组2vs组1;^ $P<0.05$,组4vs组1;^ $P<0.05$,组5vs组4.

图1 PPAR α 激动剂(Wy-14,643)显著下调脂肪性肝纤维化过程中COX-2 mRNA的诱导表达

Fig.1 PPAR α agonist Wy-14,643 significantly down-regulated the expression of COX-2 mRNA in MCD diet induced fibrosing steatohepatitis



A. COX-2 蛋白表达结果;B. COX-2 与 β -actin 蛋白表达量相对值

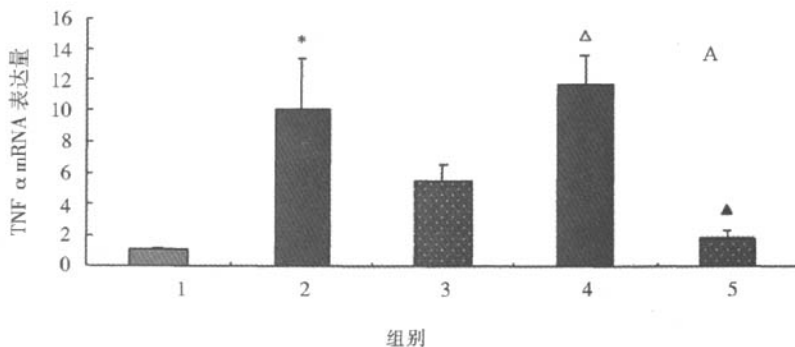
组 2:MCD 饮食 8 周;组 3: MCD 饮食 8 周后加用 5 d Wy-14,643;组 4:MCD 饮食 9 周;
组 5:MCD 饮食 9 周后加用 12 d Wy-14,643. * $P < 0.05$, 组 3 vs 组 2; Δ $P < 0.05$, 组 5 vs 组 4

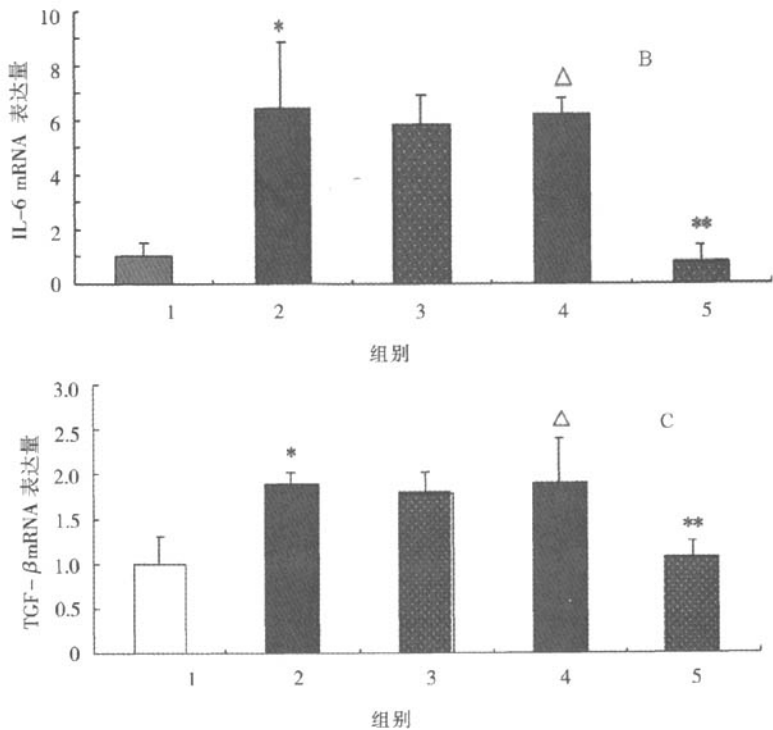
图 2 PPAR α 激动剂 (Wy-14,643) 显著抑制脂肪性肝纤维化模型中 COX-2 蛋白的诱导表达

Fig.2 PPAR α agonist Wy-14,643 significantly down-regulated the expression of COX-2 protein in MCD diet induced fibrosing steatohepatitis.

2.2 选择性 PPAR α 激动剂 Wy-14,643 下调 COX-2 和其他炎症相关因子

MCD 饮食 51 d 加用质量分数为 0.1% 的 Wy-14,643 5 d 显著降低 COX-2 mRNA 和蛋白表达量 ($p = 0.055$), 而 MCD 饮食 51 d 加用质量分数为 0.1% 的 Wy-14,643 12 d 则 COX-2 mRNA 和蛋白表达恢复到接近正常水平 (图 1, 2). 荧光实时定量 PCR 结果表明, 在 MCD 饮食诱导的脂肪性肝纤维化过程中, 随着 COX-2 的大量诱导表达, 炎症因子 TNF- α 和 IL-6 以及重要致纤维化细胞因子 TGF- β 1 的 mRNA 也显著上调 (图 3). 尽管加用 PPAR α 激动剂 Wy-14,643 5 d 对这些细胞因子没有显著作用, 但是, 加用 PPAR α 激动剂 Wy-14,643 12 d 可明显下调 TNF- α 和 IL-6 和 TGF- β 1 mRNA 表达水平 (图 3).



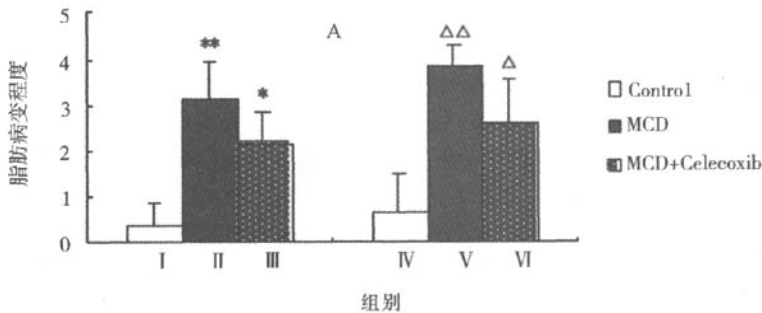


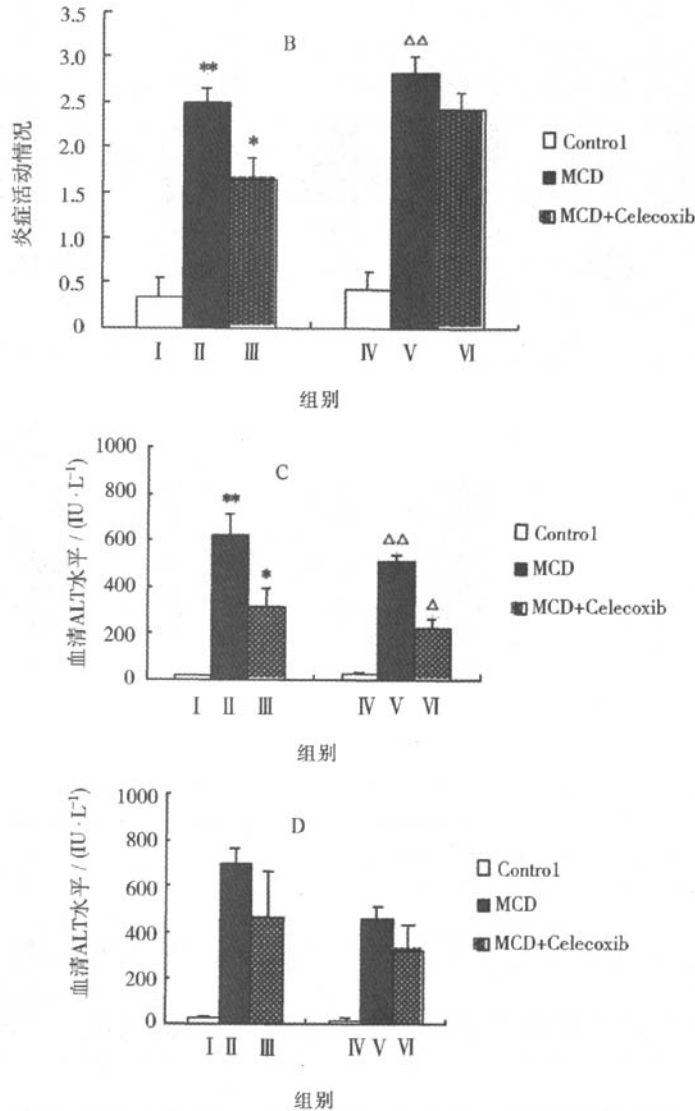
A. Wy-14,643 对 TNF- α 的影响;B. Wy-14,643 对 IL-6 的影响;C. Wy-14,643 对 TGF- β 1 的影响
TNF- α 的 RT-PCR 结果: * $P < 0.05$, 组 2 vs 组 1, $\Delta P < 0.05$, 组 4 vs 组 1, $\Delta P < 0.05$, 组 5 vs 组 4;
IL-6 的 RT-PCR 结果: * $P < 0.05$, 组 2 vs 组 1, $\Delta P < 0.05$, 组 4 vs 组 1, * * $P < 0.01$, 组 5 vs 组 4;
TGF- β 1 的 RT-PCR 结果: * $P < 0.05$, 组 2 vs 组 1, $\Delta P < 0.05$, 组 4 vs 组 1, * * $P < 0.01$, 组 5 vs 组 4

图 3 PPAR α 激动剂 Wy-14,643 对肝纤维化小鼠 TNF- α ,IL-6 和 TGF- β 1 mRNA 表达水平的影响
Fig.3 Effects PPAR α agnist Wy-14,643 on the mRNA expression of
TNF- α , IL-6 and TGF- β 1 in MCD diet induced fibrosing steatohepatitis

2.3 选择性 COX-2 抑制剂 (Celecoxib) 改善肝脏损伤——通过 PPAR α 依赖性途径

肝组织病理学检查结果显示,加用 COX-2 抑制剂 Celecoxib 1 周或 2 周可显著减低 MCD 饮食诱导的肝脏脂肪变性程度(图 4 A).加用 Celecoxib 1 周可显著抑制肝脏的炎症反应(图 4 B).与此相一致,血清 ALT 检测结果表明,加用 COX-2 抑制剂 Celecoxib 1 周组或 2 周组可显著降低 MCD 饮食诱导的野生型小鼠的肝损伤(图 4 C),而在 PPAR $\alpha^{-/-}$ 小鼠中却没有见到这种保护作用(图 4 D).





雄性野生型小鼠或 $PPAR\alpha^{-/-}$ 小鼠分为以下 6 组: 组 I: 8 周对照组; 组 II: MCD 饮食 8 周; 组 III: MCD 饮食 8 周后加用 1 周质量分数为 0.15% Celecoxib; 组 IV: 9 周对照组; 组 V: MCD 饮食 9 周; 组 VI: MCD 饮食 9 周后加用 2 周质量分数为 0.15% Celecoxib. A. 野生型小鼠肝组织脂肪变性程度病理学评分. B. 野生型小鼠肝组织炎症活动情况病理学评分. C. 野生型小鼠血清 ALT 水平测定. D. $PPAR\alpha^{-/-}$ 小鼠血清 ALT 水平测定. * $P < 0.01$, 组 II vs 组 I; $\Delta\Delta P < 0.01$, 组 V vs 组 IV; * $P < 0.05$, 组 III vs 组 II; $\Delta P < 0.05$, 组 VI vs 组 V.

图 4 选择性 COX-2 抑制剂 Celecoxib 对野生型小鼠和 $PPAR\alpha^{-/-}$ 小鼠脂肪性肝纤维化病变和肝损伤的作用

Fig.4 Effects of selective COX-2 inhibitor Celecoxib on liver histology and liver damage in wild-type mice and $PPAR\alpha^{-/-}$ mice

3 讨论

在此研究中, 发现长期给予小鼠 MCD 饮食引发肝脏脂肪性纤维化的过程中 COX-2 被大量诱导表达.

已有研究发现,在人肝纤维化和肝硬化^[7,17]和动物肝纤维化模型^[9,18]中,COX-2在其病理过程中都有非常重要的作用.在酒精诱导的大鼠肝损伤模型中发现,Kupffer细胞是COX-2的主要生产细胞,在肝损伤过程中COX-2被大量诱导表达,并伴随着内毒素和TNF- α 上调,脂质过氧化和血栓烷的合成^[18].选择性抑制COX-2显著减轻四氯化碳^[11]或CDAA(胆碱缺乏,L-氨基酸限制)饮食诱导的大鼠肝纤维化^[10].此外,相比于野生型小鼠,内毒素诱发的肝细胞坏死在COX-2^{-/-}小鼠中明显减轻,尽管两种小鼠的TNF- α 表达量一样^[19].肝特异性COX-2转基因小鼠通过激活NF- κ B,诱发炎症因子表达,招募炎性细胞而引发肝炎,而特异性抑制COX-2可阻止这种致炎效应^[20].因此,综合本研究和其他研究结果提示COX-2参与肝脂肪肝纤维化的病理过程并发挥着十分重要的作用.

研究中还发现,加用PPAR α 激动剂Wy-14,643 5或12 d可显著下调MCD饮食诱导的COX-2表达,并明显抑制重要炎症因子TNF- α 和IL-6和重要致纤维化细胞因子TGF- β 1表达.已有研究显示,给予脂肪性肝纤维化小鼠PPAR α 激动剂Wy-14,643 5或12 d,降低肝胶原蛋白 α 1、基质金属蛋白酶抑制剂-1、-2和基质金属蛋白酶-13表达,改善肝纤维化程度,减少肝甘油三酯和过氧化脂质的堆积,抑制炎症反应和炎症细胞的募集^[16].因此,Wy-14,643逆转脂肪性肝纤维化的机理之一是通过抑制COX-2并进而抑制细胞因子TNF- α ,IL-6和TGF- β 1来实现的.

PPAR α 激动剂Wy-14,643在PPAR α ^{-/-}小鼠中无法抑制MCD饮食诱导的COX-2表达^[6],因此,Wy-14,643对COX-2的抑制作用是PPAR α 依赖性的.PPAR α 和COX-2相互作用关系在不同细胞种类和不同刺激条件下而不同.可是,PPAR α 对COX-2的分子抑制机制仍不是十分清楚.COX-2启动子区域含多种转录因子的应答元件,这些转录因子包括NF- κ B、JNK通路的c-jun和环腺苷酸应答元件结合蛋白(CBP)^[21]等.GST融合蛋白沉降实验证明,PPAR α 与c-jun,NF- κ B成员p65和环腺苷酸应答元件结合蛋白(CBP)都有直接的蛋白相互作用^[22].PPAR α 很可能通过抑制这些因子对COX-2的刺激作用而抑制COX-2的诱导表达.一个直接的证据就是,在人结肠癌细胞株SW620中PMA通过AP-1转录因子c-jun激活COX-2转录,PPAR α 激动剂可直接抑制AP-1转录因子c-jun与COX-2启动子的结合而取消PMA的这种诱导作用^[23].因此,在脂肪性肝纤维化过程中,PPAR α 可能至少部分通过抑制c-jun和NF- κ B而下调COX-2.

选择性COX-2抑制剂Celecoxib短期治疗显著改善野生型小鼠脂肪性肝纤维化病变(脂肪变性和炎症反应)和肝损伤,但对PPAR α ^{-/-}小鼠没有影响,因此,选择性COX-2抑制剂Celecoxib对肝脏的改善作用是PPAR α 依赖性的.目前认为,非甾体抗炎药(NSAIDs)重要抗炎机理之一就是PPAR家族的激活作用^[24].多种NSAIDs对PPAR α 有直接激活作用^[25].一些花生四烯酸代谢物也是强效的PPAR α 激动剂^[26],COX是花生四烯酸转变成前列腺素H₂的关键限速酶,NSAIDs可通过COX-2改变花生四烯酸代谢途径而对PPAR α 进行间接激活.因此,Celecoxib改善脂肪性肝纤维化可能是通过,激活内源性PPAR α 来实现的.

总之,COX-2是肝脂肪肝纤维化病理过程中的一个重要调节因子.选择性PPAR α 激动剂显著下调COX-2表达从而改善MCD饮食诱导的肝脂肪肝纤维化,而选择性COX-2抑制剂通过激活内源性PPAR α 而改善脂肪性肝纤维化病变.

参 考 文 献:

- [1] DAY C P, JAMES O F. Steatohepatitis: a tale of two "hits"? [J]. *Gastroenterology*, 1998,114(4):842-845.
- [2] FARRELL G C, LARTER C Z. Nonalcoholic fatty liver disease: from steatosis to cirrhosis[J]. *Hepatology*, 2006,43(Suppl 1): S99-S112.
- [3] HOTAMISLIGIL G S. Role of endoplasmic reticulum stress and c-Jun NH₂-terminal kinase pathways in inflammation and origin of obesity and diabetes[J]. *Diabetes*, 2005,54 (Suppl 2):S73-78.
- [4] POLI G, OLEFSKY J, KARIN M. IKK-beta links inflammation to obesity-induced insulin resistance[J]. *Nat Med*, 2005,11: 191-198.
- [5] RAMADORI G, CHRIST B. Cytokines and the hepatic acute-phase response[J]. *Semin Liver Dis*, 1999,19(2):141-155.
- [6] YU J, IP E, DELA PEÑA A, et al. COX-2 induction in mice with experimental nutritional steatohepatitis: Role as pro-inflam-

- matory mediator[J]. *Hepatology*, 2006, 43(4):826–836.
- [7] CHENG A S, CHAN H L, LEUNG W K, et al. Expression of HBx and COX-2 in chronic hepatitis B, cirrhosis and hepatocellular carcinoma: implication of HBx in upregulation of COX-2[J]. *Mod Pathol*, 2004, 17(10):1169–1179.
- [8] CHI-MAN TANG T, TUNG-PING POON R, FAN S T. The significance of cyclooxygenase-2 expression in human hepatocellular carcinoma[J]. *Biomed Pharmacother*, 2005, 59 (Suppl2):S311–316.
- [9] NANJI A A, ZAKIM D, RAHEMTULLA A, et al. Dietary saturated fatty acids down-regulate cyclooxygenase-2 and tumor necrosis factor alpha and reverse fibrosis in alcohol-induced liver disease in the rat[J]. *Hepatology*, 1997, 26(6):1538–1545.
- [10] YAMAMOTO H, KONDO M, NAKAMORI S, et al. JTE-522, a cyclooxygenase-2 inhibitor, is an effective chemopreventive agent against rat experimental liver fibrosis[J]. *Gastroenterology*, 2003, 125(2):556–571.
- [11] PLANAGUMÀ A, CLÀRIA J, MIQUEL R, et al. The selective cyclooxygenase-2 inhibitor SC-236 reduces liver fibrosis by mechanisms involving non-parenchymal cell apoptosis and PPARgamma activation[J]. *FASEB J*, 2005, 19(9):1120–1122.
- [12] SHINOZUKA H, LOMBARDI B, SELL S, IAMARINO RM. Early histological and functional alterations of ethionine liver carcinogenesis in rats fed a choline-deficient diet[J]. *Cancer Res*, 1978, 38(4):1092–1098.
- [13] AHMED W, ZIOUZENKOVA O, BROWN J, et al. PPARs and their metabolic modulation: new mechanisms for transcriptional regulation? [J]. *J Intern Med*, 2007, 262(2):184–198.
- [14] AOYAMA T, PETERS J M, IRITANI N, et al. Altered constitutive expression of fatty acid-metabolizing enzymes in mice lacking the peroxisome proliferator-activated receptor alpha (PPARalpha)[J]. *J Biol Chem* 1998, 273(10):5678–5684.
- [15] IP E, FARRELL G C, ROBERTSON G, et al. Central role of PPARalpha-dependent hepatic lipid turnover in dietary steatohepatitis in mice[J]. *Hepatology* 2003, 38(1):123–132.
- [16] IP E, FARRELL G, HALL P, et al. Administration of the potent PPARalpha agonist, Wy-14,643, reverses nutritional fibrosis and steatohepatitis in mice[J]. *Hepatology* 2004, 39(5):1286–1296.
- [17] MOHAMMED N A, ABD EL-ALEEM S A, EL-HAFIZ H A, et al. Distribution of constitutive (COX-1) and inducible (COX-2) cyclooxygenase in postviral human liver cirrhosis: a possible role for COX-2 in the pathogenesis of liver cirrhosis[J]. *J Clin Pathol*, 2004, 57(4):350–354.
- [18] NANJI A A, MIAO L, THOMAS P, et al. Enhanced cyclooxygenase-2 gene expression in alcoholic liver disease in the rat[J]. *Gastroenterology*, 1997, 112(3):943–951.
- [19] DINCHUK J E, CAR B D, FOCHT R J, et al. Renal abnormalities and an altered inflammatory response in mice lacking cyclooxygenase II [J]. *Nature*, 1995, 378(6555):406–409.
- [20] YU J, HUI A Y, CHU E S, et al. Expression of a cyclo-oxygenase-2 transgene in murine liver causes hepatitis[J]. *Gut*, 2007, 56(7):991–999.
- [21] MILLER C, ZHANG M, HE Y, et al. Transcriptional induction of cyclooxygenase-2 gene by okadaic acid inhibition of phosphatase activity in human chondrocytes: co-stimulation of AP-1 and CRE nuclear binding proteins[J]. *J Cell Biochem*, 1998, 69(4):392–413.
- [22] DELERIVE P, DE BOSSCHER K, BESNARD S, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor alpha negatively regulates the vascular inflammatory gene response by negative cross-talk with transcription factors NF-kappaB and AP-1 [J]. *J Biol Chem*, 1999, 274(45):32048–32054.
- [23] GRAUR, PUNZÓN C, FRESNO M, et al. Peroxisome-proliferator-activated receptor alpha agonists inhibit cyclo-oxygenase 2 and vascular endothelial growth factor transcriptional activation in human colorectal carcinoma cells via inhibition of activator protein-1[J]. *Biochem J*, 2006, 395(1):81–88.
- [24] SÜLEYMAN H, DEMIRCAN B, KARAGÖZ Y. Anti-inflammatory and side effects of cyclooxygenase inhibitors[J]. *Pharmacol Rep*, 2007, 59(3):247–258.
- [25] LEHMANN J M, LENHARD J M, OLIVER B B, et al. Peroxisome proliferator-activated receptors alpha and gamma are activated by indomethacin and other non-steroidal anti-inflammatory drugs[J]. *J Biol Chem*, 1997, 272(6):3406–3410.
- [26] SHELDRICK EL, DERECKA K, MARSHALL E, et al. Peroxisome-proliferator-activated receptors and the control of levels of prostaglandin-endoperoxide synthase 2 by arachidonic acid in the bovine uterus[J]. *Biochem J*, 2007, 406(1):175–183.

(责任编辑:梁俊红)