

文章编号 1006-8147(2015)03-0223-04

论 著

## 吡格列酮对肥胖小鼠血清抵抗素的影响及其对肾脏的作用

张秋平, 夏天, 王安凤

(天津医科大学第二医院肾内科, 天津 300211)

**摘要** 目的: 观察肥胖小鼠血清抵抗素的水平及其对肾脏的影响, 探讨吡格列酮对抵抗素的调节作用。方法: 肥胖小鼠随机分为模型组(OB组,  $n=8$ )、治疗组(PI组,  $n=8$ ); 同年龄普通小鼠为正常对照组(NC组,  $n=8$ )。PI组给予吡格列酮灌胃, NC组与OB组以等量生理盐水灌胃, 12周后测体质量、24 h尿微量白蛋白(24 h-mALB)、空腹血糖及血清胰岛素、抵抗素, 计算胰岛素抵抗指数; 分离腹腔内脂肪并称重, 计算脂体比(内脏脂肪质量/体质量); 摘取右肾, 光镜下观察肾脏病理变化, 测量肾小球直径。结果: OB组脂体比、24 h-mALB、血清抵抗素、胰岛素抵抗指数较NC组明显增加( $P<0.05$ ); PI组与OB组相比上述指标明显下降( $P<0.05$ ); OB组24 h-mALB与脂体比、抵抗素及胰岛素抵抗指数成正相关( $r_1=0.789, P<0.05; r_2=0.722, P<0.05; r_3=0.896, P<0.05$ ), 抵抗素与脂体比、24 h-mALB及胰岛素抵抗指数成正相关( $r_4=0.792, P<0.05; r_5=0.722, P<0.05; r_6=0.762, P<0.05$ )。结论: 肥胖小鼠血清抵抗素明显升高, 抵抗素可以通过增加胰岛素抵抗而加重肾脏病理改变及蛋白尿, 吡格列酮可以减轻上述改变。

**关键词** 吡格列酮; 肥胖; 抵抗素; 肾脏; 过氧化物酶体增殖物激活受体- $\gamma$ ; 小鼠

中图分类号 R692.9

文献标志码 A

### Effect of pioglitazone on serum resistin and kidney in obesity mice

ZHANG Qiu-ping, XIA Tian, WANG An-feng

(Department of Nephrology, The Second Hospital, Tianjin Medical University, Tianjin 300211, China)

**Abstract** **Objective:** To observe the serum resistin level of obese mice and its effects on kidney, and to study the effect of pioglitazone on resistin. **Methods:** The obese mice were randomly divided into model group (OB group,  $n=8$ ), the treatment group (PI group,  $n=8$ ) and normal control group (NC group,  $n=8$ ). PI group was given pioglitazone gavage while NC group and the OB group were given saline gavage. Twelve-week post-test body weight, 24 h-mALB, fasting blood glucose and serum insulin, resistin, insulin resistance index were measured. Intraperitoneal fat was separated and weighed to calculate body fat ratio (visceral fat mass/body mass). The right kidney was collected, and kidney pathological changes were observed under light microscope. Glomerular diameter was measured. **Results:** The body fat ratio, 24 h-mALB, serum resistin, insulin resistance index in OB group were significantly higher than those in NC group ( $P<0.05$ ). The levels of the indicators decreased after pioglitazone treatment ( $P<0.05$ ). Correlation analysis showed that in OB group the 24 h-mALB was positively correlated with body fat ratio, resistin and insulin resistance index ( $r_1=0.789, P<0.05; r_2=0.722, P<0.05; r_3=0.896, P<0.05$ ) and the resistin levels were positively correlated with body fat ratio, 24h-mALB and insulin resistance index ( $r_4=0.792, P<0.05; r_5=0.722, P<0.05; r_6=0.762, P<0.05$ ). **Conclusion:** Resistin can deteriorate the pathological changes of kidney and increase proteinuria, and pioglitazone can reverse these changes.

**Key words** pioglitazone; obesity; resistin; kidney; peroxisome proliferator-activated receptor - $\gamma$ ; mice

过氧化物酶体增殖物激活受体- $\gamma$  (peroxisome proliferator-activated receptor - $\gamma$ , PPAR $\gamma$ ) 是一种配体激活的核转移因子, 它可以调节糖脂代谢、胰岛素敏感性、脂肪组织内分泌及炎症反应等许多病理生理过程, 其中对脂肪细胞因子的影响及与肥胖相关肾病的关系成为近年来研究的热点<sup>[1]</sup>。肥胖是一种特殊的疾病状态, 可以促进心血管疾病、动脉粥样硬化等多种疾病的发生, 1974年 Weisinger 等首次报道严重肥胖患者出现大量的蛋白尿, 脂肪细胞

因子的改变与其发病机制密切相关。抵抗素作为一种脂肪细胞因子与肥胖相关肾病的发病机制是否有关还不确定, 本研究通过测定肥胖小鼠血清抵抗素水平与24 h尿微量白蛋白(24 h-mALB), 分析抵抗素与肾损伤的关系; 给予 PPAR $\gamma$  激动剂—噻唑烷二酮类药物(thiazolidinediones, TZDs)吡格列酮干预, 评价吡格列酮通过降低血清抵抗素, 改善胰岛素抵抗, 可否起到减少尿蛋白保护肾脏的作用。

### 1 材料与方法

1.1 材料 ob/ob 小鼠、C57BL/6 小鼠及饲料(北京华阜康公司), 尿微量白蛋白试剂盒(深圳迈瑞生物

作者简介 张秋平(1990-), 女, 硕士在读, 研究方向: 内科学肾病; 通信作者: 夏天, E-mail: xiatian01@medmail.com.cn。

医疗电子股份有限公司), 抵抗素、胰岛素测定试剂盒(北京博奥森生物技术有限公司), 血糖试纸及血糖仪(美国强生公司)。

## 1.2 实验方法

1.2.1 动物分组 8 周龄健康雄性 ob/ob 小鼠(遗传性肥胖小鼠)16 只及 C57BL/6 小鼠(普通小鼠)8 只, 普通饲料喂养。适应性饲养 1 周后肥胖小鼠按照体质量分层随机分为肥胖模型组(OB 组,  $n=8$ )和吡格列酮治疗组(PI 组,  $n=8$ ), 普通小鼠作为正常对照组(NC 组,  $n=8$ )。PI 组予 4.5 mg/(kg.d)吡格列酮灌胃(1 次/d), 每周称重 1 次, 调整灌胃剂量; NC 组与 OB 组以等量生理盐水灌胃, 共灌胃 12 周。自由摄取水分及食物。

1.2.2 标本采集 尿液: 应用小鼠代谢笼留取 24 h 尿液, 记尿量, 离心取上清冻存, 测定 24 h-mALB; 血清: 实验结束时小鼠隔夜禁食, 摘眼球取血测空腹血糖, 其余血液离心取上清冻存, 测定空腹血清胰岛素及抵抗素; 迅速分离小鼠腹腔内脂肪并称重, 摘取双侧肾脏称重并计算脂体比=内脏脂肪含量/体质量; 将右肾置于福尔马林中, 行石蜡包埋切片, 用于 HE 染色。

1.2.3 指标测定 血糖试纸测定空腹血糖, 免疫透射比浊法测定 24 h-mALB, 酶联免疫分析法测定抵抗素、空腹胰岛素; 按内环境稳态模型评价(HOMA)计算胰岛素抵抗指数[ $HOMA-IR = (FPG(\text{mmol/L}) \times Fins(\text{mIU/L})) / 22.5$ ]。

1.2.4 肾组织 HE 染色 光镜下观察 HE 染色切片肾脏病理形态变化、组织炎症细胞浸润程度, 取 10 个正切的肾小球切面(即包含肾小球血管极、尿极的最大切面), 测量肾小球直径并取其平均值。

1.3 统计学分析 采用 SPSS 17.0 统计软件进行数据处理和统计学分析。计量资料用  $\bar{x} \pm s$  表示。对数据分别进行单因素方差分析及线性相关分析, 以  $P < 0.05$  为差异有显著性统计学意义。

## 2 结果

2.1 各组小鼠一般情况比较 与对照组相比, 模型组与治疗组小鼠体质量、脂体比明显增加( $P < 0.05$ ); 治疗组与模型组之间上述指标无明显统计学差异( $P > 0.05$ )。见表 1。

2.2 24 h-mALB 与对照组相比, 模型组 24 h-mALB 明显增加( $P < 0.05$ ); 治疗组 24 h-mALB 较模型组明显下降( $P < 0.05$ ), 但仍高于对照组 ( $P < 0.05$ )。见表 1。

表 1 各组小鼠体质量、内脏脂肪含量、脂体比及 24h 尿微量白蛋白的比较

Tab 1 Body weight, visceral fat content, body fat ratio and 24 h urine albumin of each group

组别	体质量/g	内脏脂肪质量/g	内脏脂肪/体质量/%	24 h-mALB/ $\mu\text{g}$
NC	37.70 $\pm$ 2.38	1.42 $\pm$ 0.18	3.76 $\pm$ 0.23	55.00 $\pm$ 11.02
OB	65.90 $\pm$ 2.92 <sup>*</sup>	4.78 $\pm$ 0.32 <sup>*</sup>	7.25 $\pm$ 0.22 <sup>*</sup>	151.06 $\pm$ 23.77 <sup>*</sup>
PI	67.30 $\pm$ 3.23 <sup>△</sup>	4.78 $\pm$ 0.28 <sup>*△</sup>	7.10 $\pm$ 0.22 <sup>*△</sup>	99.56 $\pm$ 7.41 <sup>*#</sup>

\* $P < 0.05$ , vs. NC 组;  $\Delta P > 0.05$ , vs. OB 组; \* $P < 0.05$ , vs. OB 组

2.3 抵抗素 与对照组相比, 模型组的血清抵抗素浓度明显增加( $P < 0.05$ ); 而治疗组的血清抵抗素浓度较模型组明显下降( $P < 0.05$ )。见表 2。

表 2 各组小鼠抵抗素、空腹血糖、胰岛素及胰岛素抵抗指数比较

Tab 2 Resistin, fasting blood glucose, insulin and insulin resistance index of each group

组别	抵抗素/ $\mu\text{g/L}$	空腹血糖/(mmol/L)	胰岛素/(mIU/L)	胰岛素抵抗指数
NC	22.96 $\pm$ 1.71	4.40 $\pm$ 0.60	19.82 $\pm$ 1.62	3.84 $\pm$ 0.60
OB	36.55 $\pm$ 1.29 <sup>*</sup>	8.44 $\pm$ 0.82 <sup>*</sup>	33.73 $\pm$ 3.46 <sup>*</sup>	12.58 $\pm$ 1.15 <sup>*</sup>
PI	27.68 $\pm$ 1.14 <sup>*#</sup>	6.19 $\pm$ 0.64 <sup>*#</sup>	27.16 $\pm$ 2.22 <sup>*#</sup>	7.45 $\pm$ 0.81 <sup>*#</sup>

\* $P < 0.05$ , vs. NC 组; # $P < 0.05$ , vs. OB 组

2.4 空腹血糖、空腹胰岛素及胰岛素抵抗指数 模型组空腹血糖、空腹胰岛素及胰岛素抵抗指数较对照组明显增加( $P < 0.05$ ); 与模型组相比, 治疗组空腹血糖、空腹胰岛素及胰岛素抵抗指数明显下降 ( $P < 0.05$ ), 但仍高于对照组。见表 2。

2.5 各指标间的相关性分析 将模型组的抵抗素和尿蛋白分别与其他指标进行相关性分析, 发现抵抗素与尿微量白蛋白、胰岛素抵抗指数、内脏脂肪含量及脂体比呈正相关(表 3); 尿微量白蛋白与抵抗素、胰岛素抵抗指数、内脏脂肪含量及脂体比呈正相关(表 4)。

表 3 抵抗素与各指标的相关性

Tab 3 Correlation between resistin and each index

指标	体质量	24 h-mALB	空腹血糖	胰岛素	胰岛素抵抗指数	内脏脂肪质量	内脏脂肪质量/体质量
抵抗素 $r$	0.661	0.722	0.295	0.438	0.762	0.784	0.792
$P$	0.074	0.043	0.478	0.278	0.028	0.021	0.019

表 4 尿微量白蛋白与各指标的相关性

Tab 4 Correlation between urinary albumin and each index

指标	体质量	抵抗素	空腹血糖	胰岛素	胰岛素抵抗指数	内脏脂肪质量	内脏脂肪质量/体质量
24 h-mALB $r$	0.602	0.722	0.268	0.056	0.896	0.868	0.789
$P$	0.114	0.043	0.521	0.141	0.003	0.005	0.020

2.6 各组小鼠肾脏形态学结果 对照组:光镜下的正常肾小球,肾小球血管祥薄而清晰,内皮细胞和系膜细胞正常,肾小管正常。模型组:肾小球鲍曼氏囊增宽,基底膜增厚,系膜细胞和系膜基质增生,肾小球体积一致性增大,部分伴有局灶节段性肾小球硬化,轻度肾小管萎缩和间质纤维化。治疗组:内皮

细胞、基底膜和系膜细胞基本正常,肾小球体积未见明显增大,肾小球硬化较模型组减轻,肾小管正常(图1)。模型组小鼠肾小球直径( $159.27\ \mu\text{m} \pm 13.31\ \mu\text{m}$ )大于对照组( $110.84\ \mu\text{m} \pm 7.20\ \mu\text{m}$ ),差异有统计学意义( $P < 0.05$ );而治疗组肾小球直径( $112.79\ \mu\text{m} \pm 7.85\ \mu\text{m}$ )明显小于模型组( $P < 0.05$ )。

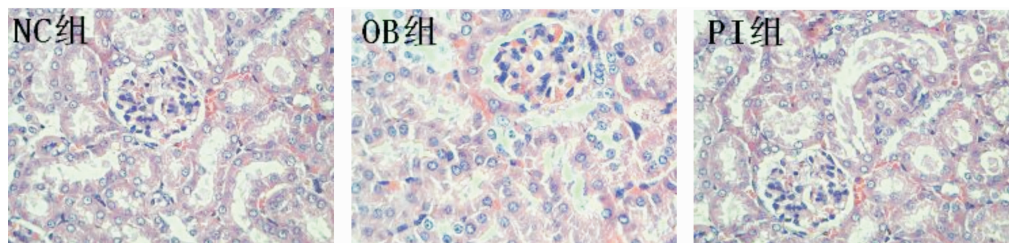


图1 各组小鼠肾脏形态学(HE×400)

Fig 1 Kidney tissues in each group(HE×400)

### 3 讨论

抵抗素是2001年由Steppan等<sup>[2]</sup>研究TZDs调节脂肪分化的基因时发现的一种由脂肪组织特异表达分泌的细胞因子。本研究结果显示肥胖模型组小鼠血清抵抗素水平较对照组明显升高,且与内脏脂肪含量及脂体比呈正相关,表明肥胖可致高抵抗素血症,其机制可能与肥胖时脂肪组织堆积,抵抗素分泌增加有关。肥胖模型组小鼠24 h-mALB明显增多,且24 h-mALB与血清抵抗素水平呈正相关,表明血清抵抗素可能与肥胖所致的肾损伤有关。

Steppan等<sup>[2]</sup>研究表明抵抗素可以抵抗胰岛素信号转导,诱导脂肪、肝脏及肌肉组织产生胰岛素抵抗,损伤机体的糖脂代谢功能。Sadashiv等<sup>[3]</sup>研究表明肥胖时脂肪组织抵抗素可以导致机体胰岛素抵抗,并且可能与肥胖导致的其他疾病有关。本研究结果显示肥胖小鼠血清抵抗素水平与血糖及胰岛素水平无明显相关关系,但与胰岛素抵抗指数呈正相关,表明高抵抗素血症可导致或促进胰岛素抵抗。而胰岛素抵抗在肥胖相关性肾病的发病中起到重要作用,可引起肾小球肥大及尿蛋白增加<sup>[4]</sup>。推测抵抗素可以通过降低胰岛素敏感性,增加胰岛素抵抗而导致肾脏损伤,增加蛋白尿。但抵抗素是否能够直接作用于肾脏还有待于进一步研究。

TZDs(包括罗格列酮和吡格列酮)是胰岛素增敏剂,它所作用的核受体为PPAR $\gamma$ ,属于PPAR $\gamma$ 激动剂的一种,有调节脂肪因子分泌等多重作用<sup>[5]</sup>。Steppan等<sup>[2]</sup>发现肥胖模型中,都伴有血清抵抗素水平升高,而罗格列酮可以降低血清抵抗素水平;本研究也表明PPAR $\gamma$ 激动剂吡格列酮可以降低肥胖小鼠血清抵抗素水平,说明PPAR $\gamma$ 激动剂改善胰

岛素抵抗可能与降低抵抗素水平有关。PPAR $\gamma$ 激动剂抑制抵抗素表达的机制可能为:(1)TZDs可通过减少成熟脂肪细胞中与转录因子CCAAT/增强子结合蛋白(C/EBP $\alpha$ )结合,使相关的组蛋白乙酰化而减少抵抗素的表达,C/EBP $\alpha$ 是脂肪形成的转录因子,可特定地结合在抵抗素启动子表达所必需的位点<sup>[6]</sup>。(2)下调特异性 $\beta$ 糖蛋白(SPI)的活性:Chung等<sup>[7]</sup>研究发现TZDs能够下调3T3LI细胞中抵抗素的表达,而在使用SPI抑制剂后该抑制作用减弱,提示PPAR $\gamma$ 激活剂可通过调节SPI的活性而抑制抵抗素基因的表达。同时本研究结果显示吡格列酮治疗组小鼠肾小球体积及24 h-mALB较肥胖模型组小鼠明显减少,推测吡格列酮可通过降低抵抗素水平,改善胰岛素抵抗,减轻肾脏损伤,减少蛋白尿。

但随着研究的深入,关于肥胖时抵抗素水平的高低出现了争议。Way等<sup>[8]</sup>发现罗格列酮可以增加ob/ob小鼠白色脂肪组织分泌抵抗素,而Ye等<sup>[9]</sup>发现肥胖db/db小鼠血清抵抗素浓度较普通小鼠下降,而罗格列酮可以增加血清抵抗素的浓度。导致实验结果有差异的原因尚不明确,猜想可能与小鼠是否禁食有关,另外可能也与测量部位或小鼠种类不同有关。

脂肪组织作为一个内分泌器官可以分泌多种脂肪细胞因子,肥胖时大量脂肪组织堆积,脂肪细胞形态功能发生改变,脂肪细胞因子分泌紊乱,如瘦素增加及瘦素抵抗,脂联素降低等,这些都与肾小球足细胞足突融合或消失,蛋白尿的增加有关<sup>[10]</sup>。本研究表明脂肪细胞因子抵抗素可以通过增加胰岛素抵抗导致肾脏损伤,而PPAR $\gamma$ 激动剂吡格列酮可以通过抑制抵抗素基因表达,降低血清抵抗素

水平,改善胰岛素抵抗,减轻肾脏病理变化及减少蛋白尿,这为肥胖相关性肾病的预防及治疗提供了新的途径。但脂肪细胞因子在肥胖相关肾病发生过程中的具体作用机制还有待于继续研究。

#### 参考文献:

- [1] Sugii S, Evans R M. Epigenetic codes of PPAR $\gamma$  in metabolic disease[J]. FEBS Lett, 2011, 585(13): 2121
- [2] Steppan C M, Bailey S T, Bhat S, et al. The hormone resistin links obesity to diabetes[J]. Nature, 2001, 409(6818): 307
- [3] Sadashi V, Tiwari S, Paul B N, et al. Over expression of resistin in adipose tissue of the obese induces insulin resistance [J]. World J Diabetes, 2012, 3(7): 135
- [4] 武立华,赵湘.肥胖相关性肾病研究进展[J].浙江中西医结合杂志,2011,21(10):747
- [5] Adamczak M, Wiecek A. The adipose tissue as an endocrine organ [J]. Semin Nephrol, 2013, 33(1): 2
- [6] Lee J H, Bullen J W, Stoyneva V L, et al. Circulating resistin in lean, obese, and insulin-resistant mouse models: lack of association with insulinemia and glycemia[J]. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2005, 288(3): E625
- [7] Chung S S, Choi H H, Cho Y M, et al. Sp1 mediates repression of the resistin gene by PPAR gamma agonists in 3T3-L1 adipocytes [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2006, 348(1): 253
- [8] Way J M, Gorgun C Z, Tong Q, et al. Adipose tissue resistin expression is severely suppressed in obesity and stimulated by peroxisome proliferator-activated receptor gamma agonists[J]. J Biol Chem, 2001, 276(28): 25651
- [9] Ye H Y, Zhang H J, Xu A M, et al. Resistin production from adipose tissue is decreased in db/db obese mice, and is reversed by rosiglitazone[J]. PLoS One, 2013, 8(6): 1
- [10] Mathew A V, Okada S, Sharma K. Obesity related kidney disease[J]. Curr Diabetes Rev, 2011, 7(1): 41

(2014-10-07 收稿)

文章编号 1006-8147(2015)03-0226-03

## 论 著

# 常规超声与超声造影对小肾癌诊断的对比研究

张 岱,忻晓洁,张 晟,杨 凡

(天津医科大学肿瘤医院超声诊疗科,国家肿瘤临床医学研究中心,天津市“肿瘤防治”重点实验室,天津300060)

**摘要** 目的:比较二维超声、彩色多普勒超声与超声造影对小肾癌的诊断价值。方法:回顾性分析30例经手术证实最大直径小于3 cm的肾肿瘤的超声及超声造影资料,观察并分析二维超声及彩色多普勒血流特点以及造影后肿物内部的造影模式及灌注特点,比较其诊断符合率。结果:病例取样的诊断符合率分别为:超声66.7%,超声造影90%。应用SPSS13.0计算软件,两种诊断方法具有明显统计学差异( $P<0.05$ )。结论:超声造影为小肾癌在诊断方面提供了更为丰富的信息,对病灶类型的鉴别具有一定价值。

**关键词** 小肾癌;超声;超声造影

中图分类号 R737.11

文献标志码 A

肾肿瘤是泌尿系统的第二大肿瘤,近年来发病率逐渐上升。常规超声是发现肾肿瘤的首选检查方法,但是对于直径小于3 cm的肿瘤,该方法在定性诊断方面具有一定的局限性。超声造影是利用造影剂增强散射回声,明显提高超声诊断的分辨力、敏感性和特异性的技术。依据肾脏特有的血流分布特征和恶性肿瘤微血管的无限生长特性,使用超声造影后能够增强肾脏显像程度,同时肿瘤微血管的血流灌注情况也可以良好显示,并且超声造影可动态观察病灶组织,为确定肿瘤性质提供了更多信息。本研究对相同病例分别采用常规超声和超声造影

两种检查方法,对比其诊断符合率。

## 1 资料与方法

**1.1 临床资料** 选取我院2012年7月-2014年2月期间30例最大直径小于3 cm的肾脏占位性病变住院患者,所有患者术前均经超声、超声造影检查,其中男性16例,女性14例,平均年龄52.07岁;病灶取样中肿瘤最大直径最小者为1.2 cm,最大者为3.0 cm,平均值为2.34 cm。恶性肿瘤27例(肾透明细胞癌15例、肾乳头状癌5例、肾透明伴乳头状癌3例、肾透明伴嫌色细胞癌2例、囊性肾癌2例),良性肿瘤3例(肾血管平滑肌脂肪瘤2例、肾嗜酸性细胞瘤1例)。所有病例最后均经术后病理证实。

**1.2 检查方法** 30例患者术前均空腹,应用

**作者简介** 张岱(1988-),女,医师,学士,研究方向:超声学;通信作者:忻晓洁,E-mail:xinxj@126.com。