

PTD-NBD多肽对大鼠胰腺腺泡细胞炎症反应的抑制作用

刘学进, 龙友明, 陈 垦, 谢文瑞, 王 晖

刘学进, 河南省周口市中心医院消化内科 河南省周口市 466000

龙友明, 陈 垦, 谢文瑞, 广东药学院临床学院 广东省广州市 510080

王晖, 广东药学院中药学院 广东省广州市 510080

刘学进, 硕士, 主要从事急性胰腺炎发病机制及其治疗的基础和临床研究。

广东省自然科学基金资助项目, No. 04009624

广东省卫生厅课题基金资助项目, No. A2007304

作者贡献分布: 刘学进、龙友明及陈垦对此文所作贡献均等; 本课题由陈垦与龙友明设计; 研究过程由刘学进与龙友明操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由谢文瑞与王晖提供; 数据分析由刘学进完成; 本论文写作由刘学进与龙友明完成。

通讯作者: 陈 垦, 教授, 510080, 广东省广州市, 广东药学院临床学院. chenkenck@126.com

电话: 020-34055856

收稿日期: 2009-03-30 修回日期: 2009-06-18

接受日期: 2009-06-23 在线出版日期: 2009-07-08

Inhibitory effects of cell-permeable PTD-NBD peptide on lipopolysaccharide-induced inflammation of pancreatic acinar cell line AR42J

Xue-Jin Liu, You-Ming Long, Ken Chen, Wen-Rui Xie, Hui Wang

Xue-Jin Liu, Department of Gastroenterology, Zhoukou Central Hospital, Zhoukou 46600, Henan Province, China
You-Ming Long, Ken Chen, Wen-Rui Xie, the Clinical College of Guangdong Pharmacological University, Guangzhou 510080, Guangdong Province, China

Hui Wang, the Chinese Medicine College of Guangdong Pharmacological University, Guangzhou 510080, Guangdong Province, China

Supported by: the Natural Science Foundation of Guangdong Province, No. 04009624; and the Research Foundation of Guangdong Public Health Department, No. A2007304

Correspondence to: Professor Ken Chen, the Clinical College of Guangdong Pharmacological University, Guangzhou 510080, Guangdong Province, China. chenkenck@126.com

Received: 2009-03-30 Revised: 2009-06-18

Accepted: 2009-06-23 Published online: 2009-07-08

Abstract

AIM: To explore the effects of cell permeable PTD-NBD peptide on rat pancreatic acinus AR42J cell induced by lipopolysaccharide.

METHODS: AR42J cell lines were stimulated by lipopolysaccharide with a dose of 10 mg/L for 24 h. The wild type PTD-NBD peptide was incubated with AR42J cells with different concentrations (10⁻¹-10⁻² mg/L) before the inflammation induced by lipopolysaccharide. At the same time, the mutant type PTD-NBD peptide, PTD and NBD peptide were used as control peptide fragments. The expressions of ICAM-1 and IL-1β mRNA were detected using reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR), and IL-1β protein was measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).

RESULTS: The PTD-NBD (WT) peptide inhibited the expression of ICAM-1 and IL-1β mRNA (0.449 ± 0.088, 0.526 ± 0.077), but also decreased the IL-1β protein level (278.82 ± 61.80 ng/L) in a dose-dependent manner. NBD (1.132 ± 0.069), PTD-NBD (MT) (1.158 ± 0.095) and PTD (1.206 ± 0.078) did not inhibit the expression of ICAM-1 mRNA. NBD (0.993 ± 0.065), PTD-NBD (MT) (1.143 ± 0.086) and PTD (1.128 ± 0.117) did not inhibit the expression of IL-1β mRNA. NBD (898.08 ± 74.65 ng/L), PTD-NBD (MT) (945.25 ± 42.49 ng/L) and PTD (947.86 ± 38.66 ng/L) failed to inhibit the expression of IL-1β protein.

CONCLUSION: The wild type PTD-NBD peptide is able to inhibit the expression of ICAM-1 and IL-1β induced by LPS on AR42J cell lines in a dose-dependent manner. We confirmed PTD-NBD peptide can take effect on acinus cell directly. The result showed the early event and new therapeutic pathway of acute pancreatitis.

Key Words: Acute pancreatitis; Lipopolysaccharide; Cytokine; Acinus cell; Peptide

Liu XJ, Long YM, Chen K, Xie WR, Wang H. Inhibitory effects of cell-permeable PTD-NBD peptide on lipopolysaccharide-induced inflammation of pancreatic acinar cell line AR42J. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2009; 17(19): 1931-1935

摘要
目的: 探讨透细胞性PTD-NBD多肽对脂多糖诱导的炎症效应的干预与作用机制。

方法: 以脂多糖刺激大鼠胰腺腺泡细胞AR42J, 构建急性胰腺炎的体外模型。不同浓度免疫缺陷

■背景资料

目前普遍认为LPS是单核巨噬细胞的强烈激活剂, 诱导促炎细胞因子如IL-1β、IL-6、IL-8和ICAM-1等的分泌。已有多项研究表明小剂量LPS可以诱导腺泡细胞凋亡增加, 减轻AP的病理过程, 而大剂量LPS可引起腺泡细胞水肿, 出现膜连接性空泡及胞质膜的断裂, 腺细胞和溶酶体的破坏。但LPS对胰腺腺泡细胞因子表达的影响国内外学者研究较少。

■同行评议者

潘秀珍, 教授, 福建省立医院消化内科

■研发前沿

一种具有“TTLDWSWLQME”氨基酸序列的小分子肽能阻断NF- κ B活化通路上游激酶复合物中的调节亚基(NEMO)的N末端 α 螺旋区。目前被应用于鼠的AP模型及关节炎动物模型治疗,具有良好的抗炎效应。该结构的小分子肽能否直接影响胰腺腺泡细胞炎性反应目前尚不清楚。

陷性病毒PTD多肽蛋白转导功能区与野生型NBD多肽融合成PTD-NBD多肽,对AR42J细胞进行预处理,突变型PTD-NBD(MT)多肽、PTD、NBD为对照。RT-PCR法观察ICAM-1及IL-1 β mRNA的表达;定量酶联免疫吸附法检测培养液上清中IL-1 β 蛋白浓度的改变。

结果:透细胞性PTD-NBD多肽可以抑制脂多糖诱导的AR42J炎症细胞因子ICAM-1和IL-1 β mRNA及蛋白的表达,且呈剂量依赖方式。PTD-NBD(WT)多肽与单纯NBD多肽、突变型PTD-NBD(MT)多肽及PTD组比较(相对灰度值: 0.449 ± 0.088 vs 1.132 ± 0.069 , 1.158 ± 0.095 , 1.206 ± 0.078),能够抑制ICAM-1 mRNA表达。上述4组的IL-1 β mRNA相对灰度值分别为 0.526 ± 0.077 , 0.993 ± 0.065 , 1.143 ± 0.086 和 1.128 ± 0.117 , IL-1 β 蛋白表达分别为 278.82 ± 61.80 ng/L、 898.08 ± 74.65 ng/L、 945.25 ± 42.49 ng/L和 947.86 ± 38.66 ng/L,结果显示后3组不能抑制IL-1 β mRNA及其蛋白的表达。

结论:PTD-NBD(WT)多肽可以呈剂量依赖方式抑制LPS诱导的AR42J促炎细胞因子IL-1 β 和ICAM-1的表达,其可直接影响胰腺腺泡细胞炎性反应。

关键词:急性胰腺炎;脂多糖;细胞因子;腺泡细胞;多肽

刘学进, 龙友明, 陈垦, 谢文瑞, 王晖. PTD-NBD多肽对大鼠胰腺腺泡细胞炎性反应的抑制作用. 世界华人消化杂志 2009; 17(19): 1931-1935

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/1931.asp>

0 引言

脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)已证实参与了急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)的病理生理过程, LPS可以结合在单核细胞CD14受体上,从而激活单核巨噬细胞释放多种炎症介质,同时还可以通过直接影响胰腺腺泡细胞而发挥作用,包括空泡的形成、核改变以及胰腺炎相关蛋白mRNA、细胞因子如白介素-1(interleukin-1, IL-1)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、细胞间黏附分子-1(intercellular adhesion molecule, ICAM-1)等和淀粉酶mRNA表达而发挥作用,可促使多器官功能不全综合征和系统性炎症反应综合征的发生^[1-2]。我们的实验证实, LPS刺激大鼠胰腺腺泡细胞(AR42J细胞)后,不仅通过核因子- κ B(nuclear factor kappa B, NF- κ B)活化介导上

调ICAM-1促炎基因的表达,而且ICAM-1促炎因子的表达反过来又以一种正反馈调节的方式激活NF- κ B,促进细胞因子的进一步释放,使炎症信号和细胞因子反应得以放大和持续^[3]。一种具有“TTLDWSWLQME”氨基酸序列的小分子肽能阻断NF- κ B活化通路上游激酶复合物中的调节亚基(NF- κ B essential modulator, NEMO)的N末端 α 螺旋区^[4]。目前被应用于鼠的AP模型及关节炎动物模型治疗,具有良好的抗炎效应^[5-6]。该结构的小分子肽能否直接影响胰腺腺泡细胞炎性反应目前尚不清楚。本实验利用人工合成的上述透细胞膜性小分子多肽预处理AR42J细胞,观察其对LPS诱导的细胞因子炎性反应的影响,为AP的治疗与研究提供新的途径。

1 材料和方法

1.1 材料 胰腺腺泡AR42J细胞株(ATCC Number: CRL-1492)由武汉大学中国典型培养物保藏中心(CCTCC)从美国典型培养物保藏中心(ATCC)引进。大鼠IL-1 β ELISA定量试剂盒,广州晶美生物公司; F12培养基, Gibco USA; 胎牛血清, 杭州四季青; 琼脂糖, Promega USA; LPS, Sigma USA; 胰蛋白酶, 广州威佳科技有限公司; DNA Marker, 北京华美生物工程公司; RNase抑制剂, Promega USA; PCR引物, 上海博亚生物技术有限公司; TRIzolTM Reagent, 美国Invitrogen公司; EX Taq酶, 日本TaKaRa公司; M-MLV逆转录酶, Promega USA; NBD多肽, 西安美联生物有限公司合成。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养:用含200 mL/L灭活胎牛血清F12培养基(pH7.2-7.4),于37℃、50 mL/L CO₂培养箱中进行培养,3-4 d换液1次,用2.5 g/L胰蛋白酶(trypsin)和0.03% EDTA消化,1:3-1:4传代。本实验使用第20-26代对数生长期细胞,以 $1-2 \times 10^6$ 细胞/孔(1.8 mL)接种于6孔培养板,在50 mL/L CO₂培养箱中37℃孵育12 h,细胞贴壁后,分别加入0.2 mL的无血清无双抗的培养基F12及100 mg/L浓度(终浓度10 mg/L)的LPS溶液,孵育24 h后,分别收集细胞和培养液上清备用。每组设3个平行孔。

1.2.2 多肽设计及合成:具有细胞穿透性的小分子NBD多肽序列根据参考文献[4]设计。其为蛋白转导多肽PTD与NBD多肽的融合性多肽,简称为PTD-NBD多肽,委托西安美联生物公司合成。其序列为: YGRKKRRQRRR-G-TTLDWSWLQME,由于此连接的NBD肽和野生

■相关报道

May *et al*设计了一种跨越NBD全长的可通过细胞膜的多肽(称为小分子NBD多肽),发现在Hela细胞中这种小分子多肽可抑制TNF- α 诱导的IKK活性,抑制NF- κ B的核易位和DNA结合活性,下调依赖NF- κ B的炎症细胞因子mRNA转录,而且, NBD多肽可以轻度上调NF- κ B的基础生理功能。

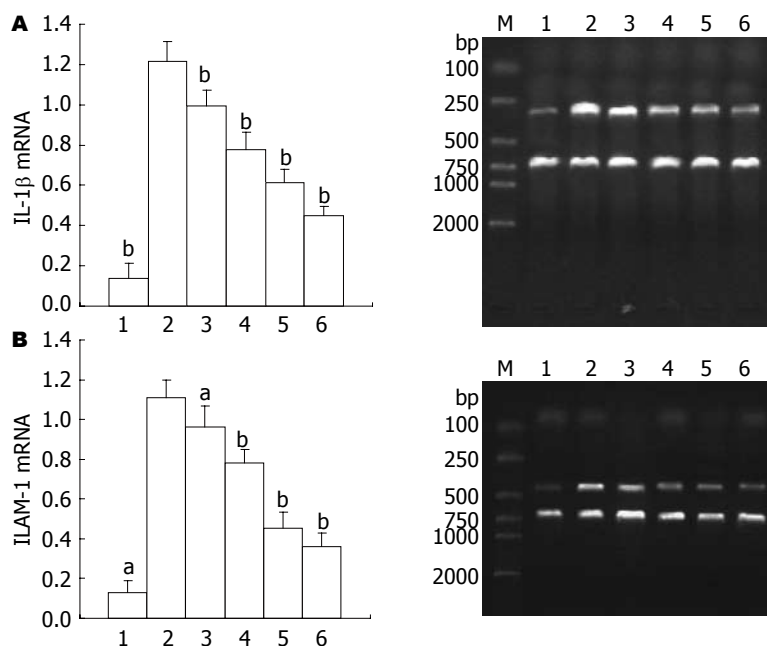


图 1 各组AR42J细胞IL-1β及ICAM-1 mRNA的表达。A: IL-1β; B: ICAM-1; 1: 对照组; 2: LPS; 3: 0.1 mg/L PTD-NBD(WT); 4: 1 mg/L PTD-NBD(WT); 5: 10 mg/L PTD-NBD(WT); 6: 100 mg/L PTD-NBD(WT); M: Marker。* $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs LPS组。

■创新盘点
本研究通过合成野生型NBD多肽和具有透膜作用的PTD多肽融合, 可以抑制NF-κB的抑制物的激酶活化, 继而抑制NF-κB的活化, 导致细胞因子的下调, 可直接影响胰腺腺泡细胞炎症反应, 为AP的早期细胞事件及其治疗研究提供理论依据。

型(WT)NBD序列一致, 简称为PTD-NBD(WT)。为分析NBD多肽和NEMO结合的特异性我们设计一条突变型(MT)的PTD-NBD(MT), 其序列为: YGRKKRRQRRR-G-TTLDASALQME融合性多肽。为了分析PTD对多肽的细胞导入作用, 另外单独合成了PTD和NBD多肽。使用前用无血清无双抗的培养基分别配制0.1、1、10、100 mg/L不同浓度的多肽溶液。

1.2.3 RNA的抽提及RT-PCR: 总RNA的提取参照Invitrogen公司的TRIzol试剂说明书进行。引物的设计与合成: 按照文献公布的GenBank上大鼠β-Actin(Gi: 42475962)、ICAM-1(Gi: 220778)和IL-1β(Gi: 13928691)cDNA序列, 借助于Primer Premier 5.0生物软件设计他们各自特异的引物, 委托上海博亚生物技术有限公司合成。内参照β-actin扩增片段长度701 bp, 正义为: 5'-gccaacgtgaaagatga-3', 反义为: 5'-gccaggatagaccacaaat-3'。ICAM-1扩增片段长度433 bp, 正义为: 5'-aacgacgcttctttgtctc-3', 反义为: 5'-ctctggcggtaataggtgtaa-3'。IL-1β扩增片段长度307 bp, 正义为: 5'-ggatgatgacgacctgctagtgt-3', 反义为: 5'-cttctttgggPTDgtttggga-3'。RT-PCR采用二步法。Gel 100凝胶成像系统(美国BIO-RAD公司)紫外灯下观察电泳结果和摄影, 并用其自带的Quantity 4.5.1软件进行吸光度分析, 分别计算出ICAM-1、IL-1β与β-actin(内参照)的吸光度积分值比作为ICAM-1、IL-1β表达的相对表达量。

1.2.4 定量ELISA法测定培养液上清细胞因子的浓度: 按照晶美生物公司ELISA试剂盒说明书进行。

表 1 各组AR42J细胞IL-1β及ICAM-1 mRNA和IL-1β蛋白表达($n = 3$, mean \pm SD)

分组	IL-1β		ICAM-1 mRNA
	mRNA	蛋白(ng/L)	
对照组	0.141 \pm 0.072 ^b	69.62 \pm 28.76 ^b	0.132 \pm 0.059 ^b
LPS	1.217 \pm 0.981	1205.30 \pm 72.63	1.112 \pm 0.085
PTD-NBD(mg/L)			
0.1	0.995 \pm 0.076 ^a	864.07 \pm 62.15 ^a	0.964 \pm 0.102 ^a
1	0.778 \pm 0.085 ^a	649.19 \pm 56.61 ^a	0.780 \pm 0.069 ^a
10	0.615 \pm 0.064 ^a	474.13 \pm 35.36 ^a	0.456 \pm 0.077 ^a
100	0.451 \pm 0.043 ^a	298.16 \pm 31.09 ^a	0.361 \pm 0.069 ^a

^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs LPS组。

统计学处理 计量资料用mean \pm SD表示, SPSS11.0统计软件进行方差分析, 预先进行正态性检验和方差齐性检验。 $P < 0.05$ 为有统计学意义。

2 结果

2.1 多肽对AR42J细胞的IL-1β mRNA的影响

2.1.1 PTD-NBD(WT)多肽对AR42J细胞IL-1β mRNA表达的影响: RT-PCR检测结果表明(表1, 图1), AR42J细胞可表达少量IL-1β mRNA, 10 mg/L的LPS刺激24 h后IL-1β mRNA表达上调($P < 0.01$)。0.1 mg/L的PTD-NBD(WT)多肽预处量2 h即可以抑制LPS诱导的IL-1β mRNA表达($P < 0.05$), 且以剂量依赖方式地抑制IL-1β mRNA的表达, 在100 mg/L浓度时达到高峰。我们进一步分别用10 mg/L的PTD-NBD(WT)、NBD、PTD-NBD(MT)或PTD肽孵育AR42J细

■应用要点

PTD-NBD(WT)多肽可以呈剂量依赖方式地抑制LPS诱导的AR42J促炎细胞因子IL-1 β 和ICAM-1的表达, 因而其可直接影响胰腺腺泡细胞炎症反应, 为AP的早期细胞事件及的治疗研究提供理论依据。

表 2 PTD-NBD(WT)多肽与各对照肽段对AR42J细胞IL-1 β 及ICAM-1 mRNA和IL-1 β 蛋白表达的影响 ($n=3$, mean \pm SD)

分组	IL-1 β mRNA	IL-1 β (ng/L)	ICAM-1 mRNA
对照组	0.146 \pm 0.080 ^a	73.12 \pm 38.77 ^a	0.123 \pm 0.056 ^a
LPS	1.156 \pm 0.085	943.61 \pm 71.33	1.230 \pm 0.094
PTD-NBD(WT)	0.526 \pm 0.077 ^b	278.82 \pm 61.80 ^b	0.449 \pm 0.088 ^b
NBD	0.993 \pm 0.065	898.08 \pm 74.65	1.132 \pm 0.069
PTD-NBD(MT)	1.143 \pm 0.086	945.25 \pm 42.49	1.158 \pm 0.095
PTD	1.128 \pm 0.117	947.86 \pm 38.66	1.206 \pm 0.078

^a $P<0.05$, ^b $P<0.01$ vs LPS组。

胞2 h后, 再用10 mg/L LPS刺激24 h, 观察肽段的作用特异性。结果表明(表2), NBD、PTD-NBD(MT)或PTD肽都不能抑制LPS诱导的IL-1 β mRNA的表达。

2.1.2 PTD-NBD(WT)多肽对AR42J细胞IL-1 β 蛋白表达的影响: 不同浓度PTD-NBD(WT)多肽孵育AR42J细胞2 h后, 再用10 mg/L刺激24 h, 其变化ELISA检测结果表明(表1), AR42J细胞表达IL-1 β 蛋白, LPS可刺激IL-1 β 蛋白的上调($P<0.01$), 0.1 mg/L以上的PTD-NBD(WT)多肽以剂量依赖方式抑制LPS诱导的IL-1 β 蛋白的合成, 并在100 mg/L浓度时达到高峰($P<0.01$)。特异性实验: 分别用10 mg/L的PTD-NBD(WT)、NBD、PTD-NBD(MT)或PTD肽孵育AR42J胞2 h后, 再用10 mg/L LPS刺激24 h, 培养液上清中IL-1 β 蛋白的变化结果表明NBD多肽、PTD-NBD(MT)或PTD肽都不能抑制LPS刺激IL-1 β 蛋白的合成(表2)。

2.2 多肽对AR42J细胞的ICAM-1 mRNA表达的影响

2.2.1 不同浓度PTD-NBD(WT)多肽对AR42J细胞ICAM-1 mRNA表达的影响: RT-PCR检测结果表明(表1, 图1), AR42J细胞表达ICAM-1 mRNA, LPS可刺激ICAM-1 mRNA表达的上调($P<0.01$), 0.1 mg/L的PTD-NBD(WT)多肽即可以抑制LPS刺激ICAM-1 mRNA的表达($P<0.05$), 且呈剂量依赖方式抑制ICAM-1 mRNA的表达, 并在100 mg/L浓度时达到高峰($P<0.01$)。

2.2.2 PTD-NBD(WT)多肽与各对照肽段对AR42J细胞ICAM-1 mRNA表达的影响: 分别用10 mg/L的PTD-NBD(WT)、NBD、PTD-NBD(MT)或PTD肽孵育AR42J细胞2 h后, 再用10 mg/L LPS刺激24 h, ICAM-1 mRNA表达的变化。RT-PCR检测结果表明(表2), PTD-NBD(WT)多肽可以抑制LPS诱导ICAM-1 mRNA的表达, 而NBD多肽、PTD-NBD(MT)或PTD肽均不能

抑制ICAM-1 mRNA的表达。

3 讨论

LPS是G细菌细胞壁的主要成分, 已证实参与了AP的病理生理过程。但AP时细胞的早期事件腺泡细胞损伤的确切机制尚未完全阐明^[3]。目前普遍认为LPS是单核巨噬细胞的强烈激活剂, 诱导促炎细胞因子如IL-1 β 、IL-6、IL-8和ICAM-1等的分泌。已有多项研究表明小剂量LPS可以诱导腺泡细胞凋亡增加, 减轻AP的病理过程, 而大剂量LPS可引起腺泡细胞水肿, 出现膜连接性空泡及胞质膜的断裂, 腺细胞和溶酶体的破坏。但LPS对胰腺腺泡细胞因子表达的影响国内外学者研究较少。AR42J为大鼠胰腺腺泡细胞株, 具有正常胰腺腺泡细胞的大部分功能, 如合成及分泌消化酶; 胞膜受体的表达和信号转导机制也与正常胰腺腺泡细胞相平行, 被较多应用于胰腺体外实验研究。既往我们的研究显示, 在LPS刺激下, AR42J表达ICAM-1 mRNA及蛋白均明显增高, 呈时间依赖性^[3]。本次实验亦证实, LPS刺激后的IL-1 β , ICAM-1增高, 结果与文献报道一致, 提示胰腺腺泡AR42J细胞产生、释放的促炎细胞因子在AP炎症反应的启动、放大和维持方面可能起着重要的作用, 他不但是产生炎症介质的细胞, 同时也是炎症介质的靶细胞^[7]。

ICAM-1、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6及IL-8等多种细胞因子的启动子区域含有NF- κ B的特异性结合位点(κ B位点), NF- κ B调节着包括ICAM-1、TNF- α 和IL-1 β 在内的多种细胞因子和炎症介质基因的转录, 在机体的免疫和炎症反应、凋亡调控等方面发挥重要作用。上游激酶(inhibition of I κ B kinase, IKK)的活化是激活NF- κ B信号通路的主要限速步骤, 其复合物中的调节亚基(NF- κ B essential modulator, NEMO)的N末端 α 螺旋区, 被称为NEMO结合区(NBD区,

序列为Leu- Asp-Trp-Ser- Trp-Leu), 是IKK α 、IKK β 和NEMO(IKK γ)相互作用从而维持IKK活性的结构基础. 利用外源性氨基酸片竞争结合这一区域是抑制NF- κ B通路的新方法. 有研究已经证实, 外源性NBD多肽和NEMO结合后, 封闭了NEMO与IKK催化亚基IKK α 和IKK β 的结合位点, 进而下调IKK激酶的活性, 从而选择性抑制NF- κ B的DNA结合活性, 为炎症/免疫性疾病的治疗提供了新的途径^[8]. May *et al*设计了一种跨越NBD全长的可通过细胞膜的多肽(称为小分子NBD多肽), 发现在Hela细胞中这种小分子多肽可抑制TNF- α 诱导的IKK活性, 抑制NF- κ B的核易位和DNA结合活性, 下调依赖NF- κ B的炎症细胞因子mRNA转录, 而且, NBD多肽可以轻度上调NF- κ B的基础生理功能^[8]. Ethridge *et al*发现这种野生型NBD多肽预处理蛙皮素诱发的急性水肿性胰腺炎后, 可降低胰腺和肺的炎症反应程度, 同时减少致炎细胞细胞因子的表达^[5-6].

本研究设计合成了NBD(WT)多肽, 并与具有透膜作用的PTD融合成野生型PTD-NBD多肽(WT), 结果发现0.1 mg/L的PTD-NBD多肽处理时即可显著抑制LPS刺激的IL-1 β 和ICAM-1 mRNA的表达, 且呈量效关系. 同时亦发现, 伴随着IL-1 β mRNA表达的明显下调, 其蛋白的表达亦明显下调, 与PTD-NBD多肽呈量效关系. 证实了PTD-NBD多肽可直接作用胰腺腺泡细胞, 抑制LPS诱导的细胞因子相关的炎症反应. 同时为证实NBD多肽作用是序列特异的, 我们设立一个突变型的NBD多肽并且和PTD进行融合, 突变型的PTD-NBD多肽(MT)是739及741位色氨酸被酪氨酸所替代, 从而失去了与NEMO的结合活性. 结果表明PTD-NBD多肽(MT)没有抑制细胞因子IL-1 β 和ICAM-1的表达. 同时设置了不

和PTD融合的NBD多肽组作为对照, 观察PTD多肽是否能促进NBD透膜作用, 结果发现与单纯PTD组或NBD组相比, 单纯无透膜作用NBD多肽不能抑制细胞因子IL-1 β 和ICAM-1基因的表达. PTD-NBD多肽对胰腺腺泡上述作用, 是否经过NF- κ B活化通路起作用, 需要我们作更深入的研究.

总之, 我们的研究结果表明, PTD-NBD(WT)多肽可以呈剂量依赖方式地抑制LPS诱导的AR42J促炎细胞因子IL-1 β 和ICAM-1的表达, 因而其可直接影响胰腺腺泡细胞炎症反应, 为AP的早期细胞事件及的治疗研究提供理论依据.

4 参考文献

- 1 Steinle AU, Weidenbach H, Wagner M, Adler G, Schmid RM. NF-kappaB/Rel activation in cerulein pancreatitis. *Gastroenterology* 1999; 116: 420-430
- 2 Chen X, Ji B, Han B, Ernst SA, Simeone D, Logsdon CD. NF-kappaB activation in pancreas induces pancreatic and systemic inflammatory response. *Gastroenterology* 2002; 122: 448-457
- 3 刘学进, 陈垦, 龙友明, 林振河, 谢文瑞. 核因子- κ B在脂多糖诱导的大鼠胰腺腺泡细胞AR42J炎症效应中的作用. *胰腺病学* 2006; 6: 204-207
- 4 Dai S, Hirayama T, Abbas S, Abu-Amer Y. The IkappaB kinase (IKK) inhibitor, NEMO-binding domain peptide, blocks osteoclastogenesis and bone erosion in inflammatory arthritis. *J Biol Chem* 2004; 279: 37219-37222
- 5 Strickland I, Ghosh S. Use of cell permeable NBD peptides for suppression of inflammation. *Ann Rheum Dis* 2006; 65 Suppl 3: iii75-iii82
- 6 Ethridge RT, Hashimoto K, Chung DH, Ehlers RA, Rajaraman S, Evers BM. Selective inhibition of NF-kappaB attenuates the severity of cerulein-induced acute pancreatitis. *J Am Coll Surg* 2002; 195: 497-505
- 7 Norman J. The role of cytokines in the pathogenesis of acute pancreatitis. *Am J Surg* 1998; 175: 76-83
- 8 May MJ, D'Acquisto F, Madge LA, Glöckner J, Pober JS, Ghosh S. Selective inhibition of NF-kappaB activation by a peptide that blocks the interaction of NEMO with the IkappaB kinase complex. *Science* 2000; 289: 1550-1554

编辑 李军亮 电编 吴鹏朕

■同行评价

本研究立题依据充分, 设计合理, 技术难度较大, 研究重点突出, 结果可靠, 对急性胰腺炎病情加重的炎症因子反应提供了理论依据, 对临床的急性胰腺炎的防治有参考意义.

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2009年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

中国科技期刊引证报告(核心版)发布《世界华人消化杂志》 2007年影响因子0.568

本刊讯 2007年《世界华人消化杂志》的总被引频次为2353, 位居全部1723种中国科技论文统计源期刊的第86位, 内科医学类28种期刊的第5位. 2007年《世界华人消化杂志》的影响因子为0.568, 内科医学类28种期刊的第15位. 即年指标0.082, 他引率0.69, 引用刊数372种, 扩散因子15.81, 学科影响指标0.54. (编辑: 程剑侠 2009-07-08)