

同型半胱氨酸对核因子- κ B 活性及白三烯 E_4 和前列腺素 E_2 合成水平的影响

王 晶, 梅咏玉, 丁少桢, 袁静静, 梅 俏, 许建明

摘要 目的 探讨同型半胱氨酸(Hcy)对人结肠腺癌(Caco-2)细胞中白三烯 E_4 (LTE $_4$)、前列腺素 E_2 (PGE $_2$) 合成水平和核转录因子- κ B(NF- κ B)活性的影响。方法 在 Caco-2 细胞中加入不同浓度(0、10、20、50 μ mol/L) Hcy 作用不同时间(1、3、6 h), 采用 MTT 法和检测乳酸脱氢酶(LDH)活性, 观察 Hcy 对 Caco-2 细胞生长活性的影响; 通过检测 Caco-2 细胞跨膜电阻(TEER)和样品中荧光素-5-异硫氰酸酯(FITC)浓度, 观察 Hcy 对 Caco-2 细胞通透性的影响; 采用酶联免疫吸附实验(ELISA)测定 Caco-2 细胞上清液中 LTE $_4$ 和 PGE $_2$ 合成水平; 采用凝胶迁移实验(EMSA)测定 Caco-2 细胞中 NF- κ B 活性变化。结果 随 Hcy 作用时间延长及作用浓度增加, Caco-2 细胞活性明显受到抑制; 随 Hcy 作用浓度增加, Caco-2 细胞 TEER 明显降低, FITC 跨膜转运量明显增加, 细胞上清液中 LTE $_4$ 和 PGE $_2$ 水平明显升高($P < 0.05$); Hcy(50 μ mol/L)处理组细胞中 NF- κ B 活性增强, 且呈时间依赖性(1、3、6 h)。结论 Hcy 通过激活 NF- κ B 信号通路, 促进 Caco-2 细胞肠黏膜 LTE $_4$ 和 PGE $_2$ 合成, 引起肠黏膜炎症损伤。
关键词 同型半胱氨酸; 核转录因子- κ B; 5-脂氧合酶; 环氧合酶-2; 白三烯 E_4 ; 前列腺素 E_2
中图分类号 R 345; R 345.4; R 349.62; R 341.7; R 344.7; R 574.62; R 725.6
文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2019)05-0744-05
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2019.05.017

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是一种病因未明的肠道炎症性疾病。核转录因子- κ B(nuclear factor kappa B, NF- κ B)是一类与炎症相关的转录调节因子, 参与炎症进程的发生^[1]。NF- κ B 是调节肠道炎症应答的关键靶点, 维持肠上皮细胞功能和黏膜完整性^[2]。研究^[3]表明 IBD 患者肠黏膜上皮细胞内存在大量激活的 NF- κ B。IBD 患者肠黏膜中白三烯 E_4 (leukotriene E_4 , LTE $_4$) 和前列腺

素 E_2 (prostaglandin E_2 , PGE $_2$) 水平明显升高^[4-5]。LTE $_4$ 和 PGE $_2$ 是经典的炎症介质, 参与炎症的发生发展。同型半胱氨酸(homocysteine, Hcy)是一种含巯基氨基酸, 可促进炎症介质释放, 引起细胞的氧化损伤。Hcy 可引起 NF- κ B 发生活化^[6-7]。既往研究^[8]表明, Hcy 可损伤肠上皮细胞功能, 引起肠黏膜通透性增加, 加重肠道炎症损伤, 但 Hcy 引起肠上皮细胞损伤具体作用机制尚不明确。因此, 该研究采用 Hcy 处理人结肠腺癌(human colon adenocarcinoma, Caco-2)细胞, 观察细胞内 NF- κ B 活性及 LTE $_4$ 和 PGE $_2$ 水平变化, 探讨 Hcy 是否通过活化 NF- κ B 信号通路, 促进 LTE $_4$ 和 PGE $_2$ 的合成, 导致肠黏膜炎症损伤。

1 材料与方法

1.1 主要试剂和器材 Caco-2 细胞购自中科院上海细胞所, 胎牛血清购自杭州四季青公司, TEMED(四甲基乙二胺)、Hcy 和 MTT 均购自美国 Sigma 公司, 乙二胺四乙酸(EDTA)、蛋白酶抑制剂购自美国 Gibco 公司, DMEM 高糖培养基购自美国 Hyclone 公司, 胞质-核蛋白抽提试剂盒、BCA 蛋白浓度测定试剂盒及非放射性试剂盒均购自美国 Pierce 公司, 乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)试剂盒购自南京建成生物工程研究所, LTE $_4$ 及 PGE $_2$ ELISA 试剂盒购自武汉新启迪生物科技公司, Transwell 小室购自美国 Corning 公司, 细胞电阻仪购自美国 Millipore 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 细胞培养 待 Caco-2 贴壁细胞生长至覆盖培养皿底面积 80%~90% 时, 弃上清液, 加入 1 ml 0.25% 胰蛋白酶消化; 收集细胞混悬液, 1 000 r/min 离心 5 min, 弃上清液; 在 Transwell 小室或培养板中重悬细胞, 置于 37 $^{\circ}$ C、5% CO $_2$ 的培养箱中培养。每隔 2 d 更换培养基, 待 4~5 d 后观察 Caco-2 细胞生长情况。

1.2.2 给药方法 Hcy 临用前以生理盐水溶解, 调定 pH 至 7.4, 用 DMEM 完全培养基配制 Hcy 浓度。

2019-01-04 接收

基金项目: 国家自然科学基金(编号: 81470809)

作者单位: 安徽医科大学第一附属医院消化内科、安徽省消化病重点实验室, 合肥 230022

作者简介: 王 晶, 女, 硕士研究生;

梅 俏, 男, 教授, 主任医师, 博士生导师, 责任作者, E-mail: meiqiao@hotmail.com

表1 不同浓度 Hcy 作用不同时间对 Caco-2 细胞活性的影响($n=3, \bar{x} \pm s$)

时间(h)	对照组	Hcy 处理组($\mu\text{mol/L}$)			F 值	P 值
		10	20	50		
1	1.10 $\pm$ 0.10	1.06 $\pm$ 0.04	1.03 $\pm$ 0.02*	1.02 $\pm$ 0.06*	3.380	0.032
3	1.09 $\pm$ 0.12	1.02 $\pm$ 0.09	1.00 $\pm$ 0.13*	0.93 $\pm$ 0.10*	3.126	0.040
6	1.04 $\pm$ 0.09	1.00 $\pm$ 0.10	0.97 $\pm$ 0.15	0.86 $\pm$ 0.07*	4.244	0.015

与对照组比较: * $P < 0.05$ 表2 不同浓度 Hcy 作用不同时间对 Caco-2 细胞 LDH 水平的影响($n=3, \bar{x} \pm s$)

时间(h)	对照组	Hcy 处理组($\mu\text{mol/L}$)			F 值	P 值
		10	20	50		
1	492.40	494.83	551.29*	614.83*	18.450	0.000
3	443.00	544.67*	547.40*	639.50*	33.614	0.000
6	505.33	574.67*	615.17*	713.33*	25.546	0.000

与对照组比较: * $P < 0.05$

实验分为对照组,不同浓度 Hcy(10、20、50 $\mu\text{mol/L}$)处理组,药物作用时间分别为 1、3、6 h。

1.2.3 Caco-2 细胞生长检测 将用不同浓度(10、20、50 $\mu\text{mol/L}$) Hcy 处理的 Caco-2 细胞分别作用 1、3、6 h 后加入 20 μl MTT,4 h 后弃上清液,加入 150 μl DMSO 振荡,根据 MTT 试剂盒说明方法,检测 490 nm 处吸光度;将用不同浓度(10、20、50 $\mu\text{mol/L}$) Hcy 处理的 Caco-2 细胞分别作用 1、3、6 h 后收集培养液,根据 LDH 试剂盒说明书方法,检测 450 nm 处吸光度。

1.2.4 Caco-2 细胞通透性检测 采用跨膜电阻(trans epithelial electrical resistance, TEER)和荧光素-5-异硫氰酸酯(fluorescein-5-isothiocyanate, FITC)跨膜转运量来检测;按实验分组将用 Hcy 处理的 Caco-2 细胞分别作用 1、3、6 h 后,TEER 按照细胞电阻仪说明书进行操作;实验开始后,每隔 30 min 记录一次 TEER,并取样于 8 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存,直至 6 h 结束,采用荧光分光光度计检测 425 nm 处样品中 FITC 的荧光值,计算 FITC 跨膜转运量。

1.2.5 Caco-2 细胞 NF- κB 活性检测 细胞生长融合度达到 80% 时,使用 1 ml 胰酶消化,以每孔 5×10^5 个细胞密度接种,加入 1 ml 细胞悬液于培养箱(37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2),倒置显微镜观察细胞贴壁后进入实验分组。设对照组,实验组分别为 10、20、50 $\mu\text{mol/L}$ Hcy 处理组,Hcy 处理 1、3、6 h 后提取细胞核蛋白;根据 BCA 试剂盒说明方法检测核蛋白浓度;非放射性试剂盒进行电泳迁移率改变实验(electrophoretic mobility shift assay, EMSA)。

1.2.6 Caco-2 细胞上清液 LTE_4 和 PGE_2 的测定 实验设对照组,实验组分别为 10、20、50 $\mu\text{mol/L}$ Hcy

处理组,Hcy 处理 1、3、6 h 后收集细胞上清液,按照 LTE_4 和 PGE_2 试剂盒操作说明测定两者浓度。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 16.0 软件进行统计分析,实验结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示,单因素方差分析进行多组间均数比较,SNK- q 法进行组间比较,配对 t 检验进行配对资料比较, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Hcy 对 Caco-2 细胞生长的影响 与对照组比较,Hcy 处理组 Caco-2 细胞 MTT 吸光度明显下降($P < 0.05$),见表 1,LDH 吸光度明显增加($P < 0.05$),见表 2,均具有浓度依赖性。不同浓度(10、20、50 $\mu\text{mol/L}$) Hcy 对 Caco-2 生长均具有一定程度的抑制作用,且抑制程度与浓度和作用时间呈正相关性。

2.2 不同浓度 Hcy 对 Caco-2 细胞通透性的影响 与对照组比较,随着 Hcy 浓度的增加,FITC 的渗透量明显增加($P < 0.05$),见图 1;TEER 的值明显

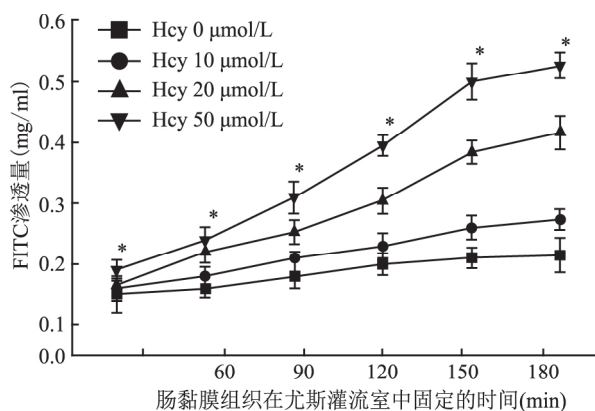


图1 不同浓度 Hcy 作用 Caco-2 细胞 FITC 渗透量的变化
与对照组(Hcy 0 $\mu\text{mol/L}$)比较: * $P < 0.05$

降低 ($P < 0.05$), 见图 2。不同浓度 (10、20、50 $\mu\text{mol/L}$) Hcy 均能影响 Caco-2 细胞通透性。

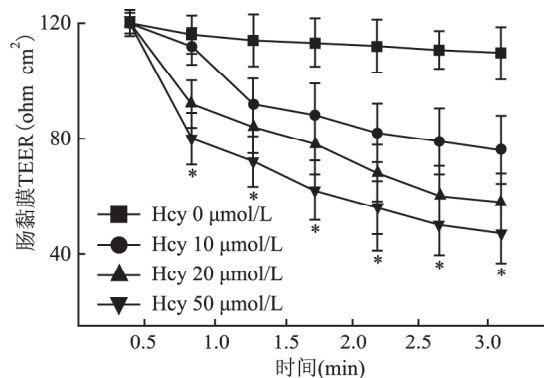


图2 不同浓度 Hcy 作用 Caco-2 细胞 TEER 的变化
与对照组 (Hcy 0 $\mu\text{mol/L}$) 比较: * $P < 0.05$

2.3 50 $\mu\text{mol/L}$ Hcy 对 Caco-2 细胞 NF- κB 活性的影响 与对照组比较, Hcy 组细胞 NF- κB 的 DNA 结合活性升高 ($P < 0.05$); 随作用时间的延长, 细胞 NF- κB 的 DNA 结合活性升高 ($P < 0.05$), 见图 3。

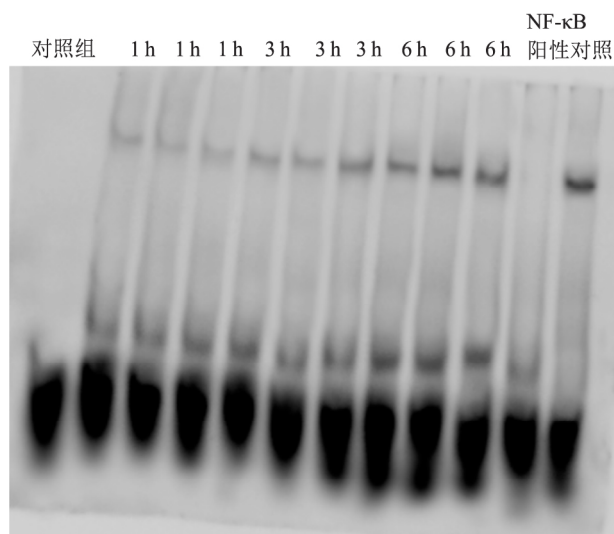


图3 Hcy 处理 Caco-2 细胞不同时间 NF- κB 活性改变

2.4 不同浓度 Hcy 对 Caco-2 细胞产生 LTE_4 及 PGE_2 水平的影响 与对照组比较, Hcy 处理组 LTE_4 和 PGE_2 水平升高, 不同浓度组间比较显示, 随

着 Hcy 浓度的升高, LTE_4 和 PGE_2 水平随之升高, 见表 3。

2.5 Hcy 作用不同时间对 Caco-2 细胞合成 LTE_4 及 PGE_2 水平的影响 50 $\mu\text{mol/L}$ Hcy 促进 Caco-2 细胞合成 LTE_4 和 PGE_2 , 且在 0 ~ 6 h 内呈一定的时间依赖性 ($P < 0.05$), 见表 4。

表3 不同浓度 Hcy 对 Caco-2 细胞合成 LTE_4 及 PGE_2 水平的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	LTE_4 (pg/ml)	PGE_2 (pg/ml)
对照	5.64 ± 0.58	69.11 ± 1.90
10 $\mu\text{mol/L}$ Hcy	$19.22 \pm 0.97^*$	$85.02 \pm 1.46^*$
20 $\mu\text{mol/L}$ Hcy	$24.08 \pm 3.82^{* \#}$	$89.85 \pm 1.28^{* \#}$
50 $\mu\text{mol/L}$ Hcy	$29.63 \pm 5.25^{* \# \Delta}$	$94.41 \pm 1.15^{* \# \Delta}$

与对照组比较: * $P < 0.05$; 与 10 $\mu\text{mol/L}$ Hcy 比较: # $P < 0.05$;
与 20 $\mu\text{mol/L}$ Hcy 比较: $\Delta P < 0.05$

3 讨论

IBD 存在肠上皮损伤伴上皮屏障功能失调^[8]。NF- κB 是真核细胞的一种核转录因子。正常情况下, NF- κB 二聚体因与其抑制性亚单位 ($\text{I}\kappa\text{B}$) 结合, 以无活性形式存在于细胞质。当被炎症介质及内毒素等刺激后, $\text{I}\kappa\text{B}$ 经过化学修饰作用被蛋白酶水解, NF- κB 与 $\text{I}\kappa\text{B}$ 解离移至细胞核, 与炎症相关物质 DNA 特定的 κB 序列结合, 启动靶基因转录。NF- κB 信号通路是肠道炎症的重要调节机制, 参与维持肠上皮屏障功能的完整性^[9]。5-脂氧合酶 (5-lipoxygenase, 5-LOX) 和环氧合酶-2 (cyclooxygenase-2, COX-2) 是 NF- κB 重要的作用靶点。当 NF- κB 受刺激被激活后, 促进 5-LOX 和 COX-2 过表达, 使 LTE_4 和 PGE_2 生成增加, 引起炎症活动持续发生^[10]。IBD 是肠道的一种慢性炎症病变。既往研究^[8-9]表明, IBD 患者尿液中 LTE_4 和 PGE_2 水平较正常对照组明显升高, 一定程度上 LTE_4 可反映肠道炎症程度, PGE_2 升高程度反映疾病活动度。 LTE_4 和 PGE_2 与炎症关系密切, 促进炎症进程的发展。 LTE_4 能引起肠黏膜血管通透性和肠黏液分泌增加, 促进肠道炎症的级联放大^[11]。 PGE_2 在肠道炎症

表4 Hcy 作用不同时间对 Caco-2 细胞合成 LTE_4 和 PGE_2 水平的影响 (pg/ml, $\bar{x} \pm s$)

组别	LTE_4			PGE_2		
	1 h	3 h	6 h	1 h	3 h	6 h
对照	6.11 ± 0.10	5.40 ± 0.08	5.40 ± 1.01	66.68 ± 0.64	70.32 ± 0.10	70.32 ± 1.00
Hcy	$35.41 \pm 4.75^*$	$41.82 \pm 0.65^*$	$42.83 \pm 4.93^*$	$100.30 \pm 1.33^*$	$102.27 \pm 1.18^*$	$103.85 \pm 2.02^*$

与对照组比较: * $P < 0.05$

时,影响肠黏膜血液循环,增加肠黏膜通透性,降低肠黏膜吸收,导致血便和腹泻的发生^[9]。

Hcy 参与蛋氨酸代谢过程,可引起 NF- κ B 活性增强,促进氧化损伤,影响血管内皮细胞屏障,引起炎症介质释放增加,加速动脉粥样硬化的发展^[7,12]。此外,Hcy 可诱导机体产生白介素-6(interleukin-6, IL-6)^[13] 和 IL-8 等^[14] 炎性因子对宿主起免疫监视作用。Lazzerini et al^[15] 发现在类风湿性关节炎(rheumatoid arthritis, RA) 中,Hcy 通过激活 NF- κ B,刺激 IL-6 和 IL-8 合成,参与 RA 免疫炎症损伤。朱建华等^[9] 发现在动脉粥样硬化中,Hcy 激活 NF- κ B 促进血管平滑肌细胞 IL-6 合成增加。本研究表明 Hcy 作用于 Caco-2 细胞,激活 NF- κ B, Caco-2 细胞中 FITC 增加和细胞的 TEER 降低,且呈一定的浓度依赖性,提示 Hcy 可通过活化 NF- κ B 信号通路,引起 Caco-2 细胞黏膜屏障功能受损,导致肠黏膜通透性增加。同时,本研究结果显示 Hcy 作用于 Caco-2 细胞激活 NF- κ B,引起 LTE₄ 和 PGE₂ 合成增加,与课题组前期动物实验结果一致,提示 Hcy 通过促进炎症介质释放调节肠道炎症过程。

综上所述,Hcy 可通过活化 NF- κ B 信号通路,引起 Caco-2 细胞黏膜通透性增加,促进炎症介质 LTE₄ 和 PGE₂ 的合成,加重肠黏膜功能损伤,为 Hcy 在 IBD 病理生理机制中的作用提供实验依据。同时也为寻找 Hcy 拮抗剂为临床 IBD 的诊疗提供新思路。但 NF- κ B 转录因子是否受其上游其他信号通路调控,有待进一步深入研究。

参考文献

- [1] Hayden M S, Ghosh S. Shared principles in NF-kappaB signaling [J]. *Cell*, 2008, 132(3): 344-62.
- [2] Abboud P A, Hake P W, Burroughs T J, et al. Therapeutic effect of epigallocatechin-3-gallate in a mouse model of colitis [J]. *Eur J Pharmacol*, 2008, 579(1-3): 411-7.

- [3] Atreya I, Atreya R, Neurath M F. NF- κ B in inflammatory bowel disease [J]. *Intern Med*, 2008, 263(6): 591-6.
- [4] Stanke-Labesque F, Pofelski J, Moreau-Gaudry A, et al. Urinary leukotriene E₄ excretion: a biomarker of inflammatory bowel disease activity [J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2008, 14(6): 769-74.
- [5] Milton-Thompson G J, Cummings J H, Newman A, et al. Colonic and small intestinal response to intravenous prostaglandin F₂ alpha and E₂ in man [J]. *Gut*, 1975, 16(1): 42-8.
- [6] 朱建华, 张 力. 同型半胱氨酸对血管平滑肌细胞白细胞介素 6 表达和核转录因子- κ B 活性的影响 [J]. *中华心血管病杂志*, 2002, 30(9): 554-8.
- [7] Danese S, Sgambato A, Papa A, et al. Homocysteine triggers mucosal microvascular activation in inflammatory bowel disease [J]. *Am J Gastroenterol*, 2005, 100(4): 886-95.
- [8] 丁少桢, 丁 浩, 梅 俏, 等. 同型半胱氨酸调控 MEK-ERK-MLCK 通路影响结肠炎大鼠肠黏膜通透性的实验研究 [J]. *中国药理学通报*, 2016, 32(4): 498-502.
- [9] Henderson P, van Limbergen J E, Schwarze J, et al. Function of the intestinal epithelium and its dysregulation in inflammatory bowel disease [J]. *Inflam Bowel Dis*, 2011, 17(1): 382-95.
- [10] Kiwak K J, Moskowitz M A, Levine L. Leukotriene production in gerbil brain after ischemic insult, subarachnoid hemorrhage, and concussive injury [J]. *J Neurosurg*, 1985, 62(6): 865-9.
- [11] Sartor R B. Mechanisms of disease: pathogenesis of Crohn's disease and ulcerative colitis [J]. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol*, 2006, 3(7): 390-407.
- [12] Lai W K, Kan M Y. Homocysteine-induced endothelial dysfunction [J]. *Ann Nutr Metab*, 2015, 67(1): 1-12.
- [13] Su S J, Huang L W, Pai L S, et al. Homocysteine at pathophysiological concentrations activates human monocyte and induces cytokine expression and inhibits macrophage migration inhibitory factor expression [J]. *Nutrition*, 2005, 21(10): 994-1002.
- [14] Holven K B, Aukrust P, Retterstol K, et al. Increased levels of C-reactive protein and interleukin-6 in hyperhomocysteinemic subjects [J]. *Scand J Clin Lab Invest*, 2006, 66(1): 45-54.
- [15] Lazzerini P E, Selvi E, Lorenzini S, et al. Homocysteine enhances cytokine production in cultured synovial cells from rheumatoid arthritis patients [J]. *Clin Exp Rheumatol*, 2006, 24(4): 387-93.

Effects of homocysteine on nuclear factor- κ B activity and the synthetic levels of leukotriene E₄ and prostaglandin E₂

Wang Jing, Mei Yongyu, Ding Shaozhen, et al

(Dept of Gastroenterology, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University,
The Key Laboratory of Digestive Disease of Anhui Province, Hefei 230022)

Abstract Objective To elucidate the effects of homocysteine (Hcy) on the synthetic levels of leukotriene E₄ (LTE₄) and prostaglandin E₂ (PGE₂) in Caco-2 cells and the activity of nuclear factor kappa B (NF- κ B). **Methods** Caco-2 cells were cultured and treated with Hcy in different concentrations (0, 10, 20, 50 μ mol/L) and

网络出版时间: 2019-5-9 10:21 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.r.20190506.1438.018.html>

◇预防医学研究◇

NLRP3 与三氯乙烯致敏小鼠肝脏损伤关系研究

谢海波¹, 李娜¹, 陈双平¹, 张家祥¹, 王峰², 杨玲³, 朱启星^{1,2}

摘要 目的 检测小鼠肝脏 NLRP3 水平, 探讨 NLRP3 与三氯乙烯(TCE)致敏小鼠免疫性肝损伤的关系。方法 选取 22 只无特定病原体雌性 6~8 周 BALB/c 小鼠, 随机分为空白对照组 6 只, 溶剂对照组 4 只, 72 h TCE 组 12 只, 建立 TCE 小鼠致敏模型。于末次激发后 24 h 依据小鼠背部皮肤致敏反应评分情况, 将 TCE 组小鼠分为 TCE 致敏组与 TCE 未致敏组。所有小鼠于末次激发后 72 h 处死, 眼球取血测定小鼠肝功能指标谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST); 无菌取小鼠肝脏, 石蜡包埋切片后观察小鼠肝脏病理, 免疫组织化学(IHC)法及 Western blot 法测定小鼠肝脏 NLRP3 蛋白表达情况。实时荧光定量 PCR 法检测小鼠肝脏 NLRP3 基因水平。结果 TCE 致敏组小鼠血清 ALT、AST 水平较空白对照组、溶剂对照组和 TCE 未致敏组明显升高, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。空白对照组、溶剂对照组、TCE 未致敏组小鼠肝细胞未见明显病理改变。TCE 致敏组小鼠肝脏可

见大量肝细胞肿胀, 细胞核破裂或消失, 并有炎细胞聚集。免疫组化法结果显示 TCE 致敏组小鼠肝脏有大量 NLRP3 表达, 空白对照组、溶剂对照组、TCE 未致敏组未见明显表达。Western blot 结果显示 TCE 致敏组小鼠肝脏 NLRP3 蛋白表达较空白对照组、溶剂对照组和 TCE 未致敏组明显升高($P < 0.05$)。实时荧光定量 PCR 结果显示 TCE 致敏组小鼠 NLRP3 基因较其他组明显升高, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 NLRP3 在 TCE 致敏组小鼠肝脏中表达较其他组明显增加, 提示 NLRP3 的表达可能与 TCE 致敏小鼠免疫性肝损伤有关。

关键词 三氯乙烯; NLRP3; 肝脏

中图分类号 R 349.31

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2019)05-0748-05

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2019.05.018

2019-01-22 接收

基金项目 国家自然科学基金(编号: 81874259、81673141、81502791); 安徽高校自然科学基金项目(编号: KJ2017A206)

作者单位 ¹ 安徽医科大学公共卫生学院职业卫生与环境卫生学系, 合肥 230032

² 安徽医科大学皮肤病研究所, 合肥 230032

³ 安徽医科大学医院, 合肥 230032

作者简介 谢海波, 男, 硕士研究生;

朱启星, 男, 教授, 博士生导师, 责任作者, E-mail: zqxing@yeah.net

三氯乙烯(trichloroethylene, TCE)作为一种主要的卤代烯烃化合物, 常被用作溶剂、萃取剂、干洗剂和金属去污剂等^[1]。职业性接触 TCE 可引起不同程度的皮肤炎症反应, 多数患者还伴随有黏膜和内脏的损害, 临床表现类似于药疹, 称之为“职业性三氯乙烯药疹样皮炎”(occupational dermatitis medicamentosa-like of trichloroethylene, ODMLT)^[2]。研究^[3]发现 TCE 介导皮炎发生的同时也伴随着肝脏的严重损伤, 且为 ODMLT 致死的主要原因之一^[4]。因此, 三氯乙烯介导的免疫性肝损害的机制研究在

time (1, 3, 6 h), MTT method and LDH activity were used to observe the change of cells growth viability. The concentrations of FITC in samples and TEER of Caco-2 cells were examined to understand the effect of Hcy on Caco-2 cells permeability. The synthetic levels of LTE₄ and PGE₂ were measured by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) in cells supernatant and the activity of NF- κ B was detected by Gel mobility migration (EMSA). **Results** After treatment with Hcy, the viability of Caco-2 cells were significantly inhibited with a time and dose dependent manner. With the increasing of Hcy concentrations, the TEER significantly decreased and the FITC transmembrane transport greatly increased, the levels of LTE₄ and PGE₂ in cells supernatant were markedly augmented ($P < 0.05$); the activity of Caco-2 cells treated with Hcy (50 μ mol/L) significant augmented with a time dependent (1, 3, 6 h) manner. **Conclusion** Hcy can accelerate the synthesis of LTE₄ and PGE₂ in intestinal mucosa by activating NF- κ B signaling pathway, causing intestinal mucosal inflammation damage in Caco-2 cells.

Key words homocysteine; nuclear factor kappa B; 5-lipoxygenase; cyclooxygenase-2; leukotriene E₄; prostaglandin E₂