

PPAR- γ 在严重烧伤后延迟补液诱导的肠屏障损伤中的作用机制研究

刘力维^{1,2}, 李大伟², 冯柏臻^{1,2}, 赵玉升^{1,2}, 申传安²

¹解放军医学院, 北京 100853; ²解放军总医院第四医学中心烧伤整形医学部, 北京 100048

摘要: **背景** 严重烧伤后延迟补液会显著加剧肠道缺血-再灌注损伤, 进而破坏肠道屏障功能, 然而过氧化物酶体增殖物激活物受体 γ (peroxisome proliferator-activated receptor gamma, PPAR- γ)在此特定病理背景下对肠道屏障的具体保护机制目前仍未见系统报道。**目的** 探讨延迟补液所致严重烧伤后肠道屏障损伤中PPAR- γ 的表达特点及其在肠道屏障损伤中的作用机制。**方法** 研究分为两部分。第一部分为时间依赖性实验, 纳入30只C57/BL小鼠, 制作30%总体表面积烫伤模型。所有动物随机分为5组: 假手术组(Sham)、即刻液体复苏组(PR)、延迟3 h复苏组(3hR)、延迟6 h复苏组(6hR)以及不复苏组(NR)。于伤后12 h检测肠道病理损伤、肠道屏障通透性指标血清肠道型脂肪酸结合蛋白(intestinal-type fatty acid-binding protein, iFABP)、血清D-氨基酸氧化酶(D-amino acid oxidase, DAO)、肠紧密连接蛋白闭锁小带蛋白-1(zonula occludens-1, ZO-1)和闭合蛋白(Occludin)表达及PPAR- γ 的表达情况。第二部分为干预实验, 18只小鼠分为延迟6 h复苏组(6hR)、延迟6 h+罗格列酮组(6hRR)及延迟6 h+GW9662组(6hGR)。在评估上述参数的同时, 检测炎症因子肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)和白细胞介素-1 β (interleukin-1 beta, IL-1 β)水平。**结果** 与PR组相比, 各延迟复苏组(3hR、6hR和NR)在伤后12 h肠道损伤均加重, 表现为组织病理学评分升高($P<0.01$)、血清肠道通透性标志物iFABP和DAO水平升高($P<0.01$)、紧密连接蛋白ZO-1和Occludin表达量显著减少($P<0.01$, $P<0.05$), 以及PPAR- γ 表达下调(6hR与NR组, $P<0.01$)。与3hR组比较, 6hR组和NR组肠道损伤呈进行性加重, 伤后12 h组织病理学评分均变化($P<0.01$), 血清DAO水平升高($P<0.05$), ZO-1与Occludin表达均显著降低。与6hR组相比, 6hRR组PPAR- γ 表达上调($P<0.05$), 同时伴有肠道病理损伤明显改善($P<0.01$)、血清iFABP和DAO水平降低($P<0.01$)、ZO-1和Occludin表达增强($P<0.01$, $P<0.05$), 以及TNF- α 和IL-1 β 水平受到抑制($P<0.01$)。相反, 与6hRR组相比, 6hGR组表现出相反的效果, 呈现PPAR- γ 表达下调, 伴有组织病理学损伤加剧($P<0.01$)、血清iFABP和DAO水平升高($P<0.01$)、ZO-1和Occludin表达减弱($P<0.01$), 以及TNF- α 和IL-1 β 含量增加($P<0.01$)。**结论** PPAR- γ 通过抑制炎症反应和维持紧密连接蛋白的稳定性, 减轻延迟补液诱导的肠道屏障损伤。早期补液或药物激活PPAR- γ 具有潜在的治疗价值, 并为优化烧伤复苏策略提供了新的靶点。

关键词: 烧伤; 延迟补液; 肠屏障损伤; PPAR- γ ; 罗格列酮

中图分类号: R459.7

文献标志码: A

文章编号: 2095-5227(2026)05-0532-10

DOI: 10.12435/j.issn.2095-5227.26011301

引用本文: 刘力维, 李大伟, 冯柏臻, 等. PPAR- γ 在严重烧伤后延迟补液诱导的肠屏障损伤中的作用机制研究 [J]. 解放军医学院学报, 2026, 47 (5): 532-541.

Action mechanism of PPAR- γ in delayed fluid resuscitation-induced intestinal barrier injury following severe burns

LIU Liwei^{1,2}, LI Dawei², FENG Baigong^{1,2}, ZHAO Yusheng^{1,2}, SHEN Chuan'an²

¹Chinese PLA Medical School, Beijing 100853, China; ²Senior Department of Burns and Plastic Surgery, the Fourth Medical Center of PLA General Hospital, Beijing 100048, China

Corresponding author: SHEN Chuan'an. Email: shenchuanan@301hospital.com.cn

Abstract: Background Delayed fluid resuscitation following severe burns significantly exacerbates intestinal ischemia-reperfusion injury, thereby impairing intestinal barrier function. However, the specific protective mechanism of peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPAR- γ) on the intestinal barrier in this particular pathological context has not been systematically reported. **Objective** To investigate the expression characteristics of PPAR- γ and its role in intestinal barrier injury following severe burns with delayed fluid resuscitation. **Methods** The study consisted of two parts. The first part was a time-dependent experiment involving 30 C57/BL mice subjected to a 30% total body surface area scald model. Animals were randomly divided into five groups: sham-operated (Sham), immediate fluid resuscitation (PR), delayed resuscitation at 3 hours (3hR), delayed resuscitation at 6 hours (6hR), and no resuscitation (NR). At 12 hours post-injury, intestinal pathological damage, intestinal barrier permeability markers

收稿日期: 2026-01-13

基金项目: 国家重点研发计划(2024YFC3016604); 省部级课题

第一作者: 刘力维, 在读硕士. Email: liuliwei304@126.com

通信作者: 申传安, 主任医师, 博士生导师. Email: shenchuanan@301hospital.com.cn

serum intestinal-type fatty acid-binding protein (iFABP) and serum D-amino acid oxidase (DAO), expression of tight junction proteins zonula occludens-1 (ZO-1), Occludin, and PPAR- γ expression were assessed. The second part was an intervention experiment involving 18 mice divided into three groups: delayed 6-hour resuscitation (6hR), delayed 6-hour resuscitation with rosiglitazone (6hRR), and delayed 6-hour resuscitation with GW9662 (6hGR). In addition to evaluating the aforementioned parameters, inflammatory cytokine levels (TNF- α) and Interleukin-1 beta (IL-1 β) were measured. **Results** Compared to the PR group, all delayed resuscitation groups (3hR, 6hR, and NR) exhibited significantly aggravated intestinal injury at 12 hours post-injury, as evidenced by significantly increased histopathological scores ($P<0.01$), elevated serum intestinal permeability markers iFABP and DAO ($P<0.01$), reduced expression of tight junction proteins ZO-1 and Occludin ($P<0.01$, $P<0.05$), and significantly downregulated PPAR- γ expression (6hR and NR groups, $P<0.01$). Compared to the 3hR group, more severe delayed resuscitation groups showed progressively worsened intestinal injury. At 12 hours post-injury, the 6hR and NR groups displayed significantly deteriorated histopathological scores ($P<0.01$), serum DAO levels ($P<0.05$), and expression of ZO-1 and Occludin. Compared to the 6hR group, the 6hRR group exhibited significantly upregulated PPAR- γ expression ($P<0.01$, $P<0.05$), accompanied by markedly improved intestinal pathological damage ($P<0.01$), reduced serum iFABP and DAO levels ($P<0.01$), enhanced ZO-1 and Occludin expression ($P<0.01$, $P<0.05$), and suppressed TNF- α and IL-1 β levels ($P<0.01$). Conversely, compared to the 6hRR group, the 6hGR group showed opposite effects, with downregulated PPAR- γ expression, aggravated histopathological damage ($P<0.01$), increased serum iFABP and DAO levels ($P<0.01$), reduced ZO-1 and Occludin expression ($P<0.01$), and elevated TNF- α and IL-1 β levels ($P<0.01$). **Conclusion** PPAR- γ alleviates delayed fluid resuscitation-induced intestinal barrier injury by suppressing inflammatory responses and maintaining the stability of tight junction proteins. Early fluid resuscitation or pharmacological activation of PPAR- γ holds potential therapeutic value and provides a novel target for optimizing burn resuscitation strategies.

Keywords: burns; delayed fluid resuscitation; intestinal barrier injury; PPAR- γ ; rosiglitazone

Cited as: Liu LW, Li DW, Feng BG, et al. Action mechanism of PPAR- γ in delayed fluid resuscitation-induced intestinal barrier injury following severe burns[J]. Acad J Chin PLA Med Sch, 2026, 47(5): 532-541.

严重烧伤可导致低血容量性休克，而液体复苏是救治的基石。然而，临床实践中常因各种因素导致复苏延迟。研究证实，延迟补液会加剧肠道缺血-再灌注损伤，破坏肠道屏障功能，这可能引发肠源性感染等严重后果，但其分子机制尚未完全阐明^[1-6]。

过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (peroxisome proliferator-activated receptor gamma, PPAR- γ)被证实是在维持肠道屏障完整性和抗炎中发挥关键作用^[7-11]。然而，在“严重烧伤-延迟补液”这一特定病理背景下，PPAR- γ 对肠道屏障的具体保护机制目前仍缺乏系统研究。严重烧伤所特有的持续性组织坏死、剧烈的氧化应激，叠加延迟补液引发的独特且复杂的缺血-再灌注损伤，构成了一个与其他危重症模型既相关联又存在显著差异的病理生理环境^[12]。

基于以上发现，本研究旨在量化延迟时间与早期肠屏障损伤严重程度的关系，探讨PPAR- γ 在严重烧伤后延迟复苏诱导肠道屏障损伤中的作用机制。通过建立30%总体表面积(total body surface area, TBSA)小鼠烫伤模型，检测液体复苏对肠道屏障完整性及PPAR- γ 表达的时序性影响，并采用药理学激活(罗格列酮)与抑制(GW9662)方法验证PPAR- γ 的保护功能，以期深入解析烧伤后肠道病理生理机制，为优化临床复苏策略及开发靶向治疗提供新的思路。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

小鼠血清肠道型脂肪酸结合蛋白(intestinal-type fatty acid-binding protein, iFABP)ELISA试剂盒(江苏酶免实业有限公司); 小鼠肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)ELISA试剂盒(江苏酶免实业有限公司); 小鼠白细胞介素-1 β (interleukin-1 beta, IL-1 β)ELISA试剂盒(江苏酶免实业有限公司); 小鼠血清D-氨基酸氧化酶(D-amino acid oxidase, DAO)ELISA试剂盒(南京建成生物工程研究所有限公司); 兔源闭锁小带蛋白-1(zonula occludens-1, ZO-1)单克隆抗体(杭州华安生物技术有限公司); 兔源闭合蛋白(Occludin)单克隆抗体(Cell Signaling Technology公司); PPAR- γ 单克隆抗体(Cell Signaling Technology公司); β -肌动蛋白(β -actin)单克隆抗体(Cell Signaling Technology公司); 辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)标记山羊抗兔二抗(Cell Signaling Technology公司); Alexa Fluor 488标记的山羊抗兔免疫球蛋白G(immunoglobulin G, IgG)(武汉赛维尔生物科技有限公司); Alexa Fluor 594标记山羊抗兔IgG(武汉赛维尔生物科技有限公司); 4',6-二脒基-2-苯基吲哚(4', 6-diamidino-2-phenylindole, DAPI)封片剂(北京索莱宝科技有限公司); 罗格列酮(TargetMol公司); GW9662(TargetMol公司);

DBE-420 水浴锅(江苏南通科学仪器厂); SYD-B-F 石蜡包埋机(沈阳誉德电子仪器有限公司); ASP3005 脱水机(德国徕卡公司); RM2245 病理切片机(德国徕卡公司); 超高速低温离心机(Thermo Fisher Scientific 公司)、1X51 倒置荧光显微镜(Olympus 公司); Bio Tek 酶标仪(Agilent 公司); Fluor ChemE 凝胶成像仪(Protein Simple 公司)。

1.2 实验动物

48 只健康 SPF 级成年雄性 C57BL/6 小鼠(21 ~ 24 g)由斯贝福(北京)生物技术有限公司提供, 许可证号: SCXK(京)2024-0001。实验前, 所有小鼠在通风、恒温(22℃ ± 2℃)、恒湿(50% ± 10%)环境中适应性饲养 14 d。本研究方案经解放军总医院动物实验伦理委员会审查批准(伦理批号: 2024-X20-10)。所有实验程序均严格遵守国家及有关部门关于实验动物护理与使用的规定。

1.3 动物分组及实验方法

在动物实验的第一部分, 为探究补液时机, 通过随机数字表法将 30 只小鼠分为 5 组(每组 n=6): 假伤组(Sham)、即刻补液组(PR)、延迟 3 h 补液组(3hR)、延迟 6 h 补液组(6hR)及未补液组(NR)。在致伤前, 所有小鼠均采用异氟烷麻醉(诱导浓度 5%, 维持浓度 2%)。麻醉后, 剃除小鼠背部约占 30% TBSA 的毛发, 该区域定义为双侧后肢与耳部之间的皮肤范围。除 Sham 组外, 其余各组小鼠均通过将脱毛的背部区域浸泡于 90℃ 水浴中 10 s, 造成 30% TBSA 全层烫伤; Sham 组小鼠则在相同操作条件下浸泡于 37℃ 水浴中 10 s, 以模拟致伤过程但不造成实际热损伤, 且术后不给予任何干预处理。PR 组、3hR 组和 6hR 组小鼠分别在伤后即刻、伤后 3 h 及伤后 6 h, 按 Parkland 公式[4 mL/(kg·%TBSA)]计算补液量, 经腹腔注射乳酸钠林格溶液; Sham 组与 NR 组不予补液处理。

在动物实验的第二部分, 为探究 PPAR-γ 的作用, 将 18 只小鼠随机分为 3 组(每组 n=6), 分别接受不同的延迟 6 h 补液方案: 单纯补液组(6hR)、补液联合罗格列酮组(6hRR)及补液联合 GW9662 组(6hGR)。所有动物均采用前述相同的麻醉与致伤操作流程。伤后 6 h, 6hR 组、6hRR 组和 6hGR 组小鼠均按 Parkland 公式计算剂量, 经腹腔注射乳酸钠林格溶液[4 mL/(kg·%TBSA)]; 同时, 6hRR 组和 6hGR 组分别额外经腹腔注射罗格列酮(3 mg/kg)和 GW9662(1 mg/kg)。实验分组及缩写见表 1。

1.4 样本采集

伤后 12 h, 所有小鼠经麻醉后, 通过眼眶采集血样, 以 3 000 转/min 离心 15 min, 分装上清液并置于 -80℃ 保存。截取近端回肠 8 ~ 10 cm, 用冰生理盐水充分冲洗。取其中 1 cm 组织固定于 4% 多聚甲醛溶液中, 其余肠段沿纵向剖开, 用玻片小心刮取黏膜层, 液氮速冻后置于 -80℃ 保存。

1.5 HE 染色与 Chiu's 评分评估肠黏膜病理损伤程度

经 4% 多聚甲醛充分固定后, 肠组织样本进行石蜡包埋并切片(厚度 5 μm), 行 HE 染色以观察组织病理学改变, 并于光镜下采集代表性图像进行记录。采用 Chiu's 评分系统评估肠黏膜损伤程度, 标准如下: 0 分表示组织结构正常; 1 分为绒毛顶端上皮间下间隙增宽; 2 分为绒毛顶部上皮与固有层分离; 3 分为绒毛两侧片状上皮脱落; 4 分为绒毛上皮完全脱落仅存固有层; 5 分为黏膜全层崩解伴出血与溃疡形成。该分级标准为肠道屏障损伤程度提供了定量评估依据。

1.6 ELISA 法检测血清 iFABP 与 DAO 浓度

严格按照商品化 ELISA 试剂盒说明书操作, 检测血清中 iFABP 和 DAO 的浓度。

1.7 免疫荧光染色技术检测紧密连接蛋白(ZO-1、

表 1 实验分组
Tab.1 Experimental grouping

组别(Group)	缩写(Abbreviation)	数量(只)(Number)
假伤组(Sham Group)	Sham	6
即刻补液组(Prompt Resuscitation Group)	PR	6
伤后 3 h 延迟补液组(Delayed resuscitation at 3 hours post-injury group)	3hR	6
伤后 6 h 延迟补液组(Delayed resuscitation at 6 hours post-injury group)	6hR	6
未补液组(No resuscitation group)	NR	6
6 h 延迟补液组(Delayed 6-hour resuscitation group)	6hR	6
6 h 延迟补液+罗格列酮组(Delayed 6-hour resuscitation + Rosiglitazone group)	6hRR	6
6 h 延迟补液+GW9662 组(Delayed 6-hour resuscitation + GW9662 group)	6hGR	6

Occludin)及PPAR- γ 的表达与定位

采用免疫荧光染色技术检测紧密连接蛋白ZO-1、Occludin及PPAR- γ 的表达与定位。肠组织切片于室温晾干后,在65℃烘烤15 min。通过二甲苯及梯度乙醇(100%、95%、70%)依次浸渍进行脱蜡处理。使用柠檬酸盐缓冲液在65℃条件下进行抗原修复,继以3%过氧化氢阻断内源性过氧化物酶、0.2% Triton X-100透膜处理15 min。室温下经5%牛血清白蛋白封闭2 h后,切片分别与ZO-1(1:200)、Occludin(1:200)及PPAR- γ (1:1 000)一抗在4℃孵育过夜。洗涤后,切片与相应种属的荧光二抗(Alexa Fluor 594及Alexa Fluor 488标记)室温避光孵育2 h。采用荧光显微镜在相同曝光参数下观察并分析各蛋白在肠黏膜中的分布及表达水平。每组随机选取3只动物的肠组织切片,每张切片在荧光显微镜下采集3个具有代表性且不重叠的肠绒毛区域图像。图像采集与分析由不知晓分组情况的实验人员完成。每组最终数据以3只动物的均值 $\pm$ 标准差表示。

1.8 Western blot检测肠上皮紧密连接蛋白与PPAR- γ 表达

取-80℃保存的肠黏膜组织匀浆以提取蛋白质。采用BCA法测定蛋白浓度后,与上样缓冲液混匀并在95℃加热5 min。经电泳及转印至PVDF膜后,室温下用含5%脱脂奶粉的TBST溶液封闭2 h。随后,分别加入ZO-1(1:1 000稀释)、Occludin(1:1 000)及PPAR- γ (1:1 000)一抗,4℃孵育过夜。充分洗涤后,室温下与辣根过氧化物酶标记的二抗孵育1 h。使用增强型化学发光底物显影,并通过凝胶成像系统采集图像。每组随机选取3只动物的肠黏膜蛋白提取物进行电泳及Western blot检测,每份样本独立上样。以 β -actin为内参,采用Image J软件分析目标蛋白条带灰度值。

1.9 ELISA法检测促炎细胞因子(TNF- α 、IL-1 β)水平

取小肠黏膜组织匀浆上清液,按照ELISA试剂盒说明书检测TNF- α 和IL-1 β 水平。

1.10 统计学分析

采用GraphPad Prism 9软件进行统计分析。计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。多组间比较采用单因素方差分析(ANOVA),事后两两比较采用Tukey检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 动物存活情况

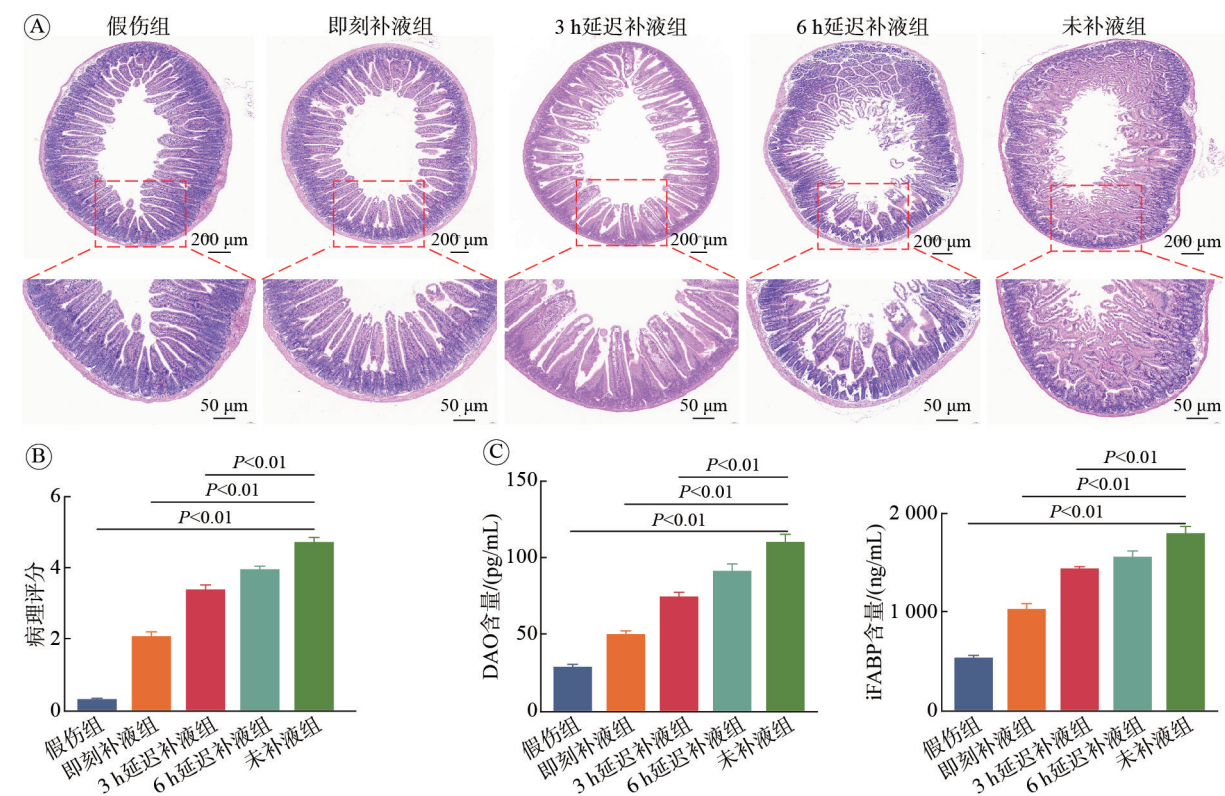
在12 h的观察期内,48只实验小鼠均未发生死亡。

2.2 补液时机对肠屏障损伤及PPAR- γ 表达的影响

2.2.1 小肠组织病理学改变 伤后12 h的组织学观察显示(图1A),不同实验组呈现明显病理差异。Sham组肠道结构正常,绒毛排列整齐,细胞形态完整,未见炎症浸润及黏膜出血。PR组绒毛结构基本保持,但可见轻微黏膜下出血。3hR组出现明显的黏膜下出血及炎症细胞浸润,绒毛顶端可见Gruenhagen's间隙形成。这些病理改变在6hR组更为显著,表现为黏膜下出血加重、炎症浸润范围扩大以及大量Gruenhagen's间隙形成。NR组损伤最为严重,出现广泛黏膜下出血、显著炎症浸润,并伴有绒毛断裂、上皮片状脱落及部分固有层消化/溶解。肠道屏障损伤程度(通过Chiu's评分量化,图1B)与伤后补液延迟时间呈正相关。与Sham组相比,所有处理组(PR、3hR、6hR及NR)的Chiu's评分均升高($P < 0.01$)。此外,3hR、6hR和NR组的评分高于PR组($P < 0.01$)。与3hR组相比,6hR组和NR组的Chiu's评分均显著升高($P < 0.01$)。

2.2.2 肠屏障通透性的变化 反映肠道屏障完整性的敏感指标血清iFABP与DAO浓度随伤后补液延迟呈进行性升高,提示肠道通透性呈时间依赖性恶化(图1C)。定量分析显示,与Sham组相比,所有干预组(PR、3hR、6hR及NR)的血清iFABP与DAO水平均升高($P < 0.01$)。进一步分析表明,相较于PR组,3hR、6hR及NR组的上述标志物浓度均增高($P < 0.01$),证明肠道屏障功能障碍呈现时间依赖性加剧。此外,统计学分析提示:6hR组血清iFABP水平与3hR组相当,而NR组则显著升高($P < 0.05$)。与3hR组相比,6hR组与NR组的血清DAO水平均升高($P < 0.05$)。

2.2.3 紧密连接蛋白表达 免疫荧光(图2)和Western blot(图3)结果显示,随着烧伤后补液时间的延迟,肠上皮紧密连接蛋白ZO-1与Occludin的表达呈进行性减弱。与Sham组相比,PR组肠黏膜ZO-1与Occludin表达无显著差异,而3hR、6hR及NR组的表达均降低($P < 0.01$)。定量分析表明,与PR组相比,3hR、6hR及NR组的ZO-1与Occludin



A: 肠道组织代表性组织学切片(放大倍数: 90×和382×); B: 组织学评分统计分析; C: 血清中iFABP与DAO的浓度

图1 肠道屏障通透性的组织病理学评估与血清标志物(n=6)

Fig. 1 Histopathological evaluation and serum markers of intestinal barrier permeability (n=6)

表达均下降(或 $P<0.05$)。此外,相较于3hR组,6hR组与NR组的ZO-1及Occludin表达进一步降低($P<0.05$)。

2.2.4 小肠黏膜PPAR- γ 的表达 免疫荧光与Western blot结果均证实,肠黏膜PPAR- γ 表达水平随补液时间延迟呈现时间依赖性下调。与假伤组相比,各处理组(PR、3hR、6hR及NR)肠黏膜PPAR- γ 表达均显著降低($P<0.01$ 或 $P<0.05$)。PR组与3hR组间差异无统计学意义;6hR组与NR组的PPAR- γ 表达较PR组进一步下降($P<0.01$)。与3hR组相比,6hR组肠黏膜PPAR- γ 表达差异无统计学意义,而NR组显著降低($P<0.05$)。见图4。

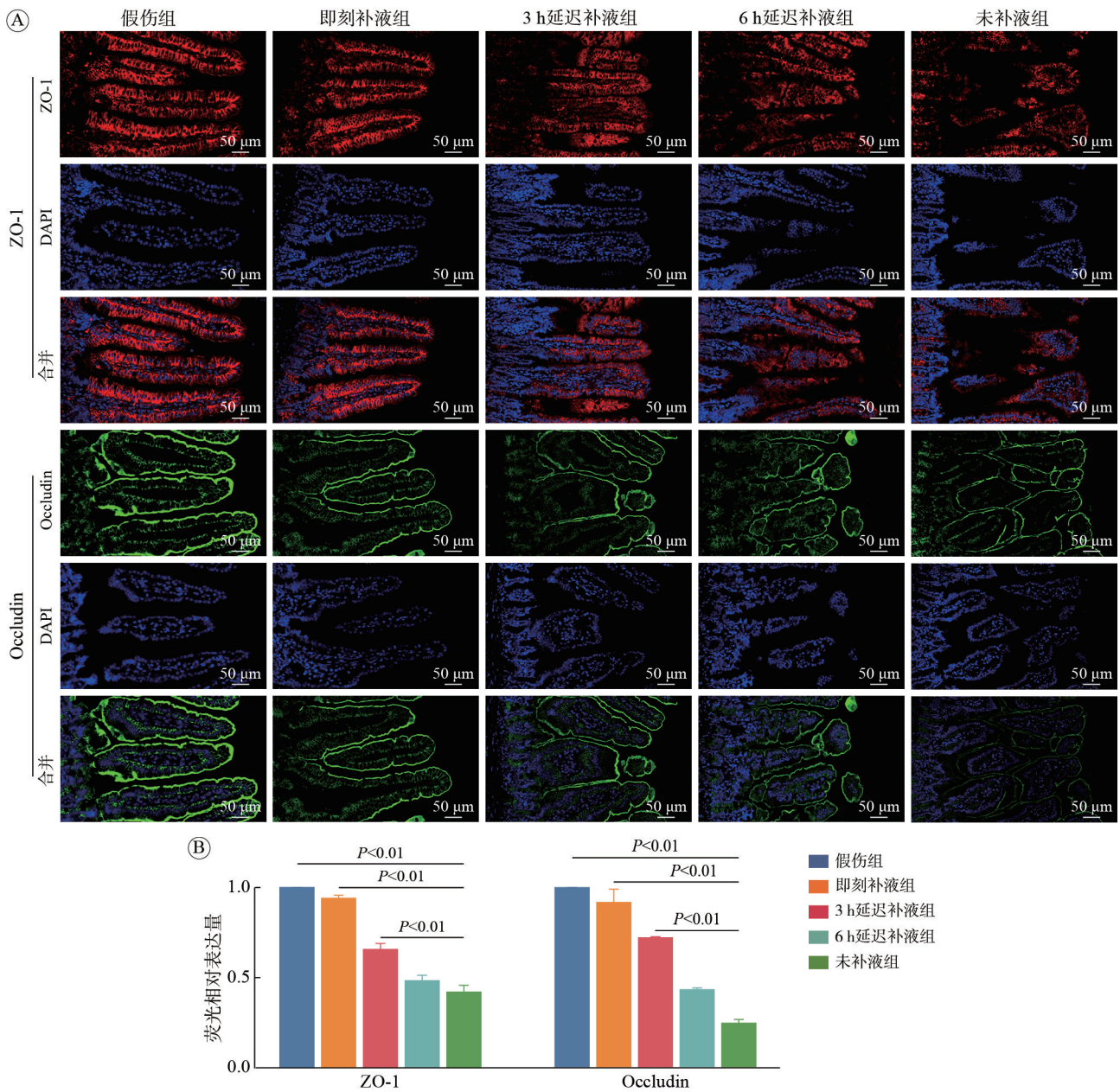
2.3 PPAR- γ 干预对肠屏障损伤的影响

2.3.1 PPAR- γ 表达调控 组织病理学观察(图5A)显示各组出现不同的肠黏膜损伤模式。6hR组绒毛结构尚存,但可见明显的炎症细胞浸润与黏膜下出血,并伴有大量绒毛顶端Gruenhagen's间隙形成。相比之下,6hRR组有所改善,表现为黏膜下出血减轻、炎症反应减弱以及Gruenhagen's间隙减少。而6hGR组则出现严重的结构破坏,包括绒毛断裂、上皮脱落、黏膜下出血以及部分固有层消化。肠道屏障损伤的Chiu's评分结果显示各处理组

间存在差异。与6hR组相比,6hRR组的评分降低($P<0.01$),而6hGR组的评分则升高($P<0.01$)。此外,与6hRR组相比,6hGR组的评分也升高($P<0.01$)。肠道屏障损伤的Chiu's评分结果显示各处理组间存在差异。与6hR组相比,6hRR组的评分降低($P<0.01$),而6hGR组的评分则升高($P<0.01$)。此外,与6hRR组相比,6hGR组的评分也升高($P<0.01$,图5B)。

2.3.2 肠屏障通透性的变化 6hRR组肠道通透性生物标志物(iFABP与DAO)的血清浓度相较6hR组水平降低($P<0.01$,图5B),而6hGR组较6hR组水平升高($P<0.01$)。此外,6hGR组的上述指标水平仍高于6hRR组($P<0.01$)。

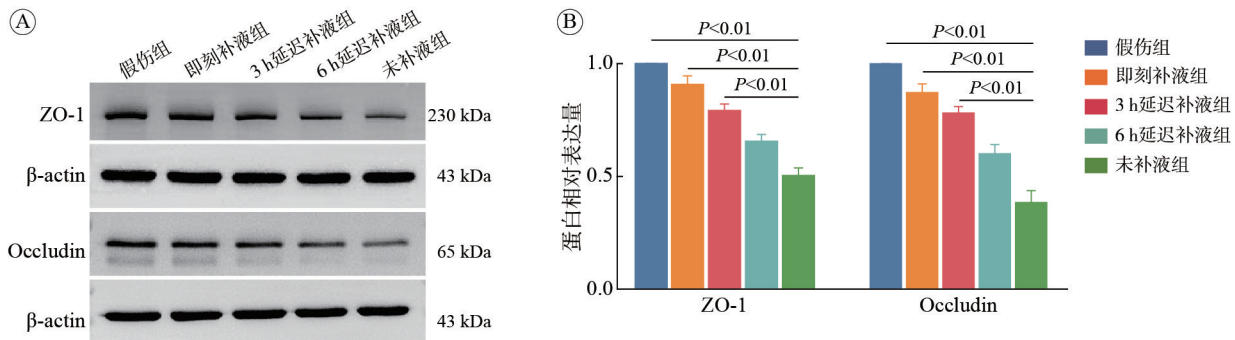
2.3.3 紧密连接蛋白的表达 免疫荧光分析(图6)显示,与6hR组相比,6hRR组肠黏膜ZO-1与Occludin表达上调($P<0.01$),而6hGR组则下调($P<0.01$)。此外,6hGR组的表达水平低于6hRR组($P<0.01$)。Western blot分析(图7)表明,与6hR组相比,6hRR组肠黏膜ZO-1与Occludin表达均上调($P<0.01$, $P<0.05$),而6hGR组则下调($P<0.01$, $P<0.05$)。值得注意的是,6hGR组的表达水平低于6hRR组($P<0.01$)。



A: ZO-1 和 Occludin 的免疫荧光染色(放大倍数: 884×); B: ZO-1 和 Occludin 荧光强度的定量分析

图 2 肠道组织 ZO-1 与 Occludin 蛋白表达的免疫荧光分析 (n=3)

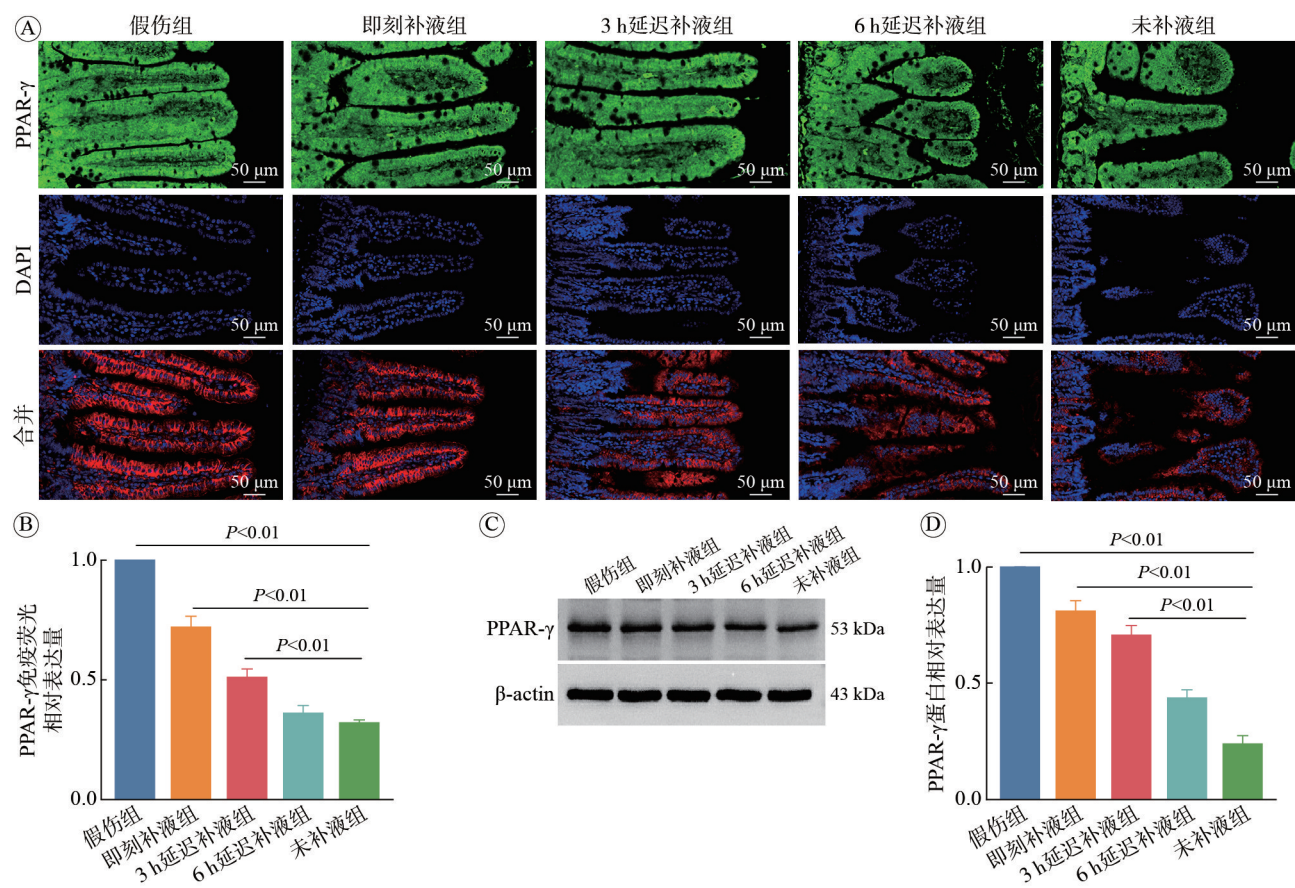
Fig. 2 Immunofluorescence analysis of ZO-1 and Occludin protein expression in intestinal tissue (n=3)



A: ZO-1 与 Occludin 代表性 Western blot 结果; B: ZO-1 与 Occludin 表达量的定量分析

图 3 Western blot 检测肠道黏膜上皮组织中 ZO-1 与 Occludin 的蛋白表达 (n=3)

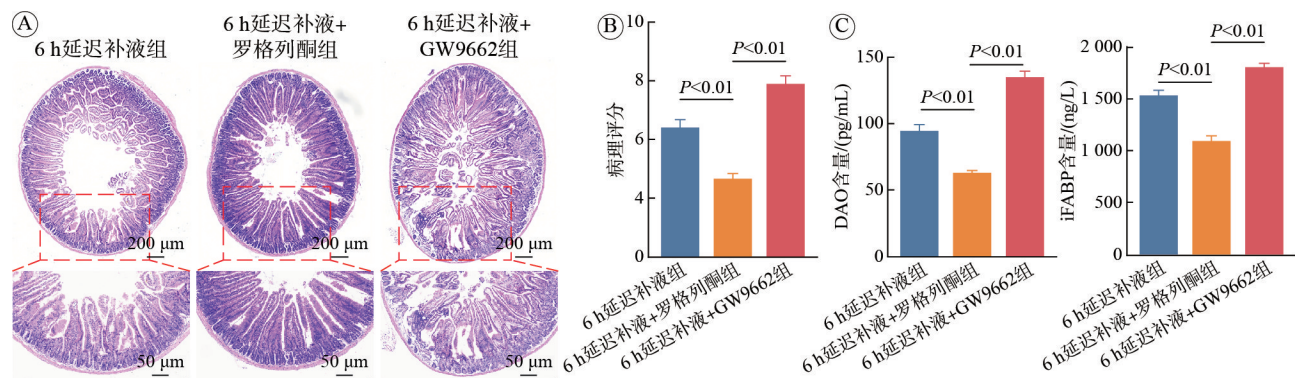
Fig. 3 Western blot analysis of ZO-1 and Occludin protein expression in intestinal mucosal epithelial tissue (n=3)



A: PPAR- γ 免疫荧光染色(放大倍数: 884 $\times$); B: PPAR- γ 免疫荧光的定量分析; C: PPAR- γ 代表性 Western blot 结果; D: PPAR- γ 蛋白表达的定量分析

图 4 不同时间点液体复苏对肠道黏膜 PPAR- γ 表达的影响 (n=3)

Fig. 4 Effect of fluid resuscitation on PPAR- γ expression in the intestinal mucosa at different time points (n=3)



A: 肠道组织代表性病理学变化(放大倍数: 90 $\times$ 和 382 $\times$); B: 病理组织学评分的统计分析; C: 血清 iFABP 和 DAO 浓度

图 5 PPAR- γ 介导的肠道屏障完整性调节作用 (n=6)

Fig. 5 PPAR- γ -mediated regulation of intestinal barrier integrity (n=6)

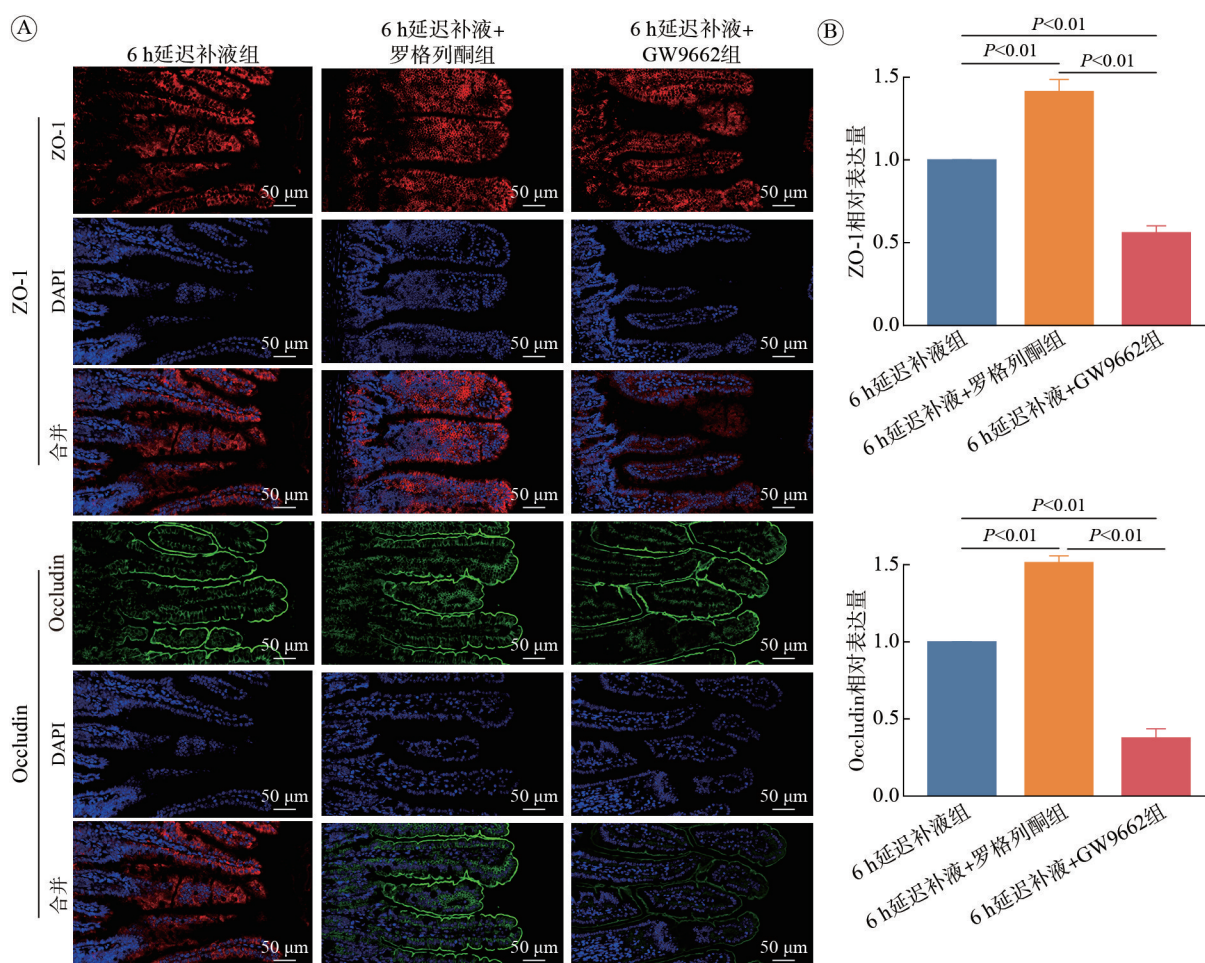
2.3.4 小肠黏膜 PPAR- γ 表达 免疫荧光(图 8A、8B)及 Western Blot(图 8C、8D)分析表明,与 6hR 组相比,6hRR 组肠黏膜 PPAR- γ 表达上调($P<0.01$, $P<0.05$),而 6hGR 组则下调($P<0.01$, $P<0.05$)。6hGR 组的 PPAR- γ 表达水平低于 6hRR 组($P<0.01$)。

2.3.5 炎症因子表达 ELISA 结果显示(图 8E),与 6hR 组相比,6hRR 组小肠黏膜中炎症因子 TNF- α

与 IL-1 β 的表达均降低($P<0.01$),而 6hGR 组中这些炎症因子的表达均升高($P<0.01$)。与 6hRR 组相比,6hGR 组小肠黏膜中 TNF- α 与 IL-1 β 的表达亦升高($P<0.01$)。

3 讨论

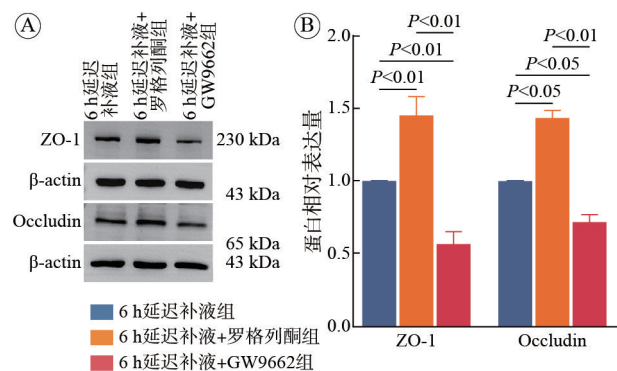
严重烧伤后肠道屏障功能障碍是导致脓毒症



A: ZO-1 和 Occludin 的免疫荧光染色(放大倍数: 884×); B: ZO-1 和 Occludin 荧光强度的定量分析

图 6 PPAR- γ 介导的肠道组织 ZO-1 与 Occludin 蛋白表达调控作用(n=3)

Fig. 6 PPAR- γ -mediated modulation of ZO-1 and Occludin protein expression in intestine tissue (n=3)



A: ZO-1 与 Occludin 代表性 Western blot 结果; B: ZO-1 与 Occludin 表达的定量分析

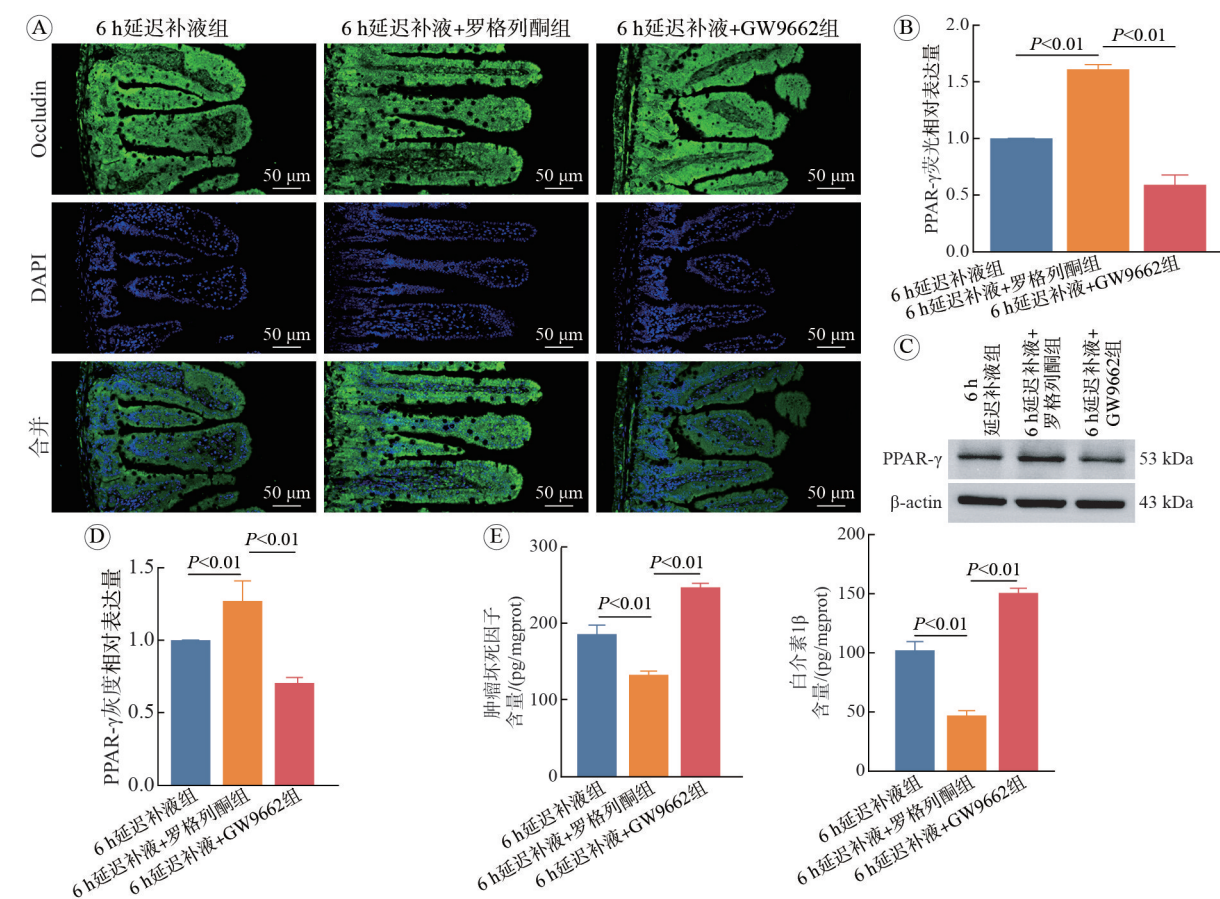
图 7 Western blot 分析 PPAR- γ 对肠道黏膜上皮组织中 ZO-1 与 Occludin 蛋白表达的调控作用(n=3)

Fig. 7 Western blot analysis of PPAR- γ -mediated regulation of ZO-1 and Occludin protein expression in intestinal mucosal epithelial tissues (n=3)

及多器官功能障碍综合征等危及生命并发症的关键致病因素^[13-15]。液体复苏是烧伤休克治疗的基石策略,其启动时机对临床预后具有决定性影

响^[16-18]。然而,因院前救治延迟及其他客观条件限制,临床实践中常出现复苏延迟,而已有研究证实该延迟会显著加剧肠道屏障损伤^[19-21]。因此,探寻减轻严重烧伤后肠道屏障损伤的治疗靶点一直是烧伤基础与临床研究的核心焦点。本研究首次系统探讨了 PPAR- γ 在严重烧伤后延迟补液所致肠道屏障损伤中的作用机制,通过分时补液干预明确了肠道屏障损伤与 PPAR- γ 表达模式间的动态关系。结果显示,早期复苏及药物激活 PPAR- γ 均能发挥肠道保护作用,这为优化复苏策略及指导靶向治疗研发提供了重要理论依据。

目前对烧伤后肠道屏障病理学的认识表明,复苏时机是影响预后的关键因素^[22-23]。本研究通过建立小鼠 30% TBSA 全层烧伤模型,从组织病理学评估、血清肠道通透性生物标志物检测及上皮紧密连接蛋白表达分析等多个维度,系统评估了复苏时机对肠道屏障完整性的影响。结果显示,延迟液体复苏会导致肠道屏障损伤显著加重,且呈



A: PPAR-γ代表性免疫荧光染色结果(放大倍数: 884×); B: PPAR-γ荧光强度的定量分析; C: PPAR-γ代表性 Western blot结果; D: PPAR-γ蛋白表达的灰度定量分析; E: 肠道黏膜中TNF-α和IL-1β的浓度分析

图8 肠道黏膜PPAR-γ表达及肠黏膜上皮组织中TNF-α和IL-1β浓度的影响(n=3)

Fig. 8 Effects on intestinal mucosal PPAR-γ expression and concentrations of TNF-α and IL-1β in intestinal mucosal epithelial tissues (n=3)

时间依赖性。

随着液体复苏启动时间的延迟，肠道组织病理损伤评分及血清 iFABP、DAO 水平升高，而紧密连接蛋白 ZO-1 和 Occludin 的表达降低。这些结果与既往研究报道基本一致，进一步证实延迟复苏会加剧肠道屏障功能障碍^[24-25]。值得注意的是，本研究首次发现 PPAR-γ 的表达水平与液体复苏时机密切相关：延迟液体复苏可导致其表达下调，而早期液体复苏则能维持其相对较高的表达水平。本研究的发现提示，对于伤后 6 h 才获得复苏的患者，其在入院初期(如伤后 12 h)可能已存在 PPAR-γ 介导的肠屏障功能不全，这为早期识别高风险患者并启动针对性的辅助治疗(如靶向 PPAR-γ)提供了理论依据和时间窗参考。

本研究通过调控 PPAR-γ 表达，进一步证实了其在肠道屏障保护中的关键作用。PPAR-γ 激动剂罗格列酮干预减轻了肠道屏障损伤，表现为病理评分降低、紧密连接蛋白表达增加以及炎症因子 TNF-α 和 IL-1β 水平下降；而 PPAR-γ 抑制剂 GW9662 则加剧了损伤。这些结果表明，PPAR-γ 可能通过抑制炎症反应和维持紧密连接蛋白的稳定性来保护肠道屏障功能。

本研究还发现 PPAR-γ 激活能抑制炎症因子 TNF-α 和 IL-1β 的表达，提示 PPAR-γ 可能在炎症级联反应中发挥上游调控作用。这意味着激活 PPAR-γ 可能成为减轻肠道屏障损伤的关键治疗策略。然而，罗格列酮未能完全逆转损伤，提示在严重烧伤延迟复苏的复杂病理背景下，可能存在 PPAR-γ 非依赖性并行损伤通路(如氧化应激、细胞焦亡/凋亡等)的共同作用，且这些通路可能在 PPAR-γ 干预窗口期之前已被强烈激活^[26-28]。这一发现凸显了单一靶点干预的局限性，并为未来探索以 PPAR-γ 为核心的联合治疗策略(如联用抗氧化剂或细胞死亡抑制剂)提供了重要依据，以期实现对肠道屏障更全面、协同的保护。

本研究的局限性如下：第一，实验采用腹腔补液而非静脉补液，可能低估了临床液体复苏的血流动力学效应^[29]；第二，观察时间仅限于伤后

12 h, 未能涵盖更长时间点(如 24 h、48 h 或更长)的肠屏障损伤与修复动态^[30-31]; 第三, PPAR- γ 上游信号通路的具体机制尚未完全阐明。后续研究将延长观察时间, 并通过条件性基因敲除模型和单细胞测序技术, 进一步解析 PPAR- γ 在肠上皮细胞中的时空特异性调控网络。

此外, 一次性大容量腹腔注射复苏模型虽便于标准化, 但其生理学效应与临床持续静脉复苏存在本质区别。单次注射可瞬时改变腹腔压力与肠系膜血流, 其独特的吸收动力学亦无法模拟临床复苏的容量维持过程, 这些因素可能作为混杂变量影响肠道屏障功能的观测结果^[32-33]。尽管如此, 在严格控制变量的实验条件下, 本研究仍能揭示补液时机与损伤程度的明确梯度关系, 并证实 PPAR- γ 在该模型下的保护作用通路。后续研究应在更贴近临床的持续复苏模型中进一步验证本结论的普适性与定量准确性。

综上, 本研究证实了 PPAR- γ 在严重烧伤后延迟复苏所致肠道屏障功能障碍中的保护作用, 并揭示了早期液体复苏或药物激活 PPAR- γ 的治疗潜力。这些发现不仅深化了对烧伤后肠道屏障损伤机制的理解, 也为优化临床复苏策略和开发靶向干预药物提供了新的理论基础与治疗靶点。

作者贡献 刘力维: 实验实施, 统计分析, 论文撰写; 李大伟: 论文修订, 监督指导; 冯柏臻、赵玉升、申传安: 论文修订。

利益冲突 所有作者声明无利益冲突。

数据共享声明 本论文相关数据可依据合理理由从通讯作者处获取, Email: shenchuanan@301hospital.com.cn。

参考文献

- 1 Haruta A, Mandell SP. Assessment and management of acute burn injuries [J]. *Phys Med Rehabil Clin N Am*, 2023, 34 (4): 701-716.
- 2 Zhou B, Ba T, Wang LF, et al. Combination of sodium butyrate and probiotics ameliorates severe burn-induced intestinal injury by inhibiting oxidative stress and inflammatory response [J]. *Burns*, 2022, 48 (5): 1213-1220.
- 3 Tang AL, Shen MJ, Zhang GQ. Intestinal microcirculation dysfunction in sepsis: pathophysiology, clinical monitoring, and therapeutic interventions [J]. *World J Emerg Med*, 2022, 13 (3): 343-348.
- 4 Hii HP, Lo WZ, Fu YH, et al. Improvement in heat stress-induced multiple organ dysfunction and intestinal damage through protection of intestinal goblet cells from prostaglandin E1 analogue misoprostol [J]. *Life Sci*, 2022, 310: 121039.
- 5 Liu S, Chen H, Xu Z, et al. Sodium butyrate inhibits the production of HMGB1 and attenuates severe burn plus delayed resuscitation-induced intestine injury *via* the p38 signaling pathway [J]. *Burns*, 2019, 45 (3): 649-658.
- 6 Jung AD, Friend LA, Stevens-Topic S, et al. Direct peritoneal resuscitation improves survival in a murine model of combined hemorrhage and burn injury [J]. *Mil Med*, 2020, 185 (9/10): e1528-e1535.
- 7 Liang JJ, Yang CY, Li PC, et al. Astragaloside IV inhibits AOM/DSS-induced colitis-associated tumorigenesis *via* activation of PPAR γ signaling in mice [J]. *Phytomedicine*, 2023, 121: 155116.
- 8 Cheng SY, Chen WJ, Guo ZZ, et al. Paeonol alleviates ulcerative colitis by modulating PPAR- γ and nuclear factor- κ B activation [J]. *Sci Rep*, 2024, 14: 18390.
- 9 Zhou Y, Xiong XY, Cheng Z, et al. Ginsenoside Rb1 alleviates DSS-induced ulcerative colitis by protecting the intestinal barrier through the signal network of VDR, PPAR γ and NF- κ B [J]. *Drug Des Dev Ther*, 2024, 18: 4825-4838.
- 10 Noori M, Azimirad M, Ghorbaninejad M, et al. PPAR- γ agonist mitigates intestinal barrier dysfunction and inflammation induced by *Clostridioides difficile* SlpA *in vitro* [J]. *Sci Rep*, 2024, 14: 32087.
- 11 Lai YH, Wu TC, Tsai BY, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor- γ as the gatekeeper of tight junction in *Clostridioides difficile* infection [J]. *Front Microbiol*, 2022, 13: 986457.
- 12 Li ZY, Liu T, Feng Y, et al. PPAR γ alleviates sepsis-induced liver injury by inhibiting hepatocyte pyroptosis *via* inhibition of the ROS/TXNIP/NLRP3 signaling pathway [J/OL]. <https://doi.org/10.1155/2022/1269747>.
- 13 Jiang Y, Zhang CF, Wang TL. bFGF ameliorates intestinal mucosal permeability and barrier function through tight junction proteins in burn injury rats [J]. *Burns*, 2021, 47 (5): 1129-1136.
- 14 Adiliaghdam F, Cavallaro P, Mohad V, et al. Targeting the gut to prevent sepsis from a cutaneous burn [J]. *JCI Insight*, 2020, 5 (19): e137128.
- 15 Song YJ, Li Y, Hu WG, et al. Luminol-conjugated cyclodextrin biological nanoparticles for the treatment of severe burn-induced intestinal barrier disruption [J]. *Burns Trauma*, 2024, 12: tkad054.
- 16 Tejiram S, Tranchina SP, Travis TE, et al. The first 24 hours [J]. *Surg Clin N Am*, 2023, 103 (3): 403-413.
- 17 Tridente A, Lloyd J, Siggers P, et al. An epidemiological survey of fluid resuscitation practices for adult burns patients in the United Kingdom [J]. *Eur Burn J*, 2025, 6 (3): 40.
- 18 邓兴旺, 齐旭辉, 杨绍贤, 等. 人血白蛋白在重症烧伤休克早期液体复苏中应用的临床观察 [J]. *中华损伤与修复杂志 (电子版)*, 2022, 17 (1): 47-53.
- 19 Liu ZX, Li DW, Ma JL, et al. A potential resuscitation route on battlefield: immediate intraperitoneal fluid administration post-burn shows satisfactory fluid absorption and anti-shock effects [J]. *Mil Med*, 2023, 188 (9/10): e3000-e3009.
- 20 Schucht JE, Matheson PJ, Harbrecht BG, et al. Plasma resuscitation with adjunctive peritoneal resuscitation reduces ischemia-induced intestinal barrier breakdown following hemorrhagic shock [J]. *J Trauma Acute Care Surg*, 2021, 90 (1): 27-34.