加 Rho kinase 活性来恢复休克血管反应性[6]。

本研究表明小剂量 AVP 对整体动脉血管反应性有明显的增加作用，且 AVP 增加整体动物血管反应性的作用可被 Rho kinase 特异性的拮抗剂 Y-27632 所抑制，说明 AVP 可通过 Rho kinase 引起休克血管反应性的增加。同时，在离体血管环上进一步研究结果提示，休克后血管平滑肌细胞血管反应性和钙敏感性均降低，小剂量 AVP(0.5 nmol/L 和 5 nmol/L)均可增加休克血管平滑肌细胞的血管反应性和钙敏感性，且 Rho kinase 特异性抑制剂 Y-27632 可明显抑制由 AVP 引起血管反应性和钙敏感性的增加。由此说明 AVP 可增加休克血管反应性和钙敏感性，AVP 抗失血性休克的作用可能是通过 Rho kinase 增加了血管平滑肌细胞钙敏感性，进而增加血管反应性而实现。

参考文献：

[1] 李 涛，刘良明，杨光明，等. Rho-激酶在失血性休克大鼠血管低反应发生中的作用[J]. 创伤外科杂志，2005，8(2)：116－119.
[2] Xu J，Liu L. The role of calcium desensitization in vascular hyporeactivity and its regulation after hemorrhagic shock in the rat[J]. Shock，2005，23(6)：576－581.
[3] Li T，Liu L，Xu J，*et al*. Changes of Rho kinase activity after hemorrhagic shock and its role in shock-induced biphasic response of vascular reactivity and calcium sensitivity[J]. Shock，2006，26(5)：504－509.
[4] Dunser M W，Mayr A J，Ulmer H，*et al*. Arginine vasopressin in advanced vasodilatory shock：a prospective，randomized，controlled study[J]. Circulation，2003，107(18)：2313－2319.
[5] Voelckel W G，Lurie K G，Lindner K H，*et al*. Vasopressin improves survival after cardiac arrest in hypovolemic shock[J]. Anesth Analg，2000，91(3)：627－634.
[6] 李 涛，刘良明，杨光明，等. 失血性休克大鼠血管平滑肌钙敏感性变化及其在休克双相血管反应性变化中的作用[J]. 中国危重病急救医学，2005，17(11)：647－650.

(编辑 王 红)

个案与短篇

文章编号：1000-5404(2008)13-1226-01

雷帕霉素对大鼠缺血再灌注肾超微结构和凋亡蛋白表达的影响

郑传东[1]，苟 欣[1]，杨华安[1]，刘 莉[2]，蒲晓峰[1]，何卫阳[1]
(重庆医科大学：[1]附属第一医院泌尿外科，[2]基础医学院病理学教研室，重庆 400016)

雷帕霉素(rapamycin，RPM)是一种强有力的免疫抑制剂，其免疫作用较环孢素 A 强 100 倍左右，并已广泛应用于肾移植中[1]。本实验通过复制大鼠肾缺血再灌注(IR)模型，研究 RPM 对大鼠缺血再灌注肾 Fas、bcl-2 蛋白表达的影响及对再灌注 24 h 的肾组织超微结构的影响，探讨 RPM 对肾缺血再灌注的保护作用及其机制。

1 材料与方法

1.1 动物模型

54 只 Wistar 雄性大鼠，体质量 200～250 g，购自重庆医科大学实验动物中心。采用随机数字表法分成假手术(sham)组、手术(IR)组、药物(RPM＋IR)组。IR 组、RPM ＋IR 组又按缺血再灌注时间分为再灌注后 0、24、48、72 h，4 个观察时相，每个观察时相 6 只。参照文献[2]建立模型：假手术组：手术组(术前灌胃给等量生理盐水，做对照)；药物组(术前灌胃给药 RPM 4 mg·kg^{-1}·d^{-1}×3 d，术前 2 h 灌胃，术后给药至各个时相点)。

1.2 方法

取左肾组织，制成石蜡切片，对各个组进行 HE 染色，并用光镜观察各组肾病理学变化。取再灌注 24 h 的大鼠左肾组织，送重庆医科大学电镜室行透射电镜(TEM，日立 H-7500)观察。取上述石蜡切片，免疫组化检测 Fas、bcl-2 的表达，计数阳性细胞数及细胞总数，每张切片随机采集 10 个无重叠高倍视野(×400)，阳性表达率(%)＝阳性细胞数/视野所有细胞总数×100%。

1.3 统计学分析

数据均以 $\bar{x}\pm s$ 表示，采用 SPSS 13.00 统计软件对多组间均数比较进行单因素方差分析。

2 结果

2.1 肾组织 HE 染色结果

假手术组基本正常。手术组 24 h 时肾小管上皮细胞坏死脱落明显，肾小管中可见大量脱落细胞残留物质；48 h 时肾小管开始修复；72 h 时大部分已修复完成。药物组各个时相病变较手术组明显减轻。

2.2 再灌注 24 h 的肾组织超微结构观察结果

假手术组基本正常。手术组近曲小管腔被大量坏死脱落的线粒体等细胞碎片堵塞。药物组近曲小管腔内有少许细胞脱落物质，上皮细胞整体正常。

(下转 1230 页)

基金项目：重庆市卫生局科研基金(05-2-186)
Supported by the Scientific Research Project of Chongqing Bureau of Public Health (05-2-186)
作者简介：郑传东，男，四川省简阳市人，硕士研究生，医师，主要从事肾移植的基础及临床方面的研究。现在成都市第五人民医院泌尿外科。电话：13224038407
通信作者：苟 欣，电话：13101365921
收稿日期：2007-06-20；修回日期：2007-09-25

代偿期，Cx40 的表达降低，Cx43 的表达增加，而 Cx43 通道的通透性远大于 Cx40，这就使 Ach 诱导产生的 VEC 超极化的化学信号或电信号能够更加快速有效地传递到 VSMC，引起后者的超极化，表现出血管舒张反应性的代偿性增加；在休克失代偿期，Cx40 的表达增加，Cx43 的表达降低，使 Ach 诱导产生的 VEC 超极化的化学信号或电信号传递到 VSMC 的效率降低，表现出血管舒张反应性的失代偿。但是，连接蛋白参与调节休克后内膜依赖性血管舒张反应的机制是否确实与连接蛋白通道对化学信号或电信号的通透性有关，尚需进一步的深入研究。

参考文献：

[1] Parthasarathi K, Ichimura H, Monma E, *et al*. Connexin 43 mediates spread of Ca^{2+}-dependent proinflammatory responses in lung capillaries [J]. J Clin Invest, 2006, 116(8): 2193 - 2200.

[2] Haefliger J A, Nicod P, Meda P. Contribution of connexins to the function of the vascular wall[J]. Cardiovasc Res, 2004, 62(2): 345 - 356.

[3] Sandow S L, Tare M, Coleman H A, *et al*. Involvement of myoendothelial gap junctions in the actions of endothelium-derived hyperpolarizing factor[J]. Circ Res, 2002, 90(10): 1108 - 1113.

[4] Toyofuku T, Yabuki M, Otsu K, *et al*. Intercellular calcium signaling *via* gap junction in connexin-43-transfected cells[J]. J Biol Chem, 1998, 273(3): 1519 - 1528.

[5] 明 佳，刘良明，李 涛，等. 肌内皮缝隙连接对失血性休克大鼠血管收缩反应的影响[J]. 中国危重病急救医学，2006，18(9)：519 - 522.

[6] 明 佳，刘良明，李 涛，等. 肌内皮缝隙连接对失血性休克大鼠血管舒张反应的影响[J]. 创伤外科杂志，2006，8(2)：120 - 123.

[7] Knapp J, Boknik P, Linck B, *et al*. Cantharidin enhances norepinephrine-induced vasoconstriction in an endothelium-dependent fashion[J]. J Pharmacol Exp Ther, 2000, 294(2): 620 - 626.

[8] Vanhoutte P M, Feletou M, Taddei S. Endothelium-dependent contractions in hypertension[J]. Br J Pharmacol, 2005, 144(4): 449 - 458.

[9] Edwards G, Dora K A, Gardener M J, *et al*. K^+ is an endothelium-derived hyperpolarizing factor in rat arteries [J]. Nature, 1998, 396(6708): 269 - 272.

[10] Harris A L. Emerging issues of connexin channels: biophysics fills the gap[J]. Q Rev Biophys, 2001, 34(3): 325 - 472.

[11] Goldberg G S, Moreno A P, Lampe P D. Gap junctions between cells expressing connexin 43 or 32 show inverse permselectivity to adenosine and ATP[J]. J Biol Chem, 2002, 277(39): 36725 - 36730.

（编辑 陈聪连）

（上接 1226 页）

2.3 各组肾组织 Fas 和 bcl-2 的表达

Fas 阳性表达主要位于肾皮质肾小管上皮细胞，细胞质呈棕黄色内，细胞核无表达。假手术组只有少数细胞呈弱阳性表达；手术组与假手术组比较，Fas 表达明显增强，细胞阳性表达率明显增加（$P<0.05$）；药物组与手术组比较，Fas 表达强度显著减弱，细胞阳性表达率也显著减少（$P<0.05$）。

bcl-2 阳性表达主要位于肾皮质肾小管上皮细胞，细胞质呈棕黄色内，细胞核无表达。假手术组只有少数细胞呈弱阳性表达；手术组与假手术组比较，bcl-2 表达增强，细胞阳性表达率增加（$P<0.05$）；药物组与手术组相比，bcl-2 表达显著增强，细胞阳性表达率显著增加（$P<0.05$）。

3 讨论

RPM 为具有与环孢素 A（CsA）不同作用机制的增殖信号抑制剂类免疫抑制剂[3]。研究表明 RPM 可能通过非直接通路使激活的 T 细胞凋亡，阻止树突状细胞（DC）的抗原呈递，并抑制其成熟，减少细胞因子的分泌[4,5]。阻止 DC 在肾组织迁移聚集，可以明显减轻大鼠缺血再灌注肾组织的病理损伤，改善肾功能[6]。

本研究在建立大鼠肾缺血再灌注模型的基础上，观察肾组织 Fas、bcl-2 蛋白表达水平与再灌注损伤之间的关系，以及 RPM 对再灌注损伤的影响，探讨 RPM 保护大鼠肾缺血再灌注损伤的机制。本实验中，药物组与手术组比较，bcl-2 表达强度明显增强，Fas 表达强度明显减弱；手术组光镜、电镜观察的肾组织结构发生了显著的病理改变，肾小管上皮细胞出现不同程度的变性或坏死，药物组与手术组比较，病理改变不明显。本实验结果表明，RPM 对缺血再灌注造成的肾组织损伤有明确的保护作用。推测其作用机制之一是通过调节促凋亡基因 Fas mRNA 和抑制凋亡基因 bcl-2 mRNA 表达来抑制肾小管上皮细胞凋亡。

上述结果提示：RPM 对大鼠缺血再灌注肾的光镜和电镜组织病理改变有明确的保护作用；RPM 可能通过下调 Fas、上调 bcl-2 蛋白表达水平，减轻肾缺血再灌注损伤。RPM 是探索临床预防和减轻肾缺血再灌注损伤的有效方法之一。

关键词：再灌注损伤；雷帕霉素；超微结构；Fas；bcl-2
中图法分类号：R619.9 文献标识码：B

参考文献：

[1] Kuypers D R. Benefit-risk assessment of sirolimus in renal transplantation[J]. Drug Saf, 2005, 28(2): 153 - 181.

[2] 于新路，王 禾，张 波，等. 大鼠实验性肾缺血/再灌注引起肾小管上皮细胞凋亡及其与 Bcl-2，Fas/Fas-L 表达变化的关系[J]. 第四军医大学学报，2003，24(8)：723 - 726.

[3] Lehmkuhl H, Ross H, Eisen H, *et al*. Everolimus (certican) in heart transplantation: optimizing renal function through minimizing cyclosporine exposure[J]. Transplant Proc, 2005, 37(10): 4145 - 4149.

[4] Hackstein H, Taner T, Logar A J, *et al*. Rapamycin inhibits macropinocytosis and mannose receptor-mediated endocytosis by bone marrow-derived dendritic cells[J]. Blood, 2002, 100(3): 1084 - 1087.

[5] Monti P, Mercalli A, Leone B E, *et al*. Rapamycin impairs antigen uptake of human dendritic cells[J]. Transplantation, 2003, 75(1): 137 - 145.

[6] 周 同，孙桂芝，张玉梅，等. 黏附分子与树突状细胞在大鼠肝和肾缺血-再灌注损伤中作用及抗黏附干预的影响[J]. 中华急诊医学杂志，2004，13(5)：315 - 318.

（编辑 陈聪连）