维普资讯 http://www.cqvip.com

中国局解手术学杂志 2002 年第 11 卷第 1 期
Chin J Regional Anat & Operative Surg, 2002, Vol. 11, No. 1

一氧化氮供体对缺血再灌注肾脏 ICAM-1 表达的影响

刘 宏* 吴雄飞* 金锡御*

【摘 要】 目的 观察缺血再灌注后加用 NO 供体对肾脏 ICAM-1 表达及白细胞浸润的影响。方法 分别采用 ICAM-1 和整合素 β2 多克隆抗体，免疫组化方法观察加用 NO 供体后大鼠肾脏缺血再灌注 24h ICAM-1 表达的变化及肾功能改变。结果 缺血再灌注 24h 大鼠肾脏 ICAM-1 及 β2 阳性细胞表达显著增强，以外髓直小血管，皮质肾小管外毛细血管较为明显。再灌注同时灌注 NO 供体 SIN-1 可显著抑制缺血再灌注后 ICAM-1 的表达增强，减少局部炎细胞浸润，改善肾功能。结论 NO 供体可减少肾组织 ICAM-1 的表达及炎细胞浸润，发挥对急性缺血性肾衰的治疗作用。

【关键词】 一氧化氮；缺血再灌注；ICAM-1

Effects of NO donor on the ICAM-1 expression of rats kidney after ischemic-reperfusion injury *Liu Hong, Wu Xiongfei, Jin Xiyu. Department of Kidney, The First Affiliated Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038*

【Abstract】 Objective To evaluate the effects of nitric oxide donor SIN-1 on the expression of ICAM-1 and leukocytes infiltration in kidneys after ischemic-reperfusion injury. **Methods** With the use of immunohistochemistry, the changes of the expression of ICAM-1 and β2 integrins were evaluated 24 hours after reperfusion injury with useing of NO donor or not, and the renal function was measured simultaneously. **Results** Expression of ICAM-1 and β2 positive cells were increased in kidneys 24 hours after reperfusion, especially at vasa recta, perttubular capillaries. SIN-1 infusion at the beginning of reperfusion markedly reduced the staining of ICAM-1 and β2 integrins, and the renal function ameliorated. **Conclusion** NO donor can reduce the expression of ICAM-1 after renal ischemia-reperfusion injury and reduce the infiltration of leukocytes, The above results suggest that No donor may play a role in the treatment of ischemic acute renal failure.

【Key words】 Nitric oxide; Ischemia-reperfusion; ICAM-1

白细胞的粘附、浸润和激活在肾脏缺血再灌注损伤中有重要作用，ICAM-1 是介导白细胞与活化的内皮细胞粘附的主要粘附分子，采用 ICAM-1 抗体或 ICAM-1 基因敲除小鼠可显著减少缺血再灌注后白细胞的浸润并有效缓解肾功能损害。NO（一氧化氮）可缓解缺氧、氧损伤大鼠培养内皮细胞 ICAM-1 的表达增加。为研究在体 NO 灌注对 ICAM-1 表达的影响，本研究观察缺血再灌注大鼠使用 NO 供体对肾脏 ICAM-1 表达及肾功能的影响。

材料与方法

一、实验分组及肾衰模型建立：Wistar 大鼠 30 只，体重（150 ± 20）g，雌雄不限，随机分为假手术组、肾衰组、SIN－1 治疗组，每组 10 只。1% 戊巴比妥钠 30mg/kg 体重腹腔注射麻醉。股动脉插管至腹主动脉肾动脉开口上方，连接微量电子蠕动泵，用于再灌注，同时腹主动脉灌注生理盐水 0.4ml·150g^{-1}·h^{-1}，持续 3h，右肾切除。各组分别处理：假手术组左侧肾蒂分离后等待 1h 关闭切口；肾衰组以无损伤微动脉夹夹闭 1h 后再灌注；治疗组做动脉夹夹闭 1h 后再灌注同时股动脉灌注 NO 供体 SIN-1，剂量：100μmol/kg 体重。

二、肾功能检测：各组动物置单代谢笼收集 24h 尿，于再灌注 24h 取动脉血 2ml 测定血清肌酐（PCr），计算内生肌酐清除率（CCr）。

三、ICAM-1 免疫组化染色：各实验组于再灌注 24h 腹主动脉穿刺取血 2ml 后灌注 4% 多聚甲醛 20ml。切除肾脏，剖开后置 4℃ 4% 多聚甲醛固定 8h，梯度蔗糖脱水后冰冻切片，切片厚度 5μm。以兔抗人和大鼠 ICAM-1 多克隆抗体（北京中山公司），ABC 法染色。

四、β2 整合素免疫组化染色：同 ICAM-1 免疫组化染色方法，用于显示局部浸润白细胞。

五、统计学处理：用第四军医大学 NOSA 统计软件行统计分析。

结 果

一、SIN-1 灌注对肾功能的影响：再灌注 24h 肾衰

* 作者单位：400038 重庆市第三军医大学西南医院泌尿中心肾科

维普资讯 http://www.cqvip.com

组血清肌酐显著高于假手术组、CCr 显著低于假手术组；SIN-1 治疗可显著改善再灌注后的肾功能损害、见附表。

附表 SIN-1 灌注对肾功能的影响（n=10）

	假手术组	肾衰组	SIN-1 组
PCr(μmol/L)	36.2±3.1	157.3±24.7	106.40±19.6*
CCr(ml·h^{-1}·100g^{-1})	0.32±0.10	0.15±0.04	0.23±0.05*

注：与肾衰组比较，*：P<0.01

二、SIN-1 灌注对再灌注 24h 肾脏 ICAM-1 表达的影响：正常肾脏 ICAM-1 仅于肾髓质直小血管、肾小管周毛细血管少量表达。再灌注 24h，肾脏 ICAM-1 表达明显增强，且可见于肾小球毛细血管、系膜区及肾近曲小管上皮细胞少量表达。SIN-1 治疗组 ICAM-1 表达显著弱于肾衰组、以外髓直小血管明显。

三、肾衰组外髓 β2 染色阳性细胞数量显著高于假手术组（46±14）高倍镜视野比（12±3）高倍镜视野 SIN-1 治疗组外髓 β2 染色阳性细胞数（28±9）高倍镜视野显著低于肾衰组（P<0.01）。

讨 论

ICAM-1 为分子量 76 至 114kd 的含 5 个串联的 Ig 区的糖蛋白，是 CD11a/CD18、CD11b/CD18 的配体，主要在静息的内皮细胞低水平固有表达。主要介导内皮细胞与白细胞的粘附。ICAM-1 在内皮表达受细胞因子持续诱导后可增强，且肾脏系膜细胞、肾小管上皮细胞均可产生。本研究显示，再灌注 24h 肾脏 ICAM-1 表达增强，尤以外髓直小血管明显。ICAM-1 的表达增强很可能通过促进白细胞在外髓的粘附、浸润发挥对缺血再灌注肾脏的损害作用。白细胞的浸润是导致再灌注损伤的重要因素、采用激活白细胞灌注离体肾脏可加重缺血后肾功能损害[1]。激活白细胞可释出细胞因子、活性氧、蛋白酶、弹性蛋白酶、髓过氧化物酶及其它酶类。这些物质可上调粘附分子受体表达、有化学趋化性、提高血管内皮对其它炎性细胞的通透性、并有直接的组织损伤作用。ICAM-1 在白细胞的浸润中有重要作用，采用 ICAM-1 抗体[2] 或 ICAM-1 基因敲除小鼠可显著减少缺血再灌注后白细胞的浸润并有效缓解肾功能损害。

NO 对内皮与白细胞的粘附有重要作用。NO 吸入在改善内毒素注射所致感染性休克猪肺循环的同时、还可显著减少局部炎性细胞的浸润，减轻炎症反应[4]。体外研究表明，NO 可通过 NF-κB 依赖的途径抑制内皮细胞的激活和粘附分子的表达进而抑制白细胞的粘附和激活[5]。

我们既往的研究表明、NO 供体可显著改善再灌注后的肾功能[6]，这种防治作用与其所致血液动力学的改善密切相关。本研究显示、NO 治疗组再灌注 24h ICAM-1 表达明显弱于肾衰组，外髓局部浸润白细胞数量显著减少。表明：1. 肾脏缺血、再灌注后血管内皮 NO 合成相对或绝对不足是造成肾血管内皮 ICAM-1 等粘附分子表达增加的原因之一。2. 再灌注后肾脏浸润白细胞增加参与急性肾衰的发病机理。3. NO 供体可减少肾脏 ICAM-1 表达及炎细胞浸润、改善再灌注肾功能。Linas[7] 发现 NO 供体对用含白细胞灌注液灌注的离体缺血再灌注肾脏有治疗作用、而对无白细胞灌注液灌注的肾脏无肾衰治疗作用，支持我们的上述观点。

参 考 文 献

1. Linas SL, Whittenburg D, Parsons CJ, et al. Mild renal ischemia activates primed neutrophils to cause acute renal failure. Kidney Int, 1992, 42: 610-616.
2. Kelly KJ, Williams WW, Colvin RB, et al. Antibody to intercellular adhesion molecule 1 protects the kidney against ischemic injury. Proc Natl Acad Sci USA. 1994, 91: 812-816.
3. Kelly KJ, Williams WW, Colvin RB, et al. Intercellular adhesion molecule-1-deficient mice are protected against ischemic renal injury. J Clin Invest, 1996, 97: 1056-1063.
4. Dahm PL, Blomquist S, Droberts E, et al. Effects of NO inhalation on pulmonary leukocyte sequestration and blood volume in porcine endotoxaemia. Intensive Care Med, 2000, 26: 336-343.
5. Masamune A, Shimosegawa T, Satoh A, et al. Nitric oxide decreases endothelial activation by rat experimental severe pancreatitis-associated ascitic fluids. Pancreas, 2000, 20: 297-304.
6. 吴雄飞、金锡御、刘宏．一氧化氮供体防治急性缺血性肾衰的实验研究。中华泌尿外科杂志，1997，18(8)：461.
7. Linas S, Whittenburg D, Repine JE. Nitric oxide prevents neutrophil-mediated acute renal failure. Am J Physiol, 1997, 272(1): 48-54.

（收稿日期：2002-01-07）