论 著 文章编号:0253-3626(2008)12-1499-03

ICAM-1 及 VCAM-1 等在 HIE 新生兔的表达

林迳苍,朱世泽,杜翠琼,许相洋,黄 煌
(泉州医学高等专科学校组织胚胎学教研室,福建 泉州 362000)

【摘 要】目的:探索慢性宫内缺氧对新生兔中性粒细胞与细胞粘附分子表达的影响。方法:取孕中晚期新西兰兔 15 只,随机分为对照组、缺氧组以及中药干预缺氧组;对比 3 组新生兔中性粒细胞细胞粘附分子 CD11b/CD18、脑组织细胞间粘附分子 1(Intercellular adhesion moleacule-1,ICAM-1)以及血管内皮细胞粘附分子 1(Vascular cell adhension moleules 1,VCAM-1)等的表达与变化。结果:与对照组比较,缺氧组和中药干预缺氧组的 CD11b/CD18、ICAM-1 以及 VCAM-1 表达均显著增强;虽然缺氧组和中药干预缺氧组的表达存在差异,但无统计学意义。结论:提示缺氧缺血后中性粒细胞趋化作用增强并且脑血管内皮细胞粘附增加而导致的脑组织细胞的损伤,参与 HIE 的病理生理过程。

【关键词】慢性宫内缺氧;新生兔;细胞粘附分子;CD11b/CD18;脑组织细胞间粘附分子 1;血管内皮细胞粘附分子 1
【中国图书分类法分类号】R722.15+1 【文献标识码】A 【收稿日期】2008-05-22

The expressions of ICAM-1 and VCAM-1 in HIE neonatal rabbits

LIN Jing-cang,et al
(*Departent of Histology and Embrgdogy,Quanzhou Medical College*)

【Abstract】*Objective*: Searching after the effects of the expressions the neonatal rabbits with chronic intrauterine anoxemia give to neutrophil and conglutinated molecule. *Method*: Choosing 15 Zelanian rabbits that have been in afternoon pregnancy, we divide them into three stochastic contratest groups by chance:the control group,the anoxic group and the group interfered with Chinese traditional medicine. Then,we contrast the expressions and changes of these groups with CD11b/CD18,ICAM-1 and VCAM-1. *Results*: Contrasting the CD11b/CD18, ICAM-1 and VCAM-1 of the anoxic group and the group interfered with Chinese traditional medicine with chinese

作者介绍:林迳苍(1969-),男,高级讲师,
研究方向:组织胚胎学。

达与分化程度呈负相关,即肿瘤的分化程度越低,MMP-9 和 TIMP-2 的表达越高。表明 MMP-9 和 TIMP-2在卵巢癌的发生、发展起了一定作用。

参 考 文 献

[1] Hylander B,Repasky E,Shrikant P,et al. Expression of Wilms, tumor gene(WT1)in epithelial ovarian cancer[J]. Gynecol Oncol,2006,101(1):12-17.

[2] Singer G,Stohr R,Cope L,et al. Patterns of p53 mutations separate ovarian serous borderline tumors and low-and high-grade carcinomas and provide support for a new model of ovarian carcinogenesis:a mutational analysis with immnohistochemical correlation[J]. Am J Surg Pathol,2005,29(2):218-224.

[3] Sakata K,Shigemass K,Nagai N,et al. Expression of matrix metalloproteinases(MMP-2,MMP-9,MT1-MMP)and their inhibiters (TIMP-1,TIMP-2) in common epithelial tumors of the ovary[J]. Int J Oncol,2001,17(4):673-681.

[4] Goldstein N S,Uzieblo A.WT1 immunoreactivity in uterine papillary serous carcinomas is different from ovarian serous carcinomas[J]. Am J Clin pathol,2002,117(4):541-545.

[5] AI-Hussaini M, Stockman A,Foster H,et al. WT-1 assists in distinguishing ovarian from uterine serous carcinoma and in distinguishing between serous and endometrioid ovarian carcinoma[J]. Histopathology,2004,4(2):109-115.

[6] O'Neill C J,Deavers M T,Malpica A,et al. An immuno-histochemical comparison between low-grade and high-grade ovarian serous carcinomas:significantly higher expression of p53,M1B1,BCL2, HER-2/neu,and C-K1Tin high-grade neoplasms[J]. Am J Surg Pathol, 2005,29(8):1034-1044.

[7] Huang L W,Garrett A P,Bell D A,et al. Diferential expression of matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of metallo proteinase-1 protein and mRNA in epithelial ovarian tumors[J]. Gynecol Oncol,2000,77(3):369-376.

[8] Kim T J,Rho S B, Choi Y L,et al. High expression of tissue inhibiter of metalloproteinase-2 in serous ovarian carcinomas and the role of this expression in ovarian tumorigenesis[J]. Hum Pathol, 2006,37(7):903-913.

(责任编辑:关蕴良)

traditional medicine with the control group, we have found their expressions all more remarkably strengthened; There is some difference in expression between the anoxic group and the group interfered with Chinese traditional medicine, but it has little statistical significance. *Conclusion*: In this article, there occurs the mention: the chemotaxis of neutrophil has been strengthened and the endotheliocytosis of cerebrovascular has been conglutinated under anoxemia; as a result, the chemotaxis and endotheliocytosis have marred the brain cell tissue and participated in whole pathological and physiological process.

【key words】 The intranterine anoxemia; Neonatal rabbits; Conglutinated molecule; CD11b/CD18; Intercellular adhesion moleacule-1(ICAM-1); Vascular cell adhension moleules 1(VCAM-1)

因围生期缺氧引起的缺氧缺血性脑病是新生儿期的常见病、多发病，也是造成智力落后和永久性神经损伤的重要原因之一[1]。临床上许多新生儿期缺氧缺血性脑病常见为慢性宫内缺氧，为深入探索围生期缺氧致新生儿缺氧缺血性脑病发生的分子机制，作者参考 Williams 等[2]的方法建立实验动物模型，开展了慢性宫内缺氧对新生兔中性粒细胞 CD11b/CD18、脑细胞细胞间粘附分子（Intercellular adhesion moleacule，ICAM-1）以及血管内皮细胞粘附分子（Vascular cell adhension moleules 1，VCAM-1）表达影响的检测与观察。现报告如下。

1 材料与方法

1.1 动物来源、分组以及试验方法

选取试验动物为健康孕中晚期新西兰孕兔 15 只。随机分为对照组、缺氧组以及中药干预组 3 组。对照组：模拟放进缺氧箱，但不予缺氧处理；缺氧组：放置于缺氧箱进行缺氧：将怀孕 10 d 的母兔置于自制玻璃缺氧舱内，舱内用小风扇不断将空气混匀，舱内氧浓度由 S-450 型氧气监测仪（美国 IST-AIM 公司）持续监测，实时调节氧氮的流量，使混合气氧浓度为 12% ± 0.1%，。舱内二氧化碳与水蒸气分别用钠石灰与氯化钙吸收。缺氧舱壁留有小缝隙与舱外相通，使舱内气压与大气压平衡。饲料及饮水同常。舱内二氧化碳浓度始终 <3%，温度保持于 19 ~ 23℃，每天分两次缺氧，1 次 4 h，共 20 d，直到孕 30 d 分娩为止；中药干预组[3]：孕兔放置于缺氧箱进行缺氧，并给予中药川穹嗪注射液腹腔注射。出生后，每组各随机取雌雄兔崽各 1 只，断头取血与脑组织，用干细胞分离系统（Sepax S-100，Biosafe 生产，过程为样本注入，高速离心，智能光学感应识别细胞类型），分离分别收集中性粒细胞、脑组织细胞及脑血管中动脉内皮细胞等。

1.2 检测项目与方法

1.2.1 中性粒细胞 CD11b/CD18 的测定 CD11b/CD18 单克隆抗体由厦门博欣生物技术有限公司提供，具体操作按说明书进行，使用流式细胞仪进行细胞计数，以阳性细胞百分数为单位。

1.2.2 脑组织 ICAM-1 与脑中动脉内皮层 VCAM-1 的测定 采用免疫组化方法检测，试剂盒购于厦门博欣生物技术有限公司，ICAM-1、VCAM-1 组化结果由 CMIAS007 型真彩医学图像系统处理，40 × 10 视野下每一切片观察 5 个视野，并以平均每个视野的积分吸光度表示 ICAM-1、VCAM-1 的表达强度。

1.3 统计学处理

实验数据以均数 ± 标准差表示，采用 t 检验。

2 结 果

新生兔外周血中性粒细胞性细胞 CD11b/CD18 百分数变化，结果见表 1、2。

新生兔脑组织细胞粘附分子 ICAM-1、血管内皮细胞粘附分子 VCAM-1 的变化，见表 3、4。

3 讨 论

新生儿缺血缺氧性脑病（HIE）是新生儿期死亡和致残的重要疾病之一，目前对 HIE 干预机制的探讨已经成为围生医学领域的重要内容。有人通过对缺氧缺血后的新生兔的研究[4]，发现中性粒细胞与血管内皮细胞表面细胞粘附分子表达增加，促使中性粒细胞激活以及募集及趋化而引起的炎症反应，

表 1 HIE 新生兔中性粒细胞阳性细胞百分数变化（$\bar{x} \pm s$，%）

(9)	CD11b	t	P
对照组	13.32 ± 5.21	11.25*	0.01
缺氧组	34.36 ± 2.54	14.07**	0.01
中药干预缺氧组	31.68 ± 6.99	1.08***	0.05

注：*、** 分别为对照组与缺氧组、中药干预缺氧组比较，$t_{0.01,\nu}=2.921$，$P<0.01$；*** 为缺氧组与中药干预组比较，$t_{0.05,\nu}=2.12$，$P>0.05$

表 2 HIE 新生兔中性粒细胞阳性细胞百分数变化($\bar{x}\pm s$,%)

(9)	CD18	t	P
对照组	23.65 ± 5.32	12.27*	0.01
缺氧组	57.39 ± 6.31	15.17**	0.01
中药干预缺氧组	50.44 ± 3.11	1.09***	0.05

注: "*" 分别为对照组与缺氧组、中药干预缺氧组比较,$t_{0.01,\nu}$=2.921,P<0.01;"**" 为缺氧组与中药干预组比较,$t_{0.05,\nu}$=2.12,P>0.05

表 3 HIE 新生兔脑组织细胞粘附分子 ICAM-1 变化($\bar{x}\pm s$,%)

n	ICAM-1	t	P
对照组 9	497.37 ± 98.4	40.58*	0.01
缺氧组 9	4326.32 ± 265.4	70.61**	0.01
中药干预缺氧组 9	3131.68 ± 654.7	2.06***	0.05

注: "*" 分别为对照组与缺氧组、中药干预缺氧组比较,$t_{0.01,\nu}$=2.921,P<0.01;"**" 为缺氧组与中药干预缺氧组比较,$t_{0.01,\nu}$=2.12,P>0.05

表 4 HIE 新生兔脑组织血管内皮细胞粘附分子 VCAM-1 变化($\bar{x}\pm s$,%)

(9)	VCAM-1	t	P
对照组	437.88 ± 86.4	39.18*	0.01
缺氧组	3557.39 ± 321.9	64.11**	0.01
中药干预缺氧组	3012.65 ± 721.6	2.01***	0.05

注: "*" 分别为对照组与缺氧组、中药干预缺氧组比较,$t_{0.01,\nu}$=2.921,P<0.01;"**" 为缺氧组与中药干预缺氧组比较,$t_{0.01,\nu}$=2.12,P>0.05

在缺血损伤中发挥重要作用。脑缺血时,大量白细胞在微血管内贴壁、嵌塞、阻塞血管腔使局部血流动力学环境发生改变。CD11b/CD18 是中性粒细胞表面粘附蛋白之一,属整合素家族,主要参与白细胞 - 内皮细胞的粘附,CD11b/CD18 和 ICAM-1、VCAM-1 的表达,并以受体配体的方式相互作用,是中性粒细胞与血管内皮细胞间粘附力得以增强及中性粒细胞聚集于组织的关键。通过 ICAM-1、VCAM-1 介导中性粒细胞与血管内皮细胞粘附,促进中性粒细胞聚集于受损组织并释放氧自由基、髓过氧化物酶等活性介质,造成组织细胞的损伤。活化的白细胞还释放大量炎症介质和细胞因子,吸引更多白细胞进入组织,形成恶性循环,加重组织细胞的损害[5]。

本研究观察 HIE 新生兔在对照组 / 缺氧组 / 中药干预组,中性粒细胞 CD11b/CD18、脑细胞细胞粘附分子 ICAM-1、血管内皮细胞粘附分子 VCAM- 的变化,结果显示 CD11b/CD18、ICAM-1、VCAM-1 和对照组比较,在缺氧组和中药干预组表达均增强,有统计学意义。缺氧组和中药干预组比较,表达无统计学差异。提示缺氧缺血后中性粒细胞趋化作用增强并与脑血管内皮细胞粘附增加而导致的脑组织细胞的损伤参与 HIE 的病理生理过程,为 HIE 的治疗探索新的途径。

参 考 文 献

[1] 吴婉芳.新生儿缺氧缺血性脑病动物实验研究[J]. 中国实用儿科杂志,1995,15(10):69-722.

[2] Robinson S M,Barker D J. Coronary heart disease:a disorder of growth[J]. Proc Nutr Soc,2002,61:537-542.

[3] 俞海国,汤云珍,杨锡强.川芎嗪对新生鼠缺血缺氧脑损伤 FOS 蛋白表达的影响[J]. 重庆医学,2003,32(4):416-417.

[4] 涂晓文,尹格平,张爱华.慢性肾脏疾病患者外周血血小板及淋巴细胞粘附分子表达水平的变化及临床意义[J]. 中国危重病急救医学,2001,13(1):48-51.

[5] Lau D,Mollnau H,Eiserich J P,et al. Myeloperoxidase mediates neutrophil activation by association with CD11b/CD18 integrins[J]. Proc Natl Acad Sci USA,2005,102(2):431-436.

(责任编辑:冉明会)