改善了分离培养人早孕绒毛CTB方法，简便易行，获得的细胞形态单一、生长稳定、定向转化，为进一步研究CTB在生殖生理中的作用提供了实验基础。

参考文献：

[1] Kliman H J, Nestler J E, Sermasi E, *et al*. Purification, characterization, and *in vitro* differentiation of cytotrophoblasts from human term placentae [J]. Endocrinology, 1986, 118(4): 1567-1582.
[2] Choy M Y, Maryonda I T. The phagocytic activity of human first trimester extravillous trophoblast[J]. Human Reprod, 1998, 13(10): 2941-2949.
[3] Tarrade A, Lai Kuen R, Laurendeau I, *et al*. Ultrastructural aspects and gene pattern expression of villous and extravillous human cytotrophoblasts [J]. Plcenta, 1999, 20: A65.
[4] Sedlmayr P. Report from the IFPA meeting in conjunction with the 8th PG-meeting, Schladming, Austria, September 26-29, 1999[J]. J Reprod Immunol, 2000, 46(1): 59-62.
[5] Clarson L H, Roberts V H J, Greenwood S L, *et al*. ATP-stimulated Ca^{2+}-activated K^+ efflux pathway and differentiation of human placental cytotrophoblast cells[J]. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2002, 282(4): R1077-1085.
[6] Choy M Y, St Whitley G, Manyonda I T. Efficient, rapid and reliable establishment of human trophoblast cell lines using poly-L-ornithine[J]. Early Pregnancy, 2000, 4(2): 124-143.
[7] Li R H, Shu Y L, Zhuang L Z, *et al*. Establishment and characterization of a cytotrophoblast cell line from normal plcenta of human origin[J]. Human Reproduction, 1996, 11(6): 1328-1333.
[8] 王雁玲，庄临之. 人胎盘滋养层细胞的功能分化及其调节[J]. 生殖与避孕，1999，19(6)：335-341.

（编辑 薛国文）

文章编号：1000-5404(2004)14-1251-02

个案与短篇

rHuEPO对慢性肾衰患者红细胞膜带3蛋白的影响

Effects of recombinant human erythropoietin on band 3 protein of red blood cell in patients with chronic renal failure

叶自林[1]，王红勇[2]（第三军医大学：[1]新桥医院肾内科，全军肾脏病中心，重庆 400037；[2]大坪医院野战外科研究所心血管内科，重庆 400042）

贫血是终末期病(ESRF)的常见症状，也是ESRF心血管系统合并症及酸碱电解质紊乱的重要原因。重组人促红细胞生成素(rHuEPO)是治疗ESRF肾性贫血的有效方法。红细胞阴离子转运蛋白(band 3 protein，带3蛋白)是红细胞膜主要蛋白质，分子量约为90 000～100 000。它的主要功能是阴离子转运、识别和清除衰老红细胞、稳定红细胞膜骨架及调控红细胞糖酵解活性[1]。本研究旨在探讨慢性肾衰患者红细胞带3蛋白变化及rHuEPO对红细胞带3蛋白的影响，并探讨其意义。

1 资料与方法

分组及标准：患者组(50例)：Cr＞442 μmol/L，BUN＞7.1 mmol/L，男性28例，女性22例，年龄21～65岁，平均(41.7±7.2)岁；rHuEPO治疗前Hb＜80 g/L，治疗后Hb上升＞2.0 g/L；于治疗前、后抽血检测下述指标。对照组(50例)：健康男性28例，女性22例，年龄20～63岁，平均(40.2±6.8)岁，亦抽血检测下述指标。

红细胞膜带3蛋白相对含量测定：参照张龙翔[2]的方法制备红细胞膜样本，用SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳，0.25%考马斯亮蓝G250染色，在CS-910型双波薄层扫描仪上扫描、波长550 nm，CRI-B型数据处理仪(日本岛津)记录扫描图谱，显示各区带相对含量。

统计学处理：数据以$\bar{x}\pm s$表示，用SPSS10.0统计软件行配对t检验和两均数间t检验。

2 结果

rHuEPO治疗前，带3蛋白相对含量为(28.73±5.09)，较对照组(26.14±4.51)有显著升高($t=2.69$，$P<0.005$)；rHuEPO治疗后，带3蛋白相对含量为(27.54±5.48)，较治疗前有显著降低($t=2.57$，$P<0.01$)。

3 讨论

慢性肾衰多有不同程度的代谢性酸中毒，对慢性肾衰代谢性酸中毒的呼吸代偿，既往对肺的研究较多，如呼吸运动、肺组织的结构变化等；对红细胞转运CO_2结构基础变化的研究较

（下转1254页）

作者简介：叶自林(1965－)，男，湖北省蕲春县人，博士，主治医师，讲师，主要从事肾小球疾病方面的研究，发表论文8篇。电话：(023)68755290

收稿日期：2003-11-05；修回日期：2004-03-16

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

3 讨论

机体受到严重的创伤或应激状态下，由于细菌内毒素的移位，或机体在感染、抗生素的作用下，均可引起内毒素血症，内毒素通过巨噬细胞、中性粒细胞等引起炎性介质的释放，造成机体的损伤。因此，及时应用中和内毒素的药物，抑制内毒素的活化，无疑是治疗成功的关键。

PMB是一种环形阳离子多肽，被认为是惟一具有抗内毒素作用的抗生素，通过破坏细菌外膜磷脂、与Lipid A的SO_4^-结合，发挥杀菌和中和内毒素双重作用。由于PMB的中枢神经和肾毒性，限制了其临床应用，但有报道在烧伤病人应用亚抑菌量PMB后，能降低病人的血浆内毒素水平，而无肝肾毒性[2]。近年报道采用药物铰链技术将PMB与高分子有机物Dextran 70或聚苯乙烯纤维连接在一起[3]，通过血液透析，以减轻PMB的毒性而保留其内毒素中和能力，将这种与其它抗生素合用于治疗革兰阴性杆菌感染性休克，通过杀菌与中和内毒素并举，可明显提高休克动物的生存率[4]，在日本，多粘菌素B复合物是临床上治疗内毒素休克最有效的方法之一，能够降低循环内毒素水平和改善血液动力学参数。

在LPS引起的炎性瀑布反应中，TNF-α、IL-6具有重要的作用，是造成机体病理损害的主要炎性介质，Tsuzukit等[5]报道，PMB的治疗作用可能与降低TNF-α、IL-6有关，TNF-α、IL-6的降低一方面是由于PMB对内毒素的中和作用，另一方面也可能与其对内毒素活化后的细胞内信号转导NF-kB通路的下调有关。本研究的结果显示，PMB具有直接灭活内毒素作用，$IC_{50}\approx$（4.35±0.91）μmol/L，显示了较强的中和内毒素能力，与LPS的活性中心Lipid A具有很高的亲和力，说明与LPS活性中心Lipid A的结合，是PMB直接抑制LPS生物学活性的基础。PMB能够显著抑制LPS对人PBMC的TNF-α、IL-6的释放，具有明显的量效和时效关系，而且应用愈早，抑制作用愈明显，10 min后应用即无明显效果，进一步说明PMB直接中和内毒素，可能是其发挥抗炎作用的主要途径，一旦LPS与细胞表面的受体结合，介导细胞活化后，PMB将失去其抗内毒素作用。因此本研究的结果支持PMB对内毒素的直接中和作用是其拮抗内毒素的主要方式。

参考文献：

[1] O'Reilly M, Newcomb D E, Remck D. Endotoxin sepsis, and the primrose path[J]. Shock, 1999, 12(6): 411—420

[2] Andrew M, Calvin B. Reversal of postburn immunosuppression with low dose polymyxin B[J]. J Trauma, 1986, 26(11): 995—998

[3] Bucklin S E, Lake P, Logdberg L, *et al*. Therapeutic efficacy of a polymyxin B-dextran 70 conjugate in experimental model of endotoxemia[J]. Antimicro Agents Chemother, 1995, 39(7): 1462—1466

[4] Aoki H, Kodama M, Tani T, *et al*. Treatment of sepsis by extracorporeal elimination of endotoxin using polymyxin B immobilized fiber[J]. Am J Surg, 1994, 167(4): 412—417.

[5] Tsuzuki H, Tani T, Ueyama H, *et al*. Lipopolysaccharide: Neutralization by polymyxin B shuts down the signaling pathway of nuclear factor kappB in peripheral blood mononuclear cells, even during activation[J]. J Surg Res, 2001, 100(1): 127—134

（编辑 陈聪连）

（上接1251页）

少。本结果显示慢性肾衰患者红细胞膜带3蛋白相对含量较正常人高，提示慢性肾衰患者红细胞膜蛋白构成异常。带3蛋白介导的HCO^2/Cl^-交换对组织CO_2运输和肺CO_2排出起重要作用[3]，它可明显加强血液有效携带CO_2的能力。部分代偿代谢性酸中毒引起的pH下降。慢性肾衰患者带3蛋白相对含量增高可能是肾性贫血发生的机制之一；但有关慢性肾衰患者带3蛋白构象和拓形改变有待进一步研究。rHuEPO治疗后带3蛋白相对含量回落，提示rHuEPO治疗肾性贫血的机制，一方面是促进骨髓造血，另一方面可能与影响衰老红细胞的识别和清除有关[4]。

关键词：促红细胞生成素；带3蛋白；慢性肾功能衰竭
中图法分类号：R692.5 文献标识码：B

参考文献：

[1] 李津婴，周 虹，夏 放，等. 辐射远后效应对红细胞膜阴离子转运蛋白基因表达的影响[J]. 中华放射医学与防护杂志，2002，22(4)：275—276.

[2] 张龙翔. 生化实验方法帮技术[M]. 北京：人民教育出版社，1981. 21.

[3] 刘利梅，傅国辉，王天英，等. 人类红细胞膜带3蛋白C端域Lys892-Phe895在Cl^-转运过程中作用的研究[J]. 生物化学与生物物理进展[J]，2003，30(2)：245—250.

[4] Delaunay J. Molecular basis of red cell membrane disorders. Acta Haematol[J]. 2002, 108(4): 210—8.

（编辑 郭建秀）

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net