DOI:10.16016/j.1000-5404.2003.14.034

用这种方法获得了较高的连结效率。猪PMAP37基因表达载体的成功构建为进一步获得其表达产物,研究其抗菌活性、抗菌机制打下基础。

关键词:抗菌肽;猪Cathelicidin PMAP37基因;表达载体
中图法分类号:Q782 文献标识码:B

参考文献:

[1] Bals R, Wang X, Meegaulla R L, *et al*. Mouse β-defensin 3 is an inducible antimicrobial peptide expressed in the epithelia of multiple organs[J]. Infect Immun, 1999, 67(7):3542—3547.
[2] Hutter K M, Brezinski-Caliguri D J, Mahoney M M, *et al*. Antimicrobial peptide expression is developmentally regulated in the ovine gastrointestinal tract[J]. J Nutr, 1998, 128(2):297—299.
[3] Fulton C, Anderson G M, Zasloff M, *et al*. Expression of natural peptide antibiotics in human skin[J]. Lancet, 1997, 350(9093):1750—1755.
[4] Zanetti M, Gennaro R, Romeo D. Cathelicidins: a novel protein family with a common proregion and a variable C-terminal antimicrobial domain[J]. FEBS Lett, 1995, 374(1):1—5.
[5] Tossi A, Scocchi M, Zanetti M, *et al*. PMAP-37, a novel antibacterial peptide from pig myeloid cells. cDNA cloning, chemical. Synthesis and activity[J]. Eur J Biochem, 1995, 228(3):941—946.
[6] Sambrook J M. Molecalar Cloning[M]. Cold Spring Harbor Laboratary Press, 1989. 70—76.

(编辑 冷怀明)

技术方法

文章编号:1000-5404(2003)14-1302-02

Cardiotoxin肌损伤模型的形态学观察

Morphological observation of muscle injury model induced by cardiotoxin injection in mice

张 勇[1],邹仲敏[1],郭朝华[1],周进明[1],王 劲[1],范文辉[2],罗成基[1],程天民[1] (第三军医大学:[1]预防医学系防原医学教研室、全军复合伤研究所;[2]附属西南医院神经内科,重庆 400038)

提 要:目的 建立由Cardiotoxin所致的肌损伤模型并了解损伤部位自然修复的情况,为研究肌损伤的再生及修复作用奠定基础。方法 将Cardiotoxin按8 μg/g体质量局部注入SCID小鼠股四头肌中,分别观察不同时相点(24 h、7 d、2周、4周和6周)损伤部位的病理改变。结果 注射24 h后可见肌细胞变性坏死,胞浆内有空泡形成;7 d后肌纤维发生明显断裂,变性坏死加重,并出现钙化;2周后变性坏死钙化加重达到顶峰;4周后变性坏死钙化依然存在,但已可见部分肌纤维再生;6周后变性坏死已不明显,钙化仍存在,肌细胞大部分再生。结论 成功地建立了Cardiotoxin所致的肌损伤模型,该模型稳定、简便、易控制,且重复性好。

各种创伤、神经源性和肌源性肌病(如进行性肌营养不良症)所致的肌损伤一直是影响人们生活的疾病之一,肌损伤促愈一直是人们关注的研究领域。为找出肌损伤有效和合理的防治措施,必须首先建立一种稳定简便的肌损伤模型。为此我们进行了以下实验。

1 材料与方法

1.1 实验材料

Cardiotoxin(Sigma);75%乙醇;无菌剪刀;甲醛溶液。

1.2 实验动物

SCID小鼠购自第三军医大学实验动物中心,6~8周龄,雌性12只。饲养于一级动物室并带有空气过滤装置和置于层流柜内的塑料笼内。笼具、垫料、饲料、饮水均高压消毒,饮水酸化,pH值3.0,饮水中加抗生素:新霉素:1 g/L,多粘菌素B:100 U/L,乳酸环丙沙星:0.1 g/L,饲养至药物注射后6周。

1.3 实验方法

参照文献[2,3],选取雄性SCID小鼠,6~8周龄,称质量,股四头肌处鼠毛75%酒精皮肤消毒,按8 μg/g将Cardiotoxin局部注射入股四头肌,分别在注射后24 h、7 d、2周、4周、6周颈椎脱臼处死小鼠,完整分离出股四头肌,浸入10%甲醛溶液中固定,常规病理包埋切片染色。

2 结果

正常肌细胞亦即肌纤维,光镜下可见其形态细长,肌细胞核为扁椭圆形,每个肌纤维有许多细胞核,位于肌纤维的周边,紧靠肌膜的内表面。注射Cardiotoxin后24 h可见肌细胞变性坏死,胞浆内有空泡形成,见图1;7 d后肌纤维发生明显断裂,变性坏死加重,并出现钙化,见图2;2周后变性坏死钙化加重达到顶峰,见图3;4周后变性坏死钙化依然存在,但已可见部分肌纤维再生,见图4;6周后变性坏死已不明显,钙化仍存在,肌细胞大部分再生。

基金项目:国家重点基础研究发展规划资助项目("973"项目)(G1999054205)
作者简介:张 勇(1967—),男,四川省武胜县人,博士,主治医师,讲师,主要从事干细胞基础研究方面的研究,发表论文8篇。电话:(023)68754007305
收稿日期:2002-05-20;修回日期:2002-06-23

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

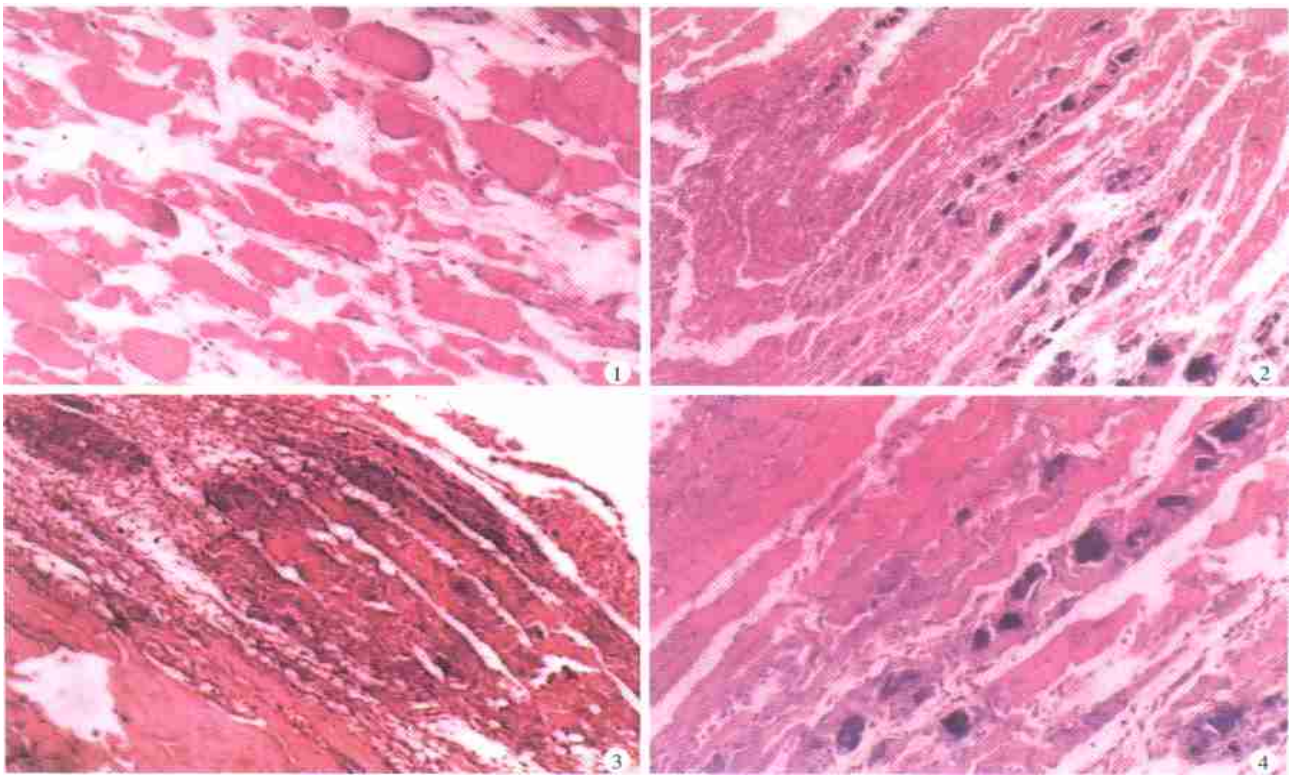


图 1　注射 **Cardiotoxin 24 h** 后可见肌细胞变性坏死　(HE× 66)

图 2　注射 **Cardiotoxin 7 d** 后可见肌细胞变性坏死钙化　(HE× 33)

图 3　注射 **Cardiotoxin 2** 周后可见肌细胞变性坏死钙化加重　(HE× 33)

图 4　注射 **Cardiotoxin 4** 周后可见肌细胞变性坏死钙化及部分再生　(HE× 33)

3　讨论

正常情况下创伤所致的肌损伤其再生细胞是位于肌纤维基底膜和肌膜之间的卫星细胞, 由于卫星细胞数量少(仅占全部肌细胞的 1. 7% ~ 2. 8%)[1], 且随着年龄的增长其分化作用逐渐降低, 肌损伤部位常常是由成纤维细胞和血管内皮细胞增生形成肉芽组织加以再生, 最后形成瘢痕组织, 故肌损伤再生的效果难以令人满意。神经源性和肌源性肌病的病因十分复杂, 包括遗传性、免疫异常、炎症性和内分泌性等, 其发病机制不清楚, 但往往导致肌细胞胞体结构异常和代谢缺陷。治疗上述肌病的手段有药物、物理疗法(包括各类理疗)、中医中药、介入等方法, 但疗效不佳, 故肌损伤促愈一直是人们关注的研究领域。

研究肌损伤的物质基础是建立一种稳定简便的肌损伤模型。一般的机械性、物理性和化学性肌损伤由于不易控制、相对复杂和重复性差而难以胜任, 为此我们参考文献[2, 3] 建立了一种由 Cardiotoxin 所致的稳定简便的肌损伤模型。

Cardiotoxin 是从眼镜蛇毒腺中提取的一种毒素, 文献报道注入小鼠骨骼肌后 30 min 即可引起肌肉组织的坏死, 光镜下可见损伤区域肌膜断裂, 肌纤维挛缩, 电镜下可见线粒体损害等病理改变。24 h 后可见肌细胞胞浆中出现"空袋"(Empty bags), 仅包含有残存的肌纤维和肿胀的线粒体[3]。Cardiotoxin 引起上述病理改变的主要机制是其能导致肌膜和肌纤维的快速溶解[4]。我们参考文献[2, 3] 的方法用 Cardiotoxin 制作肌损伤模型过程中观察到: 股四头肌在局部注入 Cardiotoxin 5 h 即可见肌细胞轻度坏死, 24 h 较明显坏死, 3 d 后渐重, 7 d 后加重并出现钙化, 2 周后坏死营养不良性钙化更加广泛明显, 随后肌损伤开始自行再生, 4 周后可见肌细胞部分再生, 6 周后肌细胞大部分再生, 与文献[4, 5] 报道基本一致。总之, 由 Cardiotoxin 所致的肌损伤模型稳定、简便、易控制, 且重复性好, 为进一步研究肌损伤促愈打下了良好的基础。

关键词: 肌肉; 损伤; cardiotoxin; 模型

中图法分类号: R-332; R685. 4　　文献标识码: B

参考文献:

[1] Roth S M, Martel G F, Ivey F M, *et al*. Skeletal muscle satellite cell pop-

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

ulations in healthy young and older men and women[J]. Anat Rec, 2000, 260(4): 351—358.
[2] Andres V, Walsh K. Myogenin expression, cell cycle withdrawal, and phenotypic differentiation are temporally separable events that precede cell fusion upon myogenesis[J]. J Cell Biol, 1996, 132(4): 657—666.
[3] Ownby C L, Fletcher J E, Colberg T R. Cardiotoxin 1 from cobra (Naja naja atra) venom causes necrosis of skeletal muscle *in vivo*[J]. Toxicon, 1993, 31(6): 697—709.
[4] Fletcher J E, Hubert M, Wieland S J, *et al*. Similarities and differences in mechanisms of cardiotoxins, melittin and other myotoxins[J]. Toxicon, 1996, 34(11—12): 1301—1313.
[5] Letcher J E, Tripolitis L, Beech J. Species difference in modulation of calcium release by Naja naja kaouthia snake venom cardiotoxin in terminal cisternae from human and equine skeletal muscle[J]. Toxicon, 1993, 31(1): 43—51.

（编辑 陈聪连）

个案与短篇

文章编号：1000-5404(2003)14-1304-01

5 例肾移植术后子宫不规则出血的手术治疗

Surgical treatment of 5 cases of metrorrhagia following renal transplantation

曹雅丽，谢守珍 （广州军区武汉总医院妇产科，武汉 430070）

肾移植术后合并消化道出血已有报道[1]，但合并子宫不规则出血则少见报道。我科自 1999 年至 2003 年初收治 5 例肾移植术后子宫不规则出血患者，现报告如下。

1 临床资料

本科收治的 5 例患者年龄在 33～45 岁，均已婚已育；肾移植术后时间为 1～5 年，并长期服用强的松、环孢素 A、硫唑嘌呤等免疫抑制剂；伴有不同程度的贫血、低蛋白血症，肾功能不良；其中 2 例全血象减少；2 例低蛋白血症及肾功能不良，全身浮肿明显；4 例白细胞减少[白细胞为$(2.40\sim3.65)\times10^9$/L]，考虑可能与长期服用硫唑嘌呤有关。这 5 例患者肾移植术后定期在本院复查全血环孢素 A 浓度、血常规、肝肾功能等各项血生化检查。

2 结果

5 例病人分别行全子宫或筋膜内子宫切除或加双侧或一侧附件切除。病检报告：1 例子宫内膜腺瘤型增生过长；2 例子宫肌瘤伴内膜增生过长；1 例子宫内膜增殖症；1 例子宫内膜息肉。5 例病人经过积极综合治疗，贫血、低蛋白血症、肾功能均恢复到基本正常，全部治愈出院。

3 讨论

对肾移植术后子宫出血患者首先纠正贫血、低蛋白血症，严格掌握不能使用对肾脏有损害的药物，护肾治疗，使肌酐控制在 300 μmol/L 以下，尿酸控制在 600 μmol/L 以下，同时止血行诊刮术，以达到迅速止血及排除内膜病变，以决定手术范围，术中严密监测生命体征及各种生化指标的变化，缩短手术时间，减少出血。术后液体输入要严格控制，晶体要适量，其中 1 例病人术后液体进入约 2 500 ml 时，全身浮肿，尿少；对此患者予以速尿、白蛋白等积极治疗后缓解。术后根据环孢素 A 血浓度测定[2]，调整强的松、环孢素 A 的用量，根据肾移植术后时间，使其维持在相应的水平，以防出现排斥反应。

5 例病人因反复不规则子宫出血，术前均行保守治疗无效，而且阴道不规则出血症状越来越重，全身情况亦越来越差。因此，我们的体会是对这些肾移植术后致功能失调性子宫出血或子宫器质性改变的病人，不宜保守治疗，应尽早在全身情况允许下行手术治疗为宜。

本资料病检结果表明：肾移植术后子宫不规则出血与性激素分泌失调可能有关，表现为雌激素的影响，而无孕激素的影响。此种现象是由于长期应用免疫抑制剂抽所致，还是肾功能不良所致，由于病例较少，故有待于进一步探讨。

关键词：肾移植；子宫出血；子宫切除术
中图法分类号：R669.2；R713.4$^+$2 文献标识码：B

作者简介：曹雅丽(1956—)，女，河北省景县人，主治医师，主要从事妇产科方面的研究。电话：(027)82413757
收稿日期：2003-04-16；修回日期：2003-06-03

参考文献：

[1] 张伟达，曾凡军，刘敦量，等. 肾移植术后近期消化道大出轿的手术治疗[J]. 中国实用外科杂志，2002，22(4)：228.
[2] 李 馨，吴笑春，辛华雯，等. 盐酸黄连素增加肾移植患者环孢素 A 血浓度的临床研究[J]. 华南国防医学杂志，2001，15(1)：7—9.

（编辑 陈聪连）

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