DOI:10.16016/j.1000-5404.2003.02.015

含3个 *Hind* Ⅲ酶切位点，经 *Hind* Ⅲ酶切后可获得长度分别为4 938、1 498、868 bp的3个基因片段。靶基因重组入空载体，可使868 bp的酶切片段增加为984 bp。采用 *Hind* Ⅲ单酶切鉴定较双酶切鉴定效果更为明显。测序结果证实 *Hind* Ⅲ酶切鉴定获得的阳性克隆株为正确的重组克隆株。

酵母双杂交是一种灵敏度较高，且结果可信的研究蛋白相互作用的技术，其已被广泛应用于研究蛋白质功能、寻找新基因和筛选多肽药物。但同时这一系统也存在一些问题，假阳性便是其中很突出的问题。靶基因的自身激活作用就是造成假阳性结果的重要原因。本实验所选择的靶基因为转录因子，发生自身激活作用的可能性很大。另外，靶基因在酵母细胞中表达是进行酵母双杂交实验的前提条件。因此，为证实靶蛋白p65 DNA结合域能否在酵母菌株表达，且能否发生自身激活作用，本实验将p65 DNA结合域基因片段克隆入酵母高表达质粒pGBKT7 DNA-BD，与Gal4 DNA-BD形成融合蛋白。经SDS-PAGE电泳和Western-blot鉴定证实，融合蛋白能在AH109酵母菌中表达。β-半乳糖苷酶克隆滤膜影印法和平板法检测结果显示，p65 DNA结合域无自身激活作用。同时酵母细胞生长良好，说明p65 DNA结合域对宿主菌无毒性作用。因此，构建好的载体可与纯化的肽库同时或依次共转化酵母细胞，进行肽库筛选，寻找与NF-κB DNA结合域相互作用的多肽。

参考文献：

[1] Baeuerie P A, Baltimore D. NF-κB: ten years after[J]. Cell, 1996, 87(1): 13-20.

[2] Yamamoto Y, Gaynor R B. Therapeutic potential of inhibition of the NF-kappaB pathway in the treatment of inflammation and cancer[J]. J Clin Invest, 2001, 107(2): 135.

[3] Chen F E, Huang D B, Chen Y Q, *et al*. Crystal structure of p50/p65 heterodimer of transcription factor NF-κB bound to DNA[J]. Nature, 1998, 391(22): 410-413.

[4] 徐 祥，刘 昕，梁华平，等. 引物二聚体在目的基因克隆中的应用初探[J]. 临床检验杂志，2001，107(1)：3-10.

[5] Baldwin A S. Series Introduction: The transcription factor NF-kappaB and human disease[J]. J Clin Invest, 2001, 107(1): 3-10.

（编辑 陈聪连）

个案与短篇

文章编号：1000-5404(2003)02-0126-01

合并严重重要脏器损伤的四肢骨折的治疗

Treatment for limb fracture complicated with severe injuries of major organs

贺小兵 （重庆市涪陵中心医院骨科，涪陵 408000）

就56例四肢骨折合并严重重要脏器损伤的病例治疗总结报告如下。

1 临床资料

1.1 一般资料

全部病例均有四肢一处以上的骨折，每一病例至少有一处骨折应进行手术治疗，其中开放性骨折22例。年龄14～65岁。男性37例，女性19例。交通事故伤28例，高处坠落伤17例，重物压砸伤8例，其他损伤3例。合并颅脑损伤24例，肝脏损伤7例，脾破裂6例，血气胸13例，肾脏及膀胱损伤6例。

1.2 治疗

全部病例均首先进行抢救和支持生命的治疗，如抗休克、止血和颅脑、肝脾、胸腔、肾脏的手术，同时进行骨折治疗的26例，其中22例开放性骨折均同时进行了一定的处理，如清创内固定、外固定、骨外固定、骨牵引等，1～3 d内手术的19例，3～10 d内手术的5例，10 d后手术的6例。

2 结果

除手术后1周内死亡的8例外，其余病例均随访3～36个月，随访1年以上的39例。发生骨不连5例，其中肱骨骨折2例，胫腓骨骨折3例，均为颅脑损伤病人，经手术植骨半环槽式骨外固定治疗愈合。存在明显关节功能障碍的16例，12例经过理疗、推拿按摩均有不同程度的恢复，2例行了关节手术松解。

3 讨论

对于多发伤患者应尽可能详细地了解损伤机制、现场抢救及搬运情况，首先对呼吸通道、呼吸和循环状况进行评估，排查出损伤严重和可能危及生命的损伤部位，抢救和支持生命始终是严重创伤救治的首要任务，而骨折的治疗则应视病人的全身情况来确定治疗的时机和方法。本组56例患者都合并有重要

（下转130页）

作者简介：贺小兵(1962－)，男，重庆市武隆县人，副主任医师，主要从事骨外固定技术和意外伤者心理方面的研究。电话：(023)72230814

收稿日期：2002-05-08；修回日期：2002-10-11

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

脑外伤等并发SU时，胃酸的作用更加明显，且可能与溃疡表现为深度较大有关[7]。

电镜下可见壁细胞有两种特征性的质膜系统，即分泌小管和管泡系统。它们参与H^+的运输和分泌，其形态、数量与壁细胞的分泌状态有关[8]。在壁细胞受刺激后，壁细胞内的管泡结构急剧减少，而分泌小管显著增加，使质子泵不断由管泡向顶部分泌小管补充，以分泌大量盐酸。当刺激停止后，质子泵又重新回到管泡膜而终止其泌酸活动，这就形成了壁细胞的膜循环。本研究显示，壁细胞在对照组呈现静息状态，这是由于大鼠经禁食处理所致。水浸束缚应激1，2，4 h后，壁细胞呈现不同程度的激活状态，这与胃内酸度变化和胃粘膜损伤程度相一致。研究表明，壁细胞的泌酸活动是受自主神经和体液因素调控[9]，并有一系列的靶信号和蛋白-蛋白相互作用，参与并调控壁细胞分泌激活这个过程[10]。应激状态下机体的神经内分泌功能紊乱，迷走神经的兴奋性增高，直接刺激壁细胞或通过肠神经系统对肠嗜铬样细胞(ECL细胞)的影响，使壁细胞兴奋并分泌大量盐酸。奥美拉唑组壁细胞内的分泌小管明显扩张，并有绒毛稀少或密集分布的不同表现，这与奥美拉唑抑制胃酸分泌的作用机制有关。

总之，我们认为应激状态下大鼠胃粘膜急性损伤与壁细胞泌酸状态密切相关，提示胃酸在SU形成过程中起着不容忽视的作用，也为临床应用制酸剂治疗和预防SU提供重要的理论依据。

参考文献：

[1] 李兆申. 应激性溃疡发生机制及预防对策研究现状[J]. 解放军医学杂志，1999，24(6)：391－393.

[2] Kobayashi K，Kashimak K，Higuchi K，*et al*. The mechanisms of gastrointestinal mucosal injury repair[J]. Nippon Rinsho，1998，56(9)：2215－2223.

[3] Hwang S L，Lieu A S，Howng S L，*et al*. Hypothalamic dysfunction in acute head-injured patients with stress ulcer[J]. Kaohsiung J Med Sci，1998，14(9)：554－562.

[4] 李兆申，湛先保，崔忠敏，等. 应激对胃粘膜表面上皮层抗酸形态屏障及壁细胞超微结构的影响[J]. 解放军医学杂志，1999，24(6)：401－403.

[5] Lasky M R，Metzler M H，Phillips J O. A prospective study of omeprazole suspension to prevent clinically significant gastrointestinal bleeding from stress ulcers in mechanically ventilated trauma patients[J]. J Trauma，1998，44(3)：527－533.

[6] Li Y，Sha W，Nie Y，*et al*. Effect of intragastric pH on control of peptic ulcer bleeding[J]. J Gastroenterol Hepatol，2000，15(2)：148－154.

[7] 魏绍华，李兆申，湛先保，等. 大鼠重度脑外伤后胃粘膜血流、胃泌酸的动态变化[J]. 第二军医大学学报，1998，19(5)：458－460.

[8] Ogata T，Yamasaki Y. Morphological studies on the translocation of tubulovesicular system toward the intracellular canaliculus during stimulation of the gastric parietal cell[J]. Microsc Res Tech，2000，48(5)：282－292.

[9] Lindstrom E，Chen D，Norlen P，*et al*. Control of gastric acid secretion：the gastric-ECL cell-parietal cell axis[J]. Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol，2001，128(3)：505－514.

[10] Caplan M J. Gastric H^+，K^+-ATPase：targeting signals in the regulation of physiologic function[J]. Curr Opin Cell Biol，1998，10(4)：468－473.

（编辑 陈聪连）

（上接126页）

脏器的严重损伤，不同程度地存在休克、出血、呼吸困难、昏迷等危及生命的情况，我们首先进行了抗休克、止血等重要脏器的抢救性手术和治疗，根据术中或术后病人的全身情况决定骨折的治疗是否同时进行，但有的存在皮肤软组织毁损伤、骨外露、重要神经血管损伤的严重开放性骨折也可能危及生命，必须及早进行抢救性手术。本组有14例严重开放性骨折患者就是不得已在病情尚未完全稳定的情况下进行的骨折手术治疗，其中6例术后1周内死亡。说明在生命体征不稳定的情况下实施骨折手术，因手术时间延长、创伤大、出血多，易加重病情，危及生命，因此，骨折的治疗时机应尽量选在生命体征比较平稳以后进行。

骨折的治疗方法应根据病人的全身情况来确定，同时对骨折的相关因素如骨折的部位、开放伤情况、局部并发症等进行评估，宜选用简单、快捷、有效的治疗方法，尽量缩短手术时间，减少出血和手术创伤。对于病情较重、生命体征不稳定的严重开放性骨折，尤其是合并症为肝、脾、胸腔损伤者，创伤大，出血多，又必须先进行肝、脾、胸腔的抢救性手术，病人的全身情况一般较差。因此，对于骨折的治疗我们多选用及早清创加牵引或外固定、骨外固定手术，以避免加重病情，确需进行内固定手术的，也尽量留在二期进行。对于病情较好，生命体征平稳的病人，也只根据骨折类型适当进行一些较为复杂的内固定手术，一期完成骨折的手术治疗。

合并颅脑损伤的骨折患者常常存在意识障碍、昏迷谵妄、烦躁不安，简单的骨牵引、外固定不但不能达到有效的固定，反而会因为骨折断端的活动加重局部的损伤，产生局部间室高压，甚至损伤局部的神经、血管；同时，文献[1]报道颅脑损伤患者因机械刺激作用、激素作用等可加速骨痂的生长，如不能及时对骨折进行有效的复位固定，容易导致骨折畸形愈合。因此，对于合并颅脑损伤的骨折应在病情比较稳定、生命体征平稳后尽早进行有效牢稳的固定，这既能防止加重局部损伤、促进骨折愈合，又便于病人的护理。

关键词：四肢骨折；严重并发症

中图法分类号：R683.405 文献标识码：B

参考文献：

[1] 黄煌渊，张 权，张 义，等. 合并颅脑外伤昏迷者的骨折愈合及其治疗时机选择[J]. 骨与关节损伤杂志，1999，14(5)：297－299.

（编辑 冯崇英）

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