DOI:10.16016/j.1000-5404.2002.07.016

论著

文章编号:1000-5404(2002)07-0790-03

大鼠腹主动脉移植后PDGF和IGF-1表达的测定及其意义

葛成群[1],李黔生[2],靳凤烁[2],江 军[2],葛成国[2],张利波[3] ([1]山东省临沂市第三人民医院外科,临沂 276034;[2]第三军医大学附属大坪医院野战外科研究所泌尿外科,重庆 400042;[3]山东省招远玲珑黄金矿业公司职工医院外科,招远 265419)

提 要:目的 观察血小板衍生生长因子(PDGF)、胰岛素生长因子-1(IGF-1)在移植动脉中的表达规律,探讨其在移植动脉硬化中的作用。方法 采用原位大鼠腹主动脉移植模型,免疫组织化学SP法测定生长因子的表达。结果 术后21 d内膜增厚,至60 d异系移植动脉内膜面积比约为同系对照组的3倍[术后60 d分别为异系29.21%,同系(8.03±0.18)%,$P<0.01$]。异系移植组PDGF术后7 d内膜表达至高峰,平均评分值1.51,非常显著高于同系移植组0.20($P<0.01$)。IGF-1术后7 d开始上调表达,其后21 d达高峰,平均评分值0.82,非常显著高于同系移植组0.20($P<0.01$),至60 d仍保持高表达,平均评分值0.65。结论 异系移植大鼠腹主动脉增厚明显。IGF-1,PDGF通过旁分泌及自分泌的方式促进平滑肌细胞的增殖,并由中膜向内膜迁移,导致内膜增厚。可能在移植动脉硬化发生过程中发挥重要作用。

关键词:移植动脉硬化;血小板源性生长因子;胰岛素样生长因子-1
中图法分类号:R392.11;R654.3 文献标识码:A

Expressions and significance of PDGF and IGF-1 in rat aortic allografts

GE Cheng-qun, LI Qian-sheng, JIN Feng-shuo, JIANG Jun, GE Cheng-guo, ZHANG Li-bo (Department of Surgery, No. 3 People's Hospital of Linyi City, Linyi 276034, China)

Abstract: Objective To investigate the effects of platelet derived growth factor (PDGF-A) and insulin like growth factor-1 (IGF-1) on the development and progress of transplanted arteriosclerosis (TA). Methods The expressions of PDGF-A and IGF-1 in the tissues of abdominal aortic allografts/isografts obtained from rat models of *in situ* transplantation of abdominal aorta were detected with immunohistochemical S-P method. Results The ratio of thickening area in tunica intima of the allografts was about threefold more than that in the isografts control 60 d after transplantation [29.21% *vs* (8.03±0.18)%, $P<0.01$]. The expression of PDGF reached its peak 7 d after transplantation with an average optical density (A) of 1.51, which was significantly higher than 0.20 of isografts ($P<0.01$), then declined to baseline on d 21. The expression of IGF-1 began to be upregulated on d 7, and came to the highest on d 21 at an average OD of 0.82, having a significant difference in comparison with isografts group (0.20) ($P<0.01$), and still kept highly expressed on d 60 with an average OD of 0.65. Conclusion The intimal thickening is evident in the allografts. IGF-1, PDGF and other growth factors exert autocrine and paracrine effects on vascular smooth muscle cell proliferation, migration from median into intima. Growth factors released during rejection may be involved in accelerating myointimal proliferation. The increment of local PDGF-A and IGF-1 synthesis may play important role in the pathogenesis of transplantation arteriosclerosis (TA).

Key words: transplantation arteriosclerosis; platelet derived growth factor; insulin like growth factor-1

移植肾动脉硬化是慢性排斥反应的重要病理学基础之一,其发病机制不明。近年来,有关血小板衍生生长因子(Platelet derived growth factor, PDGF)等多肽生长因子在移植动脉硬化发病中的作用受到学者们越来越多的关注。PDGF是有力的促细胞增生因子。胰岛素生长因子-1(Insulin growth factor, IGF-1)可作为多种细胞有丝分裂原,刺激细胞增殖。本研究建立大鼠腹主动脉移植动物模型,采用免疫组织化学方法测定PDGF,IGF-1在移植动脉内膜的表达,分析PDGF等生长因子在移植动脉内膜增厚中的变化规律,及其在移植动脉硬化发生发展过程中的作用作一初步探讨。

1 材料和方法

1.1 动物模型及分组

大鼠腹主动脉移植:异系移植实验组受鼠雄性Wistar大鼠38只,供鼠雄性SD系大鼠38只;对照组:同系移植组共70只(Wistar-Wistar)。参照Mennander等[1]方法建立大鼠腹主动脉移植模型,分别于术后3、7、21、60 d以4%多聚甲醛灌注固定后切取移植动脉,4%多聚甲醛固定。

1.2 主要观察指标及检测方法

1.2.1 常规病理切片及染色 标本固定24 h后脱水,石蜡包埋,横断切片,常规HE染色,光镜观察。

1.2.2 免疫组织化学染色 采用S-P法检测移植腹主动脉PDGF、IGF-1表达。

1.2.3 病理图像分析 计算机图像分析采用TIGER-920图像分析仪进行内膜增厚情况分析,内膜增厚面积比代表内膜的增生。取其平均值。内膜增厚面积比=(内膜面积/总面积)×100%。免疫组织化学测定评定方法:定位单位面积平均光密度法[2]。选取动脉内膜层面积(动脉横断面上从动脉内弹力纤维层至内皮细胞的组织部分),测定其单位面积A值,减去同张切片的背景A值,得到校正A值,各时相点分别取6张切片,最后计算总平均吸光度值。

1.3 统计学处理

数据以$\bar{x}\pm s$表示,采用t检验。

作者简介:葛成群(1976—),男,山东省莒南县人,医师,主要从事移植排斥反应发病机制方面的研究。电话:(0539)8090054

收稿日期:2001-08-01;修回日期:2002-03-16

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

2　结果

2.1　光镜观察

大鼠同系腹主动脉移植组, 术后内膜于各时相点无明显增生, 动脉壁未见炎症细胞浸润。异系移植动脉内膜及外膜于术后 3 d 出现炎性细胞浸润, 术后 21 d 内外膜仍有炎性细胞浸润, 动脉内膜于术后 21 d 出现明显增生, 术后 60 d 增生继续加重, 但细胞密度下降。

2.2　内膜增厚情况分析

术后 21 d, 内膜出现明显增生, 与同期同系移植组相比, 差异显著, 见表 1。

表 1　大鼠腹主动脉移植内膜增厚情况(%, $\bar{x}\pm s$)

Tab 1　Ratio of thickening area in tunica intima of the aortic allografts and isografts (%, $\bar{x}\pm s$)

Group	3 th day	7 th day	21 th day	60 th day
Isografts	8.11±2.76	7.97±2.17	8.03±3.54	8.08±2.36
Allograts	8.47±2.78	8.57±3.08	26.43±3.12 #*	29.21±3.78 *

*: $P<0.01$ *vs* isografts; #: $P<0.01$ *vs* former time point at the same group

2.3　免疫组织化学染色

PDGF-A、IGF-1 等在大鼠移植腹主动脉内膜的表达同系移植组中, 动脉内膜 PDGF-A、IGF-1 弱阳性表达, 各时相点之间无显著性差异。异系移植组动脉内膜 PDGF-A 术后 3 d 出现阳性表达, 7 d 后达高峰, 随后逐渐下降。非常显著高于同系移植组($P<0.01$)。异系移植组动脉内膜 IGF-1 于术后 7 d 开始上调表达, 21 d 达高峰, 非常显著高于同系移植组($P<0.01$), 至 60 d 仍保持高表达, 见表 2, 图 1、2。

表 2　PDGF, IGF-1 在大鼠移植动脉内膜中的表达(A 值, $\bar{x}\pm s$)

Tab 2　Average optical density indicated expressions of PDGF and IGF-1 in the endarterium of rat aortic allografts and isografts (A, $\bar{x}\pm s$)

Day	PDGF		IGF-1	
	Isografts	Allografts	Isografts	Allografts
3	0	1.12±0.13	0	0.23±0.15 **
7	0.20±0.10	1.51±0.17 **	0	0.48±0.17 **
21	0.20±0.14	1.10±0.08 **	0.20±0.14	0.82±0.13 **
60	0.18±0.13	0.90±0.11 *	0.16±0.11	0.65±0.08 *

*: $P<0.05$, **: $P<0.01$ *vs* isografts



图 1　异系动脉移植 60 d, PDGF-A 的表达　(S-P× 200)

Fig 1　Expression of PDGF in abdominal aortic allografts 60 d after transplantation　(S-P× 200)

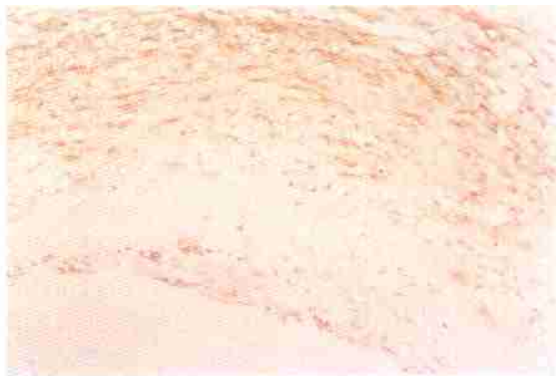


图 2　同系腹主动脉移植 60 d, IGF-1 的表达　(S-P× 200)

Fig 2　Expression of IGF-1 in abdominal aortic isografts on d 60 after transplantation　(S-P× 200)

3　讨论

动脉内膜弥漫性增厚, 管腔狭窄, 移植肾缺血, 是移植肾动脉硬化重要的病理学改变, 最后出现不可逆转的肾功能减退, 成为移植肾长期存活的主要障碍[3]。广泛而弥散的动脉内膜增厚, 其形成原因最初可能由于移植肾血管壁同种异体免疫反应的结果[4]。本实验结果显示异系移植动脉内膜于术后 21 d 出现明显增生, 术后 60 d 增生继续加重。同系移植组动脉内膜术后各时相点无明显增生。

最初的免疫损伤后, 最终导致动脉内膜增厚的原因是学者们关注的问题。有关生长因子与移植动脉硬化的关系方面的研究报道较为少见。本实验观察到在异系移植动脉内膜, 术后 3 d 出现 PDGF-A 链中等强度的表达, 并逐渐增强, 于术后 7 d 出现高峰表达, 术后 60 d 呈中等强度表达, 较术后 3 d 有所减弱。而在正常大鼠腹主动脉内膜没有观察到 PDGF-A 链表达。PDGF-A 链的表达可作为内皮细胞损伤、激活的标志[5]。由于内皮细胞激活, 内膜 PDGF-A 链出现明显增强, 在动脉内膜增厚的始动因素中可能具有重要意义。一方面中膜平滑肌细胞由于受到内膜 PDGF-A 诱导趋化作用, 反复增殖并向内膜迁移, 成纤维细胞分泌的细胞外基质增多, 形成"新内膜"(Neointima)。另一方面 PDGF-A 能刺激多种细胞如血管平滑肌细胞、成纤维细胞、胶质细胞的分裂增殖, 通过刺激胶原合成和胶原酶的活性作用调节细胞外基质的更新, 最终导致 DNA 合成增加、细胞裂解和增殖[6]。有研究采用各种方法减少 PDGF-A 的产生, 阻断 PDGF-A 与其受体结合, 在某些肾脏疾病的动物模型及临床上已取得了较好的治疗效果。

胰岛素生长因子-1(生长调节素 C)是血管平滑肌细胞、内皮细胞等多种细胞的强有力的有丝分裂原, IGF-1 可促进细胞由 G_1 期向 S 期转变。PDGF 诱导细胞分裂必须有 IGF-1 的参与才能发挥作用, 同时 IGF-1

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

的高表达提示平滑肌细胞处于增生的功能状态[7]。Motomura 等[8]术前应用 IGF-1 处理待移植的异系腹主动脉，移植后发现 IGF-1 能促进移植动脉内膜的增生，且呈剂量依赖性。阻断 IGF-1 或其受体则减少平滑肌细胞的增生。本实验证实，正常大鼠腹主动脉内膜未见 IGF-1 阳性表达。异系移植中，术后 3d 内膜出现表达，并在其后的时间里呈上升趋势，虽然较中膜表达为弱，但与同系移植相比，差异显著，提示移植免疫损伤参与 IGF-1 的上调表达。IGF-1 通过长期自分泌、旁分泌的方式刺激细胞增生，并具有对抗细胞凋亡的作用[9]。IGF-1 与 PDGDF 相互作用，延长细胞存活时间，在内膜增厚、移植动脉硬化发病过程中可能发挥重要作用。随着研究的深入，有可能通过基因治疗使动脉壁生长因子表达下降，从而抑制或延缓移植动脉硬化的发生发展过程。

参考文献：

[1] Mennander A, Thsala S, Halttunen J, *et al*. Chronic rejection in rat aortic allografts: an experimental model for transplantation arteriosclerosis[J]. Arterioscler Thromb, 1991, 11(3): 671—680.

[2] 杨建茹. 平均光密度在医学图像分析中的定量[J]. 中国医学影像技术, 1999, 15(4): 322—323.

[3] Fellstrom B C, Larsson E. Pathogenesis and treatment perspectives of chronic vascular rejection (CVR)[J]. Immunol Rev, 1993, 134: 83—98.

[4] Alpers C E, Gordon D, Gown A M. Immunophenotype of vascular rejection in renal transplants[J]. Mod Pathol, 1990, 3(2): 198—203.

[5] Alpers C E, Davis C L, Barr D, *et al*. Identification of platelet-derived growth factor A and B chains in human renal vascular rejection[J]. Am J Pathol, 1996, 148(2): 439—451.

[6] Plissonnier D, Nochy D, Poncet P, *et al*. Sequential immunological targeting of chronic experimental arterial allograft[J]. Transplantation, 1995, 60(5): 414—424.

[7] Grant M, Wargovich G, Ellis E, *et al*. Localization of insulin-like growth factor-1 and inhibition of coronary smooth muscle cell growth by somatostatin analogues in human coronary smooth cells[J]. Circulation, 1994, 89: 1 511—1 517.

[8] Motomura N, Lou H, Maurice P, *et al*. Transplant arteriosclerosis of rat aorta is accelerated by insulin-like growth factor-1[J]. Transplantation, 1997, 63(7): 932—936.

[9] Gibbons G H, Dzau V J. Molecular therapies for vascular disease[J]. Science, 1996, 272(7): 689—692.

（编辑 陈聪连）

个案与短篇

文章编号：1000-5404(2002)07-0792-01

中药离子导入治疗类风湿关节炎的观察及护理

Observation and nursing of treating rheumatoid arthritis by herbal ion infusion

张丽娟 （第三军医大学附属西南医院中医科，重庆 400038）

类风湿关节炎是一种慢性的自身免疫炎性关节疾病，其表现为反复发作的对称性、多发性小关节炎，以掌指关节、近端指间关节及腕、肘、膝关节受累为主，是一种致残率较高的疾病。我科采用中药离子导入法治疗类风湿关节炎 72 例，并与西药治疗对照，取得良好的疗效，现介绍如下。

1 资料和方法

一般资料：治疗组 72 例，其中男性 24 例，女性 48 例，平均 38 岁，病程 3 个月～22 年，平均 11.1 年。对照组 52 人，男性 16 例，女性 36 人，年龄 18～54 岁，病程 1～18 年。

诊断标准：按 1987 年美国风湿病协会所订的类风湿关节炎诊断标准。

治疗方法：①药物组成：两组均按常规抗风湿药物口服治疗，治疗组另加中药离子导入，10 d 为 1 疗程。治疗组采用的中药以透骨草 20 g、伸筋草 30 g，雷公藤 15 g、桑枝 15 g、当归 10 g、鸡血藤 30 g 等药物组成。功效祛风通络、散寒除湿、活血化淤、消肿止痛。②操作方法：使用仪器为石家庄市华行医疗器械厂生产的 FD-IIIA 型风湿治疗仪。首先根据病症选择好治疗的部位，将药液均匀地涂满在药垫上，将药垫紧贴于治疗部位的皮肤，其上放置电极板置于仪器的正、负极板上，将正极放在病变关节部位，将负极放在有关穴位上，也可将正负极板对置放于病变关节部位，然后用固定带固定，也可酌情使用沙袋固定。通电治疗 30 min，每天治疗 1 次，10 次为 1 疗程。有电疗敏感、高热、严重心脏病、活动性结核、出血疾患、广泛皮损者禁用。

2 护理

护理人员应严格掌握仪器的性能，熟悉工作规程，操作前应详细检查仪器是否正常。并耐心地向患者解释治疗的目的、作用及仪器的工作原理，帮助患者取舒适卧位，以消除患者的紧张情绪，并嘱患者在治疗过程中，不要随意调节电流量的大小以及热量的强弱，不要移动体位，以免损伤皮肤及出现意外。

治疗中经常巡视，询问患者有无不适，仔细观察患者治疗部位的情况，如患者感觉电极下有局限性刺痛或烧灼感时，应立即停止治疗，并检查原因，经妥善处理后，方可继续进行。如病人用药后出现红疹，应马上将药取下，一般不用处理，红疹可自行消失，症状较重者，服用抗过敏药物即可。

治疗完毕，嘱患者注意病变关节部位的保暖，轻微活动，适当进行按摩。使用后的药垫清洗，煮沸消毒，晾干备用，以保证治疗效果。

3 结果

疗效判定标准：按照 1994 年国家中医药管理局发布的中

作者简介：张丽娟(1968—)女，重庆市人，护师，主要从事中西医结合治疗护理方面的研究。电话：(023)68773062

收稿日期：2000-12-05；修回日期：2001-11-05

（下转 795 页）

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