DOI:10.16016/j.1000-5404.2002.07.053
第24卷第7期 第三军医大学学报 Vol. 24, No. 7
2002年7月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Jul. 2002


文章编号:1000-5404(2002)07-0861-02

论著

# 体外循环对血浆IL-8及中性粒细胞表面IL-8RA表达的影响

罗富荣[1],刘怀琼[1],陈惠孙[2],蒋耀光[3],刘 枫[1] (第三军医大学附属大坪医院野战外科研究所:[1]麻醉科;[2]第二研究室;[3]心胸外科;重庆 400042)

提 要:目的 研究体外循环(CPB)期间病人血浆IL-8及中性粒细胞(PMN)表面IL-8RA表达量的变化。方法 以临床先心房室缺病人为研究对象,分别在麻醉诱导后(A)、CPB后30 min(B)、CPB结束后即刻(C)采集病人外周血,测定白细胞数、血浆IL-8浓度(ELISA法)及PMN表面IL-8 RA表达量(间接免疫荧光流式细胞法)。结果 B点白细胞计数显著低于A、C点($P<0.05$),而B、C两时相点的血浆IL-8浓度和外周血PMN表面IL-8RA表达量均非常显著地高于A点($P<0.01$),且C点值显著高于B点($P<0.05$)。结论 CPB期间及CPB后血浆IL-8浓度和外周血PMN表面IL-8RA表达增加,可能是CPB导致PMN激活和转流后病人炎性损伤的机制之一。

关键词:体外循环;白介素-8;白介素-8受体;中性粒细胞
中图法分类号:R392.12;R654.1 文献标识码:A

# Effects of cardiopulmonary bypass on plasma IL-8 concentration and peripheral neutrophils IL-8RA expression in patients of congenital ventriculoseptal or atrioseptal defect

LUO Fu-rong, LIU Huai-qiong, CHEN Hui-sun, JIANG Yao-guang, LIU Feng (Department of Anesthesiology, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400042, China)

**Abstract:** Objective To investigate the effects of cardiopulmonary bypass (CPB) on the plasma IL-8 concentration and IL-8RA expression on the periperal polymorphonuclear (PMN) cell surface in clinical patients. Methods Patients with atrial septal defect (ASD) or ventricular septal defect (VSD) were chosen in the study and 3 time points were selected, i.e. immediately after anesthetic induction(A), 30 min after CPB(B) and at the end of CPB (C). Peripheral venous blood was collected and the following indices were analyzed: leukocytes count, plasma IL-8 concentration and peripheral PMN surface IL-8RA expression. Results Leukocytes counts at time B were significantly lower than both time A and time C ($P<0.05$), while both IL-8 concentration and IL-8RA expression on PMN at time B and C were significantly higher than time A ($P<0.01$). Besides, all values at time C were significantly higher than those of time B ($P<0.05$). Conclusion Plasma IL-8 concentration and PMN surface IL-8RA expression are elevated during and after CPB process, which may contribute to the activation of neutrophils and be regarded as an important reason of post-pump inflammatory injuries.

**Key words:** cardiopulmonary bypass; IL-8; IL-8RA; polymorphonuclear cells

体外循环(CPB)可导致多种并发症,其中对机体炎症反应的影响令人关注。研究表明,CPB可导致体内强烈的炎症反应,是转流后病人组织器官损伤、SIRS甚至MOF的重要原因[1]。中性粒细胞(Polymorphanuclear neutrophils, PMN)是炎性损伤最重要的效应细胞,主要通过呼吸暴发(释放活性氧自由基)和脱颗粒(释放多种水解酶)实现损伤效应,而PMN的激活及其效应作用又受到血浆IL-8水平及PMN表面IL-8受体A(IL-8RA)表达量的影响,本实验拟对CPB前后病人血浆IL-8浓度及PMN表面IL-8RA表达水平进行研究。

## 1 资料和方法

### 1.1 一般资料

择期手术的先心病15例(房缺9、室缺6),男∶女=7∶8,平均年龄12.5岁。术前用药:度冷丁1 mg/kg,东莨菪碱0.005 mg/kg。

### 1.2 麻醉方法

麻醉诱导用咪唑安定0.1~0.2 mg/kg、芬太尼10~20 μg/kg、罗库溴铵0.6~0.8 mg/kg混合后缓慢静注,根据病人反应调节剂量。气管插管,机械通气。以芬太尼30~60 μg/kg、罗库溴铵2~3 mg/kg、咪唑安定0.2~0.4 mg/kg维持麻醉。CPB采用Sarns-8000型人工心肺机和西京87型鼓泡式氧合器,浅低温。平均转流时间(63±26)min,平均停跳时间(34±18)min。

### 1.3 标本采集

分别于麻醉诱导后(A)、CPB后30 min(B)、CPB结束即刻(C)采集外周静脉血,测定白细胞计数(醋酸稀释计数法)、血浆IL-8浓度(ELISA法),并分离外周血PMN测定IL-8RA表达(间接免疫荧光流式细胞法)。主要步骤:分离并调节PMN浓度为$1\times10^6$/ml。取100 μl加IL-8RA单抗100 μl(1∶100),混匀,4 ℃冰浴30 min。洗涤后低速离心3次,加FITC-IgG二抗100 μl(1∶100),4 ℃30 min,同上洗涤,以含1%多聚甲醛的PBS(0.01 mol/L,pH7.2)悬浮细胞,流式细胞仪上检测PMN的阳性率。

作者简介:罗富荣(1965-),男,四川省彭州市人,博士,主治医师,讲师,主要从事中性粒细胞与炎性损伤方面的研究。电话:(023)68757347
收稿日期:2001-12-03;修回日期:2002-02-09

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

为消除CPB期间血液稀释对各指标的影响，应用Taylor公式对测定值进行校正：稀释后各指标校正值＝实测值×术前Hct/取样时Hct

### 1.4 主要试剂及仪器

IL-8放免药盒（东亚免疫研究所，北京），IL-8RA单抗（Serotec公司，英国），异硫氰酸荧光素标记的二抗（FITC-IgG，进口分装，北京中山）、PMN分离液Histopaque-1119，1077（Sigma，美国）、流式细胞仪（Coulterw，Elite ESP，美国）等。

### 1.5 统计学处理

数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示，行 $t$ 检验。

## 2 结果

CPB前后外周血WBC、IL-8及PMN表面IL-8RA表达的变化见表1。

表1 CPB前后外周血WBC、IL-8及PMN表面IL-8RA表达的变化（$n$＝15，$\bar{x}\pm s$）

Tab 1 Changes of peripheral leukocyte counts，IL-8 concentration and PMN surface IL-8RA expression before，during and after CPB process（$n$＝15，$\bar{x}\pm s$）

| | After anesthetic induction (A) | 30 min after CPB (B) | At the end of CPB (C) |
|---|---|---|---|
| WBC（×10⁹/L） | 6.74±2.77 | 4.65±2.09 * | 5.49±2.31 |
| IL-8（pg/mL） | 428.9±200.7 | 942.2±344.1 ** | 1213.6±435.1 **★ |
| IL-8RA（%） | 44.93±18.18 | 67.56±16.74 ** | 83.09±14.25 **★ |

*：$P<0.05$，**：$P<0.01$ *vs* A；★：$P<0.05$ *vs* B

## 3 讨论

研究表明，CPB导致的体内促炎因子（如IL-6、IL-8）增多和炎性细胞（如PMN、巨噬细胞）激活，是病人发生SIRS、MODS甚至MOF的主要原因[1,2]。

PMN是主要的炎性损伤效应细胞，其损伤效应主要通过呼吸暴发和脱颗粒而实现。在人类外周血白细胞中，PMN比例最大，本研究所测外周血白细胞数量的变化实际上主要反应了PMN数量的变化。IL-8是PMN最强有力的趋化激活因子，炎症状态下PMN产生的IL-8数量多，并以自分泌和旁分泌的方式激活更多的PMN，参与组织炎性损伤。IL-8在组织中存留时间长，并可抑制PMN凋亡，增加PMN表面受体CXCR1（IL-8RA）的表达，延长、增强PMN的炎性效应[3]。PMN表面IL-8R表达水平是影响PMN激活程度的另一重要因素。IL-8R主要存在于PMN表面，含有7个疏水跨膜区和N连接糖基化部位，属于G蛋白偶联受体超家族成员。IL-8与IL-8R的7个疏水跨膜区结合后，激活G蛋白，启动细胞内信号的传递[4]，最终导致PMN的激活和呼吸暴发、脱颗粒的实现。IL-8R有A、B两种亚型（IL-8RA、IL-8RB），与PMN呼吸暴发和脱颗粒有关的是IL-8RA[5]，故本实验以此作为观察指标。

实验结果显示，CPB后30 min外周血WBC计数较麻醉诱导后明显下降（$P<0.05$），在CPB结束时WBC计数有所回升，CPB导致PMN激活并被扣押于微循环（如肺微循环）以及粘附于CPB管道是导致WBC计数变化的重要原因。

与麻醉诱导后相比，CPB后30 min及结束时的IL-8水平非常显著地增高（$P<0.01$），并且结束时的浓度还显著高于CPB后30 min水平（$P<0.05$）。研究表明，CPB导致IL-8等炎性介质的升高可持续到术后24 h甚至更久[6,7]，这提示，CPB启动炎性反应后，可以通过体内多种炎性细胞和炎性介质的相互作用而导致炎症反应的级联放大，即使引起炎性反应的原发因素（CPB和缺血再灌注）已经去除，仍能在相当长的时期内维持机体的炎症反应状态。

与血浆IL-8变化相似，CPB后30 min及结束时外周血PMN表面IL-8RA表达均非常显著地高于麻醉诱导后值（$P<0.01$），且CPB结束即刻值还明显高于CPB30 min值（$P<0.05$）。CPB后增高的IL-8RA表达量为IL-8与PMN的结合提供了结构基础，保证了IL-8这一胞外刺激信号经G蛋白转导到细胞内，并经多条胞内信号途径产生最终的生物学效应，但目前对各信号途径的具体环节尚不十分清楚。

目前临床并无成熟的防止CPB后炎性损伤的方法，脉动式离心泵、白细胞滤器、糖皮质激素、肝素涂沫CPB装置、抑肽酶等均在尝试中。在相当长的时期内，预防或减轻炎性损伤的重点，仍将放在通过多种措施减轻炎症反应的发生发展上，而抑制PMN从激活到效应作用的各个信号环节，应该是其中的重要内容。

参考文献：


[1] Partrick D A，Moore E E，Fullerton D A，*et al*. Cardiopulmonary bypass renders patients at risk for multiple organ failure via early neutrophil priming and late neutrophil disability[J]. J Surg Res，1999，86(1)：42－49.

[2] Wan S，Yim A P. Cytokines in myocardial injury：impact on cardiac surgical approach[J]. Eur J Cardiothorac Surg，1999，16(sup1)：S107－111.

[3] Dunican A，Grutkoski P，Leuenroth S，*et al*. Neutrophils regulate their own apoptosis via preservation of CXC receptors[J]. J Surg Res，2000，90(1)：32－38.

[4] Zeilhofer H U，Schorr W. Role of interleukin-8 in neutrophil signaling[J]. Curr Opin Hematol，2000，7(3)：178－182.

[5] Jones S A，Wolf M，Qin S，*et al*. Different functions for the interleukin 8 receptors（IL-8R）of human neutrophil leukocytes：NADPH oxidase and phospholipase D are activated through IL-8R1 but not IL-8R2[J]. Porc Natl Acad Sci USA，1996，93(13)：6 682－6 686.

[6] Grunenfelder J，Zund G，Schoeberlein A，*et al*. Expression of adhesion molecules and cytokines after coronary artery bypass grafting during normothermic and hypothermic cardiac arrest[J]. Eur J Cardiothorac Surg，2000，17(6)：723－728.

[7] Ascione R，Lloyd C T，Underwood M J，*et al*. Inflammatory response after coronary revascularization with or without cardiopulmonary bypass[J]. Ann Thorac Surg，2000，69(4)：1 198－1 204.


（编辑 张大春）

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