DOI:10.16016/j.1000-5404.2001.07.025

瞬间损伤的情况。虽然Panjabi[1]研究发现，脊柱在纵向载荷作用下椎管动态侵占大于静态侵占的85%，即椎管侵占在卸载过程中有一定比例的回缩，但是其不能记录到主要决定脊髓神经组织损伤程度的瞬间打击力大小，怎样才能测量到瞬间椎管内压力变化，这对脊髓神经组织损伤程度及功能恢复的研究致关重要。本研究从以下两个方面进行探讨。

3.1 脊柱爆裂型骨折模型复制

以往报道爆裂型骨折形成与以下三个基本参数有关：①椎间盘健康状况[2]，②加载速率[3]，③载荷能量[4]。本实验结果也表明，椎间盘健康状况、载荷能量及加载速率是爆裂型骨折形成及模型复制中不可缺少的组织学及物理学参数。但撞击组结果提示不同高度所产生撞击能量所造成实验单元的脊椎标本破坏程度不同，落锤在1.5 m高度时即能复制出临床所见到的爆裂型骨折，又能保持实验单元脊柱的完整性，此撞击能量略高于椎体破坏极限，其它实验高度虽能复制成爆裂型骨折模型，但实验单元脊柱的完整性破坏较重，不能利用此标本进行其他实验研究，因此将此结果作为测压组模型复制的致伤参数，更有利于椎管内压力的测定。实验设计中的撞击力及持续时间测量装置，能很好地记录到撞击力作用于标本的力大小及持续时间，进一步揭示了爆裂型骨折产生的相关因素，也为测压组能精确复制爆裂型骨折提供了实验数据。另外在复制测压组爆裂型骨折模型时，为达到目标椎体即L_1椎体形成爆裂型骨折，又不造成其它脊椎结构严重破坏的目的。本研究采用应力遮挡技术即采用钢性固定模具分别将T_{10}～T_{12}节段和L_2～L_4节段固定成一体，L_1为致伤椎体。由于模具的刚度远远大于脊椎刚度，撞击力经过模具直接传导到L1椎体及其邻近的椎间盘，T_{10}～T_{12}节段和L_2～L_4节段所受撞击力远小于L_1椎体及其邻近的椎间盘组织。这样才能达到目标椎体爆裂性骨折。这套装置使测压组8例标本中7例完整地复制了L_1椎体爆裂性骨折，只有1例为T_{11}和L_1爆裂性骨折。

3.2 椎管内压力测量装置

本研究选择T_{10}～L_4节段，上下端均封闭，中间充满液体，形成一密闭空间。为更真实模拟脊髓的缓冲空间，上端存在少量空气，将直径3 mm，长10 mm压阻式压力传感器置于液体中，这样测得的压力代表该处三维应力的矢量和，也克服了因传感器受面小且位于长轴头部以及因组织间的贴附而测不到实际压力和测向单向性的缺点。此项椎管内压力测量装置在椎体爆裂型骨折复制过程中，不但成功记录到椎管内瞬间的压力变化及持续时间，还记录到压力变化的波形图。以上结果如能结合标本放射影像学改变及大体解剖所见能更好阐述脊髓神经组织的损伤机制[5]。

综上所述，本研究所设计的装置能较好复制目标椎体爆裂型骨折及记录动态椎管内压力变化，为脊柱爆裂型骨折合并脊髓神经损伤的基础研究提供实验方法及装置。

参考文献：

[1] Panjabi M M, Kifune M, Wen L. Dynamic canal encroachment during thoracolumbar burst fractures[J]. J Spinal Disord, 1995, 8(1): 39—48.
[2] Shirado O, Kaneda K, Tadano S, *et al*. Influence of disc degeneration on mechanism of thoracolumbar burst fractures[J]. Spine, 1992, 17(3): 286—292.
[3] Tran N T, Watson N A, Tencer A F, *et al*. Mechanism of the burst fracture in the thoracolumbar spine. The effect of loading rate[J]. Spine, 1995, 20(8): 1 984—1 988.
[4] Fredrickson B E, Mann K A, Yuan H A, *et al*. Reduction of the intracanal fragment in experimental burst fractuers[J]. Spine, 1988, 13(3): 267—271.
[5] 谢宝钢，吴梅英，杨吉祥. 冲击载荷造成椎管内压变化与脊髓损伤评估[J]. 中华骨科杂志，2000，20(8)：493—495.

（编辑 冷怀明）

文章编号：1000-5404(2001)07-0805-01

个案与短篇

Tuftsin对脾巨噬细胞、单核细胞表达HLA和B7-2的影响

Influence of tuftsin on the expression of HLA and B7-2 on the monocyte and splenetic macrophape

雷 新，韩本立 （第三军医大学附属西南医院全军肝胆外科研究所、西南肝胆外科医院，重庆 400038）

本实验拟在国内首次化学合成Tuftsin（Thr-Lys-Pro-Arg）的基础上，初步探讨其对单核细胞和巨噬细胞表达HLA-DR、HLA-ABC和B7-2功能的影响。

1 材料和方法

Tuftsin按Thr-Lys-Pro-Arg的结构由我校免疫学教研室在多肽合成仪上采用Fmoc保护固相法进行合成，合成Tuftsin经毛细管电泳检测，纯度达99.9%（详见文献[1]）。

作者简介：雷 新（1964—），男，吉林省松源市人，博士，主治医师，主要从事肿瘤放射生物学，肿瘤的免疫治疗方面的研究，发表论文12篇，现在附属大坪医院野战外科研究所放疗科，重庆 400042。电话：(023)68757346

收稿日期：2000-01-15；修回日期：2000-05-10

（下转809页）

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

换转运 Ca^{2+}, 进一步引起肌质网释放 Ca^{2+} 有关[4], 也可能与 L 型钙通道与肌质网释放通道(或 Ryanodine 受体)之间存在着"微耦联"[5]有关。另外我们对胞内 Ca^{2+} 外排也进行了观察, 发现 Thapsigargin 和 Ryanodine 2 受体激活剂 caffeine 使心肌细胞 Ca^{2+} 释放显著增加, 而胞内增加的 Ca^{2+} 排至胞外时, 细胞膜和核膜附近也出现钙闪烁团。有研究证实 Caffeine 引起钙库释放的 Ca^{2+} 能经 Na^+/Ca^{2+} 交换排出胞外[6], Goldhaber 等[7]也发现心肌细胞 Na^+-Ca^{2+} 交换可产生钙闪烁现象, 本实验观察到的这种钙闪烁团是否为 Na^+/Ca^{2+} 交换体主动排出 Ca^{2+} 所致, 尚有待于进一步探讨。

正常心肌细胞内存在小幅度的钙震荡, Ang Ⅱ增加细胞核和浆钙震荡的幅度, 说明不仅胞浆存在 Ca^{2+} 震荡, 核内 Ca^{2+} 也存在震荡。有研究发现钙震荡的产生与胞内钙库反复的 Ca^{2+} 摄取和释放有关[8], 由此推测心肌细胞核上也存在调节钙震荡的核 Ca^{2+} 转运系统: 核钙泵和钙释放系统。

参考文献:

[1] Burnier M, Centeno G, Burki E, *et al*. Confocal microscopy to analyze cytosolic and nuclear calcium in cultured vascular cells[J]. Am J Physiol, 1994, 266(35): C 1 118—1 127.

[2] Shorofsky S R, Izu L, Wier W G, *et al*. Ca^{2+} sparks triggered by patch depolarization in rat heart cells[J]. Circ Res, 1998, 82(4): 424—429.

[3] Collier M L, Thomas A P, Berlin J R. Relationship between L-type Ca^{2+} current and unitary sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} release events in rat ventricular myocytes[J]. J Physiol Lond, 1999, 516(Pt 1): 117—128.

[4] Leblanc N, Hume J R. Sodium current induced release of calcium from cardiac sarcoplasmic reticulum[J]. Science, 1990, 248(4 953): 372—376.

[5] Takagishi Y, Rothery S, Issberner J, *et al*. Spatial distribution of dihydropyridine receptors in the plasma membrane of guinea pig cardiac myocytes investigated by correlative confocal microscopy and label-fracture electron microscopy[J]. J Electron Microsc Tokyo, 1997, 46(2): 165—170.

[6] Varro A, Negretti N, Hester S B, *et al*. An estimate of the calcium content of the sarcoplasmic reticulum in rat ventricular myocytes[J]. Pflugers Arch, 1993, 423(1—2): 158—160.

[7] Goldhaber J I, Lamp S T, Walter D O, *et al*. Local regulation of the threshold for calcium sparks in rat ventricular myocytes: role of sodium-calcium exchange[J]. J Physiol Lond, 1999, 520(Pt 2): 431—438.

[8] Prakash Y S, Kannan M S, Sedck G C. Regulation of intracellular calcium oscillations in porcine tracheal smooth muscle cells[J]. Am J Physiol, 1997, 272(3pt 1): C966—975.

(编辑　王　红)

(上接 805 页)

取正常人新鲜血和切除人脾脏分离单核细胞和脾巨噬细胞, 然后把细胞置于含 15%小牛血清的 1640 培养液的 6 孔培养板中, 培养过夜后, 洗去非粘附细胞, 计数单核细胞约为 5×10^5 个/孔, 每孔加 Tuftsin 工作液 0.4 ml(10 μg), 对照组加同样量的培养液。培养 24 h 后, 用冷的 PBS 液洗板 1 次, 小心用细胞刮刀把细胞刮下, 然后再加生物素标记的抗 HLA-ABC、HLA-DR 单抗(邦定生物医学公司)(1∶100)和 B7-2 的单抗(Sigma 公司)(1∶100), 4 ℃下孵育 30 min, 再加卵白素-PE(Sigma 公司)显色, 显色后用冷 PBS 洗涤离心 1 次。用流式细胞仪检测。

2　结果

Tuftsin 对单核细胞和脾巨噬细胞表达 HLA-DR 的影响, 见表 1。

表 1　**Tuftsin** 对单核细胞和脾巨噬细胞表达 **HLA** 和 **B7-2** 的影响(相对百分数, $\bar{x}\pm s$)

组别	单核细胞组			脾巨噬细胞组		
	HLA-DR	HLA-ABC	B7-2	HLA-DR	HLA-ABC	B7-2
Tuftsin 刺激组	4.18±1.06 *	4.58±1.58 *	5.42±1.57 *	4.02±0.95 *	4.49±1.2 *	4.66±1.34 *
对照组	2.64±0.468	2.31±0.53	2.61±0.34	1.98±0.416	2.16±0.47	2.37±0.25

*: $P<0.05$ 与对照组比较

3　讨论

人类白细胞抗原—HLA 是位于人 6 号染色体短臂上一群高度多态性、紧密连锁的基因群, 它所编码的主要组织相容性抗原, 在特异性免疫中处于重要地位。HLA 抗原可分为三类, 即: HLA-Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ类。HLA-Ⅰ类抗原受控于 ABCDEFG 位点, 而其中的 ABC 位点所编码的分子归为经典 HLA-Ⅰ类分子, HLA-ABC 抗原是 HLA-Ⅰ类抗原的一种, 它广泛分布于有核细胞表面。HLA-Ⅱ类抗原受控于 DPDRDQ 位点, HLA-DR 抗原是 HLA-Ⅱ类抗原的一种, 它广泛分布于 B 淋巴细胞、巨噬细胞和活化的 T 细胞表面, 其功能是将外源性抗原肽递呈给 Th 细胞。

大量的文献报道, 肿瘤免疫主要是以 T 细胞为主的细胞免疫, 效应细胞主要是 CTL 和 Th。近年来的文献表明, $CD4^+$ 和 $CD8^+$ 的 T 细胞的活化需要两个不同的信号。信号 1 是结合于 APC 上的 MHC Ⅰ类分子或Ⅱ类分子的抗原多肽和抗原特异性的 T 细胞受体之间的反应。信号 2 是依靠 APC 上的共刺激分子[包括 B7-1(CD28)和 B7-2(CD86)]通过他们在 T 细胞上的计数器(Counter)受体来完成的。

以前有关 Tuftsin 对单核吞噬细胞功能影响的研究主要集中在 MHC 非限制性的分泌和吞噬作用方面, Tuftsin 对单核细胞和巨噬细胞表达 HLA 抗原和 B7 分子的研究还未见报道。尽管 APC 如何把抗原提呈给 Th 细胞从而活化 CTL 细胞, 是一个非常复杂的问题, 其中涉及很多因子, 还有许多具体的问题还不清楚。但我们的研究粗略的显示, Tuftsin 可以促进单核细胞和脾巨噬细胞表达 HLA-ABC、HLA-DR 及 B7-2 分子。表明 Tuftsin 不但可以促进单核吞噬细胞系统的 MHC 非限制性功能, 还可以促进它们的 MHC 限制性的抗原提呈功能。

关键词: Tuftsin; HLA; B7-2; 脾巨噬细胞; 单核细胞
中图法分类号: R394.3　　文献标识码: B

参考文献:

[1] 雷　新, 韩本立. Tuftsini 的合成及对裸鼠胆管癌模型的作用[J]. 第三军医大学学报, 2000, 22(1): 75—77.

(编辑　王　红)

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