DOI:10.16016/j.1000-5404.2001.08.061

文章编号:1000-5404(2001)08-0999-02

经验交流

急性肺损伤大鼠肺组织PMN扣押的变化及山莨菪碱的影响

Changes of polymorphonuclear leukocytes sequestration in lungs and influence of anisodamine on it in rats with acute lung injury

徐兴祥,钱桂生 (第三军医大学附属新桥医院全军呼吸内科研究所,重庆 400037)

多形核白细胞(Polymorphonuclear leukocyte,PMN)于肺内大量扣押是急性肺损伤(Acute lung injury,ALI)和急性呼吸窘迫综合征(Acute respiratory distress syndrome,ARDS)发病过程中的早发事件,是PMN介导肺血管内皮细胞、肺泡上皮细胞广泛损伤致通透性增加、肺水肿及微血栓形成的关键所在[1]。髓过氧化物酶(Myeloperoxidase,MPO)主要存在于PMN中,每个PMN所含的酶量都是一定的,因此组织MPO活力可能反映组织PMN的积聚量,我们通过分光光度法测定内毒素性ALI大鼠肺组织MPO活力观察ALI过程中大鼠肺组织PMN扣押量的变化及山莨菪碱对这种变化的影响。

1 材料和方法

1.1 模型复制与分组

将大鼠装入一自制的鼠笼内,先用75%的酒精清洗鼠尾,再涂适量的二甲苯,待鼠尾静脉充盈清晰可辨,即从尾静脉注射内毒素5 mg/kg,然后将鼠放入笼内自由活动。48只健康成年雄性Wistar大鼠分为6组:①内毒素5 min组。②内毒素15 min组。③内毒素30 min组。④内毒素60 min组。⑤生理盐水对照组:静注等量生理盐水替代内毒素。⑥山莨菪碱治疗组:静注内毒素5 mg/kg后,立即静注山莨菪碱5 mg/kg。1 h后放血活杀,每组8只。

1.2 大鼠肺组织MPO的测定

依文献[2]进行,MPO活力用以下公式计算:

$$MPO(U/mg)=\frac{\triangle A_{460}/min}{11.3\times 所加组织量(mg)}\times 反应总体积\times\frac{样品体积}{取样体积}$$

1.3 病理学检查

首先观察肺脏大体病变,然后取左肺下叶,经10%福尔马林固定48 h后、石蜡包埋、切片、HE染色后光镜下观察。

1.4 统计学分析

数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用Microsoft office 97中Excel统计软件进行方差分析和 t 检验。

2 结果

2.1 大鼠肺组织MPO活力的变化

静注内毒素后5、15、30、60 min,大鼠肺组织MPO活力分别为0.359±0.074、0.490±0.069、0.565±0.111和0.710±0.112 U/mg均较生理盐水对照组0.069±0.011 U/mg显著增加($P<0.01$),山莨菪碱治疗组大鼠肺组织MPO活力0.346±0.081 U/mg明显低于对应时相点内毒素组($P<0.05$)。

2.2 病理改变

内毒素组肺组织均有不同程度的充血、水肿,光镜下可见不同程度的PMN浸润及散在出血,以30、60 min组明显,山莨菪碱组肺脏充血、水肿及PMN浸润均较对应时相点内毒素组明显减轻。对照组正常。

3 讨论

PMN于肺内大量扣押并介导肺损伤已成为ALI的重要发病机制。通常对肺组织中炎性细胞进行定量有下列3种方法[3]:①灌注及固定后的肺组织学检查。②放射性同位素标记法。③由胶原酶经组织吞吐消化的酶的弥散技术。一般情况下,组织学检查难以区别炎性及非特异细胞,放射性同位素体外标记可活化或改变白细胞的生理特性,而MPO法测定肺组织中的PMN量可以克服以上缺点。MPO主要存在于PMN的嗜天青颗粒中,每个PMN所含的酶量都是一定的,约占细胞干重的5%。该酶具有使过氧化氢还原的能力,利用这一特点可以分析酶的活力从而定量PMN。我们采用了分光光度计检测法测定了ALI大鼠肺组织中的MPO活力,结果显示:大鼠被静注内毒素5 min时肺组织MPO活力即显著增加,至伤后1 h MPO活力仍在上升;和对应时相点的内毒素组比较,山莨菪碱干预1 h后肺组织MPO活力明显下降。提示:正常状态下肺内有一定量的PMN驻留,内毒素致伤后5 min内即发生快速的PMN于肺内的大量扣押,且伤后1 h肺组织中PMN仍在不断积聚;山莨菪碱可显著抑制内毒素性ALI大鼠PMN于肺内的扣押。病理检查也有类似的结果。肺组织中PMN的浸润是ALI和ARDS发病过程中的早发事件,PMN肺内扣押在ALI发病过程中起着十分重要的作用,这些扣押的PMN对组织既有一定的防护作用又具有损伤效应。研究证实PMN于肺内大量扣押是其介导肺血管内皮细胞,肺泡上皮细胞广泛损伤致通透性增加,肺水肿及微血栓形成的关键所在[1]。

山莨菪碱除阻断M胆碱受体外,还是有改善和疏通微循环、稳定溶酶体膜、保护线粒体结构等多种功能。我们的既往研究证实山莨菪碱能有效的抑制内毒素性ALI大鼠PMN变形性的下降[4]。而PMN变形性的下降则是ALI过程中PMN于肺内扣押最重要的始动因素。这可能是山莨菪碱抑制ALI大鼠PMN肺内扣押的主要机制。本研究进一步阐明了山莨菪碱治疗ALI的作用机制,为山莨菪碱治疗ALI提供了依据。

关键词:急性肺损伤;内毒素;多形核白细胞;髓过氧化酶;山莨菪碱
中图法分类号:R655.302 文献标识码:B

基金项目:国家自然科学基金重点资助项目(39730210)
作者简介:徐兴祥(1963-),男,江苏省兴化市人,博士,主治医师,主要从事急性肺损伤及特发性肺纤维化的基础及临床方面的研究,发表论文11篇。电话:(023)68755320
收稿日期:2000-11-10;修回日期:2001-04-19

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

参考文献：

[1] Windsor A C, Mullen P G, Fowler A A, *et al*. Role of the neutrophil in adult respiratory distress syndrome[J]. Br J Surg, 1993, 80(1): 10 - 17.

[2] Acioli J M, Isobe M, Kawasaki S. Early complement system activation and neutrophil priming in acute pancreatitis: participation of trypsin[J]. Surgery, 1997, 122(5): 909 - 917.

[3] 罗武生，郭兆贵. 用髓过氧化酶法定量测定心肌组织中的中性白细胞[J]. 中国药理学通报, 1990, 6(4): 264 - 266.

[4] 徐兴祥，孙耕耘，钱桂生，等. 急性肺损伤大鼠白细胞变形性变化及山莨菪碱影响[J]. 中华结核和呼吸杂志, 1998, 21(10): 598 - 600.

（编辑 薛国文）

经验交流

文章编号：1000-5404(2001)08-1000-01

增殖性肾小球肾炎肾组织 IL-8、CD11b 检测及意义

Detection and significance of IL-8, CD11b in renal tissues of proliferative glomerulonephritis

薛 超，朱妙珍 （第三军医大学附属大坪医院野战外科研究所肾内科，重庆 400042）

白细胞介素-8(Interleukin-8, IL-8)在炎症瀑动和维持中具重要意义[1]。本研究采用免疫组化方法检测了增殖性肾小球肾炎(Proliferative glomerulonephritis, PGN)肾组织中 IL-8 及中性粒细胞相关抗原(CD11b)，以无增殖性发变的正常人及膜性肾病(Membraneous nephropathy, MN)患者肾组织的检测作对照，探讨 IL-8 及其介导的炎症症状在 PGN 肾组织的表现及意义。

1 材料和方法

病变肾组织来自重庆大坪医院肾内科 1997-07 - 1998-03 住院治疗并行肾穿刺活检的 17 例 PGN 患者，其中男性 8 例，女性 9 例，年龄 11 ~ 69 岁。包括非 IgA 系膜增殖性肾炎 11 例。8 例男性肾移植供肾作正常对照组。7 例 MN 作第二对照组，其中男性 3 例，女性 4 例，年龄 16 ~ 60 岁。

免疫组织化学：采用小鼠抗人 IL-8 单抗(第四军医大学免疫教研室)、小鼠抗人 CD11b 单抗(北京邦定公司)；二抗、三抗采用 S-P 试剂盒(北京邦定公司)；DAB 显色。

统计学方法：采用 χ^2 检验。

2 结果

IL-8、CD11b 在肾组织内检出情况及其与 PGN 病理分型的比较，见表 1、2。

表 1 IL-8、CD11b 在肾组织内检出比较

组别	例数	IL-8+	CD11b+
正常对照组	8	0	0
MN 对照组	7	$2^{\triangle}$	0
PGN 实验组	17	$9^{\triangle\triangle※}$	$8^{\triangle\triangle※※}$

△：$P<0.05$，△△ $P<0.01$ 与正常对照组比较；※：$P<0.05$，※※：$P<0.01$ 与 MN 对照组比较

表 2 IL-8、CD11b 肾组织内检出与 PGN 病理分型

病理分型	例数	IL-8+	CD11b+
Non-IgAMsPGN	11	6	5
IgAN	1	0	0
IgMN	1	0	0
IN(Ⅱ)	2	1	1
EPGN	2	2	2

作者简介：薛 超(1968 -)，男，山东省人，硕士，主治医师，主要从事肾小球肾炎免疫与病理方面的研究。电话：(0537)2311383

收稿日期：2000-01-18；修回日期：2000-07-04

3 讨论

实验结果显示：大量 IL-8 阳性结果分布于 PGN 肾小球及间质小管区，阳性染色细胞为胞膜棕黄着色。肾小球系膜细胞，近端肾小管上皮细胞某些条件下均可表达 IL-8 mRNA 或分泌 IL-8[2,3]。肾组织内小血管周边细胞亦有阳性结果，由血管内皮细胞分泌的可能性大，在介导血液中性粒细胞贴壁、滚动与游出中具重要作用[4]。CD11b 为中性粒细胞胞膜上粘附分子成份，PGN 肾组织内 CD11b 产生增多，存在于肾小球内或间质小管区，显示了局部炎症活动与分布。IL-8 与 CD11b 的检测一定程度上较好地反映了 PGN 肾组织炎症特征，有一定实用价值。

近年 Wada 等[5]检测了不同类型的 PGN 包括 43 例 IgAN、15 例 LN 的 IL-8 的表达，认为 PGN 肾组织局部存在 IL-8 自分泌并参与肾小球细胞增殖过程。IL-8、CD11b 在 PGN 组检出率显著高于两对照组。PGN 肾组织局部 IL-8 吸引中性粒细胞局部浸润并致活化，CD11b 分泌，炎症发生，体内调节因素若不能使炎症及时转归，肾小球受损而发生细胞增生、基质类物质积聚，形成 PGN 病理的慢性演进过程。

关键词： 增殖性肾小球肾炎；IL-8；CD11b

中图法分类号： R692.310.2 **文献标识码：** B

参考文献：

[1] Walz A, Peveri P, Aschauer H, *et al*. Structure and properties of a novel NAF produced by human monocytes[J]. Agents Actions, 1989, 26(1 - 2): 148 - 150.

[2] Zoja C, Wang J M, Bettomi S, *et al*. Interkleukin-1 and tumor necrosis factor-α induce gene expression and production of leukocyte chemotactic factors, colony-stimulating factors, and interleukin-6 in human mesangial cells [J]. Am J Pathol, 1991, 138(4): 991 - 1 003.

[3] Schmolder R L, Strieter R M, Wiggins R C, *et al*. *In vitro* and *in vivo* interleukin-8 production in human renal cortical epithelia[J]. Kidney Int, 1992, 41(2): 191 - 198.

[4] Rot A. Endothelial cell binding of NAP-1/IL-8 : role in neutrophil emigration[J]. Immunol Today, 1992, 13(8): 291 - 294.

[5] Wada T, Yokoyama H, Tomosugi N, *et al*. Detection of urinary interleukin-8 in glomerular diseases[J]. Kidney Int, 1994, 46(2): 455 - 460.

（编辑 冯崇英）

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