DOI:10.16016/j.1000-5404.2001.11.001
第23卷第11期 第三军医大学学报 Vol. 23, No. 11
2001年11月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Nov. 2001

文章编号:1000-5404(2001)11-1257-03

论著

烫伤大鼠血浆白细胞介素-1β水平的变化及调节

刘都户,粟永萍,张 渭,楼淑芬 (第三军医大学预防医学系防原医学教研室、全军复合伤研究所,重庆 400038)

提 要:目的 观察不同程度烫伤大鼠血浆白细胞介素-1β(IL-1β)水平的变化及可能的调节措施。方法 采用ELISA法检测正常对照组、轻度烫伤组和重度烫伤组大鼠血浆IL-1β的水平。用体内注射TNF-α、IL-1β中和抗体和α-促黑色素细胞刺激激素(α-melanocyte-stimulating hormone,α-MSH)和合成肽KPV(Ac-D-Lys-L-Pro-D-Val)等措施调节其改变。结果 与正常对照组(6.36±5.26 pg/ml)相比,烫伤后12h,轻烫组的血浆IL-1β水平(130.13±26.01 pg/ml)显著升高($P<0.01$);与轻烫组相比,重烫组(214.08±27.25 pg/ml)升高更加明显($P<0.01$)。体内注射TNF-α、IL-1β中和抗体和α-MSH及KPV均能明显降低重烫组动物血浆IL-1β水平。结论 不同程度的烫伤均可使大鼠血浆IL-1β水平显著升高,重度烫伤时,升高更加明显;体内注射TNF-α、IL-1β中和抗体、α-MSH及KPV均可在一定程度上减轻重度烫伤所致的病理性高细胞因子血症。

关键词:烫伤;应激;细胞因子
中图法分类号:R392.11;R644 文献标识码:A

Changes of plasma IL-1β levels in scalded rats and its regulations

LIU Du-hu, SU Yong-ping, ZHANG Wei, LOU Shu-fen (Department of Radiation Medicine, Institute of Combined Injury of PLA, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To observe the changes in plasma IL-1β levels in scalded rats and its regulations. **Methods** Plasma IL-1β levels were determined in normal, low-grade and severe scalded rats by ELISA technique and plasma IL-1β concentration was regulated by injections of anti-rat TNFα, IL-1β antibody, α-melanocyte-stimulating hormone (α-MSH) and KPV peptide (Ac-D-Lys-L-Pro-D-Val) *in vivo*. **Results** IL-1β levels in rats 12 h after low-grade scald group (130.13 ±26.01 pg/ml) was higher than that in control group (6.36±5.26 g/ml) ($P<0.01$); and it was significantly increased in severe scald group (214.08±27.25 pg/ml) as compared with the low-grade scald group ($P<0.01$). Injections of anti-rat TNFα, IL-1β antibody, α-MSH and KPV attenuated the increase of IL-1β level in rats with severe scald. **Conclusions** Plasma IL-1β levels were significantly increased in low-grade scald group, as well as in severe scald group. Injections of anti-rat TNF-α, IL-1β antibody, α-MSH and KPV might attenuate its increase in rats with severe scald.

Key Words: scald; stress; cytokine

烫伤、感染等应激因素激活体内单核-巨噬细胞系统产生细胞因子(IL-1β、TNF-α、IL-6等)、一氧化氮(NO)和花生四烯酸代谢产物前列腺素等,它们在重度烧伤所致的炎症、感染、内毒素休克、全身炎症反应综合征(SIRS)及多脏器功能衰竭(MODS)等的发生过程中具有重要作用[1]。在适当浓度时它们有促进炎症发展和抵抗微生物等有利作用,但过高浓度时又有引起组织损伤和促进感染性休克的不利影响[2~4],故它们的表达及释放调控值得进一步研究。本实验拟以IL-1β作为炎症细胞因子的代表,观察大鼠血浆IL-1β水平在烫伤时的变化,试将α-促黑色素细胞刺激激素(α-melanocyte-stimulating hormone,α-MSH)和合成肽KPV(Ac-D-Lys-L-pro-D-Val)应用于重度烫伤所致的病理性高IL-1β血症的调节。

1 材料和方法

1.1 实验动物及主要试剂

雄性Wistar大鼠,体重180~200 g,由本校动物中心提供。Rat IL-1β、TNF-α中和抗体为Endogen产品。α-MSH由Sigma公司提供,KPV肽由第三军医大学全军免疫学研究所合成。

1.2 方法

1.2.1 实验动物分组及处理 第一部分:观察不同程度烫伤对大鼠血浆IL-1β水平的影响。大鼠背部剪毛,腹腔注入1%戊巴比妥钠(30 mg/kg)麻醉。随机分为以下3组,每组5只:①正常对照组:大鼠不做任何处理。②轻度烫伤组:浸入90 ℃水中5、6 s,烫伤面积为9%~10%;③重度烫伤组:90 ℃水中9、10 s。烫伤面积为35%左右。烫伤后动物立即予腹腔注射生理盐水5 ml/100 g体重的复苏治疗。12 h后处死动物。股动脉放血于抗凝管,1 000 r/min离心10 min。取血浆置于-70 ℃超低温冰箱,待测。第二部分:TNF-α、IL-1β中和抗体、α-MSH和KPV对重度烫伤大鼠血浆IL-1β水平的影响。致伤方法同第一部分的重度烫伤模型。随机分为以下4组(每组5只):①Anti-TNF-α组,烫伤前15min尾静脉注入TNF-α中和抗体(3.5 mg/kg);②Anti-IL-1β组,烫伤前15 min尾静脉注入IL-1β中和抗体(3.5 mg/kg);③α-MSH组,烫伤前15 min腹腔注入100 μg/0.2 ml生理盐水的α-MSH;④KPV组,烫伤前15 min腹腔注入KPV(40 μg/0.2 ml生理盐水),各组抗休克处理同重度烫伤组,按上述方法采血样待测。

1.2.2 IL-1β的测定 应用酶联免疫吸附(ELISA)试剂盒测定大鼠血浆IL-1β的浓度,试剂盒为Endogen公司产品,按说明书操作。

1.2.3 统计学分析 结果以平均值$\bar{x}\pm s$表示。采用t检

基金项目:国家重点基础研究发展规划资助项目("973"项目)(G1999054200)
作者简介:刘都户(1966-),男,陕西省西安市人,博士,讲师,主要从事肿瘤综合治疗及严重创伤应激反应方面的研究,发表论文20篇。电话:(023)68752000-71554
收稿日期:2001-04-16;修回日期:2001-06-28

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

验分析结果。

2 结果

2.1 不同程度烫伤动物血浆 IL-1β 水平变化

未烫伤大鼠血浆 IL-1β 浓度在检测范围下限水平。烫伤可使大鼠血浆 IL-1β 水平明显升高($P<0.01$),与轻度烫伤组相比,重度烫伤组升高更加明显($P<0.01$),见表 1。

表 1 烫伤后大鼠血浆 IL-1β 水平变化($\bar{x}\pm s$)

Tab 1 Changes of plasma IL-1β levels in scalded rats($\bar{x}\pm s$)

	Control	Low-grade scald	Severe scald
IL-1β(pg/ml)	6.36±5.26	130.13±26.01 *	214.08±27.25 **

*: $P<0.01$ *vs* control, **: $P<0.01$ *vs* low-grade scald

2.2 TNF-α 和 IL-1β 中和抗体、α-MSH 和 KPV 对重度烫伤大鼠血浆 IL-1β 浓度的调节作用

烫伤前 15 min 体内注射 TNF-α、IL-1β 中和抗体及 α-MSH 和 KPV 合成肽均可以使重度烫伤大鼠血浆的 IL-1β 水平明显下降,见图 1。

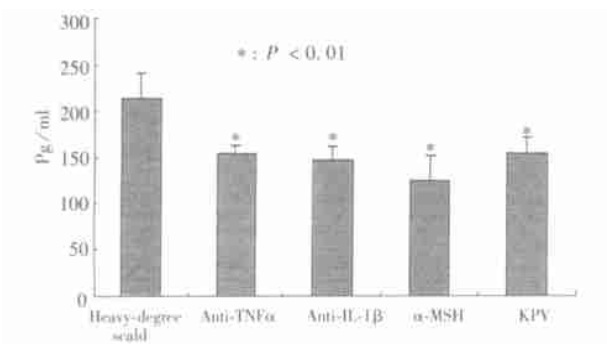


图 1 重度烫伤大鼠血浆 IL-1β 的水平及其调节

Fig 1 Plasma IL-1β levels in scalded rats and its regulations

3 讨论

本实验发现,烫伤接受复苏治疗后,大鼠血浆 IL-1β 水平显著升高,尤以重度烫伤为甚。严重烧伤后机体炎症介质释放发生紊乱,是造成烧伤后 SIRS、脓毒症以及 MODS 发生、发展的重要因素[5~7],循环休克、内毒素休克过程中产生的毒性因子,如 IL-1β、TNF-α,均可降低肾上腺素能受体(Adrenergic receptor, AR)对其激动剂的反应性,降低 AR 的亲和力,使受体数目下调,影响受体与肾上腺素之间的偶联[8]。另外,我们发现,重度烫伤后高单核/巨噬细胞因子血症可造成大鼠地塞米松及醛固酮结合容量的下降[9],故烫伤后单核因子的表达调节就显得尤为重要。在比较严重且面积较大的烫伤中,若处理不及时或不当,则可能发生休克。当经过复苏治疗机体血容量逐步恢复时,还可出现再灌注损伤一"二次打击"。"二次打击"是多脏器功能失常综合征发生发展的一个重要病理因素。这种组合的"二次打击"大大扩增了中性粒细胞和体内巨噬细胞(如腹腔巨噬细胞)的杀伤力[10]。巨噬细胞处于"超敏"状态,AP-1、NF-κB 和 NF-IL-6 等核转录因子激活,IL-1β、TNF-α 等致炎细胞因子大量分泌[11],而巨噬细胞对于糖皮质激素的作用又处于"抑制型"状态,不能发挥其抑制炎性细胞因子产生的效应,使得创伤后全身系统性炎症反应失控,最终导致 MODS 的发生。细胞因子网络参与了这一病理过程,所以在重度烫伤机体发生 SIRS 或 MODS 的治疗过程中,细胞因子的表达水平及功能调节就显得很关键。细胞因子网络共有数十种细胞因子组成,在系统炎症反应中起重要作用,其中 IL-1β、TNF-α 是该网络的"牵头羊"[12]。

有实验表明拮抗 IL-1β 活性可改善脓毒症患者的脏器功能[12]。烫伤前体内注射 TNF-α、IL-1β 中和抗体可使重度烫伤组的 IL-1β 水平下降,提示,细胞因子 IL-1β 和 TNF-α 通常以旁分泌(Paracrine)或自分泌(Autocrine)形式作用于附近细胞或细胞因子产生细胞本身,重度烫伤时,发挥级联放大作用,导致高细胞因子血症。由于多克隆抗体在体内应用于治疗的局限性,作者将 α-MSH 及 C 端三肽乙酰化异构体 KPV 应用于调控烫伤后体内高 IL-1β 血症,并取得了良好的效果,我们在实验中还发现 α-MSH 和 KPV 可以提高重度烫伤大鼠地塞米松及醛固酮结合受体的表观结合容量,结合本实验结果,证明 α-MSH 和 KPV 的上述作用是通过其抑制重度烫伤动物高 IL-1β 血症而实现的。α-MSH 是一种内源性神经免疫调节肽,调节宿主对各种应激的反应,并通过影响外周宿主细胞和作用于中枢神经系统抗炎通道,调节外周炎症反应[13],可抑制发热及主要类型的实验性炎症。有实验提示 α-MSH 在发挥其实验性炎症抑制效应时是通过其 C 端三肽而起作用的,且其化学异构体 Ac-D-Lys-L-Pro-D-Val 比 α-MSH 更有效[14]。本实验发现 KPV 与 α-MSH 同样有抑制重度烫伤大鼠高 IL-1β 血症的作用,但未发现 KPV 比α-MSH更有效。α-MSH 有拮抗前炎性细胞因子的作用,并可抑制其生成[15],这种抗细胞因子肽的免疫调节效应可能经下述途径产生:①直接作用于外周巨噬、单核和嗜中性粒细胞等免疫细胞上的 α-MSH 受体;②作用于脑内神经元上的 α-MSH 受体,进而启动下行性抗炎通路;③中枢神经系统局部炎症由局部产生的 α-MSH 通过作用中枢小胶质细胞和星形细胞而被抑制;也可由外周细胞产生的 α-MSH 通过脑脊液循环作用于中枢。关于其可调节重度烫伤细胞因子血症的更进一步机制我们正在做进一步的研究。

参考文献:

[1] Deakin A M, Payne A N, Whittle B J R, *et al*. The modulation of IL-6 and TNFα release by nitric oxide following stimulation of J774 cells with IPS and IFN-γ[J]. Cytokine, 1995, 7(5): 408—416.

[2] Chen J, Zhou Y P, Rong X Z. An experimental study on systemic inflammatory response syndrome induced by subeschar tissue fluid[J]. Burns, 2000, 26(2): 149—155.

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

[3] Huang Y S, Yang Z C, Liu X S, *et al*. Serial experimental and clinical studies on the pathogenesis of multiple organ dysfunction syndrome(MODS) in severe burns[J]. Burns, 1998, 24(8): 706—716.
[4] Zhang B, Huang Y H, Chen Y, *et al*, Plasma tumor necrosis factor-alpha, its soluble receptors and interleukin-1 beta levels in critically burned patients [J]. Burns, 1998, 24(7): 599—603.
[5] Payen D, Faivre V, Lukaszewicz A C, *et al*. Assessment of immunological status in the critically ill[J]. Minerva Anestesiol, 2000, 66(10): 757—763.
[6] Van Molle W, Hochepied T, Brouckaert P, *et al*. The major acute-phase protein, serum amyloid P component, in mice is not involved in endogenous resistance against tumor necrosis factor alpha-induced lethal hepatitis, shock, and skin necrosis[J]. Infect Immun, 2000, 68(9): 5 026—5 029.
[7] 刘都户, 粟永萍, 程天民. 严重创伤后应激反应的调控机理[J]. 中国病理生理杂志, 2001, 17(1): 89—92.
[8] 陈惠孙, 刘良明, 赵克森. 现代创伤休克基础与临床[M]. 北京: 人民军医出版社, 1999. 51—52.
[9] 刘都户, 粟永萍, 楼淑芬, 等. 烫伤大鼠肝组织糖皮质激素受体的变化及α-MSH、合成肽 KPV 的调节作用[J]. 第三军医大学学报, 2001, 23(5): 550—552.
[10] Meldrum DR, Cleveland J C, Moore E E, *et al*. Adaptive and maladaptive mechanisms of cellular priming[J]. Ann Surg, 1997, 226(5): 587—598.
[11] Udelsman R, Holbrook N J. Endocrine and molecular response to surgical stress[J]. Curr Probl Surg, 1994, 31(8): 655—719.
[12] Vincent J L, Bakker J, Marecaux G, *et al*. Administration of anti-TNF antibody improves left ventricular function in septic shock patients: results of a pilot study[J]. Chest, 1992, 101(3): 810—815.
[13] 李洪武. 内源性神经免疫调节肽α-MSH 对炎症反应的调节作用[J]. 国外医学: 皮肤性病学分册, 2000, 26(3): 158—160.
[14] Hiltz M E, Catania A, Lipton J M. Anti-inflammatory activity of α-MSH (11～13) analogs: influences of alteration in stereochemistry[J]. Peptides, 1991, 12(4): 767—771.
[15] 金　亮, 王百忍, 鞠　躬. α-黑色素细胞刺激素的神经免疫调节作用[J]. 生理科学进展, 2000, 31(1): 53—56.

（编辑　潘式文）

文章编号: 1000-5404(2001)11-1259-01

个案与短篇

急性胰腺炎并发自发性脾破裂 1 例

A case of acute pancreatitis complicated with spontaneous splenic rupture

安　永[1], 别　平[1], 江正辉[2]　（第三军医大学附属西南医院: [1] 全军肝胆外科研究所、西南肝胆外科医院; [2] 全军消化专科中心; 重庆 400038）

患者男, 51 岁, 农民。因“突发上腹剧痛伴恶心、呕吐 6 h”入院, 疼痛为胀痛, 向背部放射。既往无胆结石及泌尿系结石病史, 无外伤史; 嗜白酒(38°), 6～9 两/ d× 10 年, 本次入院前饮酒 0.5 kg(52°)。查体: 生命征平稳, 皮肤、巩膜无黄染, 心肺正常, 上腹部深压痛, 轻度肌紧张, 无反跳痛, 移动性浊音(－), 肠鸣音正常。血淀粉酶 1 632 U/L(索氏法); 尿淀粉酶 1 324 U/L; 血糖 9.3 mmol/ L; WBC 12.4× 10^9/ L, 中性 90%; ALT 20 U/L, LDH 261 U/L, 总胆红素 11 mmol/ L; 电解质正常; 胸片、腹部平片正常。诊断: 急性胰腺炎。予以常规治疗。入院 48 h B 超示腹水, 胰腺肿大; CT 示胰腺肿大, 胰周渗液; 血 Ca^{2+} 1.92 mmol/ L; 72 h 患者出现呼吸困难, 胸片示双侧胸腔积液, 动脉血氧分压 52 mmHg, 予以呼吸机辅助通气及全胃肠外营养, 患者病情趋平稳。1 周后, 患者无明显诱因出现左上腹包块、左季肋部疼痛伴低血容量性休克, 急症剖腹探查见腹腔大量积血, 脾脏包膜见数处破口伴出血, 脾周无粘连, 胰腺肿胀, 胆囊及胆总管正常, 证实为脾破裂, 行脾切除术。10 d 后, 复查 CT 示胰腺坏死, 胰尾部巨大囊肿, 于 B 超引导下行穿刺吸出 10 ml 坏死性物质, 细菌培养(－); 脾脏组织学证实为脾包膜及脾实质数处小裂口伴出血, 无脾静脉血栓、脾内假性囊肿及异位胰腺组织。患者仍腹痛明显伴发热, 于住院 24 d 行胰腺坏死组织清除、胆囊切除及胆总管、十二指肠、胃“三造瘘”术, 经抗炎、支持治疗, 于术后第 6 周痊愈出院。术后 10 月随访: 患者腹痛症状消失, 已戒酒, 饮食正常, 血糖正常。

讨论

自发性脾破裂是急性胰腺炎的一种罕见并发症, 由 Mallory 等[1] 于 1945 年首例报道, 多发生在胰腺炎反复发作或胰腺炎病情加重的过程中, 是胰腺炎病情加重及预后不良的征象之一[2], 目前认为造成本并发症的机制有四种: 脾静脉血栓形成[1,2]、慢性胰腺炎致脾周粘连[2]、胰腺假性囊肿破入并侵蚀脾脏[3] 以及脾内急性异位胰腺组织炎[4]; CT 是发现和随诊的胰腺炎脾脏并发症的有效方法[2,3]。虽本并发症无特异症状及体征, 但当急性胰腺炎患者出现突发左上腹包块、左季肋部疼痛同时伴急性低血压时应高度警惕并发自发性脾破裂的可能, 并给予及时果断的剖腹探查。本病例无论从 B 超、CT、术中所见及术后病理诊断均未发现与上述机制符合之处, 其原因有待于进一步探讨。

关键词: 急性胰腺炎; 脾破裂
中图法分类号: R576.06　　文献标识码: B

参考文献:

[1] Mallory T B, Castleman B, Parris E E. Case records of the Massachusetts General Hospital weekly clinicopathological exercises[J]. N Engl J Med, 1945, 233(2): 443—447.
[2] Fishman E K, Soyer P, Bliss D F, *et al*. Splenic involvement in pancreatitis: spectrum of CT fingdings[J]. Am J Roentg, 1995, 164(2): 631—635.
[3] Rypens F, Deviere J, Zalcman M, *et al*. Splenic parenchymal complications of pancreatitis: CT findings and natural history[J]. J Comput Assit Tomogr, 1997, 21(1): 89—93.
[4] Donckier V, Rypens F, Van D S J. Unusual splenic complication of acute pancreatitis[J]. J Clin Gastroenterol, 1992, 15(2): 245—247.

（编辑　薛国文）

作者简介: 安　永(1976－), 男, 山西省忻州市人, 硕士, 医师, 主要从事腹部外科方面的研究, 发表论文 12 篇。电话: (023)68754000-73078
收稿日期: 2000-12-07; 修回日期: 2001-06-15

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