mesothelium[J]. Cancer, 1995, 75(6): 1 539—1 544.
[3] Tsurita S, Oishi K, Sato N, *et al*. ERM family members as molecular linkerts between the cell surface glycoprotein CD44 and actin-based cytoskeletons[J]. J Cell Biol, 1994, 126(2): 391—401.
[4] Alho A M, Underhill C B. The hyaluronate receptor is preferentially expressed on proliferating epithelial cells[J]. J Cell Biol, 1989, 108(6): 1 557—1 566.
[5] Haynes B F, Liao H X, Patton K L. The transmembrane hyaluronate receptor(CD44): multiple function, multiple forms[J]. Cancer Cells, 1991, 3(2): 347—352.
[6] Lee T H, Wisniewske H G, Vilcek J. A novel secretory tumor necrosis factor-inducible proteins, closely related to the adhesion receptor CD44[J]. J Cell Biol, 1992, 116(3): 545—552.
[7] Lesley J, Hyman R, Kincade P W. CD44 and its interaction with the extra-cellular matrix[J]. Adv Immunol, 1993, 54(1): 271—279.
[8] Picker L J, Nakache M, Butcher E C. Monoclonal antibodies to human lymphocyte homing receptors define a novel class of adhesion molecules on diverse cell types[J]. J Cell Biol, 1989, 109(4): 927—939.
[9] Lu D, Tawfik O, Pantazis C, *et al*. Altered expression of CD44 and variant isoforms in human adenocarcinoma of the endocervix during progression[J]. Gynecol Oncol, 1999, 75(1): 84—90.
[10] Koukoulis G K, Patriarca C, Gould V E. Adhesion molecules and tumor metastasis[J]. Hum Pathol, 1998, 29(9): 889—892.

(编辑 王 红)

文章编号:1000-5404(2000)06-0515-01

经验与短篇

# 烧冲复合伤早期肺微血管内皮细胞与PMN粘附的变化

# The early adhesive changes between pulmonary microvascular endothelial cells and polymorphonuclear neutrophils after burn-blast combined injury

金榕兵,朱佩芳,王正国,石 林 (第三军医大学附属大坪医院野战外科研究所第四研究室,重庆 400042)

烧冲复合伤早期肺微血管通透性损伤与肺内白细胞尤其是多形核白细胞(PMN)的聚集有关,而此时肺ICAM-1、外周血PMN的CD11b表达明显上调并与PMN在肺内聚集有关[1]。

## 1 材料与方法

### 1.1 动物分组及致伤、处理

Wistar大鼠20只,分为正常对照及烧冲复合伤组,各10只,每组各5只用于分离培养肺微血管内皮细胞(MVEC),另一半用于分离外周血PMN。烧冲复合伤为25%体表面积Ⅲ度烫伤复合中度冲击伤,于伤后12 h取标本。

### 1.2 肺MVEC的分离及培养

参照文献[2]方法稍加改进,培养的MVEC的鉴定以vWF单抗进行免疫组化染色。

### 1.3 培养MVEC的ICAM-1测定及其与PMN粘附率的测定

ICAM-1测定参照刘勇等[3]的方法以ELISA法进行;

分离大鼠PMN用DMEM悬浮,将细胞数调整至(0.5~1)×$10^5$/ml。分别进行:①PMN悬液中加CD11b抗体于37°C孵育30 min后加入MVEC培养孔。②取在96孔培养板已融合为单层的MVEC,加入ICAM-1单抗后37°C孵育30 min,用PBS洗净未结合抗体后加入PMN悬液50μl,37°C孵育30 min,用PBS液小心洗出未结合的PMN。加入50μl含0.5%HTAB的0.05 M-PB至培养板,室温放置30 min以溶解粘附的PMN。

取PMN悬液50μl加入Eppendorf管,离心弃上清后加入50μl含0.5%HTAB的0.05 M-PB,室温放置30 min以裂解PMN,将其加至培养板无MVEC的空白孔(反映总活性)。

以上样品准备妥当,均加入37°C预热的反应液(含0.0167%邻联茴香胺及0.0005%过氧化氢的0.05 M-PB),250μl/孔,孵育2 min,立即在酶标仪上测定$D_{460}$光密度值,计算出MPO活性。

MPO活性=$\triangle D_{460}$/min÷(11.3×所加标本量×反应液量)

用结合PMN的MPO活性占总活性的百分比来表示PMN与MVEC的相对粘附率(%)。

## 2 结果

### 2.1 培养肺MVEC的ICAM-1表达

致伤组肺MVEC的ICAM-1表达显著高于正常组值($P<0.01$);对照组MVEC经TNFα刺激后,表达ICAM-1显著增加,且高浓度TNFα处理MVEC导致的ICAM-1增加较低浓度TNFα处理更明显($P<0.05$),而伤鼠MVEC经同样处理变化不明显。

(下转522页)

作者简介:金榕兵(1964—),男,云南省昆明市人,博士,主治医师,主要从事肿瘤的核素诊断方面的研究,发表论文12篇。
电话:(023)68757462

收稿日期:1999-02-15;修回日期:1999-09-30

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

增强宿主全身或肠道局部免疫力，刺激肠粘膜上皮再生、修复，促进肠道粘膜结构和功能恢复有关[7]。本研究在延迟至肠道缺血灌注损伤12 h后开始给予rhGH，应用48 h、72 h均可有效地减少IIR后肠源性细菌/内毒素移位和脓毒血症的发生。这为临床上严重创(烧)伤病人早期应用rhGH，减少严重创(烧)伤后肠源性细菌/内毒素移位和医院感染的发生提供了实验依据，具有重要的意义。

参考文献：


[1] Jarrar D, Wolf S W, Jeschke M G, *et al*. Growth hormone attenuates the acute-phase response to thermal injury[J]. Arch Surg, 1997, 132(11): 1 171—1 175.

[2] Takagi K, Suzuki F, Barrow R E, *et al*. Growth hormone improves immune function and survival in burned mice infected with herpes simplex virus type 1[J]. J Surg Res, 1997, 69(1): 160—170.

[3] Krahenbuhl L, Buchler M W. Pathophysiology, clinical aspects and therapy of short bowel syndrome[J]. Chirurg, 1997, 68(6): 559—567.

[4] Prieto I, Gomezde Segura I A, Garcia Grande A, *et al*. Growth hormone reduces bacterial translocation in radiation enteritis in the rat[J]. Rev Esp Enferm Dig, 1998, 90(5): 353—360.

[5] Gautreaux M D, Deitch E A, Berg R D. Bacterial translocation from the gastrointestinal tract to various segments of the mesenteric lymph node complex[J]. Infect Immun, 1994, 62(5): 2 132—2 134.

[6] Gomez de Segura I A, Prieto I, Grande A G, *et al*. Growth hormone reduces mortality and bacterial translocation in irradiated rats[J]. Acta Oncol, 1998, 37(2): 179—185.

[7] Prieto I, Gomez de Segura I A, Garcia Grande A, *et al*. Morphometric and proliferative effects of growth hormone on radiation enteritis in the rat[J]. Rev Esp Enferm Dig, 1998, 90(3): 163—173.


(编辑 郭建秀)

(上接515页)

表1 TNFα刺激对MVEC表达ICAM-1的影响

| 分组 | 未处理 | TNFα处理 | |
|---|---|---|---|
| | | 10 U/ml | 100 U/ml |
| 对照组 | 0.036±0.011 | 0.068±0.021* | 0.096±0.021**# |
| 致伤组 | 0.140±0.051△△ | 0.167±0.072△ | 0.193±0.082△ |

*：$P<0.05$，**：$P<0.01$ 与未处理相比；
#：$P<0.05$ 与同组10 U/ml TNFα处理相比；
△：$P<0.05$，△△：$P<0.01$ 与对照组相比

## 2.2 CD11b、ICAM-1单抗对PMN与MVEC粘附率的影响

伤鼠PMN粘附于伤鼠MVEC的百分率明显高于对照鼠；CD11b和ICAM-1单抗对正常组大鼠PMN与其MVEC粘附的影响均不明显。CD11b和ICAM-1单抗均能显著降低伤鼠PMN与伤鼠MVEC的粘附，ICAM-1单抗所致的粘附率减少更为显著。

表2 CD11b、ICAM-1单抗对PMN与MVEC粘附率的影响

| 分组 | 粘附PMN的MPO活性降低百分数 | |
|---|---|---|
| | CD11b单抗处理 | ICAM-1单抗处理 |
| 对照组 | 5.48±2.33 | 5.91±1.99 |
| 致伤组 | 14.50±7.80* | 38.42±13.03**## |

*：$P<0.05$，**：$P<0.01$ 与对照组相比；
#：$P<0.05$，##：$P<0.01$ 与CD11b单抗处理相比

## 3 讨论

内皮细胞的ICAM-1与PMN的CD11b/CD18之间的相互作用在二者的粘附过程中起着极为重要的作用，Silvestro等[4]证实ICAM-1单克隆抗体可减轻HCl吸入导致的肺损伤，Grau等[2]的研究结果表明：多数ARDS患者肺MVEC的ICAM-1表达上调，提示ICAM-1可能部分参与了急性肺损伤的发生；ARDS时循环白细胞与内皮的粘附增多可能主要与CD11b/CD18表达增多有关。

本结果显示：伤鼠PMN与MVEC的粘附率明显高于对照组；CD11b单抗和ICAM-1单抗均能显著降低伤鼠PMN与MVEC的粘附率，ICAM-1单抗所致的粘附率降低更为显著，但对照组PMN与MVEC粘附受两种抗体的影响均不明显。表明ICAM-1及其配体CD11b可能是烧冲复合伤早期肺内PMN聚集及肺损伤中起重要作用的CAMs之一，其中ICAM-1的作用更为明显，MVEC与PMN粘附的过程中，MVEC的作用可能占主导地位，其原因可能与烧冲复合伤对肺MVEC的损伤在先有关。

关键词：微血管内皮细胞；肺损伤；CD11b；细胞间粘附分子-1
中图法分类号：R642.023 文献标识码：B

参考文献：


[1] 金榕兵，朱佩芳，王正国，等. 烧冲复合早期肺细胞间粘附分子-1的表达变化及意义[J]. 中华创伤杂志，1997，13(5)：282—284.

[2] Grau G E, Mili N, Lou J N, *et al*. Phenotypic and functional analysis of pulmonary microvascular endothelial cells from patients with acute respiratory distress syndrome[J]. Lab Invest, 1996, 74(4): 761—770.

[3] 刘 勇，周敬德，房台生，等. 细胞间粘附分子在脑血管内皮细胞的表达[J]. 基础医学与临床，1995，15(2)：71—74.

[4] Silvestro L, Ruikun C, Sommer F, *et al*. Platelet-activating factor-induced endothelial cell expression of adhesion molecules and modulation of surface glycocalyx, evaluated by electron spectroscopy chemical analysis[J]. Semin Thromb Hemost, 1994, 20(2): 214—222.


(编辑 汪勤俭)

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