细胞中表达了有生物学活性的CTLA-4/Ig融合蛋白,为进一步大量表达纯化CTLA-4/Ig融合蛋白、及其免疫学活性研究和临床应用奠定了基础。

参考文献:

[1] Linsley P S, Brady W, Urnes M, *et al*. CTLA-4 is a second receptor for the B cell activation antigen B7[J]. J Exp Med, 1991, 174(3): 561—569.

[2] Boussiotis V A, Freeman G J, Gribben J G, *et al*. The role of B7-1/B7-2: CD28/CLTA-4 pathways in the prevention of anergy, induction of productive immunity and down-regulation of the immune response[J]. Immunol Rev, 1996, 153: 5—26.

[3] Tarumi K, Yagihashi A, Tsuruma T, *et al*. Induction and maintenance of tolerance by CTLA-4/Ig in rat small bowel allografts [J]. Transplant Proc, 1999, 31(1-2): 878—881.

[4] Elwood E T, Larsen C P, Cho H R, *et al*. Prolonged acceptance of concordant and discordant xenografts with combined CD40 and CD28 pathway blockade[J]. Transplantation, 1998, 65(11): 1 422—1 428.

[5] Finck B K, Linsley P S, Wofsy D. Treatment of murine lupus with CTLA-4/Ig[J]. Science, 1994, 265(5176): 1 225—1 227.

[6] Nishikawa K, Linsley P S, Collins A B, *et al*. Effect of CTLA-4 chimeric protein on rat autoimmune anti-glomerular basement membrane glomerulonephritis[J]. Eur J Immunol, 1994, 24(6): 1 249—1 254.

[7] Seidman M. The development of transient SV40 based shuttle vectors mutagenesis studies: problems and solutions[J]. Mutat-Res, 1989, 220(2—3): 55—60.

(编辑 薛国文)

经验与短篇

文章编号:1000-5404(2000)06-0526-01

大鼠脊髓压迫伤后PMN浸润的变化及MPS的治疗作用

Changes of polymorphonuclear leukocytes infiltration after spinal cord compression injury in rats and the therapeutic effects of methylprednisolone

袁 涛[1], 鞠明兵[2] (第三军医大学附属大坪医院野战外科研究所:[1]肝胆外科;[2]第二研究室;重庆 400042)

脊髓损伤在战时和平时的创伤发生率中均占有一定的比例,其原发损伤后继发性损伤是致瘫的重要原因,但确切机制目前尚不清楚。近年来多形核白细胞(PMN)在继发性脊髓损伤中的作用受到重视[1],研究PMN在脊髓继发性损伤中的作用及其机制具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 动物的压迫损伤模型

选用77只Wistar大鼠,体重200~300 g,腹腔麻醉后,俯卧位固定,于L1水平行椎板切除术,暴露脊髓。动物稳定1 h后,用30 g重物压L1节段脊髓20 min。

1.2 实验分组

1.2.1 分组 实验共分3组:伤前组、损伤组和甲基强的松龙(MPS)治疗组:①损伤组(n=35):以30 g重物压迫L1脊髓20 min复制损伤模型。②治疗组(n=35):复制损伤模型后,于伤后30 min首次给予MPS 30 mg·kg^{-1}·h^{-1}剂量维持、持续23 h。③伤前组(n=7):行椎板切除术,但不以重物压迫脊髓。

1.2.2 时相点 损伤组及治疗组,设伤后2、4、6、12、24 h共5个时相点;伤前组设椎板切除后60 min一个点,每时相点7只大鼠。

1.3 观察指标

1.3.1 用紫外分光光度法测损伤脊髓组织髓质过氧化物酶(MPO)活性。

1.3.2 改良TBA比色法测脊髓组织丙二醛(MDA)含量。

1.3.3 病理学观察 取得各时相点损伤脊髓后,于多聚甲醛液中固定。光镜标本经石蜡包埋,切片,HE染色,用OLYMPUS显微照像系统观察并照像;电镜标本作常规包埋、定位、切片、染色,用JEM-2000型透射电子显微镜观察并照像。

1.4 统计学处理

数据资料均以$\bar{x}\pm s$表示。组间比较用Students′s t进行统计分析,指标的变化趋势间行相关分析。

2 结果

2.1 脊髓压迫伤后组织MPO的变化,见表1

2.2 脊髓压迫伤后组织MDA的变化,见表2

2.3 病理学观察

脊髓损伤后,从光镜可观察到组织水肿,神经元肿胀及核固缩,弥漫性出血,多形核白细胞浸润组织。电镜证实伤后6 h可见微血管内有PMN粘附,浸润。治疗组则血管损伤明显减轻。

(下转533页)

作者简介:袁 涛(1968—),男,河南省信阳市人,主治医师,讲师,主要从事胆道肿瘤的诊断与治疗方面的研究。电话:(023)68757247

收稿日期:1999-02-03;修回日期:1999-12-22

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

－185.

[2] Gum J R, Byrd J C, Hicks J W, *et al*. Molecular cloning of human intestinal mucin cDNAs: sequence analysis and evidence for genetic polymorphism[J]. J Biol Chem, 1989, 264(11): 6 480－6 487.

[3] Uoribara N W, Roberton A M, Ho S B, *et al*. Human gastric mucin: identification of a unique species by expression cloning [J]. J Biol Chem, 1993, 268(8): 5 879－5 885.

[4] Siddiqui J, Abe M, Hayes D, *et al*. Isolation and sequencing of a cDNA coding for the human DF3 breast carcinoma-associated antigen[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1988, 85(6): 2 320－2 323.

[5] Balague C, Gambus G, Carrato C, *et al*. Altered expression of MUC2, MUC4 and MUC5 mucin genes in pancreas tissues[J]. Gastroenterology, 1994, 106(4): 1 054－1 061.

[6] Samuel B Ho, Shekels L L, Toribara N W. Mucin gene expression in normal, preneoplastic and neoplastic human gastric epithelium[J]. Cancer Res, 1995, 55(15): 2 681－2 690.

[7] 汪荣泉, 房殿春, 晋华源, 等. 胃癌及癌前病变组织中 MUC1 基因的表达及其意义[J]. 中华医学杂志, 1999, 79(6): 443－444.

[8] Bolos C D, Garrido M, Real F X. MUC6 apomucin shows a distinct normal tissue distribution that correlates with Lewis antigen expression in the human stomach[J]. Gastroenterology, 1995, 109(3): 723－734.

（编辑　潘式文）

（上接 526 页）

表 1　脊髓组织 MPO 活性的变化($\bar{x}\pm s$, V/g)

	伤前	t/h				
		2	4	6	12	24
伤前组	0.14±0.023					
损伤组		0.71±0.06**	0.88±0.06**	0.79±0.05**	0.73±0.05**	0.49±0.02**
治疗组		0.63±0.05**#	0.78±0.07**#	0.66±0.06**##	0.61±0.07**##	0.44±0.05**#

**: $P<0.01$ 与伤前组比较; #: $P<0.05$, ##: $P<0.01$ 与损伤组比较

表 2　脊髓组织 MDA 含量变化($\bar{x}\pm s$, C_B/nmol·ml^{-1})

	伤前	t/h				
		2	4	6	12	24
伤前组	36.47±3.91					
损伤组		138.05±2.74**	147.68±3.52**	168.04±4.34**	155.44±3.49**	108.38±3.41**
治疗组		115.41±3.33**	123.16±5.53**##	150.70±3.22**##	139.07±3.8**##	90.81±5.06**##

**: $P<0.01$ 与伤前组比较; ##: $P<0.01$ 与损伤组比较

3　讨论

近年来的实验研究表明[2,3], 炎性反应是导致机体组织继发性损伤的重要原因。多种脏器的急慢性损伤, 疾病与炎性反应, 与 PMNLS 浸润密切相关。研究证实, 在中枢神经系统创伤, 缺血后, 损伤脑或脊髓组织 MPO 活性显著升高[4]。但目前尚未见同步动态检测脊髓损伤后浸润 PMNLS 和 MDA 变化以探索白细胞在脊髓损伤中作用机理的报道。本实验同步检测了大鼠脊髓压迫损伤后组织 MPO 活性及 MDA 含量的变化, 探索脊髓损伤后 PMNLS 浸润的变化规律及其可能作用机制。

实验观察到, 伤前组 MPO, MDA 水平较低, 脊髓损伤后 2 h 即见 MPO、MDA 增高, 分别于 4 h、6 h 达高峰。光镜、电镜组织观察进一步证实, 多形核白细胞确于损伤早期即浸润聚于损伤节段脊髓组织。MDA 与 MPO 相关性统计分析结果表明, 脊髓损伤后 PMNLS 浸润与损伤脊髓组织的脂质过氧化反应显著相关。此结果提示, 大鼠脊髓重度压迫损伤后早期, 激活的多形核白细胞大量浸润, 聚集于受损脊髓组织, 可能是导致脊髓损伤的继发性损伤的一个重要原因, 其可能的一个作用机制是加速损伤脊髓组织的脂质过氧化反应。应用甲基强的松龙后, MPO, MDA 水平显著低于损伤后水平, 可能与抑制多形核白细胞浸润, 减轻脂质过氧化的作用有关。

关键词: 脊髓损伤; 多形核白细胞; 甲基强的松龙
中图法分类号: R651.2　　文献标识码: B

参考文献:

[1] Katch S, Ikata T, Tsubo M, *et al*. Possible implication of leukocytes in secondary pathological changes after spinal cord injury [J]. Injury, 1997, 28(3): 215－217.

[2] Elneiboum A M, Falkep, Axelssonl, *et al*. Leukocyte activation detected by increased plasma levels of inflammatory mediators in patients with ischemic cerebrovascular disease[J]. Stroke, 1996, 27(10): 1 734－1 738.

[3] Nakauchi K, Ikata T, Katohs, *et al*. Effects of lecithinized superoxide dismutase on rat spinal card injury[J]. J Neurotrauma, 1996, 13(10): 573－582.

[4] Yanakak, Camarata P T, Spellman S R, *et al*. Laminin peptide ameliorates brain injury by inhibiting leukocyte accumulation in a rat model of transient focal cerebral ischemia[J]. J Cereb Blood Flow Metab, 1997, 17(3): 605－611.

（编辑　王　红）

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