DOI: 10.16016/j.1000-5404.1999.04.019

alveolar type Ⅱ cells were empitied. The pulmonary morphological changes became exacerbated as the time of reperfusion was prolonged. The specimens of the NT group revealed slight to moderate degrees of damages in the injured lung tissues. **Conclusion:** Nitrendipine provides protection for the lungs during ischemio-reperfusion injury by blocking the calcium channel and inhibitting Ca^{2+} influx to decrease cellular damages observed on optical and transmission electron microacopies.

Key words ischemio-reperfusion injury/pulmonary; microscopy; calcium overloading; nitrendipine

低氧性肺动脉高压大鼠 PLA_2、TNF的含量变化及意义

Changes of the PLA_2, TNF in the pulmonary hypertension due to hypoxia in the rats

柏千苹* (第三军医大学附属西南医院中医科) 重庆,400038
李廷谦 (华西医科大学附属医院中医科) 成都,610000

为探讨 PLA_2、TNF与肺血管收缩,肺动脉高压形成的关系,本研究建立了常压低氧大鼠肺动脉高压模型,观察这些物质的含量变化并探讨其意义。

1 材料与方法

1.1 动物及分组

Wistar鼠 18只,雌雄不拘,体重 180~240 g 随机分为正常对照组(6只),慢性缺氧组(12只)。

将缺氧组大鼠放入常压缺氧舱内缺氧,缺氧期间舱内氧浓度控制在 10%,每天缺氧 8 h,连续 21 d 正常对照组大鼠与缺氧组大鼠在温度、湿度相同的同一房间喂养。

1.2 观察指标

缺氧结束后采用右心导管法检测血流动力学指标,包括肺动脉收缩压、肺动脉舒张压、右室收缩压(RVSP)、右室压力最大上升(下降)速率($RV\pm dp/dt_{max}$)。计算肺动脉平均压(mPAP),公式为:肺动脉平均压=舒张压+脉压/3

测压结束后将正常对照组、缺氧组的大鼠心脏取血,并制备肺组织匀浆,行支气管肺泡灌洗(BAL)术。参照文献[1]的方法测定血清、肺组织、BALF中的磷脂酶 A_2 活力,用东亚免疫研究所提供的 TNF放免试剂盒测定血浆和 BALF中 TNF的含量。

1.3 统计学处理

采用 ANOVA统计软件包进行方差分析。

2 结果

正常组大鼠 mPAP、RVSP分别为 2.84 kPa、4.66 kPa,在缺氧组均明显升高,分别为 4.94 kPa、7.66 kPa,说明肺动脉高压模型成功。

缺氧组血中、肺组织及肺泡灌洗液中 PLA_2 的活性和血中、肺泡灌洗液中 TNF的含量均明显高于正常组,结果见表 1。

表 1 血清、BALF中 PLA_2 活性、TNF含量及肺组织中 PLA_2 活性的变化($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

		正常组	对照组
PLA_2	血清(U)	33.00± 5.72	95.07± 7.72**
	肺组织(U)	29.19± 8.23	106.3± 7.49**
	BALF(U)	1.98± 0.24	9.42± 1.60**
TNF	血清(ng/ml)	0.87± 0.11	2.33± 0.28**
	BALF(ng/mg)	0.34± 0.03	0.84± 0.06**

*: $P<0.05$, **: $P<0.01$ 与正常组相比

3 讨论

PLA_2 主要存在于脏器细胞膜上,多种理化因素均能影响其活性,产生一系列生物效应。本结果显示慢性缺氧组血、肺组织,肺泡灌洗液(BALF)中 PLA_2 活性明显高于正常对照组,提示 PLA_2 可以与低氧下肺血管收缩有密切关系。其可能的机制为低氧下 PLA_2 活性升高,从而致膜磷脂的代谢产物 AA产生增多,AA在环氧化酶和脂氧化酶两个系列途径的作用下产生一系列具有很强的血管收缩效应的血管活性物质,如 $PGF_{2\alpha}$、PGE2、TXA_2、TXB_2,这些缩血管物质在肺动脉高压的形成中起重要作用[4]。同时由于缺氧及 PLA_2 的激活,促使血小板激活因素(PAF)的合成与释放,而 PAF与肺动脉高压的形成亦密切相关。

TNF是由肺泡巨噬细胞产生的一种细胞因子,它不仅参与急性肺损伤中的血管损伤(如 ARDS),还可能参与慢性缺氧下的肺血管收缩反应、肺动脉高压的形成。本结果显示慢性缺氧组 TNF血中及 BALF中含量明显高于正常对照组,并且随

(下转 278页)

* 柏千苹,女,30岁,医师,硕士

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

工作。

(对第三军医大学基础医学部分子生物学教研室、预防医学系防原医学教研室、免疫学教研室及附属西南医院放射科的大力支持和刘昕、王燕、胡川闽、粟永萍、陈克敏等同志的热情支持与帮助表示衷心感谢!)

参考文献

1 Jin Yan, Yang Lian-jia. The relationship between bone morphogenetic and neoplastic bone disease. Clin Orthop, 1990, 259(2): 233

2 Winter G, Harris W. Humanization antibodies. Immunology Today, 1993, 14(6): 244

3 Debinski W, Pastan I. Monovalent immunotoxin containing trucated form of pseudomonas exotoxin as potent antitumor agent. Cancer Res, 1992, 52(21): 5379

4 吴永刚,胡锦跃,苏见知,等. ^{99}m标记单抗 Hb3及其片段 F(ab′)2在大肠癌显像中的初步应用.中华核医学杂志, 1996, 16(2): 73

5 孙 远,杨连甲,高玉好,等.小鼠 BMP-McAb可变区基因的体外扩增、克隆与序列测定.细胞与分子生物学杂志, 1997, 13(4): 12

6 Nieroda C A, Milenic D E, Carrasquillo J A, *et al*. Improved tumor radioimmunodetection using a single-chain Fv and γ-interferon: Potential clinical applications for radio immunoguided surgery and γ scanning. Cancer Res, 1995, 55(10): 2858

7 Reiter Y, Brinkmann U, Kreitman R T, *et al*. Stabilization of the Fv fragments in recombinant immunotoxins by disulfide bonds engineered into conserved framework regions. Bio Chem, 1994, 33(18): 5451

8 Huston J S, Leuinson D, Mudgett-Honter M, *et al*. Protein engineering of an antibody binding sites: recovery of specific activity in an anti-digoxin single-chain Fv analogue produced in *Escherichia coli*. Proc Natl Acad Sci USA, 1988, 85(16): 5 879

(收稿: 1998-08-11;修回: 1998-12-31)

(编辑 王 红)

Construction and expression of bone morphogenetic protein (BMP) single-chain Fv

Sun Yuan, Yang Lianjia, Gao Yuhao, Jin Yan (Department of Oral-facial-maxillary Surgery, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400038)

Abstract Objective: To construct and express bone morphogenetic protein (BMP) single-chain Fv (ScFv). Methods: A synthetic linder containing 15 amino acids being used, the C end of the heavy chain gene fragment (V_8) and the N end of the light chain gene fragment (V1) of BMP monoclonal antibody were connected with a subclonal method. Then the recombinant BMP ScFv was cloned into pGEX-4T-1 plasmid and induced to express in JM 109 *E. coli*. Results: BMP ScFv gene consisted of 705 base pairs and the BMP ScFv fusion protein was about 52 kd. Conclusion: Subclonal method is a rapid, simple and reliable way to construct ScFV.

Key words bone morphogenetic protein; linker; single-chain Fv; expression

(上接 275页)

着肺动脉压力下降其含量亦下降,提示 TNF确实与肺动脉高压的形成有关,其可能的机制有:① TNFα有抗内皮细胞源性舒张因子(EDRF)的作用,可能通过调节血管活性物质来调节肺血管的收缩[3]。② TNFα可激活血管平滑肌细胞信号传递系统,激活蛋白激酶,从而引起血管平滑肌收缩[4]。③ TNFα可激活 PLA_2,并且是 PAF合成的激动剂,前列腺素、血栓素及 PAF在肺动脉高压形成中具有重要作用(如前述)[5]。

综上,PLA_2、TNF在合成、释放、激活上相互作用,可能最终通过血管活性物质的调节在肺动脉高压的形成中产生重要作用,但其具体作用机制尚待进一步研究。

关键词 缺氧;肺动脉高压;磷脂酶 A_2; TNF

中图法分类号 R345.61; R544; R730.3

参考文献

1 陈思锋,吴中力,丁自强,等.狗急性胰腺炎时磷脂酶 A_2的变化及其在急性肺损伤中的作用.第二军医大学学报, 1989, 10(1): 105

2 王 烨,薛全福,许澎淮,等.常压缺氧大鼠血浆和肺组织 TXB_2和 6-keto-$PGF_{1\alpha}$的动态变化.基础医学与临床, 1995, 15(1): 40

3 Stevens T, Patrick L, Janssen M, *et al*. Acute and long-term TNFα administration increases pulmonary vascular reactivity in isolated rat lungs. J Appl Physiol, 1992, 73(2): 708

4 Miyata M, Sakuma F, Yoshimura A, *et al*. Pulmonary hypertenson in rats. Int Arch Allergy Immunol, 1995, 108(3): 281

5 Chang S W. TNF potentiates PAF-induced pulmonary vasoconstriction in the rat: role of neutrophils and thromboxane A_2. J Appl Physiol, 1994, 77(6): 2 817

(收稿: 1998-04-13;修回: 1999-02-01)

(编辑 汪勤俭)

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