DOI: 10.16016/j.1000-5404.1997.01.033

一步研究。

综上所述,体外培养的 HUVEC具有多种形态,可能与体外培养的 HUVEC来源于人脐静脉的不同节段、生长环境的变化及处于不同的细胞生长周期和功能状态等有关。

关键词 细胞培养;内皮细胞;脐静脉
中图法分类号 R329.2

参考文献

1 Cai W Q(蔡文琴), Terenghi G, Bodin P *et al*. *In situ* hybridization of neuropeptide Y gene expression in the endothelial cells of human umbilical blood vessels. Chinese Science Bulletin, 1995; 40(12): 1022

2 Pupnick M A. Phenotypic diversity in cultured cerebral microvascular endothelial cells. In Vitro Cell Dev Biol, 1988; 24(3): 435

3 汤 健,唐朝枢.神经降压素.见:汤 健,唐朝枢编著.循环系统的内分泌功能.北京:北京医科大学协和医科大学联合出版社, 1989. 142~143

(收稿: 1996-02-19;修回: 1996-09-05)
(编辑 冷怀明)

正常孕妇外周血中循环内皮细胞的变化*

Changes of CEC in normal pregnant women

李 力 陈竹钦 张稚玲 冯素珍** (第三军医大学附属大坪医院妇产科)重庆, 630042

循环内皮细胞(CEC)作为活体内血管损伤的指示物而受到国内外学者的广泛关注[1~3],但在产科领域对 CEC的研究偶见国外文献报道[4],而国内尚未见文献论述。为此,我们对正常妊娠过程中,早、中、晚孕期及产前、产后妇女外周血 CEC的数量及形态进行了初步的研究,以期引起国内同行的兴趣,并对病理产科开展 CEC研究能有所裨益。

1 对象与方法

1.1 对象

为我院门诊及住院病人,共130例,其中早、中、晚孕期及临产时、产后各20例,剖宫产术前、术后各15例。研究对象均身体健康,无肝、肺、肾脏疾患病史,无心血管系统及外周血管性疾病史。查体及心、肾功能、ECG、血生化检查均无异常发现。

1.2 方法

1.2.1 采血 门诊病人于上午9:00~10:00,住院临产病人于清晨,剖宫产病人在送往手术室前及产后、术后24 h,取左肘静脉血3.0 ml与0.4 ml 3.8%枸橼酸钠液充分混匀后立即送检。

1.2.2 分离 CEC按 Samaden等[5]的 Percoll密度梯度分离法略加修改。

1.2.2.1 将采集的3.0 ml抗凝血以等量生理盐水稀释。

1.2.2.2 从试管底部缓慢加入2.0 ml Percoll分离液(密度=1.050)。

1.2.2.3 1500*r*/min离心20 min后,取 Percoll界面以上的液体作为上层(密度为 <1.050), Percoll层作为中层(密度=1.050)。

1.2.2.4 取上层液经3000*r*/min离心20 min后,倾去上清,加入生理盐水0.5 ml充分混匀使其成为重悬液。

1.2.2.5 分别取中层液及上层重悬液1滴,分别加入细胞计数池内,在光镜下计数全部9个大方格内的 CEC数4次,取平均数为其平均值作为 CEC数,单位为细胞个数/0.9 μl。

1.2.3 CEC鉴定 按 Iwata等[6]的方法略作修改。取上清液少许在玻片上,干燥后用甲醇固定5 min,用 PBS漂洗3次,干后滴加兔抗人Ⅷ-R Ag血清,置于37℃中孵育30 min,再用 PBS漂洗3次,干后滴加异硫氰酸荧光素(FITC)标记的羊抗兔 IgG荧光抗体,方法同上。干后滴加缓冲甘油,置 BH型荧光显微镜上观察。阴性对照分别为单纯加兔抗人Ⅷ-R Ag血清, FITC标记的羊抗兔 IgG荧光抗体和 PBS等三份内皮细胞标本。本实验中因去除了血小板等血细胞的影响,镜下所见的免疫荧光细胞即是 CEC。

2 结果

2.1 CEC数量的变化

以妊娠早期最低,妊娠中期达到最达高,分别为4.82±2.22个/0.9 μl和17.65±9.57个/0.9 μl,前者明显低于其他各时间点($P<0.01$~0.001),后者则显著高于产前及产后各时间点($P<0.001$~0.002);剖宫产术后较术前所增加,虽与术前比较相差不显著($P>0.05$),但却明显高于正常产前($P<0.05$),见表1、2

* 全军"八五"攻关项目
** 创伤急救中心 重庆, 630038

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

表 1 孕期 CEC数量的变化 ($\bar{x}\pm s$)

孕期	例数	细胞数量 (个 /0.9μl)
早期	20	4.82± 2.22
中期	20	17.65± 9.57
晚期	20	14.50± 6.62
产前	20	8.13± 3.04
产后	20	8.22± 3.29
剖宫产术前	15	9.35± 3.39
剖宫产术后	15	10.50± 3.74

表 2 孕期 CEC数统计分析 (*P* 值)

	早期	中期	晚期	产前	产后	术前	术后
早期		< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.002	< 0.001	< 0.001
中期			> 0.05	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001
晚期				< 0.002	< 0.002	< 0.001	< 0.05
产前					> 0.05	> 0.05	< 0.05
产后						> 0.05	> 0.05
术后							> 0.05

2.2 形态学观察

CEC形态多样,大多为极不规则的多边形,似菱石状。绝大多数细胞无核,呈皱缩、扭曲或折叠状。镜下特征大致分为三类:① 核清晰可见,胞浆丰富;② 核隐约可见,胞浆较少;③ 核缺失,细胞明显皱缩。免疫荧光标记的标本中可见强阳性之黄绿色荧光显示的细胞,阴性对照中均未发现有显荧光的细胞,经免疫荧光标记的细胞再经 Giemsa复染后,皱缩的 CEC更清晰,见图1 2



图 1 免疫荧光标记后所显示的内皮细胞 (Giemsa× 200)

图 2 经免疫荧光标记的细胞再经 **Giemsa**复染后,皱缩的 **CEC**更清晰 (Giemsa× 200)

3 讨论

CEC是指在生理或病理情况下,从循环血中获得的内皮细胞。目前认为,生理情况下,血中 CEC反映血管内皮细胞(VEC)的自然更替。但在病理情况或施加致伤因素之后,CEC的数量可增加若干倍[7]。本研究中观察到绝大多数 CEC的核缺失,而外周血 CEC数量变化的特征也与孕期母体心血管系统适应变化程度相吻合,说明这些细胞可能为正常新陈代谢过程中脱落的 VEC,镜下所见的三种不同阶段的形态学特征也支持这一推论。本组病例的剖宫产患者中,有10例因胎位不正,宫缩乏力,产程延长而行剖宫产;另外5例则因胎儿宫内窘迫行剖宫产。从 CEC的数量变化看,术前的计数较正常分娩前有所增加,而术后则增加到10.5± 3.74个 /0.9μl,显著高于正常分娩前 ($P < 0.05$),说明产前的异常产科情况和手术创伤已对 VEC造成了影响,致使外周血 CEC数量增加。

近年的研究表明,VEC是许多疾病发生发展的病理基础,在其病理生理过程中起着十分重要的作用。目前研究 VEC多采用离体实验,方法复杂,实验条件高,与在体变化有差异,不便临床推广。而本研究 CEC的方法简便、直观,能反映体内 CEC的改变。因而,深化这一研究,尤其在病理产科开展 CEC的临床研究,具有一定的临床实用意义。

关键词 循环内皮细胞;妊娠;剖宫产术

中图法分类号 R714.1

参考文献

1 Arndt H, Smith G W, Granger D N. Leukocyte endothelial cell adhesion in spontaneously hypertensive and normotensive rats. Hypertension, 1993; 21(5): 667

2 杨映波,王正国.循环内皮细胞来源的实验研究——由 VEC过渡到 CEC的直接证据.第三军医大学学报, 1992; 14(3): 251

3 白玉茹,林 惠,陈 慧等.高血压和冠心病患者的血循环内皮细胞变化.临床心血管病杂志 1995; 11(1): 35

4 Glawanakowa W, Popowa G. Studies on the desquamation of vascular endothelium in EPH-gestosis. Cor Vasa, 1988; 30(2): 140

5 Samaden A, Piovella F, Almasio P *et al*. Isolation and growth of human endothelial cells from peripheral blood by PVP-silica density gradients. Boll Soc Ital Biol Sper, 1985; 61(7): 957

6 Iwata Y, Kuzuya F, Hayakawa M *et al*. Circulating endothelial cells fail to induce cerebral infarction in rabbits. Stroke, 1986; 17(3): 506

7 孙秉庸,李楚杰,赵修竹等主编.病理生理学进展.重庆: 科学技术文献出版社, 1993: 99~110

(收稿: 1996-03-07;修回: 1996-09-02)

(编辑 张大春)

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