DOI: 10.16016/j.1000-5404.1996.04.004

but it remained unchanged when PAECs were incubated likewise for 6 to 48 h. The mRNA expression of the B chain of PDGF was significantly increased from 1.5 to 48 h after the incubation ($P < 0.05$). PAECs could express α and β subunit receptors of PDGF in low level under normoxia but hypoxia and anoxia significantly upregulated mRNA expression of the two receptors ($P < 0.05$). Our findings suggest that hypoxia play an important role not only in modulating the proliferation of pulmonary arterial smooth muscle cells through stimulating the paracrine of PDGF by PAECs but also in regulating the functions of PAECs through stimulating the autocrine of PDGF by PAECs and upregulating gene expression of PDGF receptors on the membrane of PAECs. This may contribute to the increase of contractility and structural changes of pulmonary arteries in HPAH.

Key words hypoxia; pulmonary arterial endothelial cell (PAEC); platelet-derived growth factor (PDGF); α subunit receptor; β subunit receptor

博士生论文摘要

猪源杀菌性/通透性增加蛋白(BPI)的提取、纯化及其体内外生物活性的研究

Extraction and purification of bactericidal/permeability increasing protein (BPI) from pig polymorphonuclear leukocytes (PMN), and study of its bio-activities *in vivo* and *in vitro*

周 红 肖光夏 (第三军医大学附属西南医院烧伤研究所)重庆, 630038

革兰氏阴性杆菌感染能导致机体严重的病理改变,包括发热、低血压、休克、DIC、ARDS、MOF甚至死亡。作为革兰氏阴性菌外膜主要成分的内毒素(LPS),近来被认为是导致革兰氏阴性菌脓毒血症中最主要的介质,内毒素可触发一系列机体效应分子的释放(包括 TNF、IL-6、IL-1等),这些效应分子可介导内毒素血症的致死效应。虽然有效的抗生素可杀灭大部分细菌,但抗生素在杀灭细菌的同时也促使内毒素的释放,使得革兰氏阴性菌脓毒血症的治疗更为棘手。因此寻找一种既能杀菌又能中和内毒素的制剂显得越来越重要。

杀菌性/通透性增加蛋白(BPI)就是一种既能杀菌又能中和内毒素的蛋白质,它存在于哺乳动物 PMN 的嗜天青颗粒中。本研究试图建立从猪 PMN 中提取、纯化 BPI 的方法,这在国外文献中尚未见报道。

实验结果表明采用大肠杆菌 J5亲和纯化法或凝胶层析法均可得到纯度较高的蛋白质,该蛋白质具有:(1)增加革兰氏阴性菌外膜通透性和杀灭革兰氏阴性菌的作用;(2)能与革兰氏阴性菌的 LPS结合;(3)特异地与抗人 BPI多克隆及单克隆抗体相结合;(4)其分子量为 55× 10^3 u,与人及兔 BPI的相似;(5)其氨基酸含量与人及兔 BPI的相似。以上结果表明该蛋白即为 BPI,猪 PMN 中确实存在 BPI。虽然两种纯化方法均可得到纯度较高的蛋白质,相比较 J5亲和纯化法较简单,但纯化倍数较低(103);凝胶层析法步骤繁锁,工作量大,但纯化倍数高(170)。

对 BPI进行的体外实验结果表明:(1)猪源 BPI对许多革兰氏阴性杆菌(包括大肠杆菌、绿脓杆菌,肺炎杆菌、沙雷氏菌等),具有增加其外膜通透性和杀灭革兰氏阴性菌的作用,对革兰氏阳性菌无作用;(2)透射电镜下可见早期(15 min内)J5菌的变化主要局限在细菌外膜,细菌无明显改变,细菌内膜保存完好,高浓度 Mg^{2+} 的加入可使外膜基本恢复正常;稍后(30 min)细菌外膜完全破裂,胞质浊化,胞质外流,呈现不可逆的变化;(3)猪源 BPI能与革兰氏阴性菌的 LPS结合,并能抑制 LPS诱导的 TNFα 升高,抑制作用随浓度的增加而增加;(4)LPS、FMLP刺激后,人 PMN 膜表面 BPI的表达明显增加,但 BPI并未释放出来,因此在革兰氏阴性菌感染情况下补充外源 BPI是必需的。

对 BPI进行的体内生物活性研究在大白鼠内毒素血症、脓毒血症、烧伤脓毒血症模型上进行。结果表明:① BPI可明显提高大白鼠 5 h存活率;② BPI能够明显降低全血中细菌数量;③ BPI能够明显降低血浆内毒素水平;④ BPI能够明显降低 TNFα 峰值浓度;⑤ BPI能够明显改善 LPS诱导的葡萄糖代谢改变,表现为逆转 LPS引起的葡萄糖早期升高和此后的持续降低。说明 BPI对内毒素血症及脓毒血症大鼠具有明显的保护作用,说明猪源 BPI的体内、体外生物活性是一致的。

通过对猪源 BPI的体内、体外生物活性的研究得出以下结论:BPI是一种既可杀灭革兰氏阴性菌又可中和内毒素的蛋白质,具有广阔的应用前景,如果应用于临床,无疑将给治疗革兰氏阴性菌脓毒血症带来新的希望。

关键词 BPI;革兰氏阴性杆菌;内毒素
中图法分类号 Q51
(收稿: 1996-07-16;修回: 1996-07-22)
(编辑 王 红、沈锡庚)

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