DOI: 10.16016/j.1000-5404.1997.03.024

梗阻性黄疸大鼠枯否细胞 FcγR 受体表达及胆酸治疗的影响

汤卫兵* 何振平 段恒春 彭志明 陈 娟 (第三军医大学附属西南医院肝胆外科中心) 重庆,630038

提 要 目的: 探讨枯否细胞在梗阻性黄疸中吞噬功能的机理。方法: 通过大鼠梗阻性黄疸(梗黄)模型,观察肝脏枯否细胞(Kupffer cell, KC)表面 FcγR 受体(Fc receptor for IgG, FcγR)表达及胆酸治疗的影响。结果: 梗黄时 KC FcγR表达减少($P<0.01$)。KC吞噬功能下降,血内毒素浓度升高,且随着梗阻时间延长,三者分别呈进行性减少、下降及升高。胆酸治疗后 KC FcγR表达显著增加($P<0.01$),KC吞噬功能呈同步变化,二者与内毒素浓度呈显著负相关。结论: 梗黄时 KC吞噬功能下降与 KC表面 FcγR表达减少有关。胆酸治疗能有效降低血内毒素水平,增加 KC FcγR表达及 KC吞噬功能。

关键词 黄疸;枯否细胞; Fc受体;胆酸
中图法分类号 R442.4

以往的研究表现梗阻性黄疸(梗黄)时肝脏枯否细胞(Kupffer cell, KC)吞噬功能受抑[1],但其机理尚不清楚。近来,巨噬细胞 Fc受体中,FcγR 受体(Fc receptor for IgG, FcγR)分布最广,且具有许多重要的生物学功能。本实验利用 KC培养及流式细胞技术,观察梗黄时 KC表面 FcγR表达、KC吞噬功能及二者与血内毒素水平的关系,并观察胆酸治疗的影响,旨在阐明梗黄时 KC吞噬功能受抑的机理,并为胆酸的临床应用提供理论及实验依据。

1 材料与方法

1.1 动物分组与模型制作

健康 Wistar大鼠,体重(180±20) g 随机分成:① 胆管结扎组(BDL)28只,结扎并切断胆总管制成梗黄模型。手术后 3 d及 14 d活杀取材。② 假手术组(SO)28只,仅游离胆总管即关腹。③ 胆酸治疗组(CA)20只结扎、切断胆总管同 BDL组,术后 14 d取材。取材前 3 d将胆酸(Cholic acid)按 1000 mg/kg 体重的剂量经胃管注入。④ 生理盐水对照组(NS)20只,作 CA的对照。以等量无菌生理盐水(无胆酸)经胃管注入。

1.2 KC分离、培养

KC分离参照 Hartung法[2]。以含 Ca^{2+} 的 0.05% 胶原酶(Ⅰ型)向肝内灌注后取出肝脏并剪碎,制成细胞悬液。梯度离心后得沉淀为"非实质细胞"(含 KG内皮细胞等)。以 RPMI1640培养基调整细胞浓度为 2×10^6/ml, 37℃孵育 1 h后吸去非贴壁细胞得贴壁 KC,非特异性酯酶染色及碳粒吞噬鉴定纯度为 95% 以上。台盼蓝染色判定成活率在 90% 以上。继续以 RPMI1640培养基培养 12 h后检测。

1.3 KC的免疫荧光染色及流式细胞仪分析

参照左连富[3]法进行。将 KC移入刻度离心管。加入冷 PBA(PBS+ 2% 牛血清白蛋白+ 0.1% 叠氮钠)调整细胞浓度为 10^6/ml 离心弃上清后加入热聚鼠 IgG 50μl(2.2 mg/ml),置 4℃, 30 min 洗涤 2次后加入 50μl FITC-羊抗鼠 IgG,置 4℃, 30 min,避光。最后将 KC悬浮于 PBS中,过 300目滤网后移入流式细胞仪测试管。总体积 1 ml(含 KC数为 $\times10^6$)。

1.4 ^{125}I标记大肠杆菌的血清除率测定

参照 Ding等[4]的方法进行。

1.5 血浆内毒素测定

采用偶氮显色法。

1.6 统计学处理

数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示。采用我校统计学教研室统计程序作方差分析和直线相关检验。

2 结果

2.1 KC FcγR表达的流式细胞仪分析

以 KC FcγR阳性百分率表示。胆管结扎组(BDL)随便阻时间延长 FcγR表达呈进行性减少,与假手术组(SO)比较相差非常显著($P<0.01$)。胆酸治疗组(CA)与生理盐水对照组(NS)比较 FcγR表达显著增加($P<0.01$),见表 1。

2.2 ^{125}I标记的大肠杆菌的血清除率

以吞噬指数(α)表示。由表 1可见吞噬指数与 KC FcγR表达呈同步变化。

2.3 血浆内毒素测定见表 2

2.4 直线相关检验

FcγR阳性百分率与吞噬指数呈显著正相关($r=0.9875$, $P<0.01$)。血内毒素浓度与 FcγR阳性百分率及吞噬指数均呈显著负相关($r=-0.9856$, $P<0.01$; $r=-0.9751$, $P<0.01$)。

* 汤卫兵,男,34岁,主治医师,博士;现在解放军 208医院 长春,130062

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

表 1　各组术后不同时间的 KC FcγR阳性百分率(%)及吞噬指数($\bar{x}\pm s$)

Tab 1　Percentage of FcγR positive KC(%) and phagocytic index at various postoperative times(d)($\bar{x}\pm s$)

Group	FcγR Positive KC(%)(t/h)		Phagocytic index(t/d)	
	3	14	3	14
SO	29.73± 0.52	29.36± 0.50	12.36± 0.18	12.34± 0.21
BDL	16.77± 0.45**	8.68± 0.50※※	10.32± 0.20**	5.30± 0.22※※
NS	–	8.58± 0.70	–	5.38± 0.23
CA	–	27.60± 0.50△△	–	11.33± 0.12△△

**: $P<0.01$ *vs* SO 3 d;※※: $P<0.01$ *vs* BDL 3 d;△△: $P<0.01$ *vs* NS

表 2　血内毒素浓度(EU/ml)($\bar{x}\pm s$)

Tab 2　Concentrations of plasma endotoxin (EU/ml)($\bar{x}\pm s$)

Postoperative time(d)	SO	BDL	NS	CA
3	0.59± 0.02	6.16± 0.12**	–	–
14	0.58± 0.05	12.26± 0.29※※	12.2± 0.16	0.66± 0.10△△

**: $P<0.01$ *vs* SO 3 d;※※: $P<0.01$ *vs* BDL 3 d;△△: $P<0.01$ *vs* NS

3　讨论

梗阻性黄疸时肝脏 KC吞噬功能受抑[1]。但迄今其机理尚未阐明。血调理素水平及活性、肝窦血流、胆红素等曾一度被认为是影响梗黄时 KC吞噬功能的因素[4],但均未得到肯定。近来,巨噬细胞 Fc受体在机体免疫中的作用受到普遍关注。KC表面的 FcR与抗体 Fc段进行特异结合,从而发挥其强大的吞噬及免疫调节作用。本实验结果显示梗黄时 KC FcγR表达减少,且随着梗阻时间延长呈进行性减少,这与 KC吞噬功能的动态变化相平行。直线相关检验示两者呈显著正相关。提示梗黄时 KC吞噬功能受抑可能与 KC表面 FcγR表达减少有关。

胆道梗阻,肠道内胆盐缺乏,大量肠源性内毒素吸收入门静脉是梗黄时内毒素血症发生的主要原因[1]。有研究表明口服脱氧胆酸盐及胆酸能有效地控制梗黄时内毒素血症的发生[5]。胆酸对梗黄时内毒素血症的防治作用在本实验中再次得到证实。我们的实验结果还提示胆酸可能是通过降低血内毒素浓度,从而间接地影响了 KC FcγR表达及 KC吞噬功能。胆道梗阻、胆道高压及高胆红素血症等在胆酸治疗前后并未改变,故口服胆酸并不能代替外科解除黄疸,但应是梗黄有效的术前准备及辅助治疗。

参考文献

1 Ding J W. Obstructive jaundice impairs reticuloendothelial function and promotes bacterial translocation in the rat. J Surg Res, 1994; 57(2): 238

2 Mustafa S B, Gandhi C R. Endothelin stimulates platelet-activating factor synthesis by cultured rat Kupffer cells. Hepatology, 1995; 21(2): 545

3 左连富.流式细胞术样品制备技术.北京:北京华夏出版社,1991:49~67

4 Ding J W. Effect of biliary decompression on reticulo endothelial function in jaundiced rats. Br J Surg, 1992; 79(3): 684

5 Ding J W, Auderson R, Soltesz V. The role of bile and bile acid in bacterial translocation in obstructive jaundice in rats, Eur Surg Res, 1993; 25(1): 11

(收稿: 1996-01-11;修回: 1997-01-12)

(编辑　汪勤俭)

Expression of FcγR receptor of Kupffer cells and role of bile acid in rats with obstructive jaundice

Tang Weibing, He Zhenping, Duan Hengchun, Peng Ziming, Chen Juan (Department of Hepatobiliary Surgery, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 630038)

Abstract Objective: To explore the mechanism of the inhibition of the phagocytic function of Kupffer cells (KCs) during obstructive jaundice(OJ). Methods: After the model of OJ was established in rats, the expression of FcγR receptor (FcγR) of cultured KCs and the effects of bile acid on it were observed with cytometry. Meanwhile, the phagocytic function of KCs and the concentration of endotoxin in the plasma were

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

also determined. **Results:** During OJ, the expression of FcγR and phagocytic function were significantly increased and they were significantly correlated with the concentration of endotoxin in the plasma. **Conclusion:** During OJ, the decrease of phagocytic function of KCs might be due to the decrease of the expression of FcγR and the treatment with bile acid can effectively decrease the concentration of endotoxin in plasma and hence the expression of FcγR and phagocytic function of KCs are enhanced.

Key words: obstructive jaundice; Kupffer cell; Fc receptor, bile acid

(上接247页)

痛、不稳定性绞痛、急性心梗、无症状心肌缺血[4,5]。

1.2 记录方法

使用 Takala TM2421(A and D co)动态血压仪,其测试数据已做精确性和有效性检验[1]。ABP测量袖带固定于右上肢,固定测:6:00~12:00AM每10 min测1次,12:00~14:30每30 min测1次,14:30~22:00每15 min测次,22:00~6:00每1 h测次,均是自动测试,总的测试时间不得少于22 h,总的数据不得少于48组(连续2次不能读数为摒弃病例);同时记录双通道Holter心电图(美国 MAC-15仪)。

1.3 统计学处理

采用 Spmr(第四军医大学)医用统计程序,分别计算平均血压(MBP)、收缩血压(SBP)、舒张血压(DBP)均值,SBP、DBP最高和最低值的均值。用方差分析检验方法进行处理。

2 结果

2.1 无心脏事件老年患者的 ABP波动规律仍存在日间上升,夜间下降趋势,有心脏事件患者则这一规律不明显,在未发作期间 Trough-to-peak-Ratio幅度显著减少,与无心脏事件组相比 $P<0.01$,见表1。

表1 动态血压变化($\bar{x}\pm s$)

BP	收缩压		舒张压	
	有心脏事件组($n=27$)	无心脏事件组($n=32$)	有心脏事件组($n=27$)	无心脏事件组($n=32$)
24 h平均压	181±24*	139±11	95±1*	83±8
白天平均压	189±27*	140±12	110±13*	86±9
白天最高	224±37*	165±20	140±24*	91±6
白天最低	156±18*	114±15	89±7*	76±5
夜间平均压	167±22*	136±10	92±11*	90±2
夜间最高	179±19*	152±16	98±13*	108±12
夜间最低	137±15*	102±11	87±6*	71±4

*:$P<0.01$与无心脏事件组比较

2.2 ABP的 DBP在有心脏事件的老年患者发作期呈上升趋势($P<0.05$),心绞痛缓解后4 h~5 h DBP渐降至置。见表2。

表2 平均血压与 ST改变值($\bar{x}\pm s$)

血压	心脏事件组	无心脏事件组
SBP mmHg	180.5±13.3*	158.2±16.9
DBP mmHg	95.1±18.7*	83±14
ST-mm	3.7±0.5*	0.4±0.02

*:$P<0.01$与无心脏事件组比较

2.3 无症状心肌缺血多发生于夜间血压(尤其是 DBP)持续增高的患者(以男性多见,6/19女/男)。心源性猝死仅发生2例,ECG示持续的ST段水平降低,猝死时为心脏静止1例,室颤1例。

3 讨论

观测了解 ABP在老年高血压患者发生心脏事件时的变化规律,并采取相应措施,有助于更好地控制高血压和减少在上午或凌晨发生的心源性猝死或心梗。观察结果提示:老年高血压患者 ABP波动规律可能与循环中较高浓度的儿茶酚胺类[3]缩血管物质有关,但是在发生心脏事件后,DBP上升的机理尚不明确,可以肯定的是无症状心肌缺血多发生在夜间,尤其是DBP较高的老年男性患者。我们认为夜间更有效地使用血管扩张剂应引起足够的重视。我们的观测研究还在进行中,有待更多资料积累。

关键词 心脏事件;老年;动态血压
中图法分类号 R592

参考文献

1 Johnson A G, Nuygen T V, Day R O. Evaluation of the accuracy and repraducibility of ambulatory blood pressure monitoring in the very elolerly using the Takeda TM-2420. J Hum Hgperens, 1994; 8(6): 433
2 张 麟,李运乾,张 红等.动态血压和偶测血压100例次测定值对比研究.中国循环杂志,1994; 6(4): 362
3 Wolfel E E, Sellandm. A, Mazzeo R S *et al*. Systemic hypertercsion at 4300m is related to sympathoad nenal activity. J App physiol, 1994; 76(4): 1643
4 Rago L, Lerena I, Mapin Huerta E. Silent myocardial infarction arguments against treatment. Revesp Cardio, 1996; 49(1): 6
5 Lezaun R, Maravi C, Cervas H *et al*. Silent myocanlial infarction argumentsin favor of treatment. Rev Esp Cardio, 1996; 49(1): 1

(收稿:1996-10-11;修回:1997-02-20)
(编辑 张大春)

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