DOI:10.16016/j.1000-5404.1994.03.003

创伤小鼠白细胞介素-6的变化*

梁华平 张艳 耿波 (第三军医大学野战外科研究所) 630042

提 要 采用小鼠烧伤、截肢伤、闭合伤模型,观察创伤后血清中白细胞介素-6(Interleukin-6,IL-6)的变化,并测定其巨噬细胞,淋巴细胞IL-6的生成情况。结果显示:3种创伤情况下,血清中IL-6水平均升高,以烧伤小鼠最明显。创伤后巨噬细胞及不同来源淋巴细胞(脾细胞、胸腺细胞、肠系膜淋巴结细胞)自发产生IL-6及在LPS或ConA刺激下产生IL-6的能力均明显增强。

关键词 创伤;白细胞介素-6;巨噬细胞;淋巴细胞
中图法分类号 R392.12

白细胞介素-6(Interleukin-6,IL-6)是体内重要的细胞因子,具有广泛的生物学活性。它不仅可调控B细胞,T细胞及造血细胞的功能,参与机体的免疫调节及造血过程,还具有强烈的致炎活性,与肿瘤坏死因子、白细胞介素-1等协同作用,构成炎症介质网络,调节肝细胞急性期反应蛋白的合成。国外学者对创伤后IL-6的变化及其意义作了较多的研究,认为IL-6参与了创伤反应过程,并同创伤感染的发生密切相关[1,2]。因此,IL-6可作为反映创伤程度及预测感染的有用指标。但创伤后IL-6升高的发生机理尚不清楚。本研究利用小鼠不同创伤模型,动态检测创伤后血清中IL-6的变化,并同步观察巨噬细胞及淋巴细胞IL-6的生成情况,旨在探讨创伤后血清中IL-6的活性同巨噬细胞及淋巴细胞IL-6生成能力之间的关系。

1 材料和方法

1.1 动物分组

Balb/c小鼠,雌雄各半,体重18~22 g。128只小鼠随机分为以下4组:正常对照组、烧伤组、截肢伤组、闭合伤组,创伤各组再随机分为5个亚组分别分配于伤后1、2、4、7、10 d,每个亚组及正常对照组各8只动物,分别于相应时间活杀,制备血清及腹腔巨噬细胞、脾细胞、胸腺细胞,肠系膜淋巴结细胞悬液待测。

1.2 创伤模型

参照文献制备小鼠10%体表面积Ⅲ°烧伤模型[3]、双后肢截肢伤模型[4]肢闭合性损伤模型[5]。

1.3 检测指标和方法

1.3.1 IL-6的诱生:参照文献[6]进行。小鼠血清经56℃、30 min灭活后用于检测IL-6活性;小鼠腹腔巨噬细胞调成2×10^6/ml,加入终浓度为20 μg/ml的LPS(或不加LPS)培养48 h收集细胞上清;小鼠脾细胞、胸腺细胞、肠系膜淋巴结细胞调成5×10^6/ml,加入终浓度为3 μg/ml的ConA(或不加ConA)培养24 h收集细胞上清。

1.3.2 IL-6的测定:以生物活性测定法[6]检测。即将IL-6依赖的$7TD_1$细胞株与不同稀释度IL-6样品及标准品进行培养,以同位素^{3}H-TdR掺入法测定IL-6活性,结果以U/ml表示。

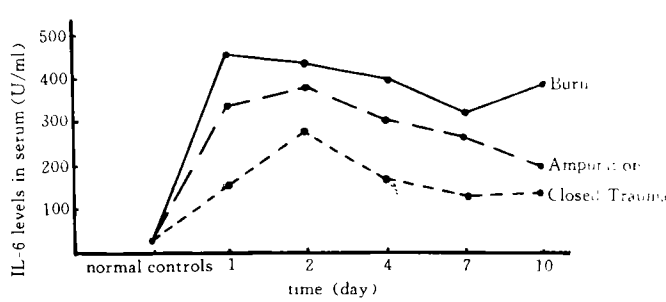
1.4 数据处理

以平均值±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,各组用t检验进行统计学分析。

2 结果

2.1 不同创伤小鼠血清中IL-6的动态变化

和正常对照组相比,不同创伤模型小鼠血清中IL-6水平于伤后各天均增高,以烧伤小鼠最为明显。烧伤组、截肢伤组、闭合伤组血清中IL-6水平达到峰值的时间分别为伤后1 d、伤后2 d。各创伤组血清中IL-6水平于伤后10 d仍未完全恢复正常(见附图)。



附图 不同创伤小鼠血清中IL-6的动态变化

Fig Changes of IL-6 levels in serum of traumatized mice

* 国家自然科学基金资助项目,No.39170744

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

2.2 不同创伤小鼠巨噬细胞、脾细胞、胸腺细胞、肠系膜淋巴结细胞产生 IL-6 的变化

根据不同创伤小鼠血清中 IL-6 的动态变化规律，选用烧伤后 1 d、截肢伤后 2 d、闭合伤后 2 d 的各组小鼠作进一步实验。结果表明，不同创伤小鼠巨噬细胞自发产生或经 LPS 刺激产生的 IL-6 均明显高于正常，脾细胞、胸腺细胞、肠系膜淋巴细胞产生 IL-6 的情况与此类似（见附表）。

附表 不同创伤小鼠巨噬细胞、脾细胞、胸腺细胞、肠系膜淋巴结细胞产生 IL-6 的变化

Tab Changes of macrophage and lymphocyte from spleen, thymus, mesenteric lymph node in IL-6 production after various types of trauma

Experimental groups	Macrophage		Spleen		Thymus		Mesnteric lymph node	
	Spontaneously	Lps stimulated	Spontaneously	ConA stimulated	Spontaneously	ConA stimulated	Spontaneously	ConA stimulated
Normal controls	120±11	1470±146	80±16	890± 51	66± 8	820± 63	98±12	965± 40
Burn	630±27△	7841±433△	705±62△	5231±209△	650±17△	4170±213△	360±25△	4728±167△
Amputation	621±19△	6320±397△	714±49△	4120±128△	580±25△	4271±134△	380±37△	4430±301△
Closed trauma	452±33△	5231±312△	440±31△	3047±186△	514±32△	3120±235△	217±19※	3927±305△

Compared with normal controls, ※ $P<0.05$; △ $P<0.01$

3 讨论

本研究利用 3 种不同的创伤模型，观察到创伤小鼠血清中 IL-6 水平明显高于正常。这同烧伤病人的情形相一致[1]，进一步证实了 IL-6 参与了创伤反应过程。三种创伤情况下，IL-6 动态变化规律的差异，可能同创伤类型及伤情的轻重有关。我们在另一实验中曾观察到创伤血清中 IL-6 水平的高低同伤情变化关系密切（另文报道）。

创伤后血清中 IL-6 升高的发生机理尚不清楚。多数学者认为[1,2]，创伤时特别是创伤感染时血清中升高的内毒素水平是导致血清中 IL-6 升高的主要原因。因为内毒素是巨噬细胞的强力刺激剂，可活化静止状态的巨噬细胞，进而启动巨噬细胞 IL-6 的生成。本研究观察到创伤后巨噬细胞自发产生 IL-6 的能力增强，这说明巨噬细胞在体内已被激活，从而可合成分泌IL-6。本研究还发现，创伤体内不同来源的淋巴细胞（脾细胞、胸腺细胞、肠系膜淋巴结细胞）在体外也具有极强的自发产生 IL-6 的能力，这说明创伤也可导致淋巴细胞的激活[5]。创伤后体内活化的巨噬细胞、淋巴细胞在受到进一步刺激时（如 LPS、ConA），生成 IL-6 的能力也明显增强，这提示创伤后体内刺激因素的持续存在，可能是导致创伤后 IL-6 升高且持续不降的重要原因。

本研究结果提示，巨噬细胞和淋巴细胞可能均是创伤血清中 IL-6 的重要来源。但体内其它 IL-6 生成细胞如成纤维细胞、内皮细胞等是否也参予了这一过程等问题值得深入研究。

参考文献

1 Guo Y, Dickerson C, Chrest FJ, et al. Increased levels of circulating interleukin 6 in burn patients. Clin Immunol Immunopathol, 1990, 54: 361

2 Schluter B, Konig B, Bergmann U, et al. Interleukin 6-A potential mediator of lethal sepsis after major thermal trauma. J Trauma, 1991, 31(12): 1663

3 梁华平，赵勤生，张玉纯，等. 烧伤后小鼠分裂原刺激的母细胞转化、白细胞介素-2 的实验研究. 中华整形烧伤外科杂志，1992, 8(2): 125

4 杨贵贞，麻彤辉. 人参皂甙抗小鼠手术应激的细胞免疫调节效应. 中西医结合杂志，1988, 8(8): 479

5 梁华平，傅培容，耿 波，等. 创伤对小鼠淋巴细胞激活作用的研究. 中华创伤杂志，1993, 9(1): 33

6 杨贵贞，主编. 免疫生物工程纲要与技术. 长春：吉林科学技术出版社，1991: 129

（收稿：1993-09-01；修回：1993-11-13）

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

Study on the changes of interleukin-6 after trauma in mice※

Liang Huaping, Zhang Yan, Gen Bo (Research Institute of Field Surgery, Third Military Medical College, Chongqing, 630042)

Abstract The changes of interleukin-6 (IL-6) in serum after burns, amputation and a closed injury were observed in mice and the production of IL-6 in the macrophages and lymphocytes were also studied. It was found that the serum level of IL-6 was significantly increased after 3 kinds of trauma especially after burn injury. Macrophages and lymphocytes from the spleen, thymus and mesenteric lymph nodes showed a spontaneous enhancement on the capacity to produce IL-6 after trauma or a stimulated enhancement with Lps or ConA.

Key words trauma; interleukin-6; macrophage; lymphocyte

※ The Project Supported by the National Natural Science Foundation of China

一例由铜绿假单胞菌和弗劳地枸橼酸杆菌引起的肝脓肿

舒亦平 田洪明 解小珍 (第三军医大学新桥医院检验科) 630037
潘绍武 (第三军医大学检验系临床微生物学教研室) 630038

1 病例简介

患者吴××,男,63岁。诊断为胆囊癌,术后持续高热,多次胆汁、血液培养、均检出铜绿假单胞菌。B超提示肝右叶下缘脓肿,脓肿穿刺液培养出铜绿假单胞和弗劳地枸橼酸杆菌。

2 细菌的分离鉴定

将脓肿穿刺液接种于血平板上,经37℃培养24 h后,长出两种菌落,一是灰绿色、扁平、边缘不整,2～3 mm大小、菌周围呈透明溶血;二是灰白色、圆形、稍凸起,边缘整齐,2 mm大小,菌落周围无溶血。革兰氏染色均为阴性杆菌[1]。生化反应鉴定结果如下:前者氧化酶、动力、精氨酸、木糖、葡萄糖、硝酸盐还原、乙酰胺、DNA和枸橼酸盐均阳性,乳糖、麦芽糖、甘露醇、赖氨酸和H_2S等为阴性;定为铜绿假单胞菌。后者葡萄糖、乳糖、麦芽糖、阿拉伯糖、棉子糖、鼠李糖、木糖、甘露醇、山梨醇、卫茅醇、枸橼酸盐、精氨酸、鸟氨酸、动力和H_2S均阳性,氧化酶、苯丙氨酸、丙二酸盐、尿素、水杨素、侧金盏花醇、精基质等阴性;定为弗劳地枸橼酸杆菌。

3 药敏试验

采用Kirby－Bauor法[2],结果如下:铜绿假单胞菌对妥布霉素、庆大霉素、多粘菌素、丁胺卡那霉素敏感,对羧苄青霉素和卡那霉素中敏,对氨苄青霉素、氯霉素、红霉素、先锋霉素Ⅴ.先锋噻肟和杆菌肽等耐药,弗劳地枸橼酸菌仅对妥布霉素,庆大霉素和丁胺卡那霉敏感,对上述其他药物均耐药。

4 讨论

该病例不仅肿瘤患部遭铜绿假单胞菌感染,且铜绿假单胞菌与枸橼杆菌混合感染引起肝脓肿,在既往文献中罕见。

依据侧金盏花醇、丙二酸盐和H_2S三项生化反应特点,本例患者分得的枸橼酸杆菌株属于弗劳地枸橼酸杆菌。

关键词 肝脓肿;铜绿假单胞菌*;弗劳地枸橼酸杆菌
中图法分类号 R575.4

参考文献

1 叶应妮,王毓三.全国临床检验操作规程.南京:东南大学出版社,1991:424～436
2 李影林,苏 焯,张疑悟.临床微生物学及检验.长春:吉林科学技术出版社,1991:586

(收稿:1993-11-15;修回:1994-03-16)

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