DOI:10.16016/j.1000-5404.1995.01.043

提示PNCA是反映HCC侵袭能力的一项重要指标,对评估HCC的转移和预后有着辅助价值。

(2)应用地高辛标记探针原位杂交检测了80例HCC中HBV DNA的分布。结果显示癌周肝组织HBV阳性63例(79%),癌组织HBV阳性49例(60%)。癌周HBV DNA以复制型为主,而癌组织HBV大多属整合型。结果表明HBV感染与HCC密切相关,而且整合型HBV DNA在HCC发生过程中有着重要作用。

(3)应用敏感的ARF免疫组化方法,在80例HCCs中发现35例(43.8%)有P^{53}蛋白的过度表达(在38例HCCs中有16例,42.1%),应用PCR-RFLP方法发现38例HCCs中有7例249位密码子突变(18.4%)。通过银染PCR-SSCP分析发现31例无249位密码子突变的HCCs中有2例存在第七外显子突变。结果显示本组HCCs中P^{53}基因突变率为43.8%,249位密码子特异性突变占41.2%,第七外显子突变占52.9%。表明P^{53}基因突变是HCC发生发展过程中的重要基因改变。此外,P^{53}突变在HBV相关的HCC中多见,但与无HBV感染的HCC之间无显著性差异。综合国外及国内有关报道我们认为,P^{53}基因突变有249位密码子特异性和散发型两种类型,其中特异型突变主要与AFB_1的作用有关,而HBV感染可能在散发型突变中起重要作用。

(4)P^{53}突变与HCC组织学分级、PCNA标记指数及肿瘤浸润转移密切相关,表明在HCC的演进过程中,随着肝癌的进展,P^{53}基因的突变亦逐渐累积,P^{53}基因突变是HCC高度恶性潜能和肿瘤转移的生物学标志。此外,P^{53}基因特异型突变主要见于晚期HCC,与HCC进展有关;而P^{53}蛋白异常表达与肿瘤大小无关,则提示P^{53}基因突变,主要是散发型突变可能并非一定是HCC发生发展过程的晚期事件。

(5)应用Southern印迹杂交-RFLP分析,发现12例HCC中有2例P^{53}基因位点PYNZ22杂合性缺失(LOH)(16.7%)。这2例均属低分化晚期肝癌,HBV DNA阳性,但应用免疫组化、PCR和PCR-SSCP皆未发现P^{53}基因突变。结果表明P^{53}等位基因缺失可能与肝癌进展有关,作为P^{53}基因结构改变的重要内容之一,有时可以独立于基因突变单独发挥作用。

(6)本文建立了一种新的免疫组化方法——ARF免疫组化染色。该方法适用于石蜡切片P^{53}蛋白检测,能明显提高染色强度和检测敏感性。在本组HCC的研究中,其与P^{53}基因突变符合率为88.9%(8/9),进一步表明ARF免疫组化检测P^{53}蛋白表达,能比较客观地反映P^{53}基因的突变。此外,本文还建立了银染PCR-SSCP方法,该方法快速简单、灵敏可靠,尤其适用于大样本基因突变的检测。

关键词 肝肿瘤;P^{53};增殖细胞核抗原;肝炎病毒;原位杂交;免疫组化;多聚酶链反应

中图法分类号 R735.7

内毒素血症时肺脏中性粒细胞滞留机制的研究

The mechanisms of PMN being sequestrated by the lung under endotoxemia

周向东 陈意生 史景泉 (第三军医大学基础部病理学教研室)630038

人们早就注意到内毒素性损伤脏器特别是肺脏内总是有大量中性粒细胞(PMN)的扣压。它在内毒素所引起组织损伤过程中具重要作用。但至今对这种现象的发生机制仍缺乏全面深入的研究和解释。本课题通过内毒素血症动物模型,从病理形态、细胞特性、分子基础三个层次,利用了一些目前最先进的技术手段(如细胞微管吸吮技术、非放射标记cRNA探针原位杂交技术等)和分子生物学的最新进展,选择了最重要且与扣压过程关系密切的指标,对内毒素血症条件下上述三个层次多项指标的改变规律作了详实的研究,旨在能较好地解释这一现象发生的机制。

实验结果表明:(1)内毒素血症时肺脏组织损伤并大量扣压PMN,PMN计数的结果也显示这种扣压发生早、持续时间长。同时,PMN核标记显象也显示内毒素血症时肺脏对PMN的扣压能力大为增强,且在扣压的牢固程度上较长时程(6 h)比短时程(30 min)来得更高。

(2)内毒素血症时,PMN-内皮细胞(EC)的细胞特性发生了明显的改变,表现为两者胞浆游离Ca^{++}增加、膜表面水化程度降低、膜表面负电荷减少、细胞粘附性增大,此外PMN的变性能力降低,EC胞体肿胀。上述改变的发生规律大致可分为三种类型:第一类为发生快、达高峰(常在1 h内)后逐渐恢复,此类包括了PMN-EC胞浆游离Ca^{++}的增加、膜表面水化程度的降低、膜表面电荷的减少以及PMN变形能力的降低。第二类为发生快并持续增长或达高峰后基本稳定型,前者指EC粘附性的增加,细胞在接受条件刺激后这种粘附性的迅速增加可描述为快相反应,后期持续增长则可描述为慢相反应;后者指PMN粘附性的增加。第三类为发生慢,逐渐加强型,此类改变是指EC的胞体肿胀程度。根据以上改变的特点,我们可以把内毒素血症PMN-EC细胞特性的改变简单描述成PMN变得硬而易接触、粘而高活性,EC变得肿、粘而易接触。

(下转92页)

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

了抗-c、抗-cE、抗-E。间隔7年后原抗体逐渐消失(直接抗球蛋白试验阴性)。直到1992年3月15日输入300 ml含有c、E抗原的O型血后,通过回忆免疫反应,很快产生高效价的Rh抗体[1]。因无法追踪,故不能肯定。二为抗体的产生系1992年3月15日所输血液造成。但在输血后5d检查Rh抗体即具有很高的效价较为罕见。因此以前者可能性较大。

(2)Rh系统血型抗体为IgG和IgM。IgM性质的抗体常出现于免疫初期。本例抗体是在盐水介质中配血时发现,并伴有较高浓度的IgG性质抗体。随着时间的延长,抗体效价达到一定高度后,IgM性质的抗体效价很快下降,随之消失。而IgG性质的抗体效价虽有下降趋势,但仍能在体内维持较长的时间[1,2](见附图)。

(3)从本例输血后产生Rh抗体的情况,进一步提醒我们,在交叉配血过程中,以盐水介质测定完全抗体是不够的,应同时进行不完全抗体的测定,以确保接受输血者的安全。

关键词 血型不合

中图法分类号 R457.11

参考文献

1 杨天楹,杨成民,田兆嵩.临床输血学.北京:北京医科大学、中国协和医科大学联合出版社,1993:26~31

2 肖星甫,主编.输血技术手册.成都:四川科学技术出版社,1992:70~78

(收稿:1994-01-27;修回:1994-10-29)

(上接89页)

(3)对于目前认为与PMN-EC粘附相关性最大的三种粘附分子CD18、内皮细胞白细胞粘附分子-1(ELAM-1)和细胞间粘附因子-1(ICAM-1)的研究发现:内毒素血症时,依相继出现表达的时间顺序,依次表现为首先PMN表达CD_{18},其发生迅速,20 min内达高峰,以后维持子高表达。然后EC表达ELAM-1,其出现相对较慢,1 h有弱表达,3~6 h达高峰,24 h内逐渐消散。最后的改变是EC表达ICAM-1的增加,这种改变表现在大微弱基础表达上的增加,通常于12~24 h内达增加的高峰,以后仍维持子高表达状态,消散较慢。上述结果显示了内毒素血症时PMN-EC粘附力增加的分子基础,对于PMN,其快相增加和慢相增加均主要源于CD_{18}的迅速表达并维持,本实验所设置的阻断试验也证实了这一点。对于EC,其快相增加的分子基础本实验由于条件限制未能探究(目前国外学者认为是Weibel-palade小体中的GMP-140迅速移位至膜表面所致),慢相增加的分子基础则为ELAM-1和ICAM-1的相继出现及参与。

(4)对炎性细胞因子网络中的主要成员单核因子(TNF、IL-1)和PAF以及PMN-EC自身表达性粘附固子的功能所作的体外定量分析发现:LPS、TNF和IL-1影响扣压过程主要表现在可以诱导EC粘附分子ELAM-1和ICAM-1的表达和PMN粘附分子CD_{18}(IL-1无此作用)的表达,此外它们对PMN、EC的其它细胞特性的改变也具有一定的刺激作用。PAF的作用主要表现在可以迅速而强烈地改变PMN-EC的细胞特性,并导致CD_{18}的表达,因此PMN-EC快相粘附性增强主要与PAF的刺激作用有关。此外,PAF对细胞国子网络中诸成员之间相互调节的过程有加强作用。关于PMN-EC自身表达的粘附因子,本实验显示CD_{18}的表达导致PMN粘附性的迅速增加,ELAM-1和ICAM-1的表达则先后参与并维持了EC粘附性的慢相增加。

总之,内毒素血症时肺脏扣压大量PMN,对PMN的扣压能力大为增强,其机制主要涉及PMN-EC细胞特性的改变。变表能力降低、粘附性增强、相容性良好的PMN难以通过由粘附性显著增强、相容性明显改善的EC构成的且又因EC的肿胀而变得狭窄的肺毛细血管床。而PMN-EC膜表达表达的粘附分子CD_{18}、ELAM-1、ICAM-1则为两种细胞间粘附性增加的分子基础。

关键词 内毒素/毒性;肺/损伤;嗜中性白细胞;血管;内皮

中图法分类号 R563

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