论著

单核巨噬细胞在急性胆道感染所致肺损害中的作用*

龚建平　韩本立　李　昆　罗　丁　彭志明　（第三军医大学西南医院肝胆外科中心）630038

提　要　本实验选用健康 Wistar 大鼠 90 只，通过复制急性胆道感染动物模型，观察单核巨噬细胞系统(MPS)功能变化在胆道感染所致肺损伤中的作用。结果发现，随着肝枯否细胞吞噬功能抑制，肺内 MPS 代偿性激活并产生大量氧自由基等炎性介质导致急性肺损伤。提示：急性胆道感染所致肺损害与宿主防御系统，特别是 MPS 功能状态密切相关，MPS 功能紊乱可能在胆道感染所致肺损害中起重要作用。

关键词　巨噬细胞；胆管炎；游离基类；肺/损伤；急性病

严重胆道感染是引起多脏器损害(Multiple organ damage，MOD)的重要原因，肺是急性胆管炎时最易受损的肝外器官[1]，其发生机理尚不完全清楚。近年的研究表明，单核-巨噬细胞系统(Mononuclear phagocyte system，MPS)功能变化及其分泌的多种细胞因子在脓毒症时对肺脏损害起重要介导作用[2]。本实验通过复制急性梗阻性胆管炎动物模型，观察 MPS 在胆道感染所致肺损害中的作用。

1　材料与方法

1.1　动物及动物模型制作

选用健康 Wistar 大鼠 90 只，体重 180～220g，随机分为 2 组(每组 40 只)。(1)急性梗阻性胆管炎组(Acute obstructive cholangitis，AOC)：1%戊巴比妥盐(25mg/kg)腹腔内注射麻醉后，无菌条件下上腹正中切口入腹腔，双重结扎胆总管，同时注入大肠杆菌 $O_{111}B_4$ 0.2ml 于胆总管内(菌液浓度为 5×10^9cfu/ml；(2)胆总管结扎组(BDL)：仅结扎胆总管，不注入细菌。余 10 只动物作为术前对照组。各组分别于术后 0、6、12、24 和 48 h 活杀取材。

1.2　观测指标

1.2.1　肝 Kupffer 细胞(KC)吞噬功能测定：采用碳粒廓清试验。

1.2.2　肺灌洗液中巨噬细胞(AM)计数：按 Lau[3]介绍的方法获得 AM，并计数每只动物肺内 AM 数量。

1.2.3　肺组织血管外水量测定：参照丁廷楷等介绍的方法进行测定[4]。

1.2.4　肺组织脂质过氧化物(LPO)含量测定：用 TBA 法测定肺内丙二醛(MDA)含量间接表示肺组织中 LPO 含量。

1.2.5　肺组织中超氧化物歧化酶(SOD)活性测定：采用化学发光法。

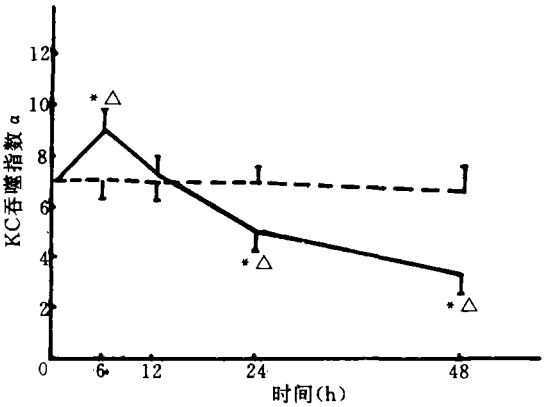
1.2.6　肺组织形态学观察：用普通光镜(HE 染色)和透射电镜观察肺脏病理变化。

1.3　数据处理

采用双因素方差分析，结果以 $\bar{x}\pm s_{\bar{x}}$ 表示。

2　实验结果

2.1　KC 吞噬功能变化(见图 1)



·——· AOC　·……· BDL

图 1　KC 吞噬功能变化

*$P<0.05$，与术前值比较；

△$P<0.05$，与 BDL 组比较

* 国家自然科学基金资助项目

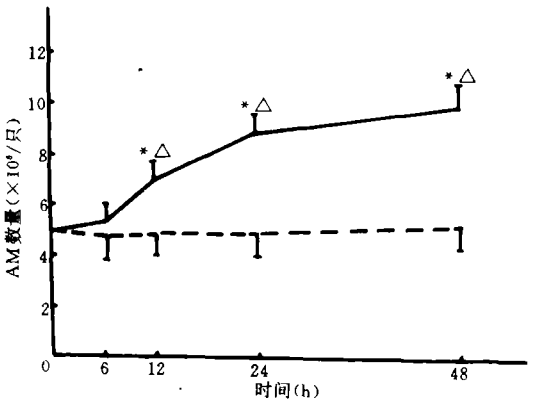
?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

2.2 肺灌洗液中 AM 计数(见图 2)

2.3 肺组织血管外水量变化(见图 3)

2.4 肺组织 LPO 含量变化(见图 4)

2.5 肺组织 SOD 活性变化(见图 5)

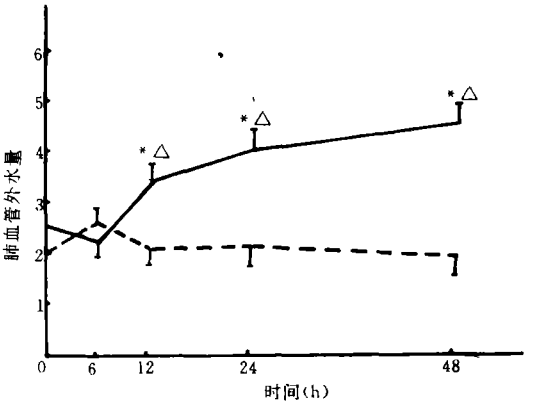


·——· AOC ·……· BDL

图 2 肺灌洗液中 AM 计数

*$P<0.05$,与术前值比较;

△$P<0.05$,与 BDL 组比较

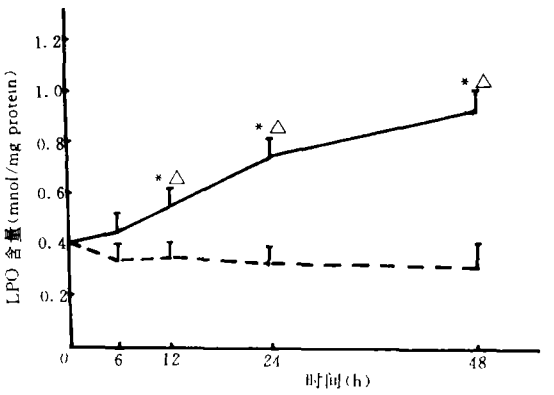


·——· AOC ·……· BDL

图 3 肺组织血管外水量变化

*$P<0.05$,与术前值比较;

△$P<0.05$,与 BDL 组比较

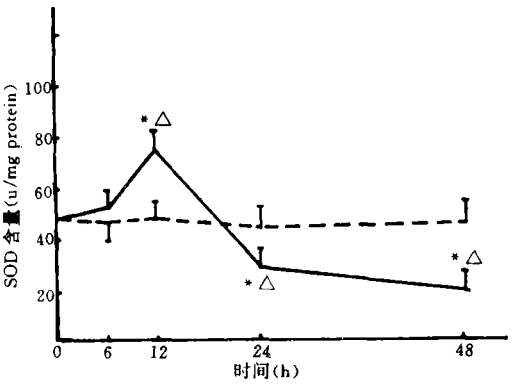


·——· AOC ·……· BDL

图 4 肺组织LPO含量变化

*$P<0.05$,与术前值比较;

△$P<0.05$,与 BDL 组比较



·——· AOC ·……· BDL

图 5 肺组织SOD活性变化

*$P<0.05$,与术前值比较;

△$P<0.05$,与 BDL 组比较

2.6 肺组织形态学变化

AOC 组:光镜下见从术后 12h 起,肺泡隔明显充血、水肿,大量中性粒细胞(PMN)和 AM 侵润形成间质性肺炎,部分小血管旁形成袖套状水肿,以 48h 为显著。电镜下见肺泡隔毛细血管内皮细胞明显肿胀,有髓鞘样结构形成;肺泡 AM 增生,胞体增大,胞浆内溶酶与吞噬体增多;毛细血管腔内易见 PMN。BDL 组:光、电镜下仅见肺泡隔轻度充血,增厚,毛细血管内皮细胞稍肿胀。术前对照组:无特殊病理变化。

3 讨论

3.1 MPS 在肝内抑制与肺内激活

MPS 由骨髓原单核细胞、血中单核细胞及各组织内巨噬细胞组成,为体内重要免疫防

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

御系统。正常状态下 80%～90%的 MPS 分布于肝内，主要是 KC，它构成机体防御中枢，其余的 MPS 主要分布于脾、肺（即 AM）等处。但在应激状态下 MPS 这种分布比例可发生变化[5]。本实验结果显示，AOC 组术后 6 h 肝内 KC 吞噬功能有一个短暂增强，随后进行性抑制，同时肺内 AM 从术后 12 h 起数量明显增多，形态学观察见其吞噬活跃。这一规律性变化可能是胆道感染时 MPS 对细菌攻击所表现出的一种失代偿与代偿性反应，即 MPS 在肝内的抑制与肺内的代偿性激活。但由于肺内 AM 活性状态及血液——细胞界面的不同，AM 清除细菌的能力明显低于 KC，以致肝外 MPS 未能完全代偿 KC 吞噬功能的抑制，使胆源性脓毒症继续发展。肺内 AM 增多与激活的可能机制是：(1)细菌及其毒素在肺内对 MPS 产生趋化作用；(2)细菌刺激 AM 局部分裂、增生和活化；(3)肝内 KC 向肺内迁移[5]。

3.2 MPS 在肺损伤中的作用

近年研究发现，肺内 AM 与 PMN 的聚集与激活在脓毒症性肺损伤中起重要作用[2]。本实验发现，AOC 组术后 12 h 起，随着 KC 吞噬功能抑制及肺内 AM 的聚集与活化，肺损伤进行性加重，表现为：(1)肺损伤因素明显增加，如肺组织中 LOP 逐渐增加，而自由基清除剂 SOD 显著抑制；(2)肺血管外含水量增加，肺水肿不断加重；(3)出现肺充血、水肿、出血、细胞退变等病理损伤表现。表明 KC 抑制和 AM 激活与肺损伤间有密切内在联系。MPS 在肺内聚集与激活，一方面加强对肺内细菌的清除，使它们在肺内防御中起重要作用；另一方面，被细菌激活的 AM 又可释放多类参与肺损害的毒性物质，如还原性氧类、肿瘤坏死因子（TNF）、多肽类介质花生四烯酸及其代谢产物等。其中氧自由基在肺损伤中的作用受到广泛重视。这类物质可通过攻击细胞和亚细胞器膜磷脂中多不饱和脂肪酸，生成一系列脂质过氧化产物，从而使肺血管内皮细胞结构破坏和功能紊乱，产生通透性肺水肿，导致急性肺损害。

3.3 胆道感染时肝肺之间的相互关系

肝、肺是重症急性胆管炎时受累最严重的靶器官，两者功能之间有密切联系。已有文献报道[6]，肝脏功能损害严重影响脓毒性 ARDS 的预后。本实验结果显示，急性胆道感染后，伴随 KC 吞噬功能损害，胆道细菌可突破胆血屏障防御作用，进入血循环并首先达到肺内，除可直接损害肺脏外，更重要的是通过激活肺内 AM 产生氧自由基等活性物质介导肺损害。同样，脓毒性肺损害对肺外器官的损伤也有促进作用。(1)肺毛细血管内皮损伤改变了肺内血管活性胺和花生酸的代谢，产生低氧血症并减少全身及肝血流量，加重肝损害；(2)活化的肺内 AM 可释放多种细胞因子引起肺外器官损害[7]。所以脓毒症时肺损害及肺内 AM 的活化可影响肝脏代谢并改变其固有的防御功能，造成恶性循环。因此，MPS 功能紊乱可能在急性胆道感染所致肺损害中起重要作用。

参考文献

1. 龚建平 韩本立 殷恒春，等。急性胆道感染时多脏器损伤的病理学观察。第三军医大学学报，1992；14(2)：107～109
2. Callery MP，Kamei T，Mangino MJ，et al. Organ interaction in sepsis：Host defense and the hepatic-pulmonary macrophage axis. Arch Surg，1991；126(1)：28～33
3. Lau HT，Hardy MA，Altman RP，et al. Decreased pulmonary alveolar marcrophage bactericidal activity in splenectomized rats. J Surg Rese，1983；36(6)：568～571
4. 丁廷楷 唐亦奇。肺血管外水量测定——肺重量分析法。中国病理生理杂志，1987；3：254
5. Pardy BJ，Dudley，HAF. Post-traumatic pulmonary in-sufficiency. Surg，Gyne，and Obst，1977；144(2)：259～265
6. Matuschak GM，Rinaldo JE，Pinsky MR，et al. Ef-

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

fect of endstage liver failure on the incidence and resolution of the adult respiratory distress syndrome. J Crit Care, 1987; 2: 162～173

7. Matuschak CM, Rinaldo JE. Organ interaction in the audlt respiratory distress syndrome during sepsis. Chest, 1988; 94(2): 400～404

(收稿: 1992-05-06; 修回: 1992-07-15)

The role of mononuclear phagocyte system in the pathogenesis of lung injury during acute obstructive cholangitis

Gong Jianping, Han Benli, Li Kun, et al (Department of Hepatobiliary Surgery, Southwest Hospital, Third Military Mecical College, Chongqing, 630038)

Abstract The relationship between the behavior of the mononuclear phagocyte system (MPS) and acute pulmonary injury during acute obstructive cholangitis (AOC) was investigated in 90 Wistar rats. After the operation to induce actue obstructive cholangitis, the animals were killed in the 0th, 6th, 12th, 24th and 48th hour, and the phagocytic function of Kupffer's cells, the number of alveolar macrophages in the lung lavage fluid, and the extravascular water content of the lungs were measured. And the pulmonary levels of lipid peroxidase and supperoxide dismutase were determined as well. It was found that when the phagocytic function of Kupffer's cells was suppressed, the alveolar macrophages were activated by the invading bacteria to release some inflammatory mediators such as free radicals resulting in acute pulmonary injury. It seems that there is a close relationship between the fuctional status of mononuclear phagocyte system and the development of pulmonary injury, and the functional failure of mononuclear phagocyte system plays an important role in the pathogenesis of multiple organ failure especially of acute pulmonary injury.

Key words phagocytes; cholangitis; lungs/IN; acute disease; free radicals

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net