DOI:10.16016/j.1000-5404.1991.06.004

急性胆道感染时枯否细胞吞噬功能变化的实验研究*

龚建平 韩本立 罗 丁 段恒春 李 锐（第三军医大学西南医院 肝胆外科）630038

提 要 本实验用244只 Wistar 大鼠，观察急性胆道感染后6、12、24和48h 枯否细胞（KC）吞噬功能、血浆内毒素和纤维联接蛋白含量变化；同时观察KC形态学改变。结果显示，KC吞噬功能和血浆Fn在术后6h显著升高，而在术后 48h 又明显降低。KC 形态学也出现相应变化。提示，在急性胆道感染时 KC 吞噬功能有一个从早期增强到晚期抑制甚至衰竭的动态变化过程。

关键词 枯否 细胞；胆管炎；内毒素；纤维连接素类；多器官衰竭，急性病

急性胆道感染（Acute Obstructive Cholangitis，AOC）所致败血症是引起多器官衰竭（MOF）和胆道疾病患者死亡的重要原因。胆道内细菌及毒素要进入血液循环，必须“逃避”胆血屏障的防御作用。枯否氏细胞（Kupffer cells，KC）是胆血屏障的主要组成部份，具有重要的免疫学功能。因此，研究AOC状态下KC吞噬功能变化具有重要意义。本实验通过AOC动物模型，动态观察KC吞噬功能变化过程，探讨KC在机体防御屏障中的作用。

1 材 料 与 方 法

1.1 实验动物及分组

健康Wistar 大鼠（体重180～220g）共244只，随机分为：（1）急性胆道感染组（AOC）；（2）胆总管结扎组（BDL）；（3）假手术组（SO）。各组分别于术后6、12、24h和48h活杀取材。

1.2 菌液准备

大肠杆菌 O_{111} B_4菌种接种于血平板上，37℃孵育24h，无菌盐水洗脱，制成最终菌液浓度为 5×10^9 cfu/ml备用。

1.3 动物模型制作

大鼠术前禁食8h。（1）AOC组：用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进入腹腔，游离和显露胆总管，双重结扎，同时注入上述菌液 0.2ml 于胆总管内，造成急性梗阻性胆道感染。（2）BDL 组：仅结扎胆总管，不注入细菌。（3）SO组：既不注入细菌，也不结扎胆总管。3组动物其它条件保持相同。

1.4 观察指标及方法

1.4.1 各时相点动物累积死亡率的统计。

1.4.2 血细菌培养。

1.4.3 KC吞噬功能测定：采用John[1]介绍的炭粒廓清试验，结果以校正吞噬指数α表示。

1.4.4 血浆内毒素测定：采用鲎试验微量基质显色法。

1.4.5 血浆纤维联接蛋白（Fn）测定：采用火箭电泳定量测定法。

1.4.6 KC 形态学观察：活杀动物时，取每组每时相各3只动物右前叶肝组织，立即放入10%中性甲醛液或 2.5%戊二醛磷酸缓冲液中固定。常规石蜡包埋、切片、HE 染色，光镜观察；环氧树脂618包埋，超薄切片，醋酸铀和柠檬酸铅电子染色，日立H-300型透射电镜观察。

1.5 数据处理

所得数据在电子计算机上作方差分析或相关性分析。

* 国家自然科学基金资助项目

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

2. 结 果

2.1 死亡率

AOC组术后6、12、24h 和 48h 死亡率分别为 0% (0/15)、6.67% (1/15)、33.33% (5/15) 和 46.67% (7/15)。随时间延长，死亡率逐渐增高，统计学差异显著 ($P<0.05$)。BDL 组和SO 组无动物死亡。

2.2 血培养

AOC组术后 6、12、24h 和 48h 血培养阳性率分别为 7.69% (1/13)、15.38% (2/13)、76.97% (10/13) 和 100% (13/13)。随时间延长，血培养阳性率也逐渐增高，统计学差异显著 ($P<0.05$)。BDL组和SO组各时相点血培养均阴性。

2.3 KC吞噬功能测定结果 见表1

2.4 血浆内毒素含量变化 见表2

2.5 血浆Fn含量变化 见表3

表1 KC吞噬指数α值变化

Tab. 1 Changes of KC Phagocytic Index α after Operation ($\bar{x}\pm s_{\bar{x}}$)

Group	KC Phagocytic Index α			
($n=5$)	6 h	12h	24h	48h
AOC	8.12±0.30*	7.35±0.41	4.61±0.52*	3.89±0.68*
BDL	6.99±0.43	7.16±0.29	7.04±0.71	7.19±0.45
SO	6.87±0.35	7.02±0.52	6.92±0.37	6.89±0.45

* $P<0.05$ when compared wiht group BDL or SO

表2 血浆内毒素含量变化

Tab. 2 Changes of Plasma Endotoxin Level after Operation ($\bar{x}\pm s_x$)

Group	Plasma Endotoxin (pg/ml)			
($n=7$)	6 h	12h	24h	48h
AOC	55.86±6.41	127.57±18.6*	272.86±33.41*	520.01±49.59*
BDL	52.64±3.12	56.00± 4.64	54.32± 6.11	57.14± 5.78
SD	51.75±2.06	52.64± 3.12	52.47± 6.32	51.89± 7.57

* $P<0.01$ when compared with group BDL or SO

表3 血浆Fn含量变化

Tab. 3 Changes of Plasma Fibronectin Level after Operation ($\bar{x}\pm s_{\bar{x}}$)

Group	Plasma Fibronectin (mg/dl)			
($n=7$)	6 h	12h	24h	48h
AOC	64.14±2.65*	55.15±2.89	30.57±1.81*	16.15±3.72*
BDL	52.57±1.2	54.86±1.06	55.13±2.19	53.86±1.27
SO	52.00±1.05	51.13±2.86	52.21±1.52	51.78±1.98

* $P<0.05$ when compared withg roup BDL or SO.

2.6 将AOC组KC 吞噬指数α与血浆内毒素值或Fn值作相关分析，结果显示：(1) 吞噬指数α与内毒素值呈明显负相关 ($r=-0.9264$, $P<0.01$)；(2) 吞噬指数α与 Fn 值呈明显正相关 ($r=0.9886$, $P<0.01$)。

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

2.7 KC形态结构变化

2.7.1 AOC 组：（1）光镜下，术后6～12h，见KC漫弥性增生，体积增大，胞浆内可见较多黑色碳粒（图1），24～48h，KC数量显著减少，散在分布于炎性病灶或汇管区周围。（2）电镜下，术后6～12h，见KC 体积胀大，表面突起增多，胞浆内充满吞噬泡或吞噬体，显吞噬红细胞现象（图2）；24～48h，见KC胞体缩小，突起减少，线粒体肿胀或空化，胞浆内可见巨大灶性胞质内变性（Fcd）及较多髓鞘样结构（图3、4）。

2.7.2 BDL组和SO组：各时相点光、电镜观察KC形态学无显著变化。

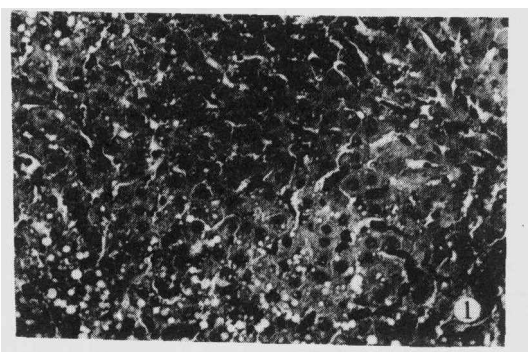


图1 KC显著增生，胞浆内充满黑色碳粒。AOC组，术后6 h，HE×200

Fig.1 KC were proliferated diffusely and black carbon particle could be seen in their cytoplasm. AOC Group, 6h after operation. HE×200

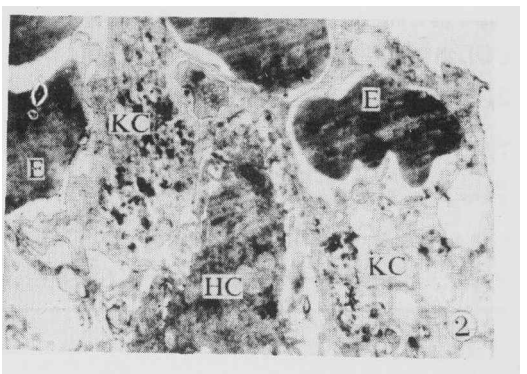


图2 KC吞噬活跃，胞体内吞入红细胞（E）。AOC组，术后6 h，TEM×10 000

Fig.2 KC active phagocytosis. Erythrocytes (E) phagocytized in the cytoplasm. AOC Group, 6 h after operation. TEM×10 000

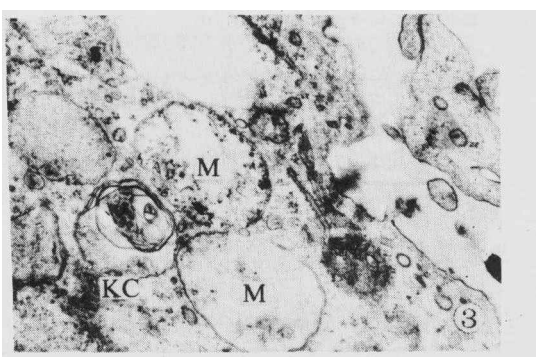


图3 KC伪足减少，线粒体肿胀或空化。AOC组，术后48h，TEM×20 000

Fig.3 KC pseudopodes reduced. Mitochondrial swollen. AOC Group, 48h after operation. TEM×20 000

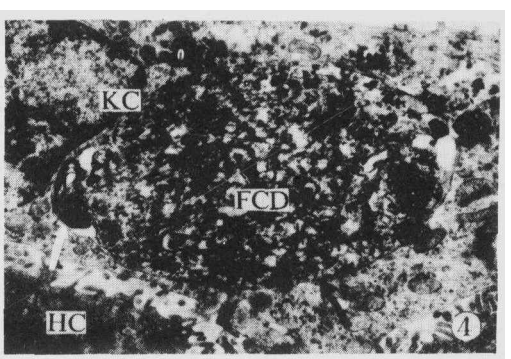


图4 KC胞体内局灶性胞浆内变性（FCD）（黑箭头）和髓鞘样结构（白箭头）。AOC组，术后48h，TEM×10 000

Fig.4 Focal cytoplasmic degeneration (FCD) (black arrow) and myelin like figure (white arrow) in KC. AOC Group, 48h after operartion. TEM×10 000

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

3. 讨 论

胆血屏障是指肝胆系统中处于胆流与血流之间的组织结构总体。其主要作用之一是阻止起源于胆道和肠道内的细菌及毒素进入血循环。KC是胆血屏障的主要组成部分，具有重要的免疫防御功能。

本实验结果显示，BDL组术后48h内KC吞噬功能无显著变化。这与文献报道基本一致[1]。AOC组术后KC吞噬功能有一个从应激增强到减弱甚至抑制的动态变化过程。（1）在AOC早期（6～12h），KC吞噬指数α值显著著升高，形态学观察发现KC数量增多，吞噬活跃，表明KC吞噬功能处于亢进阶段。其原因可能与细菌及毒素刺激机体产生应激防御反应即全身单核—巨噬细胞在肝脏聚集，以及KC自身功能激活，在肝内形成强大的吞噬细胞群有关。（2）在AOC后期（术后24～48h），KC吞噬指数降低，并出现KC数量减少、细胞损伤的形态学改变。表明KC吞噬功能受到抑制。我们认为，KC数量减少、自身结构损伤及血浆Fn降低是造成KC吞噬功能抑制的重要原因。

血浆Fn含量变化与KC吞噬功能之间有无联系，文献报道不一致。Loegering[2]等报道严重创伤、脓毒症时血浆Fn含量降低并可影响KC吞噬功能。但Caritis等[3]则认为Fn含量与KC吞噬功能之间无必然联系。本实验结果显示，血浆Fn含量变化与KC吞噬指数α呈显著正相关。表明血浆Fn是介导KC非特异性吞噬功能的重要调理介质。血浆Fn含量变化可作为判断KC吞噬功能状态和感染严重程度的参考依据之一。

目前认为，内毒素是败血症性MOF的早期致病物质。KC是清除内毒素的中心器官[4]。本实验结果显示：KC吞噬功能与血浆内毒素含量之间呈显著负相关。当KC吞噬功能亢进期间，KC能有效地控制胆道细菌及毒素进入血循环，成为保护机体免遭毒素攻击的首要防线。随着KC吞噬功能抑制，以及机体其它免疫功能损害，大量细菌进入血循环，形成败血症甚至脓毒血症，可累及多个重要生命器官，造成其功能损害以至MOF发生。提示我们在救治AOC病人、预防MOF中，应充分重视调节肝脏及全身免疫功能。

（本实验得到校病理教研室史景泉教授、谭怡然副教授耐心指导和帮助，在此谨致谢意）

参 考 文 献

1. John M, Holman JR, Layton F, et al. Reticuloendothelial function and biliary obstruction. Current Surgery 1980; 37(5): 366
2. Loegering DJ, Kaplan JE, Vincent PA, et al. Kupffer cell complement receptor clearance function after surgical injury and phagocytosis of immune complexes: Effect of changes in plasma fibronectin. J Lab Clin Med 1988; 111 (5) : 504
3. Caritis SC. RES function in chronic intra-abdrominal sepsis. Br J Surg 1989; 76 (2) : 161
4. McCuskey RS, McCuskey PA, Urbaschek R, et al. Kupffer cell function in host defense. Rev Infect Dis 1987; 9 (suppl 5) : 616

（收稿：1990-12-19；修回：1991-06-07）

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

A study of Kupffer cell phagocytic function during acute obstructive cholangitis in rats

Gong Jianping, Han Benli, Luo Ding, et al. (Department of Hepatobiliary Surgery, Southwest Hospital, Third Military Medical College, Chongqing, 630038)

Abstract: The phagocytic function of Kupffer cells (KC) during acute obstructive cholangitis was observed in 244 Wistar rats. The rats were killed in the 6th, 12th, 24th, and 48th hour after operation, and the uptake of colloidal carbon by KC, plasma endotoxin and fibronectin(Fn) were determined and the morphology of KC was observed. It was found that in the rats with acute obstructive cholangitis, the phagocytic function of KC and plasma Fn significantly elevated in the 6th hour and markedly reduced in the 48th hour after operation as compared with those of the control ($P<0.05$), KC were hypertrophic in the 6th hour but hypotrophic in the 48th hour. These findings indicate that the phagocytic function of KC varies with the course of acute obstructive cholangitis, hypertrophic in the early stage but hypotrophic in the advanced stage.

Key words Kupffer cell; cholangitis; endotoxins; fibronectin; multiple organ failure; acute disease

半环槽式外固定架治疗严重骨盆骨折的护理（附一例报告）

张 瑰（第三军医大学西南医院 骨科）630038

我院于91年8月11日收治1例严重骨盆挤压骨折的患者，经采用半环槽式外固定架固定加右下肢骨牵引治疗获得成功。

患者，女，23岁。因车撞伤右髋部3小时入院。入院诊断：骨盆骨折，右侧骶髂关节脱位。入院后在全麻下行双侧髂嵴穿针半环槽式外固定架撑开复位固定，右股骨髁上骨牵引。术后摄片骨折复位良好，4周后拆除外固定架，5周后拆除牵引逐渐下地活动。

讨 论

骨盆骨折的外固定治疗源于70年代初，近年来已用于临床[1]。我们体会本法与传统的骨盆悬吊，单纯骨牵引相比具有：固定牢稳，方法简便，并发症少，便于翻身护理等优点。但在护理过程中还应注意以下几点。

（1）早期并发症的防治。严重骨盆骨折常因腹膜后大出血而致失血性休克或合并其他损伤。病人入院后密切观察生命征尤其是血压，发现问题及时报告医生并迅速建立静脉通道；同时注意病人腹部及大小便情况以便排除腹腔脏器损伤。

（2）针道的护理。此种固定常因钢针松动压伤针道周围皮肤使其坏死、液化而继发感染。因此，术后3日内不宜过多翻身。保持针道周围皮肤干燥，可在针道处滴75%酒精3次/d。常检查夹针器防钢针松动。

（3）功能锻练。在术后第3天进行。病人常畏痛不合作，应耐心解释，使其认识到功能锻练的必要性。先让病人做股四头肌收缩锻练，次数应逐日增加，最后以10次/h为宜。每日应帮助患者活动膝、踝关节3次，防股四头肌粘连和足下垂。以后逐渐让病人坐起和练习抬臀部，次数以15次/d并持续30分为宜，这不仅锻练了肌肉还可以防止压伤的发生。

参 考 文 献

1. 李起鸿。骨外固定器及其临床应用。北京：人民军医出版社，1988：93

（收稿：1991-09-23；修回：1991-10-24）

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