

## ·临床研究·

# 腹膜炎大鼠肺泡巨噬细胞分泌 IL-1、TNF 的变化及大黄牡丹皮汤的调节作用

谢艺 崔华雷 王晓晔 董亮 王振芳 谷继卿

【摘要】 目的 观察肺泡巨噬细胞在急性腹膜炎时分泌 IL-1、TNF 的变化,以及应用大黄牡丹皮汤进行治疗的调节作用。 方法 取健康 Wistar 大鼠 40 只,将其分成感染组、中药治疗组、抗生素组及正常对照组,通过腹腔内注入菌液的方法,造成大鼠腹膜炎模型。采用单纯应用抗生素、抗生素配合大黄牡丹皮汤不同方法进行治疗。分离和培养肺泡巨噬细胞,收集培养上清液,采用 MTT 法测定细胞因子活性。 结果 模型组巨噬细胞分泌 IL-1、TNF 的水平显著升高( $P < 0.01$ ),中药治疗组虽明显高于对照组,但明显低于模型组( $P < 0.05$ ),抗生素与造模组差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。 结论 大黄牡丹皮汤能抑制腹膜炎时炎性细胞因子的过度分泌,对大鼠巨噬细胞功能有明显的调整作用”

【关键词】 腹膜炎;肺泡;白细胞介素 1;肿瘤坏死因子;大黄牡丹汤 / 治疗应用;大鼠

化脓性腹膜炎时内毒素血症发生率为 100%,且常伴发一个或多个脏器的功能障碍<sup>[1]</sup>。内毒素血症时巨噬细胞(macrophage, MP)的持续、过度激活,导致 MP 分泌大量的细胞因子和其它介质,造成局部组织细胞和全身性损伤抑制巨噬细胞过度活化,减少细胞因子过度分泌,有助于保护脏器功能、降低死亡率<sup>[2,3]</sup>。本实验观察了肺泡巨噬细胞在腹膜炎时分泌 IL-1、TNF 的变化,以及应用大黄牡丹皮汤进行治疗的调节作用。

## 资料与方法

### 一、实验动物与分组

取健康 Wistar 大鼠 40 只(由天津医科大学实验动物中心提供),雌雄各半,体重  $220 \pm 10$  g,随机分为 4 组,每组 10 只。均于造模后 3 d 取材。分组情况如下。

A 组:感染组,利用腹腔内注射注射大肠杆菌(E.coli)  $30 \times 10^8$  的方法制作化脓性腹膜炎模型。

B 组:中药治疗组,在 A 组的基础上,术后 12 h 用大黄牡丹皮汤灌胃(制作浓度为 1 g 生药 / ml),1 次 / d,每次 4 ml。同时腹腔注射氨苄青霉素 2 次

/d,剂量为每只 167 mg / 次。

C 组:抗生素组,在 A 组的基础上,术后 12 h 腹腔注射氨苄青霉素,2 次 / d,剂量为每只 167 mg / 次。

D 组:正常组,不做任何处理,作为空白对照组。

### 二、大鼠肺泡巨噬细胞的分离和培养

大鼠用乙醚麻醉后,于无菌条件下分离气管至胸骨柄上缘,套管针穿刺,用生理盐水灌洗肺脏,收集肺泡巨噬细胞。巨噬细胞收获后调细胞浓度至  $1 \times 10^6$  / ml,分别加入 24 孔板内,置  $37^\circ\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$  孵育箱内培养 48 h,收集培养上清液待测。

### 三、观察指标

IL-1、TNF 的检测均采用 MTT 法进行测定<sup>[4]</sup>。TNF 活性以细胞毒效应百分比数(%)表示,IL-1 活性以 u / ml 表示。

### 四、统计学方法

应用 SPSS 10.0 进行统计学分析,计量资料采用均数 ± 标准差( $\bar{x} \pm S$ )表示,各组间比较采用方差分析。

## 结 果

模型组巨噬细胞分泌 IL-1、TNF 的水平显著升高( $P < 0.01$ ),差异有显著统计学意义,中药治疗组虽明显高于对照组,但明显低于模型组( $P < 0.05$ ),差异有统计学意义,抗生素组与造模组差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

作者单位:天津市儿童医院外科(300074)。通讯作者:崔华雷, E-mail:chlfjp@sina.com

表 1 各组大鼠肺泡巨噬细胞分泌 IL-1、TNF 的变化情况( $\bar{x}\pm s$ )

	<i>n</i>	IL-1U/ml	TNF(%)
A 组	10	108.12±10.5**	78.06±4.16**
B 组	10	68.64±7.23*#	30.21±3.12*#
C 组	10	101.25±9.61**	74.57±3.28**
D 组	10	21.50±3.13	7.72±2.02

注:与 D 组比较,\*\* $P<0.01$ ,\* $P<0.05$ ;与 A 组比较,# $P<0.05$

讨 论

目前感染仍然是外科重症病人的主要死因之一。以往认为宿主对重症感染引起脓毒症的应答是侵入细菌毒素的直接作用。现已明确是细菌、内毒素等抗原激活宿主单核巨噬细胞(MP)系统释放多种细胞因子所致。其中以 IL-1 和 TNF 等与炎症的关系最为密切,被认为是诱发脓毒血症、多器官功能衰竭的重要启动因子<sup>[5, 6]</sup>。

本实验发现腹膜炎时内毒素血症对宿主巨噬细胞分泌 IL-1 和 TNF 的影响表现为造模组 IL-1 和 TNF 明显高于对照组。因此可以推知,在腹膜炎时巨噬细胞功能处于一种过度活化的状态,进而损伤组织细胞。采用中药治疗后,MP 分泌 IL-1 和 TNF 明显低于抗生素组,提示大黄牡丹皮汤能够显著抑制因炎症刺激造成 MP 的活力过度增强所导致的细胞因子过度分泌。与造模组相比较,抗生素组的细胞因子没有明显降低,表明氨苄青霉素本身对调整巨

噬细胞功能没有作用。而且有报道,抗生素可刺激细胞因子的产生,并认为与抗生素诱发内毒素释放有关<sup>[7]</sup>。大黄牡丹皮汤可能是通过抑制脂多糖(LPS)刺激下巨噬细胞过度分泌细胞因子,通过细胞因子网络的免疫调节作用,打断了细胞因子网络的恶性循环,从而达到其免疫调节作用。

参 考 文 献

1 郑显理,石水生.中国急腹症治疗学[J].天津:天津科学技术出版社,1995:355~357.

2 Izeboud CA, Mocking JA, Monshouwer M, et al.Participation of beta-adrenergic receptors on macrophages in modulation of LPS -induced cytokine release [J]. J Recept Signal Transduct Res,1999,19(1-4):191.

3 Qiu H, Pan J, Zhao Y, et al. The role of TNF alpha, IL-1beta and MIP -1 alpha in LPS -induced organ injury [J]. Chung Hua I Hsueh Tsa Chih,1996, 76(4):254.

4 李会强,姚智,邢冬红,等.人 IL-1、IL-6 及 TNF MTT 检测方法的建立[J].天津第二医学院学报,1993,9(3):4.

5 Gosain A, Gamelli RL. A Primer in Cytokines [J]. Burn Care Rehabil, 2005,26(2):7212.

6 Bhatia M, Mocchhala S. Role of inflammatory mediators in the pathophysiology of acute respiratory distress syndrome [J]. Pathol,2004,20(2):1452156.

7 Scockwell JA, Huang YC, SUYF, et al. Bacterial antibiotics increase tumor necrosis factor alpha and cardiac output in rats after cecallightion and puncture[J].CircShock,1994,42:68.


·消息·

敬告读者

目前本刊 E-mail 投稿比例逐步增大,编辑部和作者通过 E-mail 联系更广泛更便捷,在此向大家表示衷心的感谢!除 E-mail 投稿外,编辑部也通过电子邮件方式向作者发回收稿回执、退修通知单、退稿通知单、片面费通知单等单据,请您收到后及时按所附单据意见对文章作相应处理,如为修改稿,请按退修意见修改,并将退修单及修改后的文章仍以附件形式发回,请直接回复至单据发出的编辑邮箱。谢谢支持!

投稿邮箱:chi na.j cps@si na.com

本刊编辑部

作者：谢艺，崔华雷，王晓晔，董亮，王振芳，谷继卿  
作者单位：天津市儿童医院外科, 300074  
刊名：临床小儿外科杂志   
英文刊名：JOURNAL OF CLINICAL PEDIATRIC SURGERY  
年，卷(期)：2007, 6(2)  
被引用次数：1次

参考文献(7条)

1. Izeboud CA;Mocking JA;Monshouwer M [Participation of beta-adrenergic receptors on macrophages in modulation of LPS-induced cytokine release](#) 1999(1-4)
2. 郑显理;石水生 [中国急腹症治疗学](#) 1995
3. Scockwell JA;Huang YC;SUYF [Bacterial antibiotics increase tumor necrosis factor alpha and cardiac output in rats after cecallightion and puncture](#) 1994
4. Bhatia M;Mocchhala S [Role of inflammatory mediators in the pathophysiology of acute respiratory distress syndrome](#) 2004(02)
5. Gosain A;Gamelli RL [A Primer in Cytokines](#) 2005(02)
6. 李会强;姚智;邢冬红 [人IL-1、IL-6及TNF MTT检测方法的建立](#) 1993(03)
7. Qiu H;Pan J;Zhao Y [The role of TNF alpha, IL-1beta and MIP-1 alpha in LPS-induced organ injury](#) 1996(04)

相似文献(10条)

1. 学位论文 杨翠兰 [抗小鼠TLR2抗体TSP-2抑制小鼠肥大细胞脱颗粒作用的初步研究](#) 2006

哺乳动物Toll样受体(Toll-like receptors, TLRs)是果蝇Toll的同系物,它们构成一个新的蛋白家族,是一类与天然免疫系统密切的模式识别受体,参与天然免疫的介导并激活获得性免疫。其共同特点是胞外段有富含亮氨酸的重复结构域(LRR),胞内段与IL-1受体具同源性;其信号转导主要经IL-1R相关激酶(IRAK),导致NF- $\kappa$ B激活,继而产生细胞因子。自1997年发现第一个哺乳动物TLRs以来,迄今为止已发现TLRs分子约12个,即Toll11-11和18-wheeler。研究表明,TLRs不仅参与天然免疫与感染免疫,还可参与非感染免疫及获得性免疫,如抗原递呈、诱导免疫耐受、细胞凋亡,并以此在自身免疫病、过敏反应、移植排斥及肿瘤免疫中发挥重要作用。而某些TLRs能诱导抑制或增强炎症反应的相关细胞因子如IL-10, IL-4, IL-5和IL-13的产生,这些细胞因子在炎症导致的病理损伤和机体防御中均起重要作用。目前认为过敏性疾病与Th2型T细胞产生的细胞因子密切相关,如Th2型细胞因子IL-4能诱导IgE的产生,IL-5可趋化嗜酸性粒细胞聚集;而与感染有关的Th1型细胞因子如IL-12、IFN- $\gamma$ 等则能抑制Th2型细胞因子的作用,从而抑制过敏反应的炎症反应。正如有人提出的卫生学假说,幼儿及青少年时期发生感染机会减少则过敏症的发病率相应升高。哺乳动物的很多TLRs都参与了过敏性炎症过程,其中以TLR2、TLR4和TLR9研究较多;已知TLR2是人类TLRs家族成员中表达范围最广、识别病原微生物及其产物种类最多的分子,被认为是所有TLRs中具中心作用的或中枢型识别(central pattern recognition)受体。TLR2分子主要表达在单核细胞、巨噬细胞、树突状细胞、 $\gamma/\delta$ T、Th1、Th2 $\alpha/\beta$ T,尤其在脾脏和外周血白细胞高表达,其次在部分消化道上皮细胞株、B细胞株及大鼠心肌细胞、脑组织、齿龈细胞等也有表达。尽管有许多实验证实了TLR2与一些配基相互作用参与了免疫相关事件,但是关于TLR2抗体的作用研究报道很少。另外,有很多研究表明肥大细胞膜上的TLR2在介导肥大细胞活化中发挥重要作用。

小鼠TLR2(mTLR2)和人TLR2(hTLR2)氨基酸水平上有83%的同源性,在分布、生物学活性方面的诸多相似,且小鼠肥大细胞可表达TLR2和TLR4,而人的肥大细胞仅表达TLR2,因此研究TLR-2就更为具实际意义,而小鼠无疑是研究TLR2以及它与相应配基及抗体相互作用、作用的效应等的良好模型。本课题组已有的研究工作发现,在对OVA致敏的小鼠进行攻击前,静脉注射抗小鼠TLR2胞外段(mouseTLR2extracellulardomain, mTLR-2ECD)单表位抗体TSP-2能有效地抑制OVA引发的过敏性休克,有关机制正在研究中。国内外已有的研究结果表明TLR2与其某些配基如PGN、Pam3CSK4等的相互作用参与了过敏性哮喘炎症过程,本研究对抗小鼠TLR2抗体TSP-2在体内对小鼠过敏性哮喘和腹膜炎以及在体外对小鼠肥大细胞瘤细胞P815细胞中的作用进行了初步研究。观察了TSP-2在OVA诱导的小鼠支气管哮喘和酵母多糖诱导的小鼠腹膜炎中炎症细胞渗出和炎症介质如组胺、白三烯等变化的影响;并观察了抗mTLR2胞外段抗体TSP-2对非过敏原诱导的肥大细胞脱颗粒的作用。

本研究的主要结果和结论如下:

一、抗mTLR2ECDTSP-2抑制c48/80诱导小鼠肥大细胞脱颗粒的作用在本研究中,我们用mTLR2不同表位的合成肽和融合蛋白作为抗原免疫家兔并纯化获得了两种抗mTLR-2胞外段抗体TSP-2和TSP-3。从理论上分析,由于TSP-3设计的是针对mTLR-2胞外段13-165氨基酸区域6个B识别表位,属于典型的多克隆抗体,而TSP-2仅针对1个B识别表位,且与TSP-3不在同一区域,再经过免疫亲和层析纯化后,获得的这种抗体虽为多克隆,却为单表位特异性。从结合活性方面几乎类似于单克隆抗体。且ELISA检测的抗体结合效价结果也说明抗体TSP-2比TSP-3更为敏感,这为我们进行mTLR-2相关功能的研究提供了极大的便利。

已知合成化合物C48/80(Compound48/80phenethylamine, p-methoxy-N-methyl)可直接诱发的肥大细胞脱颗粒,其机制为激活G蛋白并引起Syk活化。为了观察在体外抗小鼠TLR-2胞外段单表位抗体(TSP-2)对C48/80诱导的P815肥大细胞脱颗粒的影响。首先利用RT-PCR、免疫组化以及免疫荧光方法证实了小鼠肥大细胞瘤P815细胞在mRNA水平的表达,及细胞膜表面的TLR-2与抗体TSP-2的结合,并利用组化染色与激光共聚焦显微镜观察了抗mTLR2ECD单表位抗体TSP-2对C48/80诱导的P815肥大细胞脱颗粒反应所致的形态学改变与钙流出的影响。结果显示P815细胞在mRNA水平以及膜表面均有TLR2表达,抗体TSP-2能有效抑制C48/80诱导的P815肥大细胞脱颗粒反应所致的形态学改变与钙流出。上述结果表明抗体TLR2可抑制非过敏原物质C48/80诱发的肥大细胞脱颗粒。

二、抗mTLR-2ECD抗体TSP-2抑制酵母多糖诱发小鼠腹膜炎的研究

已知酵母多糖诱发的小鼠急性腹膜炎中腹腔灌洗液的炎症细胞渗出显著增多,其中主要是单核细胞和肥大细胞[41],即利用酵母多糖诱导的小鼠腹膜炎病理变化主要由肥大细胞介导。在此基础上,本部分工作研究了抗mTLR-2ECD单表位抗体TSP-2在酵母多糖诱导的腹膜炎模型中的主要作用,以正常未处理小鼠为对照,设立PBS组、正常兔IgG、抗体TSP-2组和抗体TSP-3组,各组在腹腔注射(i.p.)酵母多糖诱导模型前,静脉注射(i.v.)PBS、正常兔IgG、抗体TSP-2和抗体TSP-3,最后收集腹腔灌洗液,并观察了抗体TSP-2对模型动物的扭身次数、腹腔灌洗液的伊文思蓝渗出、腹腔白细胞浸润的数量变化、腹腔肥大细胞脱颗粒情况以及腹腔灌洗液离心上清中PAF和TNF $\alpha$ 水平的影响。实验结果显示,与PBS处理组、抗体TSP-3以及正常兔IgG组相比,抗体TSP-2能抑制小鼠因腹腔炎症引起的扭身次数、腹腔灌洗液中伊文思蓝OD值降低、腹腔灌洗液中白细胞渗透和C48/80诱导的腹腔肥大细胞脱颗粒。提示抗体TSP-2可能通过对肥大细胞脱颗粒的抑制作用减轻酵母多糖诱导的小鼠的腹膜炎炎症。

三、抗mTLR-2ECD抗体TSP-2对小鼠过敏性哮喘气道炎症的影响

已知在小鼠实验性过敏性哮喘模型中,某些TLR2的配基如PGN、Pam3CSK4能介导肥大细胞活化脱颗粒从而加剧过敏性哮喘的炎症反应,这说明TLR2通过与其配基的相互作用介导肥大细胞活化进而参与了过敏性哮喘,但尚未见关于TLR2与其抗体作用参与过敏性反应的相关研究报道。

本部分实验利用OVA诱导的小鼠哮喘模型,观察了抗体TSP-2对小鼠过敏性哮喘模型气道炎症的影响。模型动物采用纯系BALB/c小鼠,根据激发哮喘前尾静脉注射的液体不同分为TSP-2组、正常兔IgG组、PBS组和正常未致敏组,各组分别在0和14天利用100 $\mu$ g的OVA福氏完全佐剂混合后腹腔免疫小鼠,并在第14天,鼻内麻醉小鼠,补加免疫1次,即用100 $\mu$ gOVA40 $\mu$ l给小鼠滴鼻;各组分别在第25、26和27天利用OVA激发诱导过敏性哮喘,各组用含10 $\mu$ gOVA的PBS40 $\mu$ l滴鼻,正常对照组用等量PBS滴鼻;除正常对照组外,各组在每次OVA激发前6h根据分组分别进行尾静脉注射兔IgG(3mg/kg)、抗体TSP-2(3mg/kg)和PBS。实验结果发现静脉给予抗体TSP-2能有效的抑制气道炎症和炎症细胞的浸润。与正常兔IgG相比,抗体TSP-2的抑制作用主要表现在以下几个方面:肺泡灌洗液中的白细胞浸润减少;减轻攻击后血清中游离OVA特异性IgE抗体浓度的降低;肺脏常规切片观察结果也表明抗体TSP-2能抑制OVA诱导的小鼠过敏性哮喘模型肺脏有肺泡毛细血管充血水肿等病理变化;但肺泡灌洗液和肺脏常规切片中少见过敏反应特征性细胞嗜酸性细胞的渗出和浸润。上述实验结果说明了抗体TSP-2对过敏性哮喘的病理变化有一定的抑制作用,其有关机制的研究仍在进行中。

2. 外文期刊 Reddy, RC. Chen, GH. Newstead, MW. Moore, T. Zeng, X. Tateda, K. Standiford, TJ [Alveolar macrophage deactivation in murine](#)

[septic peritonitis: role of interleukin 10.](#)

Sepsis predisposes the host to a number of infectious sequelae, particularly the development of nosocomial pneumonia. Mechanisms by which sepsis results in impairment of lung antibacterial host defense have not been well defined. Alveolar macrophages (AM) represent important immune effector cells of the lung airspace. In this study, we examined the effects of cecal ligation and puncture (CLP) on murine AM function ex vivo, including the expression of proinflammatory cytokines and AM phagocytic activity. AM were harvested from mice subjected to a sham operation and CLP 24 h after laparotomy, adherence purified, and challenged with lipopolysaccharide (LPS) or left unstimulated. Both unstimulated and LPS-stimulated AM from mice subjected to CLP (CLP mice) produced significantly smaller amounts of proinflammatory cytokines tumor necrosis factor alpha and interleukin (IL-12) and C-X-C chemokines KC and macrophage inflammatory protein 2 than similarly treated AM from animals subjected to a sham operation. Furthermore, AM isolated from CLP mice displayed a marked impairment in phagocytic activity, as determined by flow cytometry, with this defect persisting to 48 h post-CLP. Induction of peritoneal sepsis syndrome resulted in a time-dependent increase in IL-10 in plasma and peritoneal fluid. Interestingly, the impairment in AM proinflammatory-cytokine production and phagocytic activity observed in AM from CLP mice was partially reversed by the in vivo neutralization of IL-10 prior to AM harvest. These observations suggest that abdominal sepsis syndrome results in significant impairment in AM effector cell function, which is mediated, in part, by sepsis-induced expression of IL-10.

3. 学位论文 [苏艳军 NO与PAAF诱导的大鼠急性肺损伤的实验研究](#) 2007

目的：1. 探讨一氧化氮(NO)在腹腔注射胰腺炎相关性腹水(PAAF)诱导的大鼠急性肺损伤(ALI)中的作用；2. 建立上消化道穿孔性腹膜炎(PP)动物模型，腹腔注射穿孔性腹膜炎相关性腹水(PPAF)诱导大鼠急性肺损伤，探讨腹腔注射PAAF诱导ALI的非特异性。

方法  
SD大鼠160只，40只大鼠采用胆胰管逆行推注5%牛磺胆酸钠(1ml/Kg)建立急性坏死性胰腺炎动物模型，7h后收集胰腺炎相关性腹水(PAAF)；40只大鼠采用横断十二指肠球部1/2，并将胃窦部下拉悬吊于中腹部，建立上消化道穿孔性腹膜炎(PP)动物模型，7h后收集穿孔性腹膜炎相关性腹水(PPAF)，腹水经离心处理。80只大鼠随机分为：生理盐水组(n=16)：腹腔注射生理盐水20ml/Kg；PAAF组(n=16)：腹腔注射PAAF20ml/Kg；PPAF组(n=16)：腹腔注射PPAF20ml/Kg；PAAF+L-Arg组：腹腔注射PAAF前10min外周静脉注射L-Arg100mg/Kg；PPAF+L-Arg组：腹腔注射PPAF前10min外周静脉注射L-Arg100mg/Kg。各组大鼠随机分设7h、12h两个亚组，同时随机取ANP模型和PP模型7h大鼠8只作为模型对照组(ANP组和PP组)。行外周血WBC、血清NO和MDA水平测定、肺组织病理损害评分、肺组织湿/干比、肺组织MPO测定和流式细胞仪肺组织细胞PI单染检测细胞凋亡率。以SPSS11.5医学统计软件包进行数据分析，P<0.05认为差异有统计学意义。

结果  
腹腔注射PAAF和PPAF的大鼠12h的血清NO、MDA、肺细胞凋亡率、BALF水平和肺湿干比显著高于7h(P<0.05或P<0.01或P=0.000)，且12h的外周血WBC、血清NO、MDA、肺细胞凋亡率、BALF蛋白水平和肺湿干比分别达到ANP模型和PP模型组7h水平(P>0.05)。PAAF+L-Arg组和PPAF+L-Arg组7h和12h血清NO显著高于PAAF组和PPAF组(P<0.01或P=0.000)，7h和12h血清MDA、肺组织MPO、肺组织湿干比、肺组织病理损害评分、肺细胞凋亡率和BALF蛋白含量均显著低于PAAF和PPAF组同时时间点(P<0.05或P<0.01或P=0.000)。PAAF+L-Arg组7h、12h与PPAF+L-Arg组7h、12h各指标无显著性差异(P>0.05)。ANP和PP模型组血清NO与血清MDA、肺组织、MPO、BALF总蛋白和肺细胞凋亡率呈正相关关系；各组各时间点血清MDA与肺细胞凋亡率呈正相关关系。PAAF组、PPAF组、PAAF+L-Arg组和PPAF+L-Arg组各时间点血清NO与血清MDA、肺组织MPO、BALF总蛋白和肺细胞凋亡率呈负相关关系。

结论  
1. 健康大鼠腹腔注射PAAF和PPAF均可诱导大鼠ALI；2. 氧化与抗氧化系统的失衡是腹腔注射PAAF诱导大鼠急性肺损伤的病理基础；3. 肺细胞凋亡也参与了PAAF诱导的ALI；4. NO通过抑制中性粒细胞的肺内浸润而减轻其氧化作用，减轻肺泡毛细血管通透性和抗细胞凋亡作用来减轻PAAF诱导的ALI。

4. 期刊论文 [毛文忠. 张长. 颜鸣鹤 肝肺综合征非创伤性诊断及相关因素分析 -临床内科杂志](#)2002, 19(1)

目的探讨肝肺综合征(HPS)的临床相关因素和非创伤性诊断.方法对74例肝肺硬化患者进行B超检查、胸部X线摄片、同步检测血气分析和电解质及肺功能,然后计算肺泡气-动脉血氧分压差[P(A-a)O2].结果 P(A-a)O2≥2.0 kPa者发生低氧血症占60.0%(36/60),而P(A-a)O2<2.0 kPa者发生低氧血症仅占7.1%(1/14),两者比较差异有非常显著性(x2=12.96,P<0.01).同时低氧血症与患者年龄、病毒感染模式、肝功能Child分级、自发性细菌性腹膜炎、肝性脑病、胸部X线片表现及肺活量等均无明显相关.而P(A-a)O2异常多见于肝功能Child B、C级和门脉高压患者.结论仅凭低氧血症和动脉血氧饱和度诊断HPS不确切,P(A-a)O2增大≥2.0 kPa是非创伤性诊断HPS的有效指标.

5. 学位论文 [徐旋里 甘露糖对急性肺损伤的保护作用及其通过甘露糖受体抑制脂多糖诱导的巨噬细胞炎症](#) 2008

前言：  
急性肺损伤(acute lung injury, ALI)，是呼吸系统疾病中的危重症，其定义是：心源性以外的各种肺内外致病因素引起的急性，进行性缺氧性呼吸衰竭，是肺部炎症和通透性增加的综合征。目前认为，肺内过度性、失控性炎症反应是导致各种病因所致ALI的根本原因。而目前对ALI仍没有确切有效又安全低副作用的药物。  
随着糖生物学的发展，某些糖类的抗失生物学功能逐渐被认识。甘露糖这一简单的己糖已被发现具有抗炎作用。甘露糖能抑制伤口愈合时的炎症反应，抑制中性粒细胞的氧化爆发，甘露糖的衍生物对腹膜炎，佐剂性关节炎有抗炎作用。那么甘露糖对炎症过度反应的ALI有无作用？目前国内外未见报道。

目的：  
研究甘露糖对脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)诱导的大鼠急性肺损伤的保护作用；并比较它与另外三种具有相同分子量的己糖(葡萄糖，半乳糖，果糖)对ALI的抗炎效应。  
方法：  
雄性SD大鼠，随机分为10组：  
1. 对照组；  
2. LPS组；  
3-6. 甘露糖不同剂量组(15, 45, 135, 405 mg/kg)；  
7-9. 葡萄糖，半乳糖，果糖(135 mg/kg)组；  
10. 地塞米松(dexamethasone, DXM) (2 mg/kg)组。通过气管内滴注LPS(3mg/kg)建立ALI模型，在滴注前5分和滴注后3小时，尾静脉注射各组用药。滴注LPS 6小时后处死动物，行肺湿/干重比，肺渗透指数(pulmonary permeability index, PPI)，支气管肺泡灌洗液(bronchoalveolar lavage fluid, BALF)中白细胞和中性粒细胞计数，肺和BALF中髓过氧化物酶(myeloperoxidase, MPO)，超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性，肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)-α，白介素(interleukin, IL)-10检测，并观察光学显微镜下肺损伤的程度。

结果：  
1. 甘露糖减轻LPS诱导的肺水肿和蛋白渗出LPS组的肺湿/干重比(4.56±0.16)与正常组(4.30±0.18)比较明显升高(P<0.01)，DXM(阳性对照药) (2 mg/kg)静脉注射明显抑制LPS诱导的肺部水肿(P<0.05)，静脉注射甘露糖(135, 405 mg/kg)减少肺湿/干重比(P<0.05)；甘露糖405 mg/kg的作用强度相当于DXM 2 mg/kg。半乳糖，葡萄糖和果糖135mg/kg静脉注射不能减轻肺水肿。同时，甘露糖能明显抑制PPI的上升，甘露糖135 mg/kg(4.32±0.45)和405 mg/kg(4.04±0.86)的抑制效应均强于DXM 2 mg/kg(4.37±0.88)，相反，葡萄糖，半乳糖，果糖并无明显的抑制作用。  
2. 甘露糖抑制LPS诱导的肺部炎症细胞浸润气道内滴入LPS引起肺部急性的炎症反应，使BALF中的白细胞数急剧上升。DXM(2 mg/kg)能明显减少LPS诱导的BALF中的白细胞数(P<0.01)。甘露糖15、45、135和405 mg/kg静脉注射呈剂量依赖性地减少肺部炎症细胞的聚集，使BALF中白细胞数以及中性粒细胞数明显下降。而葡萄糖，半乳糖，果糖135 mg/kg并无明显的抑制作用。甘露糖135 mg/kg与其它三种己糖135mg/kg的效应具有显著性差别(p<0.05)。  
3. 甘露糖对MPO和SOD活力的影响LPS组肺匀浆中和BALF中MPO水平升高，与对照组比较分别上升了26.3%和19.5%(P<0.05)。甘露糖剂量依赖性地减少LPS诱导的肺匀浆中和BALF中MPO活性的上升，甘露糖405 mg/kg的抑制强度相当于DXM 2 mg/kg。相反，葡萄糖，半乳糖，果糖组的肺匀浆中和BALF中的MPO均未见降低。同时，LPS组SOD活力下降，而静脉注射甘露糖剂量依赖性地减少LPS诱导的SOD活力下降。静脉给予DXM或其它三种己糖对SOD活力升高均无明显作用。甘露糖135 mg/kg与其它三种同样剂量的己糖的作用具有显著性差异(P<0.05)。  
4. 甘露糖抑制TNF-α和IL-10的产生LPS组的肺匀浆和BALF中的TNF-α水平显著上升，分别达到对照组的6倍和40倍(P<0.01)。甘露糖剂量依赖性地减轻LPS诱导的TNF-α的上升，DXM 2mg/kg静脉注射也有明显的抑制作用(p<0.05)，而葡萄糖，半乳糖，果糖没有明显作用。抗炎因子—IL-10在肺匀浆中的水平于各组中均无显著性差异(数据未显示)。在BALF中，LPS组的IL-10水平升高，甘露糖135 mg/kg组，405 mg/kg组及DXM组的IL-10水平均有明显下降(P<0.05)。  
5. 甘露糖改善LPS诱导的肺部病理损伤对照组大鼠肺组织HE染色可见肺泡结构完整，肺泡壁无水肿，肺实质无明显炎症细胞浸润，LPS组大鼠肺泡壁明显水肿增厚，肺间质中性粒细胞明显浸润，有出血、水肿及中性粒细胞移行至肺泡腔，肺泡腔内透明膜形成。甘露糖45, 135, 405 mg/kg和DXM 2 mg/kg减轻了LPS诱导的肺部炎症。低剂量甘露糖(15mg/kg)，以及其它三种己糖并无明显的作用。同时，LPS组肺损伤病理评分(4.8±0.4)比对照组(0.2±0.1)明显增高(P<0.01)。甘露糖15、45、135和405mg/kg静脉注射呈剂量依赖性降低肺损伤病理评分，其分值分别是：4.6±0.3，3.8±0.4，2.5±0.4，及1.9±0.3。葡萄糖，半乳糖，果糖组与LPS组比较，肺损伤病理评分无显著差异(P>0.05)。

结论：  
静脉注射甘露糖能降低LPS诱导大鼠急性肺损伤时的肺部毛细血管通透性的增加，减少蛋白渗出及肺水含量，减轻肺组织中PMN浸润程度，抑制肺组织和BALF中TNF-α水平升高，降低肺组织和BALF的MPO水平，提升肺组织SOD活力，并改善肺组织炎症病理变化。而另外三种单糖—葡萄糖，半乳糖和果糖，对LPS诱导的大鼠ALI无明显作用。

6. 外文期刊 [Santos VV.Frode TS.Medeiros YS Analysis of the temporal events in blood and tissues following fecal peritonitis in mice.](#)

BACKGROUND: The kinetics of systemic responses triggered by bacterial peritonitis were analysed in the blood, bronchoalveolar lavage (BAL) and several organs. MATERIALS AND METHODS: The murine model of cecal ligation and puncture was employed. The parameters were analysed at different periods of time (4 to 72



h). RESULTS: Fecal peritonitis triggered a progressive, but not significant, decline of blood leukocytes between 4 and 6 h, becoming significant at 24 to 48 h (p<0.05). This profile was closely associated with the enhancement of leukocytes both in the abdomen (p<0.05) and in the BAL (p<0.05). A significant abdominal exudation was detected between 4 and 72 h (p<0.01), whereas maximal growth of aerobic bacteria in the blood and lungs was observed 24 and 72 h after. Maximal exudation in the studied tissues occurred at different time points (heart=24 h, spleen and kidney=48 h, liver and lung= 72 h). CONCLUSION: Using this model, evidence of sepsis can be easily measured in different body systems.

7. 期刊论文 [苗健, 陈晓燕, 李宏, 王晓炜, 孙媛, MIAO Jian, CHEN XIAO-yan, LI Hong, WANG Xiao-wei, SUN Yuan 复方清下汤对脓毒症大鼠细胞因子白介素-1、白介素-6调控及肺损伤的作用 -中国微生态学杂志2010, 22\(1\)](#)

目的 盲肠结扎穿孔导致大肠埃希菌腹膜炎进而建立脓毒症肺损伤大鼠模型,检测炎症反应时,细胞因子的调控变化,探讨肺水肿的形成机制.经复方清下汤处理后检测上述变化.方法 将健康SD大鼠随机分为4组,每组10只:假手术组(SHAM组),只翻动盲肠,不做其他处理;脓毒血症肺损伤组(模型组),盲肠结扎穿孔诱发急性肺损伤(ALI)模型;盲肠结扎穿孔+复方清下汤组(造模后立即灌胃给药,造模后8 h再次灌胃1次,剂量:10 ml/kg);盲肠结扎穿孔+头孢哌酮舒巴坦组(抗生素舒普深)(造模后立即静脉注射1次,造模后8 h再次静脉注射1次,剂量:0.2 g/kg),造模24 h后收集标本.分别观察大鼠的一般状态,留取下腔静脉血清进行白介素-1(IL-1)、白介素-6(IL-6)的测定.镜下观察肺组织病理形态学改变,测量肺湿/干比值的变化.结果 与SHAM组比较,模型组IL-1、IL-6水平明显升高(P<0.01),肺间质和肺泡内水肿,伴大量红细胞渗出(出血)和纤维素沉积,肺泡间隔毛细血管内皮细胞高度肿胀.肺湿/干比值明显增加(P<0.01),抗生素及中药处理组与模型组比较,IL-1、IL-6水平明显降低(P<0.01),肺湿/干比值明显降低(P<0.01),肺组织镜下表现:中药处理组及抗生素组组较模型组肺泡间隔变窄,毛细血管内皮细胞肿胀减轻,出血减轻,纤维素渗出明显减少.结论 实验应用放免检测、显微镜观察以及称量肺湿/干比值等手段,进一步证实了脓毒血症大鼠肺损伤时血清中主要的炎症细胞因子IL-1、IL-6过度表达的情况,并从病理学角度,证实炎症介质的过度表达是造成脓毒症肺损伤的重要原因.经复方清下汤处理的动物模型得到相反结论,为治疗脓毒血症大鼠肺损伤提供一个可能的新的手段.

8. 期刊论文 [朱友荣, 龚小慧, 吕勇, 王传清, 朱列伟, 张灵恩, 孙波 肺表面活性物质和吸入一氧化氮治疗感染性急性肺损伤 -中华急诊医学杂志2004, 13\(10\)](#)

目的 研究肺表面活性物质(Surf)和吸入一氧化氮(iNO)治疗幼猪感染性腹膜炎诱发急性肺损伤(ALI)的作用及疗效.方法 健康雄性幼猪(7.5±0.5)kg 30只,随机分为5组,每组6只:正常组(N组),对照组(C组),吸入一氧化氮组(NO组),肺表面活性物质组(Surf组),联合应用Surf和吸入NO组(SNO组).正常组腹腔注射无菌生理盐水后,单纯机械通气;其余动物腹腔注射标准大肠杆菌菌株诱发ALI后再随机分为四组进行治疗.监测血气,呼吸力学,支气管肺泡灌洗液(BALF)成分分析和肺病理改变.结果 腹腔注射大肠杆菌后4~6 h动物出现ALI,C组动静脉血氧合(PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub>)和呼吸系统动态顺应性(C<sub>dyn</sub>)显著性下降,治疗后SNO组有较高的PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub>和C<sub>dyn</sub>(与C组比较P<0.01),肺组织病理损害较轻;与SNO组相比,单独应用Surf效果稍差;NO组对C<sub>dyn</sub>肺组织病理损害改善不明显.结论 联合应用Surf和吸入NO能明显改善氧合、肺功能,减轻肺病理损害,延缓肺损伤的进展.

9. 期刊论文 [苗健, 孙媛, 陈晓燕, 陈海龙, MIAO Jian, SUN Yuan, CHEN Xiao-yan, CHEN Hai-long 复方清下汤对脓毒症大鼠细胞因子调控及其肺损伤的作用 -中国微生态学杂志2009, 21\(7\)](#)

目的 盲肠结扎穿孔导致大肠埃希菌腹膜炎进而建立脓毒症肺损伤大鼠模型,检测炎症反应时,细胞因子的调控变化,探讨肺水肿的形成机制.经复方清下汤处理后检测上述变化,以期为脓毒症肺损伤的防治提出可能的新途径.方法 将健康SD大鼠随机分为4组,每组10只:假手术组(SHAM组),只翻动盲肠,不做其他处理;脓毒症肺损伤组(模型组),盲肠结扎穿孔诱发AL(急性肺损伤)I模型;盲肠结扎穿孔+复方清下汤组(造模后立即灌胃给药,造模后8 h再次灌胃1次,剂量为10 ml/kg);盲肠结扎穿孔+头孢哌酮/舒巴坦组(抗生素舒普深)(造模后立即静脉注射1次,造模后8 h再次静脉注射1次,剂量为0.2 g/kg)造模24 h后收集标本.分别观察大鼠的一般状态,肺组织匀浆 MPO 的测定,留取下腔静脉血清进行TNF-α的测定.镜下观察肺组织病理形态学改变,测量肺湿/干比值的变化.结果 与SHAM组比较,模型组MPO、TNF-α水平明显升高(P<0.01),肺间质和肺泡内水肿,伴大量红细胞渗出(出血)和纤维素沉积,肺泡间隔毛细血管内皮细胞高度肿胀.肺湿/干比值明显增加(P<0.01),抗生素及中药处理组与模型组比较,MPO、TNF-α水平明显降低(P<0.01),肺湿/干比值明显降低(P<0.01),肺组织镜下表现:中药处理组及抗生素组较模型组肺泡间隔变窄,毛细血管内皮细胞肿胀减轻,出血减轻,纤维素渗出明显减少.结论 脓毒症大鼠肺损伤时细胞因子TNF-α过度表达,炎症介质的过度表达可能是造成脓毒症肺损伤的重要原因,而复方清下汤可以减轻脓毒症时的肺损伤和抑制TNF-α的表达,它们之间可能存在一定的联系.

10. 期刊论文 [莫扬, 许小东, MO Yang, XU Xiao-dong 流式细胞术检测体液T淋巴细胞亚群的临床应用 -国际检验医学杂志2010, 31\(1\)](#)

目的 探讨胸水、腹水、肺泡灌洗液T淋巴细胞亚群的检测方法及其临床价值.方法 采用流式细胞术检测良、恶性疾病患者的50例胸水、46例腹水、47例肺泡灌洗液(BALF)中T淋巴细胞亚群的水平并分组进行比较.结果 1)胸水:结核性胸膜炎组胸水Ts细胞占T淋巴细胞的(27.36±4.1)%、Th细胞占T淋巴细胞的(67.98±7.41)%、Th/Ts比值为2.60±0.64,肺部恶性肿瘤组胸水Ts细胞占T淋巴细胞的(67.97±4.20)%、Th细胞占T淋巴细胞的(37.61±4.80)%、Th/Ts比值为0.47±0.10,与结核性胸膜炎组比较,恶性组Th、Th/Ts比值显著下降(P<0.01)而Ts显著升高(P<0.01);2)肺泡灌洗液:肺良性疾病组肺泡灌洗液Ts细胞占T淋巴细胞的(44.54±9.56)%、Th细胞占T淋巴细胞的(49.28±12.88)%、Th/Ts比值为1.13±0.29,肺部恶性肿瘤组肺泡灌洗液Ts细胞占T淋巴细胞的(65.11±7.77)%、Th细胞占T淋巴细胞的(34.57±6.65)%、Th/Ts比值为0.54±0.19,与良性病变组比较,恶性组Th下降(P<0.05),Th/Ts比值显著下降(P<0.01),而Ts显著升高(P<0.01);3)腹水:结核性腹膜炎组腹水Ts细胞占T淋巴细胞的(33.11±3.34)%、Th细胞占T淋巴细胞的(66.69±3.78)%、Th/Ts比值为2.03±0.28,恶性组腹水Ts细胞占T淋巴细胞的(56.64±9.34)%、Th细胞占T淋巴细胞的(35.86±3.30)%、Th/Ts比值为0.65±0.10,与结核性腹膜炎组比较,恶性组Th、Th/Ts比值显著下降(P<0.01),而Ts显著升高(P<0.01).结论 胸腹水、肺泡灌洗液T淋巴细胞亚群检测可用于分析性质并有助于评估患者局部免疫功能状态.

本文链接: [http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical\\_lcxewkzz200702016.aspx](http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_lcxewkzz200702016.aspx)

授权使用: 黔南民族师范学院(gnnzsfxy), 授权号: 063e8832-ffd3-46ee-b3bc-9ed4011062d3

下载时间: 2011年4月29日