

## 腺苷对肺再灌注损伤时中性粒细胞 CD11b/CD18 的影响

王 锋 王佳祥 崔识远 张建卿 程兆云 谢周良

**摘要** 目的:探讨腺苷预处理对肺缺血再灌注(I/R)全身炎性反应损伤的抑制作用。方法:60 只大耳白兔无特定病原体动物(SPF)随机分为 3 组,每组 20 只。I 组未行缺血再灌注处理;II 组行左肺缺血再灌注处理;III 组行左肺缺血再灌注处理,并于术前 10 min 经颈静脉给予腺苷(adenosine)。采用在体肺缺血再灌注损伤模型,分别于缺血 45 min,再灌注 1,2,4 h 流式细胞仪测定 CD11b/CD18-FITC 标记的中性粒细胞(PMN)阳性细胞百分率及左肺组织湿干质量比的变化。结果:II 组再灌注后各时点 CD11b/CD18 表达及左肺组织湿干质量比显著高于 I 组和 III 组( $P < 0.01$  或  $P < 0.05$ ),结论:腺苷预处理可抑制 PMN 表面 CD11b/CD18 表达的上调,减轻肺血管内皮细胞的损伤。

**关键词** 肺 腺苷 缺血预处理 再灌注损伤 抗原,CD11b 抗原,CD18 兔

### The Effect of Adenosine Preconditioning on the Expression of Neutrophil CD11b/CD18 During Reperfusion Lung Injury in Rabbit

WANG Feng, WANG Jiexiang, CUI Shiyuan, ZHANG Jianqing, CHENG Zhaoyun, XIE Zhouliang

Department of Cardiovascular Surgery, Henan People's Hospital, Zhengzhou 450003, China

**Abstract Objectives:** To study the inhibition of adenosine preconditioning on ischemia-induced systematic inflammatory response to lung injury. **Methods:** The vivo rabbit ischemia model with occlusion of left pulmonary hilus for 45 minutes was established in this experiment. Sixty white rabbits were divided into three groups, which included group I ( $n = 20$ ) without ischemia-reperfusion, group II ( $n = 20$ ) with ischemia-reperfusion and Group III ( $n = 20$ ) with adenosine intravenous injection at 10 minutes before ischemia-reperfusion. The changes of left lung wet-dry weight and the expression of CD11b or CD18 were measured in each group at the time of 1, 2 and 4 hours reperfusion after 45 minutes of pulmonary ischemia. **Results:** In group II, the expression of CD11b or CD18, left lung wet-dry weight were increased significantly after reperfusion ( $P < 0.01$ ). In group III, the changes were smaller compared with Group II ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** Adenosine preconditioning can inhibit the expression of CD11b/CD18 on systematic ischemia-induced inflammatory response and prevent ischemia-reperfusion lung endothelium injury.

**Key words** lung adenosine ischemic preconditioning reperfusion injury antigens, CD11b antigens, CD18 rabbits

缺血预处理 (Ischemia Preconditioning, IPC) 目前被认为是机体最强有力的内源性保护措施,随着人们对其特点及其发生机制的认识,人们期待将预处理现象用于药理学开发,即药物预处理(Pharmacological Preconditioning, PPC),由于其易行有效,便于控制剂量,因而药物预处理(PPC)具有潜在的临床应用前景。本实验采用临床应用的药物——腺苷(adenosine)来模拟 IPC,通过对中性粒细胞(PMN)表面黏附分子 CD11b/CD18 表达的影响,探讨其在炎性反应中的作用。

### 1 材料与方法

**1.1 材料** 60 只无特定病原体动物(SPF)大耳白兔(山西医

科大学动物中心提供),体质量( $3.0 \pm 0.5$ ) kg,雌雄不拘,随机分为 3 组,每组 20 只。I 组:对照组,仅行开胸,未行缺血再灌注处理;II 组:缺血再灌注组,行左肺缺血再灌注处理;III 组:腺苷(Sigma 公司)预处理组,于术前 10 min 经颈静脉滴入腺苷 1.5 mg/kg,并以  $3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$  速度维持,其他方法同 II 组。I、II 组同样于术前 10 min 静滴与 III 组腺苷等体积的 0.9% 生理盐水。

**1.2 复制动物模型及手术方法** 动物模型采用 Baikhly 等<sup>[1]</sup>法并加以改进,大耳白兔用 3% 戊巴比妥钠 40 mg/kg 腹腔注射麻醉。仰卧位,放置幼儿用气管插管,固定,连接 DH-150 型动物人工呼吸机(浙江大学)控制呼吸,吸呼比为 1:2,呼吸频率 40 次/min。右侧卧位,固定,经左胸后外侧第 4 肋间进入胸腔,游离左侧肺门,静脉注射肝素 50 U,10 min 后,肺充

作者单位:450003 河南省人民医院心外科

气状态下用无损伤动脉夹夹闭左侧肺门(包括肺动静脉,支气管及神经等结构),阻断45 min后松开无损伤动脉夹,恢复血供和通气形成再灌注即制成肺缺血再灌注损伤模型。

**1.3 检测指标和方法** 各组分别于缺血45 min、再灌注1, 2, 4 h经兔颈静脉取血测定如下指标:(1)PMN表面CD11b/CD18表达的测定:每个测定管收集 $1 \times 10^5$ 个细胞,采用Elite流式细胞仪,分析软件为Cellquest,以双参数对数散点图获取数据,用同型对照管设定阳性界限的坐标位置,双阴性细胞最少在95%以上,各管经CD11b/CD18-FITC(北京中山生物技术公司)标记后用流式细胞仪测定得到每群细胞的PMN阳性细胞百分率。(2)肺组织湿干质量比(W/D):将气管隆突分叉以外的整个左肺组织称湿重,80℃烘干72 h后重量为干重,计算湿干质量比(W/D)。

**1.4 统计学处理**数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,行方差分析,组间比较用 $q$ 检验, $P < 0.05$ 为统计学有意义。

## 2 结果

**2.1 PMN表面CD11b/CD18阳性细胞百分率的变化** II组再灌注后PMN表面CD11b/CD18阳性细胞百分率显著高于I组和III组,但III组也高于I组,差别均有统计学意义,见表1。

表1 3组PMN表面CD11b/CD18阳性细胞百分率的变化  
(%,  $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 20$ )

组别	缺血45 min	再灌注1 h	再灌注2 h	再灌注4 h
I组	31.15 ± 3.62	32.09 ± 2.92	32.13 ± 2.11	34.31 ± 3.26
II组	33.26 ± 2.79	62.57 ± 5.83	81.15 ± 8.27	71.14 ± 9.18
III组	33.01 ± 3.81	46.17 ± 6.27	63.72 ± 4.97	55.27 ± 5.59
<i>F</i>	2.11	7.50**	5.41**	6.20**
<i>q</i> I:II		4.97**	6.01**	5.13**
I:III		5.03**	6.54**	5.71**
II:III		5.42**	5.95**	5.57**

\*\* $P < 0.01$

**2.2 左肺组织湿干质量比(W/D)的变化** II组再灌注后各时点左肺组织湿干质量比逐渐升高,显著高于I组和III组,III组也高于I组,差别均有统计学意义,见表2。

表2 3组左肺组织湿干质量比(W/D)的变化  
( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 20$ )

组别	缺血45 min	再灌注1 h	再灌注2 h	再灌注4 h
I组	4.01 ± 0.52	3.99 ± 0.53	4.03 ± 0.49	4.04 ± 0.51
II组	4.11 ± 0.24	4.71 ± 0.21	4.78 ± 0.23	4.97 ± 0.27
III组	4.06 ± 0.29	4.12 ± 0.32	4.33 ± 0.34	4.41 ± 0.31
<i>F</i>	2.93	21.61**	37.51**	26.70**
<i>q</i> I:II		13.29**	14.75**	13.73**
I:III		15.41**	16.72**	16.12**
II:III		11.30**	12.12**	11.40**

\*\* $P < 0.01$

## 3 讨论

本实验采用在体兔缺血再灌注损伤模型来观察腺苷药物预处理(PPC)对肺缺血再灌注全身炎症反应损伤的影响。通过对缺血再灌注过程肺的形态结构变化的观察,证实该动物模型的复制是成功的。

中性粒细胞(PMN)浸润、激活以及肺血管内皮细胞功能低下是肺缺血再灌注损伤的主要原因之一。在整个缺血再灌注损伤过程中,中性粒细胞和血管内皮细胞两者相互作用增强,PMN被激活,产生“呼吸爆发”生成大量氧自由基、蛋白水解酶、细胞因子,如TNF- $\alpha$ 和IL-1、6、8等毒性物质,造成内皮细胞的损伤,同时PMN表面的黏附分子如CD11b/CD18的表达增强,使PMN变形差,发生无复流现象(no-reflow phenomenon),进一步加重细胞的损伤甚至坏死,充分证实PMN和血管内皮细胞在缺血再灌注损伤中起关键作用。

本实验结果表明,3组缺血45 min时的CD11b/CD18比较差别无统计学意义。III组其他各时点CD11b/CD18表达量和左肺湿干质量比均明显低于II组,CD11b/CD18为最丰富PMN整合素,其配体有内皮细胞ICAM-1, C3bi等,其表达的增强可促使PMN牢固黏附于血管内皮细胞,产生毒性物质,腺苷可抑制PMN表面的CD11b/CD18表达上调。腺苷也可减轻由缺血再灌注炎症损伤引起肺血管内水外渗,降低缺血再灌注导致的肺毛细血管通透性的增高。本研究结果也显示缺血再灌注损伤导致机体存在炎症反应,与有关报道相一致,在细胞因子如TNF- $\alpha$ , IL-1等诱导下,可使CD11b/CD18表达明显增强,促使PMN快速黏附固定于血管内皮细胞,说明CD11b/CD18的上调与炎症反应损伤密切相关,另有文献报道CD11b/CD18抗体可减轻炎症反应所致的心肺组织的损伤<sup>[2]</sup>。而腺苷药物可抑制其表达的上调,具有减轻血管内皮、器官组织损伤的作用,其机制可能与腺苷抑制TNF- $\alpha$ 的作用有关<sup>[3]</sup>。Ross等<sup>[4]</sup>在兔缺血再灌注损伤模型上发现一种选择性腺苷A<sub>2a</sub>受体激动剂DWH-146e,可阻断PMN介导的炎症反应,抑制PMN对血管内皮细胞的黏附作用。

综上所述,腺苷抑制CD11b/CD18增高表达的机制可能与促炎因子(包括TNF- $\alpha$ 、白细胞介素、血小板激活因子等)的合成被抑制有关,CD11b/CD18表达上调可认为是炎症反应的重要观察指标之一,在肺缺血再灌注损伤中腺苷药物预处理可抑制

PMN 表面 CD11b/CD18 表达的上调,从而减轻炎症反应损伤,为临床体外循环、肺移植、心肺联合移植等的肺保护提供理论依据。

#### 参考文献

- 1 Baikhy HH, Peterson MB, Connolly RJ, et al. Comparison of eurocollins and university of wisconsin solution in single flush preservation of the ischemia-reperfused lung: an in vivo rabbit model. *Transplantation*, 1995, 59: 1090-1095

- 2 Hill Ge, Alonso A, Spurzom JR, et al. The influence of cardiopulmonary bypass on cytokine and cell-cell communication. *J Cardiothorac Vasc Anesth*, 1997, 11: 367-375
- 3 王锋, 张建卿, 崔识远, 等. 低龄低体质量小婴儿巨大室间隔缺损并肺动脉高压的治疗. *天津医药*, 2004, 32(4): 237-238
- 4 Ross SD, Tribble CG, Linden J, et al. Selective adenosine A<sub>2a</sub> activation reduces lung reperfusion injury following transplantation. *Heart Lung Transplant*, 1999, 18: 994-1002

(2004-05-11 收稿 2004-12-06 修回)

## 短篇与病例报告

### 椎管内神经鞘瘤 41 例临床分析

朱本清 杨海云 江汉

**关键词** 神经鞘瘤 脊髓肿瘤 显微外科手术 预后 随访研究

神经鞘瘤是神经源性肿瘤,患者多因脊髓压迫症状就诊,手术治疗效果好。笔者就本院 1995 年 2 月—2003 年 10 月收治的经手术病理证实的椎管内神经鞘瘤 41 例报告如下。

#### 1 临床资料

**1.1 一般资料** 本组 41 例,男 18 例,女 23 例,颈段 11 例,胸段 25 例,腰段 5 例,占同期收治的椎管内肿瘤的 32.1%,居首位;年龄 19~78 岁,平均 47.3 岁。患者早期多有麻痒胀感,首发症状多为剧烈的根性痛,放射到背部及四肢,后期出现脊髓压迫症状:感觉运动异常,多呈上行性发展,发展较快。X 线平片检查多无阳性改变,2 例有椎弓根的间距增宽,1 例压迫性椎板骨吸收。MRI 平扫 T1 加权像略高或等于脊髓的信号,边缘光滑,脊髓受压移位变形, T2 加权像上肿瘤信号增加,注射钆双胺注射液(Gd-FDPA)后 T1 像上肿瘤呈明显强化。本组 16 例行脊髓造影和 CTM 检查:呈不同程度充盈缺损,完全及不完全梗阻。

**1.2 治疗方法** 颈胸段肿瘤局麻下手术,腰段肿瘤硬膜外麻醉下手术,术中根据术前定位行全椎板减压,彻底止血,清晰暴露肿瘤,39 例位于硬膜内髓外,2 例位于硬膜外,4 例呈哑铃形,仔细剥离肿瘤的粘连带,3 例与脊髓粘连较重行囊内切除,余囊外切除。哑铃形肿瘤均一期手术切除。

**1.3 结果** 本组患者术后症状无加重,术后 2 周感觉、肌力有不同程度恢复,痛觉过敏者完全消失。32 例(占 80.5%)随访 0.5~9 年,平均 3.8 年,其中 22 例症状完全消失,恢复正常工作与学习,6 例有劳累后腰背部疼痛,3 例残留双下肢麻木,31 例工作生活能力基本恢复,1 例二便失禁,9 例因搬迁失访。随访患者均无复发。

#### 2 讨论

神经鞘瘤是良性肿瘤,多发于颅内及椎管内。在椎管内肿瘤中占首位,发病率为 25%~50%,多发于硬膜内髓外,长度

多为 1~2 个脊髓节段,好发于脊髓背侧,呈长椭圆形,沿椎间孔长向椎管外生长呈哑铃形<sup>[1]</sup>。本病多因顽固性根性疼痛和脊髓压迫症状而就诊,CT 平扫及良好的 X 线片可见骨质的压迫性吸收,CTM、MRI 及脊髓造影可显示肿瘤的大小、部位,与硬膜的关系,增强 MRI 可显示肿瘤血运情况,肿瘤质地,有助于肿瘤定位、定性的诊断<sup>[2]</sup>。

因与脊髓、神经根相邻,若肿瘤较大,有广泛粘连时易损伤脊髓及神经根,手术的难度及风险较大。本组患者术前均行棘突注射针头定位,这样可以减小切口及椎板减压范围,避免不必要的组织破坏。颈、胸段肿瘤均局麻手术,术中患者清醒状态下密切配合,明确有无脊髓神经副损伤。为保持术野清晰,可应用双极电凝彻底止血,棉片蘸血。肿瘤切除时可由一极或两极向中央会师,仔细剥离粘连带,对于较大的肿瘤,可先行囊内切除,瘤体萎陷后仔细剥离肿瘤包膜完整切除;哑铃形肿瘤一般先切除椎管内部分,探索到椎间孔,再由椎旁肿瘤中央部切口或按原切口行椎管外肿瘤切除。粘连较重的肿瘤,术中应用针麻仪鉴别粘连带中是否有神经组织,避免误伤神经,粘连带与神经和脊髓无法剥离的,不要以牺牲功能为代价强行肿瘤囊外切除。对于髓内肿瘤的切除,针麻仪的应用更具有临床指导意义。对脊髓、神经干扰较大时术中、术后可应用脱水剂及激素冲击治疗,术后给予营养神经、预防感染治疗。手术治疗是本病的最好方法,诊断一旦明确应及时手术治疗,能获得满意效果。

#### 参考文献

- 1 谭郁彬,张乃鑫主编.外科诊断病理学.天津:天津科学技术出版社,2000. 953-955
- 2 杨淑慧,来颖,李多,等.椎管内肿瘤的 MRI 诊断.中国影像技术,1999, 15(8):615-616

(2004-12-24 收稿 2005-03-25 修回)

作者单位:300130 天津市人民医院骨创科