

## • 论著 •

己酮可可碱对内毒素诱导大鼠心肌细胞  
细胞间黏附分子-1 表达的影响及其机制

顾建军 孙华

**【摘要】** 目的 观察己酮可可碱(PTX)对内毒素(LPS)诱导大鼠心肌细胞间黏附分子-1(ICAM-1)表达的影响,探讨 PTX 对心肌的保护作用及其机制。方法 将培养的心肌细胞分为 3 组:空白对照组、LPS 损伤组和药物保护组。空白对照组心肌细胞不予任何处理。LPS 组心肌细胞中一部分用 100  $\mu\text{g/L}$  LPS 刺激 2、4、6 和 8 h,另一部分用 10、50 和 100  $\mu\text{g/L}$  LPS 刺激 6 h,采用酶联免疫吸附法(ELISA)检测心肌细胞 ICAM-1 的表达,免疫细胞化学法检测核转录因子- $\kappa\text{B}$ (NF- $\kappa\text{B}$ ) p65 的表达,蛋白质免疫印迹法(Western blot)检测 NF- $\kappa\text{B}$  抑制蛋白- $\alpha$ (I $\kappa\text{B}$ - $\alpha$ )表达;并观察 LPS 处理前加入 50、100、200 mg/L PTX 对心肌细胞 ICAM-1 表达的影响。结果 心肌细胞 ICAM-1 表达与 LPS 刺激呈时相-剂量依赖方式;LPS 刺激可迅速活化 NF- $\kappa\text{B}$  p65,于 1 h 时达高峰;I $\kappa\text{B}$ - $\alpha$  表达先降低后升高;加入 PTX 后大鼠心肌细胞 ICAM-1、NF- $\kappa\text{B}$  p65 表达下降,I $\kappa\text{B}$ - $\alpha$  升高。结论 PTX 可通过抑制 ICAM-1 上游 NF- $\kappa\text{B}$  途径对 LPS 造成的心肌损伤起保护作用。

**【关键词】** 内毒素; 心肌细胞; 细胞间黏附分子-1; 核转录因子- $\kappa\text{B}$ ; 己酮可可碱

**Effects and mechanism of pentoxifylline on the expression of intercellular adhesion molecule - 1 in the rat cardiac myocytes after lipopolysaccharide challenge** GU Jian-jun, SUN Hua. Department of Intensive Care Unit, The Second Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu, China

**【Abstract】 Objective** To investigate the effects of pentoxifylline (PTX) on the expression of intercellular adhesion molecule - 1 (ICAM - 1) of rat cardiac myocytes after lipopolysaccharide (LPS) challenge in vitro, and to evaluate the protective effect of PTX on cardiac myocytes and its mechanism. **Methods** Cultured cardiac myocytes were randomly divided into three groups: control group, LPS group and PTX protection group. No drug was given in the control group. In LPS group, a part of cardiac myocytes were stimulated with 100  $\mu\text{g/L}$  of LPS for 2, 4, 6, 8 hours, respectively, and the others were stimulated with 10, 50, 100  $\mu\text{g/L}$  LPS, respectively, for 6 hours. Expression of ICAM - 1, nuclear factor -  $\kappa\text{B}$  (NF -  $\kappa\text{B}$ ) p65 and NF -  $\kappa\text{B}$  inhibitor -  $\alpha$  (I $\kappa\text{B}$  -  $\alpha$ ) in cardiac myocytes was respectively measured with enzyme - linked immunoadsorbent assay (ELISA), immunohistochemistry, and Western blot. The expression of ICAM - 1 in cardiac myocyte was also determined after the addition of 50, 100, 200 mg/L of PTX before LPS challenge. **Results** The intensity of expression of ICAM - 1 was highly dependent on the stimulation of LPS in dose depending and time - depending manner. The stimulation quickly resulted in activation of NF -  $\kappa\text{B}$  p65 to translocate into nuclei. This process peaked at 1 hours and then declined. The expression of I $\kappa\text{B}$  -  $\alpha$  was depressed at first, then elevated. With the addition of PTX, the expression of ICAM - 1 and NF -  $\kappa\text{B}$  p65 was depressed, and the expression of I $\kappa\text{B}$  -  $\alpha$  was elevated. **Conclusion** PTX may have a protective effect on the cardiac myocytes against LPS injury through inhibiting the pathway of NF -  $\kappa\text{B}$ , which regulates the production of ICAM - 1.

**【Key words】** lipopolysaccharide; cardiac myocyte; intercellular adhesion molecule - 1; nuclear factor -  $\kappa\text{B}$ ; pentoxifylline

内毒素即脂多糖(LPS),是革兰阴性菌细胞壁的主要成分,是脓毒症的触发因素及引起休克和炎症反应的关键介质之一,常引发全身炎症反应并可能导致多器官功能障碍综合征(MODS),使心脏受累、心功能受损<sup>[1]</sup>。细胞间黏附分子-1 (intercellular adhesion molecule - 1, ICAM - 1)参与中性粒细胞黏附心肌细胞释放细胞毒过程,在心肌细胞坏死过

程中起关键作用<sup>[2]</sup>。LPS 和一些细胞因子如肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF -  $\alpha$ )、 $\gamma$ -干扰素(IFN -  $\gamma$ )、胰岛素样生长因子-1(IGF - 1)、白细胞介素-1(IL - 1)、IL - 6等可促进心肌细胞 ICAM - 1 表达增加<sup>[3]</sup>。己酮可可碱(pentoxifylline, PTX)是甲基黄嘌呤衍化物,作为血管扩张剂曾用于治疗血管性疾病。近年来研究发现,PTX 具有选择性抗炎作用,对脓毒症机体产生有益的保护作用<sup>[4]</sup>。本研究中采用大鼠心肌细胞体外培养技术,观察 PTX 对 LPS 刺激大鼠心肌细胞 ICAM - 1 表达的影响,探讨 PTX 对心肌损害的保护作用及其机制。

基金项目:江苏省南通市社会发展科技计划项目(S30011)

作者单位:226001 江苏南通,南通大学第二附属医院 ICU

作者简介:顾建军(1978 -),男(汉族),江苏兴化人,硕士研究生,医师(Email: gujianjundt@163.com)。

## 1 材料与方法

**1.1 试剂与仪器:** LPS、胰蛋白酶(Sigma 公司), Dulbecco 改良 Eagle 培养基(DMEM, GIBCO 公司), 新生胎牛血清(FCS, 杭州四季青公司), ICAM-1 酶联免疫吸附(ELISA)试剂盒(武汉博士德公司), 兔抗大鼠核转录因子- $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)p65、NF- $\kappa$ B 抑制蛋白- $\alpha$ (I $\kappa$ B- $\alpha$ )多克隆抗体(Santa Cruz), 链霉菌过氧化氢酶(SP)免疫组化试剂盒(北京中杉公司); 酶联免疫仪 Model 450、垂直电泳槽、电转移槽(BIO RAD)。

**1.2 心肌细胞原代培养:** 新生 1~3 d 的 SD 大鼠(南通大学实验动物中心提供), 消毒后开胸, 取左室, 用预冷的 Hank 液冲洗 3 次, 左室剪碎成 1 mm<sup>3</sup> 左右小块, 加入质量分数为 0.125% 的胰蛋白酶, 置于 37 °C 水浴箱中消化, 每次 10 min。第 1、2 次消化后弃上清, 第 3 次上清转至加有体积分数为 10% FCS 的 DMEM 离心管内, 余下的组织块加入胰蛋白酶继续消化, 直至组织块消化完全, 1 000 r/min 离心 10 min, 滤网过滤后接种于培养瓶中, 37 °C、体积分数为 5% 的 CO<sub>2</sub> 培养箱中放置 2 h, 差速贴壁。孵育后, 收集细胞悬液, 细胞计数后将密度调整为 (5~6) × 10<sup>6</sup>/L 在 24 孔培养板上每孔接种细胞悬液 1 ml, 加入 5-溴脱氧尿核苷(BrdU), 终浓度为 0.1 mmol/L。

**1.3 心肌细胞分组及处理:** 将心肌细胞分为空白对照组, LPS 损伤组和药物保护组 3 组。LPS 组心肌细胞换用无血清培养基 24 h 后, 以 LPS 100 μg/L 刺激心肌细胞 0(即空白对照组)、2、4、6 和 8 h, 观察 ICAM-1 表达。分别以 LPS 0(即空白对照组)、10、50 和 100 μg/L 刺激心肌细胞 6 h, 观察 ICAM-1 表达。根据检测指标选择 LPS 致伤心肌细胞的最佳时间和剂量; 再以 LPS 100 μg/L 作用细胞 0、1、2、4、6 和 8 h, LPS 0、10、50 和 100 μg/L 作用细胞 1 h。根据 NF- $\kappa$ B p65、I $\kappa$ B- $\alpha$  结果选择 LPS 致伤心肌细胞的 NF- $\kappa$ B p65、I $\kappa$ B- $\alpha$  最佳时间和剂量。药物保护组于 LPS 处理前加入 50、100 和 200 mg/L PTX 预处理 3 min 后, 再以 100 μg/L LPS 刺激至 6 h。每组 6 孔。

### 1.4 检测指标及方法

**1.4.1 ICAM-1 含量:** 各组加入 LPS 后, 取培养上清用 ELISA 法测定 ICAM-1 含量, 在酶标仪上波长 450 nm 处测定吸光度(A)值。

**1.4.2 NF- $\kappa$ B p65 的表达:** 染色方法及操作按 SP 试剂盒说明书要求, 3,3'-二氨基联苯胺(DAB)

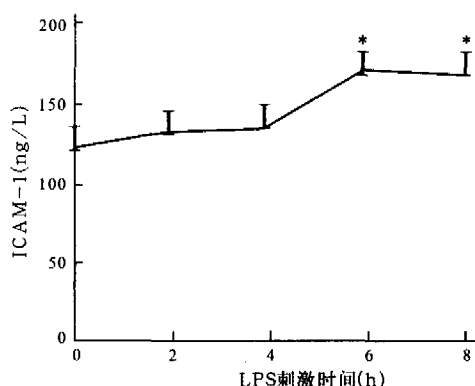
显色, 封片, 镜检。在光镜下初步观察后, 每张切片于 100 倍镜下随机选取 5 个视野, 测量阳性细胞所占比例(阳性率)。NF- $\kappa$ B p65 阳性细胞以细胞核染色为主, 细胞质也有染色, 呈棕黄色, 并可见到棕黄色颗粒沉积。

**1.4.3 心肌细胞 I $\kappa$ B- $\alpha$  蛋白含量:** 采用蛋白质免疫印迹法(Western blot)。心肌细胞蛋白质含量经改良的 Lowry 法测定, 每孔 50 μg, 然后用质量分数为 10% 的十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE), 电泳完毕后将 PAGE 胶取下, 剪一张与分离胶大小一致的聚偏氟乙烯(PVDF)膜, 用全湿法转膜, 然后用质量分数为 5% 的脱脂奶粉室温封闭 2 h; 一抗为 1:100 兔抗 I $\kappa$ B- $\alpha$  多克隆抗体, 室温振荡 2 h, 4 °C 过夜; 二抗为 1:1 000 生物素标记的羊抗兔 IgG, 室温振荡 2 h, 洗净后加化学发光试剂(ECL)约 5 min, 胶片曝光、显影、定影。

**1.5 统计学处理:** 采用 State 7.0 软件进行统计分析。计量数据以均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示, 用 *t* 检验和方差分析, *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

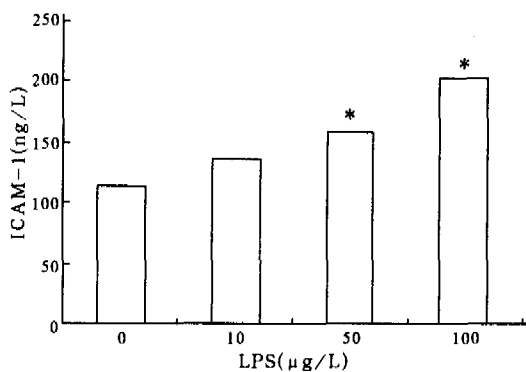
## 2 结果

**2.1 PTX 对 LPS 诱导心肌细胞 ICAM-1 表达的影响:** 心肌细胞静止时仅表达微量 ICAM-1, 加入 LPS 后能明显诱导 ICAM-1 表达, 且呈时间-剂量依赖关系。与空白对照组比较, 给予 100 μg/L LPS 刺激 2 h 后, ICAM-1 表达已开始升高, 刺激 6 h 和 8 h 后升高更加明显, 差异有显著性(*P* 均 < 0.01, 图 1)。刺激 6 h 时, 50 和 100 μg/L LPS 诱导心肌细胞 ICAM-1 表达非常显著(*P* 均 < 0.01, 图 2)。与 LPS(100 μg/L)损伤组比较, 药物保护组 PTX 50、100 和 200 mg/L 均明显抑制心肌细胞 ICAM-1 表达(*P* 均 < 0.01, 图 3)。



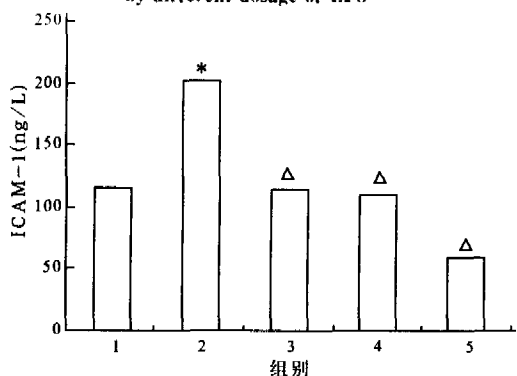
注: 与 LPS 刺激 0 时比较: \**P* < 0.01

图 1 100 μg/L LPS 诱导不同时间心肌细胞 ICAM-1 表达的变化  
Figure 1 Changes of ICAM-1 in myocyte at different time induced by 100 μg/L of LPS



注:与 LPS 0 μg/L 比较; \*P<0.01

图 2 不同剂量 LPS 刺激 6 h 心肌细胞 ICAM-1 表达的变化  
Figure 2 Changes of ICAM-1 in myocyte at 6 hours induced by different dosage of LPS



注:1 为 LPS 0 μg/L; 2 为 LPS 100 μg/L; 3 为 LPS 100 μg/L+PTX 50 mg/L; 4 为 LPS 100 μg/L+PTX 100 mg/L; 5 为 LPS 100 μg/L+PTX 200 mg/L; 与 LPS 0 μg/L 比较: \*P<0.01; 与 LPS 100 μg/L 比较:  $\Delta$ P<0.01

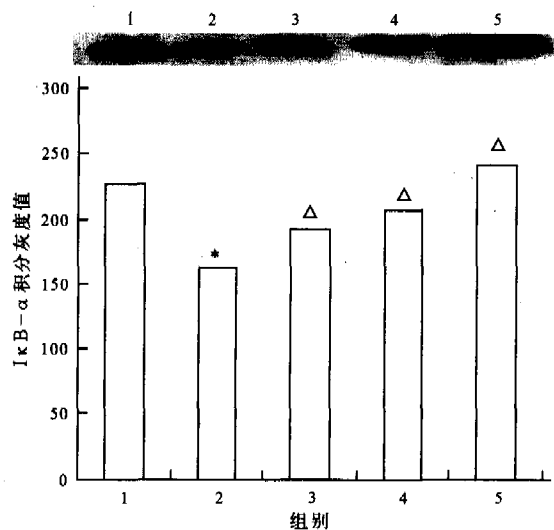
图 3 PTX 对 100 μg/L LPS 诱导心肌细胞 ICAM-1 表达的影响  
Figure 3 Effect of PTX on ICAM-1 in myocyte induced by 100 μg/L of LPS

2.2 PTX 对 LPS 诱导心肌细胞 NF- $\kappa$ B p65 表达的影响: 心肌细胞静止时几乎无 NF- $\kappa$ B p65 表达, 加 LPS 后能明显诱导其表达, 与空白对照组比较, 50 和 100 μg/L LPS 刺激 1 h NF- $\kappa$ B p65 表达达高峰 (P<0.01), 后逐渐回落, 但仍维持着一定水平 (彩色插页图 4, 图 5); 加 PTX 后 NF- $\kappa$ B p65 表达明显受抑制 (P<0.01, 彩色插页图 6)。

2.3 PTX 对 LPS 诱导心肌细胞 I $\kappa$ B- $\alpha$  表达的影响 (图 7): 与 LPS 诱导心肌细胞 NF- $\kappa$ B p65 表达相反, 加入 LPS 后 1 h 心肌细胞 I $\kappa$ B- $\alpha$  表达受抑制最明显 (P<0.01), 4 h 后逐渐回升。加入 PTX 后 1 h 心肌细胞 I $\kappa$ B- $\alpha$  表达显著上升 (P 均<0.01)。

### 3 讨论

脓毒症 (sepsis) 是由严重感染引起的全身炎症反应综合征 (SIRS), 有细菌存在或有高度可疑感染病灶者易发展为脓毒性休克和 MODS。近年来, 脓



注: 1 为 LPS 0 μg/L; 2 为 LPS 100 μg/L; 3 为 LPS 100 μg/L+PTX 50 mg/L; 4 为 LPS 100 μg/L+PTX 100 mg/L; 5 为 LPS 100 μg/L+PTX 200 mg/L; 与 LPS 0 μg/L 比较: \*P<0.01; 与 LPS 100 μg/L 比较:  $\Delta$ P<0.01

图 7 PTX 对 LPS 刺激 1 h 诱导心肌细胞 I $\kappa$ B- $\alpha$  表达的影响  
Figure 7 Effects of PTX on I $\kappa$ B- $\alpha$  expression in myocytes at 1 hour induced by LPS

毒症的研究多集中在 LPS 对机体肝、肺、肾组织损伤方面, 而对心肌损伤的研究却不多。新近研究表明, 心脏也是一个生成炎症介质的潜在场所<sup>[5,6]</sup>, 心脏移植、体外循环等因素可诱发机体 LPS 水平升高, 引发心肌炎症反应, 治疗不及时可致类似心力衰竭症状, 甚至会恶化为心源性恶病质。因此, 有必要深入研究脓毒症对心肌的影响及有效干预措施。

ICAM-1 为相对分子质量 76 000~114 000 的细胞表面黏附分子, 属免疫球蛋白超基因家族的单链跨膜糖蛋白。ICAM-1 分布十分广泛, 包括各种上皮细胞、血管内皮细胞、心肌细胞、成纤维细胞、单核细胞和淋巴细胞等, 在血管内皮细胞表达最强。正常动物体内心肌细胞 ICAM-1 呈极低的表达<sup>[7]</sup>。ICAM-1 与一系列炎症性疾病状态如烧伤性休克、感染性休克及其所引发的 MODS 有关, 其表达受 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$  等炎症介质以及应激反应和过氧化氢 (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 等调节, 在 LPS 和 TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$  等细胞因子作用下, 心肌细胞 ICAM-1 表达增加<sup>[8]</sup>。ICAM-1 的调控涉及细胞内蛋白激酶 C (PKC)、丝裂素活化蛋白激酶 (MAPK) 以及 Janus 酪氨酸蛋白激酶/信号转导和基因转录激活子 (JAK/STAT) 等信号转导通路。调控 ICAM-1 表达的转录因子包括激活蛋白-1 (AP-1)、NF- $\kappa$ B、CAAT/增强子结合蛋白 (C/EBP) 和表达序列标签 (Ets), STAT 和 Sp1。如此众多的信号转导通路和

转录因子参与 ICAM-1 表达, 显示出 ICAM-1 基因调控的复杂性。

NF- $\kappa$ B 是参与炎症、免疫、氧化应激反应时重要的核转录因子, 也调控大多数导致炎症反应失控及免疫功能紊乱的细胞因子和炎症介质的生成, 因此, 在脓毒症的发生中起着关键作用<sup>[9]</sup>。细胞在静息状态下, NF- $\kappa$ B 以无活性的潜在状态存在于细胞浆中, 它与一种抑制因子结合, 组成异源二聚体 p50-p65-I $\kappa$ B- $\alpha$  或 I $\kappa$ B- $\beta$ 。三聚体中 I $\kappa$ B 类抑制因子的存在可以阻碍 p50-p65 复合物的二聚体化和使 NF- $\kappa$ B 活性丧失。当细胞受到 TNF- $\alpha$ 、IL-1、LPS 等刺激以后, I $\kappa$ B 即从三聚体中解离出来, 暴露出 p50 亚基上的移位信号和 p65 亚基上的 DNA 结合位点, 使 NF- $\kappa$ B 激活, 转移进入细胞核内, 与 DNA 链上的特异部位结合, 进而启动基因转录<sup>[10]</sup>。NF- $\kappa$ B 活化后能调控一系列基因表达, 如黏附分子家族的 ICAM-1、血管细胞黏附分子-1 (VCAM-1)、前炎症细胞因子 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、化学趋化因子单核细胞趋化蛋白-1 (MCP-1)、IL-8, 及一些受体分子如 IL-2 受体、T 细胞受体  $\alpha$  链和  $\beta$  链等<sup>[11]</sup>。这些物质都能直接或者间接作用于微血管内皮细胞、血细胞或是介导在其间相互作用, 从而导致微循环障碍以及内皮及组织损伤。抑制 NF- $\kappa$ B 的活化对心肌可起保护作用<sup>[12,13]</sup>。

本研究中采用 ELISA 法检测了 LPS 刺激对心肌细胞 ICAM-1 表达的影响, 结果显示, 100  $\mu$ g/L LPS 刺激 6 h 心肌细胞 ICAM-1 升高非常显著; 而 1 h NF- $\kappa$ B 活化就达高峰, 此后逐渐回落, 但仍维持一定水平; I $\kappa$ B- $\alpha$  1 h 达低峰, 4 h 后逐渐回升。说明 LPS 刺激靶细胞后, 靶细胞经细胞内信号转导, 激活 I $\kappa$ B 激酶 (IKK), 进而使 I $\kappa$ B- $\alpha$  磷酸化降解, 导致 NF- $\kappa$ B 活化, 由胞浆进入细胞核启动 ICAM-1 等炎症介质及促炎症因子的转录、合成和分泌增加, 从而介导心肌炎症损伤。

PTX 是一种非选择性磷酸二酯酶抑制剂, 能阻断 cAMP 转变为 AMP, 使细胞内 cAMP 和 ATP 浓度升高。有人发现 PTX 有显著抗炎、抗免疫作用, 对内毒素血症机体产生有益的保护作用, 可阻止 LPS 引起的发热, 显著提高动物存活率<sup>[4,14]</sup>。研究证实, PTX 能通过抑制 TNF- $\alpha$  表达而抑制 ICAM-1 表达, 影响炎症细胞迁移, 故有可能减轻心肌损害, 改善脓毒症过程中的心肌功能变化<sup>[15]</sup>。本研究中证实, PTX 能抑制 LPS 诱导的 ICAM-1 和 NF- $\kappa$ B 活化, 从而起到抗炎作用, 其机制可能是通过抑制细

胞内磷酸酯酶活性, 引起 cAMP 浓度升高, 从而在转录水平上抑制细胞内 ICAM-1 过度生成, 达到对 LPS 损伤大鼠心肌细胞的保护作用。

#### 参考文献:

- 1 Kumar A, Thota V, Dee L, et al. Tumor necrosis factor and interleukin 1 $\beta$  are responsible for in vitro myocardial cell depression induced by human septic shock serum [J]. J Exp Med, 1996, 183: 949-958.
- 2 Seino Y, Ikeda U, Minezaki K K, et al. Expression of cytokine induced neutrophil chem attractant in rat cardiac myocytes [J]. J Mol Cell Cardiol, 1995, 27: 2043-2051.
- 3 Filippo C, Luigi M B, Antonion B, et al. Role of inflammation in the pathogenesis of unstable coronary artery disease [J]. Am J Cardiol, 1997, 80: 10-16.
- 4 Paul F, Randy N, Edward M, et al. Oral pentox- fylline inhibits release of tumor necrosis factor - alpha from human peripheral blood monocytes; a potential treatment for aseptic loosening of total joint components [J]. J Bolffe Joint Surg Am, 2001, 83: 1057.
- 5 Simms M G, Walley K R. Activated macrophages decrease rat cardiac myocyte contractility; importance of ICAM-1 dependent adhesion [J]. Am J Physiol, 1999, 277: H253-260.
- 6 张家平, 黄跃生, 杨宗城. 烧伤早期心肌组织几种炎症相关基因表达变化的实验研究 [J]. 中国危重病急救医学, 2003, 15: 589-592.
- 7 Hartman J C, Anderson D C, Wiltse A L, et al. Protection of ischemic/reperfused canine myocardium by CL18/6, a monoclonal antibody to adhesion molecule ICAM-1 [J]. Cardiovasc Res, 1995, 30: 47-54.
- 8 Hubbard A K, Rothlein R. Intercellular adhesion molecule - 1 expression and cell signaling cascades [J]. Free Radic Biol Med, 2000, 28: 1379-1386.
- 9 Baeuerle P A, Henkel T. Function and activation of NF- $\kappa$ B in the immune system [J]. Annu Rev Immunol, 1994, 12: 141-179.
- 10 姚咏明, 盛志勇. 脓毒症信号转导机制的现代认识 [J]. 中国危重病急救医学, 2003, 15: 3-6.
- 11 顾大勇, 曾祥元, 马布仁. NF- $\kappa$ B 与微循环障碍 [J]. 中国微循环, 2001, 5: 77-79.
- 12 涂自智, 肖卫民, 刘梅冬, 等. 核转录因子- $\kappa$ B 在热休克预处理抑制过氧化氢所致心肌细胞损伤中的作用 [J]. 中国危重病急救医学, 2005, 17: 412-416.
- 13 张良清, 徐军发, 蔡康荣, 等. 腺苷预处理对缺血/再灌注心肌细胞凋亡及核因子- $\kappa$ B 表达的影响 [J]. 中国危重病急救医学, 2004, 16: 158-160.
- 14 Hoebe K H, Gonzalez R N, Nijmeijer S M, et al. Differential effects of pentoxifylline on the hepatic inflammatory response in porcine liver cell cultures increase in inducible nitric oxide synthase expression [J]. Biochem Pharmacol, 2001, 61: 1137-1144.
- 15 Neuner P, Klosner G, Pourmojib M, et al. Pentoxifylline in vivo and vitro downregulates the expression of the intercellular adhesion molecule - 1 in monocytes [J]. Immunology, 1997, 90: 435-439.

(收稿日期: 2005-10-21 修回日期: 2006-01-16)

(本文编辑: 郭方)

## 脓毒症早期大鼠肾脏细胞凋亡及炎症细胞因子的变化

(正文见89页)

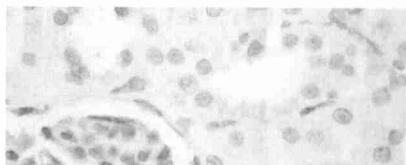


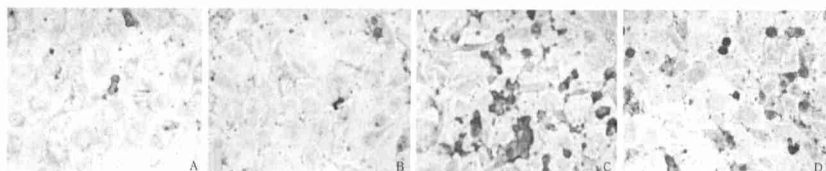
图3 致伤组伤后3 h凋亡细胞 (TUNEL, ×400)  
Figure 3 Apoptotic cell in injury group  
3 hours after injury (TUNEL, ×400)



图4 致伤组伤后48 h肾组织病理学变化 (HE, ×100)  
Figure 4 Pathological change of renal tissue in injury group  
48 hours after injury (HE, ×100)

## 八肽缩胆囊素对脂多糖诱导血管内皮细胞诱生型一氧化氮合酶表达变化的抑制作用

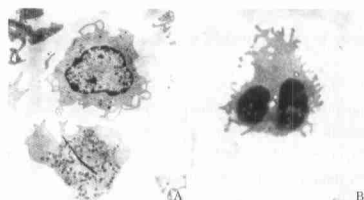
(正文见96页)



A: 对照组, B: CCK-8组, C: LPS组, D: LPS+CCK-8组  
图6 免疫细胞化学法检测iNOS蛋白表达 (DAB, ×200)  
Figure 6 Expression of iNOS detected by immunocytochemistry (DAB, ×200)

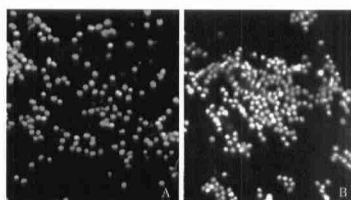
## 多器官功能障碍综合征患者外周血单个核细胞凋亡的研究

(正文见101页)



A: 正常PBMCs(×4000), B: 凋亡PBMCs(×1000)

图1 电镜下PBMCs (醋酸铀-枸橼酸铅)  
Figure 1 PBMCs under electron microscope  
(uranylacetate and lead citrate double staining)



A: 正常PBMCs, B: 凋亡PBMCs

图2 荧光显微镜下PBMCs (AO-EB, ×400)  
Figure 2 PBMCs under fluorescence microscope  
(AO-EB, ×400)

## 己酮可可碱对内毒素诱导大鼠心肌细胞细胞间黏附分子-1表达的影响及其机制

(正文见109页)



图4 空白对照组NF-κB p65表达 (DAB, ×200)  
Figure 4 Expression of NF-κB p65 in myocytes in black control group (DAB, ×200)

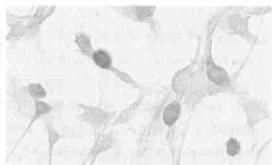


图5 100 μg/L LPS刺激1 h心肌细胞NF-κB p65表达 (DAB, ×200)  
Figure 5 Expression of NF-κB p65 in myocytes at 1 hour induced by 100 μg/L of LPS (DAB, ×200)



图6 100 μg/L LPS+PTX 200 mg/L共同作用1 h心肌细胞NF-κB p65表达 (DAB, ×200)  
Figure 6 Expression of NF-κB p65 in myocytes at 1 hour induced by 100 μg/L LPS+PTX 200 mg/L (DAB, ×200)