

## 氧化应激状态下肺泡 II 型上皮细胞凋亡及细胞外信号调节激酶信号转导机制的研究

陈娟 许峰 蒋静 方芳 匡凤梧 卢仲毅 王兴勇

**【摘要】** 目的 探讨氧化应激状态下肺泡 II 型上皮细胞(AT II 型细胞)修复存活、凋亡及其细胞外信号调节激酶(ERK)对凋亡的调控作用。方法 采用过氧化氢(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)处理体外分离纯化培养的原代大鼠 AT II 型细胞;用蛋白质免疫印迹法(Western blotting)检测 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 刺激后 AT II 型细胞磷酸化 ERK1/2(p-ERK1/2)的表达,用四甲基偶氮唑盐微量酶反应比色法(MTT)检测细胞存活率;用流式细胞仪检测细胞凋亡率,并观察 ERK 特异性抑制剂 PD98059 干预后细胞凋亡的变化。结果 与对照组比较,10 μmol/L 和 100 μmol/L 的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 处理对 AT II 型细胞存活率和凋亡率无明显影响;500 μmol/L 和 1 000 μmol/L 的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 处理可导致 AT II 型细胞的存活率明显降低,凋亡率显著升高(*P* 均 < 0.05),呈剂量依赖性。500 μmol/L H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 处理 AT II 型细胞 30 min,细胞存活率和凋亡率均无显著变化;处理 180 min 细胞存活率明显降低,凋亡率明显增高(*P* 均 < 0.05),呈时间依赖性。500 μmol/L H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 可刺激 p-ERK1/2 阳性表达,以刺激 30 min 表达最强;使用 ERK 抑制剂(PD98059)干预后,AT II 型细胞凋亡率明显增高。结论 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 可以剂量和时间依赖的方式诱导 AT II 型细胞凋亡,ERK 信号转导途径参与了 AT II 型细胞的凋亡调控,对氧化应激状态下的 AT II 型细胞可能起到保护作用。

**【关键词】** 肺泡 II 型上皮细胞; 细胞凋亡; 细胞外信号调节激酶; 活性氧

**Apoptosis of alveolar type II epithelial cells regulated by extracellular signal - regulated kinase under oxidative stress** CHEN Juan, XU Feng, JIANG Jing, FANG Fang, KUANG Feng-wu, LU Zhong-yi, WANG Xing-yong. Intensive Care Unit, Children's Hospital, Chongqing University of Medical Sciences, Chongqing 400014, China

Corresponding author: XU Feng (Email: xufeng9899@yahoo.com.cn)

**【Abstract】** **Objective** To investigate survival and apoptotic responses of alveolar type II epithelial cells (AT II cells) under oxidative stress and the regulation mechanism mediated by extracellular signal - regulated kinase (ERK). **Methods** Primary passage of cultured rat AT II cells were challenged with hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), and the cells were pretreated with specific inhibitor of ERK (PD98059) in another group. Cell viability, apoptotic rate and the expression of phosphorylated ERK1/2 (p-ERK1/2) were measured by 3-(4, 5-dimethylthiazol-2-yl)-2, 5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) assay, flow cytometry and Western blotting analysis, respectively. **Results** Compared with control group, decreased cell viability and increased apoptotic rate in AT II cells occurred in dose - dependent manner when treated with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 500 and 1 000 μmol/L (all *P* < 0.05), but no differences were found when H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> were 10 and 100 μmol/L in concentrations. When the cells were treated with 500 μmol/L H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> for 30 minutes, no differences in cell viability and apoptotic rate were found compared with control group, but reduced cell viability and increased apoptotic rate were found when the duration was 180 minutes, and it was in time - dependent manner (both *P* < 0.05). The expression of p-ERK peaked at 30 minutes after stimulation by 500 μmol/L H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. When PD98059 was added, it enhanced apoptotic rate after H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> - exposure. **Conclusion** Apoptosis can be induced by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in AT II cells in dose - and time - dependent manners. ERK signaling pathway plays a role in the regulation of apoptosis and may be protective for AT II cells under oxidative stress.

**【Key words】** alveolar type II epithelial cell; apoptosis; extracellular signal - regulated kinase; reactive oxygen species

氧疗是临床上用于提高血氧饱和度、改善组织缺氧状态的一种常用治疗手段,但长时间持续吸入

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30370618)

作者单位:400014 重庆医科大学附属儿童医院 ICU

通讯作者:许峰,主任医师(Email:xufeng9899@yahoo.com.cn)

作者简介:陈娟(1979-),女(汉族),四川省人,医学硕士,医师,

主要从事小儿危重病研究。

高浓度氧可导致肺氧化应激性损伤。肺泡 II 型上皮细胞(AT II 型细胞)作为肺泡上皮的干细胞在肺损伤修复中尤为引人注目<sup>[1-3]</sup>,而与细胞增殖、存活和凋亡密切相关的细胞外信号调节激酶(ERK)<sup>[4]</sup>可能在氧化应激状态下对 AT II 型细胞修复存活产生影响<sup>[5-7]</sup>。本研究拟以体外培养的大鼠原代 AT II 型细

胞为研究对象,以过氧化氢( $H_2O_2$ )刺激复制氧化性细胞损伤模型,探讨活性氧(ROS)诱导 AT II 型细胞存活、凋亡及 ERK 对凋亡的调控作用。

## 1 材料与方法

**1.1 主要材料:**清洁级雄性 SD 大鼠,体重 180~200 g,由重庆医科大学实验动物中心提供。胰蛋白酶(BBI 公司),DNase I (北京鼎国生物技术有限责任公司),Dulbecco 改良 Eagle 培养基/F12 (DMEM/F12, Hyclone 公司),大鼠免疫球蛋白 G (IgG,北京中杉金桥生物技术有限公司),特级胎牛血清(FCS,天津 TBD),钙结合蛋白 V-异硫氰酸荧光素(Annexin V-FITC)凋亡检测试剂盒(美国 BD Biosciences Pharmingen 公司),四甲基偶氮唑盐微量酶反应比色法(MTT, Amresco),磷酸化 ERK1/2 (p-ERK1/2)多克隆抗体、ERK 特异性抑制剂 PD98059,辣根过氧化物酶标记的羊抗兔 IgG (HRP-IgG,北京中杉金桥生物技术有限公司),二辛可宁酸(BCA)法蛋白定量检测试剂盒(上海生工生物工程技术有限公司),增强化学发光法(ECL)试剂盒(Pierce 化学品公司)。

## 1.2 实验方法

**1.2.1 AT II 型细胞的原代培养步骤与方法<sup>[8,9]</sup>:**水合氯醛麻醉大鼠,无菌打开胸腔行肺动脉插管,以生理盐水冲洗。取出心、肺和气管,行气管插管,以缓冲液〔含  $Na_2HPO_4 \cdot 7H_2O$  8 mmol/L, NaCl 140 mmol/L, KCl 5 mmol/L, 羟乙基哌嗪乙磺酸(HEPES) 10 mmol/L, 乙二醇四乙酸酯(EGTA) 0.2 mmol/L 和葡萄糖 6 mmol/L, pH 7.4〕灌洗肺泡腔 8~10 次。将质量分数为 0.08% 的胰蛋白酶消化液(预热 37℃)注入肺泡,每隔 5 min 添加适量消化液,37℃消化 20 min,去除气管及肺门周围结缔组织置于 250 g/L DNase I 和终止血清混合液中,快速剪肺至 1 mm<sup>3</sup> 的组织块,筛网过滤,离心收集细胞,DMEM/F12 培养基重悬细胞并转移至大鼠 IgG 包被的培养皿中,37℃、体积分数为 10% 的二氧化碳(CO<sub>2</sub>)培养箱内孵育 2 h,移出未黏附细胞,用含体积分数为 20% FCS 的 DMEM/F12 培养基重悬细胞,以  $2 \times 10^5/cm^2$  密度接种至 6 孔板或以  $1 \times 10^9/L$  浓度接种于 96 孔培养板,细胞接种后 24 h 换液,继续培养 16 h 备用。改良巴氏染色法和电镜鉴定 AT II 型细胞纯度 >90%。苔盼蓝拒染法测定细胞存活率 >90%。

**1.2.2 实验分组:**按实验目的将培养细胞分为对照组、 $H_2O_2$  刺激组和干预组。对照组加无血清培养基;

刺激组的无血清培养基中分别含终浓度为 10、100、500 和 1 000  $\mu mol/L$  的  $H_2O_2$ ;干预组在无血清培养基中加入终浓度为 25  $\mu mol/L$  的 PD98059 作用于 AT II 型细胞 2 h,再以 500  $\mu mol/L$   $H_2O_2$  孵育 3 h,进行细胞凋亡分析。

**1.2.3 细胞存活率检测:**纯化细胞以  $1 \times 10^9/L$  浓度接种于 96 孔细胞培养板中,每孔 100  $\mu l$ ,对照组和  $H_2O_2$  刺激组各 3 个复孔,培养 40 h。 $H_2O_2$  处理后在 37℃、5% CO<sub>2</sub> 孵箱中培养,吸去液体,每孔加入 5 g/L 的 MTT 溶液 20  $\mu l$  和培养基 180  $\mu l$ ,继续培养 4 h,用快速翻板法去除培养液,每孔再加入二甲亚砜(DMSO)150  $\mu l$ ,恒温振荡器混匀 10~15 min,多功能酶标仪检测波长 492 nm 处吸光度( $A_{492}$ )值,空白孔调零。 $A_{492}$  值越高,表示存活细胞越多。

细胞存活率(%) = 处理孔  $A_{492}$  / 对照孔  $A_{492} \times 100\%$

**1.2.4 Annexin V/碘化丙啶(PI)双标记法检测细胞凋亡:**0.125% 胰蛋白酶、质量分数为 0.01% 的乙二胺四乙酸(EDTA)消化并收集贴壁细胞,磷酸盐缓冲液(PBS)洗 2 次,重悬于结合液(含 10 mmol/L HEPES/NaOH, 140 mmol/L NaCl 和 2.5 mmol/L CaCl<sub>2</sub>, pH 7.4)中。取细胞悬液与 Annexin V-FITC 及 PI 于室温下黑暗处孵育 15 min,流式细胞仪(FACS Calibur,美国 BD 公司)检测,CELLQUEST 分析软件进行分析。

**1.2.5 蛋白质免疫印迹法(Western blotting)检测 p-ERK1/2:**放射性免疫沉淀(RIPA)裂解液提取细胞总蛋白,BCA 法定量蛋白。取 20  $\mu g$  蛋白质上样,用质量分数为 12% 的十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)分离,电转移至硝酸纤维素膜(PVDF),经质量分数为 5% 的脱脂奶粉封闭,与 p-ERK1/2 多克隆抗体(1:1 000)4℃下振荡孵育过夜,加入 HRP 标记的二抗(1:2 000),用 ECL 法检测,Quantity One 4.5.0 凝胶图像分析软件分析各个蛋白条带的积分光密度值。

**1.3 统计学方法:**实验数据以均数士标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,SPSS13.0 统计软件进行统计学分析,多样本均数比较用单因素方差分析,组间两两比较用  $q$  检验, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 不同浓度  $H_2O_2$  对 AT II 型细胞存活率和凋亡率的影响(表 1):**与对照组比较,给予 10  $\mu mol/L$  和 100  $\mu mol/L$   $H_2O_2$  刺激后,细胞存活率无明显变化( $P$  均 > 0.05);随着  $H_2O_2$  浓度的增高,500  $\mu mol/L$  和 1 000  $\mu mol/L$  的  $H_2O_2$  攻击 AT II 型细胞后,细胞

存活率明显下降,呈剂量依赖性( $P$ 均 $<0.05$ )。与对照组比较,10  $\mu\text{mol/L}$  和 100  $\mu\text{mol/L}$  的  $\text{H}_2\text{O}_2$  对细胞凋亡率无明显影响( $P$ 均 $>0.05$ );500  $\mu\text{mol/L}$  和 1 000  $\mu\text{mol/L}$  的  $\text{H}_2\text{O}_2$  攻击 AT II 型细胞后,细胞凋亡率明显增加,呈剂量依赖性( $P$ 均 $<0.05$ )。

表 1 不同浓度  $\text{H}_2\text{O}_2$  处理后 AT II 型细胞存活率和凋亡率的变化( $\bar{x}\pm s$ )

Table 1 Change of cell viability and apoptotic rate in different doses of  $\text{H}_2\text{O}_2$  - treated AT II cells( $\bar{x}\pm s$ )

组别	A 值	细胞存活率(%)	细胞凋亡率(%)
对照组	0.152 1 $\pm$ 0.004 3	100.01 $\pm$ 2.78	2.52 $\pm$ 1.18
$\text{H}_2\text{O}_2$ 10 $\mu\text{mol/L}$	0.151 2 $\pm$ 0.005 8	99.42 $\pm$ 2.26	2.64 $\pm$ 1.01
$\text{H}_2\text{O}_2$ 100 $\mu\text{mol/L}$	0.147 7 $\pm$ 0.005 6	97.15 $\pm$ 3.26	3.84 $\pm$ 0.81
$\text{H}_2\text{O}_2$ 500 $\mu\text{mol/L}$	0.120 3 $\pm$ 0.004 6*	79.20 $\pm$ 3.97*	10.05 $\pm$ 2.86*
$\text{H}_2\text{O}_2$ 1 000 $\mu\text{mol/L}$	0.082 7 $\pm$ 0.003 8*	54.48 $\pm$ 3.38*	32.12 $\pm$ 5.83*

注:与对照组比较;\*  $P<0.05$

2.2 500  $\mu\text{mol/L}$   $\text{H}_2\text{O}_2$  处理后不同时间 AT II 型细胞存活率和凋亡率的变化(表 2):以 500  $\mu\text{mol/L}$   $\text{H}_2\text{O}_2$  刺激 30 min,AT II 型细胞存活率与对照组比较差异无显著性( $P>0.05$ ),刺激 180 min 细胞存活率明显降低( $P<0.05$ ),呈时间依赖性。500  $\mu\text{mol/L}$   $\text{H}_2\text{O}_2$  刺激 30 min,AT II 型细胞凋亡率与对照组比较差异无显著性( $P>0.05$ ),刺激 180 min 细胞凋亡率明显增高( $P<0.05$ ),呈时间依赖性。

表 2 500  $\mu\text{mol/L}$   $\text{H}_2\text{O}_2$  处理后不同时间 AT II 型细胞存活率和凋亡率的变化( $\bar{x}\pm s$ )

Table 2 Change of cell viability and apoptotic rate at different time points in 500  $\mu\text{mol/L}$   $\text{H}_2\text{O}_2$  - treated AT II cells( $\bar{x}\pm s$ )

时间	A 值	细胞存活率(%)	细胞凋亡率(%)
对照组	0.151 5 $\pm$ 0.002 7	100.00 $\pm$ 1.77	3.00 $\pm$ 1.52
处理 30 min	0.147 4 $\pm$ 0.007 0	97.36 $\pm$ 5.28	4.08 $\pm$ 1.69
处理 180 min	0.118 4 $\pm$ 0.005 1*	78.17 $\pm$ 3.45*	10.69 $\pm$ 2.89*

注:与对照组比较;\*  $P<0.05$

2.3 Western blotting 检测  $\text{H}_2\text{O}_2$  对 p-ERK1/2 表达的影响(图 1):以 500  $\mu\text{mol/L}$   $\text{H}_2\text{O}_2$  刺激 AT II 型细胞 5、15、30、60 和 180 min,30 min 时 p-ERK1/2 表达最强,以后随着时间的延长 p-ERK1/2 表达逐渐降低,180 min 降至接近对照组水平。

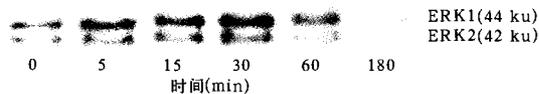
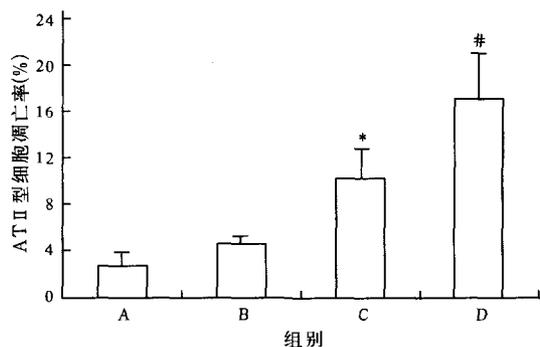


图 1 500  $\mu\text{mol/L}$   $\text{H}_2\text{O}_2$  处理后不同时间 AT II 型细胞 p-ERK1/2 表达的变化

Figure 1 Change of expression of p-ERK1/2 at different time points in 500  $\mu\text{mol/L}$   $\text{H}_2\text{O}_2$  - treated AT II cells

2.4 PD98059 干预后 AT II 型细胞凋亡率的变

化(图 2):PD98059 预处理 AT II 型细胞 2 h 后,以 500  $\mu\text{mol/L}$   $\text{H}_2\text{O}_2$  刺激 AT II 型细胞 3 h,与对照组比较,干预组凋亡率明显增高( $P<0.05$ )。



注:A:对照组(0  $\mu\text{mol/L}$   $\text{H}_2\text{O}_2$ );B:PD98059+0  $\mu\text{mol/L}$   $\text{H}_2\text{O}_2$ ; C:500  $\mu\text{mol/L}$   $\text{H}_2\text{O}_2$ ;D:PD98059+500  $\mu\text{mol/L}$   $\text{H}_2\text{O}_2$ ; 与 A 组比较;\*  $P<0.05$ ;与 C 组比较;#  $P<0.05$

图 2 PD98059 干预下  $\text{H}_2\text{O}_2$  对 AT II 型细胞凋亡率的影响  
Figure 2 Effect of  $\text{H}_2\text{O}_2$  on apoptotic rate mediated by PD98059

### 3 讨论

在持续高浓度氧吸入引起的肺氧化应激状态情况下,肺泡上皮受到损伤,血气屏障被破坏,肺泡水肿,继而成纤维细胞增生和细胞外基质过度沉积,最终导致肺纤维化。近年亦有研究发现,肺泡上皮损伤或损伤修复延迟与肺纤维化发生密切相关<sup>[10,11]</sup>。AT II 型细胞存活和凋亡变化可能参与高氧肺损伤的发展和转归,影响肺损伤修复的结局。黎檀实等<sup>[2]</sup>研究发现,AT II 型细胞过度凋亡将加重病理变化和细胞数量的减少,引起炎症反应,加重已存在的肺组织损伤。

ROS 既可作为效应分子发挥细胞毒作用,也可激活对氧化还原敏感的信号蛋白激酶,影响转录因子活性和基因表达,参与细胞生长调控、增殖分化和凋亡过程<sup>[12,13]</sup>。我们以  $\text{H}_2\text{O}_2$  刺激原代培养的大鼠 AT II 型细胞,模拟 ROS 攻击,建立急性氧化性细胞损伤模型。结果发现,10  $\mu\text{mol/L}$  和 100  $\mu\text{mol/L}$   $\text{H}_2\text{O}_2$  作用于原代 AT II 型细胞,未引起细胞存活率和凋亡率明显变化,500  $\mu\text{mol/L}$  和 1 000  $\mu\text{mol/L}$   $\text{H}_2\text{O}_2$  可使细胞存活率明显降低、凋亡率明显增高。另外,500  $\mu\text{mol/L}$   $\text{H}_2\text{O}_2$  刺激 30 min 时对 AT II 型细胞存活率与凋亡率无显著影响;刺激 180 min 时细胞存活率明显降低,凋亡率明显增高。提示  $\text{H}_2\text{O}_2$  能以剂量和时间依赖方式诱导 AT II 型细胞凋亡,ROS 作用强度和持续时间可能是氧化应激状态下决定 AT II 型细胞命运的关键。

ERK 包括 ERK1 和 ERK2 两种分子质量分别

为 44 ku 和 42 ku 的亚单位,二者同源性可达 90%,并以磷酸化的方式激活,在体外具有相同的作用底物<sup>[14]</sup>。本研究结果发现,H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 能激活 AT II 型细胞 ERK,并在 30 min 表达最强,随着时间的延长于 180 min 降至近对照组水平。进一步的干预实验发现,使用 ERK 抑制剂 PD98059 干预后,AT II 型细胞凋亡率明显增高,提示 ERK 参与了 AT II 型细胞凋亡的信号转导途径,对氧化应激状态下的 AT II 型细胞可能起到保护作用。

#### 参考文献:

- 1 van den Blink B, Jansen H M, Peppelenbosch M P. Idiopathic pulmonary fibrosis: molecular mechanisms and possible therapeutic strategies [J]. Arch Immunol Ther Exp (Warsz), 2000, 48(6): 539-545.
- 2 黎檀实,尹明,冯丽洁,等.急性肺损伤中肺泡 II 型细胞凋亡机制的研究现状[J].中国危重病急救医学,2002,14(3):185-187.
- 3 张秋金,李银平,黎檀实.肺泡上皮功能特性与内毒素急性肺损伤[J].中国危重病急救医学,2005,17(6):382-384.
- 4 程颢,付小兵,盛志勇.细胞间信号转导与创面愈合[J].中国危重病急救医学,2002,14(7):440-442.
- 5 Ahmad S, Ahmad A, Ghosh M, et al. Extracellular ATP - mediated signaling for survival in hyperoxia - induced oxidative stress[J]. J Biol Chem, 2004, 279(16): 16317 - 16325.
- 6 Lee Y J, Cho H N, Soh J W, et al. Oxidative stress - induced

- apoptosis is mediated by ERK1/2 phosphorylation[J]. Exp Cell Res, 2003, 291(1): 251 - 266.
- 7 Asada S, Fukuda K, Nishisaka F, et al. Hydrogen peroxide induces apoptosis of chondrocyte; involvement of calcium ion and extracellular signal - regulated protein kinase[J]. Inflamm Res, 2001, 50(1): 19 - 23.
  - 8 Dobbs L G, Gonzalez R, Williams M C. An improved method for isolating type II cells in high yield and purity [J]. Am Rev Respir Dis, 1986, 134(1): 141 - 145.
  - 9 Dobbs L G. Isolation and culture of alveolar type II cell [J]. Am J Physiol, 1990, 258(4 Pt 1): L134 - 147.
  - 10 Uhal B D. Apoptosis in lung fibrosis and repair [J]. Chest, 2002, 122(6 Suppl): 293S - 298S.
  - 11 Uhal B D, Joshi I, Hughes W F, et al. Alveolar epithelial cell death adjacent to underlying myofibroblasts in advanced fibrotic human lung [J]. Am J Physiol, 1998, 75: L1192 - 1199.
  - 12 Sauer H, Wartenberg M, Hescheler J. Reactive oxygen species as intracellular messengers during cell growth and differentiation [J]. Cell Physiol Biochem, 2001, 11(4): 173 - 186.
  - 13 Sundaresan M, Yu Z X, Ferrans V J, et al. Requirement for generation of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> for platelet - derived growth factor signal transduction [J]. Science, 1995, 270(5234): 296 - 299.
  - 14 Whitmarsh A J, Davis R J. Transcription factor AP - 1 regulation by mitogen - activated protein kinase signal transduction pathways [J]. J Mol Med, 1996, 74(10): 589 - 607.

(收稿日期:2006-10-21 修回日期:2007-02-13)

(本文编辑:李银平)

## • 科研新闻速递 •

### 输血增加重度烧伤患儿脓毒症发生率

最近,美国研究人员通过一项回顾性研究证实了输入血液制品将增加重度烧伤患儿的脓毒症发生率。试验纳入了 1997—2004 年入院的 277 例烧伤总体表面积(TBSA) > 30% 的儿科重度烧伤患者,排除其中 25 例入院时已发生脓毒症的患儿后,根据烧伤 TBSA 和是否伴有吸入性肺损伤进行分层分析。记录住院期间发生脓毒症之前患儿输入浓缩红细胞(RBCs)和新鲜冷冻血浆(FFP)量,按照所行手术进行标准化后分为高剂量组(RBCs > 20 U, FFP > 5 U)和低剂量组(RBCs < 20 U, FFP < 5 U)。脓毒症的诊断标准为危重病医学会标准结合血培养阳性或器官尸检中发现细菌。结果表明,伴有吸入性肺损伤和 TBSA > 60% 的患儿输入低剂量 RBCs 后脓毒症的发生率为 8%,而输入高剂量 RBCs 后的发生率增加到 58%。两组间无年龄和性别差异。研究者认为,对伴有吸入性肺损伤的烧伤 TBSA ≥ 60% 重症患儿输入大剂量血液制品将增加患儿发生脓毒症的危险性,表明机体输血后处于免疫麻痹状态。

杜颖,周国勇,编译自《Crit Care Med》,2007-01-03(电子版);胡森,审校

### 血浆凝溶胶蛋白在脓毒症动物模型中的作用

血浆凝溶胶蛋白是一种肌动蛋白结合蛋白,在组织损伤时起积极的保护作用。过度的全身炎症反应中能大量消耗血浆凝溶胶蛋白而造成预后不良。最近美国学者对血浆凝溶胶蛋白在脓毒症动物模型中的变化进行了研究。实验采用成年雄性小鼠注入内毒素或进行盲肠结扎穿孔术(CLP)制备脓毒症模型,一组给予外源性血浆凝溶胶蛋白,另一组给予安慰剂进行对照研究。结果显示,脓毒症发生 6 h 内,脓毒症鼠体内血浆凝溶胶蛋白的缺失(正常参考值 25%~50%)伴随着循环中肌动蛋白增加而出现。补充外源性凝溶胶蛋白后,循环中肌动蛋白聚集物溶解,内毒素血症小鼠和 CLP 模型小鼠的死亡率明显降低。给予外源性凝溶胶蛋白后,内毒素血症小鼠模型体内抗炎细胞因子血浆白细胞介素-10 增加[血浆凝溶胶蛋白组(205 ± 108)ng/L 比生理盐水对照组(39 ± 29)ng/L]。因此研究者认为,循环中微粒肌动蛋白可以作为脓毒症介导的细胞损伤的标记物,而血浆凝溶胶蛋白对脓毒症患者有重要的保护作用,血浆凝溶胶蛋白替代物治疗有望成为脓毒症临床治疗潜在的研究方向。

杜颖,周国勇,编译自《Crit Care Med》,2007-01-03(电子版);胡森,审校