

## · 海外发表论文选读 ·

**编者按** 应广大读者要求,本刊特开设“海外发表论文选读”栏目,围绕当期重点号主题,将国内学者发表在科学引文索引收录期刊上的最新论文翻译为中文,以大摘要形式加以介绍,共享其研究成果。

## Toll 样受体 4 介导小鼠肠缺血再灌注诱导的肺损伤及肺炎症反应

贲道锋 余喜亚 纪广玉 郑德义 吕开阳 马兵 夏照帆

内脏器官缺血是临床重症患者的常见病变之一,不但会造成局部内脏器官的缺血性损害,而且会引发远隔部位脏器病变。在诸多脏器中,肺脏最易受到机体远隔脏器缺血性病变的影响,成为机体失控炎症损害的主要靶器官之一,常常迅速进展为急性呼吸窘迫综合征,病情凶险顽固,预后极差。前期研究证实,局部脏器缺血引发的炎症反应是肺损伤的发病基础,肺损伤的本质是全身炎症反应在肺部的表现,是炎症肺损伤。在炎症肺损伤发生发展的过程中,诸多炎症细胞和炎症介质通过不同的信号转导途径,构成炎症反应的“细胞网络”和“生物介质网络”,直接参与炎症肺损伤的发生发展,但其潜在的分子生物学机制目前还不甚明朗。本研究拟通过利用 Toll 样受体 4 (toll-like receptor 4, TLR4) 基因突变小鼠和 TLR4 野生型小鼠,在肠缺血再灌注 (IR) 损伤基础上,以肺脏为靶器官,初步研究 TLR4 信号通路在脏器 IR 引发炎症肺损伤中的作用机制。

### 1 材料与方 法

美国 Jackson 实验动物中心提供的 8 ~ 10 周龄、体质量 22 ~ 30 g 健康成年雄性 TLR4 基因突变小鼠 ( $C_3H/HeJ$ ) 和 TLR4 野生型小鼠 ( $C_3H/HeOuJ$ ) 各 32 只为实验对象。所有动物实验均遵守上海第二军医大学伦理委员会及国家健康研究中心的相关规定。将 TLR4 基因突变小鼠和 TLR4 野生型小鼠,分别按照随机数字表法分为肠 IR 损伤组 (包括 TLR4 基因突变 IR 组与 TLR4 野生型 IR 组 2 个亚组,每组 20 只小鼠) 与假伤组 (包括 TLR4 基因突变假伤组与 TLR4 野生型假伤组 2 个亚组,每组 12 只小鼠)。肠 IR 损伤组小鼠结扎肠系膜上动脉 40 min 后再灌注 6 h,制成肠 IR 损伤模型;假伤组小鼠仅作开腹探查处理。造模后取 4 个亚组小鼠肺组织,一半组织用于肺组织微血管渗透性及组织学检查,另一半用于分子生物学检测,具体如下。采用 Carraway 双盲病理评分,评价各组小鼠肺损伤程度;原位末端标记染色检测各组小鼠肺上皮细胞凋亡指数;蛋白质印迹法检测活化半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 3 (caspase-3) 蛋白表达水平、Bcl-xL/Bax 比值、磷酸化细胞外信号调节激酶 1/2 (ERK1/2)

蛋白、磷酸化 c-Jun 氨基末端激酶 (JNK) 蛋白以及磷酸化 p38/MAPK 蛋白表达水平;检测肺泡灌洗液中异硫氰酸荧光素 (FITC) 标记白蛋白荧光强度与血清中 FITC 标记白蛋白荧光强度,计算两者比值,评价肺微细血管通透性变化;检测肺组织髓过氧化物酶 (MPO) 含量,评价中性粒细胞肺内浸润情况;分别采用 RNA 印迹与 ELISA 法检测小鼠肺组织匀浆中的细胞因子 TNF- $\alpha$ 、IL-6、单核细胞趋化蛋白 1 (MCP-1) 和巨噬细胞炎症蛋白 2 (MIP-2) 的 mRNA 和蛋白表达水平;电泳迁移改变率实验检测促炎症转录因子 NF- $\kappa$ B 及激活蛋白 1 (AP-1) 活化情况。采用单因素方差分析判断组间差异 (统计学量值略),  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

### 2 结 果

TLR4 基因突变 IR 组小鼠肺损伤程度病理学评分、肺上皮细胞凋亡指数、肺泡灌洗液中 FITC 标记白蛋白荧光强度与血清中 FITC 标记白蛋白荧光强度比值、MPO 含量均较 TLR4 野生型 IR 组明显降低 ( $P$  值均小于 0.05)。与 TLR4 野生型 IR 组比较,TLR4 基因突变 IR 组小鼠活化 caspase-3 蛋白、磷酸化 p38/MAPK 蛋白表达水平均明显降低 ( $P$  值均小于 0.05), Bcl-xL/Bax 比值明显增加 ( $P < 0.05$ ), 而磷酸化 ERK1/2 蛋白和磷酸化 JNK 蛋白表达水平相近 ( $P$  值均大于 0.05)。TLR4 基因突变 IR 组小鼠肺组织匀浆中细胞因子 TNF- $\alpha$ 、IL-6、MCP-1 和 MIP-2 的 mRNA 和蛋白表达水平均较 TLR4 野生型 IR 组明显下降 ( $P$  值均小于 0.01)。TLR4 基因突变 IR 组促炎症转录因子 NF- $\kappa$ B 及 AP-1 的活化较 TLR4 野生型 IR 组明显减轻 ( $P$  值均小于 0.05)。假伤组的 2 个亚组间各项检测指标水平均相近,差异无统计学意义 ( $P$  值均大于 0.05)。

### 3 讨 论

本研究进一步探讨机体脏器缺血引发炎症肺损伤的分子生物学机制,结果表明,TLR4 基因突变 IR 组小鼠的肺损伤相关指标均较 TLR4 野生型 IR 组小鼠明显改善,且 TLR4 基因突变 IR 组小鼠的磷酸化 p38/MAPK 蛋白表达下降,促炎症转录因子 NF- $\kappa$ B 及 AP-1 活化减轻,说明 TLR4 极可能通过 p38/MAPK 和 NF- $\kappa$ B 信号通路介导肠 IR 诱导的炎症肺损伤的病理生理过程。

国外研究证实,机体免疫细胞主要通过膜表面的模式识

DOI:10.3760/cma.j.issn.1009-2587.2012.03.026

作者单位:200433 上海,第二军医大学长海医院全军烧伤研究所  
通信作者:夏照帆,Email: xiazhaofan@163.com,电话:021-81873471

别受体——TLR 对致病因素的相关分子肽进行识别,从而启动免疫调控程序。TLR 活化后能触发细胞内的信号级联反应,使转录因子 p38/MAPK 和 NF-κB 活化,从而启动一系列炎症因子转录,诱导各种炎性细胞因子释放,参与局部和全身过度炎症反应的发生发展。由此说明,TLR4 信号系统过度活化是机体全身失控性炎症反应的一个重要发病机制,对其进行有效抑制可能是防止全身炎症反应乃至 MODS 的理

想干预靶点。然而,如何使其更加安全有效地应用于临床治疗,还需要更长时间的探索与研究。

[本文已以英文发表,全文见“Ben DF, Yu XY, Ji GY, et al. TLR4 mediates lung injury and inflammation in intestinal ischemia-reperfusion. J Surg Res, 2012,174(2):326-333”]

(收稿日期:2012-03-15)

(本文编辑:谢秋红)

### · 病例报告 ·

## 小儿严重烧伤应用抗生素致维生素 K 缺乏一例

翁志勇 丁若虹 沈文川

患儿女,3岁,躯干、臀部、四肢沸水烫伤(后称烧伤)后约2h入院。入院诊断:烧伤总面积35%,其中浅Ⅱ度5%、深Ⅱ度25%、Ⅲ度5%TBSA。入院后常规进行补液、抗感染、营养支持等治疗,每1~2天行创面换药1次。联合使用抗生素:头孢甲肟1.0g/d,硫酸依替米星50mg/d,连用5d。后单独使用头孢甲肟1.0g/d,连用5d。因患儿家长拒绝手术治疗,创面仅予以换药处理。伤后1、7、14d,尿常规检查结果正常,镜检未见血尿;血常规检查结果正常,Hb109g/L。伤后25d,患儿出现肉眼血尿,询问病史,家长否认患儿既往有血尿、鼻出血、牙龈易出血、皮肤紫癜等病史。查体未见泌尿系统阳性体征。于是急诊行尿常规检查示:尿中红细胞(+++),白细胞(+),尿蛋白(+),尿比重1.015,未见管型、真菌、脓细胞等。血常规检查示:白细胞计数 $9.2 \times 10^9/L$ ,Hb108g/L,凝血酶原时间60.0s,活化部分凝血活酶时间61.0s,国际标准化比值5.00,凝血酶时间12.4s,纤维蛋白原3.4g/L。外周血细胞形态学检查未见明显异常。肝、肾功能正常。血浆凝血酶原前体蛋白(PIVKA-II)阳性。行腹部X线片及B超检查,未见泌尿系统影像学异常表现。诊断为“继发性维生素K缺乏症<sup>[1]</sup>”,静脉滴注维生素K<sub>1</sub>,20mg/d,用药后第2天眼血尿明显减轻,凝血功能逐步趋向正常。连续应用维生素K<sub>1</sub>3d后血尿完全消失,尿常规检测结果无异常,凝血功能(凝血酶原时间14.2s,活化部分凝血活酶时间35.0s,国际标准化比值1.18,凝血酶时间13.0s,纤维蛋白原2.6g/L)完全正常,继续口服维生素K类片剂1周。伤后37d,患儿尚有约3%TBSA散在Ⅲ度创面未愈,其家长拒绝手术,自动出院于门诊换药治疗至创面修复。随访3个月,创面愈合良好,未再出现血尿,复查凝血功能正常。

讨论 该患儿出现肉眼血尿后并无其他相关的泌尿系

统症状、体征或影像学阳性结果,既往无相关出血性疾病史,血尿前后Hb含量无明显差异,外周血细胞形态学检查未见明显异常,虽凝血酶原时间和活化部分凝血活酶时间明显延长,但凝血酶时间和纤维蛋白原含量正常。故此,不考虑泌尿系统原发疾病和血液系统疾病,以上阳性指标提示维生素K缺乏可能性最大,查PIVKA-II为阳性,补充维生素K<sub>1</sub>后,症状迅速消失,相关实验室检查结果很快恢复正常,证实确为“继发性维生素K缺乏症”。

本例严重烧伤患儿的治疗过程中,静脉应用头孢甲肟10d,时程较长。头孢类药物的不良反应之一是阻碍维生素K的合成和吸收,因为含有N-甲基硫四唑侧链的头孢菌素可抑制环氧化物还原酶,阻断维生素K循环导致其缺乏,并且多表现为迟发性<sup>[2]</sup>。此外,长时间使用抗生素且前5d联合应用硫酸依替米星,可致肠道菌群失调,维生素K的肠道合成受阻以致吸收减少。烧伤后,患者处于高代谢状态,营养消耗大,若不及时给予合理、全面的营养补充,某类物质的缺乏就会导致机体表现出相关临床症状或体征。本例患儿属于严重烧伤,其家长未按医嘱有计划地全面给予患儿营养,饮食单一,也是造成其维生素K缺乏的原因之一。维生素K缺乏后导致凝血因子合成障碍,最终表现为单一部位出血或多部位同时出血<sup>[3]</sup>,包括脑出血、皮肤紫癜、消化道出血、血尿等,应用维生素K<sub>1</sub>治疗效果明显、确切。因此,笔者建议在治疗严重烧伤和(或)长时间使用头孢类抗生素的患者,尤其是小儿烧伤患者时,定时适量给予维生素K<sub>1</sub>以防止此类出血情况的发生。

### 参考文献

- [1] 张会丰,王卫平.认识和警惕晚发型维生素K缺乏性出血.中华儿科杂志,2003,41(1):5-6.
- [2] 刘利祥,周金平,韩素桂,等.头孢菌素致小儿亚临床维生素K缺乏108例分析.华北煤炭医学院学报,2011,13(1):84-85.
- [3] 刘益林,李红云,张延华.昆明市儿童医院晚发型维生素K缺乏症临床症状分析.中华流行病学杂志,2003,24(11):1039.

(收稿日期:2011-06-25)

(本文编辑:谢秋红)

DOI:10.3760/cma.j.issn.1009-2587.2012.03.027

作者单位:435005 湖北省黄石市第五医院烧伤科

通信作者:丁若虹,Email:dingruohong@sina.com,电话:

13907230382