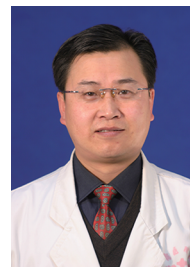


· 基础研究热点 ·

硫化氢对深 II 度烧伤大鼠创面巨噬细胞分泌细胞因子的影响

李毅 徐东波 王洪瑾



【摘要】 目的 分析外源性硫化氢对深 II 度烧伤大鼠创面巨噬细胞分泌生长因子 bFGF、TGF- β_1 及炎症介质 TNF- α 、IL-1 β 的影响。方法 将 78 只 SD 大鼠按照随机数字表法分为正常对照组(6 只)及单纯烧伤组、硫化氢组、炔丙基甘氨酸(PPG)组、硫化氢 + PPG 组,后 4 组每组 18 只。正常对照组大鼠不做任何处理,其余各组大鼠均造成背部约 5% TBSA 深 II 度烫伤(以下称烧伤)。伤后即刻,单纯烧伤组、硫化氢组、PPG 组大鼠分别腹腔注射生理盐水 2 mL/kg、硫化氢 56 μ mol/kg、PPG 45 mg/kg,硫化氢 + PPG 组大鼠腹腔注射硫化氢 56 μ mol/kg + PPG 45 mg/kg,每天注射 1 次直至取材前日。正常对照组大鼠于饲养 1 周时,其余各组大鼠于伤后 3、7、14 d,每组各取 6 只大鼠。正常对照组大鼠于背部正常皮肤、其余各组大鼠于创面基底取组织块,分离巨噬细胞,采用 ELISA 法测定各组大鼠巨噬细胞培养上清液中 bFGF、TGF- β_1 、TNF- α 、IL-1 β 含量。对数据行析因设计方差分析、单因素方差分析、LSD 检验。结果 与正常对照组的(42.6 \pm 2.5)、(18 \pm 4) pg/mL 比较,单纯烧伤组大鼠各时相点巨噬细胞培养上清液中 bFGF、TGF- β_1 含量明显升高(P 值均小于 0.01),于伤后 14 d 达最高值,分别为(141.6 \pm 7.7)、(580 \pm 16) pg/mL。与单纯烧伤组比较,硫化氢组大鼠各时相点巨噬细胞培养上清液中 bFGF、TGF- β_1 含量明显升高(P 值均小于 0.01),于伤后 14 d 达最高值,分别为(193.7 \pm 10.9)、(793 \pm 12) pg/mL; PPG 组大鼠各时相点巨噬细胞培养上清液中 bFGF、TGF- β_1 含量明显降低(P 值均小于 0.01),伤后 3 d 达最低值,分别为(62.0 \pm 7.1)、(170 \pm 10) pg/mL。硫化氢 + PPG 组大鼠各时相点巨噬细胞培养上清液中 bFGF、TGF- β_1 含量明显低于硫化氢组、明显高于 PPG 组(P 值均小于 0.01),于伤后 14 d 达最高值,分别为(151.3 \pm 9.0)、(579 \pm 9) pg/mL。与正常对照组的(97 \pm 6)、(31 \pm 6) pg/mL 比较,单纯烧伤组大鼠各时相点巨噬细胞培养上清液中 TNF- α 、IL-1 β 含量明显升高(P 值均小于 0.01),伤后 3 d 达最高值,分别为(924 \pm 8)、(290 \pm 10) pg/mL。与单纯烧伤组比较,硫化氢组大鼠各时相点巨噬细胞培养上清液中 TNF- α 、IL-1 β 含量明显降低(P 值均小于 0.01),于伤后 14 d 达最低值,分别为(346 \pm 10)、(120 \pm 5) pg/mL; PPG 组大鼠各时相点巨噬细胞培养上清液中 TNF- α 、IL-1 β 含量明显升高(P 值均小于 0.01),于伤后 3 d 达最高值,分别为(1 232 \pm 13)、(410 \pm 10) pg/mL。硫化氢 + PPG 组大鼠各时相点巨噬细胞培养上清液中 TNF- α 、IL-1 β 含量明显高于硫化氢组、明显低于 PPG 组(P 值均小于 0.01),于伤后 14 d 达最低值,分别为(488 \pm 16)、(144 \pm 6) pg/mL。结论 深 II 度烧伤大鼠早期补充微量外源性硫化氢,可增加创面巨噬细胞对生长因子 bFGF、TGF- β_1 的分泌,同时减少其对炎症介质 TNF- α 、IL-1 β 的释放,从而影响创面愈合。

【关键词】 烧伤; 硫化氢; 巨噬细胞; 细胞因子类

基金项目:国家自然科学基金(81160237)

Effects of hydrogen sulfide on the secretion of cytokines in macrophages of deep partial-thickness burn wound in rats

Li Yi, Xu Dongbo, Wang Hongjin. Department of Burns and Plastic Surgery, Qinghai University Affiliated Hospital, Xining 810001, China

Corresponding author: Li Yi, Email: liyiqhxn2006@aliyun.com

【Abstract】 Objective To analyze the effects of exogenous hydrogen sulfide on the secretion of growth factors basic fibroblast growth factor (bFGF) and transforming growth factor β_1 (TGF- β_1), as well as inflammatory mediators tumor necrosis factor α (TNF- α) and interleukin 1 β (IL-1 β) in macrophages of deep partial-thickness burn wound in rats. **Methods** Seventy-eight SD rats were divided into normal con-

DOI:10.3760/cma.j.issn.1009-2587.2016.07.005

作者单位:810001 西宁,青海大学附属医院烧伤整形科

通信作者:李毅,Email:liyiqhxn2006@aliyun.com

control group ($n = 6$), pure burn group, sodium hydrosulfide group, propargylglycine (PPG) group, and sodium hydrosulfide + PPG group according to the random number table, with 18 rats in each of the latter four groups. Rats in normal control group did not receive any treatment, while rats in the other four groups were inflicted with 5% total burn surface area deep partial-thickness scald (hereinafter referred to as burn) on the back. Immediately after burn, rats in pure burn group, sodium hydrosulfide group, and group PPG were intraperitoneally injected with saline 2 mL/kg, sodium hydrosulfide 56 $\mu\text{mol/kg}$, and PPG 45 mg/kg respectively, while those in sodium hydrosulfide + PPG group were intraperitoneally injected with sodium hydrosulfide 56 $\mu\text{mol/kg}$ and PPG 45 mg/kg, once a day till the day before harvesting specimen. Six rats of normal control group fed for one week, and 6 rats from each of the rest four groups on post injury day (PID) 3, 7, 14 were collected respectively. Normal skin on the back of rats in normal control group and tissue in the base of wound of rats in the other four groups were harvested to isolate macrophages, and then the content of bFGF, TGF- β_1 , TNF- α , and IL-1 β in culture supernatant of macrophages was detected with enzyme-linked immunosorbent assay. Data were processed with one-way analysis of variance, analysis of variance of factorial design, and LSD test. **Results** Compared with that of normal control group [(42.6 \pm 2.5) and (18 \pm 4) pg/mL], the content of bFGF and TGF- β_1 in culture supernatant of macrophages of rats in pure burn group was obviously increased at each time point (with P values below 0.01), peaking on PID 14 at (141.6 \pm 7.7) and (580 \pm 16) pg/mL respectively. Compared with that of pure burn group, the content of bFGF and TGF- β_1 in culture supernatant of macrophages of rats in sodium hydrosulfide group was obviously increased at each time point (with P values below 0.01), peaking on PID 14 at (193.7 \pm 10.9) and (793 \pm 12) pg/mL respectively, while the content of bFGF and TGF- β_1 in culture supernatant of macrophages of rats in group PPG was obviously decreased at each time point (with P values below 0.01), reaching the nadir on PID 3 at (62.0 \pm 7.1) and (170 \pm 10) pg/mL respectively. The content of bFGF and TGF- β_1 in culture supernatant of macrophages of rats in sodium hydrosulfide + PPG group was obviously lower than that of sodium hydrosulfide group but obviously higher than that of group PPG at each time point (with P values below 0.01), peaking on PID 14 at (151.3 \pm 9.0) and (579 \pm 9) pg/mL respectively. Compared with that of normal control group [(97 \pm 6) and (31 \pm 6) pg/mL], the content of TNF- α and IL-1 β in culture supernatant of macrophages of rats in pure burn group was obviously increased at each time point (with P values below 0.01), peaking on PID 3 at (924 \pm 8) and (290 \pm 10) pg/mL respectively. Compared with that of pure burn group, the content of TNF- α and IL-1 β in culture supernatant of macrophages of rats in sodium hydrosulfide group was obviously decreased at each time point (with P values below 0.01), reaching the nadir on PID 14 at (346 \pm 10) and (120 \pm 5) pg/mL respectively, while the content of TNF- α and IL-1 β in culture supernatant of macrophages of rats in group PPG was obviously increased at each time point (with P values below 0.01), peaking on PID 3 at (1 232 \pm 13) and (410 \pm 10) pg/mL respectively. The content of TNF- α and IL-1 β in culture supernatant of macrophages of rats in sodium hydrosulfide + PPG group was obviously higher than that of sodium hydrosulfide group but obviously lower than that of group PPG at each time point (with P values below 0.01), reaching the nadir on PID 14 at (488 \pm 16) and (144 \pm 6) pg/mL respectively. **Conclusions** Supplementation of exogenous hydrogen sulfide in small dosage can increase the secretion of growth factors bFGF and TGF- β_1 in macrophages of wound in rats with deep partial-thickness burn in the early stage and reduce the release of inflammatory mediators TNF- α and IL-1 β in the meantime, thus affecting the healing of wound.

【Key words】 Burns; Hydrogen sulfide; Macrophages; Cytokines

Fund program: National Natural Science Foundation of China (81160237)

在烧伤创面愈合这个复杂的生物学过程中,有多种组织器官、修复细胞、ECM 发挥作用,其中巨噬细胞通过分泌大量炎症介质和多种生长因子参与该过程。现已证实,如果没有巨噬细胞参与,创面就无法顺利愈合^[1]。雷云^[2]的研究证实,给予深 II 度烧伤大鼠外源性硫化氢后,创面愈合时间缩短;但硫化氢影响创面愈合的相关机制目前尚鲜见报道。

综合上述情况,本研究拟采用外源性硫化氢干预深 II 度烧伤大鼠,观察创面巨噬细胞分泌生长因子和炎症介质的变化,从而探讨硫化氢影响烧伤创面修复的机制。

1 材料与方法

1.1 动物及主要试剂与仪器来源

78 只清洁级健康雄性 SD 大鼠,2~3 个月龄,体重(220 \pm 20)g,购自甘肃省中医学院实验动物中心,动物许可证号:SCXK(甘)2004-0006。体外硫化氢供体硫氢化钠、胶原酶购自西格玛奥德里奇(上海)贸易有限公司,硫化氢合成酶即胱硫醚- γ -裂解酶的抑制剂炔丙基甘氨酸(PPG)、胰蛋白酶、Percoll 细胞分离液、单核细胞完全培养液均购自南京奥多福尼生物科技有限公司,大鼠 bFGF、TGF- β_1 、TNF- α 、IL-1 β ELISA 检测试剂盒均购自武汉伊莱瑞特生物

科技有限公司。电热恒温水浴箱购自上海博迅实业有限公司。

1.2 动物分组及处理

将 78 只 SD 大鼠按照随机数字表法分为正常对照组(6 只)及单纯烧伤组、硫化钠组、PPG 组、硫化钠 + PPG 组,后 4 组每组 18 只。适应性饲养 1 周后,正常对照组不做处理;其余各组大鼠用 200 g/L 氨基甲酸乙酯以 5 mL/kg 腹腔注射麻醉,背部脱毛后浸入(90.0 ± 0.5)℃电热恒温水浴箱中 12 s,造成背部约 5% TBSA 深 II 度烫伤(经病理切片证实,以下称烧伤),创面每日涂碘伏 1 次预防感染。伤后即刻,单纯烧伤组、硫化钠组、PPG 组大鼠分别腹腔注射生理盐水 2 mL/kg、硫化钠 56 μmol/kg^[3]、PPG 45 mg/kg,硫化钠 + PPG 组大鼠腹腔注射硫化钠 56 μmol/kg + PPG 45 mg/kg,每天注射 1 次直至取材前日。实验期间,大鼠均正常进食饮水。

1.3 巨噬细胞分离与培养

各烧伤组大鼠于伤后 3、7、14 d,每组各取 6 只处理大鼠。体积分数 75% 乙醇对创面及周边皮肤进行 5 min 灭菌,剪取约 15 mm × 10 mm × 5 mm 大小创面基底组织块,PBS(pH 值为 7.2,pH 值下同)清洗 2 次。体积分数 75% 乙醇灭菌处理 3 min,PBS 清洗 2 次。去除皮下脂肪组织后,将剩余组织剪成 15 mm × 5 mm 小片,PBS 清洗 5 次。2.5 g/L 胰蛋白酶消化过夜,去除已经消化松脱的表皮和被毛,PBS 清洗 3 次。将真皮组织剪成 1 mm × 1 mm 大小碎块,在 37℃ 条件下用 1 g/L 胶原酶消化 30 min。将消化后细胞悬液过 150 目不锈钢网筛,加入 1 mL FBS 终止消化,以离心半径 7.5 cm(离心半径下同),1 000 r/min 离心 5 min。弃去上清液,1.5 mL PBS 重新悬浮细胞。取离心管,依次加入 4 mL 体积分数 70% Percoll 细胞分离液、4 mL 体积分数 30% Percoll 细胞分离液、1.5 mL 细胞悬液,3 000 r/min 离心 30 min。吸出体积分数 70% Percoll 细胞分离液

和体积分数 30% Percoll 细胞分离液之间的细胞悬液,用 PBS 将细胞悬液稀释 1 倍,1 000 r/min 离心 10 min。弃去上清液,PBS 清洗 1 次,1 000 r/min 离心 5 min,用单核细胞完全培养液重新悬浮细胞,将细胞浓度调整为 2 × 10⁵ 个/mL,置于培养瓶中,于 37℃ 体积分数 5% 二氧化碳细胞培养箱中培养 2 d 后,收集上清液。正常对照组大鼠适应性饲养 1 周后,于背部正常皮肤处同烧伤组取材处理。

1.4 检测指标及方法

取各组大鼠巨噬细胞培养 2 d 后上清液,用 ELISA 检测试剂盒测定细胞培养上清液中 bFGF、TGF-β₁、TNF-α、IL-1β 含量,操作严格按照试剂盒说明书进行。实验重复 3 次。

1.5 统计学处理

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 17.0 统计软件进行处理。5 组间总体比较行单因素方差分析,各烧伤组间总体比较行析因设计方差分析,两两比较行 LSD 检验(软件自动略去该统计量值), $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 bFGF 含量

与正常对照组比较,各烧伤组大鼠各时相点巨噬细胞培养上清液中 bFGF 含量均明显升高(P 值均小于 0.01),其中硫化钠组各时相点 bFGF 含量最高。与单纯烧伤组比较,硫化钠组大鼠各时相点巨噬细胞培养上清液中 bFGF 含量明显升高(P 值均小于 0.01),PPG 组大鼠各时相点巨噬细胞培养上清液中 bFGF 含量明显降低(P 值均小于 0.01)。硫化钠 + PPG 组大鼠各时相点巨噬细胞培养上清液中 bFGF 含量明显低于硫化钠组、明显高于 PPG 组(P 值均小于 0.01)。见表 1。

2.2 TGF-β₁ 含量

与正常对照组比较,各烧伤组大鼠各时相点巨

表 1 各组大鼠各时相点正常皮肤/创面巨噬细胞培养上清液中 bFGF 含量比较(pg/mL, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数(只)	伤后 3 d	伤后 7 d	伤后 14 d
单纯烧伤组	18	81.5 ± 2.0 ^a	112.4 ± 11.7 ^a	141.6 ± 7.7 ^a
硫化钠组	18	150.4 ± 9.5 ^{abc}	173.4 ± 8.7 ^{abc}	193.7 ± 10.9 ^{abc}
PPG 组	18	62.0 ± 7.1 ^{abc}	87.7 ± 5.9 ^{abc}	100.9 ± 12.4 ^{abc}
硫化钠 + PPG 组	18	85.0 ± 3.5 ^a	107.1 ± 15.5 ^a	151.3 ± 9.0 ^a
F 值		327.39	189.29	15.98
P 值		<0.01	<0.01	<0.01

注:正常对照组鼠数为 6 只,其 bFGF 含量为(42.6 ± 2.5)pg/mL; F 值、 P 值为 5 组间各时相点总体比较所得(表中各组各时相点均与正常对照组比较);表中 4 组间处理因素主效应, $F = 296.54, P < 0.001$;时间因素主效应, $F = 179.97, P < 0.001$;两者交互作用, $F = 7.10, P < 0.001$;与正常对照组比较,^a $P < 0.01$;与单纯烧伤组比较,^b $P < 0.01$;与硫化钠 + 炔丙基甘氨酸(PPG)组比较,^c $P < 0.01$

噬细胞培养上清液中的 TGF-β₁ 含量均明显升高 (P 值均小于 0.01), 其中硫化氢组各时相点 TGF-β₁ 含量最高。与单纯烧伤组比较, 硫化氢组大鼠各时相点巨噬细胞培养上清液中 TGF-β₁ 含量明显升高 (P 值均小于 0.01), PPG 组大鼠各时相点巨噬细胞培养上清液中 TGF-β₁ 含量明显降低 (P 值均小于 0.01)。硫化氢 + PPG 组大鼠各时相点巨噬细胞培养上清液中 TGF-β₁ 含量明显低于硫化氢组、明显高于 PPG 组 (P 值均小于 0.01)。见表 2。

表 2 各组大鼠各时相点正常皮肤/创面巨噬细胞培养上清液中 TGF-β₁ 含量比较 (pg/mL, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数(只)	伤后 3 d	伤后 7 d	伤后 14 d
单纯烧伤组	18	289 ± 18 ^a	456 ± 5 ^a	580 ± 16 ^a
硫化氢组	18	426 ± 13 ^{abc}	596 ± 16 ^{abc}	793 ± 12 ^{abc}
PPG 组	18	170 ± 10 ^{abc}	357 ± 13 ^{abc}	491 ± 8 ^{abc}
硫化氢 + PPG 组	18	302 ± 7 ^a	477 ± 16 ^a	579 ± 9 ^a
F 值		289.72	251.65	326.41
P 值		<0.01	<0.01	<0.01

注: 正常对照组鼠数为 6 只, 其 TGF-β₁ 含量为 (18 ± 4) pg/mL; F 值、P 值为 5 组间各时相点总体比较所得 (表中各组各时相点均与正常对照组比较); 表中 4 组间处理因素主效应, F = 1 240.47, P < 0.001; 时间因素主效应, F = 3 445.03, P < 0.001; 两者交互作用, F = 25.96, P < 0.001; 与正常对照组比较, ^aP < 0.01; 与单纯烧伤组比较, ^bP < 0.01; 与硫化氢 + 炔丙基甘氨酸 (PPG) 组比较, ^cP < 0.01

2.3 TNF-α 含量

与正常对照组比较, 各烧伤组大鼠各时相点巨噬细胞培养上清液中 TNF-α 含量均明显升高 (P 值均小于 0.01), 4 个烧伤组中硫化氢组各时相点 TNF-α 含量最低。与单纯烧伤组比较, 硫化氢组大鼠各时相点巨噬细胞培养上清液中 TNF-α 含量明显降低 (P 值均小于 0.01), PPG 组大鼠各时相点巨噬细胞培养上清液中 TNF-α 含量明显升高 (P 值均小于 0.01)。硫化氢 + PPG 组大鼠各时相点巨噬细胞培养上清液中 TNF-α 含量明显高于硫化氢组、明显低于 PPG 组 (P 值均小于 0.01)。见表 3。

2.4 IL-1β 含量

与正常对照组比较, 各烧伤组大鼠各时相点巨噬细胞培养上清液中 IL-1β 含量均明显升高 (P 值均小于 0.01), 4 个烧伤组中硫化氢组各时相点 IL-1β 含量最低。与单纯烧伤组比较, 硫化氢组大鼠各时相点巨噬细胞培养上清液中 IL-1β 含量明显降低 (P 值均小于 0.01), PPG 组大鼠各时相点巨噬细胞培养上清液中 IL-1β 含量明显升高 (P 值均小于 0.01)。硫化氢 + PPG 组大鼠各时相点巨噬细

表 3 各组大鼠各时相点正常皮肤/创面巨噬细胞培养上清液中 TNF-α 含量比较 (pg/mL, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数(只)	伤后 3 d	伤后 7 d	伤后 14 d
单纯烧伤组	18	924 ± 8 ^a	733 ± 11 ^a	529 ± 13 ^a
硫化氢组	18	558 ± 15 ^{abc}	400 ± 10 ^{abc}	346 ± 10 ^{abc}
PPG 组	18	1 232 ± 13 ^{abc}	1 086 ± 19 ^{abc}	729 ± 8 ^{abc}
硫化氢 + PPG 组	18	866 ± 21 ^a	712 ± 17 ^a	488 ± 16 ^a
F 值		378.29	389.85	358.73
P 值		<0.01	<0.01	<0.01

注: 正常对照组鼠数为 6 只, 其 TNF-α 含量为 (97 ± 6) pg/mL; F 值、P 值为 5 组间各时相点总体比较所得 (表中各组各时相点均与正常对照组比较); 表中 4 组间处理因素主效应, F = 4 843.22, P < 0.001; 时间因素主效应, F = 3 937.66, P < 0.001; 两者交互作用, F = 142.38, P < 0.001; 与正常对照组比较, ^aP < 0.01; 与单纯烧伤组比较, ^bP < 0.01; 与硫化氢 + 炔丙基甘氨酸 (PPG) 组比较, ^cP < 0.01

胞培养上清液中 IL-1β 含量明显高于硫化氢组、明显低于 PPG 组 (P 值均小于 0.01)。见表 4。

表 4 各组大鼠各时相点正常皮肤/创面巨噬细胞培养上清液中 IL-1β 含量比较 (pg/mL, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数(只)	伤后 3 d	伤后 7 d	伤后 14 d
单纯烧伤组	18	290 ± 10 ^a	215 ± 16 ^a	203 ± 7 ^a
硫化氢组	18	197 ± 8 ^{abc}	141 ± 17 ^{abc}	120 ± 5 ^{abc}
PPG 组	18	410 ± 10 ^{abc}	341 ± 10 ^{abc}	271 ± 13 ^{abc}
硫化氢 + PPG 组	18	299 ± 14 ^a	204 ± 10 ^a	144 ± 6 ^a
F 值		254.13	190.64	210.93
P 值		<0.01	<0.01	<0.01

注: 正常对照组鼠数为 6 只, 其 IL-1β 含量为 (31 ± 6) pg/mL; F 值、P 值为 5 组间各时相点总体比较所得 (表中各组各时相点均与正常对照组比较); 表中 4 组间处理因素主效应, F = 1 126.79, P < 0.001; 时间因素主效应, F = 871.79, P < 0.001; 两者交互作用, F = 30.46, P < 0.001; 与正常对照组比较, ^aP < 0.01; 与单纯烧伤组比较, ^bP < 0.01; 与硫化氢 + 炔丙基甘氨酸 (PPG) 组比较, ^cP < 0.01

3 讨论

机体遭受烧/创伤后, 中性粒细胞、单核细胞及淋巴细胞陆续浸润到受损部位, 清除创伤局部的坏死组织、细胞碎片及污染的病原微生物, 并参与创面愈合和组织修复过程^[4]。巨噬细胞在各炎症因子富集、趋化因子释放及后续炎症反应放大的过程中, 均起到中流砥柱的作用^[5]。本研究中检测的是巨噬细胞可以分泌的 4 种细胞因子, 其中 bFGF、TGF-β₁ 能调节细胞的增殖与分化, 加速 ECM 的合成, 进而促进创面愈合; TNF-α、IL-1β 参与机体免疫反应和炎症反应的调节, 若产生过多, 或与其他细胞因子的关系失调, 会引起一系列的炎性损害, 阻碍创面愈合^[6]。硫化氢在自然界中是有害气体, 但在体内是

重要的气体信号分子,具有舒张血管平滑肌、降低血压、抑制血管平滑肌细胞增殖、清除自由基、减弱心肌收缩力、降低中心静脉压等广泛的心血管效应^[7]。笔者团队前期研究结果提示,给予微量硫化氢可以保护严重烧伤大鼠重要脏器,减轻休克期炎症反应,且未见对机体造成毒性作用或不良反应^[8-9]。

本研究结果显示,单纯烧伤组大鼠各时相点巨噬细胞培养上清液中 bFGF、TGF- β_1 含量较正常对照组明显升高,说明烧伤后巨噬细胞释放生长因子明显增多,有助于创面修复过程。进一步对比观察显示,硫化氢组大鼠各时相点巨噬细胞培养上清液中 bFGF、TGF- β_1 含量明显高于单纯烧伤组,而 PPG 组该 2 项指标含量则明显低于单纯烧伤组,说明给予外源性硫化氢可以促进巨噬细胞分泌 bFGF、TGF- β_1 ,而降低内源性硫化氢的含量,也会抑制巨噬细胞分泌 bFGF、TGF- β_1 。硫化氢 + PPG 组大鼠伤后各时相点 bFGF、TGF- β_1 含量的变化情况说明,即使产生硫化氢的关键酶胱硫醚- γ -裂解酶活性降低,只要提高细胞内硫化氢含量,就能促使巨噬细胞分泌 bFGF、TGF- β_1 。以上结果提示,硫化氢通过促进巨噬细胞分泌生长因子影响烧伤创面愈合。

单纯烧伤组大鼠各时相点巨噬细胞培养上清液中 TNF- α 、IL-1 β 含量明显高于正常对照组,提示烧伤后活化的巨噬细胞释放炎症介质增多。而失控炎症反应会引起局部组织和远隔器官的损伤,因此烧伤后适当抑制炎症因子的增多是有益的。进一步分析显示,硫化氢组大鼠各时相点巨噬细胞培养上清液中 TNF- α 、IL-1 β 含量明显低于单纯烧伤组,而 PPG 组该 2 项指标含量则明显高于单纯烧伤组,表明给予外源性硫化氢可以显著降低创面巨噬细胞分泌 TNF- α 、IL-1 β ,而内源性硫化氢的生成被抑制后会使创面巨噬细胞分泌 TNF- α 、IL-1 β 增加。而硫化氢 + PPG 组大鼠各时相点 TNF- α 、IL-1 β 含量的变化情况说明,即使产生硫化氢的关键酶胱硫醚- γ -裂解酶的活性降低,只要提高细胞内硫化氢含量,就能抑制巨噬细胞分泌 TNF- α 、IL-1 β 。以上结果提示,硫化氢通过抑制巨噬细胞分泌炎症介质影响烧伤创面愈合。

本研究结果表明,给予微量硫化氢后深 II 度烧伤大鼠创面巨噬细胞生长因子分泌增多、炎症介质分泌减少,从细胞层面证实了适量提高体内硫化氢水平有利于烧伤创面愈合。本研究的不足之处在于,没有进一步探索硫化氢干预巨噬细胞内信号传导并影响其分泌细胞因子的途径,这将是笔者今后研究的方向。

参考文献

- [1] Fullerton JN, O'Brien AJ, Gilroy DW. Lipid mediators in immune dysfunction after severe inflammation[J]. Trends Immunol, 2014, 35(1):12-21. DOI:10.1016/j.it.2013.10.008.
- [2] 雷云. 硫化氢对大鼠深 II° 烧伤创面愈合的影响[D]. 西宁:青海大学, 2013.
- [3] 胡军, 朱琳, 杨少娟, 等. 硫化氢对 2 型糖尿病大鼠胰岛素抵抗和脂代谢的影响[J]. 中华实验外科杂志, 2015, 32(1):54-56, 封四. DOI:10.3760/cma.j.issn.1001-9030.2015.01.018.
- [4] 杨宗城, 汪仕良, 周一平. 实用烧伤外科手册[M]. 2 版. 北京:人民军医出版社, 2008:1-2.
- [5] He L, Marnaros AG. Macrophages are essential for the early wound healing response and the formation of a fibrovascular scar [J]. Am J Pathol, 2013, 182(6):2407-2417. DOI: 10.1016/j.ajpath.2013.02.032.
- [6] 王姝月, 樊磊, 白晓智, 等. 重度烧伤大鼠血清对巨噬细胞 Notch1 的激活及分泌功能的影响[J/CD]. 中华损伤与修复杂志:电子版, 2015, 10(2):120-125. DOI:10.3877/cma.j.issn.1673-9450.2015.02.005.
- [7] 耿彬, 杜军保, 唐朝枢. 敏感硫电极法在测定心血管组织细胞及血浆胱硫醚- γ -裂解酶/硫化氢的应用[J]. 北京大学学报(医学版), 2005, 37(5):545-548. DOI:10.3321/j.issn:1671-167X.2005.05.023.
- [8] 李毅, 王洪瑾, 宋学芳, 等. 硫化氢对严重烧伤大鼠重要脏器的影响[J]. 中华烧伤杂志, 2011, 27(1):54-58. DOI:10.3760/cma.j.issn.1009-2587.2011.01.015.
- [9] 未培轩, 李毅, 王洪瑾, 等. 硫化氢对大鼠烧伤后炎症反应的影响[J/CD]. 中华损伤与修复杂志:电子版, 2012, 7(1):40-43. DOI:10.3877/cma.j.issn.1673-9450.2012.01.009.

(收稿日期:2015-07-07)

(本文编辑:谢秋红)

本文引用格式

- 李毅, 徐东波, 王洪瑾. 硫化氢对深 II 度烧伤大鼠创面巨噬细胞分泌细胞因子的影响[J]. 中华烧伤杂志, 2016, 32(7):408-412. DOI:10.3760/cma.j.issn.1009-2587.2016.07.005.
- Li Y, Xu DB, Wang HJ. Effects of hydrogen sulfide on the secretion of cytokines in macrophages of deep partial-thickness burn wound in rats [J]. Chin J Burns, 2016, 32(7):408-412. DOI:10.3760/cma.j.issn.1009-2587.2016.07.005.