

L-选择素介导白细胞-烧伤血清激活的内皮细胞粘附

倪俊 刘志国 陈玉林 于宝军 杨红莲 方勇 张素贞 邰京宁 刘训龙

【摘要】 目的 研究 L-选择素在大鼠中性粒细胞(PMN)与烧伤血清激活的内皮细胞间粘附中的介导作用。 **方法** 用组织块法培养大鼠肺微血管内皮细胞(PMEC),用持续灌注法收集并分离大鼠 PMN。收集标本测定 L-选择素单抗、L-选择素配体硫苷脂孵育的 PMN 及 PMEC 间粘附率。

结果 L-选择素单抗或硫苷脂能降低中性粒细胞与烧伤血清激活的 PMEC 间粘附率。 **结论** L-选择素介导了 PMN 与被激活的 PMEC 之间的粘附。

【关键词】 烧伤; 细胞粘附; 选择素

The adherence of leukocytes mediated by L-selectin to endothelia activated by burn sera NI Jun, LIU Zhiguo, CHEN Yulin, et al. Department of Surgery, The Eighty-fifth Hospital of PLA. Department of Burns, Changhai Hospital, The Second Military Medical University. Department of Surgery, Changzheng Hospital, The Second Military Medical University Shanghai 200052, P. R. China.

【Abstract】 Objective To study the mediating effects of L-selectin on the adherence of rat PMNs to the endothelia activated by burn sera. **Methods** Pulmonary microvascular endothelial cells (PMEC) of rat were cultured by tissue block method. Rat PMNs were harvested by continuous perfusion. The samples were collected for the detection of the adhering rate of PMEC to the PMNs after being cultured with L-selectin monoclonal antibody(mAb), L-selectin ligand and sulfatide, respectively. **Results** The adhering rate of PMNs to PMEC was obviously lowered by the adding of L-selectin mAb and sulfatide. **Conclusion** The adherence of PMNs to activated PMEC could be mediated by L-selectin.

【Key words】 Burn; Cell adherence; L-Selectin

白细胞粘附与烧伤后全身炎症反应综合征、休克、感染等密切相关,粘附分子选择素家族介导了白细胞与内皮细胞的初始接触及白细胞在血管壁上的滚动。L-选择素通常在中性粒细胞、单核细胞、大多数 T、B 细胞及 NK 细胞亚群中有表达,介导白细胞在血管内皮上的接触和滚动、白细胞间粘附和淋巴细胞归巢^[1,2]。Giuffre 等^[3]的体外实验提示,L-选择素介导了单核细胞与被 TNF α 激活的牛动脉内皮细胞间的粘附。本实验旨在利用离体大鼠的中性粒细胞(PMN)和体外培养的肺微血管内皮细胞(PMEC),观察烧伤血清对大鼠 PMEC 与 PMN 粘附的影响,以及 L-选择素单抗和配体对细胞粘附的阻断作用。

材 料 与 方 法

1. 实验动物:SD 大鼠 60 只,雌雄不限,体重 200 ~ 250 g(第二军医大学实验动物中心提供),用于 PMEC 培养和 PMN 分离。

2. 实验方法:(1)取大鼠肺边缘和表面组织,切成小块,进行 PMEC 的培养传代^[4],细胞融合后加入体积分数为 10% 的大鼠烧伤后 2、4、6 h 血清刺激^[5],每组 8 孔。20 min 后去除培养液,用 Hanks 液漂洗 2 次,加 PMN 悬液 0.5 ml(1×10^6 /ml),在 CO₂ 培养箱中孵育 1 h。吹打未贴壁细胞使其悬浮并计数,根据加入 PMN 的总数和未粘附的游离 PMN 计数之差,计算被激活的 PMN-PMEC 粘附率^[5]。(2)用持续灌注法收集大鼠血细胞,并分离 PMN^[6]。在 PMN 中加入 20 ml 1:100 稀释的大鼠 L-选择素单抗(美国 Pharmingen 公司),或终浓度为 400 g/L 的 L-选择素配体硫苷脂(美国 Sigma 公司)孵育 20 min 后,再分别加入含正常 PMEC 培养液或烧伤血清激活的 PMEC 培养液中,用同法测定粘附率。

3. 统计学处理:数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,行 *t* 检验。

结 果

正常大鼠 PMN 与 PMEC 间的粘附率为(29.88 \pm 6.16)%,烧伤后 2、4、6 h 血清刺激的 PMEC 与大鼠 PMN 之间的粘附率分别增加至(39.88 \pm 7.08)%、(44.88 \pm 7.54)%和(51.13 \pm 8.91)%,

基金项目:上海市医学领先专业基金资助

作者单位:200052 上海,解放军第八十五医院外科(倪俊、刘训龙);长海医院烧伤科(刘志国、陈玉林、于宝军、方勇、张素贞、邰京宁);长征医院外科(杨红莲)

差异有显著性意义 ($P < 0.01$)。

经 L-选择素单抗孵育的 PMN 与 PMEC 间粘附率为 $(21.56 \pm 5.67)\%$, 明显低于正常大鼠 PMN-PMEC 间粘附率 ($P < 0.01$)。烧伤后 2、4、6 h 血清刺激的 PMEC 与 L-选择素单抗孵育后的 PMN 之间, 粘附率分别增至 $(29.69 \pm 6.65)\%$ 、 $(33.69 \pm 5.69)\%$ 、 $(35.06 \pm 5.78)\%$, 但与烧伤血清刺激的 PMEC-PMN 之间的粘附率相比较, 均明显降低 ($P < 0.01$)。

经硫苷脂孵育的 PMN-PMEC 间粘附率为 $(21.50 \pm 6.38)\%$, 比正常大鼠 PMN-PMEC 间粘附率明显降低 ($P < 0.01$), 烧伤后 2、4、6 h 血清刺激的 PMEC 与硫苷脂孵育后的 PMN 间粘附率分别增至 $(28.94 \pm 7.84)\%$ 、 $(30.88 \pm 5.38)\%$ 、 $(33.63 \pm 6.86)\%$, 明显低于烧伤血清刺激的 PMEC 与正常 PMN 间粘附率 ($P < 0.01$, 图 1)。

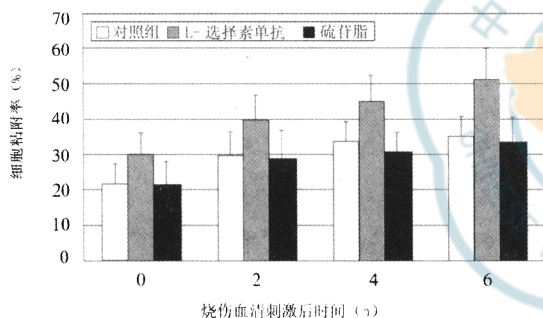


图 1 L-选择素单抗、硫苷脂介导 PMN-烧伤血清刺激的 PMEC 粘附

Fig 1 Mediating role of anti-L-selectin mAb, sulfatide in the polymorphonuclear neutrophil adherence to endothelial cells activated by burn sera

讨 论

严重烧伤后大鼠血清中的细胞因子、炎症介质、烧伤毒素、脂质过氧化物等均能使 PMEC、PMN 表面

的粘附分子或配体的表达增强, 经烧伤血清刺激后的 PMEC 与 PMN 间粘附率亦明显增加。严重烧伤后 6 h, 血清中的各种细胞因子、炎症介质的浓度均较高, 对内皮细胞的刺激作用较强。

硫苷脂能与 L-选择素和 P-选择素结合, 达到预防大鼠急性肝损伤、大鼠急性炎性肺损伤和内毒素休克的作用^[7]。本实验中, 无论是应用 L-选择素单抗, 还是 L-选择素配体硫苷脂, PMN 与烧伤血清激活的 PMEC 间粘附率均明显降低。提示 L-选择素介导了 PMN 与烧伤血清激活的 PMEC 间粘附, 在 PMN 上的 L-选择素水平增加可能是引起烧伤后 PMN-PMEC 间粘附增加的因素之一。白细胞粘附过程中释放的活性氧、细胞因子等将损伤内皮细胞, 使脏器损伤进一步加重。此时用单抗或配体对 L-选择素进行适当阻断, 减轻白细胞与内皮细胞间粘附, 有可能对减轻烧伤后的脏器损伤起到保护作用。

参 考 文 献

- 倪俊, 陈玉林. 选择素与创伤脓毒症. 国外医学创伤与外科基本问题分册, 1998, 19: 133 - 136.
- Bird MI, Foster MR, Priest R, et al. Selectins: physiological and pathophysiological roles. Biochem Soc Trans, 1997, 25: 1199 - 1206.
- Giuffre L, Cordey AS, Monai N, et al. Monocyte adhesion to activated aortic endothelium: role of L-selectin and heparan sulfate proteoglycans. J Cell Biol, 1997; 136: 945 - 956.
- 方勇, 陈玉林, 葛绳德, 等. 烧伤后 CD11b/CD18 介导的中性粒细胞粘附对肺微血管内皮细胞单层通透性的影响. 中华医学杂志, 1998, 78: 746 - 748.
- 倪俊, 于宝军, 杨红莲, 等. 硫苷脂和烧伤后血清刺激大鼠中性粒细胞产生活性氧. 中国病理生理杂志, 2000, 16: 721.
- 丁自强, 李少华, 吴中立. 血小板激活抑制因子介导过氧化氢引起的白细胞-内皮细胞粘附. 第二军医大学学报, 1992, 13: 106 - 110.
- Higashi H, Suzuki Y, Muksida N, et al. Intervention in endotoxin shock by sulfatide with a concomitant reduction in tumor necrosis factor alpha production. Infect Immun, 1997, 65: 1223 - 1226.

(收稿日期: 2000 - 04 - 28)

(编辑: 王旭)

· 消息 ·

《中华烧伤杂志》征订启事

《中华烧伤杂志》是中华医学会主办的高级专业学术期刊, 由《中华整形烧伤外科杂志》分刊而来。读者对象为医学院校、科研机构各级从事烧伤救治的医生, 以及与烧伤防治研究相关学科的人员。烧伤和其并发症几乎涉及医学科学所有边缘学科, 与病理生理学、病理学、免疫学、微生物学、分子生物学、生物工程学均有密切关系。临床面临的休克、感染、营养、内脏并发症、水、电解质紊乱及创面修复等难题都很突出, 本刊将择优刊登上述外科基本问题以飨读者, 为读者提供烧伤及相关学科的新理论、新技术、新方法、新经验。《中华烧伤杂志》由国内著名烧伤外科及相关学科专家组成编委会, 具有科学性、实用性, 内容新颖, 可读性强, 是目前国内惟一的全国性烧伤权威刊物。本刊为双月刊, 大 16 开, 64 页铜版纸印刷并配彩图, 每期 10 元。邮发代号: 78 - 131。欢迎广大作者和读者通过邮局订阅或直接向编辑部邮购。汇款请寄: 重庆市高滩岩正街 29 号《中华烧伤杂志》编辑部; 邮编: 400038; 电话: 023 - 68754670, 65427354; 传真: 023 - 65427364; E-mail: cmashz@public.cta.cq.cn。