

专利申请号 01110740.5。

3. pBZHG 组细胞的上清液具有杀灭 J5 的能力,而空载体组细胞上清液不具有该能力,两者比较,差异有非常显著性意义($P < 0.01$);空载体组与对照组相比,CFU 值差异无显著性意义($P > 0.05$),见表 3。

表 3 已转染 pBZHG 的 COS-7 细胞培养上清液杀灭 J5 菌能力的测定 ($\bar{x} \pm s$)

Tab 3 Bactericidal activity of the supernatant of COS-7 cells transfected with pBZHG ($\bar{x} \pm s$)

组别	样本数(孔)	集落生成单位(CFU)
pBZHG 组	6	73 ± 18
空载体组	6	325 ± 56
对照组	6	346 ± 58

注:与空载体组比较, * $P < 0.01$

讨 论

存在于革兰阴性杆菌外膜上的内毒素,是革兰阴性杆菌引起脓毒症的主要原因,可直接刺激机体单核-巨噬细胞系统分泌肿瘤坏死因子 α (TNF α)、白细胞介素 1、6 (IL-1、IL-6) 等细胞因子,这些因子的过度释放将导致机体多器官功能衰竭甚至死亡^[5]。由于革兰阴性杆菌在被抗生素杀灭的同时可大量释放内毒素,因此,寻找既能杀菌又能中和内毒素的抗菌肽,是当前烧伤治疗学关注的焦点^[6]。

葛佬素分子量为 13.8 kDa (13.8×10^3),具有杀菌及中和内毒素的作用。从蚕蛹中直接分离纯化所得的葛佬素数量非常有限,远不能满足科研及临床应用的需要,制备重组的葛佬素为其重要手段。欲

获得重组葛佬素,其先决条件是要获知葛佬素的 cDNA 序列,但目前尚未见有关报道。本研究在对同种已知蛋白质 Attacin A cDNA 中氨基酸密码子的出现频度进行分析后,将其出现频度高的密码子带入葛佬素蛋白质序列中,进行葛佬素 cDNA 序列设计,并采用 PCR 重叠延伸法进行目的基因构建,随后将该基因插入真核细胞载体,转染 COS-7 细胞,收集转染细胞上清行杀菌活性测定。结果表明,pBZHG 组细胞上清具有杀灭大肠杆菌 J5 的作用,而空载体组细胞上清则无杀菌活性,说明所设计的葛佬素基因正确并可在真核细胞中表达。由此,笔者拟进一步大量表达该蛋白,深入研究其拮抗内毒素的生物活性作用,为后续的药用研究奠定基础。

参 考 文 献

- 1 Axen A, Carlsson A, Engstrom A, et al. Gloverin, an antibacterial protein from the immune hemolymph of *Hyalophora* pupae [J]. *Eur. J. Biochem*, 1997, 247: 614 - 619.
- 2 J. 萨姆布鲁克, E. F. 费里奇, 主编. 金冬雁, 黎孟枫, 翻译. 分子克隆实验指南. 第 2 版. 北京: 科学出版社, 1996. 16 - 183.
- 3 Mackintosh JA, Gooley AA, Karuso PH, et al. A gloverin-like antibacterial protein is synthesized in *Helicoverpa armigera* following bacterial challenge. *Dev Comp Immunol*, 1998, 22: 387 - 399.
- 4 刘上辉, 黄培堂, 徐秀英, 等. 组织型纤溶酶原激活剂突变体的构建、表达及特性分析. *中国科学 (B 辑)*, 1995, 25: 399 - 405.
- 5 Calandra T. Pathogenesis of septic shock; implications for prevention and treatment [J]. *J Chemother*, 2001, 13: 173 - 180.
- 6 Opal SM, Yu RL Jr. Antiendotoxin strategies for the prevention and treatment of septic shock. New approaches and future directions [J]. *Drugs*, 1998, 55: 497 - 508.

(收稿日期: 2002 - 04 - 22)

(本文编辑: 罗 勤)

· 病例报告 ·

小面积烧伤并发破伤风一例

张进军 孙翠红 苏立翔 邹宏亮

患者男, 42 岁, 不慎被开水烫伤臀部后在私人诊所就医, 创面外用湿润烧伤膏治疗。于伤后 17 d 出现颈项强直和持续性肌肉痉挛, 伤后 20 d 转入本院治疗。追问病史, 伤后未曾注射破伤风抗毒素 (TAT)。查体: 体温 38℃, 脉搏 90 次/min, 呼吸 20 次/min, 血压 120/82 mmHg (1 mmHg = 0.133 kPa), 意识清楚, 苦笑面容, 嚼肌痉挛, 张口及吞咽困难, 颈项强直, 角弓反张, 持续性强直性肌痉挛。创面污秽积脓, 周边红肿, 查无其他阳性体征。入院诊断: (1) 臀部 III 度烧伤 1% TBSA; (2) 破伤风。

治疗: 入院后立即清除创面坏死组织, 并用 3% 双氧水、0.1% 新洁尔灭、外用等渗盐水反复冲洗创面, 冲洗后创面半

暴露, 持续灯烤, 并在严密隔离的前提下, 早期对症治疗。静脉予氧哌嗪青霉素和甲硝唑注射液抑制破伤风杆菌和预防其他感染; TAT 3 000 U/d, 分 4 次肌肉注射 (因先后共 6 次 TAT 皮试结果阳性); 同时给予氨基酸、脂肪乳等静脉营养药物。入院后 10 d, 患者颈项强直及持续性肌痉挛减轻, 第 15 天行清创植皮术, 住院 26 d, 痊愈出院。

体会: (1) 不论烧伤面积大小, 只要有深度烧伤, 伤后宜常规注射 TAT, 以预防破伤风发生。(2) 湿润烧伤膏抗感染能力不可靠, 伤后应到烧伤专科就诊。(3) 早期应用高效、广谱抗生素控制局部感染和预防其他感染。(4) 感染破伤风后应用大剂量精制 TAT, 拮抗体内游离破伤风毒素。

(收稿日期: 2001 - 10 - 15)

(本文编辑: 赵 云)

作者单位: 101149 北京, 解放军第三六三医院烧伤科