

## · 烧伤后早期脏器损害与防治 ·

## 烫伤大鼠肠粘膜前列腺素水平与前列腺素转移因子 mRNA 表达的变化

孟德胜 汪仕良

**【摘要】 目的** 探讨烫伤大鼠肠粘膜前列腺素  $E_2$  ( $PGE_2$ )、前列腺素  $I_2$  ( $PGI_2$ )、血栓素  $A_2$  ( $TXA_2$ ) 水平和前列腺素转移因子 (PGT) mRNA 表达变化及其意义。**方法** 以 30% TBSA Ⅲ度烫伤大鼠为模型,以放射免疫法测定肠粘膜中  $PGE_2$ 、 $PGI_2$ 、 $TXA_2$  的含量,用原位杂交检测 PGT mRNA 表达。**结果** 大鼠肠粘膜  $PGE_2$ 、 $PGI_2$  水平在伤后 12 h 升高,随后明显降低 ( $P < 0.05 \sim 0.01$ );  $TXA_2$  水平在伤后 24、48 h 明显高于正常水平 ( $P < 0.05$ ); PGT mRNA 表达在伤后有增加的趋势。**结论** 烫伤后肠粘膜  $PGE_2$  水平降低及  $TXA_2$  水平升高,可能是肠粘膜损伤的机制之一; PGT 对伤后 PGs 水平具有调节作用。

**【关键词】** 烧伤; 肠粘膜; 前列腺素; 前列腺素转移因子

The changes in the prostaglandin level and the prostaglandin transfer factor mRNA expression in the intestinal mucosa in scalded rats MENG De-sheng, WANG Shi-liang. Institute of Burn Research, Southwestern Hospital, State Key Laboratory of Trauma, Burns and Combined Injury, The Third Military Medical University, Chongqing 400038, P. R. China

**【Abstract】 Objective** To explore the changes in the  $PGE_2$  and  $PGI_2$ ,  $TXA_2$  levels and PGT mRNA expression in the intestinal mucosa in scalded rats. **Methods** Wistar rats inflicted with TBSA 30% Ⅲ degree scald were employed as the model. The  $PGE_2$  and  $PGI_2$  and  $TXA_2$  contents in the intestinal mucosa were measured by radioimmunoassay, and the expression of PGT mRNA was detected by in situ hybridization. **Results** The  $PGE_2$  and  $PGI_2$  levels in intestinal mucosa were increased at 12 postburn hours (PBHs) and thereafter decreased dramatically ( $P < 0.05$ ). The  $TXA_2$  level in intestinal mucosa of scalded rats was obviously higher than that of normal level at 24 and 48 PBHs ( $P < 0.05$ ), and the expression of PGT mRNA seemed to be increased after scalding. **Conclusion** The decrease of  $PGE_2$  level and the increase of  $TXA_2$  level in the intestinal mucosa of scalded rats might be involved in rat mucosal injury, and PGT played an important role in the regulation of PGs levels.

**【Key words】** Burn; Intestinal mucosa; Prostaglandin; Prostaglandin transporter

肠道是由多类细胞构成的具有多种功能的器官,严重烧伤后,由于受应激、休克、缺血缺氧及再灌注损害等诸多因素的影响,肠粘膜常发生不同程度的损伤<sup>[1]</sup>。肠粘膜受损后可造成肠道细菌和内毒素移位、全身炎性反应、高代谢及多器官功能障碍综合征等,因此研究肠粘膜损伤的发病机制具有重要的临床意义。前列腺素 (PGs) 是人们在胃肠道中最早发现的具有细胞保护作用的物质,目前对烧伤后肠粘膜内 PGs 的变化规律及 PGs 在肠粘膜损伤过程中的作用报道较少。因此,笔者观察了烫伤大鼠肠粘膜 PGs 含量和前列腺素转移因子 (PGT) mRNA 表达的变化情况,以探讨其在烫伤后肠道粘膜损伤发生机制中的作用。

## 材料与 方法

## 一、试剂与仪器

PGs 放免分析试剂盒购自苏州医学院血栓室; rPGT cDNA 质粒 Matrinc (2 748 bp) 由美国 Victor L. Schuster 教授惠赠; FT-608<sup>125</sup>I 放免测定仪 (北京二六一厂); 紫外分光光度计 (美国 Beckman 公司); 图像分析仪 (德国 Teits 公司)。

## 二、动物模型与分组

健康成年 Wistar 大鼠 42 只,体重 180 ~ 220 g,由第三军医大学实验动物中心提供。动物随机分为实验组 (35 只) 和正常对照组 (7 只)。实验组背部除毛,饲养 24 h 以后以 94℃ 热水烫伤 18 ~ 20 s,烫伤面积占总体表面积的 30%,病理学检验证实为Ⅲ度烫伤。实验组大鼠分别于伤后 6、12、24、48、72 h 处死,每时相点 7 只,处死前禁食 12 h。另处死正常对照组大鼠。取各大鼠空肠肠段约 2 cm,迅速置液氮中保存,作冷冻切片;另剪开腹腔,用滤纸吸干水

作者单位:400038 重庆,第三军医大学西南医院全军烧伤研究所,创伤烧伤复合伤国家重点实验室 (孟德胜现在重庆市第三军医大学大坪医院药剂科,400042)

分,刮取肠粘膜,迅速置液氮中保存。测定时取约 150 mg 肠粘膜,以等渗盐水 3 ml 匀浆,离心半径 8 cm,3 000 r/min 离心 15 min,取上清液待测。

二、检测指标及方法

1. 放免法测定待测液中 PGs 含量:取待测液 100 μl 与相同体积的<sup>125</sup>I 示踪剂,混匀后加入相应抗体,再以聚乙二醇 4 000 吸附抗原抗体复合物。通过测定其放射性即可推算出样品中 PGs 的含量,结果以每克肠粘膜中 PGs 的含量表示。

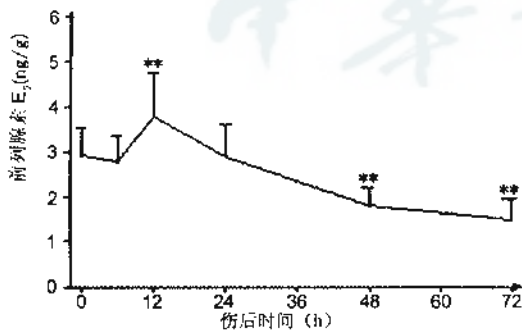
2. 原位杂交检测大鼠肠粘膜 PGT mRNA 表达变化:(1) 探针的制备及标记:按常规行大鼠 rPCT cDNA 质粒的转化、扩增、抽提和纯化。BamH I 酶切、回收目的基因片段、凝胶电泳检测,片段约为 400 bp。按德国宝灵曼公司的试剂盒说明书,用地高辛配基随机引物法标记 PGT cDNA 探针。(2) 原位杂交<sup>[2]</sup>:冷冻切片以体积分数 4% 多聚甲醛固定,蛋白酶 K 消化后,加入变性探针杂交 15 h,再加入抗体反应 30 min,最后以四唑氮蓝(NBT)显色。封片、镜检(100 倍),结果以各时相点表达强度与对照组表达强度的比值表示。

四、统计学处理

数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,采用 SPSS 统计分析软件进行 *t* 检验。

结 果

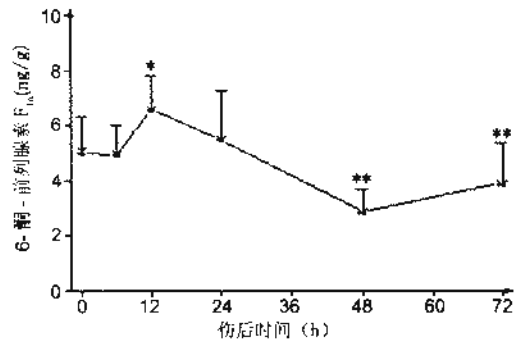
1. 前列腺素 E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) 水平变化:正常大鼠肠粘膜可产生 PGE<sub>2</sub>,烫伤后肠粘膜内 PGE<sub>2</sub> 含量呈增加趋势,伤后 12 h PGE<sub>2</sub> 水平最高,随后持续下降,伤后 48、72 h 明显低于对照组 (*P* < 0.01),见图 1。



注:与正常对照组比较, \*\* *P* < 0.01  
图 1 大鼠烫伤后肠粘膜前列腺素 E<sub>2</sub> 水平动态变化  
Fig 1 The dynamic change in PGE<sub>2</sub> level in the intestinal mucosa in scalded rats

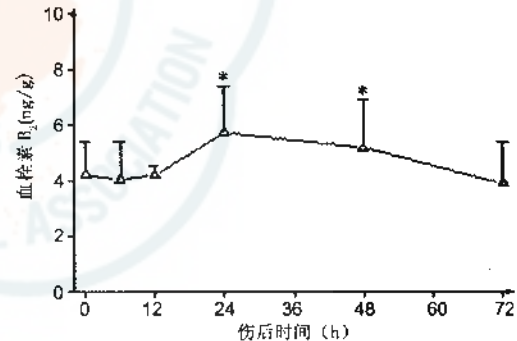
2. 前列腺素 I<sub>2</sub> (PGI<sub>2</sub>) 水平变化:PGI<sub>2</sub> 在体内易代谢为 6-酮-前列腺素 F<sub>1α</sub> (6-酮-PGF<sub>1α</sub>),本实验以检测 6-酮-PGF<sub>1α</sub> 的含量来反映 PGI<sub>2</sub> 的变化规律。烫伤后 12 h 大鼠肠粘膜内 6-酮-PGF<sub>1α</sub> 的含量增加,随

后持续下降,伤后 48、72 h 明显低于对照组,见图 2。



注:与正常对照组比较, \* *P* < 0.05, \*\* *P* < 0.01  
图 2 大鼠烫伤后肠粘膜 6-酮-前列腺素 F<sub>1α</sub> 动态变化  
Fig 2 The dynamic change in 6-ketone-PGF<sub>1α</sub> content in the intestinal mucosa in scalded rats

3. 血栓素 A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>) 水平的变化:TXA<sub>2</sub> 不稳定,在体内迅速转化为血栓素 B<sub>2</sub> (TXB<sub>2</sub>),本实验以检测 TXB<sub>2</sub> 水平来反映 TXA<sub>2</sub> 的变化规律。大鼠烫伤后 12 h 内肠粘膜 TXB<sub>2</sub> 的含量无明显变化,随后上升,伤后 24、48 h 明显高于对照组,伤后 72 h 恢复至接近正常水平,见图 3。



注:与正常对照组比较, \* *P* < 0.05  
图 3 大鼠烫伤后肠粘膜血栓素 B<sub>2</sub> 水平动态变化  
Fig 3 The dynamic change in TXB<sub>2</sub> level in the intestinal mucosa in scalded rats

4. 正常大鼠肠粘膜可见 PGT mRNA 阳性表达,呈蓝色,主要集中于绒毛上皮细胞,而粘膜下层表达较少。大鼠烫伤后 PGT mRNA 表达呈增强趋势,伤后 24 h 达高峰并维持至伤后 72 h,见图 4~7。

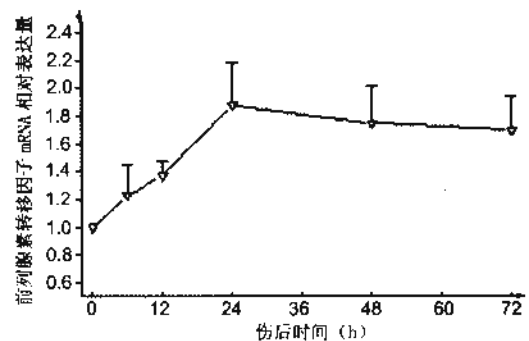


图 4 大鼠烫伤后肠粘膜前列腺素转移因子 mRNA 相对表达量的动态变化  
Fig 4 The dynamic change in relative PGT mRNA expression in the intestinal mucosa in scalded rats

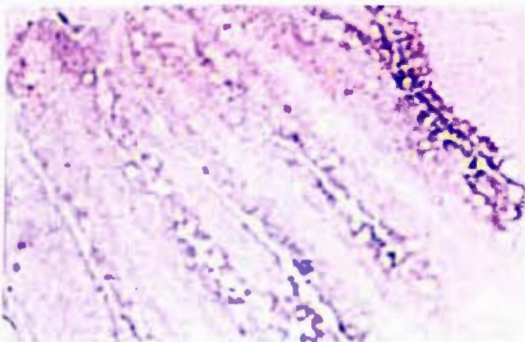


图 5 正常大鼠肠粘膜 PGT mRNA 表达 原位杂交 × 100

Fig 5 The PGT mRNA expression in intestinal mucosa of normal rats ISH × 100

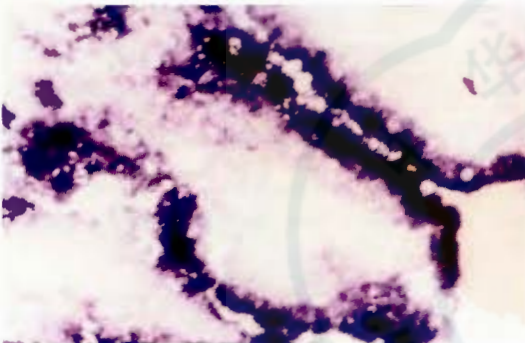


图 6 大鼠烫伤后 24 h 肠粘膜 PGT mRNA 表达 原位杂交 × 100

Fig 6 The expression of PGT mRNA in scalded rats at 24 PBH ISH × 100

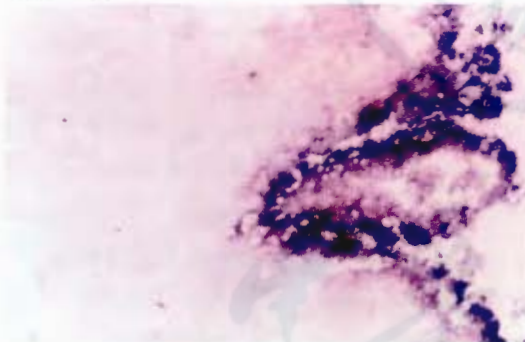


图 7 大鼠烫伤后 72 h 肠粘膜 PGT mRNA 表达 原位杂交 × 100

Fig 7 The expression of PGT mRNA in scalded rats at 72 PBH ISH × 100

### 讨 论

以往研究表明,PGs 保护胃粘膜的机制包括改善粘膜血流量、促进胃粘液— $\text{HCO}_3^-$ 的分泌、促进粘膜细胞更新代谢率、稳定溶酶体等<sup>[3]</sup>。对于

PGs 在肠粘膜中的作用报道较少,但最近人们在肠粘膜中观察到有 6-酮-PGF<sub>1 $\alpha$</sub> 和 PGE<sub>2</sub>受体存在,而应用非甾体抗炎药抑制 PGs 的释放对肠粘膜造成的损伤比消化道上段粘膜损伤更严重,说明 PGs 对维护肠粘膜的完整性也具有重要作用。吴予平等<sup>[3]</sup>研究证明,大鼠烫伤 24 h 后胃粘膜发生溃疡,粘膜中 PGE 和 DNA 的含量均明显降低。本实验结果显示,烫伤发生 24 h 后肠粘膜 6-酮-PGF<sub>1 $\alpha$</sub> 和 PGE<sub>2</sub>水平也明显降低,提示保护性 PGs 减少可能是导致烫伤大鼠肠粘膜损伤的机制之一。TXA<sub>2</sub>除介导吞噬细胞趋化外,还具有强烈的缩血管作用。在本实验中,烫伤发生 24、48 h 后 TXA<sub>2</sub>水平升高,这可能加剧了肠粘膜缺血缺氧状态。PGT 是前列腺素自身代谢和发挥生理作用的重要介质,一般认为它具有以下 3 个方面的作用:首先可介导新合成的 PGs 从细胞释放,第二可介导上皮 PGs 的转运,第三可介导 PGs 的清除与降解<sup>[4]</sup>。本实验结果表明,大鼠烫伤后肠粘膜 PGT mRNA 表达升高,笔者推测 PGT 表达增加首先促进了已合成的 PGs 释放和转运,以适应应激反应的需要,因此,6-酮-PGF<sub>1 $\alpha$</sub> 和 PGE<sub>2</sub>水平在伤后 12 h 高于正常;同时 PGT 表达增加也加速了 PGs 的降解,使 PGs 迅速耗竭,故伤后 48、72 h 6-酮-PGF<sub>1 $\alpha$</sub> 和 PGE<sub>2</sub>水平又明显低于正常水平。PGT 对 PGE<sub>1</sub>、PGE<sub>2</sub>、PGD<sub>2</sub>、PGF<sub>2 $\alpha$</sub> 的转运降解作用较强,而对 TXB<sub>2</sub>的作用较弱<sup>[2]</sup>。在实验中 TXA<sub>2</sub>与 PGE<sub>2</sub>的变化规律不同即可能是 PGT 对两者的降解速率不同造成的,其机制有待进一步研究。

### 参 考 文 献

- 1 Takeuchi K, Miyake H, Okabe, et al. Mucosal ulceration in isolated amphibian stomachs in vitro. Roles of nutrient  $\text{HCO}_3^-$  and endogenous prostaglandins. *Digestion*, 1995, 56:357-363.
- 2 Bjarnason I, Thjodleifsson B. Gastrointestinal toxicity of non-steroidal anti-inflammatory drugs: the effect of nimesulide compared with naproxen on the human gastrointestinal tract. *Rheumatology Oxford*, 1999, 38 Suppl 1: 24-32.
- 3 吴予平,李通,董秀云. 鼠烫伤后胃酸分泌、胃粘膜 PGE 和 DNA 合成的变化. *中华外科杂志*, 1984, 22:464-467.

(收稿日期:2001-02-05)

(本文编辑:赵 云 苟学萍)

### 读者·作者·编者

#### 《中华烧伤杂志》投稿要求

《中华烧伤杂志》对来稿中的摘要及关键词要求如下:(1)论著应附中、英文摘要(中文 400 字以内,英文 250 个实词),包括目的、方法、结果(给出主要数据)、结论 4 部分,摘要用第三人称撰写。(2)论著需标引 3~8 个关键词,请使用美国国立医学图书馆编辑的最新版《Index Medicus》的医学主题词表(MeSH)。请严格按本刊稿约要求投稿,谢谢合作。