

# 肿瘤坏死因子 $\alpha$ 在大鼠脑外伤后急性胃黏膜病变中的作用

王娟

王娟, 中国人民解放军总医院消化科 北京市 100853  
通讯作者: 王娟, 100853, 北京市海淀区复兴路28号, 中国人民解放军总医院消化科. wjlaqlss@sina.com  
电话: 010-66937078 传真: 010-68154653  
收稿日期: 2007-04-03 接受日期: 2007-04-13

## Role of tumor necrosis factor- $\alpha$ in acute gastric mucosal injury in rats after acute brain trauma

Juan Wang

Juan Wang, Department of Gastroenterology, General Hospital of Chinese PLA, Beijing 100853, China  
Correspondence to: Juan Wang, Department of Gastroenterology, General Hospital of Chinese PLA, 28 Fuxing Road, Haidian District, Beijing 100853, China. wjlaqlss@sina.com  
Received: 2007-04-03 Accepted: 2007-04-13

### Abstract

**AIM:** To detect the content of tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) in acute gastric mucosal injury in rats after acute brain trauma and explore its significance.

**METHODS:** Modified Allen's method was used to induce the rat model of acute gastric mucosal injury after acute brain trauma. Meanwhile, the sham operation group was also designed. The content of TNF- $\alpha$  and ulcer index of gastric mucosa were determined at different time points (1, 3, 6, 24 h), and the pathological changes were also observed under light microscope.

**RESULTS:** The content of TNF- $\alpha$  in model group was significantly higher than that in control group at the 1<sup>st</sup>, 3<sup>rd</sup>, 6<sup>th</sup> and 24<sup>th</sup> hour ( $t = 16.45, P = 0.000; t = 5.252, P = 0.000; t = 9.099, P = 0.000; t = 12.028, P = 0.000$ ). More severe injury occurred in model group and the ulcer index of gastric mucosa was markedly higher than that in control group at the 6<sup>th</sup> and 24<sup>th</sup> hour ( $t = 7.275, P = 0.000; t = 10.579, P = 0.000$ ). TNF- $\alpha$  content was positively correlated with the ulcer index of gastric mucosa ( $r = 0.68, P = 0.004$ ).

**CONCLUSION:** TNF- $\alpha$  plays a certain role in acute gastric mucosal injury after acute brain trauma.

**Key Words:** Tumor necrosis factor- $\alpha$ ; Acute gastric mucosal injury; Brain trauma; Rat

Wang J. Role of tumor necrosis factor- $\alpha$  in acute gastric mucosal injury in rats after acute brain trauma. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2007;15(12):1437-1440

### 摘要

**目的:** 检测肿瘤坏死因子 $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )在大鼠脑外伤后急性胃黏膜病变前后的含量并探讨其意义。

**方法:** 采用改良的Allen法建立大鼠颅脑外伤并发急性胃黏膜病变模型, 同时设立假手术对照组, 测定不同时间点(1, 3, 6, 24 h)各组大鼠血清中TNF- $\alpha$ 含量及胃黏膜溃疡指数, 并观察胃黏膜大体及光镜下组织病理学改变。

**结果:** 模型组1, 3, 6, 24 h血清中TNF- $\alpha$ 含量明显高于对照组( $t = 16.45, P = 0.000; t = 5.252, P = 0.000; t = 9.099, P = 0.000; t = 12.028, P = 0.000$ )。模型组胃黏膜损伤严重, 6, 24 h点溃疡指数明显高于对照组( $t = 7.275, P = 0.000; t = 10.579, P = 0.000$ )。TNF- $\alpha$ 含量与溃疡指数呈线性正相关( $r = 0.68, P = 0.004$ )。组织学也有相应改变。

**结论:** TNF- $\alpha$ 在颅脑外伤急性胃黏膜病变的发病中起一定作用。

**关键词:** 肿瘤坏死因子 $\alpha$ ; 急性胃黏膜病变; 脑外伤; 大鼠

王娟. 肿瘤坏死因子 $\alpha$ 在大鼠脑外伤后急性胃黏膜病变中的作用. 世界华人消化杂志 2007;15(12):1437-1440  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/15/1437.asp>

### 0 引言

急性胃黏膜病变是临床常见急症, 是机体在应激状态下所引起的急性胃黏膜糜烂、溃疡和出

### ■背景资料

对于急性胃黏膜病变的发病机制, 研究较多的是胃黏膜血流减少和微循环障碍、胃酸分泌异常和胃黏膜屏障功能的破坏、胃运动功能异常、神经内分泌失调、心理因素等, TNF- $\alpha$ 的作用报道甚少。有些学者给大鼠服用NSAIDs, 建立急性胃黏膜病变模型, 提出TNF- $\alpha$ 与胃黏膜损伤关系密切, 本研究建立了大鼠颅脑外伤急性胃黏膜病变模型, 发现TNF- $\alpha$ 在急性胃黏膜病变的发病中起一定作用。

# ■同行评价

本文研究了肿瘤坏死因子(TNF- $\alpha$ )在大鼠脑外伤后急性胃黏膜病变中的作用,科学性较好,结果可信,结论可靠,有较高的指导意义。

血,在重症监护病房中发病率85%-100%。其发病机制非常复杂,关于TNF- $\alpha$ 在颅脑损伤引起的急性胃黏膜病变的研究报道甚少。我们建立大鼠颅脑外伤急性胃黏膜病变模型,检测血清中肿瘤坏死因子(TNF- $\alpha$ )含量及胃黏膜溃疡指数(UI),并观察胃黏膜大体及光镜下组织病理学改变,以探讨TNF- $\alpha$ 在急性胃黏膜病变发病中的作用。

## 1 材料和方法

1.1 材料 体质量为220-280 g  $\delta$  Wistar大鼠48只随机分为2组,各组24只,即: I组应激组, II组假手术组,每组按颅脑外伤后1, 3, 6, 24 h时间点再分为4小组(每组6只)。实验仪器包括307-2B牙科台式电钻车(宁波医疗器械厂);大鼠立体定位仪(国营西北光学仪器厂);离心机(北京医用离心机厂)。TNF- $\alpha$ 试剂盒由北京邦定生物医学公司提供。

1.2 方法 用改良的Allen法<sup>[1]</sup>建立颅脑外伤模型,将禁食(自由饮水)24 h大鼠用100 mL/L水合氯醛麻醉(4 mL/kg),头部固定于立体定位仪上,中线处切开头皮约4-5 cm,剥离骨膜,用牙科电钻于大鼠头颅齿状缝左旁2 mm,冠状缝后1 mm,人字缝前1 mm处钻孔至硬脑膜,将中心黏有直径3 mm高4 mm圆柱体的硬塑料板(直径1 cm,厚5 mm)放置于大鼠头部顶叶,其中心圆柱体置于钻孔内,于距硬塑料板上方50 cm高度将20 g砝码自由落下造成颅脑损伤模型后缝合头皮。I组大鼠分别于颅脑损伤后禁食水1, 3, 6, 24 h后测定各项指标; II组大鼠于切开头皮钻孔后不打击缝合头皮,禁食水1, 3, 6, 24 h后测定各项指标。大鼠用100 mL/L水合氯醛(4 mL/kg)麻醉后,于剑突下正中切开腹壁,游离胃,口肛两端结扎,沿胃大弯侧剪开胃壁,用生理盐水冲洗后评定UI;剪去一小块胃黏膜,浸于40 g/L甲醛固定,光镜下观察黏膜组织的病理变化。心脏取血1 mL后处死大鼠,将血以3000 r/min离心15 min,取上清液-20℃保存;观测血清TNF- $\alpha$ 含量,采用双抗体夹心ELISA方法, TNF- $\alpha$ 浓度以ng/L表示;胃黏膜UI,参照Guth<sup>[2-3]</sup>标准评定,即以胃黏膜斑点糜烂记1分,糜烂长径<1 mm记2分, 1-2 mm记3分, >2-3 mm记4分,  $\geq 3$  mm记5分,按上述方法计分全胃得分之和即为UI;光镜下观察黏膜组织的病理变化。

**统计学处理** 计量数据用均数 $\pm$ 标准差表示,采用CHISS统计软件,对同一组中不同时间

的计量资料用单因素方差分析,对不同组间计量资料两两比较使用 $t$ 检验,用直线相关与回归分析UI与血清肿瘤坏死因子含量之间关系。

## 2 结果

2.1 病理学观察 I组大鼠于打击后1, 3 h可见胃黏膜弥漫性充血水肿,无糜烂、出血、溃疡;6 h胃黏膜出现点状糜烂;24 h胃黏膜充血糜烂,并见溃疡形成。II组大鼠各时段胃黏膜表面光滑,有粉红色光泽。I组1, 3 h组胃黏膜表光镜下表层血管充血及出血,黏膜腺体肿胀,黏膜层内有少量中性粒细胞浸润,二者镜下无显著性差异;6 h组较前二者损伤重,镜下见黏膜上皮局部坏死脱落并伴出血;24 h组最为严重,黏膜层广泛出血坏死,其损伤深度约达上皮全层上4/5,并有大量中性粒细胞浸润。II组大鼠各时段胃黏膜上皮均完整,未见明显炎细胞浸润。

2.2 血清TNF- $\alpha$ 含量 I, II组各时点血清TNF- $\alpha$ 含量比较,均有显著性差异( $t = 16.45, 5.252, 9.099, 12.028, P = 0.000 < 0.01$ ,表1), I组内血清TNF- $\alpha$ 含量随时间延长有增加趋势,观察期限内24 h最高,各时间点有显著性差异( $F = 80.696, P = 0.000 < 0.01$ ,表1); II组各时点血清TNF- $\alpha$ 含量无统计学意义。I组动物1, 3 h胃黏膜无溃疡出现;6, 24 h UI则明显增大,与II组比较,差异显著( $t = 7.275, 10.579, P = 0.000 < 0.01$ ,表1), I组内24 h UI明显大于6 h ( $F = 85.58, P = 0.000 < 0.01$ ,表1)。用线性相关与回归分析,应激组血清TNF- $\alpha$ 含量与UI之间存在线性正相关( $r = 0.68, P = 0.004 < 0.01$ )。

## 3 讨论

急性胃黏膜病变的发病机制非常复杂,他是多种因素综合作用的结果<sup>[4-13]</sup>,其中国内外关于其机制方面研究较多的是胃黏膜血流减少和微循环障碍、胃酸分泌异常和胃黏膜屏障功能的破坏、胃运动功能异常、神经内分泌失调、心理因素等,肿瘤坏死因子在大鼠急性脑损伤后急性胃黏膜病变过程中的作用国内外研究甚少。我们应用改良的Allen法成功地建立起大鼠急性胃黏膜病变模型,组织形态学证实,应激组大鼠胃黏膜有充血、水肿、糜烂、溃疡、出血,而假手术组则无上述变化;光镜下发现应激组胃黏膜表层血管充血及出血,腺体肿胀,黏膜上皮坏死脱落,有中性粒细胞浸润,假手术组胃黏膜上皮均完整,未见明显炎细胞浸润。通过观察大

表 1 急性胃黏膜病变大鼠血清TNF- $\alpha$ 以及胃黏膜UI的变化(mean  $\pm$  SD,  $n = 24$ )

分组	TNF- $\alpha$ (ng/L)				胃黏膜UI			
	1 h	3 h	6 h	24 h	1 h	3 h	6 h	24 h
I 组	165.6 $\pm$ 22.2 <sup>bd</sup>	247.5 $\pm$ 31.5 <sup>bd</sup>	355.2 $\pm$ 40.2 <sup>bd</sup>	447.3 $\pm$ 37.5 <sup>bd</sup>	0	0	4.13 $\pm$ 1.96 <sup>b</sup>	32.75 $\pm$ 8.41 <sup>bf</sup>
II 组	20.3 $\pm$ 1.9	18.6 $\pm$ 3.2	19.4 $\pm$ 2.8	22.5 $\pm$ 2.3 <sup>d</sup>	0	0	0	0

<sup>b</sup> $P < 0.01$  vs II 组; <sup>d</sup> $P < 0.01$ , 1, 3 h vs 6, 24 h; <sup>f</sup> $P < 0.01$  vs 6 h.

鼠颅脑损伤后胃黏膜损害发生、发展的过程, 血中TNF- $\alpha$ 含量的变化, 研究他们之间的关系, 探讨TNF- $\alpha$ 在颅脑损伤引起的急性胃黏膜病变中的作用。

TNF系因其具有使肿瘤组织坏死的作用而得名, 分为两类: TNF- $\alpha$ 及TNF- $\beta$ , TNF- $\alpha$ 是由巨噬细胞、单核细胞、肥大细胞和活化T细胞产生的免疫调节因子, 具有广泛的生物学活性, 并具有双重性。一方面他是机体免疫防护的重要介质, 另一方面可参与机体的免疫病理损伤, 在疾病的发病机制上具有十分重要的临床价值, 在正常情况下具有抗肿瘤、抗感染等重要作用, 对机体有利, 但如持续释放或产生过多或与其他细胞因子的关系失调, 又会引起机体发热、休克、恶病质或器官出血性坏死等, 成为造成组织广泛损伤的促炎症因子, 参与疾病的发病机制。Kleine *et al*<sup>[14-15]</sup>证实, 脑内多种在结构和功能方面与巨噬细胞相似的细胞如神经元、小胶质细胞、血管内皮细胞在生理状态下均可合成分泌TNF- $\alpha$ 等细胞因子, 在炎症情况下这些因子水平多显著升高, 并对中性粒细胞有明显趋化作用, 国外不同实验室也证实, 在脑损伤时, 脑组织产生了炎症反应<sup>[16-17]</sup>。Santucci *et al*<sup>[18]</sup>研究表明, 给大鼠服用NSAIDs, 可导致早期血浆中TNF- $\alpha$ 浓度增加, 胃黏膜损伤加重, 应用TNF- $\alpha$ 转换酶抑制剂(TACE)可使血浆中TNF- $\alpha$ 下降, 降低TNF- $\alpha$  mRNA的表达。张伟 *et al*<sup>[19]</sup>用小剂量阿司匹林灌服大鼠, 免疫组化测定TNF- $\alpha$ 表达的阳性率为92.8%, 而且TNF- $\alpha$ 与胃黏膜损伤指数呈正相关, 表明TNF- $\alpha$ 与胃黏膜损伤关系密切, 并在其发病机制中有一定意义。

本实验中, 应激组与假手术组比较, 血清TNF- $\alpha$ 含量明显增高( $P < 0.01$ ), 且随着应激时间的延长, 应激组血清TNF- $\alpha$ 的含量逐渐增加, 各时点间有显著性差异( $P < 0.01$ ), 胃黏膜的损伤亦逐渐加重( $P < 0.01$ ), 其6, 24 h组与假手术组相应时段比较有显著性差异( $P < 0.01$ ), 且血清TNF- $\alpha$

含量与UI呈正相关( $r = 0.68$ ,  $P < 0.01$ )。提示急性脑外伤时血清TNF- $\alpha$ 明显升高, 与应激性溃疡的产生有一定关系, 其可能发生机制为<sup>[20-29]</sup>: (1)激活血管内皮细胞, 促进血凝和血管收缩, 影响血管通透性, 并上调内皮细胞上的细胞间黏附分子的表达, 从而使中性粒细胞、单核细胞和淋巴细胞与血管内皮细胞表面的黏附增强, 导致炎症细胞浸润; (2)对中性粒细胞和单核巨噬细胞具有刺激作用, 可增强其吞噬功能, 并使之脱颗粒释放多种炎性介质, 如氧自由基、细胞因子及弹性蛋白酶等, 这些都是强力破坏组织的因素, 可造成胃黏膜损伤; (3)与其他细胞因子及炎症递质相互作用, 引起多种致损伤因子发生连锁反应。TNF- $\alpha$ 能诱导IL21, IL26等的基因表达, 活化磷脂酶A2(PLA2), 致使花生四烯酸分解, 产生PAF, LTs, PGEs, TXA2等炎性递质, 从而加剧炎症反应及微循环障碍; (4)通过灭活组织纤溶酶原激活物而抑制纤溶反应, 通过增强组织因子表达下调血栓调理素表达而激活凝血系统, 导致毛细血管微血栓形成, 引起血液流变学和血流动力学改变, 使胃黏膜产生缺血性病变。

总之, 急性胃黏膜病变的发病是多种因素综合作用的结果, 本实验结果表明, 血清TNF- $\alpha$ 与胃黏膜损伤程度密切相关, 其在颅脑外伤并发急性胃黏膜病变的发病中起一定作用。

#### 4 参考文献

- 1 Faden AI. TRH analog YM-14673 improves outcome following traumatic brain and spinal cord injury in rats: dose-response studies. *Brain Res* 1989; 486: 228-235
- 2 Yabana T, Yachi A. Stress-induced vascular damage and ulcer. *Dig Dis Sci* 1988; 33: 751-761
- 3 Ohba R, Otaka M, Odashima M, Jin M, Komatsu K, Konishi N, Wada I, Horikawa Y, Matsushashi T, Oyake J, Hatakeyama N, Watanabe S. Effect of cilostazol, a selective type-III phosphodiesterase inhibitor, on water-immersion stress-induced gastric mucosal injury in rats. *J Gastroenterol* 2006; 41: 34-40
- 4 Hamaguchi M, Watanabe T, Higuchi K, Tominaga K, Fujiwara Y, Arakawa T. Mechanisms and roles



- of neutrophil infiltration in stress-induced gastric injury in rats. *Dig Dis Sci* 2001; 46: 2708-2715
- 5 Chen SH, Lei HL, Huang LR, Tsai LH. Protective effect of excitatory amino acids on cold-restraint stress-induced gastric ulcers in mice: role of cyclic nucleotides. *Dig Dis Sci* 2001; 46: 2285-2291
- 6 Yoshida M, Wakabayashi G, Ishikawa H, Kameyama K, Shimazu M, Tanabe M, Kawachi S, Kumai K, Kubota T, Otani Y, Saikawa Y, Sano K, Kitajima M. A possible defensive mechanism in the basal region of gastric mucosa and the healing of erosions. *Clin Hemorheol Microcirc* 2003; 29: 301-312
- 7 Umarova BA, Smirnova EA, Luk'yantseva GV, Kopylova GN, Samonina GE, German SV, Zhuikova SE. Effect of amylin on mast cell secretion as a possible mechanism increasing gastric mucosa resistance. *Bull Exp Biol Med* 2001; 132: 929-931
- 8 Otsuka M, Kato K, Murai I, Asai S, Iwasaki A, Arakawa Y. Roles of nocturnal melatonin and the pineal gland in modulation of water-immersion restraint stress-induced gastric mucosal lesions in rats. *J Pineal Res* 2001; 30: 82-86
- 9 Fujikawa T, Soya H, Tamashiro KL, Sakai RR, McEwen BS, Nakai N, Ogata M, Suzuki I, Nakashima K. Prolactin prevents acute stress-induced hypocalcemia and ulcerogenesis by acting in the brain of rat. *Endocrinology* 2004; 145: 2006-2013
- 10 李兆申, 万维琴, 段义民, 湛先保, 许国铭, 龚燕芳, 屠振兴. 应激状态下大鼠胃黏膜组织中内皮素-1A受体 mRNA 的表达及其意义. *胃肠病学* 2003; 8: 75-78
- 11 刘婧, 李兆申, 宛新建, 王雯. 凋亡相关基因 Bcl-2/Bax 和 Fas/Fas L 在应激性溃疡发生发展过程中的表达及作用. *中华医学杂志* 2003; 83: 504-509
- 12 段义民, 李兆申, 湛先保, 龚燕芳, 屠振兴, 许国铭. 应激状态下胃粘膜组织 ECE-1 mRNA 表达变化及其意义. *解放军医学杂志* 2003; 28: 249-251
- 13 刘婧, 李兆申, 许国铭, 宛新建, 王雯. 细胞凋亡和增殖在大鼠应激性溃疡发病中的作用. *中华消化杂志* 2003; 23: 595-598
- 14 Kleine TO, Zwerenz P, Graser C, Zofel P. Approach to discriminate subgroups in multiple sclerosis with cerebrospinal fluid (CSF) basic inflammation indices and TNF-alpha, IL-1beta, IL-6, IL-8. *Brain Res Bull* 2003; 61: 327-346
- 15 Kleine TO, Zwerenz P, Zofel P, Shiratori K. New and old diagnostic markers of meningitis in cerebrospinal fluid (CSF). *Brain Res Bull* 2003; 61: 287-297
- 16 Siddique MS, Fernandes HM, Wooldridge TD, Fenwick JD, Slomka P, Mendelow AD. Reversible ischemia around intracerebral hemorrhage: a single-photon emission computerized tomography study. *J Neurosurg* 2002; 96: 736-741
- 17 Dziedzic T, Bartus S, Klimkowicz A, Motyl M, Slowik A, Szczudlik A. Intracerebral hemorrhage triggers interleukin-6 and interleukin-10 release in blood. *Stroke* 2002; 33: 2334-2335
- 18 Santucci L, Fiorucci S, Di Matteo FM, Morelli A. Role of tumor necrosis factor alpha release and leukocyte margination in indomethacin-induced gastric injury in rats. *Gastroenterology* 1995; 108: 393-401
- 19 张伟, 吴本俨, 王孟薇. 小剂量阿司匹林胃黏膜损伤与 TNF- $\alpha$  的表达分析. *北京医学* 2004; 26: 186-188
- 20 李文英, 张祥建, 胡书超, 张丽英, 李海燕. 实验性大鼠脑出血后 TNF- $\alpha$ 、ICAM-1 的表达和脑水肿的研究. *脑与神经疾病杂志* 2005; 13: 456-458
- 21 李春艳, 张莹, 崔泽实, 卢瑶, 于明. 幼鼠肠缺血/再灌注损伤肠组织 TNF- $\alpha$  和 c-fos mRNA 的表达. *世界华人消化杂志* 2006; 14: 1631-1634
- 22 宋红丽, 吕飒, 马力, 李颖, 刘沛. TNF- $\alpha$  影响肠黏膜上皮细胞间紧密连接蛋白的表达. *世界华人消化杂志* 2004; 12: 1303-1306
- 23 马强, 张方信, 张振书. 幽门螺杆菌相关性胃炎活动性与 TNF- $\alpha$ , EGF 的相关性. *世界华人消化杂志* 2004; 12: 2190-2192
- 24 彭毅志, 袁志强, 肖光夏. 早期肠道营养减轻烧伤后肠黏膜损伤的机制研究. *世界华人消化杂志* 2003; 11: 982-985
- 25 张伟, 吴本俨, 尤纬缔. 药物性胃粘膜损伤大鼠 ICAM-1 及 TNF- $\alpha$  表达的研究. *解放军医学杂志* 2001; 26: 358-360
- 26 余崇林, 孙蔚亮, 秦大莲. TNF- $\alpha$  在重症胰腺炎大鼠肺组织内的表达及与肺损伤关系的实验研究. *解剖与临床* 2006; 11: 24-27
- 27 聂海岭, 方树友, 王建平, 李庆军. 大鼠脑缺血再灌注损伤后血清中 TNF- $\alpha$  变化及雷公藤多甙的影响. *中国现代医学杂志* 2003; 13: 40-41
- 28 Santucci L, Fiorucci S, Giansanti M, Brunori PM, Di Matteo FM, Morelli A. Pentoxifylline prevents indomethacin induced acute gastric mucosal damage in rats: role of tumour necrosis factor alpha. *Gut* 1994; 35: 909-915
- 29 Douzinas EE, Tsidemiadou PD, Pitaridis MT, Andrianakis I, Bobota-Chloraki A, Katsouyanni K, Sfyras D, Malagari K, Roussos C. The regional production of cytokines and lactate in sepsis-related multiple organ failure. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 155: 53-59

电编 张敏 编辑 张焕兰