

重症急性胰腺炎肺损伤大鼠sICAM-1水平变化及其意义

张宇, 严际慎, 张勤, 张琪, 裘华森

张宇, 张勤, 张琪, 裘华森, 浙江中医药大学附属第一医院浙江省中医院普通外科, 浙江省杭州市 310006
严际慎, 武汉大学人民医院普通外科 湖北省武汉市 430071
通讯作者: 张宇, 310006, 浙江省杭州市邮电路54号, 浙江省中医院普通外科. zhangyu1971@21cn.com
电话: 0571-87070965
收稿日期: 2006-12-20 修回日期: 2007-01-10

Significance of concentration changes of serum soluble ICAM-1 in lung injury associated with severe acute pancreatitis in rats

Yu Zhang, Ji-Shen Yan, Qin Zhang, Qi Zhang, Hua-Sen Qiu

Yu Zhang, Qin Zhang, Qi Zhang, Hua-Sen Qiu, Department of General Surgery, Zhejiang Provincial Chinese Traditional Medicine Hospital, Hangzhou 310006, Zhejiang Province, China
Ji-Shen Yan, Department of General Surgery, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430071, Hubei Province, China
Correspondence to: Yu Zhang, Department of General Surgery, Zhejiang Provincial Chinese Traditional Medicine Hospital, 54 Youdian Road, Hangzhou 310006, Zhejiang Province, China. zhangyu1971@21cn.com
Received: 2006-12-20 Revised: 2007-01-10

Abstract

AIM: To investigate the relationship between concentration changes of soluble intercellular adhesion molecule-1 (sICAM-1) in severe acute pancreatitis (SAP) and associated lung injury in rat.

METHODS: A Rat SAP model was established by retrograde injection of 30 g/L sodium taurocholate into bile-pancreatic duct. Rats were sacrificed at 0, 3, 6, 12, 24 hours and their sera and left lungs collected. Sera sICAM-1 and myeloperoxidase (MPO) activity in lung tissue were measured.

RESULTS: Increases in sera sICAM-1 concentrations were evident at 3 hours after SAP induced, and the MPO activity of lung tissue was significantly increased at 6 hours. Sera sICAM-1 concentration positively correlation with MPO activity ($r = 0.897$).

CONCLUSION: The concentration change of

serum sICAM-1 is associated with the pathological injury magnitude of lung in rat severe acute pancreatitis.

Key Words: Intercellular adhesion molecule-1; Pancreatitis/acute severe; Lung injury; Myeloperoxidase

Zhang Y, Yan JS, Zhang Q, Zhang Q, Qiu HS. Significance of concentration changes of serum soluble ICAM-1 in lung injury associated with severe acute pancreatitis in rats. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2007; 15(21): 2345-2347

摘要

目的: 探讨血清可溶性细胞间粘附分子-1(sICAM-1)水平变化与重症急性胰腺炎(SAP)肺损伤的关系。

方法: SD大鼠采用逆行胰胆管注射30 g/L牛磺胆酸钠方法制作SAP模型取0, 3, 6, 12, 24 h不同时间血清进行sICAM-1检测, 同时检测肺组织髓过氧化物酶活性。

结果: 制模3 h后, 血清sICAM-1水平开始持续上升(34.90-38.99 $\mu\text{mol/L}$), 肺组织髓过氧化物酶(MPO)活性在6 h后明显增强($P < 0.05$), 血清sICAM-1水平与肺组织MPO活性呈正相关($r = 0.897$)。

结论: 重症急性胰腺炎时血清sICAM-1水平的变化可能与肺部损伤程度密切相关。

关键词: 细胞间黏附分子-1; 急性胰腺炎; 肺损伤; 髓过氧化物酶活性

张宇, 严际慎, 张勤, 张琪, 裘华森. 重症急性胰腺炎肺损伤大鼠sICAM-1水平变化及其意义. *世界华人消化杂志* 2007;15(21):2345-2347
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/15/2345.asp>

0 引言

急性肺损伤是重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)时常见且严重的并发症。研究表明, SAP时大鼠肺组织细胞间黏附分子-1(ICAM-1)基因过度表达^[1], 且与肺损伤严重程度相关^[2]。我们旨在探讨血清可溶性细胞间黏附

■背景资料

急性呼吸窘迫综合征(ARDS)是重症急性胰腺炎最常见、最严重的并发症之一, 其发生率和病死率居该病术后并发症之首, 一旦出现临床症状, ARDS常常处于不可逆转阶段, 早期发现胰腺炎相关性肺损伤并进行相应的处理, 将有助于降低重症急性胰腺炎的死亡率。

■创新盘点

本文首次证明了血清sICAM-1水平与重症急性胰腺炎相关性肺损伤严重程度相关,提出可能采用检测血清sICAM-1水平来预测可能出现的肺部损伤。

表 1 MPO活性变化(U/g)和sICAM-1水平变化($\mu\text{mol/L}$)

分组		0 h	3 h	6 h	12 h	24 h
MPO	对照	1.83 \pm 0.16	1.93 \pm 0.24	1.92 \pm 0.20	1.94 \pm 0.11	1.96 \pm 0.09
	SAP	1.75 \pm 0.12	2.07 \pm 0.11	2.42 \pm 0.23 ^a	2.53 \pm 0.50 ^a	2.68 \pm 0.23 ^a
sICAM-1	对照	34.90 \pm 5.47	38.99 \pm 2.54	38.28 \pm 4.19	39.17 \pm 1.52	39.49 \pm 1.68
	SAP	33.59 \pm 4.03	46.12 \pm 5.61 ^c	55.02 \pm 12.07 ^c	55.29 \pm 14.99 ^c	57.56 \pm 4.81 ^c

^a $P < 0.05$ vs 对照组, SAP组0 h, 3 h; ^c $P < 0.05$ vs 对照组, SAP组0 h.

分子-1(soluble intercellular adhesion molecule-1, sICAM-1)与大鼠SAP肺损伤的关系。

1 材料和方法

1.1 材料 清洁级健康Sprague-Dawley(SD)大鼠60只(由武汉大学医学院实验动物中心提供),雌雄不拘,体重180-240 g,室温,光照周期12 h:12 h条件饲养。牛磺胆酸钠购自Sigma公司, sICAM-1 ELISA试剂盒购自深圳晶美生物工程公司, MPO试剂盒购自南京建成生物研究所。

1.2 方法

1.2.1 SAP 模型建立及分组 应用编号法随机分为急性胰腺炎组($n = 30$)和对照组($n = 30$),平均分5个时间点:术后0, 3, 6, 12, 24 h每点各6只。参照Aho *et al*^[3]的方法并略加改进。术前12 h禁食,自由饮水, 25 g/L戊巴比妥钠ip麻醉(1 mL/kg体重),用钝性细针头通过十二指肠壁经乳头插入胆胰管,用无损伤血管夹分别夹闭肝门处的胆总管以及针头插入部位的胆胰管。向胆胰管内加压注入30 g/L牛磺胆酸钠溶液, 1 mL/kg体重,注射速度0.1 mL/30 s。注射完毕后,抽出针头的同时原位夹闭胆胰管, 3 min后松开无损伤血管夹。对照组操作同胰腺炎组,仅向胆胰管内加压注入相当容量的生理盐水。所有动物术毕用无创缝线两层缝合腹壁关腹。

1.2.2 取材与检测 分别于术后0, 3, 6, 12, 24 h,采取断颈方法分批处死动物。采集心血及肺脏组织标本。血液于含EDTA试管中静置后, 3000 r/min离心15 min,取上清液,血清及肺组织均置于-70℃冰箱保存待测。取部分肺组织做HE染色常规病理观察。血清sICAM-1水平采用ELISA方法检测,按试剂盒说明进行。肺髓过氧化物酶(myeloperoxidase, MPO)活性测定,取肺组织加邻联茴香胺制成肺组织匀浆,冻融并超声粉碎,离心后取上清加反应液,在分光光度计460 nm波长下进行2 min的扫描,记录第30 s和第90 s的光密度差值,以此1 min吸光度的变化代表酶活

力的改变。

统计学处理 所有数据以mean \pm SD表示,通过SAS6.12统计软件,分别采用 t 检验和方差分析,对各时点、各组均数进行显著性检验,检验水准 $\alpha = 0.05$,并对MPO与sICAM-1水平进行相关性分析。

2 结果

2.1 肺脏组织病理改变 对照组镜下观可见肺组织结构清晰,无肺泡壁增厚与中性粒细胞浸润;SAP组0 h无肺泡壁增厚和中性粒细胞浸润,在制模3 h后可见肺泡间质水肿,少许中性粒细胞浸润,6 h后肺泡壁充血水肿,肺间质中性粒细胞浸润增多,肺泡腔内可见游离红细胞,12 h后肺泡壁明显增厚,肺间质、肺泡腔及肺泡壁可见大量炎症细胞浸润、渗出以及肺泡萎陷,并持续至24 h。

2.2 肺组织MPO活性和sICAM-1水平变化 SAP组6, 12, 24 h MPO活性均明显高于对照组和SAP组0, 3 h($P < 0.05$), SAP组0 h和3 h, 6, 12和24 h MPO活性分别也无差异; SAP组3, 6, 12, 24 h sICAM-1水平均高于对照组和SAP组0 h($P < 0.05$,表1)。肺组织MPO活性与血清sICAM-1水平之间密切相关($r = 0.897$, $P < 0.05$)。

3 讨论

急性胰腺炎对生命的威胁除少数猝死病例外,主要不在于胰腺病变本身,更大程度上取决于胰腺坏死后产生很多且严重的并发症^[4]。ARDS为急性坏死性胰腺炎最常见、最严重的并发症之一,其发生率和病死率居该术后并发症之首^[5-6]。其临床表现为进行性呼吸加快、急促、气短、紫绀,伴有辅助呼吸肌过度运动,X线片可见肺门周围肺野出现毛玻璃样阴影,吸氧情况下 PaO_2 进行性下降至8.0 kPa以下, $\text{PaCO}_2 < 4.67$ kPa,增加吸氧浓度30 min后, PaO_2 仍不能明显增高。研究表明,当有上述临床表现时,病理上往

■应用要点

检测血清sICAM-1水平可能有助于早期发现重症急性胰腺炎相关性肺部损伤,但是其具体临床应用尚需进一步研究验证。

往已出现血管内液体漏出、纤维蛋白沉积于间质和透明膜形成,肺实变导致肺内分流,疾病已处于不可逆阶段^[7]。因此ARDS的早期诊断和防治无疑是提高SAP治愈率、降低死亡率的有效措施。我们观察到SAP肺部的病理损伤特点是肺内中性粒细胞浸润和肺泡壁厚度增加,中性粒细胞浸润可能是肺泡壁水肿增厚的主要原因。研究表明,ICAM-1在肺部的高表达介导白细胞浸润入肺,肺内中性粒细胞浸润引起肺泡壁增厚(肺水肿的重要病理表现),激活的中性粒细胞产生并释放超氧阴离子,从而损伤周围的组织细胞,使肺内皮损伤变性,通透性增加,间质水肿,氧交换障碍;同时中性粒细胞和内皮细胞产生血栓素A₂(TXA₂),后者是一强有力的缩血管物质,可引起肺动脉高压,导致通气血流比例失调、低氧血症,从而引发ARDS^[8]。

MPO存在于中性粒细胞的嗜天青颗粒中,约占细胞干重的5%,因此通过测定MPO的活力可推算中性粒细胞的数量,肺组织MPO活性常常用来作为反映肺组织损伤的指标^[9-10]。我们发现SAP组大鼠肺组织MPO活性在模型复制成功6 h后明显增高,其后维持在高水平。提示SAP复制成功6 h后,中性粒细胞在肺组织聚集,引起肺组织损伤。SAP时,胰腺和肺部尤其是肺泡细胞表面高表达ICAM-1的脱落,是血清sICAM-1的主要来源^[11-12],因此认为血清sICAM-1可以反映出肺部病理损伤程度。研究表明,sICAM-1诱导肺内巨噬细胞产生巨噬细胞炎症蛋白-2(MIP-2)和TNF- α ,并增加中性粒细胞在肺内的聚集,加重肺部损伤^[13-14]。我们发现,与对照组相比,SAP组sICAM-1水平在模型复制成功3 h后即增高,3 h以后各组sICAM-1水平均高于对照组。相关性研究显示,血清sICAM-1水平与肺组织MPO活性呈正相关($r = 0.897, P < 0.05$),即血清sICAM-1水平增高与MPO活性增强关系密切。而且从我们研究的结果来看,血清sICAM-1水平的增高要早于肺组织MPO活性增强。

鉴于血清sICAM-1的临床可监测性以及其与SAP相关的肺部损伤的高度相关性,故认为血清sICAM-1的动态监测可作为临床预测SAP相关的ARDS的一个重要指标。其具体的临床应用尚需进一步的研究验证。

4 参考文献

- 1 Masamune A, Shimosegawa T, Kimura K, Fujita M, Sato A, Koizumi M, Toyota T. Specific induction of adhesion molecules in human vascular endothelial cells by rat experimental pancreatitis-associated ascitic fluids. *Pancreas* 1999; 18: 141-150
- 2 Sun W, Watanabe Y, Wang ZQ. Expression and significance of ICAM-1 and its counter receptors LFA-1 and Mac-1 in experimental acute pancreatitis of rats. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 5005-5009
- 3 Aho HJ, Koskensalo SM, Nevalainen TJ. Experimental pancreatitis in the rat. Sodium taurocholate-induced acute haemorrhagic pancreatitis. *Scand J Gastroenterol* 1980; 15: 411-416
- 4 Zhu AJ, Shi JS, Sun XJ. Risk factors influencing mortality of patients with severe acute pancreatitis within 24 hours after admission. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2003; 2: 453-457
- 5 Raghu MG, Wig JD, Kochhar R, Gupta D, Gupta R, Yadav TD, Agarwal R, Kudari AK, Doley RP, Javed A. Lung complications in acute pancreatitis. *JOP* 2007; 8: 177-185
- 6 Zhu AJ, Shi JS, Sun XJ. Organ failure associated with severe acute pancreatitis. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 2570-2573
- 7 沈魁, 钟守先, 张圣道. 胰腺外科. 第1版. 北京: 人民卫生出版社, 2000: 334-335
- 8 Burger R, Bryan AC. Pulmonary hypertension after postlavage lung injury in rabbits: possible role of polymorphonuclear leukocytes. *J Appl Physiol* 1991; 71: 1990-1995
- 9 Liu HB, Cui NQ, Li DH, Chen C. Role of Kupffer cells in acute hemorrhagic necrotizing pancreatitis-associated lung injury of rats. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 403-407
- 10 Liu KX, Wu WK, He W, Liu CL. Ginkgo biloba extract (EGb 761) attenuates lung injury induced by intestinal ischemia/reperfusion in rats: roles of oxidative stress and nitric oxide. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 299-305
- 11 Kaufmann P, Smolle KH, Brunner GA, Demel U, Tilz GP, Krejs GJ. Relation of serial measurements of plasma-soluble intercellular adhesion molecule-1 to severity of acute pancreatitis. *Am J Gastroenterol* 1999; 94: 2412-2416
- 12 Kaufmann P, Demel U, Tilz GP, Krejs GJ. Time course of plasma soluble intercellular adhesion molecule-1 (sICAM-1) is related to severity of acute pancreatitis. *Hepatogastroenterology* 1999; 46: 2565-2571
- 13 Schmal H, Czermak BJ, Lentsch AB, Bless NM, Beck-Schimmer B, Friedl HP, Ward PA. Soluble ICAM-1 activates lung macrophages and enhances lung injury. *J Immunol* 1998; 161: 3685-3693
- 14 Mendez MP, Morris SB, Wilcoxon S, Greeson E, Moore B, Paine R 3rd. Shedding of soluble ICAM-1 into the alveolar space in murine models of acute lung injury. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2006; 290: L962-970

■同行评价

本文发现重症急性胰腺炎时血清sICAM-1水平与肺泡肺组织MPO活性呈正相关,立题新颖,研究方法先进、科学,结果可靠,讨论层次清晰,是一篇较好的实验研究论著

编辑 程剑侠 电编 郭海丽