

文章编号:1005-6947(2006)08-0619-03

· 简要论著 ·

# IL-10 区域动脉灌注减轻急性胰腺炎大鼠肺损伤的实验研究

付林, 程书榜, 高海斌, 宋建明, 陈剑雄

(广东省深圳市第二人民医院 普通外科, 广东 深圳 518035)

**摘要:**为探讨 IL-10 区域动脉灌注(LAI)对急性胰腺炎(AP)大鼠肺损伤的保护作用。笔者以 5% 牛磺胆酸钠胰胆管注射(1 mL/kg)制成大鼠急性胰腺炎模型, IL-10(40 000 UI/kg) LAI, 以生理盐水为对照, 取大鼠肺组织、胰腺组织进行病理学比较。结果示, AP 组大鼠肺泡结构破坏, 可见明显出血和白细胞浸润; 胰腺细胞坏死, 大片液化, 粒细胞浸润。IL-10 治疗组大鼠肺出血和白细胞浸润较 AP 组明显改善; 胰腺细胞坏死、液化, 血管周围可见粒细胞浸润。两组动物肺和胰腺病理损害评分 AP 组显著高于 LAI 组( $P < 0.05$ )。提示 IL-10 LAI 能显著减轻 AP 动物的胰腺和肺组织损害, IL-10 有望成为 AP 综合治疗的药物之一。

**关键词:**胰腺炎/并发症; 呼吸窘迫综合征/病理学; 白细胞介素-10/药理学; 动脉灌注

**中图分类号:** R392.12; R576 **文献标识码:** B

急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)是消化系统常见的急腹症之一, 胰腺、肺组织炎性细胞因子瀑布样级联反应是 AP 并发急性肺损伤、急性呼吸窘迫综合征(ARDS)甚至死亡的重要因素<sup>[1]</sup>。本研究采用白细胞介素 1(IL-10)区域动脉灌注(local arterial infusion, LAI)治疗大鼠急性胰腺炎, 观察大鼠胰腺和肺组织的病理变化, 探讨 IL-10 LAI 对 AP 肺损伤的保护作用。

## 1 材料和方法

### 1.1 动物及分组

10~12 周龄的雄性 SD 大鼠 100 只, 体重 200~250 g, 清洁级, 购自南方医科大学实验动物中心(2001A059)。随机分为 A 组(假手术组, 10 只), B 组(AP 对照组, 30 只), C 组(AP + IL-10 LAI 组, 30 只)和 D 组(AP + 生理盐水 LAI, 30 只)。

### 1.2 动物模型制作

1.2.1 急性胰腺炎模型的制作<sup>[2-3]</sup> 大鼠术前

24h 禁食, 不禁水, 氯胺酮(25 mg/kg)腹腔注射麻醉, 无菌条件下开腹, 显露胰腺, 确认胆胰管, 用加工的皮试针头经肠壁浆肌层距胆胰管 0.3 cm 处潜行穿刺胆胰管, 插入 0.7 cm, 近肝门处用动脉夹暂行阻断肝总管, SP-80RS 微量注射泵(速度为 0.2 mL/min)注入 5% 牛磺胆酸钠(1 mL/kg, Sigma 公司), 注射完毕后去动脉夹, 指压穿刺点, 检查无漏胆, 5 min 后见胰腺组织充血、水肿、被膜下散在出血标志制模成功, 关腹。B, C, D 组均按上法成模, A 组开腹后仅翻动胰十二指肠。

1.2.2 LAI 方法 大鼠成模后经右侧股动脉插管(PE50)至腹腔干稍下(开腹引导), 灌注液经 SP-80RS 微量注射泵于 0.5 h 内注射完毕。C 组采用 IL-10 40 000 UI/kg(Peprotech)溶于 2 mL 生理盐水, D 组采用生理盐水 2 mL 作 LAI。

### 1.3 胰腺组织、肺组织病理学检查

对各组动物分别于术后 3, 6h 和 12h 放血处死, 取肺和胰腺标本置于 4% 甲醛溶液浸泡, 常规 HE 染色, 在光镜下观察, 并进行病理评分。

1.3.1 胰腺组织学评分<sup>[4]</sup> (1) 坏死评分: 无坏死计 0 分, 坏死面积 1%~10% 计 1 分, 坏死面积 11%~20% 计 2 分, 坏死面积 21%~30% 计 3 分, 坏死面积 > 31% 计 4 分。(2) 每个高倍视野内白

**基金项目:**广东省医学科研基金项目(A2000621)。

**收稿日期:**2006-06-14; **修订日期:**2006-08-01。

**作者简介:**付林, 男, 四川珙县人, 广东省深圳市第二人民医院主任医师, 主要从事胰腺外科临床和病理生理学方面的研究。

**通讯作者:**程书榜 电话:0755-81916988。

细胞计数评分: 0~1个计0分, 2~10个计1分, 11~20个计2分, 21~30个计3分, >30个或出现微脓肿计4分。

2种积分累加计为胰腺组织学评分。

1.3.2 肺组织学评分<sup>[5]</sup> (1) 水肿评分: 无水肿计0分, 轻度肺泡壁水肿计1分, 中度肺泡壁水肿计2分, 肺泡和间质广泛水肿计3分。(2) 炎性细胞浸染评分: 以肺泡组织中中性粒细胞(PMN)及肺间质单核细胞(M)浸润程度进行评分。无PMN, M浸润计0分, 间质少量PMN, M、浸润计1分, 间质及部分肺泡腔内有较多的PMN及中等量M浸润计2分, 大部分肺泡和间质有PMN聚集成团, 显著的M浸润计3分。(3) 组织出血评分: 未见明显出血计0分, 间质及肺泡腔少量出血范围 $\leq 25\%$ 计1分, 毛细血管淤血, 出血范围 $25\% \sim 50\%$ 计2分, 肺泡腔出血范围 $>50\% \sim 70\%$ 计3分。

3种积分累加计为胰腺组织学评分。

#### 1.4 统计学处理

资料均以  $\bar{x} \pm s$  表示, 两样本  $t$  检验,  $P < 0.05$

为有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 胰腺组织病理学比较

A组胰腺组织未见明显异常, B, C和D组均见不同程度的胰腺组织液化坏死及炎性细胞浸润(图1-2)。A组胰腺组织病理评分为 $0.2 \pm 0.1$ , B, C和D组各时间段胰腺评分较A组均有明显升高( $P < 0.05$ ), B组与C组及C组与D组病理评分比较有明显差异( $P < 0.05$ ), B组与D组差异无显著性(附表)。

### 2.2 肺组织病理学比较

A组肺组织未见明显异常, B, C, D组均见不同程度的肺泡组织破坏和出血, 可见大量炎性浸润(图3-4)。A组肺组织病理评分 $0.3 \pm 0.1$ , B, C, D组各时间段胰腺评分较A组均有明显升高( $P < 0.05$ ), B组与C组和C组与D组病理评分比较有明显差异( $P < 0.05$ ), B组与D组差异无显著性(附表)。

附表 B, C, D组大鼠术后2, 6, 12h胰腺组织和肺组织病理评分

组别	胰腺组织评分			肺组织		
	术后3h	术后6h	术后12h	术后3h	术后6h	术后12h
B	$2.0 \pm 0.9$	$4.5 \pm 1.0$	$6.8 \pm 1.3$	$2.8 \pm 0.3$	$5.2 \pm 1.4$	$7.5 \pm 1.8$
C	$0.9 \pm 0.4^\dagger$	$3.3 \pm 1.1^\dagger$	$5.1 \pm 1.1^\dagger$	$1.3 \pm 0.3^\dagger$	$3.7 \pm 0.9^\dagger$	$5.6 \pm 1.4^\dagger$
D	$2.1 \pm 0.8$	$4.3 \pm 0.9$	$6.3 \pm 1.2$	$2.7 \pm 0.4$	$4.8 \pm 1.2$	$7.0 \pm 1.6$

注:  $^\dagger$  与B, D组同时段比较,  $P < 0.05$

图1 B组胰腺细胞坏死, 大片液化, 粒细胞浸润( $\times 400$ )

图2 C组胰腺细胞坏死、液化, 血管周围可见粒细胞浸润( $\times 100$ )

图3 B肺泡结构破坏, 可见明显出血和白细胞浸润( $\times 100$ )

图4 C组肺出血和白细胞浸润较AP组明显改善( $\times 100$ )

### 2.3 肺组织病理学比较

A组肺组织未见明显异常, B, C, D组均见不同程度的肺泡组织破坏和出血, 可见大量炎性浸润(图3-4)。A组肺组织病理评分 $0.3 \pm 0.1$ , B,

C, D组各时间段胰腺评分较A组均有明显升高( $P < 0.05$ ), B组与C组和C组与D组病理评分比较有明显差异( $P < 0.05$ ), B组与D组差异无显著性(附表)。

### 3 讨论

急性肺损伤是 AP 时胰外最常见的并发症,临床发生率高达 70%,相当一部分患者进展为 ARDS,是 AP 患者早期死亡的主要原因<sup>[1]</sup>。目前肺损伤的发病机理尚未完全阐明。近来研究表明,AP 急性肺损伤的发生、发展与中性粒细胞、炎症介质等密切相关。Werner 等<sup>[6]</sup>应用 <sup>99m</sup>Tc 标记的白细胞对 AP 中性粒细胞的分布进行了研究,发现 AP 时肺组织内的中性粒细胞明显增多。Bhatia 等<sup>[7]</sup>应用抗中性粒细胞血清清除循环中的中性粒细胞,结果发现实验动物不仅胰腺炎的严重程度明显减轻,而且还预防肺损伤的发生,说明 AP 时活化的中性粒细胞在介导肺损伤中起关键作用。另外,Inoue 等<sup>[8]</sup>发现,应用抗中性粒细胞多克隆抗体及 CD18 单抗均能阻断中性粒细胞的黏附功能,可阻断 ASP 肺损伤的发生,间接证明了中性粒细胞在急性肺损伤中的作用。中性粒细胞活化后可产生许多活性物质,如 NO、细胞因子和花生四稀酸等代谢产物,这些产物相互的网络作用产生一系列连锁反应和放大效应,即瀑布效应,导致全身炎症反应综合征(SIRS)和多器官功能衰竭综合征(MODS)。

实验和临床研究表明,AP 炎症反应过程中也产生抗炎细胞因子(IL-10、TNF $\alpha$ 等),这些抗炎细胞因子能限制炎症反应<sup>[9]</sup>。夏时海等<sup>[10]</sup>通过观察 AP 患者 IL-10 动态变化的结果发现,IL-10 在 AP 早期明显升高,与正常人对比有显著差异,以后逐渐下降,第 15 天仍有显著差异,IL-10 的升高水平与患者的病情呈反比。Jean 等<sup>[11]</sup>实验发现,IL-10 在减轻胰腺组织病理损伤的同时,能显著降低 IL-6 和 TNF- $\alpha$  的水平,提示 IL-10 在改善 AP 炎症反应中起重要作用,IL-10 可以用来治疗 AP。Gloor 等<sup>[12]</sup>在去除 IL-10 基因的 C57BL/6J 鼠 AP 模型中证实,鼠肺组织水肿、中性粒细胞浸润和肺组织髓过氧化物、超氧化物歧化酶均显著高于对照组。王单松等<sup>[13]</sup>观察人 IL-10 基因治疗大鼠 SAP 时发现 IL-10 基因明显降低 AP 大鼠的血淀粉酶和胰腺组织学评分,胰腺、肝脏和肺组织 TNF 浓度明显下降。本研究采用 IL-10 LAI 治疗大鼠 AP,结果表明,IL-10 能减轻 AP 大鼠胰腺和肺组织的损伤,有利于预防 MODS 发生。

近年来,细胞因子在 AP 发病机制中的作用受到广泛关注和重视,并提出从源头阻断细胞因子级联放大恶性循环以提高 AP 的治愈率,但细胞因子的网络作用及其免疫机制的复杂性表明 IL-10 的治疗不能完全替代传统的 AP 治疗方案,IL-10 的临床治疗价值亦有待于进一步的研究探讨。

### 参考文献:

- [1] Moore FA, Moore EE. Evolving concepts in the pathogenesis of postinjury multiple organ failure [J]. Surg Clin North Am, 1995, 75(2):257-277.
- [2] 徐敏,王成友,程书榜,等. 尿激酶区域动脉灌注治疗重症急性胰腺炎的实验研究[J]. 中华肝胆外科杂志, 2003,10(9):616-618.
- [3] 詹勇强,王成友,张敏杰,等. C-反应蛋白及白细胞介素 6 早期预测急性胰腺炎合并感染的实验研究[J]. 中国普通外科杂志,2005,14(7):512-515.
- [4] Schmidt J, Lewandrowsi K, Warshaw AL, et al. Morphometric characteristics and homogeneity of a new model of acute pancreatitis in the rat [J]. Int J Pancreatol, 1992,12(1):41-51.
- [5] 程石,何三光,张佳林. 肺巨噬细胞活化在急性坏死性胰腺炎大鼠肺损伤中的作用[J]. 中华外科杂志,2002,40(3):609-612.
- [6] Werner J, Dragotakes SC, Fernandez-delCastillo C, et al. Technetium-99m-labeled white blood cells: a new method to define the local and systemic role of leukocytes in acute experimental pancreatitis [J]. Ann Surg, 1998, 227(1):86-94.
- [7] Bhatia M, Saluja AK, Hofbauer B, et al. The effects of neutrophil depletion on a completely noninvasive model of acute pancreatitis-associated lung injury [J]. Int J Pancreatol, 24(2):77-83.
- [8] Inoue S, Nakao A, Kishimoto W, et al. Anti-neutrophil antibody attenuates the severity of acute lung injury in rats with experimental acute pancreatitis [J]. Arch Surg, 1995, 130(1):93-98.
- [9] Norman JG. The role of cytokines in the pathogenesis of acute pancreatitis [J]. Am J Surg, 1998, 175(1):76-83.
- [10] 夏时海,赵晓晏,郭萍. 急性胰腺炎促炎因子和抗炎因子的动态变化及其作用[J]. 临床消化病杂志, 2001, 13(2):51-53.
- [11] Jean L, Arnaud M, Anned D, et al. Interleukin-10 prevents necrosis in murine experimental acute pancreatitis [J]. Gastro, 1995,108(6):1917-1924.
- [12] Gloor B, Todd KE, Laoc JS, et al. Mechanism of increased lung injury after acute pancreatitis in IL-10 knockout mice [J]. J Surg Res, 1998, 80(1):110-116.
- [13] 王单松,勒大勇,吴肇汉,等. 人白细胞介素 10 基因治疗大鼠重症急性胰腺炎实验研究[J]. 中华医学杂志, 2002,82(12):844-846.