

文章编号:1005-6947(2007)02-0173-04

· 简要论著 ·

阻塞性黄疸血浆 PGE₂ 与淋巴细胞 IL-10 和 IL-2 活性的相关性分析

李延光, 邹声泉

(华中科技大学同济医学院附属同济医院 普通外科, 湖北 武汉, 430030)

摘要:为探讨阻塞性黄疸大鼠血浆 PGE₂ 与血淋巴细胞 IL-10, IL-2 水平的动态变化及它们的相关性, 笔者将 70 只 SD 大鼠随机分为对照(10 只), 胆总管结扎(BDL)1, 2, 3 周等 4 组(各 20 只)。分别测定各组大鼠血浆 PGE₂ 和血淋巴细胞 IL-10 和 IL-2 水平的动态变化, 并进行相关分析。结果显示大鼠血浆 PGE₂ 和血淋巴细胞 IL-10 水平在 BDL 后 1, 2 周时均有显著升高, 第 3 周仍维持在较高水平。IL-10 水平与血浆 PGE₂ 的升高呈显著正相关($r = 0.878, P < 0.05$)。IL-2 水平在 BDL 后 1, 2 周时均有下降趋势, 但无显著意义; 第 3 周, IL-2 水平则有显著下降, 且与血浆 PGE₂ 的升高呈显著负相关($r = -0.645, P < 0.05$)。提示阻塞性黄疸大鼠存在细胞免疫功能受损的情况, 其发生可能与血浆 PGE₂ 升高有关。

[中国普通外科杂志, 2007, 16(2): 173-176]

关键词: 黄疸, 阻塞性; 免疫, 细胞; 地诺前列酮; 白细胞介素 10; 白细胞介素 2

中图分类号: R657.3

文献标识码: B

阻塞性黄疸(阻黄)患者容易并发感染, 病死率高达 15%~20%, 一般认为与其免疫功能受损有关。白细胞介素(IL)2 和 10 是调节性 T 细胞产生的重要免疫因子; 前列腺素 E₂(PGE₂) 是体内重要的炎性介质和免疫调变剂。本实验旨在通过观察结扎大鼠胆总管(BDL)后动物血淋巴细胞 IL-10 及 IL-2 产生的能力和血浆中 PGE₂ 的动态变化, 以及它们的相关关系, 探讨宿主免疫状态及免疫受损机理。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 实验动物及分组 选 Sprague-Dewley (SD) 大鼠 70 只, 雌雄各半, 体重 180~240 g, 由本院动物室提供。随机分为正常对照组(10 只), BDL 后 1, 2, 3 周组(每组各 20 只)。

1.1.2 主要试剂 包括 PGE₂ 放射免疫分析药盒(中国医学科学院基础所), IL-10 及 IL-2 酶联免疫吸附(ELISA)检测试剂盒(Sigma, USA), 伴刀

豆球蛋白 A(Con A)(Sigma, USA) 和淋巴细胞分离液(上海试剂二厂)。

1.1.3 主要仪器 包括低温高速离心机(Biofuge 28 RS, Heraeus)、 Σ 960 全自动酶标仪(Sigma)、培养箱、 β -液闪仪(西安)、负压泵和低温冰箱。

1.2 实验方法

1.2.1 BDL 模型的制作 0.3% 戊巴比妥钠(40 mg/kg)腹腔内注射麻醉。进腹后显露胆总管, 在近十二指肠侧双重结扎并剪断胆总管。假性手术组只游离胆总管, 不予结扎。术后分组喂养, 普通饲料, 自由饮水、进食。

1.2.2 观测项目及方法 观察毛色、尿色、体重的变化。在规定时间内处死动物, 称重、取血、取材。肝功能生化指标检测, 判断阻黄模型制作成功与否。

(1) 血浆 PGE₂ 的提取与测定 用无菌注射器先吸取 10 mL 消炎痛-肝素液湿润管壁, 取腹腔静脉血 3 mL, 迅速注入离心管中离心 10 min (4℃, 2 500 r/min)。取血浆 1 mL, 重复用 5 mL 乙酸乙酯提取和离心两次(3 000 r/min, 20 min)。合并上清液后用负压泵抽干水分密封, -20℃ 保存。放射免

收稿日期:2006-05-30; 修订日期:2006-10-08。

作者简介:李延光, 男, 河南南阳人, 华中科技大学同济医学院附属同济医院(现在解放军第一六一中心医院)副主任医师, 主要从事肝胆胰疾病的研究。

通讯作者:李延光 E-mail: wwl63@163.com。

疫法测定 PGE₂ 含量,以 pg/mL 表示。测定和计算过程由同济医学院核医学研究室协助完成。

(2) 血淋巴细胞 IL-2 及 IL-10 的制备与检测

取无菌肝素抗凝血 3~4 mL,加入分层液后离心分离出淋巴细胞;用 1640 营养液调成 2×10^6 /mL 的细胞液;加入 Con A ($10 \mu\text{g}/\text{mL}$) 置于含 5% CO₂ 培养箱中 (37℃),48h 后取上清液于 -20℃ 保存。ELISA 法检测 IL-10 和 IL-2 活性单位 (U/mL)。

(3) 大鼠胸腺的组织学检查 取出大鼠胸腺称重。取 0.1g 胸腺组织制成细胞悬液于光镜下计数,余用 10% 福尔马林液固定,石蜡包埋、切片,HE 染色,光镜下观察。

1.3 统计学处理

实验结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示。各均数间比较用 t 检验。将来自相同个体的 PGE₂ 和 IL-10, IL-2 值进行相关分析。

2 结果

2.1 一般情况的变化

3 个 BDL 组术后约 48h 尿液均发黄,4~5d 见皮肤、毛发转黄。按规约时间开腹检查,见近端胆管均呈囊状扩张,以 2,3 周组最为明显。胆管内胆汁黏稠浑浊,肝脏弥漫肿大,质地变硬。BDL 术后各组大鼠体重略有下降,但各组间差异无显著性。BDL 术后各组血清胆红素逐渐升高,与对照组相比及各组间相比差异均有显著意义 ($P < 0.01$) (表 1)。

2.2 胸腺组织学改变

BDL 后大鼠胸腺重量减轻,淋巴细胞数减少,3 周时有显著变化 (表 1);组织学可见细胞稀疏,胸腺皮质和髓质区缩小,边界模糊。

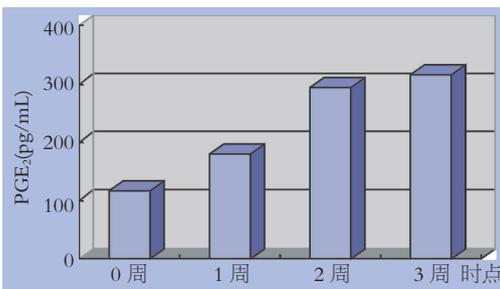


图1 阻黄后血浆 PGE₂ 的变化

表1 BDL 对大白鼠胸腺重量和细胞数的影响 ($\bar{x} \pm s$)

分组	n	胸腺重量 (10^{-1} g)	细胞数 ($\times 10^8$ /g)	血清胆红素 (mg/mL)
对照	10	2.36 ± 0.22	22.42 ± 2.44	0.18 ± 0.06
BDL1周	20	2.28 ± 0.24	21.64 ± 2.38	3.84 ± 1.50 ¹⁾
BDL2周	20	2.16 ± 0.18	20.36 ± 2.54	5.22 ± 1.48 ¹⁾²⁾
BDL3周	20	1.88 ± 0.30 ¹⁾²⁾³⁾	15.62 ± 3.02 ¹⁾²⁾³⁾	7.22 ± 1.45 ¹⁾²⁾³⁾

注:1)与对照组比较, $P < 0.01$; 2)与1周组比较 $P < 0.01$; 3)与2周组比较 $P < 0.01$ 。

2.3 血浆 PGE₂ 和血淋巴细胞 IL-10, IL-2 产生能力的变化

大鼠血浆 PGE₂ 和血淋巴细胞 IL-10 水平在 BDL 后 1,2 周时均有明显升高,与对照组相比差异显著性 ($P < 0.05$);BDL 1,2 周组相比差异亦有统计学意义 (为 $P < 0.05$),第 3 周仍维持在较高水平,但与第 2 周差异无显著性 ($P > 0.05$)。相关分析表明:IL-10 水平与血浆 PGE₂ 的升高呈显著正相关 ($r = 0.878, P < 0.05$)。

IL-2 水平在 BDL 后 1,2 周时均有下降趋势,但变化无显著意义 ($P > 0.05$),第 3 周,IL-2 水平则有明显下降,与对照组及 1,2 周组相比,差异均有显著意义 (均 $P < 0.05$) (表 2) (图 1-2);相关分析表明:IL-2 水平与血浆 PGE₂ 呈显著负相关 ($r = -0.645, P < 0.05$)。

表2 BDL 后大鼠血浆 PGE₂ 及淋巴细胞 IL-10, IL-2 水平 ($\bar{x} \pm s$)

分组	n	PGE ₂	IL-10	IL-2
对照	10	116.0 ± 12.6	54.2 ± 12.4	125.4 ± 32.6
BDL1周	20	180.1 ± 11.9 ¹⁾	76.7 ± 14.4 ¹⁾	108.6 ± 36.2
BDL2周	20	294.9 ± 34.5 ¹⁾²⁾	102.6 ± 18.5 ¹⁾²⁾	104.5 ± 30.1
BDL3周	20	315.0 ± 62.3 ¹⁾²⁾	106.8 ± 20.1 ¹⁾²⁾	71.8 ± 22.8 ¹⁾²⁾³⁾

注:1)与对照组相比 $P < 0.05$; 2)与1周组相比 $P < 0.05$; 3)与2周组 $P < 0.05$

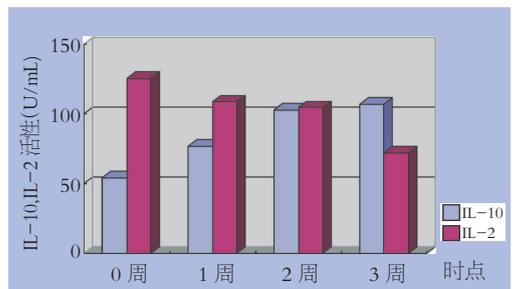


图2 阻黄后血淋巴细胞 IL-10 和 IL-2 的活性比较

3 讨论

研究表明,阻黄患者存在细胞免疫功能障碍。如:肝脏库普弗(Kupffer)细胞吞噬和清除细菌能力下降;患者皮肤迟发性过敏反应低下;混合淋巴细胞增殖能力明显减弱;IL-2水平下降^[1-10]。IL-10是重要的抗炎性细胞因子和免疫抑制因子,有抑制T细胞增殖的作用。IL-2能促进活化T淋巴细胞增殖,在细胞免疫中起着非常重要的作用。本实验显示,BDL大鼠胸腺重量减轻,淋巴细胞数减少,血淋巴细胞IL-10在BDL后迅速上升,而IL-2在3周时明显下降。表明BDL大鼠存在细胞免疫功能障碍的免疫功能受损。辅助性T细胞(Th)根据CD₄⁺T细胞分泌的两类不同细胞因子分为Th₁和Th₂细胞。Th₁细胞主要分泌IL-2,干扰素(IFN)- γ 等,介导与细胞免疫有关的免疫应答。Th₂细胞主要分泌IL-10,IL-6,IL-4等因子,参与体液免疫。IL-10可诱导前体细胞向Th₂细胞转化,并抑制Th₁细胞分泌其IL-2等,使细胞免疫功能减弱。Th₁/Th₂细胞平衡在细胞免疫中的作用现已日益受到重视^[2-3]。Abe, Kimmings和Kimura的研究表明^[11-13],阻黄宿主血浆中肿瘤坏死因子(TNF),IL-10,IL-6及IL-8水平增高,而IL-1,IL-2,IFN- γ 水平下降。本实验结果显示,IL-10在BDL后迅速上升,而IL-2在3周时明显下降。提示Th₁细胞功能下降,而Th₂细胞功能加强。表明阻黄宿主存在Th₁/Th₂细胞的失平衡,从而导致细胞免疫功能受损。

阻黄导致细胞免疫功能受损的机制目前仍不清楚。有人认为高胆红素血症时血中有害成分直接造成T细胞功能上的内在缺陷;也有实验表明高胆红素血症时宿主血液中存在免疫抑制因子^[4],且可能与胆红素、胆盐、内毒素及 α -球蛋白等有关。目前研究^[10]表明,阻黄时胆汁淤积和内毒素血症导致巨噬细胞炎性介质及细胞因子分泌异常;这些异常在宿主细胞免疫功能受损上起重要作用。PG是一组花生四烯酸的代谢产物,广泛参与体内的炎性反应。研究表明,阻黄宿主存在花生四烯酸代谢紊乱,前列腺素合成代偿性增加,并对维持肾血流量及肾小球滤过率起着重要作

用^[7-8]。PGE₂还是重要的免疫调变剂;近年研究^[5-6]表明它可调控IL-10的表达,也有直接和间接抑制IL-2表达的作用。Ding^[9]给阻黄大鼠腹腔注射消炎痛,可以显著改善其脾淋巴细胞IL-2水平。本实验结果表明:大鼠血浆PGE₂和血淋巴细胞IL-10水平在BDL后显著升高,IL-2在3周时明显下降,且与血浆PGE₂的升高显著相关。说明阻黄宿主存在的Th₁/Th₂细胞失衡与血浆PGE₂的升高有关。高浓度的PGE₂可激活细胞膜腺苷环化酶,使细胞内的CAMP升高,在转录水平上影响细胞因子的生成。各种致炎因素,特别是内毒素可使巨噬细胞PGE₂的产生明显增加。这为临床选用非甾体类抗炎药及其他免疫增强剂调节Th₁/Th₂细胞平衡,改善阻黄患者的细胞免疫功能提供一定的实验基础。但花生四烯酸代谢产物种类繁多,功能广泛,对阻黄后不同时期各器官功能的影响尚需深入研究。

参考文献

- [1] Vane DW, Redlich D, Weber T, *et al.* Impaired immune function in obstructive jaundice [J]. *J Res Surg*, 1988, 45(3): 287-288.
- [2] Cousins DJ, Lee TH, Staynov DI. Cytokine coexpression during human Th₁/Th₂ cell differentiation: direct evidence for coordinated expression of Th₂ cytokines [J]. *J Immunol*, 2002, 169(5): 2498-2506.
- [3] Fickenscher H, Her S, Kupers H, *et al.* The interleukin-10 family of cytokines [J]. *Trends Immunol*, 2002, 23(3): 89-96.
- [4] Karan B, Kama NA, Hascelik G, *et al.* Effects of vitamin on immunological deficiencies in rats with obstructive jaundice [J]. *Eur J Surg*, 1996, 162: 217-220.
- [5] Ramsdeu F, Ziegler SF. Transcription factors in autoimmunity [J]. *Curr Opin Immunol*, 2003, 15(6): 718-724.
- [6] Commeren DL, Van Soest PL, Karimi K, *et al.* Paradoxical effects of interleukin-10 on the maturation of murine myeloid dendritic cells [J]. *Immunology*, 2003, 110(2): 188-196.
- [7] Adachi Y, Arai S, Sasaoki T, *et al.* Hepatic macrophage mal-function in rats with obstructive jaundice and its biologic significance [J]. *J Hepatol*, 1992, 16(4): 171-176.
- [8] Zambraski EJ, Dunn MJ. Importance of renal prostaglandins in control of renal function after chronic ligation of the common bile duct in dogs [J]. *J Lab Clin Med*, 1986, 103(3): 549-559.
- [9] Ding XZ, Li H, Xing ST, *et al.* Effects of indomethacin on IL-2 and T suppressor cell function in rats with obstructive jaundice [J]. *J Tongji Med Uni*, 1994, 1(6): 94-97.
- [10] Nehez L, Andersson R. Compromise of immune function in obstructive jaundice [J]. *Eur J Surg*, 2002, 168(2): 315-328.

- [11] Abe T, Arai T, Ogawa A, *et al.* Kupffer cell-derived interleukin 10 is responsible for impaired bacterial clearance in bile duct-ligated mice [J]. *Hepatology*, 2004, 40(5):414-423.
- [12] Kimmings AN, Deventer SJ, Obertop H, *et al.* Endotoxin, cytokines, and endotoxin binding proteins in obstructive jaundice

and after preoperative biliary drainage [J]. *Gut* 2000; 46(9):725-31.

- [13] Kimura F, Miyazaki M, Suwa T, *et al.* Anti-inflammatory response in patients with obstructive jaundice caused by biliary malignancy [J]. *J Gastroenter Hepat*, 2001, 16(8):467-472.

文章编号:1005-6947(2007)02-0176-01

· 病案报告 ·

巨大甲状腺癌姑息切除旋转皮瓣1例

边学海, 续哲莉, 张丹丹

(吉林大学中日联谊医院 乳腺甲状腺外科, 吉林 长春 130033)

关键词:甲状腺肿瘤/外科学; 腺癌, 乳头状; 外科皮瓣; 病例报告

中图分类号:R736.1

文献标识码:D

患者 女, 43岁。1991年颈前左侧肿物确诊为甲状腺癌, 行甲状腺左叶大部分切除手术; 1997年左侧甲状腺癌复发, 再次行甲状腺左叶大部分切除手术。2003年再次发现颈前左侧肿物, 逐渐增大如手拳大小(图1)。体查: 颈前隆起, 皮肤呈青紫色; 皮温正常, 甲状腺左叶及峡部可触及大小约8.0cm×6.0cm×4.0cm肿物, 质硬, 表面不光滑, 肿物固定。甲状腺彩超: 峡部及左叶靠气管旁有少量残余腺体组织, 其内回声欠均匀; 左叶内一5.08cm×4.85cm混合性回声光团, 其中实质部分有散在强回声光点, 并有较多血流信号。双侧颈动脉旁可见多个低回声淋巴结, 其较大的长径为1.26cm。颈部CT: 左侧甲状腺区局部呈囊样, 结节样不规则增大, CT值约为22Hu, 局部并见钙化影; 气管受压右移。肿物细针抽吸活检(FNA): 可疑乳头状癌。全麻下选择肿物周围正常皮肤边缘做切口(冷冻切片病理证实切缘阴性), 切除皮肤范围约10cm×8cm。切除肿物、气管前筋膜, 清扫喉前、气管前及双侧颈鞘内淋巴结。游离前胸壁皮瓣, 以右侧锁骨中线处为皮瓣基

底, 左侧游离至左锁骨中线, 下缘至双侧乳头连线, 游离皮瓣大小约12cm×10cm, 牵拉皮瓣至颈前皮肤缺损处; 游离左侧乳房上缘至切口下皮肤, 牵拉皮肤。修补游离皮瓣后缺损处。间断缝合, 放置引流管2枚(图2)。术后恢复出院。术后病理报告: 甲状腺乳头状癌。随访1个月, 无明显颈、胸前不适感, 切口愈合良好, 无复发。



图1 巨大甲状腺癌



图2 巨大甲状腺癌姑息切除旋转皮瓣术后

讨论 本文患者甲状腺癌复发形成巨大癌肿, 肿物手术切除是积极制止发展的手段。癌肿已侵及的皮肤也是切除范围。但是直接缝合皮肤不够, 影响美观, 降低生活质量。旋转皮瓣是在创缘外围的局部形成, 按顺时针或逆时针方向旋转一定角度后, 移转至修复部位的皮瓣。供瓣区可以通过衣着来修饰, 解决局部的美观问题。特别女性患者, 前胸至乳房上部皮肤延展度很好, 本例巨大甲状腺癌患者经I期旋转皮瓣填充缺损皮肤, 获满意效果。

颈前旋转皮瓣应注意: (1) 术前充分设计旋转皮瓣的范围, 保证充足的血供。(2) 需要较大的皮瓣, 皮瓣需固定在垂直位; 患者有动脉硬化, 糖尿病等可能影响皮瓣血运的全身疾患, 皮瓣在转移前最好做延迟, 不能勉强I期旋转皮瓣。(3) 在蒂的基部外方所出现的皮肤皱褶, 可切除一小块三角形的皮肤, 即可平整缝合。切除皮肤后皮瓣的长宽比例仍然以不超过1:1的常规比例为宜。(4) 在闭和颈部创面前应充分止血, 并置引流。(5) 如果供区遗留创面较大, 可用植皮覆盖。

收稿日期:2006-09-30。

作者简介:边学海, 男, 吉林长春人, 吉林大学中日联谊医院住院医师, 主要从事乳腺、甲状腺疾病治疗方面的研究。

通讯作者:边学海 E-mail: bxhai5413@sina.com。