

异体内皮细胞输注对脓毒症猪血流动力学、乳酸、IL-1 和 IL-10 的影响

张家瑛¹▲ 平易²▲ 刘骏峰¹ 丁峰¹△ 梁伟民² 顾勇¹ 林善谔¹

(¹复旦大学附属华山医院肾脏科, ²麻醉科 上海 200040)

【摘要】 目的 观察异体内皮细胞输注对脓毒症猪血流动力学、乳酸、白介素-1(IL-1)和白介素-10(IL-10)的影响,初步探讨内皮细胞对脓毒症的治疗作用,为将来构建体外内皮细胞生物反应器提供依据。方法 15头家猪随机分为对照组(5头)、激素组(5头)和激素+内皮细胞组(5头)(简称激内组)。均静滴内毒素制造脓毒症模型后,对照组不予处理,激素组给予甲基强的松龙(简称甲强龙)250 mg 静滴,激素+内皮细胞组静滴甲强龙 250 mg 后给予动脉注入 10⁸ 数量级的内皮细胞。观察血流动力学、生化指标和炎症因子的变化。结果 激素组和激内组的 MAP 回升幅度明显高于对照组(激素组: $P = 0.004$; 激内组: $P = 0.000$); 激内组的肺血管阻力升高幅度明显低于对照组($P = 0.035$),而激素组与对照组无显著性差异($P = 0.346$); 激内组的 WBC 回升幅度明显高于对照组($P = 0.000$)和激素组($P = 0.000$); 激素组和激内组的 AST 升高幅度均明显低于对照组(激素组: $P = 0.008$; 激内组: $P = 0.005$),而激素组和激内组间无显著性差异($P = 0.858$); 激内组的 IL-10 明显低于对照组($P = 0.021$),激素组与对照组无显著性差异($P = 0.158$)。结论 异体内皮细胞联合激素干预猪脓毒症模型可以更明显地改善血流动力学、延缓脏器功能衰竭、调节炎症水平,提示未来构建内皮细胞生物反应器治疗脓毒症的潜在价值。

【关键词】 脓毒症; 内毒素; 内皮细胞; 血流动力学; 炎症因子; 猪

【中图分类号】 R 631⁺.2 **【文献标志码】** A

Preliminary observations of the effects of heterogenous endothelial cell infusion on the haemodynamics, lactic acid, IL-1 and IL-10 of porcine sepsis models

ZHANG Jia-ying¹▲, PING Yi²▲, LIU Jun-feng¹, DING Feng¹△,
LIANG Wei-min², GU Yong¹, LIN Shan-yan¹

(¹Department of Nephrology, ²Department of Anaesthesiology, Huashan Hospital, Fudan University, Shanghai 200040, China)

【Abstract】 Objective To observe the effects of endothelial cells on haemodynamics, lactic acid, IL-1 and IL-10 in porcine sepsis models. **Methods** We picked up 15 pigs and divided them into 3 groups (5 for each group) randomly: control group, glucocorticosteroid (GC) group and glucocorticosteroid plus endothelial cells(GC + EC) group. Lipopolysaccharide (LPS) was given by intravenous injection in all three groups and then we gave methylprednisolone(MP) 250mg to the GC group and MP 250mg plus 10⁸ endothelial cells via arteria to the GC + EC group. The changes of haemodynamic, biochemical and inflammatory parameters were recorded. **Results** The elevation of mean arterial pressure P in GC and GC + EC group were higher than that in the control group(GC: $P = 0.004$; GC + EC: $P = 0.000$). The elevation of pulmonary vascular resistance in GC + EC group was lower than that in the control group($P = 0.035$), while the elevation in GC group had no significant difference with the control group ($P = 0.346$). WBC recovered sooner in GC group than in control group ($P = 0.000$) or GC group ($P = 0.000$). The elevation of AST in GC group and GC + EC group were lower than that in the control group(GC: $P = 0.008$

GC+EC; $P=0.005$), but no difference was observed between GC and GC+EC group ($P=0.858$). IL-10 in GC+EC group was lower than that in the control group ($P=0.021$) while no significant difference was observed between GC and control group ($P=0.158$). **Conclusions** The combination of glucocorticosteroid and endothelial cells improved haemodynamic indexes, delayed organ failures and modulated inflammatory level. It signifies the rationality of the construction of endothelial cell assist device.

【Key words】 sepsis; lipopolysaccharide (LPS); endothelial cell; haemodynamics; inflammatory factors; pig

脓毒症一直以来严重威胁着人类的生命,发病率和死亡率居高不下^[1]。对脓毒症机制和治疗的探讨一直是医学界关注的问题。目前对脓毒症发病机制的认识有了一个质的飞跃,认为脓毒症是一种病原体入侵机体后广泛防御机制被激活后的机体免疫平衡被打乱的免疫紊乱,其中位于正常组织与炎症细胞之间的血管内皮细胞的功能异常在脓毒症的发生发展上起关键性的作用,可称之为脓毒症中受损的关键脏器^[2-4]。如果能逆转内皮细胞的损伤或替代内皮细胞正常的细胞功能有可能改变脓毒症的进程。因此参考20世纪初兴起的细胞疗法,我们将同种异体猪髂动脉内皮细胞从动脉内注入,观察其对脓毒症猪血流动力学、乳酸、IL-1和IL-10的影响,初步探讨内皮细胞对脓毒症的治疗作用,为将来构建体外内皮细胞生物反应器提供依据。

资料和方法

动物与动物分组 实验动物选用15头家猪,雌雄随机,年龄3个月左右,体重在16~21 kg,购买于复旦大学实验动物科学部。猪进食标准饮食,实验前一天晚上10点后禁食。所有猪随机分为3组:①对照组;②激素组;③激素+内皮细胞组(简称激内组)。

内皮细胞的培养 猪髂动脉内皮细胞株(porcine Iliac artery endothelial cell, PIEC)购于中国科学院上海生命科学研究院生物化学与细胞生物学研究所细胞库。本实验在此细胞株的6~9代完成。猪髂动脉内皮细胞生长于含10%胎牛血清,2 mmol/L的L-谷氨酰胺的RPMI 1640培养液中,在5% CO₂、37℃培养箱孵育。当7.5 cm²培养瓶中正常培养的PIEC细胞达到90%融合后,PBS洗涤1次,加入胰蛋白酶+EDTA将其消化,培养液终止消化后1 800 r/min离心5 min,弃去上清,加入1 mL PBS,轻柔吹打为细胞悬液,另取10 μL进行细胞计数。连续消化3~5瓶培养瓶内的细胞,制成3~5 mL PIEC的PBS悬液,细胞数量约为10⁸,室温保存留待激内组进行内皮细胞干预,从消化到

动脉内输注内皮细胞时间不超过2 h。

猪脓毒症模型的建立及干预

模型建立 将猪用氯胺酮15 mg/kg肌注麻醉后,抬到手术台上固定。耳缘静脉穿刺放静脉套管,予平衡液补液10 mL·kg⁻¹·h⁻¹,1 h后维持5 mL·kg⁻¹·h⁻¹;气管插管,异氟醚0.5~1 mg/kg静吸复合麻醉维持;颈内静脉置入漂浮导管,颈内动脉穿刺置管。平稳后开始静滴LPS(总量0.25 mg/kg, Sigma公司, L2880),30 min滴完。

干预 对照组除上述持续补液外不给予其他干预;激素组在LPS滴完后30 min开始静滴甲强龙250 mg,30 min滴完;激内组LPS滴完后30 min开始静滴甲强龙250 mg,30 min滴完,甲强龙静滴完后立即将PIEC的PBS悬液3~5 mL稀释于10 mL的生理盐水,输注入颈内动脉,10 min注射完。

血流动力学的监测 用动脉置管持续测定心率、平均动脉血压(MAP),用氧饱和度仪夹于猪耳持续测定氧饱和度,LPS开始给予后6 h内用漂浮导管每小时测定肺动脉压(pulmonary artery pressure, PAP)、肺动脉楔压(pulmonary artery wedge pressure, PCWP)、中心静脉压(central venous pressure, CVP)、心输出量(cardiac output, CO)。根据公式计算全身血管阻力(systemic vascular resistance, SVR)和肺血管阻力(pulmonary vascular resistance, PVR)。SVR=(MAP-CVP)×80/CO;PVR=(PAMP-PCWP)×80/CO。

血标本的留取 3组自LPS静滴开始0、1、2、3、4、5、6 h从动脉置管处抽取10 mL动脉血,分别测定血常规、肝肾功能、乳酸、IL-1、IL-10的血清浓度。血常规、肝肾功能由华山医院检验中心即刻检测。其余血液室温1 500 r/min离心15 min留取血清分装于Eppendorf管,保存于-30℃冰箱内,待测血清乳酸、IL-1、IL-10的浓度。

血清乳酸的测定 根据南京建成生物工程研究所乳酸测定试剂盒所附操作步骤说明书使用分光光度计进行血清乳酸的测定。

血清IL-1、IL-10的测定 两者ELISA试剂盒均购自Adlitteram Diagnostic Laboratories (ADL)公司,

根据 ADL 公司所附操作步骤说明书进行测定。

统计学分析 所有数据均以均数 ± 标准误表示,使用 SPSS for Windows Ver. 11.5 统计软件,采用重复测量方差分析 (repeated measurement ANOVA) 进行组内和组间总体差异的比较分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

由于各指标的基础值有偏移,故采用与激素和内皮细胞干预前的值(1 h)的相对比值进行比较。

3 组血流动力学指标的改变 内毒素注入后 3 组 MAP 均下降,在激素或激素和内皮细胞输注干预下,败血症猪的 MAP 较快得到恢复。激素组和激内组从 2 h 开始有所回升,明显高于对照组,差异

有统计学意义(激素组: $P = 0.004$;激内组: $P = 0.000$)(表 1,图 1)。和激素组相比,激内组 MAP 升高幅度更高,5 h 和 6 h 恢复到正常水平,但差异无统计学意义($P = 0.232$);内毒素注入后 3 组 PAP 均升高,但 3 组之间差异无统计学意义($P = 0.245$);3 组 CO 均在 2 h 时升高,然后开始下降并趋于稳定,激内组下降程度略低于对照组和激素组,但 3 组之间差异无统计学意义($P = 0.192$);3 组 SVR 在 1 h 后均显著下降,后有所回升,3 组之间差异无统计学意义($P = 0.122$);内毒素注入后 3 组 PVR 1 h 即升高,然后对照组仍进行性升高,激素组升高的幅度同对照组间差异无统计学意义($P = 0.346$),激内组升高幅度明显低于对照组,差异具有统计学意义($P = 0.035$),激素加内皮细胞输注干预显著减少了败血症猪 PVR 的上升(表 2,图 2)。

表 1 不同干预方法对脓毒症猪 MAP、PAP 和 CO 的影响

Tab 1 Different impacts on MAP, PAP and CO of porcine sepsis models by different approaches of interference

Group	0 h	1 h	2 h	3 h	4 h	5 h	6 h
MAP(mmHg)							
Control	109.00 ± 4.13	103.89 ± 2.54	44.85 ± 6.35	41.96 ± 9.82	53.89 ± 8.71	49.78 ± 15.13	48.22 ± 13.97
GC ⁽¹⁾	106.67 ± 5.86	102.22 ± 4.85	64.44 ± 3.43	75.11 ± 4.51	81.33 ± 11.32	94.33 ± 19.36	99.22 ± 18.31
GC + EC ⁽²⁾	111.33 ± 8.84	99.11 ± 18.42	57.89 ± 4.62	76.45 ± 11.91	96.89 ± 16.45	102.22 ± 12.85	118.00 ± 11.05
PAP(mmHg)							
Control	16.33 ± 1.08	20.50 ± 3.89	19.50 ± 1.06	22.50 ± 1.06	25.00 ± 5.10	29.00 ± 7.07	29.67 ± 8.26
GC	16.33 ± 1.08	27.00 ± 2.83	26.67 ± 3.34	27.33 ± 3.56	34.00 ± 1.87	31.00 ± 1.22	32.33 ± 1.63
GC + EC	16.67 ± 1.47	30.33 ± 6.57	27.00 ± 2.55	33.00 ± 4.95	34.00 ± 6.04	32.33 ± 3.89	34.33 ± 4.55
CO(L/min)							
Control	1.94 ± 0.35	1.85 ± 0.45	2.18 ± 0.15	1.57 ± 0.15	1.90 ± 0.22	1.66 ± 0.33	1.53 ± 0.37
GC	2.29 ± 0.13	2.01 ± 0.36	2.23 ± 0.32	2.02 ± 0.29	1.72 ± 0.24	1.80 ± 0.24	1.73 ± 1.18
GC + EC	2.54 ± 0.17	1.71 ± 0.93	2.36 ± 0.70	2.00 ± 0.33	1.89 ± 0.29	2.02 ± 0.18	1.88 ± 0.22

1 mmHg = 0.133 kPa; MAP: Mean arterial pressure; PAP: Pulmonary artery pressure; CO: Cardiac output. MAP of GC group⁽¹⁾ and GC + EC group⁽²⁾ elevated from 2 h, which are much higher than control group. The difference is notable (*vs* control group, $P = 0.004$ and $P = 0.000$ respectively)

表 2 不同干预方法对脓毒症猪 SVR 和 PVR 的影响

Tab 2 Different impacts on SVR and PVR of porcine sepsis models

by different approaches of interference

(mmHg · min⁻¹ · L⁻¹)

Time and index		Control group	GC group	GC + EC group
0 h	SVR	4 620.27 ± 949.92	3 643.07 ± 388.30	3 429.30 ± 517.46
	PVR	393.40 ± 28.80	374.46 ± 22.59	373.27 ± 69.91
1 h	SVR	4 819.73 ± 1 139.82	4 199.70 ± 914.83	4 457.33 ± 699.93
	PVR	693.21 ± 63.47	951.61 ± 299.14	1 195.44 ± 178.62
2 h	SVR	1 793.30 ± 242.40	2 253.50 ± 194.87	2 046.00 ± 477.89
	PVR	601.72 ± 146.87	846.45 ± 246.26	910.29 ± 192.34
3 h	SVR	1 927.63 ± 427.20	2 990.63 ± 351.71	2 835.23 ± 140.79
	PVR	935.34 ± 72.29	878.86 ± 98.88	1 140.04 ± 161.89
4 h	SVR	2 354.83 ± 526.41	3 843.60 ± 650.09	3 910.33 ± 998.65
	PVR	960.25 ± 365.80	1 437.48 ± 242.09	1 315.57 ± 45.00
5 h	SVR	2 758.63 ± 1 108.38	4 184.40 ± 791.84	3 759.23 ± 523.15
	PVR	1 296.67 ± 601.29	1 230.49 ± 189.60	1 121.71 ± 141.84
6 h	SVR	2 835.67 ± 1 408.36	4 616.50 ± 825.21	4 717.67 ± 451.84
	PVR	1 506.17 ± 774.82	1 365.83 ± 228.31	1 260.78 ± 111.52

SVR: Systemic vascular resistance; PVR: Pulmonary vascular resistance. The elevation of PVR in GC + EC group is much lower than that in control group. The difference is notable (*vs* control group, $P = 0.035$)

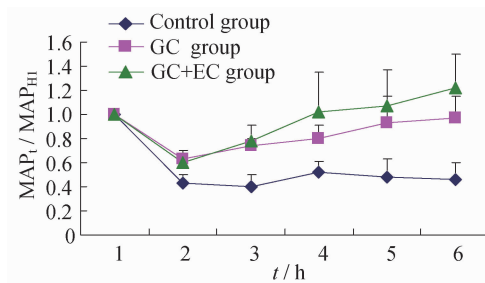


图1 各组不同时间所测 MAP 与 H1 的比值
Fig 1 The ratio between MAP at different time with MAP at H1

The MAP of GC and GC + EC group is much higher than control group (GC: $P = 0.004$; GC + EC: $P = 0.000$), but there is no difference between GC and GC + EC group ($P = 0.232$)

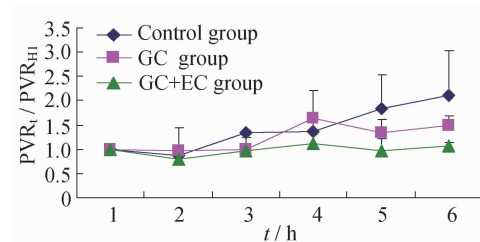


图2 各组不同时间所测 PVR 与 H1 的比值
Fig 2 The ratio between PVR at different time with PVR at H1

The PVR of control group elevated in progress, but there is no difference between GC and control group ($P = 0.346$). The elevation of GC + EC group is lower than control group. The difference is notable, significant ($P = 0.035$)

3 组血常规、肝肾功能、乳酸指标的改变 内毒素注入后 3 组白细胞(white blood cell, WBC)1 h 即

下降,对照组一直保持低值,激素组和激内组在 2 h 后开始回升,激素组明显高于对照组,差异具有统计学意义($P = 0.003$);激内组亦明显高于对照组,差异有统计学意义($P = 0.000$);激内组明显高于激素组,差异具有统计学意义($P = 0.000$);在激素和内皮细胞输注干预下败血症猪 WBC 恢复较快(表 3, 图 3);3 组血小板(platelet, PLT)均进行性下降,且差异无统计学意义($P = 0.108$);内毒素注入后 3 组谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)进行性上升,激素组和激内组升高幅度均明显低于对照组,差异有统计学意义(激素组 $P = 0.008$;激内组 $P = 0.005$),对肝功能的保护作用明显,而激素组和激内组间差异无统计学意义($P = 0.858$);3 组血肌酐(serum creatinine, SCR)进行性上升,但 3 组之间差异无统计学意义($P = 0.29$);内毒素注入后 3 组乳酸 1 h 即升高,对照组进行性升高,激素组和激内组 1 h 后趋于稳定,但 3 组之间差异无统计学意义($P = 0.108$)。

3 组 IL-1、IL-10 的改变 内毒素注入后 3 组 IL-1 1 h 即上升,后有所下降,3 者之间差异无统计学意义($P = 0.181$);3 组 IL-10 1 h 即上升,对照组从 2 h 开始稍有下降后趋于稳定,激素和激内组从 2~4 h 较稳定,5 h 开始下降,激素组与对照组差异无统计学意义($P = 0.158$),而激内组明显低于对照组,差异有统计学意义($P = 0.021$),激素加内皮细胞干预减少了 IL-10 的浓度升高(图 4)。

表 3 不同干预方法对脓毒症猪 WBC、PLT、AST 和 SCR 的影响

Tab 3 Different impacts on WBC, PLT, AST and SCR of porcine sepsis models by different approaches of interference

	0 h	1 h	2 h	3 h	4 h	5 h	6 h
WBC($\times 10^9/L$)							
Control group ⁽¹⁾	15.01 \pm 1.50	2.36 \pm 0.08	1.95 \pm 0.31	1.86 \pm 0.01	1.93 \pm 0.10	2.01 \pm 0.13	1.66 \pm 0.06
GC group ⁽²⁾	20.82 \pm 2.08	3.94 \pm 0.35	3.05 \pm 0.08	4.35 \pm 0.54	4.92 \pm 0.38	5.47 \pm 0.64	6.79 \pm 1.48
GC + EC group ⁽³⁾	19.53 \pm 3.30	2.84 \pm 0.74	3.22 \pm 0.86	5.15 \pm 1.08	4.67 \pm 1.46	5.21 \pm 1.72	7.65 \pm 2.52
PLT($\times 10^{12}/L$)							
Control group	322.50 \pm 2.47	331.33 \pm 26.10	262.00 \pm 15.56	213.50 \pm 15.91	195.00 \pm 5.66	155.00 \pm 2.12	159.00 \pm 13.44
GC group	441.33 \pm 77.73	400.67 \pm 30.48	380.33 \pm 71.10	325.67 \pm 67.09	275.00 \pm 72.26	295.33 \pm 77.76	292.67 \pm 81.04
GC + EC group	358.00 \pm 7.07	390.67 \pm 43.13	359.33 \pm 37.02	321.33 \pm 15.12	260.67 \pm 5.35	278.67 \pm 16.57	276.67 \pm 7.43
AST($\mu\text{mol}/L$)							
Control group ⁽⁴⁾	52.67 \pm 25.54	65.33 \pm 25.02	73.00 \pm 34.76	81.67 \pm 39.19	94.67 \pm 41.72	104.00 \pm 39.82	144.50 \pm 30.05
GC group ⁽⁵⁾	40.67 \pm 6.01	46.67 \pm 4.08	43.67 \pm 1.63	49.67 \pm 5.12	57.33 \pm 5.35	67.67 \pm 7.76	79.33 \pm 9.91
GC + EC group ⁽⁶⁾	53.00 \pm 6.75	60.33 \pm 6.34	54.67 \pm 6.18	76.00 \pm 15.80	72.00 \pm 5.61	82.00 \pm 6.48	95.00 \pm 6.36
SCR($\mu\text{mol}/L$)							
Control	70.67 \pm 11.78	77.67 \pm 6.42	80.33 \pm 3.89	92.00 \pm 13.91	95.67 \pm 7.43	96.33 \pm 8.52	94.00 \pm 3.54
GC group	79.00 \pm 5.79	78.67 \pm 6.42	85.33 \pm 6.72	89.00 \pm 8.03	95.00 \pm 6.96	99.00 \pm 6.82	103.67 \pm 6.10
GC + EC group	80.00 \pm 3.24	81.00 \pm 4.90	92.33 \pm 12.66	88.67 \pm 6.94	92.33 \pm 13.39	96.67 \pm 12.50	95.00 \pm 12.25

WBC: White blood cell; PLT: Platelet; AST: Aspartate aminotransferase; SCR: Serum creatinine. The WBC of GC group⁽²⁾ and GC + EC group⁽³⁾ elevated from 2 h, and is significantly higher than that of the control group⁽¹⁾ (vs control, $P = 0.003$, $P = 0.000$, respectively). The WBC of GC + EC group is higher than that of GC group ($P = 0.000$). The AST elevated in progress. The elevation of AST in GC⁽⁵⁾ and GC + EC group⁽⁶⁾ is significantly higher than that of the control group⁽⁴⁾ (vs control, $P = 0.008$, $P = 0.005$, respectively)

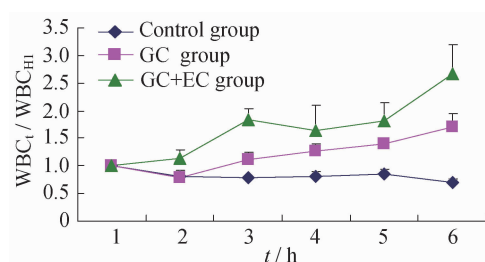


图3 各组不同时点所测 WBC 与 H1 的比值
Fig 3 The ratio between WBC at different time with WBC at H1

The WBC of GC and GC + EC group elevated from 2 h. The elevation of GC group is much higher than control group ($P = 0.003$). The difference is significant. The elevation of GC + EC group is much higher than GC group ($P = 0.000$). The difference is significant

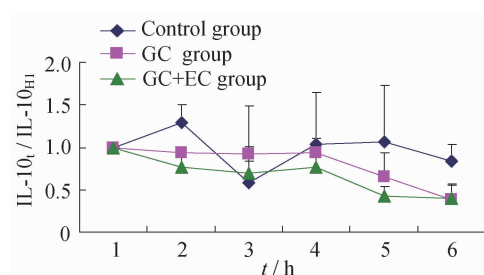


图4 各组不同时点所测 IL-10 与 H1 的比值
Fig 4 The ratio between IL-10 at different time with IL-10 at H1

The IL-10 of GC + EC group is much lower than control ($P = 0.021$). The difference is significant

讨 论

内毒素是革兰阴性细菌外膜上的一种双歧性糖脂,其化学成分脂多糖 LPS 可引起实验动物休克,导致低血压、代谢性酸中毒,甚至在几分钟内死亡。LPS 主要成分脂质 A 与内毒素受体相互作用可激活前炎性细胞因子系统而介导细胞毒性反应,最终导致脓毒性休克甚至多器官功能障碍综合征。

脓毒症目前公认的动物模型有内毒素诱导、细菌注射、腹膜炎模型即盲肠结扎穿孔模型。内毒素诱导模型具有制模方便、快捷、模型稳定、易于评定等优点^[5]。

本实验中,对照组在注入 LPS 后出现早期的高排低阻,表现为早期 CO 的升高和 SVR 的降低,MAP 正常;晚期心肌抑制、心脏代偿功能下降,CO 开始下降,MAP 降低。另外,肺循环的 PAP、PVR 持续升高,实验结果符合脓毒症高排低阻、肺循环阻力升高的血流动力学特点^[6]。其次,本实验中白细胞数目在注入 LPS 后立即出现剧烈的下降,最低达

$2 \times 10^9/L$,考虑是由于内皮细胞等激活后大量表达黏附因子使白细胞易于黏附和穿越血管壁而向血管外迁移,因而表现为短暂的血液粒细胞减少。血小板在 LPS 注入后 1~6 h 也持续下降, Baughman 等^[7]研究发现,脓毒症中血小板减少的机制是血小板丢失或破坏增加以及激活的血小板进入外周血黏附血管壁后外周血异常的结果。另外,本实验也观察到肝功能、肾功能进行性升高及 IL-1、IL-10 的升高均符合脓毒症的特征。

本实验运用甲强龙的本意是对抗异体内皮细胞的排异,故在 LPS 注入后 30 min 先静滴甲强龙 250 mg(12.5~15.6 mg/kg),然后体内再注入内皮细胞,但实验结果发现甲强龙对脓毒症也有着显著的改善作用。激素组 MAP 的回升,显著高于对照组,与 GC 可以抑制诱导型 NOs 的活性,减少 NO 的过量产生,抑制磷脂酶 A2 减少前列腺素的生成和促进儿茶酚胺的生物合成从而升高血压,改善微循环,维持循环功能的稳定有关^[8-9];激素组 WBC 显著高于对照组,与 GC 能刺激骨髓造血功能,使红细胞和中性粒细胞增加但却降低中性粒细胞游走、吞噬等功能,因而减弱对炎症区域的浸润与吞噬活动有关^[9];AST 显著低于对照组,考虑与改善了微循环、抑制了炎症因子、增加了氧合作用从而减少了酸中毒,保护了肝功能有关;但 SCR 与对照组无显著变化。

内皮细胞是脓毒症发生发展中起关键性作用的细胞。实验中,激内组的 PVR 升高幅度明显低于对照组,达显著性差异($P = 0.035$),而激素组与对照组无显著性差异($P = 0.346$);激内组的 WBC 回升幅度明显高于激素组($P = 0.000$);激内组的 IL-10 明显低于对照组($P = 0.021$),而激素组与对照组无显著性差异($P = 0.158$)。从结果可以看出,内皮细胞在脓毒症早期可显著降低肺循环压力;尽快恢复下跌的白细胞数目,增加抵抗力;改善体内炎症水平。因此,内皮细胞对脓毒症有改善作用,具体机制可能是输注的内皮细胞使体内产生更多的活化蛋白 C(activated protein C, APC),起到抗炎、抗凝和抗细胞凋亡的作用^[10-12];另外,外来的内皮细胞也可生成内皮源性的一氧化氮合成酶和前列环素来调节血管舒缩、抑制炎症和凝血;还可调节细胞因子的生成,维持促炎因子和抗炎因子的稳定,起到免疫调节的作用等等,这些具体机制需要在今后实验中进一步去探讨。

本文的不足在于虽然我们选取了在脓毒症中具有代表性的促炎性因子 IL-1 和抗炎性因子 IL-10^[13],但尚显太少,今后将更关注组织局部的多种

炎症因子的检测;在预实验时,我们遇到了一个困难就是直接从动脉注入异体猪髂动脉内皮细胞后会引引起猪PVR、PAP的急剧升高进而死亡,考虑内皮细胞积聚在肺循环及存在排异。因此,本实验中加用了激素来对抗排异,所用的激素剂量大致为中等剂量(12.5~15.6 mg/kg)。我们意外地发现实验结果中激素联合内皮细胞治疗对脓毒症缓解比单一的激素有着更好的作用。另外,20世纪90年代有2篇应用Meta分析的文章^[14-15],指出单一大剂量激素治疗脓毒症无效甚至有害。在这种情况下,随着内皮细胞生物反应器工艺的完善,我们认为内皮细胞联合激素治疗可能会成为脓毒症治疗的一种有利的方法。

参 考 文 献

- [1] Martin GS, Mannino DM, Eaton S, *et al.* The epidemiology of sepsis in the united states from 1979 through 2000 [J]. *N Engl J Med*, 2003, 348(16): 1 546 - 1 554.
- [2] 乔治,黎洁良. 人蛋白 C 系统及内皮细胞在脓毒症中的作用 [J]. 解放军医学杂志, 2003, 28(10): 941 - 943.
- [3] Brun-Buisson C, Doyon F, Carlet J, *et al.* Incidence, risk factors, and outcomes of severe sepsis and septic shock in adults: a multicenter prospective study in intensive care unit french ICU Group for severe sepsis [J]. *JAMA*, 1995, 274(12): 968 - 974.
- [4] Villar J, Maca-Meyer N, Perez-Mendez L, *et al.* Bench to bedside review: understanding genetic predisposition to sepsis [J]. *Crit Care*, 2004, 8(3): 180 - 189.
- [5] 王雪莲,赵跃,马力,等. 内毒素诱导感染性休克动物模型的建立及血清 TNF- α 测定 [J]. 中国医科大学学报, 2004, 33(5): 390 - 392.
- [6] 刘大为. 感染性休克:血流动力学改变与治疗 [J]. 中华急诊医学杂志, 2003, 12(11): 790 - 791.
- [7] Baughman RP, Lower EE, Flessa HC, *et al.* Thrombocytopenia in the intensive care unit [J]. *Chest*, 1993, 104(4): 1 243 - 1 247.
- [8] Keh D, Boehnke T, Weber-Cartens S, *et al.* Immunologic and hemodynamic effects of low-dose hydrocortisone in septic shock: a double-blind, randomized, placebo-controlled, crossover study [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2003, 167(4): 512 - 520.
- [9] 田欣伦. 肾上腺皮质激素在抗休克治疗中的作用 [J]. 中国临床医生, 2001, 29(10): 8 - 9.
- [10] Shua F, Kobayashia H, Fukadowe K, *et al.* Activated protein C suppresses tissue factor expression on U937 cells in the endothelial protein C receptor dependent manner [J]. *FEBS Lett*, 2000, 477(3): 208 - 212.
- [11] Bernard GR, Vincent JL, Laterre PF, *et al.* Efficacy and safety of recombinant human activated protein C for severe sepsis [J]. *N Engl J Med*, 2001, 344(10): 699 - 709.
- [12] Joyce DE, Gellbert L, Ciaccia A, *et al.* Gene expression profile of antithrombotic protein C defines new mechanisms modulating inflammation and apoptosis [J]. *J Biol Chem*, 2001, 276(6): 199 - 203.
- [13] Jensen LE, Muzio M, Mantovani A, *et al.* IL-1 signaling cascade in liver cells and the involvement of a soluble form of the IL-1 receptor accessory protein [J]. *J Immunol*, 2000, 164(10): 5 277 - 5 286.
- [14] Lefering R, Neugebauer EA. Steroid controversy in sepsis and septic shock: a meta-analysis [J]. *Crit Care Med*, 1995, 23: 1 294 - 1 303.
- [15] Cronin L, Cook DJ, Carlet J, *et al.* Corticosteroid treatment for sepsis: a critical appraisal and meta-analysis of the literature [J]. *Crit Care Med*, 1995, 23: 1 430 - 1 439.

(收稿日期:2008-09-01;编辑:张秀峰)