

· 实验研究 ·

聚肌胞对急性胰腺炎大鼠血浆胰蛋白酶 与 α_2 -巨球蛋白的影响及其治疗作用

镇江医学院附属医院普外科 张建新*

南京铁道医学院外科教研室 黄悉勉 伍福乐

提要 本实验观察了聚肌胞对急性胰腺炎大鼠巨噬细胞功能状态以及血浆胰蛋白酶与 α_2 -巨球蛋白的影响。发现聚肌胞可明显增高急性胰腺炎大鼠的炭粒吞噬指数,使血浆胰蛋白酶活力降低, α_2 -巨球蛋白水平升高,并能减轻胰腺病变,降低死亡率,延长存活时间。

关键词 聚肌胞 急性胰腺炎 胰蛋白酶 α_2 -巨球蛋白 吞噬指数

血液中的蛋白酶抑制剂是急性胰腺炎(AP)时主要的保护机制之一,其中以 α_2 -巨球蛋白(α_2 -M)最为重要^[1]。当胰蛋白酶(TP)及其它溶蛋白酶释放入循环时, α_2 -M迅速与之结合并由网状内皮系统(RES)清除,以防止病理性蛋白溶解所造成的损害作用^[2]。目前认为RES在AP时的重要性在于其产生 α_2 -M,以及蛋白酶复合物从循环中的廓清^[2]。免疫促进剂聚肌胞(Poly I:C)具有较强的激活巨噬细胞功能的作用^[3],理论上对AP有益。本实验旨在观察聚肌胞对AP大鼠血浆TP与 α_2 -M的影响及其治疗作用,并探讨其作用机理。

材料与方 法

一、模型与分组 体重180~250 g SD大鼠90只,雌雄各半,随机分成假手术组、AP组及治疗组。动物禁食(不禁饮)6小时后采用2%戊巴比妥钠4 mg/100 g ip麻醉。AP组与治疗组按文献^[4]方法制成AP模型,向胰导管内以0.2 ml/min的速度注射4%牛磺胆酸钠(美国Sigma)0.1 ml/100 g;假手

术组进腹后轻揉胰腺及十二指肠。治疗组于模型制备后即ip聚肌胞(天津生物化学制药厂)0.5 mg(0.5 ml)/100 g。假手术组和AP组在相应时间注射等量生理盐水。

二、血浆TP和 α_2 -M测定 在模型制备后6及12 h,每组各10只大鼠,经眶后静脉丛取血1 ml,处理后取0.1 ml血浆标本2份,参照文献^[5,6]方法,分别测定血浆TP活力和 α_2 -M水平。血浆中的TP可水解底物甲苯磺酰精氨酸甲酯(TAME,中科院上海生化所),生成的产物用Beckman Du-7型自动扫描分光光度计(美国)测定,记录247 nm的光密度变化,每min 1次至5 min,根据每分钟光密度的递增率计算血浆TP活性。以每min水解1 μ mol TAME定为1 U。血浆中的 α_2 -M与TP结合所形成的TP- α_2 -M复合物,仍具有TP活性,且不被TP抑制剂所抑制。利用此特点,在标本中加入足量的TP(美国Difco)溶液,使血浆中的 α_2 -M全部与之结合形成复合物,再加入过量的大豆TP抑制剂(中科院上海生化所)消除未结合的TP活性。测定TP- α_2 -M复合物水解

* 原南京铁道医学院外科研究生

TAME所生成的产物以间接反应血浆 α_2 -M水平, 结果以TP活性表示。

三、炭粒廓清试验及病理检查 按文献^[7]方法, 大鼠眶后静脉丛取血后即将1:3稀释的印度墨汁(北京西中化工厂)以0.4 ml/100 g尾静脉注射。2、20 min分别自另侧眶后静脉丛取血0.03 ml, 用72型分光光度计在650 nm下作比色测定, 并计算吞噬指数。取血后大鼠立即断头处死, 肉眼检查。同时取出整胰, 用10%福尔马林溶液固定, 切片病理检查。

四、死亡情况观察 AP组与治疗组各15只大鼠于制模型后即开始记录各鼠存活时间, 并统计72 h内死亡率。

统计学处理采用t检验及 χ^2 检验。

Table 1 Plasma TP and α_2 -M(U/L, $\bar{x} \pm SD$)

Time after AP (h)	Sham operation group		AP group		Treatment group	
	TP	α_2 -M	TP	α_2 -M	TP	α_2 -M
6 (n = 10)	0	1622 $\pm$ 193	693 $\pm$ 66*	1308 $\pm$ 153*	290 $\pm$ 52**	1559 $\pm$ 132..
12 (n = 10)	0	1614 $\pm$ 187	983 $\pm$ 135*	928 $\pm$ 106*	219 $\pm$ 66**	1694 $\pm$ 289..

△ Mean value for 8 rats, 2 death

Compared with sham operation group *P<0.001, **P>0.05

Compared with AP group ***P<0.001

二、吞噬指数 AP后6及12 h, AP组吞噬指数较假手术组明显降低(P<0.001), 且12 h时较6 h时降低更为显著(P<0.025)。治疗组6及12 h时吞噬指数

比假手术组分别增加16%(P<0.05)及23%(P<0.01), 较AP组分别增加54%(P<0.001)及93%(P<0.001)。提示在AP时大鼠的RES功能低下, 而聚肌胞可使受抑制

Table 2 Macrophagic index ($\bar{x} \pm SD$)

Time after AP(h)	Sham operation group	AP group	Treatment group
6 (n = 10)	10.10 $\pm$ 1.84	7.62 $\pm$ 0.85*	11.73 $\pm$ 1.67***
12 (n = 10)	10.12 $\pm$ 1.06	6.46 $\pm$ 1.16*	12.47 $\pm$ 1.32***

△ Mean value for 8 rats, 2 death

Compared with sham operation group *P<0.001, **P>0.05

Compared with AP group ****P<0.001

的AP大鼠的RES功能明显增强(表2)。

三、组织学检查 6及12 h时假手术组胰腺肉眼观察外观正常。AP组在6 h时

胰腺有出血坏死灶, 腹腔出现血性渗液, 12 h时出血坏死更为严重, 可见胰腺脓肿及胰周皂化斑, 腹腔多量血性渗液。治疗组在6

结 果

一、血浆TP活力与 α_2 -M水平 在制模型后6 h, 与假手术组相比, AP组血浆TP活力明显升高(P<0.001), α_2 -M水平明显降低(P<0.001), 12 h时差别更为显著, 其中TP较6 h时增加42%(P<0.001), α_2 -M较6 h时降低29%(P<0.001)。治疗组在制模型后6及12 h, TP活力虽比假手术组有所增高(P<0.001), 但较AP组分别降低58%(P<0.001)及78%(P<0.001), α_2 -M水平在第6及12 h与假手术组相近(P>0.05), 较AP组分别增加19%(P<0.001)及83%(P<0.001)(表1)。

及12h时胰腺以充血水肿为主, 少见出血坏死灶。光镜检查, 证实6及12h假手术组胰腺基本正常; AP组在6h时可见小叶内出血, 腺细胞坏死及脂肪坏死等出血坏死性胰腺炎病变, 12h时病变更为严重; 治疗组在6与12h时, 胰腺病变主要为充血水肿, 炎细胞浸润及轻度出血坏死灶等轻型胰腺炎改变。

四、死亡情况 治疗组大鼠死亡率为20%, 而AP组死亡率为67%, 两组有明显差异($P<0.05$), 死亡鼠平均存活时间由AP组的 14.2 ± 3.9 h延长到 19.0 ± 3.6 h, 亦有明显差异($P<0.05$)(表3)。

Table 3. Dead state of rats in AP and treatment group

	No. of death Mortality Mean survival		
	during 72h	(%)	time (h)
AP group (n = 15)	10	67	14.2 ± 3.9
Treatment group (n = 15)	3	20*	$19.0\pm3.6^*$

* $P<0.05$

讨 论

本实验所有AP大鼠经病理检查证实均为出血坏死性胰腺炎, 其死亡率为67%, 与人类出血坏死性胰腺炎的自然死亡率相近。近年来分子病理学的研究表明, 在正常情况下, 当TP及其它溶蛋白酶进入血循环后, 可迅速与 α_2 -M结合形成复合物, 并由RES的巨噬细胞予以清除^[8], 但在AP时, 蛋白酶复合物的清除发生障碍, 因此, 仍具有活性的蛋白酶复合物可持续存在于血循环内, 引起多器官损害^[9]。本实验发现, 在大鼠重症胰腺炎时, 反映RES功能状态的吞噬指数明显降低, 且与TP活力的升高及 α_2 -M水平的降低相平行。提示RES受抑制可能是蛋白酶复合物清除障碍的原因之一, 同时说明RES功能状态可能与血浆TP活性及 α_2 -M水平的高低有关。

本实验结果显示, 在大鼠AP早期应用聚肌胞, 可使巨噬细胞功能增强, 血浆TP活力降低, α_2 -M水平增高, 并能减轻胰腺病理改变, 降低AP大鼠的死亡率, 延长其存活时间。推测巨噬细胞的激活除聚肌胞的直接作用外, 还与其诱导产生的干扰素作用有关。巨噬细胞的激活可使 α_2 -M的分泌增加。 α_2 -M为一种非特异的蛋白酶抑制剂, 它能与胰腺分泌的各种蛋白酶及其它内肽酶, 包括凝血酶、纤维蛋白溶解酶、血管舒缓素、胶原酶、组织蛋白酶等结合^[9], 由肝、脾及骨髓的巨噬细胞清除。因此可使血浆TP活力降低, 胰腺病变减轻。此外, α_2 -M的增高还限制了对机体可造成进一步损伤的补体、激肽等的激活^[12], 同时可能使胰腺的供血有所改善^[10], 这些均能使AP时的局部与全身损害有所减轻, 使之大鼠死亡率下降, 存活时间延长。

参 考 文 献

- [1] McMahon MJ et al., Am J Surg 1984, 147, 164
- [2] Brower W et al., Am J Surg 1987, 153, 25
- [3] 黄沁主编: 免疫药理学, 第一版, 上海, 上海科学技术出版社, 1986; 79—80。
- [4] Aho HJ et al., Scand J Gastroenterol 1980, 15, 411
- [5] 上海市医学化验所主编: 临床生化检验, 下册, 第一版, 上海, 上海科学技术出版社, 1982, 64。
- [6] Siegelman AM. et al., Arch Biochem Biophys 1962, 97, 159
- [7] 上海市医学化验所主编: 临床免疫学检验, 上册, 第一版, 上海, 上海科学技术出版社, 1983, 124—126。
- [8] Hermon-Taylor J et al., Scand J Gastroenterol 1985, 20(suppl 117), 39
- [9] Hermon-Taylor J et al., Clin Chim Acta 1981, 109, 203
- [10] Hjelmqvist B et al., Scand J Gastroenterol 1986, 21 (suppl 126), 8

Influence of Polyriboinosinic-polyribocytidylic Acid on Plasma Trypsin and Alpha-2-macroglobulin, and Its Therapeutic Effect in Rats with Acute Pancreatitis

Zhang Jianxin et al

(Department of Surgery, Affiliated Hospital, Zhengjiang Medical College, Jiangsu)

Abstract

This study reports the influence of Poly I: C on plasma trypsin and alpha-2-macroglobulin, as well as the function of macrophage in rats with acute pancreatitis. Experimental results demonstrated that Poly I: C increases macrophagic index and alpha-2-macroglobulin level, decreases trypsin activity, lightens the pathological changes of pancreas, decreases the mortality and prolongs the survival time in rats with acute pancreatitis.

Key words Poly I:C Acute pancreatitis trypsin alpha-2-macroglobulin