

· 论 著 ·

## 参麦注射液对心肌缺血再灌注损伤大鼠 PECAM-1 表达的影响

刁玉晶<sup>1</sup>, 赵明<sup>2#</sup>, 蒋鹏<sup>2</sup>, 尤海燕<sup>3</sup>, 马鹏<sup>2</sup>

(江苏大学:1. 临床医学院;2. 附属医院麻醉科;3. 附属医院中心实验室, 镇江 212001)

**摘要:**目的 研究参麦注射液对心肌缺血/再灌注损伤大鼠血小板内皮细胞黏附分子-1(PECAM-1)表达的影响。方法 取 30 只 SD 大鼠随机分为假手术组(1 组)、缺血再灌注组(2 组)、参麦组(3 组)。开胸结扎冠状动脉,造成心肌缺血,30 min 后放松再灌注 90 min,建立心肌缺血再灌注模型。3 组每天注射参麦注射液 10 mL/kg,连续 3 d,1、2 组注射等量生理盐水。用流式细胞术检测血中 PECAM-1 蛋白表达。结果 与 1 组比较,2 组血中中性粒细胞和淋巴细胞 PECAM-1/CD31 蛋白表达明显升高。3 组与 2 组比较,血中 PECAM-1/CD31 蛋白表达降低。结论 参麦注射液对大鼠心肌缺血再灌注损伤有一定保护作用。

**关键词:**缺血/再灌注损伤;血小板内皮细胞黏附分子-1;参麦注射液

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2010.15.014

中图分类号:R365.541;R282.71

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2010)15-1973-02

Effect of Shenmai injection on the changes of Platelet endothelial cell adhesion molecule-1(PECAM-1) on myocardial ischemia/reperfusion injury in rats

DIAO Yu-jing<sup>1</sup>, ZHAO Ming<sup>2#</sup>, JIANG Peng<sup>2</sup>, et al.

(1. Clinical Medical College; 2. Department of Anesthesiology, Affiliated Hospital;

3. Center Lab of Affiliated Hospital, Jiangsu University, Zhenjiang, Jiangsu 212001, China)

**Abstract: Objective** To investigate the effects of Shenmai injection on the changes of Platelet endothelial cell adhesion molecule-1(PECAM-1) after myocardial ischemia/reperfusion(MIR) in rats. **Methods** Thirty SD rats were randomly divided into three groups: 1 group(operation group), 2 group(ischemia-reperfusion without any intervention), 3 group(administered with Shenmai injection), then 10 mL/kg Shenmai injection were given in Shenmai group and the 0.9% NaCl 10 mL/kg were given in 1 group and 2 group for three days. After thoracotomy and ligation, the rats were injured by ischemia and relaxed 30 minutes later, then reperfused for 90 minutes, the myocardial ischemia-reperfusion models in rats were established during the experiment. The PECAM-1 protein expressions were evaluated by FCM method. **Results** Compared with 1 group, the expressions of PECAM-1/CD31 in neutrophilic granulocytes and lymphocytes from blood in 2 group were increased significantly. Compared with 2 group, the expressions of PECAM-1/CD31 from blood in 3 group were decreased. **Conclusion** Shenmai injection may protect myocardium ischemia/reperfusion injury.

**Key words:** ischemia/reperfusion injury; platelet endothelial cell adhesion molecule-1; shenmai injection

缺血再灌注损伤(ischemia-reperfusion injury, IRI)是指遭受一定时间缺血的组织恢复血供后,组织器官损伤加重甚至发生不可逆性损伤的现象。心肌 IRI 是缺血心肌恢复再灌注后,病情反而恶化,引起超微结构、功能、代谢及电生理发生进一步损伤,是由于在缺血损伤基础上再次引起的损伤,因此称为 IRI<sup>[1]</sup>。随着心脏移植、体外循环、冠状动脉搭桥以及数字减影血管造影技术(DSA)介入治疗的发展,为防治心肌 IRI, IRI 发生机制与防治越来越引起人们的关注。目前证实临床上针对 IRI 的抗炎策略不够理想,因此对 IRI 所诱导的炎症和损伤的机制研究显得相当重要。本实验旨在观察中药制剂参麦注射液对大鼠心肌缺血再灌注后血液中中性粒细胞和淋巴细胞血小板内皮细胞黏附分子-1(PECAM-1)表达的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 实验仪器及试剂** 流式细胞仪(BD 公司)、ALC-V 系列动物呼吸机(上海奥尔科特生物科技公司)、戊巴比妥钠(上海化学试剂公司)、参麦注射液(杭州正大青春宝药业有限公司)、溶血剂(杭州联科生物技术有限公司)、PECAM-1 试剂盒(AbD 公司)等。

**1.1.2 实验动物及分组** 选用雄性 SD 大鼠 30 只,体质量 250~300 g(由江苏大学实验动物中心提供)。将动物随机分

为假手术组(1 组)、缺血再灌注组(2 组)、参麦组(3 组)。每组 10 只。分组后 3 组每天注射参麦注射液 10 mL/kg,连续 3 d,1、2 组注射等量生理盐水。

### 1.2 实验方法

**1.2.1 动物模型复制** 大鼠心肌 IRI 按参考文献[2]方法进行。大鼠腹腔注射 5%戊巴比妥钠 30 mg/kg 麻醉后,仰卧固定于鼠台上,行气管切开,予呼吸机人工呼吸,呼吸频率为每分钟 80 次,开胸暴露心脏,于左心耳下缘约 1 mm 处用 6 号医用缝针和 1 号医用缝线穿过心肌浅层作一结扎线,稳定 10 min 左右行实验处理。各组手术步骤:1 组穿线不结扎,旷置 2 h;2 组在穿线间置宽 3 mm 橡皮条,双活结结扎左冠状动脉前降支,致缺血 30 min 后再松开结扎线,恢复再灌注 1.5 h;3 组处理与 2 组相同。

**1.2.2 检测方法** 实验结束时抽取左心室血 2.0 mL,用 15% K<sub>2</sub>EDTA 20 μL 抗凝,检测方法参照王建中等<sup>[3]</sup>所用方法,用流式细胞仪分别检测各组大鼠血液 PECAM-1 表达量。

**1.3 统计学方法** 所有数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,采用多样本均数间两两比较的单因素方差分析,多组间比较采用方差分析,用 SPSS11.5 统计软件在计算机上完成。

## 2 结果

1 组 PECAM-1 为  $46.28 \pm 5.38$ ,2 组 PECAM-1 为  $88.50$

# 责任作者。

±4.44, 3 组 PECAM-1 为 65.98±6.65。与 1 组比较, 2 组 PECAM-1/CD31 蛋白在 IRI 后表达明显升高 ( $P<0.01$ ), 与 2 组比较, 3 组 PECAM-1/CD31 蛋白在 IRI 后表达明显降低 ( $P<0.01$ ), 但仍高于 1 组 ( $P<0.01$ )。见图 1、2。

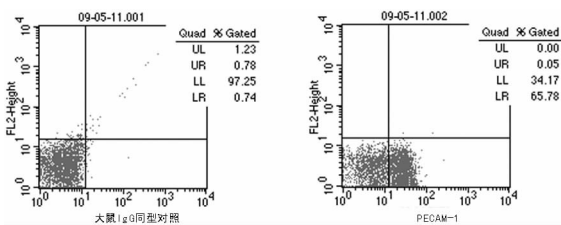


图 1 各组大鼠 PECAM-1 表达量

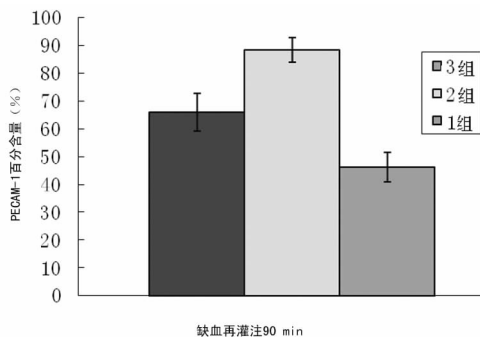


图 2 各组大鼠 PECAM-1 表达百分含量

### 3 讨 论

中性粒细胞及淋巴细胞在心肌缺血再灌注后炎症反应中扮演重要角色。随着再灌注的进行, 大量活化中性粒细胞及淋巴细胞聚集在心肌微血管内并浸润到心肌组织中, 通过释放细胞炎性物质、自由基、蛋白酶等引起心肌损伤。PECAM-1 正是介导中性粒细胞及淋巴细胞紧密黏附的关键性黏附分子之一。

PECAM-1 又称 CD31, 是一种重要的细胞黏附分子, 是黏附分子中免疫球蛋白基因超家族的一个成员, 可在血小板、中性粒细胞、T 淋巴细胞、内皮细胞表达, 该分子在心脏发育、血管完整性的维持、炎症中白细胞渗出等病理生理过程中具有重要作用, 其还是内皮细胞间连接的组成成分, 能介导黏附并传递和接受细胞内信号。IRI 的主要病理特征是大量白细胞聚集和扣押、血管内皮细胞通透性增加, 其本质是一种炎症反应, 过度炎症反应不仅影响局部血流供应, 还直接破坏组织结构<sup>[4-5]</sup>。炎症过程中, PECAM-1 能诱导炎症起始, 引起白细胞外渗, 其表达还能促进白细胞迁移。特异性抗 PECAM-1 抗体、阻断诱导内皮细胞黏连的可溶性 PECAM-1 蛋白均可抑制白细胞迁移。有研究发现, PECAM-1 可以延迟吞噬细胞膜去极化, 从而促进吞噬细胞与凋亡白细胞更有效地结合, 进一步增加细胞凋亡所致炎症反应<sup>[6-7]</sup>。缺血再灌注时, 在致炎因子等作用下血液内 PECAM-1 表达明显增加, 调节整合素亲和力, 白细胞激活整合素与细胞间 PECAM-1 的识别、结合, 使内皮细胞骨架蛋白变化, 引起细胞收缩, 连接间隙开放, 通透性增加, 有利于白细胞跨内膜迁移。降低 PECAM-1 表达的基础水平或阻断 PECAM-1 上调, 可以抑制白细胞与内皮细胞之间的黏附及随后白细胞外渗, 能抑制中性粒细胞与冠状动脉内皮间黏附, 通过阻断白细胞迁移至心肌间质而保护心肌<sup>[8]</sup>。

参麦注射液是由人参、麦冬等组方, 附子中所含乌头碱为一种有效的  $\beta$  受体激动剂, 具有较强的正性肌力作用, 可增加冠状动脉血流量, 降低周围血管阻力, 改善微循环。人参皂苷可对心肌 IRI 释放的氧自由基进行清除, 进而抑制机体促炎性细

胞因子 TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-8 生成和释放, 减轻炎症反应, 从而对缺血再灌注时代谢活动和微循环有保护作用<sup>[9]</sup>。

本研究结果显示, 2、3 组与 1 组比较, 大鼠心肌组织缺血再灌注后, 血中性粒细胞和淋巴细胞 PECAM-1 百分含量均升高 ( $P<0.01$ )。说明 PECAM-1 确实与缺血再灌注过程中各种原因引起的炎症反应有密切关系。理论上讲, 经过预注射参麦注射液后, 由于参麦注射液的抗炎作用, 3 组与 2 组比较, 大鼠心肌发生炎症反应程度应明显降低。本研究结果显示, 3 组与 2 组比较, 血中性粒细胞及淋巴细胞 PECAM-1 百分含量明显降低, 因此可以认为, PECAM-1 确实与缺血再灌注过程中发生的炎症反应有密切关系, 并且血中性粒细胞及淋巴细胞 PECAM-1 百分含量与缺血再灌注过程中炎症反应在一定程度上呈正相关, 即炎症反应越强烈, 血中性粒细胞及淋巴细胞 PECAM-1 百分含量越高; 炎症反应越弱, 血中性粒细胞及淋巴细胞 PECAM-1 百分含量越低。这与文献报道的阻断 PECAM-1 能够阻断白细胞及内皮细胞在缺血再灌注过程中黏附、降低炎症反应, 从而减轻 IRI 的报道一致<sup>[10]</sup>。因此可以设想, 任何能降低 PECAM-1 表达的基础水平或阻断 PECAM-1 表达上调, 就能够抑制白细胞与内皮细胞之间的黏附及之后发生的白细胞外渗, 从而减轻炎症反应, 减轻 IRI, 但尚需要进一步的研究证实。

### 参 考 文 献:

- [1] 高媛, 高建恩, 孙启鸿. 血小板内皮细胞黏附分子-1 (PECAM-1) 的研究进展[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2005, 21(1): 40.
- [2] 王天, 徐华丽, 曲绍春, 等. 碟脉灵注射液对大鼠心肌缺血再灌注损伤的保护作用[J]. 吉林大学学报: 医学版, 2006, 32(1): 78.
- [3] 王建中, 孙韦, 王淑娟, 等. 流式细胞术检验活化血小板[J]. 中华医学检验杂志, 1994, 17(2): 232.
- [4] 孙海静, 石学银, 徐海涛, 等. 羟乙基淀粉对大鼠心肌缺血再灌注损伤的保护作用[J]. 临床麻醉学, 2008, 24(7): 608.
- [5] 李峥, 董志. 金属硫蛋白及其对脑缺血再灌注损伤的保护作用[J]. 重庆医学, 2009, 38(8): 989.
- [6] Vernon-Wil EF, Frédéric A, Brown SB. CD31 promotes 1 integrin 2 dependent engulfment of apoptotic Jurkat T-lymphocytes opsonized for phagocytosis by fibronectin[J]. J Leukoc Biol, 2006, 79: 1260.
- [7] Vernon-Wil EF, Frédéric A, Li JT, et al. CD31 delays phagocyte membrane repolarization to promote efficient binding of apoptotic cells [J]. J Leukoc Biol, 2007, 82: 1278.
- [8] 沈炳玲, 秦毅, 孙明, 等. 参麦注射液对家兔心肌缺血再灌注损伤的抗氧化作用[J]. 天津医科大学学报, 2005, 11(2): 192.
- [9] 谢健, 闵苏. 参附注射液对缺血再灌注损伤保护作用的研究进展[J]. 重庆医学, 2006, 35(22): 2099.
- [10] Herzum I, Rerz H. Inflammatory makers in SIRS, sepsis and septic shock[J]. Curr Med Chem, 2008, 15(6): 581.