

外文献报道的结果有关,其研究的群体本身就有所差异而致。因此,我们认为不同人群血浆内毒素浓度可能存在一定的差异,厂商提供的血浆内毒素参考值范围并不适合本实验室,建议不同实验室建立各自的参考值范围。

参考文献

- 1 Trent MS, Stead CM, Tran AX, *et al.* Diversity of endotoxin and its impact on pathogenesis [J]. J Endotoxin Res, 2006, 12(4): 205–223
- 2 盛瑞媛. 全国发热性疾病学术研究会纪要[J]. 中华内科杂志, 1999, 38(5): 784–785
- 3 马全玲, 刘扬, 李传保. 内毒素检测与临床应用现状[J]. 国外医学: 临床生物化学与检验学分册, 2003, 24(2): 64–65
- 4 Tweedie D, Milman A, Holloway HW, *et al.* Apoptotic and behavioral sequelae of mild brain trauma in mice[J]. J Neurosci Res, 2007, 85(4): 805–815
- 5 Jiang W, Hu M, Rao J, *et al.* Over-expression of toll-like receptors and their ligands in small-for-size graft[J]. Hepatol Res. 2010, 40(3): 318–329
- 6 Gregory M, Edwin A. Role of the gut in multiple organ failure: bacterial

- translocation and permeability changes [J]. World J Surg, 1996, 20: 411–417
- 7 John P. Nutritional support in critically ill patients [J]. Ann Surg, 1994, 220: 610–616
 - 8 Sander JH, Harry R, Jan W, *et al.* Endotoxemia: an early predictor of septicemia in febrile patients [J]. Lancet, 1988, 86: 605–609
 - 9 汪玲, 王桂平. 细菌内毒素的检测方法及其应用概况 [J]. 中国药师, 2003, 5: 316–317
 - 10 Hartung T, Fennrich S, Fischer M, *et al.* Development and evaluation of pyroge test based on human whole blood [J]. AL, TEX, 1998, 15(5): 9–10
 - 11 Takeshita S, Nakatani K, Tsujimoto H, *et al.* Detection of circulating lipopolysaccharide-bound monocytes in children with Gram-negative sepsis [J]. J Infect Dis, 2000, 182(5): 1549–1552
 - 12 徐修礼, 张建芳, 樊新. 革兰阴性菌感染患者血浆内毒素测定的临床意义 [J]. 中华医院感染学杂志, 2005, 15(3): 351–353
 - 13 王占科, 冯青青, 杨莉萍. 发热患者血浆内毒素定量测定与血培养结果比较 [J]. 江西医学检验, 2004, 22(1): 29–31

(收稿: 2011-01-29)

(修回: 2011-04-07)

抑制 11β -HSD₂ 对 GC 保护血管内皮细胞炎性损伤的影响

王兴友 王丽娜 陈晓琳 陈杭薇

摘要 **目的** 探讨阻断 11β -HSD₂ 的表达对 GC 保护血管内皮炎性损伤中的影响。**方法** 用甘草次酸(GA)抑制人脐静脉内皮细胞 11β -HSD₂ 的表达, 观察 GA 作用后体外培养的人脐静脉内皮细胞在 LPS 和(或)Dex 刺激下 IL-6 等炎性细胞因子的分泌及发生凋亡的变化, 同时观察不同浓度的 GA 对人脐静脉内皮细胞 11β -HSD₂ 的表达的抑制情况。**结果** GA 单独作用于人脐静脉内皮细胞时, 对 11β -HSD₂ mRNA 的表达无明显影响。但 GA 在 HUVEC 受到 LPS 刺激时能够明显抑制 LPS 诱导的 11β -HSD₂ mRNA 的表达。此外 GA 与 GC 合用可进一步增强对 11β -HSD₂ mRNA 的表达的抑制, GA 能显著抑制 LPS 诱导的 HUVEC 分泌 IL-6 和 sICAM-1, 同时显著降低 LPS 诱导的 HUVEC 的细胞凋亡率。**结论** 11β -HSD 是 GC 作用的受体前调节的关键物质, GA 又是传统的 11β -HSD 抑制剂, 因此 11β -HSD₂ 完全可以作为 GA 抗炎等作用的 1 个靶点。GA 通过抑制 11β -HSD₂ mRNA 的表达是其增强 GC(Dex)抗炎作用的一个主要机制。GA 与 GC 合用可进一步增强对 11β -HSD₂ mRNA 的表达的抑制, 同时加强了 GC 对 LPS 诱导的血管内皮炎性损伤的保护作用。表明 GA 与 GC 合用能够通过受体前调节机制加强抗炎效应, 是一个值得关注的途径。

关键词 11β 羟基类固醇脱氢酶 2 糖皮质激素 糖皮质激素受体 血管内皮细胞 甘草次酸

Effect of GC for Protection of the Inflammatory Injury in HUVEC by Inhibiting the Expression of 11β -HSD₂. Wang Xingyou, Wang Lina, Chen Xiaolin, Chen Hangwei. Department of Respiratory Medicine, General Hospital of Beijing Military Region, Beijing 100700, China

Abstract Objective To explore the effect of GC for protection of the inflammatory injury in HUVEC by inhibiting the expression of

基金项目: “十一五”军队科技攻关项目资助(08G006)

作者单位: 100700 北京军区总医院呼吸内科

11 β - HSD2 Methods We used glycyrrhizic acid (GA) to inhibit the expression of 11 β - HSD2, lipopolysaccharide LPS 'injured' endothelial cells with dexamethasone for "treatment", and then detected the expression of IL - 6 and sICAM - 1 and the apoptosis of HUVEC induced by LPS. **Results** HUVEC only was treated with glycyrrhizic acid (GA), the expression of 11 β - HSD2 in HUVEC didn't change. But if HUVEC was treated with LPS and GA, it could inhibit the expression of 11 β - HSD2 in HUVEC, meanwhile decrease the secretion of IL - 6 and sICAM - 1 and the apoptosis of HUVEC induced by LPS. HUVEC being treated with both GA and Dex could achieve a powerfuler effect than only Dex. **Conclusion** It indicated that GA could enhance the effects of GC by prereceptor regulation. GC attaching GA as a new treatment plan in GC should be spreaded in the future.

Key words 11 - β Hydroxysteroid dehydrogenase type2; Glucocorticoid; Glucocorticoid receptor; Vascular endothelial cell; Glycyrrhizic acid

根据我们的前期研究,初步表明糖皮质激素能有效保护 LPS 诱导的血管内皮炎性损伤^[1]。鉴于 11 β - HSD 是目前公认的 GC 受体前调节的最重要的关键物质,其两型同工酶 11 β - HSD1 和 11 β - HSD2 在人脐静脉内皮细胞中均有组成性表达,同时我们前面的实验表明内毒素和糖皮质激素对 11 β - HSD 的表达均有影响^[2,3]。因此通过干预人脐静脉内皮细胞内的 11 β - HSD 表达,必定会对细胞炎症反应有所影响。甘草次酸 (glycyrrhizic acid, GA) 作为 11 β - HSD 的传统抑制剂,在其他组织细胞对 11 β - HSD 表达影响的研究已有很多报道,有研究表明应用甘草次酸类药物,可抑制嗜酸细胞阳离子蛋白与气道上皮细胞的结合从而减轻气道炎症^[4]。但目前有关其对血管内皮细胞 11 β - HSD 影响的研究尚未见报道,本实验拟用甘草次酸 (GA) 抑制人脐静脉内皮细胞 11 β - HSD2 表达,观察 GA 作用后体外培养的人脐静脉内皮细胞在 LPS 和 (或) Dex 刺激下 IL - 6 等炎症细胞因子的分泌及发生凋亡的变化,同时观察不同浓度的 GA 对人脐静脉内皮细胞 11 β - HSD2 表达的抑制情况,以探讨阻断 11 β - HSD2 表达对 GC 保护血管内皮炎性损伤中的影响。

材料与方法

1. 实验材料:(1)主要仪器:PCR 扩增仪, Lambda Bio20 紫外分光光度计, AlphaImager™ 2200 型凝胶成像仪, 台式冷冻离心机, Power AC 电泳仪。(2)主要试剂:总 RNA 提取试剂盒, AMV 反转录酶, Taq DNA 聚合, Oligo (dT) 15, dNTP, RNA 酶抑制, DNA marke, 甘草次酸。

2. 实验方法:(1)脐静脉内皮细胞的传代培养:参照文献[1]进行。(2)细胞分组及处理:1)GA 抑制 11 β - HSD2 作用的观察:为了观察不同浓度 GA 对 11 β - HSD 的基因转录的影响。用 10^{-8} 、 10^{-7} 、 10^{-6} 、 10^{-5} 、 10^{-3} mol/L 的 GA 分别与血管内皮细胞共培养 24 h,不接触 GA 的细胞作对照。2)GA 抑制后效应的观察:①LPS 致伤组:在培养细胞中加入 100ng/ml 的 LPS "致伤" 24h;②GA 保护组:先加 10^{-6} mol/L GA 2h 后,再用 100ng/ml 的 LPS 处理细胞 24h;③GA - GC 复合组:在培养

细胞中先后加入 10^{-6} mol/L GA 和 Dex 2h 后,再用 100ng/ml 的 LPS 处理细胞 24h;④GC 保护组:不加 GA,在培养细胞中先后加入 10^{-6} mol/L Dex 2h 后,再用 100ng/ml 的 LPS 处理细胞 24h;⑤单纯 GA 组:在培养细胞中先后加入 10^{-6} mol/L GA 后,再继续培养 24h;⑥空白对照组:不用 GA、LPS 和 Dex 的正常培养细胞做正常对照。上述各组观察时相到后分别搜集细胞和培养上清进行有关指标的检测。(3)HUVEC 内 11 β - HSD 的 mRNA 表达的检测:1)细胞总 RNA 的提取:参照文献[3]进行。2)RT - PCR 检测 11 β - HSD 的 mRNA 表达:①引物:由上海博亚生物技术有限公司合成,各基因引物序列见表 1;②cDNA 合成:参照文献[3]进行;③PCR 扩增:参照文献[3]进行;④琼脂糖电泳鉴定 PCR 产物:参照文献[3]进行。(3)IL - 6 和 sICAM - 1 的检测:参照文献[1]进行。(4)HUVEC 原位细胞凋亡的检测:参照文献[1]进行。

表 1 PCR 引物序列及产物长度

目的基因	引物序列	产物长度 (bp)
11 β - HSD2	正义链 5' - ACCGTATTGGAGTTGAACAGC - 3' 反义链 5' - TCACTGACTCTGTCTTGAAGC - 3'	477
β - actin	正义链 5' - GTCACCAACTGGGACGACA - 3' 反义链 5' - TGGCCATCTCTTGCTCGAA - 3'	468

3. 统计学方法:使用 SPSS 11.0 软件包进行,全部数据都以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,组间差异用方差分析,组内差异比较采用 t 检验。结果百分率采用 χ^2 检验进行分析,用二变量 (bivariate) Pearson 相关系数进行相关分析。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

结 果

1. GA 对 HUVEC 11 β - HSD 的 mRNA 表达的影响:(1)GA 对血管内皮细胞 11 β - HSD2 mRNA 的影响:在正常培养的细胞可检测到少量的 11 β - HSD2 mRNA,甘草次酸在一定剂量范围 ($10^{-8} \sim 10^{-3}$ mol/L) 与细胞血管内皮共培养 24h,对 11 β - HSD2 mRNA 无明显影响 (表 2)。(2)GA 对地塞米松和 LPS 诱导 11 β - HSD2 mRNA 表达的影响:GA 对 Dex

和 LPS 诱导的 11β - HSD2 mRNA 表达都有明显的抑制作用,表明在人脐静脉内皮细胞内 GA 主要是阻断 11β - HSD2 mRNA 表达(表 3)。

表 2 甘草次酸对血管内皮细胞 11β - HSD2 mRNA 的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	甘草次酸浓度 (mol/L)	11β - HSD2 mRNA/ β - actin mRNA
对照组	0	0.03 ± 0.004
低剂量组	10 ⁻⁸	0.02 ± 0.001 *
常规剂量组	10 ⁻⁷	0.04 ± 0.002 *
大剂量组	10 ⁻⁶	0.01 ± 0.001 *
高剂量组	10 ⁻⁵	0.05 ± 0.006 *
超高剂量组	10 ⁻³	0.03 ± 0.002 *

与对照组相比, *P > 0.05

表 3 大剂量 GA(浓度为 10⁻⁶mol/L)对 HUVEC 的 11β - HSD2 mRNA 表达的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	11β - HSD2 mRNA/β - actin mRNA
空白对照组	0.03 ± 0.004
LPS 致伤组	0.46 ± 0.060
GA 保护组	0.26 ± 0.040 * [#]
GA - GC 复合组	0.12 ± 0.070 * [△]
GC 保护组	0.22 ± 0.040
单纯 GA 组	0.01 ± 0.001

与空白对照组及单纯 GA 组比, *P < 0.01;与 GC 保护组及 GA 保护组比, [△]P < 0.05;与 LPS 致伤组比, [#]P < 0.01

2. GA 对 HUVEC 分泌 IL - 6 和 sICAM - 1 的影响:在 LPS 的刺激下,HUVEC 分泌 IL - 6 和 sICAM - 1 的量明显增多。而 GA 和 Dex 均能抑制二者的分泌,GA 与 Dex 合用可显著抑制 IL - 6 和 sICAM - 1 的分泌(表 4)。

表 4 大剂量 GA(浓度为 10⁻⁶mol/L)对 HUVEC 的 IL - 6 和 sICAM - 1 (pg/ml)分泌的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	IL - 6 含量	sICAM - 1 含量
空白对照组	63.2 ± 6.3	23.2 ± 2.7
LPS 致伤组	606.1 ± 17.3	516.8 ± 15.1
GA 保护组	436.2 ± 11.8 *	383.2 ± 6.3 *
GA - GC 复合组	168.6 ± 21.9 [△]	383.2 ± 6.0 *
GC 保护组	286.5 ± 11.3 [△]	216.5 ± 12.2 [△]
单纯 GA 组	66.3 ± 5.1	26.3 ± 2.9

与致伤组比, *P < 0.05;与致伤组比, [△]P < 0.01

3. GA 对 HUVEC 发生原位凋亡的影响:100ng/ml 的 LPS 可明显诱导血管内皮细胞凋亡,而 GA 和

Dex 均能明显抑制 LPS 诱导的血管内皮细胞凋亡,二者合用表观上增加了对 HUVEC 凋亡的抑制效应,但统计学上与单独应用 Dex 的作用并无差异(表 5)。

表 5 大剂量 GA(浓度为 10⁻⁶mol/L)对 HUVEC 的发生凋亡的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	细胞凋亡率(%)
空白对照组	1.2 ± 0.4
LPS 致伤组	36.7 ± 3.9
GA 保护组	23.5 ± 1.7 [△]
GA - GC 复合组	12.6 ± 0.6 * ^{▲#}
GC 保护组	13.2 ± 0.9 *
单纯 GA 组	1.6 ± 0.3

与 LPS 致伤组比, *P < 0.01;LPS 致伤组比, [△]P < 0.05;与 GA 保护组比, [#]P < 0.05;与 GC 保护组比, [▲]P > 0.05

4. GA 抑制 11β - HSD2 表达与增强 Dex 抗炎作用的相关性分析:通过 SPSS 11.0 软件包用二变量(bivariate)Pearson 相关系数分析法对上述结果进行相关分析。发现 GA 对 11β - HSD2 的抑制可显著增强 Dex 的抗炎作用,其对 11β - HSD2 的抑制程度与 HUVEC 的 IL - 6、sICAM - 1 分泌量的下降及凋亡率的下降呈明显正相关(表 6)。

表 6 GA 抑制 11β - HSD2 表达与增强 Dex 抗炎作用的关系

抗炎指标	相关系数(r)	P
IL - 6 分泌量	0.970	0.030
sICAM - 1 分泌量	0.949	0.020
HUVEC 凋亡率	0.954	0.046

讨 论

甘草次酸具有抗炎、抗过敏、镇咳、平喘及祛痰等广泛的药理作用,其中抗炎、抗过敏、平喘的作用与糖皮质激素相似,甚至有人认为其具有糖皮质激素样作用。但至今 GA 与 GC 的内在关系缺乏深入研究,探讨二者的关系将有助于进一步揭示和深化 GC 的抗炎作用机制,为临床合理应用 GC 提供新的思路。甘草次酸已被视为经典的 11β - 羟基类固醇脱氢酶的抑制剂。有关 GA 抑制 11β - 羟基类固醇脱氢酶的研究主要涉及其不良反应的产生机制,比如临床应用该药常伴有的假醛固酮增多症(pseudoaldosteronism)就认为与 GA 对 11β - 羟基类固醇脱氢酶的抑制有关^[5]。但有关 GA 通过抑制血管内皮细胞的 11β - 羟基类固醇脱氢酶,进而参与炎症调控的研究,迄今

未见报道。

长期以来认为 GA 发挥抗炎作用与阿司匹林相似,但与地塞米松不同。GA 抗炎机制被认为与抑制脂氧酶和环氧酶,进而抑制 LTC₄、LTD₄、LTE₄ 及 PGE₂ 等炎性介质的生成有关。但近年认为与调节 T 细胞分泌 IL-5 等细胞因子有关^[6]。本实验中,我们观察到 GA 能显著抑制 LPS 诱导的 HUVEC 分泌 IL-6 和 sICAM-1,同时显著降低 LPS 诱导的 HUVEC 的细胞凋亡率。因此我们认为抑制 IL-6 等前炎症细胞因子的产生,减少血管内皮细胞和白细胞的黏附,保护血管内皮细胞的损伤也是 GA 的一个抗炎机制。

鉴于 11 β -HSD 是 GC 作用的受体前调节的关键物质,GA 又是传统的 11 β -HSD 抑制剂,因此 11 β -HSD 完全可以作为 GA 抗炎等作用的一个靶点。GA 与 GC 合用所增强的抗炎效应与 11 β -HSD 的表达情况必定会有联系。

本研究发现,对 11 β -HSD2 mRNA 的表达没有明显影响,而 GA 在 HUVEC 受到 LPS 的刺激时则能明显抑制 11 β -HSD2 mRNA 的表达。表明 GA 在生理状态和病理状态下对 11 β -HSD 的调节不同,同时也提示 GA 在本实验中表现出的抗炎效应可能与其抑制 11 β -HSD2 的表达有关。GA 与 GC(Dex)合用时一方面可增强对 11 β -HSD2 mRNA 表达的抑制效

应,另一方面又可促进 11 β -HSD1 mRNA 的表达。同时加强了 GC 对 LPS 诱导的人脐静脉内皮细胞凋亡的抑制作用及炎性细胞因子 IL-6、sICAM-1 分泌的抑制作用。我们进一步作的相关性分析表明,GA 通过抑制 11 β -HSD2 mRNA 的表达是其增强 GC(Dex)抗炎作用的一个主要机制。

参考文献

- 1 王兴友,陈杭薇,钱桂生.糖皮质激素对血管内皮炎性损伤的保护机制[J].解放军医学杂志,2007,32(5):508-512
- 2 王兴友,陈杭薇,钱桂生,等.地塞米松对血管内皮细胞 11 β -2HSD1 基因表达的影响[J].解放军医学杂志,2007,32(5):1066-1068
- 3 王兴友,钱桂生,黄桂君,等.内毒素上调血管内皮细胞 11 β -2HSD2 基因的表达[J].第三军医大学学报,2005,27(10):954-956
- 4 Hao TC, Louis JT, Ta JH, *et al.* Inhibition of the interactions between eosinophil cationic protein and airway epithelial cells by traditional Chinese herbs, 2010, 4(Suppl 2):S8-S18
- 5 Kageyama K, Takayasu S, Moriyama T, *et al.* A case of pseudoaldosteronism, accompanied with hypocalcemia and exaggerated ACTH response[J]. Endocr J, 2004, 51(1):83-87
- 6 Xiu ML, Laverne B. Efficacy and mechanisms of action of traditional Chinese medicines for treating asthma and allergy[J]. J Allergy Clin Immunol, 2009, 123(2):297-308

(收稿:2011-05-30)

(修回:2011-06-01)

磁共振与超声对胎盘植入诊断价值的对比研究

白光辉 江 心 陈 裕 严志汉 邹爱国 张 弦 虞志康

摘 要 **目的** 探讨胎盘植入的磁共振和超声影像学特点,比较两种方法诊断胎盘植入的价值。**方法** 回顾性分析临床拟诊胎盘植入的 28 例产妇 MRI 及超声影像学资料特征,并与手术和(或)临床综合诊断结果比较,分析 MRI 与超声鉴别胎盘粘连和种植的敏感性、特异性和准确性。**结果** 胎盘植入的超声表现为胎盘与子宫肌层间交界的低回声带中断、胎盘内及与肌层交界处可见较多的血流、胎盘植入处肌层不完整及变薄,超声造影可见残留病灶缓慢增强。磁共振表现为蜕膜层低强度信号发生局部缺失,子宫肌层变薄,动态增强种植胎盘与子宫基层一致性强化,部分胎盘边缘强化明显,少数可见滋养血管。MRI 鉴别胎盘植入(含穿透)与粘连敏感性、特异性和准确性分别为 85%、80% 和 82%,超声检查分别为 62%、80% 和 71%。**结论** MRI 结合增强能明确胎盘植入并判断肌层受侵的情况,超声结合造影亦能鉴别胎盘植入与粘连,从临床诊断价值的角度来看,磁共振检查比超声具有更多的优势。

关键词 胎盘植入 超声检查 磁共振成像

基金项目:温州市科技局科研基金资助项目(Y20100300)

作者单位:325000 温州医学院附属第二医院

通讯作者:严志汉,电子信箱:yanzhihan@sohu.com