

报道 PPI 能增加院内感染的风险,本研究进一步证实
在伴吞咽障碍的脑梗死患者中,PPI 的使用同样会增加
SAP 的风险^[1]。其可能的机制为 PPI 可造成胃液的
pH 值显著上升,使机会致病菌及其他外来菌在胃
液中大量繁殖,菌群移位进入呼吸系统。我国研究者
曾发现在使用 PPI 患者的肺部和胃肠道中检出同一
种细菌^[10]。PPI 还可以抑制呼吸道的 H^+/K^+-ATP
酶,影响呼吸道腺体的正常分泌功能,有利于细菌的
生长和繁殖。在本研究中,铝碳酸镁未增加 SAP 的
风险,这是因为铝碳酸镁对胃液 pH 值的影响较 PPI
要弱,其不影响胃酸的基础和餐后分泌,并且当胃内
pH > 5 时,其中和胃酸的反应就停止,使 pH 值稳定
在 4 ~ 5 之间。

综上所述,本研究发现 PPI 对胃黏膜的保护效果
优于铝碳酸镁,但是其发生 SAP 风险显著增加。铝
碳酸镁对胃黏膜的保护作用也相当优异,同时不增加
SAP 的风险。故对于伴吞咽障碍的脑梗死患者,临床
工作者要根据每一位患者自身的特点,仔细权衡患
AGML 和 SAP 的风险,进行个体化治疗,选择一种最
适合患者的胃黏膜保护方案。

参考文献

- 1 Eom CS, Jeon CY, Lim JW, *et al.* Use of acid - suppressive drugs
and risk of pneumonia: a systematic review and meta - analysis [J].
CMAJ, 2011, 183 (3): 310 - 319

- 2 中华神经科学会. 各类脑血管疾病诊断要点 [J]. 中华神经科杂
志, 1996, 29 (6): 379 - 380
- 3 Hsu HL, Lin YH, Huang YC, *et al.* Gastrointestinal hemorrhage after
acute ischemic stroke and its risk factors in Asians [J]. Eur Neurol,
2009, 62 (4): 212 - 218
- 4 孙世光. 中国急性缺血性脑卒中诊治指南 2010 [J]. 中华神经科
杂志, 2010, 43 (2): 146 - 153
- 5 Jauch EC, Saver JL, Adams HP, *et al.* Guidelines for the early man-
agement of patients with acute ischemic stroke: a guideline for health-
care professionals from the American Heart Association/American
Stroke Association [J]. Stroke, 2013, 44 (3): 870 - 947
- 6 Vakil N. Prescribing proton pump inhibitors: is it time to pause and
rethink? [J]. Drugs, 2012, 72 (4): 437 - 445
- 7 Konturek PC, Brzozowski T, Konturek SJ. Stress and the gut: patho-
physiology, clinical consequences, diagnostic approach and treatment
options [J]. J Physiol Pharmacol, 2011, 62 (6): 591 - 599
- 8 Yu BP, Sun J, Li MQ, *et al.* Preventive effect of hydrotalcite on gas-
tric mucosal injury in rats induced by taurocholate [J]. World J Gas-
troenterol, 2003, 9 (7): 1427 - 1430
- 9 尚延昌, 王淑辉, 柏秀娟, 等. 应用 A2DS2 评分预测老年人群卒
中后肺炎发生的危险因素 [J]. 南方医科大学学报, 2013, 33
(11): 1615 - 1619
- 10 Ran L, Khatibi NH, Qin X, *et al.* Proton pump inhibitor prophylaxis
increases the risk of nosocomial pneumonia in patients with an intrace-
rebral hemorrhagic stroke [J]. Acta Neurochir Suppl, 2011, 111: 435
- 439

(收稿日期:2014 - 05 - 02)

(修回日期:2014 - 08 - 16)

催乳合剂对哺乳大鼠乳腺组织中 AQP1 和 AQP3 的影响

刘海斌 华莹 叶威静 陶雪娇 朱雪琼

摘 要 目的 观察催乳合剂对哺乳大鼠乳腺组织中 AQP1 和 AQP3 表达的影响,探讨催乳合剂增加泌乳量的机制。**方法**
SD 雌性大鼠 30 只,随机抽取 10 只,设为正常未哺乳大鼠组,剩余大鼠 20 只受孕后随机分为两组,正常哺乳组和催乳合剂催乳
组,催乳合剂催乳组于产后第 1 天开始灌食催乳合剂,正常哺乳组于产后第 1 天开始灌食等量蒸馏水,均在哺乳第 8 天取乳腺组
织,采用免疫组织化学方法检测正常未哺乳组和正常哺乳组大鼠乳腺组织中 AQP1 和 AQP3 的表达和定位,采用 Western blot 法
检测比较 3 组 AQP1 和 AQP3 蛋白表达变化。**结果** 在未哺乳组及正常哺乳组乳腺小叶组织及间质中 AQP1 蛋白均有表达,以
表达于血管内皮细胞为主,AQP1 蛋白在 3 组乳腺组织中表达无明显变化;在未哺乳组乳腺小叶组织及间质中未见 AQP3 蛋白表
达,在哺乳期组乳腺小叶组织中 AQP3 蛋白表达明显,主要表达在乳腺腺泡上皮细胞胞质中。与未哺乳组相比,AQP3 在正常哺
乳组及催乳合剂催乳组乳腺组织中的表达均升高,尤其是在催乳合剂催乳组乳腺组织中升高更显著。**结论** 催乳合剂增加泌乳

基金项目:温州市科技局科研基金资助项目(Y20140109)

作者单位:325027 温州医科大学附属第二医院

通讯作者:朱雪琼,电子信箱:zjwzzxq@163.com

量的机制与乳腺组织中 AQP3 密切相关。

关键词 水通道蛋白 催乳合剂 泌乳

中图分类号 R9

文献标识码 A

DOI 10.3969/j.issn.1673-548X.2015.02.028

Effect of Lactation Mixture on Aquaporin 1 and Aquaporin 3 Protein Expression in the Lactating Rat Mammary Gland. Liu Haibin, Hua Ying, Ye Weijing, et al. The Second Affiliated Hospital of Wenzhou Medical University, Zhejiang 325027, China

Abstract Objective To investigate the mechanism of lactation mixture of increasing amount of lactation, we examined the effect of lactation mixture on aquaporin 1 and aquaporin 3 protein expression in the lactating rat mammary gland. **Methods** SD female rats were divided into three groups: virgin female rats group ($n=10$), lactating rat treated with distill water group from postpartum day 1 ($n=10$), and lactating rat treated with lactation mixture group from day 1 postpartum ($n=10$). On days 8 postpartum lactating rat mammary gland were obtained. Immunohistochemistry was used to detect the AQP1 and AQP3 protein expression and localization in the mammary gland of virgin female rats and lactating rats treated with distill water. Immunoblotting was used to compare expression of AQP1 and AQP3 protein among three groups. **Results** In virgin female rats group and lactating rat treated with distill water group, AQP1 protein was expressed in the mammary lobular and stroma, mainly in vascular endothelial cells. AQP3 was not detected in virgin females. AQP3 was found in mammary lobular in lactating rat, mainly in cytoplasm of mammary gland acinar epithelial cells. There was no significantly change of AQP1 protein expression among three groups. Whereas compared with virgin female rats group, AQP3 expression was both increased in lactating rat treated with distill water group and lactating rat treated with lactation mixture group, especially the latter increased more significantly. **Conclusion** The expression of AQP3 protein in the lactating rat mammary gland was closely related to the mechanism of lactation mixture increased amount of lactation.

Key words Aquaporins; Lactation; Mixture; Lactating

母乳喂养有利于婴儿消化、增强免疫力和健康发育,实现母乳喂养的首要条件是母乳分泌早、泌乳量多,能够满足新生儿的需要。产后乳汁分泌不足是指分娩后乳腺泌乳量少,不能满足婴儿喂养的需要,是临床上一种常见的病症。近年来,随着生活方式的改变,产妇年龄趋于增高和不断上升的剖宫产率,产后缺乳有明显上升趋势,尤其在城市妇女中较为常见。

催乳合剂经临床研究,对乳汁分泌不足具有明显效果,有效率可达 92.9%^[1],但关于催乳合剂促进乳汁分泌的机制尚不清楚。水通道蛋白(aquaporins, AQP)是一种介导水跨生物膜转运的膜蛋白^[2]。目前,许多研究表明水通道蛋白可能参与了乳汁的生成和分泌^[3,4]。而且,催乳合剂中的主要中药成分如黄芪、丹参、太子参等可调节许多脏器组织中水通道蛋白的表达^[5-8]。因此,本研究通过研究未孕大鼠、正常哺乳大鼠和经催乳合剂催乳大鼠乳腺组织中 AQP1 和 AQP3 表达的变化,从而明确催乳合剂增加泌乳量的机制。

材料与方法

1. 材料:(1)动物:50 只 8 周龄,体重 200~250g SD 大鼠,其中未经孕、产的 SD 雌性大鼠 30 只,SD 雄性大鼠 20 只,购自上海史莱克实验动物有限公司,适应性喂养 1 周,自由饮水,饲养温度 $22 \pm 3^\circ\text{C}$,湿度 55%~75%,按实验动物 3R 使用

原则给予人道关怀。随机抽取 10 只 SD 雌性大鼠,设为正常未哺乳大鼠组,剩余大鼠按雌、雄 1:1 比例同笼饲养,自然交配受孕,受孕鼠单笼饲养用作实验研究。随机抽取 10 只受孕大鼠为正常哺乳组,10 只为催乳合剂催乳组。催乳合剂催乳组于产后第 1 天开始灌食催乳合剂,正常哺乳组于产后第 1 天开始灌食等量蒸馏水,均在哺乳第 8 天将大鼠用 5% 苯巴比妥钠麻醉后置于超净工作台,取其乳腺组织置 -80°C 备用。(2)催乳合剂制备:王不留行 10g,丹参 5g,太子参 15g,穿山甲(炒) 9g,黄芪 15g,通草 6g,桔梗 12g,漏芦 15g。将上述中药洗净,武火煮沸后再文火煎煮制成含生药量 2g/ml 的水煎液,冷藏备用,催乳合剂组给予 1ml/kg 体重灌胃,每日 3 次,正常哺乳组给予等量蒸馏水灌胃。

2. 方法:(1)免疫组化:采用免疫组化 SP-9000 试剂盒(北京中杉金桥生物技术有限公司产品)。严格按照试剂盒说明书进行操作,一抗兔抗人 AQP1、AQP3 多克隆抗体(武汉博士德公司产品)稀释成 1:200, PBS 代替一抗作为阴性对照。(2)蛋白印迹法:取出保存于 -80°C 超低温冰箱中各组的大鼠乳腺组织,分别将组织块置于 2ml 玻璃匀浆器中,按照 1:10 体积加入裂解液(其成分包括蛋白酶抑制剂和磷酸酶抑制剂),置于冰上进行匀浆。然后 4°C 裂解 30min,将裂解液移至 1.5ml 离心管中, 4°C 12000r/min 离心 20min,取上清液。BCA 法测定蛋白含量:根据蛋白浓度计算每个上样孔上样 50 μg ,调整每个样终体积为 20 μl ,加入 4 μl 5 $\times$ SDS 凝胶上样缓冲液,隔水煮沸 5min 使蛋白变性。聚丙烯酰胺凝胶(SDS-PAGE)电泳,将蛋白质电转移至聚偏氟乙烯(PVDF)膜上。5% 脱脂牛奶封闭后,加入一抗(AQP1, 1:200; AQP3, 1:300),

4℃ 过夜, TBST 洗膜 10min × 3 次, 辣根过氧化物酶标记的二抗孵育 1h, TBST 洗膜 10min × 3 次, ECL 试剂与膜作用后, 应用美国 Bio-rad 公司图像摄取系统曝光, 保存图像及分析, 计算 AQP1、AQP3 与 tubulin 产物 A 积分的比值, 实验重复 3 次。

3. 统计学方法: 采用 SPSS 17.0 统计软件对数据进行统计学分析, 各组资料均为正态分布资料, 因此数据以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。各组间比较采用单因素方差分析, 两组间比较采用 LSD 法。以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

结 果

1. AQP1、AQP3 蛋白在乳腺组织中的表达及定位: 免疫组织化学染色发现, 在未哺乳组及正常哺乳组乳腺小叶组织及间质中 AQP1 蛋白均有表达, 以表达于血管内皮细胞为主。在未哺乳组乳腺小叶组织及间质中未见 AQP3 蛋白表达, 在正常哺乳组乳腺小叶组织中 AQP3 蛋白表达明显, AQP3 主要表达在乳腺腺泡上皮细胞胞质中, 见图 1 及图 2。

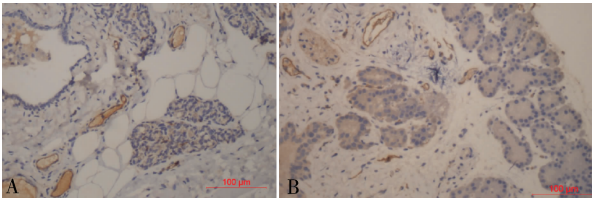


图 1 AQP1 蛋白在乳腺组织中的表达及定位 (SP 法, ×200)
A. 正常未哺乳乳腺组织; B. 正常哺乳乳腺组织

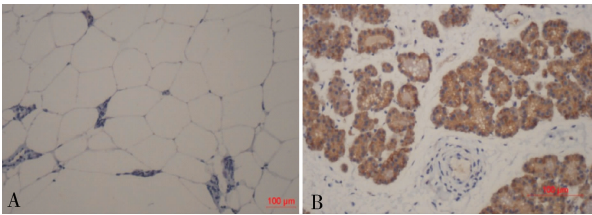


图 2 AQP3 蛋白在乳腺组织中的表达及定位 (SP 法, ×200)
A. 正常未哺乳乳腺组织; B. 正常哺乳乳腺组织

2. 检测未哺乳组、正常哺乳组及催乳合剂催乳组乳腺组织中 AQP1、AQP3 蛋白表达变化: AQP1 蛋白在 3 组乳腺组织中表达无明显变化; 与未哺乳组相比, AQP3 在正常哺乳组及催乳合剂催乳组乳腺组织中的表达均升高, 尤其是在催乳合剂催乳组乳腺组织中升高更显著, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见图 3 及表 1。

讨 论

母乳中含有婴儿生长发育所必需的各种营养成分, 是人类哺育下一代最营养、最方便、最安全、最理

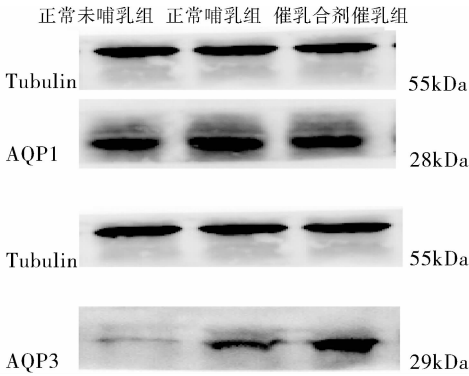


图 3 各实验组大鼠乳腺组织中 AQP1 和 AQP3 蛋白电泳图

表 1 3 组大鼠乳腺组织中 AQP1、AQP3 蛋白表达的比较 ($\bar{x} \pm s$)

分组	正常未哺乳组	正常哺乳组	催乳合剂催乳组
AQP1	1.06 ± 0.10	1.05 ± 0.17	1.03 ± 0.16
AQP3	1.14 ± 0.32	1.93 ± 0.44	3.17 ± 0.54

AQP3 3 组之间两两比较, P 均 < 0.05

想的喂养方法, 近年来, 产后乳汁分泌不足明显增加, 临床上发现由太子参、黄芪、丹参、王不留行、桔梗、漏芦、穿山甲、通草等制成的催乳合剂, 治疗产后乳汁分泌不足有效, 但缺少科学依据, 药物作用的分子机制尚不明确^[1]。许多中医药研究者都主张对合剂成分进行提纯, 提取其中的有效成分, 减少杂质导致的不良反应。因而, 探讨催乳合剂增加泌乳量的机制具有重要意义。

乳汁的主要成分包括水、蛋白质、脂肪、糖、无机盐和维生素等, 乳汁是在乳腺腺泡和细小乳导管的分泌上皮细胞内生成的。生成过程包括新物质的合成和由血液中吸收两个过程。水是乳汁中各种营养物质的溶剂, 乳汁的生成需要大量的水分, 不能以单纯的扩散方式通过细胞膜来解释, 目前, 许多研究表明水通道蛋白可能参与了乳汁的生成和分泌^[3,4]。水通道蛋白 (aquaporin), 又名水孔蛋白, 是一种位于细胞膜上介导水快速转运的蛋白质, 至今水通道蛋白发现有 13 种亚型 (AQP0 ~ 12), AQP1 和 AQP3 已有研究证实存在于人乳腺组织上皮细胞中^[2,9,10]。

Toshiyuki 等^[3]通过对哺乳小鼠乳腺组织中水通道蛋白的表达和免疫组化定位研究表明, 小鼠乳腺组织中存在 AQP1 和 AQP3, AQP1 分布在毛细血管和小静脉的内皮细胞顶部和基膜外侧, 在血管内水分向细胞间隙转运中起着重要作用, AQP3 位于乳腺腺泡和导管的上皮细胞的基膜外侧, 在水和 (或) 甘油从组

组织间隙向细胞内转运起重要作用。结论认为这些水通道蛋白可能参与了乳汁的形成。Ali 等^[4]对牛乳腺组织 AQP 的分布进行了检测,发现 AQP1 存在于毛细血管内皮细胞,AQP3 分布在分泌上皮细胞和导管上皮细胞中,认为在乳汁的形成和分泌过程中水通道蛋白可转运水和小分子的溶质通过内皮细胞和上皮细胞。本研究也先采用免疫组织化学方法对未哺乳大鼠和正常哺乳大鼠乳腺组织 AQP1 和 AQP3 进行检测和定位,发现在未哺乳乳腺和哺乳乳腺组织中 AQP1 蛋白均有表达,以表达于小血管的内皮细胞为主,表达强度变化不明显,而 AQP3 在未哺乳乳腺小叶组织及间质中未见表达,在哺乳组乳腺小叶组织中 AQP3 蛋白表达明显,主要表达在乳腺腺泡上皮细胞胞质中,研究结果与国外文献报道基本一致。同时本研究为了明确催乳合剂增加泌乳量的机制,应用 Western blot 法检测比较了未哺乳组、正常哺乳组及催乳合剂催乳组中 AQP1 和 AQP3 蛋白表达量的变化,结果显示 3 组乳腺组织中 AQP1 蛋白表达无明显变化($P > 0.05$),而 AQP3 在 3 组中递增性表达,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

本研究结果显示,AQP1 和 AQP3 可能均参与了乳汁的生成和分泌,其中 AQP3 作用更加重要,催乳合剂使得哺乳乳腺组织中 AQP3 蛋白表达显著增加,提示催乳合剂增加泌乳量的机制与 AQP3 的表达密切相关。

参考文献

- 1 余英.催乳合剂治疗产后乳汁分泌不足的临床疗效观察[J].医学信息,2010,2(8):2197-2198
- 2 Hua Y, Jiang W, Zhang W, *et al.* Expression and significance of aquaporins during pregnancy[J]. Front Biosci,2013,18:1373-1383
- 3 Toshiyuki M, Natsuko M, Yuki T, *et al.* Expression and immunolocalization of waterchannelaquaporins in the rat and mouse mammary gland[J]. Histochem Cell Biol,2005,123: 501-512
- 4 Ali M, Bryony HK, Judith EJM, *et al.* Cellular localization of aquaporins along the secretory pathway of the lactating bovine mammary gland: an immunohistochemical study[J]. Acta histochemica,2011, 113: 137-149
- 5 林青,张前德.黄芪丹参对干燥综合征模型大鼠颌下腺组织的水通道蛋白-5 表达的影响[J].口腔医学,2010,30(8):473-476
- 6 何绪屏,陈东风,郑建宏,等.健心平律丸对大鼠心肌缺血再灌注心律失常和水通道蛋白 4 的影响[J].中国中西医结合杂志,2004,24(9):823-826
- 7 Li M, Ma RN, Li LH, *et al.* Astragaloside IV reduces cerebral edema post-ischemia/reperfusion correlating the suppression of MMP-9 and AQP4[J]. Eur J Pharmacol,2013,715:189-195
- 8 张译文,马小燕,丁盛娣,等.复方丹参注射液对人羊膜上皮细胞水通道蛋白 3 表达的影响[J].中国中西医结合杂志,2013,33(1):51-55
- 9 Mobasheri A, Marples D. Expression of the AQP-1 water channel in normal human tissues: a semiquantitative study using tissue microarray technology[J]. Am J Physiol Cell Physiol,2004,286: 529-537
- 10 Shi Z, Zhang T, Luo L, *et al.* Aquaporins in human breast cancer: identification and involvement in carcinogenesis of breast cancer[J]. J Surg Oncol,2012,106:267-272

(收稿日期:2014-08-03)

(修回日期:2014-08-26)

尿酸与急性 ST 段抬高型心肌梗死患者急诊 PCI 术后冠脉血流及预后的相关性研究

高 鹏 张 舸 黄慧贤

摘 要 **目的** 研究住院期间尿酸水平与急性 ST 段抬高型心肌梗死(STEMI)患者急诊经皮冠脉介入(PCI)术后冠脉血流以及预后的相关性。**方法** 选取 2010 年 1 月~2013 年 6 月就诊于海淀医院 STEMI 患者,根据尿酸水平,将 STEMI 患者分为高尿酸组(男性 $> 420 \mu\text{mol/L}$, 女性 $> 360 \mu\text{mol/L}$)和正常尿酸组(男性 $\leq 420 \mu\text{mol/L}$, 女性 $\leq 360 \mu\text{mol/L}$)。多变量分析住院期间尿酸水平与 STEMI 患者急诊 PCI 术后冠脉血流受损相关性以及尿酸水平与 STEMI 患者死亡和主要不良心血管事件的相关性。**结果** 高尿酸组无复流(TIMI 血流 0、1、2 级)发生率显著高于正常尿酸组(29.0% vs 10.2%, $P < 0.05$)。高尿酸组住院期间、6 个

作者单位:100080 北京市海淀医院(北京大学第三医院海淀院区)

通讯作者:黄慧贤,主任医师,硕士生导师,电子信箱:huanghuixian@medmail.com.cn;张舸,副主任医师,硕士生导师,电子信箱:yuncheng1973@

163.com