



烧伤血清对腹腔巨噬细胞凋亡的影响

巨噬细胞(M ϕ)是机体重要的防御性细胞,通过吞噬病原微生物和坏死组织及抗原提呈等在机体的防御功能中起重要作用。研究表明, M ϕ 凋亡后, 机体防御功能明显下降[1]。本研究观察了烧伤血清对体外培养腹腔M ϕ 凋亡的影响, 以期从M ϕ 凋亡的角度探讨烧伤后M ϕ 功能改变的机制。

1 材料与方法

1.1 烧伤模型

Wistar大鼠16只, 体质量(230 \pm 20) g, 随机分为正常对照组和烧伤组, 每组8只。烧伤组麻醉成功后, 背部脱毛造成30%体表总面积(TBSA) III度烫伤, 即予4 ml/100 g·b.w. 生理盐水腹腔注射抗体克, 对照组除烫伤外处理相同。伤后24 h麻醉, 无菌条件下心脏取血, 分离血清, 灭活补体。正常血清和烧伤血清按1:2或1:5的比例与RPMI 1640培养液混合后使用。

1.2 腹腔M ϕ 收集

健康大鼠腹腔内注射5 ml RPMI 1640培养液进行灌洗, 回吸灌洗液, 50 g离心5 min, 将细胞沉淀孵育过夜后, 可获纯度>90%的腹腔巨噬细胞。

1.3 M ϕ 凋亡检测

采用碘化丙锭(PI)染色流式细胞术(FCM)检测。即待血清与M ϕ 一同孵育24、48 h后, 分别收集M ϕ , 用PBS调整细胞至密度为10⁶个/ml, 加PI至终浓度为50 μ g/ml, 4 $^{\circ}$ C室温暗处孵育15~20 min, 上机检测。

1.4 统计处理

所有数据均以 $\bar{x}\pm s$ 表示, 组间数据比较采用两样本均数t检验。

表1 烧伤血清刺激后不同时间M ϕ 的凋亡率($\bar{x}\pm s, \%$)

Tab.1 Percentages of apoptotic macrophages stimulated by burn serum at different times (Mean \pm SD,%)

Group	Time after coincubation (h)	
	24	48
Normal serum	10.8 \pm 1.4	12.3 \pm 3.2
Burn serum	25.6 \pm 2.4*	39.5 \pm 6.8*

*P<0.01 vs normal serum group

正常大鼠血清与体外培养的大鼠腹腔M ϕ 一同孵育 24 h后, M ϕ 凋亡率为(10.8 \pm 1.4)%; 20%烧伤血清与M ϕ 一同孵育 24 h, M ϕ 凋亡率为(25.6 \pm 2.4)%, 48 h 后进一步增加(表1)。而且烧伤血清诱导M ϕ 凋亡与培养液中烧伤血清浓度正相关, 50%烧伤血清较20%烧伤血清抑制M ϕ 凋亡更明显(表2)。

表 2 不同浓度烧伤血清刺激 24h 后 M ϕ 的凋亡率($\bar{x}\pm s$,%)

Tab.2 Percentages of apoptotic macrophages 24 h after stimulation by different concentrations of burn serum

Group	Concentration	
	20%	50%
Normal serum	10.8 \pm 1.4	13.8 \pm 3.6
Burn serum	25.6 \pm 2.4*	42.75 \pm 8.7*

* P <0.01 vs normal serum group

3 讨论

M ϕ 是机体重要的防御性细胞, 通过抗原提呈及吞噬病原微生物、坏死组织等在机体的防御功能中起重要作用。研究发现, 其吞噬凋亡的中性粒细胞(PMN)是炎症消退的先决条件。M ϕ 凋亡增加, 严重影响其功能发挥, 使其形成识别凋亡PMN的能力降低, 导致对PMN及功能组织细胞的吞噬处理能力下降[1]。研究发现, 烧伤血清可使腹腔M ϕ 分泌肿瘤坏死因子和一氧化氮等递质[2]。本实验结果提示, 烧伤血清还可诱导腹腔M ϕ 凋亡, 且刺激时间越长、浓度越高, 抑制作用越强。烧伤血清中含有高浓度的内毒素、肿瘤坏死因子等炎症递质[3], 而内毒素、肿瘤坏死因子可导致M ϕ 凋亡。因此, 我们认为, 烧伤血清诱导腹腔M ϕ 凋亡主要与其含有内毒素、肿瘤坏死因子有关, 但这些递质诱导M ϕ 凋亡的机制还有待进一步研究。

综上所述, 烧伤血清诱导 M ϕ 凋亡, 从而使烧伤后M ϕ 凋亡增多, 进一步使其功能发挥受到影响。

参考文献:

[1] Bingisser R, Stey C, Weller M, et al. Apoptosis in human alveolar macrophage is induced by endotoxin and is modulated by cytokines[J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 1996, 15 (1):64-70.

[2] 胡远兵, 彭代智, 黄文华, 等. 严重烧伤后补体活化的动态变化及对巨噬细胞分泌功能的影响[J]. 中华烧伤杂志, 2000, 16(4):231-3.

[3] 李志清, 黄跃生, 杨宗城, 等. 一次性大面积切痂前后烧伤血清中内毒素和肿瘤坏死因子及血清损伤内皮细胞的变化[J]. 第一军医大学学报, 1998, 18:280-1.

参考文献:

[1] Bingisser R, Stey C, Weller M, et al. Apoptosis in human alveolar macrophage is induced by endotoxin and is modulated by cytokines[J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 1996, 15 (1):64-70.

[2] 胡远兵, 彭代智, 黄文华, 等. 严重烧伤后补体活化的动态变化及对巨噬细胞分泌功能的影响[J]. 中华烧伤杂志, 2000, 16(4):231-3.

[3] 李志清, 黄跃生, 杨宗城, 等. 一次性大面积切痂前后烧伤血清中内毒素和肿瘤坏死因子及血清损伤内皮细胞的变化[J]. 第一军医大学学报, 1998, 18:280-1.

[回结果列表](#)