

己酮可可碱对非协调性异种心脏移植的影响

区景松, 孙培吾

(中山医科大学附属第一医院心胸外科, 广东 广州 510080)

摘要: 【目的】探讨己酮可可碱(PTX)对非协调性异种心脏移植[CT_x(DC)]存活时间的影响。【方法】50只雄性豚鼠和50只雄性SD大鼠随机分成A、B、C3组进行异种心脏(豚鼠-大鼠)移植于颈部,移植前1h A组受体生理盐水1mL腹腔内注射(ip), B组受体PTX 50 mg/kg ip, C组供体、受体均以PTX 50 mg/kg ip。用免疫组织化学方法检测移植心脏血管内皮细胞(EC)P-选择素表达情况。【结果】①B、C组移植心脏平均存活时间分别为25.6 min和25.9 min,较A组13.9 min明显延长, $P < 0.05$ 。②移植后8 min和排斥时移植心脏血管EC P-选择素表达B、C组不如A组明显, $P < 0.05$ 。【结论】PTX可以通过保护EC, 延长CT_x(DC)存活时间。

关键词: 己酮可可碱; 心脏移植; 移植, 异种; P-选择素; 细胞

中图分类号: R654.2 文献标识码: A 文章编号: 1000-257X(2001)02-0100-03

The Effect of Pentoxifylline on Discordant Cardiac Xenotransplantation

OU Jing-song, SUN Pei-wu

(Department of Cardiothoracic Surgery, First Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University
of Medical Sciences, Guangzhou 510080, China)

Abstract: 【Objective】To understand the effect of pentoxifylline (PTX) in xenograft survival of discordant cardiac xenotransplantation [CT_x(DC)]. 【Methods】50 male guinea pigs and 50 male SD rats were randomly divided into three groups. CT_x(DC) (guinea pig-SD rat) were carried out. The animals accepted management at 1 h pretransplantation as follows: 1 mL physiological saline intraperitoneal (ip) for recipients in group A, 50 mg/kg PTX (ip) for recipients in group B and 50 mg/kg PTX (ip) for both donors and recipients in group C. The P-selectin expression of vascular endothelial cells(EC) in cardiac xenografts was detected by immunohistochemical staining. 【Results】①The mean survival time of cardiac xenografts were 25.6 min (group B) and 25.9 min (group C) was longer than that of group A (13.9 min, $P < 0.05$). ②P-selectin expression was lower in group B and group C than in group A at 8 min posttransplantation and rejection ($P < 0.05$). 【Conclusion】PTX may prolong xenograft survival of CT_x(DC) by protecting EC.

Key words: pentoxifylline; heart transplantation; transplantation, heterotogous; P-selectin; cell

异种心脏移植分协调性和非协调性两种,而非协调性异种心脏移植[discordant cardiac xenotransplantation, CT_x(DC)]是解决目前心脏移植中供心短缺矛盾的好办法,但CT_x(DC)存在强烈的超急排斥反应(hyperacute rejection, HAR),实验表明,内皮细胞(endothelial cell, EC)参与HAR发

生^[1,2],己酮可可碱(pentoxifylline, PTX)是甲基黄嘌呤衍生物,对EC有保护作用^[3],本实验旨在了解PTX能否通过保护EC,减轻或消除HAR,延长移植心脏存活时间。

1 材料和方法

收稿日期: 2000-10-25

基金项目: 广东省卫生厅“五个一科教兴医工程”基金资助项目(1996年度)

作者简介: 区景松(1968-),男,广东番禺人,博士。

© 1994-2019 China Academic Electronic Publishing House. All rights reserved. <http://www.cnki.net>

1.1 材料

1.1.1 动物 雄性豚鼠 50 只, 体质量 250 ~ 350 g, 作心脏移植供体, 雄性 SD 大鼠 50 只, 体质量 300 ~ 400 g, 作心脏移植受体, 均由中山医科大学实验动物中心提供。

1.1.2 试剂 PTX 注射液(法国, 麦克乐制药公司), 第一抗体羊抗鼠 C3 单克隆抗体(美国, Sigma 公司)和兔抗人 P-选择素多克隆抗体(美国, Pharmingen 公司)。

1.2 方法

1.2.1 分组 50 只豚鼠和 50 只 SD 大鼠随机配对并分成 A、B、C 3 组, 移植前 1 h: A 组(20 对): 受体生理盐水 1 mL 腹腔腔内注射(ip), B 组(15 对): 受体 PTX 50 mg/kg ip。C 组(15 对), 供体和受体均以 PTX 50 mg/kg ip。

1.2.2 心脏移植 心脏移植方法采用 Cuff 法异位移植于颈部^[4], 供心无搏动为移植心脏被排斥标志。

1.2.3 病理检查 A、B、C 3 组移植后 8 min 各取 5 只移植心脏送病理检查, 其余所有动物移植心脏到排斥时记录存活时间, 并取出移植心脏送病理检查: 包括 HE 染色, 用免疫荧光法检测移植心脏血管 EC C3 沉积情况, 用 SP 免疫组织化学染色方法检测移植心脏血管 EC P-选择素表达情况, P-选择素表达情况作半定量分析。结果判断: 阳性结果为血管内皮层显示棕色, 每标本各观察 3 条小动、3 条小静脉和 3 条毛细血管, 按血管内皮显示棕色占该血管内壁周径多少划分为 0 ~ 4 级(分别记作 0 ~ 4 分), 具体标准为: 整个血管无显棕色为 0 级, 记 0 分; 管壁周径的 25% 以下显棕色为 1 级, 记 1 分; 管壁周径的 25% 至 50% 显棕色为 2 级, 记 2 分; 管壁周径的 50% 至 75% 显棕色为 3 级, 记 3 分; 管壁周径的 75% 以上显棕色为 4 级, 记 4 分; 各标本以 9 条血管总积分的均数作为该标本的 P-选择素含量。

1.2.4 统计分析 所有资料均经 SPSS 软件系统处理, 多组均数比较用单因素方差分析, 生存数据用 Kaplan-Meier 法估计生存率, 用 Log-Rank 法作假设检验。

2 结果

2.1 PTX 对移植心脏存活时间的影响

A、B、C 3 组的移植心脏存活时间见表 1, 表中

结果表明受体经 PTX 处理后, 移植心脏存活时间从平均 13.9 min 延长到 25.6 min, 而供体和受体同时应用 PTX 则移植心脏存活时间未见进一步延长(平均 25.9 min), 生存分析提示 B、C 组生存时间明显比 A 组长, $P < 0.05$, 而 B、C 组间无差别 $P > 0.05$, 表明 PTX 能使移植心脏存活时间延长(图 1)。

表 1 PTX 对移植心脏存活时间的影响

Table 1 The effect of PTX in cardiac xenograft survival

Group	n	Graft survival t / min	\bar{t} / min
A	15	8, 9, 11, 12, 12, 13, 13, 14, 14, 15, 15, 16, 17, 19, 21	13.9
B	10	14, 16, 18, 20, 20, 23, 24, 26, 30, 65	25.6
C	10	15, 18, 19, 21, 24, 24, 25, 28, 33, 52	25.9

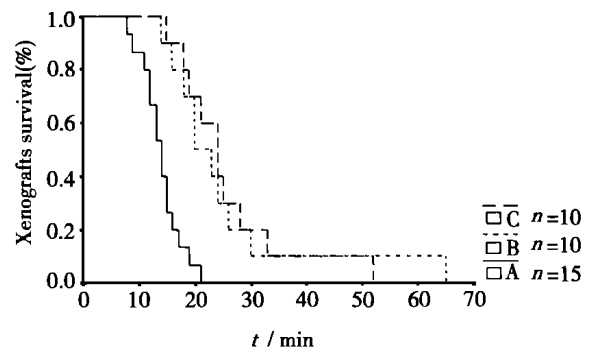


图 1 A、B、C 3 组移植心脏生存情况

Fig. 1 Cardiac xenograft survival in group A B C

Group B and group C compare with group A, $P < 0.05$

2.2 病理结果

2.2.1 HE 染色 所有移植心脏到排斥时均呈现 HAR 表现, 表现为间质出血、水肿、血管内血栓形成及心肌结构破坏。上述表现移植后 8 min 和排斥时 B、C 组均轻于 A 组, 3 组排斥时均无明显炎症细胞浸润。

2.2.2 血管 EC 沉积情况 3 组排斥时均见大量 C3 沉积于血管 EC。

2.2.3 血管 EC P-选择素含量情况 3 组血管 EC P-选择素含量见表 2。表中可见移植后 8 min 和排斥时 3 组血管 EC P-选择素均有表达, 但 B、C 组表达明显少于 A 组, $P < 0.05$; 而 B、C 组间无差别, $P > 0.05$ 。

3 讨论

供心严重短缺已成为心脏移植发展的障碍, CT_x (DC) 为其提供一种良好的解决办法, 但存在严

表2 PTX对血管EC P-选择素表达的影响

Table 2 The effect of PTX in p-selectin expression of vascular endothelial cells ($\bar{x} \pm s$)

Group	n_1	8 min ¹⁾	n_2	Rejection ⁵⁾
A	5	1.85±0.20	15	2.49±0.27
B	5	0.49±0.17 ²⁾	10	1.62±0.28 ⁶⁾
C	5	0.49±0.12 ^{3),4)}	10	1.55±0.26 ^{7),8)}

1) Among of group A, B, C, $F = 111.02$, $P < 0.05$; 2) Compare with group A, $q = 18.250$, $P < 0.05$; 3) Compare with group A, $q = 18.250$, $P < 0.05$; 4) Compare with group B, $q = 0.000$, $P > 0.05$; 5) Among of group A, B, C, $F = 48.280$, $P < 0.05$; 6) Compare with group A, $q = 11.258$, $P < 0.05$; 7) Compare with group A, $q = 12.056$, $P < 0.05$; 8) Compare with group B, $q = 0.820$, $P > 0.05$

重的排斥反应(HAR), EC参与HAR的发生^{1,2)}, 保护EC可能有助于减轻或抑制HAR的发生。

PTX能降低转录因子NF- κ B的活性, 是一种NF- κ B抑制剂³⁾, 且是EC激活的一个关键成份。PTX能抑制NF- κ B的激活, 所以, PTX有保护EC、预防EC激活的作用^{1,3)}。实验发现, 受体移植前应用PTX可使移植心脏存活时间从平均13.9 min延长到平均25.6 min; 供体、受体同时应用PTX时, 移植心脏存活时间并未见进一步延长, 平均25.9 min; 生存分析结果提示, PTX确能延长移植心脏存活时间, 而且主要通过受体起作用。最后所有移植心脏均发生HAR, 病理切片可见大量C3沉积于血管EC, 间质出血、水肿、血栓形成, 表明PTX不能抑制HAR, 但却有减轻HAR发生, 延长移植心脏存活时间作用。实验还发现, 在移植后8 min和排斥时, 间质出血、水肿和血栓形成, C组均轻于A组, 表明PTX还有减轻间质出血, 水肿和血栓形成作用。

P-选择素是一种整合膜蛋白, 主要储存于血小板的 α 颗粒体和EC分泌型Weibel-palade颗粒中, 由EC合成^{6,7)}。正常情况下EC不表达P-选择素, 但当EC受到各种刺激、损伤时, P-选择素即表达于激活的EC和血小板表面^{6,7)}, 作为一个早期EC反应的细胞表面标记物。实验证明, 在异种移植反应中, EC的I型激活常在移植后数分钟发生, 随后即出现P-选择素的表达⁸⁾, 可见P-选择素是EC早期激活的一个标记, 可反映EC激活的程度。实验发现, 在HAR中, 移植后8 min, 各组移植心脏血管EC的P-选择素开始上调, 到排斥时上调更明显, 但B、C组上调幅度明显不如A组, 而B、C组间

无差别, 表明EC激活参与HAR发生, 而PTX有减轻P-选择素上调作用, 从而证实PTX有保护EC的作用, 这可能是PTX使移植心脏存活时间延长、减轻HAR发生的主要原因。文献报道, EC不但参与HAR发生, 还参与异种移植延迟排斥反应(delay xenograft rejection, DXR)的发生, 而且, EC激活可能是DXR发生的关键, 预防EC激活可能是避免DXR发生的主要途径⁹⁾。本实验发现PTX有保护EC, 延长移植心脏存活时间作用, 这为避免DXR发生, 实现CT_x(DC)提供线索。

(衷心感谢卫生统计学教研室骆福添副教授、凌莉副教授、许宗利博士在数据统计分析的热情帮助)

参考文献:

- [1] Miyagawa S, Hirose H, Shirakura R, *et al.* The mechanism of discordant xenograft rejection [J]. *Transplantation*, 1988, 46(6): 825.
- [2] Pruitt S K, Baldwin W M, Barth R N, *et al.* The effect of xenoreactive antibody and B cell depletion on hyperacute rejection of guinea pig to rat cardiac xenografts [J]. *Transplantation*, 1993, 56(6): 1318.
- [3] Coe D A, Freischlag J A, Johnson D, *et al.* Pentoxifylline prevents endothelial damage due to ischemia and reperfusion injury [J]. *J Surg Res*, 1997, 67(1): 21.
- [4] 区景松, 孙培吾, 王传恩. 眼镜蛇毒素因子与大鼠中性白细胞吞噬功能减退的剂量研究 [J]. *中山医科大学学报*, 1999, 20(4): 276.
- [5] Biswas D K, Ahlers C M, Dezube B J, *et al.* Cooperative inhibition of NF- κ B and tat-induced superactivation of human immunodeficiency virus type 1 long terminal repeat [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993, 90(23): 11044.
- [6] Pober J S, Cotran R S. The role of endothelial cells in inflammation [J]. *Transplantation*, 1990, 50(4): 537.
- [7] Bonfanti R, Furie B C, Furie B, *et al.* PADGEM (GMP140) is a component of weibel-palade bodies of human endothelial cells [J]. *Blood*, 1989, 73(5): 1109.
- [8] Coughlan A F, Berndt M C, Dunlop L C, *et al.* *In vivo* studies of P-selectin and platelet-activating factor during endotoxemia: accelerated allograft rejection and discordant xenograft rejection [J]. *Transplant Proc*, 1993, 25(5): 2930.
- [9] Koyama N, Miyatake T, Candinas D, *et al.* T cell independence of macrophage and natural killer cell infiltration, cytokine production, and endothelial activation during delayed xenograft rejection [J]. *Transplantation*, 1996, 62(12): 1920.

(编辑 张敏瑞)