

sCD14 和 sTNFR-P55 治疗严重烫伤小鼠胰岛素抵抗和胰岛素分泌障碍实验研究

王占科 胡新勇 柴长春 冯青青 杨莉萍 祝仲珍

(解放军第九四医院 江西南昌 330002)

摘要:目的:观察可溶性白细胞分化抗原 14(sCD14)和可溶性肿瘤坏死因子受体 -p55(sTNFR-P55)对严重烫伤小鼠胰岛素抵抗、胰岛素分泌以及糖代谢障碍的治疗效果。方法:单项和联合静脉注射 sCD14 和 sTNFR-P55 给严重烫伤小鼠,观察不同治疗组及其对照组的死亡率、稳态模式胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)和胰岛素分泌指数(HOMA-β)以及空腹血糖和乳酸含量变化。结果:烫伤小鼠各治疗组 HOMA-IR 指数、空腹血糖和乳酸含量明显低于对照组,且联合治疗组低于单项治疗组。烫伤小鼠各治疗组 HOMA-β 指数明显高于对照组($P<0.01$),且联合治疗组高于单项治疗组($P<0.01$)。sCD14 和 sTNFR-P55 联合治疗组烫伤小鼠死亡率明显低于治疗对照组($P<0.05$),但其它治疗组与治疗对照组无显著差异($P>0.05$)。结论:静脉注射 sCD14 和 sTNFR-P55 能够有效改善严重烫伤小鼠胰岛素抵抗和胰岛素相对血糖分泌功能下降以及糖代谢障碍,且联合治疗效果优于单项治疗。

关键词:sCD14; sTNFR-P55; 烫伤; 胰岛素抵抗; 胰岛素分泌; 空腹血糖; 空腹乳酸; 治疗

Abstract: Objective: In order to observe the therapeutic effect on the insulin resistance and hyposecretion of the scalded mice by treated with sCD14 and sTNFR-P55. Methods: The levels of dead rates,HOMA-IR,HOMA-β ,Fasting glucose,Fasting lactic acid of the scalded mice treated individually by infusion with sCD14, sTNFR-P55, and both the sCD14 and sTNFR-P55 , were examined compared with that of the control mice. Results:The levels of the HOMA-IR, Fasting glucose,Fasting lactic acid of the treated scalded mice were all lower than that of the control scalded mice, and the levels of the HOMA-β of the treated scalded mice were higher than that of the control scalded mice($P<0.01$). It was also found that the levels of HOMA-IR, Fasting glucose,Fasting lactic acid of the treated scalded mice with both sCD14 and sTNFR-P55, were lower than that of the treated with the single sCD14 or sTNFR-P55 . The dead rate of the scalded mice treated with both the sCD14 and sTNFR-P55 was lower than that of the control scalded mice ($P<0.05$).Conclusion: The treatments with sCD14 and sTNFR-P55 could contribute to ameliorate the insulin resistance and the insulin hyposecretion in the burned or scalded states, the therapeutic effect of the treatments with both the sCD14 and sTNFR-P55 was better than that of treatments with single one.

Key words: sCD14 s; TNFR-P55; scalded; insulin resistance; insulin hyposecretion; glucose lactic acid

中图分类号:R 644

文献标识码:B

文献编号: 1671-4040(2004)05-0003-02

sCD14 和 sTNFR-P55 分别是体内存在的内毒素(LPS)和肿瘤坏死因子 α (TNFα)可溶性缺陷受体,通过竞争其膜受体,来抑制 LPS 和 TNFα 的病理作用。严重创伤患者 sCD14 和 sTNFR-P55 虽然升高,但分别相对 LPS 和 TNFα 不足,并与预后呈正相关^[1-2],sCD14 和 sTNFR-P55 作为治疗

严重创伤胰岛素抵抗和胰岛素分泌障碍的药物,值得研究。为此,我们以严重烫伤小鼠为创伤模型,随机分为 sCD14 治疗组、sTNFR-P55 治疗组、sCD14 和 sTNFR-P55 联合治疗组及其对照组,观察各组死亡率以及胰岛素抵抗、胰岛素分泌和糖代谢障碍相关指标的变化,为临床治疗烧、创伤糖代谢

增殖周期各时相的比例无差异,前者凋亡细胞的比例低于后者。提示小鼠 MRL 细胞无异常增殖动力学变化,其发病可能与进入增殖周期白血病细胞数量的大量增多、细胞分化及凋亡障碍有关。MRL 中药组较正常对照组 G0+G1 细胞高($P<0.05$);较正常对照组及 MRL 模型组 S、G2+M 细胞及 G2/G1 比值低(后者 $P<0.05$),凋亡细胞比例高(其差异无统计学意义可能因为样本容量小的缘故)。提示该组小鼠骨髓细胞增殖活力减低,凋亡细胞增多,这可能是清热解毒方部分作用机制。

参考文献

[1]贵阳医学院附属医院.治愈急性白血病 1 例报告[J].中医杂志, 1958(11): 773
[2]许玉鸣.治疗白血病的经验体会[J].新医学杂志,1978(11): 11
[3]许玉鸣.白血病中医治疗病例 3 则[J].贵阳中医学院学报, 1986 (4): 20

[4]贵阳中医学院第一附属医院内科血液组.急性白血病中药治疗 14 例小结[J].贵阳中医学院学报,1982(3): 33
[5]王欣,傅汝林.中药小剂量化疗并用治疗急性白血病 33 例分析[J].中医药学刊, 2003,21(7): 1 172
[6]褚建新,王敏,杨天樞.微小残留白血病的实验研究.中华血液学杂志, 1991, 12(8): 394
[7]郑德先,吴克复,褚建新.现代实验血液学研究方法与技术[M].北京:北京医科大学、中国协和医科大学联合出版社, 1999.510
[8]姜泊,张亚历,周殿元.分子生物学常用实验方法[M].北京:人民军医出版社, 1996.1 358
[9]褚建新,王敏,杨天樞.微小残留白血病的实验研究[J].中华血液学杂志, 1991, 12(8): 394
[10]艾辉胜,罗荣城,乐晓峰.现代白血病学[M].北京:人民军医出版社, 1998. 173
[11]汤钊猷.现代肿瘤学[M].上海:上海医科大学出版社, 1993. 724

(收稿日期: 2004 - 03- 15)

障碍及其危害提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 烫伤模型制作与分组 昆明小鼠（18~20g），雌雄不拘，自由喂养，按 30%体表面积背部剪毛，89℃热水浸泡 9s，制作Ⅲ度烫伤模型，随机分为 sCD14 治疗组、sTNFR-P55 治疗组、sCD14 和 sTNFR-P55 联合治疗组及治疗对照组。治疗对照组除不注射药物外，其他同治疗组。正常对照组除不烫伤外，其他同治疗对照组。

1.2 治疗方法 基因工程产品 sCD14 和 sTNFR-P55（晶美生物工程有限公司）用生理盐水稀释，按 5mg/（kg·d），每天分 2 次尾静脉注射，连续 5d。联合治疗组使用剂量为 sCD14 和 sTNFR-P55 各 5mg/（kg·d），静脉输入液体总体积同 sCD14 和 sTNFR-P55 单项治疗组。治疗对照组和正常对照组只注射生理盐水，其它同治疗组。各组动物均在伤后第 6 天断头处死，肝素抗凝，收集血液标本，4 000 转/min 离心，分离血浆。

1.3 疗效指标 烫伤小鼠死亡率为烫伤后 5d 内（含第 5 天）死亡率；胰岛素抵抗程度和胰岛素相对血糖分泌水平分别由 HOMA-IR 指数、HOMA-β 指数表示，糖代谢障碍程度由空腹血糖、空腹乳酸含量表示。HOMA-IR=Ln[（空腹血糖×空腹胰岛素）/22.5]，HOMA-β =空腹胰岛素×20/（空腹血糖-3.5）^[9]。

1.4 统计学分析 计数资料表示为率，计量资料表示为均值±标准差，根据要求通过微机，使用 SPSS10.0 for Windows 统计软件包行卡方检验和单因素方差分析 *t* 检验。*P* < 0.05 为有统计学意义。

2 结果

2.1 不同治疗组死亡率变化 结果发现，sCD14 和 sTNFR-P55 联合治疗组严重烫伤小鼠死亡率明显低于治疗对照组（*P* < 0.05）。sCD14 治疗组和 sTNFR-P55 治疗组死亡率均低于治疗对照组，但无统计学意义（*P* > 0.05），详见表 1。

表 1 各组间 7d 内死亡率比较

组别	sCD14 治疗组	sTNFR-P55 治疗组	联合治疗组	治疗对照组	正常对照组
死亡例数 / 总例数	4/25	6/25	2/25	9/25	0/25
死亡率	16%	24%	8%**	36%	0%

注：与治疗对照组比，** *P* < 0.05。

2.2 不同治疗组及其对照组 HOMA-IR 指数、HOMA-β 指数、空腹血糖、空腹胰岛素和空腹乳酸含量变化 结果表明，严重烫伤治疗对照组 HOMA-IR 指数，空腹血糖，空腹乳酸，均明显高于正常对照组，HOMA-β 指数明显低于正常对照组（*P* < 0.01）。各治疗组 HOMA-IR 指数、空腹血糖、空腹乳酸含量均明显低于治疗对照组，且联合治疗组低于单纯治疗组（*P* < 0.01），各治疗组 HOMA-β 指数均明显高于治疗对照组，且联合治疗组高于单纯治疗组（*P* < 0.01）。各治疗组空腹胰岛素变化不显著（*P* > 0.05），详见表 2。

表 2 各组间空腹血糖、空腹胰岛素和空腹乳酸含量变化（ $\bar{X} \pm S$ ）

组别	例数	HOMA-IR	HOMA-β	空腹血糖	空腹胰岛素	空腹乳酸
sCD14 治疗组	22	1.64±0.35**	107±27**	7.16±0.23**	17.35±2.30	4.54±1.11**
sTNFR-P55 治疗组	21	1.74±0.21**	86±16**	7.35±0.33**	16.85±2.86	5.68±0.96**
联合治疗组	23	1.22±0.19*	120±13*	6.02±0.17*	17.36±3.39	3.17±0.87*
治疗对照组	18	1.96±0.15*	68±12*	9.56±0.86*	18.63±2.34*	6.35±0.85*
正常对照组	25	1.11±0.12	130±24	5.10±0.28	13.31±1.71	2.43±0.71

注：与治疗对照组比，* *P* < 0.01；与联合治疗组比，# *P* < 0.01；与正常对照组比，▲ *P* < 0.01。

3 讨论

严重创伤、包括烧（烫）伤存在胰岛素抵抗和胰岛素分

泌功能障碍，导致糖代谢障碍，造成高乳酸血症和高血糖症，不仅是乳酸源性代谢性酸中毒，也是创伤感染难以控制的主要原因。我们结果发现，严重烫伤治疗对照组小鼠明显存在胰岛素抵抗和胰岛素相对血糖分泌不足，以及糖代谢障碍，死亡率达 36%。严重 LPS 血症以及激发的 TNFα 和一氧化氮升高，在烧伤胰岛素抵抗和胰岛素分泌障碍中发挥中心作用^[4-5]。有效抑制 LPS 和 TNFα 的病理作用，是治疗烧（烫）伤糖代谢障碍及其危害的重要措施。

sCD14 和 sTNFR-P55 分别是 LPS 和 TNFα 膜受体胞外区游离结合片段，能与 LPS 和 TNFα 结合，但不能启动膜内信号传导，从而竞争抑制 LPS 和 TNFα 与它们的膜受体的结合，对 LPS 和 TNFα 的病理作用，起到抑制作用。有文献指出，sCD14 和 sTNFR-P55 是体内天然存在的 LPS 和 TNFα 拮抗剂^[6,7]。

我们结果显示，sCD14 和 sTNFR-P55 联合治疗能有效降低严重烫伤小鼠死亡率，无论 sCD14、sTNFR-P55 单纯还是联合治疗，均可以改善 LPS 和 TNFα 所致的胰岛素抵抗和胰岛素分泌障碍以及糖代谢紊乱，且联合治疗效果优于单项治疗。本结果支持 sCD14 和 sTNFR-P55 作为 LPS 和 TNFα 病理浓度条件下的拮抗剂的观点。也有文献报道，sCD14 和 sTNFR-P55 也可以通过与 LPS 和 TNFα 结合，通过延长 LPS 和 TNFα 体内半衰期，并在体内起到转运作用，扩大 LPS 和 TNFα 的病理作用^[8,9]。尽管 sCD14 和 sTNFR-P55 是体内存在的物质毒副作用小，但 sCD14 和 sTNFR-P55 作为药物向临床推广，尚需要进一步研究。

参考文献

[1] 王占科, 冯青青, 柴长春, 等. 创伤失血后多器官功能不全综合征患者 sCD14 相对 LPS 变化及其临床价值 [J]. 中华检验医学杂志, 2004, 27(4): 156

[2] 王占科, 胡新勇, 柴长春, 等. 创伤失血多器官功能不全患者血浆 sTNFR-P55 和 TNFα 摩尔比值变化及临床意义 [J]. 中华现代医药, 2003, (1): 5

[3] Ikeda Y, Suehiro T, Nakamura T, et al. Clinical Significance of the Insulin Resistance Index as Assessed by Homeostasis Model Assessment [J]. Endocrine journal, 2001, 48(1): 81~86

[4] 许霖水, 李强. 内毒素诱导大鼠胰岛细胞凋亡作用 [J]. 中国糖尿病杂志, 2001, 9(2): 101

[5] 柴长春, 胡新勇, 王占科, 等. 严重烧伤小鼠患者 TNF-α、与胰岛素抵抗指数、胰岛素分泌指数和乳酸含量相关性临床分析 [J]. 实用中西医结合临床, 2003, 3(1): 5

[6] Haziot A, Rong GW, Lin XY, et al. Recombinant soluble CD14 prevents mortality in mice treated with endotoxin [J]. J Immunol, 1995, 154: 6 529~6 532

[7] Kwang NK, Shohei W, Yuhe M, et al. Viral IL-10 and soluble TNF receptor act synergistically to inhibit collagen-induced arthritis following adenovirus-mediated gene transfer [J]. J Immunol, 2000, 164: 1 576~1 580

[8] Aderka D, Engelmann H, Maor Y, et al. Stabilization of the bioactivity of TNF by its soluble receptors [J]. J Exp Med, 1992, 175: 323~325

[9] 姚咏明, 于燕, 吴叶, 等. 烧伤后多器官功能障碍综合征患者可溶性脂多糖受体 CD14 的变化 [J]. 中华外科杂志, 1998, 36(11): 668~671

（收稿日期：2004 - 01 - 26）