

有关。

本研究还发现在正常胰腺组织、无转移的胰腺癌原发灶、有转移的胰腺癌原发灶和转移灶中表达水平各不相同,呈递减趋势,差异显著(P 均 <0.01)。表明 KiSS-1 基因随胰腺癌转移的发生及范围的扩大而减少。其中肝转移灶中未检测到 KiSS-1 基因的表达,这与本研究在细胞株中的实验结果相符。提示 KiSS-1 基因低表达可能促进胰腺癌细胞脱离原发灶,发生转移,且 KiSS-1 基因表达缺失与肝转移密切相关。

大量研究表明胰腺癌细胞和间质可表达和分泌多种基质金属蛋白酶(MMPs),其中 MMP-9 与胰腺癌的发生和预后密切相关^[5]。最近的研究表明 KiSS-1 基因可通过降低核转录因子 NF κ B 与 MMP-9 启动子的结合,抑制 MMP-9 基因转录^[6],因此 KiSS-1 基因可能通过与 MMP-9 相互作用参与胰腺癌侵袭和转移的调控。

本研究结果提示 KiSS-1 基因表达降低或缺失与胰腺癌发生及其侵袭和转移密切相关,可能参与胰腺癌发病及其侵袭和转移的调控,为胰腺癌侵袭和转移

的重要的生物学标志,有望成为阻断胰腺癌转移的基因治疗靶点。

参考文献

- 1 Lee JH, Miele ME, Hicks DJ, et al. KiSS-1 a novel human malignant melanomametastasis - suppressor gene. J Natl Cancer Inst, 1996, 88 (23):1731
- 2 Konner J, O'Reilly E. Pancreatic cancer: epidemiology, genetics, and approaches to screening. Oncology(Huntingt), 2002,16(12):1615
- 3 赵玉沛,李秉璐.慢性胰腺炎与胰腺癌的关系及诊治现状与展望.中国普外基础与临床杂志,2003,10(6):521
- 4 Sanchez-Carbayo M, Capodieci P, Cordon-Cardo C. Tumor suppressor role of KiSS-1 in bladder cancer: loss of KiSS-1 expression is associated with bladder cancer progression and clinical outcome. Am J Pathol, 2003,162(2):609
- 5 Bloomston M, Zervos EE, Rosemurgy II AS. Matrix metalloproteinases and their role in pancreatic cancer: a review of preclinical studies and clinical trials. Ann Surg Oncol, 2002,9(7):668
- 6 Yan C, Wang H, Boyd DD. KiSS-1 represses 92-kDa type IV collagenase expression by down-regulating NF-kappa B binding to the promoter as a consequence of Ikappa B-induced block of p65/p50 nuclear translocation. J Biol Chem, 2001,276(2):1164

(收稿日期:2005-01-27 编辑:祝 华)

罗红霉素对实验性心肌梗死的疗效及其抗炎作用

王 湛¹ 黄晓忠² 杨欣国³ 吴贻全¹

¹广东省深圳市罗湖区人民医院心内科(518001);²广东省心血管病研究所(广州 510100);

³第四军医大学唐都医院心内科(西安 710038)

【摘要】 目的 研究罗红霉素对急性心肌梗死(AMI)的治疗作用及其机制,为冠心病防治中罗红霉素进一步应用提供实验依据。方法 将体重 1.5~2.5 kg 的成年兔 24 只随机分为对照组(A组),罗红霉素组(B组)两组,建立急性心梗的模型并给予相应的干预,作术后 6 h 血液学观察,4 d 及 4 周时分别作血液、血清、血流动力学、大体形态测量及组织学的观察。结果 B 与 A 组比较,6 h,4 d 及 4 周时白细胞明显下降($P < 0.05$),一氧化氮(NO)术后 4 d 及 4 周时均无明显差异($P > 0.05$),丙二醛(MDA)、心房利钠肽(ANP)、左室功能测定值(PEP/LVET)、左室舒张末压(LVEDP)均明显下降($P < 0.05$)。术后 4 d 梗死面积明显下降($P < 0.05$),但 4 周时修复后瘢痕的面积无明显差异($P > 0.05$)。4 周时 B 组瘢痕与 A 组比较厚度稍变薄($P < 0.05$)。组织学检查显示 A 组梗死区术后 4 d 心肌结构消失,中性粒细胞大量浸润,B 组白细胞浸润程度与 A 组无明显差异,但 B 组梗死区中有少许心肌残存组织。结论 急性心梗使用罗红霉素后,白细胞计数、炎症指标下降,心功能的好转,梗死面积减少,但对修复后的瘢痕面积影响不大。B 组梗死区修复后瘢痕稍变薄,提示罗红霉素有一定的抗炎作用,为罗红霉素在临床治疗 AMI 提供了实验依据。

【关键词】 罗红霉素 急性心肌梗塞 炎症

急性心肌梗死(AMI)后使用罗红霉素可以产生一定的临床疗效,但其机制未完全阐述清楚。罗红霉素属于广谱抗生素,对革兰阳性菌、支原体、衣原体、立克次体等均有较强的抗菌作用,另外还有一定的抗炎作用,可以抑制在心梗区炎症细胞的活性,而产生某种治疗作用。AMI 发生后,可能伴有病原体的感染,使用罗红霉素可治疗这类感染而减轻全身的炎症反应,对 AMI 有一定益处,但可能不仅如此。罗红霉素的抗炎

作用,本身就能对 AMI 产生治疗效果,但还没有明确的答案。本研究旨在探讨在罗红霉素的抗炎干预下,对 AMI 的疗效及其机制,从而对临床用药提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组 选用健康大耳白兔 24 只(在实验中对照组死亡 6 只,罗红霉素组死亡 1 只,补 7 只,共 31 只),体重 1.5~2.5 kg,雌雄不拘,随机分为二组(每

组12只)①对照组(A组):实验结扎心脏冠状动脉左室支1/2处,普通兔食喂养;②罗红霉素组(B组):首剂罗红霉素5 mg/kg 服用后改为2.5 mg/(kg·d),1 d/次,至4周,拌入食物中晨服。二组兔术后4 d 随机各抽取6只测定指标后处死,取心脏测梗死面积,再放入福尔马林中固定以制作病理标本,剩下6只在术后4周同上处理并测梗死区心肌厚度。

1.2 实验模型制备 将兔称重后,以846合剂(长春农牧大学兽医研究所生产)0.2 ml/kg 肌肉注射麻醉,局部消毒,无菌手术暴露心脏,寻找冠状动脉左室支1/2处,并用3/0无创缝合针结扎,观察心尖部出现颜色变暗,膨出且心电图示ST段抬高后,观察10 min,再关闭胸腔,缝合皮肤,肌注抗生素。

1.3 血液及血清学指标测量 造模术后6 h, 4 d, 4周时从兔耳缘静脉取血20 μl 测白细胞数,4 d及4周从股静脉或处死前从颈动脉取血6,2 ml 加入含抗凝剂及抑肽酶管中混匀,离心后取血清-20℃保存,4 ml 加入含EDTA抗凝剂管中混匀,离心后取血清-20℃保存。最后,用放免法测ANP含量(北免东雅公司试剂盒),化学法测NO,MDA(南京建成试剂盒)。

1.4 左心室功能指标记录和测量 造模术后4 d及4周时,采用无创伤左心室功能测定方法(STI法),即同

步记录兔的心电图,心音图及颈动脉搏动图,测量出Q-S2, LVET(左室射血时间)及PEP(射血前期)间期,计算PEP/LVET的比值来反映左心室功能,当左室功能下降时,该指标升高。同时,对取心脏的兔在取心前经颈动脉插管测LVEDP。

1.5 心肌梗死范围及瘢痕厚度的测量 造模术后4 d及4周时,分别剪下心脏,置于0.5 g/L磷酸缓冲液(pH=7.4)中水浴(37℃)10 min,测定坏死区面积。4周的存活兔,除测梗死范围外,还用游标卡尺测量梗死区修复后的瘢痕厚度。

1.6 光镜标本制作 4 d时分离的心脏测梗死范围后置于中性福尔马林缓冲液中固定,常规包埋,石蜡切片,HE染色后观察。

1.7 统计学方法 采用t检验。

2 结果

2.1 血液及血清学指标 术后6 h及4 d时,B组循环血白细胞计数与A组比较差异有显著性($P < 0.05$)。NO测定值在二组间差异无显著性。术后4 d,反映心室功能的ANP,B组与A组比较有显著差异($P < 0.05$)。4 d及4周时,反映过氧化指标的MDA值在二组间差异无显著性。见表1。

表1 各组白细胞计数,NO,ANP及MDA测定值

分组	白细胞计数($\times 10^9/L$)			NO值($\mu\text{mol/L}$)		ANP($\mu\text{g/L}$)	MDA值($\mu\text{mol/L}$)	
	6 h(n=12)	4 d(n=12)	4周(n=6)	4 d(n=12)	4周(n=12)	(n=12)	4 d(n=12)	4周(n=12)
A组	14.5±2.5	14.1±1.9	14.6±2.7	8.4±3.3	9.7±3.2	240±30	1.98±0.19	1.39±0.19
B组	9.3±1.9	8.6±1.7*	9.0±0.9*	7.4±2.9	13.1±3.2	127±93*	1.68±0.21*	1.13±0.16*

*与对照组比较 $P < 0.05$

2.2 左心室功能 4 d及4周时,两组的PEP/LVET和LVEDP值差异有显著性($P < 0.05$),见表2。

表2 各组PEP/LVET,LVEDP值的比较

分组	PEP/LVET		LVEDP(mmHg)	
	4 d(n=12)	4周(n=6)	4 d(n=12)	4周(n=6)
A组	0.48±0.11	0.47±0.16	6.3±1.6	5.3±1.4
B组	0.28±0.06*	0.24±0.03*	2.8±1.3*	2.6±0.9*

*与对照组比较 $P < 0.05$

2.3 心肌梗死范围及瘢痕厚度 4 d时,B组与A组在梗死面积上差异有显著性($P < 0.05$),4周时差异无显著性。4周时瘢痕厚度B组与A组差异有显著性($P < 0.05$),见表3。

表3 各组心肌梗死面积及瘢痕厚度

分组	n	心肌梗死面积(mm^2)		瘢痕厚度(mm)
		4 d	4周	
A组	6	236±21	159±51	2.2±0.6
B组	6	177±41*	141±39	1.6±0.4*

*与对照组比较 $P < 0.05$

2.4 组织学检查结果 二组梗死区均有白细胞浸润,程度相似。A组梗死区内坏死心肌残存结构已消失,见少量纤维组织,B组梗死区内有少量坏死心肌结构残存。

3 讨论

罗红霉素属于大环内酯类抗生素,抗感染效果好且抗菌谱广。目前,感染性因素如肺炎衣原体(Cp),幽门螺杆菌(Hp)等在动脉粥样硬化及冠心病发生发展中的作用受到关注,并进行了多个不同规模的临床试验,以证实不稳定心绞痛或AMI后使用罗红霉素,阿奇霉素等抗生素后的发病率、病死率情况,有的获得良好临床疗效,有的观察效果不明显。最近的几项抗感染临床研究都肯定了大环内酯类抗生素的疗效。STAMINA研究表明使用阿莫西林或阿奇霉素加奥美拉唑后,对无论有无Cp或Hp感染的急性冠脉综合征(ACS)或AMI患者,治疗1周后都产生了降低1年时的终点事件36%的良好疗效^[1]。以上实验虽对罗红霉素等大环内酯类抗生素的临床疗效未完全定论,但已有的多数资料均证实抗生素治疗AMI的显著疗效。本实验证实

罗红霉素对 AMI 有显著疗效,并可能与其抑炎现象相关。

AMI 发生后,中性粒细胞逐渐向梗死区浸润,2~4 d 达到高峰,尔后逐渐消散,并由纤维组织逐渐取代原梗死区内坏死心肌组织,形成瘢痕修复,一般在 4~6 周时完成。中性粒细胞进入心梗周边区域可阻塞微循环,加重周边区域心肌的缺血缺氧,促使更多的心肌细胞坏死和凋亡,扩大梗死范围。AMI 发生后短时间内打通梗死血管,可形成主干血管通畅,但微循环阻塞的无复流现象,使血管重建效果下降。用去中性粒细胞或抑制白细胞功能的方法可以改善周边区的微循环阻塞,从而能明显减少梗死面积,改善心功能。临床观察发现血液中白细胞下降,会明显减少 AMI 的死亡率也说明了这一点^[2]。

大环内酯类抗生素是一组具有大脂肪族内酯特征结构且抗菌作用相近的抗生素,分为 14,15,16 元环大环内酯类。大环内酯类能不可逆地结合到细菌核糖体 S 亚基上,阻断转肽作用和 mRNA 位移,选择性抑制细菌蛋白质的合成。除了其抗菌作用,大量的文献报道大环内酯类抗生素有独立此作用外的抗炎作用。大环内酯类抗生素能够抑制细胞因子如多形核白细胞产生的 IL-8 等的基因表达^[3],抑制全血中 IL-6 及肿瘤坏死因子- α (TNF- α)的产生,是作用于基因转录的结果。核因子- κ B(NF- κ B)是种重要核转录因子,活化后诱导产生多种炎症介质如血管细胞间黏附分子-1(VCAM-1),IL-1,IL-6,TNF- α 、粒-单核细胞集落刺激因子(GM-CSF)、一氧化氮合酶(NOS)等^[4]。大环内酯类抗生素抑制活性氧介质的产生,并可能通过这种及其他相关机制,抑制 NF- κ B,从而对炎症反应有一定的抑制作用。AMI 后应用大环内酯类抗生素能否改善心梗后的心功能,保存更多的存活心肌,迄今未见报道。本实验的结果可以部分说明这个问题。

AMI 发生后,由于应激反应发生,白细胞数目会很快增多,加强了梗死区及周边区的炎症反应,进一步阻塞微循环,促使更多心肌细胞凋亡,使心功能恶化。服用罗红霉素后,对应激性短期升高的白细胞数呈有下降作用。4 d 及 4 周时,仍处于较低的白细胞水平。对照组一直处于高白细胞水平,且变化不大。

在心功能改善方面,通过 ANP 的测定,PEP/LVET 值及左室舒张末压可以看出,AMI 后 4 d,B 组好于 A 组,且一直保持相近的水平。梗死面积上,急性期 4 d 时 B 组明显小于对照组,这与心功能改善是一致的,但 4 周时瘢痕的面积二者相近。在 AMI 后 4 d 时,白细胞大量浸润坏死心肌及其周边区,未经抗炎干预的 A 组浸润范围最广,所以 NBT 染色后显示的面积最大(无蓝染区),但 B 组则因抗炎干预,使白细胞数下降,且功能

受抑制,浸润周边的范围缩小,故无蓝染区也相应变小。提示罗红霉素应用可以更多地保存存活心肌,有力改善心功能。4 周后,瘢痕组织修复了梗死区坏死心肌,因梗死区是绝对缺血区,而模型制作都是一致的,所以其范围应是一致的。因罗红霉素是弱的抗炎剂,所以对绝对缺血区面积的改善意义并不大。

罗红霉素治疗 AMI 对瘢痕修复有影响。浸润在梗死及其周边区的中性粒细胞对 AMI 后心肌修复有有利影响。中性粒细胞活化后释放其颗粒中的弹性酶,基质金属蛋白酶-9 等,可以水解梗死区蛋白基质,一方面利于中性粒细胞向梗死中心区迁移,一方面激活纤维母细胞并打开进入梗死区的通路,有助修复过程^[5]。一旦中性粒细胞的功能被抑制,其水解酶的释放量就会减少,从而干扰对梗死区的坏死心肌清除速度及随后的组织修复,发生修复不良导致的瘢痕变薄。从病理切片的观察看,A 组的梗死区没有残存的坏死心肌结构,说明中性粒细胞在 AMI 后 4 d 即已清除了梗死区的坏死残留物,修复即已开始,而罗红霉素组因抑制了中性粒细胞的功能,可在 4 d 的梗死区中见到少量的残存坏死心肌结构。这样,在 AMI 4 周可以看到,抑制中性粒细胞的罗红霉素组修复的瘢痕厚度轻度变薄,与对照组相比有显著的差异。

罗红霉素治疗 AMI 产生了明显的疗效,且通过实验证实与可能其抗菌作用无关,而是独立于抗菌作用外的抑制炎症反应的作用。这也说明在冠心病治疗中,大环内酯类抗生素可能可以取得一定疗效,并可能与其抗炎作用有关,但不能排除抗微生物作用所产生的疗效。本研究证实了罗红霉素治疗不改变最终的梗死面积,但会影响梗死区的修复,所以提示罗红霉素治疗作用机制及剂量尚需进一步研究。

参考文献

- 1 Stone FM, Meudall MA, Kaski JC, et al. Effects of treatment for chlamydia pneumoniae and Helicobacter pylori on marks of inflammation and cardiac events in patients with acute coronary syndromes. *Circulation*, 2002, 106: 1219
- 2 Haji-Ali R, Zareba W, Ezzeddine R, et al. Relation of the leukocyte count recurrent cardiac events in stable patients after myocardial infarction. *Am J Cardiol*, 2001, 88(11):1221
- 3 Ohishi K, F Sonoda, S, Kobayashi, et al. Role of interleukin-8 and an inhibitory effect of erythromycin on IL-8 release in the airways of patients with chronic airway disease. *Infect Immun*, 1994, 62: 4145
- 4 Ikonomidis I, Andreotti F, Economou E, et al. Increased proinflammatory cytokines in patients with chronic stable angina and their reduction by aspirin. *Circulation*, 1999, 100:793
- 5 Lindsey M, Wedin K, Brown MD, et al. Matrix dependent mechanisms of neutrophil-mediated release and activation of matrix metalloproteinase 9 in myocardial ischemia/reperfusion. *Circulation*, 2001, 103:2181

(收稿日期:2005-06-09 编辑:吴淑金)