·论著·

小窝蛋白 -1 在脂多糖致肺微血管内皮细胞炎性损伤中的作用探讨

尤青海　张丹　孙耕耘　岳扬　徐秀娟

【摘要】 **目的**　探讨脂多糖(LPS)所致大鼠肺微血管内皮细胞(RPMVEC)炎性损伤中小窝蛋白 -1(Cav-1)的作用机制。**方法**　将体外培养的 RPMVEC,分别进行 LPS 刺激时效实验和蛋白激酶 A(PKA)通路干预实验。①时效实验:以 10 μg/mL LPS 分别刺激 0、1、3、6、12、24 h 后进行细胞单层通透性(伊文思蓝 - 白蛋白法)和 Cav-1 蛋白表达〔蛋白质免疫印迹试验(Western blotting)〕检测;并于 LPS 刺激 0、10、30、60、90、120 min 检测细胞磷酸化小窝蛋白 -1(p-Cav-1)表达(Western blotting)。②干预实验:以 10 μmol/L 蛋白激酶 A 特异抑制剂(PKI)与 RPMVEC 预孵育 30 min 后再加入 10 μg/mL LPS 继续孵育,30 min 后检测 p-Cav-1 表达,3 h 后检测细胞单层通透性及 Cav-1 蛋白表达;设未刺激组和 LPS 或 PKI 单独刺激组为对照。**结果**　①LPS 刺激 RPMVEC 后 1 h Cav-1 蛋白表达(积分 *A* 值)即开始上升(2.97 ± 0.07),3 h 达峰值(3.77 ± 0.37),之后逐渐下降,但至 24 h 时(1.45 ± 0.18)仍明显高于 LPS 刺激 0 h 时(1.12 ± 0.08),组间比较差异有统计学意义(F=178.047,P=0.000);LPS 可呈时间依赖性(0、1、3、6、12、24 h)增加 RPMVEC 通透性(*A* 值),变化趋势与 Cav-1 蛋白表达一致,分别为 (99.67 ± 4.32)%、(118.17 ± 2.32)%、(159.00 ± 2.61)%、(141.17 ± 2.64)%、(120.17 ± 2.79)%、(108.83 ± 2.04)%,组间比较差异有统计学意义(F=345.869,P=0.000)。LPS 亦可呈时间依赖性增加 Cav-1 磷酸化:10 min 时 p-Cav-1 蛋白表达(积分 *A* 值)即开始升高(2.41 ± 0.11),30 min 达高峰(2.83 ± 0.10),然后逐渐下降,120 min 时(1.04 ± 0.04)恢复到基础水平(1.03 ± 0.04),组间比较差异有统计学意义(F=519.417,P=0.000)。②PKI 与 LPS 预孵育可使 Cav-1 表达(积分 *A* 值:5.07 ± 0.22 比 3.81 ± 0.23,P<0.01)及 p-Cav-1 表达(积分 *A* 值:3.93 ± 0.23 比 2.77 ± 0.10,P<0.01)较 LPS 刺激组进一步增加,并破坏 RPMVEC 屏障功能,使 RPMVEC 通透性增加〔(184.17 ± 5.49)%比(151.50 ± 3.08)%,P<0.01〕。**结论**　Cav-1 及其磷酸化表达增加参与 LPS 诱导 RPMVEC 屏障损伤,PKA 信号通路通过调控 Cav-1 蛋白及其磷酸化表达参与 LPS 对 RPMVEC 的致损效应。

【关键词】 小窝蛋白 -1;　脂多糖;　肺微血管内皮细胞;　细胞单层通透性;　蛋白激酶 A;　大鼠

Role of caveolin-1 in pulmonary microvascular endothelial cells injury induced by lipopolysaccharide in rat

YOU Qing-hai, ZHANG Dan, SUN Geng-yun, YUE Yang, XU Xiu-juan. Department of Respiratory Medicine, the First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022, Anhui, China
Corresponding author: SUN Geng-yun, Email: sungengyun@tom.com

【**Abstract**】 **Objective**　To investigate the role of caveolin-1 (Cav-1) in the modulation of rat pulmonary microvascular endothelial cells (RPMVEC) injury induced by lipopolysaccharide (LPS). **Methods**　Cultured RPMVEC were randomly divided into time-dependent injury group induced by LPS and intervention group in which cells were pretreated by protein kinase A inhibitor (PKI). In the time-dependent injury group, monolayers of cells were constructed to determine permeability changes after 10 μg/mL LPS challenge for 0, 1, 3, 6, 12 and 24 hours with the method of Evans blue-labeled albumin flux across the monolayer (Pd). Western blotting was used to determine the Cav-1 expression after LPS stimulation and the phosphorylation-Cav-1 (p-Cav-1) expression after LPS challenge for 0, 10, 30, 60, 90, 120 minutes. In the intervention group, after pre-treatment with 10 μmol/L PKI for 30 minutes, RPMVECs were challenged with 10 μg/mL LPS, and the expression of p-Cav-1 was determined 30 minutes after LPS challenge, the permeability and the Cav-1 protein expression were assessed by Pd and Western blotting, respectively. Non-stimulation group and single PKI simulation group served as controls. **Results**　Western blotting revealed that the expression of Cav-1 protein was elevated at 1 hour (2.97 ± 0.07), peaking at 3 hours (3.77 ± 0.37), then it lowered gradually, but it was still higher at 24 hours (1.45 ± 0.18) when compared with 0 hour group (1.12 ± 0.08) with significant differences (F=178.047, P=0.000). After RPMVEC monolayers were challenged by LPS for different periods (0, 1, 3, 6, 12 and 24 hours), there were significant increases in a time-dependent manner in Cav-1 expression in the permeability as measured by Pd 〔(99.67 ± 4.32)%, (118.17 ± 2.32)%, (159.00 ± 2.61)%, (141.17 ± 2.64)%, (120.17 ± 2.79)% and (108.83 ± 2.04)%, F=345.869, P=0.000〕 which was similar to the changes in Cav-1 expression. LPS also increased Cav-1 phosphorylation in a time-dependent manner occurring at

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2013.12.002
基金项目:国家自然科学基金(81100053,81070054)
作者单位:230022 合肥,安徽医科大学第一附属医院呼吸内科　通信作者:孙耕耘,Email:sungengyun@tom.com

10 minutes (2.41 ± 0.11), peaking at 30 minutes (2.83 ± 0.10), and then it decreased gradually, finally returned to basal levels (1.03 ± 0.04) at 120 minutes (1.04 ± 0.04) after LPS treatment with significant difference (F=519.417, P=0.000). When PKI was pre-treated with RPMVEC the expression of Cav-1 was significantly increased (5.07 ± 0.22 vs. 3.81 ± 0.23, P<0.01), and p-Cav-1 (3.93 ± 0.23 vs. 2.77 ± 0.10, P<0.01), and RPMVEC monolayers permeability was enhanced [(184.17 ± 5.49)% vs. (151.50 ± 3.08)%, P<0.01] after being challenged. **Conclusion** Up-regulated expression of Cav-1 and phosphorylation-Cav-1 that may be modulated by protein kinase A signal pathway plays an important role in RPMVEC permeability injury as induced by LPS.

【Key words】 Caveolin-1; Lipopolysaccharide; Pulmonary microvascular endothelial cell; Cell monolayer permeability; Protein kinase A; Rat

肺微血管内皮细胞(PMVEC)衬附于血管内表面,作为调节液体和溶质流动的动态屏障,在炎症过程中最先被炎症因子攻击,导致屏障功能受损,通透性增加,进而诱发肺水肿和组织损伤,严重时可致急性呼吸窘迫综合征(ARDS)[1]。小窝蛋白-1(Cav-1)是细胞膜表面小窝结构的主要调节蛋白,具有调控信号转导、介导白蛋白内吞以及跨细胞运输等多种功能,与 ARDS 发病机制密切相关[2]。在 ARDS 的 PMVEC 损伤过程中,Cav-1 表达变化是否参与其发病机制尚未见报道。本研究通过建立脂多糖(LPS)致大鼠肺微血管内皮细胞(RPMVEC)损伤模型,研究细胞通透性改变与 Cav-1 表达量及磷酸化之间的关系,探讨 Cav-1 在 ARDS 发病机制中的作用。

1　材料与方法

1.1　试剂及仪器:DMEM 高糖培养基干粉及胎牛血清(美国 Hyclone 公司),兔抗鼠 Cav-1 多克隆抗体(多抗)、兔抗鼠磷酸化小窝蛋白-1(p-Cav-1)多抗(美国 Abcam 公司),辣根过氧化物酶(HRP)标记的羊抗兔 IgG(武汉博士德生物工程有限公司),RIPA 裂解液(北京索莱宝科技有限公司),电化学发光(ECL)底物试剂盒(美国 Pierce 公司),白蛋白(美国 Sigma 公司),蛋白激酶 A(PKA)特异抑制剂(PKI,美国 Promega 公司),Transwell 小室(美国 Corning 公司);其余试剂为国产分析纯。

1.2　RPMVEC 分离培养与鉴定:健康 SPF 级雄性 SD 大鼠,体质量 100～120 g,购自安徽省实验动物中心〔合格证号:SCXK(皖)2011-002〕。参照本实验室前期建立的方法分离并培养 RPMVEC[3-4],结合显微镜下"铺路石样"排列的典型形态学特征以及Ⅷ因子相关抗原和异硫氰酸荧光素标记的异植物凝集素结合试验阳性进行 RPMVEC 鉴定。

1.3　实验分组和处理:用分离培养的 2 代 RPMVEC 分别进行 LPS 刺激时效实验和 PKA 通路干预实验。

1.3.1　时效实验:以 10 μg/mL LPS 分别刺激细胞 0、1、3、6、12 和 24 h 后进行细胞单层通透性和 Cav-1 蛋白表达检测;以 10 μg/mL LPS 刺激细胞 0、10、30、60、90 和 120 min 后进行 p-Cav-1 检测。

1.3.2　干预实验:10 μmol/L PKI 与 RPMVEC 预孵育 30 min 后加入 10 μg/mL LPS 继续孵育,30 min 后检测 p-Cav-1,3 h 后检测细胞单层通透性及 Cav-1 蛋白;设未刺激组和 LPS 或 PKI 单独刺激组为对照。

1.4　RPMVEC 单层通透性检测:参照文献[4]介绍的伊文思蓝-白蛋白法略加改进检测 RPMVEC 通透性。用磷酸盐缓冲液(PBS)充分漂洗含 RPMVEC 单层的 Transwell 小室 3 次,上室加入含 4%白蛋白液、终浓度为 0.67 mg/mL 伊文思蓝-白蛋白 100 μL,下室加入 4%白蛋白液 600 μL,37 ℃、5%CO_2 孵箱中孵育 1 h,从下室提取样品,用全自动酶标仪检测 620 nm 波长处吸光度(A)值。以测量 A 值与相应静息状态 A 值的比值×100%评估 RPMVEC 通透性。

1.5　RPMVEC 蛋白检测:采用蛋白质免疫印迹试验(Western blotting)检测细胞蛋白表达。采用 RIPA 裂解液裂解 RPMVEC 后,12 000 × g、4 ℃离心 10 min,留取上清。参照 BCA 检测试剂盒将上清蛋白调节至 2 mg/mL。以 12%分离胶和 5%积层胶进行蛋白电泳,蛋白转至硝酸纤维素膜上,用含吐温 20 的磷酸盐缓冲液(PBS-T 溶液)封闭,兔抗鼠 Cav-1(稀释浓度 1∶1 000)、p-Cav-1 多抗(稀释浓度 1∶500)4 ℃孵育过夜,HRP 标记的羊抗兔 IgG 溶液(稀释浓度 1∶20 000)室温孵育 1 h,ECL 法显影,扫描仪扫描存盘,Bio-Rad Quantity One 软件分析,以测定目的蛋白与内参三磷酸甘油醛脱氢酶(GAPDH)的积分 A 值比值衡量蛋白的相对表达量。

1.6　统计学处理:采用 SPSS 13.0 软件进行统计学分析,计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,单因素方差分析用于多组变量间比较,两两比较采用 t 检验,P<0.05 为差异具有统计学意义。

2　结　果

2.1　时效实验

2.1.1　LPS 刺激对 RPMVEC 通透性的影响(表 1):细胞单层通透性检测发现,LPS 可呈时间依赖性地增加 RPMVEC 通透性,表现为 LPS 刺激 1 h 后开始

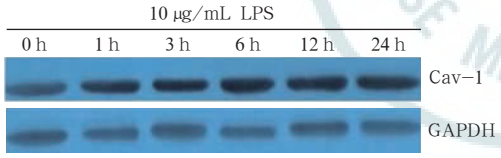
增高，3 h 达峰值，之后逐渐下降，至 24 h 细胞通透性仍明显高于 0 h 时，组间比较差异有统计学意义（F=345.869，P=0.000）。

表 1　LPS 刺激不同时间点 RPMVEC 单层通透性及 Cav-1 蛋白表达的变化（$\bar{x} \pm s$）

组别	样本数	单层通透性（%，A 值）	Cav-1 蛋白（积分 A 值）
LPS 刺激 0 h 组	6	99.67 ± 4.32	1.12 ± 0.08
LPS 刺激 1 h 组	6	118.17 ± 2.32[a]	2.97 ± 0.07[a]
LPS 刺激 3 h 组	6	159.00 ± 2.61[a]	3.77 ± 0.37[a]
LPS 刺激 6 h 组	6	141.17 ± 2.64[ab]	3.00 ± 0.12[ab]
LPS 刺激 12 h 组	6	120.17 ± 2.79[ab]	2.46 ± 0.09[ab]
LPS 刺激 24 h 组	6	108.83 ± 2.04[ab]	1.45 ± 0.18[ab]
F 值		345.869	178.047
P 值		0.000	0.000

注：LPS 为脂多糖，RPMVEC 为大鼠肺微血管内皮细胞，Cav-1 为小窝蛋白 -1；与 LPS 刺激 0 h 组比较，[a]P<0.05；与 LPS 刺激 3 h 组比较，[b]P<0.05

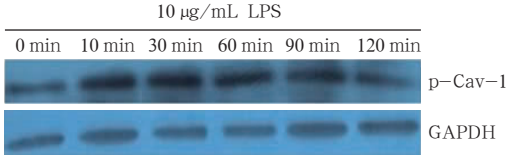
2.1.2　LPS 诱导 RPMVEC 表达 Cav-1（表 1；图 1）：LPS 未刺激时 RPMVEC 即低量表达 Cav-1 蛋白，LPS 刺激 1 h Cav-1 表达增高，3 h 达峰值，随后逐渐下降，24 h Cav-1 表达水平仍明显高于 0 h 时，组间比较差异有统计学意义（F=178.047，P=0.000）。



LPS 为脂多糖，RPMVEC 为大鼠肺微血管内皮细胞，Cav-1 为小窝蛋白 -1，GAPDH 为三磷酸甘油醛脱氢酶

图 1　蛋白质免疫印迹试验（Western blotting）检测 LPS 刺激不同时间点 RPMVEC 的 Cav-1 蛋白表达

2.1.3　LPS 诱导 RPMVEC 表达 p-Cav-1（图 2；表 2）：LPS 可呈时间依赖性地增加 Cav-1 氨基端第 14 位酪氨酸磷酸化，表现为 LPS 刺激后 10 min p-Cav-1 表达即明显升高，30 min 达高峰，然后逐渐下降，至 120 min 时恢复至基础水平（P=0.806），组间比较差异有统计学意义（F =519.417，P=0.000）。



LPS 为脂多糖，RPMVEC 为大鼠肺微血管内皮细胞，p-Cav-1 为磷酸化小窝蛋白 -1，GAPDH 为三磷酸甘油醛脱氢酶

图 2　蛋白质免疫印迹试验（Western blotting）检测 LPS 刺激不同时间点 RPMVEC 的 p-Cav-1 表达

表 2　LPS 刺激不同时间点 RPMVEC p-Cav-1 蛋白表达的变化（$\bar{x} \pm s$）

组别	样本数	p-Cav-1 蛋白（积分 A 值）
LPS 刺激 0 min 组	6	1.03 ± 0.04
LPS 刺激 10 min 组	6	2.41 ± 0.11[a]
LPS 刺激 30 min 组	6	2.83 ± 0.10[a]
LPS 刺激 60 min 组	6	1.51 ± 0.12[ab]
LPS 刺激 90 min 组	6	1.28 ± 0.04[ab]
LPS 刺激 120 min 组	6	1.04 ± 0.04[b]
F 值		519.417
P 值		0.000

注：LPS 为脂多糖，RPMVEC 为大鼠肺微血管内皮细胞，p-Cav-1 为磷酸化小窝蛋白 -1；与 LPS 刺激 0 min 组比较，[a]P<0.05；与 LPS 刺激 30 min 组比较，[b]P<0.05

2.2　干预实验

2.2.1　PKI 对 LPS 诱导 RPMVEC 通透性及 Cav-1 表达的影响（图 3；表 3）：LPS或 PKI 单独刺激均能诱导 RPMVEC 通透性及 Cav-1 表达量增加，较未刺激组比较差异有统计学意义（均 P<0.01）；将 PKI 与 LPS 共同刺激能明显提高 RPMVEC 通透性和 Cav-1 表达量，与 LPS 刺激组比较差异均具有统计学意义（均 P<0.01）。

PKI 为蛋白激酶 A 特异抑制剂，LPS 为脂多糖，RPMVEC 为大鼠肺微血管内皮细胞，Cav-1 为小窝蛋白 -1，GAPDH 为三磷酸甘油醛脱氢酶

图 3　蛋白质免疫印迹试验（Western blotting）检测 PKI 对 LPS 诱导 RPMVEC 表达 Cav-1 的影响

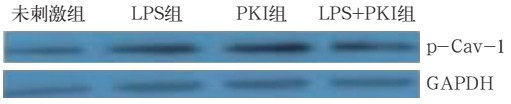
表 3　PKI 对 LPS 刺激 RPMVEC 单层通透性、Cav-1 及 p-Cav-1 蛋白表达的影响（$\bar{x} \pm s$）

组别	样本数	单层通透性（%，A 值）	Cav-1 蛋白（积分 A 值）	p-Cav-1 蛋白（积分 A 值）
未刺激组	6	98.67 ± 2.16	1.11 ± 0.04	1.02 ± 0.03
LPS 刺激组	6	151.50 ± 3.08[a]	3.81 ± 0.23[a]	2.77 ± 0.10[a]
PKI 刺激组	6	134.33 ± 4.50[a]	3.11 ± 0.56[a]	2.40 ± 0.08[a]
LPS+PKI 刺激组	6	184.17 ± 5.49[ab]	5.07 ± 0.22[ab]	3.93 ± 0.23[ab]
F 值		471.173	158.640	326.772
P 值		0.000	0.000	0.000

注：PKI 为蛋白激酶 A 特异抑制剂，LPS 为脂多糖，RPMVEC 为大鼠肺微血管内皮细胞，Cav-1 为小窝蛋白 -1，p-Cav-1 为磷酸化小窝蛋白 -1；与未刺激组比较，[a]P<0.01；与 LPS 刺激组比较，[b]P<0.01

2.2.2　PKI 对 LPS 诱导 RPMVEC p-Cav-1 表达的影响（表 3；图 4）：LPS 或 PKI 单独刺激均能诱导 RPMVEC p-Cav-1 表达增加，与未刺激组比较差异均有统计学意义（均 P<0.01）；将 PKI 与 LPS 共同

刺激能明显提高 RPMVEC 的 p-Cav-1 表达量，与 LPS 刺激组比较差异具有统计学意义（$P<0.01$）。



PKI 为蛋白激酶 A 特异抑制剂，LPS 为脂多糖，RPMVEC 为大鼠肺微血管内皮细胞，p-Cav-1 为磷酸化小窝蛋白 -1，GAPDH 为三磷酸甘油醛脱氢酶

图 4　蛋白质免疫印迹试验（Western blotting）检测 PKI 对 LPS 诱导 RPMVEC 表达 p-Cav-1 的影响

3　讨　论

Cav 是细胞膜表面小窝的脚手架蛋白，广泛表达于肺泡上皮细胞、内皮细胞和平滑肌细胞。研究发现：高氧和 LPS 诱导的急性肺损伤（ALI）大鼠肺组织中 Cav-1 表达呈持续性减少[5-6]；Cav-1 表达减少或缺失能够显著抑制肺组织中性粒细胞趋化、黏附和上皮细胞 / 内皮细胞凋亡，减轻弥漫性肺泡损伤、肺血管内皮屏障损伤及肺水肿程度[7-10]。Cav-1 过度表达可促进Ⅰ型肺泡上皮细胞释放炎症因子，激活细胞内信号转导通路，加重炎症反应和 LPS 诱导的细胞损伤[11]。另外，Cav-1 及其相关信号通路在机械通气中的表达参与了呼吸机相关性肺损伤的发生[12]；而李阳等[13]发现在机械通气的不同时间段，肺组织 Cav-1 表达水平明显不同，表现为先增高后降低，提示肺组织 Cav-1 高表达对呼吸机相关性肺损伤起一定保护作用，大潮气量机械通气可通过抑制肺组织 Cav-1 表达诱发和加重肺组织损伤。由此可见，Cav-1 可通过多种机制参与 ARDS 发病过程。

血管内皮屏障功能的调控机制在研究 ARDS 时备受关注，PMVEC 通透性增加是 ARDS 发生的病理生理基础。研究证实，LPS 可诱导 PMVEC 炎性损伤及通透性增加[14-17]，使用小干扰 RNA 特异性敲除 Cav-1 可以显著抑制 LPS 所致 PMVEC 通透性的增加[5,18-19]，但 PMVEC 屏障功能损伤中 Cav-1 是否通过改变其表达量参与发病机制尚不明确。本实验发现 LPS 呈时间依赖方式增加 Cav-1 表达，与 LPS 所致 RPMVEC 通透性增加的时间趋势基本一致，提示 Cav-1 参与 LPS 致 PMVEC 炎性损伤，其表达量的变化与 PMVEC 炎性损伤密切相关。

研究证实：p-Cav-1 是介导氧化应激致肺血管跨细胞通透性增加和细胞旁通透性增加的共同信号机制[8,19]。在 PMVEC 炎性损伤中，LPS 能否促进 Cav-1 磷酸化呢？本研究发现，LPS 可呈时间依赖性增加 Cav-1 磷酸化，LPS 刺激 10 min 后 p-Cav-1 开始升高，30 min 达高峰，然后缓慢下降，120 min 降至基础水平，与 Sun 等[8]研究结果一致，提示 p-Cav-1 表达增加可能参与 LPS 致 PMVEC 炎性损伤。

环磷酸腺苷（cAMP）-PKA 通路是细胞内重要的信号转导通路，能够增强和修复血管内皮屏障功能，在 LPS 致 PMVEC 屏障损伤中起到保护作用[20]。研究表明 PKA 通路定位于胞膜小窝处，Cav-1 通过与 PKA 催化亚基相互作用参与 cAMP-PKA 信号转导[21]，但 PKA 通路是否通过调控 Cav-1 及其磷酸化参与内皮细胞损伤的保护作用尚未见报道。本研究发现，PKI 可显著上调 LPS 诱导的 RPMVEC 通透性增加及 Cav-1、p-Cav-1 表达增加，因此推测 PKA 信号通路所具有的保护作用可能是通过抑制 LPS 上调 RPMVEC 表达 Cav-1 及 p-Cav-1 途径实现。

综上，本研究表明，LPS 诱导 RPMVEC 过表达 Cav-1 与 RPMVEC 屏障损伤密切相关，从而进一步证实文献关于 Cav-1 通过参与跨膜细胞转运调控血管内皮通透性的观点，说明 PKA 通路调控 PMVEC 表达 Cav-1 及其磷酸化可能参与了 PMVEC 炎性损伤[22]。Cav-1 在调控 LPS 致 PMVEC 通透性增加中的具体信号机制仍不明确，相关研究有待于深入。

参考文献

[1] Catravas JD, Snead C, Dimitropoulou C, et al. Harvesting, identification and barrier function of human lung microvascular endothelial cells. Vascul Pharmacol, 2010, 52: 175-181.
[2] Jin Y, Lee SJ, Minshall RD, et al. Caveolin-1: a critical regulator of lung injury. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2011, 300: L151-160.
[3] 陈珊，孙耕耘，尤青海，等. 血小板活化因子诱导大鼠肺微血管内皮细胞 Src 抑制的蛋白激酶 C 底物基因表达. 中国危重病急救医学，2010，22：135-138.
[4] 尤青海，高磊，岳扬，等. 大鼠肺微血管内皮细胞通透系数检测的方法. 中国危重病急救医学，2011，23：547-550.
[5] 党嘉文，孙鸿燕，董文斌，等. 高氧肺损伤形成过程中小窝蛋白 -1、TGF-β1 表达关系的体内外研究. 重庆医学，2013，42：2067-2070.
[6] 张丹，尤青海，孙耕耘，等. 脂多糖诱导急性肺损伤大鼠肺组织小窝蛋白 -1 的变化. 中国急救医学，2013，33：67-70.
[7] Farley KS, Wang L, Mehta S. Septic pulmonary microvascular endothelial cell injury: role of alveolar macrophage NADPH oxidase. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2009, 296: L480-488.
[8] Sun Y, Hu G, Zhang X, et al. Phosphorylation of caveolin-1 regulates oxidant-induced pulmonary vascular permeability via paracellular and transcellular pathways. Circ Res, 2009, 105: 676-685.
[9] Gao C, Li R, Huan J, et al. Caveolin-1 siRNA increases the pulmonary microvascular and alveolar epithelial permeability in rats. J Trauma, 2011, 70: 210-219.
[10] Zhang M, Lin L, Lee SJ, et al. Deletion of caveolin-1 protects hyperoxia-induced apoptosis via survivin-mediated pathways. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2009, 297: L945-953.
[11] Hu G, Ye RD, Dinauer MC, et al. Neutrophil caveolin-1 expression contributes to mechanism of lung inflammation and injury. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2008, 294: L178-186.
[12] 林梵，肖军，张琛涛. 不同潮气量机械通气对大鼠肺小窝蛋

白 -1 及其相关信号链酶表达的影响. 中华危重病急救医学, 2013, 25: 154-158.
[13] 李阳, 张新日, 陈丽丽. 小窝蛋白 -1 在大潮气量机械通气大鼠肺组织中的表达. 国际呼吸杂志 , 2013, 33: 881-884.
[14] Lv XJ, Li YY, Zhang YJ, et al. Over-expression of caveolin-1 aggravate LPS-induced inflammatory response in AT-1 cells via up-regulation of cPLA2/p38 MAPK. Inflamm Res, 2010, 59: 531-541.
[15] Zhang H, Sun GY. LPS induces permeability injury in lung microvascular endothelium via AT_1 receptor. Arch Biochem Biophys, 2005, 441: 75-83.
[16] 李旭, 张晓娟, 马晓春. 肝素对脂多糖诱导内皮细胞损伤中基质金属蛋白酶及其组织抑制剂基因表达的影响. 中国危重病急救医学, 2012, 24: 490-492.
[17] 刘秀娟, 穆恩, 梁英健, 等. 高糖培养脂多糖刺激下肺脏微血管内皮细胞通透性改变及 DDAH/NOS/NO 失平衡在其发生机制中的作用. 中华危重病急救医学, 2013, 25: 140-144.
[18] 徐淑凤, 王平, 梁志欣, 等. 脂多糖诱导肺微血管内皮细胞炎性损伤机制的探讨. 中华结核和呼吸杂志, 2011, 34: 816-820.
[19] Tiruppathi C, Shimizu J, Miyawaki-Shimizu K, et al. Role of NF-kappaB-dependent caveolin-1 expression in the mechanism of increased endothelial permeability induced by lipopolysaccharide. J Biol Chem, 2008, 283: 4210-4218.
[20] Hu G, Vogel SM, Schwartz DE, et al. Intercellular adhesion molecule-1-dependent neutrophil adhesion to endothelial cells induces caveolae-mediated pulmonary vascular hyperpermeability. Circ Res, 2008, 102: e120-131.
[21] Bogatcheva NV, Zemskova MA, Kovalenkov Y, et al. Molecular mechanisms mediating protective effect of cAMP on lipopolysaccharide (LPS) - induced human lung microvascular endothelial cells (HLMVEC) hyperpermeability. J Cell Physiol, 2009, 221: 750-759.
[22] 王立军, 胡国昌. Caveolae 介导的跨细胞转运与血管内皮通透性. 国际麻醉学与复苏杂志, 2010, 31: 60-62, 15.

（收稿日期：2013-07-01）
（本文编辑：李银平）

·经验交流·

嗜铬细胞瘤致高血压危象并发消化道出血的急救与护理

赵园媛

嗜铬细胞瘤能够分泌儿茶酚胺，患者可因血压升高造成心、脑、肾血管的损害，甚至可因高血压危象发作而危及生命[1]。2013 年 2 月本科收治 1 例误诊为原发性高血压的嗜铬细胞瘤患者，现就其住院期间的急救与护理经过报告如下。

1　临床资料

患者男性，65 岁，因阵发胸闷、憋气伴头晕、恶心、心悸入院，既往有高血压史 20 年，未规律治疗，患者入院时血压 170/100 mm Hg（1 mm Hg=0.133 kPa），心率 90 次 /min，律齐，立即遵医嘱给予降压、扩张冠状动脉（冠脉）、抗凝等治疗。入院后患者胸痛频繁发作，行冠脉造影 + 冠脉介入治疗术（PCI），于前降支中段病变处置入 2 枚支架。术中血压升至 190/110 mm Hg，同时伴面色苍白、大汗淋漓，遵医嘱给患者含服卡托普利、静脉泵入压宁定后血压降至正常；术后血压在 105/75 ~ 220/130 mm Hg，心率 100 ~ 120 次 /min，伴憋气、剑突下不适。术后 8 h 患者突然呕吐暗红色液体 200 mL，伴面色苍白、大汗，考虑上消化道出血，经胃管注入凝血酶、冰 0.9% 氯化钠溶液洗胃，同时禁食水、胃肠减压、洛赛克抑酸及保护胃黏膜等治疗，情况好转，术后 6 d 病情基本稳定。根据患者血压波动大、交感神经功能亢进等表现，结合实验室检查结果，诊断为嗜铬细胞瘤，转入泌尿外科进行相关手术。

2　急救护理的注意事项

2.1　保持呼吸道通畅：抬高患者床头 15° ~ 30°，及时清理呼吸道分泌物，吸氧，必要时及早行气管切开。

2.2　预见性护理：有文献报道，部分患者消化道大出血前 3 d 的脉搏明显增快，此现象早于其他症状如胃部不适、头晕、心悸等出现[2]。由于该患者有再次呕血危险，护士应增强预见意识，采取护理措施，术后 24 h 心电监护，监测患者脉搏、血压、心率、呼吸、意识、皮温、血氧饱和度等，记录尿量、呕吐物、大便情况，做好抢救准备。切不可随意停用或间断服用降压药，以免发生因不合理用药导致的高血压危象[3]。

2.3　并发症的观察与护理：①高血压患者血管张力大，包扎后针眼愈合不好易发生渗血造成皮下血肿，应予以高度关注。② PCI 治疗可造成血管内膜损伤，或因穿刺部位包扎过紧、压迫过重使肢体缺血，引起动脉血栓形成或栓塞，需密切观察患者术肢远端动脉搏动及皮温，询问有无肢体麻木、疼痛等。③护理操作检查时应避免刺激肿瘤区，排尿时一定要有家属或护士监护，防止在排尿中突然发生高血压危象，以便及早发现和处理[4]。

2.4　转科指导：做好转科前宣教，告知患者药物服用方法、注意事项及出院后可能出现的情况；指导患者调整膳食，以清淡、易消化、低盐、低脂、低胆固醇饮食为主，保持大便通畅；戒烟戒酒，保持愉快心情，适当进行体力活动，如打太极拳、八段锦等[5]。控制心血管疾病危险因素，定期复诊。

参考文献

[1] 吴阶平. 吴阶平泌尿外科学. 北京：人民卫生出版社, 2005: 1689-1690.
[2] 王烁, 潘世芬, 李春盛. 8 例 SARS 合并上消化道出血患者的临床特点分析. 中国危重病急救医学, 2004, 16: 595.
[3] 胡大一. 高血压急症——新认识与临床实践. 中国危重病急救医学, 2003, 15: 516-518.
[4] Jemec GB, Martins L, Claessens I, et al. Assessing peristomal skin changes in ostomy patients: validation of the Ostomy Skin Tool. Br J Dermatol, 2011, 164: 330-335.
[5] 陶丽丽, 马晓昌. 原发性高血压中医辨证分型的研究进展. 中国中西医结合急救杂志, 2008, 15: 190-192.

（收稿日期：2013-10-18）
（本文编辑：李银平）

DOI: 10.3760/cma. j. issn.2095-4352. 2013. 12.003

作者单位：300192 天津市第一中心医院心内科