性瘫痪儿童运动功能的改善与评价[J]. 中国临床康复, 2002, 6(7): 954, 957.
[3] PEURUNEN K, SIVENIUS J, *et al*. Influence of enriched environment on spatial learning following cerebral insult[J]. Rev Neurosci, 2002, 13(4): 347-364.
[4] LI H, DOKAS L A, GODFREY D A, *et al*. Remodeling of synaptic connections in the deafferented vestibular nuclear complex[J]. J Vestib Res, 2003, 12(4): 167-183.
[5] ENGINEER N D, PERCACCIO C R, PANDA P K, *et al*. Environmental enrichment improves response strength, threshold, selectivity, and latency of auditory cortex neurons[J]. J Neurophysiol, 2004, 92(1): 73-82.
[6] WHITE-TRAUT R C, NELSON M N, SILVESTRI J M, *et al*. Developmental patterns of physiological response to a multisensory intervention in extremely premature and high-risk infants[J]. J Obstet Gynecol Neonatal Nurs, 2004, 33(2): 266-275.
[7] RAINE A, MELLINGEN K, LIU J, *et al*. Effects of environmental enrichment at ages 3-5 years on schizotypal personality and antisocial behavior at ages 17 and 23 years[J]. Am J Psychiatry, 2003, 160(9): 1627-1635.
[8] WHITE-TRAUT R C, NELSON M N, SILVESTRI J M, *et al*. Effect of auditory, tactile, visual, and vestibular intervention on length of stay, alertness, and feeding progression in preterm infants[J]. Dev Med Child Neurol, 2002, 44(2): 91-97.
[9] OLDS D. Progress in improving the development of low birth weight newborns[J]. Pediatrics, 2006, 117(3): 940-941.

(编辑 王 红)

文章编号:1000-5404(2006)17-1813-01

个案与短篇

肝再生增强因子重组质粒在大鼠肝组织中的表达

李 青,刘殿武,何海艳,肖永红,刘英丽 (河北医科大学流行病学教研室,石家庄 050017)

肝再生增强因子(augmenter of liver regeneration, ALR)是一种具有热稳定性的肝细胞增殖刺激因子,无论内源性还是外源性的ALR都对肝细胞增殖有促进作用[1]。本研究将pcDNA3-ALR重组质粒用于免疫性肝纤维化大鼠,以了解在肝组织受到损伤后内源性ALR表达增加的基础上外源性ALR的表达效果,为ALR的基因治疗及深入研究进行准备。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 质粒及载体 ALR重组质粒pcDNA3-ALR由本实验室构建[2]。

1.1.2 抗重组人ALR单克隆抗体(McAb,一抗)由华北制药集团焦艳晴等[3]惠赠。

1.1.3 主要试剂及设备 RT-PCR酶混合物试剂盒由洛阳华美生物工程公司提供;多功能细胞图像分析管理系统由Media Cybernetic公司生产;凝胶图像分析系统由北京赛智创业科技有限公司生产。

1.2 方法

1.2.1 动物模型制备及分组 健康雄性Wistar大鼠40只,随机取10只为正常对照组(control, C),余30只大鼠参照黄志刚等[4]采用猪血清腹腔注射的方法制备免疫性肝纤维化模型。成模大鼠随机分为3个组:ALR重组质粒处理组(ALR),10只,ALR重组质粒200 μg/kg·只$^{-1}$,每周1次尾静脉注射,连续4周;pcDNA3空质粒组(empty pcDNA3, E),9只,pcDNA3空质粒尾静脉注射、用量、次数同ALR组;肝纤维化模型组(Model, M),9只,生理盐水尾静脉注射、用量、次数同ALR组。

1.2.2 检测指标 免疫组织化学和Western blot检测肝组织ALR的表达,一抗使用的是抗重组人ALR单克隆抗体。

1.2.3 RT-PCR检测肝组织ALR mRNA的表达 提取肝组织总RNA,以SP6和T7作引物用RT-PCR酶混合物试剂盒直接反转录并进行PCR扩增。

1.3 统计学处理方法

计量资料以$\bar{x} \pm s$表示。所有数据均利用SPSS 11.5软件包分析行t检验。

2 结果

2.1 免疫组化测定肝组织ALR的表达

所有4个组的大鼠肝组织均有ALR的表达,以正常组表达最弱,ALR处理组表达最强。图像分析细胞阳性染色的积分光密度值(OD值)结果见表1。

表1 免疫组化和Western blotting测定肝组织中ALR蛋白的表达($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	免疫组化OD值	Western blotting OD值
C	10	0.109±0.01	28 539.86±6 289.72
M	9	0.159±0.02^{b}	39 557.71±11 611.04^{a}
E	9	0.161±0.03^{b}	40 400.57±7 568.31^{a}
ALR	10	0.198±0.04^{bcd}	54 447.00±12 730.13^{bcd}

a: $P<0.05$, b: $P<0.01$,与正常组比较; c: $P<0.05$,与模型组比较; d: $P<0.05$,与质粒组比较

(下转1816页)

基金项目:河北省自然科学基金资助项目(302489)
Supported by the Natural Science Foundation of Hebei Province(302489)
作者简介:李 青(1965-),男,河北省藁城市人,博士,主任医师,主要从事肝纤维化的基因治疗方面的研究,发表论文9篇。电话:(0311)87887103,E-mail: liqing65@tom.com
通讯作者:刘殿武,电话:(0311)86265531 E-mail: liudianw@hebmu.edu.cn
收稿日期:2005-04-14;修回日期:2005-09-10

力等，以上症状于术后2周内基本恢复正常，未对患者的功能造成影响。仅有1例单侧视野缺损和1例嗅觉减退，但对日常生活没有严重影响，未发生严重的远期并发症。值得提出的是，术后一侧肢体肌力下降的6例患者，均发生在全麻下行Forel-H区毁损。Forel-H区坐标：X=8 mm，Y=-4 mm，Z=-4 mm，距离内囊后肢较近，在个体差异及术中脑脊液外流等因素的共同影响下，可能造成术后内囊后肢水肿、缺血甚至破坏，影响对侧肢体活动功能。本组6例患者肢体肌力下降虽然最终恢复，但仍应引起警惕。对于Forel-H区的毁损比较可行的方法是在局麻下电生理测试后进行[9]，但是大多数难治性癫痫性精神障碍患者，都存在较严重的思维障碍，不配合治疗与手术，电生理测试也难以取得预期的效果。

立体定向手术具有相对安全、简便、适应证广、患者易接受等优点，为难治性癫痫性精神障碍患者提供了一种安全有效的治疗方法，但适应证的选择、靶点组合还需进一步探讨，疗效也还需更长期的随访支持。也有学者认为，立体定向射频毁损术控制癫痫的效果不如经典的前颞叶切除术[10]，因此，如果患者的致痫灶比较确定，尤其是癫痫时急性精神障碍患者应优先考虑致痫灶切除（包括前颞叶切除），术后随着癫痫发作的有效控制，精神症状也可减轻或消失，即使精神症状不消失，也可择期再行毁损术。另外还应当认识到，手术只是癫痫性精神障碍综合治疗的一个步骤，术后用药及家庭和社会的支持也不应忽视，以达到恢复健康、回归社会的最终治疗目的。

参考文献：

[1] 颜文伟. 全国精神外科协作组关于现代精神外科手术治疗的要求（草案）[J]. 功能性和立体定向神经外科杂志，1990，3(2)：55-57.

[2] 吴 逊. 癫痫和发作性疾病[M]. 北京：人民军医出版社，2001：378-405.

[3] 赵继宗. 微创神经外科学[M]. 北京：人民卫生出版社，2005：527-545.

[4] SRAMKA M, POGADY P, CSOKOVA Z, *et al*. Long-term results in patients with stereotaxic surgery for psychopathologic disorders[J]. Bratisl Lek Listy, 1992, 93(7): 364-366.

[5] 姜克明，王晓峰，李拴德，等. 立体定向技术治疗癫痫性精神病的体会[J]. 立体定向和功能性神经外科杂志，2004，17(3)：153-155.

[6] LEE G P, BECHARA A, ADOLPHS R, *et al*. Clinical and physiological effects of stereotaxic bilateral amygdalotomy for intractable aggression[J]. J Neuropsychiatry Clin Neurosci, 1998, 10(4): 413-420.

[7] ANDERSON C A, ARCINIEGAS D B. Neurosurgical interventions for neuropsychiatric syndromes[J]. Curr Psychiatry Rep, 2004, 6(5): 355-363.

[8] SCHMIDT K, NOLTE-ZENKER B, PATZER J, *et al*. Psychopathological correlates of reduced dopamine receptor sensitivity in depression, schizophrenia, and opiate and alcohol dependence[J]. Pharmacopsychiatry, 2001, 34(2): 66-72.

[9] BLUME W T, PARRENT A G, KAIBARA M. Stereotactic amygdalohippocampotomy and mesial temporal spikes[J]. Epilepsia, 1997, 38(8): 930-936.

[10] PARRENT A G, LOZANO A M. Stereotactic surgery for temporal lobe epilepsy[J]. Can J Neurol Sci, 2000, 27(Suppl 1): S79-S84.

（编辑 汪勤俭）

（上接1813页）

2.2 Western blotting测定肝组织ALR的表达

各组大鼠肝组织在分子质量为15 000处均出现特异的显色条带，表达强度与免疫组化相似。图像分析结果（以OD值表示）见表1。

2.3 ALR mRNA在各组大鼠肝组织的表达

RT-PCR结果显示，空质粒组在约150 bp处出现了特异的基因条带，ALR组在约550 bp处出现了特异的基因条带，正常组和模型组未出现扩增条带。用RT-PCR扩增产物与大肠杆菌中制备的PCR扩增产物电泳对照，发现两种来源的空质粒的扩增条带均为150 bp，两种来源的pcDNA3-ALR重组质粒的扩增条带均为550 bp。

3 讨论

pcDNA3含有两个特殊的启动子T7和Sp6，多酶切位点就位于二者之间，因大鼠体内无这两个序列，所以阳性扩增产物肯定是外源的基因表达。pcDNA3空质粒处理组表达有约150 bp的条带，ALR的长度约为400 bp，因此550 bp的条带为pcDNA3-ALR特异性条带，而且是外源ALR的表达。

正常组大鼠肝组织中有很低的ALR蛋白表达，而在受到免疫损伤的模型组大鼠的表达却明显增强。用ALR重组质粒干预的模型大鼠肝组织ALR的表达又明显强于模型组，pcDNA3空质粒却无此增强作用。结合RT-PCR的检测结果，可以认为ALR重组质粒处理组ALR蛋白表达明显强于模型组，是由于外源性ALR的表达“叠加”于增强的内源性的ALR表达的结果。

关键词：肝纤维化；肝再生增强因子；基因表达；大鼠
中图法分类号：R322.47 **文献标识码**：B

参考文献：

[1] Polimeno L, Capuano F, Marangi L C, *et al*. The augmenter of liver regeneration induces mitochondrial gene expression in rat liver and enhances oxidative phosphorylation capacity of liver mitochondria[J]. Dig Liver Dis, 2000, 32(6): 510-517.

[2] 张丽梅，刘殿武，杨 洁，等. 大鼠肝再生增强因子真核表达质粒的构建及其抗急性肝功能衰竭作用的研究[J]. 河北医科大学学报，2004，25(2)：68-70.

[3] 王彦芳，焦艳晴，董爱华，等. 重组人ALR单克隆抗体的制备、鉴定和初步应用[J]. 免疫学杂志，2004，20(1)：70-73.

[4] 黄志刚，翟为溶，张月娥，等. 异种动物血清诱导的大鼠肝纤维化模型及其机制[J]. 上海医科大学学报，1997，24(5)：351-354.

（编辑 王 红）