文章编号:1000-5404(2011)15-1563-05

论著

自制肝保护液对梗阻性黄疸大鼠门静脉阻断所致肝细胞损伤的保护作用

冯春林[1,2],林 恒[1],陈 炜[2],冷 凯[2],郑晓华[2],主鹤亭[2],别 平[1] (400038 重庆,第三军医大学西南医院全军肝胆外科研究所[1];563000 贵州 遵义,遵义医学院第三附属医院肝胆外科[2])

[摘要] **目的** 探讨自制肝保护液对梗阻性黄疸大鼠门静脉阻断所致肝细胞损伤的作用及对肝细胞 MAPKs 信号途径的影响。**方法** 72 只 Wistar 系大鼠完全随机分为 4 组:A 组:胆道再通、门静脉周围游离、切除肝尾状叶,90 min 后关腹腔;B 组:胆道再通、肝尾状叶分流门静脉、余肝门静脉血流阻断 90 min、恢复正常门静脉血流、切除肝尾状叶,关腹;C 组:B 组 + 门静脉肝侧灌注 4 ℃乳酸林格氏液;D 组:B 组 + 门静脉肝侧灌注 4 ℃自制肝保护液(home-made liver solution, HMLS)。术后 0、6、24 h 获取各组大鼠组织标本。采用 RT-PCR 和 Western blot 分别测定肝组织 A20 mRNA 和蛋白表达,测定肝组织中 p-JNK、p-ERK、p-p38、Bcl-2、Bax 和 Caspase-3 的蛋白表达情况,TUNEL 法检测肝细胞凋亡指数。**结果** D 组大鼠 A20 mRNA 和蛋白表达均明显增加($P < 0.05$),p-JNK、Bax、Caspase-3 蛋白表达明显下降($P < 0.05$),而 p-ERK、Bcl-2 蛋白表达明显增加($P < 0.05$)。C、D 组大鼠与 B 组相比肝细胞凋亡率明显下降($P < 0.05$),其中 D 组下降更明显。**结论** 自制肝保护液经门静脉在体持续低温灌注肝脏,可以促进 A20 mRNA 及其蛋白的高表达,由此激活 ERK 信号转导通路,抑制 JNK 信号转导通路,反向调节线粒体途径 Bcl-2/Bax 蛋白平衡的逆转,降低了其下游的凋亡执行蛋白 Caspase-3,从而起到抗凋亡、保护肝细胞的作用。

[关键词] 梗阻性黄疸;门静脉血流阻断;自制肝保护液;MAPK 信号转录途径
[中图法分类号] R318.52; R322.47; R363 [文献标志码] A

Protective effect of self-made liver solution on hepatocyte injury in obstructive jaundice rats after portal vein occlusion

Feng Chunlin[1,2], Lin Heng[1], Chen Wei[2], Leng Kai[2], Zheng Xiaohua[2], Zhu Heting[2], Bie Ping[1] ([1]Institute of Hepatobiliary Surgery, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400038; [2]Department of Hepatobiliary Surgery, Zunyi Hospital, Zunyi, Guizhou Province, 563000, China)

[**Abstract**] **Objective** To explore the effect of self-made liver solution on hepatocyte injury and MRPK signal transcriptional pathway after portal vein occlusion in rats with obstructive jaundice. **Methods** Seventy-two Wistar rats were randomly divided into four groups, group A (biliary tract recanalization, liberation of portal vein, resection of caudate lobe of liver and closure of abdomen in 90 min), group B (biliary tract recanalization, portal vein bypass in caudate lobe of liver, PVO of left hepatic tissue in 90 min, then recovery of portal vein flow and resection of caudate lobe of liver), group C (group B with perfusion of 4 ℃ Lactated Ringer's Solution) and group D (group B with portal vein perfusion of 4 ℃ self-made liver solution). Liver samples were taken at 0, 6 and 24 h post operation. Reverse transcription PCR, Western blotting and TUNEL were used respectively to determine A20 mRNA, A20 protein, p-JNK, p-ERK, p-p38, Bcl-2, Bax, Caspase-3 and hepatocyte apoptotic rate. **Results** The levels of A20 mRNA and protein were increased obviously in group D compared to the other groups ($P < 0.05$). The expression of p-JNK, Bax, and Caspase-3 was decreased but the expression of p-ERK and Bcl-2 protein was presented the adverse changes. The hepatocyte apoptotic rates of group C and group D were obvious lower than that of group B. **Conclusion** Continuous hypothermical perfusion with self-made liver solution improves expression of anti-apoptosis protein A20, then activates ERK signal transduction pathway to regulate the balance of Bcl-2/Bax protein and decreases the expression of apoptosis executive protein Caspase-3.

[**Key words**] obstructive jaundice; portal vein occlusion; self-made liver solution; MAPK signal transcriptional pathway

Corresponding author: Bie Ping, E-mail: bieping@medmail.com.cn

[通信作者] 别 平,E-mail: bieping@medmail.com.cn

通过联合门静脉/肠系膜上静脉切除的胰十二指肠术，可以提高胰头部侵犯血管肿瘤的切除率，目前已得到大多数学者的认同。但因门静脉血流急性阻断（portal vein occlusion，PVO）所引起的肝脏缺血再灌注损伤（ischemical reperfusion injury，IRI）是制约该术式的关键环节，其损伤机制相当复杂，有多种因素参与。通常情况下，凋亡是IRI后细胞死亡的主要方式[1]。细胞外信号是怎样转至细胞内，从而参与细胞的生长和分化，调节细胞周期和细胞凋亡过程?[2-3]。本实验拟通过对门静脉转流下，梗阻性黄疸（obstructive jaundice，OJ）大鼠门静脉血流阻断期间，用4 ℃新型肝灌注液经门静脉在体持续灌注肝脏，观察A20 mRNA及其蛋白的表达，以及丝裂原活化蛋白激酶（mitogen-activated protein kinases，MAPKs）的活化与线粒体凋亡途径上各相关蛋白表达情况的关系，阐明MAPK信号转导途径在梗阻性黄疸大鼠门静脉血流阻断后给予自制肝保护液冷灌注过程中的作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物

6～8周龄Wistar系大鼠，雌雄不拘，清洁级动物，体质量220～250 g，由第三军医大学大坪医院野战外科研究所实验动物中心提供。大鼠养于恒温清洁环境，喂养标准饲料，维持12 h昼夜节律。术前禁食12 h，不禁水，所有大鼠均间隔1周施行2次手术，大鼠完全随机分为4组，每组每时相点6只，共72只。肝组织标本在术后0、6、24 h切取并保存。

1.2 实验分组

实验分为4组：A组：胆道再通、门静脉周围游离、切除肝尾状叶，90 min后关腹。B组：胆道再通、肝尾状叶分流门静脉、余肝PVO 90 min、恢复正常门静脉血流、切除肝尾状叶，关腹。C组：B组+门静脉肝侧灌注4 ℃乳酸林格氏液。D组：B组+门静脉肝侧灌注4 ℃自制肝保护液（HMLS）。

1.3 手术过程

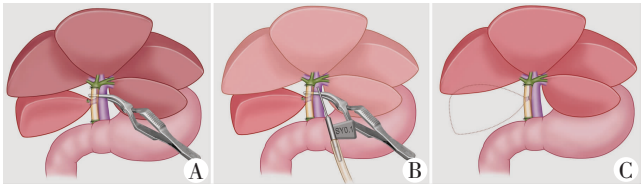
①结扎胆总管：开腹后，显露肝门，略为分离胆总管，于十二指肠上缘以3-0丝线双重结扎胆总管，不切断以免胆总管回缩，1-0丝线连续缝合关闭腹腔。精心饲养1周。

②胆道再通、门静脉血流阻断、肝尾状叶分流：1周后，经原切口开腹，仔细分离黏连，显露胆总管和门静脉；以硅胶管行胆总管-十二指肠架桥。A组：90 min后切除肝尾状叶，关腹。B组：阻断门静脉，但保留尾叶门静脉血液回流通道，90 min后，恢复肝脏门静脉血供，切除肝尾状叶后关腹。

门静脉灌流压力10 cmH_2O，先推注2 ml，灌注速率维持0.5 ml/（kg·min）[4]，术中用测温探针插入肝脏，连接测温仪监测肝脏温度，维持肝脏温度在28 ℃左右。见图1。

1.4 自制肝保护液的组成

以乳酸林格氏液为基质，加入地塞米松、维拉帕米、1，6-二磷酸果糖等组成。



A：胆道再通、肝尾状叶分流、余肝门静脉阻断；B：经门静脉持续低温灌注肝脏；C：胆道再通、门静脉血流恢复、肝尾状叶切除

图1 梗阻性黄疸大鼠门静脉阻断手术示意图

1.5 指标检测

①采用RT-PCR和Western blot分别测定肝组织A20 mRNA和蛋白表达，采用Western blot测定肝组织MAPK（ERK、p-ERK/JNK、p-JNK、p38MAPK、p-p38MAPK）蛋白活性；②采用Western blot测定肝组织Bcl-2、Bax、Cyto C、Caspase-3等蛋白的表达；③采用TUNEL法测定肝细胞凋亡指数；④肝组织HE染色光镜观察；⑤透射电镜观察肝组织超微结构及凋亡小体。

1.6 统计学处理

计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。所有数据应用SPSS 13.0软件进行统计分析，两总体均值的比较采用 t 检验。

2 结果

2.1 RT-PCR检测A20 mRNA

结果显示，OJ大鼠肝脏在无门静脉缺血损伤情况下，A20 mRNA有微量表达，当经历PVO引起肝脏IRI后，A20的表达略有增加；而给予灌注的2组大鼠其表达量较前显著增加（$P<0.05$），D组的表达增加最为显著（$P<0.05$）。见表1，图2。

表1 各组梗阻性黄疸大鼠A20 mRNA的RGS值测定结果

（A20 mRNA/GAPDH，$\bar{x} \pm s$）

组别	0 h	6 h	24 h
A组	0.17±0.02	0.21±0.03	0.20±0.02
B组	0.20±0.02	0.26±0.03	0.24±0.03
C组	0.31±0.03^{c}	0.47±0.05^{c}	0.42±0.04^{c}
D组	0.39±0.04^{a}	0.64±0.07^{ab}	0.59±0.06^{ab}

a：$P<0.05$，与A、B组比较；b：$P<0.05$，与C组比较；c：$P<0.05$，与B组比较

2.2 免疫印迹检测A20蛋白

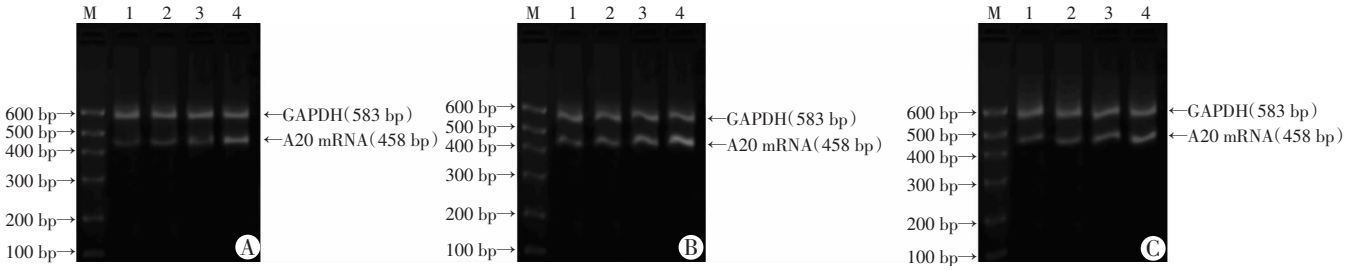
结果显示，OJ大鼠肝脏在无缺血损伤情况下，A20蛋白有微量表达，当经历PVO引起肝脏IRI后，A20蛋白略有增加；而给予灌注的2组大鼠其A20蛋白较前显著增加（$P<0.05$），D组A20蛋白的表达增加最为显著（$P<0.05$），与A20 mRNA表达一致。见表2、图3。

表2 各组梗阻性黄疸大鼠门静脉开放后不同时间A20蛋白的RGS值

（A20/GAPDH，$\bar{x} \pm s$）

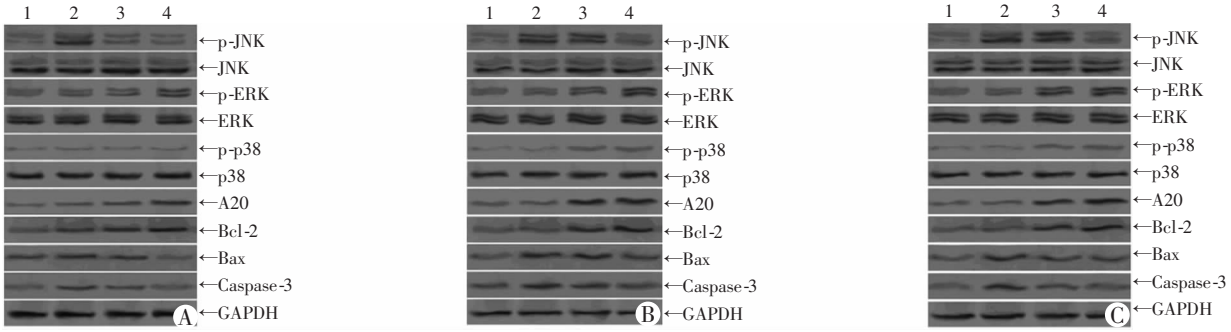
组别	0 h	6 h	24 h
A组	0.15±0.02	0.18±0.04	0.17±0.03
B组	0.16±0.03	0.21±0.04	0.18±0.03
C组	0.25±0.04^{a}	0.39±0.05^{a}	0.35±0.05^{a}
D组	0.31±0.05^{a}	0.63±0.07^{ab}	0.57±0.06^{ab}

a：$P<0.05$，与A、B组比较；b：$P<0.05$，与C组比较



A:0 h;B:6 h;C:24 h;M:标准;1:A 组;2:B 组;3:C 组;4:D 组

图 2 门静脉开放后不同时间各组大鼠 A20 mRNA 的表达



A:0 h;B:6 h;C:24 h;1:A 组;2:B 组;3:C 组;4:D 组

图 3 Western blot 检测各组大鼠门静脉开放后不同时间相关蛋白表达

2.3 p-JNK 的检测

结果显示,OJ 大鼠肝脏在无 PVO 损伤情况下,p-JNK 蛋白仅有微量表达;当经历 PVO 引起肝脏 IRI 后,p-JNK 蛋白的表达显著增高($P<0.05$);而给予低温灌注的 2 组大鼠 p-JNK 蛋白的表达显著下降($P<0.05$),且 D 组下降最为显著接近 A 组。见表 3、图 3。

表 3 各组梗阻性黄疸大鼠门静脉开放后不同时间 p-JNK 的 RGS 值
(p-JNK/JNK,$\bar{x}\pm s$)

组别	0 h	6 h	24 h
A 组	0.11±0.02	0.15±0.02	0.14±0.02
B 组	0.28±0.03	0.44±0.04	0.39±0.04
C 组	0.23±0.03	0.35±0.04[b]	0.31±0.04
D 组	0.16±0.03[a]	0.26±0.03[ac]	0.24±0.03[ac]

a:$P<0.05$,与 B、C 组比较;b:$P<0.05$,与 B 组比较;c:$P<0.05$,与 A 组比较

2.4 p-ERK 的检测

结果显示,OJ 大鼠肝脏在无缺血损伤情况下,p-ERK 蛋白有微量表达,当经历 PVO 引起肝脏 IRI 后,p-ERK 蛋白略有增加;而给予灌注的 2 组大鼠其 p-ERK 蛋白较前显著增加($P<0.05$),D 组 p-ERK 蛋白的表达增加最为显著($P<0.05$),与锌指蛋白 A20 表达一致。见表 4、图 3。

表 4 各组梗阻性黄疸大鼠门静脉开放后不同时间 p-ERK 的 RGS 值
(p-ERK/ERK,$\bar{x}\pm s$)

组别	0 h	6 h	24 h
A 组	0.13±0.02[a]	0.18±0.02[ab]	0.17±0.02[ab]
B 组	0.15±0.02[a]	0.22±0.02[ab]	0.20±0.02[ab]
C 组	0.19±0.02[a]	0.36±0.03[a]	0.33±0.03[a]
D 组	0.28±0.03	0.49±0.04	0.45±0.04

a:$P<0.05$,与 D 组比较;b:$P<0.05$,与 C 组比较

2.5 p-p38 的检测

结果显示,p-p38 蛋白的表达各组均无统计学差异($P>0.05$),提示 PVO 和给予低温灌注都没有引起 p-p38 蛋白表达的变化。见表 5、图 3。

表 5 各组梗阻性黄疸大鼠门静脉开放后不同时间 p-p38 的 RGS 值
(p-p38/p38,$\bar{x}\pm s$)

组别	0 h	6 h	24 h
A 组	0.15±0.02	0.16±0.02	0.14±0.02
B 组	0.17±0.02	0.16±0.02	0.19±0.02
C 组	0.19±0.02	0.20±0.02	0.18±0.02
D 组	0.16±0.02	0.19±0.02	0.17±0.02

2.6 Bcl-2 蛋白的检测

结果显示,OJ 大鼠肝脏在无缺血损伤情况下,Bcl-2 蛋白有微量表达,当经历 PVO 引起肝脏 IRI 后,Bcl-2 蛋白略有增加;而给予灌注的 2 组大鼠其 Bcl-2 蛋白较前显著增加($P<0.05$),D 组 Bcl-2 蛋白的表达增加最为显著($P<0.05$),与 A20 mRNA、锌指蛋白 A20、p-ERK 蛋白表达一致。见表 6、图 3。

表 6 各组梗阻性黄疸大鼠门静脉开放后不同时间 Bcl-2 的 RGS 值
(Bcl-2/GAPDH,$\bar{x}\pm s$)

组别	0 h	6 h	24 h
A 组	0.09±0.01[a]	0.16±0.02[ab]	0.13±0.02[ab]
B 组	0.14±0.02[a]	0.21±0.03[ab]	0.19±0.02[ab]
C 组	0.18±0.02[a]	0.34±0.04[a]	0.31±0.03[a]
D 组	0.25±0.02	0.57±0.04	0.52±0.04

a:$P<0.05$,与 D 组比较;b:$P<0.05$,与 C 组比较

2.7 Bax 蛋白的检测

结果显示,OJ 大鼠肝脏在无门静脉缺血损伤情况下,Bax 蛋白仅有微量表达;当经历 PVO 引起肝脏 IRI 后,Bax 蛋白的

表达显著增高($P<0.05$);而给予低温灌注的2组大鼠Bax蛋白的表达显著下降($P<0.05$),且D组下降最为显著($P<0.05$),但仍高于A组,与p-JNK蛋白表达相似。见表7、图3。

表7 各组梗阻性黄疸大鼠门静脉开放后不同时间Bax的RGS值(Bax/GAPDH,$\bar{x}\pm s$)

组别	0 h	6 h	24 h
A组	0.13±0.02	0.19±0.02[a]	0.18±0.02[a]
B组	0.23±0.02	0.57±0.04[ab]	0.51±0.04[ab]
C组	0.20±0.02	0.41±0.04[a]	0.39±0.04[a]
D组	0.19±0.02	0.28±0.03	0.27±0.02

a:$P<0.05$,与D组比较;b:$P<0.05$,与C组比较

2.8 Caspase-3蛋白的检测

结果显示,OJ大鼠肝脏在无门静脉缺血损伤情况下,Caspase-3蛋白仅有微量表达;当经历PVO引起肝脏IRI后,Caspase-3蛋白的表达显著增高($P<0.05$);而给予低温灌注的2组大鼠Caspase-3蛋白的表达显著下降,且D组下降最为显著($P<0.05$),但仍高于A组,提示HMLS具有明显的抗凋亡作用。见表8、图3。

表8 各组梗阻性黄疸大鼠门静脉开放后不同时间Caspase-3的RGS值(Caspase-3/GAPDH,$\bar{x}\pm s$)

组别	0 h	6 h	24 h
A组	0.15±0.02	0.21±0.02	0.20±0.02
B组	0.27±0.03	0.61±0.04	0.58±0.04
C组	0.25±0.02	0.51±0.03[b]	0.47±0.03[b]
D组	0.21±0.02[c]	0.34±0.03[ac]	0.31±0.03[ac]

a:$P<0.05$,与B、C组比较;b:$P<0.05$,与B组比较;c:$P<0.05$,与A组比较

2.9 TUNEL检测肝细胞凋亡

结果显示,OJ大鼠肝脏在无门静脉缺血损伤情况下,肝细胞凋亡率较低;当经历PVO引起肝脏IRI后,肝细胞凋亡率显著增高($P<0.05$);而给予低温灌注的2组大鼠肝细胞凋亡率显著下降($P<0.05$),且D组下降最为显著($P<0.05$),但仍高于A组,进一步提示HMLS具有明显的抗凋亡作用。见表9、图4。

表9 各组梗阻性黄疸大鼠门静脉开放后不同时间肝细胞凋亡百分率(%,$\bar{x}\pm s$)

组别	0 h	6 h	24 h
A组	11.87±1.90	15.61±2.28	16.23±2.63
B组	26.01±2.37	51.84±4.62	53.25±4.38
C组	21.37±2.34	39.01±3.18[b]	41.56±3.20[b]
D组	18.69±1.78[c]	26.65±3.12[ac]	28.88±3.52[ac]

a:$P<0.05$,与B、C组比较;b:$P<0.05$,与B组比较;c:$P<0.05$,与A组比较

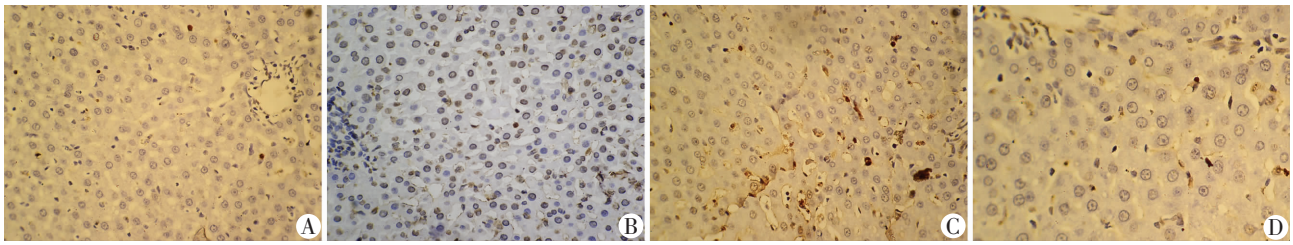
3 讨论

3.1 PVO时A20 mRNA及蛋白的表达和意义

对于胰头癌或肝门部胆管癌(Ⅰ型)患者入院时多属中晚期,常伴有梗阻性黄疸和严重的营养不良,已有不同程度肝损害,容许门静脉血流阻断的时间非常有限。PVO导致的肝脏IRI机制极其复杂,涉及肝内外的病理生理变化[5-6]。早中期损伤通常发生在再灌注之后6 h以内,后期损伤发生在再灌注后6~24 h。研究认为PVO后,肝细胞缺血、乏氧,线粒体功能受到影响,氧化磷酸化受到抑制,线粒体内的ATP主要来源于糖酵解,缺血约1 min ATP生成减少,15 min内糖原耗竭,缺血约30 min线粒体形态发生改变。当糖酵解产生的ATP不足时,依赖ATP的各种细胞活动将停止。随着缺氧时间延长,线粒体出现不可逆的损伤。线粒体内Ca^{2+}的聚集、氧自由基的生成、线粒体内膜抑制凋亡蛋白(Bcl-2、Bcl-xl等)和促凋亡蛋白(Bax等)的相对比例可以影响其离子的流向,这两类蛋白平衡偏移可以导致线粒体内膜肿胀、外膜破裂、细胞色素C释放,从而激活凋亡执行蛋白Caspase-3,导致细胞的程序性死亡或坏死[7]。

在细胞凋亡的过程中,一些因子被认为可以抗凋亡,比如Bcl-2、Fas等,在研究抗凋亡因子的过程中,研究证实,A20基因与其产物A20蛋白能够抑制多种途径介导的细胞凋亡。

本实验中观察到OJ条件下B组PVO后,促凋亡Bax及Caspase-3蛋白的表达,在术后各时相点呈逐渐增高趋势,术后6 h达到高峰,显著高于A、C及D组($P<0.05$),其凋亡率也显著高于其他3组($P<0.05$),其A20 mRNA和蛋白则为低表达。而在给予灌注的C及D组均可以见到A20 mRNA及其蛋白、Bcl-2蛋白的高表达(与B组比较,$P<0.05$),给予灌注HMLS的D组又显著高于灌注低温乳酸林格氏液的C组($P<0.05$)。说明HMLS可以促进OJ条件下PVO损伤时A20 mRNA及其蛋白的高表达,进一步上调Bcl-2、下调Bax蛋白,阻止因这两类蛋白平衡偏移导致的线粒体内膜肿胀、外膜破裂、细胞色素C释放等线粒体损害,抑制凋亡执行蛋白Caspase-3的活化,从而起到抗凋亡的作用。



A:A组;B:B组;C:C组;D:D组

图4 各组梗阻性黄疸大鼠门静脉开放后6 h凋亡肝细胞观察 (TUNEL ×200)

3.2 MAPKs信号途径和线粒体凋亡途径可能介导A20对肝细胞的保护

MAPKs的JNK、ERK和p38 3种主要亚族均可能介导紫外线、药物等刺激引起的细胞凋亡[8]。有研究证实,MAPKs信号通路可将细胞外刺激信号转至细胞及其核内,并在细胞生物学反应(如细胞增殖、分化、转化及凋亡等)过程中具有至关重要的作用[9]。

JNK、ERK、p38的活化常通过其本身的磷酸化实现[10]。通过免疫印迹检测发现,A组肝细胞中,JNK、ERK、p38均未见明显活化,而在受到PVO损伤的B组可见JNK的明显活化,但ERK、p38均未见明显活化,提示缺血可以导致JNK途径激活从而介导了肝细胞凋亡。在给予灌注的C、D组JNK的活化则显著低于B组,但其有ERK的明显活化,p38的活化不显著;而给予HMLS的D组,其ERK的活化又显著高于给予乳酸林格氏液灌注的C组,提示HMLS通过激活ERK减少肝细胞的凋亡。由此我们可以推测,在这个过程中,HMLS对肝细胞的保护作用可能是通过上调A20,进一步激活ERK并抑制JNK的活化来实现的。在此过程中,JNK活化促进了细胞凋亡,而ERK活化与之相反,可以拮抗凋亡。值得注意的是,在整个过程中,我们未观察p38的活化,提示p38可能未介导该损伤-保护过程。

3.3 线粒体凋亡途径可能受MAPKs的调节

关于细胞凋亡的信号通路,目前的研究主要认为有2个经典途径[11]:一是非线粒体依赖途径,主要由CD95(Fas)和肿瘤坏死因子受体所介导,具有Caspase-8依赖的特点;而另一条途径是线粒体依赖凋亡途径,主要包含Bcl-2家族成员,Bcl-2和Bax在细胞中的多寡平衡决定着细胞是否发生凋亡,Bax蛋白可以引起细胞线粒体膜破坏,导致细胞色素C释放,后者可以直接激活凋亡执行蛋白Caspase-3,从而引发细胞凋亡。有研究报道,PVO引起的细胞凋亡可能和线粒体途径有关[12],而MAPKs信号通路,可以将凋亡信号传递给线粒体[13],从而启动上述过程。故在本实验中,我们用免疫印迹法检测线粒体凋亡途径相关蛋白的表达,结果显示,在受到PVO损伤未给予保护的B组和给予乳酸林格氏液灌注的C组,JNK活化时,观察到Bax的表达增加和Bcl-2蛋白的表达减少,细胞凋亡率高,而在给予HMLS灌注的D组,JNK受到抑制,ERK活化,线粒体相关蛋白则检测到相反的结果,凋亡减少,提示线粒体凋亡途径可能参与了该过程并可能受MAPKs信号途径的调节,和文献[14-16]报道一致。

在本实验中,尽管给予乳酸林格氏液灌注对肝细胞具有保护作用,但其作用和效应是有限的,与给予HMLS灌注的大鼠相比,其肝细胞凋亡百分率仍然显著增高,然而给予HMLS灌注的大鼠和未受到PVO损伤的A组相比,仍未完全改变PVO对肝脏的损伤,这个现象说明HMLS对PVO的肝细胞具有保护作用,但其保护作用也是有限的。另外,在Bax蛋白的检测中,我们也注意到,尽管Bax有显著的下调,仍然有细胞凋亡发生,提示在PVO引起的肝细胞凋亡过程中,可能有多种信号转导途径参与,而凋亡的2个信号途径中,除线粒体途径外,非线粒体依赖途径亦有可能发挥重要作用,但具体作用和机制如何,有待于进一步的实验探讨。

参考文献:

[1] Gao W, Bentley R C, Madden J F, *et al*. Apoptosis of sinusoidal endothelial cells is a critical mechanism of preservation injury in rat liver transplantation[J]. Hepatology, 1998, 27(6): 1652-1660.
[2] Wada T, Penninger J M. Mitogen-activated protein kinases in apoptosis regulation[J]. Oncogene, 2004, 23(16): 2838-2849.
[3] Seger R, Krebs E G. The MAPK signaling cascade[J]. FASEB J, 1995, 9(9): 726-735.
[4] 沈世强, 王竹平, 严际慎. 犬肝切除时部分门静脉低温灌注对肝脏的保护作用[J]. 湖北医科大学学报, 1999, 20(4): 318-319.
[5] Jiang H, Meng E, Li J, *et al*. Anti-apoptosis effects of oxymatrine protect the liver from warm ischemia reperfusion injury in rats[J]. World J Surg, 2005, 29(11): 1397-1401.
[6] 冯春林, 林恒, 冷凯, 等. 门静脉血流阻断加重梗阻性黄疸大鼠肝细胞损伤[J]. 第三军医大学学报, 2011, 33(13): 1374-1377.
[7] Kaufmann S H, Earnshaw W C. Induction of apoptosis by cancer chemotherapy[J]. Exp Cell Res, 2000, 256(1): 42-49.
[8] Lu G D, Shen H M, Chung M C, *et al*. Critical role of oxidative stress and sustained JNK activation in aloe-emodin-mediated apoptotic cell death in human hepatoma cells[J]. 2007, 28(9): 1937-1945.
[9] Lemasters J J, Qian T, He L, *et al*. Role of mitochondrial inner membrane permeabilization in necrotic cell death, apoptosis, and autophagy[J]. Antioxid Redox Signal, 2002, 4(5): 769-781.
[10] Zhai S Q, Wang D J, Wang J L, *et al*. Basic fibroblast growth factor protects auditory neurons and hair cells from glutamate neurotoxicity and noise exposure[J]. Acta Otolaryngol, 2004, 124(2): 124-129.
[11] Sekiya T, Shimamura N, Yagihashi A, *et al*. Effect of topically applied basic fibroblast growth factor on injured cochlear nerve[J]. Neurosurgery, 2003, 52(4): 900-907.
[12] 王大君, 韩东一, 杨伟炎, 等. 碱性成纤维细胞生长因子对耳蜗螺旋神经节细胞谷氨酸钠毒性作用的影响[J]. 中华耳鼻咽喉科杂志, 1998, 33(3): 165-168.
[13] Devarajan P, Savoca M, Castaneda M P, *et al*. Cisplatin-induced apoptosis in auditory cells: role of death receptor and mitochondrial pathways[J]. Hear Res, 2002, 174(1/2): 45-54.
[14] Amran D, Sanchez Y, Fernandez C, *et al*. Arsenic trioxide sensitizes promonocytic leukemia cells to TNFalpha-induced apoptosis *via* p38-MAPK-regulated activation of both receptor-mediated and mitochondrial pathways[J]. Biochim Biophys Acta, 2007, 1773(11): 1653-1663.
[15] Hong H Y, Kim B C. Mixed lineage kinase 3 connects reactive oxygen species to c-Jun NH2-terminal kinase-induced mitochondrial apoptosis in genipin-treated PC3 human prostate cancer cells[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2007, 362(2): 307-312.
[16] Park E J, Zhao Y Z, Kim Y C, *et al*. Bakuchiol-induced caspase-3-dependent apoptosis occurs through c-Jun NH2-terminal kinase-mediated mitochondrial translocation of Bax in rat liver myofibroblasts[J]. Eur J Pharmacol, 2007, 559(2/3): 115-123.

(**收稿**:2011-05-04;**修回**:2011-05-29)
(编辑 邓强庭)