论著

文章编号:1000-5404(2011)19-2016-05

熊果酸对瘦素诱导的肝星状细胞JAK2-STAT3活化及活性氧产生的影响

刘戈云[1],何文华[1],李弼民[1],李 博[1],张新华[1],陈 江[2],张焜和[2],朱 萱[1] (330006 南昌,南昌大学:第一附属医院消化内科[1],江西消化疾病研究所[2])

[摘要] **目的** 研究熊果酸对瘦素诱导肝星状细胞(hepatic stellate cells, HSC)JAK2-STAT3信号通路活化、活性氧(ROS)产生及基质金属蛋白酶抑制因子-1(TIMP-1)、基质金属蛋白酶1(MMP-1) mRNA表达的影响。**方法** 以重组大鼠瘦素作用于HSC-T6细胞,干预组在瘦素作用前分别加入熊果酸、N-乙酰-L半胱氨酸(NAC)、氯化二亚苯基碘嗡(DPI)及JAK抑制剂AG490干预,正常对照组不加任何药物。各组处理不同时间后,采用流式细胞检测细胞内ROS水平;采用免疫细胞化学检测磷酸化JAK2及STAT3蛋白表达;采用RT-PCR检测TIMP-1 mRNA、MMP-1 mRNA的表达。**结果** ①免疫细胞化学检测显示,瘦素刺激HSC-T6细胞2 h后细胞质p-JAK2及细胞核内p-STAT3蛋白表达与正常对照组相比均明显增加($P<0.01$),熊果酸干预后p-JAK2及p-STAT3蛋白表达明显低于瘦素刺激组[(85.50±3.78) *vs* (96.67±3.01),(26.50±3.66) *vs* (86.67±10.87),$P<0.01$]。NAC、DPI、AG490干预后p-JAK2及p-STAT3蛋白表达也低于瘦素刺激组($P<0.05$或$P<0.01$)。②流式细胞术检测显示,熊果酸、NAC、DPI和AG490干预后的ROS水平均低于瘦素刺激组[(43.62±5.58)、(55.56±6.43)、(36.54±3.21)、(48.12±6.63) *vs* (90.86±3.86),$P<0.01$],而且熊果酸干预组的ROS水平低于NAC干预组($P<0.01$)。③熊果酸干预12、24h后与瘦素刺激组相比,TIMP-1 mRNA表达明显下调[(0.28±0.03) *vs* (0.37±0.01),(0.29±0.04) *vs* (0.41±0.03),$P<0.01$],MMP-1 mRNA的表达明显升高[(0.33±0.02) *vs* (0.26±0.02),(0.37±0.04) *vs* (0.22±0.04),$P<0.01$]。**结论** 熊果酸能阻断瘦素在肝星状细胞信号内信号转导,抑制TIMP-1、上调MMP-1的基因表达。

[关键词] 熊果酸;瘦素;肝星状细胞;信号转导;活性氧

[中图法分类号] R575.02; R362; R979.9 [文献标志码] A

Effect of ursolic acid on leptin-induced JAK2-STAT3 activation and reactive oxygen species generation in hepatic stellate cells

Liu Geyun[1], He Wenhua[1], Li Bimin[1], Li Bo[1], Zhang Xinhua[1], Chen Jiang[2], Zhang Kunhe[2], Zhu Xuan[1]([1]Department of Gastroenterology, [2]Jiangxi Institute of Digestive Disease, First Affiliated Hospital, Nanchang University, Nanchang, 330006, Jiangxi Province, China)

[**Abstract**] **Objective** To investigate the effect of ursolic acid(UA) on leptin induced JAK2-STAT3 activation, ROS generation and mRNA expression of matrix metalloproteinase inhibition factor-1 (TIMP-1) and matrix metalloproteinase 1 (MMP-1) in hepatic stellate cells (HSC). **Methods** HSC-T6 cells were treated with recombinant rat leptin (100 ng/ml). Intervention groups were pretreated with several inhibitors respectively - UA (50 μmol/L), N-acetyl-L-cysteine (NAC, 10 mmol/L), two phenylene iodine chloride OM (DPI, 20 mmol/L) and JAK inhibitor AG490 for 30 min. The normal control group was not treated with any medication. Immunocytochemical staining assay was applied to evaluate phosphorylation of Janus kinase2 (JAK2) and protein expression of signal transducers and activators of transcription 3 (STAT3). Intracellular ROS level was measured by flow cytometry and mRNA expression of TIMP-1 and MMP-1 was evaluated by RT-PCR. **Results** Cytoplasmic p-JAK2 expression and nucleic p-STAT3 expression in HSC-T6 cells 2 hours after leptin induction were significantly increased as compared with that in the normal control group ($P<0.01$). p-JAK2 and p-STAT3 expressions of the UA intervention group were significantly lower than that of the leptin-induced group (85.50±3.78 *vs* 96.67±3.01, 26.50±3.66 *vs* 86.67±10.87, all $P<0.01$). ROS levels of the intervention groups pretreated with UA, NAC, DPI and AG490 were lower than that of the leptin-induced group (43.62±

[基金项目] 江西省自然科学基金(2010GZY0327)

[通信作者] 朱 萱,电话:(0791)8692505,E-mail: jyyfyzx@163.com

5.58, 55.56 ± 6.43, 36.54 ± 3.21, 48.12 ± 6.63 *vs* 90.86 ± 3.86, $P < 0.01$). Therefore, UA, NAC, DPI and AG490 blocked leptin-stimulated ROS production. However, ROS level of the UA intervention group was lower than that of the NAC intervention group ($P < 0.01$). Compared with leptin-induced group, TIMP-1 mRNA in UA intervention group was significantly down-regulated at 12 and 24 hours after the pretreatment (0.28 ± 0.03 *vs* 0.37 ± 0.01, 0.29 ± 0.04 *vs* 0.41 ± 0.03, $P < 0.01$), while MMP-1 mRNA expression was significantly increased (0.33 ± 0.02 *vs* 0.26 ± 0.02, 0.37 ± 0.04 *vs* 0.22 ± 0.04, $P < 0.01$). **Conclusions** UA inhibits JAK2-STAT3 signal transduction and ROS production, down-regulates TIMP-1 expression and up-regulates MMP-1 exression in HSC induced by leptin.

[**Key words**] ursolic acid; leptin; hepatic stellate cell; signal transduction; reactive oxygen species

Supported by the Natural Science Foundation of Jiangxi Province (2010GZY0327). Corresponding author: Zhu Xuan, Tel: 86-791-8692505, E-mail: jyyfyzx@163.com

瘦素是促进慢性肝病发生肝纤维化的一类脂肪因子[1-2]。瘦素促肝纤维化的机制主要通过结合 ObRb 激活 JAK2-STAT3 引起肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)增殖、抑制其凋亡,上调 TIMP-1、I 型胶原表达,抑制 MMP-1 的表达[3-4]。它还激活 NADPH 氧化酶(NADPH oxidase, NOX)产生活性氧(reactive oxygen species, ROS),活化 AKT、ERK1/2 信号通路,调节趋化因子的表达和吞噬凋亡小体,引起肝纤维化[5-6]。因此抑制瘦素对 HSC JAK2-STAT3 信号通路的活化及细胞内 ROS 的产生,对于阻止或逆转肝纤维化有重要意义。熊果酸是天然五环三萜类化合物,具有抗氧化、抗炎、抗肿瘤等多种生物学效应[7-8]。既往研究显示熊果酸能保护酒精所致肝损伤[9]。本课题组前期研究[10]发现熊果酸能抑制 HSC 增殖,诱导其凋亡,体内实验发现熊果酸能阻断氧化应激、抑制 HSC 的激活、上调 TIMP-1、下降 MMP-1 基因表达、抗肝纤维化作用强于秋水仙碱[11-12]。Pathak 等[13]研究发现熊果酸能抑制多发性骨髓瘤细胞 JAK1/2-STAT3 信号通路激活,抑制肿瘤细胞增殖。本实验假设熊果酸能抑制瘦素诱导 HSC JAK2-STAT3 信号通路活化及 ROS 产生,探讨熊果酸在防治慢性肝病发生肝纤维化中的作用及机制。

1 材料与方法

1.1 材料

大鼠肝星状细胞株(HSC-T6)由上海中医药大学肝病研究所提供。重组大鼠瘦素(leptin)购自美国 Peprotech 公司;熊果酸、氯化二亚苯基碘嗡(DPI)均购自美国 Sigma-Aldrich 公司;N-乙酰-L 半胱氨酸(NAC)购自北京索莱宝科技有限公司;AG490 购自美国 Invitrogen 公司;活性氧检测试剂盒购自江苏碧云天生物技术研究所。Trizol 总 RNA 提取试剂盒和 oligo(dT)15 购自北京天根生化科技有限公司;M-MLV 逆转录酶、5×M-MLV 逆转录缓冲液和 Rnasin 抑制剂均购自美国 Promega 公司;TIMP-1、MMP-1 引物由上海生工生物工程公司合成;p-JAK2 抗体、p-STAT3 抗体均购自美国 Santa cruz 公司;二步法免疫组化检测试剂盒购自北京中衫公司。

1.2 大鼠肝星状细胞株的培养及药物处理

HSC-T6 细胞用含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养液在 37℃、5% CO_2 及饱和湿度下培养,待细胞生长至 80% ~90% 密度时,传代至无菌 6 孔板内继续培养。当细胞铺满孔底面积 70% ~80% 时,吸去原培养液,加入含不同药物的培养液孵育 1、12 h 或 24 h。按加入药物不同分为瘦素刺激组(100 ng/ml),瘦素 + 熊果酸(50 μmol/L)干预组、瘦素 + NAC(10 mmol/L)干预组、瘦素 + DPI(20 μmol/L)干预组、瘦素 + AG490(50 μmol/L)干预组、熊果酸(50 μmol/L)自身对照组和正常对照组。各干预组先加入干预药物溶液预处理 30 min 后,再加入瘦素。

1.3 免疫细胞化学检测 p-JAK2 和 p-STAT3 蛋白表达

细胞爬片:将 HSC-T6 细胞接种于内置有血盖片的 6 孔板内,当细胞铺满约 70% ~80% 时,吸弃去培养液,PBS 洗涤,按分组要求分别加入相应药物,继续于孵箱中培养 2 h,常规爬片后,4 ℃冰箱中保存。采用 PV6002 二步法免疫细胞化学法,一抗为山羊来源的 p-STAT3 抗体及兔来源的 p-JAK2 抗体,二氨基联苯胺(DAB)显色。其余按试剂盒说明书操作。阳性细胞的判断:每张细胞爬片于显微镜放大倍数 ×200 下观察,先观察整张细胞爬片,后每片选取 5 个视野:p-JAK2 蛋白表达以胞浆染呈黄色至棕褐色为阳性细胞,计算阳性细胞占该视野下全部细胞数的百分比;p-STAT3 蛋白表达以细胞核染呈黄色至棕褐色为阳性细胞,无着色为阴性,计算核移位阳性细胞占该视野下全部细胞数的百分比,取均值。

1.4 流式细胞仪检测细胞内 ROS 水平

6 孔板内培养的细胞按分组要求分别加入相应药物,经药物处理 1 h 后,各组加入 DCFH-DA 荧光探针(10 μmol/L),37 ℃ 细胞培养箱内孵育 20 min。然后用 PBS 液漂洗 3 次,胰酶消化,加血清终止反应,用无血清 DMEM 培养液洗 2 次,再加 1 ml 无血清 DMEM 培养液重悬细胞后,立即用 FACS Calibur 型流式细胞仪(美国 Becton Dickinson 公司)检测,另设 1 组未加 DCFH-DA 的细胞作为阴性对照组,以阴性对照组的荧光强度为基线,测量各组荧光度值,结果以均值表示,实验重复 6 次。

1.5 RT-PCR 检测 MMP-1 和 TIMP-1 mRNA 表达

6 孔板内培养的细胞经药物处理 12 h 后,按 Trizol 试剂说明书提取总 RNA,并反转录成 cDNA。PCR 扩增:PCR 扩增:MMP-1、TIMP-1 和 β-actin 的引物根据 NCBI 基因库的褐鼠基因

采用 Primer Premier 5.0 软件设计(引物序列见表1),由上海瑞生物工程有限公司合成。

PCR 反应参数:MMP-1:95 ℃ 5 min 预变性;94 ℃ 30 s,54 ℃ 30 s,72 ℃ 1 min,共35个循环;72 ℃ 7 min 终末延伸。TIMP-1:95 ℃ 5 min 预变性;94 ℃ 30 s,52 ℃ 30 s,72 ℃ 1 min,共35个循环;72 ℃ 7 min 终末延伸。β-actin:95 ℃ 5 min 预变性;94 ℃ 30 s,55 ℃ 30 s,72 ℃ 1 min,共35个循环;72 ℃ 7 min 终末延伸。(3)电泳分析:取5 μl PCR 产物用2%琼脂糖凝胶(含0.5 mg/L 溴化乙啶)电泳,用凝胶成像系统(购自珠海黑马医学仪器有限公司)进行光密度扫描,分别将每个样本所测得的 TIMP-1 和 MMP-1 吸光度值,与对应的 β-actin 的吸光度值相比,二者吸光度比值作为半定量值,实验重复6次。

表1 MMP-1、TIMP-1 和 β-actin 的引物序列

基因	序列	扩增长度
MMP-1	正义链:5′-GCTGATACTGACACTGGTACTG-3′	216 bp
	反义链:5′-CAATCTTTTCTGGGAGCTC-3′	
TIMP-1	正义链:5′-CCACAGATATCCGGTTCGCCTACA-3′	214 bp
	反义链:5′-GCACACCCCACAGCCAGCACTAT-3′	
β-actin	正义链:5′-GGCTACAGCTTCACCACCAC-3′	500 bp
	反义链:5′-TACTCCTGCTTGCTGATCCAC-3′	

1.6 统计学分析

数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,总体服从正态性和方差齐性行单因素方差分析和 SNK-q 检验;总体不服从正态性分布或方差不齐,行秩和检验(包括 Kruskal-Wallis H 和 Nemenyi 法),数据的处理使用 SPSS 12.0 统计软件。

2 结果

2.1 熊果酸对 HSC-T6 细胞细胞质内 p-JAK2 蛋白表达的影响

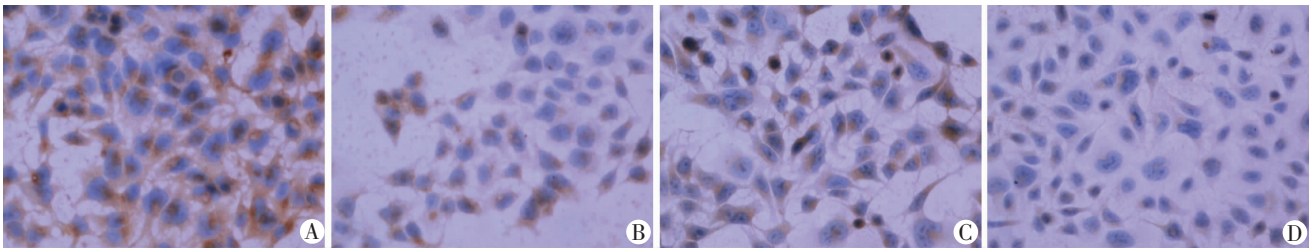
免疫细胞化学法检测显示:瘦素作用 HSC-T6 细胞2 h 后胞浆表达 p-JAK2 蛋白的阳性细胞数明显增多,与正常对照组相比差异有显著统计学意义[(96.67 ± 3.01) *vs* (55.67 ± 4.89),q = 23.57,P < 0.01];熊果酸干预后 p-JAK2 蛋白表达较瘦素刺激组降低[(85.50 ± 3.78) *vs* (96.67 ± 3.01),q = 6.42,P < 0.01];NAC 干预组和 DPI 干预组的 p-JAK2 蛋白表达低于瘦素刺激组(q 值分别为4.31和7.47,P < 0.05 或 P < 0.01);AG490 干预组的 p-JAK2 蛋白表达显著低于瘦素刺激组(q = 27.60,P < 0.01),而且低于正常对照组的表达水平(q = 4.02,P < 0.05),熊果酸自身对照组的 p-JAK2 蛋白表达低于正常对照组(q = 7.67,P < 0.01)(图1)。

2.2 熊果酸对 HSC-T6 细胞核内 p-STAT3 蛋白表达的影响

瘦素作用 HSC-T6 细胞2 h 后细胞核内表达 p-STAT3 蛋白的阳性细胞数明显增多,与正常对照组相比差异有显著统计学意义[(86.67 ± 10.87) *vs* (26.67 ± 3.63),q = 25.93,P < 0.01];熊果酸干预组的 p-STAT3 蛋白表达显著低于瘦素刺激组[(86.67 ± 10.87) *vs* (26.50 ± 3.66),q = 25.99,P < 0.01],而且低于 NAC 干预组和 DPI 干预组的表达[(26.50 ± 3.66) *vs* (39.22 ± 5.67)、(42.13 ± 4.51),P < 0.01];AG490 干预组的 p-STAT3 蛋白表达显著低于瘦素刺激组(q = 27.72,P < 0.01),熊果酸干预组与 AG490 干预组之间差异无统计学意义(q = 0.07,P > 0.05)(图2)。

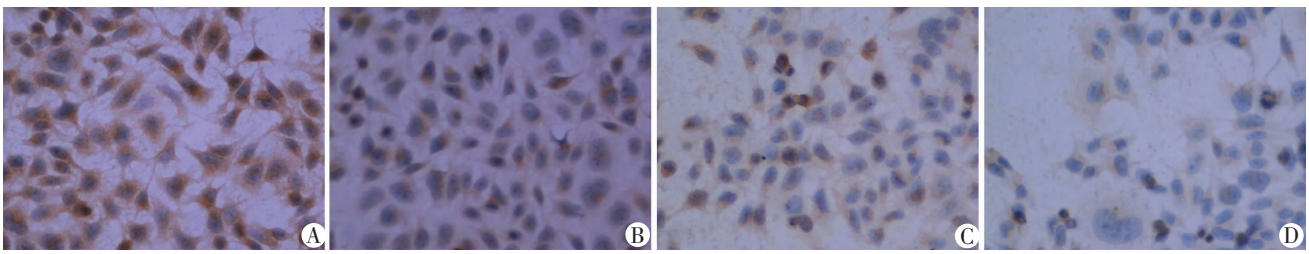
2.3 熊果酸对瘦素诱导 HSC-T6 细胞产生 ROS 的影响

瘦素作用 HSC-T6 细胞1 h 后 DCF 荧光强度较正常对照组明显增高,差异有显著统计学意义[(90.86 ± 3.86) *vs* (24.47 ± 5.96),q = 28.66,P < 0.01];熊果酸干预组的 DCF 荧光强度较瘦素刺激组明显降低[(43.62 ± 5.58) *vs* (90.86 ± 3.86),q = 20.40,P < 0.01];NAC 干预组、DPI 干预组和 AG490 干预组的 DCF 荧光强度也低于瘦素刺激组(q 值分别为15.24、23.45、18.45,P < 0.01);但熊果酸干预组的 DCF 荧光强度低于 NAC 干预组(q = 5.15,P < 0.01),熊果酸干预组与 DPI 干预组和 AG490 干预组相比差异无统计学意义(q 值分别为3.05、1.94,P > 0.05),熊果酸自身对照组的 DCF 荧光强度稍高于正常对照组(q = 3.57,P < 0.05)。



A:瘦素;B:瘦素 + 熊果酸;C:瘦素 + AG490;D:正常对照组

图1 熊果酸对 HSC-T6 细胞内 p-JAK2 蛋白表达的影响 (二步法 ×200)



A:瘦素;B:瘦素 + 熊果酸;C:瘦素 + AG490;D:正常对照组

图2 熊果酸对 HSC-T6 细胞核内 p-STAT3 蛋白表达的影响 (二步法 ×200)

2.4 熊果酸对瘦素诱导的HSC-T6细胞TIMP-1 mRNA的表达影响

瘦素作用HSC-T6细胞12、24 h后TIMP-1 mRNA表达较正常对照组升高(q值分别为3.88和3.96,$P<0.05$);熊果酸干预组12、24 h的TIMP-1 mRNA表达明显低于瘦素刺激组[分别为(0.28 ± 0.03) *vs* (0.37 ± 0.01),(0.29 ± 0.04) *vs* (0.41 ± 0.03),$P<0.01$],且与正常对照组相比差异无统计学意义($P>0.05$);NAC干预组、DPI干预组、AG490干预组12、24 h TIMP-1 mRNA的表达也低于瘦素刺激组($P<0.01$或$P<0.05$);熊果酸自身对照组与正常对照相比差异无统计学意义($P>0.05$)。

2.5 熊果酸对瘦素诱导的HSC-T6细胞MMP-1 mRNA的表达影响

瘦素作用HSC-T6细胞12、24 h的MMP-1 mRNA的表达较正常对照组明显降低($P<0.01$);熊果酸干预组12、24 h的MMP-1 mRNA表达较瘦素刺激组明显升高[分别为(0.37 ± 0.04) *vs* (0.22 ± 0.04),(0.35 ± 0.03) *vs* (0.18 ± 0.02),$P<0.01$],与正常对照组相比差异无统计学意义($P>0.05$);NAC干预组、DPI干预组、AG490干预组12、24 h的MMP-1 mRNA的表达也高于瘦素刺激组,差异有统计学意义($P<0.01$);熊果酸自身对照组与正常对照相比差异无统计学意义($P>0.05$)。

3 讨论

熊果酸是从中药植物(如丹参、白花蛇舌草、女贞子等)中提取的单体,国内外研究表明它有抗氧化、抗炎、抗肿瘤等药理作用,其中研究最多的是它的抗肿瘤机制[8,14-15]。Saravanan等[9]报道了熊果酸有保护乙醇引起的肝损伤作用,但熊果酸抗肝纤维化作用及机制研究甚少。本课题组前期的研究发现浓度为25、50、75μmol/L的熊果酸可以抑制HSC-T6细胞增殖,诱导其凋亡,同时具有促进肝细胞增殖的保护作用[10]。体内实验发现熊果酸能明显改善二甲基亚硝胺诱导的大鼠肝纤维化,效果优于秋水仙碱,初步观察到它能阻断氧化应激和脂质过氧化、抑制HSC的激活及TGFβ1表达,上调MMP-1、降低TIMP-1的mRNA表达[11-12]。值得深入研究熊果酸抗肝纤维化的分子机制。

本研究选择瘦素作为促肝纤维化因子刺激HSC-T6细胞,从细胞分子水平探讨熊果酸的抗肝纤维化机制。瘦素是促进肝纤维化发生的重要脂肪因子,其生物学功能主要通过结合ObRb激活JAK2-STAT3信号通路实现的[1-2]。瘦素通过JAK2-STAT3信号通路上调TIMP-1、并抑制MMP-1的表达,使Ⅰ型胶原等ECM成分合成增加并抑制ECM降解[3-4];近年研究还表明,瘦素还通过JAK2激活NOX产生ROS,ROS进一步活化AKT、ERK1/2等信号通路,共同参与肝纤维化的发生[5-6]。因此抑制JAK2-STAT3信号通路及细胞内ROS的产生,对于阻止或逆转肝纤维化有重要意义。本实验结果显示,瘦素刺激HSC-T6细胞后,引起胞浆内的p-JAK2蛋白表达增加,细胞核内p-STAT3表达增加,说明瘦素激活了HSC-T6细胞的JAK2-STAT3信号通路。给予熊果酸干预后,p-JAK2、p-STAT3的表达下降,而且熊果酸的作用与JAK抑制剂AG490相似,表明熊果酸能抑制瘦素诱导HSC的JAK2- STAT3信号通路的激活。

何文华等[16]研究表明,瘦素通过JAK信号通路直接激活NOX,还可上调NOX的亚基表达使NOX活性持续增高而产生大量ROS。本研究证实了瘦素能诱导HSC-T6细胞内ROS的产生。熊果酸干预后能明显降低细胞内ROS水平,与NOX抑制DPI、JAK抑制剂AG490的作用无明显差别,说明熊果酸可能通过阻断JAK对NOX的激活来抑制ROS产生。抗氧化剂NAC对细胞内ROS清除作用弱于熊果酸,可能与它不能抑制ROS产生,而是通过提供活性巯基与氧化基团发生反应及提供L-半胱氨酸促进谷胱甘肽(GSH)的合成来发挥抗氧化作用[17],随着NAC的消耗,ROS水平又增加。

瘦素激活HSC JAK2-STAT3信号通路后,上调TIMP-1表达,并抑制MMP-1的表达,从而抑制细胞外基质降解、促进它沉积[3-4]。本实验观察到瘦素刺激HSC-T6细胞后TIMP-1 mRNA表达增高,MMP-1 mRNA降低;给予熊果酸干预后能抑制瘦素诱导的TIMP-1 mRNA表达,同时MMP-1 mRNA表达增加,结果与戴颖等[12]所做的体内实验一致。

本实验在细胞水平上发现熊果酸能抑制HSC的JAK2-STAT3信号通路活化及细胞内ROS的产生,调节TIMP-1和MMP-1的基因表达,为熊果酸防治慢性肝病发生肝纤维化的应用提供了理论依据。

参考文献:

[1] Marra F, Bertolani C. Adipokines in liver diseases[J]. Hepatology, 2009, 50(3): 957-969.

[2] Bertolani C, Marra F. Role of adipocytokines in hepatic fibrosis[J]. Curr Pharm Des, 2010, 16(17): 1929-1940.

[3] Cao Q, Mak K M, Ren C, *et al*. Leptin stimulates tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in human hepatic stellate cells: respective roles of the JAK/STAT and JAK-mediated H2O2-dependant MAPK pathways[J]. J Biol Chem, 2004, 279(6): 4292-4304.

[4] Cao Q, Mak K M, Lieber C S, *et al*. Leptin represses matrix metalloproteinase-1 gene expression in LX2 human hepatic stellate cells[J]. J Hepatol, 2007, 46(1): 124-133.

[5] De-Minicis S, Seki E, Oesterreicher C, *et al*. Reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase mediates fibrotic and inflammatory effects of leptin on hepatic stellate cells[J]. Hepatology, 2008, 48(6): 2016-2026.

[6] Zhan S S, Jiang J X, Wu J, *et al*. Phagocytosis of apoptotic bodies by hepatic stellate cells induces NADPH oxidase and is associated with liver fibrosis *in vivo*[J]. Hepatology, 2006, 43(3): 435-443.
[7] 孟艳秋, 陈瑜, 王趱, 等. 熊果酸的研究进展[J]. 中国新药杂志, 2007, 16(1): 25-28.
[8] Dufour D, Pichette A, Mshvildadze V, *et al*. Antioxidant, anti-inflammatory and anticancer activities of methanolic extracts from Ledum groenlandicum Retzius[J]. J Ethnopharmacol, 2007, 111(1): 22-28.
[9] Saravanan R, Viswanathan P, Pugalendi KV. Protective effect of ursolic acid on ethanol-mediated experimental liver damage in rats[J]. Life Sci, 2006, 78(7): 713-718.
[10] 申月明, 朱萱, 张昆和, 等. 熊果酸对肝星状细胞增殖与凋亡的影响[J]. 中华肝脏病杂志, 2008, 16(4): 298-301.
[11] 欧阳灿晖, 朱萱, 张焜和, 等. 熊果酸对肝纤维化大鼠肝组织TGF-β1和α-SMA表达的影响[J]. 世界华人消化杂志, 2009, 17(22): 2237-2243.
[12] 戴颖, 朱萱. 熊果酸抗实验性大鼠肝纤维化作用机制的研究[J]. 江西医药, 2008, 43(5): 414-417, 410.
[13] Pathak A K, Bhutani M, Nair A S, *et al*. Ursolic acid inhibits STAT3 activation pathway leading to suppression of proliferation and chemosensitization of human multiple myeloma cells[J]. Mol Cancer Res, 2007, 5(9): 943-955.
[14] 王晓芹, 曹波, 高宁. 熊果酸诱导人急性白血病细胞凋亡及其作用机制[J]. 第三军医大学学报, 2009, 31(2): 105-108.
[15] 刘琼, 叶秀峰, 张徽. 熊果酸抑制胶质瘤裸鼠移植瘤生长及其机制的初步探讨[J]. 第三军医大学学报, 2009, 31(11): 1041-1044.
[16] 何文华, 李博, 朱萱, 等. NADPH氧化酶在瘦素诱导肝星状细胞株HSC-T6产生活性氧中的作用及其机制[J]. 中华肝脏病杂志, 2010, 18(11): 849-854.
[17] 魏琳琳, 段钟平. N-乙酰半胱氨酸药物作用机制实验研究进展[J]. 中国药学杂志, 2008, 43(12): 887-889.

(**收稿**:2011-04-25;**修回**:2011-07-04)
(编辑 王 红)

个案与短篇

文章编号:1000-5404(2011)19-2020-01

肾病综合征并急性肺栓塞1例

王 燕,张 璟 (400037 重庆,第三军医大学新桥医院肾内科)

[**关键词**] 肾病综合征;肺栓塞
[**中图法分类号**] R563.5; R692 [**文献标志码**] B

1 临床资料

患者,男性,14岁,因"颜面及双下肢水肿1月,复发伴咳嗽、流涕2 d"于2011年5月13日入住第三军医大学新桥医院,患者入院前1个月出现颜面及双下肢水肿,伴腹水,在当地医院诊断为"肾病综合征"口服"泼尼松片50 mg/d"及静滴人血白蛋白等治疗,颜面及双下肢水肿逐渐消退,腹水消失,入院前2 d,患者受凉后颜面及双下肢水肿复发,伴咳嗽、流涕,无胸闷、胸痛、气促,到我院进一步治疗。入院时查体:体温36.7 ℃,脉搏90/min,呼吸20/min,血压109/78 mmHg,眼睑中度水肿,咽充血,双侧扁桃体Ⅰ度肿大、充血,双肺未闻及干湿啰音,心界无扩大,律齐,无杂音,腹软,肝脾肋下未扪及,移动性浊音阴性,双下肢轻度凹陷性水肿。入院诊断:①肾病综合征;②急性上呼吸道感染。入院后辅查:尿常规白蛋白3+;24 h尿蛋白6.46 g;血白蛋白18.0 g/L;纤维蛋白原4.1 g/L;总胆固醇12.13 mmol/L、甘油三酯3.72 mmol/L,低密度脂蛋白胆固醇8.14 mmol/L;心电图、胸片正常;肾活检示肾小球轻微病变。继续口服泼尼松片50 mg/d,静滴舒血宁、血栓通改善循环,口服双嘧达莫抗凝等治疗,颜面水肿减轻,双下肢水肿消退,无胸闷胸痛,精神可。患者于入院后第9天夜间上厕所时突然晕厥,伴肢体抽搐,口吐白沫,全身大汗,查体:体温36 ℃、脉搏142/min,呼吸22/min,血压100/70 mmHg,呼之能应,四肢冰凉,立即转监护室抢救,建立静脉通道,床旁心电图提示窦性心动过速,$S_ⅠQ_ⅢT_Ⅲ$、V_1呈Q、QR型,ST-T改变,符合肺栓塞心电图改变,即刻患者出现呼之不应,测心率50/min,呼吸12/min,血压62/40 mmHg,,血气分析示HCO_3^- 13.8 mmol/L,pH 7.180,氧分压55 mmHg,动脉血氧饱和度79%,总二氧化碳14.9 mmol/L,患者心律迅速变化出现房扑、房室传导阻滞、室颤、逸搏心律,行胸外心脏按压、呼吸机辅助呼吸、静脉推注肾上腺素等抢救共1 h 13 min,患者病情无改善,意识、自主呼吸消失,心电监护仪显示逸搏心律,家属放弃抢救,自动出院。

2 讨论

该患者病情变化突然,以晕厥为突发表现,进展迅速,出现呼吸循环衰竭,往往容易误诊为心脏猝死,但依据患者年龄小,既往无心肺疾病病史,入院检查心电图、胸片正常,肾活检术后活动较少,入院第9天活动后病情出现致死性变化,虽无法及时行胸部螺旋CT、肺通气/灌注(V/Q)放射性核素扫描、磁共振成像、肺动脉造影等检查,但心电图提示$S_ⅠQ_ⅢT_Ⅲ$典型改变,血气分析提示低氧、低碳酸血症,其中$S_ⅠQ_ⅢT_Ⅲ$发生率为37.2%,具有特征性诊断价值[1],低氧血症和低碳酸血症为肺栓塞较为敏感指标[2],故本例应考虑急性肺栓塞。肺栓塞的临床表现无特异性,肾病综合征患者有时起病隐匿,更增加临床表现的复杂性,故其误诊率、漏诊率较高[3],欧美国家对肺栓塞的误诊率达70%,国内误漏诊率一般在80%以上[4]。当肺栓塞面积较小时,心电图表现可以正常或仅有窦性心动过速;在大面积

[**通信作者**] 张 璟,电话:(023)68774221,E-mail:zjcqs@yahoo.com.cn

(下转2028页)