文章编号:1000-5404(2014)15-1577-05

论著

脂联素预处理对大鼠肝脏热缺血再灌注胆管损伤的保护作用

夏 洋,龚建平 (400010 重庆,重庆医科大学附属第二医院肝胆外科)

[摘要] **目的** 观察脂联素对肝脏热缺血再灌注胆管损伤的保护作用及其对细胞凋亡的影响,探讨其中可能的保护机制。**方法** 将36只大鼠按随机数字表法分为3组:空白组、缺血再灌注组、脂联素处理组,每组12只。术后3、6、12、24 h采取血清及肝组织,采用ELISA法分别测定血液中IL-6浓度及TNF-α浓度;PCR法测胆管组织IL-10及TNF-α mRNA;Western blot法检测各组caspase-3蛋白含量;TUNEL法测定各组胆管细胞凋亡情况;测定血清谷丙转氨酶(ALT)、碱性磷酸酶(ALP)浓度、总胆红素(TBIL),并进行肝脏组织病理学检查。**结果** 再灌注6 h后缺血再灌注组血清ALT、ALP、TBIL、TNF-α和IL-6水平为(3 215.00±109.12)、(326.67±30.55)、(9.47±0.76)、(252.10±10.56)、(66.72±2.79),脂联素处理组相应水平为(2 397.00±430.19)、(264.33±27.06)、(5.23±0.91)、(95.96±5.65)、(29.22±1.33),两组间差异有统计学意义($P<0.05$)。再灌注6 h后,脂联素处理组组织炎症因子TNF-α mRNA明显低于缺血再灌注组[(1.93±0.28)、(2.77±0.30)],IL-10 mRNA明显增高[(3.03±0.27)、(1.65±0.20)],胆管细胞凋亡明显减少($P<0.05$)。缺血再灌注组与脂联素处理组的caspase-3相对蛋白表达水平分别为(73.26±7.21)和(42.48±3.37),胆管细胞凋亡指数的水平差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 大鼠肝脏缺血再灌注后胆管损伤加重,脂联素降低炎症反应,减少胆管细胞凋亡,对缺血再灌注后胆管损伤有一定保护作用。

[关键词] 脂联素;缺血再灌注;炎症;胆管细胞;凋亡
[中图法分类号] R322.47; R364.12; R657.4 [文献标志码] A

Protective effect of adiponectin preconditioning on bile duct injury in rats after acute warm hepatic ischemia-reperfusion

Xia Yang, Gong Jianping (Department of Hepatobiliary Surgery, Second Affiliated Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing, 400010, China)

[**Abstract**] Objective To determine the effects of adiponectin on liver warm ischemia reperfusion injury (IRI) and on the apoptosis of bile duct cells in rats, and clarify its possible mechanism. Methods SD rats were randomly divided into 3 groups ($n=12$ in each group), sham group, IRI group and adiponectin pretreatment group (60 μg/kg before IRI). Blood and hepatic tissue samples were harvested at 3, 6, 12 and 24 h after reperfusion. Serum levels of tumor necrosis factor-α (TNF-α) and interleukin-6 (IL-6) were measured by ELISA. Their mRNA levels in bile duct tissues were measured by PCR. TUNEL technique was carried out to determine apoptotic cells in the bile duct tissues. Caspase-3 expression was detected by Western blot analysis. The levels of serum alkaline phosphatase (ALP), aspartate aminotransferase (ALT) and total bilirubin were deteited, and the histological changes in hepatic tissue were observed. Results After reperfusion 6 h, serum levels of ALT, ALP, TBIL, TNF-α and IL-6 were 3 215.00±109.12, 326.67±30.55, 9.47±0.76, 252.10±10.56, and 66.72±2.79 respectively in IRI group and 2 397.00±430.19, 264.33±27.06, 5.23±0.91, 95.96±5.65, and 29.22±1.33 respectively in adiponectin pretreatment group, and there was significant difference between 2 groups ($P<0.05$). But adiponectin pretreatment resulted in obviously reduced TNF-α mRNA (1.93±0.28 *vs* 2.77±0.30, $P<0.05$), increased IL-10 mRNA (3.03±0.27 *vs* 1.65±0.20, $P<0.05$), and decreased apoptotic cells in bile duct tissues when compared

[基金项目] 重庆市卫生局自然科学基金(2011CC0510)
[通信作者] 龚建平,E-mail: gongjianping11@126.com
[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20140428.1748.002.html(2014-04-28)

with IRI group ($P<0.05$). There were significant differences in the protein level of caspase-3 (73.26±7.21 *vs* 42.48±3.37, $P<0.05$) and apoptotic index between the IRI group and adiponect in pretreatment group ($P<0.05$). **Conclusion** Hepatic IRI enhances the injury of bile ducts in rats. Adiponectin pretreatment ameliorates inflammatory response, attenuates bile duct cell apoptosis, and plays a protective effect in the bile duct injury after IRI.

[**Key words**] adiponectin; ischemia reperfusion injury; inflammation; bile duct cells; apoptosis

Supported by the Project of Natural Science Foundation of Chongqing Municipal Health Bureau (2011CC0510). Corresponding author: Gong Jianping, E-mail: gongjianping11@126.com

肝移植是治疗终末期肝脏疾病的最佳治疗手段,移植术后出现各种并发症仍然是阻碍移植肝脏存活的重要因素。其中胆道并发症是最常见并发症之一,发病率为15%~40%[1]。肝动脉血栓、热缺血再灌注、冷缺血再灌注和免疫排斥被认为与胆道并发症有关,其中热缺血再灌注被认为是引起胆管早期病变的最主要原因[2]。研究胆道缺血再灌注损伤的发生,降低其对胆管损伤的作用,对提高移植物的存活率和移植患者生存率具有重要意义。

脂联素(adiponectin)是一种脂肪细胞分泌的细胞因子,首先被认为在内分泌中发挥调节能量代谢的作用[3]。近年,越来越多的研究发现其在消炎和抗凋亡中的重要作用[4]。在心脏缺血再灌注损伤研究中发现,脂联素对心脏缺血再灌注具有保护作用[5]。但对于胆道损伤的作用,尚少见研究报道。本研究通过建立大鼠缺血再灌注模型,用脂联素预处理方式观察脂联素对缺血胆道病变的影响,探讨其可能的作用机制,以期为肝移植术后胆道功能的恢复提供可能的药物治疗。

1 材料与方法

1.1 实验器材

脂联素购自Peprotech公司(编号:315-26),兔抗鼠caspase-3多克隆抗体购自Santa Cruz公司,TUNEL细胞凋亡检测试剂盒购自Roche公司,总蛋白提取试剂购自碧云天生物技术有限公司,TNF-α及IL-6 ELISA试剂盒购自浙江联科公司,TRIzol购自Invitrogen公司,SyberGreen Real-time PCR试剂盒购自TaKaRa公司。IL-10上游引物:5′-CTTTCACTTGCCCTCATCC-3′,下游引物:5′-ACAAACAATACGCCATTCCC-3′,扩增产物265 bp。TNF-α上游引物:5′-CCAGACCCTCACACTCAGATCA-3′,下游引物:5′-GGAGGCTGACTTTCTCCTGGTA-3′,扩增产物290 bp。β-actin上游引物:5′-ATTGTAACCAACTGGG ACG-3′,下游引物:5′-TATCCAGGGAGGAAGAGG-3′,扩增产物490 bp。

1.2 动物模型与分组

健康雄性SD大鼠36只,体质量220~250 g,由重庆医科大学实验动物中心提供,按随机数字表法分为3组($n=12$):空白组:仅行开关腹术,不行缺血再灌注手术;缺血再灌注组和脂联素处理组:建立肝脏70%缺血90 min恢复灌注模型。脂联素处理组:在行缺血再灌注术前门静脉注射人工合成脂联素60 μg/kg。各组分别于3、6、12、24 h后取材待测,每组取12只。

1.3 建立大鼠肝脏缺血再灌注模型

参照Peralta等[6]建立70%大鼠肝脏缺血再灌注模型:采用乙醚麻醉,取上腹部正中切口进入腹腔,暴露肝门部,无创血管夹钳夹肝左、中门静脉以及肝动脉,造成70%的热缺血,90 min后松开血管钳恢复血流即行再灌注,于再灌注3、6、12、24 h后抽取腹主动脉血标本。同时迅速取出相同部位肝组织标本,一部分置液氮中保存,送-70 ℃冰箱保存备用;另一部分组织置于10%中性福尔马林溶液固定16~18 h后,石蜡包埋。

1.4 血清谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(ALP)、总胆红素(TBIL)浓度测定

使用全自动生化分析仪测定不同时间点血清ALP、ALT及TBIL浓度,作为肝缺血再灌注术后胆道损伤的标志。

1.5 血清TNF-α及IL-6水平测定

采用ELISA法检测血清样本中TNF-α及IL-6水平,步骤按试剂盒说明书进行。

1.6 胆管组织TNF-α及IL-10 mRNA水平测定

采用RT-PCR法检测胆管组织样本中TNF-α及IL-10 mRNA,参照试剂说明书操作,在PCR仪中,IL-10和TNF-α反应条件:94 ℃ 5 min预变性后,94 ℃ 30 s, 62 ℃ 30 s, 72 ℃ 30 s,共3个循环后,再于72 ℃延伸7 min。根据各基因的实时扩增曲线和熔解曲线,取Ct值。

1.7 TUNEL测量肝内胆管细胞凋亡水平

采用TUNEL凋亡试剂盒检测各组胆管组织中的凋亡细胞,步骤按试剂盒说明书进行。光学显微镜下观察凋亡细胞,细胞核呈棕黄色为阳性细胞。每张切片随机选取5个高倍镜视野(×400)进行观察,计算凋亡指数(AI)。计算公式:AI=凋亡细胞数/总细胞数×100%。

1.8 胆管上皮细胞内caspase-3水平检测

采用Western blot法测定分离再灌注6 h后胆管组织caspase-3蛋白的表达,作为衡量细胞凋亡程度的指标。细胞裂解液裂解组织蛋白,蛋白提取盒提取组织蛋白,加热变性蛋白,聚丙烯酰胺凝胶电泳分离蛋白质,电转膜至PVDF膜,BSA封闭兔抗鼠caspase-3(1∶300)、β-actin多克隆抗体及二抗孵育,化学发光剂显色。Gel Imaging System(Bio-Rad)进行灰度分析。

1.9 胆管组织形态学观察

取再灌注24 h后包埋组织经过脱蜡、水化、染色、脱水、透明、封片,光学显微镜下观察肝脏组织形态学变化,采集图像。

1.10 统计学方法

采用SPSS 17.0统计软件,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。多组均数间的比较采用单因素方差分析,组间比较采用单因素方差分析和方差分析中均数的两两比较(q 检验和LSD法)。

2 结果

2.1 血清酶学指标

除空白组外,缺血再灌注组和脂联素处理组血清ALT、ALP、TBIL浓度在不同的时间点不同。同一组内,在再灌注3 h后ALT、TBIL含量升高,再灌注6 h后达到最高,12 h后下降,24 h后达到最低值;ALP在12 h后达到高峰。同一时相内,缺血再灌注组和脂联素处理组ALT、ALP、TBIL含量均高于空白组,差异有统计学意义($P<0.05$)。与缺血再灌注组比较,脂联素处理组ALT、ALP、TBIL含量明显降低,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

2.2 TNF-α及IL-6水平

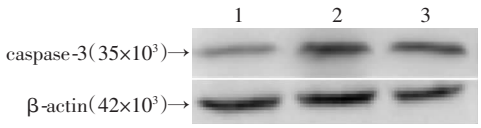
与空白组比较,缺血再灌注组和脂联素处理组各时点血清TNF-α及IL-6的表达增高,差异有统计学意义($P<0.05$)。缺血再灌注组组内TNF-α及IL-6的表达也随着再灌注时间的延长而升高,并在6 h达到高峰,随后下降。脂联素处理组各时点TNF-α及IL-6的表达较缺血再灌注组明显下降,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

2.3 组织TNF-α及IL-10 mRNA表达

与空白组比较,缺血再灌注组各时点血清TNF-α的表达增高,差异有统计学意义($P<0.05$)。在缺血再灌注组TNF-α的表达也随着再灌注时间的延长而升高,并在6 h达到高峰,随后下降,IL-10表达则相反。脂联素处理组各时点IL-10的表达较缺血再灌注组明显升高,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表3。

2.4 组织凋亡相关蛋白caspase-3的表达

Western blot检测显示,空白组、缺血再灌注组和脂联素处理组caspase-3相对蛋白表达水平分别为(8.11±1.44)、(73.26±7.21)和(42.48±3.37)。缺血再灌注组与脂联素处理组caspase-3蛋白表达较空白组上调,而脂联素预处理可明显降低caspase-3蛋白的表达(图1),差异有统计学意义($P<0.05$)。



1:空白组;2:缺血再灌注组;3:脂联素处理组

图1 Western blot检测再灌注6 h各组大鼠胆管组织caspase-3蛋白表达

2.5 胆管细胞凋亡水平

空白组胆管凋亡细胞罕见。除空白组外,缺血再灌注组和脂联素处理组组内不同时相点胆管组织细胞AI值随时间延长而增高,于再灌注6 h达到最高,24 h达到最低值,与空白组相比差异有统计学意义($P<0.05$)。缺血再灌注组各时相点(除24 h时相点)AI值均高于脂联素处理组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见图2和表4。

表1 不同时相点3组大鼠ALT、ALP、TBIL表达的比较(U/L, $n=12$, $\bar{x} \pm s$)

时相点	ALT			ALP			TBIL		
	空白组	缺血再灌注组	脂联素处理组	空白组	缺血再灌注组	脂联素处理组	空白组	缺血再灌注组	脂联素处理组
3 h	37.67±15.04	1 960.00±206.16[a]	1 798.67±217.24[a]	95.67±4.16	226.67±47.26[a]	208.67±18.77[ab]	0.30±0.10	2.70±0.46[a]	1.93±0.15[a]
6 h	35.00±8.19	3 215.00±109.12[a]	2 397.00±430.19[ab]	82.00±3.00	326.67±30.55[a]	264.33±27.06[ab]	0.10±0.06	9.47±0.76[a]	5.23±0.91[ab]
12 h	42.00±9.85	2 093.33±177.11[a]	1 467.00±163.37[ab]	84.33±3.06	416.67±40.41[a]	357.67±36.56[ab]	0.30±0.17	3.72±0.34[a]	2.90±0.20[ab]
24 h	52.00±14.53	785.33±110.18[a]	515.00±55.44[a]	85.67±1.53	383.33±20.82[a]	291.33±25.32[ab]	0.20±0.06	2.03±0.31[a]	1.67±0.15[a]

a:$P<0.05$,与空白组比较; b:$P<0.05$,与缺血再灌注组比较

表2 不同时相点3组大鼠TNF-α、IL-6表达的比较(ng/L, $n=12$, $\bar{x} \pm s$)

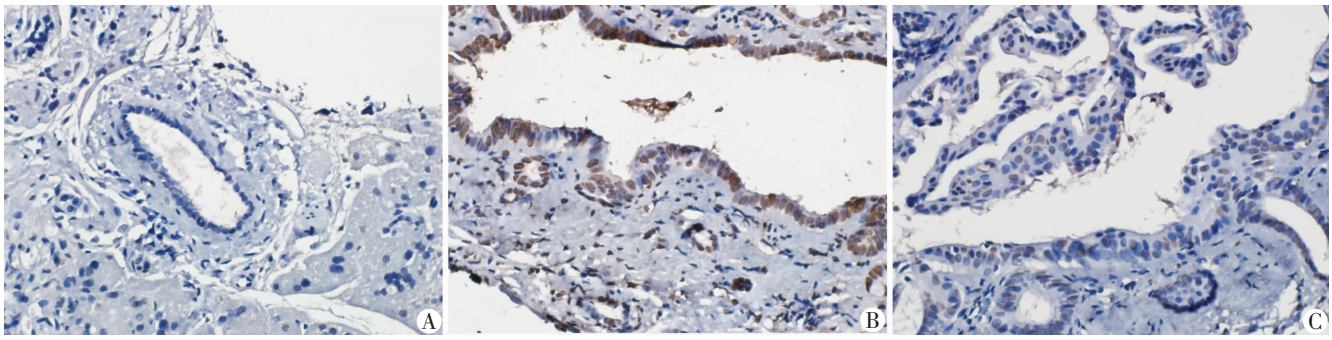
时相点	TNF-α			IL-6		
	空白组	缺血再灌注组	脂联素处理组	空白组	缺血再灌注组	脂联素处理组
3 h	7.38±1.11	104.60±5.20[a]	76.20±6.49[ab]	8.67±3.38	41.14±5.78[a]	19.45±0.56[ab]
6 h	8.43±1.13	252.10±10.56[a]	95.96±5.65[ab]	7.64±0.80	66.72±2.79[a]	29.22±1.33[ab]
12 h	6.26±1.31	133.30±11.44[a]	72.61±15.81[ab]	9.69±0.97	37.20±3.83[a]	20.78±0.95[ab]
24 h	7.29±1.93	43.63±2.82[a]	30.31±0.92[a]	9.77±1.27	24.00±1.97[a]	13.59±1.00[ab]

a:$P<0.05$,与空白组比较; b:$P<0.05$,与缺血再灌注组比较

表3 不同时相点3组大鼠TNF-α、IL-10 mRNA表达的比较($n=12$, $\bar{x} \pm s$)

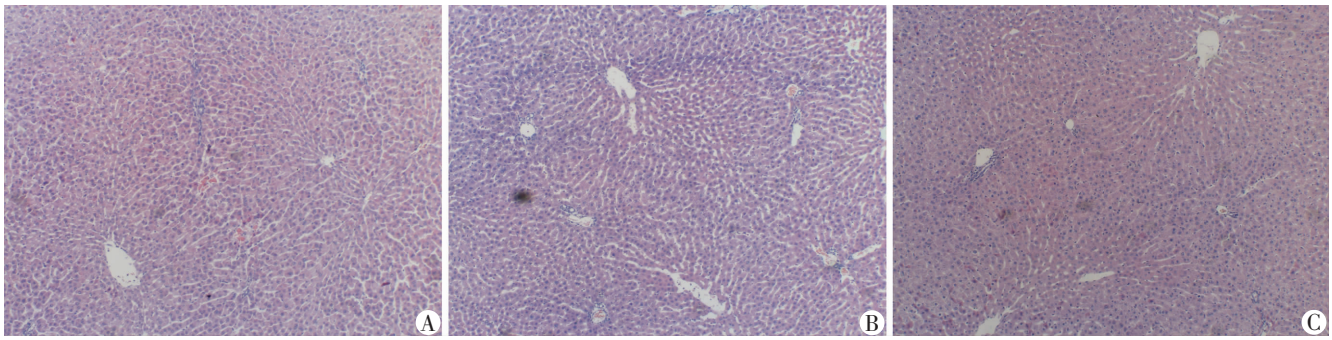
时相点	TNF-α mRNA			IL-10 mRNA		
	空白组	缺血再灌注组	脂联素处理组	空白组	缺血再灌注组	脂联素处理组
3 h	1.04±0.10	1.63±0.14[a]	1.52±0.13	1.04±0.20	1.99±0.17[a]	2.28±0.14[ab]
6 h	1.01±0.06	2.77±0.30[a]	1.93±0.28[ab]	1.01±0.23	1.65±0.20[a]	3.03±0.27[ab]
12 h	1.06±0.16	1.99±0.26[a]	1.64±0.12[ab]	1.02±0.23	1.29±0.30	3.54±0.19[ab]
24 h	1.02±0.10	1.82±0.16[a]	1.55±0.14[a]	1.07±0.10	0.75±0.18[a]	3.89±0.34[ab]

a:$P<0.05$,与空白组比较; b:$P<0.05$,与缺血再灌注组比较



A:空白组;B:缺血再灌注组;C:脂联素处理组

图2 光学显微镜观察再灌注6 h后3组大鼠胆管细胞凋亡变化 (TUNEL ×400)



A:空白组;B:缺血再灌注组;C:脂联素处理组

图3 再灌注24 h 3组大鼠肝脏病理组织学变化 (HE ×200)

表4 3组大鼠再灌注不同时相点胆管细胞AI值变化 [$n=12$, $(\bar{x}\pm s)\%$]

组别	3 h	6 h	12 h	24 h
空白组	0	0	0	0
缺血再灌注组	15.92 ± 5.59^{a}	38.49 ± 1.54^{a}	20.54 ± 2.03^{a}	8.85 ± 1.93^{a}
脂联素处理组	9.75 ± 0.91^{ab}	23.74 ± 1.44^{ab}	15.49 ± 0.87^{ab}	6.00 ± 0.44^{a}

a:$P<0.05$,与空白组比较; b:$P<0.05$,与缺血再灌注组同时间点比较

2.6 HE染色观察

光镜下空白组肝小叶结构规则,肝细胞、肝血窦正常,汇管区胆管结构完整,无炎细胞聚集。缺血再灌注组肝内胆管可见上皮细胞脱落,周围肝组织均有不同程度病理改变,如肝窦扩张、瘀血及肝细胞肿胀变性等,部分肝小叶结构紊乱,中央静脉周围出现大片的肝细胞坏死,汇管区内有中性粒细胞浸润。脂联素处理组病理改变较缺血再灌注组明显减轻,肝小叶结构较完整,肝细胞变性程度减轻,汇管区炎性浸润较轻,胆管上皮连续完整,炎细胞浸润少。见图3。

3 讨论

近几十年来,移植领域的研究突飞猛进,但移植后胆道并发症仍然是影响移植失败病死率的重要因素。在众多胆道并发症中缺血性胆道疾病最为严重。胆道的缺血再灌注损伤主要集中表现在对肝内胆管及其胆管细胞的损伤[7],其损伤发生和发展的机制尚未阐明。目前有研究表明炎症因子在缺血再灌注损伤中具有重要作用[8]。缺血再灌注期间和随后的炎性反应是组织和器官受损的重要影响因素[9-10]。缺血再灌注中,由于血流阻断和代谢物堆积,可刺激并诱导炎性细胞因子释放,从而导致TNF-α、IL-6等细胞因子为代表的多种炎性介质表达继而导致组织和器官的损伤。

脂联素是一种有广泛生物功能的脂肪因子。越来越多的研究表明其在不同的靶组织有不同的生物学效应,能调节糖脂代谢、抑制肝糖产出和增加肝和骨骼肌的胰岛素敏感性,具有抗炎及抗凋亡作用。Jenke等[11]已经证明脂联素处理可以明显改善心肌缺血再灌注的炎症反应。Cheng等[12]发现脂联素在肾缺血再灌注中,对下调炎性因子分泌、减少细胞凋亡有重要作用。而对于其在胆管损伤方面的作用,尚未被证明。本研究显示,热缺血引起胆管损伤能致使胆管细胞内IL-6及TNF-α表达水平增加,经脂联素处理后,IL-6、TNF-α表达均明显受到抑制,证明脂联素可显著减少TNF-α和IL-6的表达,在缺血再灌注中发挥抗炎作用,保护缺血再灌注损伤的胆管。

IL-10是一种重要的抗炎因子。已有研究表现,上调IL-10可以减少心肌的缺血再灌注损伤[13]。本实验检测胆管组织TNF-α和IL-10 mRNA表达,发现脂联素处理组TNF-α mRNA明显下调,而IL-10 mRNA显著上升。由此可以推测,脂联素通过促进IL-10,抑制

TNF-α 等炎症因子释放,达到抗炎作用。

本研究发现的胆道损伤主要表现为胆管细胞肿胀、脱落及坏死,血清 ALP 和 TBIL 明显升高。缺血再灌注可影响胆管周围血运,削弱胆管分泌胆汁功能,导致胆汁滞留或漏入间质内,引起胆汁淤积,加上坏死脱落的细胞碎片易阻塞小胆管,造成肝功能持续损伤,这可能是本研究中 ALT 持续升高的主要原因。

本实验中 TUNEL 检测显示,缺血再灌注损伤引起大量胆管细胞凋亡,而脂联素预处理可以明显减少凋亡细胞。缺血再灌注所致胆管细胞凋亡的增加显然不利于再灌注后肝功能的恢复,而且随着再灌注时间的延长,凋亡细胞有可能进一步引发肝细胞坏死性改变,是肝功能不全的主要原因。研究表明,肝脏缺血再灌注损伤可刺激肝非实质细胞产生 TNF-α,从而诱导细胞凋亡[14]。Tang 等[15]认为炎症因子 TNF-α 的产生及浸润对诱导细胞凋亡的关键的效应酶 caspase-3 的产生起着重要作用,引起凋亡的级联反应致使组织功能损伤。caspases 是哺乳动物细胞凋亡的启动者和执行者,其中 caspase-3 直接导致凋亡细胞解体,并包裹形成凋亡小体。caspase-3 表达的高低直接反映了胆管细胞的凋亡程度。本研究表明:脂联素预处理后,与缺血再灌注损伤组相比,相应时间点的血清 TNF-α 水平下降,胆管组织 caspase-3 蛋白表达下降,病理形态学及 TUNEL 检测均显示胆管组织损伤减轻,胆管细胞凋亡率下降。提示脂联素可以有效地抑制胆管细胞凋亡,对胆管损伤有显著的保护作用。

缺血再灌注损伤是多因素参与的复杂的病理过程。本研究提示 IL-6 和 TNF-α 参与胆管损伤的一系列过程,且表达的时间存在一定差异。脂联素能有效抑制炎症反应,显著改善肝脏功能,减少胆管组织细胞凋亡及其病理组织的改变,有效地保护胆管及肝脏组织。这对胆管再生、胆道功能以及移植物功能的恢复具有重要意义,有望为肝移植后缺血性胆管并发症提供新的治疗方式。

参考文献:

[1] Shin M, Joh J W. Section 10. Endoscopic management of biliary complications in adult living donor liver transplantation[J]. Transplantation, 2014, 97(Suppl 8): S36-43.

[2] Wang M F, Jin Z K, Chen D Z, *et al*. Risk factors of severe ischemic biliary complications after liver transplantation[J]. Hepatobiliary Pancreat Dis Int, 2011, 10(4): 374-379.

[3] Yamauchi T, Kamon J, Minokoshi Y, *et al*. Adiponectin stimulates glucose utilization and fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase[J]. Nat Med, 2002, 8(11): 1288-1295.

[4] Holland W L, Miller R A, Wang Z V, *et al*. Receptor-mediated activation of ceramidase activity initiates the pleiotropic actions of adiponectin[J]. Nat Med, 2011, 17(1): 55-63.

[5] Liu S, Yin T, Wei X, *et al*. Downregulation of adiponectin induced by tumor necrosis factor α is involved in the aggravation of posttraumatic myocardial ischemia/reperfusion injury[J]. Crit Care Med, 2011, 39(8): 1935-1943.

[6] Peralta C, Hotter G, Closa D, *et al*. Protective effect of preconditioning on the injury associated to hepatic ischemia-reperfusion in the rat: role of nitric oxide and adenosine[J]. Hepatology, 1997, 25(4): 934-937.

[7] Karimian N, Westerkamp A C, Porte R J. Biliary complications after orthotopic liver transplantation[J]. Curr Opin Organ Transplant, 2014, 19(3): 209-216.

[8] Datta G, Fuller B J, Davidson B R. Molecular mechanisms of liver ischemia reperfusion injury: insights from transgenic knockout models[J]. World J Gastroenterol, 2013, 19(11): 1683-1698.

[9] Qiao Y L, Qian J M, Wang F R, *et al*. Butyrate protects liver against ischemia reperfusion injury by inhibiting nuclear factor kappa B activation in Kupffer cells[J]. J Surg Res, 2014, 187(2): 653-659.

[10] Jiao S F, Sun K, Chen X J, *et al*. Inhibition of tumor necrosis factor alpha reduces the outgrowth of hepatic micrometastasis of colorectal tumors in a mouse model of liver ischemia-reperfusion injury[J]. J Biomed Sci, 2014, 21: 1.

[11] Jenke A, Wilk S, Poller W, *et al*. Adiponectin protects against Toll-like receptor 4-mediated cardiac inflammation and injury[J]. Cardiovasc Res, 2013, 99(3): 422-431.

[12] Cheng C F, Lian W S, Chen S H, *et al*. Protective effects of adiponectin against renal ischemia-reperfusion injury *via* prostacyclin-PPARα-heme oxygenase-1 signaling pathway[J]. J Cell Physiol, 2012, 227(1): 239-249.

[13] Markowski P, Boehm O, Goelz L, *et al*. Pre-conditioning with synthetic CpG-oligonucleotides attenuates myocardial ischemia/reperfusion injury *via* IL-10 up-regulation[J]. Basic Res Cardiol, 2013, 108(5): 376.

[14] 张爽, 李红, 徐惠, 等. 蒺藜皂苷对阿霉素损伤心肌细胞的保护作用[J]. 药学学报, 2010, 45(1): 31-36.

[15] Tang X L, Liu J X, Dong W, *et al*. The cardioprotective effect of protocatechuic Acid on myocardial ischemia/reperfusion injury[J]. J Pharmacol Sci, 2014, 125(2): 176-183.

(**收稿**: 2013-12-11;**修回**: 2014-02-19)

(编辑 邓强庭)