文章编号:1000-5404(2014)08-0769-05

论著

川西獐牙菜醇提物对内毒素所致大鼠胆汁淤积性肝损伤的保护作用

高 宇,柴 进,李绍雪,刘 畅,程 英,刘潇聪,连 伟,陈文生 (400038 重庆,第三军医大学西南医院全军消化病研究所)

[摘要] **目的** 观察川西獐牙菜醇提物对内毒素所致大鼠胆汁淤积性肝损伤的保护作用,以及对肝细胞胆汁酸转运蛋白胆盐输出泵(bile salt export pump,BSEP)和核受体(farnesoid X-receptor,FXR)的影响。**方法** 20只SD雄性大鼠采用随机分为4组(每组5只):生理盐水组、川西獐牙菜醇提物组、LPS+生理盐水组、LPS+川西獐牙菜醇提物组,所有大鼠均于处理后16 h取材。统计分析各组实验大鼠肝功能指标(ALT,AST、TBIL)、胆汁流速;采用Western blot及RT-PCR观察生理盐水组、川西獐牙菜醇提物组大鼠肝组织中BSEP和FXR在转录以及蛋白水平的表达。**结果** LPS+生理盐水组与生理盐水组相比肝损伤指标ALT、AST、TBIL明显升高($P<0.05$),胆汁流速明显下降($P<0.05$);而LPS+川西獐牙菜醇提物组与LPS+生理盐水组相比ALT、AST、TBIL明显下降($P<0.05$),胆汁流速明显升高($P<0.05$)。川西獐牙菜醇提物组与生理盐水组相比BSEP蛋白水平的表达明显增高($P<0.05$);与BSEP调控密切相关的核受体FXR蛋白和mRNA表达变化均不明显。LPS+生理盐水组与生理盐水组相比相比BSEP蛋白水平的表达明显降低($P<0.05$);而LPS+川西獐牙菜醇提物组与LPS+生理盐水组相比BSEP蛋白水平的表达明显增高($P<0.05$);但各组之间BSEP mRNA变化均不明显。**结论** 川西獐牙菜醇提物能明显减轻内毒素诱导大鼠胆汁淤积性肝损伤,这可能与上调肝细胞胆酸转运蛋白BSEP的表达有关,而且BSEP表达的上调可能是通过转录后水平调节的。

[关键词] 川西獐牙菜醇提物;内毒素;胆汁淤积;肝损伤;BSEP;大鼠
[中图法分类号] R282.71;R575.05;R657.43 [文献标志码] A

Protective effect of alcohol extract of *Swertia mussotii Franch* on lipopolysaccharide-induced cholestatic liver damage in rats

Gao Yu, Chai Jin, Li Shaoxue, Liu Chang, Cheng Yin, Liu Xiaocong, LianWei, Chen Wensheng (Institute of Gastroenterology, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400038, China)

[**Abstract**] **Objective** To investigate the hepatic protective effect of *Swertia mussotii Franch* alcohol extract on lipopolysaccharide (LPS)-induced cholestatic liver damage in rats, and its influence on the expression of hepatic bile acid transporters bile salt export pump (BSEP) and nuclear receptor farnesoid X-receptor (FXR). **Methods** Twenty male SD rats were randomly divided into 4 groups ($n=5$ per group): normal saline group, alcohol extract group, LPS + normal saline group, and LPS + alcohol extract group. Bile flow rate was detected in 16 h after injection, and then liver samples and blood serum were collected. Hepatic biochemical indicators (ALT, AST, and TBiL) were detected by a biochemical analyzer. Expressions of BSEP and FXR at mRNA and protein levels were detected by RT-PCR and Western blot. **Results** In the LPS + normal saline group, the levels of ALT, AST and TBil in serum were significantly higher, while bile flow rate was obviously lower than in the normal saline group ($P<0.05$). In the LPS + alcohol extract group, the levels of ALT, AST and TBil were significantly lower, while bile flow rate was obviously higher than in the LPS + normal saline group ($P<0.05$). In the alcohol extract group, the protein expression of BSEP was higher than in the normal saline group ($P<0.05$). However, there was no obviously alteration detected at the mRNA level. Furthermore, the expression of FXR which was closely related to the regulation of BSEP appeared no notable change. In the LPS + normal saline group, the protein expression of BSEP was significantly lower than in the normal

[基金项目] 国家自然科学基金(81100280);重庆市自然科学基金重点项目(CSTC 2012jjB0079);重庆市科委攻关项目(CSTC2010AB5068)
[通信作者] 柴 进,电话(023)68765191,E-mail:janhic11@163.com
陈文生,电话:(023)68765183,E-mail:wenshengchen@hotmail.com
[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20140126.1051.007.html(2014-01-26)

saline group ($P<0.05$). In the LPS + alcohol extract group, the protein expression of BSEP was significantly higher than in the LPS + normal saline group ($P<0.05$). However, there was no obviously alteration detected at the mRNA level between these groups. **Conclusion** *Swertia mussotii Franch* alcohol extract significantly reduces LPS-induced cholestatic liver damage in rats, which may involves up-regulation of hepatic bile acid transporter BSEP at a post-transcriptional level.

[**Key words**] *Swertia mussotii Franch*; lipopolysaccharide; cholestasis; liver damage; bile salt export pump; rats

Supported by the National Natural Science Foundation of China (81100280), the Key Program of Natural Science Foundation of Chongqing (CSTC 2012jjB0079) and the Tackling Project of Chongqing Commission of Science and Technology (CSTC2010AB5068). Corresponding author: Chen Wensheng, Tel:86-23-68765183, E-mail:yy630917@126.com

胆汁淤积是内毒素血症、药物性肝脏损害、原发性胆汁性肝硬化、原发性硬化性胆管炎、胆道梗阻、肝移植、肝叶切除等多种内外科疾病所致的常见临床综合征,也是直接导致肝细胞损伤、肝功能衰竭的主要因素。但目前除梗阻性可外科手术外,绝大多数胆汁淤积的临床治疗都缺乏行之有效的药物[1-3]。胆汁淤积性疾病发生时,肝细胞膜胆汁酸转运蛋白异常表达,导致胆汁酸排泄障碍,肝细胞内有毒物质(如胆汁酸盐)的积聚,造成肝脏损伤[1,4-5]。胆盐输出泵(bile salt export pump,BSEP),属于 ABC(ATP-binding cassette)家族蛋白,是肝细胞膜胆管膜面最重要胆汁酸转运蛋白,它能刺激胆盐依赖性胆汁流的形成,能将各种结合型胆盐转运到胆管中,对于胆汁流形成和维持胆汁在肝内的循环起到了极其关键的作用[6]。BSEP 的基因突变或缺失会导多种胆汁淤积性肝病的发生,如Ⅱ型进行性家族性肝内胆汁淤积症(progressive familial intrahepatic cholestasis type,PFICⅡ)、妊娠期肝内胆汁淤积症等[7-8]。研究表明,在转录水平核受体 FXR(Farnesoid X-receptor)对 BSEP 的表达起关键性的调节作用[9-10],同时 BSEP 在转录后水平也受到许多因素的调节。所以,BSEP 的原发性和继发性改变以及它们的调节机制值得作为未来治疗胆汁淤积的药理学靶标。川西獐牙菜(*Swertia mussotii Franch*),又名藏茵陈,属龙胆科(gentianceae)獐牙属(swertia),为2年生草本植物,主要分布于青海、西藏、云南和四川西部,其性寒、味苦,自古以来被认为具有利胆护肝、清热解毒、祛湿消炎的作用[11]。其中主要成分包括齐墩果酸、獐牙菜苦苷、龙胆苦苷、芒果苷、当药醇苷、花锚苷等[12]。本研究将在正常大鼠以及内毒素诱导的大鼠胆汁淤积模型上用川西獐牙菜醇提物进行干预,通过血清学指标、胆汁排泄量观察对肝脏损伤情况,并通过定量 RT-PCR 和 Western blot 检测大鼠肝脏细胞膜转运蛋白 BSEP 以及与其调控密切相关的核受体 FXR 表达的影响,进一步评价川西獐牙菜醇提物对胆汁淤积的肝脏的保护作用。

1 材料与方法

1.1 主要材料与仪器

SD 大鼠,雄性,6~7周龄,体质量 200~220 g,购自第三军医大学大坪医院野战外科研究所实验动物中心。脂多糖(lipopolysaccharide,LPS;Escherichia coli 0111:B4)购自美国 Sigma 公司,实验时用灭菌生理盐水溶解,工作终浓度 1 mg/mL;川西獐牙菜醇提物由重庆市中药研究院提供,为75%乙醇提取后获得的浸膏,有效终浓度为51.3%,实验时用灭菌生理盐水溶解。Olympus AU2700 全自动生化分析仪;BCA 蛋白定量试剂盒购自 Thermo;BSEP、FXR、GAPDH 一抗购于 Santa Cruz 公司、山羊抗兔或鼠 IgG-HRP 二抗购自 Pierce Biotechnology 公司;Trizol 试剂购于 Invitrogen 公司,逆转录试剂盒购自 TaKaRa(Code No. RR047A),PCR 试剂盒购自 TaKaRa(Code No. RR820A);BSEP、FXR、GAPDH 由上海生工生物工程技术服务有限公司合成;荧光定量 PCR 仪购自 Bio-Rad 公司。

1.2 方法

1.2.1 动物实验造模与分组 雄性 SD 大鼠 200~220 g(6~7周)的老鼠购买后在实验使用之前在正常饲养1周。随机分为4组(每组5只),生理盐水组:0.9%生理盐水灌胃7 d,每天1次;川西獐牙菜醇提物组:川西獐牙菜醇提物 100 mg/kg 溶于0.9%生理盐水连续灌胃给药7 d,每天1次;LPS + 生理盐水组:生理盐水灌胃7d后,LPS 4 mg/kg 尾静脉注射建立内毒素诱导的大鼠肝内胆汁淤积模型[13];LPS + 川西獐牙菜醇提物组:川西獐牙菜醇提物 100 mg/kg 连续灌胃给药 7 d,LPS 4 mg/kg 尾静脉注射建立内毒素诱导的大鼠肝内胆汁淤积模型。

各组大鼠于 LPS 注射 16 h 后采用戊巴比妥(50 mg/kg body w.t.ip)麻醉,用 PE-10 软管(Natume, Tokyo, Japan)收取胆汁30 min,用于计算胆汁流速[13]。随后动脉取血2~5 mL后进行生化分析;部分肝组织样品剪碎后液氮冻存用于 Western blot 和 RT-PCR。

1.2.2 血清生化指标检测 大鼠血液于3 000 r/min 离心30 min 后取血清,生化分析仪测定血清中 AST(谷草转氨酶)、ALT(谷丙转氨酶)、TBil(总胆红素),由第三军医大学大学西南医院检验科检测。

1.2.3 定量 RT-PCR 按 Trizol 试剂说明书提取大鼠肝脏的总 RNA。取 1 g 总 RNA 按 PrimeScript™ RT reagent Kit with

gDNA Eraser(Perfect Real-time)说明书逆转录生成 cDNA。PCR 照 SYBR® Premix Ex *Taq*™ Ⅱ (Tli RNaseH Plus)说明书操作。大鼠 BSEP 上游引物:5′-CGTGCTTGTGGAAGAAGTTG-3′,下游引物:5′-GGGAGTAGATGGGTGTGACTG-3′,产物长度为 191 bp;大鼠 FXR 上游引物:5′-TGAGCGTCTACAGCGAAAGTG-3′,下游引物:5′-GGGATGGTGGTCTTCAAATAAG-3′ 产物长度为 121 bp;大鼠 GAPDH 上游引物:5′-ACAGCAACAGGGTGGTGGAC-3′,下游引物:5′-TTTGAGGGTGCAGCGACCTT-3′ 产物长度为 252 bp。

1.2.4 Western blot 检测　按照试剂盒说明(碧云天:P0013B)提取肝脏总蛋白,用 BCA 试剂盒测定蛋白浓度。取蛋白样品与 2×SDS 上样缓冲液体(博士德)充分混匀。8% SDS-PAGE 凝胶电泳分离,然后电湿转至 PVDF 膜(Millipore)。用 5% 脱脂奶粉溶液室温封闭 2 h,然后加入一抗(BSEP 1∶1 000,PXR 1∶1 600,GAPDH 1∶1 000),4 ℃孵育过夜。TBST 洗膜后,加入相应二抗(山羊抗兔 1∶50 000,山羊抗鼠 1∶30 000),于室温孵育 1 h。TBST 洗膜 3 次,每次 10 min。最后 PVDF 膜与 Thermo Scientific Pierce Western blot ECL Plus 于室温反应 5 min 后,暗室用 X 线片压片。用 Quntity-one 图像分析软件测定目的条带的光密度值。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 17.0 统计软件进行分析,各参数用 $\bar{x} \pm s$ 表示,经正态性检验与方差齐性检验,进行 t 检验与完全随机设计的方差分析。

2 结果

2.1 川西獐牙菜醇提物刺激各组大鼠肝损伤血清指标比较

LPS + 生理盐水组与生理盐水组比较肝功能受损明显,血清指标 ALT、AST、TBIL 明显升高,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。LPS + 川西獐牙菜醇提物组与 LPS + 生理盐水组比较则起到了保护作用,明显减轻了指标的升高,比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1。

表 1　各组大鼠肝功能指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	ALT(U/L)	AST(U/L)	TBil(mmol/L)
生理盐水组	35.4 ± 7.02	93.80 ± 18.90	2.40 ± 0.37
川西獐牙菜醇提物组	31.60 ± 8.62	99.40 ± 16.32	2.56 ± 0.50
LPS + 生理盐水组	219.20 ± 34.40[a]	514.60 ± 94.76[a]	9.82 ± 1.00[a]
LPS + 川西獐牙菜醇提物组	93.60 ± 24.54[b]	302.40 ± 65.13[b]	6.2 ± 0.96[b]

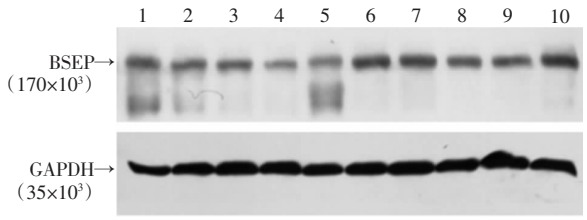
a:$P < 0.05$,与生理盐水组比较;b:$P < 0.05$,与 LPS + 生理盐水组比较

2.2 川西獐牙菜醇提物刺激各组大鼠胆汁流速比较

川西獐牙菜醇提物组胆汁流速为(88.08 ± 9.76) ng/(min · kg),川西獐牙菜醇提物组在连续灌胃 7 天后与生理盐水组比较,胆汁流速明显升高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。LPS + 生理盐水组(36.55 ± 6.88) ng/(min · kg)与生理盐水组(67.36 ± 5.85) ng/(min · kg)比较,胆汁流速明显降低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。LPS + 川西獐牙菜醇提物组(52.96 ± 5.73) ng/(min · kg)与 LPS + 生理盐水组比较,胆汁流速明显升高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

2.3 川西獐牙菜醇提物上调正常大鼠肝脏 BSEP 蛋白表达

在蛋白水平,与生理盐水组相比川西獐牙菜醇提物组使 BSEP 蛋白水平的表达明显增高,差异有统计学意义($P < 0.05$),但在转录水平 BSEP mRNA 表达变化不明显。提示川西獐牙菜醇提物能明显上调 BSEP,可能在 BSEP 转录后水平起到调控作用。见图 1。

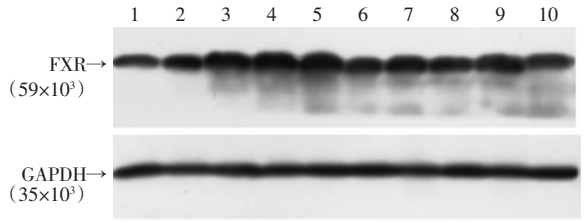


1-5:生理盐水组,6-10:川西獐牙菜醇提物组

图 1　Western blot 检测川西獐牙菜醇提物对正常大鼠肝细胞膜转运蛋白 BSEP 表达的影响

2.4 川西獐牙菜醇提物对正常大鼠核受体 FXR 无明显作用

核受体 FXR 是胆汁酸的配体,在 BSEP 转录水平的调控中起主要的作用。川西獐牙菜醇提物组与生理盐水组相比 FXR mRNA 和蛋白表达变化均不明显。提示川西獐牙菜醇提物对核受体 FXR 无明显调控作用。见图 2。

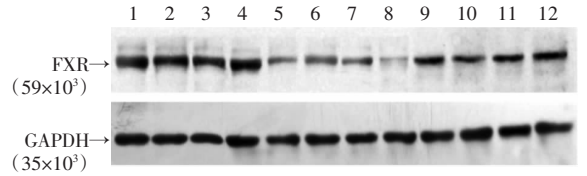


1-5:生理盐水组,6-10:川西獐牙菜醇提物组

图 2　Western blot 检测川西獐牙菜醇提物对正常大鼠肝细胞核受体 FXR 表达的影响

2.5 川西獐牙菜醇提物上调内毒素诱导大鼠肝脏 BSEP 蛋白表达

为进一步明确川西獐牙菜醇提物上调 BSEP 与减轻对内毒素致大鼠胆汁淤积性肝损伤的关系,我们检测生理盐水组、LPS + 生理盐水组和 LPS + 川西獐牙菜醇提物组大鼠肝组织中 BSEP 的表达。发现在蛋白水平,LPS + 生理盐水组与 LPS + 生理盐水组比较 BSEP 表达明显降低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。而 LPS + 川西獐牙菜醇提物组与 LPS + 生理盐水组比较 BSEP 表达明显身高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。但在转录水平 BSEP mRNA 表达变化均不明显。见图 3。



1-4:生理盐水组,5-8:LPS + 生理盐水组,9-12:LPS + 川西獐牙菜醇提物组

图 3　Western blot 检测川西獐牙菜醇提物对内毒素诱导大鼠肝细胞膜转运蛋白 BSEP 表达的影响

3 讨论

胆汁淤积是多种疾病和生理状态下所致的常见临床综合征,也是直接导致肝细胞损伤、肝功能衰竭的主要因素。但胆汁淤积临床治疗缺乏特效药物,是一个亟待解决的世界性难题。内毒素诱导的大鼠胆汁淤积模型是肝内胆汁淤积致肝损伤的常用模型[14]。当内毒素诱导的急性肝细胞损伤发生时,谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)从肝细胞内释放入血中,导致血清中ALT和AST活性升高[15],所以血清中ALT和AST是常用的判断急性肝损伤的指标。此外,肝脏细胞的病变会使主要在肝脏中代谢的胆红素(TBIL)的转化受阻,导致血清中的TBIL升高,引发肝细胞损伤性黄疸。所以血清中TBIL的含量也可以作为肝损伤性黄疸的生化指标。因此在本实验选用血清中ALT、AST和TBIL来作为评价大鼠肝损伤及胆汁淤积的指标。产自我国西南地区的川西獐芽菜一直以来被认为具有利胆护肝的作用,长期用于治疗胆汁淤积有显著效果。我们在内毒素致大鼠胆汁淤积模型上给予川西藏芽菜干预,观察它对肝脏的保护作用,为临床治疗胆汁淤积症提供新的重要线索。

BSEP位于肝细胞膜胆管膜面,ABC转运蛋白家族的重要成员,是ATP依赖性转运体,为各种结合型胆盐分泌的主要载体,并将之转运到胆管中,是影响胆汁流形成最重要的因素。在胆汁淤积状态下,BSEP在肝细胞胆管膜面表达量显著降低,使胆汁酸经由胆酸转运蛋白BSEP排泌至胆管减少,累积的胆汁酸盐会造成肝脏损伤[1,4-5,16]。上调BSEP的表达,能促进胆汁酸盐从胆管膜面排泄到胆管中,减少有毒物质在肝脏累积,达到肝脏解毒的作用。因此,能有效上调BSEP表达值得作为未来治疗胆汁淤积的药理学靶标。目前,BSEP表达的调控机制尚未清楚。研究表明,在转录水平,核受体FXR作为胆汁酸的配体,在BSEP的调控中起主要的作用[9-10]。同时,BSEP也存在多因素的转录后水平的调节,包括糖基化效应[17]、磷酸化效应[18]、泛素化效应[19],以及细胞因子调节作用[20]等。其具体机制有待我们进一步深入研究。

实验中观察到,大鼠在腹腔注入LPS后,活动渐迟缓,稀便,尿液血清样。分析血清肝功能指标以及测定胆汁流速后发现,LPS+生理盐水组与生理盐水组比较大鼠ALT、AST、TBIL明显升高,胆汁流速明显下降;而LPS+川西獐牙菜醇提物组与LPS+生理盐水组比较胆红素明显降低,胆汁流速明显升高;同时川西獐牙菜醇提物也能刺激正常大鼠胆汁流速升高。川西獐牙菜醇提物能促进胆汁向胆管排泌并明显减轻内毒素所致大鼠胆汁淤积性肝损伤,提示川西獐牙菜醇提物可能上调肝细胞膜胆管膜面的胆汁酸转运蛋白,从而减轻胆汁淤积的程度,进而减轻肝细胞损伤,对肝脏起到了保护作用。

我们运用Western blot及RT-PCR观察生理盐水组、川西獐牙菜醇提物组大鼠肝组织中BSEP和FXR在转录以及蛋白水平的表达,发现川西獐牙菜醇提物在蛋白水平能够显著上调正常大鼠肝细胞膜胆酸转运蛋白BSEP的表达,但mRNA变化不明显。然而与BSEP调控密切相关的核受体FXR蛋白和mRNA表达变化均不明显。这提示川西獐牙菜醇提物可能通过转录后水平的某些途径刺激BSEP表达上调,但是具体如何调控BSEP的表达有待进一步研究。为进一步明确川西獐牙菜醇提物上调BSEP与减轻对内毒素致大鼠胆汁淤积性肝损伤的关系,我们观察生理盐水组、LPS+生理盐水组和LPS+川西獐牙菜醇提物组大鼠肝组织中BSEP表达,发现LPS+生理盐水组与生理盐水组比较BSEP蛋白表达明显降低,但BSEP mRNA表达无明显变化,这与文献[21]报道一致。而LPS+川西獐牙菜醇提物组与LPS+生理盐水组比较BSEP蛋白表达明显升高,BSEP mRNA表达无明显变化。这提示川西獐牙菜醇提物够显著上调内毒素诱导大鼠肝细胞膜胆酸转运蛋白BSEP的表达。

综上所述,我们通过川西獐牙菜醇提物干预内毒素诱导大鼠胆汁淤积性肝损伤模型,发现能起到明显的肝脏保护作用,这可能与上调大鼠肝细胞胆酸转运蛋白BSEP的表达有关,而且BSEP表达的上调可能是通过转录后水平调节的。这为川西獐牙菜醇提物保肝利胆的功效提供一定理论支撑,并对保护和发掘我国传统医药"藏茵陈"具有重大的战略意义和实用价值。

参考文献:

[1] Wagner M, Zollner G, Trauner M. New molecular insights into the mechanisms of cholestasis[J]. J Hepatol, 2009, 51(3): 565-580.

[2] Paumgartner G, Pusl T. Medical treatment of cholestatic liver disease[J]. Clin Liver Dis, 2008, 12(1): 53-80.

[3] Geier A, Fickert P, Trauner M. Mechanisms of disease: mechanisms and clinical implications of cholestasis in sepsis[J]. Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol, 2006, 3(10): 574-585.

[4] Csanaky I L, Aleksunes L M, Tanaka Y, *et al*. Role of hepatic transporters in prevention of bile acid toxicity after partial hepatectomy in mice[J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2009, 297(3): G419-G433.

[5] Keppler D. Cholestasis and the role of basolateral efflux pumps[J]. Z Gastroenterol, 2011, 49(12): 1553-1557.

[6] Halilbasic E, Claudel T, Trauner M. Bile acid transporters and regulatory nuclear receptors in the liver and beyond[J]. J Hepatol, 2013, 58(1): 155-168.

[7] Jansen P L, Muller M, Sturm E. Genes and cholestasis[J]. Hepatolo-

gy, 2001, 34(6): 1067 – 1074.
[8] Dixon P H, van-Mil S W, Chambers J, *et al*. Contribution of variant alleles of ABCB11 to susceptibility to intrahepatic cholestasis of pregnancy[J]. Gut, 2009, 58(4): 537 – 544.
[9] Cui J Y, Aleksunes L M, Tanaka Y, *et al*. Bile acids *via* FXR initiate the expression of major transporters involved in the enterohepatic circulation of bile acids in newborn mice[J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2012, 302(9): G979 – G996.
[10] Stieger B. The role of the sodium-taurocholate cotransporting polypeptide (NTCP) and of the bile salt export pump (BSEP) in physiology and pathophysiology of bile formation[J]. Handb Exp Pharmacol, 2011(201): 205 – 259.
[11] 何廷农, 刘尚武, 吴庆如. 中国植物志 (第 62 卷)[J]. 北京: 科学出版社, 1988: 333.
[12] 杨慧玲, 刘建全. 9 种"藏茵陈"原植物中的 7 种有效化学成分研究[J]. 中草药, 2005, 36(8): 1233 – 1237.
[13] Saeki J, Sekine S, Horie T. LPS-induced dissociation of multidrug resistance-associated protein 2 (Mrp2) and radixin is associated with Mrp2 selective internalization in rats[J]. Biochem Pharmacol, 2011, 81(1): 178 – 184.
[14] Yano K, Sekine S, Nemoto K, *et al*. The effect of dimerumic acid on LPS-induced downregulation of Mrp2 in the rat[J]. Biochem Pharmacol, 2010, 80(4): 533 – 539.
[15] Geier A, Dietrich C G, Voigt S, *et al*. Effects of proinflammatory cytokines on rat organic anion transporters during toxic liver injury and cholestasis[J]. Hepatology, 2003, 38(2): 345 – 354.
[16] Cherrington N J, Slitt A L, Li N, *et al*. Lipopolysaccharide-mediated regulation of hepatic transporter mRNA levels in rats[J]. Drug Metab Dispos, 2004, 32(7): 734 – 741.
[17] Stieger B, Beuers U. The canalicular bile salt export pump BSEP (ABCB11) as a potential therapeutic target[J]. Curr Drug Targets, 2011, 12(5): 661 – 670.
[18] Kubitz R, Sutfels G, Kuhlkamp T, *et al*. Trafficking of the bile salt export pump from the Golgi to the canalicular membrane is regulated by the p38 MAP kinase[J]. Gastroenterology, 2004, 126(2): 541 – 553.
[19] Hayashi H, Sugiyama Y. Short-chain ubiquitination is associated with the degradation rate of a cell-surface-resident bile salt export pump (BSEP/ABCB11)[J]. Mol Pharmacol, 2009, 75(1): 143 – 150.
[20] Diao L, Li N, Brayman T G, *et al*. Regulation of MRP2/ABCC2 and BSEP/ABCB11 expression in sandwich cultured human and rat hepatocytes exposed to inflammatory cytokines TNF-α, IL-6, and IL-1β[J]. J Biol Chem, 2010, 285(41): 31185 – 31192.
[21] Elferink M G, Olinga P, Draaisma A L, *et al*. LPS-induced downregulation of MRP2 and BSEP in human liver is due to a posttranscriptional process[J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2004, 287(5): G1008 – G1016.

(**收稿**:2014-01-08;**修回**:2014-01-16)
(编辑 王 红)

文章编号:1000-5404(2014)08-0773-01

经验交流

病灶清除自体骨联合自骨化磷酸钙人工骨植入治疗早期非创伤性股骨头坏死

韦标方 (276000 山东 临沂,临沂市人民医院股骨头坏死专科)

[**关键词**] 股骨头坏死;保髋;人工骨
[**中图法分类号**] R687.3 [**文献标志码**] B

股骨头坏死的治疗一直是骨科一大疑难,非创伤性股骨头坏死主要累及中青年,且多双侧发病[1],目前治疗大多采用人工髋关节置换[2],但由于其使用寿命有限,多数患者面对多次手术,无疑给社会、家庭带来沉重的负担。我们自 2008 年 1 月至 2012 年 12 月我科住院治疗采用病灶清除自体骨植入及联合自骨化磷酸钙人工骨植入治疗早、中期股骨头缺血坏死 66 髋,回顾性的分析两种方法的疗效,现报告如下。

1 资料与方法

1.1 病例资料

2008 年 1 月至 2012 年 12 月我科住院治疗的早期非创伤性股骨头坏死 66 髋。32 髋行病灶清除自体骨联合自骨化磷酸钙人工骨植入作为治疗组;34 髋行高位头颈开窗病灶清除自体骨植骨术作为对照组。两组年龄,性别,病因,分期均无统计学差异,基线水平一致。

1.2 手术方法

患者取平卧位,取髋关节前外侧切口,暴露股骨头颈,行头颈开窗,死骨清除,治疗组取同侧髂骨联合自骨化磷酸钙人工骨植入,对照组单纯同侧髂骨植入,打压植骨。术中 C 型臂监控。术后第 3 天开始功能锻炼,3 个月内免负重, 平均手术时间 1.5 h。

1.3 评价方法

采用 Harris 髋关节评分系统[3]评价。主要从疼痛(44 分),功能(47 分),畸形(4 分)及关节活动度(5 分)等 4 个方面进行评估,100 分为满分。评分≥90 分为优,80 ~ 89 分为良,70 ~ 79 分为可,≤69 分为差。69 分以下或在随访时已接受全髋关节置换术认为手术失败。

1.4 统计学处理

运用 SPSS 19.0 统计软件处理数据,计数资料的比较采用 χ^2 检验,计量资料比较检验采用 t 检验。所有的统计分析检验均采用双侧假设检验,假设检验的水准均取 $\alpha = 0.05$,即 $P < 0.05$ 将被认为所作检验的差别有统计意义。

[**通信作者**] 韦标方,电话:13969900661;E – mail:weibiaofang@163.com
[**优先出版**] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20140313.1307.003.html(2014-03-13)

(下转 779 页)