维普资讯 http://www.cqvip.com

论著 文章编号:0253-3626(2007)05-0474-06

肝再生增强因子联合肝细胞脾内移植治疗急性肝衰的实验研究

陈 曜,袁 刚,孙 航,刘 杞

(重庆医科大学病毒性肝炎研究所,重庆 400010)

【摘 要】目的:探讨应用 rALR 与新生大鼠肝细胞脾内移植联合治疗大鼠急性肝衰竭的疗效。方法:采用 D-gal 诱导大鼠急性肝衰竭模型,36h 后随机分为 6 组:(Ⅰ组:造模对照组;Ⅱ组:脾脏注射生理盐水 1ml,腹腔注射生理盐水 1ml/d;Ⅲ组:脾脏注射 rALR 1ml(50μg/(kg·d)),腹腔注射 rALR 1ml(50μg /(kg·d));Ⅳ:脾脏移植 2×10^7 新生大鼠肝细胞,腹腔注射生理盐水 1ml/d;Ⅴ组:脾脏移植 2×10^7 新生大鼠肝细胞,腹腔注射 rALR 1ml;Ⅵ组:脾脏移植 2×10^7 新生大鼠肝细胞,腹腔注射 CsA 1ml(10mg/(kg·d))。比较各组生存率。术后第 1、5 天、14 天获取肝组织,观察病理变化。术后第 1、2、5、12 天采血,检测肝功能指标。结果:Ⅱ组存活时间与Ⅰ组比较无差异。Ⅲ组最长存活时间为 118h,肝脏病理及肝功能改变情况基本同Ⅰ组和Ⅱ组。Ⅳ组有部分长期存活,2 周生存率为 33.3%。Ⅴ组两周存活率显著高于Ⅳ组(75%对 33.3%,$P<0.02$),Ⅵ组和Ⅳ组 2 周存活率比较无显著性差异($P>0.05$)。肝功能及病理情况在Ⅳ、Ⅴ、Ⅵ组有明显改善,尤以Ⅴ组最为显著。)结论:应用 rALR 联合新生大鼠肝细胞移植能有效治疗大鼠急性肝衰竭,改善 D-gal 诱导的肝衰竭大鼠的存活率,促进肝功能恢复及改善肝脏病理状况。

【关键词】急性肝衰竭;肝再生增强因子;新生大鼠肝细胞移植

【中国图书分类法分类号】R457.2 【文献标识码】A 【收稿日期】2007-01-16

Study on effect of rALR combined with rat hepatocyte intrasplenic transplantation in rat with acute hepatic failure

CHEN Yao, et al

(*Institute of Viral Hepatitis, Chongqing Medical University*)

【Abstract】***Objective***: To evaluate the treatment effects of rALR combined with newborn rat hepatocyte through intrasplenic transplantation in rats with acute hepatic failure induced by chemical drug. ***Methods***: Acute hepatic failure (AHF) animals were induced by 1.2g/kg D-gal and randomly divided into 6 groups after intoxication. Group Ⅰ as model control received no further treatment, Group Ⅱ received 1ml buffered saline, group Ⅲ 1ml rALR, group Ⅳ 2×10^7/ml hepatocytes, group Ⅴ 2×10^7 hepatocytes suspended in 1ml rALR(50μg/(kg·d)) and group Ⅵ 2×10^7 hepatocytes in 1ml cyclosporine A(10mg/(kg·d)), through intrasplenic injection, respectively. The abdominal cavities of group Ⅱ~Ⅵ rats were injected with above same reagents every day till rat death or two weeks. We determined the surviving of rats in each group daily. Concurrently, surviving rats from correspondingly treated groups were killed for histology 1、5 days after operation and subsequently at weekly intervals up to 3 week to obtain histologic specimens for observing liver histopathological change. ***Result***: The model control group rats could have survived for 88 hours at most, which proved intoxication successful. Group Ⅱ rats' death times were similar to group Ⅰ, and there was no significant difference in survival between the two groups rats. Group Ⅲ rats could have survived for 90 hours at most, and the liver pathological state and hepatic function change were basically the same as group Ⅱ rats. A proportion of group Ⅳ rats had survived for 2 weeks, and the surviving for 2 weeks was 33.3%. At 2 weeks, the survival of group Ⅴ rats was significantly higher than that of groups Ⅰ~Ⅳ rats (75% vs 33.3%, $P<0.02$), meanwhile, it showed no statistically significant increase compared to that of group Ⅵ rats (75%vs43.75%, $P=0.07>0.05$). there was no significant difference in survival between group Ⅳ and group Ⅵ rats ($P>0.05$). Hepatic function and liver pathological state for groups Ⅳ, Ⅴ, Ⅵ rats had improvment, especially, group Ⅴ. ***Conclusion***: It was significant that the effect of treatment of newborn rat's hepatocyte transplantation in

作者介绍: 陈 曜(1974-),女,博士生,
主要研究方向:肝癌分子机制。

基金项目: 国家自然科学基金项目(30170843;30500457)和重庆市科委重点项目([2001]38);CSTC2006BB5276 资助。

维普资讯 http://www.cqvip.com

combination with rALR on rat with acute hepatic function failure.It could improve the survival of rats with acute hepatic failure (AHF) induced by D-gal, and ameliorate hepatic function and hepatic pathological state.

【Key words】Acute hepatic function failure(AHF);Rat augmenter of liver regeneration(rALR);Newborn rat hepatocyte transplantation

急性肝功能衰竭起病急、进展快、病死率高，严重威胁着人们的生命健康。国外多采取同种异体肝移植治疗，国内有条件的医院也相继开展了此项治疗，但受供肝来源和治疗费用等因素的制约，难以普遍开展。因此，目前国内仍以内科综合治疗为主，但疗效不佳。尽管人和哺乳动物的肝脏具有强大的再生功能，且急性肝功能衰竭患者血中虽有高水平的促肝细胞增殖的多种细胞因子[1-3]，但仍表现为肝细胞再生能力不足，导致残存肝细胞不能为机体代谢提供足够的肝功能支持，致使急性肝功能衰竭发生。如能补充一定数量的同种异体肝细胞和抑制机体的免疫反应，起到既阻止残存肝细胞进一步坏死和保护新生肝细胞，又使移植肝细胞免遭免疫排斥，同时提供一定的肝功能支持，减轻残存和新生肝细胞的代谢负担，使它们有足够时间再生，以达到治愈肝功能衰竭的目的[4,5]。

肝再生增强因子(Augmenter of liver regeneration，ALR)是近年发现的、由机体自身产生的一种新的细胞因子，研究证实它能促进损伤肝脏的修复，推测可能是通过直接刺激肝细胞增殖或/和通过免疫调控作用而实现的[6-9]。本研究探讨新生大鼠肝细胞移植加 ALR 治疗大鼠急性肝功能衰竭的可行性和疗效，为 ALR 治疗急性肝功能衰竭的临床应用提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物 Wistar 大鼠雌雄各半，体重 150~250g；0~24h 龄新生 Wistar 大鼠，由重庆医科大学动物中心提供。

1.1.2 试剂 D-氨基半乳糖(D-Gal)购于重庆医科大学化学教研室，ALT、AST 检测试剂盒购于上海荣盛生物技术有限公司，胆红素检测试剂盒购于四川省迈克科技有限责任公司，重组大鼠肝再生增强因子由本研究所制备[10]。

1.2 方法

1.2.1 急性肝功能衰竭模型建立 Wistar 大鼠 94 只，雌雄各半，于腹腔内注射浓度为 1.2g/kg 的 D-Gal，建立大鼠急性肝功能衰竭模型。

1.2.2 新生大鼠肝细胞制备 以文献方法进行[11]。现简述如下：无菌切取新生 Wistar 大鼠肝脏，剪碎肝组织，用预冷 Hanks 液反复冲洗数次，再用 37℃的 Hanks 液混悬，转入 200ml 的三角烧瓶内，在 37℃恒温摇床上，140r/min 持续震摇 10min，弃上清。加入 37℃Hanks Ⅰ液 30ml，37℃孵育 15min，再以 260r/min 震摇消化 15min，上清液经 200 目筛网过滤，滤液用预冷肝细胞洗液 (DMEM+1%FCS)1:1 稀释，于 4℃，40g 离心 5min，弃上清。不能通过 200 目筛网的组织碎块重复 37℃Hanks Ⅰ震摇消化和过滤，直至大部分组织碎块消化成单个细胞。合并重悬细胞于 DMEM 中，小心铺加细胞于盛有 30%和 70%Percoll 液面上，在 4℃，800g，离心约 30min，收集处于两浓度界面的雾状细胞层于洁净试管中，加入肝细胞洗液，4℃、40g 离心 5min，弃上清。用 DMEM 将细胞浓度调至 2×10^7/ml 备用。

1.2.3 手术处理 所有造模大鼠都行开腹手术以暴露脾脏，手术过程简述如下：用异戊巴比妥钠(50ml/kg 体重)腹腔注射，麻醉后固定于操作台上，腹部去毛、消毒、铺孔巾，作上腹切口开腹，止血钳止血。移开胃及网膜找到脾脏，无齿弯形镊将脾脏拉出置于孔巾上，无齿止血钳阻断脾门部。根据不同分组，用注射器从脾尾向脾实质内缓慢注射相应治疗药物，棉签轻压注射孔，确定无出血后取掉脾门部止血钳，将脾脏放回腹腔，逐层缝合关腹。每只大鼠于手术当天及以后每天常规肌注青霉素 20 万 U。

1.2.4 实验分组及处理 所有造模大鼠随机分为 6 组：Ⅰ组(n=14)造模组；Ⅱ组(n=14)脾内注射生理盐水 1ml，以后每天腹腔注射生理盐水 1ml；Ⅲ组(n=18)脾内注射含 50μg/kg rALR 的生理盐水 1ml，以后每天腹腔注射含相同剂量 rALR 的生理盐水 1ml；Ⅳ组(n=16)脾内注射悬于 1ml 生理盐水中的肝细胞 2×10^7 个，以后每天腹腔注射生理盐水 1ml；Ⅴ组(n=16)脾内注射 1ml 含 50μg/kg rALR 和 2×10^7 个肝细胞的生理盐水，以后每天腹腔注射含相同剂量 rALR 的生理盐水 1ml；Ⅵ(n=16)脾内注射 1ml 含 10mg/kg 剂量 CsA 和 2×10^7 个肝细胞的生理盐水，以后每天腹腔注射含相同剂量 CsA 的生理盐水 1ml。

1.2.5 血清肝脏功能的检测 各组动物分别在术前、术后 1、2、5、12 天采集静脉血，分离血清，按试剂说明书检测 ALT、AST 和胆红素。

1.2.6 组织学检查 分别于治疗后 36h 和第 7 天，从各组存活动物中随机挑选 1 只大鼠处死，以及治疗结束时第 12 天，处死全部存活动物，取肝脏供病理组织学检查。

1.2.7 统计处理 所有计量数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示，ALT、AST 和胆红素水平采用多个样本均数间每两个均数比较的 q 检验，各组 2 周生存率比较采用 χ^2 检验；每两组两周生存率比较用 Fisher 确切概率计算法。用 Excel 98、SPSS11.0 软件作统计分析。

维普资讯 http://www.cqvip.com

2 结 果

2.1 不同处理组大鼠的状况及存活、死亡情况

大鼠在药物诱导后 24~36h，精神反应明现亢奋，汗多，脚掌及皮肤毛色泛黄，小便浓呈深黄色改变，食欲明显下降；第 40h 开始逐渐进入昏迷状态，造模对照组死亡时间大多在平行于术后 48~72h 左右，最长存活时间为造模后 88h。Ⅱ、Ⅲ组大鼠术后精神食欲无好转，逐渐死亡；Ⅳ、Ⅴ、Ⅵ三组的部分大鼠上述情况明显好转，精神食欲及活动能力逐渐恢复正常，能存活 2 周以上的时间(图 1)。

剔除移植后 2h 内死亡大鼠(技术死亡)后，第Ⅳ组、第Ⅴ组、第Ⅵ组的 2 周存活情况的两两比较，可见在Ⅳ、Ⅴ、Ⅵ三组间，2 周存活率总体上有统计学差异；第Ⅳ组和第Ⅴ组相比较有统计学意义；其余组两两比较无统计学意义(图 2)。

2.2 不同治疗组的肝功能变化

在 D-gal 诱导后 60h，即各治疗组治疗后 1 天：Ⅳ组与Ⅲ组比较各项指标差异无显著性 ($P>0.05$)；Ⅲ组与Ⅴ组比较在 ALT 和 AST 水平有显著性差异 ($P<0.05$)；Ⅲ组与Ⅵ组比较在 AST 和 TbiL 水平有显著差异 ($P<0.05$)；其余组两两比较差异无显著性 ($P>0.05$)。治疗后 2 天：Ⅳ组、Ⅴ组、Ⅵ组三组间各项指标差异无显著性($P>0.05$)。治疗后 5 天：肝功各项指标水平明显下降，Ⅳ组、Ⅴ组、Ⅵ组两两比较，在 AST 和 TBiL 水平，呈显著性差异($P<0.05$)，尤以第Ⅴ组最为明显；在 ALT 水平，Ⅳ组和Ⅴ组、Ⅳ组和Ⅵ组都呈显著性差异($P<0.05$)。治疗后 12 天：存活大

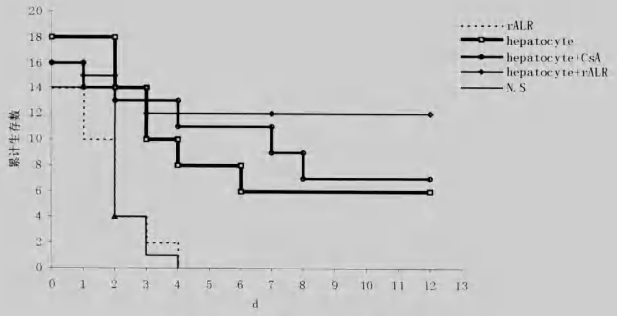
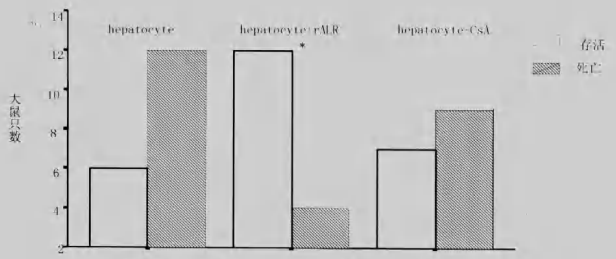


图 1 Ⅱ-Ⅵ组术后生存曲线



*：表示Ⅴ组与Ⅳ组比较有统计学意义，$P<0.02$

图 2 三个组 2 周存活率的两两比较

表 1 肝衰大鼠肝脏生化功能指标的变化

时间	分组(n)	ALT(IU/L)	AST(IU/L)	TBiL(μmol/L)
0 天	正常值(14)	51.24±5.57	212.35±37.66	6.56±1.16
24h	Gr Ⅰ(14)	1211.09±407.92	1381.60±339.77	9.30±2.04
术后 1 天	Gr Ⅲ(18)	1862.14±515.20	1898.21±426.79	66.26±11.32
	Gr Ⅳ(16)	1632.21±287.42	1711.92±364.20	59.40±18.36
	Gr Ⅴ(16)	1389.54±385.58*	1565.82±330.46*	57.43±16.03
	Gr Ⅵ(16)	1611.06±323.36	1561.21±388.26▲	53.99±15.43▲
术后 2 天	Gr Ⅳ(16)	1422.38±304.92	1713±322.161	53.36±11.25
	Gr Ⅴ(16)	1432.02±274.77	653.78±306.17	51.74±11.62
	Gr Ⅵ(16)	1440.36±251.89	1715.37±376.26	54.03±6.83
术后 5 天	Gr Ⅳ(16)	64.32±11.88	524.87±45.68	34.09±3.32
	Gr Ⅴ(16)	49.65±8.78[a]	235.02±33.35[a]	10.68±2.54[a]
	Gr Ⅵ(16)	47.20±6.12[b]	289.45±57.42[b]	21.63±4.27[b]
术后 12 天	Gr Ⅳ(16)	51.84±13.01	254.43±38.18	8.76±2.57
	Gr Ⅴ(16)	45.57±8.76	231.63±34.66	7.66±2.53
	Gr Ⅵ(16)	41.07±9.71	226.26±50.27	8.14±1.80

注：24h 为 D-gal 诱导后 1 天，n 代表动物只数。在同一时间点Ⅲ组与Ⅴ组和Ⅵ组分别为 *$P<0.05$ 和▲$P<0.05$；Ⅳ组与Ⅴ组、Ⅵ组比较分别为 [a]$P<0.05$、[b]$P<0.05$；Ⅴ组与Ⅵ组比较为 [c]$P<0.05$ 。

维普资讯 http://www.cqvip.com

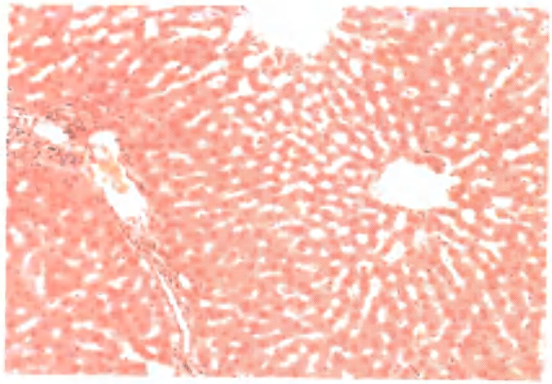


图 3 正常大鼠肝脏形态(×200 HE)

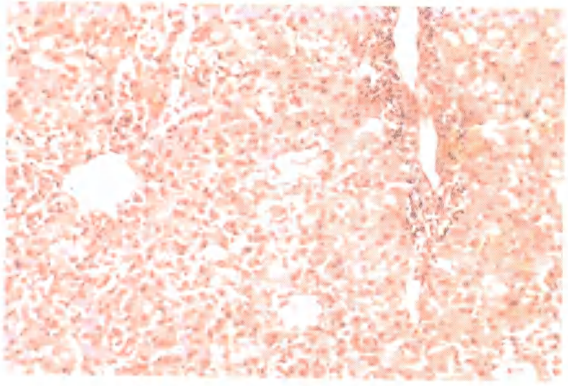


图 4 造模组肝脏 36h(×200 HE)

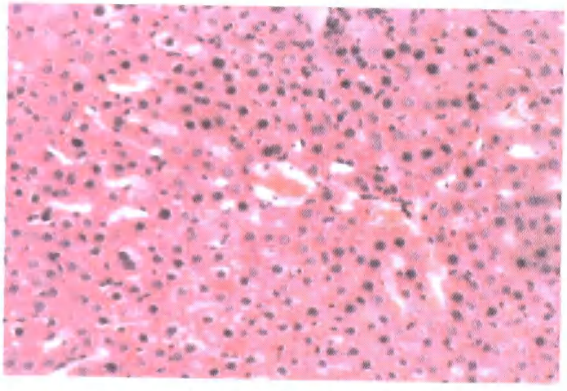


图 5 Ⅳ组大鼠术后 7 天肝脏形态(×200 HE)

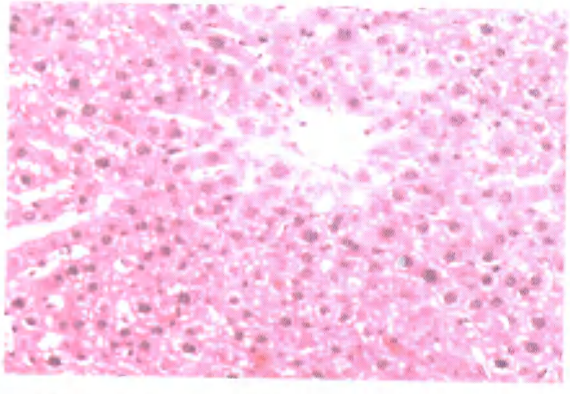


图 6 Ⅳ组大鼠术后 12 天肝脏形态(×200 HE)

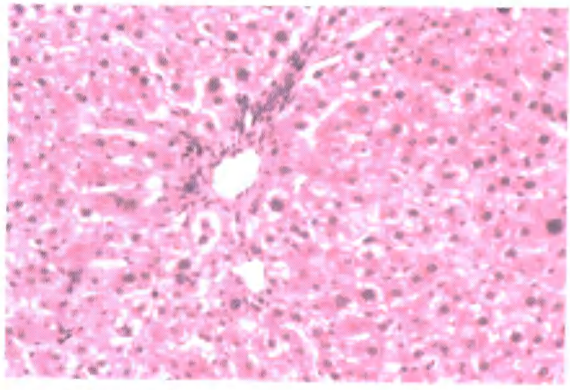


图 7 Ⅴ组大鼠术后 7 天肝脏形态(×200 HE)

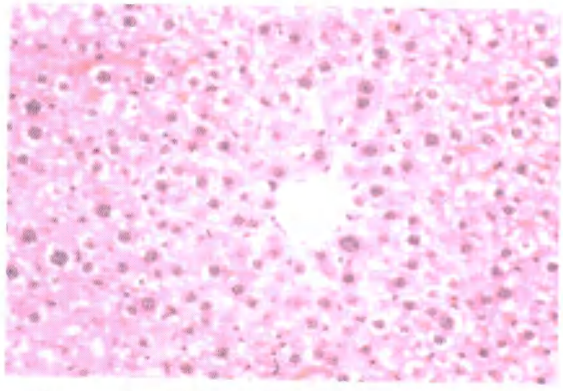


图 8 Ⅴ组大鼠术后 12 天肝脏形态(×200 HE)

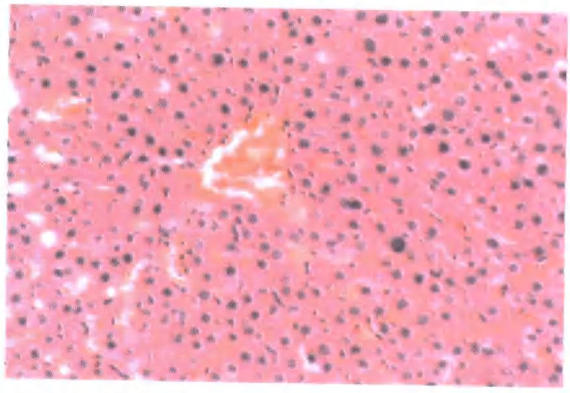


图 9 Ⅵ组大鼠术后 7 天肝脏形态(×200 HE)

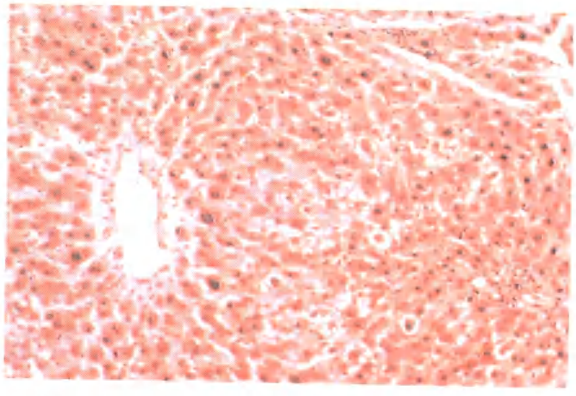


图 10 Ⅵ组大鼠术后 12 天肝脏形态(×200 HE)

维普资讯 http://www.cqvip.com

鼠的各项指标恢复到正常水平，各组间差异无显著性($P>0.05$)(表 1)。

2.3 组织学改变

与正常肝脏组织相比，Ⅰ组在造模后 36h，小叶结构破坏，肝索紊乱，肝细胞大片变性坏死，可见空泡，核固缩或碎裂，汇管区淋巴细胞、中性白细胞等炎性细胞浸润，坏死区亦见炎性细胞浸润。肝窦扩张，可见淤血甚或出血。Ⅱ组、Ⅲ组光镜下的肝脏病理改变与造模对照组无明显差异，呈现类似的病理变化(图 3,4)。造模后 7 天，Ⅳ、Ⅴ、Ⅵ组的肝脏病理改变较造模对照组有所改善，表现在炎性细胞的浸润明显减少，但肝小叶的结构破坏仍较严重。术后 12 天，只可见少量炎性细胞浸润，部分肝细胞呈现双核增生反应(图 5~10)。

3 讨 论

在肝细胞移植部位选择的研究中发现：脾内移植能较好的起到肝功能支持作用[12]。有报道称同种异体肝细胞在脾内存活能达 21 月之久[13]，相比肝内及腹腔移植能更好的减低并发症及免疫排斥的危险。在本研究中，通过肝细胞脾内移植方式，我们能更好地在脾内分辨出移植肝细胞及了解移植肝细胞的存活状态。对移植的肝细胞数量，各家报道不一致[14,15]。现普遍认为能有效代偿肝功能的细胞数量为$(1\sim3)\times10^7$，我们采用2×10^7个细胞数进行脾内肝细胞移植。结果证明是有效的。

研究表明，成年哺乳动物的肝细胞增殖能力最差，新生动物的肝细胞增殖能力最强，胎肝细胞增殖力居中[16]。在肝细胞移植后疗效的研究中，Sommer BG[17]等认为移植的大鼠肝细胞不是通过降低胆红素和 SGPT 转氨酶的途径，而是通过提供其他有效的生化功能来降低药物性肝衰竭大鼠的死亡率。而 Nikolaos[4,5]等却报道了相反的结果。由于新生大鼠肝细胞增殖力最强，能自分泌 rALR，且抗原性较成年大鼠肝细胞弱，因此在本研究中，我们采用新生大鼠肝细胞作为移植的供体。通过初步对Ⅰ~Ⅳ组的 2 周生存率比较发现，Ⅳ组的 2 周存活率达到 33.3%(6/18)，与Ⅱ、Ⅲ组(0/14)和Ⅰ组(0/14)有显著性差异，表明移植的新生大鼠肝细胞在受体体内能较好地起到支持药物性暴发型肝衰竭大鼠肝功能的作用。在进一步的实验研究中发现：Ⅴ组的 2 周存活率达 75%(12/16)，极大地提高了肝衰竭大鼠的生存率，同Ⅳ组(6/18)比较有显著性差异；但Ⅵ组(7/16)与Ⅳ组及Ⅵ组与Ⅴ组比较皆无显著性差异。提示在加用肝再生增强因子后，能更好地治疗药物所致的肝衰竭大鼠，并明显地提高了肝衰竭大鼠的两周存活率。同时我们也发现若单纯应用肝再生增强因子治疗，肝衰竭大鼠无一存活(0/14)，表明肝再生增强因子可能只是在新生大鼠肝细胞移植的基础上起到直接刺激肝细胞增殖及抑制免疫反应，减少免疫排斥反应的发生，利于移植细胞存活的作用，也从另一方面再次证实了新生大鼠肝细胞移植在药物性肝衰竭大鼠体内起到肝功能支持方面不可替代的作用。

通过肝功能结果显示：各组大鼠在 D-gal 诱导后第 1 天 s-ALT、s-AST 开始显著恶化，第 3 天肝功各项指标达到高峰。未经肝细胞移植治疗的肝衰竭大鼠多在其后的 12~24h 内死亡。在比较各组术后第 1 天时的肝功能指标发现：经过肝细胞移植+rALR 和肝细胞移植+CsA 的两个组分别在 ALT、AST 水平和 AST、TbiL 水平上较单纯 rALR 治疗组有对抗其上升的作用。在药物诱导第 5 天后，Ⅰ组、Ⅱ组和Ⅲ组的大鼠全部死亡。表明造模后第 3~4 天为肝衰竭大鼠肝功能全面衰竭的时间段，除进行了肝细胞移植治疗的三个组外，其余组肝衰竭大鼠大多因严重的肝功能衰竭而死亡。在术后第 2 天，虽然各组存活率Ⅳ组(77.78%)、Ⅴ组(87.5%)、Ⅵ组(81.25%)不同，但各项肝功能指标两两比较无显著差异。在移植术后 5 天，存活大鼠肝功各项指标水平明显下降，Ⅳ组、Ⅴ组、Ⅵ组两两比较，在 AST 和 TBiL 水平，呈显著性差异；在 ALT 水平，Ⅳ组和Ⅴ组、Ⅳ组和Ⅵ组都呈显著性差异。以上结果表明：相较于单纯肝细胞治疗组和肝细胞+CsA 治疗组而言，肝衰竭大鼠在肝细胞移植前后加用 rALR 能加快改善肝功能、提高肝衰竭大鼠的存活率。到术后第 12 天各组存活大鼠的各项指标恢复到正常水平，各组间无显著性差异。此结果提示：当药物导致了严重自身肝细胞损害的同时，由于相应的治疗措施的出现，为自身肝细胞的修复和再生提供了良好的契机。

本研究结果证明 ALR 联合肝细胞移植治疗急性肝衰竭有较好的疗效，为今后临床应用提供了坚实的实验基础，但其具体机制正在进行研究。

(通讯作者：刘 杞，博士生导师，主要研究方向：肝癌分子机制，电话：023-63825854，E-mail:cy0919cn@yahoo.com.cn)

维普资讯 http://www.cqvip.com

参 考 文 献

[1] Pauwels A,Mostefa-Kara N,Florent C,et al.Emergency liver transplantation for acute liver failure evaluation of London and Clichy criteria[J].Hepatology,1993;17:124.

[2] Susumu E,Helene L,Winston R,et al.Loss and recovery of liver regeneration in rats with fulminant hepatic failure[J].Surgical reseach,1997;72:112-122.

[3] Hagiya MD,Francavilla A,Polimeno L,et al.Cloning and sequence analysis of the rat augmenter of liver regeneration(ALR) gene:Expression of biologically active recombinant ALR and demonstration of tissue distribution[J].Proc Natl Acad Sci USA,1994;91:8142-8146.

[4] Nikolaos A.Intrasplenic Transplantation of allogenic hepatocytes prolongs survival in an hepatic rats[J].Hepatology,1998;28:1365-1370.

[5] Birraux J,Genin B, Sinigaglia C,et al.Does hepatocyte transplantation in a chemically induced acute hepatic failure make sense [J]. Eur J Pediatr surg,1998;3:224-229.

[6] Francavilla A,Vujanovic NL,Polimeno L,et al.The in vivo effect of hepatotrophic factors augmenter of liver regeneration,hepatocyte growth factor,and insulin-like growth factor-II on liver natural killer cell functions[J].Hepatology,1997;25:411-415.

[7] Tanigawa K,Sakaida I,Masuhara M,et al.Augmenter of liver regeneration(ALR)may promote liver regeneration by reducing natural killer (NK)cell activity in human liver diseases [J].J Gastroenterol,2000;35:112-119.

[8] Adams GA,Maestri M,Squiers EC,et al.Augmenter of liver regeneration enhances the success rats of fetal pancreas transplantation in rodents[J].Transplantation,1998;65:32-36.

[9] Antonio F,Nikola Lvujanovic,Lorenzo P,et al.The in vivo effect of hepatotrophic factors augmenter of liver regeneration,hepatocyte growth factor,and insulin-like growth factor-II on liver natural killer cell functions[J].Hepatology,1997;25:411-415.

[10] 刘 杞,石小枫,罗 娅,等.重组人肝再生增强因子原核表达载体的构建及在大肠杆菌中的表达[J].中华肝脏病杂志,2000;8(1):9-11.

[11] 刘 杞,袁 刚.新生大鼠肝细胞的分离纯化及冻存条件分析[J].中华肝脏病杂志,2004;12(1):27-28.

[12] Mito M,Ebata H,Kusano M,et al.Morphology and function of isolated hepatocytes transplanted into rat spleen[J].Transplantation,1979;28(6):499-505.

[13] Darby H,Gupta S,Johnstone R,et al.Observations on rat spleen reticulum during the development of syngeneic hepatocellular implants[J].Br J Exp Pathol,1986;67(3):329-339.

[14] Vogels B,Mass M,Bosma A,et al.Significant improvement of survival by intrasplenic hepatocyte transplantation in totally hepatectomized rats[J].Cell Transplant,1996;5:369.

[15] Rozga J,Holzman M,Fujioka H,et al.Repeated intraportal hepatocyte transplantation in rats[J].Cell Transplant,1994;4:237.

[16] Jauregui HO.Treatment of hepatic insufficiency based on cellular therapies[J].Int J Artif Organs,1991;14(6):321-326.

[17] Sommer BG,sutherland DER,Matas AJ,et al.Hepatocellular Transplantation for treatment of D-galactosamine-induced acute liver failure in rats[J].Trans Proc,1979;11:578-584.

(上接第 454 页)

of nuclear factor-κB prevents TRAIL-induced apoptosis in renal cancer cells[J].Oncogene,2001;20(29):3888-3896.

[4] Zheng T,Kelley VR,Collins T,et al.IκB kinase is critical for TNF-α-induced VACAM1 gene expression in renal tubular epithelial cells[J].J Immunol,2001;166:6839-6846.

[5] May MJ,Ghosh S.Signal transduction through NF-κB[J].Immunol Today,1998;19(1):80-88.

[6] Karin M,Lin A.NF-κB at the crossroads of life and death[J]. Nat Immunol,2002;3:221-227.

[7] Wang CY,Mayo MW,Baldwin AS Jr.TNF- and cancer therapy-induced apoptosis:potentiation by inhibition of NF-κB[J]. Science,1996;274:784-787.

[8] Guijarro C,Egido J.Transcription factor-κB (NF-κB)and renal disease[J].Kidney Int,2001;59:415-418.

[9] Thornton MV,Kudo D,Rayman P,et al.Degradation of NF-κB in T cells by gangliosides expressed on renal cell carcinomas[J].J Immunol,2004;172:3480-3490.

[10] Oya M,Takayangi A,Horiguchi A,et al.Increased nuclear favtor-kappa B activation is related to the tumor development of renal cell carcinoma[J].Carcinogenesis,2003;24(3):377-384.

[11] An JB,Rttig MB.Mechanism of von hippel-lindau protein-mediated suppression of nuclear factor kappa B activity[J].Mol Cell Biol,2005;25(17):7546-7556.

[12] Li G,Lambert C,Gentil-Perret A,et al.Molecular and cytometric analysis of renal cell carcinoma cells. Concepts,techniques and prospects[J].Prog Urol,2003;13(1):1-13.

[13] Han SS,Kim K,Hahm ER,et al.Arsenic trioxide represses constitutive activation of NF-kappaB and COX-2 expression in human acute myeloid leukemia,HL-60[J].J Cell Biochem,2005;94(4):695-707.

[14] Park MJ,Lee JY,Kwak HJ,et al.Arsenic trioxide (As_2O_3) inhibits invasion of HT1080 human fibrosarcoma cells:role of nuclear factor-kappaB and reactive oxygen species[J].J Cell Biochem,2005;95(5):955-969.

[15] Wei LH,Lai KP,Chen CA,et al.Arsenic trioxide prevents radiation-enhanced tumor invasiveness and inhibits matrix metalloproteinase-9 through downregulation of nuclear factor kappaB[J].Oncogene,2005;24(3):390-398.