们采用引物1、2将α1-ACT exon Ⅱ第54位至第419位的基因序列扩增出来,总长度366 bp。在扩增出的366 bp片段中,正常情况下,*Alu* Ⅰ酶有两个酶切位点,当用*Alu* Ⅰ酶进行酶切时,产生227 bp、21 bp及118 bp 3个DNA片段;如果编码第229位的脯氨酸的'CCT'突变为编码丙氨酸的'GCT'时,则增加了一个*Alu* Ⅰ酶酶切位点,酶切时将227 bp又切成207 bp和20 bp 2个DNA片段,于是,酶切后产生207 bp、118 bp、21 bp及20 bp 4个DNA片段。我们采用引物3、4将α1-ACT exon Ⅱ第33位至第820位的基因序列扩增出来,总长度788 bp。在扩增出的788 bp片段中,正常情况下,*Dde* Ⅰ酶有8个酶切位点,当用*Dde* Ⅰ酶进行酶切时,产生268 bp、154 bp、100 bp、77 bp、71 bp、57 bp、36 bp、14 bp及11 bp 9个DNA片段;如果编码第55位亮氨酸的碱基序列'CTG'突变为编码脯氨酸的碱基序列'CCG'时,则该部位*Dde* Ⅰ酶的酶切位点消失,于是,酶切后产生368 bp、154 bp、77 bp、71 bp、57 bp、36 bp、14 bp及11 bp 8个片段。本研究没有发现Bonn-1和Bochum-1变异体所具有的特征性DNA片段,此结果表明Bonn-1和Bochum-1变异体与100例重庆市汉族儿童哮喘发病无平行关系。

本研究虽然没有发现Bonn-1和Bochum-1变异体,但不能说α1-ACT基因突变与中国儿童哮喘发病无关。首先,本研究仅仅筛查了α1-ACT基因exon Ⅱ上编码其第55位亮氨酸和exon Ⅲ上编码其第229位脯氨酸的基因序列的两个位点的点突变情况,而没有检测exon Ⅰ、exon Ⅳ、exon Ⅴ以及exon Ⅱ和exon Ⅲ的其它位点。其次,种族差异、研究群体、地理环境及疾病种类均影响基因的分布排列。我国幅源辽阔,南北地理环境差异很大,又是多民族国家,本研究仅仅局限于重庆市的100例汉族儿童。所以,尽管没有发现相应的变异体,但结合前期研究结果来看,本研究仍然具有不可忽视的意义。

本研究在重庆市100例汉族儿童哮喘中对α1-ACT基因突变进行了初步探讨,为在中国人群中进一步研究α1-ACT打下了基础。要想更多地了解α1-ACT遗传缺陷与中国儿童哮喘发病的关系则需要在国内不同的民族、不同的地区广泛进行α1-ACT的研究。

参考文献

[1] Lindmark B, Svenonius E, Eriksson S. Heterozygous α1-antichymottypsin and Piz α1-antitrypsin Deficiency[J]. Allergy, 1990, 45(3):197—203.
[2] Poller W, Faber J P, Weidinger S, *et al*. A leucine-toproline substitution cause a defective α1-antichymotrypsin allele associated with familial obstructive lung disease[J]. Genomics, 1993, 17(3):740—743.
[3] Lindmark B. Asthma and heterozygous α1-anchymotrypsin deficiency: a posisible association[J]. J Internal Med-icine, 1990, 227(2):115—118.
[4] Elzouki A N, Verbaan H, Lindgren S, *et al*. Serine protease inhitors in patients with chronic viral hepatitis[J]. J Hepatol, 1997, 27(1):42—48.

(编辑 陈聪连)

文章编号:1000-5404(2000)01-0041-01

经验与短篇

高原藏族酒精性肝纤维化的电镜观察

Ultrastructure of alcoholic hepatic fibrosis of native Tibetan at high altitude

孙克勤,李素芝,李木成,任 燕 (西藏军区总医院病理科电镜室,拉萨 850003)

近年来研究发现,在各种致病因素作用下,脂肪肝与肝纤维化、矸硬化常常相继发生或同时存在[1]。为了研究高原藏族酒精性脂肪肝与肝纤维化的关系及其机制,我们收集了20例嗜酒患者经活检肝穿标本作光镜和电镜观察。现报道如下。

1 对象与方法

1.1 对象

20例嗜酒患者均为世界高原((海拔3 658m))男性藏族,年龄28~61岁,平均43岁。所有患者作HBsAg,两对半检测均为阴性,每日摄入酒类折合成酒精100~350g,平均225g。饮酒时间5~45年,平均21年。并除外其它原因所致的肝病,作为研究对象。

1.2 方法

采取的活检肝组织一部分经10%甲醛固定,HE染色,光镜观察。其余以常规电镜标本制作,采用Philips—CM 100透射电镜观察。

2 结果

光镜下肝细胞多显脂肪变性,主要为大泡性脂变,小叶内

(下转45页)

作者简介:孙克勤(1962.1),男,重庆市丰都县人,副主任医师,主要从事高原病理学方面的研究,发表论文13篇。电话:(0891)6253226

收稿日期:1999—07—15;修回日期:1999—10—17

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

新鲜培养液继续培养, 细胞仍于 2 d后死亡, 但这与持续暴露引发的细胞死亡方式有些不同: 短暂暴露于放线菌素 D 后第 1 天可见到细胞内 DNA 分子降解, 这种降解片断的特征与细胞凋亡相似, 因此短暂暴露于放线菌素 D 可以引发细胞凋亡, 而持续暴露于放线菌素 D 也许不仅可以引发细胞凋亡, 更可引发细胞坏死的过程。已有文献[9] 报道: 在特定条件下, 细胞坏死的发生远比细胞凋亡发生快, 如果这适合于 LC-6 细胞 , 就可以解释肺癌细胞持续暴露于放线菌素 D 液中能引起细胞毒性, 却不能检测到 DNA 分子降解片段的特征性改变。放线菌素 D 作为 Topo- Ⅱ的有效抑制剂, 与 rhTNF 伍用后明显加快肺癌细胞凋亡过程, 其可能是抑制 Topo- Ⅱ的活性, 增强细胞内限制性核酸内切酶活性, 通过改变染色体的形状, 增加 DNA 分子对限制性核酸内切酶的敏感性, 导致 DNA 分子降解, 具体机制还有待进一步研究。

参考文献

[1] Zinetti M, Galli G, Demitri M T, *et al*. Chlorpromazine inhibits tumour necrosis factor synthesis and cytotoxicity *in vitro*[J]. Immunology, 1995, 86(3):416－421.

[2] Powell C B, Herzog T J, Scott J H, *et al*. Evidence for a protein synthesis-dependent and -independent TNF alpha cytolytic mechanism[J]. Gynecol Oncol, 1995, 58(3):327－335.

[3] Enari M, Hug H, Hayakawa M, *et al*. Different apoptotic pathways mediated by Fas and the tumor-necrosis-factor receptor. Cytosolic phospholipase A 2 is not involved in Fas-mediated apoptosis[J]. Eur J Biochem, 1996, 236(2):533－538.

[4] Deocster E, Vanhaesebroeck B, Vandenabeele P, *et al*. Generation and biological characterization of membrane-bound, uncleavable murine tumor necrosis factor[J]. J Biol Chem, 1995, 270(31):18 473－18 478.

[5] Cui S, Reichner J S, Mateo R B, *et al*. Activated murine macrophages induce apoptosis in tumor cells through nitric oxide-dependent or -independent mechanisms[J]. Cancer Res, 1994, 54(9):2 462－2 467.

[6] Darzynkiewicz Z, Bruno S, Del Bino G, *et al*. Features of apoptostic cell measured by flow cytometry[J]. Cytometry, 1992, 13(6):795－808.

[7] Kerr J F R, Wyllie A H . Apoptosis : a basic biological phenomenon with wide-ranging implication in tissue kine-tics[J]. Br J Cancer, 1972, 26(1):239－257.

[8] Borner C, Martinou I, Mattmann C, *et al*. The protein bcl-2 alpha does not require membrane attachment, but two conserved domains to suppress apoptosis[J]. J Cell Biol, 1994, 126(4): 1 059－1 068.

[9] Chang N S. Hyaluronidase induces murine L929 fibrosarcoma cells resistant to tumor necrosis factor and Fas cytotoxicity in the presence of actinomycin D[J]. Cell Biochem Biophys, 1995－96, 27(2):109－132.

(编辑　汪勤俭)

(上接 41 页)

点状坏死, 其中常有中性粒细胞浸润。肝窦周网状纤维增多和胶原纤维形成。电镜下肝窦周间隙,肝细胞间隙增宽,可见明显肝窦周隙和肝细胞之间有大小不等胶原纤维束形成。本组还观察到窦周隙的贮脂细胞大多数富含脂滴, 部分转化为纤维母细胞并形成胶原纤维。肝细胞内主要以滑面内质网增生, 高尔基器发达, 线粒体形态不规则, 大小不等改变为主, 有时可见巨大线粒体。

3　讨论

关于酒精性肝病的发生已知为乙醇过多进入肝细胞以后, 氧化为乙醛, 由于乙醛干扰了三羧酸循环的正常进行,脂肪酸氧化受阻, 造成合成甘油三酯过量, 沉积于肝细胞内, 因而脂变多见[2]。此外,由于代谢紊乱,线粒体肿胀,嵴消失可形成巨大线粒体[2]。酒精性肝病的另一个显著特点是窦周纤维化, 研究证实, 乙醛可直接刺激肝窦贮脂细胞(Ito 细胞)增生, 也可通过刺激枯否氏细胞分泌一些细胞因子激活 Ito 细胞[2]。在肝纤维、肝硬化时, Ito 细胞变形, 增生, 转化为肌纤维母细胞样的细胞, 它产生的 ECM 及胶原沉积于 Disse 腔内,引起窦周纤维化。本组也观察到在纤维化的形成过程中, Ito 细胞由"静止"的胞浆富含脂滴的细胞"活化"逐渐失去脂滴, 转变肌纤维母细胞样细胞。在各种细胞因子的参与下, 大量合成胶原纤维,而在观察中见到较多中性粒细胞浸润, 这些炎细胞是否成为胶原纤维合成的一种细胞因子,还有待进一步研究。据报道, 滑面内质网的增生主要与肝脏内药物及毒物代谢有关[3], 因此, 酒精性肝病时滑面内质网的增生可能是肝细胞处理酒精代谢毒物的一种适应性反应。

上述超微病理改变及发生机制与平原较一致[2,4]。但由于高原藏民族长期大量饮酒、种族差异、生活习惯及地理环境, 酒精性肝病的发生率, 、分型及各型病变程度与国内平原和国外比较,均存在一定的差异,另文报道。

关键词　高原; 藏族; 酒精性肝纤维化; 超微结构

中图法分类号　R575　　文献标识码　B

参考文献

[1] 范建高 . 脂肪肝与肝纤维化的关系及其机制[J]. 国外医学: 消化系疾病分册, 1997, 17(2): 92－95.

[2] 赵静波, 王泰龄, 刘　霞, 等 . 酒精性肝病与慢性病毒性肝炎的病理鉴别[J] . 诊断病理学杂志, 1994, 1(2): 68－71.

[3] 周晓军, 张泰和, J C E Underwood. 慢性丙型肝炎的超微病理学研究[J] . 中华病理学杂志, 1993, 22(3): 157－159.

[4] 武忠弼 主编 . 超微病理学[M] . 北京: 人民卫生出版社, 1990. 228－229.

(编辑　陈聪连)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net