DOI:10.16016/j.1000-5404.1996.02.013

肝叶切除后Kupffer细胞分泌的TNF-α及EGF在肝再生中作用的探讨*

陈 平 韩本立 李 昆 段恒春 (第三军医大学附属西南医院肝胆外科中心)重庆,630038

提 要 本实验试图研究在60%～70%肝叶切除术后,再生肝kupffer细胞(KC)分泌肿瘤坏死因子(TNF-α)和表皮生长因子(EGF)的含量变化,探讨这些细胞因子在肝再生中的作用,进一步明确KC在肝再生中的地位。结果显示:肝叶切除术后一周残肝重量恢复到术前水平。肝叶切除术(PH)组KC的上清液中TNF-α的含量在术后6 h急剧上升,但在术后24 h又明显下降,低于假手术(SO)组的水平。一直到术后一周时TNF-α才恢复到SO组的水平。EGF含量在术后24 h内变化不大,但在24～48 h之间,出现明显的高峰,48 h以后,KC分泌EGF的含量逐渐下降,但仍然明显高于SO组。结果表明:KC在术后一周内能大量分泌EGF,促进肝脏再生,而TNF-α可能仅在肝再生启动过程中发挥作用。

关键词 肝叶切除术;肝再生;EGF;TNF
中图法分类号 R657.3

Kupffer细胞(KC)和肝细胞共同处于一个微环境中,两者在功能上相互依赖,在健康状态和疾病发展过程中起重要作用[1]。近来对肝叶切除术后肝细胞再生过程研究较多,而对再生肝的KC在肝再生过程中的作用不清楚。KC作为肝脏数量最多的一组巨噬细胞,在机体处于损伤、感染等应激状态下,分泌大量的细胞因子,在机体防御、损伤和修复方面发挥重要作用,肿瘤坏死因子(TNF-α)是其中具有代表意义的一种细胞因子[1]。本实验试图研究在60%～70%肝叶切除术后,再生肝KC分泌TNF-α和表皮生长因子(epidermal growth factor,EGF)的含量变化,探讨这些细胞因子在肝再生中的作用。

1 材料和方法

1.1 实验动物分组及模型制作

健康雄性Wistar大鼠48只,重220～225 g,随机分为肝叶切除术组(PH)和假手术组(SO)。肝叶切除的动物模型采用由Goss介绍的方法[2]。大鼠在乙醚麻醉下,腹部正中切口入腹,切除大鼠肝脏的左叶和中叶(切除量为全肝的70%),所有的模型制作是在上午8:00～9:00之间进行。SO组方法同上,但不切除肝脏,即正常对照组。手术后腹腔内注射5%葡萄糖液5 ml。观察时相为术后6、24、48、72 h及7 d。

1.2 KC的分离与培养

采用Callery的方法[3],稍加改变。即到时相点的动物行乙醚麻醉,门静脉游离插管,向肝内均匀灌注Hank液和0.05%胶原酶。切除肝脏,将肝脏剪碎过滤后,肝细胞悬液50× g 离心5 min,沉淀物主要为肝细胞。再取上清液500× g 再离心,沉淀物主要为KC,通过台盼蓝染色,可观察到肝和KC细胞活性>90%,将KC悬液加入含10%小牛血清的RPMI 1640培养基,细胞浓度为1×10^6/ml,放入12孔培养板在CO_2孵箱内孵育。24 h后,取出培养的KC细胞,收集细胞培养的上清液,分装储存在−20℃冰箱内保存待测。

1.3 TNF-α的测定

取各时相点KC培养24 h后的上清液,按照TNF-α测试药盒的说明书进行测定(TNF-α药盒由北京北方免疫试剂公司提供)。采用美国BIO-RAD公司制造的450型酶联仪在波长495 nm下测定。

1.4 EGF的测定

取各时相点KC培养24 h后的上清液,按照EGF测试药盒的说明书进行测定(EGF药盒由北京华清公司提供)。EGF用^{125}I标记,在FT-608放免测定仪(北京261厂制造)上测定。

统计学处理:资料表达采用$\bar{x}\pm s$,用Microsoft excel软件在微机上进行方差分析,t检验,以$P<0.05$为差异显著。

2 结果

2.1 肝叶切除术后残肝重量的变化(见图1)

从图1中可以看出,残肝渐长大,在48 h内,增长速度较慢。术后3～7 d增长速度明显,一周时达到高峰,为10.0±0.7 g。相当于SO组的肝重,SO组肝脏重为9.2±0.4 g,与PH组术后一周点比较差异不明显,两组肝脏重量均含灌注液。

* 国家自然科学基金资助项目,No.39270655

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

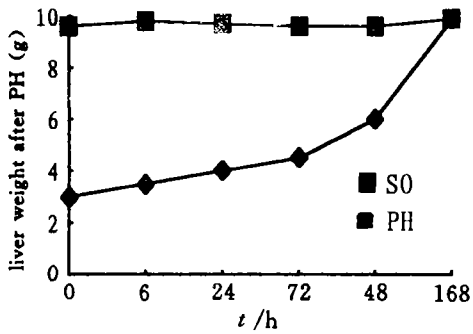


图1 肝叶切术后残肝重量的变化

Fig 1 Changes of liver weight after PH

2.2 肝叶切除术后KC上清液中TNF-α含量的变化(见图2)

从图2可以看出,PH组的KC的上清液中TNF-α的含量在术后6 h急剧上升,但在术后24 h又明显下降,低于SO组的水平($P<0.05$)。一直到术后一周时TNF-α方恢复到SO组的水平。

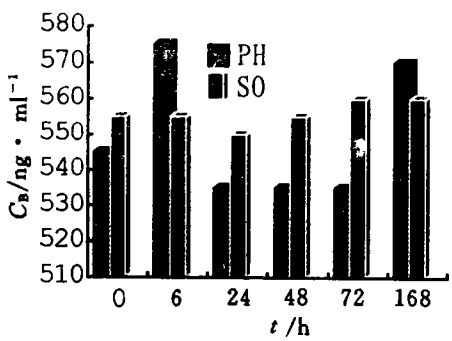


图2 KC上清液中TNF-α含量的变化

Fig 2 Changes of TNF-α levels in superant of KC in PH rats

2.3 KC上清液中EGF含量的变化(见图3)

从图3可以看出,肝叶部分切除术后KC上清液中EGF含量24 h内变化不大,但在术后24～48 h之间,呈现明显增长的一个高峰,其含量高于其它时相点含量几倍以上,术后48 h以后,KC分泌EGF的含量逐渐下降,但仍明显高于SO组($P<0.05$)。

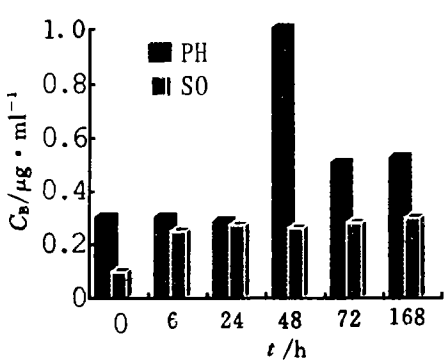


图3 PH组KC上清液中EGF含量的变化

Fig 3 Changes of EGF levels in superant of KC in PH rats

3 讨论

自Higgin创建了经典的肝叶切除动物模型以来,人们对肝再生进行了广泛的研究。但目前对肝再生是如何启动,又是如何中止的,仍然未弄清。从我们正在进行的肝细胞再生的研究结果来看,肝细胞再生大致可以分为三个时期,即肝细胞再生的启动、DNA的大量合成和肝细胞的大量分裂增殖期。术后48 h内,肝细胞再生处于启动状态。目前认为,在KC分泌的细胞因子和内分泌激素的作用之下,肝细胞再生可迅速被启动,但仍然有许多问题没有弄清。虽如此,大部分学者认为,细胞因子在肝再生启动过程中发挥重要作用。EGF是KC分泌的具有促进肝细胞增殖的细胞因子。我们以前的研究结果也支持这一点,即KC在肝细胞再生启动过程中发挥着重要作用,KC启动为启动肝细胞再生创造了条件。本实验结果表明,KC分泌EGF的剧烈变化发生在术后24～48 h之间,呈现明显增长的一个高峰,其含量比其它时相点高出几倍,以后KC分泌EGF的含量逐渐下降,至一周时KC分泌EGF的含量仍明显高于SO组。但大鼠肝叶切除术后一周残肝的重量不再增加,这说明虽然KC分泌的EGF仍很高,但肝再生的过程已被中断,造成肝再生中止的原因,目前不清楚。

大量研究表明,KC在感染、创伤等应激状态下分泌大量细胞因子,其中TNF-α是重要的细胞因子之一。TNF-α和IL-1共同促进IL-6的产生,三个因子协同作用,在肝脏急性反应期反应中发挥重要作用[1]。

本实验研究表明,PH组的KC产生的TNF-α的含量变化表明出如下的特点,即在术后6 h急剧上升,但在术后24 h又明显下降,低于SO组的水平,一直到术后一周时TNF-α方恢复到SO组的水平。这说明机体在肝叶切除术后创伤等因素的作用下,KC迅速地分泌大量的TNF-α,促进肝细胞再生。此结果支持Beyer的实验,即在肝叶切除早期TNF-α能促进肝细胞DNA的合成,加速肝再生[4]。由于TNF可引起肝细胞坏死,因此在肝再生启动以后,TNF-α的分泌受到抑制。我们的实验显示,在KC分泌TNF-α受抑制的这一时期(即术后24 h～7 d),正是肝细胞迅速增殖的阶段。所以TNF-α可能仅在肝再生启动过程中发挥作用。在肝叶切除术后一周时,肝重和KC分泌的TNF-α基本上恢复到术前水平。虽然此时KC分泌的EGF含量仍很高,但肝再生已停止了。造成肝再生中止的原因目前仍不清楚,TNF-α的这种变化与肝再生中止是否有关,还有待于进一步探讨。

参考文献

1 Maher JJ, Friedman SL. Parenchymal and nonparenchymal

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

cell interactions in the liver. Semi in Liver Dis, 1993; 13(1): 13
2 Goss JA, Mangino MJ, Callery MP *et al*. Postaglandin E_2 downregulates Kupffer cell production of IL-1 and IL-6 during hepatic regeneration. Am Physio Soci, 1993; 193: G601
3 Callery MP, Kamei T, Flye MW *et al*. Kupffer cell tumor necrosis factor-alpha production is suppressed during liver regeneration. J Surg Res, 1991; 50: 515
4 Beyer HS, Stanley M, Theologides A *et al*. Tumor necrosis factor-alpha increases hepatic DNA and RNA and hepatocyte mitosis. Biochem Int, 1990; 22: 405

(收稿: 1995-07-27; 修回: 1996-03-25)
(编辑 仇玉福)

Study of the effects of Kupffer cell-released TNF-α and EGF on liver regeneration after partial hepatectomy in rats

Chen Ping, Han Benli, Li Kun, Duan Hengchun (Department of Hepatobiliary Surgery, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 630038)

Abstract The changes of the levels of TNFα and epidermal growth factor (EGF) released by the Kupffer cells (KCs) after two-thirds partial hepatectomy (PH) were observed in rats. It was found that the TNFα level released by KCs reached the peak of elevation in the 6th hour after PH, went down in the 24th hour with a level lower than that of the sham-operated group (SO) and restored the SO Level in a week after PH. The level of EGF released by KCs showed no significant changes in the first 24 hours after PH, was significantly elevated in the 24th to 48th hour and gradually decreased 48 hours after surgery which was still higher than the SO level. The findings indicate that a large amount of EGF is released by KCs after PH to promote liver regeneration and TNFα exerts its effects only after the initiation of liver regeneration.

Key words partial hepatectomy; liver regeneration; tumor necrosis factor; epidermal growth factor

晚期肺癌合并肺不张的放射治疗

Radiotherapy of advanced carcinoma of lung complicated with atelectasis

傅尚志 徐维邦 (第三军医大学附属新桥医院肿瘤中心) 重庆, 630037

1 资料与方法

1.1 临床资料

51例晚期肺癌合并一叶以上肺不张，男性50例，女性1例，年龄38～81岁，平均57岁。鳞癌43例，腺癌4例，小细胞癌2例，未分型2例。全部病例均有X光片及CT检查，41例经支纤镜检查证实。患者非随机分为2组：先内照射组13例，12例为一侧全肺不张，且有2例是外照射后复发引起，1例为二叶肺不张。单纯外照射组38例：5例为一侧全肺不张，33例为一叶以上肺不张。肺不张时间最短半月，最长超过半年，一般为1/2～3月。有3例发现有远处转移。

1.2 治疗方法

1.2.1 先内照射组 经支纤镜将施源管插入阻塞支气管区，经模拟机摄片，据胸片、CT确定靶区范围、长度，参考点距离为离施源管中轴外10～15 cm，通过治疗计划系统优选最佳治疗方案。每次8～10 Gy，间隔一周，共2～3次，总量20～30 Gy，疗后一周10例辅以外照射，其方法与剂量和单纯外照射组相同。

1.2.2 单纯外照射组 先采用大野包括肿瘤边缘外2～3 cm，纵隔、双侧肺门、隆突区放疗8MVX肿瘤照射量40 Gy/4周，然后再缩野包括局部肿瘤及受阻塞的支气管部分为主，通常还包括同侧肺门、隆突及半边纵隔放疗，肿瘤吸收剂量为20～30 Gy/2～3周，均为2 Gy/每次。

2 结果

2.1 症状改善情况

2.1.1 先内照射组 一般内照射一次或二次后呼吸困难等症状均有不同程度改善，疗毕有10/13(77%)例病人症状明显改善，都能耐受内照射，仅1例由于远处转移未能坚持外照射。

2.1.2 单纯外照射组 一般达肿瘤吸收剂量40 Gy/4周后病人症状可逐渐改善，疗毕23/38(60.5%)例症状明显改善，有2例病情恶化而中断放疗。

2.2 肺复张情况

2.2.1 先内照射组 内照射后，肺部分和完全复张12/13(92%)例。仅1/13(8%)例肺未能复张。

2.2.2 单纯外照射组 外照射后，肺部分和完全复张24/38(63%)例，有14/38(37%)例肺未能复张，两组对比 $P<0.05$。

2.3 生存率

先内照射组与单纯外照射组1年生存率分别为5/13(38.5%)和15/38(39.5%)，2年生存率分别为2/13(15.4%)和

(下转 131 页)

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