DOI: 10.16016/j.1000-5404.1997.01.015

门腔静脉分流术对肝硬变门静脉高压大鼠胃粘膜的影响

刘吉奎 蔡景修 段恒春 杨衡文* (第三军医大学附属西南医院肝胆外科中心) 重庆, 630038

提 要 目的: 胃粘膜病变是门脉高压病人上消化道出血的主要原因,而门脉分流术(PCS)又是治疗门静脉高压症的常用术式,本实验旨在观察 PCS术后胃粘膜的功能改变。方法: 化学方法诱导大鼠肝硬变门脉高压模型,并分成正常组、术前及术后组,观察 PCS术后门脉压力(FPP)、胃粘膜血流量(GMBF)、粘膜内前列腺素(PGS)、糖蛋白(GP)的含量等,统计学处理为方差分析及 *t*检验。结果: 肝硬变门脉高压大鼠 FPP明显高于正常组〔(1.43± 0.08) *vs* (0.76± 0.05) kPa, $P < 0.01$〕,PCS术后 FPP则显著下降〔(1.09± 0.06) *vs* (1.43 ± 0.08) kPa, $P < 0.01$〕,GMBF、GP、PGS等术后则逐渐高于术前,至术后 5周时已明显高于术前($P < 0.01$),其中 GMBF则接近了正常组水平〔(116.78± 10.99) *vs* (124.70± 7.37) ml/min·(100 g)$^{-1}$, $P > 0.05$〕。结论: 门脉高压时胃粘膜下层动静脉短路明显增多,造成粘膜层的供血不足及营养障碍,从而发生胃粘膜病变,PCS术后由于降低了门脉压力,减少了粘膜下层的动静脉短路,增加了粘膜层的血流量,改善了粘膜层的功能,有利于胃粘膜病变的恢复。

关键词 胃粘膜;肝硬变;门脉高压
中图法分类号 R657.34

胃粘膜病变是肝硬变门静脉高压症病人上消化道出血的常见原因之一,约占其中的 10%~ 50%。出血病灶包括急性溃疡、糜烂及类似瘀点状的多发性胃损害[1]。门腔静脉分流术(Portacaval shunt, PCS)是治疗门静脉高压症常用的术式,其止血效果明确,且远期止血效果较好,但其对胃粘膜的影响迄今尚未见报道。为此我们通过实验进行了研究,现报道如下:

1 材料与方法

1.1 动物模型及分组

选用雄性 Wistar大鼠、体重(220± 15) g,采用皮下注射 60% CCl_4石蜡油溶液及饮用 10%乙醇复制成肝硬变门脉高压模型,所有模型均经病理检查证实为细结节性肝硬变。随机分成正常对照组、术前组及门腔分流组,分流组又分为术后 1、3、5周 3组。

1.2 手术操作

行门静脉、下腔静脉侧侧吻合,吻合口与相应肠系膜上静脉截面积相同。

1.3 观察项目及方法

1.3.1 自由门静脉压(Free portal presure, FPP) 麻醉下开腹,门静脉直接穿刺测压(PTM-7型压力测试仪,成都永红器械厂制)。

1.3.2 胃粘膜血流量(Gastric mucosal blood flow, GMBF) 按文献[2]介绍的方法进行,采用氢气清除法(组织末梢血流测定仪,PHG300日本松下电器株式会社)。

1.3.3 胃粘膜糖蛋白(Glycoprotein, GP)含量 按文献[3]介绍的方法进行。

1.3.4 胃粘膜 PGE_2、6-酮-$PGF_{1\alpha}$含量 采用放免法测定,药盒购自北京原子能研究所,具体操作按药盒说明书进行。

1.4 数据处理

以 $\bar{x}\pm s$表示。统计学处理采用方差分析及 *t*检验。

2 结果

2.1 FPP变化

肝硬变大鼠 FPP明显高于正常对照组〔(1.43± 0.08) *vs* (0.76± 0.05) kPa, $P < 0.01$〕;门腔分流术后 FPP则明显低于术前〔(1.09± 0.06) *vs* (1.43± 0.08) kPa, $P < 0.01$〕

2.2 GMBF及粘膜内 GP、PGE_2、6-酮-$PGF_{1\alpha}$含量变化

如表 1、2所示: 肝硬变门静脉高压时胃窦及底体部 GMBF及粘膜内 GP、PGE_2及 6-酮-$PGF_{1\alpha}$含量均显著低于正常对照组,而门腔分流术后上述指标则明显升高,且随着时间的延长还有进一步改善的趋势,其中 GMBF在术后第 5周时已接近于正常水平。

表 1 PCS术后胃窦部粘膜 GMBF、GP、PGE_2、6-酮-$PGF_{1\alpha}$变化($\bar{x}\pm s$)

Tab 1 Changes of GMBF, GP, PGE_2 and 6-keto-$PGF_{1\alpha}$ in mucosa of gastric antrum after PCS ($\bar{x}\pm s$)

	Normal (n = 7)	Pre-operation (n = 7)	Post-operation (weeks)		
			1 (n = 7)	3 (n = 7)	5 (n = 7)
GMBF〔q_V/ml·min^{-1}·(100 g)$^{-1}$〕	124.70± 7.37	83.53± 7.40*	92.02± 5.14	104.04± 3.37△	116.78± 10.99△
GP (w_B/pg·mg^{-1})	880.57± 33.22	648.71± 50.08*	683.43± 62.10	715.71± 48.25△	720.08± 49.27△
PGE_2 (w_B/pg·mg^{-1})	226.57± 12.50	146.43± 9.78*	137.02± 9.64	164.25± 11.68△	178.34± 8.76△
6-keto-$PGF_{1\alpha}$ (w_B/pg·mg^{-1})	211.71± 12.12	158.02± 8.50*	144.86± 8.53	168.14± 9.04	170.71± 9.14△

*: $P < 0.01$ *vs* normal; △: $P < 0.01$ *vs* pre-operation

* 附属大坪医院野战外科研究所第三研究室 重庆, 630042

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

表 2　PCS术后胃体部粘膜 GMBF、GP、PGE_2、6酮-$PGF_{1\alpha}$变化 ($\bar{x}\pm s$)

Tab 2　Changes of GMBF, GP, PGE_2 and 6-keto-$PGF_{1\alpha}$ in mucosa of corpus gastricum after PCS ($\bar{x}\pm s$)

	Normal (n = 7)	Pre-operation (n = 7)	Post-operation (weeks)		
			1 (n = 7)	3 (n = 7)	5 (n = 7)
GMBF [q_V /ml· min^{-1}· (100 g)$^{-1}$]	124.31± 6.91	77.77± 6.73*	82.32± 4.43	92.65± 5.39△	106.59± 6.84△
GP (w_B/pg· mg^{-1})	746.43± 75.33	546.29± 39.61*	568.14± 33.45	596.87± 35.78△	603.57± 65.68△
PGE_2 (w_B/pg· mg^{-1})	226.71± 29.84	140.43± 8.73*	132.86± 10.17	150.86± 10.34	164.86± 10.65△
6-keto-$PGE_{1\alpha}$ (w_B/pg· mg^{-1})	197.14± 13.23	144.14± 15.40*	134.71± 9.83	148.43± 10.91	158.29± 10.69△

*: P <0.01 *vs* normal; △: P <0.01 *vs* pre-operation

3　讨论

正常情况下,90% 的胃血流要流经胃粘膜,充足的血流灌注是粘膜防御机理中不可缺少的重要因素,其所携带的氧及营养成分供应胃粘膜上皮,从而保持了粘膜上皮的完整性,粘膜血流量降低是急性胃粘膜病变的重要原因[4]。本研究表明,肝硬变门静脉高压大鼠 GMBF无论窦部或底体部均显著降低,但 PCS术后则明显改善,造成这一现象的原因是门静脉高压时,粘膜下层的动静脉短路大量形成并开放,使大量血经短路流走,粘膜层的有效循环血量下降。这正是门静脉高压时内脏血流处于高动力状态而粘膜层却缺血的主要原因。在 PCS术后,由于明显降低了门静脉压力,减少了粘膜下层的动静脉短路,从而增加了粘膜层的血流量[5]。

糖蛋白是由 4个糖蛋白亚单位通过二硫键连接的大分子物质,在胃肠道粘膜上皮合成并分泌至粘膜表面,在与构成粘液屏障,在抗酸、胃蛋白酶和防止溃疡形成等方面具有重要作用[6]。前列腺素 (PGs)广泛分布于消化道,特别是胃及十二指肠,具有增加粘膜血流量和促进上皮再生、抑制胃酸及蛋白酶原分泌和促进粘液及碳酸氢盐分泌等作用[7]。本研究表明,门静脉高压大鼠粘膜 GP、PGE_2 及 6酮-$PGF_{1\alpha}$含量均明显降低,从而破坏了粘膜的防御屏障,加之粘膜血流量下降,使粘膜上皮的结构和功能发生障碍[8],使之对 H^+ 回渗、胃蛋白酶等有害因素的抵抗力降低而发生粘膜溃疡、糜烂及出血性胃炎等。门腔静脉分流术后由于改善了粘膜的微循环,从而改善了粘膜上皮细胞的营养及功能,使肠道吸收的作为合成 GP、PGs原料的氨基酸及花生四烯酸在粘膜层的浓度增加,从而使粘膜层合成及分泌 GP、PGs等的能力升高,提高了粘膜的抗病能力,对治疗胃粘膜病变有一定的理论意义。Marshall[1]等总结了该院 12例门静脉高压胃粘膜病变致上消化道出血病人在接受门腔静脉分流术后出血完全停止,而且粘膜病变也基本治愈,从而进一步支持了以上结论。

总之,门腔静脉分流术在降低门静脉压力的同时,也改善了胃粘膜的微循环,提高了粘膜上皮合成及分泌 GP、PGs等的能力,在一定程度上改善了粘膜上皮的结构和功能,对治疗门静脉高压胃粘膜病变有积极意义。

参考文献

1 Marshall J O, Mark S O, Susan L O *et al*. Treatment of bleeding from portal hypertensive gastropathy by portacaval shunt. Hepatology, 1995; 24(4): 1011

2 何鸣谦.测量局部血流量的清除法.中华物理医学杂志, 1989; 11(3): 176

3 Mantle M, Allen A. A corlormetric assay for glycoprotein based on the perodic acid/schiff stain. Bioch Soc Trans, 1978; 6(3): 607

4 Sunao K, Hirohisa T, Shingo T *et al*. Impaired gastric mucosal energy metablism in congestive gastropathy in cirrhotic patients. J of Gastroenterol, 1994; 29(1): 245

5 Orloff M J, Bell R H Jr, Orloff M S *et al*. Prospective randomized trial of emergency portacaval shunt and emergency medical therapy in unselected cirrhotic patients with bleeding varices. Hepatology, 1994; 20(4): pt1, 863

6 Whittle B J R, Boughton-smith N K, Moncada S *et al*. Action of prostacyclin (PGI$_2$) and its product 6-keto-$PGF_{1\alpha}$ on the rat gastric mucosa: *In vivo* and *in vitro*. Prostaglandins, 1993; 43(2): 373

7 Variyam E P, Hoskins L C. In vitro degradation of gastric mucin. Carbohydrate side chains protect polypeptide core from pancreatic proteases. Gastroenterol, 1983; 84(2): 523

8 刘吉奎,蔡景修,王敖川.断流术对门静脉高压大鼠胃粘膜血流量影响.第三军医大学学报, 1994; 16(4): 252

(收稿: 1996-04-29;修回: 1996-11-03)

(编辑　张大春)

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

Effects of portacaval shunt on gastric mucosa in cirrhotic portal hypertension in rats

Liu Jikui, Cai Jingxiu, Duan Hengchun, Yang Hengwen (Department of Hepatobiliary Surgery, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 630038)

Abstract Objective: To observe the functional changes of the gastric mucosa in cirrhotic portal hypertension after portacaval shunt (PCS). Methods: After the model of hepatic cirrhotic portal hypertension was established in rats, the changes of the levels of gastric blood flow (GMBF), glycoprotein (GP) and prostaglandins (PGE_2 and 6-keto-$PGF_{1\alpha}$) were observed. Results: The levels of these parameters were significantly lower in the rats with hepatic cirrhotic hypertension than those of the control group. After PCS, they were gradually increased and were significantly higher than those before PCS in the 5th week postoperatively ($P < 0.01$). Conclusion: Under cirrhotic portal hypertension, the defensive capacity of the gastric mucosa was weakened to result in pathological changes and PCS can improve the microcirculation and function of synthesizing and secreting GP and PGs of the gastric mucosa and its defensive capacity was therefore increased.

Key words gastric mucosa; liver cirrhosis, portal hypertension; portacaval shunt; rat

抗人 C_{1-INH} McAb轻、重链可变区基因的克隆及其在 E. coli中表达的研究*

The cloning and expression in E. coli of V_H /V_L gene of anti-human C_{1-INH} McAb

高 宁 朱锡华 (第三军医大学基础部免疫学教研室) 重庆, 630038

PCR技术是近年来发展起来的一种体外扩增特异 DNA片段的技术,不仅用于已知序列 DNA扩增,也用于未知序列,例如具有某些特定特点的免疫球蛋白可变区基因的扩增,大量扩增获得 IgV区基因,使体外表达某些新抗体小片段成为可能,例如,重链可变区(V_H)与轻链可变区(V_L)相连构成 Fv,而 Fv片段是具有抗体完全结合位点的最小片段,利用基因编码连接肽 Linker将 V_H和 V_L连接起来构成单链 Fv(sFv)等,大规模制备的 sFv无论在基础理论还是临床应用中均具有重要意义。本文报道了抗人 C_{1-INH} F_7轻、重链可变区基因的克隆,序列分析,sFv的表达载体构建和 F_7 sFv在大肠杆菌中的表达。

使用 V_H、V_L二对通用引物,应用 PCR技术分别由抗人 C_{1-INH}杂交瘤 F_7细胞株经反转录合成第一链 cDNA,扩增获得轻链、重链可变区基因。PCR产物定向克隆进测序载体 pUC18和 pUC19,分别由二个方向对 PCR产物进行双脱氧法序列测定。基因 DNA序列测定结果及由 DNA推导氨基酸序列分析表明: (1)抗人 C_{1-INH} F_7 V_H基因长为 342 bp,共编码 114个氨基酸,F_7V_H和 V_L DNA序列与小鼠 IgG重、轻链同源性达 65%~80%。(2)按 Kabat分类,抗人 C_{1-INH} F_7 V_H基因编码的氨基酸与小鼠 V_HII (A)亚组同源性为 76%,属于II (A)亚组,F_7V_H基因是由 V_H-D-J_H重排产生,而 F_7 V_L编码的氨基酸符合小鼠 κ链 IV亚组氨基酸结构特征,同源性为 73%,F_7V_L基因是由 V_κ-$J_{\kappa 1}$重排而成。

将获得的 V_H和 V_L基因片段构建在已有的分泌型表达载体中,中间以编码 $(Gly_4\ Ser)_3$ 15个氨基酸 Linker的基因相连,V_L 3′端含编码 $(His)_5$的基因片段,构建的表达载体 pIg F_7 sFv以 phoA为引导肽,编码引导肽、V_H Linker V_L、$(His)_5$和 SPA序列,在大肠杆菌 $DH_5\alpha$和 BL21中表达的是含 $(His)_5$和 SPA的 F_7 sFv融合蛋白,分子量为(33~34) KD,表达量占细菌外周质蛋白的 11.3%,占细菌细胞膜蛋白的 9%。抗原结合实验中,发现具有一定的结合活性。本研究获得的表达的产物为进一步 sFv的纯化,活性鉴定,奠定了基础。获得的 sFv可用于抗体的结构与功能研究,构象分析,深入探讨 C_{1-INH}的功能及其在补体经典激活途径中活化和调节的细节等。

关键词 PCR; C_{1-INH}; McAb; V_H; V_L;序列测定;序列分析;表达;大肠杆菌

中图法分类号 R392.2

(收稿: 1996-11-29;修回: 1996-12-20)

(编辑 汪勤俭)

* 国家自然科学基金资助项目, No. 39570667

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