DOI:10.16016/j.1000-5404.1990.05.004



# 无细胞人胎肝制剂治疗大鼠实验性肝衰竭疗效机理探讨*

吴力克 向居正 何长伦 胡仕琦 李奇芬（西南医院 传染科）

**提 要** 本文观察了无细胞人胎肝制剂（胞浆液和透析液）及人胎肌和成人肝胞浆液对肝衰竭大鼠肝功能指标的影响。结果发现：①胎肝胞浆液有阻止肝损伤、改善肝脏储备功能、促进肝细胞合成代谢、增强肝脏RES功能、提高血浆Fn水平等多方面治疗作用，这些作用可能来自多种成分。②成人肝胞浆液对DNA、RNA合成无刺激作用，并显著抑制蛋白质合成。

**关键词** 实验性肝衰竭；胎肝细胞浆液；胎肝透析液；

文献报道[1-3]，正在生长的肝脏（胎肝、再生肝及刚断乳动物肝脏），其无细胞制剂（包括胞浆液、肝细胞培养上清液及胎浆粗提物）能够显著提高肝衰竭动物的存活率，且无种属特异性，但其疗效机理尚不清楚。本文应用只含可溶性成分的胞浆液和只含中、小分子物质的透析液两种无细胞人胎肝制剂，治疗D-氨基半乳糖（D-Gal）中毒20h后的大鼠急性肝衰竭模型，观察其对肝功能指标的影响。作为验证实验，同时观察了胎儿骨骼肌胞浆液和正常成人肝脏的胞浆液对上述指标的影响。现将实验结果报告如下。

## 1 材料与方法

### 1.1 制剂的制备

人胎肝胞浆液（胎肝液）、人胎肝透析液（透析液）、人胎肌胞浆液（胎肌液）及成人肝胞浆液（成肝液）的制备方法见前文[4]。

四种制剂均即使用。同时做细菌培养和热原检测，均为阴性。每种制剂用6只正常大鼠做急性毒性试验，动物表现正常，无一死亡。

### 1.2 实验动物分组及肝功能指标检测

取120只健康Wistar大鼠，雌雄各半。用亚致死量D-Gal（1.0g/kg）一次腹腔内注射。随机分为5组，于中毒后20h开始治疗。其中A组给胎肝液、B组给透析液、C组给胎肌液、D组给成肝液、E组给生理盐水作为对照。均5 ml/只，一次腹腔内注射。

于中毒后12h、24h、48h及72h每组任取6只大鼠，参照有关文献检测：血清鸟氨酸氨甲酰转移酶（OCT）和天门冬氨酸转氨酶线粒体同工酶（m-AST），肝促凝血活酶试验活动度（HPT-A），$^3$H-胸腺嘧啶（$^3$H-TdR）、$^3$H-尿嘧啶（$^3$H-UR）掺入肝细胞及$^3$H-亮氨酸（$^3$H-Leu）掺入肝脏薄片。再取15只大鼠，不作任何处理，与中毒后12h大鼠同时活杀，检测各项指标，取得正常对照值。

另外取80只大鼠，分组、中毒及治疗剂量和时间均同前述。于中毒后12h、24h、48h和72h分组任取4只大鼠，参照有关文献做印度墨汁廓清试验并测定血浆Fn水平。

### 1.3 病理组织学检查

于上述80只大鼠肝右叶同一部位取一块肝组织，常规石蜡切片，HE染色。光镜下观察肝实质改变并进行吞噬细胞计数。另取一块肝组织，3%戊二醛和1%锇酸固定，电镜制片后透射电镜下观察肝细胞和枯否氏细胞超微结构改变。

### 1.4 统计学处理

非配对资料t检验、多因素方差分析、相关性分析及其显著性检验在计算机上进行。

## 2 结果

### 2.1 不同处理对肝损伤指标的影响

结果见表1。

* 本文及《无细胞人胎肝制剂的成分及对其大鼠肝衰竭的疗效观察》均为国家自然科学基金资助课题

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

表1　不同处理对中毒大鼠血清mAST和OCT的影响（X±SD）

| 组别 | n | mAST（赖氏单位） 12h | 24h | 48h | 72h | OCT（IU/L/min） 12h | 24h | 48h | 72h |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| A | 24 | 67.4 ±16.2 | △71.8 ±18.2*** | 56.8 ±10.9 | 38.3 ±11.1* | 68.2 ±14.3 | △143.2 ±60.5** | △△48.6 ±15.7*** | 31.3 ±14.5* |
| B | 24 | 71.0 ±13.7 | 102.3 ±23.6 | 112.1 ±15.3 | 56.5 ±12.4 | 74.7 ±6.4 | 380.2 ±88.7 | 187.5 ±42.7* | 55.1 ±9.9 |
| C | 24 | 65.6 ±28.1 | 113.3 ±72.5 | 131.3 ±33.5 | 68.1 ±16.7 | 64.3 ±25.5 | 447.9 ±143.4 | 327.7 ±31.5 | 82.3 ±41.3 |
| D | 24 | 67.8 ±17.5 | 107.5 ±29.4 | 158.0 ±58.5 | 62.9 ±20.8 | 65.2 ±15.2 | 498.3 ±127.2 | 353.5 ±20.8 | 90.36 ±21.8 |
| E | 24 | 68.5 ±19.1 | 133.7 ±48.5 | 204.8 ±63.9 | 74.5 ±22.5 | 56.5 ±19.8 | 418.2 ±115.4 | 501.9 ±48.5 | 78.5 ±9.7 |
| 正常组 | 15 | 11.3 ±6.2 | — | — | — | 6.8 ±2.6 | — | — | — |

注：1）表内*、**、***分别表示与生理由盐水处理组（E组）比较P＜0.05、P＜0.01、P＜0.001。

2）表内△、△△、△△△分别表示与透析液处理组（B组）比较P＜0.05、P＜0.01、P＜0.001。

3）以后的表中出现上述符号意义相同，不再重复说明。

处理后，A组各时相与E组比，血清mAST、OCT活性降低显著或非常显著（P＜0.05、P＜0.01或P＜0.001）。其他处理组与E组无统计学差异。

2.2　不同处理对肝脏储备功能指标的影响

结果见表2

表2　不同处理对中毒大鼠HPT活动度（%）的影响（X±SD）

| 组别 | n | 12h | 24h | 48h | 72h |
|---|---|---|---|---|---|
| A | 24 | 46.0±2.83 | 56.5±2.12* | △137.5±17.2*** | 125.0±1.0* |
| B | 24 | 47.0±1.4 | 41.5±7.8* | 84.5±3.54** | 101.0±5.7 |
| C | 24 | 45.1±1.4 | 18.5±3.5 | 47.5±10.6* | 111.0±4.2 |
| D | 24 | 44.25±18.74 | 34.59±14.13 | 7.95±1.89 | 78.5±2.12 |
| E | 24 | 42.0±20.2 | 24.98±9.55 | 6.73±3.26 | 94.0±8.34 |
| 正常组 | 15 | 140.62±2.52 | — | — | — |

处理后，A组各时相与E组比，HPT-A升高显著或非常显著（P＜0.05或P＜0.01）；在48h，B组和C组与E组比，HPT-A也有显著升高（P＜0.05）。

2.3　不同处理对肝细胞合成代谢指标的影响

结果见图1。

处理后，与E组比较，A组$^3$H-TdR、$^3$H-UR和$^3$H-Leu掺入率增加显著或非常显著（P＜0.05、P＜0.01或P＜0.001）；B组也有显著增加（P＜0.05）；C组则只增加$^3$H-Leu掺入率（P＜0.05）；D組在处理后，$^3$H-Leu掺入率显著下降。

2.4　不同处理对肝脏网状内皮系统（RES）功能指标及血浆调理功能指标的影响。

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

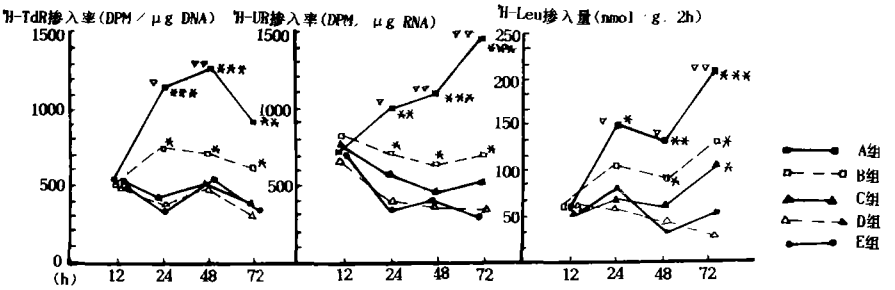



图1　处理前后³H-TdR、³H-UR、³H-Leu掺入离体肝组织的动态变化

结果见表3、表4。

表3　不同处理对印度墨汁廓清试验吞噬指数和生物半衰期的影响（X±SD）

| 组别 | n | 12h | | 24h | | 48h | | 72h | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | a值 | T1/2 | a值 | T1/2 | a值 | T1/2 | a值 | T1/2 |
| A | 16 | 0.0297 ±0.0063 | 5.34 ±0.77 | △0.0311** ±0.0043 | 7.36** ±3.1 | 0.0245* ±0.0057 | △7.16* ±1.34 | △△0.0358 ±0.0060 | △△6.82** ±1.95 |
| B | 16 | 0.0247 ±0.0046 | 6.69 ±1.54 | 0.0255* ±0.0079 | 8.12* ±2.07 | 0.0177 ±0.0049 | 12.11 ±1.86 | 0.0198 ±0.0076 | 14.22 ±6.19 |
| C | 16 | 0.0255 ±0.0053 | 6.90 ±1.07 | 0.0255* ±0.0002 | 8.42* ±2.16 | 0.0155 ±0.0069 | 13.69 ±2.26 | 0.0167 ±0.0074 | 16.83 ±3.22 |
| D | 16 | 0.0293 ±0.0035 | 6.35 ±1.39 | 0.0127 ±0.0042 | 13.5 ±4.24 | 0.0094 ±0.0026 | 11.28 ±3.79 | 0.0132 ±0.0082 | 21.86 ±6.44 |
| E | 16 | 0.0291 ±0.0047 | 6.46 ±0.53 | 0.0153 ±0.0075 | 17.23 ±3.78 | 0.0162 ±0.0092 | 12.96 ±1.83 | 0.0141 ±0.0073 | 19.72 ±4.29 |
| 正常组 | 10 | 0.0373 ±0.0059 | 2.19 ±1.09 | — | — | — | — | — | — |

表4　不同处理对血浆Fn水平的影响（mg/dl X±SD）

| 组别 | n | 12h | 24h | 48h | 72h |
|---|---|---|---|---|---|
| A | 24 | 51.43±4.97 | △39.13±1.06** | △△△21.64±6.49*** | △33.16±3.37** |
| B | 24 | 47.69±4.04 | 25.50±4.77* | 3.61±1.57 | 20.53±3.12 |
| C | 24 | 61.94±7.61 | 27.02±5.25* | 7.03±2.54** | 22.75±5.19 |
| D | 24 | 60.51±5.32 | 15.92±2.93 | 1.22±0.86 | 17.93±3.59 |
| E | 24 | 54.31±5.51 | 18.21±5.52 | 2.17±1.33 | 18.43±5.86 |
| 正常组 | 15 | 71.31±5.51 | — | — | — |

处理后，A组各时相与E组比，墨汁廓清试验吞噬指数（α值）增高和生物半衰期（T1/2）的缩短均有显著或非常显著差异（$P<0.05$及$P<0.01$）；A组血浆Fn水平升高与E、B两组比，亦均有显著或非常显著差异（$P<0.05$及$P<0.01$）。

### 2.5　病理检查结果

#### 2.5.1　光镜检查

**2.5.1.1　肝实质改变**　中毒后12h，A组与B组病变程度大致相近，均以肝细胞肿胀变性为主。中毒后48h（治疗后28h），A组仍以变性为主，B组则呈现大片状坏死。

**2.5.1.2　枯否氏细胞改变**　中毒后各时相枯否氏细胞多见分裂相。在连续10个400倍视野下对枯否氏

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

细胞进行定量计数，用方差分析考察其变化规律。如表5所示，A组分别与B组、E组比，差异均显著或非

表5　各组处理前后肝脏枯否氏细胞数量变化（$\bar{X}\pm SD$）

| 组别 | n | 12h | 24h | 48h | 72h |
|---|---|---|---|---|---|
| A | 16 | 90.5±9.15 | △△144.75±5.12** | △△127.0±9.56** | △164 ±5.48** |
| B | 16 | 95.5±3.42 | 62.25±3.59 | 42.5±9.74 | 79.5 ±3.69 |
| C | 16 | 87.5±3.87 | 93.25±9.71* | 50.25±2.99 | 94.0 ±6.68 |
| D | 16 | 88.75±10.05 | 92.0±5.94* | 32.5±3.42 | 81.75±5.50 |
| E | 16 | 91.75±4.11 | 57.25±5.91 | 40.0±3.65 | 75.25±6.95 |
| 正常组 | 10 | 120.25±8.73 | — | 117.5±4.65 | — |

常显著（$P<0.05$或$P<0.01$）。

2.5.2　电镜检查

2.5.2.1　肝细胞改变　中毒后48h，A组病变主要为核染色质边集、线粒体肿胀；B组则出现核碎裂、内质网和线粒体空化等严重病变。

2.5.2.2　枯否氏细胞改变　中毒后12h，A组为线粒体肿胀，溶酶体增多，可见少量“胞浆内灶性坏死”（focal cytoplasmic necrosis, FCN）；B组尚可看到髓样小体。中毒后48h，A组枯否氏细胞内质网高度扩张成池，但大多数细胞器完整；B组枯否氏细胞则出现多个“FCN”，噬性细胞器大多变性坏死，自噬体增多。见图2、3。



图2　D-Gal中毒后48h（胎肝液组）7000倍

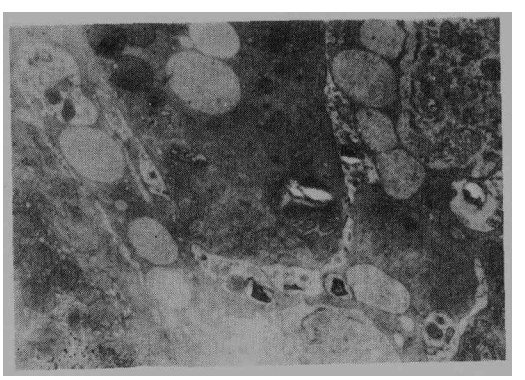


图3　D-Gal中毒后48h（透析液组）7000倍

2.6　胎肝液组$^3$H-TdR掺入率与其他八项指标的相关性分析

选择中毒后48h A组$^3$H-TdR掺入率，与本组同期的HPT-A、mAST、OCT、$^3$H-UR、$^3$H-Leu、DNA量、RNA量、蛋白质量8项指标进行相关分析，结果表明，$^3$H-TdR掺入率与HPT-A、DNA含量相关非常显著（分别为$r=0.791$，$P<0.01$；$r=0.844$，$P<0.01$），与蛋白质含量相关亦显著（$r=0.526$，$P<0.05$），与其他指标无显著相关。

## 3　讨　论

3.1　对肝损伤和肝储备功能的影响

血清mAST和OCT是目前判断肝损伤较为敏感的指标。经胎肝液治疗的中毒大鼠，血清mAST和OCT活性显著低于对照组，而其他各组与对照组无显著差别，提示胎肝液对阻止肝坏死，促进修复有明显作用。病理检查也证实了这一点。

HPT能敏感地反映凝血因子Ⅶ的变化，是一项较好的肝储备功能试验。肝脏储备功能差时，HPT-A降低；肝脏储备功能恢复时，HPT-A升高。经胎肝液处理后的中毒大鼠HPT-A

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

迅速升高，提示胎肝液可改善肝脏储备功能。此外，在48h，透析液组和胎肌液组HPT-A也明显提高（$P<0.01$和$P<0.05$），说明存在于透析液和胎肌液的中、小分子活性物质和营养成分，对改善肝储备功能也有一定影响。相关分析表明，$^{3}H$-TdR掺入率和HPT-A相关极为密切，提示肝再生活动与肝脏储备功能有关。

3.2 对肝脏3种大分子合成代谢的影响

观察肝组织DNA、RNA和蛋白质合成速率的变化，发现胎肝液对决定肝再生活动的3种大分子合成代谢有显著促进作用。从时间上看，胎肝液处理后鼠肝DNA合成速率在24h～48h为最大，而RNA、蛋白质合成速率则在48h以后显著加快。这就说明RNA、蛋白质合成受DNA合成的制约，而非外源性成分直接作用的结果。另外，透析液对3种大分子合成代谢也有较明显影响（$P<0.05$），说明中、小分子活性物质在促进肝再生方面也起一定作用。胎肌液则仅影响蛋白质合成速率，推测与其直接提供蛋白质、氨基酸等营养物质有关。而成肝液对DNA、RNA合成无刺激作用，对蛋白质合成反而有显著抑制作用。

3.3 对肝脏RES功能和血浆调理功能的影响

本文结果表明胎肝液较对照组能明显提高墨汁廓清试验的吞噬指数，缩短RES吞噬墨粒的生物半衰期，提示其可增强肝脏RES功能。

血浆Fn是介导肝脏RES吞噬活动最重要的调理素，对肝衰竭的预后有重要意义[5]。发现中毒后，对照组Fn水平明显降低，而胎肝液组Fn则一直处在较高水平，说明胎肝液有提高血浆Fn的作用。

此外，尚有资料证实人胎肝液冻干粉能刺激胰岛素分泌，加速氨基酸摄取[6]；人胎肝胞质液（1000xg）能减轻肝中毒大鼠的内毒素血症，降低肝内丙二醛（MDA）水平。因此，认为胎肝制剂中可能存在多种有效成分，故其治疗肝衰竭的作用机理可能是多方面的。

## 参考文献


1. Miyazaki M, et al. Revesal of lethal, chemotherapeuticlly induced acute hepatic necrosis in rats by regenerating liver cytosol. Surgery 1983; 94(2):142
2. O'Neill PL, et al. Cell-free supernatant from hepatocyte cultures improves survival of with chemically induced acute liver falur e. J Surg Res 1982; 32(4):347
3. Francavilla A, et al. The effect of hepatic stimulatory substance, isolated from regenerating hepatic cytosol, and 50000 and 300000 subfractions in enhancing surrvival in experimental acute hepatic failure in rats treated with D-Galactosamine. Hepatology 1986; 6(6):1346
4. 吴力克，等。无细胞人胎肝制剂的成分及其对大鼠肝衰竭的疗效观察。第三军医大学学报 1990；12(4):295
5. Moriyama T, et al Protective effects of fibronectin in D-Galactosamine induced liver failure in rats. Hepatology 1986; 6(6):1334
6. 徐 柯，等。人胎肝细胞质液对大鼠实验性急性肝功能衰竭的治疗作用。江苏医学 1988；14(12):650


（收稿：1989.11.02；修回：1990.07.17）

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

# Mechanism of Curative Effects of the Cell-free preparations of Human Fetal Liver on Experimantal Hepatic Failure in Rats

Wu Like, et al. (Department of Infectious Diceases, Southwest Hospital, Third Military Medical College)

The effects of the cell-free preparations of human fetal liver cytosol and it's dialysate, human fetal muscele cytosol (FMC) and human adult liver cytosol (ALC) on liver functions of acute hepatic failure induced by D-galatosamine in rats were investigated. The results suggested that: 1) the fetal liver cytosol has significant effects on protecting liver from damage, improving liver reserved function, promoting the synthetie metabolism of DNA, RNA and protein of liver, enhancing liver RES functions and raising Fn level. The authors speculated that these effects may be due to different components; 2) it is noticeable that ALC can inhibit the protein synthesis of liver.

**Key words**: experimental hepatic failure; fetal liver cytosol; fetal liver dialysate

---

# 气管支气管异物铁钉2例

范文汉 （西南医院 耳鼻咽喉科）

我科收治2例较大的气管支气管异物铁钉，长度分别为 8 cm、5 cm。1例以食道异物入院，行食道镜检查时，发生呼吸困难，紫绀甚至窒息，实属教训，报告如下：

**例1** 黄××，男，3岁，住院号：38793，四川云阳籍。（病史由父代述）。因误吞铁钉24天于1976年9月3日入院。患儿于1976年8月10日下午2时，将一枚8 cm大号铁钉含于口中玩耍，嘻笑时不慎将铁钉吞下。咽下后仍能进食，呈阵发性咳嗽。曾先后在当地医院就诊，注射过破伤风抗毒素及青霉素等，于9月3日以食道异物转来我院。吞铁钉后未出现呼吸困难，患儿有哮喘病史2年，平时经常阵发性咳嗽。

**入院检查** 无明显鼻翼扇动，无紫绀及“三凹”体征，双肺均闻及干鸣音。X光透视检查发现食道内有一铁钉异物，尖向上，相当于胸2～胸5之间。入院后于9月4日上午在全麻下行食道镜检查，当插入食道镜时患儿即出现呼吸困难，紫绀及窒息，故手术暂停。并再次行食道透视及正侧位胸片检查，综合分析考虑为气管异物。于9月8日在全麻下行气管切开，自颈部气管切口插入5 mm支气管镜，进入约3 cm～4 cm处即发现金属异物铁钉，一端已进入右支气管，以腭鱼咀钳取出8 cm长铁钉已锈蚀。于1976年9月13日拔管全愈出院。

**例2** 何××，男，4岁，住院号：161300，四川岳池县籍，（病史父代述）。铁钉自口腔滑入，阵发性咳嗽3天于1989年12月20日以气管异物入院。患儿于1989年12月17日晚7时，将长5 cm铁钉含于口中

（下转392页）

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