

· 论著摘要 ·

姜黄素对大鼠肝脏热缺血再灌注后
NF- κ B 活性的影响及意义

安伟 刘军 周旭 卢俊 杨凤辉 许世峰 公伟

缺血再灌注损伤作为肝移植和肝癌切除术后肝功能恢复不良的重要原因。其发生机制主要与氧自由基形成、细胞内 Ca^{2+} 超载以及中性粒细胞的激活与浸润有关, NF- κ B 在此过程中发挥着重要作用。动物实验证实姜黄素可以通过阻断 NF- κ B 通路而对心肌缺血再灌注损伤起到保护作用, 而肝脏领域尚无相关报道。为此, 笔者在大鼠肝脏热缺血再灌注模型研究了姜黄素对细胞核内 NF- κ B 表达的影响。

材料与方 法

实验大鼠随机分假手术(SO组)、不阻断血供, 缺血再灌注(I/R组)和姜黄素+缺血再灌注组(CUR+IR组)三组, 每组20只。SO组不阻断血供; CUR+IR组于术前2h腹腔注射溶于二甲亚砜(DMSO)的姜黄素(60 mg/kg 体重)1 ml。大鼠肝脏缺血再灌注模型参照 Ohmori 法建立。术中用无创血管夹阻断肝左、中叶肝蒂, 造成70%肝脏缺血。保持肝右叶和尾状叶血流通畅以免胃肠道淤血及全身血流动力学改变。夹闭40 min后开放血管再灌注60 min。灌注完成留取血液、组织标本, 处死大鼠。

检测指标包括: 肝功血清酶谱测定、肝脏水肿程度的测定、肝组织 MPO 活性测定、胞核 NF- κ B (P65) 蛋白含量测定(Western blot 法)以及肝组织 TNF- α 含量的测定。

统计学处理用 SPSS 13.0 软件进行, 实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 计量资料用两个独立样本的 t 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学显著性。

结 果

1. 各组肝功血清酶谱的比较: 与 SO 组(AST、

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-8118.2010.08.022

基金项目: 山东省优秀中青年科学家科研奖励基金资助项目(2005BS03006)

作者单位: 250021 济南, 山东大学附属省立医院器官移植中心肝胆外科

通信作者: 刘军, 电子信箱: anwei020433@126.com

ALT、和 LDH 分别为 80.3 ± 10.3 、 48.6 ± 6.7 和 485.4 ± 51.6 U/L)比较, I/R 组血清 AST(697.1 ± 90.4 U/L)、ALT(418.0 ± 82.6 U/L)、LDH(3796.1 ± 136.2 U/L)水平明显升高($P < 0.05$); 与 I/R 组比较, CUR+I/R 组血清 AST(587.3 ± 65.0 U/L)、ALT(201.9 ± 38.1 U/L)、LDH(2422.7 ± 108.4 U/L)明显降低, 差异均具统计学显著性($P < 0.05$)。

2. 各组肝脏水肿程度(W/D)、MPO 活性及 TNF- α 水平的比较: 与 SO 组(W/D、MPO 和 TNF- α 分别为 2.75 ± 0.10 、 2.72 ± 0.34 U/g 和 157.36 ± 20.41 pg/mg)比较, I/R 组肝脏水肿程度(4.04 ± 0.18)、MPO 活性(7.79 ± 0.65 U/g)及 TNF- α 水平(602.57 ± 84.52 pg/mg)明显升高($P < 0.05$); 与 I/R 组比较, CUR+I/R 组肝脏水肿程度(3.57 ± 0.14)、MPO 活性(4.51 ± 0.47 U/g)及 TNF- α 水平(441.82 ± 67.93 pg/mg)降低($P < 0.05$), 差异均具统计学显著性($P < 0.05$)。

3. 肝组织胞核 NF- κ B(P65)蛋白表达变化: 与 SO 组相比, I/R 组细胞核内 NF- κ B(P65)蛋白表达明显增多($P < 0.05$); 与 I/R 组比较, CUR+I/R 组细胞核内 NF- κ B(P65)蛋白表达明显降低($P < 0.05$), 差异亦均具统计学显著性。

讨 论

缺血再灌注损伤的发生机制尚未完全阐明。目前认为, 肝细胞在缺血再灌注过程中可发生氧自由基的爆发, 促使细胞膜脂质过氧化以及细胞内 Ca^{2+} 超载, 导致细胞膜磷脂降解并释放出大量趋化因子和细胞黏附分子^[1]。与此同时, 氧化应激反应激活了肝脏内的 NF- κ B, 进一步放大上述炎症信号, 造成中性粒细胞的浸润和微循环障碍, 更加重了肝脏的缺血再灌注损伤。NF- κ B 是一种真核细胞中普遍存在的转录因子, 具有和某些基因启动子区固定核苷酸序列结合而启动基因转录的功能。NF- κ B

可高效诱导多种细胞因子(如 TNF- α 、IL-6 等)、黏附分子(ICAM-1)、趋化因子(MIP-2)的表达,造成炎症反应的“级联瀑布效应”^[2]。

姜黄素提取自中药姜黄。研究发现它具有抗氧化、抗炎、抗肿瘤^[3]的作用。笔者的实验显示,姜黄素预处理组大鼠的肝功能明显优于单纯缺血再灌注组,并且肝脏的水肿程度、中性粒细胞的浸润程度亦明显低于单纯缺血再灌注组,说明姜黄素在肝脏热缺血再灌注过程中发挥保护作用^[4]。

进一步研究发现,再灌注 60 min 后,缺血再灌注肝组织细胞核内 RelA(P65)表达量比假手术组明显增高,说明在此过程中 P65/P50 二聚体发生了胞核易位,即 P65/P50 二聚体活性增高。NF- κ B 激活后,上调单核细胞、巨噬细胞、内皮细胞及中性粒细胞内 TNF- α 的分泌量,导致肝组织内 TNF- α 水平随之升高。当给予姜黄素预处理后,姜黄素组肝组织细胞核内的 RelA(P65)表达量比单纯缺血再灌注组明显降低,说明姜黄素能抑制肝组织内 NF- κ B 的活化,随之相对应的是肝组织内 TNF- α 水平明显下降。

目前,姜黄素在保护肝脏方面的研究在国内外还处于实验探索阶段。但是,由于它能抑制 NF- κ B 活性,下调炎性介质的表达,减少中性粒细胞浸润,实现对肝脏缺血再灌注损伤的保护作用,因此在肝脏外科具有较好的临床应用前景。

参 考 文 献

- [1] Romanque U P, Uribe M M, Videla L A. Molecular mechanisms in liver ischemic-reperfusion injury and ischemic preconditioning. Rev Med Chil, 2005, 133:469-476.
- [2] 徐钧,解军,鲍民生,等. 核因子- κ B/I- κ B 传导通路在肝脏缺血再灌注损伤中的作用. 中华实验外科杂志, 2003 20:614-615.
- [3] 郭辉,余建华,谌科,等. 姜黄素对前列腺癌细胞核转录因子抑制蛋白表达的影响. 中华外科杂志, 2006, 44:1256-1259.
- [4] 王晓琳,刘荣,王和玫,等. 常温肝缺血再灌注损伤的实验研究. 中华肝胆外科杂志, 2002, 8:366-368.

(收稿日期:2009-04-27 修回:2009-05-31)

评论

本文初步观察到短期保护作用,但未观察到在术后能否持续、程度和指标变化。

编者

2009 年 5 月 5 日

组成型雄烷受体 CAR 在肝再生中的作用

刘念 李薇 黄文栋

组成型雄烷受体(Constitutive Androstane Receptor, CAR)是生物体内重要的核受体分子。CAR 主要在肝脏和肠组织中表达,在药物代谢的表达调节过程中发挥重要作用^[1]。大量研究表明, CAR 有促进肝细胞增殖的作用,长期激活 CAR 可引起肝肿大,甚至肝癌的发生^[2]。本研究探讨了 CAR 在促进肝脏再生中的作用。

材料与方 法

1. 动物: Wild-type 小鼠为 C57BL/6NCR, CAR 基因敲除(CAR KO)小鼠来自美国 Baylor 医学院。

2. 试剂: 主要包括 TCPOBOP (Sigma 公司)、TRIzol 试剂、溴氯丙烷 (Molecular Research Center 公司), SYBRGreen PCR Master Mix (Applied Biosystems 公司), BrdU 检测试剂盒 (德国 Roche 公司)。

3. 仪器: 包括组织匀浆器 (Polytron 公司), 低温离心机 (Beckman 公司), 实时定量 PCR 仪 (美国 Applied Biosystems 公司)。

4. 方法: (1) 实验分组及 70% 肝切除模型制备: 8~10 周雄性 Wild-type 小鼠和 CAR KO 小鼠各 30 只, 标准鼠类食物喂养。随机分为单纯肝切除(对照组)或应用 CAR 的特异性激活剂 TC 处理(实验组)两组。选择术后 24、48、72 h 作为观察点, 共 6 组。小鼠肝切除参考 Higgins 方法^[3], 切除小鼠肝脏左外叶、尾叶和中叶完全切除, 保持胆囊完整。(2) 小鼠 70% 肝切除术后 6 h, 腹腔注射 TC

DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 1007-8118. 2010. 08. 023

作者单位: 130021 吉林大学第一医院肿瘤中心(刘念、李薇); 美国 City of Hope 医学中心基因调控及药物开发研究室, CA, 91010, USA(黄文栋)

通信作者: 刘念, 电子信箱: nianliu76@gamil. com