

肝硬化门静脉高压症大鼠脾脏血管内皮细胞生长因子的研究

邓 琰, 马庆久, 鲁建国, 任朝霞, 邓明福

邓琰, 马庆久, 鲁建国, 中国人民解放军第四军医大学唐都医院普外科
陕西省西安市 710038
任朝霞, 邓明福, 中国人民解放军第451医院病理科 陕西省西安市 710054
项目负责人: 马庆久, 710038, 陕西省西安市, 中国人民解放军第四军医大学唐都医院普外科. ydeng_731@163.com
电话: 029-3377732 传真: 029-3377732
收稿日期: 2002-10-25 接受日期: 2002-11-16

摘要

目的: 探讨血管内皮细胞生长因子(VEGF)在肝硬化门静脉高压症中的作用。

方法: 对 18 例肝硬化门静脉高压症大鼠(分早期、中期、晚期三期)和 6 例正常大鼠脾脏切除标本, 使用原位杂交法检测 VEGF 的 mRNA 的表达情况。

结果: 门静脉高压组大鼠 VEGF 的 mRNA 高表达, 其表达率分别为早期 50.0%, 中期 66.7%, 晚期 100%。对照组阳性表达率为 16.7%。

结论: (1) VEGF 是最有力的血管生成因子。(2) VEGF 随肝硬化门脉高压严重程度而阳性表达率有所增加。

邓琰, 马庆久, 鲁建国, 任朝霞, 邓明福. 肝硬化门静脉高压症大鼠脾脏血管内皮细胞生长因子的研究. 世界华人消化杂志 2003;11(3):346-347
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/11/346.htm>

0 引言

门静脉高压症(portal hypertension, PHT)与肝硬变密切相关, 其并发症多由于肝硬变引起的门静脉系统及体循环血流动力学变化所致。在 PHT 患者, 除有血流动力学紊乱外, 还有门静脉系统血管的病变, 称为门静脉高压性血管病变(portal hypertension vascular lesion), 并在 PHT 的发展中起重要作用。而 VEGF 是引起门静脉高压性血管病变的重要细胞因子之一。本文通过动物实验, 测定大鼠脾脏 VEGF 的 mRNA 表达水平, 初步探讨 VEGF 在 PHT 中的作用。

1 材料和方法

1.1 材料 动物模型: 二级 Wistar 大鼠, 质量在 200 ± 30 g 之间(第四军医大学实验动物中心 SPF 动物), 随机分为实验组(18 只)和对照组(6 只)。

1.2 方法 实验组用 600 mL/L 四氯化碳橄榄油溶液按 0.3 mL/100 g 质量皮下注射, 1 次/4 d, 饮用 50 mL/L 乙醇, 参照韩德五 et al [1] 将肝硬变大鼠模型分期, 人为地将肝硬变大鼠病程分为三期: 早期(第 25 天)脂变坏

死期; 中期(第 45 天)纤维增生期; 晚期(第 65 天)假小叶形成期。对照组用橄榄油溶液 0.3 mL/100 g 质量皮下注射, 1 次/4 d, 饮用自来水。二组大鼠均在二级动物实验室饲养, 自由进食。大鼠断头处死。迅速取出脾脏放入 -173℃ 液氮冷冻保存。血管内皮细胞生长因子(VEGF)的 mRNA 测定: 采用原位杂交法。选用武汉博士德生物工程有限公司生产的 VEGF 原位杂交检测试剂盒; APES 胶片; DEPC; POLY-L-LYSINE; DAB 显色试剂盒。采用地高辛标记的随机引物法, 原位杂交的具体方法参照蔡文琴 et al [2] 方法进行。免疫显色半定量判定标准: 按显色的深度和阳性颗粒的粗细、数量分为三级, 显色略高于背景、阳性颗粒细而少为弱阳性; 显色为深褐色或棕褐色、颗粒粗大而多为强阳性; 介于二者之间者为中度阳性。阳性颗粒在每个高倍镜视野中占 30% 以上为阳性切片; 每个标本连续取 5 张切片染色, 其中有一个阳性切片既为阳性结果。

统计学处理 运用 SAS 统计软件作统计分析。比较阳性切片和阴性切片在每组中的统计学差异, 采用 Fisher's 精确检验行统计学处理。

2 结果

门静脉高压组大鼠 VEGF 的 mRNA 高表达, 其表达率分别为, 早期 50%(3/6), 中期 66.7%(4/6), 晚期 100%(6/6)。对照组仅有 1 例轻度阳性, 阳性率为 16.7%(表 1)。由 Fisher's 精确检验可计算出 $P < 0.05$ (表 2), 说明 VEGF 在门静脉高压组同对照组之间, 以及门静脉高压不同时期组间均有显著性差异。VEGF 的 mRNA 表达随肝硬化门脉高压严重程度而有所增高。

表 1 各组大鼠切片阳性结果比较

n	分组				
	正常	早期	中期	晚期	合计
阴性	5	3	2	0	10
阳性	1	3	4	6	14
合计	6	6	6	6	24

表 2 由 Fisher's 精确检验计算出的 P 值 ($n=24$)

Fisher's Exact Test	
Table Probability (P)	9.178E-04
$P < = P$	0.0350

3 讨论

血管内皮细胞生长因子(vascular endothelial cell growth factor)是1989年Ferrara et al^[3]在牛垂体星状细胞体外培养分离出的一种糖蛋白,其在体内外都表现出特异性地促进血管内皮细胞生长并诱导血管生成的作用,故被称为血管内皮细胞生长因子(VEGF).在众多的血管生成因子中,VEGF是最有力的血管生成因子,他通过和血管内皮细胞的特异性受体结合,具有强大的促内皮增生、促血管生成作用.门静脉系统血管病变已经成为PHT目前研究的热点之一^[4].而脾内血管病变也是门静脉高压性血管病变的一部分.本实验表明,随着肝硬化程度的加重,VEGF的表达有增高趋势,而VEGF具有较强的促血管内皮细胞增生及增加血管通透性的作用^[5],使脾脏内血管增生,脾内储血量加大导致脾脏压力升高,从而加重门静脉高压状态和脾功能亢进.这说明,在肝硬化渐变中,VEGF起着重要的作用.肝内外分流时,胃肠胰源性所释放的舒血管活性物质,使三级小动脉阻力下降,血管扩张,动-静脉短路形成,血氧饱和度下降.由于缺血、缺氧、内毒素及肝功能下降等导致代谢紊乱,包括脾脏在内的

内脏处于高血流动力状态.而缺氧条件下可导致VEGF的表达及释放,并为血管生成的因素之一^[6].因此随着肝硬化程度的进一步加重,VEGF的表达更趋升高,对肝硬化严重程度起正反馈性调节作用.

总之,VEGF的高表达不但是门静脉高压作用的结果,同时也是门静脉高压的促进因素.由于VEGF在体内所表现出的特异性促血管生成作用,使其在临床应用方面表现出广泛的应用前景.然而,对VEGF的详细表达调节机制尚有待于进一步研究.利用其血管生成作用机制,通过抑制VEGF的血管生成作用治疗肝硬化门静脉高压症,正在作为一种新的治疗方法被应用于临床.

4 参考文献

- 1 韩德五,马学慧,赵元.肝硬化动物模型研究.山西医药杂志 1979;4:1
- 2 蔡文琴,王伯云.实用免疫细胞化学与核酸分子杂交技术.第1版.成都:四川科学技术出版社.1994:401-427
- 3 Ferrara N, Henzel WJ. Pituitary follicular cells secrete a novel heparin-binding growth factor specific for vascular endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1989;161:851-858
- 4 Yang Z, Liu RZ, Yang RG, Qiu F. Portal hypertensive vascular lesions. *J Tongji Med Univer* 1996;16:1-3
- 5 Veikkola T, Alitalo K. VEGFs, receptors and angiogenesis. *Semin Cancer Biol* 1999;9:211-220
- 6 Shweiki D, Itin A, Soffer D, Keshet E. Vascular endothelial growth factor induced by hypoxia may mediate hypoxia-initiated angiogenesis. *Nature* 1992;359:843-845

世界胃肠病学杂志英文版获得第二届国家期刊奖百种重点期刊

本报讯 为了进一步繁荣期刊出版事业,2002年9月,经中共中央宣传部同意,新闻出版总署决定举办第二届国家期刊奖评选活动.经过反复审核,全国共推荐出参评科技期刊522种.这些参评期刊经过评选办公室的参评资格审查、出版规范审查、广告内容审查后,由专家组和评选工作委员会进行评选.2002年12月初产生评选入围期刊,并将初评结果在《光明日报》、《科技日报》、《中国新闻出版报》和《中国图书商报》公示,接受全社会的监督,最终评出国家期刊奖科技类30名,国家期刊奖提名奖50名,国家期刊奖百种重点期刊99名.世界胃肠病学杂志英文版(World Journal of Gastroenterology)获得第二届国家期刊奖百种重点期刊,并荣获获奖证书、奖杯和获奖徽标.

国家期刊奖是期刊业中最权威的、也是最具影响的奖项.我们衷心感谢全体编委及作者、读者对世界胃肠病学杂志英文版的支持,希望在今后能继续得到大家的关心爱护和大力支持,争取更大的成绩.