

世界华人消化杂志

**WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2004 年 2 月 15 日 第 12 卷 第 2 期 (Volume 12 Number 2)



2/2004

名誉总编辑

潘伯荣

总编辑

马连生

世界华人消化杂志被评为中国科技核心期刊,
2003年百种中国杰出学术期刊,
《中文核心期刊要目总览》2004年版内科学
类的核心期刊, 中国科技论文统计源期刊.
世界华人消化杂志的英文摘要被美国《化学文摘》,
荷兰《医学文摘库/医学文摘》,
俄罗斯《文摘杂志》收录.

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ● 2004 年 2 月 15 日 第 12 卷 第 2 期 (总第119期)

述 评	253 肝炎病毒蛋白对肝细胞基因组转录调节及信号转导机制的影响 成军
胃 癌	258 胃癌线粒体DNA拷贝量的变化 韩琤波, 李凡, 杨雪飞, 毛晓韵, 吴东瑛, 辛彦 262 胃癌前病变p21 ^{ras} , c-erbB-2, p53表达与中医证候的关系 胡玲, 劳绍贤 266 胃癌淋巴结转移预测的多因素分析 黄宝俊, 徐惠绵, 赵雨杰, 王天骄, 田大彤, 陈峻青
肝 癌	271 人鼠嵌合Fab抗体通用表达载体的构建和抗人肝癌相关抗原HAb18G嵌合Fab抗体的表达 邢金良, 杨向民, 张思河, 姚西英, 梁瑞安, 陈志南 276 肝癌细胞H ₂₂ 与树突状细胞杂交瘤苗的实验研究 张娟, 张锦堃, 卓少宏 280 肝细胞癌hOGG1 mRNA及其蛋白的表达 周秀敏, 林菊生, 章金艳, 张莉, 周鹤俊 283 小鼠AFP-CTLA4融合蛋白真核表达载体的构建及鉴定 田耕, 易继林
病毒性肝炎	286 丙型肝炎病毒核心蛋白结合视黄醇脱氢酶11蛋白 成军, 李克, 王琳, 陆荫英, 刘妍, 钟彦伟 291 丙型肝炎病毒非结构蛋白5A结合蛋白37小鼠同源基因的克隆化及结构分析 成军, 李克, 王琳, 陆荫英, 刘妍, 钟彦伟 298 新生儿HBe Ag在HBV宫内感染中的作用 邵中军, 门可, 徐剑秋, 徐德忠, 闫永平, 张景霞 302 应用抑制性消减杂交技术筛选TAHCCP2的反式调节基因 王建军, 刘妍, 成军, 杨倩, 纪冬, 党晓燕, 徐志强, 王春花 306 基因表达谱芯片筛选NS5ATP3转染细胞差异表达基因 刘妍, 杨倩, 成军, 王建军, 纪冬, 党晓燕, 王春花 311 基因表达谱芯片技术筛选NS5A-TP4蛋白反式调节基因 杨倩, 成军, 刘妍, 王建军, 洪源, 张树林 315 HCV包膜糖蛋白E2基因的克隆、蛋白表达及纯化 杜德伟, 贾战生, 秦鸿雁, 刘秋平, 周永兴, 韩 骅 319 应用表达谱芯片技术对NS5ATP7反式调节基因的研究 张健, 刘妍, 成军, 王琳, 邵清, 梁耀东, 李强, 刘 敏 323 应用表达谱芯片技术筛选NS5ATP9反式调节基因的研究 李强, 梁耀东, 成军, 王琳, 王建军, 张健, 刘妍, 程明亮 327 乙型肝炎病毒和丙型肝炎病毒反式调节靶基因的抑制性消减杂交和基因芯片分析结果的比较 成军, 刘妍, 洪源, 王建军, 杨倩, 王琳 332 多对型特异性引物巢式PCR检测湖南省乙肝病毒基因型 温志立, 谭德明
基础研究	336 人肝素酶基因正反义腺病毒表达载体的构建及鉴定 蔡永国, 房殿春, 杨仕明, 罗元辉, 杨孟华, 王东旭 339 正常与硬化肝组织基因表达差异的初步分析 刘连新, 陈志宏, 武林枫, 李宏伟, 刘芝华, 姜洪池, 王秀琴, 吴 旻 344 癌基因对大鼠肝卵圆细胞分化和转化的影响 廖 冰, 薛 玲, 何萍, 赵国强, 车丽洪 347 中药抗纤软肝颗粒抑制PDGF诱导的肝星状细胞MEK-1和Ic-fos表达 杨 玲, 朱清静, 笪邦红, 张赤志

	<p>351 实验性肝硬化大鼠小肠血红素氧合酶的表达 田德安, 周晓黎</p> <p>355 胃黏膜保护剂预防幽门螺杆菌培养上清液所致小鼠胃黏膜损伤 崔梅花, 胡伏莲, 董欣红</p> <p>359 结肠充气CT对检测大肠肿瘤的敏感性和特异性 王毅, 龚水根, 张伟国, 陈金华, 张连阳, 陈金萍</p> <p>363 胃溃疡大鼠胃泌素、生长抑素和GD细胞的变化 孙凤莲, 宋于刚, 覃汉荣</p> <p>367 当归多糖对大鼠乙酸性结肠炎的保护作用 刘少平, 董卫国, 余保平, 罗和生, 于皆平, 吴东方</p> <p>371 达纳康对大鼠溃疡性结肠炎细胞因子的影响 周燕红, 于皆平, 何小飞, 余细球</p>
临床研究	<p>376 恶性腹水基质金属蛋白酶活性分析 孙晓敏, 董卫国, 余保平, 罗和生, 于皆平</p> <p>379 慢性浅表性胃炎脾胃湿热证与水通道蛋白4蛋白表达的关系 周正, 劳绍贤, 黄志新, 张向菊, 黄烈平, 匡忠生</p> <p>382 肠易激综合征患者肠黏膜肥大细胞的变化 王静, 梁列新, 张志雄, 李国华, 钱伟, 侯晓华</p> <p>385 MRI评估肝硬化再生结节和退变结节 徐海波, 孔祥泉, 熊茵, 冯敢生</p>
焦点论坛	<p>390 卵巢巨大巧克力囊肿误诊为结核性腹膜炎7 a 1例 冯莉娟, 张桂英, 陈凤英, 晏仲舒</p> <p>391 乙型肝炎病毒DNA聚合酶末端蛋白研究进展 陈国凤, 成军, 张玲霞, 李莉</p> <p>393 乙型肝炎病毒DNA 多聚酶P结构域研究进展 陈国凤, 成军, 王琳, 张玲霞, 李莉</p> <p>397 乙型肝炎病毒和丙型肝炎病毒对转录因子ATF-1的调节 王春花, 成军, 郎振为, 王建军, 刘妍, 杨倩, 党晓燕</p> <p>401 乙型和丙型肝炎病毒与胱冬肽酶3的关系 纪冬, 成军, 王建军, 刘妍, 杨倩, 党晓燕, 王春花</p> <p>403 乙型和丙型肝炎病毒对转录因子Nur77的调节 成军</p> <p>406 乙型肝炎病毒和丙型肝炎病毒对层粘连蛋白表达的调节 王建军, 成军, 刘妍, 杨倩, 纪冬, 王春花</p> <p>408 转录因子C/EBPb的生物学功能 成军</p> <p>412 活性氧簇与肝炎病毒的关系 梁耀东, 成军, 吴君, 程明亮</p> <p>414 趋化因子与病毒性肝炎的关系 陆荫英, 成军, 张玲霞</p> <p>417 病毒性肝炎发病机制中环氧合酶的作用 刘敏, 成军, 张树林</p>
文献综述	<p>420 乙型肝炎病毒DNA整合的机制及后果 成军</p> <p>428 基质金属蛋白酶及其抑制物与实验性肝纤维化 郑伟达, 王小众</p> <p>432 建议将亚临床型肝性脑病更名为轻微型肝性脑病 贾林</p> <p>434 右叶部分肝移植临床解剖进展 刘静, 高毅, 钟世镇</p> <p>439 肝素酶: 抗肿瘤转移的新靶点 陈陵, 杨仕明, 房殿春, 王东旭</p> <p>443 肠道上皮特异性基因CDX2 宋艳, 李凌</p> <p>446 细胞凋亡与肝移植免疫耐受 刘静, 汪爽, 高毅, 孙尔维</p> <p>450 自身免疫性肝炎诊断与治疗 欧强, 谭德明</p> <p>454 VEGF在肝癌中作用 邓靖宇, 何生</p>
研究快报	<p>459 胰腺癌组织中COX-2和Bcl-2蛋白的表达及其意义 刘希双, 李玉军, 田宇彬, 张翠萍, 孙显路, 魏良洲, 薛会光, 刘思良</p> <p>461 3种富集胃癌患者外周血中胃癌细胞方法的比较 陈健, 郭俊明, 金之瑾, 肖丙秀</p> <p>464 肠缺血再灌注对小肠屏障、吸收、通透和传输功能的影响 黎君友, 孙丹, 吕艺, 晋桦, 胡森, 盛志勇</p> <p>467 MUC5AC蛋白在大肠肿瘤中的表达及意义 卜晓东, 李俐, 黄培林, 樊克武, 赵建华</p> <p>469 卵巢巨大巧克力囊肿误诊为结核性腹膜炎7 a 1例 冯莉娟, 张桂英, 陈凤英, 晏仲舒</p> <p>471 肛管直肠原发性恶性黑色素瘤临床病理特点 赵尔增, 张建中, 岳茂兴</p> <p>473 细胞周期蛋白D1 RT-PCR ELISA的建立及其初步应用 陈兵, 张雪, 府伟灵, 常杭花, 刘为纹, 徐采朴, 史景泉</p> <p>476 胃肠激素与不同类型反流所致食管炎的相关性 王雯, 李兆申, 许国铭, 张志坚, 林克荣</p> <p>477 尼美舒利对结肠癌细胞ICAM-1 mRNA表达的影响 刘伟, 张超</p>

临床经验

- 480 腹腔镜次/全结肠切除术治疗结肠慢传输性便秘4例 张连阳, 刘宝华, 陈金萍, 文亚洲
- 481 内镜下氩离子凝固术治疗胃肠息肉 毛振彪, 黄介飞, 陆静娴, 俞智华, 倪润洲
- 483 肝硬化门脉系统食管侧支血流动力学与血浆内皮素的关系 肖际东, 李瑞珍, 周平, 朱文晖
- 485 大黄与促肝细胞生长素联合治疗重型肝炎 黄以群, 林珍辉, 纪树梅, 王喻, 王崇国
- 487 5 km长跑对新兵胆囊排空及胃肠激素的影响 李小丽, 郝悦, 杨凤江, 邹勤, 李智力, 李晓春
- 488 药物性肝病41例 苏淑慧, 王春平, 李迎新, 冯永毅
- 490 数字化成像结肠双对比造影检查345例 何发清, 官泳松, 王小林, 郭兵文, 孙龙
- 492 胃十二指肠隐匿性穿孔的诊断与治疗4例 詹世林, 吴良平, 蒲森水
- 494 胃癌及癌前病变中胃黏膜上皮细胞增生及凋亡相关基因蛋白表达 孟华, 刘丽娜, 吕申
- 497 胃十二指肠疾病与幽门螺杆菌感染的相关性分析 周惠萌, 范欣敏
- 499 原发性胆汁性肝硬化37例临床分析 董正芳, 程留芳
- 501 射频消融联合局部热化疗治疗特殊部位肝脏恶性肿瘤 田伏洲, 陈涛, 蔡忠红, 陈琪
- 503 卵巢巨大巧克力囊肿误诊为结核性腹膜炎7 a 1例 冯莉娟, 张桂英, 陈凤英, 晏仲舒

封面故事

- 371 达纳康对大鼠溃疡性结肠炎细胞因子的影响
周燕红, 于皆平, 何小飞, 余细球 世界华人消化杂志 2004; 12(2): 371-375
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v12/i2/371.htm>

国际会议

- 13th United European Gastroenterology Week, UEGW
October 15-20, 2005
- American College of Gastroenterology Annual Scientific Meeting
October 28-November 2, 2005
- ISGCON 2005
November 11-15, 2005
isgcon2005@yahoo.co.in
www.isgcon2005.com
- Advanced Capsule Endoscopy Users Course
November 18-19, 2005
www.asge.org/education
- II Latvian Gastroenterology Congress
November 29, 2005
gec@stradini.lv
www.gastroenterologs.lv
- 2005 CCFA National Research and Clinical Conference - 4th Annual Advances in the Inflammatory Bowel Diseases
December 1-3, 2005
c.chase@imedex.com
www.imedex.com/calendars/therapeutic.htm
- 10th World Congress of the International Society for Diseases of the Esophagus
February 22-25, 2006
isde@sapmea.asn.au
www.isde.net

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名
陈可冀 题写版权刊名
(半月刊)

创刊 1993-01-15
改刊 1998-01-25
出版 2004-02-15
原刊名 新消化病学杂志

名誉总编辑 潘伯荣 社长总编辑 马连生

编辑部主任 张海宁 中文编辑 潘伯荣 张海宁

英文编辑 张海宁 排版校对 张敏 张勇 李琪

编辑 世界华人消化杂志编辑委员会
030001, 山西省太原市双塔西街77号

出版 世界胃肠病学杂志社
100023, 北京市2345信箱
E-mail: wcjd@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>
电话: 010-85381901
传真: 010-85381893

印刷 北京科信印刷厂

发行 国内: 北京报刊发行局
国外: 中国国际图书贸易总公司
(100044, 北京市399信箱)

订购 全国各地邮电局

邮购 世界胃肠病学杂志社发行部
(100023, 北京市2345信箱)
电话: 010-85381901
传真: 010-85381893

世界华人消化杂志被评为中国科技核心期刊, 2003年百种中国杰出学术期刊, 《中文核心期刊要目总览》2004年版内科学类的核心期刊, 中国科技论文统计源期刊. 世界华人消化杂志的英文摘要被美国《化学文摘》, 荷兰《医学文摘/医学文摘》, 俄罗斯《文摘杂志》收录.

特别声明

本刊刊出的所有文章不代表世界胃肠病学杂志社和本刊编委会的观点, 除非特别声明. 本刊如有印装质量问题, 请向本刊编辑部调换.

2005年版版权归世界胃肠病学杂志社所有

ISSN 1009-3079
CN 14-1260/R

邮发代号
82-262

国外代号
M 4481

国内定价
每期24.00元 全年576.00元

广告经营许可证
1401004000050

www.wjgnet.com

实验性肝硬化大鼠小肠血红素氧合酶的表达

田德安, 周晓黎

田德安, 周晓黎, 华中科技大学同济医学院附属同济医院消化内科
湖北省武汉市 430030
田德安, 男, 1961-02-19 生, 湖北武汉人, 汉族. 1990 年, 德国 ULM 大学
博士研究生毕业, 副主任医师, 硕士生导师. 主要从事肝病研究.
项目负责人: 田德安, 430030, 湖北省武汉市, 华中科技大学同济医学院附
属同济医院消化内科. xlzh2000@sohu.com
电话: 027-83663611
收稿日期: 2003-06-28 接受日期: 2003-07-24

Heme oxygenase expression in small intestine of experimental hepatic cirrhosis rats

De-An Tian, Xiao-Li Zhou

De-An Tian, Xiao-Li Zhou, Department of Gastroenterology, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China
Correspondence to: Dr. De-An Tian, Department of Gastroenterology, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China. xlzh2000@sohu.com
Received: 2003-06-28 Accepted: 2003-07-24

Abstract

AIM: To investigate the expression of heme oxygenase (HO) in the small intestine in cirrhotic rats and control rats.

METHODS: The expression of heme oxygenase isoenzyme 1 and 2 (HO-1, HO-2) proteins in the small intestine was assessed by immunohistochemistry. The change of expression of HO was studied by computer image system and quantitative analysis.

RESULTS: The portal venous pressure (PVP) of cirrhotic rats was significantly higher than that of controls (2.609 ± 0.144 versus 0.916 ± 0.034 , $t=39.37$, $P<0.01$), whereas the mean arterial pressure (MAP) was significantly lower than that of controls (13.411 ± 1.208 versus 17.423 ± 1.472 , $t=7.297$, $P<0.05$). It was found that HO-1 positive staining localized in submucosal small artery and small vein, the layer of muscle, serosa, even in submucosal gland of cirrhotic rats, but only poor positive staining in those of normal controls (0.4813 ± 0.1223 versus 0.3762 ± 0.0689 , $t=19.022$, $P<0.01$). In both groups, HO-2 was observed in submucosal blood vessel and gland, the layer of muscle, serosa. In cirrhotic rats, HO-2 staining did not display any notable changes compared with that of in control rats (0.4834 ± 0.0997 versus 0.4813 ± 0.1056 , $t=0.595$, $P>0.05$). In addition, the expression levels of heme oxygenase were correlated positively with portal venous pressure ($r=0.655$, $P<0.05$) and negatively with the mean arterial pressure ($r=-0.852$, $P<0.01$).

CONCLUSION: The expression of HO-1 is elevated in the small intestine of cirrhotic rats. It may play an important role in the development of portal hypertension enteropathy.

Tian DA, Zhou XL. Heme oxygenase expression in small intestine of experimental hepatic cirrhosis rats. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2004; 12(2):351-354

摘要

目的: 观察血红素氧合酶在肝硬化大鼠小肠组织中的表达。

方法: 建立大鼠四氯化碳肝硬化模型, 采用免疫组化法显示血红素氧合酶异构酶 HO-1、HO-2 在肝硬化实验组与正常对照组大鼠小肠组织中的表达, 应用图像分析系统对免疫组化的结果进行定量分析。

结果: 肝硬化实验组大鼠的门静脉压力较正常对照组显著增高 (2.609 ± 0.144 及 0.916 ± 0.034 , $t=39.37$, $P<0.01$), 而平均动脉压降低则低于正常对照组 (13.411 ± 1.208 及 17.423 ± 1.472 , $t=7.297$, $P<0.05$)。肝硬化实验组大鼠小肠黏膜下层的小动脉及小静脉、肌层、浆膜层, 甚至黏膜腺体内 HO-1 的表达均较强, 而正常对照组中的表达则较弱 (0.4813 ± 0.1223 及 0.3762 ± 0.0689 , $t=19.022$, $P<0.01$)。HO-2 在两组大鼠的小肠组织中差异无统计学意义 (0.4834 ± 0.0997 及 0.4813 ± 0.1056 , $t=0.595$, $P>0.05$)。并且, 肝硬化实验组小肠 HO-1 的表达与门静脉压力呈正相关, 而与外周动脉压呈负相关。

结论: 肝硬化大鼠小肠组织中 HO-1 的表达增高, 可能参与了肝硬化门静脉高压性肠病的发生。

田德安, 周晓黎. 实验性肝硬化大鼠小肠血红素氧合酶的表达. 世界华人消化杂志 2004;12(2):351-354

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/12/351.asp>

0 引言

肝硬化门静脉高压时, 内脏血流动力学发生了明显的变化, 整个胃肠道的血流增加, 心排量增加, 外周阻力下降. 肠黏膜血管扩张是门静脉高压性肠病的主要且具有特征性的病理变化, 肠道各个部位均有静脉曲张出血的报道, 但肝硬化门静脉高压时小肠病理生理改变的发生机制尚未完全阐明. 血红素氧合酶(heme oxygenase, HO)是合成内源性一氧化碳(endogenous carbon monoxide, CO)的起始酶和限速酶, HO/CO 系统已成为当前的一项研究热点. 我们应用免疫组化法研究肝硬化大鼠小肠组织中血红素氧合酶异构酶 HO-1、HO-2 的表达, 探讨 HO/CO 系统在肝硬化小肠组织病变中的作用。

1 材料和方法

1.1 材料 抗HO-1和HO-2多克隆羊抗鼠抗体购于美国Santa Cruz生物技术公司,免疫组化过氧化物酶标记的链霉素卵白素(SP)染色试剂盒购于北京中山公司,浓缩型DAB试剂盒北京中山公司。

1.2 方法 选择健康成年♂SD大鼠,体重为(250 ± 25 g)(由华中科技大学同济医学院实验动物中心提供),随机分为肝硬化实验组及正常对照组。肝硬化实验组大鼠给予500 ml/L四氯化碳(3 ml/g)皮下注射,2次/wk,连续16 wk。成功制得肝硬化模型12只(肝硬化形成经病理证实)。正常对照组大鼠(12只)给予生理盐水(3 ml/g)皮下注射。于第16 wk进行血流动力学测定,以3%戊巴比妥钠腹腔注射麻醉,游离回结肠静脉和右侧股动脉,分别穿刺,连接压力换能器,多道生理仪记录,测定门静脉压力(PVP)和平均动脉压力(MAP)。取新鲜大鼠小肠组织,放入中性甲醛溶液中固定,制成石蜡切片。切片脱蜡至水,放入新鲜配制的30ml/LH₂O₂中,室温10 min以灭活内源性过氧化物酶,置入1 g/L TritonX-100/PBS溶液内15 min,增加胞膜的通透性,滴加正常血清封闭液,室温20 min,以封闭非特异性结合位点。滴加0.2 mol/L磷酸盐缓冲液(PB)稀释的一抗,HO羊抗鼠多克隆抗体(HO-1, 1:200; HO-2, 1:200),4℃孵育过夜,0.01 mol/L PBS洗5 min × 3次;滴加生物素化二抗(兔抗羊IgG),湿盒内室温下孵育45 min,0.01 mol/L PBS洗5 min × 3次;3,3'-二甲基联苯胺(DAB)显色,苏木素复染,封片。免疫组化检测结果应用HPIAS-1000型全自动医学彩色图像分析系统(由同济医学院提供)进行HO染色的定量分析,测定其阳性反应产物的面积和平均积分光密度值。每个标本取连续3张切片进行测量,每张切片测量10个视野的参数,取平均值。以上参数均在相同光强度、相同面积下以同种方法测量。

统计学处理 数据采用均数 ± 标准差(mean ± SD)表示,两组间差异用*t*检验,以*P* < 0.05为差异有统计学意义;两变量之间的关系应用线性相关与回归分析。

2 结果

肝硬化动物模型成功建立。肝脏大体形态观察:正常对照组大鼠肝脏体积基本正常,呈鲜红色;肝硬化组大鼠肝脏体积明显缩小,色灰暗,表面呈颗粒隆起状,肝脏切面呈豆渣样改变,可见圆形或类圆形岛屿状结节。HE染色后光镜观察:正常对照组大鼠肝内可见中央静脉周围排列正常的肝小叶结构,肝细胞索排列正常(图1)。肝硬化组大鼠肝内正常肝小叶结构被破坏,由广泛增生的纤维组织将原来的肝小叶分割包绕成大小不等,圆形或椭圆形的肝细胞团即假小叶形成。假小叶内肝细胞呈不同程度的浊肿变性、脂肪浸润,有再生肝细胞结节形成,肝细胞排列紊乱,胞体较大,核大着色较深,可见双核肝细胞。汇管区内结缔组织增生形成条索,伴有不同程度的炎性细胞浸润(图2)。

2.1 两组大鼠的血液动力学指标 表1所示可见:实验性肝硬化组大鼠的(PVP)门静脉压力较正常对照组高(*P* < 0.05),而平均动脉压(MAP)低于正常对照组(*P* < 0.05)。

表1 两组大鼠血液动力学参数

组别	<i>n</i>	PVP (Kpa)	MAP (Kpa)
正常对照组	12	0.916 ± 0.034	17.423 ± 1.472
肝硬化实验组	12	2.609 ± 0.144 ^b	13.411 ± 1.208 ^b

^b*P* < 0.05 vs 对照组。

2.2 小肠HO分布特点 HO-1与HO-2蛋白属膜结合蛋白类,主要表达于核被膜及核周的胞质内^[1],呈棕黄色。光镜下观察,肝硬化大鼠小肠黏膜下层的小动脉、小静脉、肌层及浆膜层HO-1染色强阳性,黏膜腺体亦可见HO-1的表达(图3);正常对照组大鼠小肠的HO-1染色呈弱阳性(图4)。正常对照组及肝硬化组大鼠小肠组织中HO-2呈弥漫性表达,在小肠黏膜下血管、肌层、浆膜层及黏膜腺体内染色均呈强阳性(图5,6)。比较肝硬化组与正常组大鼠的小肠组织,可见肝硬化组大鼠的小肠黏膜充血、水肿,黏膜下血管扩张,甚至变形,部分有上皮细胞脱落。

2.3 小肠HO免疫组织化学染色图像定量分析 从表2可以看出,肝硬化实验组小肠组织中HO-1的着色面积为14.4 859 ± 7.0 148,较正常对照组显著升高(*P* < 0.01),平均光密度值(0.4 813 ± 0.1 223)较正常对照组(0.3 762 ± 0.0 689)升高,差异有显著性意义(*P* < 0.01),说明肝硬化实验组大鼠小肠组织中HO-1的表达明显强于正常对照组。而HO-2的着色面积和平均光密度值在两组间差异无统计学意义(*P* > 0.05)。

表2 小肠HO免疫组化染色的图像定量分析结果

	HO-1		HO-2	
	平均面积	平均光密度	平均面积	平均光密度
正常对照组	4.5 959 ± 2.9 497	0.3 762 ± 0.0 689	9.8 472 ± 2.3 415	0.4 834 ± 0.0 997
肝硬化实验组	14.4 859 ± 7.0 148 ^b	0.4 813 ± 0.1 223 ^b	11.583 ± 3.7 987	0.4 813 ± 0.1 056

^b*P* < 0.01 vs 对照组。

2.4 肝硬化组小肠HO-1的表达与血液动力学指标的相关系数 表3所示,肝硬化门静脉高压组大鼠小肠HO-1表达水平与门静脉压力呈正相关,平均动脉压呈负相关。

表3 血液动力学指标与HO-1表达水平的相关系数

血液动力学指标	小肠HO-1表达		
PVP	<i>r</i> = 0.655	<i>P</i> < 0.05	正相关
MAP	<i>r</i> = -0.852	<i>P</i> < 0.01	负相关

表3所示,肝硬化门静脉高压组大鼠小肠HO-1表达水平与门静脉压力呈正相关,平均动脉压呈负相关。

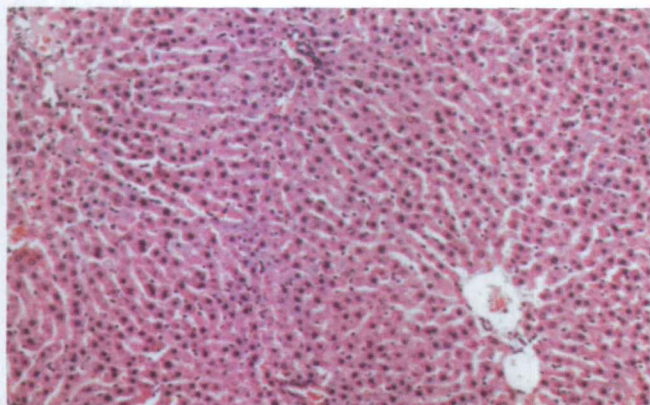


图1 正常对照组大鼠肝脏 HE × 100.



图5 正常对照组大鼠小肠中 HO-2 的表达 DAB × 400.

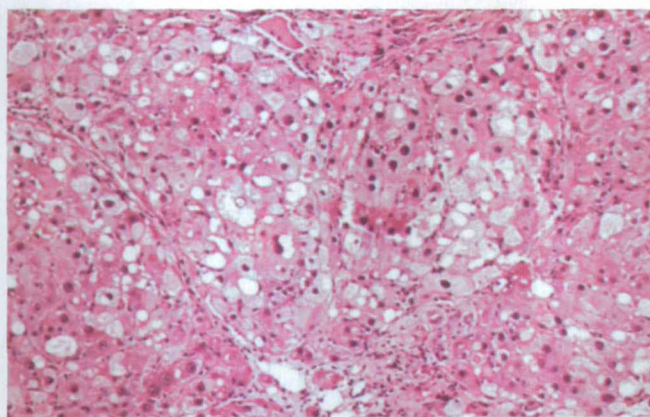


图2 肝硬化实验组大鼠肝脏 HE × 100.

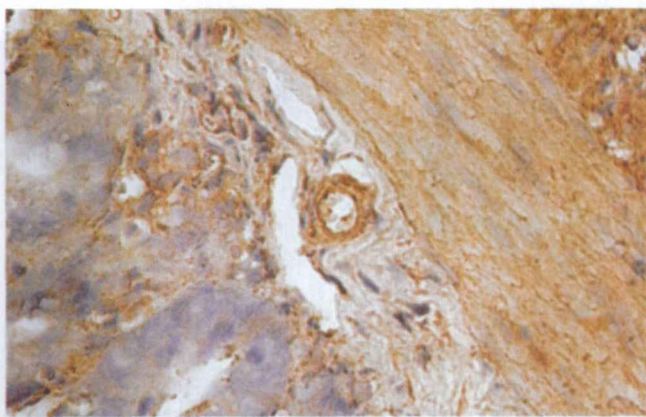


图6 肝硬化实验组大鼠小肠中 HO-2 的表达 DAB × 400.

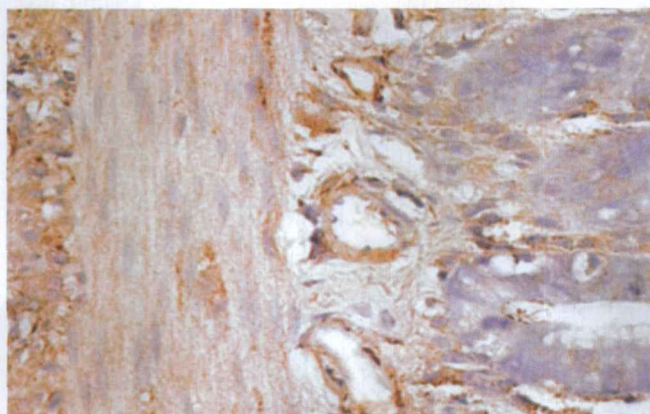


图3 肝硬化实验组大鼠小肠中 HO-1 的表达 DAB × 400.

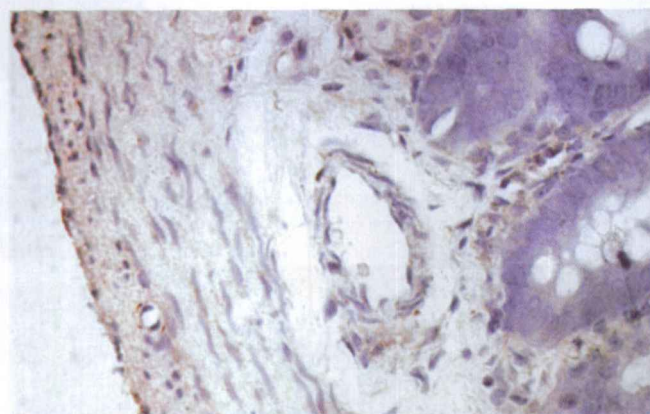


图4 正常对照组大鼠小肠中 HO-1 的表达 DAB × 400.

3 讨论

内脏高动力循环为肝硬化门静脉高压的发生及存在的重要因素, 这种高动力循环状态(hyperdynamic circulatory state, HCS)主要表现为: 心输出量增加, 心率加快, 内脏血流量增加, 外周血管阻力和内脏血管阻力下降. 高动力循环状态主要由外周动脉扩张引起, 在腹腔内脏中尤为突出. 肠黏膜下血管扩张、淤血、血流量增加, 动-静脉短路, 以及毛细血管内皮和黏膜上皮细胞超微结构改变是门静脉高压性肠病的特征性病变. 血红素氧合酶(heme oxygenase, HO)是催化血红素在体内氧化降解的起始酶和限速酶, 具有重要的生物学作用. 迄今为止, 在人和哺乳动物体内发现 HO 有 3 种异构体, 即 HO-1, HO-2 和 HO-3. HO-1 为诱生型 HO, M_r 为 30 000-32 000, 主要分布于脾脏、肝脏、网状内皮细胞系统和骨髓, 多种因素可诱导 HO-1 表达增高, 包括血红素^[2-4]、重金属^[5-6]、低氧^[7]、高氧^[8-9]、化学物^[10]、感染^[11-13]、损伤^[14]、高温^[15]等. HO-2 为组成型 HO, M_r 为 36 000, 主要分布于脑和睾丸中, 其表达不受氧应激等的诱导, 仅受肾上腺糖皮质激素的诱导. HO-3 是近几年内发现的又一种 HO 异构酶, 亦为组成型, 多种诱导因素均不能诱导其表达增高, 其特异性酶活性很低. HO 几乎分布于人体所有组织和器官. HO 在 NADPH、细胞色素 P450 还原酶和氧分子存在的条件下氧化降解血红素生成等摩尔数的胆绿素(biliverdin)、一氧化碳及铁. 血红素的分解

产物具有重要的生理功能。胆绿素在胆绿素还原酶(biliverdin reductase, BVR)的作用下很快生成胆红素,胆绿素和胆红素均具有抗氧化功能,保护血管壁细胞,抑制黏附分子及炎症细胞入侵血管壁。铁能诱导产生铁蛋白,铁蛋白与游离的铁结合,减少自由态铁的含量,从而中和铁的氧化毒性。由HO催化血红素分解产生的CO是内源性一氧化碳的主要来源,另一种是由依赖NADPH通过微粒体的脂质过氧化产生。内源性CO在体内具有广泛的生物学活性,目前研究发现内源性CO参与了多种疾病的病理生理过程,包括调节血压^[16-17]、维持血管紧张度^[18-20]、神经递质的传递、氧应激、血小板的激活及松弛平滑肌等。

本组研究结果显示四氯化碳诱导的肝硬化大鼠门静脉压力增高、平均动脉压降低。我们观察到HO-1在肝硬化组大鼠的小肠组织中表达较高,而在正常对照组中的表达较弱,且肝硬化组小肠HO-1表达与门静脉压力呈正相关,与平均动脉压呈负相关。结果提示肝硬化大鼠的小肠组织内HO-1的诱导增加,继而局部组织产生的内源性CO增加,使肠血管持续处于扩张状态,从而增加门静脉血流量,与肠淤血等因素一起,构成门静脉高压性肠病的病理生理基础,且黏膜腺泡中HO-1的表达亦增加,可能影响肠道的分泌与吸收功能。HO-2在两组大鼠的小肠中的表达均较高,提示HO-2与正常生理条件下肠道平滑肌的肌电活动、小肠液的分泌等生理活动相关。门静脉高压症发病的液递物质假说认为肝功能损害使肝脏对循环中有血管活性作用的液递物质的灭活能力下降,而侧枝循环的形成使大量液递物质得以绕过肝脏对其的灭活作用,导致循环中扩血管物质过多,诱发循环紊乱,是门静脉高压症的高动力循环状态得以维持的基础。基于上述假说,我们认为HO/CO系统可能参与了肝硬化门静脉高压的发病机制。Fernandez *et al*在部分结扎门静脉引起鼠门静脉高压模型中发现肝细胞、Kupfer细胞、肝星状细胞及腹腔内脏器均有HO-1 mRNA的高表达,肠系膜、小肠、肝脏、脾脏血红素氧合酶活性明显升高,且血红素氧合酶抑制剂可逆转肠系膜血管床对氯化钾的低反应性。

本研究中肝硬化小肠组织HO-1合成增加的因素可能有:(1)交感神经系统兴奋性增高,去甲肾上腺素水平增加可激活HO/CO系统;(2)肝硬化时机体血液循环中内毒素及其他细胞因子增多有关;(3)Chica *et al*研究发现肝硬化肠道组织中自由基代谢产物较正常增加,致肠道黏膜屏障被破坏,HO可通过抗氧化应激作用对机体起保护作用;(4)研究认为门静脉高压时一氧化氮(NO)产生的第二信使(cGMP)能激活周期蛋白核苷酸反应元件和应急蛋白-1刺激HO-1的转录。因此我们认为,HO/CO系统参与了肝硬化门静脉高压性肠病的病理生理进程,其确切的作用机制及HO抑制剂或激动剂在临床上的应用尚值得进一步深入探讨。

4 参考文献

- 1 Parfenova H, Neff RA 3rd, Alonso JS, Shlopov BV, Jamal CN, Sarkisova SA, Leffler CW. Cerebral vascular endothelial heme oxygenase: expression, localization, and activation by glutamate. *Am J Physiol Cell Physiol* 2001;281:C1954-1963
- 2 Regan RF, Kumar N, Gao F, Guo Y. Ferritin induction protects cortical astrocytes from heme-mediated oxidative injury. *Neuroscience* 2002;113:985-994
- 3 Hosein S, Marks GS, Brien JF, McLaughlin BE, Nakatsu K. An extracellular source of heme can induce a significant heme oxygenase mediated relaxation in the rat aorta. *Can J Physiol Pharmacol* 2002;80:761-765
- 4 Ndisang JF, Wu L, Zhao W, Wang R. Induction of heme oxygenase-1 and stimulation of cGMP production by hemin in aortic tissues from hypertensive rats. *Blood* 2003;101:3893-3900
- 5 Regan RF, Kumar N, Gao F, Guo Y. Ferritin induction protects cortical astrocytes from heme-mediated oxidative injury. *Neuroscience* 2002;113:985-994
- 6 Ishizaka N, Saito K, Mitani H, Yamazaki I, Sata M, Usui S, Mori I, Ohno M, Nagai R. Iron overload augments angiotensin II-induced cardiac fibrosis and promotes neointima formation. *Circulation* 2002;106:1840-1846
- 7 Ryter SW, Xi S, Hartsfield CL, Choi AM. Mitogen activated protein kinase (MAPK) pathway regulates heme oxygenase-1 gene expression by hypoxia in vascular cells. *Antioxid Redox Signal* 2002;4:587-592
- 8 Lu R, Peng J, Xiao L, Deng HW, Li YJ. Heme oxygenase-1 pathway is involved in delayed protection induced by heat stress against cardiac ischemia-reperfusion injury. *Int J Cardiol* 2002;82:133-140
- 9 Singhal AB, Wang X, Sumii T, Mori T, Lo EH. Effects of normobaric hyperoxia in a rat model of focal cerebral ischemia-reperfusion. *J Cereb Blood Flow Metab* 2002;22:861-868
- 10 Naughton P, Foresti R, Bains SK, Hoque M, Green CJ, Motterlini R. Induction of heme oxygenase 1 by nitrosative stress. A role for nitroxyl anion. *J Biol Chem* 2002;277:40666-40674
- 11 Fujii H, Takahashi T, Nakahira K, Uehara K, Shimizu H, Matsumi M, Morita K, Hirakawa M, Akagi R, Sassa S. Protective role of heme oxygenase-1 in the intestinal tissue injury in an experimental model of sepsis. *Crit Care Med* 2003;31:893-902
- 12 Vicente AM, Guillen ML, Alcaraz MJ. Participation of heme oxygenase-1 in a model of acute inflammation. *Exp Biol Med (Maywood)* 2003;228:514-516
- 13 De las Heras D, Fernandez J, Gines P, Cardenas A, Ortega R, Navasa M, Barbera JA, Calahorra B, Guevara M, Bataller R, Jimenez W, Arroyo V, Rodes J. Increased carbon monoxide production in patients with cirrhosis with and without spontaneous bacterial peritonitis. *Hepatology* 2003;38:452-459
- 14 Carratu P, Pourcyrus M, Fedinec A, Leffler CW, Parfenova H. Endogenous heme oxygenase prevents impairment of cerebral vascular functions caused by seizures. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003;285:H1148-1157
- 15 Grasso S, Scifo C, Cardile V, Gulino R, Renis M. Adaptive responses to the stress induced by hyperthermia or hydrogen peroxide in human fibroblasts. *Exp Biol Med (Maywood)* 2003;228:491-498
- 16 Ndisang JF, Zhao W, Wang R. Selective regulation of blood pressure by heme oxygenase-1 in hypertension. *Hypertension* 2002;40:315-321
- 17 Ndisang JF, Wang R. Alterations in heme oxygenase/carbon monoxide system in pulmonary arteries in hypertension. *Exp Biol Med (Maywood)* 2003;228:557-563
- 18 Motterlini R, Clark JE, Foresti R, Sarathchandra P, Mann BE, Green CJ. Carbon monoxide-releasing molecules: characterization of biochemical and vascular activities. *Circ Res* 2002;90:E17-24
- 19 Jaggar JH, Leffler CW, Cheranov SY, Tcheranova D, ES, Cheng X. Carbon monoxide dilates cerebral arterioles by enhancing the coupling of Ca²⁺ sparks to Ca²⁺-activated K⁺ channels. *Circ Res* 2002;91:610-617
- 20 Naik JS, Walker BR. Heme oxygenase-mediated vasodilation involves vascular smooth muscle cell hyperpolarization. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003;285:H220-228



Published by **Baishideng Publishing Group Inc**
7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton,
CA 94588, USA
Fax: +1-925-223-8242
Telephone: +1-925-223-8243
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079

