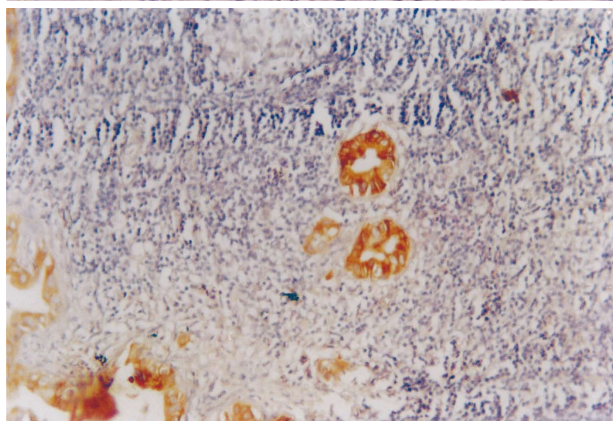
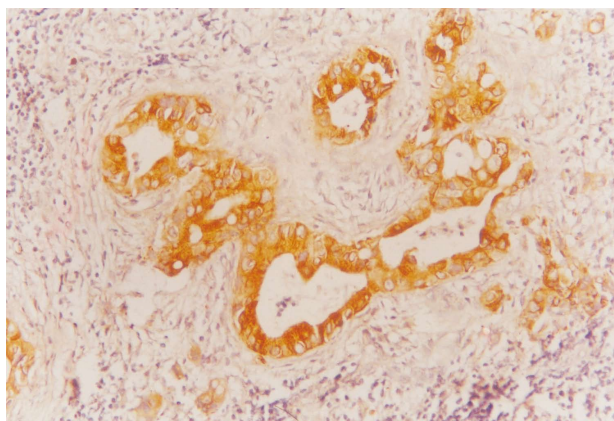
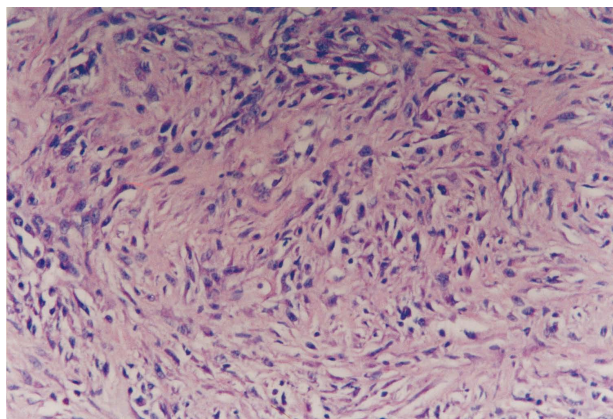
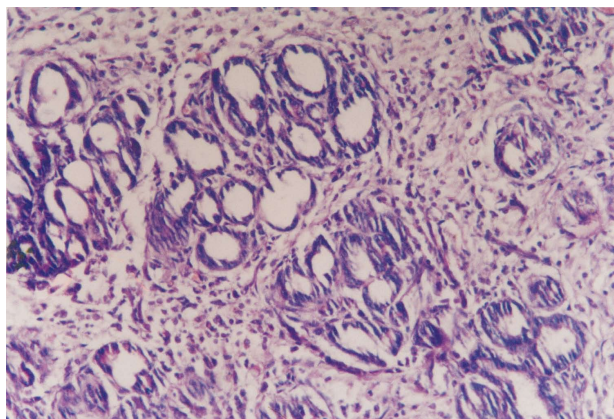


世界华人消化杂志

**WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2005 年 9 月 28 日 第 13 卷 第 18 期 (Volume 13 Number 18)



18/2005

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 ●

2005 年 9 月 28 日

第 13 卷

第 18 期

(总第146期)

述 评

- 2173 临床试验刍议 谭学瑞, 张学中
2179 RNA 干扰在肝病治疗中的研究进展 韩苏夏, 马瑾璐

基 础 研 究

- 2183 甘草甜素下调基质金属蛋白酶组织抑制因子-1基因的表达
王巧侠, 成军, 郭江, 李文凡, 魏红山
2188 改良聚合酶链反应检测 HBV 共价闭合环状 DNA 汤勃, 王宇明, 刘俊, 张瑞
2193 肝癌细胞 BEL7402 中神经元特异性烯醇化酶的表达
朱爱萍, 张青云, 王雅明, 徐建军, 孙丽
2197 肝移植前受体亚低温对急性肝衰大鼠移植肝脏的保护作用
王志东, 韩德恩, 崔云甫, 姜明山, 张新宇, 曾兆林
2201 慢性丙型肝炎患者 CD4⁺CD25⁺调节性T细胞表达增加 杨江华, 张永祥, 苏川, 孙南雄
2205 草苈蓉乙醇提取物对二甲基亚硝胺诱导大鼠肝纤维化的治疗作用 朴熙绪, 黄红果, 朴东明
2210 树突状细胞在黏膜免疫模型鼠体内的分布及趋化因子的表达
谢遵江, 贺业春, 贾立敏, 刘颖, 刘丽
2213 塞来昔布对胃癌细胞生长及 ERK2 表达的影响
张勇, 蒋明德, 曾维政, 徐辉, 熊碧君, 翁敏
2217 益气活血软坚解毒含药血清诱导人肝癌细胞系 Bel-7402 细胞的凋亡
李东涛, 孙桂芝, 裴迎霞, 祁鑫, 李杰, 林洪生
2222 肿瘤坏死因子- α 、细胞间黏附分子-1与扑热息痛肝损害
田丰, 王颖, 吴作艳, 王学清, 李岩
2227 SD 大鼠胰腺癌模型组神经生长因子 mRNA 表达
杨竹林, 邓星辉, 杨乐平, 李清龙, 范文涛, 梁珊, 苗雄鹰

文 献 综 述

- 2231 乳酸杆菌作为一种新型活疫苗抗原递送载体 庾庆华, 杨倩
2235 一氧化氮和一氧化氮合酶与肿瘤放疗敏感性的关系 江春平, 丁义涛
2238 Id 基因家族对消化系统实体瘤作用的研究进展
杨海彦, 刘连新, 曲志博, 刘改云, 陈炜, 郭化鑫, 陈曦
2243 影响拉米夫定相关乙型肝炎病毒 YMDD 变异的因素 陆德云, 王甦, 赵连三
2246 成人间活体肝移植中小肝综合征的预防策略 马跃峰, 李相成
2251 肝细胞癌生物标志物的研究进展 王嘉信, 刘连新
2257 肠黏膜免疫调节紊乱介导炎症性肠病的发生 王旭丹, 袁学勤

研 究 快 报

- 2263 sp600125 对乙醛刺激的大鼠肝星状细胞凋亡及 Caspase-3 蛋白表达的影响 唐文, 蒋明德, 李小安
2266 血小板活化因子对幼鼠肠道免疫屏障功能的影响 王丽杰, 刘冬妍, 孙梅, 赵恂

临 床 经 验

- 2269 肝硬化患者食管静脉曲张的相关因素分析 501 例
崔春吉, 金永日, 朴熙绪, 裴风郁
2272 中晚期肝门部胆管癌诊治15例
张宗明, 邢海林, 李刚, 刘凯, 朱建平, 宿砚明, 钟华, 郭金星
2275 肝病患者 IgA 和 sIgA 含量变化的临床意义 刘冬妍, 刘沛
2278 全直肠系膜切除术切缘血管内皮生长因子检测的临床意义 战学雷, 田素礼
2281 善宁对急性胰腺炎患者血小板参数变化的影响 黄坚, 陆士奇, 陈建荣

病 例 报 告

- 2284 肝肾联合移植术治疗移植肾慢性失功伴肝硬化 1 例
朱建平, 张宗明, 管德林, 李刚, 黄庆荣, 宿砚明, 陈以安, 刘辉
2287 丙型肝炎肝硬化患者骨髓和血液同时分离出鼠伤寒沙门菌 1 例
郭微媛, 齐桂云, 多丽波, 闫立昕, 孙琪, 张和光

致 谢	2288 致谢世界华人消化杂志编委
消 息	2187 2006年第5届全国肝脏疾病学术研讨会议征文通知 2200 国际肝胆胰协会中国分会第二届全国学术研讨会暨第三届全国普通外科主任论坛第一轮通知 2209 首届北京地坛感染病学术会议 2221 《世界华人消化杂志》欢迎投稿 2226 2006年世界华人消化杂志由半月刊改为旬刊出版发行 2234 WJG和世界华人消化杂志全文网站免费开通 2237 世界华人消化杂志入编《中文核心期刊要目总览》2004年版内科学类的核心期刊 2250 欢迎订阅2006年《世界华人消化杂志》 2256 2006年即将召开的国际会议 2262 消化道肿瘤外科治疗2006高级论坛征文通知 2286 中国生物医学基金论文摘要注册方法
封面故事	2227 SD 大鼠胰腺癌模型组神经生长因子 mRNA 表达 杨竹林, 邓星辉, 杨乐平, 李清龙, 范文涛, 梁珊, 苗雄鹰 世界华人消化杂志 2005;13(18):2227-2230 http://www.wjgnet.com/1009-3079/13/2227.asp
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 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 2005-09-28
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《医学文摘库/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

World Chinese Journal of Digestology

September 2005 Contents in Brief Volume 13 Number 18

EDITORIAL

Meager opinions on clinical experimentation

Tan XR, Zhang XZ 2173

Advancement of RNA intervention in the treatment of hepatic diseases

Han SX, Ma JL 2179

BASIC RESEARCH

Glycyrrhizin down-regulates expression of tissue inhibitor of metalloproteinases-1

Wang QX, Cheng J, Guo J, Li WF, Wei HS 2183

Detection of hepatitis B virus cccDNA with modified polymerase chain reaction

Tang B, Wang YM, Liu J, Zhang R 2188

Expression of human neuron-specific enolase gene in human hepatocellular cancer cells BEL7402

Zhu AP, Zhang QY, Wang YM, Xu JJ, Sun L 2193

Moderate hypothermia therapy for acute liver failure in rats before liver transplantation

Wang ZD, Han DE, Cui YF, Jiang MS, Zhang XY, Zeng ZL 2197

Increase of CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells in peripheral blood of patients with chronic hepatitis C

Yang JH, Zhang YX, Su CH, Sun NX 2201

Therapeutic role of ethanolic extract of *Boschniakia Rossica* in dimethylnitrosamine-induced liver fibrosis in rats

Piao XX, Huang HG, Piao DM 2205

Distribution of dendritic cells and expression of chemokines in mouse models of mucosal immune *in vivo*

Xie ZJ, He YC, Jiao LM, Liu Y, Liu L 2210

Effects of celecoxib on cell proliferation and ERK2 expression of ERK2 in gastric cancer cells

Zhang Y, Jiang MD, Zeng WZ, Xu H, Xiong BJ, Weng M 2213

Growth inhibitory and apoptosis inducing effect on hepatocellular carcinoma Bel-7402 cell line by serum from rabbit fed with *Yiqi Huoxue Ruanjian Jiedu* decoction

Li DT, Shun GZ, Pei YX, Qi X, Li J, Ling HS 2217

Association of tumor necrosis factor- α and intercellular adhesion molecule-1 with acetaminophen-induced liver damages

Tian F, Wang Y, Wu ZY, Wang XQ, Li Y 2222

Expression of nerve growth factor messenger RNA in pancreatic cancer tissues in Sprague Dawley rats

Yang ZL, Deng XH, Yang LP, Li QL, Fan WT, Liang S, Miao XY 2227

REVIEW

Lactobacillus as a new living vaccine carrier in delivery of antigen

Yu QH, Yang Q 2231

Influence of nitric oxide and nitric oxide synthase on tumor radiotherapy sensitivity

Jiang CP, Ding YT 2235

Advance in effect of Id family gene on solid tumor in digestive system

Yang HY, Liu LX, Qu ZB, Liu GY, Chen W, Guo HX, Chen X 2238

Influential factors of Lamivudine associated YMDD variations of hepatic B virus

Lu DY, Wang S, Zhao LS 2243

Preventive methods for small-for-size liver syndrome in adult-to-adult living-donor liver transplantation

Ma YF, Li XC 2246

Advance in research of biological markers of hepato-cellular carcinoma

Wang JB, Liu LX 2251

Occurrence of inflammatory intestinal disease mediated by intestinal mucosal immunoregulation disturbance

Wang XD, Yuan XQ 2257

BRIEF REPORT

Effects of sp600125 on acetaldehyde-induced apoptosis of hepatic stellate cells and expression of Caspase-3 protein in rats

Tang W, Jiang MD, Li XA 2263

Effect of platelet activating factor on intestinal immunological barrier in young rat

Wang LJ, Liu DY, Sun M, Zhao X 2266

CLINICAL PRACTICE

Correlative factors of esophageal varices in patients with hepatocirrhosis: an analysis of 501 cases

Cui CJ, Jin YR, Piao XX, Pei FY 2269

Diagnosis and treatment for advanced hilar cholangiocarcinoma: an analysis of 15 cases

Zhang ZM, Xing HL, Li G, Liu K, Li G, Zhu JP, Su YM, Zhong H, Guo JX 2272

Changes of IgA and sIgA and its clinical significant in hepatic diseases

Liu DY, Liu P 2275

Clinical significance of detection for vascular endothelial growth factor in resection margin following total mesorectal excision

Zhan XL, Tian SL 2278

Effects of octreotide on platelet parameters in patients with acute pancreatitis

Huang J, Lu SQ, Chen JR 2281

Indexed/Abstracted by Chemical Abstracts, EMBASE/ Excerpta Medica and Abstract Journals

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

World Chinese Journal of Digestology Monthly

Founded on January 15, 1993

Renamed on January 25, 1998

Publication date September 28, 2005

Honorary-Editor-in-Chief

Bo-Rong Pan

President and Editor-in-Chief

Lian-Sheng Ma

Edited by Editorial Board of

World Chinese Journal of Digestology

PO Box 2345, Beijing 100023, China

Published by The WJG Press

PO Box 2345, Beijing 100023, China

Overseas Distributor

China International Book Trading Corporation

PO Box 399, Beijing 100044, China

Code No.M4481

Mail-Order Circulation Section, The WJG Press

PO Box 2345, Beijing 100023, China

Telephone: +86-10-85381901

Fax: +86-10-85381893

Email: wcjd @ wjgnet.com

http://www.wjgnet.com

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R

Copyright © 2005 by The WJG Press

肿瘤坏死因子- α 、细胞间黏附分子-1与扑热息痛肝损害

田丰, 王颖, 吴作艳, 王学清, 李岩

田丰, 王颖, 吴作艳, 王学清, 李岩, 中国医科大学附属第二医院(盛京医院)消化科 辽宁省沈阳市 110004

田丰, 男, 1972-01-06生, 辽宁省沈阳市人, 汉族, 2000年中国医科大学硕士研究生, 博士在读, 讲师, 主治医师, 主要从事肝脏疾病研究。

通讯作者: 李岩, 110004, 辽宁省沈阳市和平区三好街36号, 中国医科大学附属第二医院(盛京医院)消化科. liyan99@medmail.com.cn.

电话: 024-83956416

收稿日期: 2005-08-05 接受日期: 2005-08-26

Association of tumor necrosis factor- α and intercellular adhesion molecule-1 with acetaminophen-induced liver damages

Feng Tian, Ying Wang, Zuo-Yan Wu, Xue-Qing Wang, YAN Li

Feng Tian, Ying Wang, Zuo-Yan Wu, Xue-Qing Wang, Yan Li, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Chinese Medical University, Shenyang 110004, Liaoning Province, China
Correspondence to: Yan Li, Department of Gastroenterology, the second Affiliated Hospital of Chinese Medical University, Shenyang 110004, Liaoning Province, China. liyan99@medmail.com.cn

Received: 2005-08-05 Accepted: 2005-08-26

Abstract

AIM: To investigate the effect of tumor necrosis factor- α (TNF- α) and intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) on the acetaminophen-induced liver damages.

METHODS: The Sprague Dawley (SD) rat model of acetaminophen-induced liver damages was established using acetaminophen (AAP). The rats were killed at 3, 6, 12, and 24 h after the administration, respectively. The activity of serum alanine aminotransferase (ALT) was detected in the rats, and the pathological changes of the liver were observed by hematoxylin and eosin (HE) staining under light microscope. The level of serum TNF- α was examined by radioimmunoassay, and the expression of ICAM-1 mRNA in the liver tissues was measured by reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR).

RESULTS: Twenty four hours after AAP administration, the level of serum TNF- α in AAP group was significantly higher than that in the controls ($5.69 \pm 0.46 \mu\text{g/L}$ vs $2.64 \pm 0.27 \mu\text{g/L}$, $P < 0.01$), and it was positively related to the level of serum ALT ($r = 0.773$, $P < 0.01$).

The expression of ICAM-1 mRNA in the hepatic tissues in AAP group were significantly higher than those in the controls at 3, 6, 12, and 24 h (1.58 ± 0.21 vs 0.62 ± 0.05 , 1.24 ± 0.09 vs 0.63 ± 0.04 , 0.88 ± 0.08 vs 0.32 ± 0.06 , 0.55 ± 0.14 vs 0.28 ± 0.03 , all $P < 0.01$), and it reached the peak value at 3 h. Meanwhile, the activities of serum ALT (nkat/L) progressively increased as compared with those in the controls (166.90 ± 151.03 vs 586.78 ± 89.35 , 2153.84 ± 254.55 vs 573.45 ± 75.18 , 4220.84 ± 928.52 vs 750.15 ± 81.68 , 13202.64 ± 1392.78 vs 780.16 ± 161.37 , $P < 0.01$, for 3, 6, 12, 24 h, respectively), and the hepatic pathological injury aggravated progressively, which reached the peak at 24 h.

CONCLUSION: TNF- α and ICAM-1 play key roles in the occurrence and development of acetaminophen-induced liver damages.

Key Words: Acetaminophen; Liver damages; Tumor necrosis factor- α ; Intercellular adhesion molecule-1

Tian F, Wang Y, Wu ZY, Wang XQ, Li Y. Association of tumor necrosis factor- α and intercellular adhesion molecule-1 with acetaminophen-induced liver damages. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2005;13(18):2222-2226

摘要

目的: 探讨肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、细胞间黏附分子-1 (ICAM-1) 在扑热息痛肝损害中的作用。

方法: 应用扑热息痛 (AAP) 建立 Sprague Dawley (SD) 大鼠肝损害模型; 分别于给药后 3、6、12、24 h 处死大鼠, AAP 组和对照组分别测定 ALT 水平, HE 染色光镜下观察肝脏病理的改变, 放射免疫分析法测定血清 TNF- α 水平、RT-PCR 方法检测肝组织 ICAM-1 mRNA 的表达。

结果: AAP 组给药后 24 h 血清 TNF- α ($\mu\text{g/L}$) 水平显著高于对照组 (5.69 ± 0.46 vs 2.64 ± 0.27 , $P < 0.01$), 且与血清 ALT 水平呈显著的正相关 ($r = 0.773$, $P < 0.01$), 肝组织 ICAM-1 mRNA 表达在各时间点均显著高于对照组 (3、6、12、24 h 的值分别为: 1.58 ± 0.21 vs 0.62 ± 0.05 , 1.24 ± 0.09 vs 0.63 ± 0.04 , 0.88 ± 0.08 vs 0.32 ± 0.06 , 0.55 ± 0.14 vs 0.28 ± 0.03 , $P < 0.01$), 于 3 h 达

高峰, 24 h时仍高于正常水平, 同时血清ALT(nkat/L)进行性升高(3、6、12、24 h的值分别为: 1166.90 ± 151.03 vs 586.78 ± 89.35 , 2153.84 ± 254.55 vs 573.45 ± 75.18 , 4220.84 ± 928.52 vs 750.15 ± 81.68 , 13202.64 ± 1392.78 vs 780.16 ± 161.37 , $P < 0.01$)和肝脏病理损伤进行性加剧, 于24 h达高峰。

结论: TNF- α 、ICAM-1在扑热息痛肝损害的发生、发展过程中发挥着关键作用。

关键词: 扑热息痛; 肝损害; 肿瘤坏死因子- α ; 细胞间黏附分子-1

田丰, 王颖, 吴作艳, 王学清, 李岩. 肿瘤坏死因子- α 、细胞间黏附分子-1与扑热息痛肝损害. 世界华人消化杂志 2005;13(18):2222-2226
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/13/2222.asp>

0 引言

肝脏是药物代谢的主要器官. 近年来随着新药的不断面世, 药物性肝损害的发生率也日益增高. 在所有药物不良反应中, 肝损害的发生率仅次于皮肤损害和药物热, 居第三位, 约占10%-15%^[1]. 因此, 对于药物性肝损害发病机制研究有着非常重要的意义. 近来, 炎症反应在药物性肝损害中的作用引起人们的重视. 中性粒细胞(polymorphonuclear leukocyte, PMN)的聚集、浸润是炎症反应发生的关键步骤^[2]. 各种药物可以通过不同途径激活肝枯否氏细胞和内皮细胞, 产生肿瘤坏死因子- α (TNF- α)等促炎因子, TNF- α 对PMN无直接趋化作用, 但可以上调黏附分子和趋化因子的表达^[3]. 趋化因子和黏附分子协同作用导致PMN黏附、集聚并过度活化, 释放氧自由基和蛋白酶, 对组织细胞造成损害. 细胞间黏附分子-1(intercellular adhesion molecule-1 ICAM-1)是重要的黏附因子. 我们应用扑热息痛(Acetaminophen AAP)建立Sprague Dawley (SD)大鼠药物性肝损害模型, 放免法检测血清中TNF- α 的含量, RT-PCR方法检测肝组织中ICAM-1 mRNA的表达, 以探讨两者在扑热息痛肝损害中的作用.

1 材料和方法

1.1 材料 实验动物5-6周龄的雌性Sprague Dawley (SD)大鼠, 体质量180-240 g, 购自中国医科大学动物实验中心. 大鼠实验前于本院动物实验中心饲养1 wk, 昼夜交替12 h, 在室温及稳定湿度条件下, 用平衡饲料喂养. AAP购自Sigma公司, TNF- α 放射免疫分析试剂盒购自北京福瑞生物工程公司, Trizol变性液购自晶美生物工程有限公司, RT-PCR试剂盒和逆转录酶购自TaKaRa Taq大连宝生物工程有限公司, PCR引物由上海博亚生物技术有限公司合成, DNA Marker

DL2000购自大连博瑞得生物技术有限责任公司, 自动生物化学分析仪(日本岛津公司), 普通光学显微镜(日本Olympus公司), FT-613自动放免测量仪(北京核仪器厂), 低温高速离心机(HERMLE Z-383K, 德国), 电泳仪(Bio-RAD, 美国), 紫外分光光度计(Shimadzu UV-1201, 日本), 凝胶成像分析系统(Kodak 1D, 美国).

1.2 方法

1.2.1 实验分组和处理 40只♀SD大鼠随机分为正常对照组和AAP组, 每组20只. 试验前1夜禁食水, 2 d上午给药. AAP溶于37℃ PBS液(pH7.4)中(100 g/L), AAP组给予AAP(1 g/kg)腹腔注射^[4], 正常对照组给予等量PBS液腹腔注射, 给药后自由进食水. 于给药后3、6、12、24 h(每时点各组分别有5只大鼠)用10%水合氯醛(5 mL/kg)腹腔注射麻醉, 心脏穿刺取血, 分离血清, -20℃保存; 后用锋利的手术刀于肝脏中叶取1块肝组织, 置于40 g/L甲醛中固定, 后立即取下余下肝组织, 置于液氮中, -80℃保存.

1.2.2 ALT测定 用自动生物化学分析仪进行.

1.2.3 病理检测 取肝中叶组织一块, 用40 g/L甲醛溶液固定, 石蜡包埋, 5 μ m厚切片, 常规HE染色, 光镜下观察其病理改变.

1.2.4 血清TNF- α 水平测定 采用放射免疫分析法进行.

1.2.5 RT-PCR检测 按产品说明书应用Trizol试剂提取肝脏组织总RNA. 每份组织取2 μ L总RNA按产品说明书进行逆转录合成cDNA链. PCR扩增(1)ICAM-1的扩增: 取3 μ L cDNA作为模板, 反应体系25 μ L. 含cDNA 3 μ L、ddH₂O 17.1 μ L、10×反应缓冲液2.5 μ L、2.5 mmol/L dNTPs 2 μ L、5×10⁶ U/L Taq酶0.2 μ L、ICAM-1的上、下游引物各0.1 μ L. 经94℃变性3 min后进入循环; 包括94℃变性45 s, 52℃退火1 min, 72℃延伸1 min, 35个循环; 72℃最后延伸7 min. ICAM-1引物序列为: 上游5' TACTGAACTTGCTGCCTATT3'; 下游: 5' ACTGTACCTGGTGACCTTGA3'; 产物长度为284 bp. (2)内参照物 β -actin的扩增: 取3 μ L cDNA作为模板, 反应体系25 μ L. 含cDNA 3 μ L、ddH₂O 17.1 μ L、10×反应缓冲液2.5 μ L、2.5 mmol/L dNTPs 2 μ L、5×10⁶ U/L Taq酶0.2 μ L、 β -actin的上、下游引物各0.1 μ L. 经94℃变性3 min后进入循环; 包括94℃变性30 s, 55℃退火1 min, 72℃延伸2 min, 35个循环; 72℃最后延伸7 min. β -actin引物序列为: 上游5' CACCCTGTGCTGCTACCGAAGCC3'; 下游5' CCACACAGATGACTTGCCCTCAGG3'; 产物长度为690 bp. 取10 μ L PCR扩增产物与内参照物 β -actin及DNA Marker DL2000在20 g/L的琼脂糖凝胶电泳, 溴化乙锭(EB)染色, 经凝胶成像分析系统摄影, 扫描PCR产物强度, 以PCR产物密度/ β -actin密度来表示检测指标mRNA的相对含量, 进行半定量分析.

统计学处理 数据用均数±标准差(mean±SD)表示, 各组间均数比较用t检验, 用SPSS11.0统计软件进行分析。

2 结果

2.1 血清ALT水平变化 各时间点AAP组血清ALT(nkat/L)水平较对照组均显著升高(给药后3、6、12、24 h分别为: 1 166.90±151.03 *vs* 586.78±89.35, 2 153.84±254.55 *vs* 573.45±75.18, 4 220.84±928.52 *vs* 750.15±81.68, 13 202.64±1 392.78 *vs* 780.16±161.37, ($P<0.01$), 且随时间进行性升高, 24 h达高峰(图1)。

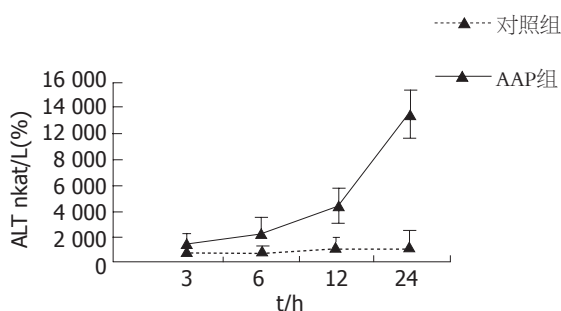


图1 ALT 随时间的变化。

2.2 肝组织病理学变化 AAP组肝脏明显肿大、充血, 镜下: 轻者表现为肝细胞点状坏死、重者表现为小叶中心肝细胞广泛的炎性细胞浸润、出血、带状坏死, 且随时间进行性加重, 24 h达高峰。对照组未见异常(图2)。

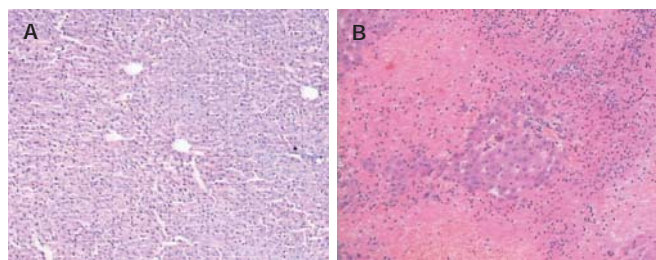


图2 24 h肝组织病理学变化 (H&E×100)。A: 对照组; B: AAP组。

2.3 血清TNF-α水平变化 给药后24 h, AAP组血清TNF-α(μg/L)水平显著高于对照组(5.69±0.46 *vs* 2.64±0.27, $P<0.01$) 且与血清ALT水平呈显著的正相关($r = 0.773$, $P<0.01$) 余时间点两组间无显著性差异(图3)。

2.4 血清TNF-α水平变化 肝组织ICAM-1 mRNA的表达 AAP组各时间点肝组织ICAM-1 mRNA表达均显著高于对照组($P<0.01$), 于给药后3 h达高峰, 24 h时仍高于正常水平(图4)。

3 讨论

AAP是目前世界上广泛使用的解热镇痛药, 在治疗剂

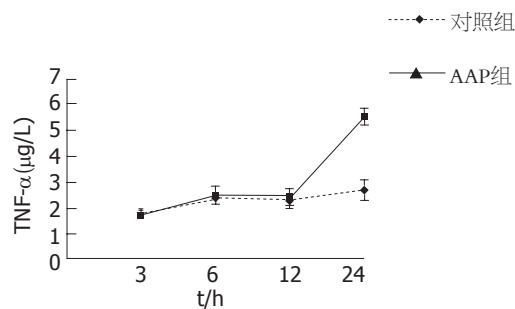


图3 TNF-α随时间变化。

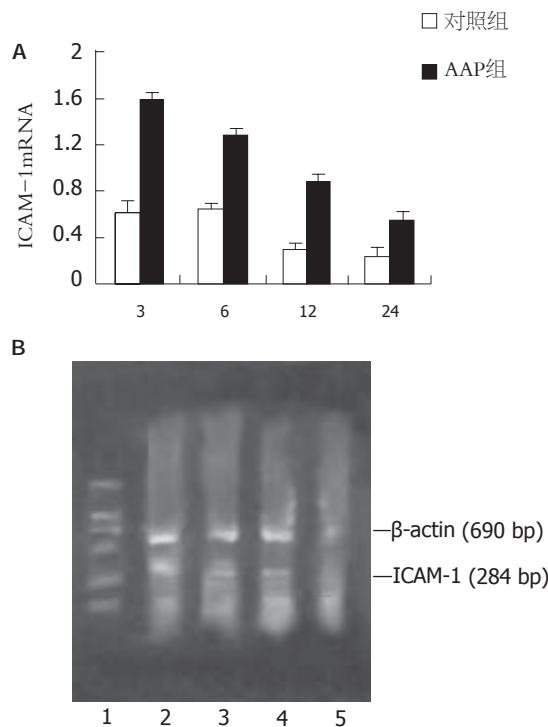


图4 ICAM-1 mRNA表达。A: ICAM-1 mRNA 相对含量; B: 1: DNA Marker DL2000; 2-5: AAP组给药后3、6、12、24 h。

量下使用是比较安全的, 而过量使用将导致严重的肝损害。在正常情况下, 健康人口服治疗剂量AAP, 90%以上通过与葡萄糖醛酸和硫酸结合由尿排泄, 仅有不到5%由细胞色素P-450系统代谢成亲电子的毒性中间代谢产物乙酰苯醌亚胺(N-acetyl-P-benzoquinone imine, NAPQI), NAPQI通过与谷胱甘肽结合迅速被清除^[5]。但在AAP过量的情况下, 可导致葡萄糖醛酸化和硫酸化道路饱和, 大量的AAP转由细胞色素P-450系统氧化, 结果导致谷胱甘肽储备的耗竭, 并剩下多余的不能与谷胱甘肽结合的NAPQI。NAPQI与肝细胞的蛋白共价结合, 产生肝毒性^[6-8]。这是目前普遍接受的AAP引起肝损害的机制。近来, 炎症反应在AAP肝损害中的作用引起人们的重视。

TNF-α主要是由激活的肝脏枯否氏细胞释放的重要的促炎因子^[9]。它的产生被认为是肝脏炎症反应中最早出现的表现之一。TNF-α导致其它促炎因子级联样的释放, 引起各种炎症细胞的浸润和激活^[10-11]。

TNF- α 还可以直接引起细胞毒性, 而导致细胞的坏死和调亡^[12-13]. TNF- α 的生物活性是由两个结构相关, 但功能不同的TNF- α 受体所调节, 即: TNFR1(p55)和TNFR2(p75)^[10]. TNF- α 主要通过TNFR1的途径引起炎症反应^[14], TNFR1的表达在枯否氏细胞和肝细胞上相对较高, 而且这种受体的表达在各种肝脏炎症损伤模型中明显上调, 说明TNF- α 是导致肝毒性的一个主要促炎因子^[15]. 本实验结果表明AAP引起肝损害时, 血清TNF- α 水平显著升高, 且与血清ALT水平呈显著的正相关, 说明TNF- α 在AAP引起肝损害中发挥着关键作用, 与国内外报道相似.

AAP引起的损伤可以激活肝枯否氏细胞和内皮细胞^[16], 产生促炎因子, 如IL-1、IL-6、TNF- α 等, 但它们对PMN无直接趋化作用, 而是通过上调黏附分子和趋化因子的表达, 引起PMN、巨噬细胞和单核细胞在肝脏的浸润和激活, 最终导致氧化应激和过氧化亚硝酸盐形成, 造成肝损害. ICAM-1是目前研究较为深入和广泛的一种细胞黏附分子, 其配体是淋巴细胞相关抗原-1(LFA-1)和巨噬细胞抗原复合体-1(MAC-1). 在炎症状态下, ICAM-1参与白细胞与肝窦周上皮细胞的黏附, 完成其跨膜迁移, 黏附并损伤肝细胞等病理过程. 在正常肝组织内, 窦周肝细胞有不同程度的ICAM-1表达, 而肝细胞无表达, TNF- α 、TNF- β 、IL-1等细胞因子均能增加肝组织内ICAM-1的表达^[17-20]. 陆伦根 *et al*^[21]证实不同的肝损害因素均可通过TNF- α 、TNF- β 、IL-1等细胞因子引起ICAM-1在肝细胞及窦周肝细胞表达增强, 表明尽管引起肝脏损伤的病因不同, 但造成肝组织损伤可能都是通过ICAM-1在肝细胞的表达而实现的. 当肝细胞表达ICAM-1时, 炎症细胞通过ICAM-1/LFA-1或ICAM-1/MAC-1结合而介导肝细胞和窦周细胞损伤, 缺乏ICAM-1表达时, 肝损伤不会发生. 有文章报道, 在肝脏缺血再灌注损伤时, 由于TNF- α 、IL-1等作用, ICAM-1表达上调, 增加了PMN与内皮细胞的黏附^[22]. ICAM-1的单克隆抗体则可明显减少PMN的浸润, 有效减轻肝功能损害, 并促进ATP水平的迅速恢复^[23]. 本组实验证实SD大鼠腹腔注射AAP后, 肝组织ICAM-1 mRNA表达显著高于对照组, 于3 h达高峰, 24 h时仍高于正常水平, 同时伴随着血清ALT进行性升高和病理损伤进行性加剧, 于24 h达到高峰, 与Bauer I *et al*^[4]报道相似. 说明ICAM-1 mRNA表达在AAP肝损害的发生、发展过程发挥着关键的作用. 此外, 本组实验结果显示: 肝组织ICAM-1 mRNA表达高峰明显提前于血清TNF- α 水平的显著升高, 由此可见TNF- α 可能是通过自分泌或旁分泌作用, 而非内分泌作用引起ICAM-1 mRNA表达的增加.

总之, AAP可以通过激活肝枯否氏细胞和内皮细胞, 产生TNF- α 等促炎因子, 使肝组织ICAM-1 mRNA表

达增加, 而引起肝损害, 提示我们有可能通过在转录水平抑制ICAM-1 mRNA表达或使用相应的拮抗剂来预防和治疗AAP肝损害, 相关研究有待进一步进行.

4 参考文献

- 1 Davids M. Hepatic disorders. Oxford: Oxford University Press. 1977;146-172
- 2 DeGraba TJ. The role of inflammation after acute stroke: utility of pursuing anti-adhesion molecule therapy. *Neurology* 1998;51:S62-S68
- 3 吴刚, 刘永锋, 杨蕾, 程颖, 赵宁, 何三光. 阿霉素预处理替代缺血预处理提供鼠肝缺血耐受力的实验研究. *中华肝胆外科杂志* 2002;82:97-300
- 4 Bauer I, Vollmar B, Jaeschke H, Rensing H, Kraemer T, Larsen R, Bauer M. Transcriptional activation of hemeoxygenase-1 and its functional significance in acetaminophen-induced hepatitis and hepatocellular injury in the rat. *J Hepatol* 2000;33:395-406
- 5 Dahlin DC, Miwa GT, Lu AY, Nelson SD. N-acetyl-p-benzoquinone imine: a cytochrome P-450-mediated oxidation product of acetaminophen. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1984;81:1327-1331
- 6 Cohen SD, Hoivik DJ, Khairallah EA. Acetaminophen-induced hepatotoxicity. In: Plaa GL, Hewitt WR, eds. *Toxicology of the Liver*. 2nd ed. Washington: Taylor & Francis 1998:159-186
- 7 Jollow DJ, Mitchell JR, Potter WZ, Davis DC, Gillette JR, Brodie BB. Acetaminophen-induced hepatic necrosis. II. Role of covalent binding in vivo. *J Pharmacol Exp Ther* 1973;187:195-202
- 8 Hinson JA, Pumford NR, Roberts DW. Mechanisms of acetaminophen toxicity: immunochemical detection of drug-protein adducts. *Drug Metab Rev* 1995;27:73-92
- 9 Decker K. Biologically active products of stimulated liver macrophages (Kupffer cells). *Eur J Biochem* 1990;192: 245-261
- 10 Bradham CA, Plumpe J, Manns MP, Brenner DA, Trautwein C. Mechanisms of hepatic toxicity. I. TNF-induced liver injury. *Am J Physiol* 1998;275:G387-G392
- 11 Luster MI, Simeonova PP, Gallucci RM, Brucoleri A, Blazka ME, Yucesoy B. Role of inflammation in chemical-induced hepatotoxicity. *Toxicol Lett* 2001;120:317-321
- 12 Bohlinger I, Leist M, Gantner F, Angermuller S, Tiegs G, Wendel A. DNA fragmentation in mouse organs during endotoxic shock. *Am J Pathol* 1996;149:1381-1393
- 13 Wang GH, Redmond HP, Watson RWG. Role of lipopolysaccharide and tumor necrosis factor- α in induction of hepatocyte necrosis. *Am J Physiol* 1995;269:297-304
- 14 Douni E, Akassoglou K, Alexopoulou L, Georgopoulos S, Haralambous S, Hill S, Kassiotis G, Kontoyiannis D, Pasparakis M, Plows D, Probert L, Kollias G. Transgenic and knockout analyses of the role of TNF in immune regulation and disease pathogenesis. *J Inflamm* 1996;47:27-38
- 15 Faubion WA, Gores GJ. Death receptors in liver biology and pathobiology. *Hepatology* 1999;29:1-4
- 16 Laskin DL, Pilaro AM. Potential role of macrophages in acetaminophen hepatotoxicity. I. Isolation and characterization of activated macrophages from rat liver. *Toxicol Appl Pharmacol* 1986;86:204-215
- 17 Albelda SM, Smith CW, Ward PA. Adhesion molecules and inflammatory injury. *FASEB J* 1994;8:504-512
- 18 Hellerbrand, Wang SC, Tsukamoto H, Brenner DA, Rippe RA. Expression of intracellular adhesion molecule 1 by activated hepatic stellate cells. *Hepatology* 1996;24:670-676
- 19 Bautista AP. Chronic alcohol intoxication induces hepatic injury through enhanced macrophage inflammatory protein-2 production and intercellular adhesion molecule-1 expression in the liver. *Hepatology* 1997;25:335-342
- 20 Kvale D, Brandtzaeg P. Immune modulation of adhesion molecules ICAM-1 (CD54) and LFA-3 (CD58) in human hepatocytic

- cell lines. *J Hepatol* 1993;17:347-352
- 21 陆伦根, 曾民德, 范建高, 李继强, 刘颀, 任卫平, 戴宁. 实验性肝纤维化组织中细胞间黏附分子-1表达的研究. *中华内科杂志* 1999;38:37-39
- 22 Ohira H, Ueno T, Shakado S, Sakamoto M, Torimura T, Inuzuka S, Sata M, Tanikawa K. Cultured rat hepatic sinusoidal endothelial cells express intercellular adhesion molecule-1(ICAM-1)by tumor necrosis factor- α or interleukin-1 alpha stimulation. *J Hepatol* 1994;20:729-734
- 23 Jaeschke H, Farhood A, Bautista A. The F(ab)fragment of anti-ICAM-1 monoclonal antibody attenuate liver after orthotopic liver transplantation. *Transplantation* 1996;61:99-104

电编 李琪 编辑 潘伯荣 审读 张海宁

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2005 年版权归世界胃肠病学杂志社

• 消息 •

2006 年世界华人消化杂志由半月刊改为旬刊出版发行

本刊讯 世界华人消化杂志主要报道食管癌、胃癌、肝癌、大肠癌、病毒性肝炎、幽门螺杆菌、中医中药、中西医结合等胃肠病学和肝病学的最新进展及原创性等基础或临床研究的文章。

据中国科技期刊引证报告(潘云涛, 马峥著. 北京: 科学技术文献出版社, 2004: 1-289)统计, 世界华人消化杂志 2003 年发表文章 594 篇, 地区分布 25 个, 机构分布 191 个, 基金论文比 31%, 总被引频次 5249 次, 影响因子 2.924, 即年指标 0.529, 引用期刊数 260 种, 被引半衰期 3.06. 中国科学技术信息研究所每年出版的《中国科技期刊引证报告》定期公布收录的中国科技论文统计源期刊的 10 个科学计量指标, 并根据此指标评选出中国百种杰出学术期刊。世界华人消化杂志获得 2001 年和 2003 年中国百种杰出学术期刊。

据《中文核心期刊要目总览 2004 年版》(戴龙基, 蔡蓉华主编. 北京: 北京大学出版社, 2004: 1-678), 采用了被索量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、获国家奖或被国内外重要检索工具收录等 7 个评价指标, 选作评价指标统计源的数据库有 51 种, 统计到的文献数量共计 9435301 篇次, 涉及期刊 39893 种次. 参加核心期刊评审的学科专家达 1873 位. 经过定量筛选和专家定性评审, 从中国正在出版的近 1 万 2 千种中文期刊中评选出 1800 种核心期刊. 世界华人消化杂志被评为中文核心期刊要目总览。

世界华人消化杂志发表的英文摘要被美国《化学文摘 (Chemical Abstracts)》, 荷兰《医学文摘库 / 医学文摘 (EMBASE/Excerpta Medica)》, 俄罗斯《文摘杂志 (Abstracts Journals)》收录。

世界华人消化杂志 2006 年由北京报刊发行局发行, 国内统一刊号 CN 14-1260/R, 邮发代号 82-262, 出版日期 8, 18, 28 日, 页码 160, 月价 72.00。(世界胃肠病学杂志社 2005-06-29)