

胰岛素联合肝细胞生长因子对肝切除术后肝再生的促进作用

朱晓雯, 卢五昌, 潘光栋

朱晓雯, 卢五昌, 潘光栋, 柳州市人民医院重症医学科 广西壮族自治区柳州市 545006

朱晓雯, 主治医师, 主要从事重症医学, 尤其是外科重症的监护与治疗研究。

作者贡献分布: 朱晓雯负责课题实施与论文撰写; 卢五昌负责课题实施与资料收集; 潘光栋负责课题设计与组织协调。

基金项目: 广西青年科学基金资助, No. 0728102; 广西自然科学基金资助, No. 0832276; 柳州市应用技术与开发技术项目资助, No. 2008031424。

通讯作者: 潘光栋, 主任医师, 545006, 广西壮族自治区柳州市文昌路8号, 柳州市人民医院重症医学科。pgd hx@126.com
电话: 0772-2662012

收稿日期: 2016-06-30
修回日期: 2016-07-20
接受日期: 2016-08-01
在线出版日期: 2016-08-28

Insulin combined with hepatocyte growth factor improves posthepatectomy liver regeneration in rats

Xiao-Wen Zhu, Wu-Chang Lu, Guang-Dong Pan

Xiao-Wen Zhu, Wu-Chang Lu, Guang-Dong Pan, Intensive Care Unit, Hospital of Liuzhou City, Liuzhou 545006, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Supported by: Science Foundation for Young Scholars of Guangxi Zhuang Autonomous Region, No. 0728102; Natural Science Foundation of Guangxi Zhuang Autonomous Region, No. 0832276; Applied Technology Research and Development Foundation of Liuzhou City, No. 2008031424.

Correspondence to: Guang-Dong Pan, Chief Physician, Intensive Care Unit, Hospital of Liuzhou City, 8 Wenchang Road, Liuzhou 545006, Guangxi Zhuang

Autonomous Region, China. pgd hx@126.com

Received: 2016-06-30
Revised: 2016-07-20
Accepted: 2016-08-01
Published online: 2016-08-28

Abstract

To investigate whether portal infusion of insulin combined with hepatocyte growth factor improves posthepatectomy liver regeneration in rats.

METHODS

Rats that underwent partial hepatectomy were assigned into an insulin group, a hepatocyte growth factor group, an insulin plus hepatocyte growth factor group, and a control group, which were treated with insulin alone, hepatocyte growth factor alone, insulin plus hepatocyte growth factor, and 0.9% sodium chloride via the portal vein, respectively. Liver volume, speed of liver regeneration, liver function, serum tumor necrosis factor α (TNF- α) and interleukin-6 (IL-6) were measured after operation.

RESULTS

Recovery of liver function in the insulin plus hepatocyte growth factor group was faster than that in the insulin group and hepatocyte growth factor group ($P < 0.01$). The speed of liver regeneration was slower in the control group than in hepatocyte growth factor group and insulin group, but was faster in the hepatocyte growth factor than in the insulin

■背景资料
影响肝切除术后肝再生的因素, 包括药物的促再生效应、用药途径、联合用药、并存肝硬化等。肝细胞生长因子和胰岛素是目前促肝再生作用确切的药物, 通过门静脉联合用药直接作用于肝细胞, 可能有高效的促进肝再生作用。

□同行评议者
李瀚旻, 教授, 主任医师, 湖北省中医院, 湖北中医药大学附属医院; 张达珍, 副研究员, 北京市海军总医院基础医学中心

□ 研发前沿

寻找具有高效促肝再生的药物是肝切除术后肝功能恢复的关键, 经门静脉用药较周围静脉用药作用显著, 但需经门静脉置管。因此, 促肝再生因子促肝再生的分子途径及其调控是研究其促肝再生效应的关键。

group and hepatocyte growth factor group. Serum levels of TNF- α and IL-6 were higher in the three treatment groups than in the control group, and in the hepatocyte growth factor and insulin group than in the hepatocyte growth factor group and insulin group.

CONCLUSION

Infusion of insulin and hepatocyte growth factor via the portal vein can significantly improve posthepatectomy liver regeneration.

© The Author(s) 2016. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Hepatocyte growth factor; Insulin; Liver regeneration; Hepatectomy; Portal

Zhu XW, Lu WC, Pan GD. Insulin combined with hepatocyte growth factor improves posthepatectomy liver regeneration in rats. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2016; 24(24): 3607-3611 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v24/i24/3607.htm> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i24.3607>

摘要

目的

观察经门静脉联合灌注胰岛素和肝细胞生长因子是否比单一用药显著促进肝切除术后肝再生。

方法

将实验用新西兰兔随机分为胰岛素(insulin, INS)治疗组、肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)治疗组、联合用药组(INS+HGF)、对照组, 行肝脏部分切除、门静脉置管, 测定残肝体积, 术后分别经门静脉置管微泵胰岛素、肝细胞生长因子、胰岛素和肝细胞生长因子、生理盐水, 治疗结束时处死动物, 测定肝脏体积, 计算肝脏再生速度。术后监测肝功能、血清肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor α , TNF- α)、白介素-6(interleukin-6, IL-6)。

结果

联合治疗组较对照组及胰岛素组、肝细胞生长因子组肝功能恢复快($P<0.01$), 肝细胞生长因子组和胰岛素组较对照组肝功能恢复快($P<0.05$)。术后残肝再生速度, 胰岛素组和肝细胞生长因子组均较对照组快($P<0.05$), 联合用药组较对照组和单一用药组显著增快($P<0.01$)。实验组TNF- α 、IL-6均较对照组升高, 联合用药组较对照组和单一用药组统

计学比较有显著性差异。

结论

经门静脉联合灌注胰岛素和肝细胞生长因子能显著促进肝切除术后肝再生。

© The Author(s) 2016. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 肝细胞生长因子; 胰岛素; 肝再生; 肝切除; 门静脉

核心提要: 肝切除术后肝再生是影响肝功能恢复的重要因素, 多数文献只局限于周围静脉用药促肝细胞再生, 促再生效应有限。通过门静脉联合灌注肝细胞生长因子和胰岛素显著促进肝切除术后肝再生可能成为高效促肝再生途径。

朱晓雯, 卢五昌, 潘光栋. 胰岛素联合肝细胞生长因子对肝切除术后肝再生的促进作用. *世界华人消化杂志* 2016; 24(24): 3607-3611 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v24/i24/3607.htm> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v24.i24.3607>

0 引言

临床实践中, 常常遇到需要促进肝细胞再生的挑战, 比如极限肝切除术后、急性肝功能衰竭、肝硬化需要行肝切除术等。但目前尚无有效的促进肝细胞再生的措施, 肝部分切除术后余肝获得更多的门静脉血流灌注和门静脉血流中所携带的营养因子及相关激素, 可能是肝再生的原因^[1], 经门静脉补充相关激素和营养因子促肝再生对肝切除术后患者有着更为重要的意义。胰岛素是肝细胞再生的必要因子, 肝细胞生长因子能促进肝细胞再生。本研究探讨经门静脉灌注胰岛素和肝细胞生长因子是否能显著促进肝切除术肝再生。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物及分组: ♂新西兰兔120只(由广西医科大学医学动物中心、桂林医学院实验动物中心提供), 体质量接近、健康, 采用复合饲料和水喂养。随机分为4组, 分别为胰岛素治疗组、肝细胞生长因子组、胰岛素和肝细胞生长因子联合治疗组、空白对照组各30只。

1.2 方法

1.2.1 实验方法: 实验前禁食8 h, 将兔固定在手

□ 相关报道

近年来, 肝切除术后肝再生促进药物的报道多为周围静脉用药, 且多为单一用药, 促再生效应有限。肝切除术后经门静脉联合用药具有高效的促进肝再生作用, 门静脉置管可以术中实施, 具有可行性。

表 1 4组动物的资料 ($n = 30$)

资料	胰岛素组	HGF组	联合组	对照组	P值
体质量(kg)	4.7 ± 0.6	4.7 ± 0.5	4.8 ± 0.8	4.9 ± 0.7	0.06
失血量(mL)	11.2 ± 2.3	12.0 ± 2.5	12.5 ± 2.8	12.4 ± 2.7	0.07
手术时间(min)	27.8 ± 3.6	20.2 ± 3.1	19.7 ± 2.9	20.3 ± 3.0	0.21
切肝质量(g)	26.6 ± 5.5	30.9 ± 6.3	0.6 ± 7.1	30.9 ± 6.9	0.15

术台上, 2.5%硫喷妥钠按照3 mg/kg腹腔内注射麻醉。剪去腹部手术野长毛, 并用脱毛剂(8%硫化钠)脱毛, 消毒后铺无菌巾。取上腹正中切口, 显露肝脏, 测量肝脏各叶径线, 以便计算肝脏体积。切除肝左叶, 称质量, 残端用园针4号线缝扎止血。各组显露门静脉下段, 切肝后置入介入造影用微导管(强生公司生产)约2 cm, 结扎固定, 并引出体外固定在兔子耳后。关腹后给予流质饮食, 2 d后恢复正常饮食, 继续饲养。

1.2.2 药物治疗: 各组接受相应药物治疗, 对照组接受生理盐水治疗, 均为经门静脉插管微泵注入, 胰岛素2 U/h, 肝细胞生长因子2 mg/kg, 生理盐水2 mL/h, 连用7 d, 监测血糖在7-8 mmol/L。

1.2.3 动物处理及观察指标测定: 治疗期间每天外周静脉抽血测定炎症细胞因子白介素-6(interleukin-6, IL-6)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor α , TNF- α)。药物治疗后1 wk, 开始在B超引导下行肝脏断面肝活检, 每1次病理切片观察肝细胞核分裂情况, Proplus-image软件对各组进行比较, 评价肝细胞再生。药物治疗后1、2 wk检测肝功能, 评价肝功能恢复情况。术后1、2以及4 wk分别处死每组动物10只, 并立即将肝脏切除, 测量肝脏体积, 计算肝脏再生体积和相对质量, 根据公式计算肝脏再生速度。肝再生速度 = (治疗后肝脏体积-治疗前肝脏体积)/治疗前肝脏体积 $\times 100\%$ 。

统计学处理 数据以mean \pm SD差表示, 采用非配对t检验作统计学分析。

2 结果

2.1 动物模型建立 均能成功建立新西兰兔门静脉置管模型, 无动物死亡。

2.2 相关资料比较 4组相关资料比较如表1。分别统计了体质量、失血量、手术时间、切除肝脏质量等指标, 各组在体质量、失血量、手术时间、切除肝脏质量等均无统计学差异。说明各组有可比性。

2.3 肝功能变化比较 各组肝功能变化的比较如表2。分别统计了各组术前0 d、术后3、7以及14 d的肝功能指标。术前各组肝功能指标比较无统计学差异, 术后3 d的肝功能指标差别也不大; 术后14 d复查肝功能指标, 胰岛素组和肝细胞生长因子组肝功能指标比较无统计学差异, 联合治疗组较对照组及胰岛素组、肝细胞生长因子组肝功能恢复快($P < 0.01$), 肝细胞生长因子组和胰岛素组较对照组肝功能恢复快($P < 0.05$)。

2.4 残肝再生速度比较 各组残肝再生速度比较如表3和4。术后残肝再生速度, 胰岛素组和肝细胞生长因子组均较对照组快($P < 0.05$), 联合用药组较对照组和单一用药组显著增快($P < 0.01$)。

2.5 术后血清TNF- α 、IL-6浓度比较 各组术后血清TNF- α 、IL-6浓度比较如表5。TNF- α 、IL-6作为肝再生的刺激因子, 实验组TNF- α 、IL-6均较对照组升高, 联合用药组较对照组和单一用药组统计学比较有显著性差异, 说明联合用药组的肝再生比较活跃。

3 讨论

肝切除术后残肝体积不足是限制肝肿瘤根治性切除的主要因素, 部分患者失去手术治疗机会。正常肝脏可以耐受70%的切除量, 合并肝硬化的肝脏只能耐受50%的切除量, 与肝硬化的程度及肝功能储备情况也有关联^[2]。在我国, 原发性肝癌的患者往往合并肝硬化, 肿瘤切除术后残肝量不足时易发生小肝综合征, 导致急性肝功能衰竭。

为了寻求促进肝切除术后肝细胞的再生, 实验室及临床实践中均有探讨, 但成熟的报道不多。研究^[1,3]表明, 肝部分切除术后余肝获得更多的门静脉血流灌注和门静脉血流中所携带的营养因子和相关激素, 可能是肝细胞得以再生的原因。结扎一侧的门静脉后, 对侧肝脏

创新点 经门静脉联合应用高效促肝再生的药物, 具有比周围静脉用药更显著的促再生效应。对于肝癌患者还可以术后经门静脉化疗, “一管二用”, 门静脉置管术中即可实现。将门静脉化疗泵的使用赋予更有用的价值。

应用要点

原发性肝癌行肝切除术后即可完成门静脉植入化疗泵, 术后经门静脉联合灌注肝细胞生长因子和胰岛素, 利用其显著促进肝细胞再生的效应, 促进肝切除术后肝功能恢复。后期还可以经门静脉泵行门静脉化疗。

表 2 4组肝功能资料 (n = 10)

检测指标	胰岛素组	HGF组	联合组	对照组	t值	P值
术前1 d						
总胆红素	16.5 ± 5.2	11.0 ± 6.5	12.3 ± 5.6	15.3 ± 8.2	224	0.06
谷草转氨酶	26.1 ± 10.2	28.2 ± 13.3	25.6 ± 12.3	28.2 ± 11.8	235.3	0.15
谷丙转氨酶	21.4 ± 8.6	26.1 ± 12.8	32.3 ± 15.6	25.1 ± 12.5	258	0.08
白蛋白	41.2 ± 20.6	38.9 ± 18.9	37.2 ± 18.9	36.4 ± 17.2	0.952	0.09
术后7 d						
总胆红素	21.3 ± 11.2	26.7 ± 12.5	20.6 ± 9.8	18.9 ± 8.8	224	0.07
谷草转氨酶	101.4 ± 52.3	98.6 ± 45.7	58.3 ± 29.4	59.3 ± 28.1	165.3	0.04
谷丙转氨酶	308.7 ± 89.1	97.1 ± 60.0	120.6 ± 52.0	68.4 ± 31.2	165.4	0.04
白蛋白	36.9 ± 11.8	37.1 ± 22.3	32.1 ± 14.5	31.8 ± 16.3	154.8	0.12
术后14 d						
总胆红素	14.0 ± 6.8	18.1 ± 8.9	10.6 ± 4.2	14.2 ± 6.2	154.8	0.02
谷草转氨酶	43.3 ± 20.8	58.9 ± 30.1	40.3 ± 19.8	26.4 ± 12.5	236.4	0.04
谷丙转氨酶	47.8 ± 23.6	59.3 ± 29.1	28.5 ± 14.2	22.3 ± 10.8	118.2	0.03
白蛋白	37.4 ± 19.9	37.1 ± 18.7	36.3 ± 16.8	35.2 ± 16.8	115.4	0.18

HGF: 肝细胞生长因子。

表 3 4组残肝体积变化 (n = 10)

肝脏体积(cm ³)	术后0 d	术后7 d	术后14 d	术后1 mo
胰岛素组	81.6 ± 33.6 ^a	90.4 ± 40.3 ^a	120.1 ± 56.3 ^a	150.2 ± 51.2 ^a
HGF组	78.9 ± 38.2 ^a	89.3 ± 36.8 ^a	109.3 ± 45.8 ^a	145.1 ± 45.9 ^a
联合组	80.2 ± 35.1 ^{bc}	115.6 ± 50.2 ^{bc}	131.5 ± 62.1 ^{bc}	160.3 ± 72.1 ^{bc}
对照组	75.3 ± 36.8	81.8 ± 38.1	98.4 ± 45.3	130.1 ± 53.4

^aP<0.05, ^bP<0.01 vs 对照组比较; ^cP<0.05 vs 联合组(胰岛素组、HGF组)。HGF: 肝细胞生长因子。

表 4 各组肝再生速度 (n = 10, %)

肝再生速度	术后7 d	术后14 d	术后1 mo
胰岛素组	10.7 ^a	47.1 ^a	84.1 ^a
HGF组	13.1 ^a	38.5 ^a	83.9 ^a
联合组	44.1 ^{bc}	63.9 ^{bc}	99.8 ^{bc}
对照组	8.6	30.6	72.7

^aP<0.05, ^bP<0.01 vs 对照组比较; ^cP<0.05 vs 联合组(胰岛素组、HGF组)。HGF: 肝细胞生长因子。

代偿性肥大的原因也是门静脉所供应的激素。目前有部分药物和激素可以促进肝细胞再生, 包括胰岛素、胰高血糖素、肝细胞生长因子、肝细胞刺激物质、甲强龙、前列腺素E1和某些中药等, 其中以胰岛素和肝细胞生长因子的作用较为肯定。胰岛素被认为是肝脏的营养因子, 肝部分切除术后经门静脉灌注胰岛

素较经周围静脉用药的促肝细胞再生效应更显著。经门静脉用药能维持较高的胰岛素浓度, 持续灌注的药物浓度较稳定, 促肝细胞再生作用明显, 对血糖影响也小^[4,5]。联合应用肝细胞生长因子和胰岛素是否能更有效促进肝细胞再生, 是本研究的重点。其他的可能促进肝切除术后肝再生的物质和因子还有VEGF、转化生长因子-β1、IL-10、左旋谷氨酸单钠以及成纤维细胞生长因子15等^[6-9], 但在不同的研究有不同的促进肝细胞再生作用, 甚至是负促进作用。本研究结果显示, 经门静脉灌注胰岛素和肝细胞生长因子能显著促进肝切除术后肝再生, 表现在术后肝功能更快恢复、残肝再生速度更快。分别测定术后当时、术后1、2 wk、1 mo的残肝体积, 计算残肝再生速度, 胰岛素组和肝细胞生长因子组均较对照组快(P<0.05), 联合用药组较对照显著增快(P<0.01)。术前各组肝

表 5 各组血清TNF- α 、IL-6浓度

项目	分组/时间	1 d	3 d	5 d	7 d
TNF- α	胰岛素组($n=20$)	42.9 \pm 20.1 ^a	40.4 \pm 18.6 ^a	31.2 \pm 14.8 ^a	16.9 \pm 6.8 ^a
	HGF组($n=10$)	39.3 \pm 26.3 ^a	41.2 \pm 20.4 ^a	29.6 \pm 16.3 ^a	18.3 \pm 7.5 ^a
	联合组($n=10$)	48.9 \pm 20.8 ^{bc}	52.6 \pm 26.1 ^{bc}	39.8 \pm 22.7 ^{bc}	29.2 \pm 12.9 ^{bc}
	对照组($n=10$)	33.0 \pm 16.2	32.98 \pm 14.8	29.2 \pm 13.5	17.9 \pm 7.9
IL-6	胰岛素组($n=10$)	62.7 \pm 28.6 ^a	60.7 \pm 29.4 ^a	31.8 \pm 15.2 ^a	26.9 \pm 11.5 ^a
	HGF组($n=10$)	57.3 \pm 25.7 ^a	56.8 \pm 25.7 ^a	29.6 \pm 22.6 ^a	27.2 \pm 13.1 ^a
	联合组($n=10$)	65.2 \pm 30.8 ^{bc}	76.4 \pm 32.1 ^{bc}	45.5 \pm 21.8 ^{bc}	39.8 \pm 22.8 ^{bc}
	对照组($n=10$)	44.9 \pm 22.1	46.5 \pm 22.6	23.4 \pm 12.4	16.6 \pm 7.2

^a $P<0.05$, ^b $P<0.01$ vs 对照组比较; ^c $P<0.05$ vs 联合组(胰岛素组、HGF组)。HGF: 肝细胞生长因子; IL-6: 白介素-6; TNF- α : 肿瘤坏死因子- α 。

功能指标比较无统计学差异, 术后3 d的肝功能指标差别也不大; 术后14 d复查肝功能指标, 胰岛素组和肝细胞生长因子组肝功能指标比较无统计学差异, 联合治疗组较对照组肝功能恢复快($P<0.01$), 肝细胞生长因子组和胰岛素组较对照组肝功能恢复快($P<0.05$)。说明联合用药较单一用药的促肝细胞再生作用显著。

研究报道, 肝切除术后肝再生的启动刺激因子包括等^[10,11]。IL-6、TNF- α 通过激活不同的转录因子(NF- κ B、STAT3等)促进肝细胞的DNA合成, 虽然这些多功能细胞因子并不具有特异性^[12,13]。术后6 h即启动肝细胞再生, 因此早期用药促进肝细胞再生有其理论依据。本组研究测定的IL-6、TNF- α 也反映了相似的结果, 不同组别间术后的浓度比较均有统计学差异。

总之, 经门静脉联合应用促肝细胞再生因子较单一用药和外周血管用药能更明显促进肝切除术后肝再生。

4 参考文献

- Court FG, Wemyss-Holden SA, Dennison AR, Maddern GJ. The mystery of liver regeneration. *Br J Surg* 2002; 89: 1089-1095 [PMID: 12190672]
- Schindl MJ, Redhead DN, Fearon KC, Garden OJ, Wigmore SJ. The value of residual liver volume as a predictor of hepatic dysfunction and infection after major liver resection. *Gut* 2005; 54: 289-296 [PMID: 15647196 DOI: 10.1136/gut.2004.046524]
- 张雪峰, 陈宪英, 蒋会勇, 金红旭, 吴国强, 宗修银, 景在平. 肝再生时经门静脉营养对胰岛素和高血糖素的影响. 肠内与肠外营养 2003; 10: 18-20
- 徐明清, 严律南, 李波, 曾勇, 文天夫, 赵纪春, 王文涛, 杨家印, 马玉奎, 程哲宇, 张中伟. 胰岛素经门静脉灌注促进活体肝移植术后肝再生的临床研究. 中华外科杂志 2009; 47: 821-825
- 蒋鹏, 赵景明, 张忠涛. 门腔分流术后经门静脉输入肝营养因子对肝功能的保护作用. 中华医学杂志 2010; 90: 3440-3448
- 赵闯, 王维, 曹阳, 戴朝六. 外源性白细胞介素-10对梗阻性黄疸大鼠肝再生的作用. 中华肝胆外科杂志 2012; 18: 452-455
- 潘斌杰, 焦作义, 张冬红, 张有成. 血管内皮生长因子和转化生长因子- β 1在再生过程中的表达. 中华肝胆外科杂志 2013; 19: 767-770
- 李佳, 彭创. 成纤维细胞生长因子15与肝再生. 医学综述 2014; 20: 1567-1570
- Vergnes L, Lee JM, Chin RG, Auwerx J, Reue K. Diet1 functions in the FGF15/19 enterohepatic signaling axis to modulate bile acid and lipid levels. *Cell Metab* 2013; 17: 916-928 [PMID: 23747249 DOI: 10.1016/j.cmet.2013.04.007]
- 李存占, 张智, 段斐. LED-蓝光对大鼠肝再生TNF- α 、IL-6的影响. 医学研究与教育 2013; 30: 20-22
- 陈峰, 王学浩, 华志元, 黄蓬. IL-6和TNF- α 在大鼠部分肝移植术后肝再生的作用. 南京医科大学学报(自然科学版) 2007; 27: 1267-1230
- Zaret KS, Grompe M. Generation and regeneration of cells of the liver and pancreas. *Science* 2008; 322: 1490-1494 [PMID: 19056973 DOI: 10.1126/science.1161431]
- Michalopoulos GK. Liver regeneration. *J Cell Physiol* 2007; 213: 286-300 [PMID: 17559071 DOI: 10.1002/icp.21172]

编辑: 马亚娟 电编: 胡珊





Published by **Baishideng Publishing Group Inc**
8226 Regency Drive, 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

