

·实验研究 Experimental research·

氧化应激在布-加综合征肝纤维化大鼠模型中表达及意义

朱楠, 张甜甜, 吕维富, 成德雷, 周光亚, 陈维仕, 刘宝来, 任江涛, 鲁东, 周春泽

【摘要】目的 探讨氧化应激(OS)在大鼠布-加综合征(BCS)肝纤维化模型中的表达及意义。**方法** SD大鼠180只根据数字表法分为对照组($n=20$)、模型组($n=80$)和假手术组($n=80$),模型组和假手术组分别均分为1、3、6、12周亚组。对照组大鼠仅常规饲养;模型组于肝后段下腔静脉(IVC)部分结扎构建BCS动物模型;假手术组未结扎IVC,其它过程同模型组。收集大鼠肝组织行苏木精-伊红(HE)、Masson和免疫组化染色,分别检测OS标志物丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)与肝纤维化相关因子转化生长因子(TGF)- β 1、血小板衍生生长因子(PDGF)-A表达。**结果** 模型组术后MDA值高于对照组,SOD值低于对照组(P 均 <0.05);术后6周模型组MDA表达最高,SOD表达最低。模型组TGF- β 1、PDGF-A和mRNA表达高于对照组、假手术组(P 均 <0.05),术后3周模型组TGF- β 1、PDGF-A和mRNA表达最高。模型组TGF- β 1、PDGF-A与MDA互为正相关,三者均与SOD负相关。模型组肝纤维化与MDA正相关,与SOD负相关。**结论** OS贯穿于BCS整个病程,影响淤血性肝纤维化进展,也许是BCS治疗切入点及未来研究方向。

【关键词】 布-加综合征; 活性氧; 转化生长因子; 血小板衍生生长因子; 肝纤维化
中图分类号:R543.6 文献标志码:A 文章编号:1008-794X(2019)-07-0669-06

The expression of oxidative stress in rat liver fibrosis model of Budd - Chiari syndrome and its significance ZHU Nan, ZHANG Tiantian, LÜ Weifu, CHENG Delei, ZHOU Guangya, CHEN Weishi, LIU Baolai, REN Jiangtao, LU Dong, ZHOU Chunze. Department of Radiology, Wuhe County People's Hospital, Bengbu, Anhui Province 233300, China

Corresponding author: CHENG Delei, E-mail: 39055004@qq.com

【Abstract】Objective To study the expression of oxidative stress (OS) in rat liver fibrosis model of Budd - Chiari syndrome (BCS) in rats, and to discuss its significance. **Methods** By using digital table method, a total of 180 SD rats were randomly divided into control group ($n=20$), model group ($n=80$) and sham group ($n=80$), the model group and the sham group were equally subdivided into one-, 3-, 6- and 12-week subgroups. Conventional feeding was given to the rats of model group. Partial ligation of post-hepatic segment of inferior vena cava (IVC) was performed in the rats of model group to establish BCS animal model, while no IVC ligation was made in the rats of sham group. All the procedures adopted in the sham-operation group were the same as those in the model group. Liver tissues were collected for immunohistochemistry, HE and Masson staining. The expressions of malonaldehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD), transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1) and platelet-derived growth factor-A (PDGF-A) were separately tested. **Results** The MDA expression level in model group was higher than that in control group ($P<0.05$), while SOD expression level in model group was lower than that in control group ($P<0.05$). Six months after treatment, the

DOI:10.3969/j.issn.1008-794X.2019.07.012

基金项目:安徽省自然科学基金(1708085QH218)、天晴肝病研究基金(TQGB20180247)、蚌埠市科技创新指导类项目(20180351)

作者单位:233300 安徽蚌埠 五河县人民医院影像科(朱楠、张甜甜、周光亚、陈维仕、刘宝来、任江涛); 中国科学技术大学附属第一医院介入放射科(吕维富、成德雷、鲁东、周春泽)

通信作者:成德雷 E-mail: 39055004@qq.com

MDA expression in model group reached its peak, while SOD expression reached its lowest level. The expression levels of TGF- β 1, PDGF-A and mRNA in model group were higher than those in control group as well as in sham group ($P < 0.05$ in all indexes). Three months after treatment, the expression levels of TGF- β 1, PDGF-A and mRNA in model group were the highest. In model group, MDA bore a positive relationship with TGF- β 1 as well as with PDGF-A, while all MDA, PDGF-A and TGF- β 1 had a negative correlation with SOD. In model group, liver fibrosis was positively associated with MDA but negatively associated with SOD.

Conclusion OS persists throughout the entire course of BCS and affects the progression of congestive liver fibrosis, which may be the entry point for the treatment of BCS as well as a direction for future research. (J Intervent Radiol, 2019, 28; 669-674)

【Key words】 Budd - Chiari syndrome; active oxygen; transforming growth factor; platelet - derived growth factor; liver fibrosis

布-加综合征(Budd-Chiari syndrome, BCS)是肝静脉流出道阻塞引起的一系列临床症候群,晚期可进展为肝纤维化^[1]。转化生长因子(TGF)- β 1、血小板衍生生长因子(PDGF)-A 诱导肝星状细胞(HSC)活化后引发基质过度沉积是肝纤维化的主要机制^[2-3]。研究发现淤血缺氧所致氧化应激(oxidative stress, OS)可影响 HSC 活化及肝纤维化进程,但在 BCS 中的作用机制尚不清楚^[4]。本研究构建 BCS 大鼠模型并检测多时点 OS 标志物丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)和肝纤维化相关因子 TGF- β 1、PDGF-A 变化,探讨它们在 BCS 模型中表达及意义。现将结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 实验动物和器材

本研究经医院伦理委员会批准。180 只体质量 195~255 g 健康雄性 Sprague-Dawley (SD)大鼠(购自中国科学技术大学附属第一医院实验中心)于室温 15~25℃、湿度 50%~60%、12 h 光暗交替周期下清洁饲养。实验器材主要包括 MDA、SOD 试剂盒(上海信裕生物科技公司), β -肌动蛋白(actin)(美国 Santa Cruz 生物技术公司),TRIzol 试剂(美国 Life 科技公司),PicTure™ 检测试剂(美国 Zymed 公司),聚合酶链反应(PCR)引物序列(上海生工生物工程公司),荧光定量 PCR 仪、RevertAid™ 逆转录试剂盒、增强型化学发光(ECL)试剂盒(美国 Thermo Fisher 科技公司),磷酸缓冲液(PBS),TGF- β 1、PDGF-A 一抗(兔抗 1:300 稀释),山羊抗小鼠、山羊抗兔 IgG(北京中杉金桥生物技术公司)。

1.2 模型构建和分组

根据数字表法实验大鼠分为对照组($n=20$)、模型组($n=80$)和假手术组($n=80$),模型组和假手术组分别均分为 1、3、6、12 周亚组。对照组大鼠仅

常规饲养;模型组于剑突下开腹分离肝镰状韧带,显露肝后段下腔静脉(IVC),平行紧贴 IVC 于 3 F 微导管,并以 0 号线环绕结扎后抽出,逐层缝合关腹;假手术组未结扎 IVC,其它过程同模型组。各组大鼠处死前 1 d 以 21 G 静脉留置针穿刺股静脉,DSA 造影观察肝静脉和 IVC 血流情况。

1.3 取材和病理标本检测

对照组于 6 周末,模型组、假手术组分别于 1、3、6、12 周末随机各处死 12 只大鼠,迅速称取 5 g 新鲜肝组织制备匀浆,各组另取相同位置肝组织适量,4%甲醛固定 24 h,制作石蜡切片,苏木精-伊红(HE)、Masson 和免疫组化染色,余标本均置于-80℃冰箱备用。肝纤维化定性标准: S_0 期——无纤维化; S_1 期——小叶中央纤维沉积; S_2 期——小叶中央以外纤维沉积,未达小叶边缘; S_3 期——小叶边缘纤维沉积; S_4 期——早期肝硬化。

1.4 免疫组化检测

采用 PicTure™ 二步法,石蜡切片脱蜡至水,3% H_2O_2 室温孵育 5~10 min, PBS 液冲洗(2 min \times 3 次);滴加一抗,室温孵育 30~60 min, PBS 液冲洗(2 min \times 3 次);滴加通用型 IgG 抗体(Fab 段)-辣根过氧化物酶(HRP)多聚体,室温孵育 10~20 min, PBS 液冲洗(2 min \times 3 次),二氨基联苯胺(DAB)溶液显色,蒸馏水冲洗、复染、脱水、封片。阴性对照以 PBS 液代替一抗,阳性对照用已知阳性片;以结构清晰的细胞胞质有棕黄色颗粒为阳性表达,不着色为阴性。

1.5 OS 指标检测

采用双抗体夹心法^[5]检测肝匀浆中 MDA、SOD 表达量,严格参照试剂盒说明书相应步骤操作,相应吸光度标准曲线 r^2 均 > 0.99 。

1.6 实时定量 PCR 检测

取 100 mg 肝组织,液氮研磨,加入 1 mL TRIzol 试剂匀浆,严格按照说明书提取总 RNA,逆转录合

成 cDNA, 行实时定量 PCR (RT-qPCR) 检测。PCR 反应条件: 95°C 2 min, 95°C 5 s, 60°C 10 s, 40 个循环; 引物序列: TGF- β 1 上游 5'-AGGTCCTTGCCCTCTA-CAAC-3', 下游 5'-CGTAGTAGACG-ATGGGCAGT-3', 96 bp; PDGF-A 上游 5'-GTGCGGTCTTTGTTCT-CCTC-3', 下游 5'-TCGCTCTCTGT-GACAAGGAA-3', 137 bp; β -actin 上游 5'-CCCATCTATGAGGGT-TACGC-3', 下游 5'-TTTAATGTCA-CGCACGATTC-3', 150 bp。相对表达量以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算。

1.7 免疫印迹检测

取 100 mg 肝组织, 加入放射免疫沉淀测定 (RIPA) 细胞裂解液 1 mL。离心取上清液, 加入 5 \times 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE) 缓冲液 (1:4); 沸水 10 min 冷却至室温, 上样; 转膜 90 min, 漂洗 5 min, 室温封闭 2 h; 一抗 4°C 孵育过夜, 含 Tween[®]20 磷酸盐缓冲液 (PBST) 冲洗 (10 min \times 3 次); 二抗室温孵育 2 h, PBST 液冲洗 (10 min \times 3 次)。ECL 检测蛋白, Image J 软件分析条带灰度值; 与内参照比较, 计算相对表达量。

1.8 统计学方法

采用 SPSS 22.0 统计软件分析数据, 验证数据正态分布及方差齐性, 计量资料均以均数 \pm 标准差 ($\bar{x}\pm s$) 表示。各指标在模型组和假手术组组内差异及分别与对照组差异均用单因素方差分析, 模型组和假手术组组间差异用两因素方差分析, 各亚组间两两比

较用 LSD 检验, 分别以 Pearson 法和 Spearman 法分析各指标间、各指标与肝纤维化间相关性。检验水准设为 0.05, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

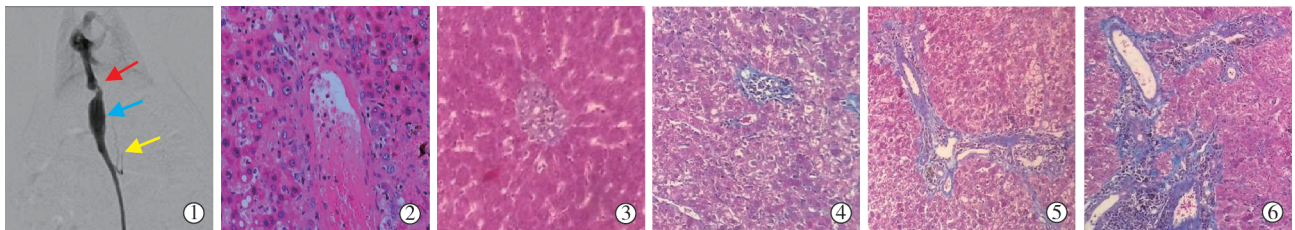
2 结果

模型制备结果显示, 对照组大鼠存活 20 只, 模型组 1、3、6、12 周亚组分别存活 18、18、16、17 只, 假手术组各亚组分别存活 19、20、19、18 只。模型组大鼠术后活动逐渐减少、反应迟钝、毛色灰暗无光泽, 肝后段 IVC 管腔明显变窄、远端扩张, 3 周后逐渐形成侧支循环 (图 1①); 对照组、假手术组大鼠活动如常、反应机警, DSA 检查均无阳性表现。病理及免疫组化检测显示, 假手术组、对照组均无阳性病理表现, TGF- β 1、PDGF-A 弱表达或不表达; 模型组 1~12 周肝脏病理损伤和纤维化程度加重 (表 1、图 1②~⑥), TGF- β 1、PDGF-A 阳性表达主要分布在血管内皮细胞和窦周细胞、汇管区及纤维组织细胞胞质 (图 2)。

OS 指标检测显示, 模型组 MDA 值高于对照组

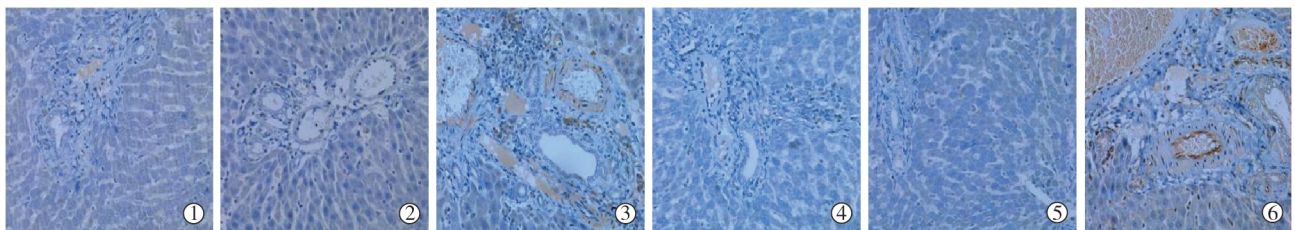
表 1 模型组大鼠肝纤维化情况

亚组	S ₀ 期	S ₁ 期	S ₂ 期	S ₃ 期	S ₄ 期	n
1 周	11	1	0	0	0	0
3 周	10	2	0	0	0	0
6 周	6	6	0	0	0	0
12 周	0	7	5	0	0	0



①模型组大鼠 IVC 结扎后 DSA 示肝后段 IVC 管腔变窄 (红箭), 远端管腔扩张 (蓝箭) 伴侧支循环 (黄箭); ②肝脏 HE 染色 ($\times 200$) 肝血窦扩张并可见红细胞淤积、肝细胞坏死、核固缩、胞质红染; ③肝脏 Masson 染色 ($\times 200$) 1 周时肝汇管区有少量炎性细胞浸润, 肝细胞脂肪变性; ④3 周时脂肪变性增多, 汇管区可见胶原染色; ⑤6 周时肝细胞部分萎缩, 中央静脉周围及汇管区胶原组织染色; ⑥12 周时肝细胞萎缩, 肝窦扩张, 红细胞淤积, 中央静脉周围及汇管区胶原组织染色范围扩大

图 1 BCS 肝纤维化大鼠模型构建影像



①②对照组、假手术组 TGF- β 1 未见阳性染色; ③模型组 TGF- β 1 阳性染色位于血管内皮细胞、汇管区间质细胞和胶原组织; ④⑤对照组、假手术组 PDGF-A 未见阳性染色; ⑥模型组 PDGF-A 阳性染色位于血管内皮细胞、汇管区间质细胞和胶原组织

图 2 各组大鼠免疫组化检测图像 ($\times 200$)

($P < 0.05$)、SOD 值低于对照组 ($P < 0.05$), 两组间总体差异均无统计学意义 ($P > 0.05$), 两组各时点 MDA、SOD 值总体差异均有统计学意义 ($P < 0.05$), 且模型组 MDA 值高于同一时点假手术组 ($P < 0.05$), SOD 低于同一时点假手术组 ($P < 0.05$); 模型组 MDA 值先

升高后下降 (6 周峰值), SOD 值先下降后升高, 两者各时点总体差异均有统计学意义 ($P < 0.05$); MDA 值 12 周与 3、6 周时差异, SOD 值 1 周与 3 周时差异均无统计学意义 ($P > 0.05$), 其余各时点两两比较差异均有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 2, 图 3, 图 4①②。

表 2 各组大鼠 MDA、SOD 值比较

各亚组 $n=12, \bar{x} \pm s$

亚组	模型组		假手术组		对照组		P 值	
	MDA/(nmol/L)	SOD/(pg/mL)	MDA/(nmol/L)	SOD/(pg/mL)	MDA/(nmol/L)	SOD/(pg/mL)	MDA	SOD
1 周	8.53±0.40	54.01±4.05	6.47±0.34	57.75±2.87	6.58±0.19	58.27±3.66	0.001	0.012
3 周	9.04±0.58	51.16±5.27	6.57±0.37	57.65±2.02	6.58±0.19	58.27±3.66	0.001	0.001
6 周	9.61±0.73	37.56±4.83	6.48±0.58	57.92±4.47	6.58±0.19	58.27±3.66	0.001	0.001
12 周	9.41±0.19	41.90±5.72	6.65±0.48	57.91±4.74	6.58±0.19	58.27±3.66	0.001	0.001
F 值	10.063	28.547	0.400	0.016				
P 值	0.001	0.001	0.754	0.997				

对照组 MDA、SOD 值与假手术组相比, $F=0.383、0.049, P=0.802、0.955$; 对照组 MDA、SOD 值与模型组相比, $F=80.597、39.094, P$ 均为 0.001, 亚组间 P 均 < 0.05 ; 模型组 MDA、SOD 值与假手术组相比, $F=112.124、60.476, P$ 均 = 0.001, 亚组间 P 均 < 0.05

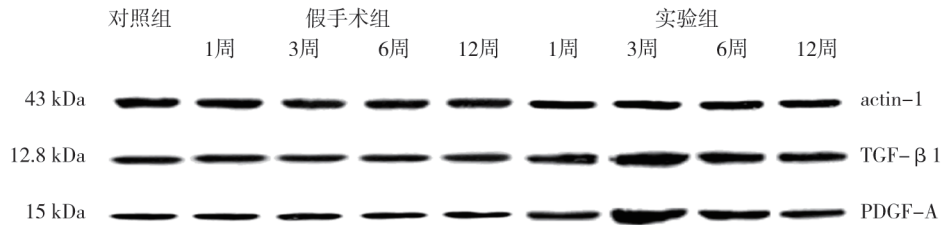
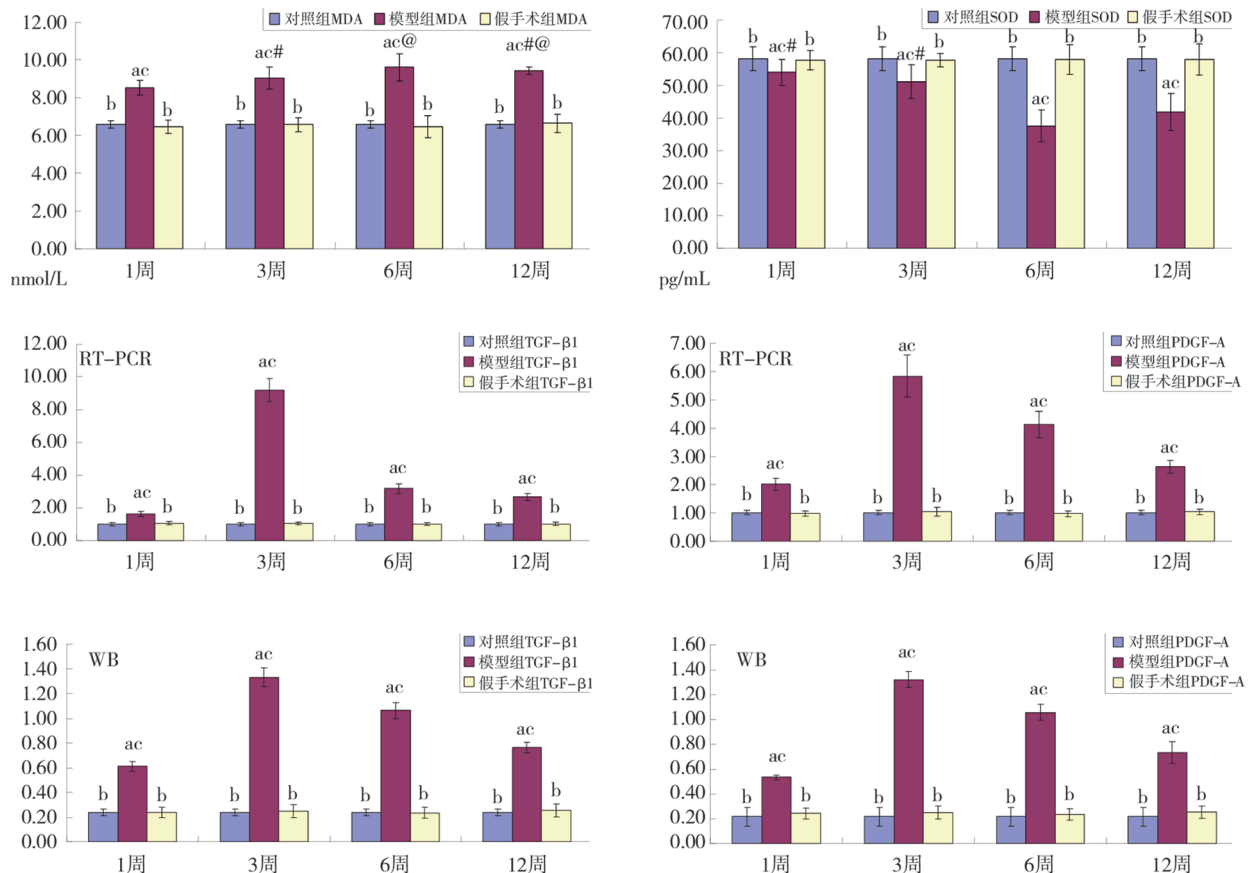


图 3 各组 TGF-β1、PDGF-A 表达图



同一时点各组间, ^a 与对照组比较, $P < 0.05$; ^b 与模型组比较, $P < 0.05$; ^c 与假手术组比较, $P < 0.05$; 相同符号 # 或 @ 模型组亚组间两两比较, $P > 0.05$

图 4 各组大鼠 MDA、SOD 和 TGF-β1、PDGF-A 表达比较

RT-qPCR、免疫印迹检测结果显示,模型组 TGF- β 1、PDGF-A mRNA 先升后降(均在 3 周组达峰值),均高于对照组和假手术组(P 均 <0.05),在各时点表达差异、各亚组间两两比较差异均有统计学意义($P<0.001$ 、 $P<0.05$);模型组 TGF- β 1、PDGF-A 表达分别与对照组、假手术组比较,差异均有统计学意义($P<0.001$);各组 TGF- β 1、PDGF-A 表达与相应 mRNA 呈正相关($r=0.855$ 、 0.976 , P 均 $=0.001$),

各组间表达差异与相应 mRNA 表达趋势相似,见图 4③~⑥,表 3、4)。

各指标及肝纤维化相关性分析显示,模型组 TGF- β 1、PDGF-A 与 MDA 互为正相关,三者均与 SOD 负相关;模型组肝纤维化与 MDA 正相关,与 SOD 负相关;TGF- β 1、PDGF-A 均与肝纤维化相关性不高,见表 5。

表 3 各组大鼠 TGF- β 1 表达比较各亚组 $n=12$, $\bar{x}\pm s$

亚组	模型组		假手术组		对照组		F 值		P 值
	mRNA	蛋白	mRNA	蛋白	mRNA	蛋白	mRNA	蛋白	
1 周	1.64 \pm 0.16	0.61 \pm 0.04	1.06 \pm 0.10	0.24 \pm 0.04	1.00 \pm 0.09	0.24 \pm 0.02	104.335	436.142	0.001
3 周	9.19 \pm 0.69	1.33 \pm 0.08	1.07 \pm 0.07	0.25 \pm 0.05	1.00 \pm 0.09	0.24 \pm 0.02	1607.653	1601.121	0.001
6 周	3.19 \pm 0.28	1.06 \pm 0.07	1.03 \pm 0.08	0.24 \pm 0.05	1.00 \pm 0.09	0.24 \pm 0.02	590.827	1144.623	0.001
12 周	2.68 \pm 0.22	0.76 \pm 0.04	1.02 \pm 0.10	0.25 \pm 0.05	1.00 \pm 0.09	0.24 \pm 0.02	525.653	669.495	0.001
F 值	876.879	369.405	0.809	0.417					
P 值	0.001	0.001	0.496	0.796					

对照组 mRNA/蛋白与假手术组相比, $F=1.115$ 、 0.393 , $P=0.359$ 、 0.813 ; 对照组 mRNA/蛋白与模型组相比, $F=1\ 000.090$ 、 761.929 , P 均 $=0.001$, 亚组间 P 均 <0.05 ; 模型组 mRNA/蛋白与假手术组相比, $F=473.914$ 、 553.945 , P 均 $=0.001$, 亚组间 P 均 <0.05

表 4 各组大鼠 PDGF-A 表达比较

各亚组 $n=12$, $\bar{x}\pm s$

亚组	模型组		假手术组		对照组		F 值		P 值
	mRNA	蛋白	mRNA	蛋白	mRNA	蛋白	mRNA	蛋白	
1 周	2.02 \pm 0.21	0.53 \pm 0.02	0.99 \pm 0.09	0.24 \pm 0.04	1.00 \pm 0.08	0.22 \pm 0.07	208.971	146.645	0.001
3 周	5.85 \pm 0.73	1.32 \pm 0.06	1.04 \pm 0.16	0.25 \pm 0.05	1.00 \pm 0.08	0.22 \pm 0.07	494.673	1161.321	0.001
6 周	4.13 \pm 0.46	1.06 \pm 0.06	0.98 \pm 0.10	0.23 \pm 0.05	1.00 \pm 0.08	0.22 \pm 0.07	517.490	718.587	0.001
12 周	2.63 \pm 0.23	0.73 \pm 0.09	1.03 \pm 0.11	0.25 \pm 0.05	1.00 \pm 0.08	0.22 \pm 0.07	433.070	190.368	0.001
F 值	166.129	352.658	0.981	0.330					
P 值	0.001	0.001	0.410	0.804					

对照组 mRNA/蛋白与假手术组相比, $F=0.830$ 、 0.804 , $P=0.512$ 、 0.528 ; 对照组 mRNA/蛋白与模型组相比, $F=253.931$ 、 512.394 , P 均 $=0.001$, 亚组间 P 均 <0.05 ; 模型组 mRNA/蛋白与假手术组相比, $F=333.047$ 、 513.398 , P 均 $=0.001$, 亚组间 P 均 <0.05

表 5 模型组各指标表达与纤维化间相关性

相关系数 r

参数	TGF mRNA/蛋白	PDGF-A mRNA/蛋白	MDA	SOD	纤维化分级
TGF mRNA/蛋白	1.000/1.000	0.918/0.986	0.746/0.697	-0.503/-0.501	0.292/0.252*
PDGF-A mRNA/蛋白	0.918/0.986	1.000/1.000	0.724/0.725	-0.508/-0.513	0.246*/0.266
MDA	0.746/0.697	0.724/0.725	1.000	-0.812	0.739
SOD	-0.503/-0.501	-0.508/-0.513	-0.812	1.000	-0.628
纤维化分级	0.292/0.252*	0.246*/0.266	0.739	-0.628	1.000

* 相关性无统计学意义, $P>0.05$

3 讨论

BCS 初期仅有肝静脉回流障碍导致的淤血缺氧、活性氧(ROS)产生,进而诱导 OS^[6]。MDA 是反映 OS 损伤最具代表性的指标,可活化 Kupffer 细胞,使其分泌多种细胞因子,介导 HSC 分化、增殖和胶原合成,引发肝纤维化^[6-7];SOD 是机体抗氧化系统代表物^[6]。本研究发现模型组大鼠各时点 MDA、SOD 水平变化随 BCS 病程进展存在一定规律,表明 OS 参与了 BCS 肝纤维化进程,并可能为其始动因素。模型组各时点 MDA 值均高于/SOD 值均低于对照组、假手术组,表明存在 OS 损伤;MDA/SOD 与肝纤维化呈正/负相关,提示 OS 参与了 BCS 模型肝纤维

化进展,这与其它病因肝纤维化研究结果相似^[4];但与既往研究中 OS 持续升高不同,模型组 OS 先升后降,说明其与肝纤维化并非简单正相关。肝脏淤血缺氧后 ROS 氧化细胞膜上不饱和脂肪酸生成 MDA,氧化损伤蛋白质、DNA 生物大分子,消耗 SOD 等抗氧化剂而加剧 OS,致使第 6 周达 OS 高峰^[6];随着侧支循环形成,OS 损伤减轻,但其始终高于正常,且肝脏病理损伤和纤维化呈加重趋势,表明仅靠侧支循环代偿并不能根治 BCS 淤血性纤维化,只有介入开通 IVC 才是有效的治疗手段^[8]。

TGF- β 1 是 HSC 活化的中心环节,通过激活 Smad 信号通路促进细胞外基质产生,是促肝纤维化

最有效的因子^[9];PDGF 是 HSC 最强促分裂原,可抑制细胞外基质降解,加速纤维化进程^[9-10]。本研究模型组 TGF- β 1、PDGF-A 始终高于正常水平,并互为正相关,表明它们参与了 BCS 病损全过程(与 Liu 等^[11]研究结果相似),原因可能在于 PDGF 受体 α 是 TGF- β 受体下游 Smad2 信号转导的必要条件^[10-11];然而 TGF- β 1、PDGF-A 均先升后降,且与肝纤维化相关性不高,这不同于其它病因肝纤维化研究结果^[2],这可能源于 BCS 初期仅有肝静脉回流受阻所致的淤血缺氧,炎症反应较轻,诱导纤维化调节通路较平缓^[10],且随着侧支循环缓解 OS,亦下调 TGF- β 1、PDGF-A 表达,从而导致与纤维化程度不一致^[12]。模型组 TGF- β 1、PDGF 与 MDA 正相关,与 SOD 负相关,这可能由于淤血缺氧后 ROS 增加,上调低氧诱导因子(HIF)1 α 表达、激活 TGF- β 1 和上皮间质转化,诱导 PDGF 合成、释放^[4];提示 TGF- β 1、PDGF 与淤血缺氧程度关系密切,而非与 BCS 病程时间呈正相关,这也与临床研究相符——由于广泛的侧支循环,慢性 BCS 患者肝纤维化进展缓慢^[3,13]。TGF- β 1 和 PDGF-A 峰值(3 周)较 OS 峰值(6 周)出现早,可能参与了 BCS 早期损伤修复、HSC 活化、侧支循环形成等^[10,14];TGF- β 1 和 PDGF-A 协同作用于血管紧张素 II,可加重门静脉高压和肝内淤血缺氧^[15],这可能促成了 6 周时 OS 峰值。这些指标均在 BCS 病程后期降低,可能是侧支循环缓解 OS,HSC 等细胞活化减少的缘故^[4,10]。但其水平始终高于正常,表明 BCS 存在持续 OS,这可能是 BCS 与其它类型肝纤维化病理表现及预后不同的原因。

综上所述,OS 贯穿于 BCS 整个病程,IVC 阻塞后 OS 增加,影响 TGF- β 1、PDGF-A 表达及淤血性肝纤维化进展。OS 也许是 BCS 肝纤维化始动因素、BCS 治疗切入点及未来研究方向。但与人类数十年病程相比,大鼠 BCS 模型观察时间较短,12 周后 OS 与肝纤维化如何变化尚不清楚;除细胞因子因素外,OS 可能还通过其它通路,如内毒素血症、肝窦高压、高凝状态等调控 HSC 活化及肝纤维化进程,有待进一步研究证实。

[参考文献]

[1] 王文亮,徐浩,魏宁,等.布-加综合征介入治疗近期效果评价中脾脏剪切波速与门静脉压力相关性研究[J].介入放射学杂志,2017,26:878-881.

- [2] Zhang CY, Yuan WG, He P, et al. Liver fibrosis and hepatic stellate cells: etiology, pathological hallmarks and therapeutic targets[J]. World J Gastroenterol, 2016, 22: 10512-10522.
- [3] Zhou WC, Zhang QB, Qiao L. Pathogenesis of liver cirrhosis[J]. World J Gastroenterol, 2014, 20: 7312-7324.
- [4] Elswefy SE, Abdallah FR, Atteia HH, et al. Inflammation, oxidative stress and apoptosis cascade implications in bisphenol A-induced liver fibrosis in male rats[J]. Int J Exp Pathol, 2016, 97: 369-379.
- [5] 董记红,吴金节,林根祥,等. NEFA 对体外培养奶牛肝细胞氧化还原状态的影响[J].西北农林科技大学学报·自然科学版,2017,44:37-43.
- [6] Kuksal N, Chalker J, Mailloux RJ. Progress in understanding the molecular oxygen paradox - function of mitochondrial reactive oxygen species in cell signaling[J]. Biol Chem, 2017, 398: 1209-1227.
- [7] Cong T, Jin XY, Zhao L, et al. Anti-fibrotic effects of the Masson pine pollen aqueous extract on hepatic fibrosis rat model [J]. Int J Clin Exp Pathol, 2015, 8: 4651-4661.
- [8] Qi XS, Ren WR, Fan DM, et al. Selection of treatment modalities for Budd-Chiari syndrome in China: a preliminary survey of published literature[J]. World J Gastroenterol, 2014, 20: 10628-10636.
- [9] Kim MJ, Park SA, Kim CH, et al. TGF- β type I receptor kinase inhibitor EW-7197 suppresses cholestatic liver fibrosis by inhibiting HIF1 α -induced epithelial mesenchymal transition[J]. Cell Physiol Biochem, 2016, 38: 571-588.
- [10] Ying HZ, Chen Q, Zhang WY, et al. PDGF signaling pathway in hepatic fibrosis pathogenesis and therapeutics[J]. Mol Med Rep, 2017, 16: 7879-7889.
- [11] Liu C, Li J, Xiang X, et al. PDGF receptor- α promotes TGF- β signaling in hepatic stellate cells via transcriptional and posttranscriptional regulation of TGF- β receptors[J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2014, 307: G749-G759.
- [12] Cai SF, Gai YH, Liu QW. Computed tomography angiography manifestations of collateral circulations in Budd-Chiari syndrome [J]. Exp Ther Med, 2015, 9: 399-404.
- [13] 党晓卫,李路豪,李林,等.布加综合征临床分型在其治疗中的应用价值[J].中华消化外科杂志,2016,15:696-701.
- [14] Kofler N, Simons M. The expanding role of neuropilin: regulation of vascular TGF- β and PDGF signaling[J]. Curr Opin Hematol, 2016, 23: 260-267.
- [15] Li YS, Ni SY, Meng Y, et al. Angiotensin II facilitates fibrogenic effect of TGF- β 1 through enhancing the down-regulation of BAMBI caused by LPS: a new pro-fibrotic mechanism of angiotensin II [J]. PLoS One, 2013, 8: e76289.

(收稿日期:2018-08-29)

(本文编辑:边 倩)