

论著

文章编号:1000-5404(2012)07-0622-05

水甘油通道蛋白在非酒精性脂肪变性肝细胞模型中的表达及意义

邱烈旺, 顾陆昀, 吕琳, 王奎, 梅浙川 (400010 重庆, 重庆医科大学附属第二医院消化内科)

[摘要] **目的** 研究水甘油通道蛋白(aquaglyceroporins) AQP3、AQP7、AQP9 基因在油酸钠诱导的脂肪变性肝细胞模型中的表达变化及其意义。**方法** 以常规培养的人肝癌 HepG2 细胞为对照, 采用油酸钠诱导 HepG2 细胞脂肪变性, 建立非酒精性脂肪变性肝细胞模型, 利用油红 O 染色及细胞内甘油三酯含量测定检测肝细胞脂肪变性程度, 并分别于 0、12、24、48 h 采用实时荧光定量 PCR 与 Western blot 方法检测水甘油通道蛋白 AQP3、AQP7、AQP9 基因的表达。**结果** 油红 O 染色观察及肝细胞内甘油三酯含量测定显示 HepG2 细胞在油酸钠处理 12 h 后即开始出现脂肪变性, 随着刺激时间延长, 脂肪变性程度逐渐加重, 肝细胞内甘油三酯含量在 48 h 组 (79.76 ± 0.75) 较 0 h 组明显升高 ($P < 0.05$)。模型组中, AQP3 mRNA 水平 12 h 时表达开始减低, 48 h 时 (0.39 ± 0.08) 表达最低, 与对照组相比差异具有统计学意义 ($P < 0.05$); AQP7 mRNA 表达与对照组相比略有升高, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 而 AQP9 mRNA 表达水平自 12 h (1.59 ± 0.11) 即开始增加, 与对照组相比差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。模型组中, AQP3 蛋白水平 12 h 时表达开始减低, 24、48 h 组 [(0.016 ± 0.002) , (0.012 ± 0.001)] 与对照组相比差异具有统计学意义 ($P < 0.05$); AQP7 蛋白表达与对照组相比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$); AQP9 蛋白水平 12 h 表达开始增高, 24、48 h [(0.050 ± 0.002) , (0.079 ± 0.002)] 组与对照组相比差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。**结论** 肝细胞脂肪变性模型中水甘油通道蛋白 AQP3 表达下调, AQP9 表达上调, AQP7 表达无明显差异, 提示不同亚型的水甘油通道蛋白可能通过不同的机制参与了肝细胞非酒精性脂肪变性。

[关键词] 水甘油通道蛋白; 非酒精性脂肪肝; 水通道蛋白 3; 水通道蛋白 7; 水通道蛋白 9

[中图分类号] R-332; R394.3; R575.502

[文献标志码] A

Expression of aquaglyceroporins in nonalcoholic hepatocyte steatosis and its significance

Qiu Liewang, Gu Luyun, Lu Lin, Wang Kui, Mei Zhechuan (Department of Gastroenterology, Second Affiliated Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing, 400010, China)

[Abstract] **Objective** To study the expression of aquaglyceroporin genes (AQP3, AQP7 and AQP9) in a sodium oleate-induced hepatocyte steatosis model and its significance. **Methods** Routinely cultured human HepG2 cells were used as controls, and steatosis of HepG2 cells was induced with sodium oleate to establish a nonalcoholic hepatocyte steatosis model. Hepatocyte steatosis and triglyceride level in hepatocytes were measured with oil red O staining. Expression of AQP3, AQP7 and AQP9 was detected by RT-PCR and Western blotting respectively at 0, 12, 24 and 48 h. **Results** Oil red O staining showed that hepatocyte steatosis occurred 12 h after HepG2 cells were treated with sodium oleate and aggravated with the stimulating time. The triglyceride level in hepatocytes was significantly higher at 48 h (79.76 ± 0.75) than at 0 h ($P < 0.05$). The expression level of AQP3 mRNA was lower at 12 and 48 h (0.39 ± 0.08) in model group than in control group ($P < 0.05$). The expression level of AQP7 mRNA was slightly higher in model group than in control group ($P > 0.05$). The expression level of AQP9 mRNA was higher at 12 h in model group (1.59 ± 0.11) than in control group ($P < 0.05$). The expression level of AQP3 protein was lower at 12, 24 (0.016 ± 0.002) and 48 h (0.012 ± 0.001) in model group than in control group ($P < 0.05$). No significant difference was found in expression of AQP7 protein between model group and control group ($P > 0.05$). The expression level of AQP9 protein was higher at 12, 24 (0.050 ± 0.002) and 48 h (0.079 ± 0.002) than in control group ($P < 0.05$). **Conclusion** The expression of AQP3 is down-regulated while that of AQP9 is up-regulated in hepatocyte steatosis model, indicating that different types of aquaglyceroporins may be involved in hepatocyte steatosis via different mechanisms.

[Key words] aquaglyceroporin; nonalcoholic fatty liver disease; AQP3; AQP7; AQP9

Supported by the National Natural Science Foundation of China (30971335). Corresponding author: Mei Zhechuan, Tel: 86-23-63726690, E-mail: Meizhechuan@21cn.com

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(30971335)

[通信作者] 梅浙川, 电话: (023)63726690, E-mail: Meizhechuan@21cn.com

非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)日益成为全球性的健康问题,在我国其发病率不断升高^[1-2]。NAFLD是一种除外过量饮酒所致的以肝实质细胞脂肪变性和甘油三酯(triglyceride, TG)贮积为基本特征的肝脏疾患。其在一些患者中可以发展成为非酒精性脂肪性肝炎(nonalcoholic steatohepatitis, NASH),并可能进展成为肝硬化和肝癌^[3]。NAFLD的发生、发展被认为与肥胖和胰岛素抵抗等因素密切相关^[4],但其确切的发病机制尚待进一步的研究阐明。

水甘油通道蛋白(aquaglyceroporins)是到目前为止发现的13种水通道蛋白(aquaporins, AQP) AQP0-AQP12中的一个亚家族,包括AQP3、AQP7、AQP9、AQP10,不仅对水而且对甘油、尿素等小分子溶质亦具有通透性^[5]。甘油是参与肝脏糖脂代谢的重要代谢产物,为TG合成提供碳骨架,且可以作为肝脏糖原的底物^[6]。研究表明,多种水通道蛋白均在肝脏中表达^[5],然而,目前关于肝脏中各种水甘油通道蛋白对甘油进出肝细胞的转运,是否参与了脂肪变性的过程及其可能机制的研究尚不清楚。脂肪酸诱导的脂肪变性HepG2细胞是研究NAFLD的适合实验模型^[7]。本研究拟在体外建立的HepG2细胞脂肪变性模型的基础上,研究水甘油通道蛋白AQP3、AQP7、AQP9在脂肪变性肝细胞中的表达变化并探讨其可能的机制。

1 材料与方法

1.1 主要试剂

HepG2细胞购自中科院上海细胞库,DMEM培养基、胎牛血清和胰蛋白酶均购自Gibco公司,油酸钠和油红O购自Sigma公司,甘油三酯(TG)检测试剂盒购自南京建成生物研究所,BCA蛋白定量试剂盒购自Pierce公司,蛋白酶抑制剂混合片购自Roche公司,总RNA提取试剂、反转录试剂盒、实时荧光定量PCR试剂盒均购自TaKaRa公司,山羊抗人AQP3、兔抗人AQP7、山羊抗人AQP9一抗购自Santa Cruz公司,小鼠抗β-actin单克隆抗体、RIPA蛋白提取试剂盒、SDS-PAGE上样缓冲液和SDS-PAGE凝胶配胶试剂盒购自碧云天生物技术研究,辣根过氧化物酶标记的兔抗山羊、山羊抗兔和山羊抗小鼠二抗购自北京中杉金桥公司,其余化学试剂均为国产分析纯产品。

1.2 细胞培养及非酒精性脂肪变性肝细胞模型建立

参照文献^[8-9]方法,HepG2细胞采用含有100 U/ml青霉素、100 μg/ml链霉素和10%胎牛血清的DMEM低糖培养基培养于100 ml细胞培养瓶,置于含5% CO₂、饱和湿度的37℃培养箱中传代培养。细胞传代种植于35 mm培养皿中,融合度达到50%~60%左右时,更换无血清培养基培养18 h后,加入浓度为50 mmol/L油酸钠溶液(油酸钠溶于含5% BSA的DMEM低糖培养基中)至2 ml培养液中至终浓度为0.5 mmol/L。分别于加入油酸钠溶液后的0、12、24、48 h收集细胞,油红O染色显

微镜下观察脂肪变性程度。设置0 h为空白对照组,12、24、48 h为实验组。

1.3 检测HepG2细胞内TG含量

HepG2细胞以3×10⁵/ml浓度接种于35 mm培养皿内,按上述分组,每皿1个样本,每组设置3个复孔,24 h细胞贴壁后更换无血清培养基继续培养18 h后开始油酸钠干预,于0、12、24、48 h后收集细胞,按照试剂盒说明进行操作,并采用BCA法进行蛋白定量,计算每毫克蛋白所对应的TG含量。

1.4 细胞总RNA提取及cDNA合成

如上培养细胞至0、12、24、48 h,分别将35 mm培养皿中培养基弃去,用4℃预冷的PBS溶液清洗细胞1次,移液器吸净培养皿中PBS,每皿中加入1 ml RNAiso plus试剂充分裂解细胞后收集于1.5 ml离心管中。按照TaKaRa公司RNAiso plus试剂说明书提取细胞总RNA,分光光度计中测定总RNA浓度,样品D(260)/D(280)的比值在1.8~2.0之间。各取1 μg总RNA,按照TaKaRa公司PrimeScript[®] RT reagent Kit With gDNA Eraser反转录试剂盒说明书配制反应体系,首先42℃反应2 min去除总RNA溶液中基因组DNA,然后按以下条件(37℃ 15 min, 85℃ 5 s)反转录合成得到20 μl cDNA溶液。

1.5 实时荧光定量PCR法检测各基因mRNA表达水平变化

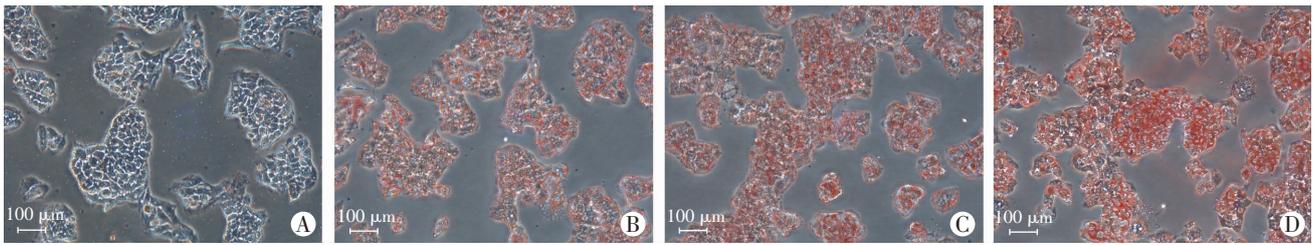
采用实时荧光定量PCR检测各组细胞中AQP3、AQP7、AQP9基因的mRNA水平。参照SYBR[®] Premix Ex Taq[™] II试剂盒(TaKaRa)说明书配置反应体系,每25 μl总反应体系中包括SYBR[™] Premix Ex Taq[™] II(2×)试剂12.5 μl、上下游引物(浓度10 μmol/L)各0.75 μl、逆转录所得cDNA模板2 μl、灭菌蒸馏水9 μl。基因PCR引物采用Beacon Designer 7.8软件设计,送由上海生工生物公司合成,引物序列见表1。PCR反应在CFX96实时荧光定量PCR检测系统(Bio-Rad, USA)中进行,所有反应均设置3个复孔,热循环条件如下:95℃预变性1 min;95℃ 10 s, 60℃ 30 s, 搜集荧光信号,40个循环;65℃~95℃每5秒升高0.5℃并收集荧光信号制备溶解曲线。以β-actin基因为内参,应用CFX96 Manager软件分析实验数据。

表1 实时荧光定量PCR引物序列

基因名称	上游引物序列(5'→3')	下游引物序列(5'→3')
β-actin	CCTGGCACCAGACAAT	GCCGATCCACACGGAGTA
AQP3	CCTCTGGACACTTGGATATGAT	GGGACGGGGTTGTGTAG
AQP7	CCGATCTTCACCTTCATTC	CACCCACCACCAAGTTCTC
AQP9	CTCCTGATTATTGTCATTGC	ATCCACCAGAAGTTGTTT

1.6 细胞总蛋白的提取及Western blot法检测各基因蛋白表达水平变化

将35 mm培养皿中培养基弃去,并用预冷的PBS洗涤3次,吸去残余液体。每个培养皿中加入100 μl RIPA裂解液,轻轻摇动使其均匀覆盖整个培养皿,置于冰上充分裂解30 min,刮取细胞裂解物至1.5 ml离心管中,4℃下16 000×g离心15 min,吸取上清保存于-80℃备用。按照Pierce[®] BCA Protein Assay Kit说明书操作进行蛋白定量后,使用12%的SDS-PAGE凝胶进行电泳分离,然后100 V恒压1 h转移蛋白至PVDF膜



A: 对照组; B: 12 h 实验组; C: 24 h 实验组; D: 48 h 实验组
图1 油酸钠诱导 HepG2 细胞不同时间点油红 O 染色显示细胞内脂质含量

上。将转移后的 PVDF 膜置于含 5% 浓度脱脂奶粉的 TBST 溶液 (含 0.1% Tween20) 中封闭 1 h。采用山羊抗人 AQP3 (1:200)、兔抗人 AQP7 (1:200)、山羊抗人 AQP9 (1:200)、小鼠抗人 β -actin (1:1000) 一抗 4 °C 下过夜孵育进行蛋白印迹,充分洗膜后采用 HRP 标记的二抗室温下孵育 1 h, ECL 法显色,利用 GEL DOC XR 凝胶成像系统 (Bio-Rad, USA) 成像,采用 Quantity One 软件进行图像分析。

1.7 统计学分析

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 13.0 统计软件进行单因素方差分析。

2 结果

2.1 油酸钠诱导的肝细胞脂肪变性模型的建立及甘油三酯含量测定

油酸钠处理 HepG2 细胞 0、12、24、48 h 后进行油红 O 染色于显微镜下观察,发现对照组中基本无橘红色脂滴,12 h 组细胞中即可见大小不等的橘红色脂滴,24、48 h 组中橘红色脂滴明显增加 (图 1), 0、12、24、48 h 肝细胞内甘油三酯含量 ($\mu\text{g}/\text{mg}$) 逐渐增加,依次为 (24.09 \pm 0.60)、(45.13 \pm 0.73)、(57.49 \pm 0.58)、(79.76 \pm 0.75),各模型组与对照组比较差异均具有统计学意义 ($P < 0.05$),表明成功建立油酸钠诱导的人肝癌 HepG2 细胞非酒精性脂肪变性模型。

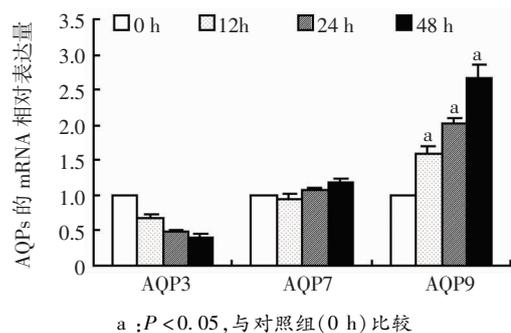
2.2 肝细胞脂肪变性模型中 AQP3、AQP7、AQP9 基因 mRNA 的表达

实时荧光定量 PCR 结果分析显示,油酸钠诱导的脂肪变性的 HepG2 细胞中水甘油通道 AQP3、AQP7、AQP9 基因的 mRNA 水平表达具有不同的变化趋势。以 β -actin 表达水平为内参照,0、12、24、48 h AQP3 基因 mRNA 的相对表达量逐渐减低,24 h 及 48 h 实验组与对照组比较差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。0、12、24、48 h AQP7 基因 mRNA 的相对表达量稍有增加,各实验组与对照组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。0、12、24、48 h AQP9 基因 mRNA 的相对表达量依次增高,各实验组与对照组比较差异具有统计学意义 ($P < 0.05$) (图 2)。

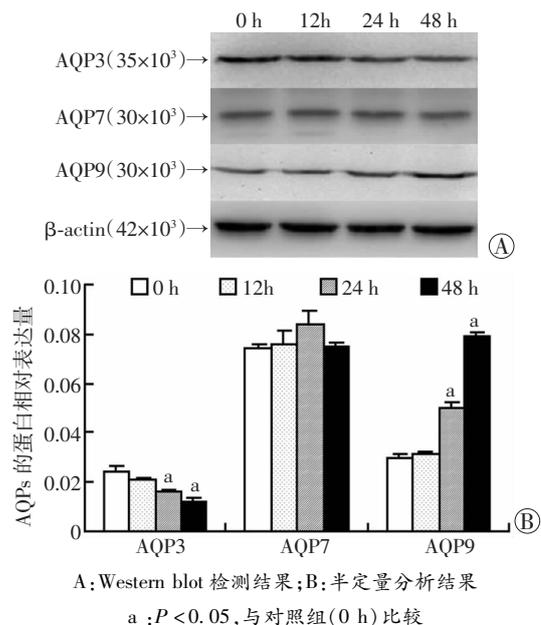
2.3 肝细胞脂肪变性模型中 AQP3、AQP7、AQP9 蛋白的表达

Western blot 结果分析显示,随着肝细胞脂肪变性程度的加剧,各水甘油通道蛋白表达水平与 mRNA 表达水平变化基本一致。以 β -actin 表达水平为内参照,随着油酸钠刺激时间的延长,AQP3 的蛋白表达水平呈下降趋势,24 h 及 48 h 实验组与对照组相比差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。0、12、24、48 h

AQP7 的蛋白表达水平基本不变,各实验组与对照组相比差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。0、12、24、48 h AQP9 的蛋白表达水平呈下降趋势,24 h 及 48 h 实验组与对照组相比差异有统计学意义 ($P < 0.05$),见图 3。



a: $P < 0.05$, 与对照组 (0 h) 比较
图2 实时荧光定量 PCR 检测油酸钠诱导不同时间脂肪变性肝细胞各水甘油通道蛋白 mRNA 的表达



A: Western blot 检测结果; B: 半定量分析结果
a: $P < 0.05$, 与对照组 (0 h) 比较
图3 Western blot 检测油酸钠诱导不同时间脂肪变性肝细胞各水甘油通道蛋白水平的表达

3 讨论

NAFLD 是一个疾病谱,包括从单纯性肝细胞脂肪变性到非酒精性脂肪性肝炎和随后可能进展为肝硬化甚至肝衰竭、肝癌等相关疾患^[3]。约有 90% 的 NAFLD

患者具备至少1项代谢综合征的特征且约33%的NAFLD患者被明确诊断为代谢综合征,因此NAFLD也被认为是代谢综合征(metabolic syndrome)的肝脏表现,后者包括胰岛素抵抗、肥胖、脂代谢紊乱、高血压和糖尿病等多种异常^[3]。生活方式的干预和应用胰岛素增敏药物、调脂药物或者血管紧张素受体抑制剂等措施可以用来治疗NAFLD,但是效果并不理想^[10]。国内有研究显示,虫草菌丝能够阻止脂质在肝脏中的蓄积^[11]。NAFLD的发病机制尚未完全阐明,当前被广泛接受的是“二次打击”假说,胰岛素抵抗所致的肝细胞中甘油三酯大量沉积导致肝脏中脂肪蓄积是第一次打击,线粒体和细胞色素P450系统产生大量的活性氧所致的氧化应激和其后的脂质过氧化、炎症介质的参与等促使脂肪变性发展成为脂肪性肝炎、肝纤维化甚至肝硬化等则是第二次打击^[3]。

水通道蛋白是一类对水分子具有特定通透性的细胞跨膜蛋白,广泛分布于机体内与水代谢相关的组织和器官中。迄今为止,已经在哺乳动物中共发现了13种AQP(AQP0-AQP12),分别介导不同类型细胞中水及其他小分子的跨膜转运^[12]。根据转运能力的不同,水通道蛋白可以分为3个不同的亚家族:①经典的水通道蛋白,包括AQP1、AQP2、AQP4和AQP5,它们仅通透水分子,在水转运在起重要作用;②水甘油通道蛋白,包括AQP3、AQP7、AQP9、AQP10,除了通透水还能通透甘油等小分子物质;③功能未被阐明的非传统水通道蛋白,包括AQP6、AQP8、AQP11和AQP12^[13]。通过不同的检测方法,目前已确定肝细胞中至少表达AQP1、AQP3、AQP8、AQP9、AQP7和AQP11等多种水通道蛋白,研究表明其可能和糖脂代谢、胆汁分泌、砷代谢、肿瘤血管生成等多种生理病理过程相关^[5,16]。肝脏作为人体物质代谢的重要器官,承担着机体70%~90%的甘油代谢^[6],而甘油作为联系三大物质代谢的中间产物,其通过水甘油通道蛋白介导的转运在肝脏糖脂代谢中发挥着重要作用。

目前,国内外关于水甘油通道蛋白参与糖脂代谢的研究主要集中在脂肪组织和肝组织中^[14]。AQP7作为脂肪细胞中主要的水甘油通道蛋白介导脂肪动员过程中从脂肪细胞释放甘油,而AQP9作为肝脏主要的水甘油通道蛋白则介导甘油作为糖异生的原料向肝细胞内转运,二者协同调节甘油在糖脂代谢中的角色转换^[15]。本实验研究发现,油酸钠诱导的非酒精性脂肪变性HepG2肝细胞中,随着诱导时间的增加,肝细胞内脂滴和甘油三酯含量明显增加,并采用实时荧光定量PCR和Western blot方法检测脂变前后水甘油通道蛋白的表达变化。我们发现AQP3的表达随时间延长明显降低,与对照组比较差异有统计学意义,AQP7表

达稍有减低,与对照组比较差异无统计学意义,而AQP9表达明显上调,与对照组比较差异有统计学意义。研究发现,脂肪细胞中AQP3在细胞膜和胞浆中均有分布,而AQP7则主要分布胞浆中脂滴的周围,AQP9则分布于膜上 β 受体激动剂刺激鼠3T3-11细胞发现AQP3和AQP7从胞浆下胞膜转移,表明它们可能介导脂肪水解时产生的甘油向外释放^[16]。瘦素是一种刺激脂肪分解的代表性物质,Rodríguez等^[17]应用瘦素刺激HepG2细胞时,发现AQP3表达明显上调,并认为AQP3可能介导了甘油的外排,而AQP7表达下调提示肝细胞中脂滴的减少,AQP9表达亦明显下调,表明糖异生和甘油三酯合成受抑制可能使进入肝细胞的甘油减少。结合我们的实验结果和上述国外相关的研究成果,我们推测肝细胞脂肪变性过程中,随着TG合成对甘油需求的增加,AQP3下调可能使甘油的外排减少,而AQP9通过增加表达促使更多的甘油进入肝细胞以提供甘油三酯合成所需的3磷酸甘油。Lee等^[18]研究也发现油酸处理下肝细胞中促使甘油磷酸化的甘油激酶(GK)表达增加,同时也发现AQP9表达上调。AQP7表达量与对照组比较无明显差异,并不能否定其在肝细胞脂肪变性中可能的作用,其可能通过更多地定位在胞浆促使甘油向胞外释放的减少参与肝细胞的脂肪变性过程。

本实验研究表明了水甘油通道蛋白很有可能参与了油酸钠诱导的肝细胞非酒精性脂肪变性过程,而且各种不同亚型的水甘油通道蛋白可能通过不同的机制促使甘油三酯的合成增加,进而促使了肝细胞的脂肪变性。进一步深入探讨具体调控机制,可对NAFLD的预防、治疗及新的药物靶点的发现提供新依据。

参考文献:

- [1] Cohen J C, Horton J D, Hobbs H H. Human fatty liver disease: old questions and new insights[J]. *Science*, 2011, 332(6037): 1519 - 1523.
- [2] Shen L, Fan J G, Shao Y, et al. Prevalence of nonalcoholic fatty liver among administrative officers in Shanghai: an epidemiological survey [J]. *World J Gastroenterol*, 2003, 9(5): 1106 - 1110.
- [3] Serfaty L, Lemoine M. Definition and natural history of metabolic steatosis: clinical aspects of NAFLD, NASH and cirrhosis[J]. *Diabetes Metab*, 2008, 34(6 Pt2): 634 - 637.
- [4] Bugianesi E, Moscatiello S, Ciaravella M F, et al. Insulin resistance in nonalcoholic fatty liver disease [J]. *Curr Pharm Des*, 2010, 16(17): 1941 - 1951.
- [5] Masyuk A I, LaRusso N F. Aquaporins in the hepatobiliary system [J]. *Hepatology*, 2006, 43(2 Suppl 1): S75 - S81.
- [6] Reshef L, Olswang Y, Cassuto H, et al. Glyceronogenesis and the triglyceride/fatty acid cycle [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(33): 30413 - 30416.

- [7] Gomez-Lechon M J, Donato M T, Martinez-Romero A, *et al.* A human hepatocellular in vitro model to investigate steatosis[J]. *Chem Biol Interact*, 2007, 165(2): 106-116.
- [8] 张琴, 彭俊, 沈薇. 乙肝病毒 X 基因参与肝细胞脂肪变性的作用及机制的初步研究[J]. *第三军医大学学报*, 2011, 33(23): 2466-2470.
- [9] 赵丰莹, 梅浙川. 水通道蛋白 9 在培养肝细胞脂肪变性模型中的表达及意义[J]. *重庆医科大学学报*, 2008, 33(8): 934-937, 1018.
- [10] McNear S, Harrison S A. Current status of therapy in nonalcoholic Fatty liver disease[J]. *Therap Adv Gastroenterol*, 2009, 2(1): 29-43.
- [11] 杨朝霞, 代东伶, 沈薇. 虫草菌丝和还原型谷胱甘肽对非酒精性脂肪肝大鼠模型治疗效果的研究[J]. *第三军医大学学报*, 2007, 29(22): 2176-2178.
- [12] Takata K, Matsuzaki T, Tajika Y. Aquaporins: water channel proteins of the cell membrane[J]. *Prog Histochem Cytochem*, 2004, 39(1): 1-83.
- [13] Rojek A, Praetorius J, Frokiaer J, *et al.* A current view of the mammalian aquaglyceroporins[J]. *Annu Rev Physiol*, 2008, 70: 301-327.
- [14] Maeda N, Funahashi T, Shimomura I. Metabolic impact of adipose and hepatic glycerol channels aquaporin 7 and aquaporin 9[J]. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab*, 2008, 4(11): 627-634.
- [15] Kuriyama H, Shimomura I, Kishida K, *et al.* Coordinated regulation of fat-specific and liver-specific glycerol channels, aquaporin adipose and aquaporin 9[J]. *Diabetes*, 2002, 51(10): 2915-2921.
- [16] Rodriguez A, Catalan V, Gomez-Ambrosi J, *et al.* Insulin- and leptin-mediated control of aquaglyceroporins in human adipocytes and hepatocytes is mediated via the PI3K/Akt/mTOR signaling cascade[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2011, 96(4): E586-E597.
- [17] Rodriguez A, Catalan V, Gomez-Ambrosi J, *et al.* Aquaglyceroporins serve as metabolic gateways in adiposity and insulin resistance control[J]. *Cell Cycle*, 2011, 10(10): 1548-1556.
- [18] Lee D H, Park D B, Lee Y K, *et al.* The effects of thiazolidinedione treatment on the regulations of aquaglyceroporins and glycerol kinase in OLETF rats[J]. *Metabolism*, 2005, 54(10): 1282-1289.
- (收稿:2011-01-21;修回:2012-02-28)
(编辑 王红)

个案与短篇

文章编号:1000-5404(2012)07-0626-01

肝结核误诊为原发性肝癌 1 例

胡 健, 宁琳红, 郭 红 (400037 重庆, 第三军医大学新桥医院消化内科)

[关键词] 肝结核; 误诊

[中图分类号] R525 [文献标志码] B

结核病感染部位多见于肺部、肠和骨骼, 而肝结核在临床上较为少见, 原发性肝结核更是罕见^[1]。因其临床表现不具有特异性, 尤其早期病变可无任何症状, 或被肺和其他器官结核的症状所掩盖, 过程隐匿^[2], 所以容易造成误诊或漏诊, 本研究报道 1 例。

1 临床资料

患者, 男性, 55 岁。主诉右上腹胀痛不适 15 d, 检查发现肝占位。患者无黄疸、腹泻, 无恶心、呕吐, 无胸闷、胸痛, 无咳嗽、咯血, 无潮热、盗汗, 无乏力, 近期体质量无明显增减。既往无肝炎、结核等传染病史; 饮白酒 20 余年, 300 ml/d。入院查体: 生命体征平稳。营养一般, 意识清楚, 精神可。皮肤巩膜无黄染, 未见出血点、肝掌、蜘蛛痣。浅表淋巴结未触及肿大。心、肺正常。腹平坦, 未触及包块, 移动性浊音(-), 肝上界位于右锁骨中线第 5 肋间, 下界位于右季肋下缘, 肝区叩击痛(+)。实验室检查: ①肿瘤标志物: Ca19 ~ 9 2.5 U/ml、AFP 2.88 IU/ml、PSA 0.193 μg/L、CEA 2.19 ng/ml; ②血常规: 白细胞 3.09 × 10⁹/L、红细胞 3.32 × 10¹²/L、血红蛋白 97 g/L; ③乙肝 HBsAg 0.63 ng/ml、抗-HBs 9.61 mIU/ml、HBeAg 0.06 PEIU/ml、抗-HBe 2.86 PEIU/ml、抗-HBc 2.03 PEIU/ml; ④肝功能: 谷丙转氨酶 105 U/L、谷草转氨酶 78 U/L、γ-GT 95 U/L、ALP 162 U/L;

⑤结核抗体: 阴性; ⑥超声结果: 肝脏大小形态正常, 包膜欠光滑, 肝实质回声增多, 肝右前叶可见一混合性肿块影像, 范围 5.1 cm × 4.3 cm, 形态不规则, 边界欠清晰, CDPI 其内可见点彩状血流信号, 肝右后叶可见串珠状的增强回声, 长约 2.5 cm, 后伴声影, 门脉主干 1.3 cm; ⑦腹部 CT: (1) 肝右叶多个异常强化灶, 考虑新生物伴肝内转移可能; (2) 肝右胆管钙化或结石; (3) 脾大。初步诊断: (1) 原发性肝癌; (2) 慢性乙型病毒性肝炎。入我院肝胆科行“肝癌切除术”, 术中见腹腔内少量淡黄色腹水, 肝脏肝硬化表现, 包块位于右肝 V、VI 段及 VIII 段层面, 与肝组织间界限不清楚, 无完整包膜; 完整切除包块并做病理检查。术后病理诊断: 肝结核。给予异烟肼、利福平、乙胺丁醇抗结核治疗及保肝治疗 10 d 后出院。出院诊断: (1) 原发性肝结核; (2) 肝炎后肝硬化; (3) 慢性乙型病毒性肝炎。术后继续抗痨, 4 月后复查 CT: (1) 肝脏结核术后; (2) 肝脏各叶大小比例无异常, 轮廓光整, 肝裂增宽, 肝右叶后下段及右叶前段见散在点状、半环形致密影; (3) 肝内血管床无异常, 肝内外胆管及胆总管无扩张; (4) 腹腔内及腹膜后未见淋巴结肿大, 未见腹膜病变及腹水征象。继续抗结核治疗 6 个月。

2 讨论

原发性肝结核临床少见, 临床表现缺乏特异性, 诊断十分困难, 极易漏诊或误诊为原发性肝细胞癌、肝转移癌或肝脓肿^[3]。尤其是当有肿块形成的时候, CT 检查可见不同的低密度团块, 有或没有边缘增强, 坏死中心可见“牛眼”样钙化灶。

(下转 631 页)