

布加综合征致大鼠瘀血性肝纤维化模型的作用机制研究

朱楠¹ 成德雷² 张甜甜¹ 吕维富² 周光亚¹ 刘亚³ 方伟伟² 叶宗媛⁴

刘宝来¹ 任江涛¹

¹安徽省蚌埠市五河县人民医院影像科 233300; ²中国科学技术大学附属第一医院介入放射科, 合肥 230001; ³安徽省合肥市第三人民医院放射科 230001; ⁴安徽省合肥市第一人民医院病理科 230001

通信作者: 成德雷, Email: 39055004@qq.com

【摘要】 健康成年雄性SD大鼠180只,随机数字表法分为对照组(20只,常规清洁饲养)、布加综合征(BCS)模型组(80只,部分结扎大鼠肝后段下腔静脉)和假手术组(80只,不结扎下腔静脉,其他处理同模型组)。模型组及假手术组又各随机分4个亚组(实验1、3、6、12周组),每亚组20只大鼠。实验开始后1、3、6、12周末行DSA证实造模成功后每组随机抽取12只大鼠处死,留取肝脏组织,行免疫组化、HE及Masson染色,以实时聚合酶链反应(Real-time PCR)及蛋白免疫印迹法(Western blot)分别检测TGF- β 1、PDGF-A及PDGF-B的mRNA及蛋白相对表达量。通过Levene法检验数据符合方差齐性后,以方差分析比较组内、组间的总体差异,采用LSD法行组内、组间两两比较,采用Pearson法分析各因子间相关性,以Spearman法分析各因子与肝纤维化间相关性。结果显示,转化生长因子 β 1(TGF- β 1)、血小板衍生生长因子-A(PDGF-A)及PDGF-B的mRNA表达在对照组与假手术组间差异无统计学意义(TGF- β 1: $F=0.805$, PDGF-A: $F=0.620$, PDGF-B: $F=0.553$, P 值均 >0.698)。模型组分别与对照组及假手术组比较差异均具有统计学意义(TGF- β 1: F 值分别为644.812, 294.224, P 值均 <0.001 ; PDGF-A: F 值分别为180.578, 256.130, P 值均 <0.001 ; PDGF-B: F 值分别为210.056, 568.468, P 值均 <0.001);且模型组各亚组表达均高于同一时间的假手术亚组及对照组(P 值均 <0.05)。模型组术后各时间点的TGF- β 1、PDGF-A及PDGF-B的mRNA表达总体差异均有统计学意义(F 值分别为565.205, 120.014, 154.406, P 值均 <0.001),且同一因子模型组各亚组间两两比较差异亦均有统计学意义(P 值均 <0.05)。TGF- β 1、PDGF-A及PDGF-B在各组间及组内的蛋白表达变化规律与mRNA表达一致。模型组3个因子的mRNA水平与相应蛋白表达均呈正相关($r=0.841, 0.941, 0.931$; P 均 <0.001)。3个因子与肝纤维化均无明显相关性。表明BCS病理损伤与组织修复是一个多因子、多进程、相互交织的复杂过程,每个因子在不同的病程阶段产生的作用不同。

【关键词】 Budd-Chiari综合征; 肝硬化; 转化生长因子; 受体,血小板源生长因子

基金项目: 安徽省自然科学基金(1708085QH218); 蚌埠市科技创新指导项目(20180351)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1005-1201.2019.06.014

Exploring the mechanism of congestive liver fibrosis model in rats with Budd-Chiari syndrome

Zhu Nan¹, Cheng Delei², Zhang Tiantian¹, Lyu Weifu², Zhou Guangya¹, Liu Ya³, Fang Weiwei², Ye Zongyuan⁴, Liu Baolai¹, Ren Jiangtao¹

¹Department of Radiology, the People's Hospital of Wuhe County Bengbu City, Bengbu 233300, China; ²Department of Interventional Radiology, the First Affiliated Hospital of University of Science and Technology of China, Hefei 230001, China; ³Department of Radiology, the Third People's Hospital of Hefei, Hefei 230001, China; ⁴Department of Pathology, the First People's Hospital of Hefei, Hefei 230001, China
Corresponding author: Cheng Delei, Email: 39055004@qq.com

Fund program: Natural Science Foundation of Anhui Province (1708085QH218); Science and Technology Innovation Guidance Project of Bengbu City(20180351)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1005-1201.2019.06.014

肝纤维化几乎发生在所有的慢性肝损伤中,肝星形细胞(hepatic stellate cell, HSC)活化后引发基质过度沉积是肝

纤维化形成的主要机制^[1],转化生长因子 β 1(transforming growth factor- β 1, TGF- β 1)、血小板衍生生长因子

(platelet-derived growth factor, PDGF)-A、-B 等均为诱导 HSC 活化、增殖的重要因子^[2]。布加综合征(Budd-Chiari syndrome, BCS)是肝后段阻塞引起的下腔静脉(inferior vena cava, IVC)和(或)门静脉高压所致的一系列临床症候群^[3], 本质为瘀血性肝损伤, 晚期可进展为肝纤维化及肝硬化。已有研究发现其病理变化可能与这几个因子有关^[4-5], 但具体作用机制尚不清楚。因此, 本研究中建立 BCS 动物模型, 并检测多时间点这些细胞因子的变化, 探讨其在 BCS 动物模型中具体调节机制。

一、材料与与方法

1. 实验材料: RevertAid™ 逆转录试剂盒(Thermo Scientific 公司, 上海), 总 RNA 提取试剂 Trizol (Life technologies 公司, 上海), 荧光定量 PCR 仪(Thermo Scientific 公司), 电化学发光法(electrochemiluminescence, ECL)超敏发光试剂盒(Thermo Scientific 公司); 磷酸盐缓冲液(phosphate buffer solution, PBS), TGF- β 1、PDGF-A、PDGF-B 一抗均为兔抗 1:300 稀释, 山羊抗小鼠及山羊抗兔 IgG (ZSbio 公司, 北京); β -Actin (Santa Cruz 公司, 上海), PicTure™ 检测试剂(Zymed 公司, 上海), PCR 引物序列(上海生工生物工程股份有限公司, 上海)。

2. 方法:(1)模型制备及分组:本研究经中国科学技术大学附属第一医院伦理委员会批准(201708085), 自该院动物实验中心购买健康成年雄性 SD 大鼠 180 只, 体重 205~255 g。室温 15~25 °C, 湿度 50%~60%, 正常周期(12 h 光照、12 h 黑暗), 清洁饲养。以随机数字表法将实验大鼠分为 3 组, 对照组(20 只, 常规饲养)、模型组(80 只)和假手术组(80 只)。根据文献^[4]观察各组大鼠至第 12 周。模型组及假手术组随机各分 4 个亚组(1、3、6、12 周组), 每亚组 20 只大鼠。模型组术前禁食 1 d(不禁水), 常规消毒、铺巾麻醉后, 剑突下正中开腹分离肝镰状韧带, 暴露肝后段(位于肝上膈下)IVC, 将 3 F 微导管平行紧贴 IVC, 并以 0 号线环绕结扎后抽出微导管, 逐层缝合关腹。假手术组未结扎肝后段 IVC, 其他过程同模型组。各组大鼠处死前 1 d 于任意一侧大鼠下肢消毒、铺巾, 以 21 G 静脉留置针刺股静脉, 注射对比剂行 DSA 造影观察大鼠肝静脉及 IVC 血流情况。(2)取材及病理:开腹取各组大鼠肝左叶组织适量。部分标本用 10% 福尔马林固定 24 h, 石蜡包埋, 制作组织切片, 用以 HE、Masson 及免疫组织化学染色, 观察肝脏病理及免疫组化染色情况; 余标本均置于液氮冷藏备用。肝纤维化程度定性标准^[6]: S₀=无纤维化; S₁=小叶中央纤维沉积; S₂=小叶中央以外纤维沉积, 未达小叶边缘; S₃=小叶边缘纤维沉积; S₄=早期肝硬化。(3)免疫组织化学: TGF- β 1、PDGF-A、PDGF-B 的表达以 PicTure™ 二步法检测。石蜡切片脱蜡水化, 3% H₂O₂ 去离子水室温孵育 5~10 min, PBS 冲洗 3 次, 2 min/次。滴加一抗, 室温或 37 °C 孵育 30~60 min, 同前方法 PBS 冲洗 3 次。滴加通用型 IgG 抗体(Fab 段)-HRP 多聚体, 室温或 37 °C 孵育 10~20 min, 同前 PBS 冲洗, 应用二氨基联苯胺(diaminobenzidine, DAB)溶液显色, 蒸馏水冲洗、复染、

脱水、封片。阴性对照以 PBS 代替一抗, 阳性对照采用已知阳性片; 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。(4)实时聚合酶链反应(Real-time PCR):以 Real-time PCR 检测 TGF- β 1、PDGF-A、PDGF-B 的 mRNA 表达。称取肝组织 50~100 mg, 剪碎, 液氮研磨, 加入 1 ml TRIzol 匀浆, 严格按照说明书步骤提取总 RNA, 提取出的 RNA 逆转录合成 cDNA, 然后行 Real-time PCR 检测。PCR 反应条件:95 °C 2 min; 95 °C 5 s, 60 °C 10 s, 40 个循环。引物序列如下: TGF- β 1 上游序列 5'-AGGTCCTTGCCCTCTACA AC-3', 下游序列: 5'-CGTAGTAGACGATGGGCAGT-3'; PDGF-A 上游序列: 5'-GTGCGGTCTTTGTTCTCCTC-3', 下游序列: 5'-TCGCTCTCTGTGACAAGGAA-3'; PDGF-B 上游序列: 5'-ATCGAGCCAAGACACCTCAA-3', 下游序列: 5'-CAGTGCCTTCTGTGCATGGG-3'; β -actin 上游序列: 5'-CCCATCTATGAGGGTTACGC-3', 下游序列: 5'-TTT AATGTCACGCACGATTTC-3'; 基因相对表达量以 2^{- $\Delta\Delta$ Ct} 计算。(5)蛋白免疫印迹法(western blot):以 western blot 检测 TGF- β 1、PDGF-A、PDGF-B 的蛋白表达。称取 100 mg 左右肝组织, 加入放射免疫沉淀分析(radio immunoprecipitation assay, RIPA)细胞裂解液 1 ml(内含 0.001 mol/L 苯甲基磺酰氟)进行裂解。4 °C, 12 000 转/min(离心半径 10 cm)离心 15 min。收集上清液, 每 4 μ l 蛋白样品加入 1 μ l 5X 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(sodium dodecyl-sulfate polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)蛋白上样缓冲液。沸水浴加热 10 min, 冷却到室温, 上样到 SDS-PAGE 胶加样孔内, 每孔 5~20 μ l。浓缩胶所用电压 80 V, 时间 30 min; 分离胶所用电压 120 V, 时间 1 h, 然后 300 mA 恒流转膜 90 min。完毕后, 漂洗 5 min, 室温封闭 2 h。一抗 4 °C 孵育过夜。加入含有 Tween-20 的磷酸盐缓冲液(phosphate buffer solution Tween-20, PBST)冲洗, 10 min, 3 次。相应二抗室温孵育 2 h。加 PBST, 冲洗 3 次, 10 min/次。使用 ECL 超敏发光试剂盒检测蛋白, 以 Image J 软件分析条带吸光度(A)值, 与内参照结果比较, 计算相对表达量。

3. 统计方法: 采用 SPSS22.0 统计软件分析数据, 分别以 Kolmogorov-Smirnov 法、Levene 法检验数据是否符合正态分布及方差齐性, 符合的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 否则以中位数(四分位间距)表示。对方差齐的数据, 各因子在模型组与假手术组的组内比较及其分别于对照组的比较均采用单因素方差分析, 模型组与假手术组的组间比较采用两因素方差分析, 各亚组间两两比较采用 LSD 检验, 以 Pearson 法做各因子间相关性分析, 以 Spearman 法分析各因子与肝纤维化间相关性, 检验水准设为 0.05。

二、结果

1. 建模情况及病理检查结果: 对照组大鼠均存活; 模型组 1、3、6、12 周亚组分别存活 18、18、17、16 只, 存活大鼠均成模; 假手术组 1、3、6、12 周亚组分别存活 20、19、18、18 只。模型组术后各时间点 DSA 造影均见肝后段 IVC 管腔明显变窄, 远端管腔扩张; 3 周后见侧支循环形成, 12 周最显著(图 1);

对照组及假手术组大鼠观察至第12周HE染色均无阳性表现(图2,3)。模型组大鼠随着结扎肝IVC后的时间延长,肝脏病理损伤及纤维化程度逐渐加重,12周组损伤最显著,见肝窦扩张、红细胞淤积,小叶中心性肝细胞萎缩、坏死(图4)。对照组及假手术组大鼠观察至第12周Masson染色均无阳性表现(图5,6)。模型1周组 S_0 11只(Masson染色未见胶原组织沉积,图7)、 S_1 1只;3周组 S_0 10只、 S_2 2只(汇管区可见胶原组织染色,图8);6周组 S_0 7只、 S_5 5只(中央静脉周围及汇管区可见可见胶原组织染色,图9);12周组 S_8 8只、 S_4 4只(中央静脉周围及汇管区胶原组织染色范围扩大,图10)。

2.免疫组化结果:实验12周时观察,对照组TGF- β 1(图11)、PDGF-A(图12)及PDGF-B(图13)及假手术组PDGF-B(图14)、TGF- β 1(图15)、PDGF-A(图16)均无阳性染色;模型组术后1周PDGF-B(图17),3周TGF- β 1(图18)、PDGF-A(图19)阳性染色最显著,阳性物质呈棕黄色,主要分布于血管内皮细胞、肝窦周细胞、汇管区间质细胞和纤维组织。

3.Real-time PCR结果:对照组及假手术各亚组仅有基础水平的TGF- β 1、PDGF-A及PDGF-B的mRNA表达;模型组TGF- β 1、PDGF-A及PDGF-B的mRNA表达随造模时间推移呈现先升高后稍下降的趋势,但均明显高于正常水平;其中PDGF-B峰值出现较早(造模后1周),TGF- β 1、PDGF-A峰值相对较迟(造模后3周)。3个因子的mRNA表达在对照组与假手术组间比较差异无统计学意义(PDFG-B、TGF- β 1、PDGF-A的 F 值分别为0.805、0.620、0.553, P 值均 >0.05);模型组分别与对照组(F 值分别为644.812、180.578、210.056)及假手术组(F 值分别为294.224、256.130、568.468)比较总体差异均具有统计学意义(P 均 <0.01);且模型组各亚组表

达均高于同一时间的假手术亚组及对照组亚组(P 均 <0.05);见表1。模型组术后不同时间的TGF- β 1、PDGF-A及PDGF-B的mRNA表达总体差异均有统计学意义(P 均 <0.01),且同一因子模型组各亚组间两两比较差异亦均有统计学意义(P 均 <0.05)。见表1。

4.Western blot结果:各组TGF- β 1、PDGF-A及PDGF-B蛋白的表达水平及变化趋势与Real-time PCR结果相似,对照组及假手术各亚组仅有基础水平的TGF- β 1、PDGF-A及PDGF-B的蛋白表达;模型组TGF- β 1、PDGF-A及PDGF-B的蛋白表达呈现先升高后稍下降的趋势,但均明显高于正常水平;其中PDGF-B峰值出现较早(手术后1周),TGF- β 1、PDGF-A峰值相对较迟(手术后3周)。3个因子的蛋白表达在对照组与假手术组间差异无统计学意义(F 值分别为0.315、0.279、0.485, P 值均 >0.05);模型组分别与对照组及假手术组比较差异均具有统计学意义(与对照组比较 F 值分别为816.800、332.699、723.577,与假手术组比较 F 值分别为437.768、465.872、600.517, P 值均 <0.01);且模型组各亚组表达均高于同一时间的假手术亚组及对照组(P 均 <0.05);见图20,表1。模型组术后不同时间的TGF- β 1、PDGF-A及PDGF-B的蛋白表达水平差异均有统计学意义($F=216.948, 327.593, 402.048, P$ 值均 <0.01),且同一因子模型组各亚组间两两比较差异亦均有统计学意义(P 值均 <0.05)。见图20,表1。

5.TGF- β 1、PDGF-A及PDGF-B相关性分析:模型组TGF- β 1、PDGF-A及PDGF-B的转录水平与相应蛋白合呈正相关(r 值分别为0.841、0.941、0.931, P 值均 <0.01)。模型组mRNA及蛋白表达,TGF- β 1、PDGF-A及PDGF-B两两间均

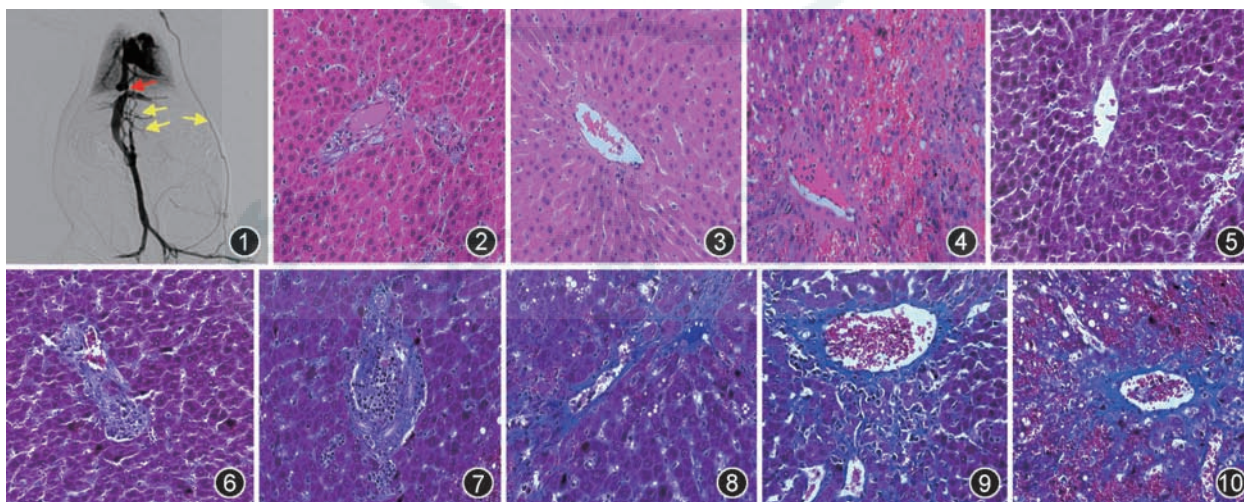


图1 模型组大鼠造模后12周,DSA造影可见肝后段下腔静脉管腔明显变窄(红 \uparrow),远端管腔扩张伴侧支循环(黄 \uparrow) 图2~4 实验大鼠术后12周时肝脏病理图片(HE $\times 200$)。对照组(图2)及假手术组(图3)大鼠肝细胞排列规律,形态正常,核仁清晰,肝血窦未见明显扩张;模型组大鼠肝血窦明显扩张并可见大量红细胞淤积,部分肝细胞坏死、核固缩、胞质红染,以中央静脉周围肝细胞较为明显(图4) 图5~10 实验大鼠肝脏Masson染色图片(Masson $\times 200$)。对照组(图5)及假手术组(图6)实验第12周时,肝细胞以肝小叶中央静脉为中心放射样排列,中央静脉及肝窦壁未见明显胶原组织沉积;模型1周组肝汇管区有少量炎症细胞浸润,肝细胞脂肪变性,中央静脉及肝窦壁未见明显胶原组织沉积(图7);模型3周组肝细胞脂肪变性增多,汇管区可见胶原组织(图8);模型6周组肝细胞部分萎缩,中央静脉周围及汇管区可见胶原组织(图9);模型12周组肝细胞萎缩,肝索结构破坏,肝窦明显扩张,大量红细胞淤积,中央静脉周围及汇管区胶原组织染色范围扩大(图10)

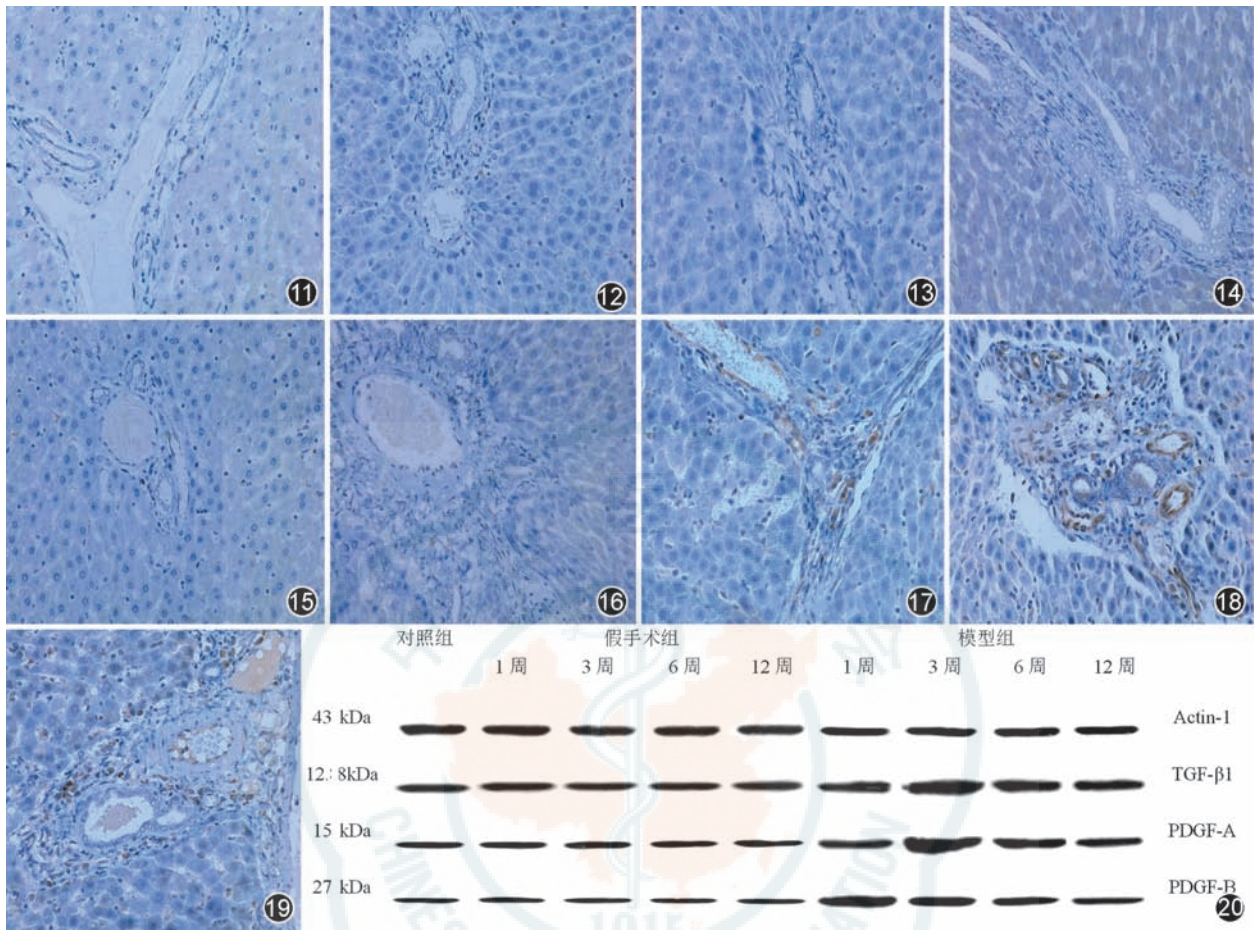


图11~19 实验大鼠肝组织免疫组织化学染色图片(×200)。实验12周时观察,对照组转化生长因子β1(TGF-β1)(图11)、血小板衍生生长因子A(PDGF-A)(图12)、血小板衍生生长因子B(PDGF-B)(图13)及假手术组PDGF-B(图14)、TGF-β1(图15)、PDGF-A(图16)均未见阳性染色;模型组术后1周PDGF-B(图17),术后3周TGF-β1(图18)、PDGF-A(图19)阳性染色主要分布于血管内皮细胞、肝窦周细胞、汇管区间质细胞和纤维组织 图20 实验鼠TGF-β1、PDGF-A、PDGF-B的蛋白表达图

互为正相关(P 值均 <0.01),见表2。

6.TGF-β1、PDGF-A及PDGF-B与肝纤维化相关性分析:模型组TGF-β1、PDGF-A及PDGF-B的mRNA及蛋白表达均与肝纤维化程度无明显相关性,见表3。

三、讨论

尽管多种因素均可导致肝纤维化和肝硬化,但参与的细胞因子、具体机制却不完全相同^[1-2]。已有报道TGF-β1、PDGF-A及PDGF-B与BCS肝纤维化相关,但具体机制尚不明确^[4-5]。本研究中,模型组的TGF-β1、PDGF-A及PDGF-B在观察期内的表达随时间推移均先升高后下降,且均明显高于对照组及假手术组,其中PDGF-B术后1周达峰值,TGF-β1、PDGF-A术后3周达峰值,且3个因子相互间表达存在不同程度的相关性,提示它们可能相互调节并参与BCS瘀血性肝损伤的进程。

TGF-β1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^[7],PDGF是HSC最强的促分裂原^[8]。瘀血缺氧后可引发缺氧诱导因子-1α(hypoxia-inducible factor-1α, HIF1-α)表达及氧自由基增加,激活TGF-β1信号和上皮间质转化,诱导PDGF

合成、释放,导致其下游靶基因的激活和HSC的活化,加速纤维化的进展^[7-9]。本研究结果显示,模型组TGF-β1、PDGF-A、PDGF-B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,与既往研究结果一致^[2,4,7],提示BCS肝损伤时,这几个因子主要来源于间质细胞。根据本研究结果还发现,模型组术后TGF-β1、PDGF-A、PDGF-B始终高于正常水平,其均呈现先升后降的趋势,这不同于其他原因肝损伤中随纤维化进展而持续升高的报道^[2,4,7],表明BCS中的这几个因子与肝纤维化程度不是简单正相关。模型组造模3周后逐渐建立的侧支循环在一定程度上缓解淤血缺氧,下调TGF-β1和PDGF-A、PDGF-B的表达,这解释了TGF和PDGF先升后降的趋势,可能是BCS肝损伤和肝纤维化进展缓慢的原因之一^[10]。另一个可能原因是,BCS瘀血性肝损伤中炎症反应较轻,其细胞因子应答及反馈通路不同于其他类型肝损伤^[11],但这尚需进一步研究。可见,BCS肝损伤与瘀血缺氧程度密切相关,而不仅是病程持续时间,这与大量临床研究结果相符,即慢性BCS患者虽病程较长,但其肝损伤、肝纤维化程度却不严重^[3,12]。

根据本研究结果,3个因子均参与了BCS病损的全过

表1 各组实验鼠TGF- β 1、PDGF-A及PDGF-B检测结果及比较($\bar{x} \pm s$)

组别	TGF- β 1									
	1周		3周		6周		12周		F(P)值	
	mRNA	蛋白	mRNA	蛋白	mRNA	蛋白	mRNA	蛋白	mRNA	蛋白
对照组	1.00±0.09	0.24±0.03	1.00±0.09	0.24±0.03	1.00±0.09	0.24±0.03	1.00±0.09	0.24±0.03	—	—
假手术组	1.07±0.11	0.24±0.02	1.06±0.08	0.24±0.02	1.01±0.09	0.25±0.02	1.01±0.11	0.24±0.02	0.724(0.545)	0.452(0.718)
模型组	1.64±0.18	0.60±0.07	9.12±0.75	1.33±0.09	3.16±0.30	1.05±0.06	2.63±0.21	0.76±0.04	565.205(0.010)	216.948(0.010)
F值	49.240	386.618	417.481	923.901	723.193	945.714	271.857	762.223	—	—
P值	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	—	—

组别	PDGF-A									
	1周		3周		6周		12周		F(P)值	
	mRNA	蛋白	mRNA	蛋白	mRNA	蛋白	mRNA	蛋白	mRNA	蛋白
对照组	1.01±0.08	0.24±0.07	1.01±0.08	0.24±0.07	1.01±0.08	0.24±0.07	1.01±0.08	0.24±0.07	—	—
假手术组	0.98±0.09	0.24±0.04	1.02±0.16	0.26±0.06	0.96±0.11	0.23±0.05	1.02±0.11	0.24±0.05	0.706(0.555)	0.419(0.741)
模型组	1.99±0.24	0.54±0.02	5.87±0.75	1.33±0.06	4.09±0.48	1.06±0.06	2.60±0.23	0.75±0.08	120.014(0.010)	327.593(0.010)
F值	210.972	156.643	484.663	961.361	518.491	728.584	432.170	193.358	—	—
P值	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	—	—

组别	PDGF-B									
	1周		3周		6周		12周		F(P)值	
	mRNA	蛋白	mRNA	蛋白	mRNA	蛋白	mRNA	蛋白	mRNA	蛋白
对照组	1.01±0.12	0.25±0.05	1.01±0.12	0.25±0.05	1.01±0.12	0.25±0.05	1.01±0.12	0.25±0.05	—	—
假手术组	0.97±0.08	0.26±0.04	0.96±0.12	0.28±0.05	0.96±0.06	0.25±0.05	0.99±0.08	0.25±0.04	0.378(0.770)	0.616(0.611)
模型组	5.45±0.82	1.23±0.05	4.72±0.27	1.00±0.04	2.25±0.21	0.76±0.06	1.60±0.17	0.50±0.03	154.406(0.001)	402.048(0.010)
F值	304.342	436.135	607.621	601.153	617.487	818.590	335.078	290.360	—	—
P值	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	—	—

注:每亚组12只鼠,TGF- β 1:转化生长因子 β 1;PDGF-A:血小板衍生生长因子A;PDGF-B:血小板衍生生长因子B;—:无数值

表2 模型组TGF- β 1、PDGF-A、PDGF-B间相关性分析

检验值	TGF- β 1与PDGF-A		TGF- β 1与PDGF-B		PDGF-A与PDGF-B	
	mRNA	蛋白	mRNA	蛋白	mRNA	蛋白
r值	0.925	0.975	0.442	0.510	0.417	0.462
P值	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001

注:TGF- β 1:转化生长因子 β 1;PDGF-A:血小板衍生生长因子A;PDGF-B:血小板衍生生长因子B

表3 模型组TGF- β 1、PDGF-A、PDGF-B与纤维化间相关性分析

检验值	TGF- β 1与纤维化		PDGF-A与纤维化		PDGF-B与纤维化	
	mRNA	蛋白	mRNA	蛋白	mRNA	蛋白
r值	0.228	0.197	0.175	0.183	-0.224	-0.206
P值	0.080	0.132	0.180	0.162	0.086	0.114

注:TGF- β 1:转化生长因子 β 1;PDGF-A:血小板衍生生长因子A;PDGF-B:血小板衍生生长因子B

程,其中TGF- β 1与PDGF-A高度正相关,这与Kikuchi和Monga^[13]的研究结果相似,其原因可能是PDGF-A参与调节TGF- β 受体相关SMAD2信号传导^[11,13]。它们与PDGF-B相关性相对略低,且PDGF-B表达高峰早于TGF- β 1及PDGF-A,这可能由于PDGF-B为刺激HSC活化最有力的有

丝分裂原,具有更广泛的应答机制^[14];并且它可能在BCS肝脏损伤早期起到更重要的作用,如参与损伤修复、刺激HSC活化、介导BCS肝脏损伤早期信号转导等^[11]。而TGF- β 1及PDGF-A均在术后第3周达高峰,可能是除了参与早期病理损伤之外,亦主要参与了病程3周后的侧支血管形成等^[15]。三者均在BCS病程后期降低,可能是随着肝脏急性期损伤的消退,侧支循环的逐渐形成,HSC活化减少^[11,16]。但其水平始终高于正常,说明BCS存在持续的慢性损伤(瘀血缺氧),尽管侧支循环部分缓解了瘀血,细胞外基质不断沉积所致的肝纤维化却在缓慢进展。这可能是这几个因子与纤维化相关性低的原因,亦是BCS与其他类型肝硬化病理表现及预后不同之处。

研究局限性:大鼠生命周期有限,尚不能完全模拟人类可能长达数10年的BCS病程。本研究观察时间只有12周,12周后各因子与瘀血性肝损伤的变化尚有待进一步研究。

综上所述,BCS瘀血性肝纤维化与组织修复是一个多因子、多进程、相互交织的复杂过程。TGF- β 1,PDGF-A和PDGF-B的表达随IVC结扎后肝脏瘀血加重而上调,随侧支循环建立而下降,说明它们与BCS肝脏瘀血和缺氧程度密切相关。因此,我们认为这3种因子可以作为评估BCS瘀血性肝损伤的生物标志物。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

[1] 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(48): 10512-10522. DOI: 10.3748/wjg.v22.i48.10512.

[2] Zhou WC, Zhang QB, Qiao L. Pathogenesis of liver cirrhosis [J]. World J Gastroenterol, 2014, 20(23): 7312-7324. DOI: 10.3748/wjg.v20.i23.7312.

[3] 中华医学会放射学分会介入学组. 布加综合征介入诊疗规范的专家共识[J]. 中华放射学杂志, 2010, 44(4): 345-349. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1005-1201.2010.04.003.

[4] 李路豪, 党晓卫, 李林, 等. 缺氧诱导因子-1 α 在布-加综合征大鼠模型肝组织的表达及意义[J]. 中华实验外科杂志, 2018, 35(1): 75-78. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-9030.2018.01.026.

[5] 张小明, 李艳奎, 沈晨阳, 等. 布加综合征病因的临床和实验研究初探[J]. 中华外科杂志, 2010, 48(8): 569-572. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0529-5815.2010.08.004.

[6] 许尚文, 陈自谦, 夏加林, 等. MR扩散加权成像与超声弹性成像诊断乙型肝炎肝硬化肝纤维化分级的对比研究[J]. 中华放射学杂志, 2016, 50(7): 518-521. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1005-1201.2016.07.008.

[7] 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. DOI: 10.1159/000438651.

[8] Martin IV, Borkham-Kamphorst E, Zok S, et al. Platelet-derived growth factor (PDGF)-C neutralization reveals differential roles of PDGF receptors in liver and kidney fibrosis [J]. Am J Pathol, 2013, 182: 107-117. DOI: 10.1016/j.ajpath.2012.09.006.

[9] Czochra P, Klopčič B, Meyer E, et al. Liver fibrosis induced by hepatic overexpression of PDGF-B in transgenic mice[J]. J Hepatol, 2006, 45: 419-428. DOI: 10.1016/j.jhep.2006.04.010.

[10] Cai SF, Gai YH, Liu QW. Computed tomography angiography manifestations of collateral circulations in Budd-Chiari syndrome[J]. Exp Ther Med, 2014, 9(2): 399-404. DOI: 10.3892/etm.2014.2125.

[11] Ying HZ, Chen Q, Zhang WY, et al. PDGF signaling pathway in hepatic fibrosis pathogenesis and therapeutics[J]. Mol Med Rep, 2017, 16(6): 7879-7889. DOI: 10.3892/mmr.2017.7641. PMID: 28983598.

[12] 成德雷, 徐浩, 华荣, 等. 急性慢性布加综合征 MRI 特征对照研究[J]. 中华放射学杂志, 2013, 47(9): 816-819. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1005-1201.2013.09.013.

[13] Kikuchi A, Monga SP. PDGFR α in liver pathophysiology: emerging roles in development, regeneration, fibrosis, and cancer[J]. Gene Expr, 2015, 16(3): 109-127. DOI: 10.3727/105221615X14181438356210.

[14] Breitkopf K, Roeyen CV, Sawitza I, et al. Expression patterns of PDGF-A, -B, -C and -D and the PDGF-receptors alpha and beta in activated rat hepatic stellate cells (HSC)[J]. Cytokine, 2005, 31: 349-357. DOI: 10.1016/j.cyto.2005.06.005. PMID: 16039137.

[15] Kofler N, Simons M. The expanding role of neuropilin: regulation of vascular TGF- β and PDGF signaling[J]. Curr Opin Hematol, 2016, 23(3): 260-267. DOI: 10.1097/MOH.0000000000000233.

[16] Jeong WI, Do SH, Yun HS, et al. Hypoxia potentiates transforming growth factor-beta expression of hepatocyte during the cirrhotic condition in rat liver[J]. Liver Int, 2004, 24(6): 658-68. DOI: 10.1111/j.1478-3231.2004.0961.x.

(收稿日期:2018-06-10)

(本文编辑:高宏)

·读者·作者·编者·

本刊地址和通讯方式变更

根据中华医学会的统一部署,中华医学会杂志社由北京市东城区东四西大街42号迁入北京市西城区东河沿街69号的新址。《中华放射学杂志》编辑部随之迁入新址505室,联系方式变更如下。

《中华放射学杂志》编辑部

通信地址:北京市西城区东河沿街69号505室
邮政编码:100052
联系电话:010-51322321
Email:cjr@cma.org.cn

编辑部工作人员及联系方式

张琳琳,编辑部负责人
联系电话:010-51322326
Email:zhanglinlin@cma.org.cn

分管专业:中枢神经系统放射学、胸部放射学、儿童放射学

高宏,编审
联系电话:010-51322325
Email:honggao@cma.org.cn

分管专业:头颈部放射学、骨骼肌肉系统放射学、介入放射学

张晓冬,编审
联系电话:010-51322329
Email:zhangxd@cma.org.cn

分管专业:乳腺放射学、腹部放射学、影像技术学
王秋怡,编务

联系电话:010-51322321
Email:wangqy@cma.org.cn

(本刊编辑部)