

文章编号:1005-6947(2006)07-0516-04

· 基础研究 ·

肝细胞凋亡与肝储备功能的关系

靳小建, 卢榜裕, 黄玉斌

(广西医科大学第一附属医院 微创外科中心, 广西 南宁 530021)

摘要: **目的** 探讨肝细胞凋亡对评价肝储备功能的意义。**方法** 54例肝切除手术患者,包括(1)对照组:肝血管瘤10例;(2)肝病组:肝癌32例和肝内胆管结石12例,肝病组中肝硬化24例(肝硬化组),无肝硬化20例(非肝硬化组)。术中取肝组织检测肝硬化和细胞凋亡。依据细胞凋亡指数(AI)在肝硬化组总体均数的95%可信区间下限值分2组:AI < 0.0381组和AI ≥ 0.0381组。分析AI与肝硬化和术后肝功能恢复情况的关系。**结果** 肝病组AI明显高于对照组($P = 0.000$)。肝病组中肝硬化组AI(0.046 ± 0.022)显著高于非肝硬化组(0.026 ± 0.021) ($P < 0.05$)。AI预测术后肝功能恢复情况的符合率(准确度)为79.55%,Child分级的符合率为59.09%,差异有显著性($P = 0.0194$ 及 $P = 0.0285$)。**结论** 肝细胞AI可作为反映肝功能损害的一个敏感指标;检测肝细胞凋亡水平较可靠地反映肝功能变化和储备能力。

关键词: 肝/生理学; 细胞凋亡; 肝切除术

中图分类号: R333.4; R329.21

文献标识码: A

The correlation between hepatocellular apoptosis and liver reserve function

JIN Xiao-jian, LU Bang-yu, HUANG Yu-bing

(Center of Minimally Invasive Surgery, Guangxi Medical University, Nanning 530021, China)

Abstract: **Objective** To investigate the significance of hepatocellular apoptosis in evaluation of liver reserve function. **Methods** Analysis of 54 cases who underwent partial hepatectomy, including 10 cases of hemangioma of liver (control group), and 44 cases of hepatopathy (32 cases of liver cancer and 12 cases of intrahepatic bile duct stone, hepatopathy group), including 24 cases of liver cirrhosis (cirrhosis group) and 20 cases with no liver cirrhosis (non-cirrhosis group). At operation, liver tissue was taken for determination of cirrhosis and apoptosis. In cirrhosis group, 2 groups were divided according to the 95% confidence interval of apoptosis indexes (AI < 0.0381 group, AI ≥ 0.0381 group). Cirrhosis and the degree of recovery of hepatic functions at postoperation were analysed and compared with hepatocellular AI. **Results** AI in the hepatopathy groups were significantly higher than control group ($P = 0.000$), AI in the cirrhosis groups (0.046 ± 0.022) were significantly higher than non-cirrhosis groups (0.0267 ± 0.021) ($P < 0.05$). The accuracy rate of AI for predicting the liver reserve function was 79.55%, and was significantly higher than that of Child class ($P = 0.05$). **Conclusions** AI of hepatic cells could serve as a sensitive indicator of hepatic function impairment, and can be for predicting change of liver function and liver reserve function.

Key words: Liver/physiol; Apoptosis; Hepatectomy

CLC number: R333.4; R329.21

Document code: A

肝脏疾病行肝脏切除手术治疗中,术前尽可能正确地评估肝储备能力,这对于手术方式的选择,

掌握合适的切肝量,减少手术并发症及病死率具有十分重要的意义。肝储备能力是所有肝细胞最大功能的总和,肝脏疾病存在大量肝细胞凋亡^[1],参与肝功能的损害,影响其储备功能。因此本文探讨了肝细胞凋亡和肝功能恢复的关系,以了解其评价肝储备功能的可能性。

收稿日期:2005-03-07; 修订日期:2006-01-16。

作者简介:靳小建,男,河南洛阳人,广西医科大学第一附属医院住院医师,主要从事微创外科方面的研究。

通讯作者:卢榜裕 E-mail:JJ541@sohu.com。

1 材料和方法

1.1 临床一般资料

选取2002年9月—2003年10月行肝切除手术的住院病例54例,其中男36例,女18例;平均年龄51.1(28~65)岁。包括(1)对照组:肝血管瘤10例;(2)肝病组:肝癌32例和肝内胆管结石12例。肝病组术后病理有肝硬化的24例(肝硬化组),无肝硬化的20例(非肝硬化组);对照组无肝炎、脂肪肝和肝硬化。术前依据Child分级标准将其肝功能情况分为Child A级26例,Child B级18例。54例均行肝左外叶切除手术,术中肝门阻断时间及出血量各组具有可比性。肝癌患者术前均未行超选择性肝动脉灌注化疗和栓塞(TAI、TAE)介入手术。

1.2 材料

1.2.1 组织标本 选取术中远离病灶的正常肝组织。大小约1cm×1cm。所有肝组织标本离体后即用于10%甲醛溶液固定,然后按常规石蜡包埋备用。

1.2.2 血清标本 54例分别于术前、术后第1天和术后第7天清晨空腹抽血。离心,取血清1mL。置-70℃冰箱保存备用。

1.2.3 试剂 细胞凋亡检测试剂盒(TUNEL法)购于武汉博士德生物工程公司。

1.3 方法

1.3.1 细胞凋亡及肝功能检测 细胞凋亡检测按细胞凋亡检测试剂盒说明书进行。采用肝组织切片缺口末端标记法(TUNEL法)。最后用BCIP/NBT显色,核固红复染。阳性对照用试剂盒阳性片,阴性对照用磷酸盐缓冲液PBS替代。常规肝功能检测采用日立7170A自动生化分析仪进行。

1.3.2 判断标准 (1)用常规HE染色片进行病理分析,由病理医生诊断其有无肝硬化。(2)凋亡细胞阳性为细胞核呈棕褐色,棕褐色圆形小体为凋亡小体。随机选5个高倍镜视野(×400倍)

每个视野计数200个细胞,总计1000个,凋亡指数(AI)=凋亡细胞数/1000^[2]。(3)术后肝功能恢复标准^[3-4]:肝功能代偿良好(简称良好),指术后无腹水,无黄疸(TBIL<34.2μmol/L)无肝性脑病;肝功能代偿轻度不全(简称轻度),指术后出现少量腹水,或轻度黄疸(TBIL=34.2~51.3μmol/L),但术后1个月内上述症状完全消失;肝功能代偿重度不全(简称重度),指术后出现明显腹水,或中度至重度黄疸(TBIL>51.3μmol/L),或肝性脑病。术后1个月内上述症状仍未完全消失,或病人死于肝功能衰竭。(4)肝功能Child分级:分A级、B级和C级,本组病例中没有C级病例。

1.3.3 符合率(准确度)的计算 是检验一个诊断指标的灵敏度和特异度的综合指标^[5]。

1.4 统计学处理

采用SPSS10.0版本的统计软件行统计学处理,应用t检验,方差齐性检验,卡方检验,两样本率比较等进行分析。以P<0.05为差异有显著性。

2 结果

2.1 肝病组与对照组 AI 比较

肝病组的细胞凋亡数目明显多于对照组(图1-2),其AI显著高于对照组(表1)。

表1 肝病组与对照组 AI 平均水平比较

组别	例数	AI	t值	P值
肝病	44	0.0265	7.087	0.000
对照	10	0.004		

2.2 肝硬化组与非肝硬化组 AI 比较

肝硬化组的细胞凋亡数目明显多于非肝硬化组(图3~4),肝硬化组AI显著高于非肝硬化组(P<0.05)表明AI能反映肝硬化情况(表2)。95%可信区间反映AI总体均数有95%的可能在该范围(表3)。

图 1 对照组肝细胞凋亡情况 (棕褐色圆形小体为凋亡小体下同) (光镜 40×10)

图 2 肝病组肝细胞凋亡情况 (光镜 40×10)

图 3 肝硬化组肝细胞凋亡情况 (光镜 40×10)

图 4 非肝硬化组肝细胞凋亡情况 (光镜 40×10)

表 2 肝硬化与非肝硬化组 AI 比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	AI	<i>t</i>	<i>P</i>
非肝硬化	20	0.026 ± 0.021	2.9661	< 0.05
肝硬化	24	0.046 ± 0.022		

注:与非肝硬化组比较,由于两组方差不齐,采用近似 *t* 检验

表 3 肝硬化与非肝硬化组 AI 95% 可信区间

组别	例数	凋亡指数 (AI)	
		95% 下限	95% 上限
非肝硬化	20	0.0186	0.0347
肝硬化	24	0.0381	0.0532

2.3 肝细胞 AI 与肝功能 Child 分级在判断术后肝功能恢复情况的比较

AI < 0.0381, AI ≥ 0.0381 组预测术后肝功能恢复情况的符合率为 79.55%, 与 Child 分级的符合率 (59.09%) 差异显著 ($P < 0.05$) (表 4)。

表 4 肝细胞 AI、术前肝功能 Child 分级与术后肝功能恢复情况和肝硬化的符合率

肝功能分级及 95% 可信限	例数	术后肝功能恢复情况		符合率 (%) ¹⁾
		良好 (阴)	轻度 + 重度 (阳)	
Child A (阴)	26	18 (a)	8 (b)	59.09%
Child B (阳)	18	10 (c)	8 (d)	
AI < 0.0381 (阴)	26	23 (a)	3 (b)	79.55% ²⁾
AI ≥ 0.0381 (阳)	18	6 (c)	12 (d)	

注:1)符合率(准确度) = $a + d / a + b + c + d$; 与 Child 分级的符合率

比较: 2)与 Child 分级比较, $\chi^2 = 4.3279, P = 0.0373$

3 讨论

Child 分级是临床常用的反映肝储备功能的指标,虽有简单实用的优点,但仍不够精确。大量临床实践表明:术前常规肝功能为 Child A 级者,术后短期内却发生肝衰竭;术中大体病理或术后镜下病理证实为严重肝硬化,而肝功能却仍为 Child A 级。表明肝功能 Child 分级不能全面反映肝脏储备能力及整体情况。本研究也证明这一点:术前肝功能 Child 分级预测术后肝功能恢复情况的符合率为 59.09%。术前肝功能 Child 分级与术后肝功能变化情况的一致性较差,并且有交叉现象。有的术前肝功能为 A 级,术后肝功能恶化,并出现腹水等并发症。这说明 Child 分级对反映肝储备功能和肝硬化有一定价值,但符合率较低,不能更精确地反映肝储备功能。

现已发现细胞凋亡在维持肝胆系统正常生理状态和内环境稳定中起重要作用。肝胆系统中细胞凋亡的异常增加或减少会导致肝胆系统的病理状态^[6]。本研究表明:肝病组肝细胞 AI 明显高于对照组 ($P = 0.000$),且肝硬化组 AI 显著高于非肝硬化组 ($P < 0.05$)。这说明肝脏疾病时大量肝细胞凋亡,凋亡参与肝功能的损害^[7],肝细胞凋亡能反映肝脏的损伤程度和肝功能变化。本研究依据 AI < 0.0381, AI ≥ 0.0381 分 2 组,发现其预测术后肝功能恢复情况的符合率为 79.55%,相比较显著优于 Child 分级的符合率 ($P < 0.05$)。有关报道认为,当肝细胞凋亡率为 5% 时,2 ~ 3 d

后将有 25% 的肝细胞死亡,导致肝功能不全^[8]。细胞凋亡在肝细胞损伤过程中发挥重要作用,肝脏损伤后细胞凋亡随损伤因子作用而持续存在,并可进一步发展为坏死,导致肝功能损伤。凋亡细胞的比例决定坏死的程度^[9],坏死细胞数量决定肝功能恶化程度^[10-11]。当大量凋亡肝细胞被吞噬细胞清除时,凋亡细胞将释放趋化因子吸引中性粒细胞等细胞浸润,库普弗细胞的激活,诱发炎症反应,并影响相邻肝细胞,产生的大量炎症因子,使线粒体 ATP 酶活性降低,线粒体功能减退,引起肝细胞损伤和坏死,导致肝功能损害^[12]。因此,术前肝脏穿刺或术中取肝组织检测肝细胞凋亡,对预测术后肝功能恢复情况、防止肝衰竭的发生有重要意义。

参考文献:

- [1] 吴泽建,张阳德,雷正明,等.血清核小体浓度与肝储备功能关系的探讨[J].中国现代医学杂志,2002,12(7):485-488.
- [2] 吕鹏,罗和兰,余保平.大鼠肝纤维化模型中肝细胞凋亡及其调控基因的表达[J].世界华人消化杂志,2001,9(2):165-168.

- [3] 章乐红,胡以则,焦群.原发性肝癌患者术前肝储备能力的估计[J].中国现代医学杂志,2000,10(7):67-69.
- [4] 元云飞,李国辉.术前肝储备功能评估对原发性肝癌手术的价值[J].中华肿瘤杂志,1995,17(5):377-379.
- [5] 王宇明,朱长连.临床医学科研方法[M].北京:人民军医出版社,1999.136.
- [6] Patel T, Gores CJ. Apoptosis and hepatobiliary disease[J]. Hepatology, 1995, 21(6):1725-1741.
- [7] 陈文斌,张瑞明,张笑春,等.肝糖原贮备的变化对热缺血再灌注期大鼠肝储备功能的影响[J].中国普通外科杂志,2005,14(7):492-496.
- [8] 姚光弼,范上达.临床肝脏病学[M].北京:人民卫生出版社,2004.102-105.
- [9] Kobayashi M, Tsujitani S, Kurisu Y, et al. Bcl-2 and Bax expression for hepatocellular apoptosis in a murine endotoxin shock model[J]. Hepatogastroenterology, 2002, 49(48):1602-1606.
- [10] 陈绪军,肖琦,艾中立,等.肝细胞损伤,细胞凋亡及肝细胞保护[J].国外医学外科学分册,2000,27(1):21-23.
- [11] Schumer M, Colombel MC, Sawczuk, IS, et al. Morphologic biochemical and molecular evidence of apoptosis during the reperfusion phase after brief periods renal ischemia[J]. Am J Pathol, 1992, 140(4):831-838.
- [12] 朱洪,郭永章,李立,等.阻断肝脏神经和抑制库普弗细胞对移植鼠肝保护作用的观察[J].中国普通外科杂志,2004,13(10):750-753.

欢迎订阅 2007 年《中国普通外科杂志》

《中国普通外科杂志》(ISSN 1005-6947/CN43-1213/R)由国家教育部主管,中南大学主办,中南大学湘雅医院承办。国内外公开发行(国内邮发代号:42-121;国际代码:M6436)。主编吕新生教授,顾问由中国科学院及工程院院士汤钊猷、吴孟超、吴咸中、郑树森、夏家辉、黄志强、裘法祖、黎介寿等十多位国内外著名普通外科专家担任,编委会由全国各地普通外资深专家、学科带头人近 80 人组成。出版周期短,时效性强。以传播现代普外科的新理念、新技术、新方法,以及普通外科领域的理论、实践、基础研究和相关方面的最新进展为宗旨,以开展国内外学术交流,促进普通外科学科发展为己任,服务于普外临床、教学、科研工作者。

《中国普通外科杂志》为中国科技论文核心期刊,设有栏目为述评、专家论坛、专题研究、基础研究、临床研究、综述、简要论著、临床报道、病例报告、病例讨论等,目前本刊已进入多个国内外重要检索系统和数据库,如美国化学文摘(CA),俄罗斯文摘(AJ),中国科技论文与引文数据库,中国学术期刊综合评价数据库,中国期刊网全文数据库,中文科技期刊数据库,中文生物医学期刊文献数据库(CMCC),万方数据-数字化期刊群,中国生物医学期刊光盘版等。创刊 15 年,多次获奖,2004 年获全国高校优秀科技期刊,2005 年获湖南省十佳科技期刊。

2007 年《中国普通外科杂志》(月刊),国际标准开本(A4),每期 80 页,每月 15 日出版。内芯采用进口亚光铜版纸印刷,封面美观大方。定价 9.50 元/册,全年 114 元。欢迎到全国各地邮局订购,邮发代号:42-121。

编辑部可办理邮购。编辑部地址:湖南省长沙市湘雅路 87 号(湘雅医院内),邮政编码:410008,电话(传真):0731-4327400, E-mail: zpwzcn@gmail.com, jcgxsyxc@126.com, 主页: http://www.periodicals.net.cn。