

文章编号:1005-6947(2006)01-0023-06

· 实验研究 ·

银杏叶提取物预处理对大鼠移植肝的保护作用

夏宗江, 叶启发, 明英姿, 周杰斌, 牛冰

(中南大学湘雅三医院 湘雅移植医学研究院, 湖南 长沙 410013)

摘要:目的 探讨银杏叶提取物(EGb)预处理对大鼠移植肝的保护作用。方法 采用Kamada's袖套法建立大鼠原位肝移植模型。将大鼠随机分为银杏叶提取物预处理(EGb)组、生理盐水对照(NS)组和假手术组(SO)。分别于供肝再灌注后2, 6, 24h处死动物, 检测血清ALT和AST; 肝组织组织学检查, TUNEL法检测细胞凋亡; RT-PCR检测肝组织TNF- α mRNA及Bcl-2 mRNA的表达。结果 供肝再灌注2, 6, 24h, EGb组血清ALT水平及细胞凋亡指数均明显低于生NS组($P < 0.01$)。血清AST水平在供肝再灌注2, 6h时明显低于NS组($P < 0.01$)。供肝再灌注后2, 6h时EGb组TNF- α mRNA的表达明显低NS组($P < 0.05$)。供肝再灌注后2, 6, 24hEGb组Bcl-2 mRNA的表达明显高于NS组($P < 0.01$)。结论 经EGb预处理供可减轻大鼠肝移植供肝的缺血/再灌注损伤和细胞凋亡, 影响TNF- α mRNA, Bcl-2 mRNA的表达, 对供肝有保护作用。

关键词: 肝移植; 再灌注损伤/预防和控制; 银杏叶提取物

中图分类号: R657.3; R619.9 **文献标识码:** A

Protective effect of Ginkgo Biloba leaves extracta preconditioning on liver graft in rat liver transplantation

XIA Zong-jiang, YE Qi-fa, MING Ying-zi, ZHOU Jie-bin, NIU Bing

(The Third Xiangya hospital, Institute of Organ Transplantation of Xiangya School of Medicine, Central South University Changsha, Hunan 410013, P. R. china)

Abstract: **Objective** To investigate the protective effects of Ginkgo Biloba leaves (EGb) preconditioning on liver graft in rat liver transplantation. **Methods** Male Sprague-Dawley rats were used as donors and recipients of orthotopic liver transplantation (OLT). The rats were randomly divided into EGb group, normal saline (NS) control group and sham operation (SO) group. The animals were killed at 2h, 6h, 24h after graft reperfusion. Plasma samples were collected for ALT and AST test. Liver tissues were collected to detect the expression of TNF- α mRNA and Bcl-2 mRNA by RT-PCR. Also, liver tissues were used to detect rat liver histological change and apoptosis by TUNEL. **Results** The serum levels of ALT in EGb group were significantly lower than the NS group ($P < 0.01$) at 2h, 6h and 24h after reperfusion. The serum levels of AST in EGb group were significantly lower than the NS group ($P < 0.01$) at 2h and 6h after reperfusion. The apoptosis index (AI) of liver tissue in EGb group was significantly lower than the NS group ($P < 0.01$) at 2h, 6h and 24h after reperfusion. The expression of TNF- α mRNA was significantly lower in EGb group than the NS group ($P < 0.05$) at 2h and 6h after reperfusion. The expression of Bcl-2 mRNA was significantly higher in EGb group than the NS group ($P < 0.01$) at 2h, 6h and 24h after reperfusion. **Conclusions** Preconditioning with extracta of Ginkgo Biloba leaves can attenuate liver graft ischemia/reperfusion injury and apoptosis of rat hepatocytes by affecting the expression of TNF- α mRNA, and Bcl-2 mRNA and exert a protective effect on the liver graft.

收稿日期:2005-08-24; 修订日期:2005-10-28。

作者简介: 夏宗江, 男, 河南郑州人, 中南大学湘雅三医院湘雅移植医学研究院博士研究生, 主要从事器官移植方面的研究。

通讯作者: 夏宗江 电话:13975873323; E-mail: xiazongjiang66@hotmail.com

Key words: Liver Transplantation; Reperfusion Injury/prev; Extracta of Ginkgo Biloba Leaves

CLC number: R657.3; R619.9

Document code: A

21世纪以来肝移植手术获得快速的发展,然而在供肝获取过程中发生的移植肝缺血/再灌注(I/R)损伤,不仅导致移植肝原发性无功能,而且可增强移植肝的免疫原性,增加急、慢性排斥反应的发生率。移植肝I/R损伤的确切机制仍不甚明了。越来越多的证据表明,细胞凋亡在移植肝I/R损伤的发生机制中占有重要地位。针对细胞凋亡各种途径的治疗策略,可有效地减轻移植肝I/R损伤。如何减轻肝移植术后的这种损伤,提高肝移植的长期存活率是目前研究的热点。银杏叶提取物(ginkgo biloba extract, EGb)是从银杏叶中提取的有效成分的化合物,主要为总黄酮类及银杏内酯等;其有独特的抗自由基及调整循环系统,改善血液循环,组织保护等作用^[1]。本实验利用大鼠肝移植I/R损伤模型观察EGb对大鼠肝移植I/R损伤的保护作用。

1 材料与方法

1.1 材料

雄性SD大鼠90只,购于中南大学实验动物中心,体重280~320g。常规显微手术器械(上海医疗器械有限公司手术器械厂)、EGb注射液(每支5mL注射液含17.5mg EGb,标定含银杏黄酮甙4.2mg,1mL注射液含40mg山梨醇及3.5%体积比的乙醇,购自德国威玛舒培博士药厂)、7-0带线缝合针(上海医用缝合针厂)。

1.2 动物模型制作

大鼠原位肝移植模型采用Kamada's袖套法^[2]。乙醚吸入麻醉,肝上下腔静脉用7-0带线缝合针连续缝合,肝下腔静脉重建采用套管法(内经0.3cm的聚乙烯管),门静脉重建采用套管法(内经0.2cm的聚乙烯管),胆总管重建采用插管法(0.5cm长的硬膜外导管),肝动脉不予重建。供肝的热缺血时间0~1min,冷缺血时间90min,无肝期平均为18~22min(19.67±1.63)min。EGb组:于切取供肝前1h经阴茎背静脉注射EGb 40mg/kg+NS共2mL。NS组:于切取供肝前1h经阴茎背静脉注射NS 2mL。SO组:打开腹腔,充分游离肝脏、结扎左膈静脉、左肝至食管周围的静脉、右肾上腺静脉,然后关

腹,SO组不进行肝移植。

1.3 动物分组及取材

将成模大鼠随机分为:银杏叶提取物预处理组(简称EGb组)供体18只,受体18只;生理盐水对照组(NS组)供体18只,受体18只;另设假手术组(SO组)18只。分别于大鼠肝移植供肝再灌注后或术后2,6,24h处死动物,每个时间点每组6只。

1.4 标本处理及病理学检查

动物处死后立即从下腔静脉采血4mL送检肝功能(ALT,AST)。将用0.1%焦碳酸二乙酯(DEPC)处理过的5mL冻存管保存于-80℃超低温冰箱备用。剩下的肝脏用10%甲醛固定,石蜡包埋,行4μm连续切片,HE染色,普通光学显微镜下观察肝组织的情况。

1.5 TUNEL法检测肝细胞凋亡

操作按细胞凋亡试剂盒(武汉博士德生物工程有限公司)说明书进行。在末端脱氧核糖核酸转移酶介导下,使生物素化的三磷酸脱氧尿苷标记至DNA断裂后形成的3'-OH末端,借助生物素与亲和素的特异结合,使过氧化物酶连接至DNA断点,再加入底物,最后常规二氨基联苯胺液显色,苏木素复染。阳性对照采用试剂盒所带阳性片,阴性对照用磷酸缓冲液(PBS)替代末端脱氧核糖核酸转移酶。光学显微镜下观察细胞核中有棕黄色着色者为凋亡细胞。凋亡细胞的形态符合以下4点:单个细胞、周围无炎症反应及坏死、细胞膜皱缩及细胞核致密深染呈棕黄色颗粒或碎片。每例切片计数5个400倍视野的凋亡细胞数,然后按公式计算细胞凋亡指数(AI)。AI=凋亡细胞数/总细胞数×100%。

1.6 逆转录多聚酶链式反应(RT-PCR)检测大鼠肝组织中肿瘤坏死因子(TNF)-α mRNA, Bcl-2 mRNA的表达

用Trizol RNA提取试剂盒(美国Gibco公司)提取肝组织中的总RNA;按逆转录试剂盒(美国MBI公司)说明合成cDNA。大鼠TNF-α, Bcl-2, β-actin基因系列分别查自GeneBank X66539, NM016993, BC063166。TNF-α, Bcl-2, β-actin的PCR引物(上海博亚生物技术有限公司)及反应条件见表1。

PCR 反应产物经 1.5% 琼脂糖凝胶电泳(含 0.5 μg/mL), SYNGENE 凝胶成像系统自动扫描, TNF-α 和 Bcl-2 吸光度值分别与 β-actin 吸光度值的比值代表 TNF-α 和 Bcl-2 的相对表达水平。

表 1 TNF-α, Bcl-2, β-actin 的引物序列及 PCR 反应条件

引物	PCR 产物	上、下游引物	PCR 反应条件
TNF-a	209bp	5'-TGATCCGAGATGTGGAAC TG-3' 5'-GGCCATGGA ACTGATGAGAG-3'	94℃ 5min; 94℃ 45s, 60℃ 45s, 72℃ 45s, 29cycles; 72℃ 10min
Bcl-2	446bp	5'-GCTACGAGTGGGATACTGGAGA-3' 5'-AGTCATCCACAGAGCGATGTT-3'	94℃ 5min; 94℃ 45s, 58℃ 45s, 72℃ 45s, 30cycles; 72℃ 10min
β-actin	277bp	5'-ACCACAGCTGAGAGGGAAATCG-3' 5'-AGAGGTCTTTACGGATGTCAACG-3'	

1.7 统计学处理

采用 SPSS 11.0 版统计软件进行统计。实验数据以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 两样本均数比较用 *t* 检验, 多个样本均数间比较用单因素方差分析, 多个均数间的两两比较用 *q* 检验, 以 $\alpha = 0.05$ 作为检验水准。

2 结果

2.1 血清 ALT 及 AST 水平

供肝再灌注后 2, 6, 及 24 h 血清 ALT 和 AST 水

平 NS 组及 EGb 组均较 SO 组明显升高 ($P < 0.01$); EGb 组血清 ALT 水平在供肝再灌注后 2, 6, 24h, AST 水平在供肝再灌注后 2, 6h 均较 NS 组明显降低 ($P < 0.01$) (表 2)。

2.2 病理组织学改变

SO 组的肝组织结构未见明显异常改变; NS 组及 EGb 组的肝组织可见不同程度的肝窦充血和肝细胞肿胀及坏死; EGb 组的肝组织的损害程度较 NS 组轻(图 1 - 2)。

表 2 大鼠移植肝再灌注后各时点血清 ALT 和 AST 水平 (U/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	ALT			AST		
		2h	6h	24h	2h	6h	24h
SO	6	55.33 ± 8.04	60.50 ± 8.28	59.33 ± 7.26	147.83 ± 21.71	148.50 ± 16.34	143.67 ± 17.58
NS	6	1116.17 ± 196.69 ¹⁾	1488.50 ± 197.67 ¹⁾	528.00 ± 98.29 ¹⁾	1149.83 ± 133.58 ¹⁾	1715.83 ± 131.59 ¹⁾	633.33 ± 126.68 ¹⁾
EGb	6	522.67 ± 97.61 ^{1), 2)}	1020.33 ± 115.04 ^{1), 2)}	174.5 ± 60.70 ^{1), 2)}	461.00 ± 149.13 ^{1), 2)}	1046.17 ± 125.28 ^{1), 2)}	181.67 ± 38.65 ¹⁾

注: 1) 与 SO 组比较, $P < 0.01$; 2) 与 NS 组比较, $P < 0.01$

图 1 再灌注后 6 h NS 组大鼠肝组织 HE 染色

图 2 再灌注后 6 h EGb 组大鼠肝组织 HE 染色

2.3 大鼠肝组织 AI

SO 组各时点肝组织中仅有极少量的凋亡细胞; NS 组及 EGb 组各时点的 AI 值均高于 SO 组 ($P <$

0.01), 移植肝再灌注后 6 h AI 值最高; NS 组 AI 值在 2, 6, 24 h 均明显高于 EGb 组 ($P < 0.01$) (表 3) (图 3 - 4)。

表 3 各组大鼠移植肝再灌注后各时点肝组织 AI 值 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	2h	6h	24h
SO	6	2.08±0.49	2.10±0.33	1.98±0.41
NS	6	26.30±4.07 ¹⁾	36.60±3.88 ¹⁾	34.56±3.90 ¹⁾
EGB	6	18.63±3.13 ^{1),2)}	24.63±2.69 ^{1),2)}	23.63±5.07 ^{1),2)}

注:1)与SO组比较, $P < 0.01$; 2)与NS组比较, $P < 0.01$

2.4 大鼠肝组织中 TNF- α mRNA 和 Bcl-2 mRNA 的表达

表 4 各组移植肝再灌注后各时点肝组织 TNF- α mRNA 和 Bcl-2 mRNA 的表达 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	TNF- α			Bcl-2		
		2h	6h	24h	2h	6h	24h
SO	6	0.13±0.06	0.15±0.09	0.16±0.09	0.12±0.05	0.13±0.05	0.14±0.03
NS	6	0.54±0.19 ¹⁾	0.74±0.10 ¹⁾	0.53±0.16 ¹⁾	0.44±0.10 ¹⁾	0.48±0.11 ¹⁾	0.49±0.11 ¹⁾
EGB	6	0.34±0.06 ^{1),2)}	0.53±0.12 ^{1),3)}	0.46±0.10 ¹⁾	0.74±0.13 ^{1),3)}	0.92±0.12 ^{1),3)}	0.98±0.20 ^{1),3)}

注:1)与SO组比较, $P < 0.01$; 2)与NS组比较, $P < 0.05$; 3)与NS组比较 $P < 0.01$

SO 组肝组织中 TNF- α mRNA 和 Bcl-2 mRNA 仅少量表达,而 NS 组及 EGB 组表达明显增高 ($P < 0.01$)。NS 组及 EGB 组的 TNF- α mRNA 在肝移植再灌注后 6h 达到高峰,以后下降;在 2h 及 6h 时点, EGB 组的 TNF- α mRNA 的表达量明显低于 NS 组 ($P < 0.01$)。随着供肝再灌注时间的延长,NS 组及 EGB 组 Bcl-2 mRNA 的表达量逐渐增高,供肝再灌注后 2, 6 及 24h EGB 组的 Bcl-2 mRNA 的表达量明显高于 NS 组 ($P < 0.01$) (表 4) (图 5-6)。

图 3 再灌注后 6h NS 组大鼠肝组织 TUNEL 染色

图 4 再灌注后 6h EGB 组大鼠肝组织 TUNEL 染色

图 5 Bcl-2 mRNA 的 RT-PCR 结果

图 6 TNF- α mRNA 的 RT-PCR 结果

3 讨论

I/R 损伤是引起移植术后脏器无功能的重要原因之一, I/R 损伤和移植物早期、晚期存活都有

关。I/R 激活供肝内皮细胞,使其黏附因子如选择素、细胞间黏附因子 1 (ICAM-1) 表达上调,细胞因子如 TNF- α , 干扰素 (IFN- γ), 转化生长因子 (TGF- β) 大量释放,导致供者白细胞和内皮细胞

通过细胞间因子相互作用,白细胞和激活的 T 细胞聚集;同时再激活的细胞因子作用下主要组织相容性抗原(MHC)复合物表达上调,供肝免疫原性增加,最终使移植物发生急性排斥反应。细胞因子和黏附因子的阶梯式反应破坏移植物血管壁,在内皮生长因子、趋化因子等细胞的作用下,细小血管发生分化、增生,细小动脉硬化,发生类似慢性排斥反应的变化,最终导致移植物功能丧失^[3-4]。

I/R 损伤的机制复杂,涉及多个细胞系,且形成相互作用的网络,且有供者白细胞和血小板参与,此外还有且有其自身特点,包括窦内皮细胞损伤、白细胞黏附、血小板黏附及高凝状态,可引起微循环障碍及激活白细胞、淋巴细胞等^[4-5]。肝脏 I/R 损伤包括间质细胞(肝窦内皮细胞)和肝脏实质细胞(肝细胞和胆管细胞)损伤。肝窦内皮细胞对低温保存及 I/R 损伤较为敏感,是肝脏损伤的始动因子,它激活和损伤程度决定了肝实质细胞的存活^[6]。在肝脏低温保存过程中,窦内皮细胞发生渐进性损伤,变形肿胀,肝窦内大泡形成。再灌注后,损伤进一步加重,窦内皮细胞发生坏死脱落,造成微循环不良。窦内皮细胞可释放大量氧自由基及其衍生物如血小板活化因子(PAF),磷脂酶 A₂(PLA₂)等引起白细胞、淋巴细胞、血小板粘附及激活凝血因子造成高凝状态。白细胞粘附与氧自由基产生构成恶性循环,相互促进,使移植物在灌流初期经历类似氧自由基为介导的炎症反应,白细胞大量聚集,损害微循环,产生无复流现象^[7-8]。

在肝脏保存及再灌注损伤过程中,有 9 大因子起作用,即:氧自由基、细胞因子、蛋白酶、Ca²⁺、磷脂酶 A₂、花生四烯酸产物、血小板激活因子、内皮素、内毒素^[3]。这些因子并非独立起作用,而是相互促进,构成网络式或瀑布式反应,这使 I/R 损伤机制更为复杂^[9-10]。

EGb 具有强烈的抗自由基作用^[1]。其抗氧化作用的主要包括:(1)在氧自由基生成的位点直

接清除氧自由基,它所含有的多种黄酮甙,能清除并分解超氧阴离子。(2)抑制促氧自由基生成的潜在催化剂,如活化金属离子衍生物等。(3)黄酮类化合物对多种酶有抑制作用,减少超氧负离子的产生,抑制脂质过氧化物生成。EGb 还有其他主要的药理作用,如:(1)调整循环系统,通过刺激儿茶酚胺的释放和抑制降解,以及通过刺激前列环素和内皮舒张因子的生成而产生动脉舒张作用,共同保持动、静脉血管的张力。(2)改善血流动力学,降低全血黏稠度,增进红细胞和白细胞的可塑性,改善血液循环等。(3)组织保护作用:增加对缺血组织的氧及葡萄糖的供应量,增加某些神经递质受体的数量,如毒蕈碱样、去甲肾上腺素以及 5-羟色胺受体。研究表明 EGb 对多种组织器官(心、脑等)的 I/R 损伤具有保护作用^[11,12]。本组研究结果提示 EGb 组的供肝可以有效地减轻大鼠肝移植术后的 I/R 损伤。本实验还发现 EGb 具有抗细胞凋亡作用;其机制可能与 EGb 的抗氧自由基损伤,及对细胞凋亡控制基因的影响有关。

Bcl-2 是 Bcl 家族中重要的抗凋亡蛋白。可通过阻止线粒体通透性的增高和细胞色素 C 的释放,阻断 Fas 诱导的细胞凋亡途径以及已知各种 caspase 的活性而发挥抗凋亡作用^[12-16]。正常大鼠肝细胞不表达 Bcl-2 基因,而在 I/R 损伤后的大鼠肝细胞表达。可能为机体对 I/R 损伤的适应性反应。本研究发现供肝再灌注后 2, 6, 24 h 各时点, Bcl-2 mRNA 的表达逐渐增加,反映了机体对 I/R 损伤的适应性反应。EGb 组 Bcl-2 mRNA 的表达量明显高于 NS 组,而 EGb 组细胞 AI 明显低于 NS 组,表明 EGb 减轻大鼠肝移植的细胞凋亡和 I/R 损伤的机制可能与促进 Bcl-2 的表达有关。

TNF- α 是肝脏 I/R 损伤的重要细胞因子,其在肝脏的 I/R 损伤过程中 TNF- α 表达增加,且启动肝细胞凋亡和/或坏死^[15]。TNF- α 来源于 Kupffer 细胞,其作用机制是激活内皮细胞,引起高凝活性表达,减少蛋白 C 激活,激活膜结合抗原内皮细胞

及白细胞因子过度表达。在大鼠肝移植过程中, 肠系膜血流凝滞, 黏膜通透性增加, 促进内毒素自肠管向门静脉的转运及细菌移位。肝内 Kupffer 细胞在门静脉的刺激下, 分泌及合成 TNF- α 增加, 从而参与移植的病理进程^[17]。本研究中, 供肝再灌注后 TNF- α 的表达水平较 SO 组明显升高。供肝再灌注后 2 和 6 h, EGb 组肝组织中 TNF- α mRNA 的表达水平较 NS 组明显降低, 提示抑制 TNF- α 的表达可能是 EGb 保护移植肝 I/R 损伤的机制之一。

综上所述, 本实验发现银杏叶提取物预处理大鼠肝移植的供肝可以有效地减轻移植肝 I/R 损伤和细胞凋亡, 影响凋亡调控基因 Bcl-2 和 TNF- α 的表达。这可能是 EGb 抗细胞凋亡的机制之一。

参考文献:

- [1] Yoshikawa T, Naito Y, Kondo M. Ginkgo biloba leaf extract: review of biological actions and clinical applications [J]. *Antioxid Redox Signal*, 1999, 1 (4): 469 - 480.
- [2] Kamada N, Calne RY. Orthotopic liver transplantation in the rat. Technique using cuff for portal vein anastomosis and biliary drainage [J]. *Transplantation*, 1979, 28 (1): 47 - 50.
- [3] Massberg S, Messmer K. The nature of ischemia/reperfusion injury [J]. *Transplantation*, 2001, 71 (5): 875 - 879.
- [4] Waterhouse NJ, Goldstein JC, Kluck RM, *et al.* The (Holey) study of mitochondria in apoptosis [J]. *Methods Cell Biol*, 2001, 66 (2): 365 - 391.
- [5] 李涛, 邹志森, 万仁华. 肝缺血再灌注损伤对大鼠血小板功能状态的影响 [J]. *中国普通外科杂志*, 2004, 13 (8): 624 - 625.
- [6] Kang KJ. Mechanism of hepatic ischemia/reperfusion injury and protection against reperfusion injury [J]. *Transplant Proc*. 2002, 34 (7): 2659 - 2661.
- [7] Huet PM, Nagaoka MR, Desbiens G, *et al.* Sinusoidal endothelial cell and hepatocyte death following cold ischemia-warm reperfusion of the rat liver [J]. *Hepatology*, 2004, 39 (4): 1110 - 1119.
- [8] Kohli V, Selzner M, Madden JF, *et al.* Endothelial cell and hepatocyte deaths occur by apoptosis after ischemia-reperfusion injury in the rat liver [J]. *Transplantation*, 1999, 67 (8): 1099 - 1105.
- [9] Jaeschke H. Molecular mechanisms of hepatic ischemia-reperfusion injury and preconditioning [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2003, 284 (1): G15 - 26.
- [10] Kupiec-Weglinski JW, Busutil RW. Ischemia and reperfusion injury in liver transplantation [J]. *Transplant Proc*, 2005, 37 (4): 1653 - 1656.
- [11] Zhang YY, Li PF, Li D. Effect of Ginkgo biloba leaf extract on electroencephalography of rat with cerebral ischemia and reperfusion [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2003, 24 (2): 157 - 162.
- [12] Shen JG, Zhou DY. Efficiency of Ginkgo biloba extract (EGb 761) in antioxidant protection against myocardial ischemia and reperfusion injury [J]. *Biochem Mol Biol Int*. 1995, 35 (1): 125 - 134.
- [13] Selzner M, Rudiger HA, Selzner N. Transgenic mice over expression human Bcl-2 are resistant to hepatic ischemia and reperfusion [J]. *J Hepatol*, 2002, 36 (2): 218 - 225.
- [14] Kienle K, Rentsch M, Muller T, *et al.* Expression of BCL-2 in liver grafts after adenoviral transfer improves survival following prolonged ischemia and reperfusion in rat liver transplantation [J]. *Transplant Proc*, 2005, 37 (1): 439 - 441.
- [15] Maulik N, Engelman RM, Rousou JA, *et al.* Ischemic preconditioning reduces apoptosis by upregulating antideath gene bcl-2 [J]. *Circulation*, 1999, 13 (2): 253 - 256.
- [16] 陈能志, 吕新生, 魏尚典, 等. 缺血预处理对鼠肝细胞凋亡及调控基因 (Bcl-2, Fas) 蛋白表达的影响 [J]. *中国普通外科杂志*, 2001, 10 (4): 334 - 338.
- [17] Kang J, Yang J, Wu M, *et al.* The relationship between tumor necrosis factor and injuries of liver graft and lung after orthotopic liver transplantation in rats [J]. *Zhonghua Waikexue*. 1999, 37 (1): 22 - 24.