

# 实验性肝损伤机制研究进展

张欣, 党双锁 (西安交通大学第二医院 感染科, 西安 710004)

所有类型的急慢性肝损伤如中毒性、营养性、免疫性、胆汁淤积性、酒精性、遗传性及代谢性肝损伤等均可引起肝细胞坏死、胆汁淤积、肝坏死、肝硬化、肉芽肿性肝炎、脂肪肝、肝血管损害、胆管炎及肝良恶性肿瘤等一系列后果。对各种肝损伤进行干预是保护肝脏的重要课题。通过建立实验性肝损伤动物模型对于探讨肝损伤的发生机制, 筛选保肝药物, 进而对肝硬化和肝癌的预防治疗发挥不可缺少的作用。本文简要介绍近年来国内外对实验性肝损伤机制的研究状况。

## 1 化学性肝损伤

**1.1 四氯化碳肝损伤机制** 四氯化碳 (Carbon Tetrachloride,  $\text{CCl}_4$ ) 又称四氯甲烷, 是一种选择性肝脏毒性物质, 主要经呼吸道和消化道进入体内, 对人和动物均可致肝损伤。其进入肝细胞后通过P450酶代谢激活为三氯甲基自由基 ( $\text{CCl}_3\cdot$ ) 和过氧化三氯甲基自由基 ( $\text{OOCCL}_3\cdot$ ) 而供给肝细胞膜和内质网上的磷脂分子, 引发一系列的脂质过氧化反应<sup>[1]</sup>造成大鼠肝抗氧化酶SOD活性显著降低, 脂质过氧化物显著升高, 引起肝细胞膜的脂质破坏和蛋白变性<sup>[2]</sup>及线粒体的脂质溶解, 损害膜的结构和功能<sup>[3]</sup>从而影响代谢和能量的生成, 同时 $\text{CCl}_4$ 代谢产物抑制细胞膜及线粒体膜上钙泵的活动, 导致大量 $\text{Ca}^{2+}$ 内流, 使肝细胞变性、坏死。而高浓度 $\text{CCl}_4$ 自身的溶酶作用可导致肝细胞损伤。其中以自由基损伤为主。

有关研究显示<sup>[4,5]</sup>, 肝细胞坏死后释出的细

胞内容物, 部分是致炎因子, 部分是有丝分裂因子。致炎因子导致炎性的产生, 炎性细胞释放的细胞因子如TNT和巨细胞介素-1等, 使Disse腔的储脂细胞转化成纤维母细胞, 并产生大量的I型和III型胶原。而有丝分裂因子具有刺激细胞分裂增殖作用, 可使纤维母细胞和肝细胞增生。

**1.2 D-氨基半乳糖肝损伤机制<sup>[6-8]</sup>** D-氨基半乳糖 (D-galactosamine, D-GalN) 是肝细胞磷酸尿嘧啶核苷的干扰剂, 其与肝细胞内尿苷二磷酸 (UDP) 特异性结合, 形成UDP-半乳糖胺复合物, 使尿苷三磷酸 (UTP) 含量降低、尿苷二磷酸葡萄糖 (UDPG) 严重减少。另外, D-GalN在半乳糖激酶作用下生成1-磷酸氨基半乳糖, 使UDPG-焦磷酸转移酶活性下降。由于大量消耗UDPG, UTP减少, 而使RNA合成减少, UMP减少又使DNA合成减少, 进一步使蛋白质、糖原合成受阻, 引起磷脂代谢障碍、膜损伤加重, 肝细胞内 $\text{Ca}^{2+}$ 增多,  $\text{Mg}^{2+}$ 减少。胞内 $\text{Ca}^{2+}$ 增多抑制线粒体功能, 激活磷脂酶、分解膜磷脂、破坏溶酶体膜、使蛋白水解酶释放、黄嘌呤脱氢酶转化为黄嘌呤氧化酶, 加速氧自由基 (OFR) 的产生, 导致肝损伤进一步加剧。有报道D-GalN还可通过促进内毒素的产生、刺激激活Kupffer细胞及中性粒细胞, 诱发 $\text{TNF } \alpha$ 、 $\text{IFN-}\gamma$ 、多种巨细胞介素及补体成分, 引起细胞坏死凋亡。

**1.3 醋氨酚肝损伤机制** 醋氨酚亦名对乙酰氨基酚、扑热息痛 (acetaminophen, APAP) 是一种解热镇痛药, 治疗剂量对人是安全的, 但在肝功能不全或APAP短时间内大量进入机体, 超过肝脏对APAP的代谢能力时, 过剩的APAP经肝脏P450酶代谢成半醌类中间产物, 同时氧分子也被氧化活

基金项目: 国家自然科学基金 (NO: 30670961)  
通讯作者: 党双锁 Email: dang212@126.com

化成活性氧( $O_2^{\cdot-}$ ,  $H_2O_2$ ), 从而导致肝细胞内谷胱甘肽(GSH)被耗竭, 可造成NAPQI堆积并与肝细胞内大分子物质核酸、蛋白质发生共价结合, 使生物膜系统发生脂质过氧化, 最终导致肝细胞变性坏死。

**1.4 氰化钾肝损伤机制<sup>[9,10]</sup>** 氰化钾(potassium cyanide, KCN)是细胞呼吸链细胞色素氧化酶的抑制剂, KCN与该酶的三价铁结合, 使其不能接受细胞色素C的电子, 结果导致呼吸链中断, 生物氧化不能正常进行。有氧呼吸产生ATP迅速减少, 细胞能量严重不足, 损伤肝细胞。同时KCN致细胞缺氧期间, 能量不足, 抑制了还原反应, 分子氧氧化成毒性超阴离子氧 $O_2^{\cdot-}$ , 继而引发自由基连锁反应, 产生毒性自由基(如 $H_2O_2$ 、OH等)攻击细胞膜, 诱发脂质过氧化反应损伤细胞, 或与大分子物质DNA、RNA及蛋白质交联, 破坏其结构和功能。同时, KCN抑制ATP的生成, ATP减少使胞内 $K^+$ 大量丢失、 $Na^+$ 大量堆积引起细胞肿胀。 $Mg^{2+}$ 从 $Mg^{2+}$ -ATP复合物释出, 使 $Mg^{2+}$ 依赖的细胞核酸内切酶激活, DNA降解。胞膜上 $Ca^{2+}$ 通道阻断, 胞内游离 $Ca^{2+}$ 升高, 激活 $Ca^{2+}$ 依赖的蛋白质酶, 降解细胞骨架, 从而使肝损伤加剧。

## 2 免疫性肝损伤

一般认为, 肝内免疫反应是引起病毒性肝损伤的重要机制之一, 例如乙型肝炎的发病过程中, 引起肝细胞损伤和破坏的直接因素是T细胞介导的细胞免疫反应。此以免疫学机制诱发的肝损伤模型的建立, 为肝损伤的研究开辟了新的途径, 对研究病毒性肝炎的防治具有重要意义。

**2.1 卡介苗(BCG)加脂多糖(LPS)诱导法** LPS是T细胞依赖性抗原, 目前, 其毒性机制尚未彻底阐明, 已提出如下假说, 单核细胞或巨噬细胞在致炎因子作用下, 向肝脏积聚并被致敏, 这些致敏的巨噬细胞在接触LPS后, 会释放一些毒性介质, 如自由基、白三烯、TNF、IL-1、IL-6等, 从而造成肝细胞损害。

**2.2 刀豆蛋白A(concanavalin A, Con A)肝损伤的机制** Con A是一种T细胞丝裂原, 可激活T细胞

分泌各种细胞因子, 引起特异性肝损伤, 肝实质可见大量淋巴细胞浸润, 主要以CD4<sup>+</sup>淋巴细胞为主<sup>[11]</sup>。人类慢性活动性乙型肝炎或丙型病毒性肝炎在肝纤维化的同时也伴随大量激活的T淋巴细胞浸润<sup>[12]</sup>。而Con A诱导的肝纤维化可激起机体的免疫反应如T淋巴细胞浸润、细胞因子分泌等, 更接近于人类肝纤维化疾病的病变特征。

**2.3 异种动物血清及蛋白诱导肝损伤的机制** 慢性肝病迁延不愈的本质与免疫反应有关。常用异种动物血清(包括猪、牛、马血清)及异种蛋白(包括猪白蛋白、血清球蛋白、人丙种球蛋白、人白蛋白)等注射建立免疫肝损伤性模型, 其机理是引发机体免疫应答, 在肝脏门脉汇管区形成免疫复合物沉积, 该沉积的免疫复合物引起局部炎性反应, 进一步刺激胶原增生而造成肝组织纤维化<sup>[13]</sup>。

## 3 酒精性肝损伤

肝是乙醇代谢的主要场所, 在其代谢过程中, 乙醇被氧化成乙醛, 约80%被肝细胞液中的乙醇脱氢酶催化, 释放大量氢离子, 引起异常的氧化还原反应; 另有10%~20%乙醇被肝细胞微粒体乙醇氧化系统催化, 产生大量自由基而导致肝细胞损害。

乙醇可使动物肝脏氧利用率增加, 增加血窦中血氧消耗, 从而减少对小叶中心肝细胞的氧供, 引起该区肝细胞的退化与坏死, 坏死与炎症是促发胶原纤维形成的因素<sup>[14]</sup>。

## 4 其他

**4.1 营养和代谢性肝损伤** 乳清酸代谢产物乳清酸可造成高尔基体内糖基化障碍, VLDL组装分泌障碍, 脂质不能从肝细胞中运出引起细胞脂变。大鼠对乳清酸敏感, 雌大鼠更易脂变。饲喂1%乳清酸饮食3~4天即引起脂变伴转氨酶轻度升高, VLDL降低。用缺乏胆碱和蛋氨酸的低蛋白高脂饲料喂养幼年大鼠可造成脂肪代谢障碍, 3个月可发展成脂肪性肝硬化, 并且与人酒精性肝硬化相似。该模型适合研究饮食中脂肪含量与胆碱缺乏和肝硬化的关系。

**4.2 寄生虫性肝损伤** 血吸虫感染实验动物,虫卵随血流至肝脏沉积导致肝损害,特点是肝内门静脉分支与门脉区纤维增生,门脉周围硬化产生门脉阻塞。此模型最接近人类血吸虫病性肝纤维化,适用于研究血吸虫病性肝纤维化的形成机制以及防治和药物筛选。

## 5 结语

实验性肝损伤模型是研究肝病的重要工具。建立一个能反映人类肝损伤的动物模型,应关注人和动物种属差别、不同的致肝损伤因素及相应的肝损伤机制。理想的肝损伤模型的病理改变呈阶段性,具有可逆与不可逆的阶段性演进过程,与人类疾病所致损伤的形态特点类似,造模方法简单、模型形成率、重现性好。但迄今为止,尚无与人类肝损伤完全相似的模型,目前常用的化学中毒性肝损伤、免疫性肝损伤等,这与人类肝损伤的发病机制存在差异,尚需进一步深入研究。

实际上,现实中的肝损害往往是几种损伤因素共同作用的结果。复合因素致肝损伤方法虽然比较繁琐,但其与人类疾病比较相似,并可缩短造模时间、增加成功率、重复性好,是较理想的动物模型。

## 参考文献

- [1] Lee TY, Wang GJ, Chiu JH, et al. Long-term administration of Salvia miltiorrhiza ameliorates carbon tetrachloride-induced hepatic fibrosis in rats[J]. J Pharm Pharmacol, 2003, 55: 1561-1568.
- [2] Dang SS, Zhang X, Jia XL, et al. Protective effects of emodin and astragalus polysaccharides on chronic hepatic injury in rats[J]. Chin Med J (Engl), 2008, 121: 1010-1014.

- [3] Weber LW, Boll M, Stampfl A. Hepatotoxicity and mechanism of action of haloalkanes: carbon tetrachloride as a toxicological model[J]. Crit Rev Toxicol, 2003, 33: 105-136.
- [4] Muriel P, Alba N, Perez-Alvarez VM, et al. Kupffer cells inhibition prevents hepatic lipid peroxidation and damage induced by carbon tetrachloride[J]. Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol, 2001, 130: 219-226.
- [5] Muriel P. Nitric oxide protection of rat liver from lipid peroxidation, collagen accumulation, and liver damage induced by carbon tetrachloride[J]. Biochem Pharmacol, 1998, 56: 773-779.
- [6] 李宏涛, 陈国民. D-氨基半乳糖研究的回顾和展望[J]. 肝脏, 2004, 9: 209-210.
- [7] 李萍, 谢金群, 林霞云. 余量对D-半乳糖胺致小鼠急性肝损伤的影响[J]. 云南中医杂志, 2003, 24: 33-34.
- [8] Macrides TA, Naylor LM, Kalafatis N, et al. Hepatoprotective effects of the shark bile salt 5 beta-scymnol on acetaminophen-induced liver damage in mice [J]. Fundam Appl Toxicol, 1996, 33: 31-37.
- [9] Bac DJ, Pruimboom WM, Mulder PG, et al. High interleukin-6 production within the peritoneal cavity in decompensated cirrhosis and malignancy-related ascites[J]. Liver, 1995, 15: 265-270.
- [10] Popper H. Hepatocellular Degeneration and Death. The liver biology pathobiology[J]. New York: Raven, 1998, 1087.
- [11] Kaneko Y, Harada M, Kawano T, et al. Augmentation of Valpha14 NKT cell-mediated cytotoxicity by interleukin 4 in an autocrine mechanism resulting in the development of concanavalin A-induced hepatitis[J]. J Exp Med, 2000, 191: 105-114.
- [12] Kobayashi S, Seki S, Kawada N, et al. Apoptosis of T-cells in the hepatic fibrosis tissue of the rat: a possible inducing role of hepatic myofibroblast-like cells [J]. Cell tissue Res, 2003, 311: 353-364.
- [13] Bhunchet E, Eishi Y, Wake k, et al. Contribution of immune response to the hepatic fibrosis induced by porcine serum [J]. Hepatology, 1996, 23: 811.
- [14] 林红, 吕淼, 张义侠, 等. 酒精性肝病大鼠模型的建立[J]. 世界华人消化杂志, 2001, 9: 24-28.

收稿日期: 2008-07-15