

# 动物肝再生模型研究进展

马克学, 席兴宇 (1. 河南师范大学生命科学学院, 河南新乡 453007; 2. 新乡学院教科系, 河南新乡 453003)

**摘要** 对动物肝再生模型进行了综述, 包括部分肝切除模型、门静脉分支结扎模型、化学药物损伤模型。

**关键词** 肝再生; 动物模型; 肝切除; 肝损伤

中图分类号 S851 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2009)13-06021-02

## Progress in Models of Animal Liver Regeneration

MA Ke-xue et al (College of Life Sciences, Henan Normal University, Xinxiang, Henan 453007)

**Abstract** Various models of animal liver regeneration were reviewed, which included partial hepatectomy model, portal branch ligation model, chemical drug injury model.

**Key words** Liver regeneration; Animal model; Hepatectomy; Liver injury

肝脏是人和动物体内最重要的器官之一, 承担着至少五千种以上的生理功能。近年来, 由化学因素和生物因素(如肝炎病毒)导致的肝硬化和肝癌的发病率逐年增高, 而区域性切除病变肝脏是治疗这类疾病的重要手段。在肝脏部分切除或者大范围肝切除后, 如何有效地激发残余肝细胞的再生潜能是术后病人得以存活的关键, 因此, 研究肝脏再生机理对于肝脏疾病的治疗具有重要的理论意义和临床应用价值。由于伦理原因和肝脏疾病病因多样性, 人们对肝脏再生机理的认识多来自实验动物。笔者就国内外研究肝再生的动物模型进行综述。

### 1 部分肝切除模型(Partial Hepatectomy, PH)

**1.1 2/3 肝切除模型** 大鼠2/3肝切除模型由Higgins等<sup>[1]</sup>建立, 并陆续在小鼠、狗、猪和猴子上得到应用。该模型是将大鼠肝脏的左外叶(占肝脏总体积的30%)和中叶(占肝脏总体积的38%)切除, 又称为70%肝切除。由于啮齿类动物的肝脏由几个肝叶组成, 每一个肝叶都有一套独立的分支门静脉、肝动脉和胆管系统, 切除部分肝叶而不影响其余肝叶的功能, 因此, 该模型易于普及和实施, 是研究肝再生的经典模型。

大鼠2/3肝切除实验动物是研究体内细胞增殖调控的良好模型。成年大鼠的肝细胞长期处于G<sub>0</sub>期, 部分肝切除后肝细胞以同步化的方式进入细胞周期, DNA合成高峰在24h, 细胞分裂高峰在36h, 7d后肝细胞经历1~2次细胞周期, 肝脏体积恢复到原来大小。因此, 部分肝切除后肝再生涉及到细胞周期的G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>期转变、G<sub>1</sub>/S期过渡及细胞分裂等细胞增殖调控的重大问题。目前已经证实, 肝再生启动的信号是细胞因子TNF- $\alpha$ 和IL-6, 细胞周期的推进受生长因子EGF和HGF家族控制, 而肝再生的终止信号是TGF- $\beta$ 。此外, 肝再生还涉及到血管胆管重建、细胞迁移、细胞分化、细胞凋亡等问题, 这些领域的研究愈来愈受到重视。

**1.2 反复部分肝切除模型(Repeated Partial Hepatectomy)** 该模型由Simpson<sup>[2]</sup>、Dagrad<sup>[3]</sup>等在20世纪60年代建立, 90年代同济医科大学吴毅平等<sup>[4]</sup>在此基础上进行了尝

试, 他以第一次切肝量50%、70%和80%为标准将大鼠分为3组, 以间隔1、3、7和14d作反复4次肝切除, 观察了再生肝组织的酶组织化学及超微结构变化。再次肝切除是治疗复发性肝癌的有效手段, 对复发型肝癌有选择性地再次肝切除是这类患者获得长期生存的重要途径。探讨试验性大鼠反复肝切除的可行性及影响因素, 为临床施行反复肝切除提供理论依据。

### 1.3 短间隔连续部分肝切除模型(Short Interval Successive Partial Hepatectomy, SISPH)

在反复部分肝切除模型的基础上, 徐存拴等<sup>[5]</sup>建立了短间隔连续部分肝切除模型。该模型以部分肝切除后的细胞激活(G<sub>0</sub>~G<sub>1</sub>)期4h和有丝分裂高峰期36h为时间点, 依次切除大鼠肝的左叶(第1次)、中叶(第2次)、右叶(第3次)和尾叶(第4次), 建立了4种时间间隔连续肝切除方式(4-4-4h SISPH, 4-36-36-36h SISPH, 36-4-4h SISPH和36-36-36-36h SISPH)。与同类试验(吴毅平等)相比, 该模型除了连续部分肝切除方法和切除组别设计不同外, 最重要的区别在于各次部分肝切除的间隔时间不同。短间隔连续部分肝切除的时间间隔选择在肝再生的各个关键时点, 如细胞分裂启动阶段(PH后4h)、DNA合成高峰(PH后24h)、细胞分裂高峰(PH后36h)、细胞开始再分化(PH后48h)时间, 目的是分析前次部分肝切除对后续部分肝切除后肝再生的影响。该类模型属于极端刺激肝再生的切除方式, 能够观察到正常肝再生中不具有的生物学现象。

**1.4 极限肝切除模型** 该模型由Gaub等<sup>[6]</sup>建立, 将大鼠肝脏的左外叶、中叶、右叶及尾叶一次性切除, 只留下两小片乳突叶及腔静脉周围的少许肝组织, 也称90%肝切除。临床上, 对于那些有巨大肝脏占位病变的患者, 扩大肝切除是唯一有希望治愈的手段, 但术后易引起暴发性肝功能衰竭, 死亡率可达70%~90%, 极限肝切除模型的建立旨在解决这一问题。毛一雷等<sup>[7]</sup>研究表明, 术前及术后用阿托伐他汀(胆固醇生物合成抑制剂)和细胞因子阻断剂AG490处理, 能显著延长极限肝切除术后大鼠的生存时间, 为重大肝手术患者术后保护肝功能提供了理论依据。此外, Fona等<sup>[8]</sup>研究表明, 猪能很好地耐受85%~90%肝切除。由于猪的肝脏在大小、解剖结构及生理代谢方面与人类似, 该模型的建立对临床肝脏外科具有参考价值。

### 2 门静脉分支结扎模型(Portal Branch Ligation, PBL)

门静脉分支结扎术能诱导肝脏再生的观点已被临床肝

**基金项目** 河南师范大学青年科学基金(2008qk14); 河南省动物学省级重点学科和河南省生物化学与分子生物学省级重点学科经费资助。

**作者简介** 马克学(1972-), 男, 河南项城人, 讲师, 从事动物再生的机理研究。

**收稿日期** 2009-02-17

脏外科认可并在实践中证实。1861 年研究发现, 结扎部分门静脉分支后, 结扎侧的肝叶出现萎缩, 而非结扎侧的肝叶出现代偿性增生肥大。李波等<sup>[9]</sup>研究表明, 大鼠 90% 肝叶门静脉支结扎 2 周后行二期肝切除, 可有效预防一期 90% 肝切除术后急性肝衰竭。Makuuchi 等<sup>[10]</sup>认为, 术前 PBL 的作用有两个: 可以引起未来残留肝脏的代偿性肥大再生; 同时避免肝叶切除后门静脉压力突然升高。这可以减少术后肝功能衰竭的发生率, 提高大范围肝切除(特别是合并肝硬变的患者)的安全性。该模型的建立及应用对预防大范围肝切除导致的急性肝衰竭起到积极的作用。

### 3 化学药物损伤模型

研究正常情况下肝再生没有临床价值, 肝再生是一种病理生理过程, 研究病理状态下肝再生日益受到重视。很多化学药物如四氯化碳(CCl<sub>4</sub>)、D-半乳糖胺、酒精、硫代乙酰胺、对乙酰氨基酚等对肝脏具有毒性, 长期过量服用会造成肝脏损害、肝实质细胞死亡并伴随肝再生。通过建立实验性药物损伤动物肝再生模型, 研究肝脏病变后的再生机制, 具有十分重要的现实意义。

**3.1 CCl<sub>4</sub> 损伤模型** CCl<sub>4</sub> 是经典的肝脏毒素, 经肝脏代谢产生高活性的三氯甲基自由基, 后者引发脂质过氧化进而损伤肝细胞膜。特别是自由基作用于 DNA 时, 损伤核糖和碱基, 使核酸直接破坏, 引起 DNA 链的断裂或 DNA 链间或与蛋白质间交联, 影响其信息传递功能以及转录和复制特性, 改变癌基因和抑癌基因的活性状况, 最后可引发细胞增殖失控而至癌变<sup>[11]</sup>。一次性口服、腹腔注射和皮下注射一定剂量的 CCl<sub>4</sub> 造成的肝损伤是急性、可逆的, 特点是门管区肝叶坏死, 但是肝脏能完全再生。有研究表明, 采用灌胃给药的方式或者联合使用巴比妥可提高 CCl<sub>4</sub> 的肝脏毒性。与部分肝切除相比, CCl<sub>4</sub> 毒性损伤后大鼠肝细胞 DNA 合成和细胞分裂延迟。该模型是肝损伤的经典模型, 能准确反映肝细胞的功能、代谢及形态学变化。

**3.2 D-半乳糖胺损伤模型** Kepler 等<sup>[12]</sup>首先应用 D-GalN 制备大鼠肝损伤模型。将 D-半乳糖胺(D-GalN)溶于生理盐水, 大鼠或小鼠 1 次性腹腔注射 600~900 ng/kg, 造成急性肝损伤模型。研究证实 D-GalN 在肝细胞内结合尿苷酸(UDP)代谢, 由于这种结合利用的速度大大超过了尿苷酸的生物合成速度, 致使尿苷酸耗竭, 进而导致依赖其进行生物合成的核酸、糖蛋白和糖脂等物质减少, 限制了细胞器的再生及酶的生成和补充, 细胞器受损, 肝细胞的结构和功能均出现异常甚至死亡。该模型自建立以来主要用于研究肝脏受到毒性损伤后肝纤维化进程, 而不是用于研究肝再生。

此外, 对乙酰氨基酚损伤模型和酒精性损伤模型在研究

药物损伤造成的肝再生机理方面也有一定的临床应用价值<sup>[13]</sup>。但是, 化学性药物损伤动物模型在制作方式、药物浓度及持续时间不同等导致试验结果存在差异, 试验标准很难统一。

### 4 小结

各种实验动物模型的建立促进了肝脏再生机理的研究, 为临床肝脏外科手术的开展和肝脏疾病的治疗提供了理论指导。但是, 用实验动物研究肝再生以下问题应引起研究者的关注: 其一, 动物模型的制作必须在严格的标准条件下进行, 因为肝再生不仅受到肝细胞增殖的生理节奏影响, 还受到实验动物的年龄、性别和营养状况的影响; 其二, 人体中肝再生主要发生在肝脏受到毒素、病毒的损伤后, 因此毒物诱导的肝再生模型更具有临床价值。但是, 在该类模型中, 肝细胞坏死和肝细胞再生交织在一起, 很难对试验结果作出科学评价; 其三, 迄今为止, 对病人中已经病变的肝脏(如肝硬化、遗传性肝脏缺陷等)的肝再生研究较少, 应加大这类模型的研究力度; 最后, 为深入研究肝再生的机理, 有必要对毒素诱导的肝再生和外科手术诱导的肝再生进行比较研究, 以提高现有肝再生模型的临床应用价值, 以便更好地将研究成果用于肝脏疾病的治疗。

### 参考文献

- [1] HGGINS G M, ANDERSON R M. Experimental pathology of the liver. I: restoration of the liver of the white rat following partial surgical removal [J]. Arch Pathol, 1931, 12: 186 - 202.
- [2] SIMPSON G E. The pattern of regeneration of rat liver after repeated hepatectomies [J]. J Path Bact, 1963, 86: 361 - 369.
- [3] DAGRAD A. Regeneration of the liver following multiple resection [J]. Surgery, 1964, 55: 109 - 112.
- [4] 吴毅平, 吴在德. 大鼠反复肝切除后再生肝组织的实验形态学研究 [J]. 中国组织化学与细胞化学杂志, 1995, 4(1): 28 - 33.
- [5] 徐存拴, 李永辉, 段瑞峰, 等. 短间隔连续部分肝切除对大鼠生存和肝组织结构的影响 [J]. 动物学报, 2001, 47(6): 659 - 665.
- [6] GAUBJ. Rat liver regeneration after 90% partial hepatectomy [J]. Hepatology, 1984, 4(5): 902 - 904.
- [7] 毛一雷, 于卓, 桑新亭. 极限肝切除术后延长大鼠生存时间的研究 [J]. 中华普通外科杂志, 2004, 19(5): 301 - 304.
- [8] HONA G C, PETER E L. Subtotal hepatectomy: a porcine model for the study of liver regeneration [J]. J Surg Res, 2004, 116(1): 181 - 186.
- [9] 李波, SALLE A. 大鼠门静脉分支结扎预防 90% 肝切除术后急性肝功能衰竭 [J]. 华西医科大学学报, 1997, 28(1): 87 - 90.
- [10] MAKUCHI M, THAI B L, TAKAYASU K, et al. Reoperative partial hepatectomy to increase safety of major hepatectomy for hilar bile duct carcinoma: a preliminary report [J]. Surgery, 1990, 107: 511 - 517.
- [11] CASTRO G D, GOMEZ M I, CASTRO J A, et al. DNA bases attack by reactive metabolites produced during carbon tetrachloride biotransformation and promotion of liver microsomal lipid peroxidation [J]. Res Commun Mol Pathol Pharmacol, 1997, 95: 253 - 258.
- [12] KEPLER D, LESCHR, REUTER W. Experimental hepatitis induced by D-galactosamine [J]. Exp Mol Pathol, 1968, 9: 279 - 290.
- [13] 唐云安, 刘玉清, 王国钦. 肝损伤动物模型研究进展 [J]. 卫生毒理学杂志, 2002, 16(4): 236 - 238.

(上接第 6006 页)

### 参考文献

- [1] 李笑春, 黄建国, 崔敏. 三种中草药复方提取物的体外抑菌试验 [J]. 甘肃畜牧兽医, 2006(1): 11 - 13.
- [2] 陈希文, 王雄清, 代敏, 等. 24 种中药对猪沙门氏菌的体外抑菌活性 [J]. 江苏农业科学, 2008(5): 180 - 182.
- [3] 李淑梅, 杨帆. 中草药提取物对大肠杆菌的体外抑菌试验 [J]. 安徽农业科学, 2006, 34(23): 6212 - 6222.
- [4] 傅文栋. 中草药及其有效成分体外抗菌抗病毒研究进展 [J]. 中兽医医药杂志, 2006(5): 66 - 67.
- [5] 李琦. 中药配伍略谈 [J]. 大同医学专科学校学报, 1999, 19(4): 35 - 36.
- [6] 何志生, 焦镛. 兽医临床常用中草药配伍之我见 [J]. 中兽医学杂志, 2005(6): 38 - 39.
- [7] 刘富来, 陈志华, 冯翠兰, 等. 中草药对禽大肠杆菌的体外抑菌试验 [J]. 甘肃畜牧兽医, 2003(2): 12 - 14.
- [8] 李仪奎. 中药药理实验方法学 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1991: 36 - 38.