

在产后 2、3、5 个月妊娠,均足月正常分娩。

讨 论

目前临床中常用的前置胎盘引产方式有:①利凡诺尔羊膜腔注射引产或药物如天花粉引产,经阴道分娩;②剖宫取胎。但以上方法均存在各自的弊端。特别是完全性前置胎盘患者,引产过程中易出现难以控制的大出血,危及产妇生命和健康。经皮选择子宫动脉栓塞术治疗产后出血和子宫肌瘤(腺肌瘤)等保留子宫的方法是近年来介入放射学在妇产科领域的新发展,具有损伤小、止血快,疗效可靠等特点^[2,3]。王琳等在前置胎盘大出血进行子宫动脉栓塞术治疗获得成功^[4]。本项研究中 16 例胎盘前置状态孕妇采用经皮选择子宫动脉栓塞术联合利凡诺尔羊膜腔注射+米非司酮引产,成功率达 81.25%。分析原因,失败 3 例集中在孕周较大,且胎盘粘连和胎盘植入的病例。一方面可能随着孕周增大,子宫动脉逐渐增粗扭曲,增加血管栓塞的难度和效果,另一方面可能附着在子宫下段的胎盘妨碍了子宫口的开张。

本观察组采用颗粒直径 1~2mm 可吸收的新鲜明胶海绵短效栓塞剂,不仅能直接栓塞子宫动脉阻断血流,大大减少了子宫血供,在引产过程中,子宫收缩,宫口扩张,胎盘与子宫壁发生错位,不至于引起子宫大出血,即使是凶险性前置胎盘,剖宫取胎时,也可以减少子宫出血风险,而且血管栓塞后 10 天内可再通^[5]。观察组产妇引产后月经复潮与对照组相似,有 3 例在术后 5 个月内妊娠,并已足月分娩,说明子宫动脉栓塞术在中期妊娠胎盘前置引产中的应用,无证据对妇女卵巢功能和生育的影响。

观察组中有 4 例孕妇行子宫动脉栓塞术后自然临产,不需要联合利凡诺尔羊膜腔注射,避免了利凡

诺尔药物引起的不良反应,尤其有利凡诺尔引产禁忌的孕妇多了一种终止妊娠的选择。观察组中 13 例成功者产程时间长于对照组,这可能是子宫动脉栓塞后子宫缺氧影响子宫收缩强度所致。这与蔡洁等^[5]报道不一致。

观察组栓塞后综合征主要表现为发热,发生率 50%,下肢疼痛发生率 18.75% 和臀部疼痛发生率 25%,对症治疗均缓解,无延长住院时间。血管栓塞操作过程中未遇到困难,这可能与所在医院介入科各种介入治疗数量大,以及观察组所有的病例均由介入科专职固定医师操作有关。

综上所述,子宫动脉栓塞术联合利凡诺尔羊膜腔注射在胎盘前置孕妇中期引产中,是一种安全可靠的新方法,值得在有介入专科的医院进行推广。而对于近晚期妊娠的前置胎盘或伴胎盘粘连/植入的孕妇引产,其效果和安全性有待于增加样本数从而进一步的观察。

参考文献

- 1 王淑贞.实用妇产科学[M].北京:人民卫生出版社,2001:365
- 2 Uchiyama D, Koganemaru M, Abe T, *et al.* Aterial catheterization and embolization for managment of emergent or anticipated massive obstetrical hemorrhage[J]. Radiat - Med, 2008, 26(4):188-197
- 3 Smeets AJ, Nijenhuis RJ, Boekkooi PF, *et al.* Safety and effectiveness of uterine artery embolization in patients with pedunculated fibroids[J]. J Vasc Interv Radiol, 2009, 20(9):1172-1175
- 4 王琳, 常青, 江露. 动脉栓塞治疗前置胎盘产前出血 2 例[J]. 第三军医大学学报, 2006, 28(7):667
- 5 蔡洁, 李成学. 子宫动脉栓塞术治疗中期妊娠中央性前置胎盘大出血 4 例分析[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2004, 20(11):689-690
(收稿:2011-05-23)
(修回:2011-06-27)

组织蛋白酶 B 在肝星状细胞 HSC-T6 中的动态表达和意义

李春艳 陈永平 申春燕

摘 要 目的 观察组织蛋白酶 B 在肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC-T6)中的表达并探讨其在肝纤维化过程中的意

基金项目:浙江省自然科学基金资助项目(Y207464)

作者单位:325000 温州医学院附属第一医院感染内科

通讯作者:陈永平,电子信箱:ypchen106@yahoo.com.cn

义。方法 向 HSC-T6 细胞中加入组织蛋白酶 B 抑制剂(Z-FA-FMK),作用 12、24、36、48h 后,用倒置显微镜分别观察各时间点细胞生长状态的差异并拍照。分别提取 Z-FA-FMK 作用前后 12、24、36、48h 的蛋白和 RNA,用 Western blotting 法检测各时间点组织蛋白酶 B(cathepsin B)和 α -SMA 的表达量,用反转录定量 PCR(RT-PCR)方法测定各时间点 cathepsin B mRNA、TGF- β mRNA 和 α -SMA mRNA 的表达。统计学处理采用配对 t 检验和 Pearson 直线相关分析。结果 显微镜观察 Z-FA-FMK 作用后细胞的增殖分化作用减慢。Western blotting 结果显示,对照组和抑制剂组中 cathepsin B 的表达量随着时间的延长而增加,抑制剂组 cathepsin B 的表达量(0.49 ± 0.04)较对照组(0.68 ± 0.09)有所减少,差异具有统计学意义($t = -6.31, P < 0.05$); α -SMA 表达量的变化与 cathepsin B 的变化平行,抑制剂组 α -SMA 表达量(0.64 ± 0.03)较对照组(0.79 ± 0.01)有所减少,差异具有统计学意义($t = -6.18, P < 0.05$)。RT-PCR 结果显示抑制剂组 cathepsin B mRNA 表达量(2.00 ± 0.11)较对照组(2.24 ± 0.47)减少,差异均具有统计学意义($t = -3.41, P < 0.05$);抑制剂组 α -SMA mRNA 的表达量(0.40 ± 0.06)较对照组(0.81 ± 0.08)减少,差异具有统计学意义($t = -4.28, P < 0.05$);抑制剂组 TGF- β mRNA 的表达量(1.43 ± 0.16)较对照组(1.81 ± 0.21)减少,差异均具有统计学意义($t = 6.44, P < 0.05$)。结论 组织蛋白酶 B 可抑制 HSC 的增殖和转分化,同时可降低肝纤维化指标如 TGF- β 和 α -SMA 的表达量,因此,组织蛋白酶 B 可作为今后治疗肝纤维化的治疗靶点。

关键词 组织蛋白酶 B 肝星状细胞 肝纤维化

Dynamic Expression of Cathepsin B in Hepatic Stellate Cells (HSC-T6) and Its Significance. Li Chunyan, Chen Yongping, Shen Chunyan. Department of Infectious Diseases, The First Affiliated Hospital of Wenzhou Medical College, Zhejiang 325000, China

Abstract Objective To observe the expression of cathepsin B in hepatic stellate cells (HSC-T6) and explore its significance of Cathepsin B in liver fibrosis **Methods** We put Z-FA-FMK into HSC-T6 cell medium of the inhibitor group to observe and compare the HSCs form changes at 12h,24h,36h,48h by microscopy. We extracted the protein and mRNA of HSCs at different time-points during culture, and detected the expression of cathepsin B, TGF- β and α -SMA both at level of mRNA and protein respectively with reverse transcription-polymerase chain reaction(RT-PCR) and Western blotting. The statistical analysis was done using paired t test and Pearson liner correlation analysis. **Results** Z-FA-FMK decreased HSCs proliferation and differentiation was detected by microscopy. The results of Western blot showed that the expression of cathepsin B increased with the extension of time both in control group and inhibitor group. Compared to the control group(0.68 ± 0.09), cathepsin B expression of inhibitor group(0.49 ± 0.04) decreased, and there was statistically significant($t = -6.31, P < 0.05$). The variation of α -SMA expression was parallel with the variation of cathepsin B expression and α -SMA expression of inhibitor group(0.64 ± 0.03) decreased compared to the control group(0.79 ± 0.01), and there was statistically significant($t = -6.18, P < 0.05$). The results of RT-PCR showed that the cathepsin B mRNA expression of inhibitor group(2.00 ± 0.11) decreased compared to the control group(2.24 ± 0.47)($t = -3.41, P < 0.05$), and the α -SMA mRNA expression of inhibitor group(0.40 ± 0.06) decreased compared to the control group(0.81 ± 0.08)($t = -4.28, P < 0.05$), and the TGF- β mRNA expression of inhibitor group(1.43 ± 0.16) decreased compared to the control group(1.81 ± 0.21)($t = 6.44, P < 0.05$). **Conclusion** Cathepsin B could inhibit HSC proliferation and transdifferentiation, and result in the downregulation of liver fibrosis indexes, such as TGF- β and α -SMA. So, cathepsin B may be a new potencial therapeutic targets for the treatment of liver fibrosis in future.

Key words Cathepsin B; Hepatic stellate cell; Liver fibrosis

肝纤维化是多种慢性肝病共同的病理过程,在肝损伤过程中,肝星状细胞增殖并向肌成纤维样细胞分化,这一过程是可以逆转的。肝纤维化的发病机制主要是肝星状细胞的增殖和凋亡是否能达到平衡,若 HSC 的活化增加或其凋亡减少,都会导致肝纤维化的发生。因此抑制肝星状细胞的活化与增殖、诱导其凋亡都会对肝纤维化过程起到预防和治疗作用^[1,2]。尽管近年来对这方面的研究很多,但具体的分子机制和调控过程还待进一步研究。

组织蛋白酶 B(cathepsin B)是溶酶体内最重要的组织蛋白酶,属于木瓜蛋白酶家族,广泛分布于各种组织细胞的溶酶体中,主要降解各种组织蛋白。近年

发现组织蛋白酶 B 除参与重要的生理功能外还与人类多种疾病如肿瘤的浸润和转移、关节炎、骨质疏松、多发性硬化症、动脉粥样硬化、肾纤维化、肺纤维化、肝纤维化、皮肤光老化等慢性疾病有关,因此备受关注^[3-11]。

材料与方法

1. 实验材料及试剂:大鼠肝星状细胞 T6 系,购自湖南湘雅医学院细胞库。胎牛血清(FBS)、DMEM 高糖培养基购自美国 Gibco 公司; α -SMA 鼠多克隆一抗购自美国 Sigma 公司;组织蛋白酶 B 兔多克隆一抗购自美国 Santa cruz 公司;组织蛋白酶 B 抑制剂(Z-FA-FMK)购自美国 Santa cruz 公司;磷酸甘油脱氢酶(GAPDH)小鼠单克隆一抗、辣根过氧化物酶

(HRP)二抗购自北京中衫公司;组织/细胞强效裂解液、BCA 蛋白检测试剂盒(购自上海碧云天生物技术研究所);RNA Iso 试剂盒(购自大连宝生物公司)。

2. 实验分组及细胞培养:分对照组和抑制剂组,细胞培养至第3代时,以 2×10^5 接种到六孔板中,待细胞完全贴壁,对照组12、24、36、48h的细胞只换培养液;抑制剂组12、24、36、48h的细胞换培养液后分别加入26nmol/L的Z-FA-FMK。将冻存的HSC-T6细胞接种于含10%FBS的DMEM培养液中,置37℃ 5%CO₂的培养箱中培养。当细胞贴壁生长铺满培养板的85%左右时,用0.25%胰酶消化后传代,24h换液,72h再次传代,每次试验均在呈指数生长的细胞中进行。

3. Western blotting 法检测 cathepsin B、 α -SMA:采用放射免疫沉淀测定(RIPA)组织/细胞强效裂解液抽提对照组和抑制剂组12、24、36、48h的HSC-T6细胞总蛋白,用BCA蛋白检测试剂盒检测蛋白浓度,浓度测定后用裂解液进行配平,使得各时间点总的蛋白浓度相同。所有操作参照Western blotting 实验指南进行。cathepsin B和 α -SMA一抗1:800稀释,内参GAPDH一抗1:1000稀释,小鼠抗大鼠辣根过氧化物酶标记二抗1:5000稀释,羊抗兔辣根过氧化物酶标记二抗1:3000稀释。底物增强型化学发光显色,洗片显带,胶片扫

描,用Gel-pro3.1软件测量 cathepsin B、 α -SMA 和 GAPDH 的平均光密度,用 cathepsin B、 α -SMA 与 GAPDH 的比值表示各蛋白的相对表达量。

4. RNA 提取:采用 RNA Iso 试剂盒,按说明书提取 HSC-T6 细胞总 RNA。采用分光光度法测定提取的总 RNA 含量和纯度,A260nm/A280nm 比值在1.8~2.0范围。

5. RT-PCR 检测 cathepsin B mRNA、TGF- β mRNA 和 α -SMA mRNA:RT-PCR 按鸟类成髓细胞瘤病毒(AMV)试剂盒按说明书操作。采用Premier5软件设计引物序列,由上海捷瑞公司合成。TGF- β 、 α -SMA、cathepsin B 与 actin- β 的PCR引物序列及反应条件见表1。PCR产物在1.5%琼脂糖凝胶中电泳,凝胶成像系统扫描,用Gel-pro3.1分别测量TGF- β 、 α -SMA、cathepsin B、actin- β 的平均积分吸光度。用TGF- β 、 α -SMA、cathepsin B 与 actin- β 的比值来表示各自 mRNA 的相对表达量。

6. 统计学方法:所有数据采用SPSS 17.0统计软件分析,对计数资料进行正态性检验,计数资料用均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。样本均数比较采用配对t检验进行分析。双变量均服从正态分布的相关性讨论采用Pearson直线相关分析,否则采用Spearman秩相关, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

表1 PCR 引物序列及反应条件

基因	PCR 引物	产物长度(bp)	反应条件
TGF- β R	5'-CCACAGCACCGCGCCTCTAT-3'	199	94℃ 10min;94℃ 40s,60℃ 30s,
TGF- β F	5'-GTTGTGTTAGCAGGTGTTCTCA-3'		72℃ 30s,25个循环;72℃ 5min
α -SMAR	5'-GCTCTGTAAGGCGGGTTTG-3'	558	94℃ 5min;94℃ 30s,56℃ 30s,
α -SMAF	5'-ACGAAGGAATAGCCACGCTAC-3'		72℃ 45s,28个循环;72℃ 10min
cathepsinB R	5'-ACCCTACTGGCTGGTAGCAA-3'	193	95℃ 10min;94℃ 10s,58℃ 20s,
cathepsinB F	5'-TTAGTCTTTAGCACCGACCT-3'		72℃ 30s,40个循环;72℃ 5min
actin- β R	5'-GAGAGGGAAATCGTGCCTGAC-3'	452	94℃ 5min;94℃ 30s,61℃ 30s,
actin- β F	5'-CATCTGCTGGAAGGTGGACA-3'		72℃ 30s,22个循环;72℃ 5min

结 果

1. 倒置显微镜观察结果:抑制剂组细胞12h后有细胞脱落,悬浮于上清中,随时间的增加,上述情况有所改善。较对照组细胞明显减少,细胞间隙较宽,细胞皱缩,核染色质浓集呈球形,见图1A。对照组HSC-T6细胞随着时间的延长,形态和数量都有明显的变化,12h时细胞形态不规则,呈圆形、梭形、三角形等,细胞数量较少;24h时细胞呈星形,星芒状突起丰富,高倍镜下细胞核呈圆形或不规则形,核仁圆形,清晰可见,细胞数量较多。对照组24h细胞呈肌成纤维细胞样细胞(myofibroblast-like cell, MFB)外形,未见到核染色质浓集,见图1B。

2. Western blotting 印迹法检测 cathepsin B、 α -SMA 结果:HSC 随着培养时间的延长,向成纤维肌样细胞转化,在培养过程中不同时间点 cathepsin B 的

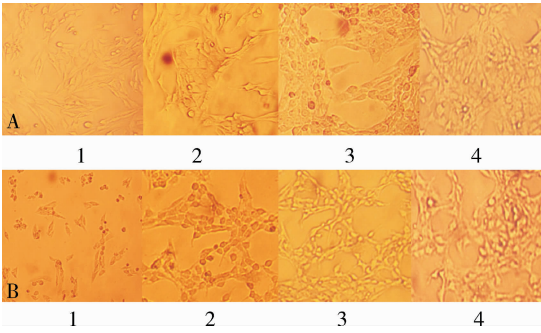


图1 对照组和抑制剂组各时间点的细胞生长状态
细胞密度为 2×10^5 接种于6孔板内,A为对照组,A1~A4分别为12、24、36、48h时细胞的生长状态;B为抑制剂组(每孔加入Z-FA-FMK 26nM),B1~B4分别为抑制剂作用12、24、36、48h后细胞的生长状态

表达也不同,结果显示,对照组随着时间的延长 cathepsin B 的表达增加,进一步说明 cathepsin B 参与

了 HSC 的增殖和分化;抑制剂组在加入组织蛋白酶 B 抑制剂 Z - FA - FMK 后由 cathepsin B 表达量 (0.49 ± 0.04) 较对照组 (0.68 ± 0.09) 明显减少,差异具有统计学意义 ($t = -6.31, P < 0.05$),说明 Z - FA - FMK 能有效抑制 cathepsin B 蛋白的表达,见图 2、图 3。实验结果还发现 α - SMA 的变化趋势与 cathepsin B 的变化趋势相平行。 α - SMA 作为 HSC 向肌成纤维细胞转化的标志,对照组随时间的延长 α - SMA 的表达量增加;抑制剂组在加入 Z - FA - FMK 12、24、36、48h 后, α - SMA 的表达量 (0.64 ± 0.03) 较对照组 (0.79 ± 0.01) 有所降低,差异具有统计学意义 ($t = -6.18, P < 0.05$) (图 2、图 3)。

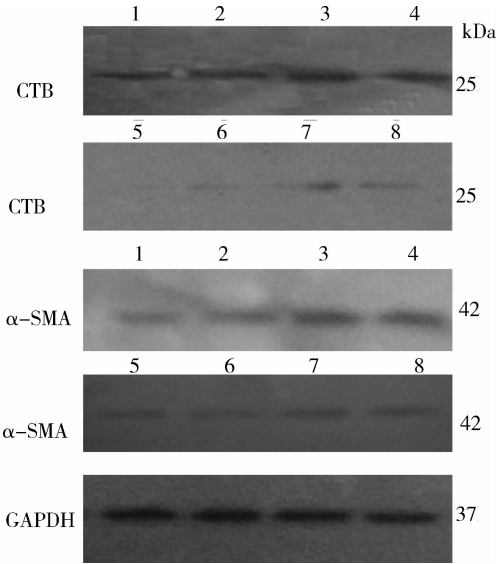


图 2 抑制剂和对照组各时间点 cathepsin B、
和 α - SMA 的表达量

CTB 为组织蛋白酶 B (cathepsin B), α - SMA 为 α - 平滑肌肌动蛋白, GAPDH 为内参。1、2、3、4 分别代表对照组 12、24、36、48h 蛋白的表达量。5、6、7、8 分别代表抑制组 12、24、36、48h 蛋白的表达量

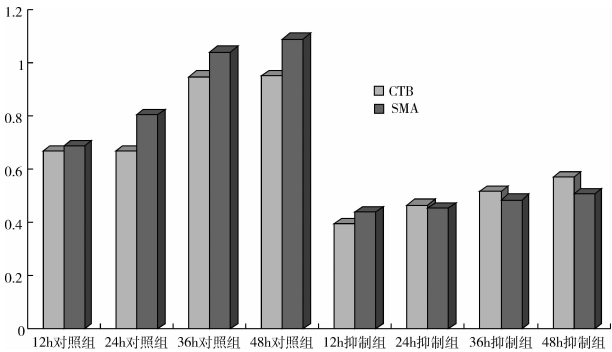


图 3 对照组和抑制组各时间点 CTB 和
 α - SMA 蛋白水平变化

CTB 为组织蛋白酶 B, α - SMA 为 α - 平滑肌肌动蛋白。抑制组各时间点与对照组比较, $P < 0.05$

3. RT - PCR 检测 cathepsin B mRNA、TGF - β mRNA 和 α - SMA mRNA 结果:对照组 cathepsin B mRNA 的表达量随着时间的延长而增加,抑制剂组 cathepsin B mRNA 的表达量 (2.00 ± 0.11 较对照组 (2.24 ± 0.47) 有所下降,且差异具有统计学意义 ($t = -3.41, P < 0.05$)。对照组 TGF - β mRNA 随着时间的延长表达量增加,抑制剂组 TGF - β mRNA 的表达量 (1.43 ± 0.16) 较对照组 (1.81 ± 0.21) 有所减少,且差异具有统计学意义 ($t = 6.44, P < 0.05$)。对照组 α - SMA mRNA 随着时间的延长表达量增加,抑制剂组 α - SMA mRNA 的表达量 (0.40 ± 0.06) 较对照组 (0.81 ± 0.08) 有所减少,且差异具有统计学意义 ($t = -4.28, P < 0.05$) (图 4、图 5)。

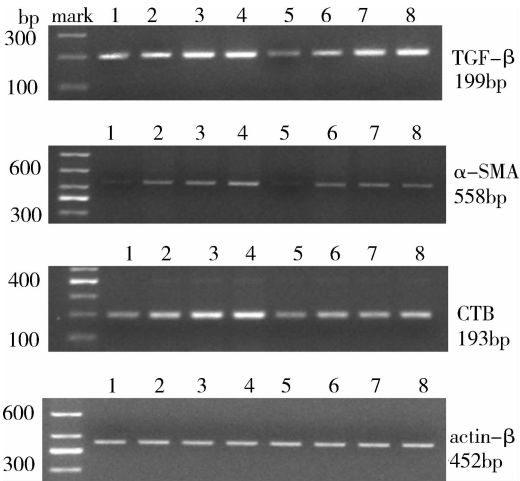


图 4 反转录 - 聚合酶链反应检测各时间点 HSC - T6
细胞 TGF - β 、 α - SMA 和 CTBmRNA 的表达

mark 是 DNA 标志物, CTB 为组织蛋白酶 B (cathepsin B), α - SMA 为 α - 平滑肌肌动蛋白, actin - β 为 β - 肌动蛋白。1 为对照组 12h; 2 为对照组 24h; 3 为对照组 36h; 4 为对照组 48h; 5 为抑制组 12h; 6 为抑制组 24h; 7 为抑制组 36h; 8 为抑制组 48h

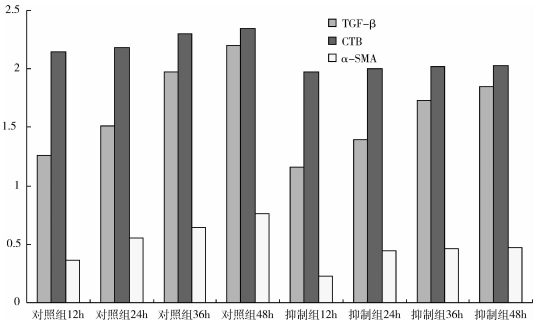


图 5 对照组和抑制组各时间点 TGF - β 、 α - SMA 和
CTBmRNA 水平变化

TGF - β 为转化生长因子 β , CTB 为组织蛋白酶 B, α - SMA 为 α - 平滑肌肌动蛋白。抑制组各时间点与对照组比较, $P < 0.05$

4. 相关性分析: cathepsin B 与 α -SMA 的表达量呈正相关(蛋白水平: $r=0.97, P<0.05$; mRNA 水平: $r=0.84, P<0.05$), 说明 α -SMA 的表达量的变化与 cathepsin B 表达量的变化平行。

讨 论

肝纤维化是肝脏对各种病因所致的慢性肝损伤的一种修复反应,其实质是以胶原分泌为主的细胞外基质(ECM)的过度沉积,HSC 在肝纤维化进程中起关键作用,是肝纤维化时 ECM 合成的主要来源细胞。TGF- β 是调控肝纤维化发生发展的核心因子,以表达 α -SMA 为标志的活化的肝星状细胞(HSC)是肝内 ECM 的主要来源。

组织蛋白酶 B 是主要的溶酶体蛋白酶,肿瘤的发生和转移归因于广泛的细胞外基质重塑和细胞死亡途径的调控^[4]。尽管已有研究证明组织蛋白酶参与肝纤维化形成,但它们在 HSC 生物性调控和纤维形成中的作用还不清楚^[8,10]。本实验研究结果显示,组织蛋白酶 B 参与了 HSC 的增殖和分化;同时还发现 α -SMA 的变化趋势与组织蛋白酶 B 的变化趋势相平行。证明了 HSC 随着培养时间的延长会向成纤维肌样细胞转化,抑制 cathepsin B 的活性能够减缓或抑制 HSC 的增殖以及向成纤维肌样细胞转化,为组织蛋白酶 B 在肝纤维化发病机制中的作用提供了依据。

Okuyama 的研究显示分泌的 CTB 可下调 PDGF β R,使 PDGF 不能诱导静止期 HSC 的增殖^[12]。Anna Moles 所做的研究显示组织蛋白酶 B 通过异常的机制能直接调控 HSC 增殖^[10]。组织蛋白酶 B 的遗传和药理性拮抗作用都能抑制活化的鼠 HSC 或永生的人 Lx2 细胞。而不是通过调节降低 PDGF β R 对其配对的 PDGF,组织蛋白酶的抑制通过 PDGF 影响 AKT 的磷酸化。这些研究结果显示组织蛋白酶 B 确实通过 PDGF 调控 PI₃K/AKT 途径。PDGF 在体外激发后 cathepsin B 活性的缺失后 AKT 的活化减低的确切机制和参与这一过程的主要蛋白是今后最重要也是最有价值的研究。

组织蛋白酶和内涵体早晚期的标记共区域化显示溶酶体组织蛋白的释放是随着分泌途径来调节 ECM 成分和质膜 HSC 受体的^[10]。本实验研究显示,在 HSC-T6 细胞培养过程中,cathepsin B 的表达量随时间的延长而增加,Z-FA-FMK 作用后 cathepsin B 的表达量较对照组有所减少,且差异具有统计学意义。此外,cathepsin B 防止 HSC 增殖,下调负性调控

HSC 活化的表型标志物的表达,如 α -SMA, TGF- β 。本实验研究还表明 cathepsin B 的变化趋势与肝纤维化常用指标 TGF- β 和 α -SMA 表达量的变化趋势一致,且较对照组明显减少。这些结果都显示半胱氨酸组织蛋白酶直接调控 HSC 活化后早期转分化和永生,是调控他们潜在纤维化和最终肝纤维化的关键。然而,Anna Moles 等发现在原始小鼠 HSC 中 TGF- β 的表达减少, TGF- β mRNA 的表达的水平在 LX2 细胞中没有变化,表明这些细胞比 5 天的小鼠 HSC 更加分化,并且在这一分化阶段 TGF- β 的调控可能不同^[13,14]。本实验研究显示 HSC-T6 细胞 TGF- β 的表达量随时间的延长而增加,但抑制剂作用后 TGF- β 与 TGF- β mRNA 的表达量都较对照组有所降低,且差异具有统计学意义。

许多文献显示在炎症过程中组织的局部会出现 PH 的降低,有利于分泌的组织蛋白酶的活化。事实上,组织蛋白酶的分泌和许多肿瘤实质的侵袭和转移都有关,说明组织蛋白酶 B 通过降解 ECM 成分或激活其他基质降解蛋白如尿激酶型纤维蛋白酶原激活剂来促进侵入^[3,15]。假如组织蛋白酶 B 对活化的 HSC 的增殖和纤维形成有作用,我们将进一步研究他们对体内肝纤维化的影响。之前 Canbay 在胆道结扎的肝纤维化模型中的研究认为组织蛋白酶 B 参与了肝脏的胆汁淤积引起的炎症、细胞凋亡、最终导致肝纤维化形成,敲除 CTB 基因或用 CTB 药物抑制剂后大鼠肝脏炎症损伤及纤维化形成减轻^[9]。

Anna Moles 分析了 cathepsin B 在 CCL₄ 诱导的肝纤维化模型中的作用^[10]。Anna Moles 所做的研究显示对 cathepsin B 进行药理学抑制能防止 α -SMA 的增加、胶原合成和 CCL₄ 诱导引起的中性粒细胞的浸润。组织蛋白酶抑制剂不能改善由 CCL₄ 导致的肝损伤,反映了组织蛋白酶 B 与肝细胞损害有刺激依赖性^[7,16]。此外,CCL₄ 作用在 HSC 后 cathepsin B 的表达量增加,在肝细胞中未被检出,由组织蛋白酶活性的生化检查和 GFAP 染色法,我们不能排除 cathepsin B 参与肝脏其他成肌纤维细胞样细胞群。

cathepsin B 参与了人类多种重要的生理功能及病理进程,本实验研究证明 cathepsin B 调控 HSC 的增殖和分化,它的抑制剂可以下调纤维化指标 α -SMA、TGF- β 的表达,进而参与了肝纤维化形成过程,这一研究为进一步探索肝纤维化形成的机制提供了理论基础,cathepsin B 可作为今后治疗肝纤维化治疗的靶点。

参考文献

1 Friedman SL. mechanisms of disease:mechanisms of hepatic fibrosis and therapeutic implications[J]. Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol,2004,1(2):98-105

2 Friedman SL. Hepatic stellate cells:protein, multifunctional, and enigmatic cells of the liver[J]. Physiol Rev,2008,88(1):125-172

3 Klose A, Wilbrand-Hennes A, Zigrino P, et al. Contact of high-invasive, but not low-invasive, melanoma cells to native collagen induces the release of mature cathepsin b[J]. Int J Cancer,2006,118(11):2735-2743

4 Mohamed MM, Sloane BF. Cysteine cathepsins:multifunctional enzymes in cancer[J]. Nat Rev Cancer,2006,6(10):764-775

5 Werle B, Lotterle H, Schanzenbacher U, et al. Immunochemical analysis of cathepsin b in lung tumours:an independent prognostic factor for squamous cell carcinoma patients[J]. Br J Cancer,1999,81(3):510-519

6 Elsaid KA, Jay GD, Chichester CO. Reduced expression and proteolytic susceptibility of lubricin/superficial zone protein may explain early elevation in the coefficient of friction in the joints of rats with antigen-induced arthritis[J]. Arthritis Rheum,2007,56(1):108-116

7 Koslowski R, Knoch K, Kuhlisch E, et al. Cathepsins in bleomycin-induced lung injury in rat[J]. Eur Respir J. 2003,22(3):427-435

8 Yamamoto H, Murawaki Y, Kawasaki H. Collagenolytic cathepsin b and l activity in experimental fibrotic liver and human liver[J]. Res Commun Chem Pathol Pharmacol,1992,76(1):95-112

9 Canbay A, Guicciardi ME, Higuchi H, et al. Cathepsin b inactivation attenuates hepatic injury and fibrosis during cholestasis[J]. J Clin Invest,2003,112(2):152-159

10 Moles A, Tarrats N, Fernandez-Checa JC, et al. Cathepsins b and d drive hepatic stellate cell proliferation and promote their fibrogenic potential[J]. Hepatology,2009,49(4):1297-1307

11 Zheng Y, Lai W, Wan M, et al. Expression of cathepsins in human skin photoaging[J]. Skin Pharmacol Physiol,2011,24(1):10-21

12 Okuyama H, Shimahara Y, Kawada N, et al. Regulation of cell growth by redox-mediated extracellular proteolysis of platelet-derived growth factor receptor beta[J]. J Biol Chem,2001,276(30):28274-28280

13 Xu L, Hui AY, Albanis E, et al. Human hepatic stellate cell lines, lx-1 and lx-2:new tools for analysis of hepatic fibrosis[J]. Gut, 2005,54(1):142-151

14 Liu C, Gaca MD, Swenson ES, et al. Smads 2 and 3 are differentially activated by transforming growth factor-beta (tgf-beta) in quiescent and activated hepatic stellate cells. Constitutive nuclear localization of smads in activated cells is tgf-beta-independent[J]. J Biol Chem, 2003,278(13):11721-11728

15 Joyce JA, Baruch A, Chehade K, et al. Cathepsin cysteine proteases are effectors of invasive growth and angiogenesis during multistage tumorigenesis[J]. Cancer Cell,2004,5(5):443-453

16 Li Z, Berk M, McIntyre TM, et al. The lysosomal-mitochondrial axis in free fatty acid-induced hepatic lipotoxicity[J]. Hepatology, 2008,47(5):1495-1503 (收稿:2011-06-23)

(修回:2011-07-04)

胱抑素 C 联合尿微量白蛋白在高血压肾病诊断价值

鲁彦 袁秀梅 李德红 王善刚 黄玮 张文敬

摘要 **目的** 分析血胱抑素 C(Cys C)、尿微量白蛋白(mALB)和血肌酐(Cr)单独或联合应用在高血压肾病中的诊断价值。**方法** 检测 38 名高血压患者和 43 名正常对照 Cys C、mALB 和 Cr,首先比较对照组和高血压组 3 个指标有无显著性差异,然后通过典型判别方差分析检验 3 个指标对诊断高血压肾病的诊断价值。通过卡方检验比较 3 个指标阳性率,将 Cys C 分别与 mALB 和 Cys C 组合,比较检测阳性率。**结果** 高血压患者血 Cr 和正常对照比较有显著性差异。Cys C 在诊断高血压肾病中诊断价值高于 mALB 和 Cr。Cys C 和尿 mALB 组合诊断高血压肾病显著高于 Cys C 和 Cr。**结论** 随机尿 mALB 可以作为高血压肾病筛查指标,Cys C 能够显著提高高血压肾病检测率。Cys C 和尿 mALB 组合能够显著提高高血压肾病检测率。

关键词 高血压肾病 胱抑素 C 尿微量白蛋白 肌酐

Value of Combination of Cystatin C with Microalbumin in the Diagnosis of Hypertension Nephritis. Lu Yan, Yuan Xiumei, Li Dehong, et al. Department of Clinical Laboratory, The First Hospital of Chinese People's Liberation Army, Gansu 730030, China

Abstract Objective To explore the value of Cystatin C (Cys C), creatinine (Cr) and microalbumin (mALB) alone or combined in the diagnosis of hypertension nephritis (HN). **Methods** The level of Cys C, mALB and Cr was compared between 38 hypertension patients and 43 healthy controls. The contribution of Cys C, mALB and Cr in the diagnosis of HN was compared by regularized discrimi-