

血管紧张素转换酶 2 在大鼠移植肝保存性损伤中的表达及意义

夏春燕¹, 刘惠敏¹, 李 玲², 施晓敏³, 徐 毅¹, 丛文铭^{4*}

1. 第二军医大学长征医院病理科, 上海 200003
2. 第二军医大学药学院药理学教研室, 上海 200433
3. 第二军医大学长征医院器官移植中心, 上海 200003
4. 第二军医大学东方肝胆外科医院病理科, 上海 200438

[摘要] **目的:**观察血管紧张素转换酶 2(ACE-2)在大鼠移植肝中的表达及其与移植后保存性损伤(PI)的相关性,初步探讨局部肾素-血管紧张素系统(RAS)在肝移植 PI 中的可能作用。**方法:**根据供体肝冷保存时间将移植大鼠分为冷保存(CP)组及未进行冷保存(NCP)组,未进行肝移植的假手术组作对照;组织学检查观察肝脏保存性损伤程度,实时定量 RT-PCR、蛋白质印迹、免疫组化法分别检测术后 1、24、48 h 肝组织 ACE-2 的 mRNA、蛋白水平表达及其组织定位,吖莫硝唑免疫组化染色检测组织缺氧程度。**结果:**肝移植后存在不同程度组织损伤,CP 组更明显;与假手术组相比,肝移植组术后 ACE-2 mRNA 及蛋白水平均显著升高($P<0.01$ 或 $P<0.05$),且 CP 组明显高于 NCP 组($P<0.05$);免疫组化染色显示移植组在肝静脉周围呈阳性表达,染色阳性程度与 ACE-2 mRNA 表达明显正相关($r=0.78, P<0.001$)。**结论:**ACE-2 表达与冷保存导致的移植肝保存性损伤的组织缺氧密切相关,局部 RAS 可能参与了移植肝保存性损伤。

[关键词] 血管紧张素转换酶 2;肝移植;器官保存;保存性损伤

[中图分类号] R 657.3 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2009)07-0757-05

Expression of angiotensin-converting enzyme 2 is increased during preservation injury of liver transplantation in rats

XIA Chun-yan¹, LIU Hui-min¹, LI Ling², SHI Xiao-min³, XU Yi¹, CONG Wen-ming^{4*}

1. Department of Pathology, Changzheng Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200003, China

2. Department of Pharmacology, School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433

3. Center of Organ Transplantation, Changzheng Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200003

4. Department of Pathology, Eastern Hepatobiliary Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200438

[ABSTRACT] **Objective:** To observe the expression of local angiotensin-converting enzyme 2 (ACE-2) in rat liver and its relationship with preservation injury (PI) after transplantation, so as to determine the possible role of local renin-angiotensin system (RAS) in PI caused by the cold-preservation in liver transplantation. **Methods:** The donor liver grafts were divided into cold preservation (CP) and non-cold preservation (NCP) groups; we also included a sham operation group without transplantation. The mRNA and protein levels of ACE-2 in the transplanted livers were detected by quantitative real-time PCR and Western blotting assay, respectively. The location of ACE-2 protein and pimonidazole in liver was detected by immunohistochemistry. Furthermore, histological evaluation was applied to verify the extent of liver damage. **Results:** Histological injuries of different degrees existed after liver transplantation; the injury was more obvious in the CP group. Compared with the sham operation group, the mRNA and protein expression of ACE-2 was significantly increased after liver transplantation ($P<0.05$ or $P<0.01$), and the expression of the CP group was significantly higher than that of the NCP group ($P<0.05$). Pimonidazole staining was positive around the hepatic veins in the transplantation groups, and the intensity of staining was positively correlated with the expression of ACE-2 mRNA ($r=0.78, P<0.001$). **Conclusion:** It is indicated that ACE-2 expression is closely associated with tissue hypoxia during cold preservation-induced PI, and local RAS may play an important role in PI during liver transplantation.

[KEY WORDS] angiotensin-converting enzyme 2; liver transplantation; organ preservation; preservation injuries

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2009, 30(7):757-761]

[收稿日期] 2009-03-05 [接受日期] 2009-04-17

[基金项目] 上海市卫生局科研课题基金(2007081). Supported by the Scientific Research Foundation of Shanghai Health Bureau (2007081).

[作者简介] 夏春燕, 博士, 讲师、主治医师. E-mail: xiacyesq@yahoo. cn

* 通讯作者(Corresponding author). Tel: 021-81875191, E-mail: wmcong@smmu. edu. cn

移植肝保存性损伤(preservation injury, PI)在肝移植手术中普遍存在,这主要是由手术过程中的冷保存引起,而之后的温缺血及再灌注等多个环节又可加重PI。严重的PI可引起多种术后并发症,包括早期肝失功、胆道损伤、排斥反应的发生率升高及移植肝长期存活率下降等严重后果,是目前肝移植领域亟待解决的问题。肾素-血管紧张素系统(renin-angiotensin system, RAS)是最重要的体循环调节体系,其局部效应逐渐为人们所认识,其重要组分血管紧张素转换酶(angiotensin-converting enzyme, ACE)及血管紧张素Ⅱ对某些脏器(心、脑、胰及肝等)的局部血流有调节作用^[1-2],并与局部组织的炎症反应及细胞增殖等密切相关^[3-4]。

血管紧张素转换酶2(ACE-2)是ACE的同系物^[5-6],在RAS系统中起负向调节作用^[7-10]。ACE-2主要分布于肾脏、心脏和睾丸的血管内皮及肠道,在肝脏中仅微量分布^[11-12],与组织缺氧密切相关^[13]。缺血缺氧是肝移植PI中发生的早期事件,提示ACE-2可能与PI有关,但目前缺乏相关证据。因此,本研究以肝移植大鼠为研究对象,通过延长冷保存时间导致肝PI,检测移植后肝组织ACE-2的表达情况,分析其与组织缺氧的相关性,初步探讨局部RAS系统在肝移植PI中的可能价值。

1 材料和方法

1.1 动物分组及处理 同基因型雄性 Sprague-Dawley 大鼠购自第二军医大学实验动物中心。供体鼠体质量150~200 g,受体鼠体质量190~250 g,术前禁食12~15 h,供体采用氯胺酮100 mg/kg 肌内注射麻醉,受体术前30 min 肌内注射阿托品0.1 mg/kg,术中扣戴面罩乙醚吸入麻醉。大鼠随机分为3组,包括:(1)冷保存(cold preservation group, CP)组($n=15$),供肝在4℃ UW 保存液内浸泡24 h 后进行肝移植;(2)未进行冷保存(non cold preservation group, NCP)组($n=15$),供肝取下后,不进行特别的冷保存,但因修肝及受体手术,供肝在4℃ UW 保存液内浸泡约1 h;(3)假手术组($n=15$),不进行移植手术。CP、NCP 组大鼠按改良 Kamada“二袖套法”法进行原位肝移植。

1.2 样本的获取及处理 各实验组在术后1、24、48 h 各处死5只大鼠,取肝组织,部分保存在液氮罐内备用,部分经甲醛溶液固定,常规石蜡包埋。为显示肝细胞缺氧的状况,在动物处死前1 h,麻醉后开腹,经髂腰静脉注入0.9%生理盐水-盐酸化哌莫硝唑(pimonidazole hydrochloride, Chemicon Australia

Pty 公司),剂量为80 mg/kg,之后继续给予麻醉,1 h 后放血处死大鼠,取肝标本。

1.3 实时定量 RT-PCR 检测基因的表达

1.3.1 总 RNA 提取及 cDNA 合成 总 RNA 来自肝移植术后大鼠肝脏组织,按 TRIzol 试剂(Life Technologies 公司)说明提取。采用紫外分光光度法测定 RNA 浓度和纯度,计算样品总 RNA 浓度。用1%琼脂糖凝胶电泳测定 RNA 的完整性,根据总 RNA 合成 cDNA。

1.3.2 引物设计 根据 GenBank 中同源基因的序列报道进行寡核苷酸引物设计合成,具体引物序列:ACE-2 (AY881244),正义链 5'-GAA TGC GAC CAT CAA GCG-3',反义链 5'-CAA GCC CAG AGC CTA CGA-3',扩增产物长度 228 bp; β -actin(V01217):正义链 5'-AAG TCC CTC ACC CTC CCA AAA G-3',反义链 5'-AAG CAA TGC TGT CAC CTT CCC-3',扩增产物长度 97 bp。

1.3.3 PCR 反应 RT-PCR 分析根据 Quanti-Tect™ SYBR® Green PCR (Qiagen)试剂盒说明完成。各引物的标准曲线都根据从样本中提取的 mRNA 扩增所得的 Ct 值来绘制。相对 ACE-2 的 mRNA 丰度值以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 表示: $\Delta Ct = Ct_{\text{目的}} - Ct_{\beta\text{-actin}}$, $\Delta\Delta Ct = \Delta Ct_{\text{目的}} - \Delta Ct_{\text{对照}}$ 。

1.4 蛋白质印迹法检测蛋白的表达 大鼠肝组织加入1 ml RIPA,提取蛋白。制备60 g/L 分离胶和50 g/L 积层胶,每孔上样量为25 μ l,进行 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳,转移至 PVDF 膜上,以50 g/L 脱脂牛奶封闭后,依次滴加1:250 的羊抗 ACE-2 抗体(购自 Santa Cruz 公司,sc-12187)或1:2 000 的 GAPDH(4℃ 过夜)及鼠抗羊 IgG(室温孵育1 h),以 Chemiluminescence (ECL) 系统和 ECL Hyperfilm (Amersham Pharmacia Biotech)进行蛋白测定,并以与内参照 GAPDH 的比值作为半定量指标。

1.5 组织病理学观察 大鼠肝组织经固定、脱水、透明、浸蜡后,切成3~4 μ m 薄片,常规 H-E 染色,显微镜下观察组织损伤情况。

1.6 免疫组织化学染色

1.6.1 ACE-2 免疫组化染色 ACE-2 抗体购自 Santa Cruz 公司,5 μ m 厚石蜡切片65℃ 烘烤,脱蜡、水化后微波修复抗原,继以 S-P 法检测,操作步骤按 S-P 试剂盒说明书进行,DAB 显色,苏木精复染,封固。

1.6.2 哌莫硝唑免疫组化染色 哌莫硝唑是外源性的缺氧标志物,给药后,在组织氧分压降低部位,可与缺氧细胞胞质蛋白形成不可逆的复合物 PARa-Pi (protein adducts of reductively-activated pi-

monidazole), 针对此复合物的单克隆抗体 Hypoxyprobe-1Mab1 (购自 Chemicon Australia Pty Ltd., No. 90204), 可检测出缺氧组织中的 PARa-Pi^[14-15]。具体步骤: 5 μ m 石蜡切片 65℃ 烘烤, 脱蜡、水化后微波修复抗原, 一抗稀释浓度为 1 : 50, 继以 ABC 法检测, 操作步骤按 ABC 试剂盒说明书进行, DAB 显色, 苏木精复染, 封固。哌莫硝唑染色结果以其阳性细胞占肝小叶的面积进行半定量分析。

1.7 统计学处理 采用 SPSS 13.0 软件包, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间的均数比较采用方差分析, 以 Pearson 相关系数进行双变量的相关性分析, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠肝组织 ACE-2 mRNA 的表达情况 结果(图 1)表明: 与假手术组相比, 肝移植组术后 ACE-2 mRNA 升高显著 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 术后 1 h CP 及 NCP 组分别升高 23 倍和 8 倍, 且 CP 组较 NCP 组升高更显著 ($P < 0.05$)。ACE-2 mRNA 升高在术后 1 h 时最明显, 后随着时间的推移逐渐下降, 但至术后 48 h 时 CP 组仍有一个较高水平。

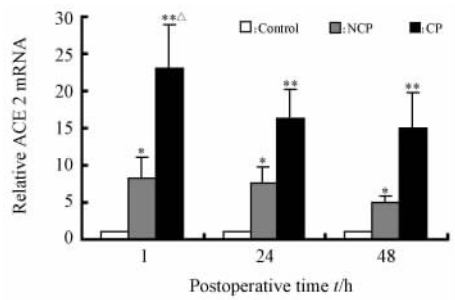


图 1 各组术后不同时间点 ACE-2 mRNA 的动态表达
Fig 1 ACE-2 mRNA expression at designated postoperative points

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs control group; Δ $P < 0.05$ vs NCP group; $n = 5, \bar{x} \pm s$

2.2 大鼠肝组织 ACE-2 蛋白蛋白质印迹检测结果 蛋白质印迹检测结果(图 2)显示: 假手术组大鼠肝组织仅表达微量 ACE-2 蛋白, 移植组大鼠移植后肝组织蛋白表达明显增加, 术后 24 h CP 及 NCP 组分别升高 14 倍和 5 倍 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

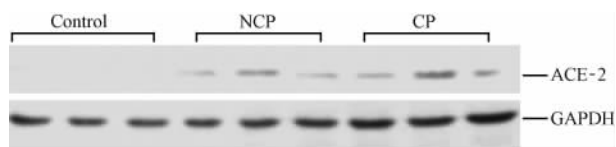


图 2 术后 24 h 时间点 ACE-2 蛋白电泳图
Fig 2 ACE-2 protein expression at 24 h after operation

2.3 大鼠肝组织移植后不同时间点的组织学表现 术后 1 h, CP 组表现为肝窦充血及混合大、小空泡变性; NCP 组表现为中央静脉周散在小泡性变性。术后 24~48 h 肝组织病理学显示: CP 组有显著的气球样变, 同时伴随小灶坏死及中性粒细胞浸润(图 3B); NCP 组出现较多中小泡变性及肝小叶中性粒细胞增多(图 3A)。

2.4 大鼠肝组织免疫组化染色结果

2.4.1 ACE-2 蛋白染色结果 结果(图 4A、4B、4C)表明: 假手术组大鼠肝组织, ACE-2 仅在肝静脉周围的肝窦边缘见少量淡染的痕迹; 移植组 ACE-2 着色明显增强, 分布于肝静脉周围较大范围的肝窦边缘, CP 组汇管区小静脉内皮亦见有阳性着色。

2.4.2 哌莫硝唑染色结果 结果(图 4D、4E、4F)表明: 假手术组大鼠肝组织哌莫硝唑染色阴性; 肝移植后 NCP 组显示以肝静脉为中心呈辐射状的较广泛肝细胞胞质浅棕色染色阳性, 阳性细胞占肝小叶面积为 $(8.7 \pm 2.3)\%$; CP 组肝组织则显示弥漫性的深棕色染色阳性, 肝静脉周围更为明显, 阳性细胞占肝小叶面积为 $(34.0 \pm 4.5)\%$ 。哌莫硝唑染色结果与 ACE-2 mRNA 表达显著正相关 ($r = 0.78, P < 0.001$)。

3 讨论

ACE-2 基因相关研究目前主要集中在心血管系统。Crackower 等^[3]发现高血压动物模型中 ACE-2 水平降低, 敲除小鼠心肌 ACE-2 基因后, 其心脏功能明显受损, 提示 ACE-2 可能是心功能的重要调节因子。Tikellis 等^[12]研究发现糖尿病动物模型中 ACE-2 基因及蛋白水平降低, 与 ACE 的表达水平相平行。研究还显示 ACE-2 的功能与 ACE 相伴随, 它们共同对血管紧张素肽的产生和降解起调节作用, 而 ACE-2 基因敲除小鼠的血管紧张素 II 的水平明显升高^[3, 15]。这些结果提示 ACE-2 与 ACE 的作用可能是互相拮抗的。Burrell 等^[17]研究发现 ACE-2 在缺血心肌中呈反应性升高。Crackower 等^[3]研究发现, ACE-2 基因敲除小鼠心肌组织中血管紧张素 II 的升高与低氧诱导基因表达的上调有关, 认为 ACE-2 可能与维持局部组织的血流灌注及供氧有关, 并以此抵消血管紧张素 II 介导的血管收缩作用。

本研究采用敏感度较高的定量 RT-PCR 方法检测大鼠肝组织 ACE-2 mRNA 表达, 结果发现正常大鼠肝组织 ACE-2 mRNA 处于低水平, 与文献^[11]基本一致。进一步的研究结果表明, 正常肝组织 ACE-2 仅在中央静脉周围的肝窦有少量表达, 而移植后保存性损伤大鼠肝组织则以中央静脉为中心有较大的

阳性着色面积,染色加深,在 CP 组的阳性染色还包括汇管区小静脉的内皮细胞。NCP 组哌莫硝唑染色阳性分布在中央静脉周围,这个区域氧分压相对低,因此在组织缺氧时最先受累,并且随着 PI 严重程度增加,阳性染色区域呈弥漫扩大,相关性分析显示 ACE-2 mRNA 与哌莫硝唑染色显著正相关。以上结果表明在肝移植 PI 中 ACE-2 表达增加与肝组织缺氧密切相关,ACE-2 与肝移植 PI 有较密切的相关性。Der Sarkissian 等^[18]研究发现 ACE-2 高表达对

心肌梗死心脏有保护功能;而 Lovren 等^[19]则发现内皮细胞高表达 ACE-2 可刺激内皮细胞的迁移及管腔形成,并限制单核细胞及细胞黏附分子的表达。这些证据提示缺氧可能是导致 ACE-2 高表达的诱因,而 ACE-2 表达上调可能是机体的一种自我保护措施,升高组织中 ACE-2 的表达水平可能成为防治肝移植 PI 的一个新途径,但其确切机制仍待进一步研究。

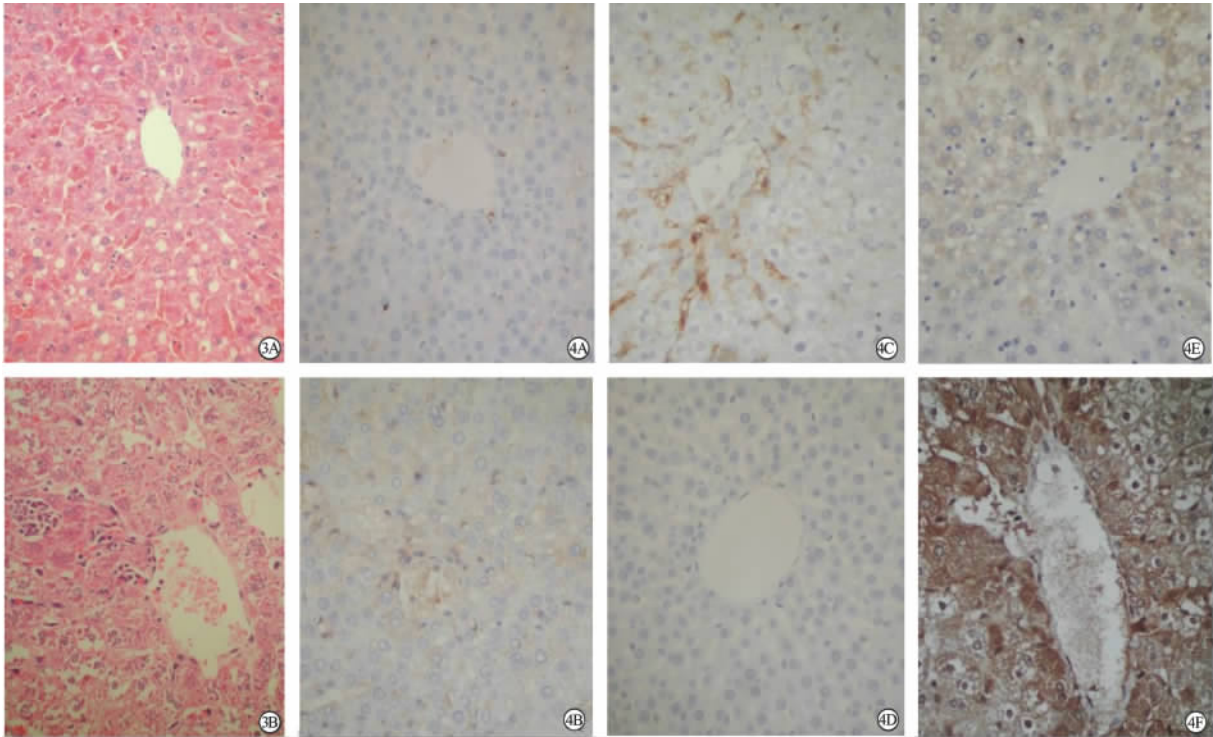


图 3 肝移植术后 24 h 时间点 PI 组织学表现

Fig 3 Histological presentation of PI 24 h after liver transplantation

A: The presence of small and moderate vacuolar degeneration and increase of neutrophils in liver lobules in NCP group; B: The presence of hydropic degeneration accompanied with small focal necrosis and infiltration of neutrophils in CP group. Original magnification: ×300

图 4 大鼠肝组织 ACE-2(A、B、C)和哌莫硝唑(D、E、F)免疫组化染色结果

Fig 4 Immunohistochemical staining results of ACE-2 (A,B,C) and pimonidazole (D,E,F)

A: Trace light colored staining of ACE-2 is only seen in the periphery of the hepatic sinus around the hepatic central vein in normal liver tissue; B: Light brown ACE-2 staining is seen in the blood sinus around the hepatic central vein in NCP group; C: Dark brown ACE-2 staining is seen in the blood sinus around the hepatic central vein in CP group; D: Pimonidazole staining of the normal liver tissue is negative; E: Light brown positive pimonidazole staining is seen extensively in the hepatic cytoplasm around the hepatic central vein in a stellate manner in NCP group; F: Dark brown positive pimonidazole staining is more evident around the hepatic central vein in CP group. Original magnification: ×300

此外,由于在实际工作中,相对于肝移植后的其他并发症,PI 的临床表现及实验室指标均无特异性,早期诊断存在较大的困难,因此寻找诊断特异性标志物对早期诊断肝移植后缺血再灌注损伤(IRI)也十分重要,而 ACE-2 可能成为肝移植 PI 早期诊断的一个潜在的标志物。另一方面,一些关于肝缺血再灌注损伤保护的研究^[20-22]发现,肝组织内 RAS

系统中的一些重要组分,如肾素、血管紧张素原,在基因和蛋白水平的表达均有明显升高,而血管紧张素Ⅱ受体阻滞剂和 ACE 抑制剂可明显改善组织损伤。因此,肝移植 PI 中 ACE-2 表达水平升高有可能是对此时肝组织中高水平血管紧张素Ⅱ或 ACE 的一种负向调节,以此来改善局部组织的缺氧状况,但这种推测有待更多的研究来证实。

综上所述,本研究结果表明 ACE-2 与大鼠肝移植保存性损伤密切相关,其表达升高一方面可能由肝组织缺氧所诱导,另一方面可能是肝脏局部 RAS 系统自身反馈调节的结果。肝移植保存性损伤是组织缺血再灌注损伤的一种类型,肝脏局部 RAS 系统在肝脏各种因素导致的损伤中起重要作用,关于局部 RAS 系统各组分的作用机制及相互关系需要进一步研究阐明,这将有助于对肝移植 PI 发生机制的进一步了解,并为寻找防治 PI 的方法提供新途径。

[参考文献]

[1] De Mello W C, Danser A H. Angiotensin II and the heart; on the intracrine renin-angiotensin system [J]. Hypertension, 2000, 35: 1183-1188.

[2] Paizis G, Gilbert R E, Cooper M E, Murthi P, Schembri J M, Wu L L, et al. Effect of angiotensin II type 1 receptor blockade on experimental hepatic fibrogenesis[J]. J Hepatol, 2001, 35: 376-385.

[3] Crackower M A, Sarao R, Oudit G Y, Yagil C, Kozieradzki I, Scanga S E, et al. Angiotensin-converting enzyme 2 is an essential regulator of heart function[J]. Nature, 2002, 417: 822-828.

[4] Eriksson U, Danilczyk U, Penninger J M. Just the beginning: novel functions for angiotensin-converting enzymes[J]. Curr Biol, 2002, 12: R745-R752.

[5] Johnston C I. Tissue angiotensin converting enzyme in cardiac and vascular hypertrophy, repair, and remodeling [J]. Hypertension, 1994, 23: 258-268.

[6] Donoghue M, Hsieh F, Baronas E, Godbout K, Gosselin M, Stagliano N, et al. A novel angiotensin-converting enzyme-related carboxypeptidase (ACE 2) converts angiotensin I to angiotensin 1-9[J]. Circ Res, 2000, 87: E1-E9.

[7] Ferreira A J, Santos R A. Cardiovascular actions of angiotensin-(1-7)[J]. Braz J Med Biol Res, 2005, 38: 499-507.

[8] Wen Q, Sim M K, Tang F R. Reduction of infarct size by orally administered des-aspartate-angiotensin I in the ischemic reperfused rat heart[J]. Regul Pept, 2004, 120(1-3): 149-153.

[9] Schmaier A H. The kallikrein-kinin and the renin-angiotensin systems have a multilayered interaction[J]. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2003, 285: R1-R13.

[10] Zisman L S, Meixell G E, Bristow M R, Canver C C. Angiotensin-(1-7) formation in the intact human heart; *in vivo* dependence on angiotensin II as substrate[J]. Circulation, 2003, 108: 1679-1681.

[11] Harmer D, Gilbert M, Borman R, Clark K L. Quantitative mRNA expression profiling of ACE 2, a novel homologue of angio-

tensin converting enzyme[J]. FEBS Lett, 2002, 532(1-2): 107-110.

[12] Tikellis C, Johnston C I, Forbes J M, Burns W C, Burrell L M, Risvanis J, et al. Characterization of renal angiotensin-converting enzyme 2 in diabetic nephropathy[J]. Hypertension, 2003, 41: 392-397.

[13] Paizis G, Tikellis C, Cooper M E, Schembri J M, Lew R A, Smith A I, et al. Chronic liver injury in rats and humans upregulates the novel enzyme angiotensin converting enzyme 2[J]. Gut, 2005, 54: 1790-1796.

[14] Samoszuk M K, Walter J, Mechetner E. Improved immunohistochemical method for detecting hypoxia gradients in mouse tissues and tumors[J]. J Histochem Cytochem, 2004, 52: 837-839.

[15] Yaromina A, Zips D, Thames H D, Eicheler W, Krause M, Rosner A, et al. Pimonidazole labelling and response to fractionated irradiation of five human squamous cell carcinoma (hSCC) lines in nude mice: the need for a multivariate approach in biomarker studies[J]. Radiother Oncol, 2006, 81: 122-129.

[16] Yagil Y, Yagil C. Hypothesis: ACE 2 modulates blood pressure in the mammalian organism[J]. Hypertension, 2003, 41: 871-873.

[17] Burrell L M, Risvanis J, Kubota E, Dean R G, MacDonald P S, Lu S, et al. Myocardial infarction increases ACE2 expression in rat and humans[J]. Eur Heart J, 2005, 26: 369-375.

[18] Der Sarkissian S, Grobe J L, Yuan L, Narielwala D R, Walter G A, Katovich M J, et al. Cardiac overexpression of angiotensin converting enzyme 2 protects the heart from ischemia-induced pathophysiology[J]. Hypertension, 2008, 51: 712-718.

[19] Lovren F, Pan Y, Quan A, Teoh H, Wang G, Shukla P C, et al. Angiotensin converting enzyme-2 confers endothelial protection and attenuates atherosclerosis[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2008, 295: H1377-H1384.

[20] Anthuber M, Farkas S, Rihl M, Menger M D, Schildberg F W, Jauch K W, et al. Angiotensin-converting enzyme inhibition by enalapril: a novel approach to reduce ischemia/reperfusion damage after experimental liver transplantation[J]. Hepatology, 1997, 25: 648-651.

[21] Takada G, Jin M B, Masuko H, Yamashita K, Kitagawa N, Takeda K, et al. Role of local renin-angiotensin system in warm ischemia and reperfusion injury of the liver[J]. Transplant Proc, 2001, 33(1-2): 824-825.

[22] Guo L, Richardson K S, Tucker L M, Doll M A, Hein D W, Arteeel G E. Role of the renin-angiotensin system in hepatic ischemia reperfusion injury in rats[J]. Hepatology, 2004, 40: 583-589.

[本文编辑] 贾泽军