

DOI:10.3724/SP.J.1008.2008.00499

不同价态饮水砷暴露对小鼠肝脏的损伤作用

李玲¹, 吴君^{2*}, 蒋玲¹, 欧兵², 张韵², 李诚秀¹, 程明亮², 杨勤³

1. 贵阳医学院药理学教研室, 贵阳 550004

2. 贵阳医学院附属医院感染科, 贵阳 550004

3. 贵阳医学院病理生理学教研室, 贵阳 550004

[摘要] **目的:**比较不同价态的饮水砷暴露对小鼠肝脏的损伤作用,探讨其可能的损伤机制。**方法:**60只雄性昆明种小鼠随机分为对照组(饮用蒸馏水)、300 mg/L iAs^{3+} 暴露组(iAs^{3+} 组)和300 mg/L iAs^{5+} 暴露组(iAs^{5+} 组),饮水砷暴露10个月 after 处死小鼠,检测各组小鼠肝功能、肝组织总砷含量、H-E染色及胶原特殊染色(Masson染色)观察各组小鼠肝组织病理学变化;实时荧光定量PCR测定各组小鼠肝组织中TNF- α 、IL-6、GSH-Px、MMP-8、Col I和Col III mRNA的表达。**结果:** iAs^{3+} 组小鼠肝组织中砷蓄积量高于 iAs^{5+} 组($P < 0.05$); iAs^{3+} 组小鼠肝功能差于 iAs^{5+} 组($P < 0.05$);H-E染色及Masson染色结果表明 iAs^{3+} 组小鼠肝组织损伤及纤维化程度重于 iAs^{5+} 组。与对照组相比, iAs^{3+} 、 iAs^{5+} 组小鼠肝组织TNF- α 、IL-6、Col III mRNA表达明显升高($P < 0.05$),MMP-8 mRNA表达明显下降($P < 0.05$);与 iAs^{5+} 组相比, iAs^{3+} 组小鼠肝组织TNF- α 、IL-6、Col I mRNA表达升高($P < 0.05$)。**结论:**长期饮水砷暴露可能通过促进肝脏炎症介质及ECM分泌诱导慢性肝损伤、肝纤维化,肝损伤程度与砷的价态及蓄积量有关,且 iAs^{3+} 损伤作用强于 iAs^{5+} 。

[关键词] 砷;肝;损伤

[中图分类号] R 995

[文献标志码] A

[文章编号] 0258-879X(2008)05-0499-05

Hepatic damages in mice exposed to drinking water containing arsenic of different valence states

LI Ling¹, WU Jun^{2*}, JIANG Ling¹, OU Bing², ZHANG Yun², LI Cheng-xiu¹, CHENG Ming-liang², YANG Qin³

1. Department of Pharmacology, Guiyang Medical Colleges, Guiyang 550004, China

2. Department of Infectious Diseases, Affiliated Hospital Guiyang Medical College, Guiyang 550004

3. Department of Pathophysiology, Guiyang Medical College, Guiyang 550004

[ABSTRACT] **Objective:** To compare the hepatic damaging effect in mice exposed to arsenic of different valence states (iAs^{3+} and iAs^{5+}) and to probe into the related mechanisms. **Methods:** Sixty mice were divided into control group (distilled water), sodium arsenite group (iAs^{3+} , 300 mg/L) and sodium arsenate group (iAs^{5+} 300 mg/L) at random. The mice were sacrificed 10 months after exposure in the 3 groups. The liver function and total arsenic content in the liver were examined in each group. H-E staining and Masson staining were employed to observe the pathologic changes of the livers. Real-time RT-PCR were used to examine the expression of TNF- α , IL-6, GSH-Px, MMP-8, Col I and Col III mRNA. **Results:** The accumulation of arsenic in iAs^{3+} group was higher than that in the iAs^{5+} group; the liver function of animals in iAs^{3+} group was worse than that in the iAs^{5+} group ($P < 0.05$). H-E and Masson staining showed that the hepatic injury and fibrosis in iAs^{3+} group were severer than those in the iAs^{5+} group ($P < 0.05$). The expression of TNF- α , IL-6, Col I and Col III mRNA was higher and the expression of GSH-Px, MMP-8 mRNA was lower in arsenic exposed mice compared with those in the normal mice ($P < 0.05$). Compared with iAs^{5+} , animals in iAs^{3+} group had higher expression of TNF- α , IL-6, and Col I mRNA ($P < 0.05$). **Conclusion:** Long-term exposure to oral drinking with arsenic can result in hepatic injury and hepatic fibrosis by stimulating secretion of mediators of inflammation and ECM. And the effect of arsenic is related to the arsenic accumulation and the valence states of arsenic.

[KEY WORDS] arsenic; liver; injuries

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2008, 29(5):499-503]

[收稿日期] 2007-10-12

[接受日期] 2008-03-13

[基金项目] 国家自然科学基金(30471592), 中国肝炎防治基金会“王宝恩肝纤维化研究基金”(20070013). Supported by National Natural Science Foundation of China(30471592) and China Wang-Bao-En Foundation for Hepatitis Prevention and Control(20070013).

[作者简介] 李玲, 硕士, 硕士生导师. E-mail: liling63@gmc.edu.cn

* 通讯作者 (Corresponding author). Tel: 0851-6774146, E-mail: wuwuj@21cn.com

砷在自然界中广泛存在,砷化物具有致畸、致癌、致突变等作用^[1-2]。地方性砷中毒对人类健康已构成严重的威胁,我国贵州、新疆、陕西、青海、宁夏、内蒙、安徽、吉林、台湾等省份均已发现地方性砷中毒病区。我国环境砷中毒主要有两大类型:饮水型砷中毒和燃煤型砷中毒,目前备受关注的是饮用高砷水导致的慢性砷中毒。我国饮水型砷中毒病区饮水中砷多以无机 As³⁺ 及 As⁵⁺ 的形态存在。慢性砷中毒的主要表现为皮肤病变及周围神经系统症状,并可累及机体各器官和组织^[2]。有研究^[3]表明,砷摄入体内后主要分布于肝脏,可以在肝脏中蓄积。无机砷的甲基化是机体内砷降解的主要途径,肝脏是无机砷甲基化代谢的主要器官,同时也是砷毒性作用的主要靶器官。慢性砷暴露可导致不同程度的肝损伤、肝纤维化、肝硬化甚至诱导肝癌的发生^[2,4]。因此,本研究应用慢性饮水砷暴露致小鼠肝损伤模型,比较不同价态的砷对小鼠肝脏的损伤作用,并探讨其可能的损伤机制,为我国饮水砷中毒的防治提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 主要试剂 亚砷酸钠(NaAsO₂,相对分子质量129.9),砷酸钠(Na₂HAsO₄·7H₂O,相对分子质量312)均为美国 Sigma Chemical Co 公司产品。TRIzol试剂(Invitrogen Corporation);SYBR Green I 荧光染料、随机引物(Oligo dT)、4种脱氧核苷(dNTPs)、RNA 酶抑制剂(RNase Inhibitor)、MMLV 逆转录酶、PCR 引物均由美国国立卫生研究院癌症/环境卫生研究所刘杰博士惠赠。

1.2 主要仪器 AB104-N 型电子天平(Metter-Toledo Group);TN-100B 型托盘式扭力天平(上海

第二天平仪器厂);紫外分光光度仪(Mastercycler gradient Eppendorf,德国);5700 荧光定量 PCR 仪(Applied Biosystems,美国);核酸蛋白分析仪(Ultrospec 2100 pro Amersham Biosciences,美国);5810R 型台式冷冻离心机(Eppendorf,德国);AEROSET2000 型全自动生化分析仪(Abbott,美国);AAAnalst100 型原子吸收光谱图像分析仪(Perkin-Elmer,美国)。

1.3 实验动物及分组 昆明种小鼠 60 只,清洁级,雄性,体质量(20±2)g,合格证号 SCXK(黔)2002-0001,由贵阳医学院实验动物中心提供。60 只小鼠随机分成对照组、iAs³⁺ 组、iAs⁵⁺ 组(n=20)。对照组小鼠饮用蒸馏水,iAs³⁺ 组小鼠饮用含 As³⁺ 的溶液(由 NaAsO₂ 和双蒸水配成,浓度 300 mg/L),iAs⁵⁺ 组小鼠饮用含 As⁵⁺ 的溶液(由 Na₂HAsO₄·7H₂O 和双蒸水配成,浓度 300 mg/L),自由饮用。10 个月后取血液及肝组织进行后续检测。

1.4 小鼠血清肝功能指标及肝组织总砷含量的测定 取小鼠血清,全自动生化分析仪测定血清丙氨酸转氨酶(ALT)、天冬氨酸转氨酶(AST)、球蛋白(Glb)。取 100~150 mg 肝组织采用原子吸收光谱图像分析法测定组织内总砷含量。

1.5 小鼠肝组织病理学观察 肝组织石蜡包埋、切片,常规 H-E 染色及肝脏纤维组织三重染色(Masson 染色)观察各组小鼠肝脏病理学变化。

1.6 实时荧光定量 PCR 检测肝脏组织炎症介质及肝纤维化相关基因的表达

1.6.1 引物设计与合成 PCR 引物根据 GenBank 中小鼠的 TNF-α、IL-6、GSH-Px、MMP-8、Col I、Col III、18S cDNA 序列进行设计,具体引物序列见表 1。

表 1 PCR 引物序列
Tab 1 Primer sequences for PCR

Gene name	GenBank accession number	Primer sequence (5'-3')
TNF-α	XM_110221	GAC CCT CAC ACT CAG ATC ATC TTC T CCT CCA CTT GGT GGT TTG CT
IL-6	J03783	GCC CAC CAA GAA CGA TAG TCA GAA GGC AAC TGG ATG GAA GTC T
GSH-Px	X03920	CGG GTT CGA GCC CAA TTT GGG TGT TGG CAA GGC ATT C
MMP-8	u96696	GGT AAC TAA CTC TGC AGC CCT CTT CGA ACC AGG GAC GGA ATA TG
Col I	BC007258	GCA GGG TTC CAA CGA TGT TG GCA GCC ATC GAC TAG GAC AGA
Col III	XM_129745	GGT GGT TTT CAG TTC AGC TAT GG CTG GAA AGA AGT CTG AGG AAT GC
18S	X56974	CGA ACG TCT GCC CTA TCA ACT T CCG GAA TCG AAC CCT GAT T

1.6.2 总 RNA 提取及逆转录合成 cDNA 取各小鼠肝组织 100 mg, 加入 TRIzol 试剂 1 ml 磨成匀浆, 应用标准 TRIzol-酚-氯仿一步法提取小鼠肝组织总 RNA 并纯化, 紫外分光光度法测定总 RNA 浓度及纯度。经 MMLV 逆转录酶催化合成 cDNA, 以此为模板进行 PCR 扩增。逆转录反应体系 100 μ l: 包括总 RNA 1 000 ng, 25 mmol/L MgCl₂ 22 μ l, 10 \times PCR Buffer II 10 μ l, 10 mmol/L dNTPs 20 μ l, 10 μ mol/L Oligo dT 5 μ l, 20 U/ μ l RNase Inhibitor 2 μ l, 50 U/ μ l MMLV 逆转录酶 2.5 μ l, RNase-free H₂O 补足体积 (18.5 μ l)。循环参数设置: 25 $^{\circ}$ C 10 min, 48 $^{\circ}$ C 60 min, 95 $^{\circ}$ C 5 min, 4 $^{\circ}$ C 保存, 置-20 $^{\circ}$ C 备用。

1.6.3 PCR 扩增反应及荧光定量分析 在低温环境下 96 孔板逐一加样, 每种目的基因重复上样 3 次, 反应体系为 20 μ l, 包括逆转录产物 4 μ l, 100 μ mol/L 上、下游引物各 0.5 μ l, 2 \times Buffer SYBR Green 10 μ l, RNase-free H₂O 5 μ l。加样完成后, 放

入 5700 荧光定量 PCR 仪, 调节 PCR 扩增条件参数: 预变性 94 $^{\circ}$ C 5 min, 然后 94 $^{\circ}$ C 变性 45 s, 退火 55 $^{\circ}$ C 60 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 60 s, 共 30 个循环, 最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min。测定荧光定量结果 (Ct 值)。

1.7 统计学处理 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SPSS 11.5 统计学软件进行方差分析。

2 结果

2.1 小鼠肝功能及肝组织砷含量的测定结果 结果 (表 2) 显示: 与对照组相比, 饮水砷暴露组 (iAs³⁺ 组、iAs⁵⁺ 组) 小鼠肝脏组织中有明显的砷蓄积, 且 iAs³⁺ 组高于 iAs⁵⁺ 组, 前者为后者的 1.53 倍, 具有统计学差异 ($P < 0.05$)。iAs³⁺ 组 ALT、AST、Glb 均明显高于对照组 ($P < 0.05$); iAs⁵⁺ 组 ALT、AST 明显高于对照组 ($P < 0.05$), Glb 亦升高, 但无统计学差异。iAs³⁺ 组 ALT、AST、Glb 值均较 iAs⁵⁺ 组高, 其中 AST 值差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

表 2 小鼠肝功能及肝组织砷含量检测结果

Tab 2 Arsenic contents in liver tissue and liver function of mice

($n=10, \bar{x} \pm s$)

Group	Arsenic content in liver tissue ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)	ALT $\bar{x}_B / (\text{U} \cdot \text{L}^{-1})$	AST $\bar{x}_B / (\text{IU} \cdot \text{L}^{-1})$	Glb $\rho_B / (\text{g} \cdot \text{L}^{-1})$
Control		36.67 \pm 3.51	135.00 \pm 20.42	20.86 \pm 0.61
iAs ³⁺	3.992 \pm 0.25	61.46 \pm 13.85*	510.86 \pm 59.01*	26.94 \pm 3.73*
iAs ⁵⁺	2.603 \pm 0.36 Δ	43.31 \pm 4.21*	258.93 \pm 22.40* Δ	24.59 \pm 5.27

* $P < 0.05$ vs Control group, $\Delta P < 0.05$ vs iAs³⁺ group

2.2 小鼠肝组织病理学观察结果 肉眼可见: 对照组小鼠肝脏体积正常, 无淤血肿大及脂肪变; iAs³⁺ 组和 iAs⁵⁺ 组肝组织有不同程度体积增大, 表面不光滑, 切面呈黄色或红褐色, 提示有轻度脂肪变性。H-E 染色结果: 对照组小鼠肝小叶结构完整, 无变性、坏死、炎性细胞浸润及纤维组织增生 (图 1A); iAs⁵⁺ 组小鼠肝细胞水样变性, 脂肪样变性, 炎细胞浸润, 伴肝细胞再生 (图 1B); iAs³⁺ 组小鼠肝细胞水样变性, 脂肪样变性, 气球样变性, 肝细胞液化坏死, 炎细胞浸润, 肝细胞再生, 汇管区少许纤维增生, 纤维条索形成 (图 1C)。Masson 染色结果: 对照组小鼠肝小叶结构正常, 无明显胶原纤维分布 (图 2A); iAs⁵⁺ 组肝细胞间有细分支状的纤维束 (图 2B), iAs³⁺ 组肝细胞间有粗大的纤维条索 (图 2C)。病理结果表明, 小鼠饮水砷暴露 10 个月, 肝组织已出现

明显的炎性损伤, 初步形成肝纤维化, 且 iAs³⁺ 组损伤重于 iAs⁵⁺ 组。

2.3 小鼠肝脏组织细胞因子及肝纤维化相关基因的表达结果 荧光定量 PCR 结果 (表 3) 表明: 与对照组相比, iAs³⁺ 组小鼠肝组织 TNF- α 、IL-6、Col I、Col III mRNA 的表达明显升高 ($P < 0.05$), GSH-Px、MMP-8 mRNA 的表达明显下降 ($P < 0.05$); iAs⁵⁺ 组小鼠肝组织 TNF- α 、IL-6、Col III mRNA 的表达明显升高 ($P < 0.05$), Col I mRNA 的表达亦升高, 但无统计学意义, MMP-8 mRNA 的表达明显下降 ($P < 0.05$), GSH-Px mRNA 的表达亦下降, 但无统计学意义。与 iAs⁵⁺ 组相比, iAs³⁺ 组小鼠肝组织 TNF- α 、IL-6、Col I、Col III mRNA 的表达升高, GSH-Px mRNA 表达下降, 但仅有 TNF- α 、IL-6、Col I 的差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

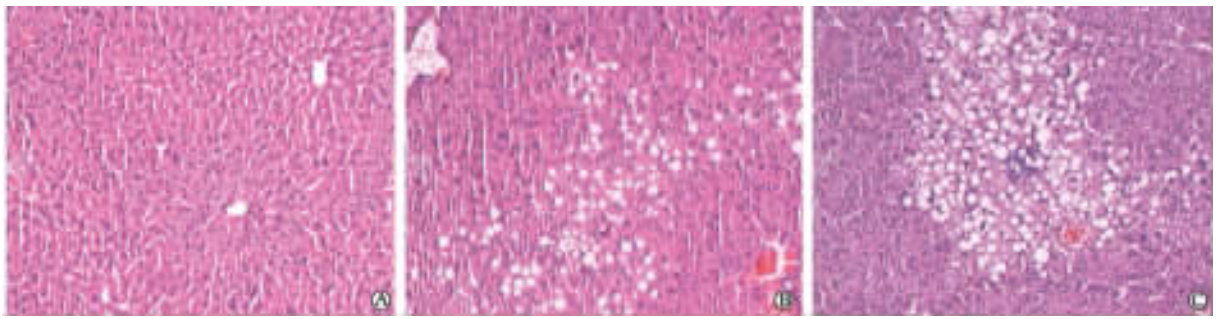


图 1 各组小鼠肝组织 H-E 染色结果

Fig 1 H-E staining results of mice hepatic tissues

A: Control group; B: iAs⁵⁺ group; C: iAs³⁺ group. Original magnification: ×200

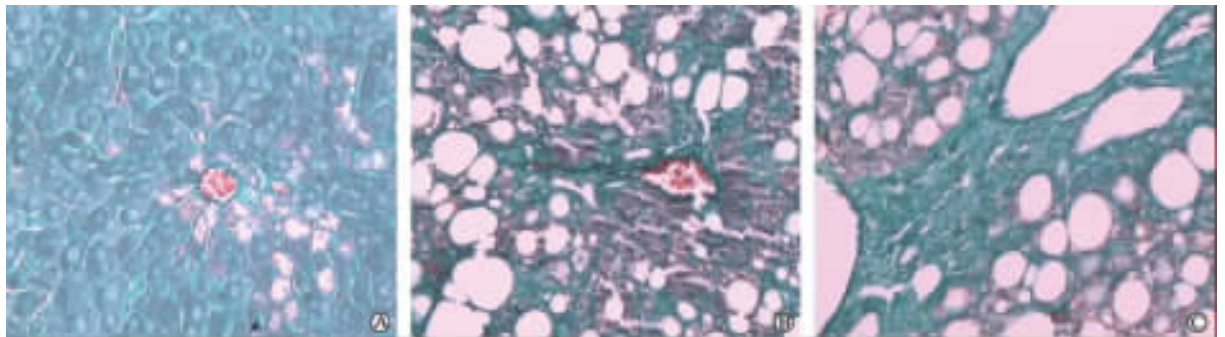


图 2 各组小鼠肝组织 Masson 染色结果

Fig 2 Masson staining result of mice hepatic tissues

A: Control group; B: iAs⁵⁺ group; C: iAs³⁺ group. Original magnification: ×400

表 3 TNF-α、IL-6、GSH-Px、MMP-8、Col I and Col III mRNA 表达结果

Tab 3 Expression of TNF-α, IL-6, GSH-Px, MMP-8, Col I and Col III mRNA

(n=10, $\bar{x} \pm s$)

Group	TNF-α	IL-6	GSH-Px	MMP-8	Col I	Col III
Control	11.8±3.2	39.9±21.6	1.373±0.364	52.77±13.39	55.23±10.18	43.43±12.98
iAs ³⁺	48.6±19.78*	218.9±70.1*	1.095±0.123*	26.72±13.57*	170.97±92.63*	87.75±13.18*
iAs ⁵⁺	35.6±10.8*△	84.2±28.4*△	1.285±0.384	20.00±7.73*	63.59±24.23△	71.27±17.10*

* P<0.05 vs Control group; △ P<0.05 vs iAs³⁺ group

3 讨论

近年来国内外流行病学调查研究和动物实验已证实长期饮水砷暴露可导致慢性砷中毒,造成多器官组织如肝、肾、肺等损伤,其发病率及严重程度与砷暴露时间及水砷含量等因素密切相关。Liu 等^[5]在实验动物饮用水中加入亚砷酸钠,结果发现砷在动物肝脏中蓄积浓度较高,蓄积量与砷的暴露浓度呈正相关,且随蓄积量的增高,肝损伤的程度逐渐加重,甚至有发展为肝纤维化、肝硬化、肝癌的趋势。本研究结果表明 iAs³⁺ 暴露组小鼠肝脏砷蓄积量明显高于 iAs⁵⁺ 组,小鼠肝功能指标及肝脏病理学检查结果表明 iAs³⁺ 组肝损伤程度重于 iAs⁵⁺ 组,再次

证实肝损伤程度与砷蓄积量正相关。砷毒理学研究资料^[6]表明 iAs⁵⁺ 在机体内被还原为 iAs³⁺,再进行甲基化代谢,其中 MMA⁵⁺ 还原酶是砷代谢整个过程中的关键酶,而砷在体内的活性代谢产物是导致机体发生砷中毒的主要因素。这提示 iAs³⁺ 所导致的肝脏炎症反应比 iAs⁵⁺ 强。iAs³⁺ 的排泄途径主要为胆汁, iAs⁵⁺ 的排泄途径主要为肾脏, iAs⁵⁺ 较 iAs³⁺ 在体内的排泄速度快^[7]。这提示 iAs³⁺ 在体内蓄积的趋势更大,其毒性也相应增加。目前常采集染砷动物的尿液或血液标本来进行各种价态砷(iAs³⁺、iAs⁵⁺)含量的测定,但由于本实验选用的受试动物为小鼠,其血液标本较少,且其尿液收集工作较难实施,故未能分别测量两种价态砷的含量,希望

能在后续研究中弥补这一缺陷。

砷毒性作用机制可能与其诱发活性氧自由基的产生以及抑制抗氧化物的活力从而导致氧化损伤关系密切^[8-9]。活性氧可刺激与肝损伤有关的基因表达,释放前炎症细胞因子(TNF- α 、IL-6、IL-1 α 、 β 等)导致肝损伤^[10]。Liu等^[11]研究发现,砷可以明显改变与应激、DNA损伤、转录因子激活和细胞因子产生相关基因的表达。TNF- α 和IL-6在肝组织及血清中的表达随病情的加重而升高,与肝细胞损伤程度密切相关。本研究结果显示,TNF- α 、IL-6 mRNA在iAs³⁺组和iAs⁵⁺组中均高表达,说明TNF- α 、IL-6在饮水砷暴露肝损伤机制中可能起重要作用。GSH-Px是一种含巯基的抗氧化酶,主要以GSH为底物催化过氧化物的分解,从而起到抗氧化作用。砷对生物膜上的巯基有很强的亲和力,它在体内可代谢为有机砷自由基,从而直接与含巯基的GSH-Px结合,使后者活性降低^[12]。黄晓欣等^[13]发现慢性砷中毒患者体内GSH-Px活力随着中毒程度的加重而下降,而本研究结果显示,GSH-Px mRNA在iAs³⁺组和iAs⁵⁺组中均呈低表达,与上述报道一致。由此可见,砷可能通过抑制GSH-Px活性而发挥损伤作用。

肝脏受到慢性损伤时,肝脏细胞外基质(ECM)分泌和降解失衡,导致ECM在肝脏中过多沉积^[14],其主要成分是Col I和Col III^[15],两者是常用于评估ECM沉积的重要指标。肝脏ECM的代谢主要由基质金属蛋白酶(MMPs)及基质金属蛋白酶组织抑制因子(TIMPs)共同调节,MMPs促进ECM的降解,MMP-8主要作用是分解I型胶原,而TIMPs通过抑制MMPs活性阻止ECM的降解。本研究结果发现,Col I、Col III mRNA在砷暴露小鼠肝组织中高表达,表明ECM在砷暴露小鼠肝组织中合成增加,而MMP-8 mRNA在小鼠肝组织中表达降低,表明ECM降解减少。结果表明长期饮水砷暴露,可导致ECM在肝脏中过多沉积。本研究选择肝脏纤维组织特殊染色法来观察砷暴露后的小鼠肝脏组织,结果发现在饮水砷暴露组小鼠肝脏中已出现明显的胶原纤维束,表明饮水砷暴露可诱导肝脏纤维化;肝损伤程度与砷的价态及蓄积量有关,且iAs³⁺损伤作用强于iAs⁵⁺。

(志谢 本研究得到美国NIH刘杰博士的大力支持和无私帮助,在此表示衷心感谢!)

[参考文献]

- [1] Ng J C, Wang J, Shraim A. A global health problem caused by arsenic from natural sources[J]. *Chemosphere*, 2003, 52: 1353-1359.
- [2] 吴君. 砷对肝脏毒性的研究进展[J]. *中国药物与临床*, 2005, 5: 645-647.
- [3] 杨瑞瑛, 李子杰, 林勤, 王生玲, 张玲, 马品江, 等. 砷中毒大鼠体内各脏器、组织中砷的分布[J]. *中国地方病防治杂志*, 2005, 20: 260-262.
- [4] Santra A, Maiti A, Das S, Lahiri S, Charkaborty S K, Mazumder D N. Hepatic damage caused by chronic arsenic toxicity in experimental animals[J]. *J Toxicol Clin Toxicol*, 2000, 38: 395-405.
- [5] Liu J, Liu Y, Goyer R A, Achanzar W, Waalkes M P. Metallothionein- I / II null mice are more sensitive than wild-type mice to the hepatotoxic and nephrotoxic effects of chronic oral or injected inorganic arsenicals[J]. *Toxicol Sci*, 2000, 55: 460-467.
- [6] 秦秀军, 裴秋玲. 几种砷代谢相关酶和转运蛋白及其遗传多态性的研究进展[J]. *中国地方病学杂志*, 2005, 24: 232-233.
- [7] Csanaky I, Gregus Z. Species variations in the biliary and urinary excretion of arsenate, arsenite and their metabolites[J]. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*, 2002, 131: 355-365.
- [8] 熊传龙, 张秀丽, 蔡生花, 王菊, 党洪祥, 潘爱玉, 等. 高砷水对机体氧化与抗氧化能力的影响[J]. *中国地方病学杂志*, 2004, 23: 365-366.
- [9] Modi M, Kaul R K, Kannan G M, Flora S J. Co-administration of zinc and n-acetylcysteine prevents arsenic-induced tissue oxidative stress in male rats[J]. *J Trace Elem Med Biol*, 2006, 20: 197-204.
- [10] Yamaguchi Y, Matsumura F, Takeya M, Ichiguchi O, Kuratsu J I, Horiuchi T, et al. Monocyte chemoattractant protein-1 enhances expression of intercellular adhesion molecule-1 following ischemia-reperfusion of the liver in rats[J]. *Hepatology*, 1998, 27: 727-734.
- [11] Liu J, Xie Y, Ward J M, Diwan B A, Waalkes M P. Toxicogenomic analysis of aberrant gene expression in liver tumors and nontumorous livers of adult mice exposed in utero to inorganic arsenic[J]. *Toxicol Sci*, 2004, 77: 249-257.
- [12] 李健学, 张妍, 曹静祥, 吉荣娣, 薛春霄, 罗振东, 等. 地方性砷中毒患者血中氧自由基代谢的变化. 第三届全国地方病学术会议论文集 12[C]. 哈尔滨: 中国地方病学杂志编辑部出版, 1996: 205.
- [13] 黄晓欣, 张爱华, 杨大平, 洪峰, 张碧霞, 罗鹏, 等. 燃煤型砷中毒患者临床特征、多系统损害及其意义[J]. *中国地方病学杂志*, 2002, 21: 490-493.
- [14] Nagase H, Woessner J F Jr. Matrix metalloproteinases[J]. *J Biol Chem*, 1999, 274: 21491-21494.
- [15] 朱跃科, 王宝恩, 申风俊, 王爱民, 贾继东, 马红. 肝纤维化过程中胶原、基质金属蛋白酶及其抑制因子表达的动态变化及相互关系[J]. *中华肝脏病杂志*, 2004, 12: 612-615.