

本文引用:李 雪,张玮琛.加味大柴胡汤对阻塞性黄疸老年大鼠 TRPC1 表达的影响[J].湖南中医药大学学报,2019,39(11):1331-1335.

加味大柴胡汤对阻塞性黄疸老年大鼠 TRPC1 表达的影响

李 雪¹,张玮琛^{2*}

(1.湖北中医药大学,湖北 武汉 430060;2.武汉市第五医院,湖北 武汉 430050)

【摘要】目的 探讨加味大柴胡汤在临床上辅助治疗老年阻塞性黄疸的理论机制。**方法** 通过结扎胆总管的外科手术方法建立阻塞性黄疸老年大鼠模型,实验分为假手术组、模型组、加味大柴胡汤组,予以相应干预,分3、7、10 d共3个时间段,每组10只SPF级老年SD大鼠,在各时间段取老年大鼠肝组织及心脏血,检测AST、ALT及TBA;采用钙离子试剂盒检测老年鼠肝组织匀浆钙离子浓度;采用Western Blot法检测老年鼠肝组织TRPC1蛋白的表达,采用Tunel法观察肝细胞凋亡情况。**结果** 造模成功后各时间点模型组、加味大柴胡汤组与假手术组比较,ALT、AST、TBA和Ca²⁺浓度均升高,且模型组上升更明显($P<0.01$),模型组、加味大柴胡汤组的TRPC1的蛋白含量也均高于假手术组($P<0.01$),且加味大柴胡汤组肝细胞的凋亡率低于模型组($P<0.01$)。**结论** 梗阻性黄疸老年大鼠TRPC1表达明显升高,加味大柴胡汤下调TRPC1的表达,可能是其降低钙超载,减少肝细胞凋亡的机制之一。

【关键词】 阻塞性黄疸;老年大鼠;加味大柴胡汤;细胞凋亡;TRPC1

【中图分类号】R285.5;R256.41

【文献标志码】A

【文章编号】doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2019.11.008

Effects of Jiawei Dachaihu Decoction on TRPC1 Expression in Aged Rats with Obstructive Jaundice

LI Xue¹, ZHANG Weichen^{2*}

(1. Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan, Hubei 430060, China; 2. Wuhan Fifth Hospital, Wuhan, Hubei 430050, China)

【Abstract】Objective To investigate the theoretical mechanism of Jiawei Dachaihu Decoction in the treatment of obstructive jaundice in the aged rats. **Methods** The old rat model of obstructive jaundice was established by the surgical method of ligating the common bile duct. The experiment was divided into a sham operation group, a model group and a Jiawei Dachaihu Decoction group. Corresponding interventions were given for 3 time periods of 3, 7 and 10 d, with 10 SPF aged SD rats in each group. The liver tissue and heart blood of aged rats at various time points were taken to detect AST, ALT and TBA; Calcium ion kit was used to detect the calcium ion concentration in liver tissue of aged rats. The expression of TRPC1 protein in liver tissue of aged rats was detected by Western Blot. The apoptosis of hepatocytes was observed by Tunel method. **Results** After successful modeling, the ALT, AST, TBA and Ca²⁺ concentrations were increased in the model group, the Jiawei Dachaihu Decoction group and the sham operation group, and the model group increased significantly ($P<0.01$). The protein content of TRPC1 in the model group and the Jiawei Dachaihu Decoction group was also higher than that in the sham operation group ($P<0.01$), and the apoptosis rate of hepatocytes in Jiawei Dachaihu Decoction group was lower than that in model group ($P<0.01$). **Conclusion** The expression of TRPC1 is significantly increased in aged rats with obstructive jaundice. The expression of TRPC1 is down-regulated by Jiawei Dachaihu Decoction, which may be one of the mechanisms to reduce calcium overload and reduce hepatocyte apoptosis.

【Keywords】 obstructive jaundice; aged rats; Jiawei Dachaihu Decoction; apoptosis; TRPC1

【收稿日期】2018-10-31

【基金项目】湖北省自然科学基金面上项目(2016CFB591)。

【作者简介】李 雪,女,在读硕士研究生,研究方向:中医药防治老年病。

【通讯作者】*张玮琛,女,副教授,硕士研究生导师,E-mail:1499791612@qq.com。

阻塞性黄疸(obstructive jaundice)是由于肝外或肝内胆管部分性或完全性阻塞,使胆汁不能排入十二指肠而返流入血,致皮肤、巩膜和黏膜等机体组织黄染。阻塞性黄疸首先对肝脏本身造成损伤,若未得到及时治疗,全身各个器官都会发生不同程度的损害^[1]。随着我国老年人口的增加,老年人患阻塞性黄疸的比例也增加^[2]。老年患者因机体功能的退化,阻塞性黄疸发生时其临床症状并不典型,故而易延误诊断及治疗,可一旦症状加重,又因合并多种并发症,手术的风险和术后的死亡率均增高^[3-4]。现有研究已证实阻塞性黄疸时胆汁排出受阻以及继发的内毒素血症是造成其各种病理生理改变的重要物质基础^[5]。若不及时解决相关梗阻问题,肝脏最终会随着梗阻时间的延长而萎缩,肝细胞最终甚至会消亡。故对阻塞性黄疸的老年患者如何进行术前减黄,从而减轻代表性的肝损害成为临床的棘手问题,但国内尚未对此开展深入研究。

传统医学对黄疸的最早认识来自《黄帝内经》,“湿热相交,民病瘴也……溺黄,赤安卧者,黄疸……目黄者,曰黄疸”。后《金匱要略》又指出:“黄家所得,从湿得之。”故中医学对黄疸病因病机的认识强调湿邪为患,阻塞性黄疸由于肝郁气滞,肝胆湿热,气血瘀滞,胆汁瘀积,结聚而成石,致使“中清之腑”成为不清之腑,气机运行不畅而郁积肝胆^[6]。大柴胡汤出自《伤寒杂病论》,有和解少阳、攻下热结之功。加味大柴胡汤是根据《金匱要略》在大柴胡汤中加入茵陈、金钱草,诸药配伍,既可疏利肝胆之气滞,又可荡涤肠胃之实热。谢毅^[7]通过实验发现加味大柴胡汤可减轻阻塞性黄疸大鼠因内毒素造成的肝损伤;余水平^[8]也通过实验证实加味大柴胡汤可影响参与梗阻性黄疸大鼠胆汁酸代谢相关基因的表达而缓解肝脏能量代谢障碍。除此之外,加味大柴胡汤是否可通过其他途径减少肝损害肝细胞凋亡与钙超载密切相关,钙内流又与钙库操纵性钙通道(store-operated Ca^{2+} entry, SOCE)的介导有关,TRPC1是肝细胞上SOCE的主要成分,TRPC1在此过程中是否起作用?本文采用阻塞性黄疸老年大鼠模型观察加味大柴胡汤对肝脏TRPC1表达及肝损伤的影响,为临床上加味大柴胡汤治疗老年人阻塞性黄疸提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

方药的制备:柴胡 10 g,黄芩 10 g,大黄 6 g,

枳实 10 g,白芍 12 g,半夏 10 g,生姜 10 g,大枣 10 g,茵陈 30 g,金钱草 20 g(以上饮片均购于武汉市第五医院中药房)。称取 4 倍加味大柴胡汤处方量,用水浸泡后加热煮沸,文火煎煮 1 h 后过滤;按上述方法再煎煮 2 次,将 3 次滤液合并后,文火浓缩至含生药量 1 g/mL, -20 °C 冷藏备用(一次性准备所有加味大柴胡汤用量)。人每日剂量为 140 g/60 kg,大鼠每日剂量为 9.3 g/kg,分 2 次灌胃。

1.2 实验动物及分组

SPF 级健康 SD 老年大鼠雌雄共 90 只,鼠龄为 12 个月,由三峡大学实验动物中心提供,实验动物生产许可证号:SCXK(鄂)2017-0012,体质量 450~550 g,随机分为 3 组:假手术组、模型组、加味大柴胡汤组;后再根据随机原则将每组细分为 3、7、10 d 3 个不同时间段,每个时间段 10 只 SD 老年大鼠。

1.3 主要试剂

丙谷转氨酶(ALT)试剂盒、谷草转氨酶(AST)试剂盒(长春汇力),总胆汁酸(TBA)试剂盒、钙离子测定试剂盒(南京建成生物工程研究所),磷酸酶抑制剂、PMSF、RIPA 裂解液、BCA 蛋白浓度测定试剂盒(碧云天),TEMED、30%丙烯酰胺(Amresco),SDS 上样缓冲液、TG(国药集团化学试剂有限公司),蛋白 marker(14~120 kD)(北京全式金生物技术有限公司),PVDF 膜(0.45 μm)(Millipore),兔多抗 GAPDH(杭州贤至生物有限公司),兔多抗 TRCP1(55 kD, Bioss),HRP 标记羊抗兔二抗(武汉博士德生物工程有限公司),ECL 底物液(Thermo),包埋石蜡(国药集团),细胞凋亡检测试剂盒(上海翊圣生物科技有限公司),抗荧光淬灭封片剂(Southernbiotech)。

1.4 主要仪器

Chemray 型全自动生化分析仪(美国 Rayto 公司),Multiskan MK3 型全自动酶标仪(美国 Thermo scientific 公司),DYY-7C 型电泳仪电源、DYCZ-24DN 型垂直电泳槽、DYCZ-40 型电转仪(北京六一仪器厂),TS-1 型水平摇床(江苏海门其林贝尔仪器制造有限公司),T8-1 型磁力搅拌器(江苏省金坛市中大仪器厂),Mulitskan MK3 型酶标仪(美国 Thermo 公司),显微镜(奥林巴斯 BX53 生物显微镜)。

1.5 模型制备与干预

造模组术前 24 h 禁食禁水,腹内注射 10%水合氯醛溶液麻醉后消毒,上腹正中切口入腹,开腹后胆总管中上 1/3 行胆总管双重结扎,关腹。假手术组仅单纯游离胆总管后关腹。术后 6 h 模型组和假手术组

给予生理盐水灌胃(2 mL/次,2 次/d);加味大柴胡汤组给予加味大柴胡汤灌胃(2 mL/次,2 次/d)。分笼饲养,自然光照,温度 20~25 °C,湿度 20%~30%,自由进食水。

1.6 标本处理

各组大鼠分别于术后 3、7、10 d,用 10%水合氯醛麻醉后消毒,开胸、开腹,按下列顺序取材备检:(1)从心脏穿刺抽血,放入采血管,离心制备血清后,置于 4 °C 冰箱保存,待测 ALT、AST、TBA、Ca²⁺浓度;(2)游离肝脏,取一块右肝下叶组织放入 EP 管中,先置于干冰上,待所有组织取完,移入 -80 °C 冰箱保存,用 Western-Blot 法测 TRPC1 蛋白表达情况;(3)取一块右肝下叶组织放入装有 4%多聚甲醛的 EP 管中,待所有组织取完,常温保存,用 Tunel 法检测凋亡。

1.7 ALT、AST、TBA 检测

参照试剂盒说明书,采用生化分析法检测各组大鼠血清中 ALT、AST、TBA 含量。

1.8 Ca²⁺浓度检测

参照试剂盒说明书,采用全自动酶标仪检测各组老年大鼠肝组织中钙离子含量。

1.9 TRPC1 的检测

采用免疫蛋白印迹(Western Blot)方法测定 TRPC1 蛋白含量。提取蛋白后将蛋白样本适当稀释后测定蛋白浓度,用沸水浴的方法使蛋白变性,然后保存备用。制备 SDS-PAGE 电泳胶后,将制备好的蛋白样品和 MAKER 加入上样孔,先恒压 80 V 电泳至溴酚蓝指示剂在浓缩胶与分离胶交界处成线状,改为恒压 120 V 至溴酚蓝到凝胶底部。电转膜后脱脂奶粉室温封闭 2 h,用封闭液稀释 GAPDH 和 TRPC1,4 °C 孵育过夜。用 TBST 洗去 GAPDH 和 TRPC1,加稀释后兔多抗 GAPDH 和 TRPC1,37 °C 摇床孵育 2 h,洗去多余 GAPDH 和 TRPC1。显色曝光后晾干胶片,用 Band Scan 分析胶片灰度值。样本蛋白含量以目的条带和内参条带的积分吸光度比值表示。

1.10 肝细胞凋亡的检测

采用末端脱氧核苷酸转移酶介导的脱氧尿苷三磷酸缺口末端标记(Tunel)法测肝细胞凋亡。将老鼠肝组织脱水后,用无水乙醇和二甲苯(1:1 比例)进行

透明,透明后的组织在脱水机中依次经 3 缸石蜡(60 °C)进行浸蜡。将浸透蜡的组织包埋入石蜡中,组织块与包埋石蜡融为一体后进行切片和烤片。切片脱蜡后用 PBS 轻轻润洗切片,每个样本上滴加 100 μL 浓度为 20 μg/mL 的 Proteinase K 溶液,室温孵育 20 min。用 PBS 溶液润洗样本后,每个样本滴加 100 μL 1×Equilibration Buffer,室温孵育 10~30 min。洗掉大部分 Buffer 后加入 TdT 孵育缓冲液,将载玻片置于湿盒内,在 37 °C 孵育 60 min,避光。然后用 PBS 洗涤 3 次,每次 5 min。滴加 DAPI 避光孵育 5 min,对标本进行染核, PBST 5 min×4 次洗去多余的 DAPI。用吸水纸擦干切片上的液体,封片,然后在荧光显微镜下观察采集图像。荧光显微镜下组织切片上调亡的细胞呈绿色荧光,细胞核呈蓝色荧光。

2 统计学分析

采用 SPSS 22.0 统计学软件进行统计学分析,计量资料用“ $\bar{x}\pm s$ ”表示,多组均数用方差检验,方差齐后用单因素方差分析,方差不齐用非参多重比较法, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 动物模型情况

假手术组老年大鼠精神、饮食等一般情况良好。模型组在术后眼睛、耳朵及尾部均出现黄染,尿色变黄,精神萎靡,进食量下降。加味大柴胡汤组术后眼睛、耳朵、尾部及尿液均出现变黄的现象,其黄染程度比模型组稍轻,也伴有活动减少,进食量下降的情况。

3.2 不同时间点各组大鼠血清 ALT、AST 及 TBA 含量变化

随着梗阻时间的延长,模型组和加味大柴胡汤组的肝损伤指标 ALT、AST 含量也随之升高($P<0.01$),模型组比大柴胡汤组升高更明显($P<0.01$),且与假手术组相比,组间差异有统计学意义($P<0.01$)。在各个时间段,模型组和大柴胡汤组的 TBA 水平明显高于假手术组($P<0.01$),且模型组 TBA 升高程度比大柴胡汤组更明显,差异有统计学意义($P<0.01$),见表 1。

表 1 各组各时相点大鼠血清 ALT、AST 及 TBA 含量($\bar{x}\pm s$, $n=10$,U/L)

组别	ALT			AST			TBA		
	3 d	7 d	10 d	3 d	7 d	10 d	3 d	7 d	10 d
假手术组	33.15±6.10	34.88±3.81	34.18±3.87	68.21±3.45	70.71±5.10	72.09±5.66	11.57±1.76	20.26±3.21	27.40±6.74
模型组	100.95±5.16 ^{△△}	169.63±12.36 ^{△△}	256.94±12.49 ^{△△}	166.64±11.26 ^{△△}	248.22±24.83 ^{△△}	344.88±24.37 ^{△△}	59.58±4.05 ^{△△}	62.94±4.71 ^{△△}	73.90±8.18 ^{△△}
加味大柴胡汤组	63.32±14.30 ^{△△△}	99.67±18.12 ^{△△△}	172.51±12.97 ^{△△△}	124.51±13.93 ^{△△△}	180.85±24.78 ^{△△△}	224.00±16.41 ^{△△△}	36.62±3.66 ^{△△△}	40.51±3.79 ^{△△△}	46.01±6.19 ^{△△△}

注:与假手术组比较,△ $P<0.01$;与模型组比较,▲ $P<0.01$

3.3 不同时间点各组大鼠肝组织中Ca²⁺含量变化

模型组中Ca²⁺含量随着梗阻时间的延长而升高,与假手术组和加味大柴胡汤组相比,差异有统计学意义($P<0.01$),见表2。

表2 各组各时相大鼠肝组织中Ca²⁺含量

($\bar{x}\pm s, n=10, \mu\text{mol/gprot}$)

组别	3 d	7 d	10 d
假手术组	0.05±0.01	0.05±0.01	0.06±0.01
模型组	0.12±0.01 ^{△△}	0.12±0.01 ^{△△}	0.13±0.01 ^{△△}
加味大柴胡汤组	0.08±0.01 ^{△△▲▲}	0.09±0.01 ^{△△▲▲}	0.10±0.01 ^{△△▲▲}

注:与假手术组比较,△△ $P<0.01$;与模型组比较▲▲ $P<0.01$

3.4 Western 检测大鼠肝组织中TRPC1 蛋白含量

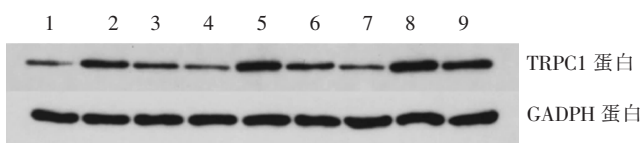
与假手术组比较,模型组TRPC1的含量各时相点出现均高于假手术组($P<0.01$)。与模型组比较,加味大柴胡汤组TRPC1的含量各时相点出现均低于模型组($P<0.01$),见表3、图1。

表3 Western 检测各组各时相老年大鼠肝组织

TRPC1 蛋白含量($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	3 d	7 d	10 d
假手术组	0.318±0.019	0.272±0.040	0.270±0.040
模型组	0.659±0.073 ^{△△}	0.745±0.091 ^{△△}	0.918±0.080 ^{△△}
加味大柴胡汤组	0.443±0.041 ^{△△▲▲}	0.523±0.063 ^{△△▲▲}	0.627±0.054 ^{△△▲▲}

注:与假手术组比较,△△ $P<0.01$;与模型组比较▲▲ $P<0.01$



注:1为3d假手术组,2为3d模型组,3为3d加味大柴胡汤组;4为7d假手术组,5为7d模型组,6为7d加味大柴胡汤组;7为10d假手术组,8为10d模型组,9为10d加味大柴胡汤组

图1 Western 印迹示各组大鼠肝组织TRPC1的蛋白表达

3.5 TUNEL 法检测各组大鼠肝细胞凋亡

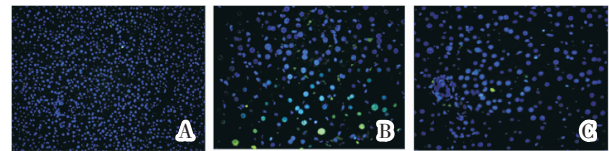
与假手术组比较,模型组细胞凋亡率各时相点均高于假手术组($P<0.01$)。与模型组比较,大柴胡汤组细胞凋亡率各时相点均低于模型组($P<0.01$),见表4、图2。

表4 TUNEL 检测各组各时相老年大鼠肝细胞凋亡结果

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

组别	3 d	7 d	10 d
假手术组	0.578±0.261	0.528±0.140	1.006±0.389
模型组	19.572±0.929 ^{△△}	17.432±1.501 ^{△△}	17.958±1.169 ^{△△}
加味大柴胡汤组	1.369±0.779 ^{▲▲}	1.648±0.803 ^{▲▲}	2.281±0.626 ^{▲▲}

注:与假手术组比较,△ $P<0.05$,△△ $P<0.01$;与模型组比较,▲▲ $P<0.01$



注:A.假手术组;B.模型组;C.加味大柴胡汤组

图2 TUNEL 法示各组大鼠肝细胞凋亡

4 讨论

阻塞性黄疸时胆汁酸排出受阻形成的淤积会对肝及其他器官造成一系列损伤,在本次实验中,对老年大鼠进行胆总管结扎后,血清中TBA随着梗阻时间的延长而升高,血清ALT、AST的含量也相应升高,而假手术组没有发生明显的改变。除此之外,光镜下阻塞性黄疸老年大鼠肝细胞的凋亡也明显高于假手术组,说明随着胆汁淤积程度的加重,肝组织的损伤也进行性加重。与此同时,肝组织中钙离子浓度也随着梗阻时间的延长而升高,而假手术组则无明显改变,此结果进一步说明,肝组织中钙浓度的变化与阻塞性黄疸的肝损伤密切相关。

钙超载在梗阻性黄疸的肝损伤中起着重要的作用,现大量实验结果已证明肝细胞及其胞内细胞器Ca²⁺浓度及分布是肝细胞发挥正常生理功能的必要前提^[9],刘慧敏^[10]通过实验研究已证实持续的钙内流与SOCE有关。瞬时受体电位(transient receptor potential, TRP)基因编码了一个非选择性阳离子通道的大家族,主要有TRPA、TRPC、TRPV、TRPM、TRPP、TRPN、TRPML7个亚族^[11]。TRPC1是TRPC亚族的一种,位于人染色体3q11,TRPC1基因编码的TRPC1蛋白主要表达在胎儿的大脑、肝脏和肾脏,成人的心脏、肌肉、大脑睾丸及卵巢^[12],TRPC1介导SOCE的钙内流^[13]。

SOCE通道是Ca²⁺进入胞内的一种重要途径,在内质网(endoplasmic reticulum, ER)钙库耗竭时被激活^[14]。目前研究结果已表明,部分TRPC通道参与了SOCE通道的组成,另外一部分则由非钙池依赖的机制调控^[15]。根据本次实验中老年大鼠肝组织中Ca²⁺含量、TRPC1蛋白表达与假手术组比有明显的升高现象,可以推测,TRPC1参与了梗阻性黄疸时SOCE介导的钙内流。

本次实验结果还可以看出,造模3d后,TRPC1蛋白、Ca²⁺含量与肝细胞凋亡率均升高,而假手术组则无显著变化。以上实验结果充分说明了TRPC1与阻塞性黄疸时钙超载引起的肝损伤密切相关。

加味大柴胡汤历来被运用于阻塞性黄疸的治疗,本次实验结果显示:加味大柴胡汤的治疗确实能

降低阻塞性黄疸老年大鼠的肝损伤血清指标 ALT、AST 的浓度,还能降低肝细胞的凋亡,且在各阻塞时间段其损伤指标与肝细胞凋亡率均低于用生理盐水灌胃的模型组;另加味大柴胡汤也能降低引起肝损伤的 TBA 水平,降低大鼠肝脏中 TRPC1 蛋白含量的表达。可见加味大柴胡汤能下调 TRPC1 在肝组织中的表达,减轻肝组织中钙离子浓度水平,减轻肝细胞凋亡,从而减轻肝损伤。

基于我国人口结构改变的现状,老年人的健康问题越来越受到关注,阻塞性黄疸的老年患者的主要病因为消化道肿瘤^[6],目前首选治疗方案仍为手术解除梗阻^[4]。但老年人由于机体的储备及代偿能力明显降低,患阻塞性黄疸时,肝脏及其他脏器的损伤更为严重^[7],故术前减轻及防治肝脏的损害显得尤其重要。本实验已证明加味大柴胡汤通过下调 TRPC1 的表达减轻钙超载引起的肝细胞凋亡而减少肝损伤,对肝功能的恢复有一定帮助。但科研工作者还应根据阻塞性黄疸时线粒体功能障碍,氧自由基生成过多等机制共同参与了肝损伤的实际情况^[8],研究加味大柴胡汤是否也可通过上述途径起作用,或各途径间是否相互影响,其具体的分子机制尚须进一步探讨。本次实验结果仅可证明对阻塞性黄疸的老年患者,在术前用加味大柴胡汤进行治疗可减少肝损伤,降低手术风险。

参考文献

- [1] DISTLER M, KERSTING S R, CKERT F, et al. Palliative treatment of obstructive jaundice in patients with carcinoma of the pancreatic head or distal biliary tree. Endoscopic stent placement vs. hepaticojejunostomy[J]. *Journal of the pancreas*, 2010, 138(5):568-574.
- [2] 张 禹.老年人易患阻塞性黄疸[J].*保健医苑*,2012(5):12-14.
- [3] 周 甜.老年人阻塞性黄疸的病因及临床特点分析[J].*当代医学*, 2011,17(36):123-124.
- [4] 王振巍,梁澄照,黄进林,等.老年人梗阻性黄疸的临床分析[J].*内蒙古中医药*,2012,31(14):48-49.
- [5] 吴涌宏.内毒素血症在梗阻性黄疸发生发展中作用的研究进展[J].*中国普通外科杂志*,2010,19(8):912-915.
- [6] 陈秋源,钟小生,谭志健.梗阻性黄疸的中西医治疗进展[J].*现代中西医结合杂志*,2016,25(2):221-225.
- [7] 谢 毅.加味大柴胡汤对阻塞性黄疸大鼠 TLR4 表达的影响[D].广州:广东医学院,2007.
- [8] 余水平.加味大柴胡汤对阻塞性黄疸大鼠中胆红素主要转运子的表达和肝脏能量代谢改变的影响[D].广州:广东医学院,2006.
- [9] DUPONT G, SWILLENS S, CLAIR C, et al. Hierarchical organization of calcium signals in hepatocytes: from experiments to models[J]. *BBA-Molecular Cell Research*, 2000, 1498(2):134-152.
- [10] 刘慧敏.钙池操纵钙离子通道在乙醇诱导肝细胞钙超载及相关肝细胞损伤中作用的研究[D].济南:山东大学,2012.
- [11] HUANG CHOU-LONG. The transient receptor potential superfamily of ion channels[J]. *Journal of the American Society of Nephrology*:JASN, 2004, 15(7):1690-1699.
- [12] WES P D, CHEVESICH J, JEROMIN A, et al. TRPC1, a human homolog of a Drosophila store-operated channel[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1995, 92(21):9652-9656.
- [13] LIN MO-JUN, LEUNG GEORGE P H, ZHANG WEI-MIN, et al. Chronic hypoxia-induced upregulation of store-operated and receptor-operated Ca²⁺ channels in pulmonary arterial smooth muscle cells: a novel mechanism of hypoxic pulmonary hypertension[J]. *Circulation research*, 2004, 95(5):496-505.
- [14] PRAKRIYA M, LEWIS R S. Store-Operated Calcium Channels [J]. *Physiological reviews*,2015,95(4):1383-1436.
- [15] VENKATACHALAM K, MONTELL C. TRP channels[J]. *Annual Review of Biochemistry*, 2007,76(1):387.
- [16] 周 甜.老年人阻塞性黄疸的病因及临床特点分析[J].*当代医学*, 2011,17(36):123-124.
- [17] 付先祯.老年人梗阻性黄疸临床分析[J].*医药论坛杂志*,2005,26(5):59.
- [18] 李达民,关养时.梗阻性黄疸致肝细胞凋亡的研究进展[J].*中国普通外科杂志*,2014,23(7):967-971.

(本文编辑 杨 璞)