

# 世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE  
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

**Shijie Huaren Xiaohua Zazhi**

2020 年 7 月 8 日      第 28 卷      第 13 期      (Volume 28 Number 13)



**13/2020**

ISSN 1009-3079



9 771009 307056

《世界华人消化杂志》是一本高质量的同行评议, 开放获取和在线出版的学术刊物. 本刊被国际检索系统《化学文摘(Chemical Abstracts, CA)》、《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica, EM)》、《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》、Scopus、中国知网《中国期刊全文数据库(CNKI)》、《中文科技期刊数据库(CSTJ)》和《超星期刊域出版平台(Superstar Journals Database)》数据库收录.



### 述评

- 511 新型冠状病毒感染后的消化系统表现评述  
严兴科, 马重兵, 贾静
- 515 三维重建与虚拟现实技术在肝脏外科的应用  
李成刚

### 基础研究

- 519 银杏内酯B改善高脂饮食诱导的小鼠肝脏脂肪变性和炎症  
龙思琴, 喻秀峰, 葛宇黎, 刘炉香

### 临床研究

- 526 原发性肝癌切除术中联合残肝断面射频消融对术后局部复发的预防  
朱建平, 余国华, 薛晨辉, 牟东成, 孙伟光, 李永猛, 华玲莉
- 532 虎地肠溶胶囊结合二丙酸倍氯米松灌肠治疗活动期溃疡性结肠炎的疗效及机制分析  
庄伟, 马永刚
- 538 脐针治疗腹泻型肠易激综合征疗效及对脑肠肽的影响  
俞蕾敏, 张娅丽, 王延武, 叶蔚, 吕宾

### 文献综述

- 544 长非编码RNA作为胃癌发生、进展及预后相关潜在标志物的研究进展  
李芳, 陈子豪, 檀碧波, 李勇

### 临床实践

- 553 应用White test减少复杂肝包虫病胆漏的临床分析  
朱海宏, 曹涛, 杨金煜
- 558 复方鳖甲软肝片配合恩替卡韦治疗肝纤维化的声辐射力脉冲成像疗效评估  
冯香敏, 马明, 李浩

## 消 息

- 531 《世界华人消化杂志》栏目设置
- 537 《世界华人消化杂志》正文要求
- 543 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费
- 552 《世界华人消化杂志》修回稿须知

## 封面故事

朱传武, 博士, 主任医师, 教授, 博士生导师, 苏州大学附属传染病医院感染科. 苏州市感染性疾病临床医学中心主任, 江苏省肝病临床重点专科、苏州市传染病重点学科、苏州市肝炎重点专科学术带头人. 主要从事各类肝病的临床诊治和科研工作. 在国家、省、市级肝病和感染病学学会、协会担任一定的学术职务. 兼任JVH, EJGH, 世界华人消化杂志、中华医学杂志(英文版)、临床肝胆病杂志等期刊编委或审稿专家. 主持和参与国家、省、市级科研课题20余项, 获得20项省、市级科技奖励, 在国内外学术期刊发表论文100余篇, 其中SCI论文20余篇.

## 本期责任人

编务 王栋梅; 送审编辑 张晗; 组版编辑 刘继红; 英文编辑 王天奇;  
形式规范审核编辑部主任 李香; 最终清样审核总编辑 马连生

## 世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名

(半月刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2020-07-08

原刊名 新消化病学杂志

## 期刊名称

世界华人消化杂志

## 国际标准连续出版物号

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

## 主编

党双锁, 教授, 710004, 陕西省西安市, 西安交通大学医学院第二附属医院感染科

江学良, 教授, 250031, 山东省济南市, 中国人民解放军济南军区总医院消化科

刘占举, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院消化内科

吕宾, 教授, 310006, 浙江省杭州市, 浙江中医药大学附属医院(浙江省中医院)消化科

马大烈, 教授, 200433, 上海市, 中国人民解放军第二军医大学附属长海医院病理科

王俊平, 教授, 030001, 山西省太原市, 山西省人民医院消化科

王小众, 教授, 350001, 福建省福州市, 福建医科大学附属协和医院消化内科

姚登福, 教授, 226001, 江苏省南通市, 南通大学附属医院临床医学研究中心

张宗明, 教授, 100073, 北京市, 首都医科大学北京电力医院普外科

## 编辑委员会

编辑委员会成员在线名单, 详见:

<https://www.wjgnet.com/1009-3079/editorialboard.htm>

## 编辑部

马亚娟, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

Baishideng Publishing Group Inc

7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton,

CA 94588, USA

Telephone: +1-925-3991568

E-mail: wcjd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

## 出版

百世登出版集团有限公司

Baishideng Publishing Group Inc

7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton,

CA 94588, USA

Telephone: +1-925-3991568

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

<https://www.wjgnet.com>

## 制作

北京百世登生物医学科技有限公司  
100025, 北京市朝阳区东四环中路  
62号, 远洋国际中心D座903室  
电话: +86-10-85381892

《世界华人消化杂志》是一本高质量的同行评议, 开放获取和在线出版的学术刊物. 本刊被国际检索系统《化学文摘(Chemical Abstracts, CA)》、《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica, EM)》、《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》、Scopus、中国知网《中国期刊全文数据库(CNKI)》、《中文科技期刊数据库(CSTJ)》和《超星期刊出版平台(Superstar Journals Database)》数据库收录.

《世界华人消化杂志》正式开通了在线办公系统(<https://www.baishideng.com>), 所有办公流程一律可以在线进行, 包括投稿、审稿、编辑、审读, 以及作者、读者和编者之间的信息反馈交流.

## 特别声明

本刊刊出的所有文章不代表本刊编辑部和本刊编委会的观点, 除非特别声明. 本刊如有印装质量问题, 请向本刊编辑部调换.

## 定价

每期136.00元 全年24期3264.00元

© 2020 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

## Contents

Volume 28 Number 13 July 8, 2020

### EDITORIAL

- 511 Digestive system manifestations after SARS-CoV-2 infection  
*Yan XK, Ma CB, Jia J*
- 515 Application of three-dimensional reconstruction and virtual reality technology in liver surgery  
*Li CG*

### BASIC RESEARCH

- 519 Ginkgolide B ameliorates high-fat diet-induced hepatic steatosis and inflammation in mice  
*Long SQ, Yu XF, Ge YL, Liu LX*

### CLINICAL RESEARCH

- 526 Prevention of postoperative local recurrence by combined radiofrequency ablation of residual liver section during primary liver cancer resection  
*Zhu JP, Yu GH, Xue CH, Mou DC, Sun WG, Li YM, Hua LL*
- 532 Efficacy and mechanism of Hudi enteric-coated capsules combined with beclomethasone dipropionate enema in treatment of active ulcerative colitis  
*Zhuang W, Ma YG*
- 538 Umbilicus acupuncture for treatment of diarrhea-type irritable bowel syndrome: Efficacy and impact on brain-gut peptides  
*Yu LM, Zhang YL, Wang YW, Ye W, Lu B*

### REVIEW

- 544 Long non-coding RNAs as potential markers for occurrence, progression, and prognosis of gastric cancer  
*Li F, Chen ZH, Tan BB, Li Y*

### CLINICAL PRACTICE

- 553 Use of White test to reduce bile leakage in complicated hepatic echinococcosis  
*Zhu HH, Cao T, Yang JY*
- 558 Therapeutic effect of entecavir combined with compound Biejia Ruangan tablets on liver fibrosis  
*Feng XM, Ma M, Li H*



## Contents

*World Chinese Journal of Digestology*  
Volume 28 Number 13 July 8, 2020

### COVER

Editorial Board Member of *World Chinese Journal of Digestology*, Chuan-Wu Zhu, Chief Physician, Professor, Department of Infectious Diseases, The Affiliated Infectious Diseases Hospital of Soochow University, No. 10, Guangqian Road, Xiangcheng District, Suzhou 215000, Jiangsu Province, China

### Indexed/Abstracted by

Chemical Abstracts, EMBASE/Excerpta Medica, Abstract Journals, Scopus, CNKI, CSTJ and Superstar Journals Database.

### RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE

Assistant Editor: *Dong-Mei Wang*

Review Editor: *Han Zhang*

Production Editor: *Ji-Hong Liu*

English Language Editor: *Tian-Qi Wang*

Proof Editor: *Xiang Li*

Layout Reviewer: *Lian-Sheng Ma*

### Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

**Founded** on January 15, 1993

**Renamed** on January 25, 1998

**Publication date** July 8, 2020

#### NAME OF JOURNAL

*World Chinese Journal of Digestology*

#### ISSN

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

#### EDITOR-IN-CHIEF

**Shuang-Suo Dang, Professor**, Department of Infectious Diseases, the Second Affiliated Hospital of Medical School of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, Shaanxi Province, China

**Xue-Liang Jiang, Professor**, Department of Gastroenterology, General Hospital of Jinan Military Command of Chinese PLA, Jinan 250031, Shandong Province, China

**Zhan-Ju Liu, Professor**, Department of Gastroenterology, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China

**Bin Lv, Professor**, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310006, Zhejiang Province, China

**Da-Lie Ma, Professor**, Department of Pathology, Changhai Hospital, the Second Military Medical University of Chinese PLA, Shanghai 200433, China

**Jun-Ping Wang, Professor**, Department of Gastroenterology, People's Hospital of Shanxi,

Taiyuan 030001, Shanxi Province, China

**Xiao-Zhong Wang, Professor**, Department of Gastroenterology, Union Hospital, Fujian Medical University, Fuzhou 350001, Fujian Province, China

**Deng-Fu Yao, Professor**, Clinical Research Center, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China

**Zong-Ming Zhang, Professor**, Department of General Surgery, Beijing Electric Power Hospital, Capital Medical University, Beijing 100073, China

#### EDITORIAL BOARD MEMBERS

All editorial board members resources online at <https://www.wjgnet.com/1009-3079/editorialboard.htm>

#### EDITORIAL OFFICE

Ya-Juan Ma, Director

*World Chinese Journal of Digestology*

Baishideng Publishing Group Inc

7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton, CA 94588, USA

Telephone: +1-925-3991568

E-mail: [wjcd@wjgnet.com](mailto:wjcd@wjgnet.com)

<https://www.wjgnet.com>

#### PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Inc

7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton, CA 94588, USA

Telephone: +1-925-3991568

E-mail: [bpgoffice@wjgnet.com](mailto:bpgoffice@wjgnet.com)

<https://www.wjgnet.com>

### PRODUCTION CENTER

Beijing Baishideng BioMed Scientific Co., Limited Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China  
Telephone: +86-10-85381892

### PRINT SUBSCRIPTION

RMB 136 Yuan for each issue

RMB 3264 Yuan for one year

### COPYRIGHT

© 2020 Baishideng Publishing Group Inc. Articles published by this open access journal are distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-commercial License, which permits use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited, the use is non commercial and is otherwise in compliance with the license.

### SPECIAL STATEMENT

All articles published in journals owned by the Baishideng Publishing Group (BPG) represent the views and opinions of their authors, but not the views, opinions or policies of the BPG, except where otherwise explicitly indicated.

### INSTRUCTIONS TO AUTHORS

Full instructions are available online at <https://www.wjgnet.com/1009-3079/Nav/36>. If you do not have web access, please contact the editorial office.

# 银杏内酯B改善高脂饮食诱导的小鼠肝脏脂肪变性和炎症

龙思琴, 喻秀峰, 葛宇黎, 刘炉香

龙思琴, 葛宇黎, 刘炉香, 丽水市人民医院感染科 浙江省丽水市 323000

喻秀峰, 丽水市人民医院急诊科 浙江省丽水市 323000

龙思琴, 住院医师, 主要从事脂肪肝的诊断与治疗方面的工作。

**作者贡献分布:** 此课题由龙思琴与喻秀峰设计; 研究过程由龙思琴与葛宇黎操作完成; 研究所用试剂由龙思琴提供; 数据分析由刘炉香完成; 本文写作由龙思琴与喻秀峰完成。

**通讯作者:** 龙思琴, 323000, 浙江省丽水市莲都区大众街15号, 丽水市人民医院感染科. [longsiqin1256@126.com](mailto:longsiqin1256@126.com)

收稿日期: 2020-04-07

修回日期: 2020-06-01

接受日期: 2020-06-12

在线出版日期: 2020-07-08

## Ginkgolide B ameliorates high-fat diet-induced hepatic steatosis and inflammation in mice

Si-Qin Long, Xiu-Feng Yu, Yu-Li Ge, Lu-Xiang Liu

Si-Qin Long, Yu-Li Ge, Lu-Xiang Liu, Department of Infectious Diseases, Lishui City People's Hospital, Lishui 323000, Zhejiang Province, China

Xiu-Feng Yu, Department of Emergency Medicine, Lishui City People's Hospital, Lishui 323000, Zhejiang Province, China

**Corresponding author:** Si-Qin Long, Department of Infectious Diseases, Lishui City People's Hospital, No. 15, Dazhong Street, Liandu District, Lishui 323000, Zhejiang Province, China. [longsiqin1256@126.com](mailto:longsiqin1256@126.com)

Received: 2020-04-07

Revised: 2020-06-01

Accepted: 2020-06-12

Published online: 2020-07-08

## Abstract

### BACKGROUND

Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) is a chronic

liver injury caused by a series of inflammation, oxidative stress, and endoplasmic reticulum stress responses induced by lipid accumulation in the liver. Ginkgolide B (GB) has the functions of anti-inflammation, antioxidant stress, and maintenance of lipid metabolism homeostasis, and therefore may have a therapeutic effect on NAFLD.

### AIM

To explore whether GB has a therapeutic effect on NAFLD and analyze its mechanism.

### METHODS

C57BL/6J mice were divided into a normal control group (NC), 8 mg/kg GB group, high fat diet (HFD) group, HFD + 2 mg/kg GB group, HFD + 4 mg/kg GB group, and HFD + 8 mg/kg GB group. NAFLD was induced in mice by HFD feeding. Blood and liver tissues were collected for biochemical, pathological, and Western blot analyses.

### RESULTS

Pathological results showed that GB improved hepatic steatosis and reduced inflammatory response and lipid accumulation in liver cells caused by HFD feeding. Biochemical results showed that GB reduced the levels of alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, triglyceride, and total cholesterol in serum as well as the levels of interleukin-6, interleukin-1 $\beta$ , and tumor necrosis factor- $\alpha$  in live tissues in HFD-fed mice. Western blot results showed that GB inhibited the phosphorylation level of eukaryotic translation initiation factor-2 $\alpha$ , and the expression of fatty acid synthase and activating transcription factor 4 in liver tissues induced by HFD feeding.

### CONCLUSION

GB has a protective effect on the liver of mice with NAFLD induced by HFD feeding, and the protective effect is related to the reduction of liver damage, steatosis,

and endoplasmic reticulum stress.

© The Author(s) 2020. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**Key Words:** Ginkgolide B; Nonalcoholic fatty liver disease; Hepatic steatosis; Inflammatory response; Endoplasmic reticulum stress

**Citation:** Long SQ, Yu XF, Ge YL, Liu LX. Ginkgolide B ameliorates high-fat diet-induced hepatic steatosis and inflammation in mice. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2020; 28(13): 519-525  
**URL:** <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v28/i13/519.htm>  
**DOI:** <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v28.i13.519>

## 摘要

### 背景

非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)是由于肝脏脂质蓄积诱发的一系列炎症、氧化应激和内质网应激反应导致的一种慢性肝损伤疾病。银杏内酯B (ginkgolide B, GB)具有抗炎、抗氧化应激和维持脂代谢稳态的作用,提示其可能具有治疗NAFLD的作用。

### 目的

探究GB是否对NAFLD具有治疗作用并分析其机制。

### 方法

C57BL/6J小鼠分为正常对照(normal control, NC)组、NC+8 mg/kg GB组、高脂饮食(high fat diet, HFD)组、HFD+2 mg/kg GB组、HFD+4 mg/kg GB组和HFD+8 mg/kg GB组。通过HFD诱导法建立NAFLD小鼠模型。收集各组小鼠血液和肝组织并分别进行生化、病理学和Western blot检测。

### 结果

病理学结果显示, GB改善HFD导致的肝脏脂肪变性, 减少炎症和肝细胞中脂质蓄积。生化结果显示, GB降低HFD喂养的小鼠的血清中谷丙转氨酶、谷草转氨酶、甘油三酯和总胆固醇的水平, 肝组织中白介素-6、白介素-1 $\beta$ 、肿瘤坏死因子- $\alpha$ 的水平。Western blot结果显示, GB抑制HFD诱导的肝组织中真核翻译起始因子2 $\alpha$ 亚基的磷酸化水平和脂肪酸合酶与活化转录因子表达。

### 结论

GB对HFD诱导的NAFLD小鼠具有肝保护作用, 且保护作用与其减轻HFD引起的肝损伤、脂肪变性和减弱内质网应激相关。

© The Author(s) 2020. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**关键词:** 银杏内酯B; 非酒精性脂肪肝病; 肝脂肪变性; 炎

症反应; 内质网应激

**核心提要:** 银杏内酯B (ginkgolide B, GB)能改善高脂饮食诱导的非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)小鼠的肝损伤、肝细胞脂肪变性和脂质蓄积, 并减弱肝脏炎症和内质网应激反应, 提示GB是抗NAFLD的潜在药物。

**文献来源:** 龙思琴, 喻秀峰, 葛宇黎, 刘炉香. 银杏内酯B改善高脂饮食诱导的小鼠肝脏脂肪变性和炎症. *世界华人消化杂志* 2020; 28(13): 519-525

**URL:** <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v28/i13/519.htm>

**DOI:** <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v28.i13.519>

## 0 引言

脂肪肝分为酒精性脂肪性肝病和非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)两种类型<sup>[1]</sup>。其中NAFLD与肥胖、胰岛素抵抗、高血压和血脂异常等代谢性疾病密切相关, 因此NAFLD属于慢性代谢异常性肝脏类疾病<sup>[2]</sup>。NAFLD的突出特征在于病程的持续性病理改变, 从最初(排除明确的损肝因素)机体代谢紊乱所致的肝细胞脂肪变性发展为非酒精性脂肪性肝炎, 随后发生肝纤维化和肝硬化, 甚至最终可能导致肝细胞肝癌发生, 因此, NAFLD是原发性肝细胞癌发生的潜在因素<sup>[3]</sup>。且, NAFLD约影响全球范围内30%的成年人的身体健康<sup>[4]</sup>。故, NAFLD已成为一个与我们生活密切相关的公共卫生问题。尽管已开展了许多用于NAFLD治疗策略, 但目前尚无特异性针对NAFLD的治疗药物<sup>[5]</sup>。

银杏内酯B(Ginkgolide B, GB)是从银杏叶中提取的一种药理活性最高的二萜内酯类活性单体。GB具有包含抗氧化应激、抗炎、扩血管和维持脂代谢稳态等多种药理作用<sup>[6,7]</sup>。在肝病领域方面的研究显示, GB能改善CCl<sub>4</sub>诱导大鼠的肝脏的炎症与纤维化<sup>[8]</sup>。基于NAFLD为肝细胞脂代谢紊乱导致的应激性和炎症性肝损伤<sup>[2,3]</sup>, 以及GB的药理作用<sup>[6-8]</sup>, 推测GB可能具有抗NAFLD的作用, 而GB对NAFLD的影响和机制尚未见报道。因此, 本研究主要探究GB是否在NAFLD中具有肝保护作用以及其机制。

## 1 材料和方法

**1.1 实验动物、试剂与抗体** 36只SPF级8周龄雄性C57BL/6J小鼠购自浙江维通利华实验动物技术有限公司[SCXK(浙)2019-0001], 饲养于SPF级动物房(无病原体条件; 12 h光/暗循环; 室温维持在23-25 °C; 湿度维持在55%-65%), 在给予特殊饮食之前, 小鼠随意饮食和水。银杏内酯B (货号: B21581, 纯度 $\geq$ 98%)购于上海源叶生物科技有限公司; 油红O染液(货号: D027)购于上海雅吉



生物公司; 白介素6 (interleukin 6, IL-6) ELISA试剂盒(货号: GRS13-515)购于上海广锐生物科技有限公司; 白介素1 $\beta$  (interleukin 1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ ) ELISA试剂盒(货号: H002)、肿瘤坏死因子 $\alpha$  (tumor necrosis factor  $\alpha$ , TNF- $\alpha$ ) ELISA试剂盒(货号: H052)、甘油三酯(triglyceride, TG)比色法试剂盒(货号: F001-1-1)和总胆固醇(total cholesterol, TC)比色法试剂盒(货号: F002-1-1)购于南京建成生物公司; RIPA缓冲液(货号: P0013C)、BCA蛋白定量试剂盒(货号: P0010S)、 $\beta$ -actin抗体(货号: AF5001)和HRP缀合的二抗(货号: A0208)购于上海碧云天生物科技有限公司; 真核翻译起始因子2 $\alpha$ 亚基(phospho-eukaryotic translation initiation factor-2 $\alpha$ , eIF2 $\alpha$ , 货号: #9722S)和磷酸化真核翻译起始因子2 $\alpha$ 亚基(eukaryotic translation initiation factor-2 $\alpha$ , p-eIF2 $\alpha$ , 货号: #3398T)抗体购于美国Cell Signaling Technology公司; 脂肪酸合酶(fatty acid synthase, FAS, 货号: sc-8009)和活化转录因子4 (activating transcription factor 4, ATF-4, 货号: sc-390063)抗体购于美国Santa Cruz公司。

## 1.2 方法

1.2.1 非酒精性脂肪肝小鼠建模: 通过高脂饮食(high fat diet, HFD)诱导法建立NAFLD小鼠模型<sup>[9]</sup>。将小鼠随机分为正常对照组(normal control, NC)、NC+8 mg/kg GB组、HFD组、HFD+2 mg/kg GB组、HFD+4 mg/kg GB组和HFD+8 mg/kg GB组, 每组6只。NC组和NC+8 mg/kg GB组小鼠采用普通饲料喂养10 wk; HFD组、HFD+2 mg/kg GB组、HFD+4 mg/kg GB组和HFD+8 mg/kg GB组采用HFD饲料(60%普通饲料、35%脂肪和5%胆固醇)喂养10 wk。NC+8 mg/kg GB组、HFD+2 mg/kg GB组、HFD+4 mg/kg GB组和HFD+8 mg/kg GB组小鼠在喂养第7-10周每天分别腹腔注射8 mg/kg、2 mg/kg、4 mg/kg和8 mg/kg GB, NC组和HFD组在同时间段给予腹腔注射等体积的生理盐水。在第10周末, 称重后, 麻醉小鼠后处死, 断头取血, 解剖取肝脏并称重。

1.2.2 血生化检测: 将血液样本置于真空抗凝管中静置10 min, 在室温下以3000 r/min离心20 min以收集血清, 然后用全自动生化仪分析血清中谷丙转氨酶(alanine transaminase, ALT)、谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)、TG和TC水平。

1.2.3 HE染色: 将肝脏组织在4%甲醛溶液中浸泡过夜, 然后包埋固定于石蜡, 并制作5  $\mu$ m后肝切片。肝切片经常规脱蜡复水后, 行HE染色, 显微镜下观察肝组织病理学的变化并拍照。

1.2.4 油红O染色: 将肝组织制成10  $\mu$ m厚的切片, 蒸馏水洗涤后将切片用60%异丙醇中漂洗20-30 s, 滴加油红O染液并室温孵育10 min后, 用60%异丙醇稍洗去多余

染液, 再用蒸馏水洗除异丙醇, 苏木素染核, 并用1%盐酸酒精分化。最后用水漂洗10 min, 室温晾干, 显微镜下观察肝组织脂质蓄积情况并拍照。

1.2.5 ELISA检测: 取肝组织经RIPA匀浆后, 收取匀浆液并用BCA法进行蛋白定量。取肝组织匀浆液, 并根据试剂盒说明书的步骤, 进行ELISA检测, 反应显色后用96孔板式分光光度计(DLB-96C型, 石家庄点晶电子科技有限公司)在波长450 nm处测量吸光度值, 并根据标准品绘制标准曲线, 计算出单位mg蛋白中IL-6、IL-1 $\beta$ 和TNF- $\alpha$ 的含量。

1.2.6 比色法检测: 取经BCA法蛋白定量后的肝组织匀浆液样品, 按照试剂盒说明书的步骤, 进行反应, 反应完成后用分光光度计在波长505 nm处测量吸光度值, 并根据标准品绘制标准曲线, 计算出单位mg蛋白中TG和TC的含量。

1.2.7 Western blot检测: 取经BCA法蛋白定量后的肝组织匀浆液样品, 并取等量(30 mg)蛋白进行SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳分离并转移到PVDF膜上。封闭膜后, 4  $^{\circ}$ C孵育1:1000稀释比例的一抗(eIF2 $\alpha$ 、p-eIF2 $\alpha$ 、ATF-4、FAS和 $\beta$ -actin)过夜, 用TBST洗膜3次, 将膜与1:3000稀释比例的HRP缀合的二抗孵育1 h。化学发光法显影后, 利用Image J软件进行灰度值分析, 以 $\beta$ -actin灰度值对目的条带灰度值进行标准归一化处理。

**统计学处理** 数据表示为mean $\pm$ SD, 并利用SPSS 17.0软件进行统计学分析。数据间的两两比较采用单因素方差分析后的Bonferroni-*t*检验。 $P<0.05$ 时被认为具有统计学差异。

## 2 结果

2.1 GB抑制HFD诱导的肝损伤和肝组织病理学改变 全自动生化仪检测血清中ALT和AST活性用于评估肝损伤, 结果(图1A和B)显示, HFD组血清中ALT和AST活性明显升高( $P<0.01$ ), 而GB治疗能明显抑制HFD诱导的ALT和AST活性升高( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ ), 提示GB能抑制HFD诱导的肝损伤。进一步计算了肝体比, 结果(图1C)显示, 与NC组比较, HFD组肝体比明显增加( $P<0.01$ ); 与HFD组比较, HFD+4 mg/kg GB组和HFD+8 mg/kg GB组肝体比明显降低( $P<0.05$ )。通过HE染色直接观察肝组织病理学改变, 结果(图1D)显示, HFD组肝组织出现大量肝细胞空泡样改变, 且伴有炎性细胞浸润(箭头); 而在GB治疗组中HFD导致的肝病理学改变明显减轻。

2.2 GB抑制HFD诱导的肝组织炎症反应 通过ELISA检测IL-6、IL-1 $\beta$ 和TNF- $\alpha$ 以评估肝组织中炎症反应, 结果(图2A-C)显示, 与NC组比较, HFD组肝组织中IL-6、IL-1 $\beta$ 和TNF- $\alpha$ 水平明显升高( $P<0.01$ ); 与HFD组比较,



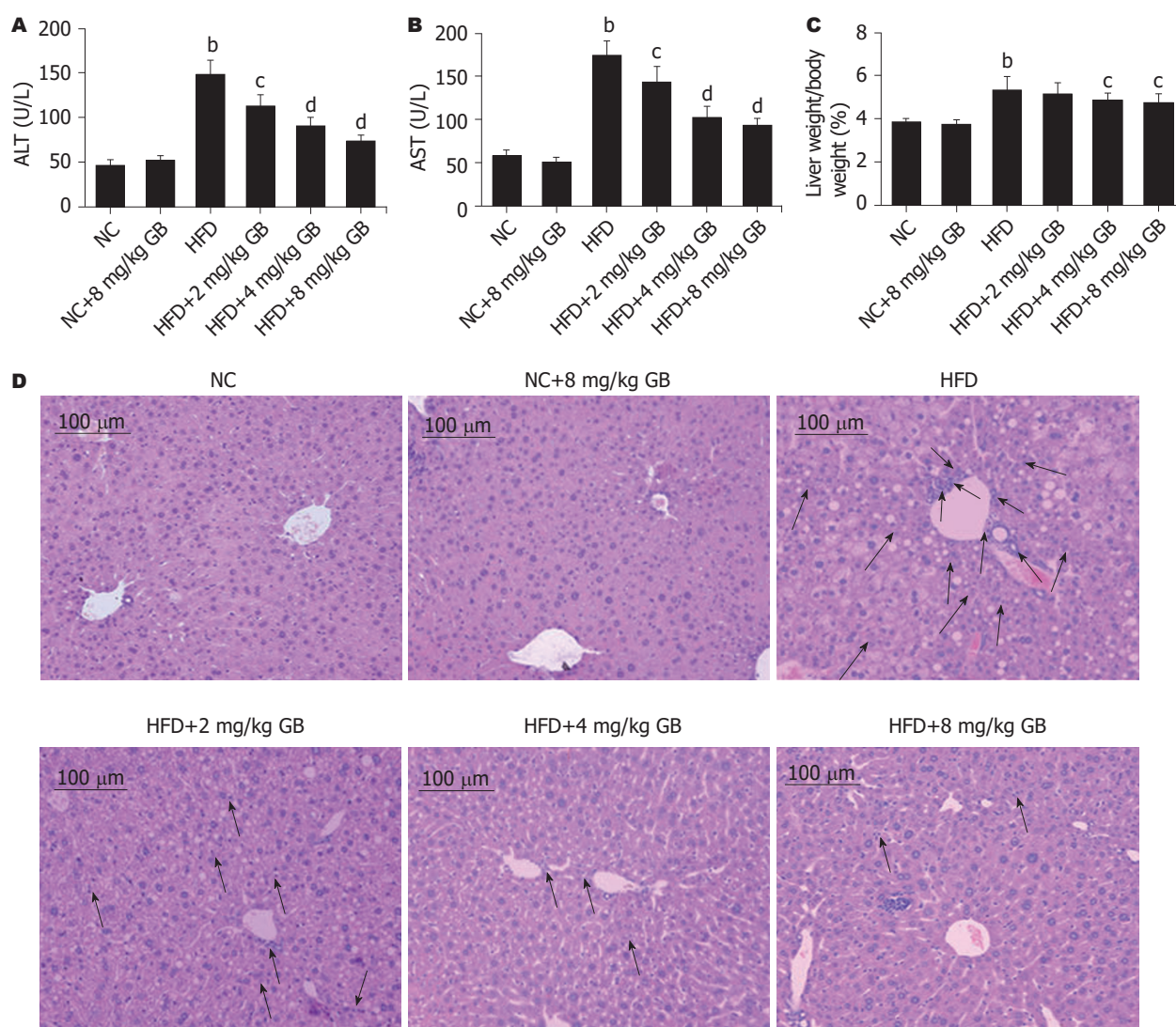


图 1 银杏内酯B抑制高脂饮食诱导的肝损伤和肝组织病理学改变. A和B: 各组血清中谷丙转氨酶(A)和谷草转氨酶(B)活性的统计结果; C: 各组肝体比统计结果; D: 各组肝组织HE染色图, 比例尺 = 100 μm. NC: 正常对照; HFD: 高脂饮食; GB: 银杏内酯B; ALT: 谷丙转氨酶; AST: 谷草转氨酶. <sup>b</sup> $P < 0.01$ , 与正常对照组比较; <sup>c</sup> $P < 0.05$ , <sup>d</sup> $P < 0.01$ , 与高脂饮食组比较;  $n = 6$ .

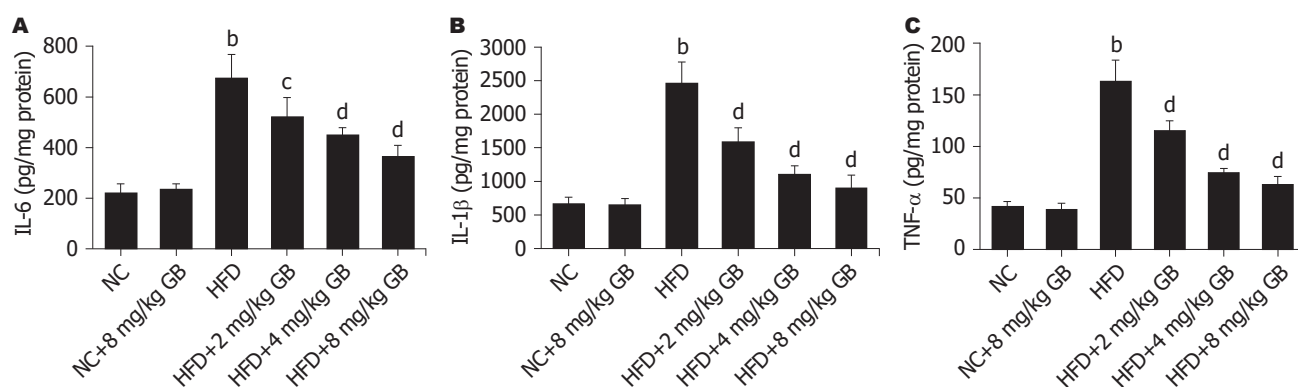


图 2 银杏内酯B抑制高脂饮食诱导的肝组织炎症反应. A-C: 各组肝组织中白介素-6 (A)、白介素-1β (B)和肿瘤坏死因子-α (C)水平的统计结果. NC: 正常对照; HFD: 高脂饮食; GB: 银杏内酯B; IF: 白介素; TNF: 肿瘤坏死因子. <sup>b</sup> $P < 0.01$ , 与正常对照组比较; <sup>c</sup> $P < 0.05$ , <sup>d</sup> $P < 0.01$ , 与高脂饮食组比较;  $n = 6$ .

GB能以剂量依赖性降低HFD诱导的IL-6、IL-1β和TNF-α水平( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ ).

2.3 GB降低HFD诱导的肝脂质蓄积 结果(图3A和B)显示, HFD组血清中TG和TC含量明显升高( $P < 0.01$ ), 而GB

治疗能明显抑制HFD诱导的TG和TC含量升高;这一现象同样在肝组织中呈现(图3C和D)。用油红O染色观察结果(图3E)显示,在HFD组因肝组织大量空泡脂肪样变性,脂滴汇合成大的脂滴(红色),大量积聚于肝细胞;GB治疗能明显改善HFD诱导的肝组织的肝细胞中脂质蓄积;对脂滴计数,结果(图3F)显示,HFD组肝组织脂滴数明显增加( $P<0.01$ ),而GB治疗能浓度依赖性减少HFD诱导的肝组织细胞中脂滴积聚( $P<0.01$ )。

2.4 GB减弱HFD诱导的内质网应激水平 Western blot结果(图4)显示,与NC组比较,HFD组肝组织中p-eIF2 $\alpha$ 、ATF-4和FAS表达水平明显升高( $P<0.01$ );与HFD组比较,GB治疗能抑制HFD诱导的肝组织中p-eIF2 $\alpha$ 、ATF-4和FAS高表达( $P<0.01$ )。

### 3 讨论

肝脏中肝细胞脂肪变性与脂质积聚为NAFLD的关键性病理变化,也是触发后续肝功能减退与肝损伤的关键因素<sup>[3]</sup>。文献表明<sup>[10,11]</sup>,HFD诱发的代谢紊乱可使得TC与TG水平的异常升高,特别是TC与TG异常沉积于肝脏,能促使肝细胞脂肪变性,并且TC与TG的持续积累能促使肝脏对炎症敏感,促进NAFLD的进展。本研究显示,GB能降低HFD诱导小鼠血清和肝组织中TC与TG含量,并减少HFD导致的肝组织中肝细胞脂肪变性和肝细胞中脂质蓄积。脂质沉积造成的肝损伤和肝功能减退是NAFLD进展的驱动因素。血清ALT和AST是NAFLD生化检查用于评估肝损伤和肝功能的重要指标<sup>[12]</sup>,长期HFD会引起肝损伤和肝功能减退并升高ALT和AST的水平<sup>[13]</sup>。本研究结果显示,GB可显著降低HFD诱导的小鼠血清中ALT和AST水平,提示GB可减轻HFD诱导的肝损伤。另有,研究<sup>[14]</sup>报道,HFD诱导的肝脏脂肪变性与慢性肝脏炎症密切相关,肝脏脂肪变性增加了肝脏细胞对促炎因子介导的损伤的敏感性,并且持续的慢性炎症进一步加剧了NAFLD进展。因此,本研究进一步观察GB是否对NAFLD小鼠肝内肝细胞炎症反应起保护作用,结果显示,GB能改善HFD引起的小鼠肝组织内炎症浸润的病理变化,并降低肝组织中促炎因子IL-6、IL-1 $\beta$ 和TNF- $\alpha$ 的分泌,表明GB可有效抑制HFD导致的肝脏炎症反应。

内质网应激(endoplasmic reticulum stress, ERS)反应是导致NAFLD肝损伤的主要毒性事件之一<sup>[15]</sup>。低氧、脂质过度负荷、炎症等病理因素可打破内质网稳态,引发肝细胞中ERS<sup>[15,16]</sup>,其中,eIF2 $\alpha$ 在ERS中发挥重要作用。有研究<sup>[17]</sup>发现激活eIF2 $\alpha$ /ATF-4信号能通过上调FAS的表达促进乳腺上皮细胞的脂源性分化和细胞内脂质合成。Oyadomari等<sup>[18]</sup>在动物实验中观察到ERS激动剂

诱导的小鼠表现为脂肪肝,而eIF2 $\alpha$ 去磷酸化后,小鼠的脂肪肝明显改善。另外,p-eIF2 $\alpha$ 可以上调ATF-4的表达,进而激活核内的固醇调节元件结合蛋白-1c、乙酰辅酶A羧化酶2和FAS等脂质合成相关基因的表达<sup>[19]</sup>,ATF-4基因敲除小鼠能抵抗HFD诱导的肥胖、高甘油三酯血症和NAFLD<sup>[20]</sup>。以上证据表明了eIF2 $\alpha$ /ATF-4在NAFLD肝细胞脂质合成和代谢中的作用。本研究结果也显示,在HFD诱导的NAFLD小鼠肝组织中p-eIF2 $\alpha$ 、ATF-4和FAS高表达,而GB能抑制HFD诱导的小鼠肝组织中的高水平p-eIF2 $\alpha$ 、ATF-4和FAS,说明GB可通过减弱ERS进而减轻HFD诱导的NAFLD。

综上所述,HFD诱导的NAFLD小鼠表现为肝细胞弥漫大泡性脂肪变性和过量脂质异常沉积于脂肪变性的肝细胞且伴随肝损伤、肝脏炎症和肝ERS反应;而GB能改善HFD导致的肝组织中肝细胞脂肪变性和肝细胞中脂质蓄积并减少肝脏炎症和减弱肝ERS反应,提示GB可作为抗NAFLD的潜在药物。

### 文章亮点

#### 实验背景

非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)发病率呈逐年增加趋势,其不仅危害患者的身体健康,且其还具体诱发肝癌的风险。而目前尚无特异性治疗NAFLD的药物,因此,继续研究或筛选NAFLD的潜在治疗剂是目前一项刻不容缓的科研任务。

#### 实验动机

银杏内酯B(ginkgolide B, GB)具有抗炎、抗氧化和维持脂代谢稳态的作用,提示GB可能具有改善NAFLD的作用。

#### 实验目标

探讨GB对NAFLD小鼠肝损伤和脂肪变性的影响,并分析其中的机制。

#### 实验方法

用高脂饮食(high fat diet, HFD)诱导法建立NAFLD小鼠模型,并给予低、中和高剂量的GB治疗。收集小鼠血液样品,生化法检测血清中谷丙转氨酶、谷草转氨酶、甘油三酯(triglyceride, TG)和总胆固醇(total cholesterol, TC)的水平。收集小鼠肝组织样品,HE染色观察病理形态学改变;油红O染色观察脂质蓄积情况;ELISA法检测白介素-6、白介素-1 $\beta$ 和肿瘤坏死因子- $\alpha$ 的水平;比色法检测TG和TC的水平;Western blot检测内质网应激关键蛋白表达。



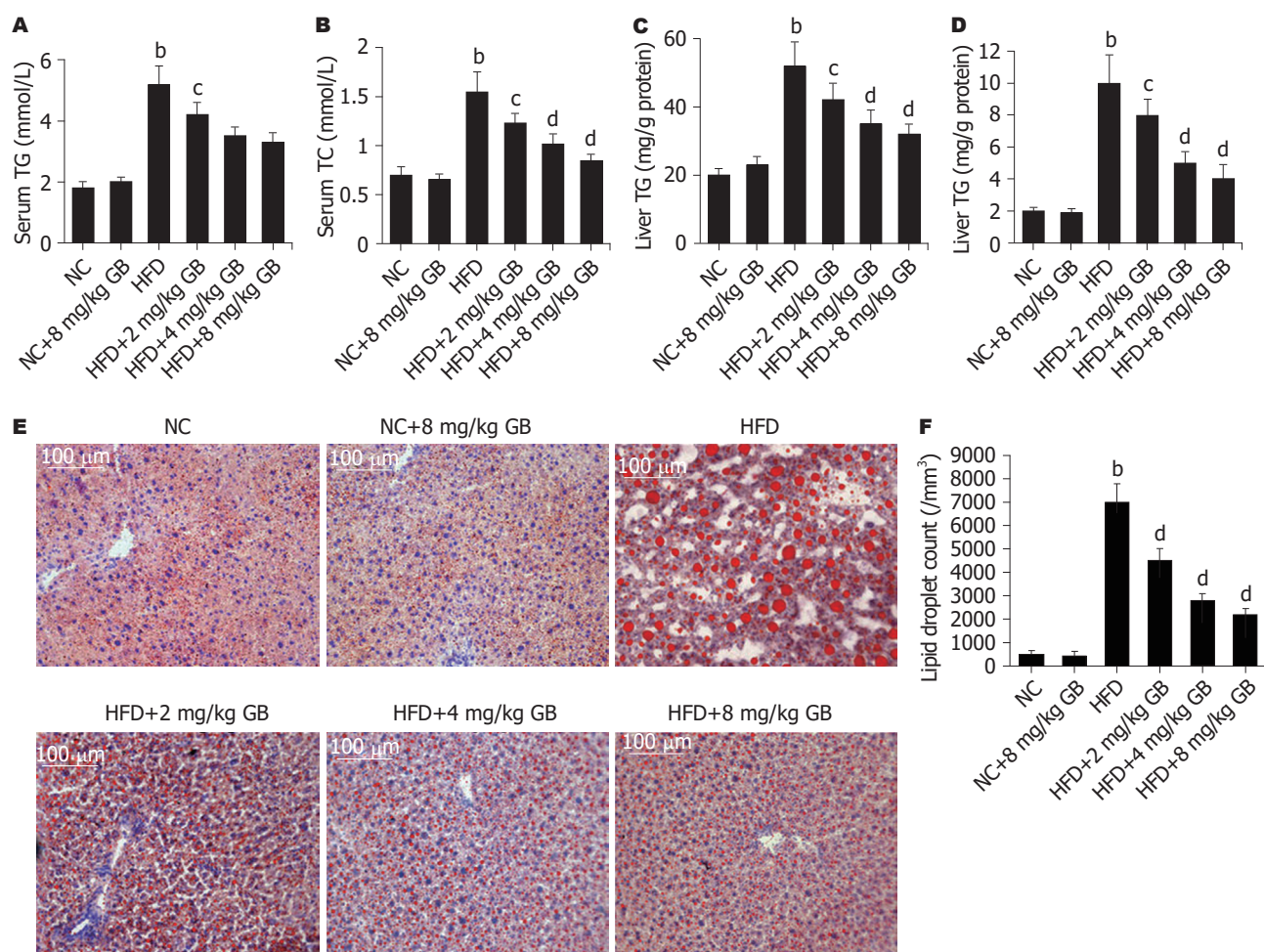


图 3 银杏内酯B降低高脂饮食诱导的肝脂质蓄积. A: 各组血清中甘油三酯(triglyceride, TG)含量的统计结果; B: 各组血清中总胆固醇(total cholesterol, TC)含量的统计结果; C和D: 各组肝组织中TG (C)和TC (D)含量的统计结果; E: 各组肝组织油红O染色图(比例尺 = 100 μm); F: 脂滴计数的统计结果. NC: 正常对照; HFD: 高脂饮食; GB: 银杏内酯B; TG: 甘油三酯; TC: 总胆固醇. <sup>b</sup>*P*<0.01, 与正常对照组比较; <sup>c</sup>*P*<0.05, <sup>d</sup>*P*<0.01, 与高脂饮食组比较; *n* = 6.

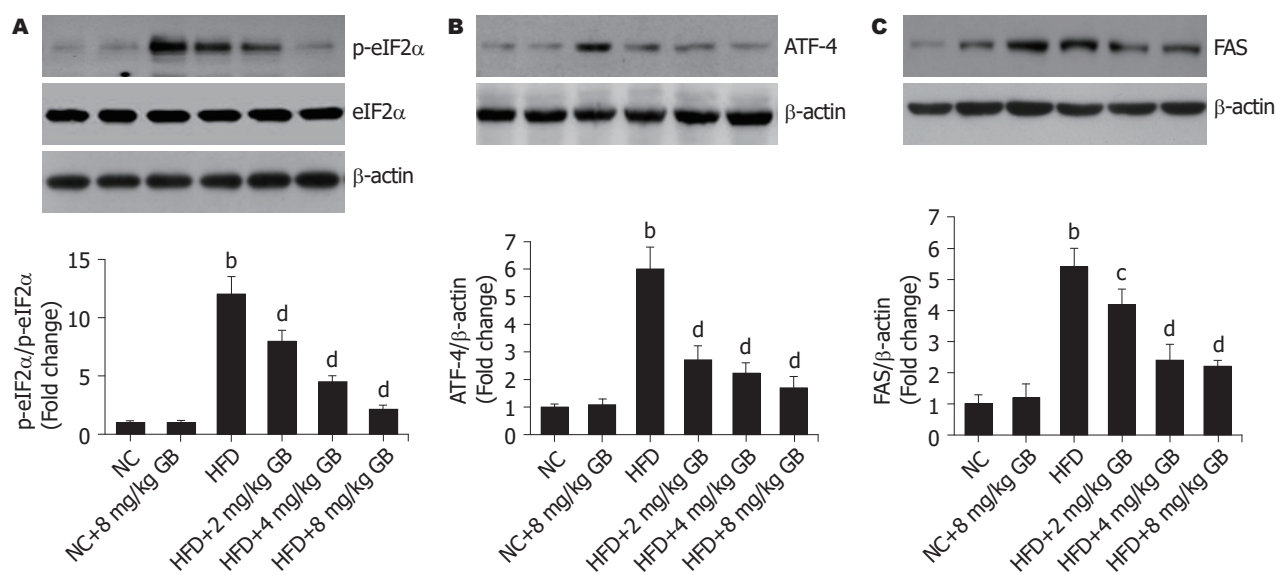


图 4 银杏内酯B减弱高脂饮食诱导的内质网应激水平. A: Western blot检测各组肝组织中磷酸化真核翻译起始因子2α亚基和真核翻译起始因子2α亚基的蛋白表达; B: Western blot检测各组肝组织中活化转录因子4的蛋白表达; C: Western blot检测各组肝组织中脂肪酸合酶的蛋白表达. NC: 正常对照; HFD: 高脂饮食; GB: 银杏内酯B; eIF2α: 真核翻译起始因子2α亚基; p-eIF2α: 磷酸化真核翻译起始因子2α亚基; ATF-4: 活化转录因子4; FAS: 脂肪酸合酶. <sup>b</sup>*P*<0.01, 与NC组比较; <sup>c</sup>*P*<0.05, <sup>d</sup>*P*<0.01, 与HFD组比较; *n* = 6.

## 实验结果

GB改善了HFD导致的肝脏脂肪变性, 降低了肝损伤和炎症反应, 并维持了肝细胞中脂代谢稳态. 另外, GB减弱了HFD导致的内质网应激反应.

## 实验结论

GB能通过减轻肝损伤、脂肪变性和减弱内质网应激来改善HFD诱导的小鼠NAFLD.

## 展望前景

GB具有改善HFD导致的小鼠肝细胞脂肪变性和脂质异常蓄积并减弱肝脏炎症和内质网应激反应的作用, 提示GB可作为潜在的抗NAFLD的药物.

## 4 参考文献

- 1 Sookoian S, Pirola CJ. Systems biology elucidates common pathogenic mechanisms between nonalcoholic and alcoholic fatty liver disease. *PLoS One* 2013; 8: e58895 [PMID: 23516571 DOI: 10.1371/journal.pone.0058895]
- 2 朱方超, 黄智铭. 非酒精性脂肪肝病危险因素流行病学论述. *实用医学杂志* 2010; 26: 3452-3454 [DOI: 10.3969/j.issn.1006-5725.2010.18.082]
- 3 Lonardo A, Nascimbeni F, Maurantonio M, Marrazzo A, Rinaldi L, Adinolfi LE. Nonalcoholic fatty liver disease: Evolving paradigms. *World J Gastroenterol* 2017; 23: 6571-6592 [PMID: 29085206 DOI: 10.3748/wjg.v23.i36.6571]
- 4 Perumpail BJ, Khan MA, Yoo ER, Cholaneril G, Kim D, Ahmed A. Clinical epidemiology and disease burden of nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol* 2017; 23: 8263-8276 [PMID: 29307986 DOI: 10.3748/wjg.v23.i47.8263]
- 5 王梦瑶, 黄志军. 非酒精性脂肪肝病治疗新药研究进展. *中国临床药理学杂志* 2018; 34: 2452-2455 [DOI: 10.13699/j.cnki.1001-6821.2018.20.017]
- 6 Wang G, Liu Z, Li M, Li Y, Alvi SS, Ansari IA, Khan MS. Ginkgolide B Mediated Alleviation of Inflammatory Cascades and Altered Lipid Metabolism in HUVECs via Targeting PCSK-9 Expression and Functionality. *Biomed Res Int* 2019; 2019: 7284767 [PMID: 31281844 DOI: 10.1155/2019/7284767]
- 7 Feng Z, Yang X, Zhang L, Ansari IA, Khan MS, Han S, Feng Y. Ginkgolide B ameliorates oxidized low-density lipoprotein-induced endothelial dysfunction via modulating Lectin-like ox-LDL-receptor-1 and NADPH oxidase 4 expression and inflammatory cascades. *Phytother Res* 2018; 32: 2417-2427 [PMID: 30136446 DOI: 10.1002/ptr.6177]
- 8 吴灿, 王蓉. 银杏内酯B对大鼠肝纤维化的防治作用及Nrf2/HO-1和Bcl-2/Bax途径的影响. *中国新药杂志* 2018; 27: 2686-2692

- 9 虞玲燕, 李卫英, 林佳. 胡桃苣对非酒精性脂肪性肝小鼠中肝脂质代谢紊乱、肝损伤以及小肠完整性的改善作用. *世界华人消化杂志* 2020; 28: 113-121 [DOI: 10.11569/wjcd.v28.i4.113]
- 10 Kim MJ, Lee KJ. Analysis of the dietary factors associated with suspected pediatric nonalcoholic fatty liver disease and potential liver fibrosis: Korean National Health and Nutrition Examination Survey 2014-2017. *BMC Pediatr* 2020; 20: 121 [PMID: 32171275 DOI: 10.1186/s12887-020-02022-y]
- 11 Marra F, Svegliati-Baroni G. Lipotoxicity and the gut-liver axis in NASH pathogenesis. *J Hepatol* 2018; 68: 280-295 [PMID: 29154964 DOI: 10.1016/j.jhep.2017.11.014]
- 12 Suzuki A, Lindor K, St Saver J, Lymp J, Mendes F, Muto A, Okada T, Angulo P. Effect of changes on body weight and lifestyle in nonalcoholic fatty liver disease. *J Hepatol* 2005; 43: 1060-1066 [PMID: 16140415 DOI: 10.1016/j.jhep.2005.06.008]
- 13 Kwo PY, Cohen SM, Lim JK. ACG Clinical Guideline: Evaluation of Abnormal Liver Chemistries. *Am J Gastroenterol* 2017; 112: 18-35 [PMID: 27995906 DOI: 10.1038/ajg.2016.517]
- 14 Manne V, Handa P, Kowdley KV. Pathophysiology of Nonalcoholic Fatty Liver Disease/Nonalcoholic Steatohepatitis. *Clin Liver Dis* 2018; 22: 23-37 [PMID: 29128059 DOI: 10.1016/j.cld.2017.08.007]
- 15 Lebeaupin C, Vallée D, Hazari Y, Hetz C, Chevet E, Bailly-Maitre B. Endoplasmic reticulum stress signalling and the pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol* 2018; 69: 927-947 [PMID: 29940269 DOI: 10.1016/j.jhep.2018.06.008]
- 16 Sharma RS, Harrison DJ, Kisielski D, Cassidy DM, McNeilly AD, Gallagher JR, Walsh SV, Honda T, McCrimmon RJ, Dinkova-Kostova AT, Ashford MLJ, Dillon JF, Hayes JD. Experimental Nonalcoholic Steatohepatitis and Liver Fibrosis Are Ameliorated by Pharmacologic Activation of Nrf2 (NF-E2 p45-Related Factor 2). *Cell Mol Gastroenterol Hepatol* 2018; 5: 367-398 [PMID: 29552625 DOI: 10.1016/j.jcmgh.2017.11.016]
- 17 Hazari YM, Habib M, Bashir S, Bashir A, Hilal N, Irfan S, Ul Haq E, Fazili KM. Natural osmolytes alleviate GRP78 and ATF-4 levels: Corroboration for potential modulators of unfolded protein response. *Life Sci* 2016; 146: 148-153 [PMID: 26792058 DOI: 10.1016/j.lfs.2016.01.002]
- 18 Oyadomari S, Harding HP, Zhang Y, Oyadomari M, Ron D. Dephosphorylation of translation initiation factor 2alpha enhances glucose tolerance and attenuates hepatosteatosis in mice. *Cell Metab* 2008; 7: 520-532 [PMID: 18522833 DOI: 10.1016/j.cmet.2008.04.011]
- 19 Enos RT, Velázquez KT, Carson MS, McClellan JL, Nagarkatti P, Nagarkatti M, Davis JM, Murphy EA. A Low Dose of Dietary Quercetin Fails to Protect against the Development of an Obese Phenotype in Mice. *PLoS One* 2016; 11: e0167979 [PMID: 27959936 DOI: 10.1371/journal.pone.0167979]
- 20 Cho EJ, Yoon JH, Kwak MS, Jang ES, Lee JH, Yu SJ, Kim YJ, Kim CY, Lee HS. Tauroursodeoxycholic acid attenuates progression of steatohepatitis in mice fed a methionine-choline-deficient diet. *Dig Dis Sci* 2014; 59: 1461-1474 [PMID: 24865256 DOI: 10.1007/s10620-014-3217-0]

科学编辑: 张晗 制作编辑: 刘继红







Published by **Baishideng Publishing Group Inc**  
7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton,  
CA 94566, USA  
**Telephone:** +1-925-3991568  
**E-mail:** [bpgoffice@wjgnet.com](mailto:bpgoffice@wjgnet.com)  
**https://**[www.wjgnet.com](https://www.wjgnet.com)



ISSN 1009-3079

