

# 世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE  
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2003年8月15日 第11卷 第8期

(Volume 11 Number 8)



**8/2003**

ISSN 1009-3079



名誉总编辑

潘伯荣

总编辑

马连生

World Journal of Gastroenterology® 被 SCI® -E, Research Alert®, Current Contents® /Clinical Medicine, Journal Citation Reports® Index Medicus, MEDLINE, Chemical Abstracts, EMBASE/ Excerpta Medica 收录. 2002 年 JCR® 报告 WJG 影响因子 2.532. 世界华人消化杂志® 被 Chemical Abstracts, EMBASE/ Excerpta Medica 收录. 2001 年中国科技期刊引证报告: 世界华人消化杂志® 影响因子 3.733, WJG 影响因子 2.920.



# 世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ●

2003 年 8 月 15 日 第 11 卷 第 8 期 (总第 112 期)

## 述 评

- 1073 乙型肝炎病毒基因组结构与功能复杂性的新认识 成军, 董菁  
1081 重视溃疡性结肠炎的诊断和个体化规范化治疗 江学良

## 病毒性肝炎

- 1083 乙型肝炎病毒中国流行株全基因的克隆与序列分析 成军, 董菁, 洪源, 钟彦伟, 刘妍, 王刚, 王琳  
1091 乙型肝炎病毒基因组中前-S 区编码基因的界定 董菁, 成军  
1097 乙型肝炎病毒基因组中前-X 编码基因的界定 董菁, 成军  
1102 羧基末端截短型乙型肝炎病毒表面抗原中蛋白反式激活基因 1 的克隆化研究 刘妍, 成军, 王琳, 王建军, 陆荫英, 李克  
1107 乙型肝炎病毒 X 蛋白激活基因 1 的克隆化与序列分析 刘妍, 成军, 王琳, 王建军, 陆荫英, 李克  
1114 乙型肝炎病毒前-S2 蛋白结合蛋白基因 S2-29 的克隆化研究 陆荫英, 陈天艳, 成军, 梁耀东, 王琳, 刘妍, 李克, 张健, 邵清, 张玲霞  
1118 酵母双杂交技术筛选鉴定乙型肝炎病毒 e 抗原结合蛋白 E-19 的研究 陆荫英, 邵清, 成军, 陈天艳, 王琳, 梁耀东, 刘妍, 张健, 李克, 张玲霞  
1122 酵母双杂交技术筛选鉴定乙型肝炎病毒核心蛋白结合蛋白新基因 C-12 的研究 陆荫英, 陈天艳, 成军, 邵清, 梁耀东, 王琳, 刘妍, 张健, 李克, 张玲霞  
1126 乙型肝炎病毒 X 蛋白与去唾液酸糖蛋白受体 2 突变体相互作用的研究 陆荫英, 陈天艳, 成军, 梁耀东, 王琳, 刘妍, 张健, 邵清, 李克, 张玲霞  
1131 羧肽酶 N 调节乙型肝炎病毒核心启动子表达活性的研究 张忠东, 成军, 钟彦伟, 杨倩, 王业东, 董菁, 杨艳杰, 张树林  
1135 丙型肝炎病毒 NS5A 基因变异与干扰素疗效的关系 张琳, 赵桂珍, 石理兰, 曹丽  
1139 汉族人 IL-12b 和 IL-10 启动子区基因多态性与 HBV 感染的相关性 李永纲, 刘明旭, 王福生, 金磊, 洪卫国

## 基础 研 究

- 1144 肝外胆管癌组织 BAG-1 与 BAD 表达与凋亡调控的原位定量研究 闫庆国, 师建国, 黄高昇, 张传山, 李青, 胡沛臻, 王文亮  
1148 牛磺酸脱氧胆酸损伤线粒体诱导 HepG2 细胞凋亡 李光明, 谢青, 周霞秋, 俞红, 郭清, 廖丹, 李定国  
1152 肝硬化大鼠肝部分切除后肝细胞生长周期的调控 陈平, 李昆, 董家鸿, 韩本立  
1156 苦参碱对大鼠原位肝移植冷缺血再灌注中肝窦内皮细胞损伤的影响 仇毓东, 朱新华, 史敏科, 丁义涛  
1160 犬肝动脉输注阿霉素联合血液灌流的研究 张志友, 张文怡, 钱绍诚  
1164 中国人金属基质蛋白酶组织抑制因子-1 基因的克隆与表达 刘双虎, 谭德明, 侯珏, 胡国龄  
1168 卡托普利对肝纤维化模型鼠 MMP-2, 3 TIMP-2, 3 表达的影响 李乾, 张桂英, 李新华, 徐美华  
1172 垂体后叶素和特利加压素降低门胆汁性肝硬化大鼠门静脉高压对肝组织氧分压的影响 祝建波, 邓利群, 王思元  
1175 电泳法检测肝和血清中醇脱氢酶同工酶 宓庆梅, 曹鲁宁, 高春芳  
1178 肝细胞生成素核受体的确定及特性 王阁, 陈东风, 胡铭, 王军, 樊丽琳, 张晓荣  
1182 PD98059 对乙醛刺激的大鼠肝星状细胞增生的影响 马洪德, 蒋明德, 钟显飞, 解方为, 曾维政  
1185 雌二醇对肝纤维化大鼠 I, III 型胶原及 TGF  $\beta_1$  表达的影响 许君望, 龚均, 冯新利, 茆新明, 罗金燕, 董蕾, 贾皓, 徐贵平  
1189 大鼠急性酒精性脂肪肝造模方法的改进 冯志强, 沈志祥, 谭诗云, 罗和生, 漆楚波, 郭洁, 李海霞  
1193 丁酸钠联合穿琥宁对人大肠癌细胞 HCT-8 增生的影响 布立民, 纪欣, 韩英, 陈刚, 王志红, 孙淑红  
1197 大肠癌组织胸苷磷酸化酶 / 血小板衍生内皮细胞生长因子的表达及意义 余细球, 邓长生, 朱尤庆, 程芳洲  
1200 多粘菌素 B 及其模拟肽体外抗内毒素的实验研究 万志红, 王宇明, 刘国栋  
1203 肥大细胞在胃嗜酸性肉芽肿发病中的作用 高振军, 罗和生, 操寄望, 余保平, 宋刘来



临床研究	1207 鱼腥草治疗初发型溃疡性结肠炎的临床研究 江学良, 权启镇, 孙自勤, 王要军, 尚瑞莲, 齐凤 1211 奥沙拉秦钠治疗慢性反复发作型溃疡性结肠炎随机对照研究 江学良, 权启镇, 孙自勤, 王要军, 尚瑞莲, 齐凤 1214 抗栓灵含片治疗伴有血小板活化的难治性溃疡性结肠炎 江学良, 权启镇, 孙自勤, 王要军, 尚瑞莲, 齐凤 1219 胃癌前病变演变过程中凋亡相关蛋白和PCNA的表达意义 伍银桥, 王孟薇, 吴本俨, 尤纬缔, 祝庆孚 1223 汉防己甲素抑制肝癌细胞增生的作用 荆绪斌, 李涛, 杨绮华, 郭光华, 胡辉, 陈素钻 1227 美蓝染色放大电子结肠镜观察结肠息肉与组织病理学的关系 苏鲁, 潘洪珍, 翁敬飏, 徐艺华, 陈芳, 洪梅燕 1230 肝硬化患者血浆胃动素、胆囊收缩素、生长抑素及其胃电的改变 张蓉, 闻勤生, 黄裕新, 赵海峰, 田力 1234 肠易激综合征 402 例发病时间分布及症状特征 许小幸, 李定国, 宋光辉, 周惠清, 刘清华
焦点论坛	1237 乙型肝炎病毒基因组结构与功能复杂性的研究进展 成军 1238 准种是乙型肝炎病毒存在的基本方式 成军, 董菁, 刘妍, 王琳, 钟彦伟, 王刚 1240 乙型肝炎病毒 X 基因启动子结构及调节研究 邵清, 成军, 白雪帆 1242 乙型肝炎病毒核心蛋白结合蛋白的研究 梁耀东, 成军, 陆荫英, 吴君, 程明亮 1245 羧基末端截短型乙型肝炎病毒表面抗原中蛋白反式激活作用的研究 成军, 刘妍, 洪源, 王建军, 杨倩 1248 乙型肝炎病毒 X 蛋白反式激活作用的研究 杨倩, 刘妍, 成军, 王建军, 洪源, 张树林 1250 乙型和丙型肝炎病毒蛋白对于细胞周期素 A 的调节研究 成军, 刘妍, 王琳, 钟彦伟, 王刚 1255 乙型和丙型肝炎病毒对细胞周期素及细胞周期素依赖性蛋白激酶的调节 成军, 刘妍, 洪源, 王建军, 杨倩 1258 乙型和丙型肝炎病毒对 MAPKK 信号转导的影响 张忠东, 成军, 钟彦伟, 张树林 1261 乙型和丙型肝炎病毒蛋白对蛋白酪氨酸激酶信号转导的影响 张忠东, 成军, 钟彦伟, 张树林 1264 RNA 干扰与抗肝炎病毒治疗前景的研究 成军, 刘妍, 王琳, 钟彦伟, 王刚
临床经验	1222 一氧化碳中毒伴筋膜间隙综合征的综合治疗 邹淑杭, 马丽萍, 金镇勋, 贺红, 王一玲, 李冰 1267 胃黏膜相关淋巴组织淋巴瘤 21 例 樊丽琳, 陈东风
病例报告	1143 成人不典型郎格罕组织细胞增生症 1 例 王巍峰, 黄启阳, 王志强, 杨云生 1147 慢性酒精性肝损伤致 Gilbert 综合征样改变 1 例 张文瑾, 王晓峰, 赵景民 1192 小肠血管结构不良 2 例 冯瑞娥, 赵大春, 陈杰
消 息	1080 欢迎订阅 2003 年度世界华人消化杂志 1090 欢迎订阅 2003 年度 World Journal of Gastroenterology® 1130 世界华人消化杂志获得 2001 年度百种中国杰出学术期刊 1155 世界胃肠病学杂志英文版获得 2003-2004 年国家自然科学基金重点学术期刊专项基金资助 1226 WJG 搭建我国消化学基础和临床研究惟一国际交流的平台
封面故事	1138 溃疡性结肠炎的基础和临床研究

# 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  
(月刊)

创刊 1993-01-15  
改刊 1998-01-25  
出版 2003-08-15  
原刊名 新消化病学杂志

总顾问 陈可冀  
黄象谦  
黄志强  
黎介寿  
刘耕陶  
裘法祖  
汤钊猷  
王宝恩  
危北海  
吴孟超  
吴咸中

社长总编辑 马连生  
中文编辑 潘伯荣  
王瑾晖  
英文编辑 朱丽虹  
排版 李少华  
校对 李天华

张金哲  
张学庸  
赵东海  
周殿元

编辑 世界华人消化杂志编辑委员会  
030001, 山西省太原市双塔西街 77 号  
E-mail:wcjd@wjgnet.com

出版 世界胃肠病学杂志社  
100023, 北京市 2345 信箱  
E-mail: wcjd @ wjgnet.com  
http://www.wjgnet.com  
电话 (010)85381892  
传真 (010)85381893

印刷 北京科信印刷厂

发行 国内 北京报刊发行局  
国外 中国国际图书贸易总公司  
(100044, 北京 399 信箱)

订购 全国各地邮电局

邮购 世界胃肠病学杂志社发行部  
(100023, 北京市 2345 信箱)  
电话:(010)85381892  
传真:(010)85381893  
2003 年版权归世界胃肠病学杂志社所有

## 本刊已被国内外检索系统收录

美国《化学文摘(CA)》  
荷兰《医学文摘库/医学文摘(EM)》  
俄罗斯《文摘杂志(PJ)》  
中国科技论文统计与分析  
中国学术期刊文摘  
中国中医药信息服务网  
中国生物医学文献光盘数据库  
《中文科技资料目录(医药卫生)》  
中国生物医学期刊目次数据库  
中国医学文摘外科学分册(英文版)  
中国医学文摘内科学分册(英文版)

## 特别声明

本刊刊出的所有文章不代表世界胃肠病学杂志社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.

ISSN 1009-3079  
CN 14-1260/R

邮发代号 82-262

国外代号 M 4481

国内定价 每期 24.00 元 全年 288.00 元

广告经营 14010040

50

www.wjgnet.com



# 雌二醇对肝纤维化大鼠 I, III 型胶原及 TGF $\beta_1$ 表达的影响

许君望, 龚 均, 冯新利, 苒新明, 罗金燕, 董 蕾, 贾 皓, 徐贵平

许君望, 冯新利, 苒新明, 贾皓, 徐贵平, 西安交通大学第一医院消化内科 陕西省西安市 710061

龚均, 罗金燕, 董蕾, 西安交通大学第二医院消化内科 陕西省西安市 710031  
许君望, 男, 1964-04-20 生, 陕西省兴平市人, 1986 年毕业于西安医科大学, 博士研究生, 副教授, 主要从事慢性肝病的基础与临床研究。

西安交通大学博士学位论文基金资助项目, No.2001-13

项目负责人: 许君望, 710061, 陕西省西安市, 西安交通大学第一医院消化内科: xujw@pub.xaonline.com

电话: 029-5323507 传真: 029-5263190

收稿日期: 2003-03-08 接受日期: 2003-03-26

## Effects of estradiol on type I, III collagens and TGF $\beta_1$ in hepatic fibrosis in rats

Jun-Wang Xu, Jun Gong, Xin-Li Feng, Xin-Ming Chang, Jin-Yan Luo, Lei Dong, Ai Jia, Gui-Ping Xu

Jun-Wang Xu, Xin-Li Feng, Xin-Ming Chang, Ai Jia, Gui-Ping Xu, Department of Gastroenterology, First Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710061, Shaanxi Province, China

Jun Gong, Jin-Yan Luo, Lei Dong, Department of Gastroenterology, Second Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710031, Shaanxi Province, China

Supported by the Doctorate Foundation of Xi'an Jiaotong University, No.2001-13.

Correspondence to: Dr. Jun-Wang Xu, Department of Gastroenterology, First Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710061, Shaanxi Province, China. xujw@pub.xaonline.com

Received: 2003-03-08 Accepted: 2003-03-26

## Abstract

**AIM:** To study the effects of estradiol on the production of collagen I, III and transforming growth factor  $\beta_1$  (TGF  $\beta_1$ ) in experimental fibrosis in rats induced by carbon tetrachloride (CCL<sub>4</sub>), and to investigate the suppressive effects of estrogen on liver fibrosis.

**METHODS:** Rats were randomly allocated into a normal control group, a model control group, a therapy control group and an estradiol group. Liver fibrosis was induced by CCL<sub>4</sub> administration. The estradiol group, apart from the administration of CCL<sub>4</sub>, was treated subcutaneously with estradiol (benzoic estradiol) 1 mg/kg twice weekly. At the end of week 8, all the rats were sacrificed. Liver inflammation and collagen deposition were observed with HE and Masson's collagen stains, analyzed with scoring and staging systems. Type I, III collagens and TGF  $\beta_1$  were observed with immunohistochemical method.

**RESULTS:** CCL<sub>4</sub> group had the typical liver fibrosis compared with normal control group. The fibrous septa were formed in CCL<sub>4</sub> group rats, and collagens were accumulated and deposited in the sinusoids and liver lobules. The expression of type I, III collagens (0.58±0.26 vs 6.34±2.24, 1.07±0.49 vs 5.28±1.28,  $P < 0.001$ ) and TGF  $\beta_1$  was significantly increased. Estradiol significantly attenuated collagen ac-

cumulation ( $P < 0.05$ ) in the fibrotic livers, and decreased type I, III collagens (2.47±0.76 vs 6.34±2.24, 3.02±1.20 vs 5.28±1.28,  $P < 0.05$ ) and TGF  $\beta_1$  expression in the liver.

**CONCLUSION:** Estradiol treatment reduces the synthesis of hepatic type I, III collagens and TGF  $\beta_1$  in the fibrotic liver induced by CCL<sub>4</sub> administration, and attenuates hepatic fibrosis.

Xu JW, Gong J, Feng XL, Chang XM, Luo JY, Dong L, Jia A, Xu GP. Effects of estradiol on type I, III collagens and TGF  $\beta_1$  in hepatic fibrosis in rats. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2003;11(8):1185-1188

## 摘要

**目的:** 观察雌二醇对肝纤维化大鼠肝脏胶原沉积和转化生长因子  $\beta_1$  (TGF  $\beta_1$ ) 表达的影响, 研究雌激素对肝纤维化形成的抑制作用, 并探讨其可能的机制。

**方法:** 设立模型组、治疗对照组、雌二醇组和正常对照组, 以四氯化碳复合因素诱导大鼠肝纤维化动物模型, 雌二醇组在四氯化碳应用的同时皮下注射苯甲酸雌二醇 1 mg/kg, 2 次 /wk, 共 8 wk。大鼠肝脏 HE 染色与 Masson 染色, 分级观察肝组织的炎性坏死与胶原纤维沉积变化, 并观察对大鼠肝纤维化形成过程中肝脏表达 I, III 型胶原蛋白及对 TGF  $\beta_1$  的影响。

**结果:** 与正常对照组比较, 四氯化碳模型大鼠出现典型的肝纤维化表现, 肝脏胶原纤维间隔广泛形成, 肝小叶与肝窦内胶原增生沉积明显, I, III 型胶原(0.58 ± 0.26 vs 6.34 ± 2.24, 1.07 ± 0.49 vs 5.28 ± 1.28,  $P$  值均  $< 0.001$ )及 TGF  $\beta_1$  基因表达明显增多; 雌二醇应用可以明显减轻肝脏内胶原纤维增生沉积( $P < 0.05$ ), 抑制肝脏 I、III 型胶原蛋白(2.47 ± 0.76 vs 6.34 ± 2.24, 3.02 ± 1.20 vs 5.28 ± 1.28,  $P$  值均  $< 0.05$ )及 TGF  $\beta_1$  的合成表达。

**结论:** 雌二醇可抑制肝纤维化大鼠肝脏 I, III 型胶原蛋白及 TGF  $\beta_1$  的合成表达, 发挥对肝纤维化的抑制作用。

许君望, 龚均, 冯新利, 苒新明, 罗金燕, 董蕾, 贾皓, 徐贵平。雌二醇对肝纤维化大鼠 I, III 型胶原及 TGF  $\beta_1$  表达的影响。世界华人消化杂志 2003;11(8): 1185-1188

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/11/1185.asp>

## 0 引言

肝纤维化是许多肝脏疾病共同的病理过程, 是肝损伤过程中机体抗损伤修复的一种表现, 以肝脏胶原等细胞外基质的沉积为其主要特征。肝硬化在男性的发病比女性

更普遍,男性和女性的发病率之比为2.3:1-2.6:1<sup>[1, 2]</sup>。虽然肝脏并非性激素作用的基本靶器官,但肝脏中存在有雌激素受体,能对雌激素产生反应,从而调节肝脏的功能<sup>[3]</sup>。因此,性激素在肝纤维化至肝硬化的发展中可能发挥一定的作用。在肝纤维化的动物模型和人类肝脏疾病的研究发现,TGF  $\beta_1$ 在肝纤维化的过程中具有重要作用<sup>[4, 5]</sup>。有研究发现,抗雌激素药物他莫昔芬可使女性患者肺纤维化的危险性明显升高,而他莫昔芬的致肺纤维化是由TGF  $\beta_1$ 介导的<sup>[6]</sup>。因此设想,肝纤维化时雌激素可能在调节TGF  $\beta_1$ 等一些细胞因子的表达中发挥了作用。本实验通过四氯化碳复合因素诱导大鼠肝纤维化动物模型,结合I、III型胶原蛋白及TGF  $\beta_1$ 的免疫组化,探讨雌二醇的抗肝脏纤维化作用。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** ♂ Sprague-Dawley 大鼠40只,清洁级,质量 $220 \pm 21$  g, 10周龄左右,由陕西省实验动物中心提供。苯甲酸雌二醇由上海第九制药厂生产,批号00080103;秋水仙碱片为云南昆明植物药厂出品;四氯化碳和胆固醇分析纯由西安化学试剂厂生产;市售猪油、玉米粉;精制花生油(山东鲁华集团出品);I、III型胶原抗体购自武汉博士德生物工程有限公司,工作浓度1:50;TGF  $\beta_1$ 的免疫组化试剂盒购自Dako公司,工作浓度1:1 000;ST试剂盒购自福建迈新生物技术开发公司。

**1.2 方法** 试验动物饲养于控温控湿12 h光照的环境中,不限饮食。每10只1组,随机分为4组。CCL<sub>4</sub>组皮下注射400 mL/L CCL<sub>4</sub>花生油溶液,剂量为2 mL/kg,2次/wk,首剂加倍。雌二醇(E)组,注射CCL<sub>4</sub>的同时皮下注射苯甲酸雌二醇1 mg/kg,2次/wk。秋水仙碱(Col)组注射CCL<sub>4</sub>的同时,每日0.11 mg/kg秋水仙碱灌胃。以上3组动物均给予含5 g/kg胆固醇和200 g/kg猪油的高脂饮食。对照组给予普通饮食并皮下注射等容量花生油溶剂,2次/wk。8 wk后,全部实验动物禁食1晚,经肌肉注射苯巴比妥钠(40 mg/kg)麻醉后行颈椎错位处死,迅速取出肝脏,被切除的大鼠肝脏取右叶,经40 g/L甲醛固定,石蜡包埋和HE、Masson染色,由半定量的方法<sup>[7]</sup>对肝纤维化程度进行评估。胶原增生程度半定量标准:0分,正常肝脏或无明显胶原纤维增生;1分,胶原纤维增生,中央静脉和汇管区有少量纤维索放散延伸,但无间隔形成;2分,胶原纤维明显增生,中央静脉和汇管区结缔组织变厚,由此向四周延出纤维索,形成不完全间隔;3分,胶原纤维大量增生,有个别菲薄的完全间隔形成(假小叶),或较厚的不完全间隔,即将形成假小叶;4分,完全间隔较厚,假小叶大量形成。I、III型胶原及TGF  $\beta_1$ 免疫组化采用PAP法DAB显色。I、III型胶原表达程度,应用CMIAS彩色医学图像分析仪,对各组切片随机选取10个视野测量阳性染色面积占肝脏视野面积比进行定量分析,以他们的染色面积在标本中所占百分比表示<sup>[8]</sup>。

统计学处理 将数据表示为 $\bar{x} \pm s$ ,进行非配对的秩和检验、t检验或F检验。数据输入计算机采用SPSS10.0统计软件分析。

## 2 结果

**2.1 雌二醇对大鼠实验性肝纤维化的影响** HE染色显示对照组的肝脏具有正常的肝小叶结构;CCL<sub>4</sub>组表现出严重的损伤性病理改变,肝小叶失去正常结构,肝板排列紊乱,肝细胞普遍变性,大多数为脂肪变性,少数水样变,炎症及坏死明显,汇管区纤维组织增生,并可见厚薄不一的纤维分隔包绕肝小叶,部分有肝细胞再生及假小叶形成;雌二醇组肝脏损伤性病理改变明显减轻,纤维有部分分割肝小叶,但未见完整的假小叶形成,肝组织有部分再生。Masson胶原染色(表1),肝脏胶原纤维增生程度半定量测量,表明雌二醇可明显抑制大鼠实验性肝纤维化的形成。

表1 雌二醇对大鼠实验性肝纤维化的作用

分组	n	肝纤维化分级(级)				
		-	+	++	+++	++++
Control	10	10	0	0	0	0
CCL <sub>4</sub>	9	0	2	2	3	1
CCL <sub>4</sub> +E <sup>a</sup>	8	0	4	2	1	0
CCL <sub>4</sub> +Col <sup>a</sup>	9	0	3	4	2	0

<sup>a</sup>P < 0.05, vs CCL<sub>4</sub>组。

**2.2 I、III型胶原免疫组化染色分析** 用免疫组织化学PAP法对肝脏组织切片I、III型胶原进行观察,正常对照组肝脏I型胶原蛋白主要存在于中央静脉、门脉区三联管管周及管间纤维组织,III型胶原除上述区域外还存在于肝窦四周。CCL<sub>4</sub>组中I、III型胶原阳性细胞染色均明显增多,其分部除汇管区、中央静脉及肝窦四周增多外,在纤维隔内呈弥漫分布。雌二醇组及秋水仙碱组I型胶原蛋白主要位于中央小叶和门静脉周围纤维带,而III型胶原蛋白以门脉区及肝细胞坏死区较多。各组I、III型胶原蛋白面密度(胶原面积/肝组织视野面积×100%)测量值见表2。

表2 雌二醇对大鼠肝纤维化肝脏I、III型胶原蛋白的影响( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	I型胶原	III型胶原
Control	10	$0.58 \pm 0.26$	$1.07 \pm 0.49$
CCL <sub>4</sub>	9	$6.34 \pm 2.24$	$5.28 \pm 1.28$
CCL <sub>4</sub> +E <sup>a</sup>	8	$2.47 \pm 0.76$	$3.02 \pm 1.20$
CCL <sub>4</sub> +Col <sup>a</sup>	9	$2.63 \pm 0.91$	$3.31 \pm 1.43$

<sup>a</sup>P < 0.05, vs CCL<sub>4</sub>组。

**2.3 TGF  $\beta_1$ 的免疫组化染色分析** CCL<sub>4</sub>组的TGF  $\beta_1$ 阳

性细胞主要位于中央小叶和门静脉周围纤维带及肝纤维间隔中, 主要见于肝星状细胞、类间质细胞和炎症细胞质及其周围. 而雌二醇及秋水仙碱组中阳性染色程度较 CCL<sub>4</sub> 组明显为轻 (图 1、2).

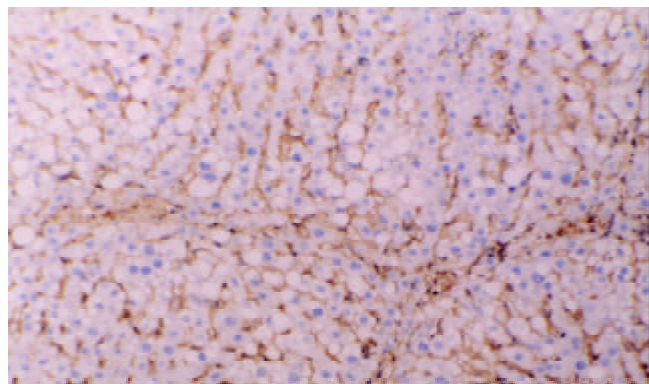


图 1 CCL<sub>4</sub> 组 TGF  $\beta_1$  的免疫组化染色 PAP 法  $\times 100$

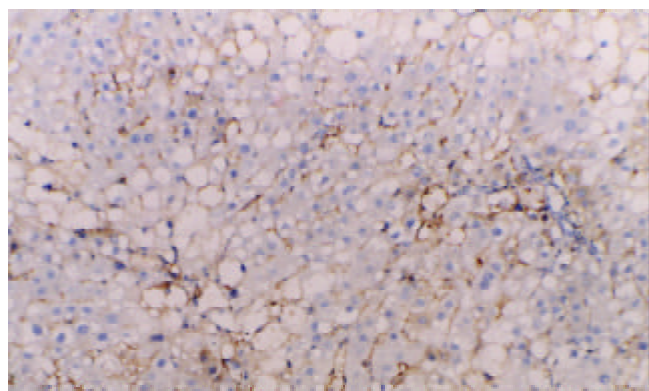


图 2 雌二醇组 TGF  $\beta_1$  的免疫组化染色 PAP 法  $\times 100$

### 3 讨论

肝纤维化通常始于肝细胞的破坏, 继而炎症细胞和血小板聚集, 刺激枯否细胞释放细胞因子和生长因子 (如 TGF  $\beta_1$  等), 这些因子通过活化肝星状细胞, 肝星状细胞活化后增生并转化为成纤维母细胞样的细胞, 合成并大量沉积细胞外基质 (extracellular matrix, ECM), 从而将炎症和肝硬化的形成过程联系起来<sup>[9-13]</sup>. ECM 包括胶原、非胶原糖蛋白及蛋白多糖, 其中胶原是最重要的 ECM. 肝脏胶原有 I, III, IV, V, VI 型等, 以 I, III 型为主, 约占肝脏胶原总量的 60% 以上<sup>[14-17]</sup>. 我们以 CCL<sub>4</sub> 等复合因素诱导大鼠肝纤维化模型, 可见正常对照组肝脏仅有少量 I 型胶原存在于中央静脉、门脉区三联管管周及管间纤维组织, III 型胶原除上述区域外还少量存在于肝窦四周, 而 CCL<sub>4</sub> 组中 I, III 型胶原阳性细胞染色均明显增多, 其分布除汇管区、中央静脉及肝窦四周增多外, 在纤维隔内亦呈弥漫分布, 包绕肝小叶. 雌二醇组的肝纤维化程度明显低于 CCL<sub>4</sub> 组, 且 I, III 型胶原阳性细胞免疫组化染色也弱于 CCL<sub>4</sub> 组, I 型胶原蛋白主要位于中央小叶和门静脉周围纤维带, 而 III 型胶原蛋白以门脉区及肝细胞坏死区为主. 表明雌二醇能抑制 I, III 型胶原的合成而发挥抗肝

纤维化作用.

肝损害时肝星状细胞被认为是 ECM 的主要来源, 而肝星状细胞的活化是肝细胞、内皮细胞、血小板、枯否细胞、炎症细胞、细胞因子和生长因子间相互作用的结果<sup>[18-22]</sup>. 细胞因子在肝纤维化的每个阶段都发挥着重要作用<sup>[23-26]</sup>. 在肝纤维化的动物模型和人类肝脏疾病的研究发现, TGF  $\beta_1$  在肝纤维化的过程中具有重要作用<sup>[27-31]</sup>, 它是一种多功能生长因子, 能使单个肝星状细胞胶原合成增加 60-80%, 被认为是肝纤维化形成的关键因子. Bentzen et al<sup>[6]</sup> 在研究放疗女性肺纤维化时发现, 给予他莫昔芬 (tamoxifen, 一种抗雌激素的药物) 可使患者肺纤维化的危险性明显升高, 而他莫昔芬的致肺纤维化是由 TGF  $\beta_1$  介导的. 因此设想, 肝纤维化时雌激素可能在调节 TGF  $\beta_1$  等一些细胞因子的表达中发挥了作用. 本实验显示, 雌二醇组肝纤维组织中 TGF  $\beta_1$  的表达量明显弱于 CCL<sub>4</sub> 组, 表明雌二醇可能通过下调 TGF  $\beta_1$  的表达, 从而间接地发挥对肝纤维化的抑制作用.

肝纤维化时肝星状细胞由静止状态转变为活化细胞, 增加 I, III 型胶原等 ECM 的表达, 激活的肝星状细胞还可通过自分泌途径扩大激活细胞群, TGF  $\beta_1$  是肝星状细胞自分泌扩增的重要细胞因子, 既增加胶原的合成, 又进一步刺激 TGF  $\beta_1$  的产生, 使更多静止的肝星状细胞被激活<sup>[32-35]</sup>. 本研究雌二醇能抑制 TGF  $\beta_1$  的产生, 阻断自分泌放大过程, 从而减少 I, III 型胶原等 ECM 的合成, 这一作用可能是肝纤维化及肝硬化的发病率存在性别差异的原因之一.

### 4 参考文献

- 1 Pinzani M, Romanelli RG, Magli S. Progression of fibrosis in chronic liver diseases: time to tally the score. *J Hepatol* 2001; 34:764-767
- 2 Yan JC, Ma JY, Pan BR, Ma LS. Study of hepatitis B in China. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2001;9:611-616
- 3 Shimizu I, Mizobuchi Y, Yasuda M, Shiba M, Ma YR, Horie T, Liu F, Ito S. Inhibitory effect of oestradiol on activation of rat hepatic stellate cells *in vivo* and *in vitro*. *Gut* 1999;44:127-136
- 4 Gabriel A, Kuddus RH, Rao AS, Gandhi CR. Down-regulation of endothelin receptor by transforming growth factor  $\beta_1$  in hepatic stellate cells. *J Hepatol* 1999;30:440-450
- 5 Bai XW, Yan XX, Feng LY. Recent progression of hepatic fibrosis research. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2000;8:1267-1268
- 6 Bentzen SM, Skoczylas JZ, Overgaard M, Overgaard J. Radiotherapy-related lung fibrosis enhanced by tamoxifen. *J Nat Cancer Inst* 1996;88:918-922
- 7 Pilette C, Rousselet MC, Bedossa P, Chappard D, Oberti F, Rifflet H, Maiga MY, Gallois Y, Cales P. Histopathological evaluation of liver fibrosis: quantitative image analysis vs semi-quantitative scores. *J Hepatol* 1998;28:439-446
- 8 Zhang YT, Chang XM, Li X, Li HL. Effects of spironolactone on expression of type I/III collagen proteins in rat hepatic fibrosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2001;9:1120-1124
- 9 Wu CH. Fibrodynamics-elucidation of the mechanisms and sites of liver fibrogenesis. *World J Gastroenterol* 1999;5:388-390
- 10 Nie QH, Cheng YQ, Xie YM, Zhou YX, Cao YZ. Inhibiting effect of antisense oligonucleotides phosphorothioate on gene expression of TIMP-1 in rat liver fibrosis. *World J Gastroenterol* 2001;7:363-369
- 11 Dai WJ, Jiang HC. Advances in gene therapy of liver cirrhosis: a review. *World J Gastroenterol* 2001;7:1-8

- 12 Jiang SL, Yao XX, Shun YF. The treatment of hepatic fibrosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2000;8:684-686
- 13 Jian HQ, Zhang XL. The mechanisms of hepatic fibrosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2000;8:687-689
- 14 Du WD, Zhang YE, Zhai WR, Zhou XM. Dynamic changes of type I, III and IV collagen synthesis and distribution of collagen-producing cells in carbon tetrachloride induced rat liver fibrosis. *World J Gastroenterol* 1999;5:397-403
- 15 Yao XX, Tang YW, Yao DM, Xiu HM. Effect of Yigan Decoc-tion on the expression of type I, III collagen proteins in experi-mental hepatic fibrosis in rats. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2001;9:263-267
- 16 George J, Rao KR, Stern R, Chandrakasan G. Dimethylnitro-samine-induced liver injury in rats: the early deposition of collagen. *Toxicology* 2001;156:129-138
- 17 Bruck R, Shirin H, Aeed H, Matas Z, Hochman A, Pines M, Avni Y. Prevention of hepatic cirrhosis in rats by hydroxyl radical scavengers. *J Hepatol* 2001;35:457-464
- 18 Wei HS, Li DG, Lu HM, Zhan YT, Wang ZR, Huang X, Zhang J, Cheng JL, Xu QF. Effects of AT1 receptor antagonist, losartan, on rat hepatic fibrosis induced by CCl<sub>4</sub>. *World J Gastroenterol* 2000;6:540-545
- 19 Huang X, Li DG, Wang ZR, Wei HS, Cheng JL, Zhan YT, Zhou X, Xu QF, Li X, Lu HM. Expression changes of activin A in the develop-ment of hepatic fibrosis. *World J Gastroenterol* 2001;7:37-41
- 20 Li X, Meng Y, Yang XS, Wu PS, Li SM, Lai WY. CYP11B2 expression in HSCs and its effect on hepatic fibrogenesis. *World J Gastroenterol* 2000;6:885-887
- 21 Chen PS, Zhai WR, Zhou XM, Zhang JS, Zhang YE, Ling YQ, Gu YH. Effects of hypoxia, hyperoxia on the regulation of expression and activity of matrix metalloproteinase-2 in he-patic stellate cells. *World J Gastroenterol* 2001;7:647-651
- 22 Wang JY, Zhang QS, Guo JS, Hu MY. Effects of glycyrrhetic acid on collagen metabolism of hepatic stellate cells at differ-ent stages of liver fibrosis in rats. *World J Gastroenterol* 2001;7:115-119
- 23 Xie YM, Nie QH, Zhou YX, Cheng YQ, Kang WZ. Detection of TIMP-1 and TIMP-2 RNA expressions in cirrhotic liver tissue using digoxigenin labelled probe by in situ hybridization. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2001;9:251-254
- 24 Lu X, Liu CH, Xu GF, Chen WH, Liu P. Successive observa-tion of laminin and collagen IV on hepatic sinusoid during the formation of the liver fibrosis in rats. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2001;9:260-262
- 25 Huang GC, Zhang JS. Intercellular signal transduction of acti-vated hepatic stellate cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2001;9:1056-1060
- 26 Xu JW, Gong J, Chang XM, Luo JY, Dong L, Hao ZM, Jia A, Xu GP. Estrogen reduces CCL<sub>4</sub>- induced liver fibrosis in rats. *World J Gastroenterol* 2002;8:883-887
- 27 Bauer M, Schuppan D. TGF  $\beta$ 1 in liver fibrosis: time to change paradigms. *FEBS Letters* 2001;502:1-3
- 28 Saile B, Matthes N, Knittel T, Ramadori G. Transforming growth factor beta and tumor necrosis factor alpha inhibit both apoptosis and proliferation of activated rat hepatic stel-late cells. *Hepatology* 1999;30:196-202
- 29 Wu GH, Huang YX, Fan GR, Zhang GX. Serum transforma-tion growth factor  $\beta$ 1 in patients with hepatitis B. *Huaren Xiaohua Zazhi* 1998;6:505-506
- 30 Liu F, Liu JX, Cao ZC, Li BS, Zhao CY, Kong L, Zhen Z. Relationship between TGF- $\beta$ 1, serum indexes of liver fibrosis and hepatic tissue pathology in patients with chronic liver diseases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 1999;7:519-521
- 31 Liu F, Liu JX. Role of transforming growth factor betal in hepatic fibrosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2000;8:86-88
- 32 Gao ZL, Li DG, Lu HM, Gu XH. The effect of retinoic acid on Ito cell proliferation and content of DNA and RNA. *World J Gastroenterol* 1999;5:443-444
- 33 Liu T, Hu JH, Cai Q, Ji YP. Signal conducting molecule in hepatic stellate cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2001;9:805-807
- 34 Li D, Zhang LJ, Chen ZX, Huang YH, Whang XZ. Effects of TNF  $\beta$  IL-6 and IL-10 on the development of experimental rat liver fibrosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2001;9:1242-1245
- 35 Yao XX, Tang YW, Yao DM, Xiu HM. Effects of Yigan Decoc-tion on proliferation and apoptosis of hepatic stellate cells. *World J Gastroenterol* 2002;8:511-514



Published by **Baishideng Publishing Group Inc**  
7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton,  
CA 94588, USA  
Fax: +1-925-223-8242  
Telephone: +1-925-223-8243  
E-mail: [bpgoffice@wjgnet.com](mailto:bpgoffice@wjgnet.com)  
<http://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079

