

红景天甙对肝纤维化大鼠肝组织 CBP、Smad 基因表达的影响

曾维政, 吴晓玲, 蒋明德, 王丕龙, 褚桂珍

曾维政, 蒋明德, 成都军区总医院消化内科 四川省成都市 610083
吴晓玲, 王丕龙, 重庆医科大学附属第一医院消化内科 重庆市 400016
褚桂珍, 四川大学华西医学中心细胞生物学教研室 四川省成都市 610054
曾维政, 男, 1961-12-20 生, 湖南邵阳人, 汉族. 主任医师, 教授, 第三军医大学研究生导师. 主要从事肝纤维化防治的基础与临床研究.
成都军区“十五”医药科研基金课题, No. 01A009
项目负责人: 曾维政, 610083, 四川省成都市天回镇, 成都军区总医院消化内科. zengweizheng@163.com
电话: 028-83577558
收稿日期: 2004-11-23 接受日期: 2004-12-08

Effect of Salidroside on gene expression of CBP and Smad in CCl₄-induced liver fibrosis in rats

Wei-Zheng Zeng, Xiao-Ling Wu, Ming-De Jiang, Pi-Long Wang, Gui-Zhen Chu

Wei-Zheng Zeng, Ming-De Jiang, Department of Gastroenterology, General Hospital of Chengdu Command, Chengdu 610083, Sichuan Province, China
Xiao-Ling Wu, Pi-Long Wang, First Affiliated Hospital, Chongqing University of Medical Sciences, Chongqing 400016, China
Gui-Zhen Chu, West China Center of Medical Sciences, Sichuan University, Chengdu 610054, Sichuan Province, China
Supported by Medical Science Foundation of Chengdu Command in the 10th Five Year Plan, No.01A009
Correspondence to: Wei-Zheng Zeng, Department of Gastroenterology, General Hospital of Chengdu Command, Chengdu 610083, Sichuan Province, China. zengweizheng@163.com
Received: 2004-11-23 Accepted: 2004-12-08

Abstract

AIM: To study the effect of Salidroside on gene expression of CREB binding protein (CBP), Smad 3 and Smad 7 in rat hepatic fibrosis induced by CCl₄.

METHODS: Healthy male SD rats were randomly divided into three groups: normal group ($n = 10$), Salidroside therapeutic group ($n = 40$) and fibrosis model group ($n = 40$). Liver fibrosis was induced by CCl₄ subcutaneous injection (300 mL/L, 3 mL/kg, twice per wk for 8 wks). Rats in therapeutic group received Salidroside (5mg/kg) celiac injection twice a week. The deposition of collagen was examined using Masson staining. The gene expression of Smad 3, Smad 7 and CBP were detected by *in situ* hybridization and immunohistochemistry.

RESULTS: The reduction of collagen deposition and rearrangement of the parenchyma were observed in the livers of rats in the therapeutic group, in comparison with those

in model group (semi-quantitative histological scores: 2.1 ± 0.3 vs 3.6 ± 0.8 , $P = 0.041$; average area of collagen: $138 \pm 66 \mu\text{m}^2$ vs $691 \pm 189 \mu\text{m}^2$, $P = 0.046$). The positive rate of Smad 3 mRNA expression was significantly lower in therapeutic group than that in model group (0.18 ± 0.03 vs 0.62 ± 0.23 , $P = 0.026$), while the positive rate of Smad 7 protein expression was markedly higher ($4.27 \pm 0.43\%$ vs $2.86 \pm 0.86\%$, $P = 0.035$). The OD value of CBP mRNA expression was significantly decreased in therapeutic group, as compared with that in model group (0.092 ± 0.032 vs 0.235 ± 0.025 , $P = 0.00012$).

CONCLUSION: Salidroside can effectively reduce CCl₄-induced liver fibrosis in rats. The mechanism may be related to its inhibition of Smad 3 and CBP expression, and its promotion of Smad 7 expression.

Key Words: Salidroside; CBP gene; Smad gene; liver fibrosis

Zeng WZ, Wu XL, Jiang MD, Wang PL, Chu GZ. Effect of Salidroside on gene expression of CBP and Smad in CCl₄-induced liver fibrosis in rats. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2005;13(3):341-345

摘要

目的: 研究红景天甙对 CCl₄ 诱导的肝纤维化大鼠肝组织 CBP、Smad 基因表达的影响。

方法: SD 大鼠 90 只分为 3 组: 正常对照组(C 组)、模型组(M 组)和红景天甙干预组(T 组)。以 CCl₄ 诱导肝纤维化, T 组在造模同时给予红景天甙溶液 ip。HE 和 Masson 染色观察肝脏胶原沉积情况, 原位杂交和免疫组化检测肝组织 Smad 3, Smad 7 和 CBP 基因表达。

结果: T 组肝脏组织学积分减少 (2.1 ± 0.3 vs 3.6 ± 0.8 , $P = 0.041$), 胶原平均面积显著减少 (138 ± 66 vs $691 \pm 189 \mu\text{m}^2$, $P = 0.046$); 肝脏 Smad 7 蛋白表达阳性率增加 [$(4.27 \pm 0.43)\%$ vs $(2.86 \pm 0.86)\%$, $P = 0.035$, $P < 0.05$]; Smad 3 mRNA 表达阳性率减少 (0.18 ± 0.03 vs 0.62 ± 0.23 , $P = 0.026$), CBP mRNA 表达吸光度值亦明显减少 (0.092 ± 0.032 vs 0.235 ± 0.025 , $P = 0.00012$)。

结论: 红景天甙能有效抑制 Smad 3 和 CBP 基因表达, 促进 Smad 7 表达, 从而干扰肝纤维化的形成。

关键词: 红景天甙; Smad 基因; CBP 基因; 肝纤维化

曾维政, 吴晓玲, 蒋明德, 王丕龙, 褚桂珍. 红景天甙对肝纤维化大鼠肝组织 CBP、Smad 基因表达的影响. *世界华人消化杂志* 2005;13(3):341-345
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/13/341.asp>

0 引言

肝纤维化是多种慢性肝脏疾病发展为肝硬化的中间环节, 积极地控制肝纤维化的进展具有极为重要的临床意义. 寻找有效的治疗药物是目前肝病领域研究的热点^[1-2]. 红景天具有保护肝细胞、调节机体免疫功能等多种功效, 在前期的动物实验观察到其具有良好的干预CCl₄诱导的肝纤维化作用^[3-5]. 我们观察了红景天的主要单体成分—红景天甙对CCl₄诱导的肝纤维化大鼠肝脏胶原沉积的影响, 了解其对大鼠肝脏CBP, Smad3, Smad7基因表达的影响, 进一步从分子水平探讨红景天甙干预实验性大鼠肝纤维化的可能分子机制.

1 材料和方法

1.1 材料 健康♂SD大鼠质量150±10 g, 购自华西医科大学实验动物中心; 化学纯CCl₄(成都联合化工试剂研究所), 红景天甙粉剂(纯度80%, 昆明同持医药有限公司, 批号2003011016), Smads抗体及免疫组化试剂盒(武汉博士德生物工程公司), CBP探针及原位杂交试剂盒(上海申能生物工程公司).

1.2 方法 健康♂SD大鼠随机分为3组: 正常对照组(C组)10只, 红景天甙干预组(T组)40只, 模型组(M组)40只, 各组间暴露因素无差别($P>0.05$). 用300 mL/L CCl₄石蜡油溶液, 3 mL/kg sc, 2次/wk, 共8 wk诱导大鼠肝纤维化模型. 红景天甙干预组在造模的同时给予100 g/L红景天甙灭菌水溶液, 5 mg/kg, ip, 2次/wk, 共8 wk, CCl₄模型组在造模同时予生理盐水ip, 正常对照组予等量石蜡油sc和生理盐水ip处理. 各组动物在最后一次CCl₄注射后48 h处死, 肝组织以中性甲醛溶液固定、石蜡包埋, 多聚赖氨酸涂布的载玻片制作5 μm组织切片, 进行HE染色和Masson胶原染色作组织病理学检查; 免疫组织化学(immunohistochemistry, IH)方法检测Smad7蛋白表达水平, 原位杂交法(*in situ* hybridization, ISH)检测Smad3, CBP mRNA表达水平, 检测步骤参考试剂说明书进行. Smad3 mRNA探针序列(5'→3'): Biotin-GAA GGC CGG CTC ACA GTA GGT GAC TGG CTG (981-1 010 bp, GC% = 63.33), 以生物素标记探针, 碱性磷酸酶搭桥, BCIP/NBT显色反应; CBP mRNA

探针序列(5'→3'): Dig-TGA CAG TTG TTT ATG TTT GGA CGC (371-394bp, GC% = 41.67), 以地高辛标记探针, 辣根过氧化物酶搭桥, DAB显色反应, 显微镜下观察结果, 胶原纤维染色、Smads表达水平的ISH, IH检测结果均使用日本Nikon TE2000-H倒置显微镜采集图像, 美国Image-Pro Plus专业图像分析软件进行数据采集和分析.

统计学处理 胶原面积、IH, ISH表达阳性率均以mean±SD表示, Excel 2000统计软件进行t检验.

2 结果

2.1 肝组织病理学改变 HE染色光镜下可见正常大鼠肝组织肝小叶结构清晰, 肝细胞围绕中央静脉呈放射状排列, 肝纤维化大鼠肝细胞广泛脂肪变性、坏死, 炎性细胞浸润以汇管区及中央静脉周围为重, 肝小叶结构破坏, 胶原纤维明显增生; Masson染色见蓝色胶原纤维明显增多, 汇管区—中央静脉区纤维间隔宽大, 包绕分隔肝小叶, 部分形成假小叶, 肝纤维化半定量组织学积分为3.6±0.8; 红景天甙干预治疗组大鼠肝细胞变性、坏死较轻, 有少量纤维组织增生, 形成纤细的纤维间隔, 肝小叶结构基本完整, 半定量组织学积分为2.1±0.3, 与模型组比较差异显著($P=0.041$, $P<0.05$.) 计算机图像分析模型大鼠肝脏平均胶原面积为(691±189 μm²), 干预组胶原面积则减少为(138±66 μm²), 二者差异显著($P=0.046$, $P<0.01$, 表1, 图1A-B).

2.2 肝组织Smad3和Smad7表达 原位杂交检测显示, Smad3 mRNA在正常大鼠肝脏仅有少许间质细胞显示阳性结果, 为胞质细小的蓝紫色颗粒, 且表达强度微弱; CCl₄ sc使大鼠肝脏Smad3 mRNA表达明显增加, 间质细胞和肝细胞均有表达, 计算机图像分析其表达阳性率为0.62±0.23, 而红景天甙干预性治疗使大鼠肝组织Smad3 mRNA表达阳性率下降为0.18±0.03, 与模型组比较差异显著($P=0.026$, $P<0.05$). 免疫组化检测表明, 正常大鼠肝脏未检测出Smad7阳性表达; 模型大鼠肝脏Smad7蛋白表达水平低下, 仅在汇管区见少数间质细胞阳性显色, 为胞质棕黄色的颗粒(图2A), 计算机图像分析其阳性率为2.86±0.86%;

表1 各组大鼠肝组织检测结果

分组	组织学积分	胶原面积(μm ²)	Smad7阳性率(%)	Smad3阳性率	CBP吸光度值
正常组	0 ^b	56±21 ^b	0 ^b	0.06±0.02 ^b	0.016±0.004 ^b
模型组	3.6±0.8	691±189	2.86±0.86	0.62±0.23	0.235±0.025
干预组	2.1±0.3 ^a	138±66 ^b	4.27±0.43 ^a	0.18±0.03 ^a	0.092±0.032 ^b

^a $P<0.05$, ^b $P<0.01$ vs 模型组.

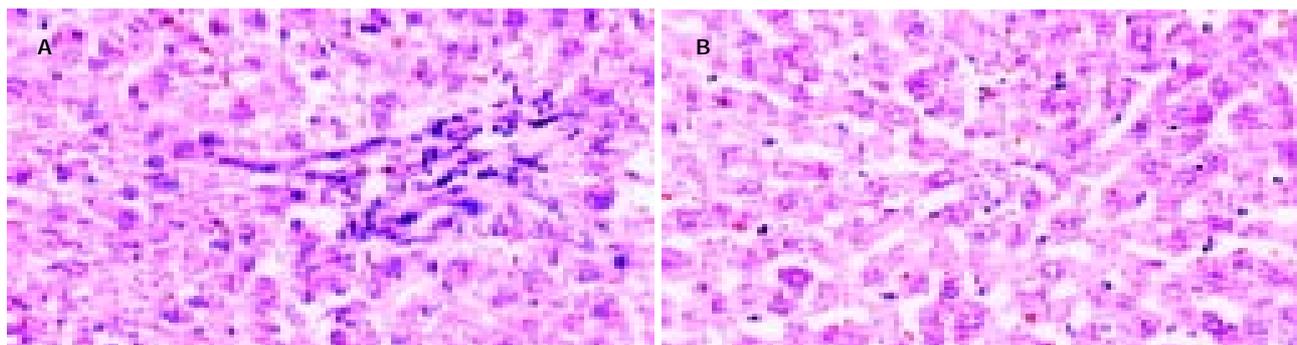


图1 肝脏HE染色($\times 200$). A: 模型组; B: 红景天甙组.

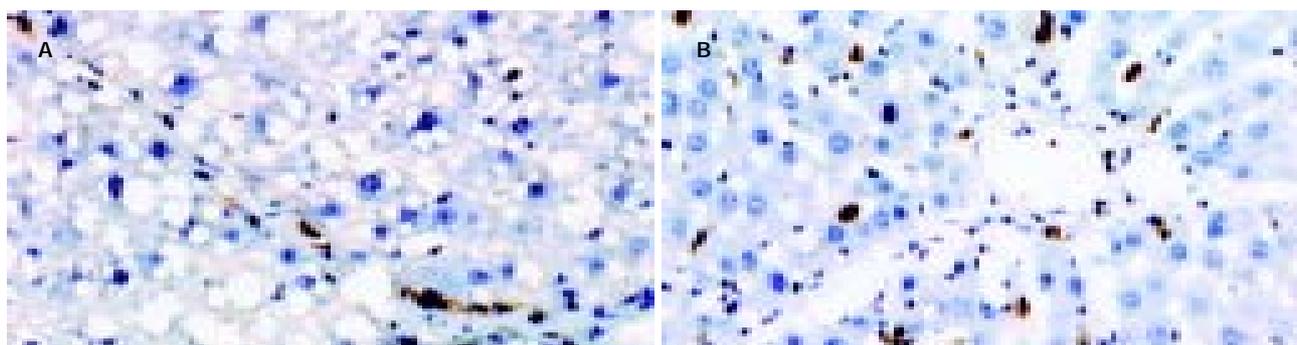


图2 肝脏Smad 7蛋白表达(IH $\times 200$). A: 模型组; B: 红景天甙组.

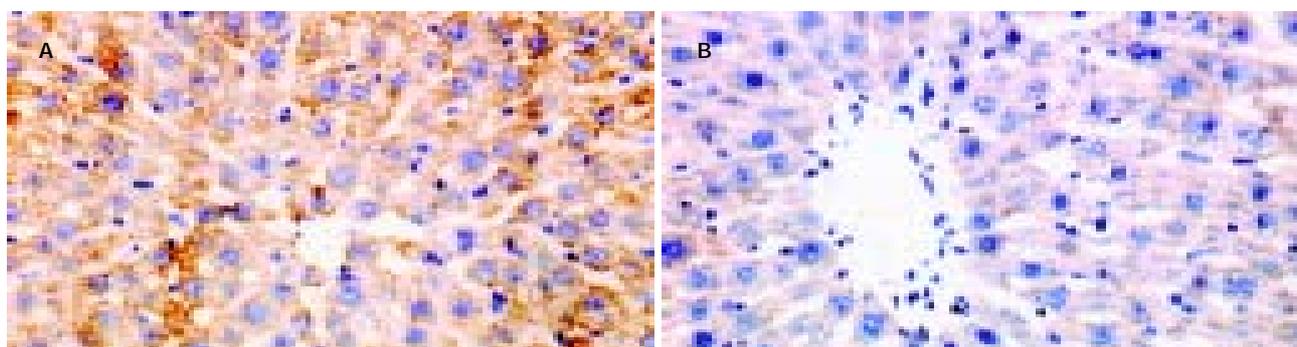


图3 肝脏CBP mRNA表达(ISH $\times 200$). A: 模型组; B: 红景天甙组.

而红景天甙干预组肝脏Smad7蛋白阳性表达亦位于间质细胞(图2B), 阳性率增加为 $4.27 \pm 0.43\%$, 与模型组比较差异显著($P = 0.035$, $P < 0.05$).

2.3 肝组织CBP mRNA表达 原位杂交检测表明, 正常对照组大鼠肝脏CBP mRNA表达水平低下, 显色信号微弱; CCl_4 使大鼠肝脏CBP mRNA表达明显增加, 棕黄色的阳性颗粒主要位于肝实质细胞胞质, 间质细胞表达较少, 且着色深、表达强度高(图3A); 红景天甙干预性治疗使CBP mRNA表达明显减少(图3B), 计算机图像分析其平均吸光度值分别为 0.092 ± 0.032 , 0.235 ± 0.025 ($P = 0.00012$, $P < 0.01$).

3 讨论

TGF β (transforming growth factor- β , 转化生长因子 β)-Smad信号传导通路是肝纤维化主要的信号传

导途径^[6-12]. Smad蛋白家族是TGF β 受体后信息分子, 参与调控细胞的增生、转化、合成、分泌和凋亡, 其成员根据功能不同分为三类:受体激活Smad(R-Smad), 共用Smad(Co-Smad), 和抑制性Smad(I-Smad). 来自TGF β 的信号与细胞膜表面的I、II型受体结合后使R-Smad(Smad2, 3)磷酸化而活化, Smad2, 3再和胞质中的Smad 4(Co-Smad)结合为多聚体转位入细胞核, 进而与一系列的转录辅激活蛋白或转录辅阻遏分子结合调节靶基因表达^[13-16]; Smad6, 7(I-Smad)则分别抑制Smads多聚体形成和抑制R-Smads磷酸化而阻止该信号转导过程^[17], 其表达下调可能与慢性肝病的持续化及进展为肝纤维化有关^[18]. CREB(cAMP response element(CRE)-binding protein, cAMP反应元件结合蛋白)是一重要的核转录因子, 为bZIP家族成员之一. CREB受多种信号转导通路的调控, 除经典的cAMP

调控通路外, 还有 Ras-Raf-MAPK 通路、Ca²⁺-CaMK 通路、应激相关的 P38 通路等. 活化的 CREB 需同转录辅激活因子 CBP (CREB binding protein) 相结合, 才能激活转录发生. CBP 是将 TGF β 信号转化为生物学效应的关键分子, 通过激活 AP-1 等转录因子促进靶基因表达, 引起胶原蛋白合成、肝细胞再生、肝小叶重建等生物效应^[19-20]. 对 TGF β -Smad 信号传导通路及其关键分子表达状况的深入研究不仅有助于进一步阐明肝纤维化的发病机制^[21-25], 也为肝纤维化的防治提供了一个新的途径.

Flanders^[26]认为, TGF β 的促纤维化效应主要是由 Smad3 介导的, 因此, 促进抑制性分子 Smad7 的过度表达或者使用小分子物质 halofuginone 抑制 Smad3 的功能将是非常有效的抗纤维化措施. 国内梁志清 *et al*^[27-28] 通过门静脉灌注将高剂度的反义 Smad4 重组腺病毒载体导入大鼠纤维化肝脏, 结果转基因鼠肝脏内源性 Smad4 表达降低, 且肝脏 I 型胶原明显减少, 表明抑制 Smad4 的表达有潜在抗肝纤维化价值. 张国 *et al*^[29] 研究发现, 中药活血软坚方能够减少肝星状细胞合成 Smad3; 宋仕玲 *et al*^[30] 则在中药金三莪的抗肝纤维化实验中观察到促进 Smad7 表达、抑制 Smad3 表达的作用. 这些研究初步证实, 调节 Smads 分子的表达是行之有效的抗肝纤维化途径.

中药红景天的主要成分为红景天甙、甙元酪醇以及多种氨基酸, 在抗缺氧、抗疲劳、调节免疫、抗缺血等方面广为应用. 前期研究证实, 红景天能保护肝细胞、减少肝脏胶原合成, 有效抑制 CCl₄ 诱导的实验性大鼠肝纤维化^[3-5]. 红景天甙是红景天的主要活性成分, 细胞培养实验显示红景天甙对肝星状细胞增生、活化有抑制作用, 能减少肝星状细胞合成胶原. 我们以红景天甙溶液 ip 干预大鼠肝纤维化, 研究药物干预作用下 Smad 基因及其下游关键的分子 CBP 的表达状况, 初步探讨红景天甙对大鼠肝纤维化的防治作用及其分子机制, 结果表明红景天甙能有效抑制 CCl₄ 诱导的肝组织损害和肝脏胶原沉积, 干预组大鼠肝脏胶原平均面积由 691 μm^2 减少为 138 μm^2 ($P < 0.01$); Smad3 mRNA 表达阳性率由 62% 下降为 18% ($P < 0.05$), CBP mRNA 表达平均吸光度值由 0.235 下降为 0.092 ($P < 0.01$); 同时, Smad7 蛋白表达阳性率则由 2.86% 增加为 4.27% ($P < 0.05$). 这些结果表明, 红景天甙干预性治疗能够有效调节实验性大鼠肝纤维化 TGF β -Smad 信号传导通路中关键信息分子的基因表达, 进而其下游的基因 CBP 表达亦明显减少, 从而干扰了 TGF β 介导的肝纤维化信号向细胞内传递及下游效应基因的表达. 本研究中 Smads 分子主要表达于间质细胞, 符合星状细胞、Kupffer 等间质细胞在肝纤维化发病中的关键地位; 但

CBP 处于该信号通路中较下游的位置, 其表达以肝实质细胞为主, 反映肝细胞也是细胞外基质的重要细胞来源, 可能通过某种未知的通路或者不同的细胞信号通路之间的交互作用 (cross-talk) 放大了来自 TGF β 1 的肝纤维化信号, 使其效应在实质细胞与间质细胞均有表达, 该信号转导通路的分子传导细节以及红景天甙抗实验性大鼠肝纤维化的确切分子机制有待进一步研究阐明.

4 参考文献

- 伍建业, 郭传勇. 肝纤维化药物治疗进展. 同济大学学报(医学版) 2004;25:165-168
- 吴丽, 魏伟. 肝纤维化的动物模型及治疗药物研究. 中国药理学通报 2004;20:481-485
- 曾维政, 吴晓玲, 蒋明德, 陈晓斌, 徐辉, 王钊, 熊碧君. 复方红景天对大鼠肝组织转移生长因子- β 1 mRNA 表达的影响. 中国中西医结合消化杂志 2002;10:138-141
- 曾维政, 吴晓玲, 蒋明德, 邓桂英, 陈晓斌, 张勇, 秦建平, 徐辉. 复方红景天干预肝纤维化大鼠胶原代谢. 世界华人消化杂志 2003;11:975-978
- Wu XL, Zeng WZ, Wang PL, Lei CT, Jiang MD, Chen XB, Zhang Y, Xu H, Wang Z. Effect of compound rhodiola sachalinensis A Bor on CCl₄-induced liver fibrosis in rats and its probable molecular mechanisms. *World J Gastroenterol* 2003;9:1559-1562
- 吴晓玲, 曾维政, 王丕龙. TGF β -Smad 信号转导通路与肝纤维化. 世界华人消化杂志 2003;11:1601-1605
- 阎文昭, 李兵顺, 刘金星, 裴秀. 转化生长因子 β ₁ 与肝纤维化的研究状况. 国外医学内科学分册 2003;30:154-158
- 王连升, 陈颖伟, 李定国. TGF- β 激活与肝纤维化. 国外医学消化系疾病分册 2003;23:222-225
- 宋仕玲, 龚作炯, 张全荣. TGF- β 及 Smad 与肝纤维化. 国外医学消化系疾病分册 2003;23:206-209
- 姜虹, 李定国. TGF- β 1 与肝纤维化. 世界华人消化杂志 2003;11:326-329
- 姚桢, 栾昌海. 肝纤维化的研究现状与进展. 日本医学介绍 2003;24:88-91
- 郭顺根, 戴敏, 张玮, 谢艳爽. 肝纤维化发生发展与信号转导途径. 中国组织化学与细胞化学杂志 2003;12:106-111
- Gressner AM, Weiskirchen R, Breitkopf K, Dooley S. Roles of TGF-beta in hepatic fibrosis. *Front Biosci* 2002;7:793-807
- 张国, 王天才, 唐望先, 王颖, 李勤, 梁扩寰. Smad3, Smad7 基因表达与肝纤维化发病关系研究. 中华消化杂志 2002;22:647-650
- Liu C, Gaca MDA, Swenson ES, Vellucci VF, Reiss M, Wells RG. Smads 2 and 3 are differentially activated by transforming growth factor-beta (TGF-beta) in quiescent and activated hepatic stellate cells. *J Biol Chem* 2003;278:11721-11728
- ten Dijke P, Hill CS. New insights into TGF-beta-Smad signalling. *Trends Biochem Sci* 2004;29:265-273
- Dooley S, Hamzavi J, Breitkopf K, Wiercinska E, Said HM, Lorenzen J, Ten Dijke P, Gressner AM. Smad7 prevents activation of hepatic stellate cells and liver fibrosis in rats. *Gastroenterology* 2003;125:178-191
- Kitamura Y, Ninomiya H. Smad expression of hepatic stellate cells in liver cirrhosis in vivo and hepatic stellate cell line in vitro. *Pathol Int* 2003;53:18-26
- 畅晓燕, 方家椿. 核蛋白 CREB 的转录调控机制. 国外医学分子生物学分册 2002;24:136-139
- Janknecht R, Wells NJ, Hunter T. TGF-beta-stimulated cooperation of smad proteins with the coactivators CBP/p300. *Genes Dev* 1998;12:2114-2119
- 吴建新, 孟祥军, 陈源文, 程计林, 李定国, 陆汉明. Smad 7 与转化生长因子 β ₁ 受体后信息调控. 中华肝病杂志 2003;11:315-317
- 宋仕玲, 龚作炯, 张全荣. 实验性大鼠肝纤维化 TGF β 1 及其受体 mRNA 与 Smad3, 7 的表达. 世界华人消化杂志 2004;12:676-679

- 23 杨隽, 司书毅, 张月琴. Smad 在 TGF β 超家族信号通路中的调控作用. 中国生物工程杂志 2003;23:9-12
- 24 张文岚, 邢德利, 李广生. Smad 蛋白家族与 TGF- β 信号传导. 深圳中西医结合杂志 2003;13:178-180
- 25 王启伟, 朴英杰. Smad 蛋白信号网络. 国外医学分子生物学分册 2003;25:206-209
- 26 Flanders KC. Smad3 as a mediator of the fibrotic response. *Int J Exp Pathol* 2004;85:47-64
- 27 梁志清, 徐新宝, 何振平. 反义 Smad 4 对大鼠纤维化肝脏金属蛋白酶及其抑制剂的调节. 重庆医学 2004;33:716-717
- 28 徐新宝, 何振平, 梁志清, 林凯, 魏玉华, 于鑫, 冷希圣. 腺病毒介导反义 Smad 4 基因大鼠体内转移对实验性肝纤维化的治疗作用. 中华消化杂志 2004;24:370-371
- 29 张国, 张法灿, 王天才, 梁扩寰. 活血软坚方对肝星状细胞 Smad 信号的影响及意义. 中华肝脏病杂志 2004;12:213-215
- 30 宋仕玲, 龚作炯, 张全荣. 金三莪对肝纤维化大鼠 TGF- β 1 及其 I、II 型受体 mRNA 与 Smad 3、Smad 7 表达的影响. 中医药学刊 2004;22:1044-1047

编辑 潘伯荣 审读 张海宁

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2004 年版权归世界胃肠病学杂志社

• 消息 •

World Journal of Gastroenterology 的编辑

经《*World Journal of Gastroenterology*, WJG》编委审稿后, 非常优秀的论文可直接录用, 通知作者按照编委审稿意见及本刊的书写格式进行修改, 符合本刊要求的论文经第一和第二编辑语言处理后方可进行排版. 排版后校样由责任编辑审读全文, 无语法及拼写错误方可付印. WJG 为了确保其出版的每篇论文的编辑质量, 特制定了编辑要点.

1 题名

应简明扼要有特色, 突出主题, 不宜过长; 应直入主题, 避免使用“探讨、研究、分析、观察、调查、探索”等词语; 不用定冠词 The, 一般不使用缩写字(常用缩写字例外). 具体写作的要求见《科技论文英文题名的撰写》<http://www.wjgnet.com/1009-3079/new/26.asp>.

2 摘要

采用结构式摘要. 目的部分应直入主题, 如 To investigate the, 可简要交代背景或该课题目前开展情况; 方法(包括材料)和结果(包括重要数据)部分使用过去时, 结论部分使用一般现在时. 人称和语态使用应自然, 避免使用“悬垂分词”. 摘要的第一句不要重复文章题名, 应增加变化, 补充一些细节. 具体写作的要求见《科技论文英文摘要的撰写》<http://www.wjgnet.com/1009-3079/new/25.asp>.

3 正文

(1) 短句子: 提倡使用短句子, 尽量避免一个句子使用多个从句. 拼写正确, 时态一致、准确. 方法及结果部分一般使用过去时. 讨论部分, 引用文献叙述一般使用过去时, 结论性语言使用一般现在时. 要注意主句和从句的时态呼应及文中上下文含意的呼应; 应尽量对照其中文稿以求如实表达其原意; 使用分词短语作状语和定语时, 一定要注意其语态的正确使用, 以求其前后呼应; 应注意用词的对照一致及词语的固定搭配等; 在编辑过程中, 一定要核对各基本数据及其百分比. 此外, 还应注意标点符号的正确使用与拉丁语名词的单复数. (2) 数字: 出现在句首的数字应写为: Sixteen cases... 或 A total number of 16 cases 而不能写为: 16 cases, 100 patients, 等. (3) 缩略词: 首次使用词语时, 应先写出全称然后在括号内写出其缩写词. (4) 斜体: 细菌、病毒、动植物的拉丁学名、统计学符号、基因符号、内切酶(前 3 个字符)、量符号、拉丁词如 *in vivo*, *in situ*, *et al* 等及参考文献中的刊名应使用斜体. (5) 图表: 不要重复使用, 已用图表示的内容不再使用表格. 表和图题的说明应与正文的文题一样, 文内图表的标注使用句子表示时应使用一般现在时而不使用过去时, 如 The data are shown in Table 1. 图表置正文内, 图表内注解首字母大写, 其余小写.

4 参考文献

应按先后顺序在正文内标出. 参考文献全体作者是否与首页一致, 题名与首页是否一致, 刊名与首页是否一致, 年与首页是否一致, 卷号与首页是否一致, 起页 - 止页与首页是否一致, PMID 号是否与首页一致.

5 其他

(1) 注意字符间空格, 文稿要隔行打印. (2) 使用正式文体, 不用口语体和非规范缩写词. 如 isn't, aren't, hasn't, hadn't, haven't, don't, can't, wouldn't, a lot of, a bit, too (also), thru (through), exam (examination), lab (laboratory) 等. (3) 要客观地叙述方法和结果, 用词要质朴无华, 避免使用带感情色彩或广告式宣传的词语. (4) 可用动词时应尽量避免使用动词的名词形式. (5) 正确使用冠词, 对可数词应尽量使用复数形式. (6) 应多用前置短语分开或用连字符断开名词词组, 避免使用长系列形容词或名词修饰名词. (7) 尽量应用重要的事实开头, 避免短语或从句开头. (8) 涉及他人的工作或研究成果时, 尽量列出其姓名, 两名以上的作者一定要用“*et al*”. 具体写作的要求见《科技论文的写作要点》<http://www.wjgnet.com/1009-3079/new/31.asp>.