

胆管疤痕相关因子在梗阻型胆管损伤后不同时间段的表达

黄强, 刘臣海, 王成, 胡元国, 邱陆军, 汤志刚, 王士堂, 林先盛, 王世杰, 谢放

黄强, 刘臣海, 王成, 胡元国, 邱陆军, 汤志刚, 王士堂, 林先盛, 王世杰, 谢放, 安徽省立医院普外科胆胰病区 安徽省合肥市 230001

安徽省科技攻关计划面上基金资助项目, No. 08010302189
作者贡献分布: 此课题立项由黄强完成; 设计由黄强、王成及刘臣海完成; 研究过程由胡元国、邱陆军、汤志刚、王士堂、林先盛、王世杰及谢放完成; 实验指导及论文修改由黄强与刘臣海。

通讯作者: 黄强, 教授, 230001, 安徽省合肥市, 安徽省立医院普外科胆胰病区. liuchenhai001@163.com

收稿日期: 2010-10-31 修回日期: 2011-04-16

接受日期: 2011-04-26 在线出版日期: 2011-09-18

Temporal expression of scar formation-related factors in obstructive bile duct injury

Qiang Huang, Chen-Hai Liu, Cheng Wang, Yuan-Guo Hu, Lu-Jun Qiu, Zhi-Gang Tang, Shi-Tang Wang, Xian-Sheng Lin, Shi-Jie Wang, Fang Xie

Qiang Huang, Chen-Hai Liu, Cheng Wang, Yuan-Guo Hu, Lu-Jun Qiu, Zhi-Gang Tang, Shi-Tang Wang, Xian-Sheng Lin, Shi-Jie Wang, Fang Xie, Department of General Surgery, Anhui Provincial Hospital, Hefei 230001, Anhui Province, China

Supported by: the Key Scientific and Technological Program of Anhui Province, No. 08010302189

Correspondence to: Huang Qiang, Professor, Department of General Surgery, Anhui Provincial Hospital, Hefei 230001, Anhui Province, China. liuchenhai001@163.com

Received: 2010-10-31 Revised: 2011-04-16

Accepted: 2011-04-26 Published online: 2011-09-18

Abstract

AIM: To observe the temporal expression of scar formation-related factors in obstructive bile duct injury and to explore the effect of timing of surgery on the development of bile duct stricture after repair of obstructive bile duct injury.

METHODS: A canine model of obstructive bile duct injury was developed. HE staining and Masson staining were used to observe the structural changes and collagen proliferation of the bile duct. Immunohistochemistry was used to determine the expression of macrophages (MΦ), α-smooth muscle actin (α-SMA), and transforming growth factor-β1 (TGF-β1).

RESULTS: In the early stage of bile duct injury

(BDL5), mucosal edema and partial rupture of elastic fibers occurred. Prolonged obstruction led to mucosal thinning, continued proliferation of fibroblasts and collagen formation, and irregular fiber arrangement. With the prolongation of injury, the proliferation of collagen fibers was enhanced [28.47 ± 4.06 (BDL5) vs 59.92 ± 9.13 (BDL30)], and scar-related factors α-SMA, MΦ, and TGF-β1 were highly expressed [MΦ: 0.262 ± 0.031 (BDL0) vs 0.409 ± 0.034 (BDL5); α-SMA: 0.239 ± 0.035 (BDL0) vs 0.387 ± 0.018 (BDL5); TGF-β1: 0.245 ± 0.033 (BDL0) vs 0.386 ± 0.029 (BDL5), all $P < 0.05$]. With the further lengthening of injury time, the expression of the above factors was not enhanced [MΦ: 0.409 ± 0.034 (BDL5) vs 0.422 ± 0.023 (BDL30); α-SMA: 0.387 ± 0.018 (BDL5) vs 0.358 ± 0.029 (BDL30); TGF-β1: 0.386 ± 0.029 (BDL5) vs 0.389 ± 0.056 (BDL30), all $P > 0.05$].

CONCLUSION: The duration of bile duct injury has no significant correlation with excessive scar formation of the bile duct wall. The timing of repairing bile duct is not the main factor for the development of anastomotic stricture.

Key Words: Bile duct injury; Macrophages; Transforming growth factor-β1; Smooth muscle actin

Huang Q, Liu CH, Wang C, Hu YG, Qiu LJ, Tang ZG, Wang ST, Lin XS, Wang SJ, Xie F. Temporal expression of scar formation-related factors in obstructive bile duct injury. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(26): 2723-2729

摘要

目的: 探讨手术时机的选择对胆道修复后吻合口狭窄的影响。

方法: 运用家犬制作梗阻型胆管损伤的动物模型, 通过HE染色及Masson特染分析损伤后胆管壁的结构改变及胶原增生情况, 免疫组织化学法测定胆管梗阻损伤后不同时间段巨噬细胞MΦ、α-平滑肌肌动蛋白(α-smooth muscle actin, α-SMA)、转化生长因子-β1(transforming growth factor-β1, TGF-β1)表达情况。

■背景资料

胆道损伤只能减少不能避免, 故损伤后的处理极为重要, 然而胆管的特殊结构及作用, 使得修复极为困难, 特别是远期效果无法预知, 主要表现在修复后的胆道再狭窄, 因此, 研究胆道损伤后吻合口狭窄的机制及相关影响因素, 是胆道损伤处理的重要依据。

■同行评议者

陈进宏, 副主任医师, 复旦大学附属华山医院外科

■ 研究前沿

胆道损伤后吻合口的狭窄一直是胆道外科难以攻克的难题,究其原因发生机制及影响因素不明,目前通过病例的回顾性分析总结出一些因素可能具有相关性。

结果:胆管损伤后早期(BDL5)出现黏膜水肿,部分弹力纤维断裂,随着梗阻时间延长,黏膜层变薄,成纤维母细胞及胶原组织不断增生,纤维呈无规则排列,随着损伤时间的延长,胶原纤维增生不断增强[28.47 ± 4.06 (BDL5) *vs* 59.92 ± 9.13 (BDL30)],但是疤痕相关因子MΦ、 α -SMA及TGF- β 1在损伤后5 d即出现高表达[MΦ: 0.262 ± 0.031 (BDL0) *vs* 0.409 ± 0.034 (BDL5), α -SMA: 0.239 ± 0.035 (BDL0) *vs* 0.387 ± 0.018 (BDL5), TGF- β 1: 0.245 ± 0.033 (BDL0) *vs* 0.386 ± 0.029 (BDL5), $P > 0.05$],而后随着损伤时间的延长,其表达并未出现增高[MΦ: 0.409 ± 0.034 (BDL5) *vs* 0.422 ± 0.023 (BDL30), α -SMA: 0.387 ± 0.018 (BDL5) *vs* 0.358 ± 0.029 (BDL30), TGF- β 1: 0.386 ± 0.029 (BDL5) *vs* 0.389 ± 0.056 (BDL30), $P < 0.05$],两者无时效关系。

结论:胆管损伤后时间的长短与管壁疤痕是否过度形成无关,故胆管修复时间不是术后吻合口狭窄的主要因素。

关键词:胆道损伤;巨噬细胞;转化生长因子- β 1;平滑肌肌动蛋白

黄强, 刘臣海, 王成, 胡元国, 邱陆军, 汤志刚, 王士堂, 林先盛, 王世杰, 谢放. 胆管疤痕相关因子在梗阻型胆管损伤后不同时间段的表达. 世界华人消化杂志 2011; 19(26): 2723-2729
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/2723.asp>

0 引言

胆管损伤修复后吻合口狭窄是胆道外科医生处理胆道损伤后最为苦恼的并发症,他的发生不仅给患者带来严重伤害,而且也给胆道外科医生再处理制造难度,如何避免胆管手术后吻合口的狭窄已经被大家共同讨论和分析,但目前仍未获得确切的相关因素和相应的对策;同时吻合口的狭窄与疤痕过度增生直接相关,手术干预时机的选择是否对术后吻合口的狭窄相关目前仍未科学依据证实.本实验通过动物实验,动态观察胆管损伤后损伤胆管壁内疤痕相关因子的表达情况,以求证明两者之间的关系。

1 材料和方法

1.1 材料 选用本地健康家犬60只,雌雄不限,平均体质量12 kg,自行购买家犬,借用安徽医科大学动物实验室进行手术及饲养观察.饲养条件为室温22℃-25℃,湿度40%-60%的圈养,自由进水和食物。

1.2 方法

1.2.1 分组:随机分成5个实验组,每组12头,分别为胆道梗阻5 d组(BDL5组),胆道梗阻10 d组(BDL10组),胆道梗阻15 d组(BDL15组)及胆道梗阻20 d组(BDL20组)和胆道梗阻30 d组(BDL30组),由于对照组(BDL0组)的取材不影响后期实验组,即将5 d组同时作为对照组使用。

1.2.2 造模:模拟临床梗阻型胆道损失的发生原理,分离出胆总管后再止血钳钳夹结扎进行制作,具体步骤为:实验动物术前禁食12 h,用3%戊巴比妥钠(1 mg/kg)静注麻醉,取仰卧位,固定于手术台上,备皮,碘酒、乙醇消毒手术野并铺巾,取右上腹腹直肌切口进腹,首先沿着肝脏面暴露出肝门部,找到胆总管,距十二指肠上缘0.5 cm处游离出胆总管,上下游离范围不超过1 cm,锐性分离、双重结扎胆总管,梗阻型胆道损伤模型建立完毕后,逐层关腹,术后肌注青霉素180万单位(2次/d)进行预防感染3 d,普通饲养。

1.2.3 标本收集及检测:采集标本为损伤处胆管,对照组标本于制作损伤模型中已获得,实验组分别留待胆道梗阻后第5、10、15、20和30天再次进腹手术,获得损伤胆管标本

1.2.4 所需观察指标:对所获得胆管标本进行HE染色及Masson特染,观察不同时间段胆管壁结构的改变及胶原纤维的表达情况,同时通过免疫组化检测疤痕相关因子 α -SMA、MΦ及TGF- β 1的表达情况,免疫组化基本原理为:一抗和组织切片中的抗原结合后,用生物素标记的二抗与一抗结合,再使用链霉素抗生物素蛋白—过氧化物酶放大系统产生低背景、高放大效果来测定组织细胞中的抗原.具体步骤为:固定:PBS浸洗盖玻片2次,各1 min后用4%多聚甲醛浸泡30 min, PBS彻底浸洗盖玻片3次,各5 min,空气干燥10 min后PBS浸洗2 min,破膜:0.5% TritonX-100(PBS配制)孵育2次,各5 min, 3% H₂O₂去离子水孵育10 min,以消除内源性过氧化氢酶的活性,蒸馏水冲洗, PBS浸泡5 min, 封闭:正常山羊血清工作液封闭,室温置湿盒中孵育15 min,倾去,勿洗结合MΦ、 α -SMA、TGF- β 1一抗:滴加适当比例(1:50-1:200)稀释的一抗,置湿盒中37℃孵育3 h(用PBS缓冲液代替一抗作为阴性对照), PBS浸洗5 min, 各3次滴加生物素化二抗工作液,置湿盒中室温孵育10 min, PBS浸洗5 min, 各3次滴加辣根酶标记链霉卵白素工作液,置湿盒中室温孵育10 min, PBS浸洗5 min, 各3次DAB显色:新鲜配制DAB-H₂O₂底物

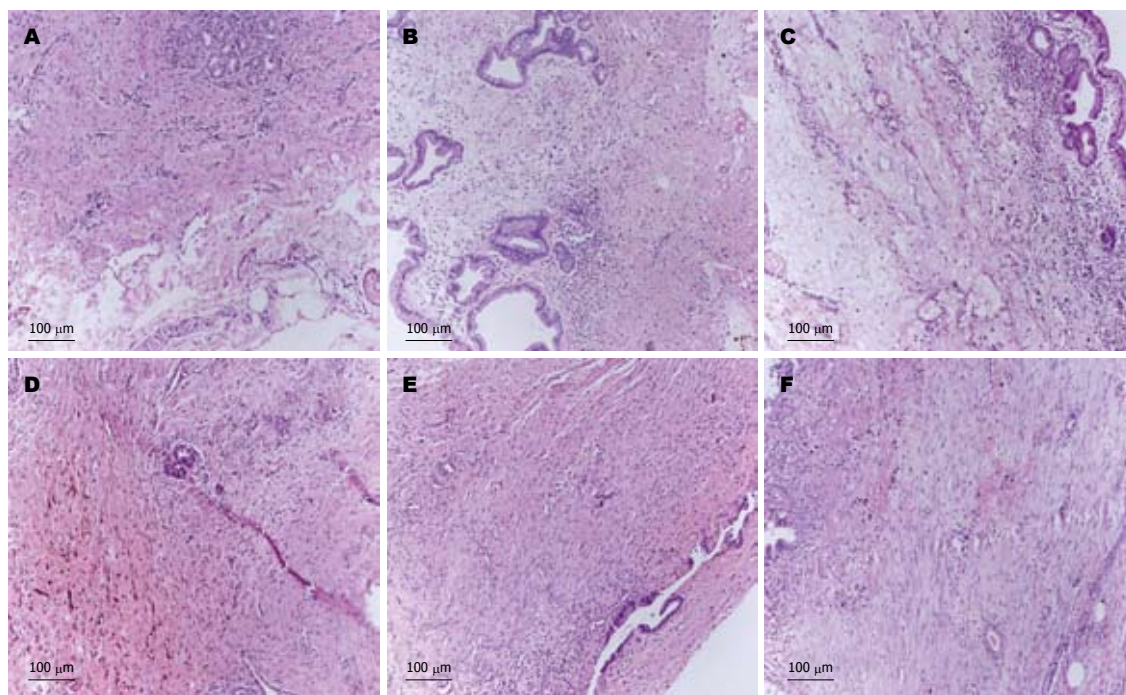


图 1 不同时间段胆管梗阻损伤后受损胆管的HE染色($\times 100$). A: 对照组; B: BDL5组; C: BDL10组; D: BDL15组; E: BDL20组; F: BDL30组.

■ 相关报道

有研究发现TGF- β 1与胆道闭锁肝纤维化的发生、发展密切相关, 抑制TGF- β 1的表达有望阻止胆道闭锁患儿肝纤维化进程, 而且TGF- β 1能够使成纤维细胞DNA的合成明显增加.

缓冲液, 室温避光显色5-20 min(光镜下观察: 待细胞着棕色而背底色较淡时, 弃显色液), 蒸馏水冲洗充分, 清除残余显色剂, 复染: 苏木素复染30 s-1 min, 水冲洗, 脱水: 常规梯度乙醇(70%、80%、90%乙醇各浸泡5 min 1次, 95%乙醇, 浸泡5 min 2次、100%乙醇浸泡5 min 3次)二甲苯透明, 中性树胶封片同时运用CMIAS多功能图像分析系统定量测定胶原纤维、 α -SMA、M Φ 及TGF- β 1的表达情况.

统计学处理 采用SPSS13.0软件包进行统计学分析, 计量资料采用 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示, 组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 损伤后不同时间段胆管壁的结构改变 HE染色后观察到正常组犬胆管内壁表面光滑, 镜下可见成高柱状上皮细胞, 纤维组织层中的胶原纤维及弹性纤维排列有序. 当胆管损伤后, 早期(BDL5、BDL10)管壁炎性细胞浸润增多, 黏膜水肿明显, 且出现部分黏膜断裂, 上皮细胞间隙增大, 细胞受损, 胶原纤维排列被破坏, 杂乱无章, 成纤维母细胞及胶原纤维增生, 至梗阻后期(BDL15、BDL20、BDL30)管壁增厚, 炎性细胞浸润减少水肿减轻, 成纤维母细胞增生及胶原组织增生广泛且伴玻璃样变性, 小血管增生, 黏

膜层变薄, 上皮细胞绒毛低平(图1).

2.2 损伤后不同时间胆管壁内胶原纤维的改变 我们运用特染-Masson染色观察胆管壁内胶原纤维的排列及增生情况, 通过Masson染色后, 胶原被染成亮绿色, 镜下观察可见正常胆管壁内胶原纤维排列整齐, 颜色较淡, 损伤后的胆管壁排列整齐的胶原纤维被破坏, 取而代之的是错中交错的排列, 且染色加深, 通过计算机图像处理系统半定量分析胶原含量显示, 在我们观察的30 d内, 损伤胆管壁内的胶原含量随着损伤时间的延长而不断增加, 未见有胶原纤维增生减弱的现象(图2, 3).

2.3 巨噬细胞(M Φ)在胆管损伤过程中的表达 M Φ 的阳性结果表达位于胆道黏膜固有层, 黏膜下层较少, 正常胆管表达较弱, 胆管损伤后5 d及出现高表达, 且之后一直维持在该水平, 光密度的半定量分析提示M Φ 在损伤早期即出现高表达, 随着损伤时间的延长, 表达强度无明显增强, 维持在高水平, 统计学分析损伤各组见无统计学意义(图4-7).

2.4 α -SMA在胆管损伤过程中的表达 α -SMA表达位于肌成纤维细胞(MFB)、平滑肌细胞胞质和细胞膜, 正常胆管壁平滑肌组织表达较弱, 胆管损伤后持续高表达, 对照组胆管 α -SMA表达较弱/+, 损伤胆管呈现高表达, 半定量分析 α -SMA的表达与损伤时间无关, 光密度值在损

■应用要点

该文集中讨论临床上争议的问题,该结论的确立将减少梗阻性胆道损伤患者因修复时间的选择带来的身心创伤,也进一步证实胆道修复后远期效果的获得主要靠手术的精细操作和修复方式决定,减少医师再处理胆道损伤上的自欺欺人及犹豫,减轻患者的痛苦。

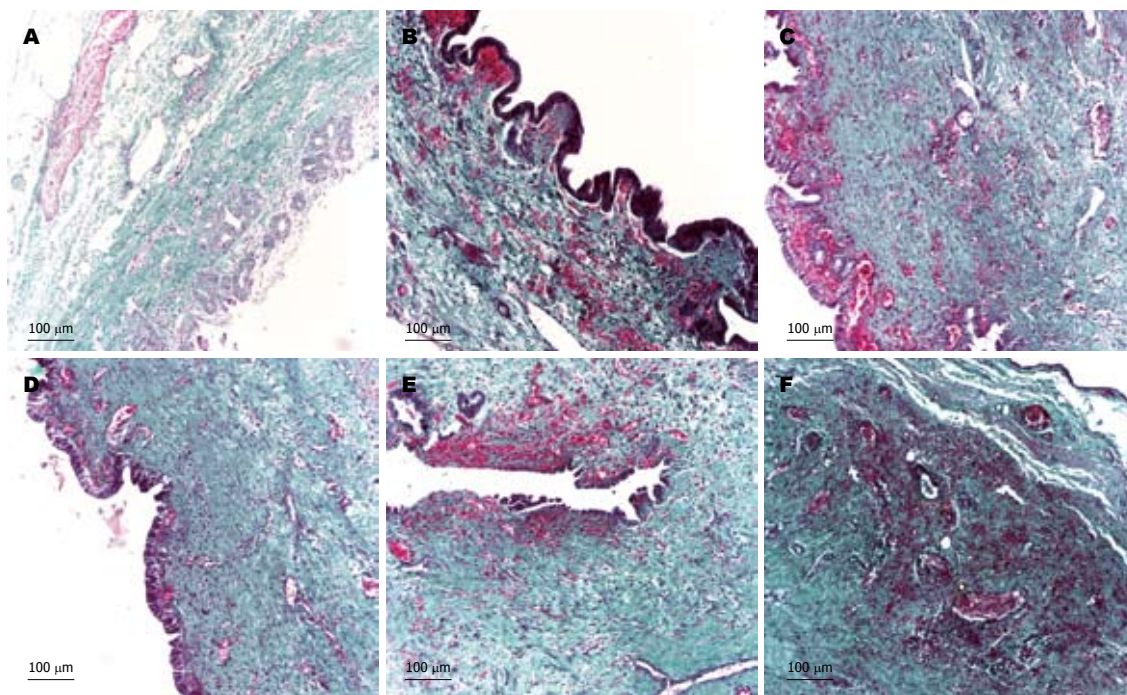


图2 胆管梗阻性损伤不同时期胆管中胶原纤维的变化(Masson染色 $\times 100$)。A: 对照组; B: BDL5组; C: BDL10组; D: BDL15组; E: BDL20组; F: BDL30组。

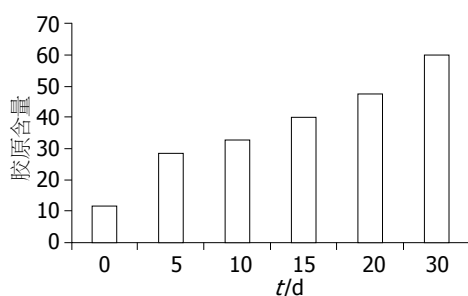


图3 损伤胆管后不同时期胆管壁中胶原含量的定量分析。

伤胆管组间无统计学意义(图5, 7)。

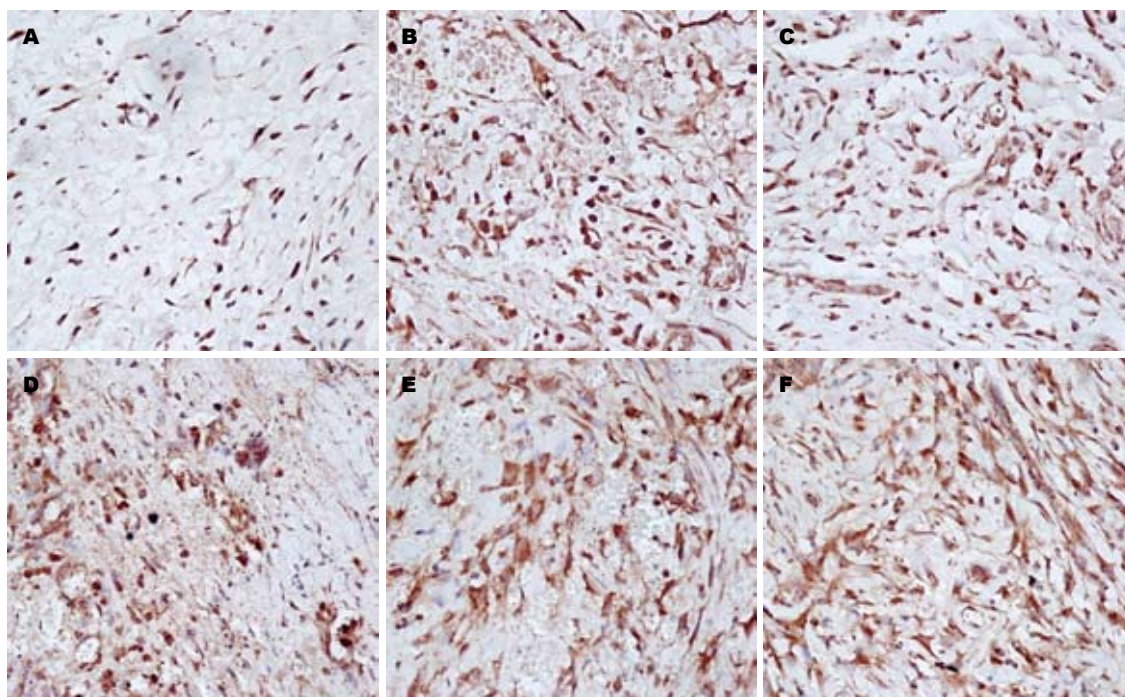
2.4 TGF- β 1在胆管损伤过程中的表达 TGF- β 1表达位于肉芽组织、成纤维细胞、巨噬细胞、及血管内皮细胞的胞质和细胞膜,正常胆管壁组织中表达弱,胆管损伤后持续高表达,对照组胆管TGF- β 1表达较弱,损伤胆管内持续高表达,定量分析TGF- β 1的表达与损伤时间无关,损伤胆管组中吸光度值无统计学差异(图6, 7)。

3 讨论

胆道损伤随着腹腔镜在基层的不断普及而有上升趋势^[1],他的发生一直是困扰胆道外科医生的一个难题,不仅其处理难度大,更重要的是其处理不当后导致严重后果,突出表现为修复后的胆道再狭窄,因此,如何才能获得修复后的良好远期效果一直是胆道外科医生努力的方向。目

前对于造成狭窄的相关因素的临床分析研究较多^[2-4],但目前没有科学的实验依据和数据佐证这些因素;同时目前研究发现疤痕形成是创伤性组织愈合的一个病理生理过程,胆肠吻合口也不例外^[5],而疤痕的形成离不开胶原及疤痕相关因子的增生和表达,目前的胆道损伤再狭窄的基础研究主要集中在组织细胞的凋亡上^[6],对于时机选择是否影响再狭窄未见报道。本实验通过观察损伤胆管壁不同时间段内胶原纤维及疤痕相关因子 α -SMA、M Φ 及TGF- β 1的表达情况,分析手术干预时机是否对术后吻合口狭窄产生影响。

正常胆管是一种纤维弹性薄壁管道,黏膜下主要为大量纤维组织,平滑肌成分较少,当胆管损伤后,黏膜下纤维成分断裂,愈合过程中大量纤维细胞转化为功能活跃的成纤维细胞,导致胶原大量合成,细胞外基质过度沉积,改建较差,最终容易导致疤痕过度增生,吻合口狭窄^[6]。同时胆汁中的胆盐透过破坏的黏膜层与胶原纤维接触可刺激胶原的持续合成,导致吻合口的纤维化。本实验观察到,随犬胆管梗阻时间的延长,胆管结构破坏持续加重,且成纤维细胞及胶原组织持续增生。由此可知,损伤因素的存在将持续刺激受损胆管壁的胶原纤维增生,故早期解除损伤因素是阻断胶原纤维过度增生的唯一办法,从此角度分析,胆管损伤后应该尽快处理。



■同行评价
本文设计合理, 结论可靠, 有一定的科学性以及临床指导意义.

图 4 胆管梗阻性损伤后不同时期胆管中MΦ的表达情况(阳性细胞染色为棕黄色, $\times 400$). A: 对照组; B: BDL5组; C: BDL10组; D: BDL15组; E: BDL20组; F: BDL30组.

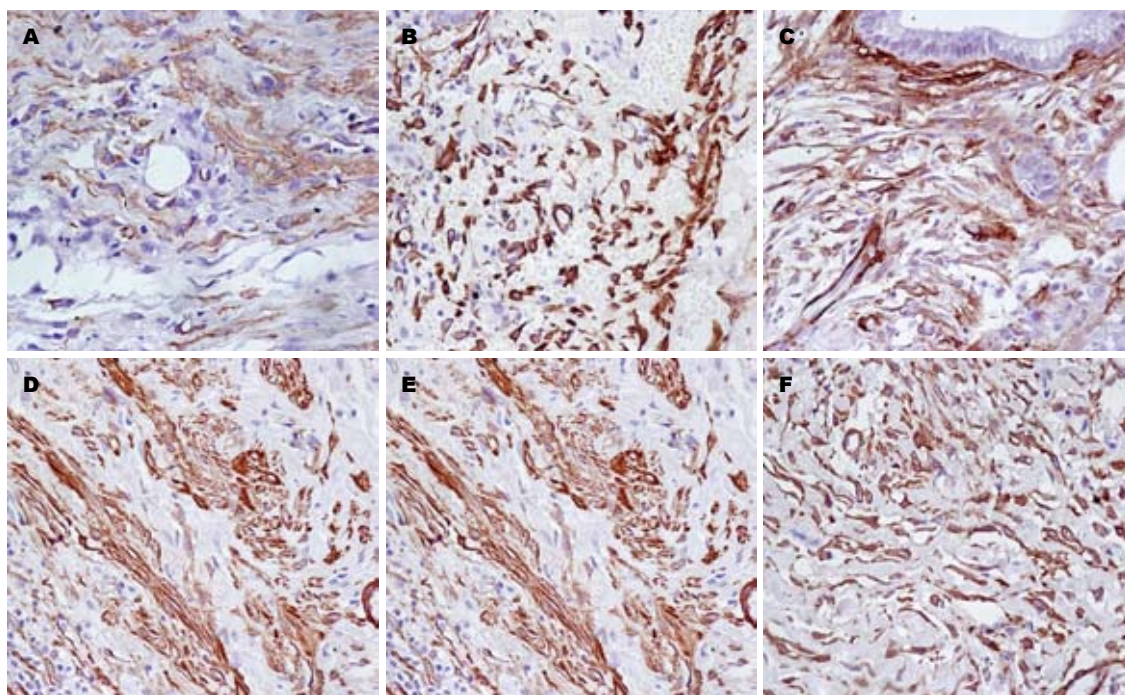


图 5 胆管梗阻性损伤后不同时期损伤胆管中 α -SMA的表达情况(阳性细胞染色为棕黄色, $\times 400$). A: 对照组; B: BDL5组; C: BDL10组; D: BDL15组; E: BDL20组; F: BDL30组.

然而瘢痕的形成不单单仅与胶原纤维的增生相关, 而且与一些疤痕相关因子有关, 其中MΦ(巨噬细胞)、TGF- β 1及 α -SMA是目前研究比较明确的与瘢痕形成相关的因子. 国内耿智敏^[7]就提出: (1)胆管愈合方式属于过度愈合; (2)肌成纤维细胞功能活跃, 持续存在, 是导致胆管

瘢痕性挛缩的重要原因; (3)MΦ(巨噬细胞)、TGF- β 1及 α -SMA高表达是造成胆管愈合过程中成纤维细胞增殖旺盛、细胞外基质过度沉积、胆管疤痕性挛缩的重要因素. 肌成纤维细胞(MFB)是一种在超微结构上兼有成纤维细胞和平滑肌细胞两者特征的非典型的成纤维细胞,

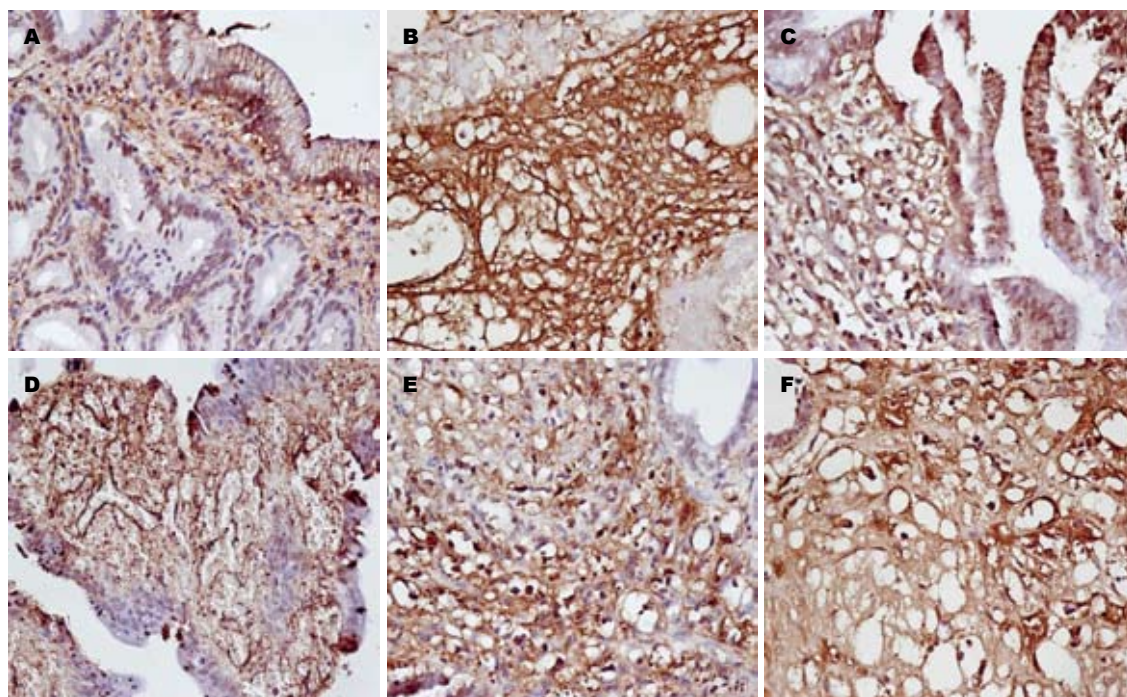


图 6 胆管梗阻性损伤后不同时期胆管中TGF- β 1的表达情况(阳性细胞染色为棕黄色, $\times 400$). A: 对照组; B: BDL5组; C: BDL10组; D: BDL15组; E: BDL20组; F: BDL30组.

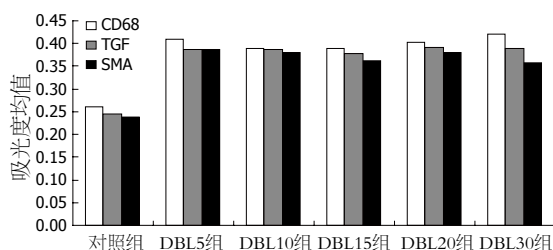


图 7 胆管梗阻性损伤后不同时期内损伤胆管中M Φ 、 α -SMA 和TGF- β 1的吸光度值.

他与瘢痕挛缩关系密切^[8], 从成纤维细胞到MFB, 需要有 α -SMA 的表达, α -SMA作为成纤维细胞向MFB分化的标志, 实际上也就成MFB的重要标志^[9]. TGF- β 1是一种强烈的促细胞分裂剂, 对多种细胞的分裂、增殖和迁移起作用, 并能增加血管化和趋化成纤维细胞、单核细胞及巨噬细胞到损伤部位, 促进创伤部位纤维化^[10]. 同时有研究发现TGF- β 1与胆道闭锁肝纤维化的发生、发展密切相关, 抑制TGF- β 1的表达有望阻止胆道闭锁患儿肝纤维化进程, 而且TGF- β 1能够使成纤维细胞DNA的合成明显增加^[11,12]. 研究还发现TGF- β 3可能是通过调节瘢痕组织中成纤维细胞的增殖和/或凋亡水平, 来实现对瘢痕形成的调节, 因此TGF- β 3表达水平的失控可能是病理性瘢痕形成的重要诱因之一^[13], 是目前已知与瘢痕形成关系最密切、最有代表性的生长因子, 对多种细胞的分裂、增殖和迁移起作用, 可

由多种细胞合成^[14]. 炎症细胞和修复细胞的一系列活动是伤口愈合的基础, 巨噬细胞(M Φ)作为主要的炎症和免疫细胞, 除参与组织炎症及免疫反应外, 更重要的是通过释放多种介质, 直接或间接、单独或协同影响着组织的血管化和纤维化^[15]. 他可以释放多肽生长因子包括巨噬细胞源性生长因子(macrophage-derived growth factor, MDGF)、白介素-1(interleukin-1, IL-1)、TGF- β 、血小板源性生长因子(platelet derived growth factor, PDGF)、表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)及 γ -干扰素(γ -interferon, γ -IFN)等, 酶类包括胶原酶、弹性蛋白酶、纤溶酶原激活物等^[16,17], 其在伤口愈合过程中一方面参与对成纤维细胞增殖和胶原合成的调节, 另一方面活化和低氧的M Φ 能产生伤口血管生成因子(WAF), 以促进血管形成和肉芽组织增生. 因此, 愈合早期M Φ 聚集有利于伤口肉芽组织生长及修复, 但伤口上皮愈合后局部M Φ 等免疫细胞仍大量聚集被认为是继发瘢痕增生的重要因素, 在此过程中细胞因子可能是免疫细胞发挥作用的中间媒体^[18]. 本实验观察发现胆管损伤后 α -SMA、M Φ 及TGF- β 1在胆管损伤后即表现为高表达, 他们的表达并未因梗阻时间的延长而出现明显增加, 半定量分析其表达量与损伤时间之间无统计学差异, 由此分析胆管损伤后胆

管壁中的疤痕因子并未因损伤时间的延长而不断增强表达, 而是停留在某个高表达水平, 故修复时间的选择对疤痕因子的表达无意义, 理论上可以推断修复时间与术后胆管壁修复过程中疤痕的过度增生, 直至导致胆管狭窄无关。

从以上实验结果看, 胆管损伤后与疤痕修复相关的因子即出现高表达, 且持续维持在一个高水平, 这些因子的高表达, 导致胶原合成增加, 从而进行自我修复。故从理论上讲手术处理时机的选择与术后吻合口狭窄并无必然联系; 但是早期解除损伤因素, 即可避免胆管壁结构破坏的加重, 减轻修复后的塑形难度, 从而使修复的胆管恢复原有状态, 减少吻合口的狭窄。本实验告诉我们, 修复时间对损伤胆管壁的疤痕修复无重要意义, 由此排除手术时机的因素后, 我们认为手术技巧和使用正常胆管进行吻合是减少术后吻合口狭窄重要因素。

4 参考文献

- 1 Sváb J, Pesková M, Krška Z, Gürlich R, Kasalický M. [Prevention, diagnosis and treatment of iatrogenic lesions of biliary tract during laparoscopic cholecystectomy. Management of papilla injury after invasive endoscopy. Part 1. Prevention and diagnosis of bile duct injuries]. *Rozhl Chir* 2005; 84: 176-181
- 2 雷鹏, 赵国忠. 医源性胆管损伤诊治的临床研究. *宁夏医学杂志* 2007; 29: 223-225
- 3 樊晓静, 段绍斌, 杨东鹰. 医源性胆道损伤修复术120疗效分析. *新疆医科大学学报* 2009; 32: 1581-1582
- 4 李立波, 李君达, 蔡秀军, 魏琪, 蔡小燕. 影响腹腔镜胆囊切除术胆道损伤修复效果的因素. *中华普通外科杂志* 2003; 18: 263-265
- 5 刘凯, 王英超, 刘亚辉. 胆肠吻合口狭窄的临床研究进展. *中国老年学杂志* 2010; 30: 136-138
- 6 李可洲, 骆乐, 姚豫桐, 张晓, 闫洪涛. cFLIP和caspase-8在犬胆道良性损伤修复过程中的表达. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 773-778
- 7 詹国清, 董家鸿, 王槐志, 杨占宇, 耿强. 损伤性胆管狭窄手术时机与胆管胶原含量变化的实验研究. *中华肝胆外科杂志* 2003; 9: 681-683
- 8 耿智敏, 徐军, 刘青光, 向国安, 刘效恭, 韩庆, 王康敏. 良性胆管狭窄形成机制的研究. *消化外科* 2002; 1: 321-323
- 9 Nedelec B, Ghahary A, Scott PG, Tredget EE. Control of wound contraction. Basic and clinical features. *Hand Clin* 2000; 16: 289-302
- 10 Badid C, Mounier N, Costa AM, Desmoulière A. Role of myofibroblasts during normal tissue repair and excessive scarring: interest of their assessment in nephropathies. *Histol Histopathol* 2000; 15: 269-280
- 11 Yaffe K, Kanaya A, Lindquist K, Simonsick EM, Harris T, Shorr RI, Tykavsky FA, Newman AB. The metabolic syndrome, inflammation, and risk of cognitive decline. *JAMA* 2004; 292: 2237-2242
- 12 谢举临, 利天增, 祁少海, 卞辉宁, 梁惠珍, 徐盈斌. 转化生长因子 $\beta 1$ 对培养的瘢痕成纤维细胞增殖的调控作用. *中国组织化学与细胞化学杂志* 2006; 15: 30-33
- 13 陈伟, 付小兵, 王海滨, 孙同柱, 周岗, 李海红, 盛志勇. 增生性瘢痕形成和成熟过程中转化生长因子 $\beta 1$ 及下游信号分子的基因表达变化. *中华实验外科杂志* 2005; 22: 740-742
- 14 肖刚, 谭敏, 胡少为, 王智园, 石灵春. TGF- $\beta 3$ 对病理性瘢痕中成纤维细胞增殖凋亡的影响. *中国医疗前沿* 2008; 3: 13-14
- 15 Rifai N, Ridker PM. Population distributions of C-reactive protein in apparently healthy men and women in the United States: implication for clinical interpretation. *Clin Chem* 2003; 49: 666-669
- 16 Browder W, Williams D, Lucore P, Pretus H, Jones E, McNamee R. Effect of enhanced macrophage function on early wound healing. *Surgery* 1988; 104: 224-230
- 17 Pierce GF, Mustoe TA. Pharmacologic enhancement of wound healing. *Annu Rev Med* 1995; 46: 467-481
- 18 Bruce DG, Harrington N, Davis WA, Davis TM. Dementia and its associations in type 2 diabetes mellitus: the Fremantle Diabetes Study. *Diabetes Res Clin Pract* 2001; 53: 165-172
- 19 Tervo S, Kivipelto M, Hänninen T, Vanhanen M, Hallikainen M, Mannermaa A, Soininen H. Incidence and risk factors for mild cognitive impairment: a population-based three-year follow-up study of cognitively healthy elderly subjects. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2004; 17: 196-203

编辑 李军亮 电编 何基才