

荔枝核总黄酮对肝纤维化大鼠肝细胞Bcl-2/Bax表达的影响

罗伟生, 靳雅玲, 欧士钰, 覃浩, 孙旭锐

■背景资料

中国是一个肝病高发国家, 防治肝纤维化是阻滞慢性肝病向肝硬化发展的重要途径。肝细胞发生凋亡是肝纤维化的始动因素。如何抑制肝细胞凋亡对肝纤维化的防治具有重要意义, 其成为目前肝病研究的热点。

罗伟生, 靳雅玲, 欧士钰, 覃浩, 孙旭锐, 桂林医学院附属医院消化内科 广西壮族自治区桂林市 541004

罗伟生, 教授, 主任医师, 博士生导师, 主要从事中西医结合对消化性疾病的基础与临床研究。

广西卫生厅重点课题基金资助项目, No. 重2010052

作者贡献分布: 此课题由罗伟生、靳雅玲及欧士钰设计; 研究过程由罗伟生、靳雅玲、欧士钰、覃浩及孙旭锐操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由罗伟生、覃浩及孙旭锐提供; 数据分析由靳雅玲与欧士钰完成; 本论文写作由罗伟生与靳雅玲完成。

通讯作者: 罗伟生, 教授, 主任医师, 博士生导师, 541004, 广西壮族自治区桂林市环城北二路109号, 桂林医学院附属医院消化内科。wsluo58@yahoo.com.cn

电话: 0773-5898018

收稿日期: 2012-03-06 修回日期: 2012-05-07

接受日期: 2012-05-18 在线出版日期: 2012-06-28

Effect of total flavone of Litchi chinensis Sonn on the expression of Bcl-2 and Bax in hepatic fibrosis in rats

Wei-Sheng Luo, Ya-Ling Jin, Shi-Yu Ou, Hao Qin, Xu-Rui Sun

Wei-Sheng Luo, Ya-Ling Jin, Shi-Yu Ou, Hao Qin, Xu-Rui Sun, Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Guilin Medical University, Guilin 541004, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Supported by: the Science Research Foundation of Health Department of Guangxi Zhuang Autonomous Region, No. zhong2010052

Correspondence to: Wei-Sheng Luo, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Guilin Medical University, 109 Beier Road, Guilin 541004, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. wsluo58@yahoo.com.cn

Received: 2012-03-06 Revised: 2012-05-07

Accepted: 2012-05-18 Published online: 2012-06-28

Abstract

AIM: To study the effect of total flavone of Litchi chinensis Sonn (TFL) on liver cell apoptosis in rats with hepatic fibrosis and to explore possible mechanisms involved.

METHODS: Fifty rats were randomly divided into five groups: blank control group, colchicine group, model group, low- and high-dose TFL groups. Hepatic fibrosis was induced in rats by intraperitoneal injection of dimethylnitrosamine. The TFL groups were intragastrically administered with different doses of TFL for 6 wk, while the blank control group and colchicine group

were given normal saline and colchicine, respectively. After treatment, liver samples were taken to examine the degree of liver fibrosis by HE and Masson staining and to detect Bcl-2 and Bax expression by immunohistochemistry. Serum ALT and AST levels were also measured.

RESULTS: The expression of Bcl-2 and Bax in the model group was significantly higher than that in the normal group (both $P = 0.000$). The expression of Bcl-2 was higher and that of Bax was lower in the TFL groups and colchicine group than in the model group (Bcl-2: $P = 0.000, 0.047, 0.021$; Bax: $P = 0.000, 0.014, 0.007$), and in the high-dose TFL group than in the low-dose TFL group ($P = 0.018, 0.002$). Bcl-2 and Bax expression showed no significant difference between the low-dose TFL group and colchicine group ($P = 0.726, 0.767$). The severity of liver fibrosis was positively correlated with Bax expression ($P = 0.000$) but negatively with Bcl-2 expression ($P = 0.000$). Serum levels of ALT and AST were significantly lower in the blank control group, TFL groups and colchicine group than in the model group (all $P = 0.000$), but showed no significant difference between the low-dose TFL group and colchicine group ($P = 0.597, 0.669$).

CONCLUSION: TFL can resist hepatic fibrosis and improve liver function possibly by up-regulating Bcl-2 expression and down-regulating Bax expression to inhibit liver cell apoptosis.

Key Words: Total flavone of Litchi chinensis Sonn; Hepatic fibrosis; Cell apoptosis; Bcl-2; Bax

Luo WS, Jin YL, Ou SY, Qin H, Sun XR. Effect of total flavone of Litchi chinensis Sonn on the expression of Bcl-2 and Bax in hepatic fibrosis in rats. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(18): 1602-1608

摘要

目的: 研究荔枝核总黄酮(total flavone from Litchi Chinensis Sonn, TFL)对二甲亚硝胺(dimethylnitrosamine, DMN)肝纤维化大鼠肝细胞凋亡的影响及作用机制。

方法: 50只SD大鼠随机分为5组, 以DMN腹

■同行评议者

陈治水, 主任医师, 中国人民解放军第211医院中医科

腔注射制备大鼠肝纤维化模型, 造模的同时, TFL干预组分别以高、低剂量的TFL灌胃6 wk进行干预治疗, 空白对照组、秋水仙碱组分别以生理盐水、秋水仙碱灌胃作为阴阳性对照。HE及Masson染色观察肝纤维化程度; 免疫组织化学二步法检测Bcl-2、Bax的表达; 测定血清ALT、AST的水平。

结果: 模型组大鼠肝组织中Bcl-2、Bax的表达较正常组显著升高($P = 0.000$), TFL高、低剂量给药组及秋水仙碱组Bcl-2的表达较模型组升高($P = 0.000, 0.047, 0.021$), Bax的表达较模型组降低($P = 0.000, 0.014, 0.007$), TFL高剂量组与低剂量组比较Bcl-2的表达升高($P = 0.018$), Bax的表达显著降低($P = 0.002$)。Bcl-2、Bax在秋水仙碱组与TFL低剂量组中的表达无显著性差异($P = 0.726, 0.767$)。肝纤维化严重程度与Bax的表达显著正相关($P = 0.000$); 与Bcl-2的表达负相关($P = 0.000$)。空白对照组、TFL高低剂量给药组及秋水仙碱组血清ALT、AST均明显低于模型组, 具有显著性差异($P = 0.000$)。低剂量组与秋水仙碱组无显著性差异($P = 0.597, 0.669$)。

结论: TFL具有较好的抗肝纤维化和改善肝功能的作用, 并推测这种作用可能与上调Bcl-2、下调Bax的表达, 抑制肝细胞的凋亡有关。

关键词: 荔枝核总黄酮; 肝纤维化; 细胞凋亡; Bcl-2; Bax

罗伟生, 靳雅玲, 欧士钰, 覃浩, 孙旭锐. 荔枝核总黄酮对肝纤维化大鼠肝细胞Bcl-2/Bax表达的影响. 世界华人消化杂志 2012; 20(18): 1602-1608
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/1602.asp>

0 引言

我国是一个肝病高发国家, 大多数慢性乙型肝炎患者都会经历由乙型肝炎、肝硬化到肝癌的三部曲阶段, 如何延缓甚至阻断这条途径对肝病治疗具有重要意义。肝纤维化是慢性肝病向肝硬化发展的必经阶段^[1,2], 研究发现肝纤维化甚至肝硬化早期均是可逆的^[3]。因而, 肝纤维化早期治疗是可以使这条肝病进展途径停止发展甚至逆转的。在前期的研究中荔枝核总黄酮(total flavone from Litchi Chinensis Sonn, TFL)已被证实具有抗大鼠肝纤维化的作用, 并且可以促进肝星状细胞的凋亡^[4]、抑制肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体^[5]。本实验通过建立二甲基亚硝胺(dimethylnitrosamine, DMN)大鼠肝纤维化模型, 观察TFL对肝纤

维化大鼠肝细胞内Bcl-2、Bax表达的变化及肝功能的影响, 初步探讨TFL抗肝纤维化的作用机制。

1 材料和方法

1.1 材料 清洁级SD大鼠50只, ♂, 体质量 $200 \text{ g} \pm 20 \text{ g}$, 购自桂林医学院实验动物中心。所有大鼠按常规饲养条件(温度 25°C ; 湿度50%-60%; 光照随昼夜变化), 普通大鼠饲料喂养, 自由进水。二甲基亚硝胺(Sigma公司); 荔枝核总黄酮^[4]由桂林医学院药理教研室提取分离, 将荔枝核干粉通过乙醇微波辅助提取, 大孔吸附树脂分离纯化后对提取物进行定性、定量检测, 得到的黄酮类化合物, 用蒸馏水稀释为 40 g/L 和 20 g/L 两种溶液。秋水仙碱(colchicine, Col); Bcl-2、Bax抗体(北京中衫金桥生物技术有限公司); 免疫组织化学抗体稀释液、二抗试剂、DAB显色剂(福建迈新生物技术有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 造模与分组: 参照文献^[4]制备DMN肝纤维化大鼠模型, 50只大鼠随机分为5组, 每组10只。肝纤维化模型组: 大鼠以 2 mL/kg 剂量(第1周为此剂量的 $2/3$)于每周前3 d连续腹腔注射 0.5% DMN溶液(以生理盐水稀释), 共4 wk; 造模同时用生理盐水灌胃, 每日1次, 每次 5 mL/kg , 共6 wk。TFL高、低剂量治疗组: 造模同时分别给予TFL 200、 $100 \text{ mL/(kg}\cdot\text{d)}$ 灌胃, 每日1次, 共6 wk。秋水仙碱组: 秋水仙碱粉剂溶于生理盐水后以 $0.1 \text{ mg/(kg}\cdot\text{d)}$ 的浓度灌胃, 每日1次, 共6 wk。空白对照组: 以等体积的生理盐水灌胃, 不做其他处理。

1.2.2 取材及处理: 末次给药后次日, 苯巴比妥钠腹腔注射, 麻醉抽取下腔静脉血后处死大鼠, 分离肝脏, 观察肝组织的大体变化。并取同一部位新鲜肝脏组织制作石蜡切片用于病理形态学和免疫组织化学的检测。下腔静脉血离心后用全自动生化分析仪检测肝功能的变化。

1.2.3 检测指标及方法: (1)肝组织病理学检查, 肝组织HE及Masson染色, 参照曾民德等^[6]的纤维化评分标准对肝纤维化严重程度进行半定量分析; (2)肝功能检测, 下腔静脉血离心后用全自动生化分析仪测定各组丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)的水平; (3)免疫组织化学(二步法)检测Bcl-2、Bax的表达, 严格按照说明书进行操作。结果判断: 在细胞浆或/和细胞膜有黄色颗粒沉着视为阳性表达。高倍视野($\times 400$)下, 根据染色细胞多少及染色深浅对阳性表达情况进行半定量分析^[7]。不着色者

■ 研究前沿

文献报道荔枝核总黄酮(TFL)具有防治大鼠肝纤维化并且促进肝星状细胞凋亡, 抑制肿瘤坏死因子相关诱导凋亡配体的作用。但是对于TFL在抗肝纤维化基础上对凋亡调控蛋白表达的影响未见报道。

■创新亮点

本实验通过建立肝纤维化大鼠模型,观察TFL对肝纤维化大鼠肝细胞Bcl-2/Bax的表达变化。结果表明,TFL可能通过上调Bcl-2,下调Bax的表达抑制肝细胞的凋亡从而达到抗肝纤维化的作用。

表 1 各组大鼠肝功能变化、肝纤维化程度及Bcl-2、Bax的表达情况

分组	n	ALT	AST	肝纤维化程度	Bcl-2	Bax
空白对照组	10	45.46 ± 11.045 ^{dfhj}	84.95 ± 14.495 ^{dfhj}	0.80 ± 0.422 ^{dfhj}	2.30 ± 0.483 ^{dfhj}	2.80 ± 0.789 ^{dehj}
纤维化模型组	8	194.63 ± 22.857 ^{bghj}	293.99 ± 23.779 ^{bghj}	21.13 ± 5.463 ^{bghi}	4.00 ± 0.756 ^{bfgi}	5.88 ± 0.991 ^{bfgi}
TFL高剂量组	9	109.78 ± 18.688 ^{bghj}	156.50 ± 26.292 ^{bghj}	6.78 ± 3.930 ^{bghj}	5.44 ± 0.726 ^{bdgi}	3.67 ± 0.707 ^{adhi}
TFL低剂量组	9	141.92 ± 21.045 ^{bdf}	219.11 ± 30.902 ^{bdf}	14.56 ± 4.667 ^{bdf}	4.67 ± 0.707 ^{bce}	4.89 ± 0.782 ^{bcd}
秋水仙碱组	9	147.11 ± 27.287 ^{bdf}	213.83 ± 31.530 ^{bdf}	15.67 ± 5.745 ^{bcd}	4.78 ± 0.667 ^{bce}	4.78 ± 0.667 ^{bdf}

^a*P* < 0.05, ^b*P* < 0.01 vs 空白对照组; ^c*P* < 0.05, ^d*P* < 0.01 vs 模型组; ^e*P* < 0.05, ^f*P* < 0.01 vs TFL高剂量组; ^g*P* < 0.05, ^h*P* < 0.01 vs TFL低剂量组; ⁱ*P* < 0.05, ^j*P* < 0.01 vs 秋水仙碱组。

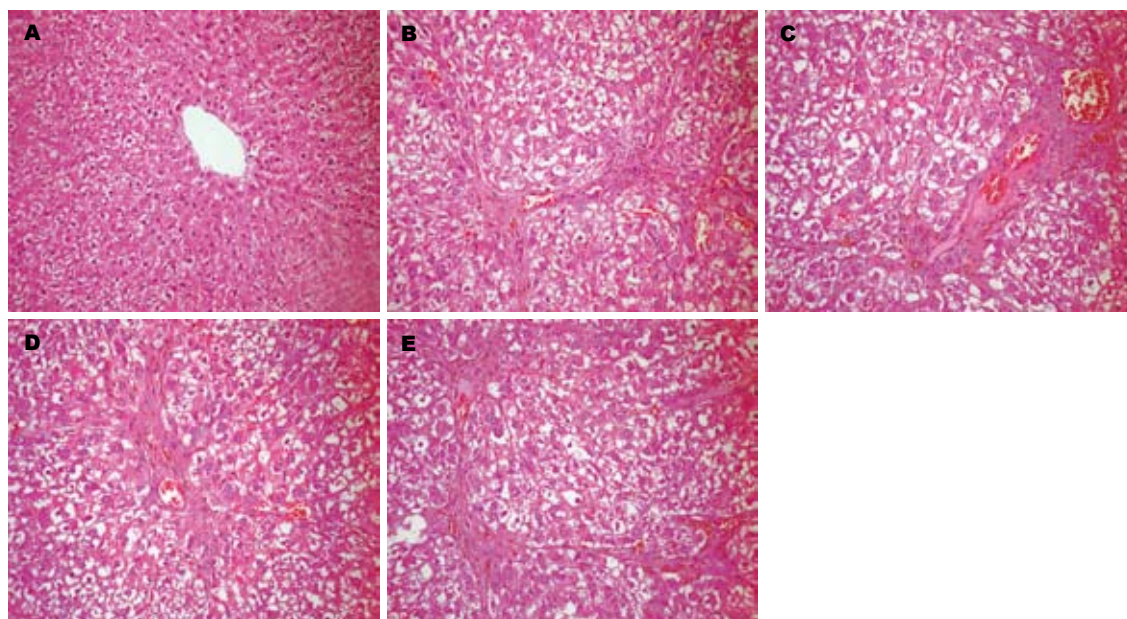


图 1 各组大鼠HE染色图片(×200). A: 正常组; B: 模型组; C: 高剂量组; D: 低剂量组; E: 秋水仙碱组。

为0分,着色淡(浅黄)者为1分,中等着色(棕黄)为2分,着色深(棕褐)者为3分;着色范围<5%为0分,6%-25%为1分,26%-50%为2分,51%-75%为3分,>76%为4分;将每张切片的着色程度与着色范围的得分各自相加为其最后计分。

统计学处理 所有数据均以mean ± SD表示,SPSS17.0软件进行统计分析,先对数据做正态性检验及方差齐性检验,符合上述条件的,行单因素方差分析。组间比较应用LSD检验。相关性分析采用Pearson检验。以*P* < 0.05为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠一般情况 实验期间共死亡5只大鼠,HE染色显示急性肝衰竭,死亡大鼠均不计入统计学处理。

2.2 各组大鼠血清AST、ALT的水平 空白对照组、TFL高低剂量给药组及秋水仙碱组血清ALT、AST均明显低于模型组,具有显著性差异(*P* = 0.000)。低剂量组与秋水仙碱组无显著性差

异(*P* = 0.597, 0.669, 表1)。

2.3 HE及Masson染色 HE染色:与空白对照组相比,模型组大鼠肝小叶结构破坏,肝细胞索排列紊乱,肝组织内出现广泛的空泡变性,大范围坏死、炎细胞浸润,部分可见假小叶形成;TFL高剂量给药组小叶结构部分紊乱,肝组织变性、细胞坏死,炎细胞浸润较轻。Masson染色:空白对照组仅见汇管区和中央静脉周围有少量细小的胶原纤维,未见纤维增生;模型组可见小叶间及汇管区有明显的胶原纤维增生,形成粗大的纤维间隔并向肝小叶内伸展;TFL高剂量给药组胶原纤维增生较轻,形成的纤维间隔较纤细;TFL低剂量给药组及秋水仙碱组肝组织的改变介于模型组和TFL高剂量给药组之间。肝纤维化半定量计分:模型组21.130分 ± 5.463分, TFL高剂量给药组6.780分 ± 3.930分, TFL低剂量给药组14.560分 ± 4.667分,秋水仙碱对照组15.670分 ± 5.745分,空白对照组0.800分 ± 0.422分(表1,图1,图2)。

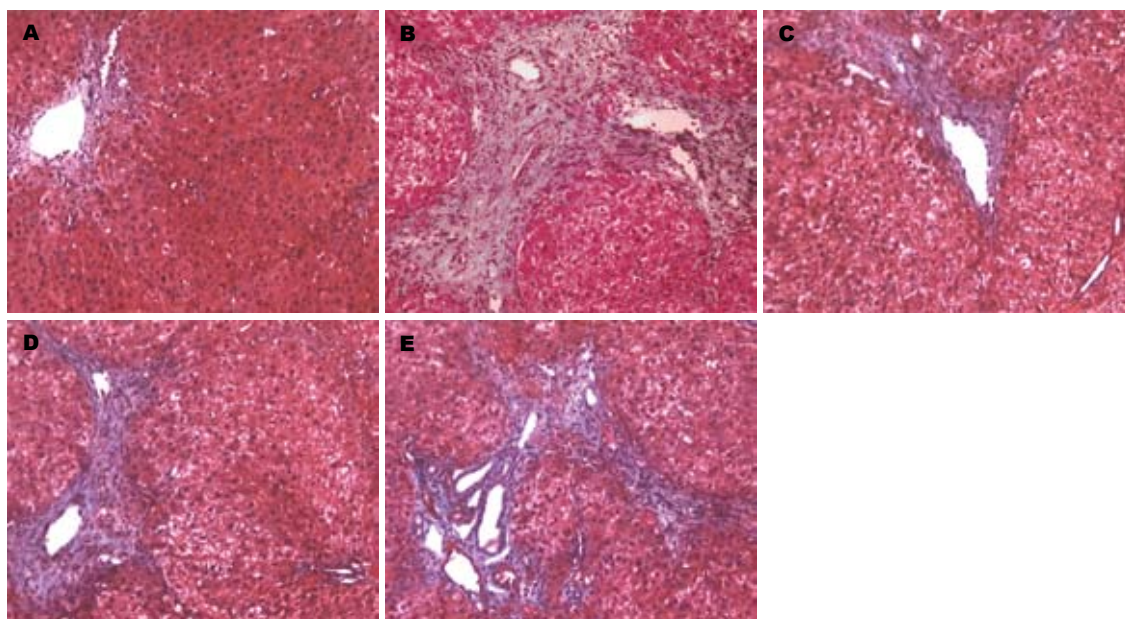


图 2 各组大鼠Masson染色图片($\times 200$). A: 正常组; B: 模型组; C: 高剂量组; D: 低剂量组; E: 秋水仙碱组.

■应用要点

本实验旨在探讨TFL抗纤维化的作用机制, 初步证明TFL可改善肝功能, 并为开发抗肝纤维化中药提供了较好的理论依据. 但是TFL抗肝纤维化的其他作用机制, 与其他抗肝纤维化药物的疗效比较还需进一步研究.

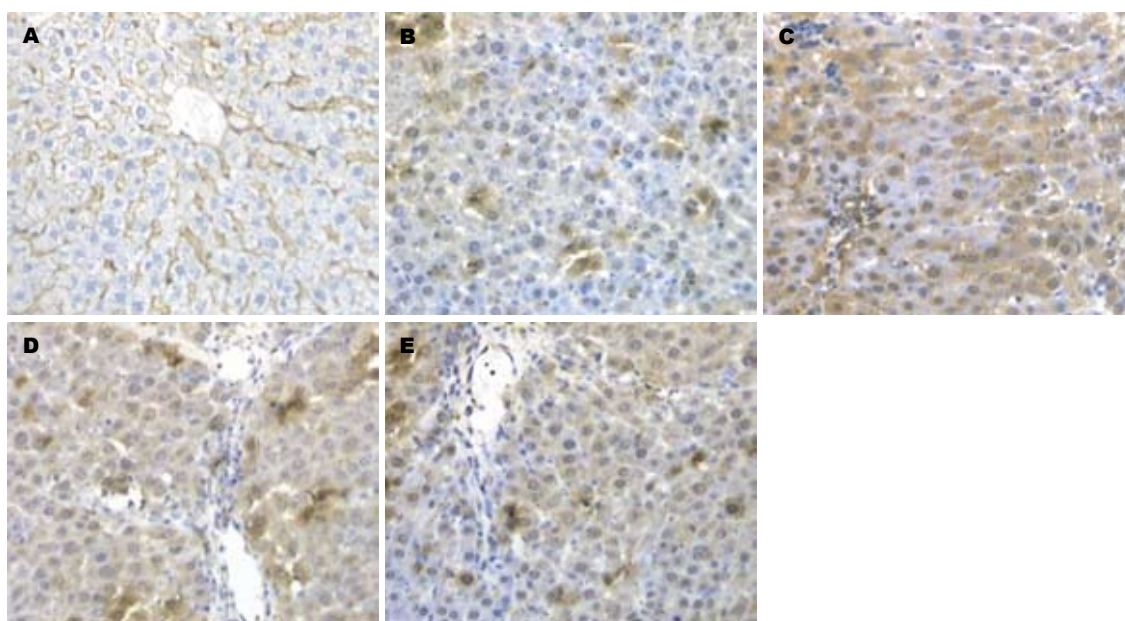


图 3 免疫组织化学检测Bcl-2的表达($\times 200$). A: 正常组; B: 模型组; C: 高剂量组; D: 低剂量组; E: 秋水仙碱组.

2.4 大鼠肝组织中Bcl-2、Bax的表达 光镜下高倍视野(二步法, $\times 400$)观察, Bcl-2在正常肝组织肝窦、肝细胞浆、中央静脉有少量表达; 肝纤维化组织中广泛分布, 主要表达在汇管区、纤维间隔、肝细胞浆、肝窦、中央静脉. Bax在正常肝组织中央静脉及周围的肝窦有少量表达; 肝纤维化组织中主要表达在肝细胞浆, 多为变性的肝细胞浆, 严重时呈弥漫性表达. 模型组大鼠肝组织中Bcl-2、Bax的表达较正常组显著升高($P = 0.000$), TFL高、低剂量给药组及秋水仙碱组Bcl-2的表达较模型组升高($P = 0.000, 0.047,$

0.021), Bax的表达较模型组降低($P = 0.000, 0.014, 0.007$), TFL药物干预组中高剂量组与低剂量组比较Bcl-2的表达升高($P = 0.018$), Bax的表达显著降低($P = 0.002$). Bcl-2、Bax在秋水仙碱组与TFL低剂量组中的表达无显著性差异($P = 0.726, 0.767$, 表1, 图3, 图4).

2.5 肝纤维化程度与Bcl-2、Bax的相关性 肝纤维化严重程度与Bax的表达显著正相关($r = 0.874, P = 0.000$); 除正常组外的肝纤维化程度与Bcl-2的表达显著负相关($r = -0.763, P = 0.000$, 图5).

■同行评价

本研究为开发新的抗肝纤维化中药提供了较好的理论依据, 有较高的学术水平和实际应用的价值。

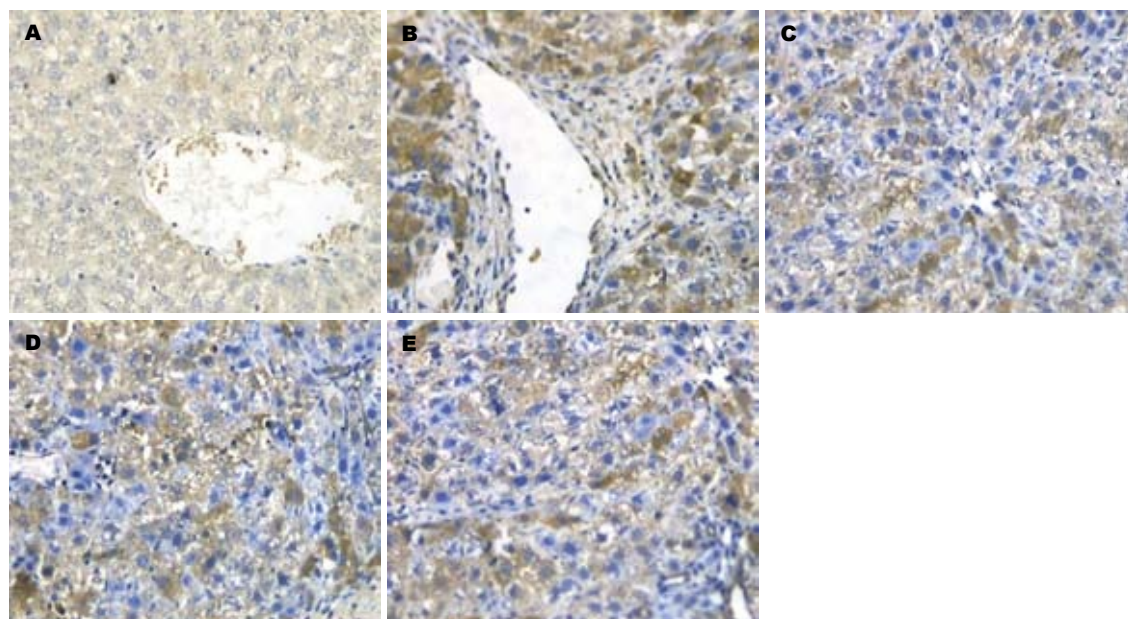


图 4 免疫组织化学检测Bax的表达(×200). A: 正常组; B: 模型组; C: 高剂量组; D: 低剂量组; E: 秋水仙碱组.

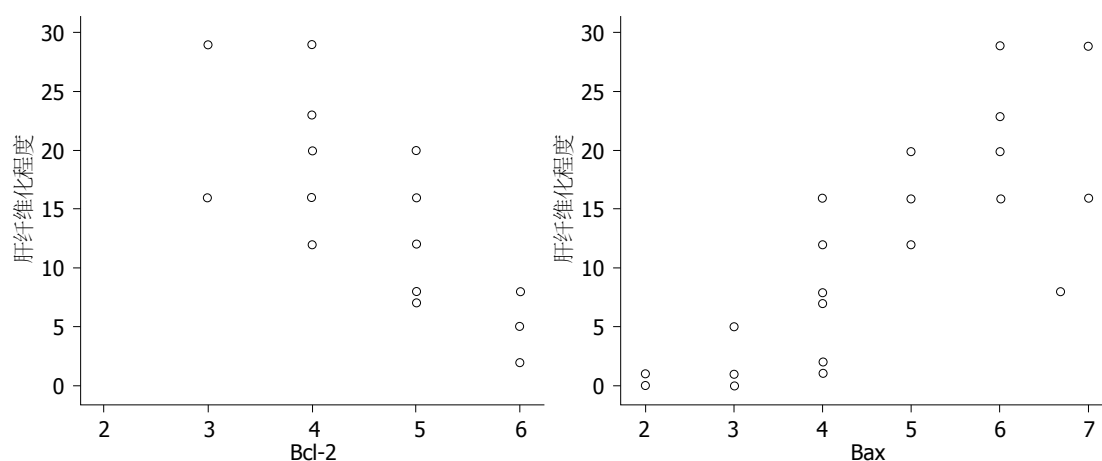


图 5 肝纤维化程度与Bcl-2、Bax表达的相关分析散点图.

3 讨论

研究表明荔枝核及其活性成分具有降糖、调脂^[8]、护肝^[9]、抗病毒^[10]等多种药理作用. 荔枝核颗粒对于S180、EAC肉瘤的抑瘤作用是通过促进Bax的表达, 减少Bcl-2的表达, 诱导肿瘤细胞的凋亡, 进而表现抗肿瘤作用^[11,12]. 由此本实验通过Bcl-2、Bax的表达变化来观察荔枝核总黄酮抗肝纤维的作用机制.

肝纤维化是肝硬化的前期病变阶段, 研究发现其可能是由于长期的肝损伤启动肝内细胞死亡而引起的. 肝纤维化的起始阶段与肝组织受到外界损伤刺激后发生脂质过氧化产生凋亡有关^[13]. 肝细胞凋亡后形成的凋亡小体和其他细胞碎片被星状细胞吞噬, 引起星状细胞的活化、增殖, 转化成肌成纤维样细胞后最终导致

细胞外基质的沉积形成纤维化^[14]. 目前肝细胞的凋亡主要有内源性途径和外源性途径, 这2种途径都伴随着线粒体结构和功能的改变^[15]. 在细胞凋亡的进程中线粒体外膜的通透性起了非常重要的作用, 而调节线粒体外膜通透性的就是Bcl-2家族^[16]. Bcl-2家族可以分为2类: 一类是促细胞凋亡蛋白, 代表蛋白是Bax蛋白; 另一类是抗细胞凋亡蛋白, 代表蛋白是Bcl-2蛋白, 他们通过激活一系列下游基因发挥调节凋亡的作用^[17]. Bax是Bcl-2家族的一种前凋亡蛋白, Bax诱导细胞凋亡与在亚细胞器的定位改变相关; 一般情况下Bax位于细胞浆内, 机体受到损伤、刺激后, 激活的Bax将重新定位于线粒体表面释放细胞色素C, 从而诱导细胞凋亡^[18,19]. 模型组大鼠肝组织中Bax的表达较正常组显著升高, 提示在

肝组织受到外界损伤刺激后, 引起促凋亡蛋白Bax的表达增加来诱导肝细胞的凋亡. TFL干预组、秋水仙碱组较模型组比较肝纤维化程度明显减轻, Bax的表达降低, TFL高剂量组Bax的表达较低剂量组和秋水仙碱组降低, 而低剂量组和秋水仙碱组比较无显著性差异. Bcl-2抑制肝细胞凋亡的机制可能与减轻线粒体功能障碍和脂质过氧化的作用有关^[20,21], 从而起到对抗Fas介导的肝损伤的作用^[22]. Guicciardi等^[23]发现肝细胞是否发生凋亡主要取决于Bcl-x1和Mcl-1这2种蛋白的表达情况; 肝细胞特异减少任意1种蛋白的表达都会导致细胞凋亡, ALT升高, 肝纤维化的加重. 模型组大鼠肝组织中Bcl-2的表达较正常组显著升高, 在肝细胞发生凋亡后, 机体并不是被动地接受凋亡而是通过代偿机制加强抗凋亡蛋白Bcl-2的表达来对抗凋亡^[24]. TFL干预组、秋水仙碱组较模型组比较Bcl-2的表达升高, TFL高剂量组Bcl-2的表达较低剂量组和秋水仙碱组升高, 而低剂量组和秋水仙碱组比较无显著性差异.

Mitselou等^[25]在肝病不同阶段的临床研究中显示, 轻型肝病(脂肪肝)中Bcl-2的表达较多, 而重型肝病(肝硬化、肝癌)中Bax的表达较多. Hanafy等^[26]在对不同组别的丙肝研究中显示, 丙肝的严重程度与Bcl-2表达负相关, Bax表达正相关有关联. 本实验结果显示肝纤维化的严重程度与肝细胞内Bax的表达显著正相关、Bcl-2的表达显著负相关, 这与临床研究中关于Bcl-2、Bax与肝病进程的相关报道符合. 表明随着肝纤维化程度的加重, 促凋亡蛋白Bax的表达显著增强, 抑制凋亡蛋白Bcl-2的表达降低, 增加肝细胞的凋亡, 也进一步验证了肝细胞凋亡与肝纤维化程度之间的关系.

ALT、AST是反应肝细胞坏死及炎症活动的指标^[27], 其中ALT与肝损伤程度密切相关^[28]. 本研究结果显示, TFL给药组血清中ALT、AST的水平明显低于模型组, 提示TFL具有改善肝功能, 防治肝细胞损伤的作用.

总之, TFL具有较好的抗肝纤维化和改善肝功能的作用, 并推测这种作用可能与上调Bcl-2、下调Bax的表达, 抑制肝细胞的凋亡有关. 同时疗效显示, TFL高剂量组的抗肝纤维化的作用优于秋水仙碱组, 但是本次实验中未能与临床一线新药进行疗效比对, 例如复方鳖甲软肝片^[29,30], 因此对TFL抗肝纤维的疗效还有待于进一步的深入研究.

4 参考文献

- 1 Tsukada S, Parsons CJ, Rippe RA. Mechanisms of liver fibrosis. *Clin Chim Acta* 2006; 364: 33-60
- 2 Manning DS, Afdhal NH. Diagnosis and quantitation of fibrosis. *Gastroenterology* 2008; 134: 1670-1681
- 3 Benyon RC, Iredale JP. Is liver fibrosis reversible? *Gut* 2000; 46: 443-446
- 4 覃浩, 孙旭锐, 欧仕玉, 靳雅玲, 罗伟生. 荔枝核总黄酮预防大鼠肝纤维化的初步研究. 第三军医大学学报 2011; 33: 2353-2356
- 5 赵永忠, 漆志平, 徐庆, 肖绪华, 郭芳, 侯巧燕, 韦京辰. 荔枝核总黄酮抗胆管结扎大鼠肝纤维化的作用及机制. 世界华人消化杂志 2010; 18: 2084-2089
- 6 曾民德, 王泰龄, 王宝恩. 肝纤维化诊断和疗效评估共识. 诊断学理论与实践 2002; 1: 191-192
- 7 孟爱红, 陈芝芸, 严茂祥. 银杏叶提取物对肝纤维化大鼠肝细胞凋亡的影响. 中华中医药学刊 2009; 27: 2095-2097
- 8 张永明, 袁红, 田菊霞, 沈礼, 余海泳, 尹洪萍, 范超明. 荔枝核皂甙提取物对小鼠糖异生作用和血脂代谢的影响. 杭州师范学院学报(自然科学版) 2005; 4: 435-436
- 9 肖柳英, 潘竞锵, 饶卫农, 韩超, 谭海荣, 萧丽珊, 梁立帆, 江燕梅. 荔枝核颗粒对小鼠肝损伤保护作用的实验研究. 中华中医药杂志 2005; 20: 42-43, 7
- 10 王辉, 陶小红, 王洋, 黄雪松, 郭国庆, 沈伟哉. 荔枝核提取物体外抗病毒活性及其机制研究. 中国药科大学学报 2008; 39: 437-441
- 11 吕俊华, 沈文娟, 韦笑梅, 肖柳英. 荔枝核提取物对荷瘤小鼠肿瘤细胞Bax和Bcl-2蛋白表达的影响. 中成药 2008; 30: 1381-1383
- 12 林妮, 肖柳英, 潘竞锵, 吕俊华. 荔枝核对小鼠S180、EAC肿瘤细胞Bax和Bcl-2蛋白表达的影响研究. 中国药房 2008; 19: 1138-1141
- 13 邵祥强, 肖华胜. 肝纤维化发病机制与临床诊断的研究进展. 世界华人消化杂志 2011; 19: 268-274
- 14 Mehal W, Imaeda A. Cell death and fibrogenesis. *Semin Liver Dis* 2010; 30: 226-231
- 15 张雪娇, 郑仕中, 陆茵, 倪春艳, 马进, 王爱云. 线粒体在肝细胞凋亡中的作用及中药对其保护作用. 中草药 2011; 42: 1141-1145
- 16 Vick B, Weber A, Urbanik T, Maass T, Teufel A, Krammer PH, Opferman JT, Schuchmann M, Galle PR, Schulze-Bergkamen H. Knockout of myeloid cell leukemia-1 induces liver damage and increases apoptosis susceptibility of murine hepatocytes. *Hepatology* 2009; 49: 627-636
- 17 郭晨, 李丹, 林纳, 黄月红, 陈治新, 王小众. 表达HBVX基因的小鼠模型的建立及对肝细胞凋亡因子的影响. 世界华人消化杂志 2011; 19: 1225-1230
- 18 Kotsafti A, Farinati F, Cardin R, Burra P, Bortolami M. Bax inhibitor-1 down-regulation in the progression of chronic liver diseases. *BMC Gastroenterol* 2010; 10: 35
- 19 赵和平, 解燕茹. Bcl-2、Bax蛋白表达在非酒精性脂肪性肝病中的作用. 世界华人消化杂志 2009; 17: 2409-2412
- 20 Mitchell C, Robin MA, Mayeuf A, Mahrouf-Yorgov M, Mansouri A, Hamard M, Couton D, Fromenty B, Gilgenkrantz H. Protection against hepatocyte mitochondrial dysfunction delays fibrosis progression in mice. *Am J Pathol* 2009; 175: 1929-1937
- 21 Mitchell C, Mahrouf-Yorgov M, Mayeuf A, Robin MA, Mansouri A, Fromenty B, Gilgenkrantz H. Overexpression of Bcl-2 in hepatocytes protects against injury but does not attenuate fibrosis in a mouse model of chronic cholestatic liver disease.

- Lab Invest* 2011; 91: 273-282
- 22 Kahraman A, Mott JL, Bronk SF, Werneburg NW, Barreyro FJ, Guicciardi ME, Akazawa Y, Braley K, Craig RW, Gores GJ. Overexpression of mcl-1 attenuates liver injury and fibrosis in the bile duct-ligated mouse. *Dig Dis Sci* 2009; 54: 1908-1917
- 23 Guicciardi ME, Gores GJ. Apoptosis as a mechanism for liver disease progression. *Semin Liver Dis* 2010; 30: 402-410
- 24 魏屏, 罗端德, 熊莉娟, 曾令兰. 吡喹酮对血吸虫病肝纤维化小鼠肝组织Bcl-2和Bax表达的影响. *中国寄生虫病防治杂志* 2005; 18: 419-421
- 25 Mitselou A, Karapiperides D, Nesseris I, Vougiouklakis T, Agnantis NJ. Altered expression of cell cycle and apoptotic proteins in human liver pathologies. *Anticancer Res* 2010; 30: 4493-4501
- 26 Hanafy SM, Shehata OH, Farahat NM. Expression of apoptotic markers BCL-2 and Bax in chronic hepatitis C virus patients. *Clin Biochem* 2010; 43: 1112-1117
- 27 王付, 尚立芝, 苗小玲, 甘陈菲, 张慧娜. 四逆散加味对肝纤维化大鼠肝功能、肝纤维化指标及病理变化的影响. *中国实验方剂学杂志* 2012; 18: 177-180
- 28 黄婉姣, 李涛, 周罗晶, 吴子安, 徐宁, 黄宪章, 庄俊华. 丙型肝炎患者血清肝功能与肝纤维化的相关性. *广东医学* 2010; 31: 3218-3219
- 29 艾志波, 张荣华, 闫国和. 鳖甲煎改良方对大鼠肝纤维化的防治作用. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 13-18
- 30 于珊, 徐雪钰, 李建宇, 李昆峰, 梁光义, 刘昌孝, 黄正明. 苯丙氨酸二肽类化合物Y101对CCl₄诱导大鼠慢性肝损伤的保护作用. *中国新药杂志* 2011; 20: 1750-1754

编辑 张姗姗 电编 闫晋利

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2012年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界华人消化杂志》正文要求

本刊讯 本刊正文标题层次为 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参考文献. 序号一律左顶格写, 后空 1 格写标题; 2 级标题后空 1 格接正文. 以下逐条陈述: (1) 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系. (2) 材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验. 对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可. (3) 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论. (4) 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾. 图表的数量要精选. 表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容. 表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出. 图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出. 同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述. 如: 图 1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化. A: ...; B: ...; C: ...; D: ...; E: ...; F: ...; G: ... 曲线图可按 ●、○、■、□、▲、△ 顺序使用标准的符号. 统计学显著性用: ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ ($P > 0.05$ 不注). 如同一表中另有一套 P 值, 则 ^c $P < 0.05$, ^d $P < 0.01$; 第 3 套为 ^e $P < 0.05$, ^f $P < 0.01$. P 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P < 0.01$, $t = 4.56$ vs 对照组等, 注在表的左下方. 表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、- 应上下对齐. “空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等. 表图勿与正文内容重复. 表图的标目尽量用 t/min , $c/(\text{mol/L})$, p/kPa , V/mL , $t/^\circ\text{C}$ 表达. 黑白图请附黑白照片, 并拷入光盘内; 彩色图请提供冲洗的彩色照片, 请不要提供计算机打印的照片. 彩色图片大小 $7.5\text{ cm} \times 4.5\text{ cm}$, 必须使用双面胶条粘贴在正文内, 不能使用浆糊粘贴. (5) 志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐.