

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

世界华人消化杂志®

WORLD CHINESE JOURNAL OF DIGESTOLOGY

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2016 年 2 月 18 日 第 24 卷 第 5 期 (Volume 24 Number 5)



5/2016

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. 本刊被中国知网《中国期刊全文数据库》, 美国《化学文摘 (Chemical Abstracts, CA)》, 荷兰《医学文摘库/医学文摘 (EMBASE/Excerpta Medica, EM)》和俄罗斯《文摘杂志 (Abstract Journal, AJ)》数据库收录.

目次

2016年2月18日 第24卷 第5期 (总第517期)

述评

- 657 胰十二指肠切除术中血管损伤的原因及防治措施

管小青, 郑向欣, 吴骥, 顾书成, 吴际生

- 664 肠道乳糖酶在小儿腹泻诊疗中的意义

邓艳玲, 舒兰, 刘又嘉, 谭周进

基础研究

- 670 人参皂苷Rg3联合索拉非尼对裸鼠肝癌移植瘤生长和血管生成的调控作用

郑侠, 高舒, 华海清, 杨爱珍, 秦叔逵

- 678 肠道碱性磷酸酶对结肠炎小鼠Muc2、Stat4及P-Stat4表达的影响

马娜, 赵美华, 李林静, 李展, 周力为, 冯百岁

临床研究

- 686 上皮细胞间质化预测胰腺癌预后的价值

马睿锐, 贡海兵, 龚健, 徐彬

文献综述

- 692 非酒精性脂肪肝机制及其与慢性应激相关性的研究进展

穆杰, 王庆国, 王雪茜, 程发峰, 李长香, 连雅君

- 699 原发性胆汁性肝硬化与天然免疫的研究进展

韦进香, 唐映梅

- 706 食物主要成分与动物肠道微生物组成及其代谢的关系

刘艺端, 余凯凡, 朱伟云

- 714 精准放射治疗技术在直肠癌的临床应用

赵文斌, 丘敏敏, 文碧秀

- 722 消化道癌脂类、氨基酸类及糖类代谢的分析及机制

杨方秀, 汪玉馨, 陆益红, 杨冬芝, 汤道权, 樊夏雷

研究快报

- 731 胶原纤维在小鼠酒精性肝损伤过程中的表达变化

姜雅坤, 李三强, 卢华杰, 尚付梅, 李倩倩, 侯松林, 白晓洁, 潘勇阳

- 737 肝癌细胞外泌体的分离与鉴定

陈加贵, 邓敬桓, 何敏

临床经验

- 744 腹腔镜治疗食管裂孔疝术后吞咽困难的比较

赵凯, 李朝霞, 陈震, 孙向宇

- 749 食管胃前壁吻合联合幽门成形在早期贲门癌术中的临床体会

聂蓬, 马海涛, 王吉红, 苏发德

- 754 幽门螺杆菌感染对血清及胃组织核组蛋白2/nesfatin-1表达的影响

张帅庆, 田宇彬, 孙桂荣, 丁雪丽, 宋文, 刘思良

- 759 阿帕替尼治疗晚期胃癌的临床疗效及预后

王博, 宋丽杰, 牛鹏云, 李晚露, 刘清存, 樊青霞

- 765 上消化道黏膜下肿瘤的诊治和随访

常琳琳, 张开光, 张明黎, 宋继中, 王业涛, 王巧民, 解丽, 吴正祥

- 775 非酒精性脂肪肝患者Hcy水平与C-IMT预测心血管病风险的相关性

王仁萍, 郭佳佳, 王伟, 刘洁, 张媛媛

- 782 肝脏Wilson病的临床病理特征

延永琴, 郑智勇, 曾德华, 刘庆宏, 朱育连, 郑巧灵, 曲利娟

- 790 失代偿期肝硬化患者SAAG、PA、PTA水平与肝功能分期及预后的关系

黄雪, 刘传苗, 赵守松, 赵久法, 高春明, 徐葵花

- 796 内镜治疗与药物治疗黏附血凝块的消化性溃疡出血的疗效对比

吴汉周, 袁海峰, 黄适, 雷力民, 赖远全

- 801 早期结直肠癌局部切除与根治性术后生存比较

曹益晟, 葛海燕

- 808 依据药物敏感试验根除幽门螺杆菌的临床疗效随访

韩丰, 冀子中, 金夏, 万里, 蔡陈效, 陈一鹏, 陈红亚, 陈敏芳, 杨宁敏

- 815 针灸治疗1330例单纯性肥胖病并发高脂血症的疗效

王鸣, 刘志成, 徐斌

病例报告

- 821 以间断发热伴发育迟缓为首表现的儿童克罗恩病1例报告及文献复习

张阳, 李伟华, 吕宜光

附录

I-V 《世界华人消化杂志》投稿须知

I 2016年国内国际会议预告

志谢

I-II 志谢《世界华人消化杂志》编委

消 息

- 705 《世界华人消化杂志》外文字符标准
721 《世界华人消化杂志》参考文献要求
743 《世界华人消化杂志》修回稿须知
753 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费
764 《世界华人消化杂志》消化护理学领域征稿启事
781 《世界华人消化杂志》栏目设置
789 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标
795 《世界华人消化杂志》正文要求

封面故事

《世界华人消化杂志》编委, 管小青, 教授, 主任医师, 硕士生导师, 223800, 江苏省宿迁市宿城区黄河南路138号, 南京鼓楼医院集团宿迁市人民医院(徐州医科大学附属宿迁医院)普通外科. 江苏省重点学科带头人, 主攻胃肠外科疾病的诊治, 且颇有建树. 2006年以来, 获得江苏省科技厅自然科学基金课题、江苏省卫生厅资助课题、宿迁市科技局社会发展支撑课题共6项; 共在中华级、国家级及省级专业杂志上发表论文100余篇; 获得江苏省新技术引进奖一等奖1项、二等奖1项, 江苏省宿迁市人民政府科技进步奖一、二、三等奖12项, 江苏省有突出贡献中青年专家.

本期责任人

编务 李香; 送审编辑 都珍珍, 闫晋利; 组版编辑 都珍珍; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 于明茜; 形式规范审核编辑部主任 郭鹏; 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

(旬刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2016-02-18

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

程英升, 教授, 200233, 上海市, 上海交通大学附属第六人民医院放射科

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

刘连新, 教授, 150001, 黑龙江省哈尔滨市, 哈尔滨医科大学第一临床医学院普外科

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

编辑部

郭鹏, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

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: 010-59080035

手机: 13901166126

传真: 010-85381893

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

8226 Regency Drive, Pleasanton,

CA 94588, USA

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

http://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: 010-85381892

传真: 010-85381893

《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. 本刊被中国知网《中国期刊全文数据库》, 美国《化学文摘(Chemical Abstracts, CA)》, 荷兰《医学文摘/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica, EM)》和俄罗斯《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》数据库收录.

《世界华人消化杂志》正式开通了在线办公系统(<http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>), 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90.67元 全年36期3264.00元

© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有

Contents

Volume 24 Number 5 February 18, 2016

EDITORIAL

- 657 Reasons and preventive measures for vascular damage in pancreaticoduodenectomy

Guan XQ, Zheng XX, Wu J, Gu SC, Wu JS

- 664 Signification of intestinal lactase in diagnosis and treatment of infantile diarrhea

Deng YL, Shu L, Liu YJ, Tan ZJ

BASIC RESEARCH

- 670 Effect of ginsenoside Rg3 combined with sorafenib in inhibiting tumor growth and neovascularization in nude mice with *in situ* transplanted human hepatocellular carcinoma

Zheng X, Gao S, Hua HQ, Yang AZ, Qin SK

- 678 Effect of intestinal alkaline phosphatase on expression of Muc2, Stat4 and P-Stat4 in colitis in mice

Ma N, Zhao MH, Li LJ, Li Z, Zhou LW, Feng BS

CLINICAL RESEARCH

- 686 Relationship between epithelial to mesenchymal transition and prognosis in pancreatic cancer

Ma RR, Gong HB, Gong J, Xu B

REVIEW

- 692 Mechanisms of non-alcoholic fatty liver disease and its correlation with chronic stress

Mu J, Wang QG, Wang XQ, Cheng FF, Li CX, Lian YJ

- 699 Primary biliary cirrhosis and natural immunity

Wei JX, Tang YM

- 706 Impact of macronutrients on gut microbiota

Liu YD, Yu KF, Zhu WY

- 714 Clinical application of precise radiotherapy in rectal cancer

Zhao WB, Qiu MM, Wen BX

- 722 Metabolic analysis and mechanism of lipids, amino acids and carbohydrates in gastrointestinal cancer

Yang FX, Wang YX, Lu YH, Yang DZ, Tang DQ, Fan XL

RAPID COMMUNICATION

- 731 Changes of collagen fibers in development of alcoholic liver injury

Jiang YK, Li SQ, Lu HJ, Shang FM, Li QQ, Hou SL, Bai XJ, Pan YY

- 737 Isolation and identification of exosomes of hepatocellular carcinoma cells

Chen JG, Deng JH, He M

CLINICAL PRACTICE

- 744 Comparison of dysphagia incidence after laparoscopic Nissen and Toupet fundoplication for hiatal hernia repair

Zhao K, Li ZX, Chen Z, Sun XY

- 749 Esophagogastric anterior wall anastomosis combined with pyloroplasty after surgery for early cardia cancer

Nie P, Ma HT, Wang JH, Su FD

- 754 Impact of *Helicobacter pylori* infection on serum and gastric tissue nucleobindin 2/nesfatin-1 levels

Zhang SQ, Tian ZB, Sun GR, Ding XL, Song W, Liu SL

- 759 Clinical efficacy of Apatinib in treatment of advanced gastric cancer

Wang B, Song LJ, Niu PY, Li WL, Liu QC, Fan QX

- 765 Therapy and follow-up of upper gastrointestinal subepithelial lesions

Chang LL, Zhang KG, Zhang ML, Song JZ, Wang YT, Wang QM, Xie L, Wu ZX

- 775 Correlation between homocysteine level and carotid artery intima-media thickness in patients with nonalcoholic steatohepatitis

Wang RP, Guo JJ, Wang W, Liu J, Zhang YY

- 782 Clinicopathologic features of Wilson disease of the liver

Yan YQ, Zheng ZY, Zeng DH, Liu QH, Zhu YL, Zheng QL, Qu LJ

- 790 Relationship between levels of serum-ascites albumin gradient, serum prealbumin and prothrombin activity and grade of liver function and prognosis in patients with decompensated liver cirrhosis

Huang X, Liu CM, Zhao SS, Zhao JF, Gao CM, Xu KH

- 796 Efficacy of endoscopic therapy vs drug therapy in peptic ulcer bleeding with an adherent blood clot

Wu HZ, Yuan HF, Huang S, Lei LM, Lai YQ

- 801 Survival after local excision or radical resection for early-stage colorectal cancer

Cao YS, Ge HY

- 808 Antimicrobial susceptibility testing for *Helicobacter pylori* treatment: A follow-up study on clinical effects

Han F, Ji ZZ, Jin X, Wan L, Cai CX, Chen YP, Chen HY, Chen MF, Yang NM

- 815 Efficacy of acupuncture for simple obesity complicated with hyperlipidaemia: Analysis of 1330 cases

Wang M, Liu ZC, Xu B

CASE REPORT

- 821 Intermittent fever and developmental retardation as initial manifestations in a pediatric Crohn's disease patient: A case report and literature review

Zhang Y, Li WH, Lv YG

Contents

World Chinese Journal of Digestology
Volume 24 Number 5 February 18, 2016

APPENDIX

I – V Instructions to authors
I Calendar of meetings and events in 2016

ACKNOWLEDGMENT

I – II Acknowledgments to reviewers for the *World Chinese Journal of Digestology*

COVER

Editorial Board Member of *World Chinese Journal of Digestology*, Xiao-Qing Guan, Chief Physician, Department of General Surgery, Suqian People's Hospital of Nanjing Drum-tower Hospital Group (Suqian Hospital Affiliated to Xuzhou Medical University), 138 Huanghe South Road, Suqian 223800, Jiangsu Province, China

Indexed/Abstracted by

Chinese Journal Full-text Database, Chemical Abstracts, EMBASE/Excerpta Medica, and Abstract Journals.

RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE

Assistant Editor: *Xiang Li* Review Editor: *Zhen-Zhen Du, Jin-Li Yan* Electronic Editor: *Zhen-Zhen Du*
English Language Editor: *Tian-Qi Wang* Editor-in-Charge: *Ming-Xi Yu* Proof Editor: *Peng Guo* Layout Reviewer: *Lian-Sheng Ma*

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993

Renamed on January 25, 1998

Publication date February 18, 2016

NAME OF JOURNAL

World Chinese Journal of Digestology

ISSN

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

EDITOR-IN-CHIEF

Ying-Sheng Cheng, Professor, Department of Radiology, Sixth People's Hospital of Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200233, China

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

Lian-Xin Liu, Professor, Department of General Surgery, the First Clinical Medical College of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang 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 OFFICE

Peng Guo, Director

World Chinese Journal of Digestology

Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China

Telephone: +86-10-59080035 13901166126

Fax: +86-10-85381893

E-mail: wjcd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Inc
8226 Regency Drive, Pleasanton, CA 94588, USA

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

<http://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

Fax: +86-10-85381893

PRINT SUBSCRIPTION

RMB 90.67 Yuan for each issue

RMB 3264 Yuan for one year

COPYRIGHT

© 2016 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 www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.asp. If you do not have web access, please contact the editorial office.

胶原纤维在小鼠酒精性肝损伤过程中的表达变化

姜雅坤, 李三强, 卢华杰, 尚付梅, 李倩倩, 侯松林, 白晓洁, 潘勇阳

姜雅坤, 李三强, 卢华杰, 尚付梅, 李倩倩, 侯松林, 白晓洁, 潘勇阳, 河南科技大学医学院肝脏损伤与修复分子医学重点实验室 河南省洛阳市 471003

姜雅坤, 主要从事肝脏损伤与修复分子研究。

河南省高校科技创新人才支持计划基金资助项目, No. 13HASTIT025
河南科技大学创新团队基金资助项目, No. 2015XTD003
河南科技大学大学生研究训练计划(SRTP)基金资助项目, No. 2015113

作者贡献分布: 实验研究和论文初稿姜雅坤完成; 实验设计、指导和论文定稿李三强完成; 研究过程由姜雅坤、卢华杰、尚付梅、李倩倩、白晓洁、潘勇阳及侯松林操作完成。

通讯作者: 李三强, 教授, 硕士生导师, 471003, 河南省洛阳市涧西区安徽路31号, 河南科技大学医学院肝脏损伤与修复分子医学重点实验室. sanqiangli2001@163.com
电话: 0379-64820863

收稿日期: 2015-12-15
修回日期: 2016-01-05
接受日期: 2016-01-11
在线出版日期: 2016-02-18

Changes of collagen fibers in development of alcoholic liver injury

Ya-Kun Jiang, San-Qiang Li, Hua-Jie Lu, Fu-Mei Shang, Qian-Qian Li, Song-Lin Hou, Xiao-Jie Bai, Yong-Yang Pan

Ya-Kun Jiang, San-Qiang Li, Hua-Jie Lu, Fu-Mei Shang, Qian-Qian Li, Song-Lin Hou, Xiao-Jie Bai, Yong-Yang Pan, Key Laboratory of Molecular Medicine of Liver Injury and Repair, Medical College, He'nan University of Science and Technology, Luoyang 471003, He'nan Province, China

Supported by: The Innovative Science and Technology Talents Support Projects of Colleges and Universities of He'nan Province, No. 13HASTIT025; Innovative Team Project of He'nan University of Science and Technology, No. 2015XTD003; Student Research Training Program

(SRTP) of He'nan University of Science and Technology, No. 2015113

Correspondence to: San-Qiang Li, Professor, Key Laboratory of Molecular Medicine of Liver Injury and Repair, Medical College, He'nan University of Science and Technology, 31 Anhui Road, Jianxi District, Luoyang 471003, He'nan Province, China. sanqiangli2001@163.com

Received: 2015-12-15
Revised: 2016-01-05
Accepted: 2016-01-11
Published online: 2016-02-18

Abstract

AIM: To observe the change of collagen fibers in the development of alcohol induced liver injury in mice, and investigate the relationship between the change of collage fibers and the stage of alcoholic liver injury.

METHODS: Forty BALB/c mice were randomly divided into two groups: a normal group ($n = 3$) and a model group ($n = 37$). Mice of the normal group were sacrificed after adapting the environment for one week, and all the mice of the model group were given 0.15 mL/10 kg Red Star Erguotou (56 degrees) daily by gavage for 4 weeks. Each three mice were sacrificed at 1, 2, 3, and 4 weeks after alcohol administration ($n = 37$). Sirius red staining was used to observe collagen fibers in the liver tissue. Western blot was used to detect liver proliferation cell nuclear antigen (PCNA) protein expression. Image-ProPlus6.0 software was used to analyze the integral optical density (IOD) of the samples, and the gray levels of target protein bands were measured with Gel Pro4.0 software. ANOVA and nonparametric rank sum test were used to

背景资料

随着人们生活方式和饮食结构的改变,我国酒精性肝病的发病率逐渐升高。据报道,酗酒者可发展为脂肪肝、肝纤维化,严重的可发展为肝硬化。肝硬化的前期改变是肝组织胶原纤维增多导致肝纤维化,而肝纤维化早期是可逆过程,因此肝组织胶原纤维的变化可作为研究治疗肝脏病变的重点。

同行评议者

姚继红, 教授, 大连医科大学药学院

■ 研发前沿

酒精性肝损伤的发病机制、疾病转归与疾病治疗是当前酒精性肝损伤的研究热点, 但酒精性肝损伤后肝细胞应激反应与修复过程机制尚待研究。

analyze the significance of the data.

RESULTS: The contents of collagen fibers increased significantly at 1 and 2 weeks (852.21 ± 10.65 vs 345.24 ± 65.94 , 1054.15 ± 10.80 vs 852.21 ± 10.65 , $P < 0.01$), peaked at 2 weeks, and then decreased at 3 and 4 weeks (588.75 ± 17.18 vs 1054.15 ± 0.80 , 559.40 ± 14.17 , $P < 0.01$). The content of PCNA protein in the liver tissue of mice decreased significantly in the first two weeks, reached the minimum value at 2 weeks, and then increased at 3 and 4 weeks ($P < 0.05$).

CONCLUSION: In the process of alcohol induced liver injury in mice, the content of collagen fibers in the liver increases first and then decreases, and the expression of PCNA shows significant dynamic changes. The changes may be closely related to the mechanism of liver injury.

© 2016 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Alcoholic liver injury; Collagen fiber; Proliferating cell nuclear antigen; Mice

Jiang YK, Li SQ, Lu HJ, Shang FM, Li QQ, Hou SL, Bai XJ, Pan YY. Changes of collagen fibers in development of alcoholic liver injury. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2016; 24(5): 731-736 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/731.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v24.i5.731>

■ 摘要

目的: 探究胶原纤维在酒精性肝损伤发展过程中各个阶段的变化规律及其与酒精性肝损伤的关系。

方法: 饲养清洁健康BALB/c ♂ 小鼠40只, 随机分为对照组($n = 3$)与模型组($n = 37$)。将对照组3只小鼠处死, 取肝; 模型组小鼠每日给予0.15 mL/10 kg 56°红星二锅头白酒灌胃, 持续4 wk, 于开始灌胃后1、2、3、4 wk各取3只小鼠进行肝脏取材。天狼星红染色法观察小鼠肝组织胶原纤维病理变化情况, 蛋白印迹法检测小鼠肝脏增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA)蛋白表达及变化趋势。运用Image-ProPlus6.0对病理切片样本进行积分光密度(OD)定量分析, Gel Pro4.0软件对目标蛋白条带灰度值进行测定。运用SPSS16.0对数据进行处理, 用ANOVA法和非参数秩和检

验法进行显著性分析。

结果: 第1、2周组小鼠肝组织胶原纤维含量持续显著增高(852.21 ± 10.65 vs 345.24 ± 65.94 , 1054.15 ± 10.80 vs 852.21 ± 10.65 , $P < 0.01$), 第2周达到最高, 随后第3、4周小鼠肝组织胶原纤维含量依次降低(588.75 ± 17.18 vs 1054.15 ± 10.80 , 559.40 ± 14.17 , $P < 0.01$); 小鼠肝组织中PCNA蛋白含量前2 wk明显下降, 第2周时达到最小值, 第3周较第2周增加显著, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。第4周与第3周变化无明显差异。

结论: 在酒精诱导小鼠肝脏损伤的过程中, 肝脏胶原纤维的变化规律是先增加后减少, 变化明显; PCNA的表达出现显著动态变化, 二者均可能与肝脏的损伤修复机制密切相关。

© 2016年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 酒精性肝损伤; 胶原纤维; 增殖细胞核抗原; 小鼠

核心提示: 酒精性肝损伤过程中肝组织胶原纤维的变化与肝细胞的凋亡与增殖有密切关系。实验通过酒精诱导的肝脏损伤模型, 观察得出胶原纤维含量先增加后减少的规律与肝脏的损伤修复密切相关, 对今后研究胶原纤维与酒精性肝损伤之间的关系有一定理论意义。

姜雅坤, 李三强, 卢华杰, 尚付梅, 李倩倩, 侯松林, 白晓洁, 潘勇阳. 胶原纤维在小鼠酒精性肝损伤过程中的表达变化. *世界华人消化杂志* 2016; 24(5): 731-736 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/24/731.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v24.i5.731>

0 引言

中国是肝病大国, 最近10年以来, 过量饮酒已经发展成严重的公共问题。大量乙醇在人体中主要在肝脏进行代谢, 因此, 肝脏也成为酒精性肝病普遍的受累器官。据统计, 中国酒民中酒精性肝损伤(酒精肝、脂肪肝、肝硬化等)的发病率约为20%^[1]。酗酒人数不断攀升, 慢性酒精性肝病(alcoholic liver disease, ALD)发病率逐年升高^[2]。大量研究表明酒精性肝病在发展过程中, 胶原纤维的合成主要与肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)的活化增殖有关。而HSC的活化主要由于乙醇和代谢产物乙醛改变了机体的氧化还原反应状态, 活化库普弗细

■ 相关报道

叶伟东等在肝纤维化大鼠肝脏Bcl-2、Bax、增殖细胞核抗原的表达及重组转化生长因子β1疫苗对其表达的影响一文中提出“肝细胞凋亡是促进肝纤维化的可能机制之一”为本实验结果讨论提供了理论依据, 也为进一步的研究打下基础。

胞, 释放细胞因子造成的^[3]。正常肝组织中胶原纤维的生成和降解是一种动态平衡。胶原纤维增多是由于平衡被打破, 生产量增长剧烈而降解严重不足造成的^[4]。但现阶段研究对胶原纤维的产生及降解具体机制不完善, 为了更好的模拟临床酒精性肝损伤的过程, 本实验通过56°红星二锅头白酒灌胃诱导肝脏损伤, 通过对各阶段肝脏的胶原纤维染色和定量分析, 及损伤过程中增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA)的表达研究, 观察在酒精性肝损伤过程中小鼠肝脏内胶原纤维的变化规律, 探究在酒精性肝损伤的发生与肝脏胶原纤维变化规律之间的相互关系。

1 材料和方法

1.1 材料 清洁健康BALB/c ♂小鼠40只, 体重 $25\text{ g} \pm 5\text{ g}$ (河南科技大学医学院动物实验中心)。56°红星二锅头(北京红星股份有限公司), 抗PCNA单克隆抗体、辣根过氧化物酶标记的羊抗鼠抗体(北京中杉金桥生物技术有限公司), DAB显色剂(上海宝曼生物科技有限公司产品), 天青石蓝B(上海蓝季科技发展有限公司进口分装), 天狼星红(中国Solarbio公司), 其余化学试剂均为市售分析纯。JY300C基础电泳仪电源和双垂直电泳仪(槽)(北京君易东方电泳设备有限公司), UV-5200型紫外可见分光光度计(上海元析仪器有限公司), H1850R离心机(日本Tome公司), Motic 102M光学显微镜、Moticam Pro 285A显微照相机(麦克奥迪中国实业有限公司), 石蜡切片机(德国Leica公司), GNP-9080BS-III隔水式恒温培养箱(上海新苗医疗器械制造有限公司), DW-HW50 -80 °C超低温冰箱(中科美菱低温科技有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 酒精诱导小鼠肝损伤模型的建立: 取40只正常BALB/♂小鼠, 随机分为2组, 正常组($n = 3$)和模型组($n = 37$)。分笼、标准饲料喂养, 定期更换垫料, 自由喂养1 wk。正常组3只小鼠处死取肝脏; 模型组每只小鼠每天用56°红星二锅头灌胃0.15 mL/10 kg, 连续喂养4 wk。

1.2.2 实验取材: 在灌胃后的第1、2、3、4周时间点各随机取3只小鼠采用颈部脱臼法处死, 取肝脏, 分2份, 一份制备10%匀浆液, 另一份用1×PBS冲洗干净, 于40 g/L甲醛固定液中固定, 于-80 °C冰箱中保存。

1.2.3 天狼星红染色检测各组小鼠在诱导过程中肝组织胶原纤维含量的变化: 取各组肝组织制作病理切片, 用天狼星红法染色, 观察胶原纤维变化。肝组织取材, 于甲醛固定液中固定, 冲洗24 h后经脱水、固定进行常规石蜡包埋, 连续切片5 μm, 裱片并烤干。常规脱蜡、水化后用天青石蓝染液染色5-10 min, 蒸馏水冲洗5次, 每次2 min; 再用天狼星红饱和溶液染色10-20 min; 无水乙醇分化后用中性树胶固定封片。在显微镜下观察各时间点切片肝胶原纤维含量的变化, 按统一参数拍照。

1.2.4 蛋白印迹法检测肝组织PCNA蛋白表达: 取适量小鼠肝脏与PBS溶液按1:10匀浆, 在4 °C、 $1 \times 10^4\text{ r/min}$ 条件下匀浆10 min, 取其上清液作为蛋白样品。运用考马斯亮蓝G250蛋白定量后, 以蛋白样品70 μg为上样量, 经SDS-PAGE电泳、以200 mA稳定电流转膜2 h后, 蛋白已转移至硝酸纤维素膜上。用5%脱脂奶粉/0.1% Tween20/PBS(PBST) 37 °C封闭1 h, PBST洗3次, 每次3 min; 用抗小鼠PCNA(1:500) 37 °C孵育1 h, PBST洗3次, 每次3 min; 用辣根过氧化物酶标记的羊抗鼠抗体(1:800)孵育1 h, PBST洗3次, 每次3 min, DAB显色检测阳性表达^[5]。应用Image-ProPlus6.0软件(美国Media Cybernetics公司)对图片进行统一分析。首先, 在软件光密度校准后, 选择测量参数(select measurement)为面积(area)、IOD, 其中面积选择参数为过滤10以下的阳性显色。然后, 选择胶原纤维表达的阳性结果, 运用Histogram based模式中的HIS($H = 130-255$; $I = 255$; $S = 255$)进行阳性显色。选出阳性区域后回到Count/size, 点击Count, 即可得到IOD。为了便于分析多个图片, 可以编写宏文件进行图片批量处理^[6]; 运用GelPro4.0软件计算已扫描的蛋白条带灰度值。目标蛋白的相对表达量等于目标条带灰度值与内参蛋白(β -actin)条带灰度值的比值。

统计学处理 用SPSS16.0统计软件对所获得的病理切片IOD值进行Kruskal-Wallis H 非参数秩和检验, 灰度值显著性分析用ANVOE法, 组间比较用Duncan's test, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 小鼠肝组织形态学变化及病理检测结果 正

■创新盘点

本文着重研究胶原纤维在酒精性肝损伤早期的变化, 实验结果表明胶原纤维的变化与肝细胞的凋亡与增殖, 肝组织的损伤与修复关系密切, 但具体机制尚不明, 需要进一步研究。

应用要点

肝纤维化是发展成肝硬化、肝癌的重要阶段, 而肝纤维化是由于肝组织胶原纤维增多沉积造成的。大量研究表明肝纤维化早期是可逆的, 所以肝损伤早期胶原纤维的变化规律对于临床治疗肝纤维化有重要参考价值。

表 1 各组不同时间段酒精性肝损伤积分光密度测量值比较 ($n=3$)

分组	每个样本的IOD值 ¹			IOD值
	1	2	3	
正常组	369.99	395.23	270.51	345.24 ± 65.94
模型组				
第1周	841.01	853.41	862.21	852.21 ± 10.65 ^{bd}
第2周	1049.08	1066.56	1046.82	1054.15 ± 10.80 ^b
第3周	569.96	583.25	604.04	585.75 ± 17.18 ^{bd}
第4周	543.24	569.72	565.24	559.40 ± 14.17 ^{bd}

¹为每个样本总病理切片数据的平均值。 ^b $P<0.01$ vs 正常组, ^d $P<0.01$ vs 第2周。

常组, 肉眼观肝脏颜色鲜红, 表面光滑, 外观无异常。光镜下观察肝组织细胞结构正常, 间质少, 肝细胞呈条索状排列, 细胞呈多边形, 肝小叶明显。经天狼星红染色后, 切片中几乎无呈红染的胶原纤维, 唯沿中央静脉周围有极少量胶原纤维存在(图1A)。模型组: 1 wk小鼠, 肝脏肉眼观正常; 光镜下观察, 肝小叶结构可辨, 肝索排列正常, 肝细胞轻度水肿, 中央静脉周围、细胞间红染的呈细丝状胶原纤维明显(图1B)。2 wk小鼠, 肝脏肉眼观体积稍大; 光镜下观察, 肝索排列正常但轻微变窄, 肝细胞肿大, 中央静脉周围偶见空泡, 胶原纤维沉积增厚(图1C)。3 wk小鼠, 肉眼观体积变大, 颜色偏黄; 光镜下观察, 肝小叶结构可辨, 肝索排列紊乱, 肝细胞明显水肿, 有少量中性粒细胞浸润, 可见胶原纤维在中央静脉周围沉积, 但较第2周明显减少(图1D)。4 wk小鼠, 肉眼观, 肝脏体积明显增大, 质软, 颜色呈黄色, 表面有油腻感; 光镜下观察, 肝索紊乱, 肝窦变窄, 细胞肿大, 胞浆疏松化, 严重气球样变。胞浆稀少, 透亮, 细胞核多位于中央区, 增大, 可见少量灶状坏死。门管区及中央静脉区可见胶原纤维, 但较第3周减少(图1E)。

2.2 各组小鼠肝组织胶原纤维定量分析与统计学结果 胶原纤维定量是整个视野中阳性信号强度的总和。运用Image-ProPlus6.0软件对图片中阳性信号进行处理, 计算得出积分光密度值然后进行分析。随着小鼠肝脏损伤程度加重, 各组胶原纤维含量之间的差异有统计学意义($P<0.01$)。正常组和模型组1、3、4 wk组, 肝脏胶原纤维含量明显低于模型组2 wk组($P<0.01$)。在损伤不断加重的过程中, 1、2 wk肝脏胶原纤维含量增加显著, 但3、4 wk减少显著。酒

精性肝诱导损伤第1周胶原纤维含量较第0周增加明显(852.21 ± 10.65 vs 345.24 ± 65.94 , $P<0.01$)。第2周胶原纤维含量较第1周持续增加(1054.15 ± 10.80 vs 852.21 ± 10.65 , $P<0.01$)。到第3周时胶原纤维含量显著下降(585.75 ± 17.18 vs 1054.15 ± 10.80 , $P<0.01$)。第4周持续下降。实验表明, 在酒精性肝损伤的诱导过程中肝组织胶原纤维的含量是先增多后减少的变化规律(表1)。

2.3 诱导酒精性肝损伤过程中肝细胞PCNA蛋白的表达变化情况 在诱导酒精性肝损伤后2 wk, 小鼠肝组织PCNA蛋白水平迅速降低, 在第2周达到最低值, 差异有统计学意义($P<0.05$)。2 wk后PCNA蛋白水平升高明显, 差异有统计学意义($P<0.05$)。3 wk和4 wk PCNA表达无差异, 整体变化趋势先减少后增加(图2)。

3 讨论

人们对过量饮酒造成的肝脏损伤已非常重视。研究^[7]显示, 酗酒者中65%以上有发展为脂肪肝、肝纤维化的可能, 其中已患肝病者更有可能发展为肝硬化或肝癌。酒精对肝脏的损伤机制可能与酒精引起的炎性反应、肝脏的应激反应、炎性介质、细胞因子及其传导通路等多种因素相关^[8]。

本实验诱导小鼠酒精性肝损伤的过程中, 发现肝组织胶原纤维的变化与PCNA蛋白表达趋势密切相关。PCNA是一种标记细胞周期的蛋白, 与细胞增殖有关, 可用于标记增殖细胞, 同时也是评价肝脏再生的一个指标^[9]。肝组织细胞中PCNA的变化可表明肝细胞的增殖与凋亡, 且PCNA的变化与肝组织的损伤修复关系密切。相关研究^[10]表明, 肝细胞凋亡是促进

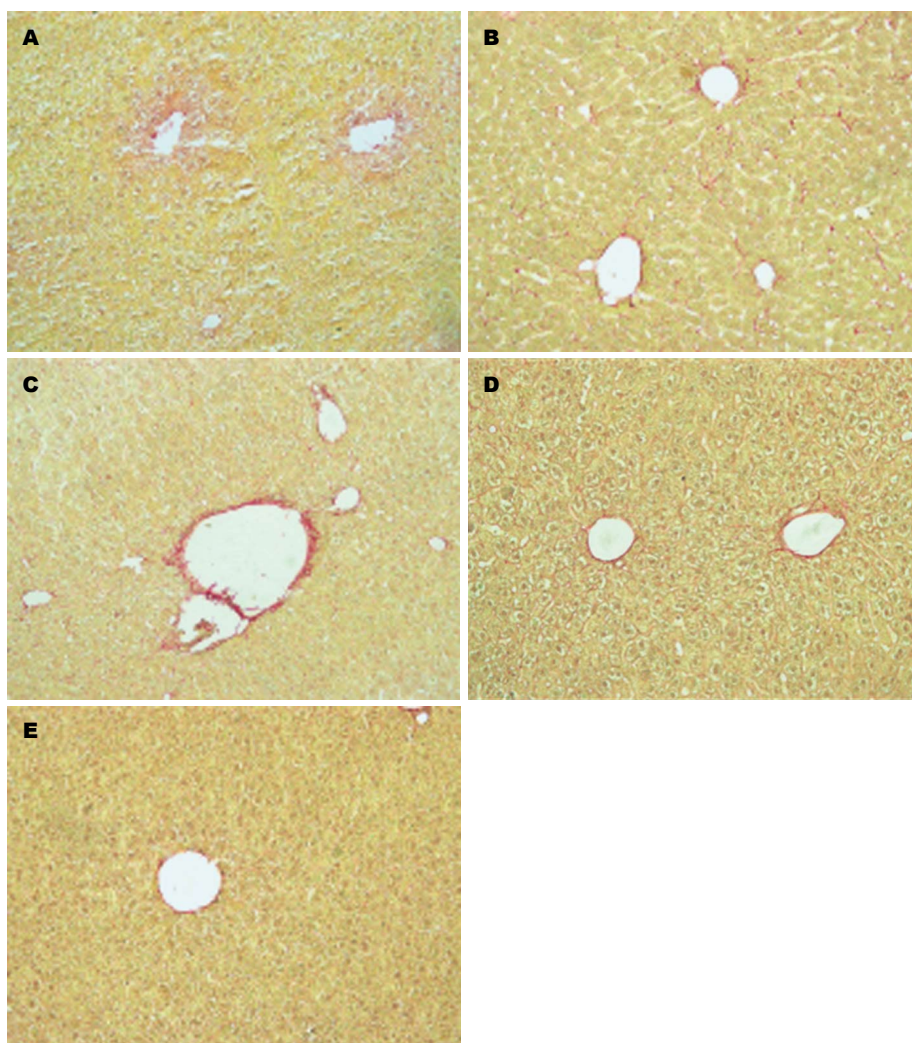


图 1 不同时期肝组织病理变化及天狼星红染色表达(天狼星红染色 $\times 200$)。A: 正常组; B: 诱导1 wk; C: 诱导2 wk; D: 诱导3 wk; E: 诱导4 wk。

■名词解释

肝脏胶原纤维: 正常肝组织中胶原纤维的生产和降解是平衡的, 胶原纤维的沉积是由于某些因素造成胶原纤维生成增多而降解减少。肝脏胶原纤维的沉积是肝纤维化的重要过程。

肝组织纤维化过程的可能机制。在肝组织损伤初期(第1、2周), 细胞轻度水肿、变性, 有较少炎性细胞浸润, 胶原纤维含量增加显著, 而其PCNA表达量剧烈下降, 第2周达到最低值。说明此时肝细胞损伤及凋亡明显。一般情况下认为, 为保持器官正常生理功能, 细胞的凋亡与增殖基本维持恒定, 胶原纤维的迅速增加可能与肝细胞损伤及凋亡有关。诱导损伤第3、4周, 肝细胞明显水肿, 肝索排列紊乱, 炎性细胞浸润, 胶原纤维含量迅速降低。而PCNA表达量的迅速上升, 说明此时肝细胞增殖能力代偿性增加, 肝组织开始修复过程。此时, 肝组织胶原纤维含量的降低可能与肝脏损伤修复中转化生长因子TGF的变化相关。数据表明, 肝组织胶原纤维的增多, 肝组织纤维化过程主要由HSC促进完成^[11]。在肝损伤的过程中, HSC是炎性细胞以及再生的肝实质细胞释放的细胞因子的作用靶点。在众多促进胶原纤维增多的介质中, 转化生长因子 $\beta 1$ (transforming growth

factor- $\beta 1$, TGF- $\beta 1$)效果最强。TGF- $\beta 1$ 可以刺激HSC产生细胞外基质, 从而加速胶原纤维的生产和累积^[12]。在肝组织胶原纤维不断增加的过程中, HSC活化程度不断升高, TGF- $\beta 1$ 的表达也不断增加。在TGF- $\beta 1$ 含量增加到一定程度时TGF- $\beta 3$ 可以通过下调TGF- $\beta 1$ 蛋白的表达来抑制HSC合成I型胶原, 使胶原纤维生成量减少, 阻止肝纤维化的出现^[13]。唐世杰等^[14]的研究结果也表明: 外源性TGF- $\beta 3$ 通过下调增生性瘢痕组织中成纤维细胞的TGF- $\beta 1$ 蛋白表达, 胶原纤维的合成显著减少。在动脉损伤处增加TGF- $\beta 3$ 含量后III型胶原纤维含量明显减少^[15]。其机制可能也与内源性TGF- $\beta 3$ 下调TGF- $\beta 1$ 蛋白表达从而抑制HSC合成胶原纤维生成有关。另一方面相关研究^[16]表明为保持器官正常生理功能, 细胞凋亡与增殖基本维持恒定; 在早期损伤中, 肝细胞反应增生迟钝, TGF反应迅速, 胶原纤维先于肝细胞增生; 而后, 肝脏在持续损伤过程中, 修复也同时进行, 肝细胞增生显著, 胶原

同行评价

本文建立BALB/c小鼠酒精性肝损伤模型, 符合伦理学要求, 通过组织病理学结果分析, 在一定程度上可说明胶原纤维在酒精性肝损伤发展过程中各个阶段的变化规律。

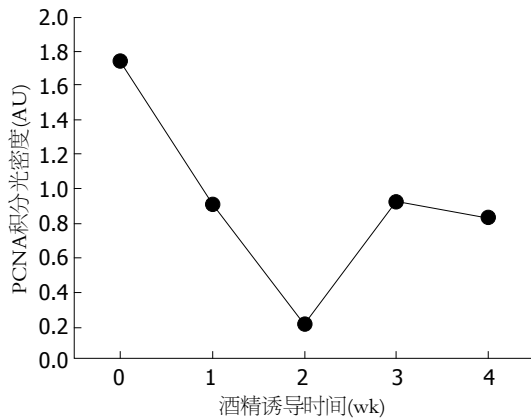


图2 各组不同时段PCNA积分光密度值比较图。PCNA: 增殖细胞核抗原。

纤维反而减少。

总之, 本实验通过酒精诱导的肝脏损伤模型, 观察得出胶原纤维含量先增加后减少的规律与肝脏的损伤修复密切相关, 对今后研究胶原纤维与酒精性肝损伤之间的关系有一定理论意义。

4 参考文献

- 1 谭靛, 李珊平, 吴梦茹, 李明进, 向家勇, 袁才佳. 丹参注射液对小鼠急性酒精性肝损伤保护作用研究. *现代医药卫生* 2013; 29: 2276-2277
- 2 孙玉生, 林波, 王思谦, 刘悦, 张优敬, 郑乃芮, 皇甫超申. 慢性酒精摄入所致的肝细胞上皮-间充质转化参与小鼠肝纤维化形成. *中国病理生理杂志* 2014; 30: 77-84
- 3 李连珍, 赵稳兴. 酒精与肝纤维化. *肝脏* 2010; 15: 374-377
- 4 李健, 李戎, 牛建昭. 胶原纤维与器官纤维化. *解剖学报* 2003; 34: 424-426
- 5 Li SQ, Li RF, Xi SM, Hu S, Jia ZQ, Li SP, Wen XL, Song YK, Li S, Li SP, Wei FB, Chen XL. Systematical analysis of impacts of heat stress on the proliferation, apoptosis and metabolism of

- 6 mouse hepatocyte. *J Physiol Sci* 2012; 62: 29-43 [PMID: 22125186 DOI: 10.1007/s12576-011-0183-6]
- 7 徐洪, 杨方, 袁媛, 程华, 魏中秋, 李淑钰. 免疫组织化学Image Pro Plus图像半定量分析的参数选择. *解剖学杂志* 2012; 35: 37-41
- 8 杜施霖, 迟宝荣. 酒精性肝损伤动物模型的研究. *白求恩医科大学学报* 2001; 27: 682-685
- 9 Wang HJ, Zakhari S, Jung MK. Alcohol, inflammation, and gut-liver-brain interactions in tissue damage and disease development. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 1304-1313 [PMID: 20238396 DOI: 10.3748/wjg.v16.i11.1304]
- 10 Naryzhny SN. Proliferating cell nuclear antigen: a proteomics view. *Cell Mol Life Sci* 2008; 65: 3789-3808 [PMID: 18726183 DOI: 10.1007/s00018-008-8305-x]
- 11 Takehara T, Tatsumi T, Suzuki T, Rucker EB, Hennighausen L, Jinushi M, Miyagi T, Kanazawa Y, Hayashi N. Hepatocyte-specific disruption of Bcl-xL leads to continuous hepatocyte apoptosis and liver fibrotic responses. *Gastroenterology* 2004; 127: 1189-1197 [PMID: 15480996 DOI: 10.1053/j.gastro.2004.07.019]
- 12 劳远翔, 贺福初, 姜颖. 肝星状细胞的去活化机制与抗肝纤维化治疗. *中华肝病杂志* 2015; 23: 77-80
- 13 Gressner AM, Weiskirchen R. Modern pathogenetic concepts of liver fibrosis suggest stellate cells and TGF-beta as major players and therapeutic targets. *J Cell Mol Med* 2006; 10: 76-99 [PMID: 16563223 DOI: 10.1111/j.1582-4934.2006.tb00292.x]
- 14 周霞, 余姣, 李琪, 钱伟, 徐可树. 重组转化生长因子β3基因对大鼠肝星状细胞I型胶原表达的影响. *中华肝病杂志* 2008; 16: 43-48
- 15 唐世杰, 胡素奎, 王玉银, 申纪奎. 转化生长因子-β3对增生性瘢痕成纤维细胞的生物学作用. *中国临床康复* 2004; 8: 3392-3394
- 16 Ghosh J, Baguneid M, Khwaja N, Murphy MO, Turner N, Halka A, Ferguson MW, Kielty CM, Walker MG. Reduction of myointimal hyperplasia after arterial anastomosis by local injection of transforming growth factor beta3. *J Vasc Surg* 2006; 43: 142-149 [PMID: 16414401 DOI: 10.1016/j.jvs.2005.08.041]
- 17 叶伟东, 陈永平, 徐少杰, 黄渊, 朱忆凌, 潘陈为, 许维丹. 肝纤维化大鼠肝脏Bcl-2、Bax、增殖细胞核抗原的表达及重组转化生长因子β1疫苗对其表达的影响. *中华传染病杂志* 2007; 25: 398-402

编辑: 于明茜 电编: 都珍珍





Published by **Baishideng Publishing Group Inc**
8226 Regency Drive, Pleasanton,
CA 94588, USA
Fax: +1-925-223-8242
Telephone: +1-925-223-8243
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079

