

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

2018 年 10 月 8 日 第 26 卷 第 28 期 (Volume 26 Number 28)



28 / 2018

ISSN 1009-3079



《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. 本刊被美国国际检索系统《化学文摘(Chemical Abstracts, CA)》、《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica, EM)》、《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》、Scopus、中国知网《中国期刊全文数据库(CNKI)》和《超星期刊域出版平台(Superstar Journals Database)》数据库收录.



述评

- 1623 美司钠在食管内镜黏膜下剥离技术的应用进展

黄欢, 蔡晓敏, 程烨夏子, 蓝幼珍, 张杰希, 伍齐鸣, 陈素玉, 施宏

- 1628 胰腺术后出血的临床预防及处理策略

王刚, 李宗信

基础研究

- 1635 miR-144-3p靶向调控ABCG2信号通路对胃癌细胞侵袭和迁移的影响

吕弢, 俞兴旺, 胡静, 周东辉

- 1645 脂联素信号通路分子在非酒精性脂肪性肝病模型构建不同时期的表达变化

刘浩, 时昭红

文献综述

- 1651 调控胰腺癌侵袭和转移分子靶点研究新进展

李子一, 孙学英

临床实践

- 1660 经黏膜下隧道内镜切除治疗食管固有肌层肿物效果分析

张明月, 吴双, 郭秀颖, 徐红

- 1667 无创呼吸机在阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征合并反流性食管炎患者中的临床应用

孙树申, 杜绍山, 李宝福, 向慧玲

病例报告

- 1672 Cronkhite-Canada综合征1例

姜娜, 于亚男, 丁雪丽, 田宇彬, 杨林, 荆雪, 江月萍

消 息

- 1634 《世界华人消化杂志》参考文献要求
1644 《世界华人消化杂志》外文字符标准
1659 《世界华人消化杂志》栏目设置
1676 《世界华人消化杂志》正文要求

封面故事

张连阳, 教授, 主任医师, 博士生导师, 陆军军医大学第三附属医院(野战外科研究所)创伤专科医院院长. 我国知名创伤医学专家, 学术方向为严重创伤救治和灾难医学救援. 积极倡导集中收治模式的我国创伤中心建设, 牵头制订“腹部创伤腹腔镜诊疗规范专家共识”等指南4部. 获国家科技进步二等奖等高等级科技进步奖5项. 主编、主译《灾害医学》《多发伤救治学》《急诊外科学》等专著10部, 发表论文200篇, SCI收录30篇.

本期责任人

编务 李香; 送审编辑 崔丽君; 组版编辑 张砚梁; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 崔丽君; 形式规范审核编辑部主任 马亚娟; 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 2018-10-08

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

编辑委员会

编辑委员会成员在线名单, 详见:

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/editorialboard.htm>

编辑部

马亚娟, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

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: wjgd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

出版

百世登出版集团有限公司

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

<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. 本刊被美国国际检索系统《化学文摘(Chemical Abstracts, CA)》、《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica, EM)》、《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》、Scopus、中国知网《中国期刊全文数据库(CNKI)》和《超星期刊域出版平台(Superstar Journals Database)》数据库收录.

《世界华人消化杂志》正式开通了在线办公系统(<https://www.baishideng.com>), 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

© 2018 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Contents

Volume 26 Number 28 Oct 8, 2018

EDITORIAL

- 1623 Application of MESNA in endoscopic submucosal dissection for esophageal diseases

Huang H, Cai XM, Cheng Ye-XZ, Lan YZ, Zhang JX, Wu QM, Chen SY, Shi H

- 1628 Clinical treatment strategy for post pancreatectomy hemorrhage

Wang G, Li ZB

BASIC RESEARCH

- 1635 Effect of targeted regulation of ABCG2 signaling pathway by miR-144-3p on invasion and migration of gastric cancer cells

Ly T, Yu XW, Hu J, Zhou DH

- 1645 Dynamic expression of adiponectin signaling pathway molecules in a rat model of non-alcoholic fatty liver disease

Liu H, Shi ZH

REVIEW

- 1651 Molecular targets regulating invasion and metastasis of pancreatic cancer

Li ZY, Sun XY

CLINICAL PRACTICE

- 1660 Submucosal tunneling endoscopic resection for treatment of esophageal leiomyomas arising from the muscularis propria

Zhang MY, Wu S, Guo XY, Xu H

- 1667 Clinical application of non-invasive ventilator to patients with obstructive sleep apnea hypopnea syndrome accompanied with reflux esophagitis

Sun SS, Du SS, Li BF, Xiang HL

CASE REPORT

- 1672 Cronkhite-Canada syndrome: A case report and review of the literature

Jiang N, Yu YN, Ding XL, Tian ZB, Yang L, Jing X, Jiang YP

Contents

World Chinese Journal of Digestology
Volume 26 Number 28 Oct 8, 2018

COVER

Editorial Board Member of *World Chinese Journal of Digestology*, Lian-Yang Zhang, Professor, Chief Physician, Trauma Hospital, the Third Affiliated Hospital of the Army Military Medical University, Chongqing 400042, China

Indexed/Abstracted by

Chemical Abstracts, EMBASE/Excerpta Medica, Abstract Journals, Scopus, CNKI, and Superstar Journals Database.

RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE

Assistant Editor: *Xiang Li* Review Editor: *Li-Jun Cui* Electronic Editor: *Yan-Liang Zhang* English Language Editor: *Tian-Qi Wang* Editor-in-Charge: *Li-Jun Cui* Proof Editor: *Ya-Juan Ma* Layout Reviewer: *Lian-Sheng Ma*

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993
Renamed on January 25, 1998
Publication date October 8, 2018

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 BOARD MEMBERS

All editorial board members resources online at <http://www.wjgnet.com/1009-3079/editorialboard.htm>

EDITORIAL OFFICE

Ya-Juan Ma, Director

World Chinese Journal of Digestology

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: wjcd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

PUBLISHER

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

<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

© 2018 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 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/Nav/36>. If you do not have web access, please contact the editorial office.

脂联素信号通路分子在非酒精性脂肪性肝病模型构建不 同时期的表达变化

刘浩, 时昭红

刘浩, 时昭红, 武汉市第一医院消化内科 湖北省武汉市 430022

刘浩, 主治医师, 主要从事慢性肝病的防治研究.

基金项目: 武汉市卫生局临床医学科研资助项目, No. WX11C03.

作者贡献分布: 此课题由刘浩与时昭红设计; 研究过程由刘浩操作完成; 数据分析由刘浩与时昭红完成; 本论文写作由刘浩与时昭红完成.

通讯作者: 时昭红, 教授, 主任医师, 湖北省武汉市中山大道215号, 武汉市第一医院消化内科. zhaohshi@126.com
电话: 027-85332319

收稿日期: 2018-08-04

修回日期: 2018-08-28

接受日期: 2018-09-07

在线出版日期: 2018-10-08

Dynamic expression of adiponectin signaling pathway molecules in a rat model of non-alcoholic fatty liver disease

Hao Liu, Zhao-Hong Shi

Hao Liu, Zhao-Hong Shi, Department of Gastroenterology, Wuhan First Municipal Hospital, Wuhan 430022, Hubei Province, China

Supported by: Health Bureau of Wuhan City, No. WX11C03.

Correspondence to: Zhao-Hong Shi, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Wuhan First Municipal Hospital, 215 Zhongshan Road, Wuhan 430022, Hubei Province, China. zhaohshi@126.com

Received: 2018-08-04

Revised: 2018-08-28

Accepted: 2018-09-07

Published online: 2018-10-08

Abstract

AIM

To detect the dynamic expression of adiponectin signaling pathway molecules in a non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) model.

ling pathway molecules in a non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) model.

METHODS

Twenty-four male SD rats were randomly divided into four groups: a normal group (N, $n = 6$) and three model groups (M4, M8, and M12, $n = 6$ each). The normal group was given an ordinary diet, and the NAFLD model groups were given a high-fat diet. At the end of the fourth week, rats in group M4 were sacrificed. M8 rats were killed at the end of the eighth week, and rats in groups N and M12 were sacrificed at the end of the twelfth weeks. Tissue samples were collected for histopathological examinations. Serum adiponectin was detected by ELISA. The expression of AdipoR2 mRNA and PPAR α mRNA was determined by RT-PCR. Protein expression of AdipoR2, PPAR α , and phosphorylated AMPK was examined by Western blot.

RESULTS

HE staining showed that liver cell swelling was obvious at the end of the twelfth weeks, with a large number of fat vacuoles in the cytoplasm and a small number of necrotic liver cells, which suggested that NAFLD was successfully induced. Compared with the normal group, serum adiponectin in the model group rats gradually decreased from week 4 to weeks 8 and 12. Compared with the normal group, the expression of AdipoR2 mRNA and PPAR α mRNA in the liver of the model group rats gradually decreased from week 4 to weeks 8 and 12. Compared with the normal group, the protein expression of adiponectin signaling pathway molecules in the liver of the model group rats gradually decreased from week 4 to weeks 8 and 12. There was a significant difference between each two groups ($P < 0.05$).

CONCLUSION

The protein expression of adiponectin signaling pathway

molecules decreases gradually in the formation process of NAFLD. The activity decrease of the adiponectin signaling pathway is possibly one of the mechanisms contributing to NAFLD.

© The Author(s) 2018. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Non-alcoholic fatty liver disease; Adiponectin; AdipoR2; PPAR α ; AMPK

Liu H, Shi ZH. Dynamic expression of adiponectin signaling pathway molecules in a rat model of non-alcoholic fatty liver disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2018; 26(28): 1645-1650 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v26/i28/1645.htm> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v26.i28.1645>

摘要

目的

研究肝脏脂联素信号通路分子在大鼠非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)形成过程不同时期的表达变化。

方法

SD雄性大鼠24只随机分为4组: 正常组N组(6只), 模型组M4组(6只), 模型组M8组(6只), 模型组M12组(6只)。正常组给予普通饲料喂养, NAFLD模型组给予高脂饲料喂养。分别于第4周末处死M4组大鼠, 第8周末处死M8组大鼠, 第12周末处死N组和M12组大鼠。采用HE染色法观察各组大鼠肝组织病理学改变; ELISA检测各组大鼠血清脂联素水平; RT-PCR法检测大鼠肝脏AdipoR2、PPAR α 的mRNA表达; Western blot蛋白印记法检测各组大鼠肝脏AdipoR2、PPAR α 及磷酸化AMPK蛋白表达。

结果

肝脏HE染色显示, 第12周末时模型组大鼠可见肝细胞肿胀明显, 细胞质内可见大量的脂肪空泡, 少量肝细胞发生坏死, 提示造模成功。ELISA法结果表明, 与正常组相比, 模型组大鼠第4周末、第8周末、第12周末血清脂联素水平逐渐降低, 每两组之间比较差异有显著性($P < 0.05$)。RT-PCR法结果表明, 与正常组相比, 模型组大鼠肝脏第4周末、第8周末、第12周末AdipoR2、PPAR α 的mRNA表达逐渐减弱, 每两组之间比较差异有显著性($P < 0.05$)。Western blot蛋白印记法结果显示, 与正常组相比, 模型组大鼠肝脏AdipoR2、PPAR α 及磷酸化AMPK蛋白表达在第4周末、第8周末、第12周末逐渐减弱, 每两组之间比较差异有显著性($P < 0.05$)。

结论

脂联素信号通路分子在NAFLD形成过程中表达逐渐

减弱。脂联素信号通路活性逐渐降低可能是NAFLD形成的机制之一。

© The Author(s) 2018. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 非酒精性脂肪性肝病; 脂联素; 脂联素受体2; 过氧化物酶体增殖因子激活受体 α ; 腺苷酸活化蛋白激酶

核心提要: 脂联素信号通路在非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)进展的不同时期如何发挥作用, 目前没有详细的论述。本文研究在构建NAFLD模型过程的不同时期(第4周末, 8周末, 12周末), 脂联素信号通路分子的动态表达变化, 探讨NAFLD的发病机制。

刘浩, 时昭红. 脂联素信号通路分子在非酒精性脂肪性肝病模型构建不同时期的表达变化. *世界华人消化杂志* 2018; 26(28): 1645-1650 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v26/i28/1645.htm> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v26.i28.1645>

0 引言

非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)是除外酒精和其他明确的损肝因素所致的, 以弥漫性肝细胞大泡性脂肪变为主要特征的临床病理综合征。我国NAFLD的发病率呈逐年上升趋势, 严重危害人民身体健康^[1]。脂联素(adiponectin)是一种具有多种生物学效应的细胞因子, 脂联素及其下游信号通路分子参与了多种疾病的脂质代谢^[2], 并参与了NAFLD的形成和发展^[3]。但是脂联素信号通路分子在NAFLD进展的不同时期如何发挥作用, 目前仍然没有详细的论述。本文通过实验大鼠构造NAFLD模型, 研究NAFLD形成过程的不同时期, 脂联素信号通路分子的表达变化, 探讨NAFLD的发病机制, 为NAFLD的防治提供理论基础。

1 材料和方法

1.1 材料 SPF级SD雄性大鼠24只体重180 g \pm 20 g, 购于湖北省实验动物研究中心。大鼠脂联素双抗夹心ELISA法试剂盒由深圳依诺生物科技有限公司提供。100 bp DNA Ladder购自华美生物工程公司, 所有引物均由上海生工生物制品公司合成。AdipoR2、PPAR α 抗体购自美国Santa Cruz公司, 磷酸化AMPK抗体购自美国Cell Signaling Technology公司。

1.2 方法 将24只SD雄性大鼠随机分为4组: 正常组N组(6只), 模型组M4组(6只), 模型组M8组(6只), 模型组M12组(6只), 组间暴露无差异。正常组给予普通饲料喂养, NAFLD模型组给予高脂饲料(普通饲料+2%胆固醇

+14%猪油)喂养造模。模型组分别于第4周末处死M4组大鼠,第8周末处死M8组大鼠,第12周末处死M12组大鼠。正常组于12周末全部处死N组大鼠。同时取各组大鼠的血清和肝脏相同部位的标本储存备用。

ELISA操作方法: 确定检测所需的已包被抗体的酶标板孔数目,并增加1孔作为TMB空白显色孔,总数=样品数+9。将浓度梯度标准品(从6000 pg/mL到0)各0.1 mL依次加入一排8孔中。将大鼠血清稀释10倍,依次每孔加入0.1 mL。然后依据说明书进行操作,显色后用酶标仪在450 nm测定OD值。将TMB空白显色孔作为对照。所有的样品和样品的吸光值减去零孔的吸光值后,在坐标纸上画出曲线,以吸光值作为纵坐标,以浓度作为横坐标。根据样品的吸光值在坐标上找出对应的浓度。乘以10倍后,为每个样品的实际值。

逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)操作方法: TRIzol试剂(美国GIBCO公司)一步反向引物法抽提细胞总RNA,紫外分光光度仪检测其浓度和纯度,1%琼脂糖变性电泳检验RNA完整性。取3 μ g RNA,用M-MLV逆转录酶(Promega公司)进行反转录,PCR扩增上述4种基因,同时扩增 β -actin作为内参照。取6-10 μ L扩增产物在1.5%琼脂糖凝胶电泳,放在紫外投射仪上进行观察和照相。

Western blot蛋白印记: 取少量肝脏组织样品,用机械匀浆器打碎,溶解在200 μ L RIPA裂解液中,12 000 rpm/min, 30 min,去掉上层乳白色油脂和管底沉淀,取上清液作为蛋白溶液样品。测算蛋白的浓度,放在-20 $^{\circ}$ C保存备用。配制好10%SDS-聚丙烯酰胺凝胶,在每孔加入80 μ g蛋白,进行电泳分离。以 β -actin蛋白作为内参照。把蛋白电转移到硝酸纤维素膜,放在脱脂奶粉中4 $^{\circ}$ C封闭摇动过夜。在室温下把膜放在一抗中孵育2 h, TBS洗涤,二抗室温2 h,加入1 μ L显色液, X线下底片曝光,然后显影和定影,用计算机的密度扫描对反应条带进行定量分析。

统计学处理 实验结果以mean \pm SD表示,各组计量资料分析应用完全随机设计的单因素方差分析,计数资料采用Ridit检验法。统计结果用SPSS13.0软件包处理。 $P<0.05$ 为差异有显著性。

2 结果

2.1 组织形态学改变 肝脏HE染色显示,正常组大鼠肝组织肝索结构清晰,肝细胞以中央静脉为中心呈放射状排列,肝组织内无脂肪空泡,未见明显脂滴分布。模型组大鼠均出现不同程度的弥漫性肝细胞脂肪变性。第4周末时模型组大鼠肝组织可见散在肝细胞脂肪变性。第8周末时模型组大鼠可见肝细胞肿胀,肝组织可见散在片状肝细胞脂肪变性。第12周末时模型组大鼠可见肝细胞肿胀明显,呈圆形,细胞质内可见大量的脂肪空泡,

空泡之间界限模糊。少量肝细胞发生坏死。根据肝细胞脂肪变性程度,“-”为0分,“+”为1分,“++”为2分,“+++”为3分,计算出脂肪变性百分率(图1和表1)。

2.2 ELISA法检测血清脂联素值变化 与正常组相比,模型组血清脂联素值均示降低。且随着时间推移,第4周末、第8周末、第12周末模型组血清脂联素值呈逐渐减弱趋势,每两组之间比较差异有显著性($P<0.05$)(表2)。

2.3 RT-PCR法检测大鼠肝脏AdipoR2、PPAR α 的mRNA结果 与正常组相比,模型组大鼠AdipoR2、PPAR α 的mRNA表达减弱。随着造模时间的延长,模型组第4周末、第8周末、第12周末模型组AdipoR2、PPAR α 的mRNA表达呈逐渐减弱,每两组之间比较差异有显著性($P<0.05$)(图2和表2)。

2.4 Western blot蛋白印记法检测肝脏AdipoR2、PPAR α 和磷酸化AMPK蛋白表达结果 与正常组相比,模型组大鼠肝脏AdipoR2、PPAR α 、磷酸化AMPK蛋白表达减弱。随着造模时间的延长,模型组第4周末、第8周末、第12周末大鼠肝脏AdipoR2、PPAR α 、磷酸化AMPK蛋白表达逐渐减弱,每两组之间比较差异有显著性($P<0.05$)(图3和表3)。

3 讨论

NAFLD的病理特征是脂质在肝脏过量沉积,肝细胞存在大量脂肪变^[4]。NAFLD是临床上最常见的主要慢性肝脏疾病之一,疾病谱包括单纯性脂肪肝以及由其演变的脂肪性肝炎和肝硬化,缺乏有效治疗药物^[5]。NAFLD的发病机制较为复杂,至今尚未完全明确,目前广为接受的是由Donati等^[6]和 Diehl^[7]提出的“二次打击”学说,其中,“初次打击”与肝脂代谢紊乱及胰岛素抵抗密切相关,“二次打击”与肝脏炎症坏死及细胞因子、氧化应激以及脂质过氧化密切相关^[8,9]。本实验以脂肪乳灌胃建立的NAFLD模型,病理切片上提示肝脏脂质沉积增多,有不同程度的泡状脂肪变性,符合人类NAFLD的发病机制。

脂联素是一种具有多种生物学效应的细胞因子,由脂肪细胞分泌,并在脂肪组织中大量表达^[10]。脂联素通过与其受体结合,有调节脂质代谢、改善胰岛素抵抗、调节炎症反应、抗氧化应激、抗纤维化等一系列生物活性作用,具有降血糖、降血脂、抗炎等作用,参与肥胖、2型糖尿病、动脉粥样硬化等多种疾病的病理生理过程,同时对预防或延缓NAFLD的发生、发展具有显著效果^[11]。大量研究表明,脂联素作为一种保护性细胞因子可以抑制肝脏脂肪合成,促进脂肪氧化分解,增强周围组织对胰岛素的敏感性,抑制炎症因子产生,对抗氧化应激和纤维化,阻止NAFLD的进展^[12,13]。

表 1 各组大鼠肝组织脂肪变性结果比较(*n* = 6)

分组	脂肪变性程度				脂肪变性百分率%
	-	+	++	+++	
正常组	6	0	0	0	0
模型组(M4)	0	5	1	0	38.8
模型组(M8)	0	2	4	0	55.5
模型组(M12)	0	0	1	5	94.4

表 2 各组大鼠血清脂联素及肝脏AdipoR2、PPAR α 的mRNA表达比较(*n* = 6)

分组	血清脂联素(μ g/ mL)	AdipoR2mRNA	PPAR α mRNA
正常组	38.56 \pm 2.93	1.75 \pm 0.65	1.15 \pm 0.45
模型组第4周末(M4)	33.24 \pm 3.21 ^{a,c}	1.40 \pm 0.70 ^{a,c}	0.74 \pm 0.36 ^{a,c}
模型组第8周末(M8)	28.52 \pm 2.77 ^a	0.98 \pm 0.56 ^a	0.48 \pm 0.35 ^a
模型组第12周末(M12)	22.91 \pm 2.62 ^{a,c}	0.61 \pm 0.43 ^{a,c}	0.29 \pm 0.28 ^{a,c}

^a*P* < 0.05, 与正常组比较; ^c*P* < 0.05, 与M8组比较.

表 3 各组大鼠肝脏AdipoR2、PPAR α 、磷酸化AMPK蛋白表达比较(*n* = 6)

分组	AdipoR2	PPAR α	磷酸化AMPK
正常组	3.77 \pm 0.93	1.85 \pm 0.45	1.26 \pm 0.41
模型组第4周末(M4)	3.11 \pm 0.61 ^{a,c}	1.43 \pm 0.40 ^{a,c}	0.90 \pm 0.33 ^{a,c}
模型组第8周末(M8)	1.95 \pm 0.47 ^a	1.12 \pm 0.38 ^a	0.68 \pm 0.28 ^a
模型组第12周末(M12)	0.66 \pm 0.22 ^{a,c}	0.58 \pm 0.23 ^{a,c}	0.47 \pm 0.26 ^{a,c}

^a*P* < 0.05, 与正常组比较; ^c*P* < 0.05, 与M8组比较.

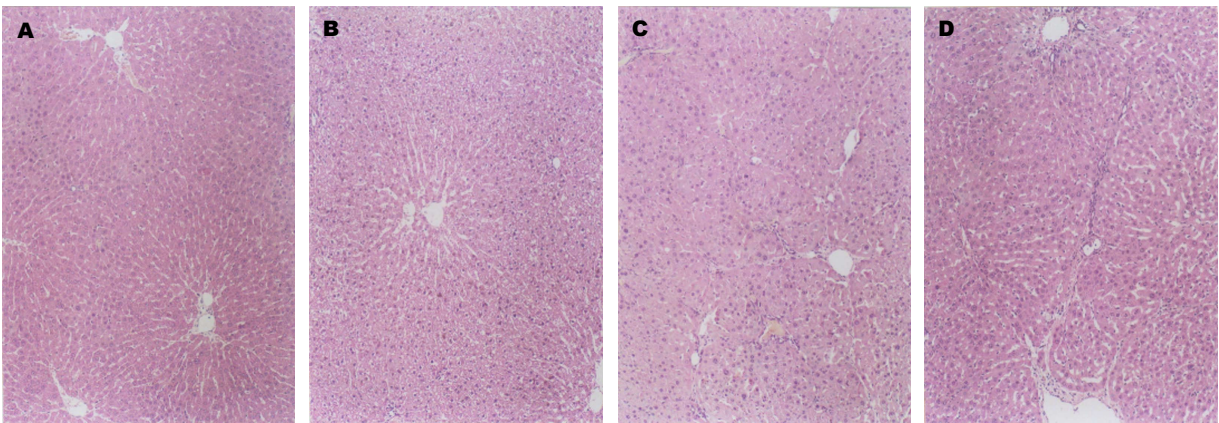


图 1 各组大鼠肝脏HE染色图(HE \times 100). A: 正常组; B: 模型组(M4组); C: 模型组(M8组); D: 模型组(M12组).

Komshilova等^[13]通过研究 NAFLD患者血清脂联素水平, 结果表明NAFLD患者血清脂联素水平明显降低, 且与患者NAFLD病情严重程度呈相关性. 本实验研究也表明, 随着实验性大鼠NAFLD的发生发展, 血清脂联素水平在第4周、第8周和第12周末逐渐降低. 因此, 血清

脂联素水平降低对NAFLD的预测和诊断均有一定的价值, 可作为NAFLD的一个判断 指标, 为NAFLD的无创性诊断提供一条新的思路和方法.

脂联素通过与细胞膜上的特异性受体结合发挥多种生理作用. 2003年, Kadowaki等^[14]应用分子克隆技术

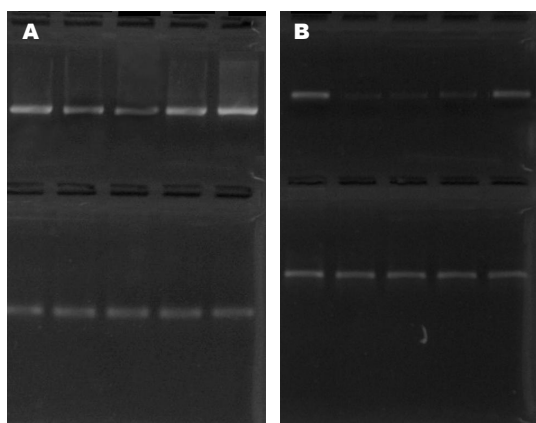


图2 各组大鼠肝脏AdipoR2 mRNA和PPAR α mRNA表达比较, 从右到左依次为正常组, 模型组(M4组), 模型组(M8组), 模型组(M12组)。A: AdipoR2 mRNA表达比较; B: PPAR α mRNA表达比较。

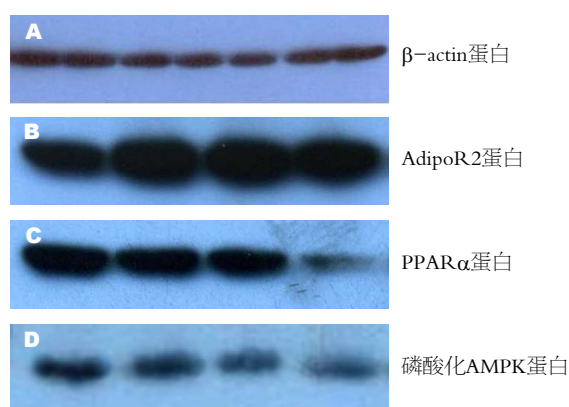


图3 各组大鼠肝脏 β -actin、AdipoR2、PPAR α 、磷酸化AMPK蛋白表达比较, 从左到右依次为正常组, 模型组(M4组), 模型组(M8组), 模型组(M12组)。A: β -actin蛋白; B: AdipoR2蛋白; C: PPAR α 蛋白; D: 磷酸化AMPK蛋白。

确定脂联素受体存在两种异构体, 分别称为脂联素受体1(AdipoR1)和脂联素受体2(AdipoR2), AdipoR1在骨骼肌有丰富表达, 而AdipoR2主要在肝脏表达^[15]。目前一系列研究表明, 脂联素与肝细胞AdipoR2结合后, 主要通过激活过氧化物酶体增殖因子激活受体 α (PPAR α)途径^[12,16], 以及活化AMPK途径^[17,18], 引起下游一系列分子的变化, 实现肝细胞糖原异生减少和脂肪酸 β 氧化增加。PPAR α 是一类在肝脏大量表达的核转录因子, 通过由相应配体激活, 调节编码肝脏脂肪酸结合蛋白等基因的转录与活化, 从而抑制肝脏对脂肪酸的摄取和代谢, 减少肝脏脂肪沉积^[16]。PPAR α 的激活与脂联素刺激的脂肪酸氧化有关, 而与葡萄糖摄取无关^[19]。高胰岛素血症会使PPAR α 表达下调或活性受抑, 而引起一系列与脂质代谢有关的蛋白质和酶基因的转录水平降低, 进一步加重肝脏脂肪沉积, 再加之各种细胞因子

释放, 从而促进脂肪性肝炎、脂肪性肝纤维化的形成和发展^[20]。因此, 脂联素受体及其信号转导机制在脂联素调控NAFLD的发生过程中发挥关键的作用。但是这种调控机制在NAFLD形成和发展的不同时期, 是如何发挥作用的, 目前仍然没有详细的论述。

本研究采取体内实验的方法, 以高脂饲料喂养法建立NAFLD大鼠模型, 观察NAFLD形成过程中大鼠血清脂联素的动态变化, 以及脂联素信号通路分子AdipoR2、AMPK、PPAR α 在大鼠肝脏中不同时期的表达变化。结果表明, 随着NAFLD的发生发展, 血清脂联素水平在第4周、第8周和第12周末逐渐降低, 肝脏AdipoR2、PPAR α 、磷酸化AMPK表达在第4周、第8周和第12周末逐渐减弱, 提示了脂联素信号通路活性逐渐降低可能是NAFLD形成的机制之一。因此, 如能在NAFLD发生的中后期增强脂联素信号通路的活性, 则可能减轻NAFLD引起的肝细胞损伤。

文章亮点

实验背景

随着近年来饮食习惯和生活方式的改变, 非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)的发病率逐年增高, 目前已经成为我国临床上最常见的慢性肝病之一。因此NAFLD的防治逐渐成为医学工作者的研究热点。

实验动机

目前研究发现, 脂联素信号通路在NAFLD的形成过程中发挥着重要的作用。但是脂联素信号通路分子在NAFLD进展的不同时期如何发挥作用, 目前仍然没有详细的论述。

实验目标

通过大鼠构建NAFLD模型, 研究脂联素及其下游信号通路分子AdipoR2、PPAR α 和AMPK在NAFLD形成过程中第4周末、第8周末、第12周末的表达变化, 探讨NAFLD的发病机制, 为寻找新的NAFLD防治方法提供理论依据。

实验方法

通过ELISA法检测血清脂联素值变化, RT-PCR法检测大鼠肝脏AdipoR2、PPAR α 的mRNA结果, Western blot蛋白印记法检测肝脏AdipoR2、PPAR α 和磷酸化AMPK蛋白表达, 并对第4周末、第8周末、第12周末的实验数据进行比较, 研究脂联素信号通路分子在NAFLD形成过

程中的动态变化。

实验结果

随着动物模型大鼠NAFLD的发生发展, 血清脂联素水平在第4周、第8周和第12周末逐渐降低, 肝脏AdipoR2、PPAR α 、磷酸化AMPK表达在第4周、第8周和第12周末逐渐减弱。

实验结论

脂联素信号通路活性逐渐降低可能是NAFLD形成的机制之一。如能在NAFLD发生的中后期增强脂联素信号通路的活性, 则可能减轻NAFLD引起的肝细胞损伤, 对NAFLD起到预防作用。

展望前景

本课题可更加细致的研究脂联素信号通路分子在NAFLD进展过程中每周的表达变化, 这样得出的实验结果就更为详实可靠。同时可加入对肝细胞凋亡动态变化的研究, 探讨在NAFLD形成过程中脂联素信号通路及肝细胞凋亡的关系, 进一步探讨NAFLD可能的发生机制。

4 参考文献

- 1 中华医学会肝病学分会脂肪肝和酒精性肝病学组. 非酒精性脂肪性肝病诊疗指南(2010年修订版). 胃肠病学和肝病杂志 2010; 19: 483-487
- 2 Achari AE, Jain SK. Adiponectin, a Therapeutic Target for Obesity, Diabetes, and Endothelial Dysfunction. *Int J Mol Sci* 2017; 18 [PMID: 28635626 DOI: 10.3390/ijms18061321]
- 3 Adolph TE, Grander C, Grabherr F, Tilg H. Adipokines and Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: Multiple Interactions. *Int J Mol Sci* 2017; 18 [PMID: 28758929 DOI: 10.3390/ijms18081649]
- 4 Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Charlton M, Cusi K, Rinella M, Harrison SA, Brunt EM, Sanyal AJ. The diagnosis and management of nonalcoholic fatty liver disease: Practice guidance from the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology* 2018; 67: 328-357 [PMID: 28714183 DOI: 10.1002/hep.29367]
- 5 Issa D, Patel V, Sanyal AJ. Future therapy for non-alcoholic fatty liver disease. *Liver Int* 2018; 38 Suppl 1: 56-63 [PMID: 29427492 DOI: 10.1111/liv.13676]
- 6 Donati G, Stagni B, Piscaglia F, Venturoli N, Morselli-Labate AM, Rasciti L, Bolondi L. Increased prevalence of fatty liver in arterial hypertensive patients with normal liver enzymes: role of insulin resistance. *Gut* 2004; 53: 1020-1023 [PMID: 15194655]
- 7 Diehl AM. Fatty liver, hypertension, and the metabolic

- syndrome. *Gut* 2004; 53: 923-924 [PMID: 15194635]
- 8 Samuel VT, Shulman GI. Nonalcoholic Fatty Liver Disease as a Nexus of Metabolic and Hepatic Diseases. *Cell Metab* 2018; 27: 22-41 [PMID: 28867301 DOI: 10.1016/j.cmet.2017.08.002]
- 9 Del Campo JA, Gallego P, Grande L. Role of inflammatory response in liver diseases: Therapeutic strategies. *World J Hepatol* 2018; 10: 1-7 [PMID: 29399273 DOI: 10.4254/wjh.v10.i1.1]
- 10 Sharma AX, Holland WL. Adiponectin and its Hydrolase-Activated Receptors. *J Nat Sci* 2017; 3 [PMID: 28758149]
- 11 Kadowaki T, Yamauchi T, Kubota N, Hara K, Ueki K, Tobe K. Adiponectin and adiponectin receptors in insulin resistance, diabetes, and the metabolic syndrome. *J Clin Invest* 2006; 116: 1784-1792 [PMID: 16823476 DOI: 10.1172/JCI29126]
- 12 Abenavoli L, Milic N, Di Renzo L, Preveden T, Medić-Stojanoska M, De Lorenzo A. Metabolic aspects of adult patients with nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol* 2016; 22: 7006-7016 [PMID: 27610012 DOI: 10.3748/wjg.v22.i31.7006]
- 13 Komshilova KA, Troshina EA, Ershova EV, Mazurina NV, Platonova NM. Adiponectin and parameters of glucose and lipid metabolism at different clinical and morphological stages of non-alcoholic fatty liver disease in patients with abdominal obesity. *Ter Arkh* 2014; 86: 27-32 [PMID: 25509888]
- 14 Kadowaki T, Yamauchi T. Adiponectin and adiponectin receptors. *Endocr Rev* 2005; 26: 439-451 [PMID: 15897298 DOI: 10.1210/er.2005-0005]
- 15 Alzahrani B, Iseli T, Ramezani-Moghadam M, Ho V, Wankell M, Sun EJ, Qiao L, George J, Hebbard LW. The role of AdipoR1 and AdipoR2 in liver fibrosis. *Biochim Biophys Acta* 2018; 1864: 700-708 [PMID: 29237572 DOI: 10.1016/j.bbadis.2017.12.012]
- 16 Doi T. A Novel Selective PPAR α Modulator. *J Atheroscler Thromb* 2015; 22: 750-751 [PMID: 26250644 DOI: 10.5551/jat.ED020]
- 17 Kim SJ, Tang T, Abbott M, Viscarra JA, Wang Y, Sul HS. AMPK Phosphorylates Desnutrin/ATGL and Hormone-Sensitive Lipase To Regulate Lipolysis and Fatty Acid Oxidation within Adipose Tissue. *Mol Cell Biol* 2016; 36: 1961-1976 [PMID: 27185873 DOI: 10.1128/MCB.00244-16]
- 18 Liang Z, Li T, Jiang S, Xu J, Di W, Yang Z, Hu W, Yang Y. AMPK: a novel target for treating hepatic fibrosis. *Oncotarget* 2017; 8: 62780-62792 [PMID: 28977988 DOI: 10.18632/oncotarget.19376]
- 19 Ishibashi S, Yamashita S, Arai H, Araki E, Yokote K, Suganami H, Fruchart JC, Kodama T; K-877-04 Study Group. Effects of K-877, a novel selective PPAR α modulator (SPPARM α), in dyslipidaemic patients: A randomized, double blind, active- and placebo-controlled, phase 2 trial. *Atherosclerosis* 2016; 249: 36-43 [PMID: 27062408 DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2016.02.029]
- 20 Losacco MC, de Almeida CFT, Hijo AHT, Bargi-Souza P, Gama P, Nunes MT, Goulart-Silva F. High-fat diet affects gut nutrients transporters in hypo and hyperthyroid mice by PPAR- α independent mechanism. *Life Sci* 2018; 202: 35-43 [PMID: 29626530 DOI: 10.1016/j.lfs.2018.03.053]

编辑: 崔丽君 电编: 张砚梁





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
<http://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079

