

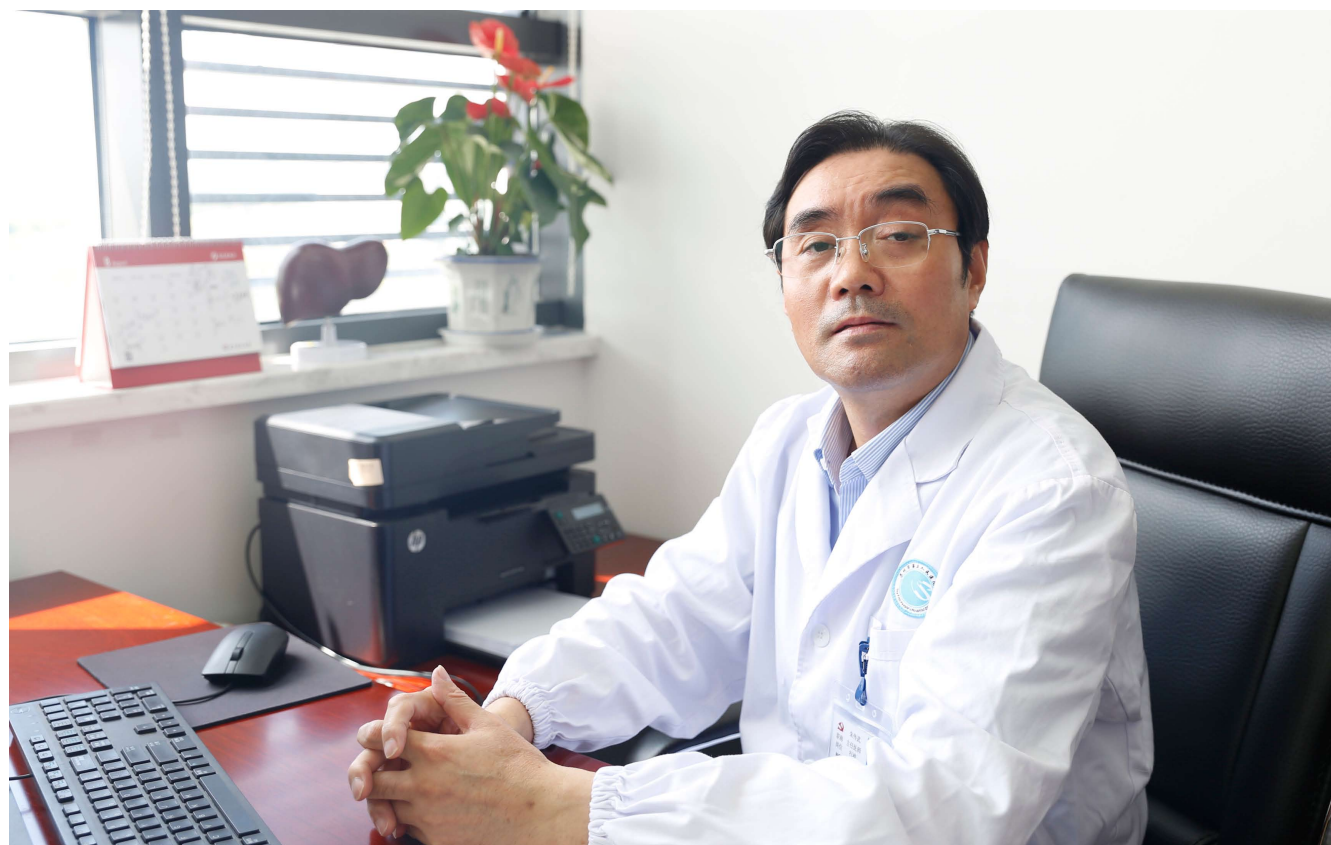
ISSN 1009-3079 (print)  
ISSN 2219-2859 (online)

# 世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE  
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

**Shijie Huaren Xiaohua Zazhi**

2018 年 10 月 18 日 第 26 卷 第 29 期 (Volume 26 Number 29)



**29/2018**

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.

二零一八年十月十八日

第二十六卷

第二十九期



目次

2018年10月18日 第26卷 第29期 (总第613期)

述评

1677 转移性肝癌个体化治疗方案的选择与临床意义

秦建民

基础研究

1688 利拉鲁肽联合维生素E改善抗非酒精性脂肪肝小鼠肝损伤和胰岛素抵抗的作用及机制研究

宣宁昕, 俞文芹

临床研究

1696 能谱CT碘定量参数判定肝细胞癌微血管侵犯的应用价值

陈杰, 梅桂丽, 黄浩

1701 综合护理策略对结直肠癌腹腔灌注化疗患者不良反应的影响

黑维琛, 姜翠杰, 马淑珍

文献综述

1707 肝内胆管癌的分子靶向治疗进展

奚松阳, 房栋, 霍介格

临床实践

1717 双歧杆菌乳杆菌三联活菌治疗小儿肺炎继发腹泻的疗效及影响因素探讨

方红斌, 朱焰

1723 三种清肠方法在结肠镜检查中的效果分析

沈军权, 徐焕军

1729 针对性营养干预对行直肠癌根治手术患者排便功能及术后并发症的影响

孙秋月, 周建英, 杜丽云

## 消 息

- 1687 《世界华人消化杂志》栏目设置  
1716 《世界华人消化杂志》正文要求  
1722 书讯  
1728 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标  
1734 《世界华人消化杂志》外文字符标准

## 封面故事

朱传武, 博士, 主任医师, 教授, 博士生导师, 苏州大学附属传染病医院感染科, 主要从事病毒性肝病的临床诊治和科研工作. 现任中国医师协会整合医学分会整合感染病防控与管理专业委员会常务委员, 中国脂肪性肝病治疗协作组委员, 江苏省中西医结合学会感染病专业委员会副主任委员、肝脏病学分会常务委员, 苏州市医学会、苏州市中西医结合学会肝病专业委员会主任委员. 主持各类科研基金资助课题20余项, 获得省、市级科技奖励10余项, 在国内外学术期刊发表论文90余篇.

## 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 2018-10-18

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

编辑委员会

编辑委员会成员在线名单, 详见:

[http://www.wjgnet.com/1009-3079/  
editorialboard.htm](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](mailto: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](mailto: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 29 Oct 18, 2018

## EDITORIAL

- 1677 Selection and clinical significance of individualized treatment for metastatic liver cancer

*Qin JM*

## BASIC RESEARCH

- 1688 Liraglutide combined with vitamin E alleviates liver injury and insulin resistance in mice with nonalcoholic fatty liver disease

*Xuan NX, Yu WQ*

## CLINICAL RESEARCH

- 1696 Value of spectral CT quantitative iodine parameters in judging microvascular invasion of hepatocellular carcinoma

*Chen J, Mei GL, Huang H*

- 1701 Effect of comprehensive nursing strategy on adverse reactions in patients with colorectal cancer on peritoneal infusion chemotherapy

*Hei WC, Jiang CJ, Ma SZ*

## REVIEW

- 1707 Progress in molecular targeted therapy of intrahepatic cholangiocarcinoma

*Xi SY, Fang D, Huo JG*

## CLINICAL PRACTICE

- 1717 Therapeutic effect of live combined *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* tablets for children with diarrhea secondary to pneumonia: Influencing factors

*Fang HB, Zhu Y*

- 1723 Efficacy of three intestinal preparation methods for colonoscopy

*Shen JQ, Xu HJ*

- 1729 Effect of targeted nutrition intervention on defecation and postoperative complications in patients undergoing radical resection for rectal cancer

*Sun QY, Zhou JY, Du LY*

## Contents

*World Chinese Journal of Digestology*  
Volume 26 Number 29 Oct 18, 2018

### COVER

Editorial Board Member of *World Chinese Journal of Digestology*, Chuan-Wu Zhu, Chief Physician, Professor, Department of Infectious Diseases, The Affiliated Infectious Diseases Hospital of Soochow University, 10 Guangqian Road, Xiangcheng District, Suzhou 215000, Jiangsu Province, 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 18, 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](mailto: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](mailto: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.



# 利拉鲁肽联合维生素E改善抗非酒精性脂肪肝小鼠肝损伤和胰岛素抵抗的作用及机制研究

宣宁昕, 俞文芹

宣宁昕, 俞文芹, 浙江中医药大学附属第三医院西药药剂科 浙江省杭州市 310005

宣宁昕, 药师, 主要从事药理学方面基础与临床研究.

**作者贡献分布:** 此课题由宣宁昕与俞文芹设计; 研究过程由宣宁昕与俞文芹操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由宣宁昕提供; 数据分析由宣宁昕与俞文芹完成; 本论文写作由宣宁昕完成.

**通讯作者:** 宣宁昕, 药师, 310005, 浙江省杭州市莫干山路219号, 浙江中医药大学附属第三医院西药药剂科. 3154131811@qq.com  
电话: 0571-88393564

收稿日期: 2018-08-27

修回日期: 2018-09-12

接受日期: 2018-09-18

在线出版日期: 2018-10-18

## Liraglutide combined with vitamin E alleviates liver injury and insulin resistance in mice with nonalcoholic fatty liver disease

Ning-Xin Xuan, Wen-Qin Yu

Ning-Xin Xuan, Wen-Qin Yu, Department of Pharmacy, The Third Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310005, Zhejiang Province, China

**Correspondence to:** Ning-Xin Xuan, Pharmacist, Department of Pharmacy, The Third Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, 219 Moganshan Road, Hangzhou 310005, Zhejiang Province, China. 3154131811@qq.com

Received: 2018-08-27

Revised: 2018-09-12

Accepted: 2018-09-18

Published online: 2018-10-18

## Abstract

### AIM

To investigate whether liraglutide combined with

vitamin E protects against liver injury and insulin resistance in mice with nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) and explore the underlying mechanisms.

## METHODS

C57BL/6 mice were divided into a control group, an NAFLD model group, a liraglutide treated group, and a liraglutide combined with vitamin E treated group. Peripheral blood samples and liver tissues of mice in each group were collected for biochemical and pathological estimations, respectively. Western blot was applied to detect the phosphorylation level of IRS-1 in liver tissues of mice in each group.

## RESULTS

Liraglutide attenuated high fat diet (HFD)-induced weight gain, obesity, hepatocellular ballooning, liver lipid accumulation, and collagen fibril deposition and reduced plasma free fatty acid (FFA), triglyceride (TG), total cholesterol (TC), alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, glucose, and insulin levels and homeostasis model of insulin resistance (HOMA-IR) value in mice with NAFLD. Western blot analysis showed that liraglutide increased the sensitivity to insulin by activating the IRS-1 signaling pathway in NAFLD mice. Further, vitamin E and liraglutide had a synergistic anti-NAFLD effect.

## CONCLUSION

This study reveals that liraglutide combined with vitamin E is an attractive therapeutic strategy for the treatment of NAFLD.

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

**Key Words:** Liraglutide; Vitamin E; Nonalcoholic fatty liver disease; Insulin resistance

Xuan NX, Yu WQ. Liraglutide combined with vitamin E alleviates liver injury and insulin resistance in mice with nonalcoholic fatty liver disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2018; 26(29): 1688-1695  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v26/i29/1688.htm> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v26.i29.1688>

## 摘要

### 目的

探讨利拉鲁肽联合维生素E对非酒精性脂肪肝(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)小鼠肝损伤和胰岛素抵抗的改善作用和潜在的机制。

### 方法

C57BL/6小鼠分为对照组、NAFLD小鼠模型组、利拉鲁肽治疗组、利拉鲁肽联合维生素E治疗组。收集各组小鼠血液和肝组织并进行生化和病理检测;并应用Western blotting检测各组小鼠肝组织IRS-1磷酸化水平。

### 结果

利拉鲁肽抑制高脂饮食诱导的小鼠体重增加、肥胖、肝细胞肿胀、肝脂质蓄积和胶原纤维沉积、血浆游离脂肪酸、甘油三酯、胆固醇、血清丙氨酸氨基转移酶、天门冬氨酸氨基转移酶、葡萄糖和胰岛素水平以及胰岛素抵抗稳态模型值。Western blotting结果表明,利拉鲁肽通过激活IRS-1信号通路增加NAFLD小鼠对胰岛素的敏感性。此外,维生素E与利拉鲁肽在抗NAFLD具有协同作用。

### 结论

本研究揭示利拉鲁肽联合维生素E是治疗NAFLD有吸引力的治疗策略。

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

**关键词:** 利拉鲁肽; 维生素E; 非酒精性脂肪性肝病; 胰岛素抵抗

**核心提要:** 利拉鲁肽联合维生素E在改善高脂饮食诱导的非酒精性脂肪性肝病小鼠肥胖参数、代谢参数、肝损伤和抑制高脂饮食诱导的肝胰岛素抵抗方面具有协同作用。

宣宁昕, 俞文芹. 利拉鲁肽联合维生素E改善抗非酒精性脂肪肝小鼠肝损伤和胰岛素抵抗的作用及机制研究. *世界华人消化杂志* 2018; 26(29): 1688-1695 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v26/i29/1688.htm> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v26.i29.1688>

## 0 引言

非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease,

NAFLD)指排除饮酒、肝炎病毒等因素,因代谢异常所致的以肝细胞脂肪变性和脂质蓄积为主要特征的慢性肝疾病。从全球范围看,NAFLD影响约30%成年人口<sup>[1]</sup>;其中,在欧美等发达国家NAFLD的患病率约25%-30%<sup>[2]</sup>,虽然我国NAFLD患病率相较西方发达国家低,但由于近年来人们生活方式和饮食结构的改变,造成NAFLD的患病率已至15%-20%<sup>[3]</sup>,尤其以腹型肥胖为特征的人群NAFLD的患病率更是高达75%-100%<sup>[4]</sup>;并且,目前NAFLD已呈现低龄化趋势<sup>[5]</sup>;因此,NAFLD已经成为一个世界性公共卫生问题。目前临床上尚无特效治疗NAFLD的药物,报道称利拉鲁肽联合维生素E能用于NAFLD的治疗<sup>[6]</sup>,而关于利拉鲁肽联合维生素E抗NAFLD机制尚未完全清楚,因此本研究以利拉鲁肽联合维生素E治疗抗NAFLD小鼠,以寻求其潜在的机制。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

1.1.1 实验动物: 40只6 wk龄SPF级C57BL/6小鼠,饲养于模拟昼夜交替的22-25 °C环境中,标准饮水、饮食。

1.1.2 实验试剂: 利拉鲁肽注射液(诺和力)购自丹麦诺和诺德公司;维生素E购自浙江医药股份有限公司;小鼠胰岛素ELISA试剂盒购自武汉艾美捷科技有限公司;小鼠丙氨酸氨基转移酶、天门冬氨酸氨基转移酶、高密度脂蛋白-胆固醇、低密度脂蛋白-胆固醇、游离脂肪酸、甘油、乳酸、血糖、总胆固醇和甘油三酯试剂盒均购自南京建成生物工程研究所有限公司; p-IRS-1(Tyr608)、p-IRS-1(Ser307)、IRS-1抗体购自美国Cell Signaling Technology公司; β-actin抗体购自江苏碧云天生物技术有限公司。

### 1.2 方法

1.2.1 NAFLD小鼠模型建立与分组: 40只C57BL/6小鼠,随机分为对照组、模型组、利拉鲁肽治疗组、利拉鲁肽联合维生素E治疗组,每组10只小鼠。对照组采用普通饲料喂养连续喂养12 wk;模型组采用高脂饲料(60%普通饲料、35%猪油、5%胆固醇)连续喂养12 wk;利拉鲁肽治疗组、利拉鲁肽联合维生素E治疗组采用高脂饲料连续喂养12,但在第8周末利拉鲁肽治疗组每只分别灌胃250 mg/kg·d维生素E,利拉鲁肽联合维生素E治疗组每只灌胃250 mg/kg·d维生素E和腹腔注射0.6 mg/kg·d利拉鲁肽。

1.2.2 体成分测定: 3%戊巴比妥钠(0.2 mL/100g)麻醉小鼠,在麻醉状态下,通过微电脑断层扫描(micro-CT, INVEON, Siemens, TN, 美国),用自带软件计算对体成分和体重进行分析。

1.2.3 代谢测定: 单独安置小鼠于代谢笼24 h,测量食物

和水的摄入量. 并测量呼吸交换率(RER), 用( $\text{VCO}_2/\text{VO}_2$ )表示.

1.2.4 肝功能血液生化检测: 喂养结束后, 3%戊巴比妥钠(0.2 mL/100 g)麻醉小鼠, 收集小鼠下腔静脉血. 血清丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)、游离脂肪酸(free fatty acid, FFA)、甘油(glycerol)、乳酸(lactate)空腹血糖(fasting blood glucose, FBG)、胆固醇(total cholesterol, TC)和甘油三脂(total triglycerides, TG)通过全自动生化分析仪测定; 空腹胰岛素(fasting insulin, FINS)通过ELISA法测定, 并计算胰岛素抵抗指数(homeostasis assessment of insulin resistance, HOMA-IR) =  $\text{FBG} \times \text{FINS} / 22.5$ . 葡萄糖耐量试验(glucose tolerance test, GTT)在喂养高脂饮食12 wk后禁食10 h后, 小鼠体内注射1.5 g葡萄糖/kg后测定; 胰岛素耐受测试(insulin tolerance test, ITT)在非禁食小鼠注射0.5 IU/kg胰岛素后测定.

1.2.5 肝组织TC、TG检测: 喂养结束后, 3%戊巴比妥钠(0.2 mL/100 g)麻醉小鼠, 分离肝组织. 称取100 mg肝组织, 置于1 mL无水乙醇的匀浆介质中, 制备成10%的肝组织匀浆. 4 °C条件下以12000×g/min离心10 min, 收集上清液. 上清液中TG和TC含量通过全自动生化分析仪测定.

1.2.6 组织切片制备: 取小鼠白色脂肪组织(white adipose tissue, WAT)、褐色脂肪组织(brown adipose tissue, BAT)和肝组织, 脱水, 10%的福尔马林固定, 包埋于新鲜的石蜡中.

1.2.7 油红O染色: 取5 μm厚度的小鼠肝组织切片, 经脱蜡水化后, 10%多聚甲醛固定30min, 双蒸水洗涤30 s, 0.05%Triton-100透膜10 min, 60%异丙醇浸泡30 s, 油红O染色30 min, 60%异丙醇漂洗1 min, 显微镜下拍照.

1.2.8 HE染色: 取5 μm厚度肝组织切片, 经脱蜡水化后, 苏木素染色液浸泡 5 min, 双蒸水洗涤1 min后, 1%盐酸酒精分化30 s, 1% $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 溶液返蓝1 s, 双蒸水洗涤1 min, 1%伊红染色液浸泡3 min, 酒精梯度脱水, 二甲苯透明, 中性树胶封片, 显微镜下观察并拍片.

1.2.9 Masson染色: 取5 μm厚度肝组织切片, 经脱蜡水化后, Weigert苏木精液染核5 min, Masson丽春红复染5 min, 2%冰醋酸浸洗5 s, 1%磷钼酸水溶液分化2 min, 苯胺蓝染色5 min, 0.2%冰醋酸浸洗10 s, 酒精梯度脱水, 二甲苯透明, 中性树胶封片, 显微镜下观察并拍片.

1.2.10 Western blot检测: 肝组织匀浆后, 4 °C条件下加入裂解液裂解30 min并12000×g/min离心10 min萃取总蛋白质. 蛋白质经BCA蛋白定量后进行SDS-PAGE电泳, 蛋白电转至PVDF膜. PVDF膜加入5%脱脂牛奶室温放

置1 h, 加入相应的一抗, 4 °C孵育过夜, 随后室温加入对应二抗1 h, 化学发光法显色, 曝光于胶片上, 用Image J进行灰度分析.

**统计学处理** 实验结果录入SPSS17.0统计软件处理, 实验结果采用 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示, 多组间数据的两两比较采用方差分析后post hoc Tukey's test检验, 以 $P < 0.05$ 认定为差异有显著性差异.

## 2 结果

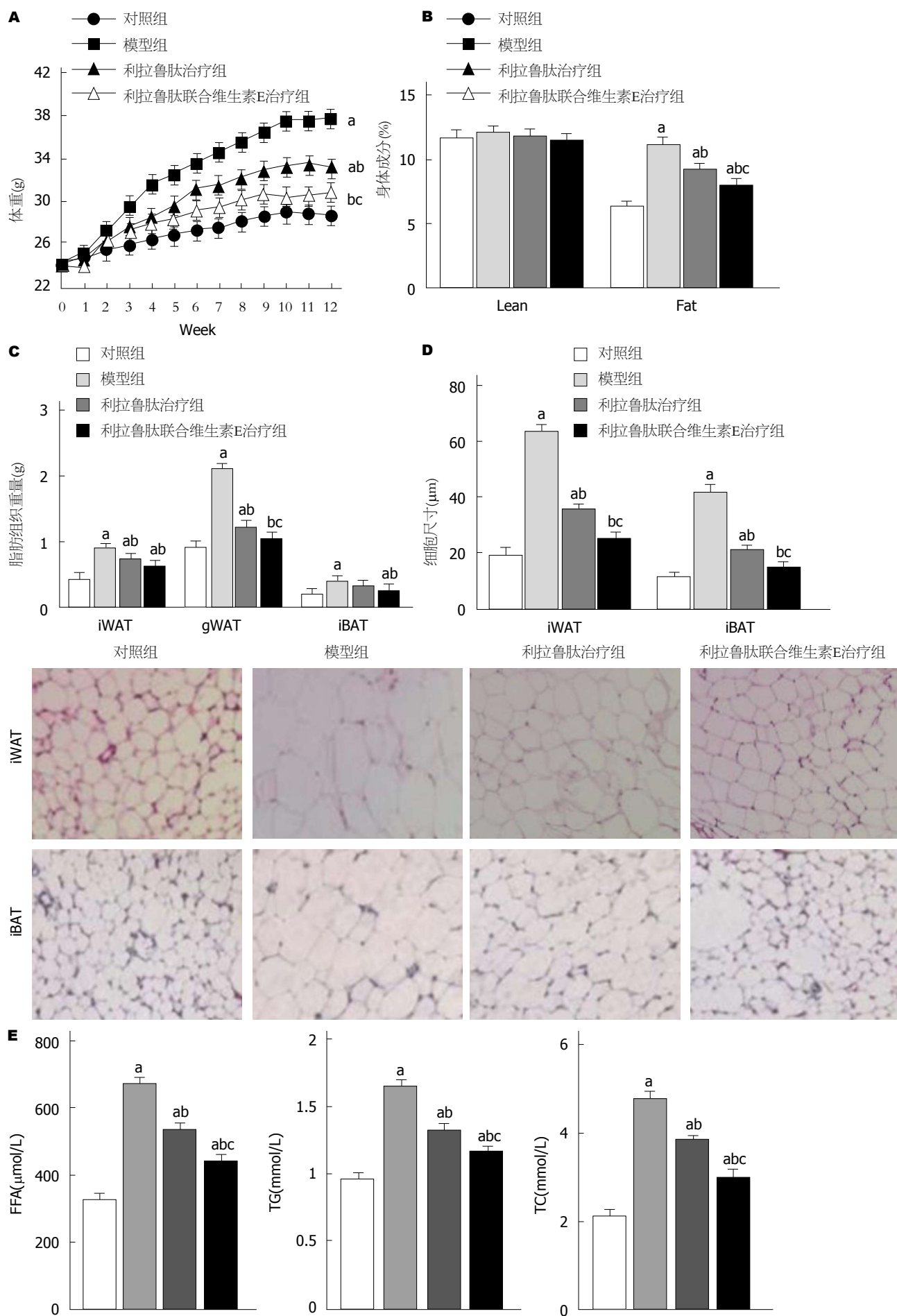
2.1 利拉鲁肽联合维生素E对高脂饮食诱导的小鼠肥胖参数变化的影响 利拉鲁肽或利拉鲁肽联合维生素E均能显著抑制NAFLD小鼠体重质量(图1A)和脂肪质量(均 $P < 0.05$ )(图1B); 改善NAFLD小鼠脂肪组织形态和组织学形态(均 $P < 0.05$ ), 减少鼠蹊部和肩胛部的脂肪细胞直径(均 $P < 0.05$ )(图1D); 抑制NAFLD小鼠血浆FFA、TG、TC、甘油和乳酸水平(均 $P < 0.05$ )(图1E), 且维生素E与利拉鲁肽具有协同作用(均 $P < 0.05$ ). 此外, 利拉鲁肽联合维生素E能抑制鼠蹊部脂肪、性腺部脂肪和肩胛部脂肪质量(均 $P < 0.05$ ).

2.2 利拉鲁肽联合维生素E对高脂饮食诱导的小鼠代谢参数变化的影响 对照组相比, 高脂饮食组小鼠食物摄入量的显著降低( $P < 0.05$ ); 水摄入量无显著差异(均 $P > 0.05$ ); 与对照组相比, 模型组小鼠的RER显著降低( $P < 0.05$ ), 与模型组相比, 利拉鲁肽组、利拉鲁肽联合维生素E组小鼠RER显著升高(均 $P < 0.05$ )(图2).

2.3 利拉鲁肽联合维生素E对高脂饮食诱导的小鼠的肝损伤的影响 与对照组相比, 模型组小鼠的肝细胞膨胀、炎性细胞浸润、肝细胞脂滴沉积和胶原纤维的沉积, 与模型组相比, 利拉鲁肽或者利拉鲁肽联合维生素E均能抑制这一现象(图3A). 与对照组相比, 模型组小鼠血浆ALT和AST水平、肝TC和TG水平、小鼠肝指数(肝脏重量与体重之比)均显著升高(均 $P < 0.05$ ), 与模型组相比, 利拉鲁肽或利拉鲁肽联合维生素E组以上指标均明显降低(均 $P < 0.05$ )(图3B), 且维生素E与利拉鲁肽对高脂饮食诱导的小鼠的肝损伤起的保护作用具有协同作用( $P < 0.05$ )(图3).

2.4 利拉鲁肽联合维生素E对高脂饮食诱导的肝胰岛素抵抗的影响 与对照组相比, 模型组小鼠空腹血糖、胰岛素和HOMA-IR值明显升高(均 $P < 0.05$ ); 与模型组相比, 利拉鲁肽或利拉鲁肽联合维生素E治疗后以上指标均明显降低(均 $P < 0.05$ )(图4A). GTT和ITT结果暗示, 利拉鲁肽组或利拉鲁肽联合维生素E组小鼠能清除葡萄糖或者胰岛素造成的血浆葡萄糖后葡萄糖(图4B和C). 另外, 本实验发现维生素E与利拉鲁肽在改善血清清除和提高胰岛素敏感性方面具有协同作用.





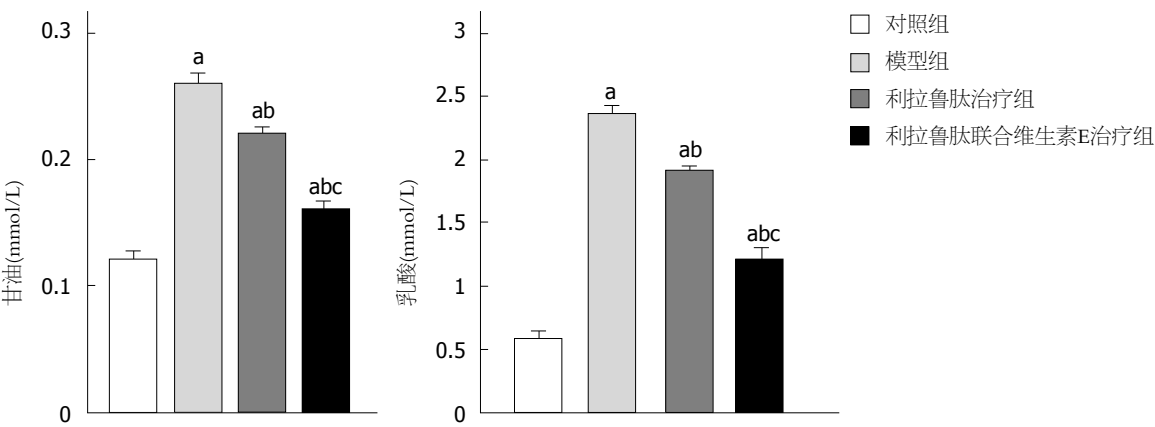


图 1 利拉鲁肽联合维生素E对高脂饮食诱导的小鼠肥胖参数的影响. 各组小鼠分别喂养12 wk, A: 体重变化; B: 身体成分组成变化; C: 脂肪成分变化; D: 踝部白色脂肪和肩胛部褐色脂肪HE染色, 并计算脂肪细胞平均直径; E: 生化检测血清FFA、TG、TC、甘油和乳酸水平( $n = 10$ ,  $^aP < 0.05$ , 与对照组比较;  $^bP < 0.05$ , 与模型组比较;  $^cP < 0.05$ , 与利拉鲁肽组比较). iWAT: 踝部白色脂肪; gWAT: 性腺部白色脂肪; iBAT: 肩胛部褐色脂肪; FFA: 游离脂肪酸; TC: 胆固醇; TG: 甘油三酯.

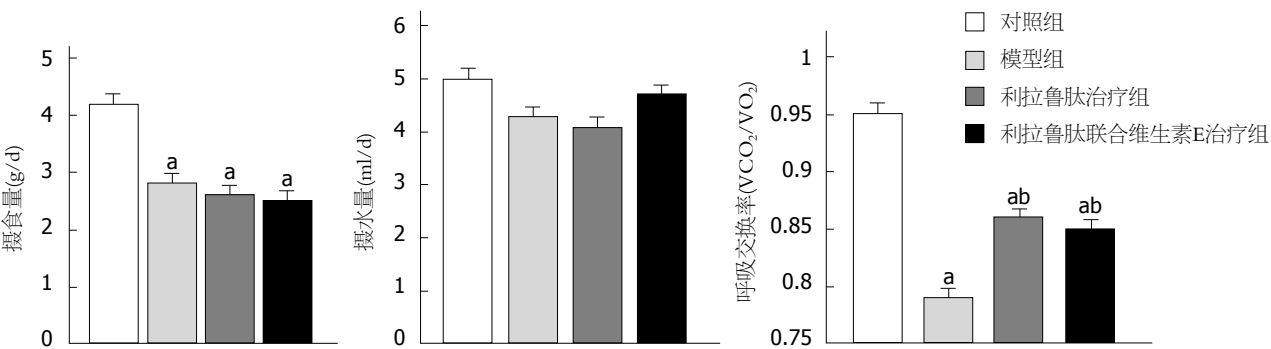
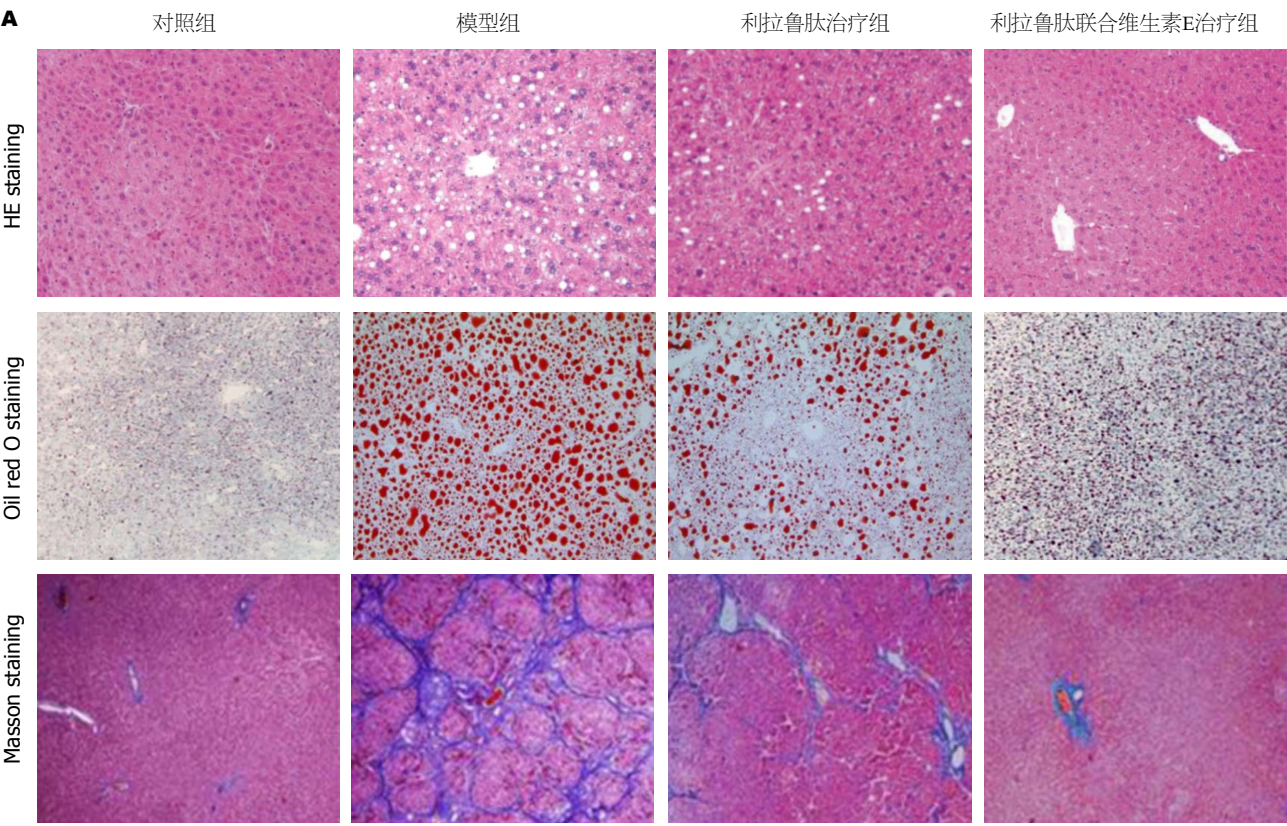


图 2 利拉鲁肽联合维生素E对高脂饮食诱导的小鼠代谢参数(摄食量、摄水量、呼吸交换率)变化的影响.  $n = 10$ ,  $^aP < 0.05$ , 与对照组比较;  $^bP < 0.05$ , 与模型组比较.



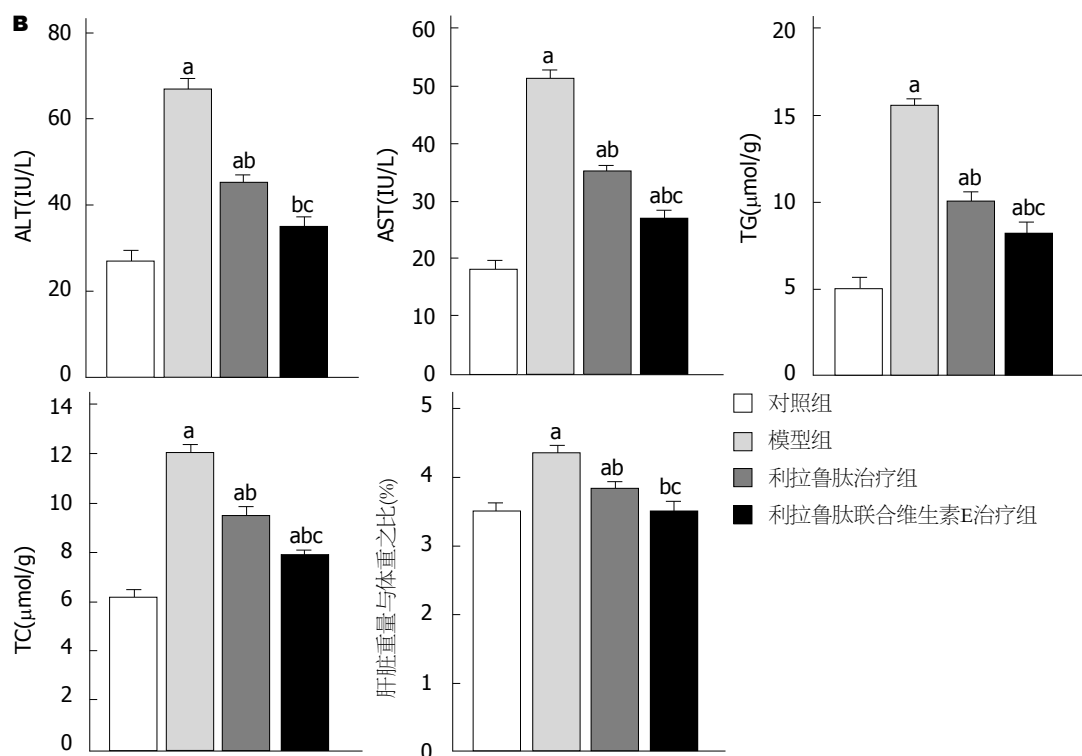


图 3 利拉鲁肽联合维生素E改善高脂饮食诱导的小鼠的肝损伤. A: 小鼠肝组织切片HE染色、油红O染色和Masson染色; B: 血清血清丙氨酸氨基转移酶、血清天门冬氨酸氨基转移酶、肝组织甘油三酯、肝组织甘油三酯和肝指数(肝脏重量与体重之比)检测( $n = 5$ ,  $^aP < 0.05$ , 与对照组比较;  $^bP < 0.05$ , 与模型组比较;  $^cP < 0.05$ , 与利拉鲁肽组比较).

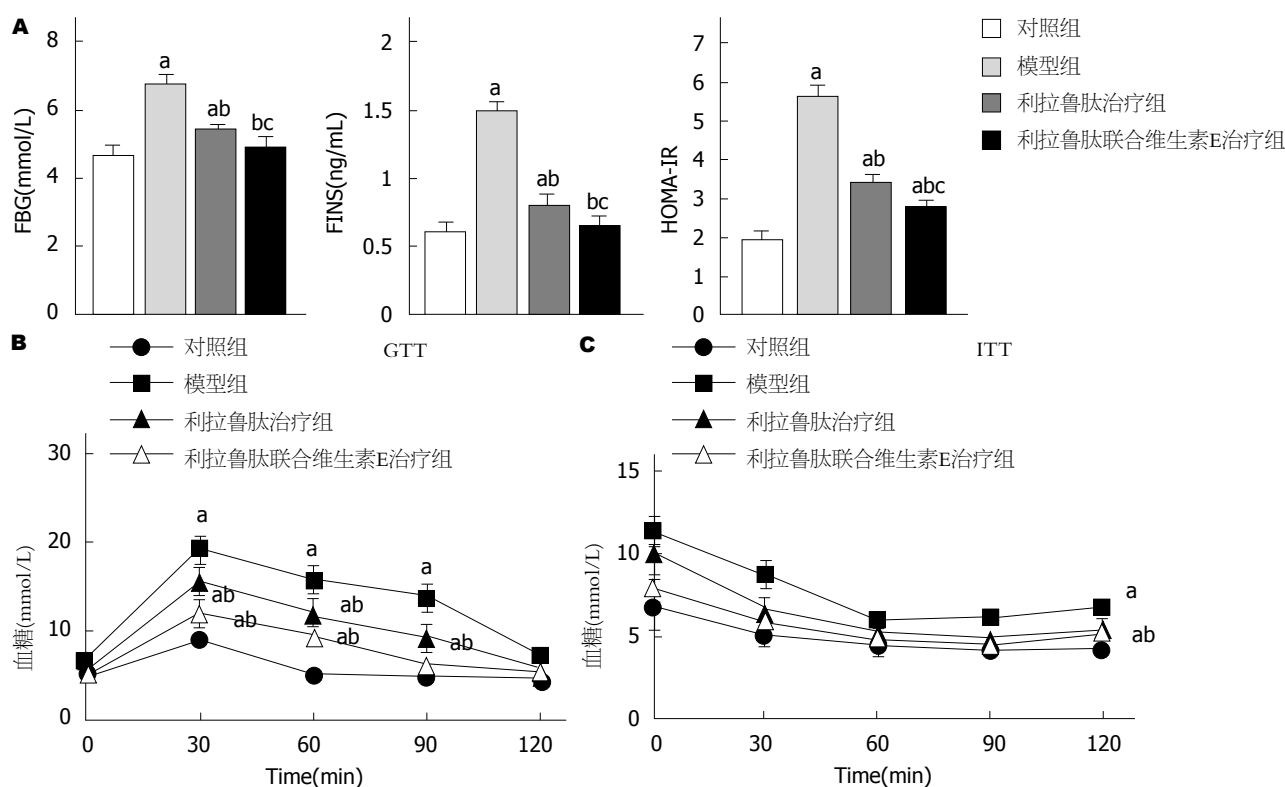


图 4 利拉鲁肽联合维生素E抑制高脂饮食诱导的胰岛素抵抗. A: 空腹血糖、胰岛素和稳态模型评估小鼠的IR值; B: 糖耐量试验; C: 胰岛素耐量试验( $n = 5$ ,  $^aP < 0.05$ , 与对照组比较;  $^bP < 0.05$ , 与模型组比较;  $^cP < 0.05$ , 与利拉鲁肽组比较).

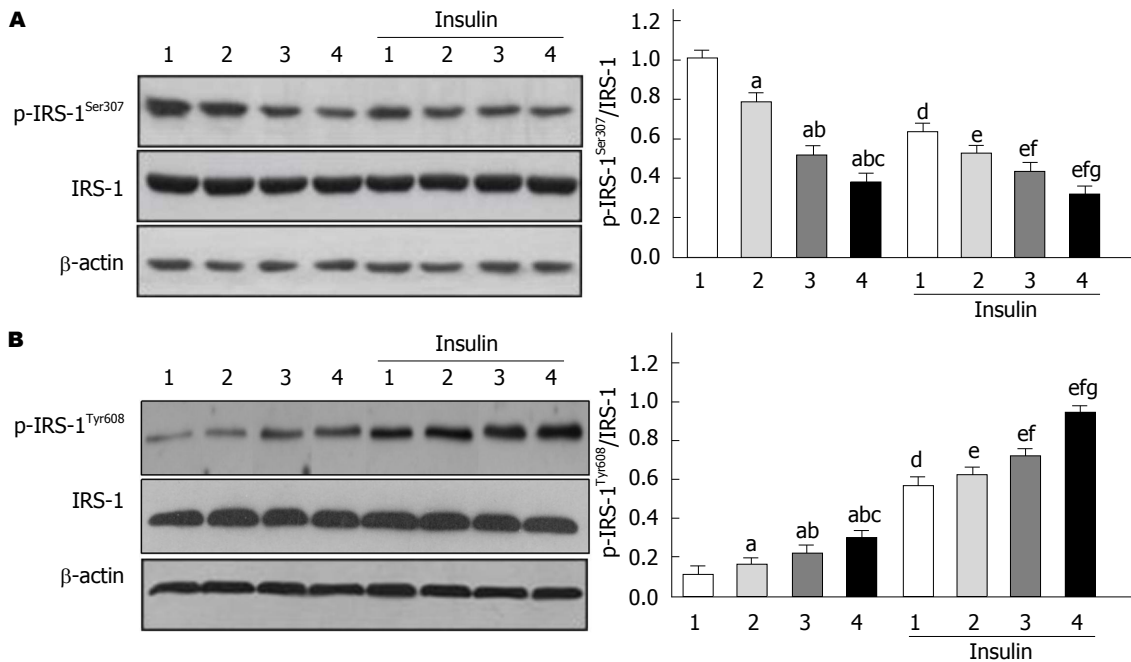


图 5 利拉鲁肽联合维生素E激活肝胰岛素信号通路. A: 在基础条件下, 对小鼠肝内注射胰岛素(1.0 U/kg 15 min)后的IRS-1(Ser307)表达; B: 在基础条件下, 对小鼠肝内注射胰岛素(1.0 U/kg 15 min)后的IRS-1(Tyr608)表达( $n = 5$ ,  $^aP < 0.05$ , 与对照组比较;  $^bP < 0.05$ , 与模型组比较;  $^cP < 0.05$ , 与利拉鲁肽组比较;  $^dP < 0.05$ , 与对照组比较;  $^eP < 0.05$ , 与对照+胰岛素组比较;  $^fP < 0.05$ , 与模型+胰岛素组比较;  $^gP < 0.05$ , 与利拉鲁肽+胰岛素组比较)(1: 对照组; 2: 模型组; 3: 利拉鲁肽组; 4: 利拉鲁肽联合维生素E组).

2.5 利拉鲁肽联合维生素E对高脂饮食诱导的肝胰岛素信号通路的影响 Western blotting显示(图5), 利拉鲁肽或利拉鲁肽联合维生素E治疗的高脂饮食小鼠激活了胰岛素信号, 表现为IRS-1(Tyr608)磷酸化激活( $P < 0.05$ )以及IRS-1(Ser307)磷酸化减少( $P < 0.05$ ); 且, 腹腔注射胰岛素显著诱导胰岛素信号激活( $P < 0.05$ ), 利拉鲁肽或者利拉鲁肽联合维生素E治疗后进一步增强( $P < 0.05$ ). 另外, 维生素E与利拉鲁肽在胰岛素信号激活方面具有协同效应。

### 3 讨论

NAFLD主要由胰岛素抵抗(insulin resistance, IR)诱发的以肝脏脂质蓄积为特征的肝细胞炎症和应激性肝损伤<sup>[4,7]</sup>, 且通常伴发腹型肥胖、高血脂等<sup>[4,8]</sup>. 本研究发现, 利拉鲁肽或利拉鲁肽联合维生素E能抑制高脂饮食小鼠肥胖, 原因可能是利拉鲁肽或利拉鲁肽联合维生素E抑制高脂饮食诱导脂肪生成与加快脂肪燃烧相关。

目前较为成熟NAFLD的发病机制是“二次打击”学说. 第一次打击主要由胰岛素抵抗造成肝脂质沉积<sup>[9]</sup>, 第二次打击主要由氧化应激和脂质过氧化引起的肝细胞的脂质炎症反应、细胞损伤、坏死和纤维化<sup>[10]</sup>. 众多文献表明<sup>[11,12]</sup>, TC与TG的异常升高有助于NAFLD的进展. 高脂饮食促进血液中游离FFA增多, 过量循环FFA使得TG、TC和脂肪酸合成增多<sup>[13]</sup>, 且FFA高水平可引起胰岛素抵抗, 使肝脏脂质代谢紊乱, 最终导致肝脂质沉

积<sup>[14]</sup>. 另外, FFA水平过高, 会造成过量氧自由基(reactive oxygen species, ROS)生成, 随之引起的脂质过氧化反应和内质网应激反应, 造成肝脏损伤<sup>[15]</sup>. 在本研究中, 模型组小鼠FFA、TG、TC、脂肪酸、血糖、胰岛素和HOMA-IR值升高, 而利拉鲁肽或利拉鲁肽联合维生素E能抑制以上指标. 利拉鲁肽为胰高血糖素样肽-1类似物, 可通过抑制TG、TC和氧化低密度脂蛋白的合成从而改善肝脏的脂质代谢<sup>[16]</sup>. 而维生素E与利拉鲁肽之所以具有协同作用, 原因可能为维生素E作为抗氧化剂在联合抗NAFLD的过程中抑制ROS生成和减轻脂质过氧化反应和内质网应激反应, 缓解的脂质过氧化反应和内质网应激反应会减轻肝损伤促使功能恢复, 最终反馈调控肝细胞脂质代谢, 造成更低水平的FFA、TG、TC、脂肪酸、血糖、胰岛素和HOMA-IR值, 最终抑制NAFLD。

总之, 拉鲁肽联合维生素E在治疗NAFLD具有协同作用, 其机制可能与抑制脂质过氧化反应和内质网应激反应, 减轻肝损伤和抑制胰岛素抵抗相关。

### 文章亮点

#### 实验背景

非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)是一个世界性公共卫生问题, 严重威胁着人类生命健康. 近些年其发病率呈现逐年上升趋势, 且发病年龄也呈低龄化趋势。



## 实验动机

目前尚有治疗NAFLD的特效药物。目前, 临床上有使用利拉鲁肽联合维生素E治疗NAFLD。但关于利拉鲁肽联合维生素E治疗NAFLD的机制尚未清楚。

## 实验目标

研究利拉鲁肽联合维生素E对高脂饮食诱导的NAFLD小鼠的肥胖、肝损伤和胰岛素抵抗的治疗作用和分析其机制。

## 实验方法

采用高脂饮食建立NAFLD小鼠模型, 应用体成分测定、代谢测定、血液和肝组织生化和病理检测观察利拉鲁肽联合维生素E对NAFLD小鼠肥胖参数、代谢参数、肝损伤参数、肝胰岛素抵抗参数的改善作用以及应用Western blot检测肝组织胰岛素信号通路评估其相关机制。

## 实验结果

利拉鲁肽联合维生素E在改善高脂饮食诱导的小鼠肥胖参数、代谢参数、肝损伤和肝胰岛素抵抗方面具有协同作用。

## 实验结论

利拉鲁肽联合维生素E在改善NAFLD小鼠肝损伤和胰岛素抵抗具有协同作用, 本研究结果为利拉鲁肽联合维生素E用于治疗NAFLD提供实验依据。

## 展望前景

本研究发现拉鲁肽联合维生素E对高脂饮食诱导的NAFLD小鼠减轻肝损伤和抑制胰岛素抵抗具有协同作用。未来将进一步研究拉鲁肽联合维生素E对高脂饮食诱导的NAFLD小鼠肝脂代谢和内质网应激反应的影响, 为利拉鲁肽联合维生素E用于治疗NAFLD提供更多的实验依据。

## 4 参考文献

- 1 Wree A, Broderick L, Canbay A, Hoffman HM, Feldstein AE. From NAFLD to NASH to cirrhosis-new insights into disease mechanisms. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2013; 10: 627-636 [PMID: 23958599 DOI: 10.1038/nrgastro.2013.149]
- 2 Neuschwander-Tetri BA, Clark JM, Bass NM, Van Natta ML, Unalp-Arida A, Tonascia J, Zein CO, Brunt EM, Kleiner DE, McCullough AJ, Sanyal AJ, Diehl AM, Lavine JE, Chalasani N, Kowdley KV; NASH Clinical Research Network. Clinical, laboratory and histological associations in adults with nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2010; 52: 913-924

- [PMID: 20648476 DOI: 10.1002/hep.23784]
- 3 Ofosu A, Ramai D, Reddy M. Non-alcoholic fatty liver disease: controlling an emerging epidemic, challenges, and future directions. *Ann Gastroenterol* 2018; 31: 288-295 [PMID: 29720854 DOI: 10.20524/aog.2018.0240]
- 4 Kim JY, Cho J, Yang HR. Biochemical Predictors of Early Onset Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in Young Children with Obesity. *J Korean Med Sci* 2018; 33: e122 [PMID: 29651819 DOI: 10.3346/jkms.2018.33.e122]
- 5 Hartmann P, Schnabl B. Risk factors for progression of and treatment options for NAFLD in children. *Clin Liver Dis (Hoboken)* 2018; 11: 11-15 [PMID: 29629177 DOI: 10.1002/cld.685]
- 6 Banini BA, Sanyal AJ. Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Epidemiology, Pathogenesis, Natural History, Diagnosis, and Current Treatment Options. *Clin Med Insights Ther* 2016; 8: 75-84 [PMID: 28670148]
- 7 Yan H, Gao YQ, Zhang Y, Wang H, Liu GS, Lei JY. Chlorogenic acid alleviates autophagy and insulin resistance by suppressing JNK pathway in a rat model of nonalcoholic fatty liver disease. *J Biosci* 2018; 43: 287-294 [PMID: 29872017 DOI: 10.1007/s12038-018-9746-5]
- 8 Zhao ZY, Liu D, Cao WJ, Sun M, Song MS, Wang W, Wang YX. Association between IgG N-glycans and Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Han Chinese. *Biomed Environ Sci* 2018; 31: 454-458 [PMID: 30025558 DOI: 10.3967/bes2018.059]
- 9 Guo CH, Chen WL, Liao CH, Huang K, Chen PY, Yang CP. Effects of Chinese Medicinal Formula BNG-1 on Phosphodiesterase 3B Expression, Hepatic Steatosis, and Insulin Resistance in High Fat Diet-induced NAFLD Mice. *Int J Med Sci* 2018; 15: 1194-1202 [PMID: 30123057 DOI: 10.7150/ijms.26941]
- 10 Tilg H, Moschen AR, Szabo G. Interleukin-1 and inflammasomes in alcoholic liver disease/acute alcoholic hepatitis and nonalcoholic fatty liver disease/nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 2016; 64: 955-965 [PMID: 26773297 DOI: 10.1002/hep.28456]
- 11 Czech MP. Insulin action and resistance in obesity and type 2 diabetes. *Nat Med* 2017; 23: 804-814 [PMID: 28697184 DOI: 10.1038/nm.4350]
- 12 Csak T, Ganz M, Pespisa J, Kodys K, Dolganiuc A, Szabo G. Fatty acid and endotoxin activate inflammasomes in mouse hepatocytes that release danger signals to stimulate immune cells. *Hepatology* 2011; 54: 133-144 [PMID: 21488066 DOI: 10.1002/hep.24341]
- 13 Staehr P, Hother-Nielsen O, Landau BR, Chandramouli V, Holst JJ, Beck-Nielsen H. Effects of free fatty acids per se on glucose production, gluconeogenesis, and glycogenolysis. *Diabetes* 2003; 52: 260-267 [PMID: 12540595 DOI: 10.2337/diabetes.52.2.260]
- 14 Samuel VT, Shulman GI. Mechanisms for insulin resistance: common threads and missing links. *Cell* 2012; 148: 852-871 [PMID: 22385956 DOI: 10.1016/j.cell.2012.02.017]
- 15 Wu W, Hu X, Zhou X, Klenotic PA, Zhou Q, Lin Z. Myeloid deficiency of CCN3 exacerbates liver injury in a mouse model of nonalcoholic fatty liver disease. *J Cell Commun Signal* 2018; 12: 389-399 [PMID: 29214510 DOI: 10.1007/s12079-017-0432-4]
- 16 Zhao XY, Zhang LL, Suolang QZ, Yang GY, Li L, Li SB, Chen WW. Liraglutide protects against nonalcoholic fatty liver disease in ApoE knockout mice with high-fat diet and silenced Acip30 by increasing AMPK. *Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi* 2014; 22: 849-853 [PMID: 25531383 DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-3418.2014.11.010]

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](mailto:bpgoffice@wjgnet.com)  
<http://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079

