

世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2018 年 3 月 28 日 第 26 卷 第 9 期 (Volume 26 Number 9)



9/2018

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.



基础研究

- 543 大黄素对急性肝衰竭大鼠NF- κ B信号通路的调控作用的影响

王凤玲

- 550 腹腔感染患者腹腔引流液中病原菌分布及其耐药性情况观察

魏寒松

文献综述

- 557 肝癌分子病理流行病学

高春

临床实践

- 564 实时剪切波弹性成像评估拉米夫定对慢性乙型肝炎肝纤维化疗效的应用价值

矫敏, 董惠惠

- 569 药物治疗联合系统护理对轮状病毒肠炎患儿的疗效及相关生化因子的影响

江丹红

- 575 中药红藤汤联合抗菌素治疗阑尾周围脓肿疗效分析及免疫机制探讨

朱林波, 李鹏飞, 张鹏斌

- 581 乳果糖联合普芦卡必利治疗老年蛛网膜下腔出血并发难治性便秘的价值

陈敦平, 董勤勇

消 息

- 549 《世界华人消化杂志》参考文献要求
563 《世界华人消化杂志》消化护理学领域征稿启事
574 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标
580 《世界华人消化杂志》正文要求
586 《世界华人消化杂志》参考文献要求

封面故事

《世界华人消化杂志》编委, 王长森, 博士, 教授, 主任医师, 硕士生导师, 116011, 辽宁省大连市西岗区中山路222号, 大连医科大学附属第一医院普外科. 从事临床及科研工作29年, 现任辽宁省中西医结合学会常务理事、中国中西医结合学会普外科分会委员、辽宁省中西医结合普外科学会副主任委员, 辽宁省医学会肠内肠外营养分会常务委员. 主持国家自然科学基金(面上项目)3项. 发表SCI文章及国家级文章20余篇. 获中西医结合学会一等奖等多项奖励.

本期责任人

编务 李香; 送审编辑 闫晋利; 组版编辑 闫晋利; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 马亚娟; 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 2018-03-28

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.

《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 9 March 28, 2018

BASIC RESEARCH

- 543 Regulatory effect of emodin on NF- κ B signaling pathway in rats with acute liver failure

Wang FL

- 550 Pathogenic bacteria in abdominal cavity drainage of patients with intraabdominal infection and their drug resistance

Wei HS

REVIEW

- 557 Molecular pathological epidemiology of hepatocellular carcinoma

Gao C

CLINICAL PRACTICE

- 564 Evaluation of efficacy of lamivudine for liver fibrosis in patients with chronic hepatitis B by real-time shear wave elastography

Jiao M, Dong HH

- 569 Drug therapy combined with systematic nursing for children with rotavirus enteritis: Therapeutic effect and impact on serum cytokines

Jiang DH

- 575 Hongteng decoction combined with antibiotic therapy for treatment of periappendiceal abscess: Therapeutic effect and possible immune mechanism

Zhu LB, Li PF, Zhang PB

- 581 Value of lactulose combined with prucalopride in treatment of refractory constipation in elderly patients with subarachnoid hemorrhage

Chen DP, Dong QY

Contents

World Chinese Journal of Digestology
Volume 26 Number 9 March 28, 2018

COVER

Editorial Board Member of *World Chinese Journal of Digestology*, Chang-Miao Wang, Professor, Chief Physician, Department of General Surgery, First Affiliated Hospital of Dalian Medical University, 222 Zhongshan Road, Xigang District, Dalian 116011, Liaoning 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: *Jin-Li Yan* Electronic Editor: *Jin-Li Yan* English Language Editor: *Tian-Qi Wang* Editor-in-Charge: *Ya-Juan Ma* 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 March 28, 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: wjgd@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.

大黄素对急性肝衰竭大鼠NF- κ B信号通路的调控作用的影响

王凤玲

王凤玲, 台州市立医院感染科 浙江省台州市 318000

王凤玲, 主治医师, 主要从事CB1在急性肝衰竭大鼠肝组织中的变化及大黄素对其影响初探.

基金项目: 台州市科技计划基金资助项目, No. 170IKY43.

作者贡献分布: 本文由王凤玲独立完成.

通讯作者: 王凤玲, 主治医师, 318000, 浙江省台州市椒江区中山东路381号, 台州市立医院感染科. wangfengling_2005@163.com

收稿日期: 2017-01-28

修回日期: 2017-03-01

接受日期: 2018-03-10

在线出版日期: 2018-03-28

Regulatory effect of emodin on NF- κ B signaling pathway in rats with acute liver failure

Feng-Ling Wang

Feng-Ling Wang, Department of Infectious Diseases, Taizhou Municipal Hospital, Taizhou 318000, Zhejiang Province, China

Correspondence to: Feng-Ling Wang, Attending Physician, Department of Infectious Diseases, Taizhou Municipal Hospital, 381 Zhongshan East Road, Jiaojiang District, Taizhou 318000, Zhejiang Province, China. wangfengling_2005@163.com

Received: 2017-01-28

Revised: 2017-03-01

Accepted: 2018-03-10

Published online: 2018-03-28

Abstract

AIM

To assess the regulatory effect of emodin on the nuclear factor- κ B (NF- κ B) signaling pathway in rats with acute liver failure (ALF).

METHODS

Rats were injected intraperitoneally with D-galactosamine and lipopolysaccharide to induce ALF, and the treatment group and the positive control group were given rhubarb and biphenyl dimethyl ester, respectively, before modeling. The normal group was injected intraperitoneally with equal volume of normal saline. After 3 d of modeling for 16 h, the rats were sacrificed. Serum levels of alanine transaminase (ALT), aspartate transaminase (AST), nitrogen monoxide (NO), and interleukin (IL)-1 β were detected, and the activities of Caspase 3 and Caspase 8 in liver tissues were measured. The pathological morphology of the liver was detected by HE staining. Western blot was used to detect the protein expression of inducible nitric oxide synthase (iNOS), cyclooxygenase-2 (COX-2), Bcl-associated x protein (Bax), B-cell lymphoma-2 (Bcl-2), proliferation cell nucleus antigen (PCNA), NF- κ B p65, and I κ B α .

RESULTS

Compared with the normal group, serum levels of ALT and AST in the model group increased significantly ($P < 0.01$), and emodin treatment could effectively reduce the contents of ALT and AST ($P < 0.01$). In the ALF model group, serum ALT, AST, NO, and IL-1 β levels and the activities of Caspase 3 and Caspase 8 in liver tissues increased significantly, the protein expression of iNOS, COX-2 and Bax increased, the expression of Bcl-2 and PCNA decreased, and the phosphorylation of NF- κ B p65 and I κ B α was significant; emodin treatment could reverse these changes.

CONCLUSION

Emodin can reduce the contents of liver function enzymes and inflammatory factors in serum and regulate the expression of apoptosis related proteins

in ALF rats *via* the NF- κ B signaling pathway, thereby improving the symptoms of ALF rats.

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

Key Words: Emodin; Acute liver failure; Inflammation; Apoptosis; NF- κ B signaling pathway

Wang FL. Regulatory effect of emodin on NF- κ B signaling pathway in rats with acute liver failure. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2018; 26(9): 543-549 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v26/i9/543.htm> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v26.i9.543>

摘要

目的

研究急性肝衰竭大鼠采用大黄素治疗后对核因子- κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B)信号通路的调控作用。

方法

以D氨基半乳糖/脂多糖腹腔注射造模, 治疗组和阳性对照组于造模前分别给予大黄素, 联苯双酯, 正常组以等量生理盐水腹腔注射, 连续3 d造模16 h后, 尾静脉取血处死。检测各组大鼠血清谷丙转氨酶 (alanine transaminase, ALT)、谷草转氨酶 (aspartate transaminase, AST)、NO、白介素 (interleukin, IL)-1 β 含量及肝组织中Caspase 3、Caspase 8活性; HE染色检测肝脏病理学形态; Western blot检测iNOS、环氧合酶-2 (cyclooxygenase-2, COX-2)、Bcl-2相关x蛋白 (Bcl- associated x protein, Bax)、B淋巴细胞瘤-2基因 (B-cell lymphoma-2, Bcl-2)、增殖细胞核抗原 (proliferation cell nucleus antigen, PCNA)、NF- κ B p65及I κ B α 蛋白的表达。

结果

正常组较模型组血清中ALT、AST含量明显升高 ($P<0.01$); 大黄素治疗组可有效抑制ALT、AST含量的升高 ($P<0.01$)。急性肝衰竭 (acute liver failure, ALF)模型组血清中ALT、AST、NO、IL-1 β 含量及肝组织中Caspase 3、Caspase 8活性显著上升; iNOS、COX-2、Bax表达量升高, Bcl-2、PCNA表达量下降; NF- κ B p65、I κ B α 磷酸化显著, 大黄素治疗组可抑制此变化。

结论

大黄素通过NF- κ B信号通路, 可降低ALF大鼠血清中肝功能酶和炎症因子含量, 调节细胞凋亡相关蛋白表达, 从而改善ALF大鼠症状。

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

关键词: 大黄素; 急性肝衰竭; 炎症; 凋亡; NF- κ B信号通路

核心提要: 大黄素是一种从中药大黄素中提取出的蒽醌衍生物, 具有抗炎、抗肿瘤等广泛的生物活性, 且大黄素给药剂量达到3.0 mg/100 g体质量时不会对动物产生毒性。本研究评估了大黄素对急性肝功能衰竭大鼠炎症因子含量及肝功能酶可有效调节细胞凋亡。

王凤玲. 大黄素对急性肝衰竭大鼠NF- κ B信号通路的调控作用的影响. *世界华人消化杂志* 2018; 26(9): 543-549 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v26/i9/543.htm> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v26.i9.543>

0 引言

急性肝功能衰竭 (acute liver failure, ALF) 是由于多种因素引起的大量肝细胞坏死, 炎症细胞浸润而导致的细胞器官严重衰竭的临床综合征, 严重危害人体健康。其临床死亡率高达50%以上。不同因素诱发的ALF最终都会导致炎症细胞的活化, 进而加重肝细胞的坏死, 导致肝脏合成、代谢、转运和排泄发生严重障碍, 进而出现各种临床症状^[1,2]。肝衰竭在中医上属于黄疸, 其基本病理为“毒”“瘀”“痰”互结, 治疗关键在于解毒, 化瘀。而大黄 (*Rheum palmatum* L.) 来源于蓼科植物掌叶大黄的根或茎。传统医学认为大黄性味苦寒, 具有清热泻火, 凉血解毒, 活血祛瘀之功效。现代药理学研究表明大黄具有减轻肝损伤作用, 临床上也广泛应用于肝炎治疗。在术后ALF大鼠治疗中, 大黄素可通过降低caspase 3、Fas、FasL表达, 来抑制肝细胞凋亡, 通过提高增殖细胞核抗原 (proliferating cell nuclear antigen, PCNA) 表达, 促进肝细胞再生, 减轻肝损伤。核因子- κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 可被脂多糖、细菌、病毒等激活, 由细胞质转入细胞核, 调控相关基因表达^[3,4]。ALF引起的肝细胞凋亡和炎症与NF- κ B信号通路密切相关, 通过此通路可调节iNOS、环氧合酶-2 (cyclooxygenase-2, COX-2) 等炎症因子及Bcl-2相关x蛋白 (Bcl- associated x protein, Bax)、B淋巴细胞瘤-2基因 (B-cell lymphoma-2, Bcl-2)、PCNA等凋亡蛋白的表达。本实验分析大黄对ALF炎症因子表达量、ALF凋亡蛋白表达及对ALF、NF- κ B信号通路相关蛋白表达的影响进行了研究, 现报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 (1) 动物: ICR大鼠购自上海斯莱克实验动物有限公司, 清洁级, 合格证号 (2012-0002), 20 g \pm 2 g, 室内温度控制在23 $^{\circ}$ C \pm 2 $^{\circ}$ C, 大鼠自由饮食和饮水; (2) 药物: 大黄素购自国大药房。联苯双酯滴丸购于浙江医药股份有限公司; (3) 试剂: D氨基半乳糖 (D-galactosamine, D-GaIN) (美国, sigma公司, 批

表 1 大黄素对ALF大鼠血清中的ALT、AST、炎症因子IL-1 β 、NO含量以及肝组织中Caspase 3、Caspase 8的抑制 (mean \pm SD)

分组	剂量 [mg/(kg \cdot d)]	ALT (U/L)	AST (U/L)	NO (μ mol/L)	IL-1 β (ng/L)	Caspase 3 (μ g)	Caspase 8 (μ g)
正常组	—	45.12 \pm 4.59	160.11 \pm 34.11	0.54 \pm 0.22	7.27 \pm 0.37	1.54 \pm 0.37	0.97 \pm 0.06
模型组	—	265.84 \pm 556.32 ^b	645.34 \pm 67.84 ^b	12.08 \pm 1.21 ^b	18.11 \pm 0.97 ^b	12.08 \pm 7.21 ^b	9.11 \pm 1.35 ^b
大黄	1000	124.35 \pm 43.28 ^d	389.56 \pm 56.45 ^d	2.83 \pm 0.28 ^d	8.30 \pm 1.04 ^d	4.83 \pm 6.45 ^d	3.30 \pm 1.11 ^d
联苯双酯	150	122 \pm 35.89 ^d	367.33 \pm 45.86 ^d	1.14 \pm 0.13 ^d	8.36 \pm 0.57 ^d	4.14 \pm 5.73 ^d	3.36 \pm 0.57 ^d

^b P <0.01与正常组比较; ^d P <0.01与模型组比较。

号: G0500); 脂多糖(lipopolysaccharides, LPS)(美国, sigma公司, 批号: L2630); BCA法蛋白定量试剂盒(江苏, 碧云天生物技术研究, 批号: P0009); ECL超敏发光液(江苏, 碧云天生物技术研究, 批号: P0018); β -actin(江苏, 碧云天生物技术研究, 批号: AA128); NO检测试剂盒(北京, 北京普利莱基因技术有限公司, 批号: E1030); Caspase 3(南京, 南京凯基生物科技发展有限公司, 批号: KGA204); Caspase 8检测试剂盒(南京, 南京凯基生物科技发展有限公司, 批号: KGA304); 谷丙转氨酶(alanine transaminase, ALT)检测试剂盒(南京, 南京建成生物工程研究所, 批号: C010-2); 谷草转氨酶(aspartate transaminase, AST)检测试剂盒(南京, 南京建成生物工程研究所, 批号: C009-2); 白介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)检测试剂盒(南京, 南京建成生物工程研究所, 批号: H002); 兔抗COX-2、iNOS(武汉, 武汉博士德生物工程有限公司); 兔抗Bcl-2、Bax、PCNA、NF- κ B p65、pp65、I κ B α 、p-I κ B α 抗体(杭州, Epitomics公司); (4)石蜡切片机(美国Optical公司); 全自动生化分析仪(美国Abbott公司); 电泳仪, 转印电泳仪, ChemiDoc™ XRS凝胶成像系统(美国Bio-Rad公司); 酶标仪(瑞士TECAN集团公司); -80℃冰箱(美国Thermo公司)。

1.2 方法

1.2.1 造模: 40只大鼠随机分为4组, 每组10只: 正常组, 模型组, 大黄素治疗组, 联苯双酯阳性对照组。结合文献报道, 以D-GalN(400 mg/kg)/LPS(10 μ g/kg)腹腔注射造模, 治疗组和阳性对照组于造模前分别给予大鼠大黄素1.5 g/(kg \cdot d), 联苯双酯150 mg/(kg \cdot d), 正常组以等量生理盐水腹腔注射, 连续3 d, 造模16 h后, 尾静脉取血, 处死, 取肝脏组织标本, 标本-80℃冻存, 进行各项指标的检测。

1.2.2 HE染色、血清及肝组织活性检测: 肝脏组织标本经10%中性福尔马林浸泡, 石蜡包埋, 切片, 烘干。二甲苯脱蜡, 无水、95%、80%乙醇脱水, 流水冲洗, 苏木素浸泡, 盐酸酒精浸泡, 流水冲洗至反蓝, 伊红复染, 流水冲洗, 梯度乙醇脱水, 二甲苯透明, 吹干后中性树胶封

片, 后镜检。血清ALT、AST、NO、IL-1 β 含量测定: 根据试剂盒说明书进行操作测定。肝组织中Caspase 3、Caspase 8活性检测: 根据试剂盒说明书进行操作测定。

1.2.3 Western blot: 取适量肝脏组织标本, 加入RIPA裂解液, 裂解, 离心, 收获蛋白。根据BCA试剂盒对蛋白浓度进行测定。一抗孵育, 4℃过夜; 漂洗后, 二抗室温孵育1-2 h。漂洗, 滴加ECL曝光液, 在凝胶成像系统中曝光。用“Quantity one”软件对各抗体条带灰度值进行统计。

统计学处理 采用Microsoft Excel软件建立数据库, 应用SPSS17.0软件进行数据分析, 所有数据均重复检验3次, 并采用mean \pm SD表示, 应用 t 检验, P <0.05为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 HE染色检测大黄素对ALF大鼠肝组织的保护作用 正常组肝组织染色均匀, 结构清晰完整(图1A); 模型组肝细胞数目减少, 正常组织结构消失, 并有大量炎性细胞浸润(图1B); 大黄素治疗组和联苯双酯组较模型组肝细胞数目增多, 细胞坏死减少, 炎性细胞浸润较少(图1C, D)。

2.2 大黄素对ALF大鼠血清ALT、AST含量的影响 相对于正常组, 模型组中血清ALT、AST含量显著上升, 差异具有统计学意义(P <0.01); 大黄治疗组能显著抑制ALT、AST含量的上升, 差异具有统计学意义(P <0.01, 表1)。

2.3 大黄素对ALF大鼠血清炎症因子NO、IL-1 β 含量的影响 相对于正常组, 模型组中血清NO、IL-1 β 含量显著上升(P <0.01), 具有统计学意义; 大黄素治疗组能显著抑制NO、IL-1 β 含量的上升, 差异具有统计学意义(P <0.01, 表1)。

2.4 大黄素对ALF大鼠肝组织中Caspase 3、Caspase 8含量的影响 与模型组相比, 大黄素治疗组能显著抑制Caspase 3、Caspase 8含量的上升, 差异具有统计学意义(P <0.01, 表1)。

2.5 大黄素对ALF大鼠炎症蛋白iNOS、COX-2表达量的影响 相对于正常组, 模型组中iNOS、COX-2表达量

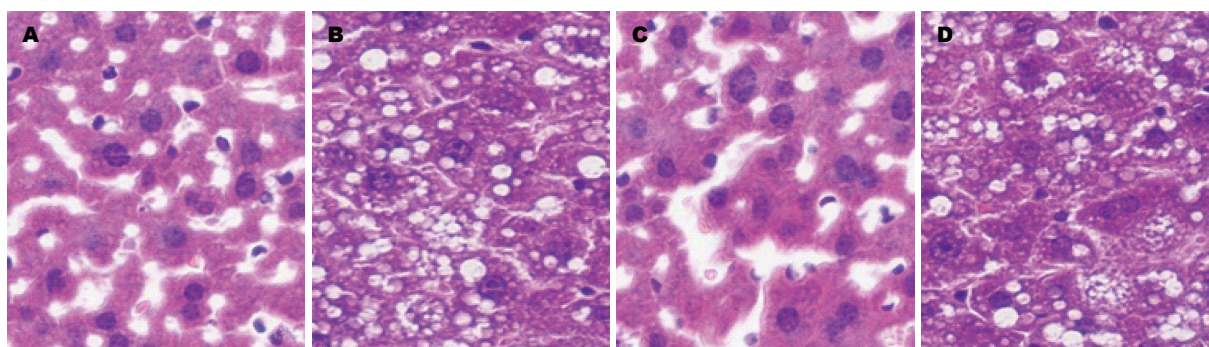


图1 大黄素对大鼠肝脏的保护作用(HE染色, $\times 400$)。A: 正常组肝组织; B: 模型组肝组织; C: 大黄治疗组肝组织; D: 联苯双酯组肝组织。

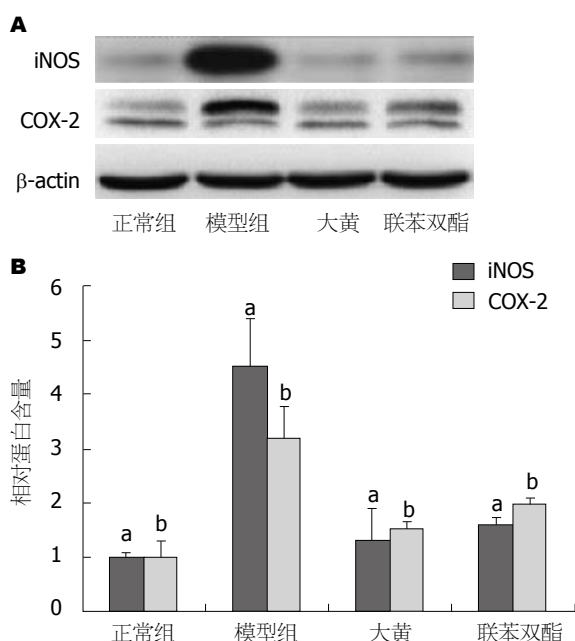


图2 大黄素对正常组及模型组中iNOS、COX-2表达量的影响。A: 蛋白的灰度; B: 统计图。^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ 。

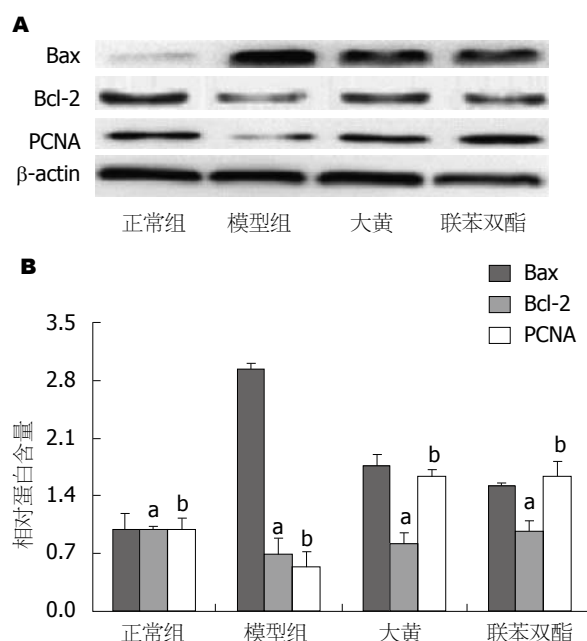


图3 大黄素对正常组与模型组中Bax表达量的影响。A: 蛋白的灰度; B: 统计图。^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ 。

显著升高, 大黄素治疗组能显著抑制iNOS、COX-2表达量的上升(图2)。

2.6 大黄素对ALF大鼠凋亡相关蛋白表达量的影响 相对于正常组, 模型组中Bax表达量显著升高, Bcl-2、PCNA表达量下降; 大黄素治疗组能显著抑制Bax表达量的上升, Bcl-2、PCNA表达量的下降(图3)。

2.7 大黄素对ALF大鼠NF- κ B信号通路的影响 与模型组对比, 大黄素治疗组能显著抑制ALF大鼠NF- κ B p65、I κ B α 磷酸化, 不管给药造模与否, 都不影响NF- κ B p65、I κ B α 自身的表达(图4)。

3 讨论

研究显示, 病毒是引起ALF的主要因素, 因此适合选用化学药物诱发ALF, 国内外报道显示D-GalN/LPS, 其造模特点为可复制性, 可逆性, 对实验人员危害较小。其中GalN大量消化尿嘧啶核苷, 抑制肝细胞增殖相关蛋

白合成, 增加肝细胞对炎症因子的敏感度, 同时限制了细胞器的再生和酶的补充合成, 使肝细胞结构和功能都受到严重破坏, 引起大鼠ALF。LPS可引起肝损伤, 内毒素性休克, 多器官衰竭等症状。LPS与GalN还具有协同作用, 可促使免疫细胞产生更多炎症因子及毒性, 作用于肝细胞, 导致肝损伤^[5,6]。所以本实验采用GalN联合LPS诱导ALF大鼠模型。在模型组中, AST、ALT、炎症因子等含量显著上升, 细胞凋亡等相关蛋白表达也显著提高; 病理学检测发现肝细胞结构组织模糊, 正常肝细胞量少, 基本坏死, 呈气球样, 有大量炎症因子浸润, 这些数据充分说明, 本实验采用D-GalN/LPS诱导ALF大鼠模型成功^[7,8]。

肝功能检测血清转氨酶的变化是反映肝细胞损害的敏感指标, 其中临床中应用最普遍的是ALT、AST。ALT在肝脏中含量最为丰富, 只分布在细胞浆中, 并且在肝细胞内的活性远大于细胞外, 当1%肝细胞受

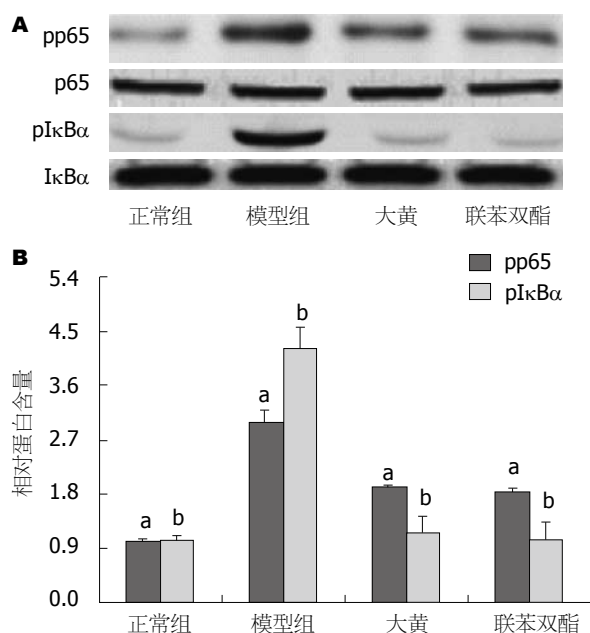


图4 大黄素抑制ALF大鼠NF- κ B抑制的影响。A: 蛋白的灰度; B: 统计图。* $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ 。

损, 血清中ALT含量即可显著上升。AST是肝细胞内功能酶, 当细胞受损, 会透过细胞膜, 进入血清中, 使血清AST表达显著上升。大量研究报道, 降低ALF血清中ALT和AST含量, 可缓解肝损伤^[9,10]。本实验发现, 与模型组对比, 大黄素治疗组能显著降低ALT、AST含量, 其抑制程度与阳性对照组相当, 说明大黄素可通过降低酶缓解肝损伤。

细胞凋亡与炎症受多种信号通路调控, NF- κ B信号通路就是其中之一。NF- κ B是一类能与多种基因启动子或增强子 κ B位点发生特异性结合并促进其转录的蛋白。在细胞中最常见的作用形式为p65及p50组成的二聚体, 未受刺激时与I κ B结合, 当受到刺激时, I κ B被降解, 磷酸化, 释放NF- κ B, 使之恢复转录活性并从细胞质转移到细胞核内, 调节炎症和凋亡相关基因的表达。在ALF中, NF- κ B的激活能促使凋亡基因, 炎症基因的大量表达, 加速炎症介质的释放和肝细胞的凋亡, 并与预后相关^[11-13]。通过硫代乙酰胺刺激NF- κ B基因敲除的大鼠和野生型大鼠, 发现野生型组脑水肿明显, 星形胶质细胞肿胀, iNOS表达显著, 基因敲除组症状不明显, 说明NF- κ B含量与ALF症状改善呈负相关^[14,15]。Wu等^[11]报道在GalN/LPS大鼠模型中, NF- κ B p65, ALT表达都显著升高, 通过给大黄素后, 可抑制I κ B- α 磷酸化, 降解, 抑制NF- κ B/p65从细胞质转入细胞核。本实验结果也发现, 模型组中, NF- κ B p65, I κ B α 磷酸化显著, 大黄素作用后, 磷酸化程度下降。说明大黄素可通过NF- κ B信号通路缓解ALT症状^[16]。

ALF会诱发巨噬细胞、中性粒细胞等免疫细胞释

放大量炎症因子, 进一步引起肝细胞损伤坏死。NO是一种性质不稳定的自由基, 在iNOS的催化下, 由左旋精氨酸末端的胍基氮氧化而产生。NO普遍存在于各种细胞内, 作为细胞间信号分子, 可介导多种生理病理过程。在GalN/LPS诱导的ALF动物模型中, iNOS表达量增加, NO含量升高, 造成细胞毒性, 抑制NO和iNOS的合成对ALF有保护作用^[17,18]。本实验发现, 模型组中NO和iNOS含量显著上升, 大黄素治疗组抑制其含量上升。IL-1 β 在传递信息, 激活免疫细胞, 介导T、B细胞活化, 增殖与分化及在炎症反应中起重要作用^[19]。模型组中IL-1 β 含量上升, 大黄素治疗组减少IL-1 β 分泌。COX-2为前列腺素合成和起始步骤的关键酶, 正常细胞内COX-2表达甚微, 当有炎症细胞因子刺激时即迅速表达, 导致炎症的产生。LPS诱导的COX-2转基因大鼠比LPS诱导的野生型大鼠肝损伤程度低。肝损伤大鼠中, COX-2表达量过高^[19]。本实验发现, 与对照组相比, 大黄素治疗组和阳性对照组都能下调COX-2表达。说明大黄素可以抑制炎症因子的分泌来改善ALF大鼠损伤。

在硫代乙酰胺诱导的ALF大鼠模型中, 通过抑制NF- κ B信号通路, 可显著降低炎症因子IL-1、COX-2的含量, 从而缓解肝损伤。在肝切除术诱导的ALF大鼠模型中, 通过抑制NF- κ B活性, 可显著降低IL-1含量。在酵母聚糖引起的多器官功能障碍综合征大鼠中, 抑制NF- κ B信号通路, 可下调iNOS等蛋白表达。在GalN/LPS诱导的大鼠模型中, 通过抑制NF- κ B信号通路, 可降低NO、iNOS含量。这些数据充分说明大黄素降低ALF大鼠血清中NO、IL-1 β 含量, 抑制iNOS、COX-2表达, 是通过NF- κ B信号通路实现的^[20-25]。

研究报道, ALF时残存的肝细胞仍具有较强的增殖能力, 说明抑制肝细胞凋亡与促进肝细胞增殖, 可一定程度上促进肝细胞生成, 恢复肝功能。Caspase家族是重要的细胞凋亡执行者, 通常以非活化的酶原形式存在于细胞质中, 在多种凋亡信号刺激下经蛋白水解作用被激活成活化形式, 可对多种蛋白底物进行降解, 从而在细胞凋亡过程中起关键作用。其中Caspase 3、8在ALF模型中活性高于正常组, 大黄素作用后, 可显著降低其活性。凋亡相关蛋白严格控制细胞凋亡。如Bcl-2家族成员, 能与Bax亚家族成员, 相互作用, 诱导细胞内的凋亡信号, 引起细胞的凋亡。在GalN/LPS大鼠模型中, Bcl-2表达量显著下降, Bax表达量上升, 大黄素作用后, 可提高Bcl-2表达, 抑制Bax表达。PCNA在系统性红斑狼疮患者的血清中发现并命名, 与DNA合成关系密切, 是细胞增殖标志物之一。在急性肝损伤中, PCNA表达量显著下降^[25-28]。本实验结果发现, 大黄素作用后, PCNA表达量上升。说明大黄素可通过抑制

促凋亡蛋白表达, 促进抗凋亡蛋白表达来改善ALF引起的大鼠肝细胞凋亡。

总之, 大黄素可通过NF- κ B信号通路降低ALF大鼠血清中ALT、AST含量, 抑制NO、IL-1 β 分泌, 降低Caspase 3、8活性, 下调iNOS、COX-2、Bax表达, 上调Bcl-2、PCNA表达, 来改善ALF引起的大鼠损伤。

文章亮点

实验背景

急性肝功能衰竭(acute liver failure, ALF)是由肝功能急剧减退引起的黄疸、凝血功能底等临床表现。ALF发病急、病情进展迅速, 目前临床无有效治疗方案。

实验动机

大黄素是临床治疗ALF应用较为广泛的一种中药, 其主要成分是大黄素, 有研究证实大黄素具有多种活性作用, 包括抗炎、肝功能保护、免疫调节等, 亦有学者应用大黄制剂防治肝癌、保护肝功能等。

实验目标

本研究通过建立ALF动物实验模型并采用大黄素治疗, 观察肝组织病理学改变以及核因子- κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)表达、肝功能指标的变化, 研究大黄素对肝脏功能保护作用的可能机制。

实验方法

本文选取了40只健康大鼠建立炎性损伤模型, 分析ALF炎症因子表达量、ALF凋亡蛋白表达及对ALF NF- κ B信号通路相关蛋白表达的影响, 并采用SPSS17.0软件进行数据分析, 所有数据均重复检验3次, 并采用mean \pm SD表示, 应用 t 检验。

实验结果

大黄素可能减少炎性细胞的释放, 抑制IKK细胞信号传导通路, 进而达到抑制肝细胞凋亡的效果, 为肝细胞再生提供微环境。

实验结论

本研究采用大黄素对ALF引起的大鼠损伤进行了实验, 结论为: 大黄素可有效抑制NO、白介素-1 β 分泌, 降低Caspase 3、8活性, 下调iNOS、环氧合酶-2、Bcl-2相关x蛋白表达, 上调B淋巴细胞瘤-2基因、增殖细胞核抗原表达。

展望前景

本研究经验教训是优化药物的剂量, 未来将应用在乳

腺癌的研究中, 未来将在细胞水平上对大黄素的抗炎作用机制进行研究。

参考文献

- Siddiqui MS, Stravitz RT. Intensive care unit management of patients with liver failure. *Clin Liver Dis* 2014; 18: 957-978 [PMID: 25438294 DOI: 10.1016/j.cld.2014.07.012]
- Zhang Z, Zhao YC, Cheng Y, Jian GD, Pan MX, Gao Y. Hybrid bioartificial liver support in cynomolgus monkeys with D-galactosamine-induced acute liver failure. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 17399-17406 [PMID: 25516651 DOI: 10.3748/wjg.v20.i46.17399]
- 陈向华. 大黄对急性肝衰竭大鼠肝细胞凋亡的影响. *中国老年学杂志* 2014; 33: 1841-1842 [DOI: 10.3969/j.issn.1005-9202.2013.08.048]
- 张荣臻, 毛德文, 李东发, 王明刚, 袁果. 大黄、赤芍对术后肝衰竭大鼠肝组织PCNA的影响. *辽宁中医杂志* 2013; 40: 355-356
- 崔佳丽, 山丽梅, 张萍, 王伽伯, 李宝才, 肖小河. 大黄甘草汤对刀豆蛋白诱导肝损伤大鼠与腺嘌呤诱导肾损伤大鼠的保护作用. *中成药* 2013; 35: 1539-1542
- 郑婷婷, 于芳芳, 姚嘉明, 叶蔚. 大黄浸液对急性肝内胆汁淤积大鼠肝组织NF- κ B表达的影响. *浙江中医杂志* 2013; 48: 380-381 [DOI: 10.3969/j.issn.0411-8421.2013.05.053]
- Yu JH, Kim H. Oxidative stress and inflammatory signaling in cerulein pancreatitis. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 17324-17329 [PMID: 25516643 DOI: 10.3748/wjg.v20.i46.17324]
- Jin Q, Jiang S, Wu YL, Bai T, Yang Y, Jin X, Lian LH, Nan JX. Hepatoprotective effect of cryptotanshinone from *Salvia miltiorrhiza* in D-galactosamine/lipopolysaccharide-induced fulminant hepatic failure. *Phytomedicine* 2014; 21: 141-147 [PMID: 24011530 DOI: 10.1016/j.phymed.2013.07.016]
- Wu Z, Kong X, Zhang T, Ye J, Fang Z, Yang X. Pseudoephedrine/ephedrine shows potent anti-inflammatory activity against TNF- α -mediated acute liver failure induced by lipopolysaccharide/D-galactosamine. *Eur J Pharmacol* 2014; 724: 112-121 [PMID: 24365491 DOI: 10.1016/j.ejphar.2013.11.032]
- Lin X, Zhang S, Huang R, Tan S, Liang S, Wu X, Zhuo L, Huang Q. Protective effect of tormentic acid from *Potentilla chinensis* against lipopolysaccharide/D-galactosamine induced fulminant hepatic failure in mice. *Int Immunopharmacol* 2014; 19: 365-372 [PMID: 24560903 DOI: 10.1016/j.intimp.2014.02.009]
- Tan YC, Xie F, Zhang HL, Zhu YL, Chen K, Tan HM, Hu BS, Yang JM, Tan JW. Hydrogen-rich saline attenuates postoperative liver failure after major hepatectomy in rats. *Clin Res Hepatol Gastroenterol* 2014; 38: 337-345 [PMID: 24502885 DOI: 10.1016/j.clinre.2013.11.007]
- Singhal G, Jaehne EJ, Corrigan F, Toben C, Baune BT. Inflammasomes in neuroinflammation and changes in brain function: a focused review. *Front Neurosci* 2014; 8: 315 [PMID: 25339862 DOI: 10.3389/fnins.2014.00315]
- Steinebrunner N, Mogler C, Vittas S, Hoyler B, Sandig C, Stremmel W, Eisenbach C. Pharmacologic cholinesterase inhibition improves survival in acetaminophen-induced acute liver failure in the mouse. *BMC Gastroenterol* 2014; 14: 148 [PMID: 25139304 DOI: 10.1186/1471-230X-14-148]
- Li Y, Han MF, Li WN, Shi AC, Zhang YY, Wang HY, Wang FX, Li L, Wu T, Ding L, Chen T, Yan WM, Luo XP, Ning Q. SOCS3 expression correlates with severity of inflammation in mouse hepatitis virus strain 3-induced acute liver failure and HBV-ACLF. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci* 2014; 34: 348-353 [PMID: 24939297 DOI: 10.1007/

- s11596-014-1281-5]
- 15 Ashour TH. Therapy with interleukin-22 alleviates hepatic injury and hemostasis dysregulation in rat model of acute liver failure. *Adv Hematol* 2014; 2014: 705290 [PMID: 24799907 DOI: 10.1155/2014/705290]
 - 16 Domitrović R, Skoda M, Vasiljev Marchesi V, Cvijanović O, Pernjak Pugel E, Stefan MB. Rosmarinic acid ameliorates acute liver damage and fibrogenesis in carbon tetrachloride-intoxicated mice. *Food Chem Toxicol* 2013; 51: 370-378 [PMID: 23116643 DOI: 10.1016/j.fct.2012.10.021]
 - 17 Antoniadis CG, Khamri W, Abeles RD, Taams LS, Triantafyllou E, Possamai LA, Bernsmeier C, Mitry RR, O'Brien A, Gilroy D, Goldin R, Heneghan M, Heaton N, Jassem W, Bernal W, Vergani D, Ma Y, Quaglia A, Wendon J, Thursz M. Secretory leukocyte protease inhibitor: a pivotal mediator of anti-inflammatory responses in acetaminophen-induced acute liver failure. *Hepatology* 2014; 59: 1564-1576 [PMID: 24282114 DOI: 10.1002/hep.26933]
 - 18 Sun L, Fan X, Zhang L, Shi G, Aili M, Lu X, Jiang T, Zhang Y. Bone mesenchymal stem cell transplantation via four routes for the treatment of acute liver failure in rats. *Int J Mol Med* 2014; 34: 987-996 [PMID: 25110277 DOI: 10.3892/ijmm.2014.1890]
 - 19 Xu Y, Wang H, Bao S, Tabassam F, Cai W, Xiang X, Zhao G, Wu H, Gao T, Li H, Xie Q. Amelioration of liver injury by continuously targeted intervention against TNFRp55 in rats with acute-on-chronic liver failure. *PLoS One* 2013; 8: e68757 [PMID: 23874752 DOI: 10.1371/journal.pone.0068757]
 - 20 Shirozu K, Hirai S, Tanaka T, Hisaka S, Kaneki M, Ichinose F. Farnesyltransferase inhibitor, tipifarnib, prevents galactosamine/lipopolysaccharide-induced acute liver failure. *Shock* 2014; 42: 570-577 [PMID: 25046541 DOI: 10.1097/SHK.0000000000000239]
 - 21 刘岸, 罗江, 张坚红, 林胜璋. 大黄素联合吉西他滨抑制体内胰腺癌生长及其机制研究. *中国中西医结合杂志* 2012; 32: 652-656
 - 22 阮志燕, 商玲, 邓向亮, 蔡琳. 大黄素对CT-26结肠癌大鼠调节性T细胞功能的影响. *实用医学杂志* 2014; 30: 2377-2380 [DOI: 10.3969/j.issn.1006-5725.2014.15.008]
 - 23 董妙先, 慕艳秋, 朱兰芹, 耿玉涛, 李佳鸣, 邹德嘉, 王刚. 大黄素对肝纤维化大鼠肝脏组织中I型前胶原mRNA表达的影响. *齐齐哈尔医学院学报* 2013; 34: 2029-2030 [DOI: 10.3969/j.issn.1002-1256.2013.14.001]
 - 24 卓蕴慧, 陈建杰, 王灵台. 清开颗粒对急性肝衰竭大鼠肝细胞凋亡和Caspase-3表达的影响. *上海中医药大学学报* 2007; 21: 56-58 [DOI: 10.3969/j.issn.1008-861X.2007.05.017]
 - 25 王玉梅, 冯国和, 刘德刚, 窦晓光. Bcl-2蛋白及caspase-3基因表达与暴发性肝衰竭肝细胞凋亡关系的研究. *中国医科大学学报* 2006; 35: 494-496 [DOI: 10.3969/j.issn.0258-4646.2006.05.018]
 - 26 邓利娟, 李湛军, 罗楹, 范慧红. Caspase抑制剂F1013对急性肝衰竭大鼠肝细胞凋亡的影响. *中国临床药理学与治疗学* 2010; 15: 1229-1233
 - 27 任志元, 李德旭, 金俊硕, 李星, 董玉玺. 甘草酸二铵对急性肝衰竭大鼠肝细胞凋亡的影响. *中华实验外科杂志* 2014; 31: 995-997 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-9030.2014.05.025]
 - 28 丁美, 刘旭华, 段钟平, 张晶, 孙昇临, 王泰龄. D-氨基半乳糖/脂多糖诱导急性肝衰竭大鼠肝细胞凋亡的电镜观察. *实用肝脏病杂志* 2008; 11: 357-360 [DOI: 10.3969/j.issn.1672-5069.2008.06.001]

编辑: 闫晋利 电编: 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 © 2018 Baishideng Publishing Group Inc.
All rights reserved.

• 消息 •

《世界华人消化杂志》参考文献要求

本刊讯 本刊采用“顺序编码制”的著录方法,即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序。提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映,并在文内引用处右上角加方括号注明角码。文中如列作者姓名,则需在“Pang等”的右上角注角码号;若正文中仅引用某文献中的论述,则在该论述的句末右上角注角码号。如马连生^[1]报告……,研究^[2-5]认为……;PCR方法敏感性高^[6,7]。文献序号作正文叙述时,用与正文同号的数字并排,如本实验方法见文献[8]。所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed,《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准,通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献,包括世界华人消化杂志(<http://www.wjgnet.com/1009-3079/index.jsp>)和World Journal of Gastroenterology(<http://www.wjgnet.com/1007-9327/index.jsp>)。期刊: 序号, 作者(列出全体作者)。文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID编号;书籍: 序号, 作者(列出全部), 书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页。



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

