

基础研究

DOI: 10.13406/j.cnki.cyxh.000407

脊髓损伤大鼠肠道细菌移位途径的初步探讨

白春宏¹, 彭 朋², 刘 浩¹, 李双英³

(武警后勤学院 1. 附属医院脊柱一科; 2. 军事训练医学教研室; 3. 附属医院脑科分院, 天津 300162)

【摘要】目的:初步探讨脊髓损伤大鼠肠道细菌移位的途径。**方法:**①绿色荧光蛋白标记大肠杆菌肠道定植。②24 只 Wistar 大鼠分为正常组(NG=8), 损伤组 24 h/48 h(EG1=8/EG2=8)。③肠系膜淋巴结、肝脏细菌培养, 门静脉血测内毒素; 小肠进行光镜、荧光显微镜及电镜观察; 肝脏、肠系膜淋巴结进行光镜观察。**结果:**①肠黏膜屏障破坏明显, 细菌通过肠黏膜上皮细胞和裂隙进行跨壁; ②淋巴结损伤明显, 菌培养: EG1(100%, 8/8), EG2(100%, 8/8), 菌落数 EG1 开始显著增多; ③肝脏损伤明显, 菌培养 EG1(87.5%, 7/8), EG2(100%, 8/8), 菌落数在 EG1 开始增多; ④EG1(4.11 ± 1.06) U/ml、EG2(6.94 ± 1.50) U/ml 内毒素水平均较正常组(0.70 ± 0.04) U/ml 升高($F=69.774, P=0.000$)。**结论:**脊髓损伤后细菌及内毒素增多, 肠黏膜通透性增加, 细菌跨壁后通过淋巴、血行途径转移; 形成内毒素血症, 使局部及全身炎症反应扩大, 形成恶性循环。

【关键词】脊髓损伤; 细菌移位; 途径**【中图分类号】**R681.5+4**【文献标志码】**A**【收稿日期】**2014-05-30

Route of bacterial translocation in a rat model after spinal cord injury

Bai Chunhong¹, Peng Peng², Liu Hao¹, Li Shuangying³

(1. Department of Spine Surgery, the First Affiliated Hospital; 2. Teaching and Research Section of Military Training Medicine; 3. Brain Center of the Affiliated Hospital, Logistics University of Chinese People's Armed Police Forces)

【Abstract】Objective: To investigate the route of gut bacterial translocation in a rat model after spinal cord injury (SCI). **Methods:** Escherichia coli labeled with enhance green fluorescent protein was inoculated to track bacterial translocation. ②Twenty-four Wistar rats were divided into normal group ($n=8$) and injury 24 h group ($n=8$) and injury 48 h group ($n=8$). ③Liver and mesenteric lymph nodes were analyzed with bacterial cultures; the portal vein was analyzed with endotoxin assays; the small intestines were observed under light microscope, fluorescence microscope and electron microscope; liver and mesenteric lymph nodes were observed under light microscope. **Results:** ①SCI caused impaired intestinal epithelial barrier function. The escherichia coli translocated through the injured epithelial cell or the leakage to the lamina propria of intestinal villi. ②The lymph nodes were injured. Positive rates: injury 24 h group (100%, 8/8), injury 48 h group (100%, 8/8). ③The histologic change of liver was apparent. Positive rates: injury 24 h group (87.5%, 7/8), injury 48 h group (100%, 8/8). ④Endotoxin levels in injury 24 h group and injury 48 h group were significantly different from that of normal group ($F=69.774, P=0.000$). **Conclusion:** After SCI, the intestinal barrier function is damaged and the bacteria and endotoxin are increased. Due to the increased permeability of intestinal mucosal, the bacteria translocate from the gut to other places through lymphatic and blood routes and form the endotoxemia, which amplifies the local and general inflammation and formulates a vicious circle.

【Key words】spinal cord injury; bacterial translocation; route

急性完全性脊髓损伤(spinal cord injury, SCI)后消化系统功能障碍是极为棘手的问题^[1-2]。SCI 后由

于肠道动力不足, 肠道细菌过度生长而发生内毒素血症和肠道菌群移位(bacteria translocation/endotoxemia, BT/ET), 同时肝脏、脾脏、肠系膜淋巴结均有不同程度损害^[3-4]。首先淋巴途径认为是 BT 的主要途径; 其次依据“肠-肝轴”概念, 肠道菌群、肠黏膜屏障和肝脏之间紧密的生理病理关系形成了肠-肝轴体系, 造成恶性循环, 进一步加重全身炎症反应综

作者介绍: 白春宏, Email: baich991@sohu.com,

研究方向: 脊髓损伤功能重建, 微创脊柱外科的基础与临床。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(编号: 81101441); 武警后勤学院博士启动基金资助项目(编号: WHB201212); 武警医学院附属医院科研种子基金资助项目(编号: FYM201111)。

优先出版: <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.13406/j.cnki.cyxh.000407.html>

合征(systemic inflammatory response syndrome,SIRS)和多器官功能障碍(multiple organ dysfunction syndrome,MODS)^[5]。引起肠道 BT 的原因较多,机理复杂^[6]。那么,SCI 后肠黏膜是如何变化的呢?非致病性肠道微生物/菌群是经何途径突破肠黏膜屏障的呢?本课题组通过动物实验对其进行研究,为以后 SCI 后防治 BT/ET 提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 动物分组与模型制作

Wistar 大鼠 24 只,体质量 250~300 g(北京维通利华公司),雌雄不拘。按随机数字表法分为正常组(NG=8)、实验组(EG=16,脊髓离断),实验组分 24 h 组(EG1=8 只)和 48 h 组(EG2=8 只)。麻醉、定位、脱毛、消毒、手术暴露脊髓,Fehlings 法:98 g 动脉瘤夹横行钳夹约 1 min,见双下肢抽搐停止。冲洗、缝合并包扎。

1.2 细菌标记及肠道定植

1.2.1 培养细菌 制备含有抗生素 zeocin(浓度为 50 $\mu\text{g/ml}$)的 LB 液体培养基;用无菌牙签挑出 pSELECT-GFPzeo-mcs 质粒转染的大肠杆菌投入制备好的培养基中,放置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温振荡培养箱中培养 24 h。

1.2.2 灌胃 连续喂抗生素 zeocin 水 7 d,第 4、5 两天按 10 ml/kg,1 次/d 菌液灌胃,灌胃前灌饲 1.5%碳酸氢钠 1 ml/kg。第 5、6、7 天连续采集粪便标本加入抗生素 zeocin 的 LB 培养基中培养,荧光显微镜下鉴别。

1.3 细菌移位情况检测

配置固体 LB 培养基并进行高压灭菌;倒平板,取材;标本采集:2%戊巴比妥钠麻醉,采集肠系膜淋巴结、肝脏,分别称各 0.2 g,分别加入无菌生理盐水 1 ml 研磨成匀浆,将 0.2 ml 的匀浆均匀涂布到抗生素培养基上,培养箱 37 $^{\circ}\text{C}$ 过夜,计数菌落。

1.4 肝门静脉血清内毒素测定

无热源注射器抽取大鼠门静脉血适量,静置 30 min,离心 5 min(3 500 r/min,4 $^{\circ}\text{C}$),取血清 0.1 ml,利用鲎试剂盒定量测定血清内毒素。EDS-99 细菌内毒素测定系统测定报告——动态浊度法。

1.5 HE

取小肠、肝脏组织和肠系膜淋巴结,用 4%甲醛液固定,经梯度乙醇系列脱水,二甲苯透明后,常规石蜡包埋,HE 染色,光学显微镜观察记录。

1.6 荧光显微镜

(1)取材后进行冰冻切片制备;(2)10%甲醛固定 10 min 后,PBS 洗 5 min $\times$ 3 次。(3)小牛血清封闭,37 $^{\circ}\text{C}$ 30 min。加入鬼笔环肽,37 $^{\circ}\text{C}$ 30 min,PBS 洗 5 min $\times$ 3 次。加 DAPI 染色液。室温放置 3~5 min。(4)滤纸吸除 DAPI 染色液,PBS 洗 3 次,3~5 min/次。(5)荧光显微镜下观察。

1.7 透射电镜

取小肠组织常规处理后,电镜观察。

1.8 统计学处理

应用 SPSS 13.0 统计软件进行统计学处理。计量资料采用均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示。菌落数、血清内毒素比较采用单因素方差分析组间两两比较采用 SNK- q 法。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 细菌培养检测结果

肝脏:细菌培养阳性率 EG1(87.5%,7/8),EG2(100%,8/8);肠系膜淋巴结:细菌培养阳性率 EG1(100%,8/8),EG2(100%,8/8)。EGFP 大肠杆菌镜下所见(如图 1),培养菌落数:肝脏 NG(0)、EG1(6.88 ± 0.91)、EG2(13.13 ± 2.66);淋巴结 NG(1.25 ± 2.32)、EG1(28.13 ± 3.13)、EG2(40.00 ± 3.41)见(表 1)。淋巴结菌培养菌落平均数高于肝脏。

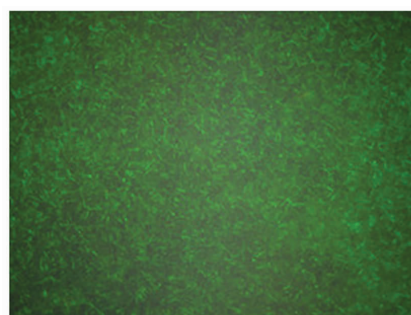


图 1 培养的绿色荧光标记的大肠杆菌

Fig.1 The cultured *escherichia coli* labeled with green fluorescent protein

表 1 不同器官细菌培养菌落数统计结果($\bar{x}\pm s,n=8$)

Tab.1 Numbers of the cultured bacterial colony in different organs($\bar{x}\pm s,n=8$)

组别	例数	淋巴结	肝脏
NG	8	1.25 ± 2.32	0
EG1	8	28.13 ± 3.13^a	6.88 ± 0.91^a
EG2	8	40.00 ± 3.41^a	13.13 ± 2.66^a
F 值		53.643	16.317
P 值		0.000	0.000

注:a,与 NG 组比较, $P<0.01$

2.2 内毒素检测结果

EG1(4.11 ± 1.06) U/ml,EG2(6.94 ± 1.50) U/ml 内毒素水平均较正常组(0.70 ± 0.04) U/ml 高,有统计学差异,两组间内毒素水平均有统计学差异。见表 2。

2.3 光学显微镜观察

小肠 HE 染色光镜观察:发现 SCI 组黏膜下血管充血,炎性细胞浸润,细胞间隙增宽;后来发展为肠绒毛破坏甚至崩解,上皮细胞坏死,大量渗出(图 2)。

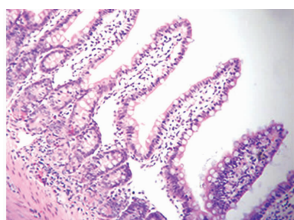
表 2 脊髓损伤前后肝门静脉血内毒素水平测定

 $(\bar{x} \pm s, \text{U/ml}, n=8)$

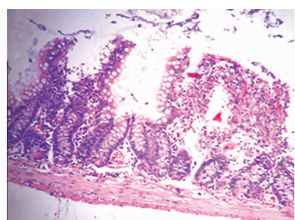
Tab.2 Endotoxin levels in blood serum before and after SCI

 $(\bar{x} \pm s, \text{U/ml}, n=8)$

组别	例数	内毒素
NG	8	0.70 ± 0.04
EG1	8	4.11 ± 1.06^a
EG2	8	6.94 ± 1.50^a
<i>F</i> 值		69.774
<i>P</i> 值		0.000

注: a, 与 NG 组比较, $P < 0.01$ 

A. 正常组小肠



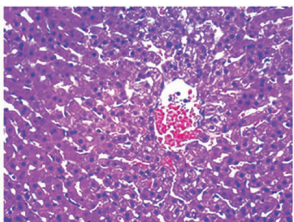
B. SCI 后 48 h 组小肠

图 2 小肠 HE 染色光镜观察 (HE, 200 ×)

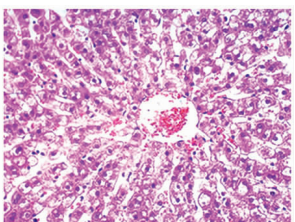
Fig.2 Representative structure of a jejunum specimen

(HE, 200 ×)

肝脏 HE 染色光镜观察: 发现 SCI 后中央静脉淤血, 肝细胞水肿, 肝细胞严重水肿, 点片状区域细胞坏死 (图 3)。



A. 正常组肝脏

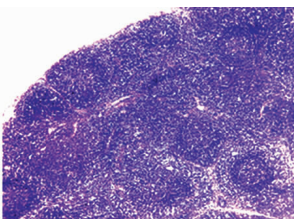


B. SCI 后 48 h 组肝脏

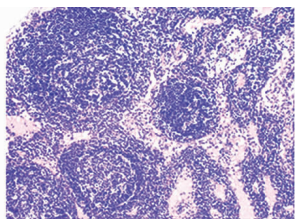
图 3 肝脏 HE 染色光镜观察 (HE, 400 ×)

Fig.3 Representative structure of a liver specimen (HE, 400 ×)

淋巴结 HE 染色光镜观察: 发现 SCI 后淋巴结增大, 淋巴管扩张, 皮质区增厚, 皮质区淋巴细胞增殖 (图 4)。



A. 正常组淋巴结



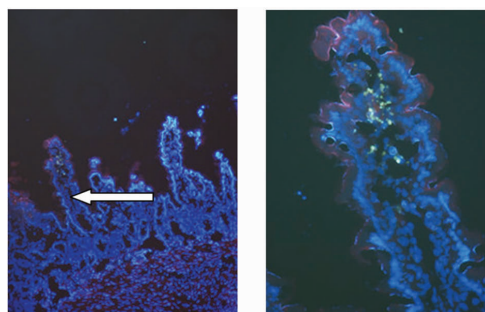
B. SCI 后 48 h 组淋巴结

图 4 淋巴结 HE 染色光镜观察 (HE, 100 ×)

Fig.4 Representative structure of a mesenteric lymph node specimen (HE, 100 ×)

2.4 荧光显微镜观

SCI 后, 大量细菌通过肠黏膜裂隙, 而肠黏膜结构完整的肠绒毛较少发现荧光标记细菌 (图 5)。



A. SCI 后 24 h

B. SCI 后 48 h

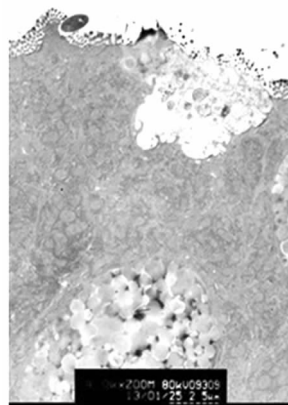
图 A 中箭头标记绒毛的放大 (400 ×)

图 5 EGFP 大肠杆菌移位荧光显微镜下观察

Fig.5 Representative structure of a jejunum specimen for detecting the translocation of escherichia coli labeled with green fluorescent protein

2.5 小肠透射电镜观察

早期黏膜上皮细胞轻度水肿, 细胞间隙略增宽; 逐渐出现上皮细胞水肿严重, 细胞间隙明显增宽, 部分细胞坏死崩解, 甚至可见细菌正在穿破损伤的肠黏膜上皮细胞 (图 6)。



肠黏膜上皮细胞微绒毛脱落, 细菌正进行跨壁移位, 细胞部分区域破裂崩解, 大量的坏死组织及肠内容物进入

图 6 透射电镜下观察发现细菌正穿破损伤的肠黏膜上皮细胞 (比例尺 25 μm)

Fig.6 Representative ultrastructure of an escherichia coli perforating into the injured intestinal mucosa epithelial cell (scale 25 μm)

3 讨论

BT 概念最早由 Berg 在 1979 年提出, 是指肠道内活的细菌穿过肠道黏膜层进入固有层, 继而到达肠系膜淋巴结以及更远处的器官。BT 主要机制为细菌过度增长、肠黏膜穿透性增加及宿主免疫能力降低^[7-8]。肠道屏障功能障碍和 BT/ET 是导致 MODS

乃至多脏器衰竭(multiple system organ failure, MSOF)的一个重要因素, 所以将胃肠道称之为“中心器官”。肠道屏障功能障碍主要表现为胃肠道内细菌异常定值、BT/ET、肠源性感染, 而这些恰好是无明确感染灶重症病人发生脓毒症、脓毒症休克和 MODS 的重要原因。近年来, 肠功能的好坏已作为判断危重病人预后的一项重要指标。

来源于肠腔的细菌/内毒素是诱生、持续、加剧脓毒症状态的始动器和触发器。肠道学说不是独立存在的, 与巨噬细胞损伤学说、微循环障碍学说、二次打击学说相互重叠、相互包容, 这是因为细菌/内毒素可引起局部组织巨噬细胞分泌各种炎性介质和细胞因子、激活促炎性内皮细胞、刺激多形核细胞(polymorphonuclear, PMN)蛋白酶释放、激活多体液蛋白级联反应包括补体系统和凝血系统, 形成恶性循环。反之, 激活巨噬细胞、PMN 释放的各种促炎因子(如白介素-1、白介素-6 等), 以及与内皮细胞结合的血浆蛋白级联反应通过损害血管内皮细胞、微循环和肠道氧供, 引起肠道透性增加和 BT/ET。研究显示治病大肠杆菌能破坏肠黏膜上皮细胞连接^[9], 可导致肠道 BT, 那么, SCI 后非致病菌是如何突破肠黏膜屏障的呢?

防止肠道 BT 的功能屏障包括^[8]: ①肠道蠕动; ②黏膜上皮细胞紧密连接; ③肠道相关淋巴组织; ④肠肝轴。所以着重从上面几点观察 SCI 后肠道的变化并探讨 BT 的机理。示踪细菌移位的途径, 细菌标记技术被认为方便可行, 如 EGFP 法^[10], 可定植于肠道黏膜。因此我们采用荧光标记大肠杆菌定植肠道, 观察 SCI 后其移位情况及途径, 为以后防治 SCI 后 BT/ET 奠定理论基础。

SCI 后肠蠕动功能障碍前期已经报道^[3]。缺血再灌注损伤可以导致肠道 BT^[11], 肠道黏液层能减轻肠道缺血再灌注损伤并恢复损伤^[12]。肠道蠕动功能障碍使黏液层分布破坏, 缺血再灌注损伤加剧, 导致肠黏膜损伤, 机械屏障破坏, 同时细菌排出障碍并数量剧增, 导致肠道 BT 及 ET。那么细菌是通过何途径移位的呢? 相互间有何影响呢? 肠道 BT 的途径包括跨肠壁途径、淋巴途径和门静脉途径。首先, 细菌跨壁途径是 BT 的第一关, 细菌是通过细胞途径还是细胞旁途径呢? 电镜观察发现, 细菌可以直接穿损伤的肠黏膜上皮细胞进行跨壁进入体内, 进而

内毒素水平增高, 内毒素可增加肠黏膜上皮通透性及降低宿主免疫能力而加剧肠道 BT。随着肠黏膜上皮间连接的破坏, 甚至机械屏障破溃, 导致大量的细菌移位, 通过荧光显微镜观察发现, 大量的 BT 主要发生在肠黏膜机械屏障破溃之处。因此, 细胞途径在早期较为明显, 但随着肠黏膜机械屏障的破坏, 细胞旁途径占有优势。

细菌跨壁后是如何移位到身体其他器官呢? 淋巴途径被认为是细菌移位的主要途径。本研究发现, 正常组淋巴结也能培养出少量细菌, SCI 后 24 h 开始显著增多, 48 h 较 24 h 明显增多; 菌落数比肝的菌落数均较高。因为淋巴流量随着休克的发生和复苏剧烈变化^[13], 故在研究 BT 时, 淋巴流量是不可忽视的因素。淋巴途径是细菌移位造成内源性感染的重要途径。相关实验证实肝门阻断后出现细菌移位和内毒素血症^[14], 那么说明单纯淋巴途径就可引起 BT 和 ET。淋巴细胞不断地从毛细血管后微静脉迁移至组织, 然后通过淋巴循环再回流至血液, 这个过程称为淋巴细胞再循环。淋巴细胞从血液迁移至淋巴器官及组织, 又称为淋巴细胞归巢。树突状细胞, 吞噬细胞识别吞噬细菌, 将细菌带至组织导致局部炎症^[15-16]。淋巴细胞从血液归巢至肠道, 在血管中对抗血流阻力, 从一个非黏附状态细胞转变成黏附状态细胞并完成穿越内皮细胞进入炎症组织, 对抵御细菌和毒素及维持内环境的稳定发挥着重要作用^[17]。在诱导部位和效应部位之间, 主要通过肠淋巴细胞归巢发生联系。正常的淋巴细胞归巢, 以及肠道淋巴细胞亚群及数量的动态平衡, 对维持肠屏障功能有重要意义。但在某些病理状态下, 肠屏障功能包括免疫屏障功能发生损害, 势必影响肠淋巴细胞归巢及黏附分子的表达。根据“肠-肝轴”理论: 肠道遭受打击后, 一方面肠屏障功能受损, 肠道内细菌和内毒素大量进入门静脉系统; 另一方面, 肝脏内的巨噬细胞(枯否细胞)等被这些内毒素激活, 释放一系列炎性因子, 各种细胞因子炎症介质之间相互作用和相互影响, 构成了一个复杂的网络结构, 从而进一步造成肠道黏膜及远隔器官损伤。肠道是全身炎症反应的“始动器官”, 肝脏是机体的主要“细胞因子产地和储库”。本实验发现 SCI 后细菌移位, 细菌培养情况为(阳性率, 菌落数): EG1(7/8, 6.88 ± 0.91), EG2(8/8, 13.13 ± 2.66); 肝门静脉血内毒素水

平增高:EG1 (4.11 ± 1.06) U/ml, EG2 (6.94 ± 1.50) U/ml。以上结果说明 SCI 后包括肝脏 BT 的血液途径也是主要途径。肠肝轴在 SCI 后形成恶性循环, 不断加重肠黏膜及肝脏损伤。但淋巴系统和血液系统是不断交换、联系的两个系统, 不会孤立存在, 移位的微生物和内毒素又可与肠道相关淋巴组织、肠系膜淋巴结作用, 产生大量细胞因子, 移位的内毒素连同这些细胞因子经淋巴途径持续“微泵”泵入体循环, 转移到淋巴结的细菌在免疫力低下时可转移到血液。

SCI 后肠蠕动障碍, 细菌增长, 肠黏膜屏障功能障碍, 细菌跨壁后移位到淋巴组织及肝脏组织, 形成 BT 及 ET, 想把淋巴途径和肠肝途径孤立开来是不可能的, 但根据 BT 的程度讲, 淋巴途径占优势。两种途径形成相互影响, 互相加重, 导致病情进行性加重。因此总结 SCI 后肠道 BT 的途径: ①SCI 后肠黏膜屏障功能破坏, 肠内容物排出困难, 细菌及内毒素增多, 肠黏膜通透性增加; ②肠道细菌通过破坏的肠黏膜完成跨壁; ③淋巴途径: 通过淋巴系统至肠黏膜相关淋巴组织再到全身循环; 血行途径: 细菌通过血循环门脉系统到达肝脏和其他脏器; ④形成内毒素血症, 使全身及局部炎症反应扩大; ⑤然后形成恶性循环, 不断加重。认识 BT 途径及机理, 早干预, 采取有效治疗措施, 是降低 BT 和 ET 的关键, 进而减少 MODS 和 SIRS 的发生。当然, SCI 后肠道的变化及 BT 的发生仍有许多细节值得进一步研究。

参 考 文 献

- [1] Emmanuel AV, Chung EA, Kamm MA, et al. Relationship between gut-specific autonomic testing and bowel dysfunction in spinal cord injury patients[J]. *Spinal Cord*, 2009, 47(8): 623–627.
- [2] Awad RA. Neurogenic bowel dysfunction in patients with spinal cord injury, myelomeningocele, multiple sclerosis and Parkinson's disease[J]. *World J Gastroenterol*, 2011, 17(46): 5045–5048.
- [3] Bai C, An H, Wang S, et al. Treatment and prevention of bacterial translocation and endotoxemia with stimulation of the sacral nerve root in a rabbit model of spinal cord injury[J]. *Spine (Phila Pa 1976)*, 2011, 36(5): 363–371.
- [4] Liu J, An H, Jiang D, et al. Study of bacterial translocation from gut after paraplegia caused by spinal cord injury in rats[J]. *Spine (Phila Pa 1976)*, 2004, 29(2): 164–169.
- [5] Towfigh S, Heisler T, Rigberg DA, et al. Intestinal ischemia and the gut-liver axis: an in vitro model[J]. *J Surg Res*, 2000, 88(2): 160–164.
- [6] Wiest R, Rath HC. Gastrointestinal disorders of the critically ill. Bacterial translocation in the gut[J]. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*, 2003, 17(3): 397–425.
- [7] Sanchez E, Casafont F, Guerra A, et al. Role of intestinal bacterial overgrowth and intestinal motility in bacterial translocation in experimental cirrhosis[J]. *Rev Esp Enferm Dig*, 2005, 97(11): 805–814.
- [8] GABE SM. Gut barrier function and bacterial translocation in humans[J]. *Clinical Nutrition*, 2001, 20(S1): 107–112.
- [9] Guttman JA, Samji FN, Li Y, et al. Evidence that tight junctions are disrupted due to intimate bacterial contact and not inflammation during attaching and effacing pathogen infection in vivo[J]. *Infect Immun*, 2006, 74(11): 6075–6084.
- [10] Xue H, Song D, Shi B, et al. Tracking of green fluorescent protein labeled *Escherichia coli* confirms bacterial translocation in blind loop rat[J]. *J Surg Res*, 2007, 143(2): 206–210.
- [11] Kucukaydin M, Kocaoglu C, Koksall F, et al. Detection of intestinal bacterial translocation in subclinical ischemia-reperfusion using the polymerase chain reaction technique[J]. *J Pediatr Surg*, 2000, 35(1): 41–43.
- [12] Qin X, Sheth SU, Sharpe SM, et al. The mucus layer is critical in protecting against ischemia-reperfusion-mediated gut injury and in the restitution of gut barrier function[J]. *Shock*, 2011, 35(3): 275–281.
- [13] Masuno T, Cheng A, Sarin E, et al. Postshock mesenteric lymph is a significant source of systemic inflammation[J]. *Journal of Surgical Research*, 2004, 121(2): 333–334.
- [14] 苏永辉, 贾英斌, 潘海燕. 肝门阻断对大鼠肠道细菌移位和内毒素血症的影响[J]. *中山大学学报(医学科学版)*, 2010, 31(6): 867–871.
- [15] Amar J, Chabo C, Waget A, et al. Intestinal mucosal adherence and translocation of commensal bacteria at the early onset of type 2 diabetes: molecular mechanisms and probiotic treatment[J]. *EMBO Mol Med*, 2011, 3(9): 559–572.
- [16] Wrobel T, Dziegiel P, Mazur G, et al. LYVE-1 expression on high endothelial venules (HEVs) of lymph nodes[J]. *Lymphology*, 2005, 38(3): 107–110.
- [17] 杨建军, 秦环龙, 耿翔. 不同营养途径对急性胰腺炎大鼠肠道淋巴细胞归巢的影响[J]. *中华普通外科杂志*, 2007, 22(4): 281–283.

(责任编辑: 冉明会)