

高脂高铁致大鼠肝纤维化模型的初探

何宏星¹, 陈洁^{2*}, 黄芳², 王成艳¹, 林艳婷¹, 华逸凡²

(1. 福建医科大学动物中心, 福州 350108; 2. 福建医科大学公共卫生学院, 福州 350108)

【摘要】 目的 验证铁是否能够加速大鼠肝脏纤维化的进程。**方法** 大鼠分为对照组、高脂组、高铁组、高脂高铁组、高脂去铁组, 每组24只。分别自由摄取普通饲料和高脂饲料的同时, 高铁组、高脂高铁组大鼠隔天肌注右旋糖酐铁50 mg/kg; 高脂去铁组大鼠处死前一个月尾静脉注射甲磺酸去铁胺30 mg/kg, 3次/周; 干预第4、5、6月分别选取8只大鼠, 检测透明质酸(hyaluronic acid, HA)、IV型胶原(collagen type IV, COL-IV)、层粘连蛋白(laminin, LN)、III型前胶原(procollagen III, PC III); Masson染色观测肝脏病理改变。**结果** 干预第5个月高脂高铁组HA水平高于对照组与高脂组; 第6个月高脂高铁组COL-IV、LN水平高于高脂组, 干预第6个月高脂高铁组血清PC III水平达到高脂饲料组的1.63倍。第6个月高脂高铁组肝脏标本Masson染色见显著的胶原沉积, 但其他组未见胶原沉积。**结论** 铁可加速高脂所致的大鼠肝脏纤维化进程。

【关键词】 肝纤维化; 大鼠; 高脂; 铁

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2016)06-0648-06

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2016.06.018

A model of high fat and high iron-induced hepatic fibrosis in rats

HE Hong-xing¹, CHEN Jie², HUANG Fang², WANG Cheng-yan¹,
LIN Yan-ting¹, HUA Yi-fan²

(1. Laboratory Animal Center, Fujian Medical University, Fuzhou 350108, China;
2. School of Public Health, Fujian Medical University, Fuzhou 350108)

【Abstract】 Objective To verify whether iron can accelerate the process of liver fibrosis in rats. **Methods** The rats were divided into control group, high fat diet group, high iron group, high fat diet and high iron group, high fat diet and de-iron group, each with 24 rats. The rats were allowed to freely take normal diet and high fat diet, while the high iron rats, high-fat diet plus high iron rats received intramuscular injection of 50 mg/kg iron dextran every other day; high-fat diet plus de-iron group rats received tail intravenous injection of 30 mg/kg deferoxamine one month before death, 3 times/week. 8 rats were selected at 4th, 5th, 6th month of intervention, to detect serum hyaluronic Acid (HA), collagen type IV (COL-IV), laminin (LN), procollagen III (PC III), and observe pathological changes in the liver with Masson staining. **Results** At 5th month of intervention, serum HA level of the high-fat diet plus high iron group was significantly higher than those of high fat diet group and control group. At 6th month of intervention, serum COL-IV and LN levels of the high-fat diet plus high iron group were significantly higher than those of the high fat diet group. At 6th month, serum PC III level was 1.63 time of those of the high fat diet group. At the 6th month, liver tissue of high fat diet plus high iron group appeared collagen deposition revealed by Masson staining, which was not the case in other groups. **Conclusions** Iron can accelerate high fat-induced liver fibrosis.

【Key words】 Hepatic fibrosis; Rats; High fat; Iron

Corresponding author: CHEN jie. E-mail: 147767579@qq.com

[基金项目] 福建省科技厅计划重点项目资助基金(编号:2013Y0087);福建省科技平台建设(编号:2014Y2010)。

[作者简介] 何宏星(1976-),男,实验师,研究方向:实验动物和动物实验管理。Email:hxx761115@sina.com

[通讯作者] 陈洁(1979-),女,讲师,研究方向:营养与慢性病。Email:147767579@qq.com

肝纤维化是乙型肝炎等慢性肝病向肝硬化发展的一个必经的漫长病理过程,改善或者稳定肝纤维化的程度对慢性肝病的治疗,预防肝硬化、肝癌具有重要的临床意义。目前肝纤维化的发生机制尚未完全阐明。

研究表明,过量的脂肪摄入可引起脂肪变性,继而引发炎症和/或纤维化。随着生活水平的不断提高,与糖尿病、肥胖、高脂血症等代谢综合征相关的非酒精性脂肪性肝炎(non-alcoholic steatohepatitis, NASH)的发病日益增多。其发病初期较为隐匿,无典型的临床症状,但其将逐渐发展为肝纤维化,是非饮酒者发生肝硬化甚至肝癌的重要原因之一^[1,2]。目前尚缺乏一个较好的 NASH 致肝纤维化动物模型,因而对 NASH 并发肝纤维化的机制也缺乏深入研究。本研究希望通过给予高铁从而加速高脂大鼠肝纤维化的进程并探讨其机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物及饲料

清洁级雄性 SD 大鼠 120 只,体重 200 ~ 220 g,均来自福建医科大学实验动物中心【SCXK(闽)2012-0001】,由福建医科大学实验动物中心饲养【SYXK(闽)2012-0001】,昼夜节律 12 h/12 h。高脂饲料配方为:玉米 22.2%、小麦 10.0%、鸡肉粉 25.0%、动物预混料 4.0%、石粉 0.3%、多维 0.3%、蔗糖 20.0%、猪油 15.0%、胆固醇 1.0%、胆盐 0.2%、食盐 0.02%;普通饲料为啮齿类动物标准颗粒饲料(委托江苏协同医药生物工程有限责任公司制作)。本实验所有操作均符合中华人民共和国《实验动物管理条例》。

1.2 主要实验试剂和设备

右旋糖酐铁注射液(iron dextran):广西化工研究院;甲磺酸去铁胺(deferoxamine mesylate):瑞士诺华制药;III 型前胶原 ELISA 检测试剂盒、IV 型胶原 ELISA 检测试剂盒、层粘连蛋白 ELISA 检测试剂盒、透明质酸酶 ELISA 检测试剂盒:武汉基因美生物科技有限公司;Masson 染色试剂盒:福州 phygene 生物科技有限公司。

电子天平(BS224s):赛多利斯科学仪器(北)有限公司;4℃低温冰箱:中国海尔集团;-80℃超低温冰箱:美国 Thermo 公司;电脑生物组织自动脱水机:孝感市宏业医用仪器有限公司;生物组织包埋机:孝感市宏业医用仪器有限公司;组织摊片机:德国 Slee

公司;全自动轮转式切片机 RM2255:德国徕卡仪器有限公司;图像分析显微镜:日本 Olympus 公司。

1.3 实验步骤

适应性喂养 3 d 后,将大鼠按照体重区组随机分为以下五组:对照组、高脂组、高铁组、高脂高铁组、高脂去铁组,每组 24 只。对照组、高铁组大鼠自由摄食正常饲料;高脂组、高脂高铁组、高脂去铁组大鼠自由摄食高脂饲料;高铁组、高脂高铁组大鼠隔天选择大鼠后腿肌注右旋糖酐铁 50 mg/kg,左右侧后腿替换;高脂去铁组大鼠处死前一个月尾静脉注射甲磺酸去铁胺,每次 30 mg/kg,3 次/周;干预第 4、5、6 月各组分别选取 8 只大鼠,称量体重,以 30 mg/kg 戊巴比妥钠麻醉大鼠,腹主动脉取血,血液静置 1 h 后,3000 r/min,离心 10 min,制备血清;颈椎脱臼处死大鼠,解剖,获取肝脏。

称量肝重,计算肝体比,肝体比 = (肝脏湿重/体重) × 100。测定血清透明质酸(hyaluronic acid, HA)、IV 型胶原(collagen type IV, COL-IV)、层粘连蛋白(laminin, LN)、III 型前胶原(Procollagen III, PCIII);检测按照相关试剂盒说明书操作。取大鼠肝脏右叶,常规固定、脱水、包埋、切片,Masson 染色观察病理变化。

1.4 统计学处理

实验结果采用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。应用 SPSS 18.0 软件进行统计处理,多组间均数差异性比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA)、LSD 检验(方差齐性)和 Tamhane's (方差不齐)。分析比较各实验组之间差异显著性, $P < 0.05$ 为差异有显著性。检验水准 $\alpha = 0.05$,所有分析结果取双侧 P 值,以 $P < 0.05$ 为差异有显著性。干预时间与组别之间的协同关系检验采用重复测量检验。

2 结果

2.1 一般情况

对照组大鼠毛色有光泽,活泼好动,食量正常;高铁组、高脂高铁组大鼠耳缘及黏膜色泽加深,高脂组、高脂高铁组、高脂去铁组大鼠体毛发黄,油腻,行动较为迟缓。

2.2 不同干预时间各组大鼠肝体比的变化

干预时间影响大鼠肝体比值($F = 34.000, P = 0.001$),干预时间和处理因素之间存在着协同效应($F = 70.000, P < 0.001$)。

干预 4、5 个月后,较之对照组,高脂组、高脂高

铁组和高脂去铁组的肝体比值均上升,差异有显著性(P 均 <0.01);而干预 6 个月后,高脂高铁组的肝

体比下降,与高脂组相比,高脂高铁组肝体比值下降,差异有显著性($P=0.015$)。见表 1。

表 1 不同干预时间各组肝体比的变化($\%$, $\bar{x} \pm s$, $n=8$)

Tab.1 Liver/body ratio in the intervention group at various time points

组别 Groups	4 个月 4th month	5 个月 5th month	6 个月 6th month
对照组 Control	3.521 $\pm$ 0.101	3.594 $\pm$ 0.214	3.609 $\pm$ 0.164
高脂组 High fat	3.728 $\pm$ 0.174 *	4.021 $\pm$ 0.192 *	4.076 $\pm$ 0.148 *
高铁组 High iron	3.674 $\pm$ 0.228	3.740 $\pm$ 0.202 #	3.788 $\pm$ 0.105 #
高脂高铁组 High fat and high iron	4.069 $\pm$ 0.210 ** Δ	4.069 $\pm$ 0.193 * Δ	3.451 $\pm$ 0.368 #
高脂去铁组 High fat and removing iron	3.861 $\pm$ 0.161 * *	4.011 $\pm$ 0.212 * Δ	4.015 $\pm$ 0.292 **

注: * 表示与对照组相比较,差异有显著性($P<0.05$); # 表示与高脂组相比较,差异有显著性($P<0.05$); Δ 表示与高铁组相比较,差异有显著性($P<0.05$); * 表示与高脂高铁组相比较,差异有显著性($P<0.05$)。(下表同)。

Note. * compared with the control group, the difference has statistical significance ($P<0.05$); # compared with the high fat group, the difference is statistically significant ($P<0.05$); Δ compared with the high iron group, the difference has statistical significance ($P<0.05$) * compared with the high lipid high iron group, the difference is statistically significant ($P<0.05$). (The same in the following tables).

2.3 大鼠肝脏纤维化血清相关指标检测

2.3.1 大鼠肝脏纤维化指标 HA 的结果

干预时间对 HA 的水平有影响($F=272.003$, $P<0.001$);干预时间与不同的处理因素之间具有协同效应($F=8.139$, $P<0.001$);干预 5 个月后,高脂高铁组 HA 的水平与对照组、高脂组、高铁组比较,差异有显著性(P 均 <0.01);干预 6 个月后,高脂高铁组 HA 水平持续升高,而高脂组、高铁组、高脂高铁组,高脂去铁组的 HA 水平亦升高,与对照组相比较,差异均具有显著性(P 均 <0.05)。见表 2。

表 2 不同干预时间各组大鼠血清 HA 值的变化(ng/L , $\bar{x} \pm s$, $n=8$)

Tab.2 Serum AST levels in the rats after intervention for 4, 5 and 6 months

组别 Groups	4 个月 4th month	5 个月 5th month	6 个月 6th month
对照组 Control	282.726 $\pm$ 49.004	332.893 $\pm$ 25.188	388.514 $\pm$ 21.092
高脂组 High fat	327.016 $\pm$ 34.590	376.993 $\pm$ 66.555	528.216 $\pm$ 64.196 *
高铁组 High iron	330.928 $\pm$ 43.107	336.224 $\pm$ 28.784	503.308 $\pm$ 35.195 *
高脂高铁组 High fat and high iron	323.049 $\pm$ 65.089	438.412 $\pm$ 41.147 ** Δ	583.317 $\pm$ 25.640 * Δ
高脂去铁组 High fat and removing iron	274.159 $\pm$ 63.780 Δ	305.557 $\pm$ 65.217#**	533.783 $\pm$ 47.646 *

表 3 不同干预时间各组大鼠血清 COL-IV 值的变化($\mu\text{g/L}$, $\bar{x} \pm s$, $n=8$)

Tab.3 Serum COL-IV levels in the rats after intervention for 4, 5 and 6 months

组别 Groups	4 个月 4th month	5 个月 5th month	6 个月 6th month
对照组 Control	39.085 $\pm$ 6.718	38.443 $\pm$ 9.352	42.077 $\pm$ 7.685
高脂组 High fat	44.316 $\pm$ 14.674	58.887 $\pm$ 10.399 *	58.775 $\pm$ 11.881 *
高铁组 High iron	42.750 $\pm$ 10.068	54.391 $\pm$ 8.180 *	59.898 $\pm$ 9.425 *
高脂高铁组 High fat and high iron	57.153 $\pm$ 16.311 * Δ	64.045 $\pm$ 9.346 *	74.699 $\pm$ 13.206 ** Δ
高脂去铁组 High fat and removing iron	45.433 $\pm$ 16.155	43.696 $\pm$ 14.923#**	46.692 $\pm$ 5.999# Δ **

2.3.3 大鼠肝脏纤维化指标 LN 的结果

根据重复测量结果显示:干预时间对 LN 的水平有影响($F=23.505$, $P<0.001$);干预时间与不同的处理因素之间具有协同效应($F=4.259$, $P<0.001$);干预 6 个月后,与对照组相比较,高脂组、高

2.3.2 大鼠肝脏纤维化指标 COL-IV 的结果

根据重复测量结果显示:干预时间对 COL-IV 的水平有影响($F=9.027$, $P<0.001$);干预时间与不同的处理因素之间不具有协同效应($F=1.372$, $P=0.224$);干预 5 个月后,较之对照组,高脂组、高铁组、高脂高铁组 COL-IV 的水平升高,差异均有显著性($P=0.001$, $P=0.005$, $P<0.001$);干预 6 个月后,高脂高铁组的 COL-IV 水平均持续升高;较之高脂组、高铁组,高脂高铁组 COL-IV 水平上升,差异均具有显著性($P=0.003$, $P=0.005$)。见表 3。

脂高铁组的 LN 水平均升高,差异均有显著性($P=0.011$, $P<0.001$)。较之高脂组,高脂高铁组 LN 水平升高显著,差异有显著性($P=0.0025$, $P=0.007$)。见表 4。

2.3.4 大鼠肝脏纤维化指标 PCⅢ的结果

根据重复测量结果显示:干预时间对 PCIII 的水平有影响($F = 34.000, P < 0.001$);干预时间与不同的处理因素之间具有协同效应($F = 70.000, P < 0.001$);干预 4 个月,与高脂组、高铁组相比,高脂高铁组 PCIII 值分别上升了 55.42%、60.82%,差异有显著性(P 均 < 0.001);干预 5 个月,与高脂组相比,

高脂高铁组 PCIII 值上升了 25.52%;与高铁组相比,高脂高铁组 PCIII 值的上升,差异也有显著性(P 均 < 0.001);干预 6 个月后,较之高脂组,高脂高铁组 PCIII 值上升了 63.42%,差异有显著性($P < 0.001, P = 0.006$);与高铁组相比,高脂高铁组 PCIII 值的上升,差异有显著性。见表 5。

表 4 不同干预时间各组大鼠血清 LN 值的变化($\mu\text{g/L}, \bar{x} \pm s, n = 8$)

Tab. 4 Serum LN levels in the rats after intervention for 4, 5 and 6 months

组别 Groups	4 个月 4th month	5 个月 5th month	6 个月 6th month
对照组 Control	405.376 $\pm$ 111.992	388.526 $\pm$ 86.582	422.625 $\pm$ 77.586
高脂组 High fat	383.164 $\pm$ 56.429	421.987 $\pm$ 79.173	548.855 $\pm$ 130.467 *
高铁组 High iron	380.745 $\pm$ 71.126	416.181 $\pm$ 71.064	460.096 $\pm$ 92.644
高脂高铁组 High fat and high iron	371.195 $\pm$ 83.907	437.876 $\pm$ 111.165	658.026 $\pm$ 82.877 *# Δ
高脂去铁组 High fat and removing iron	373.245 $\pm$ 49.233	406.583 $\pm$ 66.630	415.998 $\pm$ 71.534#

表 5 不同干预时间各组大鼠血清 PCIII 值的变化($\text{ng/L}, \bar{x} \pm s, n = 8$)

Tab. 5 Serum PCIII levels in the rats after intervention for 4, 5 and 6 months

组别 Groups	4 个月 4th month	5 个月 5th month	6 个月 6th month
对照组 Control	349.189 $\pm$ 31.462	400.775 $\pm$ 24.972	393.124 $\pm$ 25.170
高脂组 High fat	475.056 $\pm$ 60.238 *	683.817 $\pm$ 40.197 *	911.515 $\pm$ 97.949 *
高铁组 High iron	459.086 $\pm$ 45.460 *	671.719 $\pm$ 50.614 *	826.550 $\pm$ 87.921 *
高脂高铁组 High fat and high iron	738.297 $\pm$ 46.944 *# Δ	858.295 $\pm$ 55.466 *# Δ	1489.631 $\pm$ 65.566 *# Δ
高脂去铁组 High fat removing iron	481.185 $\pm$ 41.954 *※	556.307 $\pm$ 59.839 *# Δ ※	777.469 $\pm$ 138.230 *#※

2.4 大鼠肝脏病理检测

2.4.1 肝脏大体病理情况

干预 4、5、6 个月后,正常组大鼠肝脏色泽红润,表面光滑无结节,质地柔软,肝脏边缘锐利。干预 4、5 个月后,高铁组大鼠肝脏颜色加深,表面无结节,干预 6 个月后,个别大鼠肝脏肝叶边缘有灶状颜色变浅,质地变硬;高脂组与高脂去铁组干预 4、5、6 个月大鼠肝脏体积增大,肝叶变厚,颜色变浅发黄,质地饱满,肝脏边缘变钝,切面油腻,未见结节与灶状改变。高脂高铁组干预 4、5 个月后,大鼠肝脏体积变大,肝叶变厚,色泽变深,颜色介于高铁组与高脂组之间,质地变硬,表面可见细小的颗粒状结构;干预 6 个月后,肝脏体积变小,色泽较干预 4、5 个月变浅,肝脏质地进一步变硬,表面更为粗糙,有 5 只大鼠的肝脏可见灶状的纤维化病变。

2.4.2 肝脏 Masson 染色病理情况

干预 4、5、6 个月后,对照组大鼠肝脏肝小叶结构正常,可见肝索结构,血管壁可见少量胶原纤维。

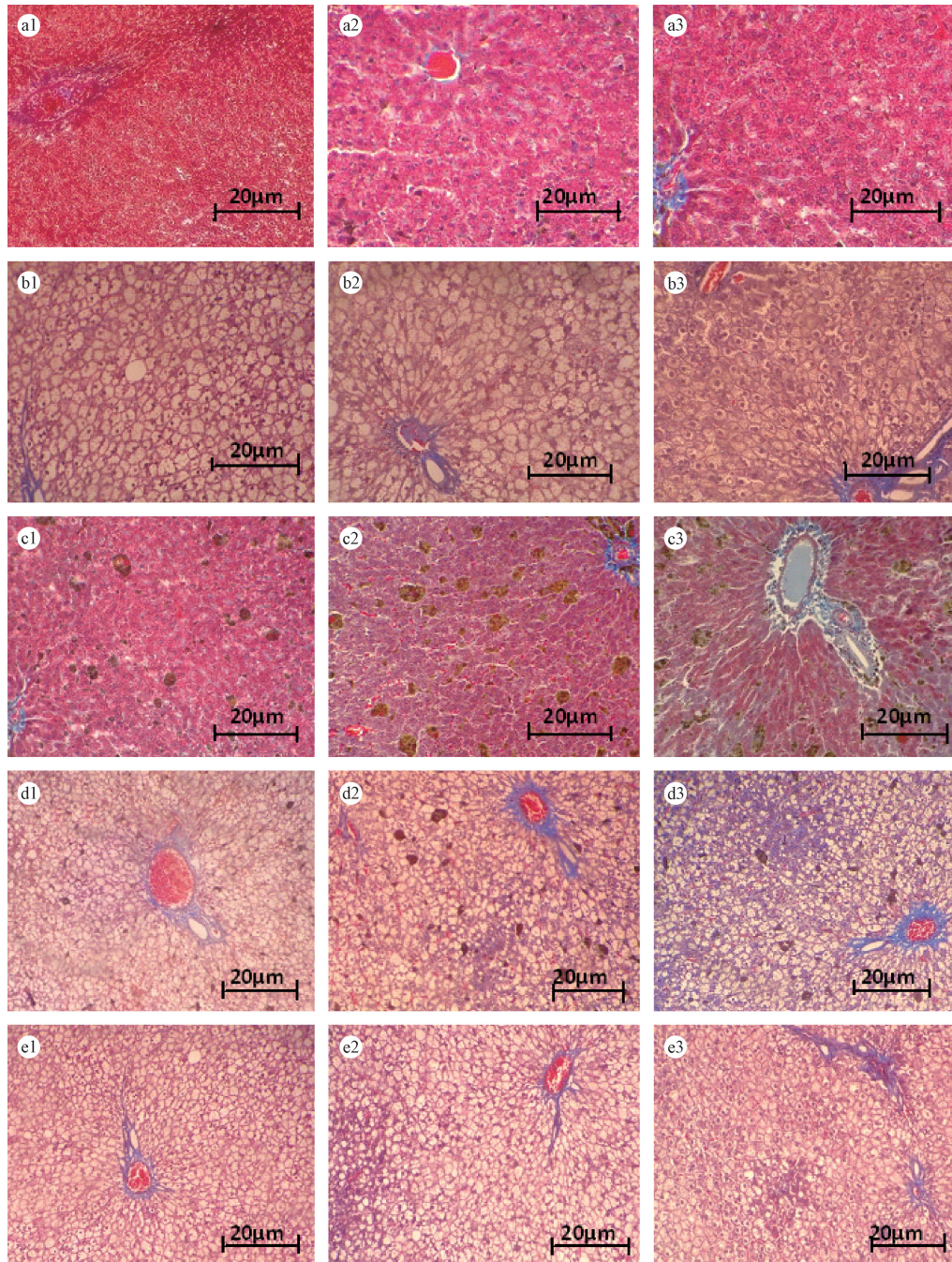
高脂组、高脂去铁组干预后可见肝小叶结构紊乱,肝脏细胞广泛性的脂肪变性、呈现空泡状,细胞核被挤占至细胞边缘,可见肝脏细胞的坏死,伴有较多的炎性细胞浸润。

高铁组干预 4、5 个月后,可见肝细胞的坏死,伴有较多的炎性细胞浸润,可见棕黄色较为粗大的折光颗粒—含铁血黄素颗粒,胶原纤维仍然局限于血管壁周围;干预 6 个月后,肝索结构中可见胶原纤维的沉积。

高脂高铁组大鼠病理标本镜下可见肝脏细胞广泛性的脂肪变性及含铁血黄素颗粒,干预 5 个月出现少量蓝色胶原染色,多集中于汇管区,随着干预时间的延长,干预 6 个月后,肝脏沉积的胶原逐渐增多,汇管区扩大,较粗的纤维间隔形成,并向外延伸分隔肝小叶。见图 1。

3 讨论

肝星状细胞(hepatic stellate cells, HSC)的激活是肝纤维化形成的关键。激活的星状细胞,合成大量的胶原、蛋白多糖和糖蛋白的细胞外基质(ECM)。检测各种 ECM 及其代谢产物在血清中的含量有助于判断肝纤维化的程度。本次研究提示干预 4、5、6 个月后,高脂高铁组的血清肝纤维化指标 HA、COL-IV、LN、PCIII 较之单纯高脂组及单纯高铁组均有明显的上升;医学界推荐肝脏病理检测是肝脏纤维化诊断的“金标准”^[3,4],纤维化的发生和程



注: a1: 对照组(干预4个月); a2: 对照组(干预5个月); a3: 对照组(干预6个月)。

b1: 高脂组(干预4个月); b2: 高脂组(干预5个月); b3: 高脂组(干预6个月)。

c1: 高铁组(干预4个月); c2: 高铁组(干预5个月); c3: 高铁组(干预6个月)。

d1: 高脂高铁组(干预4个月); d2: 高脂高铁组(干预5个月); d3: 高脂高铁组(干预6个月)。

e1: 高脂去铁组(干预4个月); e2: 高脂去铁组(干预5个月); e3: 高脂去铁组(干预6个月)。

图1 不同干预时间各组大鼠肝脏镜下病理结构图(×400)

Note. a1: Control group, 4th month; a2: Control group, 5th month; a3: Control group, 6th month;

b1: High fat group, 4th month; b2: High fat group, 5th month; b3: High fat group, 6th month;

c1: High iron group, 4th month; c2: High iron group, 5th month; c3: High iron group, 6th month;

d1: High fat and high iron group, 4th month; d2: High fat and high iron group, 5th month;

d3: High fat and high iron group, 6th month; e1: High fat and removing iron group, 4th month;

e2: High fat removing iron group, 5th month; e3: High fat and removing iron group, 6th month.

Fig. 1 Histological changes in the liver tissues of rats in each group at intervention for 4, 5, 6 months. Masson staining

度主要依据胶原纤维染色来进行判定。Masson 染色是胶原纤维染色中最经典的一种方法,高脂高铁组镜下除了可见棕黄色的含铁血黄素颗粒外,干预 6 个月后,肝脏可见大量的蓝色胶原纤维的沉积,部分肝脏出现较粗的纤维间隔,并向外延伸分隔肝小叶,结合大体标本可见的肝脏体积缩小,质地变硬,表面粗糙,出现细小的颗粒状结构,而其他各组未出现如此典型的病理改变,上述结果均说明高脂高铁组发生了肝脏纤维化,且其程度较其他干预组更为显著。Padda 研究^[5]认为高脂引起的铁代谢紊乱不足以加速肝脏纤维化,这与本研究在前期预实验阶段干预 12 周未见肝纤维化表现相似,故将干预时间延长,干预 24 周后,出现明显的肝纤维化改变;目前肝纤维化动物模型的造模方法主要有以下几种^[6]:四氯化碳、半乳糖胺、乙醇、二甲基亚硝胺等化学物质诱导肝纤维化;以人血清白蛋白、猪血清白蛋白、牛血清白蛋白等异种血清诱导免疫性肝纤维化模型和胆总管结扎制造胆汁性肝纤维化模型。在高脂膳食的同时给予铁剂补充的复合造模方式较之上述造模方式,其与人类营养代谢紊乱相关的非酒精性肝炎致肝纤维化的病理过程更为贴近,且造模方法简单,动物死亡率低,为研究 NASH 引发肝纤维化的机制提供良好动物模型。

甲磺酸去铁胺作为铁中毒的解毒剂,与 Fe^{3+} 形成络合物将铁排出体外^[5]。219 例 β -地中海贫血病人通过三年或以上去铁药物 deferasirox 的治疗,可以逆转或稳定肝纤维化^[6]。高脂去铁组在高脂饲

料喂养的同时,我们以甲磺酸去铁胺作为去铁的处理手段,从血清肝纤维化指标来看,甲磺酸去铁胺的确具有一定的抗纤维化作用。

参 考 文 献

- [1] 江远,张玲,何金洋,等. 在二甲基亚硝胺诱导大鼠肝纤维化时铁超载和脂肪堆积的作用[J]. 中西医结合肝病杂志, 2009, 9(2): 102-105.
- [2] Chiang DJ, Pritchard MT, Nagy LE. Obesity, diabetes mellitus, and liver fibrosis [J]. Am J Physiol-Gastrointest Liver Physiol. 2011, 300(5): G697-G702.
- [3] 中华医学会肝病学会,中华医学会感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南(2010 年版)[J]. 中华传染病杂志, 2011, 29(2): 65-80.
- [4] European Association For The study of The Liver. EASL clinical Practice Guidelines; management of chronic hepatitis B [J]. J Hepatol, 2009, 50(2): 227-242.
- [5] Padda RS, Gkouvatsos K, Guido M, et al. A high-fat diet modulates iron metabolism but does not promote liver fibrosis in hemochromatotic $\text{Hjv}^{-/-}$ mice [J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2015, 308(4): G251-261.
- [6] 李志刚,杨晋翔,张伟,等. 肝纤维化实验动物模型的建立与评价[J]. 北京中医药大学学报(中医临床版), 2009, 16(4): 43-46.
- [7] 张春彦,雷鸿丽. 去铁胺治疗血色病 1 例 [J]. 中国现代药物应用, 2013, 7(20): 182-183.
- [8] Deugnier Y, Turlin B, Ropert M, et al. Improvement in liver pathology of patients with thalassemia treated with deferasirox for at least 3 years [J]. Gastroenterology, 2011, 141: 1202-1211

[收稿日期] 2016-05-06