

王娟,杨晶晶,周仁鹏,等. 肝纤维化小鼠模型研究现状 [J]. 中国比较医学杂志, 2022, 32(2): 105-110.

Wang J, Yang JJ, Zhou RP, et al. Current status of research on mice models of liver fibrosis [J]. Chin J Comp Med, 2022, 32(2): 105-110.

doi: 10. 3969/j.issn.1671-7856. 2022. 02. 016

肝纤维化小鼠模型研究现状

王娟^{1,2}, 杨晶晶¹, 周仁鹏^{1,2}, 胡伟^{1,2}, 鲁超^{2,3*}

(1.安徽医科大学第二附属医院药物临床试验研究中心,合肥 230601;2.安徽医科大学药学院,合肥 230032;
3.安徽理工大学,安徽淮南 232001)

【摘要】 肝纤维化是肝病领域研究的热点问题,其模型的制备有助于探究发病机理。本论文综述了目前报道的十种常用的肝纤维化小鼠模型,讨论了各自模型的成模原理、造模途径、模型效果、优缺点和用途,比较不同小鼠模型的异同,旨在为模型的选择提供依据,为肝纤维化的研究方向提供参考。

【关键词】 肝纤维化;小鼠;动物模型

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2022) 02-0105-06

Current status of research on mice models of liver fibrosis

WANG Juan^{1,2}, YANG Jingjing¹, ZHOU Renpeng^{1,2}, HU Wei^{1,2}, LU Chao^{2,3*}

(1. Department of Clinical Pharmacology, the Second Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230601, China.
2. School of Pharmacy, Anhui Medical University, Hefei 230032. 3. Anhui University of Science & Technology,
Huainan 232001)

【Abstract】 Liver fibrosis is an important topic in the field of liver disease research, and the establishment of animal models for liver fibrosis is key to exploring the pathogenesis of this disease. This article summarizes the ten commonly used types of mice models of liver fibrosis and discusses their respective mechanisms, Methods of establishment, effects, and advantages and disadvantages of establishing a particular mice model. The differences and similarities between the models are compared to provide a reference for the selection of an appropriate model for liver fibrosis research.

【Keywords】 liver fibrosis; mice; animal models

肝纤维化的概念是上世纪 50 年代由德国科学家提出的,其被认为是癌前状态,与增加原发性肝癌相对死亡率密切相关,占肝癌患者死亡率的一半^[1]。因营养代谢和病毒感染等致慢性肝病的各种原因都可引发肝纤维化,先是肝损伤导致细胞外基质(extracellular matrix, ECM)积聚在肝中,随后导致肝纤维化和肝硬化^[2-3]。肝纤维化的发生发展机制是由多种细胞、蛋白和各种促纤维化细胞因子等因素共同组成一个复杂的网络,其中肝星状细胞

(hepatic stellate cell, HSC) 是其中的主体细胞类型^[4]。清除病毒等祛除病因法是目前常规治疗方法,抗炎、针对肝损伤的治疗以及抑制 ECM 产生并促其降解等也是常见治疗方式^[1-5]。早期肝纤维化很难被发现,晚期时逆转并不能完全避免进展为肝癌的风险和严重的并发症。因此,在整个肝病发展过程中,对各种致病因素的动物模型进行深入研究,找出缓解甚至逆转早期肝纤维化发展的机制和药物,对治疗肝病具有极高的价值。

【基金项目】 国家自然科学基金(81600477)。

【作者简介】 王娟(1994—),女,在读硕士研究生,研究方向:临床药理学。E-mail: wangjuan5102020@163.com

【通信作者】 鲁超(1969—),男,研究员,副教授,研究方向:临床药理学。E-mail: 765385306@qq.com

常用于制备模型的动物主要有大鼠^[6]、小鼠^[7]、豚鼠^[8]、家兔^[9]等,也有使用小型猪^[10]、斑马鱼^[11]、恒河猴^[12]、鸭^[13]来进行研究。与其他实验动物比较,小鼠因与人类基因组同源度高,繁殖快、成本低、操作易上手而成为制备此种模型的首选,如乙型肝炎纤维化模型就以小鼠为主流^[14]。大、小鼠造模方式分类大致相同,但在方法操作难易程度、受试药物用量、纤维化程度、成模率、死亡率等方面有一定区别。如大鼠没有胆囊,胆管阻塞性肝纤维化法会比小鼠更适用。以欧强等^[15]采用 SD 大鼠和 C57BL/6J 小鼠成功建立的模型为例:8 周后小鼠模型组的炎症反应和纤维化程度均比大鼠模型组的明显,从这个角度小鼠更适于该病的实验研究。

目前大鼠模型的研究已较成熟,而小鼠模型的相关报道较少,故本文综合国内外关于小鼠肝纤维化模型的研究,基于肝纤维化的不同致病因素,归纳了目前常用模型的成模机制、造模途径、模型效果、优缺点和用途。

1 化学造模法

1.1 四氯化碳(carbon tetrachloride, CCl₄)诱导的肝纤维化模型

反复给予 CCl₄ 是一种经典的、最早、最广泛地用于诱导毒素介导肝纤维化的模型之一^[16]。其机制是 CCl₄ 通过 CYP450 氧化酶激活生成活性自由基再活化贮脂细胞形成脂肪变性,促进纤维化。实验结果可能因试剂的剂量、给药时间和途径或其他因素而有所不同,腹腔注射、皮下注射和灌胃法是目前 CCl₄ 造模法常用的给药方式。其中,皮下注射 40%~60% CCl₄ 溶于橄榄油最常见,每隔 2 d 注射 1 次,2 个月时即可成功造模^[17]。缺点是 CCl₄ 毒性较大,大剂量注射易导致实验动物大量死亡而小剂量造模不易成功。

1.2 二甲基亚硝胺(dimethylnitrosamine, DMN)诱导的肝纤维化模型

DMN 是一种有肝亲和性毒性的药物,通过甲基化蛋白质、DNA 和生物膜脂质致使肝中毒性改变,导致肝细胞严重坏死和纤维化形成。与 CCl₄ 法不同在于损伤是进行性的,在 DMN 暴露中断后 1~2 个月仍可维持稳定疾病状态,因而与人类肝纤维化病理改变更类似。此造模方法已有 40 余年的历史,大都参照 Jenkins 等^[18]介绍的方法来制备。王丽娜等^[19]将注射频率由连续 3 d 改为每 2 d 1 次,改良

方法的模型更稳定,病理可见小叶内纤维化和大面积出血性坏死。DMN 价格昂贵,具有致癌性,应格外留意个人安全。

1.3 硫代乙酰胺(thioacetamide, TAA)诱导的肝纤维化模型

TAA 是一种毒性物质,进入肝后通过延长肝细胞有丝分裂和阻碍 RNA 转移来影响相关酶的代谢过程,最终导致肝细胞坏死,常用于啮齿动物的纤维化诱导。该模型与人类肝疾病的生化和形态学指标特征十分类似,成模率高,通常作为肝纤维化基础研究的合适动物模型^[20]。Seo 等^[21]采取每周 3 次连续 7 周腹腔注射 TAA 溶液(200 mg/kg)的方法成功造模,结果发现 TAA 可增强小鼠的肝毒性,增加肝功能和纤维化程度,并产生大量胶原纤维,但使小鼠体重减轻。

1.4 其他化学因素诱导的肝纤维化模型

(1)血管紧张素 II(Ang II)诱导法。此模型是目前提出的一种新型小鼠肝纤维化模型,其过程不出现肝细胞炎症和死亡,已应用于肾、心等其他器官。研究发现 Ang II 在肝纤维化组织中的含量显著增多,长期输注 Ang II 可诱导 HSC 活化和促炎作用,可见 Ang II 具有致炎和纤维化的作用,并以此来诱导该疾病模型^[22]。(2)D-氨基半乳糖(D-Galactosamine, D-Gal N)法。因尿嘧啶核苷酸被大量消耗,致使 RNA 和蛋白质合成减少而引起的肝损伤。多用于诱导急性肝损伤,纤维化程度高,多为三到四期,与人类肝纤维化相似度高,重复性好,但不足之处是造模所消耗的时间和成本高。Osawa 等^[23]给小鼠反复服用 D-Gal N 持续 8 周,诱导了肝细胞凋亡和肝纤维化。(3)二氧化硅(SiO₂)诱导的肝纤维化。SiO₂ 可诱导体内过量氧自由基损伤肝组织以及诱导 TGF-β 等细胞因子激活 HSC,致使 ECM 大量沉积,形成肝纤维化。有研究者混合 SiO₂ 和超液化碘油于肝右叶实质内局部注射,12 周后可见部分细胞坏死、巨噬细胞结节和纤维增生^[24]。该法可固定肝纤维化病变部位,成功率高,因而可为介入治疗肝癌提供一种实验可行性方向。但操作较为复杂,历时长。

2 免疫造模法

2.1 异种血清法

有研究证实,血清作为异源抗原刺激实验动物产生免疫反应,刺激机体主动释放细胞因子来激活

HSC,使 ECM 过度沉积导致肝纤维化^[25]。此机制与临床上慢性肝炎所致肝纤维化非常相似,具有强烈的免疫应答能力,对肝细胞乃至整个动物的伤害很小,对实验结果影响小。猪、牛、马和血吸虫等的血清是实验中常采用的。Zhang 等^[26]采用每周给 Balb/c 小鼠注射 0.1 mL/10 g 猪血清,6 周后小鼠表现为明显的纤维化变化。适用于肝纤维化机制的研究和免疫调节剂的筛选。但造模时间长,因过敏反应致实验动物易死亡。

2.2 刀豆素蛋白 A 法 (concanavalin A, Con A)

Con A 是一种来自刀豆的植物凝集素,可刺激 T 细胞有丝分裂,促进 TGF- β 、TNF- α 等细胞因子的释放,引起炎症反应并进一步发展成肝纤维化,与人类病毒性肝炎的免疫病理机制非常接近^[27-28]。这种明显的急性肝损伤可在 Balb/c 小鼠上出现,而在 SCID 小鼠上不会,使用其他免疫抑制剂也不会引起肝损伤,可见其特异性^[27]。Yang 等^[29]对小鼠反复注射 Con A 建模,采用剂量 15 mg/kg 每周 1 次尾静脉注射的方法,连续注射 6 次后就出现肝纤维化。

3 血吸虫肝纤维化动物模型

日本血吸虫病是我国有害性最大的寄生虫病之一,肝遭受损伤后形成虫卵肉芽肿,再形成纤维化。用血吸虫尾蚴来制作是这类模型的基础造模方式,因而不能应用于其他类型,只应用于血吸虫病性肝病的药物研究治疗。姜苏琴^[30]采用皮肤敷贴日本血吸虫尾蚴感染小鼠 12 周来建模,在感染后分期做组织标本检测,发现纤维化程度进行性加重,胶原沉积面积与虫卵肉芽肿位置息息相关。小鼠肝在感染后发生的病理变化与人类有极大的相似性,对研究人类该疾病机制及治疗方面具有重要价值。

4 胆管阻塞性肝纤维化 (BCM 法) 模型

Beaussier 等^[31]通过实验发现因胆管破坏、胆汁淤积导致肝细胞及胆管细胞受损,在肝内产生大量胶原和 ECM 沉积发展成肝纤维化。BCM 法中最常见的是通过人为结扎肝外胆管使其阻塞,其结扎方法包括胆总管结扎法、胆管结扎后切断法和 N-丁基-2-氰基丙烯酸酯逆行性注入法 3 种方式^[32]。该模型成模周期短,对动物的要求不高,肝纤维化稳定可靠,且无须与毒性物质接触。但不足之处在

于:不仅因不同个体对胆管扩张程度的耐受能力不同而使肝实质有不同反应致使纤维化程度不均一,且因胆汁泄漏引起的腹膜炎以及胆总管的分离结扎技术而致模型死亡率高,一般在 30% 以上^[33]。该模型不适用于通过利胆而发挥药效的药物。

5 肝缺血再灌注损伤 (hepatic ischemia-reperfusion injury, HIRI) 诱导的肝纤维化模型

HIRI 是指肝缺血再灌注后,不仅不会恢复肝功能,反而让肝结构和功能损害更严重的现象。在临床上严重肝外伤、肝移植、休克复苏时均不可避免出现 HIRI,利用 HIRI 这一操作形成的一种新型肝纤维化模型,既符合临床实际,也为这方面的研究提供一种新的方向。肝细胞损伤后释放炎症因子、细胞因子和自由基促使 HSC 被大量激活而启动早期肝纤维化,这些因素在疾病的进程中持续作用并进一步发展。左嘉玮等^[34]采用缺血后再灌注 8 周诱导小鼠肝纤维化,采用半肝阻断法,造成小鼠肝左外侧叶、左中叶及中叶缺血 90 min,成功造模。

6 酒精性肝纤维化 (alcoholic liver fibrosis, ALF) 模型

我国酒文化底蕴深厚,由饮酒引发的健康问题日益严峻,由 ALF 引起死亡的肝硬化患者大约为 50%^[35]。肝是酒精代谢的主要场所,代谢物乙醛及其转化物乙酸通过多种途径损伤肝结构与功能导致炎症反应,同时削弱肝内脂肪氧化形成脂肪肝,最终形成 ALF。目前常用的模型制备方法为含酒精饮食诱导法和灌胃法。含酒精饮食诱导法的成本更低,操作更简单,死亡率也更低,常采用 Lieber-DeCarli 模型和 Tsukamoto-French 模型^[36-37]。灌胃法可控制每只小鼠的酒精摄入量,造模稳定性高。苏俊^[38]应用白酒灌胃法 16 周成功复制模型,观察到如变性坏死、炎症和纤维增生等相关病理表现。此方法非常贴合中国人的饮酒方式。

7 营养诱发模型

营养诱发模型多用来制作脂肪性肝纤维化模型,包括营养物质过剩和营养物质缺乏两种类型。C57 小鼠对代谢综合征敏感性强,易进展为纤维化,常选用来制备该类模型。

7.1 营养物质过剩诱导模型

包括单一营养物质过剩诱导模型(单纯高脂模型)和多种营养物质过剩诱导模型(高脂高糖模型与高胆固醇高胆盐模型)。长期进食高脂饮食后过

多脂肪酸作用于肝细胞产生脂毒性,引起肝损伤和炎症,但单独给予高糖不能诱发纤维化,Asgharpour 等^[39]给小鼠联合高果糖-葡萄糖溶液(23.1 g/L 果糖 + 18.9 g/L 葡萄糖)启动致肥饮食后,发现小鼠 16 周后可出现胰岛素抵抗(Insulin resistance, IR),大大缩短造模时间和增加纤维化程度。Savard 等^[40]发现胆固醇增多可能会抑制脂肪酸 β 氧化和减少胆汁酸合成,引起肝脂肪变性,添加胆盐可增强小鼠对胆固醇的吸收并抑制其清除而提高其浓度。该方法比高胆固醇饮食造模周期短且纤维化程度高,但缺点是其未引起 IR。

7.2 营养物质缺乏模型

主要有蛋氨酸和胆碱缺乏(methionine and choline-deficient diet, MCD)模型和 L-氨基酸胆碱缺乏(choline-deficient L-amino acid-defined diet, CDAA)模型。(1) MCD 模型在脂肪性肝纤维化研究中很常见。胆碱、蛋氨酸均缺乏时,谷胱甘肽和卵磷脂合成受阻,导致 VLDL 合成及分泌障碍,造成 TG 在肝细胞沉积,并增加抗氧化屏障机制损伤导致氧化应激加剧,肝细胞发生炎症和坏死^[41]。(2) CDAA 模型是把胆碱缺乏饮食中相当量的蛋白质用 L-氨基酸和相应的混合物来替代。Winkler 等^[42]用 CDAA 饮食喂养 C57BL/6N 小鼠 10 周后出现周围肝纤维化,伴有肝脂肪变性和中度肝病。与 MCD 饮食比较,CDAA 饮食在胆碱含量控制上更准确,但缺点是小鼠体质量会稍有下降,也不会出现 IR。

8 病毒性肝纤维化动物模型

乙型肝炎病毒(HBV)和丙型肝炎病毒(HCV)与宿主之间的相互作用复杂,除非病毒被宿主清除,否则宿主将长期携带病毒,肝损害无法愈合最终会导致纤维化、硬化甚至癌症的发生^[43]。据统计全球每年因 HBV 感染引起的终末期肝病死亡的超出 100 万人^[44]。现已证实啮齿类动物不会感染人类的肝炎病毒,缺乏 HBV 和 HCV 感染的通用小动物模型阻碍我们更深入了解病毒生物学。Bissig 等^[45]最近描述了一种可调节系统、用于重新接种免疫缺陷小鼠,特别是缺少富马乙酰水解酶、重组激活基因 2 和 IL-2 受体的 γ 链的小鼠,结果显示这些具有高水平人类肝嵌合症的小鼠(嵌合率可达 95%)可传播 HBV 和 HCV,感染 HCV 的小鼠对抗病毒治疗有反应。这种模型将为研究 HBV 和 HCV 感染以及其他可能的人类肝病性病原体实验提供实

验可能性,并证明可测试抗病毒药物。

9 转基因肝纤维化动物模型

基因遗传因素是肝纤维化中一个重要影响因素,构建小鼠转基因肝纤维化模型包括基因敲除、基因突变和基因转染等方法,通过一条明确的途径来研究肝纤维化的发病机制。近年来,基于流体动力学的基因传递技术引起了人们的广泛关注。基本步骤是将裸质粒 DNA 大量高速注射到动物尾静脉,该方法实现了肝中外源基因的高表达,为实验动物提供了一种高效简单的转染方法。Yang 等^[46]运用基于流体动力学的基因传递系统建立了动态小鼠肝纤维化模型,发现小鼠肝中的 TGF- β 可高水平表达,在诱导状态下 Col 1A2 和血清 α -SMA 这两个纤维化和 HSC 活化的指标上调。这种模型代表了一种动态且可逆的肝纤维化,可用来研究肝纤维生成的早期分子机制或筛选用于临床的抗纤维化药物。但缺点是诱导的时间短暂,纤维化水平并未达到大规模(小叶纤维化)。其他基因模型还有 *Ob/ob*、*Db/db*、*Foz/Foz*、*SREBP-1c* 转基因等^[47]。

10 复合模型

由于单一因素造模总有弊端,且肝纤维化的形成本身受各方面因素影响,因此部分研究者们可根据自己的模型需要,组合各种因素建立更稳定和更精准机制的理想动物模型。这种将多种因素方法结合起来建立肝纤维化动物模型的方法称之为复合模型。冯劲立等^[48]以内毒素脂多糖肝纤维化模型与 DMN 诱导法相结合形成复合型模型,既能提高造模的稳定性,还能更好模拟疾病生理条件。

11 总结

在小鼠动物模型发展史上已有多种模型,从纯化学试剂和酒精引起烈性肝损伤到 Ang II “无炎症”诱导、基因诱导等微损伤模型,各种模型各有特点。其中以 CCl_4 诱导法较成熟,但其造模时间、给药方式和剂量无统一的标准。免疫性肝纤维化模型的主动诱导特性与人类肝纤维化形成机制最为接近,临床基础研究的适用性更强,便于推广,但模型中所用蛋白的种类以及攻击阶段蛋白的增加量和时间各有不同。其他模型中的酒精用量、接种病毒用量等均无统一的标准,故而在模型的重复性方面就存在差异。大多数模型与我国肝纤维化的主

要病因仍有较大差距,因其不存在病毒复制且不维持进行性肝实质损伤的过程。现有成模技术均不能符合所有肝纤维化理想要求,仅能根据各个模型的发生机制、建立方法和病理特点,结合研究目的选择不同的成模方法,以尽量满足研究需求。

因此笔者认为,今后的研究应加强机理、病理学方面的研究,建立能客观反映人肝纤维化发病机制的、涉及肝炎病毒的动物模型,可应用组学技术在蛋白、基因和代谢等方面寻求多种病因,以期找到共同致病因素的支点,针对关键基因和目标蛋白药物的研发,使其能预防肝硬化、肝癌等严重并发症,最终改善肝纤维化患者的预后。目前兴起的表观遗传学在肝纤维化机制上的研究或许可为我们打开新的大门。笔者还认为,由于人类的肝纤维化是多种因素共同作用的结果,因此可首选复合造模法,其次是选择成模方法成熟的如 CCl_4 诱导法。希望通过一代又一代研究者的摸索,可以改良造模方法,缩短造模时间,提高成模率,建立在给药剂量、方式和时间以及纤维化程度评判标准上有更统一标准的模型,以期为肝纤维化基础研究做出更大贡献。

参考文献:

- [1] Lee YA, Wallace MC, Friedman SL. Pathobiology of liver fibrosis: a translational success story [J]. Gut, 2015, 64(8): 1337.
- [2] Ren Z, Chen X, Hong L, et al. Nanoparticle conjugation of ginsenoside Rg3 inhibits hepatocellular carcinoma development and metastasis [J]. Small, 2020, 16(2): e1905233.
- [3] Fan W, Liu T, Chen W, et al. ECM1 Prevents activation of transforming growth factor β , hepatic stellate cells, and fibrogenesis in mice [J]. Gastroenterology, 2019, 157(5): 1352-1367.
- [4] Acharya P, Chouhan K, Weiskirchen S, et al. Cellular mechanisms of liver fibrosis [J]. Front Pharmacol, 2021, 12: 671640.
- [5] 郑虹,肖海,吴雄健. 肝纤维化的发病机制及治疗的最新进展 [J]. 赣南医学院学报, 2019, 39(3): 298-302, 308.
- [6] 何宏星,陈洁,黄芳,等. 高脂高铁致大鼠肝纤维化模型的初探 [J]. 中国实验动物学报, 2016, 24(6): 648-653.
- [7] 刘甦苏,霍桂桃,王辰飞,等. 四氯化碳诱导近交系 C57BL/6 小鼠建立肝纤维化模型 [J]. 实验动物科学, 2019, 36(4): 28-30, 34.
- [8] Klaebel J, Rakipovski G, Andersen B, et al. Dietary intervention accelerates NASH resolution depending on inflammatory status with minor additive effects on hepatic injury by vitamin e supplementation [J]. Antioxidants (Basel), 2020, 9(9): 808.
- [9] 李磊,李向利,胡惠敏. 前列环素 E1 对肝动脉碘化油栓塞术后肝纤维化家兔的影响 [J]. 实验动物与比较医学, 2020, 40(3): 212-217.
- [10] Pedersen HD, Galsgaard ED, Christoffersen BØ, et al. NASH-inducing diets in göttingen minipigs [J]. J Clin Exp Hepatol, 2020, 10(3): 211-221.
- [11] DeRossi C, Bambino K, Morrison J, et al. Mannose phosphate isomerase and mannose regulate hepatic stellate cell activation and fibrosis in Zebrafish and humans [J]. Hepatology, 2019, 70(6): 2107-2122.
- [12] Lai C, Feng T, Wei L, et al. Development and validation of a primate model for liver fibrosis [J]. J Pharmacol Toxicol Methods, 2019, 100: 106600.
- [13] 常彩芳,候勇,丛刚. α -2b 干扰素对乙型肝炎模型鸭肝组织炎症和肝纤维化的治疗作用 [J]. 吉林大学学报(医学版), 2017, 43(1): 11-15, 214.
- [14] 黄恺,孙鑫,赵志敏,等. 两种乙型肝炎纤维化小鼠复合模型比较 [J]. 中国实验动物学报, 2019, 27(5): 598-603.
- [15] 欧强,杨华,赵亚娟,等. 蛋氨酸-胆碱缺乏饮食诱导的大、小鼠非酒精性脂肪性肝病模型的特点及差异 [J]. 肝脏, 2017, 22(10): 933-937.
- [16] 王丽春,赵连三. 肝纤维化的实验动物模型 [J]. 中国实验动物学报, 2004, 12(4): 56-60.
- [17] Chow AM, Tan M, Gao DS, et al. Molecular MRI of liver fibrosis by a peptide-targeted contrast agent in an experimental mouse model [J]. Invest Radiol, 2013, 48(1): 46-54.
- [18] Jenkins SA, Grandison A, Baxter JN, et al. A dimethylnitrosamine-induced model of cirrhosis and portal hypertension in the rat [J]. J Hepatol, 1985, 1(5): 489-499.
- [19] 王丽娜,刘成海,陈园,等. 一种改良的二甲基亚硝胺肝纤维化模型诱导方法及其病理特点 [J]. 中国实验动物学报, 2007, 15(2): 90-94, 72.
- [20] Lebda MA, Sadek KM, Abouzed TK, et al. Melatonin mitigates thioacetamide-induced hepatic fibrosis via antioxidant activity and modulation of proinflammatory cytokines and fibrogenic genes [J]. Life sciences, 2018, 192: 136-143.
- [21] Seo HY, Lee SH, Lee JH, et al. Clusterin attenuates hepatic fibrosis by inhibiting hepatic stellate cell activation and downregulating the smad3 signaling pathway [J]. Cells, 2019, 8(11): 1442.
- [22] Zhang Y, Liu H, Jia W, et al. Myeloid differentiation protein 2 mediates angiotensin II-Induced liver inflammation and fibrosis in mice [J]. Molecules, 2019, 25(1): 25.
- [23] Osawa Y, Kojika E, Hayashi Y, et al. Tumor necrosis factor- α -mediated hepatocyte apoptosis stimulates fibrosis in the steatotic liver in mice [J]. Hepatol Commun, 2018, 2(4): 407-420.
- [24] 张文斌,姜海平,张海伟,等. SiO_2 与超液化碘油联合诱导的小鼠肝脏纤维化模型 [J]. 中国病理生理杂志, 2008, 3: 622-624.
- [25] Sun WY, Gu YJ, Li XR, et al. β -arrestin2 deficiency protects against hepatic fibrosis in mice and prevents synthesis of extracellular matrix [J]. Cell Death Dis, 2020, 11(5): 389.

- [26] Zhang YQ, Wan LY, He XM, et al. Gremlin1 accelerates hepatic stellate cell activation through upregulation of TGF- β expression [J]. *DNA Cell Biol*, 2017, 36(7): 603–610.
- [27] Imose M, Nagaki M, Kimura K, et al. Leflunomide protects from T-cell-mediated liver injury in mice through inhibition of nuclear factor κ B [J]. *Hepatology*, 2004, 40(5): 1160–1169.
- [28] 庄子锐, 王明亮, 张婷, 等. 肝肾纤维化动物模型的研究进展及评价 [J]. *中国实验动物学报*, 2020, 28(6): 845–852.
- [29] Yang L, Ao Q, Zhong Q, et al. SIRT1/IGFBP1/TGF β 1 axis involved in cucurbitacin B ameliorating concanavalin A-induced mice liver fibrosis [J]. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 2020, 127(5): 371–379.
- [30] 姜苏琴. ICOSL/ICOS 通路调控相关长链非编码 RNA 对日本血吸虫感染小鼠肝纤维化的影响 [D]. 苏州: 苏州大学, 2020.
- [31] Beaussier M, Wendum D, Schiffer E, et al. Prominent contribution of portal mesenchymal cells to liver fibrosis in ischemic and obstructive cholestatic injuries [J]. *Lab Invest*, 2007, 87(3): 292–303.
- [32] 吕艳杭, 吴姗姗, 王振常, 等. 肝纤维化动物模型造模方法的研究进展 [J]. *广西医学*, 2020, 42(7): 875–878.
- [33] 刘玲, 谭正怀. 胆总管结扎致肝纤维化动物模型研究现状 [J]. *重庆医学*, 2013, 42(23): 2793–2796.
- [34] 左嘉玮, 屈豫花, 赵辰怡, 等. MMP13 和 TIMP2 在肝缺血再灌注损伤介导肝纤维化进程中的动态变化及作用 [J]. *动物医学进展*, 2020, 41(1): 78–82.
- [35] Thiele M, Detlefsen S, Sevelsted Møller L, et al. Transient and 2-dimensional shear-wave elastography provide comparable assessment of alcoholic liver fibrosis and cirrhosis [J]. *Gastroenterology*, 2016, 150(1): 123–133.
- [36] Shao T, Zhao C, Li F, et al. Intestinal HIF-1 α deletion exacerbates alcoholic liver disease by inducing intestinal dysbiosis and barrier dysfunction [J]. *J Hepatol*, 2018, 69(4): 886–895.
- [37] Chen P, Torralba M, Tan J, et al. Supplementation of saturated long-chain fatty acids maintains intestinal eubiosis and reduces ethanol-induced liver injury in mice [J]. *Gastroenterology*, 2015, 148(1): 203–214.
- [38] 苏俊. 小鼠酒精性肝纤维化模型的建立及酒精性肝病的临床分析 [D]. 广州: 第一军医大学, 2007.
- [39] Asgharpour A, Cazanave SC, Pacana T, et al. A diet-induced animal model of non-alcoholic fatty liver disease and hepatocellular cancer [J]. *J Hepatol*, 2016, 65(3): 579–588.
- [40] Savard C, Tartaglione EV, Kuver R, et al. Synergistic interaction of dietary cholesterol and dietary fat in inducing experimental steatohepatitis [J]. *Hepatology*, 2013, 57(1): 81–92.
- [41] Du M, Wang X, Yuan L, et al. Targeting NFATc4 attenuates non-alcoholic steatohepatitis in mice [J]. *J Hepatol*, 2020, 73(6): 1333–1346.
- [42] Winkler M, Staniczek T, Kürschner SW, et al. Endothelial GATA4 controls liver fibrosis and regeneration by preventing a pathogenic switch in angiocrine signaling [J]. *J Hepatol*, 2021, 74(2): 380–393.
- [43] Wang JH, Lee SB, Lee DS, et al. Total antioxidant capacity in HBV carriers, a promising biomarker for evaluating hepatic fibrosis; a pilot study [J]. *Antioxidants (Basel)*, 2021, 10(1): 77.
- [44] Zeng DY, Li JM, Lin S, et al. Global burden of acute viral hepatitis and its association with socioeconomic development status, 1990–2019 [J]. *J Hepatol*, 2021, 75(3): 547–556.
- [45] Bissig KD, Wieland SF, Tran P, et al. Human liver chimeric mice provide a model for hepatitis B and C virus infection and treatment [J]. *J Clin Invest*, 2010, 120(3): 924–930.
- [46] Yang KL, Hung KC, Chang WT, et al. Establishment of an early liver fibrosis model by the hydrodynamics-based transfer of TGF- β 1 gene [J]. *Comp Hepatol*, 2007, 6: 9.
- [47] 蔡江帆, 陈民利. 非酒精性脂肪肝炎动物模型的研究概况 [J]. *中国实验动物学报*, 2021, 29(1): 128–136.
- [48] 冯劲立, 沈海蓉, 李想, 等. 防己黄芪汤对复合造模肝纤维化小鼠肝线粒体过氧化损伤的影响 [J]. *中药新药与临床药理*, 2010, 21(5): 506–508.

[收稿日期]2021-06-02