

吕超,石清兰,覃倩,等. 小鼠实验性肝损伤模型的研究进展 [J]. 中国比较医学杂志, 2019, 29(1): 107-113.

Lyu C, Shi QL, Qin Q, et al. A review of experimental liver injury models in mice [J]. Chin J Comp Med, 2019, 29(1): 107-113.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856. 2019.01.019

小鼠实验性肝损伤模型的研究进展

吕超¹,石清兰²,覃倩¹,周玲瑶¹,周小博¹,易鑫宇¹,毛德文^{2*}

(1. 广西中医药大学,南宁 530222;2. 广西中医药大学第一附属医院,南宁 530023)

【摘要】 针对实验目的不同选择合适的小鼠肝损伤动物模型对于临床上肝病的防治、发病机制的研究和护肝药物的筛选都有着重要意义。依据国内外参考文献将肝损伤小鼠模型归纳为化学性、药物性、免疫性、酒精性、肝部分切除术等几类。以小鼠肝损伤动物模型分类为切入点,对其发病机制、药物剂量、成模时间、适用范围及优缺点进行综述,以期小鼠实验性肝损伤模型的选择提供一个参考。

【关键词】 肝损伤模型;化学性;药物性;免疫性;酒精性;肝部分切除术

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2019) 01-0107-07

A review of experimental liver injury models in mice

LYU Chao¹, SHI Qinglan², QIN Qian¹, ZHOU Lingyao¹, ZHOU Xiaobo¹,
YI Xinyu¹, MAO Dewen^{2*}

(1. Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530222, China.

2. The First Affiliated Hospital of Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530023)

【Abstract】 To select the appropriate mouse model of liver injury is of great significance for the research on prevention and treatment of liver disease, the study of its pathogenesis and the screening of drugs to protect the liver. According to references published internationally, mouse models of liver injury were classified into chemical, pharmacological, immunological, alcoholic, and partial hepatectomy studies. Based on the classification of models of liver injury in mice, the pathogenesis, dosage of drugs, time of model formation, applicable scope, and advantages and disadvantages were reviewed to provide a reference for the selection of experimental mouse liver injury models.

【Keywords】 liver injury model; chemical; drug; immunology; alcohol; partial hepatectomy

肝脏疾病是危害人类健康的一个重大医学难题,建立合适的实验性肝损伤动物模型对肝病的防治、发病机制的研究和护肝药物的筛选都有着十分重要的意义。常用的动物肝损伤模型有小鼠、大鼠、犬类、兔子以及猪,从实验动物的生物学特性、易获得性、安全性、可重复性、经济性等多方面考虑,小鼠最为适合作肝损伤模型动物。实验动物由

于代谢及生理状况与人类相似,基因组同源性高,成为重要的实验对象,目前对于小鼠的基因组研究最为透彻,因此用小鼠建立肝损伤动物模型十分必要。本文简要综述近年来国内外建立小鼠实验性肝损伤模型的造模方法、适用范围及优缺点,为今后小鼠肝损伤模型的建立以及肝脏疾病的研究起指导作用。

【基金项目】 国家自然科学基金面上项目(81774236);国家自然科学基金项目(81460718);广西研究生教育创新计划资助项目(YCSY2018021);广西研究生教育创新计划资助项目(YCSY2018022)。

【作者简介】 吕超(1993—),男,汉族,硕士研究生,研究方向:中医药防治肝病研究。E-mail: 785192870@qq.com

【通信作者】 毛德文(1968—),男,汉族,教授,博士,研究方向:中医药防治肝病研究。E-mail: mdwboshi2005@163.com

1 化学性肝损伤

1.1 四氯化碳 (CCl₄)

CCl₄ 是一种常见的化学诱导剂,被广泛用于建立肝损伤动物模型^[1]。CCl₄ 通过细胞色素 P450 2E1 (CYP2E1) 在肝中代谢,产生高反应活性的三氯甲基自由基,干扰肝中的氧化还原稳态,引起氧化应激。自由基还可通过与细胞中的不饱和脂肪酸氧化反应促进脂质过氧化,诱导肝细胞中 DNA 损伤,引起肝细胞凋亡和坏死,最终造成肝细胞损伤^[2]。

将 CCl₄ 溶于橄榄油中配成体积分数 10% 的 CCl₄ 橄榄油溶液,按 2 mL/kg 的剂量对 8~9 周龄 C57BL/6 小鼠进行一次性腹腔注射,建立小鼠急性肝损伤模型^[3]。该模型病理结果显示肝小叶结构紊乱,大量坏死的肝上皮细胞空泡样变,细胞核固缩、溶解,炎性细胞浸润,轻度脂肪变性,Kupffer 细胞聚集,融合形成多核巨细胞,吞噬坏死细胞^[4-5]。CCl₄ 诱导的小鼠肝损伤模型在病理生理等方面与人类肝脏疾病相似,且易于复制,是理想的小鼠肝损伤模型。然而 CCl₄ 毒性较强,不仅损害肝,还危害其它脏器,并且 CCl₄ 肝损伤属于中毒性肝损伤,与机体免疫调节反应关联性不强,因此该模型不适用于免疫调节类护肝药物的筛选以及免疫机制方面的研究。

1.2 D-氨基半乳糖联合脂多糖 (D-GalN+LPS)

脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 是革兰氏阴性菌的表面抗原物质,通过与体内的 Toll 样受体 4 (Toll-like receptors, TLR4) 蛋白结合,激活细胞内 MAPKs-NFκB 信号通路,产生白细胞介素-1 (interleukin-1, IL-1)、白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6) 和肿瘤坏死因子-α (tumor necrosis factor-α, TNF-α) 等炎症因子,导致肝组织损伤^[6]。啮齿类动物多对 LPS 具有免疫性^[7],D-氨基半乳糖 (D-galactosamine, D-GalN) 是一种肝特有的毒素,可以提高肝对 LPS 毒性的敏感性。D-GalN 在肝中选择性地耗尽尿苷核苷酸,抑制肝细胞内蛋白质和 mRNA 的合成,致使肝细胞不可逆的损伤。D-GalN、LPS 的联用可以加剧肝细胞的损伤对 LPS 的毒性作用很敏感,联合使用可在几小时内急剧诱导肝细胞损伤。D-GalN+LPS 可以激活 Kupffer 细胞产生各种炎症因子^[8],并激活 caspase 酶、启动子 caspase 8 和 caspase 9 多种凋亡信号,最终激活效应细胞 caspase

3,进而裂解细胞底物 (poly ADP-ribose polymerase, PARP),触发凋亡程序导致肝细胞坏死^[9]。另外有研究表明,氧化应激是 D-GalN+LPS 诱导肝损伤的一个重要因素^[10]。

将 D-GalN、LPS 溶于生理盐水中,按 D-GalN (300 mg/kg)+LPS (2.5 mg/kg) 剂量给 8-9 周龄雄性 C57BL/6 小鼠一次性腹腔注射,每只小鼠注射 0.2 mL 液体,18 h 可建立小鼠急性肝损伤模型^[11-12]。也可在注射 D-GalN+LPS 前分 4 次 (前 3 次每次间隔 14 d,第四次与第三次之间间隔 10 d) 对小鼠多点皮下注射人血清白蛋白 (human serum albumin, HSA) 溶液,每次 0.5 mL,小鼠经 HSA 致敏后按 D-GalN (400 mg/kg)+LPS (0.1 mg/kg) 剂量一次性腹腔注射,导致小鼠慢加急性肝衰竭^[13]。组织形态学上显示肝小叶结构紊乱,炎症细胞浸润,肝细胞实质坏死,细胞核溶解,肝管与血管大量出血^[12]。D-GalN+LPS 诱导的肝损伤模型是一个稳定的动物实验模型,D-GalN 只作用于肝,不损害其它脏器,对于筛选护肝药物具有重要意义。然而因为小鼠种系的不同,药物的用量变化很大,需要进行预实验,且 D-GalN 价格较贵,限制了其在大型动物上的使用。

1.3 二甲基亚硝胺 (DMN)

二甲基亚硝胺 (nitrosodimethylamine, DMN) 是一种烷基化肝毒素,通过激活 DNA 片段和促进金属蛋白酶活化等多种方式诱导肝细胞坏死和癌变^[14]。另外有学者研究表示 DMN 可诱导肝星状细胞 (hepatic stellate cells, HSC) 增殖,诱导肝纤维化的形成,破坏肝细胞结构,损伤肝细胞^[15]。

将 DMN 溶于生理盐水中配成 1 mg/mL 溶液,按 DMN 10 mg/kg 剂量对 8 周龄 C57BL/6 小鼠进行腹腔注射,每周 3 次,数周内可形成小鼠慢性肝损伤模型^[16]。该模型镜下病理表现为肝组织大片出血,肝细胞大面积坏死,坏死细胞边缘出现空泡变性,炎性细胞浸润^[17]。DMN 诱导小鼠肝损伤模型稳定、易于复制,对肝纤维化机制的研究及抗肝纤维化药物的筛选具有重要的意义,但 DMN 具有强烈的毒性,实验人员操作时需注意防护。

1.4 α-萘基异硫氰酸酯 (ANIT)

肝细胞的一个关键功能是胆汁酸的合成和转运,胆汁酸是脂代谢的关键调节因子,然而胆汁酸浓度过高时具有明显的肝毒性^[18]。α-萘基异硫氰酸酯 (α-naphthylisothiocyanate, ANIT) 在肝中代谢,

与谷胱甘肽 (glutathione, GSH) 可逆结合后被转运蛋白 MRP2 转运到胆汁中^[19]。过多的 ANIT 消耗肝中的 GSH, ANIT 代谢产物在胆管中淤积, 产生炎症, 阻碍胆汁的分泌, 导致肝内胆管内衬胆管上皮细胞 (bile duct epithelial cells, BDECs) 损伤和肝坏死灶的形成, 引起高胆红素血症和肝细胞坏死。

将 ANIT 溶解于玉米油中, 按 80 mg/kg 剂量给 8 周龄 C57BL/6 雄性小鼠灌胃, 每只小鼠灌 0.2 mL, 24 h 可形成 ANIT 小鼠急性肝损伤模型^[20]。组织形态学表现为肝细胞损伤以点状坏死为主, 胆囊粘膜炎症, 胆道增生明显, 门脉结缔组织中小叶内胆管及其支流数目明显增加, 胆汁上皮细胞比正常胆管上皮细胞嗜碱性明显^[21]。该模型很好地模拟了人类胆汁淤积型肝损伤, 是用于研究梗阻性黄疸发病机制和筛选护肝利胆退黄药的理想小鼠实验模型。

1.5 硫代乙酰胺 (TAA)

硫代乙酰胺 (thioacetamide, TAA) 是一种常用的建立肝损伤动物模型的化合物。TAA 摄入后, 可诱导细胞内 N-甲基-D-天冬氨酸 (NMDAR) 过度激活, 引起谷氨酸 (glutamic acid, GLU) 含量升高, 改变细胞膜内外离子平衡性, 诱导神经毒性信号传导, 损伤神经元, 导致神经元功能障碍, 从而小鼠出现肝性脑病表现^[22]。另外 TAA 在肝中代谢为硫氧化物, 进而产生自由基和活性氧, 破坏细胞膜的通透性, 诱导肝细胞增殖, 促进肝细胞纤维化的产生。

TAA 以 20 mg/mL 的浓度溶解在生理盐水中, 按 TAA 300 mg/kg 的剂量给 8-10 周龄 C57BL/6 小鼠进行腹腔注射, 每隔 24 h 注射一次, 连续三次, 可造成小鼠急性肝损伤模型^[23]。TAA 诱导的小鼠肝损伤模型可造成小鼠神经系统疾病, 类似于人类肝病终末期的肝性脑病; 造成的小鼠肝纤维化模型易于复制, 形成的肝纤维化不易逆转。该模型是研究并防治肝性脑病、筛选抗纤维化药物的理想小鼠模型。

2 药物性肝损伤

2.1 对乙酰氨基酚 (APAP)

对乙酰氨基酚 (Acetaminophen, APAP) 是临床上解热镇痛类的一线药物, 过量服用会导致严重的肝损伤^[24]。APAP 在肝内的主要代谢产物是葡萄糖醛酸和硫酸盐偶联物, 少量被 CYP2E1 转化为一种具有高度活性的毒性代谢产物 N-乙酰-对-苯醌亚

胺 (NAPQI)。正常情况下, NAPQI 由于肝中 GSH 的减少而被迅速激活, 然后在胆汁和尿液中排泄为半胱氨酸和巯基酸。APAP 摄取过多时, 葡萄糖醛酸内酯和硫酸盐途径饱和, 过量的 APAP 通过 CYP 系统代谢产生大量的 NAPQI, 消耗肝中的 GSH, 未与 GSH 共价结合的 NAPQI 还可以与细胞蛋白硫醇共价结合, 促进肝细胞氧化, 降低肝抗氧化能力, 导致急性肝坏死。

APAP 以 15 mg/mL 的最高浓度在 60°C 水浴条件下溶于生理盐水中, 保存在 40°C 水浴恒温箱内, 待固体析出前按 250 mg/kg 剂量给 10~12 周龄的 C57BL/6 雄性小鼠进行一次性腹腔注射, 12 h 可达到肝损害高峰^[25-26]。APAP 诱导的小鼠肝损伤模型组织形态学表现以小叶中心区域坏死为特征, 这是 APAP 毒性的标志^[27]。该模型方便、廉价, 代谢机理接近临床, 因此逐渐成为近年来研究过量服用解热镇痛药导致急性肝损伤的治疗药物筛选的动物模型。然而, 该模型造模时药物溶解度低等因素限制了造模的成功率, 需要多加探索以改进造模方法。

2.2 异烟肼联合利福平 (INH+RMP)

异烟肼和利福平, 两种临床使用最广泛的抗结核药物, 具有潜在的肝毒性。其发病机制是: 异烟肼由细胞色素 CYP450 代谢生成乙酰肼和肼^[28-30], 在异烟肼 (isoniazid, INH) 的代谢过程中, 肼可以直接从 INH 产生, 也可以间接从乙酰基生成。这两种水解反应都涉及一种酰胺酶, 由酰胺酶介导的肼与巯基的高反应性消耗肝细胞中的 GSH, 氧化应激增强, 线粒体结构紊乱, 细胞膜通透性改变, 导致肝细胞损伤^[31]。利福平 (rifampicin, RMP) 没有产生毒性代谢产物的直接证据, 但是 RMP 是肝 CYP450 强诱导因子, 促进了 INH 的代谢, 增加肼的产量, 导致 INH 的肝毒性明显增加^[32]。

将 INH、RMP 溶于生理盐水中, 每日按 INH 75 mg/kg+RMP 150 mg/kg 剂量给 6~8 周龄 BALB/c 小鼠灌胃, 每只小鼠灌胃 0.2 mL, 连续灌胃 1 周, 可形成小鼠急性肝损伤模型^[32-33]。肝组织学检查显示明显的脂肪堆积, 产生大量炎症细胞^[29]。该模型稳定性好, 重复率高, 适用于研究联用异烟肼、利福平抗结核导致肝损伤的机制。

2.3 甲基咪唑 (MTZ)

甲基咪唑 (methimazole, MTZ) 是一种抗甲状腺药物, 可引起急性肝坏死和胆汁性肝炎^[34]。其损伤

机制尚不完全清楚,但认为与其活性代谢产物有关。MTZ 通过细胞色素 P450 和含黄素的单氧酶 (flavin-containing monooxygenases, FMO) 进行代谢,生成 *n*-甲基硫脒、乙二醛等多种活性代谢产物,消耗肝中的 GSH,破坏线粒体膜的通透性,诱导肝细胞受损^[35]。还有研究证明 MTZ 致小鼠急性肝损伤与 Th2 细胞因子介导的免疫反应有关^[36]。MTZ 常与 L-丁硫氨酸-S, R-磺基 (L-buthionine-S, R-sulfoximine, BSO) 联用,BSO 是 GSH 生物合成的限速酶,抑制肝中 GSH 的合成,加重 MTZ 对肝的损害。

将 BSO、MTZ 分别溶于适量的生理盐水中,先按 667 mg/kg 的剂量给 6 周龄雌性 BALB/c 小鼠腹腔注射 0.2 mL BSO 溶液,2 h 后再按 15 mg/kg 剂量给小鼠灌胃 0.2 mL MTZ 溶液,24 h 可造成小鼠急性肝损伤模型^[36]。生化检查可见血浆丙氨酸转氨酶 (alanine transaminase, ALT) 水平显著升高,肝中小叶样变性坏死。该模型利用 GSH 耗尽进行免疫相关因素的研究,有助于阐明肝损伤的机制,为预测生物标志物的发展提供新的见解,并通过揭示肝损伤免疫机制来开发药物。

3 免疫性肝损伤

3.1 刀豆蛋白 A (ConA)

刀豆蛋白 A (Concanavalin A, ConA) 是一种从矮刀豆中提取出的凝集素,被广泛应用于免疫介导的小鼠肝损伤模型中。其特点是通过刺激 Kupffer 细胞分泌 IL-1、IL-6、TNF- α 等多种炎性细胞因子,激活 CD4⁺T 细胞,最终引发炎症反应,诱导肝细胞损伤^[37]。最近有学者研究表明,ConA 通过线粒体磷酸甘油酸变位酶 5 (phosphoglycerate mutase family member 5, PGAM5) 依赖的方式触发肝细胞中的线粒体分裂,抑制肝细胞能量代谢,导致肝细胞受损^[38]。

ConA 以 5 mg/ml 的浓度溶解在生理盐水中,按 25 mg/kg 剂量给 7 周龄雄性 BALB/c 小鼠进行一次尾静脉注射,造成急性肝损伤^[39]。ConA 肝损伤模型中可观察到肝细胞内线粒体有很强的周核聚集,这是线粒体压力的特征指标^[38]。该模型由 T 淋巴细胞介导免疫性肝损伤的机制较好地模拟了病毒性肝炎引发的免疫性肝损伤的病理生理过程。然而,该模型与人类感染肝炎病毒相比,没有病毒复制和肝细胞持续损伤的过程,不能完全模拟肝炎

病毒侵袭人体的病理机制,适于从细胞免疫学角度研究肝损伤机制。

3.2 卡介苗联合脂多糖 (BCG+LPS)

卡介苗 (bacille Calmette-Guerin, BCG) 诱导单核细胞浸润到肝小叶并促进肉芽肿形成,随后注射 LPS 引起急性大规模肝损伤并释放大量活性氧化物,一氧化氮 (NO)、GSH 和促炎细胞因子如 IL-6、IL-1 β 、干扰素 (interferon, IFN)- γ 、TNF- α ^[40]。早期的研究表明 LPS 诱导细胞外信号调节激酶 2 (extracellular regulated protein kinases 2, ERK2) 磷酸化并激活 NF- κ B 通路^[41],促进炎性细胞因子的表达,损害肝细胞。在 BCG+LPS 模型中,肿瘤坏死因子和辅助 T1 (Th1) 细胞因子是导致肝损伤的主要介质^[42]。

将 2.5 mg BCG 溶于 0.2 mL 生理盐水中 (约含 5×10^7 个活菌),对 6~8 周龄雄性 BALB/c 小鼠进行一次尾静脉注射,7~10 d 后将 10 μ g LPS 溶于 0.2 mL 生理盐水后经尾静脉注射到小鼠体内,建立急性免疫性肝损伤小鼠模型^[43]。BCG+LPS 模型与 ConA 诱导肝损伤模型的发病机制不同,在 ConA 模型中,NKT 细胞和 Kupffer 细胞是诱导肝损伤的必需细胞,而 BCG+LPS 诱导的肝损伤模型中,Th1 促炎细胞因子是肝损伤的主要介质^[44]。与人类肝炎中大量细胞因子释放造成的肝细胞受损病理过程相似。该模型适用于由乙型肝炎病毒 (viral hepatitis type B, HBV) 感染引起的人免疫介导的慢性肝炎的研究。

4 酒精性肝损伤

酒精性肝损伤是一种过度饮酒导致的复杂病理过程,肝细胞凋亡是酒精引起的肝病理表现的主要标志之一^[45]。丝裂原活化蛋白激酶-p53 (MAPK-p53) 轴是肝细胞凋亡的主要信号通路,具体来说,酒精通过 p38 丝裂原活化蛋白激酶 (p38 MAPK) 在肝细胞中的活化诱导 p53 转录激活和转位到细胞核中,促发细胞凋亡机制,导致肝细胞凋亡坏死^[46]。p38 MAPK 的活化,导致细胞活性氧簇 (reactive oxygen species, ROS) 的升高,诱发氧化反应,耗尽 GSH,促进炎性因子的释放,损伤肝细胞。另有研究表明酒精会破坏肝的沉默信息调节因子 1 (SIRT1) 的表达,导致肝脏脂质积累^[47]。SIRT1 适当表达可抑制高脂诱导的脂肪肝,SIRT1 的抑制诱导腺苷酸活化蛋白激酶 α (AMPK- α) 的激活^[48]并导致过氧化

物酶体增殖活化受体 γ 共激活因子 1α (PGC1- α) 的表达减少,导致脂肪酸氧化减少,脂质过度积累,损伤肝^[49]。此外,激活的 AMPK- α 可促进脂肪增生的关键调节因子固醇调节元件结合蛋白-1 (SREBP-1) 的表达,以及其他下游的脂肪生成酶的合成,导致肝细胞脂肪性病变^[50]。

用浓度 40% ~ 52% 酒精对 8 ~ 10 周龄雄性 BALB/c 小鼠进行灌胃,初始剂量为 0.5 g/kg,2 周内剂量逐渐加至 6 g/kg,8 周可建立酒精性小鼠肝损伤模型^[51]。有学者研究认为 Lieber-DeCarli 酒精液体饲料模型相较于酒精灌胃模型更适于小鼠酒精性肝损伤模型^[52]。其具体操作方法是含有酒精的饮用水和琼脂块喂养小鼠,饮用水中含有 10% 乙醇、1% 花生酱和 3% 巧克力糖浆;初始琼脂块中乙醇浓度为 10%,在 4 周内每周增加 10% 的乙醇浓度,在研究结束前,琼脂块的乙醇浓度维持在 40%,14 ~ 16 周可导致小鼠慢性酒精性肝损伤^[53]。该方法操作简便,还避免了应灌胃不当导致小鼠窒息死亡。该模型镜下病理表现可观察到肝细胞肿水肿、胞浆内微泡脂滴并炎症细胞浸润^[54]。小鼠酒精性肝损伤模型同人类酒精性肝病发病机制相似,为研究酒精性脂肪肝发病机制提供巨大帮助。

5 肝部分切除术

肝具有很强的再生能力,肝细胞在受损情况下迅速进入细胞周期,促进肝细胞再生以恢复到原肝体积^[55]。肝部分切除术 (partial hepatectomy, PH) 的再生性使其成为肝再生研究的首选方法。

用 1% 戊巴比妥钠麻醉小鼠,腹部乙醇消毒后延小鼠剑突下方腹部中线剖腹,挤出肝,结扎肝蒂,沿结扎线外侧无菌切除中叶和左外侧肝叶,约占肝体积的 70%,缝合腹部切口,形成小鼠急性肝损伤模型^[56]。另有学者在此基础上发明了显微手术、腹腔镜手术,大大提高了成功率,并减低了手术的创伤性。肝移植是治疗肝衰竭的根本方法,明晰其免疫和再生机制是提高肝移植存活率的关键。建立一个理想的 PH 模型对于研究肝移植、肝再生、肝癌切除术、肝衰竭预后,降低致死率都有着十分显著的意义。

6 结语

理想的肝损伤小鼠模型应具备以下特点:① 肝损伤的形成过程、病理机制与免疫机制与人类肝损

伤的发生过程相似;② 生化检查和病理检查符合肝损伤的条件;③ 小鼠模型稳定、操作简便、易于复制、实验周期短。目前中国大多肝脏疾病是感染肝炎病毒 (主要是 HBV) 引起的^[57],建立一个完善 HBV 感染的小鼠肝损伤模型对研究肝脏疾病的防治及病情转变具有重大的意义。以上的模型都不能全面复制出 HBV 侵袭人体的免疫病理机制,这为进一步研究乙肝病毒的致病机制和药物筛选造成了巨大的阻碍。近来有学者研究出了 HBV 转基因小鼠模型、HBV 转染小鼠模型^[58],使乙肝病毒在小鼠体内成功复制,产生强烈的免疫反应,同人类感染 HBV 后的病理机制更为相似,然而由于小鼠的强烈的免疫反应,HBV 的复制往往只能持续三个月。如何建立一个完善的模拟 HBV 感染的动物肝损伤模型是我们必须攻克下的难题。相信完善的肝损伤小鼠模型的建立将推动肝脏疾病的研究向前发展,解决肝炎这一大世界医学难题,为全人类的健康谋幸福。

参考文献:

- [1] Lee IC, Kim SH, Baek HS, et al. The involvement of Nrf2 in the protective effects of diallyl disulfide on carbon tetrachloride-induced hepatic oxidative damage and inflammatory response in rats [J]. Food Chem Toxicol, 2014, 63: 174-185.
- [2] Su C, Xia X, Shi Q, et al. Neohesperidin dihydrochalcone versus CCl₄-induced hepatic injury through different mechanisms: the implication of free radical scavenging and Nrf2 activation [J]. J Agric Food Chem, 2015, 63 (22): 5468-5475.
- [3] Wang M, Zhang XJ, Feng R, et al. Hepatoprotective properties of *Penthorum chinense* Pursh against carbon tetrachloride-induced acute liver injury in mice [J]. Chin Med, 2017, 12: 32.
- [4] 李梦, 翟亚南, 王晶晶, 等. 制备低剂量四氯化碳诱导小鼠慢性肝损伤模型的探讨 [J]. 中国实验动物学报, 2014, 22 (4): 52-55.
- [5] 周琼, 刘芳萍, 刘颖姝, 等. 四氯化碳致小鼠急性肝损伤动物模型建立方法的研究 [J]. 东北农业大学学报, 2012, 43 (6): 77-81.
- [6] Mei H, Ying L, Liu M, et al. Renal neutrophil gelatinase associated lipocalin expression in lipopolysaccharide-induced acute kidney injury in the rat [J]. BMC Nephrol, 2012, 13: 25.
- [7] Liu XY, Robinson D, Veach RA, et al. Peptide-directed suppression of a pro-inflammatory cytokine response [J]. J Biol Chem, 2000, 275 (22): 16774-16778.
- [8] Yang F, Li X, Wang LK, et al. Inhibitions of NF- κ B and TNF- α result in differential effects in rats with acute on chronic liver failure induced by d-Gal and LPS [J]. Inflammation, 2014, 37 (3): 848-857.

- [9] Lian LH, Wu YL, Wan Y, et al. Anti-apoptotic activity of gentiopicoside in d-galactosamine/lipopolysaccharide-induced murine fulminant hepatic failure [J]. *Chem Biol Interact*, 2010, 188(1): 127-133.
- [10] Shin JW, Jing HW, Park HJ, et al. Herbal formula CGX ameliorates LPS/d-galactosamine-induced hepatitis [J]. *Food Chem Toxicol*, 2011, 49(6): 1329-1334.
- [11] Furuya S, Kono H, Hara M, et al. Interleukin 17A plays a role in lipopolysaccharide/d-galactosamine-induced fulminant hepatic injury in mice [J]. *J Surg Res*, 2015, 199(2): 487-493.
- [12] 吴小红, 郭彦, 刘晨风, 等. LPS/D-GalN 诱导小鼠急性肝损伤模型的建立 [J]. *中国实验动物学报*, 2014, 22(3): 15-19.
- [13] Zhang Q, Yang F, Li X, et al. Trichostatin A protects against experimental acute-on-chronic liver failure in rats through regulating the acetylation of nuclear factor- κ B [J]. *Inflammation*, 2015, 38(3): 1364-1373.
- [14] Syed I, Rathod J, Parmar M, et al. Matrix metalloproteinase-9, -10, and -12, MDM2 and p53 expression in mouse liver during dimethylnitrosamine-induced oxidative stress and genomic injury [J]. *Mol Cell Biochem*, 2012, 365(1-2): 351-361.
- [15] Svegliati-Baroni G, Saccomanno S, Goor H, et al. Involvement of reactive oxygen species and nitric oxide radicals in activation and proliferation of rat hepatic stellate cells [J]. *Liver*, 2001, 21(1): 1-12.
- [16] Amirtharaj GJ, Thangaraj KR, Kini A, et al. Acute liver injury induced by low dose dimethylnitrosamine alters mediators of hepatic vascular flow [J]. *Toxicol Rep*, 2014, 1: 707-717.
- [17] 张玲, 江远, 何金洋, 等. 二甲基亚硝胺诱导小鼠肝损伤模型的建立及其机制研究 [J]. *中西医结合肝病杂志*, 2010, 20(4): 228-230.
- [18] Palmeira CM, Rolo AP. Mitochondrially-mediated toxicity of bile acids [J]. *Toxicology*, 2004, 203(1-3): 1-15.
- [19] Dietrich CG, Ottenhoff R, de Waart DR, et al. Role of MRP2 and GSH in intrahepatic cycling of toxins [J]. *Toxicology*, 2001, 167(1): 73-81.
- [20] Zidek N, Hellmann J, Kramer PJ, et al. Acute hepatotoxicity: a predictive model based on focused illumina microarrays [J]. *Toxicol Sci*, 2007, 99(1): 289-302.
- [21] Cullen JM, Faiola B, Melich DH, et al. Effects of Kupffer cell depletion on acute alpha-naphthylisothiocyanate-induced liver toxicity in male mice [J]. *Toxicol Pathol*, 2013, 41(1): 7-17.
- [22] Corbalan R, Chatauret NS, Butterworth RF, et al. Region selective alterations of soluble guanylate cyclase content and modulation in brain of cirrhotic patients [J]. *Hepatology*, 2002, 36(5): 1155-1162.
- [23] Wang H, Zhang H, Zhang Y, et al. Plumbagin protects liver against fulminant hepatic failure and chronic liver fibrosis via inhibiting inflammation and collagen production [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(50): 82864-82875.
- [24] Larsen FS, Wendon J. Understanding paracetamol-induced liver failure [J]. *Intensive Care Med*, 2014, 40(6): 888-890.
- [25] Mossanen JC, Tacke F. Acetaminophen-induced acute liver injury in mice [J]. *Lab Anim*, 2015, 49(1 Suppl): 30-36.
- [26] Bachmann M, Pfeilschifter J, Mühl H. A prominent role of interleukin-18 in acetaminophen-induced liver injury advocates its blockage for therapy of hepatic necroinflammation [J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 161.
- [27] Bhushan B, Walesky C, Manley M, et al. Pro-regenerative signaling after acetaminophen-induced acute liver injury in mice identified using a novel incremental dose model [J]. *Am J Pathol*, 2014, 184(11): 3013-3025.
- [28] Sarich TC, Adams SP, Petricca G, et al. Inhibition of isoniazid-induced hepatotoxicity in rabbits by pretreatment with an amidase inhibitor [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 1999, 289(2): 695-702.
- [29] Sarich TC, Youssefi M, Zhou T, et al. Role of hydrazine in the mechanism of isoniazid hepatotoxicity in rabbits [J]. *Arch Toxicol*, 1996, 70(12): 835-840.
- [30] Jenner AM, Timbrell JA. Influence of inducers and inhibitors of cytochrome P450 on the hepatotoxicity of hydrazine *in vivo* [J]. *Arch Toxicol*, 1994, 68(6): 349-357.
- [31] Chowdhury A, Santra A, Bhattacharjee K, et al. Mitochondrial oxidative stress and permeability transition in isoniazid and rifampicin induced liver injury in mice [J]. *J Hepatol*, 2006, 45(1): 117-126.
- [32] Chen X, Xu J, Zhang C, et al. The protective effects of ursodeoxycholic acid on isoniazid plus rifampicin induced liver injury in mice [J]. *Eur J Pharmacol*, 2011, 659(1): 53-60.
- [33] Enriquezortina C, Almontebecerril M, Clavijocornejo D, et al. Hepatocyte growth factor protects against isoniazid/rifampicin-induced oxidative liver damage [J]. *Toxicol Sci*, 2013, 135(1): 26-36.
- [34] Gallelli L, Staltari O, Palleria C, et al. Hepatotoxicity induced by methimazole in a previously healthy patient [J]. *Curr Drug Saf*, 2009, 4(3): 204-206.
- [35] Heidari R, Niknahad H, Jamshidzadeh A, et al. Factors affecting drug-induced liver injury: antithyroid drugs as instances [J]. *Clin Mol Hepatol*, 2014, 20(3): 237-248.
- [36] Kobayashi M, Higuchi S, Ide M, et al. Th2 cytokine-mediated methimazole-induced acute liver injury in mice [J]. *J Appl Toxicol*, 2012, 32(10): 823-833.
- [37] Chen K, Li J, Wang J, et al. 15-Deoxy- γ 12,14-prostaglandin J2 reduces liver impairment in a model of ConA-induced acute hepatic inflammation by activation of PPAR γ and reduction in NF- κ B activity [J]. *PPAR Res*, 2014, 2014: 215631.
- [38] He GW, Günther C, Kremer AE, et al. PGAM5-mediated programmed necrosis of hepatocytes drives acute liver injury [J]. *Gut*, 2017, 66(4): 716-723.
- [39] Chen K, Li J, Li S, et al. 15d-PGJ2 alleviates ConA-induced acute liver injury in mice by up-regulating HO-1 and reducing hepatic cell autophagy [J]. *Biomed Pharmacother*, 2016, 80: 183-192.
- [40] Yang YF, Tan DM, Xie YT, et al. Mycophenolate mofetil prevents lethal acute liver failure in mice induced by bacille

- Calmette-Guerin and lipopolysaccharide [J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2008, 23(4): 611-618.
- [41] Liang Y, Zhou Y, Shen P. NF- κ B and its regulation on the immune system [J]. *Cell Mol Immunol*, 2004, 1(5): 343-350.
- [42] Guler R, Olleros ML, Vesin D, et al. Inhibition of inducible nitric oxide synthase protects against liver injury induced by mycobacterial infection and endotoxins [J]. *J Hepatol*, 2004, 41(5): 773-781.
- [43] Zhang NN, Huang NY, Zhou XK, et al. Protective effects of IL-4 on *Bacillus Calmette-Guerin* and lipopolysaccharide induced immunological liver injury in mice [J]. *Inflamm Res*, 2012, 61(1): 17-26.
- [44] Lu JW, Wang H, Ji YL, et al. Differential effects of pyrrolidine dithiocarbamate on TNF- α -mediated liver injury in two different models of fulminant hepatitis [J]. *J Hepatol*, 2008, 48(3): 442-452.
- [45] Wang S, Pacher P, Lisle RCD, et al. A mechanistic review of cell death in alcohol-induced liver injury [J]. *Alcohol Clin Exp Res*, 2016, 40(6): 1215-1223.
- [46] Song Y, Li N, Gu J, et al. β -Hydroxybutyrate induces bovine hepatocyte apoptosis via an ROS-p38 signaling pathway [J]. *J Dairy Sci*, 2016, 99(11): 9184-9198.
- [47] You M, Liang X, Ajmo JM, et al. Involvement of mammalian sirtuin 1 in the action of ethanol in the liver [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2008, 294(4): G892-G898.
- [48] Hou X, Xu S, Maitland-Toolan KA, et al. SIRT1 regulates hepatocyte lipid metabolism through activating AMP-activated protein kinase [J]. *J Biol Chem*, 2008, 283(29): 20015-20026.
- [49] You M, Jogasuria A, Taylor C, et al. Sirtuin 1 signaling and alcoholic fatty liver disease [J]. *Hepatobiliary Surg Nutr*, 2015, 4(2): 88-100.
- [50] Li Y, Xu S, Mihaylova M, et al. AMPK phosphorylates and inhibits SREBP activity to attenuate hepatic steatosis and atherosclerosis in diet-induced insulin resistant mice [J]. *Cell Metab*, 2011, 13(4): 376-388.
- [51] Park HY, Choi HD, Eom H, et al. Enzymatic modification enhances the protective activity of citrus flavonoids against alcohol-induced liver disease [J]. *Food Chem*, 2013, 139(1-4): 231-240.
- [52] 肖娟, 张瑞芬, 黄菲, 等. 两种不同的酒精摄入方式诱导的小鼠酒精性肝损伤模型比较 [J]. *中国比较医学杂志*, 2016, 26(6): 11-17.
- [53] Sharda DR, Millerlee JL, Kanski GM, et al. Comparison of the agar block and Lieber-DeCarli diets to study chronic alcohol consumption in an aging model of Fischer 344 female rats [J]. *J Pharmacol Toxicol Methods*, 2012, 66(3): 257-263.
- [54] Hao F, Cubero FJ, Ramadori P, et al. Inhibition of Caspase-8 does not protect from alcohol-induced liver apoptosis but alleviates alcoholic hepatic steatosis in mice [J]. *Cell Death Dis*, 2017, 8(10): e3152.
- [55] Fausto N, Campbell JS, Riehle KJ. Liver regeneration [J]. *J Hepatol*, 2012, 57(3): 692-694.
- [56] 雷达鑫, 卜雯婧, 刘贤, 等. T 细胞缺陷裸小鼠部分肝切除肝再生异常 [J]. *军事医学*, 2017, 41(6): 424-429.
- [57] 中华医学会感染病学分会肝衰竭与人工肝学组. 肝衰竭诊治指南(2012 年版) [J]. *中华肝脏病杂志*, 2013, 21(3): 210-216.
- [58] Guo WN, Zhu B, Ai L, et al. Animal models for the study of hepatitis B virus infection [J]. *Zool Res*, 2018, 39(1): 25-31.

〔收稿日期〕2018-07-23