

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.

Cai JF, Chen ML. Research progress on animal models of nonalcoholic steatohepatitis [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2021, 29(1): 128-136.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2021.01.019

# 非酒精性脂肪肝炎动物模型的研究概况

蔡江帆<sup>1</sup>, 陈民利<sup>2\*</sup>

(1. 浙江中医药大学生命科学院, 杭州 310053; 2. 浙江中医药大学实验动物研究中心/比较医学研究所, 杭州 310053)

**【摘要】** 随着全球代谢综合征患病率不断上升,非酒精性脂肪肝病(NAFD)患病率也急剧上升,已是全球最常见的慢性肝疾病,包括单纯性脂肪肝、非酒精性脂肪性肝炎(NASH)、晚期纤维化、肝硬化和肝细胞癌。而NASH是由单纯性脂肪肝发展至肝纤维化、肝硬化和肝癌的重要阶段,因此,预防和治疗NASH已成为一个研究焦点。动物模型是研究疾病的发病机制、治疗药物的研发以及制定防治策略的重要环节。目前已经开发的动物模型主要是模拟人类NASH的病理形态和临床特征,包括膳食动物模型、药物诱导动物模型和基因修饰动物模型,但这些模型均存在各自的优缺点。本文就近年来NASH动物模型的研究及其应用情况进行总结,以供NASH研究者参考。

**【关键词】** 非酒精性脂肪性肝炎(NASH);动物模型;代谢综合征

**【中图分类号】** Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2021) 01-0128-09

## Research progress on animal models of nonalcoholic steatohepatitis

CAI Jiangfan<sup>1</sup>, CHEN Minli<sup>2\*</sup>

(1. College of Life Science, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China.

2. Laboratory Animal Research Center/Comparative Medical Research Institute,  
Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053)

Corresponding author: Chen Minli. E-mail: cml991@zcmu.edu.cn

**【Abstract】** With the increasing global prevalence of metabolic syndrome, the prevalence of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) has also risen sharply. NAFLD is the most common chronic liver disease in the world and includes simple steatosis and non-alcoholic fatty hepatitis (NASH), advanced fibrosis, cirrhosis and hepatocellular carcinoma. NASH is an important stage from simple steatosis to fibrosis, cirrhosis and liver cancer. Therefore, the prevention and treatment of NASH has become an important research focus. Animal models are critical tools for studying the pathogenesis of diseases, research and development of therapeutic drugs, and formulating prevention and treatment strategies. The animal models that have been developed so far for NASH mainly simulate the pathological morphology and clinical characteristics of human NASH. These models include dietary animal models, drug-induced animal models and genetically modified animal models, and each model has its own advantages and disadvantages. In this paper, we review the research and applications of NASH animal models for NASH research.

**【Keywords】** nonalcoholic steatohepatitis(NASH); animal model; metabolic syndrome

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

[基金项目]浙江省大学生科技创新活动计划(新苗人才计划)(2019R410038)。

Funded by Zhejiang University Student Science and Technology Innovation Project Plan(New Talent Plan)(2019R410038).

[作者简介]蔡江帆(1998—),男,本科生。Email: 870878116@qq.com

[通信作者]陈民利(1963—),女,教授,研究方向:实验动物与比较医学。Email: cml991@zcmu.edu.cn

随着全球代谢综合征患病率的不断上升,非酒精性脂肪肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)患病人数急剧增加,已是全球最常见的肝疾病(占总人口的30%)<sup>[1]</sup>,包括单纯性脂肪肝、非酒精性脂肪性肝炎(nonalcoholic steatohepatitis, NASH)及其相关肝硬化、肝癌等,其中,近40%的NAFLD患者可发展为更严重的NASH<sup>[2]</sup>。NASH是一类具有炎症细胞浸润和坏死的严重肝病,是非酒精性脂肪肝病向更严重肝病发展的一个重要的过渡阶段,其特征在于肝细胞气球样变和炎症,并且可以发展为纤维化、肝硬化、肝细胞癌和肝衰竭<sup>[3]</sup>。NASH的发病机制尚未完全阐明,最初是通过“两次打击”假设来解释从脂肪变性到NASH的逐步转变<sup>[4]</sup>,首次打击引发脂肪变性,随后第二次打击导致炎症,肝细胞损伤和纤维化。然而,NASH中脂质沉积和炎症反应的发生顺序及因果关系目前尚不明确。后来又有研究提出了一种改进的“多次打击”理论<sup>[5]</sup>,表明NASH是多种并行条件作用的结果,包括遗传易感性,脂质代谢异常,氧化应激,脂毒性,线粒体功能障碍,细胞因子和脂肪因子的改变,肠道生态失调和内质网应激等<sup>[6-8]</sup>。由此可见,NASH是一个复杂的、受多因素影响的疾病。

目前对NASH的治疗策略可大致分为针对驱动疾病发病机理的代谢紊乱(例如胰岛素抵抗和脂肪生成)和针对疾病发生的生理表现(包括细胞应激、细胞凋亡、炎症和纤维化)的药物<sup>[9]</sup>。但至今针对NASH适应症的药物均尚未获得批准,大多数药物还处于开发阶段。因此,将NASH归类为治疗需求未得到满足的医学病症,究其原因除发病机制不清,病因复杂外,理想化实验模型的缺乏也是其中的原因之一。现有的实验性模型大多都不能很好的模拟人类NASH疾病的发生、发展以及严重程度,大多数模型不形成脂肪肝炎,严格意义上存在肝细胞气球样病变却不存在Mallory小体和伴随炎症的大泡性脂肪变性<sup>[10]</sup>。本文就近年来的NASH动物模型进行了综述并深入分析其优缺点,为研究者对NASH模型的选择和应用提供参考。

## 1 膳食动物模型

许多疾病都受到饮食因素的调节,包括NASH、代谢综合征和癌症等<sup>[11]</sup>。饮食因素在NASH膳食动物模型中也起着至关重要的作用,这些模型主要利用蛋氨酸和胆碱缺乏、高脂、高糖、高胆固醇、胆

酸盐、果糖、高碳水化合物等多种饮食因素来制备。这些饮食条件可以单独使用或可多个协同作用,以诱导严重程度较低的脂肪变性和脂肪性肝炎。在NASH的基因修饰动物模型中,膳食干预也被用作诱导更严重程度病症的方法<sup>[12]</sup>,以更好地复制人类NASH病症。

### 1.1 蛋氨酸和胆碱缺乏(methionine-choline deficient, MCD)饮食模型

蛋氨酸和胆碱的缺乏对于肝 $\beta$ 氧化和极低密度脂蛋白(VLDL)的合成至关重要<sup>[13]</sup>。MCD模型是在高糖高脂(10%的脂肪和40%的蔗糖)的基础上缺乏蛋氨酸和胆碱的饮食诱导的。该模型的特点是肝细胞脂质积累和VLDL合成减少,并伴随着肝脂肪变性、氧化应激、肝细胞凋亡以及细胞因子和脂肪细胞因子的改变<sup>[14]</sup>。

小鼠通常是MCD模型的首选动物,雌性C57BL6/J小鼠饲喂MCD饮食后,血清丙氨酸氨基转移酶(ALT)水平持续升高,饲喂第10天发生脂肪性肝炎<sup>[15]</sup>。MCD饮食干预雄性C57BL6小鼠6周即可出现明显的纤维化<sup>[16]</sup>。饲喂MCD的啮齿动物的NASH严重程度还可能取决于动物的种类,性别和品系<sup>[17]</sup>。研究中发现,MCD小鼠模型非酒精性脂肪肝炎(NASH)发生的同时,NOD样受体蛋白3(NLRP3)炎性小体激活,NLRP3选择性抑制剂的使用可以显著减缓肝纤维化进展<sup>[14]</sup>,这提示了靶向NLRP3是NASH药物治疗的一条途径。此外,还研究发现该模型肝浸润的Th17细胞对NASH向纤维化的发生和发展至关重要,Th22细胞在NASH发展过程中具有保护作用<sup>[18]</sup>。

MCD饮食模型的优势在于较好地复制了人类严重NASH的病理表现,其炎症、纤维化和肝细胞凋亡发展得快且严重,内质网应激和氧化应激也活跃<sup>[19]</sup>,因此,常用于NASH的组织学进展及其炎症和纤维化机制研究。然而,MCD模型不肥胖,反而体重减轻,且无胰岛素抵抗,血清胰岛素、空腹血糖、瘦素和甘油三酯等水平降低<sup>[20-21]</sup>。与人类NASH的代谢状况存在差异。为改善上述不足,通常将MCD饮食饲喂基因修饰小鼠,以更好地模拟人类NASH的临床表现,如喂食MCD饮食的DB/DB小鼠显示出明显的肝炎和纤维化<sup>[12]</sup>。

### 1.2 高脂饮食(high-fat diet, HFD)模型

营养过剩和久坐的生活方式是NASH的一个重要病因,它会引起体重增加,最终导致肥胖。高脂

饮食模型模拟有害饮食生活习惯来复制疾病的病因。此类模型给动物喂食高脂饮食,其中热量摄入的 45%~75%来自脂肪或含有反式脂肪或胆固醇的变体,最终促使动物表现为肥胖,胰岛素抵抗和肝损伤。

在 HFD 模型中,常用的动物是大小鼠。Lieber 等<sup>[22]</sup>用 HFD 饮食(71%的脂肪、11%的碳水化合物和 18%的蛋白质)饲喂 SD 大鼠,3 周后大鼠出现类似于人类 NASH 的生化改变以及胰岛素抵抗、肝细胞脂质蓄积、氧化应激等,肝组织轻度炎症和轻度微泡型脂肪变性,但不存在纤维化进展。改良饮食成分可加重 NASH 病症的严重程度,如在饲料中添加猪油和胆固醇,可促使 SD 大鼠在第 4 周发生肝脂肪变性,8 周后血清甘油三酯、胆固醇和 TNF- $\alpha$  水平的明显升高,12 周以后出现炎症,直到第 24 周时出现明显的肝窦纤维化<sup>[23]</sup>。Ito 等<sup>[24]</sup>采用含 60% 猪油的高脂饮食饲养 C57BL6 小鼠,50 周后发现小鼠出现肥胖、肝多灶性炎症细胞浸润,同时出现轻度的窦周纤维化并伴有胰岛素抵抗。此类模型有着典型的人类 NASH 表型如肥胖、代谢综合征等,一般用于评价针对 NASH 有潜在疗效药物的药效特点或用于研究脂肪变性致病机理。Challa 等<sup>[25]</sup>确定凋亡信号调节激酶 1 (ASK1) 作为 NASH 和纤维化形成的抑制剂,发现了肝特异性 ASK1 过表达的转基因小鼠可以免受高脂饮食诱导的肝脂肪变性,表明 ASK1 对于 NASH 的形成具有保护作用。

HFD 模型表现出类似于人类 NASH 的生化改变,在组织病理学上也出现了炎症,但缺乏进行性纤维化。相比于 MCD 模型,高脂饮食模型的肝病程度与并不严重,并且它的造模时间也相对较长。可以优化饲料成分,在不严重影响营养平衡的前提下,适当增加其他饮食因素,来放大 NASH 病症的严重程度以及触发纤维化效应。

### 1.3 高胆固醇和高胆酸盐 (high-cholesterol and high-cholate, HChCh) 模型

饮食中的胆固醇是脂肪性肝炎疾病进展中的关键因素<sup>[26-27]</sup>。高胆固醇饮食可引起胶原基因表达增强,刺激肝产生 TNF- $\alpha$ , 增强炎症反应并促使 NASH 的进展<sup>[28]</sup>。高胆固醇高胆酸盐模型是在高脂基础上额外添加胆固醇及胆酸盐诱发的。该模型的常用动物是小鼠, HChCh 饮食喂养 C57BL/6J 小鼠 24 周,期间出现肝脂肪变性,炎症和纤维化的进行性形成。HChCh 饮食中利用可可脂添加 60%

的脂肪可加速这些组织病理学改变的发展<sup>[29]</sup>。近年来金黄地鼠的使用也越来越多,金黄地鼠具有和人相似的脂蛋白代谢,能模拟人类的血脂异常。采用改进的高脂高胆固醇饲料(40.8%的脂肪、14.8%的蛋白质、44.4%的碳水化合物和 0.5%的胆固醇)和含有 10%果糖的饮用水喂养金黄地鼠,20 周后出现胰岛素抵抗、血脂异常和 NASH 相关的病理特征(微囊性脂肪变性、炎症、肝细胞膨胀和肝窦周围桥接纤维化)<sup>[30]</sup>。在发病机制的研究中,发现电负性低密度脂蛋白 LDL(-) 是高脂高胆固醇诱导金黄地鼠模型肝炎形成的根本原因之一, LDL(-) 是氧化的 LDL(ox-LDL) 的一种生理形态,其具有炎症特性并能够诱导库普弗细胞(kupffer cell)中的 TNF- $\alpha$  分泌<sup>[31]</sup>,这提示 LDL(-) 在 NASH 的发展中起着至关重要的作用。

HChCh 饮食的小鼠模型模拟了人类 NASH 的进行性发展过程,出现肝胰岛素抵抗,却存在体重减轻、附睾脂肪减少、血浆甘油三酯水平降低等与人类 NASH 特征相反的临床表现<sup>[29]</sup>。金黄地鼠模型能很快诱导出血脂异常和肝脂肪变性,但仍需要较长的诱导时间才能出现脂肪肝炎,且未发生大泡性脂肪变性。因此,需要调整高脂高胆固醇的组成或使用饲料添加剂促进病程的发展,增加与人类 NASH 的相似度。

### 1.4 果糖及高碳水化合物模型

人的果糖消耗水平与肝脂肪变性和纤维化的严重程度相关联<sup>[32-33]</sup>。果糖是肝葡萄糖摄取和糖原合成的调节剂,会干扰葡萄糖代谢,过量的果糖摄入会导致甘油三酯水平的升高,肝中脂肪的增生并影响了糖原异生,从而引起脂肪变性<sup>[34-36]</sup>。高碳水化合物饮食模型是用高脂饲料饲喂动物,并在饮用水或饲料中添加了果糖或者其他碳水化合物,以诱导更加严重的 NASH 病症。

小鼠是该模型最常用的动物,C57BL6 小鼠饲喂高脂高碳水化合物饮食并提供含 5%果糖的饮用水,16 周后形成肥胖并伴有明显的纤维化<sup>[37]</sup>。此外沙鼠近年来常用于 NASH 和肥胖症模型,沙鼠具有与人类 NASH 相似的生化改变以及病理学特征<sup>[38]</sup>。高脂高碳水诱导的沙鼠 NASH 模型表现为代谢异常和肝损伤并伴随着大泡性脂肪变性<sup>[39]</sup>。此类模型的最大特点之一是纤维化程度较明显,常常应用于抗纤维化药物的开发。Carino 等<sup>[40]</sup>发现了一种非胆汁酸、G 蛋白偶联受体 5 (TGR5) 和法

呢醇 x 受体 (FXR) 的双重激动剂 BAR502, 能逆转高脂饮食和果糖饮水的小鼠的脂肪性肝炎, 可通过促进脂肪组织褐变来治疗肝损伤。Du 等<sup>[41]</sup> 利用 *Cxcr3*- (趋化因子受体 3) 敲除的小鼠和 C57BL/6 野生型小鼠建立高脂高碳水饮食模型, 研究发现 *CXCR3* 敲除的小鼠肝组织学改善, 坏死及炎症程度均较轻, 脂质过氧化水平低, 提示 *CXCR3* 在 NASH 发展中起着关键性的作用, 这将成为一个新的治疗靶点。

高脂高碳水化合物模型形成机制与长期不良饮食习惯导致的脂肪肝十分相似, 且造模简便, 细胞脂肪变性严重, 后期可见明显的纤维化, 但其不足之处是炎症反应轻微, 无胰岛素抵抗, 故这类模型常用于抗纤维化药物筛选, 而不适用于发病机制研究。此外, 单纯的果糖饮食是无法诱导 NASH 形成的。因此, 除果糖外, 需联合使用高脂或高胆固醇等饮食因素或者添加其它因素, 才可诱导出与人类 NASH 具有更高相似性的模型。

## 2 基因修饰动物模型

随着基因工程的进步, 通过改变可能参与脂肪肝形成的特定基因来建立各种实验啮齿动物模型。这些特定基因的改变在不同的途径中发挥着不同的作用, 但他们的共同之处都表现为肝细胞脂肪沉积。这些模型主要涉及的基因包括糖尿病基因 (*DB*)、瘦素基因 (*OB*)、*Alms1* 基因、*SREBP-1c* 等, 对于研究特定的致病途径有着特别的价值。基因修饰动物模型可诱导出与人 NASH 相似的生化改变, 但常需要添加其他饮食因素来联合诱导与人类相似度更高的 NASH。

### 2.1 *DB/DB* 小鼠和 *OB/OB* 小鼠

*DB/DB* 小鼠是常染色体隐性糖尿病基因 (*DB*) 的纯合子小鼠。*DB* 基因编码瘦素受体的点突变, 导致瘦素信号传导受阻<sup>[42]</sup>。因此, *DB/DB* 小鼠的瘦素水平高, 且对瘦素的作用具有抗性。*DB/DB* 小鼠的临床表现为肥胖、胰岛素抵抗或糖尿病, 但不会自发形成 NASH 或肝纤维化<sup>[43]</sup>, 因此, 需要在高脂饮食或 MCD 饮食等继发性诱导的刺激后发生 NASH, 并出现明显的肝炎症和纤维化<sup>[12, 44]</sup>。*OB/OB* 小鼠是瘦素基因发生突变, 瘦素合成受阻, 从而导致瘦素缺乏。*OB/OB* 小鼠的临床表现为极度肥胖和胰岛素抵抗, 患有高血糖和高胰岛素血症<sup>[45]</sup>, 可发生自发性肝脂肪变性, 但不发生脂肪性肝炎。

第二次打击例如 MCD 饮食、高脂饮食或小剂量的脂多糖内毒素、乙醇等刺激下可引发 NASH 发生<sup>[46-47]</sup>。

这两种模型能够较好地复制人类 NASH 表型, 应用十分广泛。MCD 饮食会导致 *DB/DB* 小鼠的 S-腺苷甲硫氨酸 (SAME) 消耗, 而相同饮食的野生型小鼠的肝 SAME 水平不受影响。SAME 对肝健康具有多效性作用, SAME 耗竭一般与多种肝损伤有关。因此, SAME 耗竭可能是 NASH 发展的一条重要途径<sup>[44]</sup>。在 *OB/OB* 小鼠的研究中, 用 FXR 激动剂 INT-767 和奥贝胆酸, 分别干预使用饲喂高脂饮食的 *OB/OB* 小鼠, INT-767 表现出了较好的疗效, 其作用可能是激活肝 (而非回肠) 的 FXR 功能来实现病症的好转<sup>[48]</sup>, 体现了 *OB/OB* 小鼠在 FXR 靶点药物评价的应用价值。

*DB/DB* 和 *OB/OB* 小鼠模型虽可复制人类 NASH 特征, 但若没有饮食或化学等因素刺激, 也只能形成肝脂肪变性, 只有在 MCD 饮食等因素的继发性刺激诱导下, 才可出现炎症和纤维化。此外, 自然情况下, 由肥胖基因突变引起的先天性瘦素缺乏或瘦素抵抗性在人类极为罕见<sup>[49]</sup>, 因此, *DB/DB* 和 *OB/OB* 小鼠模型在模拟 NASH 疾病的病因方面存在较大的不足。值得注意的一点是 *OB/OB* 小鼠自身缺乏瘦素, 而肝纤维化发展需要瘦素, 因此, *OB/OB* 小鼠对肝纤维化具有抵抗力<sup>[50]</sup>。

### 2.2 *Foz/Foz* 小鼠

*Foz/Foz* 小鼠具有一个突变的 *Alms1* 基因, 该基因编码一种在初级纤毛基体中的蛋白质, 可在细胞内运输和食欲调节中发挥着重要作用<sup>[51-52]</sup>。*Foz/Foz* 小鼠可自发肥胖、胰岛素抵抗, 食欲亢进、脂联素水平低、高胆固醇血症和脂肪变性等代谢综合症。当 *Foz/Foz* 小鼠饲喂高脂饮食后可导致代谢综合症加重, 脂联素水平进一步降低, 胆固醇水平进一步升高, 促进了病症向严重的纤维化发展<sup>[53]</sup>。相比于其他的基因修饰动物模型, *Foz/Foz* 小鼠表现出更严重的脂质沉积情况, 因此, *Foz/Foz* 小鼠在降脂类药物的研究中正变得越来越重要。依泽替米贝/他汀类药物联合治疗高脂饮食饲喂的 *Foz/Foz* 小鼠, 通过抑制应激激活的 c-jun N-末端激酶 (JNK) 激活以及肝细胞损伤/凋亡, 从而逆转 NASH 和肝纤维化<sup>[54]</sup>, 这表明了该模型在 JNK 靶点上的重要研究价值。尽管 *Foz/Foz* 小鼠有着较好 NASH 表型, 然而这些特征仅在特定背景的品系中发现, 例如

C57BL/6/J 背景的 *Foz/Foz* 小鼠中可观察到 IR、高胰岛素血症以及肝纤维化,但在 BALB/c 背景的 *Foz/Foz* 小鼠中却很少出现<sup>[55]</sup>。而且 *Foz/Foz* 小鼠模型仍不能自发地脂肪性肝炎,仅仅是自发形成脂肪变性,还需要受到饮食或化学因素的刺激,才可以发展成脂肪性肝炎或更严重的病症。

### 2.3 SREBP-1c 转基因小鼠

在哺乳动物中,固醇调节元件结合蛋白(SREBP)的转录因子家族介导的反馈调节系统调节着细胞内的胆固醇和脂肪酸水平。SREBP-1c 转基因小鼠因转录因子 SREBP-1c 过表达,引起脂肪细胞分泌失调导致胰岛素抵抗和糖尿病,小鼠肝脂质积累明显,但体内脂肪组织减少<sup>[56]</sup>。标准饮食饲喂 SREBP-1c 转基因小鼠,在 10 周龄时就发生脂肪变性、小叶内炎症,20 周龄时发现小叶内间隙有明显的细胞间纤维化<sup>[57]</sup>。将 SREBP-1c 转基因小鼠的 TNF 基因敲除, TNF 基因敲除后改善了 SREBP-1c 转基因小鼠的葡萄糖耐量,并显著降低了肝脂肪变性和纤维化,这表明了 TNF- $\alpha$  在 NAFLD 的发展和向 NASH 的进展中起关键作用<sup>[58]</sup>。由于人类 NASH 患者的临床表现有内脏脂肪增加,而 SREBP-1c 转基因小鼠仅在肝中产生脂质沉积。因此,该模型尽管具有令人满意的病理特征,但与人类 NASH 的临床表现仍存在较大的差异。

## 3 药物诱导模型

药物诱导模型是利用化学毒素侵染肝细胞,进入细胞后被代谢,产生有毒代谢产物从而引起肝损伤,持续性的损伤进而形成 NASH。化学诱导的实质性肝损伤和纤维化模型常用于研究肝纤维化进展机制,这些模型中的纤维化最终可发展为肝硬化和肝癌,发病率很高。目前典型的肝靶向化学毒素有四氯化碳( $\text{CCl}_4$ )、硫代乙酰胺(TAA)和链脲佐菌素(STZ)等。药物诱导模型与营养缺乏的 MCD 模型相似,均会导致动物体重减轻,在模拟病因方面还是存在不足,此外药物诱导模型造模时不同的动物对于剂量的敏感程度不同,若是盲目模仿其他实验的剂量,常常会引起高死亡率或者低成功率。建议在正式实验之前进行预实验,摸索造模的条件。

### 3.1 四氯化碳( $\text{CCl}_4$ )

$\text{CCl}_4$  是用于诱导动物肝纤维化肝硬化的最经典和最广泛的毒素之一。肝细胞吸收并代谢  $\text{CCl}_4$ , 引起氧化酶激活,产生三氯甲基自由基,导致脂质

过氧化,引起肝细胞凋亡以及肝星状细胞的过度活化和增殖<sup>[59-60]</sup>。传统方法常用  $\text{CCl}_4$  腹腔注射构建肝纤维化模型。杨开选等<sup>[61]</sup>用 40%  $\text{CCl}_4$  腹腔注射 Wistar 大鼠,6 周后出现肝纤维化,第 8 周出现肝硬化。刘甦苏等<sup>[62]</sup>研究发现高剂量  $\text{CCl}_4$  使小鼠死亡率偏高,并发现 C57BL/6 小鼠注射 10%  $\text{CCl}_4$  (10  $\mu\text{L/g}$ ),8 周能够明显地诱导肝纤维化形成,且死亡率相对较低。当同时添加铁元素摄入时,则有助于加速注射  $\text{CCl}_4$  后的动物的肝硬化进展<sup>[63]</sup>。

$\text{CCl}_4$  模型是最常用的急性肝损伤模型,有着快速成模的特点,在抗炎抗氧化类的 NASH 药物研究中的应用最广泛。Gan 等<sup>[64]</sup>用 20%  $\text{CCl}_4$  构建 SD 大鼠纤维化模型,并用熊果酸干预,结果表明该药物通过减少 NADPH 氧化酶(NOXs)和活性氧(ROS)的表达来抑制 NOX 介导的纤维化信号通路的激活,从而缓解了  $\text{CCl}_4$  诱导的肝纤维化,这将成为抗纤维化治疗的一个重要靶点。在研究哌拉西林钠对  $\text{CCl}_4$  诱导的大鼠急性肝损伤模型的作用机制中发现,该药物通过抑制氧化应激来减轻  $\text{CCl}_4$  对大鼠肝造成的损伤<sup>[65]</sup>。王珏等<sup>[66]</sup>在研究黄芪总皂苷对  $\text{CCl}_4$  致小鼠急性肝损伤的保护作用机制中发现,芪总皂苷可能与减轻肝细胞凋亡,抑制炎症因子释放有关。

### 3.2 硫代乙酰胺(TAA)

TAA 是一种肝毒物,在肝细胞中被氧化并产生反应性的硫及其氧化物,这些反应性的硫及其氧化物与氨基和氨基蛋白质发生反应,这可能是 TAA 引起肝毒性的原因<sup>[67]</sup>。对雄性 F344 大鼠每周两次腹腔注射 TAA 并持续 20 周,动物出现进行性肝硬化,且伴随着持续性肝细胞损伤,单核细胞发炎和桥接纤维化<sup>[68]</sup>。鲁智文等<sup>[69]</sup>给 C57/BL6 小鼠以 150 mg/kg 的剂量腹腔注射浓度为 15 mg/mL 的 TAA,每周 3 次连续 8 周,小鼠第 3 周开始出现纤维组织增生,在第 4 周假小叶开始形成,第 8 周时假小叶最为明显。

TAA 模型是常用的肝纤维化模型,主要用于抗纤维化药物的评价。Mi 等<sup>[70]</sup>通过麦芽酚干预 TAA 诱导的小鼠模型,可抑制肝星状细胞(HSC)的活化并通过 TGF- $\beta$ 1 介导的 PI3K/Akt 信号传导途径诱导活化的 HSC 的凋亡来减轻实验性肝纤维化。这与在大鼠中的研究结果也类似,覃仁武等<sup>[71]</sup>研究苦参碱对 TAA 诱导的肝纤维化大鼠的保护作用,苦参碱可抑制活化的 HSC,保护肝细胞,改善肝功能,从

而抑制 TAA 诱导的大鼠肝纤维化。

### 3.3 链脲佐菌素 (STZ)

STZ 对胰腺  $\beta$  细胞具有毒性, 导致胰岛素合成受阻, 但 STZ 也可能具有直接的肝毒性作用<sup>[72]</sup>。Qiang 等<sup>[73]</sup>用高脂饲料饲喂 SD 大鼠, 4 周后以 30 mg/kg 的剂量腹腔注射 STZ, 并持续高脂饲料饲喂 16 周后出现严重的肝脂肪变性, 纤维间隔形成假小叶。Fuji 等<sup>[74]</sup>给 C57BL/6J 的新生幼鼠皮下注射 STZ 后, 从 4 周龄开始喂高脂饲料, 6 周龄时发生单纯性脂肪变性, 8 周龄时引起炎症和球囊扩张, 在 8 ~ 12 周时开始出现进行性纤维化, 最终雄性小鼠几乎全部发展为肝癌。

STZ 诱导的 NASH 模型由于胰岛  $\beta$  细胞受损, 所以表现为高血糖, 此类模型常常用在降糖抗氧化类的药物研究中。Qiang 等<sup>[75]</sup>利用丹酚酸 A (SalA) 干预 STZ 诱导的肝纤维化 SD 大鼠模型, 发现肝中  $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白 ( $\alpha$ -SMA) 和转化生长因子  $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1) 的表达显著下调, 并改善了肝线粒体呼吸功能, 减少了肝细胞的凋亡。表明了 SalA 抗纤维化潜在机制涉及减少氧化应激、抑制  $\alpha$ -SMA 和 TGF- $\beta$ 1 表达以及发挥抗凋亡和线粒体保护作用。同样, 方舒等<sup>[76]</sup>用 Exendin-4 治疗 STZ 诱导的肝纤维化小鼠模型, 也发现 Exendin-4 可通过激活 Nrf2/HO-1 抗氧化途径改善小鼠的肝纤维化和氧化应激。说明 Nrf2/HO-1 抗氧化途径在肝纤维化过程中发挥重要作用。

## 4 总结与展望

NASH 的发病机制是多因素的<sup>[5]</sup>, 理想的 NASH 模型应该能最大程度地模拟疾病发展的过程, 同时也是可重复的和稳定性好的。传统的单一模型虽然可能很好地模拟出 NASH 某些典型特征, 但都具有局限性<sup>[77]</sup>, 有的只复制了其组织病理学, 有的只复制了疾病的生理特性。在单因素持续刺激作用下所诱导的模型并不能囊括人疾病发展的全部过程<sup>[78]</sup>。目前的模型都不满足理想模型的所有要求。当前 NASH 的实验模型种类繁多但各有优缺点, 研究者应该根据不同的实验目的选取代表性实验模型。

随着全球 NASH 疾病的盛行以及抗 NASH 药物的匮乏<sup>[79]</sup>, 使得建立一种合适理想化的 NASH 实验模型迫在眉睫。为了能够研究出更完善的非酒精性脂肪性肝炎模型, 基于 NASH 疾病的多因素诱导

考虑提出以下几方面的建议:

(1) 高脂饮食被认为是研究脂肪变性向 NASH 进展的最佳模型之一, 绝大多数的膳食动物模型均以高脂饮食为基础, 通过改良营养饲料配比构建 NASH 模型, 但都存在各自的优缺点。因此在不改变营养平衡的前提下, 适当增加多种其他饮食因素, 可加重 NASH 的病理进展。

(2) 利用多种造模因素的结合包括饮食、药物和遗传因素, 即将饮食因素结合基因修饰动物或药物诱导因素联合使用<sup>[12, 73]</sup>, 研究出能够全面展现非酒精性脂肪性肝炎特征的模型。

(3) 深入对非酒精性脂肪性肝炎相关基因的认识, 以培育出更多特殊的基因修饰动物, 如 DB/DB 小鼠和 *OB/OB* 小鼠等<sup>[42, 45]</sup>; 同时, 寻找如沙鼠、金黄地鼠等与人类脂代谢相似的新品系或新物种作为 NASH 研究的实验动物<sup>[30, 38]</sup>。

相信随着对疾病认识的不断深入, 一定能研究出涵盖人类整个疾病历程的理想 NASH 实验模型, 用于致病机制的研究以及抗病药物的研发。

### 参 考 文 献 (References)

- [1] Liu A, Galoosian A, Kaswala D, et al. Nonalcoholic fatty liver disease: epidemiology, liver transplantation trends and outcomes, and risk of recurrent disease in the graft [J]. *J Clin Transl Hepatol*, 2018, 6(4): 420-424.
- [2] Athyros VG, Boutari C, Stavropoulos K, et al. Statins: an underappreciated asset for the prevention and the treatment of nafld or nash and the related cardiovascular risk [J]. *Curr Vasc Pharmacol*, 2018, 16(3): 246-253.
- [3] Younossi ZM, Koenig AB, Abdelatif D, et al. Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease-Meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes [J]. *Hepatology*, 2016, 64(1): 73-84.
- [4] Day CP, James OF. Steatohepatitis: a tale of two "hits"? [J]. *Gastroenterology*, 1998, 114(4): 842-845.
- [5] Tilg H, Moschen AR. Evolution of inflammation in nonalcoholic fatty liver disease: the multiple parallel hits hypothesis [J]. *Hepatology*, 2010, 52(5): 1836-1846.
- [6] Caligiuri A, Gentilini A, Marra F. Molecular pathogenesis of NASH [J]. *Int J Mol Sci*, 2016, 17(9): 1575.
- [7] Medina J, Fernández SLI, García BL, et al. Approach to the pathogenesis and treatment of nonalcoholic steatohepatitis [J]. *Diabetes Care*, 2004, 27(8): 2057-2066.
- [8] Yilmaz Y. Review article: is non-alcoholic fatty liver disease a spectrum, or are steatosis and non-alcoholic steatohepatitis distinct conditions? [J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2012, 36(9): 815-823.
- [9] Banini BA, Sanyal AJ. Current and future pharmacologic treatment of nonalcoholic steatohepatitis [J]. *Curr Opin*

- Gastroenterol, 2017, 33(3): 134-141.
- [10] Santhekadur PK, Kumar DP, Sanyal AJ. Preclinical models of non-alcoholic fatty liver disease [J]. *J Hepatol*, 2018, 68(2): 230-237.
- [11] Locke A, Schneiderhan J, Zick SM. Diets for health: goals and guidelines [J]. *Am Fam Physician*, 2018, 97(11): 721-728.
- [12] Sahai A, Malladi P, Pan X, et al. Obese and diabetic db/db mice develop marked liver fibrosis in a model of nonalcoholic steatohepatitis: role of short-form leptin receptors and osteopontin [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2004, 287(5): 1035-1043.
- [13] Yao ZM, Vance DE. Reduction in VLDL, but not HDL, in plasma of rats deficient in choline [J]. *Biochem Cell Biol*, 1990, 68(2): 552-558.
- [14] Mridha AR, Wree A, Robertson AAB, et al. NLRP<sub>3</sub> inflammasome blockade reduces liver inflammation and fibrosis in experimental NASH in mice [J]. *J Hepatol*, 2017, 66(5): 1037-1046.
- [15] Dela Peña A, Leclercq I, Field J, et al. NF-kappaB activation, rather than TNF, mediates hepatic inflammation in a murine dietary model of steatohepatitis [J]. *Gastroenterology*, 2005, 129(5): 1663-1674.
- [16] Yamada T, Obata A, Kashiwagi Y, et al. Gd-EOB-DTPA-enhanced-MR imaging in the inflammation stage of nonalcoholic steatohepatitis (NASH) in mice [J]. *Magn Reson Imaging*, 2016, 34(6): 724-729.
- [17] Kirsch R, Clarkson V, Shephard EG, et al. Rodent nutritional model of non-alcoholic steatohepatitis: species, strain and sex difference studies [J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2003, 18(11): 1272-1282.
- [18] Rolla S, Alchera E, Imarisio C, et al. The balance between IL-17 and IL-22 produced by liver-infiltrating T-helper cells critically controls NASH development in mice [J]. *Clin Sci (Lond)*, 2016, 130(3): 193-203.
- [19] Machado MV, Michelotti GA, Xie G, et al. Mouse models of diet-induced nonalcoholic steatohepatitis reproduce the heterogeneity of the human disease [J]. *PLoS One*, 2015, 10(5): e0127991.
- [20] George J, Pera N, Phung N, et al. Lipid peroxidation, stellate cell activation and hepatic fibrogenesis in a rat model of chronic steatohepatitis [J]. *J Hepatol*, 2003, 39(5): 756-764.
- [21] Larter CZ, Yeh MM, Williams J, et al. MCD-induced steatohepatitis is associated with hepatic adiponectin resistance and adipogenic transformation of hepatocytes [J]. *J Hepatol*, 2008, 49(3): 407-416.
- [22] Lieber CS, Leo MA, Mak KM, et al. Model of nonalcoholic steatohepatitis [J]. *Am J Clin Nutr*, 2004, 79(3): 502-509.
- [23] Xu ZJ, Fan JG, Ding XD, et al. Characterization of high-fat, diet-induced, non-alcoholic steatohepatitis with fibrosis in rats [J]. *Dig Dis Sci*, 2010, 55(4): 931-940.
- [24] Ito M, Suzuki J, Tsujioka S, et al. Longitudinal analysis of murine steatohepatitis model induced by chronic exposure to high-fat diet [J]. *Hepatol Res*, 2007, 37(1): 50-57.
- [25] Challa TD, Wueest S, Lucchini FC, et al. Liver ASK1 protects from non-alcoholic fatty liver disease and fibrosis [J]. *EMBO Mol Med*, 2019, 11(10): e10124.
- [26] Subramanian S, Goodspeed L, Wang S, et al. Dietary cholesterol exacerbates hepatic steatosis and inflammation in obese LDL receptor-deficient mice [J]. *J Lipid Res*, 2011, 52(9): 1626-1635.
- [27] 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.
- [28] Marí M, Caballero F, Colell A, et al. Mitochondrial free cholesterol loading sensitizes to TNF- and Fas-mediated steatohepatitis [J]. *Cell Metab*, 2006, 4(3): 185-198.
- [29] Matsuzawa N, Takamura T, Kurita S, et al. Lipid-induced oxidative stress causes steatohepatitis in mice fed an atherogenic diet [J]. *Hepatology*, 2007, 46(5): 1392-1403.
- [30] Briand F, Brousseau E, Quinsat M, et al. Obeticholic acid raises LDL-cholesterol and reduces HDL-cholesterol in the Diet-Induced NASH (DIN) hamster model [J]. *Eur J Pharmacol*, 2018, 818: 449-456.
- [31] Lai YS, Yang TC, Chang PY, et al. Electronegative LDL is linked to high-fat, high-cholesterol diet-induced nonalcoholic steatohepatitis in hamsters [J]. *J Nutr Biochem*, 2016, 30: 44-52.
- [32] Abdelmalek MF, Suzuki A, Guy C, et al. Increased fructose consumption is associated with fibrosis severity in patients with nonalcoholic fatty liver disease [J]. *Hepatology*, 2010, 51(6): 1961-1971.
- [33] Ouyang X, Cirillo P, Sautin Y, et al. Fructose consumption as a risk factor for non-alcoholic fatty liver disease [J]. *J Hepatol*, 2008, 48(6): 993-999.
- [34] Ackerman Z, Oron HM, Grozovski M, et al. Fructose-induced fatty liver disease: hepatic effects of blood pressure and plasma triglyceride reduction [J]. *Hypertension*, 2005, 45(5): 1012-1018.
- [35] Armutcu F, Coskun O, Gurel A, et al. Thymosin alpha 1 attenuates lipid peroxidation and improves fructose-induced steatohepatitis in rats [J]. *Clin Biochem*, 2005, 38(6): 540-547.
- [36] Spruss A, Kanuri G, Wagnerberger S, et al. Toll-like receptor 4 is involved in the development of fructose-induced hepatic steatosis in mice [J]. *Hepatology*, 2009, 50(4): 1094-1104.
- [37] Kohli R, Kirby M, Xanthakos SA, et al. High-fructose, medium chain trans fat diet induces liver fibrosis and elevates plasma coenzyme Q9 in a novel murine model of obesity and nonalcoholic steatohepatitis [J]. *Hepatology*, 2010, 52(3): 934-944.
- [38] Maislos M, Medvedovsk V, Sztarkier I, et al. Psammomys obesus (sand rat), a new animal model of non-alcoholic fatty liver disease [J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2006, 72(1): 1-5.
- [39] Semiane N, Foufelle F, Ferré P, et al. High carbohydrate diet induces nonalcoholic steato-hepatitis (NASH) in a desert gerbil

- [J]. *C R Biol*, 2017, 340(1): 25–36.
- [40] Carino A, Cipriani S, Marchiano S, et al. BAR502, a dual FXR and GPBAR1 agonist, promotes browning of white adipose tissue and reverses liver steatosis and fibrosis [J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 42801.
- [41] Du J, Zhang X, Han J, et al. Pro-Inflammatory CXCR3 impairs mitochondrial function in experimental non-alcoholic steatohepatitis [J]. *Theranostics*, 2017, 7(17): 4192–4203.
- [42] Wang B, Chandrasekera PC, Pippin JJ. Leptin- and leptin receptor-deficient rodent models: relevance for human type 2 diabetes [J]. *Curr Diabetes Rev*, 2014, 10(2): 131–145.
- [43] Trak SV, Paradis V, Massart J, et al. Pathology of the liver in obese and diabetic ob/ob and db/db mice fed a standard or high-calorie diet [J]. *Int J Exp Pathol*, 2011, 92(6): 413–421.
- [44] Wortham M, He L, Gyamfi M, et al. The transition from fatty liver to NASH associates with SAME depletion in db/db mice fed a methionine choline-deficient diet [J]. *Dig Dis Sci*, 2008, 53(10): 2761–2774.
- [45] Lindström P. The physiology of obese-hyperglycemic mice [ob/ob mice] [J]. *Sci World J*, 2007, 7: 666–685.
- [46] Yang SQ, Lin HZ, Lane MD, et al. Obesity increases sensitivity to endotoxin liver injury: implications for the pathogenesis of steatohepatitis [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1997, 94(6): 2557–2562.
- [47] Anstee QM, Goldin RD. Mouse models in non-alcoholic fatty liver disease and steatohepatitis research [J]. *Int J Exp Pathol*, 2006, 87(1): 1–16.
- [48] Roth JD, Feigh M, Veidal SS, et al. INT-767 improves histopathological features in a diet-induced ob/ob mouse model of biopsy-confirmed non-alcoholic steatohepatitis [J]. *World J Gastroenterol*, 2018, 24(2): 195–210.
- [49] Paz FG, Mastronardi C, Delibasi T, et al. Congenital leptin deficiency: diagnosis and effects of leptin replacement therapy [J]. *Arq Bras Endocrinol Metabol*, 2010, 54(8): 690–697.
- [50] Leclercq IA, Farrell GC, Schriener R, et al. Leptin is essential for the hepatic fibrogenic response to chronic liver injury [J]. *J Hepatol*, 2002, 37(2): 206–213.
- [51] Arsov T, Silva DG, O’ Bryan MK, et al. Fat aussie – a new Alstrom syndrome mouse showing a critical role for ALMS1 in obesity, diabetes, and spermatogenesis [J]. *Mol Endocrinol*, 2006, 20(7): 1610–1622.
- [52] Hearn T, Spalluto C, Phillips VJ, et al. Subcellular localization of ALMS1 supports involvement of centrosome and basal body dysfunction in the pathogenesis of obesity, insulin resistance, and type 2 diabetes [J]. *Diabetes*, 2005, 54(5): 1581–1587.
- [53] Arsov T, Larter CZ, Nolan CJ, et al. Adaptive failure to high-fat diet characterizes steatohepatitis in Alms1 mutant mice [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, 342(4): 1152–1159.
- [54] Van Rooyen DM, Gan LT, Yeh MM, et al. Pharmacological cholesterol lowering reverses fibrotic NASH in obese, diabetic mice with metabolic syndrome [J]. *J Hepatol*, 2013, 59(1): 144–152.
- [55] Farrell GC, Mridha AR, Yeh MM, et al. Strain dependence of diet-induced NASH and liver fibrosis in obese mice is linked to diabetes and inflammatory phenotype [J]. *Liver Int*, 2014, 34(7): 1084–1093.
- [56] Shimomura I, Hammer RE, Richardson JA, et al. Insulin resistance and diabetes mellitus in transgenic mice expressing nuclear SREBP-1c in adipose tissue: model for congenital generalized lipodystrophy [J]. *Genes Dev*, 1998, 12(20): 3182–3194.
- [57] Nakayama H, Otabe S, Ueno T, et al. Transgenic mice expressing nuclear sterol regulatory element-binding protein 1c in adipose tissue exhibit liver histology similar to nonalcoholic steatohepatitis [J]. *Metabolism*, 2007, 56(4): 470–475.
- [58] Kakino S, Ohki T, Nakayama H, et al. Pivotal role of TNF- $\alpha$  in the development and progression of nonalcoholic fatty liver disease in a murine model [J]. *Horm Metab Res*, 2018, 50(1): 80–87.
- [59] Kim YO, Popov Y, Schuppan D. Optimized mouse models for liver fibrosis [J]. *Methods Mol Biol*, 2017, 1559: 279–296.
- [60] Slater TF, Cheeseman KH, Ingold KU. Carbon tetrachloride toxicity as a model for studying free-radical mediated liver injury [J]. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 1985, 311(1152): 633–645.
- [61] 杨开选, 程微波, 王文冬, 等. 40%四氯化碳大鼠慢性肝损伤模型的研究 [J]. *现代预防医学*, 2005, 32(1): 20–21.  
Yang KX, Cheng WB, Wang WD, et al. A study of chronic injury model induced by 40% carbon tetrachloride [J]. *Modern prev med*, 2005, 32(1): 20–21.
- [62] 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.  
Liu SS, Huo GT, Wang CF, et al. Establishment of hepatic fibrosis model induced by CCl<sub>4</sub> in inbred C57BL/6 mice [J]. *Lab Anim Sci*, 2019, 36(4): 28–30, 34.
- [63] Arezzini B, Lunghi B, Lungarella G, et al. Iron overload enhances the development of experimental liver cirrhosis in mice [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2003, 35(4): 486–495.
- [64] Gan D, Zhang W, Huang C, et al. Ursolic acid ameliorates CCl<sub>4</sub>-induced liver fibrosis through the NOXs/ROS pathway [J]. *J Cell Physiol*, 2018, 233(10): 6799–6813.
- [65] 薛冰, 张家薇, 段希斌. 哌拉西林钠对 CCl<sub>4</sub> 诱导的大鼠急性肝损伤的保护作用及机制研究 [J]. *中国免疫学杂志*, 2019, 35(6): 717–721.  
Xue B, Zhang JW, Duan XB. Study on protective effect and mechanism of piperacillin sodium on CCl<sub>4</sub>-induced acute liver injury in rats [J]. *Chin J Immun*, 2019, 35(6): 717–721.
- [66] 王珏, 李琴, 李颖. 黄芪总皂苷对 CCl<sub>4</sub> 诱导急性肝损伤小鼠保护作用及机制初探 [J]. *中药药理与临床*, 2018, 34(6): 70–73.  
Wang J, Li Q, Li Y. Preliminary study on protective effect and mechanism of total astragalus saponins on CCl<sub>4</sub> induced acute liver injury in mice [J]. *Pharmacol Clin Chin Mater Med*, 2018,



- 34(6): 70–73.
- [67] Hajovsky H, Hu G, Koen Y, et al. Metabolism and toxicity of thioacetamide and thioacetamide S-oxide in rat hepatocytes [J]. *Chem Res Toxicol*, 2012, 25(9): 1955–1963.
- [68] Atarashi M, Izawa T, Mori M, et al. Dietary iron overload abrogates chemically-induced liver cirrhosis in rats [J]. *Nutrients*, 2018, 10(10): 1400.
- [69] 鲁智文, 潘晓莉, 宋宇虎. 3 种小鼠肝纤维化模型的建立及评价 [J]. *胃肠病学和肝病杂志*, 2018, 27(4): 390–392.  
Lu ZW, Pan XL, Song YH. Establishment and evaluation of liver fibrosis in three different mice models [J]. *Chin J Gastroenter Hepatol*, 2018, 27(4): 390–392
- [70] Mi XJ, Hou JG, Jiang S, et al. Maltol mitigates thioacetamide-induced liver fibrosis through tgf-beta1-mediated activation of PI3K/Akt signaling pathway [J]. *J Agric Food Chem*, 2019, 67(5): 1392–1401.
- [71] 覃仁武, 邱绍勤, 陈赛专. 苦参碱对硫代乙酰胺诱导的肝纤维化大鼠的影响 [J]. *中成药*, 2020, 42(3): 764–767.  
Qin RW, Qiu SQ, Chen SZ. Effect of Matrine on thioacetamide induced hepatic fibrosis in rats [J]. *Chin Tradit Patent Med*, 2020, 42(3): 764–767
- [72] Bolzán AD, Bianchi MS. Genotoxicity of streptozotocin [J]. *Mutat Res*, 2002, 512(2–3): 121–134.
- [73] Qiang G, Zhang L, Yang X, et al. Effect of valsartan on the pathological progression of hepatic fibrosis in rats with type 2 diabetes [J]. *Eur J Pharmacol*, 2012, 685(1–3): 156–164.
- [74] Fujii M, Shibasaki Y, Wakamatsu K, et al. A murine model for non-alcoholic steatohepatitis showing evidence of association between diabetes and hepatocellular carcinoma [J]. *Med Mol Morphol*, 2013, 46(3): 141–152.
- [75] Qiang G, Yang X, Xuan Q, et al. Salvianolic acid a prevents the pathological progression of hepatic fibrosis in high-fat diet-fed and streptozotocin-induced diabetic rats [J]. *Am J Chin Med*, 2014, 42(5): 1183–1198.
- [76] 方舒, 蔡迎迎, 李萍, 等. Exendin-4 通过激活 Nrf2/HO-1 通路减轻糖尿病小鼠的肝脏氧化应激及纤维化 [J]. *南方医科大学*, 2019, 39(4): 464–470.  
Fang S, Cai Y, Li P, et al. Exendin-4 alleviates oxidative stress and liver fibrosis by activating Nrf2/HO-1 in streptozotocin-induced diabetic mice [J]. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao*, 2019, 39(4): 464–470.
- [77] Lau JK, Zhang X, Yu J. Animal models of non-alcoholic fatty liver disease; current perspectives and recent advances [J]. *J Pathol*, 2017, 241(1): 36–44.
- [78] Takahashi Y, Soejima Y, Fukusato T. Animal models of nonalcoholic fatty liver disease/nonalcoholic steatohepatitis [J]. *World J Gastroenterol*, 2012, 18(19): 2300–2308.
- [79] Sumida Y, Yoneda M. Current and future pharmacological therapies for NAFLD/NASH [J]. *J Gastroenterol*, 2018, 53(3): 362–376.

[收稿日期] 2020-06-30