

• 实验研究 Experimental research •

诱导型一氧化氮合酶、血小板衍生生长因子-B和脂多糖在布-加综合征大鼠模型中的表达及意义

朱楠, 张甜甜, 吕维富, 成德雷, 周光亚, 陈维仕, 刘宝来, 任江涛,
鲁东, 周春泽

【摘要】 目的 探讨诱导型一氧化氮合酶(iNOS)、血小板衍生生长因子(PDGF)-B、脂多糖(LPS)在布-加综合征(BCS)大鼠模型中的表达及意义。**方法** 部分结扎大鼠肝后段下腔静脉构建 BCS 模型。实验分为对照组($n=20$)、模型组($n=20$)和假手术组($n=20$),各组又分 4 亚组(1、3、6、12 周组)。收集肝组织作免疫组织化学、苏木精-伊红和 Masson 染色,检测 iNOS、PDGF-B 和 LPS 表达。**结果** 模型组 LPS 值均显著高于对照组和假手术组($P=0.001$)。模型组 iNOS、PDGF-B mRNA 和蛋白表达均显著高于对照组和假手术组($P=0.001$);各亚组 iNOS、PDGF-B mRNA 和蛋白表达差异均有显著统计学意义($P=0.001$)。模型组 iNOS 与 PDGF-B、LPS 呈正相关;肝纤维化与 LPS 呈正相关,与 PDGF-B 呈负相关。**结论** BCS 病损与修复是一复杂过程,iNOS、PDGF-B 和 LPS 可能分别在 BCS 病程不同阶段发挥侧重不同的作用,如何调节它们在纤维化中的平衡,也许是值得进一步研究的方向。

【关键词】 布-加综合征;肝纤维化;诱导型一氧化氮合酶;血小板衍生生长因子;脂多糖
中图分类号:R543.6 文献标志码:A 文章编号:1008-794X(2019)-03-0262-06

The expression and significance of iNOS, PDGF - B and LPS in rat models with Budd - Chiari syndrome ZHU Nan, ZHANG Tiantian, LÜ Weifu, CHENG Delei, ZHOU Guangya, CHEN Weishi, LIU Baolai, REN Jiangtao, LU Dong, ZHOU Chunze. Department of Interventional Radiology, First Affiliated Hospital, University of Science and Technology of China, Hefei, Anhui Province 230001, China

Corresponding author: CHENG Delei, E-mail: 39055004@qq.com

【Abstract】 Objective To investigate the expression and significance of inducible nitric oxide synthase (iNOS), platelet-derived growth factor (PDGF)-B and lipopolysaccharide (LPS) in rat models with Budd-Chiari syndrome (BCS). **Methods** BCS model was established by partial ligation of inferior vena cava in the posterior segment of the liver. The experimental rats were divided into control group ($n=20$), model group ($n=20$) and sham group ($n=20$). Liver tissues were collected for immunohistochemistry, HE and Masson staining, and the expression levels of iNOS, PDGF-B and LPS were determined. **Results** The LPS value in model group was higher than that in both control group and sham group ($P=0.001$). The mRNA and protein expressions of iNOS and PDGF-B in model group were higher than those in both control group and sham group ($P=0.001$). Statistically significant differences in mRNA and protein expressions of iNOS and PDGF-B existed between each other among the subgroups ($P=0.001$). In model group iNOS was positively correlated with PDGF-B and LPS; liver fibrosis was positively correlated with LPS and negatively correlated with PDGF-B. **Conclusion** The damage and repair of BCS is a complicated process. The iNOS, PDGF-B and LPS may play different roles in different stages of BCS. How to regulate their balance in liver fibrosis may be a direction that deserves further study. (J Intervent Radiol, 2019, 28: 262-267)

【Key words】 Budd - Chiari syndrome; hepatic fibrosis; inducible nitric oxide synthase; platelet - derived growth factor; lipopolysaccharide

DOI:10.3969/j.issn.1008-794X.2019.03.012

基金项目:安徽省自然科学基金(1708085QH218),蚌埠市科技创新指导类项目(20180351)

作者单位:230001 合肥 中国科学技术大学附属第一医院介入放射科(朱楠、吕维富、成德雷、鲁东、周春泽);安徽省五河县人民医院影像科(朱楠、张甜甜、周光亚、陈维仕、刘宝来、任江涛)

通信作者:成德雷 E-mail: 39055004@qq.com

布-加综合征(Budd-Chiari syndrome, BCS)是肝后段阻塞引起的下腔静脉(IVC)和/或门静脉(PV)高压所致一系列临床症状群,若不积极治疗,终将进展为肝纤维化^[1]。有研究发现淤血缺氧可致诱导型一氧化氮合酶(iNOS)、血小板衍生生长因子(PDGF)-B、脂多糖(LPS)水平升高,进而影响肝纤维化进展^[2-3],但它们在 BCS 中的具体机制尚不清楚。因此,本研究构建 BCS 大鼠模型并观察多时间点这几个指标变化,探讨其表达及意义。

1 材料与方法

1.1 实验动物

取体质量为 195~255 g 健康雄性 Sprague-Dawley 大鼠(中国科学技术大学附属第一医院实验动物中心提供,室温 15~25℃、湿度 50%~60%、12 h 光暗交替周期下清洁饲养)60 只,以随机数字表法分为对照组($n=20$)、模型组($n=20$)和假手术组($n=20$),各组又分 4 亚组(1、3、6、12 周组)。本研究经医院实验动物伦理委员会审查批准。

1.2 实验方法

模型制备——对照组大鼠常规饲养;模型组于剑突下正中开腹分离肝镰状韧带,暴露肝后段 IVC,以 3 F 微导管平行紧贴 IVC 作环绕结扎(0 号线)后抽出,逐层缝合关腹;假手术组未结扎 IVC,其它过程同模型组。各组大鼠处死前 1 d 穿刺股静脉作 DSA 造影检查。

取材与病理检查——对照组于 6 周末,模型组、假手术组分别于第 1、3、6、12 周末分别随机选取 12 只大鼠,处死后迅速取 5 g 新鲜肝组织,以制备肝匀浆。各组另取相同位置肝组织适量,用 4%甲醛固定 24 h,制作石蜡切片,以免疫组织化学、苏木精-伊红(HE)和 Masson 染色,余标本均置于-80℃冰箱备用。肝纤维化分期: S_0 期,无纤维化; S_1 期,小叶中央纤维沉积; S_2 期,小叶中央以外纤维沉积,未达小叶边缘; S_3 期,小叶边缘纤维沉积; S_4 期,早期肝硬化。

免疫组化检测——石蜡切片脱蜡至水,3% H_2O_2 室温孵育 5~10 min,磷酸缓冲液(PBS,北京中杉金桥生物技术公司)冲洗 2 min \times 3 次;滴加一抗,室温孵育 30~60 min,PBS 冲洗 2 min \times 3 次;滴加通用型 IgG 抗体(Fab 段)-辣根过氧化物酶(HRP)多聚体(北京中杉金桥生物技术公司),室温孵育 10~20 min,PBS 冲洗 2 min \times 3 次,以二氨基联苯胺(DAB)显色,蒸馏水冲洗、复染、脱水、封片。阴性对照以 PBS 代

替一抗,阳性对照采用已知阳性片;以胞质有棕黄色颗粒为阳性,不着色为阴性。

LPS 检测——双抗体夹心法^[4]检测肝匀浆中 LPS,严格参照试剂盒说明书操作,吸光度标准曲线 $r^2>0.99$ 。

逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)检测——取 100 mg 肝组织,液氮研磨,加入 1 mL TRIzol 试剂(美国 Life 科技公司)匀浆,严格按说明书提取总 RNA,合成 cDNA,行 RT-PCR 检测(美国 Thermo Fisher 科技公司)。PCR 反应条件:95℃ 2 min, 95℃ 5 s, 60℃ 10 s, 40 个循环。引物序列(上海生工生物工程公司): β -肌动蛋白(actin)正向 5'-CCCA-TCTATGAGGGTTACGC-3', 反向 5'-TTTAATGT-CACGCACGATTTC-3';iNOS 正向 5'-TTGAGAC-CCTGGTGGACATC-3', 反向 5'-CTCCAGGGCT-TCATCATTGC-3';PDGF-B 正向 5'-ATCGAGCC-AAGACACCTCAA-3', 反向 5'-CAGTGCCTTCTT-GTCATGGG-3'。相对表达量以 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 计算。

免疫印迹检测——取 100 mg 肝组织,加入放射免疫沉淀测定(RIPA)细胞裂解液 1 mL;离心取上清液,加入十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)缓冲液(1:4);沸水 10 min,冷却至室温,上样;转膜 90 min,漂洗 5 min,室温封闭 2 h;一抗(兔抗 1:300 稀释)4℃孵育过夜,含 Tween®20 磷酸盐缓冲液(PBST)冲洗 10 min \times 3 次;二抗室温孵育 2 h,PBST 冲洗 10 min \times 3 次;以增强型化学发光(ECL)分析仪(美国 Thermo Fisher 科技公司)检测蛋白,ImageJ 软件分析条带灰度值,与内参照比较,计算相对表达量。

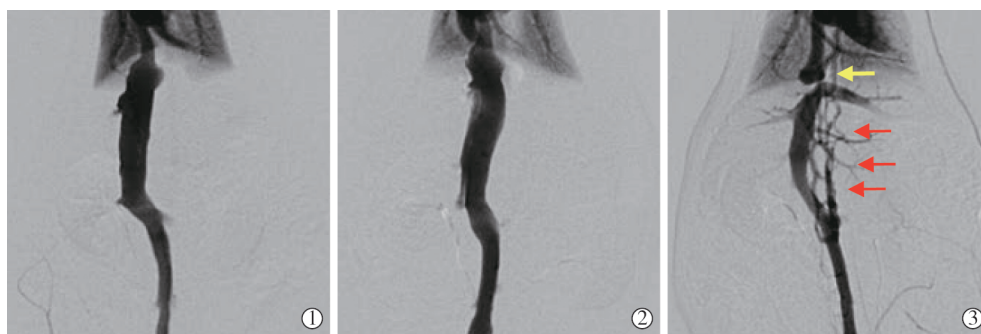
1.3 统计学方法

采用 SPSS 22.0 软件作统计学分析,检验数据符合正态分布及方差齐性,计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,各指标在模型组、假手术组组内差异及其分别与对照组比较差异用单因素方差分析,模型组、假手术组组间差异用两因素方差分析,各亚组间两两比较用 LSD 检验,以 Pearson 法和 Spearman 法分析各指标间、各指标与肝纤维化相关性, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 建模情况

各组大鼠存活均 >15 只,模型组大鼠术后活动减少、反应迟钝、毛色灰暗,DSA 造影见肝后段 IVC 管腔变窄,远端扩张,3 周后见侧支循环逐渐形成;



①②对照组、假手术组 IVC 通畅;③模型组肝后段 IVC 变窄(黄箭头),远端管腔扩张伴侧支循环(红箭头)

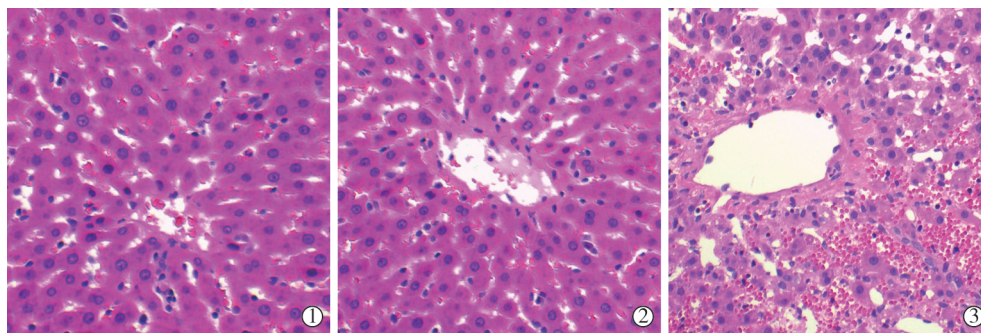
图 1 各组大鼠建模后 IVC DSA 造影检查影像

对照组、假手术组大鼠活动如常、反应机警,IVC 造影均无阳性表现(图 1)。

2.2 病理和免疫组化检测结果

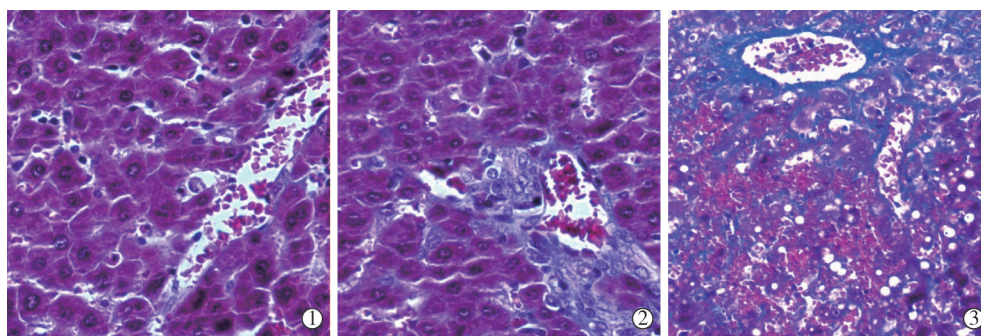
模型组肝脏病理损伤和纤维化染色逐渐加重,以第 12 周组最显著,见窦状扩张,小叶中心性肝细

胞萎缩,出血和汇管区纤维化阳性染色(图 2、3,表 1);iNOS、PDGF-B 阳性染色均在细胞胞质,主要在汇管区间质细胞、血管内皮细胞、炎性细胞浸润区及纤维组织(图 4)。对照组、假手术组无阳性病理表现,iNOS、PDGF-B 免疫组化染色阴性。



①②对照组、假手术组未见阳性染色;③模型组肝血窦扩张伴大量红细胞淤积,部分肝细胞坏死,胞质红染

图 2 各组大鼠肝脏 HE 染色(×200)显像



①②对照组、假手术组未见阳性染色;③模型组肝细胞萎缩,肝索结构破坏,肝窦扩张,红细胞淤积,中央静脉周围和汇管区见胶原组织染色

图 3 各组大鼠肝脏 Masson 染色(×200)显像

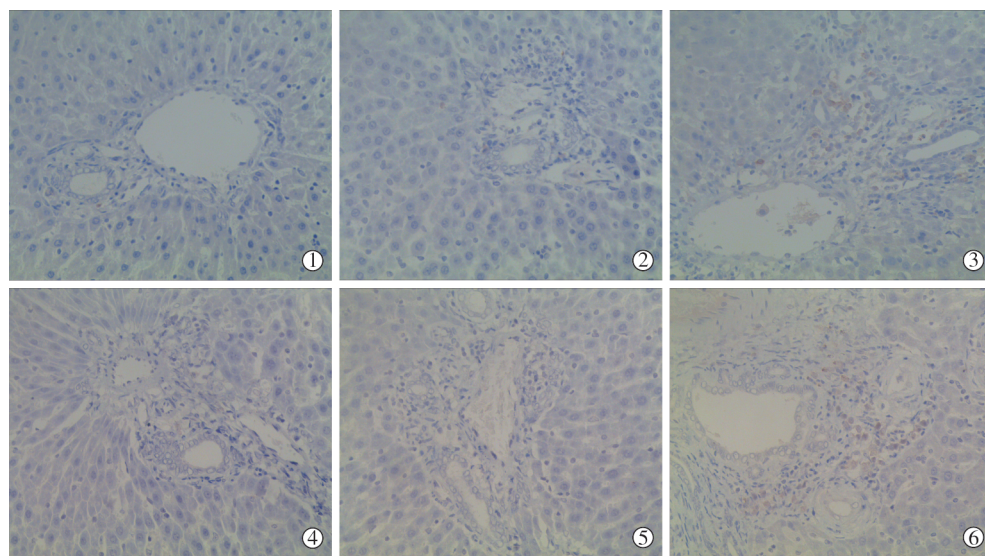
表 1 模型组肝纤维化情况

亚组	S ₀ 期	S ₁ 期	S ₂ 期	S ₃ 期	S ₄ 期	n
1 周	12	0	0	0	0	0
3 周	9	3	0	0	0	0
6 周	6	5	1	0	0	0
12 周	0	7	5	0	0	0

2.3 mRNA 和蛋白表达

术后 iNOS、PDGF-B mRNA 表达,模型组均先

升高后下降,但分别显著高于对照组、假手术组(iNOS: $F=294.585, 672.919, P=0.001$;PDGF-B: $F=277.558, 822.613, P=0.001$),对照组与假手术组间差异无统计学意义(iNOS: $F=0.348, P=0.844$;PDGF-B: $F=0.856, P=0.496$);模型组各亚组表达均高于同一时间假手术亚组及对照组($P<0.05$),见表 2、3。iNOS、PDGF-B mRNA 表达分别在模型组各时间



①②对照组、假手术组 iNOS 未见阳性染色;③模型组 iNOS 阳性染色位于血管内皮细胞、汇管区间质细胞、炎性细胞浸润区及纤维组织;④⑤对照组、假手术组 PDGF-B 未见阳性染色;⑥模型组 PDGF-B 阳性染色位于血管内皮细胞、汇管区间质细胞、炎性细胞浸润区及纤维组织

图 4 各组大鼠免疫组化染色($\times 200$)显像

表 2 各组大鼠 iNOS 表达比较

各亚组 $n=12$, $\bar{x} \pm s$

亚组	模型组		假手术组		对照组		F 值		P 值
	mRNA	蛋白	mRNA	蛋白	mRNA	蛋白	mRNA	蛋白	
1 周	1.40 \pm 0.18	0.59 \pm 0.04	1.00 \pm 0.09	0.30 \pm 0.02	1.00 \pm 0.09	0.29 \pm 0.03	39.240	376.618	0.001
3 周	6.34 \pm 0.88	1.13 \pm 0.06	0.97 \pm 0.10	0.28 \pm 0.02	1.00 \pm 0.09	0.29 \pm 0.03	437.488	2 023.900	0.001
6 周	4.20 \pm 0.39	0.91 \pm 0.05	0.98 \pm 0.08	0.28 \pm 0.03	1.00 \pm 0.09	0.29 \pm 0.03	733.194	1 145.719	0.001
12 周	2.20 \pm 0.21	0.76 \pm 0.04	0.98 \pm 0.09	0.29 \pm 0.03	1.00 \pm 0.09	0.29 \pm 0.03	281.857	782.223	0.001
F 值	243.591	309.589	0.328	1.900					
P 值	0.001	0.001	0.805	0.144					

对照组对假手术组 $F=0.348$ 、 1.416 , $P=0.844$ 、 0.241 ; 对照组对模型组 $F=294.585$ 、 681.356 , P 均 $=0.001$; 亚组间 P 均 <0.05 ; 模型组对假手术组 $F=672.919$ 、 622.126 , P 均 $=0.001$; 亚组间 P 均 <0.05

表 3 各组大鼠 PDGF-B 表达比较

各亚组 $n=12$, $\bar{x} \pm s$

亚组	模型组		假手术组		对照组		F 值		P 值
	mRNA	蛋白	mRNA	蛋白	mRNA	蛋白	mRNA	蛋白	
1 周	5.31 \pm 0.82	1.23 \pm 0.05	0.98 \pm 0.07	0.25 \pm 0.04	1.02 \pm 0.11	0.25 \pm 0.05	326.728	1 870.863	0.001
3 周	4.76 \pm 0.25	0.99 \pm 0.04	0.98 \pm 0.12	0.28 \pm 0.05	1.02 \pm 0.11	0.25 \pm 0.05	1 879.097	1 204.658	0.001
6 周	2.25 \pm 0.20	0.76 \pm 0.06	0.95 \pm 0.06	0.26 \pm 0.05	1.02 \pm 0.11	0.25 \pm 0.05	355.684	397.551	0.001
12 周	1.60 \pm 0.16	0.50 \pm 0.03	0.99 \pm 0.07	0.26 \pm 0.03	1.02 \pm 0.11	0.25 \pm 0.05	102.060	182.104	0.001
F 值	202.764	593.661	0.546	1.116					
P 值	0.001	0.001	0.653	0.353					

对照组对假手术组 $F=0.856$ 、 0.925 , $P=0.496$ 、 0.456 ; 对照组对模型组 $F=277.558$ 、 911.387 , P 均 $=0.001$; 亚组间 P 均 <0.05 ; 模型组对假手术组 $F=822.613$ 、 $1 323.233$, P 均 $=0.001$; 亚组间 P 均 <0.05

点比较,差异均有显著统计学意义($F=243.591$ 、 202.764 , $P=0.001$),且模型组各亚组间两两比较,差异也有统计学意义($P<0.05$);iNOS 在 3 周达峰,PDGF-B 在 1 周达峰(表 2、3)。各组 iNOS、PDGF-B 蛋白表达与相应 mRNA 表达呈正相关($r=0.916$ 、 0.948 , $P=0.001$),蛋白随时间变化趋势和各组间统计学差异与相应 mRNA 趋势一致(图 5,表 2、3)。

2.4 LPS 结果

对照组大鼠肝匀浆 LPS 值与假手术组术后各

时间点比较,差异无统计学意义($F=0.421$, $P=0.793$);模型组分别与对照组、假手术组比较,差异均有显著统计学意义($F=49.631$ 、 165.968 , $P=0.001$),且模型组各亚组表达均高于同一时间假手术亚组、对照组($P<0.05$);模型组各亚组间两两比较,差异均有统计学意义($P<0.05$),6 周组表达最高;见表 4。

2.5 iNOS、PDGF-B、LPS 及肝纤维化相关性

LPS 与 iNOS 呈正相关($r=0.644$ 、 0.667 , $P<0.05$),iNOS 与 PDGF-B 呈正相关($r=0.499$ 、 0.491 , $P<0.05$);LPS 与肝纤维化呈正相关($r=0.738$, $P<$

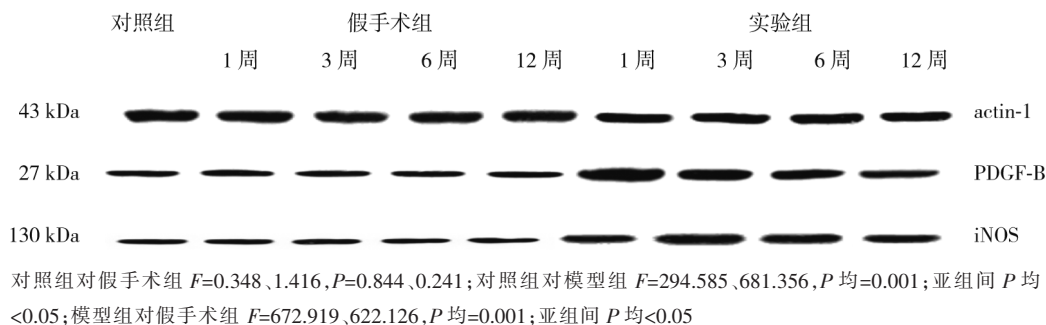


图 5 各组 iNOS、PDGF-B 蛋白表达

0.05), PDGF-B 与肝纤维化呈负相关($r=-0.370$ 、 $-0.302, P<0.05$), 其余两两指标间相关性均不高; 见表 5、6。

表 4 各组大鼠 LPS 比较 各亚组 $n=12$, ng/L, $\bar{x} \pm s$

亚组	模型组	假手术组	对照组	F 值	P 值
1 周	121.90 \pm 11.43	104.84 \pm 5.60	104.05 \pm 10.19	13.774	0.001
3 周	136.89 \pm 10.81	107.18 \pm 9.64	104.05 \pm 10.19	37.707	0.001
6 周	156.48 \pm 12.49*	107.21 \pm 6.68	104.05 \pm 10.19	102.221	0.001
12 周	154.55 \pm 9.49*	105.16 \pm 4.47	104.05 \pm 10.19	140.109	0.001
F 值	25.823	0.413			
P 值	0.001	0.745			

对照组对假手术组 $F=0.421, P=0.793$; 对照组对模型组 $F=49.631, P=0.001$; 亚组间 P 均 <0.05 ; 模型组对假手术组 $F=165.968, P=0.001$; 亚组间 P 均 <0.05 ; * $P>0.05$

表 5 模型组 iNOS、PDGF-B、LPS mRNA 与纤维化相关性

参数	iNOS	PDGF-B	LPS	纤维化
iNOS	1.000	0.499*	0.644*	0.240
PDGF-B	0.499*	1.000	0.129	-0.370*
LPS	0.644*	0.129	1.000	0.738*
纤维化	0.240	-0.370*	0.738*	1.000

* $P<0.05$ 表 6 模型组 iNOS、PDGF-B、LPS 蛋白与纤维化相关性 r

参数	iNOS	PDGF-B	LPS	纤维化
iNOS	1.000	0.491*	0.667*	0.237
PDGF-B	0.491*	1.000	0.129	-0.302*
LPS	0.667*	0.129	1.000	0.738*
纤维化	0.237	-0.302*	0.738*	1.000

* $P<0.05$

3 讨论

肝纤维化是慢性肝损伤最终转归, 不同肝病中的具体作用机制各异^[5]。BCS 肝静脉回流障碍导致的淤血缺氧可能通过调节 iNOS、PDGF-B、LPS 水平, 在肝纤维化中发挥重要作用^[6-7]。iNOS 是一氧化氮(NO)合成酶异构体, 其释放 NO, 增加血管通透性, 参与 PV 高压及纤维化^[8]。PDGF-B 是肝星状细胞(HSC)最强促分裂原, 亦是重要血管稳定因子, 淤血缺氧可诱导其高表达^[9]。本研究结果显示模型组 iNOS、PDGF-B 均高于正常, 且两者互为正相关, 提

示其相互调节并参与 BCS 整个病程; 其机制可能是淤血缺氧上调低氧诱导因子(HIF)-1、核因子(NF)- κ B, 与下游靶基因 iNOS、PDGF-B 反应元件结合, 促进上述因子表达^[8-9]。PDGF-B 可活化下游靶基因和 HSC, 上调基质金属蛋白酶(MMP)-2、MMP-9 和 MMP 组织抑制因子(TIMP)-1 表达, 促进肝纤维化^[9]。iNOS 产生 NO, 促进血管生成及渗漏, 导致肝窦内皮细胞毛细血管化及 HSC 活化, 加速肝纤维化进展^[10]。但模型组 iNOS、PDGF-B 均先升后降, 与肝纤维化相关性不高, 这不同于其它病因肝纤维化中随病程进展持续上升的报道^[8-9], 提示 BCS 有着不同的调节通路^[1]; 且随着侧支循环缓解淤血缺氧, 亦可能是下调 iNOS、PDGF-B, 使纤维化进展缓慢的原因^[1-3], 这与临床经验相符——病程数十年之久的 BCS 患者肝纤维化程度并不严重^[1,11]。

LPS 是革兰阴性菌壁主要成分, 可诱导氧化应激及炎症反应^[6]。本研究模型组 LPS 值明显高于正常, 并与肝纤维化呈正相关, 提示 LPS 参与 BCS 肝纤维化进展, 这与其它类型肝病研究结果相似^[12], 但模型组 LPS 先升后降, 前 6 周持续升高可能是 IVC 梗阻后 PV 压力升高, 胃肠道淤血缺氧, 肠黏膜屏障功能受损, 继发肠道菌群经 PV 移位入肝, 激活 Toll 样受体(TLR)4 信号通路, 介导下游肿瘤坏死因子(TNF)- α 、白细胞介素(IL)-1 β 等因子表达, 活化 HSC, 促进肝纤维化^[13]; 6 周后随着侧支循环缓解淤血缺氧, 稍降低 LPS 水平, 但仍高于正常, 且肝脏病理损伤和纤维化未缓解, 说明侧支循环并不能根本解决淤血缺氧及肝纤维化进展, 开通梗阻的 IVC 才是治疗 BCS 的有效手段。

本研究中 3 个指标均参与 BCS 全病程, 模型组 iNOS 与 LPS、PDGF-B 均呈正相关, 提示三者可能相互调节。IVC 结扎后淤血缺氧使 LPS 增加, 刺激 Kupffer 细胞上调 TNF- α 、炎症因子等水平, 导致 iNOS 高表达^[14]; 肝淤血缺氧可刺激 HIF-1 α 激活 HSC, 诱

导 PDGF-B、iNOS 等上调^[15], iNOS 可形成病理性血管丛, 阻碍细胞间物质交换, 加重缺氧及肠黏膜水肿, 升高 LPS 并活化 HSC, 这与其它类型肝硬化作用机制相似^[10,14]; 但 PDGF-B 更早达峰值, 其可降低渗漏, 促进血管成熟, 缓解淤血缺氧^[16], 这可能是 BCS 有别于其它肝纤维化而进展缓慢的重要原因。三者水平均在 BCS 病程后期降低, 可能是肝脏急性损伤消退, 侧支循环代偿, HSC 等细胞活化减少的缘故^[1-3], 但其水平始终高于正常, 说明若不及早行介入治疗, 肝脏损伤仍将日益加重。

本研究局限性: 仅观察至第 12 周, 模型组 3 个指标均先升后降, 其是否随侧支循环代偿持续下降或随纤维化进展而上升, 有待延长时间进一步研究。

综上所述, 3 个指标贯穿 BCS 肝损伤与修复全程, iNOS、LPS 参与病理血管生成及肝内循环阻力, PDGF-B 促进功能血管缓解淤血缺氧, 它们的作用分别在 BCS 病程不同阶段各有侧重, 如何调节它们在纤维化中的平衡, 也许是值得进一步研究的方向。

[参考文献]

- [1] 王文亮, 徐浩, 魏宁, 等. 布-加综合征介入治疗近期效果评价中脾脏剪切波速与门静脉压力相关性研究[J]. 介入放射学杂志, 2017, 26: 878-881.
- [2] Elswefy SE, Abdallah FR, Atteia HH, et al. Inflammation, oxidative stress and apoptosis cascade implications in bisphenol A-induced liver fibrosis in male rats[J]. Int J Exp Pathol, 2016, 97: 369-379.
- [3] Bocca C, Novo E, Miglietta A, et al. Angiogenesis and fibrogenesis in chronic liver diseases[J]. Cell Mol Gastroenterol Hepatol, 2015, 1: 477-488.
- [4] 董记红, 吴金节, 林根祥, 等. NEFA 对体外培养奶牛肝细胞氧化还原状态的影响[J]. 西北农林科技大学学报·自然科学版, 2017, 44: 37-43.
- [5] Zhang CY, Yuan WG, He P, et al. Liver fibrosis and hepatic stellate cells: etiology, pathological hallmarks and therapeutic targets[J]. World J Gastroenterol, 2016, 22: 10512-10522.
- [6] Fukui H. Gut-liver axis in liver cirrhosis: how to manage leaky gut and endotoxemia[J]. World J Hepatol, 2015, 7: 425-442.
- [7] Elpek GO. Angiogenesis and liver fibrosis[J]. World J Hepatol, 2015, 7: 377-391.
- [8] Iwakiri Y. Nitric oxide in liver fibrosis: the role of inducible nitric oxide synthase[J]. Clin Mol Hepatol, 2015, 21: 319-325.
- [9] Wang X, Wu X, Zhang A, et al. Targeting the PDGF-B/PDGFR- β interface with destruxin A5 to selectively block PDGF-BB/PDGFR- β signaling and attenuate liver fibrosis[J]. EBio-Medicine, 2016, 7: 146-156.
- [10] La Mura V, Pasarin M, Rodriguez-Vilarrupla A, et al. Liver sinusoidal endothelial dysfunction after LPS administration: a role for inducible-nitric oxide synthase[J]. J Hepatol, 2014, 61: 1321-1327.
- [11] 成德雷, 徐浩, 华荣, 等. 急性慢性布加综合征 MRI 特征对照研究[J]. 中华放射学杂志, 2013, 47: 816-819.
- [12] Alexopoulou A, Agiasotelli D, Vasilieva LE, et al. Bacterial translocation markers in liver cirrhosis[J]. Ann Gastroenterol, 2017, 30: 486-497.
- [13] Xu H, Xiong JX, Xu J, et al. Mosapride stabilizes intestinal microbiota to reduce bacterial translocation and endotoxemia in CCl₄-induced cirrhotic rats[J]. Dig Dis Sci, 2017, 62: 2801-2811.
- [14] Choudhury MG, Saha N. Induction of inducible nitric oxide synthase by lipopolysaccharide and the influences of cell volume changes, stress hormones and oxidative stress on nitric oxide efflux from the perfused liver of air-breathing catfish, heteropneustes fossilis[J]. PLoS One, 2016, 11: e0150469.
- [15] Copple BL, Bai S, Burgoon LD, et al. Hypoxia-inducible factor-1 α regulates the expression of genes in hypoxic hepatic stellate cells important for collagen deposition and angiogenesis[J]. Liver Int, 2011, 31: 230-244.
- [16] Gianni-Barrera R, Burger M, Wolff T, et al. Long-term safety and stability of angiogenesis induced by balanced single-vector co-expression of PDGF-BB and VEGF(164) in skeletal muscle[J]. Sci Rep, 2016, 6: 21546.

(收稿日期: 2018-07-24)

(本文编辑: 边 佑)