

doi:10.3969/j.issn.1005-0264.2019.01.017

特异性敲除 CD147 基因抑制小鼠非酒精性脂肪性肝炎的机制研究*

沈晓雯 戴世荣[△] 黄琳玲

江苏省南通市第二人民医院检验科 (江苏 南通, 226001)

摘要 目的:研究特异性敲除小鼠 CD147 基因抑制其非酒精性脂肪性肝炎(NASH)的可能作用机制。**方法:**选择 8 周龄小鼠 24 只,其中 12 只敲除 CD147 基因,另 12 只不敲除。将敲除 CD147 基因的 12 只小鼠分为两组,每组 6 只。其中 1 组小鼠采用蛋氨酸-胱氨酸缺乏饲料(MCD)喂养,简称 A1 组;另 1 组小鼠采用正常饲料喂养,简称 A2 组。12 只非基因敲除小鼠也分为两组,每组 6 只。其中 1 组小鼠采用 MCD 喂养,简称 B1 组;另 1 组小鼠采用正常饲养喂养,简称 B2 组。两周后处死小鼠,测定其血清谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)、白细胞介素-18(IL-18)、NLR 家族 Prn 域 3(NLRP3),并检测 B 细胞淋巴瘤因子-2(Bcl-2)、Bcl-2 相关 X 蛋白(Bax 蛋白)等表达。观察小鼠肝细胞凋亡情况。**结果:**HE 染色与油红 O 染色显示,A1、A2 组小鼠在 2 周时肝细胞变性程度明显弱于 B1、B2 组, $P < 0.05$;A1、A2 组小鼠肝细胞凋亡数量明显少于 B1、B2 组, $P < 0.05$;A1、A2 组小鼠血清 ALT、AST、Bax 水平低于 B1、B2 组, $P < 0.05$,而 Bcl-2 水平高于 B1、B2 组, $P < 0.05$;A1、A2 组小鼠 IL-1 β 、IL-18、NLRP3 水平均低于 B1、B2 组, $P < 0.05$ 。A1、B1 组小鼠血清 ALT、AST、分别高于 A2、B2 组,但 A1 组小鼠 ALT、AST 则低于 B1 组。**结论:**特异性敲除小鼠 CD147 基因,可以减弱小鼠肝组织脂肪变性,减少肝细胞凋亡(下调促凋亡分子 Bax 水平,上调抗凋亡分子 Bcl-2 水平)、降低细胞因子 IL-1 β 、IL-18 以及炎性小体 NLRP3 的表达,从而达到抑制 NASH 的目的。

关键词 非酒精性脂肪性肝炎;CD147;特异性敲除;肝功能;炎性因子

Mechanism of specific knockout of CD147 to inhibit non-alcoholic steatohepatitis

SHEN Xiao-wen, DAI Shi-rong[△], HUANG Lin-ling. Department of Laboratory, the Second People's Hospital of Nantong in Jiangsu (Nantong Jiangsu, 226001) China

Abstract Objective: To study the possible mechanism of action specific knockout of CD147 to inhibit non-alcoholic steatohepatitis (NASH). **Methods:** Eight week old mice were selected, which were consistent with hepatocyte-specific knockout CD147 gene mice (Alb; Bsg flx-flx group) and their littermate control mice (Bsg flx-flx group), 6 in each group. The corresponding methionine-cystine-deficient feed (MCD group) and control feed were administered separately (control group). Two weeks later, the mice were sacrificed and serum alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), interleukin-1 β /(IL-1 β -18), and NLR family pyrin domain 3 (NLRP3) were measured, and the expression of B-cell lymphoma factor-2 (Bcl-2), Bcl-2 related x protein (Bax) protein and apoptosis of mouse hepatocytes were detected. **Results:** HE staining and oil red O dye staining showed that the degree of steatosis at 2 weeks in the Alb; Bsg flx-flx group was significantly weaker than that in the Bsg flx-flx group. When MCD was induced, serum ALT and AST levels were higher in the MCD group than in the littermate control group ($P < 0.05$), while serum ALT and AST levels in the Alb; Bsg flx-flx group were lower than those in the Bsg flx-flx group ($P < 0.05$). When MCD was induced, the number of hepatocytes in the liver tissue of Alb; Bsg flx-flx group were significantly lower than that of Bsg flx-flx group ($P < 0.05$); Alb; Bsg flx-flx group was lower than Bsg flx-flx group ($P < 0.05$), while Alb; Bsg flx-flx group Bcl-2 level was higher than Bsg flx-flx group ($P < 0.05$); Alb; Bsg flx-flx group IL-1 β , IL-18 level, The NLRP3 level were lower than that of the Bsg flx-flx group ($P < 0.05$). **Conclusion:** Hepatocyte knockout of CD147 in NASH can attenuate hepatic steatosis, hepatocyte apoptosis (down-regulation of pro-apoptotic Bax levels, up-regulation of anti-apoptotic Bcl-2 levels), cytokines IL-1 β , IL-18, and Expression of inflammatory corpuscle NLRP3.

Key Words non-alcoholic steatohepatitis; CD147; specific knockout; liver function; inflammatory factor

* 基金项目:南通市科技计划项目(No. YY215028);[△]通讯作者

非酒精性脂肪性肝病 (NAFLD) 主要是由肝细胞内脂肪堆积引起, 会发展为非酒精性脂肪性肝炎 (NASH), 甚至肝癌^[1]。NASH 进展的主要因素是肝细胞凋亡与炎症反应, 其严重程度与肝细胞的凋亡程度呈正相关, 肝细胞在受损时会激活炎症通路, 释放细胞因子调控疾病的进展^[2,3]。CD147 基因在多种肿瘤细胞及炎症组织中广泛表达, 与亲环蛋白等发生关键作用, 有助于释放促炎细胞因子^[4,5]。早前研究发现 CD147 基因参与了肝纤维化的形成, 促进了肿瘤的发生^[6]。目前, 尚不明确 CD147 基因在 NASH 中的表达情况与作用, 故笔者研究 CD147 基因在肝脏疾病早期炎症阶段中的作用, 探讨其可能的病理生理作用机制, 为临床早期抑制 NAFLD、NASH 等肝脏疾病提供新的治疗途径。

1 材料与方法

1.1 造模与分组 购买 BALB/c 基因敲除小鼠 12 只 (雌雄不限, 上海斯莱克实验动物有限责任公司), 鼠龄 8 周, 体质量 (13 ± 4) g。打耳标标记并剪取少量尾巴, 提取全基因组 DNA, 经鉴定符合肝细胞特异性敲除 CD147 基因小鼠, 其中 6 只采用蛋氨酸-胱氨酸缺乏饲料 (MCD) 喂养简称 A1 组, 另 6 只采用正常饲料喂养简称 A2 组。另 12 只为没有敲除 CD147 基因小鼠, 其中 6 只也采用 MCD 喂养简称 B1 组, 另 6 只采用正常饲养喂养, 简称 B2 组。两周后处死小鼠, 测定其血清谷丙转氨酶 (ALT)、谷草转氨酶 (AST)、白细胞介素-1β (IL-1β)、白细胞介素-18 (IL-18)、NLR 家族 Prn 域 3 (NLRP3), 并检测 B 细胞淋巴瘤因子-2 (Bcl-2)、Bcl-2 相关 X 蛋白 (Bax 蛋白) 等表达。观察小鼠肝细胞凋亡情况。

1.2 材料与试剂 胎牛血清 (FBS, 美国 Hyclone 公司); RPMI-1640 细胞培养液 (美国 GIBCOBRL 公司); 四甲基偶氮唑 (MTT, 进口分装, 华美生物工程公司); 二甲基亚砜 (DMSO, 分析纯) 购自江苏鸿声; Western Blot 试剂、免疫荧光试剂购自上海碧云天; 0.25% 胰酶购自吉泰科技; 免疫组化试剂 (SP9000 试剂盒、DAB 显色剂) 购自北京中杉金桥; RT-PCR 逆转录试剂盒、SYBR Green I Mix PCR 试剂 (日本 Takara 公司); ECL 发光液 (美国 Thermo Scientific 公司); 美国 Millipore 公司的 PVDF 膜 (0.45 μm); 美国 Millipore 公司的 EZH2 多克隆抗体; 美国 Santa Cruz 公司的辣根过氧化物酶标记二抗; 美国 GIBCO 公司的 RPMI 1640 培养液; 美国 Applied biosystems 公司的 PT-PCR 反应用 96 孔板; 上海生工公司合成的 RT-PCR 引物; 上海吉玛生物技术有限责任公司的 mRNA 模拟物片段及对照片段; 美国 Invitrogen 公司的 Lipofect AMINE 2000 细胞转染试剂; 美国 Life 技术公司的 Trizol 试剂及反转录试剂; 广州市锐博生物科技有限公司的 Cell-Light™ Edu Apollo 567 In vitro Kit 检测试剂盒。

1.3 仪器与设备 3111 型 CO₂ 培养箱、CL17R 型冷冻高速离心机均购自 Thermo Forma 公司; 低温冰箱购自 SANYO 公司; SW-CJ-1F 层流超净生物学工作台 (苏州安泰); ELX808 酶联免

疫检测仪 (美国 BioTek 公司); 丹麦 NUN CLON 公司的细胞培养板和培养瓶; 日本 Olympus 公司的 XPS-18 型倒置荧光显微镜; 美国 Bio-Rad 公司的蛋白印记检测系统与凝胶成像仪; Step One PLUS 荧光定量 PCR 仪, 罗氏 480 荧光定量 PCR 仪, Leica Bond-Max 免疫组化仪, Bio-Rad S1000 梯度 PCR 仪。

1.4 试验方法

1.4.1 qRT-PCR 检测全基因组 DNA 采用 TaKaRa 公司生产的 Trizol 试剂分别提取处理细胞的总 RNA, 定量后依照 TaKaRa 公司的反转录试剂盒说明书严格操作制备 cDNA。利用上海生物工程公司合成引物, 将 GAPDH 为内参照物, 采用 SYBR Green 法定量检测以下 mRNA 表达水平。CD147-LoxP 引物序列, 上游 5'-ATAGAAATGGGGATGCTCTG-3', 下游 5'-GGCTCTGTCTTCACTTGG-3'; Alb-Cre 引物序列, 上游 5'-ACAGCTCCCAGATG-GCAAACATAC-3', 下游 5'-ATCACTCGTTGCATCATGACCG-3'。取逆转录产物于 Real-time PCR 仪上进行扩增并检测荧光。反应体系为: 2 × Taq PCR Master Mix 5 μl, 上游引物 (15 μmol/L) 0.5 μl, 下游引物 (15 μmol/L) 0.5 μl, cDNA 1 μl, 用 DEPC 处理水补齐 20 μl。PCR 反应条件: 94℃ 预变性 3 min, 活化 Tag 酶; 92℃ 30s, 58℃ 60s, 72℃ 30s, 共循环 34 次。以上每组均设复孔 3 个, 重复 3 次, 按照 2^{-ΔΔCT} 法统计定量分析以上 mRNA 的表达水平。

1.4.2 法检测 Bcl-2、Bax 蛋白表达 分别提取 4 组小鼠肝脏组织的总蛋白, 使用 BCA 试剂盒检测各指标浓度, 利用 8% 十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶 (SDS-PAGE) 电泳 50 μg 总蛋白, 湿转法并转膜, 用 5% 脱脂牛奶封闭 1 h 加入 1:200 稀释的一抗, 4℃ 摇床中孵育 12 h。完成后再使用 TBST 清洗 3 次, 10 min/次, 接着加入 1:300 稀释的辣根过氧化物酶 (HRP) 标记的山羊抗兔 IgG 二抗, 再重复以上清洗, 最后采用 Pierce 公司生产的超敏 ECL 试剂暗室曝光检测蛋白条带, 以内参的灰度值为 100% 进行比较和半定量分析。

1.4.3 qRT-PCR 检测相关的细胞因子 RNA 同小鼠肝组织的总 RNA 提取方法一致, 在扩增目的片段的同时以 18 S 作为内参对照, 重复测定 3 次。其中 18 S 引物序列, 上游 5'-GTAACCCGTTGAACCCATT-3', 下游 5'-CAACCAACAAGTGATAT-TCTCCATG-3'; IL-1β 引物序列, 上游 5'-GAACCAACAAGT-GATATTCTCCATG-3', 下游 5'-GATCCATACTATCCAGGCTGCA-3'; IL-18 引物序列, 上游 5'-GACTCTTGGCTCAACTTCAAGG-3', 下游 5'-CAGGCTGTCTTTTGTCAACGA-3'; NLRP3 引物序列, 上游 5'-ATTACCCGCCGAGAAAGG-3', 下游 5'-TCGCAGCAAAGATCCACACAG-3'。

1.4.4 肝组织脂肪苏木精-伊红 (HE) 染色 4 组小鼠肝脏石蜡切片 65℃ 烤箱中 30 min, 依次放入二甲苯、无水乙醇中各 5 min, 放入 2 个 95% 乙醇中各 2 min, 80%、75% 乙醇、蒸馏水中各 2 min。接着进行苏木精染色 10 min, 1% 盐酸乙醇分化, 蒸馏水冲洗后在 PBS 中反蓝 5 min, 伊红染色 5 min, 蒸馏水冲洗置

于 95 % 乙醇中 10 s,依次放入无水乙醇、二甲苯中各 2 min,最后中性树脂胶封片。

1.4.5 肝组织脂肪油红 O 染色 小鼠肝组织冰冻切片用甲醛-钙液固定 10 min,蒸馏水洗 3 min,60 % 异丙醇浸洗 3 min,油红 O 染色 10 min,60 % 异丙醇分化至无色,蒸馏水冲洗后,苏木精复染 5 min,自来水蓝化 3 min,最后甘油明胶封片。

1.4.6 血清 ALT、AST 检测 在 96 孔板中进行反应,每组设置 6 个重复孔。在 37℃ 孵箱内 5 μl 小鼠血清与 20 μl 基质液混匀,气浴 30 min,各孔中加入 0.4 mol/L 氢氧化钠 200μl,振荡 10 min,混匀后静置 15 min。采用酶标仪在 510 nm 处吸光度 A 值,并绘制生长曲线计算相应酶活单位。

1.4.7 小鼠肝细胞凋亡检测 石蜡组织放入二甲苯 I、II 中各 5 min 脱蜡,接着依次浸泡在 100 % 乙醇 5 min,90 %、80 %、70 % 的乙醇中 3 min。接着依次滴加 100 μl 蛋白酶 K 溶液,3% 过氧化氢-甲醇溶液,室温孵育 20 min,5 min,结束后 TBS 漂洗增加组织的通透性以及灭活内源性过氧化氢酶活性;接着滴加 100 μl 1 × TdT 平衡溶液,继续孵育 30 min,去液后滴加 100 μl 的 TdT 标记混合液,37 °C 孵育 90 min,结束后 TBS 漂洗,滴加 100 μl 终止缓冲液,孵育 5 min,TBS 漂洗。最后,滴加 100 μl 封闭缓冲液,室温孵育 10 min,去液后滴加 100 μl 稀释过的偶联物,继续孵育 30 min,TBS 漂洗,滴加 100 μl DAB 显色液,继续孵育 15 min,去离子水漂洗,然后滴加 100 μl 甲基绿复染,继续孵育 3 min,依次浸入 2~4 次无水乙醇与二甲苯,盖玻片封片,进行显微镜镜检。

1.5 统计学方法 采用 SPSS 17.0 软件进行统计学分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 MCD 喂养的两组小鼠脂肪组织两种染色情况 HE 染色与油红 O 染料染色结果均显示,A1 组小鼠在 2 周时的脂肪变性程度明显弱于 B1 组小鼠,其主要特征为脂肪空泡面积缩小。见插图彩图 1。

2.2 4 组小鼠 ALT、AST 水平测定结果 见表 1。

表 1 4 组小鼠 ALT 和 AST 水平比较 ($\bar{x} \pm s, U/L$)

| 组别 | n | ALT | AST |
|------|---|---------------------------|---------------------------|
| A2 组 | 6 | 12.80 ± 3.69 | 9.70 ± 2.59* |
| A1 组 | 6 | 47.56 ± 8.25** | 17.58 ± 4.76** |
| B2 组 | 6 | 13.10 ± 3.76 | 9.60 ± 2.12 |
| B1 组 | 6 | 66.07 ± 9.15 ^Δ | 36.61 ± 6.78 ^Δ |

与 A2 组比较, * $P < 0.05$;与 B2 组比较, $\Delta P < 0.05$;与 B1 组比较, # $P < 0.05$

2.3 MCD 喂养的两组小鼠肝脂肪组织染色情况 见插图彩图 2。当 MCD 诱导后,A1 组小鼠肝组织内肝细胞的凋亡数量明显

少于 B1 组($P < 0.05$)。

2.4 4 组小鼠 Bax、Bcl-2 蛋白表达水平检测结果 见表 2。

表 2 4 组小鼠 Bax、Bcl-2 的表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | n | Bax 蛋白 | Bcl-2 |
|------|---|--------------------------|--------------|
| A2 组 | 6 | 0.42 ± 0.21 | 0.53 ± 0.03 |
| A1 组 | 6 | 1.12 ± 0.22** | 0.44 ± 0.05 |
| B2 组 | 6 | 0.37 ± 0.13 | 0.81 ± 0.23 |
| B1 组 | 6 | 0.77 ± 0.25 ^Δ | 0.38 ± 0.05* |

与 A2 组比较, * $P < 0.05$;与 B2 组比较, $\Delta P < 0.05$;与 B1 组比较, # $P < 0.05$

2.5 4 组小鼠肝组织中 IL-1β、IL-18、NLRP3 检测结果 见表 3。

表 3 4 组小鼠肝组织 IL-1β、IL-18、NLRP3 表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | n | IL-1β | IL-18 | NLRP3 |
|------|---|-------------|--------------------------|---------------|
| A2 组 | 6 | 1.49 ± 0.38 | 0.73 ± 0.25 | 1.08 ± 0.11 |
| A1 组 | 6 | 1.03 ± 0.12 | 0.46 ± 0.14** | 2.05 ± 0.26** |
| B2 组 | 6 | 1.02 ± 0.14 | 0.97 ± 0.46 | 0.95 ± 0.07 |
| B1 组 | 6 | 2.12 ± 0.53 | 1.75 ± 0.64 ^Δ | 6.79 ± 0.94* |

与 A2 组比较, * $P < 0.05$;与 B2 组比较, $\Delta P < 0.05$;与 B1 组比较, # $P < 0.05$ 。

3 讨论

NASH 病程进展的主要因素有肝细胞死亡、炎症反应和细胞因子释放等^[7]。CD147 基因能诱导基质细胞,降解细胞外基质,参与肿瘤的代谢过程,促进肿瘤进展;同时,CD147 基因也参与调控众多免疫性疾病,对炎症与促炎细胞因子的释放发挥关键的作用^[5,8]。已有研究报道采用 Cre-LoxP 系统构建肝细胞特异性敲除不同基因小鼠,且肝细胞中不同基因敲除不影响小鼠的正常生长^[9,10]。鉴于早前研究显示 NASH 小鼠 CD147 基因在肝细胞中表达较明显,本研究建立肝细胞特异性敲除 CD147 基因的 NASH 小鼠模型,研究其抑制小鼠 NASH 的发展,探究其可能的作用机制。

NASH 进展的初始表现为肝细胞内脂肪大量积累,超过了肝组织代谢能力而发生一系列应激反应、肝功能紊乱,加速 NASH 病程进展^[11]。吴明兵等采用湿浸青霉素处理高脂饮食饲养的非酒精脂肪肝模型小鼠,发现小鼠的体质量、肝功能、胰岛素抵抗、葡萄糖抵抗及肝脏脂肪指数变化均明显小于高脂饮食单独喂食的小鼠,同时结果显示湿浸青霉素处理小鼠 CMKLR1 和 NLRP3 的表达下调,KCs 介导的炎症反应减弱,这可能是通过 Chemerin/CMKLR1 途径抑制 Kupffer 细胞 NLRP3 的活性缓解小鼠肝脏脂肪变性以及炎症反应^[12]。吴强等研究

发现 CD147 基因与周围型非小细胞肺癌的淋巴转移有关,其阳性表达与肿瘤的大小、深分叶征、棘突征、纵隔淋巴结肿大有关,表明 CD147 基因参与肺癌的侵袭转移^[13]。何拓等综述了 CD147 基因在肝细胞癌、乳腺癌及宫颈病变中的作用,发现 CD147 基因常常会被激活并重新表达,而且通过多种机制可以促进肿瘤的侵袭和转移,在肿瘤的恶性生物学行为中扮演了重要角色^[14]。吴海燕等发现在小鼠肝癌细胞 Hepal-6 细胞可通过其 CD147 基因及其配体 CypA 作用,促进其自身细胞增殖,并同时影响 CypA 对 T 细胞的趋化能力,进而逃避 T 细胞的免疫监视作用^[15]。以上研究表明 CD147 基因可以调节脂肪酸代谢促进肝癌细胞的增殖与转移,通过多种途径参与脂肪代谢与脂肪细胞的分化,提示 CD147 基因在 NASH 中可能参与促进肝细胞内部脂肪变性。本研究结果提示小鼠特异性敲除 CD147 可以减弱 NASH 引起的脂肪组织变性。CD147 基因被认为具有抗凋亡作用,可以促进肿瘤细胞的存活^[16]。本研究结果还提示特异性敲除 CD147 基因可以减弱 NASH 引起的小鼠肝细胞损伤,抑制 NASH 疾病进展,减弱 NASH 引起的肝细胞凋亡。

NASH 发展过程中会发生明显的炎症应答,刺激炎症通路,释放炎症因子,激活肝星状细胞与 Kupffer 细胞的功能,促进肝脏纤维化^[10,17]。IL-1 β 与 IL-18 是 IL-1 家族的细胞因子,参与了炎性小体 NLRP3 的炎症信号转导过程,而 IL-1 β 不仅能促进肝星状细胞的增殖和活化,还加速肝癌恶化,而 Kupffer 细胞、肝细胞在 NASH 中能释放大量的 IL-1 β ^[18,19]。在 NASH 的病理变化过程中,肝细胞会经历脂质积累、死亡以及氧化应激反应导致肝纤维化,最终癌变。本研究采用 qRT-PCR 的方法检测了相关的细胞因子 IL-1 β 、IL-18 在小鼠肝脏组织中的表达情况,结果提示小鼠肝细胞特异性敲除 CD147 基因可以减弱 NASH 引起的肝细胞炎症反应。

综上所述,在 NASH 中敲除 CD147 基因能够减轻肝组织脂肪变性、减少肝细胞凋亡(下调促凋亡分子 Bax 水平,上调抗凋亡分子 Bcl-2 水平)和细胞因子 IL-1 β 、IL-18、炎性小体 NLRP3 的表达,最终抑制 NASH 进展。

参考文献

[1] Lee LY, Kohler UA, Zhang L, et al. Activation of the Nrf2-ARE Pathway in Hepatocytes Protects Against Steatosis in Nutritionally Induced Non-alcoholic Steatohepatitis in Mice[J]. Toxicol Sci, 2017, 142(2): 361-374.

[2] 李富强, 吴小翠, 徐丽娜, 等. $\alpha 7$ 烟碱型乙酰胆碱受体基因敲除对非酒精性脂肪性肝炎小鼠肝脏炎症的影响研究[J]. 中国全科医学, 2016, 19(23): 2802-2809.

[3] 臧淑妃, 马晓洁, 王磊, 等. 中性粒细胞弹性蛋白酶抑制剂 sivelestat 对非酒精性脂肪性肝炎的防治作用及其机制[J]. 中华肝病杂志, 2017, 25(5): 371-376.

[4] 陈宁, 宁会彬, 占伟丽, 等. 肝刺激因子基因敲除促进非酒精性脂肪性肝炎发生发展的分子机制[J]. 中华传染病杂志, 2017, 35(9): 519-527.

[5] 马燕花, 杨少军, 白洲霞, 等. 慈菇消脂丸对 NF- κ B 介导的非酒精性脂肪肝病大鼠肝细胞凋亡的干预作用[J]. 北京中医药大学学报, 2017, 58(10): 856-863.

[6] 刘成, 丁婷婷, 汤雯, 等. 姜黄素类似物 L6H4 对非酒精性脂肪肝病大鼠肝细胞 Sirt1 及凋亡相关蛋白表达的影响[J]. 江苏医药, 2018, 44(6): 605-608.

[7] Wang W, Xu MJ, Cai Y, et al. Inflammation is independent of steatosis in a murine model of steatohepatitis[J]. Hepatology, 2017, 66(1): 108-123.

[8] 唐辉, 肖仔君, 蒋鑫炜, 等. 高糖应激促脂肪变性肝细胞凋亡的线粒体机制[J]. 中国病理生理杂志, 2016, 32(8): 1419-1424.

[9] 孔维健, 常宇鑫, 咎春芳, 等. 基于 Cre-loxP 系统条件性基因敲除小鼠的构建及其应用进展[J]. 中国实验诊断学, 2017, 20(12): 2208-2211.

[10] 李枫林, 张宝, 管石侠, 等. 非酒精性脂肪肝病大鼠 IL-1 β 、IL-18、TNF- α 水平的变化[J]. 安徽医科大学学报, 2016, 51(3): 351-354.

[11] 鲍轶. 免疫细胞在非酒精性脂肪性肝病中的作用机制及研究进展[J]. 中华肝脏病杂志, 2017, 25(7): 553-556.

[12] 吴明兵, 张文锋, 龚建平, 等. 渥曼青霉素通过 Chemerin/CMKLR1 途径抑制 Kupffer 细胞 NLRP3 的活性缓解小鼠非酒精性脂肪肝病[J]. 重庆医学, 2018, 47(17): 2279-2284.

[13] 吴强, 张祥海, 袁海军. CD147、MUC5ac 在周围型非小细胞肺癌中的表达及与 CT 征象的相关性[J]. 中国医师杂志, 2017, 19(4): 549-551.

[14] 何拓, 孙静, 王婧伊, 等. CD147 在肿瘤侵袭及转移过程中的作用[J]. 海南医学, 2017, 28(19): 3189-3192.

[15] 吴海燕, 任一鑫. CD147 及其配体 CypA 在小鼠肝癌细胞 Hepal-6 逃避 T 细胞免疫监视中的作用[J]. 肿瘤防治研究, 2017, 44(1): 17-22.

[16] 黄晨恺, 何丛. 炎症小体活化与非病毒性肝病的研究进展[J]. 医学研究生学报, 2017, 30(5): 546-550.

[17] 罗燕, 杨文君, 陈建玉, 等. 非酒精性脂肪性肝炎相关肝细胞癌小鼠模型的建立与鉴定[J]. 中华肝脏病杂志, 2016, 24(4): 279-284.

[18] 舒泳翔, 吴鹏波, 柳健, 等. 姜黄素对实验性大鼠非酒精性脂肪肝病氧化应激、炎性因子及细胞凋亡水平的影响[J]. 医学研究杂志, 2016, 45(3): 126-130.

[19] 高小娟, 林苏, 朱月永. NLRP3 炎症小体与非酒精性脂肪性肝病[J]. 中华肝脏病杂志, 2016, 24(12): 956-960.

(修回日期: 2018-11-26 编辑: 韦 怡)