

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2015.12.049

肝硬化动物模型造模方法的研究进展*

崔承虎 韩明子[△] 金世柱 王新红 李瑞妮

(哈尔滨医科大学第二附属医院消化内科 黑龙江 哈尔滨 150081)

摘要:肝硬化(hepatic cirrhosis, HC)是各种慢性肝病发展的晚期阶段,发病初期表现为轻度乏力、腹胀等症状,后期以肝功能损害和门脉高压为主,随病情进一步发展可出现消化道出血、肝性脑病等严重并发症,死亡率极高。然而,目前研究尚未完全明确肝硬化的发病机制。因此,建立肝硬化动物模型,并通过动物实验研究肝硬化的发病机制,探索肝硬化的防治手段是我们需要重视的问题。由于动物与人类种属之间存在巨大差异,若要完全模拟肝硬化的病理特点制备实验动物模型是非常困难的。为深入了解肝硬化的发病机制和特点,本文将对肝硬化动物模型的制备方法进行综述。

关键词:肝硬化;动物模型;造模方法

中图分类号:Q95-3;R575.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2015)12-2393-04

Reviews on Establishment of Experimental Animal Models with Hepatic Cirrhosis*

CUI Cheng-hu, HAN Ming-zi[△], JIN Shi-zhu, WANG Xin-hong, LI Rui-ni

(Department of Gastroenterology, the second affiliated hospital of Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang, 150081, China)

ABSTRACT: Hepatic cirrhosis (HC) is the late state of various chronic liver disease. In the early stage, there may be mild symptoms such as fatigue and abdominal distension. While in the late stage it will lead to liver function damage and portal hypertension. If progressed, it may cause severe complications, which have high mortality, such as gastrointestinal hemorrhage, and hepatic encephalopathy. However, the pathogenesis of HC is not entirely clear. Establishing animal model for HC is the basis of studying pathogenesis and treatment. Due to the complication of the cause and pathogenesis of HC, and the existence of species differences between animal and humanity, it is difficult to entirely mimic the pathological characteristics of HC. Thus, to establish animal model that conforms to the pathological characteristics of HC is a world's difficult problem. Here is to make a review on the study of animal model of hepatic cirrhosis.

Key words: Hepatic cirrhosis; Animal model; Establishment

Chinese Library Classification(CLC): Q95-3; R575.2 **Document code:** A

Article ID:1673-6273(2015)12-2393-04

前言

任何可引起肝损伤的因素长期、反复作用于肝脏,均可引起肝细胞变性、坏死,继而出现肝细胞再生和纤维组织增生,当肝小叶结构破坏,肝细胞结节再生,增生的胶原包绕形成假小叶即称肝硬化^[1]。目前应用较多的造模方法主要有化学性损伤肝硬化模型、酒精性肝硬化模型、血吸虫性肝硬化模型、胆管结扎性肝硬化模型以及免疫性损伤肝硬化模型等。近年来有学者试图利用肝炎病毒转基因鼠(hepatic virus-transgenic mouse)制造病毒性肝硬化动物模型,但小鼠免疫系统对病毒抗原耐受,该方法不能有效引起肝损伤,因而无法观察宿主免疫应答^[2]。因此,研究肝硬化动物模型的制备方法是深入了解肝硬化发病机制,探索临床防治策略的基础。本文就目前常用的肝硬化动物模型造模方法进行综述,为肝硬化的研究及其临床治疗提供实验基础。

1 化学性损伤肝硬化模型

化学性肝硬化是由肝毒性的化学物质引起的慢性肝脏损害的结果。造模应用的药物有四氯化碳(CCl₄)、二甲基亚硝胺(DMNA)、二乙基亚硝胺(DEN)、硫代乙酰胺(TAA)等。

1.1 CCl₄诱导的肝硬化动物模型

CCl₄是一种无色透明的挥发性液体,通过甲烷和氯气经热氯化反应而得。CCl₄具有强烈的肝毒性,可直接溶解肝细胞膜,经肝细胞细胞色素 P450 依赖性混合功能氧化酶的代谢生成三氯化碳(-CCl₃),启动脂质过氧化作用,导致肝细胞损伤^[3]。CCl₄作用于肝脏的过程中产生炎症因子和自由基从而激活肝星状细胞(HSC),HSC为细胞外基质(ECM)的主要来源,过多的ECM沉积于肝内导致肝纤维化继而引起肝硬化,这与人类药物性肝硬化病理特点相似。因此,CCl₄模型常用于探索药物性肝硬化发病机理,评估抗肝硬化药物的药效等实验研究。CCl₄

* 基金项目:国家自然科学基金面上项目(81370557)

作者简介:崔承虎(1989-),男,硕士研究生,研究方向:肝硬化,电话:13936415583, E-mail: 382597603@qq.com

[△] 通讯作者:韩明子,女,主任医师,研究方向:肝脏干细胞移植, E-mail: hanmingzi@medmail.com.cn

(收稿日期:2014-11-08 接受日期:2014-11-30)

诱导肝硬化动物模型具有操作简便、材料价廉以及病变典型等特点,目前广泛用于建立肝硬化相关动物实验研究,但该方法成模率低,且死亡率高^[1]。下面我们介绍几种由 CCl₄ 诱导的肝硬化动物模型制备方法,希望为相关研究提供参考。

1.1.1 单纯 CCl₄ 建模 一般选用大鼠造模,皮下注射 30%~60% CCl₄ 橄榄油溶液,剂量多选 1~3 ml/Kg,隔两天一次,肝硬化可在 12~16 周后形成。但是皮下注射 CCl₄ 易引起脑、肾等毒性,并容易引起注射部位的溃疡及脓肿。因此,皮下注射不应过快,并注意交替多点注射。也曾有研究采用腹腔注射、口服及灌胃等方法^[4]。其中,腹腔注射的吸收速度较皮下注射快,肝脏药物浓度较高,该方法操作简单,但死亡率高,因此目前很少采用;口服法会使实验动物产生厌食,因此难以控制药物剂量,而灌胃法则克服了这些问题。

1.1.2 CCl₄ 联合苯巴比妥 肝药酶诱导剂苯巴比妥作用于肝细胞能提高细胞色素 P450 的活性,增加 CCl₄ 的活化作用,产生更多的 -CCl₃,从而增加 CCl₄ 的毒性作用。Silvia Bona^[5]等在饮水中加入苯巴比妥 0.3 g/L,CCl₄ 蒸汽吸入,每周 2 次,4 月后形成肝硬化。也有学者用 CCl₄ 灌胃法联合苯巴比妥为唯一饮用水建立肝硬化模型^[6]。

1.1.3 CCl₄ 联合乙醇 乙醇能诱导 P450 活性从而增加 CCl₄ 肝毒性^[7],在代谢过程中产生的中间产物能够引起肝细胞变性、坏死。王庐荆^[8]等给予大鼠皮下注射 60% CCl₄ 橄榄油溶液,以 3 ml/Kg,每周 2 次,首剂加倍,同时第 1、2 周以 10%乙醇为唯一饮用水,第 3、4 周改 20%乙醇,第 5 周开始用 30%乙醇,第 12 周末即可制成肝硬化大鼠模型。该方法制成的肝硬化模型与人类酒精性肝硬化病理特点相似,并且比单纯应用酒精制造肝硬化缩短造模时间。

1.1.4 CCl₄ 复合法 相关研究表明,该方法由多种因素同时作用于肝脏,从而加快肝细胞变性、坏死,最终缩短造模时间^[9]。陈学新等^[10]采用四因素综合法(苯巴比妥钠、CCl₄ 诱导肝损伤,食用白酒为唯一饮用水,饮水中添加甜味剂),第 9 周末诱发大鼠肝硬化,生存率为 83%,明显缩短造模时间,并且提高实验动物的生存率。

1.2 DMNA 诱导的肝硬化动物模型

DMNA 是一种半挥发性有机化学物品,具有肝毒性、基因毒性,其经过肝脏代谢产生的甲基化产物使蛋白质和核酸发生甲基化反应,从而引起肝细胞坏死,长期作用于肝脏可引起肝硬化。刘成^[12]等用 0.5% DMNA 溶液(生理盐水稀释)2 ml/kg 腹腔注射 Wistar 大鼠,每天 1 次,肝硬化在第 4 周形成,成模率达 75%。Wang XB^[13]等用上述方法制造的肝硬化模型中发现 DMNA 并不是通过纤维结缔组织沉积而引起肝硬化,而是破坏并改变了肝窦壁的结构,优先形成门脉高压,最终引起肝硬化。DMNA 诱导肝硬化模型具有成模率高、死亡率低及稳定性好等特点^[14],常用于肝硬化门静脉高压类动物模型的建立。但 DMNA 是一种致癌物质,因此在实际操作中需做好防护措施。

1.3 DEN 诱导的肝硬化动物模型

DEN 为强致癌物,可与 DNA、RNA 结合引起肝损伤。常用 0.01% DEN 溶液,自由饮水,每天更换 1 次,连续饮用 11 周可形成肝硬化^[15]。Xiao Bin^[16]等给予大鼠 0.01% DEN 溶液(1-5 周

给予 DEN 溶液,6-8 周给予不含 DEN 水,9-20 周给予 DEN 溶液),第 14 周末造肝硬化模型,第 15-20 周时发现了癌变细胞。Gülsü m Özlem Elpek^[17]等对体重约 250 g 的 Wistar 大鼠给予腹腔注射 100 mg/Kg DEN 溶液,每周 1 次,在第 8 周末形成肝硬化。该方法不仅缩短了造模时间,而且成模率可达 100%,但其毒性作用需要在实际操作中加以防护。

1.4 TAA 诱导的肝硬化动物模型

TAA 为白色无色结晶,本身不会损伤肝脏,但其代谢产物的 TAA- 硫氧化物能与大分子物质结合,影响肝细胞代谢,从而损伤肝细胞。与 CCl₄ 造模方法相比,TAA 损伤引起的纤维沉积更显著,并且终止 TAA 刺激后纤维化可持续存在相当长时间^[18]。Bong Hwa Gan^[19]等用 TAA 盐水溶液以 300 mg/Kg 体重腹腔注射,每周 2 次,持续 10 周,成功诱导出肝硬化模型,其成模率为 100%。但是 Soo Young Park^[20]等以 200 mg/Kg 体重腹腔注射,每周 3 次,持续 7 周形成肝硬化模型,其成模率和死亡率并未在文章里描述。

2 酒精性肝硬化动物模型

随着生活水平的提高及饮食结构的改变,酒精性肝硬化的发病率逐年升高,严重威胁人类健康^[21,22]。长期过度饮酒可以导致肝硬化。肝脏是代谢、降解的主要场所,乙醇在乙醇脱氢酶和细胞色素 P450 的作用下产生乙醛和氧应激产物,其中乙醛通过与蛋白质结合干扰正常的生物学过程从而产生直接细胞毒性。氧应激产物则引起脂质过氧化作用,并且刺激炎症细胞产生炎症因子,导致肝细胞坏死,脂肪变性,纤维组织增生,最终引起肝硬化。常用的染酒方法有灌胃法,灌胃法不仅能避免造模过程中大鼠产生厌酒感,还能控制摄入量。Zhang XH^[23]等利用逐渐增加乙醇量灌胃法(1~4 周:5 g/Kg/d,5~8 周:7 g/Kg/d,9~12 周:9 g/Kg/d,13~24 周:9.5 g/Kg/d),在第 24 周末成功制造了肝纤维化模型。目前没有一种酒精性肝硬化造模方法能够精确复制人类酒精性肝硬化病理特点^[18]。此种造模方法常用于乙醇损伤肝机制的研究,包括乙醇相关的氧应激反应和免疫机制,缺点是实验周期长、造模不稳定。

3 血吸虫性肝硬化动物模型

血吸虫虫卵在肝脏内沉积形成可溶性虫卵抗原(SEA),SEA 通过上调 p53 和 DR5、下调 p-Akt 引起肝星状细胞凋亡,细胞外基质沉积于肝脏引起纤维化及肝硬化^[24]。常用 BALB/c 小鼠皮下注射日本血吸虫尾蚴,9-15 周时形成肝硬化模型^[25]。Bo-Lin Chen^[26]等皮下感染日本血吸虫,第 6 周时在汇管区有大量虫卵,炎症细胞包绕虫卵形成肉芽肿;第 8 周时在虫卵周围大量纤维细胞沉积,有纤维组织增生;第 10 周时大量炎症细胞和纤维细胞浸润到肉芽肿,肝小叶间胶原纤维沉积,肝小叶结构被破坏形成假小叶。此模型常用于抗血吸虫的药物实验和门静脉高压症的研究。

4 胆管结扎性动物肝硬化模型

结扎胆总管造成肝外胆管梗阻,引起肝内胆汁过度淤积,毛细胆管梗阻,汇管区胆管扩张,纤维组织增生,最终导致肝硬化。将大鼠予以麻醉后,在腹中部做小切口,游离胆总管后将其

结扎。一般 6 周后形成肝硬化模型,其死亡率高达 30%以上^[27,28]。由于鼠缺乏胆囊,广泛被用于此模型,但是胆漏和胆管囊肿破裂的可能性相对较高,其死亡率也随之上升^[29]。手术后皮下注射 0.9% 生理盐水 1 mL,每 2~6 天/次,可提高生存率^[28]。此模型存在胆管结扎后再通,使组织学逆转的可能性。将胆总管游离后切断,再结扎两侧胆管可避免。此模型血流动力学变化较明显,常用于门静脉高压症血流动力学研究。

5 免疫性损伤肝硬化模型

各种损伤肝细胞的因素(化学药物、酒精、病毒)作用于肝脏的过程中,其代谢产物与体内大分子物质结合后可获得抗原性,同时机体免疫耐受机制遭破坏,通过细胞免疫和体液免疫两条途径产生自身抗体,引起一系列病理变化,诱导肝细胞凋亡,最终形成肝硬化。一般采用人血清白蛋白、猪血清给大鼠腹腔注射,2 次/周,第 4 周时有纤维组织增生,第 8 周时有假小叶形成^[30-32]。此种造模方法能很好的复制人类自身免疫性肝疾病所致肝硬化可能的过程和机制,在筛选和评估抗肝硬化免疫性药物时常用此方法^[33]。

6 肝炎性肝硬化动物模型

肝炎是在亚洲地区肝硬化最常见的病因,但由于人类嗜肝细胞病毒不感染实验鼠,用传统方法不能制造肝炎性肝硬化动物模型。近年来不少学者开始用新的技术-转基因技术试图建立肝炎肝硬化模型。其中最常用的方法有肝炎病毒转基因模型^[2,34]、人类肝嵌合模型^[35]。肝炎病毒转基因小鼠体内可表现高水平的病毒颗粒,其形态学并无区别于肝炎患者的病毒颗粒。但是小鼠的免疫机制对病毒抗原耐受,并不产生抗原-抗体复合物沉积于肝脏而损伤肝细胞,因此,无法观察到宿主的免疫应答过程。此种造模方法常用于研究病毒复制、基因表达等。人类肝嵌合模型常用白蛋白(Alb)-尿激酶纤溶酶原激活物(uPA)免疫缺陷转基因小鼠(uPA-SCID),此小鼠体内高表达 uPA,后者通过激活降纤作用破坏肝细胞,再将把成人肝细胞移植到新生 uPA-SCID 小鼠体内,则嵌合肝脏表达高水平(90%)人类肝细胞。此种模型能感染肝炎病毒。同样,由于此种模型免疫缺陷,无法观察到免疫应答过程。此方法常用来抗病毒药物药效的评估。

7 小结与展望

实验动物模型不同于体外细胞培养系统,它能够使我们在复杂的体内多器官系统中研究肝硬化的生物医学和病理组织学特征,并且为开发新的治疗措施和测试新的治疗药物提供平台。然而,由于实验动物和人类种属差异,给实验带来诸多难题,比如实验中的一些新的发现不能直接应用于临床,动物体内发病机制不同于人类慢性肝病等等。

综上所述,目前没有一种肝硬化模型能够完全体现人类肝硬化病生特点。然而,动物模型能够帮助我们研究疾病的病因和病理,找出新的治疗方法。随着研究的进展,可望建立客观反映人类肝硬化发病机理、肝炎病毒参与和诱导的动物模型,以利于研究肝炎肝硬化发病机制,寻找抗肝炎肝硬化治疗药物。

参考文献(References)

- [1] Jin SZ, Meng XW, Sun X, et al. Hepatocyte growth factor promotes liver regeneration induced by transfusion of bone marrow mononuclear cells in a murine acute liver failure model [J]. J Hepatobiliary Pancreat Sci, 2010, 2011(18): 397-405
- [2] Moses T, Feng L, Liang C, et al. Liver immune-pathogenesis and therapy of human liver tropic virus infection in humanized mouse models[J]. J Gastroenterol Hepatol, 2013, 28(1): 120-124
- [3] Keiko I, Jiang CY, Zhang MJ, et al. Origin of myofibroblasts in the fibrotic liver in mice [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2014, 111(32): E3297-305
- [4] Yoshitaka N, Susumu T, Keishi K, et al. Anti-fibrogenic function of angiotensin II type 2 receptor in CCl4-induced liver fibrosis [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2006, 346(3): 658-664
- [5] Silvia B, Lidiane IF, Fáb bio CDN, et al. Effect of antioxidant treatment on fibrogenesis in rats with carbon tetrachloride-induced cirrhosis[J]. ISRN Gastroenterol, 2012, 2012(12): 762920
- [6] Jean MR, David F, Niaz KS, et al. Restrictive model of compensated carbon tetrachloride-induced cirrhosis in rats [J]. World J Gastroenterol, 2008, 14(45): 6943-6947
- [7] Sonia R, Eloy AZC, Laura EML, et al. Alcoholism and liver disease in Mexico: Genetic and environmental factors[J]. World J Gastroenterol, 2013, 19(44): 7972-7982
- [8] 王庐荆, 贺德, 胡翔, 等. 生态免疫营养对缺血再灌注的肝硬化大鼠肝脏保护的作用[J]. 广东医学, 2013, 34(3): 359-361
Wang Lu-jing, He De, Hu Xiang, et al. The protective effects of ecoimmunonutrition in cirrhotic rats suffered ischemia-reperfusion injury[J]. Guangdong Medical Journal, 2013, 34(3): 359-361
- [9] Alexander W, Christer B, Florian U, et al. Pharmacological Inhibition of the Chemokine CXCL16 Diminishes Liver Macrophage Infiltration and Steatohepatitis in Chronic Hepatic Injury [J]. PLoS One, 2014, 9(11): e112327
- [10] 陈学新, 丁向春, 熊利泽, 等. 四因素综合法制备大鼠肝硬化模型的评价[J]. 中华麻醉学杂志, 2007, 27(9): 835-838
Chen Xue-xin, Ding Xiang-chun, Xiong Li-ze, et al. Establishment of a rat model for liver cirrhosis using four factors[J]. Chinese Journal of Anesthesiology, 2007, 27(9): 835-838
- [11] Marques TG, E Chaib JH, da Fonseca AC, et al. Review of experimental models for inducing hepatic cirrhosis by bile duct ligation and carbon tetrachloride injection [J]. Acta Cirú rgica Brasileira, 2012, 27(8): 589-594
- [12] 刘成, 刘平, 陶庆, 等. 茵陈蒿汤干预二甲亚硝胺大鼠肝硬化效应的方证病理学基础研究 [J]. 中国中西医结合杂志, 2010, 30(8): 845-850
Liu Cheng, Liu Ping, Tao Qing, et al. Recipe-syndrome correlation and pathogenesis mechanism of yinchenhao decoction in intervening dimethylnitrosamine induced liver cirrhosis progress in rats[J]. Chin J Integr Tradit Med, 2010, 30(8): 845-850
- [13] Wang XB, Liu P, Tang ZP, et al. Cordyceps mycelia extract decreases portal hypertension in rats with dimethylnitrosamine-induced liver cirrhosis: a study on its histological basis [J]. Journal of Chinese Integrative Medicine, 2008, 6(11): 1136-1144
- [14] Manal K Abdel-Rahman. Can apricot kernels fatty acids delay the

- atrophied hepatocytes from progression to fibrosis in dimethylnitrosamine (DMN)-induced liver injury in rats?[J]. *Lipids Health Dis*, 2011, 10(12): 114
- [15] 玉苏甫·吐尔逊, 哈木拉提·吾甫尔, 阿不都卡德尔·库尔班, 等. 二乙基亚硝胺诱发大鼠肝硬化模型的建立及病理学研究[J]. *新疆医科大学学报*, 2011, 34(3): 261-264
- Yusup ·Tursun, Halmurat ·Upur, Abdukadir ·Kurba, et al. Pathologic study on DEN-induced hepatocirrhosis model in rats [J]. *Journal of Xinjiang Medical University*, 2011, 34(3): 261-264
- [16] Xiao B, Cui LM, Ma DJ, et al. Endoplasmic reticulum stress in diethylnitrosamine induced rat liver cancer[J]. *Oncol Lett*, 2014, 7(1): 23-27
- [17] Gü lsü m E, Gü zide AG, Sevgi B. Thrombospondin-1 expression correlates with angiogenesis in experimental cirrhosis [J]. *World J Gastroenterol*, 2008, 14(14): 2213-2217
- [18] Liu Y, Meyer C, Xu C, et al. Animal models of chronic liver diseases [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2013, 304(12): 449-468
- [19] Bong HG, Geok LN, Boon HB, et al. Altered CD38 expression in thioacetamide-induced rat model of liver cirrhosis[J]. *Liver Int*, 2005, 25(6): 1233-1242
- [20] Soo YP, Hye WS, Kyoung BL, et al. Differential expression of matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in thioacetamide-induced chronic liver injury [J]. *J Korean Med Sci*, 2010, 25(4): 570-576
- [21] Bosetti C, Levi F, Lucchini F, et al. Worldwide mortality from cirrhosis: an update to 2002[J]. *J. Hepatol*, 2007, 46(5): 827-839
- [22] Karsan HA, Rojter SE, Saab S. Primary prevention of cirrhosis. Public health strategies that can make a difference [J]. *Postgrad Med*, 2004, 115(12): 25-30
- [23] Zhang XH, Yan M, Liu L, et al. Expression of discoidin domain receptors (DDR2) in alcoholic liver fibrosis in rats[J]. *Arch Med Res*, 2010, 41(8): 586-592
- [24] Wang JX, Xu FF, Zhu DD, et al. Schistosoma japonicum soluble egg antigens facilitate hepatic stellate cell apoptosis by downregulating Akt expression and upregulating p53 and DR5 expression [J]. *PLoS Negl Trop Dis*, 2014, 8(8): e3106
- [25] Chen BL, Peng J, Li QF, et al. Exogenous bone morphogenetic protein-7 reduces hepatic fibrosis in Schistosoma japonicum-infected mice via transforming growth factor- β /Smad signaling [J]. *World J Gastroenterol*, 2013, 19(9): 1405-1415
- [26] Chen BL, Zhang GY, Yuan WJ, et al. Osteopontin expression is associated with hepatopathologic changes in Schistosoma japonicum infected mice[J]. *World J Gastroenterol*, 2011, 17(46): 5075-5082
- [27] Fumiaki S, Tomohisa S, Koh IN, et al. Pathophysiology of lung injury induced by common bile duct ligation in mice [J]. *PLoS One*, 2014, 9(4): e94550
- [28] Halka B, Karel C, Olga Z, et al. Liver protective effect of ursodeoxycholic acid includes regulation of ADAM17 activity [J]. *BMC Gastroenterol*, 2013, 13(1): 155
- [29] Catarina T, Elisabete F, Paula AO, et al. Effects of nebivolol on liver fibrosis induced by bile duct ligation in Wistar rats[J]. *In Vivo*, 2013, 27(5): 635-640
- [30] Yasuko HB, Kunio D. Changes in TIMP-1 and -2 expression in the early stage of porcine serum-induced liver fibrosis in rats [J]. *Exp Toxicol Pathol*, 2011, 63(4): 357-361
- [31] Wang SL, Yang CQ, Qi XL, et al. Inhibitory effect of bone morphogenetic protein-7 on hepatic fibrosis in rats [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2013, 6(5): 897-903
- [32] Sun WY, Song Y, Hu SS, et al. Depletion of β -arrestin2 in hepatic stellate cells reduces cell proliferation via ERK pathway [J]. *J Cell Biochem*, 2013, 114(5): 1153-1162
- [33] Ulises OM, Jorge ARE, Vera LP, et al. Protective effect of thymic humoral factor on porcine serum-induced hepatic fibrosis and liver damage in Wistar rats[J]. *Ann Hepatol*, 2011, 10(4): 540-551
- [34] Koichi S, Kazunori A, Shumpei O, et al. Adenovirus-mediated gene transfer of interferon alpha inhibits hepatitis C virus replication in hepatocytes [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, 307 (4): 814-819
- [35] Philip M, Louis L, Rita DV, et al. Morphological and biochemical characterization of a human liver in a uPA-SCID mouse chimera[J]. *Hepatology*, 2005, 41(4): 847-856

(上接第 2318 页)

- [13] Wang Jian. Clinical observation of FOLFOX regimen in the treatment of locally advanced or metastatic gastric cancer [J]. *Hainan medical journal*, 2012, 23(1): 46-48
- [14] Yamada Y, Higuchi K, Nishikawa K, et al. Phase III study comparing oxaliplatin plus S-1 with cisplatin plus S-1 in chemotherapy-naïve patients with advanced gastric cancer [J]. *Ann Oncol*, 2015, 26(1): 141-148
- [15] Dong CX, Fu JF, Ye XY, et al. Surgical resection of advanced gastric cancer following trastuzumab/oxaliplatin/capecitabine combination therapy[J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(34): 12355-12358
- [16] Zhou C, Ji J, Shi M, et al. Suberoylanilide hydroxamic acid enhances the antitumor activity of oxaliplatin by reversing the oxaliplatin induced Src activation in gastric cancer cells [J]. *Mol Med Rep*, 2014, 10(5): 2729-2735