

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2021.02.005

## 肿瘤坏死因子 $\alpha$ 在大鼠肝肺综合征发病机制研究\*

王立国<sup>1</sup> 郭月宁<sup>2</sup> 刘喃喃<sup>1</sup> 薄挽澜<sup>1</sup> 庄丽维<sup>1Δ</sup>

(1 哈尔滨医科大学附属第四医院消化内科 黑龙江 哈尔滨 150000;

2 哈尔滨医科大学附属第一医院呼吸内科 黑龙江 哈尔滨 150000)

**摘要 目的:**探讨 TNF- $\alpha$  在大鼠肝肺综合征形成中的作用与机制。**方法:**采取胆总管结扎方法建立肝肺综合征模型,随机将 45 只大鼠分为对照组(非手术组)、模型组(胆总管结扎组)和实验组(胆总管结扎+抗 TNF- $\alpha$  单克隆抗体组),每组 15 只,实验组于术后 3 周、4 周、5 周、6 周分别给予腹腔注射抗 TNF- $\alpha$  单克隆抗体;术后 4 周、5 周、6 周、7 周每组每周分别处死 3 只大鼠,血气分析计算肺泡-动脉氧分压梯度差,测定肝纤维化指标、血浆内毒素、NO 和 TNF- $\alpha$  浓度,并进行病理组织学观察。**结果:**胆总管结扎术后一般 4 周形成肝硬化,6 周形成肝肺综合征模型;实验组与模型组术后 4 周、5 周、6 周、7 周肝纤维化指标 HA、LN、PCIII、IV-C 明显升高, $P=0.023 (<0.05)$ ;与模型组相比,实验组肝纤维化程度明显减轻,而对照组肝脏病理无纤维化;实验组与模型组大鼠术后 4-7 周内毒素、NO 及 TNF- $\alpha$  逐渐增加,呈上升趋势,与对照组相比  $P=0.026 (<0.05)$ ,差异有统计学意义。**结论:**TNF- $\alpha$  在肝肺综合征发生发展中起到重要作用,抗 TNF- $\alpha$  单克隆抗体可治疗肝肺综合征。

**关键词:**肝肺综合征;内毒素;肿瘤坏死因子  $\alpha$ ;抗肿瘤坏死因子  $\alpha$  单克隆抗体

**中图分类号:**R-33;R575.29 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2021)02-219-04

## TNF- $\alpha$ in the Pathogenesis of Hepatopulmonary Syndrome in Rats\*

WANG Li-guo<sup>1</sup>, GUO Yue-ning<sup>2</sup>, LIU Nan-nan<sup>1</sup>, BO Wan-lan<sup>1</sup>, ZHUANG Li-wei<sup>1Δ</sup>

(1 Department of gastroenterology, The Fourth Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang, 150000, China;

2 Department of gastroenterology, The First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang, 150000, China)

**ABSTRACT Objective:** To explore the role and mechanism of TNF- $\alpha$  in the formation of hepatopulmonary syndrome in rats. **Methods:** The model of hepatopulmonary syndrome was established by ligation of common bile duct. 45 rats were randomly divided into control group (non operation group, n=15), model group (operation group, n=15) and experimental group (operation + anti TNF- $\alpha$  monoclonal antibody group, n=15). 15 rats in experimental group were given intraperitoneal injection of anti TNF- $\alpha$  monoclonal antibody on the 3rd, 4th, 5th and 6th weeks after operation. Three rats in each group were killed on the 4th, 5th, 6th and 7th weeks after operation. The alveolar arterial oxygen pressure difference was calculated by blood gas analysis. The hepatic fibrosis indexes, level of plasma endotoxin, NO and TNF- $\alpha$  were detected. And histopathological observation was performed. **Results:** Cirrhosis was developed on the 4th week after operation of common bile duct ligation. The model of hepatopulmonary syndrome was established on the 6th week after operation. The hepatic fibrosis indexes(HA/ LN/ PCIII/ IV-C) increased significantly on the 4th, 5th, 6th and 7th weeks after operation in model and experimental group ( $P=0.023 (<0.05)$ ). Compared with model group, the degree of hepatic fibrosis decreased in experimental group. There was no fibrosis in control group. Compared with control group, the level of endotoxin, NO and TNF- $\alpha$  were increased significantly from the 4th to 7th weeks after operation in model and experimental group ( $P=0.026 (<0.05)$ ). **Conclusion:** TNF- $\alpha$  played an important role in the development of hepatopulmonary syndrome. Anti TNF- $\alpha$  monoclonal antibody can be used to treat hepatopulmonary syndrome.

**Key words:** Hepatopulmonary syndrome; Endotoxin; Tumor necrosis factor  $\alpha$ ; Anti TNF- $\alpha$  monoclonal antibody

**Chinese Library Classification(CLC):** R-33; R575.29 **Document code:** A

**Article ID:** 1673-6273(2021)02-219-04

### 前言

肝肺综合征(hepatopulmonary syndrome, HPS)是慢性肝病基础上产生的以肺微血管扩张及低氧血症为主要特征的一种

疾病<sup>[1]</sup>,为终末期肝病的最严重并发症之一,发病机制不清,病死率高,治疗效果差。目前对其研究主要集中在血管活性物质方面。其中一氧化氮(Nitric Oxide, NO)、一氧化碳(Carbon monoxide, CO)、内皮素 1(Endothelin, ET-1)、白细胞介素 6(in-

\* 基金项目:黑龙江省卫生计生委科研项目(2016-127)

作者简介:王立国,男,医学博士,博士后,副主任医师,研究方向:肝肺综合征基础及临床研究,E-mail:wangliguo8314000@sina.com

Δ 通讯作者:庄丽维,女,博士,主任医师,教授,E-mail:zhuangliwei@126.com

(收稿日期:2020-07-06 接受日期:2020-07-31)

terleukin, IL-6)等研究较多。HPS 发病机制复杂,肠源性内毒素血症(intestinal endotoxemia, IETM)是其另一重要发病机制,它是多种炎症因子产生的重要启动因素,它可诱导 NO、CO 等多种血管活性物质产生及释放,从而引起肺微血管扩张、低氧血症和 HPS 的发生<sup>[2]</sup>。研究表明,HPS 时血浆肿瘤坏死因子 $\alpha$  (Tumor necrosis factors, TNF- $\alpha$ )明显升高,是发病机制中的重要炎症因子之一,抗 TNF- $\alpha$  单克隆抗体治疗有效<sup>[3]</sup>。本实验将通过胆总管结扎方法建立大鼠 HPS 模型,并深入探讨 TNF- $\alpha$  在大鼠 HPS 形成中的作用与机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 实验动物** 购自青岛派特福德白鼠养殖专业合作社的 Wistar 大鼠 45 只,体重在 180-250 g 之间,适宜温度环境下饲养。(实验动物生产许可证编号:SCXK(鲁)20130001;实验动物使用许可证编号:SYXK(黑)2011007)。

**1.1.2 主要试剂** 美国 RADISM ETER 公司生产的 ABL700 血气分析仪;上海研卉生物科技有限公司的 NO 试剂盒;TNF- $\alpha$  放射免疫试剂盒和肝纤维化指标的 ELISA 检测试剂盒均购自武汉博士德生物科技有限公司;内毒素检测试剂盒购自湛江博康海洋生物有限公司等。

### 1.2 实验方法

**1.2.1 实验动物分组及干预因素** 随机将 45 只大鼠分为对照组(非手术组)、模型组(胆总管结扎组)和实验组(胆总管结扎+抗 TNF- $\alpha$  单克隆抗体组,0.1 mg/kg·2 d),模型组和实验组采用胆总管结扎方法建立大鼠肝肺综合征模型,而对照组仅开腹并分离胆总管。实验组于术后 3 周、4 周、5 周、6 周分别给予腹腔注射抗 TNF- $\alpha$  单克隆抗体。

**1.2.2 动物模型建立** 根据经典胆总管结扎手术方法建立

HPS 动物模型<sup>[4]</sup>:4%水合氯醛 1 mL/100 g 腹腔内注射麻醉,腹部消毒后将大鼠固定操作台,沿腹白线开腹,寻找十二指肠降段,找到并分离胆总管,用 4-0 线在胆总管末端双线扎后关腹。术后分笼饲养,注意保暖,观察大鼠毛发色泽光泽、排尿颜色、精神状态等,并用血气分析、NO 浓度测定和病理组织学验证模型建立是否成功。

**1.2.3 动脉血气分析及血浆相关指标检测** 术后 4 周、5 周、6 周、7 周实验组、模型组及对照组每周分别处死 3 只大鼠,左心室采血 3-4 mL 行血气分析并计算肺泡-动脉氧分压梯度差(P(A-a)O<sub>2</sub>);ELISA 方法测定血清肝纤维化指标透明质酸(hyaluronic acid, HA)、层粘连蛋白(laminin, LN)、III 型前胶原肽(procollagen III N-terminal peptide, PCIII)、IV 型胶原(collagen type IV, IV-C)的含量;凝集反应法(萤试剂)检测血浆内毒素水平;硝酸还原酶法测定血清 NO 含量;通过放射免疫试剂盒检测 TNF- $\alpha$  水平;肝肺组织 10%甲醛固定、蜡块包埋并切片, H-E 染色行病理组织学检查。

### 1.3 统计学处理

应用 SPSS 26 统计软件处理,所有计数资料数据均用平均值 $\pm$ 标准差的方式表达。组间差异使用 t 检验或者卡方检验的判断。P 值小于 0.05 被判断为组间存在显著性差异。

## 2 结果

### 2.1 肝肺综合征模型建立

术后观察实验组和模型组大鼠行动迟缓,毛发色黄干枯,尿色变黄,体重下降,部分大鼠逐渐出现腹腔积液;术后 4 周开始处死大鼠并解剖观察,肝脏质地变硬、凹凸不平、结节外观,病理见炎症细胞浸润、假小叶形成;手术 6 周后大鼠肺脏组织可见肺血管扩张,部分肺微血管内可见巨噬细胞。实验组炎症及肝纤维化程度较模型组轻。见图 1。

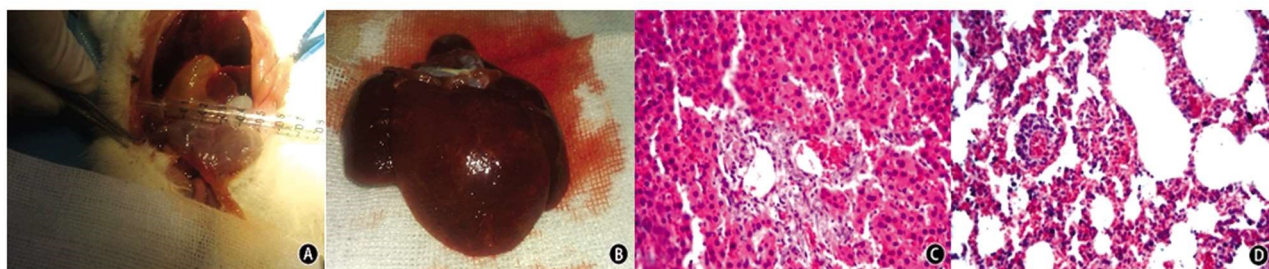


图 1 大鼠肝肺综合征模型建立

A 胆总管扩张;B 肝脏纤维条索形成、质地变硬、小结节样改变;C 病理示肝组织内炎症细胞浸润,纤维条索和假小叶形成(H-E 400 $\times$ );D 病理示肺微血管扩张(H-E 400 $\times$ )。

Fig.1 Establishment of hepatopulmonary syndrome model in rats

A Choledochectasis; B Formation of hepatic fiber bands, hardening of texture and small nodular changes; C Pathological findings showed infiltration of inflammatory cells and formation of fibrous cords and pseudolobules

in liver tissue(H-E 400 $\times$ ); D Pathological findings of pulmonary microvascular dilatation(H-E 400 $\times$ ).

### 2.2 动脉血气分析及肝纤维化指标检测

术后 4 周检测实验组 P(A-a)O<sub>2</sub> 较模型组下降,至 5、6、7 周呈逐渐下降趋势, $P<0.05$ ,差异有显著性意义,但实验组仍明显高于对照组,见表 1。实验组与模型组术后 4 周、5 周、6 周、7 周分别检测肝纤维化指标 HA、LN、PCIII、IV-C,结果显示,4 周后各项指标明显升高,但在不同时间段实验组较模型组纤维化程度轻, $P<0.05$ ,二者有显著性差异;而对照组肝脏病理无纤维

化,无需测量肝纤维化指标,见表 2。

### 2.3 内毒素、NO 及 TNF- $\alpha$ 检测及分析

实验组与模型组大鼠术后 4-7 周内毒素、NO 及 TNF- $\alpha$  逐渐增加,呈上升趋势,与对照组相比  $P<0.05$ ,差异有统计学意义;但实验组应用抗 TNF- $\alpha$  单克隆抗体后上升趋势较模型组缓慢,二者之间做统计分析, $P<0.05$ ,见表 3。

表 1 三组大鼠术后不同时间 P(A-a)O<sub>2</sub> 水平的测定( $\bar{x} \pm s$ )Table 1 Determination of P(A-a) O<sub>2</sub> levels at different time after operation in three groups of rats( $\bar{x} \pm s$ )

| Groups             | 4 weeks postoperatively | 5 weeks postoperatively | 6 weeks postoperatively | 7 weeks postoperatively |
|--------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| Experimental Group | 15.21± 2.12             | 12.28± 3.22             | 10.18± 2.56             | 9.41± 3.18              |
| Model Group        | 22.32± 3.28             | 41.25± 6.32             | 52.32± 5.35             | 59.92± 3.45             |
| Control Group      | 6.52± 3.41              | 6.48± 3.38              | 6.50± 3.19              | 6.49± 3.52              |

Note: \* Experimental Group VS Model Group  $P=0.023$  ( $<0.05$ ); Experimental Group VS Control Group  $P=0.036$  ( $<0.05$ ).

表 2 实验组与模型组大鼠术后不同时间肝纤维化指标比较( $\bar{x} \pm s$ )Table 2 Comparison of liver fibrosis indexes between experimental group and model group at different time after operation ( $\bar{x} \pm s$ )

| Groups             | time                   | HA/ng/mL     | LN/ng/mL   | PCIII/ng/mL  | IV-C/ng/mL   |
|--------------------|------------------------|--------------|------------|--------------|--------------|
| Experimental Group | 4weeks postoperatively | 56.12± 2.31  | 3.89± 2.99 | 52.18± 9.25  | 18.52± 6.43  |
|                    | 5weeks postoperatively | 59.21± 8.18  | 4.32± 3.25 | 58.54± 10.25 | 20.86± 8.58  |
|                    | 6weeks postoperatively | 65.25± 7.36  | 5.21± 3.06 | 69.36± 7.19  | 25.31± 7.25  |
| Model Group        | 4weeks postoperatively | 80.12± 8.56  | 8.02± 3.58 | 80.12± 15.31 | 49.32± 10.26 |
|                    | 5weeks postoperatively | 82.38± 12.24 | 8.75± 6.32 | 85.34± 25.25 | 52.46± 28.35 |
|                    | 6weeks postoperatively | 85.99± 6.82  | 9.18± 5.15 | 90.29± 16.38 | 58.38± 16.34 |

Note: \* $P=0.018$  ( $<0.05$ ).

表 3 三组大鼠术后不同时间内毒素、NO 及 TNF- $\alpha$  水平比较( $\bar{x} \pm s$ )Table 3 Comparison of endotoxin, No and TNF- $\alpha$  levels in three groups at different time after operation ( $\bar{x} \pm s$ )

| Groups             | Detection inder             | 4 weeks postoperatively | 5 weeks postoperatively | 6 weeks postoperatively | 7 weeks postoperatively   |
|--------------------|-----------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|---------------------------|
| Experimental Group | endotoxin( EU/L )           | 8.46± 2.02              | 7.12± 2.21              | 6.08± 1.89              | 5.98± 2.01 <sup>1)</sup>  |
|                    | NO ( $\mu$ mol/L )          | 45.48± 9.25             | 40.29± 8.31             | 38.25± 2.58             | 36.52± 7.82               |
|                    | TNF- $\alpha$ ( $\mu$ g/L ) | 1.21± 0.11              | 1.20± 0.25              | 1.14± 0.72              | 1.12± 0.85                |
| Model Group        | endotoxin( EU/L )           | 21.62± 8.92             | 22.56± 6.32             | 25.89± 5.21             | 27.59± 3.25 <sup>2)</sup> |
|                    | NO ( $\mu$ mol/L )          | 72.56± 6.28             | 74.25± 5.99             | 80.65± 6.58             | 85.23± 3.12               |
|                    | TNF- $\alpha$ ( $\mu$ g/L ) | 2.45± 0.58              | 2.98± 0.62              | 3.59± 0.71              | 4.10± 1.08                |
| Control Group      | endotoxin( EU/L )           | 3.85± 1.62              | 3.87± 1.58              | 3.79± 1.45              | 3.89± 1.62 <sup>3)</sup>  |
|                    | NO ( $\mu$ mol/L )          | 25.18± 2.32             | 27.25± 3.18             | 28.52± 4.62             | 26.01± 1.98               |
|                    | TNF- $\alpha$ ( $\mu$ g/L ) | 0.75± 0.12              | 0.72± 0.04              | 0.68± 0.20              | 0.71± 0.18                |

Note: \* Experimental Group VS Model Group  $P=0.042$  ( $<0.05$ ); Experimental Group VS Control Group  $P=0.026$  ( $<0.05$ ).

### 3 讨论

终末期肝硬化患者常合并 HPS 发生,其患病率为 4-47%<sup>[5]</sup>,两年半的病死率可达 41%<sup>[6]</sup>。HPS 发病机制尚不完全清楚,对其预防和治疗并未取得实质性突破。目前研究成果认为,HPS 主要表现为低氧血症,而低氧血症的基础为肺血管扩张。HPS 时常合并肠源性内毒素血症,并可诱导多种血管活性物质产生,如 NO、CO、TNF- $\alpha$ 、ET-1、雌激素等<sup>[7,8]</sup>,它们参与肺微血管内皮细胞的增殖及微血管扩张中<sup>[9]</sup>,缩血管物质和扩血管物质失衡时,扩血管作用增强后引起肺微血管扩张,从而导致 HPS 发生,而且通过对血管活性物质的抑制可减轻肝肺综合征的症状。其中 TNF- $\alpha$  在 HPS 形成和发展中作用显著,本实验将进行深入研究。

目前对于肝硬化动物模型的建立包括四氯化碳、二乙基亚硝胺等化学毒物<sup>[10]</sup>、化学致癌物、血吸虫、手术等,还有报道将

不同浓度四氯化碳注射联合饮用乙醇诱导大鼠肝肺综合征模型建立,可显著提高肝硬化模型造模成功率<sup>[11]</sup>,但真正能诱导形成 HPS 的只有胆总管结扎术<sup>[12]</sup>。该手术动物模型自 1872 年首次应用以来,一直被推举为研究进行性肝损伤的经典模型。我们通过胆总管结扎方法成功建立了大鼠 HPS 模型,该造模技术成功率高,具有简单、快速、有效等优点<sup>[13]</sup>,被广泛应用于肝硬化及 HPS 的实验研究<sup>[4]</sup>。本研究认为 4 周可形成肝硬化,6-8 周可形成 HPS,造模成功表现为大鼠行动迟缓,毛发尿色变黄,部分出现腹水,解剖示肝脏质地粗糙、变硬、病理镜下可见肝脏纤维条索和假小叶形成,肺脏血管扩张并可见肺血管内巨噬细胞,血浆 NO 浓度水平测定升高<sup>[14]</sup>,但需备足大鼠,以防止和替换死亡大鼠,本实验三组共死亡 8 只大鼠,死因为麻醉意外、腹腔出血、胆管破裂、急性肝衰竭等。

TNF- $\alpha$  在 HPS 发病中起到重要作用,它可诱导 NO 等扩血管物质的产生,引起肺微血管扩张,从而引起低氧血症和

HPS 形成。本实验为阐明 TNF- $\alpha$  在大鼠 HPS 形成过程中的重要作用,将大鼠分为了三组,分别为对照组(假手术组)、模型组(胆总管结扎组)和实验组(抗 TNF- $\alpha$  单克隆抗体组),结果显示模型组和实验组 P(A-a)O<sub>2</sub> 数值均高于对照组,表明大鼠形成肝硬化及 HPS 过程中常伴有低氧血症的发生;而实验组于手术 3 周后应用抗 TNF- $\alpha$  单克隆抗体干预,4 周后血气分析结果表明,P(A-a)O<sub>2</sub> 实验组数值高于模型组, $P<0.05$ ,二者之间具有统计学意义,说明干预治疗有效,与文献报道结果一致<sup>[15]</sup>。

在肝硬化及 HPS 形成过程中常伴有肝纤维化指标(HA、LN、PCIII、IV-C)的进行性升高,而正常大鼠这些指标一般无异常。我们通过测定肝纤维化指标并进行统计分析,结果表明模型组大鼠从术后 4 周开始 HA、LN、PCIII、IV-C 数值变化明显升高,证明胆总管结扎引起了进行性肝脏损害,这与既往文献报道相一致<sup>[16-18]</sup>,而实验组给予干预因素后数值缓慢升高,两组数值  $P<0.05$ ,差异有统计学意义,实验组与对照组相比,无显著差异。病理结果也表明,实验组大鼠炎症及纤维化程度较模型组轻,而与对照组相比为重,说明抗 TNF- $\alpha$  单克隆抗体在治疗肝肺综合征中可减轻和延缓肝纤维化程度。

HPS 形成发展过程中常伴有血浆内毒素的大量释放及多种炎症细胞因子的产生,其中 NO、TNF- $\alpha$  作用最为广泛。目前普遍认为,肝硬化和 HPS 时因肝功能减退和肠黏膜屏障受损后,小肠菌群移位并释放大量的内毒素入血引起肠源性内毒素血症,促进肺微血管扩张及炎症因子的释放,减弱肠黏膜屏障作用,进一步加剧了肠源性内毒素血症程度<sup>[19]</sup>。内毒素的重要靶细胞为内皮细胞,重要靶器官为肺脏和肠道<sup>[20]</sup>,它可刺激肺微血管内皮细胞产生肺泡巨噬细胞,在其吞噬细菌的同时释放大量的炎症因子,如 TNF- $\alpha$ 、NO 等,这些炎症因子扩张肺微血管,从而引起低氧血症和 HPS 发生<sup>[21]</sup>,本实验也证明了这一点。我们以胆总管结扎方法建立大鼠 HPS 模型,并于手术 3 周后用抗 TNF- $\alpha$  单克隆抗体作用于实验组大鼠,从第 4 周开始分别对实验组、模型组和对照组大鼠进行内毒素、TNF- $\alpha$  和 NO 水平的测定,结果表明实验组和模型组三个指标均呈上升趋势,而模型组更明显,二组之间  $P<0.05$ ,差异有统计学意义;实验组数值小于模型组,但明显高于对照组( $P<0.05$ ),上述结果进一步说明 HPS 形成过程中内毒素、TNF- $\alpha$  和 NO 水平逐渐升高,起到重要协同作用,而通过抑制 TNF- $\alpha$  可降低其它两个因子的表达,抗 TNF- $\alpha$  单克隆抗体具有延缓和治疗 HPS 的作用。

综上所述,TNF- $\alpha$  在 HPS 发生发展过程中起到重要作用,它诱导了扩血管物质 NO 的产生,该物质促进肺微血管内皮细胞的扩张,引起低氧血症和肝 HPS 的发生;抗 TNF- $\alpha$  单克隆抗体可以通过中和大鼠体内 TNF- $\alpha$  含量、延缓疾病进程、减轻临床症状,从而治疗肝肺综合征,为临床治疗提供理论依据。

#### 参考文献(References)

- Rodriguez-Roisin R, Krowka M J. Hepatopulmonary syndrome a liver-induced lung vascular disorder [J]. *N Engl J Med*, 2008, 358(22): 2378-2387
- Agrawal G, Kumar N, Rosha D. Hepatopulmonary syndrome[J]. *J Assoc Physicians India*, 2008, 56: 265-267
- Zhao Z, Liu L, Liu N, et al. Therapeutic effect of Anti-tnf- $\alpha$  monoclonal antibody on hepatopulmonary syndrome in rats[J]. *Journal of Cellular and Molecular Immunology*, 2010, 26(7): 657-662
- Vercelino R, Tieppo J, Forgiarini Junior LA, et al. Experimental models for assessment of pulmonary alterations in hepatopulmonary syndrome[J]. *J Brasil Pneumologia*, 2008, 34(7): 453-460
- Soulaidopoulos S, Cholongitas E, Giannakoulas G, et al. Review article: update on current and emergent data on hepatopulmonary syndrome[J]. *World Gastroenterol*, 2018, 24(12): 1285-1298
- Schenk P, Fuhrman V, Madl C, et al. Hepatopulmonary syndrome: prevalence and predictive value of various cut offs for arterial oxygenation and their clinical consequences[J]. *Gut*, 2002, 51(6): 853-859
- Raevens S, Fallon MB. Potential clinical targets in hepatopulmonary syndrome: Lessons from experimental models [J]. *Hepatology*, 2018, 68: 2016-2028
- Raevens S, Geerts A, Paridaens A, et al. Placental growth factor inhibition targets pulmonary angiogenesis and represents a therapy for hepatopulmonary syndrome in mice[J]. *Hepatology*, 2018, 68: 634-651
- Raevens, Geerts A, Van Steenkiste C, et al. Hepatopulmonary syndrome and porto-pulmonary hypertension: recent knowledge in pathogenesis and overview of clinical assessment[J]. *Liver Int*, 2015, 35(6): 1646-1660
- 玉苏甫, 吐尔逊, 赵燕霞. 小剂量二乙基亚硝胺诱导大鼠肝纤维化模型的建立[J]. *实用肝脏病杂志*, 2019, 22(1): 33-36
- 翟伟, 刁广浩, 李瑞生, 等. 不同浓度 CCl<sub>4</sub> 注射液联合饮用乙醇诱导大鼠肝硬化模型研究[J]. *实用肝脏病杂志*, 2016, 19(6): 713-714
- Fallon MB, Abrams GA, McGrath JW, et al. Common bile duct ligation in the rat: a model of intrapulmonary vasodilatation and hepatopulmonary syndrome. *Am J Physiol*, 1997, 272(4 pt 1): 779-784
- Zhang Y, Hong JY, Rockwell CE, et al. Effect of bile duct ligation on bile acid composition in mouse serum and liver[J]. *Liver Int*, 2012, 32(1): 58-69
- Khoramzadeh M, Dehghanian A, Ketabchi F. Roles of endothelin b receptors and endothelial nitric oxide synthase in the regulation of pulmonary hemodynamic in cirrhotic rats [J]. *Cardiovasc Pharmacol*, 2019, 73(3): 178-185
- Feng YM, Liu L, Liu N, et al. Anti-TNF- $\alpha$  antibody in treatment of hepatopulmonary syndrome in rats [J]. *Basic and clinical medicine*, 2012, 32(1): 61-65
- Yuan S, Jiang T, Zheng R, et al. Effect of bone marrow mesenchymal stem cell transplantation on acute hepatic failure in rats [J]. *Exp Ther Med*, 2014, 8(4): 1150-1158
- Camphenhout SV, Vlierberghe HV, Devisscher L. Common bile duct ligation as model for secondary biliary cirrhosis[J]. *Methods Mol Biol*, 2019, 1981: 237-247
- Sepehrinezhad A, Dehghanian A, Rafati A, et al. Impact of liver damage on blood-borne variables and pulmonary hemodynamic responses to hypoxia and hyperoxia in anesthetized rats [J]. *BMC Cardiovasc Disord*, 2020, 20(1): 13
- 谭年花, 陈斌. 慢加亚急性肝衰竭大鼠肠源性内毒素血症时 Th17/Treg 表达变化的实验研究 [J]. *湖南中医杂志*, 2019, 35(3): 134-137
- Delorme Michael P, Gao XF, Nicole DR, et al. Inflammatory effects of inhaled endotoxin-contaminated metal working fluid aerosols in rats [J]. *Toxicol Environment Health*, 2003, 66(1): 7-24
- 郭月宁, 王立国, 王夏珍, 等. 肝肺综合征大鼠血细胞因子和肺血管巨噬细胞观察[J]. *实用肝脏病杂志*, 2014, 17(2): 176-179