

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2021.20.004

糖皮质激素对小鼠急性肝衰竭的干预作用研究 *

宋银雪 王 军 高 烨 许 静 徐之超

(西安交通大学第一附属医院急诊科 陕西 西安 710061)

摘要 目的:探讨糖皮质激素对小鼠急性肝衰竭(Acute liver failure, AHF)的干预作用。**方法:**通过腹腔注射 D-GaIN/LPS 构建 AHF 小鼠模型,并随机分为对照组、AHF 模型组(AHF 组)和糖皮质激素处理急性肝衰竭组(GCs + AHF 组)。通过全自动生物化学分析仪检测小鼠血清中 ALT、AST、TBA、TBIL、DBIL 水平;采用 ELISA 试剂盒测定小鼠血清中 IL-1 β 、TNF- α 、IL-6 水平;通过定量 PCR 检测 mRNA 表达水平;苏木精-伊红(H&E)染色检测肝组织病理学情况;免疫组织化学检测肝组织中 SOX9 表达水平;蛋白质印迹检测 Hedgehog 信号通路关键蛋白因子的表达水平。**结果:**与对照组相比,AHF 组小鼠血清 ALT、AST、TBA、TBIL、DBIL、MDA、TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 水平显著升高,SOD、GSH 和 CAT 活性水平显著降低($P<0.01$);与 AHF 组相比,GCs+AHF 组小鼠血清中 ALT、AST、TBA、TBIL、DBIL、MDA、TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 水平显著降低,SOD、GSH 和 CAT 活性水平显著升高($P<0.01$)。H&E 染色结果显示,对照组小鼠的肝脏切片显示正常的细胞结构,AHF 组小鼠出现广泛的细胞坏死和炎性细胞浸润;与 AHF 组相比,GCs + AHF 组小鼠中细胞坏死和炎性细胞浸润等病理变化显著减弱。免疫组织化学结果显示:与对照组相比,AHF 小鼠肝脏中 SOX9 的表达水平显著升高($P<0.01$);与 AHF 组相比,GCs+AHF 组小鼠肝脏中 SOX9 的表达水平显著降低($P<0.01$)。Western blotting 结果显示,与对照组相比,AHF 组小鼠的 Hedgehog 通路关键蛋白因子 Shh、Ptch-1 和 Gli-1 蛋白表达水平显著升高($P<0.01$);与 AHF 组相比,GCs+AHF 组的 Shh、Ptch-1 和 Gli-1 蛋白表达水平显著降低($P<0.01$)。**结论:**GCs 可有效改善 AHF 小鼠肝功能指标,降低炎症因子表达,提高急性肝衰竭小鼠抗氧化能力,并使 Hedgehog 通路关键蛋白因子表达恢复正常。

关键词:糖皮质激素;急性肝衰竭;SOX9;Hedgehog 信号通路

中图分类号:R-33;R575.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2021)20-3818-05

The Effect of Glucocorticoids on Intervention of Acute Liver Failure in Mice*

SONG Yin-xue, WANG Jun, GAO Ye, XU Jing, XU Zhi-chao

(Department of Emergency, The First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an, Shaanxi, 710061, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the effects of glucocorticoid on the intervention of mice with acute liver failure (AHF). **Methods:** AHF mouse model was established by intraperitoneal injection of D-GaIN /LPS. The mice were randomly divided into control group, AHF model group and glucocorticoid treated acute liver failure group. The levels of ALT, AST, TBA, TBIL and DBIL in serum of mouse were detected by automatic biochemical analyzer, and the levels of IL-1 β , TNF- α and IL-6 in serum were determined by ELISA kit. The expression of SOX9 in liver tissue was detected by immunohistochemistry, and the expression of key protein factors in Hedgehog signaling pathway was detected by Western blotting. **Results:** Compared with those in control group, the serum levels of ALT, AST, TBA, TBIL, DBIL, MDA, TNF- α , IL-1 β and IL-6 in AHF group were significantly increased, while the activities of SOD, GSH and CAT were significantly decreased ($P<0.01$). Compared with AHF group, the serum levels of ALT, AST, TBA, TBIL, DBIL, MDA, TNF- α , IL-1 β and IL-6 in GCs+AHF group were significantly decreased, while the activities of SOD, GSH and CAT were significantly increased($P<0.01$). The results of H&E staining showed that the liver sections of control group showed normal cell structure, and AHF group showed extensive cell necrosis and inflammatory cell infiltration; compared with AHF group, the pathological changes such as cell necrosis and inflammatory cell infiltration in GCs+AHF group were significantly reduced. The results of immunohistochemistry showed that compared with control group, the expression level of SOX9 in the liver of AHF group was significantly increased ($P<0.01$), while compared with AHF group, the expression level of SOX9 in the liver of GCs+AHF group was significantly decreased ($P<0.01$). Western blotting results showed that compared with control group, the protein expression levels of Shh, Ptch-1 and Gli-1 of Hedgehog pathway in AHF group were significantly increased ($P<0.01$), while compared with AHF group, the protein expression levels of Shh, Ptch-1 and Gli-1 in GCs+AHF group were significantly decreased ($P<0.01$). **Conclusions:** GCs can effectively improve the liver function of AHF mice, reduce the expression of inflammatory factors, improve the antioxidant capacity of AHF mice, and normalize the expression of key protein

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81601674);西安交通大学第一附属医院基金面上项目(2018MSZC-03)

作者简介:宋银雪(1972-),女,博士,主治医师,主要研究方向:消化、急诊医学相关的临床和基础研究,

E-mail: songyinxue72@sina.com, 电话: 13991399960

(收稿日期:2021-03-06 接受日期:2021-03-27)

factors of hedgehog pathway.

Key words: Glucocorticoid; Acute liver failure; SOX9; Hedgehog signaling pathway

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R575.3 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2021)20-3818-05

前言

急性肝衰竭(Acute liver failure, AHF)是一种罕见但危及生命的疾病,其特点是肝损伤迅速发作,并伴有肝细胞坏死和肝功能受损^[1]。急性肝衰竭患者的临床症状大多是非特异性的,可能包括疲劳、厌食、恶心、呕吐、黄疸、瘙痒和右上腹部疼痛^[2]。文献表明,炎症反应和肝细胞凋亡在AHF的发病机制中发挥重要作用^[3]。糖皮质激素(Glucocorticoid, GCs)常被应用于急性肝衰竭的治疗^[4],但一直存在着争议。近年来,大部分学者都支持GCs应用于急性肝衰竭治疗的基础研究^[5]。通过采取较小剂量的GCs成功阻止部分急性肝衰竭患者病情的恶性发展^[6];但较长时间使用GCs会引起免疫抑制而影响肝脏修复过程^[7]。

Hedgehog信号通路在动物胚胎发育、组织及损伤修复过程中发挥关键作用,并高度保守^[8]。文献表明,Hedgehog信号通路参与了多种疾病(胃癌、胰腺癌及卵巢癌等)的发生发展,并参与了肿瘤的转移过程^[9]。此外,Hedgehog信号通路在肝脏的生理及发病过程中也发挥重要作用^[10]。研究表明,Hedgehog信号通路的异常激活与非酒精性脂肪肝、肝纤维化、肝衰竭、肝癌密切联系^[11]。激活Hedgehog信号通路不仅可以调节肝祖细胞数量,还可以增加肝的炎症反应,促进肝纤维化及血管的重构进程^[12]。本文旨在探讨糖皮质激素对小鼠急性肝衰竭中肝功能、炎症以及Hedgehog信号通路等的干预作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物和试剂

C57BL6小鼠购自西安交通大学实验动物中心[SCXK(陕)2020-001];D-GaIN/LPS购于Sigma公司;氢化可的松、DAPI购于索莱宝生物技术有限公司;ELISA试剂盒购于Thermo公司;苏木精-伊红(H&E)染色试剂盒购于碧云天生物技术有限公司;DAKO免疫组化试剂盒购于上海力敏实业有限公司;驴血清购于上海文初生物科技有限公司;ProLongTM Gold AntiFade试剂购于Cell Signaling Technology公司;SYBR green PCR Master Mix试剂盒购于上海欣百诺生物;RIPA缓冲液购于Thermo公司;增强化学发光(ECL)试剂购于Thermo公司;所有一抗及二抗购于Abcam公司。

1.2 方法

1.2.1 急性肝衰竭小鼠模型构建 小鼠于温度18~22℃、湿度50~60%、12小时光暗循环的环境下适应性饲养1周,保证水和食物充足,筛选出状态不佳的小鼠。将保留的健康小鼠随机选出部分小鼠用于构建AHF模型小鼠。AHF模型小鼠采用腹腔注射D-GaIN(750 mg/kg)/LPS(15 μg/kg),作用6 h,建立AHF模型;通过检测肝功能水平及肝脏组织的病理状态判断AHF模型是否建造成功。选出AHF造模成功的部分小鼠进行尾静脉注射氢化可的松(糖皮质激素的一种,50 mg/kg小鼠),将这些小鼠实验分组为:注射等量生理盐水的实验对照组(8

只)、AHF模型组(8只,AHF组)和糖皮质激素处理急性肝衰竭组(8只,GCs+AHF组)。

1.2.2 小鼠肝功能水平指标检测 采用颈椎脱臼法处死小鼠并收集肝组织及外周血。肝组织贮存于-80℃保存,以备后续实验。外周血于4℃,5000 rpm离心10 min,分离血清并保存于-20℃,以备后续肝功能检测。肝功能检测指标采用全自动生物化学分析仪检测血清ALT、AST、TBA、TBIL、DBIL水平,采用ELISA试剂盒并严格按照使用说明书测定血清IL-1β、TNF-α和IL-6水平。

1.2.3 小鼠肝酶活指标检测 将收集得到的肝脏组织,立即用冰冷的生理盐水洗涤,并在4℃,5000 rpm下匀浆并离心30 min,收集上清液。然后根据商用化检验试剂盒评估SOD、CAT、GSH和MDA的水平。

1.2.4 苏木精-伊红(H&E)染色 取出冻存于-80℃冰箱保存的肝组织,快速解冻,进行石蜡包埋,然后进行石蜡切片(5 μm)。对制好的石蜡切片于二甲苯中脱蜡10 min,于新鲜的二甲苯再次脱蜡10 min;采用乙醇梯度洗脱(无水乙醇,2 min;90%乙醇2 min;80%乙醇2 min;70%乙醇2 min),再采用蒸馏水洗脱2 min。对已处理好的切片采用碧云天H&E试剂盒中苏木精染色液染色10 min,并使用蒸馏水洗去多余的染料,再用伊红染色液染色2 min。最后经脱水、透明、封片或进行其他染色,用显微镜观察。

1.2.5 免疫组织化学 将切好的肝组织切片,在PBS中洗涤2次。使用DAKO免疫组化试剂盒中DAKO溶液加压20 min进行抗原修复。冷却后,用PBS洗涤玻片,在室温下用含0.1% Triton X-100的PBS中渗透20 min。样品用硫代巴比妥钠洗涤3次,然后用5%驴血清加0.1%吐温20在抗体稀释液中室温封闭60 min。然后将一抗SOX9(1:1000)于4℃孵育过夜。再次将样品在PBS中洗涤3次,并与二抗(1:500)在室温下孵育2 h。样品用PBS洗涤3次,用DAPI孵育30 s。样品用PBS洗涤3次,然后将ProLongTM Gold AntiFade试剂加入样品中。最后将样品于尼康Eclipse 钛荧光显微镜拍摄并分析。

1.2.6 实时定量PCR 用Trizol试剂从肝脏样品中分离总RNA。使用SYBR green PCR Master Mix进行定量PCR。引物的序列如下:β-actin:5'-CTGAGAGGGAAATCGTGCGT-3'(正向)和R:5'-CCACAGGATTCCATACCCAAGA-3'(反向);TNF-α:5'-GGCAGGTCTACTTTGGAGTCATTGC-3'(正向)和5'-ACATTCGAGGCTCCAGTGAATTCGG-3'(反向);IL-6:5'-TTCTTGGGACTGATGCTG-3'(正向)和5'-CTGGCTTTGTTCTTCTTGTT-3'(反向);IL-1β:5'-GCAACTGTTCCCTGAAC-TCA-3'(正向)和5'-CTCGGAGCCTGTAGTGCAG-3'(反向)。PCR在以下条件下进行:95℃变性30 s,然后在95℃变性5 s,60℃退火45 s,72℃延伸60 s,扩增30个循环。

1.2.7 蛋白质印迹(Western blotting) 取小鼠肝组织匀浆,用含有蛋白酶抑制剂复合物的RIPA缓冲液裂解,提取总蛋白。

用 Bio-Rad 蛋白分析试剂盒测定蛋白浓度。蛋白质经 10% SDS-PAGE 凝胶电泳分离后,并转移到聚偏氟乙烯固定化膜上。用 5%脱脂奶粉与 1× TBST(含 0.05%吐温-20 的 PBS)在室温下封闭 1 h 后,用 Shh(1:2000)、PTCH-1(1:1500)、Gli-1(1:1000)、 β -actin(1:2000)一抗在 4℃下孵育 16 h。然后使用 TBST 清洗 3 次,每次 5 min。将膜与辣根过氧化物酶(HRP)偶联的二抗 IgG(1:10000)在室温下孵育 1 h。用增强化学发光(ECL)检测试剂盒检测靶蛋白。用 Gelscape 软件进行蛋白质印迹定量分析。

1.3 数据统计学分析

所有实验值均以均数 $\pm$ 标准差(SD)表示。采用 t 检验和单因素方差分析(ANOVAS)对结果进行统计分析,然后进行

Tukey's post-hoc 多重比较检验。 $P<0.05$ 被认为具有统计学意义。

2 结果

2.1 糖皮质激素改善 AHF 小鼠的肝功能指标

与对照组相比,AHF 组小鼠血清中 ALT、AST、TBA、TBIL 和 DBIL 水平显著升高($P<0.01$);与 AHF 组相比,GCs+AHF 组小鼠血清 ALT、AST、TBA、TBIL 和 DBIL 水平显著降低($P<0.01$)。与对照组相比,AHF 组小鼠的 MDA 水平显著升高,SOD、GSH 和 CAT 活性显著降低($P<0.01$);与 AHF 组相比,GCs+AHF 组小鼠的 MDA 水平显著降低,SOD、GSH 和 CAT 活性显著升高($P<0.05$)。见表 1 和图 1。

表 1 糖皮质激素改善 AHF 小鼠血清 ALT、AST、TBA、TBIL 和 DBIL 水平

Table 1 Glucocorticoid improves serum ALT, AST, TBA, TBIL and DBIL levels in AHF mice

Groups	No.	ALT/(U·L ⁻¹)	AST/(U·L ⁻¹)	TBA/(μ mol·L ⁻¹)	TBIL/(μ mol·L ⁻¹)	DBIL/(μ mol·L ⁻¹)
Control	8	62.25 $\pm$ 9.78	45.25 $\pm$ 6.25	30.25 $\pm$ 6.87	5.57 $\pm$ 1.26	2.58 $\pm$ 0.59
AHF	8	482.25 $\pm$ 68.25*	325.28 $\pm$ 36.58*	52.29 $\pm$ 8.25*	18.25 $\pm$ 3.69*	10.98 $\pm$ 2.14*
GCs+AHF	8	125.59 $\pm$ 23.48 [#]	82.57 $\pm$ 9.25 [#]	35.87 $\pm$ 5.47 [#]	7.25 $\pm$ 2.47 [#]	4.58 $\pm$ 0.98 [#]

Note: Compared with control group, * $P<0.01$; compared with AHF group, [#] $P<0.01$.

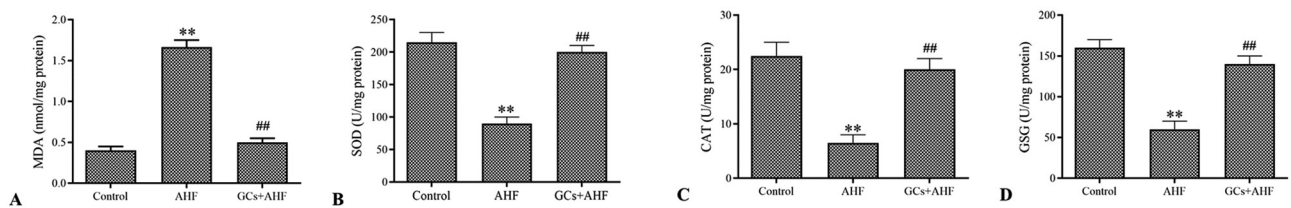


图 1 GCs 对 AHF 小鼠肝脏 MDA(A)、SOD(B)、CAT(C)和 GSH(D)活性水平的影响

Fig.1 The effect of GCs on the activities of MDA (A), SOD (B), CAT (C) and GSH (D) in the liver of AHF mice

Note: Compared with con group, ** $P<0.01$; compared with AHF group, [#] $P<0.01$.

2.2 糖皮质激素改善 AHF 小鼠肝组织病理变化

H&E 染色结果显示,对照组小鼠的肝脏切片显示正常的细胞结构,AHF 组小鼠显示出明显的病理变化,包括广泛的细

胞坏死和炎性细胞浸润。与 AHF 组相比,GCs+AHF 组中细胞坏死和炎性细胞浸润等病理变化显著减弱。这说明 GCs 对 D-GaIN/LPS 诱导的小鼠肝损伤具有保护作用。见图 2。

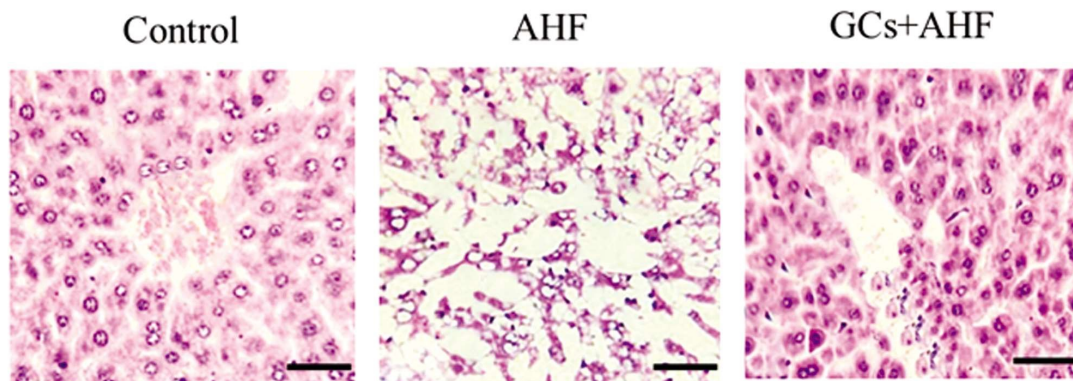


图 2 GCs 对 AHF 小鼠肝组织病理变化的影响

Fig.2 Effect of GCs on pathological changes of liver tissue in AHF mice

Note: The scale is 50 μ m.

2.3 糖皮质激素抑制 AHF 小鼠肝脏 BTSC 表面标志物 SOX9 的表达

免疫组织化学结果显示,与对照组相比,AHF 组小鼠肝脏

中 SOX9 的表达水平显著升高($P<0.01$);与 AHF 组相比,GCs+AHF 组小鼠肝脏中 SOX9 的表达水平显著降低($P<0.01$)。见图 3。

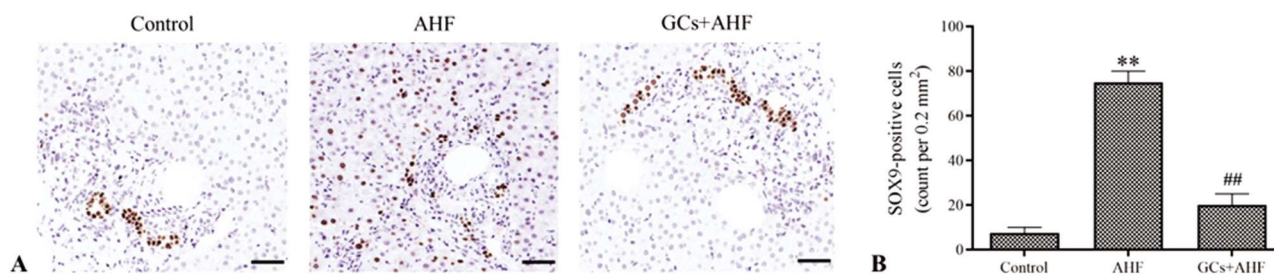


图3 免疫组织化学检测 AHF 小鼠肝脏中 SOX9 的表达情况

Fig.3 The expression of SOX9 in the liver of AHF mice was detected by immunohistochemistry

Note: A: Immunohistochemical test; B: SOX9 positive cells calculation; scale is 100 μ m; compared with con group, ** P <0.01; compared with AHF group, ## P <0.01.

2.4 糖皮质激素抑制 AHF 小鼠的炎症

与对照组相比,AHF 组小鼠血清中炎症细胞因子 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 蛋白质和 mRNA 表达水平均显著升高(P <0.01);

与 AHF 组相比,GCs+AHF 组小鼠血清中 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 蛋白质和 mRNA 表达水平均显著降低(P <0.01)。这些结果表明糖皮质激素抑制了 AHF 小鼠炎症因子的表达,见图4。

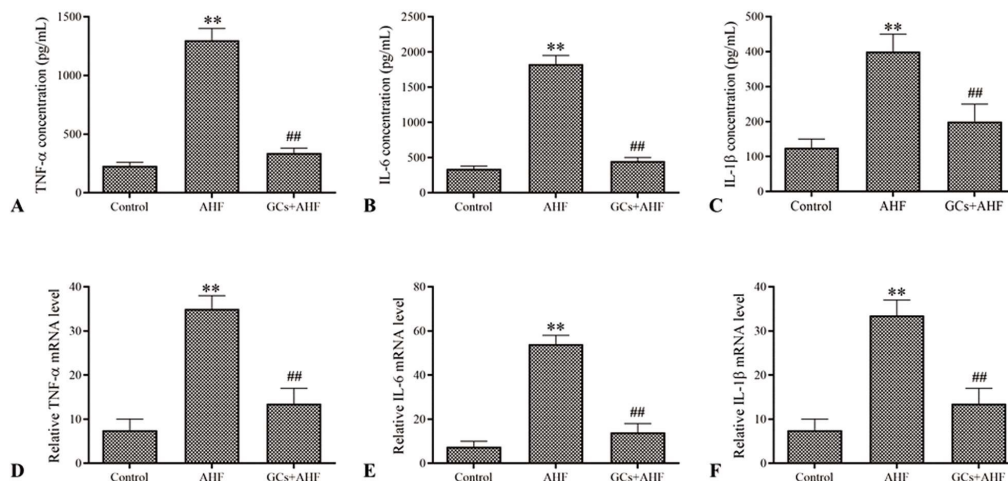


图4 GCs 降低了 AHF 小鼠的炎症反应

Fig.4 GCs reduced the inflammatory response in AHF mice

Note: The serum levels of TNF- α (A), IL-6 (B) and IL-1 β (C) were detected by ELISA kit; the mRNA levels of TNF- α (D), IL-1 β (E) and IL-6 (F) in liver tissue were detected by real-time fluorescent quantitative PCR; compared with con group, ** P <0.01; compared with AHF group, ## P <0.01.

2.5 糖皮质激素影响 AHF 小鼠 Hedgehog 通路

Western blotting 结果显示:与对照组相比,AHF 组小鼠的 Hedgehog 通路关键蛋白因子 Shh、Ptch-1 和 Gli-1 蛋白表达水

平显著升高 (P <0.01); 与 AHF 组相比,GCs+AHF 组小鼠的 Shh、Ptch-1 和 Gli-1 蛋白表达水平显著降低(P <0.01),见图 5。

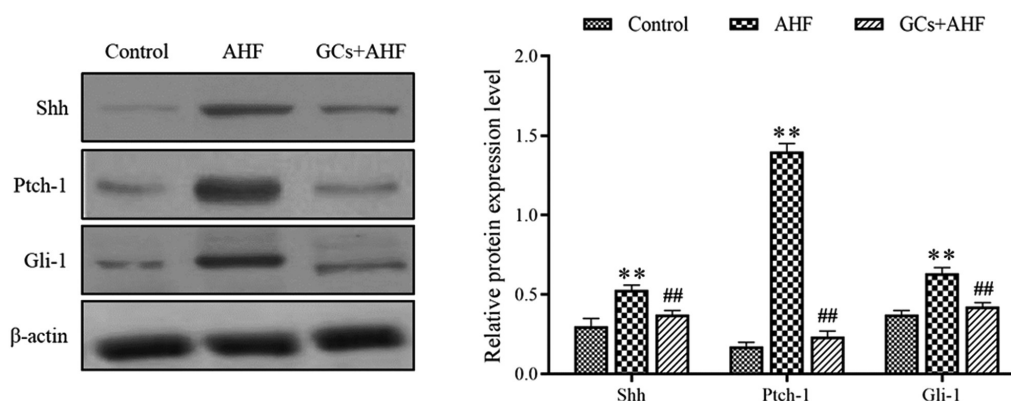


图5 糖皮质激素下调 AHF 小鼠 Hedgehog 通路关键蛋白因子的表达

Fig.5 Glucocorticoid down regulates the expression of key protein factors of hedgehog pathway in AHF mice

Note: Compared with con group, ** P <0.01; compared with AHF group, ## P <0.01.

3 讨论

目前,肝脏临床中 AHF 的预后效果非常差并且死亡率高^[13]。因此,需要通过对治疗机制的研究,寻找新的治疗药物或靶点。当发生肝功能衰竭时,肝功能会发生严重受损,并伴有肠内毒素血症^[14]。文献表明,巨噬细胞活化和炎症反应在急性和慢性肝衰竭中起着重要作用^[15]。D-GaIN/LPS 诱导的小鼠 AHF 已被用作有前途的动物模型,用于模拟人中 AHF 的形成并阐明确切的发病机理^[16]。

文献表明,脂多糖(Lipopolysaccharide, LPS)诱导的肝损伤与肝窦间隙内皮细胞和枯否细胞的活化有关^[17]。因此,D-GaIN/LPS 诱导可以扩大肝损伤,刺激肝细胞凋亡,脂质过氧化和其他机制等过程^[18]。本次研究中,血清 ALT、AST、TBA、TBIL 和 DBIL 水平和肝组织病理学改变的肝损伤动物模型与 AHF 患者的临床观察一致。也与使用 D-GaIN/LPS 作为 AHF 模型的其他研究保持一致;但糖皮质激素(GCs)可以降低血清中相应因子的表达水平,并改善肝组织的病理学状态。

研究表明,氧化应激可能与 LPS/D-GaIN 诱导的急性肝损伤有关^[19]。脂质过氧化终产物 MDA 的含量反映了体内脂质过氧化的程度,也间接反映了肝细胞损伤的程度^[20]。肝组织中的抗氧化酶(例如 SOD 和 CAT)在细胞中形成天然的保护屏障,并通过抵抗外来和产生的自由基来保护细胞的完整性^[21]。GSH 作为体内的自由基清除剂,可与抗氧化酶结合使用,以防止氧化损伤并防止 ROS 引起的细胞损伤和死亡^[22]。本研究结果表明,单独使用 LPS/D-GaIN 处理的小鼠中 SOD、GSH、CAT 的水平降低和 MDA 的水平增加,这表明肝细胞受损。但使用 GCs 可以显著恢复 SOD、GSH 和 CAT 的活性,并降低 MDA 的水平。这表明 GCs 的有益作用部分与其抗氧化能力有关。

文献表明,TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 等炎症细胞因子是 LPS/D-GaIN 引起的急性肝衰竭的关键因子^[23];D-GaIN/LPS 诱导的肝细胞凋亡主要由 TNF- α 介导^[23]。此外,GaIN/LPS 诱导的 AHF 小鼠中的 TNF- α 水平与小鼠存活和肝细胞凋亡相关^[24]。另外,研究表明,处于危急状态的 AHF 患者由于持续的严重免疫和炎症反应而经常导致进一步的肝损伤^[25]。在本研究中,炎症细胞因子(TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6)的表达与肝损伤密切相关,但 GCs 可有效降低这些炎症因子的表达水平。

文献表明,SOX9 是小鼠肝胆管干细胞(Biliary tree stem cell, BTSC)的标志物^[26]。在转换成成熟肝细胞的结果中,Notch 信号的活化与 SOX9 表达水平的增加相关^[27]。本研究结果表明,AHF 小鼠中肝脏中 SOX9 的表达水平显著升高,而 GCs 可有效降低 SOX9 的表达水平。在急性肝衰竭和肝细胞癌中,Hedgehog 信号通路高度活化是肝细胞癌的发生机制之一^[28]。文献表明,当使用 Shh 拮抗剂可以阻断 Hedgehog 信号通路,减少其下游靶基因的表达^[29]。在肝母细胞瘤中 Hedgehog 信号通路异常激活且肝组织样本中 Shh 和 Gli-1 高表达,且与肿瘤分级、肿瘤大小、病理类型呈正相关^[30]。本研究结果表明,AHF 组的 Hedgehog 通路关键蛋白因子 Shh、Ptch-1 和 Gli-1 蛋白表达水平显著增加,而 GCs 可有效降低这些关键因子的表达水平。

综上所述,糖皮质激素可有效改善急性肝衰竭小鼠肝功能指标,降低炎症因子表达,提高 AHF 小鼠抗氧化能力,并使

Hedgehog 通路关键蛋白因子表达恢复正常。

参考文献(References)

- [1] Sharma S, Sonny A, Dalia AA, et al. Acute heart failure after liver transplantation: A narrative review[J]. Clin Transplant, 2020, 34(11): e14079
- [2] Squires JE, McKiernan P, Squires RH. Acute liver failure: an update [J]. Clin Liver Dis, 2018, 22(4): 773-805
- [3] Triantafyllou E, Woollard KJ, McPhail MJW, et al. The role of monocytes and macrophages in acute and acute-on-chronic liver failure[J]. Front Immunol, 2018, 14(9): 2948-2960
- [4] 纪宇欣, 李树臣. 应用糖皮质激素治疗肝衰竭临床疗效研究进展[J]. 实用肝脏病杂志, 2020, 23(1): 10-13
- [5] 张野, 聂青和. 糖皮质激素治疗肝衰竭及高胆红素血症患者的临床研究及安全性评价 [J]. 胃肠病学和肝病学杂志, 2016, 25(5): 510-512
- [6] 苏日嘎. 探讨小剂量糖皮质激素治疗 HBV 相关慢加急性肝衰竭的临床疗效[J]. 智慧健康, 2019, 5(14): 152-153
- [7] 王秀芳, 冯国和. 糖皮质激素治疗肝衰竭研究现状 [J]. 临床肝胆病杂志, 2018, 34(7): 1565-1568
- [8] Skoda AM, Simovic D, Karin V, et al. The role of the Hedgehog signaling pathway in cancer: A comprehensive review [J]. Bosn J Basic Med Sci, 2018, 18(1): 8-20
- [9] Jeng KS, Chang CF, Lin SS. Sonic hedgehog signaling in organogenesis, tumors, and tumor microenvironments[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(3): 758-770
- [10] Gao L, Zhang Z, Zhang P, et al. Role of canonical Hedgehog signaling pathway in liver[J]. Int J Biol Sci, 2018, 14(12): 1636-1644
- [11] Yan J, Huang H, Liu Z, et al. Hedgehog signaling pathway regulates hexavalent chromium-induced liver fibrosis by activation of hepatic stellate cells[J]. Toxicol Lett, 2020, 320(1): 1-8
- [12] Yang JJ, Tao H, Li J. Hedgehog signaling pathway as key player in liver fibrosis: new insights and perspectives[J]. Expert Opin Ther Targets, 2014, 18(9): 1011-1021
- [13] Hodson DZ, Griffin M, Mahoney D, et al. Natriuretic response is highly variable and associated with 6-month survival: insights from the ROSE-AHF trial[J]. JACC Heart Fail, 2019, 7(5): 383-391
- [14] Wang Z, Wang A, Gong Z, et al. Plasma claudin-3 is associated with tumor necrosis factor- α -induced intestinal endotoxemia in liver disease[J]. Clin Res Hepatol Gastroenterol, 2019, 43(4): 410-416
- [15] Casulleras M, Zhang IW, López-Vicario C, et al. Systemic inflammation and immunopathology in acute-on-chronic liver failure[J]. Cells, 2020, 9(12): 2632-2642
- [16] Wang H, Chen L, Zhang X, et al. Kaempferol protects mice from d-GaIN/LPS-induced acute liver failure by regulating the ER stress-Grp78-CHOP signaling pathway [J]. Biomed Pharmacother, 2019, 111(1): 468-475
- [17] Jing ZT, Liu W, Xue CR, et al. AKT activator SC79 protects hepatocytes from TNF- α -mediated apoptosis and alleviates d-Gal/LPS-induced liver injury [J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2019, 316(3): 387-396
- [18] Wang X, Wu L, Zhang Q, et al. Methyl 3,4-dihydroxybenzoate protects against d-gaIN/LPS-induced acute liver injury by inhibiting inflammation and apoptosis in mice [J]. J Pharm Pharmacol, 2019, 71(7): 1082-1088

- [14] Homayouni A, Bagheri N, Mohammad-Alizadeh-Charandabi S, et al. Prevention of Gestational Diabetes Mellitus (GDM) and Probiotics: Mechanism of Action: A Review[J]. *Nutrients*, 2020, 16(6): 538-545
- [15] 孙永叶, 赵霞, 张华琦, 等. 维生素 E 对 2 型糖尿病大鼠血糖及胰岛素抵抗的影响[J]. *青岛大学医学院学报*, 2016, 52(2): 191-193
- [16] Kattini R, Hummelen R, Kelly L. Early Gestational Diabetes Mellitus Screening With Glycated Hemoglobin: A Systematic Review[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 42(11): 1379-1384
- [17] Hsueh AJW, Feng Y. Discovery of polypeptide ligand-receptor pairs based on their co-evolution[J]. *Fase J*, 2020, 34(7): 8824-8832
- [18] Hagström H, Höjjer J, Marschall HU, et al. Outcomes of Pregnancy in Mothers With Cirrhosis: A National Population-Based Cohort Study of 1.3 Million Pregnancies [J]. *Hepatol Commun*, 2018, 2 (11): 1299-1305
- [19] Luís C, Fernandes R, Soares R, et al. A state of the art review on the novel mediator asprosin in the metabolic syndrome[J]. *Porto Biomed J*, 2020, 5(6): 108-111
- [20] Kamada Y, Okanoue T, Nakajima A, et al. EVALI and the Pulmonary Toxicity of Electronic Cigarettes: A Review[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 35(7): 2130-2135
- [21] Rathod S, Bahadur P, Tiwari S. Nanocarriers based on vitamin E-TPGS: Design principle and molecular insights into improving the efficacy of anticancer drugs[J]. *Int J Pharm*, 2021, 592(13): e120045
- [22] Sepidarkish M, Akbari-Fakhrabadi M, Daneshzad E, et al. Effect of omega-3 fatty acid plus vitamin E Co-Supplementation on oxidative stress parameters: A systematic review and meta-analysis [J]. *Nutrients*, 2020, 39(4): 1019-1025
- [23] Nijs H, Benhalima K. Gestational Diabetes Mellitus and the Long-Term Risk for Glucose Intolerance and Overweight in the Offspring: A Narrative Review[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 9(2): 221-229
- [24] Sandu C, Bica C, Salmen T, et al. Gestational diabetes - modern management and therapeutic approach (Review)[J]. *Exp Ther Med*, 2021, 21(1): e81
- [25] Saravanan P. Gestational diabetes: opportunities for improving maternal and child health [J]. *Lancet Diabetes Endocrinol*, 2020, 8(9): 793-800
- [26] 陈龙, 汪秋伟, 孙金华, 等. 维生素 E 对妊娠期糖尿病小鼠氧化应激及炎症因子的影响[J]. *卫生研究*, 2017, 46(3): 488-489
- [27] Thayer SM, Lo JO, Caughey AB. Gestational Diabetes: Importance of Follow-up Screening for the Benefit of Long-term Health[J]. *Int J Environ Res Public Health*, 2020, 47(3): 383-396
- [28] Urbanová J, Brunerová L, Nunes MA, et al. MODY diabetes and screening of gestational diabetes [J]. *Ceska Gynekol*, 2020, 85 (2): 124-130
- [29] Zhang H, Wang Q, He S, et al. Ambient air pollution and gestational diabetes mellitus: A review of evidence from biological mechanisms to population epidemiology [J]. *Sci Total Environ*, 2020, 719 (9): e137349
- [30] Zhu B, Shi C, Park CG, et al. Sleep quality and gestational diabetes in pregnant women: a systematic review and meta-analysis [J]. *Sleep Med*, 2020, 67: 47-55
- [31] Zito G, Della Corte L, Giampaolino P, et al. Gestational diabetes mellitus: Prevention, diagnosis and treatment. A fresh look to a busy corner[J]. *J Neonatal Perinatal Med*, 2020, 13(4): 529-541
- [32] Yuan M, Li W, Zhu Y, et al. Asprosin: A Novel Player in Metabolic Diseases[J]. *J Cell Commun Signal*, 2020, 11(9): e64
- [33] Mazur-Bialy AI. Asprosin-A Fasting-Induced, Glucogenic, and Orexigenic Adipokine as a New Promising Player. Will It Be a New Factor in the Treatment of Obesity, Diabetes, or Infertility? A Review of the Literature[J]. *Nutrients*, 2021, 13(2): 114-119

(上接第 3822 页)

- [19] Wen J, Lin H, Zhao M, et al. Piceatannol attenuates D-GalN/LPS-induced hepatotoxicity in mice: Involvement of ER stress, inflammation and oxidative stress[J]. *Int Immunopharmacol*, 2018, 64(1): 131-139
- [20] Li W, Wang JQ, Zhou YD, et al. Rare ginsenoside 20(R)-Rg3 inhibits D-galactose-induced liver and kidney injury by regulating oxidative stress-induced apoptosis [J]. *Am J Chin Med*, 2020, 48(5): 1141-1157
- [21] 张子琪, 吴旻, 兰海楠, 等. 虾青素缓解脂多糖诱导的小鼠急性肝损伤[J]. *华南农业大学学报*, 2019, 40(1): 46-51
- [22] 杨林. 黄芪总黄酮对氧损伤小鼠胚胎 ROS 水平及抗氧化酶表达的影响[D]. 延边大学, 2019
- [23] Wang Y, Zhang H, Chen Q, et al. TNF- α /HMGB1 inflammation signalling pathway regulates pyroptosis during liver failure and acute kidney injury[J]. *Cell Prolif*, 2020, 53(6): e12829
- [24] Ezquerro S, Mocha F, Frühbeck G, et al. Ghrelin reduces TNF- α -Induced human hepatocyte apoptosis, autophagy, and pyroptosis: role in obesity-associated NAFLD [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2019, 104 (1): 21-37
- [25] 程浩, 潘静, 姚甜甜, 等. 全身炎症反应导致肝损伤的临床特点和机制研究现状[J]. *国际病毒学杂志*, 2019, 26(5): 354-357
- [26] 王璇. 构建人多能性干细胞来源具有双向分化潜能的肝脏类器官的研究[D]. 河北医科大学, 2019
- [27] Kohn A, Rutkowski TP, Liu Z, et al. Notch signaling controls chondrocyte hypertrophy via indirect regulation of Sox9 [J]. *Bone Res*, 2015, 3(1): 15021-15032
- [28] Jeng KS, Jeng CJ, Jeng WJ, et al. Sonic Hedgehog signaling pathway as a potential target to inhibit the progression of hepatocellular carcinoma[J]. *Oncol Lett*, 2019, 18(5): 4377-4384
- [29] Gutzmer R, Solomon JA. Hedgehog pathway inhibition for the treatment of basal cell carcinoma[J]. *Target Oncol*, 2019, 14(3): 253-267
- [30] Teixeira JD, de Andrade RI, Brito J, et al. Sonic hedgehog signaling and Gli-1 during embryonic chick myogenesis [J]. *BBRC*, 2018, 507 (1-4): 496-502