

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.09.001

• 基础研究 •

壳聚糖介导 CrmA 基因治疗小鼠肝纤维化的研究*

张新胜^{1,2} 张宏玲^{1,2} 郑义² 黄来强^{1,2△}

(1 清华大学生命科学学院 北京 100084;

2 清华大学深圳研究生院生命与健康学部 生物医药研究中心和基因与抗体治疗重点实验室 广东 深圳 518055)

摘要 目的:探讨壳聚糖介导的 CrmA 对小鼠肝纤维化的治疗效果,以期为肝纤维化的基因治疗提供实验基础。**方法:**清洁级的 75 只雄性小鼠随机分为正常组、模型组、壳聚糖介导的 CrmA 组、壳聚糖介导的空载体组、壳聚糖组,每组 15 只。应用 30 % 四氯化碳橄榄油溶液 3 ml/kg 腹腔注射制备肝纤维化小鼠模型。治疗 8 周后,眼眶取血,检测血清的肝功能指标,并取肝组织做 HE 染色,观察各组小鼠肝脏的病理形态,Real Time PCR 检测肝组织 IL-1 β 、 α -SMA、TGF- β 1、TIMP-1 表达量。**结果:**与模型组小鼠相比,壳聚糖介导的 CrmA 组小鼠的肝纤维化程度减轻,ALT、AST 显著降低($P < 0.01$),肝组织 IL-1 β 、 α -SMA、TIMP-1、TGF- β 1 的表达明显减少($P < 0.05$),而模型组、壳聚糖介导的空载体组和壳聚糖组均无显著性差异。**结论:**壳聚糖介导的 CrmA 能有效减轻肝纤维化小鼠的肝脏损伤和纤维化程度,为基因治疗肝纤维化提供了一种潜在的新思路和方法。

关键词:肝纤维化;细胞因子反应调节蛋白 A;白介素-1 β ;壳聚糖;基因治疗

中图分类号:Q782,R966,R575.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2014)09-1601-05

Gene Therapy for Mouse Hepatic Fibrosis
with Chitosan-mediated CrmA*ZHANG Xin-sheng^{1,2}, ZHANG Hong-ling^{1,2}, ZHENG Yi², HUANG Lai-qiang^{1,2△}

(1 School of Life Sciences, Tsinghua University, Beijing, 100084, China;

2 The Shenzhen Key Lab of Gene and Antibody Therapy, Center for Biotech & BioMedicine and Division of Life & Health Sciences,
Graduate School at Shenzhen, Tsinghua University, Shenzhen, Guangdong, 518055, China)

ABSTRACT Objective: To explore the therapeutic effects of the chitosan-mediated CrmA on CCl₄-induced hepatic fibrosis in mouse. **Methods:** Seventy five male mice of clean grade were divided evenly into five groups marked "Normal", "Model", "chitosan-mediated CrmA", "chitosan-mediated vector" and "Chitosan". Liver fibrosis model mice were given 30 % carbon tetrachloride olive oil solution 3 ml/kg by intraperitoneal injection. After eight weeks of treatment, hepatic fibrosis was evaluated through measuring serum ALT and AST, examining HE pigmentation, and determining by Real Time PCR the expression levels of IL-1 β , α -SMA, TGF- β 1 and TIMP-1 in hepatic tissue. **Results:** Compared with the model group, the degree of liver fibrosis in the chitosan-mediated CrmA group was obviously reduced. The ALT and AST levels of the chitosan-mediated CrmA group were much lower than that of model group ($P < 0.01$). The mRNA expression of IL-1 β , α -SMA and TIMP-1 was reduced markedly in the chitosan-mediated CrmA group ($P < 0.05$), as compared with the model group, whereas no significant difference was observed among the chitosan-mediated vector group, chitosan group and model group ($P > 0.05$). **Conclusion:** The chitosan-mediated CrmA had therapeutic effects of easing the liver damage and hepatic fibrosis condition in the mouse model and provides a potential new approach for the treatment of liver fibrosis.

Key words: Liver fibrosis; Cytokine response modifier A; IL-1 β ; Chitosan; Gene therapy

Chinese Library Classification(CLC): Q782, R966, R575.2 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2014)09-1601-05

前言

肝纤维化是慢性肝病或肝硬化发生的必经阶段,其表征是细胞外基质(extracellular matrix, ECM)在肝脏内过度积累^[1],其中肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)的活化及炎症因子的分泌在肝纤维化中发挥重要作用。近十年来,随着肝纤维化发生的分子机制和信号通路调控的研究,肝纤维化可以逆转^[2]得

到大家的认可。这一观点的提出为预防和治疗肝硬化提供了理论基础。因此,肝硬化的治疗措施,重点应放在逆转肝纤维化上,通过基因治疗肝纤维化成为一个新的研究方向。细胞因子反应调节蛋白 A(cyto-kine response modifier A, CrmA)具有广泛的生物学功能。研究表明,CrmA 能干预 IL-1 β 转化酶来阻止细胞凋亡,抑制炎症反应^[3]。Interleukin-1 在肝的损伤到肝纤维化的形成中发挥重要的作用^[4],Interleukin-1 的表达与 HSC 的

* 基金项目:国家自然科学基金项目(30570960);广东省自然科学基金(05010197);深圳市重点实验室建设与提升计划

作者简介:张新胜(1986-),男,硕士研究生,主要研究方向:肝纤维化研究,E-mail: zxsnature@126.com

△ 通讯作者:黄来强,男,教授,研究方向:分子细胞生物学与生物医药,E-mail: huanglq@tsinghua.edu.cn

(收稿日期:2013-08-02 接受日期:2013-08-25)

活化成正相关,能够促进肝纤维化的发生。基因治疗缺乏理想的载体,越来越多的纳米材料被认为有很好的应用前景。其中,壳聚糖是带正电荷的天然高分子材料,能在水溶液中与带负电荷的 DNA 形成纳米微粒。壳聚糖可生物降解、血液相容、无毒,成为基因治疗的良好载体^[5]。本研究构建了肝纤维化的小鼠模型,以壳聚糖介导的空载体组、壳聚糖组和肝纤维化的模型组作为对照组,通过检测各组小鼠的肝功能、肝组织病理学变化和各组小鼠肝脏的炎症和胶原相关因子,研究壳聚糖介导的 CrmA 对肝纤维化小鼠的治疗作用及机制,以期对肝纤维化的基因治疗提供一种潜在的新的方法,为后续以 IL-1 β 为靶点的基因治疗肝纤维化提供理论基础。

1 仪器与材料

Shandon As 620 E 型恒温箱冷冻切片机, HITACH 全自动生化分析仪(日本日立公司), 7300 Real Time PCR System(美国 Applied Biosystems 公司), RNA 提取、反转录及荧光定量试剂盒(大连 TaKaRa 公司, 规格: 200 次)。

C57BL/6 (H-2b) 小鼠, 体重 25 ± 5 g, 由广东省医学实验动物中心提供, 许可证号 SZThU2010-0015。pcDNA3.1(+)-CrmA 由本实验室构建。四氯化碳为南京晟为诺生物科技有限公司产品, 橄榄油为普通食用花生油, 按照四氯化碳与橄榄油容积比 3:7 配成 30 % 的 CCl₄ 橄榄油溶液备用。壳聚糖购于杭州富丽生物科技有限公司。

2 方法

2.1 动物模型建立

采用四氯化碳(CCl₄)诱导法制备肝纤维化模型。除正常组外, 其余四组均给予 30 % 的 CCl₄ 橄榄油溶液 3 mL/kg 腹腔注射, 每周两次, 每两次间隔 3 天左右, 共 8 周。

2.2 壳聚糖介导 CrmA 及空载体纳米微粒的制备

0.02 % chitosan solution 配制参考文献^[6]。本实验中, 壳聚糖介导 CrmA 纳米微粒制备方法如下: (1) 0.02 % chitosan solution, (2) 5 μ L 的 100 mM Na₂SO₄ + 100 μ g pcDNA3.1 (+)-CrmA + ddH₂O, 上述(1)和(2)等体积 100 μ L 配好, 放在 55 $^{\circ}$ C 恒温水浴 10 min, 将(2)缓慢一滴一滴的加入到同体积的(1)中, 同时置于漩涡振荡器上混悬(2500 r/min)。将(1)和(2)产物置室温静置 30 min, 以促进颗粒的形成^[7]。壳聚糖介导的空载体纳米微粒制

备方法同上, (2)中的质粒为 pcDNA3.1(+)

2.3 动物分组与药物处理

75 只雄性小鼠随机分为正常组、模型组、壳聚糖介导的 CrmA 组(下文图表中简称为 CrmA 组)、壳聚糖介导的空载体组(下文图表中简称为 Vector 组)和壳聚糖组, 每组 15 只。除正常组外, 其余四组均给予 30 % 的 CCl₄ 橄榄油溶液 3 mL/kg, 每周两次。CrmA 组给 200 μ L 壳聚糖介导的 pcDNA3.1(+)-CrmA 纳米微粒, Vector 组给 200 μ L 壳聚糖介导的 pcDNA3.1(+), 壳聚糖组给 200 μ L 0.02% 的壳聚糖, 正常组给 200 μ L 生理盐水, 均为一周两次, 连续八周。八周后处死小鼠, 取血并分离血清和保存肝组织。

2.4 肝功能检测

小鼠处死后取血, 进行 1000 rpm 离心, 留血清于 -20 $^{\circ}$ C 保存。谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)采用全自动生化分析仪检测。

2.5 组织学染色及观察

取小鼠相同部位肝组织, 进行固定、脱水。再切取部分组织包埋固定, 于 Shandon As 620 E 型恒温箱冷冻切片机中, 进行冷冻切片, 各组肝组织切片厚度 4 μ m。置于载玻片上的切片, 进行常规的苏木素 - 伊红染色进行染色。严格按照肝纤维化分期^[8]说明, 在光学显微镜下观察肝纤维组织增生程度。在低倍镜下, 每组小鼠的肝组织切片选取 6 个视野, 分别记录其病理分期, 取平均值作为该小鼠的病理分期, 再统计各种小鼠病理分期情况。

2.6 肝组织总 RNA 的提取和实时荧光定量 PCR

取适量肝组织 20 mg, 在研钵中研磨, 加入 1 mL Trizol, 充分混匀后转移至 1.5 mL EP 管中。按照试剂盒说明提取总 RNA。紫外分光光度计于 260 nm 波长测总 RNA 含量, 保证纯度在 1.8-2.0。以 500 ng 上述所提取 RNA 为模板进行逆转录 PCR(RT-PCR)。采用 SYBR Premix EX TagTM 试剂盒(TAK-ARA)检测不同组 IL-1 β , α -SMA, TGF- β 1 和 TIMP-1 mRNA 的表达, 甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)作为内参对照。每个样本均重复检测 3 次。本研究扩增目标基因所采用的引物见表 1。Real Time PCR 反应条件是: ① 95 $^{\circ}$ C 30 s; ② 95 $^{\circ}$ C 5 s, 61 $^{\circ}$ C 31 s (40 个循环); ③ 95 $^{\circ}$ C 15 s, 60 $^{\circ}$ C 1 min, 95 $^{\circ}$ C 15 s。

表 1 引物序列

Table 1 Primer sequence

引物(primer)	正义(Forward primer)	反义(Reverse primer)
IL-1 β	5'GGTCAAAGTTTGAAGCAG3'	5'TGTGAAATGCCACCTTTTGA3'
TGF- β 1	5'GACTCTCCACCTGCAAGACC3'	5'CCCTGTATTCCGTCTCCTTG3'
α -SMA	5'CTGTCCCTCTATGCCTCTGG3'	5'AGGGCTGTGATCTCCTTCTG3'
TIMP-1	5'GCATCTCTGGCATCTGGCATC3'	5'GCGGTTCTGGGACTTGTGGGC3'
GAPDH	5'AACTTTGGCATTGTGGAAGG3'	5'CATCGAAGGTGGAAGAGTGG3'

2.7 统计学分析

各分组所得计量数据采用平均值 $\pm$ 标准差(mean $\pm$ SD)表示, 用 SPSS13.0 软件处理数据, 两组间均数比较用 t 检验。检

验水准 $\alpha = 0.05$, $P < 0.05$ 有统计学意义。

3 结果

3.1 小鼠肝纤维化模型制备

小鼠肝脏组织病理切片显示:在光学显微镜下,模型组小鼠肝细胞结构模糊,细胞体积变大、细胞核固缩、绝大多数肝细

胞坏死,胶原纤维大量增生(图 1B),而正常组小鼠则无上述病变(图 1A)。

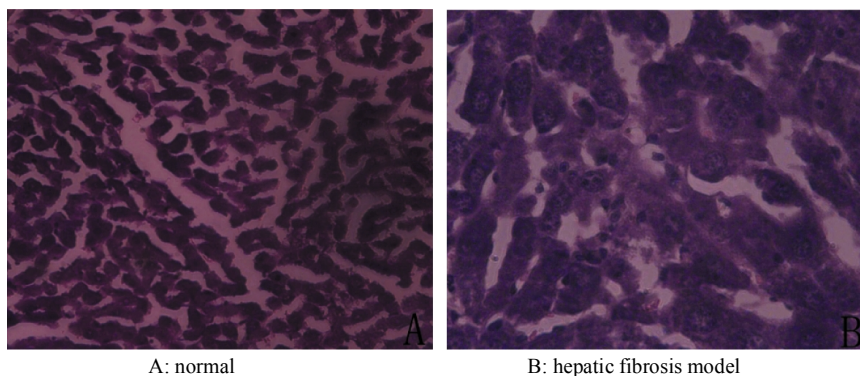


图 1 肝纤维化小鼠肝脏形态学变化($\times 100$)

Fig.1 Morphological changing of hepatic fibrosis ($\times 100$)

3.2 各种小鼠血清肝功能指标

Model 组的 ALT、AST 显著高于 Normal 组($\#P<0.01$),CrmA 组的 ALT、AST 显著低于模型组($*P<0.01$),肝功能得到明显改

善,而 Vector 组、Chitosan 组的 ALT、AST 与模型组相比,无显著性差异($\Delta P>0.05$)(表 2)。

表 2 各组的肝功能指标

Table 2 Liver function index of different groups (mean $\pm$ SD)

Group	n	ALT (U/L)	AST (U/L)
Normal	15	37.61 $\pm$ 5.99	55.31 $\pm$ 6.18
Model	7	197.26 $\pm$ 31.65 $^{*#}$	241.8 $\pm$ 9.25 $^{*#}$
CrmA	12	108.23 $\pm$ 8.84	143.78 $\pm$ 8.91
Vector	8	197.11 $\pm$ 7.14 $^{*\Delta}$	237.51 $\pm$ 7.89 $^{*\Delta}$
Chitosan	8	193.84 $\pm$ 8.79 $^{*\Delta}$	238.24 $\pm$ 7.46 $^{*\Delta}$

注: $\#P<0.01$ 与正常组比较; $*P<0.01$ 与 CrmA 组比较; $\Delta P>0.05$ 与模型组比较。

Note: $\#P<0.01$ compared with normal group; $*P<0.01$ compared with CrmA group;

$\Delta P>0.05$ compared with model group.

3.3 肝组织病理形态学变化及肝纤维化病理分级

HE 染色显示:正常组小鼠肝细胞形态一致,无细胞核固缩和坏死现象,肝小叶结构完整。模型组、空纳米粒组、壳聚糖组小鼠肝组织内有网络状的纤维间隔形成,大部分细胞变性坏

死,细胞核固缩,假小叶形成(图 2)。壳聚糖介导的 CrmA 组小鼠肝细胞有部分体积膨胀、坏死和核固缩,小叶区有少量胶原纤维增生,较模型组明显减轻。此外,肝纤维化病理分级显示:与正常组相比,模型组、壳聚糖介导的空载体组、壳聚糖组小鼠

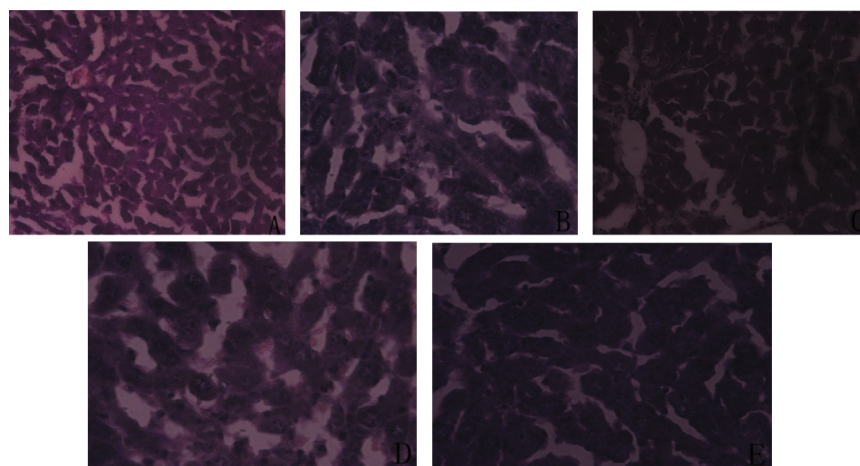


图 2 各组小鼠肝组织 HE 染色结果: A:正常组;B:模型组;C:壳聚糖介导的 CrmA 组;D:壳聚糖介导的空载体组;E:壳聚糖组

Fig.2 The HE staining of liver tissue in mice: A: Normal group; B: Model group; C: CrmA group; D: Vector group; E: Chitosan group

肝纤维化程度明显提高($P<0.05$ 表 3);壳聚糖介导的 CrmA 组 (表 3)。

小鼠肝纤维化程度减轻,与模型组相比有统计学意义($P<0.05$

表 3 各组肝纤维化病理分级

Table 3 Liver pathological stage of different groups

Group	Number of case		The liver pathological stage				
	Beginning	End	S0	S1	S2	S3	S4
Normal	15	15	15	0	0	0	0
Model*	15	7	0	0	2	3	2
CrmA#	15	12	1	5	5	1	0
Vector*	15	8	0	0	2	5	1
Chitosan*	15	8	0	1	1	4	2

3.4 实时定量 PCR

与正常组比,模型组、壳聚糖介导的空载体组和壳聚糖组肝脏中与炎症相关的细胞因子 IL-1 β 、TGF- β 1 及与细胞外基质重建有关的基因 α -SMA、TIMP-1 表达均显著上调 ($P<0.01$ 图

3)。与模型组、壳聚糖介导的空载体组和壳聚糖组相比,壳聚糖介导的 CrmA 组 IL-1 β 、TGF- β 1、 α -SMA、TIMP-1 的 mRNA 表达显著下调($P<0.05$ 图 3)。

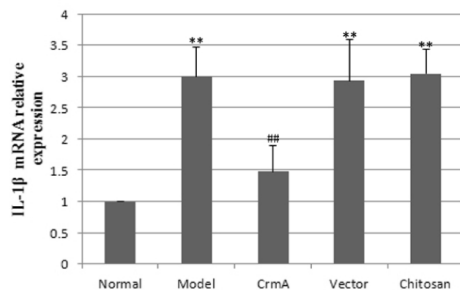


图 3A 肝脏中 IL-1 β mRNA 表达

Fig.3A Expression of IL-1 β mRNA

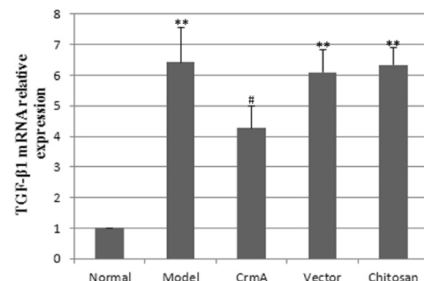


图 3B 肝脏中 TGF- β 1 mRNA 表达

Fig.3B Expression of TGF- β 1 mRNA

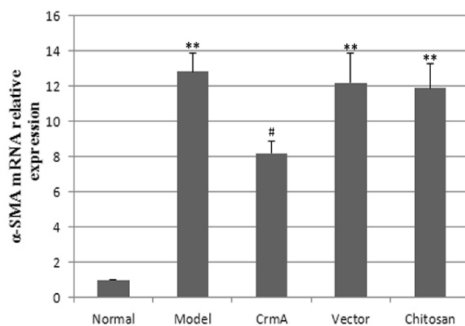


图 3C 肝脏中 α -SMA mRNA 表达

Fig.3 Expression of α -SMA mRNA

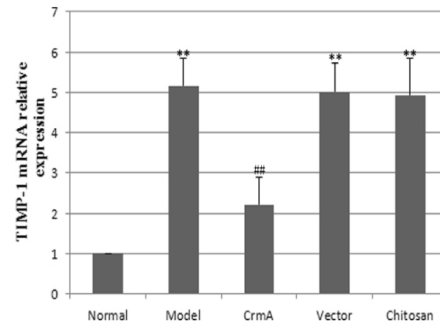


图 3D 肝脏中 TIMP-1 mRNA 表达

Fig.3D Expression of TIMP-1 mRNA

注: * $P<0.05$, ** $P<0.01$ 与正常组比较; # $P<0.05$, ## $P<0.01$ 与模型组比较。

Note: * $P<0.05$, ** $P<0.01$ compared with normal group; # $P<0.05$, ## $P<0.01$ compared with model group.

4 讨论

目前认为,肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)的活化与增值是肝纤维化发生的中心环节^[9]。在肝纤维化的治疗中,HSC 成为越来越多药物治疗的靶标,通过抑制 HSC 的活化,诱导 HSC 凋亡来治疗和预防肝纤维化^[10]。其中 IL-1 能够促进 HSC 活化、增殖^[11]。此外,IL-1 通过促进 ECM 沉积,从而导致肝纤维化^[12,13]。机体内存在两种类型的 IL-1,即 IL-1 α 和 IL-1 β ,而在炎症反应中发挥主要作用的是 IL-1 β ^[14]。临床研究发现慢性病毒性肝炎患者血清 IL-1 β 水平与肝纤维化程度呈正相关^[15]。因此,IL-1 β 通过对 HSC 活化及 ECM 调控而对肝纤维化的发生、发展发挥重要作用。细胞因子反应调节蛋白 A(CrmA)能作为

IL-1 β 的抑制剂^[16],抑制 IL-1 β 的分泌。通过降低 IL-1 β 表达,抑制 HSC 活化,诱导其凋亡,防止 ECM 沉积,为肝纤维化的治疗提供一条新的途径。IL-1 β 有望成为肝纤维化治疗的新靶点,用 IL-1 β 的抑制剂 CrmA 基因治疗肝纤维化还未见报道。

基因治疗的载体主要有病毒载体和非病毒载体。病毒载体转染效率较高,但存在免疫原性和基因突变等不足。非病毒载体具有易于生产,无点突变,低免疫原性,携带药物广泛等优势^[17]。壳聚糖及其衍生物作为非病毒载体,是介导生物小分子药物、蛋白质和基因的优良载体^[18,19]。壳聚糖介导的药物在动物模型的靶位聚集较多,提高了药物的治疗效果^[20]。

本研究结果显示,壳聚糖介导的 CrmA 能显著的降低 IL-1 β 的水平,CrmA 组小鼠肝纤维化程度明显减轻。最近的研

究表明,IL-1 的受体抑制剂在治疗酒精性肝疾病方面具有潜在的作用^[20],其抑制剂的开发为治疗肝纤维化提供了可能。本实验通过壳聚糖作为基因载体介导 IL-1 β 天然抑制剂 CrmA 来研究其对小鼠肝纤维化的影响,更进一步证明了 IL-1 β 抑制剂能减轻肝的纤维化。此外,有研究通过 IL-1 α 、IL-1 β 敲除小鼠实验发现,IL-1 β 在高胆固醇小鼠转化为肝纤维化小鼠中发挥重要的作用^[22]。有文献报道,IL-1 细胞因子家族与肝脏的系统性炎症密切联系的^[23]。本研究发现壳聚糖介导的 CrmA 能够通过抑制单核-巨噬细胞 IL-1 β 的分泌,使胶原纤维细胞因子 TIMP-1 的合成和分泌受到抑制。因此,推论壳聚糖介导的 CrmA 预防和治疗肝纤维化的机制可能是通过抑制 IL-1 β ,从而下调 TIMP-1,促进 ECM 的降解,同时也负反馈地影响 HSC 的活化来发挥作用的。

本实验中,通过壳聚糖介导的空载体组、壳聚糖组和模型组比较,我们发现壳聚糖介导的 CrmA 能够减轻和治疗肝的纤维化,为以 IL-1 β 为靶点的基因治疗肝纤维化提供了实验基础,为进一步开发利用 IL-1 β 天然抑制剂 CrmA 的小分子药物提供可能。同时,本实验中的基因治疗载体壳聚糖的靶向性有待进一步设计并优化,IL-1 β 在肝纤维化中具体的作用机制还需要进一步研究。

参考文献(References)

- [1] I. Mederacke. Liver fibrosis-mouse models and relevance in human liver diseases [J]. Zeitschrift für Gastroenterologie, 2013, 51(1): 55-62
- [2] Francis J. Eng, Scott L. Friedman. Fibrogenesis I. New insights into hepatic stellate cell activation: the simple becomes complex [J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2000, 279: G7-G11
- [3] M Fujino, M Kawasaki, N Funeshima, et al. CrmA gene expression protects mice against concanavalin-A-induced hepatitis by inhibiting IL-18 secretion and hepatocyte apoptosis [J]. Gene Therapy, 2003, 10 (20): 1781-1790
- [4] Gieling RG, Wallace K, Han YP. Interleukin-1 participates in the progression from liver injury to fibrosis [J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2009, 296(6): G1324-G1331
- [5] M. Dash, F. Chiellini, R.M. Ottenbrite, et al. Chitosan-A versatile semi-synthetic polymer in biomedical applications [J]. Progress in Polymer Science, 2011, 36(8): 981-1014
- [6] 张晓玲, 史须, 于长隆, 等. Chitosan-DNA 介导关节基因转移的体外研究[J]. 中国运动医学杂志, 2003, 22(3): 240-243
Zhang Xiao-ling, Shi xu, Yu Chang-long, et al. Studies of in vitro Gene Transfer into Articular Mediated by Chitosan-DNA Nanoparticles [J]. Chin J Sports Med, 2003, 22(3): 240-243
- [7] 郝时兵, 赵霞, 傅欣, 等. 壳聚糖载体介导的骨关节炎基因治疗[J]. 中国运动医学杂志, 2006, 25(2): 133-137
Yu Shi-bing, Zhao Xia, Fu Xin, et al. Chitosan-based Gene Therapy for Experimental Osteoarthritis [J]. Chin J Sports Med, 2006, 25(2): 133-137
- [8] 贾继东, 李兰娟. 慢性乙型肝炎防治指南(2010 年版) [J]. 中国预防医学杂志, 2011, 2(1): 1-15
Jia Ji-dong, Li Lan-juan. The guideline of prevention and treatment for chronic hepatitis B (2010 version)[J]. Chin Prev Med, 2011, 2(1): 1-15
- [9] Luis A. Marcos, Angélica Terashima, Pedro Yi, et al. Mechanisms of Liver Fibrosis Associated with Experimental Fasciola hepatica Infection: Roles of Fas2 Proteinase and Hepatic Stellate Cell Activation [J]. Journal of Parasitology, 2011, 97(1): 82-87
- [10] 平键, 成扬, 徐列明. 姜黄素通过激活过氧化物酶体增殖子活化受体 γ 诱导肝星状细胞凋亡 [J]. 中国药理学通报, 2007, 23(10): 1295-1299
Ping Jian, Cheng Yang, Xu Lie-ming. Curcumin induces apoptosis of hepatic stellate cells by activating peroxisome proliferator-activated receptor γ signal [J]. Chinese Pharmacological Bulletin, 2007, 23 (10): 1295-1299
- [11] Gressner AM. Transdifferentiation of hepatic stellate cells (Ito cells) to myofibroblasts: A key event in hepatic fibrogenesis [J]. Kidney International, 1996, 4954: S39-S45
- [12] Hsuan-Shu Lee, Luo-Hwa Miao, Chien-Hung Chen, et al. Differential role of p38 in IL-1 α induction of MMP-9 and MMP-13 in an established liver myofibroblast cell line [J]. Journal of biomedical science, 2003, 10(6): 757-776
- [13] Masatoshi Jinnin, Hironobu Ihn, Yoshihiro Mimura, et al. Matrix metalloproteinase-1 up-regulation by hepatocyte growth factor in human dermal fibroblasts via ERK signaling pathway involves Ets1 and Fli1 [J]. Nucleic Acids Research, 2005, 33(11): 3540-3549
- [14] Holtkamp GM, de Vos AF, Kijlstra A, et al. Expression of multiple forms of IL-1 receptor antagonist (IL-1ra) by human retinal pigment epithelial cells: identification of a new IL-1ra exon [J]. European Journal of Immunology, 1999, 29(1): 215-224
- [15] Xingjun Liu, Han Hu, James Q. Yin. Therapeutic strategies against TGF- β signaling pathway in hepatic fibrosis [J]. Liver International, 2006, 26(1): 8-22
- [16] Ray CA, Black RA, Kronheim SR, et al. Viral inhibition of inflammation: cowpox virus encodes an inhibitor of the interleukin-1 beta converting enzyme [J]. Cell, 1992, 69(4): 597-604
- [17] Niidome T, Huang L. Gene therapy progress and prospects: nonviral vectors [J]. Gene Therapy, 2002, 9(24): 1647-1652
- [18] 郭思辉, 苏政权. 壳聚糖及其衍生物作为药物载体研究进展[J]. 现代生物医学进展, 2008, 8(8): 1588-1591
Wu Si-hui, Su Zheng-quan. The Advance of chitosan and Its Derivatives as Drug Carrier [J]. Progress in Modern Biomedicine, 2008, 8 (8): 1588-1591
- [19] Park JH, Saravanakumar G, Kim K, et al. Targeted delivery of low molecular drugs using chitosan and its derivatives [J]. Advanced Drug Delivery Reviews, 2010, 62(1): 28-41
- [20] 唐红波, 冯欣, 张彤, 等. 壳聚糖及其衍生物作为纳米药物载体的研究与应用[J]. 中国组织工程研究, 2012, 16(38): 7145-7150
Tang Hong-bo, Feng Xin, Zhang Tong, et al. Chitosan and its ramifications as nano-drug carriers [J]. Chinese Journal of Tissue Engineering Research, 2012, 16(38): 7145-7150
- [21] Jan Petrask, Shashi Bala, Timea Csak, et al. IL-1 receptor antagonist ameliorates inflammasome-dependent alcoholic steatohepatitis in mice [J]. J Clin Invest, 2012, 122(10): 3476-3489
- [22] Kamari Y, Shaish A, Vax E, et al. Lack of interleukin-1 α or interleukin-1 β inhibits transformation of steatosis to steatohepatitis and liver fibrosis in hypercholesterolemic mice[J]. J Hepatol, 2011, 55(5): 1086-1094
- [23] Herbert Tilg, Alexander R. Moschen. IL-1 cytokine family members and NAFLD: Neglected in metabolic liver inflammation [J]. J Hepatol, 2011, 55(5): 960-962