

· 综述 ·

DOI:10.3969/j.issn.1001-5256.2023.07.035

胆汁淤积性肝病动物模型构建的研究进展

张清清, 曲颖, 蔡晓波, 陆伦根

上海交通大学医学院附属第一人民医院消化科, 上海 200080

通信作者: 陆伦根, lungenlu1965@163.com (ORCID:0000-0002-1533-4068)

摘要:胆汁淤积性肝病 (CLD) 是一类由免疫、遗传、环境等因素导致胆汁流动障碍, 从而造成胆汁酸在肝脏和/或循环中的淤积的疾病。CLD 发病机制尚未完全明确, 且治疗困难, 动物模型作为人类疾病的替代对象, 可以为探索疾病的病因病理及寻找合适的治疗靶点提供平台, 本文就目前 CLD 动物模型的研究进展作一综述。

关键词:肝疾病; 胆汁淤积; 疾病模型, 动物

Research advances in animal models of cholestatic liver disease

ZHANG Qingqing, QU Ying, CAI Xiaobo, LU Lungen. (Department of Gastroenterology, The First People's Hospital Affiliated to Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200080, China)

Corresponding author: LU Lungen, lungenlu1965@163.com (ORCID:0000-0002-1533-4068)

Abstract:Cholestatic liver diseases (CLD) are a series of diseases due to impaired bile flow and accumulation of bile acid in the liver and/or systemic circulation caused by immune, genetic, and environmental factors. The pathogenesis of CLD remains unclear and CLD is difficult to treat. As a substitute for human diseases, animal models can provide a platform for exploring the etiology and pathogenesis of the disease and finding appropriate therapeutic targets. This article reviews the current research advances in the animal models of CLD.

Key words:Liver Diseases; Cholestasis; Disease Models, Animal

胆汁淤积性肝病 (cholestatic liver disease, CLD) 是一类由免疫、遗传、环境等因素导致胆汁形成、分泌和排泄障碍的肝胆疾病总称。一项基于上海市慢性肝病的多中心流行病学研究^[1]表明, 在 4 660 例慢性肝病患者中, 胆汁淤积的患病率为 10.26%。CLD 起病隐匿, 临床早期无明显症状, 进展期可出现黄疸、尿色加深、皮肤瘙痒等一系列高胆红素血症相关表现, 可进一步发展为肝纤维化、肝硬化, 甚至出现肝衰竭等终末事件。CLD 根据发生部位可分为肝内胆汁淤积和肝外胆汁淤积^[2], 包括胆道闭锁 (biliary atresia, BA)、胆石性肝病、药物性胆汁淤积性肝病 (drug-induced cholestasis, DIC)、妊娠期肝内胆汁淤积症 (intrahepatic cholestasis of pregnancy, ICP)、IgG4 性自身免疫性肝病、原发性胆汁性胆管炎 (PBC) 和原发性硬化性

胆管炎 (PSC)^[3]。

CLD 发病机制复杂, 诊断困难, 治疗亟需解决。为了加深对 CLD 本身的认识, 同时帮助临床医师在探究 CLD 机制和寻找新疗法的研究中更科学、合理地选择工具, 本文就 CLD 的动物模型的制备、机制、优缺点作一综述。

1 BA 动物模型

BA 是一种发生于婴儿时期的肝脏内胆管异常狭窄、阻塞或者完全缺失的疾病, 可导致胆汁淤积、胆道反复炎症、胆管纤维化^[4]。新生儿胆汁淤积症患病率为 1/2 500, 约 34%~43% 为 BA^[5]。本病因尚未明确, 如不及时诊治, 可迅速进展至肝硬化、肝衰竭等终末期肝病而致死亡^[6]。因此, 对该病病因及发病机制

的深入研究对于预防疾病尤为关键,而 BA 模型的构建是为其提供重要条件。

(1)胆总管结扎 BA 模型:2008 年,国内学者张守华等^[7]通过结扎 5~6 周龄 BALB/c 小鼠胆总管建立梗阻性黄疸模型,炎症细胞变化与 BA 实际情况相符,术后剖腹可见近端胆总管囊性扩张,胆囊增大,肝脏呈淤胆性改变,但该模型存在以下缺陷:①成年小鼠的胆道系统已经发育成熟,与发生于婴儿期的 BA 年龄不匹配;②临床症状方面未很好地复现出 BA 的腹水等门静脉高压的并发症;③病理组织学方面可见肝小叶结构模糊,胆汁淤积及大量增生的胆管,以及片状坏死的肝细胞,但未见到肝内外胆管消失、肝纤维化甚至假小叶形成。而后国内学者葛军涛等^[8]对该模型进行改良,通过结扎新生 BALB/c 小鼠(出生后 5~7 天)的胆总管建立 BA 模型,术后 2 天出现黄疸、小便深黄、陶土样大便、食欲不振、精神状态差等症状,这与临床上 BA 临床症状有较为相似,术后 10 天左右出现实验组小鼠死亡高峰期。该模型的优点在于造模方法相对简单,重复性好,周期短,但也存在一些缺点:死亡小鼠解剖后可见增宽的胆总管、大胆囊,黄染的肠道及肾脏,但未见严重的肝硬化、门静脉高压、肝衰竭^[3]等情况,这与临床上患儿终末期表现不相符,其次该动物模型制备在小鼠出生后 5~7 天进行,无法完全模拟围生期胆管闭锁情况。

(2)毒素诱导 BA 模型:最初探索来源于 1990 年澳大利亚学者 Harper 和 Kopp 观察到孕期进食了藻类等植物的牛羊,产下的幼崽在出生后大量死亡,临床表现符合胆汁淤积症状,病理组织学表现为慢性肝损伤、肝纤维化、肝细胞坏死及肝硬化等情况,但限于当时医学的局限性,未进行动物模型的探索^[9-10]。2015 年,国外学者^[11]发现一种新型胆管损伤化合物“异黄酮、胆甾烯”,该化合物可造成斑马鱼幼虫的肝外胆道系统的选择性破坏。该团队还发现斑马鱼基因组某个特定区域突变可增强该化合物的胆道毒性,可导致培养的新生小鼠肝外胆管细胞纤毛丢失,并破坏胆管细胞细胞极性和细胞膜的完整性。同时该团队证实该区域与人类 BA 易感性位点具有高度同源性。这研究进一步证实了环境毒物在 BA 发生发展中的作用。2019 年我国国内学者杨一凡等^[12]建立胆闭素诱导斑马鱼 BA 模型,通过胆道排泄功能证实胆道毒性,并将造模成功的斑马鱼转移至不含胆闭素的培

养水中,发现其无法生存超过 12 天,这提示胆闭素诱导的胆道畸形是不可逆的,以上在一定程度上揭示环境毒素与 BA 发生的潜在关系,为 BA 的预防和辅助治疗提供一定的思路,但目前基于哺乳动物的毒物诱导 BA 模型尚未报道,对于以上毒物对于胆管系统发育的具体影响尚未揭露,希望能进一步建立起与人类 BA 相近的动物模型。

(3)病毒诱导 BA 模型:目前有统一观点认为各种宫内或围产期感染是 BA 主要的病因,病毒感染触发免疫反应,导致胆道进行性破坏^[13]。基于以上观点,学者建立了第一个小鼠模型,将恒河猴轮状病毒接种到刚出生的小鼠身上,使肝外胆管出现类似 BA 的表现^[14]。但不幸的是,这个模型有几个实际的限制影响实验的可重复性,包括病毒作用的时间和剂量,注射相关的腹部器官的损伤,以及菌株间的差异和模型的低存活率^[15]。

2 胆石性肝病动物模型

胆石症是胆道系统的一种常见病,成年人患病率为 11% 左右^[16]。当胆汁的化学成分不平衡,胆固醇在胆汁中呈现过饱和状态进而沉淀析出,则会形成胆结石^[17]。其次在一些溶血性疾病中,红细胞破坏程度异常高,导致胆红素过量,进而形成胆石。此外,胆囊运动能力低下或收缩能力受损会影响胆囊内胆汁的有效清除,导致胆汁高度浓缩,最后发展为胆石症^[18]。早期 Tepperman 等^[19]通过给小鼠喂食含有胆固醇-叶酸的饮食制备胆石症模型,这种饮食包含高脂肪、高胆固醇和 0.5% 的胆酸。该研究表明胆酸与胆固醇的结合对于胆结石的形成是必不可少的,而单独的胆固醇不能诱发胆结石。而后,多位学者^[20-21]对不同种系的小鼠进行造模研究,揭示了 Lith1 和 Lith2 基因是胆结石易感性增加的主要原因。Wilund 等^[22]利用 C57L/J 小鼠饲以成石饮食研究耐力运动的抗结石效果,为耐力运动训练可预防胆结石的观点提供了证据。

3 DIC 动物模型

DIC 是以胆管细胞损伤为特征,临床表现为黄疸、瘙痒、碱性磷酸酶升高的疾病。最近一项国内多中心流行病学调查^[23]表明,在住院的药物性肝损伤患者中,胆汁淤积型约占 20.31%。

目前关于该病的发病机制及治疗仍存在争议,而动物模型的研究与开发是解决该问题的关键步骤。胆汁酸盐输出泵(bile salt export pump, BSEP)是负责转运胆汁酸盐,定位于肝细胞胆小管侧膜的一类 ATP 结合盒超家族蛋白。BSEP 的抑制原先被认为是一个关键的分子启动事件。药物可通过抑制转运蛋白活性、减少蛋白表达、改变其亚细胞定位、促进其突变,影响胆汁酸的转运功能,从而影响胆汁酸的平衡^[24]。基于以上基础,有学者提出 BSEP(*Abcb11*)^{-/-}小鼠模型有助于阐述 Bsep 扰乱连续影响,同时确定可能的胆汁酸运输系统替代方式。该模型的一个缺点是出现轻度非进行性胆汁淤积,可能是由于小鼠的内源性胆汁酸与人类相比具有更强的亲水性^[25]。Wang 等^[26]提出可以通过给 BSEP^{-/-}小鼠注射额外的胆汁酸来解决以上的问题。

一些常见的肝损伤药物也用于 DIC 模型的制备。氯丙嗪是世界卫生组织治疗精神类疾病的基本药物,但该药物含有许多不良反应,其中包括胆汁淤积。目前氯丙嗪被认为是通过直接抑制 BSEP 来诱发胆汁淤积,同时抑制 BSEP 和 MDR3(肝细胞基底侧转运蛋白)基因的表达,因该研究基于人的 HepaRG 细胞系,缺乏免疫细胞和其他的肝细胞的环境,且该细胞系来源于单一的男性捐赠者,同时细胞系的胆汁酸转运体及胆汁酸合成能力有限,使这个模型有一定的局限^[27]。国内学者^[28]使用氯丙嗪大鼠腹腔内注射造模,大鼠血生化指标符合 DIC 变化,电镜下见扩张的毛细胆管及淤胆样改变,内质网扩张甚至崩解,线粒体肿大,小叶内及汇管区炎性细胞浸润。该模型的缺陷在于:造模组存在死亡情况,药物注射剂量需进一步调整。环孢素 A 用于防止器官移植后的移植排斥反应。在环孢素 A 治疗期间观察到的最严重的副作用是肾脏毒性和肝脏毒性,肝脏毒性多表现为胆汁淤积并伴有低至中度高胆红素血症。与氯丙嗪类似,环孢素 A 处理的啮齿动物也被广泛用作 DIC 的实验模型,考虑该药物影响膜上的转运蛋白及膜的流动性,但关于不同亲水性胆汁酸是否对以上因素有影响无进一步研究^[29]。

4 ICP 动物模型

ICP 是一种 CLD,指是在怀孕的最后 3 个月,零星出现复发性黄疸、瘙痒、胆汁酸水平升高和/或 ALT/

AST 升高,可导致胎儿不良结局,如早产、呼吸窘迫综合征或死胎^[30-31]。ICP 发生的危险因素可能与遗传、环境和激素等有关,但具体发生机制尚不清楚。目前研究最多的是 ABCB4 基因编码 MDR3 蛋白,分布于肝细胞的毛细胆管面,在正常胆汁形成中存在重要作用,在 ICP 中,MDR3 的突变达 15%^[29]。

此外,有研究表明雌激素在 ICP 的发生发展中起重要作用。ICP 多发生在妊娠的最后 3 个月,此时雌激素水平达到最大值,其次与单胎妊娠相比,雌激素水平增加的双胎和三胎妊娠 ICP 发生率更高。有 ICP 家族史或个人史的妇女在接受高剂量雌激素口服避孕药治疗时,更容易出现 ICP^[32]。已经确定的环境因素包括与血浆中硒含量增加有关的 ICP 发病率的增加,这在不同的季节里是不同的^[33]。有研究^[34]发现雌性激素,如雌二醇-17 β -D-葡萄糖醛酸,是动物体内可逆性胆汁淤积的诱导剂。给啮齿动物注射合成的炔雌醇或雌二醇-17 β D-葡萄糖醛酸酯可用于研究 ICP 的基本机制。

5 PBC 动物模型

PBC 是一种针对肝内中小胆管的自身免疫反应引起的缓慢进展的 CLD。该疾病的特点是免疫介导的肝内胆管的破坏和门静脉炎症。肝组织学特征包括早期的门静脉炎症,胆管周围肉芽肿形成,肝门静脉区嗜酸性粒细胞浸润,选择性中小胆管破坏,进而可发展为肝纤维化,甚至肝硬化^[35]。PBC 临床表现多样,可表现为瘙痒、乏力、黄疸、干燥综合征、腹部不适、骨质疏松等,而典型表现为胆汁淤积的血清学表现和抗线粒体抗体(AMA)阳性^[36]。

第一个创建的模拟 PBC 的模型包括带有淋巴增生性(lpr)基因的 MLL/lpr 小鼠^[37]。该基因导致严重的自身免疫性疾病,包括淋巴结病、高丙种球蛋白血症、肾小球肾炎、关节炎和干燥综合征等,且存在一定程度的 AMA 阳性,同时,MLL/lpr 小鼠呈现出类似 PBC 的组织学特征如非化脓性破坏性胆管炎、胆管受损甚至缺失等。在这个模型中,研究者在肝脏中观察到较高水平的 MHC II 类表达,且门静脉中 CD4⁺ T 淋巴细胞占主导位置,考虑以上因素促进自身免疫疾病的发展。该模型存在以下缺陷:(1)AMA 阳性率不高,大约为 50%;(2)MLL/lpr 小鼠会出现与人类 PBC 临床特征不相符的情况,包括血清胆红素、肝酶存在

明显差异;(3) MLL/lpr 小鼠并没有存活到肝硬化阶段,早期大部分因相关的肾病已死亡^[38]。在此基础上,Zhang 等^[38]学者对动物模型进行改进,创建了基于调节性 T 淋巴细胞(Treg)缺陷的 Scurfy 小鼠。Foxp3 基因对 Treg 细胞的发育、维持和功能至关重要,而 Scurfy 小鼠存在该基因突变,导致 Foxp3⁺ Treg 细胞完全消失,进而全身免疫性疾病(如 PBC)的易感性增加。该模型表现出与人类相符的血清学、免疫学和组织病理学特征,但其局限性在于免疫耐受破坏严重,寿命短,不利于对 PBC 发病过程及进展机制的研究^[39]。另外,在白细胞介素 2 受体 α (IL-2R α) 缺乏的基因敲除小鼠中,也取得了类似的疾病表型。IL-2R α ^{-/-} 小鼠表现出门静脉淋巴细胞浸润和细胞因子如 IFN- γ 、TNF- α 、IL-2 的数量增加,与 PBC 早期变化相近,该模型有利于研究其早期发病机制。该模型的缺陷在于没有形成肉芽肿,并未发展成慢性胆汁淤积^[40]。此后又有学者^[41]开发了新的模型,通过引入 Cl⁻/HCO₃⁻ 阴离子交换蛋白 2(AE2) 基因失效的突变,来减少 Treg 细胞的数量。AE2 参与胃质子分泌和分泌素刺激的胆道 HCO₃⁻ 的释放,其紊乱对胆汁酸、胃酸平衡有影响。成熟的 Ae2(a,b)^{-/-} 小鼠显示出与 PBC 相似的免疫和肝胆变化,但同样也有与 PBC 不同的改变,包括胃酸分泌受损和 AMA 偏低。非肥胖糖尿病(NODc3c4) 小鼠可发展出一种类似于 PBC 的自身免疫性胆道疾病,具有相似的免疫学和血清学特征。然而,NODc3c4 小鼠也表现出一些 PBC 的非特异性特征,包括胆道扩张和囊性病变,没有出现慢性损伤性胆管炎。ARE-Del^{-/-} 小鼠的表型与人类 PBC 非常相似,尤其是在组织病理学、免疫学和血清学层面。与其他模型不同,这种小鼠模型是能体现出女性占优势的情况,有益于阐明女性对 PBC 的易感性增加背后的关键机制^[42]。

6 PSC 动物模型

PSC 是一种长期的慢性肝病,以肝内和/或肝外胆管的炎症和纤维化为特征,导致多灶性胆管狭窄、慢性胆汁淤积,严重可进展为终末期肝病。临床上可表现为右上腹痛、瘙痒、疲劳、黄疸、肝肿大和脾肿大。10%~20% 的 PSC 患者会自发地发展成胆管癌^[43]。Mdr2^{-/-} 小鼠是最早用于研究 PSC 的动物模型。Mdr2 基因是人类 MDR3(ABCB4) 基因的同源物,编码

一种转运器,可将磷脂通过管状膜分泌到胆汁中。Mdr2 基因突变可导致胆管上皮细胞损伤、胆管纤维化、硬化性胆管炎,与人类 PSC 组织学病变相似。Mdr2^{-/-} 小鼠模型的主要缺点是无法创建合并 IBD 模型和无法模拟人类 PSC 肝细胞癌的自发发展^[44]。第二个模型是基于肝脏囊性纤维化跨膜转运调节体(CFTR)的功能障碍会引发肝内胆管阻塞、胆汁淤积、胆管增生、肝纤维化的原理而创建的。研究^[45]表明,Cftr^{-/-} 小鼠可发展为渐进性肝病,伴有局灶性胆管炎、漏出的胆汁和胆管增生。但 Cftr^{-/-} 小鼠只表现出肠道表型,其他器官的病变轻微或不^[46],这与以上研究结果不相符。此外,Cftr^{-/-} 小鼠的这种肠道表型更类似于远端肠梗阻综合征和胎粪回流,而不是 PSC 的典型 IBD 表型^[47]。因此,该模型很少被作为 PSC 的实验模型。

红细胞生成性原卟啉症是一种遗传性血红蛋白合成疾病,该疾病带来的铁螯合酶活性降低容易导致胆管上皮损伤而导致胆道纤维化,出现严重的肝脏疾病。铁螯合酶缺陷(fch/fch) 小鼠表现为明显的胆汁淤积表型,血清肝酶增加,胆汁酸盐和原卟啉增加,在 3 个月内发生严重的肝纤维化并发展为肝硬化^[48]。

α -萘基异硫氰酸酯(ANIT)是一种用于制备阳离子芳香族聚氨酯的化学品,它能充分诱导大鼠和小鼠的胆汁淤积,导致胆管上皮细胞损伤,进而导致肝细胞坏死。长期接触 ANIT 会导致出现慢性胆管炎、胆管增生和胆管周围纤维化的情况,以此出现了慢性 ANIT 模型^[49]。3,5-二乙氧基羰基-1,4-二氢吡啶(DDC)是一种致卟啉剂和 δ -氨基酮酸合成酶的强启动剂,会诱发小胆管的阻塞,从而引发胆汁淤积。DDC 诱导的胆汁淤积症以硬化性胆管炎和明显的胆汁纤维化为特征,且伴有导管增生,该动物模型制备简易,较好地模拟 PSC 相关情况,对进一步探索 PSC 发病机制起关键作用^[50]。因此,喂养啮齿动物的 DDC 可用于研究(异物引起的)慢性胆管病。石胆酸是一种有毒的内源性胆汁酸,当存在异常高的浓度时也会诱发胆汁淤积。据此,石胆酸啮齿动物模型可用于研究这种内源性胆汁酸的作用,以及了解胆汁酸在胆汁淤积症发病机制中的潜在作用^[51]。

7 结语

综上所述,胆汁淤积是多种疾病过程中常见的病

理改变,发病机制复杂,至今尚未完全阐明。基于此的模型是研究者探索其发病机制、研究治疗方法的方向。目前动物模型存在一些问题:(1)种内差异。主要集中在造模菌种、动物模型性别以及年龄的差异。同样的菌种在不同品系的动物中出现不同的表型,不同的动物性别以及年龄对于模型制备的敏感性不同。(2)种间差异。包括不同种间胆汁酸成分亲水性不同,胆汁酸转运体的底物特异性不同,代谢解毒存在差异等^[45]。(3)除了种内种间差异之外,以上不同的动物模型各有其特有的缺点。因此,应充分认识每个模型的具体局限性,根据不同的研究目的来选择适当的动物模型,并通过结合多种体内啮齿动物模型来设计新的模型,从而规避局限性,努力建立一个低成本、方便操作、易于重复、病理改变与人类疾病相符的理想动物模型。

利益冲突声明:本文不存在任何利益冲突。

作者贡献声明:张清清负责资料分析,查阅文献,撰写论文;曲颖、蔡晓波负责修改论文;陆伦根负责拟定写作思路,指导撰写文章并最后定稿。

参考文献:

- [1] CAO XX, GAO YQ, ZHANG WH, et al. Cholestasis morbidity rate in first-hospitalized patients with chronic liver disease in Shanghai [J]. *Chin J Hepatol*, 2015, 23(8): 569-573. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-3418.2015.08.003.
曹旬旬,高月求,张文宏,等.基于上海市住院慢性肝病患者胆汁淤积患病率的调查研究[J].*中华肝脏病杂志*, 2015, 23(8): 569-573. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-3418.2015.08.003.
- [2] LU L. Emphasis on the clinical management of cholestatic liver disease[J]. *J Intern Med Concepts Pract*, 2022, 17(1): 1-3. DOI: 10.16138/j.1673-6087.2022.01.001.
陆伦根.重视胆汁淤积性肝病临床管理[J].*内科理论与实践*, 2022, 17(1): 1-3. DOI: 10.16138/j.1673-6087.2022.01.001.
- [3] LU L, Chinese Society of Hepatology and Chinese Medical Association. Guidelines for the management of cholestatic liver diseases (2021)[J]. *J Clin Transl Hepatol*, 2022, 10(4): 757-769. DOI: 10.14218/JCTH.2022.00147.
- [4] RUSSO P, MAGEE JC, BOITNOTT J, et al. Design and validation of the biliary atresia research consortium histologic assessment system for cholestasis in infancy [J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2011, 9(4): 357-362. e2. DOI: 10.1016/j.cgh.2011.01.003.
- [5] GOVINDARAJAN KK. Biliary atresia: Where do we stand now? [J]. *World J Hepatol*, 2016, 8(36): 1593-1601. DOI: 10.4254/wjh.v8.i36.1593.
- [6] DEGTYAREVA A, RAZUMOVSKIY A, KULIKOVA N, et al. Long-term effects of kasai portoenterostomy for biliary atresia treatment in Russia [J]. *Diagnostics (Basel)*, 2020, 10(9): 686. DOI: 10.3390/diagnostics10090686.
- [7] ZHANG SH, LIAO CX, ZHANG CX, et al. Establishment of a mouse model of biliary obstruction and its dynamic observations [J]. *J South Med Univ*, 2008, 28(9): 1579-1581. DOI: 10.3321/j.issn:1673-4254.2008.09.013.
张守华,廖彩仙,张春兴,等.小鼠梗阻性黄疸模型的建立及动态观察[J].*南方医科大学学报*, 2008, 28(9): 1579-1581. DOI: 10.3321/j.issn:1673-4254.2008.09.013.
- [8] GE JT, LI L, WEI YD, et al. Exploration of establishment of a newborn BALB/c mouse model of biliary obstruction [J]. *Acta Lab Anita Sci Sin*, 2013, 21(4): 35-37, 97-98. DOI: 10.3969/j.issn.1005-4847.2013.04.008.
葛军涛,李龙,魏延栋,等.哺乳期BALB/c小鼠胆道梗阻模型的探索[J].*中国实验动物学报*, 2013, 21(4): 35-37, 97-98. DOI: 10.3969/j.issn.1005-4847.2013.04.008.
- [9] KOPP K, HERNANDEZ-JOVER M, ROBERTSON S, et al. A survey of new south wales sheep producer practices and perceptions on lamb mortality and ewe supplementation [J]. *Animals (Basel)*, 2020, 10(9): 1586. DOI: 10.3390/ani10091586.
- [10] HARPER P, PLANT JW, UNGER DB. Congenital biliary atresia and jaundice in lambs and calves [J]. *Aust Vet J*, 1990, 67(1): 18-22. DOI: 10.1111/j.1751-0813.1990.tb07385.x.
- [11] LORENT K, GONG W, KOO KA, et al. Identification of a plant isoflavonoid that causes biliary atresia [J]. *Sci Transl Med*, 2015, 7(286): 286ra67. DOI: 10.1126/scitranslmed.aaa1652.
- [12] YANG YF, DONG R, LIU J, et al. Synthesis study of biliary atresia, a plant isoflavonoid that causes biliary atresia in zebrafish [J]. *Chin J Exp Surg*, 2019, 36(10): 1886-1888. DOI: 10.3760/cma.i.issn.1001-9030.2019.10.044.
杨一凡,董瑞,刘佳,等.合成胆道毒素诱导斑马鱼胆道闭锁模型的建立[J].*中华实验外科杂志*, 2019, 36(10): 1886-1888. DOI: 10.3760/cma.i.issn.1001-9030.2019.10.044.
- [13] MACK CL. The pathogenesis of biliary atresia: evidence for a virus-induced autoimmune disease [J]. *Semin Liver*

- Dis, 2007, 27(3): 233–242. DOI: 10.1055/s-2007-985068.
- [14] RIEPENHOFF – TALTY M, SCHAEKEL K, CLARK HF, et al. Group A rotaviruses produce extrahepatic biliary obstruction in orally inoculated newborn mice [J]. *Pediatr Res*, 1993, 33 (4 Pt 1): 394–399. DOI: 10.1203/00006450-199304000-00016.
- [15] PETERSEN C. Biliary atresia: the animal models [J]. *Semin Pediatr Surg*, 2012, 21(3): 185–191. DOI: 10.1053/j.sempedsurg.2012.05.002.
- [16] ZHAO J, KIM H, HAN Y, et al. Chronological changes in epidemiologic features of patients with gallstones over the last 20 years in a single large-volume Korean center [J]. *Ann Surg Treat Res*, 2019, 97(3): 136–141. DOI: 10.4174/ast.2019.97.3.136.
- [17] NJEZE GE. Gallstones [J]. *Niger J Surg*, 2013, 19(2): 49–55. DOI: 10.4103/1117-6806.119236.
- [18] EVERSON GT. Gallbladder function in gallstone disease [J]. *Gastroenterol Clin North Am*, 1991, 20(1): 85–110.
- [19] TEPPERMAN J, CALDWELL FT, TEPPERMAN HM. Induction of gallstones in mice by feeding a cholesterol-choleic acid containing diet [J]. *Am J Physiol*, 1964, 206(3): 628–634. DOI: 10.1152/ajplegacy.1964.206.3.628.
- [20] FUJIHIRA E, KANETA S, OHSHIMA T. Strain difference in mouse cholelithiasis and the effect of taurine on the gallstone formation in C57BL/C mice [J]. *Biochem Med*, 1978, 19(2): 211–217. DOI: 10.1016/0006-2944(78)90022-4.
- [21] WANG TY, PORTINCASA P, LIU M, et al. Mouse models of gallstone disease [J]. *Curr Opin Gastroenterol*, 2018, 34(2): 59–70. DOI: 10.1097/MOG.0000000000000417.
- [22] WILUND KR, FEENEY LA, TOMAYKO EJ, et al. Endurance exercise training reduces gallstone development in mice [J]. *J Appl Physiol* (1985), 2008, 104(3): 761–765. DOI: 10.1152/jappphysiol.01292.2007.
- [23] SHEN T, LIU Y, SHANG J, et al. Incidence and etiology of drug-induced liver injury in Mainland China [J]. *Gastroenterology*, 2019, 156(8): 2230–2241.e11. DOI: 10.1053/j.gastro.2019.02.002.
- [24] GIJBELS E, VILAS – BOAS V, DEFERM N, et al. Mechanisms and in vitro models of drug-induced cholestasis [J]. *Arch Toxicol*, 2019, 93(5): 1169–1186. DOI: 10.1007/s00204-019-02437-2.
- [25] GOOIJERT KE, HAVINGA R, WOLTERS H, et al. The mechanism of increased biliary lipid secretion in mice with genetic inactivation of bile salt export pump [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2015, 308(5): G450–G457. DOI: 10.1152/ajpgi.00391.2014.
- [26] WANG R, LAM P, LIU L, et al. Severe cholestasis induced by cholic acid feeding in knockout mice of sister of P-glycoprotein [J]. *Hepatology*, 2003, 38(6): 1489–1499. DOI: 10.1016/j.hep.2003.09.037.
- [27] ANTHÉRIEU S, BACHOUR – EL AZZI P, DUMONT J, et al. Oxidative stress plays a major role in chlorpromazine-induced cholestasis in human HepaRG cells [J]. *Hepatology*, 2013, 57(4): 1518–1529. DOI: 10.1002/hep.26160.
- [28] YAO YB, ZHAN J, YU Z. Experimental study on liver injury rats induced by chlorpromazine and paracetamol [J]. *China Pharmacist*, 2007, 10(11): 1085–1087. DOI: 10.3969/j.issn.1008-049X.2007.11.016.
- 姚亚奔, 占俊, 于钟. 氯丙嗪、对乙酰氨基酚致大鼠肝损伤的实验研究 [J]. *中国药师*, 2007, 10(11): 1085–1087. DOI: 10.3969/j.issn.1008-049X.2007.11.016.
- [29] YASUMIBA S, TAZUMA S, OCHI H, et al. Cyclosporin A reduces canalicular membrane fluidity and regulates transporter function in rats [J]. *Biochem J*, 2001, 354(Pt 3): 591–596. DOI: 10.1042/0264-6021.3540591.
- [30] JIANG SE, ZHANG SX, ZHENG XX. Effect of serum pHIGFBP-1 levels on pregnant women and fetuses with intrahepatic cholestasis of pregnancy [J]. *China Med Herald*, 2021, 18(12): 119–122.
- 姜素娥, 张曙萱, 郑晓晓. 血清 pHIGFBP-1 水平对妊娠期肝内胆汁淤积症孕妇及胎儿的影响 [J]. *中国医药导报*, 2021, 18(12): 119–122.
- [31] ZHU GY, LUO LQ, ZHONG XL, et al. Levels of irisin in serum and umbilical vein blood of pregnant women with intrahepatic cholestasis of pregnancy and the relationship with clinical indicators [J/CD]. *Chin J Liver Dis (Electronic Version)*, 2022, 14(1): 58–66. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7380.2022.01.009.
- 朱桂圆, 罗丽琼, 钟雪莉, 等. 妊娠期肝内胆汁淤积症孕妇血清和脐静脉血中鸢尾素水平及与临床指标的相关性 [J/CD]. *中国肝脏病杂志(电子版)*, 2022, 14(1): 58–66. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7380.2022.01.009.
- [32] LAMMERT F, WANG DQ, HILLEBRANDT S, et al. Spontaneous cholecysto- and hepatolithiasis in Mdr2^{-/-} mice: a model for low phospholipid-associated cholelithiasis [J]. *Hepatology*, 2004, 39(1): 117–128. DOI: 10.1002/hep.20022.
- [33] REYES H, BÁEZ ME, GONZÁLEZ MC, et al. Selenium, zinc and copper plasma levels in intrahepatic cholestasis of pregnancy, in normal pregnancies and in healthy individuals, in Chile [J]. *J Hepatol*, 2000, 32(4): 542–549. DOI: 10.1016/s0168-8278(00)80214-7.
- [34] CROCENZI FA, MOTTINO AD, CAO J, et al. Estradiol –

- 17beta - D - glucuronide induces endocytic internalization of Bsep in rats[J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2003, 285 (2) : G449 - G459. DOI: 10.1152/ajpgi.00508.2002.
- [35] SCHEUER PJ. Ludwig Symposium on biliary disorders - part II. Pathologic features and evolution of primary biliary cirrhosis and primary sclerosing cholangitis[J]. *Mayo Clin Proc*, 1998, 73 (2) : 179 - 183. DOI: 10.4065/73.2.179.
- [36] LINDOR KD, GERSHWIN ME, POUPON R, et al. Primary biliary cirrhosis [J]. *Hepatology*, 2009, 50 (1) : 291 - 308. DOI: 10.1002/hep.22906.
- [37] OHBA K, OMAGARI K, MURASE K, et al. A possible mouse model for spontaneous cholangitis: serological and histological characteristics of MRL/lpr mice[J]. *Pathology*, 2002, 34(3) : 250 - 256. DOI: 10.1080/00313020220131318.
- [38] ZHANG W, SHARMA R, JU ST, et al. Deficiency in regulatory T cells results in development of antimicrobial antibodies and autoimmune cholangitis[J]. *Hepatology*, 2009, 49(2) : 545 - 552. DOI: 10.1002/hep.22651.
- [39] HADASCHIK EN, WEI X, LEISS H, et al. Regulatory T cell - deficient scurfy mice develop systemic autoimmune features resembling lupus - like disease [J]. *Arthritis Res Ther*, 2015, 17 (1) : 35. DOI: 10.1186/s13075 - 015 - 0538 - 0.
- [40] AOKI CA, ROIFMAN CM, LIAN ZX, et al. IL - 2 receptor alpha deficiency and features of primary biliary cirrhosis [J]. *J Autoimmun*, 2006, 27 (1) : 50 - 53. DOI: 10.1016/j.jaut.2006.04.005.
- [41] SALAS JT, BANALES JM, SARVIDE S, et al. Ae2a,b - deficient mice develop antimicrobial antibodies and other features resembling primary biliary cirrhosis [J]. *Gastroenterology*, 2008, 134(5) : 1482 - 1493. DOI: 10.1053/j.gastro.2008.02.020.
- [42] VERGANI D, MIELI - VERGANI G. Mouse model of primary biliary cholangitis with a striking female predominance: A new powerful research tool[J]. *Hepatology*, 2016, 64(4) : 1024 - 1027. DOI: 10.1002/hep.28718.
- [43] KARLSEN TH, FOLSERAAS T, THORBURN D, et al. Primary sclerosing cholangitis - a comprehensive review[J]. *J Hepatol*, 2017, 67(6) : 1298 - 1323. DOI: 10.1016/j.jhep.2017.07.022.
- [44] FICKERT P, POLLHEIMER MJ, BEUERS U, et al. Characterization of animal models for primary sclerosing cholangitis (PSC) [J]. *J Hepatol*, 2014, 60 (6) : 1290 - 1303. DOI: 10.1016/j.jhep.2014.02.006.
- [45] DURIE PR, KENT G, PHILLIPS MJ, et al. Characteristic multiorgan pathology of cystic fibrosis in a long - living cystic fibrosis transmembrane regulator knockout murine model[J]. *Am J Pathol*, 2004, 164 (4) : 1481 - 1493. DOI: 10.1016/S0002 - 9440(10)63234 - 8.
- [46] POLLHEIMER MJ, TRAUNER M, FICKERT P. Will we ever model PSC? - "it's hard to be a PSC model!" [J]. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*, 2011, 35 (12) : 792 - 804. DOI: 10.1016/j.clinre.2011.04.014.
- [47] BAZETT M, HONEYMAN L, STEFANOV AN, et al. Cystic fibrosis mouse model - dependent intestinal structure and gut microbiome[J]. *Mamm Genome*, 2015, 26 (5 - 6) : 222 - 234. DOI: 10.1007/s00335 - 015 - 9560 - 4.
- [48] MEERMAN L, KOOPEN NR, BLOKS V, et al. Biliary fibrosis associated with altered bile composition in a mouse model of erythropoietic protoporphyria [J]. *Gastroenterology*, 1999, 117(3) : 696 - 705. DOI: 10.1016/s0016 - 5085(99)70464 - 6.
- [49] YU H, LI Y, XU Z, et al. Identification of potential biomarkers in cholestasis and the therapeutic effect of melatonin by metabolomics, multivariate data and pathway analyses[J]. *Int J Mol Med*, 2018, 42(5) : 2515 - 2526. DOI: 10.3892/ijmm.2018.3859.
- [50] KATSUMI T, TOMITA K, LEUNG PS, et al. Animal models of primary biliary cirrhosis [J]. *Clin Rev Allergy Immunol*, 2015, 48 (2 - 3) : 142 - 153. DOI: 10.1007/s12016 - 015 - 8482 - y.
- [51] FICKERT P, FUCHSBICHLER A, MARSCHALL HU, et al. Lithocholic acid feeding induces segmental bile duct obstruction and destructive cholangitis in mice [J]. *Am J Pathol*, 2006, 168(2) : 410 - 422. DOI: 10.2353/ajpath.2006.050404.

收稿日期:2022 - 10 - 13; 录用日期:2023 - 01 - 13

本文编辑:王亚南

引证本文:ZHANG QQ, QU Y, CAI XB, et al. Research advances in animal models of cholestatic liver disease [J]. *J Clin Hepatol*, 2023, 39(7) : 1754 - 1760.

张清, 曲颖, 蔡晓波, 等. 胆汁淤积性肝病动物模型构建的研究进展[J]. *临床肝胆病杂志*, 2023, 39(7) : 1754 - 1760.