

· 综述 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2024.22.025

网络首发 [https://link.cnki.net/urlid/50.1097.R.20240821.1446.008\(2024-08-21\)](https://link.cnki.net/urlid/50.1097.R.20240821.1446.008(2024-08-21))

# 非酒精性脂肪肝病相关肝细胞癌动物模型的研究进展

曲丽楠<sup>1</sup>,张武剑<sup>2</sup>,高龙英<sup>2</sup>

(1. 哈尔滨医科大学附属第一医院群力院区普外科,哈尔滨 150001;2. 黑龙江中医药大学附属第一医院肛肠科,哈尔滨 150001)

**[摘要]** 随着生活水平的提高,全球至少四分之一的人口患有非酒精性脂肪肝病(NAFLD),被认为是近几年肝细胞癌(HCC)发病率增加的重要病因。找到疾病预防和/或治疗的有效手段在很大程度上依赖于对 NAFLD 到 HCC 发生、发展机制的深入了解,而这需要构建稳定的实验模型来模拟人类非酒精性脂肪肝病相关肝细胞癌(NAFLD-HCC)整个疾病的进展过程。该文总结了目前用于研究 NAFLD-HCC 的动物模型及其优缺点,以期为 NAFLD-HCC 研究的动物模型选择提供依据,加快从基础研究转化到临床研究。

**[关键词]** 非酒精性脂肪肝;肝细胞癌;非酒精性脂肪肝病相关肝细胞癌;动物模型

**[中图分类号]** R735.7 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2024)22-3495-06

## Research advances in animal model of nonalcoholic fatty liver related hepatocellular carcinoma

QU Linan<sup>1</sup>,ZHANG Wujian<sup>2</sup>,GAO Longying<sup>2</sup>

(1. Department of General Surgery, Qunli Branch Hospital, First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang 150001, China; 2. Department of Proctology, First Affiliated Hospital of Heilongjiang University of Traditional Chinese Medicine, Harbin, Heilongjiang 150001, China)

**[Abstract]** With the improvement of living standards, at least a quarter of the global population has non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD), which is considered to be an important cause of the increased incidence of hepatocellular carcinoma (HCC) in recent years. Finding effective means for disease prevention and/or treatment largely relies on deep understanding of the mechanisms of NAFLD to HCC, which needs to construct the stable experimental models to simulate the entire process of disease progression in human NAFLD-HCC. This paper summarizes the animal models which are currently used to study NAFLD-HCC and their advantages and disadvantages, in order to provide a basis for the selection of animal models and accelerate the transition from basic study to clinical study.

**[Key words]** non-alcoholic fatty liver disease; hepatocellular carcinoma; non-alcoholic fatty liver disease-related hepatocellular carcinoma; animal models

非酒精性脂肪肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)包括单纯的肝脂肪病变、非酒精性脂肪肝炎(non-alcoholic steatohepatitis, NASH)和肝硬化,全球 NAFLD 的患病率高达 25%~35%,其已经成为一个主要的公共卫生问题<sup>[1]</sup>。虽然 NAFLD 引起肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)的风险低于病毒性肝炎引起的 HCC,但 NAFLD 对 HCC 发病率和死亡率的贡献在未来几十年可能会上升<sup>[2-3]</sup>。因此,非酒精性脂肪肝病相关肝细胞癌(NAFLD-related HCC, NAFLD-HCC)也逐渐引起了研究者的关注<sup>[4]</sup>。目前 NAFLD-HCC 的发病机制和复杂的病理学机制并没有完全揭示清楚,也缺乏有效的治疗手段,因此迫切需要临床前模型来更好地模拟和研究 NAFLD-HCC 发生、发展过程和机制<sup>[2-3]</sup>。本文综述

NAFLD-HCC 研究中的动物模型,分析各自的优缺点,以期加快从基础科学过渡到临床研究。

### 1 概述

NAFLD-HCC 动物模型包括饮食诱发模型、药物诱发模型及基因修饰模型。饮食诱发有高脂肪饮食(high fat diet, HFD)、蛋氨酸-胆碱缺乏饮食(methionine-choline-deficient diet, MCD)、胆碱缺乏饮食(choline-deficient diet, CD)、胆碱缺乏性氨基酸饮食(choline-deficient L-amino acid-defined diet, CDAA)、西方饮食(western diet, WD)、高果糖饮食等,药物诱发通常使用链脲佐菌素(streptozotocin, STZ)、四氯化碳(carbon tetrachloride, CCl<sub>4</sub>)、二乙基亚硝胺(diethylnitrosamine, DEN)等,基因修饰主要通过基因手段如基因敲除、基因突变、转基因,使动物模型易于罹患

NAFLD-HCC。上述造模方法既可以独立使用,又可以联合使用,以减少造模时间,提高模型成功率。

## 2 饮食诱导的 NAFLD-HCC 动物模型

仅用一种类型的特殊饮食喂食诱导的 NAFLD-HCC 动物模型有明显的局限性。单纯喂食 HFD 的 C57BL/6 小鼠只会出现单纯的肝脂肪病变,不会出现 NASH 样病变;而喂食 MCD 或 CD 的小鼠虽然能诱发 NASH 样病理,但由于小鼠的代谢表型与人类相反,不能诱发肥胖、高血糖症和高甘油三酯血症等代谢综合征的特征,MCD 会引起快速而严重的体重减轻(从喂食 MCD 开始减轻超过 40%),以及血清葡萄糖、甘油三酯和胆固醇降低。单纯喂食 HFD、MCD 或 CD 几乎很难诱发 NAFLD-HCC,HFD 喂食小鼠的 HCC 发生率仅为 2.5%,而且需要 12 个月以上的时间<sup>[5]</sup>。但是多种特殊饮食的联合喂食能大大增加 HCC 的发生率,缩短造模时间。

### 2.1 胆碱缺乏的高脂肪饮食(choline-deficient high-fat diet,CD-HFD)

CD 喂食可在啮齿动物中诱导 NAFLD,而不会出现 MCD 喂食时的重度体重减轻,但单纯的 CD 和 MCD 都不能诱导 NAFLD 进展为 HCC。而 CD-HFD 喂食的小鼠不仅能出现肝脂肪变性、代谢综合征、肥胖和 NASH 样病变(氧化应激、肝细胞气球样变、炎症细胞浸润等),并且 HCC 发生率可以增加至 25%<sup>[5]</sup>。

### 2.2 胆碱缺乏的氨基酸高脂肪饮食(choline-deficient, L-amino acid-defined,high-fat diet,CDA-HFD)

CDA 可以用精确等量的左旋氨基酸代替蛋白质,喂食该饲料的 C57BL/6 小鼠在 3 周龄内出现肝脂肪变性和炎症,6 周龄开始发生肝纤维化,并在 21 周龄左右发展为轻度至中度可逆的肝纤维化,36 周龄时 HCC 发生率较低(25%~40%)<sup>[6-7]</sup>。但 CDA 联合 HFD 喂食的情况下,C57BL/6 小鼠不仅发生了类似 NASH 特征的肝脂肪变性、肝损伤和纤维化,而且发展为 HCC 的速度大大加快,肿瘤发生率也明显增高,CDA-HFD 喂食 9 个月后 HCC 发生率为 100%<sup>[8-9]</sup>。

### 2.3 高脂肪联合高碳水化合物饮食

对 C57BL/6 小鼠和 129S1/SvImK 小鼠杂交后代 B6/129 小鼠喂食高脂肪联合高碳水化合物饮食,小鼠肝脏在 8 周龄内发生脂肪变性,24 周龄发生肝炎和肝纤维化,在 52 周龄发生 HCC,成瘤率高达 90%,并且具有代谢综合征的所有特征,非常适合用于预防性早期治疗和早期诊断的相关研究,这可能是 NAFLD-HCC 理想的临床前模型。但是这种小鼠的遗传背景独特,很难与其他基因修饰小鼠杂交<sup>[10]</sup>。

## 3 饮食联合化学药物诱导的 NAFLD-HCC 动物模型

### 3.1 CCl<sub>4</sub> 联合 CDAA

比起单纯 CDAA,CDAA 联合低剂量腹腔注射

CCl<sub>4</sub> 能够诱导更明显的肝脂肪变性、小叶炎症和纤维化,36 周龄后 HCC 的发生率由 40%升高到 100%,并且肝脏肿瘤平均直径更大<sup>[7]</sup>。

### 3.2 CCl<sub>4</sub> 联合 WD

单纯用 WD 喂食也能诱导 NAFLD-HCC,但 HCC 发生率较低,只有 30%,进展速度较慢。WD 联合每周低剂量腹腔注射 CCl<sub>4</sub> 能诱导 NASH,并且快速进展为肝广泛纤维化,24 周龄时小鼠 HCC 发生率为 100%。这个模型能很好地复制人类脂肪肝的进展阶段,从单纯脂肪变性到炎症、纤维化和癌症,而且模型中基因表达和免疫异常的通路与人类疾病非常相似,但只伴有中度胰岛素抵抗,没有肥胖等代谢综合征的特征。该模型的简单性和可重复性使其成为研究疾病的发病机制和测试新的治疗方法的理想模型<sup>[11]</sup>。

### 3.3 STZ 联合 HFD

在雄性 C57BL/6 小鼠出生 2~5 d 内给予腹腔注射低剂量(100 mg)STZ,破坏部分胰腺 β 细胞,导致小鼠低胰岛素血症、高血糖和糖尿病,4 周龄时予以 HFD 喂食,小鼠肝脏逐渐出现脂肪变性、小叶炎症、纤维化,20 周龄时最终发展为 HCC,造模成功率达到 90%以上,为代谢紊乱与 NASH 和 HCC 之间的因果关系提供了依据<sup>[12]</sup>。该模型造模时间短,能模拟人类 NAFLD-HCC 的大部分特征,是比较常用的动物模型<sup>[13]</sup>。

### 3.4 DEN 联合 CD-HFD

对 3 周龄的雄性 C57BL/6 小鼠腹腔注射 DEN 后同时给予 CD-HFD 喂食,12 周龄后小鼠出现了肥胖和胰岛素抵抗,甘油三酯水平在 8 周龄时达到峰值随后下降,大部分小鼠发生 NASH 和肝纤维化,所有小鼠在 20 周龄后开始发生 HCC。该模型建立非常简单,进展为肿瘤的速度快,并具有 NASH 的大多数关键特征。因此,也是 NAFLD-HCC 相关研究较好的动物模型<sup>[5,14-16]</sup>。

### 3.5 DEN 联合 HFD

DEN 联合 HFD 诱导的 NAFLD-HCC 成瘤率比较高,它们有多种组合方案,不同方案的给药剂量和时机不同。常用的为在雄性小鼠 2 周龄时给予腹腔注射 DEN(25 mg/kg),第 6~36 周龄给予 HFD 喂食,36 周龄时肝脏成瘤率为 100%。该模型成瘤率高,时间短,被广泛应用<sup>[15-17]</sup>。或者从 6 周龄开始先给予 HFD 喂食,在 16 周龄时给予腹腔注射 DEN(80 mg/kg),继续 HFD 喂食,到 50 周龄时肝脏成瘤率为 100%。单独 HFD 喂食不能诱导 NASH,HFD 与 DEN 联合也不能模拟 NASH 进展为 HCC 的过程,尽管如此,该模型首次证明了肥胖和单纯的脂肪变性通过增加白细胞介素(interleukin,IL)-6 和肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor,TNF)表达来增加 HCC 的风险<sup>[18]</sup>。

## 4 基因工程构建的 NAFLD-HCC 动物模型

近年来,一些特殊基因背景的小鼠也成为研究热点,转致癌基因、抑癌基因敲除、瘦素基因突变等手段都有利于加快 NAFLD 进展为 HCC。

### 4.1 基因敲除

#### 4.1.1 磷酸酶和紧张素同源物 (hepatocyte-specific phosphatase and tensin homolog, PTEN)<sup>-/-</sup> 小鼠

PTEN 是一种肿瘤抑制因子,在多种人类癌症中存在抑癌基因 PTEN 突变。PTEN 对于防止肝脏中的肿瘤发生很重要,PTEN 敲除会导致增殖、抗凋亡和肿瘤的发生。肝脏特异性 PTEN<sup>-/-</sup> 小鼠在 10 周龄时可观察到肝脂肪变性,在 40~44 周龄时 66% 的雄性小鼠和 30% 的雌性小鼠肝脏出现肿瘤,在 74~78 周龄时 83% 的雄性小鼠和 50% 的雌性小鼠发生 HCC<sup>[19-20]</sup>。因此,该模型不仅有助于了解 NASH 的发病机制,也有助于了解 NASH 向 HCC 进展的过程<sup>[21]</sup>。

#### 4.1.2 巨噬细胞凋亡抑制剂 (apoptosis inhibitor of macrophage, AIM)<sup>-/-</sup> 小鼠 + HFD

在 HFD(60% kcal)的诱导下 AIM<sup>-/-</sup> 小鼠肝脏中脂质储存加速,发生肝脂肪变性的时间缩短,细胞内脂肪粒更肥大,更容易发展成 NAFLD-HCC,虽然 HFD 也引起了 AIM<sup>-/-</sup> 小鼠肥胖,但内脏中的脂肪储存却明显减少,这与 NAFLD 患者内脏脂肪储存增加相反。喂食 HFD 1 年后,100% 的 AIM<sup>-/-</sup> 小鼠表现出了 HCC 结节<sup>[22-23]</sup>。同样,喂食高果糖饮食的 AIM<sup>-/-</sup> 小鼠 HCC 发生率也较高(约 70%)<sup>[24]</sup>。

#### 4.1.3 蛋氨酸腺苷转移酶 1A (methionine adenosyl-transferase 1A, MAT1A)<sup>-/-</sup> 小鼠

肝脏通过合成和分泌极低密度脂蛋白将甘油三酯从肝内输出,运送到外周组织,从而维持血浆脂质稳态。MAT1A 是小鼠极低密度脂蛋白合成所必需的, MAT1A<sup>-/-</sup> 小鼠体内极低密度脂蛋白分泌和血浆脂质稳态受损,导致脂肪在肝脏中聚集,3 月龄 MAT1A<sup>-/-</sup> 小鼠在喂食 CD 时较对照组更容易发生 NAFLD,在 8 月龄时自发地发展为 NASH,并在 18 月龄后发展为 HCC<sup>[25-26]</sup>。

#### 4.1.4 黑皮质素 4 (melanocortin receptor 4, Mc4r)<sup>-/-</sup> 小鼠 + HFD

Mc4r 能调控动物体重, Mc4r<sup>-/-</sup> 小鼠具有暴食性肥胖的特征,但其体内瘦素水平正常。通过喂食 HFD,小鼠肝脏能快速由肝脂肪变性进展为 NASH,在 20 周龄后发生肝纤维化,喂食 1 年后发生 HCC<sup>[27]</sup>。

#### 4.1.5 酰基辅酶 A 氧化酶 (acyl-coenzyme A oxidase, AOX)<sup>-/-</sup> 小鼠

AOX 是长链脂肪酸过氧化物酶体  $\beta$ -氧化的限速酶, AOX<sup>-/-</sup> 小鼠存在长链脂肪酸的过氧化物酶体  $\beta$ -氧化缺陷,会导致脂肪在肝脏中堆积引起脂肪肝,并进一步进展为脂肪性肝炎。AOX<sup>-/-</sup> 小鼠在 7 d 龄时

开始出现肝细胞的微泡性脂肪变化,到 30 d 龄时 AOX<sup>-/-</sup> 小鼠肝脏显示肝实质细胞脂肪变性的严重程度增加,并伴有局灶性炎症细胞浸润<sup>[28]</sup>。AOX<sup>-/-</sup> 小鼠在 60 周龄时发生肝细胞腺瘤和 HCC<sup>[29]</sup>。

### 4.1.6 昼夜节律相关基因敲除小鼠

时钟基因在代谢稳态中起着关键作用,并保护机体避免发生 NAFLD<sup>[30]</sup>。而破坏昼夜节律能导致 NAFLD 的发生和进展<sup>[31]</sup>。不需要依赖特殊饲料喂养或基因突变,慢性昼夜节律失调足以破坏肝脏节律,并诱导野生型小鼠自发发展成 NAFLD-HCC。这些维持节律相关的基因敲除也会导致 NAFLD-HCC,昼夜节律相关基因包括 Clock、Period(Per1、Per2 和 Per3)和 Bmal1,以及它们的下游靶点(Cry1 和 Cry2)构成一个负反馈回路,产生昼夜节律性。Cry1<sup>-/-</sup> + Cry2<sup>-/-</sup> 小鼠自发发生 NAFLD-HCC 为 11.7%, Per<sup>-/-</sup> + Per2<sup>-/-</sup> 小鼠自发发生 NAFLD-HCC 为 12.5%。

### 4.2 转基因

#### 4.2.1 MUP-尿激酶纤溶酶原激活物 (urokinase-type plasminogen activator, uPA) 转基因小鼠 + HFD

MUP-uPA 转基因小鼠肝细胞中特异性表达大量的 uPA,因此经历短暂的内质网应激,从 6 周龄时开始喂食 HFD,32 周龄时肝脏表面出现小肿瘤结节, HCC 发生率为 16.6%,在 40 周龄时出现大肿瘤结节, HCC 发生率为 50.0%<sup>[32-33]</sup>。

#### 4.2.2 MYC 转基因小鼠 + MCD/CDAA

从 6 周龄开始,给予特异致 HCC 基因 MYC 转基因小鼠喂食 MCD,10 周龄时肝组织镜下表现肿瘤异型性改变,14 周龄时肝脏上出现明显的肿瘤结节<sup>[34]</sup>。

#### 4.2.3 前折叠素 RPB5 相互作用因子 (unconventional prefoldin RPB5 interactor, URI) 和 IL-17 转基因小鼠 + HFD/CD-HFD

营养过剩会引起肝脏非常规的 URI 表达增高,其会导致肝细胞 DNA 损伤,损伤的肝细胞通过 Th17 淋巴细胞和 IL-17A 引发炎症反应。炎症引起白色脂肪组织中性粒细胞浸润,介导胰岛素抵抗和脂肪酸释放,以甘油三酯的形式储存在肝脏中,导致 NASH。通过转基因手段使 URI 或 IL-17 基因过表达,联合 HFD 或 CD-HFD 喂养,其杂合子和纯合子的 HCC 发生率分别为 40% 和 100%<sup>[35]</sup>。

### 4.3 基因突变

#### 4.3.1 脂肪肝 Shionogi (fatty liver Shionogi, FLS) 小鼠

源自远交系 ddN 群体的近交系 FLS 小鼠自出生起即在肝脏中蓄积甘油三酯<sup>[36]</sup>,其既不出现暴饮暴食,也不出现肥胖,在不喂食 HFD 的情况下自发形成脂肪性肝炎,10 月龄雄性小鼠发生肝细胞腺瘤和/或 HCC<sup>[37]</sup>。



#### 4.3.2 db/db 小鼠或 ob/ob 小鼠+DEN

ob/ob 小鼠是瘦素基因点突变的小鼠,缺乏瘦素,它们具有功能性的瘦素受体,但会产生断裂和无功能的瘦素。给予自由饮食,ob/ob 小鼠出现肥胖、胰岛素抵抗、高血糖和肝脂肪变性,并且快速进展为 NAFLD,20 周龄时发生 NASH,但人类极少会缺乏瘦素,所以该模型 NAFLD 发病机制与人类不同。db/db 小鼠是瘦素受体基因点突变的小鼠,其体内瘦素受体活力缺失,或者不能表达瘦素受体,从而对瘦素抵抗。db/db 小鼠是良好的 NAFLD 模型,但不能自发发生 NASH,需要给予 MCD 或反式脂肪饮食形成第 2 次打击诱发 NASH,可作为典型的 NASH 模型用于药物筛选评估<sup>[38]</sup>。

ob/ob<sup>-/-</sup>小鼠和 db/db<sup>-/-</sup>小鼠是普遍使用的肥胖遗传模型,它们都不会发生 HCC,但在叠加使用致癌物质 DEN 时更容易发展成 NAFLD-HCC。2 周龄 ob/ob 雄性小鼠注射 DEN (25 mg/kg),36 周龄时 HCC 发生率为 100%<sup>[18]</sup>。在 db/db 小鼠出生 13~15 d 时腹腔注射 DEN,7 月龄时 HCC 发生率(100%)比对照组(40%)更高,肿瘤结节数量更多,肿瘤体积更大<sup>[39]</sup>。

## 5 小 结

由于越来越多的 HCC 发病可能源于 NAFLD,其正成为 HCC 最重要的危险因素<sup>[40]</sup>,因此,NAFLD-HCC 成为日益严重的健康问题。然而,由于 NAFLD 的病理生理学比较复杂,找到一个能完全模拟从 NAFLD 到 NASH 再到肝纤维化最后进展为 HCC 整个发病过程的理想动物模型比较困难。本文对各种动物模型进行综述发现每种模型都有相应的优缺点,这些模型模拟了人类 NAFLD-HCC 的不同疾病特征,最近的研究主要集中在建立新的 NAFLD-HCC 小鼠模型上<sup>[41]</sup>。不同的研究(机制、免疫学、药物开发研究)可以根据研究目标需求选择最合适的模型,此外,体内模型与体外实验结合可以作为一种可行的方法来更好支持肝脏疾病的机制探索,以及新的诊疗手段的发展。

## 参考文献

- [1] YOUNOSSI Z M, GOLABI P, PAIK J M, et al. The global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) and nonalcoholic steatohepatitis (NASH): a systematic review [J]. *Hepatology*, 2023, 77(4): 1335-1347.
- [2] MOTTA B M, MASARONE M, TORRE P, et al. From non-alcoholic steatohepatitis (NASH) to hepatocellular carcinoma (HCC): epidemiology, incidence, predictions, risk factors, and prevention [J]. *Cancers (Basel)*, 2023, 15 (22): 5458.
- [3] FANG J, CELTON-MORIZUR S, DESDOUETS C. NAFLD-related HCC: focus on the latest relevant preclinical models [J]. *Cancers (Basel)*, 2023, 15(14): 3723.
- [4] TOVO C V, DE MATTOS A Z, CORAL G P, et al. NAFLD-related hepatocellular carcinoma: the growing challenge [J]. *Hepatology*, 2023, 77 (1): 323-338.
- [5] WOLF M J, ADILI A, PIOTROWITZ K, et al. Metabolic activation of intrahepatic CD8<sup>+</sup> T cells and NKT cells causes nonalcoholic steatohepatitis and liver cancer via cross-talk with hepatocytes [J]. *Cancer Cell*, 2014, 26 (4): 549-564.
- [6] DENDA A, KITAYAMA W, KISHIDA H, et al. Expression of inducible nitric oxide (NO) synthase but not prevention by its gene ablation of hepatocarcinogenesis with fibrosis caused by a choline-deficient, L-amino acid-defined diet in rats and mice [J]. *Nitric Oxide*, 2007, 16 (1): 164-176.
- [7] DE MINICIS S, AGOSTINELLI L, RYCHLICKI C, et al. HCC development is associated to peripheral insulin resistance in a mouse model of NASH [J]. *PLoS One*, 2014, 9(5): e97136.
- [8] IKAWA -YOSHIDA A, MATSUO S, KATO A, et al. Hepatocellular carcinoma in a mouse model fed a choline-deficient, L-amino aciddefined, high-fat diet [J]. *Int J Exp Pathol*, 2017, 98(4): 221-233.
- [9] DENDA A, KITAYAMA W, KISHIDA H, et al. Development of hepatocellular adenomas and carcinomas associated with fibrosis in C57BL/6J male mice given a choline-deficient, L-amino acid-defined diet [J]. *Jpn J Cancer Res*, 2002, 93 (2): 125-132.
- [10] ASGHARPOUR A, CAZANAVE S C, PACANA T, et al. A diet-induced animal model of non-alcoholic fatty liver disease and hepatocellular cancer [J]. *J Hepatol*, 2016, 65(3): 579-588.
- [11] TSUCHIDA T, LEE Y A, FUJIWARA N, et al. A simple diet-and chemical-induced murine NASH model with rapid progression of steatohepatitis, fibrosis and liver cancer [J]. *J Hepatol*, 2018, 69(2): 385-395.

- [12] FUJII M, SHIBAZAKI Y, WAKAMATSU K, et al. A murine model for non-alcoholic steatohepatitis showing evidence of association between diabetes and hepatocellular carcinoma [J]. *Med Mol Morphol*, 2013, 46(3):141-152.
- [13] LI T, LIN X, SHEN B, et al. Akkermansia muciniphila suppressing nonalcoholic steatohepatitis associated tumorigenesis through CXCR6 natural killer T cells [J]. *Front Immunol*, 2022, 13:1047570.
- [14] KISHIDA N, MATSUDA S, ITANO O, et al. Development of a novel mouse model of hepatocellular carcinoma with nonalcoholic steatohepatitis using a high-fat, choline-deficient diet and intraperitoneal injection of diethylnitrosamine [J]. *BMC Gastroenterol*, 2016, 16(1):61.
- [15] PAN Y, CHEN H, ZHANG X, et al. METTL3 drives NAFLD-related hepatocellular carcinoma and is a therapeutic target for boosting immunotherapy [J]. *Cell Rep Med*, 2023, 4(8):101144.
- [16] SONG Q, ZHANG X, LIU W, et al. Bifidobacterium pseudolongum-generated acetate suppresses non-alcoholic fatty liver disease-associated hepatocellular carcinoma [J]. *J Hepatol*, 2023, 79(6):1352-1365.
- [17] WU H, ZHONG Z, WANG A, et al. LncRNA FTX represses the progression of non-alcoholic fatty liver disease to hepatocellular carcinoma via regulating the M1/M2 polarization of Kupffer cells [J]. *Cancer Cell Int*, 2020, 20:266.
- [18] PARK E J, LEE J H, YU G Y, et al. Dietary and genetic obesity promote liver inflammation and tumorigenesis by enhancing IL-6 and TNF expression [J]. *Cell*, 2010, 140(2):197-208.
- [19] HORIE Y, SUZUKI A, KATAOKA E, et al. Hepatocyte-specific Pten deficiency results in steatohepatitis and hepatocellular carcinomas [J]. *J Clin Invest*, 2004, 113(12):1774-1783.
- [20] WATANABE S, HORIE Y, SUZUKI A. Hepatocyte-specific Pten-deficient mice as a novel model for nonalcoholic steatohepatitis and hepatocellular carcinoma [J]. *Hepatol Res*, 2005, 33(2):161-166.
- [21] WATANABE S, HORIE Y, KATAOKA E, et al. Non-alcoholic steatohepatitis and hepatocellular carcinoma: lessons from hepatocyte-specific phosphatase and tensin homolog (PTEN)-deficient mice [J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2007, 22(Suppl. 1):96-100.
- [22] MAEHARA N, ARAI S, MORI M, et al. Circulating AIM prevents hepatocellular carcinoma through complement activation [J]. *Cell Rep*, 2014, 9(1):61-74.
- [23] KOMATSU G, NONOMURA T, SASAKI M, et al. AIM-deficient mouse fed a high-trans fat, high-cholesterol diet: a new animal model for nonalcoholic fatty liver disease [J]. *Exp Anim*, 2019, 68(2):147-158.
- [24] OZAWA T, MAEHARA N, KAI T, et al. Dietary fructose-induced hepatocellular carcinoma development manifested in mice lacking apoptosis inhibitor of macrophage (AIM) [J]. *Genes Cells*, 2016, 21(12):1320-1332.
- [25] CANO A, BUQUÉ X, MARTÍNEZ-UNÁ M, et al. Methionine adenosyltransferase 1A gene deletion disrupts hepatic very low-density lipoprotein assembly in mice [J]. *Hepatology*, 2011, 54(6):1975-1986.
- [26] LU S C, ALVAREZ L, HUANG Z Z, et al. Methionine adenosyltransferase 1A knockout mice are predisposed to liver injury and exhibit increased expression of genes involved in proliferation [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2001, 98(10):5560-5565.
- [27] ITOH M, SUGANAMI T, NAKAGAWA N, et al. Melanocortin 4 receptor-deficient mice as a novel mouse model of nonalcoholic steatohepatitis [J]. *Am J Pathol*, 2011, 179(5):2454-2463.
- [28] COOK W S, JAIN S, JIA Y, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor alpha-responsive genes induced in the newborn but not prenatal liver of peroxisomal fatty acyl-CoA oxidase null mice [J]. *Exp Cell Res*, 2001, 268(1):70-76.
- [29] LONDON R M, GEORGE J. Pathogenesis of NASH: animal models [J]. *Clin Liver Dis*, 2007, 11(1):55-74.
- [30] TUREK F W, JOSHUA C, KOHSAKA A, et al. Obesity and metabolic syndrome in circadian Clock mutant mice [J]. *Science*, 2005, 308(5):1043-1045.
- [31] SHETTY A, HSU J W, MANKA P P, et al.

- Role of the circadian clock in the metabolic syndrome and nonalcoholic fatty liver disease [J]. *Dig Dis Sci*, 2018, 63(12): 3187-3206.
- [32] NAKAGAWA H, UMEMURA A, TANIGUCHI K, et al. ER stress cooperates with hypernutrition to trigger TNF-dependent spontaneous HCC development [J]. *Cancer Cell*, 2014, 26(3): 331-343.
- [33] ANSTEE Q M, REEVES H L, KOTSILITI E, et al. From NASH to HCC: current concepts and future challenges [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2019, 16(7): 411-428.
- [34] MA C, KESARWALA A H, EGGERT T, et al. NAFLD causes selective CD4<sup>+</sup> T lymphocyte loss and promotes hepatocarcinogenesis [J]. *Nature*, 2016, 531(6): 253-257.
- [35] GOMES A L, TEIJEIRO A, BURÉN S, et al. Metabolic inflammation-associated IL-17A causes non-alcoholic steatohepatitis and hepatocellular carcinoma [J]. *Cancer Cell*, 2016, 30(1): 161-175.
- [36] SOGA M, KISHIMOTO Y, KAWAGUCHI J, et al. The FLS mouse: a new inbred strain with spontaneous fatty liver [J]. *Lab Anim Sci*, 1999, 49(3): 269-275.
- [37] SOGA M, KISHIMOTO Y, KAWAMURA Y, et al. Spontaneous development of hepatocellular carcinomas in the FLS mice with hereditary fatty liver [J]. *Cancer Lett*, 2003, 196(1): 43-48.
- [38] WANG B, CHANDRASEKERA P, PIPPIN J. Leptin and leptin receptor-deficient rodent models: relevance for human type 2 diabetes [J]. *Curr Diabetes Rev*, 2014, 10(2): 131-145.
- [39] SHEN J, TSOI H, LIANG Q, et al. Oncogenic mutations and dysregulated pathways in obesity-associated hepatocellular carcinoma [J]. *Oncogene*, 2016, 35(49): 6271-6280.
- [40] XU K, WU T, XIA P, et al. Alternative splicing: a bridge connecting NAFLD and HCC [J]. *Trends Mol Med*, 2023, 29(10): 859-872.
- [41] LAU J K, ZHANG X, YU J. Animal models of non-alcoholic fatty liver disease: current perspectives and recent advances [J]. *J Pathol*, 2017, 241(1): 36-44.
- (收稿日期: 2024-01-23 修回日期: 2024-08-13)  
(编辑: 唐 璞)
- 
- (上接第 3494 页)
- inflammasome signaling pathway [J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 594071.
- [33] KIM E J, PARK S Y, BAEK S E, et al. HMGB1 increases IL-1 $\beta$  production in vascular smooth muscle cells via NLRP3 inflammasome [J]. *Front Physiol*, 2018, 9: 313.
- [34] LEI Y, ZHOU R, SUN X, et al. The pannexin-1 channel regulates pyroptosis through autophagy in a mouse model of sepsis-associated encephalopathy [J]. *Ann Transl Med*, 2021, 9(24): 1802.
- [35] WANG W, CAO Z, LIANG H, et al. Effect of low-dose ethanol on NLRP3 inflammasome in diabetes-induced lung injury [J]. *Exp Anim*, 2021, 70(3): 364-371.
- [36] 叶蕾, 叶贤伟. 铁死亡中自噬相关信号通路的作用及与疾病关系的研究进展 [J]. *重庆医学*, 2023, 52(22): 3499-3502.
- [37] CHEN B, CHEN Z, LIU M, et al. Inhibition of neuronal ferroptosis in the acute phase of intracerebral hemorrhage shows long-term cerebroprotective effects [J]. *Brain Res Bull*, 2019, 153: 122-132.
- [38] FEI W, CHEN D, TANG H, et al. Targeted GSH-exhausting and hydroxyl radical self-producing manganese-silica nanomissiles for MRI guided ferroptotic cancer therapy [J]. *Nanoscale*, 2020, 12(32): 16738-16754.
- [39] LIU P, FENG Y, LI H, et al. Ferrostatin-1 alleviates lipopolysaccharide-induced acute lung injury via inhibiting ferroptosis [J]. *Cell Mol Biol Lett*, 2020, 25: 10.
- [40] CAO Z, QIN H, HUANG Y, et al. Crosstalk of pyroptosis, ferroptosis, and mitochondrial aldehyde dehydrogenase 2-related mechanisms in sepsis-induced lung injury in a mouse model [J]. *Bioengineered*, 2022, 13(3): 4810-4820.
- (收稿日期: 2023-12-06 修回日期: 2024-07-06)  
(编辑: 张芄捷)