

· 论著 ·

PAI-1 引起 2 型糖尿病合并 NAFLD 小鼠 肝脏炎症反应和纤维化的机制研究

沈友辉 杜斌

天津市泰达医院内窥镜科 300457

通信作者:沈友辉, Email: shenyouhui@sina.com

【摘要】 目的 探讨纤溶酶原激活物抑制剂-1 (PAI-1) 对 2 型糖尿病 (T2DM) 合并非酒精性脂肪性肝病 (NAFLD) 小鼠肝脏脂质沉积、炎症反应、纤维化等的影响。**方法** 以 C57BL/KSJ-Lep^{db} 雄性小鼠作为 T2DM 合并 NAFLD 组 (db/db 组), 同周龄 C57BKS db/m 雄性小鼠作为对照组 (db/m 组)。采用苏木素-伊红染色、油红 O 染色等方法检测小鼠肝组织切片脂质沉积; 采用 ELISA 检测肝组织甘油三酯含量。以小鼠正常肝细胞 NCTC1469 作为研究对象, 分为 5 组: 对照组给予 25 mmol/L 葡萄糖 (NG 组)、高渗对照组给予 25 mmol/L 葡萄糖 + 25 mmol/L 甘露醇 (HMA 组)、高糖高脂组给予 50 mmol/L 葡萄糖 + 0.75 mmol/L 棕榈酸 (HG + PA 组)、高糖高脂 + RNA 干扰对照组 (HG + PA + Si-NC 组) 用 NC siRNA 瞬时转染细胞并给予高糖高脂干预、高糖高脂 + PAI-1 沉默组 (HG + PA + Si-PAI-1 组) 用 PAI-1 的 siRNA 瞬时转染细胞并给予高糖高脂干预。采用实时定量 PCR 和 Western 印迹方法检测炎症因子单核细胞趋化蛋白-1 (MCP-1)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)、肝纤维化相关指标转化生长因子- β (TGF- β)、 α -平滑肌肌动蛋白 (α -SMA)、I 型胶原蛋白 (Col I) 以及 PAI-1 的表达情况。**结果** 与 db/m 组相比, db/db 组小鼠肝组织中出现明显脂质聚集和纤维组织增生, 甘油三酯含量增加, 且 MCP-1、IL-1 β 、TGF- β 、 α -SMA、Col I 和 PAI-1 的 mRNA 和蛋白水平均明显上调 (均 $P < 0.05$)。与 NG 组细胞相比, HG + PA 组 MCP-1、IL-1 β 、TGF- β 、 α -SMA、Col I、PAI-1 表达量均明显上调 (均 $P < 0.05$); 与 HG + PA 组相比, HG + PA + si-PAI-1 组 PAI-1、MCP-1、IL-1 β 、TGF- β 、 α -SMA 和 Col I 等表达量均明显下调 (均 $P < 0.05$)。**结论** T2DM 合并 NAFLD 小鼠模型肝组织中 PAI-1 表达明显增加, 抑制 PAI-1 表达可明显改善肝组织炎症反应和纤维化水平。

【关键词】 纤溶酶原激活物抑制剂-1; 2 型糖尿病; 非酒精性脂肪性肝病; 纤维化; 炎症

DOI: 10.3760/cma.j.cn121383-20200414-04038

Research of the effects of PAI-1 on inflammation and fibrosis in type 2 diabetic mice with NAFLD

Shen Youhui, Du Bin. Department of Endoscopy, Tianjin TEDA Hospital, Tianjin 300457, China

Corresponding author: Shen Youhui, Email: shenyouhui@sina.com

【Abstract】 Objective To investigate the effects of plasminogen activator inhibitor 1 (PAI-1) on the hepatic lipid deposition, inflammatory reaction and fibrosis of type 2 diabetic mice with nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). **Methods** C57BL/KSJ lep^{db} mice were used as the model of T2DM combined with NAFLD (db/db group) and c57BKS db/m mice of the same age as the control group (db/m group). Hematoxylin eosin staining and oil red O staining were used to detect lipid droplets of the hepatic tissue sections of mice. NCTC1469 normal liver cells were divided into five groups: the control group (NG) treated with 25 mmol/L glucose in the medium, the HMA group treated with 25 mmol/L glucose and 25 mmol/L mannitol, the HG + PA group treated with 50 mmol/L glucose and 0.75 mmol/L PA, HG + PA + si-NC group treated with 50 mmol/L glucose and 0.75 mmol/L PA after the cells transiently transfected with NC siRNA, HG + PA + Si-PAI-1 group treated with 50 mmol/L glucose and 0.75 mmol/L PA after the cells transiently transfected with siRNA targeting PAI-1. The expression levels of MCP-1, IL-1 β , TGF- β , α -SMA, Col I and PAI-1 were detected by real-time quantitative PCR and Western blotting. **Results** Compared to the db/m mice, there were more accumulated lipid and fibroplasia in the hepatic tissues of db/db mice, and the mRNA and protein levels of MCP-1, IL-1 β , TGF- β , α -SMA, Col I and PAI-1 were increased significantly

($P < 0.05$). Compared to the control group, the expression levels of MCP-1, IL-1 β , TGF- β , α -SMA, Col I and PAI-1 were also upregulated in HG + PA group ($P < 0.05$). Compared to HG + PA group, the expression levels of PAI-1, MCP-1, IL-1 β , TGF- β , α -SMA and Col I were down-regulated in HG + PA + si-PAI-1 group ($P < 0.05$). **Conclusion** The expression of PAI-1 was increased in T2DM mice combined with NAFLD. Inhibition of PAI-1 can significantly improve the inflammation and fibrosis.

【Key words】 Plasminogen activator inhibitor 1; Type 2 diabetes mellitus; Nonalcoholic fatty liver disease; fibrosis; inflammation

DOI:10.3760/cma.j.cn121383-20200414-04038

肝纤维化是全世界慢性肝病死亡的主要原因^[1]。肝纤维化状态如长期持续则可能最终导致肝硬化、肝癌和死亡^[2]。目前针对病因不明的肝纤维化,如非酒精性脂肪性肝炎(NASH)引起的肝纤维化,尚无有效治疗方法。NASH是非酒精性脂肪性肝病(NAFLD)病程演变过程中的一个重要阶段。NAFLD是以排除酒精和其他已知肝损伤因素导致的肝细胞内脂肪过度沉积为主要临床病理表现的综合征,3%~5%的NAFLD患者存在NASH^[3]。2型糖尿病(T2DM)患者合并NAFLD的患病率可达75%^[4],当合并NAFLD的患者病情进展到NASH时,T2DM的预后一般较差^[5]。

纤溶酶原激活物抑制剂(PAI)属于纤维蛋白溶解系统,可以阻止纤溶酶原激活,减少纤溶酶产生,继而抑制细胞外基质(ECM)成分降解,在ECM沉积过程中发挥重要作用。PAI家族分为3种亚型(PAI-1、PAI-2和PAI-3),以PAI-1的作用最强。PAI-1在多种组织中均具有促进纤维化的功能。研究表明,NAFLD患者血浆和肝脏的PAI-1水平均明显升高。PAI-1被越来越多地认为是代谢性疾病的媒介,包括肥胖、糖尿病和NAFLD^[6]。本研究探讨PAI-1对T2DM合并NAFLD小鼠动物模型肝脏炎症反应和纤维化的作用,并以小鼠正常肝细胞NCTC1469为研究对象,对PAI-1的作用机制进行分析,为T2DM合并NAFLD的发病机制提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物分组及动物模型制备 C57BL/KSJ-Lepdb(db/db)小鼠是比较常用的T2DM小鼠模型^[7]。8周龄db/db雄性小鼠6只,平均体重(38.01 ± 0.64)g;同周龄C57BKS db/m雄性小鼠6只,平均体重(23.24 ± 0.71)g,均购自南京大学模式动物研究所。饲养环境温度为24~26℃,相对湿度为50%~60%,光照时间约为12h。保证小鼠摄食、饮水不受限制,普通饲料喂养2周后,根据实验

设计进行干预。

1.2 细胞培养及分组 小鼠正常肝细胞系NCTC1469购自北京北纳创联生物技术研究院,用含10%胎牛血清和1%双抗的DMEM-H培养基进行培养,置于37℃、5%CO₂的培养箱中。细胞实验分为正常对照组(25 mmol/L葡萄糖,NG组)、高糖+高脂组(50 mmol/L葡萄糖+0.75 mmol/L棕榈酸, HG+PA组)、高糖+高脂+RNA干扰对照组(HG+PA+si-NC组)、高糖+高脂+PAI-1沉默组(HG+PA+si-PAI-1组),另设甘露醇组作为渗透压对照组。

1.3 主要仪器及试剂 小鼠肝组织甘油三酯含量检测试剂盒、BCA蛋白浓度定量试剂盒均购自北京Solarbio公司;油红O染液购自南京建成生物科技有限公司;棕榈酸(palmitic acid, PA)购自美国sigma公司;胎牛血清和DMEM-H培养基均为美国HyClone公司产品;Trizol购自美国Invitrogen公司;逆转录试剂盒、PCR试剂盒购自北京全式金生物公司;PCR引物由北京擎科新业生物技术有限公司合成;抗单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)抗体(Cat. no: ab25124)和抗白细胞介素-1 β (IL-1 β)抗体(Cat. no: ab9722)购自美国Abcam公司;抗PAI-1抗体(Cat. no: 13801-1-AP)、抗转化生长因子- β (TGF- β)抗体(Cat. no: 21898-1-AP)、抗 α -SMA抗体(Cat. no: 55135-1-AP)、抗Col-I抗体(Cat. no: 14695-1-AP)和抗Tubulin抗体(Cat. no: 11224-1-AP)购自美国Proteintech公司,HRP标记的羊抗兔二抗购自中国三箭生物技术公司。

1.4 方法

1.4.1 小鼠肝脏病理检查 各组小鼠部分肝组织标本采用4%多聚甲醛固定、石蜡包埋,肝组织石蜡切片用苏木素-伊红染色以及天狼星红染色,光镜下观察肝组织脂滴形成和纤维化。肝组织冰冻切片进行油红O染色,光镜下观察肝组织脂滴形成。

1.4.2 小鼠肝组织甘油三酯含量测定 取各组小鼠 100 mg 肝组织加入 0.1 mol/L PBS (pH 7.4) 1 ml, 充分匀浆, 一部分按照试剂盒说明书检测肝脏中甘油三酯含量, 另一部分匀浆液用于测定总蛋白含量, 用于校正甘油三酯含量。

1.4.3 细胞油红 O 染色 用冷 PBS 将处理过的细胞轻轻清洗两次后, 在室温下用 4% 多聚甲醛固定 10 min。细胞用去离子水洗涤 2 次后, 并在室温下用 60% 油红 O 染色 5 min。

1.4.4 RT-PCR 法检测基因表达 用 Trizol 法提取总 RNA, 然后每个样本取 1 μ g 总 RNA 用 cDNA 逆转录试剂盒逆转录成 cDNA。应用 SGExcel Fast SYBR Mixture kits 进行 qRT-PCR 检测。内参基因为 β -微管蛋白 (β -tubulin)。各个基因引物序列见表 1。

表 1 基因的引物序列

基因名	引物序列
<i>F4/80</i>	F: 5'-TCTGGGAGCTTACGATGGA-3' R: 5'-GAATCCCGCAATGATGGCAC-3'
<i>MCP-1</i>	F: 5'-CCACTCACCTGCTGCTACTCAT-3' R: 5'-TGGTGATCCTCTTGACTCTC-3'
<i>IL-1β</i>	F: 5'-GCCACCTTTTGACAGTGATGAG-3' R: 5'-AAGGTCCACGGGAAAGACAC-3'
<i>TGF-β</i>	F: 5'-TGGCCAGATCTGTCCAAAC-3' R: 5'-CATAGATGGCGTTGTTGCGG-3'
<i>Col- I</i>	F: 5'-TTCTCCTGGCAAAGACGGAC-3' R: 5'-CTCAAGGTCACGGTCACGAA-3'
α -SMA	F: 5'-CCTTCGTGACTACTGCCGAG-3' R: 5'-ATAGGTGGTTTCGTGGATGC-3'
<i>PAI-1</i>	F: 5'-CCCCTTTCTTAGAGCCAGC-3' R: 5'-GGTAGGGCAGTTCCACGAC-3'
β -tubulin	F: 5'-TCTACAGCTGTTCCGACGTC-3' R: 5'-TGCTCGTCGCTGATTACCTC-3'

注: MCP-1, 单核细胞趋化蛋白-1; IL-1 β , 白细胞介素-1 β ; TGF- β , 转化生长因子- β ; Col-I, I型胶原蛋白; α -SMA, α -平滑肌肌动蛋白; PAI-1, 纤溶酶原激活物抑制剂-1; β -tubulin, β -微管蛋白; 斜体代表基因

1.4.5 小干扰 RNA (siRNA) 实验抑制 PAI-1 表达 NCTC1469 细胞在 6 孔板中培养, 至 75% 汇合。按照 Lipo2000 转染试剂盒 (Thermo, cat#11668027) 说明书进行细胞转染。转染 6 h 后更换培养基, 24 h 后收取细胞。实验重复 3 次。PAI-1 的 siRNA 和阴性对照 siRNA 购自上海吉玛基因。

1.4.6 Western 印迹检测蛋白表达 用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒检测各组组织和细胞蛋白浓度。每组样品的等量蛋白 (20 μ g) 进行 12% SDS-PAGE 电泳、转膜后, 5% 脱脂牛奶室温封闭 1 h, 分别加入抗 tubulin 抗体 (1:2 000)、抗 MCP-1 抗体 (1:2 000)、抗 IL-1 β 抗体 (1:1 000)、抗 PAI-1 抗体 (1:500)、抗 TGF- β 抗体 (1:1 000)、抗 α -SMA 抗体 (1:2 000) 和

抗 Col- I 抗体 (1:2 000), 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜。次日用 PBST 洗膜后, 加入相应二抗 (1:5 000) 室温孵育 1 h, 用 ECL 化学液检测蛋白条带。

1.5 统计学处理 用 SPSS17.0 统计软件进行统计学分析。计量资料以均数 \pm 标准差表示。多组间比较采用单因素方差分析 (One-Way ANOVA), 两组间均数比较采用 *t* 检验。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

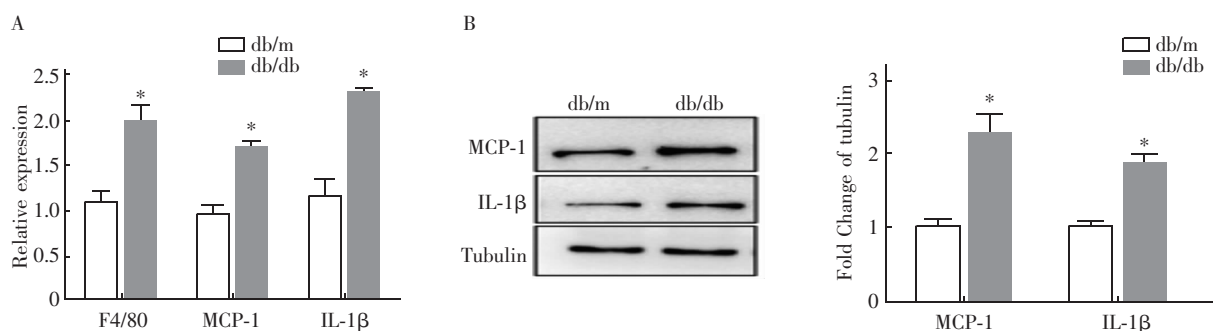
2.1 db/db 组与 db/m 组小鼠肝组织形态学比较 小鼠肝组织切片的苏木素-伊红染色 (HE 染色) 和天狼星红染色结果如图 1A (封 3) 所示, db/m 组小鼠肝小叶结构清楚、肝细胞排列整齐、条索明显、未见纤维组织增生; db/db 组小鼠肝小叶结构比较紊乱, 可见肝细胞脂肪变性、坏死, 纤维组织增生。油红 O 染色显示, 与 db/m 组相比, db/db 组小鼠肝组织中脂质聚集明显增加 (图 1A, 封 3)、甘油三酯含量明显增加 (图 1B, 封 3), 且差异具有统计学意义。

2.2 db/db 与 db/m 组小鼠肝组织炎症水平比较 db/db 组肝组织中炎症因子 MCP-1 和 IL-1 β 的 mRNA (图 2A) 和蛋白水平 (图 2B) 均高于 db/m 组, 且差异具有统计学意义。

2.3 db/db 与 db/m 组小鼠肝组织纤维化比较 α -SMA、Col I 和 TGF- β 通常被认为是肝纤维化常用的生物标志物。本研究显示, db/db 组小鼠肝组织 α -SMA、Col I、TGF- β 和 PAI-1 的 mRNA (图 3A) 和蛋白 (图 3B) 的表达均明显高于 db/m 组, 且差异具有统计学意义。

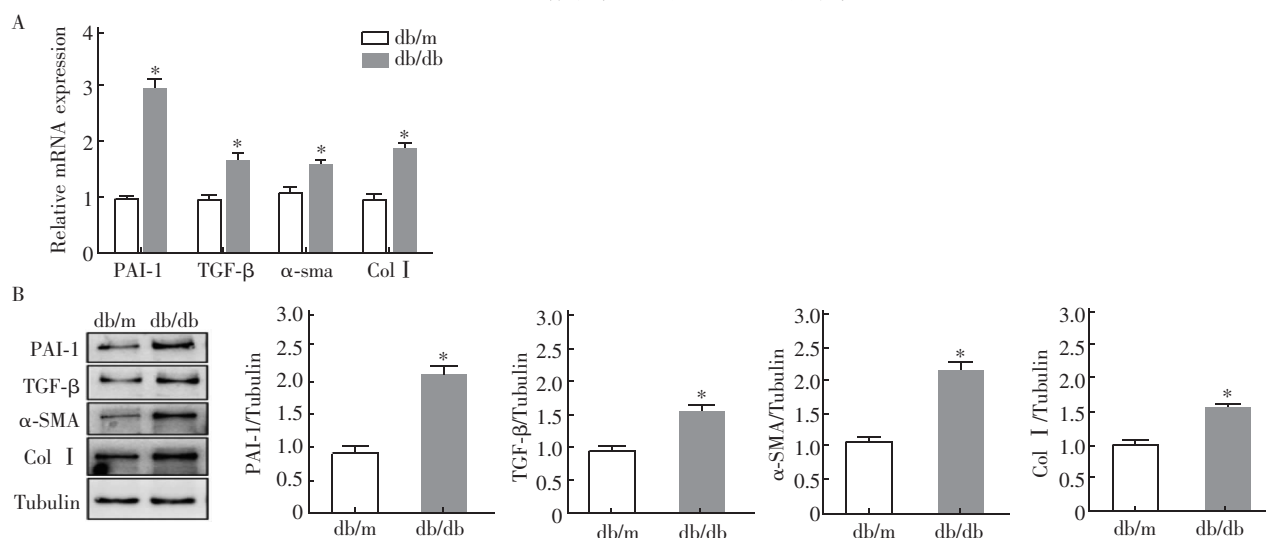
2.4 PAI-1 调节高糖高脂状态下的肝细胞炎症反应^[6] 体外高糖和棕榈酸诱导小鼠正常肝细胞 NCTC1469 可以作为高糖高脂诱导相关表型实验的肝细胞模型。与 NG 组相比, HG + PA 组 PAI-1、MCP-1 和 IL-1 β 的 mRNA 及蛋白水平均上调。HG + PA 组和 HG + PA + siNC 组 PAI-1、MCP-1 和 IL-1 β 的 mRNA 及蛋白水平无明显差异。与 HG + PA + si-NC 组相比, HG + PA + si-PAI-1 组 PAI-1、MCP-1 和 IL-1 β 的 mRNA 及蛋白表达均下调 (图 4A、4B、4C, 封 3)。同时, 与 NG 组相比, HG + PA 组细胞内脂质聚集现象也呈现出与 PAI-1 表达相同的趋势 (图 4D, 封 3)。高浓度的甘露醇并不会诱导 NCTC1469 细胞脂质增加 (图 4E, 封 3)。

2.5 PAI-1 调节高糖高脂状态下肝细胞纤维化 与 NG 组相比, HG + PA 组 TGF- β 、 α -SMA 和 Col I 的 mRNA 及蛋白表达上调; 与 HG + PA + si-NC 组相比, HG + PA + si-PAI-1 组 TGF- β 、 α -SMA 和 Col I 的 mRNA 及蛋白表达量下调 (图 5)。



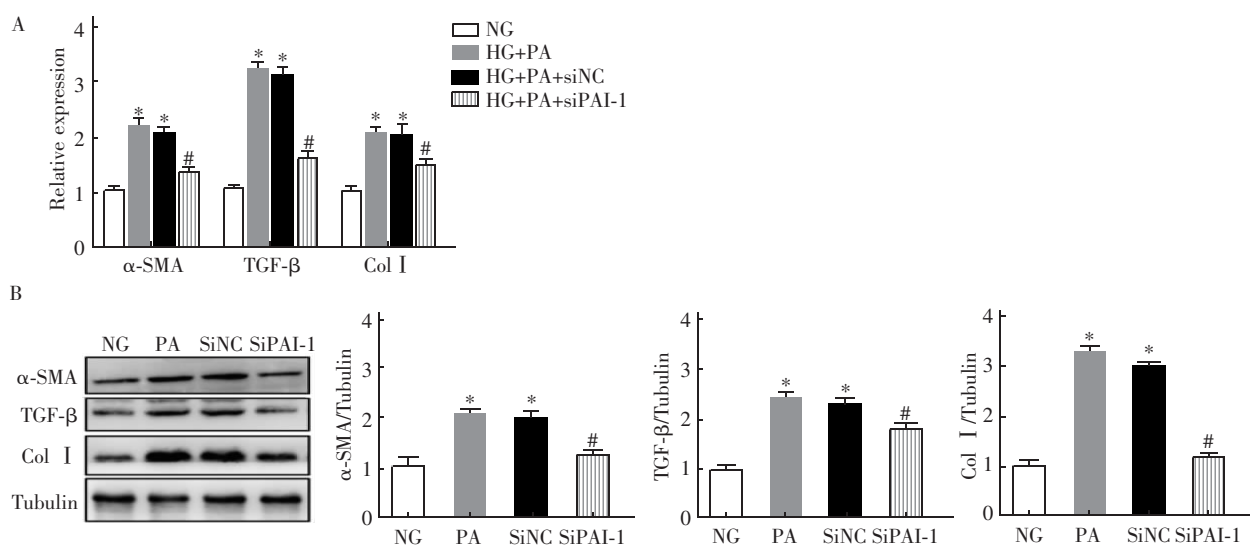
注: 图 A, qRT-PCR 检测肝组织炎症因子的表达; 图 B, Western 印迹检测肝组织炎症因子的表达; 与 db/m 组相比, * $P < 0.05$; Relative expression, 表达对比; MCP-1, 单核细胞趋化蛋白-1; IL-1β, 白细胞介素-1β; Tubulin, 微管蛋白; Fold change of tubulin, 微管蛋白的倍数变化; db/m, 对照组; db/db, 2 型糖尿病合并非酒精性脂肪性肝病组

图 2 T2DM 合并 NAFLD 小鼠肝组织炎症水平



注: 图 A, qRT-PCR 检测肝组织纤维化相关因子; 图 B, Western 印迹检测肝组织纤维化相关因子; 与 db/m 组相比, * $P < 0.05$; Relative mRNA expression, mRNA 的表达; PAI-1, 纤溶酶原激活物抑制剂-1; TGF-β, 转化生长因子-β; α-SMA, α-平滑肌肌动蛋白; Col I, I 型胶原蛋白; Tubulin, 微管蛋白; db/m, 对照组; db/db, 2 型糖尿病合并非酒精性脂肪性肝病组

图 3 T2DM 合并 NAFLD 小鼠肝组织纤维化水平



注: 图 A, qRT-PCR 检测 TGF-β、α-SMA 和 Col I mRNA 表达; 图 B, Western 印迹检测 TGF-β、α-SMA 和 Col I 蛋白表达; 与 NG 组相比, * $P < 0.05$; 与 HG+PA 组相比, # $P < 0.05$; Relative expression, 表达; α-SMA, α-平滑肌肌动蛋白; TGF-β, 转化生长因子-β; Col I, I 型胶原蛋白; Tubulin, 微管蛋白; NG, 正常对照组; HG+PA, 高糖+高脂组; HG+PA+si-NC, 高糖+高脂+RNA 干扰对照组; HG+PA+si-PAI-1, 高糖+高脂+PAI-1 沉默组

图 5 不同组细胞 TGF-β、α-SMA 和 Col I mRNA 及蛋白表达的比较

3 讨论

NAFLD 是一种进行性肝病,其特征为脂质代谢失调和慢性炎症,最终导致纤维化^[8]。未经治疗的 NAFLD 可能会发展为 NASH、肝硬化。NAFLD 常会伴有胰岛素抵抗、T2DM 和心血管疾病等,美国 NAFLD 患者并发肥胖和糖尿病的患病率高达 70% ~ 90%。NAFLD 相关肝硬化将成为美国肝移植治疗的主要原因^[9-11]。NAFLD 早期通常无明显症状,加之目前早期检测方法的局限性,早期诊断仍是临床期待解决的一个挑战。因此,进一步阐明 NAFLD 进展的分子机制将有助于 NAFLD 的早期诊断和临床治疗。

PAI-1 是 50 kDa 单链糖蛋白,属丝氨酸蛋白酶抑制剂成员。PAI-1 广为人知的功能是作为组织型和尿激酶型纤溶酶原激活物(分别为 t-PA 和 u-PA)的内源性抑制剂^[12]。正常生理条件下,PAI-1 血浆和组织浓度极低;但在病理条件下 PAI-1 血浆和组织浓度均会升高。PAI-1 活性升高是 NAFLD、代谢综合征、心血管疾病及组织纤维化等的危险因素,且 PAI-1 在代谢紊乱条件下介导肝脂肪变性^[13-15]。动物实验表明 PAI-1 活化与肥胖诱导的胰岛素抵抗相关^[16-17]。PAI-1 敲除小鼠体内葡萄糖耐受不良、胰岛素抵抗及高脂血症等情况均有明显改善。因此,我们推测 PAI-1 可能在 T2DM 合并 NAFLD 中有重要作用。

在肝组织纤维化进程中,致病性 ECM 的产生主要来自活化的肝星状细胞(hepatic stellate cells, HSCs)。随着肝脏组织纤维化进展,原来静止的 HSCs 被活化并增殖后,迁移至肝组织受损部位,从而导致 α -SMA 阳性细胞数目增多,肝组织中 α -SMA 表达上调。因此 α -SMA 常被作为抗纤维化治疗效果的指标之一,当 α -SMA 表达下调时,说明药物发挥了较好的抗纤维化作用^[18]。另一方面,Col I 是肝脏组织中的主要胶原蛋白。肝脏组织中 Col I 的表达水平是反应肝脏胶原早期合成情况的理想指标,且与胶原蛋白降解无关。Col I 表达增加,说明肝脏胶原合成增加,ECM 沉积增多及肝硬化进展;反之,Col I 表达减少,则肝脏胶原合成被抑制,ECM 沉积减少,肝纤维化将可能被逆转^[19]。TGF- β 是目前已知能够促进肝脏组织纤维化作用最强的细胞因子,也已成为肝纤维化的重要治疗靶点之一^[20]。在人星状细胞细胞 LX-2 中,TGF- β 可以诱导 PAI-1 分泌增加^[21]。MCP-1 具有加重肝组织炎症发生和纤维化

损伤的作用,IL-1 β 是另一个致纤维化发生的重要炎症因子^[22]。

本研究中,我们检测了 T2DM 合并 NAFLD 小鼠模型肝组织中 PAI-1 表达以及肝组织纤维化和炎症指标,并以小鼠正常肝细胞 NCTC1469 为研究对象,抑制 PAI-1 表达,进一步观察对纤维化和炎症变化指标的影响。本研究结果显示,在 T2DM 合并 NAFLD 小鼠模型肝组织中 PAI-1 表达明显上调,且同时观察到纤维化相关 TGF- β 、 α -SMA、Col I 和炎症因子 MCP-1、IL-1 β 等表达上调的现象,提示 T2DM 合并 NAFLD 小鼠模型肝组织中 PAI-1 表达上调与炎症反应和纤维化相关。在体外培养细胞中下调 PAI-1 表达后,TGF- β 、 α -SMA、Col I、MCP-1、IL-1 β 等的 mRNA 和蛋白水平上均显著下调。总之,本研究体内、外实验结果表明 PAI-1 参与了肝组织炎症反应和纤维化进程,下调 PAI-1 表达水平可以减轻肝纤维化,改善肝功能。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Campana L, Iredale JP. Regression of liver fibrosis[J]. *Semin Liver Dis*, 2017, 37(1):1-10. DOI:10.1055/s-0036-1597816.
- [2] Aydın MM, Akçalı KC. Liver fibrosis[J]. *Turk J Gastroenterol*, 2018, 29(1):14-21. DOI:10.5152/tjg.2018.17330.
- [3] Sunny NE, Bril F, Cusi K. Mitochondrial adaptation in nonalcoholic fatty liver disease: novel mechanisms and treatment strategies[J]. *Trends Endocrinol Meta*, 2017, 28(4):250-260. DOI:10.1016/j.tem.2016.11.006.
- [4] Adams LA, Anstee QM, Tilg H, et al. Non-alcoholic fatty liver disease and its relationship with cardiovascular disease and other extrahepatic diseases[J]. *Gut*, 2017, 66(6):1138-1153. DOI:10.1136/gutjnl-2017-313884.
- [5] Kim D, Tourous A, Kim WR. Nonalcoholic fatty liver disease and metabolic syndrome[J]. *Clin Liver Dis*, 2018, 22(1):133-140. DOI:10.1016/j.cld.2017.08.010.
- [6] Henkel AS, Khan SS, Olivares S, et al. Inhibition of plasminogen activator inhibitor 1 attenuates hepatic steatosis but does not prevent progressive nonalcoholic steatohepatitis in mice[J]. *Hepatology*, 2018, 2(12):1479-1492. DOI:10.1002/hep4.1259.
- [7] Honda Y, Imajo K, Kato T, et al. The selective SGLT2 inhibitor ipragliflozin has a therapeutic effect on nonalcoholic steatohepatitis in mice[J]. *PLoS One*, 2016, 11(1):e0146337. DOI:10.1371/journal.pone.0146337.
- [8] Williams CD, Stengel J, Asike MI, et al. Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis among a

- largely middle-aged population utilizing ultrasound and liver biopsy: a prospective study [J]. *Gastroenterology*, 2011, 140 (1): 124-131. DOI: 10.1053/j.gastro.2010.09.038.
- [9] Rinella ME. Nonalcoholic fatty liver disease: a systematic review [J]. *JAMA*, 2015, 313 (22): 2263-2273. DOI: 10.1001/jama.2015.5370.
- [10] Idowu MO, Chhatrala R, Siddiqui MB, et al. De novo hepatic steatosis drives atherogenic risk in liver transplantation recipients [J]. *Liver Transpl*, 2015, 21 (11): 1395-1402. DOI: 10.1002/lt.24223.
- [11] Hannah WN Jr, Harrison SA. Nonalcoholic fatty liver disease and elastography: incremental advances but work still to be done [J]. *Hepatology*, 2016, 63 (6): 1762-1764. DOI: 10.1002/hep.28504.
- [12] Ghosh AK, Vaughan DE. PAI-1 in tissue fibrosis [J]. *J Cell Physiol*, 2012, 227 (2): 493-507. DOI: 10.1002/jcp.22783.
- [13] Ha H, Oh EY, Lee HB. The role of plasminogen activator inhibitor 1 in renal and cardiovascular diseases [J]. *Nat Rev Nephrol*, 2009, 5 (4): 203-211. DOI: 10.1038/nrneph.2009.15.
- [14] Cesari M, Pahor M, Incalzi RA. Plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1): a key factor linking fibrinolysis and age-related subclinical and clinical conditions [J]. *Cardiovasc Ther*, 2010, 28 (5): e72-e91. DOI: 10.1111/j.1755-5922.2010.00171.x.
- [15] Verrijken A, Francque S, Mertens I, et al. Prothrombotic factors in histologically proven nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis [J]. *Hepatology*, 2014, 59 (1): 121-129. DOI: 10.1002/hep.26510.
- [16] Tamura Y, Kawao N, Yano M, et al. Plasminogen activator inhibitor-1 deficiency ameliorates insulin resistance and hyperlipidemia but not bone loss in obese female mice [J]. *Endocrinology*, 2014, 155 (5): 1708-1717. DOI: 10.1210/en.2013-1888.
- [17] Kanuri G, Spruss A, Wagnerberger S, et al. Fructose-induced steatosis in mice: role of plasminogen activator inhibitor-1, microsomal triglyceride transfer protein and NKT cells [J]. *Lab Invest*, 2011, 91 (6): 885-895. DOI: 10.1038/labinvest.2011.44.
- [18] Bala S, Csak T, Saha B, et al. The pro-inflammatory effects of miR-155 promote liver fibrosis and alcohol-induced steatohepatitis [J]. *J Hepatol*, 2016, 64 (6): 1378-1387. DOI: 10.1016/j.jhep.2016.01.035.
- [19] Wang T, Li Y, Chen J, et al. TGF- β 1/Smad3 signaling promotes collagen synthesis in pulmonary artery smooth muscle by down-regulating miR-29b [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2018, 11 (12): 5592-5601.
- [20] George J, Roulot D, Kotliansky VE, et al. In vivo inhibition of rat stellate cell activations by soluble transforming growth factor beta type II receptor: a potential new therapy for hepatic fibrosis [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96 (22): 12719-12724. DOI: 10.1073/pnas.96.22.12719.
- [21] Zhao C, Chen W, Yang L, et al. PPARgamma agonists prevent TGFbeta1/Smad3-signaling in human hepatic stellate cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, 350 (2): 385 - 391. DOI: 10.1016/j.bbrc.2006.09.069.
- [22] Woo CW, Siow YL, O K. Homocysteine induces monocyte chemoattractant protein-1 expression in hepatocytes mediated via activator protein-1 activation [J]. *J Biol Chem*, 2008, 283 (3): 1282-1292. DOI: 10.1074/jbc.M707886200.

(收稿日期: 2020-04-14)

(本文编辑: 王连弟)

• 消息 •

2021 年《国际内分泌代谢杂志》征稿暨征订启事

《国际内分泌代谢杂志》原刊名《国外医学内分泌学分册》，是由中华人民共和国国家卫生健康委员会主管，中华医学会、天津医科大学主办的国内外公开发行的国家级医学学术期刊，是中华医学会系列杂志之一。本刊为中文科技核心期刊。主要栏目设有述评、专家论坛、临床热点话题、综述、论著、报道与交流、病例报告、争鸣园地、新药介绍、外刊拾贝、会议精粹等。

除综述类文章，本刊还欢迎具有独创性和包含重大研究成果的论著文章。已在国外核心期刊发表的研究成果可以中文形式在本刊二次发表，以促进国内研究人员对该研究工作的深入了解。另外，如果您有内分泌方面的常见但易于误诊、误治或疑难、罕见病例，也欢迎您投稿。

《国际内分泌代谢杂志》中国标准连续出版物号: CN 12-1383/R, ISSN 1673-4157。

本杂志印刷版为大 16 开 72 页，双月刊，逢单月 20 日出版，每册定价 25 元，全年 6 期，共计 150 元。国外代号: W86。国内邮发代号: 6-53，全国邮局均可订阅，也可直接向编辑部订阅。

地址: 300070 天津市和平区气象台路 22 号天津医科大学院内《国际内分泌代谢杂志》编辑部

电话: 022-59562146

本刊编辑部