

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2022.09.002

# 肝血窦内皮细胞介导的他莫昔芬对非酒精性脂肪性肝炎治疗作用的转录组学分析\*

房志强<sup>1</sup> 阮柏<sup>2</sup> 刘晶晶<sup>1</sup> 许皓<sup>1</sup> 王琳<sup>1Δ</sup>

(1 空军军医大学第一附属医院肝胆外科 陕西 西安 710032; 2 空军军医大学航空航天医学系 陕西 西安 710032)

**摘要 目的:**探究他莫昔芬对饮食诱导的非酒精性脂肪性肝炎小鼠肝血窦内皮细胞的代谢、炎症及纤维化等通路基因表达的影响。**方法:**采用 8 周龄的雄性 C57BL/6 小鼠,给予 MCD 饲料喂养 6 周后,每天腹腔注射一次他莫昔芬(100 mg/kg),持续 5 天。分离并收集肝血窦内皮细胞,加入 1 mL TRIzol 试剂吹打至沉淀消失,放入 -80℃ 冰箱保存。样本后续送至基迪奥生物公司进行转录组测序并在 Omicsmart 平台进行生物信息学分析。部分生物信息学分析数据来自已经发表的文献并通过 Omicshare 分析平台分析。**结果:**转录组测序发现,差异基因 KEGG 和 GO 分析发现差异基因在免疫和炎症通路富集。通过分析肝脏内皮特异性代谢基因表达,我们发现他莫昔芬治疗逆转了 NASH 过程中部分代谢基因的下调,以及 NASH 过程中 CCL2、CXCL2、CXCL5 和 VCAM-1 等促炎基因和 Col1a1、Col1a2、Col3a1、Tgfb2、和 Timp1 等促纤维化基因的表达上调。同时,GSEA 分析也显示他莫昔芬抑制了炎症和纤维化通路的表达。**结论:**他莫昔芬可能通过逆转非酒精性脂肪性肝炎对小鼠肝血窦内皮细胞代谢基因的改变以及炎症及纤维化相关基因的上调来治疗非酒精性脂肪性肝炎。

**关键词:**他莫昔芬;非酒精性脂肪性肝炎;肝血窦内皮细胞

**中图分类号:**R-33;R575.5 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2022)09-1609-05

## Transcriptome Analysis of the LSECs-mediated Therapeutic Effect of Tamoxifen on Nonalcoholic Steatohepatitis\*

FANG Zhi-qiang<sup>1</sup>, RUAN Ba<sup>2</sup>, LIU Jing-jing<sup>1</sup>, XU Hao<sup>1</sup>, WANG Lin<sup>1Δ</sup>

(1 Hepatobiliary Surgery, First Affiliated Hospital, Air Force Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710032, China;

2 Department of Aerospace Medicine, Air Force Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710032, China)

**ABSTRACT Objective:** To determine the effect of tamoxifen on the metabolism, inflammation and fibrosis-related gene expression of LSECs in a diet-induced NASH mouse model. **Methods:** 8-week-old male C57BL/6 mice were purchased from Charles River. Then these mice were fed MCD diets for 6 weeks and administrated tamoxifen intraperitoneally (100 mg/kg/day) for five consecutive days. The next day, these mice were anesthetized and LSECs were isolated and suspended by 1 ml TRIzol Reagent and placed at -80℃ refrigerator. The samples were then sent to Genedeno Biotechnology for RNA sequencing and subsequent bioinformatic analysis were performed on Omicsmart platform. We also reanalyzed others' sequencing data to support our evidence using Omicshare tools. **Results:** Through analyzing our own RNA-seq data and reanalyzing Xiong X's RAN-seq data, combined with liver ECs-specific metabolic gene sets derived from Joanna Kalucka et al, we found that compared to normal LSECs, inflammation and fibrosis-related gene expression was upregulated notably. These effects were abolished by tamoxifen administration. Meanwhile, GSEA analysis suggested that tamoxifen downregulated the expression of inflammation and fibrosis-related pathway. **Conclusions:** Tamoxifen reversed the alterations of metabolic genes of LSECs and up-regulated genes related to inflammation and fibrosis in mice with nonalcoholic steatohepatitis.

**Key words:** Tamoxifen; Nonalcoholic steatohepatitis; Liver sinusoidal endothelial cells

**Chinese Library Classification (CLC):** R-33; R575.5 **Document code:** A

**Article ID:** 1673-6273(2022)09-1609-05

### 前言

非酒精性脂肪性肝病 (NAFLD) 是最常见的慢性肝病之一<sup>[1]</sup>, 目前全球大约有四分之一的人患有该疾病<sup>[2]</sup>。肝血窦内皮细胞是肝窦内高度特化的内皮细胞, 在 NAFLD/NASH 中, 内

皮细胞稳态被破坏, 发生毛细血管化 (即窗孔消失, 基底膜增厚) 和功能障碍<sup>[3]</sup>, 其基因表达谱也发生了改变<sup>[4]</sup>。改变的肝血窦内皮细胞可以促进脂肪变性、氧化应激、炎症和纤维化的发展。因此, 针对肝血窦内皮细胞的治疗可能是治疗 NASH 的有效手段。他莫昔芬 (TAM) 是经典的治疗雌激素受体阳性乳腺癌的

\* 基金项目: 国家重点研究发展计划项目 (2016YFA0102100)

作者简介: 房志强 (1995-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 非酒精性脂肪肝, 电话: 15686245268, E-mail: 842046492@qq.com

Δ 通讯作者: 王琳 (1981-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 肝损伤, 肝再生, 非酒精性脂肪肝, E-mail: fierywang@163.com

(收稿日期: 2021-09-28 接受日期: 2021-10-23)

一线用药。除了雌激素受体,他莫昔芬还作用于其他靶点,比如蛋白激酶 C(PKC)。此外,他莫昔芬还有抗感染和抗血管生成的作用<sup>[5]</sup>。近年来,有文章报道他莫昔芬对脂肪肝有治疗作用<sup>[6,7]</sup>。但是,他莫昔芬对 NASH 中肝血窦内皮细胞的影响尚未有人报道。因此,在这篇文章中我们运用转录组学分析,探究了他莫昔芬对 NASH 状态下肝血窦内皮细胞中代谢、炎症及纤维化通路基因表达的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物

野生 8 周龄雄性 C57BL/6 小鼠购自北京维通利华公司(SCXK(京)2016-0011)并于 SPF 级动物房饲养。小鼠给予普通饲料适应性饲养 1 周后,更换胆碱和蛋氨酸缺乏饲料(MCD 饲料,Research Diets,美国)喂养 6 周以建立小鼠非酒精性脂肪性肝炎模型<sup>[8-10]</sup>。然后随机分为两组,一组腹腔注射他莫昔芬 100 mg/kg/天,连续注射 5 天;另一组腹腔注射等体积的玉米油作为对照。末次注射第二天,处理小鼠。所有动物实验均由空军军医大学动物实验管理委员会审核批准。实验药物他莫昔芬购自美国 Sigma 公司。

### 1.2 分离肝血窦内皮细胞

肝血窦内皮分离方法按照已发表的文章中的方法进行<sup>[11]</sup>。

### 1.3 测序样本制备

分离的内皮细胞沉淀,每个样本加入 1 mL TRIzol 试剂(购自美国 Invitrogen 公司)吹打混匀至无细胞沉淀,冻存在 -80°C 冰箱中,等待公司取样。

### 1.4 基因表达谱分析

由基迪奥生物(广州,中国)提供定制服务进行 RNA 的提取、测序和分析。提取样本的总 RNA 后,用常规试剂盒去除 rRNA,将 mRNA 富集。然后,将富集得到的 mRNA 反转录形成双链 cDNA,修复 cDNA 双末端后,加上接头,PCR 扩增构建上机文库。为保证测序质量,用琼脂糖凝胶电泳分析样品 RNA 完

整性及是否存在 DNA 污染;用 NanoPhotometer spectrophotometer 检测 RNA 纯度(OD260/280 及 OD260/230 比值);用 Qubit2.0 Fluorometer 进行 RNA 浓度精确定量;用 Agilent 2100 bioanalyzer 精确检测 RNA 完整性。为了保证数据质量,对下机的 raw reads 利用 fastp 进行质控,过滤低质量数据,得到 clean reads(过滤步骤:去除含 adapter 的 reads;去除含 N 比例大于 10%的 reads;去除全部都是 A 碱基的 reads;去除低质量 reads(质量值 Q≤ 20 的碱基数占整条 read 的 50%以上))并进行碱基质量分析。质控完成后,进行表达量统计:为保证后续分析准确性,先对测序深度进行校正,再对基因或转录本的长度进行校正,获得基因的 FPKM 值后,再进行后续分析。后续分析在基迪奥生物 Omicsmart 分析平台进行分析。(https://www.omicsmart.com/)。

### 1.5 公共数据库生物信息学分析

我们使用了 Kalucka J 等人<sup>[12]</sup>在 Cell(2020;180:764-779.e20)上发表的关于肝脏内皮细胞特有的代谢基因集进行基因表达热图分析(https://ars.els-cdn.com/content/image/1-s2.0-S0092867420300623-mmc7.xlsx)。此外,我们还使用了 Xiong X 等人<sup>[13]</sup>在 Mol Cell(10.1016/j.molcel.2019.07.028)上发表的肝血窦内皮细胞转录组测序的原始数据(GEO:GSE119340)。生物信息学分析在 Omicshare 平台进行(https://www.omicshare.com/tools/)。

## 2 结果

### 2.1 他莫昔芬组与对照组差异基因在炎症、免疫通路富集

为了阐明他莫昔芬处理究竟影响了哪些通路的表达,我们对差异基因进行了 GO 和 KEGG 分析。GO 分析显示,差异最显著的前 10 个条目中,大多与免疫和炎症反应相关。KEGG 分析显示,差异最显著的前 10 条通路中,除了破骨细胞分化和微生物感染等已经被广泛报道受他莫昔芬影响的通路外,多数与免疫和炎症有关(见表 1)。

表 1 差异基因 GO 和 KEGG 分析

Table 1 GO and KEGG analysis of differentially expressed genes

GO Term	-log10(FDR)	KEGG Pathway	-log10(FDR)
Immune system process	60.11	Cell adhesion molecules (CAMs)	6.31
Response to external stimulus	48.01	Osteoclast differentiation	6.31
Defense response	45.70	Viral protein interaction with cytokine and cytokine receptor	6.22
Regulation of multicellular organismal process	44.31	Lysosome	6.07
Regulation of response to stimulus	44.31	Malaria	6.07
Immune response	41.83	Inflammatory bowel disease (IBD)	5.83
Cell migration	40.77	Cytokine-cytokine receptor interaction	4.97
Regulation of immune system process	39.10	Focal adhesion	4.63
Inflammatory response	38.19	ECM-receptor interaction	4.54
Positive regulation of biological process	38.15	Chemokine signaling pathway	4.50

Note: -log10(FDR) represents negative logarithm of FDR. -log10(0.05)=1.30103.

## 2.2 他莫昔芬逆转了 NASH 导致的内皮细胞特异性代谢基因的改变

通过利用 Kalucka J 等人在 Cell 上发表的小鼠内皮细胞单细胞转录组测序中的肝脏内皮细胞特异性代谢基因集<sup>[13]</sup>,我们分析了 Xiong X 等人在 NASH 和正常肝脏中分离的肝血窦内皮细胞的转录组测序数据<sup>[9]</sup>以及我们的测序数据。通过基因热图发现,与对照组(chow)相比,NASH 组肝脏部分内皮细胞特异性的代谢基因的表达发生了明显下调(见图 1A)。与单纯 NASH 组(即对照组)相比,他莫昔芬治疗明显逆转了 NASH 导致的代谢基因表达的下调(见图 1B)。以上结果表明,他莫昔芬可能具有使肝血窦内皮细胞代谢稳态恢复的作用。

## 2.3 他莫昔芬治疗降低了炎症纤维化基因的表达

基因表达热图分析发现,NASH 肝脏的肝血窦内皮细胞中促炎基因(CCL2、CCL3、CXCL2、VCAM-1 等)和纤维生成基因(Col1a1、Col3a1、TGFβ2、TIMP1 等)表达明显上调,这可能是由于脂毒性的刺激或者炎症细胞与内皮细胞相互作用导致的(见图 2A、B)。然而,他莫昔芬治疗后,炎症和纤维化基因的表

达明显下调(见图 3C、D)。以上结果表明他莫昔芬可能通过降低肝血窦内皮细胞炎症和纤维化基因的表达来缓解 NASH。

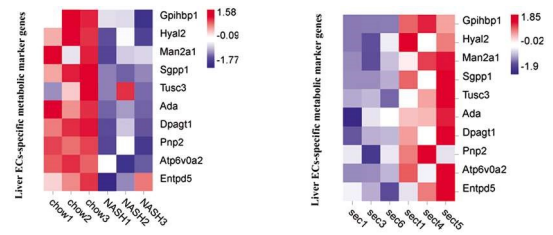


图 1 肝脏内皮特异性代谢基因的表达热图 (A. 与正常肝脏相比,NASH 肝脏中肝血窦内皮细胞的肝脏内皮特异性代谢基因表达下调;B. TAM 治疗恢复了 NASH 导致的肝脏内皮特异性代谢基因的下调。)

Fig.1 The expression heatmap of liver ECs-specific metabolic genes (A. The expression of liver ECs-specific metabolic genes of LSECs in NASH liver was downregulated compared to normal liver; B. TAM treatment restored the downregulated liver ECs-specific metabolic gene expression in NASH liver.)

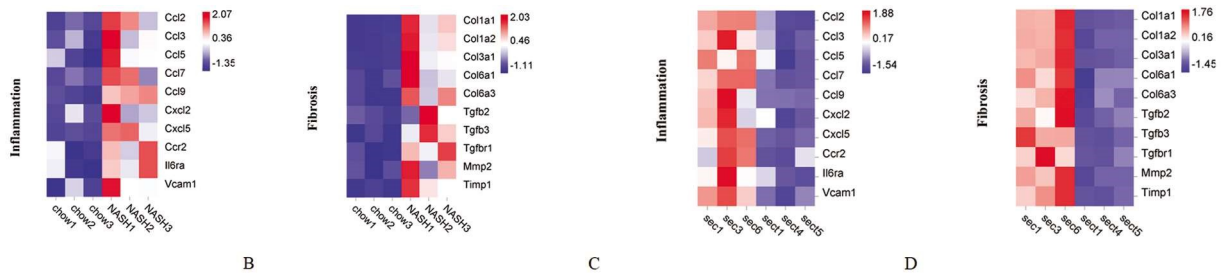


图 2 炎症和纤维化基因的表达热图 (A, B. NASH 肝脏中炎症和纤维化基因表达上调; C, D. 他莫昔芬治疗降低了 NASH 肝脏中炎症和纤维化基因的表达。)

Fig.2 The gene expression heatmap of inflammation and fibrosis-related genes

(A, B. The inflammation and fibrosis-related gene expression of LSECs in NASH liver was upregulated; C, D. TAM treatment downregulated the inflammation and fibrosis-related gene expression of LSECs in NASH liver.)

## 2.4 GSEA 分析显示 TAM 治疗显著影响了肝血窦内皮细胞代谢并下调了炎症、纤维化、血管生成和凋亡通路基因的表达

为了弥补传统富集分析对微效基因的有效信息挖掘不足等问题,我们对 TAM 治疗组和对照组的测序数据进行了 GSEA 分析。我们发现,他莫昔芬治疗后,与炎症和纤维化有关

的炎症反应(见图 3A)、TNF 信号(见图 3B)、细胞外基质成分(见图 3C)和内皮间质转化(见图 3D)基因表达下降。以上结果进一步说明了他莫昔芬治疗可以下调促进 NASH 发展的炎症、纤维化等通路的基因表达。

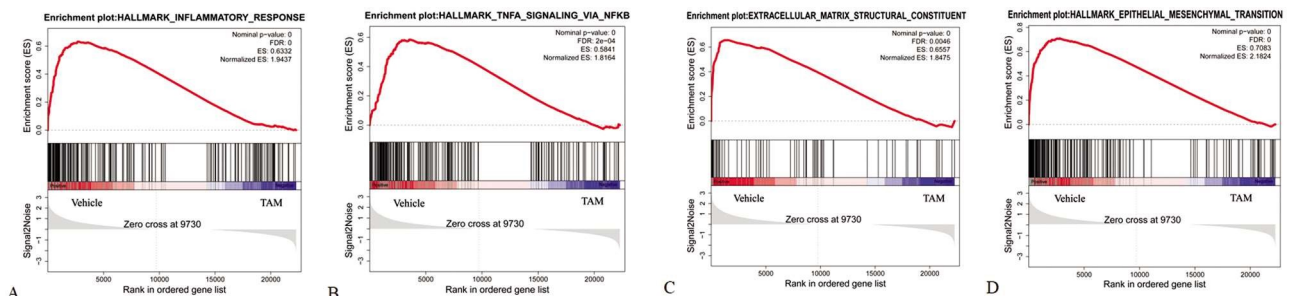


图 3 他莫昔芬治疗组和对照组的 GSEA 富集分析

(A-B. GSEA 分析显示 TAM 治疗降低了炎症反应和 TNFα 通路基因的表达; C-D. TAM 治疗降低了细胞外基质成分和内皮间质转化通路基因的表达;)

Fig.3 GSEA analysis of TAM treatment group and control group

(A-B. GSEA analysis revealed that TAM treatment downregulated the gene expression of inflammatory response and TNFα pathway; C-D. TAM treatment downregulated the gene expression of extracellular matrix structural constituent and epithelial -mesenchymal transition pathway)

### 3 讨论

尽管已经有多项研究证明某些药物比如索拉菲尼<sup>[13]</sup>可以治疗 NASH, 但是目前并没有 FDA 批准的药物用于 NASH 的治疗。因此, 寻找安全有效的治疗 NASH 的方法是十分必要的。

既往文献大多关注肝细胞在该病中的作用, 因为肝细胞是 NASH 的效应细胞, 且脂肪堆积发生在肝细胞中; 此外, 巨噬细胞和星型细胞也被发现在 NASH 中起到了重要作用<sup>[14,15]</sup>, 但肝血窦内皮细胞在 NASH 中的作用却很少被报道。Poisson J, Xinghui Sun 等人详细地总结了近年来发现的肝血窦内皮细胞在 NASH 中发生的变化及其在 NASH 中的作用, 为我们理解肝血窦内皮细胞促进 NASH 发展的机制以及针对内皮细胞进行 NASH 的治疗提供了指导<sup>[16,17]</sup>。通过分析他人的测序数据, 我们发现 NASH 过程中肝血窦内皮细胞特异性代谢基因表达发生了改变, 部分基因 (Gpihbp1, Hyal2, Man2a1, Sgpp1, Tusc3, Ada, Dpagt1, Pnp2, Atp6v0a2, Entpd5) 表达明显下调, 提示内皮细胞代谢稳态的破坏。我们还发现肝血窦内皮细胞中, 炎症相关的促炎的细胞因子和趋化因子 CCL2<sup>[18-20]</sup>、CCL3<sup>[19]</sup>、CCL5<sup>[18,20]</sup>、CCL7<sup>[20]</sup>、CXCL2<sup>[19]</sup>、CXCL5<sup>[20]</sup>、趋化因子受体 CCR2<sup>[21]</sup>以及介导炎症细胞黏附的黏附分子 VCAM-1<sup>[18]</sup>的表达明显上调, 提示肝血窦内皮细胞可能促进了 NASH 中的炎症反应。此外, 促纤维化基因 Col1a1、Col1a2<sup>[18]</sup>、Col3a1<sup>[22]</sup>、Col6a1<sup>[22]</sup>、Col6a3<sup>[23]</sup>, 被广泛报道的在纤维化中发挥重要作用的 TGFβ 家族基因 Tgfb2<sup>[24]</sup>、Tgfb3<sup>[24]</sup>、Tgfb1<sup>[25]</sup>以及金属蛋白酶组织抑制因子 1 (TIMP1)<sup>[10]</sup>的表达上调, 提示 NASH 状态下肝血窦内皮细胞可能具有促进纤维化的作用。

他莫昔芬是治疗雌激素受体阳性乳腺癌的一线用药。早在 1995 年, Pratt DS 等人就报道了他莫昔芬诱导的 NASH<sup>[26]</sup>。后来, Van Hoof M 和 Ogawa Y 等人也陆续报道了这一现象<sup>[27,28]</sup>。一项临床试验表明, 服用 5 年他莫昔芬的超重或肥胖的乳腺癌女性与服用安慰剂的女性相比, 更容易患非酒精性脂肪性肝炎, 而没有超重或肥胖女性之间则没有明显差异<sup>[29]</sup>。此外, 研究证明他莫昔芬可以在体内外诱导肝脏或肝细胞甘油三酯的积累<sup>[30,31]</sup>。然而, 也有少量文献报道, 他莫昔芬对脂肪肝具有保护作用<sup>[6,7]</sup>。这可能是由于给药剂量和时间以及造模方式不同所导致。在我们的测序结果中, 他莫昔芬治疗明显逆转了 NASH 导致的肝血窦内皮细胞代谢基因表达的改变。此外, 他莫昔芬也下调了促炎分子和促纤维化分子和通路的表达。以上结果表明, 他莫昔芬似乎对 NASH 有缓解作用, 至少在转录组学分析结果上看是这样。至于为什么在我们的模型中他莫昔芬具有治疗作用而不是加重作用, 我们推测可能是因为他莫昔芬在小鼠静息状态跟 NASH 状态下对药物的反应不同, 抑或是药物剂量不同导致激活或抑制了不同的作用靶点所导致。

总之, 在我们构建的非酒精性脂肪性肝炎小鼠模型中, 他莫昔芬治疗逆转了非酒精性脂肪性肝炎导致的代谢、炎症和纤维化基因的改变, 他莫昔芬可能通过治疗肝血窦内皮细胞来缓解非酒精性脂肪性肝炎。

#### 参考文献(References)

[1] Kitade H, Chen G, Ni Y, et al. Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Insulin Resistance: New Insights and Potential New Treatments[J].

- Nutrients, 2017, 9(4): 387
- [2] Younossi Z, Anstee QM, Marietti M, et al. Global burden of NAFLD and NASH: trends, predictions, risk factors and prevention [J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2018, 15(1): 11-20
- [3] Hammoutene A, Rautou P-E. Role of liver sinusoidal endothelial cells in non-alcoholic fatty liver disease [J]. J Hepatol, 2019, 70 (6): 1278-1291
- [4] Xiong X, Kuang H, Ansari S, et al. Landscape of Intercellular Crosstalk in Healthy and NASH Liver Revealed by Single-Cell Secretome Gene Analysis[J]. Mol Cell, 2019, 75(3): 644-660.e5
- [5] Bogush TA, Polezhaev BB, Mamichev IA, et al. Tamoxifen Never Ceases to Amaze: New Findings on Non-Estrogen Receptor Molecular Targets and Mediated Effects [J]. Cancer Invest, 2018, 36 (4): 211-20
- [6] Guillaume M, Riant E, Fabre A, et al. Selective Liver Estrogen Receptor α Modulation Prevents Steatosis, Diabetes, and Obesity Through the Anorectic Growth Differentiation Factor 15 Hepatokine in Mice[J]. Hepatol Commun, 2019, 3(7): 908-924
- [7] Miyashita T, Toyoda Y, Tsuneyama K, et al. Hepatoprotective effect of tamoxifen on steatosis and non-alcoholic steatohepatitis in mouse models[J]. J Toxicol Sci, 2012, 37(5): 931-942
- [8] Zhang Z, Ji Z, He J, et al. Guanine Nucleotide-Binding Protein G(i) Subunit Alpha 2 Exacerbates NASH Progression by Regulating Peroxiredoxin 1-Related Inflammation and Lipophagy[J]. Hepatology, 2021[Epub ahead of print]
- [9] Fuchs CD, Radun R, Dixon ED, et al. Hepatocyte-specific deletion of adipose triglyceride lipase (ATGL/PNPLA2) ameliorates dietary induced steatohepatitis in mice[J]. Hepatology, 2021 [Epub ahead of print]
- [10] Mridha AR, Wree A, Robertson AAB, et al. NLRP3 inflammasome blockade reduces liver inflammation and fibrosis in experimental NASH in mice[J]. J Hepatol, 2017, 66(5): 1037-1046
- [11] Duan JL, Ruan B, Yan XC, et al. Endothelial Notch activation reshapes the angiocrine of sinusoidal endothelia to aggravate liver fibrosis and blunt regeneration in mice [J]. Hepatology, 2018, 68(2): 677-690
- [12] Kalucka J, de Rooij LPMH, Goveia J, et al. Single-Cell Transcriptome Atlas of Murine Endothelial Cells [J]. Cell, 2020, 180 (4):764-779.e20
- [13] Jian C, Fu J, Cheng X, et al. Low-Dose Sorafenib Acts as a Mitochondrial Uncoupler and Ameliorates Nonalcoholic Steatohepatitis[J]. Cell Metab, 2020, 31(5): 892-908.e11
- [14] Kazankov K, Jørgensen SMD, Thomsen KL, et al. The role of macrophages in nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis [J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2019, 16 (3): 145-159
- [15] Tsuchida T, Friedman SL. Mechanisms of hepatic stellate cell activation[J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2017, 14(7): 397-411
- [16] Poisson J, Lemoine S, Boulanger C, et al. Liver sinusoidal endothelial cells: Physiology and role in liver diseases [J]. J Hepatol, 2017, 66(1): 212-227
- [17] Xinghui Sun, Edward N. Harris. New aspects of hepatic endothelial cells in physiology and non-alcoholic fatty liver disease [J]. Am J

- Physiol Cell Physiol, 2020, 318(6): C1200-C1213
- [18] Hammoutene A, Biquard L, Lasselin J, et al. A defect in endothelial autophagy occurs in patients with non-alcoholic steatohepatitis and promotes inflammation and fibrosis [J]. J Hepatol, 2020, 72 (3): 528-538
- [19] Jimenez Calvente C, Del Pilar H, Tameda M, et al. MicroRNA 223 3p Negatively Regulates the NLRP3 Inflammasome in Acute and Chronic Liver Injury[J]. Mol Ther, 2020, 28(2): 653-663
- [20] Boeckmans J, Buyl K, Natale A, et al. Elafibranor restricts lipogenic and inflammatory responses in a human skin stem cell-derived model of NASH[J]. Pharmacol Res, 2019, 144: 377-389
- [21] Krenkel O, Puengel T, Govaere O, et al. Therapeutic inhibition of inflammatory monocyte recruitment reduces steatohepatitis and liver fibrosis[J]. Hepatology, 2018, 67(4): 1270-1283
- [22] Pivovarova-Ramich O, Loske J, Hornemann S, et al. Hepatic Wnt1 Inducible Signaling Pathway Protein 1 (WISP-1/CCN4) Associates with Markers of Liver Fibrosis in Severe Obesity [J]. Cells, 2021, 10 (5): 1048
- [23] Kim M, Lee C, Seo DY, et al. The impact of endotrophin on the progression of chronic liver disease [J]. Exp Mol Med, 2020, 52(10): 1766-1776
- [24] Sun T, Huang Z, Liang WC, et al. TGFβ2 and TGFβ3 isoforms drive fibrotic disease pathogenesis [J]. Sci Transl Med, 2021, 13 (605): eabe0407
- [25] Su DN, Wu SP, Xu SZ. Mesenchymal stem cell-based Smad7 gene therapy for experimental liver cirrhosis[J]. Stem Cell Res Ther, 2020, 11(1): 395
- [26] Pratt DS, Knox TA, Erban J. Tamoxifen-induced steatohepatitis[J]. Ann Intern Med, 1995, 123(3): 236
- [27] van Hoof M, Rahier J, Horsmans Y. Tamoxifen-induced steatohepatitis[J]. Ann Intern Med, 1996, 124(9): 855-856
- [28] Ogawa Y, Murata Y, Nishioka A, et al. Tamoxifen-induced fatty liver in patients with breast cancer[J]. The Lancet, 1998, 351(9104): 725
- [29] Bruno S, Maisonneuve P, Castellana P, et al. Incidence and risk factors for non-alcoholic steatohepatitis: prospective study of 5408 women enrolled in Italian tamoxifen chemoprevention trial [J]. BMJ, 2005, 330(7497): 932
- [30] Cole LK, Jacobs RL, Vance DE. Tamoxifen induces triacylglycerol accumulation in the mouse liver by activation of fatty acid synthesis [J]. Hepatology, 2010, 52(4): 1258-1265
- [31] Zhao F, Xie P, Jiang J, et al. The effect and mechanism of tamoxifen-induced hepatocyte steatosis in vitro [J]. Int J Mol Sci, 2014, 15(3): 4019-4030

(上接第 1680 页)

- [20] 严程, 吴野环, 张瑜, 等. MOTomed 智能运动训练系统对脑损伤偏瘫痉挛期患者下肢肌张力和运动功能的影响 [J]. 江苏医药, 2016, 42(4): 466-468
- [21] 高春华, 徐乐义, 黄杰, 等. MOTomed 智能运动训练系统对脑卒中偏瘫患者平衡及下肢运动功能的影响[J]. 中国康复理论与实践, 2013, 19(8): 725-728
- [22] 张娜, 唐巧萍, 熊友红. 靳三针结合 MOTomed 智能运动训练对痉挛型脑瘫患儿下肢功能的影响[J]. 中国针灸, 2014, 34(7): 657-660
- [23] 刘波, 王喜喜, 唐强. 头穴丛刺结合 MOTomed 智能运动训练对痉挛型脑瘫患儿下肢运动功能的影响 [J]. 针灸临床杂志, 2015, 31 (9): 11-14, 15
- [24] 徐胜, 李向哲, 庄任, 等. FES 辅助踏车与 MOTomed 智能训练系统对早期脑卒中患者下肢功能的对比研究[J]. 中国康复, 2017, 32 (6): 447-450
- [25] 高晓平, 冯小军, 陈冲, 等. 智能运动训练系统对脑卒中偏瘫患者下肢运动功能和步行能力的影响 [J]. 安徽医药, 2015, 19(6): 1115-1118
- [26] 随燕芳, 崔振华, 史静琴, 等. 运动想象疗法对脑梗死后偏瘫患者躯干屈伸肌群表面肌电信号的影响 [J]. 广西医学, 2021, 43(3): 292-296
- [27] 黄竹青, 石岩, 闫文俊, 等. 运动想象疗法联合 PNF 躯干模式训练对脑卒中偏瘫患者上肢功能、步行功能和躯干控制能力的影响[J]. 现代生物医学进展, 2021, 21(19): 3728-3732
- [28] 曹克勇, 祝腊香, 王其勋, 等. 镜像疗法结合运动想象疗法对脑卒中偏瘫患者上肢功能的影响 [J]. 中华物理医学与康复杂志, 2018, 40(6): 418-420
- [29] 曹湾, 陈启波, 沈印, 等. 嵌入式运动想象疗法对脑卒中偏瘫患者上肢功能恢复的治疗效果[J]. 山东医药, 2015, 55(13): 29-30
- [30] 陈增力, 崔福玲, 代秀丽. 运动想象疗法结合强制性使用运动疗法对脑卒中偏瘫患者上肢功能的影响[J]. 中华物理医学与康复杂志, 2011, 33(7): 542-544