

巨噬细胞对小鼠活化肝星状细胞凋亡的影响及机制

麦维利¹, 陈琦琪¹, 杨晓宇¹, 曹颖², 朱镠彦³, 李蕊³, 闫杰^{1,2} (1.北京大学地坛医院教学医院 肝病一科, 北京 100015; 2.首都医科大学附属北京地坛医院 肝病一科, 北京 100015; 3.首都医科大学附属北京地坛医院 研究所/新发突发传染病研究北京市重点实验室, 北京 100015)

摘要: 目的 探讨不同极化方向巨噬细胞对小鼠活化的肝星状细胞 (hepatic stellate cell, HSC) 凋亡的影响及机制。方法 体内构建CCl₄诱导的肝纤维化小鼠模型和橄榄油对照组小鼠模型, 采用流式细胞术检测不同极化方向巨噬细胞在两组小鼠肝脏中的比例。体外诱导骨髓来源的巨噬细胞极化 (M0、M1、M2巨噬细胞), 分别收集上清与活化的LX-2细胞共培养。采用CCK-8法、Caspase-3/7活性检测、流式细胞术和Western Blot检测LX-2细胞的凋亡。结果 CCl₄组小鼠肝脏巨噬细胞比例显著高于对照组 ($t = 10.86, P < 0.0001$), 其中M1、M2巨噬细胞的比例均显著高于对照组 (t 值分别为4.62、5.28, P 值分别为0.0036、0.0007)。与M0和M2巨噬细胞共培养组相比, M1巨噬细胞上清可显著抑制LX-2细胞的增殖、诱导LX-2细胞的凋亡、增加Caspase-3/7酶活性并上调凋亡蛋白Bax的表达 (P 均 < 0.05)。此外, M1巨噬细胞肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体 (TNF-related apoptosis-inducing ligand, TRAIL) 的表达水平显著高于M0和M2巨噬细胞 (t 值分别为17.15、17.20, P 均 < 0.0001)。TRAIL重组蛋白可显著抑制活化的LX-2细胞增殖、促进其凋亡、增强Caspase-3/7酶活性并诱导Bax表达上调。结论 M1巨噬细胞通过表达TRAIL促进小鼠活化的HSC凋亡。

关键词: 肝纤维化; 巨噬细胞极化; 肝星状细胞; 凋亡; 肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体

Effects and its mechanism of macrophages on the apoptosis of activated hepatic stellate cell in mice

MAI Wei-Li¹, CHEN Qi-qi¹, YANG Xiao-yu¹, CAO Ying², ZHU Liu-luan³, LI Rui³, YAN Jie^{1,2} (1. Department of Liver Diseases I, Peking University Ditan Teaching Hospital, Beijing University, Beijing 100015, China; 2. Department of Liver Diseases I, Beijing Ditan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100015, China; 3. Institute of Infectious Diseases/Beijing Key Laboratory of Emerging Sudden Infectious Diseases, Beijing Ditan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100015, China)

Abstract: **Objective** To investigate the effects and its mechanism of different polarization macrophages on the apoptosis of activated hepatic stellate cell (HSC) in mice. **Methods** Mouse models of CCl₄ induced liver fibrosis and olive oil control were constructed *in vivo*. The proportion of macrophages with different polarization directions in liver of mice in two groups were measured by flow cytometry. *In vitro*, bone marrow derived macrophages polarization (M0, M1 and M2 macrophage) was induced, and supernatant was collected to co-cultured with activated LX-2 cells. The apoptosis of LX-2 cells was detected by CCK-8, enzyme activity of caspase-3/7, flow cytometry and Western Blot. **Results** The content of hepatic macrophages of mice in CCl₄ group was significantly higher than that in control group ($t = 10.86, P < 0.0001$), and the contents of M1 and M2 macrophages were also significantly higher than those in control group ($t = 4.62, 5.28; P = 0.0036, 0.0007$). Compared with the co-culture group of M0 and M2 macrophage, M1 macrophage supernatant significantly inhibited the proliferation of LX-2 cells, induced the apoptosis of LX-2 cells, increased the enzyme activity of Caspase-3/7 and up-regulated the expression of apoptosis protein Bax ($P < 0.05$). In addition, the expression levels of TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) of M1 macrophage were significantly higher than those of M0 and M2 macrophage ($t = 17.15, 17.20; P < 0.0001$). TRAIL recombinant protein can significantly inhibit the proliferation of activated LX-2 cells, promote their apoptosis, enhance the activity of Caspase-3/7 enzyme and induce the up-regulation of Bax expression. **Conclusion** M1 macrophage mediate the apoptosis of activated hepatic stellate cells by expressing TRAIL.

Key words: Liver fibrosis; Polarization of macrophages; Hepatic stellate cell; Apoptosis; TNF-related

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7380.2018.04.010

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81600454); 北京市医院管理局“青苗”计划 (QML20161802)

通讯作者: 闫杰 Email: jieyan@ccmu.edu.cn

apoptosis-inducing ligand

肝纤维化是在多种致病因素的长期刺激下,肝组织过度修复导致细胞外基质大量沉积的病理过程^[1]。肝纤维化形成过程中有多种细胞参与,其中肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)的活化是纤维化发生的关键环节^[2]。HSC活化后可合成和分泌细胞外基质,基质大量沉积会导致肝纤维化。在此过程中,HSC的增殖、活化及凋亡均受肝内巨噬细胞的严密调控^[3]。巨噬细胞是机体固有免疫系统的重要组成部分,也是肝脏中含量最多的非实质细胞。在肝纤维化复杂多变的微环境调控下,肝内巨噬细胞可极化成不同的表型,即经典活化型M1型巨噬细胞和替代活化型M2型巨噬细胞^[4,5]。近期研究表明,在肝纤维化期及逆转期,巨噬细胞可分泌基质金属蛋白酶类,降解胶原纤维,诱发活化的HSC凋亡,促进肝纤维化的消融和转归^[6,7]。然而,目前尚未明确是何种极化巨噬细胞通过何种机制调控活化的HSC凋亡。因此,本课题拟采用不同极化方向的巨噬细胞上清与活化的HSC共培养,检测HSC的凋亡,以探讨巨噬细胞的调节机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物与试剂 8周龄清洁级C57BL/6雄性小鼠由北京维通利华实验动物技术有限公司提供;人肝星状细胞株LX-2细胞为本实验室保存;重组蛋白粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(granulocyte-macrophage colony stimulating factor, GM-CSF)、转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)、肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体(TNF-related apoptosis-inducing ligand, TRAIL)、脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)、 γ -干扰素(Interferon- γ , IFN- γ)、白细胞介素-4(interleukin-4, IL-4)和IL-13均购自美国Peprotech公司;总RNA提取试剂盒购自美国Omega公司;逆转录试剂盒及Real-Time PCR试剂盒均购自美国Thermo公司;Real-Time PCR引物由上海英潍捷基公司合成;流式抗体CD146-PE、CD45-APC-CY7、 α -SMA-AF488、Annexin V-FITC及7-AAD试剂均购自美国Biolegend公司;CCK-8试剂盒购自日本同仁化学公司;Caspase-3/7活性检测试剂盒购自北京Promega公司;BAX、 β -actin抗体及二抗均购自美国CST公司。

1.2 实验方法

1.2.1 小鼠肝纤维化模型的建立及检测 将14只雄性C57BL/6小鼠随机分为CCl₄组和对照组,每组各7

只。CCl₄组(模型组)小鼠腹腔注射0.3 ml/kg的CCl₄-橄榄油(体积比1:20),对照组小鼠腹腔注射0.3 ml/kg橄榄油。每3 d注射1次,连续注射4周。末次注射后第2 d,空腹12 h处死小鼠,采集血液及肝脏标本。计算肝脏指数[肝脏质量(mg)/体重(g)×100%]。

1.2.2 流式细胞术检测小鼠肝星状细胞 α -平滑肌肌动蛋白(α -smooth muscle actin, α -SMA)的表达 使用生理盐水灌注肝脏并采用胰酶-胶原酶离体消化,密度梯度离心法收集小鼠肝非实质细胞。采用CD146-PE和CD45-APC-CY7进行表面染色,经Fix-Perm buffer固定细胞后,再用 α -SMA-AF488胞内染色。Perm-wash buffer清洗后,经流式细胞仪上机检测。

1.2.3 骨髓来源巨噬细胞的分离培养和诱导极化 将小鼠颈椎脱臼处死后,无菌分离股骨和胫骨,以2 ml PBS冲出骨髓腔细胞,制备单细胞悬液。以DM完全培养基(DMEM + 10%胎牛血清 + 1%青-链霉素双抗)按照实验设计均匀种植于10 cm培养皿中,加入GM-CSF至终浓度为10 ng/ml,7 d后即可诱导成熟M0巨噬细胞。分别加入10 ng/ml LPS和10 ng/ml IFN- γ 诱导极化为M1型巨噬细胞;或加入10 ng/ml IL-4和10 ng/ml IL-13诱导极化为M2型巨噬细胞;或加入等体积PBS对照,保持M0状态^[8]。极化24 h后,分别收集M0、M1和M2巨噬细胞培养上清。

1.2.4 CCK-8试剂盒检测细胞增殖活力和Caspase-3/7活性检测 对数生长期的LX-2细胞中加入5 ng/ml TGF- β 刺激活化12 h,不同极化方向的巨噬细胞上清(M0、M1和M2)共培养活化的LX-2细胞24 h。按照CCK-8试剂盒、Caspase-3化学发光试剂盒的操作流程处理细胞后检测LX-2细胞内Caspase-3/7的活性。

1.2.5 细胞凋亡的检测 取经不同极化方向巨噬细胞上清共培养活化的LX-2细胞,采用Annexin V-FITC和7AAD进行细胞凋亡染色,PBS清洗后,采用流式细胞仪上机检测。

1.2.6 Real-Time PCR检测IL-12、TNF- α 、iNOS2、Arg-1、MRC1、MRS1和TRAIL基因的表达 收集极化后的M0、M1、M2巨噬细胞,用总RNA提取试剂盒提取细胞总RNA,于260/280 nm测定RNA浓度和纯度。逆转录成cDNA后,应用ABI7500实时荧光量PCR仪检测各样本基因表达并进行分析。

1.2.7 Western blot检测Bax蛋白的表达 取经不同极化方向巨噬细胞上清共培养活化的LX-2细胞,加入

适量预冷RIPA细胞裂解液（含1%蛋白酶抑制剂）于冰上充分裂解1 h。4 ℃ 12000 r/min离心20 min（ $r = 6.5\text{ cm}$ ），取上清液，BCA法进行蛋白定量。聚丙烯酰胺凝胶电泳后，湿电转移法将蛋白转移至PVDF滤膜上。5%脱脂牛奶封闭1 h后，按1:1000一抗4 ℃孵育过夜。再与1:5000的HRP标记的辣根过氧化物酶抗兔IgG室温孵育1 h，ECL显色，采用Western blot曝光仪成像检测。

1.3 统计学处理 采用GraphPad Prism 7.0软件对数据进行统计分析，正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示，两组独立样本均值的比较采用独立样本 t 检验，以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 小鼠肝组织病理变化、肝指数、生物化学指标及肝星状细胞 α -SMA的表达 如图1A所示，HE染色显示对照组小鼠肝细胞形态完整，未见细胞变性；CCl₄组小鼠肝细胞发生明显变性，肝细胞索排

列紊乱，部分肝细胞坏死。Masson染色显示对照组小鼠肝组织仅在中央静脉周围和汇管区可见少量胶原沉积；CCl₄组小鼠肝组织可见大量胶原沉积。CCl₄组小鼠的肝指数、ALT、AST及肝星状细胞中 α -SMA⁺细胞比例均显著高于对照组，差异有统计学意义（ P 均 < 0.05 ），见图1B、表1。

2.2 极化巨噬细胞在小鼠肝组织中的比例 流式细胞检测结果显示，CCl₄组小鼠肝脏巨噬细胞比例显著高于对照组（ $t = 10.86$ ， $P < 0.0001$ ），其中M1、M2巨噬细胞的比例均显著高于对照组（ $t = 4.62$ ， $P = 0.0036$ ； $t = 5.28$ ， $P = 0.0007$ ），见表2。

2.3 体外诱导骨髓来源巨噬细胞极化 Real-Time PCR结果显示，经LPS+IFN- γ 刺激后，巨噬细胞中IL-12、iNOS和TNF- α mRNA水平显著升高（ t 值分别为30.16、4.687、21.44， P 值分别为0.0011、0.0426、0.0022），极化为M1巨噬细胞。经IL-4+IL-13刺激后，巨噬细胞中Arg-1、MRC-1和MSR-1 mRNA水平显

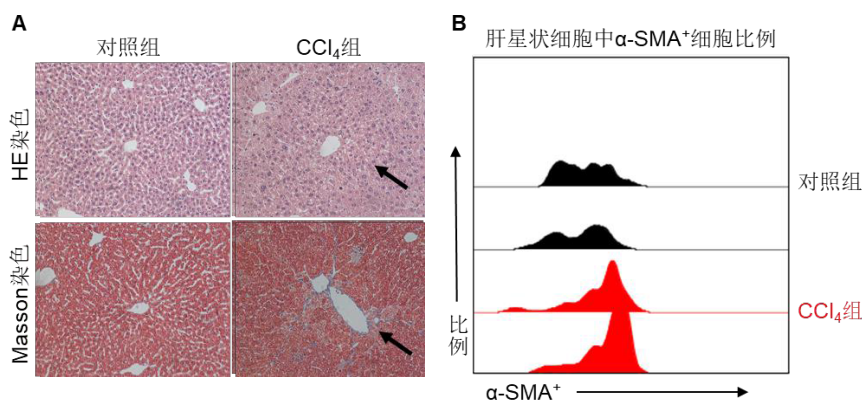


图1 小鼠肝组织病理变化（ $\times 200$ ）和肝星状细胞 α -SMA的表达

表1 小鼠肝指数、生物化学指标及肝星状细胞中 α -SMA⁺细胞比例（ $\bar{x} \pm s$ ）

组别	肝指数 (mg/g)	ALT (U/L)	AST (U/L)	α -SMA ⁺ (%)
对照组 ($n = 7$)	42.48 \pm 1.09	4.73 \pm 6.07	194.70 \pm 25.33	5.23 \pm 0.76
CCl ₄ 组 ($n = 7$)	58.79 \pm 2.07	1388.00 \pm 203.40	1267.00 \pm 242.40	31.26 \pm 2.13
t 值	6.97	6.65	4.40	12.38
P 值	< 0.0001	0.0027	0.0046	< 0.0001

注：肝星状细胞中 α -SMA⁺细胞比例按肝脏 α -SMA⁺细胞占CD45⁺CD146⁺UVAF⁺肝星状细胞的比例计算（UVAF为肝星状细胞脂滴自发荧光）

表2 极化巨噬细胞在小鼠肝组织中比例（ $\bar{x} \pm s$ ，%）

组别	M0巨噬细胞	M1巨噬细胞	M2巨噬细胞
对照组 ($n = 7$)	13.52 \pm 1.27	12.60 \pm 0.93	7.32 \pm 0.92
CCl ₄ 组 ($n = 7$)	35.96 \pm 1.63	21.73 \pm 2.10	15.23 \pm 1.04
t 值	10.86	4.62	5.28
P 值	< 0.0001	0.0036	0.0007

注：巨噬细胞比例按肝脏CD45⁺F4/80⁺细胞占CD45⁺细胞的比例计算；M1巨噬细胞比例按CD45⁺F4/80⁺CD86⁺细胞占CD45⁺F4/80⁺细胞的比例计算；M2巨噬细胞比例按CD45⁺F4/80⁺CD206⁺细胞占CD45⁺F4/80⁺细胞的比例计算

著升高（ t 值分别为 30.16、4.687、21.44， P 值分别为 0.0011、0.0426、0.0022），极化为 M2 巨噬细胞。见表 3。

2.4 不同极化巨噬细胞对活化的 LX-2 细胞凋亡的影响 CCK-8 试剂盒检测结果显示，与 M0 和 M2 巨噬细胞共培养组相比，M1 巨噬细胞上清可显著抑制 LX-2 细胞的增殖（ t 值分别为 3.38、3.67； P 值分别为 0.0387、0.0335）（图 2A）。流式细胞仪检测结果显示，与 M0 和 M2 巨噬细胞上清相比，M1 巨噬

细胞上清可显著诱导 LX-2 细胞的凋亡（ t 值分别为 2.75、3.10； P 值分别为 0.0201、0.01341）（图 2B、2C）。此外，与 M0 和 M2 巨噬细胞共培养组相比，M1 巨噬细胞上清可显著增加 LX-2 细胞 Caspase-3/7 的活性（ t 值分别为 5.42、3.09， P 值分别为 0.0162、0.0453）（图 2D）并上调凋亡蛋白 Bax 的表达（图 2E）；而与 M0 巨噬细胞共培养组相比，M2 共培养组对 LX-2 细胞增殖、凋亡、Caspase-3/7 活性及 Bax 表达的影响均无显著差异，见图 2。

表 3 体外诱导骨髓来源巨噬细胞极化 IL-12、iNOS、TNF- α 、Arg-1、MRC-1 及 MSR-1 mRNA 相对表达量（ $\bar{x} \pm s$ ）

类型	IL-12 mRNA	iNOS mRNA	TNF- α mRNA	Arg-1 mRNA	MRC-1 mRNA	MSR-1 mRNA
M1 巨噬细胞	1.00 \pm 0.10	186.00 \pm 39.40	7.46 \pm 0.30	0.80 \pm 0.34	0.02 \pm 0.02	0.78 \pm 0.02
M2 巨噬细胞	5067.00 \pm 168.00	0.01 \pm 0.00	0.13 \pm 0.03	770.00 \pm 5.26	55.00 \pm 5.00	1.90 \pm 0.03
t 值	30.17	4.71	24.20	146.00	11.00	28.90
P 值	0.0011	0.0422	0.0017	< 0.0001	0.0082	0.0012

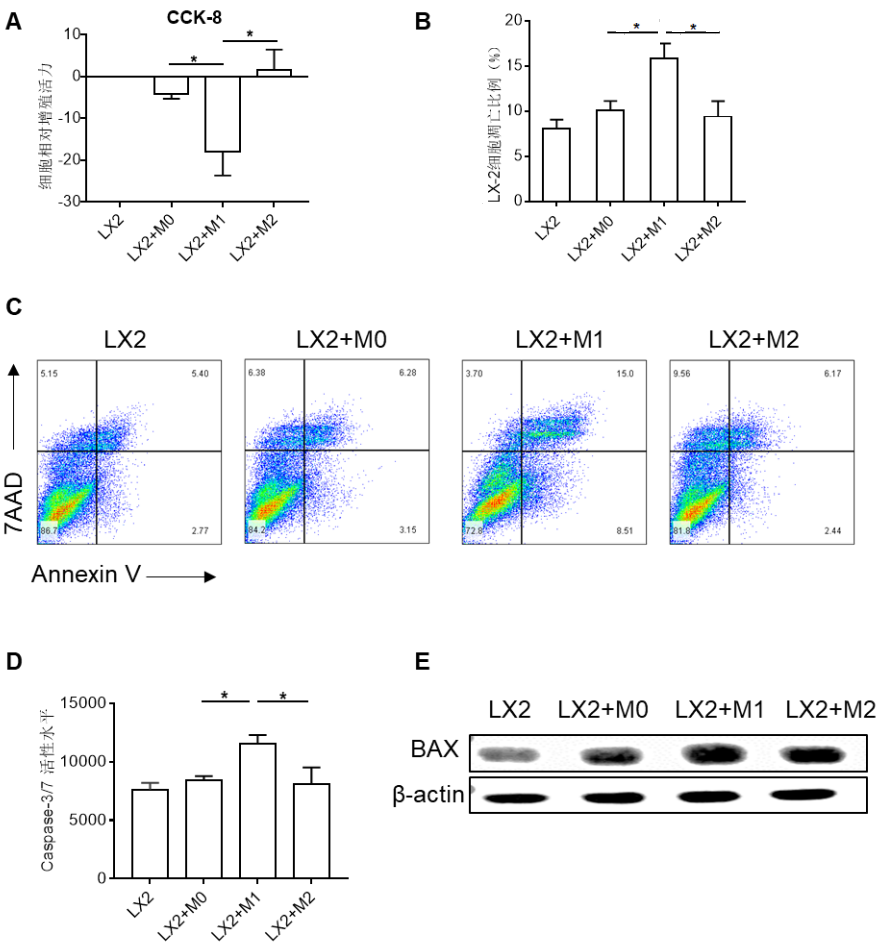


图 2 不同极化巨噬细胞对活化的 LX-2 细胞凋亡的影响

注：CCK-8 细胞相对增值活力是以 LX-2 细胞（PBS 处理）组值为 0 进行相对分析，* $P < 0.05$

2.5 TRAIL 在不同极化巨噬细胞中的表达水平及对活化的 LX-2 细胞凋亡的影响 Real-Time PCR 结果显示, 与 M0 和 M2 巨噬细胞相比, M1 巨噬细胞中 TRAIL mRNA 的表达水平显著升高 ($t = 17.15$ 、 17.20 , $P < 0.0001$) (图 3A)。CCK-8 检测结果显示: 与对照组相比, TRAIL 刺激可显著抑制 LX-2 细胞的增殖 ($t = 8.714$, $P = 0.129$) (图 3B); 流式细胞检测结果表明 LX-2 细胞凋亡率显著增加 ($t = 13.63$, $P < 0.0001$) (图 3C); Caspase-3/7 活性显著增加 ($t = 9.82$, $P = 0.0102$) (图 3D); Western blot 结果表明凋亡蛋白 Bax 的表达显著上调 (图 3E)。

3 讨论

巨噬细胞是一类重要的固有免疫细胞, 参与肝纤维化的形成。既往研究表明, 肝纤维化小鼠常伴有肝组织中巨噬细胞浸润增加, 在肝纤维化进展期清除巨噬细胞, 小鼠表现出肝脏胶原沉积减少, 纤维化程度减轻; 相反, 在肝纤维化逆转期清除巨噬

细胞, 小鼠表现出明显的纤维化消融受阻^[9,10], 提示巨噬细胞既可促进肝纤维化的形成, 也可参与肝纤维化的缓解及修复。

巨噬细胞在肝纤维化中发挥的双向作用与其表型异质性密切相关。已有研究表明, TGF- β 和 PDGF 是促进 HSC 活化和增殖最强有力的细胞因子, M2 巨噬细胞作为主要分泌 TGF- β 和 PDGF 的细胞, 通过促进 HSC 过度活化和增殖导致病理性修复, 从而引起肝纤维化^[11-13], 但 M1 巨噬细胞对肝纤维化的调控作用尚存在争议。M1 巨噬细胞可分泌 IL-1 β 活化 HSC, 参与纤维化的形成^[14]; 也可分泌 IL-6 间接促进肝细胞的分裂, 从而引起肝细胞再生和纤维化的修复^[15,16]。HSC 的凋亡是决定肝纤维化修复的关键机制, 且既往研究提示肝脏巨噬细胞可通过调控 HSC 的凋亡影响纤维化转归^[17]。

为明确不同极化方向巨噬细胞对 HSC 凋亡的调控作用, 本研究首先采用 CCl₄ 诱导肝纤维化小鼠模型, 相对于对照组小鼠, CCl₄ 组小鼠肝脏巨噬细胞

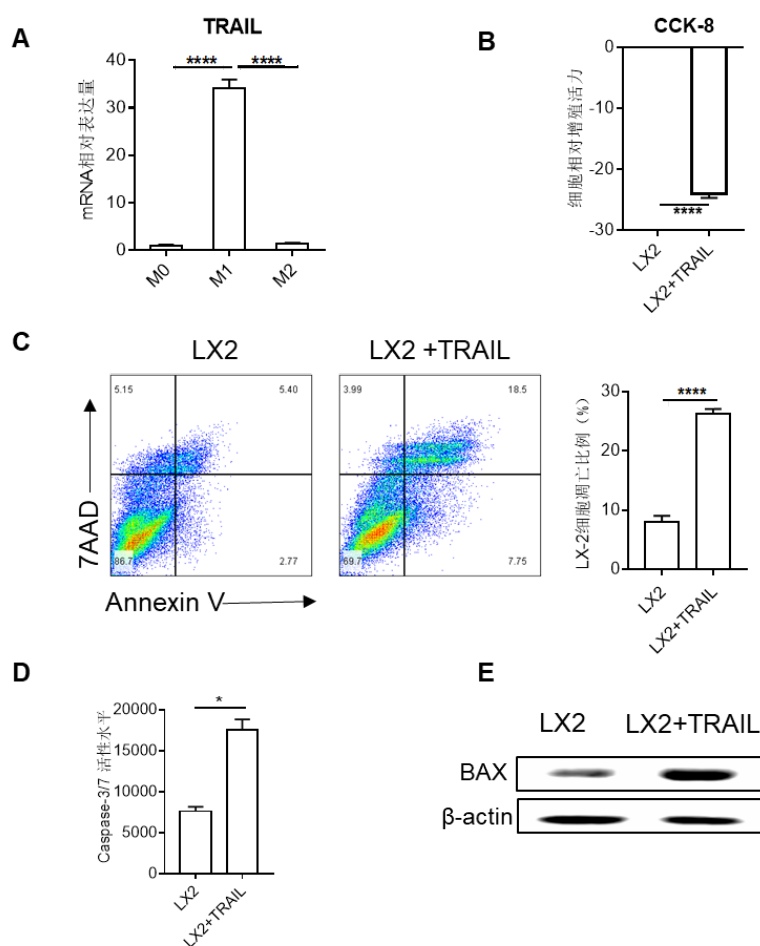


图 3 TRAIL 对活化的 LX-2 细胞凋亡的影响

注: * $P < 0.05$, **** $P < 0.0001$

比例显著增加,明确了在肝纤维化阶段,肝脏巨噬细胞比例增多,与之前的文献报道巨噬细胞参与肝纤维化调控且其中M1和M2巨噬细胞比例均增多的结果一致^[18]。随后,进一步采用体外诱导不同极化方向巨噬细胞模型(M0、M1、M2巨噬细胞),分别取上清与活化的LX-2细胞共培养,发现M1巨噬细胞可显著抑制活化的LX-2细胞增殖并促进凋亡。Bax是Bcl-2蛋白家族中的一类具有促进凋亡作用的成员,Bax能够改变线粒体膜的通透性,促进细胞色素C释放,进而激活Caspase-3,启动Caspase级联反应,介导细胞凋亡。既往文献表明巨噬细胞共培养活化的HSC能上调凋亡蛋白Bax和Caspase-3的表达^[19]。本研究发现M1巨噬细胞上清也可显著增强活化的LX-2细胞Caspase-3/7酶活性并上调细胞凋亡蛋白Bax的表达,初步明确了M1巨噬细胞通过诱导Bax的表达、激活Caspase-3的细胞内途径促进HSC凋亡。然而M1巨噬细胞上清所诱导的HSC凋亡的机制尚未明确。值得注意的是,在前期工作中先采用M1型巨噬细胞与活化的LX-2细胞共培养,发现M1巨噬细胞具有促凋亡作用,随后采用M1巨噬细胞与LX-2细胞transwell隔室培养,其仍具有促凋亡作用。表明M1巨噬细胞的促凋亡作用不依赖于细胞-细胞相互作用,而是通过细胞分泌作用实现的,因此本研究中采用巨噬细胞上清与LX-2细胞共培养进行体外功能和机制的研究。

活化的HSC凋亡可由多种死亡受体刺激物、纤维基质成分和细胞因子诱导。近期研究表明,TRAIL是诱导活化HSC凋亡的新途径之一,其能够使活化的HSC恢复到静止状态。TRAIL是TNF超家族成员,可结合靶细胞表面的TRAIL-R2/DR5受体,诱导病毒感染细胞或肿瘤细胞凋亡。与TNF- α 相比,TRAIL对于人体正常细胞不表现出杀伤作用或损伤极小,因此,在治疗肝纤维化的应用前景中更具有优越性^[20-22]。有研究显示,聚乙二醇化的重组TRAIL治疗能够缓解大鼠肝纤维化^[23]。在探讨M1调控HSC凋亡的机制中,Halaas等^[24]研究显示肝纤维化时肝脏TRAIL水平升高,巨噬细胞表达TRAIL。而本研究发现M1巨噬细胞特异性高表达TRAIL,进一步研究表明,TRAIL可显著抑制HSC增殖,并通过上调凋亡蛋白Bax的表达增强Caspase-3/7酶活性,促进HSC凋亡,充分明确了M1巨噬细胞是通过特异性高表达TRAIL诱导活化的HSC凋亡。目前有研究表明,给予M1巨噬细胞的细胞疗法能募集体内修复性LY6C⁺巨噬细胞和NK细胞,通过分泌MMP-13和TRAIL促进HSC凋亡^[25]。充分明确M1巨噬细胞通过TRAIL或

其他途径诱导活化的HSC凋亡的机制将对探索肝纤维化新疗法起到积极作用。

参考文献

- [1] Lee YA, Wallace MC, Friedman SL. Pathobiology of liver fibrosis: a translational success story[J]. Gut,2015,64(5):830-841.
- [2] Kisseleva T. The origin of fibrogenic myofibroblasts in fibrotic liver[J]. Hepatology,2017,65(3):1039-1043.
- [3] Koyama Y, Brenner DA. Liver inflammation and fibrosis[J]. J Clin Invest,2017,127(1):55-64.
- [4] Mills CD, Kincaid K, Alt JM, et al. M-1/M-2 macrophages and the Th1/Th2 paradigm[J]. J Immunol,2000,164(12):6166-6173.
- [5] Mills CD, Thomas AC, Lenz LL, et al. Macrophage: SHIP of immunity[J]. Front Immunol,2014,5:620.
- [6] Mills CD, Ley K. M1 and M2 macrophages: the chicken and the egg of immunity[J]. J Innate Immun,2014,6(6):716-726.
- [7] Fischer R, Cariers A, Reinehr R, et al. Caspase 9-dependent killing of hepatic stellate cells by activated Kupffer cells[J]. Gastroenterology, 2002,123(3):845-861.
- [8] Murray PJ. Macrophage polarization[J]. Annu Rev Physiol, 2017,79:541-566.
- [9] Krenkel O, Tacke F. Liver macrophages in tissue homeostasis and disease[J]. Nat Rev Immunol,2017,17(5):306-321.
- [10] Duffield JS, Forbes SJ, Constandinou CM, et al. Selective depletion of macrophages reveals distinct, opposing roles during liver injury and repair[J]. J Clin Invest,2005,115(1):56-65.
- [11] Seki E, Brenner DA. Recent advancement of molecular mechanisms of liver fibrosis[J]. J Hepatobiliary Pancreat Sci,2015,22(7):512-518.
- [12] Tsuchida T, Friedman SL. Mechanisms of hepatic stellate cell activation[J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol,2017,14(7):397-411.
- [13] Tacke F, Zimmermann HW. Macrophage heterogeneity in liver injury and fibrosis[J]. J Hepatol,2014,60(5):1090-1096.
- [14] Sica A, Invernizzi P, Mantovani A. Macrophage plasticity and polarization in liver homeostasis and pathology[J]. Hepatology, 2014,59(5):2034-2042.
- [15] Boulter L, Govaere O, Bird TG, et al. Macrophage-derived Wnt opposes Notch signaling to specify hepatic progenitor cell fate in chronic liver disease[J]. Nat Med,2012,18(4):572-579.
- [16] Selzner N, Selzner M, Odermatt B, et al. ICAM-1 triggers liver regeneration through leukocyte recruitment and Kupffer cell-dependent release of TNF-alpha/IL-6 in mice[J]. Gastroenterology, 2003,124(3):692-700.
- [17] Higashi T, Friedman SL, Hoshida Y. Hepatic stellate cells as key target in liver fibrosis[J]. Adv Drug Deliv Rev,2017,121:27-42.
- [18] Tacke F, Trautwein C. Mechanisms of liver fibrosis resolution[J]. J Hepatol,2015,63(4):1038-1039.
- [19] Cubero FJ, Nieto N. Ethanol and arachidonic acid synergize to activate Kupffer cells and modulate the fibrogenic response via tumor necrosis factor alpha, reduced glutathione, and transforming growth factor beta-dependent mechanisms[J]. Hepatology,2010,48(6):2027-2039.
- [20] Liu CH, Chern GJ, Hsu FF, et al. A multifunctional nanocarrier for efficient TRAIL-based gene therapy against hepatocellular carcinoma with desmoplasia[J]. Hepatology,2018,67(3):899-913.

- [21] Taimr P, Higuchi H, Kocova E, et al. Activated stellate cells express the TRAIL receptor - 2/death receptor-5 and undergo TRAIL-mediated apoptosis[J]. Hepatology,2003,37(1):87-95.
- [22] Dodig M, Mullen KD. New mechanism of selective killing of activated hepatic stellate cells[J]. Hepatology,2003,38(4):1051-1053.
- [23] Oh Y, Park O, Swierczewska M, et al. Systemic PEGylated TRAIL treatment ameliorates liver cirrhosis in rats by eliminating activated hepatic stellate cells[J]. Hepatology,2016,64(1):209-223.
- [24] Halaas O, Vik R, Ashkenazi A, et al. Lipopolysaccharide induces expression of APO2 ligand/TRAIL in human monocytes and macrophages[J]. Scand J Immunol,2000,51(3):244-250.
- [25] Ma PF, Gao CC, Yi J, et al. Cytotherapy with M1-polarized macrophages ameliorates liver fibrosis by modulating immune microenvironment in mice[J]. J Hepatol,2017,67(4):770-779.

收稿日期: 2018-07-01

麦维利, 陈琦琪, 杨晓宇, 等. 巨噬细胞对小鼠活化肝星状细胞凋亡的影响及机制[J/CD]. 中国肝脏病杂志(电子版), 2018,10(4):59-65.

· 读者 · 作者 · 编者 ·

本刊对来稿参考文献格式的要求

本刊执行 GB/T-2015《信息与文献 参考文献著录规则》。采用顺序编码制著录, 依照其在文中出现的先后顺序用阿拉伯数字标出, 并将序号置于方括号中, 排列于文后。内部刊物、未发表资料(不包括已被接受的待发表资料)、个人通信等请勿作为文献引用, 确需引用时, 可将其在正文相应处注明。日文汉字请按日文规定书写, 勿与我国汉字及简化字混淆。同一文献作者不超过3人全部著录; 超过3人可以只著录前3人, 后依文种加表示“等”的文字。作者姓名一律姓氏在前、名字在后, 外国人的名字采用首字母缩写形式, 缩写名后不加缩写点; 不同作者姓名之间用“,” 隔开, 不用“和”、“and”等连词。请于文献题名后增加标注文献类型标志项目, 示例如下:

[1] 陈登原. 国史旧闻 [M]. 北京: 中华书局, 2000:29.

[2] 袁训来, 陈哲, 肖书海, 等. 蓝田生物群: 一个认识多细胞生物起源和早期演化的新窗口 [J]. 科学通报, 2012,55(34):3219.

[3] 余建斌. 我们的科技一直在追赶: 访中国工程院院长周济 [N/OL]. 人民日报, 2013-01-12(2). [2013-03-20]. http://paper.people.com.cn/rmrb/html/2013-01/12/nw.D110000renmrb_20130112_5-02.htm.

本刊编辑部