

*C6orf120*基因敲除对刀豆蛋白A诱导的自身免疫性肝炎大鼠中性粒细胞和巨噬细胞的影响

吴苑妮¹, 张瑞², 韩晓旭², 宋心成¹, 高美欣³, 张健⁴, 李鑫^{1,2} (1.北京大学地坛医院教学医院 中西医结合中心, 北京 100015; 2.首都医科大学附属北京地坛医院 中西医结合中心, 北京 100015; 3.北京大学地坛医院教学医院 消化科; 4.青岛市立医院 消化科, 山东 青岛 266011)

摘要: 目的 探讨功能未知基因*C6orf120*缺失对刀豆蛋白A (concanavalin A, ConA) 诱导的自身免疫性肝炎 (autoimmune hepatitis, AIH) 大鼠中性粒细胞和巨噬细胞的影响。方法 抽取野生型 (wild type, WT) 大鼠和*C6orf120*基因敲除型 (*C6orf120*^{-/-}) 大鼠各24只, 随机分成未经ConA诱导组、ConA诱导12 h组和ConA诱导24 h组共3组, 每组中WT大鼠和*C6orf120*^{-/-}大鼠各8只。其中ConA诱导12 h组和ConA诱导24 h组大鼠以ConA 35 mg/kg舌下静脉注射建立AIH大鼠模型, 于ConA诱导12 h和24 h后分别处死。检测大鼠血浆丙氨酸氨基转移酶 (alanine aminotransferase, ALT) 和天门冬氨酸氨基转移酶 (aspartate aminotransferase, AST) 水平; 采用流式细胞术检测大鼠外周血、肝、脾、肠系膜淋巴结中中性粒细胞和巨噬细胞的比例; 采用全自动五分类血球分析仪检测大鼠全血中性粒细胞比例。结果 未经ConA诱导组WT大鼠与*C6orf120*^{-/-}大鼠血浆ALT [(57.03 ± 16.39) U/L vs (55.82 ± 12.35) U/L]和AST [(99.94 ± 18.56) U/L vs (110.86 ± 21.84) U/L]水平差异无统计学意义 ($t = 0.244, -1.616, P = 0.809, 0.115$)。ConA诱导12 h组WT大鼠ALT [(494.27 ± 250.41) U/L vs (206.44 ± 98.66) U/L]和AST [(2043.42 ± 1618.09) U/L vs (777.22 ± 383.95) U/L]水平均显著高于*C6orf120*^{-/-}大鼠, 差异有统计学意义 ($t = 4.445, 3.216, P = 0.001, 0.016$)。ConA诱导24 h组WT大鼠与*C6orf120*^{-/-}大鼠血浆ALT [(196.31 ± 76.10) U/L vs (211.63 ± 83.28) U/L]和AST [(892.88 ± 354.95) U/L vs (931.44 ± 397.92) U/L]水平差异无统计学意义 ($t = -0.384, -0.205, P = 0.707, 0.841$)。与未经ConA诱导组相比, ConA诱导12 h和24 h组WT大鼠和*C6orf120*^{-/-}大鼠血浆ALT与AST水平均显著升高 (P 均≤ 0.001); 与ConA诱导12 h组相比, ConA诱导24 h组WT大鼠血浆ALT与AST水平均显著降低 (P 均≤ 0.001), *C6orf120*^{-/-}大鼠血浆ALT与AST水平差异均无统计学意义 (P 均> 0.05)。未经ConA诱导组、ConA诱导12 h组和ConA诱导24 h组*C6orf120*^{-/-}大鼠全血中性粒细胞百分比均显著高于WT大鼠[未经ConA诱导组: (21.57 ± 3.88) % vs (10.63 ± 3.34) %; ConA诱导12 h组: (69.26 ± 2.36) % vs (55.80 ± 6.34) %; ConA诱导24 h组: (24.57 ± 3.76) % vs (13.09 ± 3.45) %], 差异有统计学意义 ($t = -6.042, -4.136, -5.513, P$ 均≤ 0.001)。未经ConA诱导组*C6orf120*^{-/-}大鼠外周血[(33.24 ± 9.80) % vs (13.77 ± 5.33) %]和脾脏[(8.96 ± 2.65) % vs (4.32 ± 0.92) %]中性粒细胞比例均显著高于WT大鼠 ($t = -6.049, -5.941, P$ 均< 0.001); 肝脏[(20.85 ± 5.74) % vs (19.25 ± 4.93) %]和肠系膜淋巴结[(0.95 ± 0.26) % vs (0.88 ± 0.45) %]中性粒细胞比例差异无统计学意义 ($t = -0.701, -0.466, P = 0.491, 0.646$)。ConA诱导12 h组和24 h组*C6orf120*^{-/-}大鼠外周血[12 h: (59.16 ± 11.72) % vs (39.31 ± 5.88) %; 24 h: (50.16 ± 5.95) % vs (38.99 ± 5.91) %]和肝脏[12 h: (33.43 ± 6.47) % vs (25.20 ± 3.92) %; 24 h: (23.23 ± 4.36) % vs (14.34 ± 2.30) %]中性粒细胞比例均显著高于WT大鼠 (P 均< 0.05), 肠系膜淋巴结[12 h: (0.33 ± 0.10) % vs (0.45 ± 0.20) %; 24 h: (0.53 ± 0.13) % vs (0.43 ± 0.15) %]和脾脏[12 h: (11.39 ± 4.47) % vs (8.55 ± 5.07) %; 24 h: (12.22 ± 2.11) % vs (8.69 ± 5.13) %]中性粒细胞比例差异无统计学意义 (P 均> 0.05)。3组间WT大鼠和*C6orf120*^{-/-}大鼠外周血、肝脏、肠系膜淋巴结及脾脏中性粒细胞比例差异均有统计学意义 (P 均< 0.001)。未经ConA诱导组*C6orf120*^{-/-}大鼠外周血[(2.21 ± 0.78) % vs (4.02 ± 1.23) %]、肝脏[(3.18 ± 0.62) % vs (6.72 ± 1.37) %]、肠系膜淋巴结[(4.28 ± 1.25) % vs (7.18 ±

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7380.2021.01.010

基金项目: “十三五”国家科技重大专项 (2017ZX10205501-001-002); 北京市自然科学基金资助项目 (面上项目) (7212053); 北京市医院管理局临床医学发展专项经费资助 (ZYLX201707)

通讯作者: 李鑫 Email: leaxin@sina.com

2.21) %和脾脏[$(5.42 \pm 0.55) \%$ vs $(10.19 \pm 1.35) \%$]巨噬细胞比例均显著低于WT大鼠(t 值分别为4.291、7.797、3.919、11.388, P 均 ≤ 0.001)。ConA诱导12 h和24 h组C6orf120^{-/-}大鼠肠系膜淋巴结中巨噬细胞比例[12 h: $(34.45 \pm 8.05) \%$ vs $(14.13 \pm 6.18) \%$; 24 h: $(19.95 \pm 6.44) \%$ vs $(11.35 \pm 1.96) \%$]显著高于WT大鼠($t = -5.664$, $P < 0.001$; $t = 4.222$, $P = 0.001$), 外周血[12 h: $(17.63 \pm 3.69) \%$ vs $(22.55 \pm 4.73) \%$; 24 h: $(21.08 \pm 5.73) \%$ vs $(18.28 \pm 7.84) \%$]、肝脏[12 h: $(24.81 \pm 8.06) \%$ vs $(25.88 \pm 9.91) \%$; 24 h: $(9.11 \pm 2.84) \%$ vs $(9.98 \pm 2.55) \%$]和脾脏[12 h: $(15.56 \pm 8.16) \%$ vs $(13.89 \pm 6.23) \%$; 24 h: $(18.39 \pm 4.08) \%$ vs $(18.70 \pm 1.88) \%$]巨噬细胞比例差异无统计学意义(P 均 > 0.05)。3组间WT大鼠和C6orf120^{-/-}大鼠外周血、肝脏、肠系膜淋巴结及脾脏巨噬细胞比例差异均有统计学意义(P 均 < 0.001)。结论 C6orf120基因敲除可促进中性粒细胞增殖而抑制巨噬细胞增殖。在ConA诱导的大鼠AIH中, C6orf120基因缺失对肝损伤具有保护作用, 其机制可能与中性粒细胞和巨噬细胞的免疫调节作用有关。

关键词: C6orf120; 自身免疫性肝炎; 中性粒细胞; 巨噬细胞

Effects of C6orf120 gene knockout on neutrophils and macrophages of autoimmune hepatitis induced by concanavalin A in rats

Wu Yuanni¹, Zhang Rui², Han Xiaoxu², Song Xincheng¹, Zhang Jian³, Li Xin^{1,2} (1.Department of Center of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Peking University Ditan Teaching Hospital, Beijing 100015, China; 2.Department of Center of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Beijing Ditan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100015, China; 3.Department of Gastroenterology, Peking University Ditan Teaching Hospital, Beijing 100015, China; 4.Department of Gastroenterology, Qingdao Municipal Hospital, Qingdao 266011, Shandong Province, China)

Abstract: Objective To investigate the effects of C6orf120 gene knockout on neutrophils and macrophages of autoimmune hepatitis (AIH) induced by concanavalin A (ConA) in rats. **Methods** A total of 24 wild-type (WT) rats and 24 C6orf120^{-/-} knockout (C6orf120^{-/-}) rats were randomly divided into 3 groups: without ConA administrated group, ConA administrated 12 h group and ConA administrated 24 h group, respectively, eight WT rats and eight C6orf120^{-/-} rats were allocated into each group. AIH model was established with ConA 35 mg/kg intravenous injection into rats in ConA administrated 12 h and 24 h groups and rats were sacrificed at 12 h and 24 h after ConA challenging respectively. The levels of alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) were detected. The ratios of neutrophil and macrophage in peripheral blood, liver, spleen and mesenteric lymph nodes of rats were determined by flow cytometry. The proportion of neutrophil in whole blood of rats was detected by automatic five classification hematology analyzer. **Results** There were no significant differences in plasma ALT [$(57.03 \pm 16.39) \text{ U/L}$ vs $(55.82 \pm 12.35) \text{ U/L}$] and AST [$(99.94 \pm 18.56) \text{ U/L}$ vs $(110.86 \pm 21.84) \text{ U/L}$] levels between WT rats and C6orf120^{-/-} rats of without ConA administrated group ($t = 0.244$, -1.616 ; $P = 0.809$, 0.115). The ALT [$(494.27 \pm 250.41) \text{ U/L}$ vs $(206.44 \pm 98.66) \text{ U/L}$] and AST [$(2043.42 \pm 1618.09) \text{ U/L}$ vs $(777.22 \pm 383.95) \text{ U/L}$] levels of WT rats were significantly higher than those of C6orf120^{-/-} rats of ConA administrated 12 h group, and the differences were statistically significant ($t = 4.445$, 3.216 ; $P = 0.001$, 0.016). There were no significant differences in plasma ALT [$(196.31 \pm 76.10) \text{ U/L}$ vs $(211.63 \pm 83.28) \text{ U/L}$] and AST [$(892.88 \pm 354.95) \text{ U/L}$ vs $(931.44 \pm 397.92) \text{ U/L}$] levels between WT rats and C6orf120^{-/-} rats of ConA administrated 24 h group ($t = -0.384$, -0.205 ; $P = 0.707$, 0.841). Compared with those of without ConA administrated group, the plasma ALT and AST levels of WT rats and C6orf120^{-/-} rats of ConA administrated 12 h group and ConA administrated 24 h group increased significantly (all $P \leq 0.001$). Compared with those of ConA administrated 12 h group, the plasma ALT and AST levels of WT rats of ConA administrated 24 h group decreased significantly (all $P \leq 0.001$), and there were no significant differences in plasma ALT and AST levels of C6orf120^{-/-} rats (all $P > 0.05$). The percentage of neutrophils in whole blood of C6orf120^{-/-} rats were significantly higher than those of WT rats of without ConA administrated group [$(21.57 \pm 3.88) \%$ vs $(10.63 \pm 3.34) \%$], ConA administrated 12 h group [$(69.26 \pm 2.36) \%$ vs $(55.80 \pm 6.34) \%$] and ConA administrated 24 h group [$(24.57 \pm 3.76) \%$ vs $(13.09 \pm 3.45) \%$], respectively, the differences were statistically significant ($t = -6.042$, -4.136 , -5.513 ; all $P \leq 0.001$). The neutrophils proportion in peripheral blood [$(33.24 \pm 9.80) \%$ vs $(13.77 \pm 5.33) \%$] and spleen [$(8.96 \pm 2.65) \%$ vs $(4.32 \pm 0.92) \%$] of C6orf120^{-/-} rats of without ConA administrated group were significantly higher than those of WT rats ($t = -6.049$, -5.941 ; all $P <$

0.001), and there were no significant differences in the neutrophils proportion in liver $[(20.85 \pm 5.74)\% \text{ vs } (19.25 \pm 4.93)\%]$ and mesenteric lymph nodes $[(0.95 \pm 0.26)\% \text{ vs } (0.88 \pm 0.45)\%]; t = -0.701, -0.466; P = 0.491, 0.646]$. The neutrophils proportion in peripheral blood [12 h: $(59.16 \pm 11.72)\% \text{ vs } (39.31 \pm 5.88)\%$; 24 h: $(50.16 \pm 5.95)\% \text{ vs } (38.99 \pm 5.91)\%$] and liver [12 h: $(33.43 \pm 6.47)\% \text{ vs } (25.20 \pm 3.92)\%$; 24 h: $(23.23 \pm 4.36)\% \text{ vs } (14.34 \pm 2.30)\%$] of *C6orf120*^{-/-} rats in ConA administrated 12 h group and ConA administrated 24 h group were significantly higher than those of WT rats, and there were no significant differences in the proportion of neutrophils in mesenteric lymph nodes [12 h: $(0.33 \pm 0.10)\% \text{ vs } (0.45 \pm 0.20)\%$; 24 h: $(0.53 \pm 0.13)\% \text{ vs } (0.43 \pm 0.15)\%$] and spleen [12 h: $(11.39 \pm 4.47)\% \text{ vs } (8.55 \pm 5.07)\%$; 24 h: $(12.22 \pm 2.11)\% \text{ vs } (8.69 \pm 5.13)\%$; all $P > 0.05]$. The neutrophils proportion in peripheral blood, liver, mesenteric lymph nodes and spleen of WT rats and *C6orf120*^{-/-} rats among without ConA administrated group, ConA administrated 12 h group and ConA administrated 24 h group were statistically significant (all $P < 0.001$). The macrophage proportion in peripheral blood $[(2.21 \pm 0.78)\% \text{ vs } (4.02 \pm 1.23)\%]$, liver $[(3.18 \pm 0.62)\% \text{ vs } (6.72 \pm 1.37)\%]$, mesenteric lymph nodes $[(4.28 \pm 1.25)\% \text{ vs } (7.18 \pm 2.21)\%]$ and spleen $[(5.42 \pm 0.55)\% \text{ vs } (10.19 \pm 1.35)\%]$ of *C6orf120*^{-/-} rats of without ConA administrated group were significantly lower than those of WT rats ($t = 4.291, 7.797, 3.919, 11.388$; all $P \leq 0.001$). The macrophage proportion in mesenteric lymph nodes [12 h: $(34.45 \pm 8.05)\% \text{ vs } (14.13 \pm 6.18)\%$; 24 h: $(19.95 \pm 6.44)\% \text{ vs } (11.35 \pm 1.96)\%$] of *C6orf120*^{-/-} rats of ConA administrated 12 h group and ConA administrated 24 h group were significantly higher than those of WT rats ($t = -5.664, P < 0.001; t = 4.222, P = 0.001$), and there were no significant differences in the proportion of macrophage in peripheral blood [12 h: $(17.63 \pm 3.69)\% \text{ vs } (22.55 \pm 4.73)\%$; 24 h: $(21.08 \pm 5.73)\% \text{ vs } (18.28 \pm 7.84)\%$], liver [12 h: $(24.81 \pm 8.06)\% \text{ vs } (25.88 \pm 9.91)\%$; 24 h: $(9.11 \pm 2.84)\% \text{ vs } (9.98 \pm 2.55)\%$] and spleen [12 h: $(15.56 \pm 8.16)\% \text{ vs } (13.89 \pm 6.23)\%$; 24 h: $(18.39 \pm 4.08)\% \text{ vs } (18.70 \pm 1.88)\%$; all $P > 0.05]$. The macrophage proportion in peripheral blood, liver, mesenteric lymph nodes and spleen of WT rats and *C6orf120*^{-/-} rats among without ConA administrated group, ConA administrated 12 h group and ConA administrated 24 h group were statistically significant (all $P < 0.001$). **Conclusions** Knockout of *C6orf120* gene can promote the proliferation of neutrophils and inhibit the proliferation of macrophages. In ConA-induced AIH rats, *C6orf120* gene deletion has protective effect on liver injury, which may be related to the regulation of neutrophils and macrophages.

Key words: *C6orf120*; Autoimmune hepatitis; Neutrophils; Macrophages

自身免疫性肝炎(autoimmune hepatitis, AIH)是一种复杂的免疫介导的肝脏炎症性疾病,并逐渐成为一种全球性疾病^[1]。AIH多见于青中年女性,临床表现为不同程度的血清丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)升高、免疫球蛋白G(immunoglobulin G, IgG)和(或) γ -球蛋白升高及循环中自身抗体存在,肝组织学表现为界面性肝炎、淋巴-浆细胞浸润、肝细胞玫瑰花环样改变和淋巴细胞穿入现象等^[2]。AIH的病因和发病机制尚未明确,目前认为是由遗传易感性、自身抗原存在、环境诱发因素及免疫紊乱等多因素参与的免疫耐受失衡。肝脏是重要的免疫器官,肝脏中包括中性粒细胞和巨噬细胞在内的固有免疫细胞在AIH的发生、发展和转归中发挥重要作用。研究表明,适当的中性粒细胞集聚在肝脏可起到防御作用,但过度中性粒细胞激活和迁移则会导致急性肝损伤^[3-5]。在AIH中,巨噬细胞在维持肝脏免疫稳态及启动和控制肝脏炎症方面发挥重要作用。巨噬细胞通过产生细

胞因子如白细胞介素(interleukin, IL)10、IL-6和IL-18等起到保护肝脏的作用^[6],但巨噬细胞持续、过度激活会导致慢性肝脏炎症和纤维化^[7]。因此,研究中性粒细胞和巨噬细胞在不同免疫组织中的数量和功能可为阐明AIH的发病机制提供重要思路。

*C6orf120*基因是一个功能未知、编码N-糖基化蛋白的基因。大鼠和人类*C6orf120*基因位置不同(大鼠位于1q12,而人类位于6q27),但两者基因家族相同,序列直系同源。有研究表明该基因表达的蛋白在肝组织中高表达^[8,9]。有研究对该基因的功能进行了初步研究,结果表明,敲除*C6orf120*基因可促进刀豆蛋白A(concanavalin A, ConA)诱导的AIH大鼠CD4⁺T细胞的增殖、上调CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺Treg细胞的表达并下调细胞因子的分泌,对大鼠实验性AIH有保护作用^[10,11]。宋心成等^[12]研究表明,*C6orf120*基因缺失可上调Treg频率、下调Th17频率,从而减轻ConA诱导的大鼠肝损伤。因此,我们推测功能未知基因*C6orf120*可能

参与免疫调控而影响AIH的发生发展。基于中性粒细胞和巨噬细胞在肝损伤中的作用,本研究借助于基因敲除技术,通过ConA诱导建立实验性AIH大鼠模型,探讨*C6orf120*敲除对AIH大鼠中性粒细胞和巨噬细胞的影响。

1 资料与方法

1.1 实验动物 野生型(wild type, WT)大鼠购买于北京华阜康生物科技股份有限公司,基因敲低大鼠*C6orf120*^{-/-}由苏州赛业生物科技有限公司制备,经繁殖后获得*C6orf120*^{-/-}大鼠。所有大鼠均饲养在北京大学医学部实验动物中心的无特殊病原体级动物室,5只/笼,温度(21±2)℃,相对湿度(50±15)%,人工模拟12 h照明/12 h黑暗昼夜循环。大鼠自由摄食饮水,鼠笼、垫料、饲料、饮用水均经高温高压消毒灭菌处理。

1.2 分组及大鼠AIH模型的建立 随机抽取6~8周龄SD雄性WT大鼠和*C6orf120*^{-/-}大鼠,体质量(200±20)g,每种基因型各24只,分别随机分成未经ConA诱导组、ConA诱导12 h组和ConA诱导24 h组,每组中WT大鼠和*C6orf120*^{-/-}大鼠各8只。其中ConA诱导12 h组和ConA诱导24 h组大鼠以35 mg/kg的剂量舌下静脉注射ConA,建立AIH大鼠模型,未经ConA诱导组大鼠于其他两组注射ConA时处死,ConA诱导12 h组和24 h组大鼠分别于注射ConA 12 h和24 h时处死(大鼠处死前禁食不禁水12 h),留取外周血、肝脏、肠系膜淋巴结和脾脏。

1.3 主要实验仪器及试剂 FACS Calibur流式细胞仪(美国BD公司);全自动生化分析仪(日本HITACHI公司);LH750全自动五分类血球分析仪(美国BECKMAN公司)。ConA粉剂购自美国sigma公司;Anti-rat Granulocytes FITC抗体、Anti-rat CD45 PerCP-Vio700抗体和Anti-rat CD68 APC抗体购自德国美天旎公司;RBC Lysis Buffer(10×)购自美国eBioscience公司;BD固定破膜液和破膜洗液购自美国eBioscience公司。

1.4 观察指标

1.4.1 肝脏生物化学指标检测 大鼠麻醉后,取下腔静脉血2 ml,3000 r/min离心15 min(离心半径为15 cm)后留取血浆,采用HITACHI全自动生化分析仪检测血浆丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)和天门冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)水平。

1.4.2 流式细胞表型分析 将留取的大鼠外周血、肝脏、肠系膜淋巴结和脾脏组织,通过RBC Lysis Buffer裂解外周血红细胞,分离外周血单个核细

胞,通过40%和80% percoll密度梯度离心分离肝间质细胞,通过研磨、过滤分离肠系膜淋巴结内的淋巴细胞,通过RBC Lysis Buffer裂解分离脾脏内的淋巴细胞,分别制备成单细胞悬液,150 μl分管,每管先加入Anti-rat Granulocytes FITC 1 μl、Anti-rat CD45 PerCP-Vio700抗体0.5 μl,4℃避光表面染色15 min。然后固定、破膜,清洗后加入Anti-rat CD68 APC 5 μl,4℃避光染色30 min。最后PBS清洗后上流式细胞仪检测。不同细胞标记方案:中性粒细胞CD45⁺Gr⁺;巨噬细胞CD45⁺Gr⁺CD68⁺。采用flowjo 10软件分析流式检测结果。

1.4.3 全血中性粒细胞检测 大鼠麻醉后,采用标准静脉穿刺法采取大鼠下腔静脉血,置于一次性负压抗凝采血管中,上下颠倒摇匀,使血液与采血管中预留的抗凝剂混合均匀,然后通过全自动五分类血球分析仪检测大鼠全血中性粒细胞比例。

1.5 统计学处理 采用SPSS 25.0软件进行数据处理。本研究中ALT、AST、中性粒细胞比例及巨噬细胞比例均为计量资料,符合正态分布,以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用独立样本 t 检验,各时间点间的比较采用方差分析,两两比较采用LSD- t 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 ConA诱导后大鼠肝功能的变化 未经ConA诱导组WT大鼠和*C6orf120*^{-/-}大鼠血清中ALT与AST水平均无显著差异($t = 0.244$ 、 -1.616 , $P = 0.809$ 、 0.115);ConA诱导12 h组WT大鼠ALT和AST水平均显著高于*C6orf120*^{-/-}大鼠($t = 4.445$ 、 3.216 , $P = 0.001$ 、 0.016);ConA诱导24 h组WT大鼠和*C6orf120*^{-/-}大鼠血清ALT与AST水平差异无统计学意义($t = -0.384$ 、 -0.205 , $P = 0.707$ 、 0.841)。与未经ConA诱导组相比,ConA诱导12 h组和24 h组WT大鼠和*C6orf120*^{-/-}大鼠血清ALT与AST水平均显著升高(P 均 ≤ 0.001);与ConA诱导12 h组相比,ConA诱导24 h组WT大鼠血清ALT与AST水平均显著降低(P 均 ≤ 0.001),*C6orf120*^{-/-}大鼠血清ALT与AST水平差异均无统计学意义(P 均 > 0.05)。见表1。

2.2 外周血、肝脏、肠系膜淋巴结和脾脏中性粒细胞比例 未经ConA诱导组、ConA诱导12 h组及ConA诱导24 h组*C6orf120*^{-/-}大鼠全血中性粒细胞比例均显著高于WT大鼠,差异有统计学意义($t = -6.042$ 、 -4.136 、 -5.513 , P 均 ≤ 0.001)。与未经ConA诱导组相比,ConA诱导12 h组和24 h组WT大鼠和*C6orf120*^{-/-}大鼠全血中性粒细胞比例均显著升高(P 均 < 0.001);与ConA诱导12 h组相比,ConA诱导

24 h组WT大鼠和*C6orf120*^{-/-}大鼠全血中性粒细胞比例均显著降低(P 均 < 0.001)。见表2。未经ConA诱导组*C6orf120*^{-/-}大鼠外周血和脾脏中性粒细胞比例均显著高于WT大鼠($t = -6.049$ 、 -5.941 , P 均 < 0.001)；肝脏和肠系膜淋巴结中性粒细胞比例差异无统计学意义($t = -0.701$ 、 -0.466 , $P = 0.491$ 、 0.646)。ConA诱导12 h和24 h组*C6orf120*^{-/-}大鼠外周血和肝脏中性粒细胞比例均显著高于WT大鼠(P 均 < 0.05)，肠系膜淋巴结和脾脏中性粒细胞比例差异无统计学意义(P 均 > 0.05)。与未经ConA诱导组相比，ConA诱导12 h和24 h组WT大鼠外周血、肝脏和脾脏中性粒细胞比例显著增加、肠系膜淋巴结比例显著降低(P 均 < 0.05)。与未经ConA诱导组相比，ConA诱导12 h组*C6orf120*^{-/-}大鼠外周血、肝脏中性粒细胞比例显著增加，肠系膜淋巴结比例显著降低(P 均 < 0.001)，ConA诱导24 h组*C6orf120*^{-/-}大鼠外周血和脾脏中性粒细胞比例显著增加(P 均 < 0.05)，肝脏和肠系膜淋巴结中性粒细胞比例差异无统计学意义($P > 0.05$)。与未经ConA诱导组相比，ConA诱导12 h组WT大鼠肝脏中性粒细胞比例显著高于ConA诱导24 h组($P < 0.001$)，*C6orf120*^{-/-}大鼠外周血和肝脏中性粒细胞比例显著高

于ConA诱导24 h组(P 均 < 0.05)。见表3、图1。

2.3 外周血、肝脏、肠系膜淋巴结和脾脏巨噬细胞比例 未经ConA诱导组*C6orf120*^{-/-}大鼠外周血、肝脏、肠系膜淋巴结和脾脏巨噬细胞比例均显著低于WT大鼠(t 值分别为4.291、7.797、3.919、11.388, P 均 ≤ 0.001)。ConA诱导12 h和24 h组*C6orf120*^{-/-}大鼠肠系膜淋巴结中巨噬细胞比例显著高于WT大鼠($t = -5.664$, $P < 0.001$; $t = 4.222$, $P = 0.001$)，外周血、肝脏和脾脏巨噬细胞比例差异无统计学意义(P 均 > 0.05)。与未经ConA诱导组相比，ConA诱导12 h组和24 h组WT大鼠外周血、肝脏、脾脏和肠系膜淋巴结巨噬细胞比例显著增加(P 均 ≤ 0.05)，ConA诱导12 h组*C6orf120*^{-/-}大鼠外周血和肝脏巨噬细胞比例显著增加，肠系膜淋巴结巨噬细胞比例显著降低($P < 0.001$)；ConA诱导24 h组*C6orf120*^{-/-}大鼠外周血和脾脏巨噬细胞比例显著增加(P 均 < 0.05)，肝脏和肠系膜淋巴结巨噬细胞比例差异无统计学意义(P 均 > 0.05)。ConA诱导12 h组WT大鼠外周血、肝脏和肠系膜淋巴结巨噬细胞比例显著高于ConA诱导24 h组(P 均 < 0.05)，*C6orf120*^{-/-}大鼠肝脏和肠系膜淋巴结中巨噬细胞比例显著高于ConA诱导24 h组(P 均 < 0.001)。见表4、图2。

表1 WT大鼠和*C6orf120*^{-/-}大鼠经ConA诱导后血清ALT和AST水平($\bar{x} \pm s$, U/L)

组别	ALT				AST			
	WT大鼠	<i>C6orf120</i> ^{-/-} 大鼠	t 值	P 值	WT大鼠	<i>C6orf120</i> ^{-/-} 大鼠	t 值	P 值
未经ConA诱导组	57.03 \pm 16.39	55.82 \pm 12.35	0.244	0.809	99.94 \pm 18.56	110.86 \pm 21.84	-1.616	0.115
ConA诱导12 h组	494.27 \pm 250.41	206.44 \pm 98.66	4.445	0.001	2043.42 \pm 1618.09	777.22 \pm 383.95	3.216	0.016
ConA诱导24 h组	196.31 \pm 76.10	211.63 \pm 83.28	-0.384	0.707	892.88 \pm 354.95	931.44 \pm 397.92	-0.205	0.841
F 值	36.079	15.652	-	-	32.561	10.788	-	-
P 值	< 0.001	< 0.001	-	-	< 0.001	0.001	-	-
t_1 值	447.563	74.979	-	-	1017.771	367.021	-	-
P_1 值	< 0.001	0.015	-	-	< 0.001	< 0.001	-	-
t_2 值	148.813	155.292	-	-	510.396	339.583	-	-
P_2 值	0.014	< 0.001	-	-	0.001	0.001	-	-
t_3 值	298.750	10.131	-	-	507.375	27.438	-	-
P_3 值	< 0.001	0.779	-	-	0.001	0.734	-	-

注： t_1 、 P_1 为ConA诱导12 h组与未经ConA诱导组相比， t_2 、 P_2 为ConA诱导24 h组与未经ConA诱导组相比， t_3 、 P_3 为ConA诱导12 h组与ConA诱导24 h组相比；“-”为无相关数据。

表2 WT大鼠和*C6orf120*^{-/-}大鼠全血中性粒细胞比例($\bar{x} \pm s$, %)

组别	未经ConA诱导组	ConA诱导12 h组	ConA诱导24 h组	F 值	P 值
WT大鼠	10.63 \pm 3.34	55.80 \pm 6.34 ^a	13.09 \pm 3.45 ^{bc}	226.020	< 0.001
<i>C6orf120</i> ^{-/-} 大鼠	21.57 \pm 3.88	69.26 \pm 2.36 ^d	24.57 \pm 3.76 ^{ef}	213.868	< 0.001
t 值	-6.042	-4.136	-5.513	-	-
P 值	< 0.001	0.001	< 0.001	-	-

注：与未经ConA诱导组WT大鼠相比，^a $t = 45.42$ ，^a $P < 0.001$ ，^b $t = 2.46$ ，^b $P = 0.345$ ，与ConA诱导12 h组WT大鼠相比，^c $t = 42.95$ ，^c $P < 0.001$ ；与未经ConA诱导组*C6orf120*^{-/-}大鼠相比，^d $t = 47.69$ ，^d $P < 0.001$ ，^e $t = 3.00$ ，^e $P = 0.287$ ，与ConA诱导12 h组*C6orf120*^{-/-}大鼠相比，^f $t = 44.69$ ，^f $P < 0.001$ 。

表3 WT大鼠和 *C6orf120*^{-/-} 大鼠外周血、肝脏、肠系膜淋巴结及脾脏中性粒细胞比例 ($\bar{x} \pm s$, %)

组别	外周血				肝脏			
	WT大鼠	<i>C6orf120</i> ^{-/-} 大鼠	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值	WT大鼠	<i>C6orf120</i> ^{-/-} 大鼠	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
未经ConA诱导组	13.77 ± 5.33	33.24 ± 9.80	-6.049	< 0.001	19.25 ± 4.93	20.84 ± 5.74	-0.701	0.491
ConA诱导12 h组	39.31 ± 5.88	59.16 ± 11.72	-4.281	0.001	25.20 ± 3.92	33.43 ± 6.47	-3.074	0.008
ConA诱导24 h组	38.99 ± 5.91	50.16 ± 5.95	-4.616	< 0.001	14.34 ± 2.30	23.23 ± 4.36	-6.244	< 0.001
<i>F</i> 值	76.487	17.983	-	-	19.460	13.377	-	-
<i>P</i> 值	< 0.001	< 0.001	-	-	< 0.001	< 0.001	-	-
<i>t</i> ₁ 值	25.546	25.921	-	-	5.956	12.580	-	-
<i>P</i> ₁ 值	< 0.001	< 0.001	-	-	0.002	< 0.001	-	-
<i>t</i> ₂ 值	24.067	13.692	-	-	4.904	2.388	-	-
<i>P</i> ₂ 值	< 0.001	0.009	-	-	0.005	0.303	-	-
<i>t</i> ₃ 值	1.479	12.229	-	-	10.860	10.192	-	-
<i>P</i> ₃ 值	0.598	0.026	-	-	< 0.001	< 0.001	-	-

组别	肠系膜淋巴结				脾脏			
	WT大鼠	<i>C6orf120</i> ^{-/-} 大鼠	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值	WT大鼠	<i>C6orf120</i> ^{-/-} 大鼠	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
未经ConA诱导组	0.88 ± 0.45	0.95 ± 0.26	-0.466	0.646	4.32 ± 0.92	8.96 ± 2.65	-5.941	< 0.001
ConA诱导12 h组	0.45 ± 0.20	0.33 ± 0.10	1.500	0.163	8.55 ± 5.07	11.387 ± 4.47	-1.518	0.142
ConA诱导24 h组	0.43 ± 0.15	0.53 ± 0.13	-1.612	0.124	8.69 ± 5.13	12.22 ± 2.11	-1.735	0.125
<i>F</i> 值	7.431	24.446	-	-	4.556	3.242	-	-
<i>P</i> 值	0.003	< 0.001	-	-	0.019	0.051	-	-
<i>t</i> ₁ 值	0.430	0.618	-	-	4.232	2.433	-	-
<i>P</i> ₁ 值	0.005	< 0.001	-	-	0.001	0.072	-	-
<i>t</i> ₂ 值	0.449	0.418	-	-	4.374	3.263	-	-
<i>P</i> ₂ 值	0.002	0.087	-	-	0.026	0.020	-	-
<i>t</i> ₃ 值	0.018	0.200	-	-	0.142	0.831	-	-
<i>t</i> ₃ 值	0.893	0.055	-	-	0.940	0.530	-	-

注: 同组中不同大鼠间各指标的比较采用独立样本 *t* 检验, 3 组间同种大鼠各指标的比较采用方差分析, 两两比较采用 LSD-*t* 检验; *t*₁、*P*₁ 为 ConA 诱导 12 h 组与未经 ConA 诱导组相比, *t*₂、*P*₂ 为 ConA 诱导 24 h 组与未经 ConA 诱导组相比, *t*₃、*P*₃ 为 ConA 诱导 12 h 组与 ConA 诱导 24 h 组相比; “-” 为无相关数据。

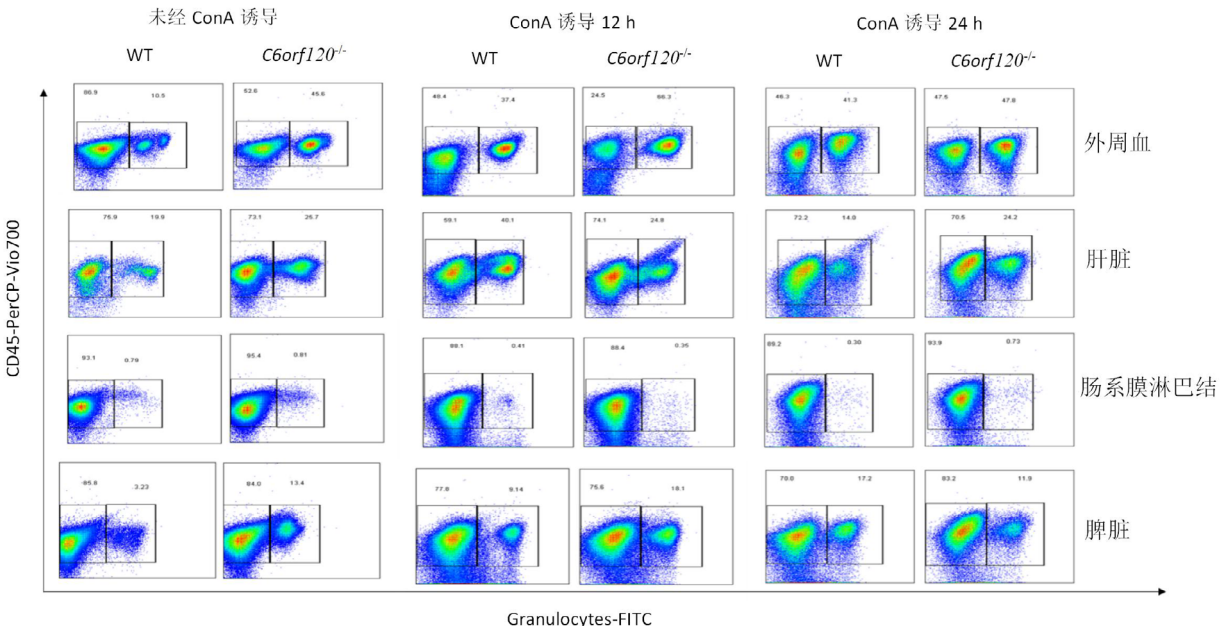


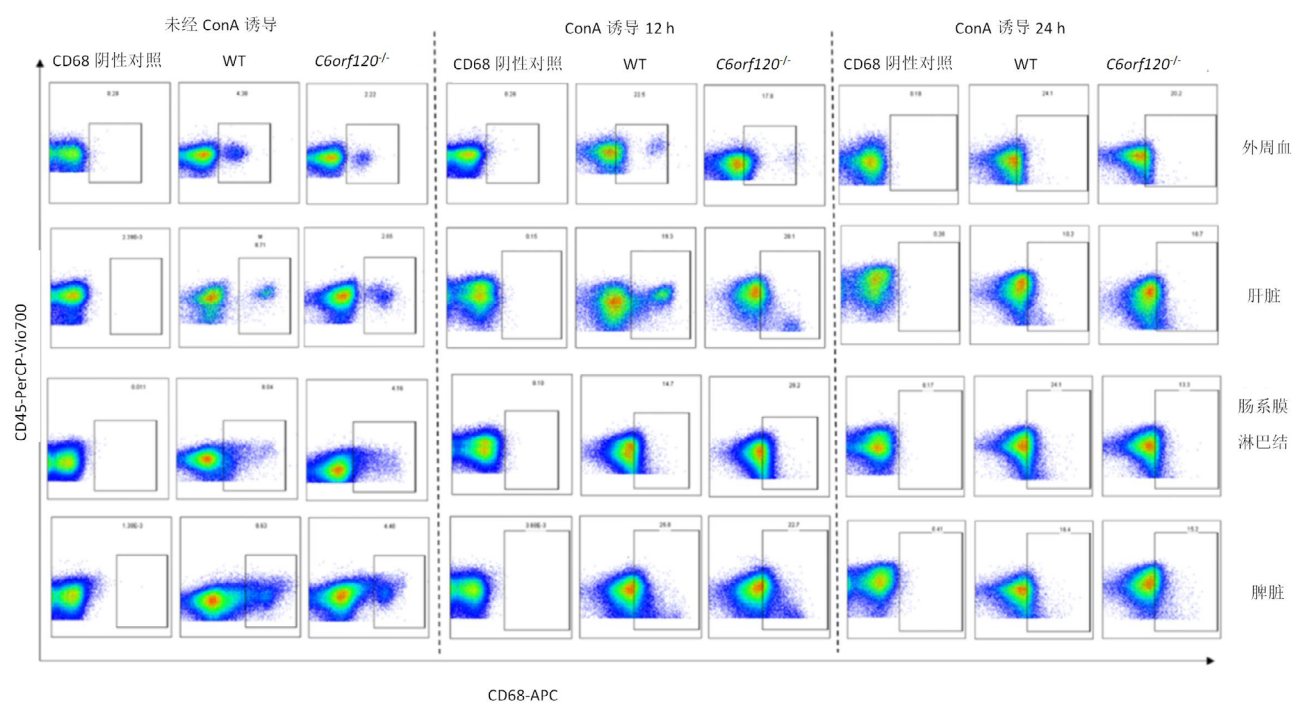
图1 WT大鼠和 *C6orf120*^{-/-} 大鼠外周血、肝脏、肠系膜淋巴结和脾脏中性粒细胞的流式细胞学分析

表 4 WT 大鼠和 *C6orf120*^{-/-} 大鼠外周血、肝脏、肠系膜淋巴结及脾脏巨噬细胞比例 ($\bar{x} \pm s$, %)

组别	外周血				肝脏			
	WT大鼠	<i>C6orf120</i> ^{-/-} 大鼠	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值	WT大鼠	<i>C6orf120</i> ^{-/-} 大鼠	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
未经ConA诱导组	4.02 ± 1.23	2.21 ± 0.78	4.291	< 0.001	10.19 ± 1.35	3.18 ± 0.62	7.797	< 0.001
ConA诱导12 h组	22.55 ± 4.73	17.63 ± 3.69	2.621	0.200	25.88 ± 9.91	24.81 ± 8.06	0.241	0.813
ConA诱导24 h组	18.28 ± 7.84	21.08 ± 5.73	-1.023	0.317	9.88 ± 2.55	9.11 ± 2.84	0.451	0.750
<i>F</i> 值	94.282	85.157	-	-	35.510	47.257	-	-
<i>P</i> 值	< 0.001	< 0.001	-	-	< 0.001	< 0.001	-	-
<i>t</i> ₁ 值	18.532	15.413	-	-	20.878	19.961	-	-
<i>P</i> ₁ 值	< 0.001	< 0.001	-	-	< 0.001	< 0.001	-	-
<i>t</i> ₂ 值	7.510	14.970	-	-	4.983	4.258	-	-
<i>P</i> ₂ 值	< 0.001	< 0.001	-	-	0.050	0.034	-	-
<i>t</i> ₃ 值	11.022	0.444	-	-	15.895	15.703	-	-
<i>P</i> ₃ 值	< 0.001	0.773	-	-	< 0.001	< 0.001	-	-

组别	肠系膜淋巴结				脾脏			
	WT大鼠	<i>C6orf120</i> ^{-/-} 大鼠	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值	WT大鼠	<i>C6orf120</i> ^{-/-} 大鼠	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
未经ConA诱导组	7.18 ± 2.21	4.28 ± 1.25	3.919	0.001	10.19 ± 1.35	5.42 ± 0.55	11.388	< 0.001
ConA诱导12 h组	14.13 ± 6.18	34.45 ± 8.05	-5.664	< 0.001	13.89 ± 6.23	15.56 ± 8.16	-0.585	0.564
ConA诱导24 h组	11.35 ± 1.96	19.95 ± 6.44	4.222	0.001	18.70 ± 1.88	18.39 ± 4.08	0.187	0.825
<i>F</i> 值	16.603	240.491	-	-	9.825	19.331	-	-
<i>P</i> 值	< 0.001	< 0.001	-	-	0.001	< 0.001	-	-
<i>t</i> ₁ 值	6.949	27.794	-	-	3.700	10.134	-	-
<i>P</i> ₁ 值	0.008	< 0.001	-	-	0.029	< 0.001	-	-
<i>t</i> ₂ 值	12.774	7.075	-	-	8.509	12.970	-	-
<i>P</i> ₂ 值	< 0.001	< 0.001	-	-	< 0.001	< 0.001	-	-
<i>t</i> ₃ 值	5.828	20.719	-	-	4.811	2.836	-	-
<i>P</i> ₃ 值	0.023	< 0.001	-	-	0.019	0.197	-	-

注: 同组中不同大鼠间各指标的比较采用独立样本 *t* 检验, 3 组间同种大鼠各指标的比较采用方差分析, 两两比较采用 LSD-*t* 检验; *t*₁、*P*₁ 为 ConA 诱导 12 h 组与未经 ConA 诱导组相比, *t*₂、*P*₂ 为 ConA 诱导 24 h 组与未经 ConA 诱导组相比, *t*₃、*P*₃ 为 ConA 诱导 12 h 组与 ConA 诱导 24 h 组相比; “-” 为无相关数据。

图 2 WT 大鼠和 *C6orf120*^{-/-} 大鼠外周血、肝脏、肠系膜淋巴结和脾脏巨噬细胞的流式细胞学分析

3 讨论

ConA是提纯于刀豆植物的糖类结合蛋白,是一种外源性植物凝集素,广泛用于AIH实验性动物模型。研究表明,ConA诱导的肝损伤是一种典型的T淋巴细胞依赖型肝损伤,ConA注射后可快速活化CD4⁺ T淋巴细胞,数小时后活化的CD4⁺ T淋巴细胞被募集至肝窦,选择性破坏ConA结合的肝窦内皮细胞,失去肝窦内皮细胞屏障会导致活化的淋巴细胞直接攻击肝细胞,释放大量的ALT、AST,使血浆中ALT、AST水平升高,可较好地模拟AIH的病理机制^[13-15]。尽管目前在AIH的发病机制和诊断治疗上已取得了较大进步,但AIH是否需终生免疫抑制治疗仍有争议,肝移植的成本和抑制后复发也亟待解决。

中性粒细胞是固有免疫最丰富的白细胞,起源于骨髓,是宿主的第一道防线,是无菌和非无菌炎症反应重要的效应细胞^[4,16]。有研究表明,在无菌组织损伤中,中性粒细胞不能发挥抗菌效应,相反,其可清除碎片并启动伤口愈合过程^[17]。中性粒细胞可产生多种重要的抗炎介质和促脂质分解介质,这些介质可介导炎症清除^[18]。此外,中性粒细胞还具有免疫抑制功能,在内毒素血症中发挥保护宿主的作用^[19]。Wang等^[20]利用活体显微镜观察无菌性肝损伤时发现,肝组织中浸润的中性粒细胞通过分解损伤血管并为新血管再生创造通道而发挥重要的修复功能。Yang等^[21]在研究对乙酰氨基酚诱导的肝损伤时发现,中性粒细胞可促进ROS介导的修复性巨噬细胞的分化,从而协调肝脏修复。本研究表明,在ConA诱导的免疫性肝损伤中,与WT大鼠相比,C6orf120^{-/-}大鼠肝功能损伤较轻,外周血和肝脏内中性粒细胞比例增加,提示C6orf120基因可能通过中性粒细胞的免疫调节而发挥保护肝脏的作用。

巨噬细胞是肝脏固有免疫细胞,在肝脏免疫调节中发挥重要作用。巨噬细胞作用广泛,除了在清除甲壳类真菌感染和兔的细菌感染方面发挥关键作用外,在组织修复中也发挥重要作用^[22]。中性粒细胞集聚在炎症部位后,血液中的单核细胞被大量招募,然后分化为巨噬细胞和树突状细胞,这种单核细胞来源的巨噬细胞和树突状细胞能够进行表型和功能转变,从而有效地促进创面愈合和组织再生^[23]。多项研究表明,大量先天免疫细胞,特别是中性粒细胞和单核细胞来源的巨噬细胞,在肝损伤中集聚增多,有利于损伤修复^[24,25]。本研究表明,在ConA诱导的AIH大鼠中,与WT大鼠相比,C6orf120^{-/-}大鼠肝功能损伤较轻,肠系膜淋巴结中

巨噬细胞增多,提示C6orf120基因缺失在ConA诱导的AIH中具有保护作用,其机制可能与巨噬细胞复杂的免疫调节有关。

本研究还存在以下不足。首先,未对WT大鼠和C6orf120^{-/-}大鼠肝损伤程度进行评分,下一步将完善肝组织染色,评估肝损伤程度;其次,未对中性粒细胞和巨噬细胞激活后分泌的相关趋化因子和细胞因子进行分析,后续将从基因水平、蛋白质水平以及定量检测等多方面分析验证实验结果;第三,未对中性粒细胞的功能和作用机制进行研究,其发挥肝脏保护作用是直接还是间接、是独立还是协同有待进一步验证;最后,未对巨噬细胞分型进行研究,是M1还是M2型,是否发生表型转变,需进一步完善。

综上,在ConA诱导的AIH大鼠中,中性粒细胞和巨噬细胞比例上调,与WT大鼠相比,C6orf120^{-/-}大鼠肝功能损伤较轻。C6orf120基因敲除可促进中性粒细胞增殖并抑制巨噬细胞增殖。C6orf120基因缺失对大鼠AIH具有保护作用,其机制可能与中性粒细胞和巨噬细胞复杂的免疫调节有关。

参考文献

- [1] SUCHER E, SUCHER R, GRADISTANAC T, et al. Autoimmune hepatitis-immunologically triggered liver pathogenesis-diagnostic and therapeutic strategies[J]. J Immunol Res, 2019, 2019: 9437043.
- [2] KERKAR N, CHAN A. Autoimmune hepatitis, sclerosing cholangitis, and autoimmune sclerosing cholangitis or overlap syndrome[J]. Clin Liver Dis, 2018, 22(4): 689-702.
- [3] ADAMS D H, JU C, RAMAIAH S K, et al. Mechanisms of immune-mediated liver injury[J]. Toxicol Sci, 2010, 115(2): 307-321.
- [4] WANG X Z, ZHANG S Y, XU Y, et al. The role of neutrophils in triptolide-induced liver injury[J]. Chin J Nat Med, 2018, 16(9): 653-664.
- [5] 高美欣, 何玲玲, 叶小慧, 等. *Glt25d1*基因敲低对刀豆蛋白A诱导的自身免疫性肝炎小鼠巨噬细胞和中性粒细胞的影响[J/CD]. 中国肝脏病杂志(电子版), 2020, 12(1): 36-43.
- [6] ELCHANINOV A V, FATKHUDDINOV T K, VISHNYAKOVA P A, et al. Phenotypical and functional polymorphism of liver resident macrophages[J]. Cells, 2019, 8(9): 1032.
- [7] ZHANG J, GUO L, LIU M, et al. Receptor-interacting protein kinase 3 mediates macrophage/monocyte activation in autoimmune hepatitis and regulates interleukin-6 production[J]. United European Gastroenterol J, 2018, 6(5): 719-728.
- [8] LI X, QIAO Y, CHANG L S, et al. Role of C6orf120, an N-glycosylated protein, is implicated in apoptosis of CD4⁺ T lymphocytes[J]. Chin Med J, 2011, 124(21): 3560-3567.
- [9] CHEN R, JIANG X, SUN D, et al. Glycoproteomics analysis of human liver tissue by combination of multiple enzyme digestion and hydrazide chemistry[J]. J Proteome Res, 2009, 8(2): 651-661.
- [10] 张曼卡, 马慧敏, 张健, 等. 功能未知基因C6orf120缺失对自身免疫性肝炎大鼠CD4⁺T细胞活化的影响[J/CD]. 中国肝脏病杂志(电子

- 版),2017,9(4):49-53.
- [11] ZHANG M K, MA H M, ZHANG J, et al. Deletion of the *C6orf120* gene with unknown function ameliorates autoimmune hepatitis induced by concanavalin A[J]. Cell Immunol,2018,331:9-15.
- [12] 宋心成, 张健, 吴苑妮, 等. 功能未知基因*C6orf120*缺失对大鼠自身免疫性肝炎的影响[J/CD]. 中国肝脏病杂志(电子版),2019,11(4):42-49.
- [13] CHRISTEN U. Animal models of autoimmune hepatitis[J]. Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis,2019,1865(5):970-981.
- [14] ZHAO X, DING S, GENG C, et al. Anti-CD200 attenuates concanavalin A induced hepatitis via modulating the imbalance of CD4⁺ T lymphocyte differentiation in mice[J]. Am J Transl Res,2018,10(12):4202-4209.
- [15] YE T, WANG T, YANG X, et al. Comparison of concanavalin a-induced murine autoimmune hepatitis models[J]. Cell Physiol Biochem,2018,46(3):1241-1251.
- [16] LIEW P X, KUBES P. The neutrophil's role during health and disease[J]. Physiol Rev,2019,99(2):1223-1248.
- [17] Nathan C. Neutrophils and immunity: challenges and opportunities[J]. Nat Rev Immunol,2006,6(3):173-182.
- [18] BUCKLEY C D, GILROY D W, SERHAN C N, et al. Proresolving lipid mediators and mechanisms in the resolution of acute inflammation[J]. Immunity,2014,40(3):315-327.
- [19] REBER L L, GILLIS C M, STARKL P, et al. Neutrophil myeloperoxidase diminishes the toxic effects and mortality induced by lipopolysaccharide[J]. J Exp Med,2017,214(5):1249-1258.
- [20] WANG J, HOSSAIN M, THANABALASURIAR A, et al. Visualizing the function and fate of neutrophils in sterile injury and repair[J]. Science,2017,358(6359):111-116.
- [21] YANG W, TAO Y, WU Y, et al. Neutrophils promote the development of reparative macrophages mediated by ROS to orchestrate liver repair[J]. Nat Commun,2019,10(1):1076.
- [22] TAUBER A I. Metchnikoff and the phagocytosis theory[J]. Nat Rev Mol Cell Biol,2003,4(11):897-901.
- [23] GINHOUX F, JUNG S. Monocytes and macrophages: developmental pathways and tissue homeostasis[J]. Nat Rev Immunol,2014,14(6):392-404.
- [24] LIU Z X, GOVINDARAJAN S, KAPLOWITZ N. Innate immune system plays a critical role in determining the progression and severity of acetaminophen hepatotoxicity[J]. Gastroenterology, 2004,127(6):1760-1774.
- [25] WANG X, SUN R, WEI H, et al. High-mobility group box 1 (HMGB1)-Toll-like receptor (TLR)4-interleukin (IL)-23-IL-17A axis in drug-induced damage-associated lethal hepatitis: Interaction of $\gamma\delta$ T cells with macrophages[J]. Hepatology,2013,57(1):373-384.

收稿日期: 2020-08-22

吴苑妮, 张瑞, 韩晓旭, 等. *C6orf120*基因敲除对刀豆蛋白A诱导的自身免疫性肝炎大鼠中性粒细胞和巨噬细胞的影响[J/CD]. 中国肝脏病杂志(电子版), 2021,13(1):59-67.