



doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2022.01.009
http://dx.doi.org/10.7659/j.issn.1005-6947.2022.01.009
Chinese Journal of General Surgery, 2022, 31(1):81-88.

· 基础研究 ·

转化生长因子 β 对肝纤维化大鼠肝部分切除术后肝功能及肝脏再生的作用及机制

凌林¹, 胡明华¹, 陈圣林¹, 王静², 董娟³

(1. 华东师范大学附属芜湖医院/安徽省芜湖市第二人民医院 肝胆外科, 安徽 芜湖 241000; 2. 皖南医学院生理学教研室, 安徽 芜湖 241000; 3. 皖南医学院机能学实验实训中心, 安徽 芜湖 241000)

摘要

背景与目的: 肝纤维化是肝脏内一系列纤维组织增生的病理反应, 肝纤维化可能导致肝切除后出现肝脏再生不足或未再生。本研究探讨肝纤维化动物肝部分切除术后转化生长因子 β (TGF- β) 通路对肝功能及肝脏再生的作用和机制。

方法: 将40只SD大鼠用腹腔内注射 CCl_4 方法构建肝纤维化模型后, 将其中32只行70%肝切除手术, 并分别在术后第1、3、5、7天, 每个时间点取8只大鼠检测血清肝功能指标、肝组织TGF- β 和Smad的mRNA和蛋白表达水平, 另外8只大鼠行假手术作为对照组。此外, 以相同的造模方法, 观察TGF- β /Smad通路抑制剂(术前腹腔内注射GW788388)对肝纤维化大鼠部分肝切除后肝功能与肝再生能力的影响。

结果: 与假手术组比较, 部分肝切除手术组大鼠术后第1天天门冬氨酸氨基转移酶和丙氨酸氨基转移酶水平明显升高, 此后随时间逐渐降低(均 $P < 0.05$); 肝组织TGF- β 和Smad的mRNA与蛋白水平明显升高, 均在术后第3天达到峰值(均 $P < 0.05$), 而后降低, 并在术后第7天降低至假手术组水平($P > 0.05$)。肝切除术前注射GW788388的大鼠与单纯行肝切除术的大鼠比较, AST和ALT水平升高更为明显, 且肝组织细胞增殖标志物Ki-67与干细胞标志物LGR5表达均明显减少(均 $P < 0.05$)。

结论: TGF- β /Smad信号在通路在肝纤维化大鼠肝部分切除术后保护肝功能、促进肝再生方面起了重要作用, 机制可能与该通路调节细胞增殖及干细胞的分化有关。

关键词

肝纤维化; 肝切除术; 肝再生; 转化生长因子 β ; 大鼠

中图分类号: R657.3

Role of transforming growth factor β pathway in liver function and liver regeneration in rats with liver fibrosis after partial hepatectomy and the mechanism

LING Lin¹, HU Minghua¹, CHEN Shenglin¹, WANG Jing², DONG Juan³

(1. Department of Hepatobiliary Surgery, Wuhu Hospital Affiliated to East China Normal University/the Second Wuhu People's Hospital, Wuhu, Anhui 241000, China; 2. Department of Physiology, Wannan Medical College, Wuhu, Anhui 241000, China; 3. Functional Experiment Training Center of Wannan Medical College, Wuhu, Anhui 241000, China)

基金项目: 安徽省教育厅2020年度安徽高校科学研究基金资助项目(KJ2020A0606)。

收稿日期: 2021-07-16; **修订日期:** 2021-12-16。

作者简介: 凌林, 华东师范大学附属芜湖医院(安徽省芜湖市第二人民医院)副主任医师, 主要从事肝胆胰肿瘤方面的研究。

通信作者: 凌林, Email: guiziling@126.com

Abstract

Background and Aims: Liver fibrosis is a pathological reaction of a series of fibrous tissue proliferation in the liver, and it may cause insufficient or failed regeneration of the liver after hepatectomy. This study was conducted to investigate the effects of transforming growth factor β (TGF- β) pathway on liver function and liver regeneration in animal models of liver fibrosis after partial liver resection, and the possible mechanism.

Methods: Liver fibrosis was induced by intraperitoneal injection of CCl_4 in 40 SD rats. Then, 32 of them underwent 70% partial resection of the liver, and were sacrificed at postoperative day (POD) 1, 3, 5, and 7 with 8 rats in each time point for determination of the serum liver function parameters, and the mRNA and protein expression levels of TGF- β 1 and Smad in liver tissue. The other 8 rats underwent sham operation for control. In addition, using the same modeling procedure, the influence of TGF- β /Smad pathway inhibitor (intraperitoneal injection of GW788388 before operation) on liver function and liver regeneration capacity in rats with liver fibrosis after partial hepatectomy.

Results: In rats in partial hepatectomy group compared with those in sham operation group, the serum levels of aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT) were significantly increased on POD 1, and the gradually decreased with time (all $P < 0.05$); the mRNA and protein levels of TGF- β and Smad in the liver tissue were significantly increased, both reached a peak on POD 3 (both $P < 0.05$), and then decreased, and returned to the levels of rats in sham operation group on POD 7 (both $P > 0.05$). In rats undergoing GW788388 injection before hepatectomy compared with those undergoing hepatectomy alone, the increasing amplitudes of AST and ALT were greater, and the expressions of cell proliferation mark Ki-67 and stem cell mark LGR5 were significantly reduced (all $P < 0.05$).

Conclusion: The TGF- β /Smad signaling pathway plays an important role in terms of liver function protection and liver regeneration promotion in rats with liver fibrosis after partial hepatectomy. The possible mechanism may be associated with the regulatory effect in cell proliferation and stem cell differentiation of this pathway

Key words

Hepatic Fibrosis; Hepatectomy; Liver Regeneration; Transforming Growth Factor β ; Rats

CLC number: R657.3

肝是人体物质代谢的中心器官，既往研究表明，具有强大的再生能力，增强肝的再生能力对肝疾病患者具有重要意义。在多达70%的肝组织切除后，肝残余组织会迅速再生至其原始大小^[1]。肝再生对肝功能的维持功能至关重要，然而目前对肝再生机制的了解不足，在一些肝纤维化患者中，在肝切除后会出现肝脏再生不足或未再生^[2]。Ki-67是细胞增殖过程中必不可少的蛋白，其水平升高提示肝细胞增殖能力的升高，可反映肝再生水平^[3]。最新研究^[4]显示干细胞具有更强的增殖和分化潜能，并且能够分化成肝细胞或者胆管上皮细胞。LGR5基因是干细胞标志蛋白，也是干细胞分化成肝细胞的重要调控蛋白^[5]。转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β) 会激活Smad蛋白，从而调控细胞增殖和分化，并促进纤维化和伤口愈合^[6]。有研究发现在肝再生过程中，TGF-

β 通路的激活会促进肝组织的再生^[7]，但是也有研究显示TGF- β 通路不利于肝再生^[8]。因此，本研究主要分析肝纤维化动物肝部分切除术TGF- β 通路对肝功能及肝脏再生的作用和机制。

1 材料与方法

1.1 主要实验材料

SD大鼠 (SPF级，雄性，6周龄，210~230 g，北京维通利华动物公司，中国)。四氯化碳 (CCl_4) (Sigma公司，美国)。TGF- β 抑制剂GW788388 (Selleck公司，中国)。ELISA试剂盒、HE染色、Masson染色试剂盒 (碧云天公司，中国)。酶标仪 (Model 680, Bio-Rad, 美国)。RNAspin Mini (GE Healthcare, 美国)。Bestar qPCR RT和Bestar™qPCR试剂盒 (DBI Bioscience公司，德国)。一抗和山羊

抗免疫球蛋白G二抗(Abcam公司,美国)。PDVF膜(EMD Millipore,美国)。ECL显色试剂盒(Thermo Fisher公司,美国)。显微镜(Carl Zeiss公司,德国)。

1.2 肝纤维化建模方法

根据参考文献^[9]的方法构建大鼠肝纤维化模型。将 CCl_4 溶于橄榄油中,浓度为10%,腹腔注射,每次1 mL/kg,每周2次,连续8周。在行肝部分切除术时采集肝标本通过HE染色和Masson染色验证建模结果。

1.3 肝切除术与分组

将32只肝纤维化模型大鼠进行肝切除手术。根据参考文献^[8],大鼠麻醉后(戊巴比妥、腹膜内注射)剃毛消毒,打开腹腔结扎脾动脉,然后切去肝脏的70%,保留30%左右的右侧肝叶。常规缝合、抗感染处理。分别在行肝切除术后第1、3、5、7天各取8只大鼠进行观察指标的检测。另8只大鼠仅打开腹腔暴露肝脏行假手术作为对照。

1.4 检测指标和方法

1.4.1 HE染色检测肝组织损伤 大鼠经过断头处死,收集肝组织并放置进入多聚甲醛固定48 h。将固定好的组织样本利用不同浓度的乙醇进行脱水,然后加入二甲苯进行透明处理并包埋至石蜡中,使用切片机制成4 μm 厚的切片。切片水化后制成玻片标本,加入苏木精孵育5 min,然后加入0.5%的伊红染色5 min,洗涤后透化。固定,在显微镜下观察。

1.4.2 Masson染色检测纤维化 将1.4.1中的玻片标本加入Masson三色染料进行染色,根据试剂盒说明书的方法操作,最后在显微镜下观察并拍照,利用图IPP 6.0像分析系统计算胶原蛋白的体积分数。

1.4.3 ELISA 取大鼠尾静脉血,在300 r/min的转速下离心15 min收集上清液,分别加入抗体和显色剂,终止显色反应后15 min内检测吸光度(450 nm),然后根据标准曲线计算AST和ALT的浓度。

1.4.4 qRT-PCR 使用RNeasy Mini试剂盒取肝组织中的总RNA,然后使用Bestar qPCR RT试剂盒将其逆转转录为cDNA,条件如下:37 $^{\circ}\text{C}$ /15 min;98 $^{\circ}\text{C}$ /5 min。然后使用Bestar[™] qPCR预混液进行qPCR实验,条件如下:95 $^{\circ}\text{C}$ /2 min,94 $^{\circ}\text{C}$ /20 s,58 $^{\circ}\text{C}$ /20 s,72 $^{\circ}\text{C}$ /20 s,40个循环,最后在72 $^{\circ}\text{C}$ 下

延伸4 min。使用Agilent Stratagene Mx3000P序列检测系统进行qRT-PCR分析。通过比较循环阈值并以GAPDH作为内参计算mRNA相对表达水平。

1.4.5 Western blot 将肝组织裂解后收集总蛋白。通过8%的SDS-PAGE分离每个样品中等量(50 μg)的蛋白质,并将其转移到硝酸纤维素膜上。然后将5%脱脂牛奶完全浸没硝酸纤维素膜来封闭非特异性抗原(室温下2 h)随后,将膜与分别与一抗(1:800稀释)在4 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育过夜,然后将山羊抗兔IgG二抗按照1:2 000的比例稀释并在室温下孵育1 h来进行反应。使用化学发光试剂显示,使用Quantum One软件分析灰度计算蛋白相对于GAPDH的表达量。

1.5 动物实验分析TGF- β 在肝再生中作用

将20只大鼠根据1.2的方法构建肝纤维化模型。建模后随机分为2组:肝部分切除组和肝部分切除+TGF- β 抑制剂组。根据1.3的方法,每只大鼠均切除肝脏的70%。肝部分切除+TGF- β 抑制剂组,在术前2 h一次性腹膜内注射TGF- β 抑制剂GW788388来抑制TGF- β 相关通路,剂量为10 mg/kg^[10]。切除后根据HE和Masson染色分析肝纤维化建模结果,发现分别有9只和8只建模成功,因此分别选择8只纳入后续检测。此外,选择8只假手术大鼠作为对照组。在建模后第5天,根据1.4的方法检测各组大鼠肝功能指标、肝再生情况以及TGF- β /Smad通路水平。

1.6 免疫组化染色

通过免疫组化染色检测新生肝组织中Ki-67蛋白水平评估肝再生能力,检测LGR5蛋白评估肝组织中干细胞水平。多聚甲醛(4%)固定后脱水、包埋、切片(4 μm)。加入3%过氧化氢溶液,室温静置20 min,然后加入1:400稀释的Ki-67抗体在37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育60 min;洗涤后加入100 μL 的山羊抗兔IgG聚合物室温下孵育50 min;洗涤后加入DAB显色,然后加入苏木素染色液孵育20 s,冲洗后显微镜观察,利用Image-Pro Plus 6.0软件随机选择5个视野中Ki-67或者LGR5阳性细胞数目。

1.7 统计学处理

统计分析使用SPSS 19.0软件。数据以平均值 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。多组间比较进行单因素方差分析,两两比较使用SNK- q 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 肝纤维化建模情况

正常大鼠组肝组织染色均匀，细胞核呈圆形，细胞排列有序，肝小叶结构清晰，胶原蛋白的体

积分数为 $(0.92 \pm 0.08) \%$ 。纤维化模型成功后见后，可观察到肝细胞膨大，肝小叶结构遭到破坏，并出现严重的出血和炎性浸润。胶原蛋白的体积分数为 $(13.52 \pm 1.68) \%$ (图1)。

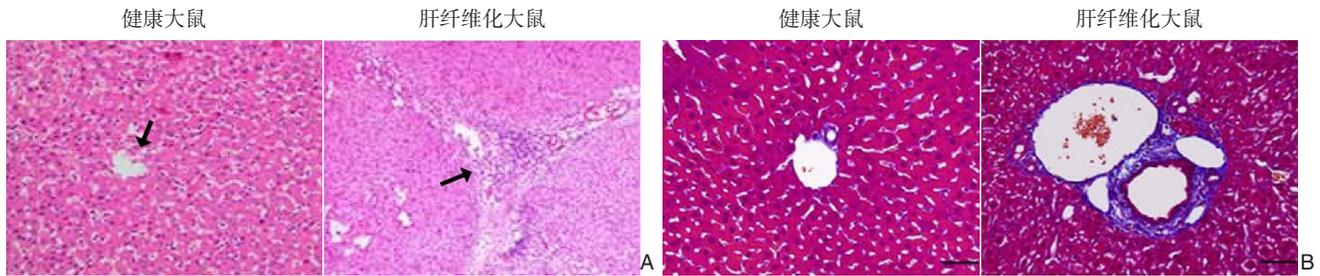


图1 造模结果验证 A: HE染色 ($\times 100$); B: Masson染色 ($\times 100$)

Figure 1 Verification of model establishment A: HE staining ($\times 100$); B: Masson staining ($\times 100$)

2.2 肝纤维化大鼠肝部分切除后肝功能指标变化

术后第1天，大鼠血清中丙氨酸氨基转移酶 (ALT) 和天门冬氨酸氨基转移酶 (AST) 水平明显高于假手术组 (均 $P < 0.05$)。随着时间的推移，大鼠 ALT 和 AST 水平均随之降低 ($F = 145.742, P = 0.000; F = 119.434, P = 0.000$) (表1)。

表1 肝纤维化模型大鼠肝部分切除后ALT和AST变化情况 ($n=8, \bar{x} \pm s$)

Table 1 Changes of ALT and AST in rats with liver fibrosis after partial hepatectomy ($n=8, \bar{x} \pm s$)

组别	ALT(U/L)	AST(U/L)
假手术组	32.85±4.19	97.53±8.26
部分肝切除组		
术后1 d	149.64±16.34 ¹⁾	271.34±24.68 ¹⁾
术后3 d	128.87±13.55 ^{1),2)}	234.19±20.51 ^{1),2)}
术后5 d	93.21±9.21 ^{1),2)}	190.31±20.57 ^{1),2)}
术后7 d	71.37±8.06 ^{1),2)}	172.75±18.29 ^{1),2)}

注:1)与假手术组比较, $P < 0.05$;2)肝部分切除术后1 d组比较, $P < 0.05$

Note: 1) $P < 0.05$ vs. sham operation group; 2) $P < 0.05$ vs. post-hepatectomy 1 d group

2.3 肝纤维化大鼠肝部分切除后肝组织中TGF-β和Smad mRNA变化

在行肝部分切除后，TGF-β和Smad mRNA的水平显著升高，在第3天达到峰值 ($P < 0.05$)，而后降低，在第7天降低至对照组水平 (均 $P > 0.05$) (表2)。

表2 肝纤维化模型大鼠肝部分切除后肝组织中TGF-β和Smad mRNA变化 ($n=8, \bar{x} \pm s$)

Table 2 Changes in TGF-β and Smad mRNA in liver tissues of rats with liver fibrosis after partial hepatectomy ($n=8, \bar{x} \pm s$)

组别	TGF-β mRNA	Smad mRNA
假手术组	1.63±0.16	1.52±0.15
部分肝切除组		
术后1 d	2.21±0.21 ¹⁾	2.07±0.20 ¹⁾
术后3 d	4.68±0.45 ¹⁾	4.39±0.42 ¹⁾
术后5 d	3.17±0.30 ¹⁾	2.98±0.30 ¹⁾
术后7 d	1.74±0.18	1.59±0.17

注:1)与假手术组比较, $P < 0.05$

Note: 1) $P < 0.05$ vs. sham operation group

2.4 肝纤维化模型大鼠肝部分切除后肝组织中TGF-β/Smad通路中蛋白表达的变化

在行肝部分切除后，TGF-β和Smad蛋白的水平均明显升高，在第3天达到峰值 ($P < 0.05$)，而后降低，在第7天降低至对照组水平 (均 $P > 0.05$) (图2) (表3)。

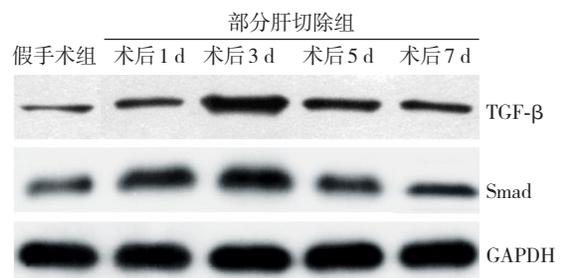


图2 Western blot检测TGF-β、Smad蛋白表达

Figure 2 Western blot analysis of TGF-β and Smad protein expressions

表3 肝纤维化模型大鼠肝部分切除后肝组织中 TGF-β和 Smad蛋白的变化 (n=8, $\bar{x} \pm s$)

Table 3 Changes in TGF-β and Smad proteins in liver tissues of rats with liver fibrosis after partial hepatectomy (n=8, $\bar{x} \pm s$)

组别	TGF-β蛋白	Smad蛋白
假手术组	0.87±0.08	0.85±0.09
部分肝切除组		
术后1 d	1.14±0.11 ¹⁾	1.46±0.13 ¹⁾
术后3 d	3.62±0.35 ¹⁾	3.47±0.34 ¹⁾
术后5 d	1.43±0.14 ¹⁾	1.29±0.12 ¹⁾
术后7 d	0.91±0.09	0.92±0.09

注:1)与假手术组比较,P<0.05

Note: 1) P<0.05 vs. sham operation group

2.5 肝部分切除术通过TGF-β/Smad通路对肝纤维化大鼠肝功能的影响

3组大鼠间的肝功能指标差异有统计学意义(P<0.05)。肝部分切除组的ALT和AST水平明显高于假手术组,肝部分切除+TGF-β抑制剂组的ALT和AST水平明显高于假手术和肝部分切除组(均P<0.05)(表4)。

2.6 肝部分切除术通过TGF-β/Smad通路对肝纤维化大鼠肝再生能力及干细胞水平的影响

3组大鼠新生肝组织中Ki-67蛋白表达水平比

较差异有统计学意义(P<0.05)。肝部分切除组Ki-67阳性细胞数目明显高于对照组[(121.57±8.32)个 vs. (24.63±2.75)个, P<0.05],肝部分切除+TGF-β抑制剂组的Ki-67阳性细胞数目显著低于肝部分切除组[(40.72±3.44)个 vs. (121.57±8.32)个, P<0.05](图3A)。3组大鼠新生肝组织中LGR5蛋白表达水平比较差异有统计学意义(P<0.05)。肝部分切除组LGR5阳性细胞数目明显高于对照组[(92.43±98.25)个 vs. (16.94±1.69)个, P<0.05],肝部分切除+TGF-β抑制剂组的LGR5阳性细胞数目显著低于肝部分切除组[(35.87±3.60)个 vs. (92.43±98.25)个, P<0.05](图3B)。

表4 肝纤维化大鼠肝部分切除术后肝功能与TGF-β/Smad通路的关系 (n=8, $\bar{x} \pm s$)

Table 4 The relationship between liver function and TGF-β/Smad pathway in rats with liver fibrosis partial hepatectomy (n=8, $\bar{x} \pm s$)

组别	ALT(U/L)	AST(U/L)
假手术组	32.19±3.95	95.04±9.24
肝部分切除组	91.35±9.38 ¹⁾	187.61±17.38 ¹⁾
肝部分切除+TGF-β抑制剂组	130.64±12.58 ^{1),2)}	254.83±25.72 ^{1),2)}

注:1)与假手术组比较,P<0.05;2)与肝部分切除组比较,P<0.05

Note: 1) P<0.05 vs. sham operation group; 2) P<0.05 vs. partial hepatectomy group

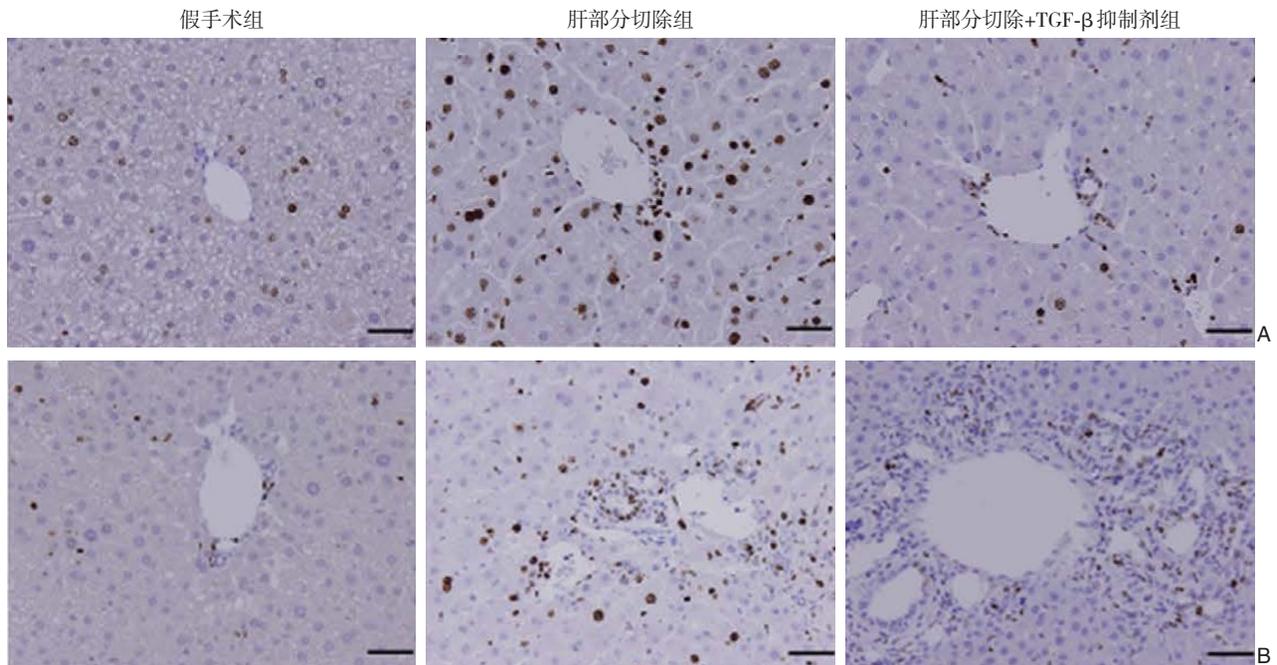


图3 免疫组化检测(×100) A: Ki-67蛋白; B: LGR5蛋白

Figure 3 Results of immunohistochemical staining(×100) A: Ki-67; B: LGR5

3 讨论

肝脏疾病发病率正在逐年上升。病毒性感染,自身免疫性因素,以及多种的药物等都可引起肝脏不同程度的损伤。与其他器官不同,肝脏是机体唯一一个具有强大再生能力的器官^[11-15]。有研究在80多年前首次证实肝脏在行2/3切除后可以增生至原体积大小,研究者在不同的啮齿类动物身上也发现了同样的现象^[16-17]。肝纤维化是持续性和慢性肝损伤的结果,在肝纤维化过程中,肝细胞凋亡,内皮屏障受损,炎症细胞被募集,肝星状细胞被激活,从而导致细胞外基质的合成和降解失调,最终可能导致肝功能衰竭和肝癌^[18-20]。肝切除是治疗肝癌的重要方法,但是对于合并肝纤维化的患者,会影响肝脏愈合和再生,研究肝组织再生的机制具有重要的临床意义。

肝部分切除后会激活肝组织的再生能力,在此过程中,TGF- β /Smad通路起到重要作用^[21]。TGF- β 家族信号通路在细胞不同的阶段起着重要的调节作用^[22]。包括细胞的增殖、分化、迁移和凋亡过程并且从而达到人体组织器官的稳态。由于TGF- β 功能多样性和多效性,其通路的放松管制有助于人类疾病的发生^[23-24]。在肝脏中,TGF- β 信号参与疾病进展的所有阶段,从最初的肝损伤到炎症和纤维化,到肝硬化和癌症。TGF- β 对肝细胞具有细胞抑制和凋亡作用,在胚胎发生和生理性肝再生过程中促进肝分化^[25]。TGF- β 过表达后或激活Smad蛋白进入细胞核,从而促进细胞增殖相关基因的转录促进肝细胞增殖^[26]。本研究通过腹腔内注射CCl₄构建肝纤维化模型,并切除70%的肝组织,分别在术后第1、3、5、7天检测肝功能,结果显示随着时间的延长,肝功能指标AST和ALT随之降低,提示肝功能逐渐恢复。但是在此过程中,TGF- β 和Smad mRNA和蛋白水平先升高后降低,并且在建模第3天达到峰值。TGF- β /Smad通路不但具有促进细胞增殖的功能,还具有促进伤口愈合和调控纤维化的作用。研究显示机体的各种损伤均会激活TGF- β /Smad通路,从而调控胶原蛋白、细胞外基质的生成,促进伤口愈合^[27]。但是胶原蛋白的过度累积会影响细胞活力,影响细胞增殖甚至导致细胞凋亡^[18]。本研究结果提示在肝部分切除初期,TGF- β /Smad的水平升高并参与肝组织愈合,从而促进肝功能的恢复。但是TGF- β /Smad通

路对肝再生的长期影响还需要进一步研究。

为进一步验证肝部分切除术初期TGF- β /Smad通路参与肝组织的早期修复保护肝功能,本研究利用GW788388来抑制TGF- β 通路。结果显示肝部分切除术后,肝功能指标AST和ALT升高,肝组织中增殖蛋白Ki-67和干细胞指标LGR5均显著升高。而当使用GW788388抑制TGF- β 通路后,肝功能指标AST和ALT升高进一步升高,而Ki-67和LGR5阳性的细胞数目被显著抑制。TGF- β /Smad是促进细胞增殖的重要通路,Smad可提高Ki-67基因的转录水平,进而提高Ki-67蛋白的表达促进细胞增殖^[28]。并且Ki-67的水平也是评估肝再生的关键蛋白^[15]。LGR5是一种孤儿受体蛋白,是消化系统组织中的干细胞的标志物,研究显示肝组织中LGR5阳性的细胞会提高肝细胞的自我更新能力^[16]。并且LGR5阳性肝细胞也可以缓解肝纤维化减少肝细胞损伤^[17]。而LGR5的表达受到TGF- β /Smad通路的调控,研究显示TGF- β /Smad能够通过促进LGR5的表达提高胃癌细胞增殖能力^[18]。也有研究发现TGF- β /Smad通路的激活能够提高LGR5蛋白的表达诱导结肠癌细胞的干细胞特性^[29]。有研究^[30]显示肝部分切除后TGF- β /Smad通路赋予肝星状细胞干细胞特征,这提示肝纤维化大鼠在进行肝部分切除术后,TGF- β /Smad通路相关蛋白表达会上调,进而促进Ki-67和LGR5蛋白的表达,从而诱导肝细胞增殖,并提高干细胞水平,进一步增殖和分化为肝细胞,促进肝脏再生和肝组织修复。

综上所述,本研究结果初步揭示了肝部分切除术能够通过调控TGF- β /Smad信号通路促进肝纤维化大鼠模型术后7d内的肝再生,可能为肝脏纤维化治疗提供一个新的治疗思路。

利益冲突:所有作者均声明不存在利益冲突。

参考文献

- [1] Li W, Li L, Hui L. Cell Plasticity in Liver Regeneration[J]. Trends Cell Biol, 2020, 30(4):329-338. doi: 10.1016/j.tcb.2020.01.007.
- [2] Yang Y, Shao C, Zhang W, et al. Omega-3 polyunsaturated fatty acids prevent progression of liver fibrosis and promote liver regeneration after partial hepatectomy in cirrhotic rats[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2019, 23(22): 10151-10160. doi: 10.26355/eurrev_201911_19585.
- [3] Bucur PO, Bekheit M, Audebert C, et al. Modulating Portal

- Hemodynamics With Vascular Ring Allows Efficient Regeneration After Partial Hepatectomy in a Porcine Model[J]. *Ann Surg*, 2018, 268(1):134–142. doi: [10.1097/SLA.0000000000002146](https://doi.org/10.1097/SLA.0000000000002146).
- [4] Lee J, Choi J, Kang S, et al. Hepatogenic Potential and Liver Regeneration Effect of Human Liver-derived Mesenchymal-Like Stem Cells[J]. *Cells*, 2020, 9(6):1521. doi: [10.3390/cells9061521](https://doi.org/10.3390/cells9061521).
- [5] Schneeberger K, Sánchez-Romero N, Ye S, et al. Large-Scale Production of LGR5-Positive Bipotential Human Liver Stem Cells[J]. *Hepatology*, 2020, 72(1): 257–270. doi: [10.1002/hep.31037](https://doi.org/10.1002/hep.31037).
- [6] Peng Y, Wu S, Tang Q, et al. KGF-1 accelerates wound contraction through the TGF- β 1/Smad signaling pathway in a double-paracrine manner[J]. *J Biol Chem*, 2019, 294(21): 8361–8370. doi: [10.1074/jbc.RA118.006189](https://doi.org/10.1074/jbc.RA118.006189).
- [7] 艾麦提·牙森, 金鑫, 陈梓昕, 等. 胚胎肝前体细胞与转化生长因子 β 1信号介导的肝星状细胞联合移植治疗急性肝损伤[J]. *中国组织工程研究*, 2018, 22(5):710–716. doi: [10.3969/j.issn.2095-4344.0440](https://doi.org/10.3969/j.issn.2095-4344.0440).
- Aimaiti YS, Jin X, Chen ZX, et al. Intrasplenic co-transplantation of fetal hepatic progenitor cells and transforming growth factor beta 1 induced hepatic stellate cells ameliorates acute liver injury[J]. *Chinese Journal of Tissue Engineering Research*, 2018, 22(5):710–716. doi: [10.3969/j.issn.2095-4344.0440](https://doi.org/10.3969/j.issn.2095-4344.0440).
- [8] 申东方, 顾小晖, 漆道金, 等. 大鼠肝部分切除术后肝细胞生长因子、转化生长因子- β 1水平变化及脾动脉结扎对大鼠肝再生的影响[J]. *中华实验外科杂志*, 2019, 36(3):455–457. doi: [10.3760/cma.j.issn.1001-9030.2019.03.018](https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.1001-9030.2019.03.018).
- Shen DF, Gu XH, Qi DJ, et al. Effect of splenic artery ligation on liver regeneration in rats following partial hepatectomy by measuring hepatocyte growth factor and transforming growth factor- β 1[J]. *Chinese Journal of Experimental Surgery*, 2019, 36(3): 455–457. doi: [10.3760/cma.j.issn.1001-9030.2019.03.018](https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.1001-9030.2019.03.018).
- [9] 王林, 卢玮, 高玉华, 等. 安络化纤丸对肝纤维化大鼠肝组织基质金属蛋白酶及其抑制物表达的影响[J]. *中华肝脏病杂志*, 2019, 27(4):267–273. doi: [10.3760/cma.j.issn.1007-3418.2019.04.006](https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.1007-3418.2019.04.006).
- Wang L, Lu W, Gao YH, et al. Effect of Anluohuaxianwan on the expression of matrix metalloproteinases and their inhibitors in rat liver with fibrosis[J]. *Chinese Journal of Hepatology*, 2019, 27(4): 267–273. doi: [10.3760/cma.j.issn.1007-3418.2019.04.006](https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.1007-3418.2019.04.006).
- [10] Chen Y, Wang N, Yuan Q, et al. The Protective Effect of Fluorofenidone against Cyclosporine A-Induced Nephrotoxicity[J]. *Kidney Blood Press Res*, 2019, 44(4): 656–668. doi: [10.1159/000500924](https://doi.org/10.1159/000500924).
- [11] Tanwar S, Rhodes F, Srivastava A, et al. Inflammation and fibrosis in chronic liver diseases including non-alcoholic fatty liver disease and hepatitis C[J]. *World J Gastroenterol*, 2020, 26(2): 109–133. doi: [10.3748/wjg.v26.i2.109](https://doi.org/10.3748/wjg.v26.i2.109).
- [12] Jiang T, Wang Z, Sun J. Human bone marrow mesenchymal stem cell-derived exosomes stimulate cutaneous wound healing mediates through TGF- β /Smad signaling pathway[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2020, 11(1):198. doi: [10.1186/s13287-020-01723-6](https://doi.org/10.1186/s13287-020-01723-6).
- [13] Liu J, Kong D, Qiu J, et al. Praziquantel ameliorates CCl₄-induced liver fibrosis in mice by inhibiting TGF- β /Smad signalling via up-regulating Smad7 in hepatic stellate cells[J]. *Br J Pharmacol*, 2019, 176(24):4666–4680. doi: [10.1111/bph.14831](https://doi.org/10.1111/bph.14831).
- [14] 王爽, 段素芳, 牛秉轩, 等. miR-101-3p靶向TGF β R1/Smad抑制视网膜母细胞瘤细胞侵袭和迁移[J]. *眼科新进展*, 2019, 39(10): 924–928. doi: [10.13389/j.cnki.rao.2019.0210](https://doi.org/10.13389/j.cnki.rao.2019.0210).
- Wang S, Duan SF, Niu BX, et al. miR-101-3p inhibits invasion and migration of retino-blastoma cells by targeting TGF β R1/Smad[J]. *Recent Advances in Ophthalmology*, 2019, 39(10):924–928. doi: [10.13389/j.cnki.rao.2019.0210](https://doi.org/10.13389/j.cnki.rao.2019.0210).
- [15] Jia JJ, Xie HY, Li JH, et al. Graft protection of the liver by hypothermic machine perfusion involves recovery of graft regeneration in rats[J]. *J Int Med Res*, 2019, 47(1):427–437. doi: [10.1177/0300060518787726](https://doi.org/10.1177/0300060518787726).
- [16] Ang CH, Hsu SH, Guo F, et al. Lgr5 + pericentral hepatocytes are self-maintained in normal liver regeneration and susceptible to hepatocarcinogenesis[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2019, 116(39): 19530–19540. doi: [10.1073/pnas.1908099116](https://doi.org/10.1073/pnas.1908099116).
- [17] Dai Z, Song G, Balakrishnan A, et al. Growth differentiation factor 11 attenuates liver fibrosis via expansion of liver progenitor cells[J]. *Gut*, 2020, 69(6): 1104–1115. doi: [10.1136/gutjnl-2019-318812](https://doi.org/10.1136/gutjnl-2019-318812).
- [18] Liu XS, Lin XK, Mei Y, et al. Regulatory T Cells Promote Overexpression of Lgr5 on Gastric Cancer Cells via TGF-beta1 and Confer Poor Prognosis in Gastric Cancer[J]. *Front Immunol*, 2019, 10:1741. doi: [10.3389/fimmu.2019.01741](https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01741).
- [19] Leng Z, Li Y, Zhou G, et al. Krüppel-like factor 4 regulates stemness and mesenchymal properties of colorectal cancer stem cells through the TGF- β 1/Smad/snail pathway[J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24(2):1866–1877. doi: [10.1111/jcmm.14882](https://doi.org/10.1111/jcmm.14882).
- [20] Chen Z, Wan L, Jin X, et al. Transforming growth factor- β signaling confers hepatic stellate cells progenitor features after partial hepatectomy[J]. *J Cell Physiol*, 2020, 235(3):2655–2667. doi: [10.1002/jcp.29169](https://doi.org/10.1002/jcp.29169).
- [21] Michalopoulos GK. Liver regeneration after partial hepatectomy: critical analysis of mechanistic dilemmas[J]. *Am J Pathol*, 2010, 176(1):2–13. doi: [10.2353/ajpath.2010.090675](https://doi.org/10.2353/ajpath.2010.090675).
- [22] Fausto N, Campbell JS, Riehle KJ. Liver regeneration[J]. *Hepatology*, 2006, 43(2 Suppl 1): S45–53. doi: [10.1002/hep.20969](https://doi.org/10.1002/hep.20969).
- [23] Kountouras J, Boura P, Lygidakis NJ. Liver regeneration after

- hepatectomy[J]. Hepatogastroenterology, 2001, 48(38): 556-562.
- [24] Riehle KJ, Dan YY, Campbell JS, et al. New concepts in liver regeneration[J]. J Gastroenterol Hepatol, 2011, 26(Suppl 1): 203-212. doi: 10.1111/j.1440-1746.2010.06539.x.
- [25] Kholodenko IV, Yarygin KN. Cellular Mechanisms of Liver Regeneration and Cell-Based Therapies of Liver Diseases[J]. Biomed Res Int, 2017, 2017:8910821. doi: 10.1155/2017/8910821.
- [26] Michalopoulos GK, Khan Z. Liver regeneration, growth factors, and amphiregulin[J]. Gastroenterology, 2005, 128(2):503-506. doi: 10.1053/j.gastro.2004.12.039.
- [27] Michalopoulos GK. Hepatostat: Liver regeneration and normal liver tissue maintenance[J]. Hepatology, 2016, 65(4): 1384-1392. doi: 10.1002/hep.28988.
- [28] Liu WT, Jing YY, Yu GF, et al. Hepatic stellate cell promoted hepatoma cell invasion via the HGF/c-Met signaling pathway regulated by p53[J]. Cell Cycle, 2016, 15(7):886-894. doi: 10.1080/15384101.2016.1152428.
- [29] Behnke MK, Reimers M, Fisher RA. Stem cell and hepatocyte proliferation in hepatitis C cirrhosis and hepatocellular carcinoma: transplant implications[J]. Ann Hepatol, 2013, 13(1): 45-53. doi: 10.1002/cvde.201207039.
- [30] Hellerbrand C. Hepatic stellate cells--the pericytes in the liver[J]. Pflugers Arch, 2013, 465(6): 775-778. doi: 10.1007/s00424-012-1209-5.

(本文编辑 姜晖)

本文引用格式: 凌林, 胡明华, 陈圣林, 等. 转化生长因子 β 对肝纤维化大鼠肝部分切除术后肝功能及肝脏再生的作用及机制[J]. 中国普通外科杂志, 2022, 31(1): 81-88. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2022.01.009

Cite this article as: Ling L, Hu MH, Chen SL, et al. Role of transforming growth factor β pathway in liver function and liver regeneration in rats with liver fibrosis after partial hepatectomy and the mechanism[J]. Chin J Gen Surg, 2022, 31(1): 81-88. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2022.01.009

本刊对来稿中统计学处理的有关要求

1. 统计研究设计: 应交代统计研究设计的名称和主要做法。如调查设计(分为前瞻性、回顾性或横断面调查研究); 实验设计(应交代具体的设计类型, 如自身配对设计、成组设计、交叉设计、正交设计等); 临床试验设计(应交代属于第几期临床试验, 采用了何种盲法措施等)。主要做法应围绕4个基本原则(随机、对照、重复、均衡)概要说明, 尤其要交代如何控制重要非试验因素的干扰和影响。

2. 资料的表达与描述: 用 $\bar{x} \pm s$ 表达近似服从正态分布的定量资料, 用 $M(QR)$ 表达呈偏态分布的定量资料; 用统计表时, 要合理安排纵横标目, 并将数据的含义表达清楚; 用统计图时, 所用统计图的类型应与资料性质相匹配, 并使数轴上刻度值的标法符合数学原则; 用相对数时, 分母不宜小于20, 要注意区分百分率与百分比。

3. 统计分析方法的选择: 对于定量资料, 应根据所采用的设计类型、资料所具备的条件和分析目的, 选用合适的统计分析方法, 不应盲目套用 t 检验和单因素方差分析; 对于定性资料, 应根据所采用的设计类型、定性变量的性质和频数所具备条件以分析目的, 选用合适的统计分析方法, 不应盲目套用 χ^2 检验。对于回归分析, 应结合专业知识和散布图, 选用合适的回归类型, 不应盲目套用简单直线回归分析, 对具有重复实验数据的回归分析资料, 不应简单化处理; 对于多因素、多指标资料, 要在一元分析的基础上, 尽可能运用多元统计分析方法, 以便对因素之间的交互作用和多指标之间的内在联系进行全面、合理地解释和评价。

4. 统计结果的解释和表达: 当 $P < 0.05$ (或 $P < 0.01$)时, 应说明对比组之间的差异有统计学意义, 而不应说对比组之间具有显著性(或非常显著性)的差别; 应写明所用统计分析方法的具体名称(如: 成组设计资料的 t 检验、两因素析因设计资料的方差分析、多个均数之间两两比较的 q 检验等), 统计量的具体值(如 $t=3.45$, $\chi^2=4.68$, $F=6.79$ 等)应尽可能给出具体的 P 值(如 $P=0.0238$); 当涉及总体参数(如总体均数、总体率等)时, 在给出显著性检验结果的同时, 再给出95%置信区间。

中国普通外科杂志编辑部