



doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2018.02.013
http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.1005-6947.2018.02.013
Chinese Journal of General Surgery, 2018, 27(2):210-218.

· 基础研究 ·

ALPPS 一期术后肝内干 / 祖细胞的变化及其与肝再生的关系

黄民^{1,2}, 黄燊宸^{1,2}, 肖乐², 王涛², 冯亚星², 刘卫辉^{1,2}

(1. 西南医科大学, 四川 泸州 646000; 2. 中国人民解放军成都军区总医院 全军普通外科中心, 四川 成都 610083)

摘要

目的: 探讨肝内干 / 祖细胞在联合肝脏分割和门静脉结扎二步肝切除术 (ALPPS) 一期手术后肝再生中的作用。

方法: 将 72 只 SD 大鼠随机均分为 ALPPS 组、门静脉结扎 (PVL) 组和假手术组, 分别行 ALPPS 一期手术、单纯 PVL 和假手术。分别在术后 1、2、3、7 d 检测各组血清转氨酶、炎症因子水平与肝右中叶肝再生率 (HRR), 并检测肝脏组织中细胞增殖指标 Ki-67 与肝内卵圆细胞 (干 / 祖细胞) 标志物 OV-6 表达水平。

结果: 与假手术组比较, ALPPS 组与 PVL 组术后 1~2 d 的转氨酶与炎症因子水平均明显升高, 且在 ALPPS 组的升高水平均大于 PVL 组 (均 $P < 0.05$); ALPPS 组与 PVL 组术后肝右中叶 HRR 及肝组织 Ki-67 阳性率明显升高, 但 ALPPS 组在术后 3、7 d 的 HRR 明显高于 PVL 组, 术后 2、3 d 的 Ki-67 阳性率明显高于 PVL 组 (均 $P < 0.05$); ALPPS 组与 PVL 组术后肝组织均有明显 OV-6 表达, 但 ALPPS 组术后 2、3 d 的 OV-6 表达水平明显高于 PVL 组 (均 $P < 0.05$)。

结论: ALPPS 一期手术诱导的肝再生明显优于 PVL, 机制可能为 ALPPS 术后较高的炎症状态使激活肝内干 / 祖细胞的动员和活化, 从而促进快速肝再生有关。

关键词

肝切除术; 肝再生; 干细胞; 模型; 动物; 大鼠

中图分类号: R657.3

Alteration in intrahepatic stem/progenitor cells after first stage of ALPPS and its relationship to liver regeneration

HUANG Min^{1,2}, HUANG Canchen^{1,2}, XIAO Le², WANG Tao², FENG Yaxing², LIU Weihui^{1,2}

(1. Southwest Medical University, Luzhou, Sichuan 646000, China; 2. General Surgery Center of PLA, Chengdu Military General Hospital, Chengdu 610083, China)

Abstract

Objective: To investigate the role of intrahepatic stem/progenitor cells in liver regeneration after the first stage of associating liver partition and portal vein ligation for staged hepatectomy (ALPPS).

Methods: Seventy-two SD rats were equally randomized into ALPPS group, portal vein ligation (PVL) group and sham operation group, and then underwent the first stage of ALPPS, PVL alone and sham operation, respectively. The serum levels of transaminases and inflammatory factors and the hepatic regeneration rate (HRR) of the right middle lobe of the liver were determined, and the expressions of cell proliferation index Ki-67 and OV-6, the biomarker of oval cells (stem/progenitor cells), were also examined in each group of rats at postoperative day

基金项目: 四川省杰出青年基金资助项目 (2015JQ0001)。

收稿日期: 2017-09-04; 修订日期: 2018-01-17。

作者简介: 黄民, 西南医科大学硕士研究生, 主要从事肝脏再生基础与临床应用方面的研究。

通信作者: 刘卫辉, Email: audiliu12@163.com

(POD) 1, 2, 3 and 7, respectively.

Results: Compared with sham operation group, the serum levels of transaminases and inflammatory factors were significantly increased in both ALPPS group and PVL group on POD 1 to 2, and their increasing amplitudes in ALPPS group were all significantly higher than those in PVL group (all $P < 0.05$); the HRR of the right middle lobe of the liver and positive Ki-67 rate in the liver tissue were significantly increases in both ALPPS group and PVL group, but the HRR was significantly higher on POD 3 and 7, the positive Ki-67 rate was significantly higher on POD 2 and 3 in ALPPS group than those in PVL group (all $P < 0.05$); obvious OV-6 expression was seen in either ALPPS group or PVL group, but its expression levels in ALPPS group were significantly higher than those in PVL group on POD 2 and 3 (both $P < 0.05$).

Conclusion: The first stage of ALPPS is superior to single PVL for inducing liver regeneration, and the mechanism is probably related to higher inflammatory status after ALPPS which may cause the mobilization and activation of the intrahepatic stem/progenitor cells, and thereby promote the rapid liver regeneration.

Key words

Hepatectomy; Liver Regeneration; Stem Cells; Models, Animal; Rats

CLC number: R657.3

肝脏部分切除是肝脏原发性肿瘤和部分转移瘤最主要的有效治疗方式之一^[1-2]。然而, 残余肝脏体积不足 (future liver remnant, FLR) 一直是外科肝切除的瓶颈^[3], 是影响围手术期病死率和术后并发症发生率的主要决定性因素。联合肝脏分割和门静脉结扎二步肝切除 (associating liver partition and portal vein ligation for staged hepatectomy, ALPPS) 是一种全新的肝切除手术^[4-6], 临床数据显示: ALPPS能在相对较短的时间内 (中位数9 d), 刺激残余肝脏再生约86%^[7], 从而为部分既往评估为不可切除的肿瘤患者带来了切除的可能性, 且同时降低了部分边缘性肝脏切除患者术后肝功能衰竭的发生率^[6]。然而, ALPPS带来了外科手术机遇的同时也带来许多困惑, 对于其短时间内快速诱导残肝再生, 目前其机制仍不清楚。

众所周知, 肝脏具有独特的再生能力, 正常情况下, 肝细胞极少分裂增生, 当各种原因导致肝脏损伤后, 其表现出较强的再生能力。当肝脏遭遇各种急慢性损伤时, 除了自身成熟肝细胞参与组织修复以外^[8-9], 某些严重刺激条件下, 肝脏还将动员各种干/祖细胞来参与组织修复^[10-12], 促进肝脏再生修复。

ALPPS一期手术包括门静脉结扎和肝脏原位离断, 其无论对正常还是对本身具有一定肝脏疾病的患者而言, 无疑是一次巨大的创伤刺激, 临床数据显示, ALPPS一期术后早期, 患者肝功指标显著升高, 体内炎症水平也明显升高, 肝脏受

损严重。但是, 其肝脏质量却在惊人的增加。同时, 研究肝再生的动物模型显示, 当肝脏遭受严重创伤时, 其将动员肝内的干/祖细胞参与组织的再生修复^[13]。并且研究显示, 普通正常肝切除后肝脏再生以肝成熟细胞分裂增殖为主, 其再生的幅度和速度均十分有限。然而, 在ALPPS条件下的肝再生速度快幅度大, 其单纯依靠肝细胞增殖难以达到, 其再生是否有肝干/祖细胞的参与, 值得进一步研究探索。

1 材料与方法

1.1 主要动物和材料

健康雄性SD大鼠72只, 周龄约7周, 体重约 (200 ± 20) g, 购于成都达硕实验动物有限公司。小鼠抗大鼠Ki-67单克隆抗体购买于Abcam公司, 小鼠抗大鼠OV-6单克隆抗体购买于美国R&D Systems公司。山羊抗小鼠荧光二抗Alexa fluor 594, 小鼠抗大鼠β-actin单克隆抗体购买于美国Invitrogen公司, 大鼠白细胞介素6 (IL-6)、肝细胞生长因子 (HGF)、肿瘤坏死因子α (TNF-α) 试剂盒 (ELISA) 购于美国eBioscience公司, 免疫组化试剂盒、DAB显色试剂均购自北京索莱宝科技有限公司, 倒置荧光显微镜为日本Olympus公司产品、蛋白电泳仪购自美国Bio-Rad公司。小动物麻醉机购买于深圳市瑞沃德生命科技有限公司。所有实验均按照成都军区总

医院科研管理委员会批准的指南和规定进行 (No. SCCT2016-17)。

1.2 实验方法

1.2.1 实验分组 西南医科大学 72 只大鼠按随机数字表法分为 ALPPS 组、单纯门静脉结扎 (portal vein ligation, PVL) 组、假手术组, 每组 24 只。动物饲养于成都医学院 SPF 级实验动物中心, 自由饮食饮水, 保持 12 h 光照/12 h 黑暗交替。

1.2.2 手术方法 动物模型建立参考刘伟伟等^[14-16], 并加以改进。大鼠术前 12 h 禁食, 所有动物麻醉采用专用小动物麻醉机, 快速诱导麻醉后, 给予 3% 的异氟烷 + 混合空气持续吸入, 流速 0.5 L/min 持续麻醉直至手术结束。麻醉后大鼠中腹打开腹腔, 解剖分离镰状韧带等, 充分暴露肝脏, 在外科显微镜下依次仔细分离尾状叶、右叶、左叶、左中叶相应的动脉、胆管、和门静脉分支, 然后用 4-0 丝线依次结扎尾状叶、右叶、左叶、左中叶对应的门静脉分支, 保留右中叶所有管道。ALPPS 组除上述操作外, 还需沿着缺血线离断肝实质。当左中叶门静脉结扎后, 肝中叶将立刻出现一条缺血线, 其位于肝中静脉与肝中左静脉之间, 手术离断时至少保留距下腔静脉干 5 mm 以避免损伤肝中静脉。离断肝脏时采血管钳逐步压榨, 膈面的背膜用眼科剪分离, 离断过程中采用压迫、电凝和 5-0 丝线结扎的方法止血, 最后将止血纱布放入断面以便止血和防止术后断面粘连, 术后采用 3-0 的丝线双层缝合腹部。假手术组开腹后, 分解肝脏周围各韧带, 翻动分离出各门静脉分支、动脉支和伴行的胆管, 但不予结扎, 然后双层缝合后关腹。

1.2.3 标本收集处理 各组大鼠于术后 1、2、3、7 d 麻醉后收集标本, 每次每组各取 6 只。下腔静脉采血后, 3 000 r/min 后收集血清标本于 -80 °C 保存。解剖下整个肝脏, 分离各肝叶, 称取各叶重量, 分别从右中叶和左中叶取约 200 mg 组织于液氮中速冻, -80 °C 保存。右中叶切取约 1.0 cm × 1.0 cm × 0.5 cm 肝脏组织冷冻切片包埋剂包埋, 液氮速冻后 -80 °C 保存。其余肝脏组织于浸泡于 4% 的多聚甲醛。

1.2.4 血清学指标检测 血清收集后采用全自动生化仪检测谷丙转氨酶 (ALT)、谷草转氨酶 (AST) 浓度。大鼠 ELISA 试剂盒检测血清 IL-6、TNF- α 、HGF 表达水平。具体操作按试剂说明书

进行, 于 450 nm 波长处测定吸光度 (OD) 值并绘制标准曲线, 依据标准曲线计算各组指标浓度。

1.2.5 肝再生率 (hepatic regeneration rate, HRR) 检测 右中叶 HRR 通过以下公式计算: $HRR = (W_A - W_I) / W_I \times 100\%$ 。其中 W_A 代表各取材时间点肝右中叶的实际重量, W_I 代表术前右中叶最初的重量, 其约为术前大鼠体质量 $\times 0.74\%$ ^[17]。

1.2.6 肝脏病理及免疫组化 石蜡切片 3 μ m 连续切片, 脱蜡、水化, 行苏木素和伊红染色。免疫组化染色按照试剂盒说明书进行操作; 切片脱蜡、水化后于 pH 值为 6.0 的枸橼酸盐缓冲液微波加热抗原修复。小鼠抗大鼠 Ki-67、OV-6 单克隆抗体均按 1:100 稀释。一抗 4 °C 过夜。DAB 试剂显色, 苏木素复染。常规脱水, 透明, 中性树胶封片。结果计算: 高倍视野内 ($\times 200$) 计算肝细胞数及 Ki-67、OV-6 阳性细胞数, 每张切片随机选取 5 个视野, 视野内 Ki-67、OV-6 染色阳性细胞数的百分比即 Ki-67、OV-6 标记率。

1.2.7 免疫荧光检测 冷冻组织连续 7 μ m 切片, 冷丙酮固定 10 min, PBS 洗 3 次, 每次 5 min。0.5% Trion-X100 室温孵育 10 min, PBS 洗 3 次, 每次 5 min, 10% 正常山羊血清封闭室温 1 h, 小鼠抗大鼠单克隆抗体一抗 4 °C 过夜 (一抗 1:100), PBS 洗 3 次, 每次 5 min, 室温孵育羊抗小鼠 IgG 荧光二抗 Alexa fluor 594 (1:1 000)。DAPI 染核, 抗荧光淬灭剂封片, 倒置荧光显微镜观察结果。

1.2.8 Western blot 检测蛋白表达 称取肝脏组织约 100 mg, 加入裂解液, 冰浴中匀浆组织, 静置 20 min, 4 °C 离心 12 000 r/min, 20 min, 轻轻吸取上清, 即为蛋白样本。BCA 法蛋白定量后与缓冲液按比例混合后 100 °C 煮沸 10 min, 12% SDS-PAGE 上样电泳后电转至 PVDF 膜, 5% 脱脂牛奶室温封闭 1 h, 加入一抗 OV-6 (浓度为 1:1 000), 4 °C 孵育过夜。TBST 洗涤 3 次, 后加入二抗辣根过氧化物酶标记的羊抗小鼠 IgG (Thermo, 1:10 000), 室温孵育 45 min。TBST 洗涤 3 次, 在暗室中压片, 然后显影、定影。

1.3 统计学处理

数据采用 SPSS 19.0 统计软件进行分析, 实验数据以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 行 Student-*t* 检验或 ANOVA 方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 术后肝功能指标检测结果

术后第1天ALPPS组和PVL组肝功能损害严重,与假手术组比较,两组AST、ALT水平在术后

第1、2天均明显升高,且在术后第1天达峰值,但ALPPS组升高程度明显大于PVL组,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$),随后ALT、AST指标逐渐下降,两组大鼠肝功于术后72 h基本恢复正常(图1)。

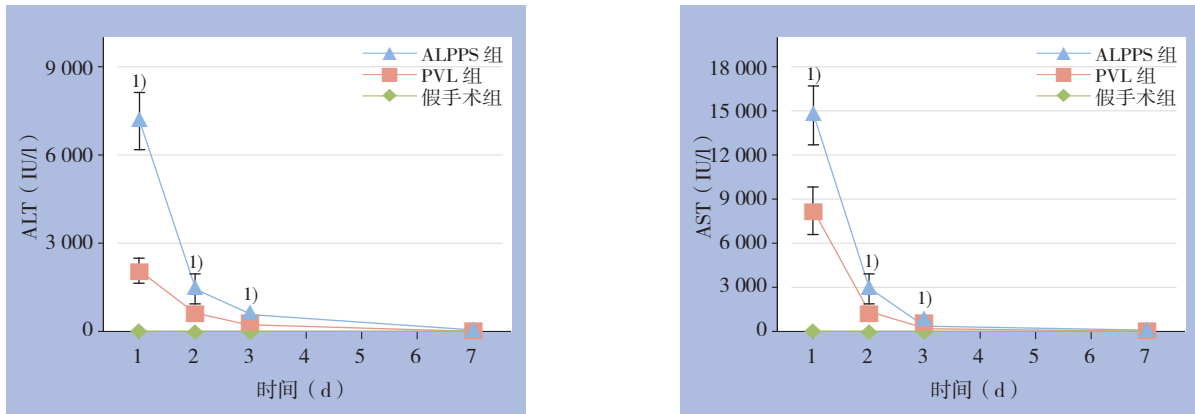


图1 各组术后各时间点肝功能指标的变化 注: 1) 与PVL组比较, $P<0.05$

Figure 1 Changes in liver function parameter at different postoperative time points in each group Note: 1) $P<0.05$ vs. PVL group

2.2 术后血清炎症因子水平检测结果

与假手术组比较, ALPPS组和PVL组血清IL-6、TNF- α 、HGF水平在术后1~2 d均明显升高(均 $P<0.05$)。ALPPS组和PVL组术后血清IL-6、

TNF- α 、HGF水平均在术后1 d达高峰,且ALPPS组1~2 d血清IL-6、TNF- α 、HGF水平均明显高于PVL组(均 $P<0.05$) (图2)。

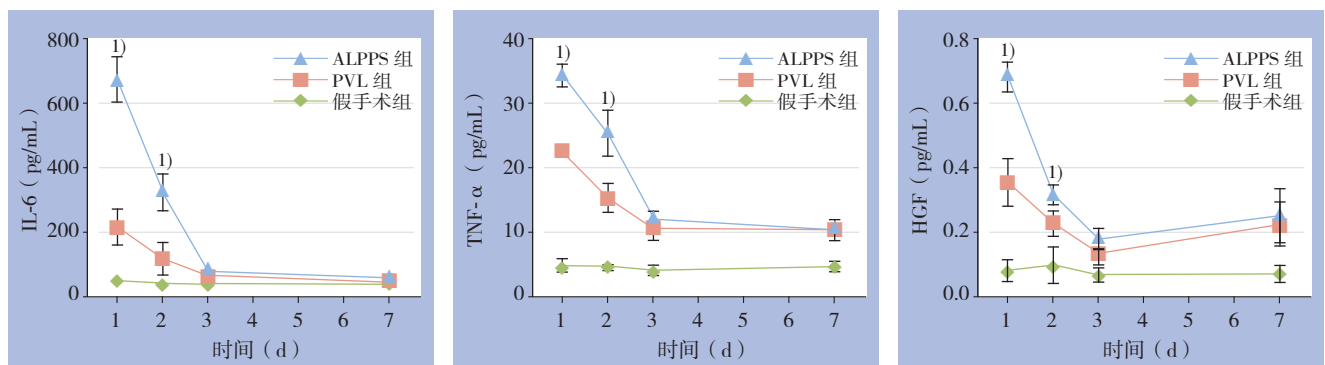


图2 各组术后各时间点炎症因子水平的变化 注: 1) 与PVL组比较, $P<0.05$

Figure 2 ELISA measured serum of IL-6, TNF- α and HGF changes in each group Note: 1) $P<0.05$ vs. PVL group

2.3 肝再生速率分析

各组HRR和肝细胞增殖速率(Ki-67的阳性表达率)检测结果显示, 术后ALPPS组与PVL组HRR随时间逐步上升, 且明显高于假手术组(均 $P<0.05$), 与PVL组比较, ALPPS组高于PVL组, 自术后72 h开始两组间差异有统计学意义(均 $P<0.05$); 同时, 由于大鼠周龄相对较小, 假手术组大鼠随着自身发育HRR可缓慢上升; ALPPS组Kii-67阳性率在术后48 h

[(71.10 \pm 4.23) % vs. (55.19 \pm 6.87) %]和术后72 h [(60.46 \pm 4.64) % vs. (45.21 \pm 4.13) %], 明显高于PVL组(均 $P<0.05$) (图3-4)。

2.4 病理染色结果

肝内卵圆细胞呈小肝样细胞, 胞核较成熟肝细胞小, 呈椭圆形, 嗜碱性, 核浆比较高, HE染色切片观察, 可以观察到门脉胆管周围散在分布着大量胞核较大, 嗜碱性的卵圆细胞(图5)。

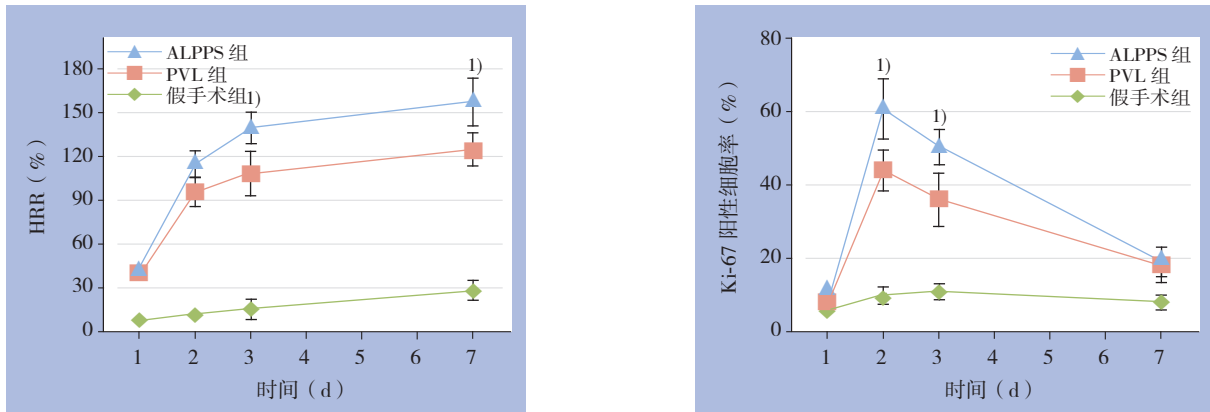


图 3 各组术后各时间点肝脏再生情况 注：1) 与 PVL 组比较, $P < 0.05$

Figure 3 Liver regeneration status in each group at different time points after operation Note: 1) $P < 0.05$ vs. PVL group

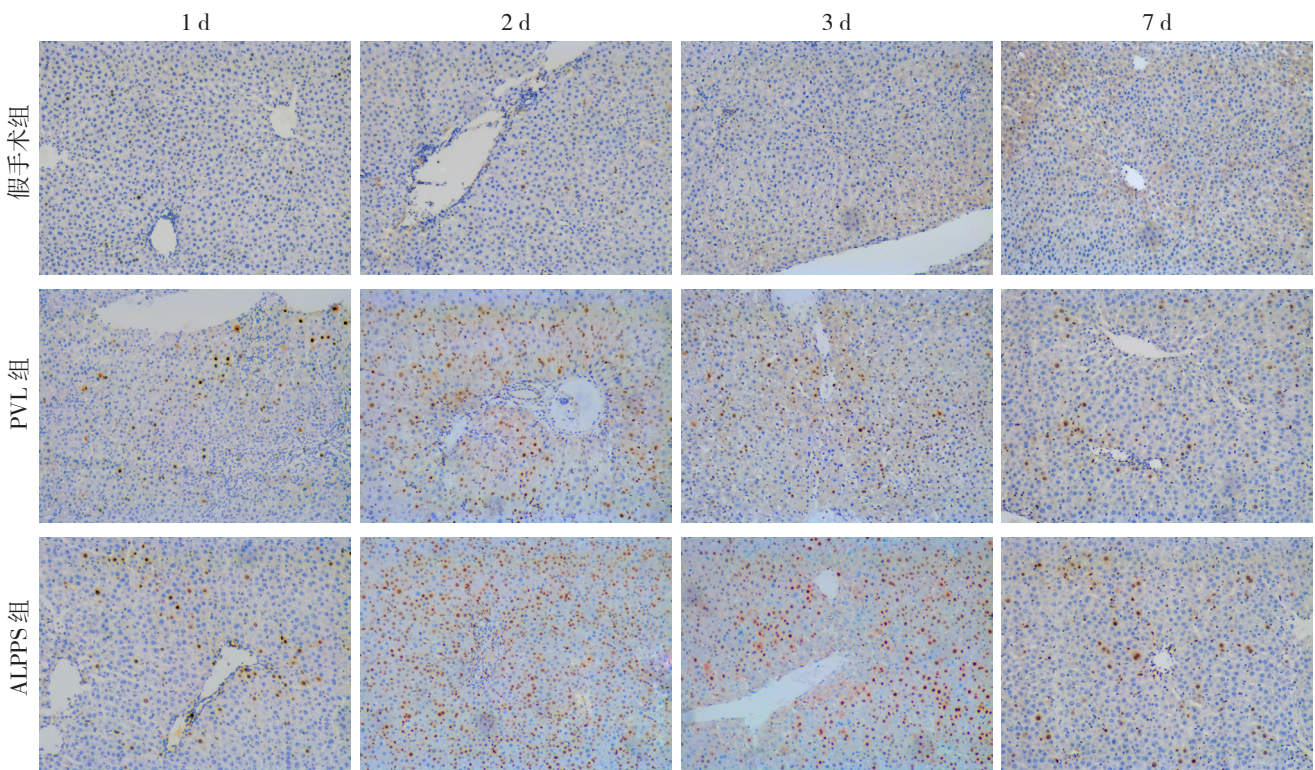


图 4 各组 Ki-67 免疫组化染色情况 (× 100)

Figure 4 Immunohistochemical staining for Ki-67 in each group (× 100)

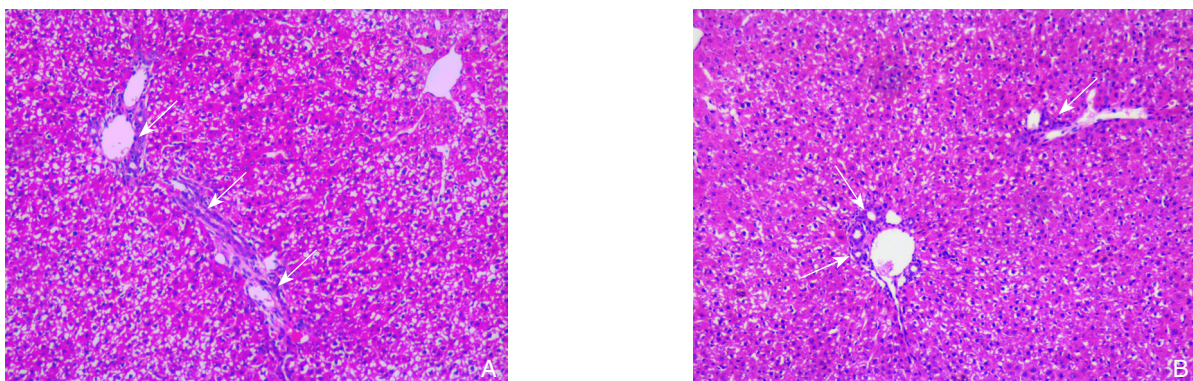


图 5 术后 24 h 肝组织 HE 染色 (× 100) A: ALPPS 组; B: PVL 组

Figure 5 HE staining of the liver tissue at 24 h after operation (× 100) A: ALLPS group; B: PVL group

2.5 卵圆细胞标志物 OV-6 检测

卵圆细胞特异性标志物OV-6检测结果显示, 术后PVL组和ALPPS均有阳性表达, 但ALPPS组阳性率高于PVL组, 术后24 h [(27.47 ± 1.11) % vs. (21.40 ± 2.14) %] 和48 h [(18.93 ± 1.42) % vs. (14.97 ± 1.39) %] 差异均具有统计学意义

(均 $P < 0.05$), 随后两组OV-6阳性率逐渐下降 ($P > 0.05$) (图6)。免疫荧光OV-6染色标记阳性细胞结果显示, 术后第1、2天ALPPS组阳性率明显高于PVL组 ($P < 0.05$), 结果与免疫组化类似 (图7)。

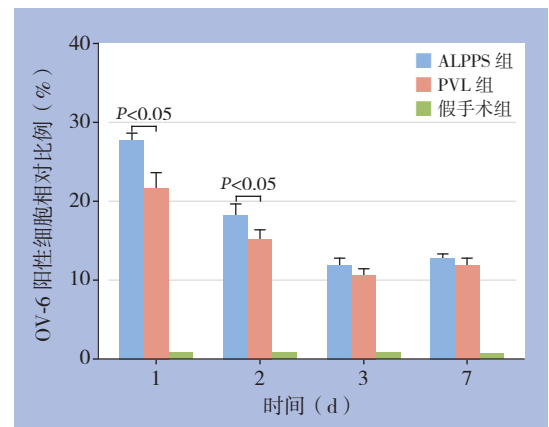
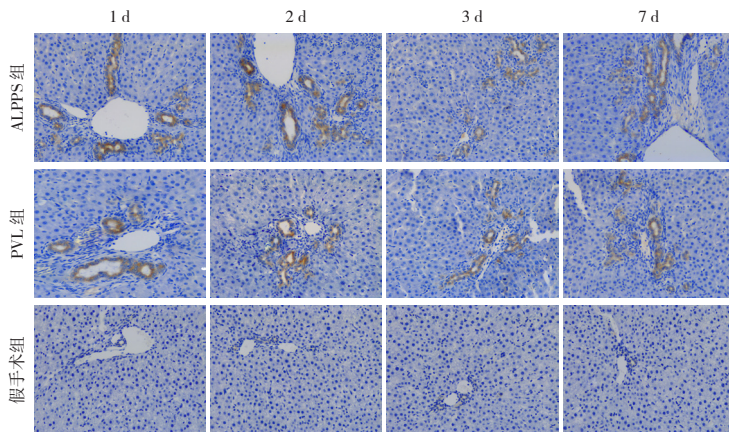


图6 免疫组化检测各组肝脏组织中 OV-6 表达水平 (× 200)

Figure 6 Immunohistochemical staining for the specific marker OV-6 of oval cells (×200)

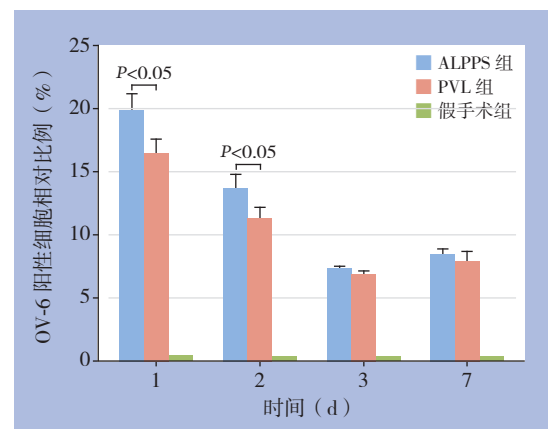
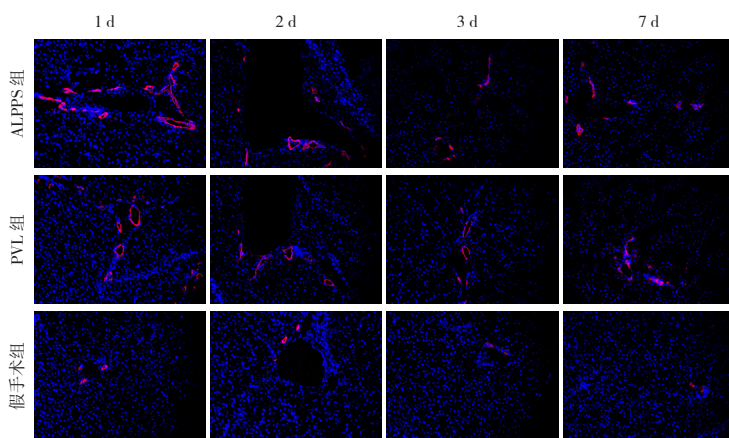


图7 免疫荧光检测各组肝脏组织中 OV-6 表达水平 (× 200)

Figure 7 Immunofluorescence staining of the specific marker OV-6 of oval cells (×200)

2.6 Western blot 检测结果

与PVL组比较, ALPPS组在术后1~2 d表达均明显高于前者, 差异均有统计学意义 (均

$P < 0.05$), 同时, 无论是PVL组还是ALPPS组, OV-6表达量均在术后1 d达高峰, 然后逐渐下降 (图8)。

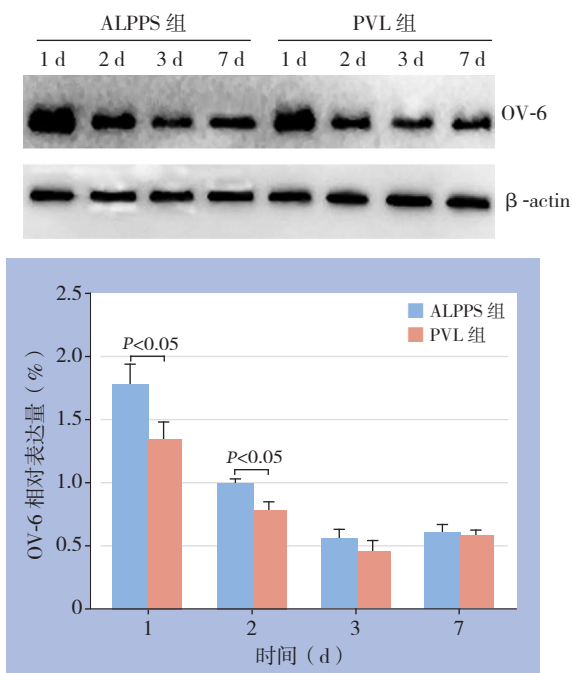


图 8 Western blot 检测组肝组织 OV-6 水平

Figure 8 Western blot analysis of the OV-6 expression levels in the liver tissues

3 讨 论

对于肝脏原发或转移的肿瘤而言，肿瘤的 R₀ 切除对生存预后至关重要，但是由于残余肝脏体积的不足，患者术后可能面临“小肝综合征”等有效肝功能不足而导致的肝衰或死亡等严重并发症^[18]。通常来说，对于没有肝脏基础疾病的患者而言，其可耐受超过或接近 25% 的术后残余肝体积，而对于具有肝功能障碍或早期肝脏损害的患者来说，40% 甚至更高的残余肝体积是必不可少的^[19]。传统经典的 PVL 或门静脉栓塞（portal vein embolization, PVE）虽能在一定程度上刺激剩余肝脏增生（平均 4~8 周，肝脏体积增加 8%~46%），为部分患者带来了肿瘤切除的可能性，但其仍存在诸多弊端：如两次手术间隔时间较长，肿瘤进展而导致失去手术机会；有效刺激不足，增生肝脏仍无法达手术要求等。但是，ALPPS 在一定程度上可以有效解决上述问题，其短时间内促进残肝再生的能力令人惊讶，但同时 ALPPS 也带来许多困惑：一方面临床数据显示其居高不下的病死率和并发症，另一方面其促进再生的机制仍不明了。

肝脏以其独特强大的再生能力而被广为认知，依据肝损伤的类型和程度不同，肝再生可以分为两大不同层次的再生过程：肝细胞介导的再生和干/祖细胞参与的再生^[8]。当然，两者也可能同时参与肝脏再生修复。卵圆细胞被认为是大鼠肝内主要的干/祖细胞^[6]，其具有双分化的潜能，当肝脏成熟肝细胞受到严重损害或失大量丢失时，肝脏将动员肝内卵圆细胞参与肝脏稳态的恢复，动员的卵圆细胞在适宜的诱导作用下，其将进一步分化为具有功能的肝实质细胞，从而促进肝脏再生修复。

在本实验中，作为大鼠卵圆细胞特异性标记物 OV-6^[20-21]，在遭受 ALPPS 手术损害后的大鼠肝脏中出现了活化动员，且其参与了肝脏再生的过程。同时，虽然 PVL 在一定程度上也动员活化了卵圆细胞，但与 ALPPS 组相比，其活化的卵圆细胞比例明显不如前者。这在一定程度可以解释 PVL 增生效果不如 ALPPS。同时，在本实验中可以看到：Ki-67 结果显示，ALPPS 术后 24 h，肝细胞增殖并不明显，而与此同时，动员活化的卵圆细胞的比例却相对较高，同时结合 HRR 来看，术后 24、48 h 肝脏再生率并不高，而后才迅速上升，综合推测其原因可能为：一方面当肝脏遭遇严重创伤时，成熟的肝细胞的分裂增殖可能被暂时抑制，而以病理性肥大增生来短暂协助改善肝脏功能，也就是说，当创伤达到一定程度时，成熟肝细胞的分裂增殖是处于抑制状态的，无法快速分裂来维持肝脏稳态，而此时，肝脏将迅速动员活化肝内定植的干/祖细胞（卵圆细胞），并在适宜的微环境下，动员的卵圆细胞能快速分化为具有完整功能的肝细胞或胆管上皮细胞从而快速促进肝脏再生。进一步的实验数据显示：肝细胞的增殖高峰出现于术后第 3 天左右，与 HRR 基本一致。同时免疫组化和 Western blot 结果均显示，卵圆细胞的活化高峰出现在术后 24 h，而后相对减少。由此说明，ALPPS 术后早期，肝脏将动员肝内卵圆细胞活化，从而为后续快速的再生修复打下基石。

对于 ALPPS 术后卵圆细胞的活化机制，仍有待进一步探索，本实验观察到，ALPPS 术后血清 IL-6、TNF- α 、HGF 明显升高，尤其 IL-6 于术后 24 h 显著上升，同时 TNF- α 、HGF 水平也明显高于 PVL 组。据此笔者推测：ALPPS 手术后，严重的

创伤刺激,引起了某些细胞应答的上调,从而大量分泌IL-6、TNF- α 、HGF等促炎和生长调节因子,而此三者已被证实肝再生过程起强丝裂原作用^[22-23],并且进一步的研究肝再生的模型也显示上述因子直接参与了干/祖细胞参与肝再生的过程^[24-25]。研究^[26]表明,在CDE诱导的干/祖细胞参与肝再生的模型中,观察到TNFR1缺陷的小鼠中卵圆细胞的增殖明显被抑制,同样的结果也出现在IL-6缺陷的小鼠^[27]。故笔者推测IL-6、TNF- α 可能是卵圆细胞动员活化的有效刺激因子。

总之,ALPPS术后残肝快速增殖是一个涉及多种细胞及细胞因子参与的复杂过程。虽然ALPPS组和PVL组两组再生规律似乎相似,但总体ALPPS的再生程度还是高于PVL组。肝脏再生一个多步骤的复杂过程,每一个过程都涉及到各种转录因子和细胞因子的表达和分泌,肝脏干/祖细胞和/或肝细胞在这些细胞和因子的刺激下不断分化或增殖,从而完成肝脏的再生修复。

综上所述,本实验中初步证实了卵圆细胞参与了ALPPS术后残肝再生,并初步探讨了卵圆细胞在ALPPS术后可能的活动员机制。同时,本实验仍存在一定缺陷:首先,大鼠和人类疾病模型存在一定差异,且本实验中大鼠模型为正常肝脏再生,不能代表人类肝脏病理条件下的再生;其次,在ALPPS过程中卵圆细胞的动员活化机制研究不足,尚不清楚其活化的扳机分子。尽管如此,本实验为进一步研究ALPPS再生机制,并利用干/祖细胞治疗而促进肝脏快速再生进行了有益探索。

参考文献

- [1] Agrawal S, Belghiti J. Oncologic resection for malignant tumors of the liver[J]. *Ann Surg*, 2011, 253(4):656-665. doi: 10.1097/SLA.0b013e3181fc08ca.
- [2] Clavien PA, Petrowsky H, DeOliveira ML, et al. Strategies for safer liver surgery and partial liver transplantation[J]. *N Engl J Med*, 2007, 356(15):1545-1559.
- [3] Robles R, Parrilla P, López-Conesa A, et al. Tourniquet modification of the associating liver partition and portal ligation for staged hepatectomy procedure[J]. *Br J Surg*, 2014, 101(9):1129-1134. doi: 10.1002/bjs.9547.
- [4] Schnitzbauer AA, Lang SA, Goessmann H, et al. Right portal vein ligation combined with in situ splitting induces rapid left lateral liver lobe hypertrophy enabling 2-staged extended right hepatic resection in small-for-size settings[J]. *Ann Surg*, 2012, 255(3):405-414. doi: 10.1097/SLA.0b013e31824856f5.
- [5] Andersen KJ, Knudsen AR, Jepsen BN, et al. A new technique for accelerated liver regeneration: An experimental study in rats[J]. *Surgery*, 2017, 162(2):233-247. doi: 10.1016/j.surg.2017.03.002.
- [6] Schadde E, Ardiles V, Slankamenac K, et al. ALPPS offers a better chance of complete resection in patients with primarily unresectable liver tumors compared with conventional-staged hepatectomies: results of a multicenter analysis[J]. *World J Surg*, 2014, 38(6):1510-1519. doi: 10.1007/s00268-014-2513-3.
- [7] Lang SA, Loss M, Benseler V, et al. Long-term results after in-situ split (ISS) liver resection[J]. *Langenbecks Arch Surg*, 2015, 400(3):361-369. doi: 10.1007/s00423-015-1285-z.
- [8] Liu WH, Ren LN, Wang T, et al. The Involving Roles of Intrahepatic and Extrahepatic Stem/Progenitor Cells (SPCs) to Liver Regeneration[J]. *Int J Biol Sci*, 2016, 12(8):954-963. doi: 10.7150/ijbs.15715.
- [9] 黄民, 黄黎宸, 刘卫辉. 肝内外干/祖细胞参与肝再生的研究进展[J]. *中国普通外科杂志*, 2017, 26(7):926-933. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2017.07.018.
Huang M, Huang CC, Liu WH. Participation of intra-and extrahepatic stem/progenitor cells in liver regeneration: recent advances[J]. *Chinese Journal of General Surgery*, 2017, 26(7):926-933. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2017.07.018.
- [10] Van Haele M, Roskams T. Hepatic Progenitor Cells: An Update[J]. *Gastroenterol Clin North Am*, 2017, 46(2):409-420. doi: 10.1016/j.gtc.2017.01.011.
- [11] Miyajima A, Tanaka M, Itoh T. Stem/progenitor cells in liver development, homeostasis, regeneration, and reprogramming[J]. *Cell Stem Cell*, 2014, 14(5):561-574. doi: 10.1016/j.stem.2014.04.010.
- [12] Liu WH, Song FQ, Ren LN, et al. The multiple functional roles of mesenchymal stem cells in participating in treating liver diseases[J]. *J Cell Mol Med*, 2015, 19(3):511-520. doi: 10.1111/jcmm.12482.
- [13] Itoh T, Miyajima A. Liver regeneration by stem/progenitor cells[J]. *Hepatology*, 2014, 59(4):1617-1626. doi: 10.1002/hep.26753.
- [14] 刘伟伟, 刘洪, 余锋, 等. 联合肝脏分割和门静脉结扎二步肝切除大鼠模型的建立[J]. *中国普通外科杂志*, 2017, 26(1):50-56. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2017.01.009.
Liu WW, Liu H, Yu F, et al. Establishment of rat model of associating liver partition and portal vein ligation for staged hepatectomy[J]. *Chinese Journal of General Surgery*, 2017, 26(1):50-56. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2017.01.009.

- [15] 顾向前, 张鲁洲, 曹顺琪, 等. 联合肝脏分割和门静脉结扎的分期肝切除术大鼠模型的建立[J]. 中华肝胆外科杂志, 2015, 21(12):836-839. doi:10.3760/cma.j.issn.1007-8118.2015.12.013.
- Gu XQ, Zhang LZ, Cao SQ, et al. Establishing rat model of associating liver partition with portal vein ligation for staged hepatectomy (ALPPS)[J]. Chinese Journal of Hepatobiliary Surgery, 2015, 21(12):836-839. doi:10.3760/cma.j.issn.1007-8118.2015.12.013.
- [16] Wei W, Zhang T, Zafarnia S, et al. Establishment of a rat model: Associating liver partition with portal vein ligation for staged hepatectomy[J]. Surgery, 2016, 159(5):1299-1307. doi: 10.1016/j.surg.2015.12.005.
- [17] Yao L, Li C, Ge X, et al. Establishment of a rat model of portal vein ligation combined with in situ splitting[J]. PLoS One, 2014, 9(8):e105511. doi: 10.1371/journal.pone.0105511.
- [18] Golriz M1, Majlesara A1, El Sakka S1, et al. Small for Size and Flow (SFSF) syndrome: An alternative description for posthepatectomy liver failure [J]. Clin Res Hepatol Gastroenterol, 2016, 40(3):267-275. doi: 10.1016/j.clinre.2015.06.024.
- [19] Zhang GQ, Zhang ZW, Lau WY, et al. Associating liver partition and portal vein ligation for staged hepatectomy (ALPPS): a new strategy to increase resectability in liver surgery[J]. Int J Surg, 2014, 12(5):437-441. doi: 10.1016/j.ijsu.2014.03.009.
- [20] Dezső K, Papp V, Bugyik E, et al. Structural analysis of oval-cell-mediated liver regeneration in rats[J]. Hepatology, 2012, 56(4):1457-1467. doi: 10.1002/hep.25713.
- [21] Guo J, Li J, Lu Y, et al. A novel technique for hepatic progenitor cell isolation from normal adult rat livers[J]. ASAIO J, 2012, 58(1):73-78. doi: 10.1097/MAT.0b013e318239fce5.
- [22] Schmidt-Arras D, Rose-John S. IL-6 pathway in the liver: From physiopathology to therapy[J]. J Hepatol, 2016, 64(6):1403-1415. doi: 10.1016/j.jhep.2016.02.004.
- [23] Wang S, Lee JS, Hyun J, et al. Tumor necrosis factor-inducible gene 6 promotes liver regeneration in mice with acute liver injury[J]. Stem Cell Res Ther, 2015, 6:20. doi: 10.1186/s13287-015-0019-z.
- [24] Li Z, Chen J, Li L, et al. In vitro and in vivo characteristics of hepatic oval cells modified with human hepatocyte growth factor[J]. Cell Mol Biol Lett, 2013, 18(4):507-521. doi: 10.2478/s11658-013-0104-1
- [25] Ji T, Li G, Chen J, et al. Distinct role of interleukin-6 and tumor necrosis factor receptor-1 in oval cell-mediated liver regeneration and inflammation-associated hepatocarcinogenesis [J]. Oncotarget, 2016, 7(41):66635-66646. doi: 10.18632/oncotarget.11365.
- [26] Knight B, Yeoh GC, Husk KL, et al. Impaired preneoplastic changes and liver tumor formation in tumor necrosis factor receptor type 1 knockout mice[J]. J Exp Med, 2000, 192(12):1809-1818.
- [27] Matthews VB, Klinken E, Yeoh GC. Direct effects of interleukin-6 on liver progenitor oval cells in culture[J]. Wound Repair Regen, 2004, 12(6):650-656.

(本文编辑 宋涛)

本文引用格式: 黄民, 黄黎宸, 肖乐, 等. ALPPS一期术后肝内干/祖细胞的变化及其与肝再生的关系[J]. 中国普通外科杂志, 2018, 27(2):210-218. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2018.02.013

Cite this article as: Huang M, Huang CC, Xiao L, et al. Alteration in intrahepatic stem/progenitor cells after first stage of ALPPS and its relationship to liver regeneration[J]. Chin J Gen Surg, 2018, 27(2):210-218. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2018.02.013