

- [J]. Biol Pharm Bull, 2006, 29(5): 903.
- [21] 李琼, 王阁, 王红中, 等. MicroRNA 在 Hep G2 肝癌细胞表达差异谱的研究[J]. 重庆医学, 2007, 36(20): 2024.
- [22] Corney DC, Flesken-Nikitin A, Godwin AK, et al. MicroRNA-34b and MicroRNA-34c are targets of p53 and cooperate in control of cell proliferation and adhesion - independent growth[J]. Cancer Res, 2007, 67(18): 8433.
- [23] Guil S, Esteller M. DNA methylomes, histone codes and miRNAs: tying it all together[J]. Int J Biochem Cell Biol, 2009, 41(1): 87.

(收稿日期: 2009-06-03 修回日期: 2009-09-17)

· 综 述 ·

硬化肝脏再生研究进展*

农卡特 综述, 袁晟光 审校

(桂林医学院附属医院肝胆胰外科, 广西 541001)

关键词: 肝硬化; 肝再生

中图分类号: R575.2

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2010)05-0606-03

正常肝脏在受损伤或部分切除后具有很强的再生能力, 但临床上肝病患者常常合并有肝硬化, 大量研究表明硬化肝脏再生过程的启动、进展及终止均较正常肝脏有明显的不同, 研究硬化肝脏行部分切除术后的再生机制, 促进术后余肝再生及其功能恢复具有重要的临床意义。

1 硬化肝脏再生的特点

大量研究表明, 硬化肝脏部分切除后余肝再生过程的启动、进展及停止均较正常有明显的不同。其特点有: (1) 再生过程慢, 所需时间长, 正常大鼠肝脏 70% 部分切除后, 再生反应迅速启动, 原肝重量恢复仅需 7~10 d; 而肝硬化大鼠肝脏 70% 部分切除后, 则需约 30 d 才能恢复原肝重量; (2) 余肝再生不仅慢, 而且大多数再生肝细胞不能发育成熟, 缺乏正常功能, 甚至部分发生变性、坏死; (3) 硬化余肝再生缓慢是再生相关分子调控机制异常为基础的, 包括细胞因子、转录因子、生长因子及其受体、细胞周期调节相关蛋白以及细胞凋亡相关基因的表达^[1]。

2 硬化肝脏再生的异常

2.1 硬化肝脏再生启动阶段细胞因子及转录因子的异常 目前认为肿瘤坏死因子- α (Tumor necrosis factor- α , TNF- α) 及白细胞介素-6 (Interleukin-6, IL-6) 共同启动肝再生^[2]。正常肝脏大部分切除后数小时内的肝再生启动阶段, 肝脏内 mRNA 水平以及血清水平的 TNF- α 、IL-6 迅速升高^[3], 激活包括核因子- κ B (Nuclear factor- κ B, NF- κ B)、信号转导及转录激活因子-3 (signal transducer and activator of transcription 3, STAT3) 等转录因子, 肝脏细胞从静止的 G₀ 期进入 G₁ 期, 继而在生长因子如肝细胞生长因子 (hepatocyte growth factor, HGF)、转化生长因子- α (transforming growth factor- α , TGF- α) 等作用下不可逆地进入细胞周期。

肝脏中 TNF- α 主要由 Kupffer 细胞分泌。部分肝切除后, TNF- α 通过与 Kupffer 细胞表面特异的受体 TNF- α I 型受体 (TNFR-I) 结合, 激活有多种转录活性的转录因子 NF- κ B。它可直接上调 IL-6 基因表达, 刺激 IL-6 合成及释放。肝脏 70% 部分切除后, 正常大鼠余肝内 TNF- α mRNA 水平迅速增加, 并于部分肝切除后 6 h 达高峰, 然后缓慢下降, 于术后 3 d 降至术前水平; 而硬化肝脏余肝内 TNF- α mRNA 水平在术后 6~

12 h 都保持相当低的水平, 之后才缓慢上升, 直到术后 24 h 才达高峰, 峰值明显低于正常且下降迅速。

肝脏 IL-6 来源于肝内非实质细胞, 以 Kupffer 细胞为主, 受 TNF- α 调节, 在肝脏再生过程中起着抗凋亡及促进再生的作用。它通过结合 gp130 受体, 激活 STAT3, 调控肝再生反应过程中某些早期即刻基因的表达。肝脏 70% 部分切除后, IL-6 基因表达迅速上调, 正常大鼠余肝内 IL-6 mRNA 于术后 12 h 达高峰, 然后也缓慢下降, 于术后 3 d 降至术前水平; 而硬化肝脏余肝内 IL-6 mRNA 在术后 6~12 h 也都保持相当低的水平, 之后才缓慢上升, 直到术后 72 h 才达高峰, 峰值远远低于正常, 且回降缓慢; 而持续长期且低水平的 IL-6 对肝再生有抑制作用^[4-5]。硬化肝脏部分切除后余肝再生启动阶段, 短期给予外源性 IL-6 可促进硬化余肝再生^[5]。

心肌营养素-1 (cardiotrophin-1, CT-1) 是 IL-6 家族成员之一, 它也能通过结合 gp130 受体而激活 STAT3, 在肝脏中起 IL-6 相似的作用^[6]。最近的研究表明, CT-1 能促进细胞分裂及血管生成, 对硬化肝脏切除后的余肝再生有明显的促进作用^[7]。

STAT3 是信号转导和转录活化因子家族成员之一, 在肝脏部分切除后也被激活。其主要由 IL-6 激活, 使其二聚化后进入核内启动多种基因转录, 引发多种效应, 包括细胞增殖反应、急性炎症反应及抗细胞凋亡等^[8]。肝脏 70% 部分切除后, 正常大鼠肝脏内的 STAT3 在 30 min 内被激活, 术后 3 h 达高峰, 作用持续 46 h; 临床实验证明, 酒精性及 HCV 性肝硬化肝组织中 STAT3 蛋白量及活性均低于健康肝脏^[9]; STAT3 蛋白与 DNA 结合的能力下降可能与其抑制物 Pias3 蛋白 (protein inhibitor of activated STAT3) 有关。研究表明, 酒精性及 HCV 性肝硬化肝组织 Pias3 蛋白表达上调^[10]。

TNF- α 、IL-6、STAT3 等的表达及功能的异常, 导致硬化肝脏切除后余肝再生启动缓慢, 直接影响到后期再生肝细胞对生长因子的反应。

2.2 硬化肝脏再生的过程中相关生长因子及其受体的异常 HGF 是最早被认为在肝脏再生过程中起重要作用的生长因子之一。在肝内主要间质细胞合成分泌。肝脏部分切除后 1 h 内血液及肝组织中 HGF 水平迅速上升, 血清浓度可达正常的

* 基金项目: 广西科学研究与技术开发计划应用基础研究专项资助项目 (桂科基 0575108)。

15~17 倍。肝脏大部分切除后,余肝内 HGF 的变化在正常及硬化肝脏之间差异无统计学意义($P>0.05$);但是,硬化肝脏再生肝细胞内 c-met 基因的表达显著的降低,使得 HGF 与 c-Met 蛋白结合量下降,影响 HGF 介导肝再生信号的传导。还有研究表明,硬化再生余肝中的 HGF 活性明显降低,这可能与其激活物(HGF-activator, HGFA)的表达下降以及该激活物的脾源性抑制物(HGFA-inhibitor-1, 2, HAI-1, 2)的表达上升有关。经门脉注入重组人 HGFA 可以促进肝硬化大鼠肝脏大部分切除后的余肝再生^[11];另外,外源性 HGF 的注入或基因治疗可促进肝硬化大鼠余肝再生,其机制可能与 c-met、HGFA 和抗凋亡蛋白的基因表达上调有关^[12]。

TGF- α 也是肝细胞再生的重要因子^[13],其受体为表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)。TGF- α 在肝脏则由其间质细胞以及实质细胞共同分泌。肝脏切除前,硬化肝脏内的 TGF- α 的表达高于正常肝脏;肝脏切除术后,TGF- α 水平在硬化或正常肝脏内均升高,二者间差异无统计学意义($P>0.05$)^[14],但肝硬化患者肝细胞 EGFR 的表达明显高于正常^[15]。此外,外源性的 TGF- α 可促进肝硬化肝脏部分切除后余肝再生期间 DNA 的合成。TGF- α 及其受体在硬化肝脏再生中的作用如何还需进一步研究明确。

2.3 硬化肝脏再生的过程中细胞周期调节相关蛋白的异常
肝脏细胞受再生信号刺激后由 G_0 期进入 G_1 期,细胞生长而进入 DNA 大量复制的 S 期。在 G_2 期完成细胞分裂相关准备后到达 M 期。经历有丝分裂后细胞再回到 G_0 期,完成一次细胞周期(cell cycle)。该过程是 1 个复杂且受精密调控的连续过程,期间要通过 1 个限制点(restriction point, R)和 2 个控制点(checkpoint),在这期间,细胞周期调节相关蛋白起关键作用^[14]。

细胞周期调节相关蛋白主要有 3 种:细胞周期调节蛋白依赖激酶(cyclin dependent kinase, CDKs)、细胞周期调节蛋白(cyclins)、细胞周期调节蛋白依赖激酶抑制蛋白(inhibitors of cyclin-dependent protein kinases, CKIs)。CDKs 是细胞周期调节的中心,必须与相应 cyclin 结合形成 CDKs-cyclin 复合物后才具备调节活性。参与肝脏再生调节的 CDKs 主要是 CDK1、2、4、6。参与肝脏再生调节的 cyclins 主要是 cyclinA、B、D、E。CDK4/6-cyclinD 复合物对 G_1 中期细胞越过 R 点非常重要;CDK2-cyclinE 复合物对 G_1 期细胞越过 G_1/S 控制点而进入 S 期非常重要;CDK1-cyclinA 复合物在 S 期的作用是促进 DNA 复制; G_2 期细胞则主要在 CDK1-cyclinB 复合物的帮助下越过 G_2/M 控制点进入 M 期。上述过程中的 CDKs-cyclin 复合物活性受其本身某些部位磷酸化作用以及 CKIs 双重负性调节。CKIs 依照蛋白序列的同源性分为两大类:(1)CIP/KIP 家族,包括 p21CIP1、p27KIP1、p57KIP2;(2)INK4 家族,包括 p15INK4b、p16INK4a、p18INK4c、p19INK4b。特定的 CKIs 与特定的 CDKs 或 CDKs-cyclin 复合物结合发挥调节作用。

硬化肝脏余肝再生期间,细胞周期调节相关蛋白的表达也出现明显的异常^[15]。肝大部分切除前,硬化及正常肝脏内几乎检测不到相关 cyclins 的表达;肝大部分切除后,正常肝脏余肝组织内 cyclinA、B、D、E 的表达均迅速上升,都于术后 24 h 左右达高峰,并持续高浓度至术后 72 h 才缓慢下降;硬化肝脏余肝组织中的 cyclins 于术后表达也升高,但上升速度明显缓慢,到术后 72 h 才达高峰。其中 cyclinE 最明显,术后其水平于所有时间点均远远低于正常,而且未出现明显的峰值;CDKs

于术后的表达也迅速上升,而硬化肝脏余肝组织内 CDK2、4 的表达低于正常;CKIs 的表达在二者间则未观察到明显的差异。

2.4 硬化肝脏再生的过程中肝再生抑制因子表达和细胞凋亡调控的异常 转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)被认为是上皮细胞增值的负性调控因子。TGF- β 具有失活 CDK2-cyclinE 复合物的功能,使 CDK2、4 活性下降,还可以通过影响 bcl-xl、p53 等凋亡基因的表达而增强肝细胞凋亡^[16]。因此,很多学者都认为 TGF- β 是肝再生终止信号之一。在肝脏,TGF- β 主要由间质细胞合成分泌,正常肝脏 TGF- β 水平极低。肝脏部分切除后,正常余肝内的 TGF- β 于术后 4 h 表达增加,48~72 h 达高峰;而硬化肝脏余肝内 TGF- β 表达高峰提前于术后 18 h 出现,并维持较长时间,这可能是硬化余肝内 cyclinE、CDK2/4 水平减低的原因之一。有学者用 TGF- β 抗体或 TGF- β 受体的基因灭活方式阻断 TGF- β 信号通路^[17],结果显示肝硬化大鼠部分肝脏切除后余肝再生明显增快。

肝再生时肝脏内细胞的增值和凋亡同时存在^[18]。研究显示,肝脏在正常情况下也低水平表达前凋亡基因,但硬化肝脏内的表达水平明显高于正常;肝脏部分切除后,正常肝脏余肝组织内先出现抗凋亡基因(bcl-2、bcl-XL 等)表达高峰(术后 6 h)之后才出现前凋亡基因表达高峰(术后 24 h);而硬化肝脏余肝组织内的抗凋亡基因在术后 24 h 内呈表达下降,但之后则很快上升且超过正常水平,抗凋亡基因的表达则始终低于正常,bcl-2 更明显。该研究结果显示,硬化肝脏再生功能受损与细胞凋亡相关基因表达的异常有关。

3 结 语

硬化肝脏部分切除后余肝再生缓慢的机制复杂,是由多步骤、多因子及多信号通路异常所致,其中机制的阐明可指导临床对其进行干预,加快硬化残肝再生及肝功能的恢复,减少硬化肝脏部分切除术后的并发症及死亡率,以改善患者预后。

参考文献:

- [1] Yang S, Leow CK, Tan TM. Expression patterns of cytokine, growth factor and cell cycle-related genes after partial hepatectomy in rats with thioacetamide-induced cirrhosis[J]. World J Gastroenterol, 2006, 12(7): 1063.
- [2] Michalopoulos GK. Liver regeneration[J]. J Cell Physiol, 2007, 213(2): 286.
- [3] Ikeda O, Ozaki M, Murata S, et al. Autonomic regulation of liver regeneration after partial hepatectomy in mice[J]. J Surg Res, 2009, 152(2): 218.
- [4] Jin X, Zimmers TA, Perez EA, et al. Paradoxical effects of short- and long-term interleukin-6 exposure on liver injury and repair[J]. Hepatology, 2006, 43(3): 474.
- [5] Tiberio GA, Tiberio L, Benetti A, et al. IL-6 Promotes compensatory liver regeneration in cirrhotic rat after partial hepatectomy[J]. Cytokine, 2008, 42(3): 372.
- [6] Marques JM, Belza I, Holtmann B, et al. Cardiotrophin-1 is an essential factor in the natural defense of the liver against apoptosis[J]. Hepatology, 2007, 45(3): 639.
- [7] Yang ZT, Lau CK, Lam SP, et al. Cardiotrophin-1 enhances regeneration of cirrhotic liver remnant after hepatectomy through promotion of angiogenesis and cell proliferation[J]. Liver Int, 2008, 28(5): 622.

- [8] Moh A, Iwamoto Y, Chai GX, et al. Role of STAT3 in liver regeneration; survival, DNA synthesis, inflammatory reaction and liver mass recovery[J]. *Lab Invest*, 2007, 87(10):1018.
- [9] Horiguchi N, Ishac EJ, Gao B, et al. Liver regeneration is suppressed in alcoholic cirrhosis; correlation with decreased STAT3 activation[J]. *Alcohol*, 2007, 41(4):271.
- [10] Starke PI, De Saeger C, Leclercq I, et al. Deficient Stat3 DNA-binding is associated with high Pias3 expression and a positive anti-apoptotic balance in human end-stage alcoholic and hepatitis C cirrhosis[J]. *J Hepatol*, 2005, 43(4):687.
- [11] Yanagida H, Kaibori M, Hijikawa T, et al. Administration of rhHGF-activator via portal vein stimulates the regeneration of cirrhotic liver after partial hepatectomy in rats[J]. *J Surg Res*, 2006, 130(1):38.
- [12] Nishino M, Iimuro Y, Ueki T, et al. Hepatocyte growth factor improves survival after partial hepatectomy in cirrhotic rats suppressing apoptosis of hepatocytes[J]. *Surgery*, 2008, 144(3):374.
- [13] Qiao Q, Zhang J, Wang W, et al. Over expression of transforming growth factor-alpha and epidermal growth factor receptor in human hepatic cirrhosis tissues[J]. *Hepatogastroenterology*, 2008, 55(81):169.
- [14] 仲跻巍, 李相成. 细胞周期调节相关蛋白在肝脏再生中的作用[J]. *中华肝胆外科杂志*, 2007, 13(7):433.
- [15] Kato A, Bamba H, Shinohara M, et al. Relationship between expression of cyclin D1 and impaired liver regeneration observed in fibrotic or cirrhotic rats[J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2005, 20(8):1198.
- [16] Fausto N, Riehle KJ. Mechanisms of liver regeneration and their clinical implications[J]. *J Hepatobiliary Pancreat Surg*, 2005, 12(3):181.
- [17] Ozawa S, Uchiyama K, Nakamori M, et al. Combination gene therapy of HGF and truncated type II TGF-beta receptor for rat liver cirrhosis after partial hepatectomy[J]. *Surgery*, 2006, 139(4):563.
- [18] Guicciardi ME, Gores GJ. Apoptosis: a mechanism of acute and chronic liver injury[J]. *Gut*, 2005, 54(7):1024.

(收稿日期:2009-07-22 修回日期:2009-09-10)

· 综 述 ·

血管内皮生长因子-C 与胰腺癌淋巴管生成及淋巴结转移关系研究进展

高峰 综述, 孙治君[△] 审校

(重庆医科大学附属第二医院乳腺、胰腺、甲状腺外科 400010)

关键词: 胰腺癌; 血管内皮生长因子-C; 淋巴管生成; 淋巴结转移

中图分类号: R735.9; R73-37

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2010)05-0608-04

胰腺癌(pancreatic cancer)是一种起病隐匿、进展迅速、恶性程度极高、治疗效果及预后极差的消化道恶性肿瘤,被称为“癌中之王”,其发病率近年呈上升趋势。在美国,胰腺癌列为癌相关死亡第4位。胰腺癌在明确诊断后平均生存时间为3~8个月。由于胰腺癌侵袭性高、诊断困难、缺乏有效治疗,仅5%的患者生存期超过5年^[1]。研究发现胰腺癌早期即发生淋巴结转移,是导致其预后极差的主要原因之一^[2]。淋巴结转移的胰腺癌患者平均5年生存率只有0%~7.8%。因此研究胰腺癌的淋巴结转移机制已成为临床进行胰腺癌防治的迫切需要。近年研究发现血管内皮生长因子-C(vascular endothelial growth factor-C, VEGF-C)在胰腺癌淋巴管生成、淋巴结转移等方面起重要作用,是目前被认为与癌的淋巴管生成及淋巴结转移有关的重要因子,主要通过其特异性受体flt-4(VEGFR-3)发挥作用,介导胰腺癌淋巴管生成,与胰腺癌淋巴扩散及淋巴结转移有关。本文综合近年文献,就VEGF-C与胰腺癌淋巴结转移关系综述如下。

1 VEGF-C 概述

1.1 VEGF-C 基因结构、表达及分子结构特征 VEGF-C属于血管内皮生长因子/血小板源生长因子(VEGF/PDGF)家族

成员,于1996年被Joukov等从人前列腺癌细胞系PC3中分离纯化,是最早被发现的促淋巴管生成因子。VEGF-C与VEGF-A有大约30%的同源性,通过与其VEGFR-3结合,诱导淋巴管特异性淋巴管内皮过度增殖。人类的VEGF-C基因定位于染色体4q34,长度为40 kb,含有7个外显子。其中外显子3和4编码VEGF同源区,外显子5和7编码富含半胱氨酸的C6C10CRC型的基序,外显子6编码丝蛋白典型的C10CXCXC基序。VEGF-C基因的上游启动序列包括SP-1、AP-2、NF- κ B等转录因子的结合位点,但无TATA盒。VEGF-C mRNA主要表达于胚胎及成人淋巴结、心脏、胎盘、小肠、甲状腺和卵巢,少量表达于肺、胸腺、前列腺和外周血白细胞等。近年研究发现VEGF-C广泛表达于多种人类肿瘤,研究证实胃癌、胰腺癌、口腔癌、非小细胞肺癌、淋巴瘤、结直肠癌、肝癌、肾透明细胞癌、部分肉瘤、恶性黑色素瘤、白血病细胞及乳腺癌组织中均存在VEGF-C。并且VEGF-C在肿瘤灶的不同部位其表达水平也不相同,VEGF-C在位于肿瘤边缘区的组织中的表达水平明显高于肿瘤中心。

人类VEGF-C由419个氨基酸残基构成,包括N-端信号序列区、N-端前肽区、VEGF同源区和C-端前肽区。VEGF-C

[△] 通讯作者, E-mail: ch_sunzj@yahoo.com.cn.