

TGF β - Smad 信号转导通路与肝纤维化

吴晓玲, 曾维政, 王丕龙

吴晓玲, 王丕龙, 重庆医科大学附属第一医院消化内科 重庆市 400016
曾维政, 中国人民解放军成都军区总医院消化内科 四川省成都市 610083
项目负责人: 曾维政, 610083, 四川省成都市天回镇, 中国人民解放军成都军区总医院消化内科. wxllady@163.com
电话: 028-83577558
收稿日期: 2002-12-28 接受日期: 2003-01-16

摘要

转化生长因子 β (transforming growth factor beta, TGF β)是一类能够调节细胞生长和分化的多肽,具备多种生物作用,在肝纤维化发生、发展过程中具有活化肝星状细胞(hepatocellular stellate cell, HSC),促进胶原基因表达,促进细胞外基质合成与沉积等作用,是最重要的促肝纤维化细胞因子之一.大量研究证实,TGF β -Smad信号转导通路是TGF β 发挥生物学作用的主要通路,其分子组成与分子调节复杂,与其他信号通路存在广泛的交互影响,对不同的组织、细胞及肝纤维化的不同病程的作用均有明显的差异,对TGF β -Smad信号转导通路的深入研究不仅使肝纤维化的发病机制得到进一步的阐明,也给肝纤维化的防治研究提供了新的有效途径,本文综述TGF β -Smad信号转导通路的组成与调控,在肝纤维化发病与防治中的研究进展.

吴晓玲, 曾维政, 王丕龙. TGF β -Smad 信号转导通路与肝纤维化. 世界华人消化杂志 2003;11(10):1601-1605

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/11/1601.asp>

0 引言

转化生长因子 β 在肝纤维化发生、发展过程中具有活化肝星状细胞(hepatocellular stellate cell, HSC),促进胶原蛋白基因表达,促进细胞外基质(extracellular matrix, ECM)合成与沉积等作用,是肝纤维化最重要的始动因子之一^[1-7].近年对TGF β -Smad信号转导通路的分子组成及其在肝纤维化病程中的作用机制进行了广泛的研究,使肝纤维化的发病机制得到进一步阐明,也为肝纤维化防治带来了新的希望,本文就这些研究进展作一综述.

1 TGF β - Smad 信号转导通路的分子组成

TGF β 家族:TGF β 是一个庞大家族群^[1],脊椎动物TGF β 超家族包括TGF β 、活动素(activin)和骨成型蛋白(bone morphogenetic proteins, BMPs);哺乳动物TGF β 共有三种:TGF β 1、TGF β 2和TGF β 3,其中肝脏含量最高且具有生物活性的是TGF β 1,由两条相同的含112个氨基酸的亚单位通过-S-S-键连接成二聚体多肽,Mr 25 000,他是细胞外Mr 75 000的TGF β 隐型相关肽经

酶解修饰后的产物,还原剂可使二聚体分离,活性消失.正常成人肝脏肝窦内皮细胞、Kupffer细胞表达较高水平的TGF β 1, TGF β 2和TGF β 3 mRNA则在相对较低但可以检出的水平;肝星状细胞正常状态下表达TGF β 极少,肝损伤后三种TGF β 表达均显著增加,是肝损伤时TGF β 的主要来源^[8,9].

TGF β 家族受体:TGF β 超家族的受体有I、II型两种,均为受体丝氨酸/苏氨酸(Ser/Thr)激酶,二者形成异源二聚体^[3].II型受体(T β R II)的胞外端首先与配体结合,其胞内段的丝氨酸/苏氨酸激酶被活化,进而使I型受体(T β R I)的GS结构域磷酸化,GS域为高度保守的丝氨酸-甘氨酸(Ser-Gly-Ser-Gly-Ser-Gly)序列,是T β R I活化的关键部位.T β R I活化后成为丝氨酸/苏氨酸激酶,将生物信号向细胞内传导. β 聚糖(betaglycan)是附加受体,为细胞表面表达最丰富的TGF β 结合蛋白,与TGF β 1、TGF β 2、TGF β 3都有较高的亲和力,可易化T β R I、T β R II与配体的结合.Endoglin也是一种附加受体,与 β 聚糖结构相似,易与TGF β 1、TGF β 3结合而不与TGF β 2结合.

Smads蛋白家族:TGF β 信号通路的关键传导分子为胞质蛋白Smads.Smads为与线虫Sma和果蝇Mad蛋白同源的蛋白家族,他们可以将TGF β 信号直接由细胞膜受体传导入细胞核内,是受体激酶介导的细胞内信号传导的新途径,为细胞信号跨膜后与核内基因转录之间开通了一条简便路径^[10,11].Smads分子中都有两个保守的Mad同源域,N端的MH1结构域可与DNA的CAGAC序列结合,C端的MH2结构域可与转录辅激活蛋白或辅阻遏物相互作用,是Smad的功能区;两个结构域之间的短连接区有多个磷酸化位点,可被ERK磷酸化而失活,是Smad的负调控区.Smads至少有8个成员,即Smad1-8,根据其功能不同分为三类:第一类是膜受体激活的Smad(R-Smads),包括Smad1、2、3、5、8,其C端功能域末端含有保守的磷酸化位点SSXS基序(motif),可与TGF β 受体直接作用并被磷酸化,之后与Smad4结合为二聚体转位入核.R-Smads与信号通路的特异性有关:Smad2和Smad3介导TGF β 和活动素的信号,Smads1、5、8则介导BMP的信号.第二类为通用Smad(co-Smad),目前只有Smad4,与其他Smads的同源性较低,C端功能域没有磷酸化位点,不与受体相互作用,但可与Smads家族其他成员相互作用形成稳定的异源多聚体,调节靶基因转录.第三类有Smad6、7,为TGF β -Smad信号转导通路的抑制因

子, 可与 R-Smads 竞争性地结合受体, 阻止 R-Smads 的磷酸化, 从而阻断 TGF β 的效应. TGF β -Smad 信号通路中各型 Smads 分子之间的作用精密协调, 共同完成生理及病理状态下 TGF β 的生物学效应, 研究其生理状态下的平衡和病理状态下紊乱的确切分子基础对探索肝纤维发生机制及肝纤维化的有效预防均有重要现实意义.

2 TGF β -Smad 信号转导通路的分子调节

TGF β -Smad 信号转导通路受多种因子的调节, R-Smad 与 Smad4 形成的寡聚体进入细胞后, 可直接与 DNA 结合调控基因表达, 但这种 DNA 结合活性很低, 更重要的是与胞核内的辅激活蛋白或辅阻遏物分子结合调节靶基因转录, 主要的辅激活蛋白有 CBP、p300、c-Jun、I κ B、p53、pRB、p107、p130、p16、p21、p27、p57、p145、p15、p18、p19、p28、p35、p39、p42、p44、p46、p48、p51、p55、p59、p63、p65、p67、p70、p75、p78、p80、p85、p87、p90、p95、p97、p99、p100、p101、p103、p105、p107、p109、p110、p112、p114、p115、p117、p119、p120、p122、p125、p127、p129、p130、p132、p135、p137、p139、p140、p142、p145、p147、p149、p150、p152、p154、p156、p158、p160、p162、p164、p166、p168、p170、p172、p174、p176、p178、p180、p182、p184、p186、p188、p190、p192、p194、p196、p198、p200、p202、p204、p206、p208、p210、p212、p214、p216、p218、p220、p222、p224、p226、p228、p230、p232、p234、p236、p238、p240、p242、p244、p246、p248、p250、p252、p254、p256、p258、p260、p262、p264、p266、p268、p270、p272、p274、p276、p278、p280、p282、p284、p286、p288、p290、p292、p294、p296、p298、p300、p302、p304、p306、p308、p310、p312、p314、p316、p318、p320、p322、p324、p326、p328、p330、p332、p334、p336、p338、p340、p342、p344、p346、p348、p350、p352、p354、p356、p358、p360、p362、p364、p366、p368、p370、p372、p374、p376、p378、p380、p382、p384、p386、p388、p390、p392、p394、p396、p398、p400、p402、p404、p406、p408、p410、p412、p414、p416、p418、p420、p422、p424、p426、p428、p430、p432、p434、p436、p438、p440、p442、p444、p446、p448、p450、p452、p454、p456、p458、p460、p462、p464、p466、p468、p470、p472、p474、p476、p478、p480、p482、p484、p486、p488、p490、p492、p494、p496、p498、p500、p502、p504、p506、p508、p510、p512、p514、p516、p518、p520、p522、p524、p526、p528、p530、p532、p534、p536、p538、p540、p542、p544、p546、p548、p550、p552、p554、p556、p558、p560、p562、p564、p566、p568、p570、p572、p574、p576、p578、p580、p582、p584、p586、p588、p590、p592、p594、p596、p598、p600、p602、p604、p606、p608、p610、p612、p614、p616、p618、p620、p622、p624、p626、p628、p630、p632、p634、p636、p638、p640、p642、p644、p646、p648、p650、p652、p654、p656、p658、p660、p662、p664、p666、p668、p670、p672、p674、p676、p678、p680、p682、p684、p686、p688、p690、p692、p694、p696、p698、p700、p702、p704、p706、p708、p710、p712、p714、p716、p718、p720、p722、p724、p726、p728、p730、p732、p734、p736、p738、p740、p742、p744、p746、p748、p750、p752、p754、p756、p758、p760、p762、p764、p766、p768、p770、p772、p774、p776、p778、p780、p782、p784、p786、p788、p790、p792、p794、p796、p798、p800、p802、p804、p806、p808、p810、p812、p814、p816、p818、p820、p822、p824、p826、p828、p830、p832、p834、p836、p838、p840、p842、p844、p846、p848、p850、p852、p854、p856、p858、p860、p862、p864、p866、p868、p870、p872、p874、p876、p878、p880、p882、p884、p886、p888、p890、p892、p894、p896、p898、p900、p902、p904、p906、p908、p910、p912、p914、p916、p918、p920、p922、p924、p926、p928、p930、p932、p934、p936、p938、p940、p942、p944、p946、p948、p950、p952、p954、p956、p958、p960、p962、p964、p966、p968、p970、p972、p974、p976、p978、p980、p982、p984、p986、p988、p990、p992、p994、p996、p998、p1000。

Dab2 是一个重要的正调节分子, 其 N 端含有磷酸化酪氨酸结合域(PTB)或称磷酸化酪氨酸作用域(PIB), C 端 (PRD)富含脯氨酸, Dab2 以 PTB 与 Smad2 的 MH2 域结合, 促进 Smad 2 与 Smad4 结合, 是放大 TGF β 信号的重要接头蛋白; 其 PTB 还可与 gp600/megalin 受体胞内段结合, 富含脯氨酸的 PXXP 基序可与含 SH3 的信号蛋白结合, 实现 TGF β 与其他信号通路之间的“交谈”(cross talk). 近期研究证实 Dab2 可通过 JNK 通路调节纤维连接蛋白(fibronectin, FN)的产生水平, 其表达下调是肿瘤细胞抵抗 TGF β 的抗增生效应的原因之一, 可视为一个新的肿瘤抑制基因.

此外, TGF β 还存在自分泌、旁分泌调节, TGF β 3 可与转录因子 AP-1 形成复合体, 与 TGF β 1 的启动子结合, 促进 TGF β 1 mRNA 表达, 实现 TGF β 的自分泌调节.

3 TGF β -Smad 信号转导通路的多种效应

TGF β 具有多种生物学功能, 参与众多的病理、生理过程, 目前发现 TGF β 能够调控细胞周期, 影响细胞的增生、发育、分化、转化、黏附、转移, 并具有抗增生功能而被视为一个肿瘤抑制因子; TGF β 还具有抗炎、抑

制免疫, 影响血细胞生成、血管生成、细胞趋化等功能.

TGF β -Smad 信号转导通路对肝脏的生长抑制作用: 肝脏是 TGF β 主要的靶器官之一, TGF β 可通过依赖 Smad2、Smad3 的作用抑制 Bcl-xL 表达, 从而抑制肝细胞增生. 实验动物行肝部分切除术或给予四氯化碳注射, 可使 Smad2 活化及 Smad2/4 复合物形成增加, 进而转录抑制分子 SnoN、Ski 表达增加, 与 Smad 结合形成复合物, 抑制 TGF β 的抗增生作用, 肝细胞得以再生修复; SnoN、Ski 表达增加与肝细胞再生时期对 TGF β 的抵抗有关^[1].

TGF β -Smad 信号转导通路与细胞凋亡: 在体外培养中发现当培养液中加入 TGF β 与活动素时, 肝细胞出现快速凋亡, 但肝细胞凋亡的敏感性明显强于非实质细胞如 HSC, Kupffers 细胞^[13]等, TGF β -Smad 信号转导通路诱导细胞凋亡过程可能受 caspases、IL6、Sp1 等因子调节.

TGF β -Smad 信号转导通路与其他信号通路的“交谈”(cross talk): 除经典第二信使途径间的“交谈”外, 由酶受体介导的下游信号途径之间也存在交流, Smad 途径与 Ras 途径间在胞质与细胞核中均存在广泛的交流; 在胞质中 MAPK 依赖的 Smad 分子连接区特定 Ser 磷酸化可阻止其核内积聚; 在胞核中 Smads 可与多种环境刺激活化的转录因子相互作用, 调节基因的表达; JAK-STAT 与 TGF β -Smad 途径亦有类似的“交谈”. Smads 途径与其他信号途径的广泛交流是 TGF β 多种生物效应的重要分子生物学基础.

4 TGF β -Smad 信号转导通路与 HSC 表型变化

HSC 激活、增生、转化是肝纤维化的中心环节, TGF β 是这一病理过程中必需的生物调节因子, Smads 又是 TGF β 唯一的作用底物, 故 TGF β -Smads 信号通路对 HSC 产生的影响引起极大关注^[14, 15]. 已知肝纤维化时 HSC 是大量 ECM 的主要来源, 肝细胞仅产生少量 ECM; 深入的研究揭示, 在 HSC 内, Smad3、Sp1 共同结合于 $\alpha 2(I)$ 胶原基因序列 -313 至 -255 位点, 该位点有很强的增强子活性, 结合 Smad3、Sp1 后胶原基因表达明显增加; 而肝实质细胞则由 Sp3 结合于此位点, 且不表现增强子活性, 可能是导致不同细胞对 TGF β 刺激产生不同的胶原合成效应的原因之一.

TGF β 在肝损伤的不同时期也产生不同的效应^[16-18]. 急性肝损伤时, HSC 释放 TGF β 增加, 促进纤溶酶原激活剂抑制因子 -1(plasminogen activator inhibitor type 1, PAI-1)、 $\alpha 2(I)$ 胶原基因的转录, HSC 内的 Smad2 以自分泌方式活化, 随后诱导 Smad7 表达, 增加的 Smad7 与 Smad2 结合阻止其作用, 终止 TGF β 的信号转导, 是 TGF β 信号通路的负反馈调节机制. 但 HSC 转化为肌样成纤维细胞(myofibroblast, MFB)后则表现为 Smad2 的持续磷酸化, 抑制性 Smad7 表达水平低下, 因此不能抑制 Smad2 介导的肝纤维化信号, 这种

内源性 TGF β 诱导的 Smad2 持续活化及 Smad7 水平低下可能是肝纤维化进展的原因之一。

TGF β 对 HSC 与分化成熟的 MFB 也表现出不同的转化增生效应, 研究证实, 培养液中加入 TGF β , 则 HSC 出现胶原合成增加, Smad7 基因表达增加, 而 MFB 则无此现象; 分子生物学方法显示 HSC 和 MFB 均出现 T β R I、T β R II 表达, 但 MFB 对两种 TGF β 受体的亲和力明显下降, 且未发现 Smads 蛋白复合物向核内转移并与 DNA 结合的证据。

肝纤维化动物模型显示, 肝纤维化的进展往往伴随血清及组织中 TGF β 增加, HSC 数量进行性增多, Smad3 mRNA 表达量显著高于正常肝脏。肝纤维化各个时期 Smad3 mRNA 表达方式无显著差别, 但抑制性 Smad7 呈现相反结果, 即肝纤维化初期升高, 中晚期进行性下降, 这也许是肝纤维化持续进展的又一分子生物学基础。

对 Smad3 基因敲除鼠的研究发现, 给予四氯化碳刺激后 72 h, HSC 中 α 1 (I)、 α 2 (I) mRNA 表达水平分别下降为野生型的 42% 及 64%, 而 α 平滑肌动蛋白(smooth muscle alpha-actin, α -SMA)表达水平略高于野生型 HSC。体外培养 Smad3 基因敲除鼠的 HSC 则 α 1 (I) mRNA 表达水平下降为野生型的 73%, α -SMA 表达水平相同; 表明 HSC 合成最大量的 I 型胶原需要 Smad3 的作用, 其活化则可能通过不依赖 Smad3 的途径。另一项研究显示 MFB 内 Smad3 持续活化, 且不需配体的刺激即在胞核中持续存在, 即使 Smad7 过度表达亦不能影响 α 2 (I) 与 PAI-1 基因的转录^[15]。还有研究发现, MFB 表现出 T β R I 的持续活化, 导致 TGF β 反应的启动子转录激活, 进而 ECM 合成增加, 产生 TGF β 的促纤维化效应。这些研究表明, TGF β 对实质细胞与间质细胞的效应不一致, 对急、慢性肝损伤时 HSC 的效应也因其活化状态不同而有显著差别, 因此, 病理性胶原转录增加与 TGF β -Smad 通路功能异常有关, 尽管其确切的分子机制不明, 但至少部分说明慢性肝损伤进展为肝纤维化及肝纤维化病程迁延不愈与 TGF β 的促纤维化效应有关, 区别肝损伤的不同病程有助于选择合适的干预手段^[19, 20]。

5 HBV 感染与 TGF β -Smad 信号转导通路

HBV 感染是慢性肝炎、肝纤维化的主要病因之一, 其 X 基因编码产物 X 蛋白(protein X, pX)可刺激 HBV 增强子的转录, 并通过其独特的 DNA 顺式作用元件活化多种其他病毒及细胞基因启动子的转录, 已发现 pX 可结合 NF- κ B、CREB/ATF、p53、AP1、AP2、Egr-1, 还可与多种前启动复合物(preinitiation complex, PIC)成分如 II 型 RNA 多聚酶、TATA 结合蛋白(TATA binding protein)、转录因子 II H(transcription factor II H, TF II H)、TF II B 等相互作用, pX 通过这些作用影响 HBV 的复制, 扰乱宿主细胞的生长控制和 DNA 修复功能, 成为一个引人注目的癌蛋白。近年研究发现, pX

在 HBV 慢性感染引起肝纤维化的过程中也发挥重要作用, 并与 TGF β 信号通路密切相关^[21]。

前已述及, CBP 和 p300 蛋白是 Smad 发挥作用最重要的转录辅激活蛋白。在 Smad4N 端 MH1 区含有结合 pX 的结构域, pX 可与 TF II B、Smad4 及 p300 蛋白形成稳定的复合物, 促进 Smad4 的核转位。对 NIH3T3 细胞的研究显示, 给予 TGF β 刺激后, Smad4 的核转位增加, 而转导了 pX 基因的 NIH3T3 pX 细胞即使没有 TGF β 刺激, 也出现 Smad4 的核转位, 加入 TGF β 后 Smad4、Smad3 的核转位更显著多于 NIH3T3 细胞。这些研究表明, pX 作为 Smad 的转录辅激活蛋白增强 Smad 复合物的转录活性, 促进 TGF β -Smad 信号通路靶基因的转录, 特别是产生 ECM 的基因以及 TGF β 基因的转录, 以自分泌、旁分泌方式活化被 HBV 感染的细胞, 增加 ECM 合成, 最终导致肝纤维化、肝硬化。近期报道活动素亦参与肝纤维化病程, 在肝纤维化、肝硬化大鼠其表达明显增加, 而 pX 不仅增强 TGF β 的信号, 还可增强活动素和 BMP 的信号, 可能也参与了 HBV 致肝纤维化的漫长病程^[21]。

6 TGF β -Smad 信号转导通路与肝纤维化防治

正因为 TGF β -Smad 信号转导通路在肝纤维化发病中起着举足轻重的作用, 干预该信号通路就成为肝纤维化防治的理想选择^[22-43], 其中一些方法已经取得了满意的结果, 主要的有以下 2 类: 即 TGF β 1 受体水平和受体后信号转导分子水平的调控。

6.1 受体水平的调控 (1)可溶性 T β II R: 通过与细胞膜 T β II R 竞争性结合 TGF β , 抑制 TGF β 信号的转导, 在肝纤维化动物模型中已取得初步疗效^[44-46]。(2)转染截短的 T β II R 基因: 转染的 T β II R 缺少大部分胞内段, 因而失去酶活性, 不能活化 T β I R, 从而阻断 TGF β 信号的转导。但使用腺病毒载体可诱导机体迅速产生中和性抗体而失效, 且存在剂量依赖的毒性, 限制了这一方法的研究^[1]。(3)重组 T β II R: 将人 IgG 与 T β II R 胞外部分拼接, 形成的嵌合分子可阻止 TGF β 的信号向胞内传导^[47]。(4)TGF β 中和抗体: 仅对动物实验性肾纤维化有效^[1]。(5)重组 LAP: 能够阻止活性 TGF β 过度表达引起的抗有丝分裂效应, 未观察抗纤维化疗效。(6)反义 TGF β : 利用逆转录病毒载体 PLATSN 将反义 TGF β 基因导入 HSC 细胞株 LI90, 可见 LI90 自分泌 TGF β 及产生 ECM 减少, 目前限于细胞实验^[48]。(7)减少 TGF β 的产生: 目前已报道许多西药^[49-51]、中药制剂^[52-65]能够降低肝脏 TGF β mRNA 水平, 减少 TGF β 的产生, 是颇有希望的抗纤维化措施之一。

6.2 受体后信号转导分子水平的调控 如前所述 Smads 与 Smad7 表达失衡是肝纤维化发生的分子基础之一, 增加 Smad7 的表达或降低 R-Smads 的表达水平是理论上可行的基因治疗策略。将 tandem CAGACA 重复结构插入 CoLLA2 启动因子的 CAGA motif 区域后, 可显著降低

TGF β 1 诱导的转录反应; 应用 Smad2、3、4 的反义寡聚核苷酸或 cDNA 亦可有效阻断或抑制 TGF β 1 的生物学功能. 另有实验证实转染外源性 Smad7 的细胞失去了对 TGF β 1 的反应性效应; 将 Smad7 RNA 注射入非洲蟾蜍胚胎, 活动素与 TGF β 1 的效应被阻断; 以 RGD 三肽引物与 Smad7 基因合并构建重组质粒导入 HSC 中, HSC 中 RGD-Smad7 mRNA 表达明显增加, HSC 培养液中 III 型胶原水平明显降低.

尽管 TGF β -Smads 信号通路相关的基因治疗方法仍处于初始阶段, 其基础理论有待进一步研究, 基因干预方法有待进一步完善, 但已为肝纤维化防治提供了新的选择, 显示出其光明的前景和活跃的生命力. 作为最重要的促纤维化细胞因子之一, TGF β 也具有细胞因子发挥作用的网络性、多效性特点, 单纯干预 TGF β -Smad 信号通路似乎不足以逆转肝纤维化病程, 并且干预 TGF β 信号通路有可能导致细胞分化异常, 从而出现细胞生物学行为变化, 应给予足够重视.

总之, TGF β -Smads 信号转导通路与肝纤维化的发生、发展密切相关^[66], 虽然他在肝纤维化发生过程中的许多分子细节尚未阐明, 但众多的研究均已提示 TGF β 为首要的促纤维化因子之一, 对 TGF β -Smad 信号转导通路的深入研究不仅有助于进一步阐明肝纤维化的发病机制, 也为肝纤维化的防治研究提供了重要的途径^[67-77].

7 参考文献

- Bissell DM, Roulot D, George J. Transforming growth factor β and the liver. *Hepatology* 2001;34:859-867
- 秦建平, 蒋明德. 肝星状细胞的表型及调控与肝纤维化. *世界华人消化杂志* 2001;9:801-804
- 刘芳, 刘金星. 转化生长因子 β 1 在肝纤维化中的作用. *世界华人消化杂志* 2000;8:86-88
- Schuppan D, Porov Y. Hepatic fibrosis: From bench to bedside. *J Gastroenterol Hepatol* 2002;17(Suppl 3):S300-S305
- Lang A, Brenner DA. Gene regulation in hepatic stellate cell. *Ital J Gastroenterol Hepatol* 1999;31:173-179
- Gressner AM, Weiskirchen R, Breitkopf K, Dooley S. Roles of TGF-beta in hepatic fibrosis. *Front Biosci* 2002;7:793-807
- 姜慧卿, 张晓岚. 肝纤维化的发生机制. *世界华人消化杂志* 2000;8:687-689
- Kinnman N, Andersson U, Hultcrantz C. In situ expression of transforming growth factor-beta 1-3, latent transforming growth factor-beta binding protein and tumor necrosis factor-alpha in liver tissue from patients with chronic hepatitis C. *Scand J Gastroenterol* 2000;35:1294-1300
- Li D, Friedman SL. Liver fibrogenesis and the role of hepatic stellate cells: new insights and prospects for therapy. *J Gastroenterol Hepatol* 1999;14:618-633
- 史永军, 田宇彬, 赵清喜. Smads 蛋白家族的研究现状. *中华腹部疾病杂志* 2002;2:497-500
- 吴建新, 孟祥军, 陈源文, 李定国, 陆汉明. Smads 信息分子与肝星状细胞的活化. *胃肠病学和肝病学杂志* 2002;11:197-199
- Stopa M, Benes V, Ansorge W, Gressner AM, Dooley S. Genomic locus and promoter region of rat Smad7, an important antagonist of TGF beta signaling. *Mamm Genome* 2000;11:169-176
- 周馨, 李宣海, 李定国. 库普弗细胞与肝纤维化. *世界华人消化杂志* 2002;10:65-98
- Schnabl B, Kweon YO, Frederick JP, Wang XF, Rippe RA, Brenner DA. The role of Smad3 in mediating mouse hepatic stellate cell activation. *Hepatology* 2001;34:89-100
- Inagaki Y, Mamura M, Kanamaru Y, Greenwel P, Nemoto T, Takehara K, Ten Dijke P, Nakao A. Constitutive phosphorylation and nuclear localization of Smad3 are correlated with increased collagen gene transcription in activated hepatic stellate cells. *J Cell Physiol* 2001;187:117-123
- Tahashi Y, Matsuzaki K, Date M, Yoshida K, Furukawa F, Sugano Y, Matsushita M, Himeno Y, Inagaki Y, Inoue K. Differential regulation of TGF-beta signal in hepatic stellate cells between acute and chronic rat liver injury. *Hepatology* 2002;35:49-61
- Dooley S, Delvoux B, Streckert M, Bonzel L, Stopa M, ten Dijke P, Gressner AM. Transforming growth factor beta signal transduction in hepatic stellate cells via Smad2/3 phosphorylation, a pathway that is abrogated during in vitro progression to myofibroblasts. TGF beta signal transduction during transdifferentiation of hepatic stellate cells. *FEBS Lett* 2001;502:4-10
- 许伟华, 吕晓霞, 朱菊人. 肝纤维化大鼠肝星状细胞凋亡的体内研究. *世界华人消化杂志* 2002;10:972-974
- Okuno M, Akita K, Moriwaki H, Kawada N, Ikeda K, Kaneda K, Suzuki Y, Kojima S. Prevention of rat hepatic fibrosis by the protease inhibitor, camostat mesilate, via reduced generation of active TGF-beta. *Gastroenterology* 2001;120:1784-1800
- Nakamura T, Sakata R, Ueno T, Sata M, Ueno H. Inhibition of transforming growth factor beta prevents progression of liver fibrosis and enhances hepatocyte regeneration in dimethylnitrosamine-treated rats. *Hepatology* 2000;32:247-255
- Lee DK, Park SH, Yi Y, Choi SG, Lee C, Parks WT, Cho H, de Caestecker MP, Shaul Y, Roberts AB, Kim SJ. The hepatitis B virus encoded oncoprotein pX amplifies TGF-beta family signaling through direct interaction with Smad4: potential mechanism of hepatitis B virus-induced liver fibrosis. *Genes Dev* 2001;15:455-466
- Schuppan D, Koda M, Bauer M, Hahn EG. Fibrosis of liver, pancreas and intestine: common mechanisms and clear targets? *Acta Gastroenterol Belg* 2000;63:366-370
- 蒋树林, 姚希贤, 孙玉凤. 肝纤维化的治疗. *世界华人消化杂志* 2000;8:684-686
- Kang KW, Choi SH, Ha JR, Kim CW, Kim SG. Inhibition of dimethylnitrosamine-induced liver fibrosis by [5-(2-pyrazinyl)-4-methyl-1, 2-dithiol-3-thione] (oltipraz) in rats: suppression of transforming growth factor-beta1 and tumor necrosis factor-alpha expression. *Chem Biol Interact* 2002;139:61-77
- Sato M, Kakubari M, Kawamura M, Sugimoto J, Matsumoto K, Ishii T. The decrease in total collagen fibers in the liver by hepatocyte growth factor after formation of cirrhosis induced by thioacetamide. *Biochem Pharmacol* 2000;59:681-690
- Rivera CA, Bradford BU, Hunt KJ, Adachi Y, Schrum LW, Koop DR, Burchardt ER, Rippe RA, Thurman RG. Attenuation of CCl₄ (4)-induced hepatic fibrosis by GdCl₃ treatment or dietary glycine. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2001;281:200-207
- Garcia L, Hernandez I, Sandoval A, Salazar A, Garcia J, Vera J, Grijalva G, Muriel P, Margolin S, Armendariz-Borunda J. Pirfenidone effectively reverses experimental liver fibrosis. *J Hepatol* 2002;37:797-805
- Neuman MG, Benhamou JP, Bourliere M, Ibrahim A, Malkiewicz I, Asselah T, Martinot-Peignoux M, Shear NH, Katz GG, Akremi R, Benali S, Boyer N, Lecomte L, Le Breton V, Le Guludec G, Marcellin P. Serum tumour necrosis factor-alpha and transforming growth factor-beta levels in chronic hepatitis C patients are immunomodulated by therapy. *Cytokine* 2002;17:108-117
- Bissell DM. Chronic liver injury, TGF-beta, and cancer. *Exp Mol Med* 2001;33:179-190
- Kanzler S, Baumann M, Schirmacher P, Dries V, Bayer E, Gerken G, Dienes HP, Lohse AW. Prediction of progressive liver fibrosis in hepatitis C infection by serum and tissue levels of transforming growth factor-beta. *J Viral Hepat* 2001;8:430-437
- Jia JD, Bauer M, Cho JJ, Ruehl M, Milani S, Boigk G, Riecken EO, Schuppan D. Antifibrotic effect of silymarin in rat secondary biliary fibrosis is mediated by downregulation of procollagen alpha1(I) and TIMP-1. *J Hepatol* 2001;35:392-398
- Jonsson JR, Clouston AD, Ando Y, Kelemen LI, Horn MJ, Adamson MD, Purdie DM, Powell EE. Angiotensin-converting enzyme inhibition attenuates the progression of rat hepatic fibrosis. *Gastroenterology* 2001;121:148-155

- 33 Paizis G, Gilbert RE, Cooper ME, Murthi P, Schembri JM, Wu LL, Rumble JR, Kelly DJ, Tikellis C, Cox A, Smallwood RA, Angus PW. Effect of angiotensin II type 1 receptor blockade on experimental hepatic fibrogenesis. *J Hepatol* 2001;35:376-385
- 34 Yoshiji H, Kuriyama S, Yoshii J, Ikenaka Y, Noguchi R, Nakatani T, Tsujinoue H, Fukui H. Angiotensin-II type 1 receptor interaction is a major regulator for liver fibrosis development in rats. *Hepatology* 2001;34:745-750
- 35 Di Sario A, Bendia E, Svegliati Baroni G, Ridolfi F, Casini A, Ceni E, Saccomanno S, Marzioni M, Trozzi L, Sterpetti P, Taffetani S, Benedetti A. Effect of pirfenidone on rat hepatic stellate cell proliferation and collagen production. *J Hepatol* 2002;37:584-591
- 36 Li CX, Li L, Lou J, Yang WX, Lei TW, Li YH, Liu J, Cheng ML, Huang LH. The protective effects of traditional Chinese medicine prescription, Han-Dan-Gan-Le, on CCl₄-induced liver fibrosis in rats. *Am J Chin Med* 1998;26:325-332
- 37 Shimizu I. Sho-saiko-to: Japanese herbal medicine for protection against hepatic fibrosis and carcinoma. *J Gastroenterol Hepatol* 2000;15:D84-D90
- 38 Liu P, Hu YY, Liu C, Zhu DY, Xue HM, Xu ZQ, Xu LM, Liu CH, Gu HT, Zhang ZQ. Clinical observation of salvianolic acid B in treatment of liver fibrosis in chronic hepatitis B. *World J Gastroenterol* 2002;8:679-685
- 39 Xu JW, Gong J, Chang XM, Luo JY, Dong L, Hao ZM, Jia A, Xu GP. Estrogen reduces CCl₄-induced liver fibrosis in rats. *World J Gastroenterol* 2002;8:883-887
- 40 Shimizu I. Antifibrogenic therapies in chronic HCV infection. *Curr Drug Targets Infect Disord* 2001;1:227-240
- 41 康文臻, 谢玉梅, 聂青和, 张岩, 郝春秋, 王久平, 陈伟红. 苦参素对实验性大鼠肝纤维化防治作用的研究. *世界华人消化杂志* 2003;11:195-198
- 42 杨新波, 黄正明, 王建华. 肝纤维化的药物治疗. *世界华人消化杂志* 2002;10:956-957
- 43 Zhong Z, Froh M, Wheeler MD, Smutney O, Lehmann TG, Thurman RG. Viral gene delivery of superoxide dismutase attenuates experimental cholestasis-induced liver fibrosis in the rat. *Gene Ther* 2002;9:183-191
- 44 George J, Roulot D, Koteliensky VE, Bissell DM. In vivo inhibition of rat stellate cell activation by soluble transforming growth factor β type II receptor: a potential new therapy for hepatic fibrosis. *Medical Sciences* 1999;96:12719-12724
- 45 Yata Y, Gotwals P, Koteliensky V, Rockey DC. Dose-dependent inhibition of hepatic fibrosis in mice by a TGF- β soluble receptor: implications for antifibrotic therapy. *Hepatology* 2002;35:1022-1030
- 46 Ueno H, Sakamoto T, Nakamura T, Qi Z, Astuchi N, Takeshita A, Shimizu K, Ohashi H. A soluble transforming growth factor beta receptor expressed in muscle prevents liver fibrogenesis and dysfunction in rats. *Hum Gene Ther* 2000;11:33-42
- 47 Arias M, Lahme B, Van de Leur E, Gressner AM, Weiskirchen R. Adenoviral delivery of an antisense RNA complementary to the 3' coding sequence of transforming growth factor-beta1 inhibits fibrogenic activities of hepatic stellate cells. *Cell Growth Differ* 2002;13:265-273
- 48 Jiang W, Wang J, Yang C, Wang Y, Liu W, He B. Effects of antisense transforming growth factor beta receptor 1 expressing plasmid on pig serum-induced rat liver fibrosis. *Zhonghua Yixue Zazhi* 2002;82:1160-1164
- 49 刘成海, 李风华, 顾宏图, 胡义扬, 刘平, 刘成. γ - 干扰素对大鼠二甲亚硝胺肝纤维化肝脏胶原代谢的作用. *世界华人消化杂志* 2002;10:313-316
- 50 黄正明, 杨新波, 于仁雯. 肝硬化的药物治疗. *世界华人消化杂志* 2002;10:957-958
- 51 潘勤, 李定国, 汪余勤, 徐芳芹. 生长抑素对肝星状细胞的影响机制. *世界华人消化杂志* 2002;10:1250-1252
- 52 胡怡秀, 刘秀英, 丘丰, 胡余明, 周月婵, 臧雪冰, 聂焱. 甘泰康对抗大鼠免疫性肝纤维化的实验研究. *世界华人消化杂志* 2002;10:1460-1462
- 53 姚欣, 姚希贤, 修贺明, 高君萍, 张玉琢. 活血化淤中药益肝浓缩煎剂对大鼠肝纤维化的作用. *世界华人消化杂志* 2002;10:544-548
- 54 郭传勇, 申振宇, 钟敏章, 钱珍华. 清肝饮对大鼠肝纤维化 N - 乙酰 - β - 氨基葡萄糖苷酶活性的影响. *世界华人消化杂志* 2002;10:227-238
- 55 赵稳兴, 陈志明, 候辉, 梁崇礼, 庞荣清, 赵彬, 陈志龙. 木犀草素降低 CCl₄ 诱导的大鼠肝纤维化. *世界华人消化杂志* 2002;10:779-782
- 56 贺德, 曾志良, 曹建华, 彭爱军, 向红霞. 阿魏酸钠抗大鼠肝纤维化. *世界华人消化杂志* 2002;10:240-241
- 57 刘玉侃, 沈薇. 虫草菌丝对大鼠实验性肝纤维化肝细胞增生的影响. *世界华人消化杂志* 2002;10:388-391
- 58 崔云华, 王晓玲, 刘晴, 刘平. 丹参酸的抗氧化作用对大鼠肝星状细胞增生的影响. *世界华人消化杂志* 2002;10:317-319
- 59 孙玉凤, 姚希贤, 蒋树林. 肝纤维化的中医中药治疗. *世界华人消化杂志* 2000;8:686-687
- 60 Liu CH, Hu YY, Wang XL, Liu P, Xu LM. Effects of salvianolic acid-A on NIH/3T3 fibroblast proliferation, collagen synthesis and gene expression. *World J Gastroenterol* 2000;6:361-364
- 61 Du WD, Zhang YE, Zhai WR, Zhou XM. Dynamic changes of type I, III and IV collagen synthesis and distribution of collagen-producing cells in carbon tetrachloride-induced rat liver fibrosis. *World J Gastroenterol* 1999;5:397-403
- 62 曾维政, 吴晓玲, 蒋明德, 陈晓斌, 徐辉, 王钊, 熊碧君. 复方红景天对大鼠肝组织转化生长因子 β_1 mRNA 表达的影响. *中国中西医结合消化杂志* 2002;10:138-141
- 63 崔巍, 苏小林, 傅宝玉. 抗纤复方 I 号抗酒精性肝病的实验研究. *世界华人消化杂志* 2002;10:1245-1249
- 64 刘诗权, 于皆平, 罗和生, 冉宗学. 银杏叶萃取物对大鼠纤维化肝脏 NF - κ B 的影响. *世界华人消化杂志* 2002;10:922-926
- 65 蒋树林, 姚希贤, 吕涛. 丹参抑制大鼠肝纤维化线粒体脂质过氧化. *世界华人消化杂志* 2002;10:1253-1256
- 66 Kusunose M, Qiu B, Cui T, Hamada A, Yoshioka S, Ono M, Miyamura M, Kyotani S, Nishioka Y. Effect of Sho-saiko-to extract on hepatic inflammation and fibrosis in dimethylnitrosamine induced liver injury rats. *Biol Pharm Bull* 2002;25:1417-1421
- 67 Guo MZ, Li XS, Xu HR, Mei ZC, Shen W, Ye XF. Rhein inhibits liver fibrosis induced by carbon tetrachloride in rats. *Acta Pharmacol Sin* 2002;23:739-744
- 68 Yuen MF, Norris S, Evans LW, Langley PG, Hughes RD. Transforming growth factor-beta 1, activin and follistatin in patients with hepatocellular carcinoma and patients with alcoholic cirrhosis. *Scand J Gastroenterol* 2002;37:233-238
- 69 Wei HS, Li DG, Lu HM, Zhan YT, Wang ZR, Huang X, Zhang J, Cheng JL, Xu QF. Effects of AT1 receptor antagonist, losartan, on rat hepatic fibrosis induced by CCl₄(4). *World J Gastroenterol* 2000;6:540-545
- 70 Raetsch C, Jia JD, Boigk G, Bauer M, Hahn EG, Riecken EO, Schuppan D. Pentoxifylline downregulates profibrogenic cytokines and procollagen I expression in rat secondary biliary fibrosis. *Gut* 2002;50:241-247
- 71 Murata T, Arai S, Nakamura T, Mori A, Kaido T, Furuyama H, Furumoto K, Nakao T, Isobe N, Imamura M. Inhibitory effect of Y-27632, a ROCK inhibitor, on progression of rat liver fibrosis in association with inactivation of hepatic stellate cells. *J Hepatol* 2001;35:474-481
- 72 Williams EJ, Benyon RC, Trim N, Hadwin R, Grove BH, Arthur MJ, Unemori EN, Iredale JP. Relaxin inhibits effective collagen deposition by cultured hepatic stellate cells and decreases rat liver fibrosis in vivo. *Gut* 2001;49:577-583
- 73 Kang KW, Ha JR, Kim CW, Kim ND, Kim SG. 2-(Allylthio) pyrazine, a cancer chemopreventive agent, inhibits liver fibrosis induced by dimethylnitrosamine in rats: role of inhibition of transforming growth factor-beta1 expression. *Pharmacol Toxicol* 2001;89:23-29
- 74 Wells RG. Fibrogenesis. V. TGF- β signaling pathways. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2000;279:G845-G850
- 75 Wu J, Zern MA. Hepatic stellate cells: a target for the treatment of liver fibrosis. *J Gastroenterol* 2000;35:665-672
- 76 Flisiak R, Pytel-Krolczuk B, Prokopowicz D. Circulating transforming growth factor beta(1) as an indicator of hepatic function impairment in liver cirrhosis. *Cytokine* 2000;12:677-681
- 77 Fujimoto J. Gene therapy for liver cirrhosis. *J Gastroenterol Hepatol* 2000;15:D33-36