

实验性大鼠肝纤维化 TGF β 1 及其受体 mRNA 与 Smad3, 7 的表达

宋仕玲, 龚作炯, 张全荣

宋仕玲, 龚作炯, 张全荣, 武汉大学人民医院感染科 湖北省武汉市 430060
龚作炯, 男, 1962-12-01 生, 湖北云梦人, 汉族, 1987 年武汉大学医学院硕士研究生, 1996 年比利时鲁汶大学医学院博士研究生毕业, 1996-1998 年比利时鲁汶大学医学院博士后, 现任武汉大学人民医院感染科主任, 教授, 博士生导师。主要从事病毒性肝炎的基础与临床研究。
项目负责人: 龚作炯, 430060, 湖北省武汉市, 武汉大学人民医院感染科。
zjgong@163.com
电话: 027-88041911-8385 传真: 027-88042922
收稿日期: 2003-09-06 接受日期: 2003-11-19

Expression of TGF β 1 and its receptors, Smad3 and Smad7 in rats with experimental liver fibrosis

Shi-Ling Song, Zuo-Jiong Gong, Quan-Rong Zhang

Shi-Ling Song, Zuo-Jiong Gong, Quan-Rong Zhang, Department of Infectious Diseases, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, Hubei Province, China
Correspondence to: Dr. Zuo-Jiong Gong, Department of Infectious Diseases, Renmin Hospital, WuHan University, WuHan 430060, Hubei Province, China. zjgong@163.com
Received: 2003-09-06 Accepted: 2003-11-19

Abstract

AIM: To investigate the expression of TGF β 1, TGFR I, TGFR II, Smad3, Smad7 in fibrotic liver induced by the exposure of carbon tetrachloride (CCl₄) in rats.

METHODS: A total of 24 Wistar rats were randomly allocated into two study groups: normal group and model group-CCl₄ rats. The latter group was administered with CCl₄ solution to induce liver fibrosis. All the rats were killed after 8 weeks. The level of TGF β 1, TGFR I and TGFR II mRNA were examined by RT-PCR. The expression of TGF- β 1, Smad3 and Smad7 were detected by immunohistochemical staining in liver tissue. The serum hyalauronic acid (HA) and the liver histopathology were also examined by RIA and HE staining respectively.

RESULTS: In comparison with the normal group, TGF β 1, TGFR I and TGFR II mRNA were significantly increased in model rats, the expression of TGF- β 1 and Smad3 was increased and the expression of Smad7 was decreased in livers of the model group (TGF- β 1, Smad3 and Smad7 in normal and model group were 0.61 ± 0.33 vs 1.57 ± 0.53 , 0.248 ± 0.042 vs 0.785 ± 0.904 , 4.674 ± 1.143 vs 0.470 ± 0.097 respectively, $P < 0.05$). The content of serum HA was increased in model rats (HA in normal and model group was 78.4 ± 19.2 μ g/L) vs (263.2 ± 107.0) μ g/L, $P < 0.01$). The histological changes of fibrosis was also remarkable.

CONCLUSION: TGF β 1/TGF receptors /Smad signaling involve the formation and development of liver fibrosis. The TGF β 1 /

Smad signal pathway plays key roles in liver fibrogenesis. It may be a new pathway for the treatment of liver fibrosis.

Song SL, Gong ZJ, Zhang QR. Expression of TGF β 1 and its receptors, Smad3 and Smad7 in rats with experimental liver fibrosis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2004;12(3):676-679

摘要

目的: 研究四氯化碳(CCl₄)诱导肝纤维化大鼠肝脏转化生长因子 β 1 (TGF β 1) 及其 I, II 型受体(TGFR)、Smad3、Smad7 的定位及表达。

方法: 将 24 只大鼠随机分为正常对照组与模型组, 模型组大鼠予以 40% 四氯化碳皮下注射 8 wk 后处死。RT-PCR 检测肝组织 TGF β 1, TGFR I 与 TGFR II; 免疫组化技术检测 TGF β 1, Smad3, Smad7 在肝脏的表达及细胞内的定位; 放射免疫方法检测透明质酸, 肝组织病理检查。

结果: 与正常组大鼠比较, RT-PCR 显示模型组大鼠肝内 TGF β 1、TGFR I 与 TGFR II mRNA 表达明显增高; 免疫组化结果显示 TGF β 1 与 Smad3 表达增加, 而 Smad7 的表达降低, TGF β 1 与 Smad3 的免疫阳性反应信号主要位于纤维间隔中的细胞质, Smad7 主要在肝细胞质表达(正常组与模型组大鼠 TGF β 1、Smad、Smad7 平均光度分别 0.61 ± 0.33 与 1.57 ± 0.53 , 0.248 ± 0.042 与 0.785 ± 0.904 , 4.674 ± 1.143 与 0.470 ± 0.097 , $P < 0.05$); 模型组大鼠血清透明质酸水平明显增高(正常组大鼠 78.4 ± 19.2 μ g/L, 模型组 263.2 ± 107.0 μ g/L, $P < 0.01$), 肝组织 HE 染色支持肝纤维化改变。

结论: 肝内 TGF β 1, TGFR I, TGFR II, Smad3 表达增强、Smad7 表达减弱, 提示 TGF β 1 及其受体与 Smad 信号通道蛋白参与了肝纤维化的发生发展, 可作为防治肝纤维化发生发展的新途径之一。

宋仕玲, 龚作炯, 张全荣. 实验性大鼠肝纤维化 TGF β 1 及其受体 mRNA 与 Smad3, 7 的表达. 世界华人消化杂志 2004;12(3):676-679
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/12/676.asp>

0 引言

转化生长因子 β 1(transforming growth factor β 1, TGF- β 1)是致肝纤维化的最重要的细胞因子^[1-5], 具有促进肝脏细胞外基质(extracellular matrix, ECM)合成与沉积作用^[6-8]。

TGF-β1 通过其 I, II 型受体(transforming growth factor β receptor, TβR)以及细胞内 Smad 信号通道蛋白发挥作用, 以四氯化碳(CCl₄)诱导大鼠肝纤维化, 并观察 TGF-β1 及其受体和胞内 Smad 信号通道蛋白的变化, 探讨 TGF-β1 及其受体与信号通道蛋白 Smad 之间的相互关系以及各自在肝纤维化中的可能作用机制。

1 材料和方法

1.1 材料 CCl₄分析纯购自武汉亚法生物技术有限公司, 以食用色拉油配制成400 mL/L溶液; Catrimox-14™ RNA 提取试剂盒, Random primer, Ribonuclease inhibitor, Reverse transcriptase(AMV), Taq DNA 多聚酶, Marker 等均为 Takara 公司产品; Genbank 检索引物序列, 委托大连 Takara 公司合成(表 1)。抗 TGF-β1mAb 购自北京中山生物技术有限公司; 抗 Smad3, 抗 Smad7 多克隆抗体购自美国 Santa Cruz 公司; 链霉素抗生物素蛋白-过氧化酶免疫染色试剂盒购自福州迈新生物技术开发公司; 透明质酸(hyaluronic acid, HA)试剂盒购自上海海军医学研究所。清洁级 Wistar 大鼠 24 只, 由武汉大学人民医院实验动物中心提供, 质量 200 ± 20 g, 雌雄各半。CCl₄ 肝纤维化大鼠模型制作参照 Wang et al.^[1]方法略加改进。大鼠随机分为 2 组: A 组为正常对照组 12 只, B 组为肝纤维化模型组 12 只。A 组予以生理盐水 3 ml/kg sc, B 组按 3 ml/kg sc 400 mL/L CCl₄, 2 次/wk。所有大鼠于第 8 wk 处死, 处死前称体重。摘眼球采血, 分离血清 -20 °C 冰箱保存。断颈椎, 剖腹取 1 cm × 1 cm × 1 cm 肝左叶组织 1 块 10% 中性甲醛固定, 其余肝左叶组织 -70 °C 冰箱保存。

1.2 方法 大鼠肝脏 TGF-β1, TβR I 与 TβR II mRNA 的 RT-PCR 分析 总 RNA 提取参照试剂盒说明书进行, 每样本取 1 μg 总 RNA 作逆转录模板合成 cDNA。循环温度与时间为: 94 °C 3 min; 94 °C 1 min, 54 °C 1 min, 72 °C 1 min, 共 30 个循环; 72 °C 10 min。产物经 20 g/L 琼脂糖凝胶电泳和溴化乙锭显色, 采用 HPIAS-2000 型图像分析系统测定平均光度, 各指标平均光度与内参照 GAPDH 的比值代表其 mRNA 相对水平。大鼠肝脏 TGF-β1, Smad3 与 Smad7 免疫组织化学采用 SP 法检测, 具体操作参照说明书进行。PBS 缓冲液代替一抗作阴性对照。阳性组织呈棕色, 阴性组织呈蓝色。在全自动图像分析系统上, 采用 HPIAS-2000 型图像分析软件进行定量分析, 随机选取每张切片 10 个视野(× 400 倍)测定阳性细胞占面积及平均光度, 乘积值越大表明组织中该抗原含量越多。放射免疫分析法检测血清 HA 含量, 由专业人员按说明操作。常规 HE 染色光镜下观察肝组织病理学改变。肝纤维化病理学分级参照《肝纤维化诊断及诊疗评估共识》^[2]。

统计学处理 用 SPSS 统计软件(11.5 版)进行统计分析, 计量资料以 mean ± SD 表示, 并进行组间 t 检验。等级资料采用 R × C 表资料的 χ² 检验。

2 结果

TGF-β1, TβR I 与 TβR II mRNA 的表达 半定量分析显示, B 组肝脏 TGF-β1、TβR I 与 TβR II mRNA 比 A 组表达明显增高, 二者之间差异有显著性(P < 0.05, 图 1-4)。TGFβ1、Smad3 及 Smad7 的表达 A 组: Smad3 在正常肝细胞内几乎无表达, 在汇管区基质及间质细胞内 Smad3 可见少量表达, TGFβ1 在上述部位以及肝窦间隙表达较明显。Smad7 在肝细胞内表达十分明显, 部分肝细胞核膜也有表达, 在汇管区及 Disse 间隙内少量表达; B 组: 大鼠肝内 TGFβ1 与 Smad3 表达明显增强, 主要见于纤维化汇管区及纤维间隔里的梭状细胞类间质细胞中, TGFβ1 表达最为明显, 在近纤维间隔的肝血窦也有梭形细胞阳性着色, 但在肝细胞内无明显表达。本组肝组织内 Smad7 表达极少, 阳性颗粒集中在少数肝细胞及纤维间隔内的梭状细胞内, 阳性细胞着色淡, 纤维间隔中的 Smad7 表达较正常组增多。三种物质阳性表达均位于细胞质与少量胞膜。各组阴性对照未见阳性表达, 证实免疫组化检测结果具有特异性。半定量分析表明, B 组肝内 TGFβ1 及 Smad3 含量明显高于 A 组, 而 Smad7 在 A 组肝内含量高于 B 组, 两组间分别比较差异有显著性(P < 0.05, 表 2)。纤维化模型组大鼠血清 HA(263.2 ± 107.0 μg/L)明显高于正常对照组(78.4 ± 19.2 μg/L)(P < 0.01)。A 组肝脏肝小叶结构正常, 肝细胞索排列规则有序, 未见变性、坏死, 肝窦与汇管区成纤维细胞少; B 组正常肝小叶结构紊乱, 肝细胞索排列紊乱, 肝细胞肿胀、坏死, 可见嗜酸性小体, 间质中有炎性细胞浸润, 坏死区及汇管区纤维结缔组织增生形成细小的条索, 纤维宽窄不一, 呈星芒状向肝小叶内延伸。肝纤维化分期: A 组(全为 0)与 B 组(2, 3, 4 期分别为 2, 7, 1 例)之间病理学分期差异有非常显著性(P < 0.01)。

表 1 TGF-β1, TGFR I, TGFR II 和 Smad7 引物序列

名称	引物	序列	扩增长度(bp)
TGFβ1	正义序列	5' - CACCATCCATGACATGAACC - 3'	404
	反义序列	5' - TCATGTTGGACAACCTGCTCC - 3'	
TGF receptor I	正义序列	5' - ATGGA CTCAGCTGTGTTGG - 3'	501
	反义序列	5' - TCAACGGATGGATCAGAAGG - 3'	
TGF receptor II	正义序列	5' - CTACAAGGCCAAGCTGAAGC - 3'	580
	反义序列	5' - AGCCATGGAGTAGACATCCG - 3'	
GAPDH	正义序列	5' - TCCCTCAACATTGTCTAGCAA - 3'	309
	反义序列	5' - AGCTCCACAACGGATACATT - 3'	

表 2 大鼠肝组织 TGFβ₁, Smad3, Smad7 定量分析结果(mean ± SD)

组别	TGFβ ₁ 含量	Smad3 含量	Smad7 含量
A 组	0.61 ± 0.33	0.248 ± 0.042	4.674 ± 1.143
B 组	1.57 ± 0.53 ^a	0.785 ± 0.904 ^a	0.470 ± 0.097 ^a

^aP < 0.05 vs 与 A 组比较。

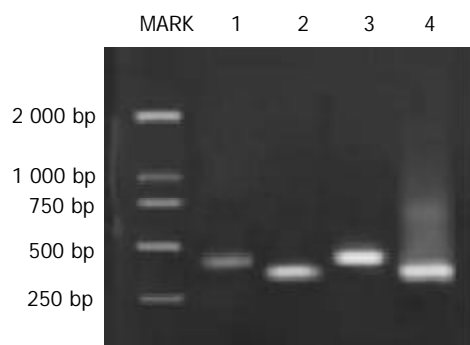


图1 RT-PCR 检测各组 TGF- β 1 和 GAPDH mRNA 表。1、3: 分别为 A、B 组大鼠肝组织 TGF- β 1 mRNA; 2、4: 分别为 A、B 组大鼠肝组织 GAPDH mRNA。

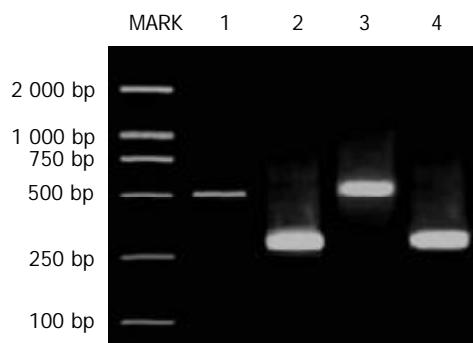


图2 RT-PCR 检测各组 TGF- β 1 和 GAPDH mRNA 表达水平。1、3: 分别为 A、B 组大鼠肝组织 TGF- β 1 mRNA; 2、4: 分别为 A、B 组大鼠肝组织 GAPDH mRNA。

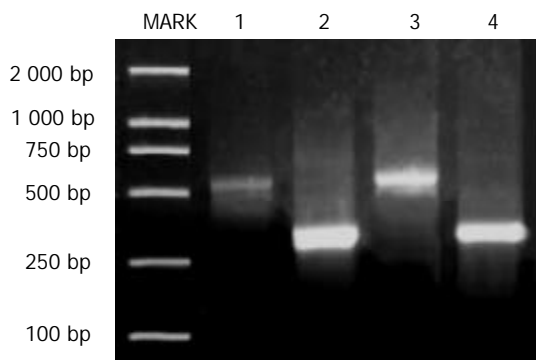


图3 RT-PCR 检测各组 TGF- β 1 mRNA 和 GAPDH mRNA 表达水平。1、3: 分别为 A、B 组大鼠肝组织 TGF- β 1 mRNA; 2、4: 分别为 A、B 组大鼠肝组织 GAPDH mRNA。

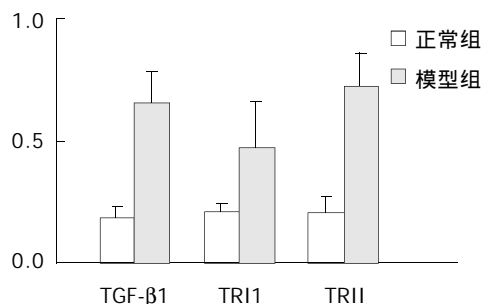


图4 RT-PCR 检测各组 TGF- β 1, TR I 和 TR II mRNA 的表达。

3 讨论

TGF- β 在肝内异常表达可导致各种肝病的发生^[6], 在

诱导肝星状细胞(hepatic stellate cells, HSC)转化为肌成纤维细胞(myofibroblast, MFB)的致肝纤维化过程中作用更显著^[7-9]; TGF- β 可抑制肝细胞再生, 诱导肝细胞凋亡^[10-11]; TGF- β 在转录与翻译水平上促进肝脏胶原、纤维连接蛋白等合成, 同时抑制等多种水解酶的合成与分泌, 增加 TIMP 等蛋白酶抑制剂的表达, 具有拮抗 ECM 降解, 促使肝内结缔组织增多的作用^[12]. TGF- β 1 是 TGF- β 超家族中对 ECM 合成与沉积失调而导致组织纤维化最重要的调节因子, 多种器官纤维化、硬化、动脉粥样硬化都与之相关^[13-16]. TGF- β 必须活化并与其效应细胞上的受体结合才能发挥作用^[17], 他首先在细胞外与 T β R III 形成复合物, 将 TGF- β 传递给 T β R II, 或 TGF- β 直接与 T β R II 结合, 随后活性 T β R II 的蛋白激酶使 I 型受体磷酸化, 后者直接使 TGF- β 的信号通道蛋白 Smad2、3 MH2 结构域的 SSXS 基序磷酸化, 与 Smad4 形成异源寡聚体复合物, 该复合物转移到胞核调节相应靶基因转录, 在细胞水平介导 TGF- β 的生物学效应^[18-20]. 抑制型 Smad6、7 是细胞中 T β R I 型受体丝氨酸/苏氨酸激酶的拮抗蛋白^[3], 能牢固的与 T β R I 型受体结合, 抑制 Smad2、3 磷酸化, 完全阻断 TGF- β 的信号转导^[21], 抑制活化 Smad 复合物在核内移动, 减少 I 型胶原合成, 在 TGF- β 信号转导中构成负反馈调节环路。

HSC 与成纤维细胞内在自分泌与旁分泌的 TGF β 不断刺激下, HSC 活化并转化为 MFB, 促进胶原合成增生^[22], 两种细胞内 T β R I 和 T β R II 表达都明显增高^[23]. 我们发现, 与正常组大鼠相比, 肝纤维化大鼠肝内 TGF β 1 及其 I, II 型受体 mRNA 高表达, 说明 CCl₄ 具有刺激 TGF β 分泌增加, 同时也诱导 T β R I 和 T β R II 表达的作用, TGF β 通过与不同受体结合发挥生理病理作用. 免疫组化结果显示, 肝纤维化大鼠肝内 TGF β 1 及 Smad3 表达明显增高, 主要分布在纤维间隔、汇管区的不规则细胞胞质内, 肝细胞内无明显表达, 表明 TGF β 通过激活 T β R I 后, 结合 Smad3 等下游分子, 作用于肝脏非实质细胞, 刺激胶原合成; 也说明 Smad3 与 TGF β 在纤维化肝脏的表达模式相似, 都在肝纤维化时表达上调. 研究证实^[24], 活化的 HSC 中 I 型胶原的大量表达需要 Smad3 参与; 同时发现在正常大鼠肝内 Smad7 表达明显, 主要位于肝细胞内, 说明在生理状态时, Smad7 主要存在于数量众多的肝细胞内, 对维持肝脏生理平衡状态有重要意义. 有研究发现 TGF- β 可快速诱导静止期 HSC 中 Smad7 和 α 2(I) 型胶原 mRNA 的表达, 由 HSC 转化的 MFB 失去 TGF- β 诱导下的 Smad7 表达上调敏感性, 而 Smad2、3 表达有增加^[22, 25-26]. 我们亦发现, 与正常肝脏相比较, 纤维化肝脏的肝细胞内 Smad7 表达明显减少, 而在肝间质细胞内表达增多, 可能与纤维化时, 聚集在纤维组织中的活化 HSC 中大量分泌 TGF- β 诱导 Smad7 表达有关, 故 Smad7 表达显著部位随着疾病出现而相应改变. 在 Smad7 的低水平表达

时, Smad2、Smad3 磷酸化作用增加, 使 TGF- β 与 T β R1 持续激活, 刺激 HSC 不断增生、合成分泌 ECM, 并不断激活周围静止的 HSC 活化并转化为 MFB, 是 TGF- β 致肝纤维化作用的主要原因^[3, 27]。

本研究表明, TGF- β , T β R1, T β R II 及其细胞内信号分子在肝纤维化形成发展中作用显著, 可针对 TGF- β 产生、与受体结合、以及下游 Smad 分子等活化的各个阶段采取相应对策, 阻断其生物和活性, 抑制 HSC 活化, 从而拮抗肝纤维化^[28-30]。已经有研究证实^[31], 可溶性 T β R II (soluble TGF- β type II receptor, STR) 对四氯化碳诱导的小鼠肝纤维化模型具抑制 TGF- β 和拮抗纤维化作用, STR 降低 I 型胶原 mRNA 含量, 并具有明显的剂量依赖性。对单侧肾小管阻塞大鼠采用转基因 Smad7 治疗, 可增加 Smad7 表达, 完全抑制 Smad2, 3 活性, 明显减少 I, II 型胶原 mRNA 及蛋白表达^[32]。封闭 TGF- β /Smad 信号通路, 采用腺病毒电穿孔基因转导 Smad7 注射入肾纤维化大鼠体内, 免疫组化检测发现肾髓质中有明显的 Smad7 沉积, 并显著抑制肾纤维化发生^[33]。由于在机体多组织多细胞都有 TGF- β 及其受体参与发挥生理作用, 长期完全阻断 TGF- β 以治疗肝纤维化必须考虑安全性问题。

4 参考文献

- Wang YQ, Ikeda K, Ikebe T, Hirakawa K, Sowa M, Nakatani K, Kawada N, Kaneda K. Inhibition of hepatic stellate cell proliferation and activation by the semisynthetic analogue of fumagillin TNP-470 in rats. *Hepatology* 2000;32:980-989
- 中华肝病学会肝纤维化学组. 肝纤维化诊断及疗效评估共识. 中华肝病杂志 2002;10:327-328
- Tahashi Y, Matsuzaki K, Date M, Yoshida K, Furukawa F, Sugano Y, Matsushita M, Himeno Y, Inagaki Y, Inoue K. Differential regulation of TGF- β signal in hepatic stellate cells between acute and chronic rat liver injury. *Hepatology* 2002; 35:49-61
- Chang JK, Chuang LY, Ho ML, Wang GJ. Effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs on transforming growth factor-beta expression and bioactivity in rat osteoblast-enriched culture. *Kaohsiung J Med Sci* 2003;19:278-288
- Fortunel NO, Hatzfeld JA, Monier MN, Hatzfeld A. Control of hematopoietic stem/progenitor cell fate by transforming growth factor-beta. *Oncol Res* 2003;13:445-453
- 许君望, 龚均, 冯新利, 花新明, 罗金燕, 董蕾, 贾皑, 徐贵平. 雌二醇对肝纤维化大鼠 I, III 型胶原及 TGF β 1 表达的影响. 世界华人消化杂志 2003;11:1185-1188
- Gressner AM, Weiskirchen R, Breitkopf K, Dooley S. Roles of TGF- β in hepatic fibrosis. *Front Biosci* 2002;7:d793-807
- 李清华, 秦成勇, 劳萍. 转化生长因子 β 1 在人肝纤维化组织中的表达及作用的探讨. 世界华人消化杂志 2003;11:103-105
- 姜虹, 李定国. TGF- β 1 与肝纤维化. 世界华人消化杂志 2003; 11:326-329
- Schuster N, Kriegelstein K. Mechanisms of TGF- β -mediated apoptosis. *Cell Tissue Res* 2002;307:1-14
- Si XH, Yang LJ. Extraction and purification of TGF β and its effect on the induction of apoptosis of hepatocytes. *World J Gastroenterol* 2001;7:527-531
- 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 β signal transduction during transdifferentiation of hepatic stellate cells. *FEBS Lett* 2001;502:4-10
- Xiong LJ, Zhu JF, Luo DD, Zen LL, Cai SQ. Effects of pentoxifylline on the hepatic content of TGF- β 1 and collagen in Schistosomiasis japonica mice with liver fibrosis. *World J Gastroenterol* 2003;9:152-154
- Jones SE, Kelly DJ, Cox AJ, Zhang Y, Gow RM, Gilbert RE. Mast cell infiltration and chemokine expression in progressive renal disease. *Kidney Int* 2003; 64:906-913
- Yu L, Border WA, Huang Y, Noble NA. TGF- β isoforms in renal fibrogenesis. *Kidney Int* 2003;64:844-856
- Wen FQ, Kohyama T, Skold CM, Zhu YK, Liu X, Romberger DJ, Stoner J, Rennard SI. Glucocorticoids modulate TGF- β production by human fetal lung fibroblasts. *Inflammation* 2003;27:9-19
- Lu JP, Mao JQ, Li MS, Lu SL, Hu XQ, Zhu SN, Nomura S. In situ detection of TGF β s, TGF β receptor II mRNA and telomerase activity in rat cholangiocarcinogenesis. *World J Gastroenterol* 2003;9:590-594
- Blobe GC, Schiemann WP, Pepin MC, Beauchemin M, Moustakas A, Lodish HF, O'Connor-McCourt MD. Functional roles for the cytoplasmic domain of the type III transforming growth factor beta receptor in regulating transforming growth factor beta signaling. *J Biol Chem* 2001;276:24627-24637
- Fortuno ES 3rd, LeSueur JA, Graff JM. The amino terminus of Smads permits transcriptional specificity. *Dev Biol* 2001; 230:110-124
- Calabrese F, Valente M, Giacometti C, Pettenazzo E, Benvegna L, Alberti A, Gatta A, Pontisso P. Parenchymal transforming growth factor beta-1: its type II receptor and Smad signaling pathway correlate with inflammation and fibrosis in chronic liver disease of viral etiology. *J Gastroenterol Hepatol* 2003;18:1302-1308
- Mori Y, Chen SJ, Varga J. Expression and regulation of intracellular SMAD signaling in scleroderma skin fibroblasts. *Arthritis Rheum* 2003;48:1964-1978
- 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
- Roberts AB, Russo A, Felici A, Flanders KC. Smad3: a key player in pathogenetic mechanisms dependent on TGF- β . *Ann N Y Acad Sci* 2003;995:1-10
- Liu C, Gaca MD, Swenson ES, Vellucci VF, Reiss M, Wells RG. Smads 2 and 3 are differentially activated by transforming growth factor-beta (TGF- β) in quiescent and activated hepatic stellate cells. Constitutive nuclear localization of Smads in activated cells is TGF- β -independent. *J Biol Chem* 2003;278:11721-11728
- 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
- Dooley S, Hamzavi J, Breitkopf K, Wiercinska E, Said HM, Lorenzen J, Ten Dijke P, Gressner AM. Smad7 prevents activation of hepatic stellate cells and liver fibrosis in rats. *Gastroenterology* 2003;125:178-191
- Liu YK, Shen W. Inhibitive effect of cordyceps sinensis on experimental hepatic fibrosis and its possible mechanism. *World J Gastroenterol* 2003;9:529-533
- Liu XJ, Yang L, Mao YQ, Wang Q, Huang MH, Wang YP, Wu HB. Effects of the tyrosine protein kinase inhibitor genistein on the proliferation, activation of cultured rat hepatic stellate cells. *World J Gastroenterol* 2002;8:739-745
- 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
- Lin JS, Song YH, Kong XJ, Li B, Liu NZ, Wu XL, Jin YX. Preparation and identification of anti-transforming growth factor beta1 U1 small nuclear RNA chimeric ribozyme in vitro. *World J Gastroenterol* 2003;9:572-577
- 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
- Lan HY, Mu W, Tomita N, Huang XR, Li JH, Zhu HJ, Morishita R, Johnson RJ. Inhibition of renal fibrosis by gene transfer of inducible smad7 using ultrasound-microbubble system in rat UUO model. *J Am Soc Nephrol* 2003;14:1535-1548
- Terada Y, Hanada S, Nakao A, Kuwahara M, Sasaki S, Marumo F. Gene transfer of Smad7 using electroporation of adenovirus prevents renal fibrosis in post-obstructed kidney. *Kidney Int Suppl* 2002;61:94-98