

肝纤维化大鼠肝组织Smads基因表达状况及意义

吴晓玲, 曾维政, 蒋明德, 秦建平, 徐辉

吴晓玲, 曾维政, 蒋明德, 秦建平, 徐辉, 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
吴晓玲, 副主任医师, 主要从事肝纤维化发病机制与中药干预治疗研究。

四川省科技厅应用基础研究科研基金资助项目, No. 05JY0492

作者贡献分布: 吴晓玲与曾维政对此文所作贡献均等; 此课题由曾维政、蒋明德设计; 研究过程由吴晓玲操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由秦建平提供; 数据分析由吴晓玲及徐辉完成; 本论文写作由吴晓玲、曾维政完成。

通讯作者: 曾维政, 610083, 四川省成都市, 中国人民解放军成都军区总医院消化内科. zengweizheng@163.com

电话: 028-86570347

收稿日期: 2007-12-11 修回日期: 2008-02-29

Expression of Smads gene in CCl₄-induced liver fibrosis and its significance in rats

Xiao-Ling Wu, Wei-Zheng Zeng, Ming-De Jiang, Jian-Ping Qin, Hui Xu

Xiao-Ling Wu, Wei-Zheng Zeng, Ming-De Jiang, Jian-Ping Qin, Hui Xu, Department of Gastroenterology, General Hospital of Chinese PLA Chengdu Command, Chengdu 610083, Sichuan Province, China

Supported by: the Applied Basic Research Foundation of Science and Technology Department of Sichuan Province, No. 05JY0492

Correspondence to: Professor Wei-Zheng Zeng, Department of Gastroenterology, General Hospital of Chinese PLA Chengdu Command, Chengdu 610083, Sichuan Province, China. zengweizheng@163.com

Received: 2007-12-11 Revised: 2008-02-29

Abstract

AIM: To investigate the expression of Smads gene and its significance in rats with liver fibrosis induced by carbon tetrachloride (CCl₄).

METHODS: Eighty healthy male SD rats were randomly divided into two groups: normal control group ($n = 40$) and hepatic fibrosis model group ($n = 40$). Experimental liver fibrosis was induced by subcutaneous injection of CCl₄. The deposition of collagen fiber in liver was detected with Masson and VG staining. The expression of Smad3, Smad4, Smad6, and Smad7 were assayed with *in situ* hybridization (ISH) and immunohistochemistry (IHC).

RESULTS: A significant increase of collagen de-

position and rearrangement of the parenchyma were noted in fibrosis model rats. The semi-quantitative histological scores (3.29 ± 0.68 vs 0 , $P < 0.01$) and average area of collagen deposition ($290.86 \pm 89.37 \mu\text{m}^2$ vs $56.12 \pm 21.45 \mu\text{m}^2$, $P < 0.05$) in model group were significantly increased. The positive rate of Smad4 protein expression was higher in model group than that in control group ($4.27\% \pm 0.43\%$ vs $2.86\% \pm 0.86\%$, $P < 0.05$), but the positive rate of Smad7 protein expression was not markedly different between the two groups. The A values of Smad3 mRNA (0.167 ± 0.092 vs 0.010 ± 0.002 , $P < 0.05$) and Smad4 mRNA (0.241 ± 0.098 vs 0.021 ± 0.004 , $P < 0.05$) were significantly higher in model group than those in control group. Meanwhile, although the expression levels of Smad6 and Smad7 mRNA were increased in model animals, there were no significant differences between the two groups. The protein expression of Smad4 and the mRNA expression of Smad6 and Smad7 were at very low levels both in normal and in model animals.

CONCLUSION: Unbalanced expression of Smads exists in experimental hepatic fibrosis of rats. TGF- β -Smad signal pathway may take part in the occurrence and progression of liver fibrosis in rats.

Key Words: Liver fibrosis; Smad gene; *In situ* hybridization; Rat; Immunohistochemistry

Wu XL, Zeng WZ, Jiang MD, Qin JP, Xu H. Expression of Smads gene in CCl₄-induced liver fibrosis and its significance in rats. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2008; 16(10): 1037-1041

摘要

目的: 研究CCl₄诱导的肝纤维化大鼠肝组织Smad基因表达的变化及其意义。

方法: 80只健康雄性SD大鼠分为2组: 正常组(C组, $n = 40$)和模型组(M组, $n = 40$)。以CCl₄ sc法诱导肝纤维化, HE和VG胶原染色观察肝脏胶原沉积情况, 原位杂交法及免疫组化法检测肝组织Smads分子表达水平变化。

背景资料
随着分子生物学的发展, 许多研究进一步阐明了肝纤维化发病的分子机理, 维护机体正常功能的细胞信号通路失调是肝纤维化发病的重要原因, 可表现为关键信号分子表达水平的不平衡, 最终导致纤维组织大量产生、沉积于肝脏。

同行评议者
丁惠国, 主任医师, 首都医科大学附属北京佑安医院肝病消化科

研发前沿
TGFβ/Smad信号通路是参与肝纤维化的重要信号通路,肝组织Smads表达的失调是导致过多纤维合成、沉积的重要原因,合理调节Smad分子表达水平有望成为干预肝纤维化的有效途径。

结果:与C组比较,M组大鼠肝脏组织学积分显著增加(3.29 ± 0.68 vs 0 , $P < 0.05$),平均胶原面积显著增加($290.86 \pm 89.37 \mu\text{m}^2$ vs $56.12 \pm 21.45 \mu\text{m}^2$, $P < 0.01$),肝组织Smad4蛋白表达率较C组明显增加($4.27\% \pm 0.43\%$ vs $2.86\% \pm 0.86\%$, $P < 0.05$),而Smad7蛋白表达虽然增加,但水平低下;Smad 3 mRNA表达A值明显增加(0.167 ± 0.092 vs 0.010 ± 0.002 , $P < 0.05$),Smad4 mRNA表达A值也明显增加(0.241 ± 0.098 vs 0.021 ± 0.004 , $P < 0.05$),Smad6、Smad7 mRNA虽然增加,但表达水平仍然低下。

结论:实验性大鼠肝纤维化存在肝脏Smads分子表达水平的比例失调,TGF-Smad信号通路可能参与了肝纤维化的形成与发展。

关键词:肝纤维化; Smad基因; 原位杂交法; 大鼠; 免疫组化法

吴晓玲, 曾维政, 蒋明德, 秦建平, 徐辉. 肝纤维化大鼠肝组织Smads基因表达状况及意义. 世界华人消化杂志 2008; 16(10): 1037-1041
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/16/1037.asp>

0 引言

肝纤维化是多种慢性肝脏疾病发展为肝硬化的中间环节,积极地控制肝纤维化的进展具有极为重要的临床意义.本研究旨在观察CCl₄诱导的肝纤维化大鼠肝组织Smads基因表达水平的变化,了解其与肝纤维化主要的病理变化肝脏胶原沉积的关系,进一步从分子水平探讨实验性大鼠肝纤维化发生发展的可能分子机制,为肝纤维化的临床防治提供新思路。

1 材料和方法

1.1 材料 体质量 150 ± 10 g健康♂SD大鼠(购自华西医科大学实验动物中心),化学纯CCl₄(成都联合化工试剂研究所),Smads抗体及免疫组化试剂盒(武汉博士德生物工程公司),Dig-CBP探针及原位杂交试剂盒(上海申能生物工程公司)。

1.2 方法

1.2.1 动物分组与造模: 80只大鼠随机分为2组:正常对照组(C组)40只,肝纤维化模型组(M组)40只,各组间暴露因素无差别.用CCl₄ sc法诱导大鼠肝纤维化模型,即用300 mL/L CCl₄石蜡油溶液,以3 mL/kg做sc,2次/wk,共8 wk.正常对照组予等量石蜡油sc处理.各组动物在最后一次CCl₄注射后48 h处死,取肝组织标本待检。

1.2.2 检测方法: 肝组织标本以40 g/L中性甲醛

溶液固定、石蜡包埋,以多聚赖氨酸涂布的载玻片制作5 μm厚度的肝组织切片,进行HE染色和Masson三重胶原染色作组织病理学检查;免疫组织化学(immunohistochemistry, IH)方法检测Smad4、Smad7蛋白表达水平,原位杂交法(in situ hybridization, ISH)检测Smad3、Smad4、Smad6、Smad7 mRNA、CBP mRNA表达水平,检测步骤参考试剂说明书进行. Smad3 mRNA探针序列(5'→3'): Biotin-GAA GGC CGG CTC ACA GTA GGT GAC TGG CTG(981-1010 bp, GC% = 63.33),以生物素标记探针,碱性磷酸酶搭桥,BCIP和NBT显色反应; CBP mRNA探针序列(5'→3'): Dig-TGA CAG TTG TTT ATG TTT GGA CGC(371-394 bp, GC% = 41.67, Tm: 61.9),以地高辛标记探针,辣根过氧化物酶搭桥, DAB显色反应,显微镜下观察结果。

统计学处理 肝脏胶原纤维染色、Smads表达水平的ISH检测结果均使用日本Nikon TE2000-H倒置显微镜采集图像,美国Image-Pro Plus专业图像软件分析系统专进行数据采集和半定量统计分析。

2 结果

2.1 肝组织病理学改变 HE染色光镜下可见正常肝组织肝小叶结构清晰,肝细胞围绕中央静脉呈放射状排列,肝纤维化模型组大鼠肝细胞广泛脂肪变性、坏死,炎性细胞浸润以汇管区及中央静脉周围为重,肝小叶结构破坏,胶原纤维明显增生; Masson染色见蓝色胶原纤维明显增多,汇管区-中央静脉区纤维间隔宽大,包绕分隔肝小叶,部分标本形成假小叶(图1),肝纤维化半定量组织学积分为 3.29 ± 0.68 . C组与M组组织学积分0, 3.29 ± 0.68 ; 胶原面积 $56.12 \pm 21.45 \mu\text{m}^2$, $290.86 \pm 89.37 \mu\text{m}^2$ 。

2.2 肝组织Smad4、Smad7蛋白表达 免疫组化检测表明,正常对照组大鼠肝脏未检测出Smad7阳性表达,肝组织Smad4蛋白表达水平低下阳性表达率 $2.86\% \pm 0.86\%$; CCl₄ sc模型大鼠肝组织Smad4蛋白表达率明显增加至 $4.27\% \pm 0.43\%$, ($P < 0.05$). 模型大鼠肝组织Smad7蛋白表达水平低下,仅在汇管区见少数间质细胞显色,棕黄色的阳性颗粒主要位于细胞质(图2),计算机图像分析其阳性率为 $1.34\% \pm 0.13\%$,两者无显著差异($P > 0.05$)。

2.3 肝组织Smads mRNA表达水平 原位杂交检测表明, Smad3 mRNA在正常对照组大鼠肝脏

相关报道
国外有报道肝星状细胞活化、增殖时伴有Smad表达的失调,不同Smad分子在肝脏的急性和慢性损害中所发挥的作用不尽相同。

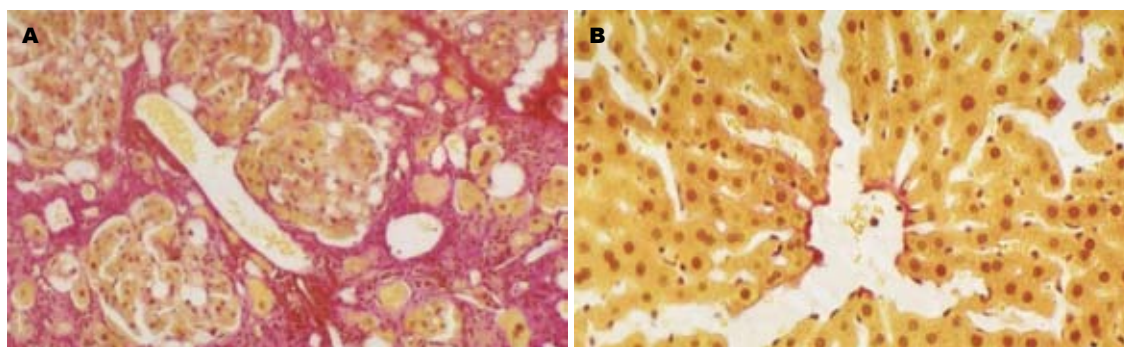


图 1 大鼠肝脏VG染色($\times 200$). A: 模型组; B: 正常组.

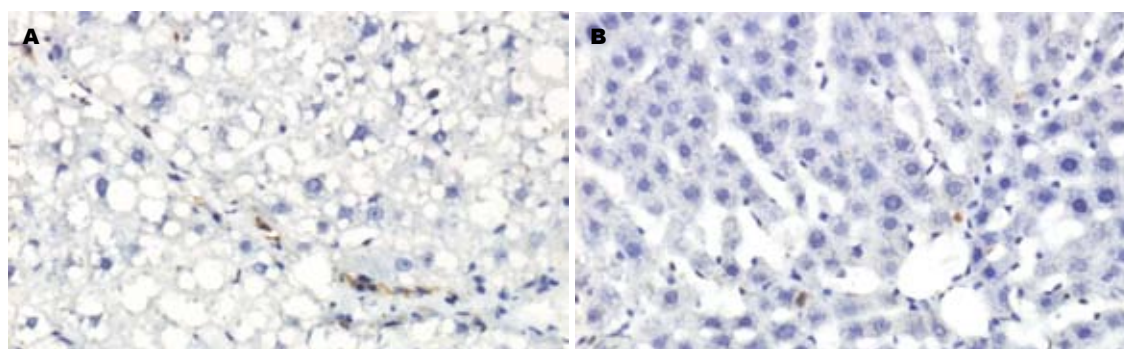


图 2 肝脏Smad 7表达(IH $\times 200$). A: 模型组; B: 正常组.

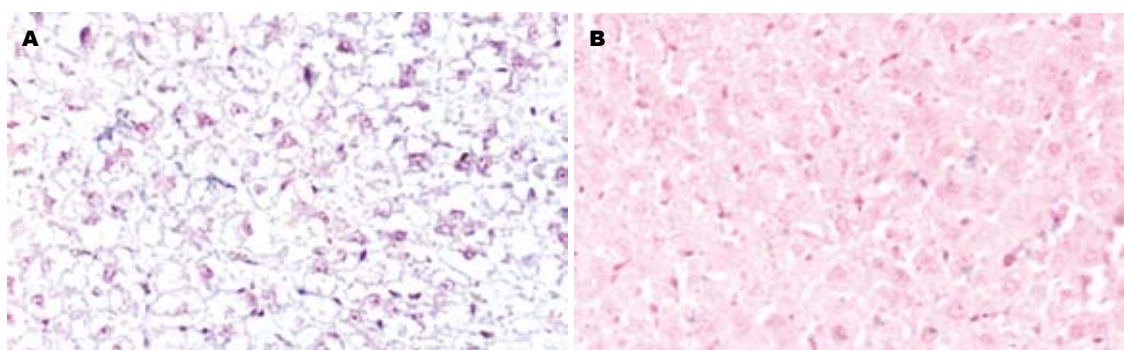


图 3 Smad 4 mRNA表达(ISH $\times 200$). A: 模型组; B: 正常组.

仅有少数间质细胞显示阳性表达, 为胞质细小的蓝紫色颗粒, 且表达强度微弱, A 值为 0.010 ± 0.002 ; CCl_4 sc 可使大鼠肝脏Smad3 mRNA表达明显增加, 间质细胞和肝细胞均有表达, 计算机图像分析其表达 A 值为 0.167 ± 0.092 , 两者差异非常显著 ($P < 0.01$).

Smad4 mRNA在正常对照组大鼠肝组织基本为阴性表达; 肝纤维化模型组大鼠肝脏Smad4 mRNA表达强度明显增加, 胞质蓝紫色的阳性颗粒出现于间质细胞和肝实质细胞, 且颗粒较大着色较深(图3), 计算机半定量分析其平均 A 值为 0.241 ± 0.098 , 与正常大鼠相比有明显的增加 ($P < 0.05$), 与Smad4蛋白的表达水平变化趋势一

致, 反映其基因转录与翻译都有一定程度的增加, 可能与肝纤维化的发生发展有关.

正常大鼠肝脏以原位杂交法未检测出明显的Smad6 mRNA阳性表达; 肝纤维化模型大鼠肝脏Smad6 mRNA表达较正常大鼠有所增加, 但其表达水平低下, 仅见少数间质细胞和肝实质细胞阳性显色, 呈胞质蓝紫色的颗粒, 沿着细胞膜排列成为环状颗粒(由于胞质脂肪变性的脂肪滴溶解形成空泡, 将细胞质成分挤压至细胞膜内表面), 计算机扫描分析其平均 A 值为 0.039 ± 0.014 , 与正常组大鼠比较无显著差异 ($P > 0.05$).

正常组大鼠肝组织Smad7 mRNA表达显示为阴性结果, 肝纤维化大鼠肝脏检出少量阳性表

应用要点
研究肝组织原位
TGF β /Smad信号
通路中关键分子
表达的失调状况,
可为肝纤维化防
治提供新的思路.

名词解释

Smad: 是一类将细胞损伤信息传递至细胞核, 最终影响靶基因表达, 完成创伤修复的关键信息分子, 按照其功能不同可分为抑制性Smad、受体结合活化的Smad和共用Smad3大类, 正常情况下三类分子表达被精密调节, 共同配合完成信号的传递过程。

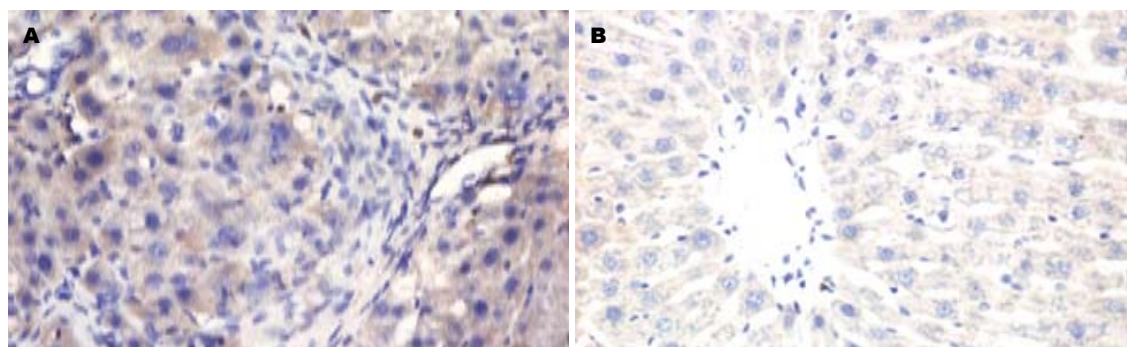


图4 肝脏CBP mRNA表达(ISH x 200). A: 模型组; B: 正常组.

达细胞, 肝细胞和间质细胞均有阳性表达, 蓝紫色的颗粒主要位于细胞质, 沿着细胞膜排列成为环状, 计算其平均A值为 0.074 ± 0.012 , 但与正常组比较无显著差异($P > 0.05$), 两者表达水平相近.

2.4 肝组织CBP mRNA表达 原位杂交检测表明, 正常对照组大鼠肝脏CBP mRNA表达水平低下, 显色信号微弱; CCl_4 sc使大鼠肝脏CBP mRNA表达明显增加, 棕黄色的阳性颗粒主要位于肝实质细胞胞质, 间质细胞表达较少, 且着色深、表达强度高, 计算机图像分析其平均吸光度值分别为 0.092 ± 0.032 , 0.235 ± 0.025 , 两者有显著差异(图4, $P < 0.01$).

3 讨论

转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF β)-Smad信号传导通路调控损伤修复, 肿瘤生长与转移等生物行为的重要信号通路, 近年研究发现TGF β -Smad信号通路也是肝纤维化主要的信息传导途径^[1-7]. Smad蛋白家族是TGF β 受体后信息分子, 参与调控细胞的增殖、转化、合成、分泌和凋亡. 这一超家族成员根据功能不同分为三类: 受体激活Smad(R-Smad), 共用Smad(Co-Smad), 和抑制性Smad(I-Smad). 来自TGF β 的信号与细胞膜表面的I型、II型受体结合后使R-Smad(Smad2、3)磷酸化而活化, Smad2、3再和胞质中的Smad4(Co-Smad)结合形成异多聚体转位进入细胞核, 进而通过与一系列的转录辅激活蛋白或转录辅阻遏分子结合调节靶基因的表达^[8-14]; Smad6、7(I-Smad)则分别通过抑制Smads多聚体的形成和抑制R-Smads磷酸化而阻止该信号转导过程^[15-18], 其表达下调可能与慢性肝病的持续化及进展为肝纤维化有关^[11-12]. CREB(cAMP response element(CRE)-binding protein, cAMP反应元件结合蛋白)是一重要的核转录因子, 为bZIP家族成员之一. CREB

受多种信号转导通路的调控, 除了经典的cAMP调控通路外, 还有Ras-Raf-MAPK通路、 Ca^{2+} -CaMK通路、应激相关的P38通路等. 活化的CREB需同转录辅激活因子CBP(CREB binding protein)相结合, 才能激活转录发生. 研究表明, CBP是将TGF β 信号转化为生物学效应的关键分子, 通过激活AP-1等转录因子促进靶基因表达, 引起胶原蛋白合成、肝细胞再生、肝小叶重建等生物效应. 对TGF β -Smad信号传导通路及其中关键的分子表达状况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提供了一个新的途径^[19-21].

本实验研究表明, CCl_4 sc法能够成功诱导实验大鼠的肝纤维化病变, 模型组大鼠肝脏胶原蛋白沉积显著增加, 肝纤维化组织学积分与对照组比较有显著差异, 纤维化病变明显, 且造模方法简便、时间短, 可作为肝纤维化防治研究的首选模型.

美国学者Flanders^[22]认为, TGF β 的大多数促纤维化效应是由Smad3介导的; 转基因鼠肝脏内源性Smad4表达降低, 则大鼠肝脏I型胶原减少, 表明抑制Smad3、Smad4的表达有潜在的抗纤维化价值. 本实验表明, 肝纤维化大鼠肝组织Smad4 mRNA及其蛋白表达水平均明显增加, 蛋白表达率为高于对照组, Smad4和Smad3 mRNA表A值同对照组相比, 均明显增加, 证实在大鼠实验性肝纤维化形成过程中伴有Smad3、Smad4表达水平的明显增加.

CBP是TGF β -Smad信号通路中处于下游位置的基因, 接受TGF β 的刺激而进一步将信号向细胞内靶基因传递. 实验结果表明, 伴随着Smad3、Smad4表达水平的明显增加, CBP的表达亦呈明显增加, 其A值也相应增加, 显示来自TGF β 的刺激有效地经过一系列信号分子传递至下游通路, 并可能进而引起下游靶基因的表达增

加^[23-24].

相反, Smad6、Smad7分子作为TGF β -Smad信号通路中具有自身调节作用的抑制性信号分子, 其在大鼠肝纤维化中的表达趋势呈现不同的变化. 在对照组, 这两种抑制性分子的mRNA表达水平极低, 几乎检测不出, 半定量分析其表达水平接近0, 在模型组大鼠肝脏, 可以检测出Smad6、Smad7 mRNA分子的表达, 但也处于较低的水平, 表明在肝纤维化形成过程中同样有抑制性信号分子表达的增加, 这可能是由于来自TGF β 的刺激性信号, 引起Smad3、Smad4表达的增加, 进而诱导抑制性分子表达的增加以发挥负反馈调节作用. 但同Smad3、Smad4增加的程度相比, 抑制性分子的增加显然处于较弱的地位, 因此, 其增加亦不能有效抑制上游的刺激性信号继续向细胞内传递, 终于导致胶原基因表达增加、胶原蛋白过度沉积的肝纤维化病变.

本实验结果显示, 在大鼠实验性肝纤维化模型大鼠的肝组织呈现明显的胶原纤维沉积, 同时有Smads基因表达水平的明显变化, 表现为刺激性分子Smad3与共用性分子Smad4表达水平的显著增加, 下游CBP分子表达的不同步增加, 以及抑制性信号分子Smad6、Smad7表达的微弱增加, 其相对比例明显失调, 表明TGF β -Smad信号通路可能参与了大鼠实验性肝纤维化的形成与发展, 其关键信号分子的表达失调是慢性肝损伤进展为肝纤维化的重要机制, 因此, 调整Smads分子的表达水平有望成为临床防治肝纤维化的一个有效途径^[25-30].

4 参考文献

- 高萍, 程留芳, 杨云生. TGF β 与肝纤维化关系研究进展. 现代中西医结合杂志 2006; 9: 1272-1274
- 曾维政, 吴晓玲, 蒋明德, 王丕龙. 肝纤维化的信号转导通路. 世界华人消化杂志 2006; 14: 2223-2228
- 刘萱, 尤红, 贾继东. 肝纤维化重要细胞因子的主要信号转导途径. 肝脏 2005; 3: 251-252
- 蒋红飞. 转化生长因子 β 与肝纤维化的关系. 医学综述 2006; 12: 1158-1160
- Breitkopf K, Godoy P, Ciuculan L, Singer MV, Dooley S. TGF-beta/Smad signaling in the injured liver. *Z Gastroenterol* 2006; 44: 57-66
- 沈波, 杨大明, 孟宪镛. 肝纤维化中肝星状细胞内主要信号转导通路. 国际内科学杂志 2007; 34: 456-459
- 李欣, 戴立里. 转化生长因子 β 1/Smads信号转导途径及其与肝纤维化的关系. 重庆医学 2007; 36: 1887-1889
- 孙校男, 王先开, 娄国强. Smad蛋白与肝纤维化. 国外医学 2005; 4: 243-245
- 何燕, 肖诚, 胡志峰, 沙洪, 熊佳鹏, 李平. Smad蛋白及其对中医药防治肝纤维化作用的研究进展. 中国中医基础医学杂志 2007; 13: 399-402
- 吴凌康, 厉有名. Smads家族在肝纤维化中的作用. 浙江医学 2005; 4: 319-321
- 严蓉, 陈峰. Smad蛋白-肝纤维化时TGF β 1信号转导的关键物质. 国际流行病学传染病学杂志 2007; 34: 191-195
- 梁增文, 李德民, 张国, 王天才. 人纤维化肝组织中SMAD蛋白的表达及其意义. 临床内科杂志 2005; 9: 635-636
- 杨隽, 司书毅, 张月琴. Smad在TGF β 超家族信号通路中的调控作用. 中国生物工程杂志 2003; 23: 9-12
- Seyhan H, Hamzavi J, Wiercinska E, Gressner AM, Mertens PR, Kopp J, Horch RE, Breitkopf K, Dooley S. Liver fibrogenesis due to cholestasis is associated with increased Smad7 expression and Smad3 signaling. *J Cell Mol Med* 2006; 10: 922-932
- Yoshida K, Matsuzaki K, Mori S, Tahashi Y, Yamagata H, Furukawa F, Seki T, Nishizawa M, Fujisawa J, Okazaki K. Transforming growth factor-beta and platelet-derived growth factor signal via c-Jun N-terminal kinase-dependent Smad2/3 phosphorylation in rat hepatic stellate cells after acute liver injury. *Am J Pathol* 2005; 166: 1029-1039
- 陈琛, 叶冬梅, 邵淑娟. 转化生长因子 β /Smad信号通路研究进展. 医学分子生物学杂志 2006; 3: 126-128
- Kitamura Y, Ninomiya H. Smad expression of hepatic stellate cells in liver cirrhosis in vivo and hepatic stellate cell line in vitro. *Pathol Int* 2003; 53: 18-26
- 阮艺华, 刘海林. Smad7与肝纤维化. 国际消化病杂志 2007; 27: 208-210
- 刘浩, 魏伟. TGF β 信号转导通路及其为靶点的肝纤维化治疗. 中国药理学通报 2007; 23: 561-565
- 谭淑萍, 吴晓东. 肝纤维化与TGF- β 和以其为靶位点的治疗策略. 世界华人消化杂志 2006; 14: 3126-3130
- 朱春晖, 罗忠金. 肝纤维化相关因子与治疗展望. 江西医学院学报 2006; 46: 179-181
- Flanders KC. Smad3 as a mediator of the fibrotic response. *Int J Exp Pathol* 2004; 85: 47-64
- 畅晓燕, 方家椿. 核蛋白CREB的转录调控机制. 国外医学 2002; 24: 136-139
- 谭焱, 吕志平, 张绪富. 中医药对CREB及其信号通路在肝纤维化中调控作用的研究现状. 中华中医药杂志 2005; 20: 554-556
- 林寿宁, 王振常, 何磊, 韦刚, 郑身宏. 壮肝逐瘀煎对肝纤维化大鼠T β R、Smad3、Smad4、Smad7表达的影响. 世界中西医结合杂志 2007; 2: 573-576
- 胡俊杰, 李定国. 抗TGF- β 受体治疗肝纤维化的作用研究进展. 国际消化病杂志 2007; 27: 237-239
- 周淑萍, 王清明, 吴祖泽. 细胞因子在肝纤维化基因治疗中的研究进展. 生命科学 2007; 19: 433-437
- 吴晓玲, 曾维政, 王丕龙. 中药对TGF β -Smad信号通路的干预作用. 第四军医大学学报 2005; 26: 1339-1341
- 邓鑫, 梁健, 黄彬, 李益忠, 覃黎葵, 张锡流. 天然牛磺酸对肝纤维化大鼠TGF- β 1/Smad信号通路的影响. 大连医科大学学报 2007; 29: 336-339
- 陈达凡, 李建英, 郑伟达, 陈治新, 王小众. 外源性转化生长因子 β 1对大鼠原代肝星状细胞活化的影. 世界华人消化杂志 2007; 15: 211-215

同行评价
本文选题设计及实验方法正确, 实验结果可靠, 论文书写规范, 尽管国内有类似的文献报告, 但该文对认识肝纤维化的机制有一定新观点.

编辑 程剑侠 电编 郭海丽