

# HSCs表型转化的信号转导通路及其阻断剂的研究进展

杨斌, 曾维政, 吴晓玲

杨斌, 曾维政, 吴晓玲, 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

作者贡献分布: 本文由杨斌综述; 曾维政与吴晓玲审校。

通讯作者: 曾维政, 教授, 主任医师, 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。

yangbin1526@126.com

电话: 028-86570347

收稿日期: 2009-05-27 修回日期: 2009-07-09

接受日期: 2009-07-13 在线出版日期: 2009-08-08

## Advances in research on the signaling pathways involved in activation and phenotypic transformation of hepatic stellate cells and their inhibitors

Bin Yang, Wei-Zheng Zeng, Xiao-Ling Wu

Bin Yang, Wei-Zheng Zeng, Xiao-Ling Wu, Department of Gastroenterology, Chinese PLA Chengdu Military General Hospital, Chengdu 610083, Sichuan Province, China

Correspondence to: Professor Wei-Zheng Zeng, Department of Gastroenterology, Chinese PLA Chengdu Military General Hospital, Chengdu 610083, Sichuan Province, China. yangbin1526@126.com

Received: 2009-05-27 Revised: 2009-07-09

Accepted: 2009-07-13 Published online: 2009-08-08

## Abstract

Liver fibrosis is a progressive pathologic process that involves deposition of excess extracellular matrix leading to distorted architecture and culminating in cirrhosis. It is believed that activation and phenotypic transformation of hepatic stellate cells (HSCs) play a central role in the development and resolution of liver fibrosis. Many cytokines and related signaling pathways are involved in the phenotypic transformation and proliferation of HSCs. In recent years, great advances have been made in the study of these signaling pathways and their specific inhibitors, thereby providing a new avenue for clinical therapy of liver fibrosis. However, as the mechanisms underlying the roles of these signaling pathways are very complicated, further intensive studies are still essential. In this article, we will review the advances in research on the signaling pathways involved in activation and

phenotypic transformation of hepatic stellate cells and their inhibitors.

**Key Words:** Hepatic stellate cells; Liver fibrosis; Signaling pathway; Inhibitor

Yang B, Zeng WZ, Wu XL. Advances in research on the signaling pathways involved in activation and phenotypic transformation of hepatic stellate cells and their inhibitors. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2009; 17(22): 2283-2291

## 摘要

肝纤维化(liver fibrosis)与细胞外基质不断沉积和肝脏结构改变并最终演变为肝硬化的长期病理过程有密切关系。肝星状细胞(hepatic stellate cells, HSCs)的活化和表型转化是肝纤维化过程中的核心事件。各种细胞因子通过细胞信号传导通路影响HSCs的表型转化及增殖。近年来对各种使HSCs活化的信号通路(signaling pathway)及相关阻断剂(inhibitors)的研究取得了一些进展,为肝纤维化的临床治疗提供了新的思路。但是由于各种细胞信号通路相互“交流”的复杂性和阻断剂作用的特异性,各种阻断剂的运用还仅限于实验室研究阶段。其运用于临床还需要更多资料证实。本文就HSCs表型转化的信号转导通路及其阻断剂的研究进展作一综述。

**关键词:** 肝星状细胞; 肝纤维化; 信号通路; 阻断剂

杨斌, 曾维政, 吴晓玲. HSCs表型转化的信号转导通路及其阻断剂的研究进展. *世界华人消化杂志* 2009; 17(22): 2283-2291  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/2283.asp>

## 0 引言

肝星状细胞(hepatic stellate cells, HSCs)是导致肝纤维化及门脉高压形成的主要效应细胞。在各种致病因素的作用下,肝脏内细胞因子通过各种细胞信号传导通路激活HSCs使其大量增殖、迁移,发生表型转化并分泌大量的细胞外基质(extracellular matrix, ECM)沉积于肝脏,是肝纤维化发展到肝硬化的关键环节<sup>[1]</sup>。另外, HSCs自

## ■背景资料

肝星状细胞是导致肝纤维化及门脉高压形成的主要效应细胞。在各种致病因素的作用下,肝脏内细胞因子大量分泌,细胞因子通过各种细胞信号传导通路激活HSCs使其分泌大量的ECM沉积于肝脏。近年来对HSCs激活的细胞信号传导通路的机制及其特殊阻断剂的研究取得了一定的进展。本文就此研究进展作一综述。

## ■同行评议者

石统东, 副教授, 重庆医科大学附属第二医院感染病科

## ■ 研发前沿

各种细胞因子通过细胞信号传导通路影响肝星状细胞的基因转录和表达,导致其活化和增殖。利用阻断剂来干预信号通路的传导是研究肝纤维化的发病机制和药物治疗的重要方法。近年来在各种影响HSCs的细胞信号通路的具体机制和其阻断措施方面研究较多并取得了一些进展。

分泌和旁分泌的细胞因子也通过各种信号通路使自身活化<sup>[2]</sup>。近年来对HSCs的激活的细胞信号传导通路的具体机制及其相关阻断剂的研究取得了多方面的进展。本文就此研究进展作一综述。

### 1 TGF- $\beta$ -Smad信号转导通路

转化生长因子(transforming growth factor  $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 1)在肝纤维化过程中是起核心作用的细胞因子。当TGF- $\beta$ 与HSCs胞膜受体(TGF- $\beta$  receptor, T $\beta$ R)结合并使T $\beta$ R活化,与T $\beta$ R结合的R-Smad蛋白被磷酸化而激活,活化的R-Smad再与胞质共用的Co-Smad蛋白形成Smads异源多聚体而转位进入胞核,与靶细胞DNA上特定的Smad结合元件(Smad-binding elements, SBEs)序列CAGAC或AGAC结合,促进靶基因的转录<sup>[3]</sup>。Smad蛋白是TGF- $\beta$ 1信号向胞内及HSC核内转导的特异性底物,有8个家族成员,根据其功能不同分为3类:膜受体激活Smads(R-Smads)、共同通道型Smads(Co-Smads)、抑制型Smads(I-Smads)。Co-Smads目前在哺乳动物中仅发现Smad4蛋白,但Smad4蛋白并不是对所有的TGF- $\beta$ 信号通路都是必须的<sup>[4]</sup>。I-Smads包括Smad6、Smad7。Smad6能够抑制Smads异源多聚体形成和R-Smads磷酸化,Smad7主要抑制TGF- $\beta$ 1信号通路<sup>[5]</sup>。研究发现Smad多聚体除与靶细胞DNA上特定的SBEs序列直接结合外,还通过与转录辅激活因子或辅阻遏因子结合,进而增强或减弱HSCs内基因的表达<sup>[6-9]</sup>。实际上,TGF- $\beta$ 1在肝脏不仅对HSCs有重要作用。最近有学者经研究认为,在TGF- $\beta$ 1作用下,肝细胞本身也能呈间充质细胞形态改变,并合成I型胶原,在肝纤维化的形成过程中肝细胞也可能起到一定的作用,但是其是否通过TGF- $\beta$ -Smad信号通路传导刺激信号还需要进一步研究<sup>[10]</sup>。因TGF- $\beta$ -Smad信号通路在HSCs激活中的重要意义,使用特异药物干预TGF- $\beta$ -Smad信号通路可望为肝纤维化的防治提供新的思路。近年来对此通路阻断的相关研究取得不少进展。然而TGF- $\beta$ 具有多种生物学功能,通过不同的信号通路参与众多的病理、生理过程。因此彻底阻断TGF- $\beta$ 的信号传导通路可能导致其他问题的发生。国外学者大多在实验室采用Smad6、Smad7 RNA的重组体导入HSCs来对TGF- $\beta$ -Smad通路进行干扰。Dooley *et al*<sup>[11]</sup>等将携带有Smad7 cDNA的腺病毒颗粒通过尾静脉和门脉注射到大鼠模

型中,结果发现大鼠肝脏星状细胞中Smad7表达量大大增加,而 $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白( $\alpha$ -smooth muscle actin,  $\alpha$ -SMA)、肝脏内胶原的表达受到抑制。Inagaki *et al*设计了腺病毒重组体表达了绿色荧光蛋白和TGF- $\beta$ -Smad的信号抑制物,即YB-1(Y-box-binding protein),再将重组体注射到2组小鼠体内。结果表达的YB-1能显著减少胶原基因的启动子的活性,从而抑制了肝纤维化的进展<sup>[12]</sup>。近年来不少学者应用自然药物单体成分对此信号通路进行干预实验并取得了实质性进展。曾维政 *et al*<sup>[13]</sup>在运用中药红景天甙(Salidroside)干预性治疗CCl<sub>4</sub>诱导的大鼠肝纤维化模型的实验中发现:红景天甙干预性治疗组大鼠肝组织TGF- $\beta$ 1蛋白表达A值下降为 $0.134 \pm 0.073$ ; Smad3、Smad4 mRNA表达A值下降为 $0.023 \pm 0.008$ 、 $0.133 \pm 0.018$ , Smad4蛋白阳性率下降至 $2.3\% \pm 0.8\%$ ; Smad6、Smad7 mRNA的A值则分别增加为 $0.147 \pm 0.010$ 、 $0.198 \pm 0.011$ , Smad7蛋白阳性率增加为 $6.7\% \pm 1.0\%$ ,与模型组比较有明显增加( $P < 0.05$ );表明红景天甙可减弱肝纤维化大鼠肝脏TGF- $\beta$ 1、Smad3、Smad4表达,增强Smad6、Smad7的表达,从而抑制TGF- $\beta$ 介导的肝纤维化信号的传导。其他国内外学者在中药单体抗肝纤维化的分子机制研究中也把此信号通路作为重要的药物靶点。实验证明,姜黄(Curcumin)、己酮可可碱(Pentoxifylline, PTF)、苦参素(Oxymatrine)等均能够明显降低肝脏中TGF- $\beta$  mRNA的水平,减少TGF- $\beta$ 的表达从而延缓肝纤维化的进程<sup>[14]</sup>。但是因TGF- $\beta$ -Smad信号转导通路在HSCs中复杂的生理功能及其与其他信号通路的相互“交流”,对其实施精确定位阻断和阻断后HSCs的生理、病理变化还需要进一步的实验研究加以阐明。

### 2 ERK/MAPK信号通路

细胞的胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinase, ERK)/丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)信号通路也是各种细胞因子向HSCs细胞传递信号的主要通路之一。在HSCs细胞中,MAPK分子家族主要分布在的胞质。此通路的核心是由3种蛋白激酶(MAPKKK, MAPKK, MAPK)构成的蛋白激酶反应链。ERK为MAPK家族重要成员,分为ERK1和ERK2 2个亚型<sup>[15]</sup>。ERK/MAPK信号通路是多种细胞因子调控靶细胞增殖的重要途径,是介导细胞周期蛋白CyclinD1与CyclinE表达所必

需的重要信号通道<sup>[16]</sup>。近年相关的研究还发现ERK/MAPK信号通路与基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)、金属蛋白酶组织抑制因子(tissue inhibitive factor of metalloproteinase, TIMP)的表达亦有关系<sup>[17]</sup>, 因此ERK/MAPK信号通路在肝纤维化中的作用应当受到重视。当血小板源性生长因子(platelet-derived growth factor, PDGF)与HSCs细胞膜上的相应受体结合使其激活, 胞质内的生长因子受体结合蛋白2(growth factor receptor bound protein, Grb2)与激活的受体结合, 再同鸟苷酸交换因子(guanine exchange factor SOS)C端富含脯氨酸的序列相互作用形成受体-Grb2-SOS复合物<sup>[18]</sup>。SOS因子与Ras-GDP结合, 促使GTP取代Ras蛋白上的GDP而活化Ras蛋白<sup>[19]</sup>。活化的Ras蛋白作为衔接蛋白与Raf蛋白结合, 将Raf蛋白从胞质转移到胞膜<sup>[20]</sup>。Raf蛋白被Raf激酶激活后, 其C端催化区能与MEK结合, 并使MEK激酶催化区中两个丝氨酸磷酸化, 从而激活MEK激酶<sup>[21]</sup>。MEK属MAPKK家族成员, 分为相对分子质量为44 kDa和45 kDa的MEK1和MEK2两种, 具有磷酸化酪氨酸/苏氨酸残基的双特异功能, 其作用是磷酸化并激活下游底物(ERK1/ERK2)。MEK激酶磷酸化并激活下游底物(ERK1/ERK2)<sup>[22-23]</sup>。活化的ERK移位入胞核, 参与调控一些转录因子和细胞周期蛋白D、E表达, 导致HSCs增殖和表型改变<sup>[24]</sup>。研究表明, 一些特异阻断剂可通过干预ERK通路而抑制PDGF诱导的HSCs增殖。Cao *et al*<sup>[25]</sup>发现多烯磷脂酰胆碱(polyene phosphatidyl choline)可通过抑制MEK而阻断ERK通路中ERK1的活化, 从而抑制PDGF的促HSCs增殖效应。己酮可可碱(Pentoxifylline)为磷酸二酯酶抑制剂, 他亦能通过抑制ERK的磷酸化而明显抑制PDGF诱导的HSCs增殖<sup>[26]</sup>。PD98059是近年发现的可作用于ERK/MAPK信号通路的一种具有细胞渗透性和选择性的特异性阻断剂, 他通过抑制Raf蛋白与MEK的结合来阻止ERK的磷酸化, 使ERK蛋白不能进入胞核, 从而干扰ERK/MAPK通路。在实验中采用PD98059阻断ERK蛋白活化后, 发现乙醛刺激HSCs I型胶原分泌和刺激HSCs自分泌TGF- $\beta$ 1的效应明显下降<sup>[27]</sup>。有不少学者利用其阻断ERK信号通路来探索该信号通路在调控细胞的生物学行为及其功能中的作用。另外一些MEK抑制剂已用于临床试验, 如PD184352(CI-1040), 可通过抑制MEK1、MEK2的激活, 特异性抑制ERK1/2磷酸化, 阻断ERK信号途径<sup>[28]</sup>。随后人

们开发出更具潜力的MEK抑制剂PD0325901, 此化合物的结构和PD184352高度相似, 但是比PD184352抑制MEK持续时间更长, 效率更高, 溶解度更好。另一种具有很大潜力的MEK特异抑制剂苯丙咪唑(ARRY-142886), 实验证实能有效抑制MEK1、MEK2的激活, 从而阻断ERK/MAPK通路下游唯一的分子ERK的磷酸化活化, 已开始II期临床实验<sup>[29]</sup>。以上几种ERK/MAPK信号通路的抑制剂都对MEK有高度的选择性, 对其他大量的丝氨酸/苏氨酸激酶和酪氨酸激酶都没有抑制作用, 并且这些抑制剂都不会和ATP结合发生竞争性抑制。但是由于ERK/MAPK信号通路极为复杂以及与其他信号通路的相互作用, 这给干预试验带来多变性和不可测性, 因此目前大多还停留在体外培养细胞的试验中, 其真正运用于临床治疗肝纤维化还为时过早。

### 3 Rho-ROCK信号通路

Rho相关卷曲螺旋形成蛋白激酶(Rho associated coiled coil forming protein kinase, Rho-ROCK)信号通路在HSCs的激活中扮演着重要的角色, Rho家族通过重组HSCs细胞骨架肌动蛋白来调控细胞的形状及其运动性。Rho也称“Ras相关单体GTP酶”。具有RhoA、RhoB和RhoC 3种异构体, 加上后来发现的Rac1、Rac2、Cdc42, 共同构成Ras单体GTP酶超家族-Rho超家族<sup>[30]</sup>。其中RhoA本质上是一种GTP酶, 与其他的G蛋白一样, 其主要作用是水解鸟氨酸。激活后的RhoA能影响许多生物学行为, 包括细胞骨架的组装、转录因子的激活、细胞周期的调节、平滑肌的收缩等<sup>[31]</sup>。Rho相关卷曲蛋白激酶(Rho associated coiled coil forming protein kinase, ROCK)是目前功能研究最为清楚的Rho下游靶效应分子, 属于丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶家族成员。以2种同源性极高的异构体形式存在(ROCK1和ROCK2)<sup>[32]</sup>。HSCs细胞内ROCK接受Rho转导的活化信号后, 发生多个氨基酸位点的磷酸化而激活, 并介导其下游分子肌球蛋白磷酸酶的磷酸化使其自身失活, 失活的肌球蛋白磷酸酶不能将肌球蛋白轻链(myosin light chain, MLC)脱磷酸化, 使得细胞质内磷酸化MLC水平提升, 肌动-肌球蛋白交联增加, 从而促进肌动蛋白微丝骨架的聚合, 影响HSCs的收缩、黏附、增殖、凋亡、迁移等生物学行为和功能<sup>[33]</sup>。随着此通路的结构和分子机制的阐明, Rho-ROCK信号通路的干预性研究逐渐成为近年研究的热点。Y-27632为Rho/ROCK

### ■应用要点

通过对HSCs细胞信号通路中信号传导的阻断可望成为抗肝纤维化的有效治疗方法。但是各种信号通路之间存在相互关联, 并且在正常的细胞活动中有相应的作用, 因此寻找到一种通过信号通路有效抑制HSCs激活的药物是治疗肝纤维化有希望的途径。

### ■同行评价

本文内容新颖,对HSCs表型转化的研究及其进展进行了详尽的描述,有较好的研究指导意义。

通路的特异性抑制剂,其主要的机制为抑制Rho相关蛋白激酶1,从而降低Rho的磷酸化,阻断Rho/ROCK通路的信号传导,进而抑制HSCs的活化、增殖和表型转化<sup>[34]</sup>。法舒地尔(Fasudil)是目前已知的应用于临床的Rho信号通路抑制剂,他通过抑制细胞内肌球蛋白轻链磷酸化的水平而抑制细胞骨架功能。法舒地尔对肝纤维化是否具有治疗作用,还有待进一步研究证实<sup>[35]</sup>。近期研究还表明,他汀类药物能对Rho进行共价修饰,抑制Rho的活化转位,从而阻断了Rho/ROCK信号通路介导的一系列生物学行为<sup>[36]</sup>。但其能否通过阻断Rho/ROCK信号通路来抑制HSCs的活化还需要进一步实验证实。国内学者曾维政 *et al*<sup>[37]</sup>应用中药红景天甙对CCl<sub>4</sub>诱导肝纤维化大鼠进行干预性治疗时发现,实验大鼠肝组织中ROCK1和ROCK2的mRNA及其蛋白质表达均明显降低,表明红景天甙可能通过调节Rho-ROCK信号传导通路,减少肝脏胶原纤维的合成与沉积,有效干预CCl<sub>4</sub>诱导的大鼠肝纤维化。

### 4 PI-3K/AKT信号通路

磷脂酰肌醇/蛋白激酶(phosphatidylinositol 3 kinase/protein kinase B, PI-3K/AKT)是许多细胞因子和体内活性分子作用于HSCs的信号传导通路。在HSCs增生活跃时常有PI-3K分子的过表达<sup>[38]</sup>。其上游刺激因子主要有PDGF, 胰岛素样生长因子(insulin-like growth factor, IGF), 表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)以及胰岛素等<sup>[39]</sup>。HSCs细胞膜上的各种细胞因子受体和相应的细胞因子结合后,此信号通路的PI-3K首先被激活,激活后的PI-3K通过激活一系列下游分子使其主要的信号分子蛋白激酶B(AKT)磷酸化而激活,活化后的AKT进入HSCs细胞核,通过调节基因转录,如CyclinD1、P53等,促进HSCs的有丝分裂并防止HSCs的凋亡。最近的研究还显示:PI-3K通路的上游蛋白分子成簇黏附激酶(focal adhesion kinase, FAK),在HSCs的迁移中也可能起着核心作用,考虑此信号通路和Rho-ROCK信号通路也许存在“交流”<sup>[40]</sup>。PI-3K细胞信号通路的特异抑制剂目前有Wortmannin和LY294002。在研究中使用Wortmannin作用于体外培养的HSCs,结果HSCs停滞于G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>期,其增殖被显著抑制。de Abreu *et al*<sup>[41]</sup>通过实验发现Wortmannin和LY294002是通过增强PI-3K下游的负性调节亚基P85的基因表达来抑制AKT的磷酸化,从而使AKT不能进入HSCs细胞核,阻断了PI-3K的

信号效应。但以上2种物质因对细胞的毒性作用目前还都限于体外研究。另外多种激酶的小分子抑制物如3-MA(3-methyladenine)等可通过抑制磷脂酰肌醇的产生降低PI-3K的活化效率,对PI-3K/AKT信号通路的抑制作用也很明显<sup>[42]</sup>。PI-3K/AKT信号通路中mTOR蛋白激酶(mammalian target of rapamycin)是AKT进入HSCs细胞核后的作用底物,是AKT调节基因转录的中介分子。雷帕霉素(Rapamycin)对mTOR激酶的抑制作用已引起广泛的研究兴趣。雷帕霉素通过对mTOR激酶的抑制可导致DNA甲基化和组蛋白磷酸化。DNA甲基化可沉默相应基因转录,而组蛋白磷酸化的动态变化主要影响信号传导通路中相关基因的转录<sup>[43]</sup>。另一种与雷帕霉素结构相似的衍生物依维莫司(Everolimus-RAD001)对此通路抑制的效能也已被实验证实<sup>[44]</sup>。然而目前关于PI-3K/AKT信号通路的特异性抑制剂还主要集中在针对肿瘤治疗的实验研究,其是否可以通过抑制PI-3K/AKT信号通路从而抑制HSCs的活化并干预肝纤维化的进程还有待实验观察。

### 5 JAK/STAT信号通路

JAK激酶/信号转导和转录激活子通路(janus kinase/signal transducer and activator of transcription, JAK/STAT)途径是多种细胞生长、活化、分化、凋亡及其功能发挥过程中重要的一条细胞内信号传导途径。各种细胞因子可通过偶联和激活JAK酪氨酸激酶家族(JAKs)而实现信号传导<sup>[45-46]</sup>。STATs是JAKs的下游效应物, JAK通过激活下游分子STATs将信号传输至细胞核内,激活的STATs进入细胞核并与相关DNA启动子结合,调节基因的转录和表达<sup>[47]</sup>。当相应的细胞因子作用于HSCs细胞膜受体时,首先激活JAK1,活化的JAK1依次激活JAK2/JAK3/STAT3,并可使STAT3以SH-2结构域与受体或激活的JAK1结合形成复合体,当2个STAT3分子以SH-2结构域的精氨酸(Arg)和磷酸化酪氨酸(Tyr)相互作用,形成同源/异源二聚体时,即与受体分离移入HSCs胞核,与靶基因启动子结合并启动其转录,从而使HSCs增殖和发生一系列表型改变,促进肝纤维化。JAK/STAT信号通路的自身抑制因子RASSF1, RASSF4, SOCS1, SOCS2, SOCS3, CIS在各种肝脏疾病中由于各种原因被抑制,故而导致JAK/STAT信号通路的激活,因此促进以上各种JAK/STAT信号通路的抑制因子的表达可能是干预肝纤维化进程的策略之一<sup>[48]</sup>。α-氟

-3, 4-二羟基-N-苄基肉桂酰胺(AG490)是近年来新发现的JAK/STAT信号通路特异阻断剂, 他是人工合成的苯亚甲基丙二腈的脂类衍生物, 类似于Tyr和癌基因抑活药, 可以和受体酪氨酸激酶竞争结合位置, 通过阻断细胞JAK2/JAK3特异位点上酪氨酸或丝氨酸的磷酸化, 进而抑制STAT3活化, 使STAT3不能进入核内参与基因转录, 从而阻断JAK/STAT信号传导<sup>[49]</sup>。雷帕霉素也能选择性抑制STAT3分子上丝氨酸的磷酸化, 从而使STAT3不能进入细胞核启动肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )的基因转录。FK506是从放线菌代谢产物中提取的大环内酯类物质, 和其他免疫抑制剂相比有低毒性、低感染率等特点。他也可以通过抑制STAT3分子上丝氨酸的磷酸化来抑制JAK/STAT信号通路<sup>[50]</sup>。另外有学者证实肝星状细胞株LX-2转染STAT3-ASON(STAT3反义寡核苷酸)后可以阻断瘦素诱导的STAT3磷酸化从而有效阻滞此信号传导途径, 具有潜在的研究价值和临床应用前景<sup>[51]</sup>。通过各种阻断剂抑制活化的JAK/STAT信号传导将有可能成为肝纤维化治疗新的分子靶点和治疗策略之一。

## 6 NF- $\kappa$ B信号转导通路

核转录因子(nuclear transcription factor-kappa B, NF- $\kappa$ B)是一个重要的核转录因子, 在肝细胞、内皮细胞、HSCs都可检测到其活性。NF- $\kappa$ B具有多向性调节作用, 可调控多种基因的转录表达, 能够增强多种蛋白质分子表达, 从而阻止HSCs凋亡和促进HSCs存活与增殖<sup>[52-53]</sup>。NF- $\kappa$ B分子中发挥生理作用的形式主要为p50p65异二聚体。未活化的NF- $\kappa$ B存在于胞质中, 以p65亚基与I $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B的抑制蛋白)结合, 覆盖p50亚基上的核定位信号<sup>[54]</sup>。当HSCs受到TNF- $\alpha$ 等细胞因子刺激时, TNF- $\alpha$ 和HSCs细胞膜上的TNFR1结合, TNFR1在胞质区内募集TNFR1相关性死亡区域蛋白(TRADD), 后者接着募集TNF受体相关因子2(TRAF2)/TNF受体相关因子5(TRAF5), 进一步作用于受体间相互作用蛋白1(RIP1), 从而形成一个活化的信号复合体, 也叫I $\kappa$ B激酶IKK(I $\kappa$ B-kinase)<sup>[55]</sup>。IKK作用于NIK(NF- $\kappa$ B-inducing kinase), NIK是MAP3K家族中的成员之一, 可以磷酸化I $\kappa$ B使其与NF- $\kappa$ B解离, 从而导致NF- $\kappa$ B活化并移位入HSCs细胞核, 其亚基形成环状与DNA接触并启动基因转录<sup>[56]</sup>。另外NF- $\kappa$ B信号通路和TGF- $\beta$ 相关信号通路之间存在“交

流”<sup>[57-59]</sup>。NF- $\kappa$ B激活依赖I- $\kappa$ B的诱导降解, 而TGF- $\beta$ 可通过使I- $\kappa$ B更加稳定及NF- $\kappa$ B活性下降, 从而抑制HSC的凋亡。经实验发现抗氧化剂NAC(N-acetyl-L-cysteine, N-乙酰-L-半胱氨酸)可干扰NF- $\kappa$ B的信号转导。Hayakawa *et al*之前的研究认为NAC主要通过减少TNF和受体的亲和力来实现对NF- $\kappa$ B信号通路的抑制。最近的实验结果认为抗氧化剂NAC是通过减少ROS(活性氧)来抑制IKK的活化从而抑制TNF介导的NF- $\kappa$ B信号通路的<sup>[60]</sup>。我国学者赵宗豪 *et al*<sup>[61]</sup>使用NAC处理肝脏后, 发现表达NF- $\kappa$ B的HSCs数量明显减少, 肝纤维化程度显著减轻, 证明NAC抑制NF- $\kappa$ B的激活可缓解肝纤维化生成。有实验证明: 肾上腺皮质激素可通过增加I $\kappa$ B基因的表达, 来增强对NF- $\kappa$ B信号传导的抑制作用。MacMaster *et al*经研究证实, IKK特异抑制剂BMS-345541可通过对IKK磷酸化的抑制, 并主要通过对IKK2磷酸化的抑制来阻断NF- $\kappa$ B信号通路的传导<sup>[62]</sup>。另外Newton *et al*报道, 选择性IKK抑制剂PS-1145和MI120B也可以显著地抑制IL-1和TNF诱导的NF- $\kappa$ B的转录, 减轻肺上皮细胞的炎症反应<sup>[63]</sup>。有学者使用针对NF- $\kappa$ B通路中下游分子p50亚基mRNA的特异性siRNA也观察到了对NF- $\kappa$ B通路的抑制<sup>[64]</sup>。国内有学者用中药单体红景天甙处理经乙醛刺激激活的HSCs后发现: 乙醛处理HSC后, 胞质中I $\kappa$ B的含量与对照组相比下降明显, 而用红景天甙预处理后, 再用乙醛刺激, HSC中I $\kappa$ B的量与对照组相比无显著性差异, 说明红景天甙可以阻断乙醛引起的I $\kappa$ B的降解。考虑红景天甙可能通过阻断NIK或IKK的活化而阻止I $\kappa$ B的磷酸化或者直接通过阻止I $\kappa$ B的磷酸化而阻断I $\kappa$ B降解<sup>[65]</sup>。另外一些中药提取物如大黄(rhubarb)、白藜芦醇(resveratrol)、粉防己碱(tetrandrine)等经实验证明均可明显抑制NF- $\kappa$ B的活性。抑制HSCs中NF- $\kappa$ B活性后, HSCs凋亡增加, 肝纤维化进程可明显减缓, 但其分子机制未明。目前NF- $\kappa$ B信号通路的特异抑制剂大多仅限于实验室相关研究, 在临床上的意义还需要进一步观察。

## 7 Wnt信号通路

Wnt信号通路是近年来在分子生物学、细胞生物学和肿瘤研究中的一大热点。该通路的主要成分包括Wnt蛋白家族、Fz/LRP/低密度脂蛋白受体相关蛋白(Fz/LRP)、胞质内的Dsh(Dishevelled)蛋白、 $\beta$ -链蛋白( $\beta$ -catenin)、

糖原合成激酶3 $\beta$ (glycogen synthase kinase-3 $\beta$ , GSK-3 $\beta$ )、支架蛋白axin/conductin、结肠腺瘤性息肉病基因蛋白(adenomatous polyposis coli, APC)和T细胞因子/淋巴增强因子LEF/TCF(T cell factor/lymphoid enhancer factor)转录因子家族<sup>[66]</sup>。Wnt蛋白是一种富含半胱氨酸残基的分泌型糖蛋白,在进化过程中高度保守。Wnt蛋白表达是Wnt信号通路活化的重要起始信号。目前已知的主要有19种Wnt蛋白,参与Wnt经典信号通路的Wnt蛋白有Wnt1, 3a, 8等。参与非经典信号通路的Wnt蛋白有Wnt4, 5a, 11等<sup>[67]</sup>。Frizzled受体蛋白为7次跨膜蛋白,其氨基端的配体结合区(cysteine rich domain, CRD)富含半胱氨酸。Wnt信号通路包括经典和非经典信号通路。经典Wnt通路(canonical Wnt pathway)是通过调节LEF/TCF家族的DNA转录来调节细胞的行为的。其核心是胞质内 $\beta$ -catenin的稳定性。 $\beta$ -catenin水平低下时,Wnt通路关闭。当其水平较高时,Wnt通路开放<sup>[68]</sup>。 $\beta$ -catenin在细胞内水平受两组蛋白质的功能竞争调节。一组为降解蛋白类:结肠腺瘤性息肉病基因蛋白(adenomatous polyposis coli, APC)合体,由GSK3 $\beta$ 、Axin及APC蛋白组成;另一组为拮抗蛋白类,包括:Dsh、CKI(casein kinase lepton)、GSK3 $\beta$ 结合蛋白(GSK3 $\beta$  binding protein)。在正常未受刺激的细胞中无Wnt信号,胞质内 $\beta$ -catenin大部分与细胞膜上钙黏着蛋白结合使之附着于细胞骨架蛋白肌动蛋白上,介导同型胞间黏附。当Wnt通路活化时,Wnt与受体蛋白Frizzled结合并激活细胞内的CKI。CKI使Dsh磷酸化,释放GBP,结合与Axin蛋白联系的GSK3 $\beta$ ,从而抑制GSK3 $\beta$ 对 $\beta$ -catenin的磷酸化降解的作用使未磷酸化 $\beta$ -catenin在胞质中积累并转运到核中,破坏LEF/TCF转录调节因子家族与抑制蛋白GRO、GBP形成的复合蛋白体<sup>[69-70]</sup>。从而激活转录因子,进一步激活MYC基因、细胞周期蛋白CyclinD基因等开始进行转录,刺激细胞增殖。Zeng *et al*<sup>[71]</sup>通过研究发现了在静止及活化的HSCs中有15种Wnt基因的表达和7种Wnt受体基因(Frizzled基因)的表达,证明Wnt信号通路与肝星状细胞的活化及肝纤维化的发生密切相关。经典的Wnt信号转导通路的暂时激活主要在出生后肝脏正常生长、肝细胞再生、肝小叶分带、肝脏代谢和氧化应激反应过程中发挥着重要作用<sup>[72]</sup>。不通过 $\beta$ -catenin传递信号,而通过其他方式传递信号的称为非经典Wnt信号通路(no-canonical Wnt pathway)<sup>[73]</sup>。利用基因芯

片检测发现在体外培养的活化的HSCs中有Wnt非经典通路中的相关基因如Frizzled1、Wnt4、Wnt等表达水平不同程度上升,下游目的基因如Fgf18、Wisp1、Sox9及Twist等表达水平亦不同程度地上升,用RT-PCR对芯片结果进行了部分验证,与芯片检测结果一致。因此Wnt非经典途径在HSCs的表型转化中也有重要作用<sup>[74]</sup>。其中以Wnt/Ca<sup>2+</sup>途径研究相对深入。可能的传导步骤为:由Wnt5a和Wnt11激活,通过增加胞内Ca<sup>2+</sup>含量激活蛋白激酶C(protein kinase C, PKC)、磷脂酶C(phospholipase C, PLC)和转录因子NFAT, NFAT激活后进入HSCs细胞核调节HSCs基因转录<sup>[75]</sup>。另一条非经典信号转导通路叫极性通路(planar cell polarity pathway, PCP)。细胞极性通路主要通过激活Dsh下游区、小GTP酶、Rho、Rac、Cdc42等来发挥作用<sup>[76]</sup>。该通路主要参与细胞极性的建立和细胞骨架重排。需要指出的是:Wnt信号通路与其他信号通路存在相互“交流”。如:TGF- $\beta$ 经受体激活胞质中介质Smad,其中Smad4进入核后可与LEF/TCF转录调节因子协作激活有关靶基因。另外Wnt通路可激活PKC,而PKC可以促进NF- $\kappa$ B定位于核,启动炎症介质等细胞因子的转录<sup>[77-78]</sup>。Wnt信号通路在体内可自行调节,其自行调节是通过Wnt拮抗物实现的。Wnt拮抗物家族包括WIF-1(wnt inhibitory factor-1)、sFRP(Frizzled related protein)和Dickkopf-1。WIF-1是细胞外可和Wnt分泌蛋白结合并竞争抑制其信号传导的蛋白分子。sFRP是分泌型Frz相关蛋白(secreted frizzled-related proteins),他可能与Frz竞争结合Wnt蛋白,sFRP家族中的第一个成员sFRP1目前已被发现参与了人类多种肿瘤的发病过程<sup>[79]</sup>。Dickkopf1(DKK1)是一种分泌蛋白,其与Wnt受体LRP5/6及另一类穿膜蛋白Kremen1/2结合,形成三聚体,诱导快速的细胞内吞,减少细胞膜上的LRP5/6,由此阻断了Wnt信号向胞内的传递<sup>[80]</sup>。以上蛋白分子的基因转录是通过其他信号通路的激活实现的。其他的抑制蛋白还有Sizzled和Cerberus,他们直接与Wnt蛋白结合,通过竞争抑制阻止Wnt与受体蛋白复合物相连,使细胞质中的 $\beta$ -catenin由于磷酸化而不能积累,进而阻断了经典通路和非经典通路<sup>[81]</sup>。在实验中用WIF-1、sFRP和Dickkopf-1的基因转染均可导致Wnt信号通路的关闭,用药物(化疗药阿霉素、羟喜树碱、顺铂等)诱导WIF-1、sFRP和Dickkopf-1的基因表达也是近年国内外学者研究Wnt



通路的阻断方法之一<sup>[82]</sup>。另外国外学者发现非甾体类抗炎药舒林酸(Sulindac), 能显著降低细胞中 $\beta$ -catenin的蛋白水平, 抑制GSK3 $\beta$  9位丝氨酸的磷酸化, 而 $\beta$ -catenin的mRNA水平未见变化。认为舒林酸能够抑制Wnt通路, 促进 $\beta$ -catenin的蛋白降解<sup>[83]</sup>。抑制以上Wnt通路抑制因子目前在肿瘤的相关研究资料相对较多, 但是用其阻断Wnt通路后, 关于HSCs表型转化的特点和机制的研究还缺乏相关的资料。

## 8 结论

HSCs在肝纤维化过程中的核心作用已被广泛认识。近年来在使HSCs发生活化和表型转化的信号通路方面的认识有了新的提高。并发现各种可特异阻断这些信号通路的各种阻断剂及阻断措施。然而由于HSCs的激活和表型变化涉及许多信号通路。并且各条信号通路及信号分子之间存在相互“交流”, 形成了一个极其复杂的蛋白质分子作用网络。目前仅限于对同一信号通路及其阻断剂作用的初步探索。然而同一个细胞因子作用于HSCs要通过几种不同的信号通路, 这些信号通路之间的相互“交流”形成了这个细胞因子对HSCs的最后综合效应。并且由于大部分阻断剂均具有不同程度的细胞毒性, 要真正的运用到临床还需大量的研究改造和临床实验。能不能找到一种真正有效并且无细胞毒性的物质, 可以通过阻断HSCs细胞表型改变的综合信号传导来治疗肝纤维化? 这些将是我们下一步探索的目标。

## 9 参考文献

- 1 Yin MF, Lian LH, Piao DM, Nan JX. Tetrandrine stimulates the apoptosis of hepatic stellate cells and ameliorates development of fibrosis in a thioacetamide rat model. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 1214-1220
- 2 March S, Graupera M, Rosa Sarrias M, Lozano F, Pizcueta P, Bosch J, Engel P. Identification and functional characterization of the hepatic stellate cell CD38 cell surface molecule. *Am J Pathol* 2007; 170: 176-187
- 3 Feng XH, Derynck R. A kinase subdomain of transforming growth factor-beta (TGF-beta) type I receptor determines the TGF-beta intracellular signaling specificity. *EMBO J* 1997; 16: 3912-3923
- 4 郭永红, 罗金燕. TGF- $\beta$ 超家族与Smad信号转导研究进展. *医学综述* 2005; 11: 685-688
- 5 Stopa M, Benes V, Ansorge W, Gressner AM, Dooley S. Genomic locus and promoter region of rat Smad7, an important antagonist of TGFbeta signaling. *Mamm Genome* 2000; 11: 169-176
- 6 Ghosh AK, Yuan W, Mori Y, Varga J. Smad-dependent stimulation of type I collagen gene expression in human skin fibroblasts by TGF-beta involves functional cooperation with p300/CBP transcriptional coactivators. *Oncogene* 2000; 19: 3546-3555
- 7 Ghosh AK, Yuan W, Mori Y, Chen Sj, Varga J. Antagonistic regulation of type I collagen gene expression by interferon-gamma and transforming growth factor-beta. Integration at the level of p300/CBP transcriptional coactivators. *J Biol Chem* 2001; 276: 11041-11048
- 8 He J, Tegen SB, Krawitz AR, Martin GS, Luo K. The transforming activity of Ski and SnoN is dependent on their ability to repress the activity of Smad proteins. *J Biol Chem* 2003; 278: 30540-30547
- 9 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
- 10 Kaimori A, Potter J, Kaimori JY, Wang C, Mezey E, Koteish A. Transforming growth factor-beta1 induces an epithelial-to-mesenchymal transition state in mouse hepatocytes in vitro. *J Biol Chem* 2007; 282: 22089-22101
- 11 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
- 12 Inagaki Y, Kushida M, Higashi K, Itoh J, Higashiyama R, Hong YY, Kawada N, Namikawa K, Kiyama H, Bou-Gharios G, Watanabe T, Okazaki I, Ikeda K. Cell type-specific intervention of transforming growth factor beta/Smad signaling suppresses collagen gene expression and hepatic fibrosis in mice. *Gastroenterology* 2005; 129: 259-268
- 13 曾维政, 吴晓玲, 蒋明德, 王丕龙, 褚桂珍. 红景天甙对肝纤维化大鼠肝组织CBP、Smad基因表达的影响. *世界华人消化杂志* 2005; 13: 341-345
- 14 Aggarwal BB, Sundaram C, Malani N, Ichikawa H. Curcumin: the Indian solid gold. *Adv Exp Med Biol* 2007; 595: 1-75
- 15 Zhang XL, Liu JM, Yang CC, Zheng YL, Liu L, Wang ZK, Jiang HQ. Dynamic expression of extracellular signal-regulated kinase in rat liver tissue during hepatic fibrogenesis. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 6376-6381
- 16 Seger R, Krebs EG. The MAPK signaling cascade. *FASEB J* 1995; 9: 726-735
- 17 Jiang MD, Zheng SM, Xu H, Zeng WZ, Zhang Y, Sun HP, Wang YX, Qin JP, Wu XL. An experimental study of extracellular signal-regulated kinase and its interventional treatments in hepatic fibrosis. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2008; 7: 51-57
- 18 Wellbrock C, Karasarides M, Marais R. The RAF proteins take centre stage. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2004; 5: 875-885
- 19 Chuderland D, Seger R. Protein-protein interactions in the regulation of the extracellular signal-regulated kinase. *Mol Biotechnol* 2005; 29: 57-74
- 20 Reeves HL, Friedman SL. Activation of hepatic stellate cells--a key issue in liver fibrosis. *Front Biosci* 2002; 7: d808-d826
- 21 Qiang H, Lin Y, Zhang X, Zeng X, Shi J, Chen YX, Yang MF, Han ZG, Xie WF. Differential expression genes analyzed by cDNA array in the regulation of rat hepatic fibrogenesis. *Liver Int* 2006; 26: 1126-1137
- 22 Marra F, Arrighi MC, Fazi M, Caligiuri A, Pinzani M, Romanelli RG, Efsen E, Laffi G, Gentilini P. Extracellular signal-regulated kinase activation

- differentially regulates platelet-derived growth factor's actions in hepatic stellate cells, and is induced by in vivo liver injury in the rat. *Hepatology* 1999; 30: 951-958
- 23 Saxena NK, Titus MA, Ding X, Floyd J, Srinivasan S, Sitaraman SV, Anania FA. Leptin as a novel profibrogenic cytokine in hepatic stellate cells: mitogenesis and inhibition of apoptosis mediated by extracellular regulated kinase (Erk) and Akt phosphorylation. *FASEB J* 2004; 18: 1612-1614
  - 24 Novo E, Cannito S, Zamara E, Valfrèdi Bonzo L, Caligiuri A, Cravanzola C, Compagnone A, Colombatto S, Marra F, Pinzani M, Parola M. Proangiogenic cytokines as hypoxia-dependent factors stimulating migration of human hepatic stellate cells. *Am J Pathol* 2007; 170: 1942-1953
  - 25 Cao Q, Mak KM, Lieber CS. DLPC decreases TGF-beta1-induced collagen mRNA by inhibiting p38 MAPK in hepatic stellate cells. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2002; 283: G1051-G1061
  - 26 Pinzani M, Marra F, Caligiuri A, DeFranco R, Gentilini A, Failli P, Gentilini P. Inhibition by pentoxifylline of extracellular signal-regulated kinase activation by platelet-derived growth factor in hepatic stellate cells. *Br J Pharmacol* 1996; 119: 1117-1124
  - 27 陈达凡, 李建英, 郑伟达, 王小众. ERK信号通路与肝纤维化. *国际消化病杂志* 2007; 27: 370-391
  - 28 Allen LF, Sebolt-Leopold J, Meyer MB. CI-1040 (PD184352), a targeted signal transduction inhibitor of MEK (MAPKK). *Semin Oncol* 2003; 30: 105-116
  - 29 Davies BR, Logie A, McKay JS, Martin P, Steele S, Jenkins R, Cockerill M, Cartledge S, Smith PD. AZD6244 (ARRY-142886), a potent inhibitor of mitogen-activated protein kinase/extracellular signal-regulated kinase 1/2 kinases: mechanism of action in vivo, pharmacokinetic/pharmacodynamic relationship, and potential for combination in preclinical models. *Mol Cancer Ther* 2007; 6: 2209-2219
  - 30 Nagaoka T, Gebb SA, Karoor V, Homma N, Morris KG, McMurtry IF, Oka M. Involvement of RhoA/Rho kinase signaling in pulmonary hypertension of the fawn-hooded rat. *J Appl Physiol* 2006; 100: 996-1002
  - 31 Gosens R, Schaafsma D, Grootte Bromhaar MM, Vrugt B, Zaagsma J, Meurs H, Nelemans SA. Growth factor-induced contraction of human bronchial smooth muscle is Rho-kinase-dependent. *Eur J Pharmacol* 2004; 494: 73-76
  - 32 项蔷薇, 罗运春. 小G蛋白Rho/Rock信号转导通路与哮喘. *医学综述* 2006; 12: 776-778
  - 33 Brown JH, Del Re DP, Sussman MA. The Rac and Rho hall of fame: a decade of hypertrophic signaling hits. *Circ Res* 2006; 98: 730-742
  - 34 Murata T, Arii S, Mori A, Imamura M. Therapeutic significance of Y-27632, a Rho-kinase inhibitor, on the established liver fibrosis. *J Surg Res* 2003; 114: 64-71
  - 35 王玉珍, 姜慧卿, 危彩霞, 陈新. 法舒地尔通过Rho/ROCK信号通路抑制肝星状细胞粘附、迁移和增殖. *中华肝脏病杂志* 2006; 14: 821-823
  - 36 Gelosa P, Cimino M, Pignieri A, Tremoli E, Guerrini U, Sironi L. The role of HMG-CoA reductase inhibition in endothelial dysfunction and inflammation. *Vasc Health Risk Manag* 2007; 3: 567-577
  - 37 吴晓玲, 曾维政, 蒋明德, 秦建平, 徐辉, 王钊. 红景天贰对肝纤维化大鼠肝组织ROCK表达的影响. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 765-769
  - 38 Ueno Y, Francis H, Glaser S, Demorrow S, Venter J, Benedetti A, Fava G, Marzioni M, Alpini G. Taurocholic acid feeding prevents tumor necrosis factor-alpha-induced damage of cholangiocytes by a PI3K-mediated pathway. *Exp Biol Med* (Maywood) 2007; 232: 942-949
  - 39 富翠芹, 王沁, 尹蓉, 武令启. PI-3K信号转导通路在肝癌细胞生长和黏附中的作用. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 1493-1498
  - 40 Lechuga CG, Hernández-Nazara ZH, Hernández E, Bustamante M, Desierto G, Cotty A, Dharker N, Choe M, Rojkind M. PI3K is involved in PDGF-beta receptor upregulation post-PDGF-BB treatment in mouse HSC. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2006; 291: G1051-G1061
  - 41 de Abreu LA, Fabres A, Esteves E, Masuda A, da Silva Vaz I Jr, Daffre S, Logullo C. Exogenous insulin stimulates glycogen accumulation in Rhipicephalus (Boophilus) microplus embryo cell line BME26 via PI3K/AKT pathway. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol* 2009; 153: 185-190
  - 42 Araki N, Hamasaki M, Egami Y, Hatae T. Effect of 3-methyladenine on the fusion process of macropinosomes in EGF-stimulated A431 cells. *Cell Struct Funct* 2006; 31: 145-157
  - 43 Carracedo A, Ma L, Teruya-Feldstein J, Rojo F, Salmena L, Alimonti A, Egia A, Sasaki AT, Thomas G, Kozma SC, Papa A, Nardella C, Cantley LC, Baselga J, Pandolfi PP. Inhibition of mTORC1 leads to MAPK pathway activation through a PI3K-dependent feedback loop in human cancer. *J Clin Invest* 2008; 118: 3065-3074
  - 44 Lane HA, Lebowitz D. Future directions in the treatment of hormone-sensitive advanced breast cancer: the RAD001 (Everolimus)-letrozole clinical program. *Semin Oncol* 2006; 33: S18-S25
  - 45 Won HH, Park I, Lee E, Kim JW, Lee D. Comparative analysis of the JAK/STAT signaling through erythropoietin receptor and thrombopoietin receptor using a systems approach. *BMC Bioinformatics* 2009; 10 Suppl 1: S53
  - 46 Bromberg J, Darnell JE Jr. The role of STATs in transcriptional control and their impact on cellular function. *Oncogene* 2000; 19: 2468-2473
  - 47 Martínez-Chantar ML, Vázquez-Chantada M, Ariz U, Martínez N, Varela M, Luka Z, Capdevila A, Rodríguez J, Aransay AM, Matthiesen R, Yang H, Calvisi DF, Esteller M, Fraga M, Lu SC, Wagner C, Mato JM. Loss of the glycine N-methyltransferase gene leads to steatosis and hepatocellular carcinoma in mice. *Hepatology* 2008; 47: 1191-1199
  - 48 牛丽文, 曹琦. JAK/STAT途径调节瘦素诱导的肝星状细胞I型胶原基因的表达. *中国药理学通报* 2007; 23: 1280-1285
  - 49 姚胜, 姚永明, 李红云, 董宁, 于燕, 梁华平. 抑制JAK/STAT通路对烫伤后金黄色葡萄球菌脓毒症大鼠肝损害的影响. *中国危重病急救医学* 2002; 14: 336-339
  - 50 Zhang Q, Nowak I, Vonderheid EC, Rook AH, Kadin ME, Nowell PC, Shaw LM, Wasik MA. Activation of Jak/STAT proteins involved in signal transduction pathway mediated by receptor for interleukin 2 in malignant T lymphocytes derived from cutaneous anaplastic large T-cell lymphoma and Sezary syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996; 93: 9148-9153
  - 51 Cao Q, Mak KM, Ren C, Lieber CS. Leptin



- stimulates tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in human hepatic stellate cells: respective roles of the JAK/STAT and JAK-mediated H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-dependant MAPK pathways. *J Biol Chem* 2004; 279: 4292-4304
- 52 于洪波, 姚登福. 核转录因子 $\kappa$ B活化途径干预对肝细胞癌变的影响. *中国临床药理学与治疗学* 2008; 13: 228-233
- 53 Tsuka N, Motokawa M, Kaku M, Kawata T, Fujita T, Ohtani J, Koseki H, Sunagawa H, Matsuda Y, Abedini S, Hayashi H, Tanne K. Fms-like tyrosine kinase (Flt)-4 signaling participates in osteoclast differentiation in osteopetrotic (op/op) mice. *Biomed Res* 2009; 30: 31-37
- 54 李勇, 张培建, 金成. NF- $\kappa$ B与肝脏缺血再灌注损伤的研究进展. *中国现代普通外科进展* 2008; 11: 228-232
- 55 Micheau O, Tschopp J. Induction of TNF receptor I-mediated apoptosis via two sequential signaling complexes. *Cell* 2003; 114: 181-190
- 56 赵进军, 吕志平, 张绪富. 核转录因子在肝星状细胞激活中的作用. *中华肝脏病杂志* 2002; 10: 227-228
- 57 巨立中, 成军, 钟彦伟. 核因子 $\kappa$ B的信号转导机制及研究策略. *世界华人消化杂志* 2004; 12: 948-950
- 58 Ethridge RT, Hashimoto K, Chung DH, Ehlers RA, Rajaraman S, Evers BM. Selective inhibition of NF-kappaB attenuates the severity of cerulein-induced acute pancreatitis. *J Am Coll Surg* 2002; 195: 497-505
- 59 甄真, 宋慧娟, 李武军, 赵彩彦, 周俊英. NF- $\kappa$ B和TNF- $\alpha$ 在暴发性肝衰竭肝组织中的表达及其意义. *中国组织化学与细胞化学杂志* 2008; 17: 45-48
- 60 Yang J, Su Y, Richmond A. Antioxidants tiron and N-acetyl-L-cysteine differentially mediate apoptosis in melanoma cells via a reactive oxygen species-independent NF-kappaB pathway. *Free Radic Biol Med* 2007; 42: 1369-1380
- 61 赵宗豪, 梅俏, 吴军, 胡咏梅, 徐新华, 许建明. 核转录因子- $\kappa$ B与大鼠肝纤维化关系的实验研究. *安徽医学* 2003; 24: 1-3
- 62 MacMaster JF, Dambach DM, Lee DB, Berry KK, Qiu Y, Zusi FC, Burke JR. An inhibitor of IkappaB kinase, BMS-345541, blocks endothelial cell adhesion molecule expression and reduces the severity of dextran sulfate sodium-induced colitis in mice. *Inflamm Res* 2003; 52: 508-511
- 63 Newton R, Holden NS, Catley MC, Oyelusi W, Leigh R, Proud D, Barnes PJ. Repression of inflammatory gene expression in human pulmonary epithelial cells by small-molecule IkappaB kinase inhibitors. *J Pharmacol Exp Ther* 2007; 321: 734-742
- 64 田芳, 宋敏, 许培荣, 刘红涛, 薛乐勋. siRNA阻断NF- $\kappa$ B信号通路联合5-FU对食管鳞癌细胞凋亡的促进作用. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 1716-1721
- 65 蒋明德, 甘新宇, 解方为, 曾维政, 吴晓玲. 红景天苷对乙醛刺激的大鼠肝星状细胞增殖及胶原基因表达的影响. *药学报* 2002; 37: 841-844
- 66 Shimizu T, Kagawa T, Inoue T, Nonaka A, Takada S, Aburatani H, Taga T. Stabilized beta-catenin functions through TCF/LEF proteins and the Notch/RBP-Jkappa complex to promote proliferation and suppress differentiation of neural precursor cells. *Mol Cell Biol* 2008; 28: 7427-7441
- 67 Gordon MD, Nusse R. Wnt signaling: multiple pathways, multiple receptors, and multiple transcription factors. *J Biol Chem* 2006; 281: 22429-22433
- 68 Kriehoff E, Behrens J, Mayr B. Nucleo-cytoplasmic distribution of beta-catenin is regulated by retention. *J Cell Sci* 2006; 119: 1453-1463
- 69 Mi K, Dolan PJ, Johnson GV. The low density lipoprotein receptor-related protein 6 interacts with glycogen synthase kinase 3 and attenuates activity. *J Biol Chem* 2006; 281: 4787-4794
- 70 DasGupta R, Kaykas A, Moon RT, Perrimon N. Functional genomic analysis of the Wnt-wingless signaling pathway. *Science* 2005; 308: 826-833
- 71 Zeng G, Awan F, Otruba W, Muller P, Apte U, Tan X, Gandhi C, Demetris AJ, Monga SP. Wnt'er in liver: expression of Wnt and frizzled genes in mouse. *Hepatology* 2007; 45: 195-204
- 72 张影, 张福奎, 王宝恩. 经典Wnt信号通路与肝脏关系的研究进展. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 975-981
- 73 Tsukamoto H, She H, Hazra S, Cheng J, Miyahara T. Anti-adipogenic regulation underlies hepatic stellate cell transdifferentiation. *J Gastroenterol Hepatol* 2006; 21 Suppl 3: S102-S105
- 74 Veeman MT, Axelrod JD, Moon RT. A second canon. Functions and mechanisms of beta-catenin-independent Wnt signaling. *Dev Cell* 2003; 5: 367-77
- 75 Jiang F, Parsons CJ, Stefanovic B. Gene expression profile of quiescent and activated rat hepatic stellate cells implicates Wnt signaling pathway in activation. *J Hepatol* 2006; 45: 401-409
- 76 Karner C, Wharton KA Jr, Carroll TJ. Planar cell polarity and vertebrate organogenesis. *Semin Cell Dev Biol* 2006; 17: 194-203
- 77 Habas R, Dawid IB, He X. Coactivation of Rac and Rho by Wnt/Frizzled signaling is required for vertebrate gastrulation. *Genes Dev* 2003; 17: 295-309
- 78 Labbe E, Letamendia A, Attisano L. Association of Smads with lymphoid enhancer binding factor 1/T cell-specific factor mediates cooperative signaling by the transforming growth factor-beta and wnt pathways. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000; 97: 8358-8363
- 79 Habas R, He X. Activation of Rho and Rac by Wnt/frizzled signaling. *Methods Enzymol* 2006; 406: 500-511
- 80 Wang J, Shou J, Chen X. Dickkopf-1, an inhibitor of the Wnt signaling pathway, is induced by p53. *Oncogene* 2000; 19: 1843-1848
- 81 Lodygin D, Epanchintsev A, Menssen A, Diebold J, Hermeking H. Functional epigenomics identifies genes frequently silenced in prostate cancer. *Cancer Res* 2005; 65: 4218-4227
- 82 Hu YA, Gu X, Liu J, Yang Y, Yan Y, Zhao C. Expression pattern of Wnt inhibitor factor 1(Wif1) during the development in mouse CNS. *Gene Expr Patterns* 2008; 8: 515-522
- 83 Koornstra JJ, Rijcken FE, Oldenhuis CN, Zwart N, van der Sluis T, Hollema H, deVries EG, Keller JJ, Offerhaus JA, Giardiello FM, Kleibeuker JH. Sulindac inhibits beta-catenin expression in normal-appearing colon of hereditary nonpolyposis colorectal cancer and familial adenomatous polyposis patients. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005; 14: 1608-1612

编辑 李军亮 电编 吴鹏朕