

P-Smad 3 在胆道闭锁肝纤维化中的作用机制研究

丁美云¹ 高 婷² 卫园园² 赵 丽² 詹江华²

【摘要】 目的 研究转化生长因子- β 1 (Transforming growth factor- β 1, TGF- β 1)、促纤维化通路中 TGF- β 1、P-Smad3 等通路蛋白在胆道闭锁(Biliary atresia, BA)肝纤维化进程中的作用机制。**方法** 选取 2010 年 1 月到 2015 年 7 月我们收治的胆管扩张症肝活检病例 10 例,为胆扩组;BA 肝活检病例 19 例,为 Kasai 组;BA 晚期肝移植患者自体肝活检病例 11 例,为移植组 11 例。进行苏木素/伊红(HE)、马松(Masson)染色观察肝标本纤维化评价其纤维化程度,免疫组化(Immunohistochemistry, IHC)染色检测 TGF- β 1、Smad2-4、P-Smad2-3 及人纤溶酶原激活物抑制因子 1(PAI-1)在肝组织中的表达,结合 BA 肝纤维化病理分级标准探讨 TGF- β 1 等通路蛋白在肝纤维化进程中的作用。**结果** HE 及 Masson:胆扩组偶见纤维细胞增生,Kasai 组胶原纤维增生、桥接纤维化现象显著,移植组假小叶显著。免疫组化:①定性分析:胆扩组肝内 Smad 2、Smad 4、PAI-1 为阳性表达,其余为弱阳性;Kasai 组 TGF- β 1 等蛋白均在肝细胞胞质阳性表达,P-Smad 2、P-Smad 3、Smad 4 在胞核亦呈阳性表达;移植组患儿肝内 TGF- β 1 等蛋白皆为弱阳性表达。②半定量分析:三组中 Kasai 组 TGF- β 1、Smad 3、P-Smad 3 及 PAI-1 含量表达明显高于其他两组($P < 0.05$),随着 TGF- β 1、Smad3、P-Smad3 及 PAI-1 逐渐升高肝纤维化逐渐加重;P-Smad3 与 PAI-1 含量大小及变化幅度密切相关,促肝纤维化作用显著;Smad2、P-Smad2、Smad4 组间无差异,在通路中连接相关蛋白。移植组 TGF- β 1 等通路蛋白含量均少于 Kasai 组,随着肝硬化加重而逐渐减少。**结论** BA 肝内 TGF- β 1 促纤维化通路中 TGF- β 1、Smad3 显著促进肝纤维化,P-Smad3 与肝纤维化进程密切相关。

【关键词】 胆道闭锁;转化生长因子 β 1;肝/病理学;研究

The study on mechanism of p-smad3 in hepatic fibrosis of biliary atresia. DING Mei-yun, GAO Ting, WEI Yuan-yuan, et al. 1, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China; 2, Tianjin Children Hospital, Tianjin 300134, China

【Abstract】 Objective To observe the function of TGF- β 1 and P-Smad3 etc in TGF- β 1 signal pathways in liver fibrosis of biliary atresia. **Methods** Liver biopsy specimens were collected from congenital biliary dilatation (CBD group, $n = 10$), biliary atresia patients who had Kasai procedure (Early hepatic fibrosis group, $n = 19$), liver transplantation (transplantation group, $n = 11$), the first two groups were collected from Jan. 2010 to Jul. 2015 in Tianjin childrens' hospital, the last group was collected from Jan. 2013 to Jan. 2014 in Tianjin first central hospital. The hematoxylin & eosin staining were used to observe the degree of liver fibrosis of every single sample, immunohistochemistry were used to observe the expression of TGF- β 1、Smad 2-4、P-Smad 2~3 and PAI-1 in liver tissues of these samples. **Results** HE and Masson: the CBD group had mild fiber cells hyperplasia, the Kasai group had Proliferation of collagen fibers and bridging fibrosis phenomenon, the transplantation group had significant pseudolobule. Immunohistochemistry: ①qualitative analysis: in the CBD group, Smad 2, Smad 4, PAI-1 expression is positive, the rest is weakly positive; in the Kasai group, the all proteins in the TGF- β 1 signal pathways expressed in the liver cytoplasm, P-Smad 2, P-Smad 3, Smad 4 expression was also found in the nucleus; in the liver transplantation group, the expression of all proteins in the TGF- β 1 signal pathways were weakly positive. ②semi-quantitative analysis; The level of TGF- β 1、Smad 3、P-Smad 3 and PAI

doi:10.3969/j.issn.1671-6353.2016.01.009

基金项目:1,天津市卫计委重点攻关项目,项目号:14KG129,2,天津市卫生局重点项目,项目号:2014KR09;3,国家自然科学基金项目,项目号:81570471。

作者单位:1,天津医科大学研究生院(天津市,300070),2,天津市儿童医院外科(天津市,300134),通讯作者:詹江华。

-1 in the Kasai group have a significant rise than the other groups($P < 0.05$), the hepatic fibrosis is becoming serious with the rise of TGF- β 1、Smad 3、P-Smad 3 and PAI-1, at the same time The correlation between P-Smad 3 and PAI-1 was remarkable. there were no difference of Smad 2、P-Smad 2、Smad 4 between these groups($P > 0.05$). All of the proteins in the TGF- β 1 signal pathways were decreased in transplantation group ($P < 0.05$). **Conclusions** TGF- β 1 and Smad 3 made a contribution to liver fibrosis in the early stage of biliary atresia, and P-Smad 3 is closely related with the progress of liver fibrosis.

[Key words] Biliary Atresia; Transforming Growth Factor beta1; Liver/PA; Research

胆道闭锁(Biliary atresia, BA)是一种发生于胚胎期、婴幼儿期病因未明的胆道梗阻性疾病,患儿肝脏随胆道梗阻呈进行性纤维化改变。目前临床上已通过 Kasai 手术解决胆道梗阻问题,但肝纤维化却无法终止,最终进展至肝硬化、肝衰竭,是危及 BA 患儿生命的难题^[1,2]。有研究认为 TGF- β 1 蛋白能够活化肌成纤维细胞、激活 TGF- β 1 促纤维化通路,从而诱导 BA 患儿肝内细胞外基质增殖,细胞外基质增殖失衡是肝纤维化的重要特征^[3]。TGF- β 1 促纤维化信号通路在肝、肾等众多器官纤维化进程中产生作用,其对 BA 患儿肝纤维化的作用尚不十分清晰。本研究检测 BA 患儿肝内 TGF- β 1 促纤维化通路中 TGF- β 1、Smad 2~4、P-Smad 2~3 及产物蛋白人纤溶酶原激活物抑制因子 1(PAI-1)的表达,结合前期对 BA 肝纤维化病理分级的研究,探讨蛋白水平 TGF- β 1 通路对 BA 肝纤维化的作用。

材料与方 法

一、标本来源与分组

收集天津市儿童医院 2010 年 1 月至 2015 年 7

月收治的胆管扩张症患者术中肝组织 10 例,命名为胆扩组,其中男 3 例,女 7 例,为对照组;BA 患儿 Kasai 术时肝活检组织 19 例,命名为 Kasai 组,其中男 11 例,女 8 例,为实验组。另外收集天津市第一中心医院 2013 年 1 月至 2015 年 1 月 BA 肝移植患儿自体肝活检 11 例,命名为移植组,以做对比研究,其中男 6 例,女 5 例,均经历过 Kasai 手术。本实验经天津市儿童医院及天津市第一中心医院伦理委员会审查通过。

二、研究方法

(一) 标本处理

术中取各组患儿肝右叶前缘为活检标本,用 10% 福尔马林溶液固定 8~24 h 后经石蜡包埋储存,所有过程均处于同一实验条件。

(二) HE、Masson 染色

1. 将已包埋肝脏蜡块切成 4 mm 厚切片分别经 HE、Masson 染色(经典染色法),由经验丰富的病理科医生在 10×10 倍、40×10 倍光学显微镜下观察肝组织细胞发育、肝纤维化程度。

2. 混合 Kasai 组、移植组 HE 切片,由病理科医生依据表 1 分级方法随机对每张切片进行分级。

表 1 BA 肝纤维化分级评价标准^[3]

分级	肝组织表现
0	门管区无增宽,界板结构清晰;P-P 区无纤维组织增生
1	门管区增宽至 3 倍大小,界板可见;几乎全部 P-P 区纤维组织增生,桥接宽度 < 1/3 门管区宽度。
2	门管区增宽至 4 倍大小,界板模糊或坏死;全部 P-P 区纤维桥接,桥接宽度 > 1/3 门管区宽度
3	门管区增宽 > 4 倍大小,界板消失;P-P 区重度桥接,宽度 > 2/3 门管区宽度,偶见假小叶形成,可能肝硬化
4	门管区增宽至无法界定,假小叶 1~3 个/视野,间质大量畸形胆管,纤维细胞呈幼稚型
5	门管区增宽至无法界定,假小叶 4~6 个/视野,间质炎细胞、纤维细胞等长入胆管,纤维细胞较成熟
6	门管区增宽至无法界定,假小叶 ≥ 7 个/视野,超过半数胆管发生纤维化闭塞,炎细胞散在,大量瘢痕组织

3. 免疫组化染色

(1) 抗体均购于北京博奥生物技术有限公司,全部采用 S-P 两步法、兔抗人抗体:TGF- β 1(1:100)、Smad 2(1:200)、Smad 3(1:200)、P-Smad 2(1:200)、P-Smad 3(1:200)、Smad 4(1:200)、PAI-1(1:200),在低倍镜(10×)下观察切片染色(棕色)区

域,高倍镜(40×)下辨别不同阳性细胞及表达情况。

(2) 免疫组化阳性标准^[4]: ①定性分析:根据染色强度分为,无棕黄色(-);淡棕黄色(+);棕黄色(++);棕褐色(+++)。根据阳性细胞数判断大体阳性细胞率,无阳性细胞数为(-);阳性细胞 ≤ 10% 为(+);阳性细胞数在 11%~50% 为(+)

+) ; 阳性细胞数 > 50% 为 (+++)。本研究中规定 (-) 为 0 分, 每一个 (+) 为 1 分, 根据着色结果将组织阳性程度评分。0 分为阴性, 1 ~ 2 分为弱阳性, 3 ~ 4 为阳性, 5 ~ 6 为强阳性。②半定量分析: 肝组织阳性细胞位置/阳性面积求得平均光密度值 (AOD)。每张切片阳性部位处随机选取 5 张视野, 用同一计算机成像系统留取 10 × 10 倍显微镜下图片, IPP (Image pro-plus) 6.0 分析图片计算 TGF-β1 等蛋白平均光密度值。

三、统计学处理

本文数据经检验为正态分布, 使用方差分析两两比较, 结果表现为平均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$), 检验水准 $\alpha = 0.05$ 。用 Microsoft Excel 2007 (Microsoft Corp, Redmond, Wash) 和 SPSS15.0 (SPSS Inc, Chica-

go, Ill) 进行数据处理和统计分析。

结果

一、TGF-β1 通路蛋白半定量分析

TGF-β1 通路蛋白半定量表达结果见表 2。①三组中 Kasai 组 TGF-β1、Smad 3、P-Smad 3 及 PAI-1 含量表达明显高于其他两组 ($P < 0.05$), Smad 2 在各组间表达无差异, P-Smad 2、Smad 4 仅 Kasai 组与移植组间有差异。②分析肝内 TGF-β1 通路蛋白之间关系 (图 1), 显示肝内 TGF-β1 比例最高, Smad 2 与 P-Smad 2 含量相当, Smad 3 约为 P-Smad 3 含量的 2 倍, 而 P-Smad 3 与 PAI-1 含量相当。③与胆扩组和 Kasai 组相比, TGF-β1 通路蛋白在移植组均

表 2 三组肝内 TGF-β1 等通路蛋白半定量表达 ($n = 40$ 例, $\bar{x} \pm s$)

分组	TGF-β1	Smad 2	Smad 3	P-Smad 2	P-Smad 3	Smad 4	PAI-1
胆扩组	0.052 ± 0.015	0.045 ± 0.030	0.009 ± 0.009	0.031 ± 0.022	0.004 ± 0.003	0.030 ± 0.018	0.002 ± 0.001
Kasai 组	0.077 ± 0.017 ^{a,b}	0.045 ± 0.023	0.040 ± 0.017 ^{a,b}	0.043 ± 0.020 ^b	0.017 ± 0.008 ^{a,b}	0.035 ± 0.014 ^b	0.013 ± 0.009 ^{a,b}
移植组	0.041 ± 0.030	0.026 ± 0.020	0.022 ± 0.010	0.010 ± 0.007	0.007 ± 0.007	0.012 ± 0.007	0.005 ± 0.004
P 值	<0.05	>0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

注: a 表示与胆扩组相比; b 表示与移植组相比。

大量减少。

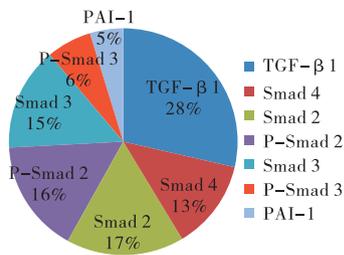
二、Kasai 组肝内 TGF-β1 通路蛋白定性表达

镜下见 TGF-β1 等蛋白均在胞质强阳性表达, P-Smad 2、P-Smad 3、Smad 4 在胞核亦呈阳性表达, 见图 2。TGF-β1 等蛋白在胞膜表达情况不十分清晰, 可能由于胞质蛋白阳性表达而掩盖了其在胞膜的情况。TGF-β1 在胞质阳性, 胞核阴性, 胞膜表达欠清, Smad 2、Smad 3、PAI-1 表达情况与之类同 (图 2a); P-Smad 3 胞质阳性, 胞核阳性, 胞膜未见表达,

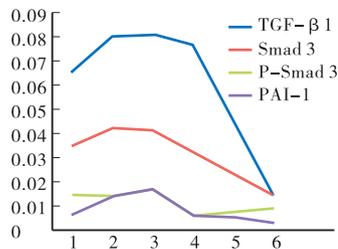
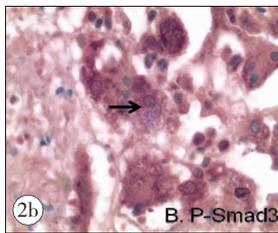
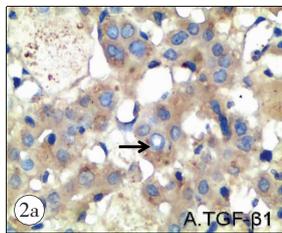
P-Smad 2、Smad 4 表达情况与之类同 (图 2b)。

三、TGF-β1 通路蛋白与 BA 肝纤维化分级的关系

依据表 1 将 Kasai 组、移植组共 30 例患儿肝切片进行分级, Kasai 组患儿肝纤维化程度分布于 1 ~ 3 级, 移植组分布于 4 ~ 6 级, 1 ~ 6 级肝纤维化程度逐渐加重。TGF-β1 通路蛋白含量在各级皆为正态分布 (图 3)。①1 ~ 3 级 TGF-β1、Smad 3、P-Smad 3 及 PAI-1 逐渐增多在 3 级处升至最高, P-Smad 3 与



①



③

图 1 Kasai 组 TGF-β1 等通路蛋白半定量均值比例; 图 2 BA 肝细胞蛋白表达情况示例; 图 3 BA 肝内 TGF-β1 等通路蛋白含量与肝纤维化程度的关系

PAI-1 含量大小及幅度关系密切; P-Smad 2、Smad 4 逐渐升高至 2 级最高, 随后下降; Smad 2 呈波浪形变化无明显规律。②4 ~ 6 级肝硬化逐渐加重, 可见 TGF-β1 等通路蛋白含量少于 1 ~ 3 级, 逐渐下降。

讨论

在肝纤维化进程中, TGF-β1 蛋白与其受体结

合后诱导肝细胞胞质内 Smad 2/3 磷酸化生成 P-Smad 2/3, P-Smad 2/3 结合 Smad 4 形成一个络合物, 向细胞核移动启动细胞外基质蛋白的基因转录, 增加 PAI-1 等一系列蛋白表达而促进肝纤维化进程^[4,5]。Tatiana^[6]证明 TGF- β 1、Smad 3 在 BA 小鼠模型及人肝内有显著表达, 然而通路 TGF- β 1 等蛋白对 BA 肝纤维化进展的作用尚未见具体研究。丁美云^[7]报道了 BA 肝纤维化进程分级, 本研究结合已发表的“BA 肝纤维化分级标准”探讨 TGF- β 1 促纤维化通路对 BA 肝纤维化的作用。

一、TGF- β 1 促纤维化通路蛋白在 BA 肝纤维化进程中的作用

TGF- β 1 促纤维化通路蛋白包含 TGF- β 1、Smad 2-4、P-Smad 2-3 及其产物 PAI-1 等^[4]。本实验以胆管扩张患儿为对照, 检测 BA 患儿肝内 TGF- β 1 等通路蛋白表达, 可见 BA 患儿肝内 TGF- β 1、Smad 3、P-Smad 3 及 PAI-1 表达显著增高, Smad 2、P-Smad 2、Smad 4 的表达皆与胆扩组无差异。胆管扩张患儿与 BA 患儿皆为胆管病变, 且肝内有类似的炎症损伤, 胆管扩张患儿几乎无肝纤维化表现, 而 BA 患儿肝纤维化较重, 因此 BA 患儿肝内增高的 TGF- β 1 等通路蛋白可能与其较重的肝纤维化程度有关。有作者报道 BA 肝纤维化由轻到重的病理分级(表 1 所示)^[7]。按照表 1 肝纤维化评分标准将本实验中 BA 患儿及其肝内 TGF- β 1 等蛋白的半定量均值进行分级, Kasai 组患儿分布于 1~3 级, 移植组分布于 4~6 级, 作“BA 肝内 TGF- β 1 等通路蛋白含量与肝纤维化程度关系”图(如图 3 所示), 分析 TGF- β 1 通路蛋白在 BA 肝纤维化进程中的作用。

(一) TGF- β 1 通路蛋白促进 BA 早期肝纤维化

TGF- β 1 是 TGF- β 家族的一个成员, TGF- β 家族成员在调节一系列细胞反应, 包括细胞增生、分化、细胞外基质重塑上起到重要作用。TGF- β 1 是促纤维化通路的起始蛋白, 能够刺激肝内纤维细胞合成与增殖以及胶原蛋白 I、III、IV 和纤维黏连蛋白等分泌, 促进细胞外基质增殖, 具有明确的促纤维化作用^[6]; Smad 蛋白家族主要由 8 种不同的蛋白 Smad 1~8 构成, Smad 2~3 属于受体 Smad, 受 TGF- β 1 激活后通过可逆磷酸化形成 P-Smad 2、P-Smad 3, Smad 4 属于唯一的联合蛋白, 含有特定的连接区域在促肝纤维化信号转导过程中使 Smad 2~3 蛋白连接起来^[8]。研究认为 Smad 3 在肝星形细胞内含量增加, 肝损伤时多种因素活化肝星形细胞, 促进细胞外基质及肌成纤维细胞等增生, 持续的肝损伤诱

发大量肝星形细胞增生、细胞外基质过度增殖、聚集且难以降解导致肝纤维化进展^[3]。Yue^[9]在体外实验中使用虾青素降解肝星形细胞内 Smad 3 后发现肝内 α -平滑肌肌动蛋白和 I 型胶原蛋白的含量大量减少而 TGF β 1 含量没有变化, 其指出 Smad 3 是 TGF β 1 促纤维化信号通路下游效应器, 是促进细胞外基质增殖的重要蛋白。Tatiana^[6]等在实验中发现 BA 患儿肝内 Smad 3 蛋白含量增高, 与本实验结果类同, 本实验肝纤维化早期 1~3 级间, BA 患儿肝内 TGF- β 1、Smad 3 含量逐渐增高。因此, 在 BA 肝纤维化早期, TGF- β 1 促纤维化通路中 TGF- β 1、Smad 3 高表达, 生成大量细胞外基质导致细胞外基质增殖失衡, 肝纤维化从 1~3 级逐渐加重。

本实验研究证实 BA 肝内 Smad 2、P-Smad 2、Smad 4 与胆管扩张患儿无明显差异, 同时与肝纤维化 1~3 级进展亦无明显关系。Liu^[10]认为 Smad 2 对肝纤维化进展无明显作用, 与本实验结果一致。Smad 2 在肝细胞胞质内普遍存在, 但是 Smad 2 及 P-Smad 2 对 BA 肝内促纤维化作用有待进一步研究。Smad 4 在 BA 中亦未见明确作用, Vasiliki Karathanasi 认为其与 TGF- β 1 作用能促进肿瘤增生^[11]。

(二) TGF- β 1 通路蛋白进一步加重 BA 晚期肝硬化

本实验中 BA 患儿晚期肝硬化时肝脏病理表现见大量假小叶和间质纤维组织, TGF- β 1、Smad 3、P-Smad 3 等通路蛋白大量减少。宋亭亭^[12-14]认为 BA 肝硬化时期肝脏结构功能紊乱、肝门阻塞或者肝内本身免疫炎症反应导致增生的胆管逐渐闭塞、各类细胞数目逐渐减少, 肝内组织被胶原纤维广泛代替。由于肝硬化时 BA 患儿肝脏对机体所受各种损伤已失去相应适应和反应能力, 细胞数目大量减少, 导致 TGF- β 1 等各种蛋白来源减少, 同时原有蛋白可能在炎细胞、肌成纤维细胞等作用下逐渐被纤维组织代替而进一步加重肝硬化。

二、P-Smad 3 与 BA 肝内 TGF- β 1 通路促纤维化作用密切相关

Smad 3 是 TGF- β 1 促纤维化通路的受体蛋白, 被 TGF- β 1 激活后通过可逆磷酸化形成 P-Smad 3^[5]。Tatiana^[8]等发现 BA 患儿肝内 Smad 3、P-Smad 3、PAI-1 蛋白含量增高。本实验观察到 BA 患儿肝内 Smad 3、P-Smad 3、PAI-1 在肝纤维化早期大量增多, 分析蛋白之间半定量均值比(图 1), 可见 P-Smad 3 含量几乎仅为 Smad 3 含量的一半, 说明在 BA 肝内仅部分 Smad 3 蛋白经过磷酸化生成 P-

Smad 3,接着 P-Smad 3 与 Smad 4 等形成络合物进入细胞核继续传递促纤维化信号,生成细胞外基质蛋白,由此推测 P-Smad 3 越多,所能形成的络合物越多,则通路生成的细胞外基质越多,P-Smad 3 是通路促肝纤维化的关键蛋白,Smad 3 磷酸化过程是通路的关键步骤。定性分析 Smad3 表达于胞质,P-Smad 3 同时在胞质、胞核中高表达,也表明了 P-Smad 3 从胞质传递信号到胞核的过程。Smad 3 在肝星形细胞内作为 TGF-β1 促纤维化通路效应器促进细胞外基质的生成,而其磷酸化为 P-Smad 3 后与细胞外基质的作用尚未见明确研究。PAI-1 存在于细胞外基质中,已被证实是 TGF-β1 促纤维化通路产生的一种丝氨酸蛋白酶抑制剂,能够抑制细胞外基质降解^[15]。分析 PAI-1 蛋白与 TGF-β1 等通路蛋白的关联,发现在 BA 肝纤维化进程中,PAI-1 与 P-Smad3 的含量及变化幅度甚为相符。BA1 级肝纤维化程度较轻,P-Smad 3 有一定含量;1~2 级 P-Smad 3 含量逐渐升高,PAI-1 紧随 P-Smad 3 而大量增多,肝纤维化程度加重,在 2 级处两者含量相当;2~3 级间两者含量几乎相等,同时增高。BA 肝内 PAI-1 紧随 P-Smad 3 升高而升高、变化幅度一致的现象提示 PAI-1 的分泌可能受通路中 P-Smad 3 含量影响。

三、展望

肝脏纤维化是胆道闭锁的重要病变过程,如何可以阻滞肝纤维化进程是挽救胆道闭锁患儿肝脏功能的重要工作,研究胆道闭锁肝纤维化的发生具有重要的临床意义。本研究结果证实 P-Smad 3 是通路关键蛋白,与促纤维化作用程度密切相关,将来的实验中应以 P-Smad 3 剔除而中止肝纤维化进程为突破口,研究如果能以 P-Smad 3 为治疗靶点尝试阻断 BA 患儿肝内 TGF-β1 促纤维化通路是否能终止肝纤维化过程,进一步将阻断肝纤维化的基础研究转向临床抗纤维化的精准治疗,则阻断 BA 患儿肝纤维化指日可待,这将为广大 BA 患儿带来福音。

参考文献

- 1 詹江华,陈亚军. 肝移植时代如何看待胆道闭锁的诊治[J]. 中华小儿外科杂志,2014,35(4): 245-247.
- 2 詹江华,管志伟,罗喜荣,等. I 型胆道闭锁的外科治疗

- [J]. 临床小儿外科杂志,2012,11(1):10-12.
- 3 Massagué J. TGFβ signalling in context[J]. Nat Rev Mol Cell Biol,2012,13(10):616-630.
- 4 Kamato D, Burch ML, Piva TJ, et al. Transforming growth factor-β signalling: role and consequences of Smad linker region phosphorylation[J]. Cell? Signal,2013,25(10):2017-2024.
- 5 Verrecchia F, Mauviel A. Transforming growth factor-beta and fibrosis[J]. World J Gastroenterol,2007,13(22):3056-3062.
- 6 Iordanskaia T, Hubal MJ, Koeck E, et al. Dysregulation of upstream and downstream transforming growth factor-β transcripts in livers of children with biliary atresia and fibrogenic gene signatures[J]. J Pediatr Surg,2013,48(10):2047-2053.
- 7 丁美云,詹江华,刘丹丹,等. 胆道闭锁肝纤维化分级[J]. 中华小儿外科杂志,2015,36(11):866-872.
- 8 Iordanskaia T, Malesevic M, Fischer G, et al. Targeting extracellular cyclophilins ameliorates disease progression in experimental biliary atresia[J]. Mol Med. 2015,24:657-664.
- 9 Yang Y, Kim B, Park YK, et al. Astaxanthin prevents TGFβ1-induced proinflammatory gene expression by inhibiting Smad3 activation in hepatic stellate cells[J]. Biochim Biophys Acta,2015,1850(1):178-185.
- 10 Liu C, Gaca MD, Swenson ES, et al. Smads 2 and 3 are differentially activated by transforming growth factor-β(TGF-β) in quiescent and activated hepatic stellate cells[J]. J Biol Chem,2003,278(13):11721-11728.
- 11 Karathanasi V, Tosios KI, Nikitakis NG, et al. TGF-β1, Smad-2/-3, Smad-1/-5/-8, and Smad-4 signaling factors are expressed in ameloblastomas, adenomatoidodontogenic tumors, and calcifying cystic odontogenic tumors: an immunohistochemical study[J]. J Oral Pathol Med, 2013, 42(5):415-423.
- 12 宋亭亭,詹江华,高伟,等. 胆道闭锁肝组织 CD14、CD34、TGF-β1 表达研究[J]. 中华小儿外科杂志,2015,36(1):24-28.
- 13 詹江华,宋亭亭,高伟,等. 胆道闭锁自体肝病理学研究三例[J]. 临床小儿外科杂志,2015,14(4):335-337.
- 14 刘丹丹,詹江华,高伟,等. 胆道闭锁患儿肝门的病理解剖学研究[J]. 临床小儿外科杂志,2015,14(1):20-24.
- 15 Beier JI, Arteel GE. Alcoholic liver disease and the potential role of plasminogen activator inhibitor-1 and fibrin metabolism[J]. Exp Biol Med,2012,237(1):1-9.

(收稿日期: 2015-12-18)