文章编号:1000-5404(2010)13-1433-05

论著

骨形态发生蛋白-7 对人肝星状细胞转化生长因子 β 信号转导的影响

武鹏宇,戴立里,唐 静,吗琳琳 (400010 重庆,重庆医科大学附属第二医院消化内科)

[摘要] 目的 通过体外细胞实验,观察骨形态发生蛋白-7(bone morphogenetic protein-7,BMP-7)对转化生长因子 β_1(transforming growth factorβ_1,TGFβ_1)处理的人肝星状细胞(hepatic stellate cell,HSC)增殖,活化及 TGFβ 信号转导的影响,探索 BMP-7 抗肝纤维化的机制。**方法** 以不同浓度(80、40、20 ng/ml)BMP-7 及 TGFβ_1(5 ng/ml)处理人肝星状细胞 LX-2,CCK8 法检测 LX-2 增殖,免疫化学染色法观察 α-平滑肌动蛋白(α-SMA)与Ⅰ型胶原的表达,RT-PCR 检测 TGFβⅠ、Ⅱ型受体 mRNA,Smad3、Smad7 mRNA 的表达。**结果** 经 TGFβ_1刺激后,LX-2 增殖能力无明显改变。BMP-7(80、40、20 ng/ml)处理后,LX-2 细胞增殖均被抑制,抑制率分别为 28.9%、19.6%、10.5%($P<0.01$)。TGFβ_1处理组与细胞对照组比较,LX-2 表达 α-SMA 和Ⅰ型胶原增加($P<0.01$),加入 BMP-7(20、40、80 ng/ml)处理 48 h 后可抑制细胞活化和胶原表达,抑制作用随处理浓度增强而增强($P<0.01$, $P<0.05$)。5 ng/ml TGFβ_1处理 48 h 后,TβRⅠ、TβRⅡ、Smad3 mRNA 表达增加($P<0.01$),Smad7 mRNA 表达减少($P<0.01$)。BMP-7 可减少 Smad3 mRNA 表达($P<0.01$),增加 Smad7 mRNA 表达($P<0.01$, $P<0.05$),但对 TβR mRNA 的表达影响不显著($P>0.05$)。**结论** BMP-7 可抑制肝星状细胞的增殖和活化,减少Ⅰ型胶原的表达,其机制可能为抑制 TGFβ/Smad 通路中 Smad3 mRNA 表达,增加 Smad7 mRNA 表达,从而拮抗 TGFβ_1的促纤维化作用。

[关键词] 肝硬化;肝星状细胞;骨形态发生蛋白质类;转化生长因子
[中图法分类号] R322.47; R329.28; R394.2 **[文献标志码]** A

Effect of bone morphogenetic protein-7 on transforming growth factor β signaling in hepatic stellate cells

Wu Pengyu, Dai Lili, Tang Jing, Guo Linlin (Department of Gastroenterology, Second Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing, 400010, China)

[Abstract] Objective To observe the effect of bone morphogenetic protein-7 (BMP-7) on proliferation, activation and TGFβ signaling in TGFβ_1 inducing hepatic stellate cells (HSC), and its anti-fibrosis mechanism. **Methods** Human HSC LX-2 cell line was treated with BMP-7 at different concentrations (80, 40, 20 ng/ml) and TGFβ_1 (5 ng/ml). Proliferation of HSC LX-2 cells was detected with cell counting kit-8 (CCK8). Expressions of α-smooth muscle actin (α-SMA) and collagen Ⅰ, as well as TGF receptors Ⅰ and Ⅱ (TGFβRⅠ, TGFβRⅡ) mRNA, Smad 3,7 mRNAs, were detected by immunocytochemical assay and RT-PCR, respectively. **Results** No significant difference was found in proliferation of LX-2 cells before and after treatment with TGFβ_1. BMP-7 used at different concentrations (80, 40, 20 ng/ml) inhibited the proliferation of LX-2 with an inhibition rate of 28.9%, 19.6% and 10.5%, respectively ($P<0.01$). The expression level of α-SMA and collagen Ⅰ in LX-2 was higher in TGFβ_1 group than in control group ($P<0.01$). BMP-7 decreased the expression of α-SMA, collagen Ⅰ, Smad3 and Smad7 in LX-2 in a dose-dependent manner 48 h after treatment with TGFβ_1 ($P<0.05$). The expression level of TGFβRⅠ, TGFβRⅡ and Smad3 mRNA was higher, while that of Smad7 mRNA was lower after treatment with 5 ng/ml TGFβ_1 ($P<0.01$). BMP-7 could reduce the expression of Smad3 mRNA and increase the expression of Smad7 mRNA ($P<0.05$, but had no effect on the expression of TGFβR mRNA. **Conclusion** BMP-7 inhibits the proliferation, activation and collagen Ⅰ expression by decreasing the Smad3 mRNA expression and increasing the Smad7 mRNA expression, thus antagonizing the role of TGFβ_1 in promotion of fibrosis.

[Key words] liver cirrhosis; hepatic stellate cell; bone morphogenetic protein; transforming growth factors

Corresponding author: Dai Lili, Tel:86-23-63832133, E-mail:dli@cqums.edu.cn

[通信作者] 戴立里,电话:(023)63832133,E-mail:dli@cqums.edu.cn

骨形态发生蛋白(bone morphogenetic protein, BMP)属转化生长因子β(transforming growth factorβ, TGFβ)超家族,具有不同的生物学特征。近年来发现BMP-7可抑制多种组织纤维化,其机制主要是拮抗TGFβ的促纤维化作用[1]。TGFβ的亚型$TGF\beta_1$是最强的促肝纤维化因子,可以促进肝星状细胞的活化和胶原分泌,并可以通过诱导胆管上皮细胞、肝细胞等的上皮细胞-间质转化(epithelial-to-mesenchymal transition, EMT)等促进肝纤维化进程。BMP-7的拮抗组织纤维化作用在肾,心肌,肺等多种组织中已被证实[2],但在肝纤维化过程中的作用及机制尚不明了。肝星状细胞表达BMP受体,外源性BMP-7与之结合后产生生物学效应[3]。本研究通过体外细胞实验观察BMP-7对$TGF\beta_1$处理的HSC增殖、活化和胶原表达改变,以求证实BMP-7对肝纤维化的抑制作用并阐明其机制。

1 材料与方法

1.1 实验材料

LX-2细胞购自上海博惠斯公司,DMEM干粉及胎牛血清购自美国HyClone公司,重组人BMP-7及重组人$TGF\beta_1$购自美国Peprotech公司,CCK-8购自江苏碧云天公司,兔抗人α-SMA单克隆抗体,兔抗人Ⅰ型胶原单克隆抗体购自北京博奥森公司,S-P免疫组化试剂盒及DAB显色试剂盒购自北京中杉金桥公司,RNA提取试剂,RT及PCR试剂盒,Marker购自大连宝生物公司,PCR引物由大连宝生物公司设计合成。

1.2 细胞培养

LX-2为人肝星状细胞转染SV40后经低浓度血清筛选得到的永生化细胞株[4]。用含10% FBS的DMEM在37 ℃、5% CO_2,饱和湿度的培养箱内贴壁培养,待细胞生长至融合状态,铺满瓶壁80%以上时,用0.05%胰蛋白酶溶液消化细胞,按1∶3~1∶6比例传代接种,取对数生长期细胞用于实验。

1.3 实验分组

对照组:仅加入DMEM培养基;$TGF\beta_1$处理组:DMEM中加入终浓度为5 ng/ml的人重组$TGF\beta_1$;BMP-7处理组:由预实验得到BMP-7处理浓度,按终浓度80、40、20 ng/ml分别向DMEM中加入人重组BMP-7,分别记为BMP-7 80、40、20 ng/ml组。联合处理组:DMEM中加入终浓度为5 ng/ml的人重组$TGF\beta_1$,并按终浓度80、40、20 ng/ml分别向DMEM中加入人重组BMP-7,记为$TGF\beta_1$ + BMP-7(80 ng/ml)、BMP-7(40 ng/ml)和BMP-7(20 ng/ml)组。

1.4 BMP-7对肝星状细胞增殖的影响

将细胞按1×10^5/ml接种于96孔板,每孔100 μl。待细胞生长至70%融合度时同步化处理24 h,换用无血清培养基并分组加入处理因素作用48 h,每组设6个复孔。各组加入CCK-8共同培养2 h后用酶标测试仪测定光密度D(450)值表示LX-2的增殖情况。

1.5 BMP-7对$TGF\beta_1$刺激的肝星状细胞活化及胶原表达的影响

将细胞按1×10^5/ml接种于24孔板中爬片,待细胞生长至70%融合度时同步化处理24 h,换用无血清培养基并按细胞对照组、$TGF\beta_1$处理组及联合处理组加入处理因素作用48 h,每组设3个复孔。爬片用S-P法对α-SMA及Ⅰ型胶原进行免疫化学染色,在倒置显微镜下拍照。照片使用Image Pro软件进行阳性染色强度分析,以平均光密度值表示蛋白表达强度,数值越大表达越强。

1.6 BMP-7对肝星状细胞TGFβ/Smad信号通路的影响

将细胞按1×10^5/ml接种于25 ml培养瓶,按细胞对照组、$TGF\beta_1$处理组及联合处理组处理后用TaKaRa RNAiso提取细胞总RNA,RT-PCR法检测各组中TGFβⅠ型受体(TGFβRⅠ)、TGFβⅡ型受体(TGFβRⅡ)、Smad3、Smad7 mRNA的表达。按表1条件进行反应,循环条件:94 ℃变性30 s,退火30 s,72 ℃延伸1 min。

表1 PCR检测各组目的基因的反应体系及条件

基因	引物序列	产物大小(bp)	退火温度(℃)	循环次数
Smad3	上游5′-GAGCCTGGTCAAGAAACTCAAG-3′ 下游5′-CTCTGGTAGTGGTAGGGATTCAC-3′	279	55.2	40
Smad7	上游5′-TCGGAAGTCAAGAGGCTGTGT-3′ 下游5′-GCTCCAGAAGAAGTTGGGAATC-3′	250	56.3	40
TGFβRⅠ	上游5′-GGCTCTGCTTTGTCTCTGTCAC-3′ 下游5′-GGTCCTCTTCATTTGGCACTC-3′	336	56.3	40
TGFβRⅡ	上游5′-GAAGTCTGTGTGGCTGTATGGAG-3′ 下游5′-GCGGTAGCAGTAGAAGATGATG-3′	327	54.1	40
GAPDH	上游5′-GAGCCAAA AGGGTCATCATCTC-3′ 下游5′-AAAGGTGGAGGAGTGGGTGTC-3′	542	57.0	35

PCR产物经1.5%琼脂糖凝胶电泳,Gel Doc XR系统检测吸光度,Quantity One软件进行分析,以待测mRNA与内参GAPDH mRNA的光密度(OD)比值作半定量分析。

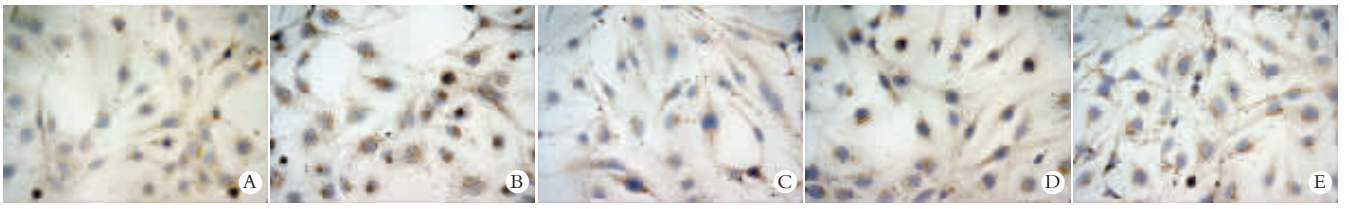
1.7 统计学处理

数据以$\bar{x}\pm s$表示。SPSS 13.0统计软件分析。各组间计量资料比较运用随机设计的单因素方差分析,LSD-t检验。

2 结果

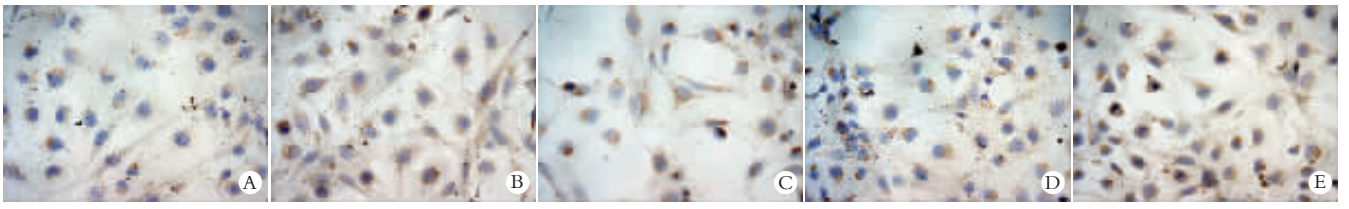
2.1 BMP-7对肝星状细胞增殖的影响

$TGF\beta_1$处理组与对照组比较,LX-2细胞增殖的差别无统计学意义($P>0.05$);BMP-7处理组与$TGF\beta_1$处理组和对照组比较,LX-2细胞增殖受到抑制,随BMP-7处理浓度降低抑制率逐渐减少($P<0.01$);BMP-7处理组与联合处理组比较,LX-2细胞增殖的差别无统计学意义($P>0.05$);联合处理组与$TGF\beta_1$处理组、对照组比较,LX-2的增殖受到抑制,随BMP-7处理浓度降低抑制率逐渐减少($P<0.01$)。见表2。



A:对照组;B:TGFβ$_1$ 处理组;C:TGFβ$_1$ + BMP-7 80 ng/ml 组;D:TGFβ$_1$ + BMP-7 40 ng/ml 组;E:TGFβ$_1$ + BMP-7 20 ng/ml 组

图 1　LX-2 细胞 α-SMA 免疫化学染色观察　(S-P ×400)



A:对照组;B:TGFβ$_1$ 处理组;C:TGFβ$_1$ + BMP-7 80 ng/ml 组;D:TGFβ$_1$ + BMP-7 40 ng/ml 组;E:TGFβ$_1$ + BMP-7 20 ng/ml 组

图 2　LX-2 细胞Ⅰ型胶原免疫化学染色观察　(S-P ×400)

表 2　BMP-7 及 TGFβ$_1$ 对 HSC 增殖的影响(n=6)

组别	光密度值($\bar{x}\pm s$)	抑制率(%)
对照组	0.658±0.031	–
TGFβ$_1$处理组	0.659±0.074	0
BMP-7 80 ng/ml	0.468±0.044^{abdegh}	28.9
BMP-7 40 ng/ml	0.528±0.060^{abcfh}	19.6
BMP-7 20 ng/ml	0.589±0.107^{abcdfg}	10.5
TGFβ$_1$ + BMP-7 80 ng/ml	0.468±0.066^{abdeg}	28.9
TGFβ$_1$ + BMP-7 40 ng/ml	0.528±0.044^{abcefh}	19.6
TGFβ$_1$ + BMP-7 20 ng/ml	0.588±0.092^{abcdfg}	10.6

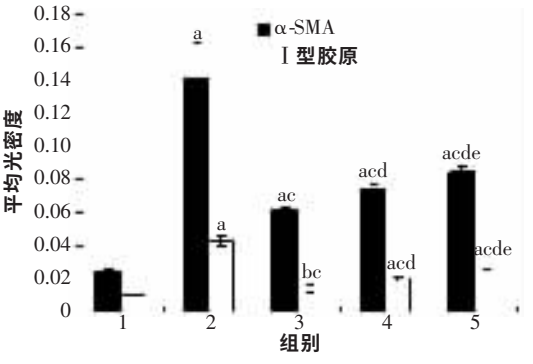
a:P<0.01,与对照比较;b,P<0.01,与 TGFβ$_1$ 处理组比较;c:P<0.01,与 BMP-780 ng/ml 组比较;d:P<0.01,与 BMP-7 40 ng/ml 组比较;e:P<0.01,与 BMP-7 20 ng/ml 组比较;f:P<0.01,与 TGFβ$_1$ + BMP-7 80 ng/ml 组比较;g:P<0.01,与 TGFβ$_1$ + BMP-7 40 ng/ml 组比较;h:P<0.01,与 TGFβ$_1$ + BMP-7 20 ng/ml 组比较

2.2　BMP-7 对 TGFβ$_1$ 刺激的肝星状细胞活化及胶原表达的影响

图 1、2 中可见,贴壁生长的活化 LX-2 细胞可较强表达 α-SMA 及Ⅰ型胶原,经 TGFβ$_1$ 处理后,α-SMA 和Ⅰ型胶原的表达都明显增强,图中可见染色程度明显加深呈深棕黄色。加入 BMP-7 联合处理后,TGFβ$_1$ 诱导的 α-SMA 及Ⅰ型胶原表达受明显抑制,并呈浓度依赖,图中可见染色逐渐变浅。利用 Image Pro 软件进行平均光密度值分析,各组如图 3 所示。

2.3　BMP-7 对肝星状细胞 TGFβ/Smad 信号通路的影响

经 5 ng/ml TGFβ$_1$ 处理 48 h 后,LX-2 细胞的 TGFβRⅠ、Ⅱ,Smad3 mRNA 表达明显增强(P<0.01),Smad7 mRNA 表达减弱(P<0.01)。联合处理组与单纯 TGFβ$_1$ 处理组比较,Smad3 mRNA 表达随 BMP-7 浓度降低而降低(P<0.01),Smad7 mRNA 表达随 BMP-7 浓度增加而增加(P<0.01, P<0.05)(表 3,图 4)。TGFβRⅠ、Ⅱ mRNA 的表达在 TGFβ$_1$ 处理组与联合处理组之间的差异无统计学意义(P>0.05)(表 4,图 5)。



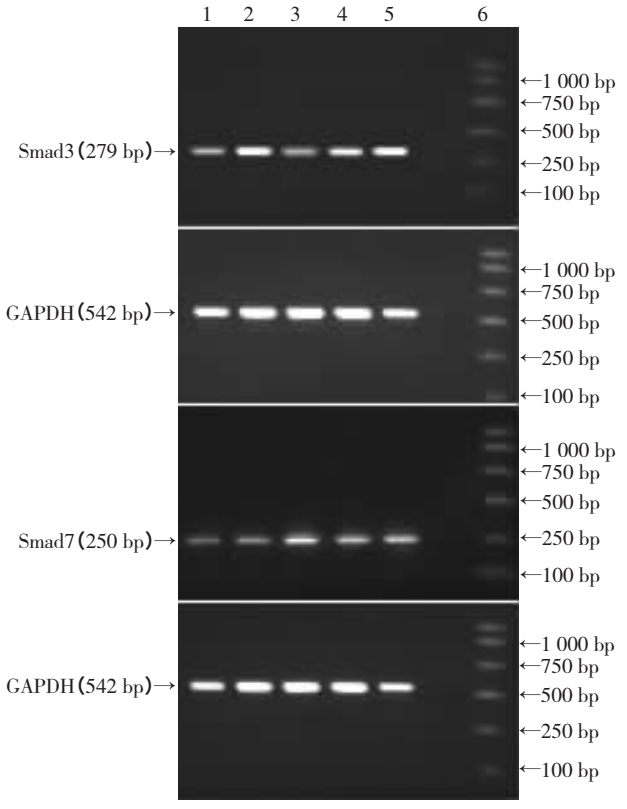
1:对照组;2:TGFβ$_1$ 处理组;3:TGFβ$_1$ + BMP-7(80 ng/ml)组;4:TGFβ$_1$ + BMP-7(40 ng/ml)组;5:TGFβ$_1$ + BMP-7(20 ng/ml)组 a:P<0.01,b:P<0.05,与对照组比较;c:P<0.01,与 TGFβ$_1$ 处理组比较;d:P<0.01,与 TGFβ$_1$ + BMP-7(80 ng/ml)组比较;e:P<0.01,与 TGFβ$_1$ + BMP-7(40 ng/ml)组比较

图 3　BMP-7 对 TGFβ$_1$ 诱导的 HSC 活化与胶原表达的影响(n=3, $\bar{x}\pm s$)

表 3　BMP-7 对 TGF-β$_1$ 诱导的 HSC Smad3、7 mRNA 表达的影响(OD_{Smad}/OD_{GAPDH})(n=3, $\bar{x}\pm s$)

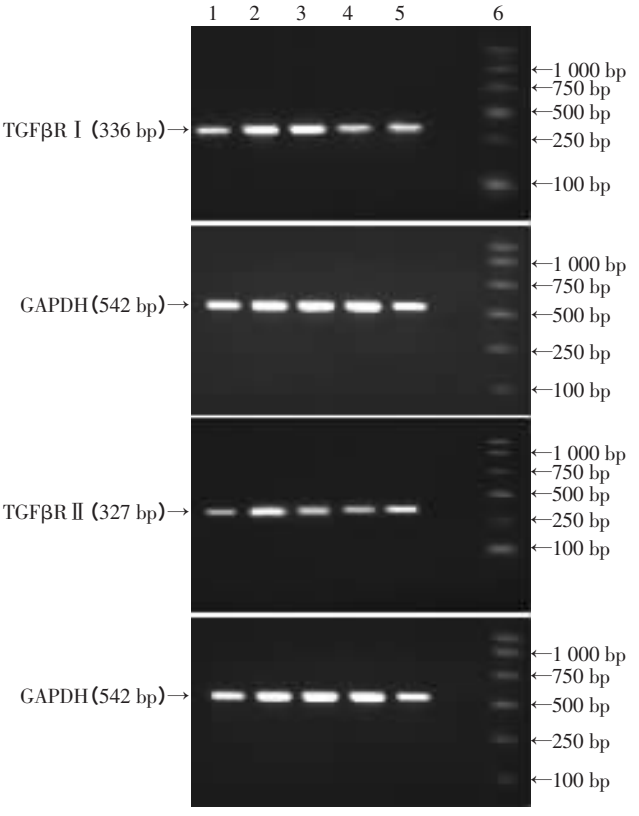
组别	Smad3	Smad7
对照组	0.405±0.022	0.619±0.024
TGFβ$_1$处理组	0.917±0.021^{a}	0.319±0.014^{a}
TGFβ$_1$ + BMP-7 80 ng/ml	0.571±0.019^{ab}	0.472±0.013^{ab}
TGFβ$_1$ + BMP-7 40 ng/ml	0.663±0.030^{abd}	0.418±0.017^{abd}
TGFβ$_1$ + BMP-7 20 ng/ml	0.803±0.029^{abde}	0.357±0.007^{acde}

a:P<0.01,与对照组比较;b:P<0.01,与 TGFβ$_1$ 处理组比较;c:P<0.05,与 TGFβ$_1$ 处理组比较;d:P<0.01,与 TGFβ$_1$ + BMP-7 80 ng/ml 组比较;e:P<0.01,与 TGFβ$_1$ + BMP-7 40 ng/ml 组比较



1:对照组;2:$TGF\beta_1$处理组;3:$TGF\beta_1$ + BMP-7 80 ng/ml组;4:$TGF\beta_1$ + BMP-7 40 ng/ml组;5:$TGF\beta_1$ + BMP-7 20 ng/ml组;M:标准

图4 BMP-7、TGF-β_1处理的HSC Smad3、Smad7 mRNA表达



1:对照组;2:$TGF\beta_1$处理组;3:$TGF\beta_1$ + BMP-7 80 ng/ml组;4:$TGF\beta_1$ + BMP-7 40 ng/ml组;5:$TGF\beta_1$ + BMP-7 20 ng/ml组

图5 BMP-7、TGF-β_1处理的HSC TGFβRⅠ,TGFβRⅡ mRNA表达

表4 BMP-7对$TGF\beta_1$诱导的HSC TGFβRⅠ,Ⅱ mRNA表达的影响($OD_{TGF\beta R\,I}/OD_{TGF\beta R\,II}$)($n=3$, $\bar{x}\pm s$)

处理组	TGFβRⅠ	TGFβRⅡ
对照组	0.639±0.025	0.451±0.016
$TGF\beta_1$处理组	0.898±0.017[a]	0.935±0.054[a]
$TGF\beta_1$ + BMP-7(80 ng/ml)组	0.894±0.009[a]	0.957±0.026[a]
$TGF\beta_1$ + BMP-7(40 ng/ml)组	0.884±0.016[a]	0.949±0.035[a]
$TGF\beta_1$ + BMP-7(20 ng/ml)组	0.893±0.019[a]	0.964±0.044[a]

a:$P<0.01$,与对照组比较

3 讨论

肝纤维化的特征是细胞外基质(extracellular matrix,ECM)的过度沉积,ECM由不同来源的肌成纤维细胞(myofibrolast,MFB)合成并分泌,目前认为活化的HSC是肝脏MFB的最主要来源。TGFβ是促组织纤维化作用最强的细胞因子,肝脏中合成最多且最具生物学活性的$TGF\beta_1$是促进HSC活化的最主要细胞因子[5,6]。

BMP属于TGFβ超家族,在肾、肺、心肌及胰腺等组织中发现其中的一个亚型BMP-7具有抑制纤维化作用。BMP-7主要影响TGFβ/Smad信号通路,通过减少Smad2,3的表达,抑制Smad3磷酸化等抑制纤维化[2]。

本实验证实$TGF\beta_1$对活化HSC增殖无明显影响[7]。$TGF\beta_1$可增加HSC血小板源性生长因子(platelet-derived growth factor,PDGF)受体的表达,增强HSC对外源性强有丝分裂原PDGF的反应性促进分裂增殖[8],本实验中由于缺乏外源性PDGF诱导,$TGF\beta_1$引起的PDGF受体表达增加不能促进HSC增殖。活化HSC自身分泌包括PDGF的大量细胞因子,形成自分泌环状调节进一步加速HSC活化[9]。引入BMP-7处理后,HSC的增殖受到抑制,推测由于BMP-7减少了HSC活化后PDGF等促增殖因子的自分泌从而抑制HSC的增殖。BMP-7阻断HSC活化可能是其抑制HSC增殖的原因之一。

α-SMA是HSC活化的特征性标志物之一。Ⅰ型胶原是肝纤维化时纤维间隔的主要成分之一,抑制Ⅰ型胶原的表达可以减少ECM的过度沉积,还可以减少HSC的进一步活化。Kinoshita等[10]在原代培养的大鼠肝星状细胞中引入BMP-7,观察到α-SMA的表达受到抑制。本实验证实,BMP-7可浓度依赖性抑制外源性$TGF\beta_1$诱导的HSC活化和Ⅰ型胶原表达。Uemura等[11]发现,大鼠HSC中α-SMA的表达增加和Ⅰ型胶

原的过度沉积只与 Smad3 的过表达有关;Lattela 等[12]则发现,Smad3 的表达减少可以抑制二甲基亚硝胺引起的肝纤维化进程。提示肝脏 TGFβ$_1$ 主要影响 Smad3 分子促进胶原表达。本实验发现经 BMP-7 处理后,外源性 TGFβ$_1$处理的 HSC Smad3 mRNA 表达受到明显抑制,80ng/ml BMP-7 处理后 Smad3 mRNA 的表达下降了 35.7%。实验结果提示,BMP-7 可能通过影响 TGFβ/Smad 通路中的 Smad3 表达水平,抑制 TGFβ$_1$对 HSC 活化和胶原表达的促进。

BMP-7 可以增加肝星状细胞内的 Smad7 mRNA 表达。Smad7 与 TGFβ 受体结合抑制后其他 Smads 磷酸化或抑制 Smads 异聚体形成从而负性调节 TGFβ/Smad 通路[13]。随着肝纤维化进程的进展,Smad7 的表达受到抑制。有研究表明 Smad7 mRNA 的过度表达可阻断大鼠 HSC 的激活和胶原表达[14]。BMP-7 增加 HSC 内的 Smad7 表达后,可通过增加对 Smad2、3 磷酸化的抑制或阻止 Smad 异聚体形成拮抗 TGFβ$_1$的促纤维化作用。

TGFβ$_1$需与 TGFβR 结合后才能影响下游 Smad 分子表达。肝纤维化进程与 TGFβR Ⅰ、Ⅱ的表达增加相关,本实验发现外源性 TGFβ$_1$可增加 HSC TGFβR Ⅰ、Ⅱ mRNA 表达。经 BMP-7 处理后,HSC 表达 TGFβR Ⅰ、Ⅱ mRNA 与 TGFβ$_1$处理组无明显差别,提示 BMP-7 不是通过影响细胞膜上的 TGFβ 受体影响 Smad2、3 表达。Saika 等[15]发现,在大鼠晶状体的 EMT 过程中,BMP-7 通过上调分化抑制因子(Inhibitor of differentiation,ID)ID2、3 的表达抑制 Smad2、3 信号,该机制与 BMP-7 在抑制肺间质纤维化中的机制相似[16]。BMP-7 经过何种途径影响 HSC 中的相关 Smad 基因,需要进一步研究。

TGFβ$_1$诱导 HSC 活化,增加Ⅰ型胶原表达的效应通过增加 HSC TGFβR Ⅰ、Ⅱ mRNA 表达,增加 Smad3 mRNA 及减少 Smad7 mRNA 表达实现。BMP-7 通过减少 Smad3 mRNA 及增加 Smad7 mRNA 表达调节 TGFβ/Smad 通路抑制肝星状细胞活化和胶原表达。但 BMP-7 不影响 HSC 的 TGFβR 表达,可能不是通过影响 TGFβ$_1$与其受体结合引起下游 Smad3、7 的改变。BMP-7 对 HSC 的增殖抑制作用机制亦未明了,是否通过 BMP 受体并与其他通路产生交联。BMP-7 还可以通过拮抗 TGF-β 诱导的肝细胞、胆管上皮细胞 EMT 过程,减少 MFB 的产生[2]。对 BMP-7 影响 TGFβ/Smad 通路的具体作用位点,拮抗肝纤维化的具体机制需要进一步研究。

参考文献:

[1] Nguyen T Q, Goldschmeding R. Bone morphogenetic protein-7 and connective tissue growth factor: novel targets for treatment of renal fibrosis? [J]. Pharm Res, 2008, 25(10): 2416 - 2426.

[2] Weiskirchen R, Meurer S K, Gressner O A, *et al*. BMP-7 as antagonist of organ fibrosis[J]. Front Biosci, 2009, 14: 4992 - 5012.

[3] Scherner O, Vreden W N, Meurer S K, *et al*. The BMP-7 pathway in hepatic stellate cells and hepatocytes and its antagonistic effect on the TGF-beta1 signaling pathway[J]. J Hepatol, 2008, 48(S2): S186.

[4] Xu L, Hui A Y, Albanis E, *et al*. Human hepatic stellate cell lines, LX-1 and LX-2: new tools for analysis of hepatic fibrosis[J]. Gut, 2006, 54(1): 142 - 151.

[5] Matsuzaki K. Modulation of TGF-beta signaling during progression of chronic liver diseases[J]. Front Biosci, 2009, 14: 2923 - 2934.

[6] Plewka K, Szuster-Ciesielska A, Kandefer-Szerszen M. Role of stellate cells in alcoholic liver fibrosis[J]. Postepy Hig Med Dosw (Online), 2009, 63: 303 - 317.

[7] 刘成海, 宣红萍. 转化生长因子 β$_1$对不同活化状态肝星状细胞增殖与Ⅰ型胶原表达的影响[J]. 中华肝脏病杂志, 2003, 11(12): 731 - 734.

[8] Knittel T, Mehde M, Kobold D, *et al*. Expression patterns of matrix metalloproteinases and their inhibitors in parenchymal and non-parenchymal cells of rat liver: regulation by TNF-alpha and TGF-beta1[J]. J Hepatol, 1999, 30(1): 48 - 60.

[9] Gressner A M, Weiskirchen R. Modern pathogenetic concepts of liver fibrosis suggest stellate cells and TGF-beta as major players and therapeutic targets[J]. J Cell Mol Med, 2006, 10(1): 76 - 99.

[10] Kinoshita K, Iimuro Y, Otogawa K, *et al*. Adenovirus-mediated expression of BMP-7 suppresses the development of liver fibrosis in rats [J]. Gut, 2007, 56(5): 706 - 714.

[11] Uemura M, Swenson E S, Gaca M D, *et al*. Smad2 and Smad3 play different roles in rat hepatic stellate cell function and alpha-smooth muscle actin organization[J]. Mol Biol Cell, 2005, 16(9): 4214 - 4224.

[12] Latella G, Vetuschi A, Sferra R, *et al*. Targeted disruption of Smad3 confers resistance to the development of dimethylnitrosamine-induced hepatic fibrosis in mice[J]. Liver Int, 2009, 29(7): 997 - 1009.

[13] Yan X, Liu Z, Chen Y. Regulation of TGF-beta signaling by Smad7 [J]. Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai), 2009, 41(4): 263 - 272.

[14] Dooley S, Hamzavi J, Breitkopf K, *et al*. Smad7 prevents activation of hepatic stellate cells and liver fibrosis in rats[J]. Gastroenterology, 2003, 125(1): 178 - 191.

[15] Saika S, Ikeda K, Yamanaka O, *et al*. Adenoviral gene transfer of BMP-7, Id2, or Id3 suppresses injury-induced epithelial-to-mesenchymal transition of lens epithelium in mice[J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2006, 290(1): C282 - C289.

[16] Izumi N, Mizuguchi S, Inagaki Y, *et al*. BMP-7 opposes TGF-beta1-mediated collagen induction in mouse pulmonary myofibroblasts through Id2[J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2006, 290 (1): L120 - L126.

(**收稿**:2009-12-08;**修回**:2010-01-18)

(编辑 吴培红)