DOI:10.16016/j.1000-5404.202104108

S100A6 对小鼠原代肝星状细胞活化影响的研究

胡 真[1],钟 立[2],邓 亮[3],刘 畅[4] 400016 重庆,重庆医科大学附属第一医院:医学检验科[1],消化内科[3],重症医学科[4];400010 重庆,重庆医科大学附属第二医院消化内科[2]

[摘要] **目的** 观察 S100A6 在肝组织中的表达并研究其在肝星状细胞活化中的作用。**方法** 12 只 C57BL/6 小鼠分为正常组及肝纤维化模型组,肝纤维化模型组以四氯化碳(CCl_4)喂养 6 周复制肝纤维化模型,取肝脏行 Masson 染色评估纤维化程度,并采用免疫组化检测 S100A6 在肝组织中的表达,RT-qPCR 和 Western blot 检测 S100A6 在肝组织中的 mRNA 和蛋白表达水平;提取 C57BL/6 小鼠原代肝星状细胞(hepatic stellate cells,HSCs)行体外培养,观察其在静止期和活化期的形态变化,以 RT-qPCR 和 Western blot 检测不同培养时间点 S100A6 mRNA 及蛋白表达;采用 siRNA 干扰原代 HSCs S100A6 后以 RT-qPCR 和 Western blot 检测 S100A6、Ⅰ型胶原和 α-SMA mRNA 和蛋白表达。**结果** 在 CCl_4 诱导的小鼠肝纤维化组织中,Masson 染色可观察其纤维化,而免疫组化亦可见 S100A6 明显表达于肝纤维化组肝脏组织相应纤维索条区域,RT-qPCR 和 Western blot 检测结果显示肝纤维化组较正常对照组 S100A6 mRNA 和蛋白表达显著升高($P<0.05$)。体外培养原代 HSCs 过程中,HSCs 可自然活化,且随 HSCs 活化时间延长,S100A6 mRNA 和蛋白的表达逐渐增加($P<0.05$ 或 $P<0.001$);干扰 S100A6 合成后 S100A6、Ⅰ型胶原、α-SMA mRNA 和蛋白表达均受到不同程度抑制($P<0.05$ 或 $P<0.001$)。**结论** S100A6 在肝纤维化组织和活化 HSCs 中特异性表达,是一个重要的调控 HSCs 活化的蛋白,并在肝纤维化的形成机制中发挥一定的作用。

[关键词] S100A6;肝星状细胞;肝纤维化

[中图法分类号] R322.47;R341;R363.21 [文献标志码] A

Effect of S100A6 on activation of hepatic stellate cells in mice

HU Zhen[1], ZHONG Li[2], DENG Liang[3], LIU Chang[4] [1]Department of Laboratory Medicine, [3]Department of Gastroenterology, [4]Department of Critical Care Medicine, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing, 400016; [2]Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing, 400010, China

[**Abstract**] **Objective** To determine the expression of S100A6 in liver tissues and investigate its role in the activation of hepatic stellate cells (HSCs). **Methods** Twelve C57BL/6 mice were randomly assigned to control group and liver fibrosis group. The mice in the latter group was administrated with carbon tetrachloride for 6 weeks to induce liver fibrosis. The liver tissue was harvested for Masson staining and S100A6 detection by immunohistochemistry. The expression of S100A6 at mRNA and protein levels was detected by RT-qPCR and Western blotting. After primary HSCs were isolated and cultured, their morphological changes in quiescence and activation were observed, and the mRNA and protein levels of S100A6 were detected after cultured for different time periods. Additionally, siRNA was utilized to interfere S100A6 expression in HSCs, and the mRNA and protein levels of S100A6, Collagen I and α-SMA were tested by RT-qPCR and Western blotting. **Results** Masson staining displayed fibrosis in liver tissue in the mice of the liver fibrosis group, and S100A6 was also significantly expressed in the corresponding fibrous cord area of liver tissue in liver fibrosis group, and its mRNA and protein levels were obviously enhanced in the liver tissue

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(82070626)

[通信作者] 刘 畅,E-mail:36032267@qq.com

1000-5404/Copyright © 2021,陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循 CC BY 许可协议(https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

when compared to the control group ($P<0.05$). *In vitro*, HSCs auto-activated with the process of culture, and the mRNA and protein expression levels of S100A6 were gradually increased in a time depended manner in the HSCs ($P<0.05$ or $P<0.001$). Undoubtedly, the interference of S100A6 by siRNA efficiency dramatically inhibited the mRNA and protein expression of S100A6, Collagen Ⅰ, α-SMA ($P<0.05$ or $P<0.001$). **Conclusion** S100A6 is specifically expressed in hepatic fibrosis and activated HSCs, and is an important protein regulating the activation of HSCs. Thus, S100A6 might play important role in the pathogenesis of liver fibrosis.

[**Key words**] S100A6; hepatic stellate cells; liver fibrosis

Supported by the General Program of National Natural Science Foundation of China (82070626). Corresponding author: LIU Chang, E-mail: 36032267@qq.com

肝硬化仍是我国发病率较高且严重影响患者生活的肝脏疾病[1],弥漫性肝纤维化伴假小叶形成是其重要病理特点[2],肝星状细胞(hepatic stellate cells, HSCs)的活化是肝纤维化形成机制中的关键环节,抑制 HSCs 的活化可阻断甚至逆转肝纤维化[2-3]。HSCs 活化是指其从静止状态向增殖、可收缩、表达 α-平滑肌肌动蛋白(α-smooth muscle actin,α-SMA)、分泌胶原蛋白和多种细胞因子的成纤维细胞分化的过程[4]。S100 钙结合蛋白 A6(S100 calcium binding protein A6, S100A6)是一种钙周期蛋白,为 S100 家族中的一员,在细胞分化、增殖、迁移、凋亡等过程中发挥重要作用[5]。针对 HSCs 的单细胞测序发现在肝脏组织内 S100A6 是 HSCs 活化成为肌成纤维细胞后特异性高表达蛋白[6]。另有研究利用重组人 S100A6 干预小鼠原代 HSCs 可诱导 HSCs 细胞周期从 S 期过渡到 G_2 期,促进其增殖,而以高级糖基化终产物可溶性受体(soluble receptor for advanced glycation end products, sRAGE)竞争抑制 S100/RAGE 信号通路可以减轻四氯化碳(CCl_4)诱导的小鼠肝纤维化[7],虽然这些研究证实了 S100A6 与 HSCs 以及肝纤维化的关系,但 S100A6 除了影响 HSCs 增殖,是否还影响其功能尚少见报道。本研究拟通过观察 siRNA 干扰 HSCs S100A6 mRNA 合成后 HSCs 活化相关蛋白表达,进而探讨 S100A6 对 HSCs 功能的影响,证实 S100A6 是一个调控 HSCs 活化的重要蛋白。

1 材料与方法

1.1 实验动物及主要试剂

1.1.1 实验动物以及处理 6~8 周龄的 SPF 级 C57BL/6 雄性小鼠 12 只从重庆医科大学实验动物中心购买。适应性饲养 1 周后,将小鼠分为对照组与纤维化组,每组 6 只。纤维化组经腹腔注射橄榄油稀释溶解的 10% CCl_4 诱导小鼠慢性肝损伤构建肝纤维化模型,注射剂量为 5 μL/g,每 3 天注射 1 次,对照组同步腹腔注射等量纯橄榄油,造模时间为 6 周。造模结束后,称体质量并收集肝脏标本,对肝组织采用 Masson 染色和免疫组织化学染色。本研究经重庆医科大学第一附属医院动物使用与伦理委员会(20200325)评审通过。

1.1.2 主要试剂 细胞培养基 DMEM、青霉素-链霉素双抗购自美国 Gibico 公司(8120365 和 2257205);胎牛血清购自杭州四季青公司;DNA 酶、胶原酶Ⅳ和链蛋白酶均购自北京索莱宝科技有限公司(826A037,1212N041 和 223P022);Masson 染色试剂盒(G1340),即用型 SABC 兔试剂盒(SA1022)和即用型 SABC 小鼠试剂盒(SA1021)购自武汉博士德生物工程有限公司;S100A6 抗体和 α-SMA 抗体购自美国 Abcam 公司(ab181975 和 ab5694)Ⅰ型胶原抗体购自美国 Proteintech 公司(14695-1-AP),GAPDH 抗体购自武汉博士德公司(BM1623);S100A6 siRNA 购自上海吉玛制药技术有限公司,RNA 提取试剂盒购自无锡百泰克生物科技有限公司(RP1202),逆转录试剂盒和 Real-time PCR 试剂盒均购自 TaKaRa 公司(RR047A 和 RR066A)。

1.2 实验方法

1.2.1 细胞提取及培养 根据文献[8-9]报道的研究方案提取并鉴定 C57BL/6 雄性小鼠原代 HSCs,即Ⅳ型胶原酶和链蛋白酶 E 和消化、Percoll 分离液梯度离心和选择性粘附,分离 HSCs,以胶质纤维酸性蛋白、α-SMA 抗体鉴定细胞纯度。细胞经台盼蓝染色确定活性后培养于含 10%胎牛血清、100 U/mL 青霉素 G、100 U/mL 链霉素的 DMEM 培养基中,培养皿置于 37 ℃,5% CO_2 条件下培养。

1.2.2 Masson 及免疫组化染色 小鼠处死后分离肝脏,取肝脏相同部位以 4%多聚甲醛固定,石蜡包埋,常规组织切片 4 μm 后 Masson 染色,光学显微镜下观察并采用 Image J 软件进行分析。免疫组化染色依次采用微波加热法进行抗原修复,3% H_2O_2 去除内源性过氧化物酶干扰,山羊血清室温静置封闭后进行 S100A6 抗体孵育,即用型 SABC 兔试剂盒逐步处理后 DAB 显色,最后苏木精染核封片,光学显微镜下观察并计数 S100A6 染色阳性细胞数。

1.2.3　siRNA 干扰　　NCBI GeneBank 中查找 S100A6 小鼠基因 mRNA 序列,运用 Genesil 设计 3 条小干扰 RNA(small interference RNA,siRNA)寡核苷酸序列,交付上海吉玛公司合成。验证序列有效性后选择干扰效果最佳的序列运用于后续实验,该序列为:5′-CCAGAAGGAGCUCACCAUUTT-3′(上游),5′-AAUGGUGAGCUCCUUCUGGTT-3′(下游),对照组转染无效干扰序列(Control)。原代 HSCs 提取铺板 48 h 后进行换液并转染,转染过程如下:取无菌 EP 管并吸取 100 μL DMEM 加入,继缓慢滴入 20 pmol 待转染 siRNA,充分混匀后加入 3 μL siRNA-mate 转染试剂,移液器吹打完全混匀后室温静置 10 min,使 siRNA 和转染试剂形成转染复合物,移液器吸取转染复合物滴入培养皿中,吹打混匀。转染 24 h 后更换培养基,维持培养 48 h 候收取细胞用以提 RNA 和蛋白。

1.2.4　RT-qPCR　　用 TRIzol 裂解 C57BL/6 小鼠肝脏组织或原代 HSCs,RNA 提取试剂盒提取总 RNA 后采用 RT-PCR 试剂盒将 RNA 反转录合成 cDNA,然后以 cDNA 为模板,按照试剂盒体系说明书进行 PCR 定量检测。RT-PCR 按以下步骤进行:95 ℃预变性 2 min,变性阶段 94 ℃ 15 s,退火阶段 58 ℃ 45 s,延伸阶段 72 ℃ 60 s,循环 40 次。以 GAPDH 为内参基因,$2^{-\Delta\Delta Ct}$ 相对定量法处理数据。具体引物序列如下:S100A6 5′-TGGCAAGGAAGGTGACAAGC-3′(上游),5′-TTGTTA-CGGTCCAGATCATCCA-3′(下游),132 bpm;Ⅰ型胶原 5′-CTGCCGTGACAAGCGAGTTC-3′(上游),5′-GCT-CACTCATGCGACTGAAACC-3′(下游),152 bpm;α-SMA 5′-GATCTCTATGCTAACAACGTCCTG-3′(上游),5′-CTTCGTCGTATTCCTGTTTGC-3′(下游),220 bpm。

1.2.5　Western blot 检测　　用 4 ℃含有蛋白酶抑制剂的裂解液(1 mL PIPA+10 μL PMSA)裂解 C57BL/6 小鼠肝脏组织或原代 HSCs,BCA 法蛋白定量完成后样品电泳、转膜、脱脂牛奶封闭,膜条带在 4 ℃下过夜孵育待测指标一抗,第 2 天 TBST 清洗条带后二抗孵育,按超敏 ECL 化学发光试剂盒说明书配置显影剂;用 Bio-Rad 凝胶/发光图像分析系统进行图像采集,以目的蛋白/内参蛋白作为目的蛋白表达的相对量。

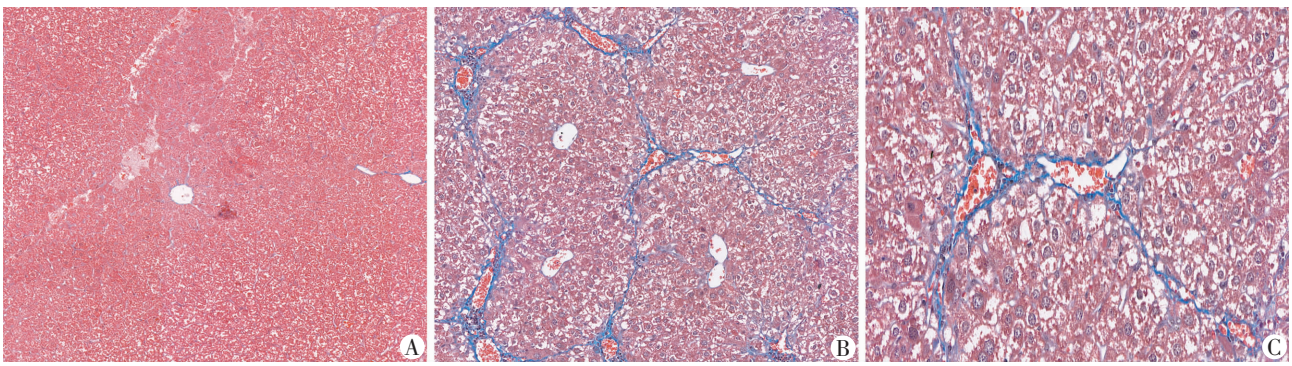
1.3　统计学分析

采用 SPSS 18.0 统计软件分析,所有数据均为计量资料,数据正态分布性检验采用 kolmogorov-smirnov 检验,正态分布数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,偏态分布数据以中位数±四分位数间距表示,方差齐性检验采用 Levene 检验,正态分布数据若具有方差齐性,两组均数间比较采用 t 检验,若不具有方差齐性则采用校正 t 检验;所有数据总体具有方差齐性,行单因素方差分析(One-Way ANOVA),组间两两比较采用 LSD-t 检验,检验水准 $\alpha=0.05$。

2　结果

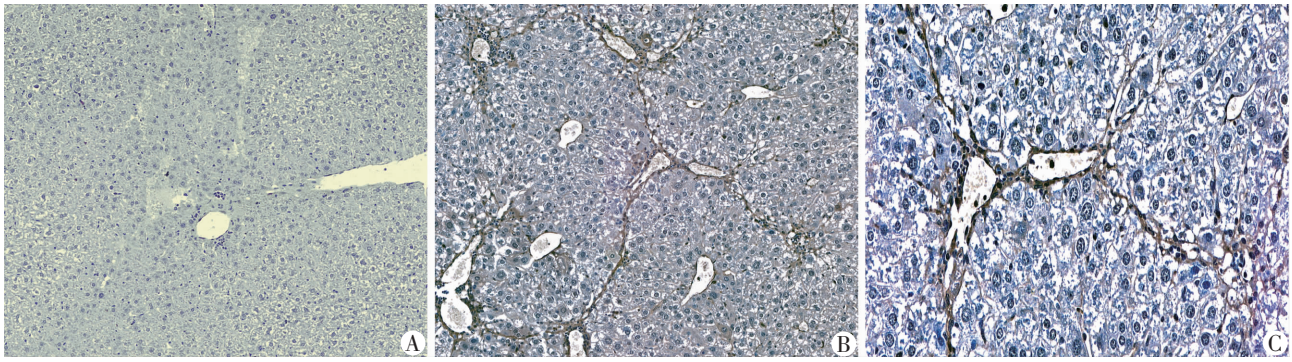
2.1　S100A6 在 CCl_4 诱导的小鼠肝纤维化组织中的表达

Masson 染色显示,在正常小鼠肝组织中几乎不可见特征性蓝染纤维素(图 1A),模型小鼠肝组织中假小叶形成,且可见较多蓝染的纤维素,提示模型复制成功(图 1B、C);对组织切片行免疫组化染色同样可发现在正常组小鼠肝组织中 S100A6 在肝实质内无表达,仅在血管或胆管上皮呈阳性表达(图 2A),而 CCl_4 处理组小鼠可见大量 S100A6 阳性细胞(图 2B、C),主要表达于纤维索条区域,提示 S100A6 在肝纤维化的表达有一定的细胞特异性。同时我们也检测了小鼠肝组织中 S100A6 mRNA 和蛋白的表达(图 3),结果显示 CCl_4 处理组小鼠肝组织 S100A6 mRNA 和蛋白表达显著高于对照组,S100A6 mRNA 表达差异具有统计学意义($P<0.05$)。



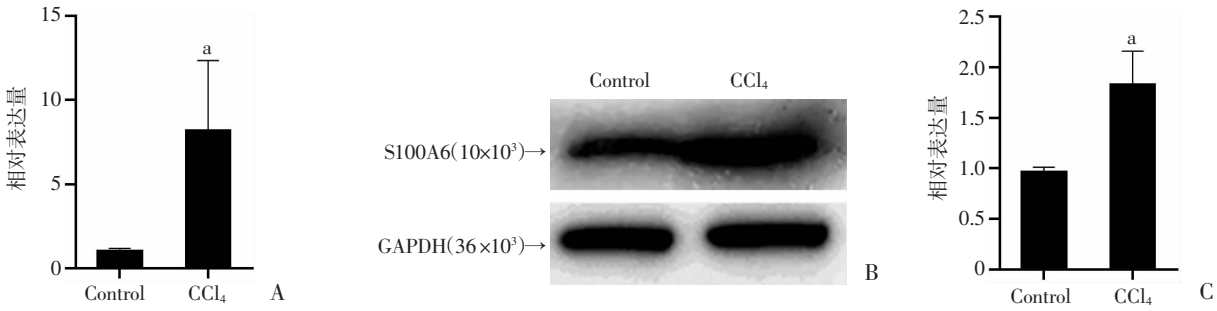
A:正常对照组肝脏组织无明显特征性蓝染纤维素(×150);B:肝纤维化组肝脏组织可见假小叶形成及特征性蓝染纤维素(×150);C:肝纤维化组肝脏组织特征性蓝染纤维素部位局部放大(×360)

图 1　Masson 染色评估肝组织纤维化程度



A:正常对照组肝实质组织无明显 S100A6 表达(×150);B:肝纤维化组肝脏组织纤维索条区域可见明显 S100A6 表达(×150);C:肝纤维化组肝脏组织纤维索条区域局部放大(×360)

图 2 免疫组化检测 S100A6 在肝组织内表达(SABC)



a:$P<0.05$,与 Control 组比较

A:正常对照组和肝纤维组肝组织 S100A6 mRNA 表达;B、C:正常对照组和肝纤维组肝组织 S100A6 蛋白表达

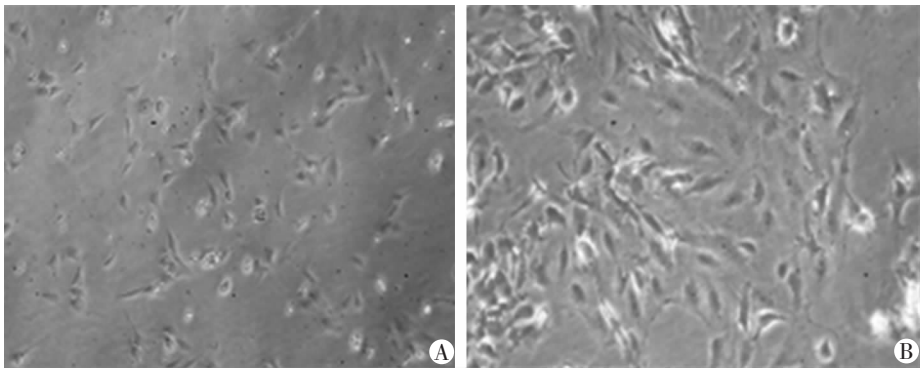
图 3 RT-qPCR、Western blot 检测肝组织 S100A6 mRNA 和蛋白表达

2.2 S100A6 在原代 HSCs 活化过程中表达

提取小鼠原代 HSCs 于体外培养活化,HSCs 随培养时间延长逐渐由富含脂滴的静止期细胞向成纤维细胞分化(图 4),并于体外培养 24、72、120 h 和 168 h 后检测 HSCs 中 S100A6 mRNA 和蛋白表达,结果显示 S100A6 mRNA 和蛋白表达均随着 HSCs 的活化而逐渐升高,mRNA 表达总体及各组间差异具有统计学意义($P<0.05$ 或 $P<0.001$,图 5)。

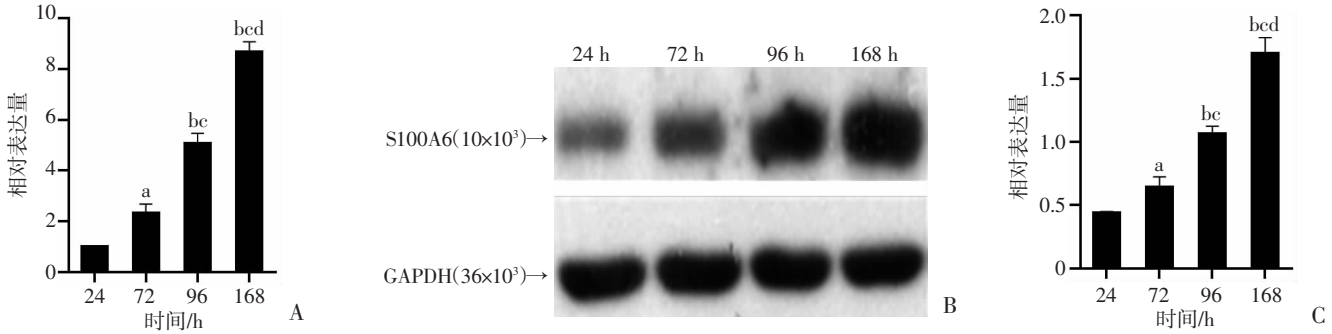
2.3 干扰 S100A6 的表达可抑制 HSCs 活化

提取小鼠原代 HSCs,体外培养 24 h 后分别加入对照 siRNA 和 siRNA-S100A6,干扰 72 h 后分别提取 mRNA 及蛋白行 RT-qPCR 及 Western blot 检测。结果显示干扰 S100A6 mRNA 表达后可显著抑制 HSCs 活化相关标志物 α-SMA 和Ⅰ型胶原 mRNA 表达,与对照组相比差异具有统计学意义($P<0.05$ 或 $P<0.001$);此外,α-SMA 和 Collagen Ⅰ蛋白表达亦明显下降(图 6)。



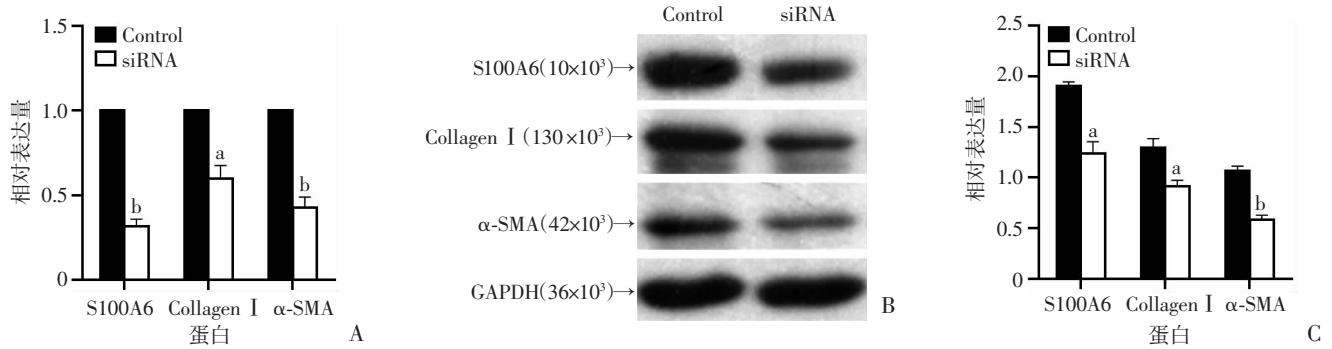
A:体外培养 24 h 后 HSCs 形态;B:体外培养 168 h 后 HSCs 形态

图 4 小鼠原代 HSCs 体外培养 24 h 和 168 h 后细胞形态观察(×200)



a: $P<0.05$,b: $P<0.001$,与 24 h 比较;c: $P<0.001$,与 72 h 比较;d: $P<0.001$,与 96 h 比较 A:RT-qPCR 检测结果;B:Western blot 检测结果;C:半定量分析结果

图 5 RT-qPCR、Western blot 检测不同培养时间 HSCs S100A6 mRNA 和蛋白表达



a:$P<0.05$,b:$P<0.001$,与各自 Control 组比较 A:RT-qPCR 检测结果;B:Western blot 检测结果;C:半定量分析结果

图 6 RT-qPCR、Western blot 检测 siRNA 干扰 HSCs S100A6 mRNA 表达后 S100A6、α-SMA 和 Collagen I mRNA 和蛋白表达

3 讨论

肝纤维化本质是对酒精、肝炎病毒、药物及自身免疫性疾病等因素导致慢性肝损伤的修复反应,其特点为细胞外基质的过度沉积[10],但其持续发展则导致肝硬化形成,其发展速度及程度等则决定了肝硬化患者生活质量及预后[11]。在肝纤维化进程中,肝星状细胞活化起着至关重要作用[12],活化的星状细胞向肌纤维母细胞或成纤维细胞转化,并合成及分泌细胞外基质(主要为胶原蛋白)、α-SMA 等细胞因子促进肝纤维化形成[13]。

目前对 S100A6 的研究尚少,主要在肿瘤及造血干细胞等领域。S100A6 能结合细胞内外多种配体,如胞质内的膜联蛋白(annexins)、微管蛋白(tubulin)、CacyBP/SIP、Sgt1,细胞核中 Lamin A/C、p53,细胞膜上高级聚糖化终产物受体(receptor for advanced glycation end products, RAGE)及整联蛋白 β(integrin β)等,在细胞增殖、分化、迁移及应激反应中发挥正向调控作用[14-15],临床试验结果显示血清 S100A6 水平可能成为膀胱、胃、非小细胞肺癌等肿瘤潜在检测标志[16-18]。而 S100A6 在组织脏器纤维化领域的研究更为少见。除 XIA 等[7]报道外,有学者通过对系统性硬化合并肺纤维化患者肺泡灌洗液进行蛋白质组学分析发现 S100A6 差异性表达并可作为潜在生物标记物[19]。虽然有研究表明 S100A6 可能在肝纤维化发病机制中发挥作用,可以促进 HSCs 的增殖[7],但 S100A6 是否影响 HSCs 的活化尚少见报道。

其他研究者观察到 S100A6 在纤维化肝脏组织中 HSCs 活化后形成的肌成纤维细胞中特异性高表达[6],在本实验中同样观察到 S100A6 主要表达于纤维化肝组织中纤维素富集区域,该区域亦为星状细胞富集区域,因此验证了 S100A6 在纤维化肝脏组织中的具体表达细胞。而对小鼠正常肝组织原代 HSCs 进行提取和培养后分析发现随着培养时间延长 S100A6 表达逐渐增多,由于 HSCs 在提取后培养过程中即被激活,因此可以认为 S100A6 主要在活化的 HSCs 中表达,并伴随着肝星状细胞活化进程逐渐增加。此外,以 siRNA 技术干扰 S100A6 mRNA 与蛋白的表达后,HSCs 活化

标志蛋白Ⅰ型胶原和α-SMA的表达均显著降低。Ⅰ型胶原蛋白是肝星状细胞活化后分泌细胞外基质的主要成分[20];α-SMA是发挥促纤维化作用肌纤维母细胞的重要标志物[21],在培养的肝星状细胞中表达可提示肝星状细胞活化向肌纤维母细胞转化;随着S100A6表达下降三者同时出现表达下降说明S100A6可以影响HSCs的活化。

本实验从HSCs细胞功能角度观察S100A6在HSCs活化过程中的表达水平,而不局限于活化终末期,同时干扰HSCs S100A6 mRNA表达后发现纤维化相关物质mRNA和蛋白表达减少,提示S100A6在肝纤维化中具有正向调控作用,进而证实S100A6在肝纤维化中是HSCs活化的一个重要调控蛋白,但其具体机制仍需进一步研究。

参考文献:

[1] 单姗,赵连晖,马红,等. 肝硬化的定义、病因及流行病学[J]. 临床肝胆病杂志,2021,37(1):14-16.
SHAN S, ZHAO L H, MA H, *et al*. Definition, etiology, and epidemiology of liver cirrhosis[J]. J Clin Hepatol, 2021, 37(1): 14-16. DOI: 10.3969/j.issn.1001-5256.2021.01.003

[2] WIEGAND J, BERG T. The etiology, diagnosis and prevention of liver cirrhosis: part 1 of a series on liver cirrhosis[J]. Dtsch Arztebl Int, 2013, 110(6): 85-91. DOI:10.3238/arztebl.2013.0085.

[3] HERNANDEZ-GEA V, FRIEDMAN S L. Pathogenesis of liver fibrosis[J]. Annu Rev Pathol, 2011, 6: 425-456. DOI:10.1146/annurev-pathol-011110-130246.

[4] REEVES H L, FRIEDMAN S L. Activation of hepatic stellate cells: a key issue in liver fibrosis[J]. Front Biosci, 2002, 7: d808-d826. DOI:10.2741/reeves.

[5] DONATO R, SORCI G, GIAMBANCO I. S100A6 protein: functional roles[J]. Cell Mol Life Sci, 2017, 74(15): 2749-2760. DOI:10.1007/s00018-017-2526-9.

[6] KRENKEL O, HUNDERTMARK J, RITZ T P, *et al*. Single cell RNA sequencing identifies subsets of hepatic stellate cells and myofibroblasts in liver fibrosis[J]. Cell, 2019, 8(5): E503. DOI:10.3390/cells8050503.

[7] XIA P, HE H L, KRISTINE M S, *et al*. Therapeutic effects of recombinant human S100A6 and soluble receptor for advanced glycation end products (sRAGE) on CCl_4-induced liver fibrosis in mice[J]. Eur J Pharmacol, 2018, 833: 86-93. DOI:10.1016/j.ejphar.2018.05.030.

[8] LI Y J, CHEN Y Y, HUANG H Y, *et al*. Autophagy mediated by endoplasmic reticulum stress enhances the caffeine-induced apoptosis of hepatic stellate cells[J]. Int J Mol Med, 2017, 40(5): 1405-1414. DOI:10.3892/ijmm.2017.3145.

[9] ZHONG L, HUANG L, XUE Q, *et al*. Cell-specific elevation of Runx2 promotes hepatic infiltration of macrophages by upregulating MCP-1 in high-fat diet-induced mice NAFLD[J]. 2019. DOI: 10.1002/jcb.28456. [Online ahead of print].

[10] BATALLER R, BRENNER D A. Liver fibrosis[J]. J Clin Invest, 2005, 115(2): 209-218. DOI:10.1172/jci24282.

[11] D'AMICO G, MORABITO A, D'AMICO M, *et al*. New concepts on the clinical course and stratification of compensated and decompensated cirrhosis[J]. Hepatol Int, 2018, 12(Suppl 1): 34-43. DOI:10.1007/s12072-017-9808-z.

[12] KITANO M, BLOOMSTON P M. Hepatic stellate cells and microRNAs in pathogenesis of liver fibrosis[J]. J Clin Med, 2016, 5(3): E38. DOI:10.3390/jcm5030038.

[13] DEWIDAR, MEYER, DOOLEY, *et al*. TGF-β in hepatic stellate cell activation and liver fibrogenesis—updated 2019[J]. Cells, 2019, 8(11): 1419. DOI: 10.3390/cells8111419.

[14] FILIPEK A, LEŚNIAK W. Current view on cellular function of S100A6 and its ligands, CacyBP/SIP and Sgt1[J]. Postepy Biochem, 2018, 64(3): 242-252. DOI: 10.18388/pb.2018_136.

[15] LESNIAK W, WILANOWSKI T, FILIPEK A. S100A6-focus on recent developments[J]. Biol Chem, 2017, 398(10): 1087-1094. DOI:10.1515/hsz-2017-0125.

[16] NISHI M, MATSUMOTO K, KOBAYASHI M, *et al*. Serum expression of S100A6 is a potential detection marker in patients with urothelial carcinoma in the urinary bladder[J]. Biomed Res, 2014, 35(6): 351-356. DOI: 10.2220/biomedres.35.351.

[17] WANG T, LIANG Y Q, THAKUR A, *et al*. Diagnostic significance of S100A2 and S100A6 levels in sera of patients with non-small cell lung cancer[J]. Tumour Biol, 2016, 37(2): 2299-2304. DOI:10.1007/s13277-015-4057-z.

[18] ZHANG J L, ZHANG K J, JIANG X L, *et al*. S100A6 as a potential serum prognostic biomarker and therapeutic target in gastric cancer[J]. Dig Dis Sci, 2014, 59(9): 2136-2144. DOI:10.1007/s10620-014-3137-z.

[19] LANDI C, BARGAGLI E, CARLEO A, *et al*. Bronchoalveolar lavage proteomic analysis in pulmonary fibrosis associated with systemic sclerosis:S100A6 and 14-3-3 epsilon as potential biomarkers[J]. Rheumatology (Oxf), 2019,58(1):165-78. DOI:10.1093/rheumatology/key223.

[20] PUCHE J E, SAIMAN Y, FRIEDMAN S L. Hepatic stellate cells and liver fibrosis[J]. Compr Physiol, 2013, 3(4): 1473-1492. DOI:10.1002/cphy.c120035.

[21] FORBES S J, PAROLA M. Liver fibrogenic cells[J]. Best Pract Res Clin Gastroenterol. 2011,25(2):207-17. DOI: 10.1016/j.bpg.2011.02.006.

(收稿:2021-04-18;修回:2021-07-29)

(编辑 邓强庭)