

· 论 著 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2015.12.003

急性肝衰竭大鼠肝脏的蛋白质组学研究*

蔡磊¹, 侯外林², 程远¹, 潘明新^{1△}, 高毅¹

(1. 南方医科大学珠江医院肝胆二科, 广东广州 510280; 2. 郴州市第一人民医院肝胆外科, 湖南郴州 423000)

[摘要] **目的** 筛选急性药物性肝衰竭大鼠肝脏组织的差异表达蛋白质。**方法** 将 24 只 SD 大鼠分为两组, 12 只通过腹腔注射 10 g/L 的 D-氨基半乳糖建立大鼠急性肝衰竭模型(实验组), 12 只腹腔注射生理盐水作为对照组。提取两组大鼠肝脏组织的蛋白质, 定量后进行 IEF 和十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)双向凝胶电泳(2-DE)分离, 通过软件找到差异蛋白点并使用基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱法(MALDI-TOF-MS)进行鉴定。**结果** 成功鉴定出 27 个有效的差异蛋白质点, 其中实验组较对照组上调 15 个, 下调 12 个。**结论** 急性药物性肝衰竭模型大鼠肝脏酪蛋白激酶 I α (CK I α)、酪氨酸蛋白激酶(PTK)、增殖细胞核抗原(PCNA)等蛋白的表达较正常大鼠存在显著差异。

[关键词] 大鼠; 肝功能衰竭, 急性; 蛋白质组学; 电泳, 凝胶, 双向; 光谱法, 质量, 基质辅助激光解吸电离

[中图分类号] R332 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2015)12-1592-04

Proteomics study on liver of acute hepatic failure rats*

Cai Lei¹, Hou Wailin², Cheng Yuan¹, Pan Mingxin^{1△}, Gao Yi¹

(1. Second Department of Hepatobiliary Surgery, Zhujiang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou, Guangdong 510282, China; 2. Department of Hepatobiliary Surgery, Chenzhou First People's Hospital, Chenzhou, Hunan 423000, China)

[Abstract] **Objective** To screen the differentially expressed proteins in the liver tissue of the drug-induced acute hepatic failure rats. **Methods** Twenty-four male SD rats were randomly divided into two groups, the experimental group (12 cases) was given D-galactosamine 10g/L by intraperitoneal injection and the control group (12 cases) was given normal saline by intraperitoneal injection. The total proteins in the liver tissue samples were extracted, quantitated, and subjected to separate by the two-dimension electrophoresis (2-DE) of isoelectric focusing (IEF) and SDS-PAGE, found out the discrepant protein spots by the software and performed the identification by MALDI-TOF-MS. **Results** 27 differential protein spots were successfully identified, and 15 up-regulated and 12 down-regulated proteins expressions were obtained in the experimental group compared with the control group. **Conclusion** The significant differences in the expressions of proteins, such as casein kinase I (CK I α), tyrosine protein kinase (PTK), proliferating cell nuclear antigen (PCNA), etc. in the liver exist between the acute hepatic failure model rats and the normal ones.

[Key words] rats; liver failure, acute; proteomics; electrophoresis, gel, two-dimensional; spectrometry, mass, matrix-assisted laser desorption-ionization

众多研究证实, 骨髓干细胞(BMSCs)在肝衰竭环境下能够在肝内分化成具备部分甚至全部肝细胞功能的肝样细胞^[1-3], 具体分化机制尚不明确^[4-5]。比较一致的看法是: 在肝衰竭微环境中存在着的某些蛋白分子, 通过一定的信号通路传递, 选择性地抑制或激活 BMSCs 的转录因子, 从而启动 BMSCs 向肝样细胞定向分化的相应关键基因, 进而出现特定的转录和翻译, 导致细胞内特异性蛋白合成并产生相应的生物学效应, 从而使 BMSCs 分化后的细胞在生化、结构和功能上发生变化。在此分化过程中, 有启动作用的“关键”蛋白在该过程中可能起到了十分重要的作用。因而, 如何筛选出这些“关键”蛋白成为了探讨其分化机制的难点。本研究利用蛋白质组学双向凝胶电泳(2-DE)和质谱分析等技术观察急性药物性肝衰竭模型大鼠和正常大鼠肝脏组织蛋白质的表达变化, 试图以微环境为突破口, 探讨 BMSCs 在肝内向肝样细胞定向分化的分子机制。

1 材料与方法

1.1 材料 实验动物: 健康雄性 SD 大鼠 24 只, 10 周龄, 体质

量 200~250 g, 购自南方医科大学动物实验中心。主要试剂与仪器: D-氨基半乳糖盐酸盐购自南京嘉源医药科技有限公司; 十二烷基磺酸钠(SDS)三羧基氨基甲烷(Tris 碱), 丙烯酰胺(Arc)均购自美国 Sigma 公司; ddH₂O、无水乙醇和 100% 乙醚(CAN)均购自广州市化学试剂厂; 脱色工作液、酶解工作液、酶解缓冲液和 CCA 基质工作液均购自德国 SERVA Electrophoreses 公司; 固相 pH 梯度干胶条(IPG dry strip pH 4-7 NL, 24 cm)、IPG 缓冲液 Bio-Lytes + 4/7、等电聚焦仪(IPG-PhorII)和垂直电泳系统(GE Ettan DALT six, 26 × 20 cm)均为美国通用(GE)公司; 基质辅助激光解吸飞行时间质谱(MALDI-TOF-MS)仪为德国 Bruker 公司。

1.2 方法

1.2.1 实验动物分组及动物模型制作 将 24 只 SD 大鼠分为实验组和对照组, 每组 12 只。实验组大鼠腹腔内注射 10 g/L 的 D-氨基半乳糖(0.12 L/kg), 对照组大鼠腹腔内注射生理盐水(0.12 L/kg)。

* 基金项目: 国家高技术研究发展计划(863 计划)课题(2006AA02A141); 广东省科技计划项目(2011B031800127)。 作者简介: 蔡磊(1986—), 医师, 博士研究生, 主要从事干细胞、组织工程及生物人工肝脏方面研究。 △ 通讯作者, Tel: 18928918216; E-mail: pmxwxy@sohu.com。

1.2.2 动物模型的鉴定和肝脏组织标本的采集 两组大鼠腹腔用药 48 h 后,对存活大鼠均用 30 g/L 戊巴比妥钠腹腔注射麻醉,腹部正中切口打开腹腔,观察肝脏大体形态,迅速行心脏采血,静置 2 h 后离心取上清液检测丙氨酸氨基转移酶(ALT)及天门冬氨酸氨基转移酶(AST)。同时每只大鼠取 2 个肝脏组织标本(每个标本大小约为 1 mm³),其中一标本用于病理鉴定,另一标本用于蛋白电泳实验。

1.2.3 标本组织的全蛋白质提取 取 -80 °C 保存的各组肝脏组织块,迅速研磨至细粉末状,再分别收集于匀浆器内,分别加入 0.5 mL 裂解液,冰浴中匀浆;1 000 r/min 离心 10 min,收集匀浆液于 EP 管中,液氮反复冻融 3 次,每次融开后注意混匀,离心管加入核酸酶,分别加入 10 mg/mL 的 DNA 酶 3.6 μL 和 RNA 酶 1.2 μL,放入冰浴裂解 20 min 并间断辅以超声促进裂解;12 000 r/min 4 °C 离心 60 min 后收集上清液,Bradford 法定量蛋白水平。

1.2.4 2-DE 和图像分析 将两组样品分别溶于 300 μL 重泡涨液中,将 IPG 胶条放入槽中液体之上,胶条上覆盖 1 层矿物油。条件为:恒压 50 V,15 °C,持续 16 h。设置聚焦条件:(1) 250 V,15 °C,15 min;(2)从 250~10 000 V,15 °C,5 h;(3) 10 000 V,15 °C,6 h;(4)500 V,15 °C,维持。等电聚焦完成后将 IPG 胶条置于 -20 °C 冰箱中保存过夜。4%~20% 梯度 SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳(PAGE),大小为 20.0 cm × 20.0 cm × 0.1 cm。将平衡后的 IPG 胶条移至凝胶的上方,相对分子质量标记物与胶条平行放置,用 0.5% 的琼脂糖凝胶封闭。电泳缓冲液为 Tris-甘氨酸-SDS,在室温下以恒压 100 V 开始电泳,直到溴酚蓝条带前沿达到玻璃板下缘为止。以固定液将胶片固定至完全脱色,用兼容质谱银染法染色,将两组 2-DE 图谱进行匹配。

1.2.5 质谱鉴定 将差异显著的蛋白质点从胶上切下,置于 1.5 mL 的 EP 管中并分别标记位点,加入超纯水振动洗涤 3 次后,每点加脱色工作液 50 μL 水浴 37 °C 下脱色 30 min,经完

全脱水后每点加酶解工作液 5 μL 并冰上吸涨 60 min 后,加酶解缓冲液 30 μL,37 °C 下酶解过夜后取上清置于 0.5 mL 的 EP 管中,每点加萃取工作液 30 μL,水浴 37 °C 下萃取 60 min,之后经抽干浓缩至体积为 5 μL。按先后 DDH₂O、无水乙醇和 100% ACN 乙腈各 2 次洗板后,每点样孔先均匀点 0.5 μL 样品,再加 0.5 μL CCA 基质工作液(CCA 0.001 g+5% TFA 20 μL+100% ACN 乙腈 500 μL+DDH₂O 480 μL)于靶板上,室温干燥后用 MALDI-TOF-MS 进行鉴定。将经反相树脂柱纯化、浓缩后的肽段用内标法校正的 MALDI-TOF-MS 进行质谱鉴定后,将所得的肽质量指纹谱数据输入网络应用程序(<http://prowl.rockefeller.edu/prowl/cgi/profound.exe>)进行检索,得出蛋白质名称、等电点(pI)、相对分子质量等详细信息。

1.3 统计学处理 采用 SPSS13.0 统计软件进行分析,以 Image Master 2D 软件分别计算实验组与对照组该蛋白质点相对水平的平均值并进行比较,同时进行 Student's *t* 检测及 Mann-Whitney *U* 检测(软件自带),计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 *t* 检验,以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 大鼠急性药物性肝衰竭模型的鉴定 给药 48 h 后,实验组 SD 大鼠的 ALT 及 AST 水平均显著高于对照组 (*P* < 0.05),见表 1。实验组大鼠给药 48 h 后见肝脏肿大,包膜紧张,表面呈颗粒状改变镜下见肝小叶结构破坏,肝细胞大片变性坏死,细胞质疏松、坏死区炎细胞浸润,肝窦扩张,呈网状,其内可见淤血及出血。对照组大鼠 48 h 后肝脏组织未见明显异常(图 1)。证明 SD 大鼠急性药物性肝衰竭模型构建成功。

表 1 两组大鼠 ALT 及 AST 水平比较 [$\bar{x} \pm s, n=12, U/L$]

组别	ALT	AST
实验组	1 109.41 ± 79.41	1 120.50 ± 80.38
对照组	42.68 ± 7.07 ^a	38.91 ± 5.33 ^a

^a: *P* < 0.05, 与实验组比较。

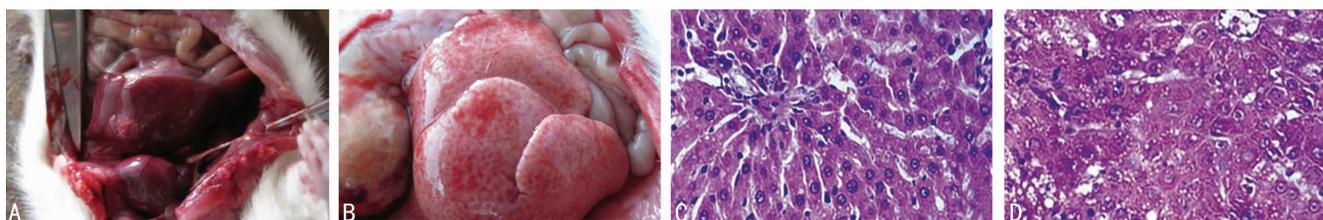


图 1 对照组大体标本;B:实验组大体标本;C:对照组病理组织(×400);D:实验组病理组织(×400)。

2.2 两组大鼠肝脏组织蛋白质 2-DE 结果

两组 SD 大鼠肝脏组织电泳结果显示,蛋白质在 pH 3~10、相对分子质量在 16~250 × 10³ 能被很好地分离。比较两组 SD 大鼠肝脏组织蛋白质 2-DE 结果,发现 27 个差异蛋白质位点,其中实验组较对照组上调 15 个(图 2A),下调 12 个(图 2B)。在实验组所筛选出的蛋白中,酪蛋白激酶 I α(casein kinase I, CK I α)和增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA)较对照组明显上调,酪氨酸蛋白激酶(protein tyrosine kinase, PTK)明显下调。

件分析检索结果中的 Protein Score 值,得到 27 个具有意义的蛋白质,见表 2。

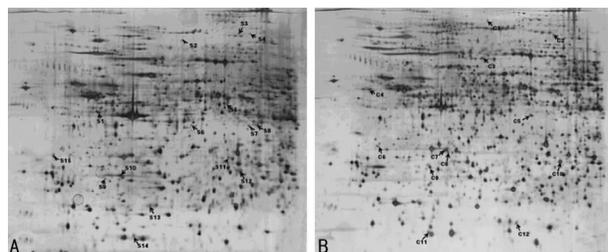


图 2 A:较对照组上调位点;B:较对照组下调位点。

2.3 肽质量指纹谱数据库的检索

根据检测结果与肽质量指纹谱数据库中有蛋白质的匹配程度确定所检测点位的蛋白质属性,结合 GPMW 8.00 DEMO 蛋白质质谱与序列分析软

表 2 27 个差异蛋白质位点的相对分子质量和等电点

序号	蛋白质名称	登录号	相对分子质量	等电点	上/下调	蛋白质的主要功能
S1	细胞角蛋白-18	K1C18_RAT	47 761.29	5.17	上调	参与丝蛋白重组及凝血酶/抗凝血酶的合成
S2	凝胶溶素	GELS_RAT	86 067.60	5.75	上调	参与钙调节及调节肌动蛋白
S3	溶质载体家族 25 成员 42	S2542_RAT	35 099.64	9.86	上调	参与细胞内某些蛋白的转运
S4	酪蛋白激酶 I α	KC1A_RAT	37 495.24	9.55	上调	磷酸化激活络氨酸酸性蛋白;参与 Wnt 信号通路及有丝分裂的染色体分离
S5	T 盒转录因子	TBX3_RAT	79 334.56	7.72	上调	在生长发育过程中起转录抑制作用
S6	血红蛋白亚基	HBB1_RAT	15 979.39	7.87	上调	参与血液中的氧气运输
S7	角蛋白-6A	K2C6A_RAT	59 249.06	8.06	上调	参与细胞骨架的构建
S8	巨噬细胞上限蛋白	CAPG_RAT	38 798.86	6.11	上调	参与肌动蛋白丝的运动,可能参与吞噬作用
S9	衰老标记蛋白 30	RGN_RAT	33 389.85	5.27	上调	调节肝肾中钙依赖性酶的活性,参与相关信号转导
S10	氯离子通道蛋白 1	CLIC1_RAT	26 980.77	5.09	上调	参与氯离子通道的形成
S11	磷脂结合蛋白 1	PEBP1_RAT	20 801.39	5.47	上调	起连接阿片类药物、磷脂及 ATP 的桥梁作用
S12	肝脏果糖激酶	KHK_RAT	32 749.30	6.24	上调	参与肝脏果糖代谢
S13	过氧化物酶体多功能酶 2 型	DHBA_RAT	79 427.78	8.77	上调	参与脂肪酸的 β 氧化
S14	核 RNA 激活蛋白复合物亚基 2	SNPC2_RAT	38 568.65	5.83	上调	参与核 RNA 合成酶的组成
S15	增殖细胞核抗原	PCNA_RAT	28 748.79	4.57	上调	作为辅基参与 DNA 聚合酶的合成
C1	天冬氨酰-tRNA 合成酶	SYDC_RAT	57 126.23	6.02	下调	参与 tRNA 的合成、转运
C2	酪氨酸蛋白激酶	HCK_RAT	59 153.59	7.13	下调	参与多种信号转导通路及中性粒细胞的趋化
C3	DNA 指导的 RNA 聚合酶 I 亚基 RPA2	RPA2_RAT	127 720.55	8.35	下调	参与 RNA 聚合酶的组成
C4	脱氢酶复合物 E2 类组件	ODO2_RAT	48 925.36	8.89	下调	参与各种代谢的脱氢过程
C5	1,6-二磷酸酶	F16P1_RAT	39 609.37	5.54	下调	水解磷酸键
C6	异质核糖甾菌	HNRPK_RAT	39 609.37	5.54	下调	参与 hnRNA 的合成及功能
C7	α 可溶性 NSF 附着蛋白	SNAA_RAT	33 192.66	5.30	下调	参与高尔基体和内质网之间的膜泡运输
C8	乳腺癌抗雌激素耐药蛋白 1	BCAR1_RAT	104 262.12	5.90	下调	作为对接蛋白,在酪氨酸蛋白激酶相关信号通路中参与细胞黏附有关的作用
C9	无机焦磷酸酶	LHPP_RAT	29 190.30	5.24	下调	参与无机二磷酸酶的活性
C10	细胞色素 P450 2G1	CP2G1_RAT	56 780.86	8.84	下调	作为血红素硫化酶家族成员,参与嗅觉相关的生理过程
C11	细胞角蛋白-1	K2C1_RAT	64 830.85	8.00	下调	参与蛋白激酶 C 等有关的生理活动
C12	谷胱甘肽过氧化物酶 1	GPX1_RAT	22 155.26	7.70	下调	防止血红蛋白被氧化破坏

3 讨 论

BMSCs 在肝衰竭微环境中向肝样细胞分化是一个复杂的过程。在此分化过程中,肝衰竭的肝内微环境中某些蛋白质可能起了关键作用。目前,利用蛋白质组学相关技术对脂肪肝、肝纤维化的研究较多^[6-7],对肝衰竭的研究鲜有报道^[8]。

本研究根据文献^[9-10]报道,建立了急性药物性肝衰竭大鼠模型,并通过肝功能检测及病理组织学分析鉴定了模型的可靠性,为本研究利用蛋白质组学技术筛选肝衰竭微环境中的“关键蛋白”奠定了良好的基础。成功建模后,本研究采用蛋白质组学技术检测了实验组与对照组大鼠肝组织内微环境的蛋白质表达差异,并通过蛋白质组学相关软件从中筛选出了 27 个差异蛋白,其中,实验组大鼠肝脏中 15 种蛋白表达上调,12 种表达下调。这些蛋白质根据它们的功能分类,可分为细胞结构重组相关蛋白、细胞新陈代谢相关蛋白。在实验组所筛选出的蛋白中,CK I α 和 PCNA 较对照组明显上调,PTK 明显下调,通过生物信息学分析发现上述 3 个蛋白与信号转导通路、细胞

增殖和组织分化密切相关,因此可推测它们可能在 BMSCs 定向分化为肝样细胞的过程中起着关键作用。

CK I α 是一类具有独特理化特性的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,广泛存在于真核生物中,并主要分布在细胞质、细胞核、细胞膜及细胞骨架等部位^[11]。其可参与到包括基因表达、DNA 修复、细胞周期的进行及细胞增殖等多种细胞调节过程中。可以磷酸化底物蛋白质中已被磷酸化的位点,也可作为其他蛋白激酶的底物被磷酸化,从而参与蛋白质的级联磷酸化过程,在信号转导途径中发挥作用^[12]。研究证实 CK I α 在经典的 Wnt 信号通路中是一个重要的调节蛋白,起着双向调节的作用^[13]。柯尊富^[14]发现在 MSCs 向肝样细胞分化过程中,Notch 信号通路明显下调,而 TGF- β 和 Jak-stat 信号通路各基因的表达趋势不规则,同时 Wnt 信号上调可以抑制 MSCs 向肝细胞分化,使 MSCs 保持未分化状。本结果表明,肝脏损伤后 CK I α 表达量上调,推断其可能通过 Wnt 信号通路诱导 BMSCs 向肝样细胞分化。PTK 是一类催化 ATP 上 γ -磷酸转

移到蛋白酪氨酸残基上的激酶,能催化多种底物蛋白质酪氨酸残基磷酸化,在细胞生长、增殖和分化中具有重要作用。目前与 PTK 相关的信号通路中研究较多的是 MAPK 和 JAK-STAT 信号通路^[15-16]。大多数生长因子的受体都有受体酪氨酸激酶活性,而这些因子中的许多如肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)、成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor, FGF)、表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)等均已被证实单独和(或)联合均能诱导 BMSCs 向肝样细胞分化^[17]。PCNA 是 DNA 聚合酶 δ 的辅助蛋白。有研究发现,PCNA 与细胞 DNA 合成关系密切,在细胞增殖的启动上起重要作用,检测 PCNA 在细胞中的表达,可作为评价细胞增殖状态的一个指标^[18]。有报道表明,P21Cip/WAF1 的高表达抑制了 BMSCs 增殖,同时在其向肝样细胞分化过程中起一定调控作用,P27Kip1 可能并不起作用,PCNA 的表达则与 P21Cip/WAF1 相反,呈逐步减少趋势^[19]。本结果显示,PCNA 在肝衰竭肝组织中表达比正常大鼠肝组织高,推测该蛋白可能通过调节干细胞 RNA 的转录,促使归巢于肝脏中的干细胞迅速合成大量的核酸和蛋白质,进一步修复受损的肝功能。

目前,虽然微环境中各种因子的作用尚未完全确定,但是必要的因子在准确的时间和阶段起作用 BMSCs 分化为肝样细胞的关键^[20]。因此,对微环境中蛋白分子及其相关信号通路的研究有助于初步阐明 BMSCs 体内定向分化为肝样细胞的分子机制。本研究利用蛋白质组学 2-DE 和质谱分析等技术观察急性药物性肝衰竭模型大鼠和正常大鼠肝脏组织蛋白质的表达变化,并对其中的 CK I α 、PTK、PCNA 等蛋白可能与干细胞的增殖及分化的关系进行了探讨。对进一步研究骨髓干细胞如何在肝衰竭环境下分化成肝样细胞提供了可能的研究方向。

参考文献

- Zhang L, Ye JS, Decot V, et al. Research on stem cells as candidates to be differentiated into hepatocytes[J]. *Biomater Eng*, 2012, 22(1/2/3): 105-111.
- Piryaei A, Valojerdi MR, Shahsavani M, et al. Differentiation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells into hepatocyte-like cells on nanofibers and their transplantation into a carbon tetrachloride-induced liver fibrosis model[J]. *Stem Cell Rev*, 2011, 7(1): 103-118.
- Pournasr B, Mohamadnejad M, Bagheri M, et al. In vitro differentiation of human bone marrow mesenchymal stem cells into hepatocyte-like cells[J]. *Arch Iran Med*, 2011, 14(4): 244-249.
- Wu XB, Tao R. Hepatocyte differentiation of mesenchymal stem cells[J]. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*, 2012, 11(4): 360-371.
- Puglisi MA, Saulnier N, Piscaglia AC, et al. Adipose tissue-derived mesenchymal stem cells and hepatic differentiation: old concepts and future perspectives[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2011, 15(4): 355-364.
- Rodriguez-Suarez E, Mato JM, Elortza F. Proteomics analysis of human nonalcoholic fatty liver[J]. *Methods Mol Biol*, 2012(909): 241-258.
- Yamada M, Satoh M, Seimiya M, et al. Combined Proteomic Analysis of Liver Tissue and Serum in Chronically Alcohol-Fed Rats[J]. *Alcohol Clin Exp Res*, 2012, 37 Suppl 1: E79-87.
- Cho EH, Koh PO. Proteomic identification of proteins differentially expressed by melatonin in hepatic ischemia-reperfusion injury[J]. *J Pineal Res*, 2010, 49(4): 349-255.
- Hocher B, Heiden S, von Websky K, et al. Dual endothelin-converting enzyme/neutral endopeptidase blockade in rats with D-galactosamine-induced liver failure[J]. *Eur J Med Res*, 2011, 16(6): 275-279.
- Zhang L, Kang W, Lei Y, et al. Granulocyte colony-stimulating factor treatment ameliorates liver injury and improves survival in rats with D-galactosamine-induced acute liver failure[J]. *Toxicol Lett*, 2011, 204(1): 92-99.
- Reinhardt J, Ferandin Y, Meijer L. Purification of CK1 by affinity chromatography on immobilised axin[J]. *Protein Expr Purif*, 2007, 54(1): 101-109.
- Legent K, Steinhauer J, Richard M, et al. A screen for X-linked mutations affecting Drosophila photoreceptor differentiation identifies Casein kinase Ialpha as an essential negative regulator of wingless signaling[J]. *Genetics*, 2012, 190(2): 601-616.
- Kikuchi A, Yamamoto H, Sato A. Selective activation mechanisms of Wnt signaling pathways[J]. *Trends Cell Biol*, 2009, 19(3): 119-129.
- 柯尊富. Wnt/Notch/TGF- β /Jak-stat 信号通路在 BMSC 肝向分化过程中的调控机制研究[D]. 广州: 中山大学, 2008.
- 刘灏, 陈景良, 向国安. hHGF 调控肝纤维化信号转导途径研究[J]. *南方医科大学学报*, 2010, 30(3): 431-434.
- Jiang H, Grenley MO, Bravo MJ, et al. EGFR/Ras/MAPK signaling mediates adult midgut epithelial homeostasis and regeneration in Drosophila[J]. *Cell Stem Cell*, 2011, 8(1): 84-95.
- Chivu M, Dima SO, Stancu CI, et al. In vitro hepatic differentiation of human bone marrow mesenchymal stem cells under differential exposure to liver-specific factors[J]. *Transl Res*, 2009, 154(3): 122-132.
- Seki T, Yokoyama Y, Nagasaki H, et al. Adipose tissue-derived mesenchymal stem cell transplantation promotes hepatic regeneration after hepatic ischemia-reperfusion and subsequent hepatectomy in rats[J]. *J Surg Res*, 2012, 178(1): 63-70.
- 汤志华, 闵军, 陈积圣, 等. P21Cip/WAF1 及 P27Kip1 与增殖细胞核抗原在人骨髓间充质干细胞向肝细胞分化过程中的表达[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2009, 13(23): 4577-4580.
- Li Y, Kang X, Guo K, et al. Proteome alteration of early-stage differentiation of mouse embryonic stem cells into hepatocyte-like cells[J]. *Electrophoresis*, 2009, 30(9): 1431-1440.