

肿 瘤

DOI: 10.13406/j.cnki.cyxh.001795

IL-6/STAT3 信号通路与小鼠联合原位肝劈开
和门静脉分支结扎术后肝脏再生的关系

季 磊, 闫 挺, 任 翱, 万顺缘, 罗诗樵

(重庆医科大学附属第一医院肝胆外科, 重庆 400016)

【摘要】目的:建立联合原位肝劈开和门静脉分支结扎(associating liver partition and portal vein ligation for staged hepatectomy, ALPPS)小鼠模型,研究 IL-6/STAT3 信号通路与 ALPPS 促进肝脏再生的关系。**方法:**将 45 只 BALB/C 小鼠随机分为 3 组,分别为 ALPPS 组、门静脉分支结扎(portal vein ligation, PVL)组和假手术(SHAM)组,每组 15 只。PVL 组即结扎支配左外叶、中叶右侧和右叶的门静脉分支,保留支配中叶左侧和尾状叶的门静脉分支血流。ALPPS 组即在 PVL 组的基础上,沿着中叶缺血线将中叶离断。SHAM 组即离断肝韧带,游离肝脏各叶。通过测定血浆 ALT 值,评估 ALPPS 和 PVL 术后肝功能情况。用肝脏再生指数评估肝脏再生情况。免疫组化检测 Ki-67 阳性蛋白表达来评估肝细胞增殖情况。免疫印迹技术被用来检测肝组织 IL-6/STAT3 信号通路变化情况。**结果:**术后 48 h 的 ALPPS 组 ALT 值高于 PVL 组,且两者有统计学差异($P=0.000$)。而 ALPPS 和 PVL 术后 96 h 的 ALT 值较 48 h 下降,且两者在术后 96 h 的 ALT 值无明显统计学差异($P=0.094$)。术后 48 h 和 96 h 的 ALPPS 组的肝脏再生指数($P_{48h}=0.000, P_{96h}=0.000$)和 Ki-67 阳性细胞与肝细胞总数比值($P_{48h}=0.001, P_{96h}=0.000$)高于 PVL 组,且两者有统计学差异。术后 48 h 的 ALPPS 组 IL-6 蛋白的表达和 STAT3 蛋白的磷酸化程度高于 SHAM 组($P_{IL-6}=0.000, P_{STAT3}=0.000$)和 PVL 组($P_{IL-6}=0.011, P_{STAT3}=0.003$),且有统计学差异。**结论:**成功建立了小鼠 ALPPS 模型,ALPPS 比 PVL 更能促进肝脏再生和 IL-6/STAT3 信号通路与 ALPPS 介导肝脏再生的过程存在密切的关系。

【关键词】联合原位肝劈开和门静脉分支结扎“二步”肝切除术;肝脏再生;IL-6/STAT3 信号通路

【中图分类号】R657.3

【文献标志码】A

【收稿日期】2018-03-23

Association of the IL-6/STAT3 signaling pathway with liver regeneration
induced by associating liver partition and portal vein ligation
for staged hepatectomy in mice

Ji Lei, Yan Ting, Ren Ao, Wan Shunyu, Luo Shiqiao

(Department of Hepatobiliary Surgery, The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University)

【Abstract】Objective: To establish a mouse model of associating liver partition and portal vein ligation for staged hepatectomy (ALPPS), and to investigate the association of the interleukin-6(IL-6)/STAT3 signaling pathway with liver regeneration promoted by ALPPS. **Methods:** A total of 45 BALB/C mice were randomly divided into ALPPS group, portal vein ligation(PVL) group, and sham-operated group(SHAM group), with 15 mice in each group. The PVL group was treated with ligation of the portal vein branches for the left lateral lobe, the right side of the middle lobe, and the right lobe while preserving the blood flow in the portal vein branches for the left side of the middle lobe and the caudate lobe. The ALPPS group was treated with partition of the middle lobe along the demarcation line in addition to the treatment in the PVL group. The SHAM group was treated by dissociating the liver lobes along the hepatic ligaments. The plasma level of alanine aminotransferase(ALT) was measured to evaluate liver function after ALPPS and PVL. The liver regeneration index was used to evaluate liver regeneration. The expression of Ki-67 protein was measured by immunohistochemistry to evaluate the proliferation of hepatocytes. Western blotting was used to examine the change in the IL-6/STAT3 signaling pathway in

liver tissue. **Results:** At 48 hours after surgery, the ALPPS group had a significantly higher ALT level than the PVL group ($P=0.000$); from 48 to 96 hours after surgery, both ALPPS and PVL groups had a reduction in ALT level, and there was no significant difference in ALT level between the ALPPS group and the PVL group at 96 hours after surgery ($P=0.094$). At 48 and 96

作者介绍: 季 磊, Email: dfjlei@163.com,

研究方向: 肝脏再生。

通信作者: 罗诗樵, Email: luoshiqiao@hotmail.com。

基金项目: 重庆市委资助项目(编号: cstc2013jcyjA10105)。

优先出版: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20180615.1111.014.html>

(2018-06-15)

hours after surgery, the ALPPS had significantly higher liver regeneration index ($P_{48h}=0.000, P_{96h}=0.000$) and percentage of Ki-67-positive hepatocytes ($P_{48h}=0.001, P_{96h}=0.000$) than the PVL group. At 48 hours after surgery, the ALPPS group had significantly higher expression of IL-6 protein and phosphorylation of STAT3 protein than the SHAM group ($P_{IL-6}=0.000, P_{pSTAT3}=0.000$) and the PVL group ($P_{IL-6}=0.011, P_{pSTAT3}=0.003$). **Conclusion:** A mouse model of ALPPS was successfully established. Compared with PVL, ALPPS can better promote liver regeneration and the IL-6/STAT3 signaling pathway and is closely associated with ALPPS-mediated liver regeneration in mice.

[Key words] associating liver partition and portal vein ligation for staged hepatectomy; liver regeneration; IL-6/STAT3 signaling pathway

肝脏部分切除术已经成为肝脏原发肿瘤和转移瘤标准的治疗方法,但是肝脏巨大肿瘤和多发转移瘤的患者因为术后肝脏残余体积小,残余肝脏再生能力不足,常导致术后肝衰竭等原因,因而失去手术机会^[1]。许多方法被运用到临床上来提高肝脏巨大肿瘤和多发转移瘤的可切除性,其中传统“二步”肝切除术法在临床经常被应用,该方法可以使部分患者达到可切除的标准,但是还有许多患者实施门静脉分支栓塞后,其健侧肝脏再生不足或者在等待健侧肝脏再生,肿瘤发生进展和转移,使患者彻底失去手术机会^[2]。最近,一种新型“二步”肝脏切除术即联合原位肝劈开和门静脉分支结扎“二步”肝切除术(associating liver partition and portal vein ligation for staged hepatectomy, ALPPS)被应用,该术式可以克服传统“二步”肝切除术短期健侧肝脏再生不足,且两步等待间隔较长等缺点,最新临床研究显示实施 ALPPS 患者可在短期内促使肝脏快速再生^[3-6]。ALPPS 促使肝脏快速再生的机制至今不是很清楚,而一些研究证实 IL-6/STAT3 信号通路在细胞分裂分化、免疫和炎症反应以及肿瘤发生发展过程中起着重要作用^[7-8],那么 IL-6/STAT3 信号通路是否与小鼠 ALPPS 介导的肝脏再生有着密切的关系还不是很清楚。因而研究组建立小鼠 ALPPS 模型,研究 IL-6/STAT3 信号通路与 ALPPS 促进肝脏再生的关系。

1 材料与方法

1.1 材料

45 只雌性 BALB/C 小鼠,体质量 18~20 g,由重庆医科大学实验动物中心提供,饲养在 SPF 级动物房内,造模前 12 h 禁食不禁水。丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)测定试剂盒(南京建成生物工程研究所),SAP 法检测试

剂盒、DAB 显示剂(中杉金桥生物有限公司)。Anti-Ki67 抗体(Abcam),Anti-IL-6 抗体、Anti-pSTAT3 抗体、Anti-STAT3 抗体、Anti-GAPDH 抗体和二抗辣根过氧化物酶(horse radish peroxidase, HRP)标记的山羊抗兔 IgG(沈阳万类生物技术有限公司)。立体解剖显微镜(凤凰光学集团),双极电凝器及电凝镊(武汉春光医疗美容仪器有限公司),带针缝合线(宁波医用缝合有限公司),酶标仪(Thermo Electron Corporation)。倒置显微镜(ZEISS),微量电子天平(日本安捷来公司),电子秤(上海友声衡器有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 实验分组及操作步骤 45 只雌性 BALB/C 小鼠运用随机数字表分为 3 组,每组 15 只,分别为联合原位肝劈开和门静脉分支结扎(ALPPS)组、门静脉分支结扎(portal vein ligation, PVL)组和假手术(SHAM)组。PVL 组操作如下,小鼠腹腔注射 1%戊巴比妥钠麻醉,剂量为 50 mg/kg,采用腹部正中切口暴露,在解剖显微镜下,用组织剪离断肝韧带,棉签游离肝脏各叶,仔细辨别门静脉和肝动脉分子,左手用棉签轻轻将门静脉和肝动脉分子分开,右手反手用眼科镊持 12-0 带线缝合针,从门静脉分支外侧用针尖刺破肝脏,然后从肝动脉和门静脉分支间隙小心穿出,避免损伤门静脉和肝动脉分支,结扎门静脉分支,依次结扎支配肝脏左外叶、中叶右侧和右叶的门静脉分支,大约阻断小鼠肝脏 80%门静脉分支的血流。ALPPS 组除了 PVL 的操作外,还包括原位肝脏劈开。步骤如下:当结扎支配肝脏中叶右侧门静脉分支时,保留支配肝脏中叶右侧肝动脉分支以及肝脏中叶左侧门静脉和肝动脉分支时,中叶会出现明显的缺血带,然后用双极电凝沿着缺血线劈开中叶,为避免损伤肝静脉,中叶劈开 80%即可。假手术组,仅腹部正中切口暴露肝脏,眼科镊离断肝韧带,棉签游离肝脏。所有小鼠在关闭腹腔之后,置于保温毯复温,等待苏醒。

1.2.2 ALT 测定 ALPPS 组、PVL 组和 SHAM 组造模成功后 48 h 和 96 h, 1%戊巴比妥钠麻醉,心脏取血,静置 30 min 后以 5 000 g 离心 15 min,取上层淡黄清澈血浆,放入-80℃冰箱内保存。采用 ALT 测定试剂盒测定血浆 ALT 值,用酶标仪在 510 nm 处测定各样本数值,计算后得出各样本 ALT 数值。具体方法见试剂盒说明书。

1.2.3 肝脏再生指数 ALPPS 组、PVL 组和 SHAM 组造模成功后 48 h 和 96 h, 称体质量, 1%戊巴比妥钠麻醉, 取出中叶左侧叶和尾状叶, 置于电子天平上称量。肝脏再生指数=中叶左侧叶和尾状叶质量/小鼠体质量(%)。

1.2.4 免疫组织化学方法 ALPPS 组、PVL 组和 SHAM 组造模成功后 48 h 和 96 h, 1%戊巴比妥钠麻醉, 收集肝脏中叶左侧组织标本, 置于 4%多聚甲醛中固定 24 h 后, 酒精脱水透明浸蜡包埋等处理。实验第 1 天, 将各组切好的白片经过脱蜡脱水后, 流水冲洗后, 置于枸橼酸钠缓冲液微波抗原修复, PBS 清洗后, 再滴加内源性过氧化物酶阻断剂 37 °C 孵育, PBS 再次清洗, 然后山羊血清封闭 37 °C 孵育, 滴加一抗 Ki-67 抗体(1:100)(Abcam 公司)。实验第 2 天, PBS 清洗后, 滴加生物素标记山羊抗兔 IgG 聚合物 37 °C 孵育, PBS 再次清洗后, 滴加辣根酶标记链霉卵白素工作液 37 °C 孵育, PBS 清洗后, 滴加 DAB 显示液, 显微镜下观察, 及时终止反应。最后复染、脱水、透明和封片。在高倍镜视野下(400×), 每张图片随机选 4 个视野, 在评估各组 Ki-67 表达水平时, 计算每个视野阳性细胞数和肝细胞总数, Ki-67 阳性率=阳性细胞数/肝细胞总数。

1.2.5 免疫印迹实验 ALPPS 组、PVL 组和 SHAM 组造模成功后 48 h 和 96 h, 1%戊巴比妥钠麻醉, 收集肝脏中叶左侧组织标本, 液氮速冻, 然后放入-80 °C 冰箱中保存。提蛋白时将各组组织称重后, 剪碎后放入 EP 管中, 管置于冰上, 管中按照 1 mg 组织:6 mL 裂解液加量, 组织匀浆器将组织打碎后, 震荡裂解 30 min, 然后在 4 °C, 12 000 r/min 离心 15 min。将上清液转移到新 EP 管中, 用 BCA 法测定蛋白浓度, 加入上样缓冲液后煮沸 5 min, 放入-20 °C 保存。上样前煮沸 5 min, 用 10% SDS-PAGE 电泳分离蛋白, 并转移至聚偏二氟乙烯膜上经行电转, 转膜结束后, 室温条件下在摇床上用 5%脱脂奶粉封闭处理聚偏二氟乙烯膜 2 h, 加入 Anti-IL-6 抗体(稀释比列:1:500), Anti-pSTAT3 抗体(稀释比列:1:500), Anti-STAT3 抗体(稀释比列:1:500)和 Anti-GAPDH(稀释比列:1:500)(沈阳万类生物技术有限公司)。4 °C 过夜, 用 TBST 洗膜 3 次后, 加入二抗辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔 IgG(沈阳万类生物技术有限公司), 37 °C 反应 1 h, 再用 TBST 洗膜 3 次, 于暗室内曝光成像。以 GAPDH 为内参照, 以目的蛋白灰度值/GAPDH 灰度值的比值计算目的蛋白的相对表达量。

1.3 统计分析

所有数据采用 SPSS 20.0 统计包进行统计分析。所有实验结果重复 3 次, 计量数据以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。多组之间比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用 LSD-*t* 法。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 小鼠 ALPPS 模型建立

为了模拟临床上在人肝脏实施的 ALPPS, 在考虑到人肝脏结构和小鼠肝脏的差别的情况下, 本研究决定在显微镜下

结扎支配中叶右侧、左外叶、右叶和尾状叶的门静脉分支即阻断小鼠 90%的门静脉血供, 并且用双极电凝完全离断中叶。但是反复练习发现, 阻断小鼠 90%的门静脉血供, 小鼠 24 h 死亡率高达 70%左右, 并且在用双极电凝完全离断中叶过程中, 常常损伤肝静脉, 造成不可逆大出血。为了提高小鼠的存活率和造模的成功率, 保留尾状叶, 只结扎支配中叶右侧、左外叶和右叶的门静脉分支即阻断小鼠 80%门静脉血供, 并且沿着缺血线只离断 80%中叶, 避免损伤肝静脉, 此时小鼠存活率可达 90%左右。造模术后出现死亡和不符合实验条件的, 最终每组各 12 只纳入最终实验和统计中。结果如图 1 所示。

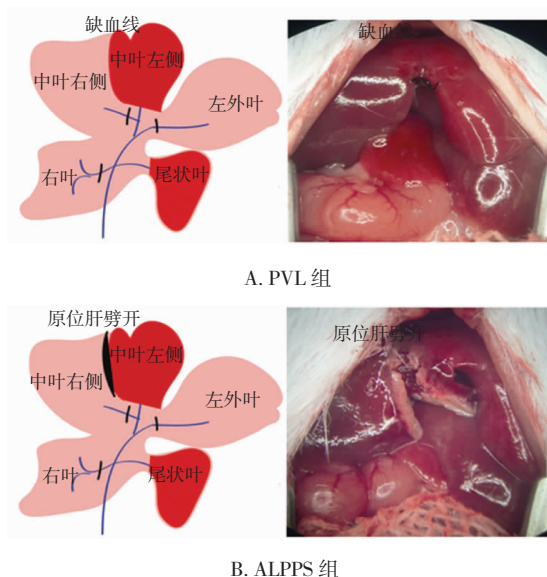


图 1 小鼠 PVL 和 ALPPS 手术图式

2.2 ALPPS 和 PVL 术后肝功能情况

为了观察 ALPPS 和 PVL 术后肝功能的变化情况, 测定术后 48 h 和 96 h 的血浆 ALT 水平来评估肝细胞损伤情况, 结果见表 1。术后 48 h 和 96 h 的 ALPPS 组和 PVL 组 ALT 值均高于 SHAM 组。术后 48 h 的 ALPPS 组 ALT 值高于 PVL 组, 分别为 (803.387 ± 88.670) 、 (559.412 ± 53.606) IU/L, 且两者有统计学差异($P_{48h}=0.000$)。而 ALPPS 组和 PVL 组术后 96 h 的 ALT 值较 48 h 的数值均下降, 分别为 (440.857 ± 64.031) 、 (383.898 ± 70.492) IU/L, 且两者在术后 96 h 的 ALT 值无明显统计学差异($P_{96h}=0.094$)。

表 1 各组术后 48 h 和 96 h 的 ALT 值 ($n=12$)

组别	48 h ($n=6$)	96 h ($n=6$)
ALPPS 组	803.387 ± 88.670^a	440.857 ± 64.031^d
PVL 组	559.412 ± 53.606^b	383.898 ± 70.492^e
SHAM 组	42.958 ± 4.928^c	36.337 ± 5.871^f
F 值	252.179	94.803
P 值	0.000	0.000

注: a, 与 PVL 组比较, $P=0.000$; b: 与 SHAM 组比较, $P=0.000$; c: 与 ALPPS 组比较, $P=0.000$; d: 与 PVL 组比较, $P=0.094$; e: 与 SHAM 组比较, $P=0.000$; f: 与 ALPPS 组比较, $P=0.000$

2.3 ALPPS 和 PVL 术后肝脏再生的情况

为了研究 ALPPS 和 PVL 术后肝脏再生情况,本研究通过肝脏再生指数即残余肝脏质量/体质量和 Ki-67 阳性率等指标来评估术后肝脏再生或者肝细胞增殖情况。结果见表 2、表 3、图 2 和图 3,术后 48 h 和 96 h 的 ALPPS 组和 PVL 组肝脏再生指数和 Ki-67 阳性率均明显高于 SHAM 组。而 ALPPS 组的肝脏再生指数(%)在术后 48 h 和 96 h 高于 PVL 组,分别为 $(3.452 \pm 0.383)\%$ vs. $(2.282 \pm 0.380)\%$; $(4.993 \pm 0.262)\%$ vs. $(3.277 \pm 0.361)\%$,且两者有统计学差异($P_{48h}=0.000, P_{96h}=0.000$)。除此之外,ALPPS 的 Ki-67 阳性细胞数与肝细胞数的比值在术后 48 h 和 96 h 也高于 PVL 组,分别为 (0.649 ± 0.063) vs. (0.481 ± 0.049) ; (0.565 ± 0.049) vs. $(0.343 \pm$

$0.493)$,且两者有统计学差异($P_{48h}=0.001, P_{96h}=0.000$)。

表 2 各组术后 48 h 和 96 h 残余肝脏质量与体重百分比
(%, $n=12$)

组别	48 h ($n=6$)	96 h ($n=6$)
ALPPS组	3.452 ± 0.383^a	4.993 ± 0.262^d
PVL组	2.282 ± 0.380^b	3.277 ± 0.361^e
SHAM组	1.138 ± 0.213^c	1.292 ± 0.348^f
F 值	71.520	193.009
P 值	0.000	0.000

注:a,与 PVL 组比较, $P=0.000$;b:与 SHAM 组比较, $P=0.000$;c:与 ALPPS 组比较, $P=0.000$;d:与 PVL 组比较, $P=0.000$;e:与 SHAM 组比较, $P=0.000$;f:与 ALPPS 组比较, $P=0.000$

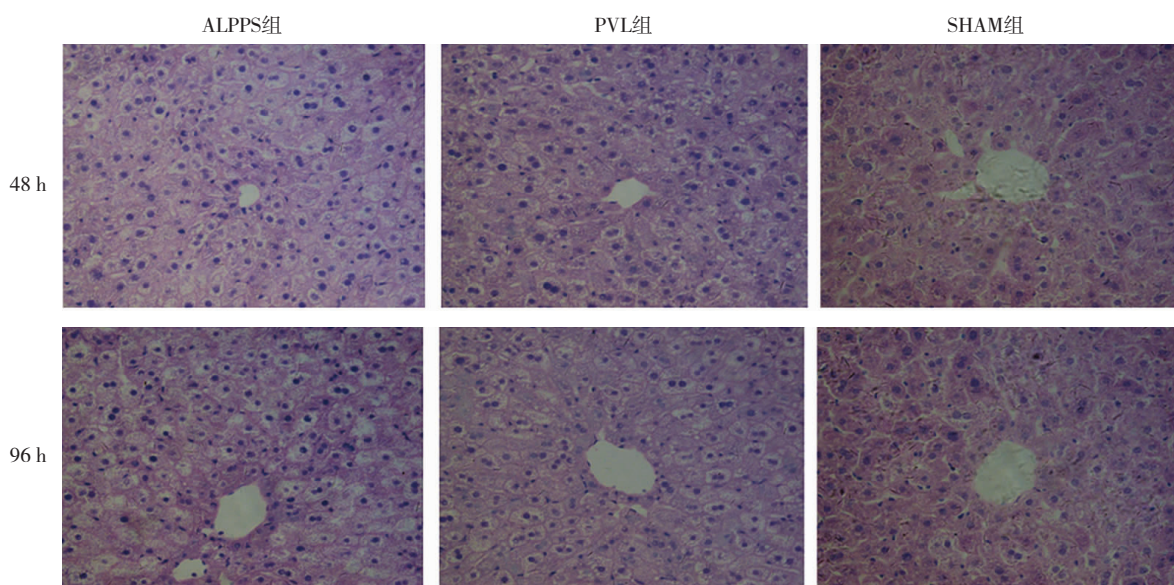


图 2 各组术后 48 h 和 96 h 肝组织 H&E 染色

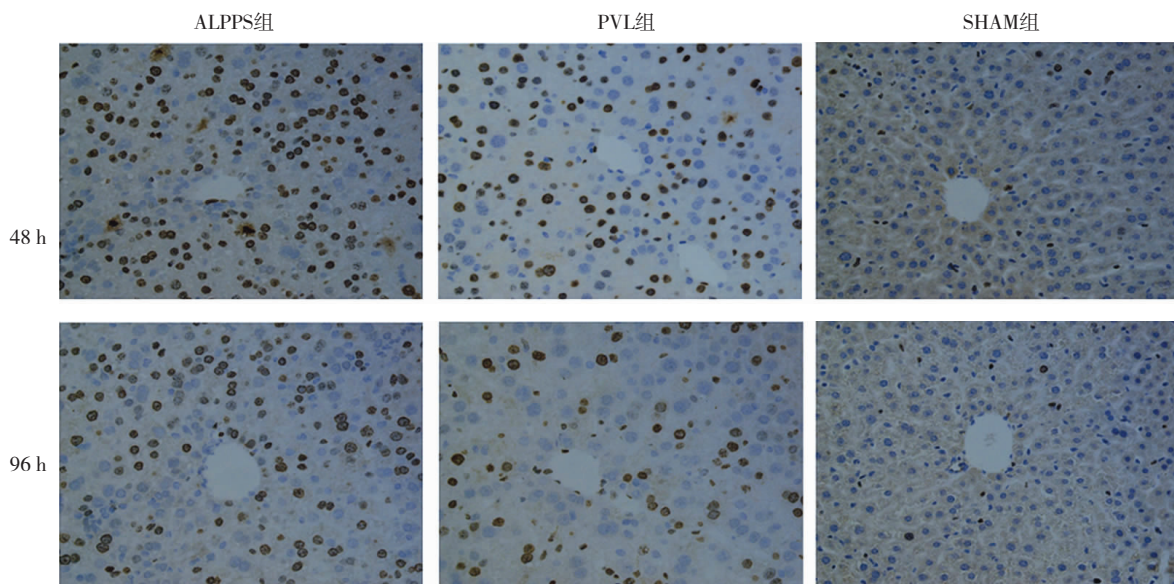


图 3 免疫组织检测各组术后 48 h 和 96 h 肝组织 Ki-67 蛋白表达

表 3 各组 Ki-67 阳性细胞数与肝细胞数比值

组别	48 h	96 h
ALPPS组	0.649 ± 0.063 ^a	0.565 ± 0.049 ^d
PVL组	0.481 ± 0.049 ^b	0.343 ± 0.493 ^e
SHAM组	0.025 ± 0.006 ^c	0.021 ± 0.006 ^f
F 值	196.780	184.389
P 值	0.000	0.000

注: a, 与 PVL 组比较, $P=0.001$; b, 与 SHAM 组比较, $P=0.000$; c, 与 ALPPS 组比较, $P=0.000$; d, 与 PVL 组比较, $P=0.000$; e, 与 SHAM 组比较, $P=0.000$; f, 与 ALPPS 组比较, $P=0.000$

2.4 IL-6/STAT3 信号通路 ALPPS 促进肝脏再生的关系

为了弄清 ALPPS 比 PVL 更能促进肝脏再生这现象, 免疫印迹技术被用来检测 ALPPS 和 PVL 术后肝脏细胞 IL-6/STAT3 信号通路变化。结果如图 4 和表 4 所示, 术后 48 h 与 SHAM 组相比, ALPPS 组更能促进 IL-6 蛋白的表达和 STAT3 蛋白的磷酸化, 且有统计学差异 ($P_{IL-6}=0.000$, $P_{pSTAT3/STAT3}=0.000$)。除此之外, 术后 48 h 的 ALPPS 组比 PVL 组也更能促进 IL-6 蛋白的表达和 STAT3 蛋白的磷酸化, 且有统计学差异 ($P_{IL-6}=0.011$, $P_{pSTAT3/STAT3}=0.003$)。

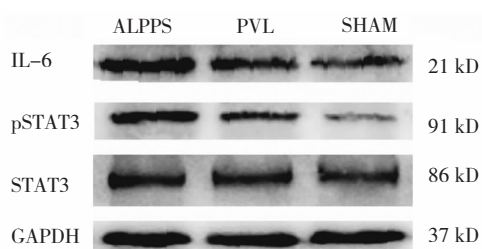


图 4 免疫印迹技术检测各组术后 48 h 的 IL-6、pSTAT3 和 STAT3 蛋白表达

表 4 各组术后 48 h 肝组织 IL-6、pSTAT3 和 STAT3 蛋白表达水平

组别	IL-6/GAPDH	pSTAT3/STAT3
ALPPS组	0.793 ± 0.557 ^a	1.142 ± 0.103 ^d
PVL组	0.626 ± 0.051 ^b	0.820 ± 0.071 ^e
SHAM组	0.450 ± 0.060 ^c	0.362 ± 0.060 ^f
F 值	28.271	72.072
P 值	0.001	0.000

注: a, 与 PVL 组比较, $P=0.011$; b, 与 SHAM 组比较, $P=0.008$; c, 与 ALPPS 组比较, $P=0.000$; d, 与 PVL 组比较, $P=0.003$; e, 与 SHAM 组比较, $P=0.000$; f, 与 ALPPS 组比较, $P=0.000$

3 讨论

2012 年, Schnitzbauer 等^[9]对德国 5 个医学中心 25 个实施了 ALPPS 的病例进行了分析, 发现在 ALPPS 的第一阶段, 平均 9 d 内, 残余肝脏再生体积达到 74%。随后大量临床对比研究显示, 与传统 PVE 和 PVL 等技术相比, ALPPS 能够促进肝脏快速

再生, 提高肿瘤切除率, 降低术后肝衰^[3-6]。目前, 在肝大部切除且术后残余肝脏不足情况下, ALPPS 凭借短时间促进肝脏快速再生等特点, 已经潜在成为可替代 PVE 和 PVL 的一项新技术。但是 ALPPS 术后并发症率高以及其促进快速肝脏再生机制至今不清楚。因而有必要通过动物模型来研究 ALPPS 快速促进肝脏再生的机制。

本实验显示, 在小鼠模型上, ALPPS 比 PVL 在术后更能促进肝脏再生, 这与比较 ALPPS 和 PVL 术后肝脏再生的临床研究得出的结果是一致的。最近 1 篇关于 ALPPS 和传统“二步”对比研究的荟萃分析显示, ALPPS 比传统“二步”有更强的肝脏再生效率^[10]。但是, Matsuo 等^[11]通过光学和电子显微镜观察 ALPPS 和 PVL 再生肝组织发现, ALPPS 介导的残余肝脏再生的肝细胞从形态学比 PVL 更不成熟, 提示肝细胞功能也更不成熟。

IL-6/STAT3 信号通路和 ALPPS 介导的肝脏再生存在着密切的联系。Schlegel 等^[12]的研究结果显示 ALPPS 血清中细胞因子 IL-6 浓度相对于 PVL 和空白组提高, 提示细胞因子 IL-6 可能在 ALPPS 介导肝脏再生发挥一定的作用, 但是并没有去验证 IL-6/STAT3 通路 ALPPS 介导肝脏再生的关系, 而本研究通过免疫印迹技术验证了 IL-6/STAT3 通路 ALPPS 介导的肝脏再生的关系。目前研究显示, 生长因子、细胞因子以及门静脉血流在肝脏再生的过程可能起着重要的作用^[13]。肝生长因子、血管内皮生长因子、表皮生长因子和肿瘤生长因子- α 可以诱导肝细胞分裂, 但是在肝脏再生的作用还不是很确定。比如细胞因子 IL-6 在肝脏再生的作用一直存在争议, Cressman 等^[14]利用敲除 IL-6 基因[IL-6(-/-)]的小鼠建立部分肝切除模型发现, 缺乏 IL-6 小鼠肝切除术后易发肝衰竭且术后肝脏再生严重阻滞。Sakamoto 等^[15]利用同样的动物模型得出几乎一致的结论, 研究表明缺乏 IL-6 会显著抑制小鼠部分肝切除术后肝细胞 DNA 的合成且会阻滞肝脏体积的恢复。Wüstefeld 等^[16]利用过表达 IL-6 基因的转基因小鼠建立部分肝切除模型时研究发现, IL-6 过度表达会延缓和抑制肝切术后细胞周期进展, 进而抑制肝脏再生。Blindenbacher 等^[17]利用敲除 IL-6 基因的小鼠建立部分肝切除模型的研究显示, IL-6 主要通过肝切术后的急性反应期, 通过诱导细胞周期蛋白 c-myc 和 cyclin D1 来帮助肝脏再生, 但是在肝脏再生过程不是必需的。之前大量关于肝脏再生的机制研究都是建立在小鼠部分肝切除模型的基础上, 且 ALPPS 与部分肝切除是完全不同的 2 种手术

方式,因而它们介导肝脏再生的机制可能不同,比如 Heinrich 等^[18]发现 PVL 和部分肝切除(结扎和切除的肝叶相同)在介导肝脏再生和促进肿瘤生长方面显著不同。Furrer 等^[19]发现 PVL 和门静脉分支栓塞(portal vein branch embolism, PVE)在介导肝脏再生方面也存在不同。而目前关于 ALPPS 促进肝脏快速再生机制的研究较少。最近,Langiewicz 等^[20]通过基因芯片分析,找到与 ALPPS 介导的肝脏再生存在着密切的关系基因即 *Ihh*,通过术前给予小鼠 *Ihh* 细胞因子或者 *Ihh* 中和抗体,发现 Hedgehog 通路在 ALPPS 介导的早期肝脏再生的过程中起着重要作用。

本实验也显示,术后早期阶段 ALPPS 的血浆 ALT 值比 PVL 高,提示原位肝劈开会造成肝损伤,这与临床研究类似^[3]。最近一篇关于 ALPPS 和传统“二步”对比研究的荟萃分析显示,ALPPS 比传统“二步”术后并发症高^[10],针对 ALPPS 原位劈肝所造成的巨大创伤,一些衍变术式如血管带结扎中叶、射频消融和微波消融沿缺血线划开中叶等等代替原位肝劈开,避免巨大创伤^[21]。

综上所述,本实验成功建立了小鼠 ALPPS 模型,为运用转基因小鼠研究 ALPPS 的再生机制提供了基础。通过小鼠 ALPPS 小模型发现 ALPPS 比 PVL 更能促进肝脏再生,初步发现 IL-6/STAT3 信号通路与 ALPPS 促进肝脏再生存在密切的关系。下一步将运用敲除 IL-6 基因小鼠来证实 IL-6/STAT3 信号通路在 ALPPS 促进肝脏再生的作用,为临床运用细胞因子 IL-6 联合 PVL 促进肝脏快速再生避免原位肝劈开造成的巨大损伤提供实验基础。

参 考 文 献

- [1] Bruix J, Sherman M, American Association for the Study of Liver Diseases. Management of hepatocellular carcinoma: an update[J]. *Hepatology*, 2011, 53(3): 1020–1022.
- [2] Bruix J, Gores GJ, Mazzaferro V. Hepatocellular carcinoma: clinical frontiers and perspectives[J]. *Gut*, 2014, 63(5): 844–855.
- [3] Ratti F, Schadde E, Masetti M, et al. Strategies to increase the resectability of patients with colorectal liver metastases: a multi-center case-match analysis of ALPPS and conventional two-stage hepatectomy[J]. *Ann Surg Oncol*, 2015, 22(6): 1933–1942.
- [4] Sandstrom P, Røssok BI, Sparrelid E, et al. ALPPS improves resectability compared with conventional two-stage hepatectomy in patients with advanced colorectal liver metastasis: results from a scandinavian multicenter randomized controlled trial (LIGRO trial)[J]. *Ann Surg*, 2018, 267(5): 833–840.
- [5] Schadde E, Ardiles V, Slankamenac K, et al. ALPPS offers a better chance of complete resection in patients with primarily unresectable liver tumors compared with conventional-staged hepatectomies: results of a multicenter analysis[J]. *World J Surg*, 2014, 38(6): 1510–1519.
- [6] Chia DKA, Yeo Z, Loh SEK, et al. Greater hypertrophy can be achieved with associating liver partition with portal vein ligation for staged hepatectomy compared to conventional staged hepatectomy, but with a higher price to pay?[J]. *Am J Surg*, 2018, 215(1): 131–137.
- [7] Hunter CA, Jones SA. IL-6 as a keystone cytokine in health and disease[J]. *Nat Immunol*, 2015, 16(5): 448–457.
- [8] Sansone P, Bromberg J. Targeting the interleukin-6/Jak/stat pathway in human malignancies[J]. *J Clin Oncol*, 2012, 30(9): 1005–1014.
- [9] Schnitzbauer AA, Lang SA, Goessmann H, et al. Right portal vein ligation combined with in situ splitting induces rapid left lateral liver lobe hypertrophy enabling 2-staged extended right hepatic resection in small-for-size settings[J]. *Ann Surg*, 2012, 255(3): 405–414.
- [10] Zhou Z, Xu M, Lin N, et al. Associating liver partition and portal vein ligation for staged hepatectomy versus conventional two-stage hepatectomy: a systematic review and meta-analysis[J]. *World J Surg Oncol*, 2017, 15(1): 227.
- [11] Matsuo K, Murakami T, Kawaguchi D, et al. Histologic features after surgery associating liver partition and portal vein ligation for staged hepatectomy versus those after hepatectomy with portal vein embolization[J]. *Surgery*, 2016, 159(5): 1289–1298.
- [12] Schlegel A, Lesurtel M, Melloul E, et al. ALPPS: from human to mice highlighting accelerated and novel mechanisms of liver regeneration[J]. *Ann Surg*, 2014, 260(5): 839–846.
- [13] Fausto N, Campbell JS, Riehle KJ. Liver regeneration[J]. *Hepatology*, 2006, 43(2S1): 45–53.
- [14] Cressman DE, Greenbaum LE, DeAngelis RA, et al. Liver failure and defective hepatocyte regeneration in interleukin-6-deficient mice[J]. *Science*, 1996, 274(5291): 1379–1383.
- [15] Sakamoto T, Liu Z, Murase N, et al. Mitosis and apoptosis in the liver of interleukin-6-deficient mice after partial hepatectomy[J]. *Hepatology*, 1999, 29(2): 403–411.
- [16] Wüstefeld T, Rakemann T, Kubicka S, et al. Hyperstimulation with interleukin 6 inhibits cell cycle progression after hepatectomy in mice[J]. *Hepatology*, 2000, 32(3): 514–522.
- [17] Blindenbacher A, Wang X, Langer I, et al. Interleukin 6 is important for survival after partial hepatectomy in mice[J]. *Hepatology*, 2003, 38(3): 674–682.
- [18] Heinrich S, Jochum W, Graf R, et al. Portal vein ligation and partial hepatectomy differentially influence growth of intrahepatic metastasis and liver regeneration in mice[J]. *J Hepatol*, 2006, 45(1): 35–42.
- [19] Furrer K, Tian Y, Pfammatter T, et al. Selective portal vein embolization and ligation trigger different regenerative responses in the rat liver[J]. *Hepatology*, 2008, 47(5): 1615–1623.
- [20] Langiewicz M, Schlegel A, Saponara E, et al. Hedgehog pathway mediates early acceleration of liver regeneration induced by a novel two-staged hepatectomy in mice[J]. *J Hepatol*, 2017, 66(3): 560–570.
- [21] Lau WY, Lai EC. Modifications of ALPPS – from complex to more complex or from complex to less complex operations[J]. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*, 2017, 16(4): 346–352.

(责任编辑: 冉明会)