

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.25.007

诱导性调节性 T 细胞抑制移植排斥反应的作用研究*

刘 甜 苏映军 陈 晨 陈建武 刘 蓓 杨 阳 张栋梁 郭树忠[△]

(第四军医大学西京医院整形外科研究所 陕西 西安 710032)

摘要 目的:通过体外诱导的方法将幼稚 CD4⁺T 细胞(naïve CD4⁺T cell)转化为调节性 T 细胞(Regulatory T cells, Tregs),并验证其在小鼠异体皮片移植模型上对移植排斥反应的抑制作用。**方法:**分选 naïve CD4⁺T 细胞并在体外诱导其转化为 Tregs,流式检测细胞确定其转化率。将诱导性 Treg(induced Treg, iTreg)与效应 T 细胞(Effective T cells, Teffs)以不同比例共同培养检测其对 T 细胞增殖的抑制能力。建立 C57bl/6 到 Balb/c 小鼠的异体皮片移植模型,植皮术后将 iTreg 经由股静脉输入受体(Balb/c 小鼠)体内,观察皮片存活情况,绘制皮片存活曲线。同时于皮片移植术后 11 天对皮片进行病理切片,观察移植排斥反应状况。**结果:**体外诱导 naïve CD4⁺T 细胞转化为 iTreg 的比例约 44%,在 iTreg:Teff 比例大于 1:4 时, iTreg 具有明显地抑制 Teff 增殖的作用,且这种抑制作用具有剂量依赖性。植皮小鼠输入 iTreg 后皮片存活时间较对照组延长约 2.4 天,病理切片显示排斥反应减轻,但皮片在 14 天左右时仍被排斥。**结论:**体外诱导的 iTreg 能够在体外抑制 Teff 增殖,且能有效抑制小鼠异体皮片移植后排斥反应。

关键词:调节性 T 细胞;细胞培养;移植排斥反应

中图分类号:Q95-3;R393 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2014)25-4826-06

Suppressive Function of Induced Regulatory T Cells in Allograft Rejection*

LIU Tian, SU Ying-jun, CHEN Chen, CHEN Jian-wu, LIU Bei, YANG Yang, ZHANG Dong-liang, GUO Shu-zhong[△]

(Institute of Plastic Surgery, Xijing Hospital, Fourth Military Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710032, China)

ABSTRACT Objective: Induced regulatory T cells (iTregs) have been implicated in maintaining peripheral immune tolerance. This study aims to test whether iTregs could suppress allograft rejection in a skin allograft model. **Methods:** Naïve CD4⁺T cells were purified from naïve mice splenocytes and induced in vitro by culturing with anti-CD3/CD28-coated Dynalbeads, and supplemented with interleukin(IL)-2 and transforming growth factor(TGFβ). Suppressive ability of iTregs was assayed by co-culturing with CD4⁺CD25⁺T cells (Teffs) in vitro and by allogeneic skin transplantation in vivo. **Results:** Flow cytometry showed the percentage of CD4⁺CD25⁺ Foxp3⁺ cells in induced cells were approximately 44%. iTregs exerted suppressive function when cocultured with Teffs in vitro and prolonged fully MHC-mismatched skin graft survival. **Conclusions:** iTreg cells show suppressive function both in vitro and in vivo, but iTreg cells alone can not induce immune tolerance.

Key words: Regulatory T cell; Cell Culture; Allograft Rejection

Chinese Library Classification(CLC): Q95-3; R393 **Document code:** A

Article ID:1673-6273(2014)25-4826-06

前言

CD4⁺CD25⁺调节性 T 细胞 (Regulatory T cells, Tregs)^[1]分为两大类,天然的调节性 T 细胞^[2](natural Treg, nTreg)和诱导的调节性 T 细胞^[3](induced Treg, iTreg)。已有大量研究验证了 nTreg 能够维持自身免疫稳态,防止哮喘、关节炎等自身免疫性疾病的发生,其在组织移植,肿瘤免疫中也发挥着重要作用^[4]。近年来使用 Tregs 进行治疗自身免疫性疾病及诱导移植免疫耐受的文章屡见报道^[5,6]。但是由于 nTreg 含量非常少,仅占外周血中 CD4⁺T 细胞的 5-10%, 如果想要得到足够用于治疗的 Tregs,必须在体外对其进行反复扩增。Hoffmann 等人提出反复扩增会导致 Treg 表型和功能的改变^[7],而且单纯扩增而来的 Tregs 在炎症环境下不稳定, Pasare 与 Medzhitov 发现 IL-6 能

够阻断 Treg 的抑制能力^[8]。因此通过输注单纯扩增的 Tregs 往往达不到理想的治疗效果。已有文献证实,通过体外诱导的方式能够获得足够数量的诱导性 Tregs(induced Tregs, iTregs),且 iTregs 能够抵御 IL-6 所致的 Treg 向 Th17 细胞的转化^[9]。因此,本实验拟分选幼稚的 CD4⁺T 细胞(naïve CD4⁺T cell),在体外诱导其转化为 iTregs,并验证此种 iTregs 在移植排斥反应中是否能也发挥相应的抑制作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物和试剂

1.1.1 实验动物 本实验使用 Balb/c 小鼠作为受体, C57bl/6 小鼠作为供体,均购自第四军医大学实验中心,体重 20~25 g, 8~12 周龄,雌性。小鼠均采用高压灭菌饲料及水进行饲养。

* 基金项目:国家自然科学基金重点项目(30830102);国家自然科学基金面上项目(81071581)

作者简介:刘甜(1989-),女,学士,主要研究方向:调节性 T 细胞与免疫耐受,电话:18792440540, E-mail:ltfmmu@aliyun.com

△ 通讯作者:郭树忠, E-mail:shuzhong@fmmu.edu.cn

(收稿日期:2013-12-31 接受日期:2014-01-27)

1.1.2 实验试剂与仪器 小鼠 naïve CD4⁺T 细胞分选套装、小鼠 CD4⁺CD25⁺T 细胞分选套装 (Miltenyi 公司); CD3/CD28 抗体包被磁珠、羧基荧光素乙酰乙酸 (CFSE, Invitrogen 公司); RPMI 1640 培养基、胎牛血清 (Gibco 公司); IL-2、TGF- β 细胞因子 (R&D 公司); 小鼠 CD4-FITC 抗体、CD62L-PE 抗体、CD25-APC 抗体、Foxp3-PE 抗体 (eBioscience 公司); 超净工作台; CO₂ 恒温培养箱; 台式低温超速离心机; 流式细胞仪 (BD 公司)。

1.2 实验方法与步骤

1.2.1 小鼠 naïve CD4⁺T 细胞的分选 Balb/c 小鼠脱颈处死, 无菌条件下切取小鼠脾脏, 剪碎、研磨后过 200 目筛网, 以小鼠淋巴细胞分离液分离小鼠脾脏的单个核细胞。采用 naïve CD4⁺T 细胞分选套装, 通过阴性选择分选出 CD4⁺T 细胞, 再通过阳性选择分选出 CD4⁺CD62L⁺T 细胞^[9], 即 naïve CD4⁺T 细胞。流式检测细胞纯度。

1.2.2 小鼠 naïve CD4⁺T 细胞的培养与诱导 将分选出的 naïve CD4⁺T 细胞浓度调整至 2×10^6 / ml, 向 RPMI 1640 完全培养基中加入 IL-2 300 U/ml, TGF- β 5 ng/ml, 同时加入与 naïve CD4⁺T 细胞同等数量的 CD3/CD28 抗体包被磁珠, 于 37 °C、5% CO₂ 及饱和湿度的条件下培养 4 天, 收取的细胞即为 iTregs。流式检测细胞表型。

1.2.3 T 细胞增殖抑制实验 在 96 孔圆底反应板中加入小鼠 CD4⁺CD25⁺T 细胞 (通过 CD4⁺CD25⁺T 细胞分选套装分选得到) 作为效应细胞 (effective T cells, Teffs)。于 37 °C 条件下, 5 μ M/ml CFSE 染色 Teffs 15 min, 等体积的 37 °C FBS 终止反应。调整 Teffs 浓度为 2×10^5 / 孔, 再按 iTregs 与 Teffs 不同比例 (4:1, 2:1, 1:1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 0:1) 加入 iTregs, 每孔加入 anti-CD3、CD28 单克隆抗体 50 ng/ml 及 IL-2 300 U/ml, 37 °C、5% CO₂ 培养箱中培养。每组均设阳性对照, 即反应孔中加入未用 CFSE 染色的 Teffs 2×10^5 / 孔, 阴性对照, 加入 iTregs 2×10^5 / 孔。5 天后, 收取培养后的细胞, 流式细胞术检测 CFSE 的峰值偏移。

1.2.4 小鼠植皮模型的建立 以 C57bl/6 小鼠的腹部全厚皮片做为供体皮片, 局部脱毛后, 取 1 × 1 cm 皮片, 皮片移植受区为 Balb/c 小鼠左侧胸部。植皮局部创可贴固定, 10 天后打开包扎进行观察。皮片观察指标包括: 皮片的颜色, 质地, 表面结痂情况。正常存活皮片表面颜色与周围一致, 质地柔软, 表面可结痂但打开包扎后数日可自动脱落。产生排斥皮片表现为: 逐渐局部出现红斑, 角质剥脱, 皮片逐渐高于周围皮肤, 最后结痂脱落。若红斑遍布皮片且皮片逐渐高于周围皮肤, 该皮片视为已产生排斥反应。

1.2.5 分组设计 分为对照组及 iTreg 两组。iTreg 组在植皮后 1 天时由股静脉输注 3×10^6 iTreg, 对照组输注同等体积的 PBS。

1.2.6 病理组织学观察 分别切取两组小鼠植皮后 11 天的皮片标本, 经 4% 多聚甲醛固定、石蜡包埋、切片后行苏木精-伊红 (HE) 染色, 进行病理组织学观察, 以两组病理切片中炎症细胞的浸润情况评价移植排斥反应的轻重程度。

1.3 统计学方法

计量资料结果均表示为均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$), 使用

SPSS10.0 软件处理数据, Gehan-Breslow-Wilcoxon 检验分析生存时间, 检验水准 $\alpha = 0.05$, $P < 0.05$ 有统计学意义。

2 结果

2.1 naïve CD4⁺T 细胞纯度分析

经磁珠分选的 naïve CD4⁺T 细胞, 流式细胞术收取 10,000 个细胞, 检测其表面抗体 CD4, CD62L。CD4, CD62L 双阳性率为 96.2% (图 1), 满足后续实验要求。

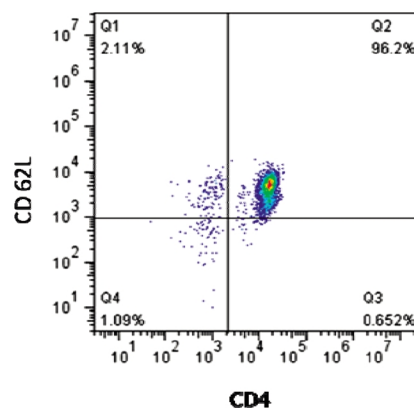


图 1 naïve CD4⁺T 细胞纯度: 横坐标为 CD4-FITC, 纵坐标为 CD62L-PE, 双阳性率为 96.2%

Fig.1 Naïve CD4⁺T cell purity: The X-axis is CD4-FITC and the Y-axis is CD62L-PE. The percentage of double-positive cells is 96.2%

2.2 iTreg 细胞纯度分析

收取诱导培养 4 天后的细胞, 流式细胞术收取 10,000 个细胞, 检测其表面抗体 CD4, CD25, 破膜染色法检测其核内抗体 Foxp3 阳性率。图 2A 显示一次代表性的 iTreg 诱导结果图: 如图所示表达 CD4, CD25 双阳性率为 88.9%, 对 CD4⁺CD25⁺T 细胞进行进一步分析, 这群细胞中 Foxp3 阳性率为 44.8%, 即三阳性细胞比例为 $88.9\% \times 44.8\% = 39.8\%$ 。图 2B 显示多次诱导试验统计结果, 计算其平均数为 44.2%。

2.3 T 细胞增殖抑制实验结果

Teff 用 CFSE 染色, 以 iTreg 与 Teff 不同比例进行培养, 5 日后收取共同培养的细胞, 用流式细胞术每组收取 10,000 个细胞, 检测各组 CFSE 的稀释百分比, 即 Teff 的增殖百分比。当 iTreg 与 Teff 比例逐渐降低时, Teff 的增殖百分比逐渐升高, 表明 iTreg 对 Teff 增殖的抑制作用具有剂量依赖性 (图 3)。

2.4 皮片大体观察及存活曲线

移植皮片排斥反应表现为: 局部逐渐出现红斑, 表皮剥脱, 并高于周围皮肤, 最后结痂脱落。对照组皮片的平均存活时间为 11 天, iTreg 组的平均存活时间为 13.4 天, 使用 Gehan-Breslow-Wilcoxon 检验分析 $P = 0.0066$, 具有统计学差异。

2.5 病理组织学染色结果

切取对照组与 iTreg 术后 11 天的移植皮片标本, HE 染色结果显示: 两组背景均为均质状淡伊红染色, 皮肤的固有细胞排列稀疏, 组织水肿明显, 但在同等放大倍数的条件下, 每个视野中淋巴细胞与嗜酸性粒细胞的数目, 对照组较 iTreg 组明显更多 (图 5)。

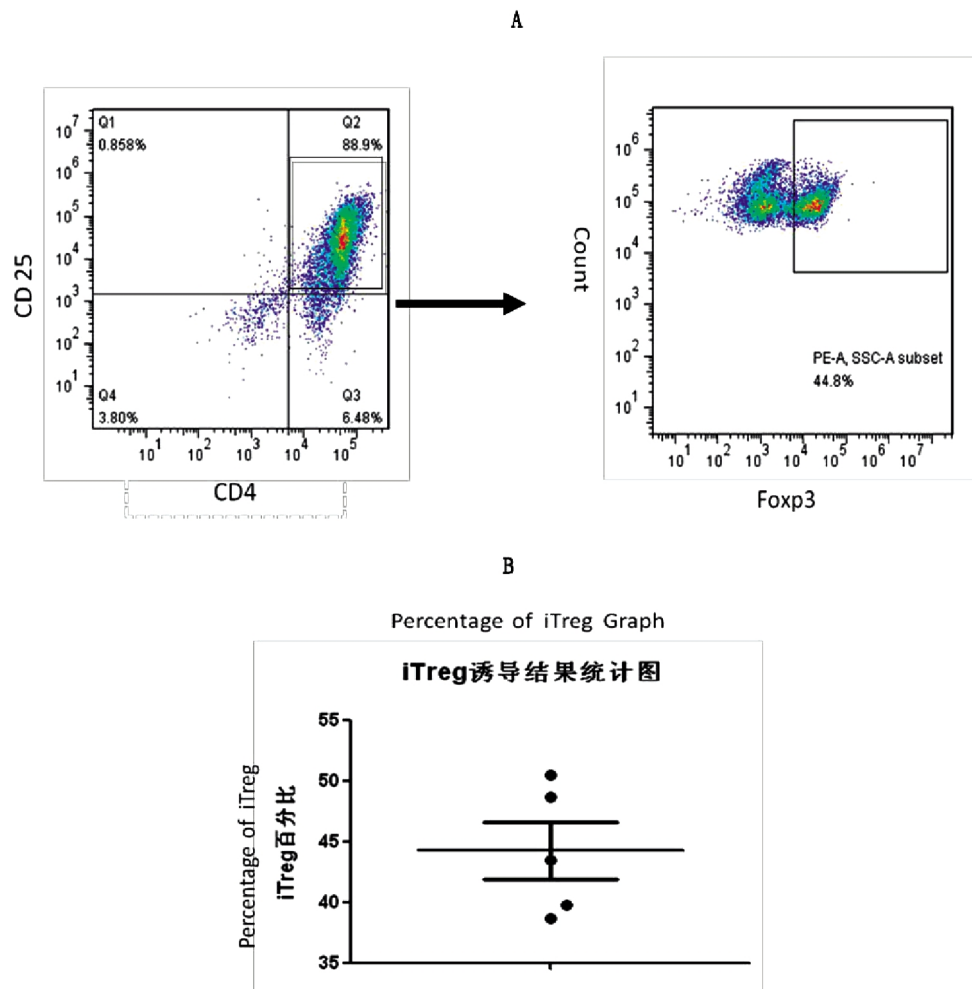


图2 诱导后细胞 CD4,CD25 和 Foxp3 的表达:A 为一次代表性的 iTreg 诱导图,诱导后细胞 CD4,CD25 的表达,横坐标为 CD4-FITC,纵坐标为 CD25-APC,双阳性率为 88.9%。对这群双阳性细胞进一步分析其 Foxp3 的表达,横坐标为 Foxp3-PE,纵坐标为 SSC-H,Foxp3 阳性率为 44.8%。

B 为多次诱导实验结果统计图,诱导后 iTreg 表达的百分比分别为 38.7,48.7,39.8,50.5,43.5,平均数为 44.2%。

Fig.2 Expression of CD4, CD25 and Foxp3 in the induced T cells: A shows the markers of iTreg. The percentage of cells expressing both CD4 and CD25 is 88.9%. We further analyze the Foxp3 expression of these cells. The percentage of cells expressing Foxp3 is 44.8%. B shows the result of Treg induction.

The average percentage of iTreg is 44.2%.

3 讨论

CD4⁺ 调节性 T 细胞^[1]分为两大类,天然的调节性 T 细胞^[2](natural Treg, nTreg)和诱导的调节性 T 细胞^[3](induced Treg, iTreg)。nTreg 又被称为胸腺来源的 Treg,是在胸腺中经过选择发育而来,迁移到外周血中发挥免疫抑制功能,主要是抑制对自身抗原的反应。nTreg 存在于每个正常成年人体内,持续表达高水平的转录因子 Foxp3^[10]。iTreg 又称适应性 Treg,在体内是外周血中的 CD4⁺ T 细胞接触抗原后分化发育而来的,也表达高水平的 Foxp3。本实验采用的 iTreg,是在体外将 naïve CD4⁺ T 细胞转化为 Treg,已经有文献证实自身免疫性疾病模型中^[3,9,12],这种 iTreg 能够有效预防小鼠胶原诱导关节炎模型(Collagen-Induced Arthritis, CIA)中骨侵蚀及 NF- κ B 的表达,甚至能够逆转已经建立的 CIA 的继续恶化,而这是使用 nTreg 所无法达到的^[12]。但截至目前,使用此种方法诱导的 iTreg 在异体组织移植中的作用研究还未见报道。

iTreg 相较于 nTreg 的优势在于,在小鼠的外周血中,naïve CD4⁺ T 细胞的数量远远高于 Treg 的数量。在对小鼠脾脏单个

核细胞进行磁珠分选的操作中,10⁸ 的小鼠脾脏单个核细胞只能分选出约 5× 10⁵ 的 nTreg,却能分选出约 10⁷ 的 naïve CD4⁺ T 细胞,约为 Treg 的 20 倍。在体外培养 4 天后,分选的 naïve CD4⁺ T 细胞大约能扩增一倍,即能收获 2× 10⁷ 的细胞。本研究中,体外转化的流式结果表明,转化后的细胞 CD4,CD25, Foxp3 三阳性率约 44.2%,即能够得到 44% 左右的 Treg。以往的文献研究显示,此种 iTreg 与扩增的 Tregs 相比都具有抑制 T 细胞增殖与分化的能力,但是当在体外培养时加入高剂量的 IL-6 时,只有 iTregs 才能够保持其抑制功能^[5]。

在 T 细胞增殖抑制实验中能够看出,iTreg 对 T_{eff} 细胞的扩增具有明显的抑制作用,且此种抑制作用具有剂量依赖性。当 iTreg:T_{eff}=4:1 时,可见 T 细胞增殖相对于对照组明显受到抑制,而此种抑制作用随着 iTreg 剂量的逐渐减少而下降,当 iTreg:T_{eff}=1:16 时,与对照组无明显差异。iTreg 对 T 细胞增殖的抑制作用呈剂量依赖性,这与以往的文献结果一致^[11]。Treg 和 T_{eff} 的比例是影响移植耐受或者排斥的关键因素,而本实验采用的 iTreg 输注就是希望通过增加 Treg 的数量,改变两种细胞的比例,进而减轻移植排斥反应。

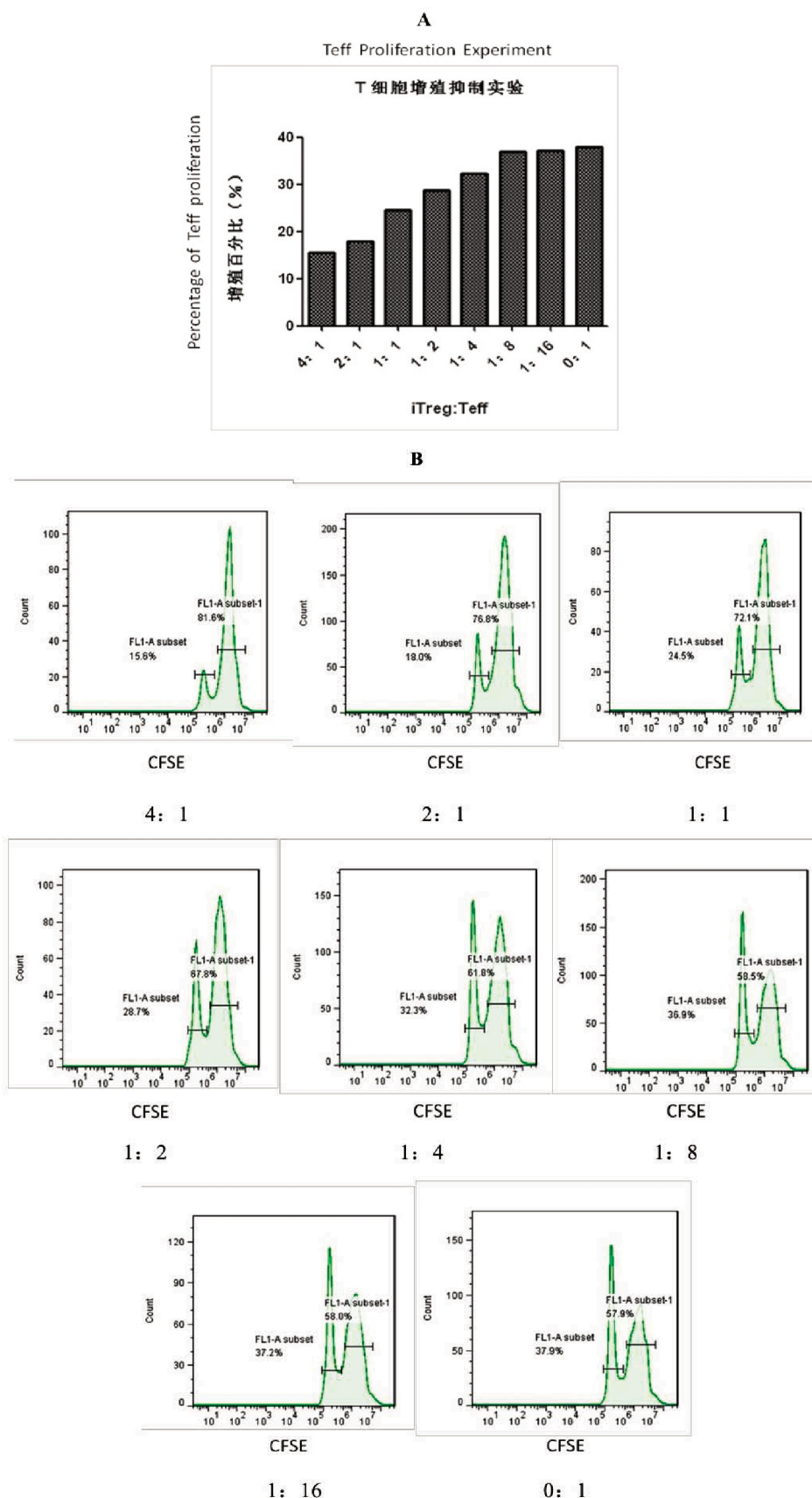


图3 效应T细胞的增殖百分比:A为效应T细胞的增殖百分比统计图,横坐标为iTreg与Teff的比例,纵坐标为Teff的增殖百分比,图示随着iTreg与Teff比例的降低,Teff的增殖百分比增加,即iTreg对Teff的抑制作用具有剂量依赖性。B为不同比例下Teff增殖百分比的流式图,横坐标为CFSE的荧光强度,纵坐标为Count。

Fig.3 Proliferation percentage of Teffs: A shows the proliferation percentage of Teff. The X-axis is the ratio of iTreg versus Teff. The Y-axis is the proliferation percentage of Teff. As the decrease of iTreg versus Teff, the proliferation percentage of Teff increases. B shows the flow cytometric results of Teff proliferation. The X-axis is CFSE and the Y-axis is Count.

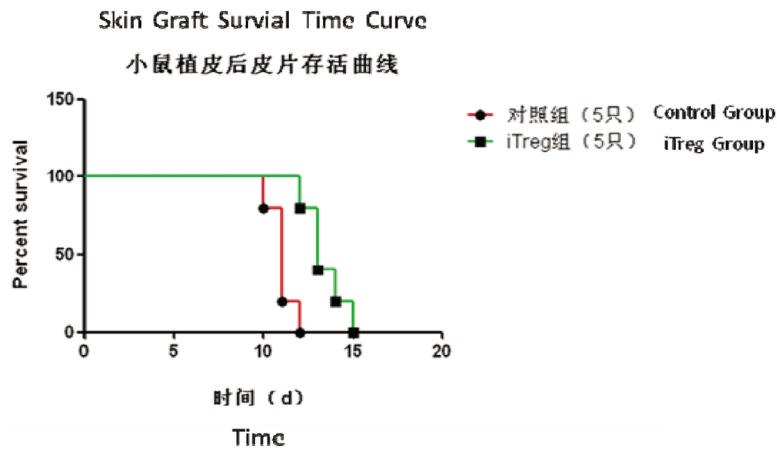


图4 小鼠皮片存活曲线:横坐标为小鼠皮片存活天数,纵坐标为小鼠皮片的存活比例。图中每个节点表示:小鼠移植皮片排斥。对照组皮片的平均存活时间为 11 天,iTreg 组的平均存活时间为 13.4 天,使用 Gehan-Breslow-Wilcoxon 检验分析 $P=0.0066$,具有统计学差异。

Fig.4 Survival curve of mice skin graft; X-axis is the survival days of skin grafts. Y-axis is the percentage of skin grafts still alive. The average survival time of control group is 11 days. The average survival time of iTreg group is 13.4 days. Analyzing with Gehan-Breslow-Wilcoxon Test, $P=0.0066$.

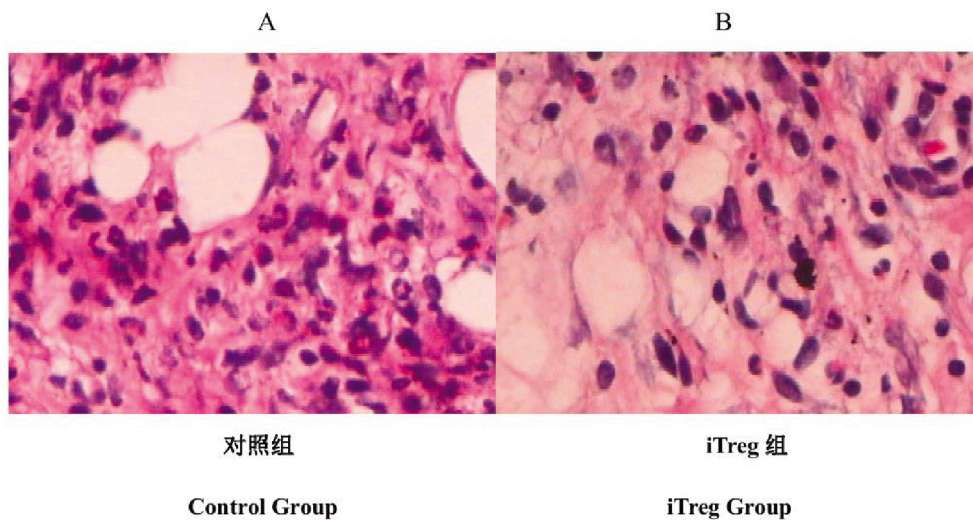


图5 小鼠皮片 HE 染色(400×):术后 11 日移植皮片的 HE 染色图片,A 组为对照组,B 组为 iTreg 组。两组均可见明显的组织水肿,在同等的放大倍数下,每个视野中的淋巴细胞与嗜酸性粒细胞的数目,对照组较 iTreg 组明显更多。

Fig.5 Mice skin graft stained by hematoxylin-eosin(400×); HE-stain picture of grafted skin 11 days after the operation. Both show obvious tissue edema. But when comparing the number of lymphocytes and eosinophil granulocytes between control group and iTreg group, control group is more than iTreg group.

用 iTreg 对植皮小鼠进行输注,观察空白组和 iTreg 组小鼠的皮片存活时间,Gehan-Breslow-Wilcoxon 检验分析结果显示两者具有明显的统计学差异,平均存活时间延长约 2.4 天。淋巴细胞是移植排斥反应起主要作用的细胞,术后 11 天的病理结果显示,空白组有明显的淋巴细胞浸润,而 iTreg 组中淋巴细胞的数量明显减少,此外对照组嗜酸性粒细胞数量也明显高于 iTreg 组,证明 iTreg 确实具有一定的抑制移植排斥反应的作用。尽管如此,iTreg 还是无法诱导长期的免疫耐受,iTreg 组小鼠移植的皮片最终还是发生了免疫排斥反应。因此,通过联合使用免疫抑制剂或其他方法,探索出一条更加可行的诱导免疫耐受的方法,是下一步实验研究应该进行的内容。

综上所述,通过体外诱导方法获得的 iTreg,不仅能够得到足够数量的细胞,而且此种细胞在体内外都具有抑制免疫反应的作用。但是单独使用 iTreg 无法诱导长期的免疫耐受,如何用

iTreg 诱导长期的免疫耐受还需进一步的探索。

参考文献(References)

- [1] Tang QZ and Bluestone JA. The Foxp3+ regulatory T cell: a jack of all trades, master of regulation [J]. Nature Immunology, 2008, 9(3): 239-244
- [2] Zwar TD, Ian RVD and Gleeson PA. Guarding the immune system: Suppression of autoimmunity by CD4+CD25+ immunoregulatory T cells[J]. Immunology and Cell Biology, 2006, 84: 487-501
- [3] Lan Q, Fan HM, Quesniaux V, et al. Induced Foxp3+ regulatory T cells: a potential new weapon to treat autoimmune and inflammatory diseases?[J]. Journal of Molecular Cell Biology, 2012, 4: 22-28
- [4] Sakaguchi S. Naturally arising CD4+ regulatory T cells for immunologic self-tolerance and negative control of immune responses.[J]. Annu. Rev. Immunol, 2004, 22: 531-562
- [5] Taylor PA, Lees CJ and Blazar BR. The infusion of ex vivo activated

- and expanded CD4+CD25+ immune regulatory cells inhibits graft-versus-host disease lethality[J]. *Blood*, 2002, 99: 3493-3499
- [6] Joffre O, Santolaria T, Calise D, et al. Prevention of acute and chronic allograft rejection with CD4+CD25+Foxp3+ regulatory T lymphocytes [J]. *Nature Medicine*, 2008, 14(1): 88-92
- [7] Hoffmann P, Boeld TJ, Eder R, et al. Loss of FOXP3 expression in natural human CD4+CD25+ regulatory T cells upon repetitive in vitro stimulation[J]. *Eur. J. Immunol*, 2009, 39: 1088-1097
- [8] Pasare C, Medzhitov R. Toll pathway-dependent blockade of CD4+CD25+ T cell-mediated suppression by dendritic cells [J]. *Science*, 2003, 299: 1033-1036
- [9] Kong N, Lan Q, Chen MG, et al. Antigen-specific TGF- β -induced regulatory T cells but not natural Tregs ameliorate autoimmune arthritis by shifting the balance of Th17 toward Treg cells[J]. *Arthritis & Rheumatism*, 2012, 64(8): 2548-2558
- [10] Mays LE, Chen HY. Maintaining immunological tolerance with Foxp3[J]. *Cell Research*, 2007, 17: 904-918
- [11] Guo XM, Jie Y, Ren D, et al. In vitro-expanded CD4+CD25high-Foxp3+ regulatory T cells controls corneal allograft rejection [J]. *Human Immunology*, 2012, 73: 1061-1067
- [12] Kong N, Lan Q, Chen MG, et al. Induced T regulatory cells suppress osteoclastogenesis and bone erosion in collagen-induced arthritis better than natural T regulatory cells [J]. *Ann Rheum Dis.*, 2012, 71(9): 1567-1572
- [13] Nguyen TL, Sullivan NL, Ebel M, et al. Antigen-specific TGF-beta-induced regulatory T cells secrete chemokines, regulate T cell trafficking, and suppress ongoing autoimmunity [J]. *J. Immunol.* 2011, 187: 1745-1753
- [14] Miyara M, Yoshioka Y, Kitoh A, et al. Functional delineation and differentiation dynamics of human CD4+ T cells expressing the FoxP3 transcription factor[J]. *Immunity*, 2009, 30: 899-911
- [15] Pot C, Apetoh L, Kuchroo VK. Type1 regulatory T cells (Tr1) in autoimmunity[J]. *Semin. Immunol*, 2011, 23: 202-208
- [16] Qian X, Wang K, Wang X, et al. Generation of human regulatory T cells de novo with suppressive function prevent xenogeneic graft versus host disease[J]. *Int. Immunopharmacol*, 2011, 11: 630-637
- [17] Tran DQ, Ramsey H, Shevach EM. Induction of FOXP3 expression in naive human CD4+ Foxp3T cells by T-cell receptor stimulation is transforming growth factor-beta dependent but does not confer a regulatory phenotype[J]. *Blood*, 2007, 110: 2983-2990
- [18] Chen Q, Kim YC, Laurence A, et al. IL-2 controls the stability of Foxp3 expression in TGF-beta-induced Foxp3+ T cells in vivo [J]. *J. Immunol*, 2011, 186: 6329-6337
- [19] Chen W, Konkel JE. TGF-beta and 'adaptive' Foxp3+ regulatory T cells[J]. *J. Mol. Cell Biol*, 2011, 2: 30-36

(上接第 4810 页)

- [15] Chen A, Tang Y, Davis V, et al. Liver fatty acid binding protein (L-Fabp) modulates murine stellate cell activation and diet-induced nonalcoholic fatty liver disease [J]. *Hepatology*, 2013, 57 (6): 2202-2212
- [16] Troeger JS, Mederacke I, Gwak GY, et al. Deactivation of hepatic stellate cells during liver fibrosis resolution in mice [J]. *Gastroenterology*, 2012, 143(4): 1073-1083
- [17] Zhang DW, Zhao YX, Wei D, et al. HAb18G/CD147 promotes activation of hepatic stellate cells and is a target for antibody therapy of liver fibrosis[J]. *J Hepatol*, 2012, 57(6): 1283-1291
- [18] Guvendiren M, Perepelyuk M, Wells RG, et al. Hydrogels with differential and patterned mechanics to study stiffness-mediated myofibroblastic differentiation of hepatic stellate cells [J]. *J Mech Behav Biomed Mater*, 2013[Epub ahead of print]
- [19] Woodhoo A, Iruarrizaga-Lejarreta M, Beraza N, et al. Human antigen R contributes to hepatic stellate cell activation and liver fibrosis[J]. *Hepatology*, 2012, 56(5): 1870-1882
- [20] Lakner AM, Moore CC, Gullledge AA, et al. Daily genetic profiling indicates JAK/STAT signaling promotes early hepatic stellate cell transdifferentiation [J]. *World J Gastroentero*, 2010, 16 (40): 5047-5056