

IL-13促进肝星状细胞增殖和胶原蛋白表达

陈厚文¹ 吴超² 李香龙² 郭梦舟² 熊志勇² 范杰² 朱孟博³ 石小玉^{4*}

(¹南昌大学转化医学研究院, 南昌 330031; ²南昌大学第一临床医学院, 南昌 330004;

³南昌大学第二临床医学院, 南昌 330004; ⁴南昌大学基础医学院, 南昌 330006)

摘要 肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)是肝纤维化发展过程中过量细胞外基质的主要来源。该研究首先利用MTT法检测IL-13实验剂量和时间条件下肝星状细胞增殖情况;然后运用RT-PCR技术检测IL-13对人肝星状细胞LX-2细胞系IL-13R α 1、IL-4R α 、TGF- β 和I型胶原蛋白转录水平的影响;最后通过羟脯氨酸法定量分析各组细胞培养上清液中的胶原蛋白含量。结果发现:IL-13能促进肝星状细胞的增殖;在不改变IL-13R α 1和IL-4R α 转录水平的同时,对TGF- β 和I型胶原蛋白mRNA的表达以及细胞总胶原蛋白含量的上调作用均呈现出较为明显的剂量和时间依赖性。

关键词 IL-13; 肝星状细胞; LX-2; 胶原蛋白

以细胞外基质(ECM)过度沉积为主要特征的肝纤维化是肝脏非可控性炎症、慢性代谢性肝病和原发性肝细胞癌等疾病常见的病理现象。研究表明,在多种细胞因子、趋化因子和生长因子等的参与和调节下,肝星状细胞持续性活化、增殖并分泌大量胶原蛋白,进而导致肝细胞外基质合成-降解失衡是这一过程发生的中心环节。

本研究通过运用MTT、RT-PCR和羟脯氨酸法胶原蛋白定量技术,分析不同剂量和时间条件下IL-13对肝星状细胞增殖和IL-13R α 1、IL-4R α 、TGF- β 、I型胶原蛋白mRNA表达水平以及总胶原蛋白含量的影响,探讨了IL-13促进肝脏胶原蛋白生成的效应和可能的分子机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞株 人肝星状细胞LX-2购自中南大学湘雅中心实验室细胞库。

1.1.2 培养基(液) DMEM(高糖)、青霉素和链霉素购自美国Invitrogen生命技术有限公司, standard FBS(标准胎牛血清)购自北京索莱宝科技有限公司。

1.1.3 主要试剂 IL-13购自美国Peprotech公司; MTT(四甲基偶氮唑蓝)和Trizol购自美国Sigma-Aldrich公司; DMSO(二甲基亚砷)购自美国Invitrogen生命技术有限公司; RT试剂盒、RT-PCR引物和PCR-Mix购自TaKaRa宝生物工程(大连)有限公司;

羟脯氨酸检测试剂盒(消化法)购自南京建成科技有限公司; Bradford法蛋白定量试剂盒购自天根生化科技(北京)有限公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 人肝星状细胞LX-2培养于含10%标准胎牛血清、100 U/mL青霉素和100 U/mL链霉素的DMEM(高糖)中,至细胞计数约 10^7 /mL左右血清饥饿24 h后按对照组加入等体积PBS,实验组加入IL-13(剂量梯度: 0~100 ng/mL $\times$ 24 h或时间梯度: 0~48 h $\times$ 10 ng/mL),收集上清液和总RNA。

1.2.2 MTT实验 将对数生长期肝星状细胞调整浓度至 10^4 /mL,以每孔200 μ L悬液量加入96孔培养板无血清培养24 h。弃去旧培养基,换含IL-13的无血清培养液(剂量梯度: 0~100 ng/mL $\times$ 24 h或时间梯度: 0~48 h $\times$ 10 ng/mL)继续培养后每孔加入5 g/L的MTT溶液20 μ L于含5.0% CO₂的37 °C标准培养箱继续孵育4 h。吸弃孔内上清,每孔加入150 μ L DMSO低速振荡10 min。待结晶充分溶解,以空白孔(不加细胞,其余操作同实验组)调零,在酶联免疫检测仪上选择570 nm波长检测吸光度值(每刺激点设5个复孔,各组实验重复3次)。

收稿日期: 2011-02-18 接受日期: 2011-03-23

国家自然科学基金(No.30860118)和国家大学生创新性实验计划(No.091040306, No.101040307)资助项目

*通讯作者。Tel: 0791-6362180, Fax: 0791-6361272, E-mail: shixiaoyu999@163.com

1.2.3 RT-PCR Trizol法裂解各组细胞(DNase I分解混入的基因组DNA), 苯酚/氯仿抽提及无水乙醇沉淀法纯化总RNA样本。以 D_{260} (各样品测3次, 取平均值)计算RNA含量后, 将所有总RNA样本用RNase Free dH₂O定量至25 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 逆转录。根据NCBI全基因组序列, 利用Primer Premier 5.0软件设计IL-13R α 1、IL-4R α 、TGF- β 和一型胶原蛋白(COLA1)特异性引

物。按相关体系方案将目的基因引物与内参引物在同等条件下PCR后(表1), 1.2%琼脂糖凝胶电泳观察基因表达情况, Band Scan 5.0软件分析目的基因条带与内参条带光密度值比率。PCR反应条件: 94 $^{\circ}\text{C}$ 60 s, 94 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 55.9~59.2 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 90 s, 30个循环, 72 $^{\circ}\text{C}$ 7 min; 扩增体系: 25 μL ; 逆转录和PCR-Mix各组分按产品说明书配制。

表1 RT-PCR引物序列
Table 1 Primers used for the RT-PCR analysis

基因名称 Gene name	引物序列 Primer sequences	扩增长度(bp) Amplification length (bp)	退火温度($^{\circ}\text{C}$) Annealing temperature ($^{\circ}\text{C}$)
IL-13R α 1	5'-gtc cct ggt gtt ctt cct gat ac-3' (sense) 5'-cag cac tac aga gtc ggt ttc c-3' (antisense)	360	59.0
IL-4R α	5'-gac ctg gag caa ccc gta tc-3' (sense) 5'-cat agc aca aca ggc aga cg-3' (antisense)	335	55.9
TGF- β	5'-cat ccta gac cct ttc tcc tcc-3' (sense) 5'-gct tcc gct tca cca gct-3' (antisense)	437	59.2
COLA1	5'-ttc ctg cgc ctg atg tcc-3' (sense) 5'-gtt tgg gtt gct tgt ctg ttt-3' (antisense)	414	56.8
β -actin	5'-ctc cat cct ggc ctg gct gt-3' (sense) 5'-gct gtc acc ttc acc gtt cc-3' (antisense)	268	The same as target gene

1.2.4 羟脯氨酸定量检测 收集空白对照组和各实验组细胞培养上清液, 以1.0% BSA标准品倍比稀释绘制标准曲线, Bradford法总蛋白含量测定后按酶消化法处理样本, DDW调零后取上清在550 nm处(1 cm光径)测各比色皿吸光度值(每个刺激点设5个平行对照, 每个对照测3次, 取平均值)。计算公式: 羟脯氨酸量=[(测定管吸光度-空白管吸光度) $\times$ (标准管吸光度-空白管吸光度)] $\times$ 标准管浓度 $\div$ 蛋白含量。单位: 微克每毫克蛋白质($\mu\text{g}/\text{mg}_{\text{protein}}$)。

1.2.5 统计学分析 实验结果以 $\bar{x}\pm s$ 表示, 运用SPSS 16.0统计软件对实验组和对照组数据进行方差分析和 t 检验, $*P<0.05$ 为差异有统计学意义, $**P<0.01$ 为差异有显著性意义。

2 结果

2.1 IL-13对肝星状细胞增殖的影响

如图1A、图1C所示, IL-13对肝星状细胞LX-2的增殖有促进作用, 并呈现出明显的剂量-时间依赖关系。图1C的 D_{570} 在48 h下降, 提示IL-13的作用有效时间可能在24~48 h以内。图1B显示在未受IL-13刺激情况下, 未被活化的肝星状细胞LX-2增殖缓慢。

2.2 IL-13对IL-13R α 1 mRNA表达的影响

如图2A、图2C所示, IL-13在实验剂量和时间条件下刺激LX-2细胞后各组IL-13R α 1凝胶电泳条带亮度均与对照组相当; 图2B、图2D显示各泳道光密度值与内参光密度值比例经统计学处理后无显著差异。

2.3 IL-13对IL-4R α mRNA表达的影响

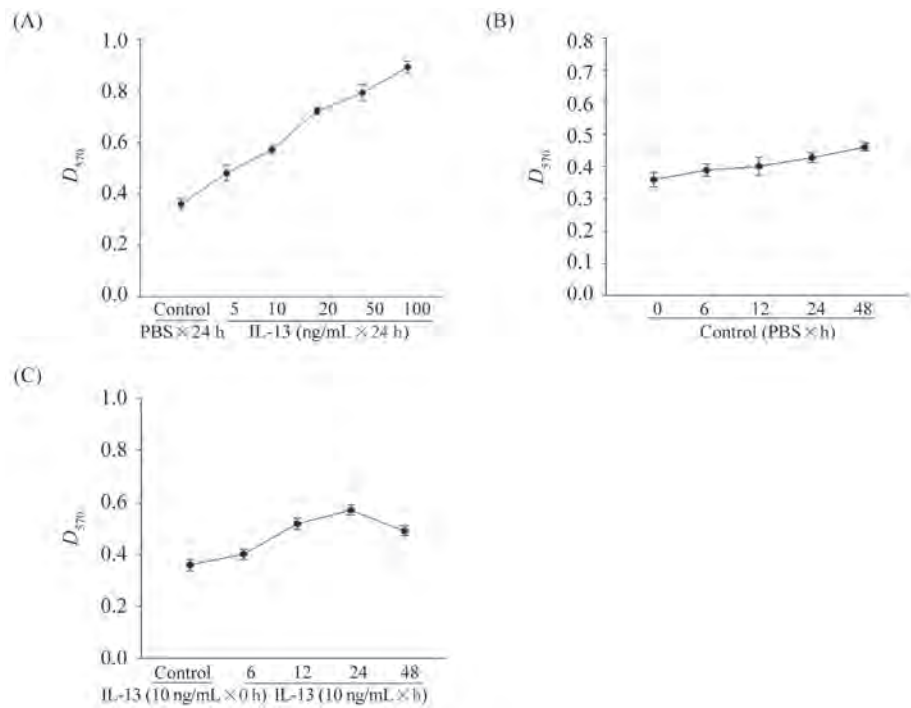
如图3A、图3C所示, IL-13在实验剂量和时间条件下刺激LX-2细胞后各组IL-4R α 凝胶电泳条带亮度与对照组基本相当; 图3B、图3D显示各泳道光密度值与内参光密度值比例差异无统计学意义。

2.4 IL-13对TGF- β mRNA表达的影响

如图4A所示, 对照组未见TGF- β 目的基因条带; IL-13剂量组各泳道凝胶电泳条带亮度随刺激浓度的升高而逐步增加; 图4B显示与内参电泳条带光密度值相比, IL-13剂量组较对照组有显著性差异, 比值的大小与IL-13的剂量正相关。图4C所示IL-13时间组凝胶电泳条带亮度先增后减; 图4D显示TGF- β / β -actin光密度值比率趋势与图4C基本一致。

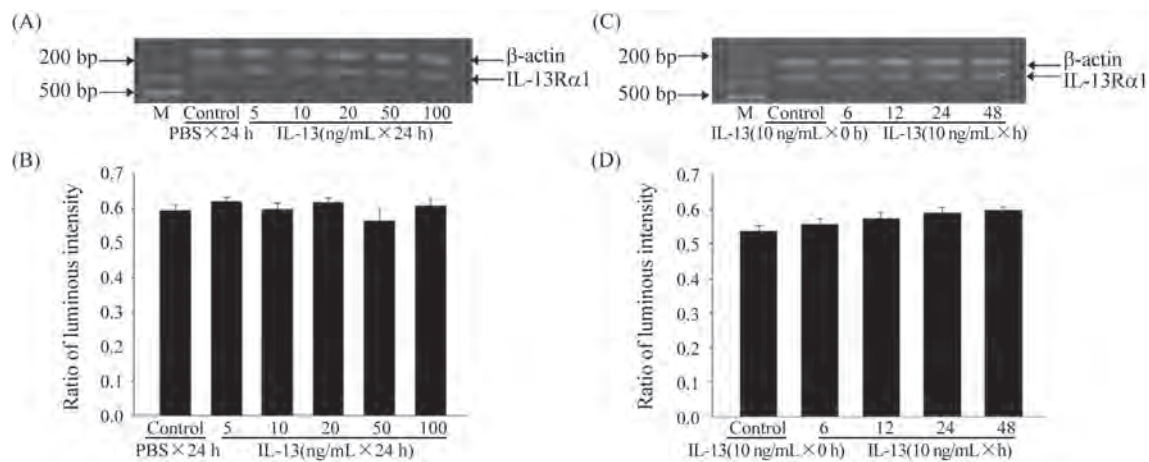
2.5 IL-13对肝星状细胞胶原蛋白生成的影响

2.5.1 LX-2细胞I型胶原mRNA表达水平 如图5A、图5B所示, IL-13剂量组所属各泳道I型胶原



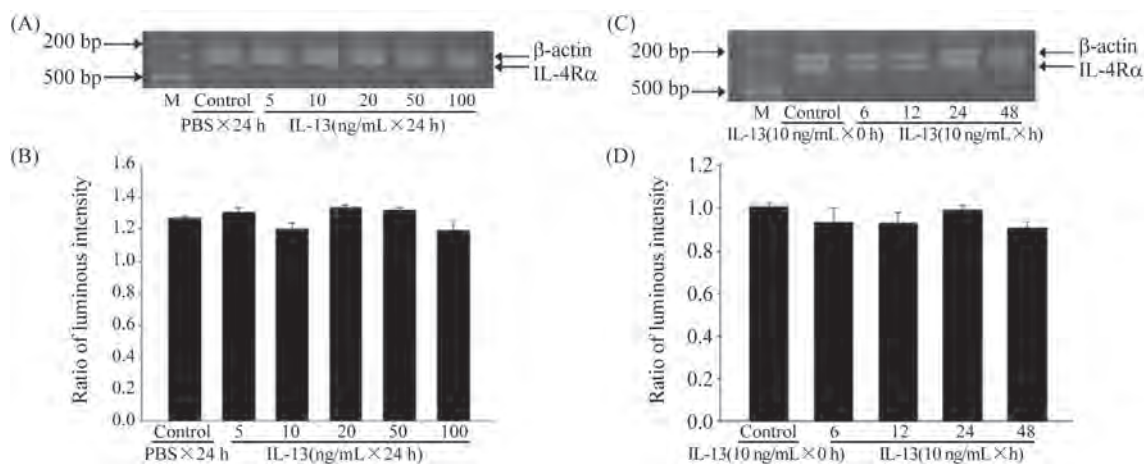
A: IL-13不同剂量(0~100 ng/mL)刺激LX-2细胞24 h后 D 值(570 nm); B: 未受IL-13刺激情况下LX-2细胞正常增殖0~48 h对应的 D 值(570 nm); C: 相同剂量IL-13(10 ng/mL)刺激LX-2细胞0~48 h后 D 值(570 nm)。
A: D values (570 nm) were read after exposure to IL-13 in different concentrations (0~100 ng/mL in our experiment) after 24 h on LX-2 cells; B: D values (570 nm) were read in different hours with PBS on LX-2 cells; C: D values (570 nm) were read after exposure to IL-13 in different hours with the same concentration (10 ng/mL) on LX-2 cells.

图1 IL-13促进肝星状细胞增殖
Fig.1 IL-13 Promotes Proliferation of hepatic stellate cell



A: IL-13不同剂量(0~100 ng/mL)刺激LX-2细胞24 h后 $IL-13R\alpha1$ mRNA表达水平; B: IL-13剂量组IL-13R α 1与 β -actin电泳条带光密度比率; C: 相同剂量IL-13(10 ng/mL)刺激LX-2细胞0~48 h后 $IL-13R\alpha1$ mRNA表达水平; D: IL-13时间组IL-13R α 1与 β -actin电泳条带光密度比率。
A: expression of IL-13R α 1 mRNA after stimulated by IL-13 in different concentrations (0~100 ng/mL in our experiment) after 24 h on LX-2 cells; B: luminous intensity ratios of IL-13/IL-13R α 1 to β -actin. Agarose gel electrophoresis bands were analyzed by BandScan 5.0 software; C: expression of IL-13R α 1 mRNA after stimulated by IL-13 in different hours with the same concentration (10 ng/mL) on LX-2 cells; D: luminous intensity ratios of IL-13/IL-13R α 1 to β -actin. Agarose gel electrophoresis bands were analyzed by BandScan 5.0 software.

图2 IL-13对肝星状细胞 $IL-13R\alpha1$ mRNA表达的影响
Fig.2 Effect of IL-13 on $IL-13R\alpha1$ mRNA expression in hepatic stellate cell

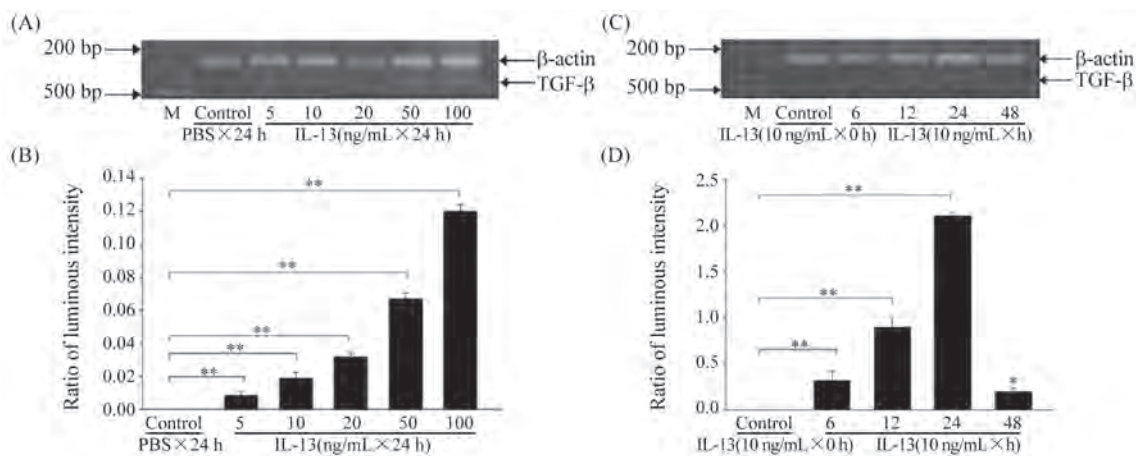


A: IL-13不同剂量(0~100 ng/mL)刺激LX-2细胞24 h后 $IL-4R\alpha$ mRNA表达水平; B: IL-13剂量组 $IL-4R\alpha$ 与 β -actin电泳条带光密度比率; C: 相同剂量IL-13(10 ng/mL)刺激LX-2细胞0~48 h后 $IL-4R\alpha$ mRNA表达水平; D: IL-13时间组 $IL-4R\alpha$ 与 β -actin电泳条带光密度比率。

A: expression of *IL-4Rα* mRNA after stimulated by IL-13 in different concentrations (0~100 ng/mL in our experiment) after 24 h on LX-2 cells; B: luminous intensity ratios of IL-13/*IL-4Rα* to β -actin; C: expression of *IL-4Rα* mRNA after stimulated by IL-13 in different hours with the same concentration (10 ng/mL) on LX-2 cells; D: luminous intensity ratios of IL-13/*IL-4Rα* to β -actin; agarose gel electrophoresis bands were analyzed by BandScan 5.0 software.

图3 IL-13对肝星状细胞 $IL-4R\alpha$ mRNA表达的影响

Fig.3 Effect of IL-13 on *IL-4Rα* mRNA expression in hepatic stellate cell



A: IL-13不同剂量(0~100 ng/mL)刺激LX-2细胞24 h后 $TGF-\beta$ mRNA表达水平; B: IL-13剂量组 $TGF-\beta$ 与 β -actin电泳条带光密度比率; C: 相同剂量IL-13(10 ng/mL)刺激LX-2细胞0~48 h后 $TGF-\beta$ mRNA表达水平; D: IL-13时间组 $TGF-\beta$ 与 β -actin电泳条带光密度比率。

A: expression of *TGF-β* mRNA after stimulated by IL-13 in different concentrations (0~100 ng/mL in our experiment) after 24 h on LX-2 cells; B: luminous intensity ratios of IL-13/*TGF-β* to β -actin; C: expression of *TGF-β* mRNA after stimulated by IL-13 in different hours with the same concentration (10 ng/mL) on LX-2 cells; D: luminous intensity ratios of IL-13/*TGF-β* to β -actin; agarose gel electrophoresis bands were analyzed by BandScan 5.0 software.

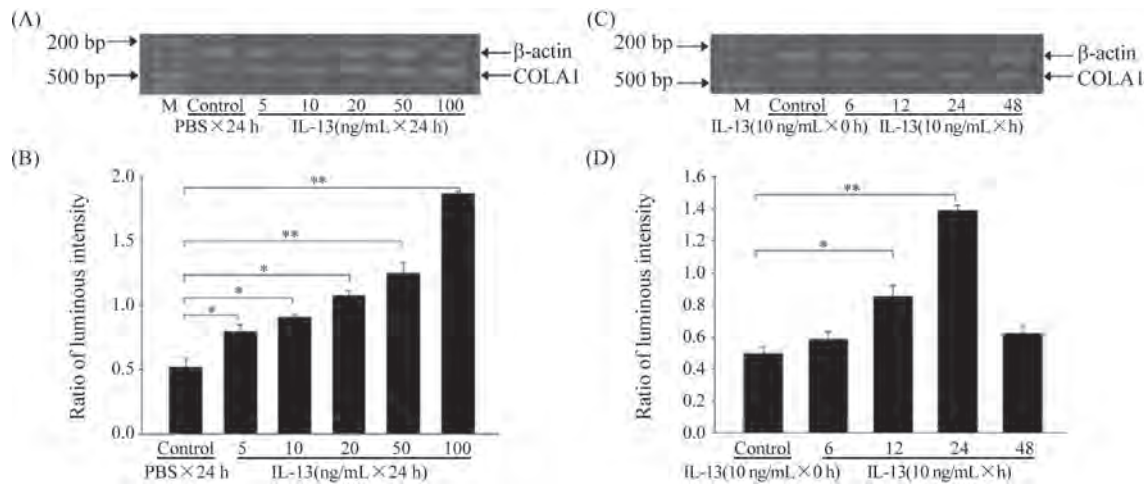
图4 IL-13对肝星状细胞 $TGF-\beta$ mRNA表达的影响

Fig.4 Effect of IL-13 on *TGF-β* mRNA expression in hepatic stellate cell

蛋白条带亮度及其与内参亮度的光密度比值依次增高, 与浓度大小基本呈正相关; 图5C、图5D所示IL-13时间组各I型胶原蛋白条带亮度及其与内参亮

度的光密度比值和对照组相比, 均呈现出先增强后减弱的情况, 峰值在24 h点。

2.5.2 羟脯氨酸法总胶原蛋白定量检测 如



A: IL-13不同剂量(0~100 ng/mL)刺激LX-2细胞24 h后I型胶原蛋白(*COL1A1*) mRNA表达水平; B: IL-13剂量组I型胶原蛋白 (*COL1A1*)与β-actin电泳条带光密度比率; C: 相同剂量IL-13(10 ng/mL)刺激LX-2细胞0~48 h后I型胶原蛋白(*COL1A1*) mRNA表达水平; D: IL-13时间组I型胶原蛋白 (*COL1A1*)与β-actin电泳条带光密度比率。
A: expression of Collagen Type One (*COL1A1*) mRNA after stimulated by IL-13 in different concentrations (0~100 ng/mL in our experiment) after 24 h on LX-2 cells; B: luminous intensity ratios of IL-13/Collagen Type One (*COL1A1*) to β-actin; C: expression Collagen Type One (*COL1A1*) mRNA after stimulated by IL-13 in different hours with the same concentration (10 ng/mL) on LX-2 cells; D: luminous intensity ratios of IL-13/ Collagen Type One (*COL1A1*) to β-actin; Agarose gel electrophoresis bands were analyzed by BandScan 5.0 software.

图5 IL-13对肝星状细胞*COL1A1*表达的影响
Fig.5 Effect of IL-13 on Collagen type one (*COL1A1*) mRNA expression in hepatic stellate cell

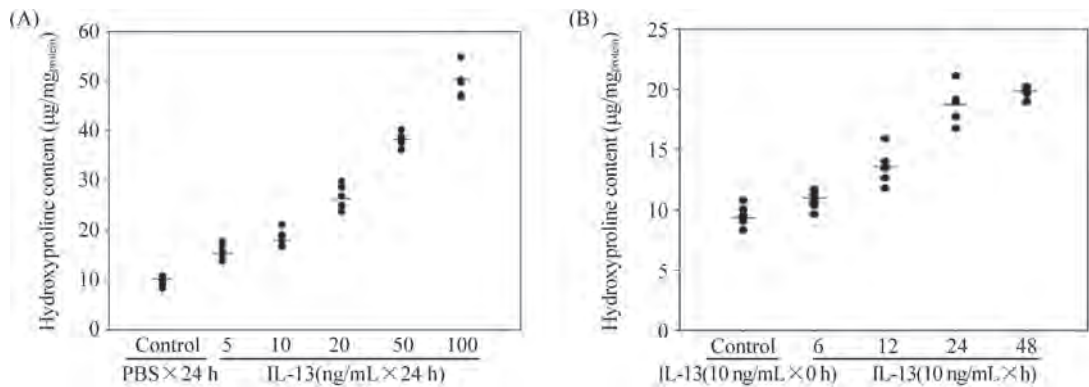


图6 羟脯氨酸法胶原蛋白定量检测
Fig.6 Analysis of Collagen content by hydroxyproline assay

图6所示, 羟脯氨酸(消化法)法检测各组上清液中溶解的总胶原蛋白含量。对照组羟脯氨酸均值为 9.57 μg/mg_{protein}; IL-13剂量组胶原蛋白含量随剂量增加而逐步上升; IL-13时间组胶原蛋白含量先增后减。

3 讨论

急性肝损伤时机体常通过对各种免疫细胞的募集和分泌多种细胞因子、生长因子限制病灶的扩

展并启动修复过程。通常情况下这一机制具有自限性, 然而在肝脏非可控性炎症和原发性肝癌等慢性、恶性肝病过程中, 大量的炎症因子呈持续高水平状态, 其结果一方面不断促使肝星状细胞发生表型转变, 由静止型转化为激活型(又称肌成纤维样细胞, myofibroblast, MFB)并分泌大量以I型胶原蛋白为主的细胞外基质; 另一方面阻止肝星状细胞的凋亡和衰老, 抑制细胞外基质的降解, 最终导致肝纤维化的

形成^[1-2]。

IL-13是重要的免疫调节性细胞因子,主要由活化的II型辅助性T细胞产生,广泛参与纤维化、炎症以及肿瘤的发生和发展^[3-5]。IL-13有两种结构和功能截然不同的受体:IL-13R α 1和IL-13R α 2。IL-13与IL-13R α 1的亲合力较低(K_d=2~10 nmol/L),但当与IL-4R α 形成受体复合物后亲合力可明显增强(K_d=0.03~0.04 nmol/L)从而参与IL-13介导的促纤维化作用^[6]。IL-13R α 2与IL-13的结合能力是IL-13R α 1的5 000倍^[7],但由于其胞内区缺乏直接结合信号转导分子的能力,目前认为它主要以“decoy receptor”的形式抑制IL-13的生物学作用^[8-10]。TGF- β 是目前已知的促进ECM分泌最强大的细胞因子,可通过Smad等信号转导途径诱导肝细胞凋亡、抑制HSC凋亡^[11-15],在博来霉素介导的肺纤维化模型中还能协同IL-13的致纤维化作用^[16]。

我们的研究表明,IL-13能以剂量-时间依赖的方式促进肝星状细胞的增殖而不改变IL-13R α 1和IL-4R α mRNA表达水平;与此同时,IL-13能上调LX-2细胞TGF- β 和COLA1 mRNA的表达,促进LX-2细胞培养上清液中的胶原蛋白含量。考虑到TGF- β 也是促纤维化因子,除了通过自身受体复合物发挥致纤维化效应外,IL-13介导的TGF- β 表达可放大IL-13的生物学效应从而加剧细胞外基质的量变和质变。

值得注意的是,在此前对肺纤维化的研究中我们阐明了:由IL-13自身上调的肺成纤维细胞IL-13R α 2表达可以通过与IL-13R α 1竞争结合IL-13,在一定程度上阻抑IL-13致纤维化效应的机制,并认为IL-13R α 2是减轻肺纤维化的内源性分子和潜在的治疗靶点^[17]。但是,在肝星状细胞中我们却没有检测到IL-13R α 2 mRNA的表达以及可溶型sIL-13R α 2在细胞培养上清液中的存在。在将两种细胞胶原蛋白分泌量变化趋势进行对比后我们发现,同等IL-13刺激剂量条件下,肺成纤维细胞胶原蛋白的水平没有较大改变,肝星状细胞的胶原分泌则显著上升。由此我们推测,造成肺成纤维细胞和肝星状细胞胶原生成差异的原因可能与后者IL-13R α 2表达缺失相关。由于不能引发抑制性受体的反馈调节,IL-13/IL-13R α 1-IL-4R α 的致纤维化作用得以充分显现。在体细胞同为一套遗传信息的理论背景下,这种受体表达和调节效应的差异也许和转录调控或翻译修饰等有关。

综上所述,通过对IL-13促进肝星状细胞LX-2增殖和胶原蛋白合成的研究,我们进一步加深了对肝纤维化发生发展的认识。鉴于IL-13可上调TGF- β 的表达以及二者的协同作用,将IL-13和TGF- β 一起作为治疗靶点也许是改进肝纤维化(硬化)治疗方案有意义的思路。而对于肝星状细胞IL-13R α 2表达缺失的机制,以及引入外源性(如基因重组)sIL-13R α 2抑制IL-13致纤维化效应的新药研发可行性仍有待进一步研究和探讨。

参考文献 (References)

- 1 Faouzi S, Le Bail B, Neaud V, Boussarie L, Saric J, Bioulac-Sage P, *et al*. Myofibroblasts are responsible for collagen synthesis in the stroma of human hepatocellular carcinoma: An *in vivo* and *in vitro* study. *J Hepatol* 1999; 30(2): 275-84.
- 2 Guyot C, Lepreux S, Combe C, Sarrazy V, Billet F, Balabaud C, *et al*. Fibrogenic cell phenotype modifications during remodeling of normal and pathological human liver in cultured slices. *Liver Int* 2010; 30(10): 1529-40.
- 3 Fallon PG, Richardson EJ, McKenzie GJ, McKenzie AN. Schistosoma infection of transgenic mice defines distinct and contrasting pathogenic roles for IL-4 and IL-13: IL-13 is a profibrotic agent. *J Immunol* 2000; 164(5): 2585-91.
- 4 Grecis RK, Bancroft AJ. Interleukin-13: A key mediator in resistance to gastrointestinal-dwelling nematode parasites. *Clin Rev Allergy Immunol* 2004; 26(1): 51-60.
- 5 Finkelman FD, Shea-Donohue T, Morris SC, Gildea L, Strait R, Madden KB, *et al*. Interleukin-4- and interleukin-13-mediated host protection against intestinal nematode parasites. *Immunol Rev* 2004; 201: 139-55.
- 6 Zheng T, Zhu Z, Liu W, Lee CG, Chen Q, Homer RJ, *et al*. Cytokine regulation of IL-13R α 2 and IL-13R α 1 *in vivo* and *in vitro*. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 111: 720-8.
- 7 Lupardus PJ, Birnbaum ME, Garcia KC. Molecular basis for shared cytokine recognition revealed in the structure of an unusually high affinity complex between IL-13 and IL-13R α 2. *Structure* 2010; 18(3): 332-42.
- 8 Andrews AL, Nasir T, Bucchieri F, Holloway JW, Holgate ST, Davies DE. IL-13 receptor alpha 2: A regulator of IL-13 and IL-4 signal transduction in primary human fibroblasts. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 118: 858-65.
- 9 Zhao Y, He D, Zhao J, Wang L, Leff AR, Spannhake EW, *et al*. Lysophosphatidic acid induces interleukin-13 (IL-13) receptor α 2 expression and inhibits IL-13 signaling in primary human bronchial epithelial cells. *J Biol Chem* 2007; 282: 10172-9.
- 10 Zheng T, Liu W, Oh SY, Zhu Z, Hu B, Homer RJ, *et al*. IL-13 receptor α 2 selectively inhibits IL-13-induced responses in the murine lung. *J Immunol* 2008; 180: 522-9.

- 11 Kaviratne M, Hesse M, Leusink M, Cheever AW, Davies SJ, McKerrrow JH, *et al.* IL-13 activates a mechanism of tissue fibrosis that is completely TGF-beta independent. *J Immunol* 2004; 173(6): 4020-9.
- 12 Nakamura T, Sakata R, Ueno T, Sata M, Ueno H. Inhibition of transforming growth factor beta prevents progression of liver fibrosis and enhances hepatocyte regeneration in dimethylnitrosamine-treated rats. *Hepatology* 2000; 32(2): 247-55.
- 13 Yang KL, Chang WT, Chuang CC, Hung KC, Li EI. Antagonizing TGF-beta induced liver fibrosis by a retinoic acid derivative through regulation of ROS and calcium influx. *Biochem Biophys Res Commun* 2008; 365(3): 484-9.
- 14 Yoshida K, Matsuzaki K, Mori S, Tahashi Y, Yamagata H, Furukawa F, *et al.* Transforming growth factor-beta and platelet-derived growth factor signal via c-Jun N-terminal kinase-dependent Smad2/3 phosphorylation in rat hepatic stellate cells after acute liver injury. *Am J Pathol* 2005; 166(4): 1029-39.
- 15 Kaimori A, Potter J, Kaimori JY, Wang C, Mezey E, Koteish A. Transforming growth factor-beta1 induces an epithelial-to-mesenchymal transition state in mouse hepatocytes *in vitro*. *J Biol Chem* 2007; 282(30): 22089-101.
- 16 Fichtner-Feigl S, Strober W, Kawakami K, Puri RK, Kitani A. IL-13 signaling through the IL-13alpha2 receptor is involved in induction of TGF-beta1 production and fibrosis. *Nat Med* 2006; 12(1): 99-106.
- 17 陈厚文, 郭梦舟, 陈琦, 吴超, 李香龙, 范杰, 等. TNF- α 和IL-13对人肺成纤维细胞胶原蛋白生成的影响. *中国细胞生物学学报* 2011; 33(6): 667-73.

IL-13 Promotes Hepatic Stellate Cell Proliferation and Collagen Synthesizing

Chen Houwen¹, Wu Chao², Li Xianglong², Guo Mengzhou², Xiong Zhiyong²,
Fan Jie², Zhu Mengbo³, Shi Xiaoyu^{4*}

(¹The Institute of Translational Medicine, Nanchang University, Nanchang 330031, China; ²The First Clinical Medical School of Nanchang University, Nanchang 330004, China; ³The Second Clinical Medical School of Nanchang University, Nanchang 330004, China; ⁴The Basic Medical School of Nanchang University, Nanchang 330006, China)

Abstract Hepatic stellate cell is the primary source of extra ECM deposition in liver wound healing responses. Here we detected proliferation of LX-2 after exposure to IL-13 in different conditions (0~100 ng/mL×24 h or 0~48 h×10 ng/mL). Then we analyzed mRNA expression of IL-13R α 1, IL-4R α , TGF- β and collagen type I by RT-PCR. Collagen contents in cell supernatant were also determined by hydroxyproline-assaying. In this study we report that IL-13 could promotes hepatic stellate cell proliferation with no vitiation of IL-13R α 1 and IL-4R α gene expression. However, in experimental conditions, IL-13 were shown to unregulated TGF- β and COLA1 expression as well as collagen synthesizing which in a dose- and time-dependent manner.

Key words IL-13; hepatic stellate cell; LX-2; collagen

Received: February 18, 2011 Accepted: March 23, 2011

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No.30860118) and the National Undergraduate's Innovative Experiment Project of China (No.091040306, No.101040307)

*Corresponding author. Tel: 86-791-6362180, Fax: 86-791-6361272, E-mail: shixiaoyu999@163.com