

DOI:10.3724/SP.J.1008.2008.00030

蛋白质组学技术筛选大鼠肝脏大部切除后肝再生相关差异表达蛋白

周东勋, 谈冶雄, 胡和平*, 王红阳*, 吴孟超

第二军医大学东方肝胆外科医院综合二科, 上海 200438

[摘要] **目的:**应用蛋白质组学技术观察大鼠肝脏大部分切除术后蛋白表达情况, 筛选肝脏切除后肝再生相关的差异表达蛋白。**方法:**大鼠随机分为肝大部切除组($n=35$)和假手术对照组($n=5$)。肝大部切除组大鼠无菌条件下切除肝左外叶、左中叶和中叶共约70%肝脏;假手术组大鼠仅开腹, 不行肝大部切除。肝大部切除术后不同时间点(2、12、24、36、48、72、168 h)各处死5只大鼠, 取右叶肝组织, 提取大鼠肝脏总蛋白, 以假手术组为对照, 进行二维电泳和质谱分析, 筛选差异表达蛋白, 并对其中差异显著蛋白进行Western印迹鉴定。**结果:**电泳图谱显示肝脏70%切除术后2 h差异表达蛋白点开始增多, 36 h达到高峰;共筛选出78个差异表达蛋白点, 质谱技术鉴定出其中35个有意义的蛋白点。35个差异蛋白根据动态变化趋势可分为5类:3类丰度上调蛋白和2类丰度下调蛋白(各自间上调或下调时间和幅度均有所差异);这些蛋白主要涉及以下代谢途径:氧化应激反应、急性期反应蛋白、脂类代谢蛋白、能量代谢的酶类、信号转导、神经递质降解等, 部分蛋白功能未知。Western印迹鉴定证实其中的prohibitin蛋白在肝大部切除术后2 h开始上调, 36 h达高峰, 48 h后趋于正常水平。**结论:**多种信号和代谢途径参与肝脏大部切除后的肝脏再生过程。

[关键词] 肝再生;肝切除术;蛋白质组学;prohibitin

[中图分类号] R 333.4 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2008)01-0030-06

Proteomics technique in screening of differential proteins for liver regeneration after partial hepatectomy in rats

ZHOU Dong-xun, TAN Ye-xiong, HU He-ping*, WANG Hong-yang*, WU Meng-chao

Department of Hepatobiliary Disease II, Eastern Hepatobiliary Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200438, China

[ABSTRACT] **Objective:** To screen for the differentially expressed proteins during rat liver regeneration after partial hepatectomy(PH) by proteomics technique. **Methods:** Healthy male SD rats were randomly divided into 2 groups: hepatectomy group and sham operated group. The hepatectomy model was produced by 70% PH($n=35$) and the sham operated rats($n=5$) underwent the same surgical protocol without hepatectomy. Rats were executed at 2, 12, 24, 36, 48, 72 and 168 h after partial hepatectomy (each time 5 rats) and the right lobes were harvested. The total protein was extracted and analyzed by two-dimensional gel electrophoresis and mass spectrometric analysis. The differential proteins were then analyzed by Western blotting. **Results:** The spots of differential protein began to rise at 2 h after PH and peaked at 36 h after PH. A total of 78 protein spots were identified and 35 significant protein spots were found by mass spectrometric analysis. The 35 protein spots fell into 5 types according to their dynamic changes: 3 up-regulated and 2 down-regulated (with different regulation time periods and amplitudes); and their functions involved oxidative stress response, acute reaction, lipid and energy metabolism, intracellular signaling transduction, cell proliferation, etc., with some having unknown functions. Western blotting analysis showed that the prohibitin protein began to increase 2 h after PH and decreased to the normal level after 48 h. **Conclusion:** It is indicated that many proteins and signal transduction pathways participate in the liver regeneration after partial hepatectomy.

[KEY WORDS] liver regeneration; hepatectomy; proteome; prohibitin

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2008, 29(1): 30-35]

肝脏再生是体内多基因参与、多步骤协同的复杂过程, 与许多肝脏疾病密切相关^[1]。Cimica等^[2]应用基因组学方法发现, 超过100个瞬时基因参与

了肝脏切除术后的肝脏再生, 但对与肝脏再生直接相关的功能蛋白的研究仍很缺乏。以双向电泳、质谱分析为主的蛋白质组学^[3]技术为解决这一难题提

[收稿日期] 2007-10-09 **[接受日期]** 2007-12-25

[作者简介] 周东勋, 博士生. E-mail: dongxunzhou@yahoo.com.cn

* 通讯作者(Corresponding authors). Tel: 021-25070785, E-mail: hp-hu@medmail.com.cn; Tel: 021-25070856, E-mail: hywangk@vip.sina.com

供了很好的技术平台。本研究应用蛋白质组学相关技术,动态观察肝脏部分切除术后的蛋白质表达谱的变化,筛选肝脏切除术后与肝脏再生相关的差异表达蛋白,为肝脏疾病的诊治提供新的方向和思路。

1 材料和方法

1.1 主要试剂及仪器 超纯尿素、二硫苏糖醇(DTT)均购自 Bio-Rad 公司; Tris-base 购自 Amresco 公司; 载体两性电解质(Pharmalytes pH 3~10)、Plusone 2-D clean-up 试剂盒、Ettan™ IPGphor 双向电泳专用等电聚焦电泳系统、Ettan™ DALTsix 垂直电泳仪、ImageScanner 扫描仪均为 Amersham Biosciences 公司产品; 琼脂糖购自上海华舜生物公司; 超速离心机为 Beckman 公司产品, ECL 化学发光检测系统为 Santa Cruz 公司产品; 抗 prohibitin 一抗购自 Abcam 公司; BCA protein assay kit(蛋白定量试剂盒)购自 Pierce 公司; 3M 滤纸购自 Whatman 公司; X-film 为 Kodak 公司产品; 硝酸纤维素膜(NC膜)为 S&S 公司产品; 叠氮钠购自 Sigma 公司。

1.2 动物分组及处理 40 只雄性 Sprague-Dawley (SD)大鼠购自第二军医大学实验动物中心,体质量 200~250 g,随机分为肝大部切除组($n=35$)和假手术对照组($n=5$)。肝大部切除组大鼠术前均禁食 12 h,禁饮 6 h,2%戊巴比妥钠(40 mg/kg)腹腔注射麻醉后,按 Higgins 等^[4]方法,无菌条件下切除肝的左外叶、左中叶和中叶共约 70%肝脏,术毕腹腔给予生理盐水 1 ml。假手术对照组大鼠腹腔注射麻醉后开腹,但不行肝大部切除术。肝大部切除组术后不同时间点(2、12、24、36、48、72、168 h)分别处死大鼠,取右叶肝组织。假手术对照组大鼠处死后取与其他各组相同部位的肝组织。

1.3 样品处理和蛋白的提取纯化 取各组右叶肝组织样本,迅速放入预冷 PBS 中漂洗,去除组织中的血液,用滤纸吸去多余的液体,放入培养基冰浴,加入组织裂解液(7 mol/L 尿素,2 mol/L 硫脲,质量体积分数为 4%的 CHAPS,40 mmol/L Tris-base,40 mmol/L DTT),冰浴振荡 30 min,然后用超声波细胞粉碎机处理,工作 7 s,间隔 10 s,重复 5 次。冰上静置 60 min,40 000 × g 超速离心 60 min,用 Bradford 方法测定上清液中总蛋白浓度,吸出上清液分装,-80℃冻存备用。实验前使用 Plusone 2-D clean-up 试剂盒进行蛋白提纯。

1.4 大部肝切除术后肝脏组织差异表达蛋白图谱的建立

1.4.1 等电聚焦与 SDS-PAGE 参照 IPGphor 等电聚焦系统程序指南进行双向电泳。100 μg 蛋白与水化液[8 mol/L 尿素+质量体积分数为 4%的 CHAPS+18 mmol/L DTT+0.15% IPG 缓冲液(pH 3~10)+痕量溴酚蓝]混合总体积 350 μl,加入再泡胀盘,用 pH 3~10、18 cm 的非线性 IPG 干胶条盖于其上,加上覆盖油,水化过夜,水化完成后将胶条转移到 IPGphor 等电聚焦仪的电极板上在 20℃进行聚焦电泳。等电聚焦结束后,将 IPG 干胶条分别放入含 DTT 平衡液中各平衡 15 min。将平衡好的 IPG 胶条移至 12%连续胶上,用 1%琼脂糖封顶,在 DALTsix 电泳仪上电泳,开始以每块胶 15 mA 预跑 30 min,然后以每块胶 30 mA 恒流电泳至溴酚蓝迁移距胶底 1~2 cm 处,结束电泳。

1.4.2 染色与图像分析 银染方法按照 Amersham Biosciences 公司提供的 Plusone 蛋白银染试剂盒操作手册进行。应用 ImageScanner 扫描仪获取银染 2D 凝胶图像,所得图像借助图像分析软件 ImageMaster 2D Elite 对图像进行背景消减、斑点检测、匹配、量化,获取差异蛋白斑点。

1.5 质谱技术分析差异表达蛋白 选取胶上差异蛋白质点用刀片沿斑点染色边缘切下蛋白点置于 EP 管中。按 Bergman 方法进行蛋白质胶内消化,然后进行 ESI-MS-MS 质谱分析,借助互联网上的蛋白质数据库检索程序 Mascot(<http://www.matrixscience.com>),通过 NCBI 蛋白质序列数据库进行检索。

1.6 Western 印迹鉴定差异表达蛋白 在所有筛选的差异表达蛋白点中,spot 136 在肝脏再生过程中重复性高、表达清晰,经查询证实其为蛋白质 prohibitin,其在抑制细胞过度增生中有较大的价值。因此,对其进行 Western 印迹鉴定。将制备好的样品采用 15% SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳,按常规方法在 Bio-Rad 电转移系统中将凝胶蛋白带转移到硝酸纤维素膜上,用质量体积分数为 5%脱脂奶粉在室温封闭 2 h,加入一抗 4℃过夜,Tris 缓冲盐 Tween-20(TBST)洗 10 min 共 3 次,然后加入羊抗鼠二抗室温孵育 1 h。反应结束 TBST 洗 10 min 共 3 次, ECL 试剂盒显影。

2 结果

2.1 大鼠肝脏的分叶及肝脏切除术后剩余肝脏的变化 SD 大鼠肝脏分为右叶(右下叶和右上叶)、中叶(右中叶和左中叶)、左侧叶、尾状叶(尾状前叶和尾状后叶),各自占全肝质量比分别为 25%(7%、18%),33%(21%、12%),33%和 9%(5%、4%)。

大鼠肝脏切除左叶及中叶后,残余右叶及尾叶等充血、肿大,残余肝脏体积逐渐增大,由原来的薄片状变为圆钝状,肝脏质量亦逐渐增加,以术后3 d增加最快,至术后7 d接近术前水平。

2.2 肝切除术后差异表达蛋白图谱的建立 假手术对照组及部分肝切除术后不同时间点(2、12、24、36、48、72、168 h)的提纯蛋白,在相同的实验条件和参数设置的情况下,进行 SDS-PAGE 电泳,得到清晰度高、蛋白点满意的蛋白表达图谱(图 1),每个时相的电泳图谱平均检测到(1 000±20)个蛋白点。

2.3 肝切除术后差异表达蛋白的质谱分析及蛋白分类 双向电泳图谱(图 2)显示,与假手术组相比,肝切除术后共筛选出 78 个蛋白点在丰度上出现动态变化(2 倍或以上)。质谱技术鉴定出其中 35 个蛋白点,根据肝切除术后 2 h 的蛋白丰度变化,可大致分为 21 个上调(表 1)和 14 个下调蛋白点(表 2)。

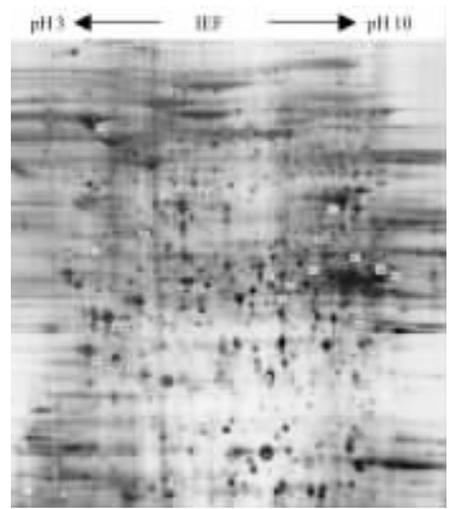


图 1 肝脏大部切除后 24 h 差异表达蛋白双向电泳图谱

Fig 1 2-DE maps for rat liver tissues 24 h after partial hepatectomy
The flags show the spots identified by MS

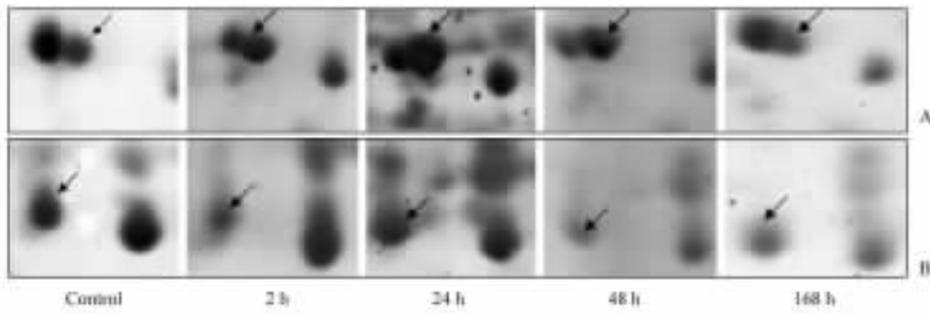


图 2 肝脏切除术后不同时间肝脏再生过程中部分差异表达蛋白点的放大图谱

Fig 2 Typical examples of temporal changes in protein levels after partial hepatectomy

A: The arrows show up-regulated spot 136(prohibitin); B: The arrows show down-regulated spot 134(apolipoprotein A-I). Original magnification: ×4

表 1 部分肝切除术后 2 h 肝脏组织中表达上调的蛋白

Tab 1 Proteins up-regulated during liver regeneration at 2 h after partial hepatectomy

Spot No.	Accession No.	Protein name	MW/pI	Peptide count	Score
114	gi 37194701	Tubulin cofactor a	12 735.7/5.43	2	53
115	gi 113612	Fructose-bisphosphate aldolase B	39 593.2/8.66	3	118
123	gi 56200	unnamed protein product	61 389.3/8.05	7	101
125	gi 60688521	Endoplasmic reticulum protein	28 556.9/6.23	4	239
129	gi 46485429	glyoxylase 1	20 806.3/5.12	4	87
136	gi 13937353	prohibitin	29 801.9/5.57	16	490
139	gi 16757980	orosomuroid 1	23 560.1/5.64	2	67
141	gi 50926831	Fructose-1,6- biphosphatase 1	39 584.1/5.54	6	158
142	gi 2117744	glutathione S-transferase Ya subunit	15 279.4/9.21	2	79
144	gi 34811344	Chain A,Catechol O-Methyltransferase	24 731.4/5.11	5	188
148	gi 203033	F1-ATPase beta subunit	38 747.1/5.07	2	103
149	gi 13928740	regucalcin	33 368.4/5.27	4	197
150	gi 202549	iodothyronine 5' monodeiodinase	54 033.2/4.87	11	348
151	gi 203734	cytokeratin 8 polypeptide	52 677.6/5.49	20	511
154	gi 50926833	Eno1 protein	47 098.2/6.16	4	117
157	gi 67464139	Chain C,Arginase I -Aoh Complex	33 783.7/6.1	5	90
167	gi 56385	HSP70-ps1	70 884.2/5.43	4	92
169	gi 51259466	Eef1d protein	72 083.2/6.11	7	176
176	gi 59862096	TGF β inducible early growth response 3	41 415.2/5.98	4	56
179	gi 8394432	peroxiredoxin 2	21 770.1/5.34	10	402
180	gi 2632115	Prx3A	24 362.6/9.57	3	42

表 2 部分肝切除术后 2 h 肝脏组织中表达下调的蛋白

Tab 2 Proteins down-regulated during liver regeneration tissue at 2 h after partial hepatectomy

Spot No.	Accession No.	Protein name	MW/pI	Peptide count	Score
105	gi 57029	H ⁺ -transporting ATP synthase	25 639.4/7.03	2	91
106	gi 207012	Cu,Zn superoxide dismutase	15 699.7/5.88	3	194
107	gi 55926145	expressed in non-metastatic cells 2	17 271.9/6.92	3	150
116	gi 16758348	peroxiredoxin 6	24 803/5.64	2	62
121	gi 92528	NADH2 dehydrogenase	26 511.4/6	8	219
128	gi 16923958	peroxiredoxin 1	22 095.3/8.27	9	328
130	gi 34849613	GPx1 protein	16 478.4/6.73	4	71
132	gi 33086632	ba1-651	163 854.4/5.49	3	93
134	gi 2145147	apolipoprotein A- I	29 899.1/5.51	6	113
158	gi 62647280	3-hydroxyisobutyrate dehydrogenase	35 279.6/8.73	4	90
161	gi 56090550	glutathione S-transferase omega 1	27 665/6.54	4	129
163	gi 56789726	alpha-ETF	34 929.5/8.62	8	264
165	gi 3851160	cp431	104 487.3/5.63	5	48
166	gi 53733469	hypothetical protein LOC500442	80 022.9/5.63	5	46

根据肝切除术后不同时间点的蛋白水平变化趋势大致可分为 5 类(图 3);其中 3 类(各有 9、4、8 个蛋白点)为丰度上调蛋白,上调的时间和幅度各有不同;2 类(各有 10、4 个蛋白点)为丰度下调蛋白,下调的时间和幅度各不相同。这些蛋白依其功能又可分为 6 类:清除自由基蛋白($n=9$)、急性期反应蛋白($n=2$)、脂类与能量代谢的酶类($n=9$)、蛋白质与细胞增生相关蛋白($n=9$)、神经递质代谢相关蛋白($n=2$)及部分功能未知蛋白($n=4$)。各种差异表达

蛋白具体名称、变化趋势及功能见表 3。

2.4 差异表达蛋白 prohibitin 的 Western 印迹鉴定结果 在所有筛选的差异表达蛋白点中,spot 136 在肝脏再生过程中重复性高、表达清晰,通过数据库查询此蛋白点为蛋白质 prohibitin,其在抑制细胞过度增生中有较大的价值。因此,对其进行 Western 印迹检测。结果证实 prohibitin 蛋白在 2 h 开始上调,36 h 达到高峰,48 h 后趋于正常水平(图 4),与蛋白质组学分析结果一致。

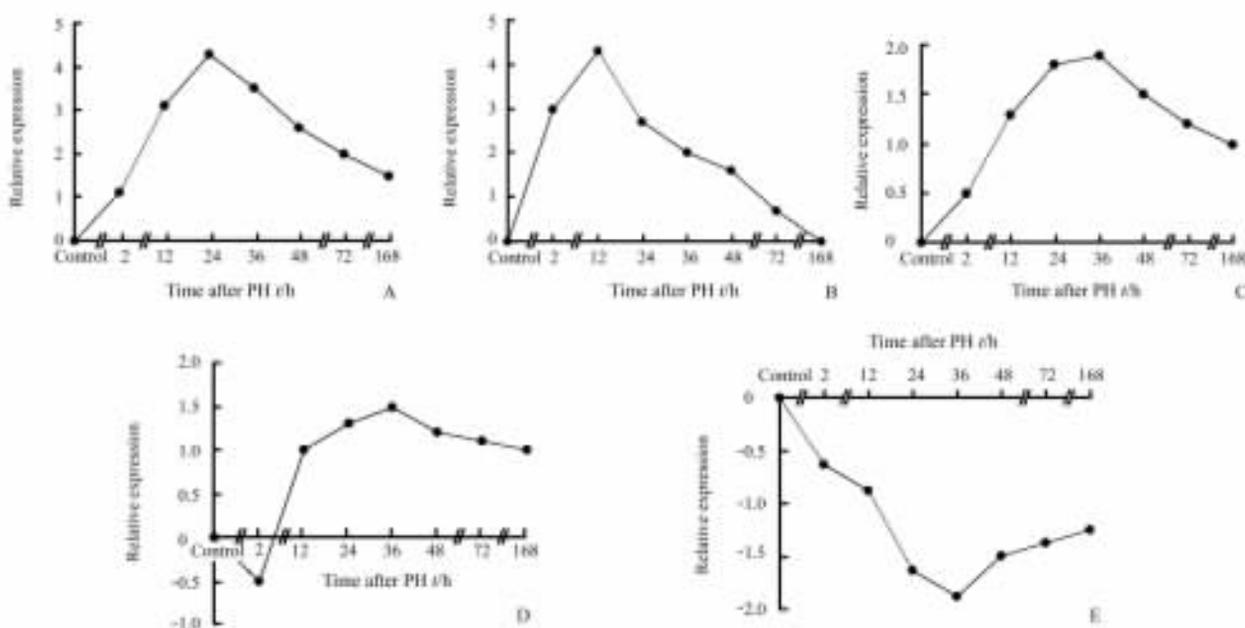


图 3 肝切除术后不同时间点的蛋白水平变化趋势

Fig 3 The profiles of protein level show different changes after partial hepatectomy(PH)

A: Up-regulated at 2 h after PH and peaked at 24 h; B: Strongly up-regulated at 2 h after PH and peaked at 12 h; C: Up-regulated at 2 h after PH and peaked at 36 h; D: Down-regulated at 2 h after PH, up-regulated thereafter, and peaked at 36 h; E: Down-regulated at 2 h after PH and up-regulated from 36 h

表 3 部分肝切除术后差异表达蛋白的功能和分类

Tab 3 Expression profiles and functional grouping of differential protein after partial hepatectomy(PH)

Change	N	Function	Proteins name
A	1	Signaling	prohibitin
	2	Metabolism	Chain A Catechol O-Methyltransferase,iodothyronine 5' monodeiodinase
	3	Structure reorganization	unnamed protein product, endoplasmic reticulum protein, cytokeratin 8 polypeptide
	3	Antioxidant	glyoxylase 1, glyoxylase 2, glutathione S-transferase Ya subunit
B	2	Stress-reaction	orosomuroid, HSP70-ps1
	1	Cell growth	TGF β inducible early growth response 3
	1	Unknown	Chain C, Arginase I -Aoh Complex
C	1	Signaling	regucalcin
	3	Metabolism	Fructose-1, 6- biphosphatase 1, F1-ATPase beta subunit, Fructose-bisphosphate aldolase B
	4	Structure reorganization	Eef1d protein, Tubulin cofactor a, Prx3A, Enol protein
	4	Antioxidant	H ⁺ -transporting ATP synthase, Cu, Zn superoxide dismutase, peroxiredoxin 6, peroxiredoxin 1
D	1	Unknown	ba1-651
	1	Structure reorganization	alpha-ETF
	4	Metabolism	expressed in non-metastatic cells 2, APOA1, NADH2 dehydrogenase, 3-hydroxyisobutyrate dehydrogenase
	2	Antioxidant	glutathione S-transferase omega 1, GPx1
E	2	Unknown	cp431, hypothetical protein LOC500442

A: Up-regulated at 2 h after PH and peaked at 24 h; B: Strongly up-regulated at 2 h after PH and peaked at 12 h; C: Up-regulated at 2 h after PH and peaked at 36 h; D: Down-regulated at 2 h after PH, up-regulated thereafter, and peaked at 36 h; E: Down-regulated at 2 h after PH and up-regulated from 36 h

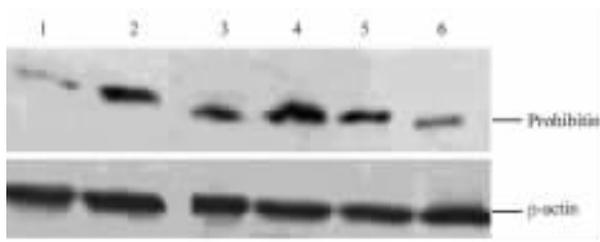


图 4 差异表达蛋白 prohibitin 的 Western 印迹鉴定结果
Fig 4 Western blotting analysis of prohibitin expression

1: Sham control; 2-6: 2, 24, 36, 48, 72 h after partial hepatectomy, respectively

3 讨论

肝脏在手术等重大创伤后有很强的再生能力。Higgins 等^[4]发现切除大鼠肝左侧叶和中间叶后,剩下的右肝叶会增大直至恢复原肝的质量,而一旦恢复原肝的质量,再生过程便会停止。该手术简单易行,动物术后存活率高、并发症少,是目前研究肝脏切除后再生的理想动物模型。蛋白质组学^[5]通过寻找和筛选样本之间的差异蛋白质谱,可揭示细胞生理和病理状态的进程与本质,以及细胞调控机制,同时可以获得对某些关键蛋白的定性和功能分析。因此,本研究采用上述方法建立肝脏切除模型,术后应用蛋白质组学技术动态观察肝脏再生过程中的差异

表达蛋白。

研究结果表明,总体水平上 70% 肝切除术后 2 h 差异表达蛋白点开始增多,36 h 达到高峰,然后逐渐呈降低趋势,与 Fulop 等^[6]研究结果一致,提示术后 2 h 可能是肝脏再生的启动过程。因此,本研究将质谱技术鉴定出的 35 个差异表达蛋白,根据术后 2 h 的丰度变化粗略分为上调蛋白和下调蛋白。下调蛋白中以参与清除自由基为主,其中以 GPx1 为代表。Espinola-Klein 等^[7]发现,GPx1 蛋白能维持细胞内稳定的 O₂⁻ 或 H₂O₂ 水平,防止两者过度聚集导致细胞的破坏。本研究中 GPx1 蛋白最初在 2 h 出现下调,36 h 后逐渐上调。这可能是由于机体应激早期部分细胞器功能受损,抑制其表达,随着组织损伤后产生大量 O₂⁻ 或 H₂O₂,又刺激其表达,当 O₂⁻ 或 H₂O₂ 恢复到正常水平后,其表达也趋向稳定。ApoA- I 是高密度脂蛋白(HDL)的主要结构蛋白,在 2 h 前下调,2 h 后逐渐上调。这可能由于肝脏再生需要大量能量,apoA- I 逆向转移脂类进入细胞,可以为肝细胞的有丝分裂提供能量支持^[8]。二者下调趋势的差异可能与不同的细胞器受刺激后恢复时间不同以及产能者优先的机制有关。

上调蛋白中以能量代谢和急性期反应蛋白为主,其中代表性的蛋白是 orosomuroid。Ling 等^[9]研究发现,肝脏炎症时其表达能增加 5~50 倍,主要满足受损伤后机体对能量的需求。NADH 脱氢酶的上调表明肝大部切除后再生过程中肝线粒体氧化

磷酸化功能发生了明显的变化,且 NADH 呼吸链的功能增强要比琥珀酸呼吸链更明显,这对能量供应具有重要意义。Eef1d、Prx3A 等蛋白涉及到微管蛋白装配、内质网蛋白、核糖体、mRNA 的翻译等过程,它们的动态变化证实细胞生长不同阶段的各细胞器均参与了肝脏再生过程中的细胞增生。

在所有筛选的差异表达蛋白点中,spot 136 在肝脏再生过程中重复性高、表达清晰,通过数据库查询此蛋白点为蛋白质 prohibitin。Prohibitin(PHB)属于 prohibitin 家族,相对分子质量为 30 000~32 000,广泛分布于不同组织的线粒体、细胞核、细胞膜上,在棕色脂肪、心脏、肝脏以及发育的肾小管和神经元高度表达,在肺、外分泌腺低表达。位于线粒体内膜的 PHB 主要是维持线粒体呼吸酶的稳定性,细胞核的 PHB 功能仍有一定的争议。Manjeshwar 等^[10]研究发现 PHB 能抑制细胞增生,阻止细胞从 G₁ 期进入 S 期,可作为肿瘤抑制蛋白;He 等^[11]研究发现 PHB 还可作为乳腺癌的一种新的治疗靶标;Fellenberg 等^[12]在骨肉瘤细胞研究中发现,其在骨肉瘤细胞凋亡过程中也起到一定作用。PHB 还可以作为细胞膜上的受体与沙门菌的荚膜多糖结合,导致人体类伤寒发热反应。这些结果提示,PHB 可作为一个重要靶标调节炎症反应,可成为治疗炎症性肠病的一种手段。本研究发现肝大部切除术后 2 h,PHB 出现升高,这可能由于肝切除后早期出现较强炎症反应且线粒体功能旺盛导致其早期高表达,在 36 h 达到高峰,但之后,肝脏再生能力减弱,其表达水平也随之恢复正常水平。

综上所述,本研究应用蛋白质组学方法鉴定出 35 个在肝脏再生过程中有意义的差异表达蛋白,这些蛋白主要涉及以下代谢途径:氧化应激反应、急性期反应蛋白、脂类代谢蛋白、能量代谢的酶类,信号转导、神经递质降解等,部分蛋白功能未知;再次证实多种信号和代谢途径参与肝脏大部切除后的肝脏再生过程。

(志谢 本研究得到第二军医大学东方肝胆外科医院信号转导实验室徐小辉、孙政勤、李瑾、洪毅、杨朝旭、唐庆贺以及黄丹丹等的无私指导和帮助,在此一并表示感谢!)

[参考文献]

- [1] Ning Q J, Qin S W, Xu C S. Expression patterns and action analysis of genes associated with drug-induced liver diseases during rat liver regeneration[J]. *World J Gastroenterol*, 2006, 12: 6966-6672.
- [2] Cimica V, Batusic D, Haralanova-Ilieva B, Chen Y, Hollemann T, Pieler T, et al. Serial analysis of gene expression (SAGE) in rat liver regeneration[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, 360: 545-552.
- [3] Kasper C E. Genomics and proteomics methodologies for vulnerable populations research[J]. *Annu Rev Nurs Res*, 2007, 25: 191-217.
- [4] Higgins G M, Anderson R M. Experimental pathology of the liver. I. Restoration of the liver of the white rat following partial surgical removal[J]. *Arch Pathol*, 1931, 12: 186-189.
- [5] Gutstein H B, Morris J S. Laser capture sampling and analytical issues in proteomics[J]. *Expert Rev Proteomics*, 2007, 4: 627-637.
- [6] Fulop A K, Pocsik E, Brozik M, Karabelyos C, Kiss A, Novak I, et al. Hepatic regeneration induces transient acute phase reaction: systemic elevation of acute phase reactants and soluble cytokine receptors[J]. *Cell Biol Int*, 2001, 25: 585-592.
- [7] Espinola-Klein C, Rupprecht H J, Bickel C, Schnabel R, Genth-Zotz S, Torzewski M, et al. Glutathione peroxidase-1 activity, atherosclerotic burden, and cardiovascular prognosis[J]. *Am J Cardiol*, 2007, 99: 808-812.
- [8] Zhang C, Kim S H. Overview of structural genomics: from structure to function[J]. *Curr Opin Chem Biol*, 2003, 7: 28-32.
- [9] Ling P R, Smith R J, Kie S, Boyce P, Bistrrian B R. Effects of protein malnutrition on IL-6-mediated signaling in the liver and the systemic acute-phase response in rats[J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2004, 287: R801-R808.
- [10] Manjeshwar S, Branam D E, Lerner M R, Brackett D J, Jupe E R. Tumor suppression by the prohibitin gene 3' untranslated region RNA in human breast cancer[J]. *Cancer Res*, 2003, 63: 5251-5256.
- [11] He B, Feng Q, Mukherjee A, Lonard D M, Demayo F J, Katzenellenbogen B S, et al. A repressive role for prohibitin in estrogen signaling [J/OL]. *Mol Endocrinol*, 2007-10-11, <http://med.endojournals.org/cgi/rapidpdf/me.2007-0400v1>
- [12] Fellenberg J, Dechant M J, Ewerbeck V, Mau H. Identification of drug-regulated genes in osteosarcoma cells[J]. *Int J Cancer*, 2003, 105: 636-643.

[本文编辑] 贾泽军