

# 大鼠 ALPPS 术后残肝再生与 Wnt2 蛋白表达关系的研究

刘伟伟<sup>1</sup> 余 锋<sup>2</sup> 刘 洪<sup>2</sup> 李福利<sup>2</sup> 柏 杨<sup>2</sup> 罗昆仑<sup>1,2</sup>

**摘要** 目的 探讨大鼠联合肝脏分割和门静脉结扎分阶段肝切除术(ALPPS)后残余肝再生 Wnt2 蛋白的表达变化,进一步了解肝再生过程中的分子机制。方法 选取 200~240 g 健康 SD 雄性大鼠 40 只,随机分为 ALPPS 组和假手术(Sham)组;Sham 组仅游离出门静脉各分支,不结扎即关腹;ALPPS 组行大鼠肝左外叶、左中叶、右叶门静脉分支结扎,切除尾状叶,保留肝右中叶分支,并行肝中叶实质离断。分别于术后 1、2、4、7 d 处死 5 只大鼠,称取大鼠肝右中叶重量,计算肝再生率;光学显微镜下观察肝右中叶细胞的形态学变化,免疫组化法检测肝右中叶 Ki-67 和 Wnt2 蛋白表达变化,并进行统计分析。结果 ① ALPPS 术后保留侧肝脏开始再生,第 2 天肝再生率升高最快,随后肝再生率升高速度逐渐降低,第 7 天与 Sham 组相比肝再生率升高速度两者相近;② ALPPS 术后 Ki-67 与 Sham 组比较,第 1 天开始升高,第 2 天达到最高,此后逐渐降低,第 7 天有少量阳性细胞,与 Sham 组相比差异无统计学意义;③ Wnt2 阳性表达主要在中央静脉周围,可能与肝干细胞的产生相关;与 Sham 组相比,肝右中叶 Wnt2 蛋白在 ALPPS 术后第 1 天即开始升高,第 2 天达到最高,然后逐渐降低,第 7 天时仅有少量表达,与 Sham 组相比差异无统计学意义;④ 大鼠肝脏 ALPPS 术后 Wnt2 的表达与术后 Ki-67 的表达呈正相关性。结论 Wnt2 在 ALPPS 术后肝脏再生及肝干细胞表达过程中起重要的调控作用。

**关键词** 肝再生;ALPPS;Wnt2

中图分类号 R 735.7

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2017)09-1331-05  
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2017.09.017

2017-02-23 接收

基金项目:南京军区医学科技创新课题重点资助项目(编号:14D05)

作者单位:<sup>1</sup>安徽医科大学无锡临床学院肝胆外科,无锡 214044

<sup>2</sup>中国人民解放军第一〇一医院肝胆外科,无锡 214044

作者简介:刘伟伟,男,硕士研究生;

罗昆仑,男,博士,主任医师,硕士生导师,责任作者,E-mail:lk1197041@163.com

Wnt 蛋白通过传递细胞间相互信息,对控制细胞生长、增殖起着关键作用。有研究<sup>[1]</sup>证明,干细胞和细胞外基质的相互作用需要 Wnt 信号途径的参与。近年来有研究<sup>[2]</sup>显示有分泌性蛋白 Wnt 覆盖的肝细胞就是肝干细胞;同时该报道称发现了位于中央静脉周围的干细胞,而且肝干细胞需要 Wnt 信号以维持其干细胞的身份;如果干细胞迁移后不在 Wnt 信号的覆盖范围内,其便失去了分裂成新肝细胞的能力,开始发展为成熟的肝细胞。Wnt 是否在肝再生及肝干细胞中发挥重要作用,目前文献报道尚少。该研究通过建立联合肝脏分割和门静脉结扎分阶段肝切除术(associating liver partition and portal vein ligation for staged hepatectomy,ALPPS)动物实验模型,研究 Wnt2 蛋白在大鼠 ALPPS 术后肝再生过程中的表达变化及其与肝干细胞的关系。

## 1 材料与方法

**1.1 动物分组及模型的制备** 第一阶段选取雄性 SD 大鼠 20 只,进行大鼠肝脏解剖学习及 ALPPS 手术训练;第二阶段:雄性 SD 大鼠 40 只,200~240 g,由江苏省血吸虫病防治研究所提供。动物在控制温度、湿度及 12 h 照明与 12 h 黑暗交替的环境中饲养,并允许随时自由食用固定标准饲料和清水。实验大鼠随机分为两组:① ALPPS 组:20 只;② 假手术(Sham)组:20 只。每个组又随机分为 4 个亚组,每组 5 只,分别为 1 d 组、2 d 组、4 d 组、7 d 组。实验所用外科手术器械由中国人民解放军第 101 医院提供。所有大鼠采用 10% 水合氯醛 3.0~3.5 ml/100 g 体重,腹腔注射麻醉;由正中纵切口入腹腔。Sham 组:仅游离出门静脉分支不结扎即关腹。AL-

used to assess the expression levels of Smad2/3, p-Smad2/3. **Results** Melatonin could significantly inhibited cells proliferation simulating with TGF- $\beta$ 1 ( $P < 0.05$ ). The expression of Smad2/3 and p-Smad2/3 in TGF- $\beta$ 1-treated group were dramatically elevated compared to the control group ( $P < 0.01$ ). After being added with different concentrations of melatonin, the expression of Smad2/3 and p-Smad2/3 were strongly attenuated compared with the model group ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Melatonin significantly mitigates HSCs' activation, which might be related to TGF- $\beta$ 1/Smad signaling pathway.

**Key words** hepatic fibrosis; melatonin; hepatic stellate cells; TGF- $\beta$

PPS 组:在手术灯下仔细分离出供应肝右叶门静脉支和供应左外叶及中叶左支的门静脉支,分别用 4-0 丝线结扎,将尾状叶切除;在大鼠肝脏左中叶和右中叶缺血带处离断(图 1)。根据 Wei et al<sup>[3]</sup>报道被结扎部分约占全肝重量的 70%,切除尾状叶约占 10%,术后仔细检查无活动性出血,用 3-0 丝线关腹。定时观察两组动物的生存情况。术后两组动物继续饲养,并允许随时自由食用固定标准饲料和清水。

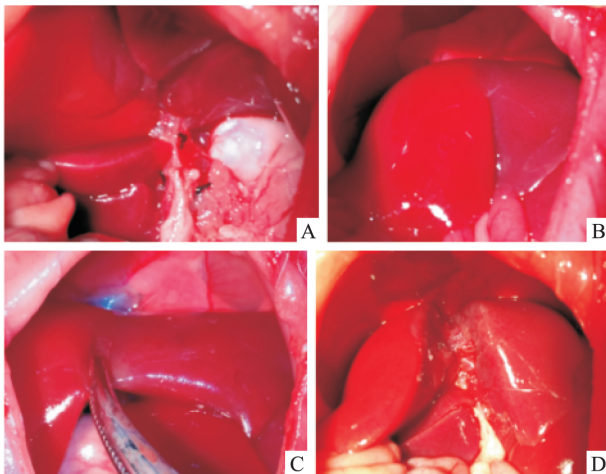


图 1 ALPPS 手术过程

A:进行肝右叶、左外叶、左中叶门静脉结扎以及尾状叶的切除; B:选择性门静脉结扎之后出现缺血带;C:用蚊式钳沿着缺血带逐步进行肝脏劈离;D:劈离后的肝脏

1.2 主要试剂 Ki-67 购自无锡傲锐东源生物有限公司;Wnt2 抗体购自美国 LSBio 公司。

1.3 检测方法

1.3.1 肝增生率的计算 两组分别于术后 1 d 组、2 d 组、4 d 组、7 d 组各取材 5 只,统计术前、术后大鼠肝右中叶肝重,计算各时点大鼠右中叶肝重变化率。

1.3.2 光学显微镜观察 取各时相点肝保留侧肝叶的肝脏组织,用 10% 甲醛固定,常规石蜡包埋切片,HE 染色观察肝脏病理结构的改变。

1.3.3 肝细胞增殖的检测 采用免疫组化 SP 法对保留侧肝叶肝细胞增殖进行检测分析,Ki-67 工作浓度为 1 : 100,以 PBS 缓冲液替代一抗作阴性对照。Ki-67 免疫组化阳性结果判定标准:以细胞核呈界限清楚的棕黄色 - 黄色反应为阳性。每张随机选择相邻 5 个高倍视野,计算肝细胞数及 Ki-67 阳性细胞数,视野内 Ki-67 染色阳性细胞数的百分比即为 Ki-67 标记率,然后计算其平均阳性率。

1.3.4 肝组织中 Wnt2 蛋白的检测 采用免疫组化 SP 法对保留侧肝叶肝组织中 Wnt2 蛋白进行检测分析,Wnt2 蛋白工作浓度为 1 : 150,以 PBS 替代一抗作阴性对照,试剂公司提供的阳性图片为阳性对照。判定标准:每张切片随机选择 5 个高倍视野采图后进行分析,采图过程中将数码相机采集显微照相系统的光圈大小、光源亮度、锐度、对比度等参数均设为手动调节且固定。用 Image-pro plus6.0 医学图像分析软件分别检测每张切片的 5 张图片中阳性染色部位的累积光密度值,并取平均值作为相对表达量。

1.4 统计学处理 用 SPSS 19.0 统计软件进行分析:采用单样本 Kolmogorov-Smirnov 检验正态,运用独立样本 t 检验进行统计分析,相关性采用 Pearson 相关分析法,统计资料表达采用  $\bar{x} \pm s$  表示。P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 ALPPS 术后肝再生率的变化 经过第一阶段手术训练,第二阶段术后大鼠均存活,无并发症。大鼠右中叶肝再生率(%) = (WA - WI) / WI × 100%,其中 WA 代表各时间点取标本时肝右中叶的质量,WI 代表术前大鼠肝右中叶的质量。经过 ALPPS 诱导大鼠肝再生,ALPPS 组各时间点均明显高于 Sham 组(P < 0.05);其中第 2 天肝再生率升高最快,第 4 天呈缓慢增加,第 7 天增加进一步变缓,和 SHAM 组相比肝再生率升高速度接近。见表 1。

表 1 两组大鼠术后不同时间点肝再生率(% n = 20)

时间	ALPPS 组	Sham 组	t 值	P 值
第 1 天	41.45 ± 12.08	2.39 ± 1.46	7.178	0.002
第 2 天	111.98 ± 20.44	7.42 ± 4.02	11.222	< 0.01
第 4 天	155.96 ± 24.39	14.07 ± 6.90	12.517	< 0.01
第 7 天	174.86 ± 8.99	28.02 ± 9.44	25.192	< 0.01

2.2 肝脏组织的病理变化 Sham 组大鼠肝脏显示以中央静脉为中心呈放射状分布。ALPPS 组大鼠保留侧肝脏显示:术后第 1 天肝细胞即开始明显增殖,核分裂相增多,核增大,汇管区、小叶间血管扩张充血,术后第 2、4 天肝细胞核分裂活跃,汇管区可见炎症细胞浸润;术后第 7 天核分裂相减少。见图 2。

2.3 再生肝脏肝细胞增殖的检测结果 Ki-67 阳性染色细胞核呈棕黄色。对照组大鼠肝组织中有极少量 Ki-67 表达。ALPPS 术后保留侧肝组织第 1 天 Ki-67 的表达即显著增加(P < 0.05),可见较多 Ki-

67 阳性细胞,术后 2 d 达高峰 ( $P < 0.05$ ) 随后逐渐减少,第 7 天时仅有少量阳性细胞,与 Sham 组相比差异无统计学意义。见表 2、图 3。

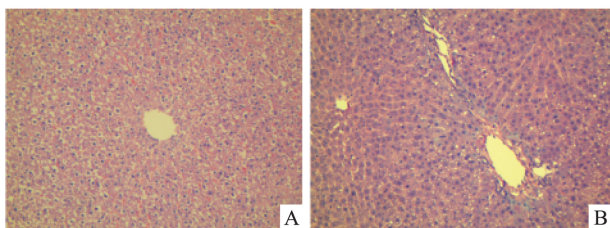


图 2 术后 1 d 肝脏组织学形态 HE × 200  
A: Sham 组; B: ALPPS 组

表 2 ALPPS 组和 Sham 组肝右中叶不同时间点 Ki-67 阳性指数 (%  $n = 20$ )

时间	ALPPS 组	Sham 组	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
第 1 天	32.63 ± 5.18	2.42 ± 0.93	12.830	<0.01
第 2 天	83.68 ± 7.64	2.34 ± 0.68	23.700	<0.01
第 4 天	45.61 ± 5.74	3.26 ± 0.74	16.354	<0.01
第 7 天	4.33 ± 1.10	3.60 ± 0.70	1.244	0.249

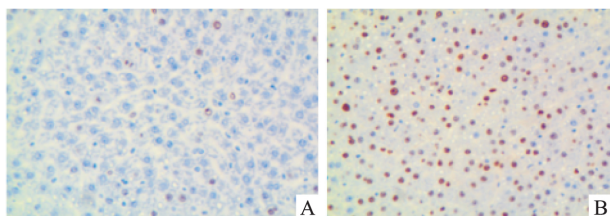


图 3 术后 2 d 免疫组化检测肝右中叶 Ki-67 表达 × 400  
A: Sham 组; B: ALPPS 组

**2.4 肝组织中 Wnt2 蛋白的表达** Sham 组中大鼠肝右中叶中央静脉周围见少量 Wnt2 蛋白表达,ALPPS 组保留侧肝组织中央静脉周围第 1 天开始 Wnt2 蛋白的表达量显著增加,第 2 天达高峰,随后逐渐下降,第 7 天仅见少量阳性细胞,与 Sham 组相比差异无统计学意义。见表 3、图 4。

表 3 ALPPS 组和 Sham 组肝右中叶不同时间点 Wnt2 表达变化 ( $\bar{x} \pm s$ )

时间	ALPPS	SHAM	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
第 1 天	2 502.36 ± 278.60	956.31 ± 262.20	12.110	<0.01
第 2 天	4 542.72 ± 335.09	1 032.45 ± 142.40	25.558	<0.01
第 4 天	2 870.15 ± 236.59	893.80 ± 54.24	18.207	<0.01
第 7 天	960.71 ± 42.42	931.14 ± 37.98	1.162	0.279

**2.5 大鼠肝脏 Ki-67 和 Wnt2 蛋白表达相关性分析** 相关分析显示,ALPPS 术后,大鼠肝脏 Wnt2 的表达与 Ki-67 的表达呈正相关性 ( $r = 0.997, P < 0.05$ )。

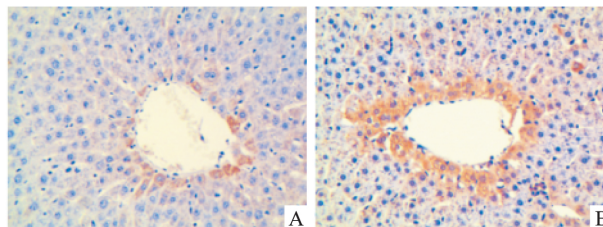


图 4 术后 2 d 免疫组化检测肝右中叶 Wnt2 表达 × 400  
A: Sham 组; B: ALPPS 组

### 3 讨论

二步肝切除术对原发性肝癌和转移性肝癌是一种重要的外科策略,既往研究<sup>[4-5]</sup>表明门静脉栓塞或结扎预处理后行二期肝切除术在肝癌患者的治疗上取得了一定的效果,但由于该手术后肝增生需要较长时间引起肿瘤进展且仍有部分患者术后肝增生不足,导致约 40% 的患者仍然无法进行肝切除术。2012 年 Schnitebauer et al<sup>[6]</sup> 初次报道了一种新的肝切除术 ALPPS,并获得良好疗效。本研究用 SD 大鼠进行 ALPPS 手术,术后结扎侧肝脏进行性缩小,保留侧肝脏术后即开始增殖,术后第 2 天肝再生速度达到高峰,7 d 后肝再生率达 (174.86 ± 8.99)%。这说明 ALPPS 手术在本研究是可行的,对晚期大肝癌、肝门部胆管癌和广泛肝内胆管结石患者手术预处理而避免肝衰竭的发生提供了实验依据。

Ki-67 作为一种增殖细胞核相关抗原,与细胞有丝分裂密切相关,表达范围覆盖除 G0 期以外各增殖期细胞,可以较好地反映细胞处于增殖状态<sup>[7-8]</sup>。本研究结果表明,ALPPS 术后第 1 天 Ki-67 即呈显著性增加,可见较多阳性细胞,术后第 2 天达高峰,可见大量阳性细胞,随后逐渐下降,第 7 天时仅有少量阳性细胞,与 Sham 组相比差异无统计学意义。这说明 ALPPS 手术能促进肝脏再生,可作为一种研究肝脏再生的理想动物实验模型。

Wnt 蛋白是分泌型糖蛋白,兼具自分泌和旁分泌作用,是由 350 ~ 400 个氨基酸共同组成的分泌型糖蛋白,其蛋白序列高度保守且具有共同的特征,Wnt2 是 Wnt 基因中的一个重要成员。Wnt 家族是成体干细胞的外源性调控因子,是一条控制动物胚胎发育、细胞命运及组织器官形态发生的重要信号通路<sup>[9]</sup>。Wnt 经典通路显示:无 Wnt 蛋白时,糖原合酶激酶-3β 与胞内的结肠腺瘤性息肉蛋白、轴蛋白、酪蛋白激酶、β-连环蛋白 (β-catenin) 形成多聚蛋白降解复合体降解 β-catenin,阻断了其对靶基因的激活;当 Wnt 蛋白通过与靶细胞膜的卷曲蛋白受

体结合,激活胞质内散乱蛋白,使糖原合酶激酶-3 $\beta$ 磷酸化,从降解复合体中脱落,导致 $\beta$ -catenin不能正常降解而在胞质内大量积聚,大量的 $\beta$ -catenin进入核内,与T细胞因子/淋巴细胞增强因子结合,从而引起Wnt信号转导通路下游靶基因的激活<sup>[10]</sup>。既往研究<sup>[11-13]</sup>显示Wnt信号通路在胚胎的发育和肿瘤的形成中起非常重要的作用,可刺激肠、皮肤、造血干细胞增生,抑制胚胎干细胞向不同谱系分化。最近研究<sup>[14]</sup>表明,Wnt信号通路在肝脏的发育、分区、再生及肝干细胞方面起着重要的作用。本研究结果显示:Wnt2蛋白在中央静脉周围表达阳性较强;大鼠ALPPS术后Wnt2表达变化和术后肝脏病理组织核分裂象变化相吻合;大鼠肝脏ALPPS术后Wnt2表达与Ki-67蛋白的表达呈正相关性( $r = 0.997$ );Wang et al<sup>[2]</sup>所述在肝中央静脉周围发现了干细胞,肝干细胞需要Wnt信号以维持其干细胞的身份,结合本实验结果,说明大鼠ALPPS术后Wnt2蛋白和肝脏再生及肝干细胞密切相关。由此可以推测,在肝脏急性损伤时,Wnt2产生增多,有利于肝脏增生及肝干细胞的产生;但Wnt2促进肝再生的机制目前仍然不明确,其维持肝干细胞的功能机制仍需进一步探究。

本实验成功建立了ALPPS手术大鼠模型,并证明其可以作为一种理想的研究肝再生动物实验模型;通过检测肝再生过程中Wnt2蛋白表达变化证明其与肝脏再生及肝干细胞密切相关。但是本实验有一定的局限性,仅是说明了对于正常大鼠肝脏急性损伤后肝再生,对于肝脏慢性损伤及肝硬化后肝脏再生仍有待进一步探究,对此进行深入研究对于指导肝脏外科肝切除术后残肝再生的修复及肝移植的治疗具有重要意义。

#### 参考文献

[1] Kléber M, Sommer L. Wnt signaling and the regulation of stem

- cell function [J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2004, 16(6): 681-7.
- [2] Wang B, Zhao L, Fish M, et al. Self-renewing diploid Axin2 (+) cells fuel homeostatic renewal of the liver [J]. *Nature*, 2015, 524(7564): 180-5.
- [3] Wei W, Zhang T, Zafamia S, et al. Establishment of a rat model: associating liver partition with portal vein ligation for staged hepatectomy [J]. *Surgery*, 2016, 195(5): 1299-307.
- [4] Wilms C, Mueller L, Lenk C, et al. Comparative study of portal vein embolization versus portal vein ligation for induction of hypertrophy of the future liver remnant using a mini-pig model [J]. *Ann Surg*, 2008, 247(5): 825-34.
- [5] Kokudo N, Tada K, Seki M, et al. Proliferative activity of intrahepatic colorectal metastases after preoperative hemihepatic portal vein embolization [J]. *Hepatology*, 2001, 34(2): 267-72.
- [6] Schnitzbauer A A, Lang S A, 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): 405-14.
- [7] Gerlach C, Sakkab D Y, Scholzen T, et al. Ki-67 expression during rat liver regeneration after partial hepatectomy [J]. *Hepatology*, 1997, 26(3): 573-8.
- [8] Brown D C, Gatter K C. Monoclonal antibody Ki-67: its use in histopathology [J]. *Histopathology*, 1990, 17(6): 489-503.
- [9] Clevers H, Loh K M, Nusse R. Stem cell signaling. An integral program for tissue renewal and regeneration: Wnt signaling and stem cell control [J]. *Science*, 2014, 346(6205): 1248012.
- [10] Kikuchi A, Yamamoto H, Sato A. Selective activation mechanisms of Wnt signaling pathways [J]. *Trends Cell Biol*, 2009, 19(3): 119-29.
- [11] Alonso L, Fuchs E. Stem cells in the skin: waste not, Wnt not [J]. *Genes Dev*, 2003, 17(10): 1189-200.
- [12] Staal F J, Clevers H C. WNT signalling and haematopoiesis: a WNT-WNT situation [J]. *Nat Rev Immunol*, 2005, 5(1): 21-30.
- [13] Pinto D, Clevers H. Wnt, stem cells and cancer in the intestine [J]. *Biol Cell*, 2005, 97(3): 185-96.
- [14] Birchmeier W. Orchestrating Wnt signalling for metabolic liver zonation [J]. *Nat Cell Biol*, 2016, 18(5): 463-5.

## Study on the relationship between remnant liver regeneration and Wnt2 protein expression in rats after ALPPS

Liu Weiwei<sup>1</sup>, Yu Feng<sup>2</sup>, Liu Hong<sup>2</sup>, et al

<sup>1</sup>Dept of Hepatobiliary Surgery, Wuxi Clinical School, Anhui Medical University, Wuxi 214044;

<sup>2</sup>Dept of Hepatobiliary Surgery, the 101th Hospital of PLA, Wuxi 214044)

**Abstract Objective** To evaluate expression of WNT2 and its relationship with remnant liver regeneration after

网络出版时间: 2017-7-20 23:55 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20170720.2354.018.html>

## 睡眠剥夺对健康成人学习记忆网络影响的功能磁共振研究

李继元<sup>1,2</sup>, 宋云龙<sup>2</sup>, 齐建林<sup>3</sup>

**摘要** 目的 探讨 36 h 完全睡眠剥夺对健康受试学习记忆网络的影响。方法 利用血氧水平依赖功能磁共振成像技术分别采集 18 例健康成年男性正常睡眠状态及 36 h 完全睡眠剥夺后静息态功能磁共振数据, 利用 REST 软件自动化解剖标记模板, 选取双侧海马为种子点做功能连接, 再以 SPM 8 软件进行配对 *t* 检验, 比较睡眠剥夺前后双侧海马与全脑功能连接的变化。最后将功能连接显著的脑区与韦氏记忆量表的记忆商差值(睡眠剥夺后减去正常睡眠状态)做相关分析。结果 与睡眠剥夺前对比, 36 h 睡眠剥夺后: 双侧海马种子点主要与右侧后扣带回皮质呈显著正功能连接;

与双侧中央前回呈显著负功能连接。与睡眠剥夺前相比, 韦氏记忆量表的记忆商显著降低, 功能连接与韦氏记忆量表的记忆商差值相关分析显示: 双侧海马种子点与右侧后扣带回皮质间功能连接与韦氏记忆量表的记忆商差值之间呈负相关性(左侧:  $r = -0.463$ ,  $P = 0.015$ ; 右侧:  $r = -0.546$ ,  $P = 0.003$ )。结论 与正常睡眠状态相比, 睡眠剥夺对双侧海马功能连接存在显著影响, 主要表现为与右侧扣带回皮质间功能连接显著上升, 而与双侧中央前回间功能连接显著下降。其中前者可能是睡眠剥夺后学习记忆能力调控方面的重要神经机制。

2017-03-06 接收

基金项目: 北京市自然科学基金面上项目(编号: 7152145)

作者单位: <sup>1</sup> 安徽医科大学, 合肥 230032

中国人民解放军空军总医院<sup>2</sup> CT&MRI 科、<sup>3</sup> 心理科, 北京 100142

作者简介: 李继元, 男, 硕士研究生;

宋云龙, 男, 教授, 主任医师, 硕士生导师, 责任作者, E-mail: ylsong@163.com

**关键词** 睡眠剥夺; 海马; 静息态功能磁共振成像; 功能连接  
中图分类号 R 338; R 445.2; R 319

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2017)09-1335-06

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2017.09.018

随着近年来生活节奏的加快, 越来越多的人处于睡眠丢失状态。睡眠剥夺(sleep deprivation, SD)是指 24 h 内连续睡眠时间 < 4 h, 研究<sup>[1]</sup>显示 SD 可

associating liver partition and portal vein ligation for staged hepatectomy (ALPPS) in rats and the underlying mechanisms in liver regeneration. **Methods** Forty healthy male Sprague-Dawley (SD) rats (200 ~ 240 g) were randomly divided two groups: ALPPS group, Sham group. The Sham group only freed vein branches without ligation and closed its abdomen. The ALPPS group consisted of 70% portal vein ligation (occluding the left middle, left lateral, and right lobes) and partial (10%) hepatectomy (caudate lobe), parenchymal transaction (median lobe), the right middle lobe was preserved to regenerate. Five rats were sacrificed on day 1, 2, 4 and 7 in each group after operation to observe the weight of the right median lobe. The morphological changed of the right middle lobe liver lobes were observed by microscope. The expression of Wnt2 and Ki-67 of the right middle lobe liver lobes were studied with immunohistochemistry. The results were analyzed by medical statistics methods. **Results** ① Remnant liver regenerate after ALPPS in rats, liver regeneration increased the fastest at the second day, then the speed of liver regeneration rate decreased gradually, there was no statistical significance in ALPPS group compared with Sham at the seventh day; ② Compared with the Sham group, the Ki-67 after surgery began to increase, it reached the maximum at the second day, then decreased gradually, there were a few positive cells at the seventh day and no statistical significance; ③ The positive expression of Wnt2 was mainly around the central vein, it may be associated with the generation of liver stem cells. Compared with Sham group, Wnt2 in remnant liver began to rise after ALPPS, reached the highest at the second day, and then decreased gradually, only a small amount of expression at the seventh day and there was no statistical significance; ④ The expression of Wnt2 and Ki-67 had a positive correlation after ALPPS. **Conclusion** The expression of Wnt2 may play a pivotal role in liver regeneration and liver stem cell after ALPPS.

**Key words** liver regeneration; ALPPS; Wnt2