

白介素 22 融合蛋白对刀豆蛋白 A 诱导肝损伤病理状态下肝切除后肝再生的影响

周恒¹, 谢国敏¹, 周珂^{1,2}, 任瑞雪³, 殷实⁴, 王华^{1,2,3}

摘要 目的 研究白介素 22 融合蛋白(IL-22-FP)对刀豆蛋白 A(ConA)诱导急性肝损伤后行 70% 肝切除手术(PHx)的小鼠术后肝再生及肝脏保护的作用。方法 建立小鼠 ConA 肝损伤和 PHx 手术模型,术后 32 h 通过过量麻醉法处死小鼠。5-溴脱氧尿嘧啶核苷染色,观察小鼠肝脏再生情况;全自动生化分析仪检测小鼠血清谷丙转氨酶(ALT)和谷草转氨酶(AST)水平;HE 染色观察小鼠肝脏组织损伤情况;Western blot 法检测小鼠肝组织中增殖细胞核抗原(PCNA)、细胞周期蛋白 D1(CyclinD1)、信号转导子及转录激活子 3(STAT3)及 p-STAT3 蛋白的表达情况。结果 ConA + PHx + IL-22-FP 组小鼠同 ConA + PHx + rh-IL-22 组及其他组小鼠相比,表现出更多的肝细胞增殖和更高的肝指数(肝脏重量/体重);HE 染色显示 ConA + PHx + IL-22-FP 组小鼠肝脏坏死及炎症细胞浸润程度较低;生化检测显示 ConA + PHx + IL-22-FP 组血清 ALT 和 AST 水平明显低于其他组;Western blot 结果表明 ConA + PHx + IL-22-FP 组小鼠的肝脏组织 PCNA、CyclinD1 和 p-STAT3 蛋白的表达量也明显高于其他组。结论 IL-22-FP 能够促进由 ConA 诱导肝损伤的小鼠 PHx 后的肝再生,并表现出显著的肝脏保护作用。

关键词 白介素 22 融合蛋白;部分肝切除;肝损伤;肝再生;肝衰竭;STAT3

中图分类号 R 961.1

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2017)08-1109-06
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2017.08.003

部分肝切除手术(partial hepatectomy, PHx)被认为是肝癌患者最为有效的治疗方法,而大部分患者由于肝脏病变过大或存在基础肝脏疾病,如若手术则很有可能引发术后肝脏再生不足,进而导致急

性肝衰竭,造成患者死亡。作为白介素(interleukin, IL)-10 家族的细胞因子之一,IL-22 在多种肝脏疾病中发挥着保护肝脏的作用^[1-6]。研究^[7-8]表明 IL-22 对小鼠正常肝脏行 PHx 后的肝再生具有促进作用。常规重组人 IL-22 蛋白(recombinant human IL-22, rh-IL-22)在体内的半衰期大约只有 60 min,如果作为治疗药物就必须在很短的时间内反复使用,而 IL-22-FP 具有 IL-22 的双分子结构,半衰期长达 24 h。该文通过刀豆蛋白 A(ConA)在小鼠建立肝损伤模型,在此基础上行 PHx 并给予 IL-22 融合蛋白(IL-22-Fc fusion protein, IL-22-FP)治疗,旨在探讨 IL-22-FP 对存在基础肝病小鼠 PHx 后肝再生的作用,为 IL-22-FP 用于临床 PHx 患者的治疗提供药理学依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组 正常 C57BL/6 小鼠,雄性,8~10 周龄,(25±5)g,购自上海西普尔-必凯实验动物有限公司,合格证编号:2008001662935。实验小鼠根据体重随机分为 5 组:ConA 组、PHx 组、ConA + PH 组、ConA + PHx + rh-IL-22 组以及 ConA + PHx + IL-22-FP 组。

1.2 主要试剂和仪器 IL-22-FP(上海健能隆医药技术有限公司);rh-IL-22(Lc08se0107,北京义翘神州生物技术有限公司);ConA(SLBL3798V,美国 Sigma 公司);5-溴脱氧尿嘧啶核苷(BrdU)(HMBD8875V,德国 Sigma 公司);BrdU 原位检测试剂盒(550803,美国 BD 公司);增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA)(D3H8P)、细胞周期蛋白 D1(CyclinD1, 92G2)、信号转导子及转录激活子 3(signal transducer and activator of transcription, STAT3)(4904S)和 p-STAT3(9131S)抗体(美国 CST 公司);血清生化检测:贝克曼库尔特自动生化分析仪(AU5800,美国 Beckman 公司)。

1.3 小鼠 ConA 损伤模型建立 小鼠根据体重随机分为 5 组($n=6$),静脉注射 ConA(18 μg/g),4 d 后行部分肝切除手术。ConA + PHx + rh-IL-22 组和

2017-03-31 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:81100311,81470879);新世纪优秀人才支持计划(编号:NCET-13-0644);安徽省皖江学者计划

作者单位:安徽医科大学¹药学院、²肝病研究所,合肥 230032

³安徽医科大学第一附属医院肿瘤科,合肥 230022

⁴安徽省立医院老年医学科,合肥 230001

作者简介:周恒,男,硕士研究生;

殷实,女,博士,主治医师,责任作者, E-mail: yinshimail@yahoo.com;

王华,男,博士,教授,博士生导师,责任作者, E-mail: wanghua@ahmu.edu.cn

ConA + PHx + IL-22-FP 组术前 30 min 接受白介素 22 治疗(iv, 125 $\mu\text{g}/\text{kg}$), 其他组同样的方法给予等量的生理盐水。术后 32 h 处死小鼠, 收集血清及残余肝脏用于后续实验。

1.4 小鼠 70% PHx 术 小鼠部分肝脏切除术方法参照文献^[7-8]。在无菌条件下, 小鼠通过乙醚气体麻醉, 待麻醉完全, 在小鼠腹部中线切开一约 1.5 cm 的切口, 暴露肝脏, 充分游离出肝左侧叶和肝中叶, 应用 3-0 外科手术缝合线在这两叶根部结扎, 随后剪下这两叶, 缝合切口, 继续喂养观察。

1.5 肝指数测定 小鼠处死前称体重, 处死后称量残余肝脏重量, 并计算两者的比值即为肝指数。肝指数是衡量肝脏再生的一个重要指标。

1.6 BrdU 染色及 BrdU 阳性率计算 小鼠处死前 2 h, 腹腔注射 BrdU (50 $\mu\text{g}/\text{g}$), 处死后将小鼠肝脏组织固定于福尔马林溶液中用于后续的 BrdU 染色。将固定的肝组织取出, 依次进行石蜡包埋、切片、展片、捞片, 将玻片放置在 37 $^{\circ}\text{C}$ 的烘台中过夜, 按照 BrdU 原位检测试剂盒的说明术进行 BrdU 染色。将染色玻片置于低倍镜下($\times 100$), 统计 4 ~ 6 个视野里 BrdU 阳性细胞数和肝细胞总数, 并计算两者比值作为 BrdU 阳性率(%) = BrdU 阳性细胞数 / 总细胞数 $\times 100\%$ 。

1.7 苏木精 - 伊红(HE) 染色及肝功能检测 取出固定于福尔马林中的肝组织, 依次在 70%、95% 和 100% 的酒精中脱水。将脱水后的肝组织放入二甲苯中透明, 随后依次进行石蜡包埋、切片、展片和捞片, 玻片烘干后行脱蜡水合, HE 染色 2 min, 在不同浓度乙醇(依次是 70%、95%、100%) 中脱水, 随后二甲苯固定, 最后中性树胶封片。血清谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT) 及谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST) 水平通过贝克曼库尔特自动生化分析仪(AU5800) 自动检测。

1.8 Western blot 法检测 PCNA、CyclinD1、STAT3 和 p-STAT3 蛋白的表达 取出保存于 - 80 $^{\circ}\text{C}$ 的肝脏组织 50 mg, 加入 RIPA/PMSF(100/1) 混合液 500 μl , 冰上反复匀浆, 静置 30 min, 离心机离心 10 min(12 000 r/min, 4 $^{\circ}\text{C}$), 取中间澄清液, BCA 法测定样本蛋白的总蛋白浓度。配制 8% SDS-聚丙烯酰胺凝胶, 每孔上样量为 30 μl , 电泳后将蛋白进一步转移到 PVDF 膜上。5% 脱脂奶粉/TBST 封闭 2 h 后与一抗结合: PCNA (1 : 1 000), CyclinD1 (1 : 1 000), p-STAT3 (1 : 1 000), STAT3 (1 : 2 000), 4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜。兔二抗(1 : 2 000) 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 4 h, ELC 法

显色, Bio-Tanon(Fine-do x6) 显影系统获得蛋白条带图像。

1.9 统计学处理 采用 SPSS 17.0 软件进行分析, GraphPad 软件作图, 所有数据结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间差异的比较采用 one-way ANOVA 分析法, 显著性的检验水准为 $\alpha = 0.05$ 。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 IL-22-FP 的治疗促进小鼠 PHx 术后肝再生

小鼠 PHx 术后 32 h 肝指数、BrdU 染色及 BrdU 阳性细胞百分比结果如图 1 所示。ConA + PHx + rh-IL-22 组和 ConA + PHx 组之间肝指数差异有统计学意义($P < 0.01$); ConA + PHx + IL-22-FP 组的肝指数同 PHx 组($P < 0.05$) 以及 ConA + PHx 组($P < 0.01$) 相比明显增加, 同 ConA + PHx + rh-IL-22 组之间的差异亦有统计学意义($P < 0.05$), 提示 rh-IL-22 和 IL-22-FP 均能促进小鼠术后的肝再生, 但 IL-22-FP 的促进作用更为显著。

图 1B 和图 1C 显示 PHx 术后 ConA + PHx + IL-22-FP 组和 ConA + PHx + rh-IL-22 组 BrdU 染色阳性细胞数明显多于其他组, 而 ConA + PHx + IL-22-FP 组比 ConA + PHx + rh-IL-22 组增多的更加显著($P < 0.05$)。PHx 组 BrdU 阳性细胞数较 ConA + PHx 组增加, 但差异无统计学意义。见表 1。

2.2 IL-22-FP 的治疗对小鼠 PHx 术后血清 ALT、AST 的影响

各组小鼠 PHx 术后血清 ALT、AST 结果如图 2 所示。ConA + PHx 组小鼠 ALT 水平明显高于 ConA + PHx + rh-IL-22 组($P < 0.05$) 和 ConA + PHx + IL-22-FP 组($P < 0.01$), ConA + PHx + IL-22-FP 组的这一水平又明显低于 ConA + PHx + rh-IL-22 组($P < 0.05$); ConA + PHx + rh-IL-22 组的 ALT 水平高于 PHx 组($P < 0.05$), 而 ConA + PHx + IL-22-FP 组同 PHx 组的差异无统计学意义。这一结果说明小鼠给予 ConA 后再行 PHx 术对肝脏的损伤远远大于 PHx 组或 ConA 组, 同时 IL-22-FP 对这种损伤的保护作用强于 rh-IL-22。见表 2。

2.3 IL-22-FP 对肝脏组织的保护作用 不同组别小鼠在 PHx 术后 32 h 处死后将部分肝脏组织固定于 10% 甲醛溶液中用于 HE 染色, 结果如图 3 所示。同 ConA + PHx + rh-IL-22 组和 ConA + PHx + IL-22-FP 组相比, ConA + PHx 组小鼠肝脏炎症细胞浸润、肝脏充血和肝细胞坏死程度等都明显加重。ConA + PHx + rh-IL-22 组的这些损伤表现比 ConA + PHx

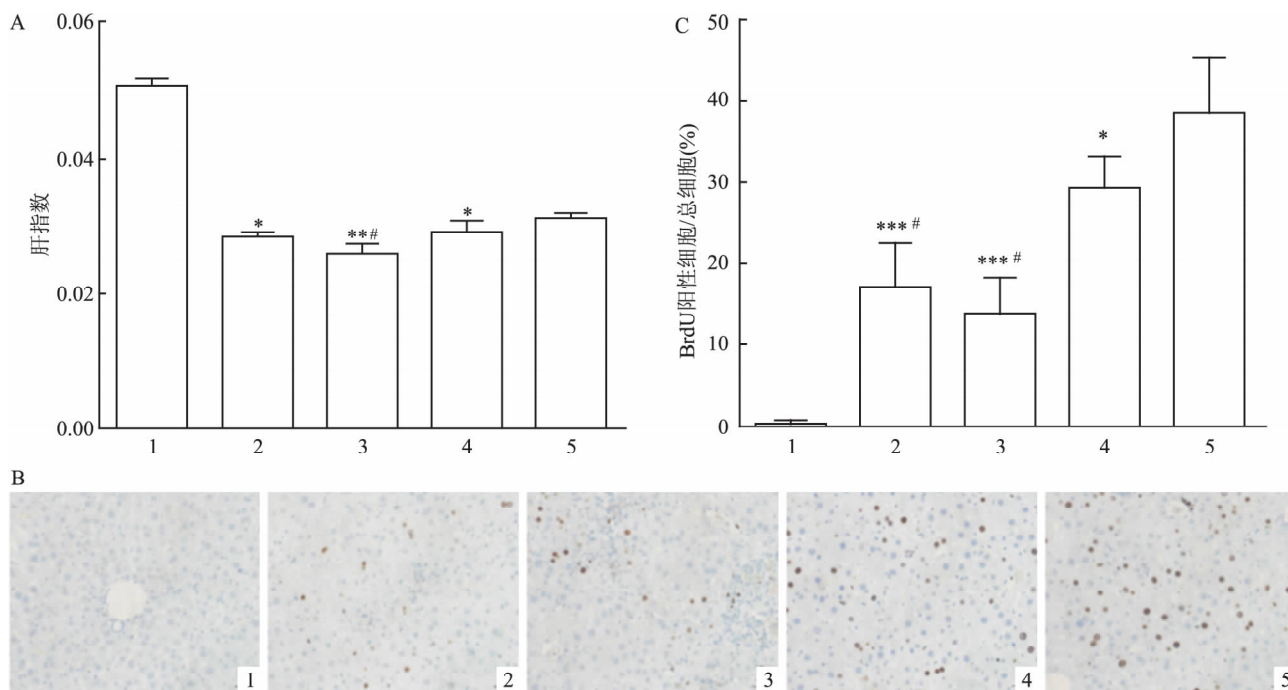


图1 IL-22-FP 对小鼠术后肝指数及肝细胞增殖的影响 BrdU 染色 ×400

A: 部分肝切除术后各组肝指数变化; B: 部分肝切除术后肝组织 BrdU 染色图; C: 部分肝切除术后不同组别肝组织 BrdU 阳性率比较; 1: ConA 组; 2: PHx 组; 3: ConA + PHx 组; 4: ConA + PHx + rh-IL-22 组; 5: ConA + PHx + IL-22-FP 组; 与 ConA + PHx + IL-22-FP 组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$; 与 ConA + PHx + rh-IL-22 组比较: # $P < 0.01$

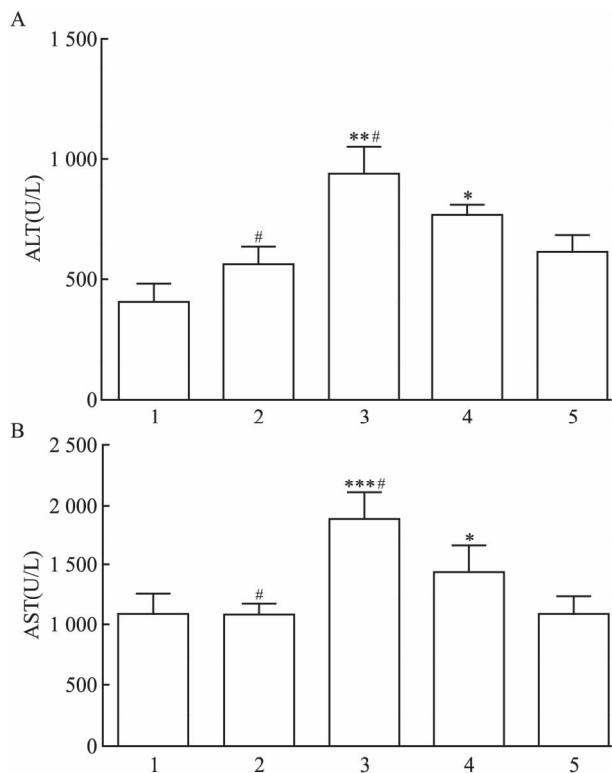


图2 IL-22-FP 对小鼠术后血清 ALT 和 AST 水平的影响

A: ALT; B: AST; 1: ConA 组; 2: PHx 组; 3: ConA + PHx 组; 4: ConA + PHx + rh-IL-22 组; 5: ConA + PHx + IL-22-FP 组; 与 ConA + PHx + IL-22-FP 组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$; 与 ConA + PHx + rh-IL-22 组比较: # $P < 0.05$

+ IL-22-FP 组更加明显,说明 IL-22-FP 在这种模型的损伤下对肝脏具有更强的保护作用。

2.4 不同剂量 IL-22-FP 对 PHx 后肝再生作用的对比

小鼠根据体重随机分为 3 组 ($n = 6$), 分别标记为低、中、高剂量组, 每组给以 ConA 损伤, 4 d 后行 PHx 手术(具体给药及手术方法如实验方法中所述)。术前 30 min 低、中、高 3 组分别给予 42、125 和 375 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 剂量的 IL-22-FP 静脉注射, 术后 32 h 过量麻醉处死小鼠。3 组肝脏组织 BrdU 染色结果及 BrdU 阳性细胞百分比结果显示见图 4。从染色图片可以看出中剂量组和高剂量组染色阳性细胞数明显高于低剂量组, BrdU 阳性细胞百分比的结果也证实了这一点。尽管高剂量组 BrdU 阳性细胞数量多于中剂量组, 但差异无统计学意义。低剂量组血清 ALT 水平明显高于中剂量组 ($P < 0.05$) 和高剂量组 ($P < 0.05$), 同样的, 中剂量组和高剂量组的差异无统计学意义(图 5)。见表 3。

2.5 IL-22-FP 促进术后 PCNA、CyclinD1 和 p-STAT3 蛋白的表达

图 6 显示, 在 PHx 术后, ConA + PHx + rh-IL-22 组和 ConA + PHx + IL-22-FP 组小鼠较其他组肝脏 PCNA、CyclinD1 和 p-STAT3 蛋白的表达量明显增加, 其中 ConA + PHx + IL-22-FP 组

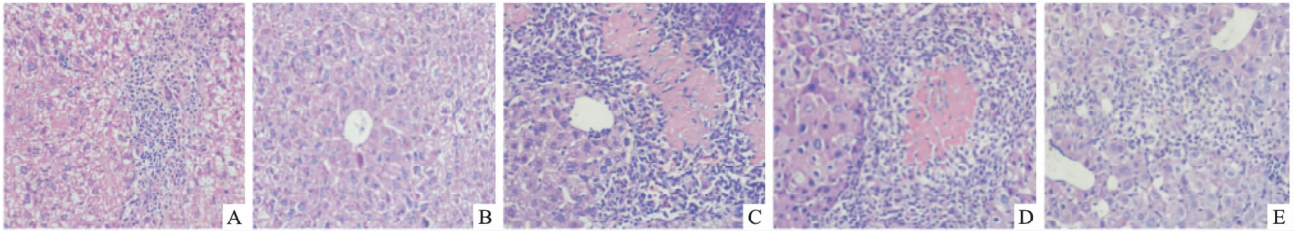


图3 IL-22-FP 对小鼠术后肝组织的保护作用 HE × 400

A: ConA 组; B: PHx 组; C: ConA + PHx 组; D: ConA + PHx + rh-IL-22 组; E: ConA + PHx + IL-22-FP 组

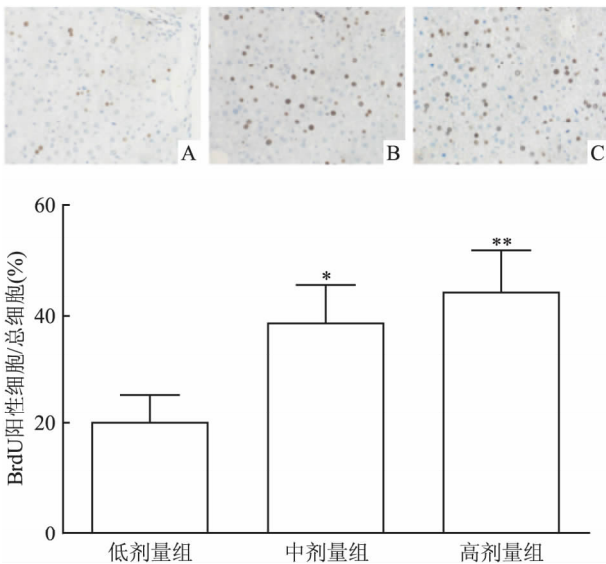


图4 不同剂量 IL-22-FP 对小鼠术后肝细胞增殖的影响 BrdU 染色 × 400

A: 低剂量组(42 μg/kg); B: 中剂量组(125 μg/kg); C: 高剂量组(375 μg/kg); 与低剂量组比较: * P < 0.05, ** P < 0.01

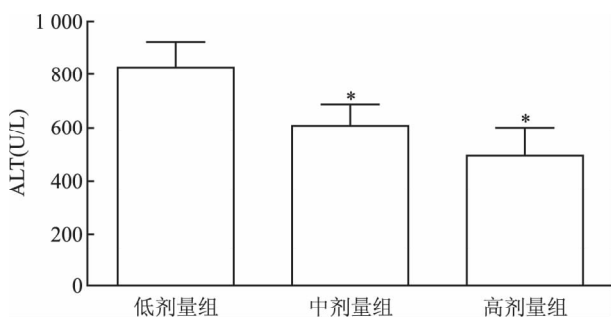


图5 不同剂量 IL-22-FP 对小鼠术后血清 ALT 水平的影响 与低剂量组比较: * P < 0.05

增加的更加显著,没有经过任何处理的正常组和 ConA 组表达量较少。这提示 IL-22 能够促进小鼠术后肝脏中上述 3 种蛋白的表达,且 IL-22-FP 的促进作用强于 rh-IL-22。各组 STAT3 蛋白表达量差异较小。

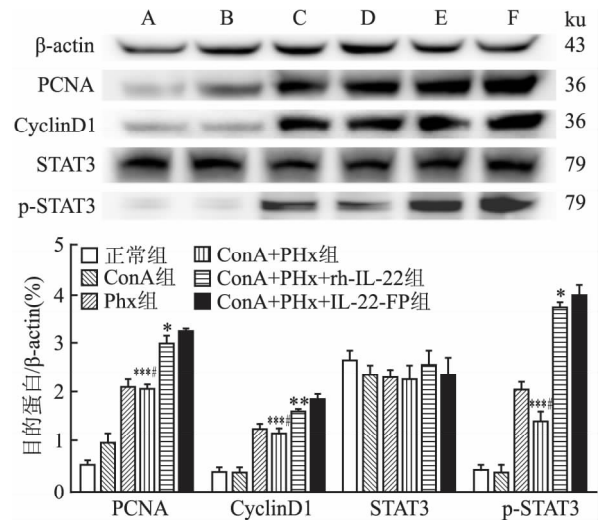


图6 IL-22-FP 对小鼠术后肝组织 PCNA、CyclinD1、STAT3 及 p-STAT3 蛋白表达的影响

A: 正常组; B: ConA 组; C: PHx 组; D: ConA + PHx 组; E: ConA + PHx + rh-IL-22 组; F: ConA + PHx + IL-22-FP 组; 与 ConA + PHx + IL-22-FP 组比较: * P < 0.05, ** P < 0.01, *** P < 0.001; 与 ConA + PHx + rh-IL-22 组比较: # P < 0.001

3 讨论

外科肝切除手术被认为是肝癌患者的最佳治疗手段。对于正常肝脏行 PHx 的最大比率为肝总体的 70% ~ 75% [9], 超过这一比例很有可能由于残余肝脏再生不足而导致急性肝衰竭; 而对于伴有基础肝病/肝损伤的患者而言, 这一切除比率会大大降低, 这将严重限制手术的开展和疾病的治疗。本研究证实了 IL-22-FP 能够在存在基础肝脏疾病的条件下显著的提高 PHx 后的肝再生水平, 同时, 有效的减少术后肝脏的损伤。这为 IL-22-FP 用于临床扩展肝切除手术适应症及提高术后患者生存率提供了数据支持。

目前的研究 [1-6] 已经证实, IL-22 在多种化学毒物(ConA、Ccl4、GalN)、乙型肝炎病毒和酒精等因素引起的肝损伤中扮演着保肝角色, 而这种保护作用

表1 IL-22-FP 对小鼠部分肝切除术肝指数和 BrdU 阳性率的影响($n=6, \bar{x} \pm s$)

检测项	ConA 组	PHx 组	ConA + PHx 组	ConA + PHx + rh-IL-22 组	ConA + PHx + IL-22-FP 组	F 值	P 值
肝指数(%)	5.08 ± 0.10	2.84 ± 0.07*	2.60 ± 0.14**	2.90 ± 0.18*	3.12 ± 0.05	225.15	<0.001
BrdU 阳性率(%)	0.33 ± 0.58	17.30 ± 5.11***	14.07 ± 4.08***	29.30 ± 4.00*	38.57 ± 6.74	30.87	<0.001

与 ConA + PHx + IL-22-FP 组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$

表2 IL-22-FP 对小鼠部分肝切除术血清 ALT 和 AST 水平的影响(U/L, $n=6, \bar{x} \pm s$)

检测项	ConA 组	PHx 组	ConA + PHx 组	ConA + PHx + rh-IL-22 组	ConA + PHx + IL-22-FP 组	F 值	P 值
ALT(U/L)	400.27 ± 75.35	554.93 ± 77.41 [#]	937.27 ± 114.45**	759.13 ± 45.00*	604.50 ± 76.67	19.27	<0.001
AST(U/L)	1091.17 ± 170.93	1089.97 ± 93.14 [#]	1872.67 ± 227.96***	1444.03 ± 225.17*	1096.37 ± 141.89	11.11	0.001

与 ConA + PHx + IL-22-FP 组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$; 与 ConA + PHx + rh-IL-22 组比较: [#] $P < 0.05$

表3 剂量组 IL-22-FP 对小鼠部分肝切除术血清 ALT 和 BrdU 阳性率的影响($n=6, \bar{x} \pm s$)

检测项	低剂量组	中剂量组	高剂量组	F 值	P 值
BrdU 阳性率(%)	20.23 ± 5.10*	38.60 ± 6.89	44.47 ± 7.45	11.15	0.010
ALT(U/L)	827.10 ± 97.60*	606.17 ± 78.73	493.40 ± 105.44	6.68	0.013

与中剂量组相比: * $P < 0.05$

的机制目前仍不完全清楚。有观点^[5]推测 IL-22 通过诱导多种抗凋亡和促有丝分裂蛋白的表达来发挥保护肝脏的作用。本研究显示 ConA + PHx + IL-22-FP 组的小鼠同其它组相比血清 ALT、AST 水平显著降低; HE 染色可以看到 ConA + PHx + IL-22-FP 组小鼠肝脏组织炎性细胞浸润及肝细胞坏死程度明显减轻。大量的研究^[1-2,5-6,8]结果已经证实,普通 IL-22 通过激活肝细胞的 STAT3 通路,上调 STAT3 下游与细胞增殖及细胞周期密切相关的基因(如 CyclinD1)的表达,最终发挥保护肝脏及促进肝再生的作用。因此,本研究有理由推测 IL-22-FP 通过激活 STAT3 通路而发挥相同的作用。为了证明这一推测,设计了本实验,结果显示术后 ConA + PHx + IL-22-FP 组肝组织 p-STAT3 蛋白的表达水平远高于其他组,表明 STAT3 通路被激活;进一步的研究显示该组 CyclinD1、PCNA 蛋白的表达也远高于其他组,说明 IL-22-FP 的保肝及促进肝再生的作用可能与其激活的 STAT3 通路以及由该通路诱导的 CyclinD1 和 PCNA 蛋白的表达有关。

有研究^[10]表明 70% PHx 术后肝 IL-22 受体 mRNA 和血清 IL-22 蛋白的表达水平显著升高,而术前给予抗 IL-22 抗体,能够明显的减少肝细胞的增殖,这表明 IL-22 与 PHx 后的肝再生密切相关。虽然 IL-22 对小鼠正常肝脏 PHx 后肝再生的作用已被报道^[7-8],但对伴有基础肝病的肝脏 PHx 后再生的作用仍不得而知。为了更加真实的模拟临床行 PHx 患者的实际情况(患有基础肝病),本研究首先

利用 ConA 在小鼠建立急性肝损伤模型,在此基础上进行部分肝切除手术,观察给予 IL-22-FP 治疗后的肝脏再生水平。结果显示同其他组相比,IL-22-FP 的治疗能够更加有效地促进 PHx 后肝细胞的增殖,残余肝脏重量的增长速度更加迅速。对于 IL-22 促进肝再生的机制有研究者认为是 IL-6 与转化生长因子 α 相互作用的结果,通过促进肝细胞的增殖促进肝脏重量和体积的恢复^[7,11-13]。本研究显示,术后 ConA + PHx + IL-22-FP 组小鼠肝组织中 PCNA、p-STAT3 和 CyclinD1 蛋白的表达量远高于其他组,表明这种促进肝再生的作用可能与 STAT3 通路的激活及高表达的 PCNA 和 CyclinD1 蛋白有关。

综上所述,IL-22-FP 能够有效地提高存在基础肝病的小鼠 PHx 后的肝再生水平,并对术后肝脏有着明显的保护作用,这正对应了 PHx 患者术后面临的两大难题(残余肝再生不足及手术引起的缺血再灌注损伤)。另一方面,由于肝脏内的免疫细胞没有 IL-22 受体,对 IL-22 无反应,只有肝脏细胞表达 IL-22 受体,因此本研究推测短期内或肝脏局部应用 IL-22 治疗,可以达到有效的保肝、促肝再生作用而不引起过度的肝脏炎症反应。因此,IL-22-FP 有望成为临床肝切除患者的治疗新方法。

(致谢:本课题动物实验在上海健能隆医药技术有限公司完成,实验用 IL-22-FP 也由该公司提供。)

参考文献

- [4] Pan H, Hong F, Radaeva S, et al. Hydrodynamic gene delivery of interleukin-22 protects the mouse liver from concanavalin A-, carbon tetrachloride-, and Fas ligand-induced injury *via* activation of STAT3 [J]. *Cell Mol Immunol*, 2004, 1(1): 43–9.
- [2] Xing W W, Zou M J, Liu S, et al. Hepatoprotective effects of IL-22 on fulminant hepatic failure induced by d-galactosamine and lipopolysaccharide in mice [J]. *Cytokine*, 2011, 56(2): 174–9.
- [3] Zhang Y, Cobleigh M A, Lian J Q, et al. A proinflammatory role for interleukin-22 in the immune response to hepatitis B virus [J]. *Gastroenterology*, 2011, 141(5): 1897–906.
- [4] Ashour T H. Therapy with interleukin-22 alleviates hepatic injury and hemostasis dysregulation in rat model of acute liver failure [J]. *Adv Hematol*, 2014, 2014: 705290.
- [5] Radaeva S, Sun R, Pan H N, et al. Interleukin 22(IL-22) plays a protective role in T cell-mediated murine hepatitis: IL-22 is a survival factor for hepatocytes *via* STAT3 activation [J]. *Hepatology*, 2004, 39(5): 1332–42.
- [6] Xing W W, Zou M J, Liu S, et al. Hepatoprotective effects of IL-22 on fulminant hepatic failure induced by d-galactosamine and lipopolysaccharide in mice [J]. *Cytokine*, 2011, 56(2): 174–9.
- [7] Ren X, Hu B, Colletti L M. IL-22 is involved in liver regeneration after hepatectomy [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2010, 298(1): G74–80.
- [8] Park O, Wang H, Weng H, et al. *In vivo* consequences of liver-specific interleukin-22 expression: implications for human liver disease progression [J]. *Hepatology*, 2011, 54(1): 252–61.
- [9] Duncan A W, Dorrell C, Grompe M. Stem cells and liver regeneration [J]. *Gastroenterology*, 2009, 137(2): 466–81.
- [10] Jia C. Advances in the regulation of liver regeneration [J]. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*, 2011, 5(1): 105–21.
- [11] Brand S, Dambacher J, Beigel F, et al. IL-22-mediated liver cell regeneration is abrogated by SOCS-1/3 overexpression *in vitro* [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2007, 292(4): G1019–28.
- [12] Forbes S J, Newsome P N. Liver regeneration-mechanisms and models to clinical application [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2016, 13(8): 473–85.
- [13] Kumar P, Rajasekaran K, Palmer J M, et al. IL-22: An evolutionary missing-link authenticating the role of the immune system in tissue regeneration [J]. *J Cancer*, 2013, 4(1): 57–65.

Effects of IL-22-Fc fusion protein on liver regeneration in mice after hepatectomy under ConA-induced hepatic injury condition

Zhou Heng¹, Xie Guomin¹, Zhou Ke^{1,2}, et al

(¹*School of Pharmacy*, ²*Institute for Liver Disease, Anhui Medical University, Hefei 230032*)

Abstract Objective To study the effects of IL-22-Fc fusion protein(IL-22-FP) on liver regeneration and hepatoprotection in mice after partial hepatectomy(PHx) under Concanavalin A(ConA) induced hepatic injury condition. **Methods** ConA-induced liver injury and partial hepatectomy model was built firstly, liver injury and regeneration was checked at 32 hours after hepatectomy. Hepatic cells proliferation were detected by 5-bromodeoxyuridine staining of liver tissue. The degree of liver injury and hepatic necrosis were demonstrated by HE staining. Serum alanine aminotransferase(ALT) and aspartate aminotransferase(AST) levels in mice were measured with automatic biochemical analyzer. The expression levels of PCNA, CyclinD1 and p-STAT3 protein were tested by Western blot technique. **Results** Compared with the recombinant human IL-22 treatment group and other groups, both the proliferation of hepatic cells and the liver weight/body weight(LW/BW) ratios of the IL-22-FP treatment group(the experimental group) were significantly increased. The degree of liver necrosis and inflammatory cells infiltration shown in HE staining in the experimental group were apparently reduced. The serum ALT and AST levels were significantly decreased in the experimental group than in the other groups. The expression of PCNA, CyclinD1 and p-STAT3 protein in the experimental group were obviously up-regulated than that in the other groups. **Conclusion** Treatment with IL-22-FP contributes to the liver protection and regeneration in mice with hepatectomy after ConA-induced liver injury.

Key words IL-22-FP; PHx; liver injury; liver regeneration; liver failure; STAT3