

肝干细胞在肝脏疾病中应用的研究进展

洪国庆 综述, 罗 放 审校(重庆医科大学附属第一医院肝胆外科 400016)

【关键词】 肝干细胞; 肝脏疾病; 研究进展

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2012.13.045 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2012)13-1622-02

依据肝干细胞的起源不同,可分为肝源性肝干细胞和非肝源性肝干细胞两大类,前者主要包括肝细胞、卵圆细胞及小肝细胞等,后者主要包括胚胎干细胞、骨髓干细胞等^[1]。

1 肝源性肝干细胞

1.1 肝细胞 在正常肝脏中,大部分肝细胞处于静止状态,只有 1/3 000~1/2 000 分化的肝细胞分裂来维持生理肝组织质量,但相关研究表明:肝脏组织被切除 2/3 后,剩余的肝细胞经过 1~3 次分裂就可以恢复足够的肝细胞数量和肝脏体积^[1]。这说明肝细胞具有在特定条件下的再生能力。有研究表明,在肝脏受损时或给予恰当刺激,肝细胞能被激活,通过增殖、分化、再生,以完成肝脏结构修复和功能重建。

1.2 卵圆细胞(HOCs) HOCs 由 Li 等^[2]最早在大鼠肝癌模型中发现,这类细胞体积小、胞浆少、胞核大呈卵圆形,故命名其为卵圆细胞。常态下,HOCs 表现为静止状态,在肝脏受损、肝细胞再生受抑不能满足肝脏修复的情况下可被激活、增殖,参与肝脏结构与功能的重建^[3]。近年来 HOCs 是被研究较多的肝干细胞,相关研究表明,HOCs 具有分化为肝细胞和胆管细胞的能力,其具有胆管上皮细胞角质蛋白 OV6、CK7 和 CK8 等多个表面标志物^[4],也具有骨髓干细胞标志物 CD34、c-kit 和造血干细胞标志物 CD45、flt-3R 等^[5]。LI 等^[6]采用 2-乙酰氨基苄/四氯化碳方法建立 HOCs 增殖模型,胶原酶灌注和流式细胞术分选纯化 HOCs,进行体外培养和扩增,证明了大鼠 HOCs 体外可大量扩增并且保留其干细胞和双向分化潜能特性。但相关研究^[7-10]表明 HOCs 与肝硬化和肝癌可能有密切关系,这可能将限制 HOCs 的临床应用。

1.3 小肝细胞 小肝细胞是一类体积较小的小单核细胞,形态与肝细胞类似,具有增殖潜能,能双向分化为肝细胞和胆管上皮细胞^[11],其能表达 CK8、CK18、清蛋白和转铁蛋白等肝细胞标志物,体外进一步分化后可表达胆管上皮细胞标志物。小肝细胞是肝前体细胞分化成熟为肝细胞过程中的一种中间细胞,有研究认为它可能是肝细胞的专能祖细胞^[12]。

1.4 非肝源性肝干细胞

1.4.1 胚胎干细胞(ESCs) ESCs 是指存在于早期胚胎中,具有多分化潜能的细胞,它在体外可无限扩增且保持未分化状态,具有分化为多种细胞的潜能,属于全能干细胞。1998 年美国威斯康辛大学的 Thomson 等^[13]和约翰·霍普金斯大学的 Cearhart 等^[14]几乎同时发表了在体外培养、扩增获得了人 ESCs 的系列报道,为 ESCs 用于临床治疗打开了一片新天地。

近年来,相关研究已经证明 ESCs 能够分化为肝细胞。Baharvand 等^[15]将外源性生长因子加入胶原基质三维培养系统中,定向诱导人类 ESCs,发现 ESCs 分化后,多种肝细胞特异性标志物表达,电镜下可见肝细胞样超微结构。Cai 等^[16]将 ESCs 在无血清培养基中定向诱导,结果显示培养细胞中,70%

以上具有成熟肝细胞功能。ESCs 有着巨大的医学应用前景,但其主要来源于体外受精的胚胎和流产的胎儿,使其临床应用面临伦理学挑战,而 ESCs 无限增殖可能致畸胎瘤等问题也有待解决。

1.4.2 骨髓干细胞(BMSCs) BMSCs 具有多向分化潜能,可以分化为多种组织细胞,BMSCs 包括骨髓造血干细胞(HSCs)和骨髓间充质干细胞(MSCs)等。1999 年 Petersen 等^[17]研究报道指出,BMSCs 可在鼠肝内分化为肝卵圆细胞及肝细胞。此后,多项研究表明,BMSCs 在体内、体外均可分化为肝细胞,在肝脏损伤时,对肝脏的修复和功能重建有重要作用。Khurana 等^[18]将经四氯化碳肝损伤模型小鼠血浆诱导的 HSCs,分化后移植入小鼠体内,能定植肝内,并表达 CK18 及 ALB。Li 和 Mukhopadhyay 等^[19]建立性别错配模型,将雄性动物细胞植入雌性动物体内,Y 染色体原位杂交术确定植入细胞后,行 ALB 免疫荧光双标染色,ELISA 法检测 BMSCs 阳性细胞在受体小鼠的肝脏内的趋化及表达 ALB 的能力,证明 BMSCs 可通过直接分化为肝细胞及分泌相关细胞因子间接促进受体肝脏干细胞增殖参与受损肝脏的修复。Chang 等^[20]研究表明,在四氯化碳肝损伤大鼠模型肝脏内,经门静脉注入 GFP 标记的人 MSCs,1d 后 GFP 标记的细胞在肝脏血管和肝小叶出现,病理和生化检查显示,移植组大鼠的肝功能明显改善,肝纤维化减轻,减轻程度与人 MSCs 注射数量正相关。Mohamadnejad 等^[21]发现经 MSCs 治疗的肝硬化失代偿期患者,症状均有所改善。同时,BMSCs 具有取材方便、无免疫排斥等优点,用于临床治疗肝脏疾病拥有广阔的前景。

2 干细胞移植的相关临床应用

目前在肝干细胞移植的基础研究和临床应用中,采用的植入方式有门静脉、肝动脉、外周静脉、脾内植入等。临床上用于肝病治疗尝试较多的肝干细胞为骨髓干细胞,且取得了较为可喜的结果。Ivantes 等^[22]随访 259 例丙肝骨髓干细胞移植术后患者,10 年生存率 35.1%,生存率明显提高。王方等^[23]在 50 例肝硬化失代偿患者的治疗中,经肝动脉注入自体骨髓干细胞发现,所有患者症状均有不同程度改善,3 周后,患者血浆 ALB 水平显著升高,8 周后凝血功能明显改善。Khan 等^[24]经外周静脉输注骨髓干细胞治疗肝硬化失代偿患者,结果显示患者肝功能改善明显,治疗安全有效。Ismail 等^[25]随机将 20 例肝硬化后肝癌患者分为治疗组和对照组,治疗组采用骨髓干细胞治疗,3 周后行肝部分切除后,生化检查提示治疗组较对照组肝功能明显改善。Donckier 等^[26]报道肝癌患者肝移植术后,输入自体骨髓干细胞后,患者免疫应答反应降低,术后早期即停用了免疫抑制剂。表明骨髓干细胞在肝移植术后抗排斥方面也具有较好的应用前景。

3 肝干细胞治疗肝病面临的问题及展望

目前已有大量的动物实验研究及临床尝试表明,肝干细胞

在肝脏损伤、肝炎、肝硬化、肝癌等肝脏疾病的治疗及肝移植术后抗排异等方面拥有广阔的应用前景。但肝干细胞要较为成熟地用于临床治疗,还有许多问题有待解决。(1)目前较多用于临床尝试的肝干细胞为骨髓干细胞,其余肝干细胞大多仅限于动物实验研究,能否用于及如何临床治疗有待进一步研究。(2)卵圆细胞^[8-11]、胚胎干细胞等的恶变可能如何解决,胚胎干细胞还面临的伦理学挑战。(3)目前干细胞治疗的长期有效及安全性缺乏相关资料。(4)干细胞体外提取、纯化、培养等技术还不够成熟,采用何种移植方式还没有科学定论。

综上所述,肝干细胞的临床应用还有很多工作要做,相信随着基础研究和临床实践不断的深入,肝干细胞必将更多、更好、更成熟地用于临床治疗,为各类肝病患者带来福音。

参考文献

- [1] Fausto N. Liver regeneration and repair: hepatocytes, progenitor cells, and stem cells[J]. *Hepatology*, 2004, 39(6): 1477-1487.
- [2] Li WC, Horb ME, Tosh D, et al. In vitro transdifferentiation of hepatoma cells into functional pancreatic cells[J]. *Mech Dev*, 2005, 122(6): 835-847.
- [3] Sun CY, Zuo S. Stem cell research in hepatocellular carcinoma [J]. *Front Med China*, 2008, 2(1): 1-4.
- [4] Yovchev MI, Grozdanov PN, Jossph B, et al. Novel hepatic progenitor cell surface markers in the adult rat liver[J]. *Hepatology*, 2007, 45(1): 139-149.
- [5] Okabe M, Tsukahara Y, Minoru M T, et al. Potential hepatic stem cells reside in EpCAM+ cells of normal and injured mouse liver [J]. *Development*, 2009, 136(11): 1951-1960.
- [6] Li Y, Zhao LJ, Li YX, et al. Characteristics of stem cells from hepatic oval cells in rats[J]. *Journal of Shanghai Jiaotong University (Medical Science)*, 2011, 31(5): 561-566.
- [7] Xu XL, Xing BC, Han HB, et al. The properties of tumor-initiating cells from a hepatocellular carcinoma [J]. *Carcinogenesis*, 2010, 31(2): 167-174.
- [8] Lee ES, Han EM, Kim YS, et al. Occurrence of c-kit + tumor cells in hepatitis B virus-associated hepatocellular carcinoma [J]. *Am J Clin Pathol*, 2005, 124(1): 31-36.
- [9] Dong HH, Xiang S, Chen XP, et al. The epithelial-mesenchymal transition promotes transdifferentiation of subcutaneously implanted hepatic oval cells into mesenchymal tumor tissue[J]. *Stem Cells Dev*, 2009, 18(9): 1293-1298.
- [10] Limade VM, Oliveira CP, Alves VA. A rodent model of NASH with cirrhosis, oval cell proliferation and hepatocellular carcinoma [J]. *J Hepatol*, 2008, 49(6): 1055-1061.
- [11] Fujikawa T, Hirose T, Fujii H, et al. Purification of adult hepatic pro-genitor cells using green fluorescence protein (GFP)-trans-genic mice and fluorescence-activated cell sorting[J]. *J Hepatol*, 2003, 39(2): 162-170.
- [12] Alison MR. Liver regeneration with reference to stem cells [J]. *Semin Cell Devel Bio*, 2002, 13(6): 385-387.

- [13] Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Sha-piro SS, et al. Embryonic stem cell, lines derived from human blasocytes[J]. *Science*, 1998, 282: 1145-1147.
- [14] Cearhart J. New potential for human embryonic stem cells [J]. *Science*, 1998, 282: 1061-1062.
- [15] Baharvand H, Hashemi SM, Kazemi Ashtiani S, et al. Differentiation of human embryonic stem cells into hepatocytes in 2D and 3D culture systems in vitro[J]. *Int J Dev Biol*, 2006, 50(7): 645-652.
- [16] Cai J, Zhao Y, Liu Y, et al. Directed differentiation of human embryonic stem cells into functional hepatic cells [J]. *Hepatology*, 2007, 45(5): 1229-1239.
- [17] Petersen BE, Bowen WC, Patrene KD, et al. Bone marrow as a potential source of hepatic oval cells [J]. *Science*, 1999, 284: 1168-1170.
- [18] Khurana S, Mukhopadhyay A. In vitro transdifferentiation of adult hematopoietic stem cells; An alternative source of engraft-able hepatocytes[J]. *J Hepatol*, 2008, 49(6): 998-1007.
- [19] Li Changzhu, Liang Guangping, Tang Xudong, et al. Bonemarrow stem cells are involved in liver repair in mice[J]. *Journal of Third Medical University*, 2011, 33(9): 887-891.
- [20] Chang YJ, Liu JW, Lin PC, et al. Mesenchymal stem cells facilitate recovery from chemically induced liver damage and decrease liver fibrosis[J]. *Life Sci*, 2009, 85(13-14): 517-525.
- [21] Mohamadnejad M, Alimoghaddam K, Mohyeddin-Bonab M, et al. Phase 1 trial of autologous bone marrow mesenchymal stem cell transplantation in patients with decompensated liver cirrhosis[J]. *Arch Iran Med*, 2007, 10(4): 459-466.
- [22] Ivantes CA, Amarante H, Ioshii SO, et al. Hepatitis C virus in long-term bone marrow transplant survivors[J]. *Bone Marrow Transplant*, 2008, 33(12): 1181-1185.
- [23] 王方, 张小岗, 张静, 等. 自体骨髓干细胞治疗失代偿期肝硬化患者 50 例疗效观察[J]. *实用肝脏病杂志*, 2010, 13(4): 272-274.
- [24] Khan AA, Parveen N, Mahaboob VS, et al. Safety and efficacy of autologous bone marrow stem cell transplantation through hepatic artery for the treatment of chronic liver failure: a preliminary study[J]. *Transplant Proc*, 2008, 40(4): 1140-1144.
- [25] Ismail A, Fouad O, Abdelnasser A, et al. Stem cell therapy improves the outcome of liver resection in cirrhotics [J]. *J Gastrointest Cancer*, 2010, 41(1): 17-23.
- [26] Donckier V, Troisi R, Le Moine A, et al. Early immunosuppression withdrawal after living donor liver transplantation and donor stem cell infusion [J]. *Liver Transpl*, 2006, 12(10): 1523-1528.