

## · 综述 ·

# 干细胞治疗肝硬化的新进展

褚玉新 综述, 宋启斌<sup>△</sup>, 姚颐 审校

(武汉大学人民医院干细胞治疗中心, 湖北武汉 430060)

**关键词:** 干细胞; 肝硬化; 综述**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2012.23.037**文献标识码:**A**文章编号:** 1673-4130(2012)23-2897-02

国内肝硬化的发病率较高, 是慢性肝病常见的病理损害, 表现为正常肝结构的破坏, 肝结节的再生和纤维组织的过度增生。肝硬化是各种慢性肝病的终末期表现, 是临床治疗的一大难题, 对其治疗方法的研究一直处于不断地研究探索之中<sup>[1]</sup>。

尽管人们对干细胞修复肝损伤的认识不断加深, 以及干细胞治疗在动物实验中得出越来越多令人欣喜的结果, 但是, 干细胞治疗肝硬化的具体机制尚未明确, 也没有制定出最佳的干细胞治疗方法。自体干细胞移植治疗肝病的临床试验才刚刚开始。小规模的自体干细胞研究显示出一定的疗效, 而且很安全<sup>[2]</sup>。这就促使更大规模的研究来评估干细胞治疗的疗效。很显然, 干细胞有多种潜在的功能, 需要仔细评估干细胞输注人体后会所产生的生物学效应。例如, 间充质干细胞(MSC)有免疫调节作用<sup>[3]</sup>, 造血干细胞有抗纤维化和组织再生的功能<sup>[4]</sup>, 干细胞治疗针对不同类型的肝病, 所产生的疗效也不同。

## 1 干细胞调节肝脏自身修复, 促进肝再生, 减轻肝硬化

晚期肝硬化的患者需要肝移植, 但是, 存在供体不足和排斥反应的问题<sup>[5]</sup>, 因此, 更需要新的治疗策略来促进肝细胞再生, 减少肝纤维化。最近的研究结果显示, 干细胞可以减少肝纤维化, 激活肝前体细胞(HPC), 促进肝实质再生<sup>[6]</sup>。

干细胞治疗可以减轻肝纤维化。Sakaida 等<sup>[7]</sup>研究了小鼠肝纤维化模型, 利用自体骨髓细胞经尾静脉注射后, 发现肝结节减少, 肝再生能力增强。这些研究显示, 鼠 Liv8-非造血细胞是产生这些效应的主要原因。在人体内环境中, 精确鉴定这些细胞的特性对于干细胞治疗至关重要。关于人造造血干细胞(HSC)的作用, 更多有力的证据来自肝癌患者的干细胞治疗。Furst 等<sup>[8]</sup>研究了一批肝癌难以切除的患者, 对他们来说, 残余的肝体积不足以维持生存。门静脉分支栓塞 2~4 h 之后, 利用自体骨髓来源的 CD133<sup>+</sup> 细胞选择性输注到未闭塞的 II 和 III 门静脉分支, 看是否会刺激肝再生, 以便于早期切除肿瘤。结果发现, 患者肝脏输注干细胞之后, 肝体积迅速增大, 切除肿瘤的时限也缩短了。

在小鼠模型中发现, 巨噬细胞在调控肝纤维化的过程中发挥关键性作用。经门静脉内注入巨噬细胞可以减少肝纤维化, 加快肝组织再生<sup>[9]</sup>。有趣的是, 巨噬细胞可能对损伤的肝脏有直接或间接的修复作用, 因为输注的细胞会刺激内源性炎细胞聚集到肝结节部位, 可能会增强巨噬细胞的作用<sup>[10]</sup>。这种“细胞放大效应”对临床细胞治疗来说有光辉前景。在啮齿动物肝硬化模型中发现, 上皮前体细胞也可以减少肝纤维化, 然而, 临幊上很难鉴别出是哪类内皮源性的前体细胞产生的这样效应<sup>[11]</sup>。最近有报道称, 将自体骨髓源性单个核细胞输注到肝硬化的患者, 可以降低 Child's Pugh 评分, 减轻肝硬化, 促进肝细胞增殖<sup>[12]</sup>。

在肝脏损伤时, 主要通过肝源性干细胞增殖及分化修复肝组织。非肝源性干细胞尤其是骨髓来源干细胞在肝组织修

复的作用还存在争议, 关于骨髓来源干细胞可塑性机制主要包括细胞转分化和细胞融合假说<sup>[13]</sup>。直接转分化假说认为可能是造血干细胞直接改变其基因模式进行转分化, 可能的机制是骨髓内有一群可以定向分化的干细胞, 通过不可逆地改变 DNA 的构象启动终末分化的通路。间接转分化假说认为是造血干细胞去分化为多能干细胞, 然后再沿其他路径向成熟细胞分化<sup>[14]</sup>。

## 2 干细胞下调自身免疫介导的肝损伤

MSC 因具有低免疫原性和免疫调节特性, 使其成为现代研究领域的热点之一。现在人们已可以从多个物种的多种成体组织中分离出 MSC, 脐带来源的 MSC 因具有来源广泛, 容易获取, 病毒感染机会小, 对供者和患者无不良影响, 细胞增殖能力强等优势, 为器官移植、自身免疫性疾病的治疗带来了新的曙光<sup>[15]</sup>。

大量免疫介导的鼠类肝损伤模型都发现 MSC 有免疫调节作用<sup>[16]</sup>。也有针对移植植物抗宿主病患者的临床研究, 这些患者有肝损伤, 输入 MSC 之后, 有一定的临床疗效<sup>[17]</sup>。分离和鉴定 MSC 的操作方法一直在不断改进, 很可能是不同功能的 MSC 亚群介导了抗炎或炎症反应<sup>[18]</sup>。虽然人们对于 MSC 功能的了解依然模糊, 有一些临床研究显示, 利用 MSC 治疗肝硬化是有益的, 但是, 这些研究往往是小规模、非对照的, 因此, 解释 MSC 的临床疗效需谨慎<sup>[19]</sup>。对于肝硬化的患者来说, 当前的数据支持进一步研究巨噬细胞、HSC 和骨髓单个核细胞下调免疫介导的肝损伤, 然而, MSC 的免疫调节/抗炎特性需要在免疫介导的肝损伤动物模型中进一步证实<sup>[20]</sup>。

## 3 干细胞可以衍生肝细胞样细胞(HLC), 改善肝功能

很多报道称, 各种成体干细胞可以分化成 HLC, 虽然大多数研究还不能确定 HLC 的“肝细胞功能”, 也尚未证实体内 HLC 的功能和内源性肝细胞的功能相当。有很多例证显示“HLC”来源于成体干细胞<sup>[21]</sup>, 然而, HLC 不大可能是发挥正常肝功能的新生肝细胞的主要来源。肝脏自身的 HPC 也有分化为肝细胞的强大潜能, 然而, 很难从人肝脏中分离和扩增这些细胞, 也很难调控 HPC 分化成足够数量的、有功能的肝细胞。因此, 肝脏自身的 HPC 可能是细胞治疗、药物或其他小分子治疗最好的原位靶区。

最近, 有人研发出相似的干细胞, 即诱导的多能干细胞(iPSC), 通过让成人体细胞过度表达转录因子(如 SOX2 和 Oct4)得以实现。从皮肤活检组织中分离出的角质细胞可用于制造这些多能干细胞。这项技术有强大的疾病造模潜能, 因为这些细胞可以从患代谢病的患者体内获得, 衍生细胞很可能显示出代谢病的特征, 因此可以集中研究各种肝病<sup>[22]</sup>。iPSC 来源的肝细胞有合成和代谢能力, 似乎与胚胎干细胞来源的细胞相似。然而, 移植这些细胞时依然要谨慎, 因为当前的技术还不能保证这些细胞不会逆向分化成增殖失控的原始细胞。

<sup>△</sup> 通讯作者, E-mail: qibinsong@yahoo.cn.

据报道, MSC 可以直接促进新生肝细胞的产生, 刺激内源性肝细胞增殖<sup>[23]</sup>, 然而这并不是普遍现象。而且, 对此类“肝细胞样细胞”的描述并不完整, 不代表大多数肝细胞的复合表型。要证实 MSC(或其他干细胞)分化成了肝细胞, 需要显示体外和体内肝细胞功能性的有力证据。因此, 在肝损伤模型中, 注入的 MSC 产生的效应可能与肝细胞表型无关, 而是通过其他机制形成的。

#### 4 干细胞治疗肝硬化的安全性评估

在公开发表的临床研究中, 绝大多数数据显示干细胞治疗肝硬化是安全的<sup>[2]</sup>, 尽管细胞治疗的输注途径有所不同。干细胞经门静脉或肝动脉直接注入肝脏得到的疗效并不一定好于静脉点滴, 因为直接肝内输注可能引发一些并发症, 如肝动脉破裂、门脉高压。然而, 静脉内输注的自体 MSC 会回到肝脏, 是一种更加简便而又安全的输注途径<sup>[24]</sup>。

研究发现小鼠和人胚胎干细胞有无限增殖的潜能, 可以产生大量的 HLC<sup>[25]</sup>。在体外, 这些细胞可以发挥肝功能的作用, 但是移植这些细胞时依然要谨慎, 因为它们有可能形成肿瘤。需要深入研究以降低这种风险, 例如, 要找到 HLC 分化为肝细胞的确凿证据, 利用高分类干细胞群来排除污染细胞。除此之外, 使用人胚胎干细胞存在伦理问题, 在临床应用中很受限。

总之, 干细胞治疗对于肝硬化的患者来说, 既令人兴奋也具有挑战性, 有可能研发新的治疗策略来修复肝损伤, 促进肝再生, 改善肝功能。此外, iPSC 是产生 HLC 的优质前体细胞, 体内试验依然要谨慎, 需要长期试验的证据来证实这些细胞可以维持内环境稳定, 不会诱发肿瘤。

针对全球普遍存在的人供体器官严重缺乏和免疫排斥的问题, 干细胞移植作为一种新的治疗方法, 不但可以替换受损组织, 而且可以刺激受体组织再生以达到自身修复的目的。相比现在临床常用的原位肝移植和生物人工肝而言, 干细胞在治疗各种原因引起的肝硬化中都具有十分广阔的前景, 相信在不久的将来, 随着研究的不断深入, 干细胞必将在肝硬化的治疗中发挥更加重要的作用。

#### 参考文献

- [1] 陈海鸥, 胡小宣, 刘洪娟, 等. 脐血干细胞移植治疗肝硬化的疗效观察[J]. 肝脏, 2010, 15(2): 81-83.
- [2] Houlihan DD, Newsome PN. Critical review of clinical trials of bone marrow stem cells in liver disease[J]. Gastroenterology, 2008, 135(2): 438-450.
- [3] Shah K. Mesenchymal stem cells engineered for cancer therapy [J]. Adv Drug Deliv Rev, 2012, 64(8): 739-748.
- [4] Li B, Bailey AS, Jiang S, et al. Endothelial cells mediate the regeneration of hematopoietic stem cells[J]. Stem Cell Res, 2010, 4(1): 17-24.
- [5] Enns GM, Millan MT. Cell-based therapies for metabolic liver disease[J]. Mol Genet Metab, 2008, 95(1/2): 3-10.
- [6] Kallis YN, Robson AJ, Fallowfield JA, et al. Remodelling of extracellular matrix is a requirement for the hepatic progenitor cell response[J]. Gut, 2011, 60(4): 525-533.
- [7] Sakaida I, Terai S, Yamamoto N, et al. Transplantation of bone marrow cells reduces CCl4-induced liver fibrosis in mice[J]. Hepatology, 2004, 40(6): 1304-1311.
- [8] Furst G, Schulte am Esch J, Poll LW, et al. Portal vein embolization and autologous CD133+ bone marrow stem cells for liver regeneration: initial experience[J]. Radiology, 2007, 243(1): 171-179.
- [9] Poelstra K, Schuppan D. Targeted therapy of liver fibrosis/cirrhosis and its complications[J]. J Hepatol, 2011, 55(3): 726-728.
- [10] Thomas JA, Pope C, Wojtachka D, et al. Macrophage therapy for murine liver fibrosis recruits host effector cells improving fibrosis, regeneration and function[J]. Hepatology, 2011, 53(6): 2003-2015.
- [11] Nakamura T, Torimura T, Sakamoto M, et al. Significance and therapeutic potential of endothelial progenitor cell transplantation in a cirrhotic liver rat model[J]. Gastroenterology, 2007, 133(1): 91-107.
- [12] Terai S, Ishikawa T, Omori K, et al. Improved liver function in patients with liver cirrhosis after autologous bone marrow cell infusion therapy[J]. Stem Cells, 2006, 24(10): 2292-2298.
- [13] 欧宏亮, 王志荣. 干细胞移植治疗肝硬化的研究进展[J]. 国际消化病杂志, 2011, 31(5): 291-294.
- [14] Renström J, Kröger M, Peschel C, et al. How the niche regulates hematopoietic stem cells[J]. Chem Biol Interact, 2010, 184(1/2): 7-15.
- [15] Ben-Ami E, Berrih-Aknin S, Miller A. Mesenchymal stem cells as an immunomodulatory therapeutic strategy for autoimmune diseases[J]. Autoimmunity Reviews, 2011, 10(7): 410-415.
- [16] Wan CD, Cheng R, Wang HB, et al. Immunomodulatory effects of mesenchymal stem cells derived from adipose tissues in a rat orthotopic liver transplantation model[J]. Hepatobiliary Pancreat Dis Int, 2008, 7(1): 29-33.
- [17] Kebriaei P, Isola L, Bahcecic E, et al. Adult human mesenchymal stem cells added to corticosteroid therapy for the treatment of acute graft-versus-host disease[J]. Biol Blood Marrow Transplant, 2009, 15(7): 804-811.
- [18] Waterman RS, Tomchuck SL, Henkle SL, et al. A new mesenchymal stem cell(MSC) paradigm: polarization into a pro-inflammatory MSC1 or an Immunosuppressive MSC2 phenotype[J]. PLoS One, 2010, 5(4): e10088.
- [19] Kuo TK, Hung SP, Chuang CH, et al. Stem cell therapy for liver disease: parameters governing the success of using bone marrow mesenchymal stem cells[J]. Gastroenterology, 2008, 134(7): 2111-2121.
- [20] Dazzi F, Krampera M. Mesenchymal stem cells and autoimmune diseases[J]. Best Pract Res Clin Haematol, 2011, 24(1): 49-57.
- [21] Oliva J, French BA, Qing X, et al. The identification of stem cells in human liver diseases and hepatocellular carcinoma[J]. Exp Mol Pathol, 2010, 88(3): 331-340.
- [22] Rashid ST, Corbneau S, Hannan N, et al. Modeling inherited metabolic disorders of the liver using human induced pluripotent stem cells[J]. J Clin Invest, 2010, 120(9): 3127-3136.
- [23] Aurich H, Sgiodda M, Kaltwasser P, et al. Hepatocyte differentiation of mesenchymal stem cells from human adipose tissue in vitro promotes hepatic integration in vivo[J]. Gut, 2009, 58(4): 570-581.
- [24] Salama H, Zekri AR, Bahnassy AA, et al. Autologous CD34+ and CD133+ stem cells transplantation in patients with end stage liver disease[J]. World J Gastroenterol, 2010, 16(42): 5297-5305.
- [25] Hay DC, Fletcher J, Payne C, et al. Highly efficient differentiation of hESCs to functional hepatic endoderm requires ActivinA and Wnt3a signaling[J]. Proc Natl Acad, 2008, 105(34): 12301-12306.