

干细胞对肝脏疾病的临床治疗前景与研究现状

黄贵才¹, 罗业浩¹, 江慧容¹, 李媛², 毛德文², 官志杰²<https://doi.org/10.12307/2023.633>

投稿日期: 2022-04-15

采用日期: 2022-08-25

修回日期: 2022-09-05

在线日期: 2022-10-26

中图分类号:

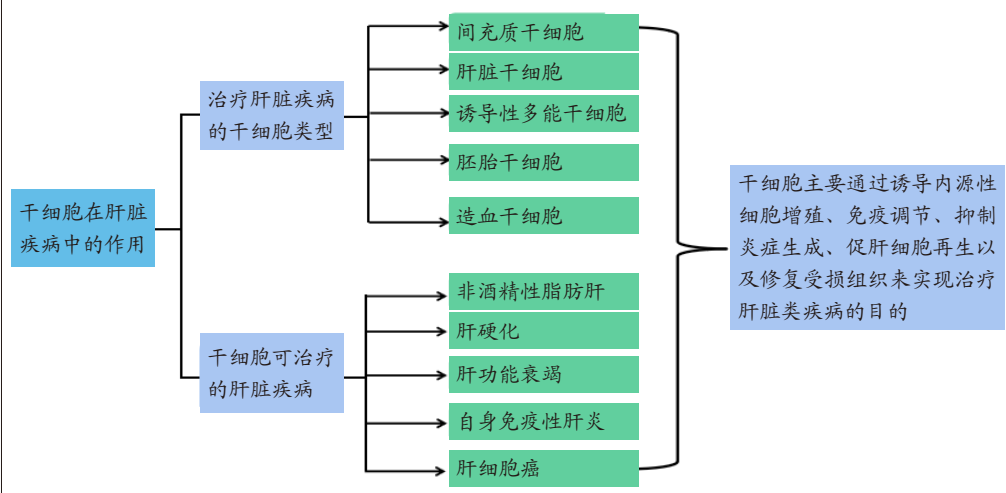
R452; R364; R575

文章编号:

2095-4344(2023)19-03091-08

文献标识码: A

文章快速阅读: 治疗肝脏类疾病的干细胞类型及自身特点



文题释义:

干细胞:是具有多向分化潜能、自我更新能力的细胞,是处于细胞系起源顶端的最原始细胞,在体内能够分化产生某种特定组织类型的细胞。

肝脏疾病:是发生在肝脏的所有疾病的总称,包括感染性疾病、肿瘤性疾病、血管性疾病、代谢性疾病、中毒性疾病、自身免疫性疾病及遗传性疾病等。

摘要

背景:干细胞在肝脏的再生与自我修复能力中发挥着重要的作用,对于肝脏疾病的临床诊断和治疗具有重要意义。

目的:总结目前国内外该领域的临床试验及基础研究,回顾以往治疗肝脏疾病的干细胞类型,各类干细胞对各类肝脏疾病的治疗方案,概述各类干细胞对肝脏疾病未来应用的临床应用前景,为其应用于临床肝脏疾病的治疗提供研究基础。

方法:应用计算机以“stem cells, mesenchymal stem cell, hepatic stem cell, embryonic stem cell, induced pluripotent stem cell, hematopoietic stem cell, hepatopathy, non-alcoholic fatty liver disease, liver cirrhosis, liver failure, autoimmune hepatitis, hepatocellular carcinoma”为检索词,检索PubMed、Web of Science及Wiley电子期刊数据库中的相关文献,根据纳入标准并筛选,最终选择71篇文献进行综述。

结果与结论:①对于治疗肝脏疾病的干细胞主要以间充质干细胞、肝脏干细胞、胚胎干细胞、诱导性多能干细胞及造血干细胞等为主,文章总结归纳了上述干细胞的特点、表达的时期以及在肝脏受损后分化的应用情况。②综合来看,间充质干细胞可通过外泌体、基质金属蛋白酶、抗炎反应等修复肝脏;肝脏干细胞可通过分化肝卵圆细胞和小肝细胞样祖细胞最终形成成熟的肝细胞,促进肝脏损伤修复;诱导性多能干细胞、胚胎干细胞和造血干细胞可通过迅速的增殖与分化,转换为成熟的肝细胞。③干细胞对于各种肝脏疾病的治疗,主要通过诱导内源性细胞增殖、免疫调节、抑制炎症生成、促肝细胞再生以及修复受损组织来实现。④综合而言,目前间充质干细胞获取相对容易,应用前景最广,而且并不涉及伦理问题,正在实现由临床前研究到临床研究的转化。由于间充质干细胞可分化为各种成体干细胞、免疫原性低、自我增殖和分化能力强等优势,特别对于治疗免疫性肝炎、肝硬化及肝细胞癌等肝脏疾病效果最为理想。⑤诱导性多能干细胞因其可分化成特异性体细胞和肝细胞,且无免疫排斥反应,对于治疗终末期肝病效果更为显著。⑥然而,干细胞移植后可出现腹泻、黄疸及皮疹等急性排斥反应,供受者间的组织相容性差则容易导致移植物抗宿主反应等不良反应,所以干细胞移植后对于干细胞的应用及其临床安全性的评估,仍需要更多的临床试验以及循证医学数据的支持。

关键词:干细胞;间充质干细胞;诱导性多能干细胞;肝脏疾病;肝硬化;肝细胞癌;临床治疗;综述

Clinical therapeutic prospect and current research status of stem cells for liver diseases

Huang Guicai¹, Luo Yehao¹, Jiang Huirong¹, Li Yuan², Mao Dewen², Guan Zhijie²

¹Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530200, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China; ²Department of Hepatology, First Affiliated Hospital of Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530023, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

¹广西中医药大学, 广西壮族自治区南宁市 530200; ²广西中医药大学第一附属医院肝病科, 广西壮族自治区南宁市 530023

第一作者:黄贵才,男,1995年生,广西壮族自治区人,汉族,广西中医药大学在读硕士,主要从事肝脏疾病研究。

通讯作者:官志杰,副主任医师,硕士生导师,广西中医药大学第一附属医院肝病科,广西壮族自治区南宁市 530023

<https://orcid.org/0000-0002-2959-7598> (黄贵才); <https://orcid.org/0000-0003-1298-5022> (官志杰)

基金资助:国家自然科学基金项目(81774236),项目负责人:毛德文

引用本文:黄贵才,罗业浩,江慧容,李媛,毛德文,官志杰.干细胞对肝脏疾病的临床治疗前景与研究现状[J].中国组织工程研究,2023,27(19):3091-3098.



Huang Guicai, Master candidate, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530200, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China
Corresponding author: Guan Zhijie, Associate chief physician, Master's supervisor, Department of Hepatology, First Affiliated Hospital of Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530023, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Abstract

BACKGROUND: Stem cells play an important role in liver regeneration and self-repair ability, which is of great significance for clinical diagnosis and treatment of liver diseases.

OBJECTIVE: To summarize the current clinical trials and basic research in this field in and outside China, review the types of stem cells used to treat liver diseases in the past, and the treatment programs of various types of stem cells for various types of liver diseases, outline the clinical application prospects of various types of stem cells in the future application of liver diseases, and provide a research basis for the treatment of clinical liver diseases.

METHODS: Using "stem cells, mesenchymal stem cells, hepatic stem cell, embryonic stem cell, induced pluripotent stem cell, hematopoietic stem cell, hepatopathy, non-alcoholic fatty liver disease, liver cirrhosis, liver failure, autoimmune hepatitis, hepatocellular carcinoma" as search words, the relevant articles in PubMed, Web of Science and Wiley e-journal databases were searched, and 71 articles were selected for review according to the inclusion criteria.

RESULTS AND CONCLUSION: (1) Mesenchymal stem cells, liver stem cells, embryonic stem cells, induced pluripotent stem cells and hematopoietic stem cells are the main stem cells for the treatment of liver diseases. The characteristics, expression period and application of these stem cells in differentiation after liver injury are summarized in this paper. (2) In general, mesenchymal stem cells can repair liver through exosomes, matrix metalloproteinase and anti-inflammatory response. Liver stem cells can differentiate liver oval cells and small hepatocellular progenitor cells to form mature liver cells and promote liver injury repair. Induced pluripotent stem cells, embryonic stem cells and hematopoietic stem cells can transform into mature hepatocytes through rapid proliferation and differentiation. (3) The treatment of various liver diseases by stem cells is mainly achieved by inducing endogenous cell proliferation, immune regulation, inhibiting inflammation, promoting liver cell regeneration and repairing damaged tissues. (4) On the whole, at present, mesenchymal stem cells are relatively easy to obtain, have the broadest application prospects, and do not involve ethical issues. They are transforming from preclinical research to clinical research. Because mesenchymal stem cells can differentiate into various adult stem cells, they have the advantages of low immunogenicity, strong self-proliferation and differentiation ability. Especially for the treatment of immune hepatitis, liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma and other liver diseases, mesenchymal stem cells have the most ideal effect. (5) Induced pluripotent stem cells are more effective in the treatment of end-stage liver disease because they can differentiate into specific somatic cells and hepatocytes without immune rejection. (6) However, stem cell transplantation can induce acute rejection, such as diarrhea, jaundice, and skin rashes. Poor histocompatibility between donors and recipients can easily lead to adverse reactions such as graft-versus-host reactions. After stem cell transplantation, the use of stem cells and its clinical safety assessment still need the support of more clinical trials and evidence-based medicine data.

Key words: stem cell; mesenchymal stem cell; induced pluripotent stem cell; liver disease; liver cirrhosis; hepatocellular carcinoma; clinical treatment; review

Funding: National Natural Science Foundation of China, No. 81774236 (to MDW)

How to cite this article: HUANG GC, LUO YH, JIANG HR, LI Y, MAO DW, GUAN ZJ. Clinical therapeutic prospect and current research status of stem cells for liver diseases. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2023;27(19):3091-3098.

0 引言 Introduction

肝脏是一个重要的器官，它负责各种生理过程，例如葡萄糖、脂质和胆固醇代谢以及免疫系统支持^[1]，由于上皮间质的再生能力强，肝切除或受伤的肝脏可以通过增殖恢复到原来的大小^[2]。当肝脏进行部分肝切除术时，上百个基因被激活并准备肝细胞对生长因子作出反应。肝损伤也是由药物、病毒和毒素引起的，这些因素会导致慢性肝病，如非酒精性脂肪肝、肝硬化，甚至更严重的可演变成肝癌。受损的肝脏刺激肝祖母细胞的活化，这被认为有助于受损肝组织的再生^[3]。在肝脏疾病的早期阶段，由于免疫系统试图对抗感染和治愈损伤，炎症反应就被激活了。如果炎症持续存在，则肝脏会发生纤维化，瘢痕组织会聚集。随着肝星状细胞的激活，它们转化为肌成纤维细胞样细胞并合成细胞外基质蛋白，细胞外基质异常积聚，导致肝纤维化，这会导致肝功能衰竭并使肝脏负担过重，如果治疗不及时，肝脏会发展为不可逆的肝硬化^[4]。

肝脏疾病是目前全球患病人数最多的疾病之一，终末期的肝脏疾病在临床上更是具有治愈率低、成本高、转移性快、死亡率高等特点^[5]。迄今为止，当肝脏遭受不可逆损伤时，肝移植是金标准的方案。然而，器官短缺仍然是肝移植面临的无法大面积开展的主要限制因素^[6]。目前终末期肝脏类疾病的治疗尚无好的治愈措施，寻求根治的治疗手段显得极为重要^[7]。干细胞存在于体内，具有自我更新、高效增殖和多向分化成多个细胞谱系的克隆潜力，已被用于包括中枢神经系统疾病、糖尿病和肿瘤等众多疾病的治疗中^[8]。使用基于干细胞的治疗来修复受损肝组织成为当前新的治疗方式之一^[9]。目前，大量的研究表明，干细胞的免疫调节和分化特征在肝脏细胞再生和修复中发挥重要作用，虽然目前的研究大多数在细胞和动物层面上，但随着研究技术和内容的丰富和深化，干细胞有望成为根治肝病尤其是终末期肝病的治疗手段之一^[10]。

该综述基于目前用于肝脏类疾病的干细胞种类繁多，且研

究进展迅速，在阐述当前与肝脏疾病相关的干细胞及其在肝病临床治疗应用的基础上，深度探讨了干细胞促进肝细胞再生、组织修复、免疫调节等的治疗机制，并且结合基因工程等技术，针对性应用干细胞技术治疗肝脏类疾病，以期对干细胞对肝脏类疾病在药物研发及临床运用方面提供新思路。

1 资料和方法 Data and methods

1.1 资料来源

- 1.1.1 检索人及检索时间 第一作者在2022年3月进行检索。
1.1.2 检索文献时限 2010年3月至2022年3月。
1.1.3 检索数据库 包括PubMed, Wiley和Web of Science数据库。
1.1.4 检索词 英文检索词为“stem cells, mesenchymal stem cell, hepatic stem cell, embryonic stem cell, induced pluripotent stem cell, hematopoietic stem cell, hepatopathy, non-alcoholic fatty liver disease, liver cirrhosis, liver failure, autoimmune hepatitis, hepatocellular carcinoma”。
1.1.5 检索文献类型 研究原著、综述、述评和病例报告。
1.1.6 手工检索情况 无。
1.1.7 文献检索策略 以PubMed数据库检索策略为例，见图1。

#1 Stem Cell [All Fields]	#9 Non-alcoholic Fatty Liver Disease [All Fields]
#2 Mesenchymal Stem Cell [All Fields]	#10 Liver Cirrhosis [All Fields]
#3 Hepatic Stem Cell [All Fields]	#11 Liver Failure [All Fields]
#4 Embryonic Stem Cell [All Fields]	#12 Autoimmune Hepatitis [All Fields]
#5 Induced Pluripotent Stem Cell [All Fields]	#13 Hepatocellular Carcinoma [All Fields]
#6 Hematopoietic Stem Cell [All Fields]	#14 #8 OR #9 OR #10 OR #11 OR #12 OR #13
#7 #1 OR #2 OR #3 OR #4 OR #5 OR #6	#15 2010-2022 [Date]
#8 Hepatopathy [All Fields]	#16 #7 AND #14 AND #15

图1 | PubMed数据库检索策略图

1.1.8 检索文献量 初步检索出 413 篇文献。

1.2 入组标准

1.2.1 纳入标准 ①有关干细胞介绍的相关文献；②有关干细胞在肝脏疾病中应用的相关文献；③通过文献精读与泛读，优先选择与研究类型及内容密切相关、观点明确、论据可靠的相关文章。

1.2.2 排除标准 ①与综述研究目的无关的文献；②研究内容重复和质量低下的文献。

1.3 文献质量评估和数据的提取 在初步检索的 413 篇文献中，经第一作者通过阅读文题及摘要后初步评估纳入文献 94 篇，通过对相关性文章进行二次筛选，阅读全文后排除文献论据欠充分、论点模糊、重复性研究和内容相关性低的文献，最终纳入创新性、逻辑清晰、设计合理的 71 篇英文文献进行综述。文献筛选流程，见图 2。

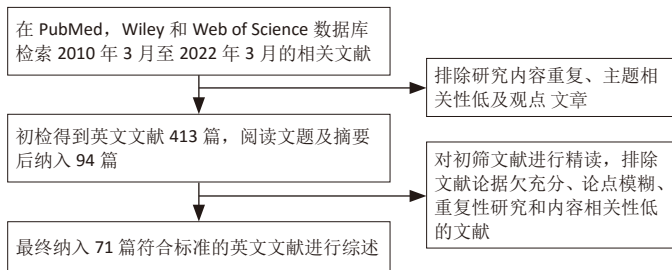


图 2 | 文献筛选流程图

2 结果 Results

2.1 干细胞发展及治疗肝脏疾病的研究历程 文章通过检索并整理相关文献，将干细胞的发展史以及其在肝脏疾病相关的研究进行汇总^[11-17]，其研究时间线见图 3。

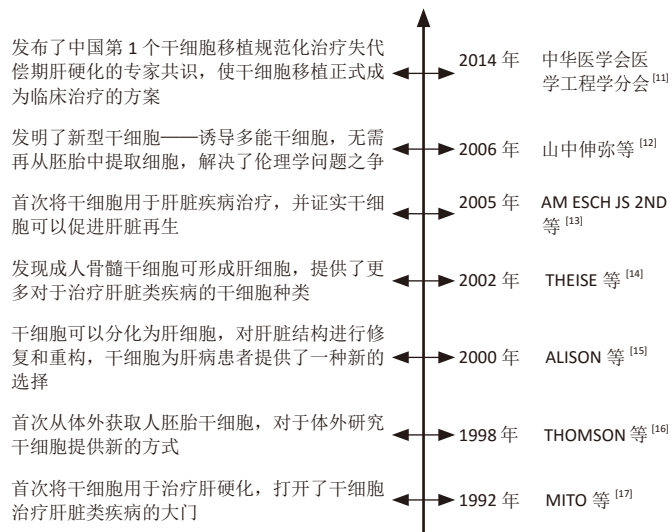
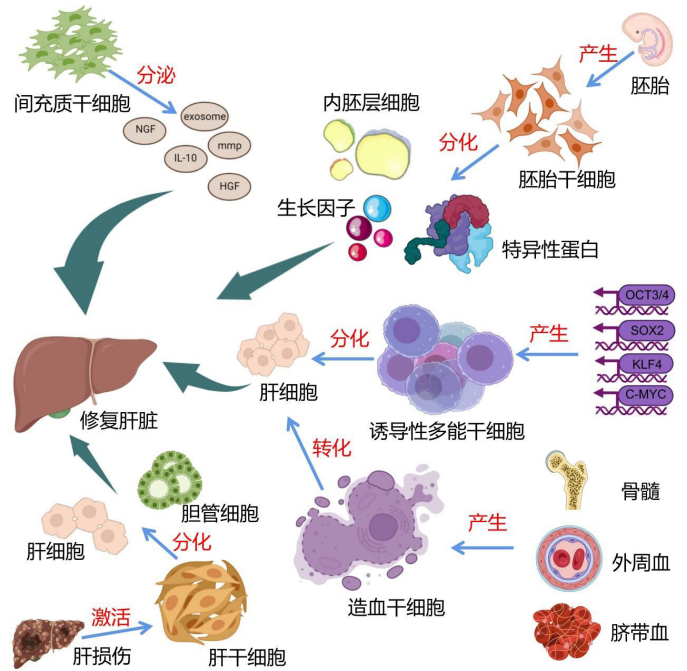


图 3 | 干细胞的发展史以及其在肝脏疾病相关的研究部分时间图

2.2 治疗肝脏疾病的干细胞类型与特点 目前的研究表明，多种干细胞可改善肝损伤并可用于治疗肝脏疾病，包括间充质干细胞 (mesenchymal stem cell, MSC)、肝脏干细胞 (hepatic stem cell, HpSC)、胚胎干细胞 (embryonic stem cell, ESC)、诱导性多能干细胞 (induced pluripotent stem cell, iPSC) 和造血干细胞 (hematopoietic stem cell, HSC) 等^[18]，见图 4。



图注：exosome 为外泌体；NGF 为神经生长因子；IL-10 为白细胞介素 10；mmp 为基质金属蛋白酶；HGF 为肝细胞生长因子；OCT3/4 为八聚体结合转录因子 3/4；SOX2 为人胚胎干细胞关键蛋白；KLF4 为上皮锌指蛋白 4；C-MYC 为癌基因产物

图 4 | 治疗肝脏疾病的干细胞种类和作用机制图

2.2.1 间充质干细胞 间充质干细胞获得途径多样，可从骨髓、脂肪组织、脐带脐血和其他组织中分离出来。间充质干细胞属于成体干细胞，包括骨髓间充质干细胞 (bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs)、脂肪间充质干细胞 (adipose-derived mesenchymal stem cells, AD-MSC) 和脐带间充质干细胞等^[19]。研究表明，在治疗肝脏疾病时，间充质干细胞通过旁分泌途径分泌肝细胞生长因子、白细胞介素 10 及神经生长因子等生长因子和细胞因子的作用下，可分化为肝细胞并产生抗炎反应和调节免疫反应，从而参与肝脏的组织修复和免疫调节^[20]。间充质干细胞表达的基质金属蛋白酶具有抗纤维化作用，可减少受损肝脏的胶原沉积。间充质干细胞还可以通过分泌外泌体来发挥作用，通过外泌体可以将蛋白质和 RNA 递送至受体细胞并发挥特定作用^[21]。间充质干细胞可通过抑制肝细胞的上皮间质转化和胶原蛋白的产生、控制炎症反应、抑制血管生成来改善肝纤维化和减缓肝病进展的能力，而且在体内外的特定诱导条件下可分化为各种成体干细胞，如脂肪干细胞和脐带干细胞等，具有来源丰富、免疫原性低、自我增殖和分化能力强等特点^[22]。基于这些优势，间充质干细胞有望成为肝病干细胞研究的理想细胞来源，特别对于治疗免疫性肝炎、肝硬化及肝细胞癌等肝脏疾病效果最为理想。

2.2.2 肝脏干细胞 肝脏干细胞是在肝脏中发现的成体干细胞，是具有分化成肝细胞和胆管上皮细胞的干细胞，主要包括肝卵圆细胞和肝祖细胞样细胞^[23]。肝卵圆细胞可以双向分化为肝细胞或胆管上皮细胞。肝祖细胞样细胞的形态介于干细胞和胆管细胞之间。成熟的肝卵圆细胞分化为小肝细胞样祖细胞，然后分化为成熟的肝细胞^[24]。当人体受到慢性肝损伤或者病毒感染导致肝细胞增殖受抑制，肝脏干细胞被激活增殖，延伸穿过肝小叶并分化为肝细胞或胆管细胞，最终修复肝脏^[25]。目前，肝脏干细胞的研究多是集中在动物模型，肝脏干细胞因其定向分化的特点而成为治疗肝病的理想选择。

2.2.3 诱导性多能干细胞 近年来,人们发现人和小鼠的成纤维细胞可被重新编程从而生成诱导性多能干细胞。诱导性多能干细胞是一种病毒载体进行转录因子组合而形成的一种具有超强分化能力的多能干细胞^[26]。通常,诱导性多能干细胞是通过反转录病毒诱导成纤维细胞中的转录因子 Oct3/4、Sox2、KLF4 和 c-Myc 重新编程回胚胎样多能状态^[27]。因此,诱导性多能干细胞有能力转变成任何类型的人类细胞,这为分化成患者特异性体细胞和特异性治疗提供了优势^[28]。最近的研究证明,诱导性多能干细胞可以分化为肝细胞,并应用于非酒精性和酒精性肝病、病毒性肝炎和肝硬化等肝脏疾病。诱导性多能干细胞是具有与胚胎干细胞相似的功能,肝脏疾病特异性诱导性多能干细胞定向肝细胞分化的效率和功能与胚胎干细胞相当,却没有胚胎干细胞的免疫排斥反应和相关伦理问题,这对于药物研发、细胞替代治疗创建了新的有价值的多能干细胞来源^[29]。

诱导性多能干细胞的自我更新和分化能力可以产生无限量的肝细胞用于移植和研究。最近的研究表明,诱导性多能干细胞衍生的肝细胞可用于遗传性肝病的体外研究,威尔逊氏病的特异性诱导性多能干细胞可分化为肝细胞,而且显示出突变基因 ATP7B 的异常细胞质定位和铜转运缺陷,使用表达校正的 ATP7B 基因的慢病毒载体进行基因校正可以在体外逆转肝细胞内的功能缺陷^[30]。此研究证明了疾病特异性诱导性多能干细胞通过基因疗法来治疗肝脏疾病的能力,为治疗肝病尤其是终末期肝病提供了更安全、更有效的种子细胞来源。

2.2.4 胚胎干细胞 胚胎干细胞是持续生长的胚胎来源的干细胞系,可从胚胎中获得,胚胎干细胞已被证明可以分化为几乎所有人类细胞的类型。目前研究表明,人类胚胎干细胞拥有正常的核型和高水平特定标记的端粒酶活性^[31],还显示出不断自我增殖的能力。从受精卵的内胚层获得的胚胎干细胞高度未分化,属于增殖能力最强的多能干细胞。胚胎干细胞不仅能够分化为内胚层细胞,而且还产生肝脏特异性蛋白质的能力。

在适当的体外诱导和培养条件下,胚胎干细胞可通过特定的生长因子分化为成熟的肝细胞^[32]。将人类的胚胎干细胞移植到肝损伤小鼠模型中,在小鼠肝脏中观察到大量呈增殖状态的移植细胞,对于肝损伤的修复起到很好的疗效^[33]。胚胎干细胞无限增殖能力和分化潜能在肝病方面具有很高的基础和临床研究价值,例如,自身免疫性肝病的发病机制目前归因于淋巴细胞错误识别自身抗原,导致细胞介导或体液反应,从而导致炎症组织和血管损伤,而胚胎干细胞用于消除自身反应性免疫细胞,并在自身免疫性疾病患者中重建全新、自我耐受的免疫系统^[34]。胚胎干细胞可以分化成胚胎和成人的所有组织,这个过程需要破坏胚胎,因此产生了较有争议的伦理问题限制了其在临床疾病治疗中的研究和应用^[35]。

2.2.5 造血干细胞 造血干细胞是一种可以分化为所有细胞类型的多能干细胞。成年人的造血干细胞主要存在于骨髓中,妊娠期脐血中也存在造血干细胞,外周血中相对来说较少^[36]。实验表明,将造血干细胞移植到肝损伤小鼠体内,并观察到造血干细胞随着损伤的增加转化为有活力的肝细胞,而且肝功能在移植后的 2-7 d 中恢复正常^[37]。有临床研究使用自体造血干细胞 CD34⁺ 细胞移植治疗 48 例终末期肝病患者的合成功能和腹水有显著改善,绝大部分的患者肝功能持续转好,这说明 CD34⁺ 干细胞移植可能是安全且有效的,并且为病毒性和自身免疫性肝病患者提供了新的细胞治疗方法^[38]。

文章归纳总结了各类型干细胞治疗肝脏疾病的研究进展,见表 1。

表 1 | 各类型干细胞治疗肝脏疾病研究总结

研究者	发表年份	干细胞类型	结论意义
SALAMA 等 ^[38]	2010	造血干细胞	自体造血干细胞移植治疗终末期慢性肝病可改善腹水、临床症状、自身免疫及生化指标
WOO 等 ^[33]	2012	胚胎干细胞	源自人类胚胎干细胞的肝细胞样细胞有助于小鼠受损肝组织的恢复,不仅通过细胞替代,还通过提供支持内源性肝再生的营养因子
TSOLAKI 等 ^[37]	2014	造血干细胞	造血干细胞可通过粒细胞集落刺激因子在伤口愈合过程中提供有效的抗纤维化作用
OHNUKI 等 ^[27]	2015	诱导性多能干细胞	诱导性多能干细胞通过转录因子 Oct3/4、Sox2、KLF4 和 c-Myc 重新编程回胚胎样多能状态来分化成所有细胞类型
ALEXANDER 等 ^[34]	2015	胚胎干细胞	对于自身免疫性疾病,胚胎干细胞可在体内重建全新、自我耐受的免疫系统
DAMDIMOPOULOU 等 ^[31]	2016	胚胎干细胞	人类胚胎干细胞的遗传稳定、无致瘤突变、功能和安全性评价较优,并且属于增殖能力最强的多能干细胞
LIN 等 ^[28]	2017	诱导性多能干细胞	诱导性多能干细胞作为细胞疗法具有重大潜力,强调使用体内血管形成能力和体外克隆作为评估源自各种人类多能干细胞来源的内皮细胞质量的黄金标准的重要性
FIGORE 等 ^[19]	2018	间充质干细胞	在使用间充质干细胞作为肝再生细胞疗法的临床试验中取得的最新成果以及间充质干细胞外泌体作为细胞间质和肝病治疗的工具
QIU 等 ^[21]	2018	间充质干细胞	间充质干细胞外泌体通过转移其 miRNA 含量来影响肾脏、肝脏、心脏和脑部疾病
HAN 等 ^[32]	2018	胚胎干细胞	从共培养物分离的肝内胚层细胞和单独培养的内胚层细胞之间转录组谱的比较结果,揭示了血管内皮生长因子信号通过内皮血管内皮生长因子 R2 激活指导内胚层细胞的肝脏特异性的机制
BLAU 等 ^[25]	2019	肝脏干细胞	肝脏干细胞在肝损伤中被激活,通过分化肝细胞从而修复肝脏
DOSS 等 ^[26]	2019	诱导性多能干细胞	诱导性多能干细胞是一种具有超强分化能力的多能干细胞,可对肝病等多种疾病采用细胞替代疗法
HU 等 ^[20]	2020	间充质干细胞	揭示了基于间充质干细胞的无细胞策略在减轻各种肝病中肝损伤的潜在机制。分泌组介导的旁分泌作用参与调节肝脏免疫微环境和促进肝上皮修复
KO 等 ^[23]	2020	肝脏干细胞	由肝脏干细胞分化而成的肝卵圆细胞和肝祖细胞样细胞可促进肝再生
ADDANTE 等 ^[24]	2020	肝脏干细胞	肝病的实验模型中,肝脏干细胞和的移植导致供体的肝脏再生并提高了存活率
INOUE 等 ^[29]	2020	诱导性多能干细胞	诱导性多能干细胞可衍生肝细胞样细胞,并且相较于胚胎干细胞更易获得,且无伦理问题
MALAKHOVA 等 ^[30]	2020	诱导性多能干细胞	诱导性多能干细胞通过基因疗法逆转肝细胞内的功能缺陷来治疗肝脏疾病
CEMIGLIARO 等 ^[36]	2020	造血干细胞	造血干细胞的细胞外囊泡,通过生物活性分子的转移,可以调节肝脏再生,恢复肝功能
WATANABE 等 ^[22]	2021	间充质干细胞	间充质干细胞可分化为各种成体干细胞,具有来源丰富、免疫原性低、自我增殖和分化能力强等特点

通讯作者对各类型干细胞治疗肝脏疾病研究成果的观点评述:

- (1) 细胞生物学的最新进展显示了干细胞的治疗潜力,这就是干细胞当前研究的新方式;
- (2) 与肝细胞相比,干细胞更容易在体外培养和扩增,此外,它们具有分化为肝细胞和其他肝细胞类型的能力;
- (3) 鉴于上述特性,干细胞是肝组织再生的具有巨大潜力的选择类型。大量研究表明,多种干细胞类型是治疗肝脏疾病的候选者。

2.3 干细胞对肝脏疾病的治疗

2.3.1 非酒精性脂肪肝 非酒精性脂肪肝 (Non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD) 的发病与肥胖、2 型糖尿病或血脂异常等代谢合并症有关,所以被称作是代谢综合征的肝脏表现。非酒精性

脂肪肝影响约25%的世界人口,并且近年来有不断上升的趋势^[39]。除了可能导致肝硬化和肝癌发病机制的风险升高外,非酒精性脂肪肝患者发生高血压、冠心病、心肌病和心律失常的风险很大,严重危害人类健康。在干细胞治疗方面,对于非酒精性脂肪肝主要以间充质干细胞移植治疗为主,并且其效果更好。最近的实验研究表明,干细胞移植可以改善非酒精性脂肪肝的实验室指标。用人源性脂肪组织中分离的间充质干细胞通过门静脉移植到高脂饮食诱导的非酒精性脂肪肝小鼠中^[40],与对照组相比,模型小鼠肝脏可逆转肝损伤,脂质积累减少,肿瘤坏死因子 α 和白细胞介素6等血清促炎因子下调,显著抑制了肥胖小鼠肝脏中的脂肪空泡和脂质积累,使肝脏恢复到正常水平。该实验即通过改善肝功能、促进脂质代谢、减少氧化应激来帮助逆转非酒精性脂肪肝。一项研究表明,当高脂饮食喂养的小鼠静脉注射 1×10^6 个间充质干细胞2次时,致密骨来源的间充质干细胞逆转了皮下脂肪组织的扩张并减弱了非酒精性脂肪肝^[41]。间充质干细胞主要通过调节沉默调节蛋白1(SIRT1)改善非酒精性脂肪肝的线粒体功能并减轻炎症和细胞凋亡,增强了肝脏的总体抗氧化能力。脂肪来源于细胞的外泌体可以通过极化M2巨噬细胞和促进白色脂肪组织的褐变来减少肥胖和减少肝脂肪变性,这表明干细胞及其衍生物是非酒精性脂肪肝的一种新的治疗方法。

2.3.2 肝硬化 肝硬化是各种慢性肝病的终末阶段的病理结果,其特点是肝脏结构变形、肝细胞坏死和再生性结节形成最终导致肝硬化^[42]。而现有的治疗方式对肝硬化疗效欠佳,干细胞则被认为是肝硬化患者潜在的辅助治疗方式之一,主要以肝脏干细胞、骨髓间充质干细胞、脂肪间充质干细胞、诱导性多能干细胞、造血干细胞以及胚胎干细胞为主,而移植效果最为成熟的则是间充质干细胞以及肝脏干细胞。由于肝脏干细胞移植能够产生成熟的肝细胞并具有自我增殖能力,目前其已经被认为是终末期肝病患者的潜在辅助治疗方式之一^[43]。在肝组织再生中的应用中,间充质干细胞及诱导性多能干细胞等这些肝外来源的干细胞不仅可为受损肝脏提供营养支持,它们还在疾病环境下诱导内源性细胞增殖和存活。由于其免疫调节和再生潜力,来自骨髓的间充质干细胞已被公认为肝组织再生和解决肝硬化的主要参与者^[44]。研究表明,将骨髓间充质干细胞移植到受损肝脏,可抑制肝星状细胞的活化、参与免疫调节、促进胶原纤维降解及肝细胞再生,从而重建肝脏结构,改善肝功能,对治疗肝硬化具有重要意义^[45]。

在临床上,干细胞治疗肝硬化也取得不错的疗效。一项最新的临床研究从体外和体内试验双向进行,体外培养对其活力和细胞因子谱的影响进行检测,体内试验则主要评估干细胞输注组合的安全性,试验结果表明肝星状细胞与间充质干细胞的联合治疗不仅可增强干细胞的作用并延长肝功能改善的持续时间,而且通过肝动脉输注细胞的安全性明显,无不良反应^[46]。在一项多中心、随机对照试验中,72例酒精性肝硬化患者接受了骨髓间充质干细胞输注治疗,结果表明骨髓间充质干细胞可以在组织学水平上改善肝纤维化和肝功能,证明是安全有效的^[47]。另一组临床试验在对失代偿性肝硬化患者的长期分析中,与对照组相比,自体移植的肝星状细胞显著提高了长期生存率,并且患肝癌的风险没有增加^[48]。在日本,一项临床研究使用自体脂肪组织来源的干细胞治疗由非酒精性脂肪肝引起的肝硬化患者,治疗3个月后,全部患者血清白蛋白浓度和凝血酶原活性改善,意味着肝脏功能得以改善^[49]。干细胞治疗肝硬化的作用机制可能为刺激肝细胞增殖、修复受损肝组织、减少组织胶原沉积、抑制肝纤维化、减少并发症从而提高生存时间,这对于今后系统治疗肝硬化不失为一个好的治疗方案。

2.3.3 肝功能衰竭 肝功能衰竭是多种原因引起的严重肝功能障碍或失代偿的临床综合征,死亡率极高^[50]。目前,肝移植是最终唯一有可能治愈肝功能衰竭的方法。然而,由于肝移植受肝源、费用和移植后免疫排斥等因素影响而难以广泛应用,迫切需要寻找一种新的有效治疗方法。而大量的研究表明,干细胞对肝功能衰竭的治疗是有效的^[51]。当前应用于肝功能衰竭的干细胞尤其是间充质干细胞(主要是低免疫原性和旁分泌特征)和诱导多能干细胞(从体细胞产生所需细胞类型)是治疗肝衰竭的细胞疗法的可行候选者。

干细胞具有多向分化潜能和自我更新能力,能够分化成多种细胞谱系,为肝功能衰竭的治疗提供了新方向。人脐血间充质干细胞可通过促进移植部位的血管生成,促进肝细胞再生,修复急性肝衰竭的肝损伤^[52]。骨髓间充质干细胞可分化为肝细胞以促进急性肝衰竭期间的肝脏再生,其机制主要通过可溶性旁分泌因子和细胞因子介导的骨髓间充质干细胞达到抑制炎症反应并促进肝细胞增殖和再生。而骨髓间充质干细胞衍生的外泌体作为重要的旁分泌因子,通过增加自噬微管相关蛋白LC3和Beclin-1的表达,促进自噬并减少了急性肝衰竭中的肝细胞凋亡^[53]。一项研究表明,间充质干细胞对急性肝衰竭的治疗潜力取决于前列腺素E2的分泌;间充质干细胞衍生的前列腺素E2抑制了肝脏巨噬细胞中的转化生长因子激酶1(TAK1)信号传导和NOD样受体热蛋白结构域相关蛋白3(NLRP3)的炎性小体激活,以减少炎性细胞因子的产生;同时,间充质干细胞衍生的前列腺素E2可通过信号传导转录激活因子6(STAT6)和mTOR信号转导机制将肝脏中的巨噬细胞诱导为抗炎症的M2巨噬细胞,从而促进炎症消退并减少肝损伤^[54]。

临床研究证明,肝衰竭患者通过间充质干细胞移植可改善肝功能^[55]。一项随机对照试验证明,向乙型肝炎诱导的慢加急性肝衰竭的患者输注间充质干细胞,可以改善肝功能和减少感染等并发症,以此达到降低死亡率的目的^[56]。一项系统评价收集了198例乙肝诱导的慢加急性肝衰竭患者临床数据,结果指出间充质干细胞移植比对症支持治疗更有效、更安全,可以在1个月的持续时间内改善肝功能参数并减轻乙肝诱导的慢加急性肝衰竭患者的肝损伤^[57]。干细胞主要通过外周静脉移植,它们也可以通过脾内、肝内和门静脉移植。XU等^[58]观察了脐带间充质干细胞联合血浆置换治疗乙型肝炎病毒相关急性慢性肝功能衰竭患者的疗效,他们证实了谷丙转氨酶、谷草转氨酶和胆红素水平的改善,并提出了这种技术对患者进行长期治疗的能力。综上所述,干细胞治疗肝衰竭的主要机制包括促进干细胞分化增殖、与宿主肝细胞融合、免疫调节、抗炎和组织修复等手段。

2.3.4 自身免疫性肝炎 自身免疫性肝炎表现为原因不明的慢性肝脏炎症,通常影响中青年女性,与自身抗体和高丙种球蛋白血症的存在有关。目前该病临床治疗方法有限,许多患者对特异性治疗药物效果不佳,所以寻找新的自身免疫性肝病治疗方法一直是研究方向之一^[59]。干细胞是一种很有前途的细胞疗法,对于自身免疫性肝炎主要涉及到间充质干细胞和造血干细胞,而移植效果最为显著的则为间充质干细胞,主要是因为间充质干细胞可显示出有效的免疫调节、免疫特性以及显著的修复能力^[60]。

研究表明,骨髓间充质干细胞外泌体miR-223通过降低血清谷丙转氨酶、谷草转氨酶和促炎细胞因子的水平,有助于减轻自身免疫性肝炎引起的肝损伤,其机制可能与骨髓间充质干细胞外泌体miR-223对下调NOD样受体热蛋白结构域相关蛋白3和半胱氨酸蛋白酶1(Caspase-1)的表达有关^[61]。调节性T细胞是保持免疫自身耐受所必需的CD4⁺T淋巴细胞的一个子集,有

实验表明,接受3次骨髓间充质干细胞治疗的小鼠血清中谷丙转氨酶和谷草转氨酶水平明显下降,治疗后淋巴细胞浸润和炎症病变的发生明显减轻,其主要是通过刺激抑制因子PD-L1来抑制免疫反应,刺激结合干扰PI3K通路激活来阻断Akt磷酸化,减少T细胞增殖和维持细胞因子的合成,进而提高自身免疫性肝病的免疫功能和减少肝损伤^[62]。在一项生存研究中发现,白细胞介素35修饰间充质干细胞移植的肝炎模型小鼠在整个观察期间都存活下来,而其余对照组的存活率最多为40%,并且白细胞介素35修饰间充质干细胞干预的模型肝坏死面积显著减少,活性半胱氨酸蛋白酶3和肝脏组织中干扰素 γ 表达水平显著降低。其通过降低单核细胞凋亡相关因子配体的表达来阻止肝细胞凋亡,并通过JAK1-STAT1/STAT4信号通路降低 γ 干扰素的表达水平从而提高自身免疫性肝炎的保护作用^[63]。以上研究表明,干细胞及其衍生物可以调节免疫反应,改善自身免疫性肝炎的肝损伤程度,最终消除肝炎。

2.3.5 肝细胞癌 肝细胞癌是全球癌症死亡的主要原因。目前使用各种干细胞治疗肝细胞癌的研究逐渐增多^[64]。肝癌主要涉及的干细胞主要以间充质干细胞、肝癌干细胞、诱导性多能干细胞以及造血干细胞,目前应用广泛且移植生物相容性较高的则为间充质干细胞以及肝癌干细胞。肝癌干细胞是肝细胞癌细胞的亚群,它们能够重建具有与原始肿瘤相同的分子和表型异质性的肿瘤,还可通过无限的自我增殖来维持干细胞来源,确保肝癌干细胞永远不会丢失,具有很强的自我更新、分化和诱发肿瘤产生的能力^[65]。研究表明,间充质干细胞的外泌体C5orf66-AS1通过miR-127-3p/DUSP1轴抑制ERK磷酸化,进而阻断肝癌干细胞的增殖、迁移和侵袭的能力^[66]。一项研究指出,间充质干细胞介导的溶瘤腺病毒通过修饰病毒的纤维结构域被肝细胞癌所感染,病毒在细胞载体中有效复制,病毒的缺氧反应减弱癌细胞生长,最终导致有效的肿瘤生长抑制,增强了肝细胞癌的抗肿瘤功效^[67]。

用于治疗肝癌的微囊泡、外分泌等干细胞衍生物也是研究的重点。研究表明,来源于成人肝脏干细胞的微囊泡可以传递miRNA来抑制肝细胞癌的生长并刺激细胞凋亡^[68]。miR-122和miR-199a修饰的脂肪间充质干细胞的外泌体可以增加肝细胞癌的化学敏感性^[69]。来自间充质干细胞的外泌体micR-15a通过下调锌指转录因子4(SALL4)抑制了肝细胞癌细胞的增殖、迁移和侵袭潜力,并加速了它们的凋亡^[70]。3D技术培养的脂肪间充质干细胞条件培养基通过抑制上皮间质转化来抑制肝细胞癌的迁移和侵袭。原位肝细胞癌模型大鼠中的脂肪组织来源的间充质干细胞的外泌体可以促进大鼠NKT细胞的抗肿瘤反应,从而促进肝细胞癌抑制、低级别肿瘤分化和增加早期表观扩散系数等影响。脂肪间充质干细胞的外泌体抗癌作用主要是通过促进抗癌免疫来实现的,因此,其外泌体可用作肝细胞癌治疗反应的早期生物标志物^[71]。

作者最后总结了干细胞应用于肝脏疾病治疗效果研究进展,见表2。

3 总结与展望 Summary and prospects

3.1 既往他人在该领域研究的贡献和存在的问题 干细胞已被众多研究证实具有许多免疫调节、分化为肝细胞和修复受损组织的功能,并且已初步证明干细胞是有效安全的。但远期疗效和安全性、干细胞发育分化的调控机制、运用于肝病治疗的最佳方案尚不明确,仍面临许多挑战和亟待解决的问题。目前干细胞研究主要在体外开展实验,部分为动物模型实验,而对于临床应用仍在起步阶段,难以普及应用。

表2 | 干细胞应用于肝脏疾病治疗研究汇总

研究者	发表年份	结论	移植效果及疗效
CHEN等 ^[62]	2014	通过多次静脉注射骨髓间充质干细胞移植治疗自身免疫性肝炎,可抑制白细胞介素17和上调PD-L1发挥免疫抑制作用,从而改善肝功能	干细胞通过培养扩增移植模型小鼠后,未见不良反应,而且多次给药后效果更为显著
LI等 ^[56]	2016	通过肝动脉输注脐带来源间充质干细胞治疗乙肝诱导的慢加急性肝衰竭,移植2,4周后可改善患者的肝功能、肝纤维化和腹水症状,并且介导了免疫调节	移植后未发出血、感染、肝动脉栓塞等不良反应,而且安全有效,提高了3-24个月的存活率
CHEN等 ^[61]	2018	骨髓间充质干细胞分泌的外泌体miR-223通过对NLRP3和caspase-1的调节,从而改善自身免疫性肝炎的肝损伤,改善肝功能水平以及降低炎症因子	移植后小鼠未见组织相容性不合,移植效果良好,无不良反应发生
CHEN等 ^[52]	2019	人脐带来源间充质干细胞与粒细胞集落刺激因子联合使用通过刺激宿主肝细胞再生来部分修复急性肝衰竭大鼠的肝功能损伤,抑制诱导的促炎细胞因子的分泌、脂质过氧化物的活化以及抑制肝细胞凋亡	人脐带来源间充质干细胞易于获取和无伦理争议的移植优点,生物相容性良好,未发生移植物抗宿主反应等不良反应
XU等 ^[58]	2019	血浆置换联合脐带间充质干细胞移植治疗乙肝诱导的慢加急性肝衰竭患者,在治疗后30,60,90d的死亡率和不良结局与其他组别相比最低,但并无统计学意义,肝功能水平在治疗后改善迅速,但随着时间延长效果逐渐降低	移植后有6例患者出现发热,24h后自行退热,无需治疗,有6例患者发生过过敏反应,使用地塞米松治疗后2h内过敏反应消失
SAKAI等 ^[46]	2020	脂肪组织来源的间充质干细胞通过肝动脉递送至肝脏的自体输注,可修复肝硬化患者的肝脏功能,增强肝实质细胞中白蛋白生成以及抑制肝脏的炎症	该疗法为自体输注,有效避免免疫反应,生物相容性良好,6个月随访均未发现不良事件发生
SALEH等 ^[40]	2021	脂肪来源的间充质干细胞通过减轻炎症细胞因子对非酒精性脂肪肝病等肥胖相关并发症产生治疗作用,可促进脂质代谢,改善肝功能	改善肝脏脂肪堆积,肾小球肿胀和心肌细胞肥大,无排斥反应
YANG等 ^[41]	2021	在体外,通过培养基培养的间充质干细胞对非酒精性脂肪肝病小鼠的肝脏的病理结构起到改善作用,增强了肝脏的总抗氧化能力和线粒体功能,减少炎症和细胞凋亡	在体外培养的间充质干细胞生物相容性良好,无不良反应
WANG等 ^[54]	2021	间充质干细胞衍生的前列腺素E2抑制急性肝衰竭模型小鼠肝巨噬细胞中的炎症体活化,从而减少炎症细胞因子的产生。同时,前列腺素E2通过STAT6和mTOR信号传导可将肝脏中的巨噬细胞诱导为抗炎(M2)巨噬细胞,从而促进炎症消退并限制肝损伤	间充质干细胞输注后肝脏炎症反应减轻,移植效果良好,未出现组织相容性不合等不良反应
GU等 ^[66]	2021	间充质干细胞的外泌体通过增强DUSP1表达并抑制ERK磷酸化以抑制肝癌细胞的发生发展	体外干预可明显降低肝癌细胞活性
MA等 ^[70]	2021	间充质干细胞的外泌体microRNA-15a通过下调锌指转录因子4(SALL4)延缓肝癌模型裸鼠的发展,可抑制肝癌细胞的增殖、迁移和侵袭,并加速了癌细胞的凋亡	体内外移植后均未出现移植物抗宿主反应等不良反应

通讯作者对于干细胞应用于肝脏疾病治疗研究的个人观点评述:

- (1) 基于干细胞治疗肝病的目标是用健康细胞代替不健康的细胞,让健康细胞在肝脏中发挥作用;
- (2) 当前干细胞已从实验室走向临床,并且中国已经制定一系列指南及专家共识支持干细胞对于肝脏疾病的临床诊治,目前来看,治疗成效尚可;
- (3) 由于成人组织包含许多不同的细胞类型,识别和尝试定位干细胞是目前面临的主要挑战,而从组织中分离细胞后,诱导细胞分化成所需细胞类型同样是一个挑战。

3.2 作者综述区别于他人他篇的特点 在此之前虽有文献阐述单一类型干细胞对肝癌或肝硬化等疾病的治疗优势,但还尚未有综述报道系统阐述干细胞各类型在肝脏疾病的应用,文章通过介绍干细胞的种类、生物学特性和干细胞治疗肝脏各类疾病的机制以及对于治疗的前景做出展望。

3.3 综述的局限性 虽然该综述对各类型干细胞治疗非酒精性脂肪肝、肝硬化、肝功能衰竭、自身免疫性肝炎及肝细胞癌等疾病的应用进行了详细深入的探讨,但是仍然存在一些不足,例如干细胞治疗肝脏疾病相关研究仍多集中在临床前动物模型研究,对于干细胞临床研究治疗仍有望突破;各类型干细胞治疗肝脏疾病的区别点以及使用安全性等问题仍需进一步研究明确;对于肝脏众多疾病而言,该综述选择了与干细胞更为相关联的5种疾病,对于部分肝脏疾病未作出详细阐述。对于干细胞的提取以及收集方面,因文献相对欠缺,文章尚未展开阐述,仍有待进一步探讨。相信通过基础研究的丰富以及临床试验的逐步开展将是肝脏疾病治疗的又一里程碑式的跨越。

3.4 综述的重要意义 文章系统性总结了近年来间充质干细胞、肝脏干细胞、胚胎干细胞、诱导性多能干细胞和造血干细胞等对于肝脏疾病的应用,深度探讨了干细胞促进肝细胞再生、组织修复和免疫调节等的治疗机制,阐明了其中的优势和不足之处,为未来开展干细胞应用于临床提供新思路 and 热点。肝硬化、肝细胞癌等是一个机制复杂的疾病,对于其根治及完全康复仍然是现代医学的主要挑战。组织工程学是将干细胞生物学与工程材料学相结合,以促进医学进步的跨学科领域,干细胞治疗肝脏疾病可影响其相关信号通路、转录因子、表观遗传调节因子、非编码RNA和肝脏肿瘤干细胞生态位,通过相关基因修饰可更容易获得肝细胞,从而治疗各类难治性肝病,如肝硬化和肝癌等,这种方式有望为临床治疗带来巨大的价值回报。通过该综述的阐述,全面深入地探究干细胞对于肝脏疾病的干预机制,为今后学者的后续研究借鉴参考,探索出更有效果的治疗肝脏疾病的干细胞方法,为后期临床试验的广泛推进奠定扎实的理论基础。

3.5 课题专家组对未来的建议 现有治疗肝脏疾病的有效措施尚有提高空间,通过干细胞制定个体化或标准化方案治疗肝脏疾病可能是其治疗措施的另一强大武器。相信随着干细胞分离、基因编辑、干细胞培养、移植、追踪、构建生物人工肝及组织工程肝等干细胞相关领域的不断突破,干细胞移植终将广泛用于临床肝病的治疗。目前,仍需进一步开展高质量的随机临床研究,以提高干细胞治疗肝病的安全性和有效性。同时,需要开发患者反应预测系统,以确定哪些患者将从干细胞治疗中受益最大。个性化治疗侧重于患者的具体特征,以提供高质量的治疗,同时降低不良反应的风险和无效干预的成本。因此,提高研究设计的标准化,建立全球多中心临床试验,将显著提高干细胞在肝脏疾病中的临床转化应用。

作者贡献: 文章设计和数据分析者为第一作者。论文撰写者为第一作者,资料收集由全体作者参与。通讯作者审核。

利益冲突: 文章的全部作者声明,在课题研究和文章撰写过程中不存在利益冲突。

开放获取声明: 这是一篇开放获取文章,根据《知识共享许可协议》“署名-非商业性使用-相同方式共享4.0”条款,在合理引用的情况下,允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩展,同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献,并为之建立索引,用作软件的输入数据或其它任何合法用途。

版权转让: 文章出版前全体作者与编辑部签署了文章版权转让协议。

出版规范: 文章撰写遵守了《系统综述和荟萃分析报告规范》(PRISMA声明);出版前经过专业反剽窃文献检测系统进行3次文字和图表查重;经小同行外审专家双盲审稿,同行评议认为符合期刊投稿宗。

4 参考文献 References

[1] CHENG ML, NAKIB D, PERCIANI CT, et al. The immune niche of the liver. Clin Sci. 2021;135(20):2445-2466.

- [2] MICHALOPOULOS GK, BHUSHAN B. Liver regeneration: biological and pathological mechanisms and implications. Nat Rev Gastroenterol Hepatol. 2021;18(1):40-55.
- [3] XIA SW, WANG ZM, SUN SM, et al. Endoplasmic reticulum stress and protein degradation in chronic liver disease. Pharmacol Res. 2020;161:105218.
- [4] GADD VL, ALEKSIEVA N, FORBES SJ. Epithelial Plasticity during Liver Injury and Regeneration. Cell Stem Cell. 2020;27(4):557-573.
- [5] KITTO L, HENDERSON N. Hepatic Stellate Cell Regulation of Liver Regeneration and Repair. Hepatol Commun. 2020;5(3):358-370.
- [6] MASUDA Y, YOSHIZAWA K, OHNO Y, et al. Small-for-size syndrome in liver transplantation: definition, pathophysiology and management. Hepatobiliary Pancreat Dis Int. 2020;19(4):334-341.
- [7] KULIK L, EL-SERAG HB. Epidemiology and management of hepatocellular carcinoma. Gastroenterology. 2019;156(2):477-491.e1.
- [8] GOVBACH I, KYRYK V, USTYMENKO A, et al. Stem cell therapy enhances motor activity of triceps surae muscle in mice with hereditary peripheral neuropathy. Int J Mol Sci. 2021;22(21):12026.
- [9] MESSINA A, LUCE E, HUSSEIN M, et al. Pluripotent-stem-cell-derived hepatic cells: hepatocytes and organoids for liver therapy and regeneration. Cells. 2020;9(2):420.
- [10] HU C, WU Z, LI L. Pre-treatments enhance the therapeutic effects of mesenchymal stem cells in liver diseases. J Cell Mol Med. 2020;24(1):40-49.
- [11] 韩英, 时永全, 周新民. 干细胞移植规范化治疗失代偿期肝硬化的专家共识 [J]. 中华细胞与干细胞杂志 (电子版), 2014, 4(4): 222-226.
- [12] YAMANAKA S, TAKAHASHI K. Induction of pluripotent stem cells from mouse fibroblast cultures. Tanpakushitsu Kakusan Koso. 2006;51(15):2346-2351.
- [13] AM ESCH JS 2ND, KNOEFEL WT, KLEIN M, et al. Portal application of autologous CD133⁺ bone marrow cells to the liver: a novel concept to support hepatic regeneration. Stem Cells. 2005;23(4):463-470.
- [14] THEISE ND, KRAUSE DS. Bone marrow to liver: the blood of Prometheus. Semin Cell Dev Biol. 2002;13(6):411-417.
- [15] ALISON MR, POULSOM R, JEFFERY R, et al. Hepatocytes from non-hepatic adult stem cells. Nature. 2000;406(6793):257.
- [16] THOMSON JA, ITSOKOVITZ-ELDOR J, SHAPIRO SS, et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. Science. 1998;282(5391):1145-1147.
- [17] MITO M, KUSANO M, KAWAURA Y. Hepatocyte transplantation in man. Transplant Proc. 1992;24(6):3052-3053.
- [18] TAO Y, WANG M, CHEN E, et al. Stem cells transplantation in the treatment of patients with liver failure. Curr Stem Cell Res Ther. 2018;13(3):193-201.
- [19] FIORE E, DOMINGUEZ L, BAYO J, et al. Taking advantage of the potential of mesenchymal stromal cells in liver regeneration: Cells and extracellular vesicles as therapeutic strategies. World J Gastroenterol. 2018;24(23):2427-2440.
- [20] HU C, ZHAO L, ZHANG L, et al. Mesenchymal stem cell-based cell-free strategies: safe and effective treatments for liver injury. Stem Cell Res Ther. 2020;11(1):377.
- [21] QIU G, ZHENG G, GE M, et al. Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles affect disease outcomes via transfer of microRNAs. Stem Cell Res Ther. 2018;9(1):320.
- [22] WATANABE Y, TSUCHIYA A, TERA I S. The development of mesenchymal stem cell therapy in the present, and the perspective of cell-free therapy in the future. Clin Mol Hepatol. 2021;27(1):70-80.
- [23] KO S, RUSSELL JO, MOLINA LM, et al. Liver progenitors and adult cell plasticity in hepatic injury and repair: knowns and unknowns. Annu Rev Pathol. 2020;15:23-50.
- [24] ADDANTE A, RONCERO C, LAZCANOITURBURU N, et al. A signaling crosstalk between bmp9 and hgf/c-met regulates mouse adult liver progenitor cell survival. Cells. 2020;9(3):752.
- [25] BLAU BJ, MIKI T. The role of cellular interactions in the induction of hepatocyte polarity and functional maturation in stem cell-derived hepatic cells. Differentiation. 2019;106:42-48.
- [26] DOSS MX, SACHNIDIAS A. Current challenges of ipsc-based disease modeling and therapeutic implications. Cells. 2019;8(5):403.
- [27] OHNUKI M, TAKAHASHI K. Present and future challenges of induced pluripotent stem cells. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci. 2015;370(1680):20140367.
- [28] LIN Y, GIL CH, YODER MC. Differentiation, evaluation, and application of human induced pluripotent stem cell-derived endothelial cells. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2017;37(11):2014-2025.

- [29] INOUE T, IWAZAKI N, ARAKI T, et al. Human-induced pluripotent stem cell-derived hepatocytes and their culturing methods to maintain liver functions for pharmacokinetics and safety evaluation of pharmaceuticals. *Curr Pharm Biotechnol*. 2020;21(9):773-779.
- [30] MALAKHOVA AA, GRIGOR'EVA EV, VASILYEVA OY, et al. Generation of two induced pluripotent stem cell lines from peripheral blood mononuclear cells of a patient with Wilson's disease. *Stem Cell Res*. 2020;47:101922.
- [31] DAMDIMOPOULOU P, RODIN S, STENFELT S, et al. Human embryonic stem cells. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2016;31:2-12.
- [32] HAN S, TAN C, DING J, et al. Endothelial cells instruct liver specification of embryonic stem cell-derived endoderm through endothelial VEGFR2 signaling and endoderm epigenetic modifications. *Stem Cell Res*. 2018;30:163-170.
- [33] WOO D, KIM S, LIM H, et al. Direct and indirect contribution of human embryonic stem cell-derived hepatocyte-like cells to liver repair in mice. *Gastroenterology*. 2012;142(3):602-611.
- [34] ALEXANDER T, BONDANZA A, MURARO PA, et al. SCT for severe autoimmune diseases: consensus guidelines of the European Society for Blood and Marrow Transplantation for immune monitoring and biobanking. *Bone Marrow Transplant*. 2015;50(2):173-180.
- [35] HUR YH, FENG S, WILSON KF, et al. Embryonic stem cell-derived extracellular vesicles maintain ESC stemness by activating FAK. *Dev Cell*. 2021;56(3):277-291.e6.
- [36] CERNIGLIARO V, PELUSO R, ZEDDA B, et al. Evolving cell-based and cell-free clinical strategies for treating severe human liver diseases. *Cells*. 2020;9(2):386.
- [37] TSOLAKI E, ATHANASIOU E, GOUNARI E, et al. Hematopoietic stem cells and liver regeneration: differentially acting hematopoietic stem cell mobilization agents reverse induced chronic liver injury. *Blood Cells Mol Dis*. 2014;53(3):124-132.
- [38] SALAMA H, ZEKRI A, ZERN M, et al. Autologous hematopoietic stem cell transplantation in 48 patients with end-stage chronic liver diseases. *Cell Transplant*. 2010;19(11):1475-1486.
- [39] YOUNOSSI Z, TACKE F, ARRESE M, et al. Global perspectives on nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology*. 2019;69(6):2672-2682.
- [40] SALEH F, JABER H, EID A. Effect of Adipose derived mesenchymal stem cells on multiple Organ Injuries in diet-induced obese mice. *Tissue Barriers*. 2021;1952150.
- [41] YANG M, CUI Y, SONG J, et al. Mesenchymal stem cell-conditioned medium improved mitochondrial function and alleviated inflammation and apoptosis in non-alcoholic fatty liver disease by regulating SIRT1. *Biochem Biophys Res Commun*. 2021;546:74-82.
- [42] STURM L, ROSSLE M, SCHULTHEIB M. Komplikationen der Leberzirrhose – medikamentöse versus interventionelle Therapie. *Dtsch Med Wochenschr*. 2019;144(18):1259-1266.
- [43] KWAK K, CHO H, YANG J, et al. Current perspectives regarding stem cell-based therapy for liver cirrhosis. *Can J Gastroenterol Hepatol*. 2018;2018:4197857.
- [44] CAO Y, JI C, LU L. Mesenchymal stem cell therapy for liver fibrosis/cirrhosis. *Ann Transl Med*. 2020;8(8):562.
- [45] WANG Y, ZHANG H, WANG H. Progress of interference of traditional chinese medicine on cirrhosis treated with bone marrow mesenchymal stem cells. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2021;2021:5569274.
- [46] SAKAI Y, FUKUNISHI S, TAKAMURA M, et al. Regenerative therapy for liver cirrhosis based on intrahepatic arterial infusion of autologous subcutaneous adipose tissue-derived regenerative (stem) cells: protocol for a confirmatory multicenter uncontrolled clinical trial. *JMIR Res Protoc*. 2020;9(3):e17904.
- [47] DALAKAS E, NEWSOME PN, BOYLE S, et al. Bone marrow stem cells contribute to alcohol liver fibrosis in humans. *Stem Cells Dev*. 2010;19(9):1417-1425.
- [48] MOHAMADNEJAD M, NAMIRI M, BAGHERI M, et al. Phase 1 human trial of autologous bone marrow-hematopoietic stem cell transplantation in patients with decompensated cirrhosis. *World J Gastroenterol*. 2007;13(24):3359-3363.
- [49] SAKAI Y, FUKUNISHI S, TAKAMURA M, et al. Clinical trial of autologous adipose tissue-derived regenerative (stem) cells therapy for exploration of its safety and efficacy. *Regen Ther*. 2021;18:97-101.
- [50] TOMESCU D, POPESCU M, BIANCOFIORE G. Liver transplantation for acute-on-chronic liver failure. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol*. 2020;34(1):25-33.
- [51] TREBICKA J, SUNDARAM V, MOREAU R, et al. Liver transplantation for acute-on-chronic liver failure: science or fiction?. *Liver Transpl*. 2020;26(7):906-915.
- [52] CHEN H, TANG S, LIAO J, et al. Therapeutic effect of human umbilical cord blood mesenchymal stem cells combined with G-CSF on rats with acute liver failure. *Biochem Biophys Res Commun*. 2019;517(4):670-676.
- [53] CECCARIGLIA S, CARGNONI A, SILINI AR, et al. Autophagy: a potential key contributor to the therapeutic action of mesenchymal stem cells. *Autophagy*. 2020;16(1):28-37.
- [54] WANG J, LIU Y, DING H, et al. Mesenchymal stem cell-secreted prostaglandin E2 ameliorates acute liver failure via attenuation of cell death and regulation of macrophage polarization. *Stem Cell Res Ther*. 2021;12(1):15.
- [55] ANTINOZZI C, SGRO P, DI L. Advantages of phosphodiesterase type 5 inhibitors in the management of glucose metabolism disorders: a clinical and translational issue. *Int J Endocrinol*. 2020;2020:7078108.
- [56] LI YH, XU Y, WU HM, et al. Umbilical cord-derived mesenchymal stem cell transplantation in hepatitis B virus related acute-on-chronic liver failure treated with plasma exchange and entecavir: a 24-month prospective study. *Stem Cell Rev Rep*. 2016;12(6):645-653.
- [57] CHEN B, WANG Y, QIAN J, et al. Human mesenchymal stem cells for hepatitis B virus-related acute-on-chronic liver failure: a systematic review with meta-analysis. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2018;30(10):1224-1229.
- [58] XU W, HE H, PAN S, et al. Combination treatments of plasma exchange and umbilical cord-derived mesenchymal stem cell transplantation for patients with hepatitis b virus-related acute-on-chronic liver failure: a clinical trial in china. *Stem Cells Int*. 2019;2019:4130757.
- [59] SUCHER E, SUCHER R, GRADISTANAC T, et al. Autoimmune hepatitis-immunologically triggered liver pathogenesis-diagnostic and therapeutic strategies. *J Immunol Res*. 2019;2019:9437043.
- [60] BERNAREGGI D, POUYANFARD S, KAUFMAN DS. Development of innate immune cells from human pluripotent stem cells. *Exp Hematol*. 2019;71:13-23.
- [61] CHEN L, LU FB, CHEN DZ, et al. BMSCs-derived miR-223-containing exosomes contribute to liver protection in experimental autoimmune hepatitis. *Mol Immunol*. 2018;93:38-46.
- [62] CHEN Y, CHEN S, LIU LY, et al. Mesenchymal stem cells ameliorate experimental autoimmune hepatitis by activation of the programmed death 1 pathway. *Immunol Lett*. 2014;162(2 Pt B):222-228.
- [63] WANG W, GUO H, LI H, et al. Interleukin-35 gene-modified mesenchymal stem cells protect concanavalin a-induced fulminant hepatitis by decreasing the interferon gamma level. *Hum Gene Ther*. 2018;29(2):234-241.
- [64] LOU G, CHEN L, XIA C, et al. MiR-199a-modified exosomes from adipose tissue-derived mesenchymal stem cells improve hepatocellular carcinoma chemosensitivity through mTOR pathway. *J Exp Clin Cancer Res*. 2020;39(1):4.
- [65] LIU YC, YE H CT, LIN KH. Cancer stem cell functions in hepatocellular carcinoma and comprehensive therapeutic strategies. *Cells*. 2020;9(6):1331.
- [66] GU H, YAN C, WAN H, et al. Mesenchymal stem cell-derived exosomes block malignant behaviors of hepatocellular carcinoma stem cells through a lncRNA C5orf66-AS1/microRNA-127-3p/DUSP1/ERK axis. *Hum Cell*. 2021;34(6):1812-1829.
- [67] YOON AR, HONG J, LI Y, et al. Mesenchymal stem cell-mediated delivery of an oncolytic adenovirus enhances antitumor efficacy in hepatocellular carcinoma. *Cancer Res*. 2019;79(17):4503-4514.
- [68] HE C, JAFFAR A, ASEERVATHAM G, et al. Microvesicles- promising tiny players' of cancer stem cells targeted liver cancer treatments: The interesting interactions and therapeutic aspects. *Pharmacol Res*. 2021;169:105609.
- [69] WU J, WU Y, LUO Y, et al. Circulating miRNA-199a and miRNA-122 levels as potential diagnostic and prognostic biomarkers for hepatocellular carcinoma. *Ann Clin Lab Sci*. 2020;50(2):219-227.
- [70] MA Y, LIU J, LIN L, et al. Exosomal microRNA-15a from mesenchymal stem cells impedes hepatocellular carcinoma progression via downregulation of SALL4. *Cell Death Discov*. 2021;7(1):224.
- [71] LOU G, CHEN Z, ZHENG M, et al. Mesenchymal stem cell-derived exosomes as a new therapeutic strategy for liver diseases. *Exp Mol Med*. 2017;49(6):e346.

(责任编辑: WJ, ZN, ZH)