

骨髓间充质干细胞对肝病的治疗作用

张 千, 邓存良*

(泸州医学院 附属医院 感染科, 四川 泸州 646000)

摘要:骨髓间充质干细胞(MSCs)是一群具有多向分化潜能的成体干细胞,具有抑制T细胞活化、调节异体移植的免疫耐受等免疫特性。肝移植是各种晚期肝病的主要治疗方法,但由于器官来源的缺乏和伴随的免疫排斥反应,其应用受到限制。研究证明骨髓是肝祖细胞的来源之一,在一定的条件下,骨髓间充质干细胞能够分化为功能性肝细胞并分泌相关细胞因子,促进肝细胞的再生,为临床治疗各种肝损害提供了新的途径。

关键词:骨髓间充质干细胞;肝病;治疗

中图分类号:R 575.3; R 459.9 文献标志码:A

The treatment of hepatic disease with mesenchymal stem cells

ZHANG Qian, DENG Cun-liang*

(Dept. of Infection, Luzhou Medical College, Luzhou 646000, China)

Abstract: Mesenchymal stem cells are multipotent stem cells with specific immune characteristics, for example, suppressing activation of T cells and modulating immune tolerance of allogeneic transplants. Liver transplantation is the primary treatment for various end-stage hepatic diseases but is hindered by the lack of donor organs and by complications associated with rejection and immunosuppression. It has been shown that bone marrow is one of transplantable source of hepatic progenitors. Multipotent bone marrow-derived mesenchymal stem cells can differentiate into functional hepatocytes, secrete related cytokines promoting regeneration of the hepatocytes under defined conditions, it provides a new pathway for treating of liver injury. The function of mesenchymal stem cells for hepatic disease is discussed in this review.

Key words: mesenchymal stem cells; hepatic disease; treatment

干细胞治疗作为器官移植的替代治疗方法越来越受到关注,骨髓间充质干细胞是一种具有自我增殖和分化功能的细胞,具有组织再生能力,在一定的条件下,骨髓间充质干细胞可分化为肝细胞,对各种肝病有很好的治疗作用。

1 骨髓间充质干细胞的免疫特性

骨髓间充质干细胞(mesenchymal stem cells,

MSCs)能在体内外抑制T细胞的活化已经得到证实,骨髓间充质干细胞亦能调节包括抗原提呈细胞、T细胞及自然杀伤细胞等细胞的免疫功能,例如异体抗原识别和清除,但机制不明确^[1]。Ozawa等^[2]发现一氧化氮(NO)参与骨髓间充质干细胞介导的对T细胞增殖的抑制作用。骨髓间充质干细胞还有抗炎、免疫增强及调节免疫反应的作用,也能调节异体移植的免疫耐受,亦具有传递基因的能力^[3]。

骨髓间充质干细胞的这种免疫特性为干细胞移植提供了有利条件。

2 骨髓间充质干细胞治疗肝病的可能性

国内外学者做了大量的研究证明,骨髓间充质干细胞对肝病有治疗作用。Kuo 等^[4]研究证明,用 CCL4 造成爆发性肝衰竭大鼠模型,分别经脾脏和尾静脉向这些模型注入骨髓间充质干细胞来源的肝细胞和骨髓间充质干细胞,结果显示,骨髓间充质干细胞更有效地挽救肝衰竭和促进肝脏再生,为肝病治疗提供了能够取代肝移植行之有效的办法。目前研究显示,骨髓间充质干细胞能阻止心肌梗死、急性肾功能衰竭模型中的实质细胞的丧失和促进组织的恢复^[5-7]。Van Poll 等^[8]为了研究骨髓间充质干细胞是否也能治疗急性肝损伤,促进其再生,用 D-氨基半乳糖导致小鼠急性肝损伤,然后输入含 MSC 的条件培养基(MSC-conditioned medium, MSC-CM)为肝细胞的再生提供了有利的生存环境,抑制肝损伤标志物的释放,而且能减少肝细胞坏死,使肝细胞增殖数增加 3 倍, MSC-CM 对肝细胞的直接抗凋亡作用在体外实验亦得到证实,这表明 MSC-CM 能为肝损伤提供营养,抑制肝细胞坏死和刺激其再生,为治疗急性肝损伤提供了新的途径。Chamberlain 等^[9]将人 MSCs 分别通过腹腔和肝内注射注入到胎羊中,发现经肝内注射途径的肝细胞再生更明显,在肝实质广泛分布肝细胞,而且 MSCs 产生的肝细胞不需首先定位骨髓和产生造血干细胞。国内在这方面也进行了大量的研究。马俊勋等^[10]用贴壁法分离培养大鼠骨髓间充质干细胞,并用含肝细胞生长因子和表皮细胞生长因子的培养液悬浮诱导,然后经大鼠门静脉移植,在诱导后的骨髓间充质干细胞悬液中检测 CK18、CD34 阳性细胞的分布迁移情况,成功地将 MSCs 诱导为类肝细胞修复急性肝损伤。

3 骨髓间充质干细胞分化为肝细胞及其机制

3.1 骨髓间充质干细胞分化为肝细胞

在一定的条件下,骨髓间充质干细胞能够分化为功能性肝细胞。那么什么条件能使骨髓间充质干细胞更有效安全分化为肝细胞? Kazemnejad 等^[11]为了让骨髓间充质干细胞在很好的培养条件下分化为肝细胞,将 MSCs 接种于 3D 相容纳米纤维支架蛋

白培养,结果显示,在培养 3 周内,白蛋白、AFP、细胞色素 P450 3A4、CK18 和 CK19 迅速表达,与 2D 培养基相比,上述指标表达更强。骨髓间充质干细胞分化为肝细胞受到非实质细胞组成的微环境调节。Deng 等^[12]发现,静止的 HSCs 和体外培养活化的 HSCs 没有调节 MSCs 分化的能力,与 Kupffer 细胞共同培养活化的 HSCs 表达更多的肝细胞生长因子,表明与 Kupffer 细胞共同培养而完全活化的 HSCs 能够调节 MSCs 分化为肝细胞。MSCs 是否被定向诱导和分化对临床治疗是非常重要的,传统的培养基不能很好地控制定向诱导和分化,因为在这个过程中细胞会消耗某些物质,分泌细胞因子和废物。Ju 等^[13]用一种微流体装置将 MSCs 导入微腔中培养,肝细胞分化培养基被注入到其中,以此来评价 MSCs 分化为肝细胞的能力,同时用普通的 96 孔培养板培养进行比较,发现对于细胞培养来说,微流体培养基将是很好的工具。以上为我们更好地让 MSCs 分化为肝细胞提供了很好的资料。

3.2 骨髓间充质干细胞治疗肝病的可能机制

骨髓间充质干细胞有自我更新和分化的能力,因此成为细胞治疗的重要来源,但其分化为肝细胞的机制尚不清楚。Choi 等^[14]研究了细胞因子在 MSCs 增殖过程中的信号传导通路,发现成纤维细胞生长因子-2 和-4 (fibroblast growth factor-2 and-4, FGF-2 和-4)能够促进干细胞抗原-1 阳性[stem cell antigen-1(+), Sca-1(+)]的 MSCs 增殖,可能是通过激活 ERK1/2 和 PI3K-Akt 信号通路来实现的。含有 FGF-2 和-4 的 Sca-1(+)的 MSCs 在 15 min 内其 pERK1/2 和 pAkt 水平上调,而且上调的 pERK1/2 和 pAkt 水平能够被 MEK1/2 抑制剂、U0126、PI3 抑制剂和 LY294002 抑制。在进行干细胞移植治疗时, MSCs 必须通过血管内皮细胞到达相应的器官,但是其是如何通过血管内皮细胞到达相应器官的机制不明。Steingen 等^[15]在研究 MSCs 治疗心血管疾病时发现, MSCs 能够整合到血管内皮细胞单层,但是其黏附、整合和转移的时间要依赖内皮细胞表型,心肌的静脉血管是最适宜的。三维重建显示, MSCs 通过血管侵入血管内皮和周围组织,不仅仅需要血管细胞黏附因子-1 (vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1)和晚期抗原 (very late antigen-4, VLA-4)的相互作用,也能够激活 β -1 整合素,通过 ELISA 证明

了 MSCs 能够分泌基质金属蛋白酶-2 (matrix metalloproteinase-2, MMP-2) 和其他的细胞因子, 加快 MSCs 侵入血管内皮和周围组织。Ke 等^[16] 在体外成功地将 MSCs 分化为肝细胞, 在分化过程中的 0、7、11 和 21 d, *Wnt-1*、*Wnt-5*、*Frizzled1*、*DSH* (disheveled) 和糖原合酶激酶 (glycogen synthase kinase 3 beta, GSK-3 β) 的 mRNA 水平较高, 而且用 DKK1 处理的骨髓间充质干细胞 (bone marrow-derived mesenchymal stem cells, BMSCs) 抑制 Wnt-1 信号, 导致 BMSCs 更早地表达白蛋白, 用 Wnt-1 处理的 BMSCs 上调 Wnt-1 信号, 将抑制 BMSCs 向肝细胞分化, 说明抑制 Wnt-1 信号促进 BMSCs 分化为肝细胞。Epimorphin 是肝星状细胞 (HSCs) 的一种间充质细胞表面相关因子。Miura 等^[17] 证实和 HSCs 共同培养时, 肝干细胞样细胞 (HSLCs) 能够表达白蛋白、转铁蛋白、酪氨酸转氨酶, 而抗 Epimorphin 抗体能够阻止 HSLCs 向肝细胞分化。在形态上, 与 HSCs 共同培

养时, HSLCs 能够聚集在一起, 与 Epimorphin 接触, 发生形态改变, 从平坦形变为立方形, 随后形成胆管样细胞。所以, Epimorphin 可以诱导 HSLCs 通过与上皮间充质细胞接触分化为肝细胞。

4 骨髓间充质干细胞对肝病治疗的问题及展望

骨髓间充质干细胞是多功能细胞, 具有免疫抑制作用, 在移植工程和再生方面的作用越来越大。但是也存在缺点, 比如 MSCs 是否发生继发突变而导致肿瘤, Ren 等^[18] 发现, 大鼠的骨髓间充质干细胞表达 PAX-FKHR 形成肺横纹肌肉瘤。为了确保临床应用的安全有效, 治疗的每一个环节都应有严格限定, 比如组织来源及分离、培养时细胞密度、培养基类型等等。细胞的质量控制必须考虑培养细胞的表型、功能、微生物安全等。总之, MSCs 作为细胞药物其质量保证体系还有待完善。

参考文献:

- [1] Rasmusson I. Immune modulation by mesenchymal stem cells[J]. *Exp Cell Res*, 2006, 312:2169–2179.
- [2] Ozawa K, Sato K, Oh I, *et al.* Cell and gene therapy using mesenchymal stem cells (MSCs) [J]. *Autoimmun*, 2008, 30:121–127.
- [3] Patel SA, Sherman L, Munoz J, *et al.* Immunological properties of mesenchymal stem cells and clinical implications [J]. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*, 2008, 56: 1–8.
- [4] Kuo TK, Hung SP, Chuang Chiaohui, *et al.* Stem cell therapy for liver disease: parameters governing the success of using bone marrow mesenchymal stem cells [J]. *Gastroenterology*, 2008, 134:2111–2121.
- [5] 牛丽丽, 曹丰, 郑敏, 等. 同种异体移植骨髓间充质干细胞治疗大鼠心肌梗死 [J]. *中华内科杂志*, 2004, 43: 186–190.
- [6] Wang Jianan, Fan Youqi, Li Changling, *et al.* Human bone marrow-derived mesenchymal stem cells transplanted into damaged rabbit heart to improve heart function [J]. *Zhejiang Univ Sci B*, 2005, 6:242–248.
- [7] Qian Hui, Yang Huan, Xu Wengrong, *et al.* Bone marrow mesenchymal stem cells ameliorate rat acute renal failure by differentiation into renal tubular epithelial-like cells [J]. *Int J Mol Med*, 2008, 22:325–332.
- [8] Van Poll D, Parekkadan B, Cho CH, *et al.* Mesenchymal stem cell-derived molecules directly modulate hepatocellular death and regeneration *in vitro* and *in vivo* [J]. *Hepatology*, 2008, 47:1634–1643.
- [9] Chamberlain J, Yamagami T, Colletti E, *et al.* Efficient generation of human hepatocytes by the intrahepatic delivery of clonal human mesenchymal stem cells in fetal sheep [J]. *Hepatology*, 2007, 46:1935–1945.
- [10] 马俊勋, 杨丽萍, 何忠杰, 等. 大鼠骨髓间充质细胞诱导为类肝细胞移植修复急性肝损伤 [J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2008, 12:4026–4030.
- [11] Kazemnejad S, Allameh A, Seoleimani M, *et al.* Functional hepatocyte-like cells derived from human bone marrow mesenchymal stem cells on a novel 3-dimensional biocompatible manofibrous scaffold [J]. *Int J Artif Organs*, 2008, 31: 500–507.
- [12] Deng Xing, Chen Yuexiang, Zhang Xin, *et al.* Hepatic stellate cells modulate the differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells into hepatocyte-like cells [J]. *Cell Physiol*, 2008, 217: 138–144.
- [13] Ju Xiuli, Li Dong, Gao Ning, *et al.* Hepatogenic differentia-

- tion of mesenchymal stem cells using microfluidic chips [J]. *Biotechnol*, 2008, 3: 383 – 391.
- [14] Choi SC, Kim SJ, Choi JH, *et al.* Fibroblast growth factor-2 and -4 promote the proliferation of bone marrow mesenchymal stem cells by the activation of the PI3K-Akt and ERK1/2 signaling pathways [J]. *Cells Dev*, 2008, 17: 725 – 736.
- [15] Steingen C, Brenig F, Baumgartner L, *et al.* Characterization of key mechanisms in transmigration and invasion of mesenchymal stem cells [J]. *Mol Cell Biol*, 2008, 28: 1072 – 1084.
- [16] Ke Zunfu, Zhou Feng, Wang Liantang, *et al.* Down-regulation of Wnt signaling could promote bone marrow-derived mesenchymal stem cells to differentiate into hepatocytes [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 367: 342 – 348.
- [17] Miura K, Nagai H, Ueno Y, *et al.* Epimorphin is involved in differentiation of rat hepatic stem-like cells through cell-cell contact [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, 311: 415 – 423.
- [18] Ren YX, Finckenstein FG, Abdueva DA, *et al.* Mouse mesenchymal stem cells expressing PAX-FKHR form alveolar rhabdomyosarcomas by cooperating with secondary mutations [J]. *Cancer Res*, 2008, 68: 6587 – 6597.

银杏不会减缓心智衰退

据美国 WedMD 大众医疗新闻网 (2009 – 12 – 29) 报道, 一篇持续 6 年的临床研究显示, 畅销的银杏补充品未能延缓年龄相关的心智衰退, 未能预防年长者的失智或阿尔茨海默病。这项研究发现发表在 2009 年 12 月 23/30 日的《美国医学会期刊》(Journal of the American Medical Association) 上。

第一作者、Steven T. DeKosky 医生等人分析数据以寻找银杏可以延缓健康年长者、或那些已经有认知不佳初步征兆者的心智衰退的证据。结果并未发现任何证据。

研究者表示, 对于认知正常与轻微认知不佳的年长成人, 相较于安慰剂组, 使用银杏 120 mg/每天 2 次组的认知衰退并没有变得更少。

问题不在于强度, 该研究使用的是 Schwabe Pharmaceuticals 药厂在德国以药品管理和贩卖的标准银杏萃取物。

问题也不在于检查严格, 这些 72 ~ 96 岁的研究对象每年接受两次问卷, 检测他们的各种心智功能, 包括记忆、注意力、视觉空间能力、语言、执行功能。

不论检测哪种心智功能, 都显示银杏无法帮助延缓认知衰退。

这项研究发现响应了 2009 年 Cochrane Review 的银杏研究, 其认为该类补充品并无认知方面的帮助。

营养品业界的代表团体、可靠营养品协会 (Council for Responsible Nutrition) 认为 DeKosky 医生的研究不应被视为关于银杏的最后研究。

该协会的科学与管理事务副理事长 Douglas MacKay 在书面声明中指出, 认知衰退有许多原因引起, 不论是银杏或者其他任何单方治疗, 都不会是万灵丹。MacKay 表示将继续主张银杏是年长者可以安全使用、对认知健康有效的建议。

可以对抗难治型肺癌的成分

据美国 WedMD 大众医疗新闻网 (2009 – 12 – 29) 报道, 达那-法柏癌症研究治疗中心的科学家表示, 他们开发出一种可以终止常见之药物抵抗肺癌的成分。他们的研究发表于 2009 年 12 月 24/31 日的《自然》(Nature) 期刊上。

科学家们表示, 化疗药物 Iressa 和 Tarceva 无作用的非小细胞肺癌会被达那-法柏实验室设计配方的一个成分影响。

研究者表示, 目前的 EGFR 抑制剂、Iressa 和 Tarceva 的作用是通过阻止肿瘤细胞生长所必需的 EGFR。

不过, 随着药物应用的时间延长, 肿瘤细胞会逐渐出现即使在 Iressa 和 Tarceva 作用下仍可再度生长的一些突变。

科学家们表示, 他们发现的 WZ4002 这个成分不只可以延缓肿瘤生长, 还可以选择性针对肿瘤中的药物抵抗突变 EGFR, 且对健康组织中正常 EGFR 的效用相对较小。

研究者表示, 新成分的框架不同于其他癌症药物, 已知为上皮细胞生长因子受体 (EGFR) 激酶。

仍需进行许多研究, 才可以确认此成分与相关成分是否可以提供有效的治疗, 但是研究者表示, 他们的发现显示出找到针对某些特定基因改变之癌症的特殊成分的重要性。

科学家们表示, 这些成分应用于患者的讨论还言之过早, 但是, 研究者之一、同样来自达那-法柏的 Michael J. Eck 博士表示, 他对他们的方法将引导出一个对全球每年发生 Iressa 和 Tarceva 抵抗性的数以千计的非小细胞肺癌患者有效的治疗很乐观。

研究者表示, 新成分在大鼠研究中显示有效, 他们希望将来在临床试验也有效, 且比现在使用的药物更有耐受性。

肺癌是美国男性和女性癌症死亡的最常见原因, 其中非小细胞肺癌占 85% ~ 90%。