



doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2017.07.018  
http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.1005-6947.2017.07.018  
Chinese Journal of General Surgery, 2017, 26(7):926-933.

· 文献综述 ·

## 肝内外干 / 祖细胞参与肝再生的研究进展

黄民<sup>1,2</sup>, 黄燊宸<sup>1,2</sup> 综述 刘卫辉<sup>2</sup> 审校

(1. 西南医科大学临床医学院, 四川 泸州 646000; 2. 中国人民解放军成都军区总医院 全军普通外科中心, 四川 成都 610083)

### 摘要

肝再生是指由损伤刺激(手术、创伤、中毒、感染、坏死等)引起的受损肝组织迅速增生使残肝体积增大,质量增加。根据肝损伤原因和损伤的程度肝再生可以主要分为3个不同的层次:肝细胞主导的肝再生、肝内干/祖细胞介导的肝再生和肝外干/祖细胞参与的肝再生。当肝脏受到轻至中度损伤时,肝脏再生通常由成熟的肝细胞所参与完成;当肝脏受到严重的损伤或肝细胞的增殖受到明显抑制时,肝干/祖细胞将参与肝再生过程。除了肝内干细胞参与作用外,肝外的骨髓来源干细胞,内皮祖细胞来源的干细胞均参与了肝再生,但其具体机制目前尚不明了。笔者就肝再生最新关注的焦点,尤其是干/祖细胞参与的肝再生和其潜在的临床应用进行综述。

### 关键词

肝再生; 干细胞; 内皮祖细胞; 间充质基质细胞; 综述文献  
中图分类号: R657.3

## Participation of intra- and extrahepatic stem/progenitor cells in liver regeneration: recent advances

HUANG Min<sup>1,2</sup>, HUANG Canchen<sup>1,2</sup>, LIU Weihui<sup>2</sup>

(1. Clinical Medical College, Southwest Medical University, Luzhou, Sichuan 64600, China; 2. General Surgery Center of PLA, Chengdu Military General Hospital, Chengdu 610083, China)

### Abstract

Liver regeneration refers to the rapid proliferation of impaired liver tissue caused by injurious stimulus (surgery, trauma, poisoning, infection, and necrosis, etc.) to increase the volume and weight of the remnant liver. Liver regeneration can be divided into three major levels according to the cause and severity of the injury: hepatocyte dominant regeneration, intrahepatic stem/progenitor cells mediated regeneration, and extrahepatic stem/progenitor cells participative regeneration. Liver regeneration is usually completed by division of the mature liver cells after the liver undergoing mild to moderate injuries. However, when the liver is severely damaged or the proliferation of hepatocytes is strongly inhibited, liver stem/progenitor cells will participate in the liver regeneration process. Besides the participation of the intrahepatic stem cells, the extrahepatic bone marrow-derived stem cells and stem cells reprogrammed from endothelial progenitor cells are also involved in liver regeneration, but the detailed mechanism remains unclear. Here, the authors address the latest focuses on liver regeneration, especially on the stem/progenitor cells participated liver regeneration and its potential

基金项目: 四川省杰出青年基金资助项目(2015JQ0001)。

收稿日期: 2017-03-13; 修订日期: 2017-06-11。

作者简介: 黄民, 西南医科大学临床医学院硕士研究生, 主要从事肝脏再生基础与临床应用方面的研究。

通信作者: 刘卫辉, Email: audiliu12@163.com

clinical application.

**Key words** Liver Regeneration; Stem Cells; Endothelial Progenitor Cells; Mesenchymal Stromal Cells; Review

**CLC number:** R657.3

肝脏具有巨大的再生能力,其参与再生的细胞取决于肝脏损伤的性质和严重程度<sup>[1]</sup>。完整肝再生过程可以整合成两大部分:再生和创伤修复,换而言之,即就肝损伤而言,其包含高效的实质修复和适当的血管等间质的完整修复,血管等间质的再生将进一步有效促进肝再生。一般来说,根据肝损伤类型的不同,可以将肝再生主要分为3种不同层次。第一,在生理情况下,或由于外科手术的切除造成的轻至中度肝实质缺失时,肝质量更新、修复主要依赖成熟肝细胞的分裂维持。第二,除了成熟的肝细胞外,定植或游离的干/祖细胞(下文涉及的干/祖细胞均指成体干/祖细胞)也积极参与肝再生。例如,活化的干/祖细胞已经广泛确认存在于急性或慢性肝损伤中<sup>[2-3]</sup>。当肝脏严重损伤或肝细胞的增殖受到抑制时,肝脏将动员活化的肝干/祖细胞(liver stem/progenitor cells, LSPCs)来修复损伤的肝实质细胞。肝卵圆细胞和小肝样祖细胞是常见的两种肝干/祖细胞,他们能够快速增殖分化成肝细胞和胆管细胞以弥补肝实质的缺失和维持肝稳态。第三,除了肝内的干/祖细胞外,肝外骨髓来源的干/祖细胞也可以通过骨髓间充质干细胞融合损伤的肝细胞,或者分化为肝样细胞来促进肝再生<sup>[4]</sup>。此外,肝窦内皮来源的祖细胞也可以通过促进血管再生等从而促进肝再生修复<sup>[5]</sup>。

因此,深入了解各种肝内外干/祖细胞促进肝再生的过程和机制,对临床治疗各种肝病具有重大意义。已表明在一些肝大部分切除或肝极限切除后,干/祖细胞的移植能显著改善肝功,并促进肝再生<sup>[6-7]</sup>,这为临床极限肝切除时提供了一定基础保障;其次,在一些肝硬化坏死的实验研究中证实存在肝干/祖细胞的活化动员,且其能够明显改善肝功能,提高生存期<sup>[8]</sup>,这些研究为临床动员干/祖细胞治疗一些肝病提供了部分依据。

## 1 肝干/祖细胞对肝再生的作用

### 1.1 肝干/祖细胞参与肝再生的细胞学基础

近期研究证实,肝受损严重或肝细胞增殖受

抑制时,肝干/祖细胞才是参与肝脏再生修复的主角,Alison等<sup>[9]</sup>早期在急性肝损伤的动物模型中发现了卵圆细胞(肝干/祖细胞的一种),并证实其显著促进了受损肝脏的修复。然而,Miyaoka等<sup>[10]</sup>利用基因系谱追踪法发现整个再生恢复过程中,肝细胞平均只完成了0.7次有丝分裂,而肝脏的大体体积却增加了1.5倍,据此认为肝细胞的病理增生才是再生过程中的主要作用。对此,笔者认为,二者可能并不矛盾,再生早期肝脏病理变化可能以残余肝细胞病理肥大为主,以弥补早期肝急剧肝损伤,而中后期随着干细胞增殖高峰的出现,干细胞逐渐增多从而发挥主要作用,进而两者共同促进肝脏恢复。

前述的研究<sup>[11]</sup>已表明,特定情况下,肝干/祖将被激活,参与肝脏组织的修复再生,如急性的肝损伤和肝硬化等情况下。并且,与多数其他上皮组织(肠和皮肤)中定植的干细胞需要持续的增殖分化以更新日常的丢失来维持器官组织功能的干细胞不同,肝干/祖细胞具有“特招”的特性:一方面在正常健康条件下,肝干/祖细胞并不参与组织更新修复;另一方面其表面标志物仅在肝损伤后干/祖细胞被激活后表达。当肝干/祖细胞被活化后,其迁移到肝小叶分化成肝细胞或胆管上皮细胞去参与肝再生。

### 1.2 动员肝干/祖细胞参与肝再生的模型

为了动员肝干/祖细胞,抑制成熟肝细胞的增殖是重要的一步<sup>[12]</sup>,经典的抑制肝细胞增殖药物主要是二乙酰氨基苄(2-acetylaminofluorene, 2-AAF)和倒千里光碱,其中2-AAF能够显著抑制成熟肝细胞的增殖而不影响干细胞的增殖。为了激活肝干/祖细胞参与啮齿类动物肝再生,早期做过大量动物模型研究,包括各类化学物质诱导和物理损伤诱导模型。化学物质主要包括早期的乙硫氨基酪酸(ethionine)<sup>[13]</sup>、半乳糖胺(galactosamine)<sup>[14]</sup>、四氯化碳(CCl<sub>4</sub>)和烯丙醇(allyl alcohol, AA)等。物理损伤模型主要包括各种比例的肝切除模型,但Solt-Farber等的改良法(70% PHx+2-AAF)一直以来被认为是研究肝再生的经典模型<sup>[15]</sup>,此模型制作包括大鼠肝切术

前4 d和术后7 d灌胃2-AAF以抑制肝细胞增殖,第5天行70%的肝切除。在此种模型中,受损肝脏成熟的肝细胞增殖被抑制,进而动员肝干/祖细胞,激活的干/祖细胞进一步分化成肝细胞和胆管细胞以恢复肝脏功能。在人类研究中表明至少50%的肝缺损后才能明显激活肝干/祖细胞,并且肝干/祖细胞的Ki-67阳性率与增殖的肝细胞Ki-67阳性率成负相关<sup>[16]</sup>。上述表明肝脏的缺损和/或肝细胞增殖受损是激活肝干/祖细胞是不可或缺的部分。目前普遍的应用70%PHx+2-AAF经典模型中,在肝部分切除前后,肝细胞增殖被2-AAF所抑制从而有利于肝干/祖细胞的活化。然而,这种模型并不适用于小鼠,因其无法有效激活干/祖细胞。取而代之的是一些含毒物的饮食诱导模型,其中最广泛使用的是含(3,5-diethoxycarbonyl-1,4-dihydrocollidine,DDC)饮食诱导模型<sup>[17]</sup>和含(choline-deficient ethionine,CDE)饮食诱导模型<sup>[18]</sup>。

### 1.3 肝干/祖细胞定位和细胞表型分子

通常来说,肝干/祖细胞存在肝内终末胆管分支处,即赫令管<sup>[19]</sup>(canals of Hering)。一些研究也发现其散在分布在肝实质。由于其缺乏特异性的标记物,从而导致了对其认知的局限。本文中简单介绍一些目前公认度较高的标志物。由于干/祖细胞缺乏特征性的标记分子,为了避免假阳性,通常联合多种标记物以提高准确度:包括CD133<sup>[20]</sup>、上皮细胞黏附分子(EpCAM)<sup>[21]</sup>、Dlk1(Delta-like 1 homolog)<sup>[22]</sup>和CD13<sup>[23]</sup>等联合,如CD13+CD133、EpCAM+Dlk1、CD133+EpCAM。此外CD45<sup>-</sup>/TER119<sup>-</sup>/c-Kit<sup>-</sup>/CD29<sup>+</sup>/CD49f<sup>+</sup>和CD45<sup>-</sup>/TER119<sup>-</sup>/c-Kit<sup>-</sup>/c-Met<sup>+</sup>/CD49f<sup>+</sup><sup>[24]</sup>也能分别有效富集和鉴别肝干/祖细胞。随着研究的进展,许多新的表型分子也用于鉴别肝干/祖细胞,如Thy1、Sca-1、ICAM-1和Foxl1<sup>[25]</sup>等。表面活性的单克隆抗体MIC1-1C3也可用于鉴别肝干/祖细胞,并且其在正常肝脏中几乎不表达<sup>[26]</sup>,而作为肠道系统的干细胞标记分子Lgr5,最近也被发现存在于其他组织和器官中,如在使用Lgr5-LacZ和Lgr5-CreERT2基因转入的小鼠实验中证实Lgr5也特异性表达于肝干/祖细胞中<sup>[27]</sup>。

### 1.4 肝干/祖细胞参与肝再生的机制

1.4.1 协同肝干/祖细胞促进肝再生的细胞 肝严重损伤后干/祖细胞的出现和扩增并不是一个自发的过程,其涉及到多种其他类型的细胞,这些细胞直接或间接同干/祖细胞或其前体细胞相互作用,

从而触发干/祖细胞反应。生理情况下,组织干/祖细胞受到其周围环境的支持和调控,习惯称之为干细胞池或壁龛(微环境)。肝干/祖细胞微环境包含了多种肝实质和非实质的细胞、趋化的炎症细胞、细胞外基质等成分。这些实质和非实质细胞能够分泌大量激素和生长调节因子同肝干/祖细胞交互作用从而调节其增殖和分化过程。例如,已证实巨噬细胞和T细胞能同肝干/祖细胞相互作用从而影响肝干祖细胞的增殖、分化和迁移。利用肝再生的三维模型也发现<sup>[28]</sup>:成纤维细胞可以通过上调Notch信号而促进胆管细胞的再生,而巨噬细胞则表达Notch信号的抑制物Numb,同时上调Wnt 3a信号通路来增强肝细胞的再生。并且,输入骨髓来源的巨噬细胞能够显著改善啮齿动物肝再生和纤维形成能力<sup>[29]</sup>。肝星状细胞是肝内主要定植的非实质细胞,在肝再生的早期(损伤后2~6 d),肝星状细胞分泌大量的肝细胞生长因子(HGF)以调节细胞外信号调节激酶和p38信号通路刺激肝干/祖细胞增殖。相反,在再生的终末阶段(12~15 d),肝星状细胞通过分泌高浓度的TGF- $\beta$ 1抑制肝干/祖细胞DNA的合成从而恰当的调控再生过程<sup>[30]</sup>。

除上述作用细胞外,最近的一项小鼠实验<sup>[31]</sup>发现在肝干/祖细胞微环境中存在一群表达胸腺细胞抗原1(Thy1)的间质细胞群,它们在刺激肝干/祖细胞的活化上起重要作用。研究者发现,在靠近肝干/祖细胞的门脉区域Thy1<sup>+</sup>的细胞显著扩增,并且Thy1<sup>+</sup>的细胞能分泌一种促进干/祖双向分化的因子成纤维细胞生长因子7(FGF-7)。在进一步的基因敲除和转基因小鼠实验中,同样证实了FGF-7对于诱导干/祖细胞再生反应是高效的且必不可少的。

### 1.4.2 协同肝干/祖细胞促进肝再生的细胞外基质

除了细胞间的交互作用外,细胞外基质对肝干祖细胞的活化也起着重要作用<sup>[32]</sup>。研究<sup>[33]</sup>证实在基质金属蛋白酶的作用下,胞外基质的重塑对于肝干祖细胞的增殖必不可少。同时,在胞外基质中含有许多与干祖细胞活化和增殖相关的因子,包括IL-6、IL-18、IL-22、HGF、EGF、TNF- $\alpha$ 、SCF-1等。如:巨噬细胞分泌的肿瘤坏死因子样弱凋亡诱导剂(TWEAK)选择性作用于卵圆细胞,通过与其Fn14受体作用促进干/祖细胞增殖更新<sup>[34]</sup>。基质衍生因子-1和其趋化因子受体-4(SDF-1/CXCR4)结合影响干祖细胞的迁移等。IL-6<sup>[35]</sup>和



IL-22<sup>[36]</sup> 则可通过 STAT3 信号通路来保护肝脏和促进干细胞反应。并且 IL-6 还上调 HGF 和 TWEAK 的表达,同时上调 NK 细胞抑制肝细胞癌的发生从而精确调控肝再生反应。最新的研究也发现 IL-18 可以通过 p38、C-jun、NF- $\kappa$ B 3 个信号通路来调节上下游反应物来促进干祖细胞增殖<sup>[37]</sup>。为了探究 NF-KB 信号通路的具体机制,Zhao 等<sup>[38]</sup> 利用大鼠基因检测,得出与 NF-KB 信号通路 3 个分支相关的 7 个关键基因,包括 Tnf、AI137604、Ccl2、Gnail、CCND1 等基因。利用基因检测的方法,Chang 等<sup>[39]</sup> 发现一种新的细胞生长因 SPINK3 在 PHx 后 2~24 h 显著升高,并且 SPINK3 与 EGFR 结合后通过 P38、PKC、JAK-STAT 和 AKT 信号通路促进肝再生。

在上述所用因子中,肝细胞生长因子(HGF)被认为是最经典且最重要的。HGF 及其受体 c-Met 通过一种多效的信号转导通路调控肝干/祖细胞的平衡。在离体试验中,c-Met 受体的缺乏将导致干祖细胞的成形能力降低,体内实验时其缺乏将导致肝干/祖细胞池减少,干细胞迁移受损和干细胞分化减少<sup>[40]</sup>。并且,c-Met 受体敲除后,将造成胞外基质重建受损和肝干祖细胞微环境受损,其原因可能是 MMP9 和 SCF-1 减少有关。综上所述 c-Met 受体对肝干/祖细胞的反应具有重要直接作用。同时,也证实了对于受损肝脏的再生 HGF/c-Met 是一个必不可少的生长因子信号通路<sup>[41-42]</sup>。肝干/祖细胞再生的另外一个关键的调控机制是 EGF/EGFR。HGF/c-Met 联合 EGF/EGFR 通过活化的细胞外信号调节激酶途径来增加肝干/祖细胞自我更新的能力。c-Met 通过激活蛋白激酶 B (PKB 或 Akt) 和信号转导和转录激活子 3 (STAT3) 促进肝细胞的分化。而 EGFR 通过选择性诱导 Notch1 信号通路从而促进胆管上皮的形成并同时抑制肝细胞的分化形成<sup>[43]</sup>。

**1.4.3 促进肝干/祖细胞反应的潜在的主要信号通路** 肝干/祖细胞介导的肝再生的是由一系列事件组成,除受到前述的细胞外微环境中细胞和基质成分影响外,还受到细胞内多条信号通路调控,如前文所述:P38、PKC、JAK-STAT 和 Akt 等信号通路在肝再生过程发挥着重要作用,除此之外,Wnt、Notch 和 Hedgehog (Hh) 号通路<sup>[44-45]</sup> 是多数研究关注的热点。由微环境激活的 Wnt 和 Notch 信号通路在决定肝干/祖细胞向肝细胞还是胆管细胞分化的命运上扮演了重要角色。研究<sup>[46]</sup> 显示

Wnt 信号通路调控肝干/祖细胞向肝细胞分化,而 Notch 信号通路则促进肝干/祖细胞向胆管系分化。Notch 基因的配体 Jagged1 由 Thy1<sup>+</sup> 的肌纤维母细胞产生,并与肝干/祖细胞上的受体作用从而活化下游信号通路,促进肝干/祖细胞向胆管细胞分化。于此相反,Wnt 信号分子作用于肝干/祖细胞诱导  $\beta$ -链蛋白信号并同时表达 Notch 信号途径的抑制物,最终导致肝干/祖细胞向胆管细胞分化的 Notch 信号通路受抑制,向肝细胞分化受促进。作为 Notch 信号通路上游重要的功能效应器,Hippo 信号途径在体内能有效促使肝干/祖细胞向肝细胞分化<sup>[47]</sup>。最近,在斑马鱼的一项研究<sup>[48]</sup> 中,研究者发现了 Bmp 信号通路能调节肝干/祖向肝细胞分化并促进肝细胞的增殖。肝干/祖细胞能根据肝损伤的性质诱导适当的再生反应。因此,明确这些不同信号通路之间的平衡关系对于肝干/祖细胞的分化结果具有重要意义。

## 2 窦内皮祖细胞参与肝再生的作用

### 2.1 肝窦内皮细胞对肝再生的作用

肝脏中除了大约 80% 实质细胞外,还有 20% 的非实质细胞,肝窦内皮细胞是数量较多的非实质细胞之一,其具有特殊的窗口结构,具有吞噬、抗原提成和血流调节等功能,并且能够分泌大量与血管再生相关的细胞因子,如血管内皮生长因子(VEGF)等参与调节肝再生的微环境。肝再生过程中需要在时空上精确的调控肝细胞和肝窦内皮细胞的增殖从而重构肝脏结构和功能。窦内皮细胞通过各种细胞因子的变化动态的调节肝再生<sup>[49]</sup>,在再生早期阶段,窦内皮细胞通过下调血管生成素 2 (angiopoietin-2) 促进肝细胞增殖,而在再生的中后期,血管生成素 2 逐渐升高,并与血管内皮生长因子受体 2 (VEGFR2) 结合,促进窦内皮细胞增殖和血管再生而促进肝再生。另外,Moniaux 等<sup>[50]</sup> 研究也发现,在再生的早期阶段,肝窦内皮细胞通过 VEGFR2-Id1 的联合作用而分泌血管生成因子 Wnt2 和 HGF 促进肝再生。值得注意的是:慢性损伤之后,肝窦内皮细胞内 CXCR7-Id1 信号通路的活化和 CXCR4 的上调之间存在着动态平衡。当 CXCR7-Id1 较 CXCR4 占优势时,其主导正常肝再生。相反,若反复刺激,CXCR4 的上调较 CXCR7-Id1 占优势时将导致肝脏纤维化<sup>[51]</sup>。总的来说,以上数据基本可以知道窦内皮细胞在肝

再生过程中发挥监视和调节的作用。

## 2.2 窦内皮祖细胞对肝再生作用

一般来说, 窦内皮祖细胞 (sinusoidal endothelial cell progenitor cells, SEPCs) 主要分为两种: 肝内定植的窦内皮祖细胞 (resident SEPCs) 和骨髓来源的窦内皮祖细胞 (BM SEPCs)<sup>[52]</sup>。顾名思义, 以往认为肝内定植的窦内皮祖细胞主要贡献于肝窦内皮的日常更新, 但是并没有研究确切证实。与以往的观念相反, 最近的一些研究证实, 骨髓来源的窦内皮细胞比肝内成熟的窦内皮细胞更富含 HGF, 是促进肝脏再生的主力军<sup>[53]</sup>。但是无论何种来源, 他们都表达干细胞标记物 CD133、CD45 和内皮细胞的标记物 CD31, 同时也富含血管内皮生长因子受体 1 (VEGF1) 和血管内皮生长因子受体 2 (VEGF2)<sup>[52]</sup>。当肝损伤或部分切除后, 肝内的 VEGF 调控着 BM SEPCs 招募到肝脏的每一步: BM SEPCs 的增殖、BM SEPCs 进入血液循环、BM SEPCs 迁移入肝内并分化为成熟窦内皮细胞<sup>[5]</sup>。

骨髓来源的窦内皮祖细胞在窦内皮细胞的正常更新中并不起作用, 然而, 当肝损伤后, 骨髓来源的窦内皮祖细胞成倍的增殖和迁移入循环中, 且其分化而来的窦内皮细胞占总数的近 25%<sup>[5]</sup>。因此可以认为, 相比定值的窦内皮祖细胞而言, 骨髓来源的窦内皮祖细胞能更强的增殖, 迁移分化成窦内皮细胞而修复肝损伤, 是促进肝再生的主要动力。然而, 当肝部分切除后, 注射分离的定植窦内皮祖细胞, 可以观察到窦内皮祖细胞明显扩增, 并持续迁移入肝。因此, 探究定植和骨髓来源的窦内皮细胞在增殖中的作用地位仍需要继续研究。

## 3 肝外来源的干/祖细胞对肝再生的作用

除了肝内来源的干/祖细胞外, 肝外来源的成体干/祖细胞在肝脏的再生过程中也起重要作用。目前, 关注较多的肝外来源的成体干/祖细胞主要有脂肪源性的干/祖细胞、骨髓源性的干细胞等。脂肪源性的干/祖细胞主要在软组织缺损修复、骨与软骨的损伤修复、心肌再生及心脏功能改善、促血管新生治疗缺血性疾病等方面研究和应用较多, 而对于肝脏再生的应用还比较局限, 应用甚少。与此不同, 骨髓源性的干细胞对肝脏的再生修复研究应用较为广泛, 其可以发挥多种调节功

能而促进肝脏再生。

### 3.1 骨髓来源的干细胞参与肝再生的细胞学基础

骨髓来源的干细胞在肝再生过程中扮演着重要作用<sup>[54]</sup>, 其主要包括骨髓造血干细胞和骨髓间充质干细胞。肝受损或切除后, 骨髓中 CD39 高表达的造血干细胞能够被动员迁入肝内, 通过下调 IL-1 $\beta$  介导的炎症反应而促进肝脏增殖修复。最近的研究<sup>[55]</sup>也得出, 使用造血干细胞促进剂普乐沙福 (plerixafor) 和/或 G-SCF 能明显改善肝脏创伤修复过程并有显著的抗纤维化作用。与造血干细胞相比, 骨髓间充质干细胞具有更强的归巢迁移能力, 同时在调节炎症反应和抗纤维化方面更具优势, 其通过旁分泌作用和免疫调节作用与肝星状细胞、肝细胞对话, 从而促进受损肝脏的修复<sup>[56]</sup>。

### 3.2 骨髓来源的干细胞参与再生的机制

越来越多的研究<sup>[57]</sup>显示了肝损伤修复过程中骨髓间充质干细胞免疫调节作用的重要性。骨髓间充质干细胞可以通过几个不同的方面参与肝再生: (1) 骨髓间充质干细胞通过旁分泌因子修复损伤的肝质量: 骨髓间充质干细胞通过旁分泌各种免疫炎症调节因子促进残肝的早期再生<sup>[58]</sup>。(2) 骨髓间充质干细胞释放外泌体启动保护性反应: 已证实在骨髓间充质干细胞条件培养基中含有外泌体, 其主要是通过激活增殖再生反应而加强对肝损伤的保护作用<sup>[59]</sup>。(3) 骨髓间充质干细胞在某些条件的诱导下转分化为肝细胞: 研究<sup>[60]</sup>已得出, 在一定条件下, 骨髓间充质干细胞可以直接转分化成肝细胞, 或融合受损的肝细胞促进肝细胞再生修复。

研究<sup>[58]</sup>显示, 肝损伤后输注骨髓间充质干细胞治疗, 观察到其能够下调 CD4<sup>+</sup>T 细胞数量, 抑制 TH1 细胞表达和诱导产生调节性 T 细胞 (Tregs), 从而减轻炎症浸润促进肝修复。并且同时, 骨髓间充质干细胞也能诱导产生一种调剂性树突状细胞 (DCs), 这些细胞能够通过调节 TGF- $\beta$  而诱导 Tregs 细胞分化。同时, 骨髓间充质干细胞来源的前列腺素 E2 和其受体 EP4 在诱导调节性 T 细胞前体细胞分化为调节性 T 细胞中具有重要作用。总之, 骨髓间充质干细胞来源的调节性 T 细胞能减轻各种原因导致的肝损伤。

骨髓间充质干细胞分泌来源的外泌体, 是一种具有多重功能的生物活性物质, 其可以通过多种机制促进受损肝脏的修复<sup>[61]</sup>。Tan 等<sup>[59]</sup>研究发现, 在 CCl<sub>4</sub> 诱导的肝损伤再生模型中, 骨髓间充

质干细胞分泌的外泌体纯化物能够显著提高肝细胞的存活率,并同促进肝细胞的再生增殖。而其可能涉及的机制主要为,一方面外泌体可以上调体内抗凋亡基因Bcl-xL, Bcl-2的表达,从而降低凋亡蛋白酶3/7的生成,最终来抑制肝细胞的凋亡。另一方面,研究还发现外泌体可以明显促进NF- $\kappa$ B、cyclin D1和cyclin E等促进肝细胞再生的基因表达,从而激活下游一系列信号通路的表达促进肝脏再生。

除上述两者外,在一些特定的条件下,骨髓间充质干细胞可以转分化为成熟肝细胞,在Azevedo等<sup>[62]</sup>研究中证实,在肝脏受损的小鼠体内输入带有绿色荧光蛋白转染的骨髓间充质干细胞后,在其体内检测到了带有绿色荧光蛋白表达的成熟肝细胞,再者,骨髓间充质干细胞还能通过融合受损的成熟的肝细胞促进再生<sup>[63]</sup>。

#### 4 存在的问题及研究前景

各种肝内外干/祖的部分作用机制本文已阐述,但是,再生是一个复杂的过程,受体内外各种环境的影响,其具体机制目前仍无法明了。再者,虽然各种肝内外的干/祖细胞已被探索,但由于缺乏特异性的标记物,对各种干/祖细胞的鉴别分选、起源探索目前仍有一定困难。虽然存在上述诸多不足,但是随着再生医学的快速发展,干/祖细胞在器官再造,器官修复等应用方面具有巨大潜能。随着3D打印技术的成熟和脱细胞支架的研究发展。在3D打印或者脱细胞的支架中填充自体或异体来源的干/祖细胞重造组织器官,将会为需要器官移植的患者带来巨大福音。

#### 参考文献

- [1] Van Haele M, Roskams T. Hepatic Progenitor Cells: An Update [J]. *G Gastroenterol Clin North Am*, 2017, 46(2):409–420. doi: 10.1016/j.gtc.2017.01.011.
- [2] Itoh T, Miyajima A. Liver regeneration by stem/progenitor cells[J]. *Hepatology*, 2014, 59(4):1617–1626. doi: 10.1002/hep.26753.
- [3] Miyajima A, Tanaka M, Itoh T. Stem/progenitor cells in liver development, homeostasis, regeneration, and reprogramming[J]. *Cell Stem Cell*, 2014, 14(5):561–574. doi: 10.1016/j.stem.2014.04.010.
- [4] Liu WH, Song FQ, Ren LN, et al. The multiple functional roles of mesenchymal stem cells in participating in treating liver diseases[J]. *J Cell Mol Med*, 2015, 19(3):511–520. doi: 10.1111/jcmm.12482.
- [5] Wang L, Wang X, Wang L, et al. Hepatic vascular endothelial growth factor regulates recruitment of rat liver sinusoidal endothelial cell progenitor cells[J]. *Gastroenterology*, 2012, 143(6):1555–1563. doi: 10.1053/j.gastro.2012.08.008.
- [6] Uribe-Cruz C, Kieling CO, López ML, et al. Encapsulated Whole Bone Marrow Cells Improve Survival in Wistar Rats after 90% Partial Hepatectomy[J]. *Stem Cells Int*, 2016, 2016:4831524. doi: 10.1155/2016/4831524.
- [7] Herrero A, Prigent J, Lombard C, et al. Adult-Derived Human Liver Stem/Progenitor Cells Infused 3 Days Postsurgery Improve Liver Regeneration in a Mouse Model of Extended Hepatectomy[J]. *Cell Transplant*, 2017, 26(2):351–364. doi: 10.3727/096368916X692960.
- [8] Williams MJ, Clouston AD, Forbes SJ. Links between hepatic fibrosis, ductular reaction, and progenitor cell expansion[J]. *Gastroenterology*, 2014, 146(2):349–356. doi: 10.1053/j.gastro.2013.11.034.
- [9] Alison M, Golding M, Lalani EN, et al. Wholesale hepatocytic differentiation in the rat from ductular oval cells, the progeny of biliary stem cells[J]. *J Hepatol*, 1997, 26(2):343–352.
- [10] Miyaoka Y, Ebato K, Kato H, et al. Hypertrophy and unconventional cell division of hepatocytes underlie liver regeneration[J]. *Curr Biol*, 2012, 22(13):1166–1175. doi: 10.1016/j.cub.2012.05.016.
- [11] Shang H, Wang Z, Song Y. Liver progenitor cells-mediated liver regeneration in liver cirrhosis[J]. *Hepatol Int*, 2016, 10(3):440–447. doi: 10.1007/s12072-015-9693-2.
- [12] Petersen BE, Zajac VF, Michalopoulos GK. Hepatic oval cell activation in response to injury following chemically induced periportal or pericentral damage in rats[J]. *Hepatology*, 1998, 27(4):1030–1038.
- [13] Shinozuka H, Lombardi B, Sell S, et al. Early histological and functional alterations of ethionine liver carcinogenesis in rats fed a choline-deficient diet[J]. *Cancer Res*, 1978, 38(4):1092–1098.
- [14] Lemire JM, Shiojiri N, Fausto N. Oval cell proliferation and the origin of small hepatocytes in liver injury induced by D-galactosamine[J]. *Am J Pathol*, 1991, 139(3):535–552.
- [15] Dusabineza AC, Van Hul NK, Abarca-Quinones J, et al. Participation of liver progenitor cells in liver regeneration: lack of evidence in the AAF/PH rat model[J]. *Lab Invest*, 2012, 92(1):72–81. doi: 10.1038/labinvest.2011.136.
- [16] Katoonizadeh A, Nevens F, Verslype C, et al. Liver regeneration in acute severe liver impairment: a clinicopathological correlation study[J]. *Liver Int*, 2006, 26(10):1225–1233.
- [17] Jelnes P, Santoni-Rugiu E, Rasmussen M, et al. Remarkable heterogeneity displayed by oval cells in rat and mouse models of stem cell-mediated liver regeneration[J]. *Hepatology*, 2007,



- 45(6):1462–1470.
- [18] Tonkin J, Knight B, Curtis D, et al. Bone marrow cells play only a very minor role in chronic liver regeneration induced by a choline-deficient, ethionine-supplemented diet[J]. *Stem Cell Research*, 2008, 1(3):195–204. doi: 10.1016/j.scr.2008.05.004.
- [19] Papp V, Rókus A, Dezs K, et al. Expansion of hepatic stem cell compartment boosts liver regeneration[J]. *Stem Cells Dev*, 2014, 23(1):56–65. doi: 10.1089/scd.2013.0202.
- [20] Liu WH, Li R, Dou KF. Convenient and efficient enrichment of the CD133+ liver cells from rat fetal liver cells as a source of liver stem/progenitor cells[J]. *Stem Cell Rev*, 2011, 7(1):94–102. doi: 10.1007/s12015-010-9119-4.
- [21] Okabe M, Tsukahara Y, Tanaka M, et al. Potential hepatic stem cells reside in EpCAM+ cells of normal and injured mouse liver[J]. *Development*, 2009, 136(11):1951–1960. doi: 10.1242/dev.031369.
- [22] Nishina H. hDlk-1: a cell surface marker common to normal hepatic stem/progenitor cells and carcinomas[J]. *J Biochem*, 2012, 152(2):121–123. doi: 10.1093/jb/mvs069.
- [23] Kakinuma S, Ohta H, Kamiya A, et al. Analyses of cell surface molecules on hepatic stem/progenitor cells in mouse fetal liver[J]. *J Hepatol*, 2009, 51(1):127–138. doi: 10.1016/j.jhep.2009.02.033.
- [24] Minguet S, Cortegano I, Gonzalo P, et al. A population of c-Kit(low) (CD45/TER119)- hepatic cell progenitors of 11-day postcoitus mouse embryo liver reconstitutes cell-depleted liver organoids[J]. *J Clin Invest*, 2003, 112(8):1152–1163.
- [25] Sackett SD, Li Z, Hurtt R, et al. Foxl1 is a marker of bipotential hepatic progenitor cells in mice[J]. *Hepatology*, 2009, 49(3):920–929. doi: 10.1002/hep.22705.
- [26] Dorrell C, Erker L, Lanxon-Cookson KM, et al. Surface markers for the murine oval cell response[J]. *Hepatology*, 2008, 48(4):1282–1291. doi: 10.1002/hep.22468.
- [27] Huch M, Dorrell C, Boj SF, et al. In vitro expansion of single Lgr5+ liver stem cells induced by Wnt-driven regeneration[J]. *Nature*, 2013, 494(7436):247–250. doi: 10.1038/nature11826.
- [28] Boulter L, Govaere O, Bird TG, et al. Macrophage-derived Wnt opposes Notch signaling to specify hepatic progenitor cell fate in chronic liver disease[J]. *Nat Med*, 2012, 18(4):572–579. doi: 10.1038/nm.2667.
- [29] Thomas JA, Pope C, Wojtacha 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. doi: 10.1002/hep.24315.
- [30] Chen L, Zhang W, Zhou QD, et al. HSCs play a distinct role in different phases of oval cell-mediated liver regeneration[J]. *Cell Biochem Funct*, 2012, 30(7):588–596. doi: 10.1002/cbf.2838.
- [31] Takase HM, Itoh T, Ino S, et al. FGF7 is a functional niche signal required for stimulation of adult liver progenitor cells that support liver regeneration[J]. *Genes Dev*, 2013, 27(2):169–181. doi: 10.1101/gad.204776.112.
- [32] 张伟, 陈孝平, 项帅, 等. 肝脏胞外基质成分参与卵圆细胞介导的肝再生[J]. *中国普通外科杂志*, 2009, 18(1):58–62. Zhang W, Chen XP, Xiang S, et al. Hepatic extracellular matrix components participate in oval cell-mediated liver regeneration[J]. *Chinese Journal of General Surgery*, 2009, 18(1):58–62.
- [33] 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. doi: 10.1136/gut.2010.224436.
- [34] Karaca G, Swiderska-Syn M, Xie G, et al. TWEAK/Fn14 signaling is required for liver regeneration after partial hepatectomy in mice[J]. *PLoS One*, 2014, 9(1):e83987. doi: 10.1371/journal.pone.0083987.
- [35] Ji T, Li G, Chen J, et al. Distinct role of interleukin-6 and tumor necrosis factor receptor-1 in oval cell-mediated liver regeneration and inflammation-associated hepatocarcinogenesis[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(41):66635–66646. doi: 10.18632/oncotarget.11365.
- [36] Zhang YM, Liu ZR, Cui ZL, et al. Interleukin-22 contributes to liver regeneration in mice with concanavalin A-induced hepatitis after hepatectomy[J]. *World J Gastroenterol*, 2016, 22(6):2081–2091. doi: 10.3748/wjg.v22.i6.2081.
- [37] Zhang J, Ma C, Liu Y, et al. Interleukin 18 accelerates the hepatic cell proliferation in rat liver regeneration after partial hepatectomy[J]. *Gene*, 2014, 537(2):230–237. doi: 10.1016/j.gene.2013.12.062.
- [38] Zhao WM, Qin YL, Niu ZP, et al. Branches of the NF- $\kappa$ B signaling pathway regulate proliferation of oval cells in rat liver regeneration[J]. *Genet Mol Res*, 2016, 15(1). doi: 10.4238/gmr.15017750.
- [39] Chang CF, Yang J, Li XF, et al. SPINK3: A novel growth factor that promotes rat liver regeneration[J]. *Mol Biol (Mosk)*, 2016, 50(3):457–465. doi: 10.7868/S0026898416030058.
- [40] 姚豫桐, 李可渊. 肝部分切除术后肝脏再生调控的研究进展[J]. *中国普通外科杂志*, 2009, 18(2):181–184. Yao YT, Li KZ. Advances in research on the regulation of liver regeneration after partial hepatectomy[J]. *Chinese Journal of General Surgery*, 2009, 18(2):181–184.
- [41] Ishikawa T, Factor VM, Marquardt JU, et al. Hepatocyte growth factor/c-met signaling is required for stem-cell-mediated liver regeneration in mice[J]. *Hepatology*, 2012, 55(4):1215–1226. doi: 10.1002/hep.24796.
- [42] Liu WH, Ren LN, Wang T, et al. The Involving Roles of Intrahepatic and Extrahepatic Stem/Progenitor Cells (SPCs) to Liver Regeneration[J]. *Int J Biol Sci*, 2016, 12(8):954–963. doi: 10.7150/ijbs.15715.

- [43] Kitade M, Factor VM, Andersen JB, et al. Specific fate decisions in adult hepatic progenitor cells driven by MET and EGFR signaling[J]. *Genes Dev*, 2013, 27(15):1706–1717. doi: 10.1101/gad.214601.113.
- [44] Roskams T, Katoonizadeh A, Komuta M. Hepatic progenitor cells: an update[J]. *Clin Liver Dis*, 2010, 14(4):705–718. doi: 10.1016/j.cld.2010.08.003.
- [45] Spee B, Carpino G, Schotanus BA, et al. Characterisation of the liver progenitor cell niche in liver diseases: potential involvement of Wnt and Notch signalling[J]. *Gut*, 2010, 59(2):247–257. doi: 10.1136/gut.2009.188367.
- [46] Erker L, Grompe M. Signaling networks in hepatic oval cell activation[J]. *Stem Cell Res*, 2007, 1(2):90–102. doi: 10.1016/j.scr.2008.01.002.
- [47] Yimlamai D, Christodoulou C, Galli GG, et al. Hippo pathway activity influences liver cell fate[J]. *Cell*, 2014, 157(6):1324–1338. doi: 10.1016/j.cell.2014.03.060.
- [48] Choi TY, Khaliq M, Tsurusaki S, et al. Bmp Signaling Governs Biliary-Driven Liver Regeneration in Zebrafish via Tbx2b and Id2a[J]. *Hepatology*, 2017, doi: 10.1002/hep.29309. [Epub ahead of print]
- [49] Hu J, Srivastava K, Wieland M, et al. Endothelial cell-derived angiopoietin-2 controls liver regeneration as a spatiotemporal rheostat[J]. *Science*, 2014, 343(6169):416–419. doi: 10.1126/science.1244880.
- [50] Moniaux N, Faivre J. Key role of sinusoidal endothelial cells in the triggering of liver regeneration[J]. *J Hepatol*, 2011, 55(2):488–490. doi: 10.1016/j.jhep.2011.02.005.
- [51] Ding BS, Cao Z, Lis R, et al. Divergent angiocrine signals from vascular niche balance liver regeneration and fibrosis[J]. *Nature*, 2014, 505(7481):97–102. doi: 10.1038/nature12681.
- [52] Wang L, Wang X, Xie G, et al. Liver sinusoidal endothelial cell progenitor cells promote liver regeneration in rats[J]. *J Clin Invest*, 2012, 122(4):1567–1573. doi: 10.1172/JCI58789.
- [53] Deleve LD. Liver sinusoidal endothelial cells and liver regeneration[J]. *J Clin Invest*, 2013, 123(5):1861–1866. doi: 10.1172/JCI66025.
- [54] Okabayashi T, Shima Y, Sumiyoshi T, et al. Extrahepatic stem cells mobilized from the bone marrow by the supplementation of branched-chain amino acids ameliorate liver regeneration in an animal model[J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2014, 29(4):870–877. doi: 10.1111/jgh.12450.
- [55] 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[J]. *Blood Cells Mol Dis*, 2014, 53(3):124–132. doi: 10.1016/j.bcmd.2014.05.003.
- [56] Najimi M, Berardis S, El-Kehdy H, et al. Human liver mesenchymal stem/progenitor cells inhibit hepatic stellate cell activation: in vitro and in vivo evaluation[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2017, 8(1):131–141. doi: 10.1186/s13287-017-0575-5.
- [57] Castro-Manrreza ME, Montesinos JJ. Immunoregulation by mesenchymal stem cells: biological aspects and clinical applications[J]. *J Immunol Res*, 2015, 2015:394917. doi: 10.1155/2015/394917.
- [58] Zhang Y, Cai W, Huang Q, et al. Mesenchymal stem cells alleviate bacteria-induced liver injury in mice by inducing regulatory dendritic cells[J]. *Hepatology*, 2014, 59(2):671–682. doi: 10.1002/hep.26670.
- [59] Tan CY, Lai RC, Wong W, et al. Mesenchymal stem cell-derived exosomes promote hepatic regeneration in drug-induced liver injury models[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2014, 5(3):76. doi: 10.1186/scrt465.
- [60] Fouraschen SM, Pan Q, de Ruiter PE, et al. Secreted factors of human liver-derived mesenchymal stem cells promote liver regeneration early after partial hepatectomy[J]. *Stem Cells Dev*, 2012, 21(13):2410–2419. doi: 10.1089/scd.2011.0560.
- [61] Lou G, Chen Z, Zheng M, et al. Mesenchymal stem cell-derived exosomes as a new therapeutic strategy for liver diseases[J]. *Exp Mol Med*, 2017, 49(6):e346. doi: 10.1038/emm.2017.63.
- [62] Azevedo CM, Solano de Freitas Souza B, Andrade de Oliveira S, et al. Bone marrow-derived cells migrate to the liver and contribute to the generation of different cell types in chronic *Schistosoma mansoni* infection[J]. *Exp Parasitol*, 2015, 159:29–36. doi: 10.1016/j.exppara.2015.08.005.
- [63] Oh SH, Witek RP, Bae SH, et al. Bone marrow-derived hepatic oval cells differentiate into hepatocytes in 2-acetylaminofluorene/partial hepatectomy-induced liver regeneration[J]. *Gastroenterology*, 2007, 132(3):1077–1087.

( 本文编辑 宋涛 )

本文引用格式: 黄民, 黄黎宸, 刘卫辉. 肝内外干/祖细胞参与肝再生的研究进展[J]. 中国普通外科杂志, 2017, 26(7):926–933. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2017.07.018

Cite this article as: Huang M, Huang CC, Liu WH. Participation of intra- and extrahepatic stem/progenitor cells in liver regeneration: recent advances[J]. *Chin J Gen Surg*, 2017, 26(7):926–933. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2017.07.018