

文章编号:1005-6947(2008)01-0082-03

· 文献综述 ·

卵圆细胞与肝脏微环境

张伟 综述 陈孝平 审校

(华中科技大学同济医学院附属同济医院 肝脏外科中心, 湖北 武汉 430030)

摘要:卵圆细胞是具有双向分化潜能的肝脏干细胞/祖细胞,在肝脏的自我更新和损伤修复中起重要作用。笔者现就肝脏中各种生长调控因子、基质细胞、胞外基质以及神经系统对卵圆细胞调控作用等方面的研究进展作一文献综述。

[中国普通外科杂志,2008,17(1):82-84]

关键词: 干细胞; 卵圆细胞; 微环境; 综述文献

中图分类号: R 318; R 813

文献标识码: A

肝脏具有强大的增殖能力,能恢复损伤后丧失的肝组织及肝脏功能;当存在广泛的肝损伤、肝细胞的增殖能力受损或抑制时,肝脏祖细胞(hepatic progenitor cells, HPCs)激活并向肝实质内扩增。在动物实验模型中,Farber将这种增殖的肝脏祖细胞命名为卵圆细胞,它具有双向分化潜能。近年来,随着对干细胞及干细胞小境(stem cell niche)的存在及其重要性认识的加深,肝脏微环境在卵圆细胞激活增殖分化过程中的调控作用受到了广泛关注。本文主要就肝脏微环境对卵圆细胞的分子调控作用做一综述。

1 肝脏干细胞/祖细胞小境

干细胞小境是器官中一个局限的区域,不仅含有干细胞,也包括周围不同的已分化细胞,这些细胞分泌细胞因子,形成胞外基质,通过微环境信号调控干细胞的分化,支持干细胞的自我更新,在正常生理状态下抑制其分化,而在损伤时促进其分化^[1]。肝脏干细胞/祖细胞与肝脏中的基质细胞(肝星状细胞、Kupffer细

胞及窦状内皮细胞)、胞外基质(纤维连接蛋白、胶原、层粘连蛋白、蛋白多糖等)以及神经系统共同构成了肝脏干细胞/祖细胞小境^[2]。

2 微环境在卵圆细胞介导的肝再生中的调控作用

2.1 生长调控因子的调控作用

2.1.1 启动因子 肿瘤坏死因子(TNF),白介素6(IL-6),白血病抑制因子(LIF)及制瘤素TNF在卵圆细胞的增殖反应中发挥重要作用。研究表明,在胆碱缺乏的乙硫氨酸补充(choline-deficient ethionine-supplemented, CDE)饮食诱导的卵圆细胞增殖模型中,TNF表达上调,在TNF受体基因敲除的小鼠中,卵圆细胞增殖抑制,肝再生能力受损^[3]。在肝再生过程中Kupffer细胞是TNF的主要来源;在胆管结扎的小鼠中,使用一种针对Kupffer细胞的有毒物质明显减弱了卵圆细胞的增殖^[4]。在乙酰氨基芬/部分肝切除(N-2-acetylaminofluorene/partial hepatectomy, 2AAF/PH)卵圆细胞诱导模型中,地塞米松能抑制卵圆细胞增殖,而运用IL-6后这种抑制作用减弱,表明IL-6对卵圆细胞有促有丝分裂作用^[5]。LIF和制瘤素属于IL-6家族成员,其受体包含gp130亚单位,激活蛋白酪氨酸激酶、信号传导和转录激活子3及促分裂原活化蛋白激酶信号通路。另外制瘤素还能通过LIF受体 β 传导信号。在2AAF/PH卵圆细胞诱导模型中,LIF及LIF受体转录持续上

调,而在肝切除后肝细胞介导的肝再生中仅有短暂的表达,表明它们在卵圆细胞的扩增和分化过程中发挥作用^[4]。Okaya等^[5]研究发现,制瘤素受体主要表达在卵圆细胞,而制瘤素则表达在卵圆细胞和Kupffer细胞。这表明在卵圆细胞介导的肝再生中存在自分泌和旁分泌信号机制;运用含有转染制瘤素细胞系的条件培养液培养卵圆细胞系OC15-5,发现抑制其增殖而促进向肝细胞方向分化。2.1.2 生长因子 生长因子包括肝细胞生长因子(HGF),表皮生长因子(EGF),转化生长因子 α (TGF- α),酸性成纤维细胞生长因子(aFGF),干细胞因子(SCF),结缔组织生长因子(CTGF)等。HGF由不同组织的间质细胞产生,也包括肝脏的非实质细胞,具有多种生物学功能。HGF前体与胞外基质结合,当需要时由蛋白酶包括尿激酶纤维蛋白溶酶原激活剂等分解为活性形式。Hasuike等^[6]将重组人HGF用微泵注入2AAF/PH模型大鼠腹腔内,发现HGF促进了肝脏卵圆细胞的增殖及向肝细胞方向分化。在卵圆细胞的体外研究中,Okano等^[7]也证实HGF对于卵圆细胞系OC/CDE 22的增殖作用,而这种作用是通过激活P13K/AKT信号通路而产生的。研究表明TGF- α , EGF, aFGF在卵圆细胞介导的肝再生中也发挥着重要作用。以上细胞因子及受体在大鼠卵圆细胞的增殖和分化过程中均出现转录上调,同时肝脏星状细胞在增殖过程中与卵圆细

基金项目:国家自然科学基金重点资助项目(30430670)。

收稿日期:2007-07-17;

修订日期:2007-11-26。

作者简介:张伟,男,华中科技大学同济医学院附属同济医院住院医师,主要从事肝脏肿瘤及肝脏干细胞方面的研究。

通讯作者:陈孝平 E-mail: chenxp@medmail.com.cn

胞紧密联系,是 TGF- α 和 FGF 的主要来源,而卵圆细胞表达相应的受体,表明卵圆细胞增殖和分化的调控主要是通过旁分泌的形式^[4]。体外研究表明,EGF 能促进生长在软琼脂上的卵圆细胞的生长,在卵圆细胞的诱导过程中通过静脉将外源性的 EGF 注入到肝脏,能显著增强卵圆细胞的增殖和向肝实质内迁移^[8]。在卵圆细胞增殖模型中,SCF 及 c-kit 主要定位于小管样结构中的卵圆细胞。当受体突变的大鼠经过 2AAF/PH 处理后,门静脉和肝实质周围增殖的卵圆细胞明显比未突变大鼠的增殖少。表明 SCF/ c-kit 系统对卵圆细胞发育有重要作用,而对于决定卵圆细胞的表型和增殖活性作用较小^[8]。CTGF 是一种分泌性蛋白,属于 ctgf/cyr61/nov (CCN) 蛋白家族成员。研究表明,在 2AAF/PH 模型中,CTGF 表达上调,Thy⁺ 的卵圆细胞是 CTGF 的主要来源;抑制 CTGF 表达明显减少了增殖的卵圆细胞数目以及卵圆细胞标志物甲胎蛋白的表达,说明 CTGF 对于卵圆细胞的增殖有重要作用^[9]。

2.1.3 生长抑制因子 TGF- β 啮齿类动物的肝脏受损后能通过肝再生恢复损伤之前的肝脏/身体重量比,这表明肝再生处于精确的调控中。TGF- β 可能在终止和调控肝再生中起重要作用。研究发现,在用 DDC 饲养的 TGF- β 转基因鼠中,肝细胞产生有活性的 TGF- β ,卵圆细胞增殖受抑制,大鼠存活率降低;表明 TGF- β 能终止卵圆细胞激活,在卵圆细胞介导的肝再生中辅助重塑肝实质^[4]。近来,Nguyen 等^[10]通过体内外研究,发现 TGF- β 对卵圆细胞和肝细胞均有生长抑制作用,而肝细胞对其负调控作用比卵圆细胞更敏感。

2.1.4 其他炎症细胞因子 干扰素 α (IFN- α),干扰素 γ (IFN- γ),淋巴细胞毒素 β (LT- β) 及肿瘤坏死因子样凋亡弱诱导子 (TNF-like weak inducer of apoptosis, TWEAK)。研究发现,刺激卵圆细胞增殖的细胞因子与肝切除后促进肝细胞复制的细胞因子相似,但卵圆细胞和成熟肝细胞很少同时增殖。在 CDE 饮食诱导的小鼠卵圆细胞增殖模型中,IFN- γ 参与了卵圆细胞介导的肝再生;而由 PH

诱导的肝细胞再生中,IFN- γ 表达受抑制,联合 IFN- γ 与 TNF 或脂多糖,能通过产生一氧化氮抑制肝细胞增殖并促进卵圆细胞复制^[11]。卵圆细胞和肝细胞对于细胞因子联合作用的不同反应,可以解释在不同损伤诱导的肝再生中出现不同细胞增殖的原因。与 IFN- γ 作用相反,运用 IFN- α 明显减少了慢性肝病患者中 c-kit 阳性的肝脏祖细胞数目。体外研究表明,对于小鼠卵圆细胞系有剂量依赖性的抗增殖作用;在 CDE 动物模型中运用 IFN- α 明显减少卵圆细胞的增殖^[12]。LT- β 是 TNF 家族成员,在成熟肝细胞和卵圆细胞介导的肝再生中具有不同作用。在 CDE 饮食诱导的卵圆细胞增殖模型中,LT- β 及 LT- β 受体表达上调;另外,LT- β 及 LT- β 受体基因敲除的小鼠卵圆细胞增殖受损^[13]。近来研究表明,IL-1 β 和 IL-6 通过激活核因子 κ B 和其他转录因子诱导 LT- β 表达,表明 IL-1 β 和 IL-6 通过 LT- β 信号通路参与调控肝损伤后卵圆细胞的激活和扩增^[14]。TWEAK 是 TNF- α 家族成员,对于某些肿瘤细胞系具有抗凋亡作用。Jakabonski 等^[15]运用转基因鼠发现 TWEAK 选择性刺激肝细胞卵圆细胞的增殖,而对肝细胞却无影响。这种促有丝分裂作用是通过其配体 Fn14 介导的,在 Fn14 基因敲除的小鼠中,化学毒物所致的卵圆细胞增殖受损。TWEAK 是目前所知唯一对胆管上皮和卵圆细胞有选择性增殖作用的细胞因子。

2.1.5 趋化因子 间质衍生因子 1 (stromal derived factor 1, SDF-1),生长激素释放抑制因子 (somatostatin, SST)。Hatch 等^[16]发现,在两种卵圆细胞介导的肝再生中,SDF-1 表达均上调,而在肝损伤后肝细胞介导的肝再生中其表达无变化;免疫组化发现 SDF-1 表达在邻近卵圆细胞的肝细胞,而卵圆细胞表达其受体 CXCR4;体外趋化作用分析也发现卵圆细胞随 SDF-1 浓度梯度出现不同程度的迁移。Mavier P 等采用原位杂交发现 CXCR4 mRNA 主要定位于卵圆细胞,胆管上皮很少表达,中和 SDF-1 活性减少了卵圆细胞的增殖,表明 SDF-1/ CXCR4 参与卵圆细胞的激活和早期扩增^[17]。研究发现, SST 及其受体

SSTR4 在肝卵圆细胞迁移中具有重要作用。在 2AAF/PH 模型中, SST 表达上调;细胞迁移分析发现卵圆细胞随 SST 浓度梯度迁移; SSTR4 主要表达在卵圆细胞,用经过抗 SSTR4 抗体预处理的培养器皿培养卵圆细胞,其迁移明显减少。以上发现表明通过 SSTR4 的介导, SST 参与了卵圆细胞的迁移^[18]。

2.2 基质细胞的调控作用

在肝脏组织中几种基质细胞成分是肝脏祖细胞/卵圆细胞的“伙伴细胞”,包括肝星状细胞。肝损伤后肝脏非实质细胞可能通过旁分泌机制激活肝细胞卵圆细胞。研究表明肝星状细胞增殖与卵圆细胞增殖密切相关,两者可能存在功能上的相互作用;HSCs 和卵圆细胞均能产生一些相互重叠的生长因子并具有其受体,这些生长因子对卵圆细胞的增殖和分化具有调控作用^[8]。HSCs 还能产生和降解胞外基质 (ECM) 重塑窦状隙网络。在卵圆细胞增殖的早期, HSCs 能产生金属蛋白酶降解基底膜成分,以便卵圆细胞侵入损伤的肝实质^[19];增殖晚期要完全修复肝脏需要重新合成以前降解的窦周 ECM,内皮细胞须与 ECM 接触才能抑制其凋亡;HSCs 能合成 ECM,促进内皮细胞的侵入以及窦状隙的形成,从而稳定新生的肝细胞群^[20]。

2.3 肝脏胞外基质的调控作用

大多数再生反应与胞外基质的转变有关,纤溶酶原激活剂和纤溶酶蛋白水解级联通过清除胞外基质成分促进细胞迁移,通过激活生长因子对细胞增殖发挥间接作用。在 2AAF/PH 模型中,尿激酶型纤溶酶原激活剂 (uPA) 和 uPA 受体及纤溶酶原激活剂 I 型抑制剂主要定位于小管样反应中的卵圆细胞;伴随卵圆细胞增殖, uPA mRNA 表达上调^[8];静脉灌注 HGF, EGF 或 uPA 于卵圆细胞增殖模型中,发现这些细胞因子能扩增卵圆细胞群,联合灌注时具有协同作用^[21]。胞外基质成分也影响卵圆细胞的分化。Yin 等^[22]报道分离的肝脏卵圆细胞表达胆管或是肝细胞表型取决于是否存在基底膜成分 (matrigel)。近来,Leite 等^[23]发现纤维连接蛋白和层粘连蛋白能诱导培养的肝卵圆细胞表达胰岛细胞标志物。

2.4 神经系统的调控作用

神经系统在干细胞小境中的重要作用还未完全阐明。Cassiman等^[24]研究大鼠肝脏迷走神经切断和肝移植(去神经支配)对卵圆细胞激活的影响及M型乙酰胆碱受体在正常人肝脏和病肝中的表达,发现去除迷走神经支配后,卵圆细胞激活明显减少,而且人肝中的肝脏祖细胞、不典型反应性小管和中间型肝细胞表达M3型受体。这表明在病肝中迷走神经肝支通过乙酰胆碱结合M3型受体刺激卵圆细胞的激活。

3 展望

近年来对于肝再生机制的认识不断加深,肝脏微环境对于卵圆细胞的激活增殖扩增有重要作用,而干细胞小境概念的提出更强调了微环境在保持干细胞的自我更新能力,控制干细胞的静止与分化,调控干细胞的对称及不对称分化等方面的核心作用。明确控制肝卵圆细胞激活扩增的微环境因素,阐明卵圆细胞介导的肝再生机制,将有利于建立体外模型以研究卵圆细胞生物学,而这对于发展以药物、基因和移植为基础的新的肝病治疗手段具有重要意义。

参考文献:

- [1] Fuchs E, Tumber T, Guasch G. Socializing with the neighbors: stem cells and their niche [J]. *Cell*, 2004, 116(19): 769 - 778.
- [2] Theise ND. Gastrointestinal stem cells. III. Emergent themes of liver stem cell biology: niche, quiescence, self-renewal, and plasticity [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2006, 290(2): G189 - 193.
- [3] Knight B, Yeoh GC, Husk KL, et al. Impaired preneoplastic changes and liver tumor formation in tumor necrosis factor receptor type 1 knockout mice [J]. *J Exp Med*, 2000, 192(12): 1809 - 1818.
- [4] Santoni-Rugiu E, Jernes P, Thorgeirsson SS, et al. Progenitor cells in liver regeneration: molecular responses controlling their activation and expansion [J]. *APMIS*, 2005, 113(11 - 12): 876 - 902.
- [5] Okaya A, Kitanaka J, Kitanaka N, et al. Oncostatin M inhibits proliferation of rat oval cells, OC15 - 5, inducing differentiation into hepatocytes [J]. *Am J Pathol*, 2005, 166(3): 709 - 719.
- [6] Hasuike S, Ido A, Uto H, et al. Hepatocyte growth factor accelerates the proliferation of hepatic oval cells and possibly promotes the differentiation in a 2-acetylaminofluorene / partial hepatectomy model in rats [J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2005, 20(11): 1753 - 1761.
- [7] Okano J, Shiota G, Matsumoto K, et al. Hepatocyte growth factor exerts a proliferative effect on oval cells through the PI3K/AKT signaling pathway [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, 309(2): 298 - 304.
- [8] Lowes KN, Croager EJ, Olynyk JK, et al. Oval cell-mediated liver regeneration: Role of cytokines and growth factors [J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2003, 18(1): 4 - 12.
- [9] Pi L, Oh S, Shupe T, et al. Role of connective tissue growth factor in oval cell response during liver regeneration after 2-AAF/PHx in rats [J]. *Gastroenterology*, 2005, 128(7): 2077 - 2088.
- [10] Nguyen LN, Furuya MH, Wolfrain LA, et al. Transforming growth factor-beta differentially regulates oval cell and hepatocyte proliferation [J]. *Hepatology*, 2007, 45(1): 31 - 41.
- [11] Brooling JT, Campbell JS, Mitchell C, et al. Differential regulation of rodent hepatocyte and oval cell proliferation by interferon γ [J]. *Hepatology*, 2005, 41(4): 906 - 915.
- [12] Lim R, Knight B, Patel K, et al. Antiproliferative effects of interferon alpha on hepatic progenitor cells in vitro and in vivo [J]. *Hepatology*, 2006, 43(5): 1074 - 1083.
- [13] Akhurst B, Matthews V, Husk K, et al. Differential lymphotoxin- β and interferon- γ signalling during mouse liver regeneration induced by chronic and acute injury [J]. *Hepatology*, 2005, 41(2): 327 - 335.
- [14] Subrata LS, Lowes KN, Olynyk JK, et al. Hepatic expression of the tumor necrosis factor family member lymphotoxin- β is regulated by interleukin (IL)-6 and IL-1 β : transcriptional control mechanisms in oval cells and hepatoma cell lines [J]. *Liver Int*, 2005, 25(3): 633 - 646.
- [15] Jakubowski A, Ambrose C, Parr M, et al. TWEAK induces liver progenitor cell proliferation [J]. *J Clin Invest*, 2005, 115(9): 2330 - 2340.
- [16] Hatch HM, Zheng D, Jorgensen ML, et al. SDF-1 α /CXCR4. A mechanism for hepatic oval cell activation and bone marrow stem cell recruitment to the injured liver of rats [J]. *Cloning Stem Cells*, 2002, 4(4): 339 - 351.
- [17] Mavrier P, Martin N, Couchie D, et al. Expression of stromal cell-derived factor-1 and of its receptor CXCR4 in liver regeneration from oval cells in rat [J]. *Am J Pathol*, 2004, 165(6): 1969 - 1977.
- [18] Jung Y, Oh SH, Zheng D, et al. A potential role of somatostatin and its receptor SSTR4 in the migration of hepatic oval cells [J]. *Lab Invest*, 2006, 86(5): 477 - 489.
- [19] Black D, Lyman S, Heider TR, et al. Molecular and cellular features of hepatic regeneration [J]. *J Surg Res*, 2004, 117(2): 306 - 315.
- [20] Zimmermann A. Regulation of liver regeneration [J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2004, 19 (Suppl 4): iv6 - 10.
- [21] Nagy P, Bisgaard HC, Santoni-Rugiu E, et al. In vivo infusion of growth factors enhances the mitogenic response of rat hepatic ductal (oval) cells after administration of 2-acetylaminofluorene [J]. *Hepatology*, 1996, 23(1): 71 - 79.
- [22] Yin L, Sun M, Ilic Z, et al. Derivation, characterization and phenotypic variation of hepatic progenitor cell lines isolated from adult rats [J]. *Hepatology*, 2002, 35(2): 315 - 324.
- [23] Leite AR, Correa-Giannella ML, Dagli ML, et al. Fibronectin and laminin induce expression of islet cell markers in hepatic oval cells in culture [J]. *Cell Tissue Res*, 2007, 327(3): 529 - 537.
- [24] Cassiman D, Libbrecht L, Sinelli N, et al. The vagal nerve stimulates activation of the hepatic progenitor cell compartment via muscarinic acetylcholine receptor type 3 [J]. *Am J Pathol*, 2002, 161(2): 521 - 530.