

· 综 述 ·

骨髓间充质干细胞在肝脏疾病中的研究*

冯 刚¹, 罗利琼²综述, 陈焕朝³审校

(1. 湖北省武汉市普爱医院肿瘤科 430033; 2. 武汉科技大学附属天佑医院肿瘤科 430064;

3. 湖北省肿瘤医院, 湖北武汉 430000)

关键词: 骨髓间充质干细胞; 肝脏

doi: 10.3969/j.issn.1671-8348.2010.20.052

中图分类号: R575.05

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2010)20-2814-03

骨髓间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)具有自我复制和多向分化的潜能,在特定条件的诱导下可分化成神经细胞、肝细胞和脂肪细胞等组织细胞。Schwartz等^[1]通过诱导大鼠骨髓原始多潜能成体祖细胞(multipotent adult progenitor cells, MAPCs)分化为肝细胞实验,证实肝干细胞可以由骨髓分化而来。随后 Clarke等^[2-3]在加入肝细胞生长因子等诱导 MSCs 实验中,发现有清蛋白(ALB)和细胞角蛋白 18(CK-18)的 RNA 表达。这是肝细胞相对特异性的两种蛋白,在肝细胞成熟时表达,常用于检测肝细胞功能的可靠标志。Avital等^[4-5]研究发现骨髓中的某种细胞亚型更具有向肝细胞分化的潜能,而白介素 3 和高浓度肝细胞生长因子(HGF)能在体外诱导 MSCs 向肝细胞转化^[6]。目前,关于 MSCs 分化为功能性肝细胞的研究报道多见,本文就 MSCs 在肝脏疾病中运用的研究进展作一综述。

1 肝脏功能衰竭

在多数情况下,受损的肝组织主要通过残存肝细胞的再生来修复,而在肝细胞遭受过于严重损伤或残存肝细胞的再生能力受到抑制时,体内肝脏的微环境能诱导肝干细胞启动修复等功能。Ju等^[7]通过 MRI 引导技术,观察将 Fe₂O₃ 标记后的 MSCs 归巢何处。结果发现 MSCs 在肝损伤处聚集,说明 MSCs 具有向肝损伤处归巢的特性。在肝脏等脏器遇到损害时可以产生如肝细胞生长因子(HGF)、基质金属蛋白酶 9(MMP-9)和基质细胞衍生因子-1(stromal cell derived factor-1, SDF-1)等信号分子,与 MSCs 表面的 CXCR4 相互作用,使细胞内 Ca²⁺ 浓度短暂上升,SDF-1/CXCR4 下游通路能刺激焦点黏附蛋白的酪氨酸磷酸化而改变细胞骨架结构,实现 MSCs 向肝脏发生趋化迁移^[8]。MSCs“归巢”在肝脏受损的组织后,分泌如 HGF 等相关的促肝细胞增殖特异相关因子,能促进肝细胞的再生和阻止肝脏细胞的进一步损害,完成增殖和修复作用^[9]。

2 肝脏纤维化

近年来肝纤维化被认为具有可逆性和可控的,针对肝纤维化发生学的信号传导通路、细胞因子基因表达、肝星形细胞(HSC)激活等环节的分子机制研究日趋明确。肝纤维化是各种致病原因引起肝内以 HSC 激活和细胞外基质(ECM)过多产生为病理特征,以枯否细胞为主要细胞产生细胞因子和致病因子引起肝脏氧化应激反应是肝纤维化发生的始动环节。在争光霉素所致的小鼠肝纤维化模型等相关研究中,实验结果证明 MSCs 移植可以减轻纤维化。Oyagi等^[10]研究认为 MSCs

在 HGF 共培养诱导后才能发挥改善纤维化的作用,单纯 MSCs 移植是不能减轻纤维化。MSCs 移植在肝脏纤维化发生学上通过何种抗细胞纤维化机制?在炎症反应引起的内皮细胞损害中,MSCs 可能参与调控信号传导途径,减轻炎症反应,来影响白细胞的黏附和游走,进而影响以枯否细胞为主要细胞产生细胞因子的始动环节。同时,在实验中发现 MSCs 在一定的时相中能减轻肝脏内的炎症程度,在一定的时相中则不能减轻肝脏内的炎症程度,但最后可减轻肝纤维化和减少肝硬化的发生^[11]。Abdel-Aziz等^[12]在进行 MSCs 治疗实验性肝纤维化时,发现 MSCs 能提高清蛋白的含量,减少胶原沉积,影响产生 ECM 过多,减轻肝纤维化。

3 肝脏移植

MSCs 强大的分化潜能及具有易于分离培养扩增、遗传背景稳定、体内植入反应较弱等特性使其在组织工程、细胞替代治疗、基因治疗等领域得到日益广泛的应用。目前,肝细胞移植应用于临床并取得满意的治疗效果,让部分患者受益匪浅。但仍然面临许多需要解决的难题,如肝细胞来源不足,移植肝细胞在宿主肝脏中的排斥反应,肝细胞移植并发症等。MSCs 具有多向分化的潜能,免疫原性弱,倾向于向受伤组织的迁移^[13-14],将能有效的克服和解决肝细胞移植时面临的诸多困难,是需要进行肝细胞移植患者的理想选择。其中,如何减轻移植排斥反应是影响肝移植成功的关键因素之一。研究表明, MSCs 能通过细胞间直接接触后等信号传递,抑制 T 淋巴细胞增殖,进而抑制 T 淋巴细胞介导的细胞免疫应答^[15]。Augello等^[16]认为在肝移植术后所致在体内高 INF-γ 环境下, MSCs 在负反馈作用机制下调 CD54 和 PDL-1 的高表达,通过激活 PDL 旁路途径抑制 T 细胞的增生,诱导移植术后免疫耐受。Ren等^[17]认为 INF-γ、TNF-α 等炎性因子可激活和诱导 MSCs 直接表达一氧化氮(NO)等免疫抑制因子并加强其免疫调节作用。MSCs 能诱导形成嵌合体并诱免疫耐受^[18],表明移植免疫耐受可以稳定维持。此外,在异种异体宿主体内进行的移植中观察到 MSCs 对组织进行损伤和修复^[19]。

4 肿瘤治疗

肿瘤细胞与干细胞的生物学特性在自我更新、多向分化、无限增殖潜能 3 大特征上存在惊人的相似性。肿瘤干细胞可能是肿瘤产生和难以治愈的根本原因,但是肿瘤干细胞没有特异性的分子标记,难以识别和清除,需待进一步研究证实。最新研究表明,新生的肿瘤毛细血管内皮细胞强烈表达黏附分子 α4β1 的配体及细胞纤维素,而 MSCs 表面分布有大量的黏附

* 基金项目:武汉市晨光计划基金资助项目(200750731292)。

分子 $\alpha 4\beta 1$ 的受体,进入循环的 MSCs 能选择性趋向肿瘤新生血管区发生“归巢”效应并逐步向肿瘤实质内渗透^[20-21]。MSCs 还可分泌血管蛋白-1(Ang1)和 BMSCs 源生长抑制因子(BMSCs-derived growth inhibitor, BDGI)^[22]。Ang1 是一种血管生成因子,可以抑制肿瘤血管的通透性,抑制肿瘤生长。BDGI 过表达可以制乳腺癌细胞株 MCF-7 和子宫颈癌细胞株 Hela 增殖和迁移。Aboody 等^[23]认为干细胞膜上存在着一种独特的分子泵,能将外源基因的毒性产物进行自我清除,在杀伤肿瘤细胞的同时,使自身得以保全。MSCs 具有的优良的可塑性、强大的肿瘤迁移能力及高效安全的外源基因表达能力,适合作为优良的基因表达载体。Matus 等^[23-24]以 MSCs 为载体携带干扰素基因 INF- β 治疗了大鼠的转移肺癌模型 A375。Hung 等^[25]将胸腺激酶(TK)基因导入 MSCs 后不但获得了 TK 基因的稳定表达,而且通过 PET 观察到对鼠 HT-29 结肠癌模型的持久杀伤。

5 结 语

MSCs 具有通过增殖,修复受损肝脏,减轻炎症反应,减轻肝纤维化,抑制移植物抗宿主反应等功能。但是,关于 MSCs 体内体外的相关研究结果暂不能完全解释 MSCs 完成“归巢”后如何进行胞内分子信息正向和(或)反向信号传递,发挥促进细胞增殖、抗纤维化和抑制移植物抗宿主反应等功能?在基因水平和蛋白水平 MSCs 又是如何进行调控? MSCs 又是通过何种信号通路来完成的杀伤肿瘤细胞和保护自我? MSCs 作为基因表达载体在体内的长期存在和最终清除对机体生物安全性的影响?目前,关于肝干细胞作为肝癌基因治疗载体的相关报道较少。随着研究的不断深入, MSCs 可能在肝脏疾病治疗中发挥作用越来越重要,能为分子靶向的治疗提供好的细胞载体,最终可以达到“载体携带足够的效应剂到肿瘤部位并持续发挥作用而对正常组织无不良反应”的治疗目标。

参考文献:

- [1] Schwartz RE, Reyes M, Koodie L, et al. Multi-potent adult progenitor cells from bone marrow differentiated into functional hepatocyte-like cells[J]. *J Clin Invest*, 2002, 110(10):1291.
- [2] Clarke DL, Johansson CB, Wilbertz J, et al. Generalized potential of adult neural stem cells[J]. *Science*, 2000, 288:1660.
- [3] Omary MB, Ku NO, Toivoladm DM, et al. Keratins: guardians of the liver[J]. *Hepatology*, 2002, 35(2):251.
- [4] Avital I, Inderbitzin D, Aoki T, et al. Isolation, characterization, and transplantation of bone marrow-derived hepatocyte stem cells[J]. *Biophys Res Commun*, 2001, 288(1):156.
- [5] Inderbitzin DL, Avital I, Keogh A, et al. Interleukin-3 induces hepatocyte-specific metabolic activity in bone marrow-derived liver stem cells[J]. *J Gastrointest Surg*, 2005, 9(1):69.
- [6] Oh SH, Miyazaki M, Kouchi H, et al. Hepatocyte growth factor induces differentiation of adult rat bone marrow cells into a hepatocyte lineage in vitro[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2000, 279(2):500.
- [7] Ju S, Teng GT, Lu H, et al. In vivo MR tracking of mesenchymal stem cells in Rat Liver after intrasplenic transplantation[J]. *Radiology*, 2007, 245:206.
- [8] Kollet O, Shvitiel S, Chen YO, et al. HGF, SDF-1, and MMP-9 are involved in stress-induced human CD34⁺ stem cell recruitment to the liver[J]. *J Clin Invest*, 2003, 112(2):160.
- [9] 高羽亭,陈强,丁国永,等.大鼠骨髓间充质干细胞促肝组织损伤修复的作用[J]. *吉林大学学报:医学版*, 2008, 34(5):802.
- [10] Oyagi S, Hirose M, Kojima M, et al. Therapeutic effect of trans-planting HGF-treated bone marrow mesenchymal cells into CCl₄-injured rats[J]. *Hepatology*, 2006, 44:742.
- [11] 焦艳,朱月永,郑琦,等.骨髓间充质干细胞移植对大鼠肝纤维化的作用[J]. *肝脏*, 2008, 13(1):23.
- [12] Abdel-Aziz MT, Atta HM, Mahfouz S, et al. Therapeutic potential of bone marrow-derived mesenchymal stem cells on experimental liver fibrosis[J]. *Clin Biochem*, 2007, 40(12):893.
- [13] Koc ON, Day J, Nieder M, et al. Allogeneic mesenchymal stem cell infusion for treatment of metachrom atic leukodystrophy (MLD) and Hurler syndrome (MPS-IH) [J]. *Bone Marrow Transplantation*, 2002, 40(4):215.
- [14] Fouillard L, Bensidhoum M, Bories D, et al. Engraftment of allogeneic mesenchymal stem cells in the bone marrow of a patient with severe idiopathic aplastic anemia improves stroma[J]. *Leukemia*, 2003, 17(2):474.
- [15] Maitra B, Szekely E, Gjini K, et al. Human mesenchymal stem cells support unrelated donor hematopoietic stem cells and suppress T-cell activation [J]. *Bone Marrow Transplant*, 2004, 33(6):597.
- [16] Augello A, Tasso R, Negrini SM, et al. Bone marrow mesenchymal progenitor cells inhibit lymphocyte proliferation by activation of the programmed death pathway[J]. *Eur J Immunol*, 2005, 35(5):1482.
- [17] Ren GW, Zhang LY, Xu GW, et al. Mesenchymal stem cell-mediated immunosuppression occurs via concerted action of chemokine and nitric oxide[J]. *Cell Stem Cell*, 2008, 2:141.
- [18] Itakura S, Asaria S, Rawson J, et al. Mesenchymal stem cells facilitate the induction of mixed hematopoietic chimerism and islet allograft tolerance without GVHD in the Rat[J]. *Am J Trans*, 2007, 7:336.
- [19] 李秀东,陈玉丙,宋祥福,等.小鼠骨髓间充质干细胞对转基因肝移植模型大鼠移植区域组织损伤的修复作用[J]. *中国生物制品学杂志*, 2008, 21(3):221.
- [20] Jin H, Aiyer A, Su JM, et al. A homing mechanism for bone marrow-derived progenitor cell recruitment to the neovasculature[J]. *J Clin Invest*, 2006, 116(3):652.
- [21] Jin H, Su JM, Garmy SB, et al. Integrin $\alpha 4\beta 1$ promotes monocyte trafficking and angiogenesis in tumors [J]. *Cancer Res*, 2006, 66(2):2146.
- [22] Wang T, Xia D, Li N, et al. Bone marrow stromal cell-derived growth inhibitor inhibits growth and migration of breast cancer cells via induction of cell cycle arrest and

apoptosis[J]. J Biol Chem, 2005, 280: 4374.

[23] Matus S, Frank C, Marini RE, et al. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells as vehicles for interferon- β delivery into tumors[J]. Cancer Res, 2002, 62: 3603.

[24] Hirofumi H, Masayoshi K, Kiminori N, et al. Mesenchymal stem cells (MSC) as therapeutic cytoagents for gene therapy[J]. Cancer Sci, 2005, 96(3): 149.

[25] Hung SC, Deng WP, Yang WK, et al. Mesenchymal stem cell targeting of microscopic tumors and tumor stroma development monitored by noninvasive in vivo positron emission tomography imaging[J]. Clin Can Res, 2005, 11(11): 7749.

(收稿日期: 2010-05-03 修回日期: 2010-06-18)

· 综 述 ·

间质化疗在卵巢癌治疗中的应用

江 源 综述, 韩 克 审校

(南京大学医学院附属鼓楼医院妇产科, 江苏南京 210008)

关键词: 卵巢肿瘤; 药物治疗; 间质化疗

doi: 10.3969/j.issn.1671-8348.2010.20.053

中图分类号: R737.31; R730.53

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2010)20-2816-03

卵巢癌是女性常见的恶性肿瘤, 发病率逐年增加, 其发病率由 15.7/10 万增加到 54.0/10 万, 2006 年, 美国大约有 20 180 例患者死于卵巢癌^[1]。卵巢癌患者在明确诊断时多数已属晚期, 因此, 预后不良。目前, 卵巢癌的标准治疗方案是在肿瘤细胞减灭术的基础上辅以术后化疗的联合治疗。但是术后残余肿瘤灶的大小受肿瘤灶大小、位置的影响, 能接受满意肿瘤细胞减灭术的患者仅占 42% 左右^[2], 大部分无法接受满意肿瘤细胞减灭术的患者预后较差。因此, 化疗是卵巢癌治疗的重要辅助手段。

但传统的静脉化疗全身不良反应较大, 多次化疗后的堆积效应使患者的细胞免疫功能严重失调^[3], 患者往往难以耐受。因此, 改变给药途径, 即通过局部或区域性给药, 能大大提高肿瘤区域内化疗药物的浓度, 增加化疗药物对肿瘤细胞的直接细胞毒性作用, 并有效地降低了全身不良反应。随着抗肿瘤药物缓释剂型的技术改进和对给药途径的观念更新, 区域性化疗即腹腔内化疗、髂内动脉灌注化疗、间质化疗等方法, 日益成为治疗卵巢癌的有效方法及手段。而间质化疗是当前研究的热点^[4]。

所谓间质化疗(interstitial chemotherapy), 是一种局部治疗方法, 兴起于 20 世纪 80 年代, 到 90 年代这一技术逐渐成熟, 且在头颈部、皮肤等恶性肿瘤的治疗中取得了很好的临床效果。即将抗癌药制备成具有缓释作用的给药系统, 经不同方式植入(注入)肿瘤组织、瘤周组织的间质中或肿瘤切除后的瘤床, 从而达到局部组织的持续、高效的药物浓度, 同时降低全身的不良反应。

1 理论基础

卵巢癌行肿瘤细胞减灭术后, 盆腔往往仍会有癌组织及亚临床微转移灶残留, 辅以传统的全身静脉化疗, 难以达到局部有效的血药浓度。理想的化疗方法是药物在肿瘤局部呈特异性分布、作用时间长、有效杀灭癌细胞, 且对正常组织的不良反应小^[5]。卵巢癌具有腹腔种植性转移的生物学特性, 化疗药物经腹腔灌注, 具有局部药物浓度高、药物能与肿瘤直接接触且全身毒性小等优点^[6], 但持续时间不够长久, 而间质化疗正好能满足这一要求。

间质化疗制剂是化疗药物和载体组成的混合物, 将这种混合物植入肿瘤内, 利用载体在体内的缓慢降解而达到对化疗药

物的控释作用, 如果释药速度达到恒速释放, 符合零级动力学方程, 即单位时间释放固定量的药物, 同时使药物的释放更具有可预见性, 则成为控释药物(controlled-release of drugs)。可使化疗药物在局部形成持续高浓度, 达到器官靶向治疗的目的, 且延长化疗药物的作用时间。控释药物具有以下优点: (1) 药物浓度平稳, 避免“峰谷现象”; (2) 对半衰期短的药物可减少给药次数而维持药效; (3) 用药安全、有效; (4) 药物可缓慢释放长达几个月甚至几年。控释型抗肿瘤药注入实体瘤内, 使肿瘤组织长时间与高浓度抗肿瘤药接触, 避免了长时间持续静脉用药所带来的不便; 同时, 因为局部用药, 全身正常细胞药物负荷少, 从而将抗肿瘤药物的不良反应控制在最小的程度^[7]。

作为间质化疗制剂的载体材料需具备自身代谢物无毒、具有足够载药率、最大生物相容性和最小抗原性的特点^[8]。可分为不可生物降解型和可生物降解型 2 种。常用的不可生物降解型辅料有聚异丁腈基丙烯酸酯、聚甲基异丁烯酸、乙烯-乙基乙酸酯共聚物(E2VAc) 和硅酮(silicone)等。可生物降解型辅料则有淀粉、聚乳酸(PLA), 聚乙醇酸(PGA), 聚乳酸-乙醇酸共聚物(PLGA)、双脂肪酸-癸二酸共聚物(PFAD2SA)等^[9-10]。壳聚糖因为具有很好的生物相容性、极高的膜亲和性、无毒等优点, 越来越受到人们的重视, 壳聚糖能够提高溶解度低的药品的溶解度^[11]。加拿大 Laval 公司开发研制了一种以壳聚糖为载体的给药系统, 在常温下呈液态, 在体温下呈固态, 其在体内的降解无需催化剂^[12]。

间质化疗所采用的植入式化疗药物控释剂体积较小, 被植入的部位不会引起肿瘤内明显的压力改变, 可在较长时间内以一定的速率持续地释放药物, 形成局部药物高浓度, 药物在肿瘤组织内的有效浓度维持足够长时间(AUC), 并在浓度梯度作用下向周围逐渐扩散, 然后经血液和淋巴系统参与全身循环^[13], 这样肿瘤部位的肿瘤细胞被高浓度的化疗药物大量杀死, 血液和淋巴系统中的肿瘤细胞也会被化疗药物所抑制, 可明显提高化疗的治疗效果, 并显著减少对患者的不良反应^[14]。

2 间质化疗在卵巢癌治疗中的研究

Vassileva 等^[15]做了持续与间断给予紫杉醇作用于卵巢癌细胞增殖效果对比研究发现, 持续给药组, 肿瘤细胞凋亡的百分比显著增加, 而对照组和间断给药组, 无明显变化; 在体内体外的研究中, 间断给药明显增加肿瘤复发率, 然而持续给药抑