

- [25] Pharoah PD, Palmieri RT, Ramus SJ, et al. The role of KRAS rs61764370 in invasive epithelial ovarian cancer: implications for clinical testing [J]. *Clin Cancer Res*, 2011, 17(11): 3742-3750.
- [26] Liang D, Meyer L, Chang DW, et al. Genetic variants in MicroRNA biosynthesis pathways and binding sites modify ovarian cancer risk, survival, and treatment response [J]. *Cancer Res*, 2010, 70(23): 9765-9776.
- [27] Permeth-Wey J, Kim D, Tsai YY, et al. LIN28B polymorphisms influence susceptibility to epithelial ovarian cancer [J]. *Cancer Res*, 2011, 71(11): 3896-3903.
- [28] Terzian T, Wang Y, Van Pelt CS, et al. Haploinsufficiency of Mdm2 and Mdm4 in tumorigenesis and development [J]. *Mol Cell Biol*, 2007, 27(15): 5479-5485.
- [29] Wynendaele J, Böhnke A, Leucci E, et al. An illegitimate microRNA target site within the 3' UTR of MDM4 affects ovarian cancer progression and chemosensitivity [J]. *Cancer Res*, 2010, 70(23): 9641-9649.
- [30] Jemal A, Siegel R, Xu J, et al. Cancer statistics, 2010 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2010, 60(5): 277-300.
- [31] Chin LJ, Ratner E, Leng S, et al. A SNP in a let-7 microRNA complementary site in the KRAS 3' untranslated region increases non-small cell lung cancer risk [J]. *Cancer Res*, 2008, 68(20): 8535-8540.
- [32] 彭晓蓓, 赵军, 雷哲, 等. microRNA Let-7 与 Kras3' UTR 互补区中 SNP 与非小细胞肺癌发生发展的关系 [J]. *苏州大学学报: 医学版*, 2010, 30(4): 786-790.
- [33] Nelson HH, Christensen BC, Plaza SL, et al. KRAS mutation, KRAS-LCS6 polymorphism, and non-small cell lung cancer [J]. *Lung Cancer*, 2010, 69(1): 51-53.
- [34] Campayo M, Navarro A, Vinolas N, et al. A dual role for KRT81: a miR-SNP associated with recurrence in non-small-cell lung cancer and a novel marker of squamous cell lung carcinoma [J]. *PLoS One*, 2011, 6(7): e22509.
- [35] Jackman DM, Johnson BE. Small-cell lung cancer [J]. *Lancet*, 2005, 366(9494): 1385-1396.
- [36] Xiong F, Wu C, Chang J, et al. Genetic variation in an miRNA-1827 binding site in MYCL1 alters susceptibility to small-cell lung cancer [J]. *Cancer Res*, 2011, 71(15): 5175-5181.
- [37] Zhou Y, Du WD, Chen G, et al. Association analysis of genetic variants in microRNA networks and gastric cancer risk in a Chinese Han population [J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2012, 138(6): 939-945.
- [38] Yang H, Dinney CP, Ye Y, et al. Evaluation of genetic variants in microRNA-related genes and risk of bladder cancer [J]. *Cancer Res*, 2008, 68(7): 2530-2537.
- [39] Feng N, Xu B, Tao J, et al. A miR-125b binding site polymorphism in bone morphogenetic protein membrane receptor type IB gene and prostate cancer risk in China [J]. *Mol Biol Rep*, 2012, 39(1): 369-373.
- [40] Christensen BC, Moyer BJ, Avissar M, et al. A let-7 microRNA-binding site polymorphism in the KRAS 3' UTR is associated with reduced survival in oral cancers [J]. *Carcinogenesis*, 2009, 30(6): 1003-1007.
- [41] Chan E, Patel R, Nallur S, et al. MicroRNA signatures differentiate melanoma subtypes [J]. *Cell Cycle*, 2011, 10(11): 1845-1852.
- [42] Mishra PJ, Humeniuk R, Mishra PJ, et al. A miR-24 microRNA binding-site polymorphism in dihydrofolate reductase gene leads to methotrexate resistance [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2007, 104(33): 13513-13518.

(收稿日期: 2012-09-08 修回日期: 2013-01-22)

• 综 述 •

组织工程化胆管的研究进展*

毛晶晶 综述, 李文春[△] 审校

(湖北医药学院基础医学院, 湖北十堰 442000)

关键词: 胆管; 支架; 种子细胞; 组织工程

doi: 10. 3969/j. issn. 1671-8348. 2013. 15. 038

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2013)15-1774-03

临床上由于医源性胆管损伤、胆管结石、胆管肿瘤、胆管感染等原因导致的肝外胆管狭窄以及一些先天性胆管疾病的治疗, 常用胆肠吻合内引流术或外引流术等方法处理, 由于这些手术需要把胆管切除或者切开, 再行各种方式的胆肠吻合, 使得胆管、Oddis 括约肌的结构缺损或者功能损害, 术后发生胆漏、胆管阻塞、胆管感染甚至胆汁性肝硬化等并发症的风险极大增高^[1-3]。这使得寻找一种合适的能够代替胆管和 Oddi 括约肌结构和功能的人工胆管变得非常有必要, 从而顺利解决肝外胆管修复和重建的难题。随着 20 世纪 80 年代以来组织

工程学的发展, 组织工程化胆管的应用推动了胆管替代治疗的进程^[4]。组织工程的 3 个关键要素由支架材料、种子细胞以及细胞和材料的复合组成^[5-7], 这使得组织工程化胆管中支架材料以及种子细胞的选择至关重要, 本文就组织工程中 3 个关键要素进行综述。

1 支架材料

目前组织工程化胆管中的支架材料大致有人工合成和生物源性两种^[8]。人工合成的支架材料目前用于临床的有高分子多聚物材料、合金类材料。研究者们就这些材料开展了广泛

* 基金项目: 湖北省教育厅科学技术研究项目(B20122402)。 作者简介: 毛晶晶(1986~), 技师, 硕士研究生, 主要从事胆管的组织工程研究; 现在广州军区武汉总医院神经外科工作(邮编, 430070)。 [△] 通讯作者, Tel: 13972465845; E-mail: lwc6412@163.com。

的动物实验。

1.1 人工合成的不可降解吸收型的高分子材料支架 不可降解吸收型的高分子材料支架如聚四氟乙烯 (PTFE)、聚羟基乙酸 (PGA)、聚 L-乳酸 (PLLA)、乳酸和乙醇酸共聚物 (PLGA) 等。这些材料部分已用于临床。Zografakis 等^[9]采用铁氟龙 (商品名, 为 PTFE) 制成的材料植入动物狗体内, 剖腹探查发现所有动物血清的碱性磷酸酶 (ALP)、丙氨酸转氨酶 (ALT)、天冬氨酸转氨酶 (AST) 均有升高, 在材料植入胆管内时表现出的生物相容性微乎其微, 但是在胆管和周围的组织中并没有发现明显的炎症反应。作为在体内不可降解性材料, 氟橡胶 246B、PTFE、聚氨酯热塑性弹性体 TPE-80B, 它们在体内长期留存是否对胆管细胞的生长分化产生影响, 是否会释放有毒物质, 远期疗效有待观察。

1.2 人工合成的可降解的多聚物材料 人工合成的可降解的多聚物材料也成为国内外学者的研究热点。Aikawa 等^[10]用可降解的聚合物 (BAP) 作为胆管缺损的替代物, 将猪的正常胆管壁呈梭形的部分被切开, 再将 BAP 补片植入切开位点, 剖腹探查植入位点的修复情况, 以及观察 BAP 是否发生了变形; 在补片植入和后续剖腹手术时均从动物体内取血进行生化分析; 结果显示所有植入了 BAP 的实验用猪均存活至宰杀, 而且体质量都有增加, 也无黄疸迹象; 进行了 BAP 修补的猪胆管未出现梗阻, 血生化分析也提示没有肝胆酶活动的增加; 组织学观察, 显示在新生胆管内出现了腺体结构; BAP 和猪自体胆管几乎融为一体不能辨别, 体内胆管造影术显示植入位点的胆管扩张, 肝内胆管却没有, 血生化分析显示在正常水平之内, 组织学观察证实在植入补片的位置有类似自体胆管的立体圆柱形上皮细胞生长; 由此提出此替代物有作为新型胆管损伤治疗的前景。

1.3 合金类支架 合金类的支架目前也有部分应用于临床, 但是植入后引起较大的排斥反应, 长期置于体内不利于细胞的生长和分化, 而且硬度高, 缺乏韧性, 不利于手术缝合, 易脱落, 制造成本高, 应用受限。

1.4 可降解的生物源性支架 随着组织工程研究的进一步深入, 可降解的生物源性的支架逐渐被研究者们运用于动物实验进行探查。这类材料有的取材于人体其他部位组织, 但是需要再次手术取材, 增加了患者的疼痛和创伤, 目前研究多集中于动物实验的探讨。Capitanich 等^[11]将大白鼠胆管切除 3 mm, 再用自体静脉进行修补, 在术后 1、2、3 个月时对各组大白鼠行胆管造影术, 再次剖腹手术以及血液测试, 结果未发现胆汁淤滞, 移植替代物表面有类似胆管上皮细胞生长, 但尚需更多实验以及临床研究才能支持自体静脉可以作为胆管缺损修补的替代物这一结论。也有的取材于动物组织, 如猪的小肠黏膜下层, 这类去除细胞的细胞外基质具有丰富的胶原蛋白和弹性蛋白, 没有免疫源性, 和机体无排斥反应, 内部结构呈三维性, 富含孔隙, 有利于细胞深入内层生长, 国外 Rosen 等学者将猪的小肠黏膜下层植入狗体内, 作为胆管修复的材料, 结果证明, 这类材料不仅可在狗体内降解, 还能使新生成的细胞和组织成分具有植入时的形态, 产生的炎症因子也很少^[12]。Miyazawa 等^[13]报道可吸收的生物源性的管状支架在作为胆管旁路植入肝外胆管时, 使胆管细胞在接入位点开始再生修复, 并且一直延续到这个人工胆管降解和吸收, 这种人工胆管的发现可能会促进胆管疾病治疗的研究发展。研究发现, 可降解型的生物源性的支架植入体内后, 不仅可以缓慢分解, 降解后产物对机体无害, 最后还可以被组织吸收; 同时对自体组织不会产生刺激, 不会损伤胆管内壁的黏膜和细胞, 还可以使组

织生长维持植入时的形态, 利于胆管上皮细胞的黏附生长, 能够将胆汁较好地引流, 减少胆汁淤滞, 这使得其具有良好的临床应用价值。从长远考虑, 可降解性的生物源性的支架相比人工合成的高分子材料和合金类的支架具有明显的优势。

2 种子细胞

种子细胞一般来源于在体外具有多向分化能力的各种干细胞, 易于分离获取, 具有无限自我复制及增殖功能, 它们贴附在支架材料表面以及内层结构生长, 能发挥组织工程血管、瓣膜或胆管等所要替代的正常组织的生理功能。

骨髓间充质干细胞 (BMSCs) 拥有很强的向各种来自三胚层的细胞分化的能力, 它在体外还能高度扩增, 使得细胞移植和组织工程领域的学者们对其逐渐关注^[14]。最近研究表明, 骨髓基质干细胞能极大地促进肝细胞和胆管细胞生长, 还具有向肝细胞和胆管细胞分化的潜能, 同时, 这些细胞不会引起移植排斥反应, 不会产生免疫抑制的不良反应^[15]。Lin 等^[16]将 BMSCs 诱导分化成肝细胞和胆管细胞, 并分别对其进行鉴定, 后进一步的措施是在动物实验中, 把分化提纯的胆管细胞通过内窥镜注射入胆漏的部位, 检测动物血中的胆红素, 并用超声扫描动物腹部, 观察植入的胆管细胞是否可以治疗胆漏, 然而动物实验有待证实。徐勇等^[17]在体外分离培养大鼠的 MSCs, 并用细胞生长因子将其诱导分化为胆管的平滑肌细胞和胆管上皮细胞, 和羟基 PLGA 复合培养, 显示细胞生长良好, 还能分泌细胞外基质。这些研究均提示 BMSCs 具有作为组织工程化胆管种子细胞的应用价值, 但由于组织工程化胆管研究目前也属于新兴的研究课题, 对种子细胞的关注较少, 关于种子细胞的选择仍有待考察。

3 支架和种子细胞的复合培养

支架和种子细胞的相容性也是组织工程技术研究的一大课题。成功的组织工程化胆管应是种子细胞能在胆管支架上贴附和深入生长, 并能发挥所替代的细胞的功能, 和机体良好相容, 不发生免疫排斥反应, 胆汁流动通畅, 不发生堵塞, 也无胆漏, 能长期留存于机体, 无不良反应^[18-20]。

组织工程器官的构建, 即细胞与支架材料的复合是组织工程的关键^[21]。将种子细胞种植在具有特定几何形状的支架材料上, 使种子细胞黏附、铺展、生长、分化成具有特定功能的、几何形状与细胞支架相似的组织器官。常用的构建组织工程化胆管的有两种方法: 体外构建和体内构建。体外构建是在体外将种子细胞种植在胆管支架之上, 复合培养至种子细胞分化成熟具有功能后, 再移入机体内。体内构建是将支架材料先放入机体内, 待自体细胞贴附其上生长。目前多用的是第 2 种方式。体外构建组织工程化胆管难度较高, 支架材料和种子细胞的要求高, 且胆管处于流体环境之中。种子细胞在体外与支架复合后具有良好的活力, 但它们均是将细胞与支架材料在静止状态、无特殊压力和环境变化的条件下进行的培养, 即静态培养, 缺点是不具备胆汁流、胆管压力等实际生理环境, 制成的组织工程化胆管结构紊乱、力学强度低、抗感染能力差, 临床使用可行性差。种子细胞与支架材料的复合的动态培养模式将是构建组织工程器官的发展趋势^[22]。动态培养可提供符合生理条件的培养环境, 促进平滑肌细胞定向排列, 细胞外基质分泌和胶原重构, 使组织工程化胆管具有生物活性、其结构和功能与自体胆管相类似的人工胆管, 增强临床应用的可行性。

4 结 语

组织工程化胆管作为一门新的研究课题, 人们对其研究多限于动物实验, 临床应用开展少。但近年来对胆管支架材料的选择及制备进行了广泛的动物实验, 取得了一些进展, 还有学

者已开始利用大动物做实验,但是仍处于起步阶段,随着人们对各种支架材料的来源的探讨,对种子细胞的选择,关于组织工程化胆管的认识逐渐深入,相信在将来能制成具有真正临床应用价值的组织工程化胆管,为广大肝胆疾病患者带来福音。

参考文献:

- [1] Malik AA, Rather SA, Bari SU, et al. Long-term results of choledochoduodenostomy in benign biliary obstruction [J]. *World J Gastrointest Surg*, 2012, 4(2): 36-40.
- [2] Poffenberger CM, Gausche-Hill M, Ngai S, et al. Cholelithiasis and its complications in children and adolescents: update and case discussion [J]. *Pediatr Emerg Care*, 2012, 28(1): 68-76.
- [3] Chok KS, Chan SC, Cheung TT, et al. Bile duct anastomotic stricture after adult-to-adult right lobe living donor liver transplantation [J]. *Liver Transpl*, 2011, 17(1): 47-52.
- [4] Miyazawa M, Aikawa M, Okada K, et al. Regeneration of extrahepatic bile ducts by tissue engineering with a bioabsorbable polymer [J]. *J Artif Organs*, 2012, 15(1): 26-31.
- [5] Sundaram S, Niklason LE. Smooth muscle and other cell sources for human blood vessel engineering [J]. *Cells Tissues Organs*, 2012, 195(1/2): 15-25.
- [6] Robu A, Neagu A, Stoicu-Tivadar L. Cell seeding of tissue engineering scaffolds studied by monte carlo simulations [J]. *Stud Health Technol Inform*, 2011(169): 882-886.
- [7] Badylak SF. Xenogenic extracellular matrix as a scaffold for tissue reconstruction [J]. *Transpl Immunol*, 2004, 12(3/4): 367-377.
- [8] Peck M, Gebhart D, Dusserre N, et al. The evolution of vascular tissue engineering and current state of the art [J]. *Cells Tissues Organs*, 2012, 195(1/2): 144-158.
- [9] Zografakis JG, Jones BT, Ravichandran P, et al. Endoluminal reconstruction of the canine common biliary duct [J]. *Curr Surg*, 2003, 60(4): 437-441.
- [10] Aikawa M, Miyazawa M, Okamoto K, et al. A novel treatment for bile duct injury with a tissue-engineered bioabsorbable polymer patch [J]. *Surgery*, 2010, 147(4): 575-580.
- [11] Capitanich P, Herrera J, Iovaldi ML, et al. Bile duct re-
• 综 述 •
- placement using an autologous femoral vein graft: an experimental study [J]. *J Gastrointest Surg*, 2005, 9(3): 369-373.
- [12] Rosen M, Ponsky J, Petras R, et al. Small intestinal submucosa as a bioscaffold for biliary tract regeneration [J]. *Surgery*, 2002, 132(3): 480-486.
- [13] Miyazawa M, Torii T, Toshimitsu Y, et al. A tissue-engineered artificial bile duct grown to resemble the native bile duct [J]. *Am J Transplant*, 2005, 5(6): 1541-1547.
- [14] Wang X, Willenbring H, Akkari Y, et al. Cell fusion is the principal source of bone-marrow-derived hepatocytes [J]. *Nature*, 2003, 422(6934): 897-901.
- [15] Kallis YN, Alison MR, Forbes SJ. Bone marrow stem cells and liver disease [J]. *Gut*, 2007, 56(5): 716-724.
- [16] Lin Y, Yan L, Cheng N. Application of bone marrow cells: a novel therapy for bile leak [J]. *Med Hypotheses*, 2009, 73(3): 374-376.
- [17] 徐勇, 周家华. 组织工程化胆管中管状组织细胞培养及其与支架材料的相容性 [J]. *江苏医药*, 2011, 37(1): 12-15.
- [18] Akamatsu N, Sugawara Y, Hashimoto D. Biliary reconstruction, its complications and management of biliary complications after adult liver transplantation: a systematic review of the incidence, risk factors and outcome [J]. *Transpl Int*, 2011, 24(4): 379-392.
- [19] Aikawa M, Miyazawa M, Okamoto K, et al. An extrahepatic bile duct grafting using a bioabsorbable polymer tube [J]. *J Gastrointest Surg*, 2012, 16(3): 529-534.
- [20] Zografakis JG, Jones BT, Ravichandran P. Endoluminal reconstruction of the canine common biliary duct [J]. *Curr Surg*, 2003, 60(4): 437-441.
- [21] Cao Y, Croll TI, Lees JG, et al. Scaffolds, stem cells, and tissue engineering: a potent combination [J]. *Aust J Chem*, 2005, 58(10): 691-703.
- [22] Seitz S, Ern K, Lamper G, et al. Influence of in vitro cultivation on the integration of cell-matrix constructs after subcutaneous implantation [J]. *Tissue Eng*, 2007, 13(5): 1059-1067.

(收稿日期: 2012-09-08 修回日期: 2013-02-22)

急性胰腺炎腺泡细胞钙超载学说研究进展

王 静 综述, 王 焯[△] 审校

(泸州医学院附属医院消化内科, 四川泸州 646000)

关键词: 胰腺炎; 钙超载; 胰腺腺泡细胞

doi: 10.3969/j.issn.1671-8348.2013.15.039

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2013)15-1776-04

急性胰腺炎(AP)发病机制中的很多环节并不十分清楚,自1995年Ward等^[1]提出了胰腺腺泡细胞钙超载是AP发病的“触发点”的假说以来,“胰腺腺泡细胞钙超载学说”一直是AP发病机制研究中的热点,随着多学科研究技术相结合在该

学说研究领域的应用,钙超载在AP发病机制中的作用得以深入研究,本文拟对此进行综述。

1 胰腺腺泡细胞内钙离子浓度升高的机制

胰腺腺泡细胞处于静息状态时,细胞内钙离子(细胞质钙