

· 论 著 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2016.15.005

## 半乳糖凝集素-3 联合 HGF 诱导大鼠骨髓间充质干细胞分化为肝样细胞\*

吴增城<sup>1</sup>, 康利民<sup>1,2</sup>, 李 阳<sup>1</sup>, 郭 斌<sup>1</sup>, 冯 磊<sup>1</sup>, 彭 青<sup>1</sup>, 潘明新<sup>1△</sup>

(1. 南方医科大学珠江医院肝胆二科/“器官衰竭防治”国家重点实验室/“器官衰竭防治”协同创新中心/广东省人工器官与组织工程研究中心, 广州 510282; 2. 云南省普洱市人民医院肝胆外科 665000)

**[摘要]** **目的** 探索半乳糖凝集素-3(Gal-3)联合肝细胞生长因子(HGF)诱导大鼠骨髓间充质干细胞(BMSCs)向肝样细胞分化的可行性及最佳诱导条件,并对诱导后的细胞进行鉴定。**方法** 离心、贴壁培养分离大鼠 BMSCs,流式细胞术鉴定表面标志。取第 3 代细胞进行分组诱导培养,A 组:0 μg/mL Gal-3+20 ng/mL 肝细胞生长因子(HGF);B 组:0.1 μg/mL Gal-3+20 ng/mL HGF;C 组:0.5 μg/mL Gal-3+20 ng/mL HGF;D 组:1.0 μg/mL Gal-3+20 ng/mL HGF;E 组:2.0 μg/mL Gal-3+20 ng/mL HGF;阳性对照组:SD 大鼠肝脏细胞 IAR20。分别于诱导后 7、14、21、28 d 时段进行细胞形态学观察、免疫荧光染色检测、实时荧光定量核酸扩增检测(Q-PCR)鉴定其诱导分化情况。**结果** 分组诱导培养后,各组 BMSCs 形态逐渐向肝样细胞转化,与大鼠原代肝脏细胞 IAR20 相似,其中 28 d 时间段,C 组转化成 IAR20 相似细胞比例最高;各组甲胎蛋白(AFP)、清蛋白(ALB) 荧光染色阳性率明显增高,并且在 28 d 时间点 C 组 AFP、ALB 的荧光染色阳性率最高;C 组 AFP、ALB mRNA 表达明显增加,同时以 28 d 时间点表达量达到峰值。**结论** Gal-3 联合 HGF 能有效诱导大鼠 BMSCs 分化为肝样细胞,分化后的肝样细胞能分泌肝细胞特异性产物 AFP、ALB,且其诱导效率与诱导培养时间和 Gal-3 浓度有关。

**[关键词]** 间质干细胞;甲胎蛋白类;肝细胞生长因子;骨髓间充质干细胞;半乳糖凝集素-3;诱导;肝样分化**[中图分类号]** Q254**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2016)15-2043-05

## Gal-3 united HGF induce the differentiation of rats BMSCs into hepatocyte-like cells\*

Wu Zengcheng<sup>1</sup>, Kang Liming<sup>1,2</sup>, Li Yang<sup>1,2</sup>, Guo Bin<sup>1</sup>, Feng Lei<sup>1</sup>, Peng Qing<sup>1</sup>, Pan Mingxin<sup>1△</sup>

(1. Second Department of Hepatobiliary Surgery, Zhujiang Hospital, Southern Medical University/State Key Laboratory of Organ Failure Research/Co-Innovation Center for Organ Failure Research/Guangdong Provincial Research Center of Artificial Organ and Tissue Engineering, Guangzhou, Guangdong 510282, China; 2. Department of Hepatobiliary Surgery, Puer People's Hospital, Puer, Yunnan 665000, China)

**[Abstract]** **Objective** To explore the feasibility and optimum concentration of direct differentiation of rats BMSCs into hepatocyte-like cells induced by Gal-3 joint HGF and identify the induced cells. **Methods** Rats BMSCs were separated used gradient centrifugation and adherence culture, and then identified by flow cytometry. The third generation cells were divided into 5 groups. Group A: 0 μg/mL Gal-3+20 ng/mL HGF; group B: 0.1 μg/mL Gal-3+20 ng/mL HGF; group C: 0.5 μg/mL Gal-3+20 ng/mL HGF; group D: 1.0 μg/mL Gal-3+20 ng/mL HGF; group E: 2.0 μg/mL Gal-3+20 ng/mL HGF; positive control group; primary rat hepatic cells IAR20. The morphology observation, Q-PCR and immunofluorescent staining were applied respectively after induced 7, 14, 21, 28 d to identify the cells differentiation. **Results** After induction, the morphological characteristics gradually transformed into hepatocyte-like cells, similar to primary rat hepatic cells IAR20, the translation rate of group C in the 28-days time period was the highest; Immunohistochemical examination demonstrated that fluorescence staining positive rate of ALB and AFP in each group increased over induced time, and group C was the highest in the 28-days time period. Q-PCR demonstrated that the expression of ALB and AFP mRNA in group C increased over induced time, and peaked in the 28-days time period. **Conclusion** Gal-3 joint HGF could induce the differentiation of rats BMSCs into hepatocyte-like cells which secrete hepatocyte specific product AFP and ALB, and the induction efficiency is related to the induction time and the concentration of Gal-3.

**[Key words]** mesenchymal stem cells; alpha-fetoproteins; hepatocyte growth factor; bone marrow-derived mesenchymal stem cells; Gal-3; induce; hepatocyte-like differentiation

骨髓间充质干细胞(bone marrow-derived mesenchymal stem cells, BMSCs)是一类具有自我复制功能和多向分化潜能的成体干细胞<sup>[1]</sup>,在一定条件下可以诱导分化为成骨细胞、脂肪细胞、神经细胞、心肌细胞,以及肝细胞等<sup>[2-6]</sup>。由于其可以定向分化为肝样细胞,参与肝脏的损伤修复、细胞更新、功能重

建等病理生理过程<sup>[7]</sup>,在肝病治疗中的具有巨大应用潜能。半乳糖凝集素-3(Gal-3)是半乳糖凝集素家族中的一员,参与多种生理和病理过程,包括细胞生长、增殖、凋亡、分化、炎症反应及新生血管形成和肿瘤浸润与转移等<sup>[8]</sup>。有研究发现 Gal-3 在缺血性脑组织中神经元再生和血管内皮细胞的增殖分化过

\* 基金项目:国家高技术发展研究计划“863”项目(2012AA020505);广东省自然科学基金项目(2014A030313279);广东省省级科技计划项目(2014B020227002)。作者简介:吴增城(1989-),住院医师,在读硕士,主要从事肝组织损伤修复研究。△ 通讯作者,E-mail:pmxwxy@sohu.com。

程中起重要作用<sup>[9-10]</sup>。但尚不明确其在 BMSCs 向肝样细胞转化过程中的作用。因此本研究通过将不同浓度的 Gal-3 联合肝细胞生长因子(HGF)加入 BMSCs 培养液中诱导培养 BMSCs 向肝样细胞定向分化,以探索该方法的可行性及相关条件。

## 1 材料与与方法

**1.1 材料** 健康 SD 雄性大鼠,体质量 80~100 g,由南方医科大学实验动物中心供应。大鼠肝脏细胞 IAR20 购自上海一研生物;Murine HGF、Human Gal-3 购自 peprotech 公司;胎牛血清、DMEM-F12 培养基、青链霉素、磷酸盐缓冲溶液(PBS)均购自 Hyclone 公司;抗大鼠 CD29-FITC、CD34-FITC、CD44-FITC、CD90-FITC 购自 eBioscience 公司,抗大鼠 CD45 及羊抗鼠免疫球蛋白 G(IgG)荧光二抗购自 Bioss 公司;兔抗大鼠甲胎蛋白(AFP)单克隆一抗购自 Abcam 公司,兔抗大鼠清蛋白(ALB)单克隆一抗购自 Santa 公司。

## 1.2 方法

**1.2.1 大鼠 BMSCs 的分离、培养及鉴定** SD 大鼠颈椎脱臼处死,无菌条件下提取股骨、胫骨骨髓液,采用 Percol 1 液分离获取细胞,以  $5 \times 10^6$ /mL 接种于 50 mL 塑料培养瓶中,置于 37 °C,5% CO<sub>2</sub> 的培养箱内培养。48 h 首次换液,去除未贴壁的细胞,以后每隔 2~3 天换液 1 次。直至细胞长满至 80%~90%,按 1:3 传代。取 P3 细胞,制备单细胞悬液(5 万~10 万),分别加入抗大鼠 CD29-FITC、CD34-FITC、CD44-FITC、CD90-FITC、CD45,避光孵育 30 min,PBS 冲洗离心,重悬细胞后上流式细胞仪。其中 CD45 培养瓶需要在孵育结束后加入二抗继续孵育 30 min。

**1.2.2 实验分组及诱导分化培养** 取生长状态良好的 P3 代细胞,根据 SD 大鼠 BMSCs 完全培养基加入不同浓度 Gal-3 分组。A 组:0 μg/mL Gal-3+20 ng/mL HGF;B 组:0.1 μg/mL Gal-3+20 ng/mL HGF;C 组:0.5 μg/mL Gal-3+20 ng/mL HGF;D 组:1.0 μg/mL Gal-3+20 ng/mL HGF;E 组:2.0 μg/mL Gal-3+20 ng/mL HGF;阳性对照组:SD 大鼠肝脏细胞 IAR20。

**1.2.3 细胞形态学观察** 各组在诱导后第 7、14、21、28 天倒置显微镜观察细胞形态学变化。

**1.2.4 总 RNA 提取和实时荧光定量核酸扩增检测系统(Q-PCR)** 分别于诱导后第 7、14、21、28 天收集细胞,用 Trizol 试剂提取总 RNA,各取 1 μL RNA 样品进行纯度检测和完整性检测。以提取的 RNA 为模板反转录合成 cDNA,以 β-actin 为内参,定量 PCR 仪检测 AFP、ALB 的基因表达。引物序列如下:AFP(130 bp)F5'-GGA CTG GCC GAC ATT TAC AT-3',

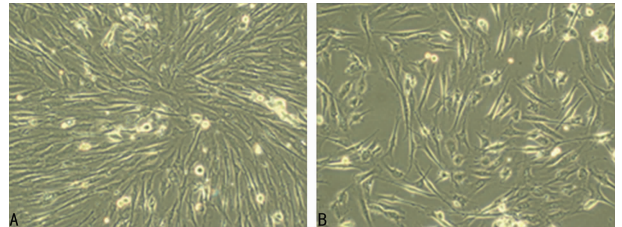
R5'-CCC TCA GAA AGC TGG TGA TG-3';ALB(120 bp)F5'-TCT ATG CCC CAG AAC TCC TT-3',R5'-CTT TCT CTT TCA CGG CAT CA-3';β-actin(150 bp)F5'-AGG GAA ATC GTG CGT GAC AT-3',R5'-GAA CCG CTC ATT GCC GAT AG-3'。反应条件:50 °C 2 min;95 °C 2 min;95 °C 15 s,60 °C 32 s 读板,40 个循环;溶解曲线分析:温度 60~95 °C。每个样品重复 3 次。其中 Q-PCR 所得的数据结果 Ct 值,按以下公式进行转换: $\Delta\Delta Ct(\bar{x} \pm s) = \text{待测样品中目的基因 Ct} - \text{参照样品中目的基因 Ct}$ ;目的基因  $\Delta Ct(\bar{x} \pm s) = \text{目的基因 Ct} - \text{内参 Ct}$ 。

**1.2.5 细胞免疫荧光染色** 分别于诱导后第 7、14、21、28 天收集细胞,制备爬片,行免疫荧光细胞化学染色。一抗为兔抗鼠 ALB(1:400)、AFP(1:320),以 IAR20 细胞为阳性对照。荧光显微镜观察拍照。

**1.3 统计学处理** 采用 SPSS17.0 统计软件进行处理,计量资料用  $\bar{x} \pm s$  表示,多样本间均数比较采用多因素方差分析及 t 检验,检验水准  $\alpha = 0.05$ ,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 大鼠 BMSCs 分离培养及流式鉴定结果** 分离培养的 BMSCs 呈集落、漩涡状生长,外观呈长梭形,有伪足(图 1)。流式细胞术检测结果显示间充质干细胞标记分子 CD29、CD44 和 CD90 阳性,造血干细胞标记分子 CD34 和 CD45 为阴性,见图 2。



A:漩涡状生长;B:长梭形。

图 1 SD 大鼠 BMSCs 形态观察(×100)

**2.2 诱导后细胞形态学观察结果** 分组诱导培养 7 d 后,部分细胞伪足变短,呈短梭形改变;诱导培养 14~21 d 后,变成纺锤、不规则圆形或多角形,细胞变平变薄,部分细胞开始小范围的呈岛状连接;培养至 28 d 时,细胞类似肝细胞样,形成岛状连接成片,可见许多双核细胞和多核细胞,与大鼠原代肝脏细胞 IAR20 相似。其中以 C 组转化成 IAR20 相似细胞比例最高,见图 3。B、D、E 组细胞形态变化程度居于 A、C 组间,因此不单列图做说明。

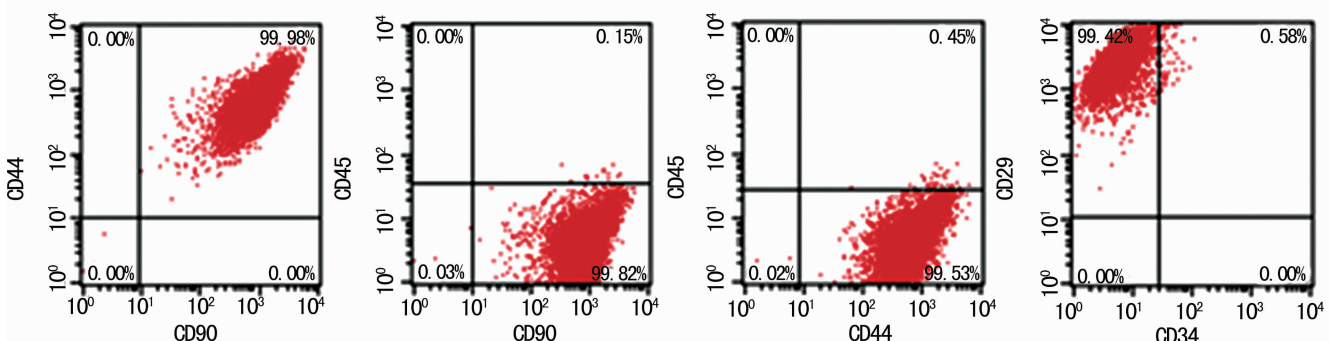
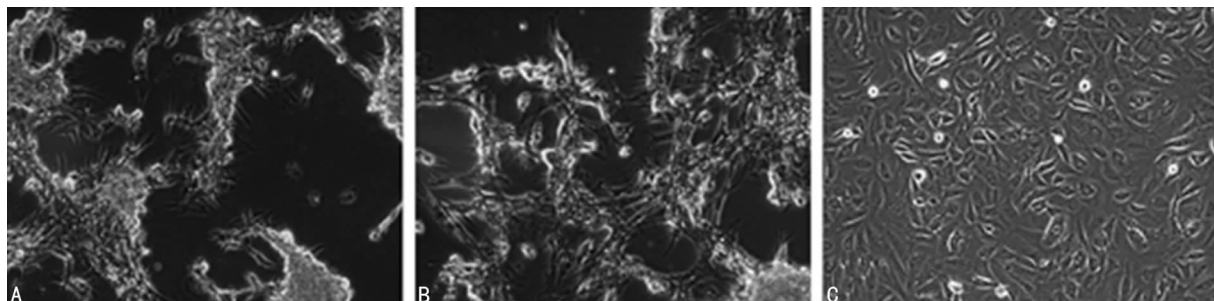


图 2 流式细胞术检测 BMSCs 表面标记分子

**2.3 Q-PCR 检测 AFP、ALB mRNA 表达结果** 取相对定量的方法检测目的基因的表达变化,按照  $2^{-\Delta\Delta CT}$  法对数据进行统计分析。结果显示不同浓度的 Gal-3+HGF 组与诱导培养时间对于 AFP、ALB 的 mRNA 表达存在交互效应 ( $P < 0.01$ )。随着时间的延长,7、14、21 及 28 d 4 个时间段 AFP、ALB 的 mRNA 表达差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ );同时不同浓度的 Gal-3 联合 HGF 诱导骨髓干细胞表达 AFP、ALB 差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ )。本研究还发现与阳性对照组比较,随着培

养时间的延长,C 组 AFP、ALB mRNA 表达明显增加,28 d 时,C 组 AFP、ALB 的 mRNA 表达量最高,见表 1~2、图 4~5。

**2.4 细胞免疫荧光染色结果** 与阳性对照组比较,随着培养时间的延长,各组 AFP 及 ALB 荧光染色阳性率明显增高,同时以 28 d 时间点各组染色阳性率最高;并且在 28 d 时间点各组比较发现,C 组 AFP 及 ALB 的荧光染色阳性率最高,见图 4、5。B、D、E 组 AFP、ALB 的免疫荧光染色大致等同于 C 组,但阳性率低于 C 组,因此不单列图做说明。



A: A 组诱导培养后 28 d; B: C 组诱导培养后 28 d; C: 阳性对照组。

图 3 诱导培养后细胞形态学变化 (×100)

表 1 不同时段 AFP Q-PCR  $2^{-\Delta\Delta CT}$  值 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	AFP $2^{-\Delta\Delta CT}$ 值				合计	F	P
	7 d	14 d	21 d	28 d			
阳性对照组	1.00±0.04	1.00±0.04	1.00±0.04	1.00±0.04			
A 组	1.37±0.04 <sup>c</sup>	1.25±0.10 <sup>c</sup>	1.11±0.03 <sup>c</sup>	1.92±0.07	1.41±0.33	91.293	0.000
B 组	3.32±0.13 <sup>c</sup>	3.79±0.18 <sup>c</sup>	2.13±0.05 <sup>c</sup>	1.75±0.05 <sup>c</sup>	2.75±0.88	209.209	0.000
C 组	2.08±0.03 <sup>c</sup>	3.44±0.49 <sup>c</sup>	6.58±0.55 <sup>c</sup>	16.88±0.10 <sup>c</sup>	7.25±6.06	963.307	0.000
D 组	2.49±0.07 <sup>c</sup>	3.13±0.17 <sup>c</sup>	7.92±0.06 <sup>c</sup>	3.55±0.17 <sup>c</sup>	4.27±2.34	1 071.808	0.000
E 组	1.14±0.02 <sup>c</sup>	2.72±0.30 <sup>c</sup>	5.88±0.05 <sup>c</sup>	6.74±0.22 <sup>c</sup>	4.12±2.39	582.144	0.000
合计	2.08±0.82	2.87±0.95	4.72±2.74	6.17±5.85	3.96±3.59	1 213.111 <sup>a</sup>	0.000 <sup>a</sup>
F	557.664	60.489	523.156	6 725.971	1 349.676 <sup>a</sup>	749.082 <sup>b</sup>	
P	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000 <sup>a</sup>	0.000 <sup>b</sup>	

<sup>a</sup>: 主效应的 F 统计量和 P 值; <sup>b</sup>: 交互效应的 F 统计量和 P 值。 <sup>c</sup>:  $P < 0.05$ , 与阳性对照组比较。

表 2 不同时段 ALB Q-PCR  $2^{-\Delta\Delta CT}$  值 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	ALB $2^{-\Delta\Delta CT}$ 值				合计	F	P
	7 d	14 d	21 d	28 d			
阳性对照组	1.01±0.05	1.01±0.05	1.01±0.05	1.01±0.05			
A 组	1.24±0.34	1.32±0.07 <sup>c</sup>	1.17±0.08	0.89±0.01 <sup>c</sup>	1.15±0.23	3.318	0.078
B 组	1.72±0.16 <sup>c</sup>	3.77±0.40 <sup>c</sup>	7.11±0.03 <sup>c</sup>	8.92±0.05 <sup>c</sup>	5.38±2.94	668.494	0.000
C 组	3.91±0.33 <sup>c</sup>	5.14±0.11 <sup>c</sup>	8.65±0.04 <sup>c</sup>	13.42±0.03 <sup>c</sup>	7.78±3.86	1798.648	0.000
D 组	5.56±0.23 <sup>c</sup>	8.56±0.08 <sup>c</sup>	7.88±0.02 <sup>c</sup>	6.59±0.12 <sup>c</sup>	7.15±1.21	288.116	0.000
E 组	5.66±0.57 <sup>c</sup>	11.03±2.51 <sup>c</sup>	6.90±0.04 <sup>c</sup>	4.34±0.04 <sup>c</sup>	6.98±2.84	15.200	0.001
合计	3.62±1.95	5.96±3.70	6.34±2.75	6.83±4.38	5.69±3.47	85.653 <sup>a</sup>	0.000 <sup>a</sup>
F	103.318	34.491	13 927.496	1 687.815	242.839 <sup>a</sup>	60.470 <sup>b</sup>	
P	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000 <sup>a</sup>	0.000 <sup>b</sup>	

<sup>a</sup>: 主效应的 F 统计量和 P 值; <sup>b</sup>: 交互效应的 F 统计量和 P 值。 <sup>c</sup>:  $P < 0.05$ , 与阳性对照组比较。

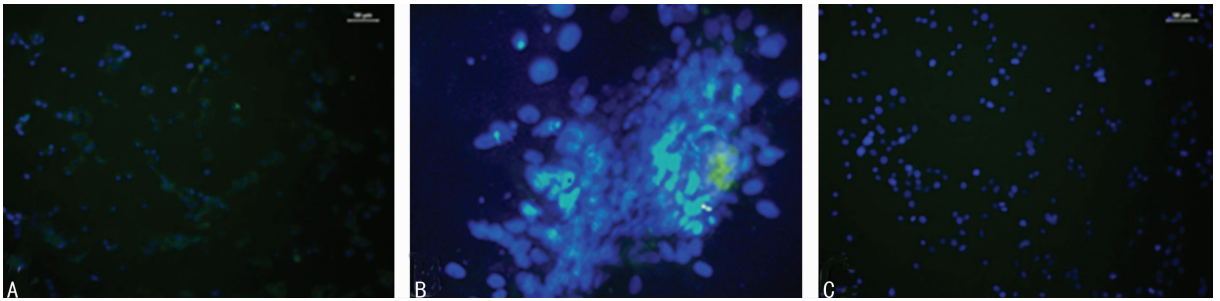


图 4 A 组诱导培养后 28 d; B: C 组诱导培养后 28 d; C: 阳性对照组。

图 4 诱导 BMSCs 培养 28 d AFP 荧光染色 ( $\times 200$ )

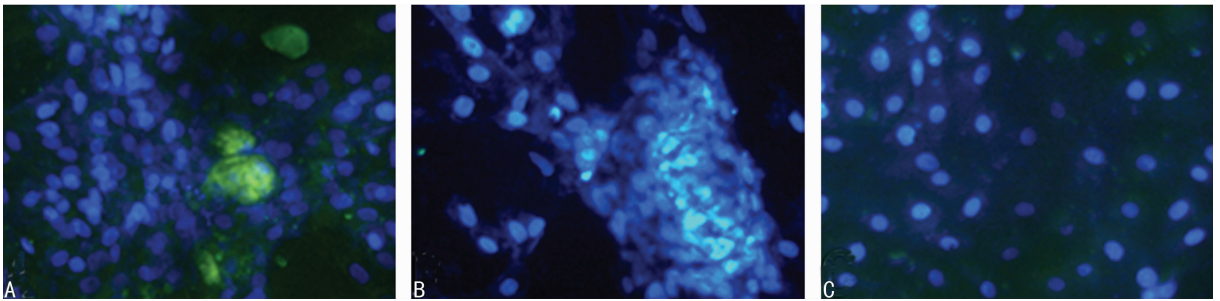


图 5 A 组诱导培养后 28 d; B: C 组诱导培养后 28 d; C: 阳性对照组。

图 5 诱导 BMSCs 培养 28 d ALB 荧光染色 ( $\times 200$ )

### 3 讨 论

原位肝移植作为治疗各种终末期肝病的方法存在供体短缺、免疫排斥、费用昂贵等各种限制,干细胞移植由于其治疗操作简单,可重复进行,免疫源性弱,治疗费用低等优点在肝脏疾病替代治疗领域和组织工程领域存在重要研究价值<sup>[11]</sup>。BMSCs 是存在于骨髓的有多向分化潜能的成体干细胞,具有供源丰富,易于获得,有自体供源,避免免疫排斥等优点,成为干细胞移植治疗的理想种子细胞<sup>[12]</sup>。本实验采用贴壁培养法分离提纯大鼠 BMSCs,流式细胞术鉴定结果显示其高表达间充质干细胞标志 CD29、CD44 和 CD90,不表达造血干细胞标志 CD34 和 CD45<sup>[13]</sup>,为后续实验提供纯度高、活性好的细胞来源,有利于诱导培养进行。

目前,体内外诱导 BMSCs 向肝样细胞定向分化并具有肝细胞的合成和分泌功能的研究很多<sup>[14]</sup>,如何高效获得大量功能性肝样细胞是 BMSCs 体外研究的努力方向。现有研究发现在 BMSCs 向肝样细胞诱导分化过程中起重要作用的生长因子和细胞因子很多,其中应用最为广泛的是 HGF。HGF 主要在肝脏枯否细胞与肝窦内皮细胞中产生,当其浓度小至 1 ng/mL 时,对肝细胞就有促进有丝分裂作用,是正常肝细胞最强的促有丝分裂剂。Okumoto 等<sup>[15]</sup>将 HGF 作为诱导因子诱导大鼠 BMSCs 分化,21 d 后细胞增殖形成克隆,表达所有肝细胞特异性基因。此外,细胞因子的种类、浓度、作用时间和作用时段等都会影响 BMSCs 的分化、增殖甚至分化后细胞的生物学特性。由于肝损伤时肝细胞再生修复过程中其微环境中的影响是多因素的,而 HGF 在肝损伤微环境中的变化又是最突出的,本实验选择采用 20 ng/mL HGF 作为基础诱导剂,不仅提高分化效率,便于本研究对诱导效果的观察研究,更能体现肝细胞再生修复过程中复杂的影响因素。

Gal-3 是一种具有独特的嵌合体结构的  $\beta$ -半乳糖苷结合蛋白,主要定位于细胞质,也见于细胞核、细胞表面和细胞外环

境,其功能多样性<sup>[16]</sup>,通过其糖识别域(CRD)与细胞表面的糖蛋白或糖脂结合,参与多种生理和病理过程,包括细胞生长、增殖和凋亡、细胞黏附及血管形成和肿瘤浸润与转移等。Gal-3 在促进多种细胞的再生和修复中起重要的作用<sup>[8]</sup>。有研究发现在体外实验中,剂量依存性的 Gal-3 可以刺激 BMSCs 向血管内皮细胞分化,且 10 mg/L 浓度的 Gal-3 诱导效果最明显<sup>[10]</sup>。Gal-3 和肝细胞再生修复的关系也很密切。Yamazaki 等<sup>[17]</sup>以四氯化碳( $\text{CCl}_4$ )肝损伤大鼠模型为研究对象,发现在肝脏修复过程中 Gal-3 通过激活酪氨酸激酶信号通路而促进肝脏细胞的增殖。杨永峰等<sup>[18]</sup>的研究提示急性肝衰竭时患者体内的 Gal-3 水平与患者的临床预后密切相关。Ulu 等<sup>[19]</sup>发现在肝癌和病毒性肝炎肝损伤患者血清中 Gal-3 水平明显升高。鉴于 Gal-3 与干细胞分化和肝细胞再生修复有密切相关性,本研究推测 Gal-3 可能通过诱导 BMSCs 定向分化为肝样细胞从而修复损伤的肝功能,而且其诱导效率同样存在剂量依赖性和时间依从性。为了验证这一假说,本研究采用不同浓度的 Gal-3 联合 HGF 诱导 BMSCs 向肝样细胞转化。实验结果显示,不同浓度的 Gal-3 联合 HGF 均能诱导 BMSCs 定向分化为肝样细胞,而且诱导得到的细胞能表达肝细胞特异性产物 ALB 和 AFP,其中 0.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  Gal-3 联合 20 ng/mL HGF 剂量组进行 28 d 培养后诱导效率最高。相对于单独使用 HGF 进行诱导培养,加入 Gal-3 后诱导效率明显提高,分化后的细胞功能及活性也明显增强。

实验结果还发现了 0.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  浓度条件下 Gal-3 的诱导作用最强,为下一步探索单独使用 Gal-3 能否高效的诱导大鼠 BMSCs 向肝样细胞分化及其与 20 ng/mL HGF 诱导分化作用差异比较等问题奠定了实验条件和基础。

综上所述, Gal-3 是一个非常有力量的促进 BMSCs 向肝样细胞分化的因子,0.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  Gal-3 + 20 ng/mL HGF 能高效诱导大鼠 BMSCs 定向分化为肝样细胞。但是

Gal-3 能否单独起到诱导作用及其与经典诱导剂 HGF 的诱导分化作用差异, 以及其是通过何种机制促使 BMSCs 的诱导分化等问题还需要进一步的实验探索研究。

### 参考文献

- [1] Hajifathali A, Saba F, Atashi A, et al. The role of catecholamines in mesenchymal stem cell fate[J]. *Cell Tissue Res*, 2014, 358(3): 651-665.
- [2] Kim JY, Kim MR, Kim SJ. Modulation of osteoblastic/odontoblastic differentiation of adult mesenchymal stem cells through gene introduction: a brief review[J]. *J Korean Assoc Oral Maxillofac Surg*, 2013, 39(2): 55-62.
- [3] Hang HL, Xia Q. Role of BMSCs in liver regeneration and metastasis after hepatectomy[J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(1): 126-132.
- [4] Li R, Liang L, Dou Y, et al. Mechanical strain regulates osteogenic and adipogenic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells [J]. *Biomed Res Int*, 2015: 873251.
- [5] Luchetti F, Canonico B, Bartolini DA, et al. Melatonin regulates mesenchymal stem cell differentiation: a review[J]. *J Pineal Res*, 2014, 56(4): 382-397.
- [6] Parivar KB, Baharara J, Sheikholeslami A. Neural differentiation of mouse bone marrow-derived mesenchymal stem cells treated with sex steroid hormones and basic fibroblast growth factor[J]. *Cell J*, 2015, 17(1): 27-36.
- [7] Stock P, Brückner S, Winkler S, et al. Human bone marrow mesenchymal stem cell-derived hepatocytes improve the mouse liver after acute acetaminophen intoxication by preventing progress of injury[J]. *Int J Mol Sci*, 2014, 15(4): 7004-7028.
- [8] Dumic J, Dabelic S, Flögel M. Galectin-3: an open-ended story[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2006, 1760(4): 616-635.
- [9] Yan YP, Lang BT, Vemuganti R, et al. Galectin-3 mediates post-ischemic tissue remodeling[J]. *Brain Res*, 2009, 1288: 116-124.

- [10] Wan SY, Zhang TF, Ding Y. Galectin-3 enhances proliferation and angiogenesis of endothelial cells differentiated from bone marrow mesenchymal stem cells[J]. *Transplant Proc*, 2011, 43(10): 3933-3938.
- [11] 郑玉宝, 高志良. 干细胞移植在肝衰竭治疗的现状及前景[J]. *临床内科杂志*, 2014, 31(8): 523-525.
- [12] 崔红强, 吴绍华. 骨髓间充质干细胞研究进展[J]. *西南军医*, 2009, 11(4): 715-717.
- [13] 祝旭龙, 颜谭, 姚维杰, 等. 大鼠骨髓间充质干细胞的分离与培养方法优化[J]. *南方医科大学学报*, 2014, 34(11): 1621-1626, 1631.
- [14] 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): 500-504.
- [15] Okumoto K, Saito T, Hattori E, et al. Differentiation of rat bone marrow cells cultured on artificial basement membrane containing extracellular matrix into a liver cell lineage[J]. *J Hepatol*, 2005, 43(1): 110-116.
- [16] 徐跃, 杨仙玉. 半乳糖凝集素-3 及其相关抑制剂的研究进展[J]. *中国生化药物杂志*, 2011, 32(5): 417-420.
- [17] Yamazaki K, Kawai A, Kawaguchi M, et al. Simultaneous induction of galectin-3 phosphorylated on tyrosine residue, p21 (WAF1/Cip1/Sdi1), and the proliferating cell nuclear antigen at a distinctive period of repair of hepatocytes injured by CCl4[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2001, 280(4): 1077-1084.
- [18] 杨永峰, 郑以山, 董磊, 等. 血清半乳糖凝集素-3 水平与肝衰竭预后相关性[J]. *肝脏*, 2013, 18(7): 461-462.
- [19] Ulu M, Alacacioglu A, Yuksel E, et al. Prognostic significance of serum galectin-3 levels in patients with hepatocellular cancer and chronic viral hepatitis[J]. *Saudi J Gastroenterol*, 2015, 21(1): 47-50.

(收稿日期: 2015-11-15 修回日期: 2016-02-01)

(上接第 2042 页)

- [10] Woo SH, Ranade S, Weyer AD, et al. Piezo2 is required for Merkel-cell mechanotransduction[J]. *Nature*, 2014, 509(752): 622-626.
- [11] Maksimovic S, Nakatani M, Baba Y, et al. Epidermal merkel cells are mechanosensory cells that tune mammalian touch receptors[J]. *Nature*, 2014, 509(752): 617-621.
- [12] Ikeda R, Gu JG. Piezo2 Channel conductance and localization domains in Merkel cells of rat whisker hair follicles [J]. *Neurosci Lett*, 2014, 583: 210-215.
- [13] Dubin AE, Schmidt M, Mathur J, et al. Inflammatory signals enhance piezo2-mediated mechanosensitive currents [J]. *Cell Rep*, 2012, 2(3): 511-517.

- [14] Coste B, Houge G, Murray MF, et al. Gain-of-function mutations in the mechanically activated ion channel PIEZO2 cause a subtype of distal arthrogryposis[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2013, 110(12): 4667-4672.
- [15] Mcmillin MJ, Beck AE, Chong JX, et al. Mutations in PIEZO2 cause Gordon syndrome, Marden-Walker syndrome, and distal arthrogryposis type 5[J]. *Am J Hum Genet*, 2014, 94(5): 734-744.
- [16] Laurent AC, Breckler M, Berthouze M, et al. Role of Epac in brain and heart[J]. *Biochem Soc Trans*, 2012, 40(1): 51-57.

(收稿日期: 2015-11-14 修回日期: 2016-01-08)