

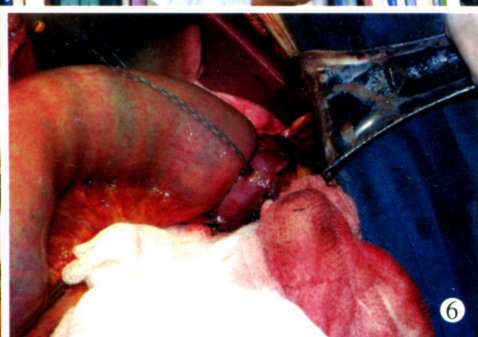
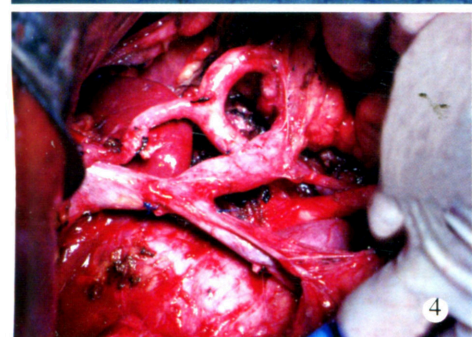
# 世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE  
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2003 年 5 月 15 日 第 11 卷 第 5 期

(Volume 11 Number 5)



**5/2003**

ISSN 1009-3079

名誉总编辑  
潘伯荣  
总编辑  
马连生



World Journal of Gastroenterology® 被 SCI®-E, Research Alert®, Current Contents®/Clinical Medicine, Journal Citation Reports®, Index Medicus, MEDLINE, Chemical Abstracts, EMBASE/Excerpta Medica 收录. 2001 年 JCR® 报告 WJG 影响因子 1.445. 世界华人消化杂志® 被 Chemical Abstracts, EMBASE/Excerpta Medica 收录. 2001 年中国科技期刊引证报告: 世界华人消化杂志® 影响因子 3.733, WJG 影响因子 2.920.

# 世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

## 目次

2003 年 5 月 15 日 第 11 卷 第 5 期 (总第 109 期)

述 评	497 刮吸解剖法在肝门胆管癌手术切除中的应用 彭淑牖,刘颖斌 499 我国小肠疾病的研究现状 智发朝 502 2003 年度国家自然科学基金医学和生物学项目指南概述 崔慧斐,江学良,马连生
食 管 癌	508 食管上皮癌变过程中环氧化酶-2 表达上调 齐凤英,张林西,韩彩丽,左连富,林培中,郭建文 512 腺病毒介导的 p27kip1 对食管癌裸鼠模型抑制的作用 张卫国,吴清明,童强,于皆平 517 腺病毒介导的 cox-2 反义 RNA 对食管癌细胞株 DNA 和蛋白质合成的影响 李胜保,吴清明,王强,王小虎,谢国建
胃 癌	522 胃癌 SMAD4/DPC4 杂合性丢失的研究 朱亚青,尹浩然,朱正纲,刘炳亚,张奕,陈雪华,于颖彦,林言箴 526 胃癌增生凋亡与调节基因的表达 潘传敬,刘宽宇 531 慢性萎缩性胃炎胃泌素、生长抑素、表皮生长因子、血管活性肠肽的测定及临床意义 郭昱,郭霞,姚希贤
大 肠 癌	535 CD/5-FC 系统对结肠癌细胞的杀伤作用 黎成金,马庆久,赖大年,鲁建国,王小军,王青,潘伯荣,武永忠,李金茂 540 大肠腺癌组织 Survivin 蛋白的表达意义 肖军,邓长生,朱尤庆
幽门螺杆菌	544 胃癌细胞系幽门螺杆菌感染对金属蛋白酶表达的影响 李新华,张桂英,罗非君,徐美华,李乾 547 表达幽门螺杆菌热休克蛋白 60 克隆的构建 白杨,黄文,林焕健,王继德,陈烨,张兆山,周殿元,张亚历 551 幽门螺杆菌感染者胃黏膜中内质网分子伴侣 Grp94 的表达 王孟春,方文刚,顾金歌,李岩 554 幽门螺杆菌 CagA 蛋白与胃癌组织中 Bcl-2、p53 蛋白表达的关系 杜雅菊,赵晶,赵瑞波,李宝杰 558 根除 <i>H. pylori</i> 后应用灭 <i>Hp</i> 煎剂对慢性胃炎病变的影响 王娜,姚希贤,张琳,白文元,冯丽英 562 <i>Hp</i> 对慢性萎缩性胃炎内皮素及一氧化氮水平影响的实验与临床研究 郭昱,郭霞,姚希贤
基 础 研 究	565 大蒜素对大鼠溃疡性结肠炎淋巴细胞凋亡及其调控蛋白的影响 徐细明,于皆平,何小飞,李军华,郑敏,於亮亮 569 泻剂结肠大鼠结肠中的 mu、kappa 阿片受体变化 刘宝华,莫平,张胜本 571 香砂平胃散对小鼠胃排空的影响 王学清,王秀杰,李岩 575 术香冲剂对小鼠胃肠动力的影响 李岩,王学清,张卫卫,王江玥 578 EGF 对小肠缺血再灌注后磷酸化 p44/42 MAPK 表达的影响 李平,邢峰,付小兵,杨银辉,郭宝琛
焦 点 论 坛	583 吻合方法对防止胰肠吻合口漏的重要性 彭淑牖,刘颖斌 584 胰十二指肠切除术的适应证 许斌,刘颖斌,王建伟,曹利平,彭淑牖 587 胰十二指肠切除术的主要并发症及诊断与治疗 邓贵龙,李海军,刘颖斌,牟一平,彭淑牖 589 胰十二指肠切除术后胰漏的发生机制 王建伟,许斌,蔡秀军,李海军,刘颖斌,彭淑牖 591 胰肠吻合方法的演进 白明东,刘颖斌,李海军,彭淑牖 593 彭氏捆绑式胰肠吻合术的临床应用 陈晓鹏,刘颖斌,李海军,许斌,王建伟,李江涛,王新保,吴育连 595 彭氏 型捆绑式胰肠吻合术 史留斌,方河清,刘颖斌,李海军,王建伟,许斌 596 捆绑式胰肠吻合术防止胰漏的机制 刘颖斌,彭淑牖
文 献 综 述	598 人工肝生物反应器研究进展 向德栋,王英杰,王宇明 601 肝纤维化治疗的新热点-TIMPs 谢玉梅,聂青和 606 p63 基因研究进展 司少艳,张建中 610 老年期消化系疾病的诊疗特点 宋于刚

文献综述	613 胆道系统运动调节及功能性胆道运动异常的诊治 陈仕珠 619 肠黏膜屏障研究进展 武金宝,王继德,张亚历 624 线粒体 DNA 与消化性肿瘤关系的研究进展 韩琤波,李凡,辛彦 628 热休克蛋白在胃溃疡中的表达及意义 向廷秀,王丕龙 632 内镜技术在消化系疾病诊疗中的应用 韩英 635 幽门螺杆菌的研究进展 徐智民,张万岱,周殿元 640 肠镜检查在早期大肠癌诊断中的重要作用 张亚历,周殿元 643 超声内镜检查在胃肠疾病中的临床应用 郭文 646 老年期消化道出血的鉴别诊断与治疗措施 宋卫生,杨希山 649 老年期消化性溃疡临床用药的合理选择 白岚 651 肥大细胞与功能性胃肠疾病 彭丽华,杨云生 654 肝门胆管癌的超声影像学诊断 王彬,陈路增,赵建勋,孙占祺 656 Budd-Chiari 综合征的分型及诊断 许伟华,朱菊人 658 部分脾栓塞术国内应用现状 朱晓玲
研究快报	663 FAK 在大肠癌中的表达及其临床意义 杨红军,丁彦青 665 大黄对大鼠结肠动力及肠神经系统的影响 董卫东,张胜本,刘宝华,张连阳,黄显凯,高峰 668 胃癌患者血清 TNF- $\alpha$ 的水平及意义 陈剑群,许统俭,安侠,王营,陈玉林
临床经验	670 前列腺素 E <sub>1</sub> 对急性胰腺炎二十碳烯酸异常代谢调节的临床研究 李庭赞,孙丹莉,孙士其 671 肝硬化腹水并发肝肾综合征及低渗性脑病与限钠治疗关系的研究 刘建军,智红,吴晓英,李楠 673 金属夹联合内镜注射治疗胃肠道出血 王孟春,李立,常桂艳,孙思予,孙素云 675 内镜诊疗实现无痛苦操作的临床评价 游旭东,陈玲玲,郑晓蕾,王鹏,吴永伟,孔晓丽,许元印 677 经皮经肝胆囊引流治疗急性胆囊炎和重症胆管炎的价值 张国梁,朱春兰,任旭 679 进展期胰腺癌 299 例 王成锋,赵平,李文波,宋德余 681 食管、贲门癌染色体异常分析及意义 武珊珊,刘吉福,王明荣 684 空回肠出血 27 例 石力,田伏洲,李旭,周庆贤,赵碧,薛刚 686 食管鳞癌免疫组化彩色图像定量分析 韩永,徐燕杰,李宁,布和,宋晶莹,赵敏
病例报告	662 大肠 3 原癌 1 例 姚红兵,吴爱国,朱卉娟
封面故事	605 浙江大学医学院附属第二医院外科

# 世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名  
 陈可冀 题写版权刊名  
 (月刊)  
 创刊 1993-01-15  
 改刊 1998-01-25  
 出版 2003-05-15  
 原刊名 新消化病学杂志

总顾问 陈可冀	张金哲
黄象谦	张学庸
黄志强	赵东海
黎介寿	周殿元
刘耕陶	社长总编辑 马连生
裘法祖	中文编辑 潘伯荣
汤钊猷	王瑾晖
王宝恩	英文编辑 张建中
危北海	排版 李少华
吴孟超	校对 李天华
吴咸中	

编辑 世界华人消化杂志编辑委员会  
 030001, 山西省太原市双塔西街 77 号  
 E-mail: wcjd@wjgnet.com  
 出版 世界胃肠病学杂志社  
 100023, 北京市 2345 信箱  
 E-mail: wcjd@wjgnet.com  
 http://www.wjgnet.com  
 电话 (010)85381892  
 传真 (010)85381893  
 印刷 北京科信印刷厂  
 发行 国内 北京报刊发行局  
 国外 中国国际图书贸易总公司  
 (100044, 北京 399 信箱)  
 订购 全国各地邮电局  
 邮购 世界胃肠病学杂志社发行部  
 (100023, 北京市 2345 信箱)  
 电话: (010)85381892  
 传真: (010)85381893  
 2003 年版权归世界胃肠病学杂志社所有

本刊已被国内外  
 检索系统收录  
 美国《化学文摘(CA)》  
 荷兰《医学文摘库/医学文摘(EM)》  
 俄罗斯《文摘杂志( )》  
 中国科技论文统计与分析  
 中国学术期刊文摘  
 中国中医药信息资源网  
 中国生物医学文献光盘数据库  
 《中文科技资料目录(医药卫生)》  
 中国生物医学期刊目次数据库  
 中国医学文摘外科学分册(英文版)  
 中国医学文摘内科学分册(英文版)

**特别声明**  
 本刊刊出的所有文章不代表世界胃肠病学杂志社和本刊编委会的观点, 除非特别声明. 本刊如有印装质量问题, 请向本刊编辑部调换.

ISSN 1009-3079  
 CN 14-1260/R

邮发代号 82-262  
 国外代号 M 4481

国内定价  
 每期 24.00 元 全年 288.00 元

广告经营许可证  
 1401004000050



## COMMENTARY

Application of scraping and suctioning dissection in surgical remove of cholangiocarcinoma in porta hepatis

Peng SY, Liu YB 497

Current status of intestinal diseases in China

Zhi FC 499

Introduction to application directory of National Natural Science Foundation of China (Medicine and Biology, 2003)

Cui HW, Jiang XL, Ma LS 502

## ESOPHAGEAL CANCER

Up-regulation of cyclooxygenase-2 in carcinogenesis of esophageal epithelia

Qi FY, Zhang LX, Han CL, Zuo LF, Lin PZ, Guo JW 508

Inhibitory effect of p27kip1 mediated by adenovirus on model of esophageal carcinoma in nude mice

Zhang WG, Wu QM, Tong Q, Yu JP 512

Effects of adenovirus-mediated human cox-2 antisense RNA on synthesis of DNA and proteins in esophageal carcinoma cell line

Li SB, Wu QM, Wang Q, Wang XH, Xie GJ 517

## GASTRIC CANCER

Loss of heterozygosity of SMAD4/DPC4 in gastric carcinoma

Zhu YQ, Yin HR, Zhu ZG, Liu BY, Zhang Y, Chen XH, Yu YY, Lin YZ 522

Proliferation/apoptosis and expression of P53 and Bcl-2 in gastric carcinoma

Pan CJ, Liu KY 526

Changes of gastrointestinal hormones in chronic atrophic gastritis and their clinical significance

Guo Y, Guo X, Yao XX 531

## LARGE INTESTINAL CANCER

Killing effect of CD/5-FC system on human colon cancer cell lines SW 480 and LoVo

Li CJ, Ma QJ, Lai DN, Lu JG, Wang XJ, Wang Q, Pan BR, Wu YZ, Li JM 535

Expression of survivin protein in colorectal adenocarcinoma

Xiao J, Deng CS, Zhu YQ 540

## *H.pylori*

Influence of expression of matrix metalloproteinase induced by *H. pylori* infection in gastric cancer cell line

Li XH, Zhang GY, Luo FJ, Xu MH, Li Q 544

Construction of clone expressing adhesin Hsp60 of *Helicobacter pylori*

Bai Y, Huang W, Lin HJ, Wang JD, Chen Y, Zhang ZS, Zhou DY, Zhang YL 547

Expression of glucose-regulation protein 94 in gastric mucosa infected

with *Helicobacter pylori*

Wang MC, Fang WG, Gu JG, Li Y 551

Relationship between expression of Bcl-2 and p53 protein and CagA<sup>+</sup> *Helicobacter pylori* in gastric cancer

Du YJ, Zhao J, Zhao RB, Li BJ 554

Histologic changes after *H.pylori* eradication with Killing *Hp* decoction for chronic gastritis

Wang N, Yao XX, Zhang L, Bai WY, Feng LY 558

Changes of nitricoxide and endothelin in *Helicobacter pylori* associated chronic atrophic gastritis before and after eradication: an experimental and clinical study

Guo Y, Guo X, Yao XX 562

## BASIC RESEARCH

Effects of allitridi on lymphocyte apoptosis and its regulatory gene expression in rat ulcerative colitis

Xu XM, Yu JP, He XF, Li JH, Zheng M, Yu LL 565

Changes of mu and kappa opioid receptors in cathartic colon of rats

Liu BH, Mo P, Zhang SB 569

Effect of Xiangsha Pingweisan on gastric emptying motility in mice

Wang XQ, Wang XJ, Li Y 571

Effect of Zhuxiang powder on gastric and intestinal motility in mice

Li Y, Wang XQ, Zhang WW, Wang JY 575

Effects of EGF on expression of phosphorylated p44/42 MAPK in rat small intestine after ischemia-reperfusion injury

Li P, Xin F, Fu XB, Yang YH, Guo BC 578

## FOCUSED FORUM

The significance of pancreaticojejunostomy method on prevention of pancreatic leakage

Peng SY, Liu YB 583

Diagnosis and treatment of principal complications of pancreaticojejunostomy

Deng GL, Li HJ, Liu YB, Mou YP, Peng SY 587

Mechanisms of pancreatic leakage after pancreaticoduodenectomy

Wang JW, Xu bin, Cai XJ, Li HJ, Liu YB, Peng SY 589

The development of pancreaticojejunostomy methods

Bai MD, Peng CH, Liu YB, Peng SY, Li HJ 591

The clinic application of Peng's binding pancreaticojejunostomy

Cheng XP, Wu YL, Liu YB, Peng SY, Li HJ 593

Type Peng's binding pancreaticojejunostomy

Shi LB, Fang HQ, Liu YB, Li HJ, Wang JW, Xu B 595

Mechanisms of binding pancreaticojejunostomy to prevent pancreatic leakage

Liu YB, Peng SY 596

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi \$

World Chinese Journal of Digestology  
Monthly \$ \$

**Founded** on 15th January, 1993

**Renamed** on 25th January, 1998

**Publication** date 15th May, 2003

**Honorary-Editor-in-Chief**

Bo-Rong Pan

**President and Editor-in-Chief**

Lian-Sheng Ma

**ISSN** 1009-3079 **CN** 14-1260/R

**Edited by** Editorial Board of World Chinese Journal of Digestology  
P.O.Box 2345, Beijing 100023, China

**Published by** The WJG Press

77, Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China

**Overseas Distributor** China International Book Trading Corporation  
P.O.Box 399, Beijing 100044, China **Code No.**M4481

**Mail-Order** Circulation Section, The WJG Press

P.O.Box 2345, Beijing 100023, China

Telephone: +86-10-85381892

Fax: +86-10-85381893

Email: wcjd @ wjgnet.com

http://www.wjgnet.com

**Copyright © 2003 by The WJG Press**

**Indexed/**

**Abstracted by**

Chemical Abstracts

EMBASE/

Excerpta Medica

Abstract Journal

# 人工肝生物反应器研究进展

向德栋,王英杰,王宇明

向德栋,王英杰,王宇明,中国人民解放军第三军医大学西南医院全军感染病研究所 重庆市 400038  
国家自然科学基金资助课题, No.39970214  
项目负责人:王英杰,400038,重庆市高滩岩正街30号,中国人民解放军第三军医大学西南医院全军感染病研究所. wangyj103@263.net  
电话:023-68754475-8062 传真:023-68754142  
收稿日期:2002-11-20 接受日期:2002-12-02

## 摘要

肝功能衰竭有很高的死亡率,肝脏移植是治疗终末期肝病的较好方法,由于供体器官缺乏,费用高昂,需长期使用免疫抑制剂等原因,仍有较多患者不能进行肝脏移植,探索肝功能衰竭非肝脏移植治疗显得非常必要.生物人工肝是近年来肝功能衰竭治疗的热门课题,而生物人工肝装置及对肝功能衰竭治疗效果最有影响的关键部分是生物反应器,因此,生物反应器已成为人工肝研究的重要课题.

向德栋,王英杰,王宇明. 人工肝生物反应器研究进展. 世界华人消化杂志 2003;11(5):598-600

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/11/598.htm>

## 0 引言

目前,肝功能衰竭有很高的死亡率,肝脏移植是治疗终末期肝病的较好方法,由于肝脏移植费用高昂,且供体器官缺乏,需长期使用免疫抑制剂等原因,仍有较多的患者不能进行肝脏移植,探索肝功能衰竭非肝脏移植治疗显得非常必要.肝脏是一个能够再生的器官,且有复杂的生物合成、解毒、代谢功能,人们不断探索生物人工肝治疗肝功能衰竭的研究,为肝功能衰竭的治疗开辟新途径.现将近年来有关研究进行综述.

## 1 用于生物人工肝装置的细胞来源

各种非生物人工肝治疗终末期肝病,均能暂时改善患者的临床症状,但对患者死亡率无明显降低,其主要原因是缺乏肝细胞的生物合成及代谢功能,治疗效果明显下降,鉴于这个原因,人们试图在体外培养肝脏细胞,利用肝脏细胞的生理功能,开始支持治疗肝功能衰竭的实验及临床研究,并取得较好效果.目前常用的细胞主要有以下几类:(1)原代肝细胞.1987年,Matsumura et al<sup>[1]</sup>报道分离兔肝细胞,原代培养后用于杂合型生物人工肝装置,治疗1例晚期胆管癌患者获得成功.之后,Mundt et al<sup>[2]</sup>分离猪肝细胞用于生物人工肝装置,经支持治疗后,为患者进行肝脏移植创造了条件.目前在实验及临床研究中,应用最广泛的是猪肝细胞,其优点是来源广泛,细胞数量多,

又具有合成、代谢及排泌功能.理论上讲,人肝细胞是最为理想的细胞.但伦理道德及人肝细胞来源缺乏,储存运输困难,使其应用受到限制.(2)永生化细胞.1990年代中期,人们将人肝细胞系NH25、HHY41用于人工肝装置治疗肝衰竭,取得了一定治疗效果,但是细胞系不能发挥正常人肝细胞的全部功能,之后,人们又相继应用C8-B、HepZ、OUMS-29、NKNT-3等永生化细胞用于人工肝治疗肝衰竭的研究,同样取得了一定效果,因安全性原因,故应用受限.起源于肿瘤细胞的细胞系如HepG2、C3A、HuH6、JHH2-2等也试图用于肝功能衰竭的实验及临床研究,但该细胞系来源于肿瘤细胞,存在危害人体的因素,故临床应用仍有顾虑.(3)潜能干细胞.干细胞的研究是近年来生命科学的热点.1998年Shamblott et al<sup>[3]</sup>报道人多潜能细胞是体外研究的无价之宝,经培养后,他保持了细胞的生物学特性,并不断增生.Tosh et al<sup>[4]</sup>发现胰腺细胞能转化为肝细胞,并建立胰腺细胞系AR42J-B13转化为肝细胞的模型,研究发现转化后的肝细胞具有合成、解毒的功能.Miyazaki et al<sup>[5]</sup>研究发现骨髓细胞在一定的培养条件下,诱导分化为肝细胞,能表达肝细胞的标志,随着干细胞的不断深入研究,干细胞应用于人工肝的治疗将为时不远.

## 2 原代培养肝细胞表型的稳定性

肝脏由多种细胞构成,细胞间及细胞外基质的相互作用是保持肝实质细胞表型稳定的基础.研究表明,将肝实质细胞分离后体外培养,其表型及功能迅速发生改变,肝细胞生物合成及解毒能力下降.因此,人们试图模仿肝脏体内的微环境培养肝细胞,最大限度的发挥其生理功能.Bhatia et al<sup>[6]</sup>将肝实质细胞与非实质细胞混合培养,保持了肝细胞的表型稳定.其分子机制目前仍不清楚,可能是细胞之间相互作用的信号传导参与其表型的稳定.

## 3 生物反应器的设计

生物人工肝装置及对肝功能衰竭治疗效果最有影响的关键部分是生物反应器.随着工程科学及材料科学的发展,对生物反应器的研究步伐加快,反应器中所用细胞种类的增多及对细胞培养表型稳定性的增加,临床应用生物反应器治疗患者已成为现实.设计合理的生物反应器应具备适当的双向物质转运,以便对生物反应器中的肝脏细胞提供足够的营养,保持细胞活力,排

除治疗细胞的产物, 根据生物分子量大小, 选择半透膜, 在患者及生物反应器中进行物质交换; 保持细胞活力及功能. 目前, 肝细胞在生物反应器中培养不能长期保持肝细胞的功能是一大难题, 其原因是不能在体外为肝细胞生长提供一个合适的微环境. 因此, 在设计生物反应器时不但要考虑有效的物质转运, 还要考虑细胞生长的微环境及相关的化学促进因子; 具有潜在的提高治疗水平. 研究指出, 要保持人的生命, 细胞数量至少是正常人的 10-30 %, 成人至少要 150-450 g 肝细胞, 因此, 要求生物反应器有一定的培养空间. 目前研究及应用的生物反应器主要有以下几种: (1)中空纤维生物反应器: 中空纤维反应器有内腔及外腔, 常将肝脏细胞黏附于中空纤维的外腔, 根据不同来源的细胞选择合适截留分子量的生物膜, 避免发生异种细胞产物所引起的免疫反应, 但肝脏细胞在生物反应器中分布不均, 易造成细胞活力下降. Jasmund et al<sup>[7]</sup>指出, 生物反应器的肝脏细胞有高的氧消耗, 他们设计了一种新的可供氧的中空纤维生物反应器, 将肝脏细胞种植在中空纤维的外腔, 并控制氧及温度, 培养递质在中空纤维外腔灌注. 发现供氧的中空纤维生物反应器有多种优点, 不仅可获得高密度的细胞, 而且易掌握. 为了验证该生物反应器的效果, 在超过 3 wk 的培养中, 他们检测了尿素合成、白蛋白合成、糖的消耗、氧的水平及 pH 值等, 结论提示该生物反应器生物化学作用稳定, 能保持细胞活力. Mazariegos et al<sup>[8]</sup>用中空纤维反应器培养 70-100 g 猪肝细胞, 用于一位暴发性肝功能衰竭的患者的治疗. 结果表明生物反应器安全. 目前, 该生物反应器在美国进行 I、II 期的安全评估. Custer et al<sup>[9]</sup>研究中空纤维生物反应器对培养细胞的影响, 指出在 50 ml/L 二氧化碳及氮平衡条件下, 氧合器的氧在 20-70 % 的范围内变动, 氧消耗率及细胞功能稳定, 没有观察到氧中毒的征象. 在另外的实验研究中, 观察到随细胞数量增加, 氧消耗量也随之增加. 但 Flendrig et al<sup>[10]</sup>在鼠动物实验中, 造成鼠肝缺血致肝功能衰竭, 肝细胞培养在无生物膜的中空纤维生物反应器中直接用血或血浆灌注, 结果与对照组比较, 鼠的生存状态明显改善, 生命全部延长. 目前, 中空纤维生物反应器应用广泛, 其最大优势是表面积与体积之比大, 便于代谢物的转运, 且能保持有最小的死腔. (2)平板单层生物反应器: 平板单层生物反应器是将细胞种植在平板上培养, 其优点是细胞分布均匀, 微环境一致, 但表面积与体积之比下降. Shito et al<sup>[11]</sup>设计了一种带有内膜氧合器的微管道平板单层生物反应器, 将猪肝细胞培养在反应器中, 观察肝细胞在体外灌注及动物实验中的生物合成功能. 结果表明, 体外灌注 4 d, 肝细胞的蛋白合成稳定. 体内实验用鼠作动物模型, 24 h 在鼠血浆中检测猪白蛋白, 发现这种生物反应器作为肝支持系统很有潜力, 可望更进一步研究. Tilles et al<sup>[12]</sup>比较带有内膜氧合器及不带内膜氧合器的平板单层生物反应

器, 结果是带有氧合器的生物反应器能使肝细胞稳定, 生物合成功能加强, 而不带内膜氧合器者与之相反. 他指出在临床应用的生物反应器的设计应考虑到相关的问题, 以便提高治疗效果. (3)灌注床或支架生物反应器: 该生物反应器是将肝细胞种植在灌注床或支架上, 其优点是与细胞直接接触, 增加了物质的转运, 也促进三维结构的形成, 同时也容易扩大细胞容量, 其缺点是灌注不均一, 易堵塞. Kawada et al<sup>[13]</sup>根据灌注床或支架生物反应器的设计原理, 将肝细胞装入多孔的玻璃球微载体内, 利用培养液从外周向中心产生一个营养及氧气的梯度, 形成高密度的细胞且具有高度活力, 三维结构的细胞呈球形, 类似于体内肝细胞分布的过程, 球形细胞间保持紧密的接触, 培养液在细胞空间自由的流动. 结果提示这种反应器能提供一个较好的三维细胞培养环境, 细胞能产生其本来的功能. Nakazawa et al<sup>[14]</sup>将猪肝细胞种植在多管道的聚氨基甲酸酯泡沫床内, 形成许多细胞球形聚集物, 当猪肝功能衰竭后, 用这种装置支持治疗, 与对照组比较, 治疗组血氨的产生被抑制, 肝性脑病发生率低, 血糖稳定, 血肌酐及乳酸盐得到改善, 生命体征平稳, 并有尿的排泄, 生存时间明显延长. Glicklis et al<sup>[15]</sup>将刚分离的鼠肝细胞培养在多孔结构的藻酸盐支架内, 该支架中各孔之间互相连接. 在培养的时间内, 细胞数量未发生变化, 细胞活力无下降, 提示在该系统内, 藻酸盐海绵能为肝细胞的生长提供一个有益的环境, 通过肝细胞的集簇性促进培养肝细胞性能的表达. (4)包被悬浮生物反应器: 该生物反应器是将肝细胞用材料包裹, 制成多孔微胶囊, 然后进行灌注培养. 其优点是所有细胞有相同的微环境, 有大量细胞培养的空间, 减少免疫反应的发生. 缺点是细胞稳定性差, 物质交换能力受限. Khan et al<sup>[16]</sup>将山羊肝细胞包被于藻酸盐多聚赖氨酸微胶囊内, 评估该装置对氨、葡萄糖及抗体介导下的细胞毒作用. 在灌注量为 30 mL/min, 给氧处理的条件下, 结果是最适合的细胞数量是 120-180 亿, 去除氯化铵 2.5-5.0 mmol/L, 包被的肝细胞未见溶解. 结论提出包被的细胞能去除氨, 并能保持细胞活力, 包被也能保护肝细胞在抗体介导下的细胞溶解. Chia et al<sup>[17]</sup>用双层聚合膜包被鼠肝细胞, 外层用 25 % 2-羟乙基甲基丙烯酸酯、25 % 2-甲基丙烯酸、50 % 甲基丙二酸盐合成聚合体, 内层用修饰的胶原为增加肝细胞的功能作为合适的衬底, 且只允许白蛋白以下的分子渗透, 但不能阻止营养、氧气、生长因子及代谢产物的交换, 结果指出包被肝细胞可用于生物反应器治疗患者.

总之, 肝病发生率不断上升及供体肝脏的缺乏, 以细胞为基础对肝功能衰竭的治疗引起广大医学工作者的关注. 目前, 体外生物人工肝支持系统仍存在一些问题, 需继续加以研究解决. 细胞方面主要存在细胞来源的选择、细胞培养的稳定性、异种细胞引起的免疫反应及感染、肿瘤细胞系对人体的影响等; 生

物反应器装置还不能完全提供细胞黏附、细胞与细胞间作用、细胞与基质作用的结构,造成物质转运与细胞功能的不完善;临床治疗存在对不同病因所致的肝功能衰竭,没有一致的疗效标准及一致的临床试验设计。但部分临床治疗病例及动物实验证明,体外生物人工肝支持系统对肝功能衰竭的治疗是有效的,随着细胞生物学、材料科学及工程学的不断发展,经过广大科技工作者的共同努力,进一步对人工肝装置的不断完善,相信对肝功能衰竭的治疗将带来新的飞跃。

#### 4 参考文献

- Matsumura KN, Guevara GR, Huston H, Hamilton WL, Rikimaru M, Yamasaki G, Matsumura MS. Hybrid bioartificial liver in hepatic failure: Preliminary clinical report. *Surgery* 1987; 101:99-103
- Mundt A, Puhl G, Muller A, Sauer I, Muller C, Richard R, Fotopoulou C, Doll R, Gabelein G, Hohn W, Hofbauer R, Neuhaus Gerlach J. A method to assess biochemical activity of liver cells during clinical application of extracorporeal hybrid liver support. *Int J Artif Organs* 2002;25:542-548
- Shamblott MJ, Axelman J, Wang S, Bugg EM, Littlefield JW, De PJ, Blumenthal PD, Huggins GR, Gearhart JD. Derivation of pluripotent stem cells from cultured human primordial germ cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95:13726-13731
- Tosh D, Shen CN, Slack JM. Differentiated properties of hepatocytes induced from pancreatic cells. *Hepatology* 2002;36:534-543
- Miyazaki M, Akiyama I, Sakaguchi M, Nakashima E, Okada M, Kad K, Huh NH. Improved conditions to induce hepatocytes from rat bone marrow cells in culture. *Biochem Biophys Res Commun* 2002;298:24-30
- Bhatia SN, Balis UJ, Yarmush ML, Toner M. Effect of cell-cell interactions in preservation of cellular phenotype: Cocultivation of hepatocytes and nonparenchymal cells. *FASEB J* 1999;13:1883-1900
- Jasmund I, Langsch A, Simmoneit R, Bader A. Cultivation of primary porcine hepatocytes in an OXY-HFB for use as a bioartificial liver device. *Biotechnol Prog* 2002;18:839-846
- Mazariegos GV, Patzer JF, Lopez RC, Giraldo M, Devera MB, Grogan TA, Zhu Y, Fulmer ML, Amiot BP, Kramer DJ. First clinical use of a novel bioartificial liver support system (BLSS). *Am J Transplant* 2002;2:260-266
- Custer L, Mullon CJ. Oxygen delivery to and use by primary porcine hepatocytes in the HepatAssist 2000 system for extracorporeal treatment of patients in end-stage liver failure. *Adv Exp Med Biol* 1998;454:261-271
- Flendrig LM, Te Velde AA, Chamuleau RA. Semipermeable hollow fiber membranes in hepatocyte bioreactors: a prerequisite for a successful bioartificial liver? *Artif Organs* 1997;21:1177-1181
- Shito M, Kim NH, Baskaran H, Tilles AW, Tompkins RG, Yarmush D, Toner M. In vitro and in vivo evaluation of albumin synthesis rate of porcine hepatocytes in a flat-plate bioreactor. *Artif Organs* 2001;25:571-578
- Tilles AW, Baskaran H, Roy R, Yarmush ML, Toner M. Effects of oxygenation and flow on the viability and function of rat hepatocytes cocultured in a microchannel flat-plate bioreactor. *Biotechnol Bioeng* 2001;73:379-389
- Kawada M, Nagamori S, Aizaki H, Fukaya K, Niiya M, Matsuura D, Sujino H, Hasumura S, Yashida H, Mizutani S, Ikenaga H. Massive culture of human liver cancers cells in a newly developed radial flow bioreactor system: ultrafine structure of functionally enhanced hepatocarcinoma cells lines. *In Vitro Cell Dev Biol Anim* 1998;34:109-115
- Nakazawa K, Ijima H, Fukuda J, Sakiyama R, Yamashita Y, Shim M, Shirabe K, Tsujita E, Sugimachi K, Funatsu K. Development of a hybrid artificial liver using polyurethane foam/hepatocyte spheroid culture in a preclinical pig experiment. *Int J Artif Organs* 2002;25:51-60
- Glicklis R, Shapiro L, Agbaria R, Merchuk JC, Cohen S. Hepatocyte behavior within three-dimensional porous alginate scaffolds. *Biotechnol Bioeng* 2000;67:344-353
- Khan AA, Capoor AK, Parveen N, Naseem S, Venkatesan V 5th, Habibullah CM. In vitro studies on a bioreactor module containing encapsulated goat hepatocytes for the development of bioartificial liver. *Indian J Gastroenterol* 2002;21:55-58
- Chia SM, Leong KW, Li J, Xu X, Zeng K, Er PN, Gao S, Yu H. Hepatocyte encapsulation for enhanced cellular functions. *Tissue Eng* 2000;6:481-495



Published by **Baishideng Publishing Group Inc**  
7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton,  
CA 94588, USA  
Fax: +1-925-223-8242  
Telephone: +1-925-223-8243  
E-mail: [bpgoffice@wjgnet.com](mailto:bpgoffice@wjgnet.com)  
<http://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079

