

肝内肌成纤维细胞和星状细胞在肝纤维化中的作用

李定国, 汪保灿

李定国, 汪保灿, 上海交通大学医学院附属新华医院消化内科 上海市 200092

李定国, 教授, 主任医师, 博士生导师, 主要从事肝纤维化的防治研究。

通讯作者: 李定国, 200092, 上海市, 上海交通大学医学院附属新华医院消化内科. dingguo_li@263.net

电话: 021-65790000-3361 传真: 021-55571294

收稿日期: 2007-06-11 修回日期: 2007-08-13

Functions of myofibroblasts and hepatic satellite cells in liver fibrosis

Ding-Guo Li, Bao-Can Wang

Ding-Guo Li, Bao-Can Wang, Department of Gastroenterology, Xinhua Hospital, School of Medicine, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200092, China

Correspondence to: Ding-Guo Li, Department of Gastroenterology, Xinhua Hospital, School of Medicine, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200092, China. dingguo_li@263.net

Received: 2007-06-11 Revised: 2007-08-13

Abstract

Liver fibrosis represents wound-healing responses from liver tissue injury. Multiple mechanisms underlying liver fibrogenesis have been explored. Inflammatory cytokines stimulate fibrogenetic cell proliferation and activation, the production of extracellular matrix (ECM), and the secretion of various cytokines and enzymes. All such alterations lead to a relative increase in the deposition of ECM components. Decreased degradation occurs with resulting excessive ECM accumulation in the liver. It has recently been suggested that, besides hepatic stellate cells, myofibroblasts may also constitute an important population of matrix-producing cells in liver fibrosis, and especially in cholestatic fibrosis. Confirmation of such observations will be required for the development of antifibrotic strategies that specifically and efficiently target cells responsible for the different types of liver fibrosis.

Key Words: Myofibroblast; Hepatic satellite cell; Liver fibrosis

Li DG, Wang BC. Functions of myofibroblasts and hepatic

satellite cells in liver fibrosis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2007; 15(23): 2473-2476

摘要

肝纤维化是不同病因长期作用于肝脏所致损伤后修复反应, 发病机制主要是肝内纤维生成, 细胞活化、增殖, 合成大量细胞外基质(extracellular matrix, ECM), 并伴有ECM降解不足, 最终导致其在肝内大量积聚. 近来有研究提示除肝星状细胞(hepatic satellite cell, HSC)外, 肌成纤维细胞(myofibroblast, MF)可能是另一类参与肝纤维化进程并发挥重要作用的细胞, 进一步确证上述研究结果将有助于针对不同类型肝纤维化寻找和采取不同的干预方法, 以更有效地阻断肝纤维化的进展.

关键词: 肌成纤维细胞; 肝星状细胞; 肝纤维化

李定国, 汪保灿. 肝内肌成纤维细胞和星状细胞在肝纤维化中的作用. 世界华人消化杂志 2007;15(23):2473-2476

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/15/2473.asp>

0 引言

肝纤维化是不同病因长期作用于肝脏所致损伤后修复反应, 发病机制主要是肝内纤维生成细胞活化、增殖, 合成大量细胞外基质(extracellular matrix, ECM), 并伴有ECM降解不足, 最终导致其在肝内大量积聚. 虽然曾有学者提出具有ECM合成作用的间质细胞(mesenchymal cells)包括肝星状细胞(hepatic satellite cell, HSC)、肌成纤维细胞(myofibroblast, MF)、纤维母细胞(fibroblast)和平滑肌细胞. 但目前研究主要集中在HSC, 认为HSC是肝纤维化时ECM合成的唯一细胞来源, 同时当前研究中存在一些值得思考的现象. 例如: 肝纤维化组织不同区域的纤维生成细胞的表面标记不同; 许多干预因素在体外试验中抑制HSC活化、增殖和分泌作用显著, 而在体内试验中对肝纤维化的防治效果却不尽人意. 因此, 人们设想: 除了HSC外是否还有其他纤维生成细胞在肝纤维化发生发展过程中发挥重要作用?

■背景资料

近来有研究提示汇管区肌成纤维细胞可能是另一类参与肝纤维化进程的重要细胞.

■应用要点

本文总结了肝内MF和HSC的异同,有助于全面了解不同类型肝纤维化发生的细胞机制,进而为不同类型肝纤维化的特异性干预提供方向。

其生物学特性是否与HSC相似?目前一些研究已经提示MF可能是另一类参与肝纤维化进程并发挥重要作用的细胞,其作用已得到一些学者的认同^[1-2]。

1 MF与HSC的形态结构、肝内分布、特征标志和胚胎起源

MF呈梭形,与纤维母细胞形状类似,但胞质内有大量平行排列的肌丝而具有收缩功能;HSC有多个突起,形态如星状,胞质内含有大量脂滴。另外二者的超微结构也不尽相同, Seifert *et al*^[3]报道电镜下MF胞质内肌丝间有“高密度颗粒”,而HSC则无。MF和HSC都存在于正常肝组织,前者位于汇管区、中央静脉和胆管周围,后者位于肝窦周围间隙中。

HSC和MF除了一些共同的表达标志外,又分别存在各自的特征性标志。如二者都可以表达: α -平滑肌肌动蛋白(α -smooth muscle actin, α -SMA)、结蛋白(desmin)、波形蛋白(vimentin)、血管-细胞黏附分子(vessel-cell adhesion molecule, VCAM)。然而, Fibulin-2、白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)只在MF表达,而HSC特异表达神经胶质酸性蛋白(glial fibrillary acidic protein, GFAP), 突触素(synaptophysin, SYN), Nestin, 神经生长因子(nerve growth factors, NGF), 神经生长因子受体(nerve growth factor receptors, p75)和神经营养因子(neurotrophin)等^[4-7]。

在胚胎发育阶段, MF由内胚层细胞发育来,但对HSC的胚胎起源,目前还存在争议。早期研究认为HSC也来源于内胚层细胞^[8],但近来越来越多的证据提示HSC可能来源于神经外胚层: (1)HSC表达上述神经系统特异性标志。(2)HSC的多突起形状和星形胶质细胞相似,与梭形的纤维细胞形状不同。(3)正常肝组织中许多HSC和神经末梢密切接触^[9-10]。(4)HSC表达多种类型的肾上腺素受体和儿茶酚胺合成酶(合成肾上腺素的关键酶),并释放肾上腺素^[11]。(5)肾上腺素和乙酰胆碱可直接促进HSC增殖,合成胶原成分,加入相应受体拮抗剂均明显抑制HSC增殖和分泌^[12-13]。(6)肾上腺素基因缺失的小鼠HSC在体外培养时生长缓慢,加入肾上腺素后HSC生长活性恢复正常^[11]。这些研究结果说明HSC不但接受神经递质的调节,还可自分泌神经递质促进自身活化。因此, Roskams *et al*^[14]认为HSC是外周神经细胞或神经内分泌细胞,但尚待进一步研究以实证HSC的来源。

尽管存在上述争议,且无充分证据说明HSC能够转化为MF,但因活化的HSC形态和MF相似,故有些学者将活化的HSC称为肌成纤维细胞,而不是肌成纤维样细胞,其结果是两种细胞的名称相混淆。另外,目前多数体内外研究通常用desmin⁺/ α -SMA⁻和desmin⁺/ α -SMA⁺作为静止和活化的HSC的鉴定标记,但已证实MF也能表达desmin和 α -SMA,因而体外或体内研究所谓的HSC并不能排除有MF存在,这就很难区分这些研究结论是HSC抑或二者共同作用的结果。

2 MF和HSC生长特性

Dudas *et al*^[15]将大鼠HSC进行体外培养,原代培养至7 d左右传代,第2代培养时细胞体积变大、分裂比例减少、生长变慢,培养几周后仍不能长至融合状态,并有大量细胞死亡。另外,还发现原代培养7 d时约18%细胞发生凋亡,第2代培养时,约80%HSC发生凋亡。然而,从肝脏分离的MF则不同,他有较强的分裂增殖能力,在体外可以连续传代。由于体外培养时大量HSC自发凋亡,并且原代培养的HSC多混杂有MF,故该学者怀疑长期传代培养的HSC是优势生长的MF。进一步研究发现, HSC在活化过程中同时表达CD95(Fas)和CD95L(Fas配体),因而可通过CD95L-CD95通路自发凋亡。体外培养的MF只表达CD95,不表达CD95L,因而无自发凋亡,给予CD95激活性抗体或肿瘤坏死因子- α (Tumor necrosis factor- α , TNF- α)可迅速诱导大量MF凋亡^[16]。然而,也有学者对这项研究结果提出了质疑,关于MF和HSC生长特性尚需进一步研究证实。

3 MF和HSC在不同类型肝纤维化中的作用

肝纤维化可由不同的病因引起,且不同病因所致的病变及其机制也有差异。酒精和四氯化碳诱发肝纤维化模型的机制是首先引起肝细胞坏死和实质炎症,并产生大量细胞因子,促进HSC活化增殖和分泌ECM,肝炎病毒诱发肝纤维化的机制与此类似。异种血清和胆总管结扎诱发肝纤维化模型的机制是汇管区水肿和纤维组织增生,而肝实质炎症不如前者明显,胆道病变和血吸虫病等诱发肝纤维化的机制与此类似。简言之,酒精、四氯化碳和肝炎病毒导致的肝纤维化早期是以肝实质病变为主,随后出现纤维组织增生;而异种血清、胆总管结扎、胆道病变和血吸虫病诱发的肝纤维化一开始就以间质纤维组织增生为主。

Cassiman *et al*^[17]用免疫组化技术检测了人和大鼠不同病因导致的肝纤维化组织中多种细胞标志的表达, 根据表达的标志不同将肝内纤维生成细胞分为3类: (1)实质内窦周纤维生成细胞; (2)汇管区和纤维间隔内纤维生成细胞; (3)纤维间隔/实质交界线的纤维生成细胞, 第3类细胞的标志介于前两类细胞之间. Knittel *et al*^[18]发现, 正常大鼠肝组织中, HSC(以desmin⁺/GFAP⁺为标记)位于肝血窦周围, MF(以desmin⁺/α-SMA⁺/fibulin-2⁺/GFAP⁺为标记)位于汇管区, 中央静脉周围. 在四氯化碳诱导急性肝损伤时, HSC数量明显增加, 而MF数量基本不变. 然而, 在四氯化碳诱导的大鼠肝纤维化早期, 纤维间隔中有HSC和MF, 在肝纤维化晚期, MF是纤维间隔中的主要细胞. Beaussier *et al*^[19]的研究结果也证实, 在胆总管结扎诱发的肝纤维化中, 汇管区间质细胞发挥更重要的作用. 这些研究结果提示: 实质内纤维生成细胞与纤维间隔、汇管区内纤维生成细胞不是同一类, 实质内纤维生成细胞可能是由HSC活化增殖而来, 但纤维间隔内的纤维生成细胞可能是由汇管区MF分裂、增殖而来. 也就是说, 实质内的ECM成分可能是由活化的HSC所分泌, 纤维间隔和汇管区的ECM成分可能是由MF所分泌, 而不是由从实质内迁移来的HSC分泌^[20].

总之, HSC和MF是两类表面标志、超微结构、生物学特性、肝内分布位置和作用存在极大差异的细胞群, HSC可能是四氯化碳诱导急性肝损伤的主要参与细胞, MF和HSC共同参与四氯化碳诱导的大鼠肝纤维化发生发展. 然而, MF在胆汁淤积诱发的肝纤维化发生发展过程中可能具有更重要的作用.

4 展望

目前MF在皮肤创伤后修复中的作用较为肯定, 正常皮肤中无MF, 组织损伤后, 皮肤中纤维母细胞转变为MF形成肉芽组织, 参与损伤修复^[21]. 肝纤维化也是组织损伤后修复过程, 与机体其他组织修复有共同之处, 另外有证据表明肝内汇管区的纤维母细胞也活化为MF^[22-23]. 所以Guyot *et al*认为^[24]正常肝组织并无MF存在, HSC和纤维母细胞均是MF的前体细胞, 在肝损伤时HSC和(或)纤维母细胞活化转变为MF, 分泌ECM、细胞因子和蛋白酶抑制剂等成分参与肝纤维化进程.

尽管上述的研究结果提示除了HSC外, 还存在MF等其他类型的ECM生成细胞, 但是自1999

年Knittel首次报道MF的研究至今已8 a之久, 而针对MF的研究仍然很少, 多数学者对MF在肝内是否存在及其对肝纤维化的作用持怀疑或否定态度, 这些都是因为目前尚没有一种公认的MF分离和培养方法, 因而对其特性及功能的研究也显得模糊, 缺少说服力. 所以, 当务之急是建立一种公认的MF分离和培养方法, 之后才可以解决目前存在的诸多疑问. 如HSC来源的肌成纤维样细胞、纤维母细胞来源的MF和肝内固有的MF是否是同一种细胞? HSC与MF是同一类细胞的不同发育阶段还是不同的两种细胞? 对这些问题的探讨将有助于对肝纤维化发病机制的进一步明确, 也助于针对不同类型肝纤维化寻找和采取不同的干预方法以更有效地阻断肝纤维化的进展.

总之, 目前的研究已提示除HSC外, 还有其他类型的纤维生成细胞参与肝纤维化发生、发展, 并且对不同病因诱导的肝纤维化作用也不相同. 但是由于没有公认的MF分离和培养方法, 目前还有许多问题无法解决, 需今后的进一步深入研究.

5 参考文献

- 1 Kim WH, Matsumoto K, Bessho K, Nakamura T. Growth inhibition and apoptosis in liver myofibroblasts promoted by hepatocyte growth factor leads to resolution from liver cirrhosis. *Am J Pathol* 2005; 166: 1017-1028
- 2 Lotersztajn S, Julien B, Teixeira-Clerc F, Grenard P, Mallat A. Hepatic fibrosis: molecular mechanisms and drug targets. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2005; 45: 605-628
- 3 Seifert WF, Roholl PJ, Blauw B, van der Ham F, van Thiel-De Ruiter CF, Seifert-Bock I, Bosma A, Knook DL, Brouwer A. Fat-storing cells and myofibroblasts are involved in the initial phase of carbon tetrachloride-induced hepatic fibrosis in BN/BiRij rats. *Int J Exp Pathol* 1994; 75: 131-146
- 4 Cassiman D, Deneef C, Desmet VJ, Roskams T. Human and rat hepatic stellate cells express neurotrophins and neurotrophin receptors. *Hepatology* 2001; 33: 148-158
- 5 Knittel T, Kobold D, Saile B, Grundmann A, Neubauer K, Piscaglia F, Ramadori G. Rat liver myofibroblasts and hepatic stellate cells: different cell populations of the fibroblast lineage with fibrogenic potential. *Gastroenterology* 1999; 117: 1205-1221
- 6 Trim N, Morgan S, Evans M, Issa R, Fine D, Afford S, Wilkins B, Iredale J. Hepatic stellate cells express the low affinity nerve growth factor receptor p75 and undergo apoptosis in response to nerve growth factor stimulation. *Am J Pathol* 2000; 156: 1235-1243
- 7 Cassiman D, van Pelt J, De Vos R, Van Lommel F, Desmet V, Yap SH, Roskams T. Synaptophysin: A novel marker for human and rat hepatic stellate cells. *Am J Pathol* 1999; 155: 1831-1839
- 8 Enzan H, Himeno H, Hiroi M, Kiyoku H, Saibara

■同行评价

本文较详细综述了肝内肌成纤维细胞和星状细胞在肝纤维化中的作用, 文章层次清楚, 内容全面新颖, 有较强的可读性和参考性.

- T, Onishi S. Development of hepatic sinusoidal structure with special reference to the Ito cells. *Microsc Res Tech* 1997; 39: 336-349
- 9 Akiyoshi H, Gonda T, Terada T. A comparative histochemical and immunohistochemical study of aminergic, cholinergic and peptidergic innervation in rat, hamster, guinea pig, dog and human livers. *Liver* 1998; 18: 352-359
- 10 Ueno T, Sata M, Sakata R, Torimura T, Sakamoto M, Sugawara H, Tanikawa K. Hepatic stellate cells and intralobular innervation in human liver cirrhosis. *Hum Pathol* 1997; 28: 953-959
- 11 Oben JA, Roskams T, Yang S, Lin H, Sinelli N, Torbenson M, Smedh U, Moran TH, Li Z, Huang J, Thomas SA, Diehl AM. Hepatic fibrogenesis requires sympathetic neurotransmitters. *Gut* 2004; 53: 438-445
- 12 Oben JA, Yang S, Lin H, Ono M, Diehl AM. Acetylcholine promotes the proliferation and collagen gene expression of myofibroblastic hepatic stellate cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 300: 172-177
- 13 Oben JA, Yang S, Lin H, Ono M, Diehl AM. Norepinephrine and neuropeptide Y promote proliferation and collagen gene expression of hepatic myofibroblastic stellate cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 302: 685-690
- 14 Roskams T, Cassiman D, De Vos R, Libbrecht L. Neuroregulation of the neuroendocrine compartment of the liver. *Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol* 2004; 280: 910-923
- 15 Dudas J, Saile B, El-Armouche H, Aprigliano I, Ramadori G. Endoreplication and polyploidy in primary culture of rat hepatic stellate cells. *Cell Tissue Res* 2003; 313: 301-311
- 16 Saile B, Matthes N, Neubauer K, Eisenbach C, El-Armouche H, Dudas J, Ramadori G. Rat liver myofibroblasts and hepatic stellate cells differ in CD95-mediated apoptosis and response to TNF-alpha. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2002; 283: G435-444
- 17 Cassiman D, Libbrecht L, Desmet V, Denef C, Roskams T. Hepatic stellate cell/myofibroblast subpopulations in fibrotic human and rat livers. *J Hepatol* 2002; 36: 200-209
- 18 Knittel T, Kobold D, Piscaglia F, Saile B, Neubauer K, Mehde M, Timpl R, Ramadori G. Localization of liver myofibroblasts and hepatic stellate cells in normal and diseased rat livers: distinct roles of (myo-)fibroblast subpopulations in hepatic tissue repair. *Histochem Cell Biol* 1999; 112: 387-401
- 19 Beaussier M, Wendum D, Schiffer E, Dumont S, Rey C, Lienhart A, Housset C. Prominent contribution of portal mesenchymal cells to liver fibrosis in ischemic and obstructive cholestatic injuries. *Lab Invest* 2007; 87: 292-303
- 20 Ramadori G, Saile B. Portal tract fibrogenesis in the liver. *Lab Invest* 2004; 84: 153-159
- 21 Desmouliere A, Chaponnier C, Gabbiani G. Tissue repair, contraction, and the myofibroblast. *Wound Repair Regen* 2005; 13: 7-12
- 22 Kinnman N, Francoz C, Barbu V, Wendum D, Rey C, Hultcrantz R, Poupon R, Housset C. The myofibroblastic conversion of peribiliary fibrogenic cells distinct from hepatic stellate cells is stimulated by platelet-derived growth factor during liver fibrogenesis. *Lab Invest* 2003; 83: 163-173
- 23 Wells RG, Kruglov E, Dranoff JA. Autocrine release of TGF-beta by portal fibroblasts regulates cell growth. *FEBS Lett* 2004; 559: 107-110
- 24 Guyot C, Lepreux S, Combe C, Doudnikoff E, Bioulac-Sage P, Balabaud C, Desmouliere A. Hepatic fibrosis and cirrhosis: the (myo)fibroblastic cell subpopulations involved. *Int J Biochem Cell Biol* 2006; 38: 135-151

编辑 程剑侠 电编 郭海丽

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2007年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

世界华人消化杂志在线办公系统

本刊讯 自2005-12-15起,世界华人消化杂志正式开通了在线办公系统(<http://www.wjgnet.com/wcjd/ch/index.aspx>),所有办公流程一律可以在线进行,包括投稿、审稿、编辑、审读,以及作者、读者、编者之间的信息反馈交流。凡在在线办公系统注册的用户,将可获得世界华人消化杂志最新出版消息。